

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23年度 研究成果報告書



長崎大学  
NAGASAKI UNIVERSITY



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

平成二十三年度 研究成果報告書

2011 Research Report of

The Global COE Program, Nagasaki University

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



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 7803 / FAX.095 819 7805

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

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

平成24年 6 月発行

# Contents

ごあいさつ	1
まえがき	2
概要	3
事業推進担当者	4
平成23年度活動報告	6
研究成果報告	
<b>新興感染症</b>	
<b>基礎研究班</b>	
● 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)	14
● 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)	16
● 新規抗ウイルス剤の探索(小林信之)	18
<b>フィールド研究班</b>	
● 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)	20
● <i>Aspergillus fumigatus</i> の薬剤感受性と耐性機序の解析(河野茂)	22
● アジア人における抗 HIV 薬治療の副作用出現を予測する因子についての検討(有吉紅也)	24
● 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)	26
<hr/>	
<b>下痢症</b>	
<b>基礎研究班</b>	
● 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(平山壽哉)	28
● 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)	30
<b>フィールド研究班</b>	
● 生態系におけるコレラ菌と線状ファージの分子疫学的研究(山城哲・江原雅彦)	32
<hr/>	
<b>マラリア</b>	
<b>基礎研究班</b>	
● 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)	34
● 脳マラリア発症と宿主 T 細胞免疫応答(由井克之)	36
<b>フィールド研究班</b>	
● マラリアの流行発生機構の解明と制御研究:媒介蚊の研究を通して(皆川昇)	38
<hr/>	
<b>顧みられない感染症</b>	
<b>基礎およびフィールド研究班</b>	
● 赤痢アメーバの病原性に関する研究(濱野真二郎)	40
<b>フィールド研究班</b>	
● 複数感染症に対する一括抗体価測定に関する研究開発と社会実装に関する研究(金子聡)	42
● デング出血熱の早期予測因子の同定(平山謙二)	44
● ワクチンと感染症治療 DDS の開発(佐々木均・平山謙二)	46
● 国家戦略としての CBRN 対抗医薬品開発(池田正行)	48
<hr/>	
業績一覧	50
学位取得者名簿	58
Research in Progress Seminar( RiPS )開催状況	60
大学院セミナー開催状況	61



片 峰 茂  
長崎大学長

## ごあいさつ

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、5年間の事業期間の最終年度を迎えています。本プログラムは、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を研究面でのミッションに設定してスタートしました。そして、さらに重要な使命が、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ります。はたして、本プログラムは期待に応えて、いくつかのインパクトの高い研究成果を創出し、また多くの有為の若い熱帯病・感染症専門家を世界に輩出しつつあります。平山謙二プログラム・リーダーを始めとする全てのPI (principal investigator) の健闘に敬意を表したいと思います。

昨年の研究成果の中でも、①1990年代に東アフリカ高地で発生した大規模なマラリア再流行が、インド洋ダイポール現象によることを証明した研究 (Sci Report, 2011)、②インターフェロンの作用を伝えるインターフェロン系転写因子「IRF2」が、唾液に含まれる消化酵素の一つ「トリプシン」の発現を直接制御していることを証明し、新しい肺炎治療の可能性を示した研究 (PNAS, 2011)、③新しい異常型プリオンタンパク増幅アッセイ法を開発し、脳脊髄液を用いたプリオン病生前診断を可能とした研究 (Nat Med, 2011) は国際的に

も大きく注目され、本COEプログラムを代表する成果となりました。

ところで、1年前の東日本大震災と福島原子力発電所の事故以来、私たち日本人の心に映るこの国の風景は確実に変わりました。大震災を契機に、実はこの国が根源的な困難に遭遇していること、時代は高度経済成長を担ったこれまでの常識や価値観では対応することのできない未知の領域に突入していることに皆が気づいたので、そして、新時代を切り開きこの国の未来に光をもたらす価値観の創造とその主役たるべき次世代人材の育成の緊急性に思いが至ったのでしょうか。大学に対する期待(圧力)がこれまでになく高まっています。

とくに地方大学の個性化や高度化は、地域の多様性の観点からの意義が大きいのです。東京の物真似ではないそれぞれのやり方で世界に貢献できる他と差別化された価値観や人材を創出することで、長崎大学は地域の活性化ひいては地方分権を先導することができます。そして、地方大学の個性に先導された地域の多様性は、きわめて多様な課題に直面するこの国や世界に光を放つブレークスルーの源泉となりうるし、それは日本の閉塞状況を打破する大きな流れにつながると思います。

その意味で、本COEが担う熱帯病・感染症領域の教育・研究は長崎大学の最大の個性であり、期待するところ極めて大です。事業の最終年度にあって、本COEが格段の飛躍を達成し、大学の個性化・高度化の最強のドライビング・フォースとしての役割を果たしていただくことを念願して、ごあいさつといたします。

(平成24年6月28日)



## 平山 謙二

プログラムリーダー 熱帯医学研究所・免疫遺伝学

### まえがき

2010年度に行われた中間評価では非常に厳しい指摘を受け、ほとんどプログラムの構築全体を見直さざるを得ないような状況に至った。その評価の主旨は以下のようなものである。

1. 2003年度からの21世紀 COE からすでに5年以上経過しているのに見るべきインパクトの高い論文発表が他の COE と比較してほとんどなされていない。
2. 上記の原因はプログラムのスコープが広すぎ、選択と集中がなされていないことによる。このプログラムの世界的な特徴となる研究グループを伸ばす必要がある。
3. 採択の際にすでに指摘されていた対象疾患の絞り込みの必要性について対処されていない。特に創薬を盛り込むことについてはこのプログラムの能力をはるかに超えている。

本プログラムではこの中間評価を真摯に受け止め、残りの2年間にに向けて痛みを伴うリフォームを断行した。主たる研究者の数をほぼ半減させ、それに伴い創薬を含めたいくつかのプロジェクトを廃止、あるいは統合し全体としてのスコープを縮小した。この改革によりグループの目的が、これまで重荷になっていたいわゆる「学際的なアプローチによる感染症制御研究の統合」という高邁な課題から解き放され、世界的な発見研究に集中することができるようになった。また博士課程教育においても森全体の視点から入って興味を持った個別の木を観察するというこれまで培った伝統的な技法から離れ、「そこに面白い木があるから」という現代的なサイエンスを基盤にした新たな哲学を導入することとなった。改革後2年でこのような方向性がすぐに何らかの成果をもたらすかについては自信がないが、個人的には2003年当時と比較してこのプログラムの位置づけ自体が長崎大学の中で大きく変化したと感じている。

2003年に初めて COE プログラムに採用された当時、すでに大学内での感染症研究専門家あるいは教室の数は

他大学を凌駕するものがあった。新興感染症病態制御学系専攻科が独立専攻科として新たに設置されたり、熱帯医学研究所が全国共同利用研究所として指定されたりというような状況である。しかし、学内外からみてそれが一つの塊として機能しているようには見えていなかったし、実際にそのような自覚もなかった。それが2003年の21世紀 COE さらに引き続く GCOE を契機に大きく統合化への舵を切ったわけである。その後、数々の教育システムの改革が一つのグループとして行われ、各研究者の相互理解は急速に深まった。大学としての最重要な重点研究領域の位置を確立し、2005年の熱帯医学修士課程の開講、文科省振興調整費によるベトナム感染症研究拠点プロジェクトの開始、附置研究所概算要求特別事業費によるケニア感染症研究拠点プロジェクトの開始と続き、大学としてもこれらの国際活動を支援すべく国際連携研究戦略本部が発足、この傘下に国際健康開発研究科大学院が開講、2010年には世界最先端研究プロジェクトが東大、阪大、北大とともに採択され、感染症イメージングセンターとしての設備整備を行い、さらにバイオリソースセンター事業でも病原原虫を担当し、最近では GCOE からの削除を求められた創薬事業が感染症創薬に関する全国レベルでの拠点として施設整備および開発研究事業費をいただくところまで成長している。今や長崎の感染症グループは海外を含めた外部から完全に visible な状況になった。そして今回の厳しい評価である。まさに長崎感染症研究教育グループにとっては新たな高みに向かっての叱咤激励と受け止めたい。

2011年度の GCOE のみるべき成果としては以下の項目をあげることができる。

1. プリオン病の生前診断を可能にした先端技術開発 (Nature Medicine)
2. アメーバ赤痢を引き起こす新たな病原性アメーバの発見 (J Infect Dis)
3. フラビウイルスの進化のミッシングリンクを埋める新たなウイルスの発見 (PLoS Pathogens)
4. ベトナムのコホート研究で解明されたデング流行と上水道との関連 (PLoS Medicine)
5. デングショック症候群の発症を予測する血漿中因子の発見 (PLoS NTD)
6. ケニア高地のマラリアに対する気候変動と環境の影響 (Scientific Reports)
7. ロタワクチンの血清型を越えた予防効果の疫学的な証明 (J Infect Dis)

その他、昨年ぐらいから、高い citation 頻度を期待できるインパクトの高い重要な論文が明らかに頻繁に出版されるようになってきている。これらの研究には大学院生の貢献が少なからず見受けられることも合わせてご報告したい。

来年度はいよいよ最終年度である。このプログラムなくして今の活発な感染症研究グループが形成できたとは思われない。これまでの成果や失敗を詳細に解析し更なるグループとしての高みをめざしてがんばっていきたい。



## 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に広がってまいります。2000年9月国連において、国際社会が達成すべき目標として国連ミレニアム宣言が採択されました。国際目標として掲げられた8つのミレニアム開発目標のなかでも、「2015年までに HIV/エイズを始めとする主要な疾病の発生を食い止め、その後発生率を減少させる」という感染症対策はその中心的課題となっています。

本拠点形成の最終目的は、まさにこれら主要感染症の制御・克服です。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・克服することを目的としています。

感染症の制御・克服は、それ自身、人類の長年に渡る

願いであり、そのためには周到な戦略、それを実行する人材、および適切な技術が必要となっています。本拠点では、「新興感染症」「下痢症」「マラリア」「顧みられない感染症」の4つの感染症群における研究プロジェクトを進めていきます。特にこれまで主要な発生源が貧しい開発途上国であったために、顧みられることの少なかった「顧みられない感染症(熱帯性原虫症)」や「下痢症」にも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。そのためにも教育に力を入れ、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。



ケニア・ナイロビ市 ケニア中央医学研究所 (KEMRI) 内



▲共同で留学調査▲



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

## 事業推進担当者（ ）および研究協力者（25名）

（平成24年3月現在）

感染症群	研究手法	事業推進担当者	所 属	分 野 名	研究テーマ	助教 / ポストドク	技術補助員
新興感染症	基 礎	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	感染分子解析学	プリオン病	佐野 和憲	山川 歩
		甲斐 雅亮	医歯薬学総合研究科 (生命薬科学専攻)・教授	機能性分子科学	HIV/プリオン病		寺師 恵美 江濱 玲子
		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	感染分子薬学	HIV	河野 広朗	陳 玲瀚
	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
		安田 二郎	熱帯医学研究所・教授	新興感染症学	新出現ウイルス		藤井 麻美
		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	先進感染制御学	真菌症		山内 俊輔
		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
		有吉 紅也	熱帯医学研究所・教授	臨床医学	HIV/デング	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	感染病態制御学	母子感染		
		山本 太郎	熱帯医学研究所・教授	国際保健学	感染症モデリング 病原体進化	江口 克之	江崎 拓也
下 病 症	基 礎	平山 壽哉	熱帯医学研究所・教授	細菌学	病原体毒素	中野 政之	
		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	口腔病原微生物学	病原体毒素		
	フィールド	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	分子疫学	ロタウイルス		
		山城 哲	熱帯医学研究所・教授	病原体解析部門	コレラ		
マ ラ リ ア	基 礎	金子 修	熱帯医学研究所・教授	原虫学	マラリア表面分子	坂口美亜子	田中 玲子
		伊藤 敬	医歯薬学総合研究科 (医療科学専攻)・教授	生化学	マラリア染色体	相原 仁	
		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	免疫機能制御学	マラリア免疫	田村 隆彦	川本 展香
		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	感染防御因子解析学	マラリア免疫		
	フィールド	皆川 昇	熱帯医学研究所・教授	病害動物学	媒介昆虫		胡 錦萍
		金子 明	熱帯医学研究所・客員教授	免疫遺伝学	マラリア疫学		
		橋爪 真弘	熱帯医学研究所・教授	小児感染症学	マラリア疫学		
顧みられない 感 染 症	基 礎	濱野真二郎	熱帯医学研究所・教授	寄生虫学	アメーバ赤痢	安達 圭志	原 史絵
	フィールド	金子 聡	熱帯医学研究所・教授	生態疫学	ケニア DSS		中山 栄美
		平山 謙二	熱帯医学研究所・教授	免疫遺伝学	ワクチン・ 治療薬	Mohammed Nasir (ナイジェリア)	下田 邦子
		佐々木 均	長崎大学病院薬剤部・教授	臨床薬物動態学	ワクチン・ 治療薬		宮村惣一郎
教育室等						佐藤 光	増本 雅恵

## 大 学 院 生 (平成23年度在籍者)

高月 英恵	本間拓二郎	中垣 岳大	祖母井香織	須藤 結香																
Dragusha Shpend (コソボ)	Ahmed Fikry Mohamed El-mahdy (エジプト)	Rahman Mohammed Shafikur (バングラデシュ)	朱 歆昌 (中国)	Yasmin Hasina (バングラデシュ)	Azam Md. Golam (バングラデシュ)															
陳 玲瀚	清水 哲平	一ノ瀬 亨	郭 朝万 (中国)	劉 格 (中国)																
内田 玲麻	高松 由基	Le Xuan Luat (ベトナム)	Mya Myat Ngwe Tun (ミャンマー)	Raekiansyah Muhareva (インドネシア)	岡本 健太	Nguyen Dong Tu (ベトナム)	吉川 亮	Espada Murao Lyre Anni (フィリピン)												
檜原 知里																				
井手昇太郎	岩永 直樹	平野 勝治	峰松明日香	原田 陽介	田中 章貴	永吉 洋介	田代 将人	三原 智												
齋藤 信夫	島崎 貴治	島田 郁美	Dhoubhadel Gopal Bhim (ネパール)	Le Nhat Minh (ベトナム)	宮原 麗子	小笠原 徹	濱口 杉大	山下 嘉郎	森 正彦	鈴木 基	石藤 智子									
白川 利彦	宮川 雅美	船越 康智																		
今井 智里	古尾谷法子	Vu Hai Ha (ベトナム)	大木 美香	Islam Manirul (バングラデシュ)	Haqee Ubydul (バングラデシュ)	畑岸 悦子	駒澤 大佐	Kounnavong Sengchanh (ラオス)	高橋 宗康	水本 憲治	猪飼 桂									
野中美那子	成田 由香																			
Gauchan Punita (ネパール)	Tran Thi Nguyen Hoa (ベトナム)	Doan Hai Yen (ベトナム)																		
Mutungji Joe Kimanathi (ケニア)	佐倉 孝哉	井上 愛美	Xangsayarath Phonepadith (ラオス)	朱 曉彤 (中国)	Kaewthamasorn Morakot (タイ)	Alexandre Jean Seme Fils (ハイチ)	津守 陽子													
井上 大嗣	前田 勝利																			
Akibari Masoud (アフガニスタン)	木村 一美																			
蔡 君柔 (シンガポール)																				
Fonzi Eugenio (イタリア)	岩下 華子	山田 晃嗣	Nmor Jephtha Christopher (ナイジェリア)	Endang Pujiyati (インドネシア)	住田 雄亮															
風 幸世	Kalenda Dan Justin Yombo (コンゴ)	神戸 俊平	下川 周子	延末 謙一																
田中 準一																				
片上 美幸	Mbanefo Chibunna Evaristus (ナイジェリア)	Cherif Mahamoud Sama (ギニア)	Lam Quoc Bao (ベトナム)	Omar Ahamed Hassan (ケニア)	Tran Thi Ngoc Ha (ベトナム)	Boamah Daniel (ガーナ)	Del Puerto Florencia (パラグアイ)	高木 明子	山崎 朗子											
神田 紘介	今村 政信																			

## 活動報告

### 森正彦大学院博士課程が Young Investigator Award を 受賞 平成23年 2月

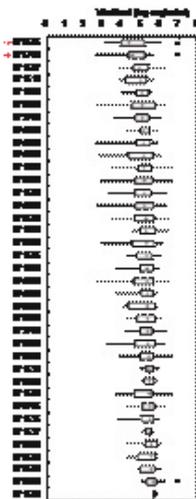


本学大学院医歯薬学総合研究科の森正彦博士課程大学院生は平成23年2月27日、「Favorable and unfavorable HLA alleles for HIV-viral control among CRF01\_AE-infected Thai population (HIV CRF01\_AE 株感染タイ人における、

HLA とウイルス量調整に関する研究)」について、国際学会 CROI: Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections(2月27日 - 3月2日: 於 Boston, USA) において「Young Investigator Award」を受賞しました。本国際学会は演題採択率が約50%と難関な中、更に優秀演題の発表を行った若手研究者に授与されるものです。

#### 要旨

HIV 感染者の予後規定因子として、ウイルス抗原を免疫細胞に提示し抗ウイルス免疫を誘導する HLA (Human Leukocyte Antigen: ヒト白血球型抗原) が知られ、ワクチン開発研究が盛んに行われている。しかし情報の多くがサハラ砂漠以南アフリカ・欧米地域からで、アジア地域はその感染拡大地域にもかかわらず情報が僅かである。今研究では本学熱帯医学研究所臨床感染症学講座有吉紅也教授の持つタイ国コホート研究 (Lampang cohort) の情報を元に、HIV 感染者 HLA の臨床経過に及ぼす影響を解析した。感染者209名の解析結果、HLA\_B\*5701陽性者での有意な低ウイルス量を確認し、今 HLA による免疫誘導が人種・ウイルス株を越えてウイルス抑制をもたらすことを証明した (図一部掲載)。更にアジア人に特有の HLA\_B\*3505陽性者においても有意なウイルス抑制が確認され、今 HLA による免疫誘導の解明は特にアジア人へのワクチン開発に有効となることが期待され



る。また抗原提示を受ける免疫細胞側受容体とウイルス抑制の解析では、NK 細胞受容体である KIR: Killer Immunoglobulin-like receptor のうち、特に KIR2DL3陰性者での有意なウイルス抑制を確認した。これら抗 HIV 免疫導因子の解明はウイルス抑制の仕組みの解明及び効果的なワクチン開発への応用が期待される。

尚、本国際会議にて、以前本学大学院熱帯医学修士課程 (MTM: Master of Tropical Medicine) を修了し、現在 Montpellier 大学 (France) 博士課程所属の Steve Ahuka 氏 (写真左) も演題採択・同賞を受賞し、当時担当教員であった有吉教授との再会を果たしました。本修士課程卒業生 (森は第1期生) の国際的活躍が確認された会議でもありました。



### Tippawan Sungkapong 博士が 「Outstanding poster presentation 賞」を受賞 平成23年 4月



熱帯医学研究所原虫学分野に協力研究員として約1年半滞在し、GCOE で推進している研究に携わった Tippawan Sungkapong 博士が、2011年4月1日から3日にかけてタイ王国パタヤにて開催された「The Royal Golden Jubilee

Ph.D. Congress XII」で、その研究成果をポスター発表し、優秀なポスター発表を行った演者を対象とする「Outstanding poster presentation 賞」を受賞しました。本会はタイ王国の主要な学術研究資金配分機関である The

Thailand Research Fund が主催するもので、「Antibody responses to *Plasmodium vivax* Subtelomeric Transmembrane Protein (PvSTP), a homolog of *Plasmodium falciparum* SURFIN, in *P. vivax*-infected patients」という演題内容の一部は平成21年度研究成果報告書「基礎研究班：マラリア原虫の宿主細胞への侵入機構とその制御」の項目（P14）に報告されています。

#### 要旨

The presence of antibodies in *Plasmodium vivax*-infected patients to recombinant proteins corresponding to three distinct regions of *P. vivax* Subtelomeric Transmembrane Protein (rPvSTPs) were evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay. Plasma samples (N=70) were positively reacted with rPvSTP1-cysteine-rich domain (CRD, 40%), -variable region (VAR, 49%), -cytoplasmic region (CYT, 31%) and rPvSTP2-CRD (27%), -VAR (14%), -CYT (56%). There was a correlation between hemoglobin and antibodies level to PvSTP2-CRD ( $R^2=0.21$ ,  $P=0.03$ ) and -VAR ( $R^2=0.34$ ,  $P\leq 0.01$ ). However, there were no correlations between previous malaria episode and seropositivity to PvSTP. During malaria infection, antibodies targeting parasite antigens play an important role in regulating the course of the disease. These results suggest that PvSTP1 and -2 are naturally immunogenic. They are likely to be located on the surface of *P. vivax*-infected erythrocytes where they might play roles in a protective immunity.



## Nagasaki Symposium on Malaria Biology 2011(Ⅱ)

日時：平成23年11月16日(水) 17日(木)  
会場：長崎大学良順会館 ボードインホール  
長崎大学熱帯医学研究所 大会議室  
企画：熱帯医学研究所 金子 修



平成23年11月16日(水) - 17日(木)にかけて、国際シンポジウム Nagasaki Symposium on Malaria Biology 2011(Ⅱ)を開催しました。海外からは、熱帯熱マラリア原虫が感染した赤血球表面に発現し、脳マラリアや胎盤マラリアなどの重篤化に関係する接着分子

PfEMP1について先端的研究を展開している3名の研究者：スウェーデン・カロリンスカ研究所の Mats Wahlgren 博士、米国・シアトルバイオメディカル研究所の Joseph Smith 博士、フランス国立医学研究機構の Benoit Gamain 博士を招聘しました。また、国内他機関から10名の研究者を招聘した。発表は3名の国外招聘者による基調講演、12名の国内研究者による口頭発表に加えて、9題のポスター発表があり、発表者と学外からの未発表参加者3名を含めて51名の参加がありました。

シンポジウムは11月16日に良順会館にて、竹内勤熱研所長の開会のあいさつに続く、Wahlgren 博士による基調講演により始まりました。博士は熱帯熱マラリア原虫の病原性の基盤が原虫感染赤血球が非感染赤血球に接着するロゼット形成や血管内皮細胞に接着することであること、感染赤血球表面に対する抗体が防御免疫に重要であることを議論し、さらに、これらの接着に関与する接着分子 PfEMP1について話を進め、特にロゼット形成を阻害する抗体を誘導する PfEMP1のエピトープを同定した事を発表しました。夜には長崎市元船町のサンプリエールにて懇親会を行い、海外招待講演者と国内招待講演者、長崎大学の若手研究者および大学院生が、国内外の研究環境や研究者の将来について意見を戦わせました。17日には、4題の口頭発表の後、Smith 博士が熱帯熱マラリア原虫で最も重篤な症状である脳マラリアに関連す



るのは、多数ある PfEMP1の型の中の一部であるという発表を行い、続いて、Gamain 博士が妊婦が熱帯熱マラリア原虫に感染する際に発症する胎盤マラリアの原因となる PfEMP1の型と、この型の PfEMP1に対する抗体の誘導の可能性、PfEMP1をベースとするワクチン開発の将来展望について議論しました。基調講演に続き、45分間のポスターセッションを挟んだ8つの口頭発表があり、盛会のうちシンポジウムは夕方に閉会しました。全ての発表について、特に海外から招聘した3名の研究者を中心に活発な質疑応答があり、内外の研究者および大学院生から非常に興味深いシンポジウムであったとのコメントをもらうことができました。また、海外招聘研究者からは「日本のマラリア研究のレベルの高さに強い印象を受けた」とのコメントがあり、日本のマラリア研究の宣伝にもなったと考えています。

## 朱曉彤GCOE 特別留学生在が「Professor Sornchai Looareesuwan Award」を受賞 平成23年12月



右：朱 曉彤

熱帯医学研究所原虫学分野博士課程大学院3年生の朱 曉彤GCOE 特別留學生は、2011年12月1日から2日にかけてタイ王国バンコクで開催された「Joint International Tropical Medicine Meeting 2011」にて、「Recombinant *Plasmodium falciparum* SURFIN<sub>4.1</sub> protein is exported to the parasite-infected red

blood cell」という演題で行った発表に対して、マラリアに関する優秀な発表を行った演者を対象とする「Professor Sornchai Looareesuwan Award」を受賞しました。同賞はタイのマヒドン大学熱帯医学部の部長であった故 Professor Sornchai Looareesuwan を記念して2007年に設立された Professor Sornchai Looareesuwan Foundation から与えられるものです。内容の詳細は「基礎研究班：マラリア原虫の宿主細胞への侵入機構とその制御」の項目を参照（P34）。



### 要旨

*Plasmodium falciparum* SURFIN is a type one transmembrane protein encoded by a *surf* gene family, which consists of ten genes with two exon structures. SURFIN protein shows a sequence similarity with known parasite proteins that are exported to the surface of the parasite-infected red blood cell (iRBC); the extracellular cysteine-rich domain (CRD) with *P. vivax* VIR protein and the intracellular tryptophan-rich (WR) domain with *P. knowlesi* SICAvax, and *P. falciparum* Pf332 and PfEMP-1. One member, SURFIN<sub>4.2</sub> was shown to be located on the surface of iRBC and Maurer's clefts with SURFIN<sub>4.2</sub> specific antibody and by a transgenic experiment, however, another member, SURFIN<sub>4.1</sub>, was reported not to be exported to the iRBC. Instead, this member was proposed to be located within the parasitophorous vacuole and associated with the surface of the merozoites after the release of the merozoites from iRBC. In order to identify the factor(s) that determine the difference in the localization between SURFIN<sub>4.2</sub> and SURFIN<sub>4.1</sub>, we re-evaluated the gene structure and the protein location of SURFIN<sub>4.1</sub> by making a transgenic *P. falciparum* parasite express-

ing a recombinant SURFIN<sub>4.1</sub> fused with a fluorescent protein. By comparing genomic DNA and complementary DNA of SURFIN<sub>4.1</sub> gene in 3 *P. falciparum* lines (3D7A, HB3A and MS814A1), we found an earlier internal stop codon, resulting SURFIN<sub>4.1</sub> having only 22 amino acids after the transmembrane region with predicted molecular weights of around 92 to 95 kDa. Thus the newly annotated SURFIN<sub>4.1</sub> does not contain any WR domain. Unexpectedly recombinant SURFIN<sub>4.1</sub> protein consisting of the extracellular and transmembrane region of SURFIN<sub>4.1</sub> with fluorescent protein was detected in the Maurer's cleft in iRBC, suggesting that endogenous SURFIN<sub>4.1</sub> may be also exported to iRBC.

## 第2回和漢研熱研ジョイントセミナー

日 時：平成24年 2月15日(水) 16日(木)

会 場：富山大学 和漢医薬学総合研究所  
民族薬物資料館3階 会議室

企 画：熱帯医学研究所 平山謙二



富山大学和漢医薬学総合研究所と長崎大学熱帯医学研究所の相互交流を図るセミナーを昨年初めて長崎で開催し、今回はその時の約束通り第2回目を富山で開催した。富山大学和漢医薬学総合研究所は、日本の国立の施設として唯一の東洋医学に特化した大学附置研

究所であり、COE としても活動している。熱帯医学に特化した唯一の附置研であり、GCOE としても拠点化した我が熱研との間で研究交流が起こればそれはさらにまれな組み合わせとしてユニークさに磨きがかかるであろうという単純な発想でスタートしたものではあるが、今回の2日間にわたるセミナーでは、実に興味深い討論が行われ、具体的な共同研究についても話し合われた。十全大補湯の免疫学的なアジュバント効果がワクチン開発に新たな方向性を示すことが示されたり、紫雲膏の皮膚リーシュマニア症での臨床試験を契機にシコニンの薬

効についての免疫学的な解析に関して共同で解析することとなったりした。季節的には厳しい時期ではあったが、幸い天候にも恵まれ真っ白に輝く立山連峰を眺めながらの楽しくもエキサイティングなセミナーであった。

### プログラム

#### 2月15日(水)

##### 1. 開催の挨拶

富山大学 和漢医薬学総合研究所 所長 濟木育夫

長崎大学 熱帯医学研究所 所長 竹内 勤

##### 2. 生薬の二面性：漢方薬資源と創薬資源

富山大学 和漢医薬学総合研究所 教授 小松かつ子

##### 3. 和漢薬 DB に関して

富山大学 和漢医薬学総合研究所 准教授 田中 謙

#### 2月16日(木)

##### 1. 漢方アジュバントプロジェクト

～ 熱帯医学との接点を求めて～

富山大学 和漢医薬学総合研究所 准教授 小泉桂一

##### 2. 気候変動と感染症

長崎大学 熱帯医学研究所 教授 橋爪真弘

##### 3. 漢方薬を使った感染症媒介蚊コントロールの可能性

長崎大学 熱帯医学研究所 研究員 胡 錦萍

##### 4. 紫雲膏の主要活性成分であるシコニンの新たな作用

富山大学 和漢医薬学総合研究所 助教 林 周作

##### 5. エチオピアにおける皮膚リーシュマニア症に対する紫雲膏の臨床治験

長崎大学 熱帯医学研究所 教授 平山謙二

##### 6. 伝承薬の臨床開発におけるアジアのネットワークの提案

WHO-TDR 臨床コーディネーター Laothavorn Juntra

##### 7. 動物胆の脂質代謝制御作用

富山大学 和漢医薬学総合研究所 准教授 渡辺志朗

##### 8. ピロリ菌感染症とその病因

長崎大学 熱帯医学研究所 教授 平山壽哉



## Nagasaki Symposium on Emerging Viral Diseases

日 時：平成24年 2月21日(火)

会 場：長崎大学熱帯医学研究所 大会議室

企 画：熱帯医学研究所 安田二郎



海外からは米国衛生研究所 (NIH) ロッキーマウンテンラボラトリー (RML) の Heinz Feldmann 博士にお出で頂き、国内からは出血熱ウイルス研究の第一線の研究者である北海道大学人獣共通感染症研究センターの高田礼人博士、国立感染症研究所ウイルス一部

の西條政幸博士、北海道大学獣医学部の好井健太郎博士をお招きした。また、本シンポジウムの企画者である安田も講演を行った。

シンポジウムは竹内勤熱帯学研究所長の開会の辞で始まり、続いて Heinz Feldmann 博士の基調講演が行われた。Feldmann 博士は20年以上にわたりドイツ (マールブルグ大学)、米国 (疾病予防管理センター: CDC)、カナダ (国立微生物研究所) の BSL 4 施設で出血熱研究に携わってきたこの分野のトップサイエンティストの一人である。2008年 RML に BSL 4 研究施設が新設された際にウイルス部門長および BSL 4 施設長として招聘され、現在も活発に出血熱ウイルスに関する研究成果を発信するとともに、アフリカで出血熱のアウトブレイクが発生した際には WHO 専門家として現地での活動を主導している。本シンポジウムでは、“BSL 4 研究施設

とは何か?”、“BSL 4 研究施設はなぜ必要なのか?”について RML の BSL 4 研究施設を具体例としてわかり易く解説していただいた。また最近の自身の研究についてもアフリカでの出血熱ウイルス調査を始め多数ご紹介いただいた。

基調講演に続き、高田博士がアフリカザンビアでの新規出血熱ウイルス探索について、西條博士が新疆ウイグルでのクリミアコンゴ出血熱調査、ナイジェリアでのラッサ熱調査および国立感染症研究所の BSL 4 施設について、好井博士がテキサス大学ガルベトン校での BSL 4 研究訓練および同施設での出血熱ウイルス研究について、安田が出血熱ウイルスに対する新規抗ウイルス戦略に関する最近の研究成果について発表を行った。シンポジウムは立ち見が出るほど盛況で、講演及び質疑応答はすべて英語で行われたが、非常に活発な質疑応答および議論がなされた。

また、夜は懇親会が開催され、大学院生を含む多数の参加者が講演者と親睦を深めた。また、Feldmann 博士からは BSL 4 研究移設に関する多くの貴重な情報および示唆をいただき、今後も長崎大学の BSL 4 に関する活動に対して全面的にご協力いただけるというコメントを頂いた。



## 庄子幹郎助教が日本細菌学会 「黒屋奨学賞」を受賞 平成24年3月



本学大学院医歯薬学総合研究科の庄子幹郎助教は「ポルフィロモナス・ジンジバリスの表面蛋白質の輸送と局在化に関する研究」により、日本細菌学会「黒屋奨学賞」を3月28日(水)に受賞しました。同賞は、同学会より、細菌学および

その関連領域の科学に対する研究の発展に寄与しつつある、40歳未満の新進気鋭の研究者を対象に授与されるものです。なお、授賞式は同日、第85回日本細菌学会総会（長崎ブリックホール、長崎）において行われました。

### 要旨

*Porphyromonas gingivalis* 菌体表面蛋白質の輸送と局在化に関して、主要病原因子の糖鎖を介した菌体表面への局在化機構、および線毛主要構成蛋白質の輸送機構について以下の知見を明らかにした。

### *P. gingivalis* 病原因子の糖鎖を介した菌体表面への局在化について

本菌にはジンジパインと呼ばれる強力な蛋白質分解酵素が存在する。ジンジパインはアルギニン特異的蛋白質分解酵素 Arg-gingipain とリジン特異的蛋白質分解酵素 Lys-gingipain に分類され、Lys-gingipain が血液寒天培地上の黒色素形成に関与することが報告されていた。トランスポゾン導入変異法により、血液寒天培地上で黒色素形成減弱変異株を分離し、挿入変異部位を調べた結果、Transaminase をコードする遺伝子内に変異が入っており、*porR* 遺伝子と命名した。*porR* 変異株は、ジンジパイン活性が菌体では減弱するものの、培養上清中には認められた。また、LPS の O 抗原鎖が短くなっていた。英国の Curtis 博士らは、Cell surface polysaccharide を認識する抗体 MAb1B5 を報告していた。我々は、*porR* 変異株の cell lysate に対して、MAb1B5 は全く認識しないことから、Cell surface polysaccharide がジンジパインを菌体表面に保持させる可能性を初めて報告した(1)。

本菌の C-terminal domain (CTD) 含有蛋白質の一つであるヘミン結合蛋白質35 (HBP35) について、生理

的意義と機能について調べた。*hbp35* 遺伝子は 1.1 kb の転写産物を産生し、40, 29, 27 kDa の翻訳産物が産生される。29, 27 kDa は細胞質に、40 kDa は主に内膜に局在し、外膜にはスメア分子を形成した。外膜への輸送に C 末端側 5 アミノ酸が重要であること、スメア分子を示す HBP35 は MAb1B5 に認識されることから、Anionic polysaccharide を繰り返し単位に持つ LPS (A-LPS) に結合していることが示唆された。変異株の性状解析では、ヘミン欠乏下の増殖能が野生株に比べ減少していた。

大腸菌で組換え HBP35 蛋白質を作製・精製し、ヘミン結合性及びチオレドキシソキシソ活性を検討した。40 kDa 及び 27 kDa 分子はヘミン結合性を認めた。さらに 40 kDa 分子にはチオレドキシソ活性も認めた。他方、40 kDa 分子の 48 番目と 51 番目のシステイン残基をいずれもセリン残基に置換した分子ではチオレドキシソ活性を完全に消失していた。このように、40 kDa 分子はチオレドキシソ活性を持つこと、そして 48 番目と 51 番目のシステイン残基がその活性に必要なことを明らかにした(2)。

HBP35 の菌体表面への局在化機構を解析した。CTD 含有蛋白質の分泌装置関連変異株 (Por secretion system (PorSS) 関連変異株) ならびに A-LPS 欠損変異株において、上述の HBP35 スメア分子の産生が認められなかったことから、HBP35 は PorSS 依存性に菌体表面に輸送され、A-LPS に結合していることが示唆された。次に、CTD 領域の最小領域を明らかにする目的で、GFP 融合蛋白質による C 末端側輸送シグナルの最小領域を同定する系を確立した。その結果、C 末端側 22 アミノ酸が最小領域であることを見出した。さらに A-LPS 結合型の HBP35 には CTD が欠落していることを、ペプチドマッピング解析とペプチド抗体によるウェスタンブロット解析により見出した(3)。

### *P. gingivalis* の線毛主要構成蛋白質の菌体表面への輸送について

本菌の線毛には Major 線毛 (Fim locus 主要構成蛋白質は FimA) と Minor 線毛 (Mfa locus 主要構成蛋白質は Mfa1) の 2 種が存在することが報告されている。既に、FimA については、Arg-gingipain が 46 番目のアルギニンを切断することで、成熟化し、重合が開始されることが明らかになっていた。しかしながら、その輸送過程につ

いては不明であった。

興味深いことに、両 locus の ORF を調べると、どちらも N 末端側にリポ蛋白質シグナル配列に類似した配列があることを見出した。そのため、FimA および Mfa1 蛋白質も輸送過程においてはリポ蛋白質として輸送されるという仮説を立てた。それを検証する為に、放射ラベルされた Palmitic acid の取込みやリポ蛋白質特異的シグナルペプチダーゼの阻害剤の効果を調べることにより、両者はリポ蛋白質として外膜まで輸送されることを報告した(4)。

FimA に着目し、大腸菌に産生させた場合においても、組換え FimA 蛋白質はリポ蛋白質であることを、放射ラベルされた Palmitic acid の取込み、ならびにリポ蛋白質の受容体として働く Toll-like receptor2 依存性の炎症応答を調べることにより明らかにした。また、精製した組換え FimA 蛋白質は *in vitro* にて短い線維状のフィラメントを形成することを見出した(5)。

以上の結果から FimA 蛋白質はリポ蛋白質輸送機構によって菌体表面へ輸送された後、Arg-gingipain によるプロセッシングを受けて成熟化し、さらに自己重合化がおこることで Fim 線毛が形成されるという作業仮説を提示した。

- 1 ) Shoji *et al.*, Microbiology-SGM 2002; 148: 1183-1191.
- 2 ) Shoji *et al.*, BMC Microbiology 2010; 10: e152.
- 3 ) Shoji *et al.*, PLoS ONE 2011; 6: e21372.
- 4 ) Shoji *et al.*, Molecular Microbiology 2004; 52: 1513-1525.
- 5 ) Shoji *et al.*, Canadian Journal of Microbiology 2010; 56: 959-967.

# 研究成果報告

# 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

## 要約

プリオン病は人や羊、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。本研究ではプリオンの実体解明、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的に解析を行い、プリオン感染・増殖機構に関わる新たな知見を見出した。さらに、これらの知見をもとにこれまで困難であった生前診断を可能とし、非常に迅速かつ特異性の高い新たな診断法開発に成功した。

## 背景

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）の発生は、国際的な社会問題に発展した。さらに本国では、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が多くの犠牲者を出した。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であり、脳組織に蓄積し、神経細胞死を引き起こす。プリオン病では、宿主に発現する正常型プリオン蛋白（PrP<sup>C</sup>）が異常型プリオン蛋白（PrP<sup>Sc</sup>）へ構造変換する事で発症すると考えられているが、そのメカニズムは明らかとなっていない。さらに脳内で蓄積するPrP<sup>Sc</sup>を生前に検出する事は難しい。

## リコンビナント PrP を用いた感染性プリオンの試験管内増幅

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 Maus プリオン株感染脳乳剤を混和後、攪拌することで作製した 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

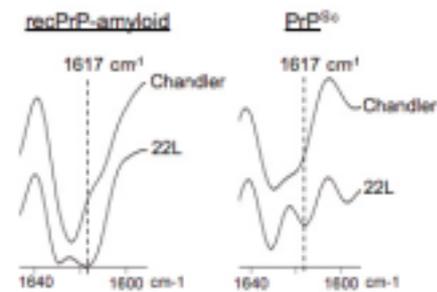
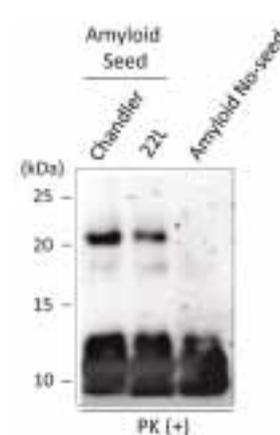


図1：フーリエ変換型赤外分光計（FTIR）による recPrP アミロイドの二次構造解析。Chandler、22L 株より作製された recPrP アミロイド（左図）と感染マウス脳乳剤から精製した PrP<sup>Sc</sup>（右図）の二次構造を FTIR で解析した。

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<sup>Sc</sup> と類似した二次構造を持つことが明らかとなった（図1）。

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潜伏期間が短く、高い感染価をみとめた。これらの結果は、recPrP アミロイドが病原性を獲得したことを意味し、試験管内においてもプリオン株の性質が recPrP に伝播されることが示唆された。しかし、一方で感染脳乳剤を添加せずに生成した recPrP アミロイドには感染性が無いことが判明した。

そこで両者の性状の違いを検討するために、タンパク分解酵素である Proteinase K (PK) に対する抵抗性を解析した。両者とも PK に対して抵抗性を有していたが、



感染性のある recPrP アミロイドにおいてのみ、20 kDa 付近に PK 抵抗性の断片（バンド）が見られ、構造上の違いが示唆された（図2）。

図2：リコンビナント PrP アミロイドの Proteinase K (PK) 抵抗性の測定。Western blot によって、Chandler、22L 株より生成された recPrP アミロイド（Amyloid Seed）とシードを添加せず recPrP のみで生成した recPrP アミロイド（Amyloid No-seed）の PK 抵抗性を解析した。

また、新たに recPrP とシードとして感染性を有する recPrP アミロイドを混和・反応させ、5回継代することで得た recPrP アミロイドにも感染性が無く、recPrP への伝播が維持されないことが分かった。5回継代後の recPrP アミロイドにおいても、20kDa 付近の PK 抵抗性バンドの有意な減少が確認され、感染性と PrP アミロイド構造との関連性が示唆された。

今後は、試験管内で感染症が伝播できる条件を探索することで、プリオン感染・伝播メカニズムを明らかにしていく。

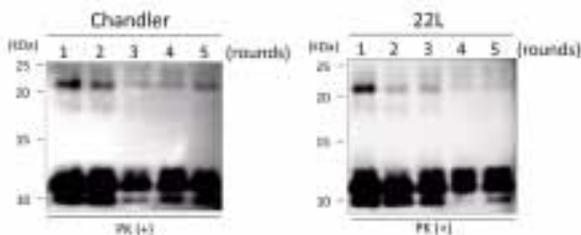
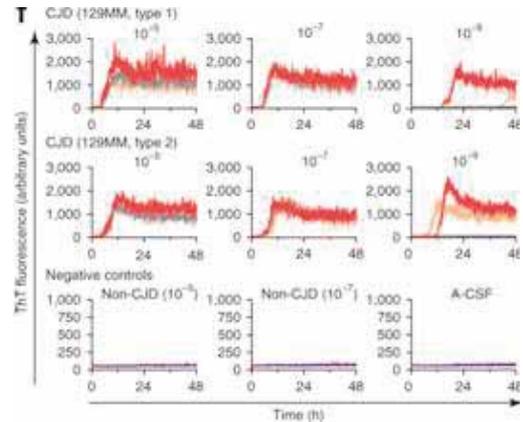


図3 . 継代により得たりコンビナント PrP アミロイドの Proteinase K(PK)抵抗性の測定。シードとして recPrP アミロイドを 1/100倍希釈で recPrP と混和・反応させ、5回継代を行った。

### Real-time QUIC 法による プリオン病の早期診断法の開発

これまでのプリオン病診断は臨床所見および脳画像判定による診断が中心であったため、生前における確定診断は困難であった。我々は試験管内で異常型 PrP を増幅させる系の確立に成功しており、診断法への応用を試みた。反応系にアミロイドに結合すると蛍光を発するチオフラビン T を加えておく事で、異常型 PrP の増幅を経時的にモニターする Real-time quaking-induced con-

図4 . RT-QUIC 法による異常型 PrP の増幅と検出。ヒト CJD 患者由来の脳乳剤を用いて異常型 PrP の検出を試みた。



version ( RT-QUIC 法 ) を開発した。さらに反応条件を詳細に検討し、48時間と非常に短時間で異常型を増幅する系の確立に成功した ( 図 4 )

我々は昨年度、孤発性 CJD 患者由来の髄液を用いて、RT-QUIC 法による異常型 PrP の検出を試みたところ、感度は87.5%、特異度は100%であったことを報告した。

RT-QUIC 法を遺伝性プリオン病患者の髄液検査診断にも適用可能か検討した。日本、韓国、ドイツの遺伝性プリオン病患者由来の髄液 ( 遺伝性 CJD [ E200K、V203I ]、Gestmann-Straussler-Scheinker syndrome; GSS [ P102L ]、fatal familial insomnia; FFI [ D178N ] ) を用いた。RT-QUIC 法における陽性率は、E200K ( 13/15 86.7% )、V203I ( 3/3 100% )、P102L ( 10/12 83.3% )、D178N ( 2/2 100% ) であった。RT-QUIC 法の陽性例には現在のプリオン病の髄液診断マーカーである、14-3-3 蛋白陰性症例も含まれており、RT-QUIC 法は、生存中での遺伝性プリオン病の疑い例を評価する高い診断能力が期待できることが示された ( 表 1 )

	遺伝性 CJD		GSS	FFI
	E200K	V203I	P102L	D178N
RT QUIC	86.7% ( 13/15 )	100% ( 3/3 )	83.3% ( 10/12 )	100% ( 2/2 )
14-3-3	73.3% ( 11/15 )	66.7% ( 2/3 )	16.7% ( 2/12 )	0% ( 0/2 )

\* 括弧内は陽性 / サンプル数をしめす。

表1 髄液を用いた遺伝性プリオン病診断における Real-time QUIC 法と14-3-3蛋白生化学的マーカーの感度の比較

# エイズ及びプリオン病の検査法と治療薬の開発

医歯薬学総合研究科 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としている。

ヒト免疫不全ウイルス（HIV）は、T細胞表面に発現している糖タンパク質であるCD4に結合し、細胞内に侵入する。HIVのゲノムRNAは、細胞内で逆転写され、宿主の染色体に組み込まれる。その後、宿主細胞の生命活動を利用して、HIVの前駆体ポリタンパク質を生成する。HIVプロテアーゼは、未成熟な前駆体ポリタンパク質を切断して、HIVの構成タンパク質を成熟化させるという、HIVのライフサイクルにおいて極めて重要な役割を担っている。これまでに我々は、HIVプロテアーゼやC型肝炎ウイルスプロテアーゼの基質特異性に基づいた簡便な変異ウイルス識別法およびウイルスの同時識別法を開発している。現在、ウイルス酵素を標的にした抗ウイルス薬が多数開発されており、HIVプロテアーゼのmRNAの発現を阻害できれば、HIVの増殖を効果的に阻害できる治療薬の開発に繋がると考えられる。本研究では、特定のmRNAの発現を人為的に制御できるRNA干渉（RNAi）と、CD4を認識するアプタマー-核酸を連結したアプタマー-siRNAを設計した。この融合核酸が、トランスフェクションなど核酸の細胞内導入技術を用いずにT細胞内に移行し、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報告する。

クロイツフェルト・ヤコブ病や狂牛病などのプリオン病は、脳などの神経組織に存在する正常なプリオンタンパク質（PrP<sup>C</sup>）が、異常型プリオンタンパク質（PrP<sup>Sc</sup>）へと構造的に変化し、脳内に蓄積することで引き起こされる一連の神経疾患である。PrP<sup>Sc</sup>は、PrP<sup>C</sup>と比較して、難溶性であり、プロテアーゼによって分解され難い特徴がある。現在のところ、PrP<sup>Sc</sup>の形成機構は不明であり、プリオン病の治療薬や治療法の開発において障害となっている。PrP<sup>C</sup>は、デキストランまたはCu<sup>2+</sup>と反応させると、プロテアーゼによって分解され難いPrP<sup>Res</sup>に変換することが報告されている。そこで今回、プリオン病治療薬の開発を目的として、プロテアーゼ抵抗性マウスPrP（mPrP<sup>Res</sup>）のプロテアーゼ分解を促進する化合物

について検討した。

## siRNAを特異的にT細胞内に移行させHIVプロテアーゼのmRNAを分解する

短い2本鎖RNA（siRNA）が特定の標的mRNAを分解するRNAiは、遺伝子疾患やウイルス疾患の有効な治療薬として期待されている。しかしながら、核酸分子は細胞膜を透過できないため、siRNAを治療薬として臨床応用するには、毒性の高いトランスフェクション試薬の併用など、siRNAに細胞膜透過性を獲得させる必要がある。HIVは、T細胞表面に発現しているCD4に結合し細胞内に侵入する。最近、CD4を特異的に認識するRNAアプタマーにsiRNAを連結した核酸分子が、CD4陽性T細胞に取り込まれRNAiを誘導することが報告されている。

そこで本研究では、アプタマーの核酸配列をRNAより安定なDNAに変換したDNAアプタマーに、HIVプロテアーゼのmRNAを標的とするsiRNAを融合したDNAアプタマー-siRNAを考案した。一方、比較検討するために、同じ核酸配列のRNAアプタマーにsiRNAが融合しているRNAアプタマー-siRNAも調整した。次に、これらを用いて、CD4陽性T細胞に対する細胞内移行性とHIVプロテアーゼの発現阻害特性を評価した。

CD4が陽性又は陰性T細胞の培養液に、フルオレセイン蛍光標識したDNAアプタマー-siRNA或いはRNAアプタマー-siRNAを添加した。RNAアプタマー-siRNAで処理したCD4陽性T細胞では、報告の通り、細胞内に蛍光が観察された。また、DNAアプタマー-siRNAの場合も同様に、CD4陽性T細胞内に蛍光が見られた。一方、どちらのアプタマー-siRNAを用いた場合も、CD4陰性T細胞内に蛍光が観察されなかった。このことから、DNAアプタマー-siRNAは、トランスフェクション試薬などの細胞内移行技術を用いずに、CD4を認識して細胞内に移行できることが分かった。

一方、細胞にHIVプロテアーゼを発現するプラスミドを導入した後、両アプタマー-siRNAを添加し、HIV

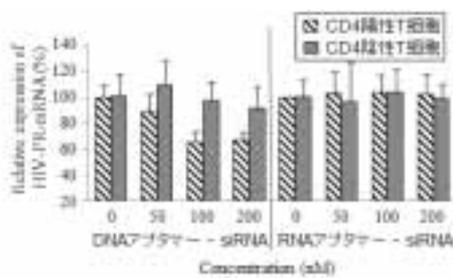


図1 アプタマー-siRNAを用いたT細胞中におけるHIVプロテアーゼ mRNAの発現阻害

プロテアーゼ mRNAの発現量を評価した結果、RNAアプタマー-siRNAは、HIVプロテアーゼ mRNAの発現を阻害しなかったが、DNAアプタマー-siRNAは、100nM以上の濃度において約40%の発現阻害効果を示した(図1)。

これらの結果より、DNAアプタマー-siRNA融合核酸は、CD4を特異的に認識して細胞内に移行し、HIVプロテアーゼの発現を抑制できることが分かった。DNAアプタマーにsiRNAを連結したキメラ核酸によって、CD4陽性T細胞に核酸を送達する手法はこれまでに報告されていない。本研究成果は、siRNAの創薬研究におけるブレイクスルーに成り得ると期待される。

### 界面活性剤はプロテアーゼ抵抗性プリオンタンパク質の酵素分解を促進する

これまでに我々は、mPrPの高感度な検出法(業績3)や選択的なmPrP<sup>c</sup>の検出法を報告している。今回、mPrP<sup>Res</sup>の酵素分解を促進する化合物について探索した。mPrP<sup>Res</sup>の調製は、以下に記す2種類の方法で行った：mPrP<sup>c</sup>とデキストラン70(平均分子量70kDa)を混合し、75°C、1時間加熱することによって、或いは、mPrP<sup>c</sup>とCuCl<sub>2</sub>を混合し、4°Cで30分間静置することによって作

製した。これらのmPrP<sup>Res</sup>に界面活性剤など各種化合物を共存させたとき、プロテイナーゼKによるmPrP<sup>Res</sup>の酵素分解に及ぼす影響を調べた。このとき、各化合物の濃度は、プロテイナーゼK活性を阻害しない1-100mMを用いた。その結果、デキストランを用いて作製したmPrP<sup>Res</sup>の分解は、SDS、Tween20、コール酸ナトリウム、Nonidet P 40などの界面活性剤によって、著しく促進された(図2)。さらに、それら界面活性剤は、Cu<sup>2+</sup>を用いて作製したmPrP<sup>Res</sup>に対しても、同様の分解促進効果を示した(図3)。一方、尿素、塩酸グアニジン、EDTAは、両mPrP<sup>Res</sup>の分解に影響しなかった。本研究は、各種界面活性剤が構造的に変化したmPrP<sup>Res</sup>の酵素分解に有効であることを明らかにした。

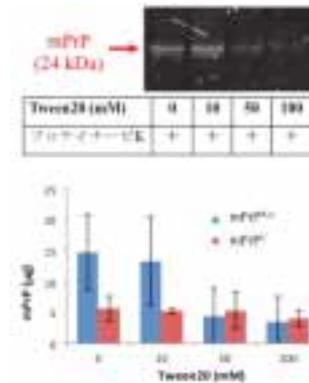


図2 界面活性剤(Tween20)によるmPrP<sup>Res</sup>の酵素分解促進効果

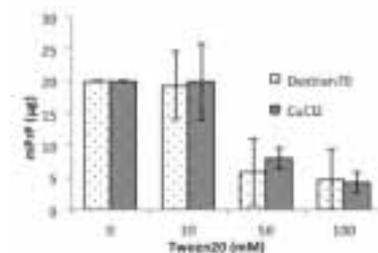


図3 異なる方法で作製したmPrP<sup>Res</sup>の酵素分解に及ぼす界面活性剤(Tween20)の効果

### この研究の発表

#### 論文 はGCOE明記があるもの

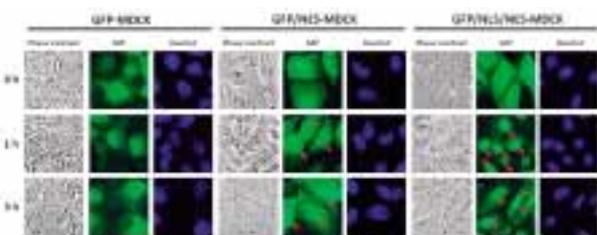
1. H. Yasmin, T. Shibata, M.S. Rahman, T. Kabashima, M. Kai: Selective and sensitive determination of peptides using 3, 4-dihydroxyphenylacetic acid as a fluorogenic reagent; *Anal. Chim. Acta*, 721, 162-166 (2012).
2. M.G. Azam, T. Shibata, T. Kabashima, M. Kai: Alkaline phosphatase-labeled macromolecular probe for sensitive chemiluminescence detection of proteins on a solid-phase membrane; *Anal. Bioanal. Chem.*, 401, 1211-1217 (2011).
3. M.G. Azam, T. Shibata, T. Kabashima, M. Kai: Sensitive chemiluminescence detection of prion protein on a membrane by using a peroxidase-labeled dextran probe; *Anal. Sci.*, 27, 715-720(2011).
4. T. Shibata, M.N. Wainaina, T. Miyoshi, T. Kabashima, M. Kai: A manual sequence method of peptides and phosphopeptides using 4-(1'-cyanoisindolyl) phenylisothiocyanate; *J. Chromatogr. A*, 1218, 3757-3762(2011).
5. M. Yamasuji, T. Shibata, T. Kabashima, M. Kai: Chemiluminescence detection of telomere DNA in human cells on a membrane by using fluorescein-5-isothiocyanate-labeled primers; *Anal. Biochem.*, 413, 50-54(2011).

# 新規抗ウイルス剤の探索

医歯薬学総合研究科 環境薬科学講座 機能性分子化学  
小林信之

## 背景

我々はこれまでに細胞内の蛋白質の核内輸送系の阻害剤をスクリーニングする系として GFP 蛋白質に核外輸送シグナル NES を結合した細胞株を用いて研究を行ってきた (Watanabe K et al. Drug Discover Ther. 7 92008 )。しかしながらこの細胞系では細胞質に存在する GFP 蛋白質のため、核内への GFP 蛋白質の蓄積が判別しにくい欠点があった。そこで本研究で新たに GFP 蛋白質に核内移行シグナル NLS を結合した GFP/NES/NLS 蛋白質を恒常発現する細胞株の樹立を行った。



新たに樹立した GFP/NLS/NES-MDCK 細胞は核外輸送阻害剤レプトマイシン B (LMB) 処理により極めて短時間に明瞭な GFP 蛋白質の核内蓄積が観察され、さらにその感度は従来の細胞に比べ100倍以上であり、今後この系を利用した新規阻害剤の探索に有用である事が示された。( Hussein et al. Drug Discoveries and Therapeutics 5 286 292 2011 )

## 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

我々はこれまでに GFP # 5 細胞を樹立し、この細胞を用いて天然物からの阻害剤を探索した。その結果吉草根および大高良姜ゆらいの Valtrate および ACA にインフルエンザウイルス vRNP 核外輸送阻害活性を見出した (Watanabe K et al. Drug Discoveries and Therapeutics 5 26 31 2011 )。

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が、細胞毒性も有意に高いため、今後これらの点についての投与法を含めた検討を進めている。

一方これまでにおよそ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この中で最も活性が強い4411株の成分の精製を進めてその精製が完了した。

sample	total unit	protein (ug/ml)	total protein (ug)	specific activity (U/ug)
sup	70500000	1638.0	11547900	6.1
40 60% ammonium sulfate	26111111	5391.0	140765	185.5
DE 52	4244706	291.0	12352	343.6
CM 52	6389610	146.0	933	6849.3
RE CM 52	1928000	61.0	1176	1639.3

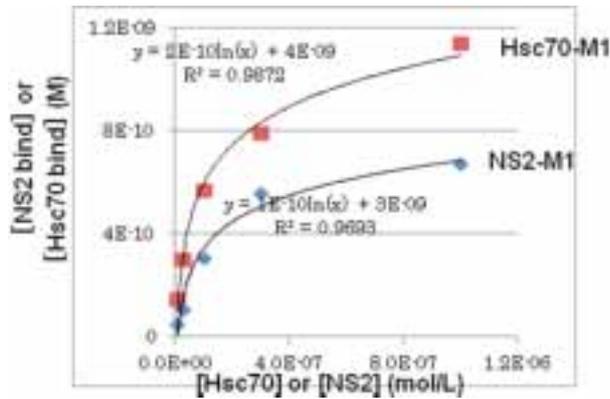
精製の各段階の分画の SDS-PAGE の結果は以下の図のようであり、単一なバンドを得る事が出来た。



TOF/TOF 等の解析の結果蛋白質の同定が終了し、現在論文準備中、および特許出願準備中である。

核外輸送系の詳細機構解明についてはこれまで我々は宿主因子 Hsc70 が関与している事を明らかにしてきたが、今回 Hsc70 および NS2 蛋白質のインフルエンザウ

ウイルス M1 蛋白質との結合部位の詳細を明らかにした (Shimizu T et al FEBS Letters 2011)。この事から Hsc70 および NS2 の M1 との結合部位を標的とした新規抗インフルエンザウイルス剤の開発を現在進行中であり、さらに詳細にその機構解明を進めている。



この図は NS2 および Hsc70 の M1 蛋白質との結合性を解析したものであり、この結果から Hsc70 は NS2 に比べ M1 との結合性が高い事が明らかとなった。

## 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、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。その活性 AZ - 1 の精製を現在進めているがこれまでの結果より AZ - 1 はインフルエンザウイルスの細胞吸着過程を阻害する多糖類を含む物質である事が明らかとなっている。本研究室は細胞毒性も低くその SI > 50 でありインフルエンザウイルスのみならず、ヘルペスウイルス等複数のウイルス感染に有効であり、インフルエンザウイルスのマウス感染系においても有効である事が明らかとなっている。

## 研究の発表

### 論文 は GCOE 明記があるもの

1. Watanabe K., Takatsuki H., Sonoda M., Tamura S., Murakami N and Kobayashi N: Anti-influenza viral effects of novel nuclear export inhibitors from Valeriane Radix and Alpinia galangal. Drug Drug Discoveries and Therapeutics 5. 26-31. (2011)
2. Shimizu T., Takizawa N., Watanabe K., Nagata K and Kobayashi N: Crucial role of the influenza virus NS2 (NEP) C-terminal domain in M1 binding and nuclear export of vRNP. FEBS Letters 585. 41-46 (2011)
3. Kawano H, Haruyama T, Hayashi Y, Sinoda Y, Sonoda M, Kobayashi N.: Genetic Analysis and Phylogenetic Characterization of Pandemic (H1N1)2009 influenza viruses that found in Nagasaki, Japan. Jpn J Infect Dis.;64. 195-203.(2011)
4. Hussein M Abkallo, Kawano H, Watanabe K and Kobayashi N.: A new cell-based reporter system for sensitive screening of nuclear export inhibitors. Drug Discoveries and Therapeutics 5. 286-292.(2011)

# 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

## 要約

アルボウイルスの研究では、日本脳炎ウイルスとデングウイルスの調査をアジアと日本において実施し日本脳炎ウイルスの移動とデングウイルスの地域変化を解析した。また、日本脳炎ウイルスの増殖が非構造タンパク NS2a で制御されることを明らかにした。さらにデングウイルスの全ての型を検出できる高感度の核酸増幅検出法を開発した。新興ウイルスの調査においては、ベトナムのコウモリの調査を継続する一方で、新種のニドウイルスを分離し、新しいウイルス科 (*Mesoniviridae*) として登録した。

## 背景

熱帯地域を中心とした開発途上国には世界人口の8割を超える人々が生活しておりアルボウイルス感染による多数の患者が発生している。一方、あらゆる分野で進展するグローバル化により新興感染症が開発途上国、先進国を問わず重大な健康被害、経済的損失、社会不安を引き起こしている。この問題に対処するためアルボウイルスや新興感染症の診断法の開発や疫学調査、病原性の分子レベルでの解明のための研究が必要である。

## 日本脳炎ウイルスの病原性の分子基盤

マウスにおいて病原性の異なる2つの株、JaTH株(強毒) S982株(弱毒)について、リバースジェネティクスを用いて差異の分子基盤を研究している。2011年度は両株のキメラウイルスを作製し、2つの株の間で遺伝子上の差異(アミノ酸レベル)を比較し、JaTH株が示すNS2a細胞(マウス神経細胞)での高増殖性にウイル

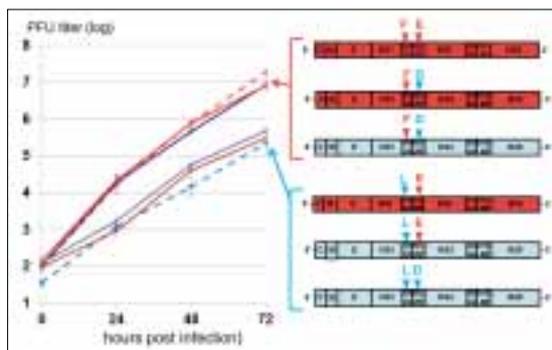


図1: 日本脳炎ウイルス、JaTH株とS982株で見られる生物学的差異のうち神経細胞における増殖性の差異は非構造タンパク質NS2aの1アミノ酸の差異によることが明らかになった。投稿準備中

ス非構造タンパク質のNS2aの1アミノ酸の差異が重要である事を明らかにした(図1)。宿主側の因子についても解析が進んでおり、本年度中には解析を完了できる予定である。

## 日本脳炎ウイルスの分子疫学

2010年度までの研究により日本脳炎ウイルスの多くは東南アジアから中国を経由して日本に飛来していることを明らかにした。2011年度も五島列島を含む長崎県、日本とアジアにおける日本脳炎ウイルスの分子疫学解析を実施しウイルスの動向を継続的に調査した。五島においては例年のように、中国株と関連の深い遺伝子型をもつウイルスが分離された。また特記事項として本年度は五島において2011年12月に患者発生(30歳男性)があった。患者からはウイルスも分離され、現在遺伝子解析を実施している。

## デングウイルスの分子、血清疫学

2010年に引き続き、アジア各国でウイルスを分離して分子疫学解析を実施した。フィリピン、ベトナム、ミャンマーにおいてデングウイルス3、4型がそれぞれ地域において独自に変化している状況が明らかになった。またミャンマーにおいて発生したデング熱・出血熱の流行においては、デングの一次感染で多くのデング出血熱患者が発生していることが明らかになり、重症化のメカニズムとして抗体依存性感染増強以外の要因も重要であることを示した(投稿準備中)。

## デングウイルスの迅速診断法の開発

デングウイルスの迅速診断法は臨床分野でも疾病対策分野でも重要である。特にデングウイルスとチクングニアウイルスの感染が世界的に増加・拡大傾向にあり迅速な鑑別診断法の開発が望まれる。我が国においても、アジア、アフリカ、中南米を旅行し帰国後発症するデング、チクングニア感染者が増加しており輸入感染症として重要であるが、加えて、これらのウイルスを媒介する能力のあるヒトスジシマカが本邦内で繁殖しているため、ウイルスの国内流行も視野に入れた対策を講じ、準備しておくことが必要と思われる。

以前、我々は日本で開発された遺伝子増幅検出技術であるLAMP法を用いて、デングウイルス血清型(1~

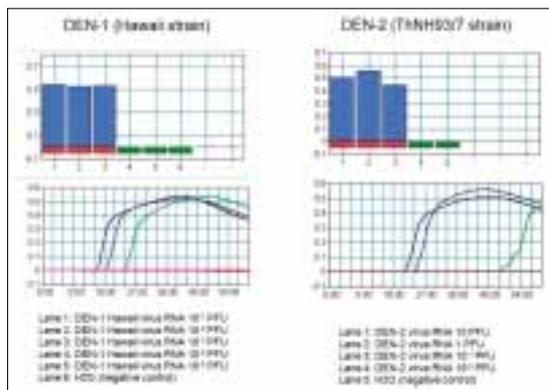


図2：新規設計したデング共通のRT-LAMPプライマーによるウイルス遺伝子RNAの検出結果（デング1、2型）。1つのプライマーセットを用いたRT-LAMP法により、4つの血清型すべてのウイルス遺伝子の高感度検出が可能となった。投稿準備中

4型)を高感度に検出できる手法を開発した(図2)。今年度は、1回の検査で4つの型ともに高感度に検出できる系を開発した。この手法はデングウイルスと近縁の日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス等とは反応せず、非特異反応もほとんどなかった。このことから、本手は十分に有用な診断法であると判断した。

## ベトナムにおける コウモリ保有ウイルスの調査

2011年もベトナムにおけるコウモリに生息するウイルスの調査を継続した。アジア、アフリカの熱帯雨林に生息するコウモリからはかつて、ニパウイルス、SARSウイルスがヒトに感染し大きな被害をだしており、本調査は2008年以来継続している。2011年にはニパウイルスの感染状況を血清学的に調査した成果をまとめて報告(成果7)したが、引き続きウイルス分離、血清調査を実施している。

## この研究の発表

### 論文 はGCOE明記のあるもの

1. Wichit S.(他11名) Dengue virus type 2 recognizes the carbohydrate moiety of neutral glycosphingolipids in mammalian and mosquito cells. *Microbiol Immunol.* Vol.55(2): 135-140, 2011.
2. Duc Tuan Dinh.(他4名) An Updated Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Diagnosis of H5N1 Avian Influenza Viruses. *Tropical Medicine and Health*, Vol.39(1): 3-7, 2011
3. Lyre Anni Espada-Murao and Kouichi Morita. Delayed cytosolic exposure of Japanese encephalitis virus double-stranded RNA impedes interferon activation and enhances viral dissemination in porcine cells. *Journal of Virology*, Vol.85(13): 6736-6749, 2011
4. Phan Thi Nga.(他13名) Discovery of the First Insect Nidovirus, a Missing Evolutionary Link in the Emergence of the Largest RNA Virus Genomes. *PLoS Pathogens* 7(9): e1002215. 2011
5. Tran Thi Ngoc Ha.(他14名) Elevated Levels of Cell-Free Circulating DNA in Patients with Acute Dengue Virus Infection. *Plos One* 6(10): e25969.2011
6. Takahisa Furuta.(他15名) Association of Mast Cell-Derived VEGF and Proteases in Dengue Shock Syndrome. *PLoSNTD*, Vol.6: e1505. 2012
7. Futoshi Hasebe, Nguyen.(他10名) Serologic Evidence of Nipah Virus Infection in Bats, Vietnam. *Emerging Infectious Diseases*. Vol.18(3): 536-7. 2012
8. Kenta Okamoto.(他8名) Dengue virus strain DEN2 16681 utilizes a specific glycochain of syndecan-2 proteoglycan as a receptor. *Journal of General Virology*. Vol.93(4): 761-770.2012
9. Lauber C.(他8名) Mesoniviridae: a new family in the order Nidovirales formed by a single species of mosquito-borne viruses. *Arch Virol.* 2012 (in press)

## ベトナムにおける 新しいウイルス科の発見

ベトナムの蚊から今までに報告の無い新種ウイルスを分離した。このウイルスは分離地名にちなみ Nam Dinh (ナムディン) ウイルスと名付け、新種の Nido ウィルス目のウイルスとして報告した(業績4)。ウイルス粒子はエンベロープを持つ球状(直径60-80nm)であり遺伝子は20,192塩基の+鎖RNAでオーバーラップする複数のORFを持っている。またウイルス遺伝子には大型のニドウィルスが持つ特徴である ExoN および 2'-O-methyltransferase 部位が存在し、さらに脊椎動物のニドウィルスに特徴的な N7-methyltransferase に類似の構造がある。これまでに発見されたニドウィルス目に分類されるウイルスは大きな遺伝子(26.331.7kb)を持つコロナウイルス科やノニウイルス科、小さな遺伝子(12.715.7kb)を持つアルテリウイルス科などがあるが、Nam Dinh ウィルスは中間のサイズの遺伝子サイズであり、系統樹解析からは独立した新しいウイルス科に分類されるべき特徴を持っており、中間(Meso)のニドウィルス(Nidovirus)にちなんで *Mesoniviridae* (業績9)と命名し登録された。今後、ヒト動物への感染性や病原性に関する調査が必要である。

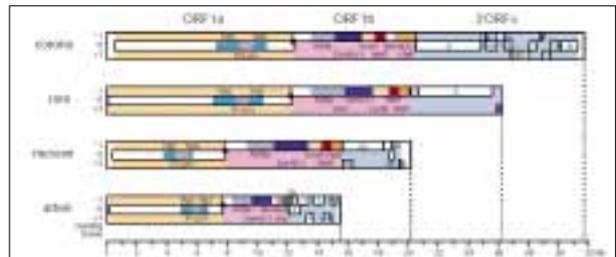


図3：(Lauber et.al 投稿中) Mesoniviridae と他のニドウィルスとの遺伝子構造の比較。Nam Dinh ウィルスはニドウィルスに属するが遺伝子の大きさは今まで報告されてない中間的な大きさが特徴であり、*Mesoniviridae* として登録した。

# Aspergillus fumigatus の薬剤感受性と耐性機序の解析

長崎大学大学院 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

## 要 約

アスペルギルス感染症は深在性真菌症の中でも増加傾向にある重要な感染症である。近年、欧米を中心に *Aspergillus fumigatus* のアゾール系抗真菌薬に対する耐性化が懸念されているが、今まで本邦における報告は存在しなかった。本研究では当科で収集された *A. fumigatus* の臨床分離株196株の抗真菌薬感受性を調べ、さらに耐性株の耐性機序を解析した。その結果、本邦においてもアゾール系抗真菌薬に対する耐性株が存在することが確認されたが、経年的増加は認めなかった。さらに、その耐性機序はアゾール系薬標的分子をコードする遺伝子 *cyp51A* の点変異にあることを解明することができた。

## 背 景

病原真菌アスペルギルスの抗真菌薬耐性の頻度や機序などの解析はまだ始まったばかりである。医療技術の発展に伴い免疫不全患者は増加しており、それに伴いアスペルギルス症の患者も今後増加傾向が続くと予想される。アスペルギルス症においても抗真菌薬耐性化の問題が今後顕在化してくる可能性が高く、予め疫学的情報を知り、耐性機序を解明することで耐性株の出現を阻止することが重要となる。

## アスペルギルス症の病態

アスペルギルスの主要な感染臓器は肺であり、これはアスペルギルスの分生子が経気道的に感染することによる。種々のアスペルギルス属の中でも病原性を示すものは少なく、多くは *A. fumigatus* 感染症である。アスペルギルス感染症は種々の免疫不全患者や肺の器質的疾患を有する患者に発症する。その病態には急速に進行し高い致死率を示す侵襲性肺アスペルギルス症と慢性肺アス

ペルギルス症に大別される。侵襲性肺アスペルギルス症は致死率が60-89%と極めて高く予後不良の疾患である。一方、慢性肺アスペルギルス症も、抗アスペルギルス活性を有する経口抗真菌薬に限られていることから、治療に難渋することが多い。

## 薬剤耐性アスペルギルスの増加

アスペルギルスは糸状菌と呼ばれる真菌の一種で菌糸として発育し、細菌や酵母のように単細胞ではないことから薬剤感受性試験の標準化が困難であった。1997年にはイトラコナゾール耐性 *A. fumigatus* の存在が報告されたが、以後の疫学的な情報は限定的なものであった。2008年に、米国及び欧州から糸状菌の薬剤感受性試験標準法の改訂版が報告され、以後世界的に *A. fumigatus* の薬剤感受性の疫学的報告が相次いでいる。欧米、中国やインドでアゾール耐性株の存在が確認されている。その中でも、特にオランダやイギリスではアゾール耐性 *A. fumigatus* の経年的増加が報告されており、それによる治療失敗例も報告されている。

## *A. fumigatus* の薬剤感受性測定

1994年から2010年4月までに長崎大学病院呼吸器内科で収集した *A. fumigatus* 臨床分離株196株を用いた。菌種の同定はコロニー形態、顕微鏡による分生子頭の観察、48°Cにおける発育能確認にて行った。アゾール系薬に低感受性を示した株には、さらに large-subunit RNA gene (D1-D2 region) と internal transcribed spacers 1 and 2 (ITS 1 and ITS 2 regions) の遺伝子配列を解析し、遺伝子学的同定を追加した。イトラコナゾール (ITCZ)、ボリコナゾール (VRCZ)、ポサコナゾール (POSA)、アムホテリシン B (AMPH-B) 及びミカファンギン (MCFG) の minimum inhibitory concentration

(MIC) や minimum effective concentration (MEC) は、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の M38 A2 に準じ、微量液体希釈法にて測定した。耐性株は、試験を3回繰り返し、再現性を確認した。結果は、ITCZ の MIC 2 µg/ml が7.1%、POSA の MIC 1 µg/ml が2.6%、VRCZ の MIC 2 µg/ml が4.1%、AMPH-B の MIC 2 µg/ml が1.0%、MCFG の MEC 16 µg/ml が1.0%であった。これらは海外の報告と大差なく、アゾール耐性株の経年的な増加傾向も認めなかった。特筆すべきは POSA は本邦で使用されていないにも関わらず、耐性株が存在していたことである。

### 耐性株の遺伝子解析

今回検出された耐性株からゲノム DNA を抽出し、アゾール標的酵素をコードする *cyp51A* 遺伝子全体を PCR 法にて増幅した。シーケンスにて塩基配列を決定し、アゾール感受性株の *cyp51A* 遺伝子塩基配列

(GenBank accession no, AF338659) と比較し、変異の有無を検索した。変異を認めた場合は PCR を3回繰り返し、再確認を行った。結果は、ITCZ 耐性株 (MIC 2 µg/ml) の64.2% (9/14) に *cyp51A* 遺伝子の G54変異があり、POSA 耐性株 (MIC 1 µg/ml) の100% (5/5) にも同様に G54変異を認めた。これらの変異は既存の報告と同一であった。しかし、アゾール耐性株が増加しているオランダから最も多い変異として報告されている promoter 領域の tandem repeat + L98H 変異は認めなかった。海外では環境からもアゾール耐性株が分離されている。今回の研究では臨床分離株のみで行ったため、今後は環境分離株にアゾール耐性株が潜んでいないか研究を進めていく予定である。また、これらのアゾール耐性株がどのようにして誘導されてくるのか、その機序は未だ解明されていない。現在、今回の研究結果を基に、患者背景や治療歴との関連性についても解析を進めている。

### この研究の発表

#### 論文 は GCOE 明記のあるもの

1. Tashiro M, K Izumikawa, Minematsu A, Hirano K, Iwanaga N, Ide S, T Mihara, N Hosogaya, T Takazono, Y Morinaga, S Nakamura, S Kurihara, Y Imamura, T Miyazaki, T Nishino, M Tsukamoto, H Kakeya, Y Yamamoto, K Yanagihara, A Yasuoka, T Tashiro, S Kohno. 2012. Antifungal susceptibilities of *Aspergillus fumigatus* clinical isolates obtained in Nagasaki, Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56: 584-587.

# アジア人における抗 HIV 薬治療の副作用出現を予測する因子についての検討

熱帯医学研究所 臨床感染症学  
有吉紅也

## 要約

タイでは2003年に自国生産のジェネリック抗 HIV 薬 GPOvir®を第1選択薬とした治療が無料化されて以降、急速に抗 HIV 治療が普及した。本研究では2000年～現在まで北タイ政府系病院の HIV 外来で維持されてきた HIV コホート研究をもとに、第1選択薬から他剤への薬剤変更率とその関連因子を検討した。薬剤変更の理由は副作用が最多であり、なかでも薬剤変更を余儀なくされる重篤な皮疹と HLA-B\*3505との間に強い相関があることが判明し、アジア人におけるテーラーメイド抗 HIV 薬治療の実現可能性を示唆するデータが得られた。

## 背景

日本や欧米諸国等の先進国では、1996年頃を境に多剤併用抗 HIV 薬治療が普及し、HIV 感染者の生存率が飛躍的に改善した。一方、低～中所得国においても、「3 by 5 イニシアチブ」(2003年より WHO・UNAIDS によって提唱された2005年までに300万人に抗 HIV 薬治療を目指す活動)を契機に、急速に普及が進んでいる。近年は副作用の少ない抗 HIV 薬が開発され、高所得国での治療の主流となっている。しかし、低～中所得国で多く使用されている抗 HIV 治療薬は副作用が強く治療中断や薬剤変更を余儀なくされる場合もある。資源の限られたこれらの国々において効果的に治療を提供するには、これらの対策が緊急の課題である。

対象とする患者集団を一回のみ断面的に観察する横断的研究に比べ、対象集団を時間に沿って継続的に観察する縦断研究は、コホート研究と呼ばれ、より正確な臨床・疫学的情報が得られる。我々は、2000年から2010年までの10年間、北タイの政府系病院に通院する HIV 感染者を対象にコホート研究を実施してきた。今回、このコ

ホート研究を基盤に、北タイにおける抗 HIV 薬治療の現状を明らかにし、副作用や治療効果を予測する因子を明らかにした。

## タイにおける抗 HIV 薬治療の現状

タイはアジアで最も早く HIV が流行した国である。なかでも北タイは、最も流行が浸淫した地域である。タイ国政府は、国をあげての HIV 予防対策、HAART 治療の無料化を行い、他の低～中所得国の手本とされてきた。一方で、治療が長期化するにつれ、安価な薬剤による副作用や薬剤耐性ウイルスの問題が出現している。さらに死亡率の低下と相まって医療者の負担増加も懸念されている。

タイでこれまで使用されてきた第1選択薬 GPOvir®は d4T (スタブジン)、3TC (ラミブジン)、NVP (ネビラピン) の合剤であるが、副作用として d4T によるリポジストロフィー、NVP による皮疹、肝障害が知られている。副作用の出現時期にも特徴がある。リポジストロフィーは治療開始後約1年で現れるのに対し、皮疹と肝障害は数週間～と早期に出現することが多いとされる。副作用出現の規定因子については先行研究からいくつかの報告がある。NVP による副作用は女性で治療開始時の CD4 数が高い症例に多い傾向がある。また、欧米人に多い HLA-B\*5701 保有感染者の ABC 過敏性は広く知られ、これらの国々では、薬剤投与前に HLA-B\*5701 を除外するテーラーメイド医療が定着している。一方、タイにおける小規模横断研究では、HLA-B\*3505 と皮疹、HLA-B\*4001 とリポジストロフィーとの相関が報告されているが、これまでタイ人における副作用のリスク因子を調べた研究はなかった。

## 薬剤変更率と関連因子

我々は、北タイ政府系病院 HIV 外来に通院する HIV 感染者のうち、2002年4月から2007年12月までに GPOvir®を開始した979名について、2011年3月までの診療録から薬剤変更の詳細な情報を収集した。また、感染者の血液検体から抽出した DNA を用いて HLA-B アリールを決定し、臨床、疫学情報と併せて薬剤変更との関連を検討した。その結果、全部で2,729person-year-observation (PYO) の観察期間情報が得られ、この間に377名が初期の抗 HIV 薬治療 GPOvir®の変更を余儀なくされたことが分かった。これらから、薬剤変更率は、13.8/100PYO (95%CI : 12.5-15.3) であることが判明した。薬剤変更の主な原因は副作用 (75.2%) によるもので、次に多かったのは治療失敗 (16.7%) であった。薬剤変更をエンドポイントとする生存曲線は、直線的であり、年間一定の割合で薬剤変更を余儀なくされていることが判明した (図1)。

副作用のうち最も多かったのは、リポジストロフィー (63.2%) と皮疹 (17.7%) であり、これらのリスク因子を解析したところ、HLA-B\*3505保有者が皮疹と強く相関していることが判明した。(補正後ハザード比 7.61, 95%CI : 3.12-18.60) リポジストロフィーについ

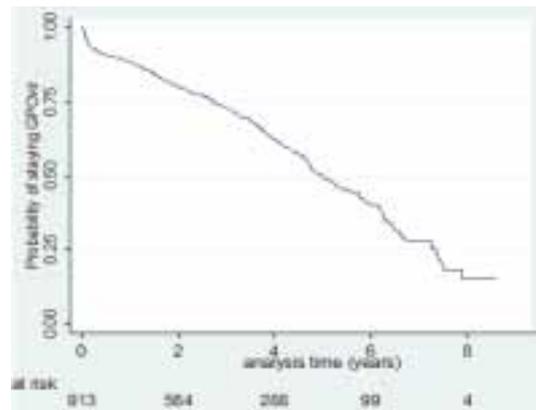


図1 GPOvir®薬剤変更をエンドポイントとする生存曲線

ては、女性との相関が強く認められたが、過去に報告された HLA-B\*4001との相関は認められなかった。(補正後ハザード比 2.12, 95%CI : 1.51-2.95) 最後に治療失敗による薬剤変更は男性、若年者が多かった。以上のように、今回、タイにおけるテーターメイド治療の実現可能性を示唆するデータとして意義深い結果が得られた。

今回の研究には、以下の方々が協力した。タイ国保健省医科学局 Pathom Sawanpanyalert 博士、Nuanjun Wichukchinda 博士、Archawin Rojanawiwat 博士、タイ国ランバン病院 Panita Pathipvanich 医師、長崎大学熱帯医学研究所 土屋菜歩 COE 研究員

## この研究の発表

### 論文 は GCOE 明記があるもの

1. Rojanawiwat A, Tsuchiya N, Pathipvanich P, Pumpradit W, Schmidt WP, Honda S, Auwanit W, Sawanpanyalert P, Ariyoshi K. The impact of the National Access to Antiretroviral Program on the incidence of opportunistic infections in Thailand. *International Health*. 2011 Jun; 3(2): 101-7
2. Mori M, Sriwanthana B, Wichukchinda N, Boonthim C, Tsuchiya N, Miura T, Pathipvanich P, Ariyoshi K and Sawanpanyalert P. Unique CRF 01\_AE Gag CTL epitopes associated with lower HIV-viral load and delayed disease progression in a cohort of HIV-infected Thais. *PLoS One*. 2011 Aug; e 22680
3. Tsuchiya N, Pathipvanich P, Rojanawiwat A, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P: Frequency and Determinants of Modifying the First Antiretroviral Drug Regimen in Northern Thailand. 10<sup>th</sup> International Conference on AIDS in Asia and the Pacific. Busan, Korea. August 26-30, 2011(Oral presentation)
4. Tsuchiya N, Pathipvanich P, Nuanjun Wichukchinda, Rojanawiwat A, Auwanit W, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P: HLA-B\*3505 and female gender were strong predictive factors of modifying the first antiretroviral drug regimen due to adverse effect in Thailand. 19<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI). Seattle, United States. March 5-9, 2012(Themed discussion and Poster presentation) Young Investigators' Award

# 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、そうした広がりの中における、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、及び本土の海岸域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。日本で分離されたウイルス株のうち従来の RFLP に基づく分類では TC と同定されるものの大半は、東アジアに限局して見られる系統群 (EAS) に含まれ、残りは世界広域に分布する系統 (GLB 3) に含まれることが分かった。分岐年代推定の結果、EAS は約6000年前頃、JPN は約4000年前頃には日本に存在していたことが分かった。

本研究に関しては、平成23年度は論文1本が受理となり、現在1本を投稿中である。また、長崎県対馬、島根県隠岐由来の検体の分析を進めている。

## 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。

本研究課題は平成23年度科研費基盤Cプロジェクト(江口克之代表、23590800)として、岐阜大学、大阪市立環境科学研究所との共同研究として進めている。

## 古病理標本、古人骨からの病原体

### DNA の検出(時間軸のなかでの感染症)

古病理標本(数十年前)や古人骨(数百年前)から回収した病原体 DNA を対象に分子系統学的解析を行うことにより、過去から現在に至る病原体の進化的変遷を明らかにし、過去と現在での流行様相の変遷を分子進化学的な観点から理解することを目指す。

その第一段階として、現代人の歯髄および現代人と近世人の骨組織(緻密質)からの DNA の回収、ミトコンドリア DNA の多変領域の増幅に成功しており、抽出、増幅過程でのクロスコンタミネーションの防止のための手技の改善を行なった。

現在、ターゲットとなる病原体の選定と検体の収集を行っている。

## 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した。論文はPLoS One に受理された。

## 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。現在論文を投稿中である。

## メコン流域の多国間感染症防御体制 の構築と静注薬物常用者への介入研究

中国と東南アジア「黄金の三角地帯」に接する雲南省に焦点を合わせ、China AIDS network、雲南省健康と発展研究会及び昆明医学院と共同で、ハイリスク人口の健康・疾病プロファイルを描くことを目標としている。本研究は、メコン流域の多国間感染症防御体制を構築する

ために不可欠な基礎資料となる。倫理申請（中国における流動人口と HIV/エイズ予防対策についての研究、承認番号：10092253；中国・雲南省における静脈注射薬物乱用者を対象とするエイズ・結核重複感染に関する疫学研究、承認番号：10092254）

ラオス - 中国国際流動人口の医療保障に関する調査。中国雲南省西双版纳州国境とラオス側での人的交流に焦点をあて、国際流動人口の社会的特性を調べる。雲南省「健康と発展」研究所と共同で、ラオスに出入国する中国人の調査を行っている。中国 - ラオス国境流動人口859名のデータを収集分析した。国際流動人口は言葉の壁のせいで滞在国に健康サービスから除外されがちであり、健康保険に加入していない実態が明らかになった。一方、エイズ、マラリア等の感染症の流行状況や予防などについては現在までのところ把握できていない。こうした集団に対する母国語による健康教育及び有効な介入法の研究が次の課題となっている。

雲南省女性 CSW に関する研究。女性 CSW は、bridge population と言われる。本研究グループは中国 ラオス国境地域及び中国 ミャンマー国境地域で、現地疾病管理センターの協力を得て、CSW を対象にした調査を行ってきた。調査は、1) FHI BSS KABP 質問票を用いたインタビュー調査により人口学的属性、医療保障、流動歴、性感染症歴、感染予防知識、性行動等、2) 現地疾病管理センターによるエイズ、梅毒、淋病、クラミジア等の各項目の検査からなる。129名 street-based と 185名 brothel-based、合わせて314人の CSW を対象とした調査を行った。地方衛生当局が積極的に street-based CSW に対し、有効な介入が必要であることが明らかとなった。現在、論文を作成中である。

## この研究の発表

### 論文 は GCOE 明記があるもの

- 1) Liang Qin, Zhaoyan Zhou, Bijie Hu, Taro Yamamoto, Hiroshi Watanabe. Antimicrobial susceptibilities and genetic characteristics of Haemophilus influenzae isolated from community acquired respiratory tract infection patients in Shanghai City, China. Journal of Infection and Chemotherapy. doi: 10.1007/s 10156-012-0372-0
- 2) Kounnavong S, Sunahara T, Mascie-Taylor NCG, Hashizume M, Okumura J, Moji K, Boupha B, Yamamoto T. Effect of daily versus weekly home fortification with multiple micronutrient powder on haemoglobin concentration of young children in a rural area, Lao People's Democratic Republic: a randomised trial. Nutrition Journal 2011; 10: 129 doi: 10.1186/1475-2891-10-129
- 3) Kounnavong S, Sunahara T, Hashizume M, Okumura J, Moji K, Boupha B, Yamamoto T. Anemia and its Related Factors in Preschool-Aged Children in the Southern Rural Lao People's Democratic Republic. Trop Med & Health doi: 10.2149/tmh.2011-13
- 4) Haque U, Hashizume M, Kolivras KN, Overgaard HJ, Das B, Yamamoto T. Reduced death rates from cyclones in Bangladesh-What more needs to be done? Bull World Health Organ (in press)
- 5) Oki M, Sunahara T, Hashizume M, Yamamoto T. Optimal timing of insecticide fogging to minimize dengue incidence: modeling dengue transmission among various seasonalities and transmission intensities. PLoS Neglect Trop Dis 2011; 5(10): e 1367. doi: 10.1371/journal.pntd.0001367
- 6) Masaya Kato, Taro Yamamoto. Early Response to the Great East Japan Earthquake and Massive Tsunami at an evacuation shelter in Otsuchi, Iwate Prefecture. 日本健康教育学会誌.
- 7) Life, Health and Community in the massive Tsunami affected town in Japan Taro Yamamoto, Masaya Kato and Susumu Shirabe. Lancet. 2011. July 23, Vol 378; 318
- 8) Hashizume M, Faruque ASG, Terao T, Yunus M, Streatfield K, Yamamoto T, Moji K. The Indian Ocean Dipole and cholera incidence in Bangladesh: A time series analysis. Environ Health Perspect. 2011; 119: 239-244.
- 9) Haque U, Hashizume M, Glass GE, Dewan A, Overgaard HJ, Yamamoto T. The role of climate variability in the spread of malaria in Bangladeshi highland. PLoS ONE. 2010; 5(12): e 14341. doi: 10.1371/journal.pone.0014341.
- 10) Otani M, Honda N, Xia PC, Eguchi K, Ichikawa T, Watanabe T, Yamaguchi K, Nakao K, Yamamoto T. Distribution of Two Subgroups of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) in Endemic Japan. Tropical Medicine and Health. (in press)

### 講演会、研究会等

- 1) 総合地球環境学研究所「共生 社会・疾病・そして地球環境」 京都
- 2) 第65回長崎県医師会定例総会「東日本大震災に寄せて、いま考えること」 長崎
- 3) 社会医学セミナーにて「感染症と文明」
- 4) 大気環境学会にて「ヒト社会・自然環境・共生」 長崎
- 5) 兵庫県普通科高等学校長会 第25回総会・研究協議会にて「感染症と文明」
- 6) 上海国際寄生虫歴史シンポジウム
- 7) Manirul Islam, Masahiro Hashizume, Taro Yamamoto, Zahir Uddin, Md. Faruq Alam, Golam Rabbani, Syed Kamaluddin Ahmed. 6th International Conference on Psychiatry-2011
- 8) 第47回日米医学 科学プログラムにて「Disaster Relief: what to be done-A case study in Haiti and Japan」
- 9) 江口克之. 東アジアにおける人畜共通感染の起源、進化的変遷、宿主への適応 岐阜大学応用生物科学部

### 特筆

- 1) 東日本大震災の援助に当研究室から6人が参加

# 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

医療技術の目覚ましい進歩にも関わらず、いまだに食中毒は公衆衛生上の大きな問題の1つである。サルモネラは細菌性食中毒の原因菌として広く認識されており、下痢を主症状とした急性の胃腸炎を引き起こす。また、サルモネラは胃腸炎だけでなく、全身感染症であるチフス症を発症させることが知られている。

これまでの研究により、宿主細胞内への侵襲性や貪食細胞内での生存に関与する因子がサルモネラの重要な病原因子と認識されている。サルモネラ・エンテロトキシン(Stn)は1990年代に下痢原性を有する因子として同定され、Stnが有する種々の生物活性よりサルモネラの病原性に関与することが示唆されている。しかしながら、他方ではStnがサルモネラの病原性に関与しないとの報告も認められ、このことからStnのサルモネラ病原性への関与について非常に混沌とした状況にある。

我々はこれまでに、①*stn* 遺伝子分布についてサルモネラを含めた腸管病原菌にて調べたところ、サルモネラにおいて特異的に*stn* 遺伝子が存在し、且つ*stn* 遺伝子には多型が認められること、②サルモネラ菌体より調製したStnを含む粗毒素画分に培養細胞に対する細胞毒性効果を認め、Stnに対する抗体にてこの毒素作用が中和されること、③Stnがサルモネラの外膜部の構成に影響をもたらす可能性があることなどを見出している。

そこで、本研究ではサルモネラ病原性におけるStnの関与について再検証するために、*stn* 遺伝子破壊( $\Delta$ Stn)株を用いた解析を行った。また同時に、Stnの新たな機能についても検討した。

## サルモネラ病原性におけるStnの関与の検証

先も述べたように、Stnのサルモネラ病原性における関与の有無については現在のところ曖昧な状況にある。そこでStnとサルモネラ病原性との関連性を明らかにするために、培養細胞を用いた解析(感染宿主細胞への

侵襲性とマクロファージ内での生存性)とマウスを用いた腸管結紮ループ試験を行った。ここでは $\Delta$ Stn株と野生株の比較を行うことにより、サルモネラ病原性への関与について検討した。

その結果、いずれの解析においても野生株と $\Delta$ Stn株に統計的に有為な差が認められなかった(Fig.1)。この結果より、我々はStnがサルモネラの病原性には関与しない、もしくは病原性に関与したとしても効果は限定的なものであると考えている。

## Stnの機能解析

我々は前年度までの検証にて、①Stnが膜タンパク質OmpAの発現調節に関与すること、②さらにはサルモネラ菌体の外膜部の形成に影響をもたらす可能性を示唆する結果を得ている。そこで、本年度はこの点について更なる検証を行うことによりStnのより詳細な機能解析を行った。

はじめに、Stnの膜タンパク質の発現調整について解析するために、OmpAについてNorthern blottingとWestern blottingを行うことでその評価を行った。解析の結果、OmpAはRNAレベルとタンパク質レベルの両方において野生株と $\Delta$ Stn株との間で発現量に差は認められなかった。このことから、我々はStnがOmpAの発現調節ではなく、OmpAの菌体内における局在に何らかの影響をもたらす可能性を推測した。そこで、 $\Delta$ Stn株のOmpAの菌体内の局在を検証するために抗OmpA抗体を用いた免疫電子顕微鏡法による解析を行ったところ、野生株では外膜領域にOmpAが局在していることが確認できたが、それに対して $\Delta$ Stn株では外膜領域にOmpAの存在が認められなかった(Fig.2)。さらには、StnのOmpAに対する制御メカニズムを推測するためにFar-westren blottingを行ったところ、StnとOmpAが相互作用することが認められた。

以上の結果より、我々はStnがOmpAの発現調節をするのではなく、互いのタンパク質が相互作用することにより菌体内における局在(特に外膜への移動)を制御

していると考えている。

## まとめ

Stn はこれまでの研究により下痢原性を有する因子として認識されており、そのためサルモネラ感染時の主病態である下痢発症に何らかの関与をするものと考えられてきたが、Stn の詳細な生物活性や宿主細胞に対する作用機序を示した報告はない。他方では、Stn のサルモネラ病原性への関与を否定する報告も存在することから、Stn の機能やサルモネラ病原性への関与を含めて曖昧な状況であった。そこで本年度では、Stn のサルモネラの病原性への関与を再検証するとともに、Stn の有する機能についても解析を行った。

その結果、①Stn がサルモネラの病原性に関与しないこと、②Stn が膜タンパク質である OmpA の局在に関与することで外膜の構造に影響をもたらすこと、③OmpA の局在は Stn が OmpA に直接相互作用することでその効果をもたらしている可能性が示唆されたこと、以上について明らかにした(論文投稿中)。これらは Stn の新たな機能の一端を示す重要な発見であり、十分な成果を得たものと考えている。しかしながら、Stn と OmpA の相互作用についての詳細な作用機序の解明は今後に残された課題の1つであり、検証する必要があると考えている。今後の詳細な解析により Stn の機能についての新たな提言を示すことができるものと期待でき、鋭意解析を進行中である。

## 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)

## この研究の発表

1. 中野政之、山崎栄樹、倉園久生、一ノ瀬昭豊、平山壽哉：サルモネラエンテロトキシン Stn の性状解析。第64回日本細菌学会九州支部会総会、2011 .8 26 27。
2. Yamasaki E, Nakano M, Hirayama T, Chongsa-nguan M, Chicumpa W, Nair GB, Kurazono H: Purification of the recombinant Salmonella enterotoxin. US-Japan Cooperative Science Prog. on Cholera & Other Bacterial Enteric Infections 46th Conference, Dec .13 15 2011 .
3. 中野政之、山崎栄樹、赤田純子、中村和行、平山壽哉、倉園久生：サルモネラエンテロトキシン (Stn) の新規機能解析。第85回日本細菌学会総会、2012 .3 27 29。

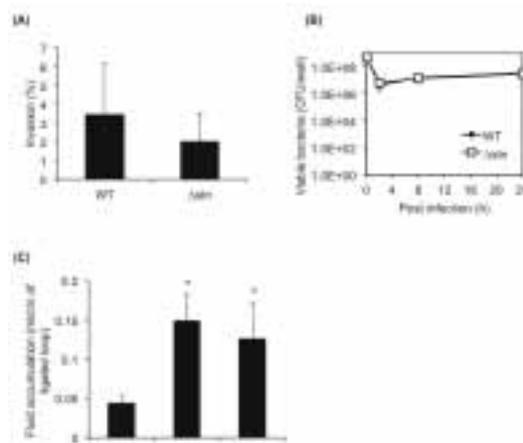


Fig. 1. Stn のサルモネラ病原性への関与についての検証 (A)培養細胞に対する侵入試験、(B)マクロファージ内での生存試験、(C)マウス腸管結紮ループ試験による下痢原性の確認。

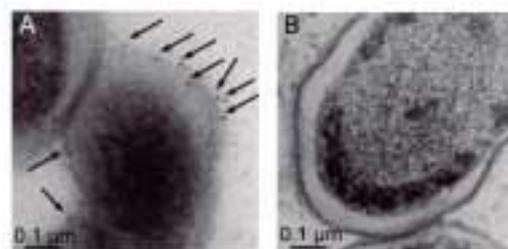


Fig 2 免疫電子顕微鏡法による OmpA の局在の確認。(A)野生株、(B)Δstn 株。矢印は金コロイドにて標識化された OmpA を示す。

# 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

ロタウイルスの防御免疫には血清型特異的免疫が重要であるという考え方が支配的である。そこで、G1P[8]株をワクチン株とする単価ロタウイルスワクチンがブラジルでの乳児定期予防接種に導入されて以来、ロタウイルス下痢症の割合が減少する一方、検出ロタウイルスに占めるG2P[4]株の割合が高まったことにより、これがワクチンによる血清型シフトなのか自然の変動範囲であるのかに関する議論が高まった。

ネパールはロタウイルスワクチンの未導入国の1つであるが、2003/2004年の流行期におけるG2P[4]株の検出割合がわずか1%であったのに、2004/2005年の流行期におけるG2P[4]株の検出割合が33%に急上昇した。

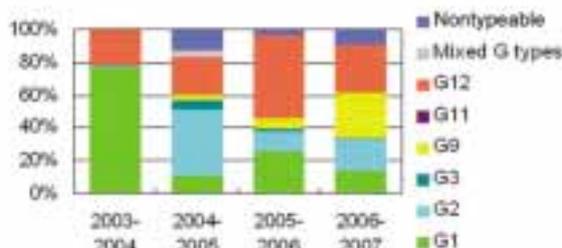


図1：ネパールでのロタウイルスG型の分布。2004/2005年に急激なG2株の増加が起こった。

先行研究によれば、このような急増あるいは再出現に際し、VP7の中和抗原決定部位の1つであるA領域に存在する96番目のアミノ酸で、アスパラギン酸からアスパラギンへのアミノ酸置換が並行して起こっていることが報告されている。

そこで、この急激に出現したG2P[4]株のVP7遺伝子分節の塩基配列を決定し、96番目のアミノ酸置換の有無を調べるとともに、過去34年におけるG2VP7遺伝子の分子系統解析を行うことを目的に本研究を行った。

## 研究の方法

ネパールで2004/2005年の流行期に採取した67株の

G2株のうち、45株のG2P[4]株のVP7遺伝子分節の塩基配列を決定した。過去34年間にわたりDNAデータベースに登録されている339株のG2P[4]株のVP7遺伝子分節の塩基配列情報にもとづき、遺伝子解析ソフトウェアMEGA4を使って分子系統解析を行った。

最近の5年間では、すべてのG2株がD96Nをもつ系統IVaとなっている！

ネパールでのG2P[4]株のVP7遺伝子分節の塩基配列を決定したところ、45株すべてで96番目のアミノ酸にアスパラギン酸からアスパラギンへの置換、すなわちD96N変異が起こっていた。

DNAデータベースに登録されている339株のVP7遺伝子分節の塩基配列情報とネパールの45株のG2P[4]株にもとづき、分子系統樹を作成した。分子系統樹の情報は以下のように要約できる。

- (1) 系統樹解析により4つの系統といくつかの亜系統の存在がわかった。
- (2) 分子系統と、ウイルスの中和抗原部位にある4つのアミノ酸残基(87\_96\_213\_242)との間には一定の対応関係があった。
- (3) 分子系統の中で、D96Nのアミノ酸変異を特徴とする系統IVaとその亜系統であるS242Nを特徴とするIVa-3が近年もっとも優位を占めるG2VP7遺伝子であった。
- (4) 最近の5年間では、すべてのG2株がD96Nをもつ系統IVaとなり、その3分の2をIVa-3(図2では紫色)が占めている。
- (5) 2004年以降にG2株が急増したネパールの株はすべてIVa-3であったが、ブラジルでは2006~2007年を境にIVa-1(図2では群青色)からIVa-3への変異(S242N変異)が起こっていた。

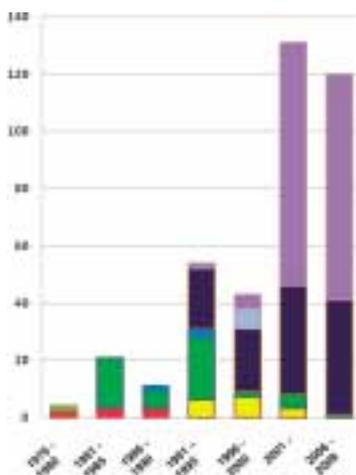


図2：最近の5年間では、すべてのG2株がD96Nをもつ系統IVa（紫色と群青色）に置き換わっている。

## ロタウイルスG2株のVP7遺伝子はダイナミックな変化の中で進化している！

本研究の結果として得られた、すべてのネパール株で96番目のアミノ酸がアスパラギン酸からアスパラギンへの置換を有している観察事実を、過去34年におけるG2 VP7遺伝子の分子系統進化の中に位置づけると、この変化が系統IVaに特徴的に起こっており、近年のG2株はすべて系統IVaになっていた。この現象は96番目のアミノ酸置換により、系統IVa株が選択的優位性を獲得したためであると思われる。そこで、今後、この部位を含め抗原決定領域のアミノ酸に自然選択が働いているかどうかを確認する必要がある。

## この研究の発表

論文 はGCOE表記のあるもの、\*はcorresponding author。

1. Sato T, Nakagomi T, \*Nakagomi O. Cost-effectiveness analysis of a universal rotavirus immunization program in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2011 ; 64 ( 4 ) : 277-83
2. Abugalia M, Cuevas L, Kirby A, Dove W, Nakagomi O, Nakagomi T, Kara M, Gweder R, Smeo M, Cunliffe N. Clinical features and molecular epidemiology of rotavirus and norovirus infections in Libyan children. *J Med Virol* 2011 ; 83 ( 10 ) : 1849-56 .
3. Ito H, Otabe O, Katsumi Y, Matsui F, Kidowaki S, Mibayashi A, Nakagomi T, Nakagomi O. The incidence and direct medical cost of hospitalization due to rotavirus gastroenteritis in Kyoto, Japan, as estimated from a retrospective hospital study. *Vaccine* 2011 29 ( 44 ) : 7807-1
4. Kaplan NM, Kirby A, Abd-Eldayem SA, Dove W, Nakagomi T, Nakagomi O, Cunliffe NA. Detection and molecular characterisation of rotavirus and norovirus infections in Jordanian children with acute gastroenteritis. *Arch Virol* 2011 ; 156 ( 8 ) : 1477-80
5. Doan YH, Nakagomi T, Cunliffe NA, Pandey BD, Sherchand JB, \*Nakagomi O. The occurrence of amino acid substitutions D96N and S242N in VP7 of emergent G2 P [ 4 ] rotaviruses in Nepal in 2004-2005 : a global and evolutionary perspective. *Arch Virol* 2011 156 ( 11 ) : 1969-78

ロタウイルスG2株のVP7遺伝子は、1つの系統の中から新しい系統が出現し、それが優位となり、その中からまた新たな系統が出現するというダイナミックな変化の中で進化しているものと思われる。

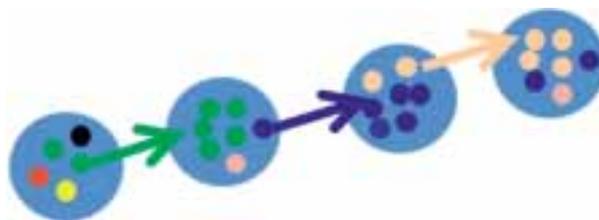


図4：1つの系統の中から新しい系統が出現し、それが優位となり、その中からまた新たな系統が出現するG2株のVP7遺伝子の進化の模式図。

## グローバルCOEと人材育成

われわれの研究グループでは、博士課程の大学院生として3人の外国人女性研究者が活躍している。ネパール人1人、ベトナム人2人である。ここで紹介した研究は、主としてベトナム人の大学院生Doan（発表論文5）が行ったものである。

## 国際的ネットワーク

この研究は、長崎大学と学術交流協定を締結しているリバプール大学との共同研究として行われた。

# 生態系におけるコレラ菌と線状ファージの分子疫学的研究

アジア・アフリカ感染症研究施設 熱帯医学研究所  
山城 哲 江原雅彦

## 要 約

コレラは東南アジア地域の公衆衛生行政において大きな問題である。しかしその病原性獲得のメカニズム、地域における伝播経路およびその拡がりなど解決すべき問題は多い。我々は2007年 2008年北部ベトナムにおいてコレラ流行があった際、食用生犬、屠殺犬、屠畜場周辺環境検体より、流行菌株と同一のコレラ菌株を分離した。また、ベトナムにおけるコレラ流行株は、同時期にタイおよびラオスで分離した株と遺伝的に近縁であることを報告した。一方、我々の報告した線状ファージ fs 1 および fs 2 は *rstC* 様遺伝子をゲノム中に持ちコレラ菌に感染する。その際、コレラ毒素遺伝子を有する CTX $\Phi$  領域の近傍に integrate する事が判明した。遺伝子産物 RstC はコレラ菌病原因子とされ、CTX $\Phi$  の増幅およびコレラ毒素産生を増強するとされる。これら線状ファージの感染によるコレラ菌の病原性の動向の検討は興味深い。

## 背 景

コレラ菌はコレラ毒素 (CT) などの病原因子をファージなどの外来性遺伝子から獲得したとされる。El Tor 型コレラ菌が持つ遺伝子 *rstC* は、毒素産生コレラ菌が持つ CT 遺伝子 (*ctxAB*) を、それを持たないコレラ菌に伝播する事を助長し、かつ CT 産生そのものを増強する。我々は線状ファージ fs 2 はゲノム中に *rstC* 遺伝子を持ち、コレラ菌ゲノムに integrate する事により宿主に *rstC* 遺伝子を付与する事を見出した。本研究では線状ファージ fs 1 および fs 2 の宿主ゲノムへの integrate を通じて過剰な *rstC* 遺伝子を獲得したコレラ菌が、それに応じて病原性が増強されるか否かを *in vitro* および *in vivo* の系で検証する。

## ベトナムにおけるコレラの流行

コレラはコレラ毒素 (CT) 産生コレラ菌によって起こる代表的な急性下痢症で、適切な処置なしに放置すると数時間の内に死に至る疾患である。WHO の報告によると2010年には全世界で約32万人の患者が発生し、うち約7,500人が命を落としたとされる。北部ベトナムでは、コレラは過去4~5年おきに流行が繰り返され、最近では2007年10月より2008年8月にかけて、大規模な流行がみられた。患者の発生は北部ベトナム18省からおよそ3,300人におよんだとの報告がある。

## コレラ流行株の環境中・食肉犬からの検出。 - 伝播経路の考察 -

北部ベトナム地域では犬肉を食する文化がある。ベトナム保健省および国立衛生疫学研究所 (NIHE) の疫学調査によると、2007年10月より2008年8月のコレラ流行において、患者の発生は犬肉食との関連が示唆された。犬肉を供する食堂でのコレラ菌の汚染が最も考えられたが、ハノイ市内および食用犬中間集積地の一つであるタイン・ホア省の食用犬屠場で検体を採取し、コレラ菌の分離およびコレラ菌関連遺伝子の検出を試みた。ハノイの屠畜場より、生犬、屠畜犬、解体後食肉、屠畜場内環境より37検体を採取し、生犬、屠畜犬直腸ぬぐい液を含む11検体から流行株と同様のコレラ菌が分離された。同様にタイン・ホア省の食用犬集積場より54検体を採取し、その内生犬2頭の直腸ぬぐい液を含む3検体よりコレラ菌が分離された。また、ハノイ食用犬屠場周辺の水路からもコレラ菌関連遺伝子が検出された。以上より食用犬はコレラ菌の伝播に関与する可能性が指摘された。

## コレラ菌の遺伝子背景の検討

コレラ菌株間の近似性を検討するために、pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) を用いてゲノム遺伝子背景比較を行った。コレラ菌株を proteinase K や EDTA にて処理した後、ゲノムを制限酵素 *NotI* で切断した。その結果、北部ベトナムにおける2007~2008年コレラ流行株と、同時期のラオス、タイにおける分離株とは遺伝子背景的に近似の株であることが示唆された。2007年~2008年のコレラ流行は、近似菌株によるインドシナ半島全域に亘る流行であることが示唆された。また、北部ベトナムで1995年~2004年に分離されたコレラ菌株との比較も併せ行った。2007年~2008年のコレラ流行株は、それ以前に北部ベトナムで分離された株とは異なる遺伝子背景を持つことが示唆された。南部ベトナム地域では2010年もコレラの小流行がみられた。その際分離されたコレラ菌の切断ゲノム泳動パターンは2パターンに大別され、同地域では2つの異なる遺伝子背景を持つコレラ菌が同時に流行した事が示唆された。

## 線状ファージのコレラ菌ゲノムへの integrate

コレラ菌はその産生する CT により重篤な急性下痢症を引き起こすが、主要な病原因子である CT 遺伝子 (*ctxAB*) を外来性ファージ (CTXΦ) より獲得したとされている。また、*ctxAB* は CTXΦ の感染を介してそれを持たないコレラ菌に伝播され、新たな CT 産生コレ

ラ菌株出現の重要な原因となっている。CTXΦ 中の遺伝子 *rstA* の産物 RstA は CTXΦ の複製を助長し、*rstB* の産物 RstB は宿主ゲノムへの integrate を助長するとされている。一方、遺伝子 *rstR* の産物 RstR は局所で多量に産生され、プロモーターを介して *rstA* を抑制し、結果として CTXΦ の複製を抑制している。コレラ菌ゲノムのサテライトファージ RS1 上の遺伝子 *rstC* は、その産物 RstC を介して抑制因子 RstR の働きを抑制し、結果として CTXΦ の複製を助長する効果を持つ。同時に RstC は、RstR による *ctxAB* プロモーター抑制も解除するので、結果として CT 産生も助長する事となる。つまり RstC は、*ctxAB* 水平伝播による新たな毒素産生株の出現に貢献し、かつ個々のコレラ菌株の持つ毒素産生能を増強する、重要なコレラ菌病原因子の一つである。これまで病原遺伝子 *rstC* は El Tor 生物型および O139血清型コレラ菌ゲノムに存在する RS1 プロファージが主として保持するものとされたが、我々は線状ファージ fs2 も同様に遺伝子 *rstC* 遺伝子を保持し、生物型に関わらず、宿主ゲノムに integrate して、結果的に *rstC* 遺伝子を付与する事を示した。また線状ファージ fs1 も同様の振る舞いをする事が判明した (未発表データ)。すなわち、線状ファージ fs2 および fs1 は、コレラ毒素産生に関わる領域 (RS1 + CTXΦ) の上流および下流に integrate する事が示唆された。今後、その結果として過剰に *rstC* を獲得したコレラ菌の病原性の内、特に毒素産生能および CTXΦ 伝播能の変化を *in vitro* および *in vivo* で確認する事は意義が深いものと思われる。

## この研究の発表

は GCOE 表記のあるもの  
別表に記載

## 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 原虫学分野

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。

原虫感染赤血球と赤血球侵入型原虫に局在する熱帯熱マラリア原虫 SURFIN<sub>4.2</sub>と SURFIN<sub>4.1</sub>の輸送機序

我々は2005年に原虫感染赤血球表面と赤血球侵入型原虫表面に局在する一回膜貫通型タンパク質 surface-associated interspersed gene 4.2 (SURFIN<sub>4.2</sub>) と呼ぶ赤血球認識リガンド候補分子を同定し、報告した [ 1 ]。熱帯熱マラリア原虫は原虫分子を、感染赤血球内に形成するモーラー斑点と呼ばれる膜構造物を経て赤血球表面に輸送する。原虫感染赤血球表面と赤血球侵入型原虫表面という異なる二つの場所に局在する機序、および、各場所での機能的役割を理解するために、この分子の赤血

球への分子輸送機序を明らかにすることは重要である。例えば、赤血球への輸送が行われない際には、赤血球侵入型原虫表面への局在が増え、原虫の赤血球侵入能力が変化する可能性もある。現在のところ、マラリア原虫から感染赤血球への分子輸送には、①輸送される分子のアミノ末端側疎水性領域と5つのアミノ酸からなる Plasmodium export element (PEXEL) と呼ばれるモチーフを用いる PEXEL 依存性輸送と、②膜貫通領域を用いる PEXEL 非依存性輸送の2種類の経路が提唱されている。SURFIN<sub>4.2</sub>には PEXEL 様配列があるが、アミノ末端側疎水性領域が存在せず、赤血球への輸送が PEXEL 依存性か非依存性かは明らかでなかった。そのため、輸送経路、および、輸送に必要な領域を明らかにすることを目的に、種々の組換え SURFIN<sub>4.2</sub>タンパク質を熱帯熱マラリア原虫で発現し、GFP シグナルの顕微鏡観察と間接蛍光抗体法により各組換えタンパク質の局在を検討した。まず、SURFIN<sub>4.2</sub>の細胞外領域と膜貫通領域、細胞内領域のうちオルソログ・パラログ間で保存されている領域を緑色蛍光タンパク質(GFP)と融合したミニ SURFIN<sub>4.2</sub>が感染赤血球内およびモーラー斑点に局在することを確認することで、このアッセイ系を確立した。次いで、ミニ SURFIN<sub>4.2</sub>から細胞内領域を除くと、モーラー斑点に局在するが、赤血球内への局在はミニ SURFIN<sub>4.2</sub>と比べて減少することを明らかにした。さらに、細胞外領域のみを持つものは原虫細胞質に留まるため、SURFIN<sub>4.2</sub>の赤血球内およびモーラー斑点への輸送には膜貫通領域を必要とするが細胞内領域を必要としないことがわかった。SURFIN<sub>4.2</sub>の PEXEL モチーフ様配列を破壊しても、細胞外領域の種々の部位を除いても、細胞外領域の全てを除き、膜貫通領域直前の50アミノ酸に置換しても組換えタンパク質はモーラー斑点へ局在した。赤血球内へ輸送される原虫タンパク質は、原虫内では粗面小胞体を経由する古典的分泌経路を用いること、また、膜貫通領域は粗面小胞体移行シグナルとして機能することが知られているため、SURFIN<sub>4.2</sub>も同様に古典的分泌経路を経る可能性が示唆され、また、SURFIN<sub>4.2</sub>は PEXEL 非依存的

に輸送されることもわかった。一方、精製した原虫虫体から凍結融解により水溶性分子を抽出後、トリトン X - 100、sodium dodecyl sulfate (SDS) を順に用いて膜タンパク質を抽出し、各組換えタンパク質の性質を検討したところ、ミニ SURFIN<sub>4.2</sub> はトリトン X - 100 不溶性画分に多く見られるが、ミニ SURFIN<sub>4.2</sub> から細胞内領域を除くとトリトン X - 100 可溶性画分に多く見られることが分かった。上述したように、局在解析でも両者が異なるパターンを示しており、SURFIN<sub>4.2</sub> 細胞内領域が赤血球内局在および組換えタンパク質の可溶性に影響を与えていることが示唆された [ 3 ]

一方、熱帯熱マラリア原虫のゲノムには、SURFIN<sub>4.2</sub> を含めて10の SURFIN 相同体が存在するが、全 SURFIN メンバーについて、定量 RT - PCR により転写量を解析する系を確立し、複数の原虫株で赤血球サイクル中、8 時間ごとに転写解析を行ったところ、SURFIN<sub>4.2</sub> ともっとも相同性が高い SURFIN<sub>4.1</sub> の転写が多いこと、とくに分裂体期での転写量が他のメンバーと比較して顕著に多いことがわかった。SURFIN<sub>4.1</sub> は赤血球侵入型原虫表面には局在するが原虫感染赤血球には輸送されないとの報告があったため [ 2 ]、赤血球侵入に関与する分子として SURFIN<sub>4.2</sub> と同様に組換え SURFIN<sub>4.1</sub> を発現させて局在解析を進めたところ、以前の報告にもかかわらず、組換え SURFIN<sub>4.1</sub> はモーラー斑点到に局在することが分かった。このことは、SURFIN<sub>4.1</sub> の配列にモーラー斑点到に輸

送されるのに十分なシグナルが含まれている事を意味する。SURFIN<sub>4.2</sub> と同様に、種々の組換え SURFIN<sub>4.1</sub> を作成し、局在解析を行ったところ、SURFIN<sub>4.2</sub> の解析と同様の構成の組換え SURFIN<sub>4.1</sub> は相当する組換え SURFIN<sub>4.2</sub> と同じ局在を示し、SURFIN<sub>4.2</sub> の解析で得られた結果を検証する事が出来た。輸送に必要な領域をさらに詳細にする目的で、SURFIN<sub>4.1</sub> のアミノ基末端約50 アミノ酸の配列と膜貫通領域、約20アミノ酸の細胞内領域配列のみを融合タンパク質として発現させたところ、この組換え SURFIN<sub>4.1</sub> はモーラー斑点到に輸送される事が明らかとなった。この配列には PEXEL 配列は存在しておらず、マラリア原虫感染赤血球への新規原虫分子輸送シグナルが存在すると考えられる [ 4 ]、新規原虫分子輸送シグナル配列の同定とともに、このシグナルを認識する原虫の輸送メカニズムの全容を明らかにすべく、研究を進めている。

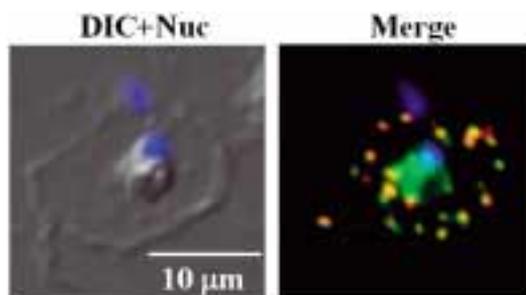


図 1 : 熱帯熱マラリア原虫にて発現した組換え SURFIN<sub>4.1</sub> タンパク質 (右図の緑) はモーラー斑点到マーカー (右図の赤) と共局在する。左図は Differential contrast image (DIC)。核(Nuc)は青色で標識されている。

## 参考文献

- 1) Winter G, Kawai S, Haeggstrom M, Kaneko O, von Euler A, Kawazu S, Palm D, Fernandez V, Wahlgren M 2005 SURFIN is a polymorphic antigen expressed on *Plasmodium falciparum* merozoites and infected erythrocytes. J. Exp. Med. 201 ; 1853 63 .
- 2) Mphande FA, Ribacke U, Kaneko O, Kironde F, Winter G, Wahlgren M 2008 SURFIN<sub>4.1</sub> , a schizont-merozoite associated protein in the SURFIN family of *Plasmodium falciparum* . Malar. J 7 : 116 .

## この研究の発表

### 論文

- 1) Alexandre JSF, Yahata K, Kawai S, Torii M, Kaneko O 2011 PEXEL-independent trafficking of *Plasmodium falciparum* SURFIN<sub>4.2</sub> to the parasite-infected red blood cell and Maurer's clefts. Parasitol. Int 60 ( 3 ) : 313 20 .

### 学会発表

- 1) Zhu X, Yahata K, Alexandre JSF, Kaneko O . " Recombinant *Plasmodium falciparum* SURFIN<sub>4.1</sub> protein is exported to the parasite-infected red blood cell" (oral) Joint International Tropical Medicine meeting 2011 Bangkok, Thailand . ( 2011 Dec . 1 2 ; " Prof. Sornchai Looreesuwan Foundation Award" 受賞 )

# 脳マラリア発症と宿主 T 細胞免疫応答

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、年間患者数 2 ~ 3 億人、死者約 100 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。ハマダラカに媒介されてマラリア原虫が人体に侵入すると、まず肝細胞に感染し（赤外型）、その後赤血球に感染を繰り返して増殖して発熱・貧血・肝脾腫などの症状を現す（赤内型）。ヒトで重症化するマラリアの多くは、熱帯熱マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* による感染である。熱帯熱マラリアでは、脳マラリアを初めとする重症マラリアと呼ばれる合併症があり、主要な死因となっている。疫学的研究から、脳マラリア発症には原虫サイドの要因のみならずヒト免疫応答が深く関わっていることが示唆されているが、病因・病態について不明な点が多い。しかしながらヒト脳マラリア研究は材料の入手が困難であり、限られたものとならざるを得ない。脳マラリアの動物モデルとして、マウスマラリア原虫 *Plasmodium berghei* ANKA 株を C57BL/6 マウスや CBA マウスに感染させると脳症状を呈して感染早期に死亡する動物モデルがある。このモデルについては、ヒト脳マラリアの病因・病態を正しく反映するか否かについて様々な議論はあるものの、実験的介入可能なモデルであり、脳マラリア発症機構の一側面を解析する有用なモデルであることは間違いない。本研究では、脳マラリア発症機構に関して、このモデルを用いて解析を行った。

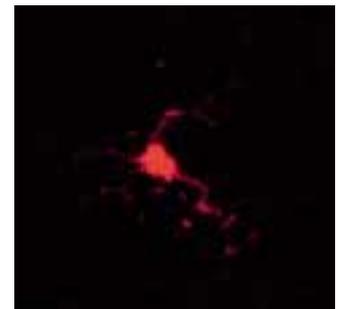
## 脳マラリア実験モデルと T 細胞の役割

実験的脳マラリアモデルでは、脳マラリアの発症に T 細胞、特に CD8<sup>+</sup> T 細胞の免疫応答が深く関わっていることが知られている。抗体を用いて CD8<sup>+</sup> T 細胞をマウス体内から除去した場合や、CD8<sup>+</sup> T 細胞がないマウスでは *P. berghei* ANKA に感染しても脳マラリアは発症しない。また脳マラリア発症には CD8<sup>+</sup> T 細胞のパーフォリン発現が重要であることも解明されている。しかしながら、CD8<sup>+</sup> T 細胞が脳マラリア発症に関わる

機構は明らかになっていない。本研究では、*P. berghei* ANKA 感染の際に T 細胞の免疫応答を調節することにより、脳マラリア発症における T 細胞の役割について解析することを目的とした。

## 樹状細胞の増殖と T 細胞応答

T 細胞を活性化する主要な細胞は樹状細胞であることから、樹状細胞の増殖因子 Flt 3 ligand (Flt 3L) の発現プラスミドをマウスに投与して *in vivo* で樹状細胞の増殖を促した。その結果、脾臓の樹状細胞は 10 倍程度に増えた。特に CD8<sup>+</sup> 樹状細胞の増殖が大きかったが、補助シグナル分子発現などを調べた結果、活性化状態は変化していなかった。樹状細胞以外では、脾臓の顆粒球が増加していた。これらのマウスに *P. berghei* ANKA を感染させたところ、Flt 3L 非投与群は脳マラリアを発症して感染早期に死亡したのに対し、Flt 3L 投与群は脳マラリアを発症しないか、発症しても軽度であり死亡例はなかった。原虫血症については、感染早期において Flt 3L 投与群で原虫血症の抑制が観察されたが、これは直接脳マラリア発症抑制とは関係なかった。樹状細胞増殖因子 Flt 3L の投与が脳マラリア発症抑制に働いたことから、樹状細胞により活性化される T 細胞に着目して解析を進めた。T 細胞分画では、Flt 3L 投与 *P. berghei* ANKA 感染群で CD8<sup>+</sup> T 細胞の著大な増加が観察された。これら T 細胞のマラリア原虫抗原に対する反応性については、Flt 3L 投与群と非投与群の間で著大な違いは観察されなかった。一方顆粒球も Flt 3L 投与群で増加していたが、抗体処理により顆粒球を除去しても脳マラリア発症に影響がなかったことから、顆粒球の増加は脳マラリア発症に直接関わっていないと考えられた。



樹状細胞

## CD 8<sup>+</sup> T 細胞の免疫応答

Flt 3 L 投与 *P. berghei* ANKA 感染群で CD 8<sup>+</sup> T 細胞の数が著明に増加していたことから、さらに詳細な解析を行った。興味深いことに、これら CD 8<sup>+</sup> T 細胞の多くは CD11c 分子を発現していた。CD11c は、樹状細胞のマーカーとしてよく用いられる分子であり、マラリア感染で活性化 T 細胞が CD11c 分子を発現することは、免疫細胞解析の際に重要な情報である。さらに活性化分子の発現を調べると、Flt 3 L 投与 *P. berghei* ANKA 感染群では非投与群と比べ CD44 と CXCR 3 発現細胞の比率が高まっていたが、CD25、CD137、granzyme B 発現は低下していた。Flt 3 L 投与群では、CD 8<sup>+</sup> T 細胞の数が上がるのみならず、活性化の様式も通常の活性化とは異なっていると考えられた。

脳に集積する CD 8<sup>+</sup> T 細胞を調べると、Flt 3 L 投与群では、脳マラリア症状は呈さないにも関わらず、非処理群 *P. berghei* ANKA 感染群（脳マラリアを発症）と同程度の CD 8<sup>+</sup> T 細胞の集積が観察された。即ち、CD 8<sup>+</sup> T 細胞の脳集積だけでは脳マラリア発症に至らないことが明らかになった。Flt 3 L 投与 *P. berghei* ANKA 感染群の脳に集積した CD 8<sup>+</sup> T 細胞は、非処理群に比べて CD11c 発現レベルや IFN- $\gamma$  産生細胞の比率も低く、

活性化の程度は低いと思われた。一方、脳に集積する感染赤血球数は、Flt 3 L 投与群では非投与群（発症群）と比較して低く、脳マラリアを発症しないことに関連していた。

## 脳マラリア発症における T 細胞の役割

実験的脳マラリアは、*P. berghei* ANKA 株感染 C57BL / 6 マウスに感染後特定の時期に発症する。原虫株、マウスの種類、感染時期等、様々な条件が複雑に関係している。本研究では、樹状細胞増殖因子の投与を介して、発症に関わる T 細胞側の因子を解析した。この研究から、CD 8<sup>+</sup> T 細胞の脳集積は脳マラリア発症には直接つながらないことが明らかになった。脳マラリア発症には少なくとも二つのステップがあることが推測される。①感染による T 細胞活性化と脳集積、②感染赤血球の脳集積である。各ステップにおける免疫活性化の閾値は異なっており、T 細胞の脳集積だけでは脳マラリアは発症しない。各ステップの決定因子は何か、今後さらに詳細な解析が必要である。また、Flt 3 L 投与により脳マラリア発症が抑制されたことは、この分子が脳マラリア発症抑制の新たな標的候補分子となる可能性を示している。

## この研究の発表

は GCOE 表記のあるもの

- 1) Tamura, T., Kimura, K., Yuda, M., Yui, K., Flt 3 ligand prevents the development of cerebral malaria during infection with *Plasmodium berghei* ANKA. *Infection and Immunity* 79(10), 3947-3956. 2011.

# マラリアの流行発生機構の解明と制御研究: 媒介蚊の研究を通して

長崎大学熱帯医学研究所

皆川 昇

## 背景

近年、ケニア各地でマラリア感染の低下が見られる。これは、マラリア対策として殺虫剤付きの蚊帳とアルテミシンをもとにした治療薬の普及の効果と推定されている。しかし、ビクトリア湖盆など一部の地域では、いまだに高い感染が維持されていることと、媒介蚊による殺虫剤抵抗性も報告されており、これらの対策だけでマラリアをなくすことは困難である。

さらに、近年の気候変動などの環境変化が、マラリア感染に負の影響を与えるのではないかと懸念されている。環境変化は、特に媒介蚊の生息地や成長に大きな影響を与えやすいからである。

## 目的

本研究では、これらの背景をふまえ、なぜ、ビクトリア湖畔など一部の地域でマラリア感染がいまだに高いかを媒介蚊の研究をとおして明らかにするとともに、よりよい対策法を提言することを目的とする。本年度は、これまで研究を行ってきた西ケニア・スバ地区の漁村において、特に下記のテーマについて研究をすすめた。

- 蚊帳の使用状況と有効性。
- ビクトリア湖に付随するマラリア媒介蚊繁殖地。

## 蚊帳の使用状況と有効性

これまでの調査で、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。その要因として、多くの子供は居間の床で寝ており、蚊帳の使用率が低い。ベッド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、居間の床で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ないため、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。

今年度は、蚊帳の使用が実際にマラリア感染を防ぐために有効であるか、そして、感染が年齢や寝る場所によって変化するかを検証した。

10歳以下の子供のマラリア感染検査を実施し、1548名のPCRをもとにした熱帯熱マラリアの感染データを分析したところ、蚊帳の使用が感染リスクを22%ほど減らすことが明らかになり、蚊帳の有効性が示された。年齢別に見ると2歳以下の子供の感染率に比べて、年齢が高い子供の感染率が20%ほど高かった。感染は、6歳位まで年齢とともに上昇したが、それ以降では増加が見られないか、やや減少傾向が見られた(図1A)。蚊帳の使用は、年齢と直線的な負の相関が見られたことから(図1B)年齢が低いほど蚊帳によって感染から守られているが、年齢が高くなるにつれて免疫などでも守られていることが示唆された。

また、床で寝る子供ほど蚊帳の使用が低いことから(図1C)、床で寝る子供をどうやって感染から守るかが今後の課題である。特に、小学生の感染率を下げるのが急務である。小学生は、感染リスクがたかうとも病気になるリスクは低い。保虫者として原虫の供給源となるからである。

対策としては、蚊帳を使用しない者も含めて家族全員を守るために屋根と壁の隙間に殺虫剤付きの網を張る、また、蚊帳は成虫を対象としているので、幼虫駆除も同時に行うなどが考えられる。

## ビクトリア湖に付随する 媒介蚊繁殖地

ビクトリア湖で広がっている外来種のホテアオイがマラリア媒介蚊(フネスタス: *Anopheles funestus*)の繁殖地になり、マラリア流行につながるのではないかと懸念されていたが、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明らかになった。

さらに湖の潜在的な繁殖地の調査を続けたところ、植物などで囲まれ、波の影響を受けない浅瀬では、これまで湖での繁殖が否定されてきた感染能力の高いガンビエ (*Anopheles gambiae* s.s.) やアラビエンシス (*Anopheles gambiae* s.s.) が繁殖していることが確認できた。また、湖岸沿いの湿地は、水が湖から供給されるため比較的安定しており、フネスタスを中心に、ガンビエやアラビエンシスも1年を通して繁殖することが確認された。特にフネスタスは、湿地のホテイアオイが繁殖する場所により多く見られた。

これらの湿地が多い地域では、子供の感染が他の地域に比べて倍以上高く、1年を通して高い感染を維持していることも今年度の調査で明らかになった。しかし、これらの湿地は湖の水位変化の影響を受けるため、水位が下がった去年暮れから今年の前半にかけての期間は、媒介蚊の数が減少し、子供の感染も湿地があまりない地域と同じレベルに減少した。よって、湿地を埋め立てるなどの処置を施せば、感染を低く抑えられることが示された。

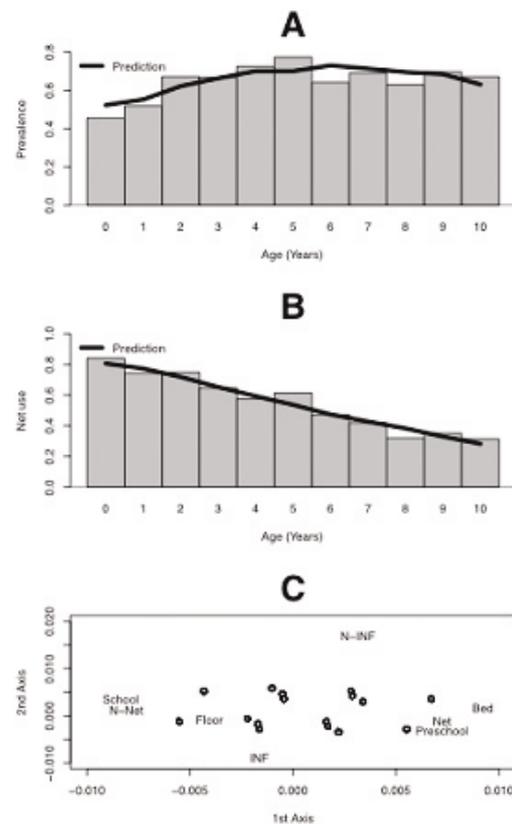


図1 年齢とマラリア感染(A)と蚊帳使用(B)の関係と寝場所と蚊帳使用、及び年齢(小学生かそれ以下の子供)間関係(C)。

## この研究の発表

### は GCOE 表記のあるもの

- Chaves LF, Hashizume M, Satake A, Minakawa N. 2011. Regime shifts and heterogeneous trends in malaria time series from Western Kenya Highlands. *Parasitology*. 14:1-12.
- Kawada H, Futami K, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Sonye G, Mwatele C, Njenga SM, Mwandawiro C, Minakawa N, Takagi M. 2011. Distribution of a Knockdown Resistance Mutation (L 1014 S) in *Anopheles gambiae* s.s. and *Anopheles arabiensis* in Western and Southern Kenya. *PLoS ONE*. 6(9):e 24323
- Kawada H, Dida GO, Ohashi K, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Sonye G, Maekawa Y, Mwatele C, Njenga SM, Mwandawiro C, Minakawa N and Takagi M. 2011. Multimodal pyrethroid resistance in malaria vectors, *Anopheles gambiae* s.s., *Anopheles arabiensis* and *Anopheles funestus* s.s. in Western Kenya. *PLoS ONE*. 6:e 22574.
- Zhou G, Afrane YA, Vardozalik AM, Atieli H, Zhong D, Wamae P, Himeidan YE, Minakawa N, Githeko AK and Yan G. 2011. Changing patterns of malaria epidemiology between 2002 and 2010 in western Kenya: the fall and rise of malaria. *PLoS ONE*. 6:e 20318.
- Futami K, Kongere JO, Mwanja MS, Lutiali AP, Njenga SM and Minakawa N. 2011. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Anopheles arabiensis*. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 27:81-83.

# 赤痢アメーバの病原性に関する研究

熱帯医学研究所 寄生虫学

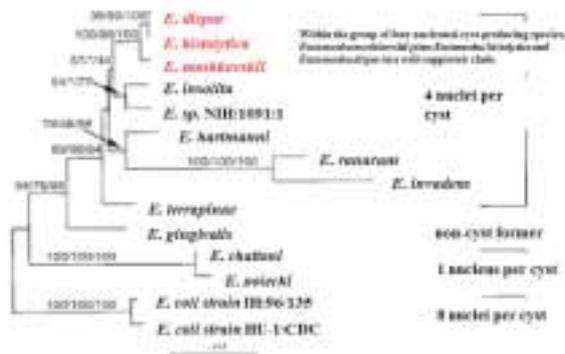
濱野真二郎

## 要 約

本研究では、バングラデシュ・ダッカのスラムにおいて展開する乳児下痢症のコホート研究から、*Entamoeba moshkovskii* のヒトにおける下痢原性が示唆された。

## 背 景

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な原因の1つである。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。*E. moshkovskii* は1941年に同定されたアメーバであり、当初、自由生活性アメーバであると考えられていた。1961年 Texas の Laredo で下痢、体重減少を呈する患者から分離された株が *E. histolytica* Laredo 株と命名されたが、この株は *E. moshkovskii* と生物学的特徴を共有しており、後に *E. moshkovskii* と同一であることが判明した。



Silberman J.D. et al. Mol. Biol. Evol.16(12):1740?1751.1999

上述のように *E. moshkovskii* はヒトに寄生可能なアメーバであり、下痢患者から分離されたエピソードのある病原体である。近年の分子生物学的手法の発達により、*E. moshkovskii* が発展途上国において高頻度に感染していることが判明してきているが、ヒトにおける病原性についてはようやく研究が端緒についたばかりである。昨年度までの研究から、病原性が未確定の *E. moshkovskii* は、病原性 *E. histolytica* と同様 CBAJ

や C3H/HeN、C3H/HeJ マウスの腸管に定着できることが明らかとなった。また、上記マウスにおいて *E. histolytica* は中程度の炎症を惹起して慢性感染に移行した。一方、*E. moshkovskii* は下痢症状に加えて典型的なイチゴゼリー状の粘血便を引き起こすなど激しい炎症を惹起し、感染 8 - 12 日目をピークに有意な体重減少を引き起こし、およそ 2 週間で腸管から排除された。一方、非病原性アメーバ *E. dispar* は上記マウスの腸管に定着できなかった。

## *Entamoeba* spp. と乳児下痢症

我々はバングラデシュ国際下痢症研究センター、ヴァージニア大学と共同してバングラデシュ・ダッカのスラム街ミルプールにおいて下痢に関する新生児・乳児のコホート研究を展開している。24時間以内に 3 回以上の非固形便を認めたら下痢と定義し、本研究では新生児・乳児の下痢検体中から *Entamoeba* spp の検出を試みた。

新生児・乳児 385 人を出生後 12 ヶ月に渡って隔日でモニタしたところ、計 1426 回の下痢エピソードを記録した。1426 回の下痢エピソード中、*E. moshkovskii* は 42 例 (2.95%) で陽性を示し、病原性 *E. histolytica* の陽性 66 例 (4.63%) に匹敵した。一方、健常人で最も蔓延する非病原性 *E. dispar* の検出は 5 例 (0.35%) にとどまった。

(Shimokawa C. et al. J Infect Dis, in press)

## 下痢と *E. moshkovskii* 感染の因果関係

*E. moshkovskii* は 1426 回の下痢エピソード中 42 例 (2.95%) で陽性を示した。この 42 例の下痢エピソードと *E. moshkovskii* 感染の因果関係を調べるために、上記下痢検体中に、他の下痢原性病原体を培養や ELISA、(RT-) PCR マルチプレックスアッセイで検出しようと試みた (10 種類の細菌、7 種類の原虫、6 種類のウイ

ルス)、*EIEC/Shigella spp* は23例で陽性、*EAEC* は15例、(pathogenic) *Aeromonas* は14例、*Giardia intestinalis* は10例で陽性を示すなど、実に17種の病原体が検出された。検査の感度が高く、*E. moshkovskii* の単独感染は42例中わずか2例(4.8%)であった。本コホート研究の他の下痢検体でも平均して2例以上の病原体が検出された。下痢エピソードと *E. moshkovskii* の感染の相関関係を明らかにするために、下痢と *E. moshkovskii* 感染を時間軸に沿って調べてみた。すると、*E. moshkovskii* 陽性下痢患者42名の内、39名はその1月前の定期検査固形便において *E. moshkovskii* 陰性であり、*E. moshkovskii* 感染の時期と下痢エピソードが時間的に一致することが示唆された。(Shimokawa C. et al. J Infect Dis, in press)

## 考察

本年度の研究から *E. moshkovskii* のヒトにおける下

痢原性が示唆されたので、ヒトにおける病原性のさらなる検討が必要である。マウスモデルを用いた研究より *E. moshkovskii* が病原性 *E. histolytica* と同様の宿主域を示し、下痢と体重減少を主体とした臨床症状を引き起こすこと、さらに、*E. histolytica* と *E. moshkovskii* がマウス腸管において全く異なる感染動態を示すことが判明している。つまり、一旦感染が成立した後、*E. histolytica* は慢性持続性感染に移行するが、*E. moshkovskii* は感染14日目までに排除された。この現象は一義的には *Entamoeba spp.* の違いによるものであり、非病原性アメーバ *E. dispar* も加えた病原性因子の探索に道を拓くものである。一方、宿主サイドから見ると、CBA/Jマウスにおける *E. histolytica* 感染はアメーバが持続感染する系を、*E. moshkovskii* 感染はアメーバが排除される典型的な系を提供するものであり、赤痢アメーバに対する感染防御機構を研究する上、非常に有用な研究基盤をなす知見である。

## この研究の発表

### 論文 は GCOE 表記のあるもの

1. Matsuzaki, C.M., Tu, L., Ishida, H., Imai, T., Suzue, K., Hirai, M., Tetsutani, K., Hamano, S., Shimokawa, C., Hisaeda, H.: A critical role for phagocytosis in resistance to malaria in iron-deficient mice. *Eur. J. Immunol.* 2011;41(5):1365-75.
2. Nakaya, M., Hamano, S., Yoshida, H., Yoshimura, A., Kobayashi, T.: Aberrant IL-4 production by SOCS 3-overexpressing T cells during infection with *Leishmania major* exacerbates disease manifestations. *Int. Immunol.* 2011;23(3):195-202.
3. 原田倫世、濱野真二郎：アメーバ赤痢やクリプトスポリジウム症の現状と最新の知見、*化学療法の領域*2011 ; 27(4) : 72-79 .

# 複数感染症に対する一括抗体価測定に関する研究開発と社会実装に関する研究

金子 聡

## 要 約

サハラ砂漠以南のアフリカ諸国においては、先進国では問題とならない感染症、いわゆる「顧みられない熱帯病 (Neglected Tropical Diseases: NTDs)」が未だ猛威をふるっている。その対策の要となるはずの実態把握は遅々として進んでいない。本研究では、multiplex 解析技術を用いて、複数の熱帯病病原体に対する抗体を一括して検出する検査系の開発を行い、さらにその開発技術を Health and Demographic Surveillance System (HDSS: 人口登録・動態調査システム) を運用する Mbita 地区ならびに Kwale 地区において、実際に抗体価測定に応用する試験を実施し、その評価を行うことを目的とした。今回、一括に複数の病原体に対する抗体を測定する系の確立が可能であること、さらに多数の検体に関しての検査も容易であること、病原体・サンプル当たりのコストもこれまでの単体の検査法に比べ安価なことが明らかになった。顧みられない熱帯病に対する一括した抗体測定系の開発はこれまでに行われていないことや抗体価の測定も可能であり、その分布から地域における各種感染症の拡がりの把握が可能であるなどから、今後、今回明らかとなった問題点を解決し、開発研究を進めれば、顧みられない熱帯病の実態把握への有効なツールとなる事が期待される。

## 背 景

「顧みられない熱帯病 (Neglected Tropical Diseases: NTDs)」は、1997年のデンバー (アメリカ) での G7 サミットにおける橋本首相 (当時) による国際寄生虫対策イニシアティブの提唱を契機に、1998年のバーミンガム G8 サミット (イギリス) での橋本イニシアチブ、2000年の九州・沖縄サミットでの沖縄感染症対策イニシアティブ (Okinawa Infectious Diseases Initiative: IDI) と注目を集め、2008年5月の TICAD IV (第4回アフリカ開発会議) の横浜宣言、2008年の洞爺湖サミットでの洞爺湖行動指針へと繋がり、国際的な課題として、2009

年クライア G8 サミット (イタリア)、2010年ムスコカ G8 サミット (カナダ) においても、その対策の重要性が述べられるようになった。

しかしながら、その対策の実態は、世界エイズ・結核・マラリア対策基金等の新しい資金メカニズムが確立され、一定の効果を上げつつある三大感染症 (エイズ、結核、マラリア) とは異なり、問題解決に向けた取り組みはいまだ不十分で、顧みられない熱帯病は、いまだ途上国を中心に蔓延した状態が続いている。

このような状況を鑑み、世界保健機関 (WHO) では、2008年に NTD 部門を設立し、その対策を急いでいる。しかし、その対策の主体は、1) 同じ治療薬で効果がある複数の疾患に対する治療、2) 類似の媒介動物への対策の2つであり、「感染実態の把握」に関する戦略は、明確には打ち出されていない。

「感染実態の把握」には、複数種類に及ぶ NTD の実態把握が必要ではあるが、複数の感染症が同時に感染している状況においては、各感染症の実態把握を個別にそれぞれ異なる診断法を用いて行う事は、住民への負担が大きく、資源的にも問題がある。もし、一度の検査で複数の感染症診断が可能になれば、熱帯病流行地域における感染症流行状況の把握が飛躍的に容易になる。昨今、multiplex 解析という新しい手法が開発された。100種類の抗原・抗体を一度に調べることを可能とする技術である。この新技术を用いることにより、上記問題の解決を行う糸口となることが期待される。今回この技術を用いた開発を展開すると共に、実地での評価を行った。

## Multiplex 法を用いた血清検査

Luminex 社が開発した Multiplex 法は、蛍光ビーズを用いたフローシステムである。異なる蛍光を持つビーズに、それぞれ異なる血清診断用の抗原を結合させて一つの血清検体と反応させる事により、同時に複数の抗原に対する抗体を、個別かつ定量的に検出する事ができる。この方法により、複数の ELISA を同時に、一括して行うことが可能になったと言える。また、複数の感染症に

対する血清検査を行う場合、個別に行う ELISA と比較して、使用する血清量が少量で、しかも、短時間に測定を終了できるという利点もある。今回、我々が導入した Multiplex 機器は100種までのビーズを同時に検討できるものであり、従って、検査抗原が増える程に利点が増すことになる。すでに Multiplex 法を用いた感染症に対する検査キットが幾つか発売されているが、熱帯感染症を対象としたものは存在しないことから、今回、独自に開発を行うこととなった。

一つの反応系で複数の抗原が存在する検査系であることから、抗原間の抗体に対する競合反応を避けるために、抗原はすべて大腸菌系で発現・精製した組換えタンパク質とした。

現在の調査では検体は血清としているが、ろ紙上に採血した微量の全血でも同等に機能する事を実験的に確認している。

## 開発対象とした感染症

今回の開発系においては、複数の病原体（抗原）に対して、同時一括に抗体の測定が可能であるかを試験することが一つの重要な課題であったことから、初期の Multiplex 法開発対象は、抗原 DNA の入手が容易であったリンパ系フィラリア症、リーシュマニア症、赤痢アメーバ症とした。主要感染症である HIV、結核、マラリアは NTD の基礎疾患となりうるために加え、また、トキソプラズマ症は、HIV により発症リスクが高まるために対象に加えた。

## 血清疫学調査

2011年7月から8月にかけて、長崎大学熱帯医学研究所ケニア教育研究拠点の2カ所のフィールドにおいて稼働している人口登録・動態追跡調査システム（Health and Demographic Surveillance System:HDSS、Kwale 地区4万5千人、Mbita 地区5万5千人）のデータベースから、性、年齢階級別に無作為に抽出された一般住民、3,500人に対して、本開発技術を用いた血清疫学調査を

## この研究の発表

は GCOE 表記のあるもの  
現在執筆中

行う目的の採血調査を行った。この調査は、ケニア中央医学研究所の協力のもと、日本とケニア双方における倫理審査の承認を得た上で実施された。事前に、地域との会合を持ち、地域での合意の上、さらに採血時には、個人からの同意を得た上で採血を行った。採血は、あらかじめ指定した村落毎の採血場所に無作為抽出により選ばれた住民に集まってもらい、ケニア人医療関係者により採血を行った。すべての検体は、ナイロビのケニア中央医学研究所内に設置した Multiplex 機器により、抗体の測定を行った。

複数の検体に対する解析の結果、擬陽性と考えられる状況が発生したが、その後の追加確認実験を行い、この擬陽性の起こる原因は、Multiplex 法で用いている検査ビーズ本体に対する抗体をもつ住民が複数存在し、その反応を測定した結果であるということが判明した。その後の検討により、この状況を打開する方法を実験的に確かめたので、今後は、より正確な解析結果を得ることが可能と思われる。現在、この新しい方法により、抗体の再測定を行っているところである。

## 今後の開発計画

ケニア共和国では、2011年11月に NTD 対策プランを作成している。1．リンパ系フィラリア症、2．リーシュマニア症、3．住血吸虫症、4．トラコーマ、5．土壌伝播寄生虫症、6．包虫症（エキノコッカス症）の6種を対象としている。今後、住血吸虫症、トラコーマ、包虫症を検査ビーズに加えることにしている。

今回の研究には、以下の研究者が協力した。

藤井仁人、谷川智洋、三浦雅史、Matil Mwau、James Kimotho、Samson Muuo Nzou、Mohamed Karama、Mwatasa Changoma (Juma)、Ibrahim Kiche、Anne Wanjiru Mwangi、金子 聡、Mbita と Kwale の各コミュニティと地域行政の方々。

# デング出血熱の早期予測因子の同定

熱帯医学研究所 免疫遺伝学

平山謙二

## 要 約

デングウイルス感染症は熱帯地域で流行する蚊媒介性疾患の中でも重要な感染症である。特に再感染後約3分の1が重症化し出血熱あるいはショック症候群を発症する。特にショック症状を呈した場合は致死率が上昇するため慎重な輸液や出血の管理など病院での集中的な治療を行う必要がある。ベトナムやフィリピンなど高度流行地では時期によっては多数の患者が小児病棟を埋め尽くし、重症化リスクの高い患者を早期に識別することが集中的な患者管理のために喫緊の課題となっている。本研究ではデング出血熱のうち、特に重篤なショック症候群を呈した小児の入院初期の血液サンプルを多数集め、ショックに陥らなかった出血熱患者集団のそれと比較し早期に識別可能なバイオマーカーの検出を試みた。その結果、血漿中の遊離 DNA レベル、およびマスト細胞由来キマーゼおよびトリプターゼレベルが重症化群で上昇することを明らかにした。

## 背 景

デング熱はネッタイシマカという熱帯地域に生息する蚊によって媒介されるウイルス感染症である。1980年代より急激にその数を増加させている。媒介蚊が多数発生し、患者が密集する地域ではいつでも大流行する危険性がある。デングウイルスに感染すると5日間ほどの潜伏期の後に高熱や骨の痛み、だるさなど風邪と類似した症状を呈するデング熱 Dengue Fever (DF) を発症する人が存在する。発熱した日を発熱1日目 day 1 と称するが、この時期にはウイルスが体内や血液中で検出される。その後、たいていの場合軽症で治癒することが多いが、一部では重症化し皮下出血や紅斑などが出現し高熱も持続するために、診療所や病院を受診することとなる。この時期はすでに発熱から数日を経過していることが多く、早くて発熱3日目から4日目となる。診察する医師は重症度を判定しいわゆる致死率の高いショック症候群

DSS を起こす危険度の高い警戒症状 Warning sign を呈している患者を優先して入院させ更なる医療管理を行うことになる。Warning Sign は実際の病院での必要度を鑑み WHO が2年前に提案した基準であり、現在までのところ世界各地で活用されそれなりの効果を上げている。従来デング出血熱の診断基準として挙げられていた症状を個別化して半定量的に重症度判定に用いるもので、より臨床現場での実用に即したものとなっている。しかし、この基準で判定してもなおかつ相当数の入院患者を抱える必要があり、さらなる重症化予測因子の発見あるいは応用が喫緊の課題となっている。

## ベトナムにおけるデング出血熱の流行

ベトナムの南部は熱帯地域であり、近年の経済発展に伴い、ホーチミン市など都市部への人口集中は著しいものがあり、毎年患者の発生があり、また死亡例も報告されている。近年はさらに流行域が北部に拡大してきており、ハノイでも流行がみられるようになった。

## デング出血熱の病態

重症化を引き起こす原因は明らかではないが、増殖したウイルス粒子は免疫系を刺激し炎症性の反応を惹起し、最も重症化した場合、全身の血管の透過性が一気に亢進し血漿の漏出が起こる。あるいは凝固系の異常から出血が引き起こされるが、これらの重症化に至る例は入院患者の1 - 3割程度であると思われる。

## デング出血熱早期予測因子探索

対象とした患者はホーチミン市内の第2小児病院と近郊のピンロン県予防医療センターの二つの病院を訪れ、入院治療した小児のうち、研究の条件に合致した者を選び出し、本人あるいは保護者の承諾を得たうえで各種検査を行った。WHOの診断基準に従って、デング出血熱

(DHF)およびデングショック症候群(DSS)の診断を行った。対照としては、二つの病院の近郊の同年齢の健常小児をおよびデング熱疑いであったがデング陰性と判定された有熱患者を用いた。その結果、図に示すように、遊離DNAのレベル、およびマスト細胞の顆粒由来のキマーゼ、トリプターゼレベルがDSS患者で入院時より有意に上昇していることを発見した。今後簡便な早期臨床診断キットやショック症候群予防薬の開発へと発展させる予定である。なおこの研究は、熱研ウイルス分野森田教授、東京大学古田博士、慈恵会医科大学渡邊教授、ホーチミンパスツール研究所Huong部長、Lan室長、ホーチミン市第2小児病院、ビンロン県総合医療センターの協力により行われた。

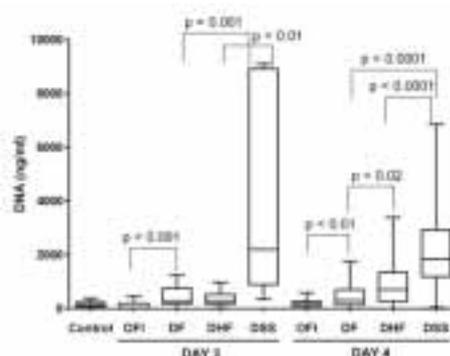


図1. 遊離DNAレベルの重症デングでの上昇

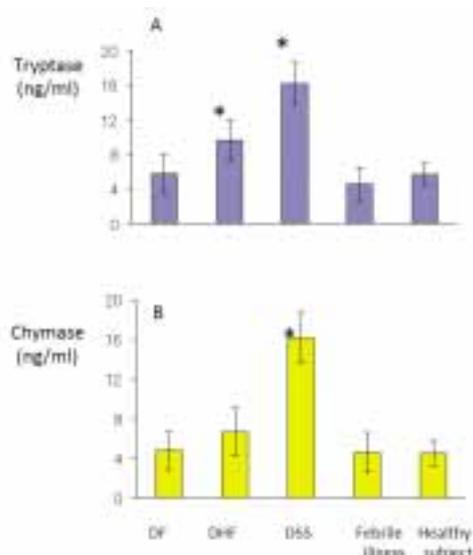


図2. 発熱3日あるいは4日目でのマスト細胞特異的のプロテアーゼの血漿レベル

## この研究の発表

### 論文 はGCOE表記のあるもの

1. Ha TT, Huy NT, Murao LA, Lan NT, Thuy TT, Tuan HM, Nga CT, Tuong VV, Dat TV, Kikuchi M, Yasunami M, Morita K, Huang VT, Hirayama K. Elevated levels of cell-free circulating DNA in patients with acute dengue virus infection. *PLoS One*.2011;6(10):e 25969. Epub 2011 Oct 7.
2. Furuta T, Lyre Anni Murao LA, Nguyen TPL, Nguyen TH, Vu TQH, Tran TT, Vo DT, Cao TPN, Tran TNH, Ohmoto Y, Kikuchi M, Morita K, Yasunami M, Hirayama K, Watanabe N. Association of Mast Cell-Derived VEGF and Proteases in Dengue Shock Syndrome. Association of Mast Cell-Derived VEGF and Proteases in Dengue Shock Syndrome. *PLoS Negl Trop Dis*(2012)6(2):e 1505.doi:10.1371/journal.pntd.0001505
3. Garcia G, del Puerto F, Pérez AB, Sierra B, Aguirre E, Kikuchi M, Sanchez L, Hirayama K, Guzmán MG. Association of MICA and MICB alleles with symptomatic dengue infection. *Hum Immunol*.2011 Oct;72(10):904-7.Epub 2011 Jul 1.
4. Garcia G, González N, Pérez AB, Sierra B, Aguirre E, Rizo D, Izquierdo A, Sánchez L, Diaz D, Lezcay M, Pacheco B, Hirayama K, Guzmán MG. Long-term persistence of clinical symptoms in dengue-infected persons and its association with immunological disorders. *Int J Infect Dis*.2011 Jan;15(1):e 38-43.Epub 2010 Nov 26.

## ワクチンと感染症治療 DDS の開発

長崎大学病院 薬剤部 熱帯医学研究所 免疫遺伝学  
佐々木 均 平山 謙二

### 要 約

樹状細胞標的技術を用いたマラリアナノワクチンの作用メカニズムを検討し、CD40を介した免疫誘導によりワクチン効果を発揮する可能性を明らかにした。また、呼吸器感染症の治療に用いることのできる肺指向性のナノボールおよび肝疾患の治療に用いることのできる肝指向性のナノボールを開発することに成功した。

### 背 景

我々は、様々な電荷を持った化合物を静電的に自己組織化させることにより、細胞毒性や血液毒性を示すことなく、臓器特異的に薬物取り込みや遺伝子発現できる画期的な遺伝子ベクター（ナノボール）を開発した。特に、 $\gamma$ -ポリグルタミン酸を被膜したナノボールは、脾臓の辺縁体に存在する樹状細胞で選択的に遺伝子を発現した。そこでマラリア抗原 pDNA を含有したナノボールを製作し、マラリアナノワクチンへ応用した結果、マラリア感染を顕著に抑制することに成功した。そこでナノワクチンの免疫誘導機構を詳細に検討した。

また、呼吸器感染症やウイルス肝炎の治療を目的に、新たに肺指向性ナノボールおよび肝指向性ナノボールの開発を行った。

### マラリアナノワクチンの作用メカニズムの解明

平山教授と共同で、高い免疫誘導効果を示したマラリアナノワクチンの作用機構を研究した。マラリアナノワクチンをマウスに各種投与方法（静脈内投与、皮下投与、腹腔内投与）で投与後、MHC class II の発現、共刺激分子およびサイトカイン産生を測定した。

その結果、ナノワクチン投与群はいずれの投与方法においても、マラリア抗原 pDNA のみを投与した群に比べ、脾臓の樹状細胞比率および MHC class II の発現が有意

に高かった。また、共刺激分子の CD40 も有意に上昇することを確認した。さらに、マラリアナノワクチンを投与したマウスの血清中 IL 12 および IFN  $\gamma$  産生はマラリア抗原 pDNA のみを投与したマウスと比較して有意に増加した。したがって、マラリアナノワクチンは、樹状細胞で選択的に抗原遺伝子を発現し、CD40 を介して免疫を誘導してワクチン効果を発揮する可能性が示された。

その他、同様の脾臓指向性を有するベクター（ナノボール）として、葉酸を用いた新規遺伝子ベクターを開発することにも成功した。

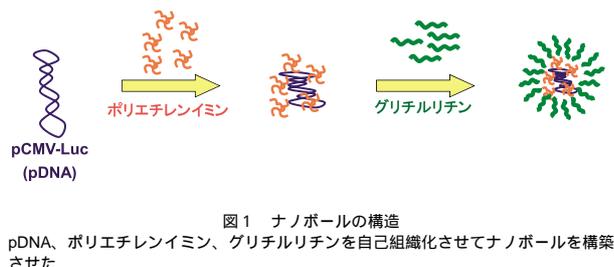
### 肺指向性ナノボールの開発

インフルエンザ等の呼吸器感染症の治療には、肺へ選択的に薬物を送達することのできる DDS が望まれている。そこで、ルシフェラーゼをコードした pDNA を薬物モデルとして、肺指向性遺伝子ベクター（ナノボール）の開発を行った。既に予備実験で、経皮吸収促進薬として知られる N ラウロイルサルコシン（LS）をカチオン性リポソームに加えることで肺指向性を付与できることを明らかにしている。各種調製条件を検討した結果、pDNA、ポリエチレンイミン、LS 含有カチオン性リポソームを自己組織化させた安定なナノボールの構築に成功した。このナノボールをマウスへ静脈内投与した結果、肺における遺伝子発現は市販のベクターと比較して約 160 倍高かった。さらに、ナノボールは従来のベクターに比べ細胞毒性および血液毒性が大幅に軽減した。これらの結果から肺指向性ナノボールは呼吸器感染症治療の DDS として期待できる。

### 肝指向性ナノボールの開発

ウイルス性肝炎などの肝臓疾患の治療には、肝臓に選択的に薬物を送達することのできる DDS が望まれている。グリチルリチンは肝保護作用のある医薬品として臨床使用され、肝細胞に特異的な結合で取り込まれること

が知られている。そこで、ルシフェラーゼをコードした pDNA を薬物モデルとして、グリチルリチンを新規成分とした肝指向性遺伝子ベクター（ナノボール）の開発を行った。各種調製条件を検討した結果、pDNA、ポリエチレンイミン、グリチルリチンを自己組織化させた安定なナノボールの構築に成功した（図 1）。このナノボールをマウスへ静脈内投与した結果、市販のベクターと比



較して肝臓で 5 倍以上の高い遺伝子発現を示した。さらに、ナノボールは従来のベクターに比べ細胞毒性および血液毒性が大幅に軽減した。また、インスリン発現 pDNA を用いて作製したナノボールをマウスへ静脈内投与した結果、インスリン産生による血糖値の低下を認めた（図 2）。これらの結果から肝指向性ナノボールは肝臓疾患治療の DDS として期待できる。

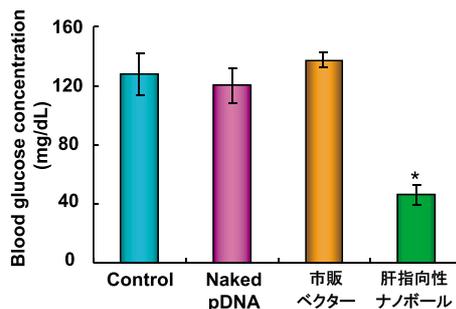


図 2 インスリン発現 pDNA を含有した肝指向性ナノボール投与 24 時間後の血糖値  
マウスへインスリン発現 pDNA のみ（naked pDNA）、インスリン発現 pDNA 含有市販ベクター（市販ベクター）またはインスリン発現 pDNA 含有ナノボール（肝指向性ナノボール）を投与 24 時間後の血糖値を測定した。Naked pDNA および市販ベクター投与では血糖値の低下は見られなかったが、肝指向性ナノボール投与では control と比較して有意に血糖値の低下が認められた

## この研究の発表

### 論文 は GCOE 明記があるもの

- 1 . Kurosaki T, Morishita T, Kodama Y, Sato K, Nakagawa H, Higuchi N, Nakamura T, Hamamoto T, Sasaki H, Kitahara T. Nanoparticles electrostatically coated with folic acid for effective gene therapy. *Mol Pharm*, 2011, 8 (913-9)
- 2 . Kurosaki T, Yamashita Y, Aki K, Harasawa H, Nakagawa H, Kodama Y, Higuchi N, Nakamura T, Kitahara T, Sasaki H. Secure and effective gene vector of polyamidoamine dendrimer pharmaceutically modified with anionic polymer. *J Pharm Sci*, 2011, 100 (4855-63)doi: 10.1002/jps.22701
- 3 . Cherif MS, Shuaibu MN, Kurosaki T, Helegbe GK, Kikuchi M, Yanagi T, Tsuboi T, Sasaki H, Hirayama K. Immunogenicity of novel nanoparticle-coated MSP-1 C-terminus malaria DNA vaccine using different routes of administration. *Vaccine*, 2011, 29 (9038-50)

# 国家戦略としての CBRN 対抗医薬品開発

医歯薬学総合研究科

池田正行

## CBRN 対抗医薬品開発の必要性

近年、世界各地において様々な感染症が発生し、人々の健康を脅かしている。交通手段のグローバル化に伴い、これまで日本では発生しなかった感染症やバイオテロリズムの危険にさらされる可能性に備える必要がある。2011年3月に起こった福島での原発事故は、Chemical、Biological、Radiological & Nuclear (CBRN) agents による健康被害を予防ないし治療する医薬品（以下 CBRN 対抗医薬品）開発の必要性を我々に教えた。

CBRN 対抗医薬品を開発するためには、BSL 4（バイオセーフティレベル4）に代表されるような研究施設に加えて、候補分子を人に対する予防薬・治療薬として臨床的に使えるようにするための特殊な開発と規制が必要である。

2011年3月、第一原発が極めて深刻な事態を迎えていた時に、我々はある米国企業から、FDA でも未承認の急性放射線障害治療薬の日本での臨床使用についてコンサルテーションを受けた。その結果明らかになった問題は、放射線障害ばかりでなく、CBRN 対抗医薬品開発・規制全般に共通するものだった。なお、本研究の成果は既に Lancet (1)、Annals of Internal Medicine (2) で発表済みである。

## CBRN 対抗医薬品開発の問題点

コンサルテーションの具体的内容は、海外でも未承認の急性放射線障害治療薬を、原発事故に対処する作業員に投与しなくてはならない事態が出来た場合、どのような手続きをすれば、日本に輸入して使用できるのかであった(1)。

規制当局との緊急協議の結果、以下の問題点が明らかとなった(1)。

1. 対照を置いた臨床試験ができず、動物モデルにおける有効性と健常人への安全性データのみでヒトに投与

しなければならない特殊な医薬品の開発に対して、欧州、日本にはルールがない。唯一、米国食品医薬品局 (FDA) のみが、「Animal Rule」と呼ばれるガイドラインを作っている。

2. 研究倫理に基づき、緊急事態下における健康被害者への CBRN 対抗医薬品投与のデータを効率良く収集する、いわば emergency GCP (臨床試験の実施基準) というべき制度が、全世界的に見ても全く未整備である。

3. CBRN agents はいつ、どこで発生するか分からず、その健康被害は容易に国境を越え複数の国の問題となり得るため、一国だけで開発・規制を考えても意味が無い。にもかかわらず、CBRN 対抗医薬品の開発・規制に関しては、国際調和 (harmonization) が全く行われていない。

## Animal Rule の必要性

CBRN 対抗医薬品の臨床試験は倫理的に許されないため、予めヒトで有効性を検証することができない。そのため、CBRN agents による健康被害の動物モデルを確立し、そのモデルにおいて検証された有効性と健常なヒトにおける安全性試験（第一相試験）のデータをパッケージとして承認申請を行うことになる。このような特殊な開発と承認申請に対しては、特別な規制要件を明文化する必要があるが、ガイドラインを明らかにしているのは、ICH (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use 日米 EU 医薬品規制調和国際会議) での三極のうち FDA のみであり、欧州医薬品庁 (EMA) もわが国も未策定である。

## Emergency GCP

CBRN 対抗医薬品は通常の Controlled Clinical Trial が

不可能ゆえに、緊急事態下でいきなり臨床使用せざるを得ない。言い換えれば、緊急事態下での使用だけが、唯一の貴重な臨床データを得る機会であり、有効性と安全性の両面にわたって良質なデータを効率よく取得すると共に、倫理的に重大な問題が生じないように配慮する必要がある。ところが、現行の GCP ( Good Clinical Practice ) はあらかじめ計画された臨床試験を大前提としているため、CBRN 対抗医薬品の実地使用には適用できない。そのため、現状下では、CBRN agents による健康被害が起こっても、CBRN 対抗医薬品の適正使用もデータ取得も不可能である。実際に、2011年3月の福島原発事故の際には、効能効果や用法用量を全く無視した、ヨウ化カリウムの乱用が起こったが、有効性、安全性のいずれの面でも、モニタリングもデータ取得も一切行われなかった<sup>(2)</sup>。以上より、緊急事態下での CBRN 対抗医薬品の使用に特別に適用できる emergency GCP を改めて定めておく必要がある。

## CBRN 対抗医薬品の開発・規制に関する国際調和

CBRN agents による健康被害は国境に無関係に拡大す

## この研究の発表

論文 は GCOE 明記があるもの

- 1 . Shimazawa R, Ikeda M. Drug development against chemical, biological, radiological, or nuclear agents. Lancet 2011; 378: 486.
- 2 . Shimazawa R, Ikeda M. Medical management of the acute radiation syndrome. Ann Intern Med 2011; 155: 135-6.

るが故に、CBRN 対抗医薬品の開発と規制には国際調和が必須である。上記の Animal Rule も emergency GCP も国際調和の対象となる。この国際調和のために、どのような枠組みを用いるのかは議論の余地がある。なぜならば、日米欧を中心とした現行の ICH は、あくまで通常の医薬品を開発・規制するための枠組みであり、メンバーも三極の規制当局と製薬企業の団体に限られているからである。一方、CBRN 対抗医薬品の開発、規制、そして実地使用に直接関わる組織は、軍事・防衛組織、医薬品流通組織、医療機関など、ICH の現行メンバーよりもはるかに広範にわたるので、ICH では扱えない可能性が高い。いずれにせよ、早急に国際的な枠組みで、CBRN 対抗医薬品の開発、規制、そして実地使用の国際調和を図る必要がある。

## 結語：わが国こそがリーダーシップを

2011年3月に発生した原発事故は、CBRN 対抗医薬品の開発が最重要の国家安全保障戦略であることばかりでなく、日本が当事者国として CBRN 対抗医薬品の開発と規制にリーダーシップを発揮する使命があることも示している。

## 2011年

- 1 Kawashiri SY, Kawakami A, Iwamoto N, Fujikawa K, Satoh K, Tamai M, Nakamura H, Okada A, Koga T, Yamasaki S, Ida H, Origuchi T, Eguchi K. The power Doppler ultrasonography score from 24 synovial sites or 6 simplified synovial sites, including the metacarpophalangeal joints, reflects the clinical disease activity and level of serum biomarkers in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 50(5): 962-5. 2011 May (Epub 2010 Dec 23). (IF 4.171)(西田教行)
- 2 Satoh K, Nakaoka R, Nishiura Y, Tsujino A, Motomura M, Yoshimura T, Sasaki K, Shigematsu K, Shirabe S, Eguchi K. Early detection of sporadic CJD by diffusion-weighted MRI before the onset of symptoms. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 82(8): 942-3. 2011 Aug(Epub 2010 Jun 11).(IF 4.791)(西田教行)
- 3 Ota E, Haruna M, Suzuki M, Anh DD, Tho le H, Tam NT, Thiem VD, Anh NT, Isozaki M, Shibuya K, Ariyoshi K, Murashima S, Moriuchi H, Yanai H. Maternal body mass index and gestational weight gain and their association with perinatal outcomes in Viet Nam. *Bull World Health Organ*. 89(2): 127-36.2011 Feb 1(Epub 2010 Nov 10). (IF 5.459)(有吉紅也)
- 4 Nakazawa S, Culleton RL, Maeno, Y. In vivo and In vitro gametocyte production of *Plasmodium falciparum* isolates from Northern Thailand. *Int J Parasitol*. 41(3-4): 317-23. 2011 Mar(Epub 2010 Nov 24).(IF 3.822)(金子修)
- 5 Kondoh T, Kanno A, Itoh H, Nakashima M, Honda R, Kojima M, Noguchi M, Nakane H, Nozaki H, Sasaki H, Nagai T, Kosaki R, Kakee N, Okuyama T, Fukuda M, Ikeda M, Shibata Y, Moriuchi H. Donepezil significantly improves abilities in daily lives of female Down syndrome patients with severe cognitive impairment: a 24-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Int J Psychiatry Med*. 41(1): 71-89. 2011 Jan. (IF 1.055)(池田正行)
- 6 Pandey BD, Pun SB, Kaneko O, Pandey K, Hirayama K. Case report: Expansion of visceral leishmaniasis to the western hilly part of Nepal. *Am J Trop Med Hyg*. 84(1): 107-8. 2011 Jan. (IF 2.446)(平山謙二)(金子修)
- 7 Culleton RL, Inoue M, Reece S, Cheesman S, Carter R. Strain-specific immunity induced by immunisation with pre-erythrocytic stages of *Plasmodium chabaudi*. *Parasite Immunol*. 33(1): 73-8. 2011 Jan. (IF 2.357)(金子修)
- 8 Vu HT, Yoshida LM, Suzuki M, Nguyen HA, Nguyen CD, Nguyen AT, Oishi K, Yamamoto T, Watanabe K, Vu TD, Schmidt WP, Phan HT, Morimoto K, Le TH, Yanai H, Kilgore PE, Dang AD, Ariyoshi K. Association Between Nasopharyngeal Load of *Streptococcus pneumoniae*, Viral Coinfection, and Radiologically Confirmed pneumonia in Vietnamese Children. *Pediatr Infect Dis J*. 30(1): 11-8. 2011 Jan. (IF 3.064)(有吉紅也)
- 9 Nakamura S, Shchepetov M, Dalia AB, Clark SE, Murphy TF, Sethi S, Gilsdorf JR, Smith AL, Weiser JN. Molecular basis of increased serum resistance among pulmonary isolates of non-typeable *Haemophilus influenzae*. *PLoS Pathog*. 7(1): e1001247. 2011 Jan 6. (IF 9.079)(河野茂)
- 10 Z Cao, C Lau, M Kai, J Lu. Aptamer-barcode based immunoassay for the instantaneous derivatization chemiluminescence detection of IgE coupled to magnetic beads. *Analyst*. 136, 140-7. 2011 Jan 7. (IF 3.913)(甲斐雅亮)
- 11 Tashiro T, Izumikawa K, Tashiro M, Takazono T, Morinaga Y, Yamamoto K, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Kohno S. Diagnostic significance of *Aspergillus* species isolated from respiratory samples in an adult pneumology ward. *Med Mycol*. 49(6): 581-7. 2011 Jan 11. (IF 2.329)(河野茂)
- 12 Atarashi R, Satoh K, Sano K, Fuse T, Yamaguchi N, Ishibashi D, Matsubara T, Nakagaki T, Yamanaka H, Shirabe S, Yamada M, Mizusawa H, Kitamoto T, Klug G, McGlade A, Collins SJ, Nishida N. Ultrasensitive human prion detection in cerebrospinal fluid by real-time quaking-induced conversion. *Nat Med*. 17(2): 175-8. 2011 Feb(Epub 2011 Jan 30). (IF 25.43)(西田教行)
- 13 Wang Y, Kaneko O, Sattabongkot J, Chen JH, Lu F, Chai JY, Takeo S, Tsuboi T, Ayala FJ, Chen Y, Lim CS, Han ET. Genetic polymorphism of *Plasmodium vivax msp1p*, a paralog of merozoite surface protein 1, from Worldwide Isolates. *Am J Trop Med Hyg*. 84(2): 292-7. 2011 Feb. (IF 2.446)(金子修)
- 14 Wichit S, Jittmittraphap A, Hidari KI, Thaisomboonsuk B, Petmitr S, Ubol S, Aoki C, Itonori S, Morita K, Suzuki T, Suzuki Y, Jampangern W. Dengue virus type 2 recognizes the carbohydrate moiety of neutral glycosphingolipids in mammalian and mosquito cells. *Microbiol Immunol*. 55(2): 135-40. 2011 Feb. (IF 1.56)(森田公一)

- 15 Inoue M, Culleton RL. The intradermal route for inoculation of sporozoites of rodent malaria parasites for immunological studies. *Parasite Immunol.* 33(2): 137-42. 2011 Feb. (IF 2.357)(金子 修)
- 16 Oguike M, Betson M, Burke M, Nolder D, Stothard R, Kleinschmidt I, Proietti C, Bousema T, Ndounga M, Tanabe K, Ntege E, Culleton RL, Sutherland CJ. *Plasmodium ovale curtisi* and *Plasmodium ovale wallikeri* circulate simultaneously in African communities. *Int J Parasitol.* 41(6): 677-83. 2011 May(Epub 2011 Feb 23). (IF 3.822)(金子 修)
- 17 Ikeda-Dantsuji Y, Hanaki H, Nakae T, Takesue Y, Tomono K, Honda J, Yanagihara K, Mikamo H, Fukuchi K, Kaku M, Kohno S, Niki Y. Emergence of linezolid-resistant mutants in the susceptible cell population of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 55(5): 2466-8. 2011 May(Epub 2011 Feb 28). (IF 4.672)(河野 茂)
- 18 Nakaya M, Hamano S, Kawasumi M, Yoshida H, Yoshimura A, Kobayashi T. Aberrant IL-4 production by SOCS 3-overexpressing T cells during infection with *Leishmania major* exacerbates disease manifestations. *Int Immunol.* 23(3): 195-202. 2011 Mar. (IF 3.301)(濱野真二郎)
- 19 Shimazawa R, Ikeda M. Japan lags behind the UK in neurological drug approvals. *Br J Clin Pharmacol.* 71(3): 473-5. 2011 Mar. (IF 3.063)(池田正行)
- 20 Futami K, Kongere JO, Mwanja MS, Lutiali AP, Njenga SM and Minakawa N. Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* on *Anopheles arabiensis*. *J Am Mosq Control Assoc.* 27(1): 81-3. 2011 Mar. (IF 1.066)(皆川 昇)
- 21 Yukitake H, Naito M, Sato K, Shoji M, Ohara N, Yoshimura M, Sakai E, Nakayama K. Effects of non-iron metalloporphyrins on growth and gene expression of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Immunol.* 55(3): 141-53. 2011 Mar. (IF 1.227)(中山浩次)
- 22 Kajihara N, Hirayama K. The War against a Regional Disease in Japan A History of the Eradication of Schistosomiasis japonica. *Trop Med Health.* 39 (1 Suppl 1): 3-44. 2011 Mar. (平山謙二)
- 23 M Yamasuji, T Shibata, T Kabashima, M Kai. Chemiluminescence detection of telomere DNA in human cells on a membrane by using fluorescein-5-isothiocyanate-labeled primers. *Anal Biochem.* 413(1): 50-4. 2011 Jun 1 (Epub 2011 Mar 6). (IF 3.236)(甲斐雅亮)
- 24 Tsujino A, Kaibara M, Hayashi H, Eguchi H, Nakayama S, Sato K, Fukuda T, Tateishi Y, Shirabe S, Taniyama K, Kawakami A. A CLCN 1 mutation in dominant myotonia congenita impairs the increment of chloride conductance during repetitive depolarization. *Neurosci Lett.* 494(2): 155-60. 2011 Apr 25 (Epub 2011 Mar 6). (IF 2.055)(西田教行)
- 25 Dinh DT, Le MT, Vuong CD, Hasebe F, Morita K. An Updated Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Diagnosis of H5N1 Avian Influenza Viruses. *Trop Med Health.* 39(1): 3-7. 2011 Mar (Epub 2011 Mar 24).(森田公一)
- 26 Ikeda M. Fulminant form of mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: A diagnostic challenge. *J Med Cases.* 2(2): 87-90. 2011 April.(池田正行)
- 27 Kaplan NM, Kirby A, Abd-ElDayem SA, Dove W, Nakagomi T, Nakagomi O, Cunliffe NA. Detection and molecular characterisation of rotavirus and norovirus infections in Jordanian children with acute gastroenteritis. *Arch Virol.* 156(8): 1477-80. 2011 Aug (Epub 2011 Apr 19). (IF 2.209)(中込 治)
- 28 T Shibata, MN Wainaina, T Miyoshi, T Kabashima, M Kai. A manual sequence method of peptides and phosphopeptides using 4-(1'-cyanoisindolyl)phenylisothiocyanate. using 4-(1'-cyanoisindolyl) phenylisothiocyanate. *J Chromatogr A.* 1218(24): 3757-62. 2011 Jun 17. 4. 194 (Epub 2011 Apr 21).(甲斐雅亮)
- 29 Yoshii H, Kamiyama H, Goto K, Oishi K, Katunuma N, Tanaka Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N, Kubo Y. CD4-Independent human immunodeficiency virus infection involves participation of endocytosis and cathepsin B. *PLoS ONE.* 6(4): e 19352. 2011 Apr 25. (IF 4.411)(松山俊文)
- 30 Tsujino A, Kaibara M, Hayashi H, Eguchi H, Nakayama S, Sato K, Fukuda T, Tateishi Y, Shirabe S, Taniyama K, Kawakami A. A CLCN 1 mutation in dominant myotonia congenita impairs the increment of chloride conductance during repetitive depolarization. *Neurosci Lett.* 494(2): 155-160. 2011 Apr 25. (IF 2.055)(松山俊文)
- 31 Espada-Murao LA, Morita K. Delayed cytosolic exposure of Japanese encephalitis virus double-stranded RNA impedes interferon activation and enhances viral dissemination in porcine cells. *J Virol.* 85(13): 6736-49. 2011 Jul (Epub 2011 Apr 27). (IF 5.15)(森田公一)
- 32 Naito M, Sato K, Shoji M, Yukitake H, Ogura Y, Hayashi T, Nakayama K. Characterization of the *Porphyromonas gingivalis* conjugative transposon CTnPg 1:determination of the integration site and the genes essential for conjugal transfer. *Microbiology.* 157(Pt 7): 2022-32. 2011 Jul (Epub 2011 Apr 28). (IF 2.957)(中山浩次)

- 33 Matsuzaki, CM, Tu L, Ishida H, Imai T, Suzue K, Hirai M, Tetsutani K, Hamano S, Shimokawa C, Hisaeda H. A critical role for phagocytosis in resistance to malaria in iron-deficient mice. *Eur J Immunol.* 41(5): 1365-75. 2011 May. (IF 4.942)(濱野真二郎)
- 34 Miyazaki T, Izumikawa K, Yamauchi S, Inamine T, Nagayoshi Y, Saijo T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Yasuoka A, Kohno S. The glycosylphosphatidylinositol-linked aspartyl protease Yps 1 is transcriptionally regulated by the calcineurin-Crz 1 and Slr 2 MAPK pathways in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res.* 11(5): 449-56. 2011 Aug (Epub 2011 May 16). (IF 2.279)(河野 茂)
- 35 Alexandre JSF, Yahata K, Kawai S, Torii M, Kaneko O. PEXEL-independent trafficking of *Plasmodium falciparum* SURFIN<sub>4.2</sub> to the parasite-infected red blood cell and Maurer's clefts. *Parasitol Int.* 60(3): 313-20. 2011 Sep (Epub 2011 May 17). (IF 2.259)(金子 修)
- 36 Kurosaki T, Morishita T, Kodama Y, Sato K, Nakagawa H, Higuchi N, Nakamura T, Hamamoto T, Sasaki H, Kitahara T. Nanoparticles electrostatically coated with folic acid for effective gene therapy. *Mol Pharm.* 8(3): 913-9. 2011 Jun 6 (Epub 2011 May 18). (IF 5.4)(佐々木均)
- 37 Zhou G, Afrane YA, Vardozalik AM, Atieli H, Zhong D, Wamae P, Himeidan YE, Minakawa N, Githeko AK and Yan G. Changing patterns of malaria epidemiology between 2002 and 2010 in Western Kenya: the fall and rise of malaria. *PLoS One.* 6(5): e 20318. 2011 May 23 (Epub 2011 May 23). (IF 4.411)(皆川 昇)
- 38 Tanaka A, Seki M, Yamahira S, Noguchi H, Kosai K, Toba M, Morinaga Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohda N, Kohno S. *Lactobacillus pentosus* strain b 240 suppresses pneumonia induced by *Streptococcus pneumoniae* in mice. *Lett Appl Microbiol.* 53(1): 35-43. 2011 (Epub 2011 May 31). (IF 1.647)(河野 茂)
- 39 Rojanawiwat A, Tsuchiya N, Pathipvanich P, Pumpradit W, Schmidt WP, Honda S, Auwanit W, Sawanpanyalert P, Ariyoshi A. Impact of the National Access to Antiretroviral Program on the incidence of opportunistic infections in Thailand. *International Health.* 3(2): 101-7. 2011 June. (有吉紅也)
- 40 Huy NT, Hamada M, Kikuchi M, Lan NT, Yasunami M, Zamora J, Hirayama K. Association of HLA and post-schistosomal hepatic disorder: a systematic review and meta-analysis. *Parasitol Int.* 60(4): 347-56. 2011 Dec (Epub 2011 Jun 12). (IF 2.259)(平山謙二)
- 41 Li J, Pattaradilokrat S, Zhu F, Jiang H, Liu S, Hong L, Fu Y, Koo L, Xu W, Pan W, Carlton JM, Kaneko O, Carter R, Wootton JC, Su XZ. Linkage maps from multiple genetic crosses and loci linked to growth-related virulent phenotype in *Plasmodium yoelii*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 108(31): E 374-82. 2011 Aug 2 (Epub 2011 Jun 20). (IF 9.771)(金子 修)
- 42 Shoji M, Sato K, Yukitake H, Kondo Y, Narita Y, Kadowaki T, Naito M, Nakayama K. Por secretion system-dependent secretion and glycosylation of *Porphyromonas gingivalis* hemin-binding protein 35. *PLoS One.* 6(6): e 21372. 2011 (Epub 2011 Jun 22). (IF 4.411)(中山浩次)
- 43 Marchand RP, Culleton RL, Maeno Y, Quang NT, Nakazawa S. Co-infections of *Plasmodium knowlesi*, *P. falciparum*, and *P. vivax* among humans and *Anopheles dirus* mosquitoes, Southern Vietnam. *Emerg Infect Dis.* 17(7): 1232-39. 2011 Jul. (IF 6.859)(金子 修)
- 44 García G, del Puerto F, Pérez AB, Sierra B, Aguirre E, Kikuchi M, Sánchez L, Hirayama K, Guzmán MG. Association of MICA and MICB alleles with symptomatic dengue infection. *Hum Immunol.* 72(10): 904-7. 2011 Oct (Epub 2011 Jul 1). (IF 2.872)(平山謙二)
- 45 Yamazaki A, Yasunami M, Ofori M, Horie H, Kikuchi M, Helegbe G, Takaki A, Ishii K, Omar AH, Akanmori BD, Hirayama K. Human leukocyte antigen class I polymorphisms influence the mild clinical manifestation of *Plasmodium falciparum* infection in Ghanaian children. *Hum Immunol.* 72(10): 881-8. 2011 Oct (Epub 2011 Jul 1). (IF 2.872)(平山謙二)
- 46 Takaki A, Yamazaki A, Maekawa T, Shibata H, Hirayama K, Kimura A, Hirai H, Yasunami M. Positive selection of Toll-like receptor 2 polymorphisms in two closely related old world monkey species, rhesus and Japanese macaques. *Immunogenetics.* 64(1): 15-29. 2012 Jan (Epub 2011 Jul 9). (IF 2.942)(平山謙二)
- 47 MG Azam, T Shibata, T Kabashima, M Kai. Sensitive chemiluminescence detection of prion protein on a membrane by using a peroxidase-labeled dextran probe. *Anal Sci.* 27(7): 715. 2011 Jul 10. (IF 1.465)(甲斐雅亮)
- 48 Shimazawa R, Ikeda M. Medical management of the acute radiation syndrome. *Ann Intern Med.* 155(2): 135-6. 2011 Jul 19. (IF 16.729)(池田正行)
- 49 Yamamoto T, Kato M, Shirabe S. Life, Health and Community in a tsunami-affected town. *Lancet.* 378 (9788): 318. 2011 Jul 23. (IF 33.633)(山本太郎)

- 50 Fujiwara T, Nishimura M, Honda R, Nishiyama T, Nomoto M, Kobayashi N, Ikeda M. Comparison of peer-led versus professional-led training in basic life support for medical students. *Advances in Medical Education and Practice*. 2: 187-91. 2011 Jul 26. (池田正行)
- 51 Sato T, Nakagomi T, \*Nakagomi O. Cost-effectiveness analysis of a universal rotavirus immunization program in Japan. *Jpn J Infect Dis*. 64(4): 277-83. 2011 Jul 29. (IF 1.367)(中込 治)
- 52 MG Azam, T Shibata, T Kabashima, M Kai. Alkaline phosphatase-labeled macromolecular probe for sensitive chemiluminescence detection of proteins on a solid-phase membrane. *Anal Bioanal Chem*. 401(4): 1211-7. 2011 Sep (Epub 2011 Jul 15). (IF 3.841)(甲斐雅亮)
- 53 Takakura I, Miyazawa K, Kanaya T, Itani W, Watanabe K, Ohwada S, Watanabe H, Hondo T, Rose MT, Mori T, Sakaguchi S, Nishida N, Katamine S, Yamaguchi T, Aso H. Orally administered prion protein is incorporated by m cells and spreads into lymphoid tissues with macrophages in prion protein knockout mice. *Am J Pathol*. 179(3): 1301-9. 2011 Sep (Epub 2011 Jul 18). (IF 5.224)(西田教行)
- 54 Kurosaki T, Yamashita Y, Aki K, Harasawa H, Nakagawa H, Kodama Y, Higuchi N, Nakamura T, Kitahara T, Sasaki H. Secure and effective gene vector of polyamidoamine dendrimer pharmaceutically modified with anionic polymer. *J Pharm Sci*. 100(11): 4855-63. 2011 Nov (Epub 2011 Jul 20). (IF 3.031)(佐々木均)
- 55 Schmidt WP, Suzuki M, Dinh Thiem V, White RG, Tsuzuki A, Yoshida LM, Yanai H, Haque U, Huu Tho L, Anh DD, Ariyoshi K. Population density, water supply, and the risk of dengue Fever in Vietnam: cohort study and spatial analysis. *PLoS Med*. e 1001082. 2011 Aug. (IF 15.617)(有吉紅也)
- 56 Shimazawa R, Ikeda M. Drug development against chemical, biological, radiological, or nuclear agents. *Lancet* 378 (9790): 486. 2011 Aug. (IF 33.633)(池田正行)
- 57 Tamura T, Kimura K, Yuda M, Yui K. Flt 3 ligand prevents the development of cerebral malaria during infection with *Plasmodium berghei* ANKA. *Infect Immun*. 79(10): 3947-56. 2011 Oct (Epub 2011 Aug 1). (IF 4.098)(由井克之)
- 58 Shimazawa R, Ikeda M. Delays in neurological drug development in Japan. *Intern Med*. 50: 1565-8. 2011 (Epub 2011 Aug 1). (IF 1.037)(池田正行)
- 59 Mori M, Sriwanthana B, Wichukchinda N, Boonthimat C, Tsuchiya N, Miura T, Pathipvanich P, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P. Unique CRF 01\_AE Gag CTL epitopes associated with lower HIV-viral load and delayed disease progression in a cohort of HIV-infected Thais. *PLoS One*. 6(8): e 22680. 2011 (Epub 2011 Aug 3). (IF 4.411)(有吉紅也)
- 60 Ono S, Tanaka T, Ishida M, Kinoshita A, Fukuoka J, Takaki M, Sakamoto N, Ishimatsu Y, Kohno S, Hayashi T, Senba M, Yasunami M, Kubo Y, Yoshida LM, Kubo H, Ariyoshi K, Yoshiura K, Morimoto K. Surfactant protein C G 100 S mutation causes familial pulmonary fibrosis in Japanese kindred. *Eur Respir J*. 38(4): 861-9. 2011 Oct (Epub 2011 Aug 4). (IF 5.922)(松山俊文)
- 61 Ito H, Otabe O, Katsumi Y, Matsui F, Kidowaki S, Mibayashi A, Nakagomi T, Nakagomi O. The incidence and direct medical cost of hospitalization due to rotavirus gastroenteritis in Kyoto, Japan, as estimated from a retrospective hospital study. *Vaccine*. 29(44): 7807-10. 2011 Aug 5. (IF 3.572)(中込 治)
- 62 Kawada H, Dida GO, Ohashi K, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Sonye G, Maekawa Y, Mwatele C, Njenga SM, Mwandawiro C, Minakawa N and Takagi M. Multimodal pyrethroid resistance in malaria vectors, *Anopheles gambiae* s.s., *Anopheles arabiensis*, and *Anopheles funestus* s.s. in western Kenya. *PLoS One*. 6(8): e 22574. 2011 Aug (Epub 2011 Aug 11). (IF 4.411)(皆川 昇)
- 63 Doan YH, Nakagomi T, Cunliffe NA, Pandey BD, Sherchand JB, Nakagomi O. The occurrence of amino acid substitutions D 96 N and S 242 N in VP 7 of emergent G 2 P[4] rotaviruses in Nepal in 2004-2005: a global and evolutionary perspective. *Arch Virol*. 156(11): 1969-78. 2011 Nov (Epub 2011 Aug 13). (IF 2.209)(中込 治)
- 64 Davis KM, Nakamura S, Weiser JN. Nod 2 sensing of lysozyme-digested peptidoglycan promotes macrophage recruitment and clearance of *Streptococcus pneumoniae* colonization in mice. *J Clin Invest*. 121(9): 3666-76. 2011 Sep (Epub 2011 Aug 15). (IF 14.152)(河野 茂)
- 65 Nakamura S, Davis KM, Weiser JN. Synergistic stimulation of type I interferons during influenza virus coinfection promotes *Streptococcus pneumoniae* colonization in mice. *J Clin Invest*. 121(9): 3657-65. 2011 Sep (Epub 2011 Aug 15). (IF 14.152)(河野 茂)
- 66 Tsumori Y, Ndounga M, Sunahara T, Hayashida N, Inoue M, Nakazawa S, Casimiro P, Isozumi R, Uemura H, Tanabe K, Kaneko O, Culleton RL. *Plasmodium falciparum*: Differential selection of drug resistance alleles in contiguous urban and peri-urban areas of Brazzaville, Republic of Congo. *PLoS One*. 6(8): e 23430. 2011 (Epub 2011 Aug 15). (IF 4.411)(金子 修)

- 67 Li TC, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Arikawa J, Koma T, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Mai le TQ, Hoa NT, Yamashiro T, Hasebe F, Takeda N, Wakita T. Characterization of self-assembled virus-like particles of rat hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. *J Gen Virol.* 92(Pt 12): 2830-7. 2011 Dec (Epub 2011 Aug 24). (IF 3.568)(山城 哲)
- 68 Chaves LF, Hashizume M, Satake A, Minakawa N. Regime shifts and heterogeneous trends in malaria time series from Western Kenya Highlands. *Parasitology.* 1-12. 2011 Aug 25. (IF 2.522)(皆川 昇)
- 69 Miyazaki T, Izumikawa K, Nagayoshi Y, Saijo T, Yamauchi S, Morinaga Y, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Functional characterization of the regulators of calcineurin in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res.* 11(8): 621-30. 2011 Dec (Epub 2011 Sep 19).(IF 2.279)(河野 茂)
- 70 Kurosaki T, Kitahara T, Nakamura T, Nishida K, Fumoto S, Kodama Y, Nakagawa H, Higuchi N, Sasaki H. Development of effective cancer vaccine using targeting system of antigen protein to APCs. *Pharm Res.* 29(2): 483-9. 2012 Feb (Epub 2011 Sep 2). (IF 4.456)(佐々木均)
- 71 Shindo H, Yasui K, Yamamoto K, Honma K, Yui K, Kohno T, Ma Y, Chua KJ, Kubo Y, Aihara H, Ito T, Nagayasu T, Matsuyama T, Hayashi H. Interferon regulatory factor-4 activates IL-2 and IL-4 promoters in cooperation with c-Rel. *Cytokine.* 56(3): 564-72. 2011 Dec (Epub 2011 Sep 3). (IF 3.537)(由井克之)
- 72 Nga PT, Parquet Mdel C, Lauber C, Parida M, Nabeshima T, Yu F, Thuy NT, Inoue S, Ito T, Okamoto K, Ichinose A, Snijder EJ, Morita K, Gorbalenya AE. Discovery of the first insect nidovirus, a missing evolutionary link in the emergence of the largest RNA virus genomes. *PLoS Pathog.* 7(9): e 1002215. 2011 Sep (Epub 2011 Sep 8). (IF 8.98)(森田公一)
- 73 Kawada H, Futami K, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Sonye G, Mwatele C, Njenga SM, Mwandawiro C, Minakawa N, Takagi M. Distribution of a knockdown resistance mutation (L 1014 S) in *Anopheles gambiae* s.s. and *Anopheles arabiensis* in western and southern Kenya. *PLoS One.* 6(9): e 24323. 2011 Sep (Epub 2011 Sep 9). (IF 4.411)(皆川 昇)
- 74 Cherif MS, Shuaibu MN, Kurosaki T, Helegbe GK, Kikuchi M, Yanagi T, Tsuboi T, Sasaki H, Hirayama K. Immunogenicity of novel nanoparticle-coated MSP-1 C-terminus malaria DNA vaccine using different routes of administration. *Vaccine.* 29(48): 9038-50. 2011 Nov 8 (Epub 2011 Sep 20). (IF 3.572)(平山謙二)
- 75 Alexandre JS, Kaewthamasorn M, Yahata K, Nakazawa S, Kaneko O. Positive selection on the *Plasmodium falciparum* clag2 gene encoding a component of the erythrocyte-binding rhoptry protein complex. *Trop Med Health.* 39(3): 77-82. 2011 Sep (Epub 2011 Sep 30). (金子 修)
- 76 Kurosaki T, Higuchi N, Kawakami S, Higuchi Y, Nakamura T, Kitahara T, Hashida M, Sasaki H. Self-assemble gene delivery system for molecular targeting using nucleic acid aptamer. *Gene.* 491(2): 205-9. 2012 Jan 10 (Epub 2011 Oct 1). (IF 2.266)(佐々木均)
- 77 Takakuwa H, Yamashiro T, Le MQ, Phuong LS, Ozaki H, Tsunekuni R, Usui T, Ito H, Morimatsu M, Tomioka Y, Yamaguchi T, Ito T, Murase T, Ono E, Otsuki K. Molecular epidemiology of avian influenza viruses circulating among healthy poultry flocks in farms in northern Vietnam. *Prev Vet Med.* 103(2-3): 192-200. 2012 Feb 1 (Epub 2011 Oct 4). (IF 2.07)(山城 哲)
- 78 Abugalia M, Cuevas L, Kirby A, Dove W, Nakagomi O, Nakagomi T, Kara M, Gweder R, Smeo M, Cunliffe N. Clinical features and molecular epidemiology of rotavirus and norovirus infections in Libyan children. *J Med Virol.* 83(10): 1849-56. 2011 Oct. (IF 2.895)(中込 治)
- 79 Ono S, Tanaka T, Ishida M, Kinoshita A, Fukuoka J, Takaki M, Sakamoto N, Ishimatsu Y, Kohno S, Hayashi T, Senba M, Yasunami M, Kubo Y, Yoshida LM, Kubo H, Ariyoshi K, Yoshiura K, Morimoto K. Surfactant protein C G100S mutation causes familial pulmonary fibrosis in Japanese kindred. *Eur Respir J.* 38(4): 861-869. 2011 Oct. (IF 5.922)(松山俊文)
- 80 Matsui Y, Satoh K, Miyazaki T, Shirabe S, Atarashi R, Mutsukura K, Satoh A, Kataoka Y, Nishida N. High sensitivity of an ELISA kit for detection of the gamma-isoform of 14-3-3 proteins: usefulness in laboratory diagnosis of human prion disease. *BMC Neurol.* 11: 120. 2011 Oct 4. (IF 2.797)(西田教行)
- 81 Yamamoto M, Kato T, Hotta C, Nishiyama A, Kurotaki D, Yoshinari M, Takami M, Ichino M, Nakazawa M, Matsuyama T, Kamijo R, Kitagawa S, Ozato K, Tamura T. Shared and distinct functions of the transcription factors IRF 4 and IRF 8 in myeloid cell development. *PLoS One.* 6(10): e 25812. 2011 Oct 7. (IF 4.411)(松山俊文)
- 82 Ha TT, Huy NT, Murao LA, Lan NT, Thuy TT, Tuan HM, Nga CT, Tuong VV, Dat TV, Kikuchi M, Yasunami M, Morita K, Huong VT, Hirayama K. Elevated levels of cell-free circulating DNA in patients with acute dengue virus infection. *PLoS One.* 6(10): e 25969. 2011(Epub 2011 Oct 7). (IF 4.411)(平山謙二)(森田公一)

- 83 Hisanaga T, Terai S, Iwamoto T, Takami T, Yamamoto N, Murata T, Matsuyama T, Nishina H, Sakaida I. TNFR1-mediated signaling is important to induce the improvement of liver fibrosis by bone marrow cell infusion. *Cell Tissue Res.* 346(1): 79-88. 2011 Oct (Epub 2011 Oct 11). (IF 2.804)(**松山俊文**)
- 84 Kamiyama H, Kakoki K, Yoshii H, Iwao M, Igawa T, Sakai H, Hayashi H, Matsuyama T, Yamamoto N, Kubo Y. Infection of XC cells by MLVs and Ebola virus is endosome-dependent but acidification-independent. *PLoS ONE.* 6(10): e 26180. 2011 Oct 12. (IF 4.411)(**松山俊文**)
- 85 Ishibashi D, Yamanaka H, Mori T, Yamaguchi N, Yamaguchi Y, Nishida N, Sakaguchi S. Antigenic mimicry-mediated anti-prion effects induced by bacterial enzyme succinylarginine dihydrolase in mice. *Vaccine.* 29(50): 9321-8. 2011 Nov 21(Epub 2011 Oct 18). (IF 3.572)(**西田教行**)
- 86 Shimazawa R, Kusumi I, Ikeda M. Delays in psychiatric drug development in Japan. *J Clin Pharm Ther.* 1365-2710. 2011 Oct 23. (IF 1.649)(**池田正行**)
- 87 Tashiro M, Izumikawa K, Minematsu A, Hirano K, Iwanaga N, Ide S, Mihara T, Hosogaya N, Takazono T, Morinaga Y, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Miyazaki T, Nishino T, Tsukamoto M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Tashiro T, Kohno S. Antifungal susceptibilities of *Aspergillus fumigatus* clinical isolates in Nagasaki, Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 56(1): 584-7. 2012 Jan (Epub 2011 Oct 24). (IF 4.672)(**河野 茂**)
- 88 Haque U, Hashizume M, Kolivras KN, Overgaard HJ, Das B, Yamamoto T. Reduced death rates from cyclones in Bangladesh-What more needs to be done? *Bull World Health Organ.* 90(2): 150-6. 2012 Feb 1(Epub 2011 Oct 24). (IF 5.459)(**山本太郎**)
- 89 Oki M, Sunahara T, Hashizume M, Yamamoto T. Optimal timing of insecticide fogging to minimize dengue incidence: modeling dengue transmission among various seasonalities and transmission intensities. *PLoS Negl Trop Dis.* 5(10): e 1367. 2011 Oct (Epub 2011 Oct 25). (IF 4.411)(**山本太郎**)
- 90 Koga T, Okada A, Kawashiri S, Kita J, Suzuki T, Nakashima Y, Tamai M, Satoh K, Origuchi T, Iwamoto N, Yamasaki S, Nakamura H, Migita K, Ida H, Ueki Y, Eguchi K, Kawakami A. Soluble urokinase plasminogen activator receptor as a useful biomarker to predict the response to adalimumab in patients with rheumatoid arthritis in a Japanese population. *Clin Exp Rheumatol.* 29(5): 811-5. 2011 Sep-Oct (Epub 2011 Oct 31). (IF 2.358)(**西田教行**)
- 91 Sungkapong T, Culleton RL, Yahata K, Tachibana M, Ruengveerayuth R, Udomsangpetch R, Torii M, Tsuboi T, Sattabongkot J, Kaneko O, Chotivanich K. Humoral immune responses to *Plasmodium vivax* subtelomeric transmembrane proteins in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 42(6). 1313-21. 2011 Nov. (**金子 修**)
- 92 Ngo TC, Nguyen DT, Tran HH, Le TH, Nguyen HT, Diep TT, Thi Phuong LN, Nguyen BM, Tran ND, Yamashiro T, Morita K, Nguyen TH, Ehara M. Imported dogs as possible vehicles of vibrio cholerae O1 causing cholera outbreaks in northern Vietnam. *The Open Infectious Diseases Journal.* 5(1): 127-34. 2011 Nov 2. (**山城 哲**)
- 93 Hotta K, Takakuwa H, Le QM, Phuong SL, Murase T, Ono E, Ito T, Otsuki K, Yamashiro T. Isolation and characterization of H 6 N 1 and H 9 N 2 avian influenza viruses from Ducks in Hanoi, Vietnam. *Virus Res.* 163(2): 448-53. 2012 Feb (Epub 2011 Nov 12). (IF 2.846)(**山城 哲**)
- 94 Hayashi H, Kohno T, Yasui K, Murota H, Kimura T, Duncan GS, Nakashima T, Yamamoto K, Katayama I, Ma Y, Chua KJ, Suematsu T, Shimokawa I, Akira S, Kubo Y, Mak TW and Matsuyama T. Characterization of dsRNA-induced pancreatitis model reveals the regulatory role of IRF-2 in trypsinogen 5 gene transcription. *Proc Natl Acad Sci USA.* 108(46): 18766-18771. 2011 Nov 15. (IF 9.771)(**松山俊文**). (Faculty of 1000により生物、医学分野でトップ2%の論文に選出)
- 95 Kounnavong S, Sunahara T, Mascie-Taylor CG, Hashizume M, Okumura J, Moji K, Boupfa B, Yamamoto T. Effect of daily versus weekly home fortification with multiple micronutrient powder on haemoglobin concentration of young children in a rural area, Lao People's Democratic Republic: a randomised trial. *Nutr J.* 0.50625. 2011 Nov 24. (IF 2.56) (**山本太郎**)
- 96 Shindo H, Yasui K, Yamamoto K, Honma K, Yui K, Kohno T, Ma Y, Chua KJ, Kubo Y, Aihara H, Ito T, Nagayasu T, Matsuyama T, Hayashi H. Interferon regulatory factor-4 activates IL-2 and IL-4 promoters in cooperation with c-Rel. *Cytokine.* 56(3): 564-572. 2011 Dec. (IF 3.537)(**松山俊文**)
- 97 Izumikawa K, Motoi N, Takaya H, Miyamoto A, Eishi Y, Yoshimura K, Kishi K. A case of concurrent sarcoidosis, aortitis syndrome and Crohn's disease. *Intern Med.* 50(23): 2915-7. 2011(Epub 2011 Dec 1).(IF 1.037)(**河野 茂**)

- 98 Kounnavong S, Sunahara T, Hashizume M, Okumura J, Moji K, Boupba B, Yamamoto T. Anemia and related factors in preschool children in the southern rural Lao people's democratic republic. *Trop Med Health*. 39(4): 95-103. 2011 Dec (Epub 2011 Dec 1). (山本太郎)
- 99 Okamoto K, Kinoshita H, Parquet Mdel C, Raekiansyah M, Kimura D, Yui K, Islam MA, Hasebe F, Morita K. DEN 2 16681 strain utilizes specific glycochain of Syndecan-2 proteoglycan as a receptor. *J Gen Virol*. 93 (Pt 4): 761-70. 2012 Apr (Epub 2011 Dec 14). (IF 3.568)(由井克之)
- 100 Kamiyama H, Kubo Y, Sato H, Yamamoto N, Fukuda T, Ishibashi F, Iwao M. Synthesis, structure-activity relationships, and mechanism of action of anti-HIV-1 lamellarine a 20-sulfate analogues. *Bioorg Med Chem*. 19 (24): 7541-7550. 2011 Dec 15. (IF 2.978)(松山俊文)
- 101 Schmidt WP, Suzuki M, Thiem VD, Yoshida LM, Matsubayashi T, Yanai H, Tho LH, Anh DD, Ariyoshi K. User fee exemption does not affect lower rates of hospital admission of girls in Vietnam. *Health Policy Plan*. 2011 Dec 19. (IF 2.793)(有吉紅也)
- 102 Nakamura S, Yanagihara K, Araki N, Yamada K, Morinaga Y, Izumikawa K, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Kamihira S, Kohno S. High-dose tobramycin inhibits lipopolysaccharide-induced MUC 5 AC production in human lung epithelial cells. *Eur J Pharmacol*. 2011 Mar 21 (Epub ahead, 2011). (IF 2.737)(河野 茂)
- 103 Gytoku H, Izumikawa K, Ikeda H, Takazono T, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Nishino T, Miyazaki T, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Yaguchi T, Ohno H, Miyazaki Y, Kamei K, Kanda T, Kohno S. A case of bronchial aspergillosis caused by *Aspergillus udagawae* and its mycological features. *Med Mycol*. 2011 Dec 13 (Epub ahead, 2011). (IF 2.329)(河野 茂)
- 104 Tashiro M, Kimura S, Tateda K, Saga T, Ohno A, Ishii Y, Izumikawa K, Tashiro T, Kohno S, Yamaguchi K. Pravastatin inhibits farnesol production in *Candida albicans* and improves survival in a mouse model of systemic candidiasis. *Med Mycol*. 2011 Sep 28 (Epub ahead, 2011). (IF 2.329)(河野 茂)
- 105 Yamada K, Yanagihara K, Araki N, Harada Y, Morinaga Y, Izumikawa K, Takeya H, Yamamoto Y, Hasegawa H, Kohno S, Kamihira S. In vivo efficacy of KRP-109, a novel elastase inhibitor, in a murine model of severe pneumococcal pneumonia. *Pulm Pharmacol Ther*. 24(6): 660-5. 2011 (Epub ahead, 2011). (IF 2.093)(河野 茂)
- 106 Trang NV, Yamashiro T, Anh LT, Hau VT, Luan LT, Anh DD. Genetic variation in the VP 7 gene of rotavirus G 1 P[8] strains isolated in Vietnam, 1998-2009. *Virus Res*. 2012 Feb 25 (Epub ahead, 2011). (IF 2.846)(山城 哲)
- 107 Otani M, Honda N, Xia PC, Eguchi K, Ichikawa T, Watanabe T, Yamaguchi, K, Nakao K, Yamamoto T. Distribution of Two Subgroups of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) in Endemic Japan. *Trop Med Health*. 1450-6. 2011 (山本太郎)
- 108 Izumikawa K, Kohno Y, Izumikawa K, Hara K, Hayashi H, Maruyama H, Kohno S. Eosinophilic pneumonia due to visceral larva migrans possibly caused by *Ascaris suum*: a case report and review of recent literatures. *Jpn J Infect Dis*. 64(5): 428-32. 2011. (IF 1.367)(河野 茂)
- 109 Takazono T, Izumikawa K, Nagayoshi Y, Tanaka A, Mihara T, Kosai K, Saijo T, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kamihira S, Kohno S. Evaluation of the Cica Fungi Test Candida, a novel serum *Candida* mannan antigen kit, and its comparison with Cand-Tec in candidemia patients. *Jpn J Infect Dis*. 64(2): 116-20. 2011. (IF 1.367)(河野 茂)
- 110 Kosai K, Seki M, Tanaka A, Morinaga Y, Imamura Y, Izumikawa K, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tomono K, Kohno S. Increase of apoptosis in a murine model for severe pneumococcal pneumonia during Influenza A virus infection. *Jpn J Infect Dis*. 64(6): 451-7. 2011. (IF 1.367)(河野 茂)
- 111 Kobayashi T, Takeya H, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Ohno H, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S. Synergistic antifungal effect of lactoferrin with azole antifungals against *Candida albicans* and a proposal for a new treatment method for invasive candidiasis. *Jpn J Infect Dis*. 64(4): 292-6. 2011. (IF 1.367)(河野 茂)
- 112 Kohno S, Izumikawa K, Takeya H, Miyazaki Y, Ogawa K, Amitani R, Niki Y, Kurashima A. Clinical efficacy and safety of micafungin in Japanese patients with chronic pulmonary aspergillosis: a prospective observational study. *Med Mycol*. 49(7): 688-93. 2011. (IF 2.329)(河野 茂)
- 113 Morinaga Y, Yanagihara K, Araki N, Harada Y, Yamada K, Akamatsu N, Matsuda J, Nishino T, Hasegawa H, Izumikawa K, Takeya H, Yamamoto Y, Yasuoka A, Kohno S, Kamihira S. Clinical characteristics of seven patients with *Aeromonas* septicemia in a Japanese hospital. *Tohoku J Exp Med*. 225(2): 81-4. 2011. (IF 1.145)(河野 茂)
- 114 Yamada K, Yanagihara K, Hara Y, Araki N, Harada Y, Morinaga Y, Matsuda J, Izumikawa K, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Kohno S, Kamihira S. Clinical features of bacteremia caused by methicillin-resistant *Staphy-*

- Staphylococcus aureus* in a tertiary hospital. Tohoku J Exp Med. 224(1): 61-7. 2011. (IF 1.145)(河野 茂)
- 115** Kato M, Yamamoto T. Early Response to the Great East Japan Earthquake and Massive Tsunami at an evacuation shelter in Otsuchi, Iwate Prefecture. J Nihon Med Sch. 78(6): 401-4. 2011. (山本太郎)

## 事業推進担当者が指導した学位取得者

平成23年度学位取得者名簿 24名(うち外国人9名)

( )内は学位取得年月日

### 有吉 紅也

森 正彦 「HIV viral diversity, HLA-restricted Cytotoxic T-lymphocyte and clinical outcome in a cohort of HIV-1 CRF01\_AE infected Thais .( HIV 1 CRF01\_AE 株感染者タイ人コホートにおける HIV ウイルス多型、HLA 拘束性細胞傷害性 T 細胞および臨床経過について)」(2011 / 9 / 7)

### 甲斐 雅亮

Md. Golam Azam 「Enzyme-labeled macromolecular Probes for sensitive chemiluminescence detection of proteins on a solid-phase membrane (固相膜上のタンパク質の高感度化学発光検出に用いる酵素標識高分子プローブ)」(2011 / 9 / 20)

### 金子 修

Alexandre Jean Seme Fils 「*Plasmodium falciparum* : evaluating the polymorphism of vaccine candidates and the trafficking of a potential ligand (熱帯熱マラリア原虫：ワクチン候補分子の多型と接着分子候補の輸送)」(2011 / 9 / 20)

Kaewthamasorn Morakot 「Stable allele frequency distribution of the polymorphic region of SURFIN4 2in *Plasmodium falciparum* isolates from Thailand (熱帯熱マラリア原虫タイ株における SURFIN4 2多型領域の安定した頻度分布)」(2012 / 3 / 19)

津守 陽子 「*Plasmodium falciparum* : Differential selection of drug resistance alleles in contiguous urban and peri-urban areas of Brazzaville, Republic of Congo (熱帯熱マラリア原虫：コンゴ共和国・ブラザビルの都市とその周辺部の郊外における薬剤耐性アリール選択の差異)」(2012 / 3 / 19)

### 河野 茂

深江 貴芸 「The evidence of polymorphisms of the liver X receptor gene as a DNA-based biomarker for susceptibility to coronary artery disease in a Japanese population (日本人における冠動脈疾患感受性遺伝子 liver X receptor はバイオマーカーとして遺伝子診断に応用できる)」(2011 / 4 / 27)

小林 奨 「Synergistic antifungal effect of lactoferrin with azole antifungals against *candida albicans* and a new proposal of treatments for invasive candidiasis (カンジダ アルビカンズに対するラクトフェリンとアゾール系抗真菌薬の相乗作用、そして侵襲性カンジダ症に対する新しい治療法の提案)」(2011 / 6 / 15)

新井 英之 「Thalidomide prevents the progression of peritoneal fibrosis in mice (サリドマイドはマウス腹膜線維症の進展を抑制する)」(2011 / 8 / 3)

中里 未央 「The association between atherosclerosis and plasma homocysteine concentration in the general population residing on remote islands in Japan .(日本の島嶼地区一般住民における、動脈硬化と血漿ホモシステイン濃度の関連)」(2011 / 9 / 7)

原 信太郎 「Anti-inflammatory effects of garenoxacin on IL-8 production and ERK 1/2 activation induced by lipopolysaccharides in A549 and THP-1 cells (A549細胞及び THP 1細胞におけるリポポリサッカライド誘導性 IL 8産生と ERK 1 / 2活性化に対する、ガレノキサシンの抗炎症効果)」(2011 / 9 / 20)

河津 多代 「Production and degradation of extracellular matrix in reversible glomerular lesions in rat model of habu snake venom-induced glomerulonephritis (ラットハブ毒誘発系球体腎炎モデルにおける、可逆性系球体病変の細胞外基質の産生と分解についての検討)」(2011 / 12 / 21)

土田 朋子 「Effect of respiratory syncytial virus infection on plasmacytoid dendritic cell-regulation of allergic airway inflammation (RS ウイルス感染が形質細胞様樹状細胞のアレルギー性気道炎症制御に

与える影響)。(2011 / 6 / 1 )

田代 将人「Pravastatin inhibits farnesol production in *Candida albicans* and improves survival in a mouse model of systemic candidiasis ( プラバスタチンは *Candida albicans* のファルネソール産生を抑制し、播種性カンジダ症マウスモデルの生存率を改善させる )。(2012 / 3 / 19)

法村 大輔「Magnifying endoscopic obserbation with narrow band imaging for specialized intestinal metaplasia in barrett's esophagus with special referance to light blue crests ( パレット食道における NBI 併用拡大内視鏡の検討 ~ Light blue crests に着目して ~ )。(2012 / 3 / 19)

原 敦子「S100A 9 in BALF is a candidate biomarker of idiopathic pulmonary fibrosis ( 気管支肺胞洗浄液中の S100A 9 は特発性肺線維症のバイオマーカー候補である )。(2012 / 3 / 19)

#### 小林 信之

郭 朝万「Biochemical, proteomic and functional analysis of an intraflagellar transport protein MIP-T 3 in human cells( ヒト細胞における鞭毛内輸送タンパク質 MIP-T 3 の分子機能解析 )。(2012 / 3 / 19)

劉 格「Antiviral activity and mechanisms of action of pentagalloylglucose (PGG) against Influenza A Virus (IAV)( ペンタガロイルグルコース (PGG) の抗インフルエンザウイルス作用機序の解析 )。(2012 / 3 / 19)

#### 平山 謙二

高木 明子「Positive selection of Toll-like receptor 2 polymorphisms in two closely related old world monkey species, rhesus and Japanese macaques .( アカゲザルとニホンザルにおける Toll 様受容体 2 の多様性獲得進化 )。(2011 / 9 / 7 )

山崎 朗子「HLA class I polymorphisms influence the mild clinical manifestation of *Plasmodium falciparum* infection in Ghanaian children .( ガーナにおける小児熱帯熱マラリアと HLA クラス I 多型の関連解析 )。(2011 / 9 / 7 )

#### 森田 公一

Murao Lyre Anni Espada「Delayed cytosolic exposure of Japanese encephalitis virus double-stranded RNA impedes interferon activation and enhances viral dissemination in porcine cells ( 日本脳炎ウイルス感染ブタ細胞ではウイルス 2 本鎖 RNA の細胞質内暴露の遅延によりインターフェロン発現が妨害されウイルス増殖が促進される )。(2011 / 9 / 20)

Nguyen Dong Tu「Two different mechanisms of ampicillin resistance operating in strains of *Vibrio cholerae* O1 independent of resistance genes ( コレラ菌で作動する 2 つの新規アンピシリン耐性機構 )。(2012 / 3 / 19)

岡本 健太「DEN2 16681 strain utilizes specific glycochain of Syndecan 2 proteoglycan as a receptor ( デング 2 型ウイルス16681株は、Syndecan 2の特異的糖鎖をウイルス受容体として用いる )。(2012 / 3 / 19)

#### 山本 太郎

Kounnavong Sengchanh「Effect of daily versus weekly home fortification with multiple micronutrient powder on haemoglobin concentration of young children in a rural area, Lao People's Democratic Republic: a randomized trial ( ラオス人民民主共和国辺地における多種微量栄養素パウダーによる家庭レベルでの栄養強化を毎日実施した場合と週単位実施した場合の乳幼児におけるヘモグロビン濃度に着目した効果について : 無作為化比較試験 )。(2012 / 3 / 19)

MD. Ubydul Haque「Malaria prevalence, risk factors and spatial distribution in a hilly forest area of Bangladesh ( バングラデシュ丘陵森林エリアにおけるマラリア感染率、リスク要因と空間的分布 )。(2012 / 3 / 19)

## 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  
at Bauduin Lecture Hall, Ryojun Hall 2 F or NEKKEN 1 F conference room  
(official language: English)

Date	Section (Section Head)	Speaker	Title
May/17/2011 18:00-19:30 @Ryojun	NEKKEN, Vector Eco Environ (Minakawa N)	Mahamoud Sama Cherif	Immunogenicity of nanoparticle-coated MSP-1 c-terminus DNA vaccine using different routes of administration-Murine model
	DMMI, Biofunctional Molecules (Kai M)	Masaaki Kai	Luminescence methods for the selective detection of prion protein by using an aptamer, and for the discrimination of drug-resistance virus of AIDS by measuring its HIV protease activity
	NEKKEN, Immunogenet (Hirayama K)	Jephtha Nmor	Predicting Breeding sites of Malaria Vectors in Western Kenya: Surface Hydrological Model Approach.
Jun/14/2011 18:00-19:30 @Ryojun	NEKKEN, Eco Epidemiology (Kaneko S)	Yoshito Fujii	Development of multi-plex assay for sero-epidemiological study of neglected tropical diseases(NTDs) in Kenya.
	Dept Basic Med Sci, Biochemistry (Ito T)	Hitoshi Aihara	Epigenetic Function of Histone Modification in Mammal and Malaria-Focusing on Histone H2A and H2B C-terminus.
	DMMI, Pharmaceutical Medicine (Ikeda M)	Masayuki Ikeda	The vaccine gap between Japan and the UK.
Jun/19/2011 18:00-19:30 @Ryojun	NEKKEN, Vietnam Research Station (Yamashiro T)	Tetsu Yamashiro	Molecular epidemiology of rotavirus and other diarrhoeagenic pathogens in Vietnam.
	DMMI, Mol Clin Micribio (Kohno S)	Taiga Miyazaki	Elucidation of the signaling pathways required for ER-stress response and virulence in the pathogenic fungus <i>Candida glabrata</i> .
	NEKKEN, Emerging Infect (Yasuda J)	Jiro Yasuda	Antiviral activity of Tetherin/BST-2
Aug/16/2011 18:00-19:30 @Ryojun	DMMI, Immunology (Yui K)	Kiri Honma	h2-independent Nippostrongylus brasiliensis expulsion in IRF4 KO: The role of natural helper cells and eosinophils.
	NEKKEN, Epidemiol (Nakagomi O)	Tran Thi Nguyen Hoa	Molecular epidemiology of rotavirus and norovirus among Nepalese children.
	DMMI, Medical Virology (Moriuchi H)	Hiroyuki Moriuchi	A Birth Cohort Study on Congenital Infections in Khanh Hoa Province, Vietnam: An Interim Report of Rubella and Cytomegalovirus.
Sep/20/2011 09:00-19:00	GCOE-WS (@NEKKEN)	closed only for GCOE participants	
Oct/18/2011 18:00-19:30 @Ryojun	NEKKEN, Clin Med (Ariyoshi K)	Koya Ariyoshi	The Lampang HIV Cohort in northern Thailand: what have we achieved the past 10 years and where are we heading for?
	DMMI, Cytokine Signaling (Matsuyama T)	Yoshinao Kubo	XMRV infection confers androgen-dependent cell growth of prostate cancer LNCaP cells to androgen-independent
	NEKKEN, Virol (Morita K)	Daisuke Hayasaka	Multiple factors of central nervous system infection and immunopathology determine the severe form of JEV infection
Nov/15/2011 18:00-19:30 @Ryojun	NEKKEN, Int Health (Yamamoto T)	Xia Pincang	The impact of HARRT on immune function of AIDS patients in Fujian, China
	DMMI, Cell Mol Biol (Nishida N)	Katsuya Satoh	Analysis of biochemical markers in cerebrospinal fluid in human prion diseases
Dec-11	not scheduled		
Jan/17/2011 18:00-19:30 @Ryojun	NEKKEN, Parasitol (Hamano S)	Keishi Adachi	The unique T cell reactions in the livers of <i>Schistosoma mansoni</i> -infected mice
	NEKKEN, Bacteriol (Hirayama T)	Masayuki Nakano	A new insight into the function of Stn produced by <i>Salmonella</i>
	Nagasaki Univ Hosp, Dept Hosp Pharm (Sasaki H)	Hitoshi Sasaki	Development of nano-ball for infectious diseases
Feb/18/2011 18:00-19:30 @Ryojun	DMMI, Microbiol Oral Infect (Nakayama K)	Daisuke Nakane	One-way flow of surface protein required for bacterial locomotion
	DMMI, Mol Pharm Infect Agents (Kobayashi N)	Ken Watanabe	Mechanism of nuclear export of Influenza viral ribonucleoprotein complex: Host factor-viral protein interaction and development of novel anti-influenza viral drugs
	NEKKEN, Protozool (Kaneko O)	Miako Sakaguchi	Export and localization of <i>Plasmodium falciparum</i> antigen 332 a gigantic protein expressed in the parasite-infected red blood cell
Mar/08/2011 09:00-19:00	GCOE-WS (@NEKKEN)	cancelled	

NEKKEN = Institute of Tropical Medicine

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

## 医学大学院セミナー開催状況

日	時	場 所	演 題	講 師	担当教室	金子 修
平成23年09月06日(火) 17:00~18:00		熱帯医学研究所 大会講室	Epigenetic mechanisms underlying antigenic variation by the malaria parasite <i>Plasmodium falciparum</i>	Prof. Kirk W. Deitsch Weill Medical College of Cornell University, New York, NY USA	熱帯医学研究所 原虫学	金子 修
平成23年09月16日(金) 17:30~19:00		ポンベ会館 セミナー室	Leishmania major 感染における CARD 9 依存性新規自然免疫活性化経路の役割	佐賀大学医学部 分子生命科学講座 免疫機能制御学分野 吉田裕樹 教授	医歯薬学総合研究科 免疫機能制御学	由井克之
平成23年10月14日(金) 17:30~19:00		ポンベ会館 セミナー室	生体多光子励起イメージング ~ 生物の「生きたまま」での観察への挑戦 ~	大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 細胞動態学、JST・CREST 石井 優 教授	医歯薬学総合研究科 免疫機能制御学	由井克之
平成23年10月21日(金) 18:00~19:00		医学部本館 2階 小会議室	HIV - Receptor Interactions: Translating Discoveries in the Lab to Treatment and Prevention in People	Dr. Edward A. Berger, Ph.D. Chief, Molecular Structure Section Laboratory of Viral Diseases, NIAID, NIH	医歯薬学総合研究科 感染病態制御学	森内浩幸
平成23年11月16日(水) 17:10~18:10		良順会館 ポードインホール	Structure function analysis of placental malaria associated adhesive interactions	Dr. Mats Wahlgren, MD, Department of Microbiology, Tumor-and Cellbiology (MTC), Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden	熱帯医学研究所 原虫学	金子 修
平成23年11月17日(木) 10:35~12:05		熱帯医学研究所 大会講室	"A restricted subset of var genes is associated with adherence of <i>Plasmodium falciparum</i> infected erythrocytes to brain endothelial cells" & "Structure function analysis of placental malaria associated adhesive interactions"	Dr. Joseph D. Phd. Smith, Seattle Biomedical Research Institute, Seattle, WA, USA Dr. Benoit Gamain, INSERM, U665, F-75739 Paris, France	熱帯医学研究所 原虫学	金子 修
平成24年01月29日(日) 10:00~18:00		良順会館 ポードインホール	"Rapid progressive Alzheimer's disease mimicking a human prion disorder" "The influence of sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease subtype on diagnostic investigations" "Mechanism of Medicinal Chaperone to Block the Prion's Pathogenic Conversion Process"	Prof. Inga Zerr (Gettingen University), Dr. Steven J Collins (Melbourn University), 桑田一夫 教授 (岐阜大)	医歯薬学総合研究科 感染分子解析学	西田教行
平成24年02月03日(金) 17:30~19:00		ポンベ会館 セミナー室	免疫細胞の組織内ダイナミクスのイメージング	理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター 免疫細胞動態研究ユニットリーダー 岡田峰陽 博士	医歯薬学総合研究科 免疫機能制御学	由井克之
平成24年02月06日(月) 17:30~18:30		大学病院 外来・医局棟 7階 第4会議室	Childhood infection and early development of atherosclerosis	Dr. David Burgner, Associate Professor, Murdoch Children's Research Institute, The Royal Children's Hospital, Victoria, Australia	医歯薬学総合研究科 感染病態制御学	森内浩幸
平成24年03月21日(水) 8:15~9:15		長崎大学病院 (新病棟) 12階 カンファランス室	技術開発と感染症	東京大学医学部 先端医療研究センター 感染症部門・附属病院 感染免疫内科 岩本愛吉 教授	医歯薬学総合研究科 先進感染制御学	河野 茂