分担研究報告書

免疫低下に伴う老化関連疾患と自然免疫力増強による克服

分担研究者　中島日出夫
（金沢大学附属病院心肺総合外科、医員
前国立長寿医療センター老化機構研究部、免疫研究室長）

研究要旨：加齢に伴い免疫力が低下し、感染症・癌をはじめとする様々な疾患が発生する。今まで、加齢に伴う免疫系の低下を明らかにするために、加齢動物やモデルマウスを使って解析を行ってきた。本年度から、自然免疫力の増強による克服に重点を移して研究をスタートさせた。その一つが、NK 活性を増強させたモデルマウスの作製である。多くの自然免疫系の細胞に発現する MHC 分子に対する抑制系受容体を欠損させることで、それによる各種疾患への影響、生体に与える功罪を明らかにできると考えている。もう一つは、１０月から外科に移ってから始めた臨床研究である。侵襲の大きな手術の際に、術後の合併症を減らす事ができる Immunonutrition の効果を　細胞レベル・分子レベルで解析することをスタートさせた。

A. 研究目的

加齢とともに免疫能の低下が見られ、それが感染症・悪性腫瘍・免疫不全をはじめとする各種疾患やストレス耐性の低下につながることは広く知られている。現在まで、加齢動物やモデル動物（テロメラーゼ欠損マウス）を用いて、感染免疫応答やアレルギー反応を分子生物学的／生化学的に解析してきた。今年度より、自然免疫系の賦活化によるその克服を目標として新たな研究をスタートさせた。

B. 研究方法

NK 細胞上には、MHC 分子を認識して NK 活性を制御する受容体群 Ly-49 が発現している。さらにそのなかでも抑制系の受容体が、老化に伴って発現が上昇することがわかっており、この Ly-49 遺伝子群を欠失したマウスの作製に取りかかった。マウスのバックグラウンドは免疫系の解析に適した C57/BL 6 系を用いるため、B 6 の MHC 分子 (H-2b)に対応する Ly-49 受容体 (Ly-49C, Ly-49I など)をそのターゲットとした。Ly-49 のような multi gene family の場合、ノックアウトマウス作製の困難さが問題となる。配列の似た分子がいくつも存在するためターゲッティングの技術的困難さに加え、たとえ一つの遺伝子を落としても機能のオーバーラップする遺伝子が他にいくつも存在し相補するため、明確な表現形を得ることがむずかしい。そこで、最近話題となっている RNA interference（RNA 干渉）の技術を使い、複数の Ly-49 遺伝子を同時に落とすことを試みることにした。

外科領域で侵襲の大きな手術を行う際、Immunonutrition の有効性が言われている。昨今 Immunonutrition により、術後に感染症を含めた合併症の頻度が約半分に改善されることが、数多く報

告されている。このImmunonutritionの分子メカニズムを解明するために以下のアプローチを取った。一般的に免疫能の低下が指摘されており、また手術侵襲も極めて大きい食道癌患者を選んで、術前にImmunonutritionを行った。これは、アルギニン、核酸、ω3系脂肪酸を含んだ栄養剤を5日間、手術前日まで摂取してもらう。そしてその栄養剤を飲む前と後（5日後）に採血をし、血清を分離する。次にその血清（前・後）を10%含んだ培地でNK細胞株を15時間培養する。培養後、NK細胞株を回収しtotal RNAを抽出、それをDNAマイクロアレイで解析し、血清（前・後）による遺伝子プロファイリングの違いを比較検討した。

（倫理面への配慮）研究対象となる血液を提供していただく人には、この研究の目的、危険性や個人情報に関する配慮などに関しての説明を十分にし、インフォームド・コンセントを得た上で行う。遺伝子組み換え実験、感染実験、マウスを用いた実験は、すべて研究施設の定めたガイドラインと承認のもとで行う。

C. 研究結果

1、Ly-49欠損マウスの作製

C57/BL6系統マウスの自己のMHCを認識するLy-49CとLy-49Iに加え、H-2^{b}タイプのMHCとの結合が予測されるLy-49F,I,Jをターゲットとし、これらを同時に落とすべくsmall interfering RNA (siRNA)を2つ設計した-C69&C142。このsiRNAをトランスフェクションすることによって、Ly-49分子の発現抑制効果を調べた。結果、C142のsiRNAによってターゲットのLy-49Cに加え、Ly-49Bの発現も効果的に抑制された。一方、C57/BL6系統マウスにとって非自己のMHCを認識するLy-49A, D, G2の発現には影響を与えなかった。また、C142によって、primaryのNK細胞においてもLy-49C&Iの発現が抑制されることも証明した。

次のステップとしてC142のsiRNAをマウスの体内で発現させる必要があり、C142の発現ベクターを作製することにした。siRNAの発現ベクターにはヘアピン型のRNAを作製するタイプ(pSilencer)とハンマーヘッド型のリボザイムRNAを作製するタイプ(piGENE)があり、この両方を使って試してみることにした。その結果、piGENEのコンストラクト(piGENE-C-III)が最も効果的であることが証明され、これをトランスジェニックのバックボーンとすることに決定した。トランスジェニックマウスはpiGENE-C-IIIをEcoRIとBamHIで切り出した約240bpの配列を挿入することになり、切り出したDNAを 2005年1月にC57/BL6系統マウスの受精卵前核にインジェクションし、約40匹の仔が得られている（東京都臨床総合医学研究所との共同研究）。2月下旬からタイピングを開始する予定である。

2、Immunonutritionの分子メカニズムの解明

対象は食道癌（早期）の60歳男性で、半年前より体重減少、全身倦怠感を認めている。まず入院時

に約５０ml の採血をし、血清の分離（－８０℃に保存）とリンパ球の保存を行った。手術５日前より前述の栄養剤を１日３回飲んで、手術前日に再び採血をし、血清とリンパ球の保存を行った。その後、NK 細胞株である YT 細胞を１０％の血清（Immunonutrition の前・後）を含む RPMI1640 培地で１５時間培養し、細胞を回収、RNA を抽出し、DNA マイクロアレイによる解析を行った。その結果、Immunonutrition 後の血清によって発現の増加した遺伝子が５個、減少した遺伝子が２個、有意差を持って変化していた。内訳は、機能のわかっていない遺伝子や基本転写因子に関連する遺伝子がほとんどであったが、TGF-β, β-catenin, WNT の経路に関する遺伝子が複数個検出された。

D. 考察

１、Ly-49 欠損マウス

MHC 分子に対する受容体群のクローニング、シグナル伝達、機能解析、生化学・分子生物学的解析などは、そのほぼ全容が明らかとなり、この分野に関する research は clinical な方向に向かっている。しかしながら、最後に残された基礎的な研究は、これら受容体の生体での働き、すなわち、免疫系の構成・維持に与える影響、免疫系疾患や癌免疫、移植免疫との相関を分子レベルで解明することにあると考えられる。そこでモデルマウスの作製が必要となってくる。Missing Self Mouse つまり、自己非自己の認識に関わる NK 受容体を欠損させたマウスである。同時にこのマウスは、NK 細胞が抑制系の受容体から解放され、NK 活性の増強したモデルマウスでもある。このマウスと疾患の相関を解析すれば、NK 活性の異常な増強とその功罪を明らかにできると考えられる。

２、Immunonutrition

外科領域で、術前に Immunonutrition を施行すると合併症が半減することは周知のこととしてとらえられている。そのメカニズムとして、術後の炎症反応の低下、IL-6, TNF-α等の産生低下、免疫系細胞の活性上昇などが指摘されている。しかしながら、Immunonutrition によって個々の免疫系細胞が分子レベルでどのように変化しているのかは、全くのブラックボックスである。そこで今回、Immunonutrition によって血清が免疫系（NK 細胞）に及ぼす影響をマイクロアレイで解析した。症例はまだ１例のみであるが、TGF-β, β-catenin, WNT 系という、発生や癌化など重要な生命現象に関わる遺伝子の発現に変化がみられた。今後、症例を増やして、その確認と分子レベルでの解析を進めていく必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

（１）論文発表

なし

（２）学会発表

なし

分担研究報告書

ストレス応答と生体反応

分担研究者　木内一壽
（岐阜大学工学部生命工学科、教授）

研究要旨：アミロイド β_タンパク（Aβ）はアルツハイマー病の原因の一つと考えられており，その分解には ネプリライシン（neprilysin）が関与している。Aβ の蓄積には非常に長い期間がかかり、正常な脳では恒常的な Aβ の分解が凝集を防いでいるものと思われる。低酸素状態（hypoxia）は in vivo にて肺動脈血管周囲細胞の neprilysin の遺伝子発現および酵素活性を低下させ、血管壁を脆弱化させることが報告されている。一方、オランダでは遺伝病としてアミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血が存在しており、APP の点突然変異により Aβ_40 の産生比率が上昇し、脳血管壁に沈着して出血を引き起こすことが報告されている。従って、いわゆる「まだら惚け」のような加齢に伴う認知症では、無自覚で軽微な梗塞が引き金となり、局所的に血流が低下した領域で hypoxia により neprilysin 活性が低下し、Aβ_ の分解が抑制されてアルツハイマー病と同様な神経変性を引き起こしている可能性が考えられる。本研究では、まず、独自の 96 穴細胞培養プレート低酸素培養システムを用い、neprilysin 活性測定のための微量定量法を開発した。その結果、96 穴培養プレート 1 ウェル分の培養細胞での活性評価が可能となった。次いで、上記の仮説に基づき、神経系のヒト培養細胞株である SH-SY5Y の細胞表面上の neprilysin 酵素活性に及ぼす hypoxia の影響について解析を行った。その結果、5% O_2 で 24 時間、低酸素処理を施すと細胞表面の neprilysin 活性が対照群と比較して、70% に低下することが明らかとなった。

A. 研究目的

これまでに報告されている neprilysin 活性測定法は感度が悪く、その遺伝子を過剰発現させた細胞のホモジネートや、脳組織のミクロソーム画分を調製して、酵素活性を求めていた。本研究では、まず、アミロイド前駆タンパク質 APP の分解により細胞外に遊離した Aβ に対する膜表在 neprilysin 活性を評価することが出来るようにするため、簡易で高感度な定量法の開発を第一の目的として行った。次に、hypoxia の neprilysin 酵素活性に及ぼす影響について明らかにすることを第二の目的とし、本遺伝子を発現している培養細胞株から神経系のヒト培養細胞株である SH-SY5Y 細胞を選び、96 穴細胞培養プレート低酸素培養システムを用い、慢性および急性 hypoxia 条件下での neprilysin 活性の経時変化を調べた 。

B. 研究方法

1、低酸素培養システム

まず、5% CO_2 + 95% N_2混合ガスを用いて所定の時間、96 穴培養プレート培養システム内のトラップ中の O_2 の脱気を行い、次いで、低酸素ガス（1% O_2 + 5% CO_2 + 94% N_2若しくは 5% O_2 + 5% CO_2 + 90% N_2）を一定速度で流し、96 穴細胞培養プレートの各ウェルに均一となるようフラッシュさせ、所定の時間 37°C にて培養した。

2、neprilysin 活性微量定量法

基質として DAGPNG（dansyl-D-Ala-Gly-p-nitro-Phe-Gly）を用い、HPLC-蛍光計測法にて生成物の DAG（dansyl-D-Ala-Gly）の蛍光強度を測定した。カラムにはイナトシール 3 ODS カラム（4.6 mmφ×250 mm）、移動層には 50% メタノールを用いた。生成した DAG 量は島津製作所の RF10AXL 蛍光分光光度計にて励起光 342 nm の条件で 562 nm の蛍光強度を測定することにより求めた。

C. 研究結果

1、 Neprilysin 活性微量定量法

HPLC-蛍光計測法を用いるより、DAG の検出限界は 100 fmol であった。少量の培養細胞の膜表在 neprilysin 活性を測定することが可能となり、Aβ がニューロンの細胞外近傍で凝集することを考えると、より in vivo に近い微量測定系を開発することが出来た。

2、 Hypoxia の膜表在 neprilysin 活性に及ぼす影響

SH-SY5Y 細胞を 5% O_2 の条件下で 24 時間培養したところ、細胞膜表在の neprilysin 活性は有意に低下し、対照群の 70% となることを見出した。一方、1% O_2 の条件下で 4 時間培養した場合には、neprilysin 活性の低下は見られなかった。以上のことから、脳内においても neprilysin 活性が軽微な hypoxia により低下する可能性が示唆された。

D. 考察

今回の研究では、5% O_2 低酸素処理 24 時間という条件を考慮すると、加齢に伴う血管障害によりその周辺で軽微な hypoxia が引き起こされた場合、 neprilysin 活性の低下を招いて Aβ の分解除去が滞り、老人斑形成の原因となる可能性があることを示すことができた。一方、SH-SY5Y 細胞を 4 時間 1% O_2 にて低酸素処理したところ、neprilysin の活性に変化は見られなかったので、急性の低酸素ストレスでも少なくとも短時間では細胞膜表在の neprilysin 活性には影響を及ぼさないことも分かった。また、比較的温和な hypoxia の長時間処理により neprilysin 活性は低下することを証明したが、可能性としては、neprilysin タンパクの細胞表面への提示が低下したか、あるいは、細胞内取込み系が亢進したものと考えられる。Neprilysin 様活性を有する遺伝子としては、これまでに neutralendopeptidase（NEP）および NEP2 が報告されているので、RT-PCR 法を用いていずれの mRNA の発現誘導に変化があるのか解析したい。抹消では、好中球の neprilysin 活性は PMA 処理により急激に低下することが知られている。今後、タグを付加した neprilysin タンパク発現系を構築し、蛍光標識することにより神経系の培養細胞である SH-SY5Y の細胞膜での挙動を分析するとともに、そのメカニズムについて解析していきたい。

今回開発した簡便な neprilysin 活性微量定量を利用して、加齢により発症する認知症の治療薬を生薬よりスクリーニングしていきたい。認知症の生薬としては、当帰（養血）、黄耆（養気）、紅花（活血）、地黄（養陰）等がよく使用されている。平行して進めている研究にて、地黄は C6 glioma 細胞のグリア細胞由来神経栄養因子（GDNF）遺伝子の発現を上昇させることを見出したので、その誘導メカニズムについて解析している。今後は neprilysin 活性に影響を及ぼす生薬についても検討を加えていきたい。

E. 結論

1、Neprilysin 活性微量定量法

今回、我々が構築した 96 穴細胞培養プレート低酸素培養システムを用いた neprilysin 微量定量法により、96 穴細胞培養プレートの 1 ウェル分の培養細胞で膜表在 neprilysin 活性を評価することが可能となった。

2、Hypoixa の neprilysin 活性に及ぼす影響

5% O_2 という比較的温和な条件下で 24 時間培養したところ、SH-SY5Y 細胞膜表在の neprilysin 活性は有意に低下することが分かった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

（1） 論文発表

1. Murata T., Morita N., Hikita K., Kiuchi K., Kiuchi K. and Kaneda N.: Recruitment of mRNA-destabilizing protein TIS11 to stress granules is mediated by its zinc finger

domain. Exp. Cell Res. 303 (2), 287-299 (2005)

2. Adachi K, Yimin Y, Satake K, Matsuyama Y, Ishiguro N, Sawada M, Hirata Y, Kiuchi K.: Localization of cyclooxygenase-2 induced following traumatic spinal cord injury. Neurosci Res. 51 (1), 73-80 (2005).

3. Yu Y, Matsuyama Y, Yanase M, Ito S, Adachi K, Satake K, Ishiguro N, Kiuchi K.: Effects of hyperbaric oxygen on GDNF expression and apoptosis in spinal cord injury. Neuroreport. 15 (15), 2369-2373 (2004).

4. Nakashima S, Matsuyama Y, Yu Y, Kiuchi K, Ishiguro N.: Suppression of GDNF production by MPSS treatment following spinal cord injury in the rat. Neuroreport. 15 (15), 2337-2340 (2004).

5. Yu Y, Matsuyama Y, Nakashima S, Yanase M, Kiuchi K, Ishiguro N.: Effects of MPSS and a potent iNOS inhibitor on traumatic spinal cord injury. Neuroreport. 15 (13), 2103-2107 (2004).

6. Hirata Y, Furuta K, Miyazaki S, Suzuki M and Kiuchi K.: Anti-apoptotic and pro-apoptotic effect of NEPP11 on manganese-induced apoptosis and JNK pathway activation in PC12 cells. Brain Res. 1021 (2), 241-247 (2004).

（2）学会発表

鶴田忠実己、大橋憲太郎、木内一壽、平田洋子、Involvement of CAD in rotenone-induced apoptpsis、第 77 回日本生化学大会、10 月、横浜

平田洋子、森　博之、古田享史、前田将秀、鈴木正昭、木内一壽、Cyclopentenone prostaglandin derivatives inhibit manganese-induced apoptosis in PC12 cells、第 77 回日本生化学大会、10 月、横浜

平田洋子、大橋憲太郎、中西伸介、木内一壽、Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)prevents rotenone-induced apoptosis in GFRα-1 overexpressed PC12 cells、第 77 回日本生化学大会、10 月、横浜

分担研究報告書

老化における外的ストレスとしての細菌産物に関する研究

長谷川忠男

名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学

研究要旨

老化は内的、外的な様々なストレスによる生体の防御機構、それに引き続く細胞、個体レベルでの損傷の蓄積と考えられる。細菌感染も外的なストレス刺激として重要であり、宿主細胞傷害性のADPリボシル化酵素活性を持つ毒素蛋白質に注目し、常在菌であるA群レンサ球菌におけるこの酵素活性をもつ三種類の毒素について詳細に検討した。

A 研究目的

ヒトは外的ストレス刺激の積み重ねにより、細胞レベル、個体レベルで不可逆的変化をきたし老化が進展すると考えられる。外的ストレス刺激として細菌、ウィルスなどによる感染もそのひとつとして考慮する必要がある。細菌感染とそれに対する宿主の防御機構を考えた場合、免疫担当細胞より生ずるラジカルは細菌に対する強力な武器となるが、宿主そのものへの損傷を引き起こす可能性も考えられる。また細菌は宿主からの防御手段、感染進展の武器として種々の毒素蛋白質を放出し、宿主へのダメージを来たすと考えられる。その細菌毒素の一つとして宿主細胞傷害性のADPリボシル化酵素活性を持つ毒素蛋白質が見出されてきている。この毒素は宿主の様々な蛋白質をADPリボシル化し、その機能を阻害し、細胞レベル、ひいては個体レベルへのダメージを引き起こす。一方ヒトにおいてもポリADPリボシル化酵素ファミリーの存在が近年明らかにされ、ゲノムの安定性、転写レベルへの関与、生活習慣病とのかかわりが注

目されてきている。以上のことを総合的に考えると細菌から放出されるADPリボシル化酵素は、宿主への様々な損傷、その不可逆的な変化、？？化の促進へと関連している可能性がある。そこで本研究では細菌感染症に伴うストレス刺激に関わる細菌から放出される毒素蛋白質分子、特にADPリボシル化活性を有する分子の機能、宿主細胞に与える影響、人為的発現制御をめざす発現メカニズムを研究することにより、老化に及ぼす影響、制御策の開発につながるものであると期待される。

B 研究方法

S.pyogenes M1臨床分離株39株についてNAD分解を指標にすることによりNADase活性を測定した。これはADPリボシル化酵素活性にほぼ相関すると考えられる。ゲノム情報上、ADPリボシル化酵素活性を有すると推定される遺伝子nga,spyA,gapdhについて分離された時期に基づき、8株についてそれぞれの領域の塩基配列を決定、比較した。またこれらの遺伝子をPCRにより増幅し発現ベクターに組み込み、リコンビナント蛋白質を作成し、NADase活性を測定した。NADase活性の強い劇症型感染症臨床分離株、活性が弱い咽頭炎分離株、ゲノム株であるSF370株について、二次元電気泳動法により培養上清蛋白質プロファイルの比較を行った。それぞれのmRNAレベルでの発現解析のためにノザン法を用いて検討した。さらにnga遺伝子上流に位置するnusG ノックアウト株を作成し、nusG 遺伝子のNga発現への役割を二次元電気泳動法、ノザン法により解析した。

C 研究結果

A群レンサ球菌をモデルとして使用した。ゲノム情報をもとにADPリボシル化酵素活性を有すると考えられる蛋白質三種、GAPDH, SpyA, Ngaをコードする遺伝子について1980年代始めに分離された 菌株、近年分離された菌株数種類において塩基配列を決定した。GAPDH, SpyA蛋白質をコードする遺伝子には分離時期に伴う塩基の変異は認められなかったが、Ngaをコードする遺伝子については近年の臨床分離株では塩基配列の変化が認め

られ、アミノ酸の変化も伴っていた。NADを分解するNADase活性をこれらの臨床分離株で検討した結果、近年の株ではこの酵素活性が強くなっていることが確認された。この結果はNgaの塩基変異に起因している可能性がある。そこでそれぞれのGAPDH, SpyA, Nga二種類の計四種類のリコンビナント蛋白質を作成す るため発現ベクターに組み込み、蛋白質を作成した。GAPDH, SpyA, Ngaの古い配列のものは発現ベクターへの組み込み、蛋白質の精製に成功したが、Ngaの新しい配列を用いた場合はいかなる発現ベクターに組み込むことが不可能であり、リコンビナント蛋白質の合成はできなかった。

次にこれらの蛋白質が実際菌から発現、分泌されていることを確認するために二次元電気泳動法を用いて臨床分離株の蛋白質の解析を行い、Nga蛋白質を培養上清中に、GAPDH蛋白質を膜分画中で同定した。ノザン法ではnga遺伝子の発現はNADase活性の高い株に認められ、NADase活性と高い相関が認められた。

最後に遺伝子変異が認められたnga遺伝子について発現制御メカニズムを検討した。転写制御を司っていると考えられるプロモーター領域についても蛋白質をコードしている領域と同様塩基変異が認められた。このプロモーターの上流には転写終結に関与すると考えられているNusG蛋白質をコードする遺伝子が存在する。このnusG遺伝子を1980年代分離株と、近年の分離株においてノックアウトした株をそれぞれ樹立し、nga遺伝子発現をノザン法で解析したところ、シグナルの増加が認められ、NADase活性も上昇した。このことはNusG蛋白質が発現制御に強く関わっていることを示唆している。

D 考察

NADase活性は株間でばらつきがあるが、菌が分離されたある時期を境にして明瞭な差を認めた。二次元電気泳動法による解析でも近年のTSLS臨床分離株は過去の咽頭炎分離株と比べて、Ngaの発現量の増加が認められた。nga領域の塩基配列は菌の分離時期により違いが認められたが、spyA,gapdh領域については変化がなかった。nusGノックアウト株では親株によりNga

発現が上昇した。以上の結果より、NADase活性の強弱にはNgaの発現変化が関与し、そこにはnusG遺伝子が関わっている可能性が示唆された。

E 結論

今後は上記の毒素蛋白質の宿主蛋白質、特にヒストンを始めとする核蛋白質への関与を、また培養細胞に添加、あるいは毒素蛋白質をコードする遺伝子を組み込んだ発現ベクターを培養細胞に遺伝子導入することにより、細胞にいかなる影響を及ぼすかを検討する予定である。すなわち細胞からの活性酸素の産生の有無、程度、細胞の増殖の変化、死に至るか否か、死に至るとすればアポトーシスか否か、それに関連する遺伝子発現変動があるか否かを研究し、老化における外的ストレスとしての役割を検討する必要がある。

F 健康危険情報

なし

G 研究発表

（1） 論文発表

1. Hashikawa, S., Iinuma, Y., Furushita, M., Ohkura, T., Nada, T., Torii, K., Hasegawa, T. and Ohta, M. Characterization of group C and G streptococci strains that caused streptococcal toxic shock syndrome (STSS). J. Clin. Microbiol. 42:186-192, 2004.

2. Nakamura, T., Hasegawa, T., Torii, K., Hasegawa, Y., Shimokata, K., and Ohta, M. Two-dimensional gel electrophoresis analysis of the abundance of virulent exoproteins of group A streptococcus caused by environmental changes. Arch. Microbiol. 181:74-81, 2004.

3. Hasegawa, T., Hashikawa, S., Nakamura, T., Torii, K. and Ohta, M. Factors determining prognosis in streptococcal toxic shock-like syndrome: Results of a nationwide investigation in Japan. Microbes and Infection

6:1073-1077, 2004.

4. Tanaka, M., Hasegawa, T., Okamoto, A., Torii, K. and Ohta, M. The effect of antibiotics on group A streptococcus exoprotein production analyzed by two-dimensional gel electrophoresis. Antimicrob Agents Chemother. 49:88-96, 2005.

(2) 学会発表

1. 長谷川忠男、田中恵、岡本陽、鳥居啓三、太田美智男

A群レンサ球菌の病原因子発現制御におけるMga関連蛋白質に関する解析

第77回日本細菌学会総会　平成16年4月　大阪

2. 田中恵、長谷川忠男、岡本陽、鳥居啓三、太田美智男

A群レンサ球菌の菌体外毒素タンパク質の発現に及ぼす抗生物質の影響：二次元電気泳動のよる解析

第77回日本細菌学会総会　平成16年4月　大阪

3. 岡本陽、長谷川忠男、田中恵、鳥居啓三、太田美智男

Streptococcus pyogenesにおけるsignal peptide依存性タンパク質分泌機構の解析

第77回日本細菌学会総会　平成16年4月　大阪

4. 松本昌門、鈴木匡弘、秦眞美、池辺忠義、渡辺治雄、鳥居啓三、長谷川忠男、太田美智男

A群レンサ球菌が産生するDNase Bの遺伝子解析とその発現に影響を及ぼす環境因子の検討

第41回日本細菌学会中部支部総会　平成16年10月　岐阜

5. 岡本陽、長谷川忠男、澤井潤、鳥居啓三、太田 美智男

2D-PAGEおよび多次元LC-MSによるS. pyogenes分泌タンパク質、菌体膜成分（不溶性画分）の網羅的解析

第41回日本細菌学会中部支部総会
平成16年10月　岐阜

6. 澤井潤、長谷川忠男、岡本陽、鳥居啓三、太田美智男

Streptococcus pyogenesのADPリボシル化酵素活性を持つ毒素蛋白質NAD-glycohydrolase、溶_毒素Streptolysin Oの発現に関する研究

第 41 回日本細菌学会中部支部総会
平成 16 年 10 月　岐阜