

病理学第二

1 構成員

	平成20年3月31日現在
教授	1人
准教授	1人
講師（うち病院籍）	0人（0人）
助教（うち病院籍）	2人（0人）
助手（うち病院籍）	0人（0人）
特任教員（特任教授，特任准教授，特任助教を含む）	0人
医員	0人
研修医	0人
特任研究員	0人
大学院学生（うち他講座から）	1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）	1人
その他（技術補佐員等）	4人
合 計	11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（准教授）（H15. 11. 1～H19. 3. 31助教授；H19. 4. 1～現職）
 河崎 秀陽（助教）（H17. 4. 1～H19. 3. 31助手；H19. 4. 1～現職）
 新井 義文（助教）（H19. 4. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成19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	16.40
(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）	3編（2編）
そのインパクトファクターの合計	1.11
(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）	2編（0編）
そのインパクトファクターの合計	2.82

- (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 L, Kosugi I, Han G-P, Kawasaki H, Arai Y, Takeshita T, Tsutsui Y: Induction of cytomegalovirus-infected labyrinthitis in newborn mice by lipopolysaccharide: A model for hearing loss in congenital CMV infection. *Lab Invest* 88(7):722-730, 2008.
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(13):2981-2990, 2007.
3. 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(17):9013-9023, 2007.

インパクトファクターの小計 [13.27]

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(2):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, Kosugi I, Kawasaki H, Arai Y, Han G-P, Li L, Kaneta M: Roles of neural stem progenitor cells in cytomegalovirus infection of the brain in mouse models. *Pathol Int* 58(5): 257-267, 2008.
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2007年8月号増刊 Vol.52 No.10 「ウイルス研究の現在と展望」(野本明男・西山幸廣 編) 共立出版 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(1):35-39, 2007.

インパクトファクターの小計 [1.11]

(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

1. Kawasaki H, Shigeno K, Ohnishi K, Tsuchida T, Miura K, Kato T, Kosugi I, Tsutsui Y: A case of primary cutaneous natural killer/T-cell lymphoma, nasal type, directly invading to the heart: the first case. *Leuk Lymphoma* 49(5):1008-1011, 2008.
2. Arai Y, Tsuchida T, Tanioka F, Sugimura H, Watanabe C, Hongo T, Tsutsui Y: Congenital Anaplastic Astrocytoma Differentiated into Pilocytic Astrocytoma over Five Years. *Neuropathology* 28(4):433-439, 2008.

4 特許等の出願状況

	平成19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19年度
(1) 文部科学省科学研究費	1件 (140万円)
(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 (419.5万円)
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	1件 (350万円)

(1) 文部科学省科学研究費

1. 小杉伊三夫（代表者）基盤研究（C）「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（継続）

(5) 受託研究または共同研究

1. 筒井祥博（代表者）松田病院「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」330万円（継続）
2. 筒井祥博（代表者）浜松ホトニクス株式会社「細胞間情報伝達メカニズムの解明」89.5万円（新規）

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	1件
(3) 学会座長回数	0件	3件
(4) 学会開催回数	0件	1件
(5) 学会役員等回数	0件	5件
(6) 一般演題発表数	1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, 2007. 5, Toulouse (France).

(2) 国内学会の開催・参加

1) 主催した学会名

1. 浜松医科大学COE国際シンポジウム「Viruses Shed Light on Neuroscience」オーガナイザー

3) シンポジウム発表

1. Tsutsui Y: Neuron-specific expression of murine cytomegalovirus. 浜松医科大学COE国際シンポジウム「Viruses Shed Light on Neuroscience」2008. 2. 9 浜松市

4) 座長をした学会名

1. 筒井祥博：第53回日本病理学会秋季特別総会
2. 小杉伊三夫：第22回ヘルペスウイルス研究会
3. 筒井祥博：第96回日本病理学会総会

(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）	1件	1件

(1) 国内の英文雑誌の編集

1. 小杉伊三夫：Pathology International（日本病理学会），刊行委員，登録有，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，2.01

(3) 国内外の英文雑誌のレフリース

1. 筒井祥博：1回，BMC Developmental Biology（英国）
2. 小杉伊三夫：2回，Pathology International（日本）

9 共同研究の実施状況

	平成19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19年度
産学共同研究	1件

1. 浜松ホトニクス㈱「細胞間情報伝達メカニズムの解明」

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 21世紀COE国際シンポジウムの企画・開催

平成20年2月9日に、COE拠点リーダー寺川 進先生の依頼により「Viruse Shed Light on Neuroscience（光る変異ウイルスを用いた神経科学課題解明への挑戦）」と題して国際シンポジウムを行った。

近年、光る蛋白質を発現する遺伝子を挿入した変異ウイルスを用いる方法は神経系におけるウイルス感染動態の解明、ウイルスの神経系細胞への作用を光イメージングとして表出可能になってきた。さらにウイルスの持つ細胞指向性を利用して特定遺伝子の目的の神経系細胞への運搬、その発現の可視化等を通じて脳機能の解明、神経疾患の病態の解明、その治療への有力な手法になりつつある。変異ウイルスを用いた特定の遺伝子の神経細胞あるいは脳における発現を分子イメージングとして可視的、立体的に解析することは今後の最も魅力ある方法であると考え。今回のシンポジウムではそれぞれの領域のエキスパートが、光るウイルスが神経科学の課題への挑戦に如何に有効であるかを含めてウイルス感染と神経科学の接点に光を当てた先端的研究について講演した。参加者は総計100名に達し、活発に討議が行われた。

以下にプログラムを記載する。

- 1) Dr. Hirofumi Sawa (Professor, Department of Molecular Pathobiology, Hokkaido University Research Center for Zoonosis Control, Sapporo, Japan) "Cellular factors exploited by neurotropic virus"
- 2) Dr. Pavel Osten (Assistant Professor, Department of Physiology, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, USA) "Stereotaxic gene delivery in the rodent brain by recombinant viral vectors"
- 3) Dr. Akio Nomoto (Professor, Department of Microbiology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan) "The molecular basis of poliovirus neurovirulence"
- 4) Dr. David Johnson (Professor, Department of Molecular Microbiology & Immunology, Oregon Health & Science University, Portland, USA) "Transport of herpes simplex virus capsids in neuronal axons"
- 5) Dr. Akira Sawa (Director, Program in Molecular Psychiatry, Departments of Psychiatry and Neuroscience, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, USA) "Elucidating the pathogenesis of schizophrenia: a crosstalk of genetic and viral factors"
- 6) Dr. Yoshihiro Tsutsui (Professor, Department of Pathology, Hamamatsu University School

of Medicine, Hamamatsu, Japan) "Neuron-specific expression of murine cytomegalovirus"

2. 先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染症における難聴発症の実験モデルの確立

サイトメガロウイルス (CMV) は胎生期に感染して、出生時に小頭症、脳室壁の石灰沈着、黄疸、肝脾腫などの巨細胞性封入体症で死亡する場合と、出生時には無症状で生後何年かして、精神発達遅滞、視力障害、難聴、てんかんなどの脳機能障害が生ずる場合がある。なかでも難聴は先天性CMV感染症に伴う頻度の高い障害である。一方、幼児期の難聴の原因として先天性CMV感染症が30%に達することが予想され、国際的にその解明と予防が問題になっている。

周産期マウスの腹腔内にマウスCMV (MCMV) を感染し、同時にPBS または細菌菌体成分であるlipopolysaccharide (LPS) を脳内投与し、6日後に脳および内耳についてウイルス感染価の測定および免疫染色で、ウイルス抗原の検出を行った。PBS投与のみでは内耳に感染しないが、LPSの腹腔内投与によって内耳にMCMVが感染することを明らかにした。感染ルートとして脳からの外リンパ腔からの感染、蝸牛神経に沿った感染も認めしたが、血管内皮からの内耳間葉系細胞への感染が主であることを免疫二重染色で明らかにした。このことは、無症候性の先天性CMV感染症の新生児あるいは幼児が重篤な細菌感染を受けるとCMVが内耳に感染しやすく、難聴になりやすい可能性を示した。この論文はLaboratory Investigationに受理された。

(李 立, 小杉伊三夫, 筒井祥博)

3. 光る変異ウイルスによる発育期マウス脳における感染動態の解析

非神経細胞とは異なる神経細胞特異的なe1-pro活性化機構がMCMVの神経病原性に関わると推測される。今年度は、e1-proの長さを変えたe1-pro-EGFP を組み込んだMCMVを作製し、発育期大脳及び培養神経細胞における実際のウイルス感染で神経細胞と非神経細胞におけるe1-pro活性の発現を比較した。その結果、1373ntの上流域を欠失した448ntのe1-pro活性は、非神経細胞では認めしたが、神経細胞では大脳及び培養細胞の何れにおいても認めなかった。従って、e1-proの上流域に神経細胞特異的な活性化領域が存在すると推測された。齧歯類の出生後1~2週はヒトでは胎生後期に相当し、脳成熟に向けた遺伝子発現の再編成が活発に行われ、発達障害に対する脆弱性が高い臨界期と考えられている。以上から、この時期に一致した発育期の神経細胞に特異的なe1-pro活性化機構がCMVの神経病原性に深く関わることを示唆された。

(小杉伊三夫, 川島充詠, 筒井祥博)

4. 細胞の分化に伴うクロマチン再構成とサイトメガロウイルスの感染感受性

神経系におけるサイトメガロウイルス (CMV) 感染感受性がいかに制御されているかまだ明らかではない。最近、CMV感染におけるウイルスゲノムのクロマチン修飾が感染感受性にとって重要な機序といわれており、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の量と相関しているともいわれている。我々は大脳におけるCMV急性感染でのHDAC局在とCMV感染細胞の局在を比較した。また神経系におけるHDAC阻害剤のCMV感染感受性への影響をin vivo, in vitroで検討した。方法としてはマウス感染脳におけるHDAC2とマウスサイトメガロウイルス (MCMV) 前初期抗原 (IE1) の局在を免疫染色で比較し、神経系培養細胞でHDAC阻害剤添加後のMCMV感染感受性変

化も比較した。結果としては大脳におけるHDAC2の局在は主にneuronに多くみられ、subventricular zoneやsubpial 部分の細胞のHDAC2発現はneuronより低く、その場所にMCMV IE1の発現が多かった。また神経系細胞におけるHDAC阻害剤の影響は濃度依存性にMCMV感染感受性が高くなる傾向を示した。神経系における急性期MCMV感染において、CMV感染感受性細胞とHDACの活性は逆相関を示し、神経系細胞のクロマチンの状態が感染感受性に関係する可能性を示した。

(河崎秀陽, 筒井祥博)

5. 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カ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行くことによって証明した。さらにラットのneurospheresあるいはLPSの潜伏感染脳へ投与による脳への刺激によってin vivoにおける再活性化を試みたところ、神経細胞で再活性化する可能性が示された。この系では脳室壁の神経前駆細胞では再活性化細胞を認めなかった。この部位は免疫反応が起きやすいので、再活性化した細胞は除去されてしまった可能性が高いと考えた。脳におけるCMVの潜伏感染と再活性化は脳室壁の神経前駆細胞と皮質の神経細胞で起こる可能性が示された。

(筒井祥博, 鈴木弘美, 河崎秀陽)

6. 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

間質性肺炎の原因のひとつとしてウイルス性肺炎があり、その中ではサイトメガロウイルス(CMV)肺炎が最も頻度が高い。CMVは種々の免疫力低下時に再活性化し、ときには重篤なCMV肺炎によって死亡する場合があるが、CMV肺炎がどのような機序で病変を形成するか十分に明らかになっていない。このため、CMV高度感染を示す病理解剖例7例についてCMV肺炎における感染細胞の細胞特異性および間質線維化のメカニズムについて、免疫組織学的、分子生物学的手法を用いて検討を行った。CMV肺炎の組織像として①びまん性肺胞障害(DAD)を呈する型、②間質の炎症と線維化を呈する型の大きく2つの組織像が確認され、前者では肺胞上皮細胞優位にCMV感染細胞がみとめられ、後者では肺胞間質の間葉系細胞に多数のCMV陽性細胞が観察された。パラフィン切片から抽出したRNAに対する半定量的RT-PCRでは、線維化の強い症例ほどTGF β 遺伝子の発現が増加する傾向が見られた。TGF β シグナルを活性化するインテグリンとCMV感染との関係を調べたところ、CMV感染巣ではインテグリン β 6の発現増強がみられ、間質の炎症性線維性肥厚を伴っており、CMV感染がTGF β を介した間質性病変を誘導している可能性が示唆された。これらの内容は平成20年5月17日の日本病理学会において発表された。

(新井義文, 土田 孝, 金田正昭, 小杉伊三夫, 筒井祥博)

7. 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, クロー

ン症例約50例の臨床的，病理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ている。

（上村 隆，新井義文，河崎秀陽，金田正昭，小杉伊三夫，筒井祥博）

8. 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。

（新井義文，森山厚子，筒井祥博）