

膚反応は、抗原 0.5—2 μ g/0.1ml を皮内接種し、24 時間後の硬結と発赤を測定した。マウスは、左後脚足蹠（フットパッド）に抗原 2 μ g/0.05ml を、右後脚足蹠に生理的食塩水を注射し、24 時間後に両足蹠の腫脹差を測定し遅延型アレルギーの指標とした。細胞増殖反応は、免疫したモルモットまたはマウス脾細胞 2×10^6 cells/ml と抗原（PPD または MPB64）を混合培養し、 3 H チミジンの取り込みを測定した。脾細胞 1×10^7 /ml と抗原を 24 時間培養した上清中の IFN- γ は ELISA によって測定した。

C. 研究成果

- (1) BCG 生菌により免疫したモルモットに、4 週後、PPD または MPB64 を皮内注射したところ、MPB64 の遅延型皮膚反応は PPD と同程度の陽性反応を示した。BCG 生菌免疫マウスでは、PPD に対する足蹠反応は BALB/c、C57BL/6 とともに強い遅延型アレルギー反応を呈したが、MPB64 については、いずれの系統のマウスでも弱い反応であった。
- (2) BCG 生菌免疫 4 週後の BALB/c マウス脾細胞を、各抗原と培養し、3—7 日間培養し、培養終了 16 時間の 3 H チミジンの取り込みをシンチレーションカウンターで測定したところ、PPD、MPB64 とともに 5 日間培養がもっとも高い放射能取り込み

を示すことがわかった。次に、BALB/c マウス脾細胞と C57BL/6 マウス脾細胞をそれぞれの抗原と培養したところ、BALB/c が C57BL/6 より高い取り込みを示した。

- (3) BCG 生菌免疫 4 週後の BALB/c マウス脾細胞と各抗原を培養し、24 時間後の培養上清中の IFN- γ 量を ELISA 法で測定したところ、脾細胞を PPD と培養した場合に比べ、MPB64 との培養では、IFN- γ 産生は非常に少ないことがわかった。一方、脾細胞から mRNA を抽出し、RT-PCR 法で調べた IFN- γ mRNA 量は、PPD 刺激と MPB64 刺激との間に、大きな差異は認められなかった。

D. 考察

MPB64 は結核菌とある種の BCG 亜株に存在するタンパク質であり、モルモットに対しては、強い皮膚反応惹起能を有することから、現行のツベルクリンにかわる結核の診断薬として注目されている。しかし、モルモットとマウスでは MPB64 に対する遅延型皮膚反応の発現が異なること、マウスでは、MPB64 による IFN- γ 産生誘導能が弱いことが示された。これは、菌が体内で活動中のヒト結核患者の MPB64 皮内反応がほとんど陰性である事実と良い一致を示すものである。

E. 結論

MPB64 の抗原性が診断薬あるいはワ

クチン候補として有用か否かを検討するためには、モルモットばかりでなく、他の動物種での成績を比較検討する必要があることから、今回、マウスでの皮膚反応、in vitro の細胞増殖反応、IFN- γ 産生誘導能の検討を行った。MPB64 は抗原性の特異性から、将来、MPB64 を診断薬あるいはワクチン抗原として用いる際は、IFN- γ など Th1 タイプのサイトカイン産生をもたらすアジュバントとの併用が考慮されるべきかもしれない。

F. 研究発表

論文発表

Tohru Tokunaga, Toshiko Yamamoto and Saburo Yamamoto: How BCG led to the discovery of immunostimulatory DNA. Jpn. J. Infectious Diseases (in press).

橋本達一郎、山本三郎: ワクチン開発の現状と問題点 BCG ワクチン。治療学 32(12)、25 - 29(1998)

学会発表

Saburo Yamamoto, Toshiko Yamamoto, Ryo Takagi, Masayoshi Inoue, Yoshiharu Takahashi, Maiko Kamachi and Hiroto Hara: Immunostimulatory activity of oligodeoxyribonucleotides. The 33rd Research Conference on Tuberculosis and Leprosy. US-Japan Cooperative Medical Science Program July 1998, Osaka.

Saburo Yamamoto: DNA as Immuno-

stimulatory Agents. Symposium on Immunology of Tuberculosis Pathogenesis and Vaccine Development. US-Japan Cooperative Medical Science Program July 1998, Osaka.

Saburo Yamamoto, Eriko Shigeto, Shinji Haga and Hironobu Tasaka: Cellular Immune Responses to MPB64 Antigen of Tuberculosis Patients and of Mice Immunized with BCG. Global Congress on Lung Health and the 29th World Conference of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease November 1998, Bangkok, Thailand.

山本十糸子、種市麻衣子、蒲地一成、徳永徹、山本三郎: 細菌由来 DNA および合成 DNA に応答してインターフェロン α を産生する細胞に関する研究。第 71 回日本細菌学会総会 1998 年 4 月、松本市。

山本三郎、山本十糸子、種市麻衣子、蒲地一成、徳永徹: 細菌 DNA および合成 DNA の NK 細胞活性と抗腫瘍活性。第 71 回日本細菌学会総会 1998 年 4 月、松本市。

山本三郎、山本十糸子、種市麻衣子、芳賀伸治、重藤えり子、田坂博信: 結核患者におけるツベルクリン蛋白質抗原 MPB64 に対する細胞性免疫応答。第 73 回日本結核病学会総会 1998 年 4 月、新潟市。

山本十糸子、梅森清子、山本三郎: 細菌由来 DNA および 5'-ACGA-3'オリゴ DNA 刺激による免疫増強反応。第 80 回日本細菌学会関東

支部総会 1998 年 11 月、東京都。

山本三郎、山本十糸子：免疫増強性オリゴ DNA の免疫アジュバント活性。1998 年 12 月、神戸市。

山本十糸子、伊保澄子、徳永徹、山本三郎：直接的かつ宿主介在性抗 HIV 作用を兼ね備えた非アンチセンスオリゴヌクレオチド抗エイズ薬の開発研究。第 28 回日本免疫学会・学術集会 1998 年 12 月、神戸市。

伊保澄子、山本十糸子、山本三郎：ヒト NK 及び T 細胞に対し IFN・ γ 産生誘導活性を示す細菌 DNA の塩基配列。第 28 回日本免疫学会・学術集会 1998 年 12 月、神戸市。

山本三郎、山本十糸子、梅森清子：ツベルクリンタンパク質抗原の細胞性免疫誘導に及ぼす細菌 DNA および合成 DNA のアジュバント効果。第 72 回日本細菌学会総会 1999 年 3 月、東京都。