

感染症学（感染制御学分野）

1 構 成 員

	平成 25 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）	1 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）	2 人	(2 人)
研究生	3 人	
外国人客員研究員	0 人	
技術職員（教務職員を含む）	0 人	
その他（技術補佐員等）	2 人	
合計	10 人	

2 教員の異動状況

教員の姓名、職名、昇任（採用）年月日～現職、の順に書いてください。

堀井 俊伸（教授）（H24.3.1～現職）

辻村 邦夫（准教授）（H19.4.1～現職）

内嶋 雅人（助教）（H5.4.1～19.3.31 助手；H19.4.1～H25.2.28）

瀬戸 真太郎（助教）（H18.4.1～19.3.31 助手；H19.4.1～現職）

3 研究業績

数字は小数 2 位まで。

	平成 24 年度	
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	5 編	(1 編)
そのインパクトファクターの合計	11.65	
(2) 論文形式のプロシーディングズ及びレター	0 編	
そのインパクトファクターの合計	0.00	
(3) 総説数（うち邦文のもの）	1 編	(1 編)
そのインパクトファクターの合計	0.00	
(4) 著書数（うち邦文のもの）	2 編	(2 編)
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	0.00	

(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. Horii T, Tamai K, Notake S, Yanagisawa H: *Bacillus cereus* bloodstream infection in a preterm neonate complicated by late meningitis. *Case Reports in Infectious Diseases* 2012:358789, 2012.
 2. Seto S, Tsujimura K, Koide Y: Coronin-1a inhibits autophagosome formation around *Mycobacterium tuberculosis*-containing phagosomes and assists mycobacterial survival in macrophages. *Cell Microbiol* 14: 710-727, 2012.

インパクトファクターの小計 [5.46]

- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）
- 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. 高根 浩, 三好由希子, 堀井俊伸 : MRSA 感染症治療薬の TDM 実施状況と臨床効果に関する多施設共同調査研究. *医療薬学* 38:785-794, 2012.
 2. Osada-Oka M, Tateishi Y, Hirayama Y, Ozeki Y, Niki M, Kitada S, Maekura R, Tsujimura K, Koide Y, Ohara N, Yamamoto T, Kobayashi K, Matsumoto S: Antigen 85A and mycobacterial DNA-binding protein 1 are targets of IgG in individuals with past tuberculosis. *Microbiol Immunol* 57: 30-37, 2013.
 3. Taguchi O, Tsujimura K, Kontani K, Harada Y, Nomura S, Ikeda H, Morita A, Sugiura H, Hayashi N, Yatabe Y, Seto M, Tatematsu M, Takahashi T, Fukushima A: Behavior of bone-marrow-derived cells following *in vivo* transplantation: differentiation into stromal cells and their roles in organ maintenance. *Am J Pathol* 182: 1255-1262, 2013.

インパクトファクターの小計 [6.19]

(2-1) 論文形式のプロシーディングズ

(2-2) レター

(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. 瀬戸真太郎, 辻村邦夫, 堀井俊伸, 小出幸夫 : アクチン結合性タンパク質 Coronin-1a による結核菌ファゴソームへのオートファゴソーム形成阻害機構. *生体の科学* 63: 494-495, 2012.

インパクトファクターの小計 [0.00]

- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

- 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

(4) 著 書

- 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. 堀井俊伸編著：ここがポイント！抗菌薬耐性を攻略する抗菌薬の選び方・使い方. 文光堂, 東京, 2012.
- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し, 共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究)
- 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. 吉田葉子, 堀井俊伸：第6章 対象物, 空間, 施設における殺菌, 滅菌, 消毒, 不活化, 有害物除去術と現状, 第2節 医療施設. 作道章一編著：食と健康の高安全化 - 殺菌, 滅菌, 消毒, 不活化, 有害物除去技術-. S&T 出版, 東京, 2012.

(5) 症例報告

4 特許等の出願状況

	平成 24 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 24 年度
(1) 文部科学省科学研究費	1 件 (170 万円)
(2) 厚生労働科学研究費	0 件 (0 万円)
(3) 他政府機関による研究助成	1 件 (70 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	0 件 (0 万円)
(6) 奨学寄附金その他 (民間より)	10 件 (270 万円)

- (1) 文部科学省科学研究費
瀬戸真太郎 (代表者) : 科学研究費若手研究 (B)、イメージ解析とプロテオミクスによる結核菌ファゴソームにおける小胞輸送の包括的解析 170万円 (継続)
- (2) 厚生労働科学研究費
- (3) 他政府機関による研究助成
辻村邦夫 (代表者) : 独立行政法人 科学技術振興機構 A-STEP 70万円 (継続)
- (4) 財団助成金
- (5) 受託研究または共同研究

6 新学術研究などの大型プロジェクトの代表, 総括

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	3 件
(3) 学会座長回数	0 件	2 件
(4) 学会開催回数	0 件	0 件
(5) 学会役員等回数	0 件	3 件
(6) 一般演題発表数	0 件	

(1) 国際学会等開催・参加

- 1) 国際学会・会議等の開催
- 2) 国際学会・会議等における基調講演、招待講演
- 3) 国際学会・会議等でのシンポジウム発表
- 4) 国際学会・会議等での座長
- 5) 一般発表

口頭発表

ポスター発表

(2) 国内学会の開催・参加

- 1) 主催した学会名
- 2) 学会における特別講演・招待講演
- 3) シンポジウム発表
 1. 穂積宏尚, 辻村邦夫, 山村泰弘, 瀬戸真太郎, 内嶋雅人, 永田 年, 三輪清一, 早川啓史, 橋本 大, 藤澤朋幸, 榎本紀之, 乾 直輝, 中村祐太郎, 須田隆文, 千田金吾, 小出幸夫: 結核休眠期抗原(DosR antigen)に対するヒト T 細胞応答の検討. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会. 2012 年 4 月, 神戸.
 2. 堀井俊伸: (専門医指導者講習会 1) 感染: ペインクリニックにおける医療関連感染対策. 日本ペインクリニック学会第 46 回大会. 2012 年 7 月, 松江.
 3. 瀬戸真太郎, 辻村邦夫, 堀井俊伸, 小出幸夫: イメージ解析で明らかになった結核菌感染マクロファージと樹状細胞におけるオートファゴソーム形成機構の解析. 第 118 回日本解剖学会総会. 2013 年 3 月, 高松.

4) 座長をした学会名

1. 堀井俊伸: 第 86 回日本感染症学会総会
2. 堀井俊伸: 第 61 回日本感染症学会東日本地方会・第 59 回日本化学療法学会東日本支部会

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

1. 堀井俊伸: 日本感染症学会 (評議員)
2. 堀井俊伸: 日本環境感染学会 (評議員)
3. 堀井俊伸: 日本臨床微生物学会 (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（レフリー数は除く）	1件	0件

(1) 国内の英文雑誌等の編集

- 堀井俊伸：Journal of Infection and Chemotherapy、編集委員、PubMed/Medline 登録有、インパクトファクター有

(2) 外国の学術雑誌の編集

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

- 堀井俊伸：Journal of Infection and Chemotherapy（Japan）4回
- 堀井俊伸：Microbiology & Immunology（Japan）1回
- 辻村邦夫：Recent Patents on Drug Delivery & Formulation（UAE）1回

9 共同研究の実施状況

	平成 24 年度
(1) 国際共同研究	0件
(2) 国内共同研究	5件
(3) 学内共同研究	2件

(1) 国際共同研究

(2) 国内共同研究

- 神戸俊夫（名古屋大学）：Candida albicansの感染症発症能力に関する解析
- 影山康徳（浜松大学）：関節リウマチにおける免疫機構の解析
- 村松英昭（浜松赤十字病院）：カンジダ血症の疫学的解析
- 早川啓史、三輪清一（天竜病院）：抗結核ワクチンの開発
- 永津雅章（静岡大学創造科学技術大学院）：低温プラズマ滅菌技術の開発と作用機構解析

(3) 学内共同研究

- 小出幸夫（理事）：抗結核ワクチンの開発
- 永田 年（基礎看護学）：抗結核ワクチンの開発

10 産学共同研究

	平成 24 年度
産学共同研究	件

11 受賞

- 国際的な授賞
- 外国からの授与
- 国内での授賞

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

結核は現在も死因の大きな割合を占め、2010年には世界で880万人が結核を発症し140万人が

死亡している。結核菌感染に対するワクチンとしては、BCG が依然として用いられており、世界の人口の約半分が接種を受けている。しかしながら、BCG の乳幼児粟粒結核に対する有効性は確認されているが、成人の肺結核に対する有効性は疑問視されており、より有効なワクチンの開発が急務である。我々は新しい抗結核ワクチンの開発を目的として、標的とする結核防御抗原の探索（プロジェクト1）と効果的な免疫方法の確立（プロジェクト2）の両面に重点をおいて研究を行っている。

感染した結核菌はマクロファージによって貪食されるが、様々な機序によって消化を免れ、細胞内寄生することが知られている。したがって、その阻害機構を明らかにすることは、結核菌に対する免疫応答を考える上で非常に重要な意味を持つ。そこで我々は結核菌を貪食したマクロファージのファゴソームの性状解析を行い、その阻害機構の解明を試みている（プロジェクト3）。

1. 結核の再燃制御を目的としたワクチンの開発

成人結核の大部分が内因性再燃に起因することから、潜伏感染者の診断法の確立や結核菌の再燃を制御する新規ワクチンの開発は、二次結核の予防に重要な意義をもつ。その基礎実験として、結核菌が潜伏期特異的に発現する DosR 蛋白質群に対する T 細胞応答を、①結核患者、②潜伏感染者、③健常者で比較検討した（48 種類報告されている蛋白質群のうち 33 種類について検討した）。

各抗原に対する T 細胞応答は全般的に潜伏感染者で強く、①③の両方または何れかに対して統計学的に有意差を示す抗原を 12 種類（Rv0080、Rv0081、Rv0570、Rv0574c、Rv1996、Rv2004c、Rv2028、Rv2029c、Rv2031c、Rv2626、Rv3129、Rv3133c）同定できた。このうち、Rv2031c に由来するペプチドが、HLA-A2 および HLA-DR4 に提示されることを明らかにした。

また、結核感染者の免疫系が認識している抗原を同定すべく、結核菌の遺伝子産物を発現するファージ・ライブラリーを結核患者および潜伏感染者の血清でスクリーニングし、各々30 および23 抗原を選定した。

（辻村邦夫、瀬戸真太郎、内嶋雅人、小出幸夫、堀井俊伸）

2. タンパク質機能性ドメインを用いた抗結核ワクチンの開発

細胞内寄生菌に対する効率の良いワクチンを樹立するためには、抗原利用率（取り込み、分解および MHC による抗原提示）を増大させ、キラーT 細胞や Th1 細胞の誘導能を促進する必要がある。未成熟樹状細胞上に発現するケモカインレセプターの CCR5 を標的とする DNA ワクチンでは、そのリガンドである MIP-1 α を抗原に融合することで CD8+ および CD4+T 細胞を強く感作できたが、特に CD8+T 細胞を誘導する指向性が高いことが、BALB/c、C57BL/6、および両者の F1 マウスを用いた解析から確認できた。MIP-1 α -EGFP 融合タンパク質を調製し、骨髄由来樹状細胞による取り込みと細胞内挙動を生細胞で経時解析した結果、MIP-1 α を融合することで取り込み速度および効率が増加し、CCR5 と共局在していることが確認できた。また、融合タンパク質を用いた免疫実験により、レセプターへの結合が CD8+T 細胞を強く誘導するために必要であることが明らかとなった。

自然免疫は初期防御機構としてばかりではなく、獲得免疫の成立においても重要である。自然

免疫の活性化に関わる細胞内シグナル伝達因子を強制発現させることで、より効率の良い DNA ワクチンを確立するため、PAMPs による免疫細胞の活性化に関わる TBK1、ASC、Rip2、NLRP3 などをクローニングした。これらを樹状細胞株に導入し、その遺伝子産物の発現を確認し、これらの DNA ワクチンにおける効果について解析を開始した。

(内嶋雅人、永田 年、辻村邦夫、小出幸夫、堀井俊伸)

3. 結核菌によるファゴリソソーム形成阻害機構の解析

結核菌は細胞内寄生性細菌であり、貪食したマクロファージ内で増殖することができる。結核菌の細胞内増殖能はファゴリソソーム形成を阻害することによって獲得している。また、マクロファージは結核菌の細胞内増殖能をオートファジーによって制御している。すなわち、飢餓や薬剤、サイトカインなどによって誘導されたオートファジーによって、マクロファージは感染結核菌の細胞内増殖を阻害することができることが示されている。マクロファージにおける結核菌へのファゴリソソーム形成阻害過程やオートファジー誘導機構に関して、よく研究されているが、樹状細胞における結核菌ファゴソームの小胞輸送機構に関する知見はほとんどない。本年度は、結核菌感染樹状細胞におけるオートファゴソーム形成機構について調べた。樹状細胞に結核菌を感染させると、結核菌ファゴソームにオートファジーマーカータンパク質である LC3 とオートファジリアダプタータンパク質である p62 が局在した。p62 局在結核菌ファゴソームはポリユビキチン化され、さらに、リソソームマーカータンパク質である LAMP1 や抗原提示分子である MHC クラス II 分子が局在した。オートファジー誘導阻害剤である 3-MA やオートファジー関連遺伝子である Atg5、Beclin1 のノックダウンによって、結核菌ファゴソームへの p62 局在化やポリユビキチン化は阻害されなかった。一方で、p62 のノックダウンによって、結核菌ファゴソームのポリユビキチン化は阻害された。以上の結果は、樹状細胞において感染結核菌に p62 を介したオートファジー誘導機構によってオートファゴソームが形成されることを示唆する。

(瀬戸真太郎、辻村邦夫、小出幸夫、堀井俊伸)

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. 潜伏期結核菌が発現する DosR 蛋白質群の中で、結核菌感染者（潜伏感染者および結核患者）で免疫応答が亢進してものを多数同定した。この結果は DosR 蛋白質群がヒトで抗原性を持つことを示唆しており、将来のワクチン開発に重要なシーズとなる。
2. ケモカインレセプターや細胞内シグナル伝達因子を利用した新たな分子融合型ワクチン技術を開発した。
3. 結核菌感染樹状細胞におけるオートファゴソーム形成機構を明らかにすることによって、生体に感染した結核菌への CD4 T 細胞活性化機構を解明する手がかりを得た。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

現行の抗結核ワクチンである BCG の乳幼児期粟粒結核等に対する効果は広く認められているが、成人の結核の大部分を占める肺結核に対する効果は疑問視されている。しかし、BCG の効果を凌駕する抗結核ワクチンは未だ開発されておらず、その開発は世界的な課題である。これまで

の抗結核ワクチンが結核菌の初期感染の阻止を標的としているのに対し、我々が開発中である潜伏感染中の結核菌の再燃制御を目的としたワクチンは全く異なる発想に基づくものである。このようなワクチンを開発できれば、初期免疫に BCG を、追加免疫に本ワクチンを用いることで、新たなワクチン戦略の構築が可能となる。

結核菌防御抗原の検索は、結核に対するワクチン開発に重要であるのみならず、その免疫応答は結核感染の診断ツールとして応用性のあるものである。これまで活動性結核患者と潜伏期感染者を鑑別するバイオマーカーは樹立されていない。現在進行中のヒト検体を用いた潜伏期（休眠期）抗原に対する免疫応答の包括的検索は、これらの分野にも大きな情報をもたらすことが期待できる。

結核菌抗原の探索と平行して行っている新しいワクチン技術の開発は、同定した結核菌抗原を用いた抗結核ワクチンのみならず、他の感染症やがんに対するワクチン開発にも応用が可能である。さらに、結核菌によるファゴリソソーム形成阻害機構の解析から、ワクチン効果の増強法や新たな薬剤の開発に有用な知見が得られることが期待できる。

15 新聞、雑誌等による報道

1. 堀井俊伸：見えないカビに要注意！、静岡第一テレビ、平成 24 年 6 月 27 日。
2. 堀井俊伸：震災時に役立つ医の知識、中日新聞、平成 25 年 1 月 24 日。
3. 堀井俊伸：インフル集団感染 県が予防研修会、毎日新聞、平成 25 年 2 月 13 日。