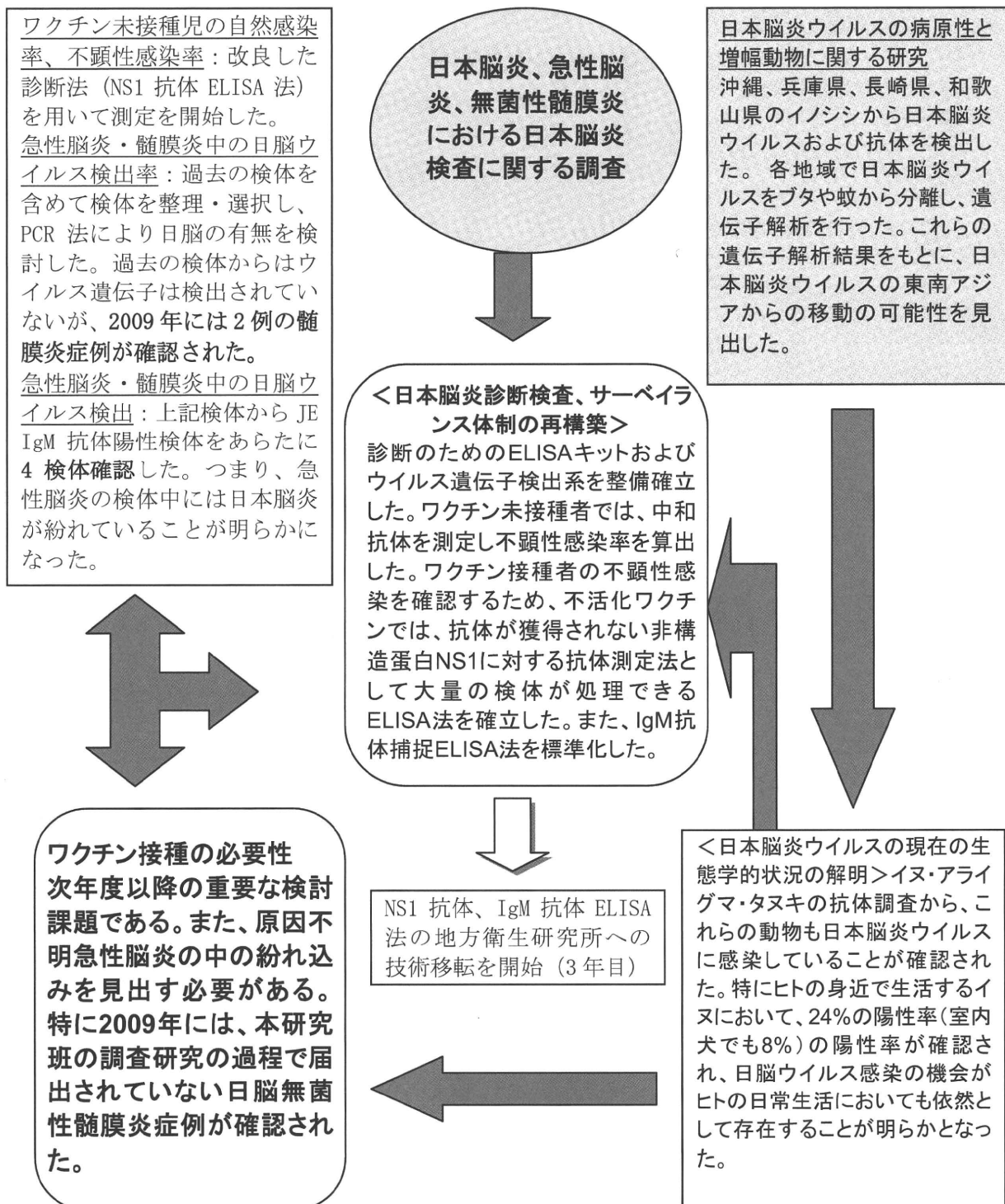


Ⅶ. Ⅲ (3 年間の研究成果) の概要図等



●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

昭和 57 年：大阪医科大学卒業、2 年間臨床研修（耳鼻咽喉科）

昭和 60 年：大阪医科大学微生物学教室（中井益代教授）にてヒトレトロウイルスの研究

昭和 61 年：米国 Harbor-UCLA Medical Center 小児科感染症部門に留学（2 年半）HIV-1 の研究
(David T. Imagawa 研究室)

平成元年：大阪医科大学耳鼻咽喉科助手

平成 2 年：ユニチカ中央病院耳鼻咽喉科医長

平成 3 年：近畿大学医学部細菌学教室講師

平成 10 年より国立感染症研究所 ウイルス第一部 第 2 室室長 現在に至る。

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

1. 倉根一郎（国立感染症研究所）
2. 小西英二（神戸大学医学部）
3. 江下優樹（大分大学医学部）
4. 中井益代（大阪医科大学）
5. 山口淳二（近畿大学医学部）
6. David T. Imagawa (UCLA)

・主な研究課題

1. デング熱、ウエストナイル熱、チクングニヤ熱、日本脳炎に関する診断法の開発
2. デングウイルス、ウエストナイルウイルスに対するワクチン開発
3. デング出血熱に関する病態に関する研究、動物実験モデルの開発
4. 日本脳炎ウイルスのヒトへの感染および自然界における生態に関する研究
5. HIV、ATLV の逆転写酵素に関する研究
6. ウイルスの超微構造解析

・これまでの研究実績（過去 3 年間）

※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。

※発表論文名

- (1) Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Discrepancy in Neutralizing Antibody Titers between Plaque Reduction Neutralizing Tests Using Fc{gamma}R-negative and Fc{gamma}R-expressing BHK-21 cells. Clin Vaccine Immunol. 17(3):402-407.2010
- (2) Yamamoto K, Matumoto K, Lim CK, Moi ML, Kotaki A, Takasaki T. Chikungunya fever from Malaysia. Intern Med. 49(5):501-505, 2010
- (3) Moi ML, Takasaki T, Kotaki A, Tajima S, Lim CK, Sakamoto M, Iwagoe H, Kobayashi K, Kurane I. Importation of Dengue Virus Type 3 to Japan from Tanzania and Cote d'Ivoire. Emerg Infect Dis. 16(11):1770-1772. 2010
- (4) Meng Ling Moi, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Development of an antibody-dependent enhancement assay for dengue virus using stable BHK-21 cell lines expe

- ssing Fc γ RIIA. *J Virol Methods*. 163(2):205-209.2010.
- (5) Fujii Y, Matsutani T, Kitaura K, Suzuki S, Itoh T, Takasaki T, Suzuki R, Kurane I. Comprehensive analysis and characterization of the TCR alpha chain sequences in the common marmoset. *Immunogenetics*, 62:383-395, 2010
 - (6) Ito M, Takasaki T, Kotaki A, Tajima S, Yuwono D, Rimal HS, dos Santos F, de Jesus MD, Lina BB, Tsuda Y, Lim CK, Nerome R, Calerés A, Shindo N, Drager RD, Andjaparidze A, Kurane I. Molecular and virological analyses of dengue virus responsible for dengue outbreak in East Timor in 2005. *Jpn J Infect Dis.*, 63:181-184, 2010
 - (7) Ito M, Mukai RZ, Takasaki T, Kotaki A, Kurane I. Antibody-dependent enhancement of dengue virus infection in vitro by undiluted sera from monkeys infected with heterotypic dengue virus. *Arch Virol*. 155(10):1617-24. 2010
 - (8) Imoto J, Ishikawa T, Yamanaka A, Konishi M, Murakami K, Shibahara T, Kubo M, Lim CK, Hamano M, Takasaki T, Kurane I, Udagawa H, Mukuta Y, Konishi E. Needle-free jet injection of small doses of Japanese encephalitis DNA and inactivated vaccine mixture induces neutralizing antibodies in miniature pigs and protects against fetal death and mummification in pregnant sows. *Vaccine*. 28(46):7373-7380. 2010
 - (9) Tajima S, Takasaki T, Kurane I. Restoration of replication-defective dengue type 1 virus bearing mutations in the N-terminal cytoplasmic portion of NS4A by additional mutations in NS4B. *Arch Virol*. 2010 Sep 30. [Epub ahead of print]
 - (10) Tomohiko Takasaki, Akira Kotaki, Chang-Kweng Lim, Shigeru Tajima, Tsutomu Otsu, Meng Ling Moi, Ichiro Kurane. Arbovirus infections: the challenge of controlling an ever-present enemy. *Journal of Disaster Reserch*. 4(5) 322-328. 2009
 - (11) Meng Ling Moi, Lim CK, Takasaki T, Kurane I. Involvement of the Fc γ receptor IIA cytoplasmic domain in antibody enhancement of dengue virus infection. *J Gen Virol*. 91 : 103-111. 2009.
 - (12) Lim CK, Nishibori T, Watanabe K, Ito M, Kotaki A, Tanaka K, Kurane I, Takasaki T. Chikungunya virus isolated from a returnee to Japan from sri lanka: isolation of two sub-strains with different characteristics. *Am J Trop Med Hyg*. 81(5):865-868. 2009.
 - (13) Takasaki T, Kotaki A, Nishimura K, Sato Y, Tokuda A, Lim C-K, Ito M, Tajima S, Nerome R, Kurane I. Dengue virus type 2 isolated from an imported dengue patients in Japan: First isolation of dengue virus from Nepal. *J Travel Med*. 15:46-49. 2008.
 - (14) Lim CK, Takasaki T, Kotaki A, Kurane I. Vero cell-derived inactivated West Nile (WN) vaccine induces protective immunity against lethal WN virus infection in mice and shows a facilitated neutralizing antibody response in mice previously immunized with Japanese encephalitis vaccine. *Virology*. 374:60-70. 2008.
 - (15) Tajima S, Takasaki T, Kurane I. Characterization of Asn130-to-Ala mutant of dengue type 1 virus NS1 protein. *Virus Genes*. 36:323-329. 2008.
 - (16) Arai S, Matsunaga Y, Takasaki T, Tanaka-Taya K, Taniguchi K, Okabe N, Kurane I; Vaccine Preventable Diseases Surveillance Program of Japan. Japanese encephalitis: surveillance and elimination effort in Japan from 1982 to 2004. *Jpn J Infect Dis*. 61(5):333-338. 2008
 - (17) Pandey BD, Morita K, Khanal SR, Takasaki T, Miyazaki I, Ogawa T, Inoue S, Kurane I. Dengue virus, Nepal. *Emerg Infect Dis*. 14(3):514-515. 2008

- (18) *Nidaira M, Taira K, Itokazu K, Okano S, Kudaka J, Nakamura M, Ohno A, Takasaki T. Detection of Japanese encephalitis virus genome in Ryukyu wild boars (Sus scrofa riukiuanus) in Okinawa, Japan. Jpn J Infect Dis. 61(2):164-165. 2008*
- (19) Dewi BE, Takasaki T, Kurane I. Peripheral blood mononuclear cells increase the permeability of dengue virus-infected endothelial cells in association with downregulation of vascular endothelial cadherin. *J Gen Virol. 89:642-652. 2008*
- (20) Fujii Y, Kitaura K, Nakamichi K, Takasaki T, Suzuki R, Kurane I. Accumulation of T-cells with selected T-cell receptors in the brains of Japanese encephalitis virus-infected mice. *Jpn J Infect Dis. 61(1):40-48. 2008*

・平成23年度新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

※申請している場合は、申請課題名を記載して下さい。

(申請課題名)

我が国への侵入が危惧される蚊媒介性ウイルス感染症に対する総合的対策の確立に関する研究

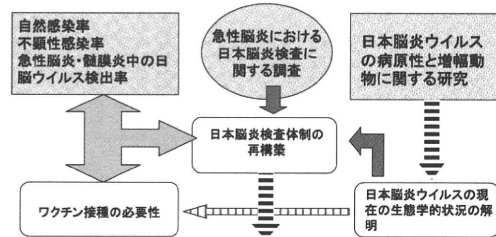
(2 3 2 1 1 2 0 1)

厚生労働省新興・再興感染症研究事業
「我が国における日本脳炎の現状と今後の予防戦略に関する研究」
(H20-新興-一般-003)

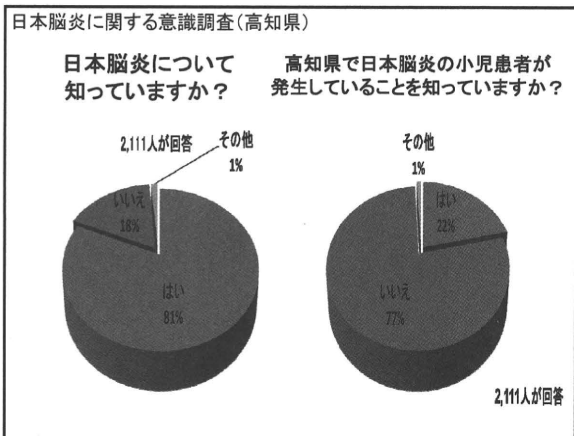
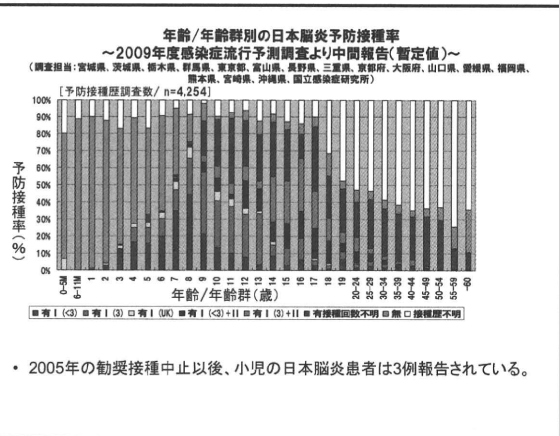
- 1) 日本脳炎ウイルスのヒトにおける活動状況の把握
- 2) 日本脳炎サーベイランスのための検査法の開発および技術移転
- 3) 急性脳炎における日本脳炎検査に関する調査
- 4) 日本脳炎ウイルスの病原性と増幅動物に関する研究
- 5) 成人における日本脳炎ワクチンの抗体誘導能の検討

平成23年1月31日
国立感染症研究所
ウイルス第一部
高崎 智彦

研究班流れ図



2009年2月、細胞培養日本脳炎不活化ワクチン製造承認
2009年6月、接種が始まる。
2010年、一期3歳児を対象に勧奨接種再開



一日本脳炎ウイルス自然感染率の調査一
ヒト血清中の日本脳炎ウイルスNS1
抗体を測定するELISA法 分担研究者:小西 英二

ワクチン接種率の低下 ⇒ ワクチン非接種者を対象
⇒ 中和試験など構造蛋白に対する抗体を捉える
方法で調査可能

5歳児以上を対象とした調査 } ⇒ 非構造蛋白に対する抗体を捉える方法
ワクチン接種率上昇後の調査 }

免疫染色法によるNS1抗体測定法→

「我が国における日本脳炎の現状と今後の予防戦略に関する研究」(H20-新興-一般-003)

ヒト血清中のNS1抗体を測定するELISA法多検体処理を可能にした!

パラニトロフェニールリン酸	1 mg/ml	37°C、30分間
AP標識抗ヒトIgG	1:5000	37°C、1時間
ヒト血清検体	1:100	37°C、1時間
アフィニティ精製NS1	10 ng/well	4°C、一夜

ELISA希釈液

- 0.05 M Tris
- 1 mM EDTA
- 0.15 M NaCl
- 0.05 % Tween 20
- 0.2 % casein
- pH 8.0

1時点における抗体陽性率

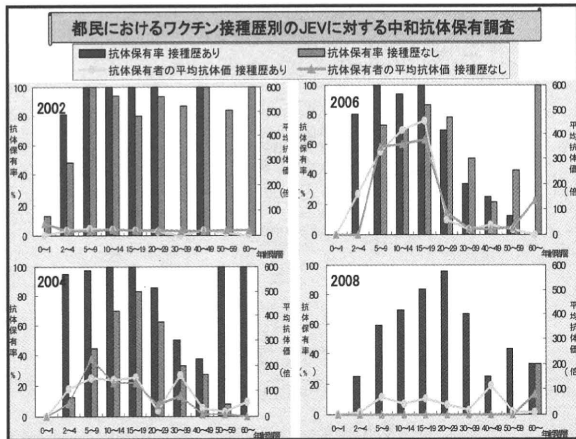
抗体の持続期間

二 年間の自然感染率

抗体の持続期間 = ELISA値が陽転してから陰転するまでの期間

NS1抗体測定結果からの推計で、年間自然感染率は熊本県で1.8%、東京都で1.3%であった。また、熊本県では3例の患者が発生した2006年でNS1抗体保有率が有意に高かった。

ワクチン未接種者の中和抗体測定結果から推計すると、年間自然感染率は2.6%と推計された。



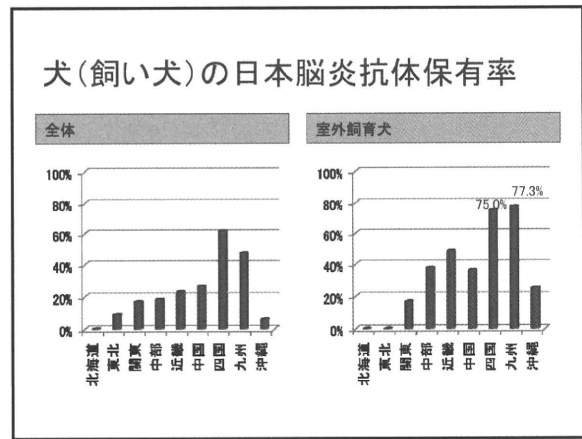
農村部と都市部の抗体陽性率(%) (岡山県)

検査法	月齢					計
	0-12	13-36	ワクチンなし	ワクチンあり	不明	
HI法	0.0	0.0	4.9	51.2	30.6	19.6
EIA法 (IgM)	0.0	8.3	9.8	0.0	0.0	3.9
EIA法 (IgG)	39.1	50.0	24.4	76.7	66.7	52.5

都市部 (川崎) n=148		0-12	13-36	ワクチンなし	ワクチンあり	不明	計
HI法	0.0	0.0	10.5	23.1	14.7		8.1
EIA法 (IgM)	4.5	2.4	0.0	0.0	0.0		1.4
EIA法 (IgG)	59.1	26.8	52.6	76.9	47.1		44.6

伴侶動物で調査する理由

- ・ヒトと生活空間を共有する
陽性はヒトへの感染の可能性を間接的に示唆する(特に室内飼育動物)
- ・ワクチンを接種していない
陽性は過去の感染
- ・アメリカではウエストナイルウイルスによりのイヌが脳炎で死亡している
日本脳炎ではそのようなことはないのか?

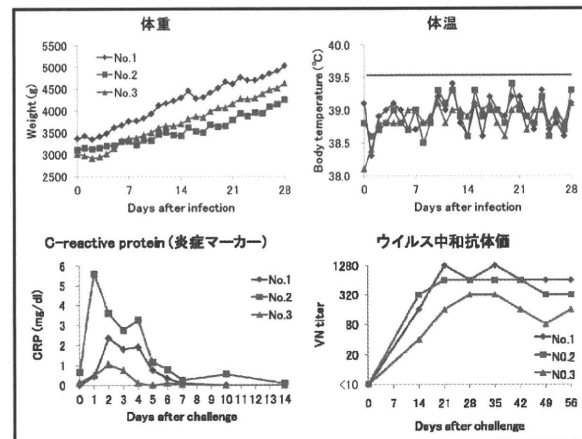


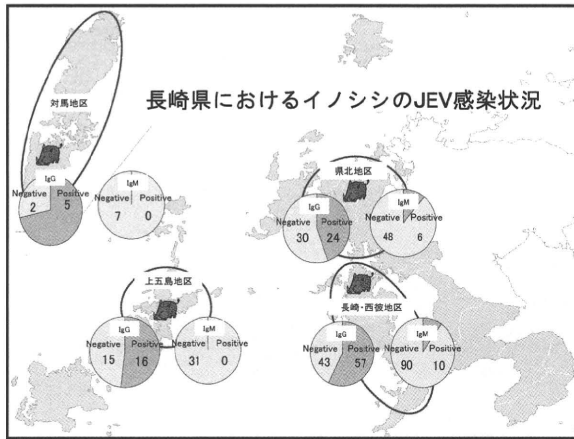
Materials

イヌ: ビーグル2ヶ月齢 メス 3匹
 ウイルス: JaOH 0566 P3

Methods

1. 2%FCS EMEM で希釈したウイルスを 1×10^7 PFU/mlを0.5ml静注+0.5ml皮下注
2. 体温と体重を毎日測定し、臨床症状を観察
3. 毎日採血2ml(火と金のみ採血5ml)
4. 採取した血液から、血清、血漿、PBMCを分離
 - ・血清→血液生化学検査、CRPの検査、中和抗体価
 - ・EDTA血→血液塗抹、PCV、TP、CBC
 - ・PBMCと血清はVero細胞を用いウイルス分離





西表島のイノシシのJEV感染状況

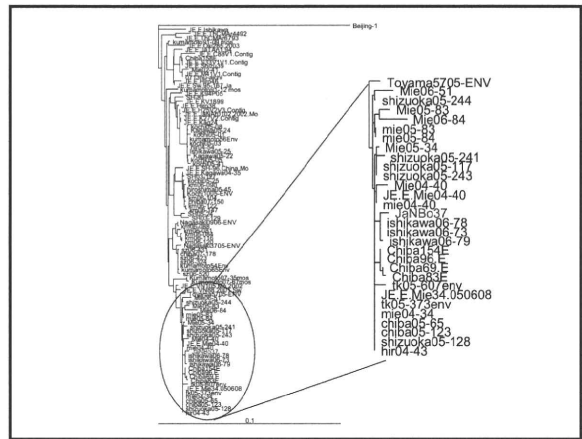
調査年	検体数	JEV抗体陽性数 (%)	JEV遺伝子
2008年	20	15 (75.0)	検出されず
2000~2005年	27	1 (3.7)	検出されず

西表島のJEV活動は、我々の以前の調査時より活発になったことが考えられた。要因としてJEV増幅動物としての可能性が示唆されているイノシシや渡り鳥の関与などが考えられた。

兵庫県のイノシシからの日脳ウイルス分離 (JaNBo37)

【プロフィール】

- 捕獲日: 2008年12月12日
- 捕獲場所: 西宮市甲陽園目神山町 (関西学院大学から西へ約2.5km)
- 性別 ♂
- 推定年齢: 1才
- 体重: 25kg



3月29日捕獲のイノシシ (Bo66) 血清からウイルス遺伝子を検出
5月5日捕獲のイノシシ (Bo76) 血清からウイルス遺伝子を検出

Bo66捕獲場所はBo37の捕獲場所の近くであった!

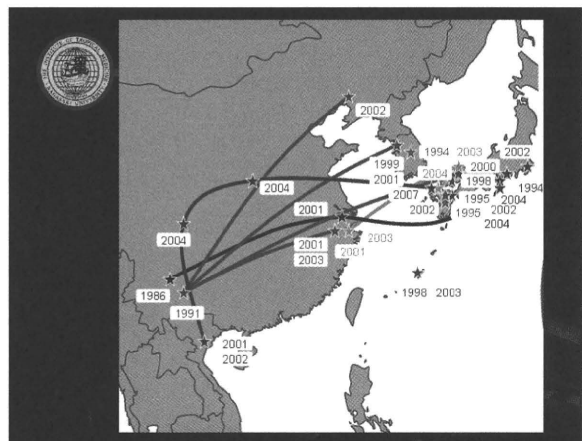
JE Genotype 1 TaqMan PCR result of Bo66

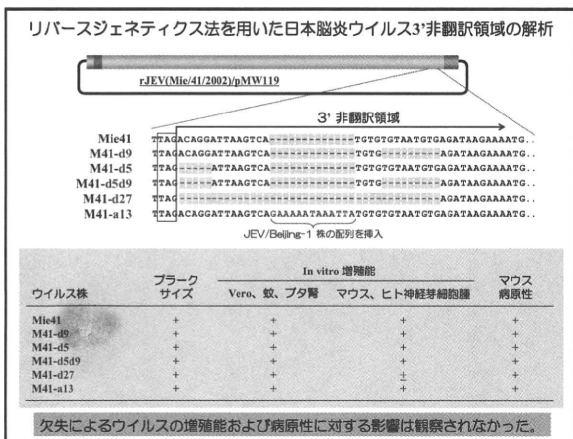
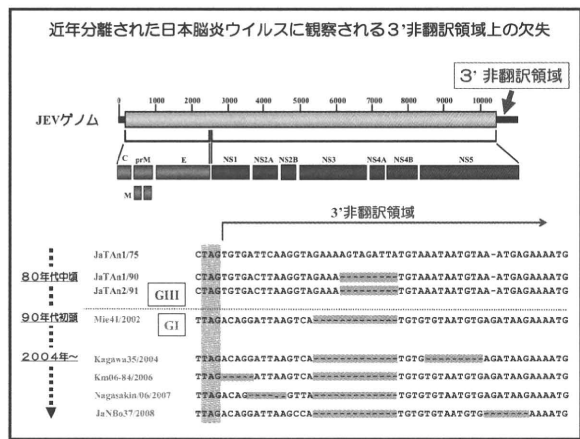
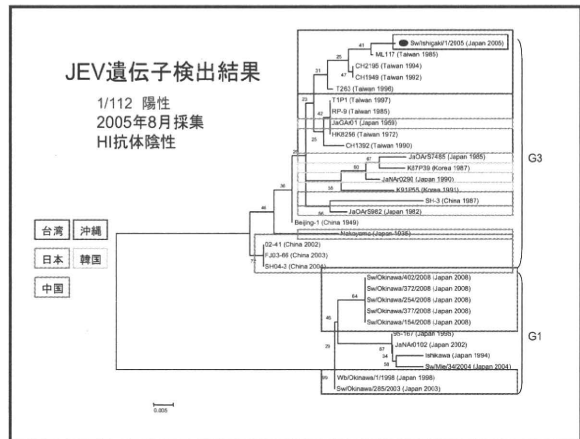
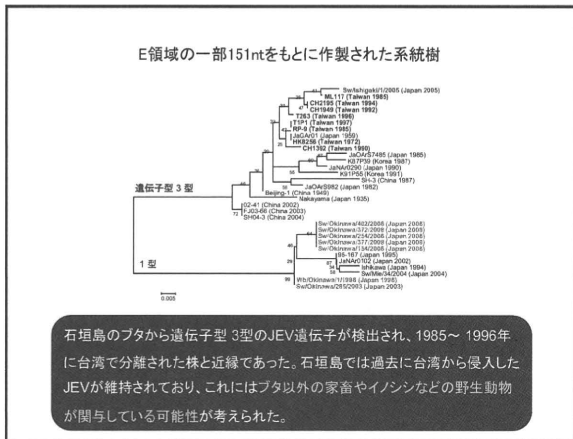
JE Genotype1 TaqMan set

どちらも遺伝子解析(部分配列)から日本脳炎ウイルスであることを確認した。

•Bo76, 2009.05.05 西宮市塩瀬町名塚山荘字蛇目、♀ 1.5才 15kg

2010年3月下旬に捕獲されたイノシシ(Bo121)からは、Genotype 3が検出された。





急性脳炎患者とγ-グロブリン製剤

- 急性脳炎患者にグロブリン製剤を投与する場合があります。グロブリン製剤中の日本脳炎抗体により、日本脳炎抗体が陽性あるいは上昇することがある。
- 日本人から製造されたグロブリン製剤は、日本脳炎抗体陽性であるが、日脳抗体価はルーチンに測定されているわけではない。
- 髄液中のIgM抗体を、IgM抗体捕捉ELISA法により、測定することは非常に有用である。グロブリン製剤による偽陽性を排除できる。

成人への日本脳炎ワクチン接種
マウス脳由来日脳ワクチン接種グループ

検体番号	年齢	性別	居住地	出身地	採血日・抗体価 (JE)			接種日
					接種前採血日	NT抗体価	NT抗体価	
1	30	F	東京		20091020	<10x	80x	20091117
2	34	F	千葉	千葉	20091029	<10x	80	20091128
3	34	M	東京			<10x	320	20091203
4	33	M	東京		20091105	<10x	160	20091208
5	32	M	東京		20091105	80x	640	20091208
6	33	M	千葉	千葉	20091116	20	40	20091214
7	34	M	埼玉		20091119	20	40	20091215
8	43	F	東京	熊本	20091204	40	160	20091225
9	51	M	東京	埼玉	20100104	160	160	20100201
10	25	F	東京	新潟	20100106	160	640	
11	26	F	東京	北海道	20100118	>320	1280	20100208
12	28	M	神奈川	千葉	20100203	<10	20	20100303
13	63	F	東京	茨城	20100205	80	2560	20100305
15	40	M	大阪	長野	20100209	10	80	20100308
17	35	M	東京		20100209	<10x	<10x	20100316
18	28	F	東京	東京	20100209	20	160	20100316
19	57	M	神奈川	群馬		20	320	20100323
20	26	M	千葉		20100216	10	5120	20100316
21	21	M	東京		20100215	320	40	20100315
22	22	M	千葉	京都	20100228	10	40	20100326
23	22	F	東京	岡山	20100304	<10	<10	20100401
24	43	M	埼玉	富山	20100301			

Vero由来ワクチン接種グループ

検体番号	年齢	性別	居住地	出身地	採血日・抗体価 (JE)			接種日
					接種前採血日	NT抗体価	NT抗体価	
25	47	F	埼玉	埼玉	20100308	<10	80	20100405
26	27	M	東京	東京	20100305	10	160	20100402
27	34	M	東京	大阪	20100308	10	80	20100405
28	37	F	東京	三重	20100311	<10	10	20100408
29	26	F	栃木	栃木	20100312	<10	160	20100409
30	24	M	埼玉	東京	20100316	20	160	
31	33	F	東京	東京	20100323			
32	40	F	東京	東京	20100324			
33	21	M	東京		20100324	160	2560	
34	34	M	神奈川	群馬	20100329	<10	10	20100427
35	41	M	埼玉		20100405	20	40	
36	43	M	東京		20100405	<10	10	20100427
37	41	F	東京	東京	20100406	40	80	
38	54	M	神奈川		20100409	<10	10	
39	40	M	東京	東京		<10	160	
40	46	M	群馬	千葉	20100419	<10	10	20100517
41	32	M	東京	千葉	20100421	<10	20	20100517
42	33	F	東京	大分	20100420	<10	<10	20100520
43	56	M	埼玉	新潟	20100427	<10	40	20100519

成人への日本脳炎ワクチン追加接種
55症例のまとめ

- 50.9%が日本脳炎中和抗体が陰性であった。
- 1回接種で22例で中和抗体上昇を認めた。
- 6例では、中和抗体の上昇が認められず、この6例はいずれも40歳以下であった。
- 72.7%で中和抗体の上昇が確認された。

急性脳炎報告数

(日本脳炎、ウエストナイル脳炎、ダニ媒介脳炎、西部ウマ脳炎、東部ウマ脳炎、ペネズエラ馬脳炎、リフトバレー熱を除く)

年	報告数	日本脳炎報告数
2004	166	5
2005	188	7
2006	167	8
2007	216	9
2008	182	3
2009	493	3
2010	234	4

成果と課題

1. 検査・診断法の開発および改良がおこなわれ、標準化された。
2. 今後は上記検査法の普及を地方衛生研究所に対して開始した(IgM捕捉ELISA法、NS1抗体検出ELISA)。
3. 野生動物やペットにおける日本脳炎感染状況が明らかになった。
4. ヒトにおける日本脳炎ウイルス自然感染状況が明らかになった。
5. 原因不明の急性脳炎、無菌性髄膜炎における日本脳炎の存在を解明するためには、急性脳炎届け出に関して法的整備が必要である。

※関係者に感染症法の届け出基準の理解を図る必要もある。

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：本邦におけるHTLV-1感染及び関連疾患の実態調査と総合対策

課題番号：H20-新興-一般-004

予定期間：H20年度からH22年度まで

研究代表者：山口一成

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：血液・安全性研究部

職名：客員研究員

年次別研究費(交付決定額)：

1年目 1400万円 2年目 1064万円 3年目 957.6万円 計 3421.6万円

I. 研究の意義

- (1) HTLV-1は成人T細胞白血病(ATL)やHTLV-1関連脊髄症(HAM)などのHTLV-1関連疾患の病因ウイルスである。HTLV-1キャリアに関する疫学調査は、1980年代に日沼、田島らにより全国調査が行われ、本邦での感染者は約120万人と推定されたが、2000年代に入ってから行われていなかった。そこで日本赤十字社の協力を得て平成18、19年の全国のキャリア数の把握を行った。
- (2) ATL、HAM患者の実態についても最新のデータがなく、予防法、治療についても手探りの状態であり、全国での患者把握が必要である。
- (3) HTLV-1感染対策を全国で行う場合、検査法、診断法の標準化、カウンセリングの体制強化などが重要である。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) HTLV-1母子感染対策を全国的に行うに当たり、現行法で確認検査を行った場合、10-20%の判定保留が出ると予想され、PCR法を含めたHTLV-1検査法の確立が急務である。
- (2) HTLV-1感染症の診断法の標準化、さらに診断薬の改良、新規の診断薬の開発が期待される。
- (3) 現時点でのキャリア数、患者数を把握することでHTLV-1感染症の総合対策への大きな参考資料となる。
- (4) 全国に対策を広げる場合、医療側の立場からの「キャリア指導ガイドライン」が必要である。

III. 3年間の研究成果

・研究代表者(山口)・研究分担者(山田恭暉、岡山明彦、佐竹正博、出雲周二、望月 學、渡邊俊樹、徳留信寛、大隈 和)

(1) 全国のHTLV-1キャリア数が約108万人であることを明らかにした。また地域別割合を解析し、感染者が九州・沖縄から、東京を含む大都市へ拡散していることが分かった。

(2) ATLの患者数も20年前の700人/年から、今回の調査で、年間発症数は1,146例と推測された。ATL患者年齢の中央値は67歳とこの20年で約10歳近く高齢化しており、我が国における高齢者

を中心とした巨大なキャリアのプールから、今後も持続的に ATL は発症し、患者はますます高齢化すると推測された。HAM についても新規に発症し、診断される患者は増加傾向にあり、患者は九州以外の大都市でも多くみられた。この結果は HTLV-1 が決して「消えゆくウイルス」ではなく、むしろ全国的にはキャリア、患者の分布は地方から都会へと拡散していることが示された。

このことは二つの問題を提起している。ひとつは全国的な感染防止対策の必要性であり、もうひとつは高齢者の ATL 対策である。前者では HTLV-1 の主な感染ルートである母児感染対策の第一歩として、全国一律の妊婦スクリーニングの実施が別の研究班（齊藤班）から提案され、実行に移されつつある。後者では高齢者の ATL 患者にも耐えうる治療薬の開発、そして早期診断・早期治療が待たれるところである。

(3) HTLV-1 ウイルス量測定の標準化の検討

HTLV-1 母子感染対策を全国的に行うに当たり判定保留をできるだけ減少させるため、HTLV-1 関連疾患発症のリスク因子と考えられているウイルス量の測定に関しても、各施設において独自の方法が用いられている PCR 法について再評価を行い、全国的なサーベイランスを行う手段としての標準的な測定法を確立するための予備的検討を行った。（文献 2, 3）

IV. 今後考えられる新たな課題

(1) 全国的な HTLV-1 対策、特に母子感染スクリーニングが全国的に行われた場合の検査法・診断法の確立、キャリアのフォロー体制の確立が必要

(2) ATL 発症のリスクファクターの予測と発症予防法の探索

(3) 高齢者 ATL の治療法の確立と標準化

これらを踏まえて、今後、他の HTLV-1 関連研究班との情報交換やプロジェクトの遂行方針を有機的に調整することにより、迅速かつ総合的に HTLV-1 の感染および HTLV-1 関連疾患の発症リスクの低減を目指すべきと考える。

世界の先進国で唯一のウイルス感染国である日本が、本研究により HTLV-1 検査法を確立し、世界的な HTLV-1 感染医療の牽引役となって、国際的にも貢献できることが期待される。

V. 行政施策への貢献の可能性

(1) ガイドライン：HTLV-1 キャリア指導の手引を作成した

(2) 検査法の標準化は全国一律の HTLV-1 対策に向けて重要である

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

(1) ガイドライン：HTLV-1 キャリア指導の手引 本研究班（研究代表者：山口一成）2011.1

(2) Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) proviral load and disease progression in asymptomatic HTLV-1 carriers: a nationwide prospective study in Japan. Iwanaga M, Watanabe T, Utsunomiya A, Okayama A, Uchimaru K, Koh KR, Ogata M, Kikuchi H, Sagara Y, Uozumi K, Mochizuki M, Tsukasaki K, Saburi Y, Yamamura M, Tanaka J, Moriuchi Y, Hino S, Kamihira S, Yamaguchi K; Joint Study on Predisposing Factors of ATL Development investigators. Blood. 116(8):1211-9.2010

(3) Intra- and inter-laboratory variability in human T-cell leukemia virus type-1 proviral load quantification using

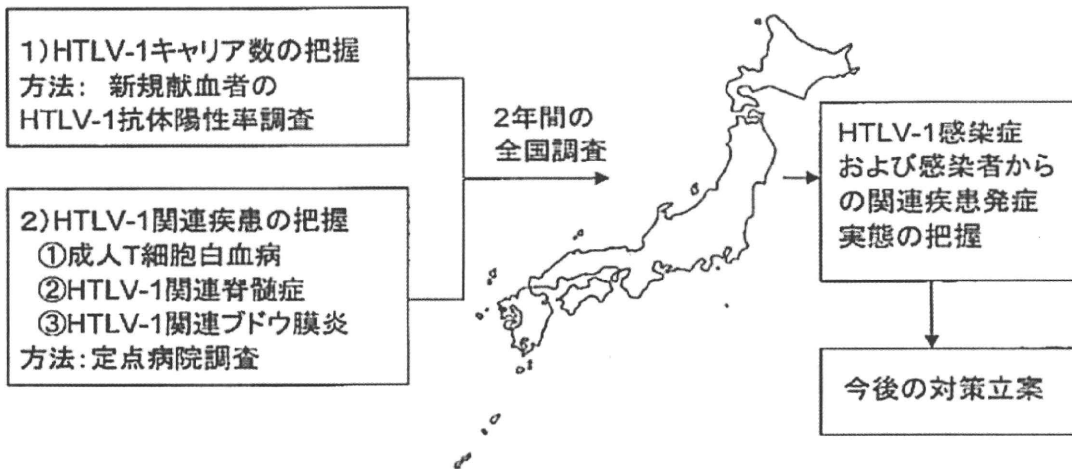
real-time polymerase chain reaction assays: a multi-center study. Kamihira S, Yamano Y, Iwanaga M, Sasaki D, Satake M, Okayama A, Umeki K, Kubota R, Izumo S, Yamaguchi K, Watanabe T. Cancer Sci.101(11):2361-7.2010

Ⅶ. Ⅲ (3 年間の研究成果) の概要図等

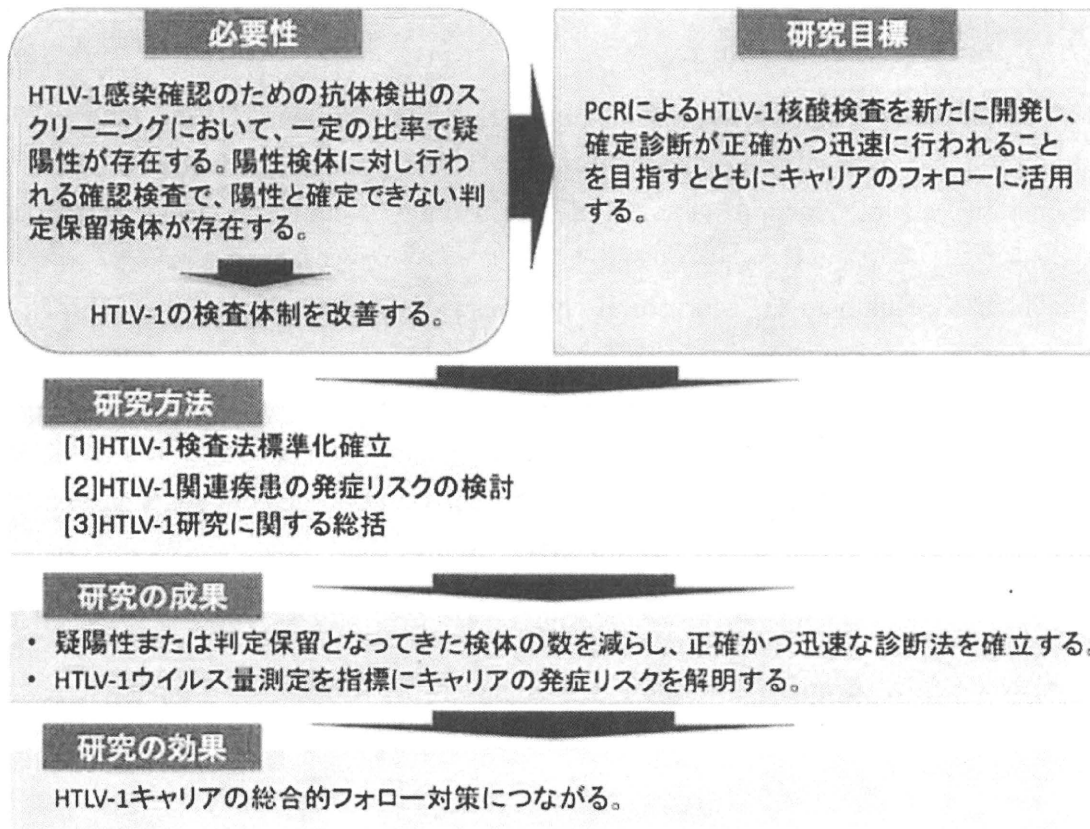
3 年間の研究成果

- 1) キャリア数及びキャリアの国内での分布、HTLV-1 関連疾患患者数を把握した
- 2) キャリア、ATL 患者の高齢化、キャリア、患者分布の全国的拡散を明らかにした、
- 3) HTLV-1 感染対策、特に予防（母子スクリーニング）の全国一律での施策に寄与した

本邦におけるHTLV-1感染症の実態把握



この成果を踏まえ、今後の課題は以下のとおりである。



●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49年—平成16年 熊本大学医学部文部教官
 平成16—21年 国立感染症研究所 血液・安全性研究部部長
 平成18—21年 東京大学医科学研究所非常勤講師（血液内科）
 平成21年— 国立感染症研究所客員研究員、熊本大学発生医学研究所学術研究員

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

岸本 進、高月 清（熊本大学医学部内科教授）
 渡邊俊樹（東京大学新領域）、浜口 功（国立感染症研究所）

・主な研究課題

血液学、輸血学、腫瘍ウイルス学、ワクチン学、品質管理学

・これまでの研究実績

研究実績：英文論文 212、和文論文 277

受賞数：3

特許の取得数：5

昭和49年から熊本大学医学部において血液学、ウイルス学の研究を行い、この間HTLV-1により発症する成人T細胞白血病の臨床像の確立、発症予防、治療、疫学、発症メカニズムの解析を行った。平成16年からは国立感染症研究所 血液・安全性研究部部長として、ワクチン、血液製剤を含む生物学的製剤の研究に従事し、厚生労働省 薬事・食品衛生審議会第2部会、同血液事業部会、同安全技術会会員等の活動を行った。

1. Kamihira S, Iwanaga M, Sasaki D, Yamano Y, Okayama A, Umeki K, Kubota R, Izumo S, Yamaguchi K, Watanabe T, Satake M.: Intra-and inter-laboratory variability in HTLV-1 proviral load quantification using real-time polymerase chain reaction assays: a multi-center study. *Cancer Science* 101(11):2361-7.2010
2. Ito M, Masumi A, Mochida K, Kukihara H, Moriishi K, Matsuura Y, Yamaguchi K, Mizuochi T. Peripheral B cells may serve as a reservoir for persistent hepatitis C virus infection. *J Innate Immunity* online Aug 17,2010
3. Yamamoto K, Utsunomiya A, Tsukasaki K, Uike N, Uozumi K, Yamaguchi K, Hanada S, Tamura K, Nakamura S, Inagaki H, Ohshima K, Kiyoi H, Ishida T, Matsushima K, Akinaga S, Ogura M, Tomonaga M, Ueda R.: Phase I study of KW-0761, a defucosylated humanized anti-CCR4 antibody, in relapsed patients with adult T-cell leukemia-lymphoma and peripheral T-cell lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*. 28:9,1591-1598. 2010
4. Ochiai M, Yamamoto A, Naito S, Maeyama JI, Masumi A, Hamaguchi I, Horiuchi Y, Yamaguchi K. Applicability of bacterial endotoxins test to various blood products by the use of endotoxin-specific

lysates. *Biologicals*. 38:629-636,2010

5. Iwanaga M, Watanabe T, Utsunomiya A, Okayama A, Uchimaru K, Koh KR, Ogata M, Kikuchi H, Sagara Y, Uozumi K, Mochizuki M, Tsukasaki K, Saburi Y, Yamamura M, Tanaka J, Moriuchi Y, Hino S, Kamihira S, Yamaguchi K.: Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) proviral load and disease progression in asymptomatic HTLV-1 carriers: a nationwide prospective study in Japan. *Blood* 116:8,1211-1219, 2010
6. Koga Y, Iwanaga M, Soda M, Inokuchi N, Sasaki D, Hasegawa H, Yanagihara K, Yamaguchi K., Kamihira S, Yamada Y.: Trends in HTLV-1 prevalence and incidence of adult T-cell leukemia/lymphoma in Nagasaki, Japan. *Journal of Medical Virology* 82:668-674, 2010
7. Momose H, Mizukami T, Ochiai M, Hamaguchi I, Yamaguchi K.: A new method for the evaluation of vaccine safety based on comprehensive gene expression analysis. *J Biomed Biotechnol*. 361841,2010
8. Momose H, Imai J, Hamaguchi I, Kawamura M, Mizukami T, Naito S, Masumi A, Maeyama j, Takizawa K, Kuramitsu M, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K.: Induction of indistinguishable gene expression patterns in rats by Vero cell-derived and mouse brain-derived Japanese encephalitis vaccines. *Jpn J Infect Dis* 63:25-30,2010
9. Masumi A, Ito M, Mochida K, Hamaguchi I, Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Tsuruhara M, Takizawa K, Kato A, Yamaguchi K.: Enhanced RIG-I expression is mediated by interferon regulatory factor-2 in peripheral blood B cells from hepatitis C virus-infected patients. *Biochem Biophys Res Commun*. 22;391(4):1623-8.2010
10. Mizuochi T, Ito M, Saito K, Kasai M, Kunimura T, Morohoshi T, Momose H, Hamaguchi I, Takai K, Iino S, Suzuki M, Mochida S, Ikebuchi K, Yamaguchi K.: Possible recruitment of peripheral blood CXCR3⁺ CD27⁺ CD19⁺ B cells to the liver of chronic hepatitis C patients. *J. Interferon & Cytokine Res*. 30(4):243-52,2010
11. Ito M, Murakami K, Suzuki T, Mochida S, Suzuki M, Ikebuchi K, Yamaguchi K. Mizuochi T.: Enhanced expression of lymphomagenesis-related genes in peripheral blood B cells of chronic hepatitis C patients. *Clin Immunol* 135:459—465. 2010
12. Mizuochi T, Mizusawa S, Nojima K, Okada Y, Yamaguchi K.: Single amino acid substitution in the hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) “a” determinant affects the detection sensitivity of an HBsAg diagnostic kit. *Clin Chem Acta*. 411(7-8):605-6,2010
13. Masumi A, Hamaguchi I, Kuramitsu M, Mizukami T, Takizawa K, Momose H, Naito S, Yamaguchi K.: Interferon regulatory factor-2 induces megakaryopoiesis in mouse bone marrow hematopoietic cells. *FEBS Lett*. 583(21):3493-500. 2009
14. Yamazaki J, Mizukami T, Takizawa K, Kuramitsu M, Momose H, Masumi A, Ami Y, Hasegawa H, Hall WW, Tsujimoto H, Hamaguchi I, Yamaguchi K.: Identification of cancer stem cells in a Tax-transgenic (Tax-Tg) mouse model of adult T- cell leukemia / lymphoma (ATL) *Blood* 114(13): 2709-20.2009, *Comment*:2568-9, 2009
15. Shimasaki N, Kiyohara T, Totsuka A, Nojima K, Okada Y, Yamaguchi K., Kajioka J, Wakita T, Yoneyama T: Inactivation of hepatitis A virus by heat and high hydrostatic pressure:variation among

- laboratory strains. *Vox Sanguinis*. 96:14-19, 2009
16. Mizuochi T, Ito M, Takai K, Yamaguchi K: Differential susceptibility of peripheral blood CD5+ and CD5- B cells to apoptosis in chronic hepatitis C patients. *Biochem Biophys Res Commun*. 389(3):512-5. 2009
 17. Ito M, Mizoroki F, Takai K, Yamaguchi K, Mizuochi T.: Functional phenotypes and gene expression profiles of peripheral blood mononuclear cells in chronic hepatitis C patients who developed non-Hodgkin's B-cell lymphoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 11;390(2):269-72. 2009.
 18. Tsukasaki K, Hermine O, Bazarbachi A, Ratner L, Ramos J, Harrington W, O'Mahony D, Janik J, Bittencourt A, Taylor G, Yamaguchi K, Utsunomiya A, Tobinai K, Watanabe T.: Definition, prognostic factors, treatment and response criteria of adult T-cell leukemia-lymphoma: A proposal from an international consensus meeting. *J Clin Oncol* 27(3):453-459, 2009
 19. Mizukami T, Masumi A, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Naito S, Maeyama J, Furuhashi K, Tsuruhara M, Hamaguchi I, Yamaguchi K: An improved abnormal toxicity test by using reference vaccine-specific body weight curves and histopathological data for monitoring vaccine quality and safety in Japan. *Biologicals* 37(1):8-17, 2009
 20. Uchamaru K, Nakamura Y, Tojo A, Watanabe T, Yamaguchi K.: Factors predisposing to HTLV-1 infection in residents of the greater Tokyo area. *Int J Hematol* 88(5):565-570, 2008
 21. Otsubo H, Yamaguchi K.: Current risks in blood transfusion in Japan. *Jpn J Infect Dis* 61:427-433, 2008
 22. Hamaguchi I, Imai J, Momose H, Mizukami T, Kawamura M, Naito S, Maeyama J, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K.: Application of quantitative gene expression analysis for pertussis vaccine safety control. *Vaccine* 26(36):4686-96, 2008.
 23. Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, Masumi A, Naito S, Iwama A, Ogawa T, Noce T, Hamaguchi I, Yamaguchi K.: Identification of transcripts commonly expressed in both hematopoietic and germ-line stem cells. *Stem Cells and Development* 17:67-80, 2008
 24. Mizukami T, Imai J, Hamaguchi I, Kawamura M, Momose H, Naito S, Maeyama J, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K.: Application of DNA microarray technology to influenza A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) vaccine safety evaluation. *Vaccine* 26(18):2270-83, 2008
 25. Kuramitsu M, Hamaguchi I, Mizukami T, Masumi A, Momose H, Takizawa K, Mochizuki M, Naito S, Yamaguchi K.: Deficient RPS19 protein production induces cell cycle arrest in erythroid progenitor cells. *Brit J Haematol* 140,348-359, 2008
 26. Tsukasaki K, Utsunomiya A, Fukuda H, Fukushima T, Takatsuka Y, Ikeda S, Masuda M, Nagashi H, Ueda R, Tamura K, Sano M, Momita S, Yamaguchi K, Kawano F, Hanada S, Tobinai K, Shimoyama M, Hotta T, Tomonaga M, and LSG Group: VCAP-AMP-VECP versus biweekly CHOP for adult T-cell leukemia-lymphoma: Japan Clinical Oncology Group Study, JCOG9801. *J Clin Oncol* 25(34):5458-64, 2007
 27. Ohsugi T, Kumasaka T, Okada S, Ishida T, Yamaguchi K, Horie R, Watanabe T, Umezawa K.: Dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) therapy reduces tumor formation in mice inoculated with Tax-deficient adult T-cell leukemia-derived cell lines. *Cancer letter* 257(2),206-215, 2007

28. Naito S, Maeyama J, Mizukami T, Takahashi M, Hamaguchi I, Yamaguchi K.: Transcutaneous immunization by merely prolonging the duration of antigen presence on the skin of mice induces a potent antigen-specific antibody response even in the absence of an adjuvant. *Vaccine* 25,8762-8770,2007
29. Hamaguchi I, Imai J, Momose H, Kawamura M, Mizukami T, Kato H, Naito S, Maeyama J, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Mochizuki M, Ochiai M, Yamamoto A, Horiuchi Y, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K.: Agp and Hpx are useful for pertussis vaccine safety control as vaccine toxicity-related genes. *Vaccine* 25,3355-3364,2007
30. Masumi A, Fukazawa H, Shimazu T, Toshida M, Ozato K, Komuro K, Yamaguchi K.: Nucleolin is involved in interferon regulatory factor-2-dependent transcriptional activation. *Oncogene* 25:5113-5124,2006
31. Hamaguchi I, Morisada T, Azuma M, Murakami K, Kuramitsu M, Mizukami T, Ohbo K, Yamaguchi K, Oike Y, Dumont DJ, Suda T.: Loss of Tie2 receptor compromises embryonic stem cell-derived endothelial but not hematopoietic cell survival. *Blood* 107:1207-1213, 2006
32. Ohsugi T, Kumasaka T, Ishida A, Ishida T, Horie R, Watanabe T, Umezawa K, Yamaguchi K.: In vitro and in vivo antitumor activity of the NF-kB inhibitor DHMEQ in the human T-cell leukemia virus type I transformed cell line, HUT-102. *Leuk Res*,30:90-97,2006

・ 平成 23 年度新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

以下の研究課題に私は分担研究者として参加したいと考えております。

1. 研究課題名 (公募番号) : HTLV-1感染症の診断法の標準化と発症リスクの解明に関する研究
(23210501)

平成22年度厚生労働科学研究費補助金
(新型インフル等新興・再興感染症研究事業)

研究課題名

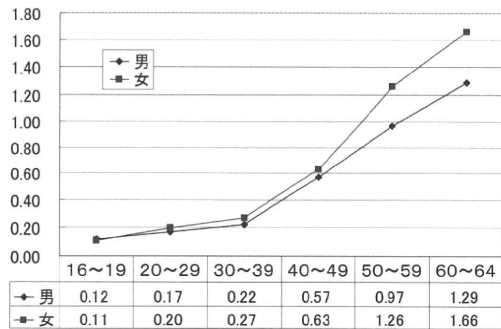
本邦におけるHTLV-1感染及び関連疾患の実態調査
と総合対策

(研究代表者：山口一成)

初回献血者でのHTLV-1陽性率から推定した
全国のHTLV-1キャリアの現状 (平成18-19年)

	実測キャリア数			初回献血者数		
	男	女	合計	男	女	合計
北海道	45	43	88	26,873	22,708	49,581
東北	67	60	127	49,385	40,137	89,522
関東	343	311	654	244,089	187,652	431,741
中部	163	146	309	104,593	67,410	172,003
近畿	401	366	767	123,705	83,364	207,069
中四国	161	113	274	66,213	42,382	108,595
九州	935	633	1,568	89,216	48,594	137,810
	0.300	0.340	0.317%			
全国	2,115	1,672	3,787	704,074	492,247	1,196,321

献血者年齢別陽性率 (全国%) : 全国積算で51万人



全年齢域での陽性率、キャリア数の推定

1. 若年者 (15歳以下)

指数関数的に増加すると仮定
指数関数による推定値と実測値の比較はよく合う

2. 65歳以上の人口での陽性率の推定

1988年の厚生省研究班報告書の献血者データを基にした。このデータは、今回のデータと直接比較が可能である。

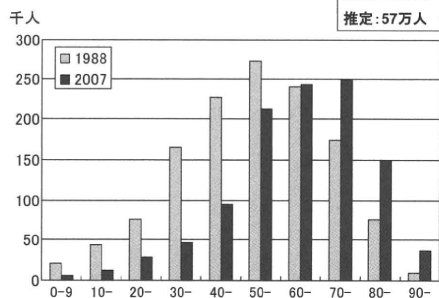
2006~2007年は、1988年から見て18~19年後であるが、これを20年後とした
(ex. 前回の20歳代を今回の40歳代とした)

推定されるキャリアの年齢別分布の推移

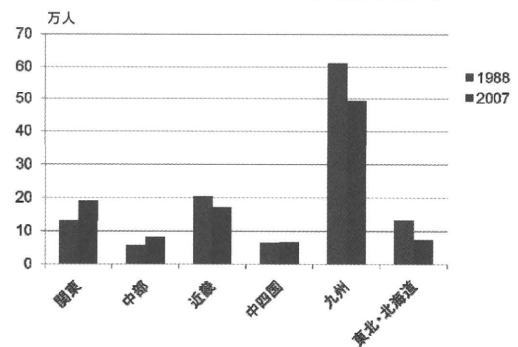
1988年 120万5千人

2007年 107万9千人

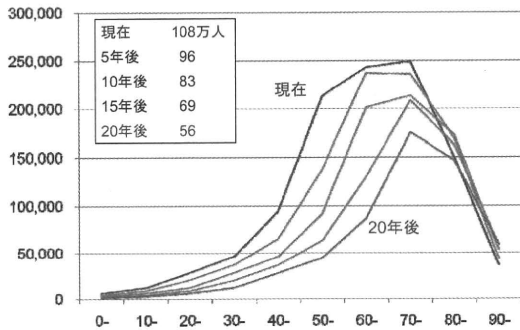
2007年
実測: 51万人 (47%)
推定: 57万人 (53%)



地域別キャリア数の推移 1988年と2007年の比較
0-99歳のキャリア数

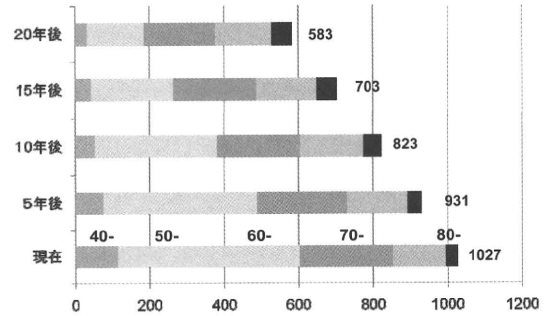


キャリア数の推移の予想



推定ATL年間発症数

キャリア800人より1年間に1人発症と仮定すると



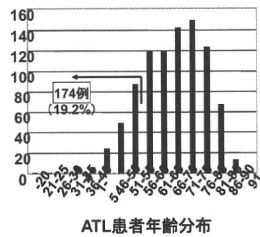
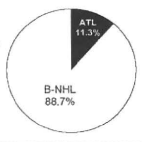
ATL及びB-NHL全国調査

	男女比	年齢(中央値)
ATL	54:46	67歳
B-NHL	55:45	67歳

登録症例

総登録症例 8,083例
(データ不備 9例)

確定登録症例 8,074例
ATL 910例(11.3%)
B-NHL 7,164例(88.7%)



ATL患者年齢分布

まとめ

- 全国156施設(32.6%)から回答が得られた。
- 確定登録症例8,074例のうち910例がATL(11.3%)、7,164例がB-NHLであった(2年間)。
- 患者年齢の中央値は67歳であり高齢化が示唆された。
- 急性型が減少し、リンパ腫型が増加していた。
- 人口動態調査ではATLでの死亡が1,056例(10.5%)、B-NHLでの死亡が9,020例。
- 年間ATL発症数は1,146例と推測された。

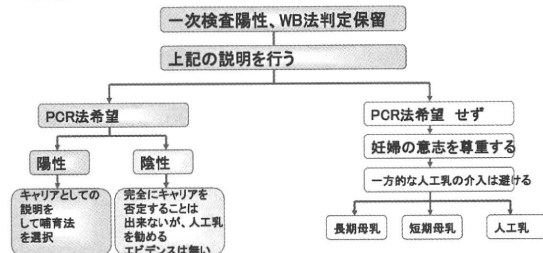
全国のHTLV-1キャリア、ATLの実態調査から母子感染対策の新たな動きが始まった。

HTLV-1スクリーニングの進め方

CLEIA法もしくはPA法で陽性となり、WB法で判定保留となった場合の対応

HTLV-1抗体検査で陽性となった場合、Western blot法で確認試験を行うが、10~20%で判定保留が出現する

WBを再検しても同様の結果となることが多く、確定診断は困難
現状では、判定保留の中に一部のHTLV-1キャリアが存在することが知られているが、その頻度は不明
保険収載されていないHTLV-1 PCR法を行うことは参考にはなるが絶対的なものではない



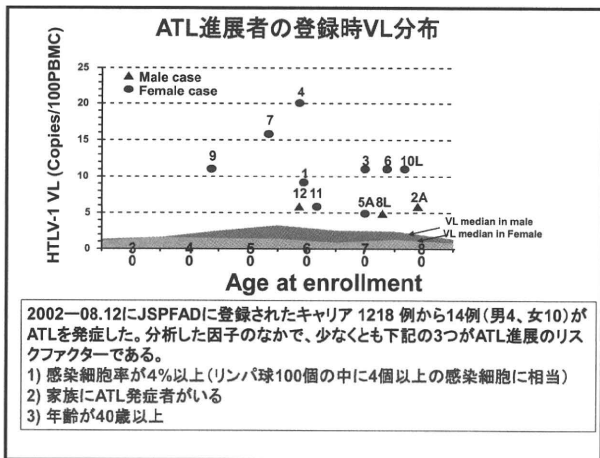
ATL発症高危険群の長期追跡と発病予防の検討

全国HTLV-1 キャリアの長期追跡研究 (JSPFAD) : Proviral load とATL進展

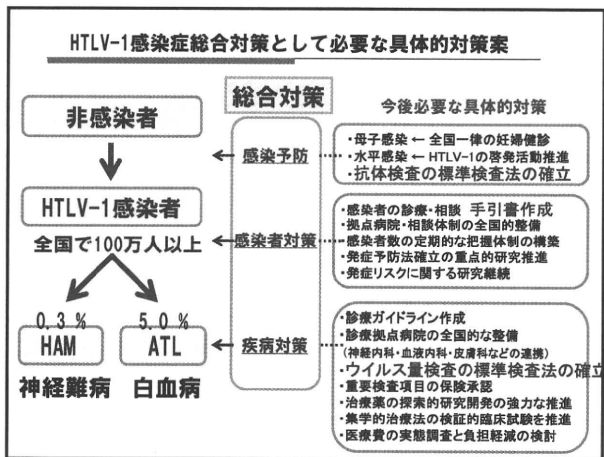
Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) proviral load and disease progression in asymptomatic HTLV-1 carriers: a nationwide prospective study in Japan.

Blood 116:8,1211-9, 2010

岩永 正子、渡邊 俊樹、宇都宮 興、内丸 薫、高 起良、
緒方 正男、魚住 公治、岡山 昭彦、上平 憲、山口 一成、
他JSPFADグループ



必要性	研究目標
HTLV-1感染確認のための抗体検出のスクリーニングにおいて、一定の比率で疑陽性が存在する。陽性検体に対し行われる確認検査で、陽性と確定できない判定保留検体が存在する。 HTLV-1の検査体制を改善する。	PCRによるHTLV-1核酸検査を新たに開発し、確定診断が正確かつ迅速に行われることを目指すとともにキャリアのフォローに活用する。
研究方法	
[1]HTLV-1検査法標準化確立 [2]HTLV-1関連疾患の発症リスクの検討 [3]HTLV-1研究に関する総括	
研究成果	<ul style="list-style-type: none"> 疑陽性または判定保留となってきた検体の数を減らし、正確かつ迅速な診断法を確立する。 HTLV-1ウイルス量測定を指標にキャリアの発症リスクを解明する。
研究の効果	HTLV-1キャリアの総合的フォロー対策につながる。
HTLV-1 provirus 定量に関する標準化 班員施設でのHome Brew kitでデータの調査を実施 1) r^2 は良好であったが、傾きが0.398と2.2とずれている施設がある。 2) 施設間較差は最大約5倍あるが、系統誤差の為に補正が可能である。	



HTLV-1 撲滅へ

1. 母子感染対策(全国)
2. 高齢者ATL対策
3. 早期診断・早期治療

厚生科学研究所研究補助金研究事業 2010年度 HTLV-1撲滅研究会編
 Human T-lymphotropic virus type 1
 2011年2月19日(土) 1000-1745
 国立感染症研究所 感染症学雑誌編集部

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: 新型インフルエンザの発生予測、早期検知、リスク評価および大流行に対する事前準備と緊急対応に関する研究

課題番号 : H20-新興-一般-005

予定期間 : H20年度からH22年度まで

研究代表者 : 田代真人

所属研究機関 : 国立感染症研究所

所属部局 : インフルエンザウイルス研究センター

職名 : センター長

年次別研究費(交付決定額):

1年目 174,000,000円 2年目 138,000,000円 3年目 150,000,000円 計 462,000,000円

I. 研究の意義

(1)弱毒型のH1N1インフルエンザ大流行では健康被害と社会的影響は比較的軽微だったが、この間にも流行拡大をしている H5N1 高病原性鳥インフルエンザが新型インフルエンザとして大流行した際には、未曾有の健康被害と社会機能の麻痺・崩壊が予想される。軽微から重篤なものまで幅広いパンデミックの違いを規定する科学的基盤の解明と、発生予測、早期検知、リスク評価が必要である。

(2)最悪のシナリオにおけるパンデミック時の健康被害を最小限にとどめ、社会機能の維持を目的として、新型インフルエンザの発生予測、早期検知、リスク評価方法を確立し、事前準備と緊急対策計画の策定とその実施に必要な理論的、技術的な基盤を確立・提供し、危機管理体制の確立に寄与する。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 様々なシナリオにおける新型インフルエンザ出現機序の解明とそれに基づく出現予測方法の開発
- (2) 新型インフルエンザ出現を早期検知監視体制と様々なシナリオでのリスク評価方法の確立
- (3) 新型インフルエンザウイルス迅速診断キットの開発・改良・実用化
- (4) 新型ワクチンの緊急開発・増産・供給・接種体制の確立
- (5) 抗ウイルス剤の有効な備蓄方法と使用方法の確立
- (6) 感染病理機構の解明に基づく経鼻投与ワクチン、組織培養ワクチンの開発

これらの成果を活用して、健康危機管理、社会危機管理体制の整備が行われ、最悪のシナリオにおける新型インフルエンザ大流行による健康被害の最小化と、社会・経済機能の崩壊を防止することが期待される。

III. 3年間の研究成果

・研究代表者(田代真人)

(1) 鳥で流行中のインフルエンザウイルスの遺伝子、抗原性、生物性状等を比較検討し、新型インフルエンザ出現の可能性、健康被害、社会的影響等のリスク評価を行った。H5N1 は徐々にヒト型に変化しており、新型インフルエンザへの進展と、ヒトに対する高病原性が維持される可能性が高いと判断された。

(2)H5N1 への準備対応が不可欠であり、これが十分であれば、他の亜型の新型インフルエンザにも対応可能と予想された。特にH5に関しては、備蓄ワクチンの事前接種(プライム・ブースト戦略)の有効性が示唆された。

(3)ブタ由来H1N1パンデミックウイルスのウイルス学的性状、遺伝子構造、病原性、抗原性、免疫エピトープ、抗ウイルス剤感受性等に関する解析を行い、4種類のブタウイルスの交雑体で、弱毒型であるが、