

定した。

2. T細胞の調整：末梢血単核球から付着細胞を除去した後、さらに磁気ビーズを用いたnegative selection法によって分離調整した細胞画分をT細胞濃縮画分として以下の実験に供した。すなわち、被験者末梢血単核球をFicol-Paque比重遠心法によって分離調整した後、ヒト血清で表面処理を行なったプレートで2時間37°C、5%CO<sub>2</sub>存在下で培養した。浮遊細胞を回収し、その細胞懸濁液をStemSep T細胞濃縮システム (StemCell Technologies社製) で処理することによって高純度のT細胞を得た。なお、T細胞濃縮画分に含まれるCD3<sup>+</sup>細胞は95%以上だった。

3. IL-12存在下における活性化T細胞が産生するリンフォカイン量の評価：IL-12存在下における活性化T細胞のIFN- $\gamma$ 産生量を測定した。すなわち、T細胞濃縮画分 (1.5x10<sup>5</sup> cells/well) をヒトリコンビナントIL-12 (R&D社製；0.1, 1.0, 10ng/ml) 存在下でPHA (SIGMA社製) による刺激を行ない、一定時間 (48, 72時間) 培養した後の培養上清を回収した。上清に含まれるIFN- $\gamma$ 量はhuman IFN- $\gamma$  ELISA kit (Endogen社製) を用いることによって測定した。なお、PHAによる刺激は終濃度1micro g/mlとなるようにPHAを添加することによって行なった。さらに各時間におけるT細胞増殖活性を加えた<sup>3</sup>H-thymidineの取り込量から調べた。

4. IL-12Rb1遺伝子上に存在するSNPsの同定：上述の各被験者から調整した抹消血単核球より、全ゲノムDNAをQIAamp (r) DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて抽出・精製した。それら遺伝子を試料として、各被験者におけるIL-12Rb1の塩基配列をダイレクト・シークエンス法を用いることによって決定した。すなわち、表1に示したプライマーを鋳型としたPCRを行なうことによってIL-12Rb1遺伝子の第1, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14および15番の各エクソン部のゲノムDNAを増幅した後、Chain-termination反応を行

なったPCR産物をABI PRISM 377 DNA Sequencer (Perkin Elmer) を用いて、同塩基配列を解析した。得られた塩基配列の解析結果をGenBank, EMBL, DDBJ, およびPDBの遺伝子データベースに照合することによって、IL-12Rb1との相同性を調べた。

(倫理面への配慮)

各ドナーに対して、遺伝子および細胞を採取することによって考えら得る全ての利益、不利益を十分に説明した。それら説明によって十分にインフォームド・コンセントが得られたドナーからのみ、試料の提供を受けた。

### C. 研究結果

1. IL-12存在下における活性化T細胞のリンフォカイン産生量：各被験者末梢血単核球から分離したT細胞のIFN-g産生量をIL-12存在下および非存在下において測定した。IL-12が存在しない場合、全被験者由来のT細胞はIFN-gを産生しなかった。各被験者個々においてT細胞が産生するIFN-g量は経時的かつIL-12量に依存して増加する傾向にあった。被験者を患者群および健常者群の各群に分けた場合、IL-12存在下において、PHA刺激によって活性化したハンセン病患者由来のT細胞が産生するIFN-g量は、健常者由来のT細胞が産生するIFN-g量に比べ有意に少ないものであった。しかし、患者群を病型で分けた場合、LL型およびTT型患者間において、TT型患者において多く産生される傾向にあるものの、その産生量に有意な差はなかった。健常者由来T細胞から産生されるIFN-g量は各被験者間において大きく異なった。その産生量の違いによって健常者群は、IFN-g高産生性 (High responder) 群と低産生性 (Low responder) 群に分かれる傾向を示した。

2. IL-12Rb1遺伝子上に存在するSNPsの同定：各被験者のIL-12Rb1遺伝子配列をダイレクト・シークエンス法で読むことによって、IL-12Rb1遺伝子上のSNPsを検出し、その存在の有無がIFN-g産生能

にどのような影響を与えるかを検討した。その結果、各被験者においてエクソン上に9種、イントロン上に5種のSNPsを検出することができた。エクソン上のSNPsのうち4種類はsilent SNPsであり、残りの5種類はVal(5)-Leu, Gln(214)-Arg, Lys(259)-Asn, Ser(348)-Thr, およびGly(573)-Alaのアミノ酸の変化をもたらすcoding SNPsであった。IFN-g産生性に与える影響という観点からこれらアミノ酸の変異を見ると、Val(5)-Leuの変異をheterozygousおよびhomozygousに有したドナーは、患者・健常者に関わらずIFN-g低産生性を示す傾向にあった。また、アミノ酸の変異と病型との相関を見ると、Lys(259)-Asnの変異を有するドナーは、LL型患者においてのみ検出することができた。さらに、イントロン部分において検出することができたSNPsは、第4エクソン上流のイントロン部に多数存在し、なかでも第4エクソン開始点から上流に75残基から77残基の領域に集中することが分かった。

#### D. 考察

健常者由来のT細胞からIL-12存在下に産生されるIFN-g量は様々であったのに対して、ハンセン病患者由来のT細胞から産生されるIFN-g量は概して低いものであった。T細胞からのIFN-g産生性が低い健常者と、患者群のIFN-g産生パターンが類似することから考えると、IFN-g低産生性群の健常者群は、*M. leprae*感染に対する感受性が高く、*M. leprae*感染を受けた場合、発病する集団であるのかもしれない。

またこの産生性の違いをIL-12Rb1遺伝子上の多型性に求めたところ、Val(5)-LeuおよびLys(259)-Asnのアミノ酸の変異がハンセン病に対する感受性および病型の成立機序に関わっている可能性がある。この領域はIL-12との結合に関与するかもしれないことから、これらの変異はIL-12とIL-12R間のアフィニティーに関与しているのかもしれない。

また、イントロン部分に存在するSNPはmRNAの発現量に影響を与えることが知られていることから、今後これら検出されたイントロン部のSNPとIL-12Rb1 mRNA発現量との関係を調べる必要があると考えられる。

#### E. 結論

IL-12存在下における活性化T細胞のIFN-g産生量の違いは、ハンセン病に対する疾患感受性を規定する。しかし、ハンセン病患者の病型成立機序に対しては関係ないものであることが示唆された。また、この産生量の違いはIL-12Rb1遺伝子上の多型性に起因するものかもしれない。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Oyaizu, K., Ohyama, H., Nishimura, F. et al. Identification and characterization of B-cell epitopes of a 53-kDa outer membrane protein from *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol. Immunol.* 16: 73-78, 2001

2) Takahashi, K., Ohyama, H., Kitanaka, M. et al. Heterogeneity of host immunological risk factors in patients with early-onset periodontitis. *J. periodontol.* in press, 2001

##### 2. 学会発表

1) Ohyama, H., Takashiba, S., Oyaizu, K. et al. T-cell epitopes involved in immune responses of early-onset periodontitis patients. 78th International Association for Dental Research, *J. Dent. Res.*, 79 (Special Issue), 522, 2000.

2) Ohyama, H., Meguro, M., Takeuchi, K. et al.

1. Fibroblastic cells produce cytokines by signaling through HLA class II molecules without inducing T-cell proliferation. 第30回日本免疫学会, 日本免疫学会総会・学術集会記録 30, 318, 2000.

3) Ohyama, H., Matsushita, S., Hatano, K. et al. The assessment of T cell response to IL-12 in humans with leprosy. 35th US-Japan Cooperative Medical Science Program Tuberculosis-Leprosy Research Conference, 35th US-Japan Conference on Tuberculosis/Leprosy, 88-92, 2000.

4) Ohyama, H. Immunogenetics of HLA class I polymorphism on the susceptibility to periodontal disease. 48th Japanese Association for Dental Research, Program of Abstracts of Papers, 79, 2000.

5) 大山秀樹. 歯周病における免疫防御機構に果たすHLAクラス・分子の役割. 第43回秋季日本歯周病学会, 日本歯周病学会会誌 42 秋季特別号 44, 2000.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

厚生省科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

らい菌のリン脂質合成酵素に関する研究  
— ホスファチジルセリン合成酵素について —

分担研究者 前田伸司 大阪市立大学大学院医学研究科感染防御学 助手

研究要旨

抗酸菌では、ホスファチジルセリンは痕跡程度しか検出されない。しかし、膜に存在するホスファチジルエタノールアミンが、ホスファチジルセリンから生合成されることから、このホスファチジルセリン合成酵素は、抗酸菌が増殖する際に必要な、膜を形成する過程において重要な酵素であると考えられる。そこで、報告されているらい菌の遺伝子データベースを利用してコードする遺伝子の特定を試みた。*Mycobacterium smegmatis* をホストとして、候補となる遺伝子を発現させたところ、*pss* をコードする遺伝子を発現させた場合に、膜画分中にコントロールの比活性よりも高いホスファチジルセリン合成酵素活性が検出された。また、この酵素は、界面活性剤の Triton X-100 存在下で、pH 8.0 で最大活性を持つことが明らかになった。

A. 研究目的

リン脂質の一種であるホスファチジルイノシトール (PI) は、単に生体膜を構成する因子としての機能だけではなく、抗酸菌においてはリポアラビノマンナン等の細胞壁を構成する物質の細胞表面上のアンカーとして働いており、菌の生存に重要な物質であることが報告されている。また、抗酸菌でリン脂質の成分分析を行うとマンノースが結合した PI が最も多く存在し、ホスファチジルセリン (PS) は、痕跡程度しか検出されない。しかし、知られている合成経路上、比較的多く存在するホスファチジルエタノールアミン (PE) が、PS から生合成されることから、このホスファチジルセリン合成酵素 (PSS) は、菌が増殖する際に必要な膜を形成する過程において、重要な酵素であると考えられる。そこで、報告されているらい菌の遺伝子データベースを利用して、コードする遺伝子の特定を行った。次に、リコンビナント PSS を使って、その生化学的な性質を検討した。

このようにらい菌が生体内で増殖するために必要な酵素で、将来的に薬のターゲットとなる酵素反応を見出すことによって、らい菌を含めた抗酸菌感染症に対する新しい治療薬の開発を目指して、研究を進めている。

B. 研究方法

発現ベクターの構築：遺伝子をデータベースから選び出し、プライマーを合成して

*Mycobacterium leprae* (Thai-53 株) のゲノム DNA を鋳型とした PCR で、それぞれの遺伝子を増幅した。増幅した遺伝子は大腸菌と抗酸菌とのシャトルベクターである pMV261 に挿入し、発現ベクターを構築した。

*M. smegmatis* の形質転換：*M. smegmatis* mc<sup>2</sup> 155 をグリセロール処理して作製したコンピテント細胞にエレクトロポレーション法 (2500 V、25  $\mu$ F、800  $\Omega$ ) で構築したベクターを導入した。その後、カナマイシン (25  $\mu$ g/ml) 入り LB プレートで 3 日間培養しコロニーを得た。

*M. smegmatis* の培養：*M. smegmatis* の培養は、25  $\mu$ g/ml の濃度のカナマイシンを含む Sauton 培地で 600nm の吸光度が 0.7-1.0 になるまで数日間培養した。

菌の破碎と細胞分画：超音波破碎機で菌を破碎後、15,000 rpm で 30 分間遠心し、上清と沈殿を得た。沈殿に最終濃度が 60% となるように Percoll を加えて分画し、P60 画分を、上清は 10 万 x g で 60 分間遠心し、膜画分とサイトゾール画分を調製した。

ホスファチジルセリン合成酵素活性の測定：0.1 mM L-[<sup>14</sup>C]-Serine (3.5 x 10<sup>5</sup> cpm/ $\mu$ mol), 0.15 mM CDP-diacylglycerol, 1 mM DTT, 0.1 % Triton X-100, 10 mM MgCl<sub>2</sub> を含む 100 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4)、50  $\mu$ l 中に各画分 (蛋白量で 0.1-0.4 mg) を加え 37°C で 60 分間反応させ、生成した PS をクロロホルム/メタノール(2:1, v/v) 溶液で抽出し、有機溶媒中の放射活性をトップカ

ウント（パッカー社）で測定した。

### C. 研究結果

*Escherichia coli* や *Saccharomyces cerevisiae* での研究から、リン脂質の合成に関与する酵素は一次構造上“D-G-x(2)-A-R-x(8)-G-x(3)-D-x(3)-D”という共通構造を持っていることが報告されている。らい菌のデータベース上には、このコンセンサスシーケンスをもつ4種類の遺伝子（pgs : CAB09618/Z96801; pgs1 : CAA15476/AL008609; pgs2 : CAB08118/Z94723; pss : CAA22696/AL035159）があることから、それらの遺伝子を *M. smegmatis* で発現させ酵素活性を測定した。pgs1 については、PI 合成酵素として、既に特定できていることから、それ以外の3種類の遺伝子について検討を行った。

得られた変換体から調製した P60 画分、膜画分及びサイトゾール画分についてホスファチジルセリン合成酵素活性を測定した。コントロールのインサートの入っていないベクターのみの場合と比べて、pss 遺伝子を発現させた場合 P60 画分では 2.3 倍、サイトゾール画分で 2 倍、膜画分では 4.2 倍程度の比活性の上昇がみられた。一方、他の遺伝子を発現させた場合では、比活性がコントロール値の最大で 1.3 倍程度であった。このことは、pss 遺伝子が PSS をコードしていることを示唆している。また、発現した PSS は、主に膜画分に分泌された。

次に、この pss 遺伝子を発現させた *M. smegmatis* の膜画分を使って PSS の最適 pH を調べたところ 0.1 % Triton X-100 存在下では pH 8.0 で最大活性が得られた。

### D. 考察

本研究から、発現したリコンビナント PSS は、*S. cerevisiae* や *Bacillus subtilis* などで報告されているように、膜画分に分泌されることが確認された。しかし、P60 画分でもサイトゾール画分でも比活性がコントロールに比べて2倍以上高かった。これは、細胞分画の際のコンタミネーション、あるいは、PSS が過剰に発現した結果、本来存在すべき画分以外にも分泌されたなどが考えられる。一方、*E. coli* の PSS は膜結合型

ではなく、リボゾーム結合型の酵素として報告されている。今回の分画法では、リボゾーム結合型の蛋白質は、P60 画分に分画される。そのため、らい菌の PSS もリボゾーム結合型酵素で、本来は P60 画分に分画されるという可能性を全く否定することはできない。今後、抗体を作製して免疫染色などを行い菌内での存在位置などの確認を行う必要があると考えられる。

また、このらい菌の PSS は界面活性剤存在下において pH 8.0 で最大活性を持っていた。報告されている *E. coli*、*S. cerevisiae*、*B. subtilis* の PSS は pH 7.4 から 8.5 に最大活性を持つことが報告されており、らい菌の PSS もこの範囲内に入っていた。以上のように、PSS の存在場所に関しては、異なる場合があるが、その生化学的性質はあまり変わらないものと考えられる。

抗酸菌のリン脂質中に含まれる PE が PS の脱炭酸によって合成されることから、この PSS の発現とその活性は菌の増殖に密接に関連し、非常に重要であると考えられる。今後、このリコンビナント蛋白質の精製を行い、らい菌 PSS の性質等の検討を行うと同時に、PSS が微生物にとって必須な酵素かどうか、遺伝子をノックアウトした変異株を作製し、明らかにしたいと考えている。

一方、ほ乳類では、微生物と同様に PS の合成は、ホスファチジルセリン合成酵素が触媒する。しかし、微生物の PSS は、CDP-ジアシルグリセロールとセリンから PS が生じる反応であるのに対して、ほ乳類の PSS は、ホスファチジルコリン (PC) とセリンから PS を合成するホスファチジルセリン合成酵素タイプ 1 (PSS1) と PE とセリンから PS を合成するタイプ 2 (PSS2) の 2 種類があり、これらは交換反応で PS を合成する酵素である。このように同じ PSS という名前を使い PS が合成される反応であるが、微生物とほ乳類の PSS では、全く異なる反応を触媒する酵素である。

また、ほ乳類では、微生物の PSS に相当する反応を行う酵素の存在は未だに報告されていない。そのため、この微生物の PSS に対する阻害剤は、らい菌を含めた抗酸菌あるいは微生物感染症の治療薬として、利用できるものと考えられる。

## E. 結論

らい菌のホスファチジルセリン合成酵素をコードする遺伝子を特定し、その酵素が膜画分に分泌される可能性が高いことを明らかにした。また、その性質を調べると、他の微生物で報告されている性質とほぼ同じであった。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Matsuoka M., Maeda S., Kai M., Nakata N., Chae G.T., Gillis T.P., Kobayashi K., Izumi S., Kashiwabara Y. : *Mycobacterium leprae* typing by genomic diversity and global distribution of genotypes. Int J Lepr Other Mycobact Dis. 68: 121-128. 2000.

### 2. 学会発表

前田伸司、中田登、甲斐雅規、橋本研、前田百美、柏原嘉子：らい菌のホスファチジルイノシトール合成酵素 (PIS) の発現と性質. 第 73 回日本細菌学総会 (札幌)、5 月、2000.

Jamal A.Mohamed, Maeda S., Nakata N., Kai M., Kashiwabara Y., Gopalakrishnakone P. : Characterization of macrolides drug resistant mutants of *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium fortuitum*. 7th Western Pacific Congress of Chemotherapy & Infectious Diseases. Hong Kong (China), Dec. 2000.

## 別紙5

## 研究成果の刊行に関する一欄表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
牧野正彦	HTLV-I 感染症 (ATL/HAM)	茂田士郎 満屋裕明	ウイルス感染症との戦い	医薬ジャーナル社	大阪市	2000	285-295
牧野正彦	HTLV-I 関連脊髄症 (HTLV-I-associated myelopathy; HAM) 熱帯性痲痺性脊髄対麻痺 (tropical spastic para-paresis; TSP). 免疫症候群.	矢田純一	免疫症候群	日本臨症	大阪市	2000	9-12
岩田 誠	辺縁系の症候学	板倉徹 前田敏博	大脳辺縁系. 神経科学の基礎と臨床 VIII,	ブレーン出版	東京	2000	63-70
大山秀樹	宿主細胞による歯周病病因因子に対する応答 5. T細胞の歯周病性細菌の認識構造の動態.	岡田宏 石川烈 村山洋二	先端医療シリーズ・歯科医学2 歯周病 新しい治療を求めて	寺田国際事務所/ 先端医療技術研究所	東京	2000	309-315
大山秀樹	歯周病予防ワクチンをめぐって 2 生体応答を利用する方法の可能性.	奥田克壘 我孫子宣光 石川烈その他	歯周病学最前線	日本歯科評論社	東京	2000	265-272

雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻名	ページ	出版年
後藤正道 石田 裕 儀同政一 長尾榮治 並里まさ子 石井則久 尾崎元昭	ハンセン病治療指針.	日本ハンセン病学会雑誌	69	157-177	2000
Jamal M. A. Maeda S. Nakata N. Kai M. Fukuchi K. Kashiwabara Y.	Molecular basis of clarithromycin esistance in <i>Mycobacterium avium-intracellulare</i> Complex..	Tuberc. Lung Dis.	80	1-4	2000
Matsuoka M. Maeda S. Kai M. Nakata N. Chae G.T. Gillis T. P. Kobayashi K. Izumi S. Kashiwabara Y.	<i>Mycobacterium leprae</i> typing by genomic diversity and global distribution of genotype.	Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.	68	121-128	2000
Hanawa T. Kai M. Kamiya S. Yamamoto T.	Cloning, sequencing, and transcriptional analysis of the <i>dnaK</i> heat shock operon of <i>Listeria monocytogenes</i> .	Cell Stress & Chaperons	5	21-29	2000
Yamaguchi H. Osaki T. Kai M. Taguchi H. Kamiya S.	Immune response against a cross-reactive epitope on the heat shock protein 60 homologue of <i>Helicobacter pylori</i> .	Infect. Immun..	68	3448-3454	2000
Naka, T. Fujiwara N.	A novel sphingolipid containing galacturonic acid and 2-hydroxy	J. Bacteriol.	182	2660-2663	2000



Yabuuchi E. Doe M. Kobayashi K. Kato K. Yano I.	fatty acid in cellular lipids of <i>Sphingomonas yanoikuyae</i> .				
Hamasaki, N. Isowa K. Kamada K. Terano Y. Matsumoto T. Arakawa T. Kobayashi K. and Yano I.:	In vivo administration of mycobacterial cord factor (trehalose 6,6'-dimycolate) can induce lung and liver granulomas and thymic atrophy in rabbits.	Infect. Immun.	68	3704-3709	2000
Saita N. Fujiwara N. Yano I. Soejima K. Kobayashi K.	Trehalose 6,6'-dimycolate (Cord factor) of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> induces corneal angiogenesis in rats.	Infect. Immun.	68	5991-5997	2000
Lu J. Kasama T. Kobayashi K. Yoda Y. Shiozawa F. Hanyuda M. Negishi M. Ide H. Adachi M.	Vascular endothelial growth factor expression and regulation of murine collagen-induced arthritis.	J. Immunol.	164	5922-5927	2000
Yamagami H. Matsumoto T. Fujiwara N. Arakawa T. Kaneda K. Yano I. Kobayashi K.	Trehalose 6,6'-dimycolate (Cord factor) of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> induces foreign-body- and hypersensitivity-type granulomas in mice.	Infect. Immun.	69	810-815	2001
小林和夫	結核菌感染防御における interleukin 12の役割.	臨床免疫	35	1-7	2001

Makino M. Wakamatsu S. Shimokubo S. Arima N. Baba M.	Production of functionally deficient dendritic cells from HTLV-I-infected monocytes: implication for the dendritic cell defect in adult T cell leukemia.	Virology	274	140-148	2000
植田美加 大田宏平 竹内恵 堤由紀子 岩田誠	慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーに対するインターフェロン- $\alpha$ 2a治療.	臨床神経	40	155-159	2000
清水優子 大田宏平 竹内恵 岩田誠 余郷嘉明	高活性抗レトロウイルス療法が有効であった後天性免疫不全症候群にともなう進行性多巣性白質脳症の1例.	臨床神経	40	821-826	2000
竹内恵 近藤裕美 望月温子 竹宮敏子 岩田誠	血管炎性ニューロパチーの臨床病理学的検討.	東女医大誌	70	330-339	2000
近藤裕美 竹内恵 竹宮敏子 岩田誠	慢性炎症性脱髄性根神経炎における血液浄化療法の有用性について.	東女医大誌	70	354-362	2000
望月温子 竹内恵 近藤裕美 竹宮敏子 岩田誠	多発脳神経麻痺を呈した症例の病因および臨床的特徴について.	東女医大誌	70	363-366	2000
海野聡子 竹内恵 清水優子 近藤裕美 山内真一郎 岩田誠 肥田野求実	血管炎性ニューロパチーを伴った原発性抗リン脂質抗体症候群の1例.	東女医大誌	70	376-382	2000

丸山健二 竹内恵 近藤裕美 大田宏平 山内真一郎 竹宮敏子 岩田誠	上肢主体の非対称性筋力低下を呈した慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー.	東女医大誌	70	417-422	2000
Sasaki S. Komori T. Iwata M.	Excitatory amino acid transporter 1 and 2 immunoreactivity in the spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis.	Acta Neuropathol.	100	138-144	2000
Sasaki S. Yamane K. Sakuma H. Iwata M.	An unusual case of familial amyotrophic lateral sclerosis with extensive involvement and neuronal cytoplasmic inclusions.	Neuropathol. Appl. Neurobiol.	26	398-402	2000
Sasaki S. Shibata N. Komori T. Iwata M.	iNOS and nitrotyrosine immunoreactivity in amyotrophic lateral sclerosis.	Neurosci Lett.	291	44-48	2000
Sawada T. Hashimoto S. Tohma S. Nishioka Y. Nagai T. Sato T. Ito K. Inoue T. Iwata M. Yamamoto K.	Inhibition of L-leucine methyl ester mediated killing of THP-1, a human monocytic cell line, by a new anti-inflammatory drug, T614.	Immunopharmacology	49	285-294	2000
Shi L. Yajima M. Kawatsu K. Matsuoka M. Kashiwabara Y.	Comparison of polymerase chain reaction, immunohistochemistry and conventional histopathology in the diagnosis of early leprosy in Sichuan	Jap. J. Lepr.	69	147-156	2000

Endoh M.	Province of China				
松尾英一	ハンセン病とはいかなる病気か?病理学からみた現代の化学療法(その2)化学療法が本病の主並びに随伴病変に及ぼす影響.	駿河	2000 秋号	2-6	2000
Naito M. Matsuoka M. Ohara N. Nomaguchi H. Yamada T.	The antigen85 complex vaccine against experimental <i>Mycobacterium leprae</i> infection in mice.	Vaccine	18	795-798	2000
Ohara N. Matsuoka M. Nomaguchi H. Naito M. Yamada T.:	Inhibition of multiplication of <i>Mycobacterium leprae</i> in mouse foot pads by recombinant bacillus Carumette-Guerin (BCG).	Vaccine	18	1294-1297	2000
佐伯圭介 Budiawan T. 松岡正典 和泉眞蔵	生活環境中に存在するらい菌の疫学的意義 —Polymerase Chain Reaction を用いたハンセン病濃厚流行地住民の鼻腔表面付着らい菌の検出—.	日本皮膚科学会雑誌,	110	153-156	2000
杉浦典子 松本佳子 伊藤千佳 小塚雄民 河原邦光 倉田明彦 倉知貴四郎 伊藤利根太郎 和泉眞蔵 松岡正典 小林和夫	サリドマイドにより治療したらい性結節性紅斑の1例.	皮膚	42	430-436	2000
Ishii N. Onoda M. Sugita Y. Tomoda M.	Survey of newly diagnosed leprosy patients in native and foreign residents of Japan.	Int. J. Lepr.	68	172-176	2000

Ozaki M.					
石井則久	ハンセン病.	日本皮膚科学雑誌	110	1983-1985	2000
石井則久 杉田泰之	抗酸菌症に関する検査.	Monthly Book Derma	41	140-146	2000
Oyaizu K. Ohyama H. Nishimura F. et al.	Identification and characterization of B-cell epitopes of a 53-kDa outer membrane protein from <i>Porphyromonas gingivalis</i> .	Oral Microbiol. Immunol.	16	73-78	2001
Takahashi K. Ohyama H. Kitanaka M. et al.	Heterogeneity of host immunological risk factors in patients with early-onset periodontitis.	J. Periodontol.,		in press,	2001