

- against *Mycobacterium tuberculosis* both in mouse and guinea pig model. 2005 (submitted)
- 4) 南誠剛, 鈴木克洋, 露口一成, 坂谷光則: *Mycobacterium xenopi*肺感染症の4症例. 結核. 2004;79(4):313-320.
  - 5) 露口一成, 鈴木克洋, 坂谷光則: 高齢者結核・非結核性抗酸菌症の現状と問題点. 非結核性抗酸菌症の診断. 化学療法の領域. 2005;21(2):218-223.
2. 学会発表
- 1) Okada M, Tanaka T, Kuwayama S, Yoshida S, Kita Y, Kanamaru N, Muraki Y, Hashimoto S, Kaneda Y, Ohara N, Yamada T, Inoue Y, Matsumoto M, Gelber R, E.V.Tan, E.C. Dela Cruz, R.M.Abalos, L.J.Young, J.A.Burgos, D McMurray, Y Skeiky, S Reed, Sakatani M: Novel Vaccination (HVJ-liposome/ HSP65 DNA+ IL-12 DNA and Recombinant 72f BCG) Against Tuberculosis Using Cynomolgus Monkey and Plan for Clinical Trial 40th Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Program Tuberculosis and Leprosy Research Conference. 2004;142. Kyoto, Japan
  - 2) Okada M, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Okada M, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Takai H, Okada C, Saito I, Matsumoto M, Sakatani M.: Novel Therapic DNA Vaccination using adenovirus vector / IL-6 DNA + IL-6R DNA + gp130 against Tuberculosis by the Augmentation of in vivo Cytokine Activity. American Association for Immunology. Washington, U.S.A 2004.04
  - 3) Mazurek GH, Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Suzuki K, Shigeto E, Harada N, Mitarai S, Okada M, Inoue Y, Tsuyuguchi K, Sakatani Y, Tsuyuguchi I.: Accuracy of a Whole Blood Interferon-Gamma Release Assay Using ESAT-6 and CFP-10 for Detecting *M. tuberculosis* Infection in BCG Vaccinated People. 2004 International Conference, American Thoracic Society. Orlando, U.S.A. 2004.05
  - 4) Kita Y, Tanaka T, Yoshida S, Ohara N, Kaneda Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Takai H, Okada C, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Inoue Y, Takemoto Y, Naito M, Yamada T, Matsumoto M, Cruz EC, Tan EV, Abalos RM, Young LJ, Burgos JA, Gelber R, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M, Okada M.: NOVEL (RECOMBINANT BCG-AND DNA-) VACCINATION AGAINST TUBERCULOSIS using cynomolgus monkey. 12th International Congress of Immunology. Canada, Montreal. 2004.07
  - 5) Okada M, Takemoto Y, Okuno Y, Hashimoto S, Fukunaga Y, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Takai H, Okada C, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Yoshida S, Matsumoto M, Kase T, Daphne E. deMello, JSM Peiris, Pei-Jer Chen, Yamamoto N, Tanaka T, Kuwayama S, Kita Y, Kanamaru N, Muraki Y, Takai H, Yoshida S, Ohara N, Yamada T, Inoue Y, Gelber R, Tan E, McMurray D, Sakatani M, Okada M.: Novel Vaccine (HSP65 DNA + IL-12 DNA Vaccine and Recombinant 72f BCG Vaccine) Against Tuberculosis.: The Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan. 2004.08
  - 6) Inoue Y, Hashimoto Y, Kobayashi K, Kurokawa E, Okada M, Arai T, Yamamoto S, Sakatani M.: Matrix metalloproteinase (MMP)-2 production in fibroblasts and mast cells: the role in pulmonary fibrosis. European Respiratory Society 2004.

- Glasgow, UK 2004.09
- 7) Kita Y, Tanaka T, Yoshida S, Ohara N, Kaneda Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Takai H, Okada C, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Inoue Y, Takemoto Y, Naito M, Yamada T, Matsumoto M, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, Abalos RM, Young LJ, Burgos JA, Gelber R, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M, Okada M: Novel (Recombinant BCG-And DNA-) Vaccination against Tuberculosis Using Cynomolgus Monkey. 4th World Congress of vaccine and Immunisation. Tsukuba Japan. 2004.09
- 8) 岡田全司, 田中高生, 喜多洋子, 井上義一, 坂谷光則: 結核に対する新しいワクチン(AAVベクターDNA-,rBCG-ワクチン)の開発. 第79回日本結核病学会総会. 名古屋2004.04
- 9) 岡田全司, 田中高生, 喜多洋子, 桑山さち子, 村木裕美子, 金丸典子, 橋元里実, 福永有可里, 岡田知佳, 稲永由紀子, 坂口弥生, 古川いづみ, 山田恭子, 武本優次, 井上義一, 坂谷光則, 松本真, 吉田栄人: 新しい抗結核治療DNAワクチンの開発. 第44回日本呼吸器学会 東京 2004.04
- 10) 喜多洋子, 田中高生, 井上義一, 坂谷光則, 岡田全司: ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた結核に対する新しいDNAワクチン開発 HSP65DNA+IL-12DNAワクチン(2) 第79回日本結核病学会総会. 名古屋 2004.04
- 11) 露口一成, 鈴木克洋, 井上義一, 岡田全司, 木村謙太郎, 小河原光正, 坂谷光則: 結核患者の退院基準について. 第79回日本結核病学会総会. 名古屋 2004.04
- 12) 田中高生, 喜多洋子, 桑山さち子, 村木裕美子, 稲永由紀子, 金丸典子, 橋元里実, 高井寛子, 岡田知佳, 福永有可里, 古川いづみ, 山田恭子, 坂口弥生, 武本優次, 井上義一, 坂谷光則, 松本真, 大原直也, 山田毅, 岡田全司: 新しい抗結核リコンビナントBCG経気道ワクチンの開発. 第44回日本呼吸器学会. 東京 2004.04
- 13) 岡田全司, 田中高生, 吉田栄人, 井上義一, 武本優次, 大原直也, 内藤真利子, 山田毅, 金田安史, 坂谷光則: ヒト結核感染に最も近いカニクイザル及びモルモットを用いた結核に対する新しいワクチン開発と結核免疫誘導. 日本免疫学会総会・学術集会 2004.12
- 14) 富田元久, 鈴木克洋, 坂谷光則, 木下幸保, 小林郁夫: バクテックMGITTM960 ミジットシリーズによる結核菌の薬剤感受性検査の基礎的検討 第79回日本結核病学会総会 名古屋 2004.04
- 15) 露口一成, 吉田志緒美, 源誠二郎, 鈴木克洋, 井上義一, 岡田全司, 木村謙太郎, 林清二, 坂谷光則: 小川比率法・MGIT法でRFP感受性、Line Probe AssayでRFP耐性パターンであった肺結核の3症例. 第93回日本結核病学会第63回日本呼吸器学会近畿地方会. 大阪2004.07
- 16) 岡田全司, 田中高生, 喜多洋子, 桑山さち子, 村木裕美子, 金丸典子, 橋元里実, 高井寛子, 岡田知佳, 福永有可里, 坂口弥生, 古川いづみ, 山田恭子, 井上義一, 坂谷光則, 吉田栄人, 金田安史, 大原直也, 内藤真理子, 山田毅, McMurray D, Mulligan RC, Lee J-S, Zhang HL, Re: ヒト結核感染に最も近いカニクイザルを用いた新たな抗結核ワクチン開発. 第74回実験結核研究会2004.04
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。

分担研究課題 国立病院・療養所呼吸器ネットワークを利用した患者宿主要因の SNPs 解析、T 細胞免疫機能解析、マクロファージ機能解析とこれを利用した治療戦略の開発

資料 1 当施設における多剤耐性結核菌の Variable Number of Tandem Repeats (VNTR) 分析

研究協力者 川城丈夫 国立病院機構東埼玉病院 院長

<研究要旨>

Variable Number of Tandem Repeats (VNTR)分析による多剤耐性 (Multiple drug resistant : MDR) 結核菌の菌株パターンを分析したところ、多数の菌にクラスター形成を認められた。また、パターンが類似している菌株も多く認められた。これらの成績より、MDR 結核菌は接触者感染し結核を発症させる可能性、MDR を獲得しやすい結核菌株が存在する可能性などが示唆される。

A. 研究目的

近年、結核菌遺伝子内の Variable Number of Tandem Repeats (VNTR)の検出による簡便な菌株同定法が可能となった。本法では IS6110 による RFLP とほぼ同等の分解能があり、RFLP でのバンド数が少ない結核菌においても十分な分解能がある。本研究では多剤耐性 (Multiple drug resistant: MDR)結核菌がクラスター形成をするか否かを検討する目的で、当院の MDR 菌の VNTR 分析を実施する。

B. 研究方法

国立病院機構東埼玉病院を受診し結核患者から得られた MDR 菌、および一部のリファンピシン耐性菌の合計 29 結核菌株を対象とした。結核菌 DNA を DNA Zol (Quiagen) kit を用い抽出し、Mycobacterial interspersed repetitive units (MIRU) の 12 カ所および Exact Tandem Repeats (ETA) 4 カ所の VNTR 当該部位 16 ヶ所に対する PCR を HotStarTaq DNA Polymerase (Quiagen)を用い、既報告に準拠したサーマルサイクルプロトコールにて PCR を実施した。PCR 産物を電気泳動し目視的に産物の大きさを判定し、それらより Tandem Repeats の反復回数を求めた。これを 16 桁の数値として表記し、その異同を検討した。

(倫理面への配慮)

現在本研究は倫理審査委員会へ申請準備中である。本研究によって得られる遺伝情報は人由来のものではなく、結核菌のそれであるが、本研究結果と診療録情報を突合する場合

に、倫理的配慮が必要である。当面の間、必要最小限の情報のみを使用する予定である。ただし、本研究で用いる多剤耐性結核患者の相当数が既に死亡しているおり、これらの患者からの同意を得ることは不可能であるのが現実である。

#### C. 研究結果

29 菌株の内、A 群(4 株)、B 群(4 株)、C 群(3 株)、D 群(2 株)、E 群(2 株)からなる 5 つのクラスターが検出された。A 群は他の菌株パターンとの相違は大きかった。B 群と他の群では VNTR が 16 ヶ所中 1 ヶ所のみ異なっていた。3 つのクラスターには初回治療症例が含まれ、2 つのクラスターで初回治療例の方が多かった。家族内感染のクラスターも認められた。

#### D. 考察

VNTR による菌株分析は数値データとして蓄積されるので、データベース化し比較検討することが容易であった。VNTR 部位および表記順序を全国的に統一し、登録システムを構築すれば、分析された菌株の位置づけが容易になると想定される。これは、電気泳動バンドによるパターン認識のみを用いる RLFP 法を凌駕する長所である。

本研究では MDR 菌のクラスター形成が高率に認められ、その中に初回治療例も認められた。この成績は、MDR 菌が接触者へ感染し、MDR 結核を発症する可能性があることを示唆した。

また、クラスター形成率が高く、多くの菌株パターンが類似していることより、MDR 菌相互の遺伝的連関や MDR を獲得しやすい結核菌の存在は否定できないと思われた。

#### E. 結論

今回の成績は、通常の結核菌と同様 MDR 結核菌が接触者に感染し発症する可能性、MDR を獲得しやすい結核菌株が存在する可能性を示唆した。今後、さらなる成績の集積が必要である。

#### F. 健康危険情報

従来、多剤耐性結核は感染力が低下しており、例えば感受性結核患者と同室させても問題ないと考える向きもあった。しかし、同一 VNTR パターンを示す MDR 結核菌が多いという本研究の成績は、感受性結核と同等の感染性を持つことを示唆する。MDR 結核患者のより厳格な隔離を必要である。実際、結核病棟入院中に MDR 結核菌が同室の感受性結核患者に感染し、MDR 結核を発症した例が報告されている。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

**分担研究課題 国立病院・療養所呼吸器ネットワークを利用した患者宿主要因の SNPs 解析、T 細胞免疫機能解析、マクロファージ機能解析とこれを利用した治療戦略の開発**

**資料 2. 多剤耐性結核に対する免疫応答細胞（リンパ球）を用いた新しい治療法の開発.**

研究協力者 四元秀毅 国立病院機構東京病院 院長  
倉島篤行 国立病院機構東京病院 臨床研究部長

<研究要旨>

極めて難治な感染症治療として自己活性化 T 細胞輸注が注目され、NK 細胞増殖をきたす LAK 療法と異なり T 細胞のみの増殖であり副作用が少ない。多剤耐性結核では結核菌に対する宿主免疫応答が低下しており、本法の適応疾患となる可能性が考えられる。排菌持続陽性の多剤耐性結核で、過去 3 ヶ月間に治療薬剤の変更がない患者を対象に、活性化 T 細胞輸注療法の有効性について調べるとともに安全性も確認する。

A. 研究目的

今日、多剤耐性結核は 21 世紀の健康に対する脅威の最大の一つとなる可能性が指摘されている。わが国では 5 年毎に結核療法研究協議会が全国的な耐性菌の調査を行っており 1997 年の報告では、いずれかの薬剤に初回耐性は 10.3%、獲得耐性は 42.4%、全体で 15.5% であり、1992 年報告に比しいずれの指標でみても増加し、世界的規模の WHO surveillance のほぼ中央値よりやや高い状態にいる。

多剤耐性結核の治療成績は極めて悪く、現在の如何なる治療にもかかわらず、少なくとも約 4 割以上の患者が治癒できない現状にある。

活性化自己 T 細胞輸注法は国立がんセンター研究所の関根らにより開発された方法で、自己血中の T 細胞を固相化抗 CD3 抗体とインターロイキン 2(IL-2)の存在下で培養し、約 1000 倍程度に増殖させた後、体内に戻すもので、現在までに、700 症例以上の患者に対し投与が行われ、ホジキン病、肝細胞癌、卵巣腫瘍など様々な腫瘍で縮小効果を認めるとともに、特に治療がきわめて困難な慢性活動性エプスタインバールウイルス(EBV)感染症、免疫不全症に合併した化学療法抵抗性のサイトメガロウイルス(CMV)感染症、カリニ肺炎などに効果が認められた。副作用は反応としての発熱程度であることが多く、強い反応が起きた場合もステロイド剤などでコントロールすることが可能であり、その安全性は東京医科歯科大学においても再確認された。このように T 細胞機能不全がある症例で T 細胞を生体外で活性化、増殖させ、生体内に戻すことにより T 細胞機能を高めることが可能であることが明らかになってきている。結核感染症に対する生体側の防御機構は T 細胞を中心とする細胞性免疫になっている。多剤耐性結核患者では細胞性免疫機能の低下が指摘されており、治

療法のない多剤耐性結核患者に活性化自己 T 細胞輸注法の効果が期待出来る。

## B. 研究計画

菌陽性(塗抹、培養問わず)が持続する多剤耐性結核で、過去6ヶ月に治療薬剤の変更がない患者を対象に、多剤耐性結核患者を対象に、活性化T細胞輸注療法の有効性について調べるとともに安全性も確認する。平成14年春に東京病院、東京医科歯科大学、国際医療センターからなるプロジェクトチームが結成され、免疫不全症に対する活性化T細胞輸注療法を参考にしつつ、多剤耐性結核患者に対する活性化T細胞輸注療法プロトコルを平成14年10月に東京病院倫理委員会に申請・承認を得た。その概要は、以下のとおりである。

1. フェーズ：院内臨床試験〔単施設〕
2. 目的：多剤耐性結核患者を対象に、活性化T細胞輸注療法の安全性と有効性について調べる。
3. 対象：過去3ヶ月持続排菌している多剤耐性結核患者で、過去6ヶ月間治療レジメンの変更がない者。
4. 用法、用量：試験投与：本治療の前に1/10量の活性化T細胞を点滴静注し、有害事象の発現を調べる。副作用がなければ、本投与を開始する。本投与：プロトコル1： $10^9$ 個の自己活性化Tリンパ球を2週間おきに計6回輸注。プロトコル2： $10^9$ 個の自己活性化Tリンパ球を4日おきに計3回輸注。2週間あけて同様の輸注を行う。
5. プライマリ・エンドポイントおよび観察項目。リンパ球輸注開始後3ヵ月間、培養検査で喀痰中の菌陰性状態が持続するものを有効とする。治療後の有害事象の観察、およびCRP、血沈、ツベルクリン反応、末梢血early secreted antigenic target 6 kda protein(ESAT-6)刺激下インターフェロン $\gamma$ 産生能(Quanti FERON-TB test)の変化をみる。

## C. 研究成果

3例の多剤耐性結核患者をプロトコル1に従って治療した。

3例ともに輸注中、輸注後に特記すべき有害事象は見られなかった。排菌量の変化であるが、症例1では治療前に喀痰培養持続陽性であったのが、治療後3ヶ月間、喀痰培養陰性となり、その後再度培養陽性となった。

症例2では、喀痰塗抹培養陽性であったが、治療後喀痰塗抹・培養ともに陰性が治療後5ヵ月間持続し、その後培養陽性となった。

症例3に関しては、全く効果なく、排菌量に変化がなかった。

症例2については、プロトコル2による再治療を行った。治療後2ヶ月間培養陰性となったが、再度陽性となっている。

症例4では、喀痰塗抹、培養陽性であったが、治療後一時塗抹、培養陰性化したのが、培養陽性が出現、その後塗抹、培養陽性となった。

4例において自己活性化 T 細胞輸注中の ESAT-6 刺激インターフェロン $\gamma$ 産生能の増強

が見られた。

#### D. 考察

活性化自己 T 細胞輸注療法は、多剤耐性結核例において輸注期間中の培養での菌陰性を達成した。今日まで試みられた新しい免疫治療法としては国際的に IFN- $\gamma$  吸入療法が試みられてきたが、多剤耐性結核において喀痰塗抹の陰性化は得られてきたが、培養結果の陰性化は得られていない。その点で本法はより有効性が高いと言えるが、今までの試みと同様、効果は投与中の一過性のものにとどまった。

今後、投与量、投与回数、投与間隔の新たな検討を行う予定である。

#### E. 結果

治療法の無い多剤耐性結核に活性化自己 T 細胞輸注療法は一定の可能性が認められた。

#### F. 健康危険情報

これらの検討において重篤な副作用は認めなかった。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- 1) 鈴木純子、川辺芳子、土屋香代子、益田公彦、田村厚久、永井英明、赤川志のぶ、長山直弘、町田和子、倉島篤行、四元秀毅、藤田由希子：抗酸菌症血清診断の有用性の検討。第 79 回日本結核病学会 名古屋。
- 2) 川辺芳子、鈴木純子、益田公彦、齊藤若奈、原弘道、宮本牧、土屋香代子、永井英明、長山直弘、赤川志のぶ、町田和子、倉島篤行、四元秀毅、原田登之、樋口一恵：新しい結核感染診断キット QuantiFERON TB の臨床評価 とくに判定基準の検討。第 79 回日本結核病学会 名古屋。
- 3) 川辺芳子、鈴木純子、益田公彦、原弘道、齊藤若奈、永井英明、赤川志のぶ、町田和子、倉島篤行、四元秀毅、森亨、原田登之：結核感染診断キット QuantiFERON-TB の有用性の検討。第 44 回日本呼吸器学会総会 東京。

#### H. 知的財産の出願・登録状況

未定



分担研究課題 国立病院・療養所呼吸器ネットワークを利用した患者宿主要因の SNPs 解析、T 細胞免疫機能解析、マクロファージ機能解析とこれを利用した治療戦略の開発

資料 3. 大阪における多剤耐性結核の分子疫学解析  
- 全国規模の多剤耐性結核菌データベース構築に関する研究 -

研究協力者 松本 智成 大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター  
結核内科診療主任

A. 研究目的

結核菌の分子疫学タイピング法の出現により疫学、接触者検診等の結核の公衆衛生学的手法がより客観的、分析的になった。大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターでは 2001 年から多剤耐性結核菌株約 140 株を含む培養陽性 1300 株以上の結核菌株の RFLP タイピングを行っている。今まで感受性結核菌より感染力の低いとされてきた多剤耐性結核でも 10 人からのクラスター構成要素をもつ菌株が存在する事、大阪における多剤耐性結核菌株のクラスター形成率は、対応する感受性結核菌株とほぼ同等の 27%であることが IS6110 RFLP を用いた解析で明らかになった。

分子疫学解析においてこのように有用な IS6110 RFLP であるが、解析に多量の生きた結核菌を必要とするため数週間の培養を要し解析に時間がかかる、操作に熟練を要する、また施設内および施設間再現性が低いという問題点もあり広域データベース構築には不向きである。この再現性の低さは臨床検体を個々のコロニーに分離して RFLP を行うと、個々のコロニーには少しずつ異なった RFLP パターンを有する菌株が含まれており、その菌群の臨床検体内での数量によりタイピングパターンが変化することが判明した(Matsumoto et. al, Tuberculosis *in press*)。このことは IS6110 RFLP パターンの再現性の低さは測定法の制度管理では改善出来ない事を示している。従ってこの再現性の低さが逆にクラスター形成の低さをもたらし、上記クラスター形成率を低く見積もっている可能性がある。

IS6110 RFLP の問題点を解決する方法として、より迅速で再現性の良い PCR ベースの解析法が考案されており、その代表的な解析法にスポリゴタイピング、VNTR (MIRU-VNTR も含む)がある。

大阪における多剤耐性菌のタイピング方法で、IS6110 RFLP 解析、スポリゴタイピング、VNTR のいずれが適しているか検討するために当院で入手した多剤耐性結核菌株の各種タイピングを行い、広域結核菌データベース構築にどのタイピング方法が適しているかを明らかにする事を目的とした。

B. 研究方法

1993 年から当院で得られた多剤耐性結核菌株を IS6110 RFLP, スポリゴタイピング、16

多型反復部位による VNTR を行い、解像度を Hunter の提唱した Discriminatory Index にて比較した。尚、全菌株の保管並びに解析の同意は文章にて得ているし、提供者の個人情報は院外に出してはいない。

### C. 研究結果

当院で得られた結核菌をスポリゴタイピングすることにより、75%が北京株であること、また IS6110RFLP にて5本バンド以下の菌株においては SpolDBIII 未公表の特徴的なスポリゴタイピングパターンを有する大阪株が存在する事を見いだした。大阪ファミリーのスポリゴタイピングの特徴は、5-8 番および 33-36 番の欠損が必須であることと、理想的には 13 番の欠損である。またスポリゴタイピングの解像度は大阪の菌株の 75%が北京型であることならびに、IS6110RFLP バンドが5本以下の菌株においても大阪型が 80%を占め、期待されたほどには IS6110RFLP に比べ解像度は高くなかった。

これらの問題解決法の一つに西森が提唱した ETR 領域と MIRU 領域をあわせた 16 多型反復部位を用いた VNTR (16VNTR) がある。142 株の多剤耐性結核菌株を用いて IS6110RFLP と、ETR-VNTR, MIRU-VNTR, 我々の使用している 16 部位の多型反復配列を用いた 16VNTR とスポリゴタイピングを Hunter 等の提唱した Discriminatory Index で解像度を比較した。この Discriminatory Index は、D 値が 1 に近づくほど解像度が高いと判断する。スポリゴタイピングで  $D=0.76$ , ETR-VNTR で  $D=0.980809$ , MIRU-VNTR で  $D=0.985472$  であり、我々の使用している 16VNTR は、IS6110 RFLP の  $D=0.988912$  にかなり近く  $D=0.98696$  であることがわかった。

既存の ETR-VNTR および MIRU-VNTR は、結核低蔓延地域では識別能は IS6110RFLP と比較して充分かもしれないが結核中等度蔓延地域である大阪での解像度は IS6110RFLP と比較してかなり低かった。16 個の多型反復部位を用いると解像度にて IS6110 RFLP にやや劣るもののほぼ同等であることが明らかになった。

さらに上記結核菌タイピング法にて明らかになった事は、現在蔓延中の多剤耐性結核菌株群の存在である。今回の 16VNTR 解析にて、3 種類の系統的に近い菌株のおのおの 10 人以上のクラスター形成が確認出来た。これは、感染力の強い多剤耐性菌の存在ならびにその蔓延を示している。現に当院において初回多剤耐性結核菌感染患者の存在は大きな問題の一つである。

### D. 考察

結核の感染、発病は年単位で起こる事が多く、十年以上たってから発病する事も報告されている。なるほど IS6110RFLP には、過去の膨大なデータの蓄積がある。しかしながら再現性の低さならびにそれから派生する解像度の高さを考慮すると IS6110RFLP では、過去のデータの中から目的とする菌株を抽出出来ない可能性がある。従って結核菌データベース構築する際、デジタルデータである VNTR の方が過去の膨大なデータからのスクリーニング比較という点で IS6110RFLP よりも優れていると考えられる。また、全国規模の結

核菌データベース構想も IS6110 RFLP から 16VNTR へ切り替えを考えなければならない時が来ていると思われる。

多剤耐性結核は不適切な治療にて作らない事が大前提の一つであるが、四剤による標準化学療法の提唱ならびに啓蒙にて新たな耐性化は減少している。それよりも今後は多剤耐性結核そのものの感染による初回多剤耐性結核が問題になってくると予想される。不適切な加療による多剤耐性結核菌は耐性度も低い事が多く、まだ加療が成功する可能性があるが、初回多剤耐性金は、多剤耐性結核と判明した時点で耐性度が高く使用出来る薬剤がほとんどない場合が多い。さらに中国、ロシア、東ヨーロッパ、東南アジアにおける多剤耐性結核の広がりとう国際化を考慮すると多剤耐性結核菌の外国株の国内流入も予想され、今後ますます増えてくると判断する。今後多剤耐性結核感染ならびにその発病サーベランスが今までに増して要求されると考える。

## E. 結論

多剤耐性肺結核は、感受性結核菌に比べ適切な治療法が無いばかりではなく治療費が高く、さらに入院日数も長い。また、治療終了後も社会復帰が難しく、患者本人だけではなく社会的にも経済的損失が大きい。従って、現時点では治療法よりもいかに感染を防ぐかという公衆衛生学的手法に依存することの大きい疾患である。

我々は昨年 VNTR を用いた喀痰からの迅速 VNTR を発表し耐性結核菌患者と接触歴があり VNTR パターンが等しければ同じ感受性である可能性が高く、迅速感受性予想にも有用であると発表した。迅速タイピングが出来る全国規模の多剤耐性結核菌 VNTR データベースを構築し感染様式を系統的に解析把握し、感染源の検出、感染源となっている客観的な根拠を明らかにする事により、その隔離が容易になり多剤耐性結核のさらなる感染拡大を防ぐ事ができる。

## F. 健康危険情報

結核薬感受性結核菌感染患者に対しては、入院期間短縮の動きが見られるが、こと多剤耐性結核菌に関しては感染力の強い多剤耐性菌の存在ならびにその感染、蔓延が確認されたことより、多剤耐性結核患者の早期発見ならびに感染経路の究明。ならびに感染源患者の強制力を含む入所策を検討しなければならない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Tomoshige Matsumoto, Hiromi Ano, Takayuki Nagai, Katsura Danno, Tetsuya Takashima, Izuo Tsuyuguchi: IS6110 DNA fingerprinting analysis of individually separated colony, Tuberculosis. *in press.*

### 2. 学会発表

- 1) 松本智成、阿野裕美、永井崇之、團野桂、韓由紀、高嶋哲也、露口泉夫、西森敬 VNTR(Variable Number of Tandem Repeats)解析による結核菌株の喀痰からの直接迅速 genotyping. 第 79 回日本結核病学会 名古屋.
- 2) 阿野裕美、松本智成、谷川信子、永井崇之、團野桂、韓由紀、河原邦光、高嶋哲也、露口泉夫：当院で培養陽性となった結核菌株のスポリゴタイピング解析結核. 第 79 回日本結核病学会 名古屋.
- 3) 阿野裕美、松本智成、谷川信子、永井崇之、團野桂、韓由紀、河原邦光、高嶋哲也、露口泉夫 RFLP 解析による結核再感染率の検討. 第 79 回日本結核病学会 名古屋.
- 4) 松本智成、阿野裕美、高嶋哲也、露口泉夫 抗酸菌検査法の臨床への応用 RFLP 等の分子疫学. 第 79 回日本結核病学会 名古屋.
- 5) 松本智成、阿野裕美 VNTR(Variable Number of Tandem Repeats)解析を用いた結核菌株の喀痰からの直接迅速 genotyping 集団感染のリアルタイムモニターリングを目指して. 第 78 回日本感染症学会 東京.
- 6) 松本智成、阿野裕美、永井崇之、團野桂、韓由紀、高嶋哲、露口泉夫 当院・当該地域における多剤耐性結核菌の分子疫学解析. 第 92 回日本結核病学会近畿支部会 大阪.
- 7) 阿野裕美、松本智成、河原邦光、鳥羽宏和、高嶋哲也、露口泉夫 多剤耐性結核患者に、北京遺伝子型の結核菌が重複感染した 1 例. 第 92 回日本結核病学会近畿支部会 大阪.
- 8) 永井崇之、團野桂、松本智成、韓由紀、高嶋哲也、露口泉夫 多剤耐性肺結核症の治療成績について. 第 92 回日本結核病学会近畿支部会 大阪.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 分担研究課題 国立病院・療養所呼吸器ネットワークを利用した患者宿主要因の SNPs 解析、T 細胞免疫機能解析、マクロファージ機能解析とこれを利用した治療戦略の開発

### 資料 4. 外来性再感染発病とその発生頻度に関する分子疫学的検討

研究協力者 鈴木 克洋 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター  
臨床研究センター 部長

#### A. 研究目的

結核治療の要である INH と RFP に耐性の多剤耐性結核は基本的に難治でありその治療と管理には難渋することが多いため、これ以上患者を増加させないことが重要である。そのためには患者の大部分を占める再治療例中に、新たに多剤耐性菌に再感染した事例がどの位含まれているかを検討する事が必要である。

従来再治療例は、治療の失敗により耐性菌が誘導された獲得耐性であると判断されてきた。しかし最近我々は結核治療中に多剤耐性菌が院内で再感染し発病した事例を経験した。再治療例の中に未使用薬まで耐性化している症例を少なからず経験しており、再感染により多剤耐性結核を発病している症例が想像以上に多い可能性がある。そこで当院に保存されている多剤耐性結核菌株に対して分子疫学的検討を昨年に引き続き実施しクラスター形成率を算定するとともに、今年度は新たに全剤感受性菌に対して同様の検討を行い、両者の比較分析を行い、多剤耐性結核菌の感染・発病様式の特徴を探ることとした。

#### B. 研究方法

当院研究検査科に 2000 年以降保存されている結核菌株に対して、通常の方法で、RFLP とスポリゴタイピングを実施した。バンドの解析は molecular analyst soft ware (Bio-Rad 社)のダブルゲルアナリシス法を用いた。当該研究は保存菌株を用いるのみで、菌株由来患者の臨床データとの関連は一切検討しないので、特に倫理面で配慮する必要はない。

#### C. 研究結果および考察

まず当院で経験した再感染を含む多剤耐性結核の院内集団感染事例の概要を述べる。初発患者は 56 歳男性の初回多剤耐性肺結核で、INH と RFP 以外に多くの薬剤に耐性を示している。巨大空洞があり、咳も強いため多量排菌が続いていた。この患者から 2 つの病院で、患者家族 1 名、担当した看護師 2 名、接触のあった全剤感受性結核で治療中であった入院患者 2 名に後に多剤耐性結核が発症した。全員から検出した結核菌の薬剤感受性パターン、RFLP パターン、spoligotyping pattern が一致し、初発患者から感染・発病した可能性が高いと考えられている。

従来の予想に反して多剤耐性結核の一部に感染性の高い株があることが予想されたので、

当院に保存している多剤耐性結核菌 109 株の RFLP による分析を実施した。109 株中 42 株が 12 のクラスターを形成した。クラスターの最大のもは 10 株が所属しており、全体のクラスター形成率は 38.5%であった。一方全剤感受性結核菌 226 株に同様の検討を実施したところ、クラスター形成率は 37.2%であった。Spoligotyping において感染力が強いと言われている Beijing family の占有率は、多剤耐性で 76.1%、全剤感受性で 79.6%となった。今回の検討から多剤耐性結核菌の感染様式が全剤感受性菌と大きく変わらない可能性が示唆された。従来多剤耐性結核菌は感受性結核菌に比べて感染力が弱いと漠然と考えられてきたが、今回の結果はそのドグマが必ずしも正しくないことを示唆しており、今後の結核院内感染対策を考える上で重要な結果である。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, Shigeto E, Harada N, Mitarai S, Okada M, Suzuki K, Inoue Y, Tsuyuguchi K, Sasaki Y, Mazurek GH, Tsuyuguchi I.: Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med.170(1):59-64, 2004.
- 2) 鈴木克洋、坂谷光則：高齢者結核 特集「結核の現状と薬物療法」. 医薬ジャーナル 40 (2) : 754-759, 2004.
- 3) 鈴木克洋、坂谷光則：高齢者の結核. 日本医師会雑誌 132 (1) : KM77-KM80, 2004.
- 4) 四元秀毅、米丸亮、鈴木克洋：若年者結核の種々相. 呼吸 23 (10) : 788-795, 2004.

### 2. 学会発表

鈴木克洋：核酸増幅法 <合同教育プログラム 肺結核の新しい診断法の臨床的評価>  
第 44 回日本呼吸器学会総会 東京.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 分担研究課題 国立病院・療養所呼吸器ネットワークを利用した患者宿主要因の SNPs 解析、T 細胞免疫機能解析、マクロファージ機能解析とこれを利用した治療戦略の開発

### 資料 5. 国立病院・療養所呼吸器ネットワークを利用した患者宿主要因の SNPs 解析、T 細胞免疫機能解析、マクロファージ機能解析とこれを利用した治療戦略の開発

研究協力者 岡田全司 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター  
結核研究部長

#### <研究要旨>

1. 多剤耐性結核患者（国立病院機構政策医療呼吸器ネットワークを利用した）リンパ球を用いた新しい技術 SNPs 解析法による多剤耐性結核の診断法を開発するとともに、新しい治療法を開発するプロジェクトを理化学研究所と共同研究ですでに開始した。（すでに非定型抗酸菌症の project で実績あり）すでに国立病院機構東京病院 四元秀毅院長、大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 露口泉夫院長、国立病院機構福岡東病院 原信之院長、国立病院機構愛媛病院 西村一孝副院長、国立病院機構山陽病院 中田大志院長、国立病院機構東埼玉病院 川城丈夫院長と共同研究で各々の病院で倫理委員会の許可を受けた後、多剤耐性結核患者の血清 48 例を集めた。目標症例 多剤耐性結核患者 100 例～200 例、薬剤感受性結核患者 100 例～200 例。
2. 理化学研究所（京大教授）白川太郎博士との共同研究で多剤耐性結核患者 末梢血 48 例を解析した。健常人対照者 270 例と薬剤感受性結核患者 270 例と ①候補遺伝子解析及び ②薬剤遺伝子解析を行った。まず、細胞内寄生性病原体への選択的易感染性に関する“Mendelian susceptibility to mycobacterial disease(MSMD)” 遺伝子群の候補遺伝子解析を行った。その結果、①多剤耐性結核(MDR-TB)患者では NRAMP1 の SNPs パターン(Asn 543 Asp)に違いが認められ、MDR-TB 患者では菌の細胞内処理の違いが関係する可能性が示唆された。②全ゲノムにおける薬剤感受性については 2000 個の薬剤遺伝子の中のチトクローム P450 系の遺伝子 700 個について解析した。CPY1A1 遺伝子で可能性が得られた。ただサンプル数が種々の統計解析できうるには、もっとたくさんのサンプルが必要である。
3. (政策医療呼吸器ネットワークを利用した) 多剤耐性結核と T 細胞免疫機能解析（結核菌殺傷蛋白等）による新しい多剤耐性結核予防法及び治療法の開発。すでに、結核菌殺傷タンパク granulysin の定量的アッセイの系を確立した。さらにキラーT 細胞から産生される killer secretory37 (KSP37)タンパクの定量アッセイの系も作製中である。Transgenic マウスも作製した。これを用い結核菌に対するキラー活性が示唆された。
4. 政策医療呼吸器ネットワークを利用した、種々の多剤耐性結核菌によるマクロファージ機能調節機構（SR や TLR 等の発現調節）の解明とこの作用機序解明による新しい診断

法、治療法の開発 → 多剤耐性結核菌を岡田に送付 → すでに多剤耐性結核菌では TLR 4 の認識からエスケープする可能性を初めて明らかにした。

#### A. 研究目的

多剤耐性結核の新治療方式の開発：これまで明確な成果の上がない免疫療法や姑息的化学療法に一大進歩を印する可能性がある。すなわち、結核や抗酸菌症分野では分担研究者が理研などとの共同でこれまで明確な成果の上がない免疫療法に一大進歩を印する可能性がある。また分担研究者の病院は呼吸器疾患の国療ネットワークの全国中核病院として、全国規模で症例にアクセスできる立場にある。したがって、①多剤耐性結核患者（国立病院機構政策医療呼吸器ネットワークを利用した）リンパ球を用いた新しい技術 SNPs 解析法による多剤耐性結核の診断法を開発するとともに、新しい治療法を開発する。理化学研究所との共同研究で行う。（すでに非定型抗酸菌症の project で実績あり）②（政策医療呼吸器ネットワークを利用した）糖尿病合併に伴う多剤耐性結核患者の血糖調節ホルモン・サイトカインの測定と T 細胞免疫機能解析（結核菌殺傷蛋白等）による新しい多剤耐性結核予防法及び治療法の開発 ③政策医療呼吸器ネットワークを利用した、種々の多剤耐性結核菌によるマクロファージ機能調節機構（SR や TLR 等の発現調節）の解明とこの作用機序解明による新しい診断法、治療法の開発 ④政策医療呼吸器ネットワークを利用した多剤耐性結核治療における新しい治療薬（IFN- $\gamma$  吸入療法や新規化学療法剤）の治療効果の解析。

#### B. 研究方法

1. 多剤耐性結核性菌症で、既存の肺病変の有無は問わない。原則、説明と同意の可能な症例を対象とするが、本人に説明と同意が不十分であると客観的に判断される場合、本人とともに代諾者（保護者、家族）の同意を得る。呼吸器ネットワーク関連施設等で試料提供施設を追加していくことにより、最終的に 100 例～200 例の集積を目標とした。説明文書、同意文書を用いて、インフォームド・コンセントを取得し、EDTA 採血にて 7ml 採取し、理化学研究所に 7ml を 1 本送り DNA、血漿、必要に応じリンパ球を保存した。保存された DNA で遺伝子解析を行い、血漿で蛋白等の発現を確認する。理化学研究所での遺伝子解析は主として、肺の感染防御、免疫応答に関係する遺伝子群について、その遺伝子配列の個人差（遺伝子多型）を明らかにして、患者集団と健常集団とで比較検討し、それら遺伝子多型が疾患発症や疾患の難治性に関わる度合いを明らかにする（候補遺伝子アプローチ）。100 例の症例の集積が達成された場合、候補遺伝子アプローチに加え、全ゲノム上に分布する SNP ないし多型性を有するマイクロサテライトを遺伝マーカーとして（3 万マイクロサテライトマーカー）、統計学的に疾患群に関係の深い遺伝子領域を全染色体上から網羅的かつ段階的に絞り込む、全ゲノムアプローチを展開し、最終的に疾患と関連する遺伝子の多型を見いだす。本研究の遺伝子解析の対照となる健常人については、理化学研究所にてすでに同意のもとに得られた血液試料から得られ、連結不可能匿名化された検体の



DNAを用いる。新たに対照を追加する場合は、文書による同意を得た後、血液試料を集積した。

2. granulysin の測定は抗 granulysin 抗体 (ポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体) を用いて行った。Ksp37 測定も Ksp37 抗体を用いて解析した。

3. TLR2(-/-)マウス、TLR4(-/-)マウス及び MyD88(-/-)、SR (-/-)マウス、Lox(-/-)マウス等を多剤耐性結核菌を用いて解析した。

### C. 研究結果

1. 多剤耐性結核患者 (国立病院・療養所政策医療呼吸器ネットワークを利用した) リンパ球を用いた新しい技術 SNPs 解析法による多剤耐性結核の診断法を開発するとともに、新しい治療法を開発するプロジェクトを理化学研究所と共同研究ですでに開始した。(すでに非定型抗酸菌症の project で実績あり) すでに国立病院機構東京病院 四元秀毅院長、大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 露口泉夫院長、国立病院機構福岡東病院 原信之院長、国立病院機構愛媛病院 西村一孝副院長、国立病院機構山陽病院 中田大志院長、国立病院機構東埼玉病院 川城丈夫院長研究協力者とした呼吸器ネットワークを作製した (表1)。さらに、これらの拠点施設を中心に全国 54 政策医療呼吸器ネットワーク、特に国立病院機構兵庫中央病院 (黒須功医師) 国立病院機構奈良病院 (田村猛夏副院長) 国立病院機構和歌山病院 (駿田直俊医師) 国立病院機構南京都病院 (佐藤敦夫医師) につなげた (図1)。共同研究で当院が作製した倫理委員会に提出した審査申請書を雛型として各々の病院で倫理委員会の許可を受けた (別添1)。その後多剤耐性結核患者の血清の送付 (岡田を通じて白川太郎教授に送付) を開始した (表2)。目標症例 多剤耐性結核患者 100 例~200 例。すでに前述の 10 病院の研究施設で倫理委員会に提出中し、当国立病院機構近畿中央病院及び愛媛病院・福岡東病院・山陽病院・大阪府立呼吸器アレルギー医療センター・兵庫中央病院・南京都病院・和歌山病院の倫理委員会で承認され、東埼玉病院で提出中である。リンパ球検体 (多剤耐性結核患者末梢血 7ml) 約 48 例の検体を白川教授に送付した。

2. 京都大学大学院医学研究科：健康増進行動学、白川太郎教授、理化学研究所遺伝子多型センター、赤星光輝博士との共同研究。

#### ①研究の背景と目的

Common disease あるいは多因性疾患と呼ばれる糖尿病、虚血性心疾患、高血圧といった疾患の病態形成においては遺伝要因が重要であることが広く認識されている。結核などの感染症も例外ではなく、その発症には宿主側の環境衛生・生活栄養状態といった要因に加え、免疫反応に影響をもたらす遺伝要因が深く関わるということがこれまでに強く示されてきた。特筆すべきは、近年、非定型抗酸菌や BCG による致死性の重症感染をきたした家系や小児患者群から、インターロイキン-12 (IL-12) およびインターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) といった TH1 免疫反応の中心を担うサイトカイン関連遺伝子の欠損・変異が相次いで見出された点である。これら一連の報告により、著しい TH1 活性の低下が抗酸菌症をはじめとした細胞内寄生性病原体への選択的易感染性をきたすことが明らかとなり、"Mendelian

susceptibility to mycobacterial disease” (MSMD; MIM 209950) という新たな疾患概念が確立されるに至った (Casanova and Abel. *Annu Rev Immunol*, 2002)。これらの知見をふまえて、我々は独自の多型解析の結果、IL-12 受容体  $\beta$  1 鎖 (IL12RB1) に 3 カ所のミスセンス多型があることを見出し、そのリスクアレルが IL-12 (および IL-23) の受容体に対する反応性を低下させ、最終的に IFN- $\gamma$  を介した TH1 免疫反応が減弱することで結核感染への感受性に寄与していることを報告した (Akahoshi et al. *Hum Genet*, 2003)。また、その後の我々の行った関連解析では、他の TH1 反応に関連した候補遺伝子については結核感染との相関は認められなかった (Akahoshi et al. *Hum Genet*, 2004)。

一方で、ヒトやマウスのゲノム情報の整備に伴い、これまで様々な遺伝解析手法を駆使して抗酸菌感染症の感受性遺伝子 (座) の同定が試みられてきた。代表的に用いられてきたのは、3 つの手法、すなわち (1) 動物モデルを使った解析、(2) 候補遺伝子アプローチ、(3) 全ゲノム連鎖解析、である。マウスの解析から同定された例としては、*Nramp1* がよく知られており、その後の患者対照研究でも、ヒトにおける *NRAMP1* の遺伝子多型と結核との強い相関が確認されている。ノックアウトマウスの解析からも宿主の感染防御に関わる遺伝要因の研究が進められており、例えば IL-12 欠損マウスは BCG や結核感染により感受性が高いことが知られている。関連解析を用いた研究からは *NRAMP1* 以外の有力な候補遺伝子として、MHC class II、vitamin D receptor (VDR)、mannose binding lectin (MBL)、IL1RA/IL1B、IL12RB1 などが報告されている (表 3)。また全ゲノム連鎖解析によって、主として 2q35 (*NRAMP1* 領域)、15q11-13、Xq27 の 3 領域が結核と連鎖のある遺伝子座として同定されている (Bellamy et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000; Greenwood et al. *Am J Hum Genet*, 2000; Alessandra et al. *Hum Mol Genet*, 2002)。しかし、これまでに見出されたこれらの候補遺伝子は結核感染における宿主側の全遺伝要因の一部を説明しているにすぎず今後さらなる結核感受性遺伝子同定へ向けての幅広い研究が必要である。

以上のような状況を踏まえて、結核患者において薬剤耐性現象が生じる理由として

- (1) 結核菌に対する感受性あるいは耐性が異なると考える
- (2) 結核菌への感受性は同じであるが、単に薬剤への感受性が異なる

以上の 2 つが考えられる。この 2 つの仮説のどちらが正しいかを解決するには

- (1) これまでの感受性遺伝子群について解析を行なう
- (2) 薬剤感受性については、全ゲノムで解析を行なう

以上 2 つの作業を行なうことで解決が可能であると考えられる。

## ②研究の方法

理化学研究所及び京都大学に保存されている、正常対照者 (n=270)、結核患者で非薬剤耐性群 (n=270)、及び薬剤耐性結核患者 (n=48) について、解析を行なった。正常対照は、日赤和歌山医療センターの検診により、結核感染を否定された症例を用いた。結核患者サンプルは、和歌山市内にある結核専門病院である神田病院より、初発の結核患者サンプルを用いて行った。喀痰検査で陽性と診断され、3-4 剤投与で薬剤耐性が見られなかった患者を対照とした。薬剤結核耐性の患者サンプルは国立病院機構近畿中央病院よりのサンプルを

用いた。

- (1) 候補遺伝子解析では、結核患者群と薬剤体制群の比較を行った
- (2) 薬剤遺伝子解析では、正常対照群と薬剤耐性群との比較を行い、関連の見られた遺伝子については結核患者群と比較することとした。

統計解析は、SPSS 統計ソフトを用いて行った。

### ③結果

#### (i)候補遺伝子解析

結核感受性遺伝子群では、IL-10(1), IL-1RA(2), NRAMP1(4), IL-8(1), IL-12(1), IL-12RB1(2), MBL(2), SP(1), VDR(2), IFNG(1), P2X7(1), 11 遺伝子における 18 SNPs について解析を行なった。( ) 内は調査した SNP の数を示す。NRAMP1 の Asn543Asp の変異パターンに違いが見られた(odds ratio 1.32, CI 1.02-4.32, p=0.03)。その他の遺伝子における SNP 頻度の差異を認めていない。(表 4)

#### (ii)薬剤遺伝子解析

2000 個に及ぶ登録された薬剤遺伝子データベースから、チトクローム P450 系の遺伝子 700 個について解析を行なっており、そのうち 286 個について解析を終了した。その結果、CPY1A1 遺伝子で可能性があるものが見出されている(最小 p 値 p=0.01)が、サンプル数が少ないため、multiple な p 値補正に耐えうる evidence を得るにいたっていない。

3. (政策医療呼吸器ネットワークを利用した) 多剤耐性結核と T 細胞免疫機能解析 (結核菌殺傷蛋白等) による新しい多剤耐性結核予防法及び治療法の開発。すでに、結核菌殺傷タンパク granulysin の定量的アッセイの系を確立した。さらにキラーT 細胞から産生される killer secretory37 (KSP37)タンパクの定量アッセイの系も確立した。(表 5) その結果、多剤耐性結核患者では granulysin 蛋白発現の低下が示唆された。さらにこれらの T g マウスを作製した。その結果生体内結核菌数の低下が認められた。

1. 政策医療呼吸器ネットワークを利用した、種々の多剤耐性結核菌によるマクロファージ機能調節機構 [Scavenger Receptor (SR)や TLR 等の発現調節] の解明とこの作用機序解明による新しい診断法、治療法の開発 → 多剤耐性結核菌を岡田に送付すでに多剤耐性結核菌では TLR の認識からエスケープする可能性を初めて明らかにした。(表 6)

SR については SR(-/-)マウス、LOX (-/-) マウスとヒト多剤耐性結核菌を用いて解析中である。

図 1

