

2. さらに結核感染に特異的なESAT-6+CFP10 test (in vitro)を開発した。ESAT-6抗原、CFP-10抗原（結核菌に存在し、BCG菌に存在しない）を用いた新しい結核特異的診断法を確立した。結核患者と健常人末梢血をESAT-6又はCFP-10で抗原刺激し、産生されるIFN- $\gamma$ をELISAで測定した。その結果、結核感染に特異度の高い、しかもBCG接種した健常人リンパ球には反応しない、新しい結核感染特異的診断法を開発した。さらに、ESAT-6のペプチド及びCFP-10のペプチドを用いより簡便で特異度の高い結核感染特異的診断法を解析中である。
- 多剤耐性結核を含む106例の末梢血単核球のESAT-6、CFP10刺激によるIFN- $\gamma$ 産生能の検討では活動性結核では塗抹陰性結核や非結核性疾患に比べ有意に上昇を認めた。またCFP10刺激IFN- $\gamma$ 値は多剤耐性結核は感受性結核に比べ有意に低下していた。
3. 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つた入院患者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%であつた。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%であつた。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%となつた。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違わない可能性が示唆された。

4. 今日、ヒト後天性免疫不全症候群(AIDS)ウイルス(HIV)感染者の増加と共に、AIDS発症時の全身播種型の非定型抗酸菌症が注目されており、新たな診断法が必要とされている。AIDS患者にて本疾患の血清学的診断の有用性を検討するために抗酸菌から抽出した抗原を用いてAIDS患者でのこれに対する抗体価を測定した。

方法は、AIDS発症で非定型抗酸菌症を合併した者41名。非HIV感染者で非定型抗酸菌症23名。これらを対象としてM.bovis BCG Tokyo 由来の抗原 3種、M.avium serotype4由来の抗原 2種を用い、ELISA法にて抗体を測定した。

その結果、5種類の抗原のいずれか一つに対し、抗体価がカットオフ値を越えれば陽性と判定した。陽性者は、非HIV感染者は 22名(95%)。AIDS発症者は 18名(44%)。であつた。

本研究は、非定型抗酸菌症において血清学診断法の可能性を示唆したが、AIDS発症患者の免疫応答については更なる検討が必要である。

[XIII] キラーTと結核菌殺傷蛋白による結核

- 症の病態解明: 15K granulysinによる新しいpathwayと予後診断法を発見した。又15K granulysinがキラーTから分泌されM $\phi$ にとり込まれM $\phi$ 内の結核菌を殺す新しいpathwayを発見した。
- Granulysin Transgenicマウスを作製した。
1. 多剤耐性結核患者PBLのgranulysin mRNA, TRAIL mRNA、及び granulysin発現の著明な低下を明らかにした。すなわち新しい結核予後診断法を確立した。
  2. 抗結核キラーT細胞から産出される granulysin [15kdのgranulysin(15K Gra)]がM $\phi$ 内結核殺傷に極めて重要な役割を果たしている発見をした。
  3. 15K Gra DNAワクチンは結核予防効果を示した。
    - (a) CAG 15K Granulysin DNAワクチン
    - (b) CAG 9K Granulysin DNAワクチン
    - (c) CAG分泌型9K Granulysin DNA ワクチン
    - (d) Adenovirusベクター/ 15K Granulysinワクチン
 をすでに作製した。
  4. 多剤耐性結核患者キラーT細胞のGra蛋白発現及びKiller Secretory Protein (KSP37)の著明な低下を認めた。すなわち新しい結核予後診断法を確立した。
  5. 15K Gra Transgenicマウス、9K Gra Transgenicマウスを初めて作製し、世界に先駆けて15K Graの生体内抗結核作用を明らかにした。さらに15K granulysin transgenicマウスは生体内の抗結核菌殺傷作用のみでなく、結核に対するキラーT細胞の分化誘導を増強した。また、結核菌に対するT細胞増殖能増強作用とIFN- $\gamma$ 産生増強効果を示した。一方、9K granulysin transgenicマウスも15K granulysinと同様の効果を生体内で示した。
  6. 多剤耐性結核患者キラーT細胞、NK細胞から産生され、血清中に流れているkiller secretory protein37 (KSP37)の著明な低下を認めた。
  7. KSP37 transgenicマウスを作製した。
  8. 結核菌殺傷とマクロファージ:
    - (1) 抗酸菌易感染性症例40例においてIL-12ファミリーのIL-23, IL-27遺伝子解析を行っているが異常は見出されていない。
    - (2) CD14陽性単球由来のGM-M $\phi$ またはM-M $\phi$ について遺伝子発現の相違をマイクロアレイで検索したところ、GM-M $\phi$ において2倍以上の発現上昇がみられた遺伝子が20、M-M $\phi$ において2.5倍以上の発現上昇がみられた遺伝子が10認められた。さらにGM-M $\phi$ またはM-M $\phi$ にlive BCGを加えた際の変化の差異を検討中である。
    - (3) live BCG-GM-M $\phi$ 、あるいはIFN- $\gamma$ -GM-M $\phi$ とGM-M $\phi$ の相違をマイクロアレイ法を用いて解析  
GM-M $\phi$ はIFN- $\gamma$ 、BCG生菌で刺激すると結核菌に対して抵抗性を持つようになるが、これらの遺伝子発現をコントロールのGM-M $\phi$ のものと比較すると、5遺伝子において6倍以上の発現上昇が認められた。これらの遺伝子の発現の定量を行い、kineticsなどさらに解析を進めている。
    - (4) 活動性結核症患者の末梢血単球は、BCG菌をin vitro食菌した後、IFN- $\gamma$ の存在下でも細胞内増殖を許すので、IFN- $\gamma$  receptorのdown-regulationが考えられた。喀痰に結核菌を排出している活動性結核患者の末梢血の個々の単球について、細胞内のIFN- $\gamma$

receptorの $\gamma$ 鎖、 $\gamma$ 鎖のmRNAについて、in situ hybridizationの手法により発現を精査した結果、どの細胞も均等に両者を発現していることが明らかになり、低応答性はreceptorのdown-regulationによるのではなく、細胞内のsignal transductionによることが示唆された。

- (5) ヒト単球よりM-CSFで誘導したM型M $\phi$ は結核菌(H37Rv)を殺菌するが、GM-CSFにより誘導したGM型M $\phi$ （ヒト肺胞M $\phi$ に形質が似ている）は、結核菌の増殖を促す。IFN- $\gamma$ 処理GM型M $\phi$ は結核菌の増殖抑制を誘導できなかったが、IL-10処理GM型M $\phi$ は結核菌の増殖を抑制した。これらの結果は、マウスM $\phi$ と異なり、ヒトM $\phi$ では、IFN- $\gamma$ でなくIL-10により結核菌の増殖抑制活性の活性化が誘導されること、また、ヒトM $\phi$ の結核菌の殺菌および増殖抑制活性には、NRAMP1の発現およびMAPキナーゼの活性化が重要なことを強く示唆する。

[XIV] 種々のTLR(-/-)関連マウスと多剤耐性結核菌を用い、初めて多剤耐性結核菌のTLRからのエスケープ機構が示唆された。

1. Super Spreader MDR-TB菌(SS0308-0783株)や他の通常のMDR-TB菌又は薬剤感受性TB菌を種々のTLR(-/-)やMyD88(-/-)マウス等に投与して解析したところ、ある種のMDR-TBはToll like関連レセプターの認識機構をエスケープする可能性が示された。すなわち通常のヒト結核菌H37RvはTLR2とTLR4の認識を受けるが、Super Spreader MDR-TB菌(SS0308-0783株)はTLR2とTLR4の

認識機構からエスケープした。これは結核菌数、キラーT細胞分化、T細胞増殖、IFN- $\gamma$ 産生の系で解明された。

2. TLRファミリーの中で結核菌の構成成分の認識にTLR2とTLR4が重要な役割を果たすことが明らかになってきている。そのほかにも結核菌の認識に重要な役割を果たすメンバーを明らかにすることを目的とする。

TLRを介したシグナル伝達の分子機構を、TIRドメインを持つアダプターに標的を絞り解析した。昨年度までに、MyD88が全てのTLRを介した炎症性サイトカインの産生誘導に必須であることを明らかにしている。さらに、第2のTIRドメインを持つアダプターTIRAPがTLR2, TLR4によるMyD88を介したシグナルに特異的に関与していることを明らかにした。今年度はさらに第3のアダプターTRIFを同定し、その生理機能を、ノックアウトマウスを作製することにより解析した。TRIFノックアウトマウスは、TLR3刺激に対する応答性が顕著に阻害されていた。さらにTLR4刺激によるIRF-3の活性化およびIFN誘導性遺伝子の発現も顕著に阻害されていた。しかし、TLR4刺激によるMyD88依存性のシグナルの活性化は阻害されていなかった。そこで、TRIFとMyD88の両遺伝子をともになくしたダブルノックアウトマウスを作製したところ、TLR4刺激によるシグナル伝達の活性化はすべて消失し、さらにIFN誘導性遺伝子の発現も全く認められなくなった。以上の結果から、TRIFがMyD88非依存性のシグナル伝達活性化に必須のアダプターであることが明らかになった。また、TLR4刺激による炎症性サイトカイン産生は、MyD88ノックアウトマウスでも、TRIFノックアウトマウスでも認められなくなる。各TLR刺激による炎症性サイトカインの産生は、MyD88を介したシグナルが必須であるが、TLR4刺激では、TRIFを介した(MyD88

を介さないシグナルの活性化も必要であることが示唆される。

すなわち、TLRを介したシグナル伝達の分子機構を解析した。TBK1, IKKi/εのノックアウトマウスの解析から、TBK1, IKKi/εがTLR3, 4を介したIRF-3活性化に必須であることが明らかになった。さらに、TLR刺激で発現が誘導されるIkB $\zeta$ の生理機能を、ノックアウトマウスを用いて解析した結果、IkB $\zeta$ がTLRを介した遺伝子発現の中でIL-6などのあるサブセットの誘導に必須であることが明らかになった。そして、TLRを介した自然免疫系の活性化が消失するTRIF/MyD88二重欠損マウスを用いて、結核感染防御における自然免疫系の役割を解析した。TRIF/MyD88二重欠損マウスでは、他のマウスに比してBCG感染に対する感受性が高まっていた。このことから、TLRを介した自然免疫系の活性化が、結核感染防御に関与していることが示唆された。

#### [XV] 多剤耐性結核に対する新しい治療法の開発

国立病院機構東京病院倉島らは治療のない多剤耐性結核3例に対し活性化自己T細胞(キラーT細胞)輸注療法を東京医科歯科大学難治疾患研究所および国立国際医療センターとの共同研究で世界で初めての治験を行い、3例中2例で投与期間中の菌陰性化を達成した。1例では胸部CTの結核異常陰影の著明な改善を認めた。またこの経過でツベルクリン反応の増大とIFN- $\gamma$ 産生能の上昇を認めた。

さらに、多剤耐性結核に対する新しい化学療法剤の開発も進展した。この新しい化学療法剤と我々が開発した新しい結核ワクチンの組み合わせにより画期的な治療法が開発されることが示唆された(松本、岡田)。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、本邦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。

#### [XVI] 臨床応用に向けての対策

##### 1. (新しい結核ワクチン・診断法の臨床応用へのネットワーク組織作製)

現在、国立病院機構のネットワークであるHOSPnet内に全国の呼吸器基幹8施設を中心とした政策医療呼吸器ネットワーク支援システム(K-net)を構築中であり、肺結核に関しては国立病院機構東京病院にサーバーを設置、リアルタイムオンラインでの結核症例登録システムを準備中である。(岡田、坂谷)種々のリコンビナント結核蛋白を用いて、多剤耐性結核患者と通常の結核患者及び健常人のPBLの反応性を検討予定である。(倉島、岡田)

国立病院機構 政策医療呼吸器ネットワークが厚生労働省より正式に発足した。

2. 新しい結核ワクチンのGMPに準拠した製造。
3. 臨床応用に向けたGMPレベルのHVJ-liposome/ HSP65 DNA+ IL-12 DNAワクチンの開発(HVJ-Envelopeベクター)が進行中である。
4. 72f fusion蛋白ワクチンによる phase I trialを開始した。

#### D. 考察

##### [将来計画]

1. 開発した結核ワクチン(Hsp65 + IL-12 DNA ワクチン)を流行地(アジア地域等)

- で臨床応用し、結核予防ならびに結核治療を行う。平成 17～18 年はこのワクチンの第 I 相臨床試験。
2. 開発した結核ワクチンならびに化学療法剤(opc)を流行地で活用し、多剤耐性結核治療。
  3. 開発したワクチン・診断法を呼吸器ネット及び WHO ネットワークを用い、全国・全世界に普及。
  4. granulysin と TLR 認識をさらに解明し、薬剤耐性を生じない新しい機序の結核治療剤を開発。
  5. BCG に代わる 1 万倍強力な結核ワクチン(Hsp65+ IL-12DNA ワクチン)・化学療法剤・granulysin 予後診断法は日本、世界の結核対策に貢献し、日本国内行政・国際協力施策に極めて重要。
  6. 国立病院機構政策医療呼吸器ネットワーク 54 施設を活用し、多くの国民に実施できる行政施策。
  7. ツ反に代わる新しい診断法(DPPD 等)は結核集団感染の早期発見の画期的な行政施策。
  8. スーパー・スプレッダー多剤耐性結核の発見・研究は結核病室の個室化等の重要な行政施策。
  9. 新しい結核予防ワクチン・結核治療ワクチン(HVJ/Hsp65+IL-12DNA ワクチン)の臨床応用
    - (1) 開発した結核ワクチン(HVJ/Hsp65+IL-12DNAワクチン:BCGワクチンより1万倍強力)がマウスのみでなくモルモットの系でもHVJ-リポソーム/Hsp65+IL-12 DNA及びBCGと比較してはるかに強力な予防ワクチン効果を示すことを解明する。
    - (2) 開発したこの結核ワクチン(Hsp65+IL-12 DNA)を流行地(日本、アジア地域、アフリカ、南アメリカ等)で臨床応用し、結核予防ならびに結核治療を行う。
    - (3) このワクチン効果はBCGでプライムし開発したワクチンでブースターする方法が最も強く、本邦において乳幼児(BCG・プライム)ー成人(開発したワクチン・ブースター)で結核予防を行う。日本では乳幼児にBCGを接種しており、Hsp65+ IL-12DNAワクチンは成人ワクチンとして極めて強力なワクチンとなることを証明する。
    - (4) 開発した結核ワクチンを流行地(日本、インド、中国、アジア地域)で活用し多剤耐性結核治療を行う。
    - (5) 開発した結核ワクチン・新しい診断法を本邦の国立病院機構政策医療呼吸器ネットワーク(54施設より組織化され、本邦の50%の結核患者診療)を用い、全国に普及させる。当院は呼吸器疾患(結核を含む)準ナショナルセンターであり54施設を活用し、統括しうる。
    - (6) 開発したワクチン・診断法をWHO STOP TB Partnership(岡田がメンバー)のネットワークを用い、アジア・世界で臨床応用する。
    - (7) HVJ はすでに GMP (Good Manufacturing Practice)レベルであり、純国産のベクターで、基本特許を有することより、世界に普及させる。
    - (8) このワクチンを多剤耐性結核患者に治療ワクチンとして用い、多剤耐性結核の制御と撲滅を目指す。
    - (9) このHsp65+IL-12 DNAワクチンを第一候補ワクチンとして焦点を絞って研究を進展させる。すでにタイ国に臨床試験の共同研究者がいる。
    - (10) BCGより1万倍強力な、我々が開発した結核予防ワクチンは他の研究室の結核ワクチンに比し1000倍強力な結核予防効果を示した。平成17～18年はこのワクチンの第 I 相臨床試験を行

- う。さらに、これに基づき第Ⅱ相臨床試験を行う。第Ⅲ相臨床試験の後、厚生労働省の認可を得て臨床応用を目指す。
10. 新しい結核ワクチン組み合わせによる結核撲滅戦略
    - (1) HVJ/Hsp65+IL-12DNAワクチンとリコンビナント72f BCGワクチンを組み合わせ、更により強力なワクチンを創製する。
    - (2) サブユニットワクチン72f融合タンパクとHsp65+IL-12DNAワクチンを組み合わせ、更により強力なワクチンを創製する。
  11. 新しい多剤耐性結核化学療法剤の臨床応用
 

開発した結核ワクチンならびに化学療法剤(opc)を流行地(日本、インド、中国、アジア地域、アフリカ)で活用し多剤耐性結核治療を行う。
  12. ツベルクリン反応に代わる新しい結核感染特異的診断法の開発
 

開発した新しい結核感染特異的診断法(①DPPD皮内反応 ②ESAT-6法)を本邦の国立病院機構政策医療呼吸器ネットワークを用い、全国に普及させる。
  13. 多剤耐性結核・難治性結核の予後診断法の開発
 

開発した新しい難治性結核予後診断法(granulysin、KSP37の測定による予後診断法)を流行地、特に日本、アジア地域で活用し知見の収集。
  14. 結核菌殺傷蛋白(granulysin)の臨床応用
 

granulysin機能解明とTLR認識をさらに解明し、(開発した多剤耐性結核治療モデルを用い)薬剤耐性を生じない新しい機序の結核治療剤を開発する。
  15. スーパー・スプレッダー結核に対する制御とTLRアゴニストによる治療剤の開

発

- (1) スーパー・スプレッダー多剤耐性結核のTLR認識エスケープと感染性を解明。この方法論を用い、流行地での多剤耐性結核の制御研究を行う。
- (2) スーパー・スプレッダー多剤耐性結核の発見・研究結果を踏まえ、本邦の全ての結核病室の個室化等による多剤耐性結核制御を行う。

[ワクチンや診断法の活用・提供]

我々は臨床応用に極めて間近な新しい結核ワクチン、診断法を開発しつつある。当院は呼吸器疾患(結核を含む)準ナショナルセンターとなった。日本の結核患者数の43%の診断治療を行っている、国立病院機構54施設を統括・指導する高度専門医療施設であり、国立病院機構呼吸器ネットワークを用い、これらは多くの国民に活用・提供しうるものである。

1. サブユニットワクチン研究の成果と今後の活用・提供
 

Mtb72f Fusion蛋白:精製タンパクであり、臨床治験への申請や、政府(厚生労働省等)の承認を得やすく活用が最も迅速である。BCGに代わる新しい成人結核予防ワクチンとして日本国民を対象として、厚生労働省の指揮下に予防ワクチンを行う計画。Mtb72fは本格的な強力サブユニットワクチンとして今後、米国、ブラジルのみならず、本邦でもすぐに活用する計画である。これを本邦に普及するには我々の研究組織のみならず、企業、政府の協力体制で迅速な臨床治験申請を行いたい。
2. DNAワクチン研究の成果と今後の活用・提供
 

HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチンは極めて強力な予防ワクチンとなることが考えられる。早急な臨床応用を計画中。一方、アデノウイルスベクターに導入したIL-

- 6関連遺伝子(IL-6 gene+IL-6レセプター gene+gp130 gene)で強力な治療ワクチン効果を示した。この研究成果は通常の結核のみでなく難治性結核や多剤耐性結核に対する新しい予防・治療に活用することができる。特に高度の免疫不全を伴うAIDS合併結核患者におけるリコンビナントBCG療法を慎重にしないといけない時に強力な活用ワクチンとなる。これらのDNAワクチンは本邦のみでなく全世界に提供する用意がある。
3. リコンビナントBCGワクチン研究の 成果と今後の活用・提供  
HIVワクチンでrBCGが有効より類推し、r72fBCGワクチンは結核の重要なワクチンとなる。このリコンビナントBCGは本邦のみでなく、欧米、アジア、アフリカ等全世界に提供することができる。
4. Granulysin, KSP37による予後診断法は簡便・迅速であり、結核患者の治療効果を予測する新しい診断法となり、入院期間の短縮や最良の治療方針の決定において、治療経済面でも行政施策にとり極めて有用な診断法となる。今後全国の54施設国立病院機構呼吸器ネットワークで 多剤耐性結核患者・難治性結核患者に迅速に普及させ、活用する。もちろんこの新しい予後診断方法及びアッセイ系の提供の用意は積極的に行いたい。
5. ツベルクリン反応に代わる新しい診断法(DPPD skin test)の行政施策への貢献: 現在大きな社会問題・医療問題となっている結核集団感染、結核院内感染の早期発見における画期的な行政施策となる。これらを共同研究で大至急本邦で活用する計画をしている。本邦での集団感染結核発症や院内感染結核発症の迅速診断に積極的に提供したい。早急に本邦における臨床第Ⅰ相試験が行えるよう、国立病院機構近畿中央胸部疾患センターが中心となり計画中である。
6. 世界に先駆けてのヒト生体内抗結核感染免疫モデルの作製:我々が開発したIL-2レセプター $\gamma$ 鎖(-/-)SCID-PBL/huモデルは多剤耐性結核の新しいワクチン治療開発のみでなく、新しい化学療法剤開発の良いモデルとなる。
7. ワクチンの開発研究が評価され、World Health Organization(WHO)のSTOP TB Partnership及びWHOのSTOP TB Vaccine Working Groupのメンバーに選出され、極めて高い評価を受けた。すなわち、世界の現在の最先端のワクチン4つのうちの1つにHVJ-liposome /Hsp65DNA+ IL-12DNAが選ばれ、WHOの会議で公に認められた。特にHVJ-liposome/Hsp65DNA+ IL-12DNAワクチンはマウスの系でBCG東京よりも100倍強力なワクチンで、モルモットでBCG東京よりも強力なことより、Mtb72f Fusion蛋白よりも強力であることが示唆される。さらに、Peter Andersen博士のESAT-6 Ag85B fusionワクチンやHorowitzらのリコンビナントAg85B BCGワクチンよりもこのHVJ-liposome /Hsp65DNA+ IL-12DNAワクチンははるかに強力である。さらに、このHVJ-liposome /Hsp65DNA+ IL-12DNAワクチンはカニクイザルでも有効であり、ヒトへの臨床応用を考えている。WHOのSTOP TBワクチン・ミーティングにより米国FDAのDr, 米国CDCのDrやスイスジュネーブWHO本部のDr多数及び南アフリカ、ウガンダ、インド、韓国、イギリス等世界各国のトップの結核研究者・行政者とネットワークができたことより、このワクチンを全世界に提供する計画である。
- E. 結論  
[ I ]. 新しい結核予防ワクチンの開発  
1. 新しいDNAワクチンの開発

(Hsp65DNA+IL-12DNAワクチン:  
Hsp65 = ヒト結核菌由来のHeat  
Shock Protein)

- ① BCGワクチンより1万倍強力な結核  
予防ワクチン (HVJ/Hsp65+IL-  
12DNAワクチン)開発に成功した。  
HVJはGMPレベル。
  - ② プライムブースト法で、BCGワクチ  
ンでプライムしこのワクチンでブース  
トすると極めて強力なワクチン効果  
を得ることに成功した。
  - ③ カニクイザルの系で世界で初めて、  
結核予防ワクチンの有効性を示した。  
画期的な新しい結核予防ワクチンの  
開発に成功した。(Vaccine 2005)
  - ④ このワクチンを第一候補として本邦・  
アジアでの臨床応用 (phase I、II  
study)計画。すでにタイ国との間で  
成立した。
  - ⑤ キラーT細胞分化とヘルパー  
T(Th1)を活性化しワクチン効果を  
発揮することを明らかにした。
  - ⑥ 研究が評価されWHO STOP TB  
Partnership 及びWHO TB  
Vaccine Meetingメンバーに選ば  
れた。WHO推奨の最先端のワクチン  
の一つに選ばれた。
2. 新しいリコンビナントBCGワクチンの開  
発(リコンビナント72f BCGワクチン)  
マウス、モルモット、カニクイザルでBCG  
より強力なリコンビナント72f BCGワクチ  
ンの開発に成功した。又  
r(Ag85B+ 85A+ MPB51)BCGも有効。
  3. 新しい結核サブユニットワクチンの開発  
Mtb72f融合蛋白ワクチンはマウス・モ  
ルモット・カニクイザルで有効。多剤耐  
性結核 Tリンパ球活性化。72f蛋白  
は結核菌由来Mtb39+ Mtb32の融合  
蛋白。
  4. 経口弱毒化リステリア結核ワクチン

(Ag85B)を開発。1千倍発現効率が高  
いAAVベクター/Hsp65DNAやユビ  
キチン、Sendaiウイルスベクター  
を開発。

- [ II ] 新しい結核治療ワクチンの開発  
(Hsp65DNA+IL-12DNAワクチン)
  1. 上記のHsp65+IL-12DNAワクチン  
は結核治療ワクチン効果も示し、世界  
で初めて結核治療ワクチンを創製する  
ことに成功した。
  2. マウスの系で、先に結核菌を投与した  
後、このワクチンを投与しても結核菌を  
減少させ、画期的な結核治療効果。
  3. IL-6関連遺伝子ワクチン(アデノウイル  
スベクター/IL-6+ IL-6R-  
+ gp130-DNA)は結核治療ワクチンと  
して有効。
- [ III ] 多剤耐性結核治療法(化学療法剤)の  
開発  
ヒト多剤耐性結核治療モデルIL-2R $\gamma$   
鎖(-/-)SCID-PBL/huを初めて作製し  
た。これを用い多剤耐性結核にも有効な  
新しい結核化学療法剤(opc)開発に成  
功した。
- [ IV ] ツベルクリン反応に代わる新しい結核感  
染特異的診断法の開発に成功した。
  1. DPPD蛋白(PPDに含まれる多くの蛋白  
の中より遺伝子クローニングし単離した  
蛋白で、唯一皮内反応で結核感染特  
異的(モルモット及びヒトの系))による  
ツ反に代わる皮内反応。
  2. ESAT-6+CFP-10によるin vitro  
IFN- $\gamma$ 産生。の2種の新しい診断法  
開発に成功。
- [ V ] 多剤耐性結核・難治性結核の予後診断  
法の開発  
キラーT細胞由来の結核菌殺傷蛋白  
15K Granulysinは結核患者、特に多  
剤耐性結核や糖尿病合併難治性結核  
で著明に低下することを発見。また、キラ



- ーTのKiller Secretary Protein (KSP37)の低下を発見。
- [VI] キラーT細胞由来結核菌殺傷蛋白 (granulysin)の新しい結核菌殺傷メカニズムの発見と新しい治療剤としての発見 :
1. 結核菌症の病態解明に成功:
    - (1) 15kdのgranulysin(15K Gra)が直接マクロファージ(M $\phi$ )に入り、M $\phi$ 内の結核菌を殺傷する事を見出した(特許)。
    - (2) 15K Gra DNA ワクチンは結核予防・治療効果を示した。
  2. Gra transgenicマウス作製に初めて成功し、15K Graの生体内結核菌殺傷作用を初めて明らかにした。
- [VII] 結核症の病態解明:IFN- $\gamma$ レセプター欠損患者を多数発見し、結核菌に対する易感染性を明らかにし、IFN- $\gamma$ の結核免疫における重要性を明らかにした。またM-CSFは結核菌抵抗性M $\phi$ 化に重要であることや、種々のサイトカイン・シグナル伝達分子(IRF-1等)の重要性をノックアウトマウスを用い病態を解明した。
- [VIII] スーパー・スプレッダー多剤耐性結核の発見とTLR認識エスケープの発見
1. スーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌を発見し、TLR4の認識機構をエスケープする結果を世界に先駆けて明らかにした。
  2. TRIF(-/-)×MyD88(-/-)マウスを作製し、結核感染防御にこの二つのシグナル蛋白が重要であることを発見。結核免疫に自然免疫系の活性化シグナルの重要性を発見。
- [IX] 新しいDNAワクチンの開発: ① HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチンは、モルモットでBCGワクチンより有効で、サル(カニクイザル)でも有効であり、世界の最先端のワクチンであることが示された。 ②経口attenuatedリステリア結核ワクチン(Ag85B)を開発した。
- [X] 新しいリコンビナントBCGワクチンの開発: r72f BCGは、サルでBCGよりも強い結核予防ワクチン効果を明らかにした。
- [XI] 新しい結核サブユニットワクチンの開発 : Mtb72f fusion蛋白+BCG東京ワクチンはカニクイザルでBCGよりも強力な抗結核予防効果を示した。
- [XII] 多剤耐性結核患者T細胞(キラーT細胞)輸注療法を行い、胸部CT像の改善及び結核菌の陰性化を認める、世界に先駆けて画期的な治療法を開発した。
- [XIII] 新しい治療ワクチンの開発: IL-6関連遺伝子ワクチンは初めて結核治療ワクチンとしても有効であることを示した。
- [XIV] IL-2レセプター $\gamma$ 鎖ノックアウト NOD-SCID-PBL/huのモデルでヒト多剤耐性結核治療モデルを世界に先駆けて開発した。
- [XV] 結核菌症の病態解明:
  - ①Granulysinによる結核の病態解明
    - a. 抗結核キラーT細胞から産出されるgranulysin[15kdの granulysin(15K Gra)]がM $\phi$ 内結核殺傷に極めて重要な役割を果たしている発見をした。
    - b. 15K Gra DNAワクチンは結核予防効果を示した。
  - ②15K Gra Transgenic (Tg)-、9K Gra Tg-マウスを初めて作製し、世界に先駆けて15K Graの生体内抗結核作用を明らかにした。
 

さらにMyD88/TRIF二重欠損マウスでは、全てのTLRシグナルが障害されることから、このマウスでの、結核

菌に対する免疫応答を解析し、TLRを介したシグナルの結核感染に対する役割を明らかにする。

本研究はTLRおよびそのシグナル伝達に関与する分子のノックアウトマウスを用いた解析であり、この解析は全てのノックアウトマウスを有しているわれわれ以外にはできない研究である。また、ワクチンを含めた結核治療法の考案においては、これまでのT細胞を主流とした獲得免疫系の解析だけでは限界があったが、TLRによる自然免疫活性化機構の解析から結核治療の新たな方策の創出も期待される。

- [XVI] スーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌はTLR4レセプター及びTLR2レセプターの免疫認識機構からエスケープすることを世界に先駆けて明らかにした。
- [XVII] ツ反に代わる新しい結核特異的診断法 DPPD、及びESAT-6 + CFP10 testを開発した。
- [XVIII] ワクチン開発研究が評価され、World Health Organization (WHO)のSTOP TB Partnership及びWHOのSTOP TB Vaccine Working Groupメンバーに選出され、極めて高い評価を得た。

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表  
(1) 論文発表

1. Okada M, Takemoto Y, Okuno Y, Hashimoto S, Yoshida S, Fukunaga Y, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Takai H,

Okada C, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Matsumoto M, Kase T, Demello DE, Peiris JS, Chen PJ, Yamamoto N, Yoshinaka Y, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M.: The development of vaccines against SARS corona virus in mice and SCID-PBL/hu mice. *Vaccine* 2005;23(17-18):2269-72.

2. 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, McMurray DN, Cruz EC, Tan EV, Abalos RM, Burgos JA, Gelber R, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M, Okada M.: Novel recombinant BCG and DNA- vaccination against tuberculosis in a cynomolgus monkey model. *Vaccine* 2005;23(17-18): 2132-5.
3. 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, Yoshinaka Y, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M.: The Development of vaccines against SARS corona virus in mice and SCID-PBL/hu mice. *Immunology* 2004.MEDIMOND

- International Proceedings  
2004;449-452
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 Dela, Tan EV, Abalos M, 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. Immunology 2004.MEDIMOND International Proceedings 2004; 403-406
  5. 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. 2004;70(1):59-64
  6. Miki K, Nagata T, Tanaka T, Kim YH, Uchijima M, Ohara N, Nakamura S, Okada M, Koide Y.: Induction of protective cellular immunity against Mycobacterium tuberculosis by recombinant attenuated self-destructing Listeria monocytogenes strains harboring eukaryotic expression plasmids for antigen 85 complex and MPB/MPT51. Infect Immun. 2004;72(4):2014-21.
  7. Yoshida S, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Kanamaru N, Muraki Y, Hashimoto S, McFarland C, Allen SS, Inoue Y, Sakatani M, Kobayashi E, Kaneda Y, McMurray DN, Okada M.: DNA vaccine combination encoding mycobacterial heat shock protein 65 and interleukin-12- encapsulated in hemagglutinating virus of Japan-liposome induces CD8+ CTL and confers protection against Mycobacterium tuberculosis both in mouse and guinea pig model. 2005(submitted)
  8. Nakano H, Nagata T, Suda T, Tanaka T, Kuwayama S, Kanamaru N, Aoshi T, Uchijima M, Chida K, Nakamura H, Okada M, Koide Y.: Immunization with dendritic cells retrovirally transduced with mycobacterial antigen 85A gene elicits the specific cellular immunity including cytotoxic T-lymphocyte activity specific to a dominant epitope on antigen 85A. Vaccine 2005 (submitted).
  9. Mitsuyama T, Kobayashi K, Matsumoto S, Kawakami K, Kawamura I, Okada M.: Establishment and evaluation of novel vaccine against tuberculosis: cutting edge of basic study on tuberculosis. Kekkaku 2004;79(8):27-41.
  10. 岡田全司, 田中高生, 喜多洋子, 桑山

- さち子, 金丸典子, 村木裕美子, 橋元里実, 岡田知佳, 福永有可里, 高井寛子: 結核ワクチン. 呼吸器科 2005;7(1):63-70.
11. 岡田全司: 自然免疫と獲得免疫の基礎. 最新医学 2005
12. 岡田全司(編集 泉孝英, 網谷良一): 結核ワクチン. 結核 第4版(医学書院) 編集 泉孝英, 富岡洋海. 2005(in press)
13. 岡田全司: 編集 倉田毅, 総合監修 高久史麿, 猿田享男, 北村惣一郎, 福井次年. 肺炎(感染症:細菌・ウイルスなどによる感染症/呼吸器). 家庭医学大全科(法研出版)2004;p2656-9.
14. 岡田全司: 編集 倉田毅, 総合監修 高久史麿, 猿田享男, 北村惣一郎, 福井次年: 肺膿瘍(感染症:細菌・ウイルスなどによる感染症/呼吸器)家庭医学大全科(法研出版)2004;2663-4
15. 岡田全司: 編集 倉田毅, 総合監修 高久史麿, 猿田享男, 北村惣一郎, 福井次年. 結核性髄膜炎(感染症:細菌・ウイルスなどによる感染症/脳)家庭医学大全科(法研出版)2004;2635-6
16. 岡田全司: 編集 倉田毅, 総合監修 高久史麿, 猿田享男, 北村惣一郎, 福井次年: 肺結核(感染症:細菌・ウイルスなどによる感染症/呼吸器)家庭医学大全科(法研出版)2004;p2659-62.
17. 岡田全司: 編集 倉田毅, 総合監修 高久史麿, 猿田享男, 北村惣一郎, 福井次年: 膿胸(感染症:細菌・ウイルスなどによる感染症/呼吸器). 家庭医学大全科(法研出版)2004;p2664-5.
18. 岡田全司: 宮坂信之, 宮島篤編: サイトカインの病態への関与 感染症 結核感染とサイトカイン 新しい結核ワクチン 医学のあゆみ別冊サイトカイン-state of arts 2004;209-213
19. 岡田全司, 田中高生, 喜多洋子, 桑山さち子, 金丸典子, 村木裕美子, 橋元里実, 岡田知佳, 福永有可里, 高井寛子: 感染免疫における新知見. 新たな結核ワクチン開発. 臨床免疫 2004;42(1):61-69.
20. 岡田全司: 新しい抗結核ワクチン開発の現状“結核病学会シンポジウム”. 結核 2004;78(8): 487-501
21. 岡田全司: 結核基礎研究の最前線 新たな抗結核ワクチンの作製と評価. 結核 2004;79(8):497-499
22. 石川秀雄, 木村剛, 大家晃子, 神谷敦, 井上義一, 鈴木克洋, 審良正則, 林清二, 河原正明, 岡田全司, 木村謙太郎, 井内敬二, 坂谷光則: 気管支動脈塞栓術におけるIDC(Interlocking Detachable Coil)導入の有用性. 日本呼吸器学会雑誌2004;42(8):730-736
23. 木村謙太郎, 岡田全司, 鈴木克洋, 南城悟, 井上義一: 2003年度 国立療養所近畿中央病院 臨床研究センター 業績集. 2003年度 国立療養所近畿中央病院 臨床研究センター 業績集 2004;1-580・2004
24. Gelber R, Tan EV, Okada M: New Therapy Using DNA Vaccination and recombinant BCG vaccination and fusion protein(s) vaccination against Mycobacterium Tuberculosis using Monkeys. 平成15年度 新興・再興感染症研究事業 研究報告書ヒューマンサイエンス振興財団

- [ Promoting Projects on Health Sciences Research ](Overseas Research Entrustment Program). 2004:269-289
25. Reed S, 岡田全司: カニクイザルを用いたDNAワクチン、リコンビナントBCGワクチン、融合タンパクワクチンによる新しい結核治療法の開発. H15年度ヒューマンサイエンス振興財団 外国への委託事業 2004:141-167.
26. Reed SG, Okada M: New Therapy Using DNA Vaccination and recombinant BCG vaccination and fusion protein(s) vaccination against Mycobacterium Tuberculosis using Monkeys. 平成15年度 新興・再興感染症研究事業 研究報告書ヒューマンサイエンス振興財団 [ Promoting Projects on Health Sciences Research ](Overseas Research Entrustment Program). 2004
27. Reed SG, Okada M: Tuberculosis Vaccine Development : study of activation of T cell immunity in the Japanese patients with tuberculosis by novel fusion protein vaccines and adjuvants. 平成15年度 新興・再興感染症研究事業 研究報告書ヒューマンサイエンス振興財団 [ Promoting Projects on Health Sciences Research ](Overseas Research Invitation Program) 2004:1-7
28. Skeiky Y, Okada M: Study of Activation of T cell immunity in the Japanese patients with multi- drug resistant tuberculosis by novel fusion protein's therapeutic vaccines and novel adjuvants. 平成15年度 新興・再興感染症研究事業 研究報告書ヒューマンサイエンス振興財団 [ Promoting Projects on Health Sciences Research ](Overseas Researcher Invitation Program) 2004:48-54
29. Tan E.V, Okada M: New Therapy using recombinant BCG vaccination, DNA vaccination and fusion protein vaccination against Mycobacterium tuberculosis using cynomolgus monkey. 平成14年度 新興・再興感染症研究事業 研究報告書 ヒューマンサイエンス振興財団 [ Promoting Projects on Health Sciences Research ](Overseas Research Entrustment Program) 研究報告集 2004:88-97
30. 岡田全司: 抗結核キラーTとDNA-ワクチン・リコンビナントBCG-及びサブユニットワクチンの開発による新しい予防・診断・治療法(ヒト結核感染に最も近いカニクイザルを用いた). 平成15年度日米医学協力計画 結核・ハンセン病専門部会 年次報告書 Annual report 2003 U.S. Japan cooperative medical science program tuberculosis and leprosy panel. 2004:167-187.
31. 岡田全司: SARSウイルスに対するワクチン研究 '重症急性呼吸器症候群(SARS)の診断及び検査手法等に関する緊急調査研究'. 重症急性呼吸器症候群(SARS)の診断及び検査手法等に関する緊急調査研究(平成15年度) 成果報告書 2004:44-55.
32. 岡田全司, 坂谷光則, 矢野郁也, 螺良英郎, 大原直也, 吉田栄人, 倉島篤行,

- 土肥義胤, 菅原勇, 原寿郎, 竹田潔, 井上義一: 結核菌症の病態解明に基づく新たな治療法等の開発に関する研究: [抗結核キラーTリンパ球・結核殺傷蛋白による病態解明に基づく結核ワクチン(サブユニット・DNA-リコンビナントBCG-ワクチン)・化学療法剤の開発による新しい治療・予防・診断法]. 厚生労働省研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 平成15年度 総括・分担研究報告書 2004;1-128
33. 河原正明, 岡田全司, 清水哲雄, 黒田清司, 毛利昌史, 小松彦太郎, 松岡幸彦, 杉和郎, 原信之, 西村一孝, 深井志摩夫, 川城丈夫, 西條長宏, 松島綱治, 七條茂樹, 野村達次, 坂井隆, 井内敬二: 新しい治療法に関する研究: [国立病院・療養所呼吸器ネットワークを利用した, 肺癌に対する新しい治療法と臨床評価法の開発]. 厚生労働省研究費補助金がん克服戦略研究事業 平成14~15年度 総合研究報告書 2004;1-30
34. 河原正明, 岡田全司, 清水哲雄, 小松彦太郎, 杉和郎, 原信之, 深井志摩夫, 西村一孝, 坂井隆, 黒田清司, 松岡幸彦, 井内敬二: 新しい治療法に関する研究: [国立病院・療養所呼吸器ネットワークを利用した, 肺癌に対する新しい治療法と臨床評価法の開発]. 厚生労働省研究費補助金 がん克服戦略研究事業 平成15年度 総括・分担研究報告書 2004;1-77
35. Skeiky Y, Okada M: Study of Activation of T cell immunity in the Japanese patients with multi-drug resistant tuberculosis by novel fusion protein's therapeutic vaccination and novel adjuvants. 平成15年度 新興・再興感染症研究事業 研究報告書 ヒューマンサイエンス振興財団[ Promoting Projects on Health Sciences Research ](Overseas Researcher Invitation Program). 2004;48-54
- (2) 学会発表
1. 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, Yoshinaka Y, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M.: The Development of vaccines against SARS corona virus in mice and SCID-PBL/hu mice. 12th International Congress of Immunology. Montreal, Canada 2004
  2. Okada M, Takemoto Y, Okuno Y, Hashimoto S, Yoshida S, Fukunaga Y, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Takai H, Okada C, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Matsumoto M, Kase T, Daphne E. deMello, JSM Peiris, Pei-Jer Chen, Yamamoto N, Yoshinaka Y, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M: The Development of vaccines against SARS Corona Virus in Mice and SCID-PBL/hu mice. 4th World

- Congress of vaccine and Immunisation. Tsukuba, Japan 2004
3. 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
  4. Koide Y, Miki K, Nagata T, Tanaka T, Kim Y-H, Uchijima M, Ohara N, Nakamura S, Okada M: Induction of protective cellular immunity against Mycobacterium tuberculosis by recombinant attenuated self-destructing Listeria monocytogenes strains harboring eukaryotic expression plasmids for Ag85 complex and MPB/MPT51.: Keystone Symposia: Rational Design of Vaccine and Immunotherapeutics, p67. Keystone, Colorado, USA) 2004.01
  5. Okada M, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Takai H, Okada C, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Ishizaki K, Yamamoto S, Matsumura A, Iuchi K, Kawahara M, Sakatani M.: In vivo induction of tumor-specific CTL against CEA-antigens and MAGE-3 antigens expressed on human lung adenocarcinoma by using CEA gene therapy and adenovirus vector. American Association for Cancer Research. Orland, U.S.A., 2004.04
  6. 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 Therapeutic 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
  7. Okada M.: Novel HVJ-liposome /Hsp65DNA+ IL-12DNA vaccination and recombinant 72f BCG vaccination in a cynomolgus monkey model. WHO (World Health Organization ) STOP TB Vaccine Meeting. Manila, Philippines. 2004.04
  8. Inoue Y, Ohya A, Tokoro H, Maeda Y, Hirai K, Arai T, Kodo N, Hashimoto Y, Hayashi S, Okada M, Kimura K, Sakatani M: Quality of life in the Japanese patients with pulmonary lymphangiomyomatosis American Thoracic Society. San

- Diego 2004
9. 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
  10. 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 cynomologus monkey. 12th International Congress of Immunology. Canada, Montreal. 2004.07
  11. Okada M, Takemoto Y, Okuno S, Hashimoto S, Fukunaga Y, Tanaka T, Okada C, Sakaguchi Y, Furukawa I, Kase T, Peiris JM, Yamamoto N, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M.: The development of Vaccines Against SARS Corona Virus in Mice. The Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan 2004.08
  12. Takemoto Y, Okuno Y, Hashimoto S, Fukunaga Y, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Yamada K, Kase T, Chen P-J, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M, Okada M.: Novel Vaccines against SARS Corona Virus using SCID-PBL/hu Mouse Models Capable of Analyzing InVivo Human Immune Responses. The Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan. 2004.08
  13. 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
  14. 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



15. 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
16. 岡田全司: 結核基礎研究の最前線 新たな抗結核ワクチンの作製と評価. 第79回日本結核病学会総会. 名古屋 2004.04
17. 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
18. 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
19. 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
20. 桑山さち子, 田中高生, 喜多洋子, 村木裕美子, 金丸典子, 橋元里実, 福永有可里, 岡田知佳, 坂口弥生, 古川いづみ, 山田恭子, 武本優次, 川口知哉, 高田實, 松村晃秀, 井内敬二, 坂谷光則, 齋藤泉, 河南有希子, 森山光章, 中村洋一, 河原正明, 岡田全司: 肺癌関連抗原遺伝子治療によるヒト肺癌治療モデルの研究. 第44回日本呼吸器学会 東京2004.04
21. 大家晃子, 井上義一, 田中勲, 小塚健倫, 審良正則, 深水玲子, 馬渡秀徳, 新井徹, 林清二, 岡田全司, 木村謙太郎, 坂谷光則: 肺リンパ脈管筋腫症における肺気腫性病変の三次元CTによる評価. 第44回日本呼吸器学会 東京 2004.04
22. 大家晃子, 石川秀雄, 木村剛, 安藤守秀, 井上義一, 鈴木克洋, 林清二, 岡田全司, 木村謙太郎, 井内敬二, 坂谷光則: 気管支動脈塞栓術におけるCTAの有用性について. 第44回日本呼吸器学会 東京 2004.04
23. 田中高生, 喜多洋子, 井上義一, 坂谷光則, 岡田全司: 結核に対する新しい弱毒化リステリアワクチンの開発. 第79回日本結核病学会総会 名古屋 2004.04
24. 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
25. 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
26. 武本優次, 安教哲, 横井良明, 中田真司, 森岡信行, 河原田修身, 中村忍, 岡田全司: 胸部不快感により, 発見された右肺動脈内浮遊血栓症の1例. 日本老年医学会雑誌41(3):352. 2004.05
27. 河南有希子, 服部静香, 桑村充, 岡田全司, 田中高生, 森山光章, 中村洋一: 脾臓の交感神経支配におけるリンパ球およびサイトカインの役割について: 免疫不全マウスを用いた検討. 第81回生理学会大会. 札幌2004.06
28. 岡村健作, 服部静香, 河南有希子, 森山光章, 桑村充, 田中高生, 岡田全司, 中村洋一: Tリンパ球により促進される交感神経の軸索伸展—免疫不全マウスを用いた検討. 第138回日本獣医学会学術集会. 北海道2004.09
29. 岡田全司, 田中高生, 喜多洋子, 桑山さち子, 井内敬二, 坂谷光則, 斉藤泉, 河南有希子, 森山光章, 中村洋一, 河原正明, 日置恭司, 野村達次: IL-2レセプターγ鎖欠損SCID-PBL/huと肺癌関連抗原によるヒト肺癌治療モデル. 第63回日本癌学会学術. 2004.12
30. 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
31. 橋元里実, 福永有可里, 喜多洋子, 田中高生, 武本優次, 奥野良信, 加瀬哲男, 吉田栄人, 坂谷光則, 岡田全司: SARSウイルスに対するDNAワクチン作製とSARSウイルスに対するキラーT細胞分化誘導機構. 日本免疫学会総会・学術集会 札幌2004.12
32. 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
33. 岡田全司: 結核ワクチンの現状と課題. 第53回日本感染症学会東日本地方会総会第51回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会2004
34. 石川秀雄, 大家晃子, 木村剛, 林清二, 坂谷光則, 黒田修, 井内敬二, 高橋由利子, 井上義一, 鈴木克洋, 岡田全司, 木村謙太郎: 気管支動脈塞栓術用オリジナルカテーテルISKの開発. 第64回日本呼吸器学会第94回日本結核病学会近畿地方会 奈良2004.12
35. 露口一成, 鈴木克洋, 源誠二郎, 井上義一, 林清二, 岡田全司, 木村謙太郎, 坂谷光則: ステロイド投与により改善を得られた抗結核薬による高度肝障害の一例. K-net近畿地区研究会 第34回研究会. 大阪 2004.01
36. 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

37. 岡田全司: BCGに代わる新しい結核ワクチン研究及びSARSウイルスに対するDNAワクチンの開発研究. 第22回呼吸器感染症京都セミナー 京都 2004.09

「感染症治療剤 15K granulysin」  
WO 03/070268 A1  
2002年

岡田全司、吉田栄人、金田安史、松本真  
「結核ワクチン HVJ-liposome/Hsp65 DNA+ IL-12 DNA」  
2005年

岡田全司、吉田栄人、松本真  
「抗酸菌症ワクチン baculo virus/Hsp65DNA」  
2005年

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得

岡田全司、高森靖、小川一行、永田欽也

2. 実用新案登録

3. その他

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)  
分担研究報告書

〔I〕新しい結核ワクチンによる臨床応用

(国立病院機構政策医療呼吸器ネットワークを利用した)計画に関する研究

分担研究者 坂谷光則 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 病院長

研究要旨

〔I〕結核予防ワクチン:すでに、マウス、モルモットの結核感染モデル動物実験のみならずヒトの結核感染に最も近いと折り紙つきのカニクイザル(Nature Medicine 1996)のレベルで新しい結核ワクチン①HVJ/HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン ②リコンビナント72f BCG等が結核予防ワクチンとして有効である事が示された。したがって、結核予防ワクチンの臨床応用としてPhase I study(健常人で行う PPD皮内反応 副作用 PBL免疫反応)Phase II study[日本(当国立病院機構近畿中央胸部疾患センターを中心として政策医療呼吸器ネットワーク) フィリピン ブラジル インド 南アフリカ等結核発生率の低下]、Phase III、Phase IVを行う計画をたてた。結核予防効果の判定には最低数年以上かかる。

〔II〕結核治療ワクチン:HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチンはマウスの系で治療効果を示した。さらにHSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン+BCGワクチンはこれより強い治療ワクチン効果を示した。またAdex(IL-6 + IL-6R + gp130) DNAワクチンは治療効果を示すことをすでに報告した。したがって①HVJ/HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン ②HVJ/HSP65 DNA + IL-12 DNA+BCG ワクチン ③Adex(IL-6 + IL-6R + gp130)DNAワクチン ④リコンビナント72fワクチンを単独又は組み合わせ、治療ワクチンの開発計画を立案した。さらに、

〔III〕多剤耐性結核菌に対する治療ワクチン

〔IV〕PPD(ツ反)DPPD皮内反応、及びQuantiferon(ESAT-6 + CFP-10)テストによる結核特異診断法の開発。これらの〔I〕～〔II〕の臨床応用を国立病院機構政策医療呼吸器ネットワークを利用して行う予定である。

A. 研究目的

結核に対するワクチンとしては、BCGが世界各国で用いられ、小児期における結核予防に関しては一定の成果を納めている。しかし、現行のBCGワクチンの追加接種が、大人(成人)の結核発病予防に効果があるか否かについては、議論の分かれるところであり、確証がないのが現状である。

従って、BCGよりも切れ味の鋭い新しい結核ワクチンの開発が必須である。しかしながら、未だ臨床応用に有効な新しい結核ワクチンは開発されていない。我々は結核予防ワクチンとしてカニクイザルのレベルで有効な新しい結核ワクチンを開発したことより、臨床応用への計画を立案した。

一方、治療ワクチンについては、結核治療