

令和 4 年 5 月 10 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K08784

研究課題名(和文) 大脳サイトメガロウイルス感染による血液脳関門破綻の新たな機序の解明と治療法の探索

研究課題名(英文) Elucidation of new mechanism of blood-brain barrier breakdown due to cerebral cytomegalovirus infection and search for treatment method

研究代表者

河崎 秀陽 (Kawasaki, Hideya)

浜松医科大学・光先端医学教育研究センター・准教授

研究者番号：90397381

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：生後、健康人ではCMVによる重篤な健康障害はほとんど起こさないが、近年CMV抗体保有者と認知症との関連が注目されはじめた。その詳しい機序はわかっていないが、CMV持続感染との関係が指摘されている。認知症の発症にBBB破綻が関わるとの報告が多数あり、CMVによるBBB破綻は認知症進行の一機序になっている可能性が高い。現在CMVによるBBBの破綻機序の研究はほとんど行われておらず、本申請は国内外における重要な研究に位置づけられると考えられ、この研究を進めてきた。コロナの影響や実験モデルの作成がうまくいかず、当初の計画通りは進むことができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

われわれはCMV急性感染におけるin vivoでのBBB破綻現象を観察したが、未だCMV慢性持続感染によってin vivo BBB破綻現象を確認したという報告はない。本研究でその現象が確認されれば、CMV慢性持続感染による認知症を含めた変性疾患の新しい病理機序の説明をすることができる。またCMV感染のCyPA-MMP活性化経路によるBBB破綻機序が解明されれば、そこをtargetにした新しい治療につながると考えた。コロナの影響や実験モデルの作成がうまくいかず、当初の計画通りは進むことができなかった。

研究成果の概要(英文)：After birth, healthy people rarely cause serious health problems due to CMV, but in recent years, the relationship between CMV antibody carriers and dementia has begun to attract attention. The detailed mechanism is unknown, but the relationship with CMV persistent infection has been pointed out. There are many reports that BBB failure is involved in the onset of dementia, and it is highly possible that CMV-induced BBB failure is a mechanism for the progression of dementia. Currently, little research has been conducted on the mechanism of BBB failure by CMV, and this application is considered to be positioned as important research in Japan and overseas, and we have proceeded with this research. The influence of the corona and the creation of the experimental model did not go well, and it was not possible to proceed as originally planned.

研究分野：神経ウイルス病理

キーワード：サイトメガロウイルス 血液脳関門 微粒子 ナノスーツ

1. 研究開始当初の背景

サイトメガロウイルス(CMV)は成人の 60-90%が感染している頻度の高いウイルスである。CMV 母子感染では約 1%の胎児が感染し、CMV に感染した胎児の約 5~10%に小頭症などの重篤な神経症状を認める。ダウン症に匹敵する大きな先天障害であるが、未だに実用ワクチンはない。申請者は今まで幹細胞、動物実験を用いて CMV 大脳感染の病理機序を明らかにしてきた。2015 年には感染初期での大脳における CMV 粒子動態と receptor (integrin 1) との関係を報告し、in vivo での CMV による BBB 破綻現象を世界で初めて観察した(病理学会学術研究賞受賞)。

生後、健常人では CMV による重篤な健康障害はほとんど起こさないが、近年 CMV 抗体保有者と認知症との関連が注目されはじめた。その詳しい機序はわかっていないが、CMV 持続感染との関係が指摘されている。認知症の発症に BBB 破綻が関わるとの報告が多数あり、CMV による BBB 破綻は認知症進行の一機序になっている可能性が高い。現在 CMV による BBB の破綻機序の研究はほとんど行われておらず、本申請は国内外における重要な研究に位置づけられると考える。

2. 研究の目的

CMV は胎内感染によって小頭症などの重篤な中枢神経障害を引き起こす。ダウン症に匹敵する大きな先天異常であり社会的に大きな問題である。生後は成人になるまで 60%程度の人が CMV に感染するが、健常人では重篤な病気になることは少ない。しかし近年 CMV 抗体保有者優位に認知症への罹患率の高さが指摘されるようになり注目を集めている。

申請者はマウスモデルを使って CMV 大脳感染機序を解明してきた。2015 年には大脳における CMV 粒子動態と receptor 局在との関係を報告し、世界で初めて CMV による血液脳関門(BBB)破綻現象を in vivo で観察した。先天 CMV 中枢神経障害、認知症ともに BBB 破綻が重要な病理機序を担っていることを踏まえ、本申請では今までの研究を発展させ、CMV の BBB 破綻機序の分子学的解析を進め、その予防・治療法につなげることを目的とした。

3. 研究の方法

CMV により BBB 破綻が引き起こされる。脳のどの部位が CMV に対して BBB 脆弱部位であるのか、その詳しいメカニズムもほとんどわかっていない。本研究期間内に CMV の BBB 破綻機序を CyPA-matrix metalloproteinase(MMP)活性経路を中心に分子学的に明らかにする。

in vitro BBB 3次元モデルでのCMVによるBBB破綻機序の解明

In vitro BBB モデルにおいて、CMV 感染のどの phase (接着、侵入、増殖) の段階で BBB 破綻が起きるのか検討し、その分子学的機序を PCR, ウェスタンブロッティング、免疫染色にて観察する。

in vivo モデルにおけるBBB破綻脆弱部位検索

血行感染後のマウス脳における CMV 感染部位と BBB 破綻部を免疫組織学的検索を行い、大脳透明化による脆弱部位の検討をする。

血管内皮細胞、血管周皮細胞へのCMV感染におけるMMP活性変化とCyPA分泌増加の検討

培養細胞、大脳における MMPs の発現と CyPA の発現増加の検討。

CyPA knockout mouse におけるCMV感染BBB破綻の抑制効果確認

CyPA knockout mouse を用いて CMV の BBB 破綻効果の抑制を確認し、in vivo におけるその具体的な機序を明らかにする。

4. 研究成果

今回の申請では CMV による BBB の破綻機序をより詳しく検索するために、in vitro BBB モデルを利用した CMV 感染 BBB 破綻機序の解析を計画していた。最初にマウス感染モデルを用いて in vivo 観察を試みた。マウス感染脳に対して経静脈性に CMV を感染させ、経時的な脳

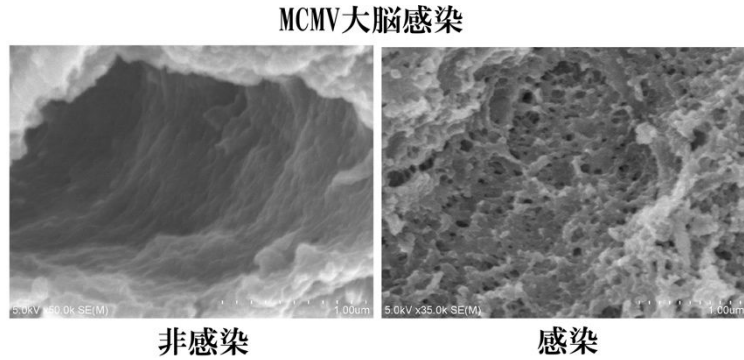


図 1 マウス大脳感染における血管内皮表面層変化(FE-SEM 像)

血管壁内腔の立体構造変化を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。その結果、非感染の血管内腔は平滑なのに対し、感染により血管内腔が粗造となっていた。これは感染による BBB 破綻の一機序となっている可能性が示唆できた(図 1)。次に感染部位の 3 次元感染分布と血管走行との関係性を透明化法で観察した。その結果、感染部位が血管周囲に多発同時に拡がっていく様子を立体的に観察することができた(図 2)。それらの結果を急性期 CMV 大脳感染の病理機序として pathology international 誌に review としてまとめ、表紙を飾ることができた(図 3)。

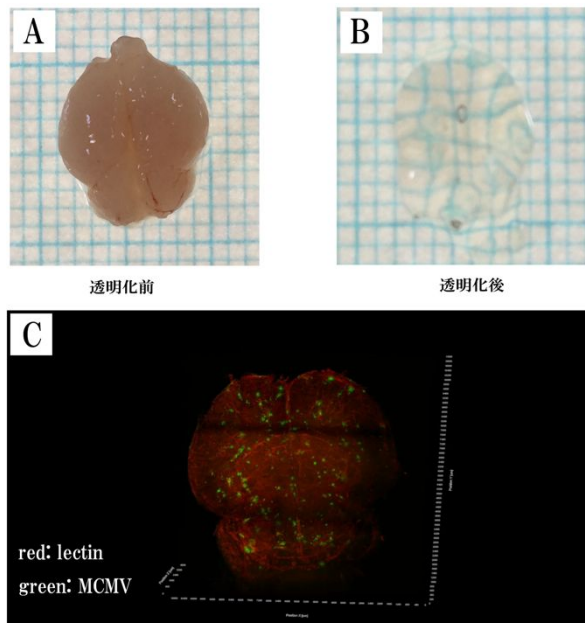


図 2 透明化法を利用した CMV 大脳感染の 3 次元分布。A: 透明化前新生仔脳。B: 透明化後新生仔脳。C: 血管走行と CMV 感染の関係。

当初 BBB 再構成モデルであるマウス BBB キットが提供会社から購入できる予定であったが、提供会社の開発が遅れキット購入ができなかった。マウス CMV はマウス細胞でしか感染増殖できず、他の動物種では代用することができないため、当初計画していた研究計画が滞ってしまった。また他の研究グループでヒト iPS 細胞を使用し、同一細胞由来の

BBB を 3 次元的に in vitro で再現したとの論文発表があったが、その後現時点では実現性が難

しいことが判明している。現在は Cyclophilin A (CyPA) と BBB の関係性を解析するため、CyPA knockout mouse を用いて、慢性 CMV 感染モデルマウスにおける BBB 脆弱性の検討を試みている。ここでも CyPA knockout mouse のホモ作成が難しく、こちらも計画通りはすすんではいない。

この研究計画中に研究代表者が部署を異動し、研究テーマを変更しなくてはいけない社会状況がうまれたが、当初予期していな

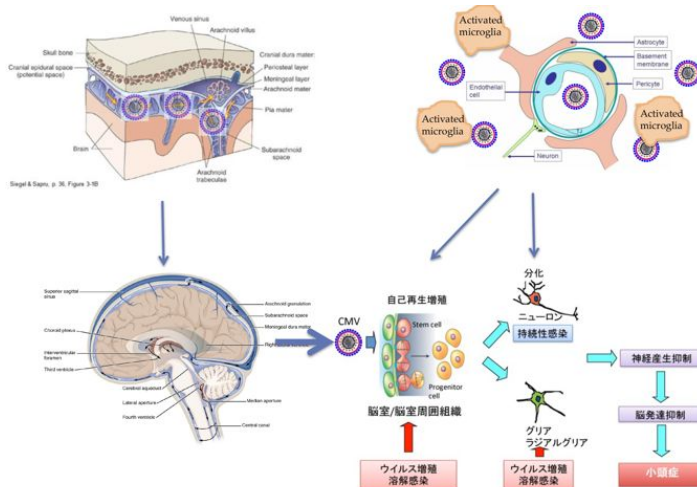


図 3 : CMV 大脳感染における病理モデル

い様々な発見もあった。以下その成果を述べる。

ナノスーツ法とは浜松医科大学で独自開発された生物適合性高分子溶液を使用し、試料周辺にナノ薄膜を短時間の内に形成させる方法である。針山らはショウジョウバエの幼虫が細胞外に分泌し体表面を保護する粘性の細胞外物質 (ECS: Extra Cellular Substance) に電子線やプラズマを照射することで、高真空下でも乾燥することなく生きた状態で高分解能走査型電子顕微鏡を用いて観察が可能にすることができると見出した。電子線あるいはプラズマ照射によって ECS が重合することでナノ薄膜が形成され、生体内部に含まれる気体や液体が高真空環境下でも保持されたためである。生物を規範とするバイオミメティクスの発想により、ショウジョウバエの ECS の模倣として界面活性剤などの生体適合性物質を選択し、これを生体表面に塗布しプラズマ重合することで生きたままの高分解能電子顕微鏡観察を可能とした。走査型電子顕微鏡内で、生きた状態でさまざまな生物の表面微細構造や運動等を直接観察できるナノスーツ法は、高真空環境下で濡れたままのさまざまな試料の観察を可能とすることができるようになった。その後グリセリンなどを主成分とする Surface Shield Enhancer (SSE) の開発にも成功させている。この SSE は生体親和性があり、細胞や組織でも使いやすい溶液となった。SSE は薄膜でも蒸発を防ぎ、導電性を確保するため様々な研究分野に応用が可能である。

光学顕微鏡を利用した組織学的検索は生命科学や診断医学にとって欠かすことのできない手法となっている。ほとんどのホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織切片はヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色され、その切片を病理医が観察することにより病理診断がなされている。この手法は 100 年以上続けられ、膨大な知識の蓄積とともに病気の診断・分類がなされ、組織切片スライドガラス量は天文学的な数字に上る。免疫組織化学染色も 1940 年代ころから開発され、特異的な抗体を用いることによりタンパク質の局在を明らかにし、現在の病理診断では欠かすことのできない手法となっている。光学顕微鏡による観察は迅速・簡便で、色彩豊か (カラー) であることが特徴であるが、その光学的特性により解像度は比較的低い。

病理診断では光学顕微鏡で同定した部位をより高倍で観察する必要が生じることがあり、最近では超解像蛍光顕微鏡を使用して大腸癌や乳癌のパラフィン切片解析の報告がある。しかしこの方法は蛍光染色が必須の条件のため一般の HE 染色切片には応用できない。そのために高倍率の観察には電子顕微鏡は不可欠なツールである。病理診断において電子顕微鏡診断は確定診断、疾患の進行度や予後の判定などにおいて重要な意義をもっている。しかし電子顕微鏡観察には専門的な知識と技術が必要で、観察までに時間がかかる。また病変の同定が難しく、電顕画像の解析が容易ではない、などの理由で実際の医療現場では電顕診断がなかなか普及していない。最近では低真空走査型電子顕微鏡 (Lv-SEM) を利用して、腎臓を中心としたパラフィン切片の解

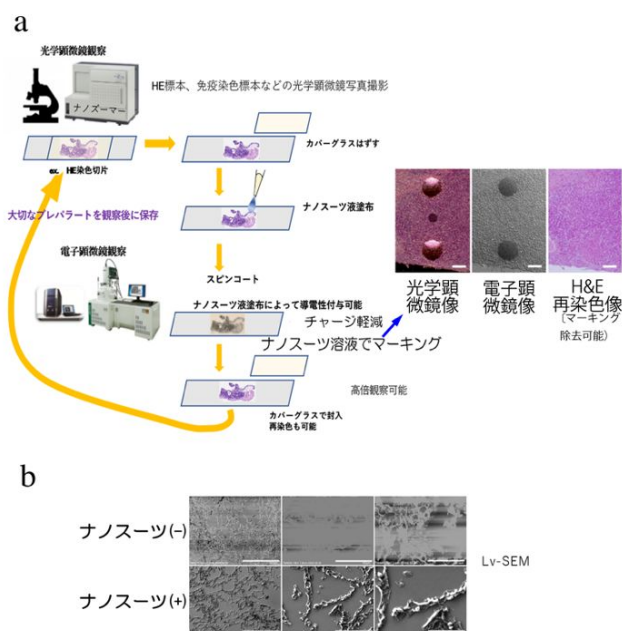


図4 非破壊的な組織切片の走査型電子顕微鏡観察法。
a: ナノスーツ法-CLEM法の作業手順とマーキング付与と除去像。b: ナノスーツによるチャージ軽減効果。Lv-SEM (卓上SEM) における2次電子像のチャージ軽減効果を認める。

析が活発に行われるようになり、研究会も発足している。従来法では、既存の HE 染色組織切片をそのまま SEM 観察することは通常なく、連続切片を金・炭素蒸着処理し導電性付与後に不可逆的に電子顕微鏡観察する。通常の蒸着処理では切片が完全に乾燥してしまい本来の含水状態の組織構築は失われてしまう。更に一度蒸着・乾燥した切片に HE 再染色すると色合いが変化してしまい、元の状態に戻すことが困難であった。金属を含まないナノスーツ溶液を利用することで、これらの問題を解決する糸口が開かれた。

同一切片同一部位を観察する際、SEM 像は高倍率かつモノクロであるため、同一病変部位を見つけるまでに多くの時間と労力を必要とする。それを解決するためには切片に位置情報の付与が必要で、各社有望な CLEM 機器を開発し

解決を試みているが機器が高価であることが欠点となっている。ナノスーツ法を用いることで既存の SEM 機器を利用して CLEM 観察できるようになった。その行程は以下の通りである。組織切片上の関心のある箇所を特定、ガラスの裏面にマーキング後、光学顕微鏡による病変部デジタル画像を取得する。カバーガラスを外しナノスーツ溶液を塗布し、スピコートで薄膜化する。薄膜形成後は特定した部位周辺に別途高濃度ナノスーツ溶液でマーキングする。この方法で SEM に移動しても容易に同一箇所を見つけることができる。以上の作業により既存の HE 標本を簡便に CLEM 観察が可能となった

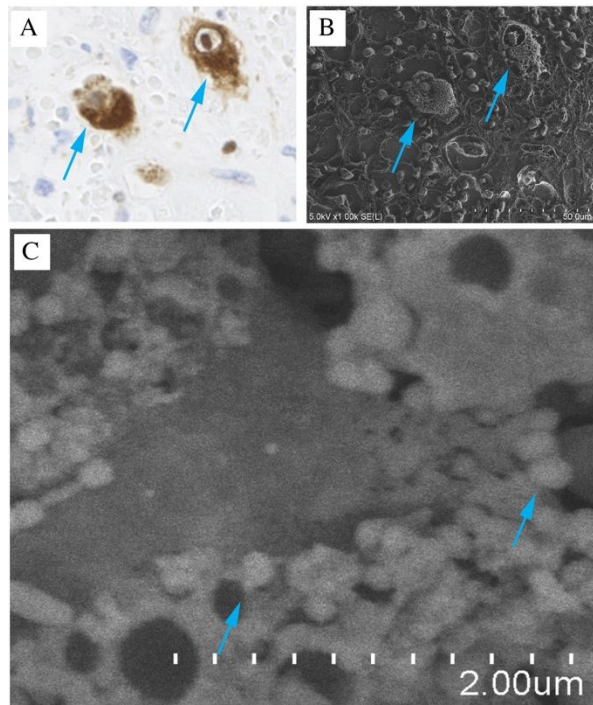


図 5 ナノスーツ法によるパラフィン切片上の CMV 粒子観察 A: CMV 感染部位 (免疫染色により DAB 発色された巨細胞封入体 (矢印))。B: A の SEM CLEM 像。巨細胞封入体 (矢印)。C: CMV 粒子 (矢印) SEM 像。

(図 4a)。ナノスーツ薄膜は絶縁体であるガラス上にある組織切片に導電性を付与するためチャージ (帯電現象) 軽減効果があり、よりクリアで高分解能な SEM 画像を得ることができる (図 4b)。また SEM 観察後でもナノスーツ溶液によるマーキングも除去できるなど同一切片を非破壊的に扱い、切片をもとの状態に戻すことができるため貴重な切片を失わないという利点がある。また光学顕微鏡像は二次元カラー像であり、同一切片の三次元情報と比較検討することで、新しい知見が得られやすくなる。

さらにナノスーツ法は塩化金・オスミウム (OsO_4) 染色を利用することで免疫染色に応用可能であることを見出した。病理診断において免疫染色はタンパク発現部位を検出するための常套手段となっているが、その発色のほとんど DAB 染色である。塩化金・ OsO_4 は高親和性に DAB ポリマーに結合することが知られている。薄いナノスーツ膜は導電性を付加しかつ電子線のある程度透過させることができるため、高コントラストの金属元素の位置 (DAB/ OsO_4 染色部位) を特定することができる。これを利用することにより CMV 粒子構造蛋白の免疫染色 (DAB 発色) とオスミウム染色を組み合わせ、ナノスーツ法にて CMV 粒子を同定・観察することができた (図 5)。

この方法により CMV の大脳感染におけるウイルス粒子の観察が可能となり、CMV の BBB 破壊による脳実質へ感染が広がる様子を実際の臨床検体を用いて観察することができる可能性がでてきた。今後の研究の進展が待たれる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計28件（うち査読付論文 26件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Aoshima Yoichiro, Enomoto Yasunori, Muto Shigeki, Meguro Shiori, Kawasaki Hideya, Kosugi Isao, Fujisawa Tomoyuki, Enomoto Noriyuki, Inui Naoki, Nakamura Yutaro, Suda Takafumi, Iwashita Toshihide	4. 巻 -
2. 論文標題 Gremlin-1 for the Differential Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis Versus Other Interstitial Lung Diseases: A Clinical and Pathophysiological Analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lung	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) 10.1007/s00408-021-00440-y	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 Yamada Satoshi, Misawa Kiyoshi, Mima Masato, Imai Atsushi, Mochizuki Daiki, Yamada Taiki, Shinmura Daichi, Kita Junya, Ishikawa Ryuji, Yamaguchi Yuki, Misawa Yuki, Kawasaki Hideya, Mineta Hiroyuki	4. 巻 12
2. 論文標題 Telomere shortening in head and neck cancer: association between DNA demethylation and survival	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 2165 ~ 2172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.54760	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 Kawasaki Hideya, Suzuki Hiromi, Maekawa Masato, Hariyama Takahiko	4. 巻 196
2. 論文標題 Combination of the NanoSuit method and gold/platinum particle-based lateral flow assay for quantitative and highly sensitive diagnosis using a desktop scanning electron microscope	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 113924 ~ 113924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00408-021-00440-y	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 Kosugi Isao, Arai Yoshifumi, Baba Satoshi, Kawasaki Hideya, Iwashita Toshihide, Tsutsui Yoshihiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Prolonged activation of cytomegalovirus early gene e1-promoter exclusively in neurons during infection of the developing cerebrum	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	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) 10.7150/jca.54760	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 Misawa Kiyoshi, Yamada Satoshi, Mima Masato, Nakagawa Takuya, Kurokawa Tomoya, Imai Atsushi, Mochizuki Daiki, Shinmura Daichi, Yamada Taiki, Kita Junya, Ishikawa Ryuji, Yamaguchi Yuki, Misawa Yuki, Kanazawa Takeharu, Kawasaki Hideya, Mineta Hiroyuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Long interspersed nuclear element 1 hypomethylation has novel prognostic value and potential utility in liquid biopsy for oral cavity cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomarker Research	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) 10.1016/j.jpba.2021.113924	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 Shimada Shinji, Kawasaki Hideya, Diao Yong, Ren Hong-yun, Li Wen-hua, Tang Ming-qing	4. 巻 52
2. 論文標題 Epstein-Barr virus is a promoter of lymphoma cell metastasis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pathology	6. 最初と最後の頁 676 ~ 685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pathol.2020.05.005	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 Suzuki Daisuke, Meguro Shiori, Watanabe Yuki, Kawai Toru, Kyokane Takanori, Aoshima Yoichiro, Enomoto Yasunori, Kawasaki Hideya, Yagi Haruna, Kosugi Isao, Fukushima Mayu, Baba Satoshi, Iwashita Toshihide	4. 巻 70
2. 論文標題 Incidentally discovered mesenteric paraganglia as large as a lymph node in the sigmoid mesocolon, a possible origin of mesenteric paraganglioma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 476 ~ 478
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12939	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 Takahiko Hariyama, Yasuharu Takaku, Chiyo Senoh, Satoshi Yamada, Toshiya Itoh, Chiaki Suzuki, Sayuri Takehara, Satoshi Hirakawa, Hideya Kawasaki	4. 巻 33
2. 論文標題 Living Organisms under an Electron Microscope: the NanoSuit; Method aiming for Medical and Industrial Applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Photopolymer Science and Technology	6. 最初と最後の頁 517-522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2494/photopolymer.33.517	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 Misawa Kiyoshi, Misawa Yuki, Mima Masato, Yamada Satoshi, Imai Atsushi, Mochizuki Daiki, Nakagawa Takuya, Kurokawa Tomoya, Endo Shiori, Kawasaki Hideya, Brenner John Chadwick., Mineta Hiroyuki	4. 巻 43
2. 論文標題 Overexpression of Sal-like protein 4 in head and neck cancer: epigenetic effects and clinical correlations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cellular Oncology	6. 最初と最後の頁 631 ~ 641
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13402-020-00509-5	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 Meguro Shiori, Matsushima Sayomi, Enomoto Yasunori, Kawasaki Hideya, Kosugi Isao, Tsuchida Takashi, Baba Satoshi, Fukamizu Hidekazu, Yamato Yu, Iwashita Toshihide	4. 巻 69
2. 論文標題 Immunohistochemical examination using the pericyte marker myosin 1B in a perivascular myoid tumor of soft tissue with definitive pericytic differentiation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 246 ~ 248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12777	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 Kawasaki Hideya, Itoh Toshiya, Takaku Yasuharu, Suzuki Hiroshi, Kosugi Isao, Meguro Shiori, Iwashita Toshihide, Hariyama Takahiko	4. 巻 100
2. 論文標題 The NanoSuit method: a novel histological approach for examining paraffin sections in a nondestructive manner by correlative light and electron microscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 161 ~ 173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41374-019-0309-7	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 Yagi Haruna, Takahashi Seishiro, Kibe Tetsuo, Shirai Kenji, Kosugi Isao, Kawasaki Hideya, Meguro Shiori, Iwashita Toshihide, Ogawa Hiroshi	4. 巻 2019
2. 論文標題 An Autopsy Case of a 5-Year-Old Child with Acute Pancreatitis Caused by Eosinophilic Granulomatosis with Polyangiitis-like Necrotizing Vasculitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Case Reports in Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2019/9053747	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 Meguro Shiori, Kusama Yukiko, Matsushima Sayomi, Yagi Haruna, Kawasaki Hideya, Kosugi Isao, Tsuchida Takashi, Baba Satoshi, Enomoto Yasunori, Hosokawa Seiji, Iwashita Toshihide	4. 巻 69
2. 論文標題 Nasal glomus tumor: A rare nasal tumor with diffuse and strongly positive synaptophysin expression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 672 ~ 674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12866	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 Matsushima Sayomi, Aoshima Yoichiro, Akamatsu Taisuke, Enomoto Yasunori, Meguro Shiori, Kosugi Isao, Kawasaki Hideya, Fujisawa Tomoyuki, Enomoto Noriyuki, Nakamura Yutaro, Inui Naoki, Funai Kazuhito, Suda Takafumi, Iwashita Toshihide	4. 巻 20
2. 論文標題 CD248 and integrin alpha-8 are candidate markers for differentiating lung fibroblast subtypes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Pulmonary Medicine	6. 最初と最後の頁 1-1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12890-020-1054-9	査読の有無 無
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 Shinmura Kazuya, Kawasaki Hideya, Baba Satoshi, Ohta Isao, Kato Hisami, Yasuda Hideo, Yamada Satoshi, Misawa Kiyoshi, Sugimoto Ken, Osawa Satoshi, Sato Masanori, Hariyama Takahiko, Sugimura Haruhiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Utility of Scanning Electron Microscopy Elemental Analysis Using the 'NanoSuit' Correlative Light and Electron Microscopy Method in the Diagnosis of Lanthanum Phosphate Deposition in the Esophagogastrroduodenal Mucosa	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diagnostics	6. 最初と最後の頁 1 ~ 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/diagnostics10010001	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 Mochizuki Daiki, Misawa Yuki, Kawasaki Hideya, Imai Atsushi, Endo Shiori, Mima Masato, Yamada Satoshi, Nakagawa Takuya, Kanazawa Takeharu, Misawa Kiyoshi	4. 巻 19
2. 論文標題 Aberrant Epigenetic Regulation in Head and Neck Cancer Due to Distinct EZH2 Overexpression and DNA Hypermethylation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3707 ~ 3707
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19123707	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 Enomoto Yasunori, Matsushima Sayomi, Shibata Kiyoshi, Aoshima Yoichiro, Yagi Haruna, Meguro Shiori, Kawasaki Hideya, Kosugi Isao, Fujisawa Tomoyuki, Enomoto Noriyuki, Inui Naoki, Nakamura Yutaro, Suda Takafumi, Iwashita Toshihide	4. 巻 132
2. 論文標題 LTBP2 is secreted from lung myofibroblasts and is a potential biomarker for idiopathic pulmonary fibrosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Science	6. 最初と最後の頁 1565 ~ 1580
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/CS20180435	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 Hasan Prottoy, Saotome Masao, Ikoma Takenori, Iguchi Keisuke, Kawasaki Hideya, Iwashita Toshihide, Hayashi Hideharu, Maekawa Yuichiro	4. 巻 121
2. 論文標題 Mitochondrial fission protein, dynamin-related protein 1, contributes to the promotion of hypertensive cardiac hypertrophy and fibrosis in Dahl-salt sensitive rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Molecular and Cellular Cardiology	6. 最初と最後の頁 103 ~ 106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yjmcc.2018.07.004	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 Misawa Kiyoshi, Misawa Yuki, Imai Atsushi, Mochizuki Daiki, Endo Shiori, Mima Masato, Ishikawa Ryuji, Kawasaki Hideya, Yamatodani Takashi, Kanazawa Takeharu	4. 巻 9
2. 論文標題 Epigenetic modification of SALL1 as a novel biomarker for the prognosis of early stage head and neck cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 941 ~ 949
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.23527	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 Murakami Gen, Edamura Mitsuhiro, Furukawa Tomonori, Kawasaki Hideya, Kosugi Isao, Fukuda Atsuo, Iwashita Toshihide, Nakahara Daiichiro	4. 巻 4
2. 論文標題 MHC class I in dopaminergic neurons suppresses relapse to reward seeking	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 7388 ~ 7388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aap7388	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 Enomoto Yasunori, Matsushima Sayomi, Meguro Shiori, Kawasaki Hideya, Kosugi Isao, Fujisawa Tomoyuki, Enomoto Noriyuki, Inui Naoki, Nakamura Yutaro, Suda Takafumi, Iwashita Toshihide	4. 巻 72
2. 論文標題 Podoplanin-positive myofibroblasts: a pathological hallmark of pleuroparenchymal fibroelastosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Histopathology	6. 最初と最後の頁 1209 ~ 1215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/his.13494	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 Meguro Shiori, Matsushima Sayomi, Enomoto Yasunori, Kawasaki Hideya, Kosugi Isao, Tsuchida Takashi, Baba Satoshi, Fukamizu Hidekazu, Yamato Yu, Iwashita Toshihide	4. 巻 -
2. 論文標題 Immunohistochemical examination using the pericyte marker myosin 1B in a perivascular myoid tumor of soft tissue with definitive pericytic differentiation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathology International	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) 10.1111/pin.12777	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 Kawasaki Hideya, Kosugi Isao, Meguro Shiori, Iwashita Toshihide	4. 巻 67
2. 論文標題 Pathogenesis of developmental anomalies of the central nervous system induced by congenital cytomegalovirus infection	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 72 ~ 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12502	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 Meguro Shiori, Akamatsu Taisuke, Matsushima Sayomi, Kosugi Isao, Kawasaki Hideya, Arai Yoshifumi, Baba Satoshi, Tsuchida Takashi, Shido Yoji, Suda Takafumi, Iwashita Toshihide	4. 巻 62
2. 論文標題 Phenotypic characterization of perivascular myoid cell neoplasms, using myosin 1B, a newly identified human pericyte marker	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Human Pathology	6. 最初と最後の頁 187 ~ 198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.humpath.2016.12.024	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 Misawa Yuki, Misawa Kiyoshi, Kawasaki Hideya, Imai Atsushi, Mochizuki Daiki, Ishikawa Ryuji, Endo Shiori, Mima Masato, Kanazawa Takeharu, Iwashita Toshihide, Mineta Hiroyuki	4. 巻 39
2. 論文標題 Evaluation of epigenetic inactivation of vascular endothelial growth factor receptors in head and neck squamous cell carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Tumor Biology	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) 10.1177/1010428317711657	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 Misawa Kiyoshi, Mochizuki Daiki, Imai Atsushi, Misawa Yuki, Endo Shiori, Mima Masato, Kawasaki Hideya, Carey Thomas E., Kanazawa Takeharu	4. 巻 9
2. 論文標題 Epigenetic silencing of SALL3 is an independent predictor of poor survival in head and neck cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clinical Epigenetics	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) 10.1186/s13148-017-0363-1	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 Takaku Yasuharu, Suzuki Hiroshi, Kawasaki Hideya, Ohta Isao, Ishii Daisuke, Hirakawa Satoshi, Tsutsui Takami, Matsumoto Haruko, Takehara Sayuri, Nakane Chinatsu, Sakaida Kana, Suzuki Chiaki, Muranaka Yoshinori, Kikuchi Hiroto, Konno Hiroyuki, Shimomura Masatsugu, Hariyama Takahiko	4. 巻 4
2. 論文標題 A modified 'NanoSuit?' preserves wet samples in high vacuum: direct observations on cells and tissues in field-emission scanning electron microscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Royal Society Open Science	6. 最初と最後の頁 160887 - 160887
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsos.160887	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 Hariyama Takahiko, Sakaida Kana, Matsumoto Haruko, Tsutsui Takami, Suzuki Hiroshi, Kawasaki Hideya, Shimomura Masatsugu, Takaku Yasuharu	4. 巻 -
2. 論文標題 A thin polymer membrane 'NanoSuit' allows living organisms to survive in the harsh conditions of electron microscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 -	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) 10.1117/12.2260812	査読の有無 無
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8件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河崎秀陽
2. 発表標題 NanoSuit Technology を利用したパラフィン切片の 非破壊的な光-電子相関顕微鏡法 (CLEM) 観察法の開発
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第98回日本生理学会大会 CLEMシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河崎秀陽、他
2. 発表標題 ナノスーツ法を利用した子宮頸部異形成病変におけるHPV粒子の観察
3. 学会等名 第109回病理学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河崎秀陽
2. 発表標題 NanoSuit法を用いたパラフィン切片の非破壊的な光-電子相関顕微鏡法 (CLEM) とその応用
3. 学会等名 第3回腎生検LVSEM研究会プログラム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河崎秀陽
2. 発表標題 ナノスーツ法によるパラフィン病理切片のCLEM観察
3. 学会等名 JASIS 2019 最先端科学・分析システム&ソリューション展（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hideya Kawasaki
2. 発表標題 Cytomegalovirus Initiates Infection Selectively from High-Level 1 Integrin-Expressing Cells in the Brain
3. 学会等名 第59回日本先天異常学会ならびに13th World Congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation(CLEFT2019)合同学術集会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河崎秀陽 et al.
2. 発表標題 病理診断のためのNanoSuit Technologyの応用
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河崎 秀陽、小杉 伊三夫、目黒 史織、針山 孝彦、岩下 寿秀
2. 発表標題 ヒトiPS細胞におけるヒトサイトメガロウイルス 感染抵抗性機序の解析
3. 学会等名 病理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河崎秀陽、小杉伊三夫、目黒史織、針山孝彦、岩下寿秀
2. 発表標題 NanoSuit法を利用した高精度な迅速ナノ粒子定量・同定法の開発
3. 学会等名 日本病理学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 河崎秀陽	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 -
3. 書名 医学のあゆみ	

1. 著者名 河崎秀陽、他	4. 発行年 2021年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 -
3. 書名 バイオミメティクス・エコミメティクス 持続可能な循環型社会へ導く技術革新のヒント	

〔出願〕 計6件

産業財産権の名称 検査キット（補足：塗布ピンで捕捉抗体を塗布）（イムノクロマト検査キットの製造方法）	発明者 河崎秀陽，針山孝彦， 大庭博明，神谷航 平，尾関 佑斗	権利者 浜松医科大学、 NTN株式会社
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-185342	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 検査キット（補足：捕捉抗体を微小ドットでメンブレンに塗布した）（イムノクロマト検査キット）	発明者 河崎 秀陽，針山 孝彦，大庭 博明	権利者 浜松医科大学、 NTN株式会社
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-185343	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 検査キット（補足：メンブレンの凹部底面に捕捉抗体を塗布した）（イムノクロマト検査キット）	発明者 河崎 秀陽，針山 孝彦，大庭 博明	権利者 浜松医科大学、 NTN株式会社
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-185344	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 ナノスータイムノクロマト法による病原体や疾患関連タンパク質などの高感度・定量観察法（イムノクロマトグラフィーによる測定方法）	発明者 河崎 秀陽，針山 孝彦	権利者 浜松医科大学・ NanoSuit株式会 社
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-079912	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 病理組織標本または細胞診標本の走査型電子顕微鏡による観察方法	発明者 河崎秀陽、針山孝彦	権利者 浜松医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-160921	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 微量液滴に含まれる微粒子の光学・電子顕微鏡による定量方法	発明者 河崎秀陽、針山孝彦	権利者 浜松医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-055757	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計2件

産業財産権の名称 電子顕微鏡によるナノ粒子の直接的な同定・定量のための検出キットおよび方法	発明者 河崎 秀陽, 針山 孝彦	権利者 浜松医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、特許第6818346号	取得年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 電子顕微鏡によるナノ粒子の直接的な同定・定量のための検出キットおよび方法	発明者 河崎秀陽、針山孝彦	権利者 浜松医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、特開2017-201289	取得年 2017年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------