

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

## E. 結論

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

## F. 健康危険情報：特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Shahzada Khan, Tatsuya Okamoto, Koji Enomoto, Naomi Sakashita, Kohta Oyama, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Motohiro Takeya, Hisao Ogawa, Hiroshige Yamabe and Takaaki Akaike. Potential association of *Helicobacter cinaedi* with atrial arrhythmia and atherosclerosis. *Microbiol Immunol*. in press, 2012.
- 2) Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Shingo Kasamatsu, Jun Yoshitake, Rahaman Md Mizanur, Tatsuya Okamoto, Shigemoto Fujii and Takaaki Akaike. Regulation by mitochondrial superoxide and NADPH oxidase of cellular formation of nitrated cyclic GMP: potential implications for ROS signalling. *Biochem J*. 441: 719-30, 2012.
- 3) Yu Ishima, Fumika Yoshida, Ulrich Kragh-Hansen, Kaori Watanabe, Naohisa Katayama, Keisuke Nakajou, Takaaki Akaike, Toshiya Kai, Toru Maruyama and

Masaki Otagiri. Cellular uptake mechanisms and responses to NO transferred from mono- and poly-S-nitrosated human serum albumin. *Free Radic Res*. 45: 1196-1206, 2011.

- 4) Eiko Yoshida, Takashi Toyama, Yasuhiro Shinkai, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike and Yoshito Kumagai. Detoxification of methylmercury by hydrogen sulfide-producing enzyme in Mammalian cells. *Chem Res Toxicol*. 24: 1633-5, 2011.
- 5) Yoshiko Tokutomi, Keiichiro Kataoka, Eiichiro Yamamoto, Taishi Nakamura, Masaya Fukuda, Hisato Nako, Kensuke Toyama, Yi-Fei Dong, Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike and Shokei Kim-Mitsuyama. Vascular responses to 8-nitro-cyclic GMP in non-diabetic and diabetic mice. *Br J Pharmacol*. 162: 1884-93, 2011.
- 6) Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara and Takaaki Akaike. Antioxidant effect of a nitrated cyclic nucleotide functioning as an endogenous electrophile. *Curr Top Med Chem*. 11: 1854-60, 2011.
- 7) Tatsuya Okamoto, Md Hasan Zaki, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa and Takaaki Akaike. Nitric oxide-mediated host immune response and microbial pathogenesis. *Nitric oxide synthase inhibitors: From animal studies to clinical implications*. in press, 2011.
- 8) Hiroaki Nomori, Takeshi Mori, Kenichi Iyama, Tatsuya Okamoto and Mitsuhiro Kamakura. Risk of bronchioloalveolar carcinoma in patients with human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-I): case-control study results. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 17: 19-23, 2011.
- 9) Yuki Kurauchi, Akinori Hisatsune, Yoichiro Isohama, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike, Koichi Shudo and Hiroshi Katsuki. Midbrain dopaminergic neurons utilize nitric oxide/cyclic GMP signaling to recruit ERK that links retinoic acid receptor stimulation to up-regulation of BDNF. *J Neurochem*. 116: 323-333, 2011.
- 10) Hideshi Ihara, Tomohiro Sawa, Yusaku Nakabeppu and Takaaki Akaike. Nucleotides function as endogenous chemical

- sensors for oxidative stress signaling. *J Clin Biochem Nutr.* 48: 1-7, 2011.
- 11) Hideshi Ihara, Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomoaki Ida, Shingo Kasamatsu, Kouhei Kunieda, Tatsuya Okamoto, Tomohiro Sawa and Takaaki Akaike. Methodological proof of immunochemistry for specific identification of 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate formed in glia cells. *Nitric Oxide.* 25: 169-175, 2011.
  - 12) Takaaki Akaike, Albert van der Vliet and Philip Eaton. Frontiers in nitric oxide and redox signaling. *Nitric Oxide.* 25: 57-58, 2011.
  - 13) Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa and Takaaki Akaike. Protein cysteine S-guanylation and electrophilic signal transduction by endogenous nitro-nucleotides. *Amino Acids.* 41: 123-130, 2011.
  - 14) 澤智裕, 小野勝彦, 赤池孝章. 活性酸素・一酸化窒素によるニトロ化シグナルと抗炎症作用. *感染・炎症・免疫.* 41: 12-19, 2011.
  - 15) 岡本竜哉, 居原秀, 赤池孝章. 喫煙と酸化ストレス: Oxidative stress induced by cigarette smoking. *最新精神医学. 特集号「精神障害者と喫煙」* 16: 431-439, 2011.
  - 16) 今吉理恵子, 岡本竜哉, 永尾潤一, 長環, 松永勝政, 赤池孝章, 上西秀則. 植物精油citralのインフルエンザウイルス感染能抑制効果について: Experimental study of a citral on the preventive effect of influenza virus infection. *医学と生物学.* 155: 489-494, 2011.
2. 学会発表
- 1) 岡本竜哉, 澤智裕, 藤井重元, 河内正治, 布井博幸, Thuy Thi Bich Phung, Liem Thanh Nguyen, 中島典子, 鈴木和男, 赤池孝章. 小児致命的 ARDS 症例および鳥インフルエンザウイルス感染症例の血漿蛋白質中の 3-ニトロチロシンの解析 -Detection of protein-bound 3-nitrotyrosin in plasma from pediatric patient with fulminant ARDS and avian influenza virus infection-. 第 11 回日本 NO 学会総会. 東京都, 5 月, 2011.
  - 2) 岡本竜哉, 松永哲郎, Shahzada Khan, 井上博文, 小山耕太, 藤井重元, 澤智裕, 赤池孝章. オートファジーを介した細胞内殺菌と 8-ニトロ-cGMP による制御: 感染症治療への応用をめざして. 第 4 回感染病態研究フロンティア. 吹田市, 8 月, 2011.
  - 3) 岡本竜哉, 澤智裕, 藤井重元, 河内正治, 布井博幸, Thuy Thi Bich Phung, Liem Thanh Nguyen, 中島典子, 鈴木和男, 赤池孝章. 小児致命的 ARDS 症例および鳥インフルエンザウイルス感染症例の血漿蛋白質中の 3-ニトロチロシンの解析. 第 48 回日本ウイルス学会九州支部総会. 門司市, 8 月, 2011.
  - 4) 岡本竜哉, 澤智裕, 藤井重元, 河内正治, 布井博幸, Thuy Thi Bich Phung, Liem Thanh Nguyen, 中島典子, 鈴木和男, 赤池孝章. 小児致命的 ARDS 症例および鳥インフルエンザウイルス感染症例の血漿蛋白質中の 3-ニトロチロシンの解析: Detection of protein-bound 3-nitrotyrosin in plasma from pediatric patient with fulminant ARDS and avian influenza virus infection. 第 84 回日本生化学会大会. 京都市, 9 月, 2011.
  - 5) 岡本竜哉, 松永哲郎, Shahzada Khan, 小野勝彦, 小山耕太, 吉武淳, 井上博文, 藤井重元, 澤智裕, 赤池孝章. サルモネラ感染におけるオートファジーを介した細胞内殺菌と内因性硫化水素イオンによる抑制. 第 17 回 MPO 研究会. 熊本市, 10 月, 2011.
  - 6) 岡本竜哉, 赤池孝章. 硫化水素によるオートファジー制御と感染防御シグナル: Hydrogen sulfide regulation of autophagy-mediated host defense signaling. 第 85 回日本細菌学会総会. 長崎市, 3 月, 2012.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
    - 1) 出願番号: 特願 2007-252877  
発明の名称: SH 基修飾剤  
発明者: 赤池孝章, 有本博一, 澤智裕  
出願日: 平成 19 年 9 月 28 日
    - 2) 出願番号: 特願 2007-015728  
発明の名称: 抗 8-チオアルコキシングアノシン-3',5'-サイクリック 1 リン酸抗体  
発明者: 赤池孝章, 澤智裕  
出願日: 平成 19 年 1 月 26 日
  2. 実用新案登録: なし
  3. その他: なし

表1 对象病例

Case ID	Sample ID	Age	Gender	Background Disease	Prog-nosis	MOF	Inflammation		Respiratory parameters			Liver function			Blood count			Days from onset to		
							BT onset	CRP	PaO2	PaCO2	P/F lowest	AST	ALT	LDH	WBC	RBC	Plts	Admission	Sampling	Discharge
Non IFV-ARDS (Group A) (n = 40)																				
p02	002C	0.3	F	Pneumonia	D	Yes	38.5	6.8	108.4	30.5	38	126	31	934	9500	3680	374	4	4	6
p04	006C	0.2	F	Pneumonia (Rhinovirus)	D	Yes	38.5	0.6	63.0	56.0	30	79	16	NT	4200	3910	403	0	2	11
p10	034C	0.3	M	Pneumonia (Bacterial)	A	Yes	38.5	3.6	48.4	37.0	21	78	36	376	19000	4660	430	6	8	39
p11	007C	14.0	F	Pneumonia	A	Yes	37.5	2.5	95.1	37.0	95	3235	4097	4620	28000	3510	278	4	5	11
p13	004C	0.3	M	Undetermined	A	No	36.9	2.4	39.0	40.0	49	83	25	NT	19500	3200	497	4	10	37
p15	014C	0.2	F	Pneumonia (Bacterial)	A	Yes	37.5	0.2	88.6	38.0	89	36	108	1085	5300	5180	322	2	13	13
p20	021C	0.2	F	Pneumonia	A	Yes	36.5	0.3	61.0	38.4	66	71	59	NT	11400	3680	330	8	8	35
p21	031C	0.3	M	Pneumonia (Adenovirus)	D	No	38.0	0.9	58.0	63.0	22	46	15	788	10800	4140	502	5	13	21
p23	030C	0.2	M	Undetermined	A	No	38.5	0.6	55.0	54.0	47	65	38	1095	35500	3540	654	7	10	23
p24	042C	0.3	M	Pneumonia (RSV)	A	No	38.5	0.1	35.2	77.8	35	106	37	1080	27700	4160	375	8	14	40
p25	040C	0.2	F	Pneumonia (RSV)	A	Yes	36.0	4.2	63.6	49.0	64	183	92	NT	21400	2550	498	3	15	16
p27	049C	5.0	M	Pneumonia	A	Yes	38.0	16.4	57.1	85.0	57	180	33	1332	13100	4520	154	20	35	46
p28	051C	0.3	M	Pneumonia	A	No	38.5	2.4	73.4	50.0	63	98	29	929	21800	3620	630	5	18	22
p29	039C	0.2	F	Pneumonia(enterobacter)	D	Yes	36.5	NT	56.2	72.0	46	60	18	660	12000	4460	305	2	4	29
p30	055C	0.2	F	Undetermined	A	No	37.5	NT	30.5	99.4	31	133	42	828	11400	455	762	10	19	43
p31	056C	11.0	F	Sepsis (S. aureus)	A	No	39.5	28.1	49.4	36.3	90	63	31	583	NT	NT	NT	7	8	26
p32	052C	0.8	F	Pneumonia	A	Yes	38.2	5.0	61.1	44.2	41	193	69	1330	10600	4030	413	1	4	36
p34	053C	0.2	M	Pneumonia (Acinetobacter)	D	Yes	37.0	0.7	36.9	50.3	45	1882	647	7497	19400	2940	199	0	9	14
p35	064C	0.2	F	Pneumonia	A	No	37.0	0.4	43.1	49.6	43	69	28	635	14400	3220	232	2	4	11
p36	061C	0.2	F	Pneumonia	A	No	36.5	1.1	76.2	36.1	47	209	51	1762	6800	3490	238	1	3	20
p37	070C	0.8	M	Pneumonia	A	No	38.0	4.5	69.2	42.0	90	52	25	801	10000	4010	577	6	25	18
p39	071C	0.3	M	Pneumonia	A	No	36.5	1.0	72.6	34.5	64	121	64	995	9500	4510	416	6	10	34
p42	080C	0.3	F	Pneumonia (Bacterial)	A	No	40.0	1.4	22.2	54.7	22	81	16	949	17400	3660	503	5	7	20
p43	079C	0.4	M	epsis (H. influenzae), Measle	A	No	39.0	11.2	66.4	38.9	37	320	83	2366	8700	4650	513	11	12	26
p44	086C	0.3	M	Pneumonia	D	Yes	37.0	8.9	31.5	33.4	32	61	62	1215	2500	2970	83	6	7	26
p46	089C	0.2	F	Pneumonia (K. Pneumoniae)	A	No	36.0	1.8	58.0	41.0	64	94	34	754	9400	3440	211	6	7	26
p48	091C	3.5	F	Pneumonia	A	Yes	39.0	1.6	65.0	36.6	65	53	22	559	18600	5250	302	3	4	16
p52	101C	0.3	M	Pneumonia (Measles)	D	Yes	36.5	5.7	27.3	53.8	26	61	61	1260	11100	4010	161	0	3	14
p53	102C	2.0	F	Undetermined	A	Yes	39.0	0.4	61.4	52.0	38	209	36	NT	4200	3130	52	0	6	21
p54	103C	0.6	M	Undetermined	A	No	39.0	5.6	41.7	49.3	42	56	164	1732	7000	3880	213	5	5	15
p56	099C	0.5	M	Undetermined	A	No	39.0	0.8	105.0	39.0	105	93	89	710	38800	2990	433	7	7	25
p57	100C	2.0	F	Undetermined	A	Yes	39.0	0.4	61.4	52.0	54	243	93	NT	23300	3330	135	6	6	44
p58	105C	5.0	F	Undetermined	A	No	39.0	0.7	51.7	35.0	57	71	26	812	10200	3190	211	2	2	33
p59	106C	0.3	M	Undetermined	D	Yes	36.0	1.7	22.9	52.9	23	84	17	1044	8700	4450	17	3	4	21
p60	107C	11.0	F	Sepsis (S. aureus)	A	No	36.5	16.6	66.3	42.2	66	48	24	590	15800	5300	212	3	3	19
p61	109C	0.3	F	Sepsis (B. cepacia)	D	Yes	37.9	10.2	63.7	52.4	33	267	240	4053	10100	3810	302	13	13	34
p62	112C	0.3	F	Sepsis (B. cepacia)	D	Yes	37.0	1.0	61.1	38.4	33	108	87	828	12800	2920	293	23	23	43
p63	111C	0.6	F	Sepsis (K. pneumoniae)	D	Yes	38.5	0.3	54.9	60.2	15	12	38	643	22700	5200	314	5	6	34
p64	114C	0.3	F	Undetermined	D	Yes	36.0	0.3	135.0	42.7	31	82	14	634	12400	3380	515	6	6	9
p65	115C	13.0	F	Undetermined	A	No	37.0	0.7	39.1	33.3	39	38	31	379	18800	4180	441	3	3	8
IFV-ARDS (Group B) (n = 7)																				
p14	015C	7.0	M	H5N1	A	No	38.5	0.6	58.0	41.0	97	511	105	1949	3300	3980	116	23	8	25
p19	022C	11.0	M	H5N1	D	No	39.0	6.8	48.7	49.0	38	724	282	1276	1700	4530	207	2	2	8
p38	072C	2.0	M	H3N2, Adeno	D	No	39.0	4.0	53.4	42.0	44	209	30	1880	5900	3890	269	16	16	18
p45	090C	13.0	F	H1N1pdm	A	N	37.0	0.5	67.9	32.0	126	137	72	793	3500	4350	113	4	4	17
p49	096C	3.0	M	H1N1pdm	D	Yes	38.0	0.2	58.6	20.5	30	10654	4367	2884	7500	3960	118	8	2	8
p50	097C	3.0	M	H1N1pdm	D	Yes	36.5	2.4	76.0	48.5	27	133	40	349	16100	4340	131	3	0	3
p51	098C	8.0	F	H1N1pdm	D	No	39.5	1.6	62.2	26.7	24	110	40	836	4100	2040	215	5	5	18
Non ARDS (Group C) (n = 25)																				
c01	478D	2.0	M	myocarditis	A	No	NT	10.6	NT	NT	NT	NT	NT	NT	22500	NT	393	NT	NT	NT
c02	504D	0.5	M	anemia	A	No	NT	2.2	NT	NT	NT	NT	NT	NT	10300	4040	372	NT	NT	NT
c03	539D	0.2	M	anemia	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	203.3	35.6	NT	18500	NT	449	NT	NT	NT
c04	544D	6.0	F	FUO	A	No	NT	434	NT	NT	NT	31	13	NT	29900	5580	651	NT	NT	NT
c05	565D	2.4	M	myocarditis	A	No	NT	6.2	83.3	19.4	NT	205.5	141	NT	17200	NT	127	NT	NT	NT
c06	589D	3.0	M	ITP	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	23100	NT	6	NT	NT	NT
c07	590D	0.1	M	ITP	A	No	NT	6	NT	NT	NT	NT	NT	NT	7980	NT	7	NT	NT	NT
c08	591D	0.3	M	ITP	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	10110	NT	15	NT	NT	NT
c09	606D	0.1	F	FUO	A	No	NT	NT	41.8	49.6	NT	71	43	NT	13800	NT	258	NT	NT	NT
c10	608D	0.5	M	anemia	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
c11	613D	2.0	F	FUO	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	233	1187	NT	4300	NT	296	NT	NT	NT
c12	655D	4.8	M	FUO	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	175.5	142	NT	8660	NT	NT	NT	NT	NT
c13	605D	12.0	M	Fancony	A	No	NT	20.1	NT	NT	NT	NT	NT	NT	1700	3360	29	NT	NT	NT
c14	654D	0.2	F	FUO	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	36.6	39.7	NT	NT	NT	267	NT	NT	NT
c15	616D	1.3	M	myocarditis	A	No	NT	6.3	NT	NT	NT	4.8	38	NT	14900	NT	382	NT	NT	NT
c16	4/16D	2.0	M	Healthy	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
c17	70V	0.1	M	Healthy	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
c18	3205D	1.0	M	Healthy	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
c19	3192D	1.0	F	Healthy	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
c20	3163D	0.5	F	Healthy	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
c21	4161D	0.1	F	Healthy	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
c22	4143D	0.1	M	Healthy	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
c23	3617D	0.1	M	Healthy	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
c24	3602D	0.3	M	Healthy	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
c25	3576D	0.1	M	Healthy	A	No	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT

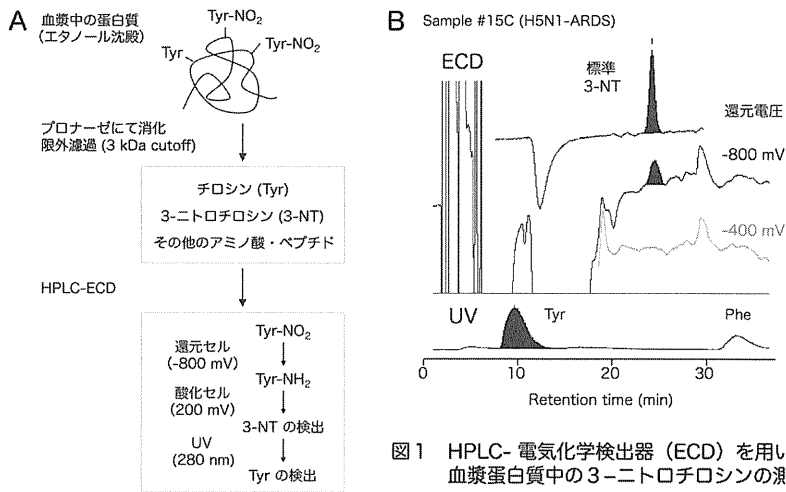


図1 HPLC-電気化学検出器 (ECD) を用いた血漿蛋白質中の3-ニトロチロシンの測定

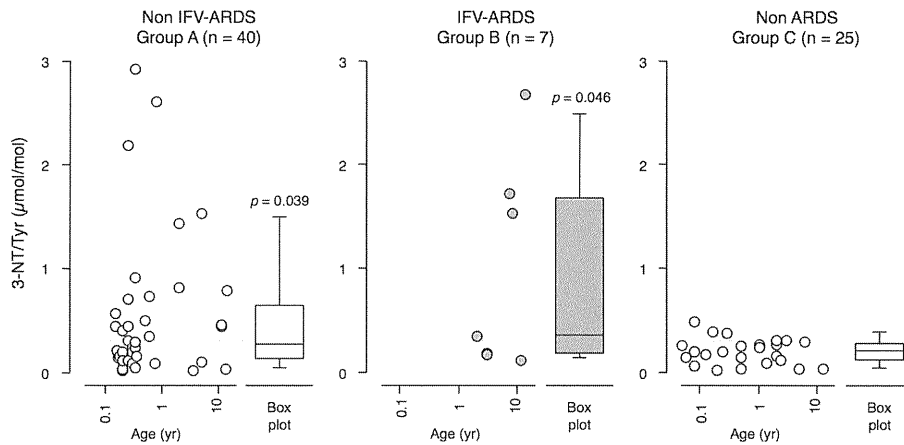


図2 血漿中 3-NT の HPLC-ECD 法による解析結果

Variable	OR (95% CI)	P
IFV-ARDS	4.42 (0.73-24.44)	0.094
Non IFV-ARDS	3.17 (1.05-9.59)	0.037
All ARDS	3.30 (1.12-9.74)	0.027

図3 ARDS 群と対照群間で 3-NT/Tyr が増加する危険度の比較 (ロジスティック回帰分析)

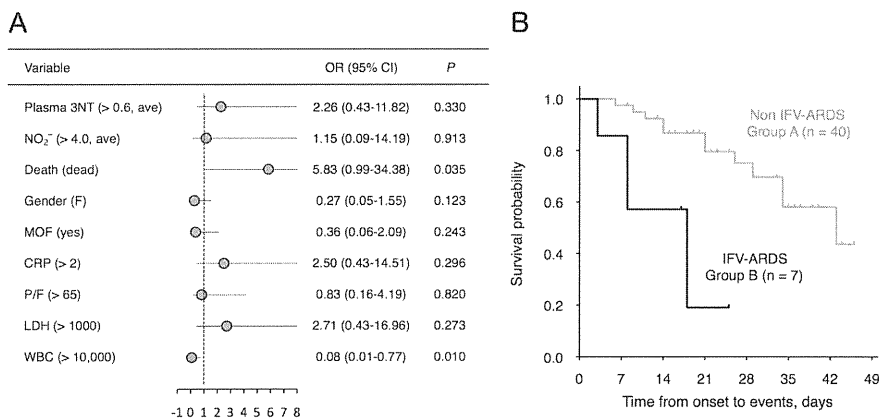


図4 IFV-ARDS 群と non IFV-ARDS 群間の比較

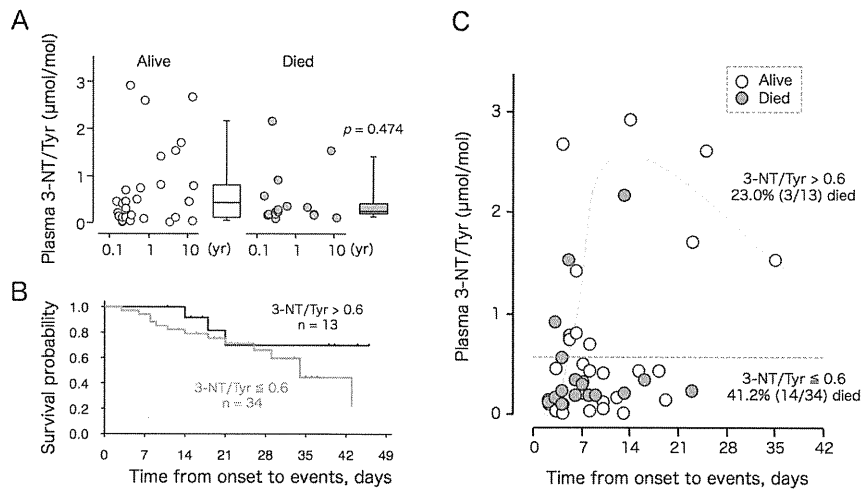


図5 3-NT レベルと予後との関連性

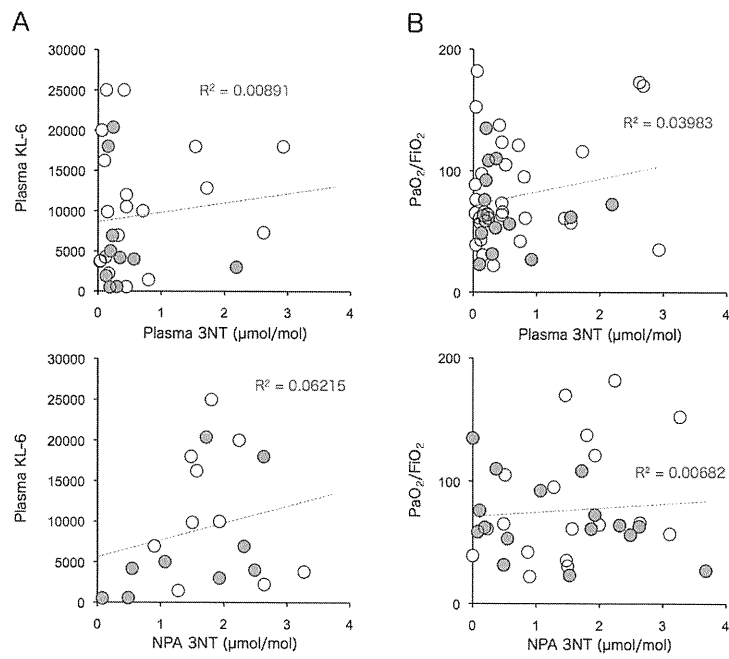


図6 3-NT レベルと KL-6, P/F ratio との相関

## 臨床検体を用いた Direct RT-LAMP 法による H5N1 亜型高病原性 鳥インフルエンザウイルス遺伝子検査系の評価

影山 努 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター第二室 室長

### 研究要旨

現在、世界中の家禽や野鳥で流行し、時折ヒトへの感染例も見られる H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスは、赤血球凝集素（HA）の遺伝的系統から大きく分けて4つのClade（1, 2.1, 2.2, 2.3）に分類（さらに2.1は2.1.1～2.1.3、2.3は2.3.1～2.3.4に分類）する事ができる。我々は栄研化学株式会社との共同研究によりこれら全てのCladeが検出できる H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス診断キットの構築を行っているが、従来のコンベンショナル RT-LAMP 法を一部改良して、検体からの核酸精製を必要とせずに、検体をバッファーに懸濁するだけで、検体採取から診断まで40分以内にA型インフルエンザウイルスおよび H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスを検出できる Direct RT-LAMP 法による遺伝子診断系の開発を行い、臨床検体を用いて評価を行った

### A. 研究目的

H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N1-HPAI）は、2003年以降、東南アジア地域から中国、ロシア、中東、アフリカ、ヨーロッパ諸国へと流行が広がり、現在でもわが国も含めて、野鳥および家禽を中心とした流行が続いている。このウイルスに感染した鳥との濃厚接触により、ヒトへの感染例も多数報告され、2012年2月時点で15カ国587人の感染者および346人の死者が確認されている。この H5N1-HPAI はブタなどのほ乳類にも感染するため、例えば、ヒト・鳥・ブタインフルエンザウイルスが同時に感染した場合にはこれらのウイルス同士の遺伝子交雑により、新たなインフルエンザウイルス株が出現する可能性がある。また、同時感染ではなくても、家禽

などで流行が続けば、突然変異により、新たなウイルス株が出現する可能性がある。これらの理由により、H5N1-HPAI など病原性の強いウイルスを由来としたヒトからヒトに感染しやすい新型インフルエンザウイルスの出現が危惧されている。現在、多くの国々ではコンベンショナル RT-PCR 法やリアルタイム RT-PCR 法などの遺伝子検査により H5 亜型の遺伝子診断が行われている。しかしこれらの方法は、検体からの核酸精製を必要とし、反応に必要な試薬調製等の操作も非常に煩雑なため、ラボコンタミネーションや検体の取り違えといった偽判定の可能性が少なからずある。そのためこれらの検査を行うためには、熟練した技術を持った検査員による実験室診断が必要のため、病院やクリニックなど実験室を持

たない施設では、遺伝子検査系の導入は難しかった。

本研究では、核酸精製作業が不要で、これらの診断方法に比べて操作性がより簡便で、短時間で結果が得られる Direct Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification 法 (Direct RT-LAMP 法) を用いた、H5 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの鑑別が可能な遺伝子検査系を構築し、臨床検体を用いてその検出系の評価を行った。

## B. 研究方法

栄研化学株式会社が製造販売している H5 亜型インフルエンザウイルス検出試薬キットの Clade 1、2.1、2.2、2.3 に対する反応性は、これまでに我々が構築したリアルタイム RT-PCR 法を用いた H5 亜型 HA 遺伝子検出法 (検出感度は 7.5 コピー/反応) と比較すると検出感度はほぼ同等から 1/100 程度の検出感度である。乾燥した増幅試薬が反応チューブの蓋に固定されている RT-LAMP 試薬および Loopamp®インフルエンザウイルス用抽出試薬を組み合わせ、このキットを元にした Direct RT-LAMP 法による H5 HA および Type A の検出系について、ベトナム国立衛生疫学研究所の Dr. Le Quynh Mai 等の協力を得て、2008 年から 2010 年の間にベトナム北部の H5N1-HPAI への感染が確認された患者から採取した 13 検体の鼻腔ぬぐい液 (2ml のウイルス輸送培地に懸濁。コンベンショナル RT-PCR 法による H5 同定検査により H5 陽性であった) を使用した Direct RT-LAMP 法による H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス遺伝子検査系の評価を行った。

## C. 研究結果

1ml の Loopamp®インフルエンザウイルス用抽出試薬に 20  $\mu$ l の鼻腔ぬぐい液を懸濁

し、その混合液より 10  $\mu$ l を分取し、15  $\mu$ l の Type A 用あるいは H5 HA 用のプライマー液と混合して Direct RT-LAMP 反応を行った。その結果、13 検体中 9 検体から H5 HA が検出され、また H5 HA 陽性となった 9 検体中 7 検体で Type A が検出された。H5 HA および Type A が検出されなかった 4 検体については QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて鼻腔ぬぐい液より RNA を精製抽出し、これをテンプレートに用いて H5 HA および Type A の RT-LAMP 法を行うと、4 検体中 3 検体から Type A および H5 HA が検出された。また、Direct RT-LAMP 法により H5 HA 陽性、Type A 陰性となった 2 検体についても、同様に鼻腔ぬぐい液より抽出した精製 RNA をテンプレート用いて Type A の Direct RT-LAMP 法を行うと、2 検体とも Type A 陽性となった。また、エスプライン (富士レビオ) を用いて迅速診断キットにより A 型が検出されるかどうかをこれら 13 検体の鼻腔ぬぐい液を用いて試みたが、弱陽性を含め陽性判定となったのは 4 検体のみであった。

## D. 考案

現在、家禽および野鳥で流行している H5N1-HPAI は、赤血球凝集素 (HA) の遺伝的系統から Clade 0 から 10 のグループに分類されており、ヒトへの感染例のほとんどは Clade 1 (2004 年以降、主にベトナムで流行した株) または Clade 2 に分類されたウイルスにより起きている。2006 年以降、Clade 2 はさらに 3 つの sub-clade に細分されており Clade 2.1 は、主にインドネシアで 2005 年以降に流行している株、Clade 2.2 は中国青海湖、中東、アフリカ、ヨーロッパ等の地域で流行している株、Clade 2.3 は中国南部や東南アジアで流行している株が含まれる。さらに現在では Clade 2.1 は Clade 2.1.1-2.1.3、Clade 2.3 は 2.3.1-2.3.4

に細分されており、H5N1-HPAI の遺伝的な多様性が広がっている。H5N1-HPAI の診断には、こうした遺伝的な違いに関係なく、全ての H5N1-HPAI 流行株を高感度かつ特異的に検出できる検査系でなければならない。今回、Direct-RT-LAMP の評価に用いた臨床検体は全て Clade 2.3.4 である事が判明している。これら検体に対する各診断法による検出率は、コンベンショナル RT-PCR 法 (RNA 精製が必要) で Type A, H5 HA ともに 13/13 (100%)、RT-LAMP 法 (RNA 精製を行った場合) がともに 12/13 (92.3%)、Direct RT-LAMP 法 (RNA 精製を行わずに、Loopamp® インフルエンザウイルス用抽出試薬を使用した場合) は Type A が 7/13 (53.8%)、H5 HA が 9/13 (69.2%)、迅速診断キット (エスプライン) の A 型が 4/13 (30.8%) であった。Type A の検出率は RT-PCR が最も高いが、RNA 抽出を行った場合は、Direct RT-LAMP 法でもほとんど同じ検出率となった。また、迅速診断キットよりは Loopamp® インフルエンザウイルス用抽出試薬を使用した Direct RT-LAMP 法の方が検出率は高かった。なお、Loopamp® インフルエンザウイルス用抽出試薬を使用した Direct RT-LAMP 法より RNA 抽出後に Direct RT-LAMP 法を行う方が検出率は高くなるのは、RT-LAMP 反応を阻害する検体中の何らかの夾雑物が RNA 精製により取り除かれたためと考えられる。

また、今回用いた臨床検体は、鼻腔を拭ったスワブが 2ml のウイルス輸送培地に懸濁されており、直接スワブを Loopamp® インフルエンザウイルス用抽出試薬に懸濁するよりも RNA 濃度が薄くなるため、RNA 抽出後に Direct RT-LAMP 法を行うよりも、Loopamp® インフルエンザウイルス用抽出試薬を用いた Direct RT-LAMP 法の検出率が低くなったと考えられる。

従って実際の臨床現場では、鼻腔を拭いたスワブを直接 Loopamp® インフルエンザウ

イルス用抽出試薬に懸濁して Direct RT-LAMP 法を行う事で、より高感度に Type A および H5 HA を検出する事が可能になると考えられる。そのためウイルス輸送培地ではなく Loopamp® インフルエンザウイルス用抽出試薬に懸濁した検体を用いてより詳細に検討を行う事も必要である。

また、今回検討した Clade 2.3.4 に対しては、他の Clade に比べて反応性が低いため、より高感度に検出するためのプライマー類の追加および変更等さらなる改良および検討も必要である。

## E. 結論

今回、構築した H5 HA 検出用の Direct RT-LAMP 法では、新型インフルエンザウイルスあるいは A 型インフルエンザウイルスの Direct RT-LAMP 法と同様に、臨床検体からも簡便に H5 HA 遺伝子を検出する事が可能であった。

Direct RT-LAMP 法はリアルタイム RT-PCR 法など実験室が必要な他の遺伝子診断法に比べると操作性、迅速性において優れており、病院やクリニックなどで実験室の無い施設でも、より患者に近い場所での診断、すなわち Point of care 遺伝子診断 (POC 診断) を行う事が可能である。このため、感染して発症すると重篤な症状を示す感染症、例えば重症呼吸器症状を引き起こす H5N1-HPAI などに対して迅速かつ特異性の高い鑑別診断を行い、感染症流行の予防、感染症の治療を行うのに、本方法は非常に有用なツールとなりうる。また、本方法により感染患者の診断のみならず、不顕性感染も含めた流行状況調査を簡便かつ迅速に行うことが可能になるため、感染症対策にも大いに寄与できると考えられる。

## F. 健康危惧情報

特になし



## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Nakauchi M, Ujike M, Obuchi M, Takashita E, Takayama I, Ejima M, Oba K, Konomi N, Odagiri T, Tashiro M, Kageyama T; the influenza virus surveillance group of Japan. Rapid discrimination of oseltamivir-resistant 275Y and -susceptible 275H substitutions in the neuraminidase gene of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by duplex one-step RT-PCR assay. *Journal of Medical Virology*. 83(7):1121-1127, 2011

### 2. 学会発表

- 1) Ikuyo Takayama, Shinichi Shimada, Mina Nakauchi, Toshitaka Minegishi, Masato Tashiro, Tsutomu Kageyama: A quantitative definition of the 275H and 275Y proportion in neuraminidase of the pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by real-time duplex RT-PCR assay. XV International Congress of Virology, Sapporo, September, 2011
- 2) Ikuyo Takayama, Emi Takashita, Miho Ejima, Mina Nakauchi, Seiichiro Fujisaki, Namhee Kim, Noriko Kishida, Hong Xu, Hiromi Sugawara, Reiko Itoh, Teruko Doi, Tsutomu Kageyama, Takato Odagiri and

Masato Tashiro: Improved surveillance system to detect antiviral-resistant influenza A/H1N1pdm09 viruses in Japan. *Influenza Antivirals: Efficacy and Resistance*, Rio de Janeiro, November, 2011

- 3) Emi Takashita, Miho Ejima, Ikuyo Takayama, Mina Nakauchi, Seiichiro Fujisaki, Namhee Kim, Noriko Kishida, Hong Xu, Hiromi Sugawara, Reiko Itoh, Teruko Doi, Tsutomu Kageyama, Masato Tashiro, Takato Odagiri: Detection of antiviral-resistant pandemic influenza A(H1N1)2009 (A/H1N1pdm09) Viruses by a combination of chemiluminescent and fluorescent neuraminidase inhibitor susceptibility assays in JAPAN. XV International Congress of Virology, Sapporo, September, 2011

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

## 平成 23 (2011) 年度 第 1 回班会議

### プログラム

日時：平成 23 年 7 月 8 日(金)  
13 : 30 - 受付 14 : 00~17 : 00(予定)  
平成 23 年 1 月 8 日(土)  
09 : 30~12 : 40(予定)  
会場：国立国際医療研究センター研究所  
大会議室

### 第 1 日目 7 月 8 日(金)

13 : 30 - 受付

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

14 : 10 - 14 : 30

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

河内正治(研究代表者/国立国際医療研究センター手術部麻酔科)

14 : 30 - 15 : 30

**臨床班 (1) 座長：本間 栄**

**1-1 『インフルエンザ重症化因子としての ARDS と文献的考察』**

○河内正治(研究代表者/国立国際医療研究センター手術部麻酔科)

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

○布井博幸 (宮崎大学)

**1-3 『NHP-ハノイにおける H5N1 高病原性鳥インフルエンザの病理学的解析』**

○中島典子<sup>1</sup>、佐藤由子<sup>1</sup>、河内正治<sup>2</sup>、鈴木和男<sup>3</sup>

<sup>1</sup>国立感染症研究所・感染病理部、<sup>2</sup>国立国際医療センター・手術部、

<sup>3</sup>千葉大学大学院医学研究院・免疫発生学炎症制御学

15 : 30 – 15 : 50 休憩

15 : 50 – 16 : 50 臨床班 (2) 座長 : 布井博幸

**2-1 『高病原性鳥インフルエンザの人感染症に対する診断/治療の手引き』**

○本間 栄<sup>1</sup>, 河内正治<sup>2</sup>, 布井博幸<sup>3</sup>, 岡本竜哉<sup>4</sup>, 菊池 直<sup>1</sup>, 杉野圭史<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東邦大学医療センター大森病院呼吸器内科、<sup>2</sup>国立国際医療研究センター

<sup>3</sup>宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学分野

<sup>4</sup>熊本大学大学院生命科学研究部微生物学分野

**2-2 『小児致死性 ARDS および鳥インフルエンザウイルス感染症例の血漿蛋白質中の 3-ニトロチロシンの解析』**

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

**2-3 『劇症型 ARDS モデルとしての VILI (Ventilator-Induced Lung Injury) における NKT の保護的役割』**

○志賀 由佳<sup>1,2</sup>, 菅又 龍一<sup>1</sup>, 長尾 朋和<sup>1</sup>, 岩村 千秋<sup>3</sup>, 川上 和義<sup>4</sup>, 河内 正治<sup>2</sup>, 中山 俊憲<sup>3</sup>, 鈴木 和男<sup>1</sup>

<sup>1</sup>千葉大学医学研究院免疫発生学炎症制御学、<sup>2</sup>国立国際医療研究センター手術部、

<sup>3</sup>千葉大学医学研究院免疫発生学、<sup>4</sup>東北大学大学院基礎検査医科学感染分子病態解析学

16 : 50 - 17 : 00 初日まとめ 等 小川道雄 先生(市立貝塚病院・総長)

**第 2 日目 7 月 9 日(土)**

09 : 30 – 09 : 40 2 日目開会の辞

09 : 40 - 10 : 50 基礎班 (1) 座長 : 鈴木和男

**3-1 『インフルエンザ (H5N1) 症例の検討インフルエンザ誘導性 ARDS に対する治療薬候補 16 員環マクロライド Spiramycin および Leucomycin』**

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

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

### 3-2 『FARDS モデルマウスを用いた発症病態の解析と治療薬の開発』

○工藤大介<sup>1)2)</sup>、宇野賀津子<sup>3)</sup>、石井恵子<sup>2)</sup>、久志本成樹<sup>1)</sup>、川上和義<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>東北大学大学院医学系研究科 救急医学分野

<sup>2)</sup>東北大学大学院医学系研究科 感染分子病態解析学分野

<sup>3)</sup>レイ・パストゥール医学研究センター

### 3-3 『Direct RT-LAMP 法による高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) 遺伝子検査系の評価』

○影山 努(国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター)

10 : 50-11 : 00 休憩

11 : 10-11 : 40 トピックス 座長 : 河内正治

### 4-1 『我が国のH1N1新型インフルエンザ流行のシミュレーションとポストアナリシス』

○安田英典(城西大学)

11 : 40-12 : 20 基礎班 (2) 座長 : 川上和義

### 5-1 『ケモカインと振動ストレスと感染症』

○山本健二(国立国際医療研究センター研究所 臨床研究センター)

### 5-2 『インフルエンザ抵抗性細胞 A549-3S の解析に向けて』

○大島正道 (国立感染症研究所 免疫部)

12 : 20-12 : 40 PO の先生方より  
今後の方針、閉会の辞 (研究代表者 河内正治)

## 平成 23 (2011) 年度 第 2 回班会議

### プログラム

日時：平成 24 年 1 月 27 日(金)  
14 : 00~18 : 00(予定)  
平成 24 年 1 月 28 日(土)  
09 : 00~12 : 30(予定)  
会場：宮崎市民プラザ 大会議室

### 第 1 日目 1 月 27 日(金)

13 : 30 - 受付

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

14 : 10 - 14 : 25

0-1 『高病原性鳥インフルエンザの診断・治療に関する国際連携研究 (H22-新興一般-014)  
- Overview と手引きの作成進展状況についての報告 -』  
河内正治(研究代表者/国立国際医療研究センター手術部麻酔科)

14 : 25 - 15 : 30

座長：川上和義

1-1 『マウスの人工呼吸器誘発肺障害 (VILI) における IL-5, IL-6 receptor を介した  
invariant natural killer T細胞の役割』

志賀由佳<sup>1,2</sup>、菅又龍一<sup>1</sup>、岩村千秋<sup>4</sup>、長尾朋和<sup>1</sup>、川上和義<sup>3</sup>、河内正治<sup>2</sup>、中山俊憲<sup>4</sup>、鈴木和男<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>千葉大院医 <sup>4</sup>免疫発生物学・<sup>1</sup>炎症制御学、<sup>2</sup>国立国際医療研究センター手術部、  
<sup>3</sup>東北大院医基礎検査医科学・感染分子病態解析学

1-2 『FARDS モデルマウスを用いた発症病態の解析と治療薬の開発：HMGB1 と Claudins を中心に』

工藤大介<sup>2</sup>、青柳哲史<sup>3</sup>、石井恵子<sup>1</sup>、久志本成樹<sup>2</sup>、賀来満夫<sup>3</sup>、川上和義<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> 東北大・院医・感染分子病態解析学、<sup>2</sup> 救急医学、<sup>3</sup> 感染制御検査診断学

1-3 『劇症型肺炎治療薬候補：新16員環マクロライド Spiramycin と Leucomycin (Josamycin)』

菅又龍一<sup>1</sup>、廣瀬友靖<sup>2</sup>、長尾朋和<sup>1</sup>、鈴木浩也<sup>1</sup>、菅原章公<sup>3</sup>、砂塚敏明<sup>2</sup>、赤川清子<sup>2</sup>、大村 智<sup>2</sup>、  
中山俊憲<sup>3</sup>、鈴木和男<sup>1</sup> (千葉大院医<sup>3</sup> 免疫発生学・<sup>1</sup>炎症制御学、<sup>2</sup>北里大生命研)

1-4 『 Key role of RANTES, NS1 and MPO in cytokine storm induced by influenza virus PR-8(A/H1N1) infection in A549 bronchial epithelial cells』

T.TB Phung<sup>1,2,3</sup>, R.Sugamata<sup>1</sup>, K. Uno<sup>4</sup>, Y. Aratani<sup>5</sup>, K. Ozato<sup>6</sup>, S. Kawachi<sup>1</sup>, L.T. Nguyen<sup>1</sup>, T. Nakayama<sup>8</sup>,  
K. Suzuki<sup>1</sup>

15 : 30 – 15 : 50 休憩

15 : 50 – 16 : 40 座長：鈴木和男

1-5 『インフルエンザ ARDS に於けるケモカイン受容体の役割をについて』

山本健二、福士雅也、花田三四郎 (国立国際医療研究センター・研究所)

1-6 『インフルエンザウイルス抵抗性細胞 A549-3S の解析に向けて』

大島正道 (国立感染症研究所)

1-7 『臨床検体を用いた Direct RT-LAMP 法による高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) 遺伝子検査系の評価』

影山 努(国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター)

16 : 45 – 17 : 45 特別講演 I 座長：河内正治

『TNF and TNF receptor signalling in acute lung injury』

Masao Takata

(Imperial College London Chelsea and Westminster Hospital London, UK)

17 : 45 -18 : 00 初日まとめ等 佐多徹太郎 先生 (富山県衛生研究所所長)

## 第2日目 1月28日(土)

09 : 00-09 : 05 2日目開会の辞

09 : 05-10 : 20 座長 : 大島正道

### 2-1 『鳥インフルエンザA (H5N1) ひと感染 : 診断と治療の手引き』

本間 栄<sup>1</sup>, 河内正治<sup>2</sup>, 布井博幸<sup>3</sup>, 岡本竜哉<sup>4</sup>, 菊池 直<sup>1</sup>, 杉野圭史<sup>1</sup>

東邦大学医療センター大森病院呼吸器内科<sup>1</sup>

国立国際医療研究センター<sup>2</sup>

宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学分野<sup>3</sup>

熊本大学大学院生命科学研究部微生物学分野<sup>4</sup>

### 2-2 『インフルエンザウイルス感染の酸化ストレスバイオマーカー : 血漿蛋白質 3-ニトロチロシン解析』

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

### 2-3 『H5N1 鳥インフルエンザウイルス感染症の病理学的解析 —ハノイ国立小児病院5症例の解析—』

中島典子、佐藤由子、佐多徹太郎

(国立感染症研究所・感染病理部、富山県衛生研究所)

### 2-4 『ライノウイルス感染で重症ARDSを呈した11症例の解析 (ハノイ国立小児病院での経験)』

布井博幸 (宮崎大学), 河内正治 (国立国際医療研究センター)、

Thuy T. B. Phung, San T. Luong, Liem T. Nguyen (ハノイ国立小児病院、ベトナム)、

岡本竜哉 (熊本大学)、本間栄 (東邦大学医療センター)、鈴木和男 (千葉大学)

10 : 20-10 : 40 休憩

10 : 40-11 : 10 座長 : 本間 栄

### 2-5 『ハノイ国立小児病院PICUにおける肺内要因のARDS (FARDS) 症例 (2007-2011) の先行的研究』

河内正治<sup>1,2</sup>、布井博幸<sup>4</sup>、中島典子<sup>5</sup>、岡本竜哉<sup>6</sup>、鈴木和男<sup>2,3</sup>

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

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

<sup>2</sup> 国立感染症研究所免疫部

<sup>3</sup> 千葉大学大学院医学研究院、感染分子生物学、炎症制御学

<sup>4</sup> 宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学分野

<sup>5</sup> 国立感染症研究所感染病理部

<sup>6</sup> 熊本大学大学院生命科学研究部

<sup>7</sup> NHP-Hanoi : National Hospital of Pediatrics, Hanoi, Vietnam

## 2-6 『H5N1のwithin hostのシミュレーション』

安田英典(城西大学)

11 : 15-12 : 15    **特別講演 II**            座長 : 布井博幸

### 『動物における高病原性鳥インフルエンザウイルスの現状と対策』

芳賀 猛 (宮崎大学農学部獣医微生物学研究室)

12 : 15-12 : 30    二日目まとめ 等        小川道雄 先生 (市立貝塚病院・総長)

今後の方針、閉会の辞    (研究代表者 河内正治)



研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sugamata R, Dobashi H, Nagao T, Yamamoto K, Nakajima N, Sato Y, Aratani Y, Oshima M, Sata T, Kobayashi K, Kawachi S, Nakayama T, Suzuki K.	The contribution of neutrophil-derived myeloperoxidase in the early phase of fulminant acute respiratory distress syndrome induced by influenza virus infection.	Microbiol Immunol.	--	in press.	
Homma S, Azuma A, Taniguchi H, Ogura T, Mochiduki Y, Sugiyama Y, Nakata K, Yoshimura K, Takeuchi M, Kudoh S,	Efficacy of inhaled N-acetylcysteine monotherapy in patients with early stage idiopathic pulmonary fibrosis.	Respirology	--	in press	
Koshio O, Nagao T, Mabuchi A, Ono Y, Suzuki K.	Apoptotic signaling in endothelial cells with neutrophil activation.	Mol Cell Biochem	--	in press.	
Ishiwada, N., Takada, N., Okunishi, T., Hishiki, H., Katano, H., Nakajima, N., Kohno, Y.	Rhabdomyolysis associated with influenza A/H1N1 2009 infection in a pediatric patient.	Pediatrics International	--	in press	
Fujoka K, Hanada S, Kanaya F, Hoshino A, Sato K, Yokosuka S, Takigami Y, Hirakuri K, Shiohara A, Tilley RD, Manabe N, Yamamoto K, Manome Y.	Toxicity test: Fluorescent silicon nanoparticles.	Journal of Physics: Conference Series	--	in press.	
Shahzada Khan, Tatsuya Okamoto, Koji Enomoto, Naomi Sakashita, Kohta Oyama, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Motohiro Takeya, Hisao Ogawa, Hiroshige Yamabe and Takaaki Akaike.	Potential association of <i>Helicobacter cinaedi</i> with atrial arrhythmia and atherosclerosis.	Microbiol Immunol.	--	in press	
Hayashi D, Tamura A, Tanaka H, Yamazaki Y, Watanabe S, Suzuki K, Suzuki K, Sentani K, Yasui W, Rakugi H, Isaka Y, Tsukita S.	Deficiency of claudin-18 causes paracellular H <sup>+</sup> leakage, up-regulation of interleukin-1 beta, and atrophic gastritis in mice.	Gastroenterology	142(2)	292-304	2012

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kazuo Ohnishi, Yoshimasa Takahashi, Naoko Kono, Noriko Nakajima, Fuminori Mizukoshi, Shuhei Misawa, Takuya Yamamoto, Yu-ya Mitsuki, Shu-ichi Fu, Nakami Hirayama, Masamichi Ohshima, Manabu Ato, Tsutomu Kageyama, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Kazuo Kobayashi, Shigeyuki Itamura, and Yasuko Tsunetsugu-Yokota	Newly Established Monoclonal Antibodies for Immunological Detection of H5N1 Influenza Virus	Jpn. J. Infect. Dis.	65	19-27	2012
Mizukami T, Obara M, Nishikomori R, Kawai T, Tahara Y, Sameshima N, Marutsuka K, Nakase H, Kimura N, Heike T, Nunoi H.	Successful Treatment with Infliximab for Inflammatory Colitis in a Patient with X-linked Anhidrotic Ectodermal Dysplasia with Immunodeficiency.	J Clin Immunol.	32(1)	39-49	2012
Moritake H, Hidaka F, Kamimura S, Kojima H, Shimonodan H, Nunoi H.	Concomitant transient erythroblastopenia of childhood with neonatal hepatitis.	Pediatr Int.	54(1)	147-50	2012
Nakajima, N., Sato, Y., Katano, H., Hasegawa, H., Kumasaka, T., Hata, S., Tanaka, S., Amano, T., Kasai, T., Chong, J.M., Iizuka, T., Nakazato, I., Hino, Y., Hamamatsu, A., Horiguchi, H., Tanaka, T., Hasegawa, A., Kanaya, Y., Oku, R., Oya, T., Sata T.	Histopathological and immunohistochemical findings of 20 autopsy cases with 2009 H1N1 virus infection.	Mod Pathol	25	1-13	2012
Ohnishi, K., Takahashi, Y., Kono, N., Nakajima, N., Mizukoshi, F., Misawa, S., Yamamoto, T., Mitsuki, Y., Fu, S., Hirayama, N., Oshima, M., Ato, M., Kageyama, T., Odagiri, T., Tashiro, M., Kobayashi, K., Itamura, S., Tsunetsugu-Yokota, Y.	Immunological detection of H5N1 influenza viruses by newly established monoclonal antibodies.	Jap J Infect Dis.	65	19-27	2012
Takeuchi K, Umeki Y, Matsumoto N, Yamamoto K, Yoshida M, Suzuki K, Aratani Y.	Severe neutrophil-mediated lung inflammation in myeloperoxidase-deficient mice exposed to zymosan.	Inflammation Res	61(3)	197-205	2012

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Shingo Kasamatsu, Jun Yoshitake, Rahaman Md Mizanur, Tatsuya Okamoto, Shigemoto Fujii and Takaaki Akaike.	Regulation by mitochondrial superoxide and NADPH oxidase of cellular formation of nitrated cyclic GMP: potential implications for ROS signalling.	Biochem J.	441	719-730	2012
Phung TTB, Luong ST, Kawachi S, Nunoi H, Nguyen LT, Nakayama T, Suzuki K.	IL-12 and myeloperoxidase (MPO) in Vietnamese children with acute respiratory distress syndrome and induced avian influenza (H5N1) infection.	J Infect.	62	104-108	2011
Phung TTB, Sugamata R, Uno K, Aratani Y, Ozato K, Kawachi S, Nguyen LT, Nakayama T, Suzuki K.	Key role of RANTES (regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted), nonstructural protein1 and myeloperoxidase in cytokine storm induced by influenza virus PR-8(A/H1N1) infection in A549 bronchial epithelial cells.	Microbiol Immunol	55(12)	874-884	2011
Mariko Baba, Yasuhiro Mehara, Atsuko Matsuya, Tomokazu Nagao, Kazuo Suzuki, Shoji Kawachi.	Levels of Seventeen Different Cytokines in Bronchoalveolar Lavage Fluid Samples from Two Patients with Connective Tissue Diseases and Acute Respiratory Distress Syndrome.	IRYO	65(8)	440-5	2011
Shotaro Hagiwara, Tatsuya Mori, Hayato Tuchiya, Someyo Sato, Misato Higa, Mika Watahiki, Miho Hoshina, Tomomi Mochizuki, Takiko Chiba, Akiyoshi Miwa, Shoji Kawachi.	Multidisciplinary nutritional support for autologous hematopoietic stem cell transplantation: A cost-benefit analysis.	Nutrition	11-12	112-7	2011
Fujimoto S, Watts RA, Kobayashi S, Suzuki K, Jayne DR, Scott DG, Hashimoto H, Nunoi H.	Comparison of the epidemiology of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis between Japan and the U.K.	Rheumatology (Oxford).	50(10)	1916-20	2011
Hijikata M, Matsushita I, Tanaka G, Tsuchiya T, Ito H, Tokunaga K, Ohashi J, Homma S, Kobashi Y, Taguchi Y, Azuma A, Kudoh S, Keicho N	Molecular cloning of two novel mucin-like genes in the disease-susceptibility locus for diffuse panbronchiolitis.	Human Genetics	129	117-128	2011

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sakamoto S, Homma S, Mun M, Fujii T, Kurosaki A, Yoshimura K	Acute exacerbation of idiopathic interstitial pneumonia following lung surgery in 3 of 68 consecutive patients	Intern Med	50	77-85	2011
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	410	38-47	2011
Isobe K, Hata Y, Sakguchi S, Sato K, Sano G, Sugino K, Sakamoto S, Takai Y, Shibuya K, Takagi K, Homma S	The role of fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography for the detection of gastrointestinal tract lesions in patients with lung cancer.	Thoracic Cancer	2	190-195	2011
Sugino K, Hebisawa A, Uekusa T, Hatanaka K, Abe H, Homma S	Histopathological bronchial reconstruction of human bronchiolitis obliterans.	Pathol Intern	61	192-201	2011
Nagao T, Suzuki K, Utsunomiya K, Matsumura M, Saiga K, Wang PC, Minamitani H, Aratani Y, Nakayama T, Suzuki K.	Direct activation of glomerular endothelial cells by anti-moesin activity of anti-myeloperoxidase antibody.	Nephrol Dial Transplant.	26	2752-2760.	2011
Guoli Shi, Fumihiko Yagy, Yohko Shimizu, Kazufumi Shimizu, Masamichi Oshima, Aikichi Iwamoto, Bin Gao, Wenjun Liu, George Fu Gao, Yoshihiro Kitamura	Flow Cytometric Assay Using Two Fluorescent Proteins For the Function of the Internal Ribosome Entry Site of Hepatitis C Virus	Cytometry Part A	79A	653-660	2011
Takahashi K, Oharaseki T, Nagao T, Yokouchi Y, Yamada H, Nagi-Miura N, Ohno N, Saji T, Okazaki T, Suzuki K.	Mizoribine provides effective treatment of sequential histological change of arteritis and reduction of inflammatory cytokines and chemokines in an animal model of Kawasaki disease. Pediatric Rheumatol.	Pediatric Rheumatol	9	30-39.	2011
T. Nagao, K. Suzuki, K. Utsunomiya, M. Matsumura, K. Saiga, P-C. Wang, H. Minamitani, Y. Aratani, T. Nakayama, K. Suzuki.	Direct activation of glomerular endothelial cells by anti-moesin activity of anti-myeloperoxidase antibody.	Nephrology Dialysis Transplantation	26	2752-2760	2011