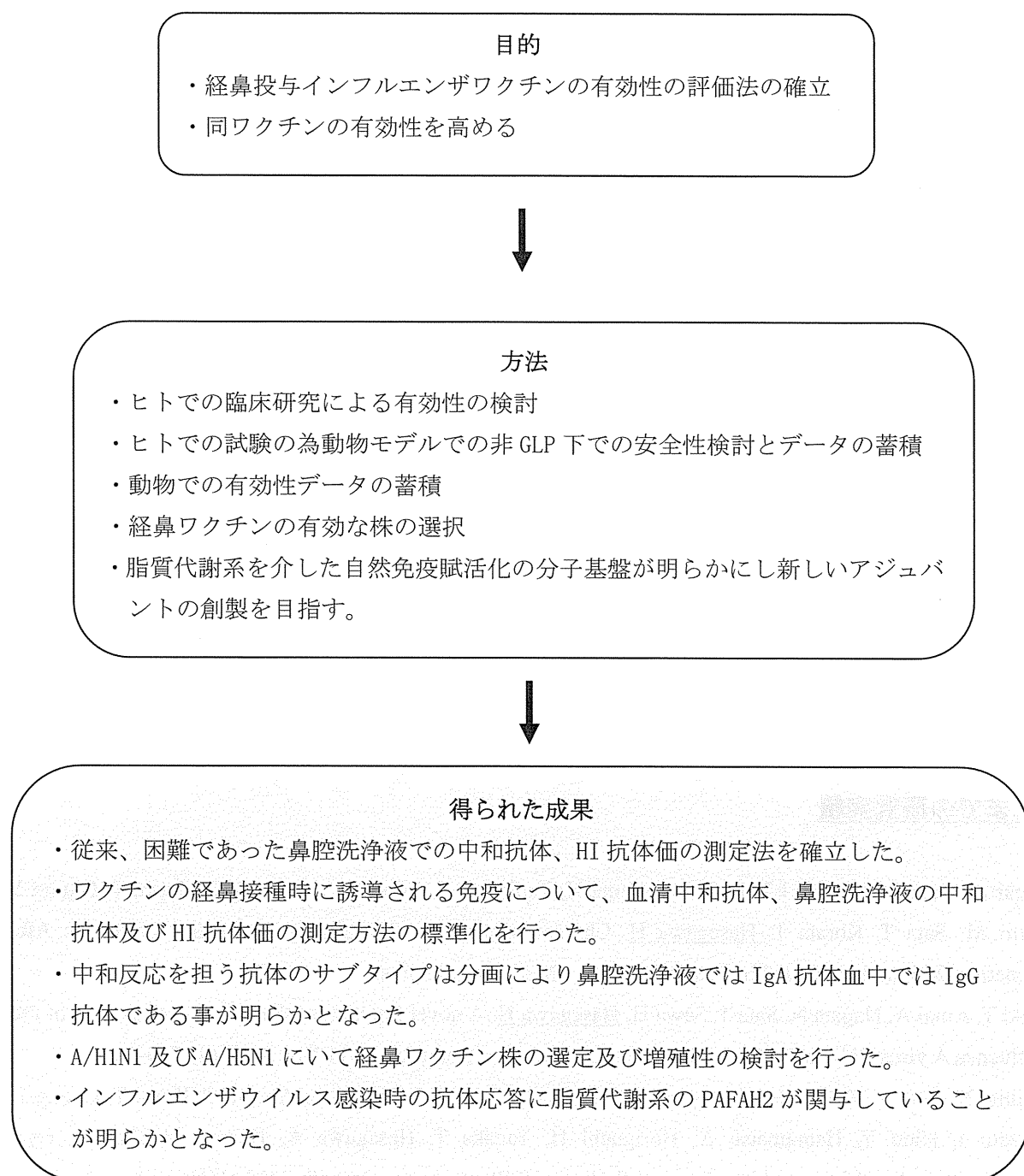


Ⅶ. Ⅲ (1 年間の研究成果) の概要図等



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

北海道大学

国立予防衛生研究所

ロックフェラー大学 (米国)

ユニバーシティー・カレッジ・ダブリン (アイルランド)

国立感染症研究所

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

・ William W Hall (University College Dublin)

・ 長嶋和郎 (北海道大学)

・ 倉田毅 (国立感染症研究所)

・ 澤洋文 (北海道大学)

・主な研究課題

・ HTLV-1 の感染機構の解明

・ 成人 T 細胞性白血病 (ATL) 発症メカニズムの解明とモデル動物の作成

・ 粘膜免疫を活用したワクチンの開発

・ インフルエンザの病態解明と経鼻ワクチンの開発

・これまでの研究実績

- 1) Ainai A, Tamura S, Suzuki T, Ito R, Asanuma H, Tanimoto T, Gomi Y, Manabe S, Ishikawa T, Okuno Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Characterization of Neutralizing Antibodies in Adults After Intranasal Vaccination With an Inactivated Influenza Vaccine. J Med Virol, in press
- 2) Suzuki T, Ainai A, Nagata N, Sata T, Sawa H, Hasegawa H. A novel function of the N-terminal domain of PA in assembly of influenza A virus RNA polymerase. Biochem Biophys Res Commun. 2011 Nov 4;414(4):719-26.
- 3) Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Kumasaka T, Hata S, Tanaka S, Amano T, Kasai T, Chong JM, Iiduka T, Nakazato I, Hino Y, Hamamatsu A, Horiguchi H, Tanaka T, Hasagawa A, Kanaya Y, Oku R, Oya T, Sata T. Histopathological and immunohistochemical findings of 20 autopsy cases with 2009 H1N1 virus infection. Mod Pathol. 2011 Aug 26. doi: 10.1038/modpathol.2011.125. [Epub ahead of print]
- 4) Ainai A, Tashiro M, Hasegawa H. Cross-protective immunity against influenza virus infections induced by intranasal vaccination together with a TLR3-mucosal adjuvant. Hum Vaccin. 2011 Jan 1;7:174-82.
- 5) Hajj E H., El-Sabban M, Hasegawa H, Zaatari G, Ablain J, Saab T. S, Janin A, Mahfouz R, Nasr R, Kfoury Y, Nicot C, Hermine O, Hall WW, de The H, Bazarbachi A. Therapy-induced selective loss of leukemia-initiating cell activity in murine ATL. J Exp Med. 2010 Dec 20;207(13):2785-92.
- 6) Ichinohe T, Ainai A, Ami Y, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Suzaki Y, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Strayer D,

- Carter W, Chiba J, Tamura S, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal administration of adjuvant-combined vaccine protects monkeys from challenge with the highly pathogenic influenza A H5N1 virus. *J Med Virol*. 2010 Oct;82(10):1754-61
- 7) Watters KM, Dean J, Hasegawa H, Sawa H, Hall W, Sheehy N. Cytokine and growth factor expression by HTLV-1 Lck-tax transgenic cells in SCID mice. *AIDS Res Human Retrovir*. 2010 May;26(5):593-603
- 8) Aina A, Ichinohe T, Tamura S, Kurata T, Sata T, Tashiro M, Hasegawa H. Zymosan enhances the mucosal adjuvant activity of Poly(I:C) in a nasal influenza vaccine. *J Med Virol*. 2010 Mar;82(3):476-84
- 9) Ichinohe T, Aina A, Nakamura T, Akiyama Y, Maeyama J, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Tamura S, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Induction of cross-protective immunity against influenza A virus H5N1 by intranasal vaccine with extracts of mushroom mycelia. *J Med Virol*. 82:128-137, 2010
- 10) Kawaguchi A, Orba Y, Kimura T, Iha H, Ogata M, Tsuji T, Aina A, Sata T, Okamoto T, Hall W.W, Sawa H, Hasegawa H. Inhibition of the SDF-1 α -CXCR4 axis by the CXCR4 antagonist AMD3100 suppresses the migration of cultured cells from ATL patients and murine lymphoblastoid cells from HTLV-I Tax transgenic mice. *Blood* 2009 Oct 1;114(14):2961-8. Epub 2009 Aug 5
- 11) Yamazaki J, Mizukami T, Takizawa K, Kuramitsu M, Momose H, Masumi A, Ami Y, Hasegawa H, Hall W. W, 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* 2009 Sep 24;114(13):2709-20. Epub 2009 Jul 7
- 12) Ichinohe T, Aina A, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H. PolyI:polyC12U adjuvant-combined intranasal vaccine protects mice against highly pathogenic H5N1 influenza virus variants. *Vaccine* 2009 Oct 23;27(45):6276-9
- 13) Hasegawa H, Ichinohe T, Aina A, Tamura S, Kurata T. Development of an inactivated mucosal vaccine for H5N1 influenza virus. *Ther Clin Risk Manag*. 2009 Feb;5(1):125-32
- 14) Kamijuku H, Nagata Y, Jiang X, Ichinohe T, Tashiro T, Mori K, Taniguchi M, Hase K, Ohno H, Shimaoka T, Yonehara S, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H*, Seino KI. Mechanism of NKT cell activation by intranasal coadministration of -galactosylceramide, which can induce cross-protection against influenza viruses *Mucosal Immunol*. 2008 May;1(3):208-18. Epub 2008 Mar 5.
- 15) Ichinohe T, Tamura S, Kawaguchi A, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Mitchell WM, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H*. Cross-protection against H5N1 influenza virus infection afforded by intranasal administration of seasonal trivalent inactivated influenza vaccine. *J Infect Dis*. 2007 Nov 1;196(9):1313-20. Epub 2007 Oct 5.
- 16) Ichinohe T, Kawaguchi A, Tamura S, Ninomiya A, Imai M, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Chiba J, Sata T, Kurata T and Hasegawa H* Intranasal immunization with H5N1 vaccine plus Poly I:Poly C12U, a Toll-like receptor agonist, protects mice against homologous and heterologous virus challenge. *Microbes and Infection* 2007 Sep;9(11):1333-40. 2007 Jul 1; [Epub ahead of print]
- 17) Ichinohe T, Nagata N, Strong P, Tamura SI, Takahashi H, Ninomiya A, Imai M, Odagiri T, Tashiro M, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H*. Prophylactic effects of chitin microparticles (CMP) on highly pathogenic H5N1 influenza virus. *J Med Virol*. 2007 Jun;79(6):811-819
- 18) Hasegawa H*, Ichinohe T, Tamura S, Kurata T Development of a mucosal vaccine for influenza viruses: preparation for a potential influenza pandemic. *Expert Review of Vaccines*, April 2007, Vol. 6, No. 2, Pages 193-201.

- 19) Ichinohe T, Ito S, Kawaguchi A, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Moriyama M, Chiba J, Kurata T, Sata T, and Hasegawa H* Protection against influenza virus infection by intranasal vaccine with Surfclam Powder as a mucosal adjuvant. *J Med Virol*, 2006 78:954-963.
- 20) Hasegawa H, Sawa H, Lewis M, Orba Y, Sheehy N, Yamamoto Y, Ichinohe T, Tsunetsugu-Yokota Y, Katano H, Takahashi H, Matsuda J, Sata T, Kurata T, Nagashima K, Hall WW. Development of Thymus-Derived T-cell Leukemia/Lymphoma in Mice Transgenic for the Tax gene of Human T-Lymphotropic Virus Type-I (HTLV-I). *Nature Medicine* 2006 Apr;12(4):466-472.
- 21) Ichinohe T, Watanabe I, Ito S, Fujii H, Moriyama M, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T, and Hasegawa H*, Synthetic double-stranded RNA [poly (I:C)] combined with mucosal vaccine protects against influenza virus infection. *Journal of Virology*, 2005 Mar;79(5):2910-9.
- 22) Hasegawa H, Ichinohe T, Strong P, Watanabe I, Ito S, Tamura S, Takahashi H, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T. Protection against influenza virus infection by intranasal administration of HA vaccine with chitin microparticles as an adjuvant. *Journal of Medical Virology*, 2005 Jan; 75:130-136.
- 23) Hasegawa H, Katano H, Tanno M, Masuo S, Ae T, Sato Y, Takahashi H, Iwasaki T, Kurata T, Sata T. BCL-6-positive Human Herpesvirus 8-associated Solid Lymphoma Arising from Liver and Spleen as Multiple Nodular Lesions. *Leuk Lymphoma*. 2004 Oct;45(10):2169-72.
- 24) Watanabe I, Ross TM, Tamura S, Ichinohe T, Ito S, Takahashi H, SawaH, Chiba J, Kurata T, SataT, HasegawaH* Protection against influenza virus infection by intranasal administration of C3d-fused hemagglutinin. *Vaccine* 2003 Nov 7;21(31):4532-8.
- 25) Dewan MZ, Terashima K, Taruishi M, Hasegawa H, Ito M, Tanaka Y, Mori N, Sata T, Koyanagi Y, Maeda M, Kubuki Y, Okayama A, Fujii M, Yamamoto N. Rapid tumor formation of human T-cell leukemia virus type 1-infected cell lines in novel NOD-SCID/gammac(null) mice: suppression by an inhibitor against NF-kappaB. *J Virol*. 2003 May;77(9):5286-94.
- 26) Hasegawa H, Tatsumi M, Ogawa-Goto K, Takahashi H, Iwasaki T, Kurata T, Sata T, Takeuchi T, Sheehy N, Sawa H, Nagashima K and Hall WW.: Processing of the HTLV-II envelope precursor glycoprotein, gp63 by furin is essential for cell fusion activity. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002, 18: 1253-1260.
- 27) Hasegawa H*, Kadowaki S, Aizawa H, Takahashi H, Iwasaki T, Tamura S, Kurata T, Sata T.: Persistent influenza virus infection of irradiated mice and its prevention by intranasal vaccination. *Vaccine* 2002, 20: 1050-1057.
- 28) Hasegawa H*, Kadowaki S, Takahashi H, Iwasaki T, Tamura S, Kurata T. Protection against influenza virus infection by nasal vaccination in advance of sublethal irradiation. *Vaccine*. 2000, 22: 2560-2565.
- 29) Egan JF, O'Leary B, Lewis MJ, Mulcahy F, Sheehy N, Hasegawa H, Fitzpatrick F, O'Connor JJ, O'Riordan J, Hall WW, High rate of human T lymphotropic virus type IIa infection in HIV type 1- infected intravenous drug abusers in Ireland. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1999, 15: 699-705.
- 30) Takai S. Hasegawa H, Kiyokawa E, Yamada K, Kurata T, Matsuda M.: Chromosomal Mapping of the Gene Encoding DOCK180, a Major-Crk-Binding Protein, to 10q26.13-q26.3 by Fluorescence in Situ Hybridization. *GENOMICS* 1996, 35: 403-404.
- 31) Hasegawa H., Kiyokawa E, Tanaka S, .Nagashima K, Gotoh N, Shibuya M, Kurata T, Matsuda M: DOCK180, a Major CRK-Binding Protein, Alters Cell Morphology upon Translocation to the Membrane. *Mol Cell Biol*,1996, 16:

1770-1776.

- 32) Matsuda M, Hashimoto Y, Muroya K, Hasegawa H, Kurata T, Tanaka S, Nakamura S, Hattori S. CRK protein binds to two guanine nucleotide-releasing proteins for the Ras family and modulates nerve growth factor-induced activation of Ras in PC12 cells. Mol Cell Biol. 1994, 14: 5495-500.

・特許権等知的財産権の取得及び申請状況

長谷川秀樹、倉田 毅、佐多徹太郎、森山雅美、田村慎一、谷本武史

粘膜免疫誘導アジュバントを含む新規ワクチン

特許第 4817625 号（登録日 平成 23 年 9 月 9 日）

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 『成果概要』

研究課題： 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

課題番号： H23-新興-一般-016

予定期間： H23 年度から H25 年度まで

研究代表者： 浜口 功

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： 部長

年次別研究費(交付決定額)：1 年目 30,000,000 円

I. 研究の意義

- (1) HTLV-1 検査法の標準化により、妊婦スクリーニングをはじめ HTLV-1 感染の総合的な対策に役立つ。
- (2) HTLV-1 ウイルス量測定法の標準化をはかり、世界に先駆けて標準的 HTLV-1 診断法を確立できる。
- (3) 無症候性キャリアのリスク増悪に関連する因子を明らかにし、総合的フォロー対策に役立つ。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) PCR による HTLV-1 核酸検査を新たに開発し、確認検査が正確かつ迅速に行われることを目指す。
- (2) HTLV-1 関連疾患の発症因子とされる HTLV-1 ウイルス量を正確に測定できることにより、予後の予測が可能となる。
- (3) HTLV-1 ウイルス量測定を指標に、リスク増悪に関連する因子を、JSPFAD (Joint Study for Predisposing Factor of ATL Development) を活用した疫学的解析により明らかにする。

III. 1 年間の研究成果

・研究代表者 浜口功

(1) 標準品候補品の選定と作製：HTLV-1 感染細胞株(TL-0m1)を Jurkat や末梢血単核球(PBMC)で希釈した候補品、HTLV-1 プラスミドを用いた候補品など 3 種類を 8 施設で検討した。ウイルスコピー数の測定値の安定性、ばらつき等を検討した結果、TL-0m1 を PBMC で希釈した候補品が最も標準化し易いことが明らかとなった。当初、プラスミドによる標準化が有望と考えられたが、希釈操作における施設間差が大きく、臨床検体と同じ細胞からなる TL-0m1/PBMC を標準品に設定した。TL-0m1/PBMC からなる本標準品の設定は研究班内で妥当であると承認を得た。

(2) 標準品のウイルスコピー数解析：標準品中の TL-0m1 を CFSE 染色し、CFSE 陽性細胞率のデータと FISH 法による TL-0m1 のプロウイルス解析から、標準品に含まれる正確な HTLV-1 コピー数の測定が可能となった。本標準品コピー数決定法が妥当であることは研究班内で承認された。

(3) 標準品に用いる細胞株(TL-0m1)の性状解析：TL-0m1 の HTLV-1 プロウイルスの性状解析として、FISH 解析によるコピー数測定、Inverse-PCR による挿入部位の同定、全長配列の決定を行った。TL-0m1 のプロウイルスはすべて 1p13 に 1 細胞あたり平均 1.8 コピーの割合で組み込まれ、全長が 8942 塩基であり各施設のプライマーとプローブは一致することを確認した。また TL-0m1 の染色体は 4 倍体であった。これらの結果

から、TL-0m1 が HTLV-1 コピー数測定の際の標準品として有用である事を国際的にも示す予定である。

(4) 共同研究の統括：8 施設で標準品および HTLV-1 陽性臨床検体の共同測定を実施し、データの集約および解析を行った。標準品測定結果から算出した各施設の補正係数で臨床検体の測定結果を補正したところ、測定値の一致度が上昇し、標準化は可能であるとの結果を得た。

・研究分担者(大隈和、山口一成、渡邊俊樹、岡山昭彦、佐竹正博、出雲周二、山野嘉久、上平憲)

キャリア、ATL 患者の臨床検体の共同測定：各施設において、自施設の測定法および測定機器を用いて標準品選定のための共同測定を行った。さらに、国立感染症研究所が作製した標準品を用いてキャリア、ATL 患者の臨床検体を共同で測定したところ、施設間で測定値の一致が認められた。TL-0m1/PBMC からなる標準品を用いた HTLV-1 のコピー数測定の標準化が可能であることが確認できた。

・研究分担者(望月学、高 起良、内丸薫、魚住公治、緒方正男、相良康子、宇都宮與、岩永正子)

キャリアの予後予測因子、血漿 HGF 測定とデータ解析：全国の協力医療機関から提供された JSPFAD マテリアルバンクの血液試料を用いて、バイオマーカー候補 HGF (肝細胞成長因子) の解析を行った。これまでの解析では、HGF が無症候性キャリアで有意に高値である事が明らかとなった。今後は日本赤十字社の多数の献血血液や経過観察中に ATL を発症したキャリア検体を用いて、詳細な検討を行っていく。無症候性キャリアの病態の進行度や重症度を簡便、迅速、精確に判定することができる可能性がある。

・研究分担者(齋藤滋)

標準化された PCR 法による妊婦スクリーニング検体測定のシステム構築：妊婦検診において HTLV-1 抗体検査で陽性となった場合、確認検査となる。現行のシステムにおいては、抗体検査陽性の 10~20% が判定保留となり、母乳哺育法の選択に苦慮している。そこで厚労科学研究「HTLV-1 母子感染予防に関する研究：HTLV-1 抗体陽性妊婦からの出生児のコホート研究」(昭和大学小児科 板橋家頭夫) に登録された妊婦が判定保留となった際、定量 PCR 法で HTLV-1 感染の有無と HTLV-1 ウイルス量を検討することとなり、判定保留例の解析を行うために、両班における倫理審査承認等の実施環境整備を行った。

・研究分担者(巽正志)

(1) 標準化された PCR 法の保険適用へ向けた検討：TL-0m1/PBMC からなる標準品を用いた HTLV-1 のコピー数測定の標準化が可能であることを受け、保険適用にむけ、適用申請の検討をはじめた。

(2) 抗体検査の問題点の整理：核酸検査の標準化に続き、抗体検査やウエスタンブロットを用いた検査の問題点を検討する。研究班には、試薬・検査機器メーカーの参加もあり、判定に苦慮する検体を集めた検討を次年度以降行っていく。

IV. 平成 24~25 年度の課題

(1) HTLV-1 検査法標準化確立：標準化された核酸検査の検出限界を検討するとともに、検出限界以下の測定値をとる検体の解析方法を開発する。

(2) 妊婦スクリーニングにおいて判定保留となったサンプルの解析：年間 100 例の判定保留検体の解析が予想される。板橋班と連携して、スクリーニング後の判定保留例の解析を行う。

(3) HTLV-1 関連疾患の発症リスクの検討：無症候性キャリアのリスク評価のバイオマーカーとして HGF 測定が有用であることを、日本赤十字社や JSPFAD の多数の検体をもちいて明らかにする。

V. 行政施策への貢献の可能性

PCR法による妊婦スクリーニング検体測定システムの構築:妊婦に対するHTLV-1抗体検査が公費助成され、平成23年4月から妊婦に対するHTLV-1抗体検査が産婦人科診療ガイドラインで推奨レベルA(強く推奨する)に変更になった。今後、判定保留例年間100例(推定)に対し、本試験法で解析を行う。今後、厚生労働科学研究「HTLV-1母子感染予防に関する研究:HTLV-1抗体陽性妊婦からの出生児のコホート研究」(板橋班)と連携し対応する。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

(1) 研究代表者 浜口功

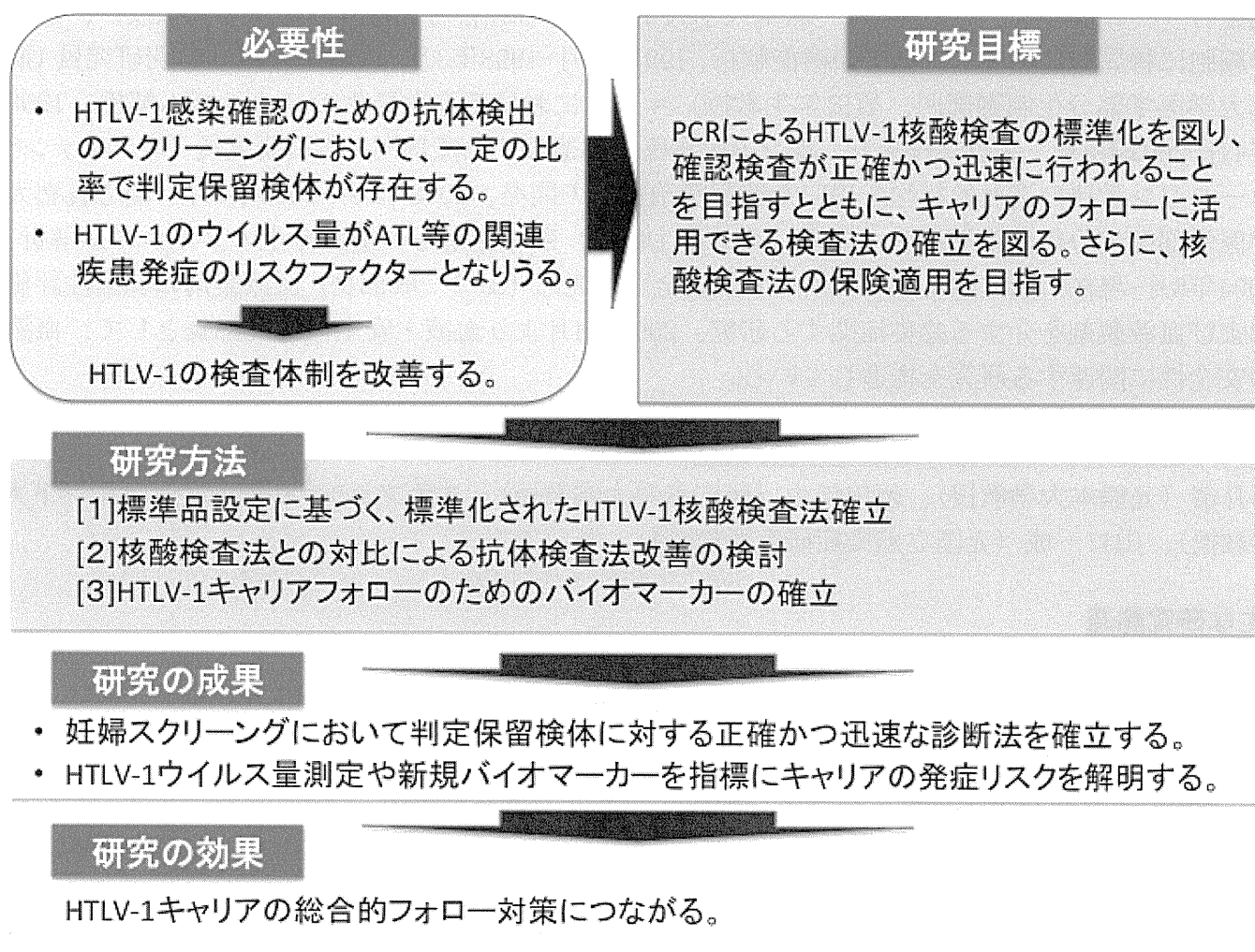
1. Kuramitsu M, Sato-Otsubo A, Morio T, Takagi M, Toki T, Terui K, RuNan W, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kitoh T, Goi K, Kudo K, Matsubayashi T, Mizue N, Ozeki M, Masumi A, Momose H, Takizawa K, Mizukami T, Yamaguchi K, Ogawa S, Ito E, Hamaguchi I* Extensive gene deletions in Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia *Blood in press* (* corresponding author)

(2) 分担研究者

1. Satake M, Yamaguchi K, Tadokoro K. Current HTLV-1 prevalence rate in Japan as assessed by screening of blood donors. *J Med Virol in press*
2. Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsuda Y, Matsubara A, Muto S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T. Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- κ B pathway in adult T-cell leukemia and other cancers. *Cancer Cell, in press*
3. Takamori A, Hasegawa A, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Masuda M, Shimizu Y, Tamai Y, Sasada A, Zeng N, Choi I, Uike N, Okamura J, Watanabe T, Masuda T, Kannagi M. Functional impairment of Tax-specific but not cytomegalovirus-specific CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes in a minor population of asymptomatic human T-cell leukemia virus type 1-carriers. *Retrovirology in press*
4. Ueno S, Umeki K, Takajo I, Nagatomo Y, Kusumoto N, Umekita K, Morishita K, Okayama A. Proviral loads of human T-lymphotropic virus type 1 in asymptomatic carriers with different infection routes. *Int J Cancer in press*
5. Abdelbary NH, Abdullah HM, Matsuzaki T, Hayashi D, Tanaka Y, Takashima H, Izumo S, Kubota R. Reduced Tim-3 expression on human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) Tax-specific cytotoxic T lymphocytes in HTLV-I infection. *J Infect Dis.* 203(7) : 948-59. 2011
6. 齋藤 滋 : HTLV-I母子感染予防の現状と対策. 血液内科. 62:608-613, 2011.
7. Takenouchi H, Umeki K, Sasaki D, Yamamoto I, Nomura H, Takajo I, Ueno S, Umekita K, Kamihira S, Morishita K, Okayama A: Defective human T-lymphotropic virus type 1 provirus in asymptomatic carriers. *Int J Cancer* 15;128(6):1335-43, 2011.
8. Umino A, Nakagawa M, Utsunomiya A, Tsukasaki K, Taira N, Katayama N, Seto M: Clonal evolution of adult T-cell leukemia/lymphoma takes place in lymph node. *Blood*, 117(20):5473-5478, 2011
9. Kozako T., Akimoto M., Toji S., White Y., Suzuki S., Arima T., Suruga Y., Matsushita K., Shimeno H., Soeda S., Kubota R., Izumo S., Uozumi K., Arima N. Target epitopes of HTLV-1 recognized by class I MHC-restricted cytotoxic T lymphocytes in patients with myelopathy and spastic paraparesis and infected patients with autoimmune disorders. *J Med Virol.* 83, 501-509. 2011.

Ⅶ. Ⅲ(1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

・過去に所属した研究機関の履歴

1989年4月-1993年3月 熊本大学第二内科（高月清教授）のもとで、HTLV-1の基礎及び臨床研究を行う。1993年4月-1997年3月 熊本大学大学院医学研究科博士課程（須田年生教授）、造血幹細胞に特異的に発現する分子の機能解析、1997年4月-1998年3月 学術振興会・特別研究員（熊本大学医学部分化制御部門、須田年生教授）マウスにおける造血発生のメカニズム解析、1998年4月-2002年8月 スウェーデン、ルンド大学医学部遺伝子治療部門・客員研究員（ステファン=カールソン教授）造血幹細胞を用いた遺伝子治療法の開発、2002年9月-2004年7月 慶応義塾大学医学部発生分化生物学講座・講師（須田年生教授）ES細胞からの造血発生のメカニズム解析、2004年8月-現在 国立感染症研究所・血液安全性研究部（山口一成部長）血液製剤の安全性評価および血液製剤を介する感染症に関する研究、2009年4月より血液・安全性研究部長として、血液の安全性に関連する研究を推進している。

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

高月清（元熊本大学教授）、須田年生（慶応義塾大学教授）、ステファン=カールソン（ルンド大学教授）、山口一成（元国立感染症研究所部長）

・主な研究課題

- 血液を介する感染症に対する検査法開発
- 生物学的製剤（血液製剤、ワクチン）の安全性
- HTLV-1感染によるリンパ腫発生のメカニズムと予防
- C型肝炎ウイルス感染によるリンパ腫発生のメカニズムと予防

・これまでの研究実績

1. Kuramitsu M, Sato-Otsubo A, Morio T, Takagi M, Toki T, Terui K, RuNan W, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kitoh T, Goi K, Kudo K, Matsubayashi T, Mizue N, Ozeki M, Masumi A, Momose H, Takizawa K, Mizukami T, Yamaguchi K, Ogawa S, Ito E, Hamaguchi I*. Extensive gene deletions in Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia. *Blood in press* (* corresponding author)
2. Tsuruno C, Ohe K, Kuramitsu M, Kohma T, Takahama Y, Hamaguchi Y, Hamaguchi I, Okuma K. HMGA1a is involved in specific splice site regulation of human immunodeficiency virus type 1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011; 406: 512-517.
3. Tsuruno C, Okuma K, Takahashi Y, Tanaka R, Tanaka Y, Takahama Y, Hamaguchi Y, Hamaguchi I, Yamaguchi K. A recombinant vesicular stomatitis virus encoding HIV-1 receptors and human OX40 ligand efficiently eliminates HIV-1-infected CD4-positive T cells expressing OX40. *Hum Immunol*. 2011; 72: 295-304.
4. Ochiai M, Yamamoto A, Naito S, Maeyama J, 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*. 2010; 38: 629-636.
5. 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.* 2010; 63: 25-30. (*equally first)
6. 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.* 2010; 30: 243-252.
 7. 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.* 2009 Sep 24;114(13):2709-20. (*corresponding author)
 8. 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.* 2009 Nov 3;583(21):3493-500. (*equally corresponding author)
 9. Ohmura M, Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Shugo H, Tamase A, Uema N, Ooshio T, Arai F, Takubo K, Nagamatsu G, Hamaguchi I, Takagi M, Ishihara M, Sakurada K, Miyaji H, Suda T, Hirao A. Identification of stem cells during prepubertal spermatogenesis via monitoring of nucleostemin promoter activity. *Stem Cells.* 2008 Dec;26(12):3237-46.
 10. Mizukami T, Masumi A, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Naito S, Maeyama J-I, 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, 8-17, 2009 (* corresponding author)
 11. Ohmura M, Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Shugo H, Tamase A, Uema N, Ooshio T, Arai F, Takubo K, Nagamatsu G, Hamaguchi I, Takagi M, Ishihara M, Sakurada K, Miyaji H, Suda T, Hirao A, Identification of stem cells during prepubertal spermatogenesis via monitoring of nucleostemin promoter activity. *Stem Cells*, 26, 3237-3246, 2008
 12. Hamaguchi I, Imai J-I, Momose H, Kawamura M, Mizukami T, Naito S, Maeyama J-I, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Kato H, Mizutani T, Horiuchi Y, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K, Application of quantitative gene expression analysis for pertussis vaccine safety control. *Vaccine*, 26 :4686-96, 2008
 13. Mizukami T*, Imai J-I*, Hamaguchi I*, Kawamura M, Momose H, Naito S, Maeyama J-I, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K, Application of complementary DNA microarray technology to influenza A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) vaccine safety evaluation. *Vaccine*, 26 :2270-83, 2008 (*equally first)
 14. Miyake K, Utsugisawa T, Flygare J, Kiefer T, Hamaguchi I, Richiter J, Karlsson S. RPS19 deficiency leads to reduced proliferation and increased apoptosis but does not affect terminal erythroid differentiation in a cell line model of Diamond-Blackfan anemia. *Stem Cells*, 26: 323-329, 2008.
 15. 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. (* corresponding author)
 16. Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, Masumi A, Naito S, Iwama A, Ogawa T, Noce T,

- Hamaguchi I*, and Yamaguchi K. Identification of transcripts commonly expressed in both hematopoietic and germline stem cells. *Stem Cell & Dev.*, 17: 67-80, 2008. (* corresponding author)
17. 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
18. Hamaguchi I, Imai J-I, Momose H, Kawamura M, Mizukami T, Kato H, Naito S, Maeyama J-I, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Mochizuki M, Ochiai M, Yamamoto A, Horiuchi Y, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K. Two vaccine toxicity-related genes Agp and Hpx could prove useful for pertussis vaccine safety control. *Vaccine*, 25: 3355-3364, 2007

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 『成果概要』

研究課題 : 予防接種に関するワクチンの有効性・安全性等に関する分析疫学研究
 課題番号 : H23-新興-一般-017
 予定期間 : H23 年度から H25 年度まで
 研究代表者 : 廣田 良夫
 所属研究機関 : 大阪市立大学
 所属部局 : 大学院医学研究科公衆衛生学
 職名 : 教授
 年次別研究費(交付決定額) : 1 年目 95,093,000 円

I. 研究の意義

- (1) ワクチンの免疫原性を評価するには、接種前抗体価、年齢等の影響を考慮しなければならない。
- (2) ワクチンの有効性を評価するには、接種・非接種群間の特性分布を考慮しなければならない。
- (3) 世界の研究の殆どは、そのような交絡因子や修飾因子の影響を考慮していない。
- (4) 有効性、免疫原性、安全性に関し、ハイリスク集団別のデータが不足している。
- (5) 厚労省指導による追加研究 : 不活化ポリオワクチンの円滑な導入に向け、経口ポリオワクチンとの互換性、および IPV と DPT-IPV の互換性に関する免疫原性・安全性試験が急務である。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) インフルエンザワクチンの免疫原性、有効性、安全性をハイリスク集団別に提示
- (2) 百日咳 (DPT) と高齢者肺炎 (肺炎球菌ワクチンとインフルエンザワクチン) について、多施設共同症例対照研究により、ワクチン有効性と発病関連因子を提示
- (3) b 型インフルエンザ菌、肺炎球菌など複数のワクチンについて、多施設共同症例対照研究を実施し有効性を検討
- (4) 上記の情報をもとに医療経済モデルを構築し、費用効果的選択肢 (公費助成額など) を提示
- (5) 上記については微生物学者の支援体制を確立し、病原体特性を考慮した堅固な結果とする
- (6) 厚労省指導による追加研究 : 不活化ポリオワクチン導入後の代表的接種パターンについて、免疫原性・安全性データを提示

III. 1 年間の研究成果

○ 研究代表者

プロジェクト研究分科会を統括指導。

○ 研究分担者

(1) インフルエンザ分科会 (森、小笹、井手、原、都留、出口、菅野)

・C 型慢性肝炎患者 (409 人) における新型インフルエンザワクチンの調整 OR は、検査診断インフルエンザに対し 0.50 (0.08-3.03)、入院に対し 0.41 (0.14-1.18)。

・第 1・2 三半期の妊婦における新型ワクチンの antibody efficacy は、「呼吸器症状による医療機関受診」に対し、調整 OR が 0.09 (0.004-0.93)、達成率 (92%) をもとにワクチン有効率は 84%(91×0.92)。

・血液悪性腫瘍患者 (50 人) における新型ワクチン 2 回接種の免疫原性 : GMT は 3.9 倍となったが抗体保有率は 48%。リツキサシ使用, IgM 低値では抗体応答が低い。

・母体から臍帯血 (40 子分) への移行抗体 (2010/11 ワクチン) : 妊婦→臍帯血の抗体 (HI 価) 保有率は、AH1 で 70→54%、AH3 で 54→49%、B 型で 89→65%。防御レベルの抗体移行は、HI 試験では 50~60%、

中和抗体試験では 70～80%に認める。

・北海道（石狩 999 人，空知 662 人，十勝 923 人）において、高齢者のワクチン接種行動と関連する要因を調査。共通する促進要因は、女性、後期高齢者、帰宅後のうがいの習慣、外出時のマスク着用習慣、肺炎球菌ワクチン接種歴。

(2) 百日咳分科会（岡田、中野、吉田、大藤、原、伊藤、砂川）

・多施設共同・症例対照研究（対照はBest-friend methodにより選択）：症例／対照数（45／43人）の増加により境界域の有意差を検出。調整ORは、DPT接種0.08 (P=0.072)、ステロイド投与歴12.2 (P=0.061)、周囲に咳患者8.61 (P=0.010)、居住スペース ≥ 28 平米0.31 (P=0.077)。

・S大学集団発生事例におけるワクチン4回接種の調整ORは、臨床診断基準を満たす症例に対し0.37、PT ≥ 100 を満たす症例に対し0.48、IgG(+)かつIgM(+)を満たす症例に対し0.24。

(3) 高齢者肺炎分科会（鈴木、小島原）

・多施設共同・症例対照研究（対照は性・年齢が対応する同一機関受診患者）：肺炎に対する調整 OR は、2009-10 シーズンの新型インフルエンザ流行期で、季節性インフルエンザワクチン 0.35 (P=0.103)、新型インフルエンザワクチン 0.27 (P=0.081)；2010-11 シーズンで、肺炎球菌ワクチン 0.69 (0.640)、季節性インフルエンザワクチン 0.08 (0.030)。

(4) 新規ワクチン検討分科会（中野、廣田）

Hib および肺炎球菌による invasive infection に対するワクチン有効性に関し、小児対象の多施設共同・症例対照研究の企画を進めている

(5) 費用対効果分科会（星、廣田）

・23 価肺炎球菌ワクチンの再接種、およびインフルエンザワクチンとの併用（同時接種）が 2009 年に承認されて以降 2 シーズン目の全国実態調査では、認知割合は前者 $\geq 70\%$ 、後者 $< 50\%$ 。肺炎球菌ワクチンの接種実施状況と同時接種・再接種の実施状況は「補助あり自治体」で有意に高い。

・都内のエイズ治療診療拠点病院に通院する HIV 感染者（ ≥ 20 歳）4,000 人を対象に、肺炎球菌ワクチン接種状況の実態調査に着手

(6) 微生物検索・病原診断分科会（加瀬）

・2010/11 シーズンワクチンによって誘導された A(H3)野生株に対する抗体を測定（健康成人 57 人）。ワクチン株で測定した場合、抗体応答率（接種前より 4 倍以上上昇）は、1 回目接種と 2 回目接種で 32% \Rightarrow 42%、抗体上昇倍数は 2.5 倍 \Rightarrow 3.0 倍、抗体保有率（ $\geq 1:40$ ）は 80% \Rightarrow 82%。

3 株の野生株 [A/大阪 67/2010 (H3N2)、A/神戸/357/2010 (H3N2)、A/横浜/79/2010 (H3N2)] を用いた測定では、抗体応答率は、23～26% \Rightarrow 28～35%、抗体上昇倍数は 1.8～2.0 倍 \Rightarrow 2.2～2.3 倍、抗体保有率は 28～35% \Rightarrow 36～45%。

(7) 広報啓発分科会（小笹、入江、大藤、都留）

インフルエンザワクチンに関する米国予防接種諮問委員会（US-ACIP）勧告 2011 年版の翻訳終了、（財）日本公衆衛生協会より近々出版。

(8) 厚労省指導による追加研究（入江、中野、廣田）

生後 3 月以上 74 月未満の小児（200 人）を対象に、4 群（OPV \rightarrow DPT-IPV \rightarrow DPT-IPV \rightarrow DPT-IPV；OPV \rightarrow IPV \rightarrow IPV \rightarrow IPV；DPT-IPV \rightarrow DPT-IPV \rightarrow IPV \rightarrow IPV；IPV \rightarrow IPV \rightarrow DPT-IPV \rightarrow DPT-IPV）を設定し、免疫原性と安全性の臨床試験を開始。

IV. 平成 24～25 年度の課題

(1) 新型インフルエンザワクチンの免疫原性・有効性データの解析、論文化を促進徹底。

- (2) 百日咳多施設共同研究における症例対照の収集を促進. 有意差の検出を目指す
- (3) 高齢者肺炎多施設共同研究における症例対照の収集を促進. 肺炎球菌ワクチン有効性を追求。
- (4) Hib による invasive infection に関する多施設共同・症例対照研究に着手
- (5) 23 価肺炎球菌ワクチンの再接種、およびインフルエンザワクチンとの併用（同時接種）に関する費用対効果を検討
- (6) 各シーズンのワクチンによって誘導される抗体を、測定抗原に野生株を用いて測定。
- (7) インフルエンザに関する米国予防接種諮問委員会（US-ACIP）勧告を毎年翻訳出版。
- (8) ポリオワクチン(OPV, IPV, DPT-IPV)の互換性に関する免疫原性・安全性試験を完成。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) インフルエンザワクチンおよび肺炎球菌ワクチンの免疫原性・有効性、接種の意義や優先接種、費用対効果に関する根拠を提供。
- (2) 百日咳ワクチンの有効性に関し、常時モニタリングや集団発生時緊急調査のモデルを提供。
- (3) 高齢者肺炎に対するインフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンの有効性に関し、呼吸器内科領域でも活用できる研究手法のモデルを提供。
- (4) 不活化ポリオワクチン導入後の代表的接種パターンについて、免疫原性・安全性データを提示することにより、不活化ポリオワクチンの円滑な導入に資する。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) Kobayashi M, Ohfuji S, Fukushima W, Maeda A, Maeda K, Fujioka M, Hirota Y. Immunogenicity and reactogenicity of a monovalent inactivated 2009 influenza A vaccine in adolescents: with special reference to pre-existing antibody. J Pediatr. 2011 (In press).
- (2) Ohfuji S, Fukushima W, Deguchi M, Kawabata K, Yoshida H, Hatayama H, Maeda A, Hirota Y. Immunogenicity of a monovalent 2009 influenza A(H1N1) vaccine among pregnant woman: lowered antibody response by prior seasonal vaccination. J Infect Dis 2011; 203: 1301-8.
- (3) Ide S, Imanura Y, Ide Y, Ifuku Y, Koga M, Maeda K, Washio M, Hirota Y. Immunogenicity of pandemic influenza A (H1N1) monovalent vaccine among immunosuppressed hematooncology patients. J Epidemiol Community Health 2011; 65: S337-8.
- (4) Tsutsumi C, Higashi H, Kanaya A, Ide Y, Ide S, Koga M, Maeda K, Washio M, Hirota Y. Immunogenicity of pandemic influenza A (H1N1) monovalent vaccine in patients on long-term hemodialysis. J Epidemiol Community Health 2011; 65: S355.
- (5) Hara M, Hanaoka T, Mizushima T, Honma J, Maeda K, Ohfuji S, Tanaka K, Hirota Y. Diminished immunogenicity to pandemic H1N1 2009 influenza vaccine in subjects with severe motor and intellectual disability. Vaccine 2011; 29: 8323-9.
- (6) Sagawa M, Kojimahara N, Otsuka N, Kimura M, Yamaguchi N. Immune response to influenza vaccine in the elderly: association with nutritional and physical status. Geriatr Gerontol Int. 2011; 11 (63-8).
- (7) Kojimahara N. Vaccine-preventable infectious respiratory diseases in the elderly. Geriatrics 2011 (In press).
- (8) Hara M, Tanaka K, Kase T, Maeda A, Hirota Y. Evaluation of seasonal influenza vaccination effectiveness based on antibody efficacy among the institutionalized in Japan. Vaccine 2010; 28: 5664-8.
- (9) 廣田良夫, 葛西健 (監修), 小笹晃太郎, 鷲尾昌一, 福島若葉, 大藤さとし (編集). 米国疾病管理センター (CDC) 予防接種諮問委員会 (ACIP) 勧告 2010 年版「インフルエンザの予防と対策」. 日本公衆衛生協会.
- (10) 星淑玲, 近藤正英, 大久保一郎. 公費助成肺炎球菌ワクチン接種の費用および接種率に関する調査. 日本公衆衛生雑誌 2010; 5 (505-13).

Ⅶ. Ⅲ (1 年間の研究成果) の概要図等



●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	48 (1973) 年 4 月	・久留米大学 助手 (医学部公衆衛生学教室)
	51 (1976) 年 3 月	・ネパール王国保健省へ長期出張 (1978 年 2 月まで)
	53 (1978) 年 3 月	・筑波大学 講師 (社会医学系)
	56 (1981) 年 7 月	・厚生省 公衆衛生局難病対策課、結核難病課、環境衛生局水道環境部計画課、生活衛生局企画課、各課長補佐
	62 (1987) 年 1 月	・九州大学 助教授 (医学部公衆衛生学講座)
平成	11 (1999) 年 7 月	・大阪市立大学 教授 (医学部公衆衛生学講座)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

山口誠也 (筑波大学名誉教授)、広畑富雄 (九州大学名誉教授)、加地正郎 (久留米大学名誉教授)

・主な研究課題

- ・呼吸器感染症、特にインフルエンザの疫学
- ・難病の疫学
- ・ウイルス肝炎及び肝がんの疫学、骨関節疾患の疫学

・これまでの研究実績

- * 小林真之, 武知茉莉亜, 近藤亨子, 大藤さとこ, 福島若葉, 前田章子, 廣田良夫. 不活化インフルエンザワクチンとギラン・バレー症候群の関連についての文献的考察. 日本公衆衛生雑誌 2010; 57: 605-11.
- * Yamaguchi S, Ohfuji S, Hirota Y. Influenza vaccine effectiveness in primary school children in Japan: a prospective cohort study using rapid diagnostic test results. *J Infect Chemother* 2010; 16: 407-13.
- * Hirota Y. Large-scale demonstration trials. In: Use of licensed H5N1 influenza vaccines in the interpandemic period. Report of the H5N1 SAGE Working Group to the April 2009 meeting of the Strategic Advisory Group of Experts. World Health Organization, 2009, 17.
- * Ochiai H, Fujieda M, Ohfuji S, Fukushima W, Kondo K, Maeda A, Nakano H, Hirota Y, for the influenza vaccine epidemiology study group. Inactivated influenza vaccine effectiveness against influenza-like illness among young children in Japan- With special reference to minimizing outcome misclassification. *Vaccine* 2009; 27 (7031-5).
- * 武知茉莉亜, 小林真之, 近藤亨子, 大藤さとこ, 福島若葉, 前田章子, 廣田良夫: 米国におけるブタ (swine) インフルエンザ集団発生 (1976 年) から全国予防接種キャンペーン開始までの経緯. 厚生指標 56: 20-7, 2009.
- * Hirota Y and Kaji M.: History of influenza vaccination programs in Japan. *Vaccine* 26: 6451-6454, 2008.
- * Hirota Y, Fukushima W, Fujieda M, Ohfuji S, and Maeda A.; *Essential tools for accessing influenza vaccine efficacy in improperly conducted studies: Japanese perspective. Vaccine* 26: 6455-6458, 2008.
- * Hirota Y.: Ecological fallacy and scepticism about influenza vaccine efficacy in Japan: The Maebashi Study. *Vaccine* 26: 6473-6476, 2008.
- * Hirota Y, Ohfuji S. Absenteeism as measure of disease burden. In: *A practical guide for designing and conducting influenza disease burden studies. World Health Organization, 2008. 8-12.*
- * Ohfuji S, Fukushima W, Irie S, Fujieda M, Ito K, Ishibashi M, Takamizawa A, Ishikawa T, Takasaki Y, Shindo S, Yokoyama T, Yamashita Y, Shibao K, Koyanagi H, Maeda A, Hirota Y.: Immunogenicity of trivalent inactivated influenza vaccine among children less than 4 years of age. In: Katz ed. "Options for the Control of Influenza VI" Atlanta: International Medical Press 2008. 377-379.
- * 入江伸, 藤枝恵, 伊藤一弥, 石橋元規, 高見沢明久, 石川豊数, 高崎好生, 進藤静生, 横山隆, 山下祐二, 芝尾京子, 小柳英樹, 前田章子, 廣田良夫: 4歳未満児における不活化インフルエンザワクチンに対する免疫応答. 感染症誌. 81(3): 284-290, 2007.
- * Fujieda M, Maeda A, Kondo K, Kaji M, and Hirota Y: Inactivated influenza vaccine effectiveness in children under 6 years of age during the 2002-2003 season. *Vaccine*, 24: 957-963, 2006.

- * Hara M, Tanaka K, Hirota Y: Immune response to influenza vaccine in healthy adults and the elderly: association with nutritional status. *Vaccine* 23: 1457-1463, 2005.
- * Maeda A, Kohdera U, Fujieda M, Kase T, and Hirota Y: Evaluation of inactivated influenza vaccine in children aged 6-36 months. *International Congress Series (ICS) 1263*: 666-669, 2004. ed. Kawaoka K, Elsevier.
- * 廣田良夫 : 疫学指標とインフルエンザワクチンの有効性. *小児科臨床*. 55(12): 2231-2238, 2002.
- * 廣田良夫 : インフルエンザワクチンの副反応. *インフルエンザ*. 2(4): 57-62, 2001.
- * Ambrosio F, Fedson DS, Hirota Y, et al.: Influenza vaccination in 29 countries: an update to 1997. *Pharmacoeconomics* 16(suppl. 1): 47-54, 1999.
- * Hirota Y, Kaji M, Ide S, Kajiwara J, Kataoka K, Goto S, Oka T: Antibody efficacy as a keen index to evaluate influenza vaccine effectiveness. *Vaccine* 15(9): 962-967, 1997.
- * Hirota Y, Fedson DS, Kaji M: Japan lagging in influenza jabs. *Nature* 380(6569): 18, 1996.
- * Hirota Y, Kaji M: Scepticism about influenza vaccine efficacy in Japan. *Lancet* 344(8919): 408-409, 1994.

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 『成果概要』

研究課題：地域流行型真菌症の疫学調査、診断・治療法の開発に関する研究

課題番号：H23-新興-一般-018

予定期間：H23 年度から H25 年度まで

研究代表者：宮崎義継

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：生物活性物質部

職名：部長

年次別研究費(交付決定額)：1 年目 11,705,000 円

I. 研究の意義

- (1) 致死率が高い地域流行型真菌症として *Cryptococcus gattii* 感染症の北米西海岸からの拡大が危惧されており、通常の検査法では困難な *C. neoformans* との真菌学的鑑別が不可欠である。
- (2) ヒストプラズマ症のような他の地域流行型真菌症への対策も現状では十分ではない。
- (3) したがって、これらの真菌症について、①疫学調査、②病原性等の基礎的解析、③簡易診断法の構築、④取扱および対策指針策定、等を行う必要がある。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) クリプトコックス症の臨床疫学調査：クリプトコックス症と診断された症例において、*C. gattii* による感染症の有無を調査する。
- (2) 環境調査：*C. gattii* とヒストプラズマに関し、環境菌の調査により感染経路の推定を行い、疫学的な予防対策に応用する。
- (3) *C. gattii* の真菌学的解析：収集株全ての遺伝子型検査 (Multilocus sequence typing: MLST) を行い、わが国の *C. gattii* 分離株である CRGJP01 株の全ゲノム情報を解読する。
- (4) *C. gattii* 感染症の病態および病原性解析：in vitro および in vivo での実験的解析を行う。
- (5) 危険因子の解析：一般内科や移植患者を対象に、認知されていないリスク因子の有無を調査。
- (6) 診断法開発：血清因子による簡易診断法や遺伝・代謝情報をもとにした新たな診断技術の開発。
- (7) 対策指針の作成：「診断と治療指針」を最終年度作成予定。

III. 1 年間の研究成果

・ 研究代表者：宮崎義継

- (1) 約 100 例のクリプトコックス症の臨床疫学調査を行い、一例の *C. gattii* 株 (VGI 型) を同定。
- (2) わが国の *C. gattii* 分離株 CRGJP01 株の全ゲノム情報シーケンスを終了した。
- (3) ヒストプラズマ症の国内環境調査を行い、遺伝子検査で極めて近似した遺伝子配列を認めた。

・ 研究分担者(渋谷和俊)

- (1) 国内動物園のコアラ由来 *C. gattii* 7 株の遺伝子型が全て VGI 型であることを明らかにした。

(2) *C. gattii* 2株の毒力の相違は、肺胞上皮への高い接着能に由来する可能性が示唆された。また、*C. gattii*接種群は、生体防御反応を誘導させにくいと推測された。

・研究分担者(杉田 隆)

(1) 本邦初発例の分離菌株は、因子血清を用いた血清学的性状により、流行地域分離株と一致した。

(2) *Trichosporon* 症起因菌の全ゲノム (約 20 Mbp) を解析し、9711 の CDS 領域を得た。

・研究分担者(高橋俊二)

(1) 京都大学病院における酵母様真菌血症の菌種、背景、予後、眼内炎の発症の解析。

・研究分担者(泉川公一)

(1) 非 HIV 患者・クリプトコックス症患者約 150 例についてデータベース作成を開始した。

(2) 全国の約 1900 施設にクリプトコックス症のアンケート調査票を送付し調査依頼を開始した。

(3) 非 HIV 患者・クリプトコックス症患者約 60 例について SNPs 解析用の血液を採取した。

・研究分担者(金子幸弘)

(1) マウス樹状細胞 (JAWSII) のサイトカイン産生能は、株間で相違を認めなかった。

(2) 健常マウスと免疫抑制マウスにおける病原性は、株間で相違を認めなかった。

(3) 質量分析顕微鏡を用いた新たな病理学的手法を確立した。

IV. 平成 24～25 年度の課題

(1) クリプトコックス症および全国規模の酵母様真菌血症の臨床情報と菌株の収集。

(2) 環境調査：関連部署との調整および、住環境・自然環境からの真菌の分離・同定。

(3) *C. gattii* の真菌学的解析：JP01 株のアノテーション解析、遺伝子発現解析。

(4) *C. gattii* の病態および病原性解析：in vitro の実験系の確立および、in vivo の病原性解析。

(5) 危険因子の解析：非 HIV 患者・クリプトコックス症患者の情報解析および SNPs 解析。

(6) 診断法開発：開発した因子血清や、遺伝情報・遺伝子発現情報、in situ hybridization や質量分析 (LC-MS, GC-MS) などの新たな手法による診断法の開発も手掛ける。

(7) わが国で *C. gattii* 疑い例を診た場合の、「診断と治療指針」は最終年度に行う。

V. 行政施策への貢献の可能性

(1) 精度の高い診断法ならびに治療法の確立、診断・治療指針の作成に貢献することが期待される。

(2) 将来的にガイドライン等の収載において、当該領域における情報提供に資する事が期待できる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

・研究代表者 (宮崎義継) および分担者(金子幸弘)

特許

アスペルギルスフミガーツス感染症の検査、予防及び治療のための方法並びに組成物. 平成 23 年 8 月 21 日. 出願番号 PCT/JP2011/068454

英文原著

1. Kaneko Y, Obata Y, Nishino T, Kakeya H, Miyazaki Y, Hayasaka T, Setou M, Furusu A, Kohno S. Imaging mass spectrometry analysis reveals an altered lipid distribution pattern in