

病理学第二

1 構成員

| | 平成16年3月31日現在 |
|----------------|--------------|
| 教授 | 1人 |
| 助教授 | 1人 |
| 講師（うち病院籍） | 0人（0人） |
| 助手（うち病院籍） | 1人（0人） |
| 医員 | 0人 |
| 研修医 | 0人 |
| 特別研究員 | 0人 |
| 大学院学生（うち他講座から） | 0人（0人） |
| 研究生 | 1人 |
| 外国人客員研究員 | 0人 |
| 技官（教務職員を含む） | 2人 |
| その他（技術補佐員等） | 3人 |
| 合 計 | 9人 |

2 教官の異動状況

- 筒井 祥博（教授）（H6.4.1～現職）
 馬場 聡（助教授）（H10.2.1～H15.6.30）
 小杉伊三夫（助教授）（H5.4.1～助手 H15.11.1～現職）
 土田 孝（助手）（H12.8.1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

| | 平成15年度 |
|---------------------|--------|
| (1) 原著論文数（うち邦文のもの） | 4編（1編） |
| そのインパクトファクターの合計 | 7.53 |
| (2) 論文形式のプロシーディングズ数 | 0編 |
| (3) 総説数（うち邦文のもの） | 2編（2編） |
| そのインパクトファクターの合計 | 0 |
| (4) 著書数（うち邦文のもの） | 1編（1編） |
| (5) 症例報告数（うち邦文のもの） | 4編（0編） |
| そのインパクトファクターの合計 | 6.37 |

(1) 原著論文（当該教室所属の者に下線）

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Li R-Y, Kosugi I, Tsutsui Y: Activation of murine cytomegalovirus immediate-early pro-

moter in mouse brain after transplantation of the neural stem cells. Acta Neuropathol (Berl) 107 : 406-412, 2004.

2. Kawasaki H, Tsutsui Y : Brain slice culture for analysis of developmental brain disorders with special reference to congenital cytomegalovirus infection. Congenit Anom Kyoto 43 (2) : 105-113, 2003.
3. Arai Y, Ishiwata M, Baba S, Kawasaki H, Kosugi I, Li R-Y, Tsuchida T, Miura K, Tsutsui Y : Neuron-specific Activation of Murine Cytomegalovirus Early Gene e1 Promoter in Transgenic mice. Am J Pathol 163 (2) : 643-652, 2003.
4. 金田正昭, 小杉伊三夫, 筒井祥博 : 免疫複合体を用いた免疫二重染色法の改良. 病理と臨床 21 (9) : 1047-1050, 2003.

インパクトファクターの小計 [7.53]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(2) 論文形式のプロシーディングズ

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(3) 総 説

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 筒井祥博, 小杉伊三夫 : サイトメガロウイルスによる脳障害の発生機序. 感染・炎症・免疫 33(3) : 176-186, 2003.

2. 筒井祥博 : サイトメガロウイルスによる神経病原性. ウイルス53(1) : 31-40, 2003.

インパクトファクターの小計 [0.00]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(4) 著 書

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 筒井祥博：3. 基本的技術 (12) 細胞内注入法 1) マイクロインジェクション. 廣川「生物薬科学実験講座」第6巻「細胞の増殖と成長因子 [I] 細胞周期の解析」(井出利憲・編集) 廣川書店85-95, 2003.

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究)

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(5) 症例報告

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究)

1. Han G, Miura K, Takayama T, Tsutsui Y : Primary prostatic endodermal sinus tumor (york sac tumor) combined with a small focal seminoma. Am J Surg Pathol 27 (4) : 554-559, 2003.
2. Miura K, Kum YS, Han G, Tsutsui Y : Radiation-induced laryngeal angiosarcoma after cervical tuberculosis and squamous cell carcinoma : Case report and review of the literature. Pathol Int 53 : 710-715, 2003.
3. Watanabe-Suzuki K, Suzuki O, Nozawa H, Kosugi I, Ishii A : Traumatic basal subarachnoid haemorrhage caused by the impact of a golf ball : a case report. Med Sci Law 43 (2) : 174-178, 2003.

インパクトファクターの小計 [5.43]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Shinmura Y, Miura K, Yajima S, Tsutsui Y : Sacrococcygeal chordoma in infancy showing an aggressive clinical course : An autopsy case report. Pathol Int 53 : 473-477, 2003.

インパクトファクターの小計 [0.94]

4 特許等の出願状況

| | |
|---------------|--------|
| | 平成15年度 |
| 特許取得数 (出願中含む) | 0件 |

5 医学研究費取得状況

| | |
|----------------|------------|
| | 平成15年度 |
| (1) 文部科学省科学研究費 | 2件 (780万円) |

| | |
|--------------------|------------|
| (2) 厚生科学研究費 | 0件 (0万円) |
| (3) 他政府機関による研究助成 | 0件 (0万円) |
| (4) 財団助成金 | 0件 (0万円) |
| (5) 受託研究または共同研究 | 2件 (750万円) |
| (6) 奨学寄附金その他(民間より) | 0件 (0万円) |

(1) 文部科学省科学研究費

- 筒井祥博(代表者) 基盤研究(B) (2) 「発育期ウイルス性脳障害における神経病原性の発生機序に関する研究」670万円(継続)
- 土田 孝(代表者) 若手研究(B) 「リボザイム導入トランスジェニックマウスによるサイトメガロウイルス感染抑制の試み」110万円(継続)

(5) 受託研究または共同研究

- 筒井祥博(代表者)・小杉伊三夫(分担者) 三菱ウェルファーマ(株)蛋白医薬研究所 「サイトメガロウイルス(CMV) 胎内感染に対する抗体の予防・治療効果」150万円(継続)
- 筒井祥博(代表者) 病理組織標本を用いた研究 「病理組織診断の研究への応用」600万円(継続)

6 特定研究などの大型プロジェクトの代表, 総括

7 学会活動

| | 国際学会 | 国内学会 |
|-----------------|------|------|
| (1) 特別講演・招待講演回数 | 0件 | 0件 |
| (2) シンポジウム発表数 | 0件 | 0件 |
| (3) 学会座長回数 | 0件 | 3件 |
| (4) 学会開催回数 | 0件 | 0件 |
| (5) 学会役員等回数 | 0件 | 5件 |
| (6) 一般演題発表数 | 2件 | |

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

口頭発表

- Kosugi I, Tsutsui Y: Effects of murine cytomegalovirus IE1 protein on the growth and differentiation of neural stem/ progenitor cells. The 9th International Cytomegalovirus Workshop, 2003.5.20-25, Maastricht, Netherlands.

ポスター発表

- Kawasaki H, Arai Y, Kosugi I, Tsutsui Y: Susceptibility to murine cytomegalovirus infection is determined by the amount of immature neural cells in the subventricular zone and

cortical marginal zone in brain slice cultures. The Teratology Society 43rd Annual Meeting & 27th Annual Meeting of the Neurobehavioral Teratology Society, 2003.6.21-26, Pennsylvania, USA.

(2) 国内学会の開催・参加

4) 座長をした学会名

1. 筒井祥博：第92回日本病理学会総会
2. 筒井祥博：第7回日本神経ウイルス研究会
3. 筒井祥博：第43回日本先天異常学会学術集会

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

1. 筒井祥博：日本先天異常学会理事
2. 筒井祥博：日本病理学会評議員
3. 筒井祥博：日本神経病理学会評議員
4. 筒井祥博：日本ウイルス学会評議員
5. 馬場 聡：日本病理学会評議員

8 学術雑誌の編集への貢献

| | 国内 | 外国 |
|-------------------|----|----|
| 学術雑誌編集数（レフリー数は除く） | 3件 | 1件 |

(1) 国内の英文雑誌の編集

1. 筒井祥博 Pathology International（日本病理学会），編集委員，登録有り，インパクトファクター0.94
2. 筒井祥博 Congenital Anomalies（日本先天異常学会），編集長，登録有り，インパクトファクター無し
3. 馬場 聡 Congenital Anomalies（日本先天異常学会），編集幹事，登録有り，インパクトファクター無し

(2) 外国の学術雑誌の編集

1. 筒井祥博 Birth Defects Research（北米先天異常学会，USA），編集委員，登録有り，インパクトファクター1.98

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

- 筒井祥博 Pathology International（Japan）1回
 筒井祥博 Congenital Anomalies（Japan）8回
 筒井祥博 Microbiology and immunology（Japan）2回
 小杉伊三夫 Congenital Anomalies（Japan）1回

9 共同研究の実施状況

| | 平成15年度 |
|------------|--------|
| (1) 国際共同研究 | 0件 |
| (2) 国内共同研究 | 0件 |
| (3) 学内共同研究 | 0件 |

10 産学共同研究

| | 平成15年度 |
|--------|--------|
| 産学共同研究 | 0件 |

11 受賞

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. サイトメガロウイルス感染症における神経病原性のトランスジェニックマウスを用いた解析

先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染症あるいは免疫不全状態において、脳はCMVの主要な標的である。しかし、CMVがなぜ脳に親和性があり病変を生じやすいか明らかでない。私達は先天性CMV感染症のモデルとして、マウスCMV (MCMV) を胎生期あるいは新生児期のマウスに感染させて脳障害の発生機序について解析してきた。発育期脳の急性期の感染においては脳室壁のグリア系細胞で感受性が強く、溶解感染して脳形成障害を起こしやすく、感染が遷延化すると神経細胞で早期抗原が持続的に発現しやすいことを明らかにした。これは私達が既に作成したMCMVの早期核抗原に対するモノクローナル抗体による免疫染色による。この抗体は既に知られているMCMV早期遺伝子e1からコードされていることがトランスフェクションの結果明らかになった。

今回このMCMV e1-promoterにレポーター遺伝子であるlacZを繋いだ組換え体を作成し、トランスジェニック (Tg) マウスを作成した。驚いたことにこのe1-promoterのTgマウスでの発現は中枢神経系に限局し、しかも抗 β -galactosidase (β -gal) 抗体による免疫染色によってその発現をみたところ、神経細胞の一部に特異的に発現することが明らかになった。Tgマウスの系統間で多少の違いはあったが、大脳皮質、脳底核、脳幹部、小脳、脊髄の神経細胞の一部で発現した。このe1-promoterの発育段階での発現をみると、胎生後期の神経細胞で発現を認め、生後においては神経細胞の成熟に伴ってその発現が増強し、その分布が拡大した。このTgマウスにMCMVを感染させたところ、 β -galの発現が増強することが明らかとなった (Arai et al., Am J Pathol, 2003)。しかし、in vitroの前初期遺伝子ie1と早期遺伝子e1-promoterにluciferaseを繋いだ組換え体のco-transfectionの結果のように、前初期遺伝子がe1-promoterの発現を数十倍に強く活性化することはなかった。これはin vitroとin vivoの遺伝子の置かれている状況の違いであろうと考える。

MCMVが許容感染するアストロサイトの様な細胞では前初期遺伝子が発現してその遺伝子産物が早期遺伝子を活性化するが、神経細胞では前初期遺伝子が発現しなくてもそれに類似した何らかの因子があり、このe1-promoterを神経特異的に活性化すると考える。このことがMCMVが神経細胞で持続感染しやすく、機能障害を起こす分子的根拠であると考えられる。

2. サイトメガロウイルスの潜伏感染と再活性化の機序に関する研究

ほとんどの成人はサイトメガロウイルス（CMV）に不顕性感染しており、生涯にわたって潜伏感染すると考えられている。CMVが脳で潜伏感染するかどうか分かっていなかったが、私達はマウス脳へMCMVを感染し、潜伏感染状態として、脳を取り出して大脳スライス培養することによって再活性化してくることから、CMVが脳で潜伏感染することを明らかにした（Tsutsui et al., *J Virol*, 2002）。CMVの脳における潜伏感染について、脳室壁のventricular zoneが主要な部位であること、再活性化してくる細胞が未分化な神経系細胞のマーカであるnestin, Musashi陽性であり、PCNA陽性で、BrdUを取り込むことから増殖している細胞であることから、CMVは神経幹細胞で潜伏感染する可能性が高いと考えた。このことをさらに確かめるために、慶応大学生理学教授の岡野栄之先生からnestin-enhancerに蛍光蛋白質GFPを発現する遺伝子を繋いだ組換え体を導入したトランスジェニック（Tg）マウスを供与して頂き、MCMVを感染して潜伏感染状態としたマウス脳からneurospheresを分離して培養したところ、CMVの感受性細胞である線維芽細胞とco-cultureすることによって感染性のウイルスの放出を示すプラークの出現を認めた。

私達は既にMCMVの前初期（IE）遺伝子プロモーターをlacZと繋いだ組換え体を導入したTgマウスが発育期脳で脳室壁のventricular zoneの細胞で発現し、neurospheresの培養で発現することを報告した（Aiba-Masago et al., *Am L Pathol*, 1999; Li et al., *Glia*, 2001）。このTgマウスのneurospheresを発育期マウス脳へ移植したところ、移植早期では脳室壁のventricular zoneで、移植後時間を経過すると大脳皮質で活性化することが明らかになった（Li et al., *Acta Neuropathol*, 2004）。これらはCMVの脳における潜伏感染とその再活性化の機構を明らかにしていくよいモデルになり得ると考える。

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

15 新聞、雑誌等による報道