

微生物学

1 構 成 員

	平成11年3月31日現在	平成12年3月31日現在
教授	1人	1人
助教授	1人	1人
助手（うち病院籍）	2人 (0人)	2人 (0人)
大学院学生（うち他講座から）	3人 (3人)	5人 (4人)
研究生	0人	0人
外国人客員研究員	0人	0人
技官	1人	1人
その他（技術補佐員等）	0人	0人
合計	8人	10人
非常勤講師	3人	3人

2 教官の異動状況

小出 幸夫（教授）（期間中現職）
 永田 年（助教授）（期間中現職）
 内嶋 雅人（助手）（期間中現職）
 吉田 篤司（助手）（期間中現職）

3 研究業績

	平成10年度	平成11年度
原著論文数（うち邦文のもの）	4編 (0編)	3編 (0編)
そのインパクトファクター合計	21.56	9.95
論文形式のプロシーディングズ数	0編	0編
総説数（うち邦文のもの）	2編 (1編)	1編 (1編)
そのインパクトファクター合計	0	0
著書数（うち邦文のもの）	1編 (1編)	1編 (1編)
症例報告数（うち邦文のもの）	0編 (編)	0編 (編)
国際学会発表数	0編	0編

(1) 原著論文（当該教室所属の人全部に下線）

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 Uchijima M, Yoshida A, Nagata T, Koide Y (1998) Optimization of codon usage of plasmid DNA vaccine is required for the effective MHC class I-restricted T cell responses against an intracellular bacterium. J Immunol 161:5594-5599.

- ② Nagata T, Uchijima M, Yoshida A, Kawashima M, Koide Y(1999) Codon optimization effect on translational efficiency of DNA vaccine in mammalian cells: analysis of plasmid DNA encoding a CTL epitope derived from microorganisms. *Biochem Biophys Res Commun* 261:445-451.

インパクトファクターの合計 小計 10年度 [7.17] 11年度 [2.78]

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）

- ① Kageyama Y, Koide Y, Yoshida A, Uchijima M, Arai T, Miyamoto S, Ozeki T, Hiyoshi M, Kushida K, Inoue T (1998) Reduced susceptibility to collagen-induced arthritis in mice deficient in interferon- γ receptor. *J Immunol* 161 (3):1542-1548.
- ② Ide K, Hayakawa H, Yagi T, Sato A, Koide Y, Yoshida A, Uchijima M, Suda T, Chida K, Nakamura H (1999) Decreased expression of Th2 type cytokine mRNA contributes to the lack of allergic bronchial inflammation in aged rats. *J Immunol* 163:396-402.
- ③ Yoshitomi A, Sato A, Hayakawa H, Chida K, Toyoshima M, Uchijima M, Yoshida A, Koide Y (1999) Biased T cell receptor Vbeta gene expression in bronchoalveolar lavage fluid from Japanese patients with sarcoidosis. *Respirology* 4:330-347.

インパクトファクターの合計 小計 10年度 [7.17] 11年度 [7.17]

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 Tsuyuki Y, Fujimaki H, Hikawa N, Fujita K, Nagata T, Minami M (1998) IFN- γ induces coordinate expression of MHC class I antigen presentation machinery molecules in adult mouse Schwann cells. *NeuroReport* 9: 2071-2075.
- ② Sugawara A, Uruno A, Nagata T, Takeuchi K, Taketo M, Abe K, Ito S (1998) Characterization of mouse retinoid X receptor (RXR) β gene promoter: tumor necrosis factor (TNF) γ negatively regulates its activity. *Endocrinology* 139: 3030-3033.

インパクトファクターの合計 小計 10年度 [7.22] 11年度 [0]

D. 筆頭著者、共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが、当該教室に所属する者が含まれるもの

(2) 論文形式のプロシーディングス

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

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

- D. 筆頭著者，共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが，当該教室に所属する者が含まれるもの

(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 小出幸夫 (1998) DNAワクチンの展望. 分子呼吸病, 2 (2) : 61-63.
 - ② .Koide Y, Nagata T, Yoshida A, Uchijima M (1998) DNA vaccines for infections with intracellular bacteria. *Curr Trends Immunol* 1:123-132.
 - ③ 小出幸夫, 永田 年, 内嶋雅人, 吉田篤司, 青枝大貴 (1999) 細胞内寄生菌感染に対する DNA (遺伝子) ワクチン. *日本細菌学雑誌*, 54 (4) : 773-793.
- 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
- D. 筆頭著者，共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが，当該教室に所属する者が含まれるもの

(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
- 小出幸夫 (1998) 細菌感染症に対するDNAワクチンの展望. 菊池浩吉, 矢田純一, 奥村 康 (編), *Annual Review 免疫 1999*, 中外医学社, p.226-235.
- 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
- D. 筆頭著者，共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが，当該教室に所属する者が含まれるもの

(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
- 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

D. 筆頭著者、共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが、当該教室に所属する者が含まれるもの

(6) 国際学会発表

4 特許等の出願状況

	平成10年度	平成11年度
特許取得数（出願中含む）	0件	0件

[平成10年度]

[平成11年度]

5 医学研究費取得状況

	平成10年度	平成11年度
文部省科学研究費	1件 (200万円)	3件 (480万円)
厚生省科学研究費	0件 (万円)	0件 (万円)
他政府機関による研究助成	0件 (万円)	0件 (万円)
財団助成金	1件 (280万円)	1件 (50万円)
受託研究または共同研究	0件 (万円)	0件 (万円)
奨学寄附金その他（民間より）	1件 (30万円)	1件 (30万円)

[平成10年度]

(1) 文部省科学研究費

- ① 小出幸夫, 基盤研究(C)(2), 遺伝子銃による細胞内寄生菌に対する指向性DNAワクチンの研究, 200万円, 新規

(2) 厚生省科学研究費

(3) 他政府機関による研究助成

(4) 財団助成金

- 小出幸夫, 財団法人静岡総合研究機構学術教育研究推進事業費補助金, 遺伝子(DNA)ワクチンの開発, 280万円, 継続

(5) 受託研究または共同研究

[平成11年度]

(1) 文部省科学研究費

- ① 小出幸夫, 基盤研究(C)(2), 遺伝子銃による細胞内寄生菌に対する指向性DNAワクチンの研究, 110万円, 継続
- ② 永田 年, 基盤研究(C)(2), 細胞内寄生菌に対する遅延型細胞性免疫誘導型DNAワクチンの開発, 230万円, 新規
- ③ 吉田篤司, 奨励研究(A), 細胞内寄生菌に対するDNAワクチンの開発—Th細胞誘導型DNAワクチンによる感染防御免疫の誘導—, 140万円, 新規

(2) 厚生省科学研究費

(3) 他政府機関による研究助成

(4) 財団助成金

永田 年, 財団法人静岡総合研究機構学術教育研究推進事業費補助金, 細胞内寄生細菌に対する遅延型細胞性免疫誘導型DNAワクチンの開発, 50万円, 新規

(5) 受託研究または共同研究

6 特定研究などの大型プロジェクトの代表, 総括

[平成10年度]

[平成11年度]

7 学会活動

	平成10年度	平成11年度
招待講演回数	1件	1件
国際・国内シンポジウム発表数	0件	0件
学会座長回数	1件	1件
学会開催回数	0件	0件
学会役員等回数	2件	4件

[平成10年度]

(1) 学会における特別講演・招待講演

小出幸夫 (1998) 感染免疫とDNAワクチン. 第62回日本皮膚科学会東部支部会学術大会, 浜松

(2) 国際・国内シンポジウム発表

(3) 座長をした学会名

(4) 主催する学会名

(5) 役職についている学会名とその役職

小出幸夫：日本免疫学会（運営員）

小出幸夫：日本組織適合性学会（評議員）

〔平成11年度〕

(1) 学会における特別講演・招待講演

小出幸夫（1999）感染防御機構とDNAワクチン．第21回日本内科学会東海支部生涯教育講演会，名古屋

(2) 国際・国内シンポジウム発表

(3) 座長をした学会名

(4) 主催する学会名

(5) 役職についている学会名とその役職

小出幸夫：日本免疫学会（運営員）

小出幸夫：日本細菌学会（評議員）

小出幸夫：日本組織適合性学会（評議員）

小出幸夫：東海遺伝子医療研究会（世話人）

8 学術雑誌の編集への貢献

	平成10年度	平成11年度
学術雑誌編集数	0件	0件

〔平成10年度〕

〔平成11年度〕

9 共同研究の実施状況

	平成10年度	平成11年度
国際共同研究	1件	0件
国内共同研究	0件	0件
学内共同研究	4件	5件

〔平成10年度〕

(1) 国際共同研究

E. Raz（カルフォルニア大学サンディエゴ校） 細菌由来免疫増強性DNA（ISS）の作用機構の

解析

(2) 国内共同研究

(3) 学内共同研究

- 1) 中村悟己（第三内科） レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療の基礎実験
- 2) 東 尊秀（耳鼻科） アレルギー性鼻炎の予防と治療，DNAワクチンによる抗腫瘍免疫の誘導
- 3) 戸澤孝太郎（第一内科） 自己免疫性慢性腸炎の発症機序の解明
- 4) 山田孝，内山啓（第二内科） DNAワクチンによる細胞内寄生菌感染の予防

[平成11年度]

(1) 国際共同研究

(2) 国内共同研究

(3) 学内共同研究

- 1) 中村悟己（第三内科） レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療の基礎実験
- 2) 東 尊秀（耳鼻科） アレルギー性鼻炎の予防と治療，DNAワクチンによる抗腫瘍免疫の誘導
- 3) 戸澤孝太郎（第一内科） 自己免疫性慢性腸炎の発症機序の解明
- 4) 山田孝，内山啓（第二内科） DNAワクチンによる細胞内寄生菌感染の予防
- 5) 三鬼慶太（第二外科） CpGモチーフの免疫賦活/免疫調節作用に関する研究

10 産学共同研究

	平成10年度	平成11年度
産学共同研究	0件	0件

[平成10年度]

[平成11年度]

11 受賞（学会賞等）

[平成10年度]

[平成11年度]

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 細胞傷害性T細胞(CTL)誘導型DNAワクチンの開発

[目的] 細胞内寄生菌感染に対しては細胞性免疫が感染防御に重要な働きをすることが知られている。従来、この細胞性免疫の誘導には副反応の危険性が高い生菌の接種が必須であった。本研究

では、*Listeria monocytogenes*を細胞内寄生菌のモデルとし、これに対するCTLを誘導できるDNAワクチンを開発する。

[概要] リステリアのCTLエピトープとして知られているLLO 91-99を発現ベクターに挿入し、DNAワクチンを作製、これをBALB/cマウスに筋注することで、CTLおよび感染防御免疫を誘導した。

[目的の達成度] 1) 有効なCTLを誘導するためにはLLO 91-99をコードするDNAのコドン細菌からマウスに最適化する必要があることが明らかとなった。2) このDNAワクチンによる感染防御免疫の誘導は生菌免疫に比べて弱かった。感染防御免疫能を高める工夫が必要である。

[研究担当者] 吉田篤司, 永田 年, 内嶋雅人, 小出幸夫

2. 遅延型細胞性免疫誘導型DNAワクチンの開発

[目的] これまでDNAワクチンにより特異的細胞傷害性T細胞 (CTL)や抗体の誘導が効率よく行われることが確認されているが、特異的ヘルパーT細胞 (Th) のみを誘導するDNAワクチンの報告はない。ここでは特異的Th誘導型DNAワクチンの開発を試みる。

[概要] 既知のThエピトープのみをコードするオリゴヌクレオチドを不変鎖 (I鎖)分子cDNA内に組込み、この組換えcDNAをDNAワクチンとして遺伝子銃法を用いてマウスに免疫する。免疫効果は、免疫マウス脾細胞の抗原特異的増殖反応、抗原特異的サイトカイン発現で評価する。

[目的の達成度] オブアルブミンおよびリステリオリジンO タンパクの既知Thエピトープを組込んだ組換えI鎖 cDNAを作製し、これをマウスに遺伝子銃法で免疫することによりマウス個体で特異的Th細胞の誘導を確認した。現在、論文作製中である。

[研究担当者] 永田 年, 小出幸夫

3. 細菌由来免疫増強性DNA (ISS) の作用機構の解析

ISSは自然免疫の誘導、B細胞の増殖、アジュバントとしてTh1の誘導 (アレルギーの抑制)、CTLの誘導等の作用をもつが、その機序についてはほとんど明らかにされていない。ISSの免疫系の細胞への作用とその機構を明らかにするために解析をおこなった。

3-1. HSP遺伝子の発現誘導

HSPsの一部は抗原提示に関わっていると考えられていることから、ISSによりこれらの遺伝子発現が誘導されるかどうか検討した。HSPsのうち、HSP70がISSにより発現誘導されることが明らかになった。

[研究担当者] 内嶋雅人, E. Raz

3-2. 好酸球のapoptosisの誘導

アレルギー疾患部位において好酸球の浸潤が見られることから、ISSの好酸球に対する作用を調べた。IL-5 transgenic mouseより調製した好酸球にISSを作用させると、apoptosisにより細胞数が減少することが明らかになった。

[研究担当者] J. van Uden, 内嶋雅人, E. Raz

3-3. cDNAアレイを用いた解析

IISにより発現が誘導される遺伝子の検索を、cDNAアレイを用いておこなった。骨髄由来マクロファージ (BMDM) において、ISSによりMIP, IL- β などの発現が誘導される一方、TGF

β 等の発現が抑制された。[研究担当者] 内嶋雅人, J. van Uden, E. Raz

3-4. サブトラクション法を用いた解析

サブトラクション法により、ISS特異的に発現が誘導される遺伝子の検索をおこなった。P105 (NF- κ B), PA28 β , IRF1が発現誘導されることが明らかになった。

[研究担当者] 内嶋雅人, E. Raz, 小出幸夫

interferon inducible protein, MyD88等もBMDMにおいて発現誘導される。

MyD88はTLRのアダプターであることから、ISSとLPSのシグナル伝達系を比較するために、mutantを用いて解析中。

[研究担当者] 内嶋雅人, E. Raz, 小出幸夫

3-5. iNOSの転写調節

ISSにより、iNOS遺伝子がIFN γ 非依存的に発現誘導されることを見出した。Promoter領域の解析からAP-1様配列がISS応答配列のひとつであることが明らかになった。

[研究担当者] 内嶋雅人, 永田 年, 小出幸夫

3-6. アナフラキシーショックの抑制。

感作の際に、抗原にISSを加えることで、アナフラキシーショックを抑制することを試みた。ISSを含むplasmid(BS-ISS)を作製。

[研究担当者] 三鬼慶太, 内嶋雅人, 永田 年, 小出幸夫

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

- 1) 細菌由来のDNAを使用して、DNAワクチンを作製する場合はコドン宿主（哺乳類）に最適化することが必要であった。
- 2) Th細胞を誘導するためには、ThエピトープをIi分子内のCLIPと置換する必要があることが判明した。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

細胞内寄生体感染の防御には細胞性免疫が必要であるが、有効な細胞性免疫は病原体の寄生部位によって異なる。食胞に寄生するものにはTh1細胞が、細胞質に寄生するものにはCTLが有効である。本研究の成果により、有効な免疫のみを誘導できるDNAワクチンの開発の途が拓かれた。このような試みは他に類を見ない。この成果は、その効果が疑問視されているBCGに代わる結核に有効なワクチン開発にも応用可能である。

15 新聞、雑誌等による報道

- 1) 静岡新聞、平成11年6月4日、遺伝子組換えがん細胞正常化、白血病治療に道開く
- 2) 静岡新聞、平成11年6月18日、遺伝子銃が威力を発揮、“組換え”の新兵器に「まさに百発百中」
——浜松医大のDNAワクチン研究開発