

病理学第二

1 構成員

	平成19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）	2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）	2人（0人）
研究生	1人
外国人客員研究員	0人
技術職員（教務職員を含む）	2人
その他（技術補佐員等）	3人
合 計	12人

2 教員の異動状況

- 筒井 祥博（教授）（H6. 4. 1～現職）
 小杉伊三夫（助教授）（H15. 11. 1～現職）
 土田 孝（助手）（H12. 8. 1～現職）
 河崎 秀陽（助手）（H17. 4. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成18年度
(1) 原著論文数（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	13.80
(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）	5編（4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）	0編（0編）
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	1編（0編）
そのインパクトファクターの合計	1.26

(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. Kawasaki H, Mocarski ES, Kosugi I, Tsutsui Y: Cyclosporin A inhibits mouse cytomegalovirus infection via a cyclophilin-dependent pathway specifically in neural stem/progenitor cells. J Virol 81:9013-9023, 2007.
2. Han G-P, Li L, Kosugi I, Kawasaki H, Tsuchida T, Miura K, Tsutsui Y: Enhancement of susceptibility of adult brain to cytomegalovirus infection by infusion of epidermal growth factor. J Neurosci Res 85:2981-2990, 2007.
3. Ishiwata M, Baba S, Kawashima M, Kosugi I, Kawasaki H, Kaneta M, Tsuchida T, Kozuma S, Tsutsui Y: Differential expression of the immediate-early 2 and 3 proteins in developing mouse brains infected with murine cytomegalovirus. Arch Virol 151:2181-2196, 2006.

インパクトファクターの小計 [10.67]

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. Katano H, Sato Y, Tsutsui Y, Sata T, Maeda A, Nozawa N, Inoue N, Nomura Y, Kurata T: Pathogenesis of cytomegalovirus-associated labyrinthitis in a guinea pig model. Microbes Infect 9:183-191, 2007.

インパクトファクターの小計 [3.13]

(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. Tsutsui Y: (Editorial) Prospects of Congenital Anomalies. Congenit Anom Kyoto 46:163, 2006.
2. 筒井祥博, 小杉伊三夫: サイトメガロウイルス感染における神経病原性. 蛋白質核酸酵素増刊号「ウイルス研究の現在と展望」, pp1254-1260, 2007.
3. 小杉伊三夫, 筒井祥博: 脳発達障害のウイルス感染モデル — 特集: 精神疾患研究の新たな戦略: 病態解明・治療を目指して —. 細胞工学26:35-39, 2007.
4. 筒井祥博: 個体の発生と脳形成におけるサイトメガロウイルス感受性. 日本周産期・新生児医学会雑誌42:724-732, 2006.
5. 筒井祥博: サイトメガロウイルスの神経病原性について. 現代医学54:237-246, 2006.

インパクトファクターの小計 [0.00]

(5) 症例報告

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. Arai Y, Kohno S, Takahashi Y, Miyajima Y, Tsutsui Y: An autopsy case of Neuro-Behçet's disease with multifocal neutrophilic perivascular inflammation. Neuropathology 26(6):579-585, 2006.

インパクトファクターの小計 [1.26]

4 特許等の出願状況

	平成18年度
特許取得数（出願中含む）	1件

- 河崎秀陽・筒井祥博：NIM811（cyclophilin inhibitor）によるサイトメガロウイルス（CMV）感染抑制効果（特許・特願2005-308740）出願中

5 医学研究費取得状況

	平成18年度
(1) 文部科学省科学研究費	2件 (250万円)
(2) 厚生科学研究費	1件 (220万円)
(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	1件 (600万円)
(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

- 小杉伊三夫（代表者）基盤研究（C）(2)「発育期神経細胞におけるウイルスの持続感染と障害発生機構の解析」140万円（新規）
- 河崎秀陽（代表者）若手研究（B）「神経幹細胞におけるサイトメガロウイルス感染感受性とサイクロフィリンの役割」110万円（継続）

(2) 厚生科学研究費

- 筒井祥博（分担者）感覚器障害研究事業「先天性サイトメガロウイルス感染症による聴覚障害の実態調査並びに発症予防を目指した基礎的研究」大森孝一（代表者）福島県立医科大学220万円（継続）

(5) 受託研究または共同研究

- 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）

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	1件
(2) シンポジウム発表数	0件	2件
(3) 学会座長回数	0件	5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

1. Tsutsui Y, Suzuki H, Han G-P, Li L, Kawasaki H, Kosugi I: Latent cytomegalovirus infection in neural stem cells of developing mouse brain. The 11th International Cytomegalovirus /Betaherpes virus Workshop, May 13-17, 2007, Toulouse, France.
2. Tsutsui Y: Differential susceptibility to cytomegalovirus between mouse embryonic stem cells and neural stem cells. The 6th China Japan International Conference of Virology, June 22-24, 2006, Fudan University, Shanghai, China.

(2) 国内学会の開催・参加

2) 学会における特別講演・招待講演

1. 筒井祥博：個体の発生と脳形成におけるサイトメガロウイルス感受性. 第42回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会教育講演 2006.7.9

3) シンポジウム発表

1. 筒井祥博：サイトメガロウイルス感染による脳発達障害の発生機序Neuropathogenesis of developmental brain disorders by cytomegalovirus infection. 第29回日本神経科学大会シンポジウム「発達障害の脳科学Recent Advances in Neurodevelopmental Disorders」2006. 7. 19
2. 小杉伊三夫, 河崎秀陽, 李立, 韓桂萍, 筒井祥博：マウスサイトメガロウイルスの脳神経細胞への感染指向性を決定する要因の解明：組換えウイルスを用いた早期遺伝子(m112/113)プロモーター活性の解析. 第54回日本ウイルス学会学術集会ワークショップ「ウイルス病原性発現の分子基盤—DNAウイルス—」2006. 11. 19

4) 座長をした学会名

1. 筒井祥博：第96回日本病理学会総会
2. 筒井祥博：第45回日本先天異常学会学術集会
3. 筒井祥博：第10回日本神経ウイルス研究会学術集会
4. 筒井祥博：第9回東海ウイルス感染症研究会
5. 小杉伊三夫：第54回日本ウイルス学会学術集会

(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. 小杉伊三夫：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（レフリース数は除く）	2件	1件

(1) 国内の英文雑誌の編集

1. 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
2. 小杉伊三夫：Pathology International（日本病理学会），刊行委員，登録有り，インパクトファクター1.11

(2) 外国の学術雑誌の編集

1. 筒井祥博：Birth Defects Research Part A（北米先天異常学会，米国），編集委員，登録有り，インパクトファクター1.548

(3) 国内外の英文雑誌のレフリース

1. 筒井祥博：Journal of Neuroscience Research（米国）1回
2. 筒井祥博：Neuropathology（日本）1回
3. 筒井祥博：Pathology International（日本）1回
4. 小杉伊三夫：Pathology International（日本）1回

9 共同研究の実施状況

	平成18年度
(1) 国際共同研究	1件
(2) 国内共同研究	0件
(3) 学内共同研究	0件

(1) 国際共同研究

1. サイクロsporin Aのサイトメガロウイルスの増殖に与える影響，Emory University（米国），2006. 4-2007. 3，資料の交換および研究打ち合わせ，論文投稿済

10 産学共同研究

	平成18年度
産学共同研究	0件

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における神経病原性

サイトメガロウイルス（CMV）は胎生期に感染して脳障害を起し，また免疫不全状態の成人に感染してCMV脳症を生ずる。ヒトCMV（HCMV）と生物学的特性が類似したマウスCMV（MCMV）を用いて，実験モデルとしてMCMVの神経病原性について解析した。MCMVは発育期マウス脳の脳室壁の神経幹・前駆細胞に感受性が高く，神経系細胞の増殖と分化を抑制し，脳

形成障害の原因と考えた。また長期感染マウス脳の大脳スライス培養によって再活性化してくることから、MCMVは脳で潜伏感染することを明らかにした。グリア細胞と神経細胞におけるウイルス遺伝子発現を比較したところ、前初期遺伝子ie1はグリア細胞で発現しやすく、早期遺伝子e1は感染が遷延化すると神経細胞で発現しやすい傾向を示した。脳の発育に伴うウイルス遺伝子発現の細胞特異性の時間的空間的变化に基づく感染動態の特殊性が神経病原性と関連すると考えた。

「蛋白質核酸酵素」増刊号「ウイルス研究の現在と展望」への総説より

2. 神経幹・前駆細胞におけるサイクロスポリンA (CsA) によるサイトメガロウイルス抑制機序
河崎らはエモリー大学Dr. Mocarskiとの共同研究で、neurospheresへのMCMVの感染がサイクロスポリンA (CsA) で抑制されることを明らかにした。しかし、同様の免疫抑制剤であるFK506では抑制効果が無く、このCsAによる抑制はCSAと結合するサイクロフィリンAの機能を阻害するためである可能性を示した。MCMVの抑制は8週間以上続き、CsAを除くとMCMVが再活性化してくることから、この系はMCMVの未分化神経系細胞における潜伏感染とその再活性化の分子機構を研究するモデルになりうると考える。この論文はPNASへの投稿など、2年以上の推敲と、サイクロフィリンsRNAによる阻害実権などの追加実験を経て、最終的にJournal of Virologyに私達の教室では近年最もボリュームある論文として受理された。

(河崎秀陽, Dr. Mocarski (Emory Univ.), 筒井祥博)

3. 加齢マウス脳へ神経増殖因子の脳内持続投与によるMCMV感受性の促進

近年脳における神経再生は成人になっても持続すると考えられるようになった。epidermal growth factors (EGF) などはneurospheres (神経幹・前駆細胞) の培養における神経増殖因子であることが知られている。EGFなどの神経増殖因子をミニポンプで脳内へ持続投与することによって、加齢マウスの神経再生を促進し、MCMVを感染したところ感染が促進されることが明らかとなった。蛍光染色、免疫染色、プラークアッセイ法などによってこの現象を定量的に解析した。EGFによる加齢マウス脳の感染感受性の亢進は脳室壁のependymal cellsでは起こりにくく、subventricular zoneの神経幹・前駆細胞で起こることが明らかとなった。

(韓 桂萍, 李 立, 筒井祥博)

4. 脳におけるサイトメガロウイルスの潜伏感染と再活性化に関する研究

先天性CMV感染症やAIDSなどの免疫不全において、脳はCMVの主要な標的であるにも関わらず、CMVが脳で潜伏感染するかどうか明らかではなかった。私達はMCMVがマウス脳で潜伏感染することを、感染させて6か月した脳を取り出し、大脳スライス培養をすることによって活性化してくることによって証明した (Tsutsui et al., J Virol, 2002)。再活性化してくる細胞が脳室壁の未分化神経系細胞である可能性が免疫染色で示唆されたので、未分化神経系細胞のマーカー遺伝子であるNestin-promoterにgreen fluorescent protein (GFP) 遺伝子を繋いだ組換え体を導入したTgマウスを用いた (慶応大学岡野栄之先生より供与)。Nestin-promoter TgにMCMVを感染させ、4か月飼育してから脳を取り出し、GFPで蛍光に光るneurospheresを分離して、neurospheresからのウイルスの放出を調べた。ウイルス複製の阻害剤であるganciclovir (GCV) 存在下で培養

することによってウイルスの放出を抑え、neurospheresを分離することが出来た。感染中心アッセイによって神経神酒。前駆細胞に潜伏する頻度は約1000個に1個であることが分かった。

(筒井祥博, 鈴木弘美, 河崎秀陽)

5. 光る変異ウイルスの作成と発育期マウス脳における感染動態の解析

私達は緑色蛍光蛋白 (GFP) あるいは赤色蛍光蛋白 (DsRed) 遺伝子を挿入した変異ウイルスを作成する方法 (BAC法) を教室で確立し, GFPを発現するTgマウスを組み合わせて, 大脳スライス培養あるいはneurospheresの培養において, グリーンと赤の蛍光の対比によって生きた状態でウイルス感染動態を解析している。今回MCMVの早期遺伝子e1-promoterにEGFPを繋いだ組み換え体をホモログスリコンビネーションによって挿入して組み換えウイルスを作成した。1459bpのe1-promoterは神経細胞で発現しやすいが, 488bpの短いE1-promoterは神経細胞で発現しないことが分かった。

(小杉伊三夫, 川島充詠, 筒井祥博)

6. 先天性サイトメガロウイルス感染症による難聴発生機序の動物実験モデルによる研究

本研究の目的は, 先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染症によって難聴がなぜ起きやすいかを明らかにする実験モデルを作成した。私達は発育期マウス脳へマウスCMV (MCMV) を感染させて内耳への感染を解析する方法を確立してきた。Lipopolysaccharide (LPS) を脳内投与することによって, MCMVの腹腔内投与で内耳および脳へ感染しやすいことが明らかとなった。内耳においては蝸牛神経およびその周囲の間質および血管内皮に感染しやすく, さらに外リンパ腔壁に感染しやすいが, 内リンパ腔には感染しにくいことが明らかになった。

(李 立, 小杉伊三夫, 筒井祥博)

7. 人のサイトメガロウイルス感染剖検例による間質性肺炎の成立機序に関する研究

先天性CMV感染症, 臓器移植, 化学療法などで亡くなった症例でCMVの感染を伴っている症例35例を集め, 特にサイトメガロウイルス感染感受性と間質性肺炎の関係を, 上皮・間葉転換を指標に解析した。上皮・間葉転換の指標のひとつであるTGF- β の発現がCMV感染によって亢進する可能性が示された。

(土田 孝, 金田正昭, 小杉伊三夫, 筒井祥博)

8. 人の潰瘍性大腸炎, クロウン病の長期間追跡による臨床的と病理的比較解析

私達の教室で潰瘍性大腸炎 (UC), クロウン病など炎症性腸疾患の症例について, 市内専門病院と共同で20年以上に渡って生検および手術材料による追跡を行ってきた。UC症例約400例, クロウン症例約50例の臨床的, 病理的所見をデータベース化した。臨床および病理所見の長期に渡る経過の対比を解析し, 発症年齢, 性差, 高齢化との関連, 病理像, 感染所見との関連を解析しつつある。

(上村 隆, 河崎秀陽, 金田正昭, 土田 孝, 小杉伊三夫, 筒井祥博)

9. 大脳大割切片を用いた神経病理学的研究

私達は既に人の剖検脳の大割切片を作り、神経病理学的解析の最も有効な方法として用いている。脳の前額切片全体のオリエンテーションのもとに解析するシステムを確立し、症例数も100例に達している。大割切片を用いた免疫染色、in situ hybridization、さらに大脳大割切片を用いてジオメトリックな定量的解析に取り組んでいる。

(筒井祥博，新井義文（名市大病理），宮崎一夫）