

## 7. 感染病理部

部長 長谷川 秀樹(12月まで)  
鈴木 忠樹 (1月より)

### 概要

#### 1. 人事等

人事異動により平成31年4月1日付で長谷川秀樹がインフルエンザウイルス研究センター センター長となり、感染病理部 部長に併任となった。令和2年1月1日付で長谷川秀樹の感染病理部 部長の併任が解除され、同日付で感染病理部第四室 室長の鈴木忠樹が感染病理部 部長に昇任し、第四室 室長に併任となった。この人事異動後、感染病理部の職員数は14名で、内訳は部長1名、室長3名、主任研究官8名、任期付研究員2名となった。戸山庁舎に12名の職員と村山庁舎に2名の職員が在籍している。インフルエンザウイルス研究センター第六室 室長の浅沼秀樹は引き続き感染病理部に併任している。また非常勤職員として、戸山庁舎の電子顕微鏡室に片岡紀代と小林宏尚が、村山庁舎の電子顕微鏡室で片岡紀代が所全体の業務に対応した。戸山では小林和泉が業務補助を行った。

#### 2. 感染病理部の研究業務

感染病理部で行われた研究・業務の概要は次のとおりである。

### 調査・研究

#### I. 感染病理に関する研究

1. ヒト病理検体におけるレファレンスとしてのウイルス等の感染症に関する研究
2. 感染症の診断に関する研究
3. インフルエンザ感染症に関する研究
4. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究
5. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究
6. 進行性多巣性白質脳症に関する研究
7. 先天性ジカウイルス感染症に関する研究

#### II. ウイルス感染症の発生機序に関する研究

1. ヘルペスウイルスに関する研究
2. ポリオーマウイルスに関する研究
3. 新型コロナウイルスを含む重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究
4. オルソポックスウイルスに関する研究
5. ピコルナウイルスに関する研究
6. HIVに関する研究
7. 狂犬病に関する研究
8. SFTSウイルスに関する研究

#### III. ワクチンに関する研究

1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発
2. フラビウイルスワクチンの開発
3. HTLV-1 ワクチンの開発
4. ムンプスワクチンの安全性に関する研究
5. 重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対するワクチンの開発
6. 新型コロナウイルスに対するワクチン開発

#### IV. プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究
2. ウシ等由来原料の基準に関する研究
3. CWD 調査

#### V. 厚生労働省共同利用機器の運用

1. Regulus8220 形走査電子顕微鏡の運用
2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用
3. 見学者対応

#### VI. 機器管理運営委員会機器の運用

1. 村山亨舎透過及び走査電子顕微鏡

## 品質管理に関する業務

1. 検定検査
2. 行政検査

## 国際協力関係業務

## 業績

### I. 誌上発表

1. 欧文発表
2. 和文発表

### II. 学会発表

1. 国際学会
2. 国内学会

## 調査・研究

### I. 感染病理に関する研究

1. ヒト病理検体におけるレファレンスとしてのウイルス等の感染症に関する研究

国内外の医療ならびに医学教育施設との共同研究として生検、手術、剖検組織材料におけるウイルス等の感染症について病理学的に検索している。2019年度人体由来検体数は101症例であった。検索の結果、インフルエンザウイルスA感染3例、JCウイルス4例、SFTSウイルス2例、ヘルペスウイルス例、他にトレポネーマ、アメーバなど細菌や真菌によるウイルス以外の病原体における感染症例においても分子生物学的、免疫組織化学的に検索し、共同研究レファレンスとして結果を依頼者に報告した。年が明けてからは新型コロナウイルス感染疑い例についても検索した。(佐藤由子、片野晴隆、中島典子、高橋健太、鈴木忠樹、長谷川秀樹)

2. 感染症の診断に関する研究

病理切片上での *in situ* 核酸検出法の検討

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。免疫組織化学は安定した検出系となるが、あらたに特異的な抗体を作製しなければならない場合は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シング法等により同定できるようになった近年、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。これまでに我々は、独自に開発した高感度で特異性の高い *in situ hybridization-AT tailing*(ISH-AT)法を中心に市販のRNA ISH Kitも利用しながら様々なRNAウイルスゲノムならびに宿主因子等の検出を行ってきた。本技術を応用して、マイナス鎖RNAをゲノムに持つSFTSウイルスについて、プラス鎖RNAを特異的に検出することにより病理切片上でウイルス複製の証拠を捉えることに成功した。(中島典子、佐藤由子、鈴木忠樹)

3. インフルエンザ感染症に関する研究

(1) インフルエンザの行政解剖例の病理学的・分子生物学的解析

インフルエンザ関連死亡例で、東京都監察医務院で、行政解剖を施行した12症例について、病理組織学的及び分子生物学的解析を施行した。7例がH3N2亜型感染例で、5例がA/H1N1pdm09感染例であった。これとは別に小児のインフルエンザ関連突然死例を3例解析した。局所におけるサイトカイン/ケモカイン、炎症マーカーなどの発現などの検討においては、血清IL-6が高値であった突然死例で、肺局所においても、IL-6が免疫組織化学で、血管内皮細胞、肺胞ならびに気管支上皮細胞、マクロファージで陽性であった。また、心臓の血管内皮細胞でHMGB-1の発現部位が核から細胞質へ移行しており、HMGB-1の発現が局所で亢進していたことを示唆する結果が得られた。インフルエンザウイルスは、宿主によって致死的な過剰な炎症反応(血管透過性の亢進など)を惹起するが、致死的病態を明らかにするためには、局所の病理学的解析が必要であると考えられた。(中島典子、佐藤由子;林紀乃、濱松明彦[東京都監察医務院])

(2) A/H1N1pdm09亜型インフルエンザウイルス感染剖検肺の三次元超微細構造解析

2018年度より透過型電子顕微鏡(TEM)と走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて解析してきた H1N1pdm-D222G ウイルス肺炎の剖検肺組織におけるウイルス粒子の形態、単球・マクロファージ、好中球 3D 構造について光学顕微鏡による解析では見いだせなかった重症インフルエンザウイルス肺炎の病態の解明につながる新しい知見を得ることができ、これを論文として報告した。(片岡紀代、中島典子、佐藤由子;石田欣二[岩手医科大学])

#### 4. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究

##### (1) ベトナム、バクマイ病院に入院した呼吸器感染症患者の病原体検索

Direct RT-LAMP 法をベトナムのバクマイ病院に導入し、集中治療室(ICU)、呼吸器科、感染症科に入院したおよそ 300 人の急性呼吸器感染症患者を対象として、入院時の鼻咽頭ぬぐい液、喀痰、気管支吸引液中の季節性ならびに鳥インフルエンザウイルスを含む呼吸器感染ウイルスのゲノムの検出を試みた。同時に同じ検体から核酸を抽出・精製し、市販のマルチプレックス Real-time PCR 法を用いて 33 種類の呼吸器感染病原体を検出し、Direct RT-LAMP 法の結果と比較検討した。インフルエンザウイルスの型・亜型の検出においては、陽性一致率は 80-96%であることが確認され、簡便性も併せて海外医療現場のスタッフから高い評価を得た。バクマイ病院に入院した呼吸器感染症患者の病原体が明らかになり、現地の疫学情報が得られた。患者臨床情報と合わせた統計学的解析により、H1N1pdm09 亜型 インフルエンザウイルス (以下 H1N1pdm09)感染例は、H3N2 亜型、B 型、またインフルエンザウイルス以外のウイルス感染例と比較して、ICU 入室を必要とする重症例が多く、生命予後と有意に関連することが分かった。(中島典子、相内 章、鈴木忠樹;影山 努、高山郁代、齊藤慎二[インフルエンザウイルス研究センター]、Vu VTT[バクマイ病院、ベトナム])

##### (2) ベトナム国立小児病院における鳥インフルエンザの死因である急性呼吸速迫症候群(ARDS)の病態の解析

ベトナム国立小児病院小児集中治療室(PICU)に入院した呼吸器ウイルス感染が確認された肺炎を伴う小児重症 ARDS 患者において、ARDS 診断時に、気管吸引液中の病原体検索と血液中の 21 種類のバイオマーカー値を測定した。現時点で IFN- $\gamma$ 、IP-10(IFN- $\gamma$  induced protein)、インターロイキン(IL)-10 値が非生存者で生存者に比べ有意に高いことがわかった。さらに IP-10 と酸素化の指標である PaO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub> 比を組み合わせてることによって、ARDS 発症早期に、患者転帰を予測できる可能性が示唆されている。(中島典子、相内 章、鈴木忠樹;中川 聡[成育医療センター]、高山郁代[インフルエンザウイルス研究センター]、Thung TTB、Phan PH[ベトナム国立小児病院])

#### 5. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究

##### 重症熱性血小板減少症候群剖検症例(SFTS)の病理学的解析

重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は日本を含む東アジアに局限したウイルス性出血熱である。これまでの SFTS 剖検例の解析により、壊死性リンパ節炎・脾炎と血球貪食像が SFTS の病理像の特徴であり、SFTS ウイルス(SFTSV)は主にリンパ器官に見られる異型リンパ球に感染していることが明らかになっている。本研究ではヒト体内における SFTSV 感染感受性細胞の特徴を明らかにする事を目的とし剖検組織を用いた病理組織解析と培養細胞を用いた感染実験を行った。その結果、SFTS 致死症例において、リンパ器官内で SFTSV が感染する異型リンパ球は、形質芽球への分化しつつある B 細胞であった。さらに、SFTSV 感染細胞は非リンパ器官にも検出され、それらの感染細胞も B 細胞であった。そこで、健康成人末梢血単核球を用いて SFTSV 感染実験を行ったところ、末梢血単核球の中では B 細胞が最も感受性が高かった。さらに、各種ヒト B 細胞系培養細胞株を用いて SFTSV 感染実験を行ったところ、形質芽球性リンパ腫由来の培養細胞株のみが高い感染感受性を示した。以上の結果から、SFTSV のヒト体内における標的細胞は形質芽球に分化傾向を示す B 細胞であり、同細胞が SFTS 発病機構に深く関与していると考えられた。今後、SFTSV の感染標的となる B 細胞の性状解析を進めていくことにより、SFTS 発病機構が解明され、新たな予防・

治療法の開発につながる事が期待される。(鈴木忠樹、佐藤由子、佐野 芳、片野晴隆、中島典子、永田典代、和田雄治;森川 茂[岡山理科大]、西條政幸[ウイルス第一部]、長谷川秀樹)

## 6. 進行性多巣性白質脳症に関する研究

### 進行性多巣性白質脳症の病理組織検体の解析

進行性多巣性白質脳症 (PML) の確定診断 (definite PML) のためには、生検脳あるいは剖検脳からの組織の病理学的検索が有用である。感染病理部では、全国の大学および医療機関から依頼される PML の病理組織検体の検査を行っている。解析では HE 染色と免疫組織化学による形態学的検索に加え JC ウイルス(JCV) ゲノムの遺伝子検索を併用して確度の高い病理組織検査を行い、令和元年 12 月末までに 83 例の PML の検索を行ってきた。平成 31 年-令和元年は 20 例の検索依頼があり、13 例で PML とされた。13 例の PML 確定時の年齢は平均 64.6 歳で、背景疾患として血液系悪性腫瘍が 6 例、腎移植後が 2 例に認められた。なお、脳の組織学的検索にて PML とされた症例の中には、脳組織採取前の脳脊髄液からの検索において、JCV ゲノムが検出限界以下であったものも含まれていた。(高橋健太、鈴木忠樹、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹)

## 7. 先天性ジカウイルス感染症に関する研究

先天性ジカウイルス感染症のような感染症による先天性異常は妊娠中に起こった急性感染から数ヶ月後に顕在化してくるという性質上、感染と疾病との因果関係や発病機構を明らかにすることは容易ではない。一方、胎盤組織を使った病理組織解析においては、分娩時に母親の血液などを使った病原体検査で陽性所見を得られない場合においても、組織中に残存する病原体遺伝子が検出されることは稀ではなく、正確な病原体診断に寄与することが報告されている。2016 年以降、アメリカ大陸での大流行は終息しつつあるが、2015 年からの流行を改めて振り返るとブラジル東北部における先天性ジカ症候群の報告が他の地域に比べ突出して多いことが明らかになってきている。しかしながら、この発生率の高さがジカウイルス感染のアウトブレイ

クの規模の大きさのみに依存しているのか、他の未知の要因があるのかは未だに明らかになっていない。そこで、我々は先天性ジカ症候群流行地において、病理組織解析手法を用いてジカウイルスを含む先天性感染症の発生状況を調べる疫学調査を開始した。これまでに妊娠中に感染症の既往があるなど先天性感染症の可能性が疑われる妊婦を対象として、100 名以上の患者をエンロールし、分娩時に得られる胎盤組織を収集した。現地では、検体の保管や輸送などのリソースが限られていることから、研究に使用した試料は常温で長期間保管可能なホルマリン固定組織検体のみとした。収集したホルマリン固定組織をパラフィンブロックに包埋し、切片から核酸を抽出し、網羅的な病原体検査を実施した。その結果、検索した症例の約 1 割から何らかの病原体が検出された。病原体が検出された症例については、さらに臨床情報の調査を行った。今後、それらの臨床情報と検査結果を合わせて解析し、ブラジル東北部における先天性ジカウイルス感染症を含む先天性感染症の実態把握を目指す。(飛梅 実、鈴木忠樹、佐藤由子、中島典子、片野晴隆、長谷川秀樹)

## II. ウイルス感染症の発生機序に関する研究

### 1. ヘルペスウイルスに関する研究

KSHV 潜伏感染 B 細胞の細胞間接触による再活性化に関わる因子の探索

KSHV 感染 B 細胞と接着細胞を共培養すると細胞間接触によりウイルス再活性化が誘導される。再活性化誘導能が異なる接着細胞株の発現遺伝子を DNA マイクロアレイにより比較し、細胞内局在、機能についてデータベースによる検索を行い再活性化に関わる可能性のある遺伝子群を抽出した。誘導能の低い細胞株に遺伝子導入を行い、再活性化が誘導されるか検討した。いくつかの因子で再活性化が誘導されたが誘導率は低かった。細胞間接触後に起こるシグナル伝達系も含めた総合的な解析が必要と考えられた。(菅野隆行、田中道子、片野晴隆、長谷川秀樹)

### 2. ポリオーマウイルスに関する研究

Trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus (TSPyV) の試験管内複製実験系の確立

2010年に発見されたTSPyVについて、哺乳類細胞でのTSPyVの複製法の確立を目指した。ウイルス遺伝子を哺乳類細胞に遺伝子導入することで、ウイルス粒子、TSPyVのタンパク発現を確認した。しかし、ウイルスの複製は一時的であり、時間経過や継代により上清・細胞内ともにウイルス量は減少した。(奈古利恵、福本 瞳、片岡紀代;李 天成[ウイルス第二部]、松永智子、梁 明秀[横浜市大]、長谷川秀樹;佐伯秀久[日本医大皮膚科]、片野晴隆)

3. 新型コロナウイルスを含む重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究

(1) 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の遺伝子検索系の確立と検査対応

2019年末に中国武漢で発症した新型コロナウイルス感染症の原因ウイルスであるSARS-CoV-2について、one-step RT-PCRを開発するとともに、ホルマリン固定パラフィン包埋組織標本からSARS-CoV-2 RNAの検出が可能なリアルタイム RT-PCRを開発した。日本におけるCOVID-19感染症第一例の診断に貢献するとともに、リアルタイム RT-PCRでは実際の病理組織標本からSARS-CoV-2 RNAが検出可能であることを確認した。さらに、行政検査検体についても解析を行った。(片野晴隆、中島典子、菅野隆行、鈴木忠樹)

(2) 中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)感染マウスモデルを用いたMERS-CoVに対するIgY抗体の感染防御効果に関する研究

MERS-CoV感染マウスモデル(hDPP4 Tg マウス)を用いて、MERS-CoVに対するIgY抗体の感染防御効果について調べた。hDPP4 Tg マウスにMERS-CoV感染6時間および1日後にMERS-CoV S全長、S1、receptor binding domain (RBD)、Nucleocapsidに対するIgY抗体、Isotype control IgY抗体を1匹あたり500μgを腹腔内投与し、8日間臨床症状を観察した。その結果、Isotype control IgYとMERS-CoVに対する各IgYを投与されたhDPP4 Tg マウスで、体重減少に差は見られなかった。In vitroではS全

長およびS1に対するIgY抗体のみMERS-CoVに対して中和効果を示したため、これらのIgYを投与したマウスの感染後1, 3, 5日の肺のウイルス価を測定した。その結果、感染3日目までS1のIgYを投与したマウスの肺のウイルス価が有意に低かった。今後、肺の病理学的解析を進め、IgY抗体投与が肺炎像に影響を与えているか確認する。(岩田奈織子;岡村匡史[国立国際医療研究センター]、福士秀悦[ウイルス第一部]、長谷川秀樹、鈴木忠樹、永田典代)

4. オルソポックスウイルスに関する研究

痘瘡ワクチンの副反応の発現機構を病理学的に理解するため、サル痘ウイルス皮下接種後のマウスにおけるウイルス動態、宿主応答と組織変化を明らかにし、好中球の役割について検証した。新たなオルソポックスウイルス感染マウスモデルを提示した。(永田典代、佐藤由子、岩田奈織子、鈴木忠樹、長谷川秀樹;福士秀悦、吉河智城、西條政幸[ウイルス第一部]、森川 茂[岡山理科大])

5. ピコルナウイルスに関する研究

(1) コクサッキーウイルスB2の病原性に関する動物モデルを用いた研究

コクサッキーウイルスBのプロトタイプ株であるOhio-1株と新生仔マウスを用いて新たな感染モデルを確立し、大脳皮質におけるウイルス感染動態とグリア細胞、免疫担当細胞およびアポトーシスの相関性と病変形成について病理組織学的に明らかにした。(永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹;清水博之[ウイルス第二部])

(2) エンテロウイルスD68の神経病原性に関する動物モデルを用いた研究

エンテロウイルスD68(EV-D68)の神経病原性発症機序の解明を最終目標として、動物モデルの作出を試みている。我が国で分離された種々の患者由来EV-D68を用いて、新生仔マウスにおける病態病理を明らかにした。接種3日目の未発症個体の頸髄前角の大型の神経細胞においてウイルス抗原が観察され、5日目頃から、前肢から始まる弛緩性麻痺を発症した。接種6日以降、感染局所は炎症性

細胞に置き換えられ、ほとんどウイルス抗原は検出されなかったが、麻痺は 3 週間以上観察期間が終了するまで持続した。3 週目の脊髄前角では炎症は終息し、大型の神経細胞の消失とアストログリアの置換がみとめられた。また、病変部付近の骨格筋にも感染早期にはウイルス感染とそれに伴う炎症像が認められ、3 週目には麻痺側の肢の骨格筋の萎縮が観察された。また、この感染モデル系の抗ウイルス薬評価系への応用を検討するため、*in vitro* ですでに EVD68 に対する有効性が明らかとなっている既存の薬剤を用いて、*in vivo* 評価系を構築した。(齋藤博之、柴田ちひろ[秋田県健康環境センター]、岩田奈織子、長谷川秀樹、永田典代、Doan YH;清水博之[ウイルス第二部])

## 6. HIV に関する研究

### (1) HiBiT ペプチドタグを利用した超迅速 HIV-1 定量系の樹立

HIV 研究において、ウイルスの定量には一般的に市販の ELISA キットを使用するが、コスト的・所要時間的に大きな負担がかかる。これを解決すべく、近年開発された発光型ペプチドタグ HiBiT をインテグラーゼの C 末端に付加した完全長 HIV-1 プロウイルス DNA またはレンチウイルスベクターを構築した。HiBiT 配列付加はウイルス産生および感染性に影響せず、電顕観察においても HiBiT タグ付加ウイルス粒子の形態異常を認めなかった。また p24 ELISA と HiBiT-Luc アッセイによる同一サンプルを用いた定量比較により、p24 量と HiBiT-Luc 活性との間で非常に高い相関係数が得られた。今回樹立したウイルス定量システムにより非常に正確・便利・簡易・安価でかつ超迅速なウイルスの定量を行うことが可能となった。(大園誠也、張 延昭、飛梅 実;岸上哲士[山梨大]、徳永研三)

### (2) 宿主膜タンパク質 MARCH8 による種々のウイルスエンベロープ糖蛋白質に対する抑制能

宿主膜タンパク質 MARCH8 の抗ウイルススペクトラムについて検討した。シュードタイピング実験において、ラプトウイルス、アレナウイルス、およびトガウイルスのエンベロープが MARCH8 に感受性を示した。MARCH8 感受性エンベロープのうち、狂犬病ウイルスまたはリンパ球性脈絡髄

膜炎ウイルスのエンベロープの細胞質領域リジン変異体は MARCH8 による不活化を免れることから、これらエンベロープの細胞質領域のリジン残基が MARCH8 の標的となって、ユビキチン化され細胞内で分解されることが明らかになった。更に狂犬病ウイルスを用いた感染実験においてウイルスエンベロープ G 蛋白質が MARCH8 によってダウンレギュレーションされることを証明した。(張 延昭、大園誠也、飛梅 実;岸上哲士[山梨大]、藤田英明[長崎国際大]、徳永研三)

## 7. 狂犬病に関する研究

狂犬病研究の多くは固定毒と呼ばれる実験室継代株を用いて行われる。我々は本邦で報告されたヒト輸入狂犬病症例から分離した街上毒(kyoto 株)と固定毒である CVS, hep-Frely, ERA 株を用いた比較検討を行っている。感染細胞でのウイルス抗原の分布ならびにウイルス流出放出部位は、固定毒である CVS, hep-Frely, ERA 株では糖鎖タンパクである G 抗原は細胞膜上に存在したが、街上毒である Kyoto 株では細胞質に局在した。狂犬病の特徴は宿主体内へウイルスが侵入し発症するまでの潜伏期間中に狂犬病ウイルスに対する宿主免疫が誘導されないことにあり、街上毒と固定毒のウイルス抗原に分布の相違が影響を与えている可能性がある。(飛梅 実、佐藤由子、片岡紀代)

## 8. SFTS ウイルスに関する研究

これまでの病理解析により、SFTS 患者のリンパ組織及び末梢血中に B 細胞系の表現系を有する特徴的な異型リンパ球が出現する事が明らかとなっている。白血球数の減少を特徴的な検査所見とする SFTS において、その発現が増加する異型リンパ球は SFTS の病態形成に何らかの役割を担う事が示唆される。本研究では、異型リンパ球の分化・誘導機序の解明を志し、ヒト末梢血単核球(hPBMC)を用いた新たな SFTSV 感染試験の開発を試みた。初代培養 hPBMC に SFTSV を感染させた結果、ウイルス感染 3~4 日目において特徴的な細胞増殖像が観察された。SFTSV 感染により増殖する細胞種を特定する為に、細胞形態の観察及びフローサイトメトリー法による表現型解析を実施した結果、B 細胞系の大型リンパ芽球が有意に増殖している

事が明らかとなった。これら B 細胞系の大型リンパ芽球は、SFTS 患者で観察される異型リンパ球と類似した特徴を有していた。今後、この大型リンパ芽球の解析を進めることにより SFTS の病態理解が進むことが期待できる。(和田雄治、相内 章、片野晴隆、佐野 芳、鈴木忠樹)

### Ⅲ. ワクチンに関する研究

#### 1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発

##### (1) 経鼻インフルエンザワクチンで誘導された広域中和抗体の多量体化による活性増強

経鼻インフルエンザワクチン接種によりヒト体内で誘導される抗体をモノクローナル抗体レベルで解析するために経鼻インフルエンザワクチン接種者の末梢血から形質芽細胞を単離した。単離した形質芽細胞の抗体遺伝子を解析したところ、インフルエンザウイルスに対する広域中和抗体でよく見られる遺伝子座由来の抗体が含まれていることを見出した。そこで、既報の広域中和抗体と同じ遺伝子座由来の抗体遺伝子をクローニングし、IgG もしくは IgA の骨格を有するリコンビナント抗体を作製した。その結果、インフルエンザウイルスに対する中和活性を有し、インフルエンザ広域中和抗体の標的部であるインフルエンザウイルスの抗原性タンパク質であるヘマグルチニン(HA)のステム領域に結合する抗体クローン、F11 を得た。F11 クローンおよび既報の抗 HA ステム抗体の IgA 状態における抗ウイルス活性を評価したところ、IgA 多量体化による抗 HA ステム抗体の活性変化は、抗体の可変領域と HA ステム上のエピトープとの間の結合だけでなく、IgA 抗体定常領域上に存在する糖鎖と HA の非特異的な結合により規定されることを明らかにした。(佐野 芳; 齊藤慎二[インフルエンザウイルス研究センター]、小谷 治[病原体ゲノム解析研究センター]、鈴木忠樹; 横山 勝、佐藤裕徳[病原体ゲノム解析研究センター]、上野智規、多賀祐喜[株式会社ニッピ]、van Riet E、相内 章、大原有樹、田畑耕史郎、藤井 信; 高橋宜聖[免疫部]、後藤希代子[株式会社ニッピ]、長谷川秀樹)

##### (2) 経鼻インフルエンザワクチンにおける細菌由来の外膜小胞(Outer membrane vesicle, OMV)の粘膜アジュバント活性の評価

プロバイオティクスとして海外で使用実績がある E. coli Nissle1917 株由来 OMV (EcN OMV)の、経鼻インフルエンザワクチンにおける粘膜アジュバント活性の可能性を既に見出している。EcN OMV を粘膜アジュバントとした際の副反応評価を目的とし、EcN OMV 投与による炎症反応を実験室株大腸菌 OMV 投与と評価した。各 OMV を肺に投与後、1 日ならびに 3 日後に肺の炎症像を病理学的に解析した結果、両者とも肺胞マクロファージならびに好中球を主体とする炎症細胞浸潤が認められたが、EcN OMV による炎症は実験室株由来の OMV と比較して軽度であった。FCM 解析により、肺組織内の好中球の割合を比較したところ、病理解析と同様に EcN OMV 投与群では好中球の割合が低かった。最後に、EcN OMV の投与を下気道、皮下、静脈経路で行った際、いずれも有意に体重減少を引き起こしたが、上気道投与では体重変化が認められなかった。(齋藤訓平、相内 章; 平山 悟、中尾龍馬[細菌第一部]、鈴木忠樹、長谷川秀樹)

#### 2. フラビウイルスワクチンの開発

##### VLP(Virus like particle)を用いた次世代デングウイルスワクチンの開発

近年、デングウイルス(DENV)ワクチンとして 遺伝子組み換え弱毒生ワクチンが海外で実用化されたが有効性は限定的である。さらに、安全性への懸念も指摘されており、より安全で効果の高い不活化ワクチンの開発が望まれている。一方、DENV は *in vitro* での増殖性が低く、培養細胞等で増殖させたウイルス粒子を抗原とする従来型の不活化ワクチンの製造は難しい。そこで、我々は DENV VLP を抗原とする DENV ワクチンの開発を目指し研究を進めている。まず、CHO 細胞を用いて DENV1 型 (デングウイルス 1 型) の VLP の恒常発現細胞株を樹立し、VLP 発現・精製系を確立した。次に、DENV VLP ワクチンを接種したマウスに対して、最終免疫から 2 週間後に抗インターフェロン AR1 抗体を腹腔に投与し、その翌日に DENV1 または DENV2 を腹腔内に接種し感染させることにより誘導された抗体の感染防御能を検討した。その結果、CHO 細胞を用いて製造された DENV1 VLP が、マウスにおいて免疫原性を有し、誘導された抗体は DENV1 特異的にウイルス中和能および

感染防御能を示すことが明らかとなった。さらに、DENV1 以外の型に対する VLP の作製・精製法の確立に成功した。これらの VLP を混合することにより 4 つの血清型全てに対して十分な血清中和抗体および感染防御能を誘導できる新たな DENV ワクチンの開発が期待できる。(藤井 信、鈴木忠樹、佐高明子、小島朝人、佐野 芳、相内 章、長谷川秀樹)

### 3. HTLV-1 ワクチンの開発

組換え Env タンパク質を抗原とした母子免疫を利用した HTLV-1 ワクチンの開発

HTLV-1 感染症のコントロールのために、HTLV-1 感染予防ワクチンの開発が求められている。Env タンパク質を抗原とした不活化ワクチン開発を目指し、実用的なワクチン抗原製造系として実績のある昆虫細胞タンパク質合成系を用いることで、既に組換え Env タンパク質の作製に成功している。BALB/c マウスの皮下に組換え Env タンパク質を 3 週間隔で 2 回接種し、さらに rEnv のみの追加ワクチン接種を行ったのちに交配を行った。出産・誕生後に母及び仔マウスの後経時的に得た血清中 IgG 抗体価を測定したところ、仔マウス血清には母マウス血清と比べて rEnv 特定の抗体価が高いことを明らかにした。(齋藤訓平、相内 章、鈴木忠樹、長谷川秀樹)

### 4. ムンプスワクチンの安全性に関する研究

マーモセットモデル系を用いたムンプスワクチンの安全性評価に必要な病理学的評価法を確立した。この評価系を用いて、弱毒ウイルス株の評価を行った。(永田典代、岩田奈織子、鈴木忠樹、高橋健太、長谷川秀樹;木所 稔 [ウイルス第三部])

### 5. 重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対するワクチンの開発

(1) 重症肺炎を引き起こす重症急性呼吸器症候群コロナウイルス(SARS-CoV)に対する感染防御を目的として、新規ワクチンの開発を行った。免疫原の SARS-CoV のスパイク(S)タンパク質の免疫原性向上と副反応を抑制するアジュバントの検討を行った。検討したアジュバントは、形状やサ

イズを変えることによって免疫応答を変化させる事ができる金ナノ粒子(AuNP)と UV 不活化 SARS-CoV ワクチンにおいて有効なアジュバントであることが以前に示されている Toll like receptor(TLR)アゴニストの二種類である。アジュバントなしで 0.5 $\mu$ g 以上の S タンパク質で免疫したマウスは、マウス馴化 SARS-CoV に感染後、重症化は免れたが肺の好酸球浸潤はほとんどすべての免疫したマウスで観察された。AuNP を添加した S タンパク質は強い抗原特異的 IgG 応答を誘導したが、高度なアレルギー性炎症応答に対するワクチン効果の改善や、好酸球浸潤を減少させることはできなかった。同様に非ワクチン免疫マウスと AuNPs ありまたはなしの S タンパク質で免疫したマウスでは、ウイルス力価が検出された。一方、TLR アゴニストを添加したワクチンは肺の好酸球浸潤がなく、高度な中和抗体と Th1/17 サイトカイン応答を誘導した。この結果、アジュバントによる特異的 T 細胞の活性化は有効なワクチン開発および SARS-CoV 感染による好酸球浸潤の抑制に重要な役割を持つと考えられる。(関向華子、岩田奈織子;福士秀悦[ウイルス第一部]、鈴木忠樹;新倉謙一[北海道大]、長谷川秀樹、永田典代)

(2) SARS-CoV 免疫-感染で見られた好酸球浸潤は他のコロナウイルスにも認められる現象なのか検証するため、SARS-CoV と同様にヒトに重症肺炎を引き起こす中東呼吸器症候群関連コロナウイルス(MERS-CoV)を用いて検証を行った。MERS-CoV 感染トランスジェニックマウスを用いて免疫-感染実験を行うと2回目免疫後の血清において S タンパク質単独免疫群では抗原特異的 IgG1 のみ上昇し、感染後には肺に好酸球浸潤が見られた。そしてサイトカイン、ケモカインのパターンについても、Th2 サイトカインの上昇が見られた。一方、TLR 添加タンパク質免疫群では IgG1 および IgG2a のどちらの上昇も認められ Th1/Th2 バランスの良い免疫応答だった。さらに感染後の肺の好酸球浸潤が阻止された。MERS-CoV においても、S タンパク質免疫後の感染で肺に好酸球浸潤が見られ、免疫病理機序は SARS-CoV の免疫-感染モデルと同様であった。さらにアジュバントとして TLR リガンドを加えることによって、感染後の好酸球浸潤を抑制できる可能性を示した。これらの結果は、

重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対する今後の新規ワクチン開発研究において重要な知見である。(関向華子、岩田奈織子; 福士秀悦[ウイルス第一部]、鈴木忠樹; 新倉謙一[北海道大]、長谷川秀樹、永田典代)

#### 6. 新型コロナウイルスに対するワクチン開発

新型肺炎 COVID-19 に対するワクチン開発のための SARS-CoV-2 感染モデルの確立を目的として、主な実験動物の感受性について検証あるいは情報収集を行った。まず、国内分離 5 株を用いて一年齢の BALB/c マウスに経鼻接種を行ったが、いずれの動物も明らかな体重変化を示さず、接種 3 日目の肺組織においても感染・増殖を示唆する所見はなかった。また、接種 3 週目の血清中の中和抗体価の上昇も検出されなかったため、免疫正常マウスを用いた分離株の感染モデルの作出は困難と判断した。一方で、SARS-CoV のウイルスレセプターであるヒト ACE2 遺伝子導入マウスの凍結受精卵を融解・移植し動物モデルの作出を準備した。さらに、カニクイザルを用いた感受性試験を計画・準備した。SARS-CoV-2 感受性の実験動物としてこれまでにマカク属サル、ネコ、フェレット、ハムスターおよびヒト ACE2 遺伝子導入マウスが中国の研究者より報告された。今後これらの動物を用いて、ワクチンの安全性を担保するための評価系の構築を行う。(永田典代、岩田奈織子、鈴木忠樹; 岡村匡史[国立国際医療研究センター]、清水博之[ウイルス第二部]、網 康至、須崎百合子[動物管理室]、長谷川秀樹)

### IV. プリオンに関する研究

#### 1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究

定型 BSE 罹患牛の発生頻度は世界的に収束傾向にある。しかしながら、その生化学的特徴が定型 BSE とは異なる非定型 BSE が報告されている。本邦においても 2 頭の L-type に分類される非定型 BSE 罹患牛が摘発されている。定型および L-type 非定型 BSE をカニクイザルに接種し、中枢神経系の感染病理学的な解析を行った。その結果、L-type BSE 由来プリオン接種サルでは、プリオン病を発症し、その病理像はヒトの sCJD と同様の組織像を示した。この特徴はサルでの 3 代継代後においても保存されていた。

一方、経口的に L-type BSE 由来プリオンを接種されたサルでは、経過観察中にプリオン病特異的な神経症状の発現は認められなかった。安楽殺後の病理学的検索によっても、プリオン病に特徴的な空胞変性をはじめとする変化や、プリオンの蓄積は認められなかった。このことより、L-type BSE 由来プリオンのヒトへの経口感染の可能性は低いことが示された。また、非定型 BSE に分類される H-type についてサルへの接種実験を行っている。(飛梅 実、佐藤由子)

#### 2. ウシ等由来原料の基準に関する研究

生物由来原料を用いる医薬品等については、最終製品の安全性を確保するため、薬事法に基づき、当該生物由来原料に対して細菌やウイルス安全性に係る基準(平成 15 年 5 月 20 日厚生労働省告示第 210 号生物由来原料基準)を定めている。一方、BSE 対策の結果、狂牛病罹患牛の国内および海外での発生件数は減少しており、生物由来原料基準の見直しが必要となった。ウシ諸臓器のリスク評価の結果、OIE 基準に基づいたリスク管理がなされていれば脾臓および胎盤のリスクは無視できるレベルであり、これらの使用基準を緩和してきた(薬生発 0228 第 1 号、平成 30 年 2 月 28 日付)。この検討で除外された諸臓器に対するリスク評価ならびに、生物由来原料のプリオン安全性評価を行うため、高感度の *in vitro* プリオン検出方法の改良、高感度化を進めている。(飛梅 実、佐藤由子; 萩原健一、中村優子[細胞科学部])

#### 3. CWD 調査

プリオン病の自然発生が知られている動物種として、ヒトや羊などに加えシカが知られている。シカにおけるプリオン病は慢性消耗性疾患(Chronic wasting disease: CWD)として知られており、水平ならびに垂直感染を誘導することが示唆されている。本邦での報告は無いが、北米ならびに韓国での摘発例が知られている。本邦の CWD 清浄確認のため、関東地方に生息するシカの一種であるキョンを対象とし疫学調査を行った。捕獲、殺処分を行った 86 頭のキョン中枢神経にプリオンは検出されなかった。今後、シカ種及

び検査頭数の拡大を行い、調査を継続する。(飛梅 実、佐藤由子)

## V. 厚生労働省共同利用機器の運用

### 1. Regulus8220 形走査電子顕微鏡の運用

本年度も順調に運用された。本年度中に処理した検体数は 314 検体で、その内訳は感染研内部 275 検体(戸山庁舎:246 検体、村山庁舎:22 検体、ハンセン研:7 検体)、共同研究 39 検体であった。(小林宏尚)

### 2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

本年度中の依頼数は 60 件で、樹脂包埋検体数 36 検体、ネガティブ染色数 195 検体であった。(片岡紀代)

### 3. 見学者対応

本年度の電顕室見学者の対応は 17 回、164 名であった。公務員が 24 名、学生 97 名、一般 27 名、外国人 16 名であった。(片岡紀代、小林宏尚)

## VI. 機器管理運営委員会機器の運用

### 1. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

本年度の透過型電子顕微鏡利用は 37 件(ネガティブ染色数 113)であった。検索依頼者は、ウイルス第一部、ウイルス第二部、ウイルス第三部、農工大学であった。

また、本年度も Robert Koch 研究所主催の電子顕微鏡学的ウイルス診断の外部評価(External Quality Assurance Scheme in EM Virus Diagnosis EQA-EMV)に参加したが、新型コロナ対応のため回答期限を越えたため結局、未回答となった。

11 月に実施した東京農工大学大学院の先端実践演習において透過型電子顕微鏡を用いた病原体検出の実習を行った。(令和元年 11 月 20-22 日、於:村山庁舎、後述)(片岡紀代、小林宏尚、岩田奈織子、永田典代、長谷川秀樹)

## 品質管理に関する業務

### 1. 検定検査

なし

### 2. 行政検査

(1) 伝達性海綿状脳症(TSE)スクリーニング検査に関する外部精度管理試験の実施

TSE スクリーニング検査を実施している国内の検査機関に対して、厚生労働省・医薬食品局食品安全部監視安全課からの依頼により、健常マウスおよびスクレーパー感染マウスの脳乳剤を標準検体とした精度管理試験を実施した。また、精度管理について北海道大学、帯広畜産大学および国立感染症研究所の 3 施設で、これまでに収集したウシ標本を用いたブラインドテストを行い、プリオン検査手技、試薬に問題はないことを確認した。(飛梅 実、佐藤由子、長谷川秀樹;萩原健一、中村優子、花田賢太郎[細胞化学部])

(2) 疑似症事例の解析、及び、新型コロナウイルスの PCR 検査の実施

原因不明感染症例の検体について、原因微生物の同定を目的に行政検査を行った。地方衛生研究所等で検索したにもかかわらず、有意な病原体が検出されなかった症例の血液、髄液、病理組織などについて、リアルタイム PCR を応用したウイルス、細菌、真菌等の網羅的検索を行った。また、2020 年に入ってから新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の PCR 検査も行ない、行政から依頼のあった検体の一部について PCR 検査を行った。本年度は原因不明感染症例と合わせて 9 例の行政検査を行った。(片野晴隆、中島典子、菅野隆行、長谷川秀樹、鈴木忠樹)

## 国際協力関係業務

### 1. 永田典代;李 天成[ウイルス第二部]

東京農工大学大学院(博士課程)共同獣医学専攻 連携大学院 2019 年度先端実践演習(獣医公衆衛生学)「新興・再興ウイルス感染症研究」を実施した。3 名のバングラデシュからの留学生を受け入れた。(令和元年 11 月 20-22 日、於:村山庁舎)

### 2. 中島典子

ベトナム国立小児病院において急性呼吸器感染症の診断および病理学的解析に関する連携研究・技術指導を行った。

エジプトのスエズ運河大学(イスマイリア)、スエズ大学(スエズ)において、インフルエンザウイルス型・亜型迅速診断に関する連携研究・技術指導を行った。また感染研にて、インフルエンザウイルス抗体のELISA法の技術指導を行った。

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Park ES, Shimojima M, Nagata N, Ami Y, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Watanabe S, Kurosu T, Kataoka M, Okutani A, Kimura M, Imaoka K, Hanaki K, Suzuki T, Hasegawa H, Saijo M, Maeda K, Morikawa S. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Phlebovirus causes lethal viral hemorrhagic fever in cats. *Sci Rep*. 9(1):11990. 2019.
- 2) Kawai Y, Nakayama E, Takahashi K, Taniguchi S, Shibasaki KI, Kato F, Maeki T, Suzuki T, Tajima S, Saijo M, Lim CK. Increased growth ability and pathogenicity of American- and Pacific-subtype Zika virus (ZIKV) strains compared with a Southeast Asian-subtype ZIKV strain. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019. 13(6):e0007387. 2019.
- 3) Xue H, Sun L, Fujimoto H, Suzuki T, Takahashi Y, Ohnishi K. Artificial immunoglobulin light chain with potential to associate with a wide variety of immunoglobulin heavy chains. *Biochem Biophys Res Commun*. 515(3):481-486. 2019.
- 4) Sun L, Kono N, Toh H, Xue H, Sano K, Suzuki T, Ainai A, Orba Y, Yamagishi J, Hasegawa H, Takahashi Y, Itamura S, Ohnishi K. Identification of Mouse and Human Antibody Repertoires by Next-Generation Sequencing. *J Vis Exp*. (145). 2019.
- 5) Sato T, Nishida H, Goto M, Sho Y, Yamate T, Daa T, Yokoyama S, Kurosawa K, Matsunari O, Sakamoto T, Matsumoto H, Suzuki T, Hasegawa H, Takeo N, Hatano Y. Cutaneous histopathology of the tick-bite region in severe fever with thrombocytopenia syndrome. *J Dermatol*. 46(5):409-412. 2019.
- 6) Takahashi T, Suzuki T, Hiroshige S, Nouno S, Matsumura T, Tominaga T, Yujiri T, Katano H, Hasegawa H. Transient Appearance of Plasmablasts in the Peripheral Blood of Japanese Patients with Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome. *J Infect Dis*. 220(1):23-27. 2019.
- 7) Saito S, Sano K, Suzuki T\*, Ainai A, Taga Y, Ueno T, Tabata K, Saito K, Wada Y, Ohara Y, Takeyama H, Odagiri T, Kageyama T, Ogawa-Goto K, Multihartina P, Setiawaty V, Pangesti KNA, Hasegawa H. IgA tetramerization improves target breadth but not peak potency of functionality of anti-influenza virus broadly neutralizing antibody. *PLoS Pathog*. 15(1):e1007427. 2019. \*Corresponding author
- 8) Akkina R, Garry R, Br  chot C, Ellerbrok H, Hasegawa H, Men  ndez-Arias L, Mercer N, Neyts J, Romanowski V, Segal  s J, Vahlne A. 2019 meeting of the global virus network. *Antiviral Res*. 172:104645. 2019.
- 9) Adachi Y, Tonouchi K, Nithichanon A, Kuraoka M, Watanabe A, Shinnakasu R, Asanuma H, Ainai A, Ohmi Y, Yamamoto T, Ishii KJ, Hasegawa H, Takeyama H, Lertmemongkolchai G, Kurosaki T, Ato M, Kelsoe G, Takahashi Y. Exposure of an occluded hemagglutinin epitope drives selection of a class of cross-protective influenza antibodies. *Nat Commun*. 10(1):3883. 2019.
- 10) Tateishi K, Fujihashi K, Yamamoto N, Hasegawa H, Ainai A, Sato K, Iho S, Yamamoto S, Maeyama JJ, Odagiri T, Asanuma H. CpG ODN G9.1 as a novel nasal ODN adjuvant elicits complete protection from influenza virus infection without causing inflammatory immune responses. *Vaccine*. 37(36):5382 -5389. 2019.

- 11) Yamagishi M, Hori M, Fujikawa D, Ohsugi T, Honma D, Adachi N, [Katano H](#), Hishima T, Kobayashi S, Nakano K, Nakashima M, Iwanaga M, Utsunomiya A, Tanaka Y, Okada S, Tsukasaki K, Tobinai K, Araki K, Watanabe T, Uchimar K. Targeting Excessive EZH1 and EZH2 Activities for Abnormal Histone Methylation and Transcription Network in Malignant Lymphomas. *Cell Rep.* 29(8):2321-2337 e2327. 2019.
- 12) Kurosawa S, Sekiya N, Fukushima K, Ikeuchi K, Fukuda A, Takahashi H, Chen F, [Hasegawa H](#), [Katano H](#), Hishima T, Setoguchi K. Unusual manifestation of disseminated herpes simplex virus type 2 infection associated with pharyngotonsillitis, esophagitis, and hemophagocytic lymphohistiocytosis without genital involvement. *BMC Infect Dis.* 19(1):65. 2019.
- 13) Kobayashi K, Asakura T, Kawada I, [Hasegawa H](#), Chubachi S, Ohara K, Kuramoto J, Sugiura H, Fujishima S, Iwata S, Umeyama T, [Katano H](#), Uwamino Y, Miyazaki Y, Kamei K, Hasegawa N, Betsuyaku T. Disseminated histoplasmosis from a calcified lung nodule after long-term corticosteroid therapy in an elderly Japanese patient: A case report. *Medicine (Baltimore).* 98(17):e15264. 2019.
- 14) Kikuchi T, Arai M, Koda Y, Kato J, Shimizu T, [Katano H](#), Fujii-Nishimura Y, Sakamoto M, Ebinuma H, Nakamoto N, Kanai T, Okamoto S, Mori T. Late-onset visceral varicella-zoster virus infection presented as acute liver failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis.* (4):e13121. 2019.
- 15) Feng H, [Nakajima N](#), Wu L, Yamashita M, Lopes TJS, Tsuji M, [Hasegawa H](#), Watanabe T, Kawaoka Y. A Glycolipid Adjuvant, 7DW8-5, Enhances the Protective Immune Response to the Current Split Influenza Vaccine in Mice. *Front Microbiol.* 10:2157. 2019.
- 16) Nonaka K, Matsuda Y, Kakizaki M, Takakuma S, Hamamatsu A, Sakashita Y, Matsubara T, Murayama S, Ishiwata T, Yamanaka N, Itabashi M, Takei T, [Nakajima N](#), [Hasegawa H](#), Arai T. Acute Liver Failure Associated with Influenza A Virus Infection: an Autopsy Case Report. *Jpn J Infect Dis.* 72(5):347-349. 2019.
- 17) [Kataoka M](#), Ishida K, Ogasawara K, Nozaki T, Satoh YI, Sata T, [Sato Y](#), [Hasegawa H](#), [Nakajima N](#). Serial Section Array Scanning Electron Microscopy Analysis of Cells from Lung Autopsy Specimens following Fatal A/H1N1 2009 Pandemic Influenza Virus Infection. *J Virol.* 93(19):e00644-19. 2019.
- 18) Tian D, Uda A, Ami Y, Hotta A, Park ES, [Nagata N](#), [Iwata-Yoshikawa N](#), Yamada A, Hirayama K, Miura K, Koyama Y, Azaki M, Morikawa S. Protective effects of the Francisella tularensis  $\Delta$ pdpC mutant against its virulent parental strain SCHU P9 in Cynomolgus macaques. *Sci Rep.* 9(1):9193. 2019.
- 19) Nakauchi M, [Nagata N](#), Takayama I, Saito S, Kubo H, Kaida A, Oba K, Odagiri T, Kageyama T. Propagation of Rhinovirus C in Differentiated Immortalized Human Airway HBEC3-KT Epithelial Cells. *Viruses.* 11(3):216. 2019.
- 20) [Zhang Y](#), Tada T, [Ozono S](#), Yao W, [Tanaka M](#), Yamaoka S, Kishigami S, Fujita H, [Tokunaga K](#) (Corresponding author). Membrane-associated RING-CH (MARCH) 1 and 2 are MARCH family members that inhibit HIV-1 infection. *J. Biol. Chem.* 294:3397-3405. 2019.
- 21) [Zhang Y](#), [Ozono S](#), Yao W, [Tobiume M](#), Yamaoka S, Kishigami S, Fujita H, [Tokunaga K](#) (Corresponding author). CRISPR-mediated activation of endogenous BST-2/tetherin expression inhibits wild-type HIV-1 production. *Sci. Rep.* 9:3134. 2019.
- 22) Hagiwara K, [Sato Y](#), Yamakawa Y, Hara H, [Tobiume M](#), Okemoto-Nakamura Y, Sata T, Horiuchi M, Shibata H, Ono F. Tracking and clarifying differential traits of classical- and atypical L-type bovine spongiform encephalopathy prions after transmission

- from cattle to cynomolgus monkeys. PLoS One. 14(5):e0216807. 2019.
- 23) Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Kotani O, Sato H, Sekimukai H, Fukushi S, Suzuki T, Sato Y, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. Acute respiratory infection in human dipeptidyl peptidase 4-transgenic mice infected with Middle East respiratory syndrome coronavirus. J Virol. 93(6):e01818-18. 2019.
- 24) Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Hasegawa H, Takeda M, Nagata N. TMPRSS2 contributes to virus spread and immunopathology in the airways of murine models after coronavirus infection. J Virol. 93(6) :e01815-18. 2019.
- 25) Shirato K, Melaku SK, Kawachi K, Nao N, Iwata-Yoshikawa N, Kawase M, Kamitani W, Matsuyama S, Tessema TS, Sentsui H. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus in Dromedaries in Ethiopia Is Antigenically Different From the Middle East Isolate EMC. Front Microbiol. 10:1326. 2019.

## 2. 和文発表

- 1) 鈴木忠樹, 長谷川秀樹. IgA 抗体によるインフルエンザウイルス感染防御. ウイルス. 69(2):153-160. 2019.
- 2) 長谷川秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンで誘導される分泌型 IgA 抗体の役割. 炎症と免疫. 27(2):109-114. 2019.
- 3) 長谷川秀樹, 田村慎一. インフルエンザワクチンの現状. 呼吸器内科. 35(1):97-101. 2019.
- 4) 菅野恭子, 堀 仁子, 本間 大, 片野晴隆, 山本明美. 関節リウマチ患者に生じた VZV 感染による肉芽腫性血管炎の 1 例. 日本皮膚科学会雑誌. 12:2519-2524. 2019.
- 5) 岡村直之, 丹羽宏文, 松山かなこ, 永井美貴, 片野晴隆, 清島真理子. 放射線治療が有効であった Merkel 細胞癌の 1 例. 皮膚科の臨床. 61:1307-1311. 2019.
- 6) 中島典子. 肺炎が原因で発症した急性呼吸促迫症候群の病原体と予後予測因子の検討. 小児科. 60(10):1409-1418. 2019.
- 7) 高橋健太, 鈴木忠樹, 片野晴隆, 長谷川秀樹. 病理の立場から見た急性脳炎・脳症. 病原微生物検出情報. 40 (6) (No. 472): 7 (99)-8(100). 2019.

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Sano K, Saito S, Suzuki T, Kotani O, van Riet E, Ainai A, Tabata K, Takahashi Y, Yokoyama M, Sato H, Hasegawa H. An Influenza HA-stalk Reactive IgA Antibody Induced by Intranasal Inactivated Influenza Vaccine Exhibits Anti-viral Function by Steric Hindrance of HA and NA. 11<sup>th</sup> International Global Virus Network Meeting. (Spain) 2019.6.
- 2) Nakajima N. Pathological findings of severe respiratory virus infections. Pediatric Scientific Conference celebrating the 50th Anniversary of Vietnam National Children's Hospital. (Vietnam) 2019.7.
- 3) Lun CM, Waheed AA, Tokunaga K, Freed EO. How do membrane-associated-RING-CH (MARCH) proteins target viral envelope glycoproteins? 138th Annual ASV Meeting. (USA) 2019.7.
- 4) Sano K, Saito S, Suzuki T, Kotani O, van Riet E, Ainai A, Tabata K, Takahashi Y, Yokoyama M, Sato H, Hasegawa H. HA-stalk Reactive Secretory IgA Antibodies Exhibit Anti-viral Activity by Steric Hindrance of Viral HA and NA. Options X for the Control of Influenza. (Singapore) 2019.8.
- 5) Iwatsuki-Horimoto K, Nakajima N, Kiso M, Takahashi K, Ito M, Inoue T, Horiuchi M, Okahara N, Sasaki E, Hasegawa H, Kawaoka Y. The marmoset as an animal model of influenza. OPTIONS X for the Control of Influenza. (Singapore) 2019.8.
- 6) Kataoka M, Ishida K, Ogasawara K, Nozaki T, Sato Y, Hasegawa H, Nakajima N. Three-dimensional ultrastructural analysis of cells from lung autopsy case of A/H1N1pdm09 Influenza Virus Infection. OPTIONS X for the Control of Influenza. (Singapore) 2019.8.
- 7) Saito K, Ainai A, Hirayama S, Suzuki T, Nakao R,

- Hasegawa H. The assessment of outer membrane vesicles derived from Escherichia Coli Nissle 1917 as a novel mucosal adjuvant for intranasal inactivated influenza vaccine. 13th Vaccine Congress. (Thailand) 2019.9.
- 8) Ainai A, Saito K, Suzuki T, Hasegawa H. The immunogenicity of recombinant HTLV-1 envelope protein purified from a baculoviral expression system in mice. 13th Vaccine Congress. (Thailand) 2019.9.
- 9) Tokunaga K (invited speaker). The host antiviral factor MARCH8 and its family members. The 8th Wuhan International Symposium on Modern Virology. (China) 2019.9.
- 10) Tokunaga K (invited speaker). MARCH8 targets a variety of viral envelope glycoproteins. France-Japan symposium on HIV and hepatitis research. (France) 2019.10.
2. 国内学会
- 1) Ainai A, Hasegawa H. Outer membrane vesicles as mucosal adjuvant in the intranasal influenza vaccine. 第 92 回日本細菌学会総会. (札幌) 2019.4.
- 2) 砂川恵伸, 野守裕明, 笹澤裕樹, 立花 由, 上紙 航, Bychkov Andrey, 柘澤容子, 堀 隆, 福岡順也, 片野晴隆. 病理学のおよび遺伝子検索により確定した結核症の 2 例. 第 108 回日本病理学会総会. (東京) 2019.5.
- 3) 辻 隆裕, 岩崎沙理, 牧田啓史, 石立尚路, 見附明彦, 原田 浩, 高橋健太, 中道一生, 深澤雄一郎. JC ウイルス調節領域配列の再構成を伴う移植腎 JCV 腎症の 1 例. 第 108 回日本病理学会総会. (東京) 2019.5.
- 4) 鈴木忠樹. 臨床検体を軸とするウイルス感染症の病理学研究. ウイルス研究の潮流シリーズ<ウイルス・再生医学研究所セミナー, ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点セミナー, 日本学術振興会研究拠点形成事業セミナー>. (京都) 2019.6.
- 5) 奈古利恵, 福本 瞳, 長谷川秀樹, 佐伯秀久, 片野晴隆. Functions of large T antigen of Trichodysplasia-spinulosa associated polyomavirus. 第 118 回日本皮膚科学会総会. (名古屋) 2019.6.
- 6) 齋藤訓平, 相内 章, 鈴木忠樹, 西山千春, 長谷川秀樹. バキュロウイルス発現系による組換え HTLV-1 Env タンパク質はワクチン抗原として特異的抗体応答を誘導する. 第 6 回日本 HTLV-1 学会学術集会. (宮崎) 2019.8.
- 7) 白戸憲也, Melaku SK, 河内健吾, 直 亨則, 岩田奈織子, 川瀬みゆき, 神谷 亘, 松山州徳, Tessema TS, 泉 對博. エチオピアのヒトコブラクダから分離された中東呼吸器症候群コロナウイルスの抗原性は中東分離株である EMC 株と異なる. 第 162 回日本獣医学会学術集会. (筑波) 2019.9.
- 8) Park ES, 下島昌幸, 吉河智城, 永田典代, 岩田奈織子, 鈴木忠樹, 渡辺俊平, 黒須 剛, 網 康至, 和田雄治, 野口 章, 西條政幸, 前田 健, 森川 茂. ネコの SFTSV ワクチンの開発. 第 162 回日本獣医学会学術集会. (筑波) 2019.9.
- 9) 林 昌宏, 谷口 怜, Muhammad Azami NA, 網 康至, 鈴木忠樹, モイ メンリン, 須崎百合子, 永田典代, 岩田奈織子, 前木孝洋, 田島 茂, 高崎智彦, 倉根一郎, 西條政幸. ジカウイルス垂直感染動物モデルとしてのジカウイルス感染妊娠マウスの有用性の評価. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 10) 菅野隆行, 佐藤由子, 佐野 芳, 鈴木忠樹, 長谷川秀樹, 片野晴隆. KSHV vIL-6 の大量合成と新規モノクローナル抗体の作成. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 11) Phanthanawiboon S, Shimajima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Watanabe S, Nagata S, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Okuzaki D, Saijo M, Kurosu T. Flavivirus infection induces suppression of megakaryo-erythro cells in bone marrow. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 12) 齋藤訓平, 相内 章, 平山 悟, 鈴木忠樹, 西山千春, 中尾龍馬, 長谷川秀樹. 経鼻不活化インフルエンザワクチンにおける大腸菌 Nissle1917 株外膜小胞の粘膜アジュバントとしての評価. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.

- 13) 高橋 徹, 鈴木忠樹, 片野晴隆, 佐藤由子, 長谷川秀樹, 能野翔太, 松村卓郎, 酒井康平, 富永貴元. SFTS 患者の末梢血において急性期に一過性に出現する異型リンパ球は形質芽細胞である. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 14) 奥谷公亮, 吉田玲子, マンズール ラシッド, 齊藤慎二, 鈴木忠樹, 市居 修, 東 秀明, 高田礼人. A 型インフルエンザウイルスに対する交差感染防御免疫への非中和 IgA 抗体の役割. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 15) Suzuki T, Sato Y, Sano K, Arashiro T, Katano H, Takahashi K, Wada Y, Kataoka M, Nakajima N, Morikawa S, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Saijo M, Hasegawa H. B cells with immunophenotypic resemblance to plasmablasts are main viral targets in human lethal SFTSV infection. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 16) Nakayama E, Kato F, Tajima S, Ogawa S, Yan K, Shibasaki K, Takahashi K, Sato Y, Suzuki T, Taniguchi S, Kawai Y, Le T, Tang B, Prow N, Maeki T, Lim CK, Khromykh A, Suhrbier A, Saijo M. The virulence of the MR766 strain of Zika virus in IFNAR<sup>-/-</sup> mice maps to prM residues conserved amongst African genotype viruses. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 17) 和田雄治, ブレンナン ベンジャミン, コール アライン, 佐野 芳, 相内 章, 長谷川秀樹, 鈴木忠樹. SFTSV のヌクレオカプシドタンパク質と相互作用する宿主タンパク質の解析. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 18) Sano K, Saito S, Suzuki T, Kotani O, van Riet E, Ainaï A, Tabata K, Takahashi Y, Yokoyama M, Sato H, Hasegawa H. Anti-viral Functions by Steric Hindrance of HA and NA Observed in an Intranasal Vaccine Derived Influenza HA-stalk Reactive IgA Antibody. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 19) 相内 章, 齋藤訓平, 鈴木忠樹, 長谷川秀樹. 組換え HTLV-1 Env タンパク質の免疫で誘導された移行抗体の評価. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 20) 奈古利恵, 福本 瞳, 片岡紀代, 李 天成, 松永智子, 梁 明秀, 長谷川秀樹, 佐伯秀久, 片野晴隆. Establishing in vitro-replication system for Trichodysplasia-spinulosa associated polyomavirus. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 21) 永田典代, 宮崎 誠, 斎藤博之, 柴田ちひろ, ドウアン イェンハイ, 荒尾雄二郎, 岩田(吉河)奈織子, 清水博之, 長谷川秀樹. マウスモデルにおけるエンテロウイルス D68 の神経病原性. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 22) Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Ami Y, Kurosu T, Harada T, Suzuki T, Fukushi S, Sugimoto S, Morikawa S, Nagata N, Shimojima M, Saijo M. Vaccine efficacy of a recombinant LC16m8 expressing SFTS virus genes in a non-human primate model of SFTS. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 23) 関向華子, 岩田奈織子, 福士秀悦, 福間藍子, 谷 英樹, 長谷川秀樹, 永田典代. 重症肺炎を引き起こすヒトコロナウイルスの新規ワクチン開発. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 24) Park E, Shimojima M, Yoshikawa T, Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Ainaï A, Watanabe S, Kurosu T, Ami Y, Noguchi A, Wada Y, Imaoka K, Saijo M, Hasegawa H, Maeda K, Morikawa S. Development of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) vaccine for cats. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 25) Ozono S, Zhang Y, Tobiume M, Kishigmai S, Tokunaga T. Super-rapid quantitation of production of HIV-1 with a luminescent peptide tag. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.
- 26) Zhang Y, Tada T, Ozono S, Tobiume M, Kishigmai S, Fujita H, Tokunaga K. The host transmembrane protein MARCH8 targets various viral envelope glycoproteins. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (東京) 2019.10.

- 27) 高橋健太. 中枢神経感染症の病理. 第24回日本神経感染症学会総会・学術大会 (東京) 2019.10.
- 28) Tokunaga K (invited speaker). The host antiviral factor MARCH8 and its family members. 第20回熊本エイズセミナー. (熊本) 2019.11.
- 29) 齋藤訓平, 相内 章, 平山 悟, 鈴木忠樹, 西山千春, 長谷川秀樹. 経鼻不活化インフルエンザワクチンにおける大腸菌 Nissle 1917 株外膜小胞の粘膜アジュバントとしての利用. 第23回日本ワクチン学会学術集会. (東京) 2019.11.
- 30) 佐野 芳, 黒澤信幸, 齋藤慎二, 相内 章, 鈴木忠樹, 磯部正治, 長谷川秀樹. 経鼻接種型不活化ワクチンと皮下接種型不活化ワクチンにより誘導された抗インフルエンザ抗体の質についての比較解析. 第23回日本ワクチン学会学術集会. (東京) 2019.11.
- 31) 相内 章, 齋藤訓平, 鈴木忠樹, 長谷川秀樹. 組換え HTLV-1 Env タンパク質のマウスにおける抗体誘導能の検討. 第23回日本ワクチン学会学術集会. (東京) 2019.11.
- 32) 長谷川秀樹. HTLV-1 ワクチン開発の現状について. 2019年世界 HTLV デー記念講演会. (東京) 2019.11.
- 33) 鈴木忠樹. 抗体遺伝子レパトア解析による SFTS 発症機構の探索. J-Pride 研究成果発表会 重症・難治性感染症の理解と予防・治療法の開発に向けて～若手研究者たちの挑戦～. (東京) 2019.11.
- 34) 河内正治, 中島典子, 平田直之, 相内 章, Ngo DT, Phan PH, Phung TTB, Tran DM, Le HT. 小児重症 ARDS に対する rTM 投与の効果-ハノイ国立小児病院との重症 ARDS-rTM 共同研究の成果より. 第25回 MPO 研究会. (東京) 2019.11.
- 35) 藤田英明, Menezes JCJMS, 藤井佑樹, 本川智紀, 徳永研三. 色素細胞におけるチロシナーゼタンパク質分解機構. 第29回日本色素細胞学会. (岡山) 2019.11.
- 36) 大園誠也, 張 延昭, 飛梅 実, 岸上哲士, 徳永研三. HiBiT ペプチドタグを利用した超迅速 HIV-1 定量系の樹立. 第33回日本エイズ学会学術集会・総会. (熊本) 2019.11.
- 37) 和田雄治, 鈴木忠樹, 相内 章, 佐野 芳, 齋藤訓平, 片野晴隆, 長谷川秀樹. ヒト由来末梢血単核球を用いて、SFTSV 感染がリンパ球集団に及ぼす影響を評価する. 第42回日本分子生物学会年会. (福岡) 2019.12.
- 38) 田畑耕史郎, 鈴木忠樹, 佐野 芳, 齋藤慎二, 相内 章, 大場靖子, 長谷川秀樹, 澤 洋文. In vitro における四量体分泌型 IgA 抗体形成機構の解明. 第42回日本分子生物学会年会. (福岡) 2019.12.
- 39) 張 延昭, 多田卓哉, 大園誠也, 飛梅 実, 岸上哲士, 藤田英明, 徳永研三. 宿主膜タンパク質 MARCH8 は種々のウイルスエンベロープ糖タンパク質を標的とする. 第42回日本分子生物学会年会. (福岡) 2019.12.