

- and the generation of superoxide anion by human eosinophils primed with platelet-activating factor. *Intervirology* 45(1):43-51, 2002.
97. Hashimoto M, Nishida A, Minakami H, Takashima Y, Kato M, Okada Y, Ogawa Y, Itoh S, Kimura H. Decreased expression of L-selectin on peripheral blood polymorphonuclear leukocytes in neonates with severe asphyxia. *Biol Neonate*. 81(2):95-98, 2002.
 98. Kimura H, Minakami H, Shoji A. Ultraviolet B irradiation modulates susceptibility to TNF α -induced apoptosis through inducing death receptors in murine fibroblasts. *Cell Biol Int*. 25(12):1221-1228, 2001.
 99. Ohkuchi A, Minakami H, Aoya T, Haga T, Kimura H, Suzuki M, Sato I. Expansion of the fraction of Th1 cells in women with preeclampsia: inverse correlation between the percentage of Th1 cells and the plasma level of PAI-2. *Am J Reprod Immunol*. 46(4):252-259, 2001.
 100. Okada Y, Kato M, Minakami H, Inoue Y, Morikawa A, Otsuki K, Kimura H. Reduced expression of FLICE-inhibitory protein (FLIP) and NF κ B1 is associated with death receptor-induced cell death in human aortic endothelial cells (HAECs). *Cytokine* 15(2):66-74, 2001.
 101. Inoue Y, Kimura H, Kato M, Okada Y, and Morikawa A. Sera from patients with Kawasaki disease induce intercellular adhesion molecule-1 but not Fas in human endothelial cells (HUVECs). *Int Arch Allergy Immunol*. 125(3):250-255, 2001.
 102. Kimura H, Shibata Y, Minakami H, Hashizume S, Oba H, Sakaguchi M, Otsuki K, Kato M. Release of IL-4 and IL-5 from human peripheral blood mononuclear cells cocultured with Japanese cedar pollen antigen *in vitro*. *Cell Biol Int*. 25(8):841-844, 2001.
 103. Ohki Y, Kato M, Kimura H, Nako Y, Tokuyama K, Morikawa A. Elevated type IV collagen in bronchoalveolar lavage fluid from infants with bronchopulmonary dysplasia. *Biol Neonate*. 79(1):34-38, 2001.
 104. Abe O, Kimura H, Minakami H, Akami M, Inoue M, Saito A, Otsuki K. Outbreak of gastroenteritis caused by echovirus type 6 in an orphanage in Japan. *J Infect*. 41(3):285-286, 2000.
 105. Kimura H, Minakami H, Otsuki K, Shoji A. Cu-Zn superoxide dismutase inhibits lactate dehydrogenase release and protects against cell death in murine fibroblasts pretreated with ultraviolet radiation. *Cell Biol Int*. 24(7):459-465, 2000.
 106. Kato M, Kita H, Kimura H, Tachibana A, Motegi Y, Tokuyama K, Morikawa A. Stimulation of the β_2 integrin, $\alpha_M\beta_2$, on human eosinophils triggers tyrosine phosphorylation of Cbl and peroxillin. *Int Arch Allergy Immunol*. 122: 33-35, 2000.
 107. Kato M, Kimura H, Tachibana A, Motegi Y, Tokuyama K, Kita H, Morikawa A. Intracellular signaling pathways in human eosinophil activation: Role of a β_2 integrin, $\alpha_M\beta_2$ *Int Arch Allergy Immunol*. 120:51-53, 1999.
 108. Kimura H, Minakami H, Sekiguchi I, Otsuki K, Shoji A. Phorbol ester facilitates apoptosis in murine fibroblasts pretreated by mild ultraviolet radiation. *J Biochem*. 126(2):340-346, 1999.
 109. Kimura H, Minakami H, Harigaya A, Takeuchi H, Tachibana A, Otsuki K. Treatment of neonatal infection caused by coxsackievirus B3. *J Perinatol*. 19(5):388-390, 1999.
 110. Kimura H, Minakami H, Ohbuchi M, Tsuchida S, Hara Y, Asahina J, Abe O, Ike Y, Kurashige S, Otsuki K. Release of superoxide anion from polymorphonuclear leukocytes stimulated by rubella viral antigen-antibody complex *in vitro*. *Acta Virol*. 41:329-332, 1997.
 111. Kimura H, Minakami H, Sakae K, Ohbuchi M, Kuwashima M, Otsuki K. Outbreak of echovirus type 33 infection in Japanese school children. *The Pediatr Infect Dis J*. 16(1):83-84, 1997.
 112. Minakami H, Kimura H, Honma Y, Tamada T, Sato I. When is the optimal time for delivery? - Purely from the fetuses' perspective - . *Gynecol Obstet Invest*. 40:174-178, 1995.
 113. Kimura H, Minakami H, Kimura S, Sakurai T, Nakamura T, Kurashige S, Nakano M, Shoji A. Release of superoxide radicals by mouse macrophages stimulated by oxidative modification of glycated low density lipoproteins. *Atherosclerosis*. 118:1-8, 1995.
 114. Nishida A, Kimura H, Nakano M. Opsonic activity in cord blood: Comparison between normal and elevated immunoglobulin M infants. *Acta Paediatr Jpn*. 37:166-170, 1995.
 115. Nishida A, Kimura H, Nakano M. Assay for opsonin activity based on chemiluminescence of a *Cypridina* luciferin analog. *Biol Neonate*. 61:253-258, 1992.
 116. Sakurai T, Kimura S, Nakano M, Kimura H. Oxidative modification of glycated low density lipoprotein in the presence of iron. *Biochem Biophys Res Commun*. 177(1):433-139, 1991.
 117. Sakurai T, Kimura S, Nakano M, and Kimura H. The oxidative modification of low density lipoprotein by nonenzymatically glycated peptide-Fe complex. *Biochim Biophys Acta*. 1086:273-278, 1991.
 118. Kato M, Morikawa A, Kimura H, Shimizu T, Nakano M, Kuroume T. Effects of antiasthma drugs on superoxide anion generation from human polymorphonuclear leukocytes or hypoxanthine-xanthine oxidase systems. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 96(2):128-133, 1991.
 119. Kato M, Nakano M, Morikawa A, Kimura H, Shigeta M, Kuroume T. Ability of polymorphonuclear leukocytes to generate active oxygen species in children with bronchial asthma. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 95(1):17-22, 1991.

120. Nishida A, Kimura H, Sugioka K, Nakano M. The ability of granulocytes to generate superoxide anions and hypochlorite during phagocytosis: Comparison of neonatal granulocytes with adult granulocytes. *Biol Neonate*. 58:145-151, 1990.
121. Nakano M, Kimura H, Hara M, Kuroiwa M, Kato M, Totsune K, Yoshikawa T. A highly sensitive method for determining both Mn- and Cu-Zn superoxide dismutase activities in tissues and blood cells. *Anal. Biochim*. 187:277-280, 1990.
122. Nishida A, Kimura H, Nakano M, Goto T. A sensitive and specific chemiluminescence method for estimating the ability of human granulocytes and monocytes to generate O₂⁻. *Clinica Chimica Acta* 179:177-182, 1989.
123. Kimura H, Nakano M. Highly sensitive and reliable chemiluminescence method for the assay of superoxide dismutase in human erythrocytes. *FEBS Lett*. 239(2):347-350, 1988.
124. Nakano H, Sugioka K, Nakano M, Mizukami M, Kimura H, Tero-Kubota S, Ikegami Y. Importance of Fe²⁺-ADP and the relative unimportance of hydroxylradical in the mechanism of mitomycin C-induced lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta*. 796:285-293, 1984.

原著論文 (邦文)

1. 古田太郎, 楠田美和子, 隈下祐一, 辻陽平, 松村玲子, 山本将司, 加藤由実, 木村博一. 衛生対策薬剤のインフルエンザウイルスに対する不活化効果. *日本防菌防黴学会誌*. 37(9):656-666, 2009.
2. 若井公子, 嶋田明, 竹内紗耶香, 小浦方久美子, 久保田知里, 朴明子, 佐野弘純, 外松学, 服部幸夫, 山城安啓, 木村博一, 林泰. 3世代にわたりみられた家族型βサラセミア家系の男児例. *日本小児血液学会雑誌*, 23(1):27-30, 2009.
3. 水上憲一, 河合修三, 黒澤肇, 森田幸雄, 小畑敏, 加藤政彦, 小澤邦壽, 間淵徹, 長井章, 木村博一, 宗行彪. 焼肉店を原因施設とした腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事例. *群馬医学*. 81:51-52, 2008.
4. 有田知子, 木村博一, 野田衛, 西尾治. パンに含まれるノロウイルスの回収法の検討. *日本感染症学会誌*. 82(5):473-475, 2008.
5. 若井公子, 嶋田明, 竹内紗耶香, 青木由貴, 水谷修紀, 木村博一, 林泰秀. Ommen 症候群の臍帯血移植後に発症した *Mycobacterium avium* complex 感染症. *日本小児血液学会雑誌*. 22(2):129-132, 2008.
6. 大内好美, 田中千香子, 横井一, 秋山美穂, 木村博一, 野田雅博, 田代真人. 市販ウイルス保存液およびスワブ採取キットの評価. *臨床とウイルス*. 36 (1):61-64, 2008.
7. 宗村徹也, 藤本嗣人, 近平雅嗣, 木村博一, 西尾 治, 吉田弘, 岡部信彦, 辻勉. エンテロウイルス遺伝子診断法における市販 RNA 抽出キット選択の影響. *日本感染症学会誌*. 82(1):55-57, 2008.
8. 森田幸雄, 藤田雅弘, 斎藤美香, 塚越博之, 星野利得, 加藤政彦, 小澤邦壽, 西尾治, 木村博一. LightCycler®を用いたノロウイルス遺伝子検出法の検討. *日本食品微生物学会誌* 24(4):183-188, 2007.
9. 隈下祐一, 加藤由実, 高本一夫, 古田太郎, 西尾治, 木村博一. ノロウイルス代替のネコカリシウイルスおよび各種微生物に有効なエタノール製剤の開発. *日本防菌防黴学会誌* 35(11):725-732, 2007.
10. 野村裕子, 新井茉莉, 加藤直子, 森田幸雄, 木村博一, 中嶋隆. 市販の鶏挽肉から分離した *Salmonella* の薬剤耐性遺伝子の接合伝達性. *医学と生物学*. 150(7):281-286, 2006.
11. 石岡大成, 加藤政彦, 山口貴史, 吉住正和, 小澤邦壽, 鮫島伸一, 星野洪郎, 木村博一. 気道上皮細胞に対する好酸球顆粒蛋白および Respiratory Syncytial ウイルスの傷害性. *Cytometry Res*. 15:1-5, 2005.
12. 木村博一, 大月邦夫, 疋田博之, 森川昭廣, 竹田誠, 小船富美夫. 群馬県で1998年に起こった麻疹流行の解析. *日本医事新報* 3936:45-49, 1999.
13. 木村博一, 大淵正枝, 高橋敦子, 山木宣雄, 金沢勝次, 辺見春雄, 大月邦夫, 中嶋隆, 朝比奈浄真, 安部理. 最近5年間に群馬県で分離されたウイルス. *臨床とウイルス*. 24 (4):311-320, 1996.

特許申請

1. 特許名称: 全量型循環式オゾン水洗浄殺菌殺滅鮮度維持装置 (出願日 H16.2.25 出願番号 特願 2004-49046)
2. 特許名称: 微生物収集装置及び微生物収集方法 (出願日 H16.3.11 出願番号 特願 2004-68327)
3. 特許名称: 3級セレンアミドを含有することを特徴とする活性酸素消去物質とその利用法 (出願日 H18.3.1 出願番号 特願 2006-54377)
4. 特許名称: セレノウレアおよびまたはチオウレアを含有することを特徴とする活性酸素消去物質とその利用法 (出願日 H18.9.1 出願番号 特願 2006-237201)
5. 特許名称: セレノカルバメートおよびまたはチオカルバメートを含有することを特徴とする活性酸素消去物質とその利用法 (出願日 H19.2.8 出願番号 特願 2007-292741)

6. 特許名称:2-アミノ-1,3-セレンゾールを含有することを特徴とする活性酸素消去物質とその利用法 (出願日 H19.3.29 出願番号 特願 2007-87893)
7. 特許名称:ビス(2-アミノ-5-セレンゾイル)ケトン含有することを特徴とする活性酸素消去物質とその利用法 (出願日 H19.3.29 出願番号 特願 2007-87969)

平成22年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究

課題番号：H22-新興-一般-012

予定期間：H22年度からH24年度まで

研究代表者：竹田 誠

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：ウイルス第三部

職名：部長

年次別研究費(交付決定額)：1年目 39,600,000円

I. 研究の意義

- (1) わが国は、他の先進国と比べて麻疹患者が多い
- (2) 検査診断をもとにした正確な患者数の把握ができていない
- (3) 流行株の解析に基づく流行調査が充分行われていない
- (4) WHO から麻疹排除への積極的な取り組みが要求されている
- (5) WHO 西太平洋地域では2012年を麻疹排除の目標年に掲げている
- (6) わが国も麻しんに関する特定感染症予防指針を告示し2012年を排除目標に掲げている

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 麻疹の正確な実験室検査診断法の確立
- (2) 全国地方衛生研究所と国立感染症研究所が中心となった検査体制の確立
- (3) 流行株の解析に基づく流行実態の解明
- (4) WHO が中心となって推進する世界麻疹排除計画へ貢献できる
- (5) わが国ならびに世界の麻疹排除計画の促進につながる

III. 1年間の研究成果

・研究代表者(竹田 誠)

- (1) WHO の会議を通じて世界各国の麻疹対策や麻疹排除に関する情報を得た
- (2) WHO の会議を通じてわが国の現状を報告し、世界麻疹排除計画の推進に貢献した
- (3) 麻疹ウイルス流行株間の抗原性の違いについて明らかにした

・研究分担者(駒瀬勝啓)

- (1) WHO の会議を通じて世界各国の麻疹の流行状況や麻疹実験室診断に関する情報を得た
- (2) 地方衛生研究所と協力して国内の麻疹検査診断体制の向上を諮った
- (3) 地方衛生研究所と協力して国内で検出された麻疹ウイルスの遺伝子情報を収集し、流行したウイルスの遺伝子型を解析した

研究分担者(森 嘉生)

- (1) WHO の会議を通じて世界各国の風疹流行状況や風疹実験室診断に関する情報を得た
- (2) 風疹実験室診断に利用可能な Real-time PCR 法を確立した。

：

研究分担者(木村博一)

- (1) 国内外の麻疹ウイルス(MeV)H 遺伝子のデータベースを利用し、時系列解析が可能な分子系統樹解析を行った。その結果、現在まで国内で検出された D3, D5, D9 及び H1 型の MeV は 1960 年以降に出現したことが推定された。
- (2) 国内で分離された D3, D5, D9, H1 型の MeV の主要遺伝子(H 及び N 遺伝子)に関して詳細な分子疫学解析を行った。その詳細については現在解析中である。

：

研究分担者(小澤邦壽)

- (1) 全国の地方衛生研究所で、最も適応可能な麻疹検査診断法に関する研究を行った。その結果については現在解析中である。
- (2) 全国地方衛生研究所で、麻疹の行政検査診断を円滑に行うための必要条件について検討している。

：

研究分担者(調 恒明)

- (1) 平成 22 年 9 月末現在の地方衛生研究所における麻しんの検査体制についてアンケート調査を行った。全体の検査件数は平成 21 より 22 年が増加していたが、麻しん疑い症例の全数検査を実施している自治体は全体の 1/3 強であった。全数検査の障壁となっている事項は、予算、人員、医療機関の協力などがあげられた。これらの調査は全国における全数検査体制の確立に資すると期待される。

：

研究分担者(柳 雄介)

- (1) 麻疹ウイルス H 蛋白質と受容体 SLAM の複合体の結晶構造を解明し、抗ウイルス薬の標的となりうる麻疹ウイルス配列を明らかにするとともに、麻疹ワクチンの有効性の分子基盤を明らかにした。
- (2) 診断向上や新型ウイルスの検出に向けて、まだ効率は悪いが、麻疹ウイルス感染にともない緑色蛍光色素を発現する細胞を作製した。

：

研究分担者(前仲勝実)

- (1) 柳教授との共同研究により麻疹ウイルス受容体結合蛋白質と受容体 SLAM との結晶構造解析に成功した
- (2) 麻疹ウイルス受容体結合蛋白質に対する中和抗体の遺伝子クローニングを進めた
- (3) ジステンパーウイルス受容体結合蛋白質の SLAM 結合実験を進めた

：

IV. 23～24 年度の課題

- (1) 実際の臨床検体を用いて RT-PCR 法を用いた診断法の能力を検証する
- (2) 病原体検出、血清診断それぞれの特性を生かした実験室診断法を確立する
- (3) 臨床検体を効果的に地方衛生研究所や国立感染症研究所へ集める方法を確立する
- (4) 臨床分離株の遺伝子解析を推進し、麻疹ウイルスの伝播（流行）ルートを解明する

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 麻しんに関する特定感染症予防指針で述べられている正確な検査診断に貢献する
- (2) 2012 年を目標とした麻疹排除計画に貢献する
- (2) 流行の正確な情報を集め、麻疹が排除された状態を科学的に証明する
- (3) WHO 世界麻疹排除計画の一端を担い、国際的に貢献する

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

・ 研究代表者(竹田 誠)

- (1) 竹田誠、駒瀬勝啓 世界麻疹排除計画と世界麻疹風疹実験室ネットワーク 病原微生物検出情報、31:35-36 (2010)
- (2) 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹風疹実験室ネットワーク 臨床検査 54: 1322-1327 (2010)
- (3) Shirogane Y, Takeda M, Tahara M, Ikegame S, Nakamura T, Yanagi Y. Epithelial-mesenchymal transition abolishes the susceptibility of polarized epithelial cell lines to measles virus. J Biol Chem. (2010) 285:20882-20890.

・ 研究分担者(駒瀬勝啓)

- (1) 駒瀬勝啓 日本の麻疹・風疹の現状と問題点 総合臨床 永井書店 59:435-440 (2010)
- (2) 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹の検査診断法と全数検査診断に向けた取り組み 小児科 51: 1311-1318 (2010)

・ 研究分担者(柳 雄介)

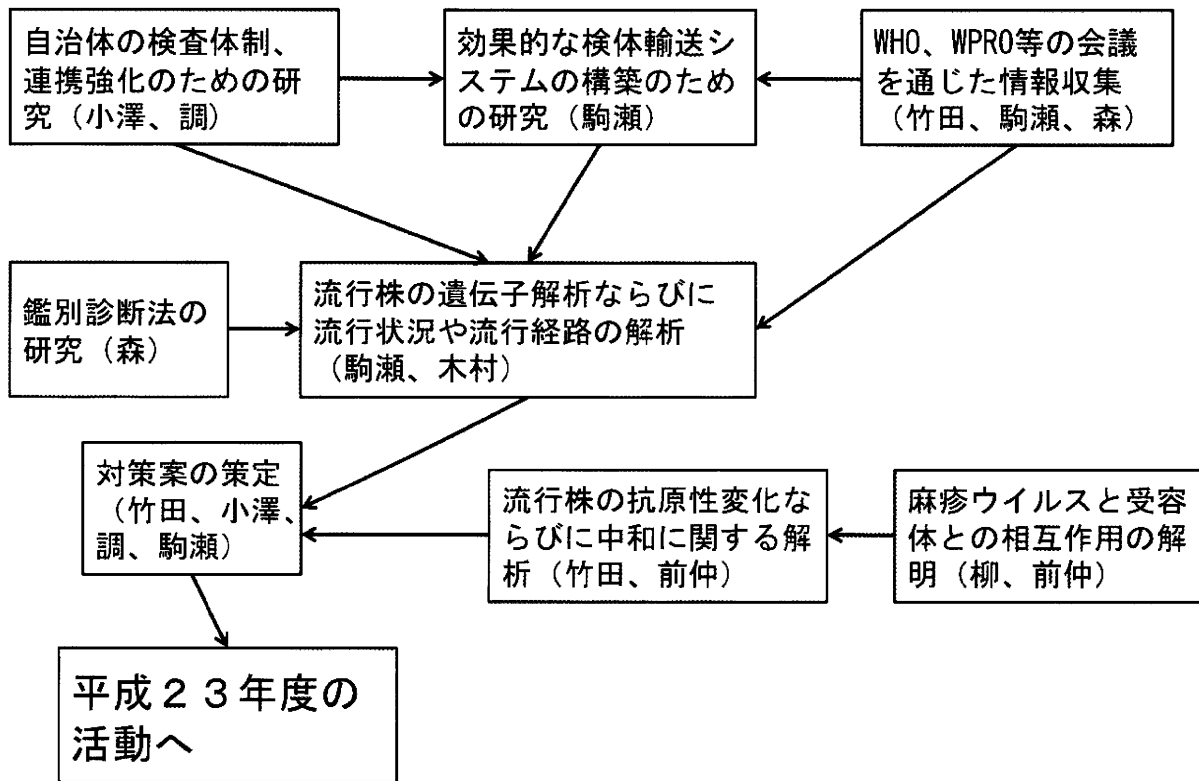
- (1) Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Maita N, Kamishikiryo J, Maenaka K, Yanagi Y. Structure of the measles virus hemagglutinin bound to its cellular receptor SLAM. Nature Struct. Mol. Biol. (in press)
- (2) Koga R, Ohno S, Ikegame S, Yanagi Y. Measles Virus-Induced Immunosuppression in SLAM Knock-In Mice. J Virol. (2010) 84:5360-5367.

・ 研究分担者(前仲勝実)

- (1) Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Maita N, Kamishikiryo J, Maenaka K, Yanagi Y. Structure of the measles virus hemagglutinin bound to its cellular receptor SLAM. Nat. Struct. & Mol. Biol. In press.

Ⅶ. Ⅲ(1年間の研究成果)の概要図等

平成22年度の活動と成果



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

- 平成4年6月～平成8年4月 信州大学医学部 小児科学教室
- 平成8年5月～平成10年3月 東京大学医科学研究所 ウイルス感染研究部
- 平成10年4月～平成12年8月 国立感染症研究所 エイズ研究センター
- 平成12年9月～平成15年8月 米国ノースウェスタン大学ハワードヒューズ医学研究所
- 平成15年9月～平成21年6月 九州大学大学院医学研究院 ウイルス学
- 平成21年7月～現在 国立感染症研究所 ウイルス第三部

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- 永井美之先生 (新興再興感染症研究ネットワーク推進センター長)
- 田代真人先生 (国立感染症研究所インフルエンザ研究センター長)
- Robert A. Lamb 先生 (米国ノースウェスタン大学ハワードヒューズ医学研究所教授)
- 柳 雄介先生 (九州大学大学院医学研究院教授)
- 加藤 篤先生 (国立感染症研究所室長)
- 駒瀬勝啓先生 (国立感染症研究所室長)

・ 主な研究課題

- (1) 麻疹ウイルスの病原性発現機構の解析
- (2) 麻疹ワクチンの弱毒化の分子基盤の解析
- (3) インフルエンザウイルスのイオンチャンネルの役割に関する研究
- (4) インフルエンザウイルスの膜融合と粒子形成機構に関する研究
- (5) 麻疹ウイルスの自然免疫回避機構の解析
- (6) 呼吸器パラミクソウイルスと膜型プロテアーゼに関する研究
- (7) 麻疹ウイルスとインフルエンザウイルスの上皮での増殖に関する研究

・ これまでの研究実績

1. **竹田誠、駒瀬勝啓 (2010) 世界麻疹排除計画と世界麻疹風疹実験室ネットワーク、病原微生物検出情報、31、35-36。**
2. 竹田誠、柳雄介 (2009) パラミクソウイルス科、高田賢蔵 (編) 医科ウイルス学 (改訂3版) 南江堂、342-352。
3. 竹田誠、柳雄介 (2009) 麻疹ウイルスの受容体とトロピズム、光山正雄、北潔、野本明男 (編) 感染症-ウイルス・細菌・寄生虫の感染戦略、羊土社、実験医学 27、128-134。
4. 竹田誠、柳雄介 (2009) 感染現象 麻疹ウイルスの増殖戦略、木下タロウ、熊之郷淳、竹田潔、松浦善治、川端重忠 (編) 感染現象 その理解の深化から疾患制御への展望、共同出版、蛋白質核酸酵素 54、908-912。
5. 竹田誠、柳雄介 (2009) 麻疹ウイルス感染、麻疹ウイルスの受容体と病態について、小児内科、41、976-980。
6. Takeda M, Ohno S, Tahara M, Takeuchi H, Shirogane Y, Ohmura H, Nakamura T, and Yanagi Y. (2008) Measles virus possessing the polymerase protein genes of the Edmonston vaccine strain exhibit attenuated gene expression and growth in cultured cells and SLAM-knockin mice. *J Virol.* 82. 11979-11984.
7. Takeda M (2008) Measles virus breaks through epithelial cell barriers to achieve transmission. *J Clin Invest.* 118. 2386-2389.
1. 竹田誠、柳雄介 (2008) 麻疹ウイルスに関する最近の知見：麻疹ウイルスによる受容体認識と麻疹の病態、臨床と微生物、35、11-15。
2. 竹田誠、橋口隆生、柳雄介 (2008) 麻疹ウイルスの受容体と病態、実験医学、26、2891-2896。
8. Takeda M (2008) Role of lipid microdomains in influenza virus multiplication. Cheng RH, and Miyamura T. ed. Structure-based study of viral replication. World Scientific. 43-61.
9. Takeda M, Tahara M, Hashiguchi T, Sato TA, Jinnouchi F, Ueki S, Ohno S, and Yanagi Y. (2007) A Human Lung Carcinoma Cell Line Supports Efficient Measles Virus Growth and Syncytium Formation via SLAM- and CD46-Independent Mechanism. *J Virol.* 81. 12091-12096.
3. 竹田誠 (2007) 麻疹ウイルス遺伝子操作系の確立と、複製および病原性発現の分子基盤の解析、ウイルス、57、83-90。
10. 竹田誠 (2007) オルトミクソウイルス科、吉田眞一、柳雄介、吉開泰信 (編) 戸田新細菌学 (改訂33版) 南山堂、782-792。

11. 竹田誠、柳雄介 (2007) パラミクソウイルス科、吉田眞一、柳雄介、吉開泰信 (編) 戸田新細菌学 (改訂 33 版) 南山堂、793-806。
12. 竹田誠 (2007) ラブドウイルス科、フィロウイルス科およびボルナウイルス科、吉田眞一、柳雄介、吉開泰信 (編) 戸田新細菌学 (改訂 33 版) 南山堂、807-813。
13. 竹田誠、柳雄介 (2007) コロナウイルス科、吉田眞一、柳雄介、吉開泰信 (編) 戸田新細菌学 (改訂 33 版) 南山堂、768-769。
14. 竹田誠、柳雄介 (2006) リバースジェネティクスと麻疹ウイルス、福岡医学雑誌 97、140-145
15. Takeda M, Nakatsu Y, Ohno S, Seki F, Tahara M, Hashiguchi T, and Yanagi Y. (2006) Generation of measles virus having segmented RNA genome. *J Virol.* 80. 4242-4248.
16. Takeda M, Ohno S, Seki F, Hashimoto K, Miyajima N, Takeuchi K, and Yanagi Y. (2005) Efficient rescue of measles virus from cloned cDNA using SLAM-expressing Chinese hamster ovary cells. *Virus Res.* 108. 161-165.
17. Takeda M, Ohno S, Seki F, Nakatsu Y, Tahara M, and Yanagi Y. (2005) Long untranslated regions of the measles virus M and F genes control virus replication and cytopathogenicity. *J Virol.* 79. 14346-14354.
4. 竹田誠、柳雄介 (2005) リバースジェネティクスを用いたパラミクソウイルス感染の解析、実験医学 23、2587-2594。
18. 竹田誠、柳雄介 (2005) 麻疹ウイルス、微生物感染学-新しい感染の科学-、光山正雄 (編)、202-207
19. 竹田誠 (2004) 脂質ラフトとインフルエンザウイルス -筏に乗ったウイルス膜蛋白-、ウイルス、54、9-15。
20. 竹田誠、柳雄介 (2004) 感染症とゲノム: 麻疹ウイルスのゲノム解析、ゲノム医学、4、669-673。
21. Takeda M, Leser GP, Russell CJ, and Lamb RA. (2003) Influenza virus hemagglutinin concentrates in lipid raft microdomains for efficient viral fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100. 14610-14617.
22. 竹田誠、宮嶋直子、竹内薫 (2003) 麻疹ウイルス研究のあらたな展開 -Edmonston 株分離から半世紀を経て-、医学のあゆみ、205、285-290。
23. Takeda M, Pekosz A, Shuck K, Pinto LH, and Lamb RA. (2002) Influenza A virus M2 ion channel activity is essential for efficient replication in tissue culture. *J Virol.* 76. 1391-1399.
24. Takeda M, Takeuchi K, Miyajima N, Kobune F, Ami Y, Nagata N, Suzaki Y, Nagai Y, and Tashiro M. (2000) Recovery of pathogenic measles virus from cloned cDNA. *J Virol.* 74. 6643-6647.
25. Takeda M, Sakaguchi T, Li Y, Kobune F, Kato A, and Nagai Y. (1999) The genome nucleotide sequence of a contemporary wild strain of measles virus and its comparison with the classical Edmonston strain genome. *Virology.* 256. 340-350.
26. Takeda M, Kato A, Kobune F, Sakata H, Li Y, Shioda T, Sakai Y, Asakawa M, and Nagai Y. (1998) Measles virus attenuation associated with transcriptional impediment and a few amino acid changes in the polymerase and accessory proteins. *J Virol.* 72. 8690-8696.

平成22年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：重症型のレンサ球菌・肺炎球菌感染症に対するサーベイランスの構築と病因解析，その診断・治療に関する研究

課題番号：H22-新興-一般-013

予定期間：H22年度からH24年度まで

研究代表者：生方 公子

所属研究機関：北里大学大学院感染制御科学府・北里生命科学研究所

所属部局：病原微生物分子疫学研究室

職名：教授

年次別研究費(交付決定額)：1年目 31,378,000 円

I. 研究の意義

- (1)β 溶血性レンサ球菌および肺炎球菌による侵襲性重症感染症の実態が把握されていない。
- (2)原因菌の正確な分子疫学解析がなされていない。
- (3)発症例の宿主側リスクファクターが解析されていない。
- (4)病原性発揮に関わる菌側の因子が解明されていない。
- (5)市中型重症感染症として重要なこれらの病原細菌に対する医療関係者の認識が低い。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1)全国規模で侵襲性感染症由来の肺炎球菌とβ 溶血性レンサ球菌を収集し，疫学解析を行う。
- (2)同時に発症時の患者背景因子も調査，重篤化，劇症化に至るリスクファクターを解明。
- (3)重篤化，劇症化に関わる菌側因子について，ゲノム解析，動物モデルを用いて解析する。
- (4)肺炎球菌およびβ 溶血性レンサ球菌について確立した迅速診断法の臨床応用。
- (5)Web site を立ち上げ，研究成果を広く公開，啓発活動を行なう。

III. 1年間の研究成果

・研究代表者(生方 公子)

- (1)菌株収集のためのサーベイランスシステムを構築した(参加医療機関 233 施設，現在 670 株収集)
- (2)肺炎球菌の莢膜型と薬剤耐性遺伝子解析。ワクチンカバー率と耐性菌の割合を明らかにした。
- (4)レンサ球菌はMタンパクと莢膜型(GBS), MLST 解析を行い，小児と成人の違いを明らかにした。
- (5)肺炎球菌とレンサ球菌に対して確立した迅速診断法の臨床応用を行なった。
- (6)啓発活動のための web site を作成し公開した(アクセス数は 4,000 件に達した)。

・研究分担者(高橋 孝)

- (1)ヒト CD46 発現トランスジェニックマウスへの GAS, SDSE の接種実験により，ヒト類似疾患の病態が惹起されることを明らかにした。
- (2)(都)健康長寿医療センター，(独)東京医療センターの内科と共同研究により，成人の肺炎球菌あるいは溶血レンサ球菌による侵襲性感染症について，発症例の背景因子について解析した。

・研究分担者(大石 和徳)

- (1) 研究代表者とともに肺炎球菌の疫学解析を行い，さらに成人におけるいくつかの莢膜型に対する抗体価の測定を行った。

・研究分担者(藤島 清太郎)

- (1)日本救急医学会において敗血症登録システムを完成させた。
- (2)肺炎球菌性侵襲性感染症例の死亡例では，血液凝固異常の合併例の多いことを明らかにした。

・研究分担者(坂田 宏)

(1)北海道地区の化膿性髄膜炎と重症感染症例由来肺炎球菌の莢膜型と感受性を測定した。

・研究分担者(渡邊 治雄, 阿戸 学, 池部 忠義)

(1)発現調節遺伝子 *csrS* と *rgg* 遺伝子の好中球機能に及ぼす影響と感染モデルマウスにおける病態を解析し, *csrS* 遺伝子変異の方が劇症型感染に影響が大きいことを明らかにした。

・研究分担者(秋山 徹)

(1)糖尿病モデルマウスでは溶血性レンサ球菌に対する感受性が高進しており, 強い炎症性応答の発現が関与しているであろうことを明らかにした。

IV. 23~24年度の課題

- (1)初年度の収集菌株についてさらなる分子疫学的解析を行い, 世界的な比較を行なう。
- (2)Web site で関心の極めて高い肺炎球菌, レンサ球菌情報のさらなる充実を図る。
- (3)発症例のリスクファクターについて統計解析を行い, 診断と治療のガイドラインを作成する。
- (4)リスクファクターとしての生活習慣病と易感染との関係を動物モデルにより解明する。
- (5)迅速診断のルーチン化を目指した試薬のキット化を図る。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1)医療従事者の啓発活動を通じた当該感染症のコントロール
- (2)診断と治療のためのガイドライン作成による入院期間の短縮
- (3)迅速診断試薬のキット化による早期診断法の確立を通じた入院期間の短縮
- (4)易感染状態の病態を解明することによる感染予防対策の確立

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

生方 公子(研究代表者)

1. **Takahashi T**, Sunaoshi K, Sunakawa K, **Fujishima S**, **Watanabe H**, and **Ubukata K**.: Clinical aspects of invasive infections with *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* in Japan: differences with respect to *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae*. *Clin Microbiol Infect.* **2010**; **16**:1097-1103
2. Matsui H, Sekiya Y, **Takahashi T**, Nakamura M, Imanishi K, Yoshida H, Imanishi K, Murayama SY, Takahashi T, Tsuchimoto K, Uchiyama T, **Ubukata K**.: Dermal mast cells reduce progressive tissue necrosis caused by subcutaneous infection with *Streptococcus pyogenes* in mice. *J Med. Microbiol.* DOI 10.1099/jmm.0.020495-0, **2010**.
3. Yamaoka S, Ogihara T, Yasui M, Hasegawa M, Hira S, Oue S, **Ubukata K**, **Watanabe H**, and **Takahashi T**.: Neonatal Streptococcal Toxic Shock Syndrome Caused by *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. *Pediatr Infect Dis J.* **2010**; **29**: 979-981.
4. Chiba N, Morozumi M, Sunaoshi K, Takahashi S, Takano M, Komori T, Sunakawa K, **Ubukata K**, and the IPD surveillance Study Group: Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. *Epidemiol Infect.* **2010**; **138**:61-8.
5. **Takahashi T**, **Ubukata K**, and **Watanabe H**.: Invasive infection caused by *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*: Characteristics of strains and clinical features. *Review Article, J Infect Chemother.* (in press), **2010**
6. **生方 公子**.: 侵襲性β溶血性レンサ球菌感染症 —患者背景と分離菌の分子疫学的特徴—. *感染症(総説)*, **2010**; **40**:121-133.
7. 川口 亮, 松尾 啓左, **生方 公子**.: 血液培養から分離されたフルオロキノロン高度耐性のムコイド型 *Streptococcus pyogenes* の耐性遺伝子解析. *日本臨床微生物学雑誌*, **2010**; **20** : 138-142

高橋 孝(研究分担者)

1. **Takahashi T**, Sunaoshi K, Sunakawa K, **Fujishima S**, **Watanabe H**, and **Ubukata K**.: Clinical aspects of invasive infections with *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* in Japan: differences with respect to *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae*. *Clin Microbiol Infect.* **2010**; **16**:1097-1103
2. **Takahashi T**, Asami R, Tanabe K, Hirono Y, Nozawa Y, Chiba N, and Ubukata K.: Clinical aspects of invasive infection in elderly patients with *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. *J Infect Chemother.* **2010**; **16**: 68-71.

3. Sakai F, Chiba N, Ono A, Murayama SY, Ubukata K, Sunakawa K, and **Takahashi T.**: Molecular epidemiologic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with meningitis in Japan from 2007 through 2009. *J Infect Chemother.* **2010**; DOI: 10.1007/s10156-010-0180-3.
4. 浅見 諒子, 岡田 圭祐, 千葉 菜穂子, 生方 公子, **高橋 孝**: 成人の血液培養由来β溶血性レンサ球菌の疫学的性状と発症例における背景因子の特徴. 日感染学誌. 2010; 84: 285-291.

藤島 清太郎(研究分担者)

1. **藤島清太郎**:敗血症に対する低用量ステロイド長期投与:本メタアナリシスの意義. MMJ **2010**;6:31
2. 多村知剛, **藤島清太郎**. Sepsisの細菌学的診断. 救急医学 **2010**;34:267-73
3. **藤島清太郎**. *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* 感染症. 化学療法の領域. **2010**;26:1622-30.
4. **藤島清太郎**, 関根和彦, 林田敬, 宮木大, 葉季久雄, 佐々木淳一, 相川直樹, 堀進悟:重症患者 lipopolysaccharide (LPS) 高感受性機序の解明:IL-18の免疫修飾作用. (Ed. 池田寿昭, 谷徹, 嶋田紘) エンドトキシン研究 13. 東京: 医学図書出版: **2010**. p4145

大石 和徳(分担研究者)

1. Champunot R, Tanjatham S, Kerdsin A, Parichart Puangpatra P, Wangsai S, Treebuphachatsakul P, Tasnuphaswasdikul S, Kiatvitchukul C, Kasyanan H, Yimsabai J, Akeda Y, Kawakami K, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S, **Oishi K.**: Impact of severity of pandemic influenza (H1N1) virus-associated community-acquired pneumonia among adults in a tertiary hospital in Thailand. *Jap J Infect Dis.* **2010**;63:251-256.
2. Fukuyama Y, King JD, Kataoka K, Kobayashi R, Gilbert RS, **Oishi K**, Hollingshead SK, Briles DE, Fujihashi K. Secretory IgA antibodies play an important role in the immunity to *Streptococcus pneumoniae*. *J Immunol.* **2010**;185:1755-1762.
3. Kawakami K, Ohkusa Y, Kuroki R, Tanaka T, Koyama K, Harada Y, Iwanaga K, Yamaryo T, **Oishi K.** : Effectiveness of pneumococcal polysaccharide vaccine against pneumonia and cost analysis for the elderly who receive seasonal influenza vaccine in Japan. *Vaccine.* **2010**;28:7063-7069.

坂田 宏(研究分担者)

1. **Sakata H**, Sato Y, Nonoyama M, Haruta T, Ouchi K, Yamaguchi S, Sunakawa K.: Results of a multicenter survey of diagnosis and treatment for bacterial meningitis in Japan. *J Infect Chemother.* **2010 (in press)**

渡邊 治雄, 阿戸 学, 池部 忠義(研究分担者)

1. **Ikebe T, Ato M**, Matsumura T, Hasegawa H, Sata T, Kobayashi K, **Watanabe H**. Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates. *PLoS Pathog.* 2010;6: e1000832.
2. **Ikebe T**, Wada A, Oguro Y, Ogata K, Katsukawa C, Isobe J, Shima T, Suzuki R, Ohya H, Tominaga K, Okuno R, Uchitani Y, **Watanabe H**, The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan.: Emergence of clindamycin-resistant *Streptococcus pyogenes* isolates obtained from patients with severe invasive infections in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2010;63: 304-305.
3. **Ikebe T**, Oguro Y, Ogata K, Katsukawa C, Isobe J, Shima T, Suzuki R, Ohya H, Tominaga K, Okuno R, Uchitani Y, Tada Y, Okabe N, **Watanabe H**, The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan. Surveillance of severe invasive group G streptococcal infections during 2002–2008 in Japan. *Jpn J Infect Dis.* **2010**;63: 372-375.
4. Yamada T, Yamada T, Yamamura MK, Katabami K, Hayakawa M, Tomaru U, Shimada S, Morikawa M, Seki T, Ariga S, Ishikawa K, **Ikebe T**, Gando S, Minakami H. Invasive group A streptococcal infection in pregnancy. *J Infect.* **2010**; 60: 417-424.
5. **池辺忠義**. 劇症型溶血性連鎖球菌感染症の病原因子. 化学療法の領域 医薬ジャーナル社.2010; 26: 1601-1607.

松井 英則(研究協力者)

1. **Matsui H**, Sekiya Y, Takahashi T, Nakamura M, Imanishi K, Yoshida, H Murayama SY, **Takahashi T**, Tsuchimoto K, Uchiyama T, and Ubukata K.: Dermal mast cells reduce progressive tissue necrosis caused by subcutaneous infection with *Streptococcus pyogenes* in mice. *J Med Microbiol* 2010;DOI: 10.1099/jmm.0.020495-0.

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

研究組織

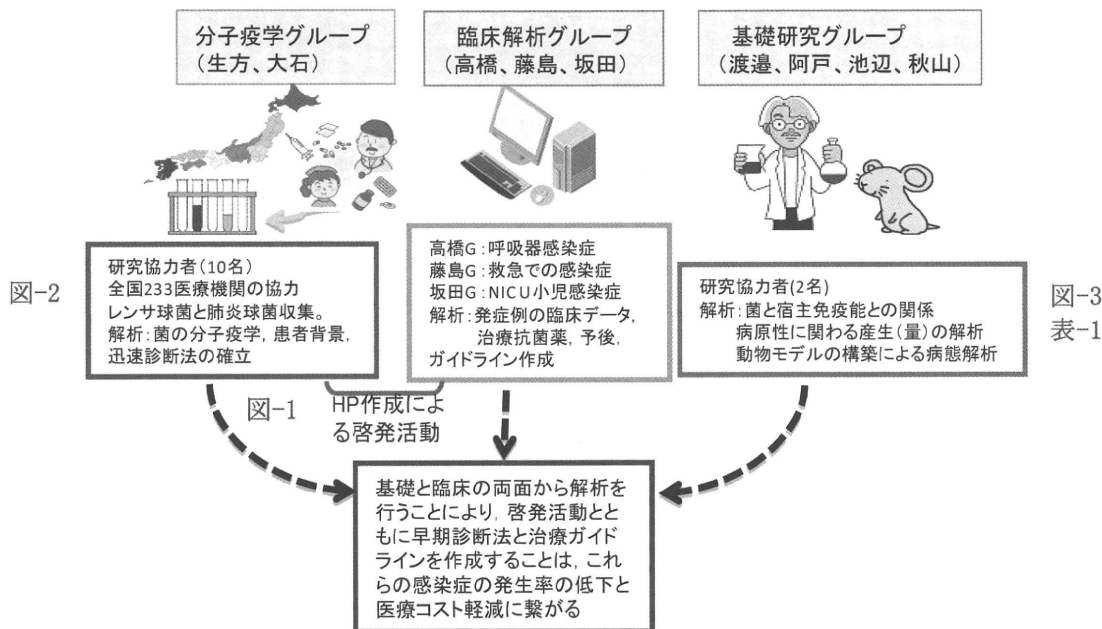
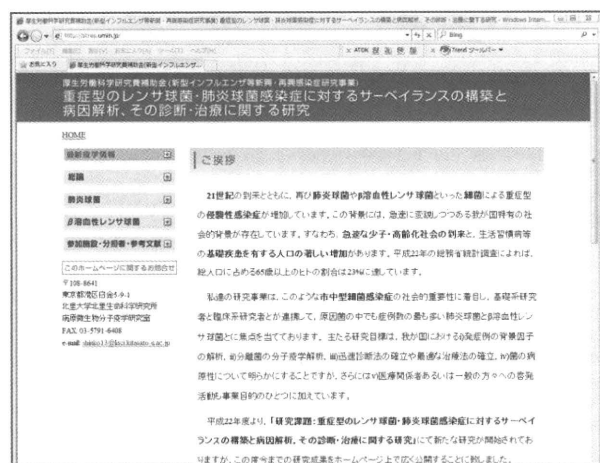


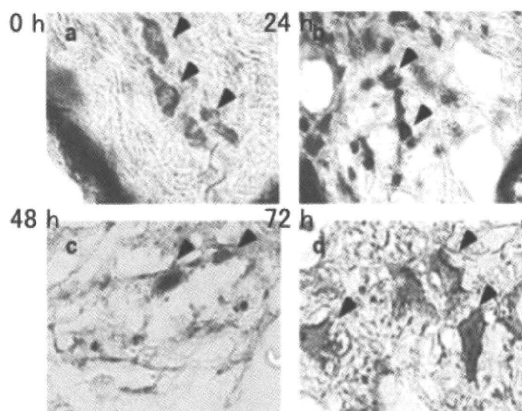
図-1. 啓発活動(<http://strep.umin.jp/>)



2ヶ月間のアクセス数は4,000名

図-3. ヒトCD46トランスジェニックマウス実験.

GASを 10^7 CFU footpadに感染後の皮膚切片のトルイジンブルー染色図. 時間経過と共に肥満細胞の脱顆粒が認められる。



J Med Microbiol. 2011年1月号の表紙に採用される(Matsui H. et al)

図-2. 収集株の内訳と症例の年齢分布

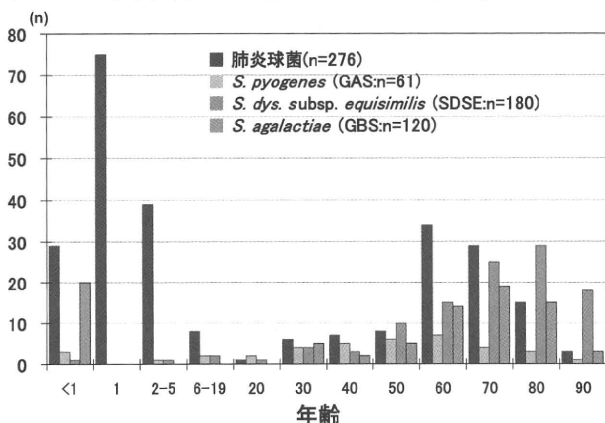


表-1 GAS, SDSE(ヒトとブタ由来)の病原因子比較

機能	産物	遺伝子	GAS RE378	L1
付着因子	Fibronectin binding protein	<i>fbp</i>	+	+
	Laminin binding protein	<i>lmb</i>	+	+
	M protein	<i>emm</i>	+	+
	Streptococcal C5a peptidase A	<i>scpA</i>	+	-
免疫抵抗	Streptokinase A	<i>ska</i>	+	-
	Streptolysin O	<i>slo</i>	+	+
毒素	Streptolysin S	<i>sag</i>	+	+
	M protein transacting positive regulation	<i>mga(g)</i>	+	+
調節因子	Two-component regulatory system	<i>covR/S</i>	+	+
	付着因子	Hyaluronate synthetase	<i>hasA, B</i>	+
免疫抵抗	Erythrogenic toxin B	<i>speB</i>	+	-
	Inhibitor of complement mediated lysis	<i>sic</i>	+	-
スーパー抗原	Erythrogenic toxin I	<i>speI</i>	+	-
	Erythrogenic toxin H	<i>speH</i>	+	-
	Streptococcal pyrogenic exotoxin type G	<i>speG</i>	+	-
調節因子	SpeB protease transcription regulator	<i>ropB</i>	+	-

RE 378はヒト劇症型由来SDSE株, L1はブタ感染症由来SDSE株, +: 70%以上の相同性

●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

- ・昭和43年4月 東京大学医学部附属病院分院小児科細菌研究室
- ・昭和46年7月 帝京大学医学部小児科細菌研究室
- ・昭和56年4月 同 臨床病理学
- ・平成10年4月 (財)微生物化学研究所
- ・平成14年4月～ 北里大学大学院感染制御科学府・北里生命科学研究所

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- ・紺野 昌俊 (帝京大学医学部名誉教授)
- ・藤井 良知 (帝京大学医学部名誉教授)
- ・松橋 通生 (元東京大学応用微生物研究所教授)
- ・杉村 隆 (国立がんセンター名誉院長)
- ・岩田 敏 (慶應大学医学部感染制御センター 教授)

・主な研究課題

- ・MRSAの耐性遺伝子(*mecA*)の解析と当該菌による院内感染対策
- ・ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)に対する全国規模の分子疫学解析と耐性機構の解析
- ・β溶血性レンサ球菌, インフルエンザ菌, マイコプラズマ菌等の耐性機構の解析と疫学解析
- ・Real-time PCR法によるpdm(H1N1)を含む気道系ウイルスと細菌の網羅的迅速診断法の確立

・これまでの研究実績

1. ガイドライン

- ・細菌性髄膜炎の診療ガイドライン(日本神経治療学会・日本神経学会・日本神経感染症学会) 医学書院 2007年4月

2. 論文

- 1) **Takahashi T, Ubukata K, and Watanabe H: Invasive infection caused by *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*: Characteristics of strains and clinical features. Review Article, *J Infect Chemother.* 2010; DOI 10.1007/s10156-010-0084-2. (in press)**
- 2) **生方 公子: 侵襲性β溶血性レンサ球菌感染症 ー患者背景と分離菌の分子疫学的特徴ー. *感染症(総説)*, 2010; 40:121-133.**
- 3) **Takahashi T, Sunaoshi K, Sunakawa K, Fujishima S, Watanabe H, and Ubukata K.: Clinical aspects of invasive infections with *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* in Japan: differences with respect to *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae*. *Clin Microbiol Infect.* 2010; 16:1097-1103**
- 4) **Matsui H, Sekiya Y, Takahashi T, Nakamura M, Imanishi K, Yoshida H, Imanishi K, Murayama SY, Takahashi T, Tsuchimoto K, Uchiyama T, Ubukata K.: Dermal mast cells reduce progressive tissue necrosis caused by subcutaneous infection with *Streptococcus pyogenes* in mice. *J Med. Microbiol.* 2010; DOI 10.1099/jmm.0.020495-0.**
- 5) Okada T, Morozumi M, Matsubara K, Komiyama O, **Ubukata K**, Takahashi T, Iwata S.: Characteristic findings of pediatric inpatients with pandemic(H1N1) 2009 virus infection among severe and nonsevere illnesses. 2010; DOI 10.1007/s10156-010-0115-z
- 6) Kishii K, Chiba N, Morozumi M, Hamano-Hasegawa K, Kurokawa I, Masaki J, and **Ubukata K.:** Diverse mutations in the *ftsI* gene in ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric patients with acute otitis media. *J Infect Chemother.* 2010; 16: 87-93.
- 7) Morozumi M, Takahashi T, and **Ubukata K.:** Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*: characteristics of isolates and clinical aspects of community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother.* 2010; 16: 78-86.

- 8) Hasegawa M, Okada T, Sakata H, Nakayama E, Fuchigami T, Inamo Y, Mugishima H, Tajima T, Iwata S, Morozumi M, **Ubukata K**, Watanabe H, and Takahashi T.: Clinical aspects of pandemic influenza-associated pneumonia with or without complications in Japanese Children. *Emerging Infectious Diseases*. (in press) **2010**
- 9) 千葉 菜穂子, 生方 公子: 多剤耐性肺炎球菌. *臨床検査*. 2010; 54: 489-495.
- 10) Yamaoka S, Ogihara T, Yasui M, Hasegawa M, Hira S, Oue S, **Ubukata K**, Watanabe H, and Takahashi T: Neonatal Streptococcal Toxic Shock Syndrome Caused by *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29: 979-981.
- 11) Chiba N, Morozumi M, Sunaoshi K, Takahashi S, Takano M, Komori T, Sunakawa K, **Ubukata K**, and the IPD surveillance Study Group: Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. *Epidemiol Infect*. 2010; 138:61-8.
- 12) 高橋 孝, 生方 公子: レンサ球菌の分子疫学. *化学療法の領域* 2010; 26:1-10.
- 13) 川口 亮, 松尾 啓左, 生方 公子: 血液培養から分離されたフルオロキノロン高度耐性のムコイド型 *Streptococcus pyogenes* の耐性遺伝子解析. *日本臨床微生物学雑誌*, 2010;20: 138-142.
- 14) Sakai F, Chiba N, Ono A, Murayama SY, **Ubukata K**, Sunakawa K, and Takahashi T.: Molecular epidemiologic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with meningitis in Japan from 2007 through 2009. *J Infect Chemother*. (in press), 2010
- 15) Hasegawa M, Hashimoto K, Morozumi M, **Ubukata K**, Takahashi T, and Inamo Y. : Spontaneous pneumomediastinum complicated by pneumonia in children infected with 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus. *Clin Microbiol Infect*. 2010; 16: 195-199.
- 16) Hasegawa M, Inamo Y, Fuchigami T, Hashimoto K, Morozumi M, Takahashi T, Watanabe H, and **Ubukata K**.: Bronchial Casts due to 2009 Pandemic Influenza A(H1N1). *Emerging Infectious Diseases*. 2010;16:344-346.
- 17) Yoshino M, Murayama SY, Sunaoshi K, Wajima T, Takahashi M, Masaki J, Kurokawa I, and **Ubukata K**.: Nonhemolytic *Streptococcus pyogenes* isolates that lack large regions of the sag operon mediating streptolysin S production. *J Clin Microbiol*. 2010; 48: 635-638.
- 18) Takahashi T, Asami R, Tanabe K, Hirono Y, Nozawa Y, Chiba N, and **Ubukata K**. Clinical aspects of invasive infection with *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* in elderly patients. *J Infect Chemother*. 2010 ; 16: 68-71.
- 19) Matsui H, Sekiya Y, Nakamura M, Murayama SY, Yoshida H, Takahashi T, Imanishi K, Tsuchimoto K, Uchiyama T, Sunakawa K, **Ubukata K**.: CD46 Transgenic Mouse Model of Necrotizing Fasciitis Caused by *Streptococcus pyogenes* Infection. *Infect Immun*. 2009; 11: 4806-4814.
- 20) Murayama SY, Seki C, Sakata H, Sunaoshi K, Nakayama E, Iwata S, Sunakawa K, **Ubukata K**. and the Invasive Streptococcal Disease Working Group: Capsular type and antibiotic resistance in *Streptococcus agalactiae* isolates from patients, ranging from Newborns to the Elderly, with invasive infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53: 2650-2653.
- 21) Sunaoshi K, Murayama SY, Adachi K, Yagoshi M, Okuzumi K, Chiba N, Morozumi M, **Ubukata K**.: Molecular emm genotyping and antibiotic susceptibility of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* isolated from invasive and noninvasive infections. *J Med Microbiol*. 2009, 59: 82-88.
- 22) Chiba N, Murayama SY, Morozumi M, Nakayama E, Okada T, Iwata S, Sunakawa K, and **Ubukata K**.: Rapid detection of causative eight pathogens for diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR. *J Infect Chemother*. 2009; 15: 92-98.
- 23) Takahashi T, Morozumi M, Chiba N, Asami R, Kishii K, Murayama SY, and **Ubukata K**.: Co-infection with respiratory Syncytial Virus Subgroup A and *Streptococcus pneumoniae* detected by a comprehensive real-time polymerase chain reaction assay in an elderly patient with community-acquired pneumonia. *J American Geriatr Society*. 2009; 9: 1711-1713.
- 24) Isozumi R, Yoshimine H, Morozumi M, **Ubukata K**, and Ariyoshi K.: Adult community-acquired pneumonia caused by macrolide resistant *Mycoplasma pneumoniae*. *Respirology*. 2009; 8: 1206-1208.
- 25) 生方 公子: 我が国における細菌性髄膜炎の現況とその迅速診断の必要性. *神経内科学会誌*, 2009; 14:1-8.

- 26) 生方 公子 : 感染症の原因微生物別に小児感染症を考える. β 溶血性レンサ球菌. 化学療法の領域 2009; 25: 142-148.
- 27) 生方 公子 : 世界標準にはるかに及ばない我が国の予防接種体制. 肺炎球菌ワクチン. 日本医師会雑誌 2009; 4: 715-718.
- 28) Ubukata K.: Simultaneous and rapid detection of causative pathogens in community-acquired pneumonia by real-time PCR. Japan Medical Association Journal. 2008; 1: 46-50.
- 29) Wajima T, Murayama SY, Sunaoshi K, Nakayama E, Sunakawa K, and Ubukata K.: Distribution of emm type and antibiotic susceptibility of group A streptococci causing invasive and noninvasive diseases. J Med Microbiol. 2008; 57: 1383-1388.
- 30) 諸角 美由紀, 生方 公子 : リアルタイム PCR 法の原理と呼吸器感染症原因菌の網羅的検索への応用. Medical Technology. 2008;36: 1071-1077.
- 31) 生方 公子 : 呼吸器感染症原因微生物の遺伝子迅速診断. 日本胸部臨床. 2008; 67: 266-271.
- 32) 砂押 克彦, 生方 公子 : Streptococcus equisimilis 感染症. 総合臨床. 2008; 57: 2686-2691.

平成 22 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：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

課題番号：H22-新興-一般-014

予定期間：H22 年度から H24 年度まで

研究代表者：河内 正治

所属研究機関：国立国際医療研究センター

所属部局：手術部

職名：部長

年次別研究費(交付決定額)：1 年目 45,500,000 円

I. 研究の意義

- (1) 高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)は 80%に達する高い死亡率が特徴であり、高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)を含むインフルエンザの重症化要因である ARDS の病態解明と診断/治療法の開発は、パンデミックを考えると緊急を要する重大な社会的要請である。
- (2) 高病原性鳥インフルエンザヒト感染について、疫学/病理学/免疫学的側面から病態と実態を解析し、診断/治療ガイドラインを作成してその本態と治療法を社会に提言する。
- (3) 複数の国と国際医療共同研究を推進する。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 複数病院(ベトナム国：ハノイ国立小児病院、ハノイ国立熱帯感染症研究所、インドネシア国：Prof. Dr. Sulianti-Saroso Infectious Disease Hospital, Jakarta)と連携して高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)によって誘発するインフルエンザの重症化因子である ARDS 病態(H5N1-FARDS)を明らかにし、その治療法の方向性を決定する。
- (2) H5N1 インフルエンザによる劇症 ARDS(H5N1-FARDS)の病態解明、および臨床経過を知るため一般の ARDS の病態比較を先行的研究として行ない、臨床/病理学/免疫学的等の解析を行なう。
- (3) 既存の ARDS に対する治療法に加えて、上記研究より得られた知見を H5N1-FARDS の患者に応用する治療をハノイ国立小児病院などに対して提案し、共同で治療を行ない治療の方向性を得る。
- (4) AH1N1pdm より病原性の高い鳥インフルエンザに対する有用性の高いガイドラインの作成。
- (5) 現場における迅速診断法と簡便で迅速な高感度な核酸検査法の確立。このことにより高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)の疫学的な実態調査を可能にする。また早期発見が可能となり、死亡率の低減が期待できる。
- (6) 高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)患者試料から酸化ストレスマーカーなど特定マーカーとなる因子を抽出する。
- (7) 病理学的解析によるインフルエンザウイルス感染症の死亡原因が把握と治療効果が判定。
- (8) 動物モデルにて、発症病態におけるキ分子的抽出と診断・治療への応用の可能性を探索。
- (9) インフルエンザ脳症についての新たな知見と発生機序の解明への手がかりを獲得する。

III. 1 年間の研究成果

・ 研究代表者

- (1) 高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)重症化因子である ARDS (H5N1-FARDS) の病態解明と診断/治療法の開発を目的とした先行的臨床共同研究をベトナム国：ハノイ国立小児病院と新たに継続した。
- (2) 上記に基づきハノイ国立小児病院に入院した 2010 年 4 月からの全重症 ARDS 症例の Data を得た。
- (3) 高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)迅速診断キットをマイクロマト法にて研究開発し、昨年度に治験が終了した AH1pdm 用の迅速診断キットと併せて ILI(Influenza like illness)の鑑別診断が可能になった。
- (4) ベトナム国：ハノイ国立熱帯感染症研究所に対して、我々が研究開発した高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)迅速診断キットを用いた疫学的研究計画を提案し大筋の合意を得た。
- (5) インドネシア国の感染症疾患の中心病院である Prof. DR. Sulianti Saroso Infectious Disease Hospital (Jakarta, Indonesia) と、今後の共同研究について現地にて協議し研究計画書を提案した。

・ 研究分担者

- (布井博幸) 1) 血清 cytochrome c 測定結果からこの疾患は肺に局限した疾患であることが判明。

- (本間 栄) 2) ベトナムの ARDS 患者 KL-6 が異常高値で、違う病態を反映している可能性がある。
1) ARDS における検査法として、病態把握と予後の推定に SP-D 測定の有用性が示唆。
- (鈴木和男) 2) 新規治療法として、低容量換気(HFOV)は ARDS の肺保護換気として有効であった。
15 員環系マクロライド薬(AZM)の予防投与で人工呼吸器関連肺炎発症率が有意に低下。
- (山本健二) 1) ベトナム (ハoi) 国立小児病院にて H5N1 インフルエンザ感染の劇症型肺炎にかかわる因子を解析し、サイトカイン IL-12p40 および TNF レセプター 2(TNFR2)が挙げられた。また、好中球ライゾチーム酵素 Myeloperoxidase (MPO)の活性上昇が認められた。(JI、印刷中)
2) H1N1 感染劇症型肺炎モデルに新規マクロライド系投与で延命効果などが得られた。
3) 以上から、H5N1 インフルエンザによって感染誘導される劇症型肺炎の誘導因子の推定と、治療薬候補に対する H1N1 インフルエンザ感染劇症型肺炎モデルの有効性が確認できた。
- (大島正道) 1) 正常マウスに BAL(気管支細胞洗浄)を行い得られた細胞は、ほとんどが肺胞マクロファージであった。このマクロファージを採集した方法で、びまん性肺胞障害の非感染性マウスの分析法を開発した。現在正常マウスと疾患モデルマウスの比較について検討している。
- (川上和義) 1) ヒト気管支由来細胞と肺胞由来細胞において遺伝子誘導発現の系を作製した。
2) ジーンチップの実験から得たウイルス感染抵抗性遺伝子候補について抵抗性を検討した。
3) 遺伝子 MxA 誘導発現系細胞で、MxA 誘導時にウイルス感染を抑制することを確認。
- (赤池孝章) 1) LPS 誘発劇症型 ARDS モデルマウスを用いて I 型インターフェロンの治療効果を確認した。
2) インフルエンザウイルス感染肺から血行性に脳に播種するモデルマウスを作製した。
- (中島典子) 1) インフルエンザウイルス感染を伴う ARDS 症例において高い 3-NT レベルを示した割合は 37.5%と高かった(感染を伴わない ARDS 症例 (14.6%)、非 ARDS 症例 (0.0%))。
2) 3-NT レベルは、生存例で死亡例より高く、多臓器不全がない症例にてより高い。
- (影山 努) 1) 2009 年 H1N1 パンデミックインフルエンザ感染症 20 例の剖検症例解析から、パンデミックインフルエンザが肺胞上皮細胞に感染し、ウイルス性肺炎で死亡する例があることが判明した。
2) インフルエンザウイルスは quasispecies を形成しヒト体内で感染増殖することがウイルス RNA 遺伝子解析で判明。気管と肺胞では major クローンが異なっていた。
- 1) RT-LAMP 法による高病原性鳥インフルエンザ (H5N1)の検出系の評価から、Clade 1, 2.1, 2.2, 2.3 の抗原性の異なる株も高感度かつ特異的に検出できる事を確認した。
2) コンタミネーションによる偽陽性のリスクを最小限にするための乾燥化試薬の導入と、検体からの RNA 精製を不要とする核酸抽出試薬の導入を試みた。

IV. 23~24 年度の課題

- 海外の複数病院 (ベトナム国:ハoi国立小児病院、ハoi国立熱帯感染症研究所、インドネシア国: Prof. Dr. Sulianti-Saroso Infectious Disease Hospital, Jakarta) と連携して高病原性鳥インフルエンザ (H5N1)によって誘発するインフルエンザの重症化因子である ARDS 病態 (H5N1-FARDS) を明らかにし、その治療法の方向性を決定する共同研究を推進する。
- 現場における迅速診断法と簡便で迅速な高感度な核酸検査法の確立。このことにより高病原性鳥インフルエンザ (H5N1)の疫学的な実態調査を可能にし、早期発見/死亡率低減をもたらす。
- AH1N1pdm より病原性の高い鳥インフルエンザに対する有用性の高いガトラーインを研究班の成果をもとに作成し、インフルエンザの重症化因子である ARDS 病態 (HH5N1-FARDS) 治療に役立てる。
- ARDS/FARDS 患者の一般的治療と重症化時の有効な治療法(薬剤/呼吸管理)開発(PCPS 等)。
- ARDS/FARDS 患者の血中および喀痰中 cytochrome c と KL-6 異常高値の意義付け。
- H5N1-FARDS 等のインフルエンザ感染による ARDS 劇症化のメカニズムを追求する。特に病理検体から遺伝子解析を含めたさらなる免疫病理学的な解析/解明が必要。
- 開発した劇症型 ARDS モデルを使って肺感染からウイルス血症及び脳症へ至る免疫機序を解析。
- インフルエンザウイルス感染後の重症 ARDS 症例におけるサイトカイン・および新たなバイオマーカーの開発。
- 簡便となった RT-LAMP 法(Direct RT-LAMP 法)による高病原性鳥インフルエンザ (H5N1)の検出系による国外の流行地での診断活用。さらに操作性の改良を加え、コンタミネーションリスクが少ない検出系を開発。
- 新しい酸化ストレスバイオマーカー 8-ヒドロキシ-dGMP とその関連化合物の臨床応用。

V. 行政施策への貢献の可能性

- 高病原性鳥インフルエンザなどによる ARDS/FARDS 患者対策の診断/治療ガイドライン作成。
- ベトナム・インドネシアとの連携により新型インフルエンザのターゲットの一つであるインフルエンザ (H5N1)の臨床病態の把握が可能になり、パンデミック発生時のシミュレーションに役立つ。また、予想される病態、治療などの対策を予想するデータとして貴重な社会的成果を貢献できる。
- 迅速キットなどを用いたインフルエンザ (AH1pdm, H5N1)の疫学的研究は、新型インフルエンザの対策として大きな社会的貢献となり、迅速診断法の確立と新たな治療法の提案ができる。

- (4) 海外での高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)の流行状況やその性状を正確に把握する事ができるため、国内および海外での感染症対策に寄与できる。
- (5) 酸化ストレスバイオマーカーの確立が、インフルエンザウイルス感染に伴う劇症型 ARDS がトリアン策定の一助となる。
- (6) 病理解剖組織の解析によって正確な死亡原因がわかり、治療の効果・副作用を判明できる。
- (7) インフルエンザ(H5N1)を含むインフルエンザ脳症について、新たな知見と発生機序の解明への手がかりを獲得できる可能性がある。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) Thuy T. B. Phung, San T. Luong, Shoji Kawachi, Hiroyuki Nunoi, Liem T. Nguyen, Toshinori Nakayama, Kazuo Suzuki. Key Factors Cytokines and Myeloperoxidase (MPO) in Vietnamese Children with Acute Respiratory Distress Syndrome induced with Avian Influenza (H5N1) Infection. J. Infection, in press.
- (2) Hidenori YASUDA, Nobuaki YOSHIZAWA, Masaaki MATSUMOTO, Shoji KAWACHI, Kazuo SUZUKI. Transmission of Pandemic H1N1 Influenza in Japan in 2009: Simulated Measures and Post-Analysis. Proceedings of Applied Mathematics International Conference 2010 (AMIC2010) & The 6th EASIAM Conference 110-116, 2010.
- (3) 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, May 2010. (DOI: 10.1007/s12199-010-0158-x)
- (4) 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
- (5) Inoue Y, Aizaki H, Hara H, Matsuda M, Ando T, Shimoji T, Murakami K, Masaki T, Shoji I, Homma S, Matsuura Y, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T: Chaperonin TRiC/CCT participates in replication of hepatitis C virus genome via interaction with the viral NS5B protein. Virology, in press 2010
- (6) Sakamoto S, Homma S, Mun M, Kurosaki A, Fujii T, Yoshimura K: Acute exacerbation of idiopathic interstitial pneumonias following lung surgery. Intern Med, in press, 2010
- (7) T. Aoyagi, N. Yamamoto, M. Hatta, D. Tanno, A. Miyazato, K. Ishii, K. Suzuki, T. Nakayama, M. Taniguchi, H. Kunishima, Y. Hirakata, M. Kaku, K. Kawakami. Activation of pulmonary invariant NKT cells lead to exacerbation of acute lung injury caused by lipopolysaccharide through local production of IFN- γ and TNF- α by Gr-1⁺ monocytes. International Immunol. in press, 2010.
- (8) H. Yasuda, K. Suzuki. Measures against transmission of pandemic H1N1 influenza in Japan in 2009: simulation model. Euro Surveill. 2009;14: 12-18.
- (9) 石井茂樹, 長田直人, 澤大介, 木下真理子, 今村秀明, 池田俊郎, 水上智之, 江川久子, 布井博幸. 急性呼吸窮迫症候群を合併したインフルエンザ脳症の1例. 日本小児科学会雑誌 2009; 113: 717-721.
- (10) Y. Osaki, Y. Maehara, M. Sato, A. Hoshino, K. Yamamoto, T. Nagao, K. Suzuki, S. Kawachi. Analysis of cytokines in broncho-alveolar lavage fluids of patients with ARDS: Increase of IL-6, G-CSF, MCP-1, MIP-1 β . JJSICM(Journal of Japanese Society of Intensive Care Med 2010; 17:179-184.
- (11) 2010年10月14日第14回国際学会記事欄「～H5N1インフルエンザ感染小児～サイトカイン産生やMPO活性上昇が致死的ARDS増加に寄与する可能性」Medical Tribune」43巻41号p13
- (12) Aoyagi T, Yamamoto N, Hatta 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 lead to exacerbation of acute lung injury caused by lipopolysaccharide through local production of IFN- γ and TNF- α by Gr-1⁺ monocytes. Int. Immunol., in press.
- (13) Okamoto T, Khan S, Oyama K, Fujii S, Sawa T, and Akaike T. A new paradigm for antimicrobial host defense mediated by a nitrated cyclic nucleotide. J Clin Biochem Nutr. 46: 14-9. 2010.
- (14) Fujii S, Sawa T, Ihara H, Tong KI, Ida T, Okamoto T, Ahmed KA, Ishima Y, Motohashi H, Yamamoto M, and Akaike T. 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.
- (15) Akaike T, Fujii S, Sawa T, and Ihara H. Cell signaling mediated by nitrated cyclic guanine nucleotide. Nitric Oxide. 23: 166-174.2010.
- (16) 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. 他7編。

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

