

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24年度 研究成果報告書



長崎大学  
NAGASAKI UNIVERSITY



2012 Research Report of

The Global COE Program, Nagasaki University

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

# Contents

ごあいさつ	1
まえがき	2
概要	3
事業推進担当者および研究協力者	4
平成24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
● エイズおよびプリオン病の検査法と治療薬の開発(甲斐雅亮)	16
<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)	18
● 病原真菌 <i>Candida glabrata</i> における抗真菌薬耐性機序と病原因子の解明(河野茂)	20
● 国家戦略としての感染症医薬品開発の問題点と提言(池田正行)	22
● HIV 感染自然経過を規定する要因の解明 - 北タイ HIV 感染者コホート - (有吉紅也・森内浩幸)	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)	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
● マラリアとT細胞の免疫記憶(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
● 環境・気候変動と感染症(橋爪真弘)	40
<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)	42
<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)	44
● 症候性マラリアに対するヒトの遺伝的感受性(平山謙二)	46
● DNA ワクチンの臨床応用を目指した改良型ナノボールの開発(佐々木均・平山謙二)	48
<hr/>	
業績一覧	50
学位取得者名簿	59
大学院卒業者の就職先	62
Research in Progress Seminar( RiPS )開催状況	64
大学院セミナー開催状況	65



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」が、5年間の事業期間を終了した。昨年末には、本プログラムの総括をかねて「The 6th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases」が開催された。本プログラムのほとんど全てのPI (principal investigator) が研究成果を口頭発表した。発表内容や質疑のレベルは高く、国内外より招聘した超一流の感染症研究者の評価はきわめて高いものがあった。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た本プログラムであるが、所期の目的を順調に達成したとの印象を持った。平山謙二プログラム・リーダーを始めとする全てのPIの健闘に敬意を表するものである。

本プログラムのもう一つの重要な使命は、本学が誇る卓越した感染症研究基盤をベースに、感染症制御のために世界の最先端で貢献する次世代研究人材を数多く育成することにあった。医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻と熱帯医学研究所における長年の感染症研究の蓄積と豊富な研究者陣容に加えて、この間飛躍的に充実・強化されたケニアとベトナムの感染症教育研究拠点を活用して、他にはない特色的かつ充実した大学院教

育が遂行された。そして、基礎、臨床あるいはフィールド研究を問わず多くの有為の感染症研究者・専門家が育った。とくに、多くのアフリカを中心とする途上国からの留学生が、そのような人材としての資質を身につけて母国に帰還したことは、本プログラムの大きな特長であった。

幸いにして、本年度から、本プログラムの後継事業という意味合いを持つ博士課程教育リーディング・プログラム「熱帯病・新興感染症制御グローバルリーダー育成プログラム」が開始された。熱帯に蔓延する感染症や国際的に脅威となる新興感染症について幅広い知識や技術を持ち、グローバルに活躍するリーダーを育成することをミッションとして謳うが、英語コミュニケーション能力の涵養に注力するとともに、ケニアとベトナムの研究施設とフィールド、WHO等の国際機関、海外の協力研究施設、NGO等において中長期の現地研修を義務付けるなど、グローバルリーダーとしての資質を、これまで以上に実践的な教育を通して身につけさせることが特色である。

いまや感染症対策は地球規模での危機管理の主要な課題であり、それを担うグローバル人材のニーズは大きい。長崎大学の最大の個性である熱帯病・感染症領域の教育・研究が、グローバルCOEプログラムの成果を踏み台に、世界のブランドとして更にステップ・アップすることを展望したいと思う。



## 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

平成20年度（2008年）にスタートした長崎大学グローバルCOEプログラム「熱帯病・新興感染症の統合制御戦略」も最終年の5年目を終了しました。その間、厳しい中間評価や予算の削減など困難なこともありましたがおおむね目標として設定した課題を達成できたと感じています。これまで5年間の成果についてリーダーの立場から整理してみたいと思います。

#### 1. 感染症制御のための統合的な研究者集団の構築。

20余名の教授を分担研究者として統合したことは特筆すべきことで、これだけの広範囲でレベルの高い研究者を同じ大学で探すことは他大学では不可能なことだったと思います。分担研究者らはプログラム開始時点でも世界トップレベルの、基礎研究、疫学研究、臨床研究を行っていましたが、グループ全体としての論文リストを見ても、明らかに開始時よりも掲載論文のジャーナルのレベルが向上し、引用回数も含め世界からより認識されるグループになったと思います。

熱研主体の研究としては、アフリカケニア拠点における「気候変動とマラリアの流行」、ベトナム拠点における「新たな蚊媒介性ウイルス発見」、「 Dengue熱重症化予測因子発見」、「コレラ菌、ロタウイルス遺伝子変異の分子疫学」、「Dengue熱流行と上水道整備との関連」などが注目されました。また医歯薬学大学院分子微生物免疫学講座主体の研究としては「自然免疫をつかさどる遺伝子の獲得免疫での重要性」、「新たなナノ技術によるDNAワクチン効果増強」、「プリオン病のクロイツフェルトヤコブ病の生前診断法」、また薬学系からは最新の核酸技術を用いた「アプタマーによる新たな遺伝子デリバリー」などが次々と欧米の一流誌に掲載されました。上記の特筆すべき成果はすべてCOEプログラム内の緊密な協力体制の中で生まれました。

#### 2. 感染症の学理を追及する次世代研究者の育成システムの構築。

上記分担研究者がそれぞれ設定した研究課題の達成をめざし、各ラボでは技術補助員、若手研究者(特

任助教、ポスドク)が雇用されました。このような目的志向型のスタッフ体制のもと、さらにそこで修練する博士課程大学院生の支援策として、学長裁量の特別経費が学業支援補助金として支給されました。この効果は大きく、それまでよりもさらに優秀な意欲に満ちた学生が国内外から集まり、各研究グループをさらに活気あるものとなりました。他のGCOEと比べ、多数の分担研究者の集団であったため、COE内での学生や若手の競争意識が高まり、良い意味での緊張感が生まれ、お互いに切磋琢磨する雰囲気醸成されました。

この環境づくりにさらに大きな効果を与えたのが、月一回3つのグループの若手研究者あるいは大学院生が約30分で進捗状況を英語で発表するGCOE-RIPS (Research in Progress Seminar)でした。GCOE関連の教授、研究者、大学院生が一堂に会し、厳しい質疑応答を行うもので、これにより発表者と聴衆の双方に高い教育効果が生まれました。英語のディスカッションに耐えられる学生が育成され、その結果として、最終年度に開催したGCOEシンポジウムでは、これまでにない非常に活発で中身の濃い討議が展開され、参加者の印象に残るシンポジウムとなりました。

#### 3. 将来を見据えた研究教育の方向性の提示。

このような研究教育の進展の中から、今後の方向性も明らかになってきました。主なものを3つだけ挙げさせていただきます。

##### 1) 教室レベルの個別教育から集団教育への転換。

幅広い視野を持った研究者を養成するために、専攻科全体での教育システムを構築し、複数の指導教授体制以外にも、免疫学、疫学、生物統計学、細胞生物学などのコースワークを充実させていくことが重要であることを認識しました。

##### 2) 先端技術の積極的な導入。

高価な施設や機器類であるBSL4、海外拠点、PET/CT、多光子顕微鏡、蛍光イメージング装置、プロテオーム解析装置、次世代シーケンサー、次世代FACSなどグループが協同で企画し導入していくことが高いレベルの研究成果につながることで、さらにそのためにはGCOEのような組織力と大学の優先的な支援が必須であることも認識させられました。

##### 3) 発信力は英語力であること。

研究レベルはもちろん英語力だけでは向上しませんが、研究成果の発信力は英語力の強化で著しく上昇することを実感させられました。普段からの英語での質疑応答訓練、不断の競争意識から生まれる一流雑誌への投稿英語論文の質と量の増加などにより、世界への高い発信力が生まれ、それが研究レベルの向上へと相乗効果をもって影響することを実感することができました。

最後に改めてすべての研究分担者、協力者、支えてくださった研究スタッフ、技術補助員、事務職員、大学院生のこれまでの献身的情熱的なご努力に心から感謝の意を捧げます。このGCOEが長崎大学の記憶に残る金字塔であり続けることを祈りつつ。

酷暑のポリビアにて。

## 概要

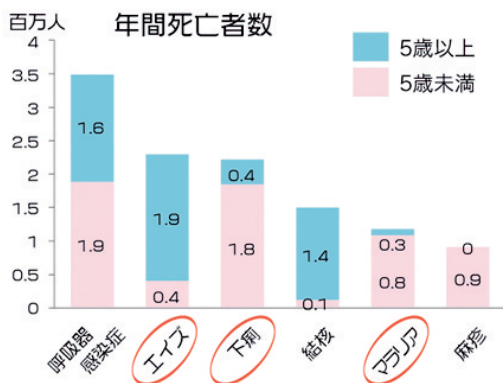
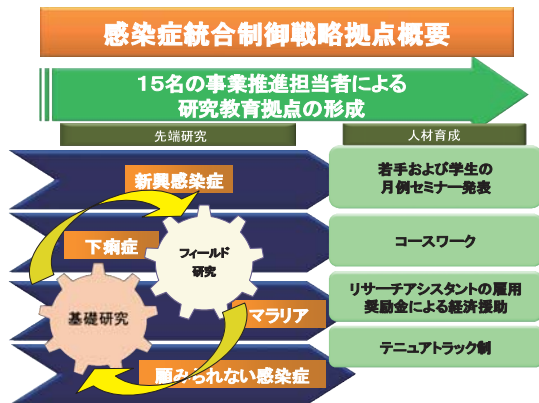
近年、病原体の進化、新たなウイルスの出現、地球温暖化、交通手段の高速化や国際貿易の発展などで、一定の地域で起きた感染症があつという間に世界に広がってまいります。2000年9月国連において、国際社会が達成すべき目標として国連ミレニアム宣言が採択されました。国際目標として掲げられた8つのミレニアム開発目標のなかでも、「2015年までにHIV/エイズを始めとする主要な疾病の発生を食い止め、その後発生率を減少させる」という感染症対策はその中心的課題となっています。

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



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（26名）

（平成24年12月現在）

感染症群	研究手法	事業推進担当者	所 属	分 野 名	疾 患	助教 / ポストドク	LT ( COE 技術員 )	
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		江濱 玲子 Yasmin Hanina	
		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		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		江崎 拓也
下 痢 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		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	濱崎めぐみ	
	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	Shuaibu 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			
		Laothavorn Juntra	熱帯医学研究所・教授	臨床開発学	ワクチン・ 治療薬			
教育室等						佐藤 光	瓜田 千春	

大 学 院 生 (平成24年度在籍者)

高月 英恵	山口 仁孝	祖母井香織	本間拓二郎	須藤 結香															
Dragusha Shpend (コソボ)	Ahmed Firky Mohamed El-mahdy (エジプト)	Ejupi Valon (コソボ)	室田紗由美	朱 欽昌 (中国)	Yasmin Hasina (バングラデシュ)	Rahman Mohammed Shakur (バングラデシュ)													
Abkallo Hussein Molu (ケニア)	Mona Timan Idriss Gassab (スーダン)	陳 玲瀚 (中国)	清水 哲平																
Ulanday Gianne Eduard Limbo (フィリピン)	Adung'o Ferdinard (ケニア)	Le Xuan Luat (ベトナム)	内田 玲麻	高松 由基	Mya Myat Ngwe Tun (ミャンマー)	吉川 亮	Raekiansyah Muhareva (インドネシア)												
楢原 知里																			
賀来 敬仁	武田 和明	吉田 将孝	井手昇太郎	平野 勝治	岩永 直樹	峰松明日香	原田 陽介	田中 章貴	永吉 洋介	廣瀬 弥幸									
Ngo Chi Cuong (ベトナム)	Dhoubhadel Gopal Bhim (ネパール)	山梨 啓友	北庄司絵美	島崎 貴治	島田 郁美	石藤 智子	柿内 聡志	Minh Nhat Le (ベトナム)	宮原 麗子	鈴木 基	小笠 原徹	濱口 杉大	花田 匡利	林 和歌					
渡辺 聡	石橋麻奈美	大坪 善数	蓮把 朋之	本村 秀樹	友廣真由美	船越 康智													
高山 義浩	高橋 宗康	水本 憲治	Vu Hai Ha (ベトナム)	畑岸 悦子	大木 美香	猪飼 桂	Islam Manirul (バングラデシュ)												
野中美那子	成田 由香																		
佐々木絵理子	Nguyen Quang Minh (ベトナム)	Do Phuong Loan (ベトナム)	Gauchan Punita (ネパール)	Hoa Tran Thi Nguyen (ベトナム)	Doan Hai Yen (ベトナム)														
Mutungi Joe Kimanathi (ケニア)	佐倉 孝哉	井上 愛美	朱 曉彤 (中国)	Xangsayarath Phonepadith (ラオス)															
井上 大嗣	前田 勝利																		
Doe Hentietta Terko (ガーナ)	Akbari Masoud (アフガニスタン)	亀井 里加	木村 一美																
泉田 真生	蔡 君柔 (シンガポール)	重松小百合																	
Eugenio Fonzi (イタリア)	住田 雄亮	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)														
樋泉 道子	今井 智里	古尾谷法子																	
凧 幸世	延末 謙一	Kalende Dan Justin Yombo (コンゴ)	下川 周子																
田中 準一	星 友矩	駒澤 大佐																	
Dang My Nhi (ベトナム)	Chibunna Mwanefo Evaristus (ナイジェリア)	Omar Ahamed Din Hassan (ケニア)	Florencia del Puerto (パラグアイ)	Boamah Daniel (ガーナ)	Cherif Mahamoud Sama (ギニア)	Lam Quoc Bao (ベトナム)	Tran Thi Ngoc Ha (ベトナム)												
岩永真理恵	神田 紘介	今村 政信																	

## 熱帯医学研究所の中澤秀介助教 が相川正道賞を受賞 平成24年 9月



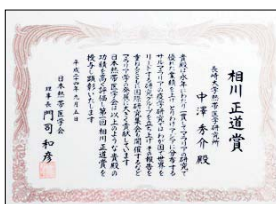
熱帯医学研究所病原体解析部門原虫学分野の中澤秀介助教が9月5日から6日にかけて開催された第53回日本熱帯医学会において相川正道賞を受賞しました。

相川正道賞は故相川正道博士のマラリア学における功績を記念して、マラリア学の発展に寄与した研究・業績に対して日本熱帯医学会が表彰するものです。

同賞はマラリア学における基礎または応用研究において顕著な成果を挙げ、その貢献が著しいと認められるもの、また、マラリアの臨床研究・流行対策研究等で顕著な業績を挙げ、疾病克服への貢献が著しいと認められる者が選ばれます。

中澤秀介助教は、永年にわたり一貫してマラリアの研究で優れた業績をあげ、とりわけアジアに分布するサルマラリアの疫学研究で世界をリードする研究グループを立ち上げ、その報告を重ねたこと、また、国際研究集会も開催するなどマラリア学の発展に大きく貢献したことが高く評価されました。

なお授賞式は9月5日、第53回日本熱帯医学会（とちぎプラザ・北海道帯広市）で開催されました。



JSPS アジア・アフリカ学術基盤形成事業  
「マラリア伝播環境の変容と人獣共通感染性マラリアの出現の理解に向けた学際的研究」

[http://www.tm.nagasaki-u.ac.jp/jspas\\_aavietnam/index.html](http://www.tm.nagasaki-u.ac.jp/jspas_aavietnam/index.html)

### 研究交流目標

東南アジアの国々では経済発展とマラリアコントロールの成果により、都市部ではマラリアがなくなり、主として森林地域や国境地域にのみ見られるようになった。本申請事業の相手国であるベトナムでも同様の現象が見られ、カンホア省では流行地として残った森林地域のマラリア対策をコントロールする努力がなされている。このような努力の結果、カンホア省森林地域のマラリアもいずれなくなると予想されていたが、予想に反し、マラリアを根絶することができなかった。一方、近年、東南アジアの各地でサルマラリア原虫によるヒトへの感染例が報告されていたため、日本側とベトナム側のコーディネーターが予備的調査したところ、カンホア省森林地域の多くのマラリア感染者が実は従来知られているヒト感染性マラリアではなくてサルマラリアの感染であることが分かった。このような事態が発生する背景として、マラリア流行に対する環境変容による影響、マラリアコントロールによる影響、潜在的にあったものの顕在化などが予想されるが、実際にどのようにサルとヒトの間でマラリアの伝播が起きるようになったのかは明らかでなく、サルマラリアの人への感染を制御するための基盤として、流行の生態的・疫学的実態を明らかにすることが必要である。そこで本事業では、カンホア省森林地区における①木材伐採やそれに伴う水場の変化等の環境変容調査、②サル、媒介蚊、ヒトの行動の生態学的・文化人類学的評価、③サル、媒介蚊、ヒトでのサルマラリア原虫感染状況の疫学的調査、④サル、媒介蚊、ヒトから得た原虫集団の遺伝子型分布の比較および採取地区間の比較による宿主による隔離・地理的隔離に関する集団遺伝学的解析を行う。これらにより、森林地域で流行するサルマラリアの伝播の実態を明らかにし、環境保全・野生動物保護と両立するサルマラリア伝播制御に向けた基盤情報を整えるとともに、共同事業・共同研究を通じた二国間の永続的協力関係を構築する。



- 1) Emerging Infectious Diseases volume 17, Number 7-July 2011
- 2) 人獣共通感染サルマラリア *Plasmodium knowlesi*  
最新医学 66(6): 1217-1222, 2011

## 大木美香博士課程大学院生が 2012年度日本熱帯医学会研究奨励賞 平成24年9月



熱帯医学研究所国際保健学分野の大木美香博士課程大学院生は、平成24年9月5日～6日に帯広で開催された第53回日本熱帯医学会総会・学術集会において日本熱帯医学会研究奨励賞を受賞しました。デング熱の予防介入・立案・実践に役立つ数理モデルの開発に取り組み、デング熱流行地でのベクター対策である殺虫剤噴霧に対して一つの指針を示した点が高く評価されての受賞となりました。

### 要旨

デング熱は非常に複雑な伝播動態をもつ蚊媒介性ウイルス疾患であり、熱帯・亜熱帯地域を中心に大流行を繰り返している。ワクチンは開発途上であり、現時点ではベクターコントロールが唯一の予防手段であり、その中でも殺虫剤噴霧は広く行われている。しかし、患者抑制効果に対しては多くの議論もある。そこで本研究では、数理モデルを用いて殺虫剤噴霧の効果と最適なタイミングの検証を行うこととした。デング熱流行地の実態に基づいたシミュレーションを行うために、雨季の長さを一定ではなく4～6ヶ月間と設定し、ベクターのウイルス媒介能力の季節変動を考慮した。更に、集団免疫レベルが50%前後のシンガポールと90%を超えるような国々とはウイルス伝播強度が明らかに異なることから、集団免疫も0～80%と段階的な設定を行った。結果、雨季

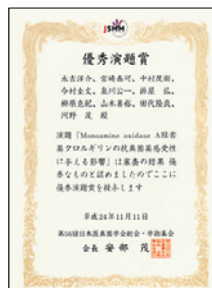
の長さや集団免疫レベルのいかなる組み合わせに関わらず、殺虫剤噴霧はデング熱流行時期の比較的早期～半ばまでに行うのが最適であり、その場合患者数を最大40%以上も減少させ得ることが明らかになった。リソースに恵まれないデング熱流行地においても最小限の投資で最大の予防効果が得られるベクターコントロール戦略の一助になると期待される。

## 永吉洋介博士課程大学院生が 第56回日本医真菌学会総会・学術集会 優秀演題賞を受賞 平成24年11月



本学大学院医歯薬学総合研究科感染免疫学講座（第2内科）の永吉洋介博士課程大学院生は、同教室の宮崎泰可助教、河野茂教授の指導により平成24年11月10日～11日に東京で行われた第56回日本医真菌学会総会・学術集会において

「Monoamine oxidase A 阻害薬クロルギリンの抗真菌薬感受性に与える影響」の演題で発表し、優秀演題賞を受賞しました。全ポスター発表者の中から、抄録の事前審査により優秀な演題に対し口頭発表の機会が与えられ、ポスター



に加えて口頭での発表も行いました。

### 要旨

*Candida glabrata* は *Candida albicans* に次いで多いカンジダ敗血症の原因菌であり、一般的に臨床で頻用されるアゾール系抗真菌薬に低感受性であることが問題であるが、その耐性機序として最も重要なものに排出ポンプの過剰発現による細胞内薬剤濃度の低下がある。昨年これに対し、抗うつ薬や抗パーキンソン薬として臨床使用された Monoamine oxidase A 阻害薬クロルギリンが *in vitro* で真菌のアゾールトランスポーター (Cdr 1、Cdr 2) を強力に阻害することが報告され(1)、我々は本剤が *C. glabrata* のアゾール感受性を改善し得るかを検討した。しかし、クロルギリンとフルコナゾール併用で行った微量液体希釈法での検討ではフルコナゾールへの

MICが1/2倍程度の低下を来すにとどまった。クロルギリン存在下では *CDR 1* および *CDR 2* の mRNA 発現が高度に誘導されることが分かり、クロルギリンによるトランスポーター阻害作用が相対的に不十分となることが原因と考えられた。また、興味深いことに *C. glabrata* に対しクロルギリンを併用するとアゾール系薬とは作用機序の異なる、ミカファンギンおよびアムホテリシンBに対する感受性の低下が見られた。この感受性変化は *CDR 1*、*CDR 2* を欠損する株でも同様にみられ、トランスポーターの誘導が感受性低下の直接的な原因でないことが分かった。また、ヒトの Monoamine oxidase A の *C. glabrata* におけるホモログである *FMS 1* の欠損株においてもクロルギリン併用による感受性の変化は同様にみられ、クロルギリンが *Fms 1* 以外の作用点を持つ可能性が考えられた。以上より、現時点ではクロルギリンがミカファンギンやアムホテリシンの感受性を低下させた原因機序は明らかでないが、この機序を明らかにすることにより、ミカファンギンやアムホテリシンへの耐性機序に対する新たな知見を得られる可能性があり、さらなる研究を進行中である。また、クロルギリンが真菌の耐性を誘導せずにミカファンギンやアムホテリシンの活性を直接低下させている可能性も排除できず、クロルギリン投与中の患者における抗真菌薬の選択には注意が必要である。

1) Holmes et al. Antimicrob Agents Chemother. 2012

## 国際シンポジウム

### 「The 6th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases and The 11th Nagasaki-Singapore medical Symposium」

日時：平成24年12月10日(月) - 12日(水)

会場：長崎大学良順会館

2階ボードインホール / 1階専斎ホール



長崎大学坂本キャンパス内の良順会館でGCOE主催の第6回長崎熱帯・新興感染症シンポジウムを開催しました。参加者は150名にのぼり、午前中のゲストによる講演だけでなく、午後のGCOEによる研究成果や国立シンガポール大学からの参加者による発表、

31演題のポスターセッション(国内学外6名、シンガポール大学5名)などいずれも21世紀COEから始まった感染症研究COEを締めくくるにふさわしい素晴らしい記憶に残るシンポジウムとなりました。



シンポジウムの後は、RIKEN 永井美之先生、東京大学北潔先生、東京医科歯科大学太田伸生先生、国立感染症研究所倉根一郎先生の各評価委員、長崎大学からは調研究担当理事、熱帯医学研究所竹内所長、森田リーディングプログラムリーダー、西田副リーダー、中込GCOE運営委員の出席をいただき、長崎の感染症研究グループに対する評価と将来像に関するご指摘をいただきました。永井先生には臨床研究やコホート研究でスケールの大きい横綱相撲をとること、北先生には中期的な将来展望を見据えた研究を計画すべきこと、太田先生には日本の中での研究教育拠点としての人材育成、特に日本人の育成にも特段の努力をすること、倉根先生には感染症研究と

いう非常に幅広い領域といえども外部から見て明白な目的と拠点としての存在理由がはっきりと示されるべきであることなどをご指摘いただきました。



写真：一段目左より

Prof. William A Petri Jr. (University of Virginia, USA)  
“ The effect of tropical enteropathy on vaccination ”

Prof. Kiyoshi Takeda (Osaka University, Japan)  
“ Regulation of intestinal inflammation by innate immunity ”

Dr. Rogerio Amino (Pasteur Institute, France)  
“ In vivo imaging of *Plasmodium* life and death ”

Prof. Alexander E Gorbalenya  
(Leiden University, The Netherlands)  
“ Why virus discovery effort should be expanded ”

Prof. Matthias Frosch (University of Wuerzburg, Germany)  
“ Deciphering evolution and virulence of the strictly human pathogen *Neisseria meningitidis* ”

Prof. Naoki Yamamoto  
(National University of Singapore, Singapore)  
“ Unique association of high-risk human papilloma viruses (HPV) with breast carcinoma ”

Drs. Keith and Muoi Arnold (USA)  
“ Discovery of Artemisinin (qinghaosu) and early research by my Team ”

Prof. Nicholas J White (Mahidol University, Thailand)  
“ Bridging laboratory science and the field in malaria research ”



## 平山壽哉教授（熱帯医学研究所・細菌学分野）の研究がインターネットニュースに掲載 平成24年12月

マイナビニュース2012年12月14日17時37分

<http://news.mynavi.jp/news/2012/12/14/173/index.html>

本文

慶應義塾大学（慶応大）は12月13日、東京大学、長崎大学の協力を得て、ピロリ菌由来のがんタンパク質「CagA」が「がん幹細胞」に注入されると、細胞内にCagAを溜め込み、安定的に存在することを証明したと発表した。

成果は、慶応大医学部 内科学（消化器）の鈴木秀和准教授、同・医学部先端医科学研究所 遺伝子制御研究部門の佐谷秀行教授、東大医学部 微生物学の畠山昌則教授、長崎大 熱帯医学研究所 細菌学分野の平山壽哉教授らの共同研究グループによるもの。研究の詳細な内容は、米国医学雑誌「Cell Host & Microbe」2012年12月号に掲載された。

胃がんは、日本では罹患率が非常に高く、部位別死亡率では2番目に多いがん。胃がんの重要な危険因子としてピロリ菌感染がある。ピロリ菌感染によって胃がんが発症する最も重要な要因といわれているのが、CagAというピロリ菌の産生する毒素の関与だ。

CagAはヒトの胃の粘膜の細胞の中に、ピロリ菌の「IV型分泌機構」を使って打ち込まれた後に、発がんに至るシグナルを誘導する。従って、細菌由来の「がんタンパク質」であるという認識だ。

疫学的にも、CagAを作るタイプのピロリ菌の感染が、CagAを作らないタイプのピロリ菌の感染に比較して、圧倒的に胃がんの発症と関係していることがわかっている。

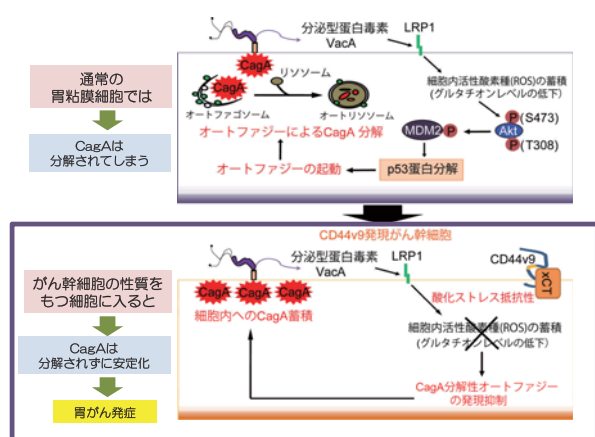
CagAによって細胞ががんになるには、細胞内でCagAが安定的に存在し続け、がん化シグナルを惹き続ける必要があるが、細胞内に打ち込まれたCagAが果たして安定して存在できるかについては、実際にはわかっていなかった。

今回の研究では、まず培養した胃の細胞にピロリ菌を感染させ、細胞内に打ち込まれたCagAの安定性を継続的に検討。その結果、細胞内のCagAは時間と共に

減少し、安定して存在し続けていないことが判明したのである。

そこで、どのような機序によって細胞内の CagA が分解されているのかが調べられた。その結果、もともとは細胞が持つ、細胞内のタンパク質を分解する仕組みの1つである「オートファジー（自食作用）」が作動し、これによって細胞内に打ち込まれた CagA が分解されていることがわかったのである。

続いて、どのようにして CagA を分解するオートファジーが作動するかが調べられた。ピロリ菌は、CagA のほかに、菌体外へ分泌されて、細胞に空胞を形成する空胞化毒素「VacA」も産生しているが、VacA を作らないタイプのピロリ菌感染では、CagA を分解するオートファジーは作動せず、また VacA を CagA 発現細胞に直接添加すると、CagA を分解するオートファジーが作動することが確認されたのである（画像1・上）。



画像1．CD44v9陽性がん幹細胞でのピロリ菌由来がんタンパク質 CagA のオートファジー回避機序

さらに、VacA はヒトの胃の粘膜の細胞の表層にある「lipoprotein receptor related protein-1 (LRP1)」という受容体に結合した後、細胞内の抗酸化物質「グルタチオン」を減らすことで細胞内での活性酸素種「ROS」の蓄積を誘導。それにより「Akt-MDM2-p53」タンパク質分解の経路が活性化されることで、CagA を分解するオートファジーが作動することが判明した（画像1・上）。

以上のことから、ピロリ菌自らが、VacA を用いて細胞内に打ち込んだ CagA を、オートファジーの作動を介して分解することで、細胞内 CagA 量を抑制的に調節していることがわかったのである。

そこで研究グループが考えたのが、感染しているヒト

の胃の細胞のキャラクターが細胞内での CagA の安定性に影響を与えることがないかどうかというもの。がん幹細胞のマーカ分子の1つである「CD44variant9 (CD44v9)」発現細胞(画像2)では、シスチントランスポーター「xCT」細胞膜上で安定化し、細胞内グルタチオンを高め、酸化ストレス、つまり活性酸素に対して抵抗性を示すという特性が知られていた。

今回の研究では、この CD44v9 が発現する胃がんのがん幹細胞では VacA による CagA を分解するオートファジーが作動しないことがわかったのだ。その結果、CagA は CD44v9 を発現する「がん幹細胞」に特異的に蓄積することが明らかとなった（画像2）。



画像2．早期胃がん組織中での CD44v9 陽性がん幹細胞での CagA の蓄積。内視鏡的治療で切除した早期胃がんの組織を、CD44v9 を緑色の蛍光で、CagA を赤色の蛍光で、核を水色の蛍光で染色したもの

つまり、細胞内に打ち込まれた CagA の安定性は、ピロリ菌に感染したヒトの胃粘膜の細胞のキャラクターによって決定され、がん幹細胞の性質を持つ細胞に特異的に蓄積することで、発がんシグナルを惹起し続けていると考えられたのである。

近年、臨床疫学的研究の結果からもピロリ菌と胃がんの関連は、益々濃厚になってきているところだ。しかし、ピロリ菌感染から胃がん発症までには、数10年の歳月がかかること、感染者の内の胃がん発症者は、ほんの一部であるということから、直接的な胃がん発症の分子機構の解明が求められていた。

今回の成果は、ピロリ菌によって細胞内に打ち込まれた CagA は、通常ならオートファジーによって分解・

排除されるが、CD44v9を発現するいわゆる「がん幹細胞」では、細胞内にCagAを溜め込んでいくことが示され形だ。

この成果から、CD44v9の発現状況を調べることで、ピロリ菌感染に伴う胃がんの発症のリスクやピロリ菌の除菌後の胃がん発症のリスク、さらには、胃がんの再発リスクを評価するときの重要な指標になり得ることが期待できるという。

また、今回の研究では、ピロリ菌の分泌毒素VacAによるCagAを分解するオートファジー誘導の仕組みが解明された。オートファジーは、元来細胞が持っているタンパク質分解システムであり、細胞内での異常なタンパク質の蓄積を抑制している。

つまり、強制的に一過性のオートファジーを誘導させることで細胞内CagAの排除促進をもたらすことができ、ピロリ菌感染時の胃がんの発症予防が可能になることも期待できるという。

さらに、生体内にもがんタンパク質は存在し、これらのタンパク質が蓄積することは細胞のがん化を誘導する。従って、一時的にオートファジーを誘導し、がんタンパク質の蓄積を抑制することによる発がん予防は、胃がんに限らずほかの臓器での発がん予防への応用も期待できるとした。

現在、日本では、ピロリ菌の除菌療法が、胃潰瘍・十二指腸潰瘍、早期胃がんの内視鏡治療が行われた後の胃、胃マルトリンパ腫、特発性血小板減少性紫斑病に対して、保険適用の治療となっている。今回の研究結果により、これらの前駆病変である「慢性萎縮性胃炎」でピロリ菌の除菌療法を行えば、胃がん発症の予防に一層つながることが期待されるとした。

# 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、これらの知見から、臨床的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早期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く、その診断はCTやMRIによる画像診断や臨床所見から行われていた。

## 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）とごく少量のマウスプリオン株感染脳乳剤

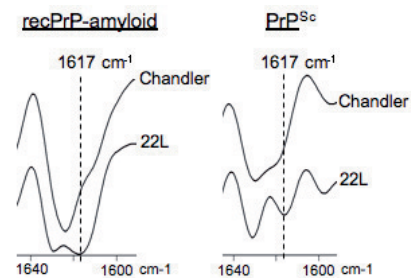


図1：フーリエ変換型赤外分光計（FTIR）による recPrP アミロイドの二次構造解析。Chandler、22L 株より作製された recPrP アミロイド（左図）と感染マウス脳乳剤から精製した PrP<sup>Sc</sup>（右図）の二次構造を FTIR で解析した。

を混和後、攪拌条件下でインキュベート（40℃）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 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有為に潜伏期間を短縮し、感染価を高めた。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、20kDa 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）。

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

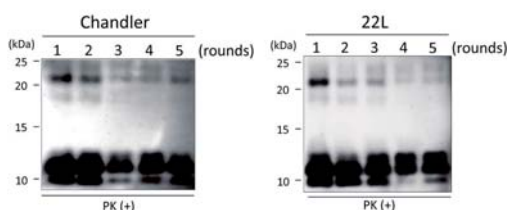


図2 継代により得たリコンビナント PrP アミロイドの Proteinase K (PK) 抵抗性の測定。シードとして recPrP アミロイドを 1/100倍希釈で recPrP と混和・反応させ、5回継代を行った。

への伝播が維持されないことが分かった。さらに、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、試験管内で感染性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。

### 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。これまで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 conversion (RT-QUIC 法) を開発した。さらに反応条件を詳細に検討する事で、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。

RT-QUIC 法を遺伝性プリオン病患者に適用した。検体は、日本、韓国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 insom-

nia; FFI [D178N]) を用いた。RT-QUIC 法における陽性率は、E200K (18/22, 81.8%)、V203I (2/2, 100%)、P102L (18/20, 90%)、D178N (10/12, 83.3%) であった。これらの試験において 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<sup>3</sup>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。(Sano et al)

### プリオン感染における宿主自然 免疫系因子の役割を解明

プリオンは宿主の遺伝子にコードされているプリオン蛋白が高次構造変化を起こすことで増殖するため、宿主の免疫系は反応しないと考えられてきた。しかし自然免疫系は TLR4 がプリオン病発症になんらかの関与をしていることが報告されている。

今回我々は自然免疫系の Myd88 非依存性経路の主要なシグナル因子である IRF3 がプリオンに対する宿主の防御反応惹起に重要であることを見いだした。IRF3 遺伝子欠損マウスを用いてマウスプリオンの感染を行ったところ、野生型マウスに比し潜伏期が短縮することを見いだした。つまり IRF3 を介する自然免疫反応がプリオンの感染増殖に抑制的に働いていることが分かる。このことを確認するため、持続感染細胞に IRF3 を過剰発現させてみたところ、異常プリオン蛋白の産生が減少した。(Ishibashi et al)

現在は IRF3 下流の因子である 1 型インターフェロン (IFN- $\beta$ )、さらに IFN 受容体の下流の様々な誘導因子について抗プリオン活性の有無を検証している。また、自然免疫系がどのようにプリオン感染を認識するのかを解明したいと考えている。

### この研究の発表

#### 論文 は GCOE 明記があるもの

1. Sano K, Satoh K, Atarashi R, Takashima H, Iwasaki Y, Yoshida M, Sanjo N, Murai H, Mizusawa H, Schmitz M, Zerr I, Kim YS, Nishida N. Early Detection of Abnormal Prion Protein in Genetic Human Prion Diseases Now Possible Using Real-Time QUIC Assay. PLoS One. 2013; 8(1): e 54915. Epub 2013 Jan 25.
2. Ishibashi D, Atarashi R, Fuse T, Nakagaki T, Yamaguchi N, Satoh K, et al. Protective role of interferon regulatory factor 3-mediated signaling against prion infection. J Virol 2012; 86: 4947-55.



# エイズおよ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 健康薬科学講座 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（エイズ）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研究目的にしている。

エイズの原因であるヒト免疫不全ウイルス（HIV）は、宿主の T 細胞表面に発現している CD4 を介して細胞内に侵入し、感染する。感染した HIV のゲノム RNA は、逆転写されたのち、宿主の染色体に組み込まれ、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、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う酵素である。これまでに我々は、ウィ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ィルス識別法およびウィルスの同時識別法を開発している。現在、ウィルス酵素を標的にした抗ウィルス薬が臨床使用されており、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 の発現を阻害できる RNA 干渉（RNAi）を利用した抗 HIV 薬の開発を目的に、CD4 を認識する DNA アプタマーと短い 2 本鎖 RNA（siRNA）を連結したキメラ siRNA を設計した。このアプタマー融合 siRNA はトランスフェクション試薬などを必要とせずに T 細胞内に移行し、HIV プロテアーゼの発現を阻害できることが、本研究により明らかになった。

プリオン病は、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発症する神経疾患である。PrP<sup>C</sup> と PrP<sup>Sc</sup> のアミノ酸配列は同じであり、これらを識別できる抗体がないため、PrP<sup>Sc</sup> の直接検出法（プリオン病の診断法）の開発が期待されている。また、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を有するが、PrP<sup>Sc</sup> の詳細な形成機構は不明であり、現在のところプリオン病に対する効果的な治療薬は開発されていない。本研究では、プリオン病の診断法と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>）を作製し、mPrP<sup>Res</sup> と mPrP<sup>C</sup> の識別法の開発および 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。

## DNA アプタマー融合 siRNA は HIV プロテアーゼの mRNA の発現を阻害する

RNAi の現象を利用して標的 mRNA を分解する siRNA は、様々な疾患に適応できる新たな治療薬として期待されている。しかし、核酸分子である siRNA を臨床応用するには、細胞膜透過性や安定性などの解決すべき問題がある。

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た。そこで本研究では、核酸分子の安定性の向上を期待して、RNA を 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 を連結させた DNA アプタマー融合 siRNA を考案した。また、比較検討するために、同じ核酸配列の RNA アプタマーに siRNA が結合している RNA アプタマー融合 siRNA も調製した。

CD4 陽性又は陰性 T 細胞の培養液に、蛍光標識した DNA アプタマー融合 siRNA 或いは RNA アプタマー融合 siRNA を添加した。その結果、CD4 陽性 T 細胞内では、細胞内に蛍光が観察されたのに対して、CD4 陰性 T 細胞内に蛍光は観察されなかった（図 1）。このことから、DNA アプタマー融合 siRNA は、RNA アプタマーのそれと同様に、CD4 を認識して細胞内に移行できることが分かった。

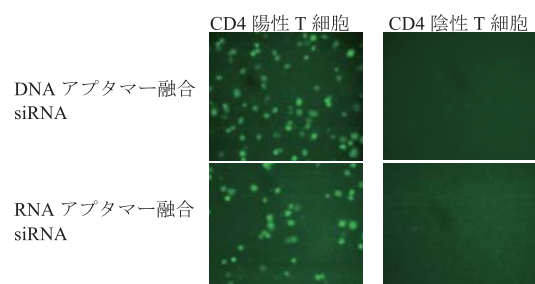


図 1 : アプタマー融合 siRNA の CD4 陽性 T 細胞への特異的な取り込み

そこで、ヒト血清中における両アプタマー融合 siRNA の安定性を比較した。その結果、DNA アプタマー融合 siRNA は、血清中約 1 時間安定に存在できるのに対して、RNA アプタマーのそれは、15分以内に分解された（図 2）。この結果は、アプタマーに DNA を用いるこ

とによって、融合 siRNA の安定性が向上したことを示している。

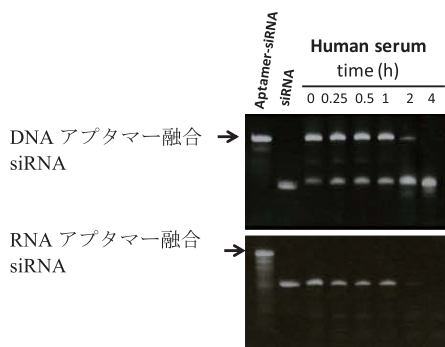


図 2 : ヒト血清中におけるアプタマー融合 siRNA の安定性

次に、両キメラ siRNA を用いて、HIV プロテアーゼをコードする mRNA の発現阻害効果を評価した結果、RNA アプタマー融合 siRNA は、その mRNA の発現を阻害しなかったが、DNA アプタマー融合 siRNA は、100 nM 以上の濃度において約40%の発現阻害効果を示していた (図 3)。

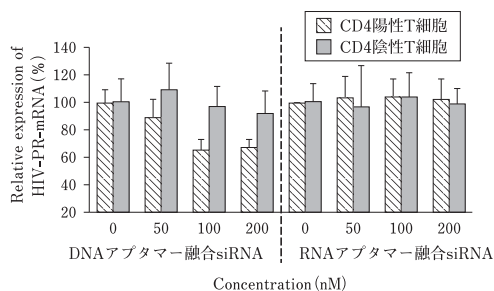


図 3 : アプタマー融合 siRNA を用いた T 細胞中における mRNA の発現阻害

これらの結果より、DNA アプタマー融合 siRNA 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することが分かった。本研究成果は、エイズ治療だけでなく、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。

### 構造的に異なるプリオンタンパク質をアプタマーによって識別する

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

### この研究の発表

論文 は GCOE 明記があるもの

1. Q Zhu, T Shibata, T Kabashima, M Kai. Inhibition of HIV-1 protease expression in T cells owing to DNA aptamer-mediated specific delivery of siRNA. *Eur J Med Chem.* 56, 396-399 (2012).
2. H Yasmin, T Shibata, MS 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).
3. MS Rahman, T Kabashima, H Yasman, T Shibata, M Kai. A novel fluorescence reaction for N-terminal Ser-containing peptides and its application to assay caspase activity. *Anal Biochem.* 433, 79-85 (2013).

ことが報告されている。そこで mPrP<sup>Res</sup> を作製し、当研究室で開発した化学発光試薬 (TMPG) と分子認識能を持つ DNA アプタマーを用いて、mPrP<sup>C</sup> と mPrP<sup>Res</sup> が識別できるか調べたところ、mPrP<sup>C</sup> のみのが検出された (図 4)。この結果は、DNA アプタマーによって立体構造の異なる PrP を特異的に認識できることを示しており、今後、PrP<sup>Sc</sup> や PrP<sup>Res</sup> に対するアプタマーを応用した、異常プリオンタンパク質の直接検出法を開発する予定である。

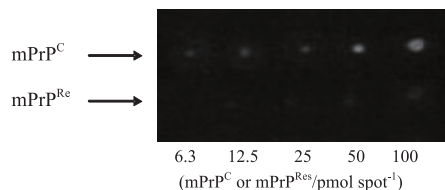


図 4 : アプタマーを用いた mPrP<sup>C</sup> と mPrP<sup>Res</sup> の識別

### プロテアーゼ抵抗性プリオンタンパク質の酵素分解は界面活性剤によって促進される

PrP<sup>Sc</sup> や PrP<sup>Res</sup> の酵素分解を促進する化合物は、プリオン病治療薬の開発において、有用な情報を提供するものと考えられる。そこで、mPrP<sup>Res</sup> の酵素分解を促進する化合物について検索した結果、Tween20 や SDS などの界面活性剤が、mPrP<sup>Res</sup> の酵素分解を著しく促進することが分かった。(図 5)。一方、変性剤やキレート剤は、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 PrP<sup>Res</sup> の酵素分解に有効であることを明らかにした。

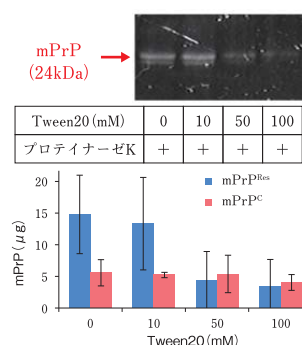


図 5 : 界面活性剤 ( Tween20 ) による mPrP<sup>Res</sup> の酵素分解促進効果

# 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、またデングウイルスについては調査地域をアフリカに拡大して実施した。アジアにおいては各国でデングウイルスが継続的に流行し進化(変化)を続けているが、ケニアにはサウジアラビア地域からウイルスが侵入してきていることを示唆する結果を得た。また、日本脳炎ウイルスの非構造タンパクNS1の機能について宿主特異性に関する知見を得た。さらに診断技術開発ではダニ媒介性脳炎ウイルスを高感度に検出できる核酸増幅系を開発した。新興ウイルスの調査においてはベトナムでのコウモリの調査を継続する一方、昨年発表した新ウイルス科 (*Mesoniviridae*) の解析を進めた。

## 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、グローバル化により新興感染症は開発途上国、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が必要である。

## デングウイルスの血清疫学

フィリピン、ベトナム、ミャンマーのデング血清疫学調査を継続した。特にミャンマーの患者については定量的特異抗体価、型別中和抗体価、IgM 補足 ELISA 抗体価、等を測定し総合評価により、抗体依存性感染増強によらないデング出血熱症例を特定した(図1、成果5)。しかし抗体価と重症度との相関は認められなかった。

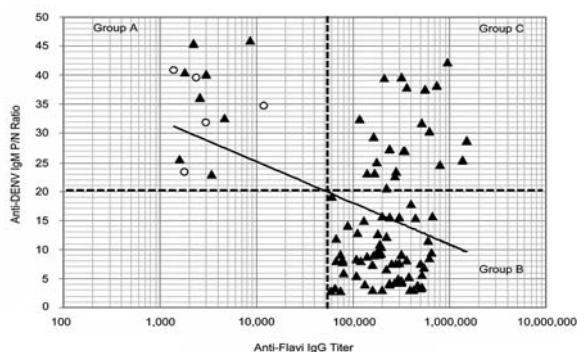


図1: ミャンマーの DHF/DSS 患者のデングウイルス特異的 IgG (横軸) IgM (縦軸) 抗体価の分布。(12 years of age), (< 1 year of age) Group A は初感染の患者。一次感染でも重症例が発生している症例は重症例全体の14%存在する。<成果5>

## デングウイルスの分子疫学

アジア各国とケニアで患者血清からウイルスを分離して分子疫学解析を実施した。アジアでは4つの血清型のデングウイルスの大規模な流行が継続しており、それぞれの国と地域でデングウイルスは独自に進化(変化)していることが示された。一方ケニアで分離されたデング1型ウイルスはサウジアラビアで過去に分離された株と近縁であった(図2)。この結果は、アラビア半島からアフリカ東部にかけて、ヒトの移動に伴って近年デングウイルスが移動拡大している可能性を示唆している。

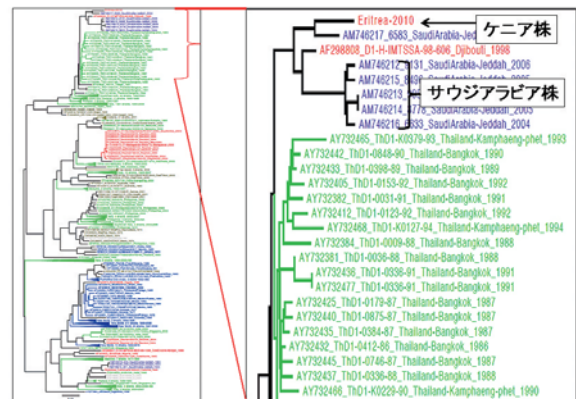


図2: 世界で分離されるデング1型ウイルスのEタンパク遺伝子の比較解析から作成された樹状解析図。ケニア辺縁部で分離された株はサウジアラビアで過去に分離された株と近縁であることが明らかになった。<投稿中>

## 日本脳炎ウイルスの病原性の分子基盤

日本脳炎ウイルスはフラビウイルス科のウイルスであり、非構造タンパク質NS1はウイルスRNA合成複合体の一部を形成している。しかしフレームシフトが原因で合成されるNS1'があるのは日本脳炎ウイルスやウエストナイルウイルスの脳炎を起こすフラビウイルスでのみ報告されている現象であり、病原性との関連が示唆されている。今回、本研究においてNS2Bの62番目の塩基がフレームシフトに重要な要素の1つであることが明らかとなった。今のところNS1'と脳炎発症との関

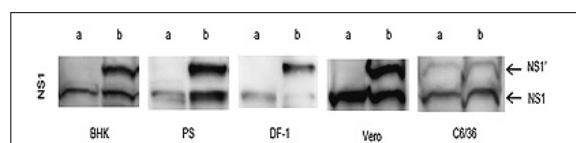


図3: NS1のみ合成するa株(62A)と比較してNS1'を合成するb株(62G)はトリ由来細胞において約10倍程度の高い増殖をします。BHK:ハムスター細胞、PS:ブタ細胞、DF1:トリ由来細胞。a株も蚊細胞ではNS1'を発現している。<投稿中>

連は明らかではないが、トリでのウイルス増殖に優位に働く可能性が示唆された。このことは、日本脳炎ウイルスやウエストナイルウイルスがトリに感染する現象と合致しており興味深い。

### アルボウイルスの迅速診断法の開発

迅速実験室診断は臨床分野でも疾病対策分野でも重要である。我々はこれまでデングウイルスとチクングニアウイルス、新型インフルエンザウイルス等の迅速診断法を日本で開発された遺伝子増幅検出技術である LAMP 法を用いて開発してきた。今年度は、アルボウイルスのなかでもダニによって媒介されるダニ媒介性脳炎ウイルス (Tick-borne encephalitis virus: TBEV) の診断法を開発した。この手法は TBEV と近縁の日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、デング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、本手法は十分に有用な診断法であると判断した。

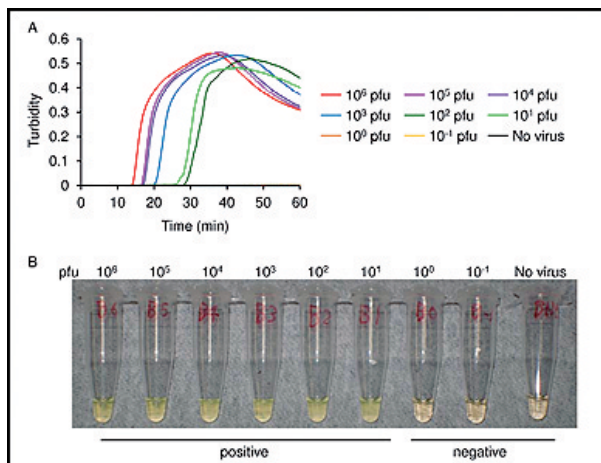


図4：ダニ媒介性脳炎ウイルス特異的 RT-LAMP プライマーによるヒト血清中のウイルス遺伝子の検出結果。反応あたり10pfu以上のウイルスがあれば検出が可能である。〈成果6〉

デングウイルスや黄熱ウイルスなどフラビウイルスの抗体検出系を改良し、開発途上国でも利用可能な安価な Point-of-Care (POC) 診断薬の開発に利用することを目指して、昆虫細胞を用いてデング1型～4型のウイルス PrM-E タンパク質を発現させウイルス様粒子の大量生産を可能とする技術を開発した(図4)。この抗原は IgM 補足 ELISA 法やイムノクロマト法による抗体検出において、これまで用いられてきたウイルス感染培養液と同等の力価を有することが示され、今後、安全安価な抗体検出用抗原となることが示された。

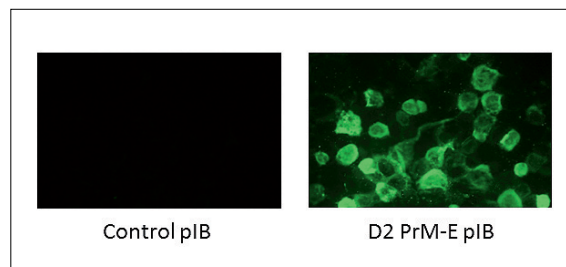


図5：デング2型ウイルスの PrM-E タンパク遺伝子を昆虫細胞発現ベクター pIB/V 5-His (Invitrogen 社製) に挿入して発現系を構築し、blasticidin により高発現細胞を選択して増殖培養をおこない、ウイルス様粒子の安定発現系を得た。蛍光免疫染色により多量の抗原発現が確認できる(写真右)〈投稿準備中〉

### ベトナムにおける新興ウイルス調査

2012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。オオコウモリがニパウイルスの抗体を持つことを報告したが(成果1) 加えてウイルス分離を実施した。アジア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。

昨年報告したベトナムで発見した新種ウイルス Nam Dinh ウイルスは新しいウイルス科 (*Mesoniviridae*) として報告したが(成果4) このウイルスの進化に関する比較解析を実施した(投稿準備中)。

### この研究の発表

#### 論文 は GCOE 明記のあるもの

1. Hasebe F, Thuy NT, Inoue S, Yu F, Kaku Y, Watanabe S, Akashi H, Dat DT, Mai le TQ, Morita K. Serologic evidence of Nipah virus infection in bats, Vietnam. *Emerg Infect Dis.* 18(3): 536-7. 2012 Mar. (IF 6.169)
2. Furuta T, Murao LA, Lan NT, Huy NT, Huong VT, Thuy TT, Tham VD, Nga CT, Ha TT, Ohmoto Y, Kikuchi M, Morita K, Yasunami M, Hirayama K, Watanabe N. Association of mast cell-derived VEGF and proteases in Dengue shock syndrome. *PLoS NTD.* 6(2): e1505. 2012 Feb (Epub 2012 Feb 21). (IF 4.716)
3. Okamoto K, Kinoshita H, del Camen Parquet M, Rawekiensya M, Kimura D, Yui K, Alimul Islam M, Hasebe F, Morita K. Dengue virus strain DEN 216681 utilizes a specific glycochain of syndecan-2 proteoglycan as a receptor. *J Gen Virol.* 93 (Pt 4): 761-70. 2012 Apr (Epub 2011 Dec 14). (IF 3.363)
4. Lauber C, Ziebuhr J, Junglen S, Drosten C, Zirkel F, Nga PT, Morita K, Snijder EJ, Gorbalenya AE. Mesoniviridae: a proposed new family in the order Nidovirales formed by a single species of mosquito-borne viruses.
5. Mya Myat Ngwe Tun, (他13名) Serological characterization of Dengue virus infections observed among dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome cases in Upper Myanmar. *Journal of Medical Virology.* (in press) 2013
6. Hayasaka D, Aoki K, Morita K. Development of simple and rapid assay to detect viral RNA of tick-borne encephalitis virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *Virology Journal.* (in press) 2013

# 病原真菌 *Candida glabrata* における 抗真菌薬耐性機序と病原因子の解明

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

日和見感染症として発症するカンジダ症は、致命的経過をとることも少なくない。近年、新規抗真菌薬の開発が停滞しており、既存薬剤の有効利用にも目を向けた新たな治療戦略の開発が急務とされている。本研究では、临床上重要な病原真菌 *Candida glabrata* において抗真菌薬耐性と病原性の両者に関与しているいくつかの細胞内情報伝達経路を同定した。その主要構成因子の中で、病原真菌特異的な分子は新たな薬剤標的として期待される。

## 背 景

臓器移植など先端医療の発展や HIV 感染者の増加に伴い、日和見感染症として発症する深在性真菌症への対策は極めて重要な課題となっている。中でもカンジダ症は最も高頻度に見られる真菌症である。有効な抗真菌薬が限られており、特にアゾール系抗真菌薬に低感受性で近年増加傾向にある *C. glabrata* 感染症は治療に難渋することも少なくない。本研究では、新たな薬剤標的分子の発見に向けて、*C. glabrata* における薬剤耐性や病原性に重要なシグナル伝達経路の機能解析を行った。

## カルシニューリン情報伝達経路

$Ca^{2+}$  依存性に活性化されるタンパク質脱リン酸化酵素カルシニューリンは、真核生物で広く保存され、種々のストレス応答に関与している。我々は、カルシニューリン阻害剤 FK506 の併用あるいはカルシニューリンの遺伝子欠損により、アゾール系薬が *C. glabrata* に対して著効することを確認した。また、カルシニューリンの内因性制御因子 (Rcn1, Rcn2) を同定した。カルシニューリン経路の阻害は、*C. glabrata* の病原性を著し

く低下させることも明らかとなった。

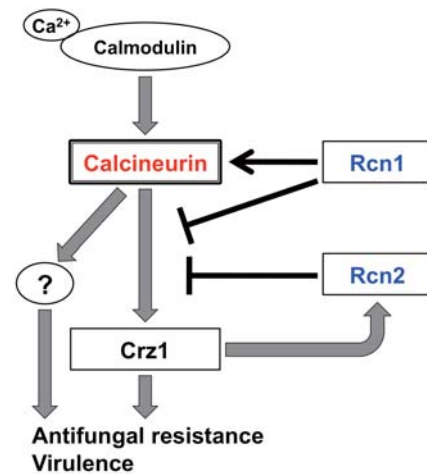


図1. カルシニューリン情報伝達経路の模式図

## Slt 2 MAPK 経路

真菌の細胞壁は細胞の表面に存在し生育に不可欠であることやヒトには存在しない細胞成分であることから格好の治療標的と考えられている。しかし、cell wall integrity pathway と呼ばれる Slt 2 MAPK 経路の活性化により、抗真菌薬に耐性化することが明らかとなった。Slt 2 の下流で機能している Rlm 1 転写因子が重要な役割を担っており、これらの遺伝子欠損株は細胞壁を標的としたキャンディン系薬への著しい感受性の増強と病原性の低下を示した。

## 小胞体ストレス応答

種々のストレスにより二次構造に異常のあるタンパク質が増加すると、細胞は小胞体の仕事を増やす、あるいは過剰な負荷を減らす必要がある。前者は unfolded protein response (UPR) と呼ばれ、小胞体のセンサータンパク質 Ire 1 からのシグナルにより、シャペロン分子などの活性化を促す。一方、後者は Ire 1 による小胞

体内 mRNA の直接切断であり、regulated Ire 1-dependent decay (RIDD) と呼ばれている。UPR はほぼ全ての真核生物で保存されているが、RIDD は高等生物のみが獲得した機序とこれまで考えられていた。ところが、驚くべきことに、*C. glabrata* は小胞体ストレスに高い忍容性を示すが、UPR 機能は有さず、代わりに RIDD を獲得していることが本研究により明らかとなった。また、カルシニューリンが小胞体ストレス応答に重要であることも示された。これらの知見は進化生物学的観点からも興味深いものであった。今後更なる解析によ

り、本研究成果を創薬研究へ活かしていきたい。

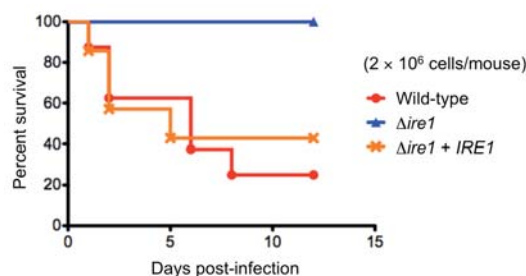


図2 . Ire 1 欠損による *C. glabrata* の病原性低下 (播種性カンジダ症マウスモデル)

## この研究の発表

### 論文 は GCOE 明記のあるもの

- 1 . Miyazaki T, Kohno S et al. Dissection of Ire 1 Functions Reveals Stress Response Mechanisms Uniquely Evolved in *Candida glabrata*. PLoS Pathog. 9: e1003160, 2013.
- 2 . Miyazaki T, Kohno S et al. Functional characterization of the regulators of calcineurin in *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 11: 621-30, 2011.
- 3 . Miyazaki T, Kohno S et al. The glycosylphosphatidylinositol-linked aspartyl protease Yps 1 is transcriptionally regulated by the calcineurin-Crz 1 and Slf 2 MAPK pathways in *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 11: 449-56, 2011.
- 4 . Miyazaki T, Kohno S et al. Roles of calcineurin and Crz 1 in antifungal susceptibility and virulence of *Candida glabrata*. Antimicrob Agents Chemother. 54: 1639-1643, 2010.
- 5 . Miyazaki T, Kohno S et al. Roles of the Slf 2 mitogen-activated protein kinase pathway in cell wall integrity and virulence in *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 10: 343-352, 2010.

### 国際学会発表

- 1 . Miyazaki T. Roles of calcineurin and Crz 1 in antifungal susceptibility and virulence of *Candida glabrata*. American Society of Microbiology-Candida and Candidiasis conference, Miami, USA.
- 2 . Miyazaki T, Kohno S et al. Functional Characterization of the Regulators of Calcineurin in *Candida glabrata*. 50<sup>th</sup> ICAAC, Boston, USA.
- 3 . Miyazaki T, Kohno S et al. Functional Characterization of Endogenous Regulators of Calcineurin in *Candida glabrata*. 21<sup>st</sup> ECCMID-27<sup>th</sup> ICC, Milan, Italy.

# 国家戦略としての感染症医薬品開発の問題点と提言

医歯薬学総合研究科 創薬科学  
池田正行

## ドラッグラグ・ワクチン ギャップの実態

日本の医療・公衆衛生水準は世界でもトップクラスであるにもかかわらず、こと、ワクチンに関しては、海外では定期予防接種となっている多くの品目が未承認となっており、ワクチンギャップと呼ばれている。

我々はこれまで、各診療分野のドラッグラグに関して、系統的に検討するとともに [ 1 , 2 , 3 ]、ドラッグラグに影響を及ぼす各国間の規制の差 [ 4 ] や適応外使用におけるドラッグラグ改善策についても検討してきた [ 5 , 6 ]。今回、わが国と同様に国民皆保険制度を持ち、The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) ガイドラインに基づいて、医薬品の承認審査制度も共通している英国とわが国の間で、標準的な予防接種用ワクチン20品目の承認状況を比較検討した [ 7 ]。

その結果 (表1)、英国・欧州で標準的なワクチン20品目のうち、わが国で承認されていたのは4品目に過ぎなかった。そのうちわけはインフルエンザ菌ワクチン、2価及び4価ヒトパピローマウイルスワクチン、及び7価肺炎球菌ワクチンであった。この4品目における、英国での承認からわが国での承認審査に至るまでの遅れは、それぞれ、173ヶ月、25ヶ月、57ヶ月、104ヶ月であった。未承認の16品目のうち、11品目は混合ワクチンであり、残りの5品目の内訳は、髄膜炎菌 (3)、肺炎球菌 (2) だった。

今回の検討では、英国に比して、わが国におけるワクチン承認が甚だしく遅れていることが明らかになった。その原因としては、生物学的因子と社会的因子の両方の要素が考えられる。ワクチンギャップを解決するためには、1) ワクチンの承認申請システムの改善、2) 予防接種法改正を含めた行政改革と財源の確保、3) 一般市

民やジャーナリストのリテラシーの向上が必要である。

## 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 [ 8 , 9 ]。

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。

## CBRN 対抗医薬品開発の問題点

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。

### 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。

### この研究の発表

#### 論文 は GCOE 明記があるもの

- 1 . Shimazawa R, Ikeda M. Delays in neurological drug development in Japan. Intern Med. 2011; 50: 1565-1568.
- 2 . Shimazawa R, Ikeda M. Japan lags behind the UK in neurological drug approvals. Br J Clin Pharmacol. 2011; 71: 473-475
- 3 . Shimazawa R, Kusumi I, Ikeda M. Delays in psychiatric drug development in Japan. J Clin Pharm Ther. 2012; 37: 348-351.
- 4 . Shimazawa R, Ikeda M. Safety information in drug labeling: a comparison of the United States, the United Kingdom, and Japan. Pharmacoepidemiol Drug Saf. 2013; DOI: 10. 1002/pds. 3408
- 5 . Shimazawa R, Ikeda M. Are there any differences in the regulations of personalised medicine among the US, EU, and Japan? Br J Clin Pharmacol. 2012 Sep 14. doi: 10. 1111/j. 1365-2125. 2012. 04462. x. [Epub ahead of print]
- 6 . Shimazawa R, Ikeda M. Japanese regulatory system for approval of off-label drug use: Evaluation of safety and effectiveness in literature-based applications. Clin Ther. 2012; 34: 2104-16
- 7 . Shimazawa R, Ikeda M. The vaccine gap between Japan and the UK. Health Policy. 2012; 107: 312-317
- 8 . Shimazawa R, Ikeda M. Medical management of the acute radiation syndrome. Ann Intern Med. 2011; 155: 135-6.
- 9 . Shimazawa R, Ikeda M. Drug development against chemical, biological, radiological, or nuclear agents. Lancet. 2011; 378: 486.



# HIV 感染自然経過を規定する要因の解明 - 北タイ HIV 感染者コホート -

熱帯医学研究所 臨床感染症学 医歯薬学総合研究科 感染症態制御学  
有吉紅也 森内浩幸

## はじめに

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の感染において、HIV 曝露後に持続感染が成立するか、感染したウイルスの増殖をどの程度制御できるか、また、どのくらいの期間 CD 4 陽性 T リンパ球数を維持できて AIDS 発症に至らずに過ごせるか、などの様々の局面でその臨床像には大きな個人差があることが知られている。HIV 感染の感受性、感染後の経過・予後を運命づける要因を明らかにすることで、高リスクの患者に集中的に治療を行なって治療成績を改善させ、あるいは病態成立機序の理解に基づく新しい予防・治療戦略の実現に向けたトランスレーショナル・リサーチの実現が可能となる。我々はタイ国立衛生研究所の共同研究者とともに、北タイ・ランパン病院 HIV クリニックに拠点を置いた縦断的経過観察 (ランパン HIV コホート) 研究を、2000年より立ち上げ、途中で抗レトロウイルス療法 (ART) の普及による患者生存率の劇的な改善を見つ、2010年までの長期にわたって実施してきた。その結果、適正な抗ウイルス薬併用療法 (ART) の有効性や政府主導で実施したジェネリック ART の有用性、CMV や真菌感染など日和見感染の実態解明、患者の配偶者に相当数の「HIV に曝露されても感染が成立しない人々 (Exposed but Sero-Negative, ESN)」がいるなどの臨床疫学的分析の成果を得るとともに、ウイルス学的分析によって薬剤耐性株や異なるサブタイプ間の交雑株の出現状況を把握し、また主として細胞傷害性 T リンパ球の機能に依存した宿主の HLA の型に関連するウイルス制御とそこから逃れる HIV の変異についてなど数多くの知見を得てきた。本稿では、臨床経過を規定する宿主側の要因についての新しい知見について述べる。

## GBV-C ウイルスの共感染の影響

GB ウイルス C (GBV C) は、リンパ細胞に持続感染するフラビウイルスのひとつである。母親から子供へ垂直感染することや性行為を通じて感染することから、GBV C と共感染した HIV 感染者は多い。これまでのところ、GBV C 感染と疾患との相関は証明されておらず、HIV 感染者においては、GBV C 共感染群は、むしろ良好な予後と有意な相関を示唆する欧米からの複数の報告がある。一方で、アフリカからの報告では、同様の相関が示されず、これまで論争の決着は得られていない。そこで、我々は、北タイ HIV 感染者コホートの 711 人の感染者において、GBV C ウイルスの感染状況を Real Time PCR にて調べたところ、67 人 (9.4%) の感染者において、GBV C ウイルスが共感染していた。また、塩基配列のシーケンスにより、北タイでは複数の異なる

ジェノタイプ (2 型 28%、3 型 49%、4 型 22%) が同時に流行していることが判明した。さらに、これらの GBV C・HIV 共感染者の臨床的特徴を調べたところ、共感染者では、GBV C 非感染者に比べ HIV ウイルス量が有意に低く ( $p=0.009$ )、CD 4 陽性 T リンパ細胞数が高い ( $p=0.001$ ) ことがわかった。特にジェノタイプで分けると、良好な臨床像 (CD 4 値および生存曲線) との相関は、欧米に流行する 2 型 GBV C に共感染した群にみられる一方、他のジェノタイプでは明らかな傾向はみられなかった。(図 1) これまで、欧米・アフリカからの報告では、同一コホートで、これらの複数のジェノタイプを比較した解析はなされていない。複数の GBV C ジェノタイプが流行するアジア地域において、GBV C の HIV 感染自然経過への影響について調べた研究は、本研究が初めてであり、これらの結果は、GBV C の共感染が HIV 自然感染に及ぼす影響について、異なる報告がされてきた背景を解明する重要な知見を提供する。

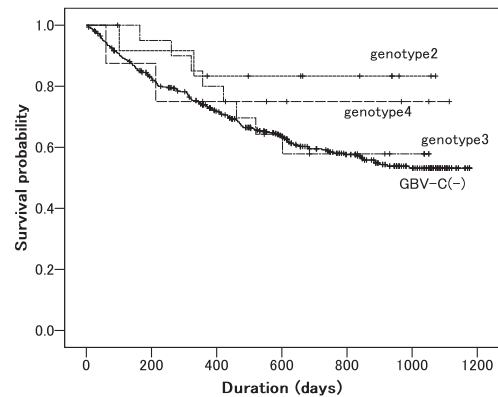


図 1 . GBV-C ウイルス共感染が生存に及ぼす効果

## 宿主ゲノムに規定される疾患感受性・抵抗性

欧米やアフリカの HIV 感染者を対象とした大規模な研究から、いくつかの遺伝子領域の宿主のゲノム多様性が HIV の制御や AIDS 発症までの経過に深くかかわることが報告されている。中でも HLA は HLA B57 が HIV 1 の増殖に重要な構造を認識することで HIV 制御に効果的な型であることが繰り返し証明されているが、我々が検討した結果、北タイ集団においてもその数は少ないながらも、HLA B57 は HIV を効果的に制御できる型であることが判明した。また東南アジア民族集団に特徴的に見られる HLA B35 のサブタイプである HLA B\*35:05 アレルが HLA B57 と同程度に HIV 制御に有効であることも、初めて明らかとなった。HLA ゲノム領域には

細胞傷害性 T リンパ球の抗原受容体に抗原を提示するクラス I HLA の他、ヘルパー T リンパ球の抗原受容体に抗原を提示するクラス II HLA や TNF、補体 C2、C4 など免疫や炎症反応を司る遺伝子群が集簇している。またある種のクラス I HLA およびクラス II HLA 様分子はナチュラルキラー (NK) 細胞の活性化・抑制に重要な役割を示している。このようなことから、HLA 領域のゲノム多様性が免疫機能の調節を介して HIV 感染のみならず、多くの感染症のリスクを左右していると考えられる。我々は、本研究を通じて上述の ART 未施行の HIV 感染自然経過観察コホートの HLA 領域の遺伝子多型を分析した結果、HIV 制御に関連する HLA B の型とは独立した生存に深くかかわる遺伝子多型の効果を発見した。TNF 遺伝子のプロモーター領域に位置する単一塩基多型 (SNP) TNFA 308G>A は欧米白人集団では種々の自己免疫疾患リスクとなる HLA B8 BR3 DQ2 ハプロタイプに連鎖する、TNF 高産生型アレルとされている。この 308A アレルの保有は ART 未施行患者群での死亡リスクとなっており (aHR1.46、 $p=0.034$ )、中でも初診時に CD4 陽性 T リンパ球数が  $400/\text{mm}^3$  未満の患者群でより強い効果が観察された (aHR1.52、 $p=0.024$ ) (図 2)。

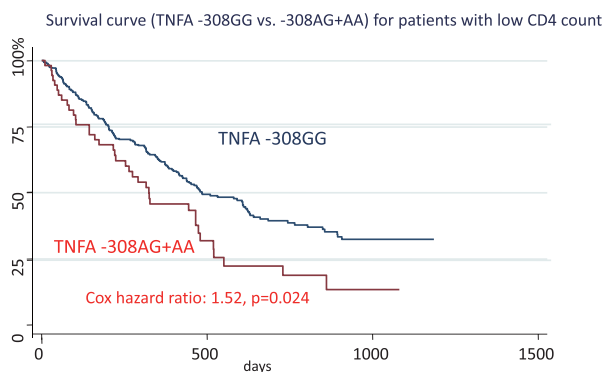


図 2 . HLA 領域の SNP (TNFA 308G>A) が生存に及ぼす効果

HIV 感染の臨床経過を規定する HLA 領域のゲノム多様性はこれまでに分かっているだけでも HIV 制御にかかわる HLA B の抗原提示能、NK 受容体を介しての NK 細胞・細胞傷害性 T リンパ球の機能調節など複数の要因が複合的に働いていて、極めて複雑であり、全貌の解明には個々の要因の機能的意味を明らかにしつつ総合的に分析していくことが重要である。

## 今後の展望

ART 普及以前の自然経過を長期にわたって追跡調査した患者群と ART 導入後の生命予後の劇的改善を見た患者群の両者を同じ施設で追跡したランパン HIV コホート研究からは、多くの有用な知見が得られた。追跡調査の過程で収集した試料・情報は、今後も HIV 研究の研究資源として活用できるよう、タイ国の研究機関と協力してバイオリソースの保全と運用を進める計画である。

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、タイ国ランパン病院 Panita Pathipvanich 医師、長崎大学熱帯医学研究所 安波道郎 博士、土屋菜歩 GCOE 研究員

## この研究からの成果

### は GCOE 明記があるもの

1. Sapsutthipas S, Tsuchiya N, Pathipavanich P, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P, Takeda N, Isarangkura-na-ayuthaya P, Kameoka M. CRF01\_AE-specific neutralizing activity observed in plasma derived from HIV-1-infected Thai patients residing in northern Thailand: comparison of neutralizing breadth and potency between plasma derived from rapid and slow progressors. PLoS One 2013; 8(1): e 53920
2. Mori M, Matsuki K, Maekawa T, Tanaka M, Sriwanthana B, Yokoyama M, Ariyoshi K. Development of a novel *in silico* docking simulation model for the fine HIV-1 cytotoxic T lymphocyte epitope mapping. PLoS One. 2012; 7(7): e 41703. Epub 2012 Jul 27.
3. Sriwanthana B, Mori M, Tanaka M, Nishimura S, Miura T, Pathipvanich P, Sawanpanyalert P, Ariyoshi K. The effect of HLA polymorphisms on the recognition of Gag epitopes in HIV-1 CRF 01\_AE infection. PLoS One.2012; 7(7): e 41696. Epub 2012 Jul 27.
4. Tsuchiya N, Pathipvanich P, Rojanawiwat A, Wichukchinda N, Koga I, Koga M, Auwanit W, Kilgore PE, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P. Chronic hepatitis B and C co-infection increased all-cause mortality in HAART-naive HIV patients in northern Thailand. Epidemiol Infect. 2012 Nov 1: 1-9.
5. 安波道郎、有吉紅也。東南アジアの臨床疫学フィールドから学ぶウイルス感染症学。シンポジウム 2 「熱帯感染症」 S2 5。第60回日本ウイルス学会学術集会2012年11月13日、大阪 (口演)
6. Mori M, Wichukchinda N, Miyahara R, Yasunami M, Pathipvanich P, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P. Viral adaptation against KIR 2 D-associated Gag immune pressure & their effect on clinical outcome among HIV-1 CRF 01\_AE-infected Thais. 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI). Seattle, United States. March 5-9, 2012
7. Yasunami M, Wichukchinda N, Pathipvanich P, Miyahara R, Mori M, Tsuchiya N, Rojanawiwat A, Sawanpanyalert P, Ariyoshi K. The effect of TNFA polymorphism on the survival of patients with HIV infection in Thailand. 15th International Congress of Virology. Sapporo, Japan. September 11-16, 2011(Oral presentation)

# 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つのユニットで研究を行っている。

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

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

HTLV 1 は塩基配列に基づき、いくつかの遺伝子型・亜群に細分されており、東アジアからはそのうち大陸横断亜群 (TC) と日本亜群 (JPN) が知られている。沖縄、台湾および北海道、樺太の HTLV 1 集積地では TC が高頻度で見られるのに対し、本土の集積地では JPN が優勢であることが散発的に報告されてきた。前年度に引き続き、九州から琉球列島、及び本土の海岸部に散在する集積地から得られたウイルス株の系統解析を進めてきた。新規データ量を追加し、解析手法を改善した結果、系統分化のパターンがより明瞭に示された。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群 (GLB3) 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24年度は論文1本が受理となり、現在1本を投稿準備中である。

## 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、首都大学、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。

もう一つの標的は、本邦における結核菌の伝搬履歴を古病理標本からの病原体 DNA に求め、分子疫学との融合を果たすことである。近過去において結核蔓延期を経験した我が国では「蔓延期での感染と現代における再発」が高齢結核患者の原因である可能性が高く、公衆衛生的に制圧すべき「直近の伝搬」と区別して考える必要がある。既知の菌株多型情報と古標本由来の遺伝子情報を比較検討することにより、現代の分子疫学解析では伝搬経路不明とされる菌株の存在理由を「過去の伝搬」と「現代の再燃」という時間軸の中から探り、将来の結核分子疫学・公衆衛生に貢献する。分子進化学的着想としては、標本由来結核菌の遺伝多型解析から種内系統分

類を試み、現代の集団構造と比較する。こうした分析からは、蔓延株のトレンド変遷、すなわち各時系列において広く伝搬した菌株群の同定とその要因について究明できるかもしれない。同時に、遺伝変異の経時的な蓄積を定量することにより、これまでも多くの仮説、データ呈示が行われてきた結核伝播、拡散、定着といった事象に対して、より正確な分子進化的検証が可能になるだろう。本研究に関しては、結核分子疫学情報の蓄積に富む各地方衛生研究所、標本および症例調査が可能な医療機関、さらに結核基礎研究の知見を数多く保有する大阪市立大学との連携を構築して進行中である。



(左) 医療機関に保管されていた組織標本コレクション。  
(右) 1960年代にパラフィン包埋された結核患者由来肺組織。

### 蚊媒介性感染症のシミュレーションモデル (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24年度に1本 PLoS One に受理された。1本投稿中。

### 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2本投稿中である。

### この研究の発表

#### 論文 はGCOE 明記があるもの

1. Kenji Mizumoto, Hiroshi Nishiura, Taro Yamamoto. Effectiveness of antiviral prophylaxis coupled with contact tracing against the influenza (H1N1-2009): A systematic review. *Theoretical Biology and Medical Modeling*. (IF=1.86)(in press)
2. Kenji Mizumoto, Taro Yamamoto, Hiroshi Nishiura. Age-dependent estimates of the epidemiological impact of pandemic influenza (H1N1-2009), Japan. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*. (IF=0.684)(in press)
3. Osada-Oka Mayuko, Tateishi Yoshitaka, Hirayama Yukio, Ozeki Yuriko, Niki Mamiko, Kitada Seigo, Maekura Ryoji, Tsujimura Kunio, Koide Yukio, Ohara Naoya, Yamamoto Taro, Kobayashi Kazuo, Matsumoto Sohki. Antigen 85 A and Mycobacterial DNA-binding protein 1 are targets of IgG in individuals with past tuberculosis. *Microbiology and Immunology*. (in press)
4. Haque, Md Ubydul, Bomblies Arne, Hashizume Masahiro, Mitra Dipak, Noman Nowajesh, Haque Waziul, Kabir Moktadir, Yamamoto Taro. Risk factors associated with single and multiple malaria infections in Bangladesh: a longitudinal study. *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene*.(accept)
5. Mika Oki, Taro Yamamoto. Climate Change, Population Immunity, and Hyperendemicity in the Transmission Threshold of Dengue. *PLoS One*. (in press) Accepted on September 21, 2012.
6. Masashi Otani, Katsuyuki Eguchi, Tatsuki Ichikawa, Kohei Takenaka Takano, Toshiki Watanabe, Kazunari Yamaguchi, Kazuhiko Nakao, and Taro Yamamoto. Phylogeography of Human T-lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) Lineages Endemic to Japan. *Tropical Medicine and Health*.(accept)
7. Hirata A, Tachikawa Y, Hashimoto K, Sakai H, Kaneko A, Suzuki J, Eguchi K, Shigematsu K, Nikami H, Yanai T. Spontaneous T/NK-cell lymphoma associated with Simian Lymphocryptovirus in a Japanese Macaque (*Macaca fuscata*). *Journal of Comparative Pathology*. 2012. (in press), (Impact Factor: 1.529, 5-Year Impact Factor: 1.608)

#### 講演会、研究会等

1. 特別講演 第60回日本化学療法学会学術集会 第86回日本感染症学術総会・学術講演会にて「生態学的感染症理解 - 適応・進化・共生の視点から」
2. 奈良女子大学大学院生活文化学専攻主催講演会にて「感染症と共生 - 適応・進化・人・社会の視点から - 」
3. 招聘講演 日中エイズ会議にて「日本のエイズの現状と課題」
4. 青海民族大学(西寧市)にて「東日本大震災の経験」
5. 岩手県立高田病院にて「感染症はどうして広まるのか」

# 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

## はじめに

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呈し、しばしば集団食中毒事例も報告されている。さらにサルモネラは胃腸炎症状に加えて、全身感染症であるチフス症を発症する。これまでのサルモネラに関する研究は多岐にわたるが、その中で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。

我々は本 GCOE プログラムにおいてサルモネラ・エンテロトキシン (Stn) に焦点を当て、解析を行った。Stn はこれまでの研究よりサルモネラの病原性、特にサルモネラ感染症の主症状の1つである下痢原性に関与することが示唆されている。しかし、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は混沌とした状況にある。このような状況を打破するために、Stn のサルモネラ病原性への関与を含めた Stn の機能について検証した。

そこで、この報告書では本 GCOE プログラムを通して得られた研究成果と今後の展望を以下に記す。

## Stn の機能解析

Stn のサルモネラ病原性への関与について検討を行ったところ、Stn がサルモネラの下痢原性を含めた病原性に関与しないことが明らかとなった。そこで、次に Stn のサルモネラ菌体における役割について解析を行ったところ、Stn がサルモネラの outer membrane protein A (OmpA) と相互作用することにより、OmpA の菌体内における局在を制御し、その結果としてサルモネラの外膜部の構築に重要な影響をもたらすことが判明した (発表論文参照)。これらの成果は Stn が、サルモネラが示す下痢原性に直接的に関わる分子であることを否定する

ものであると同時に、Stn のこれまで全く知られていなかったサルモネラにおける新たな機能を示唆するものであった。Stn に関するこれまでの研究は、エンテロトキシン (腸管毒) という名称が示すように、サルモネラの下痢原性への関与について検証が行われてきた。しかし、我々が今回見出した新たな知見は、エンテロトキシンとしての特性を否定するだけでなく (この意味から「エンテロトキシン」という名称の変更が最も相応しい)、サルモネラの外膜構築や膜透過といった生理機能に直接関与する新たな機能を Stn に予見させるものであり、非常に独創的な発見であると言える。

## stn 遺伝子を標的としたサルモネラの検出システムの構築

これまでに、我々は *stn* 遺伝子がサルモネラに特異的に存在するがことを見出だしている (Table 1)。また、*stn* 遺伝子フレーム内には複数の遺伝子多型が認められるが、認められた遺伝子多型にはサルモネラの血清型依存的な特徴が認められる可能性があることを確認している。これらの情報から、我々は *stn* 遺伝子を標的としたサルモネラ検出システムの構築を目指し、ここでは標的とする遺伝子の1塩基多型を検出することが可能な High resolution melting (HRM) 法を用いて行った。

塩基配列解析により、食中毒原因菌として分離されたサルモネラで最も高頻度に検出される血清型 Enteritidis において、解析を行った他の血清型と比較して *stn* 遺伝子の333番目の塩基に特異的な遺伝子多型の存在が明らかとなっている。そこで、この333番目の塩基を標的としたプライマーを作製し、HRM 法による血清型 Enteritidis に特異的な検出システムの検討を行ったところ、図に示すように血清型 Enteritidis 特異的なシグナルを検出することが認められた。このことから、333番目の塩基を標的とした HRM 法を用いた解析において血清型 Enteritidis 特異的な検出システム構築の可能性が示され

た (Fig. 1)。現在、検出感度の向上やより簡便な検出システムの構築を目指し、より詳細な検討を行っている。

## まとめ

これまで、Stn はサルモネラの病原性 (下痢原性や宿主細胞に対する侵入性) との関連性が示唆されてきた。しかし、我々の解析結果より Stn はサルモネラのこのような病原性には関与しないことが明らかとなり、さらに我々は Stn の新たな機能として Stn がサルモネラの主要な外膜構成成分である OmpA の菌体内局在に強く関与することを報告した。したがって、我々は Stn がサルモネラの恒常性の維持に重要な役割 (例えば浸透圧の維持や物質の細胞膜透過性など) を担っているものと予想しており、今後の研究により明らかになるものと期待している。特に、Stn を介した OmpA の局在制御メカニズムについての検討は、Stn タンパク質の特異な性質 ( $pI = 11$ 以上) が原因と思われる難しさにより、残念ながらその詳細を明らかにすることができず、今後の研究課題として残っている。

一方、サルモネラが *stn* 遺伝子を極めて特異的に保有していたことから、*stn* 遺伝子内の特定の塩基を標的とすることでサルモネラ菌の検出、さらには血清型 Enteritidis を特異的検出に応用できる可能性が生じた。食中毒発生時、病原体の迅速且つ正確な鑑別は適切な治療をする上では非常に重要である。我々が検討した HRM 法はこれまでの従来法と比較すると短時間で結果を得ることが可能であり、医療現場などへの応用に十分に期待

Table1. 各種血清型のサルモネラと他の腸管病原菌における *stn* 遺伝子の分布

Serotypes (or species)	No. of tested strains	No. of <i>stn</i> -positive strains
<b>Salmonella</b>		
S. Anatum	34	34 (100%)
S. Derby	52	52 (100%)
S. Enteritidis	67	67 (100%)
S. Paratyphi B	16	16 (100%)
S. Typhimurium	17	17 (100%)
S. Weltevreden	69	69 (100%)
Other serovars	308	308 (100%)
<b>Non-Salmonella</b>		
<i>C. freundii</i>	52	0
<i>E. coli</i>	39	0
<i>K. pneumoniae</i>	17	0
<i>Y. enterocolitica</i>	31	0
Other species	85	0

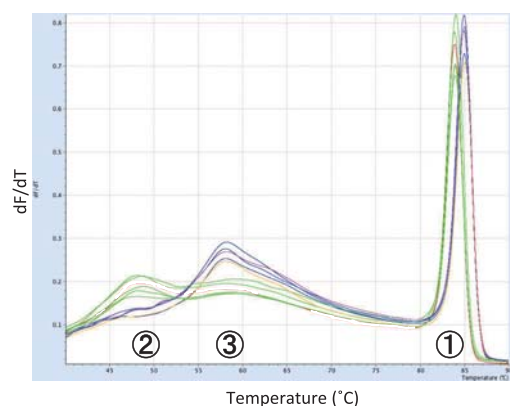


Fig. 1. *stn* 遺伝子を標的とした HRM 法によるサルモネラ検出システムの構築 (例)

*stn* 遺伝子内の333番目の塩基の遺伝子多型を認識するプライマーを製作し、HRM 法にて解析して得られた融解曲線。緑色は血清型 Enteritidis (7株)、青色は血清型 Typhimurium (5株)、ピンク色は血清型 Agona (2株)、黄色は血清型 Choleraesuis (1株) 由来のデータを示す。この結果より、peak 1 は *stn* 遺伝子特異的なシグナルを表し、peak 2 は血清型 Enteritidis に特異的なシグナルであることがわかる。

できると考えている。そのため、我々は *stn* 遺伝子を標的としたサルモネラ検出システムの構築と確立を目指して、今後とも検証を行っていく予定である。

## 発表論文

Nakano M, Yamasaki E, Ichinose A, Shimohata T, Takahashi A, Akada JK, Nakamura K, Moss J, Hirayama T, Kurazono H. *Salmonella* enterotoxin, Stn, regulates membrane composition and integrity. *Diseases Models and Mechanisms* 2012. 5: 515-521.

## 学会発表

1. Nakano M, Yamasaki E, Shimohata T, Takahashi A, Moss J, Kurazono H, Hirayama T: A new insight into the function of Stn produced by *Salmonella*. American Society for Microbiology 112th General Meeting. June 16-19, 2012.
2. Hirayama T and Nakano M: *Salmonella* Stn regulates membrane composition and integrity. 14th International Symposium on Microbial Ecology. August 19-24, 2012.
3. Nakano M, Yamasaki E, Shimohata T, Takahashi A, Kurazono H, Hirayama T: Evaluation of the function of Stn produced by *Salmonella*. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity. September 11-14, 2012.
4. Nakano M and Hirayama T: *Salmonella* Stn regulates membrane composition and integrity. The 6th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases & The 11th Nagasaki-Singapore Medical Symposium. December 10-12, 2012.



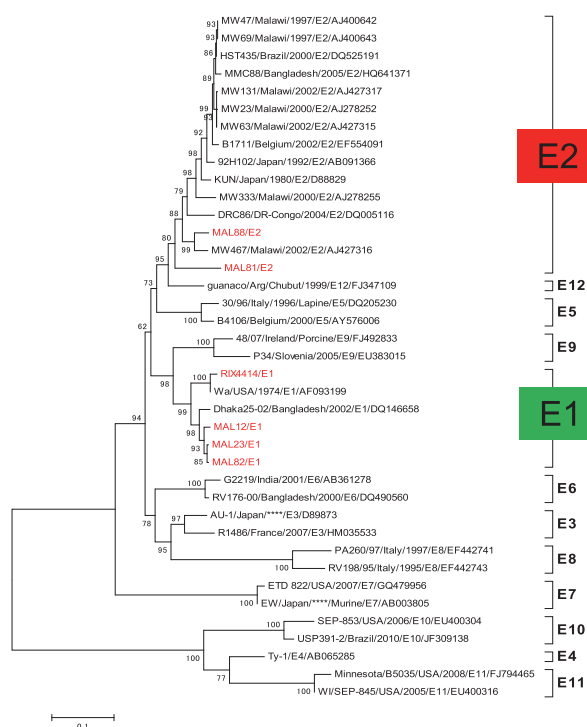


図3：マラウイの流行株のゲノムと他のロタウイルスとの関連を示す分子系統樹(ここでは例としてNSP4遺伝子分節の分子系統樹を示している)

G2ヒトロタウイルス(DS 1ゲノグループ)であるKUN株と高い相同性を有していることがわかった。

マラウイでロタリックスの有効性が低いのは、原因としてもっとも疑われている地域での流行株がワクチン株と大きく異なっていることが原因とは考えにくい。ワクチン接種時の母親からの移行抗体によるワクチンのテイクの阻止、低栄養状態、共存する腸管病原体など宿主側の要因を追求する必要がある。

## 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4人の女性研究者と1人の男性研究者が活躍している。内訳はベトナム人3人、ネパール人1人、日本人1人である。

## 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。

## 発表論文

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

1. Nakagomi T, Nakagomi O, Dove W, Doan YH, Witte D, Ngwira B, Todd S, Duncan Steele A, Neuzil KM, Cunliffe NA. Molecular characterization of rotavirus strains detected during a clinical trial of a human rotavirus vaccine in Blantyre, Malawi. *Vaccine* 2012; 30 [Supple 1]: A 140-151
2. Doan YH, Nakagomi T, \*Nakagomi O. Repeated circulation over 6 years of intergenogroup mono-reassortant G2P [4] rotavirus strains with genotype N1 of the NSP2 gene. *Infect Genet Evol* 2012; 12(6): 1202-1212
3. Noguchi A, Nakagomi T, Kimura S, Takahashi Y, Matsuno K, Koizumi H, Watanabe A, Noguchi H, Ito T, Ohtsuka M, Uemura N, Takeda O, Komatsu A, Kikuchi W, Komatsu M, Fukaya H, Miura S, Toda H, \*Nakagomi O, Takahashi T. Incidence of intussusception as studied from a hospital-based retrospective survey over a 10-year period (2001-2010) in Akita Prefecture, Japan. *Jpn J Infect Dis* 2012; 65(4): 301-305
4. Matthijnsens J, Nakagomi O, Kirkwood CD, Ciarlet M, Desselberger U, Van Ranst M. Group A rotavirus universal mass vaccination: how and to what extent will selective pressure influence prevalence of rotavirus genotypes? *Expert Rev Vaccines* 2012; 11(11): 1347-1354
5. Doan YH, Nakagomi T, Aboudy Y, Silberstein I, Behar-Novat E, Nakagomi O, Shulman LM. Identification by full genome analysis of a bovine rotavirus transmitted directly to, and causing diarrhea in a human child. *J Clin Microbiol* 2013; 51(1): 182-189
6. Hoa Tran TN, Trainor E, Nakagomi T, Cunliffe NA, \*Nakagomi O. Molecular epidemiology of noroviruses associated with acute sporadic gastroenteritis in children: Global distribution of genogroups, genotypes and GII. 4. *J Clin Virol* 2013; 56(3):185-193
7. Inagaki M, Yamamoto M, Cairangzhuoma, Xijie, Yabe T, Uchida K, Kawasaki M, Nakagomi T, Nakagomi O, Minamoto N, Kanamaru Y. Multiple-dose therapy with bovine colostrum confers significant protection against diarrhea in a mouse model of human rotavirus-induced gastrointestinal disease. *J Dairy Sci* 2013; 96(2): 806-814.
8. Gauchan P, Nakagomi T, Sherchand JB, Yokoo M, Pandey BD, Cunliffe NA, Nakagomi O. Continued circulation of G12P [6] rotaviruses over 28 months in Nepal: successive replacement of predominant strains. *Trop Med Health*, in press
9. Hoa Tran TN, Nakagomi T, Nakagomi O. Evidence for genetic reassortment between human rotaviruses by full genome. *Trop Med Health*, in press



# 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

熱帯医学研究所 アジア・アフリカ感染症研究施設 ベトナム拠点  
山城 哲

## 要約

コレラは東南アジア地域において大きな社会問題の一つである。しかしその病原性獲得のメカニズムの解明は十分とは言えない。我々が以前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 CTXΦ 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、CTXΦ の増幅およびコレラ毒素産生を増強するとされる。一方、2010 年ベトナムで初めて O139 型コレラ菌が分離されたが、同菌株より fs 1 類似の線状ファージが新たに分離され (ND 1 fs 1) た。ND 1 fs 1 は fs 1 と同じ CTXΦ 領域近傍に integrate する事が判明した。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と思われる。

## 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 1 および fs 2 はゲノム中に *rstC* 様遺伝子を持ち、コレラ菌ゲノムに integrate する事により宿主に *rstC* 様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* 様遺伝子を獲得したコレラ菌が、それに応じて病原性が增強されるか否かを *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。

## 線状ファージ ND 1 fs 1 の O139 型コレラ菌からの分離。

北部ベトナム・ナムディン省において2010年環境水を採取した。そのうち、コレラ菌の病原因子とされる VCO139、*ctxA*、*toxR* 遺伝子群を PCR 法により探索した処、7検体からそのいずれかが検出された。そのうちの1検体は上記3遺伝子全てが検出され、そこから O139 型コレラ菌が分離された。同型コレラ菌の分離はベトナム初であった。同菌株は線状ファージに感染しており、それを分離し塩基配列を決定したところ、新しいタイプのファージである事が確認され、線状ファージ ND 1 fs 1 とした。ND 1 fs 1 は、fs 1、VGJΦ、VSK 等、コレラ菌に integrate するファージと類似の構造を持つ事より、コレラ菌に感染しゲノム中に integrate する事が推測された。検討の結果、線状ファージ ND 1 fs 1 はコレラ菌ゲノム中の CTXΦ 領域下流に integrate する事が判明した。

## 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) を用いて分子疫学解析を行った。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、2007年~2008年の

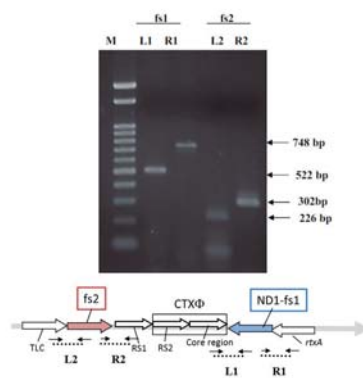
コレラ流行は、近似菌株によるインドシナ半島全域に亘る流行であることが示唆された。また、北部ベトナムで1995年～2004年に分離されたコレラ菌株との比較も併せ行ったところ、2007年～2008年のコレラ流行株は、それ以前に北部ベトナムで分離された株とは異なる遺伝子背景を持つことが示唆された。南部ベトナム地域では2010年もコレラの小流行がみられた。その際分離されたコレラ菌の切断ゲノム泳動パターンは2パターンに大別され、同地域では2つの異なる遺伝子背景を持つコレラ菌が同時に流行した事が示唆された。

### 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。コレラ菌ゲノムのサテライトファージ RS1 上の遺伝子 *rstC* の産物 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。我々は線状ファージ fs2 が遺伝子 *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 (図)。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。

Integration of both ND1-fs1 and fs2 phages into the genome of *V. cholerae* strain



### この研究の発表

1. Takaaki Koma, Kumiko Yoshimatsu, Shumpei P. Yasuda, Tiancheng Li, Takako Amada, Kenta Shimizu, Rie Isozumi, Le T. Q. Mai, Nguyen T. Hoa, Vu Nguyen, Tetsu Yamashiro, Futoshi Hasebe, Jiro Arikawa. A survey of rodent-borne pathogens carried by wild Rattus spp. in Northern Vietnam. *Epidemiology and Infection*. 2012 Nov 1: 1-9. Nov 2012.
2. Rie Isozumi, Kumiko Yoshimatsu, Tetsu Yamashiro, Futoshi Hasebe, Binh Minh Nguyen, Tuan Cuong Ngo, Shumpei P. Yasuda, Takaaki Koma, Kenta Shimizu, and Jiro Arikawa. blaNDM-1-positive *Klebsiella pneumoniae* from Environment, Vietnam. *Emerging Infectious Diseases*. Vol.18: 1383-1385. August 2012.
3. Dong Tu Nguyen, Tuan Cuong Ngo, Huy Hoang Tran, Thanh Huong Le, Hoai Thu Nguyen 1, Binh Minh Nguyen, Nhu Duong Tran, Tetsu Yamashiro, and Masahiko Ehara. Characterization of *Vibrio cholerae* O 139 of an Aquatic Isolate in Northern Vietnam. *The Open Microbiology Journal*. Vol.6: 14-21. February 10 2012.
4. Nguyen Van Trang, Tetsu Yamashiro, Le Thi Kim Anh, Vu Thi Bich Hau, Le Thi Luan, Dang Duc Anh. Genetic variation in the VP 7 gene of rotavirus G 1 P [8] strains isolated in Vietnam, 1998-2009. *Virus Research*. Vol 165: 190-196. February 2012.
5. Tohru Miyoshi-Akiyama, Tetsu Yamashiro, Le Quynh Mai, Kenji Narahara, Akitomo Miyamoto, Shingo Shinagawa, Sunao Mori, Hirotake Kitajima and Teruo Kirikae. Discrimination of influenza A subtype by antibodies recognizing host-specific amino acids in the viral nucleoprotein. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. Vol 6: 434-441. February 2012.
6. Hiroki Takakuwa, Tetsu Yamashiro, Mai Q. Le, Lien S. Phuong, Hiroichi Ozaki, Ryota Tsunekuni, Tatsufumi Usui, Hiroshi Ito, Masami Morimatsu, Yukiko Tomioka, Tsuyoshi Yamaguchi, Toshihiro Ito, Toshiyuki Murase, Etsuro Ono, Koichi Otsuki. Molecular epidemiology of avian influenza viruses circulating among healthy poultry flocks in farms in northern Vietnam. *Preventive Veterinary Medicine*. Vol 103: 192-200. February 2012.
7. Kozue Hotta, Hiroki Takakuwa, Le Thi Quynh Mai, Phuong Song Lien, Toshiyuki Murase, Etsuro Ono, Toshihiro Ito, Koichi Otsuki, and Tetsu Yamashiro. Isolation and characterization of H 6 N 1 and H 9 N 2 avian influenza viruses from Ducks in Hanoi, Vietnam. *Virus Research*. *Virus Research*. Vol 163: 448-453. February 2012.

# 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3億5千万人の感染者、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個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や、リガンドを表面に発現する輸送機構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した。

## 熱帯熱マラリア原虫の赤血球認識分子 EBA175の細胞内輸送

マラリア原虫が赤血球へ侵入するためには、一回膜貫通型タンパク質の *Plasmodium* erythrocyte-binding-like (EBL) と呼ばれる原虫分子が赤血球を認識することが必須である。実際、EBLの赤血球認識特異性がマラリア原虫が感染する赤血球や宿主を規定するという報告がいくつか報告されている (Tachibana et al 2012など)。EBLによる赤血球認識を阻害することで原虫の赤血球侵入を抑えることができるため、EBL細胞外領域アミノ末端側に存在する赤血球結合領域 (図1のR2) はワ

クチン開発の標的部位として研究が進められている。一方、EBL細胞外領域のカルボキシル末端側には相同体間で保存されたシステイン残基に富んだ第6領域と呼ばれる部位があり、EBLを分泌する小器官マイクロネームへの細胞内分子輸送に必要であると提唱されていた (Treeck et al 2006)。我々のグループは、ネズミマラリア原虫 *Plasmodium yoelii* の17XL株で、EBLの第6領域の一アミノ酸が置換されることによりEBLの局在がマイクロネームからデンスグラニュールと呼ばれる別の小器官に変化し、原虫が強毒化することを見出した (Otsuki et al, 2009)。その後、米国国立衛生研究所のSuらは *P. yoelii* N67株において、EBLの第6領域の17XLとは異なるアミノ酸部位での一アミノ酸置換でも原虫増殖率が変化することを示唆するデータを報告した (Li et al 2011)。ネズミマラリア原虫 *P. yoelii* 弱毒株と似た赤血球集団に感染するヒト感染性の三日熱マラリア原虫でも、同様の変化により原虫の赤血球指向性が変化し、原虫が強毒化する可能性も考えられるため、①EBLの局在の変化により病原性が変化する機序と、②EBLの細胞内輸送機序の2点を理解することが重要だと考えた。本研究では培養が可能な熱帯熱マラリア原虫のEBLであるEBA175を用いて、二つ目の問いに関連し、EBLのマイクロネーム輸送に必要な配列の同定を行った。

まず、EBA175の粗面小胞体移行シグナル配列、第6領域、膜貫通領域、細胞内領域を含む配列に緑色蛍光タンパク質タグを付加した組換えタンパク質を発現する原虫を作成し、間接蛍光抗体法により局在を観察したところ、組換えタンパク質はマイクロネームマーカーと共局在を示さなかった。そこでEBA175の上流配列を挿入したところ、組換えタンパク質はマイクロネームマーカーと共局在し、第6領域上流の配列もマイクロネーム輸送に必要であることが明らかとなった。挿入した配列をアミノ末端側から徐々に欠損させていったところ、第5領域中のアミノ酸位置1236番以降がマイクロネームへの輸送に必要であることがわかった。これまで第5領域は多様性に富むため、保存された機能はないと考えら

れてきたが、アミノ酸配列を詳細に比較したところ第5領域のアミノ酸位置1257番から1265番が相同体間で比較的保存されていることを見出した。そこで、この配列を欠損させたところ、輸送が阻害された。さらに相同体間で比較的保存されているアミノ酸位置1258番のアルギニンあるいは1265番のフェニルアラニンをアラニンに置換すると、マイクロネームマーカールとの共局在を完全にあるいは部分的に示さなくなることが明らかになった (Sakura et al 2012)。

今回の研究により、EBA 175のマイクロネーム輸送には第6領域上流の第5領域中の保存された領域も必要であることを示すことができた。第5領域と第6領域の変異のどちらでもマイクロネーム輸送が阻害されるため、我々は、EBA 175の第5領域から第6領域を認識する輸送タンパク質が存在するのではないかと考えている。また、マイクロネームへの輸送に必要なアミノ酸残基として、1258番目のアルギニンと1265番目のフェニルアラ

ニンを同定した。これらのアミノ酸残基は、輸送タンパク質との相互作用に関与していると我々は考えている。EBA 175の第5領域の部分配列も輸送に必要であるという今回の知見は、EBLのマイクロネーム輸送機序の一端を明らかにした意義を持つとともに、EBLの輸送タンパク質を同定するための重要な基盤情報を提供するものである。

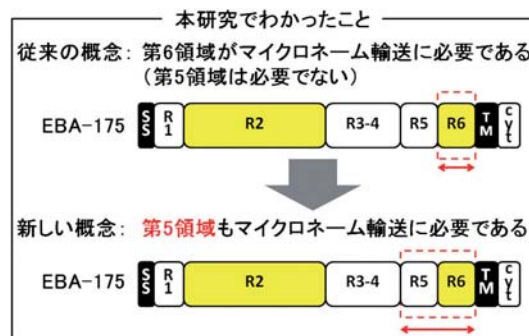


図1：熱帯熱マラリア原虫のワクチン候補抗原 EBA 175の模式図。EBA 175が原虫内で分泌器官マイクロネームに輸送されるには第6領域 (R6) に加えて、第5領域 (R5) も必要である。SS、R、TM、cyt は順にシグナルペプチド配列、領域、膜貫通領域、細胞内領域を意味する。

## 参考文献

### は GCOE 表記のあるもの

- 1 . Otsuki H, Kaneko O, Thongkuiatkul A, Tachibana M, Iriko H, Takeo S, Tsuboi T, Torii M. Single amino acid substitution in *Plasmodium yoelii* erythrocyte ligand determines its localization and controls parasite virulence. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106(17): 7167-72.
- 2 . 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. 2011; 108(31): E374-82.
- 3 . Treeck M, Struck NS, Haase S, Langer C, Herrmann S, Healer J, Cowman AF, Gilberger TW. A conserved region in the EBL proteins is implicated in microneme targeting of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. J Biol Chem. 2006; 281(42): 31995-2003.

## この研究の発表

### 論文 は GCOE 明記があるもの

- 1 . Sakura T, Yahata K, Kaneko O. The upstream sequence segment of the C-terminal cysteine-rich domain is required for microneme trafficking of *Plasmodium falciparum* erythrocyte binding antigen 175. Parasitol Int. 2012; 62(2): 157-64.
- 2 . Tachibana S, Sullivan SA, Kawai S, Nakamura S, Kim HR, Goto N, Arisue N, Palacpac NMQ, Honma H, Yagi M, Tougan T, Katakai Y, Kaneko O, Mita T, Kita K, Yasutomi Y, Sutton PL, Shakhbatyan R, Horii T, Yasunaga T, Barnwell JW, Escalante AA, Carlton JM, Tanabe K. *Plasmodium cynomolgi* genome sequences provide insight into *Plasmodium vivax* and the monkey malaria clade. Nat Genet. 2012; 44(9): 1051-5.

# マラリアとT細胞の免疫記憶

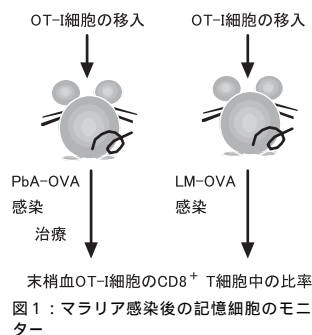
医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 免疫機能制御学  
由井克之

## 背景

マラリアは、世界的に最も重要な感染症のひとつであるが、未だにワクチンは開発されていない。赤外型においては、不活化したスポロゾイトの免疫により完全な防御免疫が成立することがマウスとヒトの実験系で示されている。しかしながら赤内型感染は防御免疫応答を抑制することが示唆されている。さらに一度防御免疫を獲得したヒトが流行地を離れて原虫フリーの状態になると防御免疫を失う例も指摘されている。即ちマラリアの記憶は、獲得しがたく失いやすいということである。本研究では、マラリア原虫 *Plasmodium berghei* ANKA のマウス感染実験モデルを用い、マラリアに対する防御免疫の成立と記憶T細胞の活性化についてリステリア菌感染の場合と比較検討した。

## マラリア実験モデルにおける記憶T細胞の樹立

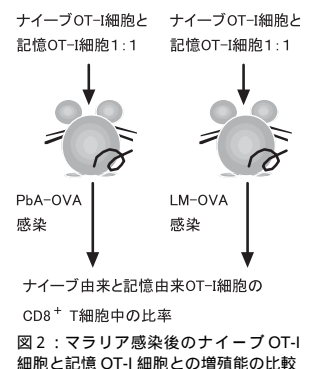
実験モデルでは、モデル抗原 OVA (卵白アルブミン) を発現する組換えマラリア原虫 *Plasmodium berghei* ANKA (PbA-OVA) を用いた。対照群としては、OVA を発現するリステリア菌 *Listeria monocytogenes* (LM-OVA) を用いた。マウスに OVA 特異的 T 細胞受容体トランスジェニックマウス OT-I の CD8<sup>+</sup> T 細胞を受け身移入し、PbA-OVA 或いは LM-OVA を感染させた (図 1)。PbA-OVA 感染群では、感染 6 日後から 2 週間にわたり抗マラリア剤で治療し、原虫を排除した。その後、60 日間にわたり末梢血中の OT-I 細胞の比率をモニターした。その結果、PbA-OVA 感染群では 38%、LM-OVA 感染群では 62% のマウスで OT-I 細胞が末梢血中に維持されていた。これらの細



胞は、細胞表面分子発現及び機能において記憶細胞であることを確認した。さらに OVA を発現する腫瘍細胞の拒絶反応においても、PbA-OVA で誘導された記憶細胞は LM-OVA で誘導された記憶細胞と同等の能力を示した。以上の結果より、少なくとも *P. berghei* 感染の動物モデルにおいては、マラリア原虫感染により CD8<sup>+</sup> T 細胞の免疫記憶が成立することが明らかになった。

## 記憶T細胞とナイーブT細胞の免疫応答の比較

記憶T細胞の免疫応答が、マラリア原虫感染において障害される可能性を検討した (図 2)。記憶T細胞は、*in vitro* で OT-I 細胞に抗原刺激を行い調製するか、*in vivo* で作製した OT-I 記憶細胞をソーティングにより分離して用いた。ナイーブ OT-I 細胞は、Rag ノックアウト OT-I マウス CD8<sup>+</sup> T 細胞を用いた。記憶 OT-I 細胞とナイーブ OT-I 細胞とを 1 : 1 で混和し、マウスに受け身移入した。なお、記憶T細胞、ナイーブT細胞、宿主 CD8<sup>+</sup> T 細胞を区別するため、CD45 .1 と CD45 .2 のマーカーを用いた。このマウスに PbA-OVA を感染させ、末梢血や各臓器内の記憶細胞由来 OT-I とナイーブ細胞由来 OT-I 細胞の数をマウス毎に調べたところ、脾臓、リンパ節、骨髄、脳、肝臓、末梢血においてナイーブ細胞由来の OT-I 細胞が記憶細胞由来 OT-I 細胞よりも著明に増加していた。一方、LM-OVA を感染させた場合には、脾臓、骨髄、脳、肝臓、末梢血において記憶細胞由来 OT-I 細胞が著明に増加していた。リンパ節では逆にナイーブ細胞由来 OT-I 細胞の方が多かった。これらの結果から、マラリア原虫感染においては、記憶 CD8<sup>+</sup> T 細胞のクローン増殖がナイーブ CD8<sup>+</sup> T 細胞に比べて選択的に抑制さ



れる可能性が示唆された。

### マラリア原虫感染における 中枢性と末梢性記憶 CD8<sup>+</sup> T 細胞 の応答の解析

記憶 CD8<sup>+</sup> T 細胞は、細胞表面分子や機能の違いにより中枢性と末梢性に分けることができる。マラリア原虫感染における記憶 CD8<sup>+</sup> T 細胞の増殖抑制において、両者の記憶細胞サブセットに違いがあるか否かを明らかにする目的で、記憶 OT-I 細胞を中枢性 (CD62L<sup>hi</sup>CD44<sup>hi</sup>) と末梢性記憶細胞 (CD62L<sup>lo</sup>CD44<sup>hi</sup>) に分け、各々ナイーブ OT-I 細胞と 1 : 1 に混和してマウスに受け身移入し感染実験を行った。PbA-OVA 感染では、どちらの場合にも記憶 OT-I 細胞の増殖はナイーブ OT-I 細胞に比べて低下していた。一方、LM-OVA 感染では、どちらの場合でも記憶細胞の増殖が優れていた。

### マラリア原虫感染において記憶 CD8<sup>+</sup> T 細胞の応答が低下する 機構の解析

記憶 CD8<sup>+</sup> T 細胞の増殖がマラリア原虫感染において低下する機構を解明するため、PbA-OVA 感染と LM-OVA 感染マウスにおける記憶 OT-I 由来細胞とナイーブ OT-I 由来細胞の細胞表面分子の発現を調べた。細胞の応答を抑制する抑制性補助シグナル分子である PD-1 と LAG-3 の発現は、PbA-OVA 感染マウスでは記憶細胞由来 OT-I はナイーブ由来細胞に比べて亢進していた。一方 LM-OVA 感染マウスでは、そのような違いは観察されなかった。このことから、抑制性補助シグナル分子発現の違いがマラリア原虫感染における記憶 CD8<sup>+</sup> T 細胞の増殖抑制に関与している可能性が示唆された。

### この研究の発表

#### は GCOE 表記のあるもの

- 1 . Miyakoda M, Kimura D, Honma K, Kimura K, Yuda M, Yui K. Development of memory CD8<sup>+</sup> T cells and their recall responses during blood-stage infection with *Plasmodium berghei* ANKA. *J Immunol.* 189: 4396-4404. 2012.
- 2 . Inoue M, Jianxia T, Miyakoda M, Kaneko O, Yui K, Culleton R. The species specificity of immunity generated by live whole organism immunization with erythrocytic and pre-erythrocytic stages of rodent malaria parasites and implications for vaccine development. *Int J Parasitol.* 42: 859-870. 2012.
- 3 . Chapman LM, Aggrey AA, Field DJ, Srivastava K, Ture S, Yui K, Topham DJ, Baldwin III WM, Morell CN. Platelets presents antigen in the context of MHC class I. *J Immunol.* 189(2): 916-923. 2012.

# 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

熱帯医学研究所 病害動物学  
皆川 昇

## 背景

アフリカの主要マラリア媒介蚊は、(ガンビエ: *Anopheles gambiae s.s.*)と(アラビエンシス: *Anopheles arabiensis*)であり、両種ともガンビエ種群(the *Anopheles gambiae* complex)に属する。形態的な区別が困難で、長く同一種と思われてきたが、現在は、それらの生態に違いがあることが分かり別種として認められている。ガンビエは、アラビエンシスと比較して、屋内で人を吸血する傾向が強く、マラリア感染能力が一番強い種類と考えられている。一方、アラビエンシスは、野外での家畜吸血指向性が強いが、人の吸血も行うため注意しなければならないマラリア媒介蚊には変わりはない。

近年、マラリア対策として殺虫剤付きの蚊帳が普及し始め、各地からその効果が報告されている。しかし、蚊帳は、睡眠時に使用するため屋内での人間吸血指向性がより強いガンビエに対しては効果があるが、アラビエンシスには効果が薄いのではないかと、そして、野外でのアラビエンシスからの感染を防ぐような新しい対策が必要ではないという懸念があがっている。また、それは、蚊帳の普及により、ガンビエ種群の中で相対的にアラビエンシスの割合が増加するのではないかとという仮説につながる。

## 目的

今回報告する研究では、西ケニア・ビクトリア湖畔にあるピタ地区において、過去に両種の種構成に変化が見られるか検証をした。そして、種構成の変化に蚊帳の普及との相関が見られるかを検証した。

## 成虫の種構成の変化

家屋内で採集された媒介蚊の成虫の種構成は、1999年では、湖の島を含むすべての地域でガンビエが優先種であったが、2008年の調査では、大陸の村では、アラビエンシスが優先種になっている地域が増えたが、島では、ガンビエが相変わらず優先種であった(図1)。2010年では、島のガンビエが優先という種構成に変化は見られなかったが、大陸のいくつかの地域では、再びガンビエの増加傾向が見られた。

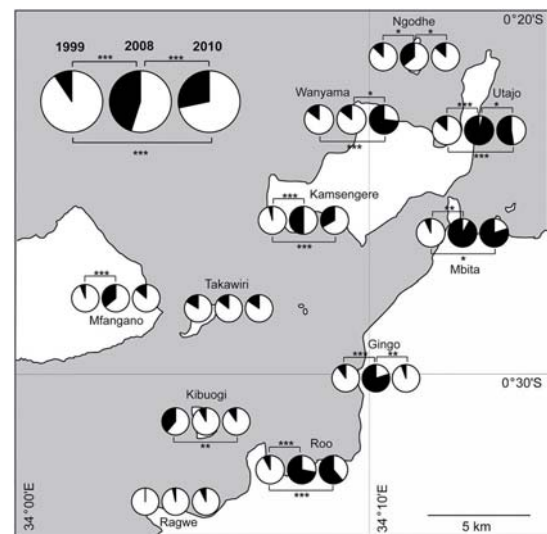


図1. 1999年、2008年、2010年の成虫の種構成。

## 幼虫の種構成の変化

成虫の採集は、屋外では困難であるため屋内で行う必要がある。結果として、屋内に比較的多く生息するガンビエが多く採集される傾向にある。よって、幼虫による検証も必要である。

15年前に実施されたマラリア媒介蚊の繁殖地調査で得られたデータでは、アラビエンシスが多くの地域で優先種ではあったが、それでも3 - 4割はガンビエ種が占めており、ガンビエが5割以上占めている地域も見られた。

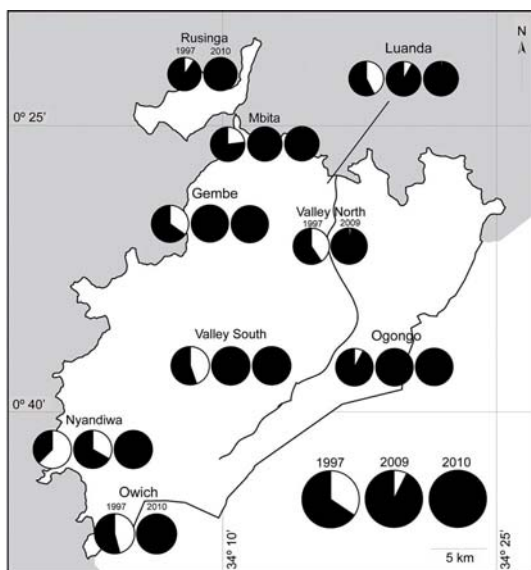


図2 . 1997年、2009年、2010年の幼虫の種構成。

(図2) しかし、2009年と2010年に同じ地域で実施した調査では、すべての地域でガンビエが占める割合はわずかになっており、アラビエンシスが圧倒的な割合を占めていた。

## 蚊帳の普及

2007年初めにケニア保健省による殺虫剤付き蚊帳の配布が始まり、普及が一気に広まった(図3)。2007年初めには、一人あたり0.2枚の蚊帳があったが、1年後には、一人あたり1.2枚まで増加している。その後、蚊帳の数は減少し始め、2012年の初めには、0.5枚になっている。減少の原因は、人口増加も寄与しているだろうが、蚊帳を他の目的(例えば漁網等)に利用したりしていることも考えられる。しかし、WHOでは、2人につき最低でも蚊帳1枚(つまり一人につき0.5枚)を普及させることを目標としており、一応、目標値には達している。マラリア感染の危険性が高い幼児は、親と蚊帳の中で寝るため、2人につき1枚蚊帳があれば最低限の保護はできるという考えである。

一方、大陸と島の蚊帳の普及具合は、2007年以前は、島での殺虫剤付き蚊帳の普及は、大陸よりも低かったが、保健省による配布後は、大きな違いは見られなくなった。その他の地域間にも蚊帳の普及に大きな違いは見られなくなった。国による蚊帳の配布がある程度の成果を上げていると言える。

## 考察

ガンビエ種群の種構成においては、90年代後半に比べて、ガンビエの比率が大幅に減少しているのが明らかになった。いつ頃からガンビエの減少が始まったのかは確かでないが、得られたデータは、殺虫剤付き蚊帳の普及が、家の中で吸血及び休息するガンビエを減少させたために、アラビエンシスの比率が増加したことを示唆している。

しかし、島を中心にガンビエ優勢の種構成が変わっていないところもある。それらの地域が、特に蚊帳の普及が低いということではないため、蚊帳以外の要因が働いていると考えられる。島は、牛等の多くの家畜を放牧するには面積が狭く、また、険しい地形もあるため、家畜の数が圧倒的に大陸よりも少ないと考えられる。よって、野外での動物吸血指向性が強いアラビエンシスが、根本的にガンビエよりも少ないと思われる。その他、島の気候がガンビエにより適している(ガンビエはより湿度の高い気候に適していると考えられている)可能性等が考えられる。

一方、2010年になるとガンビエの比率は、大陸でも増加した地域が見られた。2008年から蚊帳の数が減少し始めたことも要因の一つと考えられるが、殺虫剤抵抗性がガンビエの間で広まってきていることも原因として考えられる。殺虫剤抵抗性遺伝子(kdr)も蚊帳の普及と相関するようにガンビエの間に広まっていることが明らかになっており(未発表)、少しずつ抵抗性遺伝子を獲得した個体に入れ替わっている可能性がある。

本当にガンビエが何らかの理由で回復してきているかは、今後もモニターしていかなければ結論づけることはできないが、もし、これが事実であり、それに殺虫剤抵抗性遺伝子が関わっているとすると、殺虫剤付き蚊帳の効果が損なわれていることになる。これは、マラリア制御にとって深刻で、明らかにしなければならない問題である。

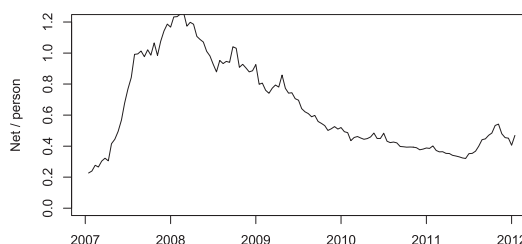


図3 . 過去5年間の一人あたりの蚊帳の数の変化。



# 環境・気候変動と感染症

熱帯医学研究所 小児感染症学

橋爪真弘

## インド洋の海洋気象と東アフリカ高地におけるマラリア流行

東アフリカのケニア、タンザニアなどの高地におけるマラリア流行の原因について、気候変動との関連という視点から病害動物学教室と共同で研究を続けている。今回、我々は1990年代に発生した大規模なマラリア流行にインド洋ダイポール現象が関与していること、その影響は周辺の平たん地とは異なることを明らかにした。ケニア西部の高地と、隣接するビクトリア湖周辺の平たん地における過去15 - 75年間にわたるマラリア患者数のデータを収集し、インド洋ダイポール現象（注）の指標であるダイポールモード指数（DMI）との関連を時系列解析法を用いて検討した。その結果、高地では1990年代にマラリア患者数とダイポールモード指数との相関が高く（図1）、インド洋ダイポール現象がマラリア流行に影響を及ぼしたと考えられた。一方、ビクトリア湖周辺の平たん地においてはマラリア患者数とダイポールモード指数との相関は明らかでなかった。

インド洋から運ばれる湿った大気が高地の降雨量に影響を及ぼし、マラリア媒介蚊の発生に関与していると考えられた（図2）。これまで1990年代の高地マラリア再流行は、薬剤耐性や土地利用変化、人口移動、エルニーニョ現象、温暖化などが原因と言われてきたが、本研究によりインド洋ダイポール現象が関与していることが証明された。インド洋ダイポール現象の発生が予測できれば、タイミングを逸せず効果的なマラリア流行対策をおこなったり、気候変動によるマラリア流行動態の将来予測に役立つことが期待される。本研究の成果は、「Scientific Reports」2012年2月号に掲載された。

### （注）インド洋ダイポール現象

インド洋東部（ジャワ島沖）の海面水温が異常に低くなり、反対にインド洋西部（アフリカ東方沖）の海面水温が異常に上昇する現象。

## バングラデシュにおける洪水とデング熱流行

洪水などの自然災害後にマラリアやデング熱、コレラなどの感染症が流行しやすいと言われているが、疫学的エビデンスがあるわけではない。我々は、首都ダッカ市内の11病院の入院患者データを収集し（図3）、ダッカ市内を流れる4河川の平均水位と週毎のデング熱患者数との関連を時系列解析を行って調べた。その結果、過去6週間の河川水位が3.9メートルを超えると、0.1メートルの河川水位上昇につきデング熱入院患者数が6.9パーセント増えることが明らかとなった。逆に、過去20週間の河川水位が3.9メートルを下回ると、0.1メートルの河川水位低下につきデング熱入院患者数が29.6パーセント増えることが分かった。この結果はダッカ市内の降雨量を調整したうえでの値であり、降雨量よりも河川水位の方がデング熱患者数を予測するうえで有用であることが明らかとなった。因果関係については、詳細なベクター調査が必要と考えられた。

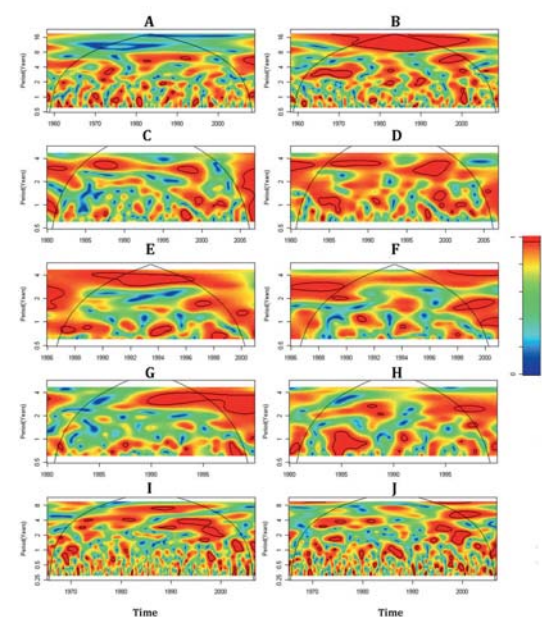


図1. Cross-wavelet coherence 解析 (A) Maseno and DMI; (B) Maseno and Nino 3; (C) Kendu Bay and DMI; (D) Kendu Bay and Nino 3; (E) Kisii and DMI; (F) Kisii and Nino 3; (G) Kapsabet and DMI; (H) Kapsabet and Nino 3; (I) Kericho and DMI; (J) Kericho and Nino 3 赤い部分が相関の高い年代。

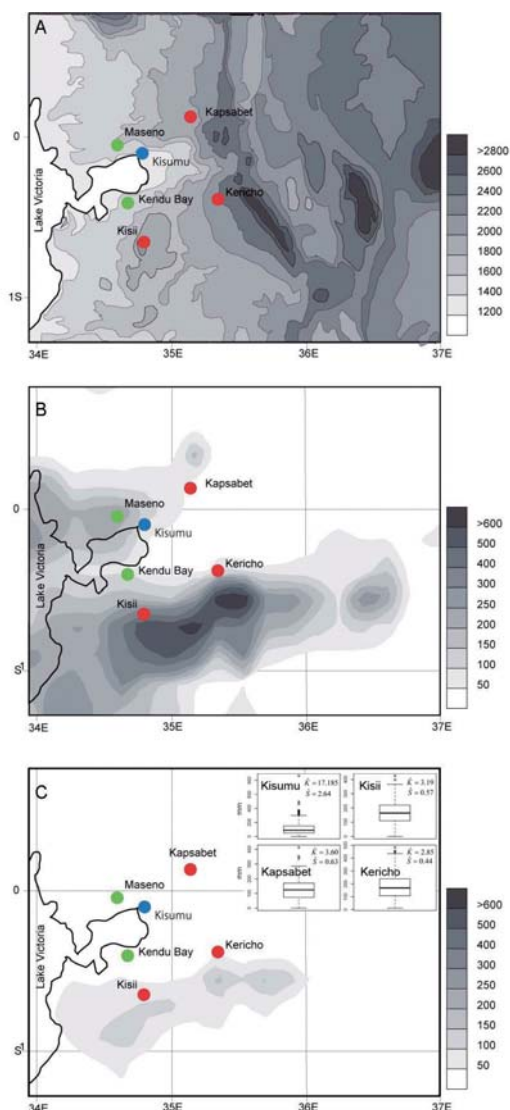


図2 . (A)調査地の高度 (m) (B)インド洋からの湿った大気をシミュレーションにより20%減少させた場合の降水量 (mm) (C)同50%減少時の降水量 (mm) .

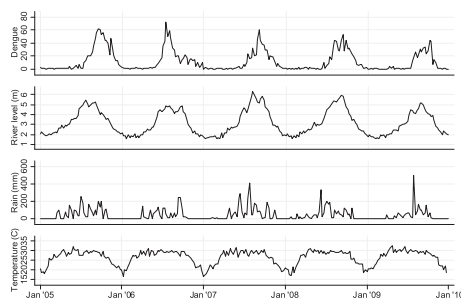


Figure 2

図3 . ダッカ市内のデング熱患者数と気象因子の時系列データ (2005 - 2009年)

### この研究の発表

#### は GCOE 表記のあるもの

- 1 . Hashizume M, Dewan AM, Sunahara T, Rahman Z, Yamamoto T. Hydroclimatological variability and dengue transmission in Dhaka, Bangladesh: a time-series study. *BMC Infect Dis* . 2012; 12: 98 doi: 10. 1186/1471-2334-12-98
- 2 . Hashizume M, Chaves LF, Minakawa N. Indian Ocean Dipole drives malaria resurgence in East African highlands. *Sci. Rep.* . 2012; 2; 269 doi: 10. 1038/srep 00269.
- 3 . Chaves LF, Satake A, Hashizume M, Minakawa N. Indian Ocean Dipole and rainfall drive a Moran effect in East Africa malaria transmission. *J Infect Dis* . 2012; 205: 1885-1891.
- 4 . Chaves LF, Hashizume M, Satake A, Minakawa N. Regime shifts and heterogeneous trends in malaria time series from Western Kenya Highlands. *Parasitology* 2012; 139: 14-25.

#### 論文 は GCOE 表記のあるもの

- 1 . Haque U, Bomblies A, Hashizume M, Mitra D, Noman N, Haque W, Kabir M, Yamamoto T. Risk factors associated with clinical malaria episodes in Bangladesh: a longitudinal study. *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene* (in press)
- 2 . Dewan AM, Corner RJ, Hashizume M, Ongee ET. Typhoid fever and its association with environmental factors in the Dhaka Metropolitan Area of Bangladesh: a spatial and time-series approach. *PLoS Neglected Tropical Diseases* . (in press)
- 3 . Choi K, Cho S, Hashizume M, Kim H. Epidemiological characteristics of novel influenza A (H1N1) in antiviral drug users in Korea. *PLoS One* 2012; 7(10): e 47634. doi: 10. 1371/journal. pone. 0047634.
- 4 . Haque U, Scott LM, Hashizume M, Fisher E, Haque R, Yamamoto T, Glass GE. Modelling malaria treatment practices in Bangladesh using spatial statistics. *Malaria J.* 2012; 11: 63 doi: 10. 1186/1475-2875-11-63
- 5 . Hori A, Hashizume M, Tsuda Y, Tsukahara T, Nomiya T. Effects of weather variability and air pollutants on emergency admissions for cardiovascular and cerebrovascular diseases. *International Journal of Environmental Health Research* 2012; 22: 416-430.
- 6 . 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* 2012; 90: 150-156.
- 7 . Milojevic A, Armstrong B, Hashizume M\*, McAllister K, Faruque ASG, Yunus M, Streatfield PK, Moji K, Wilkinson P. Health effects of flooding in rural Bangladesh. *Epidemiology* 2012; 23: 107-115. \*corresponding

# 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

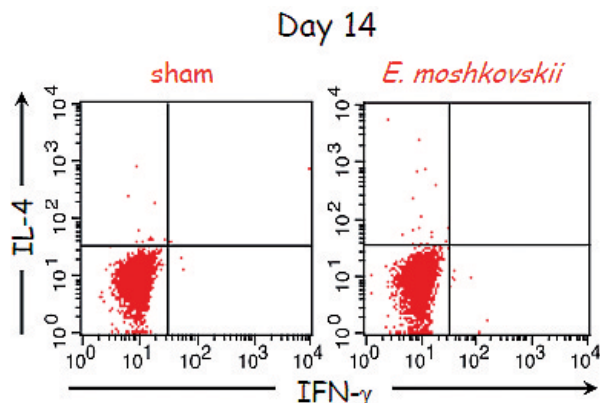
本研究では、*Entamoeba moshkovskii* によって引き起こされる「消化管症状」と「原虫の排除」に IFN- $\gamma$  が重要な働きをしており、諸刃の刃として機能する可能性が示唆された。

## 背景

昨年度までの研究から、1) 病原性が未確定の *E. moshkovskii* は病原性 *E. histolytica* と同様 CBA/J 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。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が、2) *E. moshkovskii* は下痢症状に加えて時に典型的なイチゴゼリー状の粘血便を伴う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、3) チャレンジおよそ 2 週間で腸管から排除されることを見出した。また、非病原性アメーバ *E. dispar* は、上記いずれのマウスの腸管にも定着できなかった。

(Shimokawa C. et al. J Infect Dis, 206: 744-751, 2012)

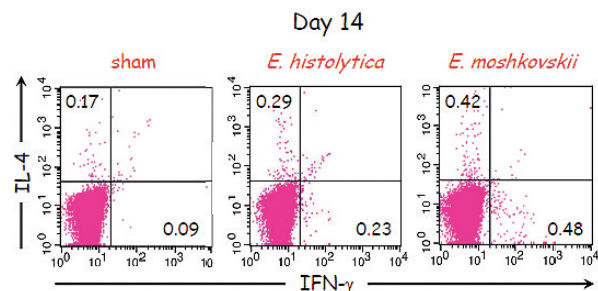
## *E. moshkovskii* に対する免疫応答の特徴



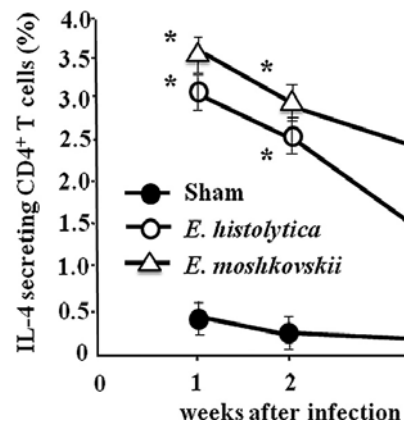
*E. moshkovskii* の接種後、感染14日目に脾臓や腸間

膜リンパ節の免疫細胞を、CD3 & CD28 に対する抗体で刺激し、IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-10、TNF- $\alpha$ 、IL-13 の細胞内染色を行ったが、いずれのサイトカインに関しても、陽性細胞は検出できなかった（左下図）。

すなわち脾臓においても腸間膜リンパ節においても、*E. histolytica* および *E. moshkovskii* 感染経過中に、本刺激では IFN- $\gamma$  ならびに IL-4 産生細胞を検出できなかった。次いで同様のことをパイエル板で調べたところ、下図のように、*E. histolytica* および *E. moshkovskii* 感染14日目に IFN- $\gamma$  ならびに IL-4 産生細胞ともに有意な増加を示した。

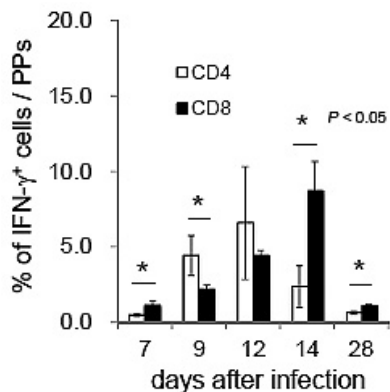


両群において感染 1 週間にはパイエル板において IL-4 産生細胞を検出することが出来たが、慢性感染に至る *E. histolytica* と原虫が排除される *E. moshkovskii* 感染の間で、IL-4 産生細胞に関して有意な差はなかった。

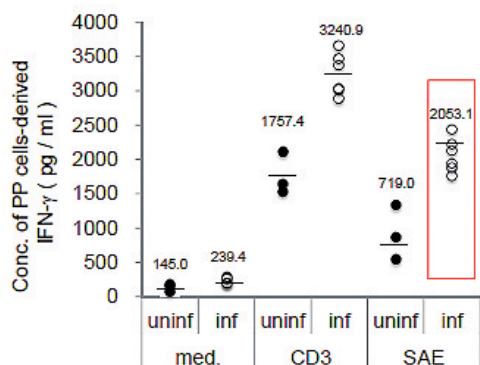


次いで、代表的な Th1 サイトカインである IFN- $\gamma$  産生細胞の動態をパイエル板において測定した。すると、*E. moshkovskii* が腸管から排除される感染 2 週間を

ピークとして IFN- $\gamma$  産生 CD8 陽性細胞の著明な増加が認められた。一方、IFN- $\gamma$  産生 CD4 陽性細胞の誘導は顕著ではなかった。これらの反応は *E. moshkovskii* 感染の特徴であり、*E. histolytica* 感染ではあまり認められなかった。



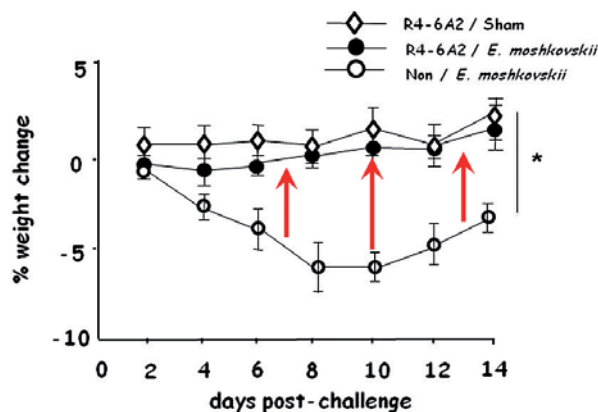
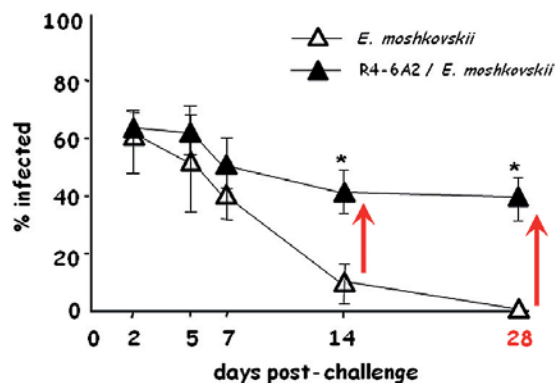
次いで、この IFN- $\gamma$  が *E. moshkovskii* 抗原特異的に産生されることが判明した。



ここで誘導される IFN- $\gamma$  の役割を解明するために、感染1日前、当日、5日後に、IFN- $\gamma$  に対する中和抗体を投与して、感染ならびに病態の変化を観察した。

### *E. moshkovskii* 感染時に誘導される IFN- $\gamma$ は諸刃の刃である

すると、IFN- $\gamma$  を中和することにより、感染が遷延し、一方で体重減少に代表される感染病態の緩和が観察された。



本研究より、IFN- $\gamma$  が原虫排除に機能すると共に、*E. moshkovskii* 感染で認められる病態に深く関与することが示唆され

### この研究の発表

#### 論文 は GCOE 表記のあるもの

1. Shimokawa C, Kabir M, Taniuchi M, Mondal D, Kobayashi S, Ali IK, Sobuz SU, Senba M, Houpt E, Haque R, Petri WA Jr, Hamano S: *Entamoeba moshkovskii* is associated with diarrhea in infants and causes diarrhea and colitis in mice. J Infect Dis. 206: 744-751, 2012 (IF: 6.410)
2. Mbanefo EC, Chuanxin Y, Kikuchi M, Shuaibu MN, Boamah D, Kirinoki M, Hayashi N, Chigusa Y, Osada Y, Hamano S, Hirayama K: Origin of a novel protein-coding gene family with similar signal sequence in *Schistosoma japonicum*. BMC Genomics. 13: 260. 2012(IF: 4.073)

# 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

熱帯医学研究所 生態疫学

金子 聰

## 要約

貧困層に広がる感染症の広範囲な地理的分布の把握を目指したサーベイランス構築に応用することを目的とした一括診断技術の開発と研究を継続した。昨年度までの問題であったビーズの材質そのものに対する非特異的反応の解決にいたり、フィールドで採血した3454検体に対する抗体価の測定を行った。また、フィルター紙による採血を用いた広域サーベイランスを実装した際に、抗体測定に追加して、PCR法を用いた病原体の存在診断の可能性の検討を行った。

## 背景

「顧みられない熱帯病 (Neglected Tropical Diseases: NTDs)」をはじめとした貧困層に広がる感染症の広範囲な地理的分布の把握を目指したサーベイランス構築に応用することを目的とした一括診断技術の開発と研究を今年度も継続した。一昨年は、長崎大学熱帯医学研究所ケニア教育研究拠点とケニア中央医学研究所により共同運用される2カ所の人口登録・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) における血清疫学調査に関して、暫定的に結果を報告した。その際の問題点としては、一括診断において用いている Multiplex 技術の検査素材であるビーズの成分に対して反応する抗体 (非特異的抗体) をもつ住民が複数存在することが明らかとなり、それにより擬陽性を呈する住民が多く存在することであった。その問題点を解決すべく、異なる材質のビーズを用いた開発を再度行った。また、広域サーベイランスに本技術を実装するに当たり、フィルター紙による採血を検討している。その際、抗体測定に追加し、病原体の存在診断を行うことを目指し、全血から行う PCR 法の検討も行った。

## 非特異的抗体の問題の解決

非特異的抗体の問題を解決すべくポリスチレン担体を原材料としているビーズから、磁性体を複数のポリマーによりコーティングしたビーズ (磁気ビーズ) への変更

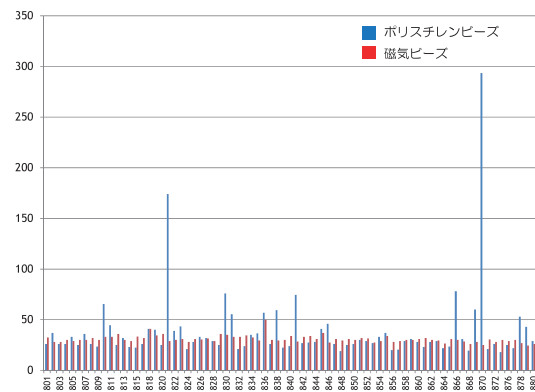


図. 一般住民からの血清の一部を用いた抗原を固定しないポリスチレンビーズと磁気ビーズに対する抗体価の測定 (MFI 値): ポリスチレンビーズに対する高い値 (青) を示す住民が、磁気ビーズ (赤) に比して多いことが解る。

を行い、問題解決を図った。磁性体は、フローシステムを用いない multiplex 機器用に Luminex 社より開発されたものである。その結果、ビーズに対する非特異的な反応を示す検体を減少させることが出来た (図)。

## 抗体価の測定の結果

抗体価の一括測定を行った。測定した病原体とその抗原は、以下の10病原体、14抗原とした。以下、赤痢アメーバ (IgL-C 抗原)、HIV (Gag 抗原、gp41抗原、gp120抗原)、リーシュマニア (KRP42抗原)、結核菌 (CFP10抗原、ESAT6 抗原)、3日熱マラリア (pv-MSP1 抗原)、熱帯熱マラリア (pf-MPS1 抗原、HRP2 抗原)、汎マラリア (LDH 抗原)、トキソプラズマ (SAG1 抗原)、コレラ菌 (コレラトキシン A+B サブユニット)、フィラリア (SXP1 抗原)、Multiplex 技術により、これら14種類の抗原に対する抗体価を一括して測定した。

病原体の抗体陽性割合は、Kwale 地区、Mbita 地区において HIV が、6.1%と25.4%、熱帯熱マラリアが40.4%と47.7%が、トキソプラズマが32.3%と30.3%、内蔵リーシュマニアが19.4%と25.7%、コレラが6.1%と3.7%、フィラリアが15.1%と9.3%、赤痢アメーバが26.8%と32.0%であった。三日熱マラリアについては、熱帯熱マラリアと抗原の交差性が高く特異性が低いことが明らかとなった。HRP2 抗原は非感染対象でも高い抗体価を示したためにカットオフ値が上昇し、感度が低い結果となった。LDH 抗原は抗原性が低い結果となっ

表 地域別の抗体陽性率

pathogen	Kwate HDSS site					
	Female		Male		Total	
	(n = 760)	95%CI	(n = 693)	95%CI	(n = 1453)	95%CI
HIV	5.9%	(4.2 7.6%)	6.2%	(4.5 8.0%)	6.1%	(5.4 6.7%)
Cholera	5.7%	(4.0 7.3%)	6.5%	(4.7 8.3%)	6.1%	(5.4 6.7%)
Amoeba	26.2%	(23.1 29.3%)	27.6%	(24.2 30.9%)	26.8%	(25.7 28.0%)
Leishmania	17.9%	(15.2 20.6%)	21.1%	(18.0 24.1%)	19.4%	(18.4 20.4%)
Malaria LDH	15.1%	(12.6 17.7%)	18.6%	(15.7 21.5%)	16.8%	(15.8 17.8%)
Malaria PIMSP 1	41.3%	(37.8 44.8%)	39.4%	(35.8 43.0%)	40.4%	(39.1 41.7%)
Toxoplasma	33.2%	(29.8 36.5%)	31.5%	(28.0 34.9%)	32.3%	(31.1 33.6%)
Filaria	13.0%	(10.6 15.4%)	17.5%	(14.5 20.3%)	15.1%	(14.2 16.1%)

pathogen	Mbita HDSS site					
	Female		Male		Total	
	(n = 1008)	95%CI	(n = 950)	95%CI	(n = 1958)	95%CI
HIV	28.5%	(25.7 31.3%)	22.1%	(19.5 24.7%)	25.4%	(23.5 27.3%)
Cholera	3.5%	(2.3 4.6%)	3.9%	(2.7 5.1%)	3.7%	(2.8 4.5%)
Amoeba	30.8%	(27.9 33.6%)	33.4%	(30.4 36.4%)	32.0%	(30.0 34.1%)
Leishmania	23.8%	(21.2 26.4%)	27.8%	(24.9 30.6%)	25.7%	(23.8 27.7%)
Malaria LDH	22.4%	(19.8 25.0%)	27.3%	(24.4 30.1%)	24.8%	(22.9 26.7%)
Malaria PIMSP 1	47.0%	(43.9 50.1%)	48.4%	(45.2 51.6%)	47.7%	(45.5 49.9%)
Toxoplasma	33.3%	(30.4 36.2%)	27.2%	(24.3 30.0%)	30.3%	(28.3 32.4%)
Filaria	9.0%	(7.3 10.8%)	9.6%	(7.7 11.5%)	9.3%	(8.0 10.6%)

た。また、結核については、感度が低い結果となった。

### 全血サンプルからの直接 PCR の検討

広域なサーベイランスに本技術を実装する際には、採血手技と検体の搬送が容易となる利点があることから、フィルター紙による採血を計画している。その利便性を生かし、フィルター紙採血から直接 PCR を行い、病原体の同定を行うための基礎的検討も行った。

全血サンプルを基質とした PCR 法は、全血中に DNA ポリメラーゼ活性を阻害する物質が存在するために、従来はサンプルから DNA を抽出・精製して基質としていたが、近年は阻害物質に抵抗性を示す DNA ポリメラーゼが開発され、DNA 抽出を行わずに採血ろ紙からの溶出物を基質として用いることが可能となった。

現在、複数の DNA ポリメラーゼが供給されているが、その活性に優劣がある事が、これまでの実験で明らかになった事から、6種のダイレクト PCR 法用ポリメラーゼ (KOD FX, Mighty Amp, Hemo KlenTaq, Phusion Blood II, KAPA Blood, および BIOTAQ) の比較実験を行った。対照として、血中の阻害物質への抵抗性がない通常の DNA ポリメラーゼである DNA ポリメラーゼ

(GoTaq Flexi) を使用した。実験は、精製した熱帯熱マラリアゲノム DNA を含む PCR 反応系に、ろ紙上の乾燥全血 (マラリア非感染の日本人 2 名) からの溶出液を加え、溶出液量と PCR 産生物量との関係を調べた。溶出には TE buffer と抗体用のバッファー (0.05% Teen 20, 0.05% sodium azide/PBS(-)) を用いた。その結果、優れた性能を持つ DNA ポリメラーゼ (KOD FX) を同定することができた。(1)通常の DNA ポリメラーゼである GoTaq Flexi DNA ポリメラーゼとの比較から、各社のダイレクト PCR 用ポリメラーゼは確かに良好な DNA の増幅を示した事、(2)東洋紡社の KOD FX DNA ポリメラーゼが最も多量の溶出液 (40% 溶出血液濃度) に対して耐性を示した事、(3)KOD FX DNA ポリメラーゼは、界面活性剤 (0.05% Tween20) 存在下でも良好な DNA の増幅を示すことが明らかとなった。

これらの結果から、KOD FX DNA ポリメラーゼを用いることにより、多量の溶出検体を PCR 反応系に持ち込む事ができるため微量の病原体 DNA を検出すること、界面活性剤を含む抗体検出用の溶出液から DNA および抗体を同時に検出することができ、今後の広域サーベイランスにおける病原体感染割合の把握への実装が期待できる。

### この研究の発表

#### 論文 は GCOE 表記のあるもの

1. Kaneko S, K'Opiyo J, Kiche I, Wanyua S, Goto K, et al. (2012) Health and Demographic Surveillance System in the Western and Coastal Areas of Kenya: An Infrastructure for Epidemiologic Studies in Africa. J Epidemiol. 22: 276-285.
2. Komazawa O, Kaneko S, K'Opiyo J, Kiche I, Wanyua S, Shimada M, Karama M (2012) Are Long-Lasting Insecticidal Nets Effective for Preventing Childhood Deaths among Non-Net Users? A Community-Based Cohort Study in Western Kenya. PLoS One. 7: e 49604.

# 症候性マラリアに対するヒトの遺伝的感受性

熱帯医学研究所 免疫遺伝学

平山謙二

## 要約

熱帯熱マラリア中等度流行地で小学生429名を対象に1年半にわたるコホート研究を行い、約10%が症候性マラリアを1回以上発症した。これら感受性群と全く発症しなかった抵抗性群のDNA多型解析を行い、HLA-B\*35:01が抵抗性、TLR9遺伝子のrs187084(C1486T)、rs5743836(C1237T)、rs352139(G+1174A)、rs352140(G+2848A)という4つのSNPの組み合わせがTTAGとなるハプロタイプを持つ小児では持たない子に比べ5倍の抵抗性をしめし、原虫血症も低くなることが示された。

## 背景

アフリカサハラ砂漠以南の熱帯地域は熱帯熱マラリアの高度流行地であり、5歳以下の乳幼児の主要な死因となっている。ガーナ共和国は西アフリカの大西洋岸に位置し、本研究を開始した2003年当時は、マラリアの高度流行地が国内に広く分布していた。一般的にこのような流行地でのマラリアは、無症候性のマラリア原虫血症患者と症候性の有熱マラリア患者が混在し、さらにその一部が高度の貧血や昏睡を伴う重症マラリアを発症するという複雑な病像を呈している。症候性と無症候性のマラリアの相違についてはその発症機序は明らかでなく、原虫あるいは宿主の病原性あるいは感受性の相違がこのような病型の発現に影響していると考えられている。

## ガーナ共和国西ダンメ地区におけるマラリアコホート

ガーナ共和国の西ダンメ地区アスツアレに在住する小学生429名を対象に1年半にわたるマラリアコホートを設定し、その期間内に発症する症候性マラリア(38度C以上の発熱、5,000/ul以上の原虫血症)を2週おきにモニターし各個人の発症頻度を記録した。この期間中に

3回の季節的な流行のピークを記録したが、対象とした小児の集団は最終的に発症した群と全く発症しなかった群の2群に分かれた。

## 症候性マラリア感受性群と抵抗性群の遺伝子多型解析

これら感受性群と抵抗性群の各個人のDNAを抽出し、感受性を規定するかもしれない候補遺伝子として、獲得免疫を制御するHLA遺伝子としてHLA A, B, DRB1各遺伝子を、また同じ遺伝子領域に存在する炎症性サイトカインTNF $\alpha$ のプロモーター領域、さらに抗体依存性の細胞障害反応の際に個体差が生じる抗体Fcガンマ受容体IIa遺伝子、また自然免疫特にヘモジン刺激に反応するとされているTLR9の遺伝子を探りあげ、その遺伝子領域の多型についてDNA配列決定法を用いて解析し、検出された対立遺伝子(アレル)頻度の比較を行い、感受性との相関の有無を検討した。

## HLA 遺伝子多型と感受性との関連

HLA B\*35:01を有する小児では持たない子に比べ発症率が有意に減少しその危険率は4分の1になることが明らかとなった( $P_c = 8.2 \times 10^{-5}$ )。HLA B\*53:01は上記と全く反対で危険率を上昇させた。発症した時の原虫血症と比較したところ、HLA A\*01が有意に高い原虫血症を呈していた。TNFプロモーターやB座以外のHLA遺伝子については有意差は認められなかった。

## TLR9 および FcGR 2a 遺伝子多型と感受性との関連

TLR9遺伝子領域に存在する4つの共通SNP(single nucleotide polymorphisms)である: rs187084(C1486T)、rs5743836(C1237T)、rs352139(G+1174A)、rs352140(G+2848A)およびFCGR2A遺伝子の第4工

クソンの全長遺伝子配列を決定し各人の遺伝子型を決定した。そのうえで HLA 遺伝子解析度同様に感受性に寄与する度合いあるいは危険率を各人の発症頻度との比較から計算した。その結果、TLR 9 遺伝子の SNP である rs352139 の GG ホモ接合体ではそれ以外の遺伝子型の小児に比べて 4.8 倍も症候性マラリアを発症しやすいことが明らかとなった ( $P=0.0024$ )。またこのタイプでは原虫血症も有意に高いことが示された。これに対し rs352140GG という別の場所の SNP のタイプでは逆に顕著な抵抗性を示すことも分かった。さらにこれらの SNP の組み合わせ、いわゆるハプロタイプを解析すると調べた 4 つの SNPs の組み合わせが TTAG となるハプロタイプを持つ小児では持たない子に比べ 5 倍の抵抗性を示し、原虫血症も低くなることが示された。それに対しこのハプロタイプが CTGA となる小児では持たない小児に比べ 3.3 倍も症候性マラリアを発症していることが明らかとなった。

以上のような 4 つの SNP の組み合わせによる感受性の違いが直接これら 4 つのヌクレオチドの違いに由来するのを検証するために、このうちイントロン領域に存在する上流 3 か所の SNP の組み合わせ、TTA、CCG、CTG、TCG ハプロタイプのプロモーター領域部分をク

ローン化し、ルシフェラーゼ発現を指標にしたレポーターアッセイを行った。その結果強い抵抗性を示した TTA ハプロタイプは他のハプロタイプに比べ有意に高い発現活性を示した。

これに対し、IgG 抗体 2 型レセプター A をコードする遺伝子についてはこれまで報告のある rs1801274A/G (*FcγRIIa* H131R) という多型と新たに rs150311303 (*FcγRIIa* ins170L) という 1 アミノ酸挿入という変異を集団中に発見したが、マラリア感受性との関連を認めなかった。疾患との相関はなかったものの、この地域の Fc ガンマレセプター遺伝子の主要なアレルをクローン化し試験管内で細胞内に遺伝子導入して発現させ、抗体との結合性を観察すると明瞭な相違が認められた。

## 考 察

長期間のコホート研究により、症候性マラリアの感受性集団を明確化しその遺伝的な特徴を明らかにすることができたので、これらの遺伝背景がより重症なマラリアに影響するののかについて患者対照法を用いてさらに追及する必要がある。

## この研究の発表

### 論文 は GCOE 表記のあるもの

1. Omar AH, Shibata H, Yasunami M, Yamazaki A, Ofori MF, Akanmori BD, Shuaibu MN, Kikuchi M, and Hirayama K. The rs 150311303 polymorphism for *FcγRIIa* enhances IgG binding capacity. *Scand J Immunol.* 2012 Apr 30.
2. Omar AH, Yasunami M, Yamazaki A, Shibata H, Ofori MF, Akanmori BD, Shuaibu MN, Kikuchi M, Hirayama K. Toll-like receptor 9 (TLR 9) polymorphism associated with symptomatic malaria: a cohort study. *Malar J.* 2012 May 17; 11(1): 168.
3. 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.* 2011 Oct; 72(10): 881-8.



# DNA ワクチンの臨床応用を目指した改良型ナノボールの開発

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て、新しいマラリアワクチンを包含した新規ナノワクチンを開発し、有用性を検討した。その結果、非常に強い感染抑制効果が認められ、新技術の普遍的な有用性が示された。また、新しい機構で脾臓指向性を持つ成分を見出し、新規脾臓指向性のナノボールを開発することに成功した。さらに、臨床応用を目指した完全生体内分解型ナノボールの開発にも成功した。これらの新規ナノボールは各種感染症に対するワクチン開発への応用が期待できる。

## 背 景

我々は、様々な化合物を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が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、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作製し、ナノワクチンへ応用した。その結果、マラリア感染を顕著に抑制することに成功した。さらに、作用機構の解明を行った結果、ナノワクチンは CD40 を介して免疫を誘導し、ワクチン効果を発揮する可能性が示された。

今年度は、平山教授らが作製した新しいマラリア DNA ワクチンを用いて、ナノワクチンを作製し、その有用性を検討した。また、新規脾臓指向性ナノボールおよび完全生体内分解型ナノボールの開発を行った。

## 新規マラリアナノワクチンの有効性評価

平山教授と共同で、新規マラリアナノワクチンを開発し、その有効性について検討した。

マラリア DNA ワクチンのみを免疫したマウスにマラリア原虫を感染させた結果、ほとんどのマウスが未処理のマウスと同様に死亡した。しかし、ナノワクチンを免疫したマウスはすべて生存し、高い感染抑制効果が認められた（図 1）。マラリア DNA ワクチンのみをマウスに投与した場合、血中の IgG 1 および IgG 2 b の上昇は認められなかったが、ナノワクチンでは有意な IgG 1 および IgG 2 b の上昇が認められた。ナノワクチンは Th 2 のみならず、Th 1 への活性化も行われることが示された。

## 新規脾臓指向性ナノボールの開発

生体膜を構成するリン脂質であるホスファチジルセリン（PS）は通常細胞膜の内側に存在する。しかし、古い赤血球やアポトーシス細胞では、PS が外側に露出され、マクロファージなどの貪食細胞はこの PS を認識することで貪食を行う。この PS の認識を介した赤血球の貪食は、主に脾臓の赤脾髄に存在する貪食細胞によって行われる。そこで、この PS の性質を脾臓へのドラッグデリバリーシステムに応用することを考案し、ルシフェラーゼをコードした pDNA を薬物モデルとして、新規脾臓指向性遺伝子ベクターの開発を行った。予備実験で、PS や PS アナログを検討した結果、ナノボールの新規成分として PS アナログである 1,2 ジオレオイル sn グリセロ 3 リン酸 L セリン（DOPS）を見出した。各種調製条件を検討した結果、pDNA、ポリエチレンイミン、DOPS を自己組織化させることで安定なナノボールの構築に成功した。また、in vitro において高い遺伝

子導入効率を示すことを明らかにした。そこで、このナノボールをマウスへ静脈内投与した結果、脾臓において選択的な遺伝子発現が認められた(図2)。また、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。

## 脾臓指向性を有する完全生体内分解型ナノボールの開発

ポリエチレンイミンは生体内での分解が難しく、生体適合性が低いため、臨床応用に障壁がある。そこで、ポリエチレンイミンの代わりに dendritic graphitic poly-L-lysine (DGL) を用いた新規ナノボールの開発を行った。DGL はリジンのみで構成された単一分子量の dendrimer であり、生体内で完全に分解されるため生体適合性が高い。pDNA、DGL、ポリグルタミン酸を適切に混合し、自己組織化させた結果、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

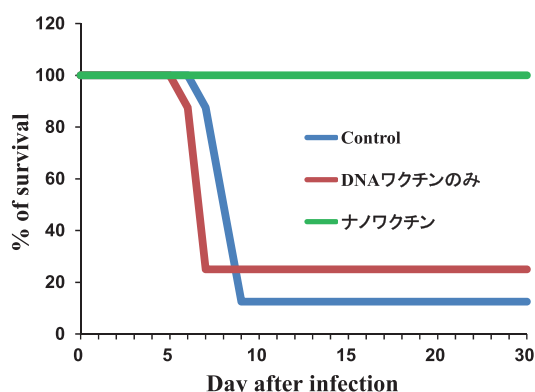


図1. 新規マラリア DNA 内包ナノワクチンのマラリア感染抑制効果

与した結果、ポリエチレンイミンを使用したナノボールと同様に脾臓で高い遺伝子発現を示した。また、ナノボールは細胞毒性および血液毒性を示さなかった。さらに、マラリア DNA ワクチンへ応用した結果、免疫誘導効果を示し、感染抑制効果が認められた。

### 図の説明

図1 新規マラリア DNA 内包ナノワクチンのマラリア感染抑制効果

マラリア DNA ワクチン、またはナノワクチンを用いて免疫したマウスへマラリア原虫を感染させ、感染後の生存率を評価した。DNA ワクチンのみではほとんど効果が得られなかったが、ナノワクチンを投与したマウスは全例が生きており、高い感染抑制効果が認められた。

図2 ルシフェラーゼをコードした pDNA 含有新規脾臓指向性ナノボール投与後の各臓器における遺伝子発現マウスヘルシフェラーゼをコードした pDNA を含有した新規脾臓指向性ナノボールを投与 6 時間後の各臓器における遺伝子発現を測定した。その結果、脾臓において選択的に高い遺伝子発現を示した。

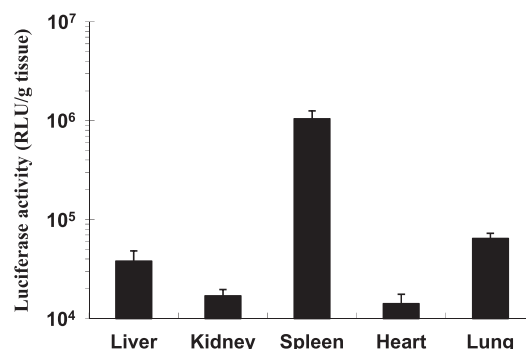


図2. ルシフェラーゼをコードした pDNA 含有新規脾臓指向性ナノボール投与後の各臓器における遺伝子発現

## この研究の発表

### は GCOE 明記があるもの

1. 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*. 2012, 491(205-9) doi: 10. 1016/j. gene. 2011. 09. 021
2. 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*. 2012, 29(483-9) doi: 10. 1007/s 11095-011-0571-x

## 2012年

- 1 Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kiya T, Matsuda J, Morinaga Y, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Nishino T, Tsukamoto M, Kakeya H, Yasuoka A, Tashiro T, Kamihira S, Kohno S. Active surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with the BD GeneOhm MRSA™ assay in a respiratory ward in Nagasaki, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 65(1): 33-6. 2012. (IF 1.491)(河野茂)
- 2 Takazono T, Izumikawa K, Yoshioka S, Matsuo N, Yamakawa M, Suyama N, Kohno S. Possible pulmonary cryptococcosis in a patient with Crohn's disease during anti-tumor necrosis factor-alpha treatment: a case report and literature review. *Jpn J Infect Dis.* 65(5): 461-4. 2012. (IF 1.491)(河野茂)
- 3 Sriwanthana B, Mori M, Tanaka M, Nishimura S, Miura T, Pathipvanich P, Sawanpanyalert P, Ariyoshi K. The effect of HLA polymorphisms on the recognition of Gag epitopes in HIV-1 CRF 01\_AE infection. *PLoS One.* 7(7): e 41696. 2012. (IF 4.092)(有吉紅也)
- 4 Huy NT, Thao NTH, Tuan NA, Khiem NT, Moore CC, Diep DTN, Hirayama K. Performance of thirteen clinical rules to distinguish bacterial and presumed viral meningitis in Vietnamese children. *PLoS One.* 7(11): e 50341. 2012. (IF 4.092)(平山謙二)
- 5 Yamada K, Yanagihara K, Araki N, Harada Y, Morinaga Y, Akamatsu N, Matsuda J, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Hasegawa H, Kohno S, Kamihira S. Clinical characteristics of tertiary hospital patients from whom *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex strains were isolated. *Intern Med.* 51(1): 51-7. 2012 (Epub 2012 Jan 1).(IF 0.936)(河野茂)
- 6 Hashizume M, Chaves LF, Minakawa N. Indian Ocean Dipole drives malaria resurgence in East African highlands. *Sci Rep.* 2: 269. 2012 (Epub 2012 Feb 16).(皆川昇,橋爪真弘)
- 7 Hori A, Hashizume M, Tsuda Y, Tsukahara T, Nomiya T. Effects of weather variability and air pollutants on emergency admissions for cardiovascular and cerebrovascular diseases. *Int J Environ Health Res.* 22(5): 416-30. 2012 (Epub 2012 Mar 5).(IF 0.864)(橋爪真弘)
- 8 Yasuda J. Ebolavirus replication and tetherin/BST-2. *Front Microbiol.* 3: 111. 2012 (Epub 2012 Apr 2).(安田二朗)
- 9 Yamamoto Y, Izumikawa K, Hosogaya N, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Sakamoto N, Ishimatu Y, Kakeya H, Yanagihara K, Yasuoka A, Kohno S. A case of refractory chronic respiratory tract infection due to *Pseudomonas aeruginosa* successfully controlled by combination of clarithromycin and azithromycin. *Intern Med.* 51(11): 1383-6. 2012 (Epub 2012 Jun 1).(IF 0.936)(河野茂)
- 10 Takazono T, Yoshioka S, Matsuo N, Mizokami A, Migita K, Suyama N, Kohno S. A 44-year-old Japanese female with recurrent pleuritis. *Respiration.* 84(4): 334-6. 2012 (Epub 2012 Jul 19).(IF 2.258)(河野茂)
- 11 Takeda E, Nakagawa S, Nakaya Y, Tanaka A, Miyazawa T, Yasuda J. Identification and functional analysis of three isoforms of bovine BST-2. *PLoS One.* 7(7): e 41483. 2012 (Epub 2012 Jul 20).(IF 4.092)(安田二朗)
- 12 Endoh M, Endo TA, Endoh T, Isono K, Sharif J, Ohara O, Toyoda T, Ito T, Eskeland R, Bickmore WA, Vidal M, Bernstein BE, Koseki H. Histone H2A mono-ubiquitination is a crucial step to mediate PRC 1-dependent repression of developmental genes to maintain ES cell identity. *PLoS Genet.* 8(7): e 1002774. 2012 (Epub 2012 Jul 26).(IF 8.694)(伊藤敬)
- 13 Mori M, Matsuki K, Maekawa T, Tanaka M, Sriwanthana B, Yokoyama M, Ariyoshi K. Development of a novel in silico docking simulation model for the fine HIV-1 cytotoxic T lymphocyte epitope mapping. *PLoS One.* 7(7): e 41703. 2012 (Epub 2012 Jul 27).(IF 4.092)(有吉紅也)
- 14 Choi K, Cho S-i, Hashizume M, Kim H. Epidemiological characteristics of novel influenza A (H1N1) in antiviral drug users in Korea. *PLoS One.* 7(10): e 47634. 2012 (Epub 2012 Oct 17).(IF 4.092)(橋爪真弘)
- 15 Oki M, Yamamoto T. Climate change, population immunity, and hyperendemicity in the transmission threshold of dengue. *PLoS One.* 7(10): e 48258. 2012 (Epub 2012 Oct 29).(IF 4.092)(山本太郎)
- 16 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 obtained in Nagasaki, Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 56(1): 584-7. 2012 Jan (Epub 2011 Oct 24).(IF 4.841)(河野茂)
- 17 Sugaya N, Kohno S, Ishibashi T, Wajima T, Takahashi T. Efficacy, safety, and pharmacokinetics of intrave-

- nous peramivir in children with 2009 pandemic H1N1 influenza A virus infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 56(1): 369-77. 2012 Jan (Epub 2011 Oct 24).(IF 4.841)(河野茂)
- 18 Milojevic A, Armstrong B, Hashizume M, McAllister K, Faruque ASG, Yunus M, Streatfield PK, Moji K, Wilkinson P. Health effects of flooding in rural Bangladesh. *Epidemiology.* 23(1): 107-15. 2012 Jan. (IF 5.566)(橋爪真弘)
  - 19 Nakane D, Miyata M. Mycoplasma mobile cells elongated by detergent and their pivoting movements in gliding. *J Bacteriol.* 194(1): 122-30. 2012 Jan (Epub 2011 Oct 14).(IF 3.825)(中山浩次)
  - 20 Chaves LF, Hashizume M, Satake A, Minakawa N. Regime shifts and heterogeneous trends in malaria time series from Western Kenya Highlands. *Parasitol.* 139(1): 14-25. 2012 Jan. (IF 2.961)(皆川昇,橋爪真弘)
  - 21 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 2.341)(佐々木均)
  - 22 Morinaga Y, Yanagihara K, Araki N, Migiyama Y, Nagaoka K, Harada Y, Yamada K, Hasegawa H, Nishino T, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Kohno S, Kamihira S. Live Legionella pneumophila induces MUC 5 AC production by airway epithelial cells independently of intracellular invasion. *Can J Microbiol.* 58(2): 151-7. 2012 Feb (Epub 2012 Jan 20).(IF 1.363)(河野茂)
  - 23 Sakai E, Shimada-Sugawara M, Nishishita K, Fukuma Y, Naito M, Okamoto K, Nakayama K, Tsukuba T. Suppression of RANKL-dependent heme oxygenase-1 is required for mobility group box 1 release and osteoclastogenesis. *J Cell Biochem.* 113(2): 486-98. 2012 Feb. (IF 2.868)(中山浩次)
  - 24 Furuta T, Murao LA, Lan NT, Huy NT, Huong VT, Thuy TT, Tham VD, Nga CT, Ha TT, Ohmoto Y, Kikuchi M, Morita K, Yasunami M, Hirayama K, Watanabe N. Association of mast cell-derived VEGF and proteases in Dengue shock syndrome. *PLoS NTD.* 6(2): e 1505. 2012 Feb (Epub 2012 Feb 21).(IF 4.716)(平山謙二,森田公一)
  - 25 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 4.093)(佐々木均)
  - 26 Yamamoto Y, Kadota J, Watanabe A, Yamanaka N, Tateda K, Mikamo H, Tomono K, Niki Y, Aoki N, Sunakawa K, Kohno S. Compliance with oral antibiotic regimens and associated factors in Japan: compliance survey of multiple oral antibiotics (COSMOS). *Scand J Infect Dis.* 44(2): 93-9. 2012 Feb (Epub 2011 Oct 22).(IF 1.722)(河野茂)
  - 27 Hotta K, Takakuwa H, Le QM, Phuong SL, Murase T, Ono E, Ito T, Otsuki K, Yamashiro T. Isolation and characterization of H6N1 and H9N2 avian influenza viruses from Ducks in Hanoi, Vietnam. *Virus Res.* 163(2): 448-53. 2012 Feb (Epub 2011 Nov 12).(IF 2.94)(山城哲)
  - 28 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,橋爪真弘)
  - 29 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)
  - 30 Nguyen DT, Ngo TC, Tran HH, Le TH, Nguyen HT, Nguyen BM, Tran ND, Yamashiro T, Ehara M. Characterization of *Vibrio cholerae* O139 of an Aquatic Isolate in Northern Vietnam. *Open Microbiol J.* 6: 14-21. 2012 Feb 10.(山城哲)
  - 31 Tanabe K, Arisue N, Palacpac N, Yagi M, Tougan T, Honma H, Ferreira M, Farnert A, Björkman A, Kaneko A, Nakamura M, Hirayama K, Mita T, Horii T. Geographic differentiation of polymorphism in the *Plasmodium falciparum* malaria vaccine candidate gene SERA 5. *Vaccine.* 30(9): 1583-93. 2012 Feb 21. (IF 3.766)(平山謙二)
  - 32 Kaneko S, K'Opiyo J, Kiche I, Wanyua S, Goto K, Tanaka J, Changoma M, Ndemwa M, Komazawa O, Karama M, Moji K, Shimada M. Health and demographic surveillance system in the western and coastal areas of Kenya: an infrastructure for epidemiologic studies in Africa. *J Epidemiol.* 22(3): 276-85. 2012 Feb 25. (IF 1.858)(金子聰)
  - 33 Yanagihara K, Araki N, Watanabe S, Kinebuchi T, Kaku M, Maesaki S, Yamaguchi K, Matsumoto T, Mikamo H, Takesue Y, Kadota J, Fujita J, Iwatsuki K, Hino H, Kaneko T, Asagoe K, Ikeda M, Yasuoka A, Kohno S. An-

- timicrobial susceptibility and molecular characteristics of 857 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from 16 medical centers in Japan (2008-2009): nationwide survey of community-acquired and nosocomial MRSA. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 72(3): 253-7. 2012 Mar (Epub 2012 Jan 14).(IF 2.528)(河野茂)
- 34 Maswanya ES, Moji K, Yamamoto T, Aoyagi K, Yahata Y, Takemoto T. Sexual behavior and condom use among male students in Dar-Es-Salaam, Tanzania with emphasis on contact with barmaids. *East Afr J Public Health.* 9(1): 39-43. 2012 Mar. (山本太郎)
- 35 Hasebe F, Thuy NT, Inoue S, Yu F, Kaku Y, Watanabe S, Akashi H, Dat DT, Mai le TQ, Morita K. Serologic evidence of Nipah virus infection in bats, Vietnam. *Emerg Infect Dis.* 18(3): 536-7. 2012 Mar. (IF 6.169)(森田公一)
- 36 Yoshikawa R, Yasuda J, Kobayashi T, Miyazawa T. Canine ASCT1 and ASCT2 are functional receptors for RD-114 virus in dogs. *J Gen Virol.* 93(Pt 3): 603-7. 2012 Mar (Epub 2011 Nov 30).(IF 3.363)(安田二郎)
- 37 del Puerto F, Nishizawa JE, Kikuchi M, Roca Y, Avilas C, Gianella A, Lora J, Velarde FU, Miura S, Komiya N, Maemura K, Hirayama K. Protective Human Leucocyte Antigen Haplotype, HLA-DRB 1\*01-B\*14, against Chronic Chagas Disease in Bolivia. *PLoS NTD.* 6(3): e 1587. 2012 Mar (Epub 2012 Mar 20).(IF 4.716)(平山謙二)
- 38 Minakawa N, Dida GO, Sonye GO, Futami K, Njenga SM. Malaria vectors in lake victoria and adjacent habitats in Western Kenya. *PLoS One.* 7(3): e 32725. 2012 Mar (Epub 2012 Mar 8).(IF 4.092)(皆川昇)
- 39 Tayama J, Ichikawa T, Eguchi K, Yamamoto T, Shirabe S. Tsunami damage and its impact on mental health. *Psychosomatics.* 53(2): 196-7. 2012 Mar. (IF 1.71)(山本太郎)
- 40 Haque U, Scott LM, Hashizume M, Fisher E, Haque R, Yamamoto T, Glass GE. Modeling malaria treatment practices in Bangladesh using spatial statistics. *Malaria J.* 11: 63. 2012 Mar 5. (IF 3.191)(山本太郎,橋爪真弘)
- 41 Okamoto K, Kinoshita H, del Camen Parquet M, Rawekiensya M, Kimura D, Yui K, Alimul Islam M, Hasebe F, Morita K. Dengue virus strain DEN 216681 utilizes a specific glycochain of syndecan-2 proteoglycan as a receptor. *J Gen Virol.* 93(Pt 4): 761-70. 2012 Apr (Epub 2011 Dec 14).(IF 3.363)(森田公一,由井克之)
- 42 Yamamoto Y, Izumikawa K, Hashiguchi K, Fukuda Y, Kobayashi T, Kondo A, Inoue Y, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Takeya H, Yanagihara K, Kohno S. The efficacy and safety of high-dose arbekacin sulfate therapy (once-daily treatment) in patients with MRSA infection. *J Infect Chemother.* 18(2): 241-6. 2012 Apr (Epub 2012 Mar 8).(IF 1.796)(河野茂)
- 43 Migita K, Ida H, Moriuchi H, Agematsu K. Clinical relevance of *MEFV* gene mutations in Japanese patients with unexplained fever. *J Rheumatol.* 39(4): 875-7. 2012 Apr. (IF 3.695)(森内浩幸)
- 44 Yasmin H, Shibata T, Rahman MS, Kabashima T, Kai M. Selective and sensitive determination of peptides using 3,4-dihydroxyphenylacetic acid as a fluorogenic reagent. *Anal Chim Acta.* 721: 162-6. 2012 Apr 6 (Epub 2012 Jan 27).(IF 4.555)(甲斐雅亮)
- 45 Omar AH, Shibata H, Yasunami M, Yamazaki A, Ofori MF, Akanmori BD, Shuaibu MN, Kikuchi M, Hirayama K. The rs 150311303 polymorphism for FcγRIIa enhances IgG binding capacity. *Scand J Immunol.* 76(2): 167-74. 2012 Apr 17. (IF 2.23)(平山謙二)
- 46 Kubota T, Hamazoe Y, Hashiguchi S, Ishibashi D, Akasaka K, Nishida N, Katamine S, Sakaguchi S, Kuroki R, Nakashima T, Sugimura K. Direct evidence of generation and accumulation of  $\beta$ -sheet-rich prion protein in ScN2a cells *de novo* illuminated by human IgG1 antibody recognizing  $\beta$ -form but not  $\alpha$ -form of prion protein. *J Biol Chem.* 20; 287(17): 14023-39. 2012 Apr 20. (IF 4.773)(西田教行)
- 47 Hashizume M, Dewan AM, Sunahara T, Rahman MZ, Yamamoto T. Hydroclimatological variability and dengue transmission in Dhaka, Bangladesh: a time-series study. *BMC Infect Dis.* 12: 98. 2012 Apr 24. (IF 3.12)(山本太郎,橋爪真弘)
- 48 Nakagomi T, Nakagomi O, Dove W, Doan YH, Witte D, Ngwira B, Todd S, Duncan Steele A, Neuzil KM, Cunliffe NA. Molecular characterization of rotavirus strains detected during a clinical trial of a human rotavirus vaccine in Blantyre, Malawi. *Vaccine.* 30 Suppl 1: A 140-51. 2012 Apr 27 377(中込治).
- 49 Ishibashi D, Atarashi R, Fuse T, Nakagaki T, Yamaguchi N, Satoh K, Honda K, Nishida N. Protective role of interferon regulatory factor 3-mediated signaling against prion infection. *J Virol.* 86(9): 4947-55. 2012 May. (IF 5.402)(西田教行)
- 50 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.* 50(4): 353-60. 2012 May (Epub 2011 Sep 28).(IF 2.457)(河野茂)

- 51 Thiem VD, Schmidt WP, Suzuki M, Tho le H, Yanai H, Ariyoshi K, Anh DD, Yoshida LM. Animal livestock and the risk of hospitalized diarrhoea in children under 5 years in Vietnam. *Trop Med Int Health*. 17(5): 613-21. 2012 May. (IF 2.795)(有吉紅也)
- 52 Trang NV, Yamashiro T, Anh le TK, Hau VT, Luan le T, Anh DD. Genetic variation in the VP7 gene of rotavirus G1P[8] strains isolated in Vietnam, 1998-2009. *Virus Res*. 165(2): 190-6. 2012 May (Epub 2012 Feb 25).(IF 2.94)(山城哲)
- 53 Omar AH, Yasunami M, Yamazaki A, Shibata H, Ofori MF, Akanmori BD, Shuaibu MN, Kikuchi M, Hirayama K. Toll-like receptor 9 (TLR9) polymorphism associated with symptomatic malaria: a cohort study. *Malaria J*. 11(1): 168. 2012 May 17.(IF 3.191)(平山謙二)
- 54 Kawada H, Dida GO, Ohashi K, Sonye G, Njenga SM, Mwandawiro C, Minakawa N & Takagi M. Preliminary evaluation of the insecticide-impregnated ceiling nets with coarse mesh size as a barrier against the invasion of malaria vectors. *Jpn J Infect Dis*. 65(3): 243-6. 2012 Jun. (IF 1.491)(皆川昇)
- 55 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*. 40(2): 55-8. 2012 Jun.(山本太郎)
- 56 Shimazawa R, Kusumi I, Ikeda M. Delays in psychiatric drug development in Japan. *J Clin Pharm Ther*. 37(3): 348-51. 2012 Jun (Epub 2011 Oct 23).(IF 1.57)(池田正行)
- 57 Chaves LF, Satake A, Hashizume M, Minakawa N. Indian Ocean Dipole and rainfall drive a Moran effect in East Africa malaria transmission. *J Infect Dis*. 205(12): 1885-91. 2012 Jun 15 (Epub 2012 Apr 5).(IF 6.41)(皆川昇,橋爪真弘)
- 58 Mbanefo EC, Yu C, Kikuchi M, Shuaibu NM, Boamah D, Kirinoki M, Hayashi N, Chigusa Y, Osada Y, Hamano S, Hirayama K. Origin of a novel protein-coding gene family with similar signal sequence in *Schistosoma japonicum*. *BMC Genomics*. 13(1): 260. 2012 Jun 20 (IF 4.073)(平山謙二,濱野真二郎)
- 59 Noguchi A, Nakagomi T, Kimura S, Takahashi Y, Matsuno K, Koizumi H, Watanabe A, Noguchi H, Ito T, Ohtsuka M, Uemura N, Takeda O, Komatsu A, Kikuchi W, Komatsu M, Fukaya H, Miura S, Toda H, Nakagomi O, Takahashi T. Incidence of intussusception as studied from a hospital-based retrospective survey over a 10-year period (2001-2010) in Akita Prefecture, Japan. *Jpn J Infect Dis*. 65(4): 301-5. 2012 Jul 149.(中込治)
- 60 Nakano M, Yamasaki E, Ichinose A, Shimohata T, Takahashi A, Akada JK, Nakamura K, Moss J, Hirayama T, Kurazono H. Salmonella enterotoxin, Stn, regulates membrane composition and integrity. *Dis Model Mech*. 5(4): 515-21. 2012 Jul (Epub 2012 Feb 2).(IF 4.94)(平山壽哉)
- 61 Shrivastava A, Rhodes RG, Pochiraju S, Nakane D, McBride MJ. *Flavobacterium johnsoniae* RemA is a mobile cell surface lectin involved in gliding. *J Bacteriol*. 194(14): 3678-88. 2012 Jul (Epub 2012 May 11).(IF 3.825)(中山浩次)
- 62 Park KH, Park HJ, Shin KS, Choi HS, Kai M, Lee MK. Modulation of PC12 cell viability by forskolin-induced cyclic AMP levels through ERK and JNK pathways: an implication for L-DOPA-Induced cytotoxicity in nigrostriatal dopamine neurons. *Toxicol Sci*. 128(1): 247-57. 2012 Jul (Epub 2012 Apr 26).(IF 4.652)(甲斐雅亮)
- 63 Whitcomb SJ, Fierz B, McGinty RK, Holt M, Ito T, Muir TW, Allis CD. Histone monoubiquitylation position determines specificity and direction of enzymatic cross-talk with histone methyltransferases Dot1L and PRC2. *J Biol Chem*. 287(28): 23718-25. 2012 Jul 6 (Epub 2012 May 22).(IF 4.773)(伊藤敬)
- 64 Chapman LM, Aggrey AA, Field DJ, Srivastava K, Ture S, Yui K, Topham DJ, Baldwin III WM, Morell CN. Platelets presents antigen in the context of MHC class I. *J Immunol*. 189(2): 916-23. 2012 Jul 15 (Epub 2012 Jun 15).(IF 5.788)(由井克之)
- 65 Lauber C, Ziebuhr J, Junglen S, Drosten C, Zirkel F, Nga PT, Morita K, Snijder EJ, Gorbalenya AE. Mesoniviridae: a proposed new family in the order *Nidovirales* formed by a single species of mosquito-borne viruses. *Arch Virol*. 157(8): 1623-8. 2012 Aug (Epub 2012 Apr 24).(IF 2.111)(森田公一)
- 66 Isozumi R, Yoshimatsu K, Yamashiro T, Hasebe F, Nguyen BM, Ngo TC, Yasuda SP, Koma T, Shimizu K, Arikawa J. *bla*<sub>NDM-1</sub>-positive *Klebsiella pneumoniae* from Environment, Vietnam. *Emerg Infect Dis*. 18(8):1383-5. 2012 Aug. (IF 6.79)(山城哲)
- 67 Inoue M, Tang J, Miyakoda M, Kaneko O, Yui K, Culleton R. The species specificity of immunity generated by live whole organism immunisation with erythrocytic and pre-erythrocytic stages of rodent malaria parasites and implications for vaccine development. *Int J Parasitol*. 42(9): 859-70. 2012 Aug (Epub 2012 Jul 28).(IF 3.393)(由井克之)
- 68 Qin L, Zhou Z, Hu B, Yamamoto T, Watanabe H. Antimicrobial susceptibilities and genetic characteristics of

- Haemophilus influenzae* isolated from community acquired respiratory tract infection patients in Shanghai City, China. J Infect Chemother. 18(4): 508-14. 2012 Aug. (IF 1.796)(山本太郎)
- 69 Iizuka M, Nakagomi O, Nanjo H, Chiba M, Fukushima T, Sugita A, Sagara S, Horie Y, Watanabe S. Molecular cloning reveals nearly half of patients with Crohn's disease have an antibody to peroxiredoxin 6-like protein. J Gastroenterol Hepatol. 27(8): 1388-94. 2012 Aug 287.(中込治)
- 70 Yamada K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Araki N, Harada Y, Morinaga Y, Izumikawa K, Kakeya H, Hasegawa H, Kohno S, Kamihira S. In vivo efficacy and pharmacokinetics of biapenem in a murine model of ventilator-associated pneumonia with *Pseudomonas aeruginosa*. J Infect Chemother. 18(4): 472-8. 2012 Aug (Epub 2012 Jan 5).(IF 1.796)(河野茂)
- 71 Doan YH, Nakagomi T, Nakagomi O. Repeated circulation over 6 years of intergenogroup mono-reassortant G 2 P [4] rotavirus strains with genotype N 1 of the NSP 2 gene. Infect Genet Evol. 12(6): 1202-12. 2012 Aug. 3.13. Epub 2012 Apr 28. (中込治)
- 72 Yamamoto Y, Watanabe A, Goto H, Matsushima T, Abe S, Aoki N, Shimokata K, Mikasa K, Niki Y, Kohno S. Nationwide, multicenter survey on the efficacy and safety of piperacillin for adult community-acquired pneumonia in Japan. J Infect Chemother. 18(4): 544-51. 2012 Aug (Epub 2012 May 23).(IF 1.796)(河野茂)
- 73 Gyotoku H, Izumikawa K, Ikeda H, Takazono T, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Nishino T, Miyazaki T, Kakeya 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. 50(6): 631-6. 2012 Aug (Epub 2011 Dec 13).(IF 2.457)(河野茂)
- 74 Kaku N, Yanagihara K, Morinaga Y, Izumikawa K, Nagashima S, Kakeya H, Yamamoto Y, Fukuda M, Takatani H, Fukuda M, Hashiguchi K, Kohno S. The definition of healthcare-associated pneumonia (HCAP) is insufficient for the medical environment in Japan: a comparison of HCAP and nursing and healthcare-associated pneumonia (NHCAP). J Infect Chemother. 2012 Aug 1.(IF 1.796)(河野茂)
- 75 Koyano S, Inoue N, Nagamori T, Moriuchi H, Azuma H. Newborn screening of congenital cytomegalovirus infection using saliva can be influenced by breast feeding. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2012 Aug 8. (IF 3.045)(森内浩幸)
- 76 Men TT, Huy NT, Trang DT, Shuaibu MN, Hirayama K, Kamei K. A simple and inexpensive haemozoin-based colorimetric method to evaluate anti-malarial drug activity. Malaria J. 11: 272. 2012 Aug 9. (IF 3.191)(平山謙二)
- 77 Nakato G, Hase K, Suzuki M, Kimura M, Ato M, Hanazato M, Tobiume M, Horiuchi M, Atarashi R, Nishida N, Watarai M, Imaoka K, Ohno H. Cutting Edge: Brucella abortus exploits a cellular prion protein on intestinal M cells as an invasive receptor. J Immunol. 189(4): 1540-4. 2012 Aug 15. (IF 5.788)(西田教行)
- 78 Mihara T, Izumikawa K, Kakeya H, Ngamskulrungraj P, Umeyama T, Takazono T, Tashiro M, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Ohno H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Multilocus sequence typing of *Cryptococcus neoformans* in non-HIV associated cryptococcosis in Nagasaki, Japan. Med Mycol. 2012 Aug 17. (IF 2.457)(河野茂)
- 79 Kaku N, Yanagihara K, Morinaga Y, Sato T, Nakashima M, Sakai T, Tominaga H, Wakigawa F, Nagashima S, Fukuda M, Hashiguchi K, Kohno S. Detection of *Legionella pneumophila* serogroup 1 in blood cultures from a patient treated with tumor necrosis factor-alpha inhibitor. J Infect Chemother. 2012 Aug 22. (IF 1.796)(河野茂)
- 80 Araki N, Yanagihara K, Matsukawa Y, Harada Y, Migiyama Y, Nagaoka K, Yamada K, Morinaga Y, Hasegawa H, Kohno S, Kamihira S. Molecular characterization of quinolone-insensitive *Streptococcus pneumoniae* isolates from Japanese patients. J Infect Chemother. 2012 Aug 22. (IF 1.796)(河野茂)
- 81 Tashiro M, Izumikawa K, Hirano K, 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. Correlation between triazole treatment history and susceptibility in clinically isolated *Aspergillus fumigatus*. Antimicrob Agents Chemother. 56(9): 4870-5. 2012 Sep (Epub 2012 Jul 2). (IF 4.841)(河野茂)
- 82 Shinkai S, Toba M, Saito T, Sato I, Tsubouchi M, Taira K, Kakumoto K, Inamatsu T, Yoshida H, Fujiwara Y, Fukaya T, Matsumoto T, Tateda K, Yamaguchi K, Kohda N, Kohno S. Immunoprotective effects of oral intake of heat-killed *Lactobacillus pentosus* strain b240 in elderly adults: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Br J Nutr. 5: 1-10. 2012 Sep. (IF 3.013)(河野茂)
- 83 Nagaoka K, Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Ohkusu K, Kohno S. Multiple lung abscesses caused

- by *Actinomyces graevenitzi* mimicking acute pulmonary coccidioidomycosis. J Clin Microbiol. 50(9): 3125-8. 2012 Sep (Epub 2012 Jul 3). (IF 4.153)(河野茂)
- 84 Tachibana S, Sullivan SA, Kawai S, Nakamura S, Kim HR, Goto N, Arisue N, Palacpac NMQ, Honma H, Yagi M, Tougan T, Katakai Y, Kaneko O, Mita T, Kita K, Yasutomi Y, Sutton PL, Shakhbatyan R, Horii T, Yasunaga T, Barnwell JW, Escalante AA, Carlton JM, Tanabe K. *Plasmodium cynomolgi* genome sequences provide insight into *Plasmodium vivax* and the monkey malaria clade. Nat Genet. 44(9): 1051-5. 2012 Sep (Epub 2012 Aug 5). (IF 35.53)(金子修)
- 85 Xangsayarath P, Kaewthamasorn K, Yahata K, Nakazawa S, Sattabongkot J, Udomsangpetch R, Kaneko O. Positive diversifying selection on the *Plasmodium falciparum* *surf4.1* gene in Thailand. Trop Med Health. 40(3): 79-89. 2012 Sep (Epub 2012 Aug 23). (金子修)
- 86 Alexandre JSF, Xangsayarath P, Kaewthamasorn, Yahata K, Sattabongkot J, Udomsangpetch R, Kaneko O. Stable allele frequency distribution of the *Plasmodium falciparum* *clag* genes encoding components of the high molecular weight rhoptry protein complex. Trop Med Health. 40(3): 71-7. 2012 Sep (Epub 2012 Aug 11). (金子修)
- 87 Shimokawa C, Kabir M, Taniuchi M, Mondal D, Kobayashi S, Ali I.K, Sobuz S, Senba M, Houpt E, Haque R, Petri WA Jr, Hamano S. *Entamoeba moshkovskii* is associated with diarrhea in infants and causes diarrhea and colitis in mice. J Infect Dis. 206(5): 744-51. 2012 Sep 1 (Epub 2012 Jun 21). (IF 6.41)(濱野真二郎)
- 88 Shimazawa R, Ikeda M. Are there any differences in the regulations of personalised medicine among the US, EU, and Japan? Br J Clin Pharmacol. 2012 Sep 14. (IF 2.958)(池田正行)
- 89 Islam M, Hashizume M, Yamamoto T, Alam M, Rabbani G.A qualitative exploration of drug abuse relapse following treatment. JEQR 6: 36-51. 2012 Oct (山本太郎)
- 90 Zhu Q, Shibata T, Kabashima T, Kai M. Inhibition of HIV-1 protease expression in T cells owing to DNA aptamer-mediated specific delivery of siRNA. Eur J Med Chem.56: 396-9. 2012 Oct (Epub 2012 Aug 3). (IF 3.346)(甲斐雅亮)
- 91 Shimazawa R, Ikeda M. The vaccine gap between Japan and the UK. Health Policy. 107(2-3): 312-7. 2012 Oct (Epub 2012 Jun 22). (IF 1.658)(池田正行)
- 92 Schmidt WP, Suzuki M, Thiem VD, Yoshida LM, Matsubayashi T, Yanai H, Tho le H, Anh DD, Ariyoshi K. User fee exemption does not affect lower rates of hospital admission of girls in Vietnam. Health Policy Plan. 27(7): 582-9. 2012 Oct. (IF 2.651)(有吉紅也)
- 93 Watanabe A, Yanagihara K, Matsumoto T, Kohno S, et al. Nationwide surveillance of bacterial respiratory pathogens conducted by the surveillance committee of Japanese society of chemotherapy, Japanese association for infectious diseases, and Japanese society for clinical microbiology in 2009: general view of the pathogens' antibacterial susceptibility. J Infect Chemother. 18(5): 609-20. 2012 Oct (Epub 2012 Jul 6). (IF 1.796)(河野茂)
- 94 Kawada H, Dida GO, Sonye G, Njenga SM, Mwandawiro C, Minakawa N. Reconsideration of *Anopheles rivulorum* as a Vector of *Plasmodium falciparum* in Western Kenya: some evidence from biting time, blood preference, sporozoite positive rate, and pyrethroid resistance. Parasit Vectors. 5: 230. 2012 Oct 10. (IF 2.937)(菅川昇)
- 95 Urata S, Yasuda J. Molecular mechanism of arenavirus assembly and budding. Viruses. 4(10): 2049-79. 2012 Oct 10. (安田二朗)
- 96 Ito S, Nagata Y, Susumu S, Yoneda A, Matsuo M, Yui K, Uono H, Eguchi S, Kanematsu T. Phenotypic analysis of monocyte-derived dendritic cells loaded with tumor antigen with heat-shock cognate protein-70. Anti-cancer Res. 32(11): 4897-904. 2012 Nov. (IF 1.725)(由井克之)
- 97 Kohno T, Kubo Y, Yasui K, Haraguchi M, Shigematsu S, Chua, KJ, Matsuyama T, Hayashi H. Serum starvation activates NF- $\kappa$ B through G protein  $\beta$ 2 subunit-mediated signal. DNA Cell Biol. 31(11): 1636-44. 2012 Nov (Epub 2012 Aug 23). (IF 2.072)(松山俊文)
- 98 Matthijnsens J, Nakagomi O, Kirkwood CD, Ciarlet M, Desselberger U, Van Ranst M. Group A rotavirus universal mass vaccination: how and to what extent will selective pressure influence prevalence of rotavirus genotypes? Expert Rev Vaccines. 11(11): 1347-54. 2012 Nov. (IF 4.251)(中込治)
- 99 Miyoshi-Akiyama T, Yamashiro T, Mai le Q, Narahara K, Miyamoto A, Shinagawa S, Mori S, Kitajima H, Kiri-kae T. Discrimination of influenza A subtype by antibodies recognizing host-specific amino acids in the viral nucleoprotein. Influenza Other Respi Viruses. 6(6): 434-41. 2012 Nov (Epub 2012 Feb 13). (IF 4.16)(山城哲)
- 100 Motoshima M, Yanagihara K, Morinaga Y, Matsuda J, Hasegawa H, Kohno S, Kamihiro S. Identification of



- bacteria directly from positive blood culture samples by DNA pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *J Med Microbiol.* 61(Pt 11): 1556-62. 2012 Nov (Epub 2012 Aug 16). (IF 2.502)(河野茂)
- 101 Izumikawa K, Yamamoto Y, Mihara T, Takazono T, Morinaga Y, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Nishino T, Tsukamoto M, Kakeya H, Yanagihara K, Mine M, Yasuoka A, Tashiro T, Kohno S. Bronchoalveolar lavage galactomannan for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis. *Med Mycol.* 50(8): 811-7. 2012 Nov (Epub 2012 May 9). (IF 2.457)(河野茂)
- 102 Koma T, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Li T, Amada T, Shimizu K, Isozumi R, Mai LT, Hoa NT, Nguyen V, Yamashiro T, Hasebe F, Arikawa J. A survey of rodent-borne pathogens carried by wild *Rattus* spp. in Northern Vietnam. *Epidemiol Infect.* 1-9. 2012 Nov 1. (IF 2.843)(山城哲)
- 103 Tsuchiya N, Pathipvanich P, Rojanawiwat A, Wichukchinda N, Koga I, Koga M, Auwanit W, Kilgore PE, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P. Chronic hepatitis B and C coinfection increased all cause mortality in HAART-naive HIV patients in northern Thailand. *Epidemiol Infect.* 1-9. 2012 Nov 1. (IF 2.843)(有吉紅也)
- 104 Miyakoda M, Kimura D, Honma K, Kimura K, Yuda M, Yui K. Development of memory CD8<sup>+</sup> T cells and their recall responses during blood-stage infection with *Plasmodium berghei* ANKA. *J Immunol.* 189(9): 4396-404. 2012 Nov 1 (Epub 2012 Sep 24). (IF 5.788)(由井克之)
- 105 Ishibashi D, Atarashi R, Nishida N. Protective role of MyD88-independent innate immune responses against prion infection. *Prion.* 6(5): 443-6. 2012 Nov 1. (IF 2.85)(西田教行)
- 106 Shimazawa R, Ikeda M. Japanese regulatory system for approval of off-label drug use: evaluation of safety and effectiveness in literature-based applications. *Clin Ther.* 34(10): 2104-16. 2012 Nov 10 (Epub 2012 Oct 2). (IF 2.321)(池田正行)
- 107 Zhao H, Konishi A, Fujita Y, Yagi M, Ohata K, Aoshi T, Itagaki S, Sato S, Narita H, Abdelgelil NH, Inoue M, Culleton R, Kaneko O, Nakagawa A, Horii T, Akira S, Ishii KJ, Coban C. Lipocalin 2 bolsters innate and adaptive immune responses to blood-stage malaria infection by reinforcing host iron metabolism. *Cell Host Microbe.* 12(5): 705-16. 2012 Nov 15. (IF 13.5)(金子修)
- 108 Komazawa O, Kaneko S, K'Opiyo J, Kiche I, Wanyua S, Shimada M, Karama M. Are long-lasting insecticidal nets effective for preventing childhood deaths among non-net users? A community-based cohort study in Western Kenya. *PLoS One.* 7(11): e 49604. 2012 Nov 19. (IF 4.092)(金子聰)
- 109 Izumikawa K, Tashiro M, Kohno S. Management of chronic pulmonary aspergillosis. *Ann N Y Acad Sci.* 1272: 40-8. 2012 Dec. (IF 3.155)(河野茂)
- 110 Fujii J, Naito M, Yutsudo T, Matsumoto S, Heatherly DP, Yamada T, Kobayashi H, Yoshida S, Obrig T. Protection by a recombinant *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guerin vaccine expressing Shiga toxin 2 B subunit against Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in mice. *Clin Vaccine Immunol.* 19(12): 1932-7. 2012 Dec (Epub 2012 Oct 3). (IF 2.546)(中山浩次)
- 111 Huy NT, Hang le TT, Boamah D, Lan NT, Van Thanh P, Watanabe K, Huong VT, Kikuchi M, Ariyoshi K, Morita K, Hirayama K. Development of a single-tube loop-mediated isothermal amplification assay for detection of four pathogens of bacterial meningitis. *FEMS Microbiol Lett.* 337(1): 25-30. 2012 Dec (Epub 2012 Oct 5). (IF 2.044)(平山謙二)
- 112 Kawakatsu Y, Kaneko S, Karama M, Honda S. Prevalence and risk factors of neurological impairment among children aged 6-9 years: from population based cross sectional study in western Kenya. *BMC Pediatrics.* 12: 186. 2012 Dec 3. (IF 1.885)(金子聰)
- 113 Yahata K, Trecek M, Culleton R, Gilberger T-W, Kaneko O. Time-lapse imaging of red blood cell invasion by the rodent malaria parasite *Plasmodium yoelii*. *PLoS One.* 7(12): e 50780. 2012 Dec 5. (IF 4.092)(金子修)
- 114 Morita M, Sanai H, Hiramoto A, Sato A, Hiraoka O, Sakura T, Kaneko O, Masuyama A, Nojima M, Wataya Y, Kim H-S *Plasmodium falciparum* endoplasmic reticulum-resident calcium binding protein is a possible target of synthetic antimalarial endoperoxides, N-89 and N-251. *J Proteome Res.* 11(12): 5704-11. 2012 Dec 7 (Epub 2012 Oct 25). (IF 5.113)(金子修)
- 115 Sakura T, Yahata K, Kaneko O. The upstream sequence segment of the C-terminal cysteine-rich domain is required for microneme trafficking of *Plasmodium falciparum* erythrocyte binding antigen 175. *Parasitol Int.* 62(2): 157-64. 2012 Dec 23. (IF 2.132)(金子修)
- 116 Kamei R, Miyakoda M, Tamura T, Kimura D, Honma K, Kimura K, Yui K. Accumulation of MHC class II<sup>c</sup> CD 11c<sup>+</sup> non-lymphoid cells in the spleen during infection with *Plasmodium yoelii* is lymphocyte-dependent. *Microbiol Immunol.* 2012 Dec 28. (IF 1.304)(由井克之)
- 117 Zhu XT, Yahata K, Alexandre JSF, Tsuboi T, Kaneko O. The N-terminal segment of *Plasmodium falciparum*

SURFIN<sub>4.1</sub> is required for its trafficking to the red blood cell cytosol through the endoplasmic reticulum. *Parasitol Int.* 2012 Dec 31. (IF 2.132)(金子修)

## 2013年

- 1 Yoshida LM, Suzuki M, Nguyen HA, Minh NL, Vu TD, Yoshino H, Schmidt WP, Nguyen AT, Tho le H, Morimoto K, Moriuchi H, Anh DD, K Ariyoshi. Respiratory syncytial virus, its co-infection and pediatric lower respiratory infections. *Eur Respir J.* 2013. (IF 5.895)(有吉紅也)
- 2 Doan YH, Nakagomi T, Aboudy Y, Silberstein I, Behar-Novat E, Nakagomi O, Shulman LM. Identification by full genome analysis of a bovine rotavirus transmitted directly to, and causing diarrhea in a human child. *J Clin Microbiol.* 51(1): 182-9. 2013 Jan. 4.15. Epub 2012 Oct 31. (中込治)
- 3 Kohno S, Seki M, Takehara K, Yamada Y, Kubo K, Ishizaka A, Soma K. Prediction of requirement for mechanical ventilation in community-acquired pneumonia with acute respiratory failure: a multicenter prospective study. *Respiration.* 85(1): 27-35. 2013 (Epub 2012 Feb 14). (IF 2.258)(河野茂)
- 4 Sapsutthipas S, Tsuchiya N, Pathipavanich P, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P, Takeda N, Isarangkura-nayuthaya P, Kameoka M. CRF 01\_AE-specific neutralizing activity observed in plasma derived from HIV-1-infected Thai patients residing in northern Thailand: comparison of neutralizing breadth and potency between plasma derived from rapid and slow progressors. *PLoS One.* 8(1): e 53920. 2013 (Epub 2013 Jan 7). (IF 4.092)(有吉紅也)
- 5 Hirata A, Tachikawa Y, Hashimoto K, Sakai H, Kaneko A, Suzuki J, Eguchi K, Shigematsu K, Nikami H, Yanai T. Spontaneous T/NK-cell lymphoma associated with simian lymphocryptovirus in a Japanese macaque (*Macaca fuscata*). *J Comp Pathol.* 148(1): 43-6. 2013 Jan (Epub 2012 Jul 11). (IF 1.529)(山本太郎)
- 6 Osada-Oka M, Tateishi Y, Hirayama Y, Ozeki Y, Niki M, Kitada S, Maekura R, Tsujimura K, Koide Y, Ohara N, Yamamoto T, Kobayashi K, Matsumoto S. Matsumoto S. Antigen 85A and mycobacterial DNA-binding protein 1 are targets of immunoglobulin G in individuals with past tuberculosis. *Microbiol Immunol.* 57(1): 30-7. 2013 Jan. (IF 0.684)(山本太郎)
- 7 Dewan AM, Corner RJ, Hashizume M, Ongee ET. Typhoid fever and its association with environmental factors in the Dhaka Metropolitan Area of Bangladesh: a spatial and time-series approach. *PLoS NTD.* 7(1): e 1998. 2013 Jan (Epub 2013 Jan 24). (IF 4.716)(橋爪真弘)
- 8 Nmor JC, Sunahara T, Goto K, Futami K, Sonye G, Akweywa P, Dida G, Minakawa N. Topographic models for predicting malaria vector breeding habitats: potential tools for vector control managers. *Parasit Vectors.* 6(1): 14. 2013 Jan 16. (IF 2.937)(皆川昇)
- 9 Mizumoto K, Nishiura H, Yamamoto T. Effectiveness of antiviral prophylaxis coupled with contact tracing against the influenza (H1N1-2009): A systematic review. *Theor Biol Med Model.* 10(1): 4. 2013 Jan 16. (IF 1.859)(山本太郎)
- 10 Kamiyama H, Kakoki K, Shigematsu S, Izumida M, Yashima Y, Tanaka Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N, Sano T, Shidoji Y, Kubo Y. CXCR4-Tropic, but not CCR5-tropic, human immunodeficiency virus infection is inhibited by the lipid raft-associated factors, acyclic retinoid analogs, and cholera toxin B subunit. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 29(2): 279-88. 2013 Jan 21 (Epub 2012 Aug 27). (IF 2.246)(松山俊文)
- 11 Del Puerto F, Kikuchi M, Nishizawa JE, Roca Y, Avilas C, Gianella A, Lora J, Gutierrez Velarde FU, Hirayama K. 21-Hydroxylase gene mutant allele CYP21A2\*15 strongly linked to the resistant HLA haplotype B\*14:02-DRB 1\*01: 02 in chronic Chagas disease. *Hum Immunol.* 2013 Jan 31.(平山謙二)
- 12 Inagaki M, Yamamoto M, Cairangzhuoma, Xijier, Yabe T, Uchida K, Kawasaki M, Nakagomi T, Nakagomi O, Minamoto N, Kanamaru Y. Multiple-dose therapy with bovine colostrum confers significant protection against diarrhea in a mouse model of human rotavirus-induced gastrointestinal disease. *J Dairy Sci.* 96(2): 806-14. 2013 Feb (Epub 2012 Nov 29). (IF 2.564)(中込治)
- 13 Rahman MS, Kabashima T, Yasmin H, Shibata T, Kai M. A novel fluorescence reaction for N-terminal Ser-containing peptides and its application to assay caspase activity. *Anal Biochem.* 433(2): 79-85. 2013 Feb 15 (Epub 2012 Oct 22). (IF 2.996)(甲斐雅亮)
- 14 Hoa Tran TN, Trainor E, Nakagomi T, Cunliffe NA, Nakagomi O. Molecular epidemiology of noroviruses associated with acute sporadic gastroenteritis in children: Global distribution of genogroups, genotypes and GII.4. *J Clin Virol.* 56(3): 269-77. 2013 Mar. (IF 3.969)(中込治)
- 15 Miyazaki T, Nakayama H, Nagayoshi Y, Kakeya H, Kohno S. Dissection of Ire 1 Functions Reveals Stress Response Mechanisms Uniquely Evolved in *Candida glabrata*. *PLoS Pathogens.* In press (IF 9.127)(河野茂)

- 16 Hoa Tran TN, Nakagomi T, Nakagomi O. Evidence for genetic reassortment between human rotaviruses by full genome. *Trop Med Health*. In press (中込治)
- 17 Gauchan P, Nakagomi T, Sherchand JB, Yokoo M, Pandey BD, Cunliffe NA, Nakagomi O. Continued circulation of G12P[6] rotaviruses over 28 months in Nepal: successive replacement of predominant strains. *Trop Med Health*. In press (中込治)
- 18 Otani M, Eguchi M, Ichikawa T, Takenaka KT, Watanabe T, Yamaguchi K, Nakao K, Yamamoto T. Phylogeography of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) lineages endemic to Japan. *Trop Med Health*. In press (山本太郎)
- 19 Haque U, Bomblies A, Hashizume M, Mitra D, Noman N, Haque W, Kabir M, Yamamoto T. Risk factors associated with clinical malaria episodes in Bangladesh: a longitudinal study. *Am J Trop Med Hyg*. In press (IF 2.592)(橋爪真弘,山本太郎)
- 20 Shojima T, Hoshino S, Abe M, Yasuda J, Shogen H, Kobayashi T, Miyazawa T. Construction and characterization of an infectious molecular clone of koala retrovirus. *J Virol*. In press (IF 5.402)(安田二郎)

## Ⅲ 事業推進担当者および研究協力者が担当した学位取得者

平成24年度学位取得者名簿 32名(うち外国人16名)

( )内は学位取得年月日

### 有吉 紅也

石田 正之 「Transbronchial biopsy using endobronchial ultrasonography with a guide sheath increased the diagnostic yield of peripheral pulmonary lesions (ガイドシース併用気管支腔内断層法による気管支鏡下肺生検は、肺野末梢病変の診断率を向上させる)」(2012/8/1)

Thiem Vu Dinh 「Animal livestock and the risk of hospitalized diarrhoea in children under 5 years in Vietnam (ベトナムにおける家畜と5歳未満小児の下痢症による入院のリスクに関する研究)」(2012/8/1)

### 甲斐 雅亮

Hasina Yasmin 「Selective fluorescence reaction of particular peptides using 1,2-dihydroxybenzene analogues and its application to collagen assay (1,2-Dihydroxybenzene 類縁体を用いる特定ペプチドに選択的な蛍光反応とコラーゲンアッセイへの応用)」(2012/9/20)

Rahman Mohammed Shafikur 「Selective fluorescence reaction for N-terminal Ser-containing peptides and its application to caspase assay (N末端セリン含有ペプチドに選択的な蛍光反応とカスパーゼアッセイへの応用)」(2013/3/19)

### 金子 修

Xangsayarath Phonepadith 「Temporal dynamics of the amino acid allele frequency distribution of *Plasmodium falciparum* polymorphic antigens (熱帯熱マラリア原虫多型抗原のアミノ酸型頻度分布の経時的ダイナミクス)」(2012/9/20)

井上 愛美 「The species specificity of immunity generated by live whole organism immunization with erythrocytic and pre-erythrocytic stages of rodent malaria parasites and implications for vaccine development (赤内期又は赤外期マラリア原虫に対する免疫の種特異性の検証とワクチン開発に対する示唆)」(2013/3/19)

佐倉 孝哉 「The upstream sequence segment of the C-terminal cysteine-rich domain is required for microneme trafficking of *Plasmodium falciparum* erythrocyte binding antigen 175 (熱帯熱マラリア原虫 Erythrocyte binding antigen 175のマイクロネーム輸送にはC末端側のシステインに富んだ領域の上流領域も必要である)」(2013/3/19)

朱 曉彤 「The N-terminal segment of *Plasmodium falciparum* SURFIN<sub>4.1</sub> is required for its trafficking to the red blood cell cytosol through the endoplasmic reticulum (熱帯熱マラリア原虫 SURFIN<sub>4.1</sub>のN末端領域は粗面小胞体を経由した赤血球細胞質への輸送に必要とされる)」(2013/3/19)

### 河野 茂

廣瀬 弥幸 「22-Oxalacetate prevents progression of peritoneal fibrosis in a mouse model (22-Oxalacetate はマウスモデルにおける腹膜線維症の進行を抑制する)」(2012/8/1)

山田 康一 「In vivo efficacy of KRP-109, a novel elastase inhibitor, in a murine model of severe pneumococcal pneumonia (新規好中球エラスターゼ阻害薬 KRP-109は重症肺炎球菌肺炎マウスモデルにおいて有効である)」(2012/9/20)

中沢 有香 「Recombinant human erythropoietin attenuates renal tubulointerstitial injury in murine adriamycin-induced nephropathy (合成ヒトエリスロポエチンがマウスアドリアマイシン腎症における腎尿細管間質障害を軽減する)」(2013/3/19)

- 池田 喬哉 「Direct comparison of 3 PCR methods in detecting EGFR mutations in patients with advanced non-small-cell lung cancer (進行非小細胞肺癌患者の EGFR 遺伝子変異検出における 3 つの PCR 法の直接比較の検討)」(2013 / 3 / 19)
- 北村 峰昭 「Epigallocatechin gallate suppresses peritoneal fibrosis in mice (エピガロカテキンガレートはマウス腹膜線維症を抑制する)」(2013 / 3 / 19)
- 浦田 淳吾 「Negatively charged low-density lipoprotein is associated with atherogenic risk in hypertensive patients (陰性荷電低比重リポ蛋白(陰性荷電 LDL)は、高血圧患者の動脈硬化のリスクと関連する)」(2013 / 3 / 13)
- 林 和歌 「Glomerular Repair Retardation via blocking of angiotensin II type 1 a receptor pathway in a Mouse Glomerulonephritis Model (マウス糸球体腎炎モデルにおけるアンジオテンシン II type 1 a レセプター経路の阻害を介した糸球体修復の遅延)」(2013 / 3 / 13)

#### 中込 治

- Doan Hai Yen 「Molecular evolution of genotype G 2 human rotavirus strains (遺伝子型 G 2 ヒトロタウイルスの分子進化)」(2012 / 12 / 5)
- Hoa Tran Thi Nguyen 「Molecular epidemiology of noroviruses associated with acute sporadic gastroenteritis in children: global distribution of genogroups, genotypes and GII 4 variants (小児の急性胃腸炎の原因としてのノロウイルスの分子疫学: ゲノグループ、ゲノタイプ GII 4 変異株の世界的分布)」(2013 / 3 / 19)
- Gauchan Punitha 「Continued Circulation of G12P [ 6 ] Rotaviruses Over 28 months in Nepal: Successive Replacement of Predominant Strains (ネパールで28か月にわたり連続して流行した G12P [ 6 ] 型ロタウイルス: 優勢株の引き続く交代)」(2013 / 3 / 19)

#### 西田 教行

- 須藤 結香 「GABA<sub>B</sub> receptors do not internalize after baclofen treatment, possibly due to a lack of β-arrestin association: study with a real-time visualizing assay (GABA<sub>B</sub> 受容体は β アレスチンと会合しないため、バクロフェン処置後のインターナライゼーションを起こさない - リアルタイム可視化実験による解析 - )」(2012 / 8 / 1)
- 山口 仁孝 「Biological and biochemical characterization of mice expressing prion protein devoid of the octapeptide repeat region after infection with prions (プリオンタンパク質オクタペプチドリピート領域欠損マウスのプリオン感染における生物学および生物化学的特徴)」(2013 / 2 / 6)

#### 濱野 真二郎

- 下川 周子 「*Entamoeba moshkovskii* is associated with diarrhea in infants and causes diarrhea and colitis in mice. (*Entamoeba moshkovskii* は新生児・乳児の下痢エピソードと関連し、マウスでは下痢と腸炎の原因となる)」(2013 / 3 / 19)

#### 平山 謙二

- del Puerto Florencia 「Protective human leucocyte antigen haplotype, HLA-DRB 1 \* 01-B \* 14 , against chronic chagas disease in Bolivia (HLA-DRB 1 \* 01-B \* 14 HLA ハプロタイプは慢性シャーガス病に対して抵抗性を示した)」(2012 / 9 / 20)
- Omar Ahamed Din Hassan 「Genetic susceptibility to symptomatic mild malaria (症候性マラリアに対するヒトの遺伝的感受性)」(2012 / 9 / 20)
- Boamah Daniel 「Immunoproteomics identification of major IgE and IgG 4 reactive *Schistosoma japonicum* adult worm antigens using chronically infected human plasma (日本住血吸虫慢性感染者の血清中 IgE および IgG 4 抗体が認識する主要な成虫抗原分子のプロテオーム解析)」(2012 / 9 / 20)

Cherif Mahamoud Sama 「Immunogenicity of novel nanoparticle-coated MSP-1 C-terminus malaria DNA vaccine using different routes of administration (新しいナノ粒子で調整したマラリア MSP-1 の C 末端 DNA ワクチンの免疫原性に対する 3 種の異なる接種ルートの比較検討)」(2013 / 3 / 19)

Tran Thi Ngoc Ha 「Elevated Levels of Cell-Free Circulating DNA in Patients with Acute Dengue Virus Infection (急性デングウイルス感染症患者における末梢血中遊離 DNA レベルの上昇)」(2013 / 3 / 19)

#### 皆川 昇

Nmor Jephtha Christopher 「Topographic models for predicting malaria vector breeding habitats: potential tools for vector control managers (マラリア媒介蚊の発生源を予測するための地形学的モデル : ベクターコントロールにおける潜在的ツール)」(2013 / 3 / 19)

#### 森内 浩幸

白川 利彦 「Lack of an association between E-selectin gene polymorphisms and risk of Kawasaki disease(E - セレクチン遺伝子多型と川崎病の関連性の検討)」(2012 / 10 / 3)

#### 森田 公一

Mya Myat Ngwe Tun 「Serological characterization of Dengue virus infections observed among dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome cases in Upper Myanmar(ミャンマー国のデング出血熱/デングショック症候群患者におけるデングウイルス感染症の血清学的調査とその特徴)」(2012 / 3 / 19)

#### 山本 太郎

大木 美香 「Optimal timing of insecticide fogging to minimized dengue cases: modeling dengue transmission among various seasonalities and transmission intensities (デング熱感染者抑制を目的とした最適な殺虫剤噴霧時期 : 季節性と伝播強度を考慮した数理モデルによるシミュレーション)」(2013 / 3 / 19)

Md Manirul Islam 「A qualitative exploration of drug abuse relapse following treatment (薬物乱用の治療後再発に関する質的研究)」(2013 / 3 / 19)

#### 由井 克之

亀井 里加 「Accumulation of MHC class II+CD11c-non-lymphoid cells in the spleen during infection with *Plasmodium yoelii* is lymphocyte-dependent (マラリア原虫 *Plasmodium yoelii* 感染動物における MHC class II+CD11c-非リンパ系細胞の集積は、リンパ球依存的である。)」(2013 / 3 / 13)

## ■ 大学院卒業者の就職先（平成19年度卒～平成24年度卒）

平成25年3月1日現在

平成19年度	平成20年度	平成21年度	平成22年度	平成23年度	平成24年度	合計
7	19	19	9	24	5	83

卒業年度	氏名	機関名	職種	担当教員
平成19年度	Pandy Kishor	長崎大学熱帯医学研究所	産学官連携研究員	金子 修
平成19年度	陳 俊全	井上病院	医師	河野 茂
平成19年度	西岡 克章	あすなる岡本診療所	医師	河野 茂
平成19年度	福田 浩敏	医療法人社団福田内科胃腸科医院	医師	河野 茂
平成19年度	長谷川 麻衣子	長崎県福祉保健医療政策課	医師	皆川 昇
平成19年度	Trang Vu Phong	ベトナム国立衛生疫学研究所(ベトナム)	研究員	皆川 昇
平成19年度	Ekhlas Hemed Abbel-Hafeez Abdou	Parasitology College of Medicine, Minia University (エジプト)	講師	平山 謙二
平成20年度	與座 嘉康	熊本保健科学大学	助教	有吉 紅也
平成20年度	鋤崎 利貴	長崎大学病院	理学療法士	有吉 紅也
平成20年度	土屋 菜歩	長崎大学熱帯医学研究所	研究員	有吉 紅也
平成20年度	古本 朗嗣	長崎大学病院	医師	有吉 紅也
平成20年度	張 寰	Shanghai Rixin Biological Technology Company(中国)	副本部長	甲斐 雅亮
平成20年度	池田 真帆	光晴会病院	医師	河野 茂
平成20年度	古賀 聖二	長崎大学病院	助教	河野 茂
平成20年度	廣瀬 裕子	北松中央病院(休職中)	医師	
平成20年度	高森 謙一	北松中央病院	副院長	河野 茂
平成20年度	新里 健暁	佐世保市立総合病院	医師	河野 茂
平成20年度	三嶋 志穂	井上病院	医師	河野 茂
平成20年度	山口 直之	長崎大学病院	助教	河野 茂
平成20年度	中村 茂樹	長崎大学病院	助教	河野 茂
平成20年度	吉田 亮	昭和大学横浜北部病院	医師	河野 茂
平成20年度	阿部 陽子	仁医会病院	医師	河野 茂
平成20年度	Sher Bahadur Pun	スクララージ熱帯病・感染症病院(ネパール)	医師	中込 治
平成20年度	Nguyen Thi Phuong Lan	Pasteur Institute of Ho Chi Minh City (ベトナム)	室長	平山 謙二
平成20年度	前川 芳秀	長崎大学熱帯医学研究所	研究員	皆川 昇
平成20年度	水上 修作	理化学研究所、免疫・アレルギー科学総合研究センター	研究員	由井 克之
平成21年度	黒木 麗喜	田上病院	医師	有吉 紅也
平成21年度	本田 章子	長崎大学病院	医師	有吉 紅也
平成21年度	Wainaina, Njoroge Moses	Dwani University College(ケニア)	講師	甲斐 雅亮
平成21年度	井手 美桜子	長崎記念病院(休職中)	医師	河野 茂
平成21年度	江原 尚美	日赤原爆諫早病院	医師	河野 茂
平成21年度	土井 誠志	佐世保市立総合病院	医師	河野 茂
平成21年度	西條 知見	アメリカ国立衛生研究所(アメリカ)	客員研究員	河野 茂
平成21年度	久富 恵子	国立病院機構長崎医療センター	医師	河野 茂
平成21年度	小佐井 康介	長崎大学病院	助教	河野 茂
平成21年度	赤澤 裕子	長崎大学病院	助教	河野 茂
平成21年度	神津 玲	長崎大学病院	技術職員	河野 茂
平成21年度	雨森 美里	千住病院	医師	河野 茂
平成21年度	黒崎 友亮	京都大学大学院薬学研究所	日本学術振興会 特別研究員PD	佐々木 均
平成21年度	杉浦 正昭	フマキラー株式会社	研究員	皆川 昇
平成21年度	長沼 成子	名古屋大学医学部附属病院	医師	森内 浩幸

卒業年度	氏名	機関名	職種	担当教員
平成21年度	國場 英雄	諫早療育センター	医師	森内 浩幸
平成21年度	木下 一美	国立感染症研究所	研究員	森田 公一
平成21年度	Dinh Tuan Duc	ベトナム国立衛生疫学研究所(ベトナム)	研究員	森田 公一
平成21年度	馬 玉華	Nantong Rich Hospital (中国)	助教	松山 俊文
平成22年度	Huong Thi Thu Vu	ベトナム国立衛生疫学研究所(ベトナム)	医師	有吉 紅也
平成22年度	田中 健之	長崎大学病院	医師	有吉 紅也
平成22年度	山口 博之	東京大学ゲノム医学講座(国内留学中)		河野 茂
平成22年度	高園 貴弘	長崎市民病院	医師	河野 茂
平成22年度	都築 中	長崎大学熱帯医学研究所	研究員	皆川 昇
平成22年度	Guillermo Posadas Herrera	長崎大学熱帯医学研究所	産学官連携研究員	森田 公一
平成22年度	Hossain Md Towhid	University of Chittangong (バングラデシュ)	准教授	甲斐 雅亮
平成22年度	喻 志强	Arizona State University(アメリカ)	ポスドク研究員	甲斐 雅亮
平成22年度	山筋 睦美	長崎大学病院	薬剤師	甲斐 雅亮
平成23年度	森 正彦	長崎大学熱帯医学研究所	技術員	有吉 紅也
平成23年度	Azam Md Golam	North South University(バングラデシュ)	助教	甲斐 雅亮
平成23年度	Alexandre Jean Seme Fils	National Center for Tropical Diseases Control, Ministry of Health (ドミニカ共和国)	Head of the national network of malaria laboratories	金子 修
平成23年度	Kaewthamasorn Morakot	Chulalongkorn University (タイ)	講師	金子 修
平成23年度	津守 陽子	長崎大学病院	医師	金子 修
平成23年度	土田 朋子	長崎大学病院	助教	河野 茂
平成23年度	新井 英之	健保諫早病院	医師	河野 茂
平成23年度	中里 未央	五島中央病院	医師	河野 茂
平成23年度	原 信太郎	長崎大学病院	助教	河野 茂
平成23年度	田代 将人	富山大学医学部	助教	河野 茂
平成23年度	法村 大輔	佐世保市立総合病院	医師	河野 茂
平成23年度	原 敦子	佐世保市立総合病院	医師	河野 茂
平成23年度	深江 貴芸	国立病院機構長崎医療センター	医師	河野 茂
平成23年度	小林 奨	佐世保中央病院	医師	河野 茂
平成23年度	河津 多代	国立病院機構長崎医療センター	医師	河野 茂
平成23年度	都築 中	長崎大学熱帯医学研究所	助教	皆川 昇
平成23年度	岡本 健太	Uppsala University (スウェーデン)	研究員	森田 公一
平成23年度	Lyre Anni Espada Murao	Okapi Sciences 研究所(ベルギー)	研究員	森田 公一
平成23年度	Nguyen Dong Tu	ベトナム国立衛生疫学研究所(ベトナム)	研究員	森田 公一
平成23年度	MD Ubydul Haque	Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health (アメリカ)	博士研究員	山本 太郎
平成23年度	Kounnavong Sengchanh	National Institute of Public Health, Ministry of Health (ラオス)	部長	山本 太郎
平成23年度	Gideon Kofi Helegbe	University for Development Studies, School of Medicine and Health Sciences, Tamale (ガーナ)	講師	平山 謙二
平成23年度	高木 明子	長崎大学熱帯医学研究所	研究員	平山 謙二
平成23年度	山崎 朗子	国立医薬品食品衛生研究所	研究員	平山 謙二
平成24年度	Phonepadith Xangsayarath	長崎大学熱帯医学研究所	産学官連携研究員	金子 修
平成24年度	Doan Hai Yen	長崎大学医歯薬学総合研究科	助教	中込 治
平成24年度	安達 圭志	山口大学医学部	助教	濱野 真二郎
平成24年度	山口 仁孝	美作大学食物学科	准教授	西田 教行
平成24年度	須藤 結香	東京理科大学薬学部	助教採用予定	西田 教行



## RiPS セミナー開催状況

### Workshop and Research in Progress Seminar

Usually every 3rd Tuesday of each month, 18:00 PM-19:30 PM

at Bauduin Lecture Hall, Ryojun Matsumoto Auditorium 2F or NEKKEN 1F conference room

(official language: English)

Date	Section (Section Head)	Speaker	Title
Apr-11	not scheduled		
Apr/24/2012 18:00 19:30 @Ryojun	NEKKEN, Pediatric Infectious Diseases (Hashizume M)	Masahiro Hashizume	Climate, climate change and highland malaria in East Africa
	DMMI, Medical Virology (Moriuchi H)	Hiroyuki Moriuchi	Mother-to-child infections in Vietnam: An interim report from a birth cohort study in Nha Trang
	NEKKEN, Product Development (Laothavorn J)	Juntra Laothavorn	Provisional study for establishing a new platform for the clinical product development double blinded randomised placebo controlled phase II trial of Shiunko Ointment in Ethiopian patients with localized cutaneous Leishmaniasis
May/15/2012 18:00 19:30 @Ryojun	DMMI, Pharmaceutical Medicine (Ikeda M)	Masayuki Ikeda	Development of drugs against chemical, biological, radiological, or nuclear agents
	DMMI, Molecular Epidemiology (Nakagomi O)	Osamu Nakagomi	Efficacy of rotavirus vaccine in the developing world: does strain diversity matter?
	NEKKEN, Immunology (Yui K)	Daisuke Kimura	Inhibition of IL-2 production by CD4 <sup>+</sup> T-cells during infection with malaria parasites
Jun/19/2012 18:00 19:30 @Ryojun	NEKKEN, Eco Epidemiology (Kaneko S)	Satoshi Kaneko	Data Analysis of multiplex assay from fields in Kenya
	PHCS, Biofunctional Molecules (Kai M)	Tsutomu Kabashima	Facilitation of enzymatic degradation of prion protein after protease-resistant formation
	NEKKEN, Vietnam Research Station (Yamashiro T)	Tetsu Yamashiro	Novel filamentous phages of <i>Vibrio cholerae</i> : their characteristics and integration into the same chromosome site as CTX $\Phi$
Jul/17/2012 18:00 19:30 @Ryojun	NEKKEN, Emerging Infectious Diseases (Yasuda J)	Shuzo Urata	Antiviral action of Tetherin/BST-2
	NEKKEN, Immunogenetics (Hirayama K)	Lam Quoc Bao	IL-10 producing CD 1d(-)CD5(-)CD19(+) B cells induce protection of cerebral malaria in semi-immune mice
	NEKKEN, International Health (Yamamoto T)	Ha Hai Vu	Heterogeneity of the associations between climate variability and dengue fever in Vietnam
Aug/21/2012 18:00 19:30 @Ryojun	DMMI, Molecular Epidemiology & Second Department of Internal Medicine (Kohno S)	Shigeki Nakamura	The role of cell-mediated immunity for clearance of nasopharyngeal pneumococcal colonization in mice
	NEKKEN, Virology (Morita K)	Leo Uchida	Inhibition of type I IFN induction in dengue virus infected primate cells
	DMMI, Cytokine Signaling (Matsuyama T)	Yoshinao Kubo	HIV-1 Env-mediated syncytium formation and cell-to-cell infection simultaneously proceed, and tetherin selectively inhibits cell-to-cell infection
Sep-12	not scheduled		
Oct/16/2012 18:00 19:30 @Ryojun	NEKKEN, Clinical Medicine (Ariyoshi K)	Reiko Miyahara	Profiling of innate immunity in children at risk for infectious disease in the Nha Trang birth cohort
	BMS, Biochemistry (Itoh T)	Hitoshi Aihara	Epigenetic regulation of histone modification in mammal and malaria-focusing on histone H2A & H2B C-terminus
	NEKKEN, Vector Ecology and Environment (Minakawa N)	Kyoko Futami	Geographical distribution of <i>Anopheles gambiae</i> and <i>An. arabiensis</i> in Kenya
Nov/15/2012 18:00 19:30 @Ryojun	NEKKEN, Bacteriology (Hirayama T)	Masayuki Nakano	Development of the new method to detect <i>Salmonella</i> using unique stn gene
	DMMI, Cellular and Molecular Biology (Nishida N)	Kazunori Sano	Reconstruction of infectious prion protein <i>in vitro</i>
Dec / 10 - 12 / 2012@Ryojun	The 6th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases		
Jan/15/2013 18:00 19:30 @Ryojun	DMMI, Medical Virology (Moriuchi H)	Hiroyuki Moriuchi	Suppression of HIV-1 infection by persistent infection with non-pathogenic viruses: GB virus-C and TT virus
	NEKKEN, Parasitology (Hamano S)	Keishi Adachi	The unique T cell reactions in the livers of <i>Schistosoma mansoni</i> -infected mice
	Nagasaki Univ Hosp, Hospital Pharmacy (Sasaki H)	Hitoshi Sasaki	Advanced approach of spleen-targeting nano-ball for DNA vaccine
Feb/19/2013 18:00 19:30 @Ryojun	DMMI, Molecular Pharmacology of Infectious Agents (Kobayashi N)	Ken Watanabe	Search for antiviral substances from natural materials.
	NEKKEN, Protozool (Kaneko O)	Osamu Kaneko	Microneme trafficking of <i>Plasmodium falciparum</i> erythrocyte binding antigen 175
	DMMI, Microbiology and Oral Infection (Nakayama K)	Mikio Shoji	Identification of an O-antigen chain length regulator, WzzP, in <i>Porphyromonas gingivalis</i>
Mar-13	not scheduled		

NEKKEN = Institute of Tropical Medicine DMMI = Dept Mol Microbiol & Immun, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ

BMS= Unit of Basic Medical Sciences, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ PHCS= Unit of Pharmaceutical Health Care and Sciences

## 平成24年度大学院セミナー開催状況

日	時	場 所	演 題	講 師	担当教室
平成24年4月26日(木)	17:30~18:30	熱帯医学研究所 1階大会議室	ウイルス感染時における自然免疫応答の誘導メカニズム RIG-I like receptors and antiviral innate immunity	京都大学ウイルス研究所 分子遺伝学分野 加藤博己 准教授	熱帯医学研究所 寄生虫学 濱野真二郎
平成24年4月27日(金)	17:30~18:30	熱帯医学研究所 1階大会議室	トキソプラズマ、ネオスポラの体内伝播： 「食べられる動物」の原虫病 Dissemination of <i>Toxoplasma gondii</i> and <i>Neospora caninum</i> in the host: <i>Toxoplasmosis</i> and <i>Neosporosis</i> of animals for meats	岐阜大学応用生物科学部 獣医寄生虫学分野 高島康弘 准教授	熱帯医学研究所 寄生虫学 濱野真二郎
平成24年5月18日(金)	17:00~18:00	ポンペ会館 1階セミナー室	酵母に託すブリオ現象の解明	独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター 田中元雅 先生(チームリーダー)	医薬薬学総合研究科 感染分子解析学 西田教行
平成24年7月12日(木)	17:00~18:00	熱帯医学研究所 1階大会議室	Alternatives to DDT: Research on the effect of pirimiphos methyl and bendiocarb as alternative insecticides to DDT for malaria control with indoor residual spraying in the Gambia	Msc Student, Wageningen University, The Netherlands Ms. Julie-Anne Tangena	熱帯医学研究所 病害動物学 皆川 昇
平成24年9月7日(金)	17:30~18:30	熱帯医学研究所 1階大会議室	Actomyosin-based motility and organelles biogenesis in Apicomplexa	Department of Microbiology and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, University of Geneva, Switzerland Prof. Dominique Soldati-Favre, PhD	熱帯医学研究所 原虫学 金子 修
平成24年10月5日(金)	17:00~18:00	歯学部A棟 2階セミナー室	バクテリアⅡ型蛋白質輸送の分子基盤	大阪大学大学院生命機能研究科 (難波研究室) 南野 徹 准教授	医薬薬学総合研究科 口腔病原微生物学 中山浩次
平成24年12月7日(金)	10:00~11:00	熱帯医学研究所 1階大会議室	The <i>Plasmodium vivax</i> Duffy Binding Protein: Understanding Immunity & Vaccine Design	Department of Global Health, College of Public Health, University of South Florida, USA Prof. John H. Adams, PhD	熱帯医学研究所 原虫学 金子 修
平成25年2月28日(木)	17:30~19:00	良順会館 ボードインホール	腸内細菌によるT細胞誘導	東京大学医系研究科 免疫学講座 本田賢也 准教授	医薬薬学総合研究科 免疫機能制御学 由井克之
平成25年3月26日(火)	8:15~9:15	長崎大学病院 病棟12階 カンファランス室	HIV感染と細胞性免疫からの逃避機構	東京大学医学研究所 先端医療研究センター 岩本愛吉 教授	医薬薬学総合研究科 感染免疫学講座 河野 茂



## 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](mailto:gcoe@tm.nagasaki-u.ac.jp)

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