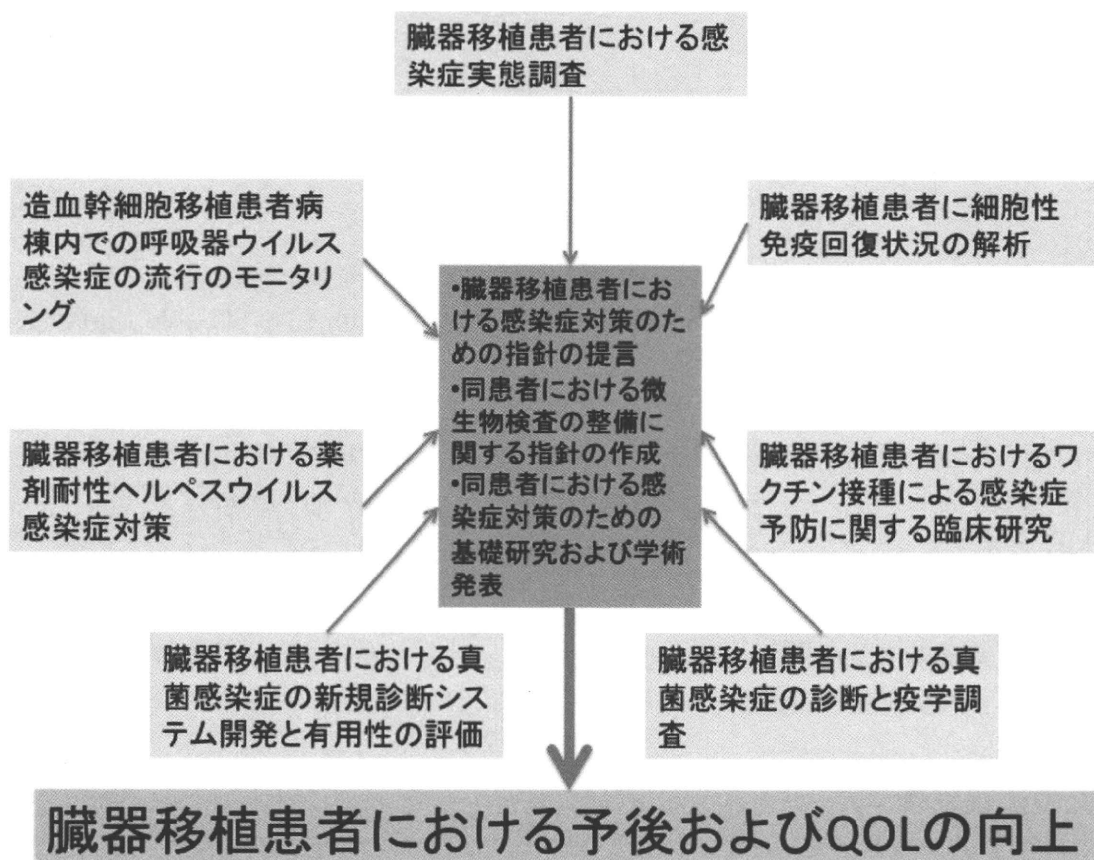


## Ⅶ. Ⅲ(2 年間の研究成果)の概要図等

※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。



### ●研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

#### ・過去に所属した研究機関の履歴

申請者(西條)は、S62年からH09年まで旭川医科大学小児科(吉岡一教授、奥野晃正教授に師事)にて小児の感染症および悪性腫瘍(骨髄移植を含む)患者の治療に従事した。また、医学部卒業後、感染症学の研究(特にウイルス感染症)に従事している。ヘルペスウイルス感染症の研究においては、悪性腫瘍患者や免疫不全患者における単純ヘルペスウイルス感染症の病態解析、薬剤耐性ヘルペスウイルス感染症、治療法の開発と評価、等の研究を行っている。H09年からは国立感染症研究所ウイルス第一部(倉根一郎現副所長、森川茂室長に師事)に所属し、新興ウイルス感染症の診断法開発、疫学、基礎ウイルス学の研究にも従事している。最近では、免疫不全患者で問題となるJCウイルスによる進行性多巣性白質脳症の研究にも従事している。平成19年度旭川医科大学同窓会第7回学術奨励賞を受賞した。H22年10月1日付で、国立感染症研究所ウイルス第一部長に就任した。

#### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

旭川医科大学小児科学教授 吉岡一

同教授 奥野晃正

同助教授 藤田晃三

旭川医科大学微生物学教授 東匡伸

同助手(現、福島県立医科大学微生物学教授) 錫谷達夫

元国立仙台病院ウイルスセンター長 沼崎義夫

国立感染症研究所ウイルスセンター長 田代真人

国立感染症研究所副所長 倉根一郎

国立感染症研究所ウイルス第一部第一室室長森川茂

CJ Peters, former Director of the Special Pathogens Branch, US CDC, Atlanta, USA

### ・ 主な研究課題

- (1) 小児呼吸器ウイルス感染症の疫学
- (2) 抗ウイルス薬に関する研究：特に薬剤耐性単純ヘルペスウイルス感染症の診断、治療および病態に関する研究
- (3) 出血熱ウイルス感染症を含む新興・再興ウイルス感染症に関する研究
- (4) 天然痘ワクチンに関する研究
- (5) 神経ウイルス感染症に関する研究

### ・ これまでの研究実績

※本研究の成果以外の実績も記載してください。

(成果概要VIと重複するものや本研究成果によるものは、**太字・斜体**文字で記載してください)

※発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、知的財産権の取得及び申請状況、研究課題の実施を通じた政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)のうち、主なものを選択し、直近年度から順に記載してください。

- (1) Saijo M, Morikawa S, Kurane I. Recent progress in the treatment of Crimean–Congo hemorrhagic fever and future perspectives. *Future Virology* 5(6): 801-809, 2010
- (2) Nakayama E, Yokoyama A, Miyamoto H, Igarashi M, Kishida N, Matsuno K, Marzi A, Feldmann H, Ito K, Saijo M, Takada A. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of filovirus species-specific antibodies. *Clin Vaccine Immunol* 17(11):1723-8, 2010
- (3) *Nakamichi K, Takayama-Ito M, Nukuzuma S, Kurane I, Saijo M. Long-term infection of adult mice with murine polyomavirus following stereotaxic inoculation into the brain. *Microbiol Immunol* 54(8):475-82, 2010*
- (4) Nakamichi K, Kitani H, Takayama-Ito M, Morimoto K, Kurane I, Saijo M. Celastrol suppresses morphological and transcriptional responses in microglial cells upon stimulation with double-stranded RNA. *Int J Neurosci* 120(4):252-7, 2010
- (5) *Yagi T, Hattori H, Ohira M, Nakamichi K, Takayama-Ito M, Saijo M, Shimizu T, Ito D, Takahashi*

- K, Suzuki N. Progressive multifocal leukoencephalopathy developed in incomplete Heerfordt syndrome, a rare manifestation of sarcoidosis, without steroid therapy responding to cidofovir. Clinical Neurology and Neurosurgery 112(2):153-6, 2010*
- (6) *Morimoto K, Saijo M. Imported rabies cases and preparedness for rabies in Japan. Journal of Disaster Research 4:315-321, 2009*
- (7) *Saijo M, Morikawa S, Kurane I. Diagnostic systems for viral hemorrhagic fevers and emerging viral infections prepared in the National Institute of Infectious Diseases. Journal of Disaster Research 4:315-321, 2009*
- (8) *Saijo M. Emerging and re-emerging infection threats to society. Journal of Disaster Research 4:291-297, 2009*
- (9) *Nakauchi M, Fukushi S, Saijo M, Mizutani T, Ure AE, Romonowski V, Kurane I, Morikawa S. Characterization of monoclonal antibodies to Junin virus nucleocapsid protein and application to the diagnosis of hemorrhagic fever caused by South American arenaviruses. Clinical and Vaccine Immunology 16:1132-1138, 2009*
- (10) *Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Iizuka I, Shiota T, Sakai K, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Virulence and pathophysiology of the Congo Basin and West African strains of monkeypox virus in nonhuman primates. Journal of General Virology 90:2266-2271, 2009*
- (11) *Iizuka I, Saijo M, Shiota T, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Sakai K, Fukushi S, Mizutani T, Ogata M, Nakauchi M, Kurane I, Mizuguchi M, Morikawa S. Loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assay for monkeypox virus infections. Journal of Medical Virology 80:1102-1108, 2009*
- (12) *Saito T, Fujii T, Kanatani Y, Saijo M, Morikawa S, Yokote H, Takeuchi T, Kuwabara N. Clinical and immunological response to attenuated tissue-cultured smallpox vaccine LC16m8. JAMA 301:1025-1033, 2009*
- (13) *Saijo M, Morikawa S, Kurane I. Real-time quantitative polymerase chain reaction for virus infection diagnostics. Expert Opinion on Medical Diagnostics 2:1155-1171, 2008*
- (14) *Ami Y, Nagata N, Shirato K, Watanabe R, Iwata N, Nakagaki K, Fukushi S, Saijo M, Morikawa S, Taguchi F. Co-infection of respiratory bacterium with SARS coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. Infection and Microbiology 52:118-127, 2008*
- (15) *Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Taguchi F, Morikawa S, Sata T. Mouse-passaged severe acute respiratory syndrome coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. American Journal of Pathology 172:1625-1637, 2008*
- (16) *Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Iizuka I, Sakai K, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Diagnosis and assessment of monkeypox virus (MPXV) infection by quantitative PCR assay: differentiation of Congo Basin and West African MPXV strains. Japanese Journal of Infectious Diseases 61:140-142, 2008*
- (17) *Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Sato Y, Morikawa S, Saijo M, Itamura S, Saito T, Ami Y, Odagiri*

- T, Tashiro M, Sata T. Pathology and virus dispersion in cynomolgus monkeys experimentally infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus via different inoculation routes. *International Journal of Experimental Pathology* 88:403-414, 2007
- (18) Saijo M, Suzutani T, Mizuta K, Kurane I, Morikawa S. Characterization and susceptibility to antiviral agents of herpes simplex virus type 1 that codes a unique thymidine kinase gene with an amber codon between the first and the second initiation codons. *Archives of Virology* 153:303-314, 2008
- (19) Morikawa S, Saijo M, Kurane I. Recent progress in molecular biology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 30:375-389, 2007
- (20) Fukushi S, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Taguchi F, Yokoyama M, Kurane I, Morikawa S. Amino acid substitutions in S2 region enhance SARS-CoV infectivity in rat ACE2-expressing cells. *Journal of Virology* 81: 10831-10834, 2007
- (21) Saijo M, Georges-Courbot MC, Marianneau P, Romanowski V, Fukushi S, Mizutani T, Georges AJ, Kurata K, Kurane I, Morikawa S. Recombinant nucleoprotein-based diagnostic systems for Lassa fever: development of diagnostic assays, which do not require infectious virus for antibody and antigen detection. *Clinical and Vaccine Immunology* 14:1182-1189, 2007
- (22) Morikawa S, Saijo M, Kurane I. Current knowledge on lower virulence of Reston Ebola virus (in French: Connaissances actuelles sur la moindre virulence du virus Ebola Resoton). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 30:391-398, 2007
- (23) Ikejiri M, Saijo M, Morikawa S, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Maruyama T. Synthesis and biological evaluation of nucleoside analogues having 6-chloropurine as anti-SARS-CoV agents. *Bioorg Med Chem Lett* 17:2470-2473, 2007
- (24) Ikejiri M, Saijo M, Morikawa S, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Maruyama T. Anti-SARS-CoV activity of nucleoside analogs having 6-chloropurine as a nucleobase. *Nucleic Acids Symposium Series* 50:113-114, 2006
- (25) Mizutani T, Endo D, Okamoto M, Shirato K, Arita M, Fukushi S, Saijo M, Sakai K, Chang KL, Ito M, Nerome K, Takasaki T, Ishii K, Suzuki T, Kurane I, Morikawa S, Nishimura H. System for rapid determination of viral RNA sequence by whole genome amplification technology for analysis of emerging RNA viral infectious diseases. *Emerging Infectious Diseases* 13:322-324, 2007
- (26) Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Yokoyama M, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Morikawa S, Sata T. Participation of both host and virus factors in induction of severe acute respiratory syndrome in F344 rats infected with SARS coronavirus. *Journal of Virology* 81:1848-1857, 2007
- (27) Shirato K, Nishimura H, Saijo M, Okamoto M, Noda M, Tashiro M, Taguchi F. Diagnosis of human respiratory syncytial virus infections using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *Journal of Virological Methods* 139:78-84, 2007
- (28) Ike F, Bourqade B, Sato H, Saijo M, Kurane I, Morikawa S, Yamada Y, Jaubert J, Berard M,

- Nakata H, Hiraiwa N, Mekada K, Takakura A, Itoh T, Obata Y, Yoshiki A, Montagutelli X. LCMV infection in a wild-derived mouse inbred strain undetected by dirty bedding sentinel health monitoring and revealed after embryo transfer. *Comparative Medicine* 53:272-281, 2007
- (29) Mizutani T, Fukushi S, Ishii K, Sasaki Y, Kenri T, Saijo M, Kanaji Y, Shirato K, Kurane I, Morikawa S. Mechanism of establishment of persistent SARS-CoV-infected cells. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 347:261-265, 2006
- (30) Saijo M, George-Courbot MC, Fukushi S, Mizutani T, Philippe M, Georges AJ, Kurane I, Morikawa S. Marburgvirus nucleoprotein-capture enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies to recombinant nucleoprotein detection of authentic Marburgvirus. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 59:323-325, 2006
- (31) Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Vesicular stomatitis virus pseudotype valuable for SARS-CoV neutralizing assay. *Journal of Medical Virology* 78:1509-1512, 2006
- (32) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, lacking B5R membrane protein expression protects monkeys from monkeypox. *Journal of Virology* 80:5179-5188, 2006
- (33) Mizutani T, Fukushi S, Iizuka D, Inanami O, Kuwabara M, Takashima H, Yanagawa H, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Inhibition of cell proliferation by SARS-CoV infection in Vero E6 cells. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 46:236-243, 2006
- (34) Saijo M, Niikura M, Ikegami T, Kurane I, Kurata T, Morikawa S. Laboratory diagnostic systems for Ebola and Marburg hemorrhagic fevers developed with recombinant proteins. *Clinical and Vaccine Immunology* 13:437-443, 2006
- (35) Morikawa S, Sakiyama T, Hasegawa H, Saijo M, Maeda A, Kurane I, Maeno G, Kimura C, Yoshida T, Asahi-Ozaki Y, Sata T, Kurata T, Kojima A. An attenuated LC16m8 smallpox vaccine: analysis of full-genome sequence and induction of immune protection. *Journal of Virology* 79:11873-11891, 2005
- (36) Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever using a novel monoclonal antibody. *Journal of Medical Virology* 77:83-88, 2005
- (37) Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Matsuyama S, Miyajima N, Taguchi F, Itamura S, Kurane I, Morikawa S. Vesicular stomatitis virus pseudotyped with severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein. *Journal of General Virology* 86:2269-2274, 2005
- (38) Hatakeyama S, Moriya K, Saijo M, Morisawa Y, Kurane I, Koike K, Kimura S, Morikawa S. Persisting humoral anti-smallpox immunity among the current Japanese population after the discontinuation in 1976 of routine smallpox vaccinations. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 12:520-524, 2005
- (39) Saijo M, Ogino T, Taguchi F, Fukushi S, Mizutani T, Notomi T, Kanda H, Minekawa H,

- Matsuyama S, Long HT, Hanh NTH, Kurane I, Tashiro M, Morikawa S. Recombinant nucleocapsid protein-based IgG enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of SARS. *Journal of Virological Methods* 125:181-186, 2005
- (40) Saijo M, Niikura M, Maeda A, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Characterization of monoclonal antibodies to Marburg virus nucleoprotein (NP) that can be used for NP-capture enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Medical Virology* 76:111-118, 2005
- (41) Saijo M, Morikawa S, Fukushi S, Mizutani T, Hasegawa H, Nagata N, Iwata N, Kurane I. Inhibitory effect of mizoribine and ribavirin on the replication of severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus. *Antiviral Research* 66:159-163, 2005
- (42) Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Recombinant nucleoprotein-based serological diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections. *Journal of Medical Virology* 75:295-299, 2005
- (43) Saijo M, Suzutani T, Morikawa S, Kurane I. Genotypic characterization of the DNA polymerase and sensitivity to antiviral compounds of foscarnet resistant HSV-1 derived from a foscarnet-sensitive herpes simplex virus type 1. *Antimicrobiol Agents and Chemotherapy* 49:606-611, 2005
- (44) Mizutani T, Fukushi S, Murakami M, Hirano T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Tyrosine dephosphorylation of STAT3 in SARS coronavirus-infected Vero E6 cells. *FEBS letter* 5;577(1-2):187-92, 2004
- (45) Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Importance of Akt signaling pathway for apoptosis in SARS-CoV-infected Vero E6 cells. *Virology* 327:169-74, 2004
- (46) Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Phosphorylation of p38 MAPK and its downstream targets in SARS coronavirus-infected cells. *Biochemical Biophysical Research Communication* 319: 1228-1234, 2004
- (47) Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Modification of endothelial cell functions by hantaan virus infection: prolonged hyper-permeability induced by TNF-alpha of hantaan virus infected endothelial cell monolayers. *Archives of Virology* 149. 1279-92, 2004
- (48) Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Possible horizontal transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus from a mother to her child. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 57:55-57, 2004
- (49) Ikegami T, Niikura M, Saijo M, Miranda ME, Calaor AB, Henandez M, Acosta LP, Manalo DL, Kurane I, Yoshikawa Y, Morikawa S. Antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay that specifically detects Reston ebola virus nucleoprotein. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 10:552-557, 2003
- (50) Suzutani T, Ishioka K, De Clercq E, Ishibashi K, Kaneko H, Kira T, Hashimoto K, Ogasawara M, Ohtani K, Wakamiya N, Saijo M. Differential mutation patterns in thymidine kinase and DNA polymerase genes of herpes simplex virus type 1 clones passaged in the presence of acyclovir or penciclovir. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47:1707-1713, 2003
- (51) Tang Q, Saijo M, Zhang Y, Asiguma M, Dong T, Han L, Shimayi B, Maeda A, Kurane I,

- Morikawa S. A patient with Crimean-Congo hemorrhagic fever diagnosed with recombinant nucleoprotein-based antibody detection systems. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 10:489-491, 2003
- (52) Ikegami T, Saijo M, Niikura M, Miranda ME, Calaor AB, Fernandez M, Manalo DL, Kurane I, Yoshikawa Y, Morikawa S. Immunoglobulin G enzyme-linked immunosorbent assay using truncated nucleoproteins of Reston Ebola virus. *Epidemiology and Infection* 130:533-539, 2003
- (53) Tang Q, Saijo M, Lei H, Maeda A, Ikegami T, Xinjung W, Kurane I, Morikawa S. Detection of immunoglobulin G to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in sheep sera by nucleoprotein-based enzyme-linked immunosorbent and immunofluorescence assays. *Journal of Virological Methods* 108:111-116, 2003
- (54) Ikegami T, Miranda ME, Calaor AB, Manalo DL, Miranda NJ, Niikura M, Saijo M, Une Y, Nomura Y, Kurane I, Ksiazek TG, Yoshikawa Y, Morikawa S. Histopathology of natural Ebola virus subtype Reston infection in *Cynomolgus* Macaques during the Philippine outbreak in 1996. *Experimental Animals* 51: 447-455, 2002
- (55) Maeda A, Hee LB, Yoshimatsu K, Saijo M, Kurane I, Arikawa J, Morikawa S. The intracellular association of the nucleocapsid protein (NP) of Hantaan virus (HTNV) with small ubiquitin-like modifier-1 (SUMO-1). *Virology* 305, 288-297, 2003
- (56) Niikura M, Ikegami T, Saijo M, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Linear B cell epitopes on the nucleoprotein of Ebola virus that distinguish Ebola subtypes. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 10:83-87, 2003
- (57) Ikegami T, Saijo M, Niikura M, Miranda MEG, Calaor AB, Hernandez M, Manalo DL, Kurane I, Yoshikawa Y, Morikawa S. Development of an immunofluorescence method for detection of antibodies to Ebola virus subtype Reston by the use of recombinant nucleoprotein-expressing HeLa cells. *Microbiology and Immunology* 46:633-638, 2002
- (58) Saijo M, Suzutani T, De Clercq E, Maeda A, Morikawa S, Kurane I. Genotypic and phenotypic characterization of the thymidine kinase of ACV-resistant HSV-1 derived from an acyclovir-sensitive herpes simplex virus type 1 strain. *Antiviral Research* 56:253-262, 2002
- (59) Muro K, Hirano Y, Zhang J, Saijo M, Fujita K. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a pediatric ward. *Pediatrics International* 44:24-27, 2002
- (60) Niikura M, Takamura S, Kim G, Kawai S, Saijo M, Morikawa S, Kurane I, Li T-C, Takeda N, Yasutomi Y. Chimeric Recombinant Hepatitis E Virus-like Particles as an Oral Vaccine Vehicle Presenting Foreign Epitopes. *Virology* 293:273-280, 2002
- (61) Saijo M, Yasuda Y, Yabe H, Kato S, Suzutani T, E de Clercq, Niikura M, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Bone marrow transplantation in a child with Wiskott-Aldrich syndrome latently infected with acyclovir-resistant (ACVr) herpes simplex virus type 1: emergence of foscarnet-resistant virus originating from the ACVr virus. *Journal of Medical Virology* 68:99-104, 2002
- (62) Saijo M, Tang Q, Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Kurane I, Morikawa S. Recombinant nucleoprotein based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G to

- Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Journal of Clinical Microbiology* 40:1587-1591, 2002
- (63) Morikawa S, Qing T, Xinqin Z, Saijo M. and Kurane I. Genetic diversity of the M RNA segment among Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus isolates in China. *Virology* 296:159-164, 2002
- (64) Saijo M., Tang Q, Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Kurane I, Prehaud C, Morikawa S. Immunofluorescence technique using HeLa cells expressing recombinant nucleoprotein of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Journal of Clinical Microbiology* 40:372-375, 2002
- (65) Saijo M., Suzutani T, Niikura M, Morikawa S, Kurane I. Importance of C-terminus of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase for maintaining thymidine kinase and acyclovir-phosphorylation activities. *Journal of Medical Virology* 66:388-393, 2002
- (66) Ikegami T, Calaor AB, Miranda ME, Niikura M, Saijo M., Kurane I, Yoshikawa Y, Morikawa S. Genome structure of Ebola virus subtype Reston: differences among Ebola subtypes. *Archives of Virology* 146:2021-2027, 2001
- (67) Niikura M, Ikegami T, Saijo M., Kurane I, Miranda ME, Morikawa S. Detection of ebola viral antigen by enzyme-linked immunosorbent assay using a novel monoclonal antibody to nucleoprotein. *Journal of Clinical Microbiology* 39:3267-3271, 2001
- (68) Saijo M., Niikura M, Morikawa S, Ksiazek TG, Meyer RF, Peters CJ, Kurane I. Enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to Ebola and Marburg viruses using recombinant nucleoproteins. *Journal of Clinical Microbiology* 39:1-7, 2001
- (69) Saijo M., Niikura M, Morikawa S, Kurane I. Immunofluorescence Method for Detection of Ebola Virus Immunoglobulin G, Using HeLa Cells Which Express Recombinant Nucleoprotein. *Journal of Clinical Microbiology* 39:776-778, 2001
- (70) Nagamine M, Suzutani T, Saijo M., Hayashi K, Azuma M. Comparison of polymorphism of thymidine kinase gene and restriction fragment length polymorphism of genomic DNA in herpes simplex virus type 1. *Journal of Clinical Microbiology* 38:2750-2752, 2000
- (71) Suzutani T, Saijo M., Nagamine M, Ogasawara M, Azuma M. Rapid phenotypic characterization method for herpes simplex virus and Varicella-Zoster virus thymidine kinases to screen for acyclovir-resistant viral infection. *Journal of Clinical Microbiology* 38:1839-1844, 2000
- (72) Murono K, Fujita K, Saijo M., Hirano Y, Zhang J, Murai T. Emergence and spread of a new clone of M type 1 group A streptococcus coincident with the increase in invasive diseases in Japan. *Pediatric Infectious Disease Journal* 18: 254-257, 1999
- (73) Saijo M., Suzutani T, Itoh K, Hirano Y, Murono K, Nagamine M, Mizuta K, Niikura M, Morikawa S. Nucleotide sequence of thymidine kinase gene of sequential acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1 isolates recovered from a child with Wiskott-Aldrich syndrome: evidence for reactivation of acyclovir-resistant herpes simplex virus. *Journal of Medical Virology* 58:387-393, 1999
- (74) Saijo M., Terunuma H, Mizuta K, Mpabalwani EM, Monze M, Oshitani H, Luo N, Suzuki H, Numazaki Y. Respiratory syncytial virus infection in children with acute respiratory infections in Zambia. *Epidemiology and Infection* 121:397-400, 1998
- (75) Saijo M., Suzutani T, Murono K, Hirano Y, Itoh K. Recurrent aciclovir-resistant herpes simplex in a



- child with Wiskott-Aldrich syndrome. *British Journal of Dermatology* 139:311-314, 1998
- (76) Chiba A, Suzutani T, Saijo M, Koyano S, Azuma M. Analysis of nucleotide sequence variations in herpes simplex virus type 1 and 2, and varicella-zoster virus. *Acta Virologica* 42:401-407, 1998
- (77) Suzutani T, Koyano S, Saijo M, Chiba A, Azuma M. Analysis of the non-sense mutants of varicella-zoster virus thymidine kinase. *Archives of Virology* 142:2059-2064, 1997
- (78) Mizuta K, Oshitani H, Saijo M, Mpabalwani EM, Kasolo FC, Luo NP, Suzuki H, Numazaki, Y. Epidemiology of influenza virus infections in children with acute respiratory infections in Zambia. *Annals of Tropical Paediatrics* 17:115-119, 1997
- (79) Saijo M, Ishii T, Kokubo M, Murono K, Takimoto M, Fujita K. White blood cell count, C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in respiratory syncytial virus infection of the lower respiratory tract. *Acta Paediatrica Japonica* 38:596-600, 1996
- (80) Mpabalwani EM, Monze M, Saijo M, Terunuma H, Luo NP. Poliomyelitis outbreak in Zambia. *Lancet* 347:1633, 1996
- (81) Saijo M, Saijo H, Yamamoto M, Takimoto M, Murono K, Fujita K. Thrombocytopenic purpura associated with primary human herpesvirus 6 infection. *Pediatric Infectious Disease Journal* 14:405, 1995
- (82) Saijo M, Takahashi S, Kokubo M, Saino T, In-Yaku F, Ishii T, Takimoto M, Takahashi Y. The role of respiratory syncytial virus in acute bronchiolitis in small children in northern Japan. *Acta Paediatrica Japonica* 36: 371-374, 1994
- (83) Murono K, Fujita K, Yoshikawa M, Saijo M, Inyaku F, Kakehashi H, Tsukamoto T. Acquisition of nonmaternal enterobacteriaceae by infants delivered in hospitals. *Journal of Pediatrics* 122:120-125, 1993
- (84) Saijo M, Ishii T, Kokubo M, Takimoto M, Takahashi Y. Respiratory syncytial virus infection in lower respiratory tract and asthma attack in hospitalized children in North Hokkaido, Japan. *Acta Paediatrica Japonica* 35:233-237, 1993
- (85) Azuma H, Sakata H, Saijo M, Okuno A. Effect of interleukin 2 on intractable herpes virus infection and chronic eczematoid dermatitis in a patient with Wiskott-Aldrich syndrome. *European Journal of Pediatrics* 152:998-1000, 1993
- Sakuma T, Saijo M, Suzutani T, Yoshida I, Saito I, Kitagawa M, Hasegawa S, Azuma M. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 35:1512-1514, 1991

## 臓器移植患者の予後およびQOLの向上のための真菌やウイルス感染症の予防・診断・治療に関する研究 (H21-新興-一般-009)

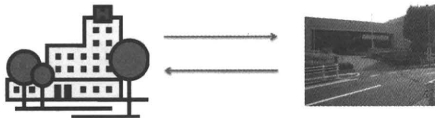
国立感染症研究所  
ウイルス第一部部長  
西條政幸

## 研究チーム

№	研究者名	所属機関	担当項目
1	西條政幸	国立感染症研究所	臓器提供者の感染症のスクリーニング法に関する研究
2	井上直樹	国立感染症研究所	感染初期過程を阻害する新規抗ヘルペスウイルス化食物の解析
3	一山智	京都大学大学院医学研究科	生体肝移植患者における深在性真菌感染症等に関する研究
4	大野秀明	国立感染症研究所	真菌の潜伏感染メカニズム解明とその検出法に関する研究
5	片野晴隆	国立感染症研究所	新規CMV感染細胞検出法の移植医療への応用に関する研究
6	加藤俊一	東海大学医学部	臓器移植患者におけるウイルス感染症の精緻なモニタリングと移植患者の管理への応用
7	木内智也	名古屋大学大学院医学系研究科	移植医療の発展に伴って多様化する感染症の解析
8	木村宏	名古屋大学大学院医学系研究科	移植後EBVリンパ増殖症に対する迅速診断法・治療効果判定法の確立
9	鍋谷達夫	福島県立医科大学医学部	新規技術を用いた細菌、真菌感染症の迅速で正確な感染症診断技術の開発とその評価
10	谷口修一	国家公務員共済組合連合会 虎の門病院	移植医療の発展に伴って多様化する感染症の解析
11	森康子	神戸大学大学院医学研究科	VZV特異的免疫能の測定と再活性化の関連性の解析
12	吉川哲史	藤田保健衛生大学医学部	移植後HHV-6脳炎の診断・治療法確立

## 研究のためのスクラム

本研究班では、臨床研究に力を入れている。



臓器移植患者における感染症対策のための臨床的研究

- 病棟内における呼吸器ウイルス感染症の調査・解析
- 真菌感染症の実態調査
- ワクチン接種のあり方に関する研究
- 移植患者における新規感染症診断法の評価

虎ノ門病院、東海大学(造血幹細胞移植)  
名古屋大学、京都大学(肝臓移植、免疫不全)  
藤田衛生大学(臓器移植)

臓器移植患者における感染症対策のための基礎的研究

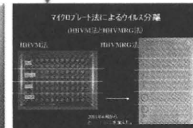
- ヘルペスウイルス感染症対策
- 真菌等感染症の新規診断法の開発
- 臓器移植関連稀少ウイルス感染症の診断法の開発
- 移植患者における呼吸器ウイルス感染症の病態に関する研究

国立感染症研究所、福島医大、名古屋大学、藤田衛生大学、神戸大学

## 造血幹細胞移植患者における呼吸器ウイルス感染症に関する前方視的検討

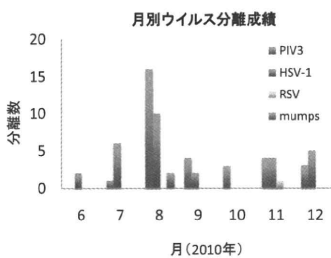
- エントリー患者の咽頭スワブを定期的に採取。ウイルス分離輸送培地に攪拌して、冷蔵しながら、国立病院機構仙台医療センターウイルスセンターに搬送。
- 目標検体数(24検体/週、1200検体/年)
- 研究期間:2年

HHVMマイクロプレート法によりウイルス分離検査を実施する。



- 臓器移植病棟における気道ウイルス感染症の実態調査
- 流行拡大リスク評価

## 造血幹細胞移植病棟における呼吸器ウイルス感染症の流行状況

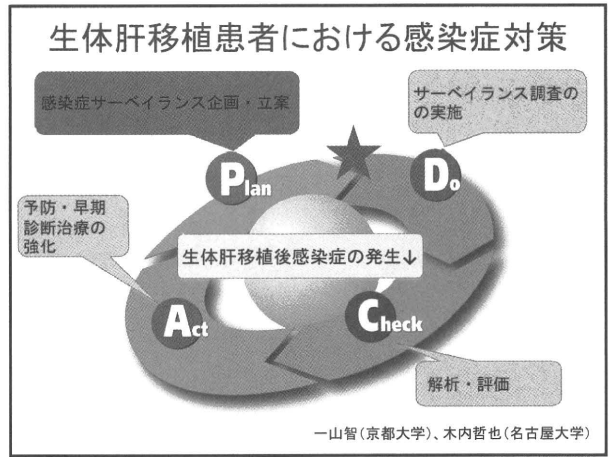
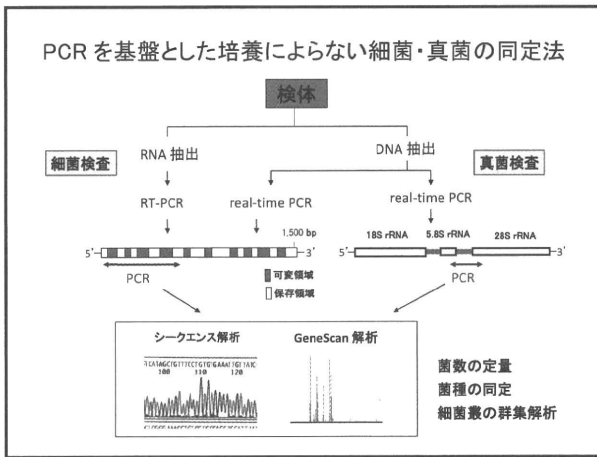
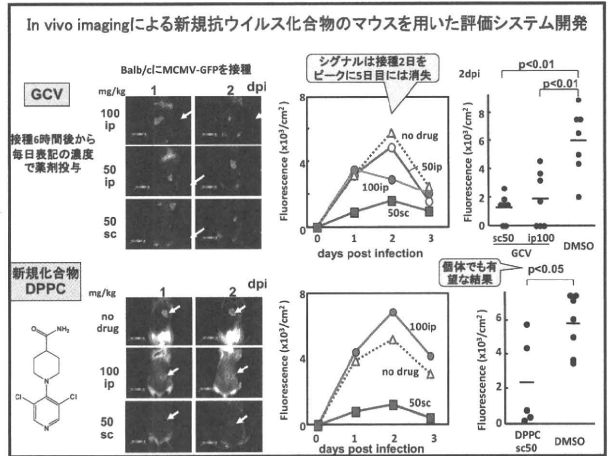
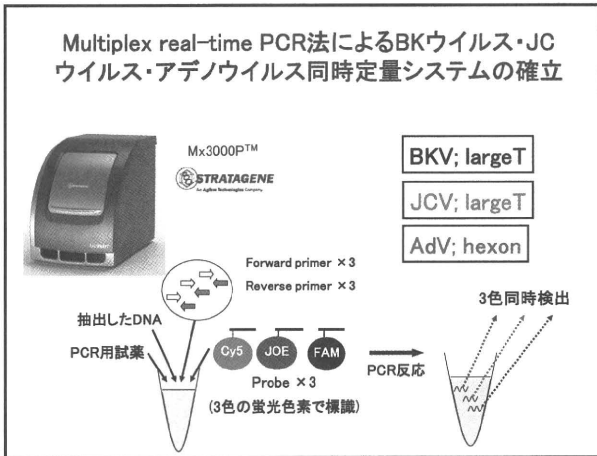


- 3週連続PIV3陽性を示し、死亡した患者が認められた。
- 多くは2-3週続けて陽性を呈している。中には4週間にわたりPIV3を排出し続けた患者もいた。
- 移植初期にPIV3に感染した場合に予後が不良である。
- ウイルス排出期間が長く、また、症状がない患者もいるために、院内感染予防が極めて困難である。

## 単純ヘルペスウイルス薬剤感受性試験成績 (9月までの分離株の解析)

検体NO	氏名	採取日	症状	アシクロビルとの分離株増殖抑制率(%)
2010-24		2010.6.22	なし	0.21
2010-39		2010.6.29	肺炎あり(真菌疑い)	0.19
2010-56	MS*	2010.7.6	肺炎あり	0.17
2010-77		2010.7.13	肺炎あり	1.0
2010-101		2010.7.20	肺炎あり	8.2
2010-95		2010.7.20	なし	<0.1
2010-124		2010.7.27	なし	0.1
2010-154		2010.8.3	口腔内潰瘍あり	0.12
2010-165	ST	2010.8.2	口腔内潰瘍	0.24
2010-185		2010.8.10	口腔内潰瘍あり	0.54
2010-212		2010.8.17	口内炎あり	0.56
2010-241		2010.8.24	口内炎あり	0.54
2010-116		2010.7.27	なし	0.27
2010-146	AR*	2010.8.3	なし	1.7
2010-178		2010.8.10	肺炎あり(顕微鏡?)	1
2010-235		2010.8.24	なし	1.3

\*: 死亡退院(ただし、HSV-1感染症が直接の死因かどうかは診断されていない)



- ### 2年間の成果のまとめ
- 臓器移植患者におけるヘルペスウイルス感染症対策
    - 薬剤耐性ヘルペスウイルス感染症(単純ヘルペス、サイトメガロウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス)
    - 臓器移植患者におけるヘルペスウイルス感染症の解析(進行性多巣性白質脳症の疫学調査に合わせた)
    - 臓器移植患者におけるHHV-6再活性化解析・診断のための新システム開発
    - 細胞性免疫能を解析するためのシステム開発
    - 新規抗ウイルス薬開発のための基礎研究
  - 臓器移植関連稀少感染症診断システム開発と整備
    - リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス感染症の診断法の開発と整備
  - 造血幹細胞移植病棟における呼吸器ウイルス感染症の調査と対策
  - 臓器移植患者における真菌感染症のサーベイランス(全国調査)
    - 培養によらない真菌(細菌を含む)感染症診断法の開発と評価
    - 真菌の潜伏感染機序の解明と診断システム開発
  - 臓器移植患者の感染症対策における問題点、リスク解析
    - 肝臓移植患者等におけるワクチン接種のあり方に関する研究と提言
  - 新規真菌感染症診断システム開発と評価
  - その他

- ### 3年目にむけて 臨床的・基礎的研究の融合
- 臓器移植患者における感染症対策のための提言・マニュアル作成
  - 臓器移植患者の感染症対策のための検査のあり方に関する提言
  - 研究成果の広報
  - 学術論文・学会発表による研究成果の発表
  - 講演会・シンポジウムの開催による広報活動

## 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：インフルエンザ脳症など重症インフルエンザの発症機序の解明と  
それに基づく治療法・予防方法の確立に関する研究

課題番号：H21-新興-一般-010  
 予定期間：H21 年度から H23 年度まで  
 研究代表者：森島恒雄  
 所属研究機関：岡山大学  
 所属部局：大学院医歯薬学総合研究科  
 職名：教授

年次別研究費(交付決定額)：1 年目 57,200,000 円 2 年目 62,920,000 円

### I. 研究の意義

- (1) インフルエンザ脳症は予後の悪い疾患であり治療法の確立が喫緊の課題である。
- (2) そのためには宿主側の発症因子の解明とそれに基づく発症前診断・早期治療が重要。
- (3) また本症の病態の解明により新しい治療法の確立が期待される。
- (4) 本症の全国実態調査による疫学・臨床像を明らかにする。特に「新型インフルエンザ」による脳症の特徴を明らかにすることは重要である。

### II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 本症の病態を明らかにすることから新たな治療法の確立を目指す。特にフリーラジカルの関与や血管内障害における MMP9 の解明が明らかになっておりこれらの制御が予後の改善につながる。
- (2) 発症因子としての宿主側因子と解明は発症前診断およびインフルエンザ感染後の早期治療につながり本症の予後を劇的に改善しうる。
- (3) 従来の病態解明から H5N1 高病原性鳥インフルエンザヒト重症例の病態と類似しており、本症の治療法が有用となる可能性が高い。
- (4) 現在治療法が確立していない年間約 1000 例の小児急性脳炎・脳症の治療法の確立の上で重要な情報を提示できる。

### III. 2 年間の研究成果

「新型インフルエンザ」脳症の臨床像を明らかにした。また 2009 年 9 月本研究班によるインフルエンザ脳症ガイドラインを改訂し現在広く一般診療の中でも用いられている。これにより「新型インフルエンザ」脳症の予後は有意に改善している。

#### ・研究代表者(森島)

- (1) 「新型インフルエンザ」脳症の全国調査を実施し結果を公表した。
- (2) TNF $\alpha$  が MMP9 を活性化し脳血液関門を破壊する機序をマウスモデルで明らかにした。
- (3) DNA マイクロアレイによる「新型インフルエンザ」脳症・肺炎の急性期に発現する mRNA を明らかにした。

#### ・研究分担者(岡部信彦)

- (1) 「新型インフルエンザ」脳症の疫学調査および世界各国との違いについて明らかにした。

- 研究分担者(薙田泰誠)
- (1) SNPs 解析による宿主側因子の解明を継続中。
- 研究分担者(河岡義裕)
- (1) インフルエンザウィルスの増殖を制御に関わる宿主(細胞)の因子を明らかにした。
- 研究分担者(山口清次)
- (1) インフルエンザ脳症として発症する先天代謝異常症とそのメカニズムについて明らかにした。
- 研究分担者(水口雅)
- (1) インフルエンザ脳症ガイドライン改訂版の作成を中心となってまとめた。
- 研究分担者(市山高志)
- (1) ヒトのインフルエンザ脳症において MMP9 が神経障害性に重要であることを示した。
- (2) 神経障害のマーカーとして Neurofilament が重要であることを示した。
- 研究分担者(長谷川秀樹)
- (1) 「新型インフルエンザ」のフェレットを用いた動物実験モデルを作成した。
- (2) ヒト「新型インフルエンザ」死亡例の病理所見を明らかにした。
- (3) H5N1 高病原性鳥インフルエンザウィルスのアジュバントを用いた経鼻ワクチンを作成中
- 研究分担者(奥村彰久)
- (1) 「新型インフルエンザ」小児死亡例 41 例の詳細な調査を実施した。
- (2) インフルエンザ脳症の臨床分類を検討した。
- 研究分担者(伊藤嘉規)
- (1) 「新型インフルエンザ」肺炎および脳症におけるサイトカインの推移を調べた。
- 研究分担者(河島尚志)
- (1) 「新型インフルエンザ」小児死亡例 41 例の詳細な調査を実施した。
- (2) 「新型インフルエンザ」肺炎および脳症におけるサイトカインの推移を調べた。
- 研究分担者(新矢恭子)
- (1) 特に H5N1 高病原性鳥インフルエンザ感染モデルとしてサルを用いて DNA マイクロアレイにより急性期宿主 mRNA の発現を検討した。
- 研究分担者(塚原宏一)
- (1) インフルエンザ脳症および「新型インフルエンザ」肺炎における酸化ストレスの役割を明らかにし、これを制御する治療法の検討を実施した。

#### **IV. 23 年度の課題**

- (1) 最終段階にあるインフルエンザ脳症宿主側発症因子を明らかにする。
- (2) 病態解析で明らかになった酸化ストレスマーカー, COX2, MMP9, などによる血液脳関門の破壊とそれに続く脳障害のメカニズムを明らかにし治療法の確立に役立てる。
- (3) DNA マイクロアレイの解析で示された CNTNAP3,  $\alpha$  シヌクレインの役割について研究を進める。
- (4) H5N1 高病原性鳥インフルエンザヒト重症例とインフルエンザ脳症(特に新型)との類似点と異なる点について明らかにしていく。

**010V. 行政施策への貢献の可能性**

- (1) 社会的に大きな問題となっているインフルエンザ脳症の予後を劇的に改善しうる。
- (2) 年間約1000例発症する小児の急性脳炎・脳症の治療法開発に本研究班で得られた結果を役立てることができる。
- (3) 将来の脅威となっている H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスに対する重症例の治療法について、侵入前に基本的な治療戦略を立てることができる。
- (4) 「新型インフルエンザ」により米国でも成人を含めた重症インフルエンザ脳症の報告が多く、治療法について問い合わせが続いている。世界的に本研究班のガイドラインは貢献しうる。

**VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)**

- ・インフルエンザ脳症ガイドライン改訂版 2009.9月厚生労働省研究班(主任研究者森島恒雄)
- ・Tsuge M, Yasui K, Ichiyawa T, Saito Y, Nagaoka Y, Yashiro M, Yamashita N, Morishima T. Increase of tumor necrosis factor-alpha in the blood induces early activation of matrix metalloproteinase-9 in the brain. *Microbiol Immunol.* 54(7): 417-24, 2010.
- ・Okumura A, Kidokoro H, Tsuji T, Suzuki M, Kubota T, Kato T, Komatsu M, Shono T, Hayakawa F, Shimizu T, Morishima T: Differences of clinical manifestations according to the patterns of brain lesions in acute encephalopathy with reduced diffusion in the bilateral hemispheres. *American Journal of Neuroradiology* 30:825-830, 2009.
- ・Wada T, Morishima T, Okumura A, Tashiro M, Hosoya M, Shiomi M, Okuno Y: Differences in clinical manifestations of influenza-associated encephalopathy by age. *Microbiology and Immunology* 53(2):83-88, 2009.
- ・Nagao T, Morisima T, Kimura H, Yokota S, Yamashita N, Ichiyama T, Kurihara M, Miyazaki C, Okabe N. Prognostic factors in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J*, 27(5):384-9, 2008.
- ・Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Li H, Fukuda S, Shigematsu Y, Fukao T, Yamaguchi S: A Novel Molecular Aspect of Japanese Patients with Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency (MCADD): 449-452delCTGA is a Common Mutation in Japanese Patients with MCADD. *Molecular Genetics and Metabolism* 96(2): 77-79, 2009 (February)
- ・Kawana S, Nakagawa K, Hasegawa Y, Kobayashi H, Yamaguchi S: Improvement of sample throughput using fast gas chromatography mass-spectrometry for biochemical diagnosis of organic acid disorders. *Clinica Chimica Acta*, 392(1-2):34-40, 2008 (6月)
- ・Purevsuren J, Hasegawa Y, Kobayashi H, Endo M, Yamaguchi S: Urinary organic metabolite screening of children with infkuenza-associated encephalopathy for inborn errors of metabolism using GC/MS. *Brain & Develop* 30: 520-526, 2008.
- ・Shinohara M, Saitoh M, Takanashi JJ, Yamanouchi H, Kubota M, Goto T, Kikuchi M, Shiihara T, Yamanaka G, Mizuguchi M. Carnitine palmitoyl transferase II polymorphism is associated with multiple syndromes of acute encephalopathy with various infectious diseases. *Brain Dev* in press.
- ・Okumura A, Mizuguchi M, Kidokoro H, Tanaka M, Abe S, Hosoya M, Aiba H, Maegaki Y, Yamamoto H, Tanabe T, Noda E, Imataka G, Kurahashi H: Outcome of acute necrotizing encephalopathy in relation to treatment with corticosteroids and gammaglobulin. *Brain Dev* 2009; 31(3): 221-227.
- ・Okumura A, Abe S, Kidokoro H, Mizuguchi M. Acute necrotizing encephalopathy: a comparison between influenza and non-influenza cases. *Microbiol Immunol.* 2009; 53(5): 277-280.
- ・Hasegawa S, Hirano R, Hashimoto K, Haneda Y, Shirabe K, Ichiyama T. Characteristics of atopic children with pandemic H1N1 influenza viral infection: Pandemic H1N1 influenza reveals "occult" asthma of childhood. *Pediatr Allergy Immunol* in press
- ・Ichiyama T. Acute encephalopathy/encephalitis in childhood: a relatively common and potentially devastating clinical syndrome. *Brain Dev* 2010; 32: 433-434.
- ・Takayanagi M, Nishimura H, Matsuzaki Y, Ichiyama T, Umehara N, Watanabe H, Kitamura T, Ohtake M. Acute encephalopathy associated with influenza C virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 554
- ・Ichiyama T, Suenaga N, Kajimoto M, Tohyama J, Isumi H, Kubota M, Mori M, Furukawa S. Serum and CSF levels of cytokines in acute encephalopathy following prolonged febrile seizures. *Brain Dev* 2008; 30: 47-52.
- ・Tadokoro R, Okumura A, Nakazawa T, Hara S, Yamakawa Y, Kamata A, Kinoshita K, Obinata K, Shimizu T. Acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion associated with hemophagocytic syndrome. *Brain Dev* 2010; 32: 477-481.
- ・Kawashima H, Go S, Kashiwagi Y, Morishima Y, Miura T, Ushio M, Nishimata S, Takekuma K. Cytokine profiles of suction pulmonary secretions from children infected with pandemic influenza A(H1N1) 2009. *Crit Care.* 2010;14:411.
- ・Kawashima H, Yamanaka G, Ishii C, Kashiwagi Y, Takekuma K, Watanabe Y. Nitrite and nitrate as a new target of treatments in influenza-associated encephalopathy *J Pediatr Infect Diseases* 2010;5:171-76
- ・Watanabe T, Watanabe S, Shinya K, Kim JH, Hatta M and Kawaoka Y. Viral RNA polymerase complex promotes optimal growth of 1918 virus in the lower respiratory tract of ferrets. *PNAS* (in press)
- ・Nagasaka H, Tsukahara H, Yorifuji T, Miida T, Murayama K, Tsuruoka T, Takatani T, Kanazawa M, Kobayashi K, Okano Y, Takayanagi M. Evaluation of endogenous nitric oxide synthesis in congenital urea cycle enzyme defects. *Metabolism* 58 (3): 278-282, 2009.

**Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等**

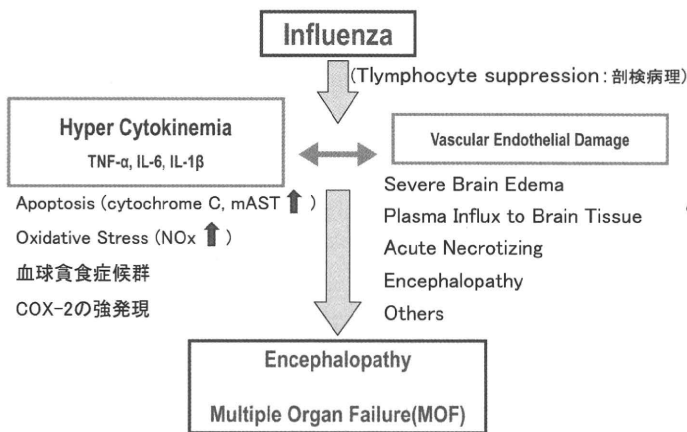
**(1) 「新型インフルエンザ」脳症**

「新型インフルエンザ」脳症と肺炎の宿主 mRNA の発現

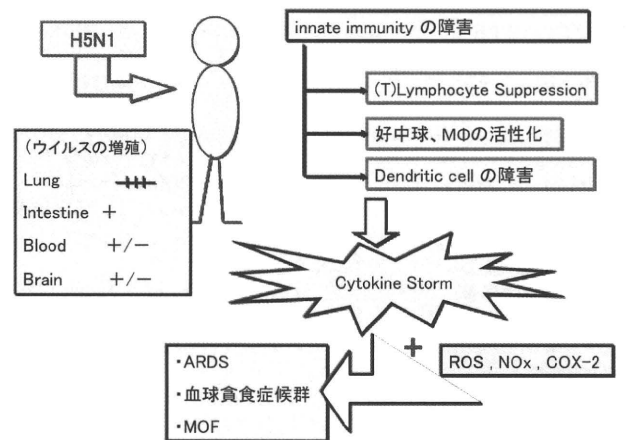


**(2) インフルエンザ脳症と H5N1 高病原性鳥インフルエンザヒト重症例 (類似点)**

研究班で明らかにしたインフルエンザ脳症の病態



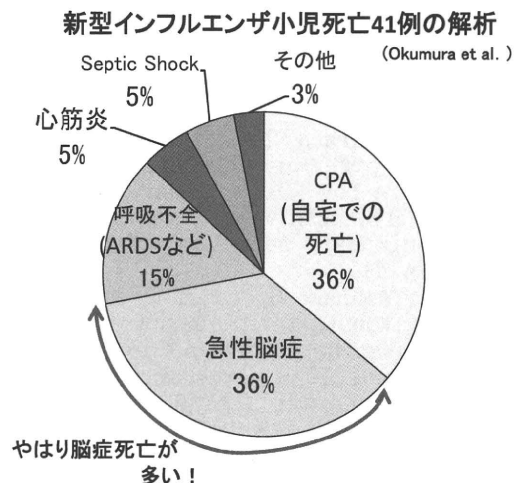
現在推測されるH5N1重症化の機序



**(3) 発症に関与が推定される宿主因子**

- 現在しぼり込みが進んでいる宿主側因子
- ①MAT1A: メチオニン代謝関連酵素
  - ②CPT2: カルニチン代謝関連酵素
  - ③MMP-9/TIMP-1: 血液脳関門基底膜障害
  - ④CNTNAP-3: ニューロン・グリアinteraction関連蛋白
  - ⑤COX2: プロスタグランジンEの関連酵素
  - ⑥αシヌクレイン: パーキンソン病関連蛋白
  - ⑦その他

**(4) わが国の新型インフルエンザ小児死亡例**



## ●研究代表者の研究歴等

### ・過去に所属した研究機関の履歴

- ・名古屋大学医学部小児科 (1975-2003)
- ・東京大学医科学研究所病理研究部 (1976-1977)
- ・NIDR, NIH 米国 (1979-1981)
- ・岡山大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学 (2003-現在)

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- ・鈴木栄 (名古屋大学小児科)
- ・青山友三 (東京大学医科学研究所 病理研究部)
- ・A. L. Notkins (NIDR, NIH)
- ・R. J. Whitley (アラバマ大学小児科)
- ・岡部信彦、佐多徹太郎 6 (国立感染症研究所)

### ・主な研究課題

- ・インフルエンザ脳症の病態・診断・治療法の開発に関する研究
- ・小児の急性脳炎・脳症の病態・診断・治療に関する研究
- ・ウイルスの母子感染に関する研究 (HCV、HBV、HSV、CMV など)
- ・重症ウイルス感染症の病態・診断・治療に関する研究 (EBV、HSV、CMV、インフルエンザなど)

### ・これまでの研究実績

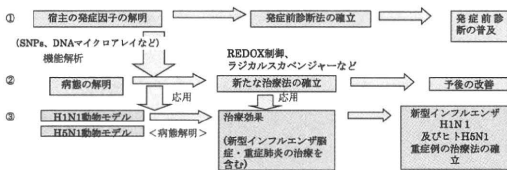
- (1) *Tsuge M, Yasui K, Ichiyawa T, Saito Y, Nagaoka Y, Yashiro M, Yamashita N, Morishima T. Increase of tumor necrosis factor-alpha in the blood induces early activation of matrix metalloproteinase-9 in the brain. Microbiol Immunol. 2010 Jul;54(7):417-24.*
- (2) *Yasui K, Yashiro M, Tsuge M, Manki A, Takemoto K, Yamamoto M, Morishima T. Thalidomide dramatically improves the symptoms of early-onset sarcoidosis/Blau syndrome: its possible action and mechanism. Arthritis Rheum. 2010 Jan;62(1):250-7.*
- (3) *Wada T, Morishima T, Okumura A, Tashiro M, Hosoya M, Shiomi M, Okuno Y. Differences in clinical manifestations of influenza-associated encephalopathy by age. Microbiol Immunol. 2009 Feb;53(2):83-8.*
- (4) *Nagao T, Morishima T, Kimura H, Yokota S, Yamashita N, Ichiyama T, Kurihara M, Miyazaki C, Okabe N. Prognostic factors in influenza-associated encephalopathy. Pediatr Infect Dis J. 2008 May;27(5):384-9.*
- (5) *Ichiyama T, Morishima T, Kajimoto M, Matsushige T, Matsubara T, Furukawa S. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in influenza-associated encephalopathy. Pediatr Infect Dis J. 26(6):542-4, 2007.*
- (6) *Kawada J, Kimura H, Kawachi Y, Nishikawa K, Taniguchi M, Nagaoka K, Kurahashi H, Kojima S, Morishima T. Analysis of gene-expression profiles by oligonucleotide microarray in children with influenza. J. Gen. Virol, 87(Pt6):1677-1683, 2006.*
- (7) *Ichiyama T, Morishima T, Suenaga N, Kajimoto M, Matsubara T, Furukawa S. Analysis of serum soluble CD40 ligand in patients with influenza virus-associated encephalopathy. J Neurol Sci, 239(1):53-57, 2005.*
- (8) *Kawada J, Kimura H, Ito Y, And Y, Tanaka-Kitajima N, Hayakawa M, Nuno H, Endo F, Morishima T. Evaluation of systemic inflammatory responses in neonates with herpes simplex virus infection. J. Infect. Dis, 190(3):494-498, 2004.*
- (9) *Kawada J, Kimura H, Ito Y, Hara S, Iriyama M, Yoshikawa T, Morishima T. Systemic cytokine response in patients with influenza-associated encephalopathy. J. Infect. Dis, 188(5):137-140, 2003.*
- (10) *Morishima T, Togashi T, Yokota S, Okuno Y, Miyazaki C, Tashiro M, Okabe N; Collaborative Study Group on Influenza-associated Encephalopathy in Japan. Encephalitis and encephalopathy associated with an influenza epidemic in Japan. Clin. Infect. Dis, 35(5):512-517, 2002.*
- (11) 森島恒雄他. インフルエンザ脳症ガイドライン. 厚生労働省研究班 2005. 11月, (2009. 9月同改訂版)



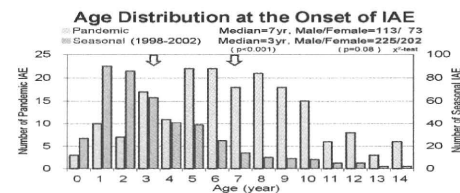
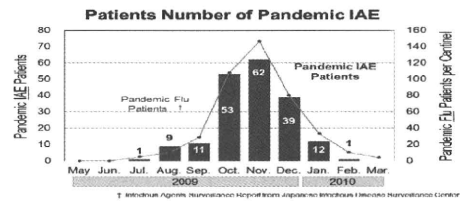
## 2010年度研究概要

インフルエンザ脳症など重症インフルエンザの発症機序の解明とそれに基づく治療法・予防法の確立に関する研究

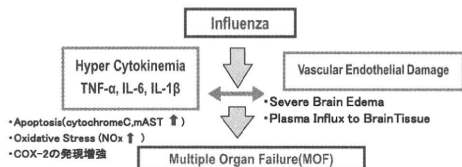
- ①「新型」インフルエンザ脳症全国調査
- ②「新型」インフルエンザ病態/ガイドライン改訂
- ③「新型」インフルエンザ小児死亡例全例調査
- ④「新型」インフルエンザ脳症小児例の病理
- ⑤発症に関する宿主側因子の検討
- ⑥「新型」インフルエンザ脳症 DNAマイクロアレイ解析
- ⑦病態解析から治療へ



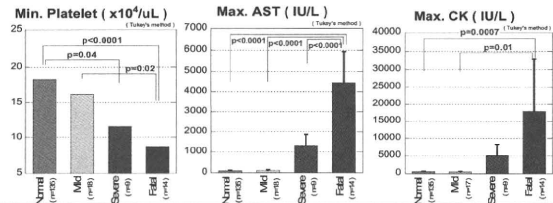
## 1. 「新型」インフルエンザ脳症の全国調査



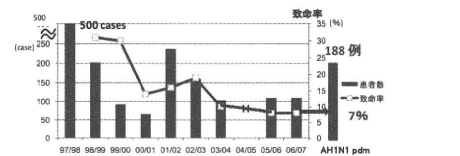
## 2. 「新型」インフルエンザ脳症の臨床像・病態



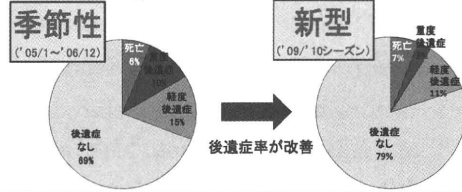
「新型」インフルエンザ脳症の検査結果と予後



## インフルエンザ脳症発症数と致死率の推移 (1998-) —診療ガイドラインを2009年9月改訂—



## 新型インフルエンザ脳症の予後

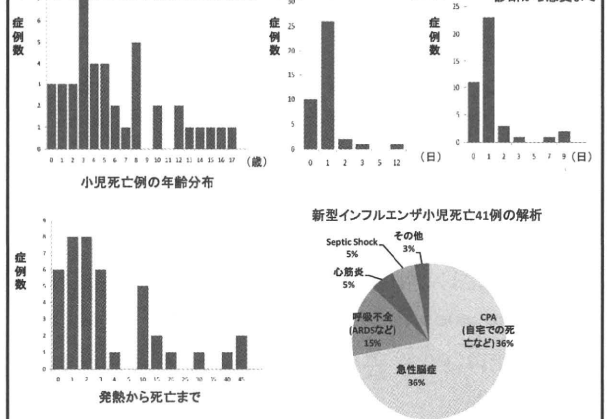


## 3. 新型インフルエンザ小児死亡全例(41例) 調査

基礎疾患 (n = 41)	
すべて	14 (34%)
染色体異常	1 (2%)
早産	4 (10%)
喘息	7 (17%)
喘息以外のアレルギー	2 (5%)
慢性肺疾患	4 (10%)
気管切開	1 (2%)
先天性心疾患	1 (2%)
内分泌疾患	0
脳性麻痺	6 (15%)
精神遅滞	10 (24%)
てんかん	8 (20%)
神経筋疾患	1 (2%)
免疫異常	0
腎疾患	1 (2%)
肥満	0

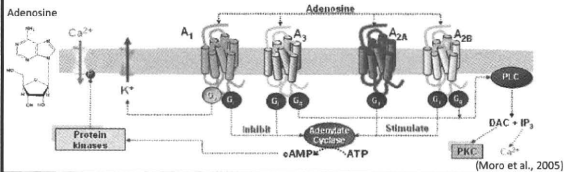
背景因子	
熱性けいれんの既往	6 (15%)
予防接種	
2009 H1N1 (n = 37)	
None	36 (97%)
Once	1 (3%)
Seasonal flu (n = 33)	
None	31 (94%)
Once	2 (6%)
Flu患者との接触 (n = 34)	
すべて	15 (44%)
家族	8 (24%)

## 3. 小児死亡例調査結果



### 5. 発症に関連する宿主側因子の解析 アデノシン受容体関連SNP解析(ADORA2a)

受容体	親和性	高発現部位	中/低発現部位	効果
A1	70	海馬 新皮質 小脳、脊髄	扁桃体、線条体、 嗅球、視床、 黒質	↓: Ca <sup>2+</sup> 流入、 アデニルサイクラーゼ ↑: K <sup>+</sup> 流出、PLC
A2A	150	線条体 嗅球	新皮質 海馬、視床	↓: Ca <sup>2+</sup> 流入、 アデニルサイクラーゼ
A2B	5100		全般	↑: アデニルサイクラーゼ、PLC
A3	8500		海馬、小脳	↓: アデニルサイクラーゼ ↑: PLC



### ADORA2aの解析結果

#### アレル頻度の比較

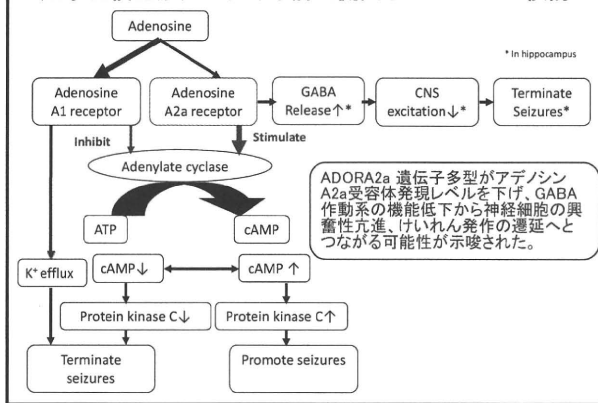
rs2298383	rs5751876	rs35320474	rs4822492
Exon1 Exon2 Exon3			
Patients	Control	Total	
C	38	48	86
T	26	72	98
p=0.018			
Patients	Control	Total	
C	38	48	86
T	26	72	98
p=0.018			
Patients	Control	Total	
-	38	48	86
T	26	72	98
p=0.018			
Patients	Control	Total	
C	38	48	86
G	26	72	98
p=0.018			

#### 遺伝子型の組合わせの比較

Genotype	ADORA2a	rs2298383	rs5751876	rs35320474	rs4822492	Patient n	Control n	P value
1/1/1/1	CC	TT	-	CC		11	9	p=0.124
2/1/1/2	CT	TC	-T	DG		16	30	p=0.817
3/2/2/2	TT	CC	TT	DG		5	21	p=0.038
Total						32	60	p=0.045

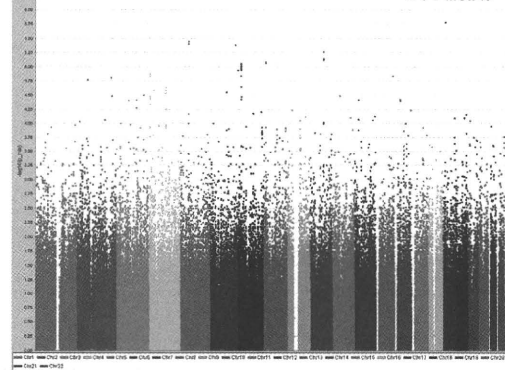
	rs2298383	rs5751876	rs35320474	rs4822492
Haplotype1	C	T	(-)	C
Haplotype2	T	C	T	G

### 痙攣重症型脳症における宿主側因子ADORA2aの検討



### インフルエンザ脳症の網羅的SNP解析(理化研)

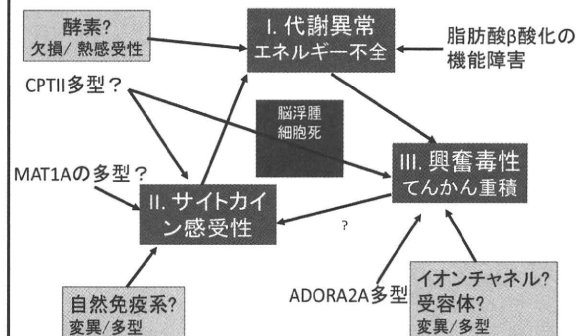
GWAS結果: 72脳症患者 vs 934コントロール  $P = 4.73 \times 10^{-7}$



### 現在しぼり込みが進んでいる宿主側因子

- MAT1A:メチオニン代謝関連酵素
  - CPT2:カルニチン代謝関連酵素
  - MMP-9/TIMP-1:血液脳関門基底膜障害
  - CNTNAP-3:ニューロン・グリアinteraction関連蛋白
  - COX2:プロスタグランジンEの関連酵素
  - $\alpha$ シヌクレイン:パーキンソン病関連蛋白
  - ADORA2a多型
  - rs10782486
- ➡ 複数の遺伝子多型/変異の関連について解析を進めている。

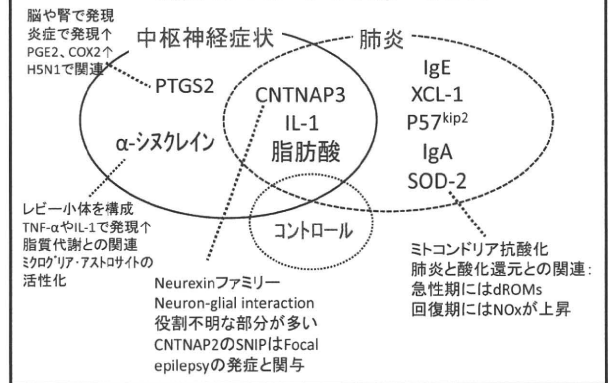
### 5. 急性脳症の病態と宿主側因子



## 6. 新型インフルエンザ「中枢神経症状群」で高発現していた遺伝子群 —DNA マイクロアレイによる解析—

Fold Change	Gene Title	Notes
29.1	Contactin associated protein-like 3B	血管内皮細胞に広く発現 神経細胞とグリア細胞の interactionに関与
18.3	Contactin associated protein-like 3	
13.8	Amphiregulin	
9.3	Olfactomedin 4	
7.3	arginase, liver	
6.4	Insulin receptor substrate 2	
6.0	Interleukin 18 receptor 1	
6.0	Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (COX2)	PGE2合成
5.8	Hepatocyte growth factor	
5.5	Selenium binding protein 1	
5.4	Oleoyl-ACP hydrolase	脂肪酸
5.3	Leucine rich repeat neuronal 1	
5.0	Solute carrier family 4, anion exchanger, member 1	
4.9	Synuclein, alpha	パーキンソン病レベ-小体の主成分 クア-活性化
4.8	Interleukin 1 receptor, type-1	IL-1R
4.6	Fc fragment of IgG, low affinity IIa, receptor (CD32)	
4.6	Transglutaminase 2 (C polypeptide, protein-glutamine-gamma-glutamyltransferase)	
4.5	Zinc finger protein 117	
4.4	Desmocollin 2	
4.3	Prostaglandin-endoperoxide synthase 2(COX2)	

## 7. 病態に関連が示唆された遺伝子群 —重症インフルエンザ治療への応用—



## 2011年度の研究計画

- 最終段階にあるインフルエンザ脳症宿主側発症因子を明らかにする。
- 病態解析で明らかになった酸化ストレスマーカー、COX2、MMP9、などによる血液・脳関門の破壊とそれに続く脳障害のメカニズムを明らかにし治療法の確立に役立てる。
- DNAマイクロアレイの解析で示されたCNTNAP3、ADORA2A多型 αシヌクレインの役割などの機能解析の研究を進める。
- H5N1高病原性鳥インフルエンザヒト重症例とインフルエンザ脳症(特に新型)との類似点と異なる点について、病態・遺伝子発現・病理などの差異を明らかにし、現在、致死率が極めて高いH5N1ヒト感染例に対する治療法を確立する。

### 重症インフルエンザの治療戦略



## 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：成人感染が問題となりつつある小児感染症への対応に関する研究

課題番号：H21-新興-一般-011

予定期間：H21 年度から H23 年度まで

研究代表者：加藤 達夫

所属研究機関：独立行政法人国立成育医療研究センター

所属部局：\_\_\_\_\_

職名：理事長・総長

年次別研究費(交付決定額)：1 年目 24,700,000 円 2 年目 19,760,000 円

### I. 研究の意義

- (1) 百日せき：成人への DTaP ワクチン接種、新規百日せき血清診断法の確立、成人百日せきの臨床症状の確認。
- (2) 水痘：麻しん、風しん (MR) ワクチンとの同時接種、水痘の集団発生時の社会的影響の情報確認。
- (3) MR：成人を対象とした MR ワクチンの効果・安全性の確認。

### II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 成人百日せきの対策としてのワクチン接種効果、診断精度の向上により成人百日せきの確定診断。
- (2) 水痘、MR ワクチン同時接種における安全性・有効性の確認・水痘発生状況調査により水痘発生による社会的問題を提起
- (3) 2012 年の我が国の麻しん排除目的に向け、MR ワクチンの有効性、安全性を検討。

### III. 2 年間の研究成果

※この期間にどのような成果があったか、研究代表者、研究分担者毎に、できるだけわかりやすく具体的に記述してください。

・研究代表者 (加藤達夫)

- (1) 百日せき：成人百日せきの臨床データの集積 (現在解析中)
- (2) 水痘：全国 643 の保育所から水痘発生に関するアンケート調査。70%が 5 年以内に集団発生。  
全国 71 の大規模病院における水痘院内発生に関するアンケート調査。51%に院内発生。
- (3) MR：低抗体価であった妊婦の産褥婦 36 名に MR ワクチンを接種。90%に有意の抗体価を得た。

・研究分担者(荒川宜親)

- (1) 成人百日せきでは菌量が少量であること。感度の高い特異 ELISA 抗原を開発。

・研究分担者(吉川哲史)

- (1) 27 名の被験者を対象として 1 期 MR 接種時に水痘ワクチンを同時接種、水痘での良好な抗体価を確認。水痘特異的細胞性免疫能の評価を少数だが検討。