

D. 結論

ペプチド抗原のアミノ酸配列を人為的に変化させることにより、そのペプチド抗原のMHC 拘束性を人為的に制御できることを、マウスにおいてはありますが、初めて実証し、それを参考に、「MHC 遺伝子拘束に起因するヒトによる免疫原性の強弱」の解決策として、ヒト用のマルチ T 細胞エピトープ Overlapping Multiagretope Peptide (OMP) を人為的に構築した。次いで、OMP とユニットペプチドをリジンスペーサーで連結した35残基のペプチド抗原 (OMP-KK-U) をHLA の種々の遺伝子型に同時に対応できるワクチン用 ペプチド抗原として具体化し、これをヒト用蝕予防用ワクチンの基本形とした。このペプチド抗原はマウスにおいてはありますが、経鼻免疫においてもコレラトキシン B の共存下に目的抗体を効率よく誘導している。

E. 研究発表

1. 学会発表

1. Tosiki Nisizawa, Development of synthetic peptide-vaccin for prevention of dental caries. Symposium I, 48th. JADR, Matsudo, Tokyo, Japan, Dec. 2000.
2. 西沢俊樹、今井奨、花田信弘。液性免疫誘導用ペプチドワクチンの開発。第4回日本ワクチン学会学術集会。横浜。11月。2000。

2. 論文発表

1. Senpuku, H., K., Yanagi, and T., Nisizawa. Identification of *Streptococcus mutans* PAc peptide motif binding with human MHC class II molecules (*DRB1*0802, *1101, *1401 and *1405*). Immunology . 95, 322-330, 1998.
2. Kato, H., H.Takeuchi, Y.Oishi, H.Senpuku, N.Shimura, N.Hanada and T.Nisizawa, The immunogenicity of various peptide antigens inducing cross-reacting antibodies to a cell surface protein antigen of *Streptococcus mutans* . Oral Microbiol. Immunol., 14,213-219.1999.

3. Eto, A., C.T., Saido, K., Fukusima, S.,Tomioka, S., Imai, T.Nisizawa, and N., Hanada. Inhibitory effect of a self-derived peptide on glucosyltransferase of *Streptococcus mutans*. The Journal of Biological Chemistry. 274,15797-15802, 1999.
4. Takeuchi H., H.Senpuku, K. Matin, N. Kaneko, N. Yusa, E. Yoshikawa, H. Ida, S. Imai, T. Nisizawa, Y. Abei, Y. Kono, T. Ikemi, Y. Toyoshima, K. Fukushima, N. Hanada. New dental drug delivery system for removing mutans streptococci from the oralcavity: effect on oral microbial flora. Jpn J. Infect. Dis. 53:211-212, 2000.
5. Oishi, Y., A. Onozuka, H. Kato, N. Shimura, S. Imai, T. Nisizawa. The effect of amino acid spacers on the antigenicity of dimeric peptide-inducing cross-reacting antibodies to a cell surface protein antigen of *Streptococcus mutans* Oral Microbiol Immunol ., 16, 40-44, 2001

Table 1.

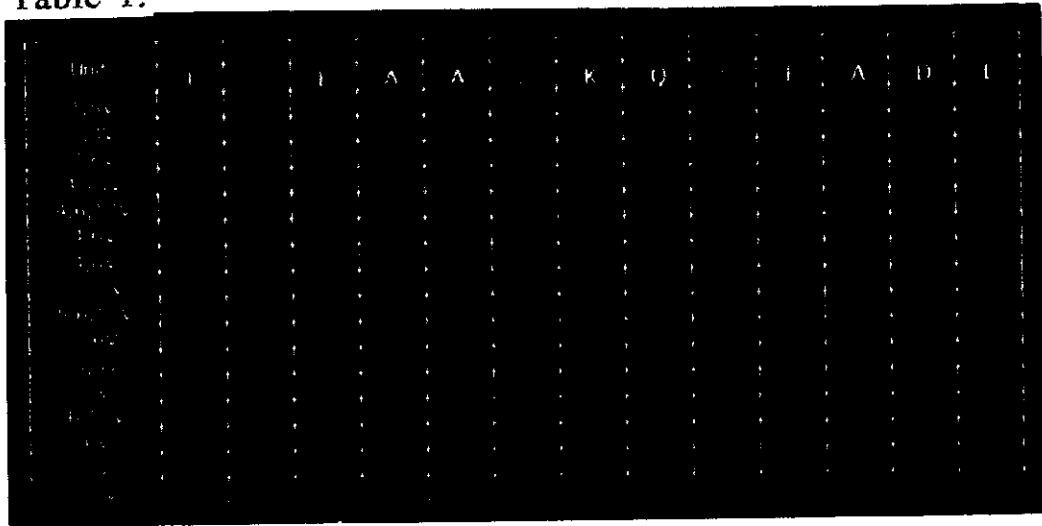


Table 2.

The PAc(361-379)-specific T-cell response to the truncated peptides of PAc(361-379)

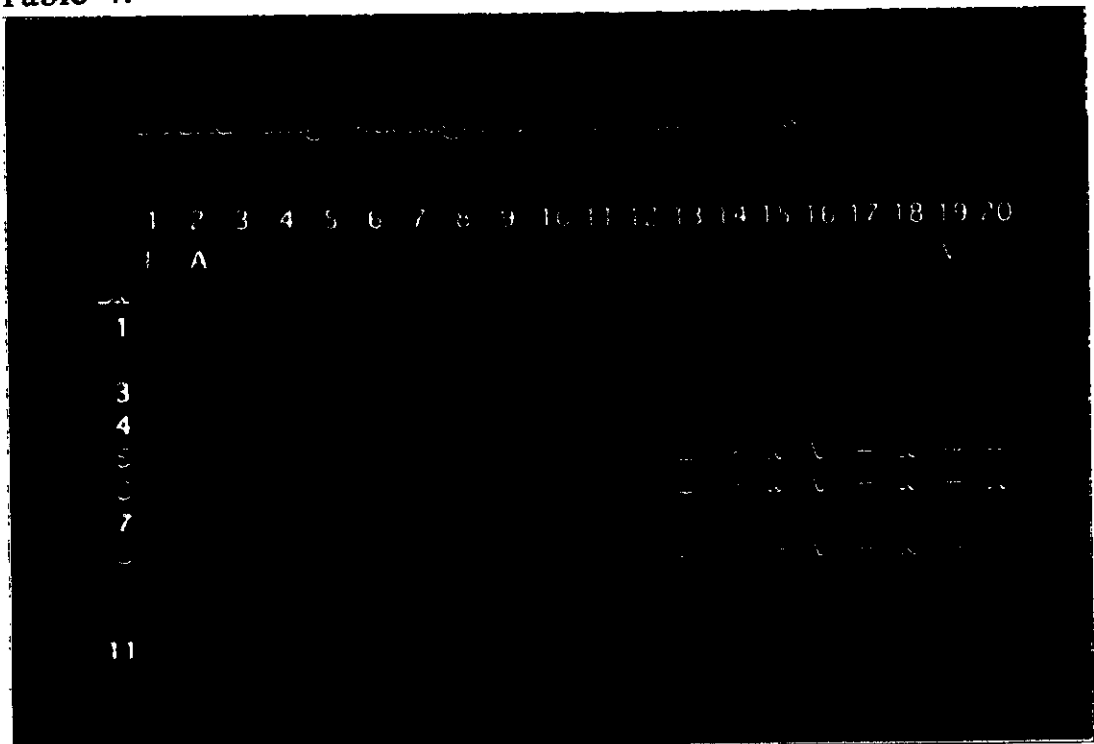
Stimulator	B10 congenic mice			
	M	D2	A	BR
PAc(361-379)	5.09 ± 0.97	3.14 ± 0.58	3.13 ± 0.68	5.55 ± 0.75
PAc(361-370)	3.59 ± 1.40	1.36 ± 0.06	1.94 ± 0.37	1.15 ± 0.18
PAc(361-373)	3.98 ± 1.76	2.12 ± 0.33	1.95 ± 0.08	1.36 ± 0.07
PAc(361-375)	5.01 ± 1.60	2.29 ± 0.45	2.01 ± 0.51	2.36 ± 0.84
PAc(363-370)	0.97 ± 0.39	1.08 ± 0.03	1.28 ± 0.21	0.87 ± 0.15
PAc(363-377)	1.01 ± 0.15	2.91 ± 0.29	1.13 ± 0.09	5.84 ± 0.68
PAc(365-372)	1.07 ± 0.09	1.20 ± 0.03	1.21 ± 0.37	0.80 ± 0.01
PAc(365-375)	1.03 ± 0.37	2.00 ± 0.19	2.26 ± 0.73	2.83 ± 0.58
PAc(365-376)	0.83 ± 0.36	2.06 ± 0.22	2.00 ± 0.35	2.88 ± 0.56
PAc(365-377)	0.94 ± 0.36	3.03 ± 0.34	2.78 ± 1.20	5.68 ± 0.74
PAc(365-379)	1.44 ± 0.06	2.80 ± 0.24	2.55 ± 0.69	6.79 ± 1.80
PAc(366-372)	1.03 ± 0.28	1.48 ± 0.15	1.49 ± 0.42	0.94 ± 0.11
PAc(366-375)	1.31 ± 0.08	2.05 ± 0.39	1.43 ± 0.42	0.87 ± 0.09
PAc(366-376)	1.25 ± 0.40	2.78 ± 0.30	2.33 ± 0.65	4.06 ± 1.70
PAc(367-375)	0.99 ± 0.53	1.48 ± 0.30	1.42 ± 0.36	1.34 ± 0.55
PAc(367-377)	0.72 ± 0.15	1.03 ± 0.29	1.11 ± 0.06	1.23 ± 0.60
PAc(370-379)	0.97 ± 0.38	1.13 ± 0.30	1.45 ± 0.33	1.37 ± 0.54

Table 3.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
H	T	Y	E	A	A	L	K	Q	Y	E	A	D	L
CRE		Y				L		Y					
B10.A (a)				A			K	Q			A		
B10.D2 (d)			E			L	K					D	L
B10.M (m)						L		Y	E				L
B10.BR (b)	T	Y			A			Q					

Putative agretopes of unit peptide for various strains of B10 congenic mice

Table 4.



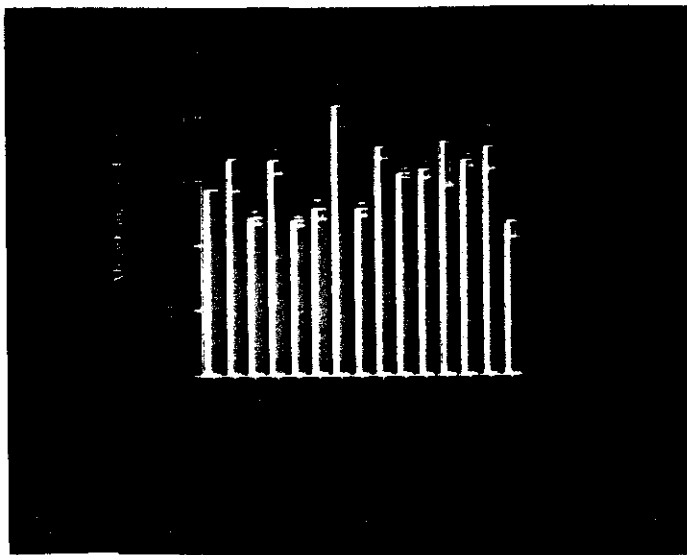


Fig.1.

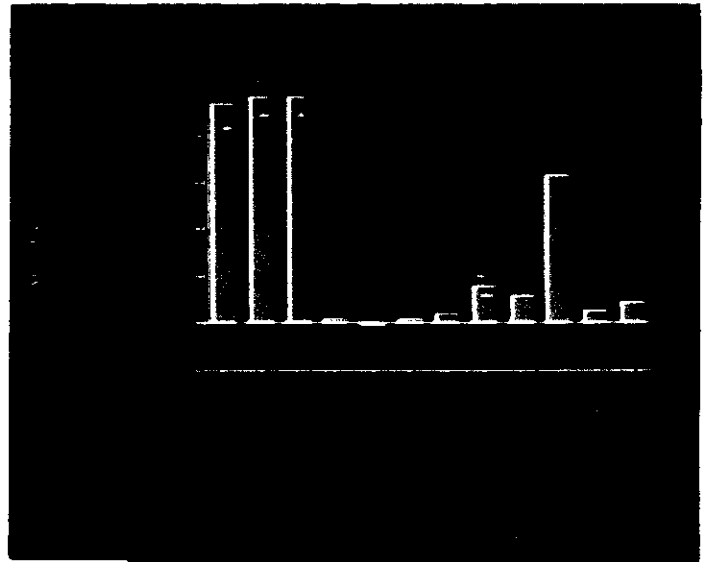


Fig. 2.

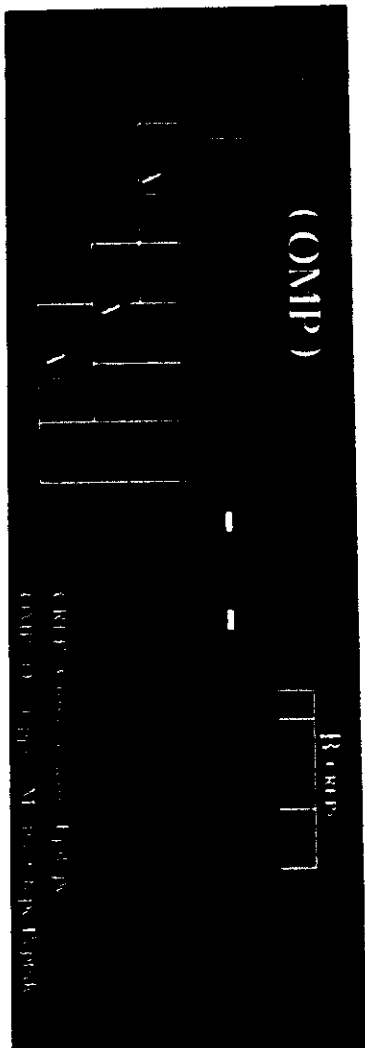


Fig.4.

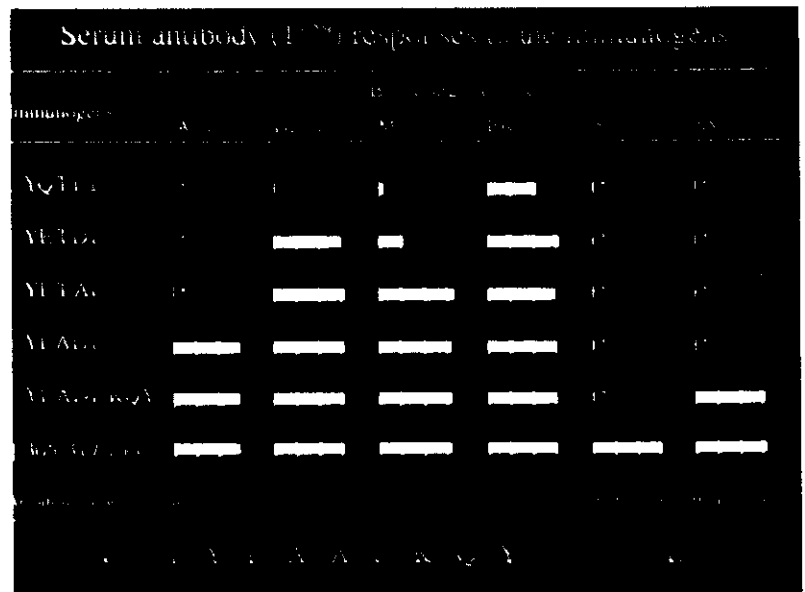


Fig.3.

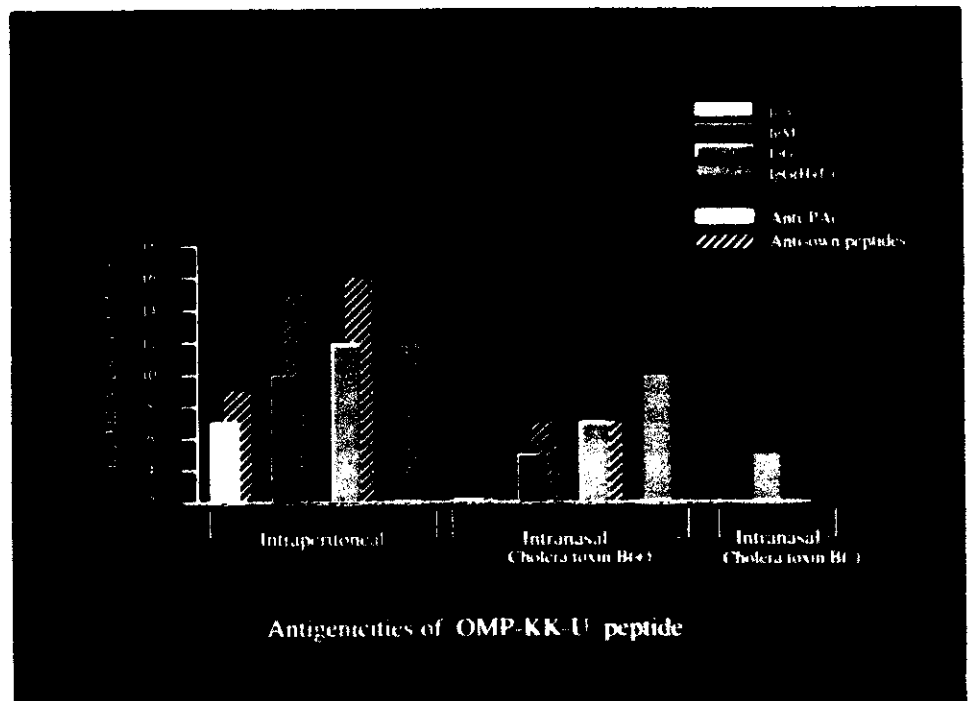


Fig. 5

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

乳酸菌を用いた経口ワクチンデリバリーシステムの開発

分担研究者 五十君 静信 国立感染症研究所 食品衛生微生物部 室長

研究要旨

粘膜ワクチンとして用いる安全性の高い抗原デリバリーシステムの開発を目標とし、本年度は乳酸桿菌 (*Lactobacillus casei*) を形質転換可能なベクターシステムを導入し、リステリアの溶血素であるリステリオリジンO (LLO) 関連遺伝子を発現させ、そのワクチンとしての効果を検討した。新しいベクターシステムでは、アミラーゼのアンカーをコードする遺伝子の下流にエピトープのコードする DNA を挿入することにより、乳酸菌菌体表層にエピトープが結合し発現する。さらに、同じベクターからアンカー部分を除けば、乳酸菌菌体からエピトープを分泌されることが出来る。LLO の溶血活性を保持した全長遺伝子(Y7)と変異により溶血活性を失った LLOmut 遺伝子(BUG)をこのベクター系に挿入し、発現させた。Y7、BUG 両遺伝子について菌体表層結合型、分泌型いずれも安定したクローンを得ることが出来た。羊血球を用いた溶血テストおよび LLO 特異的な抗体を用いた FACS による解析結果より、それぞれのクローンがデザイン通りに LLO を発現していることが確認された。これらを用いたマウスでの免疫結果は、経口投与で、盲腸内に LLO 特異的な IgA 抗体産生を誘導した。前年の乳酸球菌の免疫効果に比べ明らかに高い抗体価が得られた。更に、菌体表層結合型の Y7 発現株、菌体表層結合型の BUG 株で、血中の IFN γ の産生誘導が見られた。このとき、溶血活性を持つ Y7 株の IFN γ 誘導活性は強く、溶血活性の無い BUG でも、誘導活性は弱いながらも認められた。分泌型と菌体表層結合型をそれぞれマウスに腹腔内投与し LLO 特異的な抗体価を測定したところ、Y7、BUG 共に菌体表層結合型の抗体価が数倍高かった。

A. 研究目的

粘膜ワクチンとして用いる安全性の高い抗原デリバリーシステムの開発を試みる。すなわち、乳酸菌を抗原運搬体とする組換え乳酸菌粘膜ワクチンを作成するのに必要な3要素、エピトープとして用いる安全性の高い抗原遺伝子、乳酸菌を形質転換可能なベクター、および宿主としての乳酸菌の検討を行い、組換え乳酸菌ワクチンの作成を試みる。

前年度までの乳酸球菌分泌型ベクター系によるマウスへの免疫結果により、以下の点が改善点と考えられたため、これらを改善する宿主-ベクター系の構築を行った。

1. 宿主乳酸菌は、37℃での増殖可能なものを導入する。
2. 菌体自身にアジュバント作用のある乳酸菌を用いる。
3. 抗原の発現のさせ方としては、分泌型、菌体表層結合型の両方が可能なベクターを、開発

する。

4. 細胞性免疫も誘導できるような工夫を行う。

B. 研究方法

宿主とする乳酸菌は前年までの問題点の1, 2を考慮して、*Lactobacillus casei* を用いることとした。問題点3の対策として、乳酸菌表層に結合するアミラーゼのアンカー部分を *Lb.casei* 用のベクターに導入し、その下流に組み込んだ抗原遺伝子産物がアンカーと融合タンパクとして産生する様にし、菌体表層に結合して発現させることとした。分泌型のベクターは、同じプラスミドからアンカー部分を除けば、得られる。問題点4の対策としては、IFN γ 誘導作用のあるタンパクであるリステリオリジンO (LLO) を乳酸菌表層に発現させることにした。

Lb.casei ATCC393 株に安定的に保持されるプラスミドにアミラーゼの制御とシグナルおよびアンカー部分をコードする遺伝子を組み込んだ

ベクターpLPM11 を作出した。ここにモデル抗原と IFN γ 誘導性のあるタンパクを兼ねて LLO 関連遺伝子を発現させた。PCR にて遺伝子を SDS-PAGE/Western blotting によりタンパクを、羊血球でその溶血活性を、FACS により乳酸菌での発現の状態を確認した上で、それぞれについてマウスへの免疫を試みた。

C. 研究結果

新しいベクターと LLO 関連遺伝子の組み合わせにより、4種のワクチン株及びベクターのみの5つのグループについて構築どおりの発現株が得られた。細胞表層結合型は、溶血性のある Y7-A、溶血活性のない BUG-A の2種、分泌型は溶血のある Y7、溶血活性のない BUG の2種およびアンカーのみの NC の5群である。

これらの経口投与による免疫により、

1. いずれの LLO 発現株も盲腸内の LLO 特異的分泌型 IgA の抗体価の上昇は、*Lc.lactis* を宿主にするものに比べ顕著に高かった。
2. 血中の LLO 特異的 IgG は、*Lc.lactis* を宿主にするものに比べ顕著に低く、ほとんど検出されなかった。
3. LLO を菌体表層に結合させて発現させた群で血中 IFN γ が誘導された。
4. その誘導作用は、マウス個体差が大きかったが溶血性のある Y7-A で高く、BUG-A で弱かった。

これらの腹腔内投与による免疫では、

1. LLO 発現株の血中の LLO 特異的抗体価の上昇は顕著であった。
2. 分泌型発現させた群と、菌体表層結合型群では、抗原量はほぼ同等でも Y7、BUG 共に表層結合型が3~5倍程度抗体価が高かった。
3. *Lb.casei* は、NC 株も含め、血中の IFN γ を強く誘導した。

D. 考察

Lb.casei の新しい宿主-ベクター系は、挿入した LLO 関連遺伝子の発現は良好で、こちらで意図したような菌体表層結合型と分泌型のクローンを得ることが出来た。さらに溶血性のある Y7 では、溶血が確認され、BUG では溶血が見られなかったことから、生物活性を含めてタンパクが作られていることが確認できた。更に LLO 特異

的な抗体を用いた FACS での解析により、アンカー付きのクローンでは、菌体表層に結合して発現していることが確認できた。

経口投与による免疫では、*Lc.lactis* が腸管内での増殖が期待できなかったのに対し、37°C増殖性の *Lb.casei* は腸管内での抗原の発現が期待できそれに伴って、免疫可能な抗原量が確保されたと思われる。従って腸管内の LLO 特異的分泌型 IgA は顕著に抗体価を上げた。一方、経口投与での血中抗体価は、抗原結合型分泌型共に、上昇が見られなかった。*Lc.lactis* では、弱いながらも血中抗体価の上昇が見られていることから、*Lb.casei* に LLO を発現させた場合、抗原刺激は充分にあるにもかかわらず、何らかの理由により抗体産生の抑制が働いていると考えられた。そこで血中 IFN γ 調べたところ、その上昇が見られたことから、Th1 タイプの免疫刺激にシフトし、Th2 タイプの抗体産生の抑制がある可能性が考えられた。この点については、今後詳しく検証して行く予定である。最も重要なことは、経口的に与えたワクチンにより、血中の IFN γ が誘導されたことで、おそらく菌体と発現させた LLO が機能したものである。マウスにおける個体差は大きい、溶血性のある Y7-A では、誘導作用が強く、溶血活性を無くした BUG-A では、弱い誘導が観察された。精製した溶血性のある LLO タンパクを投与したところ、血中 IFN γ 誘導作用は、非常に弱く、明白な誘導は見られなかった。以上により、LLO は菌体に付着して発現させることにより、その IFN γ 誘導作用が増強され、経口的投与により血中の IFN γ を誘導可能であることが示された。また LLO のアミノ酸配列を変えることにより、その作用の強弱をある程度コントロール可能であると思われる。

さて、経口投与では、菌体表層に発現させることによる免疫刺激の変化がわかりにくいため、腹腔内投与により、抗原特異的な抗体の産生を調べてみた。i.p.投与により、LLO 特異的な抗体価は顕著に上昇し、数万倍程度に上昇した。特に分泌型と菌体表層型では、同じ抗原で比べた場合、菌体に結合すると3~5倍抗体価が上がることを示された。溶血活性のある Y7 と活性を無くした BUG で比べると、溶血があるなしで3~10倍程度抗体価が異なり、溶血活性がない方が抗体価の上昇には有利であることが示された。溶血活性に

よる抗体価の違いは、免疫担当細胞への毒性とIFN γ の誘導が関係していると思われる。

Lb.casei ATCC393株は、LLOを発現しなくてもi.p.投与で非常に強い血中IFN γ 誘導作用を持つ。

E. 結論

本年度新たに導入した乳酸菌 *Lb.casei* のベクターシステムは、非常に良好に機能し、こちらで構築した通りに抗原を発現した。発現株を用いた免疫実験では、経口投与で、モデルとして用いた抗原LLOに対する特異的な分泌型IgAの産生が観察された。更に菌体表層に発現させた株では、血中のIFN γ 産生を誘導した。分泌型、菌体表層結合型共に実用的で、その免疫目的により使い分けると効果があると思われる。

まだ、病原体のチャレンジによる効果を見ていないが、これまでの結果では、ワクチンとしての効果は十分期待されると思われる。今後は、リステリア菌の菌体成分とこの組換え体の組み合わせでリステリア菌の感染阻止を調べ、更にどのエピトープを発現させれば、ワクチンとして機能するかを検討を行って行こうと思う。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Sugita-Konish Y, Ogawa M, Arai S, Kumagai S, Igimi S, and Shimizu M. 2000. Blockade of *Salmonella enteritidis* passage across the basolateral barrier of human intestinal epithelial cells by specific antibody. *Microbiol. Immunol.* 44:473-479.
- (2) 五十君静信. 2000. 組換え乳酸菌を用いた粘膜ワクチンの開発. *腸内細菌学雑誌*. 14:31-33.
- (3) 五十君静信. 2001. Development of the recombinant vaccines with Lactic Acid Bacteria as antigens delivery vehicles for mucosal immunization. (総説 組換え乳酸菌を用いた粘膜ワクチンの開発) *J. Intestinal Microbiol.* 14:67-73.

2. 学会発表

- (1)伊藤嘉典、緑川彩子、宮下雪子、村上和雄、熊谷進、五十君静信。腸管感染症起因細菌エ

ピトープの乳酸菌での発現。2000年度日本農芸化学会大会。2000年4月1日。東京(ビックサイト)。

- (2)五十君静信、熊谷進。遺伝子組換え細菌のコレラトキシン共存下での免疫効果。第129回日本獣医学会。2000年4月4日。つくば。
- (3)S. Igimi, S. Kumagai and F. Amano. Inhibition of *Salmonella Enteritidis* Binding to Human Intestinal Epithelial Cells with an anti-Flagella Antibody. 100th. ASM meeting. 2000.5.23. Los Angeles.
- (4)五十君静信、熊谷進。リステリア菌溶血毒(LLO)のエピトープを発現した乳酸菌の作出。第73回日本細菌学会総会。2000年5月30日。札幌。
- (5)五十君静信。組換え乳酸菌を用いた粘膜ワクチンの開発。日本腸内細菌学会。2000年6月9日。東京。
- (6)天野富美夫、唐橋久恵、石井克幸、五十君静信。サルモネラ(*Salmonella enteritidis*)のヒト上皮系細胞株T-84への接着を阻害する抗体の開発とサルモネラの増殖期による反応性の違いに関する研究。第14回Bacterial Adherence研究会。2000年7月8日。東京。
- (7)五十君静信、山崎学、山本茂貴、天野富美夫。サルモネラのヒト腸管由来細胞への接着に関与するタンパクの検討。日本細菌学会関東支部総会。2000年11月20日。東京。
- (8)河野享子、山田靖子、五十君静信、加納康正。Bifidobacterium longum hup gene プロモーターを用いた腸管出血性大腸菌VERO毒素?型Bサブユニット(VT1-B)の発現。日本分子生物学会。2000年12月。
- (9)田中康仁、五十君静信、天野富美夫。マクロファージ系細胞株RAW264.7におけるプロスタグランジン合成の一酸化窒素による阻害。日本薬学会。2000年。

鼻粘膜アレルギー治療における DNA ワクチンの
アレルギー特異的 IgE 抗体の制御の研究

国立感染症研究所 免疫部 主任研究官 阪口雅弘

平成 12 年度報告書

研究要旨

スギ花粉症の予防および治療への利用を目的として、スギ花粉アレルギー(Cry j 1)に免疫刺激活性を有する CpG オリゴヌクレオチド(CpG-ODN)を結合した DNA ワクチンを作製した。このアレルギー特異的 CpG-ODN 結合体をあらかじめ投与したマウスにおいて、アレルギー特異的 Th1 細胞が誘導され、アレルギー特異的 IgE 産生の抑制が認められた。以上の結果より、スギ花粉症の予防におけるアレルギー特異的 CpG-ODN 結合体の有効性が明らかになった。

A. 研究目的

微生物由来のメチル化されていない CpG 配列を有するオリゴヌクレオチド(CpG-ODN)には、Th1 細胞の免疫応答を促進するアジュバント活性がある。アレルギー反応の原因となる B 細胞による IgE 抗体の産生は、Th2 細胞により誘導される。Th2 細胞の分化と活性化は、Th1 細胞の誘導により抑制できる。そこで CpG-ODN は、アレルギー疾患の治療に利用できる可能性がある。我々は、安全かつ有効なアレルギー疾患の予防および治療法の確立を目的としている。今年度は、スギ花粉アレルギーである Cry j 1 に CpG-ODN を結合した Cry j 1-CpG-ODN 結合体(DNA ワクチン)を作製し、その免疫活性についてマウスを用いて検討した。

B. 研究方法

DNA ワクチン:スギ花粉アレルギーである Cry j 1 にカップリング剤 sulfo-SMCC を用いて CpG-ODN を結合し、DNA ワクチン Cry j 1-CpG-ODN を作製した。結合した CpG-ODN の配列は 5'-TGACTGTGAACGTTCCGAGATGA-3' である。また、コントロールとして CpG-ODN 上の CpG 配列を GpC 配列に変えた M-ODN を Cry j 1 に結合した DNA ワクチン、Cry j 1-M-ODN を作製した。

サイトカイン産生試験: 生理食塩水に溶解した DNA ワクチンを皮下投与した BALB/c マウスから脾臓 CD4 陽性 T 細胞を調製して、放射線照射した同系マウス脾臓細胞の存在下、*in vitro* でアレルギータンパク質あるいは T 細胞エピートープペプチドで刺激した。培養上清中の

IFN- γ 量を ELISA 法により測定した。

IgE 産生抑制実験:あらかじめ DNA ワクチンを皮下投与したマウスに、スギ花粉アレルゲンとアラムを投与した。マウス血清中のアレルゲン特異的 IgE を蛍光 ELISA 法により測定した。

C. 研究結果

Cry j 1-CpG-ODN(DNA ワクチン)を投与した BALB/c マウス由来の脾臓 CD4 陽性 T 細胞は、Cry j 1 あるいは T 細胞エピトープペプチドで刺激した際に、培養上清中に Th1 型のサイトカインである IFN- γ を産生した(図 1)。一方、野生型の Cry j 1 あるいは Cry j 1-M-ODN を投与した BALB/c マウス由来の脾臓 CD4 陽性 T 細胞では、IFN- γ の産生は認められなかった(図 1)。

さらに予防的に DNA ワクチンを投与することでアレルゲン特異的 IgE の産生が抑制できるかどうか調べた。その結果、Cry j 1-CpG-ODN を投与したマウスでは、PBS を投与したマウスと比較してアレルゲン特異的 IgE の産生が低下していた(図 2)。一方、コントロールとして野生型 Cry j 1 あるいは Cry j 1-M-ODN を投与したマウスでは、PBS 投与群や Cry j 1-CpG-ODN 投与群と比較して、アレルゲン特異的 IgE の産生は増加していた(図 2)。

D. 考察

アレルゲンに Th1 型の免疫刺激活性を有する CpG-ODN を結合した DNA ワクチンをマウスに投与することで、アレルゲン特異的 Th1 細胞が誘導でき、アレルゲン特異的 IgE 抗体の産生を抑制できたと考えられる。プラスミド DNA にスギ花粉アレルゲン遺伝子を組み込んだ従来の DNA ワクチンと同様に、今回アレルゲンに CPG を結合させた DNA ワクチンは、スギ花粉症の治療法として有望と考えられた。

E. 結論

CpG-ODN を結合したアレルゲンを用いることで、アレルギー特異的 IgE の産生を抑制することができ、アレルギー反応を制御できる可能性がある。本研究で得られた知見は、より安全かつ効果的なスギ花粉症の予防法としてアレルゲン-CpG-ODN 結合体(DNA ワクチン)の可能性を示唆するものである。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yasueda, H., Saito, A., Sakaguchi, M., Ide, T., Saito, S., Taniguchi, Y., Akiyama, K. and Inouye, S.: Identification and characterization of a group 2 conifer pollen allergen from *Chamaecyparis obtusa*, a homologue of Cry j 2 from *Cryptomeria japonica*. *Clinical*

- Experimental Allergy 30, 546-550, 2000
- 2) Toda, M., Sato, H., Takebe, Y., Taniguchi, Y., Saito, S., Inouye, S., Takemori, T., Sakaguchi, M.: Inhibition of IgE response to Japanese cedar pollen allergen (Cry j 1) in mice by DNA immunization: Different outcome depending on the plasmid DNA inoculation method. *Immunology* 99, 179-186, 2000
 - 3) Kingetsu, I., Ohno, N., Hayashi, N., Sakaguchi, M., Inouye, S., and Saito, S. : Common anigenicity between Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen and Japanese cypress (*Chamaecyparis obtusa*) pollen. I. H-2 complex affects cross responsiveness to Cry j 1 and Cha o1 at T and B cell level in mice. *Immunology* 99, 625-629, 2000
 - 4) Ohno, N., Ide, T., Sakaguchi, M., Inouye, S., and Saito, S. Common antigenicity between Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen and Japanese cypress (*Chamaecyparis obtusa*) pollen. II. Determination of the cross-reacting T cell epitope of Cry j 1 and Cha o 1 in mice. *Immunology* 99, 630-634, 2000
 - 5) Masuda, K., Tsujimoto, H., Fujiwara S., Kurata K., Hasegawa, A., Taniguchi, Y., Yamashita K., Yasueda, H., DeBoer, D.J., de Weck, A.L., and Sakaguchi, M.: IgE-reactivity to major Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergens (Cry j 1 and Cry j 2) by ELISA in dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 74, 263-270, 2000
 - 6) Tamura, Y., Sasaki, R., Inouye, S., Kawaguchi, J., Serizawa, N., Toda, M., Takemori, T. and Sakaguchi, M.: Identification of a sequential B-cell epitope on a major allergen (Cry j 1) of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen in mice. *International Archives of Allergy and Immunology*, 123, 228-235, 2000
 - 7) Masuda, K., Sakaguchi, M., Saito, S., DeBoer D.J., Fujiwara, S., Kurata, K., Yamashita, K., Watari, T., Hasegawa, A. and Tsujimoto, H.: In vivo and In vitro test showing sensitization to Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergen in atopic dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62, 995-1000, 2000.
 - 8) Yamashita, K., Masuda, K., Sakaguchi, M., Hasegawa, A., Matsuo, Y., Nakao, Y., Yamaki, M., Ohno, K. and Tsujimoto, H. Experimental sensitization with Japanese cedar pollen in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62, 1223-1225, 2000.
 - 9) Masuda, K., Kurata, K., Sakaguchi, M., Yamashita, K., Hasegawa, A., and Tsujimoto, H. Seasonal rhinitis in a cat

sensitized to Japanese cedar
(*Cryptomeria japonica*) pollen. Journal
of Veterinary Medical Science, 63, 79-81,
2001.

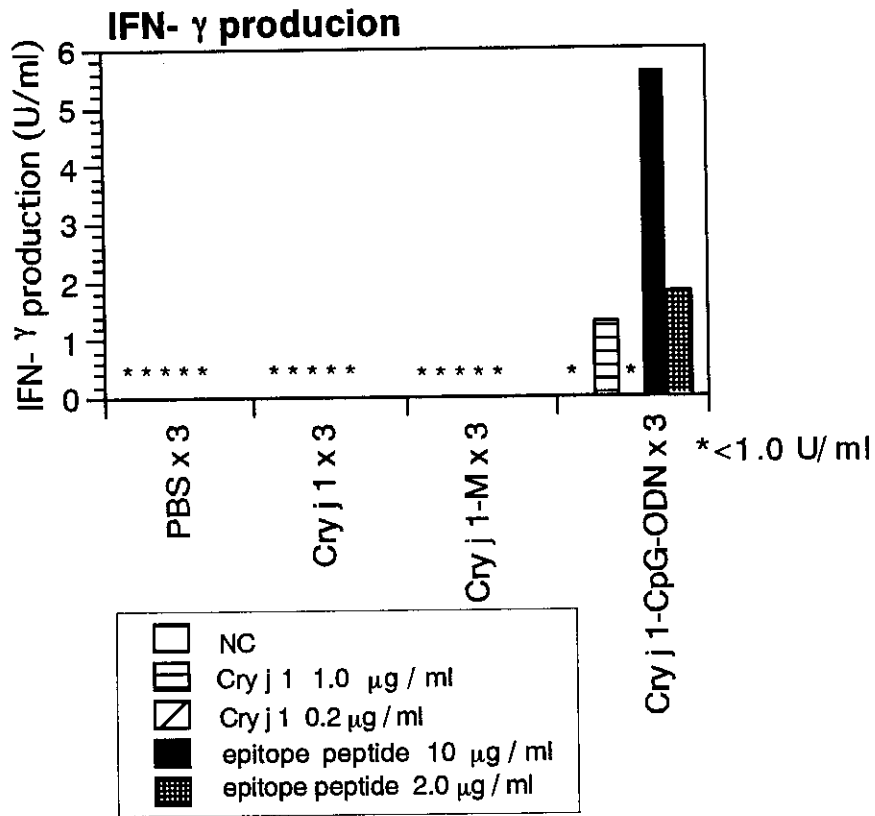


図1. CpG-ODN-アレルゲン結合体を投与したマウス由来のCD4T細胞はIFN- γ を産生できる。

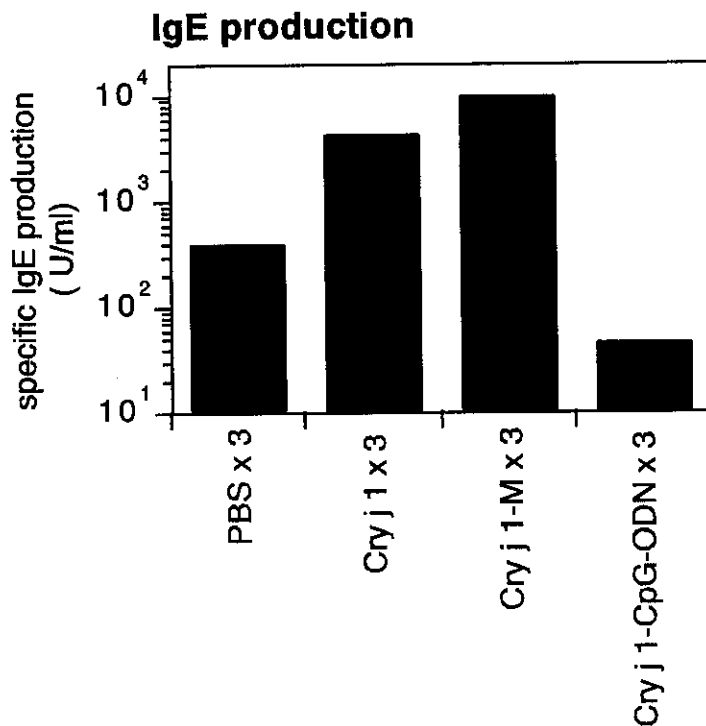


図2. CpG-ODN-アレルゲン結合体を投与したマウスではアレルゲン特異的IgEの産生が抑制できる。

III. 研究成果の刊行に関する一覧表
雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名 巻号 ページ 出版年
(田村分)		
Hagiwara Y, et al.	Effects of intranasal administration of cholera toxin (or <i>Escherichia coli</i> heat-labile enterotoxin) subunits supplemented with a trace amount of the holotoxin on the brain.	Vaccine 19, 1652-1660, 2001
Chen Z, et al.	Protection against influenza B-type virus infection by immunization with DNA vaccines.	Vaccine 19, 1446-1455, 2001
Chen Z, et al.	Identification of effective constituents of influenza vaccine by immunization with plasmid DNAs encoding viral proteins.	Jap J Infect Dis 53, 219-228, 2000
Tamura S-I & Kurata T	A proposal for safety standards for human use of cholera toxin (or <i>Escherichia coli</i> heat-labile enterotoxin) derivatives as an adjuvant of nasal inactivated influenza vaccine.	Jpn J Infect Dis 53, 98-106, 2000
Chen Z, et al.	Cross-protection against a lethal influenza virus infection by DNA vaccine to the neuraminidase.	Vaccine 18, 3214-3222, 2000
Kadowaki S, et al.	Protection against influenza virus infection in mice immunized with hemagglutinin-expressing DNAs by electroporation.	Vaccine 18, 2779-2788, 2000
Matsuo K, et al.	Induction of innate immunity by nasal influenza vaccine administered in combination with an adjuvant (cholera toxin).	Vaccine 18, 2713-2722, 2000
Matsuo K, et al.	Cytokine mRNAs in the nasal-associated lymphoid tissue during influenza virus infection and nasal vaccination.	Vaccine 18, 1344-1350, 2000
(岩崎分)		
Iwasaki T, et al.	Transgenic mice bearing human poliovirus receptor for quality control.	Pharmeurop Special Issue 59-68, 2000
Hasegawa H, et al.	Protection against influenza virus infection by nasal vaccination in advance of sublethal irradiation.	Vaccine 18, 2560-2565, 2000
Nishimura H, et al.	Characterization of human influenza A (H5N1) virus infection in mice: neuro-, pneumo- and adipotropic infection.	J Gen Virol 81, 2503-1510, 2000
(清野分)		
Yamamoto M, et al.	Alternate mucosal immune system : Organized Peyer's patches are not required for mucosal IgA antibody responses in the gastrointestinal tract.	J Immunol 164, 5184-5191, 2000
Hiroi T, et al.	Interleukin 15 and IL-15R selectively regulate differentiation of common mucosal immune system-independent B-1 cells for IgA responses.	J Immunol 165, 4329-4337, 2000
Kishi D, et al.	Alteration of Vb usage and cytokine production of CD4 ⁺ bT cells by elimination of <i>Bacteroides vulgatus</i> prevents the development of colitis in TCR α -chain deficient mice.	J Immunol 165, 5891-5899, 2000
Kweon M-N, et al.	Systemically derived large intestinal CD4 ⁺ Th2 cells play a central role for the development of STAT6-mediated allergic diarrhea.	J Clin Invest 106, 199-206, 2000
Dohi T, et al.	Mice Deficient in Th1 and Th2-type cytokines develop distinct forms of hapten-induced colitis.	Gastroenterology 119, 724-733, 2000
Yamamoto M, et al.	Enterotoxin adjuvants have direct effects on T cells	J Infect Dis 182, 180-190, 2000

- and APC which result in either IL-4-dependent or -independent immune responses.
- Koga T, et al. Evidence for early aging in the mucosal immune system. *J Immunol* 165, 5352-5359, 2000
- Higuchi K, et al. Comparison of inhibitory effects of intranasal and oral administration of bovine type II collagen on collagen induced arthritis in DBA1/J mice. *J Rheumatol* 27, 1038-1044, 2000
- Saitoh-Inagawa W, et al. Immunological characterization of lacrimal glands as a part of mucosal immune network. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 41, 138-144, 2000
- Boyaka PN, et al. Functional analysis of subepithelial and intraepithelial B and T cells from adenoids and tonsils. *Am J Pathol* 157, 2023-2035, 2000
- Kunisawa J, et al. Characterization of mucoadhesive microspheres for the induction of mucosal and systemic immune responses. *Vaccine* 19, 589-594, 2000
- Saito M, et al. Protective immunity to *Streptococcus mutans* induced by nasal vaccination with surface protein antigen and mutant cholera toxin adjuvant. *J Infect Dis* 183, 823-826, 2001
- (五十君分)
- Sugita-Konish Y, et al. Blockade of *Salmonella enteritidis* passage across the basolateral barrier of human intestinal epithelial cells by specific antibody. *Microbiol Immunol* 44, 473-479, 2000
- Igimi S. Development of the recombinant vaccines with Lactic Acid Bacteria as antigens delivery vehicles for mucosal immunization. *J Intestinal Microbiol* 14, 67-73, 2001
- (坂口分)
- Yasueda H, et al. Identification and characterization of a group 2 conifer pollen allergen from *Chamaecyparis obtusa*, a homologue of Cry j 2 from *Cryptomeria japonica*. *Clin Exp Allergy* 30, 546-550, 2000
- Toda M, et al. Inhibition of IgE response to Japanese cedar pollen allergen (Cry j 1) in mice by DNA immunization: Different outcome depending on the plasmid DNA inoculation method. *Immunology* 99, 179-186, 2000
- Kingetsu, I., et al. Common anigenicity between Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen and Japanese cypress (*Chamaecyparis obtusa*) pollen. I. H-2 complex affects cross responsiveness to Cry j 1 and Cha o1 at T and B cell level in mice. *Immunology* 99, 625-629, 2000
- Ohno, N., et al. Common antigenicity between Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen and Japanese cypress (*Chamaecyparis obtusa*) pollen. II. Determination of the cross-reacting T cell epitope of Cry j 1 and Cha o 1 in mice. *Immunology* 99, 630-634, 2000
- Masuda, K., et al. IgE-reactivity to major Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergens (Cry j 1 and Cry j 2) by ELISA in dogs with atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 74, 263-70, 2000
- Tamura, Y., et al. Identification of a sequential B-cell epitope on a major allergen (Cry j 1) of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen in mice. *Int Arch Allergy Immunol* 123, 228-235, 2000
- Masuda, K., et al. In vivo and In vitro test showing sensitization to Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergen in atopic dogs. *J Vet Med Sci* 62, 995-1000, 2000

The effect of amino acid spacers on the antigenicity of dimeric peptide--inducing cross-reacting antibodies to a cell surface protein antigen of *Streptococcus mutans*.

Oishi Y, Onozuka A, Kato H, Shimura N, Imai S, Nisizawa T.

Oral Microbiol Immunol 2001 Feb;16(1):40-4

20000541

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。