

15.高度先進医療研究室

室長:今留 謙一

【ミッション・目標】

当研究室は2015年4月(平成27年4月)に独立室として新設され、胎児・小児期感染症の発症機構と病態を解明し、その成果を診断・治療法の開発に応用すること、また臨床医との連携のもとに先進的テクノロジーを診断に応用し医療や社会に貢献することを目標とする。そのためにヒト化マウスなどを用いた疾患モデルを作成し、感染症の病態再現や新規治療薬の評価に応用している。また、当センター内外からの要請に応じてリアルタイム PCR 法を応用したウイルス感染症の迅速診断を行っている。研究の主な対象はEBウイルス(EBV)である。成育医療においてEBVは移植後の日和見感染症の原因ウイルスとして重要である。小児臓器移植後に起こる移植後リンパ増殖症(PTLD)の多くはEBVが原因であり致命的病態に陥ることが少なくない。我が国ではEBVの初感染年齢が上昇しつつあり、伝染性単核症の発症数増加が指摘されている。そのため、成人の臓器移植と異なり、小児の臓器移植ではレシピエントがEBV未感染で、ドナーがEBV既感染である場合が多く、PTLD発症リスクは増加する。EBVは、一生の間には大多数の人が感染する遍在ウイルスであるため、このような感染症像の変化は社会的にも大きな影響を与えると考えられ、政策医療のレベルでも積極的な対応が必要と考えられる。当センターをはじめとして小児の移植治療が盛んに行われるようになり、EBVをはじめとした日和見感染症関連ウイルス制御は移植医療成績に影響を及ぼすばかりでなく患児の予後に大きく関わるため、その対策が重要課題となっている。

EBVに関しては、PTLD、慢性活動性EBV感染症(CAEBV)、EBV関連血球貪食性リンパ組織球症(EBV-HLH)などのEBV関連疾患について、モデルマウスを用いた病態の再現、発症機構解明と治療法開発を進め、新規治療薬と新規治療法の開発を目指している。またEBV関連疾患の一部についてエクソーム解析による原因遺伝子探索を行い、発症予測や病態進行予測のバイオマーカー開発や治療薬の開発につなげることを目指している。臨床貢献としては実際のEBV感染症患者におけるウイルス動態の解析と診断・治療に対する支援を行っている。

もう一つの研究対象は川崎病である。日本で初めて報告され、我が国が一番多くの患者数を有し、年々患者数が増加している疾患である。川崎病の病態の一つである冠動脈における血管炎形成がある。ヒト化マウスを利用し、川崎病態の一つである血管炎発症モデルマウスの作製を目指している。これまでの川崎病研究において報告のある血管炎発症マウスモデル作成で使用されている*C.albicans* NBRC 1385の培養上清から可溶性多糖画分(*C.albicans* water soluble fraction: CAWS)や川崎病患者の検体成分を用いてヒト化マウス血管炎発症モデルを作成し、川崎病での血管炎発症におけるヒト免疫細胞の役割とその病態抑制効果を示すヒト血液製剤の探索とスクリーニングを進めている。川崎病における血管炎発症メカニズムの解明を目指している。

【研究プロジェクト】

1. 移植後リンパ増殖症などEBV関連疾患の病態発現機構の解析および治療法開発
 - 1) EBV感染ヒト化マウスを用いたPTLD病態発現解析と治療法開発
 - 2) EBVに対するワクチン開発
 - 3) CAEBV及びEBV-HLHモデルマウスを用いた病態発現解析と治療薬・治療法開発
 - 4) ゲノム編集技術によるEBV持続感染阻害法の開発
 - 5) エクソーム解析によるCAEBV原因遺伝子の探索
 - 6) 移植後免疫不全状態およびCAEBV患者におけるEBV感染動態の解析と診断・

治療への支援

7) EBV 潜伏感染遺伝子に対する新規抗体の作製

2. 川崎病に関する研究

- 1) 大量ガンマグロブリン療法(IVIG)不応に関連する特異的バイオマーカーの探索研究
- 2) ヒト化マウスを用いた川崎病冠動脈炎発症モデルの作製と血管炎発症機構の解明研究
- 3) 成育病院における IVIG 不応川崎病患児のサイトカイン・ケモカインの測定・解析と診断・治療への支援

【研究体制】

構 成 員

室 長： 今留謙一

研究員： 松田剛

任期付研究員： 川野布由子

非常勤職員： アビ・アサモア、石川百合子、高橋絵都子、和田尚美

共同研究員： 阿部淳、岩切大

学 生： 古田頌子（帝京科学大学大学院生）、竹内結花、中村春野（以上2名、横浜市立大学医学部3年）、田邑仁美・斎藤美玖・大澤真央（以上3名、帝京科学大学環境生命学部3年）

病院医師： 鈴木孝典、伊藤玲子

事 務： 森田繭子

【共同研究体制】

川崎病の血管炎発症機構の解明に関する研究

国立成育医療研究センター・循環器科 小野博医長

国立成育医療研究センター・総合診療部 益田博司医員

国立成育医療研究センター 賀藤均病院長

国立成育医療研究センター・臨床研究センター臨床研究企画室 小林徹室長

横浜市立大学小児科、伊藤秀一教授

次世代シーケンサーを用いた慢性活動性 EBV 感染症に関する研究

国立成育医療研究センター・周産期病態研究部、中林一彦室長、秦健一郎部長

国立成育医療研究センター・システム発生・再生医学研究部、岡村浩司室長

国立成育医療研究センター・再生医療センター、梅澤明弘センター長

国立成育医療研究センター、松原洋一所長

慢性活動性 EBV 感染症の発症機構に関する研究

国立成育医療研究センター・教育研修部、石黒精部長

東京医科歯科大学血液内科、新井文子講師；同小児科、森尾友宏教授

九州大学医学部小児科、大賀正一教授

大阪府立母子保健総合医療センター血液・腫瘍科、澤田明久副部長

慢性活動性 EBV 感染症の新規治療薬開発に関する研究

東北大学災害科学国際研究所・災害感染症学分野、児玉栄一教授

免疫不全マウスを用いた EBV 感染モデルの作製と応用

東京医科歯科大学再生医療センター、清水則夫准教授

日本大学医学部膠原病・血液内科、 武井正美教授

肝移植後の EBV 感染症管理に関する研究

国立成育医療研究センター・臓器移植センター、笠原群生センター長

造血幹細胞移植後の日和見感染症関連ウイルス感染症管理に関する研究

国立成育医療研究センター・小児がんセンター、松本公一センター長

EBV に対するワクチン開発

米国 Department of Pathology, Uniformed Services University of the Health Sciences,
Professor, Clifford M. Snapper

【研究の概要】

1. 移植後リンパ増殖症など EBV 関連疾患の病態発現機構の解析および治療法開発

EBV 感染ヒト化マウスを用いた病態解析と治療法開発

EBV は伝染性単核症や、ホジキン病などの悪性疾患、移植後リンパ増殖性疾患(PTLD)、慢性活動性 EBV 感染症 (CAEBV)、EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症(EBV-HLH)など多彩な疾患の原因となるが、これらの疾患を再現する優れた感染/疾患モデル動物が存在せず、特に治療薬開発に必要な小動物モデルは極めて不十分であった。当研究部では免疫不全マウスにヒト造血幹細胞を移植し血液免疫系を再構築した免疫系ヒト化マウスに EBV を感染させ、免疫不全状態のリンパ増殖性疾患、潜伏感染状態、EBV 特異的細胞性および液性免疫応答などを再現することに成功している。

平成 27 および 28 年は、このモデルマウスを用いて以下の研究を行った。

1) PTLN 発症メカニズムの解明

EBV を Low dose で感染させると持続感染モデル（不顕性感染モデル）のヒト化 EBV 感染モデルマウスが作製できる。このマウスに免疫抑制剤を 0.2mg/kg/day 5days 連続投与すると EBV の再活性化が起き、感染細胞の増殖が確認でき PTLN が再現される。マウスを解剖するとリンパ節、脾臓で EBV-DNA 量が高値を示し、他の臓器よりも感染細胞の集積があることが示された。現在、感染細胞が赤く光る蛍光を遺伝子導入した組み換え EBV の作製を進めている。これにより免疫不全状態における潜伏感染細胞の活性化機構の解明が可能になると考えている。

2) EBV 感染症に対するワクチン開発

これまで EBV 側の gH, gL, gB, gp350 をターゲットにした中和抗体を作製し in vitro において検討してきた。1 量体よりも 2 ないし 3 量体の方が中和効率が増すことを証明した。そこで次にヒト化 EBV 感染モデルマウスを用いた in vivo における中和効率の検討を行った。in vitro 同様、in vivo においても 1 量体よりも 2 ないし 3 量体の方が中和効率が増すことが証明された。現在どの抗体がより感染阻止能力があるのかをヒト化 EBV 感染モデルマウスで検討を進めている。

3) 慢性活動性 EBV 感染症及び EBV 関連血球貪食性リンパ組織球症モデルマウスを用いた病態解析と治療法開発

CAEBV は、遷延する伝染性単核症様症状と、EBV 感染 T 或いは NK 細胞の増殖を特徴とする予後不良の疾患であり、造血幹細胞移植以外に根治的治療法はない。EBV-HLH においても EBV 感染 T 或いは NK 細胞の増殖が認められ、両疾患は EBV 関連 T/NK リンパ増殖性疾患と呼ばれている。当研究室ではこれまでに、患者末梢血単核細胞の NOG マウスへの異種移植により両疾患のモデルマウス作成に成功し、EBV 感染 T 及び NK 細胞の増殖には CD4+T 細胞の存在が必須の役割を果たすことを示し

た。このモデルを用いて、新規抗 EBV 治療薬候補 S-FMAU の非臨床 POC 取得に向けた検討を行っている。

(A)ヌクレオシドアナログ S-FMAU は EBV がコードするチミジンキナーゼにより特異的にリン酸化されたのち細胞毒性を発揮する。S-FMAU の効果を CD4 タイプ、CD8 タイプおよび NK タイプの CAEBV モデルマウス（各々20頭）を用いて検証した。CAEBV 患者末梢血単核細胞を NOG マウスに移植し、末梢血 EBV DNA 量が約 $10^3 - 10^4$ copies/ μ g DNA に達した時点で薬剤投与を開始した。S-FMAU 投与は下記①から④の用量で、1日1回、5日間連続で腹腔内投与した。①80 mg/kg/day②40 mg/kg/day③20 mg/kg/day④PBS(コントロール)。さらに、それぞれのタイプにおいて S-FMAU 投与による生存延長効果を検討した。

(i)CD4 タイプ (CD4+細胞に EBV が感染している) の患者に由来するマウスの結果を以下に示す。①80 mg/kg/day 投与群では5頭中2頭で末梢血 EBV DNA 量が一過性に約 1/1000 に減少し、3頭で 1/100 に減少した。②40 mg/kg/day 投与群では5頭中1頭で約 1/1000 に減少し、2頭で 1/100 に減少し、2頭で 1/10 に減少した。③20 mg/kg/day 投与群では5頭中1頭で約 1/100 に減少し、2頭でウイルス量の減少も増加もなく、1頭でウイルスの増加があり、1頭が死亡した。④PBS 投与群は全て末梢血 EBV DNA 量が約 $10^6 \sim 10^7$ copies/ μ g DNA に達し、2頭が死亡した。(ii)CD8 タイプ (CD8+細胞に EBV が感染している) の患者に由来するマウスの結果を以下に示す。①80 mg/kg/day 投与群では5頭中3頭で末梢血 EBV DNA 量が一過性に約 1/1000 に減少し、1頭で 1/100 に減少し、1頭で 1/10 に減少した。②40 mg/kg/day 投与群では5頭中3頭で 1/100 に減少し、1頭で 1/10 に減少し、1頭でウイルス量の増加も減少もなかった。③20 mg/kg/day 投与群では5頭中1頭で約 1/100 に減少し、3頭でウイルス量の減少も増加もなく、1頭でウイルスの増加があった。④PBS 投与群は全て末梢血 EBV DNA 量が約 $10^6 \sim 10^7$ copies/ μ g DNA に達し、2頭が死亡した。(iii)NK タイプの患者に由来するマウスの結果を以下に示す。①80 mg/kg/day 投与群では5頭中2頭で末梢血 EBV DNA 量が一過性に約 1/1000 に減少し、1頭で 1/100 に減少し、2頭では陰性化した。②40 mg/kg/day 投与群では5頭中2頭で約 1/1000 に減少し、1頭で 1/100 に減少し、1頭で 1/10 に減少し、1頭で増加も減少もなかった。③20 mg/kg/day 投与群では5頭中1頭で約 1/100 に減少し、2頭でウイルス量の減少も増加もなく、2頭でウイルスの増加があった。④PBS 投与群は全てマウスで末梢血 EBV DNA 量が約 $10^6 \sim 10^7$ copies/ μ g DNA に達し、2頭が死亡した。以上より、S-FMAU が濃度依存的に効果を発揮すると考えられた。

生存曲線の検討では①80 mg/kg/day②40 mg/kg/day③20 mg/kg/day④PBS(コントロール)で12週以上生存していた頭数は①80 mg/kg/day が8頭②40 mg/kg/day が4頭③20 mg/kg/day が1頭④PBS が0頭であり、S-FMAU による生存延長が示された。

今後は同じ条件で5日間投与し、1ヶ月後に第2クールとして5日間投与し、さらに1ヶ月後に第3クールとして5日間投与し評価を進める予定である。また、投与期間の検討も行う予定である。

(B)抗 CD4 抗体(OKT-4)による T あるいは NK 細胞へ感染した細胞制御の検討を行った。患者 PBMC(CD8 タイプ)投与4週目 1×10^6 copies/ μ gDNA で OKT4 抗体の投与を開始した。OKT4 抗体の2日連続投与により末梢血中の CD4+T 細胞は消滅する。PBS 投与マウスは6,7週で死亡し、EBV-DNA 量も 10^7 copies/ μ gDNA 以上になった。一方、OKT4 抗体を投与したマウスでは、末梢血 EBV-DNA 量がおおよそ 10^2 copies/ μ gDNA の減少が認められ、生存も15~19週まで延長した。末梢血中の EBV ゲノム量が増加に転じてくる時期の末梢血の FCM 解析結果を見ると僅かであるが CD4+T 細胞が検出された。OKT4 抗体投与マウスを解剖し FCM 解析を行った。その結果、脾臓・肝臓に CD4+T 細胞が検出され、感染細胞分画も検出された。NK タイプや $\gamma\delta$ -T タイプでも同様の結果を得ている。

4) ゲノム編集技術による EBV 持続感染阻害法の開発

EBVによるリンパ腫誘導はこのウイルスが細胞に保持されることが前提となり、EBV蛋白質 EBNA1はこの保持に必須の役割を果たす。そこで EBNA1 遺伝子上の4箇所ガイド RNA を設定し、ヌクレアーゼ CRISPR/Cas9 とともに、リポーターとなる AcGFP 遺伝子を予め導入した Hela 細胞と B 細胞に導入した。その結果リポーター中の EBNA1 遺伝子が切断され AcGFP の蛍光が観察された。従って、ここで設計されたガイド RNA と CRISPR/Cas9 により EBNA1 遺伝子の切断が可能となった。このヌクレアーゼとガイド RNA を EBV 持続感染細胞(LCL)に導入し、EBV が脱落するかどうかを検討した。EBV 脱落効率は 30~40%とそれほど高くないが、感染細胞からの EBV 脱落が確認された。今後、ヌクレアーゼとガイド RNA を改良し、EBV 脱落効率のアップを目指す。

5) エクソーム解析による慢性活動性 EBV 感染症原因遺伝子の探索

CAEBV の発症機構については、限局的な免疫不全を背景として EBV 感染細胞の増殖が継続し、最終的にリンパ腫発症に至るといったシナリオが想定されている。そこで、CAEBV 原因遺伝子の同定を目的としてエクソーム解析を行った。CAEBV 患者 8 名およびその家族 19 名の計 27 名の解析により複数の背景遺伝子候補を同定した(マイルストーン達成)。候補遺伝子の 1 つの homozygous variant は野生型の homozygote と比較してオッズ比が 5.58 (95% confidence interval=1.58-20.5) であった。現在それらの遺伝子の機能解析を進めている。

6) 移植後免疫不全状態および慢性活動性 EBV 感染症患者における EBV 感染動態の解析と診断・治療への支援

2013 年度より EBV 迅速診断を高度先進医療として実施している。肝移植後の EBV 関連リンパ増殖性疾患の発症予防を目的として、当センターにおける肝移植の全症例において EBV 感染動態のモニタリングを毎週行い、EBV 関連リンパ増殖性疾患の発症予防を図ると同時に効果的な EBV 管理プログラムの作成を行ってきた (Pediatr Transplant. 2012 Nov;16(7):748-57)。このプログラムでは、移植患者末梢血 EBV DNA モニタリングと FCM 解析を組み合わせることで免疫抑制剤減量による EBV 特異的細胞傷害性 T 細胞の誘導の有無を簡便に調べることができる。H27 年 1 月~H28 年 12 月の期間に EBV 定量解析 4468 件、FCM 解析 3218 件、難治性ウイルス疾患関連検査として感染細胞同定解析 6 件行なった。解析結果にもとづき免疫抑制剤の減量などの処置がとられ、これまでに引き続きリンパ増殖性疾患は発症していない。肝移植片から Real-time PCR 法で EBV は検出されなかったが、培養を行うと 29 例中 23 例で EBV 陽性細胞株が樹立されたことから微量ながら EBV が含まれることが実証された。当センター内の臓器移植センター以外の部局からの EBV 定量解析はおよそ 100 件行った(小児がんセンター、消化器科、皮膚科、免疫科、総合診療部、血液内科、呼吸器科、感染症科)。感染細胞同定解析は 21 件実施し、いずれも早期発見・早期治療介入を可能にするのと同時に、無駄な治療の排除による患者負担の軽減と医療費削減に寄与している。また EBV 以外に、HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, HHV-6, HHV-7, BK virus, JC virus, Parvo virus B19, HHV-8, HBV, AdV を対象に多項目同時ウイルス迅速診断約 417 件(検査ウイルス項目およそ 5,004 件)実施した。難治性ウイルス疾患中央診断として CAEBV と EBV-HLH の診断支援を行い、全国の 214 名の患者(のべ 642 検体)についてウイルス量測定や感染細胞同定などを行った。そのうち CAEBV と確定診断された症例は 51 人、EBV 関連血球貪食リンパ組織球症と確定診断された症例は 32 人であった

7) EBV 潜伏感染遺伝子に対する新規抗体の作製

EBV の潜伏感染遺伝子である LMP1 は膜貫通 6 回および LMP2 は膜貫通 12 回の膜タンパクである。この膜タンパクの細胞外ドメインを認識する抗体は現在存在しない。細胞外ドメインを認識するこれら

の抗体が作製できれば感染細胞を生きたまま検出可能となり、細胞表面抗原マーカー抗体との組み合わせにより EBV 感染細胞の確定診断がフローサイトメトリーを利用することで容易になる。また、生きたままソーティングできるため、その後の感染細胞の解析に多くの利点がある。現在は細胞内ドメインを認識する抗体のみであるため、細胞に穴をあける作業が存在し、作業工程が増えることによる作業時間の増加と細胞ロスならびに非特異反応の可能性が増す。確定診断の観点から非特異的反応の排除は重要である。細胞に穴をあける必要がない EBV の潜伏感染遺伝子 LMP1, LMP2 の細胞外ドメイン認識抗体の開発は感染細胞同定解析において急務といえる。本研究では、疎水性であることが多いウイルス膜蛋白を親水性にする技術開発を進め、簡便に目的抗体を作製する新規技術開発を行っている。現在特許申請の準備を進めている。

2. 川崎病に関する研究

1) 大量ガンマグロブリン療法(IVIG)不応に関連する特異的バイオマーカーの探索研究

先行研究により CD177 および G-CSF の発現量が IVIG 不応と密接に関連することが分かったので、川崎病の急性期に血中レベルが上昇するとの既報がある炎症性サイトカインと組み合わせることにより、感度と特異度を上げることが可能であるかについて多変量解析を行っている。また尿を採取し、治療薬としてのアスピリン効果を検討するために尿中トロンボキサンを測定している。検査項目および方法は下記の通りである。

- (1) 血漿中のサイトカイン: IL-1b, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-17A, TNF-a, IFN-g, G-CSF, VEGF, MCP-1, sIL-2Ra
Luminex 法で測定する (Milliplex HCYTO 60Kit)
- (2) 血漿中の可溶性レセプター: sTNFR-1, sTNFR-2
サイトメトリックビーズアレイシステム (BD バイオサイエンス) で測定する。
- (3) 細胞表面蛋白: Polycythemia Rubra Vera 1 (PRV-1, CD177)
免疫染色フローサイトメトリーで測定する。
- (4) 細胞内蛋白: リン酸化 STAT3
免疫染色フローサイトメトリーで測定する。
- (5) 尿検体よりトロンボキサン測定する。
11-dehydro Thromboxane B2 EIA Kit を使用し測定する。

現在データ集積しているところであるが、この研究により①急性期川崎病患者の IVIG 治療反応性を治療前の早い時期に予測できるようになること、②冠動脈障害の発症を超音波エコー検査で血管拡張が始まる前に予測できるようになること、が期待される。①、②ともに 100%の確率で予測することは不可能だが、ハイリスクの患児を早期に把握することにより、リスクを回避するための個別化した治療プログラムを開発を目指す。

2) ヒト化マウスを用いた川崎病冠動脈炎発症モデルの作製と血管炎発症機構の解明研究

ヒト化マウス作製しマウス内でヒト型免疫細胞が分化・誘導されたことを確認後、CAWS を 4mg/mouse(i.p)/day x 5 回、腹腔内投与をおこなった。Day28 で解剖し大動脈起始部および冠動脈での血管炎形成を組織学的に検討する予定で現在解析を進めている。コントロールは PBS を同量 (μ l)/mouse(i.p)/day x 5 回、腹腔内投与をおこなったマウスとした。CAWS 投与後 1 週間毎に採血をし、フローサイトメーターによる B 細胞、T 細胞、NK 細胞など腫瘍免疫細胞の動きとサイトカインの産生プロファイリングをおこなった。その結果、炎症性サイトカインと言われる TNF- α , IL-6, IFN- γ , IL-8, MCP-1 の異常産生と炎症反応に寄与する IL-17 などの上昇が見られた。川崎病の特徴である血管炎形成

については現在病理学的検討を進めている。川崎病急性期におけるサイトカイン異常産生によって引き起こされる病態の重症化に対し、その治療法の開発にこのモデルマウスが有用であることが示された。今後サイトカイン産生抑制効果のある分子治療薬等をモデルマウスに投与し、それらの病態に及ぼす評価を進めていく予定である。

3) 成育病院における IVIG 不応川崎病患児のサイトカイン・ケモカインの測定・解析と診断・治療への支援

細胞表面蛋白である Polycythemia Rubra Vera1 (PRV-1, CD177)および血漿中サイトカインである G-CSF の発現量が IVIG 不応に密接な関係があることがこれまでの研究で明らかとなっている。そこで CD177、G-CSF を測定しそれらの発現量を検討し、診断・治療への支援を行っている。

【平成 27 年研究業績】

1. 論文発表

〔原著論文 (英文)〕

- 1) Yoshimori M., Takeda H., Imadome K., Kurata M., Yamamoto K., Koyama T., Shimizu N., Fujiwara S., Miura O., Arai A. P-glycoprotein is expressed and causes resistance to chemotherapy in EBV-positive T-cell lymphoproliferative diseases. *Cancer Medicine*. 2015 Jul 8.
- 2) Jinta M., Imadome K., Komatsu H., Yoshimori M., Kurata M., Fujiwara S., Miura O., *Arai A. L-Asparaginase monotherapy for EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases: A pilot Study. *Journal of Medical and Dental Science*. 2015 Mar 30;62(1):1-9.
- 3) Hosoi H., *Sonoki T., Murata S., Mushino T., Kuriyama K., Nishikawa A., Hanaoka N., Oshima K., *Imadome K., Nakakuma H. Successful Immunosuppressive Therapy for Severe Infectious Mononucleosis in a Patient with Clonal Proliferation of EBV-infected CD8-positive Cells. *International Medicine*. 2015 Jun ;54(12): 1537-41.
- 4) Matsuda G., Imadome K., Kawano F., Mochizuki M., Ochiai N., Morio T., Shimizu N., *Fujiwara S. Cellular immunotherapy with ex vivo expanded cord blood T cells in a humanized mouse model of EBV-associated lymphoproliferative disease. *Immunotherapy*. 2015 Apr; 7(4):335-41.
- 5) Hattori T., Arai A., Yokoyama T., Imadome K., Tomimitsu H., Miura O., *Mizusawa H. Immune-mediated Neuropathy with Epstein-Barr virus-positive T-cell Lymphoproliferative Disease. *International Medicine*. 2015; 54(1):69-73.
- 6) *Nakazawa A., Nakano N., Fukuda A., Sakamoto S., Imadome K., Kudo T., Matsuoka K., Kasahara M. Use of serial assessment of disease severity and liver biopsy for indication of liver transplantation in pediatric Epstein-Barr virus-induced fulminant hepatic failure. *Liver Transplantation*. 2015 Mar ;23(3): 362-8.
- 7) *Fukuda A., Imadome K., Sakamoto S., Shigeta T., Uchida H., Matsunami M., Sasaki K., Kanazawa H., Kawano F., Nakazawa A., Fujiwara S., Kasahara M. Evaluation of the immune function assay in pediatric living donor liver transplantation. *Pediatric Transplantation*. 2015 Mar
- 8) Miyatake H, Sanjoh A, Unzai S, Matsuda G., Tatsumi Y, Miyamoto Y, Dohmae N, *Aida Y. Crystal structure of human importin- α 1 (Rch1), revealing a potential autoinhibition mode involving homodimerization. *PLoS One*. 2015 Feb 6;10(2):e0115995.

〔総説 (英文)〕

- 1) Fujiwara S., Imadome K., Takei M. Modeling EBV infection and pathogenesis in new-generation humanized mice. *Experimental Molecular Medicine*. 2015 Jan 23; 47: e135.

[総説 (和文)]

- 1) 今留謙一 EBV 関連リンパ増殖性疾患：概念と病態解析研究の進歩
血液内科 第 71 巻第 2 号 2015

2. 学会発表

[招待講演・特別講演・シンポジウム・ワークショップ]

- 1) 今留謙一 「ヒト化マウスを用いた疾患モデルマウスの作製と応用」
高知大学大学院 DC セミナー 2015.7.9 (高知 招聘講演)
- 2) 今留謙一 「ヒト化マウスを用いた EB ウイルス関連疾患モデルの作製と応用」～ヒト免疫システムの構築の現状と展望～ 第 22 回福岡血液研究会 2015.11.20 (福岡 招聘講演)
- 3) 今留謙一 「EB ウイルス関連疾患の病態把握と診断および最新の臨床研究の紹介」
第 1 回血液病セミナー 2015.11.27 (旭川 招聘講演)

[国際学会発表]

- 1) Yamakawa N., Imadome K., Yahata T., Kotani A. Role of tumor-derived secretory small RNAs in macrophages in EBV positive lymphoma formation
2015 The Keystone symposia on Molecular & Cellular Biology 17 - 21 May
- 2) Iwata M., Nagasawa Y., Kitamura N., Nozaki T., Ishizuka E., Imadome K., Fujiwara S., Iwata M., Nagasawa Y., Kitamura N., Nozaki T., Ishizuka E., Imadome K., Fujiwara S., *Takei M. Epstein-Barr Virus-Induced Expression of Receptor Activator Nuclear Factor- κ B Ligand on B cells is Possibly Responsible for Erosive Arthritis in Epstein-Barr Virus-Infected Humanized NOD/Shi-scid/ γ c^{null} Mice 2016 American College of Rheumatology, 11-16 Nov. Washington, DC

【公的研究費】

1. 日本学術振興会 科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究
臓器移植後 EB ウイルス関連リンパ増殖症の発症機構の解明研究
今留謙一 (代表) (290 万円)
2. 成育医療研究開発費
簡便で安価な病原微生物迅速診断法の開発と実践および難治性ウイルス疾患の新規診断法・治療法の開発についての研究
今留謙一 (代表) (3200 万円)
3. 日本医療研究開発機構(難治性疾患実用化研究事業)
慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患に対する革新的治療薬を実現するための独創的開発基盤
今留謙一 (分担) (764 万円)
4. 日本医療研究開発機構(難治性疾患実用化研究事業)

HIV 感染者の長期予後を規定するエイズリンパ腫の全国規模多施設共同臨床試験の展開と包括的医療体制の確立

今留謙一（分担）（100 万円）

5. 日本医療研究開発機構（難治性疾患実用化研究事業）

慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患の診断・治療効果評価の向上を目指した EB ウイルス DNA 量のエビデンスの構築

今留謙一（分担）（100 万円）

6. 厚生労働科学研究委託費 難治性疾患実用化研究事業

慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患の診療ガイドライン作成と患者レジストリ構築

今留謙一（分担）（50 万円）

7. 循環器病研究開発費

小児重症心不全の治療体系確立のための臨床研究

今留謙一（分担）（150 万円）

8. 日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究（C）

EBV 陽性 T/NK 細胞リンパ腫における APOBEC の機能研究

今留謙一（分担）（65 万円）

9. 成育医療研究開発費

小児臓器移植医療における新規治療方法の確立・次世代育成に関する研究

今留謙一（分担）（300 万円）

10. 成育医療研究開発費

難治性川崎病の診断と治療法の開発

今留謙一（分担）（80 万円）

11. 学術振興会 科学研究費補助金基盤研究（C）

EBV エピゾーマルベクターを応用した疾患モデルマウスでの新規治療法の開発

松田剛（代表）（130 万円）

12. 成育医療研究開発費

小児がんに対する有効な細胞免疫療法の開発

松田剛（代表）（520 万円）

【荣誉、表彰】 なし

【特許】 なし

【その他】

1. 教育活動

- 今留謙一：横浜市立大学医学研究系大学院客員教授
 今留謙一：東京医科歯科大学医学部非常勤講師
 今留謙一：東京医科歯科大学保健衛生学科大学院非常勤講師
 今留謙一：帝京科学大学環境学部非常勤講師
 今留謙一：高知大学医学部大学院非常勤講師

2. 社会貢献

- 今留謙一：慢性活動性 EB ウイルス感染症第 5 回患者交流会講師 2015 年 10 月 25 日.
 今留謙一：EBV 感染症研究会世話人
 今留謙一：ヘルペスウイルス研究会世話人
 今留謙一：慢性活動性 EBV 感染症とその類縁疾患の診療ガイドライン作成委員(厚労班)
 今留謙一：Clinical Research in Infectious Diseases Journal Editor
 今留謙一：Pediatrics International など国際誌の査読 6 回
 今留謙一：免疫ふしぎ未来 2015 説明員 日本免疫学会主催 2015 年 8 月 9 日.
 今留謙一：当センターおよび全国 42 医療機関からの難治性ウイルス診断と解析 307 検体
 今留謙一：東京医科歯科大学医学部 3 年インターン 2015 年 8 月 24-25 日.

3. 研究所運営への貢献

- 今留謙一：臨床検査委員会委員
 今留謙一：実験動物ワーキング会議委員

【平成 28 年研究業績】

1. 論文発表

〔原著論文 (英文)〕

- 1) Yamaguchi H., Ishida T., Yokoi T., Tanaka T., Maruyama A., Nagase H., Hasegawa D., Imadome K., Takeda H., Kosaka Y., *Uetani Y. Clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenic lesion accompanied by Epstein-Barr virus hemophagocytic lymphohistiocytosis: A case report and Review of the literature. Journal of Pediatric Hematological Oncology. 2016 Nov 22.
- 2) Haji S., Shiratsuchi M., Matsushima T., Takamatsu A., Tsuda M., Tsukamoto Y., Tanaka E., Ohno H., Fujioka E., Ishikawa Y., *Imadome K., *Ogawa Y. Achievement of disease control with donor-derived EB virus-specific cytotoxic T cells after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for aggressive NK-cell leukemia. International Journal of Hematology. 2016 Nov 9.
- 3) Yamada Y., Osumi T., Imadome K., Takahashi E., Ohye T., Yoshikawa T., Tomizawa D., Kato M., *Matsumoto K. Transmission of chromosomally integrated humanherpesvirus 6 via cord blood transplantation. Transplantation of Infectious Diseases. 2016 Nov 16.
- 4) Matsui S, Takeda Y, Isshiki Y, Yamazaki A, Nakao S, Takaishi K, Nagao Y, Hasegawa N, Togasaki E., Shimizu R., Kawajiri C., Sakai S., Mimura N., Takeuchi M., Ohwada C., Sakaida E., Iseki T., Imadome K., *Nakaseko C. Chronic active Epstein-Barr virus infection with marked pericardial effusion successfully treated with allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. Rinsho Ketsueki. 2016 May;57(5):624-9.
- 5) *Arai A., Sakashita C., Hirose C., Imadome K., Yamamoto M., Jinta M., Fujiwara S., Tomita M., Shimizu N., Morio T., Miura O. Hematopoietic stem cell transplantation for adults with EBV-positive T- or NK- cell

lymphoproliferative disorders: efficacy and predictive markers. *Bone Marrow Transplantation.* 2016 Jun; 51(6):879-82.

- 6) Yui S., Yamaguchi H., Imadome K., Arai A., Takahashi M., Ohashi R., Asayama T., Kondo A., Moriya K., Nakayama K., Dan K., Shimizu S., *Inokuchi K. Epstein-Barr virus positive T cell lymphoproliferative disease following cord blood transplantation for acute myeloid leukemia. *Journal of Nippon Medical School.* 2016 ;83(1):35-42.
- 7) Miyatake H, Sanjoh A, Murakami T, Murakami H, Matsuda G, Hagiwara K, Yokoyama M, Sato H, Miyamoto Y, Dohmae N, *Aida Y. Molecular Mechanism of HIV-1 Vpr for Binding to Importin- α . *Journal of Moleculour Medicine* 2016 Jul 3;428(13):2744-57

〔総説（和文）〕

- 1) 日本川崎病学会発表演題の系統的レビューに基づいた川崎病臨床研究のトレンド
黒川愛恵, 小林徹, 関戸雄貴, 鈴木孝典, 益田博司, 小野博, 賀藤均, 今留謙一, 阿部淳, 伊藤秀一, 福田清香, 野村理, 石黒精
心臓 48(12) : 1429-1430, 2016

〔著書（英文）〕

- 1) Fujiwara S, Matsuda G, and Imadome K. Epstein-Barr virus infection in humanized mice. In Poluektova, L.Y., Garcia-Martinez, J.V., Koyanagi, Y., Manz, M.G., Tager, A.M. Eds. *Humanized Mice for HIV Research*, Springer, Berlin: Chapter 39,493-508, 2016

2. 学会発表

[招待講演・特別講演・シンポジウム・ワークショップ]

- 1) 今留謙一 「臓器横断的シンポジウム 3 移植後感染症（小児）移植治療後の日和見感染症関連ウイルス疾患の病態把握と治療戦略」 第 52 回日本移植学会 2016.9.30 (東京 招聘講演)
- 2) 今留謙一 「EBV 関連 T/NK 細胞リンパ増殖症の病態把握と診断および治療戦略」 第 10 回北海道小児先進医療研究会」 2016.11.8 (旭川 招聘講演)
- 3) 今留謙一 「移植後日和見感染症関連ウイルス制御のための検査・診断」 成育臓器移植教育セミナー 2016.11.29 (成育医療センター 教育講演)
- 4) 今留謙一 「EBV 関連 T/NK 細胞リンパ増殖症の診断と治療および最新の基礎研究の現状」 EB ウイルス感染と血液疾患研究会 2016.12.8 (東京 招聘講演)
- 5) Go Matsuda and Ken-Ichi Imadome
Identification and functional analysis of Epstein-Barr virus EBNA3C Nuclear localization signal 4 (NLS4)
第 64 回日本ウイルス学会 2016.10.23-25 (札幌 ワークショップ)

[国際学会発表]

- 1) Shibayama H., Imadome K., Sakashita C., Watanabe K., Shimizu N., Koyama T., Fujiwara S., Miura O., Arai A. In vitro and in vivo effects of proteasome inhibitor bortezomib on Epstein-Barr virus-positive T- or NK-cell lymphoproliferative diseases. 17th International Symposium on EBV and associated diseases. 08 - 12 August 2016, Zurich, Switzerland

【公的研究費】

1. 日本学術振興会 科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究
臓器移植後 EB ウイルス関連リンパ増殖症の発症機構の解明研究
今留謙一（代表）（290 万円）
2. 成育医療研究開発費
簡便で安価な病原微生物迅速診断法の開発と実践および難治性ウイルス疾患の新規診断法・治療法の開発についての研究
今留謙一（代表）（2300 万円）
3. 日本医療研究開発機構(難治性疾患実用化研究事業)
慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患に対する革新的治療薬を実現するための独創的開発基盤
今留謙一（分担）（351 万円）
4. 日本医療研究開発機構(橋渡し事業シーズ B)
核酸誘導体 1-(2-Deoxy-2-fluoro-4-thio-β-D-arabinofuranosyl)thymine(S-FMAU)は選択的に EBV 感染細胞を細胞死に導く
今留謙一（分担）（1,350 万円）
5. 日本医療研究開発機構(難治性疾患実用化研究事業)
HIV 感染者の長期予後を規定するエイズリンパ腫の全国規模多施設共同臨床試験の展開と包括的医療体制の確立
今留謙一（分担）（85 万円）
6. 日本医療研究開発機構(難治性疾患実用化研究事業)
慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患の診断・治療効果評価の向上を目指した EB ウイルス DNA 量のエビデンスの構築
今留謙一（分担）（60 万円）
7. 日本医療研究開発機構(免疫アレルギー疾患等実用化研究事業（移植医療技術開発研究分野）)
小児心臓移植後の移植後リンパ球増殖性疾患の診断及び治療法の開発に関する臨床的研究
今留謙一（分担）（100 万円）
8. 厚生労働科学研究委託費 難治性疾患実用化研究事業
慢性活動性 EB ウイルス感染症とその類縁疾患の診療ガイドライン作成と患者レジストリ構築
今留謙一（分担）（50 万円）
9. 循環器病研究開発費
小児重症心不全の治療体系確立のための臨床研究
今留謙一（分担）（50 万円）

10. 日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究 (C)
EBV 陽性 T/NK 細胞リンパ腫における APOBEC の機能研究
今留謙一 (分担) (50 万円)
11. 成育医療研究開発費
小児臓器移植医療における新規治療方法の確立・次世代育成に関する研究
今留謙一 (分担) (250 万円)
12. 成育医療研究開発費
川崎病の病因・病態解明と新規治療戦略開発体制の構築
今留謙一 (分担) (130 万円)
13. 成育医療研究開発費
小児に対する最適な造血幹細胞移植法の開発研究
今留謙一 (分担) (250 万円)
14. 学術振興会 科学研究費補助金基盤研究 (C)
EBV エピゾーマルベクターを応用した疾患モデルマウスでの新規治療法の開発
松田剛 (代表) (140 万円)
15. 成育医療研究開発費
小児がんに対する有効な細胞免疫療法の開発
松田剛 (代表) (110 万円)

【栄誉、表彰】 なし

【特許】 なし

【その他】

1. 教育活動

- 今留謙一：横浜市立大学医学研究系大学院客員教授
今留謙一：東京医科歯科大学医学部非常勤講師
今留謙一：東京医科歯科大学保健衛生学科大学院非常勤講師
今留謙一：帝京科学大学環境学部非常勤講師
今留謙一：高知大学医学部大学院非常勤講師

2. 社会貢献

- 今留謙一：慢性活動性 EB ウイルス感染症第 6 回患者交流会講師 2016 年 11 月 27 日.
今留謙一：EBV 感染症研究会世話人
今留謙一：ヘルペスウイルス研究会世話人

今留謙一：EBV 基礎研究会世話人

今留謙一：慢性活動性 EBV 感染症とその類縁疾患の診療ガイドライン作成委員(厚労班)

今留謙一：Clinical Research in Infectious Diseases Journal Editor

今留謙一：Pediatrics International など国際誌の査読 8 回

今留謙一：免疫ふしぎ未来 2016 説明員 日本免疫学会主催 2016 年 8 月 7 日.

今留謙一：当センターおよび全国 42 医療機関からの難治性ウイルス診断と解析 335 検体

今留謙一：東京医科歯科大学医学部 3 年インターン 2016 年 8 月 8-9 日.

今留謙一：横浜市立大学医学部 3 年クラークシップ 2016 年 4 月 1 日 - 6 月 30 日

3. 研究所運営への貢献

今留謙一：臨床検査委員会委員

今留謙一：実験動物委員会委員