

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03481

研究課題名(和文)レトロウイルス中和抗体産生制御遺伝子の実体と作用機序の解明

研究課題名(英文) Identification of host genes that regulate neutralizing antibody production upon retrovirus infections and their mechanisms of action

研究代表者

宮澤 正顯 (Miyazawa, Masaaki)

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：60167757

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)： ウイルス中和抗体産生を制御する宿主因子の解明は、効率的なワクチン開発に必須である。我々はマウスレトロウイルス感染時に中和抗体産生を制御する宿主遺伝子の同定過程で、レトロウイルス複製制限因子APOBEC3の多型を見出した。そこで、APOBEC3がBリンパ球で直接抗体産生を制御しているか解析した。APOBEC3タンパク質は生体内でBリンパ球に検出され、その発現は胚中心細胞で特に高かった。しかし、APOBEC3は核には分布せず、抗原刺激後もその発現量は変化しなかった。APOBEC3存在下ではウイルス粒子に不全型が増え、Bリンパ球が感染から護られることと相まって、抗体産生に結び付くと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来解析が困難であったAPOBEC3の生体内局在を、CRISPR-Cas9法によるタグノックインマウス作製で初めて明らかにした。APOBEC3がウイルス中和抗体産生を制御する機構として、Bリンパ球における体細胞突然変異誘発の関与が仮定されていたが、否定的となった。このノックインマウスは、今後炎症や発がん過程におけるAPOBEC3発現と局在の変化を解析するのに有用である。

ウイルス中和抗体産生制御機序の解明は感染防御ワクチン開発の基礎であり、今回Bリンパ球におけるウイルス感染制限と不全粒子による免疫刺激が示唆されたことから、サブユニットワクチンやmRNAワクチンの優位性が支持される。

研究成果の概要(英文)： In the process of identifying a host gene that regulates the production of neutralizing antibodies (Ab) upon retrovirus infection, we found genetic polymorphisms at the mouse Apobec3 locus. However, how this cytidine deaminase could affect Ab production was unclear. One hypothesis was that APOBEC3 (A3) might affect somatic hypermutation in B lymphocytes. To examine this, we established knock-in strains of mice that express A3 protein tagged with an in-frame FLAG peptide. Tagged A3 was detected in B cells, and distinctive high expression was observed in germinal center cells. Antigenic stimulation increased germinal center cells but A3 expression levels in each cell did not change. Further, in the presence of A3 processing of viral gag gene products was hampered and immature particles increased among budding virions. Thus, A3 may indirectly affect Ab production through protecting B cells from infection and increasing antigenically intact but non-replicating immature virions.

研究分野：ウイルス学

キーワード：中和抗体 宿主因子 APOBEC3 ゲノム編集 ノックインマウス 免疫組織化学 Bリンパ球 胚中心

1. 研究開始当初の背景

ウイルス感染に対する宿主の抵抗性は、感染細胞内でのウイルス複製を制限する因子、自然免疫反応を制御する因子、ウイルス抗原に対する抗体産生や T リンパ球応答を制御する因子などの遺伝的多型によって影響を受ける。ウイルス中和抗体の産生を制御する宿主因子の実体とその作用機序の解明は、効果的なワクチン開発のためにも重要な研究課題である。

我々は、マウスのフレンド白血病ウイルス複合体 (FV) 感染に対する免疫応答を制御する宿主遺伝子を MHC 領域に複数マップし、class I 及び class II 遺伝子座の対立遺伝子産物によって提示されるウイルス抗原エピトープを同定して、単一エピトープのペプチドワクチンによる感染防御を実現してきた (Miyazawa, M. *et al. J. Immunol.* 1995, 155:748-758)。一方、MHC 領域にはマップされないが、FV 感染後のウイルス中和抗体産生制御に主要な役割を果たす *Rfv3* 遺伝子を 15 番染色体上にマッピングし、この遺伝子の多型が感染初期におけるウイルス中和抗体産生の時間経過を制御していることを明らかにした (Kanari, Y. *et al. AIDS* 2005, 19:1015-1024)。*Rfv3* 遺伝子がマップされた染色体領域には *Apobec3* 遺伝子座がある。我々と Santiago らは、マウス APOBEC3 分子には系統間の多型があり、FV 感染抵抗性を示すマウス系統から APOBEC3 をノックアウトすると、生体内での FV 複製効率が 100 倍近く高まり、病原性も増すことを同時に報告した (Santiago, M. L. *et al. Science* 2008, 321: 1343-1346; Takeda, E. *et al. J. Virol.* 2008, 82:10998-11008)。しかし、*Apobec3* 遺伝子多型の実体に関する Santiago らの記載には誤りがあり、発現量の多寡と第 5 エキソンの有無の差を発見した我々の記述が正しいことを、世界の複数の研究グループが確認している。

APOBEC3 は、レトロウイルス複製時に形成されるウイルスゲノムの逆転写産物に作用するポリヌクレオチドシチジンデアミナーゼであり、一本鎖 DNA のシチジンをウリジンに置換することにより、逆転写産物の分解を誘導し、ウイルスゲノムに変異を加える。しかし、ウイルス複製制限因子である APOBEC3 の多型がどのようにしてウイルス中和抗体の産生を制御し得るのかは不明であった。我々も Santiago らも、*Apobec3* 遺伝子多型が影響を及ぼすのはレトロウイルス感染時の中和抗体産生のみであり、モデル抗原としてのハプテン-キャリア複合体に対する抗体産生とクラススイッチは、*Apobec3* 多型の影響を受けないという観察で一致していた (Tsuji-Kawahara, S. *et al. J. Virol.* 2010, 84:6082-6095)。また、我々は FV が B リンパ球に感染すること、APOBEC3 欠損下では感染 B リンパ球数が著しく増加し、それらの細胞では NK 細胞の活性化リガンドである RAE1 の発現が上昇していることを観察していた (Ogawa, T. *et al. J. Virol.* 2011, 85:5423-5435)。RAE1 は NK 細胞による FV 感染細胞排除に働くリガンドであり、NKG2D 受容体と RAE1 の結合を阻害すると感染細胞数が有意に増加する。しかし、APOBEC3 欠損下でも FV に感染する B リンパ球は全体のごく一部であり、ウイルス抗原特異的な抗原受容体を有する細胞が受容体依存性に FV に感染し、APOBEC3 欠損下では RAE1 を発現している可能性が考えられた。

一方、Santiago らは FV 感染マウスからウイルス抗原特異的抗体を産生するハイブリドーマを多数樹立し、それらの免疫グロブリン可変部遺伝子を比較解析した結果、抗ウイルス抗体の可変部には高頻度突然変異があり、G から A への塩基置換のモチーフから、APOBEC3 が親和性成熟に関わっている可能性があることを報告した (Halemano, K. *et al. PNAS* 2014, 111:7759-7764)。これに対して我々は、AID 欠損マウスでもフレンドウイルス中和抗体が産生され、CD4 陽性 T リンパ球がウイルス抗原ペプチドで感作された条件下では体細胞突然変異の無い IgM 抗体の移入で感染防御が可能であることを明らかにした (Kato, M. *et al. J. Virol.* 2015, 89:1468-1473)。従って、たとえ APOBEC3 が免疫グロブリン遺伝子可変部の体細胞突然変異に関わるとしても、それはウイルス中和抗体の産生に必須ではない。また、マウスの APOBEC3 はデアミナーゼドメインを 2 つ持つダブルドメイン型であり、ヒトの APOBEC3C などシングルドメイン型と異なり、異所性に高発現させても核内に移行することはないと予想された。従って、マウス APOBEC3 が B リンパ球で免疫グロブリン遺伝子可変部の体細胞高頻度突然変異を起こせると考えることには、そもそも無理があると考えられた。

Apobec3 多型は退交配マウスに FV を感染させ、血清中の中和抗体価を測定して *Rfv3* 遺伝子存在部位を絞り込む過程で候補遺伝子として見出され、ウイルス感染後の発現増強から系統間多型が発見されたが (Miyazawa, M. *et al. Vaccine* 2008, 26:2981-2996)、絞り込んだ領域に *Apobec3* 以外の候補遺伝子が存在しない訳ではなかった。実際、我々は同じ領域に存在する TNF ファミリー B 細胞活性化因子受容体 BAFF-R の遺伝子多型が、*Apobec3* 多型と相互作用して中和抗体産生能を制御している可能性を指摘していた (Tsuji-Kawahara, S. *et al. J. Virol.* 2010, 84:6082-6095)。また、本研究開始当時、米国シカゴ大学の Tatyana V. Golovkina との討論で、彼女らが中和抗体産生の遅い BALB/c マウスの背景に、中和抗体産生能の高い C57BL/6 マウスの *Rfv3* 領域染色体を導入したコンジュニックマウスを作成し、これを MHC コンジュニックの BALB.B マウスと交配することで、*H2b* ハプロタイプの存在下でのみ *Rfv3* 領域による中和抗体産生能の制御が見られると観察していることも伝えられた。同様の MHC 遺伝子型と *Rfv3* 多型の相互作用は、我々も B10.A マウスと A.BY マウスの交配系で観察していた。

これらの背景から、ウイルス中和抗体産生制御遺伝子である *Rfv3* は、もしもその実体が *ApoBec3* 遺伝子多型であるとしても、APOBEC3 タンパク質そのものが直接抗体産生の有無やそのウイルス抗原特異性を制御しているものではないこと、むしろ宿主の獲得免疫応答を間接的に制御することでウイルス中和抗体の産生速度に影響を与えていることが予想された。

2. 研究の目的

本研究計画の当初目的は、以下の4点の科学的問いを、実験的に検証することにあった：

(1) 免疫グロブリン遺伝子可変部の体細胞突然変異を誘発するためには、APOBEC3 タンパク質が染色体 DNA と相互作用を行う必要がある。APOBEC3 タンパク質は B リンパ球の核内に局在するか？ B リンパ球における APOBEC3 タンパク質発現や、可能性としての核内局在は、FV 感染など免疫学的な刺激によって誘導または増強されるか？ AID 欠損下では、その機能を補うため APOBEC3 が核内に局在ようになるのか？ AID/APOBEC3 両欠損下でも FV 中和抗体が産生されるか？

(2) APOBEC3 は、ウイルス抗原特異的な B 細胞抗原受容体 (BCR) を有する B 細胞をレトロウイルス感染から保護することにより、中和抗体産生能を維持させるのか？ ウイルス粒子がエンドソームに取り込まれると、TLR7 を介して B 細胞が活性化するが、それ以上ウイルス複製過程が進行しない条件を作れば、APOBEC3 欠損下でも中和抗体産生が起こるか？

(3) APOBEC3 は、抗原性は保たれているが複製能力を欠くレトロウイルス粒子を増やすことで、ウイルス感染の拡がりを抑えつつ獲得免疫反応を刺激し、結果として中和抗体産生を速めているのではないか？

(4) *Rfv3* の実体は本当に *ApoBec3* 遺伝子多型か？ 中和抗体産生を制御しているのは、*ApoBec3* 遺伝子座に連鎖する別の遺伝子ではないのか？

3. 研究の方法

(1) FLAG タグノックイン APOBEC3 発現マウスの樹立

APOBEC3 分子の発現量や細胞内局在をタンパク質レベルで解析するためには、何らかの形で APOBEC3 タンパク質を標識することが必要である。これまで、試験管内の実験のためには EGFP や GST との融合タンパク質が用いられてきたが、分子量や高次構造の違いから、これら融合タンパク質と本来の APOBEC3 タンパク質で細胞内分布、特に核への分布が変化する懸念がある。また、APOBEC3 タンパク質に対する特異性の高い抗体は作成が困難であり、APOBEC3 以外の細胞タンパク質との交差反応により、標識抗体によって検出されたシグナルが本当に APOBEC3 タンパク質だけを捉えたものかどうか常に問題となってきた。

そこで、CRISPR-Cas9 法を用いて *ApoBec3* 遺伝子座の第1エクソンに in-frame で FLAG タグを挿入したノックイン (KI) マウスを作製した。スクリーニングにより KI マウス系統を選別し、交配維持して KI アリルのホモ接合およびヘテロ接合個体を実験に用いた。

(2) FLAG タグ KI マウス B リンパ球における APOBEC3 発現と局在の解析

KI マウスから脾細胞や骨髄細胞を分離、リンパ球表面マーカーと細胞内タグを染色後、セルソーター解析により APOBEC3 タンパク質の細胞分布を明らかにすると共に、抗原刺激後の時間経過に伴う APOBEC3 の細胞分布や発現量の変化を調べた。また、免疫組織化学の手法を用いて、脾臓やパイエル板などリンパ系組織における各種リンパ球サブセットの表面マーカーと FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質の分布を観察した。

(3) APOBEC3 によるレトロウイルス粒子形成過程阻害の解析

APOBEC3 タンパク質は出芽するウイルス粒子に取り込まれ、次の感染標的細胞で複数の機構によりウイルスゲノムの逆転写とプロウイルス組込み・発現過程を阻害するとされるが、感染細胞からの子孫ウイルス粒子形成過程を阻害することがあるならば、抗原性を保ち、かつ複製能のない粒子を形成させることでウイルス中和抗体産生に影響を与える可能性がある。そこで、我々が既に持つ標識 APOBEC3 高発現細胞株や *ApoBec3* ノックアウトマウス由来細胞株を駆使し、ウイルス構造タンパク質に対する各種抗体による免疫学的検出法や電子顕微鏡観察を用いて、APOBEC3 存在の有無によるレトロウイルス粒子の抗原性と複製能の変化を検討した。

4. 研究成果

(1) APOBEC3 によるレトロウイルス粒子成熟の阻害

APOBEC3 が感染細胞から出芽するレトロウイルス粒子の成熟に与える影響を調べるため、野生型またはデアミナーゼ活性欠損型のマウス APOBEC3 発現プラスミドとマウスレトロウイルスの分子クローンを用いて、APOBEC3 の存在下と非存在下におけるウイルス構造タンパク質のプロセッシング過程を比較した。その結果、マウス APOBEC3 の存在下ではウイルス *gag* 遺伝子の直接翻訳産物である Gag 前駆体タンパク質 Pr65gag の各構造タンパク質への分解が阻害されること、このプロセッシング阻害はデアミナーゼ活性には依存しないことが明らかになった。

Pr65gag のプロセシングは、2分子の Pr65gag 間の相互作用による自己触媒反応に依存したウイルスプロテアーゼの切り出しが出発点となるが、APOBEC3 存在下では Pr65gag からのプロテアーゼ切り出しそのものが阻害されること、また APOBEC3 はウイルスプロテアーゼと直接相互作用をすることが、生化学的な解析によって明らかにされた。即ち、マウス APOBEC3 は生理的に機能するレトロウイルスのプロテアーゼ阻害物質である。

APOBEC3 がウイルスプロテアーゼの活性を阻害する結果、APOBEC3 存在下では非存在下と比較して、感染細胞から出芽するウイルス粒子に未成熟粒子の割合が増加する (図 1)。このことは、APOBEC3 存在下ではウイルス抗原量が保たれた条件で複製能の低下した粒子が増えることを意味し、感染の拡がりや抑えられた条件下で獲得免疫反応が誘導されることによって、より速いウイルス中和抗体の産生が起こるといふ仮説が支持される。

この成果は、Hakata, Y. *et al. PLOS Pathog.* 2019, 15:e1008173 および Hakata, Y. and Miyazawa, M. *Microorganisms* 2020, 8:1976 に発表した。

(2) APOBEC3 FLAG ノックインマウスの樹立と解析

マウス *Apoec3* 遺伝子の第 1 エキソンに FLAG タグをコードする塩基配列を挿入し、N-末端側に in-frame で FLAG ペプチドが結合した APOBEC3 タンパク質を発現する KI マウスを複数系統樹立した。何れの系統においても、FLAG 配列を持った *Apoec3* mRNA の発現が検出され、脾細胞を LPS 刺激後に抗 FLAG 抗体の反応するタンパク質の発現が確認された。FLAG 配列を持った *Apoec3* mRNA の発現が最も高かった 1 系統をその後の解析に用いた。

得られた KI マウス系統の脾細胞を LPS 刺激したときの *Apoec3* mRNA 発現誘導の経過は、野生型マウスにおけるそれと差がなかった。脾細胞の細胞質で発現する FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質を蛍光セルソーターによって計測したところ、APOBEC タンパク質の発現量は KI アリルのホモ接合体でヘテロ接合体よりも有意に高く、また B リンパ球での発現量が T リンパ球での発現量よりも高かった。

そこで、KI アリルのホモ接合マウスを用いて、各種免疫組織における FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質の分布を免疫組織化学の手法で解析した。陰性対照の野生型 C57BL/6 マウス組織では FLAG タグに対する抗体の反応は認められなかった。KI アリルホモ接合マウスの脾臓では、濾胞領域の B220 陽性 B リンパ球に FLAG タグの存在が認められ、CD3 陽性細胞の集まる傍濾胞領域には FLAG タグの発現はなかった。FLAG タグの発現は濾胞中心部の胚中心で特に高く、胚中心 B 細胞の細胞質に一致して FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質が大量に存在していることが確認されたが、核は抜けていた。また、胚中心に少数存在する CD3 陽性 T リンパ球は、常

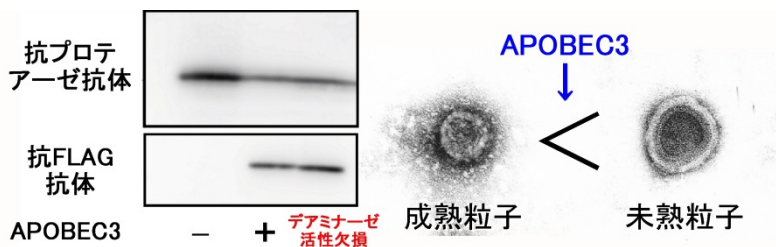


図 1. マウス APOBEC3 によるレトロウイルス粒子成熟阻害
FLAG 標識した野生型またはデアミナーゼ活性欠損型 APOBEC3 の存在下では、ウイルスプロテアーゼが減少し、出芽粒子は未熟型が主体となる

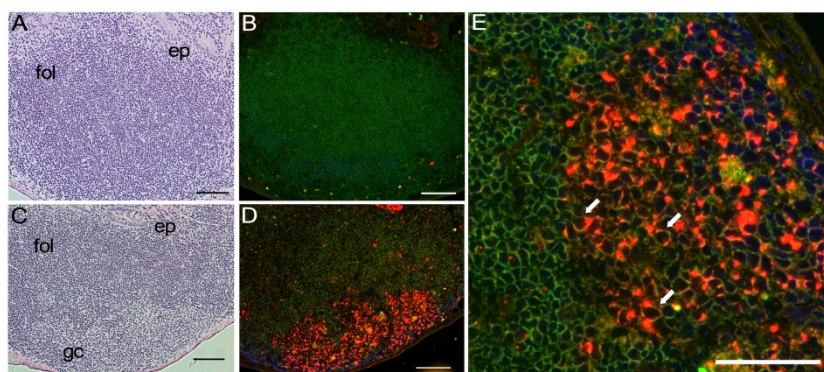


図 2. 免疫組織化学による標識 APOBEC3 タンパク質の検出

野生型マウス (A, B) および FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質発現 KI マウス (C-E) のパリエル板。A, C は HE 染色で ep は上皮、fol は濾胞、gc は胚中心を示す。B, D, E では標識抗体により B220 を緑に、FLAG タグをオレンジ色に染めている。E で、B220 と FLAG が共局在すること、核が染まらないことに注目 (矢印)。A-D のバーは 100µm、E では 50µm。Open Access の Tsukimoto, S. *et al. Viruses* 2022, 14:832; doi: 10.3390/v14040832 より再掲。

に FLAG タグ陰性であった。

胚中心におけるタグ付き APOBEC3 タンパク質発現をより詳しく解析するため、通常大きな胚中心を伴う小腸のパイエル板を観察対象に加えた。パイエル板でも T 細胞領域に FLAG タグの発現は検出されず、濾胞の B リンパ球に B220 と FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質が共局在していた。パイエル板の胚中心 B リンパ球にもタグ付き APOBEC3 タンパク質の強い発現が見られ、APOBEC3 タンパク質は細胞質に局在して、核に染まることはなかった(図 2)。また、脾臓でもパイエル板でも、胚中心にしばしば見られる tingible body マクロファージに B220 陽性および FLAG タグ陽性のアポトーシス細胞の集積が認められた。

(3) 抗原刺激による B リンパ球 APOBEC3 タンパク質発現量の変化

FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質を発現する KI マウスに、アジュバント無しにクラススイッチを誘導出来る T 細胞依存抗原であるヒツジ赤血球 (SRBC) を投与し、前後に脾細胞を採取して蛍光セルソーターによる解析を行った。

生体内の T リンパ球における FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質発現量は低く、KI アリルのヘテロ接合マウス、ホモ接合マウスとも、SRBC 免疫の有無に関わらず野生型マウスにおける FLAG 検出量を上回ることはなかった。一方、B リンパ球の各分化段階では、未熟 B リンパ球、成熟濾胞型 B リンパ球、辺縁帯 B リンパ球とも、KI アリルのホモ接合体でのみ野生型マウスにおける背景より有意に高い FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質の発現が認められたが、ヘテロ接合個体での発現量は野生型におけるそれと有意差が無かった。また、ホモ接合個体の上記 B リンパ球各分化段階において、SRBC 刺激による FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質発現量変化は認められなかった。

これに対して、胚中心 B 細胞では KI アリルのヘテロ接合個体でも野生型マウスよりも有意に高い FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質発現が検出され、ホモ接合個体における発現量は更に高かった。胚中心 B 細胞を更に IgD 陰性の分画に絞っても、同じことが認められた。SRBC 免疫によって胚中心 B 細胞数およびその中の IgD 陰性分画の割合は増加したが、個々の胚中心 B 細胞における FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質発現量には変化は無かった。

これらの結果から、APOBEC3 は生体内の T 細胞に有意な発現は無く、B 細胞に発現すること、B 細胞のうち特に胚中心 B 細胞に特異的な高発現が認められることが明らかになった。一方、抗原刺激により胚中心 B 細胞の数は増加するが、個々の胚中心 B 細胞における APOBEC3 タンパク質発現量には変化が無いことが明らかとなった。

以上の(2)と(3)の成果は、Tsukimoto, S. *et al. Viruses* 2022, 14:832 に発表した。

(4) 共焦点レーザー顕微鏡による細胞内 APOBEC3 タンパク質局在の解析

FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質発現 KI マウスの脾細胞を、試験管内で LPS により刺激した後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて B リンパ球における APOBEC3 タンパク質の細胞内局在を解析した。核の DNA を DAPI により、また細胞表面の膜型 IgM と細胞内の FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質とをそれぞれ異なる蛍光色素で観察し、細胞断面における蛍光の強度分布を定量化したところ、IgM は一番外側に、その内側に APOBEC3 が分布し、DNA の分布する領域にはほとんど APOBEC3 が重ならないことが示された(図 3)。従って、組織切片における観察と同様 APOBEC3 は大部分が細胞質に局在し、少なくとも核の中心部には入り込まないと考えられた。

以上の解析から、APOBEC3 タンパク質は B リンパ球に発現し、胚中心細胞への分化によりこれが著しく亢進するが、体細胞突然変異誘発に必要な核への局在は起こらないこと、一方 APOBEC3 の存在下では感染細胞から出芽するウイルス粒子が未成熟となり、抗原性は維持されるが複製能は低下していることが明らかとなった。これらの効果により、高機能性の *Apobec3* 対立遺伝子産物存在下では中和抗体産生が間接的に促進されるものと考えられる。

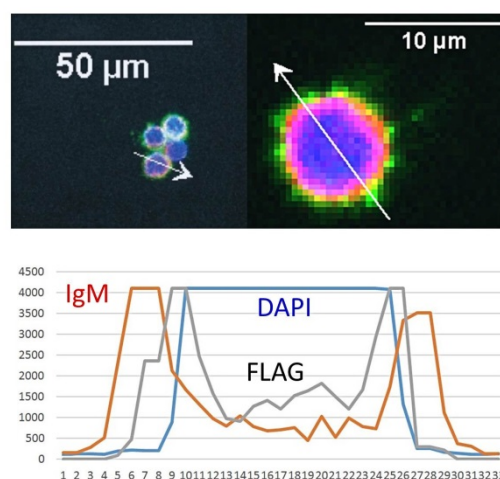


図 3. 共焦点レーザー顕微鏡による細胞内 APOBEC3 タンパク質局在解析

KI マウス脾細胞を LPS 刺激後 IgM と FLAG に対して蛍光染色し、右の写真の矢印で示す断面における DNA の蛍光 (DAPI) と、膜型 IgM および FLAG タグ付き APOBEC3 タンパク質の蛍光強度の分布をグラフ化した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Masaaki Miyazawa, Mario Clerici	4. 巻 2
2. 論文標題 Editorial: Host Immune Responses to Retroviral Infections	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Virology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fviro.2022.945530	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Shota Tsukimoto, Yoshiyuki Hakata, Sachiyo Tsuji-Kawahara, Takuji Enya, Tetsuo Tsukamoto, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Shinichi Nakao and Masaaki Miyazawa	4. 巻 14
2. 論文標題 Distinctive high expression of antiretroviral APOBEC3 protein in mouse germinal center B cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 832 ~ 832
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v14040832	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Teruya Kenta, Oguma Ayumi, Takahashi Satoko, Watanabe-Matsui Miki, Tsuji-Kawahara Sachiyo, Miyazawa Masaaki, Doh-ura Katsumi	4. 巻 107
2. 論文標題 Anti-prion activity of cellulose ether is impaired in mice lacking pre T-cell antigen receptor, T-cell receptor, or lytic granule function	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Immunopharmacology	6. 最初と最後の頁 108672 ~ 108672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.intimp.2022.108672	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shiozawa Shunichi, Tsumiyama Ken, Miyazaki Yumi, Uto Kenichi, Sakurai Keiichi, 他20名省略, Miyazawa Masaaki, Shiozawa Kazuko	4. 巻 25
2. 論文標題 DOCK8-expressing T follicular helper cells newly generated beyond self-organized criticality cause systemic lupus erythematosus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103537 ~ 103537
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.103537	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 宮澤正顯, 時田章史	4. 巻 25
2. 論文標題 感染免疫から考えるCOVID-19検査の使い方: 基礎編	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 外来小児科	6. 最初と最後の頁 16-23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 時田章史, 鈴木光幸, 宮澤正顯	4. 巻 25
2. 論文標題 感染免疫から考えるCOVID-19検査の使い方: 臨床編	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 外来小児科	6. 最初と最後の頁 24-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Meira e Cruz Miguel, Miyazawa Masaaki, Gozal David	4. 巻 55
2. 論文標題 Putative contributions of circadian clock and sleep in the context of SARS-CoV-2 infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Respiratory Journal	6. 最初と最後の頁 2001023-2001023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1183/13993003.01023-2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ohtani Haruo, Nozaki Yoshihiro, Murakami Takashi, Lin Lisheng, Shiono Junko, Miyazawa Masaaki	4. 巻 60
2. 論文標題 An autopsy case of acute myocarditis with unique lymph node findings characterized by the proliferation of reactive plasmablasts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical and Experimental Hematopathology	6. 最初と最後の頁 108-112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3960/jslirt.20023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyazawa Masaaki	4. 巻 40
2. 論文標題 Immunopathogenesis of SARS-CoV-2-induced pneumonia: lessons from influenza virus infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration	6. 最初と最後の頁 39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41232-020-00148-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hakata Yoshiyuki、Miyazawa Masaaki	4. 巻 8
2. 論文標題 Deaminase-Independent Mode of Antiretroviral Action in Human and Mouse APOBEC3 Proteins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 1976-1976
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms8121976	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hakata Yoshiyuki、Ishikawa Suzuka、Ohtsuki Takashi、Miyazawa Masaaki、Kitamatsu Mizuki	4. 巻 18
2. 論文標題 Intracellular delivery of a peptide nucleic acid-based hybrid of an autophagy inducing peptide with a cell-penetrating peptide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 1978 ~ 1986
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9OB02559F	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hakata Yoshiyuki、Li Jun、Fujino Takahiro、Tanaka Yuki、Shimizu Rie、Miyazawa Masaaki	4. 巻 15
2. 論文標題 Mouse APOBEC3 interferes with autocatalytic cleavage of murine leukemia virus Pr180gag-pol precursor and inhibits Pr65gag processing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1008173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1008173	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Haratani Koji, Yonesaka Kimio, Takamura Shiki, Maenishi Osamu, Kato Ryoji, Takegawa Naoki, Kawakami Hisato, Tanaka Kaoru, Hayashi Hidetoshi, Takeda Masayuki, Maeda Naoyuki, Kagari Takashi, Hirotsu Kenji, Tsurutani Junji, Nishio Kazuto, Doi Katsumi, Miyazawa Masaaki, Nakagawa Kazuhiko	4. 巻 130
2. 論文標題 U3-1402 sensitizes HER3-expressing tumors to PD-1 blockade by immune activation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Investigation	6. 最初と最後の頁 374 ~ 388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI126598	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takamura Shiki, Kato Shigeki, Motozono Chihiro, Shimaoka Takeshi, Ueha Satoshi, Matsuo Kazuhiko, Miyauchi Kosuke, Masumoto Tomoko, Katsushima Asami, Nakayama Takashi, Tomura Michio, Matsushima Kouji, Kubo Masato, Miyazawa Masaaki	4. 巻 216
2. 論文標題 Interstitial-resident memory CD8+ T cells sustain frontline epithelial memory in the lung	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 2736 ~ 2747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20190557	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hakata Yoshiyuki, Michiue Hiroyuki, Ohtsuki Takashi, Miyazawa Masaaki, Kitamatsu Mizuki	4. 巻 29
2. 論文標題 A leucine zipper-based peptide hybrid delivers functional Nanog protein inside the cell nucleus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 878 ~ 881
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2019.02.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 塚本徹雄, 河原佐智代, 宮澤正顯	4. 巻 34
2. 論文標題 フレンドウイルス感染マウスにおける白血病発症機構	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bio Clinica	6. 最初と最後の頁 43-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 藤本美香、肥田仁一、杉本圭相、宮澤正顯、東田有智
2. 発表標題 新型コロナウイルスワクチン職域接種における副反応の検討～アンケート調査による～
3. 学会等名 第119回日本内科学会総会・講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masaaki Miyazawa
2. 発表標題 Role of T-cell response in the control of SARS-CoV-2 infection in the lung
3. 学会等名 International Symposium: Experience in the diagnosis and treatment of COVID-19 and its complications (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮澤正顯
2. 発表標題 高周波加熱の生体内効果とウイルス感染症への応用
3. 学会等名 第15回 日本電磁波エネルギー応用学会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮澤正顯
2. 発表標題 ウイルス感染による肺炎の発症機構と免疫学的記憶
3. 学会等名 第27回 日本脊椎・脊髄神経手術手技学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮澤正顯
2. 発表標題 新型コロナウイルスとの正しい向き合い方
3. 学会等名 全日本鍼灸学会第40回近畿支部学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮澤正顯
2. 発表標題 新型コロナウイルス対策から見た都市と住宅
3. 学会等名 公益社団法人都市住宅学会大会第28回学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮澤正顯
2. 発表標題 新型コロナウイルスと宿主免疫応答
3. 学会等名 2020年度第3回日本抗加齢医学会メディアセミナー（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮澤正顯
2. 発表標題 感染症の時代を生きる
3. 学会等名 データヘルス・予防サービス見本市2020（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮澤正顯
2. 発表標題 新型コロナウイルス感染症の病態と宿主免疫応答
3. 学会等名 抗加齢医学会専門医・指導士認定委員会主催 大阪 / 基礎・受験編講習会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masaaki Miyazawa, Shota Tsukimoto, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, and Yoshiyuki Hakata
2. 発表標題 Physiological tissue and subcellular localization of APOBEC3 protein revealed by the development of FLAG knock-in mice
3. 学会等名 The 31st International Workshop on Retroviral Pathogenesis (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 青笹 克之、加藤 光保、金井 弥栄、菅野 祐幸	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 884
3. 書名 解明病理学第4版 病気のメカニズムを解く	

1. 著者名 木曾良明	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 265
3. 書名 ペプチド創薬の最前線	

1. 著者名 宮澤正顯	4. 発行年 2021年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 597
3. 書名 創薬研究者・アカデミア研究者が知っておくべき最新の免疫学とその応用技術	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>近畿大学医学部免疫学教室 https://www.med.kindai.ac.jp/immuno/ 近畿大学医学部免疫学教室 https://www.med.kindai.ac.jp/immuno/ がんやエイズの原因となる「レトロウイルス」の働きを阻害する新しい仕組みを世界で初めて解明 https://www.news2u.net/releases/167662?fbclid=IwAR3jxR9niWGajFUozYqmsf8tgAHjYWIoLyspkcMpdaLR7IaR4bQHI4gcqZE</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	博多 義之 (Hakata Yoshiyuki) (30344500)	近畿大学・医学部・講師 (34419)	
研究分担者	塚本 徹雄 (Tsukamoto Tetsuo) (80750223)	近畿大学・医学部・助教 (34419)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------