

- 門間敬子、尹 惠珍、山崎正幸、南海浩一、久野智弘、山下哲男、岡本雅子、森 茂太郎、向井貴子、原田ミネ・カレン、葉山善幸、李 錫明、赤尾沙絵、森脇聡子、和田有申、河井重幸、三上文三、村田幸作：*Sphingomonas* sp. A1 のゲノム(染色体・プラスミド)の全塩基配列、平成 15 年度(2003)日本農芸化学会大会(2003 年 4 月 2 日)日本大学
2. 南海浩一、橋本 涉、村田幸作：*Sphingomonas* sp. A1 の形態(体腔)形成に関わる外膜タンパク質の特定と機能、平成 15 年度(2003)日本農芸化学会大会(2003 年 4 月 2 日)日本大学
 3. 上野雄介、三島由美子、和田有申、橋本 涉、村田幸作：高分子物質特異的 ABC トランスポーター(膜貫通ドメイン)の発現と機能、平成 15 年度(2003)日本農芸化学会大会(2003 年 4 月 2 日)日本大学
 4. 三島由美子、門間敬子、橋本 涉、三上文三、村田幸作：高分子アルギン酸結合タンパク質の構造・機能相関：AlgQ1 とアルギン酸 2 糖の複合体の X 線結晶構造解析、平成 15 年度(2003)日本農芸化学会大会(2003 年 4 月 2 日)日本大学
 5. 森 茂太郎、赤尾沙絵、三宅 統、橋本 涉、三上文三、村田幸作：*Bacillus* sp. GL1 由来新規不飽和グルクロニルヒドロラーゼの X 線結晶構造解析、平成 15 年度(2003)日本農芸化学会大会(2003 年 4 月 2 日)日本大学
 6. 橋本 涉、南海 浩一、村田 幸作：体腔形成細菌のプロテオミクス：高分子物質輸送に関わる外膜タンパク質の動態、第 429 回日本農芸化学会関西支部例会(2003 年 5 月 24 日)京都府立大学
 7. 山崎 正幸、森脇 聡子、橋本 涉、三上文三、村田 幸作：多糖リアーゼファミリー 7：アルギン酸リアーゼの構造・機能相関、第 429 回日本農芸化学会関西支部例会(2003 年 5 月 24 日)京都府立大学
 8. 橋本 涉：細菌の形態形成制御と高分子物質の輸送・分解機構に関する構造生物学的研究、第 429 回日本農芸化学会関西支部例会(2003 年 5 月 24 日)京都府立大学
 9. 南海浩一、和田有申、何 金山、橋本 涉、村田幸作：*Sphingomonas* sp. A1 のプロテオーム解析：高分子物質取り込みに関わる外膜タンパク質の特定、平成 15 年度(2003)日本生物工学会大会(2003 年 9 月 17 日)熊本大学
 10. 和田 有申、南海 浩一、何 金山、橋本 涉、村田 幸作：スフィンゴモナス属細菌 A1 株の外膜プロテオミクス：高分子物質特異的細胞表層タンパク質の発現と機能解析、平成 15 年度(2003)日本農芸化学会中部・関西支部合同大会(2003 年 10 月 5 日)京都大学
 11. 山崎 正幸、森脇 聡子、橋本 涉、三上文三、村田 幸作：緑膿菌 PAO1 株におけるバイオフィルム代謝：新規なアルギン酸リアーゼ PA1167 の機能と構造、平成 15 年度(2003)日本農芸化学会中部・関西支部合同大会(2003 年 10 月 5 日)京都大学
 12. 橋本 涉、和田有申、何 金山、南海浩一、村田幸作：Proteomics-based identification of outer membrane proteins responsible for import of macromolecules in *Sphingomonas* sp. A1. 平成 15 年度(2003)日本生化学会大会(2003 年 10 月 18 日)パシフィコ横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

11. 慢性肺気腫あるいは呼吸不全におけるウイルス感染

分担研究者 山谷 睦雄 (東北大学病院老年呼吸器内科助教授)

研究要旨 (1) ヒト気道培養上皮細胞および粘膜下腺細胞におけるムチン蛋白合成に対するライノウイルス感染の促進作用とエリスロマイシンの抑制作用における細胞内機序の詳細を調べた。ライノウイルス感染は気管上皮細胞における MUC2、3、5AC、5B、6 の 5 種類の mRNA 合成と気管粘膜下腺細胞における MUC5AC mRNA を含む 4 種類のムチン mRNA 合成を著明に亢進した。培養液ムチン量もライノウイルス感染で増加した。マクロライド抗生物質エリスロマイシンが気管上皮細胞のムチン分泌を抑制した。転写因子 NF-kappa B 阻害薬、tyrosine kinase 阻害薬、および MAP kinase 阻害薬がムチン合成を抑制し、これらの細胞内機序の関与を認めた。(2) H⁺-K⁺ATPase を阻害する抗潰瘍薬プロトンポンプ阻害薬のライノウイルス感染抑制効果を調べた。ランソプラゾールは培養液ライノウイルス量、細胞内ライノウイルス RNA 量を減少させた。また、受容体 ICAM-1 および酸性エンドソームを減少させた。(3) 慢性肺気腫を含む慢性閉塞性肺疾患の急性増悪において喀痰増加が関与するが、増加するムチン蛋白の内容は不明であった。慢性肺気腫 1 名、気管支喘息 1 名、肺炎 1 名の喀痰において、MUC5AC および総ムチン量 17Q2 の著明な増加を認めた。このうち、肺炎症例では A 型インフルエンザ感染を認めた慢性肺気腫および気管支喘息に比べて MUC5AC の増加は少なかった。

A. 研究目的

- (1) 気管支喘息や慢性肺気腫はウイルス感染が引き金になって急性増悪し、呼吸不全をきたすことが多い。ライノウイルス、インフルエンザウイルス、RS ウイルスなどが同定され、二次性の細菌感染が更に症状を悪化させる。ウイルス感染は気道上皮の剥離脱落や気道壁の浮腫を介して気道内腔を狭窄すると言われている。また、炎症性サイトカイン、ヒスタミンやキニンが気道炎症や気管支平滑筋収縮、喀痰分泌を生じて気流障害を促すと考えられている。ムチンは MUC2、MUC5AC、MUC5B、MUC6 などの分泌型ムチンと、細胞内および細胞膜内ドメインからなる MUC1、MUC3、MUC4、MUC12 などの細胞貫通型ムチンに分類される。このうち、分泌型ムチンは気道粘液の主成分として、喀痰の主なゲル成分を構成する。ムチン合成は気道炎症で

増加し、ライノウイルス感染時の増加が指摘されている。また、杯細胞などの分泌細胞の過形成や肥大との関係も指摘されている。慢性肺気腫や気管支喘息患者に生ずる呼吸不全増悪においては喀痰増加が原因の一つであり、慢性呼吸器疾患患者の急性増悪の原因に気道ウイルス感染が考えられている。しかし、ムチンは分子生物学的構造の複雑さもあって、これまで研究が進んでいなかった。昨年度の研究においてヒト気管上皮細胞および粘膜下腺細胞がライノウイルス感染で増加し、マクロライド抗生物質であるエリスロマイシンがムチン合成を抑制することを報告した。今年度はライノウイルス感染によるムチン合成亢進とエリスロマイシンによるムチン合成抑制における細胞内機序を検討した。

- (2) 昨年度までの報告においてマクロライド抗生物質であるエリスロマイシンが

ライノウイルス感染受容体である細胞接着分子 ICAM-1 の合成抑制と、ライノウイルス RNA の細胞内進入経路である酸性エンドソームの減少を介してライノウイルス感染抑制効果を有すると明らかにしてきた。胃潰瘍治療薬であるプロトンポンプ阻害薬は胃壁細胞の H^+K^+ ポンプを阻害するのみならず、腎尿細管上皮における $H^+ATPase$ を阻害する効果を持つ。他方で $H^+ATPase$ は酸性エンドソームの pH を調節する働きを有する。また、プロトンポンプ阻害薬は細胞における ICAM-1 の合成抑制効果も報告されている。このような背景から、新たなライノウイルス感染抑制薬を探求する目的で、培養ヒト気管上皮細胞を用いて検討を行った。

- (3) 慢性肺気腫の急性増悪において喀痰の増加が気道閉塞をもたらす。気管支喘息において、喀痰の主成分である MUC5AC の増加が報告されているが、慢性肺気腫の急性増悪において MUC5AC が増加するかどうか検討されていない。本年度は細胞培養液で測定に用いた ELISA 法が患者の喀痰中の MUC5AC 測定に応用出来るかどうかを含めて検討した。

(倫理面への配慮)

ヒト気管上皮細胞培養について東北大学医学部倫理委員会の承認を得て行なった。臨床研究は患者に研究内容を説明し、同意を得て行なった。

B. 研究方法

- (1) ヒト気管上皮細胞および粘膜下腺細胞を試験管に培養し、細胞接着分子 ICAM-1 を感染受容体とするライノウイルス 14 型を感染させた。ライノウイルス感染前、感染後 2、4、8、12 時間、あるいは 24 時間の時点で RNA を抽出し、また、培養液を回収した。ムチン蛋白遺伝子 MUC1-MUC3、MUC5AC、MUC5B、MUC6、MUC7、MUC8 について mRNA 発現量を定量的 RT-PCR 法で測定した。培養液ムチン量については MUC5AC、および総ムチン量を表す MUC17Q2 につ

いて市販の抗体を用いて ELISA 法で測定した。エリスロマイシン $10\mu M$ をライノウイルス感染前から培養液に加え MUC mRNA および培養液ムチン量を測定した。ムチン合成における細胞内機序を検討するために、培養液にシグナル阻害薬を添加して効果を測定した。用いた阻害薬は、転写因子 NF-kappa B 阻害薬 acid phenylethyl ester (CAPE)、tyrosine kinase 阻害薬 genistein および tyrphostin AG1262、および MAP kinase 阻害薬 PD98059 および U0126 である。

- (2) ヒト気管上皮細胞を試験管に培養し、ライノウイルス 14 型を感染させた。ライノウイルス感染 3 日前からランソプラゾール ($10\mu M$) あるいはオメプラゾール ($10\mu M$) を上皮細胞に作用させた。ライノウイルス感染前、感染後 24 時間、および 72 時間の時点で培養液を回収し、ライノウイルス量、可溶性 ICAM-1 量およびサイトカイン量を測定した。また、RNA を抽出し、ライノウイルス RNA 量および ICAM-1 mRNA を測定した。
- (3) 慢性肺気腫 1 名、気管支喘息 1 名、肺炎 1 名の喀痰を採取した。喀痰中のムチン定量は MUC5AC、および総ムチン量 MUC17Q2 について市販の抗体を用いて ELISA 法で測定した。気道ウイルスは咽頭ぬぐい液あるいは鼻汁を用いて、細胞培養法あるいはライノウイルスにおいては RT-PCR 法を用いて同定した。風邪の評価は、Jackson の方法に従って、発熱、咽頭痛などの症状をスコア化して 5 点以上とした。急性増悪は Rodrigues-Roisin の方法に従って、判定した。

C. 研究結果

- (1) 試験管に培養したヒト気管上皮細胞は MUC1-MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC6、MUC8 の 8 種類のムチン遺伝子を発現した。MUC5AC mRNA は感染後 2 時間、4 時間、および 8 時間で増加し、24 時間後にはコントロール値に戻った。培養液 MUC5AC 蛋白分泌量はライノウイルス

感染 4 時間、8 時間、および 12 時間後に増加し、24 時間後に感染前値に戻った。このため、他のムチン蛋白 mRNA についてもライノウイルス感染 4 時間後でコントロール値と比較した。また、培養液ムチン放出量を感染 24 時間後に比較した。ライノウイルス感染後 4 時間で、培養ヒト気管上皮細胞は MUC2、MUC3、MUC5AC、MUC5B、MUC6 の 5 種類のムチン遺伝子発現が著明に増加した。24 時間後にはライノウイルス感染前の発現量に戻った。培養ヒト気管上皮細胞の培養液中のムチン分泌量はライノウイルス感染 24 時間後において MUC5AC、MUC17Q2 とともに増加した。上皮細胞にエリスロマイシン $10\mu\text{M}$ を感染 3 日前から作用させると、ライノウイルス感染後 24 時間後の培養液 MUC5AC、および総ムチン量 MUC17Q2 量はともに減少した。また、培養ヒト気管粘膜下腺細胞は MUC1-MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC6 および MUC7 の 7 種類のムチン遺伝子を発現した。ライノウイルス感染 4 時間後に、ヒト気管粘膜下腺細胞においては MUC2、MUC5AC、MUC5B、MUC7 の mRNA 発現が増加した。とりわけ MUC5AC および MUC5BmRNA が著明に増加した。さらに、ライノウイルス感染による MUC 遺伝子増加がライノウイルス感染によることを確定するために、ライノウイルス 14 型感染受容体である細胞接着分子 ICAM-1 に対する抗体、抗 ICAM-1 抗体で前処理した。MUC5ACmRNA 発現は抗 ICAM-1 抗体で明らかに減少した（コントロール 1.0、ライノウイルス 3.8 ± 0.4 、ライノウイルス + 抗 ICAM-1 抗体 1.1 ± 0.2 , $n=5$) ($p<0.05$)。また、MUC5AC 蛋白合成も抗 ICAM-1 抗体で明らかに減少した（コントロール 100%、ライノウイルス $126 \pm 2\%$ 、ライノウイルス + 抗 ICAM-1 抗体 $104 \pm 4\%$, $n=5$) ($p<0.05$)。さらに、培養液に放出される炎症性サイトカインの影響を調べるために、インターロイキン (IL)-1 β 及び IL-6 に対する抗体を培養液に添加して、MUC5AC 蛋白合成を調べた。その結果、IL-1 β および IL-6 抗体いずれも、ライノウイルス感染による MUC5AC 合成を変化させなかった (コ

ントロール 100%、ライノウイルス $126 \pm 2\%$ 、ライノウイルス + 抗 IL-1 β 抗体 $125 \pm 4\%$ 、ライノウイルス + 抗 IL-6 抗体 $119 \pm 2\%$, $n=5$) ($p>0.20$)。ムチン合成に及ぼす阻害薬の効果に関して、気管上皮細胞における MUC2、MUC3、MUC5AC、MUC5BmRNA 合成、MUC5AC および総ムチン培養液放出量および気管粘膜下腺細胞における MUC2、MUC5AC、MUC5BmRNA 合成、MUC5AC および総ムチン培養液放出量は転写因子 NF-kappa B 阻害薬 acid phenylethyl ester (CAPE)、tyrosine kinase 阻害薬 genistein および tyrphostin AG1262 でいずれも抑制された。また、気管上皮細胞および気管粘膜下腺細胞における MUC2、MUC5AC、MUC5BmRNA 合成、および MUC5AC および総ムチン培養液放出量は MAP kinase 阻害薬 PD98059 および U0126 で抑制された。ウエスタンブロット法で MAP kinase 活性を測定すると、ライノウイルス感染で増加した。また、エリスロマイシンがライノウイルス感染前後で NF-kappa B 活性を抑制した。

- (2) ライノウイルス感染後 day 1 および day 3 における培養液ライノウイルス量がランソプラゾールおよびオメプラゾールで明らかに減少した。また、細胞内ライノウイルス RNA も Real-time RT-PCR 法で減少が認められた。細胞の発現する ICAM-1 mRNA および培養液中可溶性 ICAM-1 濃度がランソプラゾールの処理により、ライノウイルス感染前後で減少した。また、酸性エンドソームを蛍光顕微鏡で観察すると、ランソプラゾールによって時間依存性に酸性エンドソーム数および蛍光強度が低下した。さらに、ライノウイルスで増加する培養液中の interleukin (IL)-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α が減少した。
- (3) 慢性肺気腫 1 例および気管支喘息 1 例の急性増悪で A 型インフルエンザが同定された。慢性肺気腫の喀痰で MUC5AC が $212\mu\text{g/ml}$ および総ムチン量が $1415\mu\text{g/ml}$ であった。また、気管支喘息症例では喀痰の MUC5AC が $137\mu\text{g/ml}$ および総ムチン量が $1360\mu\text{g/ml}$ であった。

これに対して、肺炎症例では喀痰の MUC5AC が 70 μ g/ml と少なく、総ムチン量は 950 μ g/ml とほぼ同量であった。

D. 考察

- (1) ムチンは全身の粘膜面において合成・分泌されている。ムチンには MUC2、MUC5AC、MUC5B、MUC6 などの分泌型ムチンと、細胞内および細胞膜内ドメインからなる MUC1、MUC3、MUC4、MUC12 などの細胞貫通型ムチンに分類される。このうち、MUC2、MUC5AC、MUC5B、特に MUC5AC および MUC5B は気道粘液の主成分として、喀痰の主なゲル成分を構成する。ムチン合成は気道炎症で増加し、ライノウイルス感染時の増加が指摘されている。また、杯細胞などの分泌細胞の過形成や肥大との関係も指摘されている。

ムチンの構成成分の 7-8 割は炭化水素、2 割が蛋白質、1-2% は糖鎖である。分泌型ムチンはジスルフィド結合でモノマーが重合し、3 次元構造をとったオリゴマーで、ゲル状になって強い粘着性を示す。気道粘膜では少なくとも 8 種類のムチンが合成され、そのうち、MUC5AC と MUC5B が主なゲルの成分である。ムチンは分子生物学的構造の複雑さもあって、これまで研究が進んでいなかった。しかし、慢性肺気腫や気管支喘息患者に生ずる呼吸不全増悪においては喀痰増加が原因の 1 つであり、慢性呼吸器疾患患者の急性増悪の原因に気道ウイルス感染が考えられている。したがって、気道ウイルス感染によるムチン合成亢進の病態解明は治療法に繋がるため、重要な意味を持つ。

本研究において、培養ヒト気管上皮細胞および気管粘膜下腺細胞は数種類の分泌型および細胞貫通型ムチンを合成することが明らかとなった。さらに、風邪の主因であるライノウイルス感染が mRNA および蛋白質いずれのレベルでも、ムチン合成を亢進した。培養ヒト気管上皮細胞は MUC1-MUC4、MUC5AC、

MUC5B、MUC6、MUC8 の 8 種類のムチン遺伝子を発現した。MUC5AC mRNA は感染後 2 時間、4 時間、および 8 時間で増加し、24 時間後にはコントロール値に戻った。培養液 MUC5AC 蛋白分泌量はライノウイルス感染 4 時間、8 時間、および 12 時間後に増加し、24 時間後に感染前値に戻った。このため、他のムチン蛋白 mRNA についてもライノウイルス感染 4 時間後でコントロール値と比較した。また、培養液ムチン放出量を感染 24 時間後に比較した。ライノウイルス感染後 4 時間後に、培養ヒト気管上皮細胞は MUC2、MUC3、MUC5AC、MUC5B、MUC6 の mRNA が増加した。培養ヒト気管粘膜下腺細胞は MUC1-MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC6、および MUC7 mRNA を合成し、MUC2、MUC5AC、MUC5B、および MUC7 mRNA がライノウイルス感染で増加した。また、培養液 MUC5AC および総ムチン量が培養ヒト気管上皮細胞および培養ヒト気管粘膜下腺細胞で増加した。

本研究において、ムチン mRNA 発現が 4 時間でピークを示したことは、ライノウイルス感染後の短時間の超急性期に既にムチン遺伝子が増加したことを意味している。これまでの私たちの研究で、培養液ライノウイルスは感染 12 時間で増加が認められている。したがって、24 時間以降に増加を認めるインターロイキン (IL) -1 β 、IL-6、IL-8 などの炎症性サイトカイン合成に比べて、短時間で増加する傾向があると認められる。風邪を引いてまもなく喀痰増加が惹起されることを意味している。また、抗 IL-1 β 抗体や抗 IL-6 抗体が MUC5AC 合成に影響を与えなかったことから、気道上皮細胞から感染 1-3 日後に放出されるこれらの炎症性サイトカインが 24 時間以内のムチン合成には関与しないことが示唆される。実験的にライノウイルス感染をおこして気道分泌を測定した研究では、ライノウイルス感染後 2-5 日において鼻腔洗浄液ムチン分泌増加が報告されている。したがって、ライノウイルスによる喀痰合成は比較的長時間継

続する。本研究においても、炎症性サイトカイン合成増加を認める 24 時間以降のムチン合成の変化について、今後研究課題として残っている。また、今回の研究において、抗 ICAM-1 抗体の前処理によって MUC5AC の mRNA および蛋白合成が抑制された。このことは、ライノウイルス感染後のムチン合成にライノウイルス感染そのものが刺激になっていることを示唆している。更に、紫外線で不活化したライノウイルスがムチン合成を促進しなかったことから、ライノウイルス感染後数時間以内に起こるムチン合成が受容体 ICAM-1 刺激だけでは惹起されず、ライノウイルス増殖が必要であることが明らかになった。

本年度の研究において、阻害薬を用いた研究で、転写因子 NF-kappa B 阻害薬、tyrosine kinase 阻害薬、および MAP kinase 阻害薬がライノウイルス感染によるムチン合成を抑制し、これらの細胞内機序の関与を認めた。この経路は緑膿菌による気道上皮細胞からの MUC2 合成経路に類似している。さらに、ライノウイルス 16 型感染による MUC5AC 合成に NF-kappa B が関係しているとの報告と一致している。本研究では気道上皮細胞の MUC5AC 以外のムチン合成にも NF-kappa B、tyrosine kinase、および MAP kinase の関与を明らかにした。さらに、気道粘膜下腺のムチン合成に対するライノウイルス感染の作用、および細胞内シグナルの知見は世界で初めて明らかにされた意味を持つ。

一昨年度報告した通り、エリスロマイシンにはライノウイルス感染抑制作用があり、慢性肺気腫患者における風邪および急性増悪予防効果がある。昨年度研究、エリスロマイシンにはこのほかにムチン合成抑制作用があることが明らかになった。エリスロマイシンはライノウイルス感染・増殖抑制効果や NF- κ B 抑制効果があり、これがムチン合成抑制に関与していると示唆された。MUC2 ムチン合成の細胞内シグナルについては NO や cGMP あるいは Sp1 などが報告されているが、今後の研究課題である。

(2) ライノウイルスは風邪の主原因であり、かつ、慢性閉塞性肺疾患や気管支喘息の急性増悪を惹起すると広く知られているが、これまで、ライノウイルスワクチンや抗ライノウイルス薬は開発されていない。私たちはこれまで、グルココルチコイドやエリスロマイシンなど、いくつかの薬品がライノウイルス感染抑制効果を持つことを発表してきた。またエリスロマイシンの風邪予防効果を発表した。ライノウイルスの Major type は細胞接着分子 ICAM-1 を感染受容体として気道上皮細胞に感染する。感染後、一部のライノウイルス RNA は細胞表面から細胞内に放出されるが、他のライノウイルスは細胞内の酸性エンドゾームに取り込まれて、ここで RNA を放出する。私たちは ICAM-1 の発現抑制と酸性エンドゾームをアルカリにすることでライノウイルス感染抑制効果が出ると報告してきた。今回、私たちはランソプラゾールのプロトンポンプ機能抑制作用に着目し、抗ライノウイルス作用を期待して、ヒト気管上皮細胞初代培養細胞を用いた *in vitro* 系で実験した。これらの結果から、ランソプラゾールが感染受容体である ICAM-1 の減少と RNA 放出の場所である酸性エンドゾームを減少することによって、ライノウイルス感染抑制効果をもたらすことが示唆された。また、炎症性サイトカインや ICAM-1 減少は、ライノウイルス感染でもたらされる気道炎症を抑制する作用をランソプラゾールが有している可能性が示唆された。ランソプラゾールやオメプラゾールは胃上皮細胞や白血球細胞における ICAM-1 の発現を抑制することが報告されている。また、オメプラゾールがエンドゾームの酸性化に関与する H⁺-ATPase を腎臓尿細管上皮で抑制することも報告されている。したがって、H⁺-K⁺ATPase 抑制以外にもプロトン抑制作用がランソプラゾールに存在して、今回の結果に関与した可能性がある。これらの結果から、ランソプラゾールのライノウイルス感染抑制効果と気道炎症抑制効果が示唆された。

(3) 慢性肺気腫および気管支喘息の急性増

悪に喀痰増加の関与が古くから報告されている。気管支喘息では喀痰中のMUC5ACの増加が報告されているが慢性肺気腫では明らかでなかった。今年度、喀痰中のMUC5ACや総ムチン量を培養液で測定するELISA法を応用して測定した。その結果、気管支喘息および慢性肺気腫の急性増悪時の喀痰にMUC5ACおよび総ムチン量の増加を認めた。これに対して、肺炎患者ではMUC5AC量が70 μ g/mlと気管支喘息および慢性肺気腫に比べてやや少ない結果となった。気道ウイルス感染と細菌感染ではムチン構成に違いがある可能性がある。本年度は数例しか調査該当者がなかったため、今後症例を増加して、継続調査する予定である。

E. 結論

- (1) 感冒の主因であるライノウイルス感染により増加する気道上皮細胞および粘膜下腺細胞の喀痰の主成分であるムチン合成にはNF-kappa B、tyrosine kinase、およびMAP kinaseを介した細胞内機序の関与を認めた。
- (2) プロトンポンプ薬は受容体ICAM-1および酸性エンドゾーム減少を介してライノウイルス感染抑制効果を有することが明らかとなった。
- (3) 慢性肺気腫急性増悪時において、喀痰中のMUC5ACなどのムチン合成増加が明らかとなった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamaya M, Sasaki H: Rhinovirus and asthma. *Viral Immunol* 16: 99-109, 2003.
2. Yamaya M, Nakayama K, Ebihara S, Hirai H, Higuchi S, Sasaki H: Relationship between

microsatellite polymorphism in the haem oxygenase-1 gene promoter and longevity of the Japanese normal population. *J Med Genet* 40: 146-148, 2003.

3. Nakajoh M, Fukushima T, Suzuki T, Yamaya M, Nakayama K, Sekizawa K, Sasaki H: Retinoic acid inhibits elastase-induced injury in human lung epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 28: 296-304, 2003.
4. Ohru T, Yasuda H, Yamaya M, Matsui T, Sasaki H. Transient relief of asthma symptoms during jaundice: a possible beneficial role of bilirubin. *Tohoku J Exp Med* 199: 193-196, 2003.
5. Hirai H, Kubo H, Yamaya M, Nakayama K, Numasaki M, Kobayashi S, Suzuki S, Shibahara S, Sasaki H: Microsatellite polymorphism in heme oxygenase-1 gene promoter is associated with susceptibility to oxidant-induced apoptosis in lymphoid cell lines. *Blood* 102: 1619-1621, 2003.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

12. カンピロバクター・リポオリゴ糖における糖脂質 エピトープの多様性とギラン・バレー症候群

分担研究者 結城 伸泰(獨協医科大学神経内科助教授)

研究要旨 *Campylobacter jejuni* 腸炎後ギラン・バレー症候群 (GBS) の発症機序として、菌体リポオリゴ糖(LOS)上にガングリオシド様構造が存在することで、患者血中にガングリオシドと反応する自己抗体が誘導され、末梢神経に豊富に発現しているガングリオシドと結合し末梢神経障害を来すと想定されている。しかし、これまでの研究では、菌体上にガングリオシド様 LOS の存在を証明したにすぎず、本当にガングリオシド様 LOS が GBS 発症に関与するのか明らかにされていない。今回、GBS 分離 *C. jejuni* 105 株におけるガングリオシド様 LOS の分布を調べ、GBS 発症におけるその意義を検討した。LOS 上の GM1、GD1a、GT1a/GQ1b エピトープはそれぞれ 60%、49%、21%の菌株で見られ、GM1 と GD1a エピトープを有する菌株は、四肢麻痺や血中 IgG 抗 GM1/GD1a 抗体と密接な関連がみられた。一方、GT1a/GQ1b エピトープは、外眼筋麻痺などの脳神経麻痺や運動失調、血中 IgG 抗 GQ1b 抗体を高頻度に認めた。菌体 LOS と構造が類似するガングリオシドが、実際に各症例において血中抗体の標的抗原となっており、菌体と生体組織との分子相同性が GBS 発症に関与していることが多数の菌株で裏付けられた。また、先行感染病原体成分が GBS の臨床像の多様性を規定していることが示された。

A. 研究目的

ギラン・バレー症候群 (GBS) は、各種感染症が契機となり発症する自己免疫性末梢神経疾患である。グラム陰性桿菌 *Campylobacter jejuni* は本症の最も高頻度の原因病原体であり、*C. jejuni* 腸炎後 GBS の発症機序として、菌体とヒト末梢神経との間の分子相同性仮説が提唱されている。つまり、菌体リポオリゴ糖 (LOS) 上にガングリオシド様構造が存在することで、患者血中にガングリオシドと反応する自己抗体が誘導され、末梢神経に豊富に発現しているガングリオシドと結合し末梢神経障害を来すと想定されている。しかし、これまでの研究では、菌体上にガングリオシド様 LOS の存在を証明したにすぎず、本当にガングリオシド様 LOS が GBS 発症に関与するのか明らかにされていない。本研究では、100 を超える菌株におけるガングリオシド様 LOS の分布を調べ、GBS 患者における血中自己抗体の反応特異性や神

経所見との関連を検討することで、ガングリオシド様 LOS が GBS 発症に直接関与しているかを検証した。

B. 研究方法

(1) 対象・血清型別

GBS やその関連疾患患者の糞便から分離・培養された *C. jejuni* 105 株を用いた。対照として、腸炎患者由来 *C. jejuni* 65 株を用いた。各主治医の入院要約などにより、各症例の臨床データを収集した。

(2) ガングリオシド様 LOS 測定

Hitchcock と Brown (1983) の方法に倣い粗 LOS を抽出し、モノクローナル抗体やコレラ毒素、患者血清をプローブとして用いたウエスタン・ブロットおよび薄層クロマトグラフィー免疫染色でガングリオシ

ドエピトープの分布を測定した。

(3) 血清型別

PHA 法 (デンカ生研、東京) により Penner 血清型別を行った。

(4) 抗ガングリオシド抗体

各ガングリオシド (GM1, GM2, GD1a, GalNAc-GD1a, GD1b, GD2, GT1b, GQ1b) に対する血中 IgG 抗体を ELISA にて測定した。

(5) 統計学的検討

統計学的関連に関して、 χ^2 検定ないし Fisher の直接確率法を用いて検討した。p 値が 0.05 未満の場合を有意とした。すべての統計解析は Statcel[®]を用いて行った。

(倫理面への配慮)

データ処理を行うにあたり、*C. jejuni* が分離された患者名は匿名化してデータベースを作成した。

C. 研究結果

(1) ガングリオシド様 LOS

GM1, GD1a, GQ1b/GT1a エピトープはそれぞれ、60%、49%、21%の菌株で見られた。腸炎患者由来株 (38%、20%、20%) と比べ GBS 患者株では GM1 や GD1a エピトープを有する頻度が有意に高いことが示された (共に $p < 0.05$)。GM1 と GD1a エピトープは同一菌株上に共存することが多かった。

(2) 血清型、神経所見、抗ガングリオシド抗体との関連

GM1 と GD1a エピトープを有する菌株は、血清型が HS:19 であることが多く、四肢麻痺や血中 IgG 抗 GM1・GD1a 抗体と密接な関連がみられた。GQ1b/GT1a エピトープは HS:2 や HS:4 complex と関連がみられ、外眼筋麻痺などの脳神経麻痺や運動失調、血中 IgG 抗 GQ1b 抗体を高頻度に認めた。

D. 考察

先行感染病原体成分が GBS の臨床像の多様性を規定していることが示された。菌体 LOS と構造が類似するガングリオシドが、実際に各症例において血中抗体の標的抗原となっており、菌体と生体組織との分子相同性が GBS 発症に関与していることが裏付けられた。また、腸炎株と比較し GBS 株では GM1、GD1a 様 LOS を有する頻度が高かったことから、ガングリオシド様 LOS が GBS 発症のリスクファクターである可能性が考えられる。

E. 結論

C. jejuni 腸炎後 GBS の発症に、菌体とヒト末梢神経との間の分子相同性の存在が重要である。*C. jejuni* LOS の構造により、GBS 患者の自己抗体の反応特異性が決定され、神経所見が規定される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Odaka M, Yuki N. Antibodies to GM2 ganglioside in neurological disorders. Intern Med 2003; 42: 220-221.
2. Koga M, Yuki N, Hirata K, Morimatsu M, Mori M, Kuwabara S. Anti-GM1 antibody IgG subclass: a clinical recovery predictor in Guillain-Barré syndrome. Neurology 2003; 60: 1514-1518.
3. Odaka M, Koga M, Yuki N, Susuki K, Hirata K. Longitudinal changes of anti-ganglioside antibodies before and after Guillain-Barré syndrome onset subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis. J Neurol Sci 2003; 210: 99-103.
4. Ogawara K, Kuwabara S, Koga M, Mori M, Yuki N, Hattori T. Anti-GM1b IgG antibody is associated with acute motor axonal neuropathy and *Campylobacter jejuni* infection. J Neurol Sci 2003; 210: 41-45.
5. Odaka M, Yuki N, Kokubun N, Hirata K,

- Kuwabara S. Axonal Guillain-Barré syndrome associated with axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *J Neurol Sci* 2003; 211: 93-97.
6. Susuki K, Johkura K, Yuki N, Kuroiwa Y. Clinical deterioration in Bickerstaff's brainstem encephalitis caused by overlapping Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Sci* 2003; 211: 89-92.
 7. Sekiguchi K, Susuki K, Funakawa I, Jinnai K, Yuki N. Cerebral white matter lesions in acute motor axonal neuropathy. *Neurology* 2003; 61: 272-273.
 8. Ikuta N, Fukusako T, Yuki N, Morimatsu M, Koga M. Acute oropharyngeal palsy associated with anti-GM1b IgG antibody. *J Neurol* 2003; 250: 881-882.
 9. Odaka M, Yuki N, Hirata K. Patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy initially diagnosed as Guillain-Barré syndrome. *J Neurol* 2003; 250: 913-916.
 10. Odaka M, Yuki N, Yamada M, Koga M, Takemi T, Hirata K, Kuwabara S. Bickerstaff's brainstem encephalitis: clinical features of 62 cases and a subgroup associated with Guillain-Barré syndrome. *Brain* 2003; 126: 2279-2290.
 11. Susuki K, Nishimoto Y, Yamada M, Baba M, Ueda S, Hirata K, Yuki N. Acute motor axonal neuropathy rabbit model: immune attack on nerve root axons. *Ann Neurol* 2003; 54: 383-388.
 12. Koga M, Yuki N, Tsukada Y, Hirata K, Matsumoto Y. CDR3 spectratyping analysis of the T cell receptor repertoire in Guillain-Barré and Fisher syndromes. *J Neuroimmunol* 2003; 141: 112-117.
 13. Yuki N, Saperstein DS. Axonal Guillain-Barré syndrome subtypes: do we need more splitting? *Neurology* 2003; 61: 598-599.
- Denmark. Sep 7, 2003.
3. Yuki N. "Pathogenesis of Guillain-Barré syndrome subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis" 12th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2003. Utsunomiya, Japan. Jun 19, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

2. 学会発表

1. Yuki N, Koga M, Susuki K, Hirata K. "Ganglioside mimicry of *Campylobacter* lipooligosaccharide induces the development of Guillain-Barré syndrome model" Peripheral Nerve Society. Banff, Canada. Jul 28, 2003.
2. Yuki N, Koga M, Susuki K, Hirata K. "Ganglioside mimicry of *Campylobacter* lipooligosaccharide induces the development of Guillain-Barré syndrome model" 12th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Organisms. Aarhus,

13. サ症患者におけるプロピオニバクテリアの細菌学的検討 ～糞便の凍結がプロピオニバクテリアの分離に及ぼす影響～

分担研究者 渡邊 邦友 (岐阜大学生命科学総合実験センター教授)

研究協力者 田中 香お里 (岐阜大学生命科学総合実験センター助手)
森下 宗彦 (愛知医科大学呼吸器アレルギー内科助教授)

研究要旨 検体採取や採取後の検体の保存環境等のバイアスを可能な限り少なくする目的で、新規に愛知県を研究の場として、サルコイドーシス患者の凍結糞便を収集し、それらを対象に、プロピオニバクテリア選択培地によるプロピオニバクテリアの分離培養を実施した。サルコイドーシス患者 44 名の糞便中から 10 cfu/g 以上に本菌が検出された検体数は 30 検体で、培養陽性率は 68.2%であった。凍結操作が成績に及ぼす影響を明らかにする目的で、無作為に凍結前にも培養を行った 24 検体中の培養陽性検体数は 16 検体で、陽性率は 66.7%であった。糞便の凍結前後の培養結果の比較、すなわち、培養陽性率、個々の検体における菌量、平均菌量の比較では、凍結による顕著な菌数の変化は認めなかった。以上のことから、サルコイドーシス患者の 68.2%で、糞便からプロピオニバクテリアが 10 cfu/g 以上、10,000 cfu/g 以下の菌量で分離されることが明らかとなった。サルコイドーシス患者の病巣内に見られるプロピオニバクテリアの侵入門戸として消化管を考慮に入れる必要がある。

A. 研究目的

サルコイドーシスの患者の病巣から、高率に、プロピオニバクテリアが分離されることから、プロピオニバクテリアとサルコイドーシスとの関連性が示唆されている。プロピオニバクテリアは皮膚の常在菌であるが、病巣中に見られるプロピオニバクテリアの侵入門戸としては、皮膚よりも粘膜が考えやすい。消化管粘膜はその候補の一つであるが、本菌の消化管における分布は明確ではなかった。著者らは、抗菌物質 E、メトロニダゾール、アジカナトリウムを含む選択力の強いプロピオニバクテリア選択培地を新規に考案した。その選択分離培地を用いて、厚生省びまん性肺疾患研究班(主任研究員:工藤教授)の協力を得て、サルコイドーシス患者 65 名の凍結糞便検体を収集し、凍結糞便検体からのプロピオニバクテリアの分離を試み、その結果を報告した。また、その成績を基に作成したデータファイルを用いて、データ

マイニングプログラム”Icon Miner”をツールとして使用し、決定木解析を主体としたデータマイニングを実施し、罹患年数(発症からの月数)と糞便からのプロピオニバクテリア分離の有無との間に有意な関係があること、すなわち罹患年数 1~2 年の患者に糞便からプロピオニバクテリアが有意に分離されるという仮説を得たことを報告した。

今回は、本研究成果を公表するにあたり検討しておく必要があった糞便凍結保存の定量結果に及ぼす影響の検討を実施するため、また、データマイニングで得られた仮説の追試を目的として、これらの目的を遂行可能とするために、糞便輸送の容易な中部地区の研究者、愛知医科大学内科(森下宗彦助教授)との共同研究を計画し、本研究を実施した。

B. 研究方法

(1) 対象

糞便検体は、愛知医科大学呼吸器内科（森下宗彦助教授）を受診した患者 44 名（男 11 名、女 33 名）から得られた。

(2) 検体の採取・輸送法

凍結前の糞便の培養を目的とし、乾燥と酸素の影響を可能な限り少なくするための方策として、糞便の採取量を増加するため、糞便の採取容器として、前回用いた検体用カップに代えて、喀痰採取用容器を選んだ。そして、採取後可及的速やかに嫌気性バッグに収めるように患者にお願いした。このようにして得られた検体は、採取翌日に、遅くとも 2 日後には岐阜大学の生命科学総合実験センターに到着するように手配した。

(3) プロピオニバクテリアの分離

岐阜大学には運ばれた検体の内、無作為に選ばれたいくつかの糞便検体について、検体到着とともに、直ちに選択培地を用いた分離培養を実施した。その場合でも、残りの糞便検体は、再び嫌気的条件下で、-70℃に凍結保存し、一定期間保管の後解凍し、再度培養を実施した。新鮮糞便の培養が出来なかった検体は、直ちに-70℃で凍結保存し、一定期間の保管の後に解凍し、培養を実施した。培養は、アネロパック法で4日間実施し、プロピオニバクテリアが疑われる集落を釣菌し、定法に従い同定を実施した。本法での検出限界は 10cfu/g であった。

C. 研究結果

(1) サルコイドーシス患者の新集団における凍結糞便中からプロピオニバクテリア分離と菌量

今回新たに検討した愛知医科大学受診のサルコイドーシス患者由来の凍結糞便の選択分離培地を用いた分離培養におけるプロピオニバクテリア陽性率は、44 検体中 30 検体であった。陽性率 68.2%であった。

表 1. 凍結糞便からのプロピオニバクテリアの分離

菌数の幅 cfu/g	検体数
<10	14
10~100	19
100~1,000	11
1,000<	0
合計	44

(2) 糞便凍結前に分離培養を行った 24 検体からのプロピオニバクテリアの分離

無作為に選ばれ、凍結前に培養が行われた 24 検体中、プロピオニバクテリア分離陽性となったものは 16 検体であった。陽性率 66.7%であった。

表 2. 新鮮糞便からのプロピオニバクテリアの分離

菌数の幅 cfu/g	検体数
<10	8
10~100	9
100~1,000	6
1,000<	1
合計	24

(3) 凍結前培養と凍結後培養成績の比較

凍結前後のプロピオニバクテリアの分離率、分離菌数の分布、平均分離菌数には大きな差異は認められなかった。

表 3. 凍結のプロピオニバクテリア分離に及ぼす影響

菌数	検体数	
	凍結前	凍結後
<10	8	6
10~100	9	11
100~1,000	6	7
1,000<	1	0
合計	24	24
平均菌数	93.9 cfu/g	113.0cfu/g

D. 考察

前回の工藤班でのサルコイドーシス患者検体

での研究と、今回の愛知医科大学を場としたサルコイドーシス患者検体での研究とでは、方法論の相違点がある。前回の採取用容器は、容積が 5g 程度の小さな厚紙製の検便用採便カップであった。採便カップに糞便を採取後、カップを嫌気的環境に移し、凍結保存するようお願いした。各施設で一括保存されていた検体は、一括回収され、岐阜大学に移された。そして、短期間の冷凍保管後に解凍され、培養に委ねられた。今回は、検体の乾燥による影響を少なくするため、容積が 40g 程度のプラスチック製の喀痰採取用カップが使用された。検体は、採取翌日あるいは翌々日に、岐阜大学に凍結しない状態で、冷蔵して届けられた。岐阜大学では、同一条件で凍結保管された。また、今回は、凍結することの培養結果への影響を検討するために、届けられた検体の中から無作為に選んだ 24 検体について、凍結前にも培養が行われた。その結果、今回の愛知医科大学受診サルコイドーシス患者 44 名の凍結糞便の解凍検体中から 10 cfu/g 以上に菌が検出された検体数は 33 検体で、培養陽性率は 68.2%であった。さらに、44 検体中凍結前に培養を行った 24 例中の培養陽性検体数は 16 検体で、培養陽性率は 66.7%であった。著者らは、糞便を凍結した後に細菌の培養を行うと、その菌量は凍結前の菌量と比較し、10 倍～100 倍減少することを経験的に知っていた。しかし、凍結前の培養結果と凍結後のプロピオニバクテリアの分離率には、予想に反して、大きな差異を認めなかった。そして、糞便の凍結前後の個々の検体における菌量と平均菌量を比較した結果、凍結による顕著な菌数の変化が見られないことが明らかになった。凍結の影響が、プロピオニバクテリアに関して、軽度であった原因の詳細は不明である。

さて、工藤班の研究員の協力の下、全国的レベルで実施された研究では、サルコイドーシス患者由来の糞便 65 検体中、10 cfu/g 以上に菌が検出された検体数は 25 検体で、培養陽性率は全体の 38.5%と、今回の培養陽性率よりも有意に低い結果であった。また、給食部に勤める健康人由来の検体 70 検体中 10 cfu/g 以上に菌が検出された検体数は 29 検体で、培養陽性率は 41.4%と、今回の成績よりも低値であった。凍結による影響は大きなものではなかったものの、糞便の採取量とその保管条件により、分離率が異なってくる可能性があることが明らかになった。

採取法と保管環境を改善して行ったサルコイドーシス患者由来の凍結糞便を対象として、プロピオニバクテリア選択培地による分離培養を実施した。サルコイドーシス患者 44 名の糞便中から 10 cfu/g 以上に菌が検出された検体数は 33 検体で、培養陽性率は 68.2%であった。凍結保管前にも培養を行った 24 検体中の培養陽性検体は 16 検体で、培養陽性率は 66.7%であった。糞便の凍結前後の培養結果の比較、すなわち個々の検体における菌量、平均菌量を比較したが、凍結による顕著な菌数の変化はなかった。以上のことから、サルコイドーシス患者の約 70%で、糞便からプロピオニバクテリアが 10 cfu/g 以上に分離されること、その菌数は、最大 10,000 cfu/g であることが明らかになった。サルコイドーシス患者の病巣内に見られるプロピオニバクテリアの侵入門戸として消化管を考慮に入れる必要がある。

データマイニングにより、発症後の年数とプロピオニバクテリアの分離率との間に有意な関係があることに関する仮説が得られたが、今回の 44 名の患者の臨床的背景については、現在整理中である。

E. 結論

サルコイドーシス患者 44 名の糞便中から 10 cfu/g 以上に菌が検出された検体数は 30 検体で、培養陽性率は 68.2%であった。凍結保管前にも培養を行った 24 検体中の培養陽性検体は 16 検体で、培養陽性率は 66.7%であった。糞便の凍結前後の培養結果の比較、すなわち個々の検体における菌量、平均菌量を比較したが、凍結による顕著な菌数の変化はなかった。サルコイドーシス患者の約 70%で、糞便からプロピオニバクテリアが 10 cfu/g 以上に分離されること、その菌数は、10,000 cfu/g 以下であることが明らかになった。サルコイドーシス患者の病巣内に見られるプロピオニバクテリアの侵入門戸として消化管を考慮に入れる必要がある。

参考文献

渡邊邦友、田中香お里：サ症患者におけるプロピオニバクテリアの細菌学的検討－

Propionibacterium acnes を分離するための選択培地作製の試みー 厚生省特定疾患対策研究事業 特定疾患の微生物学的原因究明に関する研究班 平成 11 年度研究報告書 39-40

渡邊邦友、田中香お里：サ症患者におけるプロピオニバクテリアの細菌学的検討ー Propionibacterium acnes を分離するための選択培地作製の試みー 厚生省特定疾患対策研究事業 特定疾患の微生物学的原因究明に関する研究班 平成 12 年度総括分担研究報告書 39-41

渡邊邦友、田中香お里、横山茂樹、松岡喜美子：サ症患者におけるプロピオニバクテリアの細菌学的検討ーデータマイニングによる培養成績の解析ー 厚生労働省特定疾患対策研究事業 特定疾患の微生物学的原因究明に関する研究班 平成 14 年度総括分担研究報告書 61-63

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. 田中香お里、渡邊邦友：サルコイドーシス患者の消化管内における *Propionibacterium* の検索、第 76 回日本細菌学会総会、2003 年 4 月 1 日-3 日、熊本

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

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	巻名	ページ	出版年
Miyake O, Kobayashi E, Nankai H, Hashimoto W, Mikami B, Murata K	Post-translational processing of polysaccharide lyase: maturation route for gellan lyase in <i>Bacillus</i> sp. GL1.	Arch Biochem Biophys	422	211-220	2004
Hoshino A, Hanaki K, Suzuki K, Yamamoto K	Applications of T-lymphoma labeled with fluorescent quantum dots to cell tracing markers in mouse body.	Biochem Biophys Res Comm	314	46-53	2004
Katayama K, Wada K, Miyoshi H, Ohashi K, Tachibana M, Furuki R, Mizuguchi H, Hayakawa T, Nakajima A, Kadowaki T, Tsutsumi Y, Nakagawa S, Kamisaki Y, Mayumi T	RNA interfering approach for clarifying the PPAR γ pathway using lentiviral vector expressing short hairpin RNA.	FEBS Letters		in press	2004
Ohashi YY, Kameoka Y, Persad AS, Kohi F, Yamagoe S, Hashimoto K, Suzuki K.	Novel missense mutation found in Japanese patient with myeloperoxidase deficiency.	Gene		in press	2004
Miyake O, Ochiai A, Hashimoto W, Murata K	On the origin and diversity of bacterial alginate lyases of families PL-5 and -7 in <i>Sphingomonas</i> sp. strain A1.	J Bacteriol		in press	2004
Watanabe H, Hoshino K, Sugita R, Asoh N, Watanabe K, Oishi K, Nagatake T	Possible high rate of transmission of nontypeable Haemophilus influenzae, including beta-lactamase-negative ampicillin-resistant strains, between children and their parents.	J Clin Microbiol	42	362-365	2004
Iijima H, Neurath MF, Nagaishi T, Glickman JN, Nieuwenhuis EE, Nakajima A, Chen D, Fuss IJ, Utku N, Lewicki DN, Becker C, Gallagher TM, Holmes KV, Blumberg RS	Specific Regulation of T Helper Cell 1-mediated Murine Colitis by CEACAM1.	J Exp Med	199	471-482	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Abe Y, Inamori M, Togawa J, Kikuchi T, Muramatsu K Chiguchi G, Kawamura H Kobayashi N, Kirikoshi H, Sakaguchi T, Takamura T, Nakajima A, Ueno N, Sekihara H	The Comparative effects of single intravenous doses of omeprazole and famotidine on intragastric pH.	J Gastroenterol		in press	2004
Matsuhashi N, Nomura S, Nakajima A, Kamisaki M	Inflammatory fibroid polyps of the stomach and Helicobacter pylori.	J Gastroenterol Hepatol	19	346-347	2004
Takemoto M, Mori Y, Ueda K, Kondo K, Yamanishi K	Productive human herpesvirus 6 infection causes aberrant accumulation of p53 and prevents apoptosis.	J Gen Virol	85	869-879	2004
Tanaka-Taya K, Sashihara J, Kurahashi H, Amo K, Miyagawa H, Kondo K, Shintaro Okada S, Yamanishi K	Human herpesvirus 6 (HHV- 6) transmits from parent to child by integration form and characterization of cases with chromosomally integrated HHV-6 DNA.	J Med Virol		in press	2004
Amano H, Morimoto K, Senba M, Wang H, Ishida Y, Kumatori A, Yoshimine H, Oishi K, Mukaida N, Nagatake T	Essential contribution of monocyte chemoattractant protein-1/C-C chemokine ligand-2 to resolution and repair processes in acute bacterial pneumonia.	J Immunol	17	398-409	2004
Kudo C, Wada K, Masuda T, Yonemura T, Shibuya A, Fujimoto Y, Nakajima A, Niwa H, Kamisaki Y	Nonylphenol induces the death of neural stem cells due to activation of the caspase cascade and regulation of the cell cycle.	J Neurochem		in press	2004
Shimada K, Kondo K, Yamanishi K	Human Herpesvirus 6 Immediate-Early 2 Protein Interacts with Heterogeneous Ribonucleoprotein K and Casein Kinase 2.	Microbiol Immunol		in press	2004
Ishida-Okawara A, Ito- Ihara T, Muso E, Ono T, Saiga K, Nemoto K, Suzuki K	Neutrophil contribution to the crescentic glomerulonephritis in SCG/Kj mice.	Nephrol Dial Transplant		in press	2004
Motomura K, Masaki H, Terada M, Onizuka T, Furumoto A, Asoh N, Oishi K, Nagatake T	A retrospective analysis of community- acquired pneumonia between 2000 and 2002 in a community hospital.	Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi	42	68-74	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Mori S, Akao S, Miyak O, Nankai H, Hashimoto W, Mikami B, Murata K	Crystallization and preliminary X-ray analysis of a novel unsaturated glucuronyl hydrolase from <i>Bacillus</i> sp. GL1.	Acta Crystallog sect D	59	946-949	2003
Yamasaki M, Moriwaki S, Hashimoto W, Mikami B, Murata K	Crystallization and preliminary X-ray analysis of alginate lyase, a member of polysaccharide lyase family PL-7, from <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	Acta Crystallog sect D	59	1499-1501	2003
Eishi Y, Ishige I, Ishige Y, Yamada T, Minami J, Ikeda S, Koike M	Etiology of sarcoidosis: the role of <i>Propionibacterium acnes</i> .	Acta Histochem Cytochem	36	15-26	2003
Nakajoh M, Fukushima T, Suzuki T, Yamaya M, Nakayama K, Sekizawa K, Sasaki H	Retinoic acid inhibits elastase-induced injury in human lung epithelial cells.	Am J Respir Cell Mol Biol	28	296-304	2003
Susuki K, Nishimoto Y, Yamada M, Baba M, Ueda S, Hirata K, Yuki N	Acute motor axonal neuropathy rabbit model: immune attack on nerve root axons.	Ann Neurol	54	383-388	2003
Yamaryo T, Oishi K, Yoshimine H, Tsuchihashi Y, Matsushima K, Nagatake T	Fourteen-member macrolides promote the phosphatidylserine receptor-dependent phagocytosis of apoptotic neutrophils by alveolar macrophages.	Antimicrob Agents Chemother	47	48-53	2003
Hashimoto W, Miyake O, Nanka H, Murata K	Molecular identification of α -L-rhamnosidase of <i>Bacillus</i> sp. strain GL1 as an enzyme involved in complete metabolism of gellan.	Arch Biochem Biophys	415	235-244	2003
Okamoto M, Hagiwara K, Kamitani W, Sako T, Hirayama K, Kirisawa R, Tsuji M, Ishihara C, Iwai H, Kobayashi T, Tomonaga K, Ikuta K, Taniyama H	Experimental vertical transmission of Borna disease virus in the mouse.	Arch Virol	148	1557-1568	2003
Kudo C, Kori M, Matsuzaki K, Yanai K, Nakajima A, Shibuya A, Niwa H, Kamisaki Y, Wada K	Diclofenac inhibits proliferation and differentiation of neural stem cells.	Biochem Pharmacol	66	289-295	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Sakamoto M, Hasegawa A, Sugaya K, Hashimoto K, Kimura M, Yamashita M, Suzuki K, Nakayama T	Distinct calcium response induced by T-cell antigen receptor stimulation in thymocytes and mature T cells.	Bioimages	11	1-8	2003
Hirai H, Kubo H, Yamaya M, Nakayama K, Numasaki M, Kobayashi S, Suzuki S, Shibahara S, Sasaki H	Microsatellite polymorphism in heme oxygenase-1 gene promoter is associated with susceptibility to oxidant-induced apoptosis in lymphoid cell lines.	Blood	102	1619-1621	2003
Odaka M, Yuki N, Yamada M, Koga M, Takemi T, Hirata K, Kuwabara S	Bickerstaff's brainstem encephalitis: clinical features of 62 cases and a subgroup associated with Guillain-Barré syndrome.	Brain	126	2279-2290	2003
Takahashi H, Oishi K, Yoshimine H, Kumatori A, Moji K, Watanabe K, Nalwoga H, Tugume SB, Kebba A, Mugerwa R, Mugenyi P, Nagatake T	Decreased serum opsonic activity against Streptococcus pneumoniae in human immunodeficiency virus-infected Ugandan adults.	Clin Infect Dis	37	1534-1540	2003
Matsushashi N, Nishi Y, Nagoshi D, Kanemoto H, Nakajima A	Epidemic enterocolitis possibly as a result of norwalk virus infection presenting as ischemic colitis.	Digestive Endosc	15	138-141	2003
Inamori M, Togawa J, Kawamura H, Abe Y, Naitoh H, Nagase H, Nakajima A, Saito T, Tominaga S, Ueno N, Tanaka K, Sekihara H	Severe ulceration of the stomach after endoscopic injection sclerotherapy.	Endoscopy	35	1082	2003
Ichimori K, Fukuyama N, Nakazawa H, Aratani Y, Koyama H, Takizawa S, Kameoka Y, Ishida-Okawara A, Kohi F, Suzuki K	Myeloperoxidase has directly-opposed effects on nitration reaction - Study on myeloperoxidase-deficient patient and myeloperoxidase-knockout mice.	Free Radic Res	37	481-489	2003
Katayama K, Wada K, Nakajima A, Mizuguchi H, Hayakawa T, Nakagawa S, Kadowaki T, Nagai R, Kamisaki Y, Blumberg R, Mayumi T	A Novel PPAR γ Gene Therapy to Control Inflammation Associated With Inflammatory Bowel Disease in a Murine Model.	Gastroenterol	124	1315-1324	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Murata K, Inami M, Kubo S, Kimura M, Yamashita M, Hosokawa H, Nagao T, Suzuki K, Hashimoto K, Shinkai H, Koseki H, Taniguchi M, Ziegler SFH, Nakayama T	CD69-null mice protected from arthritis induced with anti-type-II collagen antibodies.	Int Immunol	15	987-992	2003
Odaka M, Yuki N	Antibodies to GM2 ganglioside in neurological disorders.	Intern Med	42	220-221	2003
Suzuki K	Neutrophil functions of patients with MPO-ANCA-related vasculitis.	Internal Med	42	552-553	2003
Mishima Y, Momma K, Hashimoto W, Mikami B, Murata K	Crystal structure of AlgQ2, a macromolecule (alginate)-binding protein of <i>Sphingomonas</i> sp. A1, complexed with an alginate tetrasaccharide at 1.6-Å resolution.	J Biol Chem	278	6552-6559	2003
Hashimoto W, Nankai H, Mikami B, Murata K	Crystal structure of <i>Bacillus</i> sp. GL1 xanthan lyase, which acts on the side chains of xanthan.	J Biol Chem	278	7663-7673	2003
Asoh N, Watanabe H, Fines-Guyon M, Watanabe K, Oishi K, Kositsakulchai W, Sanchai T, Kunsuikmengrai K, Kahintapong S, Khantawa B, Tharavichitkul P, Sirisanthana T, Nagatake T	Emergence of rifampin-resistant <i>Rhodococcus equi</i> with several types of mutations in the <i>rpoB</i> gene among AIDS patients in northern Thailand.	J Clin Microbiol	41	2337-2340	2003
Watanabe H, Asoh N, Hoshino K, Watanabe K, Oishi K, Kositsakulchai W, Sanchai T, Kunsuikmengrai K, Kahintapong S, Khantawa B, Tharavichitkul P, Sirisanthana T, Nagatake T	Antimicrobial susceptibility and serotype distribution of <i>Streptococcus pneumoniae</i> and molecular characterization of multidrug-resistant serotype 19F, 6B, and 23F pneumococci in northern Thailand.	J Clin Microbiol	41	4178-4183	2003