

向の検証を行っているところである。現在さらに、液体クロマトグラフィー質量分析機と安定同位体希釈法を用いたより精度の高い3-NTの定量法の開発に着手した。この方法が実現すれば、6-ニトロトリプトファンといった別の修飾物質の測定にも応用でき、より幅広い酸化ストレスの評価が可能となることが期待される。

## E. 結論

H5N1 感染症例を含む致死性 ARDS 症例における血漿蛋白質中の 3-NT を、エタノール沈殿法と HPLC-ECD 法を組み合わせることにより、検出・定量することに成功した。今後、重症肺炎・ARDS をはじめとした様々な感染・炎症病態において、酸化ストレスのバイオマーカーとして 3-NT が益々臨床応用されることが期待される。

## F. 健康危険情報：特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Hideshi Ihara, Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomoaki Ida, Shingo Kasamatsu, Kouhei Kunieda, Tatsuya Okamoto, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Methodological proof of immunochemistry for specific identification of 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate formed in glia cells. *Nitric Oxide*. in press, 2011.
- 2) Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Shingo Kasamatsu, Jun Yoshitake, Tatsuya Okamoto, Shigemoto Fujii, Takaaki Akaike. Regulation by mitochondrial superoxide and NADPH oxidase of cell formation of nitrated cyclic GMP: potential implications for ROS signaling. *J Biol Chem*. in press, 2011.
- 3) Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Kit I. Tong, Tomoaki Ida, Tatsuya Okamoto, Ahmed Khandaker Ahtesham, Yu

- Ishima, Hozumi Motohashi, Masayuki Yamamoto, Takaaki Akaike. The critical role of nitric oxide signaling, via protein S-guanylation and nitrated cyclic GMP, in the antioxidant adaptive response. *J Biol Chem*. 285: 23970-23984, 2010
- 4) Takaaki Akaike, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara. Cell signaling mediated by nitrated cyclic guanine nucleotide. *Nitric Oxide*. 23: 166-174, 2010.
- 5) Tatsuya Okamoto, Shahzada Khan, Kohta Oyama, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. A new paradigm for antimicrobial host defense mediated by a nitrated cyclic nucleotide. *J Clin Biochem Nutr*. 46: 14-19, 2010.
- 6) Tomohiro Sawa, Hiorokazu Arimoto, Takaaki Akaike. Regulation of redox signaling involving chemical conjugation of protein thiols by nitric oxide and electrophiles. *Bioconjug Chem*. 21: 1121-1129, 2010.
- 7) Tatsuya Okamoto, Mohammad Hasan Zaki, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Nitric oxide-mediated host immune response and microbial pathogenesis. *Nitric Oxide Synthase Inhibitors: From Animal Studies to Clinical Implications* (Tunctan B. Editor) in press, 2010.
- 8) Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Protein cysteine S-guanylation and electrophilic signal transduction by endogenous nitro-nucleotides. *Amino Acids*. in press, 2010.
- 9) Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Takaaki Akaike. Antioxidant effect of a nitrated cyclic nucleotide functioning as an endogenous electrophile. *Current Topics Med Chem*. in press, 2010.
- 10) Yu Ishima, Shuichi Hiroyama, Ulrich Kragh-Hansen, Toru Maruyama, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike, Toshiya Kai, and Masaki Otagiri. One-step preparation of S-nitrosated human serum albumin with high biological activities. *Nitric Oxide*. 23: 121-127, 2010.
- 11) 小野勝彦、澤智裕、赤池孝章. 活性酸素・一酸化窒素によるニトロ化シグナルと抗炎症作用. *感染・炎症・免疫*. in press, 2011.
- 12) 藤井重元、澤智裕、赤池孝章. 8-Nitro-

cGMP の発見と生理機能の解明. 化学と生物. 48: 22-27, 2010.

- 13) 澤智裕, 赤池孝章. 毒性説から脱した活性酸素研究-シグナル分子としての活躍-. 現代化学. 469: 34-38, 2010.
- 14) 岡本竜哉, 赤池孝章. 呼吸器疾患における酸化ストレスと制御シグナルの分子基盤: Molecular mechanisms of nitric oxide- and reactive oxygen species-mediated signalings in the respiratory diseases. 呼吸. 29: 859-866, 2010.
- 15) 岡本竜哉, 澤智裕, 赤池孝章. Nitric oxide (NO) および NO 関連物質. 日本臨床増刊号広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査-4. 982: 839-842, 2010.

## 2. 学会発表

- 1) Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Shigemoto Fujii, Katsuhiko Ono, Tatsuya Okamoto, Philip Eaton, Takaaki Akaike. A unique signal transduction of NO and ROS mediated by cGMP-dependent protein kinase activated via S-guanylation. 第 26 回臨床フリーラジカル会議 (2010 年 1 月、大津)
- 2) 赤池孝章. NO・活性酸素のスクレオチドセンサーと親電子シグナル形成. 第 83 回 日本薬理学会年会(2010 年 3 月、大阪)
- 3) Ahmed Khandaker Ahtesham, Katsuhiko Ono, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Nitrated 3',5'-cyclic diguanylic acid as a potential second messenger in bacteria. 第 10 回日韓国際微生物学シンポジウム (2010 年 3 月, Yokohama, Japan)
- 4) Takaaki Akaike. A New Paradigm for Antimicrobial Host Defense Mediated by NO and ROS: A Critical Role of Nitrated Nucleotides. 第 83 回 日本細菌学会総会 (2010 年 3 月、横浜)
- 5) Takaaki Akaike. Protein S-guanylation: a new post-translational regulation for redox signaling. The 20th World Congress of the International Society for Heart Research (2010 年 5 月, Kyoto, Japan)
- 6) Tatsuya Okamoto, Tomohiro Sawa, Shigemoto Fujii, Mie Tateyama, Shoji Kawachi, Thuy Thi Bich Phung, Liem Thanh Nguyen, Kazuo Suzuki, Takaaki Akaike. Detection of protein-bound 3-nitrotyrosine in plasma from pediatric patients with fulminant ARDS and avian influenza infection. 6th International Conference on Biology, Chemistry and Therapeutic applications of NO 2010 (2010 年 6 月, Kyoto, Japan)
- 7) Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Tomoaki Ida, Hideshi Ihara, Tatsuya Okamoto, Shigemoto Fujii, Takaaki Akaike. Chemical basis for mechanism of 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate formation in cells. 6th International Conference on Biology, Chemistry and Therapeutic applications of NO 2010 (2010 年 6 月, Kyoto, Japan)
- 8) Shahzada Khan, Tatsuya Okamoto, Tomohiro Sawa, Shigemoto Fujii, Takaaki Akaike. Guanine nitration and oxidative stress responses during influenza virus pneumonia in mice. 6th International Conference on Biology, Chemistry and Therapeutic applications of NO 2010 (2010 年 6 月, Kyoto, Japan)
- 9) Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Takaaki Akaike. Critical roles of nitric oxide signaling via 8-nitro-cGMP-induced protein S-guanylation in antioxidant adaptive responses. The 26th Kumamoto Medical Bioscience Symposium (2010 年 6 月, Kumamoto, Japan)
- 10) 岡本竜哉, 藤井重元, 澤智裕, 赤池孝章. インフルエンザウイルス肺炎・ARDS における血漿蛋白質中の 3-ニトロチロシンの定量的解析. 第 47 回日本ウイルス学会九州支部総会 (2010 年 9 月、宮崎市)
- 11) 澤智裕, 赤池孝章. 核酸分子の化学修飾による活性酸素シグナルのケミカルセンシング. 第 83 回日本生化学会大会 (2010 年 12 月、神戸市)
- 12) Takaaki Akaike. Cell signaling mediated by nitrated cyclic guanine nucleotide. International Symposium on Free Radical Research: Contribution to Medicine (2011 年 1 月、Kyoto, Japan)
- 13) Takaaki Akaike. Cellular signaling by nitrated cyclic nucleotides and regulation of its biological effects. Gordon Research Conference on Nitric Oxide: Understanding the Biology and Chemistry of Its Formation, Action, and Signaling (2010 年 2 月, Ventura, USA)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

- 1) 出願番号：特願 2007-252877  
 発明の名称：SH 基修飾剤  
 発明者：赤池孝章、有本博一、澤智裕  
 出願日：平成 19 年 9 月 28 日
- 2) 出願番号：特願 2007-015728

発明の名称：抗 8-チオアルコキシグアノシン-3',5'-サイクリック 1 リン酸抗体  
 発明者：赤池孝章、澤智裕  
 出願日：平成 19 年 1 月 26 日

2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

表 1 対象症例

症例	検体コード	症例コード	年齢	性	ARDSの基礎疾患	Prognosis		Inflammation		Respiratory parameters			Liver function		Blood count		
						Death	MOF	BT at onset	CRP	PaO <sub>2</sub>	PaCO <sub>2</sub>	P/F	AST	ALT	WBC	RBC	Pits
Non IFV-ARDS 群 (n = 41)																	
1	02C	p2	0.33	F	Pneumonia	Yes	Yes	38.5	0.68	108.4	31.4	108.4	126	31	9500	3680	374
2	04C	p13	0.25	M	Unknown	No	No	36.9	2.4	39	40	97.5	83	25	1950	3200	497
3	06C	p4	0.18	F	Pneumonia (Rhinovirus)	Yes	Yes	38.5	0.6	63	56	63	79	16	4200	3910	403
4	07C	p11	14.00	F	Pneumonia	No	Yes	37.5	2.5	95.1	37	95.1	3235	4096.7	28000	3510	278
5	14C	p15	0.20	F	Pneumonia (Bacterial)	No	Yes	37.5	0.2	88.6	38	88.6	36	108	5300	5180	322
6	21C	p20	0.20	F	Pneumonia	No	Yes	36.5	0.3	61	38.4	152.5	71	59	11400	3680	330
7	30C	p23	0.20	M	Unknown	No	No	38.5	0.6	55	54	137.5	65	38	35500	3540	654
8	31C	p21	0.25	M	Pneumonia (Adenovirus)	Yes	No	38	0.85	58	63	72.5	46	14.6	10800	4140	508
9	34C	p10	0.25	M	Pneumonia (Bacterial)	No	Yes	38.5	3.6	48.4	37	121	78	36	19000	4660	430
10	36C	p23	0.20	M	Unknown	No	No	38.5	0.6	55	54	137.5	65	38	35500	3540	654
11	39C	p29	0.15	F	Pneumonia (enterobacter)	Yes	Yes	36.5		56.2	72	56.2	9210	1960	12000	4460	305
12	40C	p25	0.15	F	Pneumonia (RSV)	No	Yes	36	4.2	63.6	49	63.6	183	92	21400	2550	498
13	42C	p24	0.33	M	Pneumonia (RSV)	No	No	38.5	0.06	35.2	77.8	35.2	106	37	27700	4180	375
14	43C	p24	0.33	M	Pneumonia (RSV)	No	No	38.5	0.06	35.2	77.8	35.2	106	37	27700	4180	375
15	45C	p27	5.00	M	Pneumonia	No	Yes	38	1.64	57.1	85	57.1	180	33	13100	4520	154
16	49C	p27	5.00	M	Pneumonia	No	Yes	38	1.64	57.1	85	57.1	180	33	13100	4520	154
17	50C	p27	5.00	M	Pneumonia	No	Yes	38	1.64	57.1	85	57.1	180	33	13100	4520	154
18	51C	p28	0.25	M	Pneumonia	No	No	38.5	0.24	73.4	50	73.4	98	29	21800	3620	630
19	52C	p32	0.75	F	Pneumonia	No	Yes	38.2	5.03	61.1	44.2	61.1	193	88.6	10600	4030	413
20	53C	p34	0.20	M	Pneumonia (Bacterial)	Yes	Yes	37	0.7	36.9	50.3	92.25	1882	647	19400	2940	199
21	54C	p32	0.75	F	Pneumonia	No	Yes	38.2	5.03	61.1	44.2	61.1	193	88.6	10600	4030	413
22	55C	p30	0.17	F	Unknown	No	No	37.5		30.5	99.4	30.5	133	42	11400	4550	762
23	56C	p31	11.00	F	Pneumonia (Bacterial)	No	No	39.5	28.1	49.4	33.3	123.5	62.5	31.3			
24	61C	p36	0.20	F	Pneumonia	No	No	36.5	1.1	76.2	36.1	76.2	209	51	6800	3490	238
25	64C	p35	0.20	F	Pneumonia	No	No	37	0.37	43.1	49.2	43.1	68.5	27.8	14400	3220	232
26	67C	p37	0.80	M	Pneumonia	No	No	38	4.5	69.2	42	173	52	25	1000	4010	577
27	70C	p37	0.80	M	Pneumonia	No	No	38	4.5	69.2	42	173	52	25	1000	4010	577
28	71C	p39	0.33	M	Pneumonia	No	No	36.5	10	72.6	34.5	182	121.1	64.2	9500	4510	416
29	72C	p38	2.00	M	Pneumonia (Adenovirus)	Yes	No	39	39.8	53.4	42	53	209.3	29.5	5900	3890	269
30	73C	p39	0.33	M	Pneumonia	No	No	36.5	10	72.6	34.5	182	121.1	64.2	9500	4510	416
31	79C	p43	0.36	M	Pneumonia (Bacterial)	No	No	39	111.5	66.4	38.9	66	320	83.4	8700	4650	513
32	80C	p42	0.25	F	Pneumonia (Bacterial)	No	No	40	14	22.2	54.7	22	81.1	15.9	17400	3660	503
33	82C			F	Unknown	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
34	83C		14.00	M	Unknown	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
35	86C	p44	0.33	M	Pneumonia	Yes	Yes	37	89	31.5	33.4	31.5	61	62	2500	2970	83
36	87C		3.00	F	Unknown	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
37	89C	p46	0.16	F	Pneumonia (Bacterial)	No	No	36	18	58	41	64.4	94	34	9400	1157	211
38	91C	p48	3.50	F	Pneumonia	No	Yes	39	1.6	65	36.6	65	53	222	18600	5250	302
39	93C		1.17	M	bronchiolitis/RF	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
40	94C		0.58	M	bronchiolitis/RF	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
41	95C		2.00	F	Unknown	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
IFV-ARDS 群 (n = 8)																	
42	09C	p14	7.00	M	Pneumonia (H5N1)	No	No	38.5	0.6	58	41	116	511	105	3300	398	116
43	15C	p14	7.00	M	Pneumonia (H5N1)	No	No	38.5	0.6	58	41	116	511	105	3300	398	116
44	22C	p19	11.00	M	Pneumonia (H5N1)	Yes	No	39	6.8	48.7	49	48.7	724	282	1700	4530	207
45	23C	p19	11.00	M	Pneumonia (H5N1)	Yes	No	39	6.8	48.7	49	48.7	724	282	1700	4530	207
46	85C		3.50	F	Pneumonia (Infl B)	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
47	90C	p47	0.25	F	Pneumonia (H1N1)	No	Yes	38	2.5	75.1	62.6	75.1	108	47	8900	3390	355
48	96C	p49	3.00	M	Pneumonia (H1N1)	Yes	Yes	38	1.6	58.6	20.5	58.6	10654	4367	7500	3960	118
49	97C	p50	3.00	M	Pneumonia (H1N1)	Yes	Yes	36.5	24	76	48.5	76	133	40	16100	4340	131
Non-ARDS コントロール群 (n = 15)																	
50	CT-01	478D	2.00	M	myocarditis	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
51	CT-02	504D	0.50	M	anemia	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
52	CT-03	539D	0.17	M	anemia	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
53	CT-04	544D	6.00	F	FUO	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
54	CT-05	565D		M	myocarditis	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
55	CT-06	589D	3.00	M	ITP	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
56	CT-07	590D	0.13	M	ITP	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
57	CT-08	591D	0.25	M	ITP	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
58	CT-09	606D	0.08	F	FUO	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
59	CT-10	608D	0.50	M	anemia	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
60	CT-11	613D		F	FUO	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
61	CT-12	655D		M	FUO	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
62	CT-13	605D	12.00	M	Fancony	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
63	CT-14	654D		F	FUO	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
64	CT-15	616D	1.33	M	myocarditis	No	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT

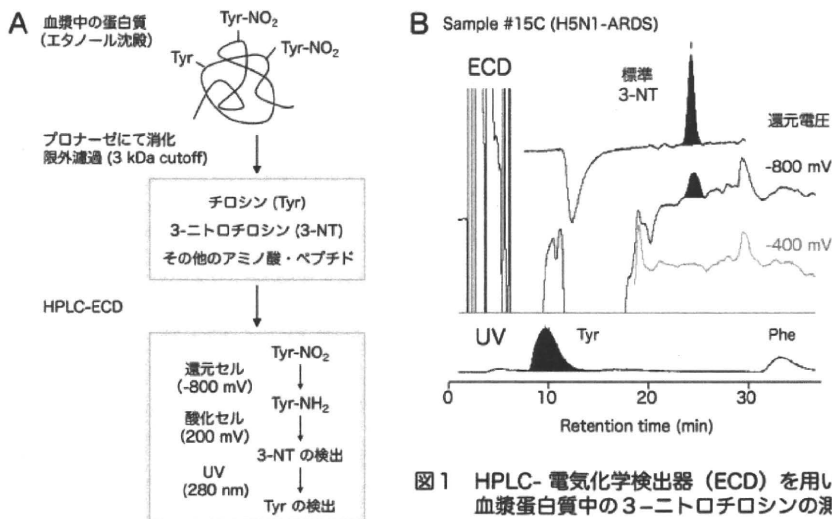


図1 HPLC-電気化学検出器 (ECD) を用いた血漿蛋白質中の3-ニトロチロシンの測定

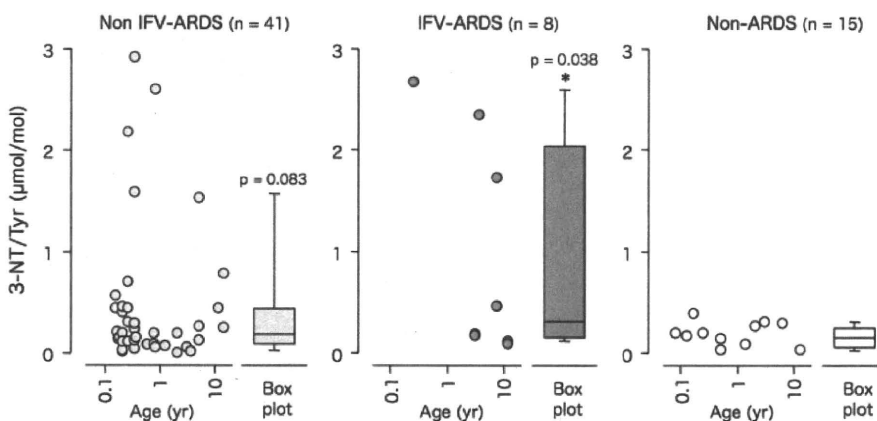


図2 血漿中 3-NT の HPLC-ECD 法による解析結果

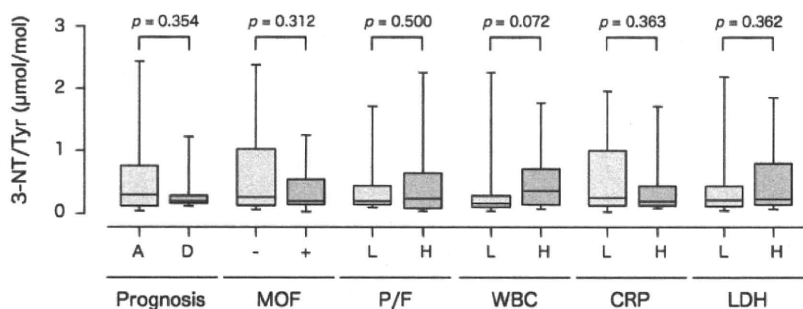
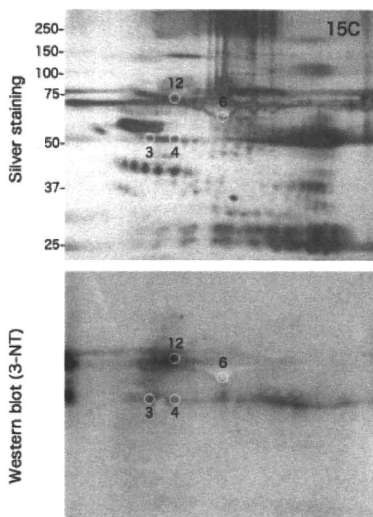


図3 血漿中の 3-NT レベルと臨床パラメータ



Spot No.	protein	accession number	MW	calculate d PI	score
1	alpha-1-antichymotrypsin	Q6NSC9	47621	5.33	412
2	alpha-1-antitrypsin	Q6EU18	46707	5.37	875
3	fibrinogen gamma chain	Q9UC63	51479	5.37	88
3	fibrinogen gamma chain	Q9UC63	51479	5.37	46
3	fibrinogen gamma chain	Q9UC63	51479	5.37	623
4	fibrinogen gamma chain	Q9UC63	51479	5.37	223
4	fibrinogen gamma chain	Q9UC63	51479	5.37	32
5	fibrinogen beta chain	P02675	55892	8.54	595
6	serum albumin	Q9P157	69321	5.92	102
6	serum albumin	Q9P157	69321	5.92	28
6	serum albumin	Q9P157	69321	5.92	3673
7	serum amyloid P-component	P02743	25371	6.10	29
7	serum amyloid P-component	P02743	25371	6.10	289
8	alpha-2-macroglobulin	A94033	163175	6.00	623
9	actin gamma	B14186	41635	5.31	149
10	haptoglobin	P00738	45177	6.13	33
11	complement C4A	Q5JQM8	192650	6.65	53
12	hemopexin	P02790	51643	6.56	93

図4 血漿蛋白質中のチロシンニトロ化の標的蛋白質 (プロテオミクス解析)

## Direct RT-LAMP 法による H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス 遺伝子検査系の構築

研究分担者 影山 努 国立感染研究所インフルエンザウイルス研症究センター第二室 室長  
研究協力者 中内美名 国立感染研究所同第二室 研究員  
高山郁代 国立感染研究所同第二室 研究員

### 研究要旨

リアルタイム RT-PCR 法やコンベンショナル RT-PCR 法による遺伝子検査法は、以前に我々が構築した検査法を含め、インフルエンザウイルスの型・亜型を特異的かつ高感度に検出する事は可能であるが、検体からの RNA 精製が必要など、検査手技も煩雑で反応にも特殊機器を必要とするため、またラボコンタミネーションによる偽判定を防止するために検査設備の整った実験室でしか検査が行えない。現在、世界中に広がっている H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスによるヒトへの感染に対する診断や治療方針決定および感染拡大防止や地域の感染症対策を行うためにも、患者にできるだけ近い場所、いわゆる Point of care 診断による型(A 型および B 型)および亜型(H1pdm09、H3、H5 など)特異的な迅速・高感度なインフルエンザウイルス遺伝子検査系の構築が非常に重要である。

現在、世界中の家禽や野鳥で流行し、時折ヒトへの感染例も見られる H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスは、赤血球凝集素 (HA)の遺伝的系統から大きく分けて 4 つの Clade (1, 2.1, 2.2, 2.3)に分類(さらに 2.1 は 2.1.1-2.1.3、2.3 は 2.3.1-2.3.4 に分類)する事ができる。我々は以前に、栄研化学株式会社との共同研究によりこれら全ての Clade が検出できる H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス診断キットの構築を行っている。また、従来からあるコンベンショナル RT-LAMP 法を一部改良し、検体をバッファーに懸濁するだけで、検体からの核酸精製を必要とせず、検体採取から診断まで約 40 分以内で新型インフルエンザウイルス(H1pdm09)および A 型インフルエンザウイルスを検出できる Direct RT-LAMP 法による遺伝子診断系の開発も行っている。本研究では H5 亜型遺伝子検査系にも Direct RT-LAMP 法を導入し、より簡便・迅速・高感度に、かつ高い特異性を有する H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子診断系の開発を行った。

## A. 研究目的

H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1-HPAI)は、2003 年以降、東南アジア地域から中国、ロシア、中東、アフリカ、ヨーロッパ諸国へと流行が広がり、現在でもわが国も含めて、野鳥および家禽を中心とした流行が続いている。このウイルスに感染した鳥との濃厚接触により、ヒトへの感染例も多数報告され、2011 年 2 月 25 日時点で 15 カ国 522 人の感染者および 309 人の死者が確認されている。この H5N1-HPAI はブタなどのほ乳類にも感染するため、例えば、ヒト・鳥・ブタインフルエンザウイルスが同時に感染した場合にはこれらのウイルス同士の遺伝子交雑により、新たなインフルエンザウイルス株が出現する可能性がある。また、同時感染ではなくても、家禽などで流行が続けば、突然変異により、新たなウイルス株が出現する可能性がある。これらの理由により、H5N1-HPAI など病原性の強いウイルスを由来としたヒトからヒトに感染しやすい新型インフルエンザウイルスの出現が危惧されている。現在、多くの国々ではコンベンショナル RT-PCR 法やリアルタイム RT-PCR 法などの遺伝子検査により H5 亜型の遺伝子診断が行われている。しかしこれらの方法は、検体からの核酸精製が必要であり、反応に必要な試薬調製などの操作が非常に煩雑なため、ラボコンタミネーションによる偽判定を防止するためにも多くは熟練した人による実験室診断が必要となり、病院やクリニックなど実験室を持たない施設では、遺伝子検査系の導入は非常に難しかった。

本研究では、リアルタイム RT-PCR、コンベンショナル RT-PCR 法よりも操作性が簡

便かつ核酸精製が不要で、短時間で結果が得られる Direct Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification 法 (Direct RT-LAMP 法)を用いた、H5 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの鑑別が可能な遺伝子検査系の構築を試みた。

## B. 研究方法

栄研化学株式会社が製造販売している H5 亜型インフルエンザウイルス検出試薬キットと、乾燥した増幅試薬が反応チューブの蓋に固定されている RT-LAMP 試薬および Loopamp®インフルエンザウイルス用抽出試薬を組み合わせ、最近の H5N1-HPAI 流行株も検出できるかどうか検討を行った。

## C. 研究結果

H5 亜型インフルエンザウイルス検出試薬キットの Clade 1、2.1、2.2 に対する反応性は、これまでに我々が構築したリアルタイム RT-PCR 法を用いた H5 亜型 HA 遺伝子検出法 (検出感度は 7.5 コピー/反応) と比較すると検出感度はほぼ同等から 1/10 程度であることが明らかとなった。しかし、Clade 2.3.4 に対しては 1/100 の検出感度であり、また、2010 年末から日本の野鳥や家禽で流行している Clade 2.3.2 に対しても、1/100 の検出感度であった。また、栄研化学株式会社との共同研究により、2009 年に新たに出現してその後流行が続いている新型インフルエンザウイルス(インフルエンザウイルス H1 pdm09)および全ての A 型インフルエンザウイルスを検出するための Direct RT-LAMP 法を用いた検出キットを構築しているが、Clade 2.3.2 では H5 亜型イン

フルエンザウイルス検出試薬キットと M 遺伝子をターゲットにした A 型インフルエンザウイルス検出キットの検出感度は同等であった。

#### D. 考案

現在、家禽および野鳥で流行している H5N1-HPAI は、赤血球凝集素 (HA) の遺伝的系統から Clade 0 から 10 のグループに分類されており、ヒトへの感染例のほとんどは Clade 1 (2004 年以降、主にベトナムで流行した株) または Clade 2 に分類されたウイルスにより起きている。2006 年以降、Clade 2 はさらに 3 つの sub-clade に細分されており Clade 2.1 は、主にインドネシアで 2005 年以降に流行している株、Clade 2.2 は中国青海湖、中東、アフリカ、ヨーロッパ等の地域で流行している株、Clade 2.3 は中国南部や東南アジアで流行している株が含まれる。さらに現在では Clade 2.1 は Clade 2.1.1-2.1.3、Clade 2.3 は 2.3.1-2.3.4 に細分されており、H5N1-HPAI の遺伝的な多様性が広がっている。H5N1-HPAI の診断には、こうした遺伝的な違いに関係なく、全ての H5N1-HPAI 流行株を高感度かつ特異的に検出できる検査系でなければならない。Clade 2.3 (特に今回検討した 2.3.2 および 2.3.4) に対しては、他の Clade に比べて反応性が低いため、全ての Clade を高感度に検出するためには、さらなる改良が必要である。

#### E. 結論

今回、新たに構築した Direct RT-LAMP 法により、新型インフルエンザウイルスあるいは A 型インフルエンザウイルスの Direct RT-LAMP 法と同様に、従来の Conventional

RT-LAMP 法よりも、簡便で迅速な H5HA 遺伝子の検出が可能となった。しかし、Clade 毎に検出感度差が認められたため、その差が無くなるようにプライマー類の追加および変更が必要と考えられる。

しかし、Direct RT-LAMP 法は操作性、迅速性において、リアルタイム RT-PCR 法など実験室が必要な他の遺伝子診断法に比べると優れており、病院やクリニックなどで実験室の無い施設でも、より患者に近い場所での診断、すなわち Point of care 遺伝子診断 (POC 診断) を行う事が可能である。このため、感染して発症すると重篤な症状を示す感染症、例えば重症呼吸器症状を引き起こす H5N1-HPAI などに対して迅速かつ特異性の高い鑑別診断を行い、感染症流行の予防、感染症の治療を行うのに本方法は非常に有用であると考えられる。また、本方法はリアルタイム RT-PCR 法のような高価な機器を必要せず、より簡便に短時間にかつ高い特異性を持ったまま診断を行う事ができるため、より現場に近い所で、感染患者の診断のみならず、不顕性感染も含めた流行状況調査を行う事が可能になる。2010 年末以降、日本の家禽や野鳥で H5N1-HPAI の流行が広がっているが、流行が既に広がっている海外だけでなく、国内でもこうした H5N1-HPAI に対する感染症対策に本研究は大いに寄与できると考えられる。

#### F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

## G. 研究発表

September

### 1. 論文発表

- 1) Mina Nakauchi, Tetsushi Yoshikawa, Hidetaka Nakai, Ken Sugata, Akiko Yoshikawa, Yoshizo Asano, Masaru Ihira, Masato Tashiro, and Tsutomu Kageyama.: Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rapid diagnosis of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus. *Journal of Medical Virology*, 83(1):10-15, 2011

### 2. 学会発表

#### 【国際会議】

- 1) Tsutomu Kageyama., Mina Nakauchi, Tetsushi Yoshikawa, Hidetaka Nakai, Ken Sugata, Akiko Yoshikawa, Yoshizo Asano, Masaru Ihira, Masato Tashiro, Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rapid diagnosis of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus. *Options for the Control of Influenza VII*, Hong Kong, 2010,

#### 【国内会議】

- 1) 森安義、仙波晶平、富田憲弘、神田秀俊、納富継宣、影山努、中内美名: 遺伝子迅速診断としての LAMP 法. 第 51 回日本臨床ウイルス学会、2010 年 6 月
- 2) 仙波晶平、森安義、富田憲弘、神田秀俊、納富継宣、影山努、中内美名.: LAMP 法を用いたインフルエンザ・ウイルスの簡易迅速遺伝子検査法. 第 17 回日本遺伝子診療学会大会、2010 年 8 月
- 3) 影山努、中内美名、田代真人、吉川哲史、中井英剛、菅田健、吉川明子、浅野喜造、井平勝: Direct RT-LAMP 法を用いたインフルエンザウイルス A/H1N1pdm 検出法の開発. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月



厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業  
高病原性鳥インフルエンザの診断・治療に関する国際連携研究  
(H22-新興-一般-014)

2010 (H22) 年度 第1回 班会議 プログラム

日 程 : 2010年7月9日(金) 10:30-16:00  
会 場 : 国立感染症研究所 共用第二会議室

10:00- 受付開始 (受付設置 10:45 まで)  
10:30- 開会にあたって  
研究代表者 河内正治 (国立国際医療研究センター)

10:30-10:50 Overview  
河内正治 Shoji Kawachi [skawachi@hosp.ncgm.go.jp](mailto:skawachi@hosp.ncgm.go.jp)  
国立国際医療研究センター  
NCGM : National Center for Global Health and Medicine

0-1 今後3年間の研究方針とこれまでの研究との継続性  
  
個別ディスカッション

10:50-12:00 第一部 臨床研究班 座長: 河内正治

1-1 臨床班の研究方針 -3年間に何ができるか?  
河内正治<sup>1</sup> Shoji Kawachi [skawachi@hosp.ncgm.go.jp](mailto:skawachi@hosp.ncgm.go.jp)  
志賀由佳<sup>1</sup> Yuka Shiga  
布井博幸<sup>2</sup> Hiroyuki Nunoi  
本間 栄<sup>3</sup> Sakae Honma

臨床医師団：佐多 徹太郎<sup>4</sup>、長谷川 秀樹<sup>4</sup>、佐藤 正規<sup>1</sup>、岡本 竜哉<sup>5</sup>

研究協力者：平橋淳一<sup>6</sup>、丸茂 丈史<sup>6</sup>、松下 竹次<sup>1</sup>、秋山 徹<sup>1</sup>、前原 康宏<sup>1</sup>

Nguyen Thanh Liem<sup>7</sup>, Luong Thi San<sup>7</sup>, Phung Thi Thuy<sup>7</sup>

1. 国立国際医療研究センター NCGM : National Center for Global Health and  
Medicine

2. 宮崎大学 医学部生殖発達医学講座小児科学分野

3. 東邦大学 医学部呼吸器内科

4. 国立感染症研究所感染病理部、感染病理学

5. 熊本大学大学院 医学薬学研究部微生物学分野、内科学

6. 東京大学病院腎臓内科、医学部腎臓内分泌内科

7. NHP-Hanoi : National Hospital of Pediatrics, Hanoi, Vietnam

12:00-13:30 昼 食

13:30-14:45 **第二部 基礎研究班** 座長：鈴木和男

2-1 モデルマウスおよび培養細胞での in vitro の解析

鈴木和男（研究分担者）<sup>1,2</sup>

大島正道<sup>2</sup>、川上和義<sup>3</sup>、赤池孝章<sup>4</sup>

協力者：菅又龍一<sup>1,2</sup>、長尾朋和<sup>1,2</sup>、岡本竜哉<sup>4</sup>、富澤一夫<sup>2,5</sup>、志賀由佳<sup>1,5</sup>、  
荒谷康昭<sup>6</sup>、戸高玲子<sup>2</sup>、中島典子<sup>7</sup>、佐藤由子<sup>7</sup>、佐多徹太郎<sup>7</sup>、  
小林和夫<sup>2</sup>、河内正治<sup>5</sup>、中山俊憲<sup>8</sup>、T. T. B. Phung<sup>9</sup>

千葉大院医<sup>8</sup>免疫発生学・<sup>1</sup>炎症制御学、国立感染研<sup>2</sup>免疫部、<sup>7</sup>同・感染病理  
部、<sup>3</sup>東北大院医保健、<sup>4</sup>熊本大院医微生物、<sup>5</sup>国立国際医療研究センター手術  
部、<sup>6</sup>横浜市大・国際総合、<sup>9</sup>National Hospital

14:45-15:00 休憩

2-2 基礎班の今後の研究方針

川上和義

15:45-16:00 総括および講評 小川道雄

今後の方針及び閉会の辞 研究代表者 河内正治

17:00-19:00 夕食兼基礎班および臨床班分科会研究打ち合わせ

## 平成 22 (2010) 年度 第 2 回班会議

### プログラム

日時：平成 23 年 1 月 7 日(金)  
13 : 30 - 受付 14 : 00 ~ 17 : 00(予定)  
平成 23 年 1 月 8 日(土)  
09 : 30 ~ 12 : 30(予定)  
会場：国立感染症研究所 共用第二会議室

### 第 1 日目 1 月 7 日(金)

13 : 30 - 受付

14 : 00 - 14 : 10 **開会の辞** (河内正治：国立国際医療研究センター手術部麻酔科)

14 : 10 - 14 : 30

**0-1 高病原性鳥インフルエンザの診断・治療に関する国際連携研究 (H22-新興一般-014)**  
**- 今後の研究方針とこれまでの研究について -**

河内正治(研究代表者/国立国際医療研究センター手術部麻酔科)

14 : 30 - 15 : 30

#### 臨床班 (1) 座長：本間 栄

#### 1-1 『インドネシアにおける研究開始とベトナムでの症例のまとめ』

○河内正治<sup>1</sup> Shoji Kawachi、布井 博幸<sup>2</sup> Hiroyuki Nunoi、鈴木和男<sup>3</sup> Kazuo Suzuki、  
中島典子<sup>4</sup> Noriko Nakajima、岡本 竜哉<sup>5</sup> Tatsuya Okamoto、秋山 徹<sup>1</sup> Tohru Akiyama  
Nguyen Thanh Liem<sup>6</sup>、Luong Thi San<sup>6</sup>、Phung Thi Thuy<sup>6</sup>

1.国立国際医療研究センター NCGM : National Center for Global Health and Medicine、

2.宮崎大学 医学部生殖発達医学講座小児科学分野、3.千葉大学大学院医学研究院、免疫発生学、炎症制御学、

4.国立感染症研究所感染病理部、感染病理学、5.熊本大学大学院 医学薬学研究部微生物学分野、内科学、

6.NHP-Hanoi : National Hospital of Pediatrics, Hanoi, Vietnam

#### 1-2 『-ハノイ国立小児病院で ARDS を呈した症例の血中 KL-6 の解析-』

○布井博幸 (宮崎大学) , 河内正治(国立国際医療研究センター)、Thuy T.B. Phung、

San T. Luong, Liem T. Nguyen (ハノイ国立小児病院、ベトナム)、岡本竜哉 (熊本大学大学院)、

本間栄 (東邦大学医療センター)、鈴木和男 (千葉大学大学院)

1-3 『2009H1N1 パンデミックインフルエンザウイルス感染症剖検 20 例の病理学的解析』

○中島典子<sup>1</sup>、佐藤由子<sup>1</sup>、片野晴隆<sup>1</sup>、長谷川秀樹<sup>2</sup>、佐多徹太郎<sup>1</sup>

国立感染症研究所・<sup>1</sup>感染病理部、<sup>2</sup>インフルエンザウイルス研究センター

15 : 30 - 15 : 50

休憩

15 : 50 - 16 : 30

臨床班 (2) 座長 : 布井博幸

2-1 『高病原性鳥インフルエンザの人感染症に対する診断/治療ガイドライン』

○本間 栄、菊池 直、杉野圭史 (東邦大学医療センター大森病院呼吸器内科)

2-2 『インフルエンザウイルス肺炎・ARDS における酸化ストレスバイオマーカー』

○岡本 竜哉、赤池 孝章 (熊本大学大学院生命科学研究部 医学系微生物学分野)

16 : 30 - 17 : 00

初日まとめ 等

小川道雄 先生(市立貝塚病院・総長)

17 : 30 - 個別分担研究打ち合わせ

## 第 2 日目 1 月 8 日(土)

09 : 30 - 09 : 40

2 日目開会の辞

09 : 40 - 10 : 40

基礎班 (1) 座長 : 鈴木和男

3-1 『基礎班 : 高病原性インフルエンザ誘導の劇症型 ARDS の発症機構

—モデルマウスおよび培養細胞での *in vitro* の解析—

その 1 : インフルエンザ誘導性の劇症肺炎の発症機序と MPO 機能による肺傷害機構』

○鈴木和男 (千葉大院医 免疫発生学・炎症制御学)

研究協力 : 菅又龍一<sup>1,2</sup>、土橋英紀<sup>1,2</sup>、長尾朋和<sup>1,2</sup>、山本紀一<sup>2</sup>、富澤一夫<sup>2</sup>、中島典子<sup>3</sup>、佐藤由子<sup>3</sup>、  
荒谷康昭<sup>4</sup>、鄒軍<sup>5,1,2</sup>、戸高玲子<sup>2</sup>、山崎祐自<sup>6</sup>、月田早智子<sup>6</sup>、大島正道<sup>2</sup>、佐多徹太郎<sup>3</sup>、小林和夫<sup>2</sup>、  
河内正治<sup>5</sup>、中山俊憲<sup>7</sup>

(千葉大院医<sup>7</sup>免疫発生学・<sup>1</sup>炎症制御学、国立感染症研<sup>2</sup>免疫部、<sup>3</sup>感染病理部、<sup>4</sup>横浜市大・国際総合、

<sup>5</sup>国立国際医療研究センター手術部、<sup>6</sup>大阪大・院生命機能/院医)

3-2 『基礎班：高病原性インフルエンザ誘導の劇症型 ARDS の発症機構—モデルマウスおよび培養細胞での *in vitro* の解析—  
その2：MPO 放出阻害活性をもつマクロライドによる ARDS および  
インフルエンザ新規治療薬の探索』

○鈴木和男（千葉大院医 免疫発生学・炎症制御学）

研究協力：菅又龍一<sup>1,2</sup>、廣瀬友靖<sup>3</sup>、長尾朋和<sup>1,2</sup>、鈴木浩也<sup>1</sup>、山本紀一<sup>2</sup>、大島正道<sup>2</sup>、  
菅原章公<sup>3</sup>、小林和夫<sup>2</sup>、砂塚敏明<sup>3</sup>、赤川清子<sup>3</sup>、大村智<sup>3</sup>、中山俊憲<sup>4</sup>

（千葉大院医<sup>4</sup> 免疫発生学・<sup>1</sup>炎症制御学、国立感染研<sup>2</sup>免疫部、<sup>3</sup>北里大生命研 生物有機化学）

3-3 『FARDS モデルマウスを用いた発症病態の解析と治療薬の開発』

○工藤大介<sup>1)</sup>、青柳哲史<sup>2)</sup>、石井恵子<sup>3)</sup>、久志本成樹<sup>1)</sup>、賀来満夫<sup>2)</sup>、川上和義<sup>3)</sup>

1) 東北大学大学院医学系研究科救急医学分野

2) 東北大学大学院医学系研究科感染制御検査診断学分野

3) 東北大学大学院医学系研究科感染分子病態解析学分野

10 : 40-11 : 00

休憩

11 : 00-12 : 20

基礎班 (2) 座長 川上和義

4-1 『VILI model による劇症型 ARDS 誘発機構の解析：NKT の関与』

○志賀由佳<sup>1,3</sup>、菅又龍一<sup>1,2</sup>、長尾朋和<sup>1,2</sup>、岩村千秋<sup>4</sup>、富澤一夫<sup>2</sup>、鄒軍<sup>3,1,2</sup>、川上和義<sup>5</sup>、河内正治<sup>3</sup>、  
中山俊憲<sup>4</sup>、鈴木和男<sup>1,2</sup>

（千葉大院医<sup>4</sup>免疫発生学・<sup>1</sup>炎症制御学、国立感染研<sup>2</sup>免疫部、<sup>3</sup>国立国際医療研究センター手術部、  
<sup>5</sup>東北大院医基礎検査医科学・感染分子病態解析学）

4-2 『劇症型 ARDS とケモカインレセプター』

○山本健二(国立国際医療研究センター研究所 臨床研究センター)

4-3 『インフルエンザウイルス感染初期に誘導される宿主側抵抗因子(VSG)の解析』

○大島正道、戸高玲子（国立感染症研究所 免疫部）

4-4 『Direct RT-LAMP 法による高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)遺伝子検査系の構築』

○影山 努(国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター)

12 : 20-12 : 30

PO の先生方より

今後の方針、閉会の辞 （研究代表者 河内正治）

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
杉野 圭史 本間 栄	検査手順と診断 フローチャート	久保 恵嗣 藤田 次郎編	間質性 肺疾患 診療マ ニュアル	南江堂	東京	2010年	P36-40
中島典子、佐多徹太郎、 羽田悟	新型インフルエンザウイルス の病理組織像	大畑秀穂	Medical Technol ogy	医歯薬出版 株式会社	東京都	2010年	p535-536
中島典子、佐藤由子、佐 多徹太郎	2009年H1N1新型インフルエ ンザウイルス感染症の病理学 的特徴		医学と 薬学	自然科学社	東京都	2010年	p845-851
中島典子、佐藤由子、佐 多徹太郎	インフルエンザの病理	小林芳夫 他	臨床と微 生物	近代出版	東京都	2010年	p577-583

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hiroyuki FURUYA, Shoji KAWACHI, Mika SHIGEMATSU, Kazuo SUZUKI, Tetsu WATANABE.	Clinical factors associated with severity in hospitalized children infected with avian influenza (H5N1).	Environ Health Prev Med	16	64-68	2011
Thuy T.B.Phung, San T. Luong, Shoji Kawachi, Hiroyuki Nunoi, Liem T.Nguyen, Toshinori Nakayama, Kao Suzuki.	Interleukin 12 and myeloperoxidase(MPO)in Vietnamese children with acute respiratory distress syndrome due to Avian influenza(H5N1)infection	Journal of Infection	62	104-108	2011
S. Kawachi, T. Matsushita, T. Sato, H. Nunoi, H. Noguchi, S. Ota, N. Kanemoto, K. Nakatani, T. Nishiguchi, A. Yuge, H. Imamura, H. Kitajima, K. Narahara, K. Suzuki, T. Miyoshi-Akiyama, T. Kirikae.	Multicenter prospective evaluation of a novel rapid immunochromatographic diagnostic kit specifically detecting influenza A H1N1 2009 virus.	J Clin Virol	--	in press.	2011
Hidenori YASUDA, Nobuaki YOSHIZAWA, Masaaki MATSUMOTO, Shoji KAWACHI, Kazuo SUZUKI.	Transmission of Pandemic H1N1 Influenza in Japan in 2009: Simulated Measures and Post-Analysis.	EASIAM Conference	6	110-116	2010
家研也、吉澤篤人、平野聡、泉信有、放生雅章、杉山温人、小林信行、工藤宏一郎、前原康宏、河内正治、宮越浩一	気管支喘息合併全身麻酔症例の周術期発作に関する検討。	アレルギー	59(7)	831-838	2010
河内正治	新型インフルエンザ(今月の用語)	医療	64(10)	653-654	2010
Yuka Osaki, Yasuhiro Maehara, Masaki Sato, Akiyoshi Hoshino, Kenji Yamamoto, Tomokazu Nagao, Kazuo Suzuki, Shoji Kawachi.	Analysis of cytokine/chemokine levels in bronchoalveolar lavage fluids from patients with acute respiratory distress syndrome: Increase in IL-6, G-CSF, MCP-1, MIP-1 $\beta$ .	Jap J Intens Care Med	17	179-184	2010
朝山京子、松谷厚子、佐々木立朗、伊藤倫子、前原康宏、河内正治	自発呼吸下に全身麻酔をおこなった外傷性気管損傷の1例	麻酔と蘇生	46(4)	73-75	2010
河内正治、丸谷晶美	人工呼吸中の栄養管理	日本呼吸ケア・リハビリテーション学会誌	20(2)	120-124	2010
Sakamoto S, Homma S, Miyamoto A, Kurosaki A, Fujii T, Yoshimura K	Cyclosporin A treatment in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis.	Intern Med	49	109-115	2010
Isobe K, Hata Y, Sakamoto S, Takai Y, Homma S	Clinical characteristics of acute respiratory deterioration in pulmonary fibrosis associated with lung cancer following anti-cancer therapy	Respirology	15	88-92	2010

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
高尾信一、原三千丸、岡崎富男、鈴木和男	ヒト呼吸器系ウイルスの検出における呼吸器系ウイルス多項目同時解析アッセイ (Luminex xTAG Respiratory Viral Panel FAST Assay) の有用性の検討	感染症誌	85	31~36	2011
Igari H, Segawa S, Watanabe A, Suzuki A, Watanabe M, Sakurai T, Kuroda F, Watanabe M, Tatsumi K, Nakayama M, Nakayama T, Suzuki K, Sato T.	Immunogenicity of a Monovalent Pandemic Influenza AH1N1 Vaccine in Healthcare Workers.	Microbiol Immunol	2010; 54: 618-62454	618-624	2010
Aoyagi T, Yamamoto N, Hattal M, Tanno D, Miyazato A, Ishii K, Suzuki K, Nakayama T, Taniguchi M, Kunishima H, Hirakata Y, Kaku M, Kawakami K	Activation of pulmonary invariant NKT cells leads to exacerbation of acute lung injury caused by LPS through local production of IFN- $\gamma$ and TNF- $\alpha$ by Gr-1+ monocytes.	International Immunology	23	97-108	2011
Hori J, Taniguchi H, Wang M, Oshima M, Azuma M	GITR ligand-mediated local expansion of regulatory T cells contributes to immune privilege of corneal allografts.	Invest Ophthalmol Vis Sci.	51	6556-65	2010
Lijuan Yu, Chie Aoki, Yohko Shimizu, Kazufumi Shimizu, Wei Hou, Fumihiko Yagy, Xianzi Wen, Masamichi Oshima, Aikichi Iwamoto, Bin Gao, Wenjun Liu, George Fu Gao, Yoshihiro Kitamura	Development of a simple system for screening anti-hepatitis C virus drugs utilizing mutants capable of vigorous replication	Journal of Virological Methods.	69	380-4	2010
Tomizawa K, Nagao T, Kusunoki R, Saiga K, Oshima M, Kobayashi K, Nakayama T, Tanokura M, Suzuki K	Reduction of MPO-ANCA epitopes in SCG/Kj mice by 15-deoxyspergualin treatment restricted by IgG2b associated with crescentic glomerulonephritis.	Rheumatology (Oxford)	49	1245-56	2010
Hideshi Ihara, Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomoaki Ida, Shingo Kasamatsu, Kouhei Kunieda, Tatsuya Okamoto, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike.	Methodological proof of immunochemistry for specific identification of 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate formed in glia cells.	Nitric Oxide	--	in press	2011
Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Shingo Kasamatsu, Jun Yoshitake, Tatsuya Okamoto, Shigemoto Fujii, Takaaki Akaike.	Regulation by mitochondrial superoxide and NADPH oxidase of cell formation of nitrated cyclic GMP: potential implications for ROS signaling.	J Biol Chem	--	in press	2011
Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Kit I. Tong, Tomoaki Ida, Tatsuya Okamoto, Ahmed Khandaker Ahtesham, Yu Ishima, Hozumi Motohashi, Masayuki Yamamoto, Takaaki Akaike.	The critical role of nitric oxide signaling, via protein S-guanylation and nitrated cyclic GMP, in the antioxidant adaptive response.	J Biol Chem	285	23970-23984	2010



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
Takaaki Akaike, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara.	Cell signaling mediated by nitrated cyclic guanine nucleotide.	Nitric Oxide	23	166-174	2010
Tatsuya Okamoto, Shahzada Khan, Kohta Oyama, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike.	A new paradigm for antimicrobial host defense mediated by a nitrated cyclic nucleotide.	J Clin Biochem Nutr	46	14-19	2010
Tomohiro Sawa, Hiorokazu Arimoto, Takaaki Akaike.	Regulation of redox signaling involving chemical conjugation of protein thiols by nitric oxide and electrophiles.	Bioconjug Chem	21	1121-1129	2010
Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike.	Protein cysteine S-guanylation and electrophilic signal transduction by endogenous nitro-nucleotides.	Amino Acids	--	in press	2010
Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Takaaki Akaike.	Antioxidant effect of a nitrated cyclic nucleotide functioning as an endogenous electrophile.	Current Topics Med Chem	--	in press	2010
Yu Ishima, Shuichi Hiroshima, Ulrich Kragh-Hansen, Toru Maruyama, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike, Toshiya Kai, and Masaki Otagiri.	One-step preparation of S-nitrosated human serum albumin with high biological activities.	Nitric Oxide	23	121-127	2010
小野勝彦、澤智裕、赤池孝章.	活性酸素・一酸化窒素によるニトロ化シグナルと抗炎症作用.	感染・炎症・免疫	--	in press	2011
藤井重元、澤智裕、赤池孝章.	8-Nitro-cGMPの発見と生理機能の解明	化学と生物	48	22-27	2010
澤智裕、赤池孝章.	毒性説から脱した活性酸素研究-シグナル分子としての活躍-	現代化学	469	34-38	2010
岡本竜哉、赤池孝章.	呼吸器疾患における酸化ストレスと制御シグナルの分子基盤: Molecular mechanisms of nitric oxide- and reactive oxygen species-mediated signalings in the respiratory diseases.	呼吸	29	859-866	2010
岡本竜哉、澤智裕、赤池孝章.	Nitric oxide (NO) およびNO関連物質.	日本臨床増刊号広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査-4	982	839-842	2010
Mina Nakauchi, Tetsushi Yoshikawa, Hidetaka Nakai, Ken Sugata, Akiko Yoshikawa, Yoshizo Asano, Masaru Ihara, Masato Tashiro, Tsutomu Kageyama	Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rapid diagnosis of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus	Journal of Medical Virology	83(1)	10-15	2011

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
Kuroda M, Katano H, Nakajima N, Tobiume M, Ainai A, Sekizuka T, Hasegawa H, Tashiro M, Sasaki Y, Arakawa Y, Hata S, Watanabe M, Sata T.	Characterization of quasispecies of pandemic 2009 influenza A virus (A/H1N1/2009) by de novo sequencing using a next-generation DNA sequencer.	PLoS One	23;5(4)	p1-9	2010

