

バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法の確立，
及び細胞培養痘そうワクチンの有効性，安全性に関する研究

分担報告書

病原体の病理学的検出法の確立

所 属 国立感染症研究所・感染病理部
研究分担者 中島典子

研究要旨：バイオテロに使用された既知あるいは未知の病原体を病理組織中に検出する方法として、病原体のゲノムを検出する *in situ* hybridization 法がある。まず、私たちが開発した 3' 末に (AT)₁₀ を付加したオリゴプローブを用いる *in situ* hybridization-AT tailing (ISH-AT) 法と Z 型オリゴヌクレオチドプローブを用いた分岐 DNA-ISH 法を原理とする市販されている ViewRNA 法と RNAscope 法を比較検討した。標的核酸のコピー数が 100/細胞の場合は両者とも検出可能であり、プローブ作製までの日数、とコストパフォーマンスの面からも、ISH-AT 法を第 1 選択としてよいことがわかった。RNAscope 法については蛍光二重染色が可能であり、ISH-AT 法と同様に感染細胞を同定することもできた。これらの方法を用いて、MERS コロナウイルス、デングウイルス、SFTS ウイルス、ジカウイルスの RNA の検出プロトコルを確立した。また、DNA ウイルスであるアデノウイルスゲノムの感染細胞、感染肺組織、肝臓組織での検出系を確立した。

研究協力者

田中道子・国立感染症研究所・感染病理部

A. 研究目的

病原体の病理学的検出法の確立は、バイオテロ対策としても重要である。組織上での病原体の検出は、病原体の体内分布や病変との関連を考えるうえで必須である。組織切片上で病原体を検出する方法には病原体の蛋白抗原を検出する免疫組織化学と遺伝子核酸を検出する *in situ* hybridization (ISH) 法がある。特異性の高い検出用の抗体がすでにある場合、免疫組織化学は安定した検出系となるが、未知の病原体等の場合、あらたに特異的な抗体を作製しなければならず、時間を要し緊急対応は難しい。外来病原体遺伝子を次世代シーケンス法等により迅速に同定できるようになった現在、塩基配列情報に基づいて ISH 法用のオリゴヌクレオチドプローブを作成するのは容易である。従来、オリゴヌクレオチドプローブによる ISH 法は感度が低く実用的でなかったが、私たちの開発した ISH-AT 法や市販の Z 型オリゴヌク

レオチドプローブ(ターゲットハイブリ)と分岐 DNA プローブを用いた ISH 法は、高感度で特異性の高い方法であり、緊急時の迅速病理学的病原体検出法の有力なツールとなる。分岐 DNA-ISH 法は現在 2 社から販売されている。QuantiGene View RNA (Affymetrix 社, ベリタス社) と RNAscope(ACD 社, コスモバイオ)があり、後者の方において反応ステップが多いが、それだけ感度がいい。また後者では、HRP-DAB の発色が可能であり、より解像度の高い染色像が得られる。この方法で用いるプローブは標的遺伝子の塩基配列情報(最低 300 塩基長以上)を提供するだけで検出用の混合プローブを注文できる。

本研究の目的の 1 つは、実際の生物テロや新興・再興感染症発生に備え、最良の検出方法を確立するために、ISH-AT 法と ViewRNA 法、RNAscope 法を比較検討することである。一方、DNA の *in situ* 検出キットは市販されていない。DNA は二重鎖構造や環状構造をとるため、前処理方法が複雑である。2 つ目の研究目的は、主に RNA の検出に使用している ISH-AT 法を DNA in

situ 検出法に応用し, DNA ウイルスゲノムの ISH-AT 法を確立することである.

B. 研究方法

1. 材料

1) 病理組織標本

ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織を使用.(ヒト剖検組織): パンデミックインフルエンザ A/H1N1pdm09 剖検肺組織, 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)剖検リンパ節. アデノウイルス感染肺剖検組織, 肝臓組織,(動物実験剖検組織): 中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS CoV)感染マウス組織(国立感染症研究所・感染病理部岩田博士より分与).(感染細胞): ジカイルス感染 Vero 細胞(国立感染症研究所・高崎先生より分与) アデノウイルス感染細胞(国立感染症研究所・花岡博士より分与). B 型肝炎ウイルス(HBV)感染細胞(国立感染症研究所・渡士博士より分与).

2) プローブ

● ISH-AT 法用のプローブの作成

- ・ A/H1N1pdm 09 (AB538390.1): NP 領域に 2 ヶ所に設計した.
- ・ SFTSV: S 鎖領域 1 ヶ所, L 鎖領域 1 ヶ所に設計した.
- ・ MERS-CoV: NP 及び Env 領域に 1 種類ずつ作製した.
- ・ ZIKA ウイルス: 8MR766, Uganda strain, LC002520.1 1784-1823 部分を標的とした.
- ・ ADV: ADV cDNA Hexon (保存性の高い領域)部分にプローブを設計した.

● 分岐 DNA-ISH 法のプローブの注文 (Affymetrix 社)

- ・ A(H1N1)pdm 09 (AB538390.1) NP 部分 20 ヶ所の混合プローブと 2 ヶ所の混合プローブ
- ・ SFTSV S 鎖 領域に 20 ヶ所 (Affymetrix 社)あるいは 19 ヶ所の混合プローブ(ACD 社)
- ・ ZIKA ウイルス 66-1763 of LC002520.1 に 20 ヶ所の混合プローブ(ACD 社)を作成した.

●

3) 抗体

一次抗体は上皮細胞のマーカーである

Epithelial cell Membrane Antigen(EMA) 抗原に対する抗体あるいはインフルエンザ NP 抗原を検出するポリクローナル抗体を用いた. 二次抗体は Alexa488 抗ラビット IgG 抗体を用いた.

2. 方法

1) ISH-AT 法

(RNA)前処理法: 抗原賦活液(DAKO 社)中で 95℃, 40 分, 膜透過処理を行い, Proteinase K(PK)(DAKO 社)濃度を 0.1, 1, 5, 10, 100 µg/ml にして至適濃度を決定した. また RNAscope 法のキットの Pretreatment 2 液で煮沸 15 分, Pretreatment 3 液 40℃ 処理を 15 あるいは 30 分行った.

(DNA)前処理法: 抗原賦活液(DAKO 社)中で 95℃, 40 分, 膜透過処理を行い, PK 濃度を 0.1, 1, 5, 10, 100 µg/ml にして至適濃度を決定した. ホルマリンピグメントの除去が必要な際は脱パラ後に 3%アンモニウム/70%エタノール 5min で処理した. 内因性アルカリフォスファターゼ除去が必要な際は脱パラ後に 5% HCl/エタノール 5min 及び PK 処理後に 0.2N HCl/0.3M NaCl を常温 15min で処理した. 内因性ビオチン除去が必要な際はハイブリ後に Biotin blocking system (DAKO) を使用した. 内因性ペルオキシダーゼ除去が必要な際は 0.3-3.0%過酸化水素/メタノールを常温 30min で処理した. DNA プローブは 95 度 10 分で denature を行い, 90 度 10 分組織上でハイブリさせてから on ice で急冷し, その後 50 度で 0/N ハイブリを行った.

2) 発色法

アルカリフォスファターゼ-Fast rsd の系と, HRP-DAB の系の両方を試行した. 後者では検出感度を上げる際はチラミドで増幅する CSA 法を併用した. 蛍光検出では, 取り込ませた Biotin 分子を Alexa568-ストレプトアビジンと反応させた.

3) 分岐プローブ ISH 法

分岐 DNA-ISH 法は基本的に添付説明書に従ったが, ホルマリン再固定のステップは省略した. 発色法として, アルカリフォスファターゼ-Fast rsd の系 Fluorescent(555)の系を使用した.

4) 蛍光二重染色法

ISH-AT 法ないしは分岐プローブ ISH 法でインフルエンザウイルスゲノムを蛍光 (Alexa5 あるいは Fast red/HNPP あるいは 555) で検出可能とした後, EMA 抗体あるいはインフルエンザウイルス NP 抗原に対する抗体を反応させこれを異なる蛍光色素 (Alexa488) で検出できるようにした。

【倫理面への配慮】

検討材料は剖検組織であり, 剖検時に使用の承諾が得られている。感染動物標本に関しては動物実験委員会の承認を得て実験が行われた。

C. 研究結果

1. ISH-AT 法の前処理

前処理の条件はサンプルによって至適化しないといけないが, これまで PK はまず 0.1 $\mu\text{g/ml}$ で試行し, 検出できない場合は 1 $\mu\text{g/ml}$ にしてきた。A/H1N1pdm09 肺炎の剖検肺組織 (100 コピー/細胞) を用いて前処理で結果がどのように変わるか確認したところ, PK=1 がもっとも検出率がよく, 10, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$ にすると抗原シグナルが増えても組織の形態が損傷されて (過消化) いた。RNAscope の試薬を用いた前処理ではヒト肺組織で推奨されている strong という条件で PK1 $\mu\text{g/ml}$ と同等の結果が得られた。

2. ISH-AT 法による MERS CoV 感染

マウス組織におけるウイルス RNA の検出においては, 以下の結果が得られた。免疫組織化学で示されたウイルス抗原の局在に一致してウイルスゲノムが検出された。ウイルスコピー数が 10^5 コピーと 10^3 コピーの検体で試行したが, コピー数が多い切片でより多くの陽性シグナルが検出された。 10^3 コピーの検体でも陽性シグナルが得られた。

3. ISH-AT 法と分岐 DNA-ISH に用いるプローブの比較

双方とも標的核酸の 40 塩基に対し, 1 つあるいは 1 組のオリゴプローブがハイブリする。A/H1N1pdm09 の NP 領域 2 ヶ所に ISH-AT 用オリゴヌクレオチドプローブを作成し混合プローブとした。分岐 DNA-ISH 法用には NP 領域 20 ヶ所の混合プローブと 2 ヶ所の混合プローブを用意

した。切片中の mRNA のコピー数が 104 コピー/細胞である切片において, 2 ヶ所の混合プローブを用いた ISH-AT 法では十分量検出できたが, 2 ヶ所の混合 Z 型プローブを用いた分岐プローブ-ISH 法ではほとんど検出できなかった。よって 2 ヶ所の probe (結合部分は計 80 塩基長) での検出感度は ISH-AT 法のほうが高感度といえる。RNAscope 法では標的核酸について最低 300 塩基長を要するので ISH-AT 法と同等の感度には 5-7 組のプローブ mixture を要することが予想される。逆に ISH-AT 法ではプローブ数を増やすことで検出感度を上げられる可能性が十分考えられた。

4. SFTS 剖検リンパ節におけるウイルスゲノムの検出

ISH-AT 法と ViewRNA 法で比較すると, 迅速・簡便性, 感度はほぼ同等であった。(図 1) ISH-AT-CSA 法と RNAscope 法を比較するとコピー数の多い切片では両者の検出感度はほぼ同等であったが, コピー数が少なくなると RNAscope 法のほうがよりシグナル/ノイズ比が高く, 陽性シグナルが多かった。

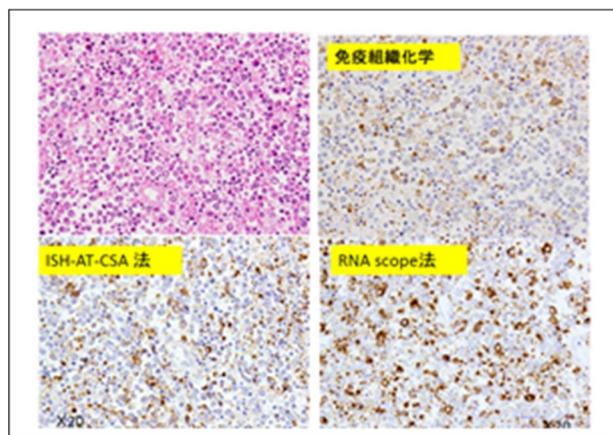


図 1 . SFTSV 感染リンパ節

HE 染色, 免疫組織化学, ISH-AT 法と市販 RNAscope 法による SFTSV-RNA の検出

5. 蛍光二重染色

組織上での co-localization (共在) を示すには蛍光二重染色を行った後, 共焦点レーザー顕微鏡で解析することが必要である。感染細胞を同定するために, in situ ハイブリダイゼーション法でウイルスゲノムを検出した後, 細胞マーカー蛋白あるいはウイルス抗原に対する抗体

を用いた蛍光免疫組織化学で蛍光二重染色を行い、感染細胞を同定する系を確立
 ISH-AT 法と RNA Scope 法は蛍光二重染色が可能であった。View RNA 法においては Fast red/HNPP が免疫組織化学の抗体との結合を阻止している可能性があった。インフルエンザウイルス感染肺組織を用いた結果を示すした(図 2)。

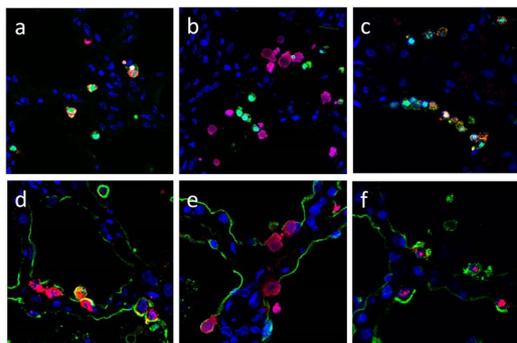


図 2 . 二重蛍光染色

インフルエンザウイルスゲノム (ISH-AT 法, ViewRNA 法, RNA scope 法) とウイルス抗原, 上皮細胞抗原の免疫組織化学

a : ISH-AT (Alexa568) x IHC (Flu) (Alexa488)

b : ViewRNA (Fast Red/HNPP) x IHC(Flu) (Alexa488)

c: RNA scope (555) x IHC (Flu)(Alexa488)

d: ISH-AT (Alexa568) x IHC (EMA)(Alexa488)

e:ViewRNA (Fast Red/HNPP) x IHC (EMA)(Alexa488)

f: RNA scope (555) x IHC (EMA)(Alexa488)

6. DNA *in situ* 検出法

新たに DNA ウイルスをターゲットとした DNA-ISH-AT 法の確立を試みた。主にアデノウイルス (ADV) 及び B 型肝炎ウイルス (HBV) の検出の確立を検討した。ADV-DNA に関しては細胞標本及び臨床検体でウイルスゲノムの検出に成功した。

D. 考察

次世代シーケンス法などにより患者あるいは死亡者から採取した検体中の病原体遺伝子が同定され、塩基配列の一部でも確定できれば、速やかに ISH 用のオリゴヌクレオチドプローブを作成し、病理切片中で病原体遺伝子検出し、その体内分布 (局

在) を明らかにできる。検出方法としてはコピー数がある程度あれば ISH-AT 法が最もはやく対処できる。死亡時にはすでに組織中に残存するウイルスコピー数が少ない場合はリアルタイム RT-PCR で切片中に残存する標的遺伝子の量を測定し、1000 コピー以上であれば ISH-AT 法で検出できる可能性があると判断している。コピー数が少ない場合、市販の分岐 DNA-ISH 法も試行してみるべきである。現在国内ではベリタス社 (QuantiGene View RNA) とコスモバイオ (RNAscope ACD 社) が販売している。難点は非常にコストがかかることである。RNAscope 法のほうが感度がよいと思われるが、リアルタイム RT-PCR により解析したコピー数とつぎ合わせてより詳細な検出感度を検討する必要がある。また非特異シグナルなども併せて検討する必要がある。View RNA 法ではホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織で使用可能な蛍光染色用キットがなく、細胞標本用のキットを用いたが、検出に至らなかったため Fast red/HNPP の蛍光色と merge することを期待して二重染色を行ったが、Fast Red/HNPP deposit はその後の抗体の結合を阻害するため 2 つの蛍光色が merge せず二重染色には適さないことが分かった。(図 2b,e)。一方 RNA scope 法では FFPE 組織でも可能な蛍光染色キットがあるためこれを使用したところ 2 つの蛍光色が merge した(図 2c,f)。

DNA ウイルスゲノムの検出において、前処理を工夫することで、アデノウイルス (ADV) ゲノムの検出法を確立できた。型特異的なプローブを現在作成中である。ADV は流行性角結膜炎、出血性膀胱炎、壊死性肺炎など様々な疾患の病因ウイルスであり、持続感染することから、近年移植後感染症の原因として注目されている。ADV の型判別が可能な ISH-AT 法を確立することで、眼科や泌尿器領域の検体を用いて型判別を可能とし、臨床現場での診断・治療に貢献できる可能性がおおいにある。

E. 結論

病原体遺伝子の *in situ* 検出法を比較検討した結果、ISH-AT 法、ViewRNA 法、RNAscope 法では、標的核酸のコピー数が 100/細胞の場合はほぼ同様の検出感度

あった。プローブ作製までの日数，とコストパフォーマンスの面からも，ISH-AT 法を第 1 選択としてよいことがわかった。非常に少ないコピー数のゲノムを検出する際は，ISH-AT 法の前処理やプローブ数を増やすなどの工夫をしながら，プローブ数の多い，分岐 DNA-ISH 法も試行する予定である。バイオテロ対策の面からは，大量の検体を処理しなくてはいけない場合も考えられ，5 日でプローブ作製可能であることに加え，コストパフォーマンスの面で ISH-AT 法が優れている(表)。非常に少ないコピー数のゲノムを検出する際に限って，プローブ数の多い，分岐 DNA-ISH 法である RNA scope 法の DAB 染色を試行する予定である。ベリタス社 (QuantiGene View RNA) よりもコスモバイオ (RNAscope ACD 社) が販売している。RNAscope 法のほうが感度がよく，FFPE 標本で蛍光二重染色が可能であることがわかった。また RNAscope 法では DAB 発色も可能であり，染色標本の永久保存ができる点で使いやすい。

DNA ウイルスゲノムの検出系については染色体に組み込まれたプロウイルスや核内染色体外の環状二重鎖 DNA ウイルスゲノムの検出法へ発展させることであらゆる病原体ゲノムの in situ 検出が可能である系を確立することが今後の目標である。

表．検出法の比較

	<i>in situ</i> hybridization AT-tailing	View RNA	RNAscope
合成プローブ納期	5-7日(自分で設計)	2~3週間	3~4週間
プローブの塩基長	40塩基	40塩基(公開)	40塩基(非公開)
プローブのデザイン	 5'側にAT繰り返し配列		
混合プローブの数	2個	20個	20個
必要な塩基配列の長さ	40塩基 (GC%~60%)	100-1000塩基	100-1000塩基
プローブの価格	55000円(∞)	62000円(44回分)	200000円(20回分) 113000円(20回分)
検出	✓ALP-FAST RED(赤) ✓HRP-DAB(茶) ✓蛍光	✓ALP-FAST RED(赤)	✓ALP-FAST RED(赤) ✓HRP-DAB(茶) ✓蛍光
その他	試薬1500円/1反応	試薬5000円/1反応	試薬10000円/1反応

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Arafa AS, Yamada S, Imai M, Watanabe T, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Sakai-Tagawa Y, Ito M, Imamura

T, Nakajima N, Takahashi K, Zhao D, Oishi K, Yasuhara A, Macken CA, Zhong G, Hanson AP, Fan S, Ping J, Hatta M, Lopes TJ, Suzuki Y, El-Husseiny M, Selim A, Hagag N, Soliman M, Neumann G, Hasegawa H, Kawaoka Y. Risk assessment of recent Egyptian H5N1 influenza viruses. *Sci Rep.* 2016 Dec 6;6:38388

- 2) Iwatsuki-Horimoto K, Nakajima N, Shibata M, Takahashi K, Sato Y, Kiso M, Yamayoshi S, Ito M, Enya S, Otake M, Kangawa A, da Silva Lopes TJ, Ito H, Hasegawa H, Kawaoka Y. The Microminipig as an Animal Model for Influenza A Virus Infection. *J Virol.* 2017 Jan 3;91(2).
- 3) Park ES, Suzuki M, Kimura M, Mizutani H, Saito R, Kubota N, Hasuike Y, Okajima J, Kasai H, Sato Y, Nakajima N, Maruyama K, Imaoka K, Morikawa S. Epidemiological and pathological study of feline morbillivirus infection in domestic cats in Japan. *BMC Vet Res.* 2016 Oct 11;12(1):228
- 4) Kotani O, Suzuki T, Yokoyama M, Iwata-Yoshikawa N, Nakajima N, Sato H, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N. Intracerebral inoculation of mouse-passaged Saffold virus type 3 affects cerebellar development in neonatal mice. *J Virol.* 2016 Aug 31. pii: JVI.00864-16. [Epub ahead of print]
- 5) Sakai K, Ami Y, Nakajima N, Nakajima K, Kitazawa M, Anraku M, Takayama I, Sangsriratanakul N, Komura M, Sato Y, Asanuma H, Takashita E, Komase K, Takehara K, Tashiro M, Hasegawa H, Odagiri T, Takeda M. TMPRSS2 Independency for Haemagglutinin Cleavage In Vivo Differentiates Influenza B Virus from Influenza A Virus. *Sci Rep.* 2016 Jul 8;6:29430.
- 6) Hayashi K, Yoshida H, Sato Y, Tobiume M, Suzuki Y, Ariyoshi K, Hasegawa H, Nakajima N. Histopathologic findings of lung with A/H1N1pdm09 infection-associated ARDS in the

- post-pandemic season. *Jpn J Infect Dis.* 2016 Jun 30.
- 7) Hai le T, Thach HN, Tuan TA, Nam DH, Dien TM, Sato Y, Kumasaka T, Suzuki T, Hanaoka N, Fujimoto T, Katano H, Hasegawa H, Kawachi S, Nakajima N. Adenovirus Type 7 Pneumonia in Children Who Died from Measles-Associated Pneumonia, Hanoi, Vietnam, 2014. *Emerg Infect Dis.* 2016 Apr;22(4):687-90.
 - 8) Kotani O, Naeem A, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Nakajima N, Hosomi T, Tsukagoshi H, Kozawa K, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N. Neuropathogenicity of Two Saffold Virus Type 3 Isolates in Mouse Models. *PLoS One.* 2016 Feb 1;11(2):e0148184
 - 9) Sakai K, Sekizuka T, Ami Y, Nakajima N, Kitazawa M, Sato Y, Nakajima K, Anraku M, Kubota T, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Kuroda M, Takeda M. A mutant H3N2 influenza virus uses an alternative activation mechanism in Tmprss2 knockout mice by loss of an oligosaccharide in the hemagglutinin stalk region. *J Virol.* ;89(9):5154-8, 2015.
 - 10) Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Sato Y, Nakajima N, Koike S, Iwasaki T, Sata T, Yamashita T, Minagawa H, Taguchi F, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N Establishment of a panel of in-house polyclonal antibodies for the diagnosis of enterovirus infections. *Neuropathology* 35(2):107-21, 2015
 - 11) Moritake H, Kamimura S, Nunoi H, Nakayama H, Suminoe A, Inada H, Inagaki J, Yanai F, Okamoto Y, Shinkoda Y, Shimomura M, Itonaga N, Hotta N, Hidaka Y, Ohara O, Yanagimachi M, Nakajima N, Okamura J, Kawano Y. Clinical characteristics and genetic analysis of childhood acute lymphoblastic leukemia with hemophagocytic lymphohistiocytosis: a Japanese retrospective study by the Kyushu-Yamaguchi Children's Cancer Study Group. *Int J Hematol.* 100(1):70-8, 2014
 - 12) Watanabe T, Zhong G, Russell CA, Nakajima N, Hatta M, Hanson A, McBride R, Burke DF, Takahashi K, Fukuyama S, Tomita Y, Maher EA, Watanabe S, Imai M, Neumann G, Hasegawa H, Paulson JC, Smith DJ, Kawaoka Y. Circulating avian influenza viruses closely related to the 1918 virus have pandemic potential. *Cell Host Microbe.* 15(6):692-705, 2014
 - 13) Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Abe M, Nakajima N, Sekizuka T, Shirato K, Suzaki Y, Aina A, Nakatsu Y, Kanou K, Nakamura K, Suzuki T, Komase K, Nobusawa E, Maenaka K, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. The host protease Tmprss2 plays a major role in in vivo replication of emerging H7N9 and seasonal influenza viruses. *J Virol.* 88(10):5608-16, 2014
 - 14) Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M, Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M. The first identification and retrospective study of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Japan. *J Infect Dis.* 209(6):816-27, 2014
 - 15) 中島典子：季節性および鳥インフルエンザウイルス感染症の病理 病理と臨床 2015,33 : 1146-1153.

- 16) 中島典子 H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスに感染したヒトの臨床、病理およびウイルス学的知見 化学療法の領域 30:40-48, 2014
- 17) 中島典子, 佐藤由子, 片野晴隆, 長谷川秀樹 ウイルス性肺炎 病理と臨床 32: 1146-1153, 2014
- 18) 中島典子 オリゴヌクレオチドプローブを用いた新しい in situ ハイブリダイゼーション法 呼吸 33: 152-159, 2014
- 19) 高橋健太, 鈴木忠樹, 中島典子, 飛梅実, 佐藤由子, 片野晴隆, 長谷川秀樹. 脳炎・脳症の病理. Neuroinfection 神経感染症 19:32-39, 2014
- 20) 中島典子. インフルエンザ感染症の病理 小児内科 2014, 45:1935-1941
2. 学会発表
- 1) Noriko Nakajima, Yuko Sato, Osamu Kotani, Tadaki Suzuki, Toshiaki Kamei, Toru Takahashi, Tetsutaro Sata, Hideki Hasegawa. Modified In situ Hybridization AT-tailing to Visualize the Gene Expression in Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded Tissues. 2015 USCAP Annual Meeting (アメリカ)2015
- 2) Kentaro Hayashi, Noriko Nakajima, Yuko Sato, Harutaka Katano, Noriyo Nagata, Tadaki Suzuki, Minoru Tobiume, Hiroshi Yoshida, Yoshio Suzuki, Toshio Kumasaka, Tetsutaro Sata, Kota Ariyoshi, Hideki Hasegawa Correlations among Histopathological Characteristics, Viral distribution, and Cytokine/Chemokine Expression level within an Individual with A/H1N1pdm09 induced ARDS. 2015USCAP Annual Meeting (アメリカ)2015
- 3) Noriko Nakajima, Hoang Ngoc Thach, Ta Anh Tuan, Dao Huu Nam, Toshio Kumasaka, Yuko Sato, Shoji Kawachi, Hideki Hasegawa, Tran Minh Dien, Le Thanh Hai Pathological and molecular biological study of measles-associated pneumonia during measles outbreak in Vietnam in 2014. Pediatric Scientific Conference 2015 (ベトナム)2015
- 4) Noriko Nakajima, Hoang Ngoc Thach, Ta Anh Tuan, Dao Huu Nam, Toshio Kumasaka, Yuko Sato, Shoji Kawachi, Hideki Hasegawa, Tran Minh Dien, Le Thanh Hai Post-mortem detection of adenovirus type 7 pneumonia in lungs of measles-associated pneumonia fatalities in a pediatric hospital, Hanoi, Vietnam. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, (アメリカ)2016
- 5) Kouji Sakai, Yasushi Ami, Maino Tahara, Noriko Nakajima, Makoto Kuroda, Hideki Hasegawa, Yoshihiro Kawaoka, Masato Tashiro, Makoto Takeda. The host protease TMPRSS2 play a major role for influenza virus replication in vivo. International Union of Microbiological Societies(IUMS 2014)-XIVth International congress of Bacteriology and Applied Microbiology, XIVth International Congress of Mycology, XVIth International Congress of Virology (カナダ) 2014
- 6) Osamu Kotani, Naeem Asif, Tadaki Suzuki, Naoko Iwata, Noriko Nakajima, Harutaka Katano, Takushi Hosomi, Hiroyuki Tsukagoshi, Hideki Hasegawa, Fumihiro Taguchi, Hiroyuki Shimizu, Noriyo Nagata Comparative analyses of the pathogenicity of two isolates of Saffold virus in neonatal mouse. International Picornavirus meeting (Europic2014) (ベルギー) 2014
- 7) Noriko Nakajima, Yuko Sato, Hideki Hasegawa, Hoang Ngoc Thach, Nguyen Trung Thuy, Tran Minh Dien, Nguyen Thanh Liem, Shoji Kawachi, Kazuo Suzuki Pathological study of Severe ARDS cases in NHP-Hanoi International symposium and Teikyo-Harvard program (東京) 2014
- 8) Noriko Nakajima, Akihiko Hamamatsu, Kino Hayashi, Yuko Sato, Toshio Kumasaka, Minoru Tobiume, Hideki Hasegawa Severe lung injury associated with A/H1N1 pdm09

- infection in the post-pandemic season
第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 札幌 (2016, 10)
- 9) 鈴木忠樹, 片野晴隆, 高橋健太, 佐藤由子, 中島典子, 長谷川秀樹 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) の病理解析. 第 105 回日本病理学会総会, 仙台 (2016.5)
- 10) 酒井宏治, 中島典子, 駒瀬勝啓, 竹田誠. 呼吸病ウイルスの病原性発現に関わる宿主プロテアーゼ TMPRSS2 の意義 第 57 回日本臨床ウイルス学会, 福島 (2016,5)
- 11) 中島典子, 佐藤由子, 熊坂利夫, 藤本嗣人, 花岡希, 片野晴隆, 鈴木忠樹, 長谷川秀樹 麻疹に併発した肺炎で死亡した 19 例の肺組織の分子病理学的解析. 第 104 回日本病理学会総会, 名古屋 (2015.5)
- 12) 岩附研子, 中島典子, 柴田昌利, 高橋健太, 佐藤由子, 木曾真紀, 山吉誠也, 伊藤睦美, 塩谷聡子, 大竹正剛, 寒川彰久, 伊東祐孝, 長谷川秀樹, 河岡義裕 マイクロミニピッグのインフルエンザ感染モデル動物としての有用性. 第 158 回日本獣医学会学術集会 青森 (2015.9)
- 13) Noriko Nakajima, Thach Hoang Ngoc, Yuko Sato, Nozomu Hanaoka, Tsuguto Fujimoto, Tadaki Suzuki, Harutaka Katano, Hai Le Thanh, Hideki Hasegawa, Humann Adenovirus Serotype 7-associated pneumonia in fatal cases of measles 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡 (2015, 6)
- 14) Makoto Takeda, Kouji Sakai, Yasushi Ami, Minori Kitazawa, Kastuhiro Nakajima, Sangsriatanakul Natthan, Masaki Anraku, Noriko Nakajima, Katsuhiro Komase, Kazuaki Takehara, Hideki Hasegawa, Masato Tashiro A natural host model revealed the essential role of the host protease TMPRSS2 for respiratory paramyxovirus pathogenicity. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡 (2015, 11)
- 15) Kouji Sakai, Tsuyoshi Sekizawa, Yasushi Ami, Minori Kitazawa, Kastuhiro Nakajima, Noriko Nakajima, Masaki Anraku, Katsuhiro Komase, Kazuaki Takehara, Hideki Hasegawa, Masato Tashiro, Makoto Kuroda, Makoto Takeda. The stalk oligosaccharide of influenza A virus hemagglutinin protein modulates protease specificity for virus activation and pathogenicity. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡 (2015, 11)
- 16) 酒井宏治, 網康至, 田原舞乃, 久保田耐, 安楽正輝, 中島典子, 高下恵美, 関塚剛史, 駒瀬勝啓, 信澤枝里, 小田切孝人, 前仲勝実, 黒田誠, 長谷川秀樹 河岡義裕, 田代真人, 竹田誠. II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 は, HA 開裂部位に mono-basic なアミノ酸配列をもつ A 型インフルエンザウイルスに対する肺内必須活性化酵素である 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 (横浜) 2014 年 11 月
- 17) 渡辺 登喜子 Gongxun Zhong Colin Russell 中島典子 八田正人 Anthony Handson 高橋健太 渡辺真治 今井正樹 長谷川秀樹 河岡義裕 スペイン風邪ウイルスに類似の鳥インフルエンザウイルスのパンデミックポテンシャル 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 (横浜) 2014 年 11 月
- 18) 朴ウンシル 佐藤由子 中島典子 古屋哲也 水谷哲也 今岡浩一 森川茂. 日本国内ネコにおける新規モルビリウイルス (feline morbillivirus, FMV) の疫学調査 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 (横浜) 2014 年 11 月
- 19) 福本瞳 高橋健太 佐藤由子 峰宗太郎 保科しほ 中島典子 佐伯秀久 長谷川秀樹 黒田誠 片野晴隆 網羅的ウイルス検出法 multivirus real-time PCR の改良と臨床検体への応用 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 (横浜) 2014 年 11 月
- 20) 竹田誠 中島典子 河岡義裕 TMPRSS2 は, インフルエンザの病原性発現に必須の宿主プロテアーゼである 第 88 回日本感染症学会学術講演会 (福岡) 2014
- 21) 竹田誠, 中島典子, 水田克巳 宿主プロテアーゼ TMPRSS2 は, 急性呼吸器感染症ウイルスの生体内活性化酵素である 第 55 回日本臨床ウイルス学会 (札幌) 2014

- 22)仲里巖,喜舎場由香,新垣和也,加藤誠也,中島典子,片野晴隆,長谷川秀樹. 新生児心筋炎の3剖検例 第103回日本病理学会総会(広島)2014
- 23)秋田英貴,鄭子文,中島典子,星本和種,笹島ゆう子,瀧本雅文.風疹感染胎盤の一例 第103回日本病理学会総会(広島)2014
- 24)中島典子,渡辺登喜子,佐藤由子,高橋健太,鈴木忠樹,田代真人,河岡義裕,長谷川秀樹. ヒトから分離された H7N9 亜型鳥インフルエンザウイルス感染動物モデルの病理学的解析.第103回日本病理学会総会(広島)2014

- 25)長谷川秀樹,亀井敏昭,高橋徹,鈴木忠樹,片野晴隆,中島典子,森川茂,西條政幸,倉田毅 日本国内で発生した重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の病理解析. 第103回日本病理学会総会(広島)2014

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし