

1 3. 血液・安全性研究部

部長 濱口 功

概 要

血液・安全性研究部はワクチン、血液製剤、及び体外診断薬の品質に関する国家検定および標準品の整備、またこれらの業務に関連した科学的調査・研究を行っている。当部は4室で構成されており、第1室(血液製剤室)は血液製剤に関わる業務、第2室(輸血病態室)は輸血関連病態に関わる業務、第3室(物理化学室)は物理化学に関わる業務、第4室(ワクチン・血液室)は安全性(毒性試験など)に関わる業務を行っている。

平成21年度は当部において試練の年であった。新型インフルエンザワクチンの出検数の急増およびインフルエンザ関連ワクチンの出検数の増加により、一部検定業務が逼迫したものの、行動計画に基づき安全なワクチン供給のためのロットリリースにつとめた。部員が一丸となり、底力を発揮することができた。一方で新しいタイプのワクチンが海外より導入された。これは新規のアジュバントを含有することにより、少量のワクチン抗原で高い免疫能誘導を期待できるものである。今後、このようなアジュバントの導入が急速に進むことが想定され、安全性を含めた品質管理における更なる対応が求められるであろう。当部としては、既存の試験法での対応を検討するとともに、新しい技術を導入した安全性試験の開発・改良に関する研究を推進したい。また、国際的視野に立ったワクチンのロットリリースのあり方についても、真剣に検討すべき時期に来ている。日本の優れた点を保ちつつ、国際化に対応したシステムの構築に努める。

血液製剤についても、ワクチンと同じく、品質管理の国際化は必須となりつつある。ロットリリースの今後のあり方の検討、血液を介する病原体検出のために必要な標準品の整備は喫緊の課題である。現在E型肝炎ウイルスRNAの国際標準品をWHOと協力して作製している。この他に、品質管理試験法の改良や試験に用いる標準品、参照品の整備も重要で、積極的に取り組むとともに、試験の精度および信頼性の向上に努めていきたい。一方で、当部の新しい試みとして、血液製剤に関連する病原体検

出法の新規開発、血液製剤の副反応に関するモニタリングの確立は着実に成果を挙げつつあり、今後更なる発展を目指す。

当部の研究は、厚生労働省科学研究費および文部科学省科学研究費の援助をうけて活発に行われている。現在建設計画中の10号棟(仮称)に部内の研究機能を集約し、ワクチンおよび血液に関する研究の活性化を図っていきたい。

人事の面では、平成21年4月1日より、山口一成前部長の後任として、浜口功が部長の任にあたっている。平成21年8月1日に倉光球が任期付研究員として第4室に着任した。平成21年10月に第4室の非常勤職員、鶴原百香が退職し、11月に第4室の非常勤職員、荒木久美子が採用された。

業 績

調査・研究

I. 血液製剤の安全性確保に関する研究

1. 人アンチトロンビンⅢ国内標準品(第一世代)の作製

今まで人アンチトロンビンⅢの力価の国内標準品が整備されていなかったため、このたびWHO国際標準品に基づいて力価を定めた国内標準品を新規に作製することとした。感染研と国内で販売しているアンチトロンビンⅢ製剤を製造する製造業者3社とで共同研究を実施して候補品の測定を行い、感染研が測定結果の解析を行った。その結果、分注量2mLの凍結乾燥品で表示力価49IU/vialの国内標準品(第一世代)を制定した。[水澤左衛子、岡田義昭、落合雅樹(品質保証室)、山口一成、浜口功]

2. 血液製剤の核酸増幅試験の精度管理に関する研究

(1) 血液製剤の安全性向上のために実施する B 型肝炎ウイルス核酸増幅試験の遺伝子型特異性に関する研究

血漿分画製剤製造所は原料血漿プールにおいて、また、衛生検査所は遡及調査のガイドラインに基づく輸血後検査として B 型肝炎ウイルスの核酸増幅検査 (HBV-NAT) を実施している。現に実施している HBV-NAT によって日本で検出される遺伝子型の HBV を検出できているかを確認することを目的として、遺伝子型 A~D からなるパネルを用いたコントロールサーベイを実施した。対象施設である全 12 機関 16 施設が参加し、21 組の測定が実施され、全施設が結果を提出した。すべての測定において、遺伝子型に係わらず HBV-DNA を検出あるいは定量できることを確認した。

[水澤左衛子、岡田義昭、種市麻衣子、野島清子、斎賀菊江、浜口功]

(2) 核酸増幅試験のための HBV 遺伝子型国際参照パネル作製のための WHO 国際共同研究への参加

核酸増幅試験 (NAT) のための HBV 遺伝子型国際参照パネルを新規に作製するための国際共同研究に参加した。12 カ国から 17 研究機関が参加し、第二次 HBV-DNA 国際標準品と遺伝子型 A~G の 15 検体とからなる国際参照パネル候補品の力価を測定した。提出された 19 組のデータを Paul-Ehrlich-Institut が解析し、どの遺伝子型の検体もほとんどの参加者によって大差なく測定できることが示された。2009 年 10 月の WHO の ECBS 会議において NAT のための HBV 遺伝子型国際参照パネル (第一次) として承認された。パネルの個々の検体の力価は表示しないことになった。

[水澤左衛子]

3. E型肝炎ウイルスRNAの国際標準品及び国内標準品作製のための共同研究

従来、E型肝炎は発展途上国における糞便を介した感染症と考えられていたが、近年になって日本を含む先進国においてもE型肝炎ウイルス (HEV) が常在することが明らかになり、輸血による感染が問題になっている。ドイツのポール エーリッヒ研究所と日本の感染研において夫々国際標準品と国内標準品の作製 が進められていたが、今般、WHO共同研究によって国際標準品候補品と日本の国内標準品候補品の力価を一緒に決定することになった。本共同研究により国際標準品の制定と同時期に高品質な国内標準品を制定することが可能になった。

[水澤左衛子、岡田義昭、百瀬暖佳、浜口功]

4. ウイルス等感染症の体外診断薬の評価のための標準品等の整備に関する研究

WHOのECBS会議とNIBSC主催の第二回SoGAT-CV会議に参加し、体外診断薬のための標準品等の整備に関する情報を収集した。その結果、2009年に開催された第二回WHO コラボレーションセンター会議において「体外診断薬のための標準品整備5カ年計画2007」が改訂され、それに基づいてECBS会議においてHIV-2-RNA国際標準品とHBV遺伝子型参照パネルが制定され、HEV-RNA国際標準品とHIV抗体国際参照パネルの新規作製が承認されたことが明らかになった。国立感染症研究所では体外診断薬委員会を通じてHEV-RNA国際標準品とHIV抗体国際参照パネル作製のためのWHO国際共同研究に参加することになった。

[水澤左衛子、水落利明、浜口功、小林和夫(免疫部)]

5. 国内献血血液を用いた血清／血漿パネル (国立感染症研究所国内標準パネル) の整備

これまでに、HIVAg, HBsAg, HCVAb, HCV RNA, HBV DNA, HAVAb の国内標準パネル整備が完了した。国立感染症研究所国内標準パネル運営委員会規程 (案) が作成され、今後のパネル管理及び譲渡申請に関する審査等の事項を適正かつ円滑に実施するために標準パネル運営委員会が設置された。また、臨床検査薬協会を通じてキットメーカーへの説明会を行った。現在、今後のパネル譲渡に関する実務について、本省審査管理課との調整をはかっている。

[水落利明、鈴木哲朗 (ウイルス第2部)、巽正志 (エイズ研究センター)、大西和夫 (免疫部)]

6. 体外診断用医薬品の性能向上に向けた研究

HBs 抗原検出キット、およびHCV core 抗原検出キットについて、HBV およびHCV の genotype が、それぞれのキットの検出感度に及ぼす影響を検討した結果。ある特定の genotype を持つウイルスによってコードされた各抗原に対する感度に相違があることが明らかになり、その原因がアミノ酸1残基の違いによるものであることを明らかにした。メーカーと協議の上、これらキットの改良を促し、genotype による感度の相違が解消された。

[水落利明、水澤左衛子、野島清子、岡田義昭、鈴木哲朗 (ウイルス第2部)]

7. 血液を介するウイルス検出システムの開発

本年は HIV、HCV、HBV に PvB19 と WNV を加えた 5 種のウイルスに対応した DNA-Chip を作製した。このチップを使用し、血漿中から調整したウイルス核酸を用いて検出感度の評価を行った結果、1PCR 反応液中に 2-10IU (又は Copies) という高感度を得ることができた。また各ウ

ウイルス核酸の増幅産物を混ぜた合わせた状態で検出を行っても、交差することなく目的のウイルス核酸のみを検出することができ、1枚のDNA-chip上で複数の病原体を同時に検出することが可能であることを示した。更に、ウイルス変異株の配列を基に作製した合成オリゴを用いて検証した結果、Degenerate プライマーと検出用プローブを組み合わせることで、ほぼ全ての変異株に対応することが可能であることも示唆された。そこで本研究の成果を基に平成21年末に特許出願の申請を行った。特願2009-283366

[滝澤和也、水上拓郎、倉光球、水谷哲也（ウイルス1部）、遠藤大二（北海道大学）、古田里佳（日赤）、中島龍生（日本パーカーライジング）、浜口功]

8. 非対称 RT-PCR 核酸クロマト法を用いた新型インフルエンザ A/H1N1pdm 簡便検出法の開発

医療機関や検査センター等で新型インフルエンザを診断することは、投薬選択、治療方針を決定する上で重要である。我々は、汎用 PCR マシンを用いて新型インフルエンザを3時間15分で検出できる方法として、非対称 RT-PCR 核酸クロマト法により新型インフルエンザを特異的に高感度に検出する方法を開発した。本検出法はHA遺伝子をターゲットとしており、Taqman 法とほぼ同程度の感度と特異性を持つ。非対称 RT-PCR 反応産物を核酸クロマトデバイスに滴下して目視で判定する方法で、1患者1反応で判定可能である。この方法を用いた検査キットが開発され、2009年11月に研究用試薬として発売された。

[野島清子、影山努（インフルエンザウイルス研究センター）、中内美名（インフルエンザウイルス研究センター）、田代真人（インフルエンザウイルス研究センター）和山行正（北里大塚バイオメディカルアッセイ研究所）、浜口功]

9. 病原体不活化に関する研究

輸血を介する感染事故を予防するために、病原体の不活化は重要なことだが、赤血球製剤における病原体の不活化法は実用化されていない。我々は、加圧処理による不活化の研究から、酸性条件で加圧を行なうと不活化効果が増強することを見いだした。今年度は、赤血球が耐え得る酸性条件と病原体の不活化について検討した。溶血が生じない酸性条件ではウイルスの不活化は困難であったが、加温することで仮性狂犬病ウイルスに有効な不活化効果が認められた。しかし、HCV のモデルウイルスであるウシ下痢症ウイルスには効果がなかった。ウイル

スによって感受性が異なることがわかったが、予想した以上に不活化の条件に赤血球が耐え得ることも判明した。

[岡田義昭、野島清子、浜口功]

10. 日本における血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立に関する研究

2007年11月に輸血製剤による副作用全数把握に向けてのサーベイランスシステムを構築し、オンライン登録による副作用収集の体制づくりの検討を行っている。7つの大学病院から開始したパイロットスタディは、2009年度に300床以下の6病院が加わり、順調に進行している。2009年に収集された結果を「輸血製剤副反応動向-2009-」として報告した。今後全国網羅のシステムの構築を目指すための基盤作りとして、新たに全国の大学病院の34施設が2010年度よりパイロットスタディに参加することとなった。

[小高千加子、岡田義昭、種市麻衣子、大隈和、浜口功]

11. 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

ヒトT細胞白血病ウイルス1型（HTLV-1）関連疾患である成人T細胞白血病（ATL）、及びHTLV-1関連脊髄症（HAM）の現在の実態把握を全国調査により実施した。ATLの調査では、高齢者を中心に今後も持続的にATLは発症し、患者はますます高齢化すると推測された。HAMの調査（中間報告）では、新規に発症し診断される患者は増加傾向にあり、HAM患者は九州以外の大都市でも多くみられることが分かった。また、各施設において独自に行われているウイルス量の測定について、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の確立に向けた検討を行った。

[大隈和、山口一成、山田恭暉（長崎大）、岡山昭彦（宮崎大）、佐竹正博（日本赤十字社）、出雲周二（鹿児島大）、望月學（東京医科歯科大）、渡邊俊樹（東京大）、徳留信寛（国立健康・栄養研究所）]

II. 輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

1. プリオンの研究

TritonX-100 や SDS は代表的な界面活性剤であるが、これらの処理がウイルス除去膜による異常プリオン除去に与える影響について解析した。それぞれの界面活性剤を用いて、室温で異常プリオンを含む培養液を1時間反

応させた後、ウイルス除去膜で濾過し、ろ液を希釈して細胞に感染させ、濾過前後の感染価を求めた。Triton 処理した異常プリオンはウイルス除去膜によって効率良く除去できたが、SDS では全く除去できなかった。界面活性剤の種類によって異常プリオンの性状が変化することが示唆された。

[岡田義昭、水澤左衛子、野島清子、浜口功]

2. B 細胞における HCV 持続感染の機構解析

昨年度の研究で HCV 慢性感染患者においては末梢血 B 細胞に HCV が感染していること、また HCV 蛋白の発現が見られることから、HCV が B 細胞内で増殖していることが示された。今年度の研究においては、HCV に感染した B 細胞ではウイルス排除・防御に関わる自然免疫系が機能していないことを明らかにした。このことが B 細胞での HCV の持続感染を可能にし、B 細胞機能異常と関連していることが示唆された。また、C 型肝炎陽性肝移植患者では肝炎ウイルスは高率に移植肝に再感染し、肝硬変などを起こすことから、HCV が潜伏感染している B 細胞の除去が再感染防止に重要であると考えられる。

[伊藤昌彦、村上恭子 (ウイルス第 2 部)、鈴木哲朗 (ウイルス第 2 部)、益見厚子、持田恵子 (細菌第 2 部)、鈴木美穂 (埼玉医大)、池淵研二 (埼玉医大)、溝呂木ふみ (慈恵医大第 3 病院)、水落利明]

3. C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染患者由来 B 細胞の解析

我々は寫血療法を行なっている HCV 感染者の血液から B 細胞を分離し、遺伝子等の発現について正常者の細胞と比較した。インターフェロン制御関係の遺伝子について検討すると、HCV に対する細胞質のセンサーである RIG-I の上昇が見られた。しかしながら、HCV 感染者 B 細胞においては RIG-I を介した下流の IFN 産生までの経路は抑制されていた。また IRF ファミリーのうち IRF-2 が遺伝子、タンパクレベルにおいて 感染者由来血液 B 細胞で上昇していることを見いだした。さらに RIG-I promoter 上に IRF の結合部位 ISRE like-site が存在し、IFN 刺激によって RIG-I promoter が活性化されるが、Huh7 培養細胞を用いた系で IRF-2 遺伝子導入によってもプロモーター活性は上昇した。このことから IRF-2 は RIG-I を転写レベルで正に制御していることが明らかとなった。

[益見厚子]

4. 新規抗 HIV-1 バイオ治療薬候補/組換え VSV の開発とヒト化マウスを用いた評価

ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) 感染症/エイズに

対する現在の多剤併用療法は効果的ではあるが、副作用や薬剤耐性ウイルスの出現等の問題点があるため、必要に応じてそれを補完或いは代替する新規薬剤の開発が必要である。そのため我々は、これまでの薬剤にない作用機序を持った新規薬剤候補である組換え水疱性口内炎ウイルス (VSV) を種々作製し、その治療効果の評価を、*in vitro* のみならず、HIV-1 が感染したヒト化マウスを用いた *in vivo* において行っている。

[大隈 和、鶴野親是、深川耕次、渡辺 哲 (エイズ研究センター)、山本直樹 (エイズ研究センター)、田中勇悦 (琉球大学)]

5. 新規レポーターアッセイ系を用いた HIV-1 スプライシング機構の解析

HIV-1 は個々のウイルス蛋白を発現させるために複雑な選択的スプライシングを行っているが、このスプライシング機構に宿主因子が重要な役割を果たしている。我々は、HIV-1 スプライシング機構への関与が想定される HIV-1 pre-mRNA 結合因子を既に同定しており、この因子の機能/作用を、mRNA 発現の変化をレポーター蛋白発現の変化に置換することでスプライシング活性への作用を生細胞で検出できる新規アッセイ系を構築して解析している。

[大隈和、鶴野親是、倉光球、大江賢治 (藤田保健衛生大)]

6. ATL モデルマウスにおける腫瘍幹細胞の同定

近年、癌細胞への化学治療に対して耐性を示す腫瘍幹細胞 (CSC) の存在が注目されている。我々は昨年、ATL 様病態のモデルマウス (HTLV-1 Tax トランスジェニックマウス) の腫瘍細胞中に高い腫瘍再構築能を持った腫瘍幹細胞が存在していることを解明した。そこで本年はマイクロアレイ解析を用いて腫瘍幹細胞における発現遺伝子のプロファイリングを行った。腫瘍幹細胞においては造血幹細胞や腫瘍関連の遺伝子として報告されているものの多くが高発現していたが、特に TEK (Tie2), CD93 (AA4.1), Cxcl9, CD44, c-Kit (CD117) の発現が顕著に亢進していた。現在、さらに詳細な機能的遺伝子の解析を進めると共に、これらの機能分子が腫瘍幹細胞の維持機構、あるいは腫瘍細胞の増殖に果たす役割について研究を進めている。

[滝澤和也、水上拓郎、大隈和、長谷川秀樹、浜口功、山口一成]

Ⅲ. 品質管理に関する業務、研究

1. 新規ワクチン承認前試験等における物理化学試験

(1) はしか風しん混合生ワクチン

上記につき、含湿度試験を行った。測定値は、基準を満たしたが、くりかえし測定により、2ヶ月ほどの保存中に含湿度値が上昇する傾向が認められた。申請書類中にも、経時的に数値が上昇することが記載されており、申請書中に記載された力価の低下と考え合わせると、安定性に問題がある可能性が考えられた。

[田中明子、矢野茂生]

(2) 乳濁（細胞培養）A型インフルエンザHAワクチン

新型インフルエンザ流行に伴う、上記ワクチンの輸入に際して、国家検定の試験項目を検討するため、参考試験を実施した。たんぱく窒素含量試験、及びアジュバント成分である、スクワレン及び、 α -トコフェロール含量試験を行った。たんぱく窒素含量試験は、たんぱく質含量がごく微量であるため、試験実施が困難と考えられたが、残り2種類は、国家検定試験として実施可能であると判断し、計95検体ほど試験を実施した。

[田中明子、笠井道之、矢野茂生]

2. 平成21年医薬品製造業一斉監視指導抜き取り試験検査品（抗生物質）の赤外吸収（IR）スペクトル法による確認試験

KBrディスク法を実施し、標準品と検体のスペクトルの比較から同定確認を試みた。

(1) 日本薬局法注射用セフトキシム（静注用、10社、14ロット）の結果

検体は1400-1500 cm^{-1} および880 cm^{-1} の領域（炭酸ナトリウムに由来する）を除いていずれも標準品と同じ波数に吸収を認めた。これらの検体はいずれも標準品と同等の成分を含有すると推定された。 [笠井道之]

(2) 日本薬局法セフトキシムプロキセチル錠（錠剤：4社、4ロット、細粒：2社、2ロット）の結果

いずれの検体も一部の領域で標準品と同じ波数に吸収を認めた。しかし、その他の領域では異なる波数に吸収を認めた。本試験法では標準品と同一製剤であるかを判定できなかった。 [笠井道之]

3. 平成21年度抗生物質収去品NMRスペクトル確認試験（ ^1H 、 ^{13}C -スペクトル）

(1) セフトキシム（注射用：14検体）の確認

標準品、検体ともに、シグナルがほぼ分離され、シフト、パターンがほぼ同一であり、一次解析が可能な同定

に適したスペクトルが得られた。検体スペクトルはメーカー、ロットに関わらず、いずれも類似した結果を与え、添加剤ピークが検出されず、表示成分のみと考えられた。等量混合スペクトルは全てのシグナルが標準品と一致した。微量の不純物シグナル（1.2ppm）の有無から、製剤の原薬が8ロット（5社）と6ロット（4社）の2つに分類された。 [矢野茂生]

(2) セフトキシムプロキセチル（錠剤：4検体、シロップ：2検体）の確認

^{13}C -スペクトルは、ほぼ等量のエピマー混合物（1：1）を示し、水/重クロロホルムによる抽出処理の有無により、著しい違いが観測された。一方、 ^1H -スペクトルでは単一成分を示す情報のみであった。添加物由来のシグナルを除けば、検体スペクトルはメーカーや形状に関わらず、標準スペクトルと類似のスペクトルを与えた。等量混合スペクトルは全てのシグナルが標準品と一致した。 [矢野茂生]

Ⅳ. 品質管理試験法の開発・改良

1. インフルエンザワクチンの新しい品質管理試験法構築に向けた試み

これまでに我々は、インフルエンザワクチンの新たな品質管理法として、トキシコゲノミクスの技術を応用した新規安全性試験法の構築に取り組んできており、毒性評価のためのマーカー遺伝子を約20同定している。マーカー遺伝子の発現解析を用いた新規安全性試験法の感度検討のため、ワクチンや高濃度原液等を用いて解析を行ったところ、ワクチン接種ラットの生体反応を高感度に検出できることが明らかとなった。現在試験法の簡便化に向けた取り組みを行っている。

[百瀬暖佳、板村繁之（インフルエンザウイルス研究センター）、甲斐光（デンカ生研）、渡辺隆雄（北里研究所）、福家功（阪大微研）、尾堂浩一（化血研）、倉光球、益見厚子、滝澤和也、浜口功]

2. インフルエンザワクチンの新しい性状解析法

エーテル処理、ホルムアルデヒドによる不活化等の製造工程でのウイルスの変化と、それらの免疫原性について解析するとともに、市販品についても検討した。不活化後も、ウイルス核酸のPCRによる増幅は可能であったが、ウイルス型による差があった。HA製剤では、製造所間での差が大きく、増幅効率において最大で50倍程度の差が認められた。核酸が維持されている製品ほど、イン

フルエンザ関連遺伝子の発現誘導が高い傾向があり、免疫能との関連が示唆された。また、ワクチン中の粒子径の分布と核酸の増幅効率の間に関連があり、製造所間でのウイルス由来成分の差が明確になった。

[田中明子, 笠井道之, 矢野茂生]

3. 粘膜投与等の新投与経路ワクチン研究における品質管理に関する研究

粘膜投与等の新投与経路ワクチンは不活化全粒子型ウイルスまたはウイルスコンポーネントに TLR リガンドをアジュバントとして加え、免疫原性を高めた製剤である。転写因子(NF- κ B)の下流にレポーター遺伝子を組み込んだ人由来モノサイト細胞株(THP 細胞)を用いて不活化型全粒子と TLR リガンドの自然免疫誘導能力を測定した。同時に、培養液中のサントカインを測定し、IL-1 β と IL-18 の測定がワクチンの免疫原性を評価するのに有効であることを示した。 [笠井道之]

4. 重合物否定試験の試験法標準化と試験法バリデーションについての研究

静注グロブリンにおける重合物否定試験は、アナフィラキシーショック等の副反応の原因となるグロブリン重合物含量が 1.0%以下であることを確認する試験である。現在の規格値はカラムゲルクロマトグラフ法で品質管理が行われていた時代に規定されたが、現在、高速液体クロマトグラフ法を用いており、以前は分離できなかったグロブリン三量体およびオリゴマーが分離できるようになっている。血液製剤メーカーの品質管理部との共同研究により本試験の試験法および規格値の見直しを行い、現在の分析技術に見合った分析方法で品質管理を実施して製剤の安全性を担保することを目指している。

[野島清子, 岡田義昭, 浜口功]

5. 超遠心分析を用いたグロブリン凝集体の解析

静注用グロブリンに含まれるグロブリン凝集体量は高速液体クロマトグラフ(サイズ排除クロマト SEC)法により管理されているが、SEC による分析はカラム担体との相互作用による影響を避けられない。FDA はモノクローナル抗体医薬品中のグロブリン凝集体の測定法として担体の影響を受けない超遠心分析法を推奨している。そこで静注用グロブリンに含まれる凝集体量を超遠心分析法により測定し、SEC 法による解析結果と比較検討をし、グロブリン製剤の品質管理法として最適な試験法を検討した。

[野島清子, 岡田義昭, 内山進(大阪大)]

V. ワクチン開発および接種に関する研究

1. ワクチンの非臨床・臨床ガイドラインの作成

ワクチンの薬事承認の手続きを円滑にすすめるために、品質・有効性・安全性の確認に関し開発時に利用されるガイドラインの作成が望まれている。日米欧におけるワクチン承認審査等に関する事例を調査するとともに、一般の医薬品とは異なるワクチンの特性を踏まえた非臨床・臨床ガイドラインの作成を行った。

[浜口功, 宮崎義継(生物活性物質部), 駒瀬勝啓(ウイルス3部), 神谷齊(三重病院), 倉田毅(富山衛研), 井上達(国立衛研), 伊藤澄信(国立病院機構), 石井健(阪大微研), 川上浩司(京都大)]

2. 獲得性免疫賦活化方法の開発とその効果の検証法および副作用評価法の確立

胸腺内中枢性自己寛容性成立の分子機構: 胸腺上皮細胞が発現する自己抗原は胸腺内未熟 T 細胞が MHC 拘束性と自己寛容性を獲得する過程に関与する。胸腺上皮培養細胞内の MHC クラス II 拘束性細胞質抗原提示過程について調べ、細胞質抗原提示にマクロオートファジーが関与すること示した。さらに、新生児胸腺凍結切片を用いて、胸腺上皮細胞内においても細胞質抗原提示にマクロオートファジーが関与することを示した。 [笠井道之]

3. TLR 制御を取り入れた新規 DNA アジュバントの開発

新規 A 型 CpG-DNA である G9.1 の作用について、成人ヒト末梢血から採取した形質細胞様樹状細胞(pDC)に対して RS ウィルス-A2 株を感染させ、G9.1 によって生じる細胞反応への影響を調べた。その結果、pDC は、G91 に反応して IFN- α をわずかながら産生し得ることが示され、TRAIL 発現の増強が認められた。IFN- α は、IL-29 または IP-10 と G91 を共添加すると G91 単独添加時の約 2 倍多く産生された。IFN- α 産生抑制能のある微生物感染に対しては、G91 を効果的に用いるために、何らかの方法で感染の影響を阻止する必要がある。

[前山順一, 伊保澄子(福井大), 山本三郎(日本BCG研究所)]

4. 細菌性感染症の粘膜ワクチン開発

劇症型 A 群連鎖球菌の NADase と M タンパクについて rCTB をアジュバントとして用いて粘膜免疫した場合を検討した。はじめに、両抗原を rCTB と共にマウスへ経鼻

投与したが、血清特異抗体価は両抗原共に上昇しなかった。そのため各抗原のトキシド化を試みたところ、NADase トキシドを経鼻免疫した場合、有意に特異的 IgG 抗体価および中和抗体価が上昇した。これは劇症型発症抑制効果が期待できると考えられた。今後 M タンパクについて検討を進める。

[前山順一、井坂雅徳(名古屋市大)]

5. BCG ベクターの開発と応用

(1) エイズワクチン

高コピー変異型プラスミドベクターを構築し、HIV の Gag 遺伝子を組み込み、BCG に導入して、外来抗原を高発現する組換え BCG ワクチンの構築を試みた。BCG ベクターについて、コドン最適化以外で外来抗原発現を増強できる方法を検討し、プラスミドのレプリコンに変異を導入した高コピー変異型プラスミドを用いたところ、オリジナルのプラスミドを用いた場合よりも BCG での HIV-1 Gag の発現レベルが約 10 倍上昇するにもかかわらず、組換えプラスミドが安定に保持されることがわかった。このベクターは、エイズワクチン開発において極めて有用である。

[前山順一、松尾和浩(エイズ研究センター)、矢野郁也(日本 B C G 研究所)、山本三郎(日本 B C G 研究所)]

(2) エイズワクチンのサルでの評価系の検討

rBCG-SIVgag/rDIs-SIVgag で免疫したカニクイザルにおける、SIVmac239 感染によるウイルス血症を有意に低下させ、サルでの有効性を確認した。細胞性免疫の評価は、SIVgag 蛋白刺激に対する T 細胞の IFN γ 、IL-2、TNF α 産生を総合的に評価する必要があることが示唆された。

[前山順一、網康至(動物管理室)、松尾和浩(エイズ研究センター)、矢野郁也(日本 B C G 研究所)、山本三郎(日本 B C G 研究所)]

(3) 栄養要求性を指標とする新しい抗酸菌の宿主-ベクター系開発

抗生物質耐性遺伝子の代わりに ThyX を指標とした宿主-ベクターシステムの構築を試みた。BCG Δ ThyX を宿主、thyX を保持した pNN5 をベクター、7H10-ADS 寒天培地を選択培地とした組み合わせでは 85% でプラスミド保有株を得ることができた。このことは簡便な 2 次スクリーニングを行なうことで目的のクローンが得られることを意味しており、この宿主-ベクターシステムを利用できる可能性を示している。形質転換 6 カ月後のプラスミドの保持率を調べたところ、カナマイシンで選択した場合と同様の保持率であったことから、安定な宿主-ベクターシステムであることが示された。

[前山順一、大原直也(岡山大)、山本三郎(日本 B C G 研究所)]

6. BCG の多様性に関する研究

(1) BCG 亜株の脂質生化学的比較

BCG には多くの亜株が派生しており、そのうちの 14 株についてフェノール糖脂質 (PGL), フチオセラン酸ジマイコセロセート (phthiocerol dimycocerosate, PDIM) の発現を検討したところ、4 株 (Moreau, Glaxo, Tice, Australian) で欠損し、10 株 (Russian, Japanese, Birkhaug, Danish, Connaught, Phipps, Pasteur, Montreal, Mexican, Sweden) で発現していた。

[前山順一、藤原永年(大阪大)、矢野郁也(日本 B C G 研究所)、山本三郎(日本 B C G 研究所)]

(2) BCG 亜株の各種ストレス感受性の比較

In vitro での一酸化窒素ストレス、及び酸化ストレスに対する感受性試験を行った結果、Japan, Danish, Glaxo, Pasteur 株が一酸化窒素に対して比較的耐性であり、Russia, Japan, Birkhaug, Connaught 株が過酸化ストレスに対して比較的耐性を示した。

[前山順一、藤原永年(大阪大)、矢野郁也(日本 B C G 研究所)、山本三郎(日本 B C G 研究所)]

(3) BCG-I と BCG-II の脂質の比較

日本 (Japan) 株 BCG である BCG Tokyo172 の遺伝子領域 RD16 が異なっているサブポピュレーション BCG-I と BCG-II について脂質生化学的検討を加え、構成脂質を明らかにした。主要な糖脂質、リン脂質の分布を二次元 TLC で検定したところ、I 型のみが発現している糖脂質のスポットを検出した。これは BCG 菌における mycoside B に相当する PGL であると同定した。PGL の脂質部分であるフチオセラン酸ジマイコセロセート (PDIM) の有無を TLC で確認したところ PGL 同様、II 型で欠損していた。

[前山順一、藤原永年(大阪大)、山本三郎(日本 B C G 研究所)]

(4) BCG-I 型と BCG-II 型の遺伝子発現の差異

BCG Tokyo 株 I 型と II 型の遺伝子発現プロファイルを調べた結果、RD16 領域の BCG3405c-BCG3408、BCG 2953 - BCG 2957 (ppsA-E)、BCG 2958 - BCG 2960 (drrA-C) は BCG Tokyo 172 株 I 型で発現し、II 型では発現量がわずかであった。BCG3405c が完全長である Pasteur 株と Russia 株では BCG3405c-BCG3408 の発現が Tokyo 株 I 型と同様に認められず、BCG3405c の下流部分が欠損している Moreau 株では BCG3405c-BCG3408 のすべての遺伝子が BCG Tokyo 株 II 型と同様に発現していた。このことから、BCG3405c 内に存在する塩基配列がこの領域の遺伝子を

負に制御する可能性が考えられた。

[前山順一、大原直也(岡山大学)、藤原永年(大阪大)、山本三郎(日本BCG研究所)]

(5) BCG-I型とBCG-II型の遺伝子発現の差異の遺伝子導入による解析

I型 BCG3405c あるいは BCG3406 - BCG3408 を II 型に導入することによって BCG 2953 - BCG 2958 のメッセージ RNA 量が増加した。このことから BCG3405c および BCG3406 - BCG3408 の遺伝子産物が BCG 2953 - BCG 2957 と BCG 2958 - BCG 2960 の転写を制御している可能性が示された。今後 BCG3405c および BCG3405 - BCG3408 の転写調節因子としての役割を明らかにしていく必要がある。

[前山順一、大原直也(岡山大)、藤原永年(大阪大)、山本三郎(日本BCG研究所)]

(6) BCG-I と BCG-II の宿主の反応での比較

低用量でモルモットに免疫するとき、I型はII型より強い抗結核免疫誘導能があり、より強い遅延型アレルギー反応を誘導する結果が得られているが、現在用いている製品は、完全に純粋な標品ではなかった。またタイ BCG は、II型であっても強い免疫誘導能を有し、RD16の差異が免疫活性に本質的か検証する必要がある。そこで、クローニングした22株について、スクリーニング的に免疫活性を調べたところ、II型であっても強い免疫誘導能を有する1株が見出された。これについて今後さらに遺伝子やその発現の差異を検討する必要がある。

[前山順一、網康至(動物管理室)、須崎百合子(動物管理室)、山本三郎(日本BCG研究所)]

7. CTL 誘導型インフルエンザワクチンの開発

前年度までの検討により、抗原(タンパクまたはペプチド)を特定の脂質組成からなるリポソームの表面に結合して免疫することによって抗原特異的な細胞性免疫(CTL)が誘導されることが明らかになった。この抗原結合リポソームを用いて細胞性免疫誘導型インフルエンザワクチンの創製を試みた。インフルエンザウイルスを構成するタンパクの中から CTL エピトープとなりうるアミノ酸配列を検索・同定し、リポソームに結合させてマウスに免疫したところ、インフルエンザウイルス亜型(H1N1、H3N2、H5N1)に対する感染抵抗性が誘導されることが確認されたことから、1. 細胞性免疫を誘導する事によりインフルエンザウイルス感染抵抗性を誘導する事が可能である事が示唆され、2. ウイルス亜型に共通な抗原をワクチン抗原として用いることにより、新型インフルエンザにも対応可能なインフルエンザワクチンの創製が期待された。

[内田哲也、種市麻衣子]

8. 肝炎ウイルス感染防御を目指したワクチン接種の基盤構築

今年度は本研究班の最終年度にあたり、これまでの研究成果を踏まえてユニバーサル HB ワクチン投与(universal vaccination)の必要性について行政に向けた「提言」を作成し提出した。これまでの施策では「母子(垂直)感染」による HBV 感染拡大を防ぐことに重点を置いていたが、今後は「性(水平)感染」の拡大を防ぐ必要性を強調し、我が国でのユニバーサル HB ワクチン投与導入を目指す。

[水落利明、田中憲一(新潟大)、小方則夫(燕労災病院)、岡部信彦(感染症情報センター)、多屋馨子(感染症情報センター)、片山恵子(広島大)、菅内文中(名古屋市大)]

VI. 血液学, 細胞治療に関する研究

1. 造血幹細胞特異的チロシンキナーゼ Tie2 の機能解析

造血幹細胞の機能発現には、造血nicheを構成するniche細胞のAng1によって、造血幹細胞のTie2が活性化されることが重要であると考えられている。一方我々は、Tie2シグナルの活性化によって血液細胞でのAng1の発現が亢進し、Tie2の活性がさらに増強されることを明らかにした。*in vivo*の移植実験において、Ang1をノックダウンした造血幹細胞では、造血再建能の顕著な低下を認めたことから、niche細胞のAng1だけでなく、造血幹細胞のAng1の重要性が示唆された。

[百瀬暖佳、滝澤和也、浜口功]

2. 先天性赤芽球癆の原因遺伝子の機能解析

先天性赤芽球癆(DBA)は、造血幹細胞からの赤芽球分化・増殖異常により重症の貧血をおこす。近年、RPS19、RPS17、RPS24、RPL5、RPL11、RPL35A等のヘテロ接合型で変異が同定され、これらの遺伝子の機能解析を行うことにより、病態解明につながると考えられる。原因遺伝子のコピー数測定法を構築し、DBA 遺伝子変異解析技術の向上を試みた。また RPS19 と始め原因遺伝子を shRNA 発現レンチウイルスベクターで発現抑制すると細胞増殖抑制が観られること、このときオートファジーを伴う細胞飢餓様の状態が誘導されることを見出した。今後、リポソームストレスから赤芽球分化抑制が誘導されるメカニズムについて解析を進め新しい治療法開発を目指す。

[倉光球、浜口功]

3. IRF-2 のマウス造血幹細胞に及ぼす影響について

これまで我々はインターフェロン制御転写因子 IRF-2 がマウス骨髄細胞の Stem cell 分画に高発現していることをリアルタイム PCR および in situ hybridization を用いて報告してきた。IRF-2 欠損マウスの骨髄細胞からセルソーターを用いて KSL (c-kit+, Sca-1+, Lin-) を分画し、KSL を別のマウスに移植する方法を用いて骨髄への生着率を見た。また KSL 以外の骨髄細胞画分も検討した。IRF-2 欠損マウスの KSL 分画が野生型のそれと比較して3倍程度細胞の割合が増加していることが見いだされた。IRF-2 欠損マウスの KSL を別のマウスに移植すると3ヶ月たってもほとんど生着しなかった。IRF-2 欠損マウスにおいて増加が認められる KSL 細胞は造血幹細胞としての正常な機能を担っていないと考えられた。そこで野生型と IRF-2 欠損マウスにおける KSL 細胞の遺伝子等の違いについて検討している。 [益見厚子]

4. マウス胸腺の微小環境に関する研究

RhoB は細胞骨格に関与する低分子量 GTP 結合タンパク質ファミリーに属するが、胸腺では髄質上皮細胞に発現している。その機能を明らかにするため RhoB 欠損マウスの胸腺を調べたところ、早期の胸腺萎縮が観察された。そして、RhoB 欠損マウスの髄質上皮細胞での TGF- β receptor type II の発現が上昇していた。これらの結果より、RhoB は髄質上皮細胞の TGF- β receptor type II の発現を制御することにより、胸腺の機能を維持していることが示唆された。 [小高千加子]

国家検定、収去試験、抜き取り検査、依頼検査、行政検査、承認前試験等の実績

1. 国家検定

血液製剤力価試験：88 ロット
 免疫グロブリン G 重合体否定試験：103 ロット
 抗補体否定試験：67 ロット
 含湿度試験：174 ロット
 ホルムアルデヒド定量試験：222 ロット
 たん白質定量試験：188 ロット
 たん白窒素定量試験：92 ロット
 凝固性たん白窒素定量試験：43 ロット
 アルミニウム定量試験（スチルバゾ）：1 ロット
 アルミニウム定量試験（プラズマ発光）：6 ロット
 フェノール定量試験：20 ロット

MPL 含量試験：6 ロット

ヘモグロビン定量試験：6 ロット

クエン酸ナトリウム定量試験：4 ロット

ヒスタミン定量試験：2 ロット

水素イオン濃度試験：2 ロット

スクワレン含量試験：17 ロット

α トコフェロール及びスクワレン含量試験：78 ロット

異常毒性否定試験：363 ロット

発熱試験：267 ロット

2. 収去試験

抗 A 血液型判定用抗体、3 サンプル

抗 B 血液型判定用抗体、3 サンプル

抗 D 血液型判定用抗体、5 サンプル

抗ヒトグロブリン抗体、4 サンプル

赤外線吸収：20 ロット

NMR 試験：20 ロット

3. 抜き取り検査

力価試験：6 ロット

活性化凝固因子否定試験：6 ロット

免疫グロブリン G 含量試験：2 ロット

同定試験：2 ロット

異種たん白否定試験：2 ロット

異常毒性否定試験：8 ロット

発熱試験：8 ロット

熱安定性試験：2 ロット

4. 依頼検査

含湿度試験（水分定量法）：15 ロット

含湿度試験（乾燥減量法）：4 ロット

ホルムアルデヒド定量試験：4 ロット

たん白質定量試験：18 ロット

チメロサール定量試験：2 ロット

スクワレン含量試験：10 ロット

5. 承認前検査

チメロサール定量試験：7 サンプル

アルミニウム定量試験（スチルバゾ）：12 サンプル

水素イオン濃度試験：3 サンプル

たん白質定量試験：4 サンプル

ホルムアルデヒド定量試験：4 サンプル

浸透圧試験：1 サンプル

含湿度試験（乾燥減量法）：7 サンプル

たん白窒素定量試験：1 サンプル

スクワレン含量試験：16 サンプル以上

α トコフェロール及びスクワレン含量試験：12 サンプル以上

異常毒性否定試験：2 ロット

発熱試験：1 ロット

6. 行政検査

異常毒性否定試験：2 ロット

国際協力関係業務

1) 2009年9月8日 大韓民国赤十字からの訪問を受け、講義を行った。内容は「国立感染症研究所の業務」(浜口)、「核酸増幅検査のための日本の国内標準品とコントロールサーベイについて」(水澤、岡田)、「ヘモビジランス」(小高) および「肝炎ウイルス感染診断キット」(水落) [浜口功、水澤左衛子、岡田義昭、小高千加子、水落利明]

2) 2010年2月4日 JICA 集団研修コース「血液スクリーニング検査向上(中米地域)」の中で「日本のヘモビジランス」に関する講義を行った。 [浜口功]

3) 2010年3月10日 JICA 集団研修コース「AIDSの予防及び対策」の中で、村山庁舎において講義を行った。「ヘモビジランス」(小高)、「肝炎ウイルス感染診断キット」(水落)、「HIVの感染機構 Mechanism of HIV infection」(大隈)。 [小高千加子、水落利明、大隈和]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) 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: 2709-2720, 2009

2) 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: 512-515, 2009

3) Ito M, Mizoroki F, Takai K, Yamaguchi K, Mizuochi T: 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. 390: 269-272, 2009

4) Kasai M, Tanida I, Ueno T, Kominami E, Seki S, Ikeda T, Mizuochi T: Autophagic compartments gain access to the MHC class II-compartments in thymic epithelium.

J Immunol. 183: 7278-7285, 2009

5) Murakami T, Kumakura S, Yamazaki T, Tanaka R, Hamatake M, Okuma K, Huang W, Toma J, Komano J, Yanaka M, Tanaka Y, Yamamoto N: The novel CXCR4 antagonist, KRH-3955 is an orally bioavailable and extremely potent inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 infection: comparative studies with AMD3100. *Antimicrob Agents Ch*. 53: 2940-2948, 2009

6) 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*. 538: 3493-3500, 2009

7) Takagi A, Matsui M, Ohno S, Duan H, Moriya O, Kobayashi N, Oda H, Mori M, Kobayashi A, Taneichi M, Uchida T, Akatsuka T: Highly efficient anti-viral CD8+ T cell induction by peptide coupled to the surface of liposomes. *Clin Vaccine Immunol*. 16: 1383-1392, 2009

8) Kohyama S, Ohno S, Suda T, Taneichi M, Yokoyama S, Mori M, Kobayashi A, Hayashi H, Uchida T, Matsui M: Efficient induction of cytotoxic T lymphocytes specific for severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus by immunization with surface-linked liposomal peptides derived from a non-structural polyprotein 1a. *Antivir Res*. 84: 168-177, 2009

9) Mohsan S, Suzuki R, Kondo M, Aizaki H, Kato T, Mizuochi T, Wakita T, Watanabe H, Suzuki T: Evaluation of hepatitis C virus core antigen assays for detecting recombinant viral antigens derived from various genotypes. *J Clin Microbiol*. 47:4141-4143, 2009.

10) Ichinohe T, Ainai 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 an intranasal vaccine with

- extracts of mushroom mycelia. *J Med Virol.* 82: 128-137, 2010
- 11) 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 Chim Acta.* 411: 605-606, 2010
- 12) Matsui M, Kohyama S, Suda T, Yokoyama S, Mori M, Kobayashi A, Taneichi M, Uchida T: A CTL-based liposomal vaccine capable of inducing protection against heterosubtypic influenza viruses in HLA-A*0201 transgenic mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 391: 1494-1499, 2010
- 13) Mizuochi T, Ito M, Saito K, Kasai M, Kunimura T, Morohoshi 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 in chronic hepatitis C patients. *J Interf Cytok Res.* 30: 243-252, 2010
- 14) 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
- 15) Nagai Y, Asaoka Y, Namae M, Saito K, Momose H, Mitani H, Furutani-Seiki M, Katada T, Nishina H: The LIM protein Ajuba is required for ciliogenesis and left-right axis determination in medaka. *Biochem Biophys Res Commun.* 396: 887-93, 2010
- 16) 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.* 391: 1623-1628, 2010
- 17) Tehrani R, Woll PW, Anderson K, Buza-Vidas N, Mizukami T, Mead AJ, Åstrand-Grundström I, Strömbeck B, Horvat A, Ferry H, Dhanda RS, Hast R, Rydén T, Vyas P, Göhring G, Schlegelberger B, Johansson B, Hellström-Lindberg E, List A, Nilsson L and Jacobsen SE: Persistent Malignant Stem Cells in del(5q) Myelodysplastic Syndrome in Remission. *New Engl J Med.* in press
- 18) 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 Biotech.* in press
- 19) Reesink HW, Panzer S, Gonzalez CA, Gimbatti S, Wood E, Lambermont M, Deneys V, Sondag D, Alport T, Towns D, Devine D, Turek P, Auvinen M-K, Koski T, Lin CK, Lee CK, Tsoi WC, Lawlor E, Grazzini G, Piccinini V, Catalano L, Pupella S, Kato H, Takamoto S, Okazaki H, Hamaguchi I, Wiersum-Osselton JC, van Tilborgh AJW, Zijlker-Jansen PY, Mangundap KM, Schipperus MR, Dinesh D, Flanagan P, Flesland Ø, C. Steinsvåg CT, Espinosa A, Letowska M, Rosiek A, Antoniewicz-Papis J, Lachert E, Koh MBC, Alcantara R, Corral Alonso M, Muñoz-Diaz E: Haemobigilance for the optimal use of blood products in hospital. *Vox Sanguinis.* in press
- 20) Ito M, Murakami K, Suzuki T, Mochida K, Suzuki M, Ikebuchi K, Yamaguchi K, Mizuochi T: Enhanced expression of lymphomagenesis-related genes in peripheral B cells of chronic hepatitis C patients. *Clin Immunol.* in press
- 21) 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 infection of hepatitis C virus. *J Innate Immun.* in press
- 22) Uchiyama F, Enokida K, Shiraishi T, Masumi A, Tanuma S: Characterization of the promoter region of the human IGHMBP2 (Smbp-2) gene and its response to TPA in HL-60 cells. *Gene.* in press

2. 和文発表

- 1) 倉光球、浜口功：Diamond-Blackfan 貧血におけるリボソーム機能異常。血液診療エキスパート「貧血」、中外医学社、212-214
- 2) 浜口功：ヘモビジュランス（血液安全監視体制）とは。検査と技術、第37巻、864-866、2009
- 3) 内田哲也、種市麻衣子：インフルエンザと抗原。Medical Science Digest、第35巻14号、566-567、2009
- 4) 内田哲也：新発想のインフルエンザワクチン -『細胞性免疫誘導型インフルエンザワクチン』の開発。化学、第64巻11号、26-29、2009
- 5) 紀野修一、浜口功：輸血副作用報告の標準化。検査と

技術、第 38 巻、371-375、2010

- 6) 浜口功、山口一成：ワクチンの非臨床安全性試験ガイドライン。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス、第 41 巻、530-535、2010
- 7) 水落利明：「HCV infection and B-lymphomagenesis」第 27 回犬山シンポジウム「C 型肝炎」。メディカルトリビューン、143-153、2010
- 8) 水落利明：B 型肝炎の Universal Vaccination 感染制御。第 6 巻、45-48、2010
- 9) 内田哲也：リポソームを用いた感染症ワクチンの開発。DDS、第 25 巻 1 号、29-36、2010
- 10) 内田哲也：季節性及び新型インフルエンザに有効な CTL 誘導型リポソームワクチン。ファルマシア、第 46 巻 2 号、119-123、2010
- 11) 内田哲也：細胞性免疫誘導型リポソームワクチン。Bio Clinica、第 25 巻 5 号、29-33、2010
- 12) 笠井道之：細胞質抗原の MHC クラス II による提示。臨床免疫/アレルギー科、第 51 巻 6 号、573-579、2009
- 13) 笠井道之、水落利明：オートファジーと抗原提示。メディカルサイエンスダイジェスト（印刷中）
- 14) 浜口功、倉光球：Diamond-Blackfan 貧血の分子異常。細胞（印刷中）
- 15) 浜口功、Ribosomal protein と造血障害。臨床血液（印刷中）

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

- 1) Kasai M, Seki S, Ikeda T: Macroautophagy intercross to MHC class II-antigen presentation in thymic epithelial cells. 5th International Workshop of Kyoto T Cell Conference, Kyoto, June 2009
- 2) Mizusawa S, Okada Y: NAT proficiency program in Japan. SoGAT XXI, Brussels Belgium, May 2009
- 3) Mizusawa S: Preparation of Reference Panels for *in vitro* Diagnostic Tests in Japan. SoGAT-Clinical Diagnostics II, Istanbul, Sept 2009
- 4) Masumi A, Hamaguchi I, Kuramitsu T, Mizukami T, Momose H, Takizawa K, Mochizuki M, Yamaguchi Y: The role for Interferon regulatory factor-2 on hematopoietic differentiation. FEBS special meeting, Austria, Feb 10-13, 2010

2. 国内学会

- 1) 浜口功：ヘモビジランス・輸血副作用-輸血副作用パ

イロットスタディーから。第 57 回日本輸血・細胞治療学会総会。大宮、2009 年 5 月

- 2) 浜口功：新興感染症。第 57 回日本輸血・細胞治療学会総会。大宮、2009 年 5 月
- 3) 岡田義昭、水澤左衛子：BSE 由来プリオンの *in vitro* 感染系の確立とその応用（第 3 報）、プリオンシンポジウム 2009、蔵王（宮城）、2009 年 8 月
- 4) 高山俊輔、須田達也、種市麻衣子、赤塚俊隆、内田哲也、松井政則：SARS コロナウイルスの polyprotein 1a 由来 HLA-A*0201 拘束性 CTL エピトープの同定と、そのペプチドを結合したリポソームによる細胞障害性 T 細胞の誘導。第 13 回日本ワクチン学会学術集会。札幌、2009 年 9 月
- 5) 内藤誠之郎、片岡紀代、清原知子、落合正樹、前山順一、倉永雅彦、千北一興：溶解性マイクロニードルアレイを利用した経皮ワクチンの試み。第 13 回日本ワクチン学会総会。札幌、2009 年 9 月
- 6) 百瀬暖佳、水上拓郎、内藤誠之郎、前山順一、益見厚子、倉光球、滝澤和也、浜口功：遺伝子発現解析を用いた新たなワクチン安全性評価法構築への試み。第 13 回日本ワクチン学会学術集会。札幌、2009 年 9 月
- 7) 前山順一、網康至、山本三郎：BCG 免疫モルモット脾臓細胞のサイトカイン遺伝子発現の様相。第 13 回日本ワクチン学会総会。札幌、2009 年 9 月
- 8) 益見厚子：C 型肝炎ウイルス感染患者における血液由来 B 細胞の解析。日本薬学会関東支部大会。埼玉、2009 年 10 月
- 9) 益見厚子、浜口功、倉光球、水上拓郎、滝澤和也、百瀬暖佳、内藤誠之郎、山口一成：インターフェロン制御転写因子 (IRF-2) の血液細胞分化における影響について。第 82 回日本生化学会。神戸、2009 年 10 月
- 10) 浜口功：Ribosomal protein と造血障害。第 71 回日本血液学会学術集会。京都、2009 年 10 月
- 11) 倉光球、水上拓郎、益見厚子、百瀬暖佳、滝澤和也、笠井道之、山口一成、浜口功：先天性赤芽球癆 (Diamond Blackfan anemia) 原因遺伝子によるオートファジー活性化の解析。第 71 回日本血液学会学術集会。京都、2009 年 10 月
- 12) 益見厚子、浜口功、倉光球、水上拓郎、滝澤和也、百瀬暖佳、内藤誠之郎、山口一成：インターフェロン制御転写因子 (IRF-2) の血液細胞分化における影響について。第 71 回日本血液学会学術集会。京都、2009 年 10 月
- 13) 滝澤和也、水上拓郎、山崎淳平、倉光球、百瀬暖佳、益見厚子、本嶋 藍、鶴野親是、大隈和、長谷川秀樹、浜口功、山口一成：HTLV-1 Tax トランスジェニックマウス

を用いたATL様腫瘍幹細胞の同定と解析. 第71回日本血液学会学術集会. 京都、2009年10月

14) 百瀬暖佳、滝澤和也、水上拓郎、倉光球、益見厚子、山口一成、浜口功：Tie2 / Angiopoietin-1 シグナルを介した造血幹細胞の自律的制御機構の解析. 第71回日本血液学会学術集会. 京都、2009年10月

15) 伊藤昌彦、益見厚子、持田恵子、山口一成、水落利明：慢性C型肝炎患者B細胞におけるHCV持続感染機構の解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会. 東京、2009年10月

16) 田中明子、笠井道之、矢野茂生：インフルエンザワクチンの新しい性状解析法. 第57回日本ウイルス学会学術集会. 東京、2009年10月

17) 大隈和、鶴野親是、田中礼子、田中勇悦、浜口功：CD4、CXCR4を併せ持つ新規HIV攻撃用VSVの作製：OX40リガンド共発現の効果. 第57回日本ウイルス学会学術集会. 東京、2009年10月

18) 鶴野親是、倉光球、高浜洋一、浜口功、大江賢治、大隈和：新規レポーターアッセイ系を用いたHIV-1スプライシングに関与する宿主因子の検討. 第57回日本ウイルス学会学術集会. 東京、2009年10月

19) 岡田義昭、水沢左衛子、梅森清子：プリオン感染細胞から培養液中に産生される異常プリオンの性状. 第57回日本ウイルス学会学術集会. 東京、2009年10月

20) 野島清子、影山努、中内美名、魚住利樹、藤間昭勝、岡田清美、和山行正、田代真人、浜口功：非対称PCR-核酸クロマト法による新型インフルエンザ(H1N1)pdm簡便診断法の開発. 第57回日本ウイルス学会学術集会. 東京、2009年10月

21) 岡田義昭：パルボウイルス感染の解析. 第79回日本感染症学会西日本地方会学術集会. 福岡、2009年11月

22) 大隈和、田中礼子、田中勇悦：新規バイオ治療薬候補のヒト化マウス感染モデルを用いた評価：CCR5指向性HIV-1感染細胞を選択的に破壊する組換えウイルスVSV. 第23回日本エイズ学会学術集会. 名古屋、2009年11月

23) 益見厚子、滝澤和也、倉光球、水上拓郎、百瀬暖佳、山口一成、浜口功：インターフェロン制御転写因子(IRF-2)の血液細胞分化における影響について. 第32回日本分子生物学会. 横浜、2009年12月

24) 水落利明、笠井道之：慢性C型肝炎患者末梢B細胞の動態および腫瘍化関連遺伝子発現. 第39回日本免疫学会学術集会. 大阪、2009年12月

25) 小高千加子：RhoB deficiency in thymic medullary epithelium leads to early thymic atrophy. 第39回日

本免疫学会学術集会. 大阪、2009年12月

26) 高山俊輔、須田達也、種市麻衣子、赤塚俊隆、内田哲也、松井政則：Efficient induction of SARS coronavirus-specific CTLs by immunization with surface-linked liposomal peptides derived from nucleocapsid and a non-structural polyprotein 1a. 第39回日本免疫学会学術集会. 大阪、2009年12月

27) M. Kasai, T. Ikeda, and T. Mizuochi.: Macroautophagy intersects the thymic MHC class II-restricted presentation process. (マクロオートファジーは胸腺MHCクラスII拘束性抗原提示過程と交差する). 第39回日本免疫学会学術集会. 大阪、2009年12月

28) 前山順一、網康至、山本三郎：BCG免疫モルモット脾臓細胞のサイトカイン遺伝子発現の様相. 第83回日本細菌学会総会. 横浜、2010年3月

29) 井坂雅徳、立野一郎、市川麻里子、南正明、前山順一、長谷川忠男：劇症型A群連鎖球菌由来NADaseとMタンパクのマウスへの経鼻投与による抗原性および防御効果. 第83回日本細菌学会総会. 横浜、2010年3月