

## 10. 細胞化学部

部長 花田賢太郎

### 概要

細胞化学部の設置目的は、「感染症その他の特定疾病に関する細胞化学的及び細胞生物学的研究に関することをつかさどる」ことであり、細菌、ウイルス、プリオン等の病原体による感染症の発症要因を主にその宿主細胞の面から解析する方向で研究に取り組んでいる。特に、病原体の感染とその生体防御の様々な局面において重要な役割を担っている宿主生体膜の機能解明を当部の研究主軸にしている。また、伝達性海綿状脳症 (TSE) 検査に関する調査・研究も行っている。本年度の研究・業務の概略を以下に記載する。

プリオン病研究においては、マウス・プリオン蛋白質 (PrP) のアミノ酸領域 100-104 番目が異常型プリオン蛋白質 (PrP<sup>Sc</sup>) への構造変換に必須であることを示し、謎の多い PrP<sup>Sc</sup> 構造変換の分子モデル構築に資した。一方で、非定型 L-BSE プリオンのヒトへの経口感染のリスク評価等を目的としてサルを用いた感染実験を含む研究を継続して行った。

C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染に関する細胞レベルでの研究においては、RNA 干渉法を用いた網羅的探索により HCV 複製に必要な宿主因子を複数同定し、そのいくつかは HCV 感染との関わりにおいて新規な因子であった。宿主細胞のスクアレン合成酵素や自食作用オートファジーの機能に絞って HCV 増殖への影響を解析することも行い、それぞれに興味深い結果を得た。

ヒトパピローマウイルス (HPV) エピソーム様ゲノム 7.9 kbp の全長を増幅する方法を新たに開発した。偏性寄生クラミジア菌 *Chlamydia trachomatis* が自己の増殖する寄生胞へとセラミドを宿主細胞小胞体から運んで利用していること、さらに、これに関与する宿主細胞の鍵因子を明らかにした。

以上概説した研究の多くは所内外の病原体専門研究部との共同研究として遂行した。

当部では、感染症に関わる宿主細胞の遺伝学を積極的に展開している。本年度は昨年度に引き続いて、最新の方法論の導入や当部独自の手法の開発に取り組んだ。

伝達性海綿状脳症 (TSE) 行政検査に関わる品質管理試験や文献調査を行った。また、所内外の委員会活動など

により医薬品の規制や品質管理・保証についてソフト面で貢献した。質量分析器を用いた蛋白質解析を通じての所内横断的業務も行った。

### 業績

#### 調査・研究

##### I. プリオン病に関する研究

(1) マウス・プリオン蛋白質 (PrP) のアミノ酸領域 100-104 番目が異常型プリオン蛋白質 (PrP<sup>Sc</sup>) への構造変換に果たす役割の解析

プリオンが持続感染したマウス神経芽細胞腫 (ScN2a 細胞) にマウス PrP の Lys<sup>100</sup>、Ser<sup>102</sup>、Lys<sup>103</sup>、Pro<sup>104</sup> をアラニンに置換した変異体を発現させると、変異体は ScN2a 細胞の内因性 PrP<sup>Sc</sup> と会合するものの PrP<sup>Sc</sup> 型へ変換されない。今年度は、当該領域の精査を進め、分子シミュレーション法などから提唱されている PrP<sup>Sc</sup> 凝集体の推定構造に対して、生化学実験に基づく解釈を新たに付加することができた。[原英之、中村優子、大内史子、萩原健一]

(2) 非定型 L-BSE プリオンのヒトへの経口感染のリスク評価等を目的とした研究

カニクイザルへの脳内接種実験から、L-BSE プリオンは霊長類へ伝播可能であることが明らかになっている。この知見を踏まえ、L-BSE プリオンに汚染された畜産物などをヒトが経口摂取した場合のリスク評価、ならびに経口感染が起こる場合のプリオンの体内分布や病理・生化学的特徴を孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) や変異型 CJD と比較することを目的として、L-BSE プリオンを含むウシ脳乳剤をカニクイザル (2 頭) へ経口投与し、経過の追跡を開始した。[萩原健一; 柴田宏昭 (医薬基盤研); 大藤圭子、小野史子 (予防衛生協会)]

(3) ヒト神経細胞株を用いた従来型 BSE (C-BSE) および L-BSE プリオンの研究

変異型 CJD は C-BSE プリオンがヒトへ伝播したものである。一方、カニクイザルへの脳内接種実験の結果から、

L-BSE プリオンはヒト神経細胞にも感染すると推測されるが、ヒト由来の細胞を用いた実証例はこれまで無い。今回、ヒト・ニューロブラストーマを用いてC-ならびにL-BSE プリオンに対する感染の感受性を調べた。結果、複数の細胞株でC-/L-BSE プリオンの感染が確認され、それぞれのPrP<sup>Sc</sup>の糖鎖型はBSE罹患ウシの脳組織に検出されるC-/L-BSEプリオンに類似することが明らかとなった。[中村優子、萩原健一]

#### (4) PrPの糖鎖修飾部位の解析

PrPは2ヶ所の糖鎖付加部位を有し、二糖鎖、一糖鎖および無糖鎖型のPrP<sup>Sc</sup>が病変部に蓄積する。C-BSEプリオンのPrP<sup>Sc</sup>は二糖鎖型が多く、L-BSEプリオンのPrP<sup>Sc</sup>は一糖鎖型が多いという生化学的な違いがある。糖鎖付加の相異がプリオンの物理的性状に関わる可能性が高く、興味深い。糖鎖付加部位を解明するため、今回、質量分析法による解析を試みたが、糖鎖付加部位をもつペプチド断片の溶解性が低く、解析困難であることがわかった。そこで、酵素消化したPrP断片の電気泳動パターンから糖鎖付加部位を帰属する方法を新たに考案し、現在解析を進めている。[大内史子、萩原健一]

#### (5) プリオン感染の指標となる新規バイオマーカーの探索

プリオン(Obihiro I株)を脳内接種したマウスについて、接種後120日目において発現量に増減がある脳内蛋白質を検索した結果、分子量約50 kDaの蛋白質が顕著に増加していることを認めた。感染・発症の指標となる蛋白質候補として期待できることから、プロテオーム解析によりその同定を試み、 $\alpha$ -internexinおよびvimentin

(Vim)が候補として絞り込まれた。さらにVimについては、2次元電気泳動の結果から、発症に伴い等電点が負電荷側にシフトするような翻訳後修飾を受けていることがわかった。[原英之、大内史子、萩原健一]

#### (6) プリオン蛋白質遺伝子ノックアウト (*prnp*<sup>-/-</sup>) マウスの小脳のプロテオーム解析

これまでに作出された複数系統の*prnp*<sup>-/-</sup>マウスの中には、加齢に伴う運動失調や小脳プルキンエ細胞の脱落を生じるものがある。運動失調を示す*prnp*<sup>-/-</sup>マウス(Nature, 400, 225-6, 1999)について、小脳のプロテオーム解析を行った。18ヶ月齢の*prnp*<sup>-/-</sup>マウスと野生型コントロールの比較解析の結果、プルキンエ細胞に局在するcalbindinなどに量的な相異を認めた。しかし、SYPRO

Rubyにより検出可能な蛋白質の大半については、量的に顕著な差が無いことがわかった。[大内史子、萩原健一]

## II. C型肝炎ウイルス (HCV) に関わる研究

### (1) 遺伝学的手法を用いた HCV に非感染性の Huh7.5.1 細胞変異株の分離

これまでに HCV に感染できない宿主肝細胞変異株の分離の系を確立し、CD81 欠損や Claudin1 欠損など各種細胞を分離してきた。この系を利用し、より効率的に HCV ライフサイクルに関与する宿主因子を同定するために、shRNA ライブラリを導入した細胞ライブラリを用いる方法を新たに試みた。分離された HCV 非感染細胞から、導入された shRNA を同定し、当該 shRNA を導入した細胞を確立し確認実験を行った。その結果、PI4KIII $\alpha$  など複数の宿主因子が同定され、これらが HCV ライフサイクルに重要であることが明らかとなった。[深澤征義、山地俊之、花田賢太郎]

### (2) HCV 感染におけるコリンの重要性

培養細胞を用いた HCV 感染系において、培地中からコリンを欠乏させると、HCV 感染が有意に低下することを見いだした。この結果は、HCV 持続感染細胞を用いても同様に見られた。コリンの取り込み阻害剤である Hemicholinium-3 によっても HCV 感染は(一過性感染の系および持続感染の系ともに)有意に低下することから、細胞内へのコリンの取り込みが HCV 感染に重要であることが考えられた。[深澤征義、花田賢太郎; 脇田隆字(ウイルス2部); 鈴木哲朗(浜松医大)]

### (3) 高感染性 HCV-JFH1 亜株の性状解析

分離した高感染能を有する HCV-JFH1 株由来適応変異株(K74T/I414T)の性状解析をさらに進めた。その結果、野生型ウイルスである JFH1 株が 37°Cにおいて急速に感染性を消失していくのに対し、K74TあるいはI414T単独変異ウイルスでは有意に感染性の低下が少なかった。K74T/I414T 変異ウイルスではさらに感染能が維持されていた。以上より、K74T、I414T 変異は、HCV 感染能の温度感受性にも重要であり、感染能の上昇に寄与していることが明らかとなった。[深澤征義、花田賢太郎; 村上裕子、深澤秀輔(生物活性物質部); 脇田隆字(ウイルス2部); 鈴木哲朗(浜松医大); 白砂圭崇、千葉丈(東京理科大)]

### (4) Squalene synthase を標的とした HCV 産生阻害

コレステロール生合成に必須である squalene synthase の阻害剤、YM-53601 は、培養細胞における HCV 産生を阻害する。コレステロールと脂肪酸からコレステリルエステルを合成する酵素の特異的阻害剤(Sandoz

58-035) の HCV 産生への効果を調べたところ、YM-53601 のような抗 HCV 効果は見られなかった。この結果から、コレステリルエステルレベルの低下は HCV 産生に影響しないと考えられた。YM-53601 は、細胞のコレステロールレベルとコレステリルエステルレベルを低下させるが、上記の結果から、コレステロールレベルが HCV 産生により重要であると示唆された。また、これまでに HCV の RNA 複製または翻訳過程に YM-53601 が作用する結果を得ていたが、今回、HCV internal ribosome entry site 下流にルシフェラーゼ遺伝子を配したレポーター RNA を用いて、同薬剤が HCV の翻訳を阻害しないことを示唆する結果を得た。従って、RNA 複製過程にコレステロールが関与すると考えられた。[齊藤恭子、花田賢太郎、深澤征義]

### III. オートファジーに関わる研究

(1) オートファジーに関わる Atg7 の機能領域の解析  
オートファジーを誘導する鍵酵素 Atg7 (E1 酵素) の N 末端にある FAP 領域が、オートファゴソーム形成に必須の LC3 脂質化におけるユビキチン様修飾反応の E2 反応を介する酵素 Atg3 と基質 LC3 の反応に特異的に重要であることを示した。この領域は、同じ Atg7 が介するオートファジーの初期段階の隔離膜形成に必至な Atg12-Atg5 結合反応、Atg7 の 2 量体形成、ミトコンドリア特異的オートファジーに必要な Atg12-Atg3 結合体形成には影響がなく、LC3 反応に特異的に必須であった。[谷田以誠；山崎 学 (微化研)；小松雅明 (医学研)；上野 隆 (順天堂大)]

(2) 肝臓におけるオートファジーにおける血中アミノ酸・グルコースレベルの研究

肝臓においてはオートファジーはグルコース産生・遊離アミノ酸生成・脂肪滴形成に関与している。マウス成体の肝臓オートファジーについては、さらにアミノ酸から糖新生によってグルコースを作りだし、血糖の維持にあずかることがわかってきた。オートファジーは血漿インスリンレベル低下が引き金になって誘導され、アミノ酸レベルの上昇 (アミノ酸バースト) として起こり、糖新生鍵酵素である PEPCK が活性化される。アミノ酸バーストとこれに伴う糖新生系亢進は肝特異的オートファジー欠損マウスではみられず、血糖は野生型マウスに比べて有意に低下していた。[谷田以誠；江崎淳二、松元直美、竹田-江崎光江、高橋勝幸、平岡由佳、高ひかり、藤村努、岩田淳一、古屋徳彦、辺 澤華、多田 昇弘、木南英紀、上野隆 (順天堂大)；小松雅明、田中啓二 (医学研)；竹鼻健司 (味の素)]

(3) 脂肪肝とオートファジーの研究

C 型肝炎ウイルスは脂肪滴近傍でウイルス粒子のアセンブリをおこなうことが知られており、また C 型慢性肝炎患者には脂肪肝が多いことは知られている。そのため、脂肪肝におけるオートファジーの活性異常・変化を解析することは、オートファジー活性制御による脂肪肝抑制および C 型肝炎ウイルス抑制治療をめざした基礎研究として重要である。本研究においては、脂肪肝によりオートファゴソームの酸性化およびリソソーム内プロテアーゼ、カテプシン、の発現量が低下することにより、オートファジーによるタンパク質分解が阻害されることがわかった。[谷田以誠；稲見義宏、山科俊平、上野 隆、池嶋健一、渡辺純夫 (順天堂大)]

(4) 糸球体硬化における GABARAP の機能

GABARAP は LC3 のホモログとしてオートファジーに関わっていると考えているが、その生理的機能についてはほとんど解明されていない。今回、GFP-GABARAP トランスジェニックマウスを作成したところ、腎糸球体に顕著な GFP シグナルが認められた。ドキシソルピシンを用いて糸球体障害を誘導したところ、GABARAP トランスジェニックマウスは野生型に比べ、顕著なタンパク尿と糸球体硬化が認められた。この時、GABARAP はオートファゴソームには局在せず、p62 と相互作用して凝集体を形成した。このことは腎糸球体において GABARAP はオートファジー以外の糸球体障害・回復に関わる機能を有していることを示唆している。[谷田以誠；高木美幸、浅沼克彦、多田昇弘、オリバ・トレホ ファン・アレハンドロ、浅沼悦子、木南英紀、上野隆、木南英紀、富野康日己 (順天堂大)；小松雅明 (医学研)]

### IV. 細胞外環境変化を感知し応答する細胞内情報伝達システムの研究

(1) がん制御因子 PICT1 による核小体ストレス感知機構の解明

リボソーム生合成を制御する核小体タンパク質 PICT1 がリボソーム構成タンパク質 RPL11 と結合し、RPL11 の核小体への局在を制御することを見いだした。また PICT1 が様々なストレスに応答して分解されることによって RPL11 の核質への遊離を促し、その結果として MDM2 の不活性化を介して癌抑制因子 p53 の活性化を引き起こすことを見いだした。また PICT1 の発現量が食道癌、大腸癌の予後に影響することを見いだした。[前濱朝彦、花田賢太郎；鈴木聡 (九州大)]

### V. ヒトパピローマウイルスに関する研究

(1) PCR を用いた HPV16 エピソームの新規検出法の開

発

Long PCRに適したPCR酵素を用いたInverse PCRによって7.9 kbpのHPV16エピソームの全長を増幅する方法を新たに開発した。また本手法によって増幅されたPCR産物をHPV16の包括的な変異解析等に利用できることを見いだした。[前濱朝彦、花田賢太郎; 終元巖 (病原体ゲノム解析研究センター)]

## VI. スフィンゴ脂質代謝と病原体に関する研究

### (1) TMBIMファミリーの機能に関する研究

スフィンゴ糖脂質 Gb3 は腸管出血性大腸菌の外毒素である志賀毒素 (ペロ毒素) の受容体である。以前より複数回膜貫通タンパクの TMBIM ファミリータンパクが、Gb3 を低下させることで毒素による細胞死を抑制することを明らかにしている。本年度はこのファミリーのうち FAIM2 に着目し、その分子機構について解析を行ったところ以下の新たな知見を得た。(1)FAIM2 の細胞質領域と結合するタンパクとしてユビキチン E3 リガーゼの一種を同定した。(2)FAIM2 の複数回膜貫通ドメインのうち TMBIM ファミリー間で保存されているアミノ酸に変異を入れると Gb3 発現低下能も失われた。[山地俊之、花田賢太郎]

### (2) レンチウイルス shRNA ライブラリーによる志賀毒素関連因子の探索

レンチウイルス shRNA ライブラリーは、網羅的な宿主因子を同定するためのツールの1つとして期待される。以前ライブラリーを用いて志賀毒素関連因子の探索を行い、受容体 Gb3 の生合成に必須な酵素を同定している。ただし網羅性の観点から不十分であったことより、本年度ではより多くの因子を同定するため、以下の対策を講じた。(1)shRNA 効果の増強を狙い、shRNA 経路に関与する因子を過剰発現させた安定発現株を作製した。(2)上記と異なるレンチウイルス shRNA ライブラリーを新たに導入し、その条件検討を行った。今後これらを用いてスクリーニングを行う予定である。[山地俊之、花田賢太郎]

### (3) 培養細胞における遺伝子ノックアウト法の構築

RNAi による遺伝子発現抑制法はその簡便性より、培養細胞に対して広く用いられているが、その一方で発現が残るため表現型が出ない可能性も残される。このことは培養細胞においても遺伝子破壊の必要性・有用性を示すものである。以前遺伝子トラップ法による志賀毒素関連因子の探索について報告したが、この場合使用出来る細胞株に限られるため、より汎用性の高いシステムが求められる。これらの経緯を踏まえ、(1)Forward genetics として新たな遺伝子突然変異導入法の開発、(2)Reverse

genetics として人工ヌクレアーゼによる遺伝子編集法の導入及び改良、を本年度より開始した。[山地俊之、花田賢太郎]

### (4) CERT と VAP の相互作用の制御に関する研究

セラミド輸送蛋白質 CERT はセラミドを小胞体からゴルジ体へと輸送するタンパク質である。CERT は小胞体膜蛋白質である VAP と結合し、この相互作用によって小胞体膜中に存在するセラミドの認識効率を上げていると考えられている。しかしながら、CERT と VAP の相互作用を調節するメカニズムについては分かっていなかった。これまでに当部では、CERT の特定の部位がリン酸化されると、CERT-VAP 間の結合が強化されることを明らかにしていたが、本年度はこの部位のリン酸化状態によって、実際にスフィンゴ脂質の生合成量が変化すること、即ち、セラミドの輸送量が変化することを明らかにした。また、この部位のリン酸化状態が各種刺激によって変化することを明らかにした。[熊谷圭悟、花田賢太郎]

### (5) クラミジア増殖における宿主細胞 CERT の重要性

偏性細胞内寄生細菌 *Chlamydia trachomatis* の宿主細胞内増殖において、宿主細胞由来の CERT が重要であることを昨年度までに見出していた。CERT がゴルジ体へセラミドを輸送する際には、当該タンパク質中のプレクストリン相同 (PH) ドメインの持つ phosphatidylinositol 4-monophosphate (PI4P) 結合能が必要である。今年度は、*C. trachomatis* の寄生胞・封入体 (inclusion) へ宿主細胞の小胞体からセラミドを運ぶように CERT が転用されていること、CERT PH ドメインの PI4P 結合能を欠いても inclusion へのセラミド輸送は起こることを示唆した。[花田賢太郎; Cherilyn A. Elwell, Joanne N. Engel (UCSF, USA)]

## 行政検査に関わる業務

(1) TSE 行政検査 (ウエスタンブロット法による確認検査) の検査プロトコールの確認、感度評価用の内部標準品および抗体等の試薬の品質の適正管理、検査手技の維持を目的として、BSE 陽性ウシの標準試料を用いて検査要項の方法に即してウエスタンブロット分析を行った

(H23年8、9月、H24年1、3月)。また、試験薬1品目が平成23年末をもって製造販売中止となったことから、同等代替品の評価を行い、代替品を用いて従来の検査感度が達成可能であることを確認した (H24年2月)。検査手技レベルと検査試薬等が適正に管理されていることを確認し、データを厚生労働省本省へ報告した。[萩原健一、中村優子]

(2) 食肉の安全にかかる BSE 関連の文献調査  
 ・諸外国における BSE に関するリスク評価、・BSE 疫学・発生動向とサーベイランス、・屠場摘発例のウシでの病原体の分布、・BSE の実験的伝播 (ウシ、マウス、サル) と実験的伝播例での病原体の分布、・BSE のヒトへの伝播例、・その他 (BSE プリオンの株、非定型 BSE など) の文献を 2005-2011 年の過去 6 年間にわたり調査し、厚生労働省本省からの資料収集の要請に対応した。[萩原健一、中村優子、原英之、大内史子; 飛梅実 (感染病理部)]

### 所内研修業務および所外委員会業務

(1) 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラム  
 ‘プリオン病について’ 2011. 10. 24 [萩原健一]

(2) (独)医薬品医療機器総合機構 平成 23 年度 GLP 評価委員会委員および医療機器 GLP 評価委員会委員  
 [花田賢太郎]

### 国際的ガイドラインの策定

(1) 2011 年 10 月 12-14 日にかけてスイス国ジュネーブ市で開催された世界保健機構(WHO)本部主催のワクチン規制制度強化の国際諮問: 戦略的方向性、評価過程と指標(International consultation on vaccine regulatory system strengthening: strategic directions, assessment process and indicators, WHO/HQ)に参加して、WHO が世界中のワクチン NRA (National Regulatory Authority: 国家規制当局)を評価するための項目およびその内容を改訂する作業に携わり、ロットリリースおよびラボラトリーアクセスの機能に関するワーキンググループの一員として改訂案を策定した。[花田賢太郎]

### その他

(1) 機器管理運営委員会機器の管理と運用

戸山庁舎の MALDI-飛行時間型質量分析機 (AXIMA-QIT) の保守、運用を行った。今夏の節電対策要請時には、機器の稼働停止および再稼働による不測の故障を避けるために、必要とされる予防措置・点検を行った。また、消耗品の交換、機器のトラブルへの迅速な対処とともに、プロテオーム研究に必須なデータベース検索ソフトを管理した。機器およびソフトウェアは、所内 (戸山・村山) の複数部のプロテオーム研究に携わる研究者が利用した。機器の使用時間 (データベース検索のための使用時間を除く) は、約 122 時間だった。[大内史子、萩原健一、花

田賢太郎]

### 発表業績一覧

#### I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Hara, H., Okemoto-Nakamura, Y., Shinkai-Ouchi, F., Hanada, K., Yamakawa, Y., Hagiwara, K.: Mouse prion protein (PrP) segment 100 to 104 regulates conversion of PrP<sup>C</sup> to PrP<sup>Sc</sup> in prion-infected neuroblastoma cells. *J. Virol.* 86, 5626-5636, 2012

2) Nakano, I., Joshi, K., Visnyei, K., Hu, B., Watanabe, M., Wexler, E., Saigusa, K., Nakamura, Y., Laks, D.R., Mischel, P.S., Viapiano, M., Kornblum, H.I.: Siomycin A targets brain tumor stem cells partially through a MELK-mediated pathway. *Neuro. Oncol.* 13, 622-634, 2011

3) Yamamoto, M., Aizaki, H., Fukasawa, M., Teraoka, T., Miyamura, T., Wakita, T., and Suzuki, T.: The structural requirements of virion-associated cholesterol for infectivity, buoyant density and apolipoprotein association of hepatitis C virus. *J. Gen. Virol.* 92, 2082-87, 2011

4) Arnaud, N., Dabo, S., Akazawa, D., Fukasawa, M., Shinkai-Ouchi, F., Hugon, J., Wakita, T., and Meurs, E.F.: Hepatitis C virus reveals a novel early control in acute immune response. *PLoS Pathogens* 7, e1002289, 1-17, 2011

5) Tanida, I., Yamasaki, M., Komatsu, M., Ueno, T.: The FAP motif within human ATG7, an autophagy-related E1-like enzyme, is essential for the E2-substrate reaction of LC3 lipidation. *Autophagy*, 8, 88-97, 2012

6) Ezaki, J., Matsumoto, N., Takeda-Ezaki, M., Komatsu, M., Takahashi, K., Hiraoka, Y., Taka, H., Fujimura, T., Takehana, K., Yoshida, M., Iwata, J., Tanida, I., Furuya, N., Zheng, D.M., Tada, N., Tanaka, K., Kominami, E., Ueno, T.: Liver autophagy contributes to the maintenance of blood glucose and amino acid levels. *Autophagy*, 7, 727-736, 2011

7) Inami, Y., Yamashina, S., Izumi, K., Ueno, T., Tanida, I., Ikejima, K., Watanabe, S.: Hepatic steatosis inhibits autophagic proteolysis via impairment of autophagosomal acidification and cathepsin expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 412, 618-625, 2011

8) Takagi-Akiba, M., Asanuma, K., Tanida, I., Tada, N., Oliva Trejo, J.A., Nonaka, K., Asanuma, E., Kominami, E., Ueno, T., Tomino, Y.: Doxorubicin-induced glomerulosclerosis with proteinuria in GFP-GABARAP transgenic mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* 302, F380-389, 2012

9) Yamaji, T., Yamaguchi, Y., Mitsuki, M., Takashima, S., Waguri, S., Hashimoto, Y., Nara, K.: 3D modeling of a natural killer receptor, Siglec-7: Critical amino acids for glycan-binding and cell death-Inducing activity. Modeling and Simulation in Engineering, InTech, 103-116, 2012

10) Miyazaki, K., Sakuma, K., Kawamura, Y. I., Izawa, M., Ohmori, K., Mitsuki, M., Yamaji, T., Hashimoto, Y., Suzuki, A., Saito, Y., Dohi, T., Kannagi, R.: Colonic epithelial cells express specific ligands for mucosal macrophage immunosuppressive receptors siglec-7 and -9. J. Immunol. in press

11) Kumagai, K., Nishijima, M., Hanada, K.: Reconstitution assay system for ceramide transport with semi-intact cells. Methods Cell Biol. 108, 117-129, 2012

12) Abe, M., Makino, A., Hullin-Matsuda, F., Kamijo, K., Ohno-Iwashita, Y., Hanada, K., Mizuno, H., Miyawaki, A., and Kobayashi, T.: A role for sphingomyelin-rich lipid domains in the accumulation of phosphatidylinositol-4,5-bis-phosphate to the cleavage furrow during cytokinesis. Mol. Cell. Biol. 32, 1396-1407, 2012

13) Sasaki, M., Kawahara, K., Nishio, M., Mimori, K., Kogo, R., Hamada, K., Itoh, B., Wang, J., Komatsu, Y., Yang, Y.R., Hikasa, H., Horie, Y., Yamashita, T., Kamijo, T., Zhang, Y., Zhu, Y., Prives, C., Nakano, T., Mak, T.W., Sasaki, T., Maehama, T., Mori, M., Suzuki, A.: Regulation of the MDM2-P53 pathway and tumor growth by PICT1 via nucleolar RPL11. Nat. Med. 17, 944-51, 2011

14) Yamaoka, Y., Yu, Y., Mizoi, J., Fujiki, Y., Saito, K., Nishijima, M., Lee, Y., Nishida, I.: Phosphatidylserine synthase 1 is required for microspore development in Arabidopsis thaliana. Plant J. 67, 648-661, 2011

## 2. 和文発表

1) 谷田以誠: オートファジー-リソソーム分解系～疾患・生理機能との関わりと分子機構、内分泌・糖尿病・代謝内科 33, 319-325, 2011

2) 谷田以誠、上野隆、和栗聡: オートファジーの評価方法、実験医学 29, 2054-2062, 2011

3) 花田賢太郎: 巻頭言 ワクチンの国家検定の国際調和、厚生科学 WEEKLY, 498 号、2011

4) 内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、花田賢太郎: ワクチンの国家検定への SLP 審査制度の導入、日本ワクチン学会ニュースレター、21, 4-5、2012

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

1) Okemoto-Nakamura, Y., Hara, H., Shinkai-Ouchi, F., Yamakawa, Y., Hanada, K., Hagiwara, K.: Analysis of synaptic protein and cyclin-dependent kinase 5 in prion protein-deficient cells, PRION 2011, 2011.5.16-19, Montreal, Canada

2) Hara, H., Okemoto-Nakamura, Y., Shinkai-Ouchi, F., Yamakawa, Y., Hanada, K., Hagiwara, K.: Identification of novel PrP epitope modulating conformational change from PrP<sup>C</sup> to PrP<sup>Sc</sup>, Asian Pacific Prion Symposium 2011, 2011.7.10-11, Karuizawa, Japan

3) Ono, F., Kurosawa, A., Yamakawa, Y., Tobiume, M., Sato, Y., Katano, H., Hagiwara, K., Itagaki, I., Komatuzaki, K., Emoto, Y., Hamano, M., Shibata, H., Yasutomi, Y., Sata, T.: Quantitative analysis of histopathological changes and brain atrophy using volumetric MRI in transmission of classical and atypical (L-type) bovine spongiform encephalopathy (BSE) prions to cynomolgus macaques, Asian Pacific Prion Symposium 2011, 2011.7.10-11, Karuizawa, Japan

4) Fukasawa, M., Shirasago, Y., Saito, K., Murakami, Y., Fukazawa, H., Suzuki, T., Suzuki, R., Wakita, T., Hanada, K., Chiba, J.: Isolation of a highly infectious hepatitis C virus with adaptive mutations, The 18<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2011.9.8-12, Seattle, USA

5) Aizaki, H., Matsumoto, Y., Goto, K., Watashi, K., Suzuki, R., Fukasawa, M., Hanada, K., Sato, S., Takahashi, N., Matsuura, Y., Motojima, K., Miyamura, T., Suzuki, T., Wakita, T.: Identification of lipid droplet-associated membrane proteins that are involved in HCV production, The 18<sup>th</sup> International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2011.9.8-12, Seattle, USA

6) Ogawa, M., Fukasawa, M., and Uchiyama, T.: Infection with the obligated intracellular bacterium *Orientia tsutsugamushi*, a causative agent of scrub typhus facilitates formation of lipid droplets in L-929, mouse fibroblast cells, IUMS2011, 2011.9.6-16, Sapporo, Japan

7) Shirasago, Y., Saito, K., Murakami, Y., Fukazawa, H., Suzuki, T., Wakita, T., Hanada, K., Chiba, J., Fukasawa, M.: Isolation and characterization of a highly infectious hepatitis C virus with adaptive mutations, IUMS2011, 2011.9.6-16, Sapporo, Japan

- 8) Fukasawa, M., Anai, R., Shirasago, Y., Saito, K., Murakami, Y., Fukazawa, H., Suzuki, T., Wakita, T., Chiba, J., Hanada, K.: Isolation of a hepatitis C virus mutant adapted to mouse CD81 in hepatic cell culture system, The 51<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, 2011.12.3-7, Denver, USA
- 9) Tanida, I., Koike, M., Ueno, T., Uchiyama, Y.: Ubiquitin modifies an autophagic modifier to inhibit ALIPS formation, Gordon Research Conferences "Autophagy in Stress, Development and Disease", 2012.3.11-17, Ventura, CA, USA
- 10) Tanida, I.: FAP motif within human ATG7 is essential for the E2-substrate reaction of LC3 lipidation, The Second Japan-Sino Autophagy Symposium, 2011.10.5-7, Shonan, Japan
- 11) Hanada, K.: Intracellular trafficking of ceramide by the ceramide transfer protein CERT, The Annual Fall Scientific Conference of the Korean Society of Lipidology and Atherosclerosis, 2011.9.2-3. Seoul, Korea
- 析、第 84 回日本生化学会大会、2011. 9. 21-24、京都
- 8) 谷田以誠、小池正人、上野隆、内山安男：新奇構造体 ALIPS 形成抑制のためのユビキチン・プロテアソームによる ATG12 分解制御、第 3 4 回日本分子生物学会年、2011. 12. 15、横浜
- 9) Françoise Hullin-Matsuda、富重斉生、牧野麻美、石塚玲子、石井久美子、Elad Lavee Laviad、Anthony Futerman、Michel Lagarde、Hubert Vidal、花田賢太郎、小林俊秀：抗がん性リモノイドは CERT による小胞体からのセラミドの引き抜きを阻害することによりスフィンゴミエリン合成を阻害する、第 6 回スフィンゴテラピー研究会、2011. 7. 15-16、米子
- 10) 花田賢太郎：日本におけるワクチン国家検定制度、バイオロジクスフォーラム第 9 回学術集会、2012. 2. 22、東京

## 2. 国内学会

- 1) 原英之、中村優子、大内史子、山河芳夫、花田賢太郎、萩原健一：PrP<sup>C</sup>→PrP<sup>Sc</sup>構造変換を調節するマウスプリオンタンパク質95-104領域の役割、第34回日本分子生物学会年会、2011. 12. 13-16、横浜
- 2) 齊藤恭子、鈴木哲朗、相崎英樹、花田賢太郎、脇田隆字、西島正弘、深澤征義：スクワレン合成酵素を標的としたC型肝炎ウイルス産生阻害、第53回日本脂質生化学会、2011. 5. 12-13、東京
- 3) 前濱朝彦、深澤征義、伊達朋子、脇田隆字、花田賢太郎：イノシトールリン脂質によるC型肝炎ウイルス増殖の制御、第84回日本生化学会大会、2011. 9. 21-24、京都
- 4) 齊藤恭子、鈴木哲朗、相崎英樹、花田賢太郎、脇田隆字、西島正弘、深澤征義：培養細胞およびヒト肝キメラマウスのC型肝炎ウイルス感染モデルを用いたスクワレン合成酵素阻害剤の抗ウイルス効果の解析、第84回日本生化学会大会、2011. 9. 21-24、京都
- 5) 白砂圭崇、穴井涼、花田賢太郎、葛西正孝、深澤征義：ヒトTRAX蛋白質の発現量の制御、日本薬学会第132年会、2012. 3. 29-31、札幌
- 6) 山地俊之、西川喜代孝、花田賢太郎：TMBIM ファミリーの糖脂質生合成への影響とその制御機構、第 84 回日本生化学会大会、2011. 9. 21-24、京都
- 7) 櫻井祐介、山地俊之、花田賢太郎、樺山一哉：糖脂質再構成細胞における受容体活性と膜流動性の関連性の解