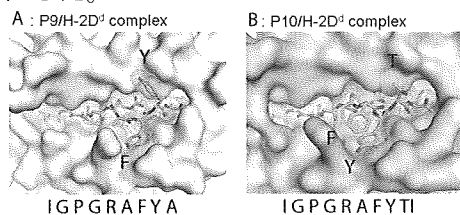


5) HIV 感染者における有効な免疫応答の惹起にかかわる検討

マウスに対し、MHC に結合した HIV V3loop 末端の 9 アミノ酸、あるいは 10 アミノ酸を免疫することにより、異なった機能を有する CD8 亜群を特異的に活性化することを明らかにした。



HIV Env 蛋白抗原の免疫生搬部位である V3 領域先端部ペプチドはアノカーミア酸の結合により、クラス II 相結合抗原 (MHC) と結合能が特異する。A: MHC-P9 ペプチド複合体 (P9/H-2D^b complex) の構造解析。B: MHC-P10 ペプチド複合体 (P10/H-2D^b) は表面構造の違いにより、結合する T 細胞シグナルに違いを生じ、異なった T 細胞亜型を誘導する。

D. 考察

HIV 陽性妊婦より生まれた児の多くは子宮内で HIV に晒されながら、感染しない典型的な暴露非感染者である。脱落膜・胎盤局所では特異な粘膜免疫系が存在し、HIV の感染を制御していると考えられる。大腸菌やクレブジエラなどグラム陰性菌による細菌性膣症や絨毛羊膜炎は垂直感染の大きなリスク因子であるが、本研究により、これが TNF- α を介する可能性があること、Th1 型の免疫応答は局所の IFN- γ 産生増強を介して組織破壊に関与する可能性が示唆された。

胎盤のマイクロアレイ解析においては、幸いなことに本研究期間内に我が国では子宮内感染を来した症例はないので感染例と非感染例の比較はできなかったが、HAART により誘導される遺伝子の解析から、早産や胎児発育遅延といった HAART に伴う合併症のリスクを解析できる可能性がある。

我々は先に妊娠中には HIV に対する抗体価が上昇することを報告し、これが Th2 型の免疫応答が主体となるためと推定した。しかし、中和抗体価は逆に低下することから、抑制性の免疫システムが優位になる可能性がある。今回、マウスで明らかになった HIV の T 細胞亜群誘導の知見が妊婦における HIV 感染病態の悪化を予防するとともにワクチン開発の糸口となる可能性がある。

E. 結論

HIV 感染者の胎盤は胎児を HIV から守る重要なバリアーであり、通常はこれが機能するが、局所あるいは全身における他の感染症や炎症性サイトカインの影響を受ける可能性がある。この解析により垂直感染を完全に予防できると同時に、副作用を抑制しさらにワ

クチン開発などに結び付けられる可能性がある。

F. 研究業績

1. 論文発表

- 1) Negishi M et al. Lipo polysaccharide (LPS) induced Interferon (IFN)- γ production by decidual mononuclear cells is Interleukin (IL)-2 and IL-12 dependent. submitted
- 2) Trinh QD et al. H3N2 influenza A virus replicates in immortalized human first trimester trophoblast cell lines and induces their rapid apoptosis. *Am J Reprod Immunol.* 2009 Sep; 62(3):139-46.
- 3) Shibata T et al. Immunofluorescence imaging of the influenza virus M1 protein is dependent on the fixation method. *J Virol Methods.* 2009 Mar; 156(1-2):162-5.
- 4) Trinh QD et al. Subtyping and env C2/V3 sequence analysis of HIV-1 isolated from HIV-infected children hospitalized in Children Hospital 1, Vietnam during 2004-2005. *J Trop Pediatr.* 2009 Dec; 55(6):399-401.
- 5) Honda M et al. Different vaccine vectors delivering the same antigen elicit CD8+ T cell responses with distinct clonotype and epitope specificity. *J Immunol.* 2009 Aug 15; 183(4):2425-34.
- 6) Ohto H et al. Guidelines for managing conscientious objection to blood transfusion. *Transfus Med Rev.* 2009 Jul; 23(3):221-8.

2. 学会発表

根岸正実, 泉泰之, 大島教子, 稲葉憲之, 早川智 Th1 サイトカインはヒト脱落膜リンパ球の LPS 感受性を亢進する
第 37 回日本臨床免疫学会 11 月 14 日
東京

分担研究（経母乳感染）研究報告書

分担研究者：名取道也 国立成育医療センター研究所長
研究協力者：山口晃史 国立成育医療センター病院母性内科医師

研究要旨：HIV の経母乳感染を防止することを目的とした機器開発研究を行った。母乳中の細胞を孔径 $8\mu\text{m}$ のフィルターにより除去して哺乳が可能な特殊搾乳・哺乳瓶を試作したが、母乳を直接哺乳瓶にて陰圧濾過する試験において、容易に目詰まりを起こすことが判明した。この原因は温度の低下による脂肪の変化と考えているが、フィルターを含め濾過方式の再検討を開始した。今年度は、ブレストシールド方式及び注射器に吸い上げた母乳を陽圧を用いてフィルトレートする方式の検討を行い試作品の製作を行った。

A. 研究目的

我々が開発した特殊な構造を有する搾乳瓶の使用により、授乳を介する母子感染を回避することの可能性を、最終的にはフィールドワークを行った結果母子感染率を低下させることにより証明することを目的とした。HIV 感染母体から児への感染のうち母乳保育を原因とする割合はおよそ 10-30%程度と推測される。経済的理由により抗ウイルス薬の投与が困難、また人工栄養等一般的に標準とされる対応が困難な開発途上国では、結果として母子感染による HIV 患者の増加を招いている。乳児の発達・発育に関して母乳の有用性は明らかであり、本搾乳瓶の有用性が確認されれば、開発途上国における経母乳 HIV 母子感染を減少させることが可能となるばかりか、先進国においても HIV 感染母体の母乳保育を可能とする道を開くことが期待される。

B. 研究方法

HIV 感染母体の母乳は、 $8\mu\text{m}$ のフィルターを通過させることにより細胞成分が除去され、この目的に沿った搾乳・哺乳瓶の試作、改良について（株）ピジョンの大貫研究室と共同して研究を行った。

平成 20 年度は試作した搾乳システムが大量生産に向くよう、また消毒などを含め開発途上国での実際の使用に耐えうるような仕様とするための改良を行ったが、ボランティアの協力により行われた母乳を直接哺乳瓶にて濾過する試験において、容易に目詰まりを起こすことが判明した。

このため平成 21 年度は、材質の異なる数種のフィルター及びその組み合わせ、陰圧の増加などさらに改良を加えた搾乳システムを試作した。また陰圧方式の一つとして乳頭亀裂の際に使用されるブレストシールドにフィルターを組み込む方式の試作を行った。さらに実験室段階で使用した陽圧をかけて濾過する方式の臨床的検討も行った。

2名の産褥婦の研究協力を得た。1名は約 50ml の搾乳直後の母乳を 50ml のシリンジに吸い上げ、シリンジ先端をフィルターカートリッジ（ポリプロピレン製プレフィルター及び 8μ 孔径ポリカーボネイトフィルターを装着）に装着し、シリンジポンプを押して陽圧をかけて濾過を行った。他の 1名では自宅で搾乳したものを数時間冷蔵庫に保管後に測定を行った。

C 研究結果

本年度は最初に、材質の異なる数種のフィルターを試験し、ポリプロピレン製プレフィルター及び 8μ 孔径ポリカーボネイトフィルターが最適であることが判明した。しかしフィルターの二重化、陰圧の増加などさらに改良を加えた搾乳システムを試作したが、今回改良した方式による搾乳直後の母乳での実験で、50ml 及び25ml の母乳ろ過所要時間はそれぞれ約15分及び3分30秒であった。この時間は実用化を考慮すると困難な所要時間と考えられた。

そこでより高い圧力が可能である陽圧を使用する方式に変更し2名のボランティアから得た母乳を使用して実験を行った。1名では所要時間は50ml 1/7.1秒であった。フィルトレートした後の乳汁からは母乳細胞は観察されなかった。一旦冷蔵庫保管後の例では、50ml 中の最初の20ml はスムーズに通過したが、その後フィルトレートが困難となった。この例でも濾過した乳汁からは母乳細胞は観察されなかった。

D 考察

前年度報告においては、フィルター素材、陰圧に対するフィルター口径の安定した素材、有効フィルター処理面積、吸引力の検討を行う必要を述べたが、吸引力の問題が最も大きいと考えた。

今回フィルターの最適化を行い陰圧を用いる既存の方式で再検討を行ったが、圧力の不足は解決困難な問題と考えた。そこで基礎実験時に用いた陽圧をかける方式に変更した。この方式を採用する上での問題点は①コスト、②扱いやすさ、③確実性の3点であることは陰圧使用の搾乳機方式と同じである。

コストについては、今回の実験で使用した機器のコスト合計は現状1セットあたり約5000円となり、1日または半日交換の方式では1日当たり5000円または10000円と非現実的コス

トとなる。実際の使用に際してはコストが一倍以上低下することが必要である。1セットの内容は50~100ml 注射器、フィルター2枚、フィルターカートリッジ、搾乳カップと哺乳瓶、哺乳瓶と乳首からなり、フィルター2枚はフィルターカートリッジに装着されている必要がある。家庭の煮沸消毒で再使用可能なものは、搾乳カップと哺乳瓶、哺乳瓶と乳首、条件によるが注射器である。現状では5000円のコストのほとんどはフィルターカートリッジであるが、これは安価なものを設計・試作する予定である。

今まで研究・開発を行ってきた陰圧方式の濾過機能付き哺乳瓶方式に変えて、陽圧をかけるフィルター付きカートリッジ方式の検討を、より早くに開始すべきであったと反省される。

今年度の残りの時間をかけて共同開発先の企業を決め、安価なフィルターカートリッジの試作計画を立て、22年度には実用的なコストにダウンさせた方式を完成することを目標とする。

わが国他の多くの国では、HIV 感染母体への抗ウイルス薬の投与、帝王切開による分娩、人工乳による保育などにより母子感染を減少させることが可能となっている。しかし多くの開発途上国では抗ウイルス薬の投与、帝王切開による分娩、人工乳による保育などはシステムやコスト面からみて困難が多い。この方式の有用性を証明するには、開発途上国における水の問題、燃料の問題など国の経済状態に関する状況、文化や識字率などの問題を十分に検討した後のフィールドワークが必要であることは以前より述べている通りである。

E 結論

HIV の経母乳感染を防止することを目的とした開発研究を行った。その結果から、ポリプロピレン製プレフィルター及び 8μ 孔径ポリカーボネイトフィルターが最適であることが判明した。しかしボランティアによる臨床試験で

は陰圧による方式では濾過時間に大きな問題があることが判明し、陽圧による方式を検討することとなった。実用的なコストを前提とする装置の設計について検討を行いたい。なお陰圧方式ではあるが、ブレストシールドにフィルターを組み込む方式の検討は今後並行して実施する。

F 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

なし

「HIV 感染妊婦とその出生児の調査・解析および診療・支援体制の整備に関する総合的研究」班
研究分担報告書

研究分担課題名：海外における HIV 母子感染と HIV の母乳感染のメカニズム

1. ケニアにおける疫学調査とベトナムでの感染児から得た HIV の薬剤耐性

研究分担者：牛島廣治 藍野大学医療保健学部藍野健康科学センター・教授

研究協力者：山本直彦 名古屋大学大学院医学系研究科環境医動物学・准教授

沖津祥子 藍野学院短期大学・講師

Trinh Duy Quang 東京大学大学院医学系研究科・大学院生

研究要旨：

ケニアおよびベトナムにおける HIV 感染のウイルス学的研究、疫学的研究を継続的に行った。ケニア貧困地区（プムワニ村）において HIV 感染率は漸次減少しており、薬剤耐性関連遺伝子は発見されなかった。さらに HIV-1 と HIV-2 の重感染について検討したところ、HIV-1 型感染者 68 例中、10 例に HIV-2 の抗体陽性が見られた。ベトナムの HIV 感染小児（未治療）から得たウイルス遺伝子に関して薬剤耐性関連遺伝子の検索を行ったところ、逆転写酵素領域に変異が見られた。また、HIV 感染患児のクラミジアニューモニエ抗体を検索したところ、IgA が 32.6% で陽性であった。HIV 感染児の死亡原因として肺炎が多いこととの関連性が考えられる。

A. 研究目的

HIV の母子感染はわが国では少ないものの、アフリカ・アジアの開発途上国では多く、大きな問題である。また、わが国の HIV 母子感染に外国国籍のパートナーとの間の児であることが多い。そこで開発途上国における HIV 母子感染の現状を疫学あるいは分子疫学的に調査し、重感染、薬剤耐性関連遺伝子についても調べることを目的とする。

B. 研究方法

1. ケニアの首都ナイロビ市内の貧困地区であるプムワニ村における住民の感染率を 2009 年 4 月と 9 月の 2 回にわたり調査した。インフォームドコンセントが得られた対象者は 4 月の調査では 123 名、9 月の調査では 198 名であった。HIV 感染患者血清より HIV RNA を抽出し、HIV のサブタイプ、薬剤耐性関連遺伝子変異を解析した。HIV-1 抗体、B 型肝炎(HBV)ウイルス抗体、C 型肝炎ウイルス(HCV)抗体についても検索した。さらに

HIV-1 型感染患者で経過観察中の 68 名について HIV-2 型の重感染の有無を調べた。方法は富士レビオ社の抗体検出用試薬セロディア・HIV-1/2 を用い、ゼラチン粒子凝集反応による定性法で観察した。この研究は現地および名古屋大学で倫理委員会の承認を得て行った。

2. ベトナム ホーチミン第一小児病院で 2004-2005 年に得られた、104 症例のサブクラス CRF01_AE の HIV 陽性の患児から得た HIV DNA を抽出し、42 症例でプロテアーゼ領域を、24 症例で逆転写酵素領域を遺伝子解析した。検体は 2004 年 10 月から 2005 年 9 月に採取した血液で、児は当時治療をしてない。さらに HIV 陽性患児 89 例の血清中のクラミジアニューモニエ IgG 抗体、IgA 抗体を ELISA 法 (Savyon Diagnostics Ltd キット) で調べた。この研究は東京大学およびホーチミン市の医学倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

1. ケニアのナイロビ市内の貧困地区である
プムワニ村における住民の HIV 感染率を 2009
年 4 月と 9 月の 2 回にわたり調査した。4 月の
調査における対象者 123 名中、17 名に HIV-1
の抗体陽性がみられた。感染率は 14% で、う
ち女性は、69 名中 11 名（感染率 16%）、男性
は 54 名中、6 名（感染率 11%）で、男性は昨
年と同じ感染率であったが、女性の感染率は上
昇した。HBs 抗原は、男性の陽性者に 1 例検
出されたが、HCV 抗体の陽性者は、男女共、
見られなかった。HIV-1 のサブタイプは、A 型
が 11 例、B/D 型が 1 例、C 型が 2 例、D 型が
1 例、不明が 2 例であった。また、17 例中に、
薬剤耐性関連遺伝子は検出されなかった。

9 月の調査における対象者 198 名中、12 名
に HIV-1 の抗体陽性がみられた。感染率は 6 %
で、うち女性は、129 名中 8 名（感染率 6%）、
男性は 69 名中、4 名（感染率 6%）で、男女
共、感染率は減少した。HBs 抗原、HCV 抗体
の陽性者は、男女共、見られなかった。HIV-1
のサブタイプは、A 型が 2 例、C 型が 8 例で、
2 例は解析不能であった。また、薬剤耐性関連
遺伝子は検出されなかった。9 月において、男
女共、感染率は減少しており、また、C 型が多
く見られたのが特徴的であった。感染率を年度
別に比較すると、抗 HIV 剤が入手可能になっ
た 2006 年より漸次減少しており、我々の調査
のスラム街においても、WHO/UNAIDS によ
るケニア全体の報告と同様の傾向を示してい
る（図 1）。母子感染の調査については、現地
での協力が得られなかった。

HIV-1 型感染者で治療および経過観察中の
患者 68 例中、10 例に HIV-2 型の抗体陽性が
見られた。内訳は男性 1 例、女性 9 例であつた。
年齢は男性 38 歳で、女性は 20 代 2 例、30 代
2 例、40 代 4 例、50 代 1 例であり、すべて
ARV 治療を受けている。なお、今回の新規
HIV-1 型陽性者の中には、HIV-2 型の抗体陽性
が見られなかった。今後、それらの子どもの重

感染の有無について調査していきたい。

2. ベトナム ホーチミン第一小児科病院で
得られた 42 例についてプロテアーゼ領域の解
析をしたところ、I13V, G16E, M36I, I93L の
マイナーな変異はあるものの薬剤耐性はなか
った（図 2）。24 例について逆転写酵素領域の
解析をしたところ、V75I が 1 例、M184I が
3 例、V179D が 1 例に認められた。その中で
M184I は emtricitabine と lamivudine 耐性
と関連があつた。

クラミジアニューモニアエに対する IgA 陽性
は 29/89 (32.6%) で、IgG 陽性は 56/89 (69.2%)
であつた。特異 IgG 抗体が高いのは 6 か月未
満に多く、特異 IgA 抗体は 6 か月から 2 歳
の子どもに見られた。同時に血液細胞中および血
清中のクラミジアニューモニアエ遺伝子を半
数ほどで調べたが現在のところ、全て陰性であ
つた。IgA が陽性であることは感染を示してい
る。血液中からは今のところクラミジアの遺伝
子を見出していない。

D. 考察

1. ケニア ナイロビ市内の貧困地区における
HIV 感染率は 2009 年の 4 月と 9 月を比較す
ると 14% から 9% へと減少しており、これは男女
ともに同じ傾向であつた。また、2000 年か
らの調査結果でもその傾向は見られた。これは
WHO/UNAD によるケニア全体の報告と同様
の傾向を示している。サブタイプは 4 月には A
型が中心で多彩な型が見られ、9 月には C 型が
多いのが特徴的であつた。薬剤耐性関連遺伝子
変異は認められなかった。

ベトナムでの HIV 感染小児の HIV ウイルス
の解析結果から逆転写酵素領域での薬剤耐性
遺伝子変異が検出された。この検体は未治療の
患児から得た検体であつたが、最近抗 HIV
薬が広く使用されており、薬剤耐性遺伝子変異
については今後とも検討が必要である。

ベトナム ホーチミン第一小児科病院の
HIV 感染児の死亡原因として肺炎が多いが、

その病原体がしばしばわからない。そこで日和見感染の原因としてクラミジアニューモニエの可能性を考えて HIV 感染児の血清中の抗体価測定を行った。その結果特異 IgA が検出され、感染のあることが確認された。

E. 結論

1. ケニアにおける HIV 感染率は男女ともに減少傾向が認められた。
2. ベトナムのホーチミン市で 2004-2005 年に得られた HIV 感染児のウイルスから、感染児に薬剤を投与していないにもかかわらず、逆転写酵素領域での薬剤耐性変異が認められた。また、患児の 32.6%にクラミジアニューモニエ IgA 抗体が検出された。このことは HIV 感染児の死亡原因として多い肺炎の病原体がクラミジアニューモニエである可能性が考えられた。

F.健康危機情報

なし

G.研究発表

1. 論文発表

- 1) Kittigul L, Pombubpa K, Taweekate Y, Yeephoo T, Khamrin P, Ushijima H. Molecular characterization of rotaviruses, noroviruses, sapovirus, and adenoviruses in patients with acute gastroenteritis in Thailand. *J Med Virol* 2009 Feb; 81(2): 345-353.
- 2) Dey SK, Hayakawa Y, Rhaman M, Islam R, Mizuguchi M, Okitsu S, Ushijima H. G2 strain of rotavirus among infants and children, Bangladesh. *Emerg Infect Dis*, 2009 Jan; 15(1): 91-94.
- 3) Takanashi S, Hashira S, Matsunaga T, Yoshida A, Shiota T, Phan TG, Khamrin P, Okitsu S, Mizuguchi M, Igarashi T, Ushijima H. Detection, genetic characterization, and quantification of Norovirus RNA from sera of children

with gastroenteritis. *J Clin Virol* 2009; 44: 161-163. Epub 2009 Jan 6.

- 4) Khamrin P, Takanashi S, Chan-It W, Kobayashi M, Nishimura S, Katsumata N, Okitsu S, Maneekarn, N, Nishio O, Ushijima H. Immunochromatography test for rapid detection of norovirus in fecal specimens. *J Virol Methods* 2009 May;157(2):219-22. Epub 2009 Jan 10.
- 5) Usami M, Trinh QD, Yagyu F, Hayakawa Y, Inaba N, Okitsu S, Phan TG, Ushijima H. Throughput expression of multiple G-protein coupled receptors for HIV infection in choriocarcinoma cells, trophoblasts, and breast milk cells. *Clin Lab*, 2009; 55(1-2):23-30.
- 6) Dey SK, Shimizu H, Phan TG, Hayakawa Y, Islam A, Salim AFM, Khan AR, Mizuguchi M, Okitsu S, Ushijima H. Molecular epidemiology of adenovirus infection among infants and children with acute gastroenteritis in Dhaka City, Bangladesh. *Infect Genet Evol*, 2009; 9(4): 518-522.
- 7) Chanit W, Thongprachum A, Khamrin P, Okitsu S, Mizuguchi M, Ushijima H. Intergenogroup recombinant sapovirus in Japan, 2007-2008. *Emerg Infect Dis*, 2009; 15(7): 1084-1087.
- 8) Dey SK, Thongprachum A, Islam AR, Phan GT, Rahman M, Mizuguchi M, Okitsu S, Ushijima H. Molecular analysis of G3 rotavirus among infants and children in Dhaka City, Bangladesh after 1993. *Infect Genet Evol.* 2009; 9: 955-961. Jun 25. [E-Pub ahead of print]
- 9) Dey SK, Thongprachum A, Ohta Y, Phan TG, Nishimura S, Mizuguchi M, Okitsu S, Ushijima H. Molecular and

- epidemiological trend of rotavirus infection among infants and children in Japan. *Infect Genet Evol.* 2009; 9: 983-986. Jun 25. [E-Pub ahead of print]
- 10) Trinh QD, Izumi Y, Komine-Aizawa S, Shibata T, Shimotai Y, Kuroda K, Mizuguchi M, Ushijima H, Mor G, Hayakawa S. H3N2 influenza A virus replicates in immortalized human first trimester trophoblast cell lines and induces their rapid apoptosis. *Am J Reprod Immunol* 2009 Sep; 62(3): 139-146.
 - 11) Rathore A, Chatterjee A, Sivarama P, Yamamoto N, Singhal PK, Dhole TN. Association of CCR5-59029 A/G and CCL3L1 copy number polymorphism with HIV type 1 transmission/progression among HIV Type 1-seropositive and repeatedly sexually exposed HIV type 1-seronegative North Indians. *AIDS Res Human Retroviruses.* 2009, 25: 1149-1156.
 - 12) Khamrin P, Thongprachum A, Chaimongkol N, Chusri P, Okitsu S, Ushijima H, Maneekarn N. Evolutionary consequences of G9 rotaviruses circulating in Thailand. *Infect Genet Evol* 2009 Dec; 9(6): 1394-1399.
 - 13) Khamrin P, Maneekarn N, Kongkaew A, Kongkaew S, Okitsu S, Ushijima H. Porcine kobuvirus in piglets, Thailand. *Emerg Infect Dis*, 2009; 15(12): 2075-2076.
 - 14) Pham NTK, Trinh QD, Khamrin P, Maneekan N, Shimizu H, Okitsu S, Mizuguchi M, Ushijima H. Diversity of human parechoviruses isolated in stool samples collected from Thai children with acute gastroenteritis. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(1): 115-119. 2009 Oct 28. [Epub ahead of print]
 - 15) Trinh QD, Pham NT, Lam BQ, Le TP, Truong KH, Le TQ, Vo HT, Tanq TC, Ha TM, Izumi Y, Mizuguchi M, Hayakawa S, Ushijima H. Subtyping and env C2/V3 sequence analysis of HIV-1 isolated from HIV-infected children hospitalized in Children Hospital 1, Vietnam during 2004-2005. *J Trop Pediatr*, 2009; 55(6): 399-401. E-Pub Apr 20.
 - 16) Pham NTK, Trinh QD, Takanashi S, Abeysekera C, Abeygunawardene A, Shimizu H, Khamrin P, Okitsu S, Mizuguchi M, Ushijima H. Novel human parechovirus from Sri Lanka. *Emerg Infect Dis*, 2010; 16(1):130-132.
 - 17) Khamrin P, Maneekarn N, Thongprachum A, Chaimongkol N, Okitsu S, Ushijima H. Emergence of New Norovirus Variants and Genetic Heterogeneity of Noroviruses and Sapoviruses in Children Admitted to Hospital with Diarrhea in Thailand. *J Med Virol*, 2010 Feb; 82(2): 289-296.
 - 18) Dey SK, Ushijima H, Phathamavong O, Chanit W, Okitsu S, Mizuguchi M, Ota Y. Seasonal trend and serotype distribution of rotavirus infection in Japan, 1981-2008. *Pediatr Infect Dis J*, 2010 Feb; 29(2): 166-167.
 - 19) Shimizu N, Tanaka A, Oue A, Mori T, Ohtsuki T, Apichartpiyakul C, Uchiumi H, NOjima Y, Hoshino H. Broad usage spectrum of G protein-coupled receptors as coreceptors by primary isolates of HIV. *AIDS*, 2009 Apr 27; 23(7): 761-9.

- 20) Nedellec R, Coetzer M, Shimizu N, Hoshino H, Polonis VR, Morris L, Martensson UE, Binley J, Overbaugh J, Mosier DE. Virus entry via the alternative coreceptor CCR3 and FPRL1 differs by human immunodeficiency virus type 1 subtype. *J Virol* Sep; 83(17): 8353-63.
- 21) Jinno-Oue A, Shimizu N, Hamada N, Wada S, Tanaka A, Shinagawa M, Ohtsuki T, Mori T, Saha MN, Hoque AS, Islam S, Kogure K, Funayama T, Kobayashi Y, Hoshino H. Irradiation with carbon ion beams induces apoptosis, autophagy, and cellular senescence in a human glioma-derived cell line. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010 Jan 1; 76(1):229-41.
- 22) Khamrin P, Dey SK, Chan-It W, Thongprachum A, Satou K, Okitsu S, Maneekarn N, Ushijima H. Evaluation of a rapid immunochromatography strip test for detection of Astrovirus in stool specimens. *J Trop Pediatr*, 2009 Jul 3, in press.
- 23) Dey SK, Phan TG, Nishimura S, Muzuguchi M, Okitsu S, Ushijima H. Molecular and epidemiological trend of sapovirus and astrovirus infection in Japan. *J Trop Pediatr* 2009 Sep 11, in press.
- 24) Trinh QD, Pham NTK, Nguyen TA, Phan TG, Yan H, Hoang LP, Khamrin P, Maneekarn N, Li Y, Okitsu S, Mizuguchi M, Ushijima H. Sequence analysis of the VP7 gene of human rotaviruses G2 and G4 isolated in Japan, China, and Vietnam during 2001-2003. *J Med Virol*, in press.
- 25) Khamrin P, Chan-it W, Satou K, Nanba Y, Yamashita Y, Okitsu S, Maneekarn N, Ushijima H. Evaluation of the Newly Developed Immunochromatography Test Kit for Rapid Detection and Differentiation of Norovirus GI and GII. *J Trop Pediatr* 2010 Jan 19, in press.
- 26) 石田眞一, Phan Gia Tung, 牛島廣治 : 沖縄県本島中部の2006年9月の一市中病院におけるノロウイルス集団感染時の迅速診断キット NVIC-1 (商品名: アイピーノロ) の有用性の検討 沖縄医学会雑誌 46(4): 36-39, 2008
- 27) 清水優子, 牛島廣治, 北島正幸, 片山浩之, 遠矢幸伸 : ヒトノロウイルスの代替としてマウスノロウイルスを用いた消毒薬による不活化効果 環境感染誌 24(6) : 388-394, 2009

2. 学会発表

- 1) Maneekarn N, Thongprachum A, Khamrin P, Saekhow P, Pantip C, Peerakome S, Okitsu S, Ushijima H. A novel multiplex RT-PCR for identification of VP6 subgroup of human and porcine rotaviruses. 10th International Symposium on Double-Stranded RNA Viruses. 21st-25th June 2009.
- 2) Ushijima H, Khamrin T, Nguyen AN, Nguyen T, Phan GI, Takanashi S, Dey KA, Chan-it W, Thongprachum A, Okitsu S, Maneekarn N. Molecular epidemiology of rotavirus in Asia. 10th International Symposium on Double-Stranded RNA Viruses. 21st-25th June 2009.
- 3) Khamrin P, Nguyen AN, Phan GI, Takanashi S, Dey KA, Chan-it W,

Thongprachum A, Okitsu S, Maneekarn N, Ushijima H. Evidence for zoonotic transmission of rotaviruses among children in Asia. 10th International Symposium on Double-Stranded RNA Viruses. 21st-25th June 2009.

4) Okitsu S, Khamrin P, Chanit W, Thongprachum A, Maneekarn N, Ushijima H. Changing pattern of rotavirus G genotype distribution in Chiang Mai, Thailand from 2002 to 2005: Decline of G9 and reemergence of G1 and G2. 10th International Symposium on Double-Stranded RNA Viruses. 21st-25th June 2009.

5) Nguyen TA, Hoang LP, Ushijima H. Molecular analysis of the VP4 gene of rotavirus detected in Vietnamese children. APPSPGHAN 2009. 11th Congress of the Asian Pan-pacific Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition 2009

6) Takamatsu D, Ushijima H, Lima LMP, Nagata T. Immunochromatography test for rapid detection of norovirus GII in fecal specimens from Distrito Federal. The congress of Virology

7) Khamrin P, Takanashi S, Okitsu S, Ushijima H. New norovirus immunochromatography for detection of GI and GII separately 第50回日本臨床ウイルス学会 2009. 6.13-1 高知

8) 高梨さやか, Khamrin P, 沖津祥子, 牛島廣治. スリランカにおける小児ノロウイルス胃腸炎の分子疫学的検討 第50回日本臨床ウイルス学会 2009. 6.13-14 高知

9) 牛島廣治 2009.4.7 帝京大学小児科懇話会 ウイルス性胃腸炎の最近の話題

10) 牛島廣治 2009.6. 10 神奈川子ども

医療センター 最近のウイルス性下痢症の動向 (国内外)

11) 牛島廣治 将来的なワクチンの展望 「日本のワクチンの展望」 第20回日本小児科医会総会フォーラム 2009.6. 13-14 東京

12) Khamrin P, Ushijima H. Rapid detection of viral-associated diarrhea by immunochromatography. 第24回日本国際保健医療学会学術集会 仙台 2009 Aug5-6, 2009.

13) 牛島廣治 ノロウイルス感染症の最近の動向 日本食品微生物学会 30周年記念学術集会 2009.10.20 東京

14) Shuvra Dey, 沖津祥子, 牛島廣治: Seasonal trend and serotype distribution of rotavirus infection in Japan in the last 25 years 第41回日本小児感染症学会学術集会 2009.11. 14 福井

15) Aksara Thongprachum, 高梨さやか, Pattara Khamrin, 牛島廣治, Tuan Anh Nguyen, 沖津祥子. 日本、ベトナム、タイの臨床検体を用いたノロウイルス迅速診断のためのイムノクロマトキットの評価 第6回日本小児消化管感染症研究会 2010 2 6 東京

16) 牛島廣治 食中毒と子ども 第6回日本小児消化管感染症研究会 2010 2 6 東京

H.知的財産権の出願・登録状況

特になし

HIV Prevalence in Pumwani Village

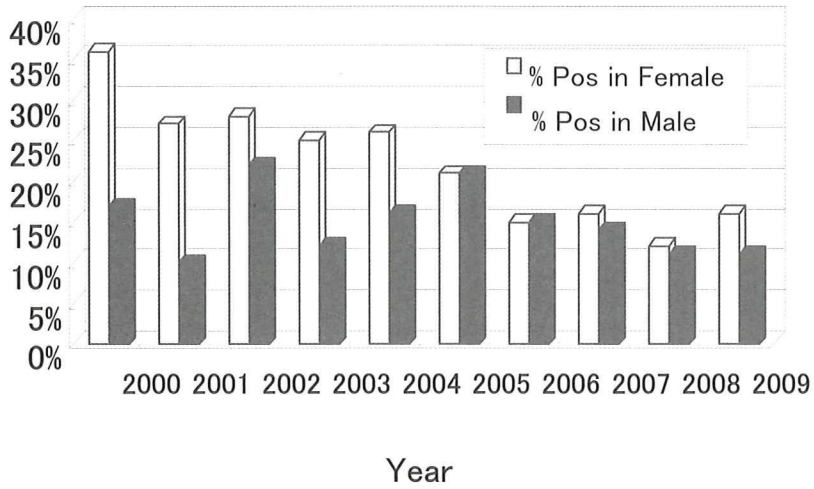


図1 ケニア・ナイロビ市内プムワニ村における HIV 感染率の変化

42 strains

IAS list

No major mutation was found at positions 30, 32, 46-48, 50, 54, 76, 82, 84, 88, 90

MUTATIONS IN THE PROTEASE GENE ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO PROTEASE INHIBITORS^{5-9*}

Drug	10	16	20	24	32	33	34	36	46	48	50	53	54	60	62	64	71	73	82	84	85	88	90	93
Atazanavir +/- ritonavir [†]	L	G	C	L	V	L	E	M	M	G	I	F	I	D	I	I	A	G	V	I	I	N	L	I
Darunavir/ritonavir [†]	V				V	L			I	I	I							T	L		I	L		
Fosamprenavir/ritonavir [†]	L				V				M	I	I	I						G	L	V	I	L		
Indinavir/ritonavir [†]	L	K	L		V		M		M		I							A	G	L	V	I	L	
Lopinavir/ritonavir [†]	L	K	L		V	L			M	I	I	F	I	L	A	G	L	V	I	L				
Nelfinavir [†]	L		D		M				M									A	V	V	I	N	L	
Saquinavir/ritonavir [†]	L		L						G	I	I	I						A	G	V	V	I	L	
Tipranavir/ritonavir [†]	L	I	K		L	E	M		K	M	I		I	Q	H	T		V	N	I	L			

Minor mutations: I 13 V, G 16 E, M 36 I, H 69 K, I 93 L (ritonavir, tipranavir, atazanavir, indinavir, nelfinavir)

図2 プロテアーゼ領域における薬剤耐性変異

V75I 1 strain (VN-106)

IAS list

MUTATIONS IN THE REVERSE TRANSCRIPTASE GENE ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

Nucleoside and Nucleotide Analogue Reverse Transcriptase Inhibitors (nRTIs)^a

Multi-nRTI Resistance: 69 Insertion Complex^b (affects all nRTIs currently approved by the US FDA)

41	62	69	70	210	215	219
M	A	V	K	L	I	K
L	V	Insert R		W	Y	Q
				F	E	

Multi-nRTI Resistance: 151 Complex^c (affects all nRTIs currently approved by the US FDA except tenofovir)

62	75	77	116	151
V	I	L	Y	M

Multi-nRTI Resistance: Thymidine Analogue-associated Mutations^d (TAMs; affect all nRTIs currently approved by the US FDA)

41	67	70	210	215	219
M	D	X	L	T	K
L	N	R	W	Y	Q
			F	E	

図3 逆転写酵素領域での薬剤耐性変異 (1)
1例 (VN-106) に V75I の変異が認められた。

M184I

3 strains: VN-48, VN-106, VN-108

Resistance to emtricitabine and lamivudine IAS list

Emtricitabine	65	184
	R	I
Lamivudine	65	184
	R	I

V179D

1 strain: VN-47

IAS list

Nonnucleoside Analogue Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs)^{a1}

Efavirenz	100	103	106	108	181	188	190	225		
	I	N	M	I	C	E	S	H		
Etravirine [®]	90	98	100	101	105	138	179	181	195	230
	I	G	I	E	I	A	D	C	S	L
			H	P			F	J	A	
			K				T	V		
Nevirapine	100	103	106	108	181	188	190			
	I	N	A	I	C	C	A			
			M		I	L	H			

Only M184I in the WHO list

図4 逆転写酵素領域での薬剤耐性変異 (2)
3例に M184I の変異が、1例で V179D の変異が見られた。

「HIV 感染妊婦とその出生児の調査・解析および診療・支援体制の整備に関する総合的研究」班
研究分担報告書

研究分担課題名：海外における HIV 母子感染と HIV の母乳感染のメカニズム

2. ラクトフェリンの抗 HIV 作用機序の解明

研究分担者：牛島廣治 藍野大学医療保健学部藍野健康科学センター・教授

研究協力者：星野洪郎 群馬大学大学院医学系研究科分子予防医学・教授

研究要旨：

母乳中に含まれる豊富な免疫物質には抗 HIV 作用があることが知られているが、その作用機序については不明な点が多い。今回はウシラクトフェリン(LF)とその分解物(dLF およびラクトフェリシン(LFcin))の作用機序の解析を行った。LF のみに効果が認められた。LF は低毒性で、ウイルスおよび宿主細胞に作用し、HIV-1 の細胞への吸着および侵入を阻害することにより、抗ウイルス活性を示すことが示唆された。

A.研究目的

HIV の母子感染は主に、胎内感染、産道感染、母乳感染の3つのルートにわけられ、現在では母子への抗ウイルス剤治療、帝王切開、代替乳育児により 90%以上の母子感染を防ぐことが可能である。今回我々は、副作用の少ない牛乳中のラクトフェリン (LF) を用い、その抗 HIV 作用について検討した。LF は HIV の感染を抑制することが報告されているが、抗 HIV 作用機序については不明な点が多い。そこで我々は、ウシ LF (bLF)、LF 分解物 (dLF)、陽イオンペプチド領域を持つ LF 分解物のラクトフェリシン (LFcin) の抗 HIV 作用機序について解析を行った。

B.研究方法

NP-2/iGFP 細胞

本研究では、ヒトグリオーマ由来の NP-2 細胞に、CD4 および CCR5 あるいは CD4 および CXCR4 を発現させた N4R5/iGFP 細胞あるいは N4X4/iGFP 細胞を用いた。これらの細胞は、HIV-1 LTR の下流に、核局在シグナルを融合させた GFP 遺伝子が導入されており、HIV 感染の成立により細胞核内に GFP の発現が強く誘

導される。細胞は EMEM/10%FBS 培地で培養した。

ウイルス

マクロファージ指向性で CCR5 を使用する HIV-1 (R5 ウイルス)として BaL 株、T 細胞株指向性で CXCR4 を使用する HIV-1 (X4 ウイルス)として IIIB 株を使用した。BaL 株および IIIB 株は、C8166/CCR5 細胞に感染させ、上清を回収し、0.45 μ m のフィルターでろ過し、-80°C に凍結保存し、用いた。

薬剤

ウシ LF (bLF)、LF 分解物 (dLF)、陽イオンペプチド領域を持つ LF 分解物のラクトフェリシン (LFcin) を用いて抗 HIV 作用機序について解析を行った。抗 HIV 剤のコントロールとして heparin および Dextran sulfate 50 k を使用した。

細胞毒性試験

薬剤の 50%細胞毒性濃度 (CC₅₀) は、N4R5/iGFP 細胞および N4X4/iGFP 細胞に薬剤を添加し、培養 2 日後に Tetracolor one を加

え、OD₄₅₀を測定して算出した。

抗ウイルス活性試験

N4R5/iGFP 細胞または N4X4/iGFP 細胞を、5,000 個/100 μ l で 96-well plate の各 well に播種した。翌日薬剤を EMEM/10%FBS 培地で段階希釈して 10 μ l 各 well に加えた。37°C で 1 時間反応後、HIV-1 BaL 株あるいは IIIB 株 100 μ l を、GFP 陽性細胞数が 1 well あたり 50-200 個出る濃度で感染させた。2 日後 GFP 陽性細胞数をカウントし、薬剤を添加していない対照と比較し、感染を 50%抑制する濃度 (IC₅₀) を算出した。

細胞およびウイルスへの LF 処理による抗ウイルス効果の検討

LF の抗ウイルス作用を解析するために、LF がウイルスあるいは細胞のどちらに作用しているか検討した。ウイルス側への作用を解析するために、LF と BaL 株あるいは IIIB 株を 37°C で 1 時間処理し、N4R5/iGFP 細胞あるいは N4X4/iGFP 細胞に感染させた。細胞への作用を解析するために、LF を N4R5/iGFP 細胞または N4X4/iGFP 細胞に添加し、37°C で 1 時間処理し、薬剤を洗浄除去後、BaL 株あるいは IIIB 株を感染させた。感染 2 日後に GFP 陽性細胞をカウントして感染価を算出した。

細胞融合抑制試験

R5 あるいは X4 ウイルスの Env および Tat を発現している細胞として HeLa/Menv/Tat 細胞あるいは HeLaKS386 細胞を用いた。N4R5/iGFP 細胞あるいは N4X4/iGFP 細胞は、R5 ウイルスあるいは X4 ウイルスの Env を発現している細胞と混合培養すると合胞体 (多核巨細胞) を形成する。さらにその細胞が Tat を発現していると、細胞融合により、Tat が LTR 下流の GFP 発現を強く誘導し、合胞体の核が GFP 陽性となり合胞体形成を簡便に判定することが可能である。これらの HeLa 細胞と

N4R5/iGFP 細胞あるいは N4X4/iGFP 細胞を薬剤存在下で混合培養し、合胞体形成への影響を検討した。

また X4 ウイルス (IIIB 株) が持続的に感染している MOLT-4/IIIB 細胞とヒト T 細胞株 C8166 細胞を用いて薬剤存在下で混合培養し、合胞体形成への影響を検討した。合胞体数を顕微鏡下で計測した。

p24 ELISA

HIV-1 p24 の測定は ELISA 法で行った。すなわち、p24 に対する単クローン抗体で、ELISA プレートにコートし、ブロッキングの後に HIV-1 を接種した細胞の溶解液を加えた。HIV-1 陽性ヒト血清を反応させ、次に HRP 標識抗ヒト IgG の結合後、基質を加えて発色させた。OD₄₅₀をプレートリーダーで測定した。

HIV-1 の細胞への吸着・侵入阻害試験

細胞への HIV-1 の吸着量は、薬剤存在下で N4X4/iGFP 細胞と IIIB 株を 1 時間 4°C で反応させ、細胞を洗浄し、未吸着のウイルスを除去し、細胞を溶解し、溶解液中に含まれる p24 を ELISA 法で定量し判定した。細胞、ウイルスおよび薬剤を 37°C で 1 時間培養した際の細胞内に侵入したウイルス量は、未吸着のウイルスを洗浄し、除去後に ELISA で定量した。細胞に吸着させた後、細胞内に侵入したウイルス量は、N4X4/iGFP 細胞に IIIB 株を 4°C で 1 時間吸着後、薬剤を添加し、37°C で 1 時間培養後、未吸着のウイルスを洗浄除去し、ELISA 法で定量した。

(倫理面への配慮)

今回は倫理面への配慮の必要な研究は行わなかった。

C.研究結果および考察

LF の細胞毒性効果と抗 HIV 活性

bLF、dLF および LFcin について NP-2/iGFP

細胞を使用して細胞毒性効果と抗 HIV-1 活性測定を行った。bLF、dLF、LFcin は、ともに 100 μ g/ml 以上の CC₅₀ 値を示し、細胞毒性効果は明らかでなかった (表 1、図 1)。

次に LF の抗 HIV 活性を測定した。bLF は、R5 指向性 BaL 株および X4 指向性 IIIB 株に対して 20、6 μ g/ml の IC₅₀ 値を示し、量依存的にウイルスの感染を抑制したが、dLF、LFcin は感染を抑制しなかった (表 1、図 2)。bLF は、R5 および X4 指向性の HIV-1 の感染を抑制し、その分解物である dLF、LFcin は効果がないことから、ラクトフェリンの持つ高次構造がウイルス感染の抑制に重要であることが示唆された。

LF の抗 HIV 作用メカニズム

次に LF の抗 HIV 作用がウイルス側、細胞側のどちらに作用しているか調べるため、ウイルスあるいは細胞を LF で処理して抗ウイルス活性を調べた (表 1、図 3)。ラクトフェリンは、細胞側およびウイルス側のどちらに処理した場合も R5 および X4 ウイルスに対する抗 HIV 活性を示した。

次に LF が、ウイルスの細胞への吸着あるいは侵入を阻害するか検討した。bLF および dLF は、濃度依存的に細胞へのウイルス吸着を阻害した (図 4A)。100 μ g/ml では、ウイルスの細胞への吸着量を約 70% に阻害した。また吸着阻害の陽性コントロールとして用いた 100 μ g/ml の heparin および dextran sulfate 50 k と同程度の吸着阻害効果を示した。

次に LF が HIV-1 の細胞への吸着および侵入過程を阻害するか検討した。bLF は、濃度依存的に細胞への侵入を阻害した (図 4B)。100 μ g/ml では、ウイルスの細胞への吸着侵入量を約 40% に阻害した。dLF は、細胞へのウイルスの吸着は阻害したが、侵入は阻害しなかった。

次にウイルスが細胞へ吸着後、細胞内に侵入する過程を LF が阻害するか検討した。LF は、細胞へのウイルス吸着後の侵入過程も約 30% 抑

制していることが明らかとなった (図 4C)。以上の結果から、LF はウイルスの細胞への吸着および侵入を阻害することが示唆された。

ラクトフェリンの細胞融合抑制効果

ラクトフェリンがウイルス・細胞間における抗 HIV 活性を示すことが分かったので、はじめに NP-2/iGFP 細胞と、R5 あるいは X4 ウイルスの Env および Tat 発現細胞を用いて、ラクトフェリンの Env を介した細胞融合抑制効果について検討した。ラクトフェリンは、R5 ウイルスの Env を介した細胞融合は抑制したが、X4 ウイルスの Env を介した細胞融合は抑制しなかった (図 5A、B)。次に HIV 持続感染細胞と T 細胞株を用いて、X4 ウイルスの細胞融合抑制効果を検討した。ラクトフェリンは、HIV 持続感染細胞でも細胞融合抑制効果を示さず、Env/Tat 発現細胞を用いた結果を再現した (図 5C)。これらの結果から、ラクトフェリンは、R5 ウイルスの Env を介した細胞融合のみ抑制することが示唆された。

D. 結論

ラクトフェリンは、低毒性で、ウイルスおよび宿主細胞に作用し、HIV-1 の細胞への吸着および侵入を阻害することにより、抗ウイルス活性を示すことが示唆された。

E. 研究業績

1 にまとめて記載した。

表1 ラクトフェリンの抗ウイルス活性

Drug	IC ₅₀ (μg/ml)								
	Virus entry		Cell-treatment		Virus-treatment		Cell-cell fusion		CC ₅₀ (μg/ml)
	BaL	IIIB	BaL	IIIB	BaL	IIIB	R5-Env	X4-Env	
Bovine lactoferrin	20	6	40	40	30	23	30	>100	>100
Lactoferrin digestion	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Lactoferricin	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Heparin	70	2	N.D	N.D	N.D	N.D	>100	>100	>100
Dextran sulfate 50k	4	2	N.D	N.D	N.D	N.D	8	4	>100

図1 ラクトフェリンの細胞毒性効果

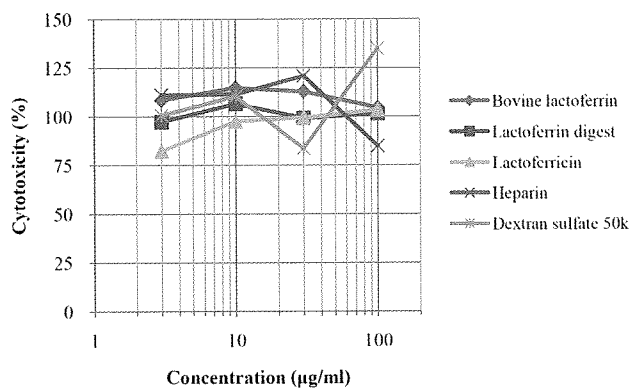


図2 ラクトフェリンの抗ウイルス活性

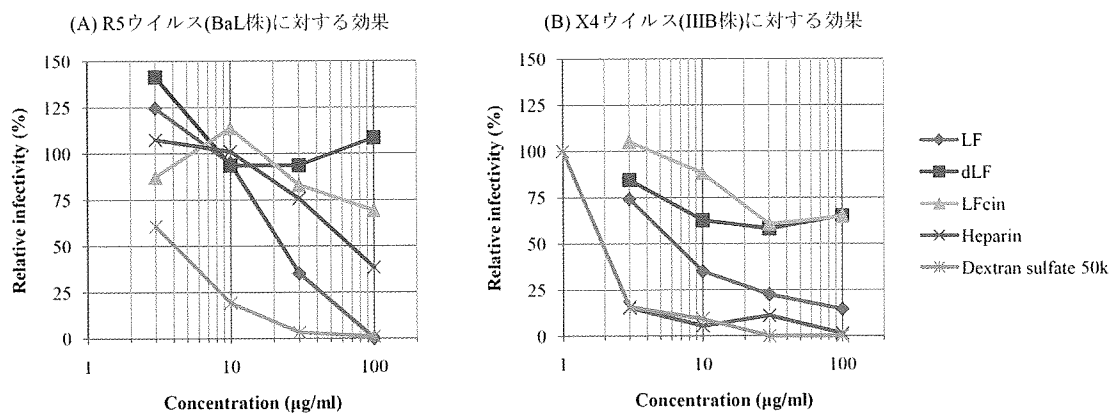


図3 細胞およびウイルスへの処理によるラクトフェリンの抗ウイルス活性

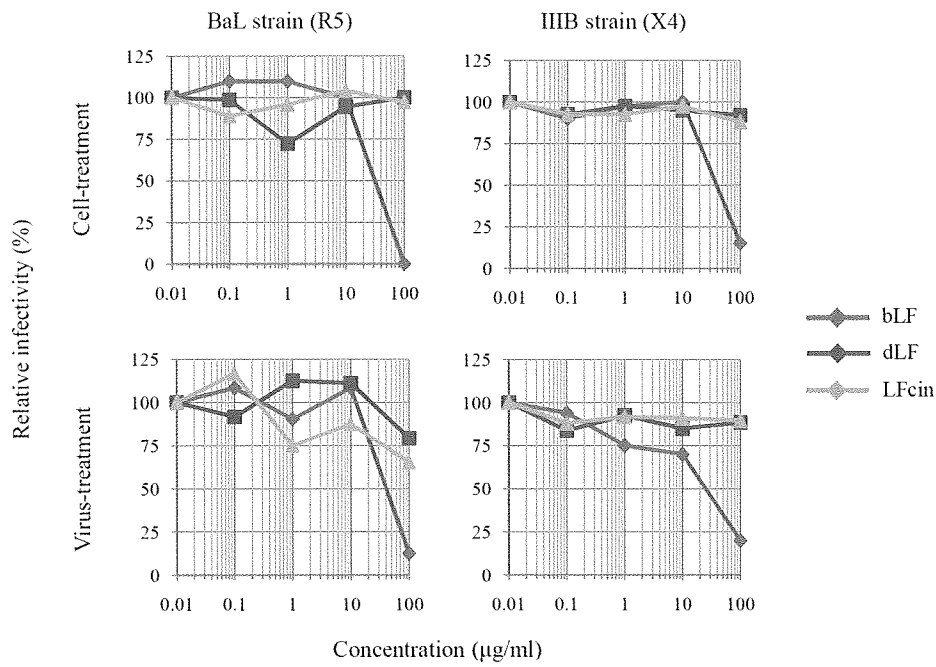
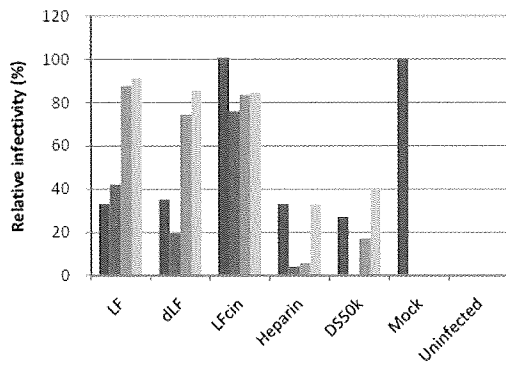
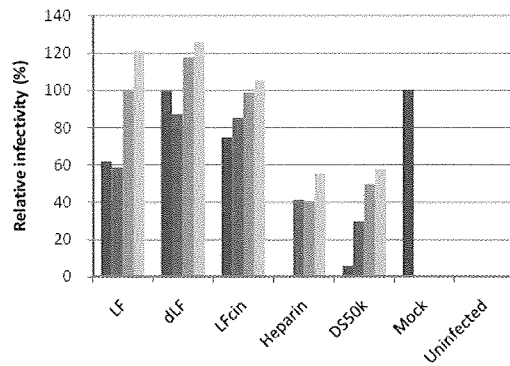


図4 ラクトフェリンのHIV-1吸着および侵入阻害効果

(A) 細胞へのHIV-1吸着阻害効果



(B) 細胞へのHIV-1吸着・侵入阻害効果



(C) 細胞へのHIV-1侵入阻害効果

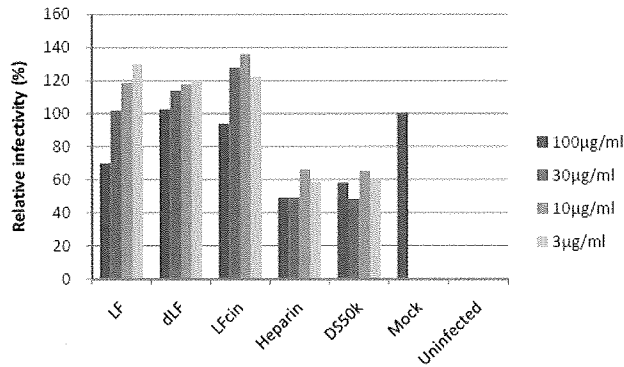
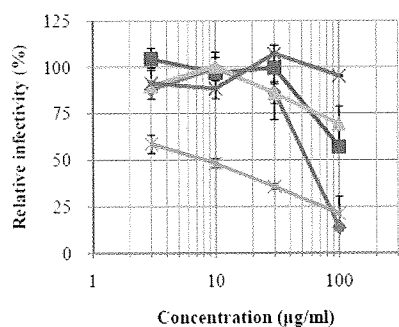
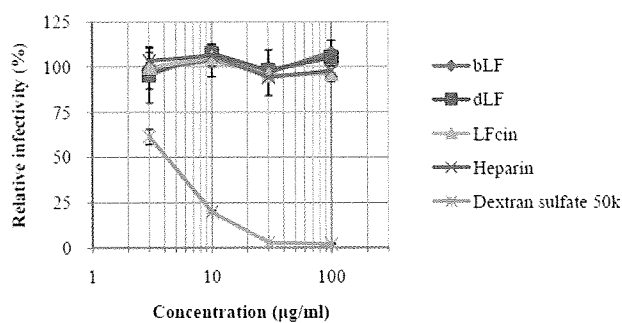


図5 ラクトフェリンによる細胞融合抑制効果

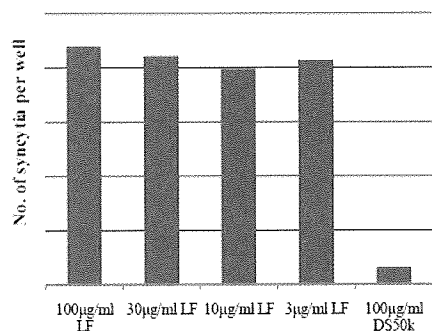
(A) R5ウイルスEnvを介した細胞融合の抑制効果



(B) X4ウイルスEnvを介した細胞融合抑制効果



(C) X4ウイルス感染細胞による細胞融合抑制効果



研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
和田裕一・蓮尾泰之・喜多恒和・塚原優己・外川正生・吉野直人・稲葉憲之	我が国におけるHIV感染妊婦への対応	日本臨牀	68-3	450-455	2010
谷口晴記・井上孝実・大金美和・山田里佳・源河いくみ・佐野(嶋)貴子・辻麻里子・内山正子・沼直美・渡邊英恵・喜多恒和・外川正生・塚原優己	わが国独自の「HIV母子感染予防対策マニュアル」改訂の骨子	産婦人科の実際	58-3	445-451	2009
山田里佳・塚原優己・谷口晴記・外川正生・喜多恒和・稲葉憲之・和田裕一	HIV	周産期医学	39-3	285-290	2009
稲葉憲之・大島教子・林田志峯・西川正能・岡崎隆行・庄田亜紀子・稲葉未知世・根岸正実・多田和美・稲葉不知之・田所望・深澤一雄・渡辺博・高見澤裕吉・熊曙康・和田裕一・喜多恒和・外川正生・塚原優己・早川智・吉野直人・戸谷良造	HBV, HCV, HIV スクリーニング	ペリネイタルケア	28-6	40-44	2009
松田秀雄	2) 母子感染(ウイルス疾患)における最近の知見	日本産科婦人科学会雑誌・研修コーナー	61-9	269-274	2009
源河いくみ・山田里佳・谷口晴記・小林裕幸・喜多恒和・稲葉憲之・和田裕一・塚原優己	—母体疾患の薬物療法— HIV母子感染予防のための薬物療法	周産期医学	39-11	1569-1576	2009
稲葉憲之・大島教子・西川正能・岡崎隆行・庄田亜紀子・根岸正実・林田志峯・稲葉未知世・和田裕一・喜多恒和・外川正生・塚原優己・名取道也・牛島廣治・戸谷良造・五味淵秀人・早川智・尾崎由和・吉野直人・田中憲一・熊曙康	周産期におけるHIV/エイズ、その現状と対策—厚労省研究班の成績をもとに— (『今月の臨床 性感染症 up to date』6、性感染症への対応と治療)	臨床婦人科産科	63-2	151-155	2009
清水幸子・渡辺博・大島教子・稲葉憲之・牧野田知・富澤英樹・落合和徳・安達知子・長塚正晃・杉山徹	日本産婦人科学会 研修コーナー	日本産婦人科学会	61-12	615-670	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
渡辺 博・多田和美・大島教子・ 稲葉憲之	産褥子宮内膜炎	日本臨牀	67-5	407-410	2009
坂本尚徳・田中聡子・深澤一雄・ 稲葉憲之	子宮頸癌の診断における FDG-PETの有用性	産婦人科の実際	58-8	1221- 1226	2009
林田志峯・稲葉憲之・大島教子・ 根岸正実・庄田亜紀子・ 稲葉未知世・深澤一雄・ 渡辺 博	周産期医療関連感染とその 防止策	産婦人科治療	99-2	111-114	2009
稲葉不知之・深澤一雄・ 稲葉未知世・亀森 哲・ 香坂信明・坂本尚徳・林 雅敏・ 本間浩一・稲葉憲之	感冒様症状から診断された 良性転移性平滑筋腫の1症 例	産婦人科の実際	58-12	2067- 2072	2009
林田志峯・稲葉憲之・林田綾子・ 根岸正実・稲葉不知之・ 香坂信明・大島教子・望月善子・ 北澤正文・深澤一雄・渡辺博	経膈的子宮筋腫核出術の検 討	産婦人科手術	20	113-117	2009
渡辺 博・多田和美・根岸正実・ 大島教子・稲葉憲之	C型肝炎	周産期医学	39-3	275-278	2009
Toshio Murakami, Yasuyuki Eda, Tadashi Nakasone, Yasushi Ami, Kenji Someya, Naoto Yoshino, Masahiko Kaizu, Yasuyuki Izumi, Hajime Matsui, Katsuaki Shinohara, Naoki Yamamoto and Mitsuo Honda	Postinfection passive transfer of KD-247 protects against simian/human immunodeficiency virus-induced CD4R T-cell loss in macaque lymphoid tissue	AIDS	23-12	1485- 1494	2009
Naoto Yoshino, Kohtaro Fujihashi, Yukari Hagiwara, Hiroyuki Kanno, Kiyomi Takahashi, Ryoki Kobayashi, Noriyuki Inaba, Masatoshi Noda, Shigehiro Sato	Co-administration of cholera toxin and apple polyphenol extract as a novel and safe mucosal adjuvant strategy	Vaccine	27	4808- 4717	2009
Toru Sugiyama and Seisuke Kumagai	Pegylated Liposomal Doxorubicin for Advanced Ovarian Cancer in Women Who are Refractory to Both Platinum- and Paclitaxel- Based Chemotherapy Regimens	Clinical Medicine : Therapeutics		1227- 1236	2009
熊谷晴介・杉山 徹	卵巣がん手術に必要な知識 と手技 1. 卵巣がん手術のoverview	産科と婦人科	76-4	387-392	2009
熊谷晴介・杉山 徹	子宮筋腫疫学	日本臨牀	67-5	41-43	2009