

phaseに有効なワクチンは我々以外全く開発されていない。したがって結核治療ワクチンについても将来的な臨床結核ワクチンについての動物モデルでの実験を行った。

B. 研究方法

結核ワクチン効果を判定するモデル動物として、BALB/cマウス、モルモット(ハートレー)、カニクイザルを用いた。結核菌はH37Rvヒト結核菌やErdmanヒト結核菌を使用した。また政策医療呼吸器ネットワークを用いた計画も立案した。

(倫理面での配慮)

当院の倫理委員会は、大阪国際大学政経学部教授と関西学院大学学院長を含む多職種の委員により構成され、毎月1回以上開催しており、本研究は、この委員会での承認を得ている。

C. 研究結果

[I]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-liposome / 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。(表1)

表1

新しい結核ワクチン
① HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン
② リコンビナント72f BCG
等

したがって、結核予防ワクチンの臨床応用としてPhase I study(健常人で行う検査項目として、PPD皮内反応 副作用 PBL免疫反応) Phase II study[日本(当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を行う計画をたてた。(表2)

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

一方、結核治療ワクチンの開発が世界的に急速に熱気を帯びてきている。

すなわち、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、

- ① r72f BCGワクチン
- ② Adex(IL-6+ IL-6R+ gp130)DNAワクチン
- ③ HVJ /HSP65 DNA + IL-12DNAワクチン
- ④ HVJ /HSP65 DNA + IL-12 DNA+ BCG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。

具体的には、すでに我々のAdex (IL-6+ IL-6R+ gp130)DNAワクチンは結核治療ワクチン効果をマウスの結核感染の系で示した。さらにHVJ /HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチンもマウスの系で治療ワクチン効果を得た。したがって、これらのワクチンを組み合わせ、priming-booster法を用いより強力なワクチンの開発をスタートした。(表3)

用いる系は
(1) マウス

- (2) モルモット(表4)
- (3) カニクイザル(表5)
- (4) ヒト免疫応答を解析できる
SCID-PBL/huモデルである。(表6)

[Ⅲ]多剤耐性結核菌に対する治療ワクチン
RFP、INHと結核治療ワクチンを併用することにより、RFP、INH低濃度でも結核治療効果、特に多剤耐性結核に対してもRFP、INH等が有効となる可能性が大きい。

[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

D. 考察

[Ⅰ]～[Ⅳ]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。

E. 結論

[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て、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]～[Ⅳ]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。

表 2

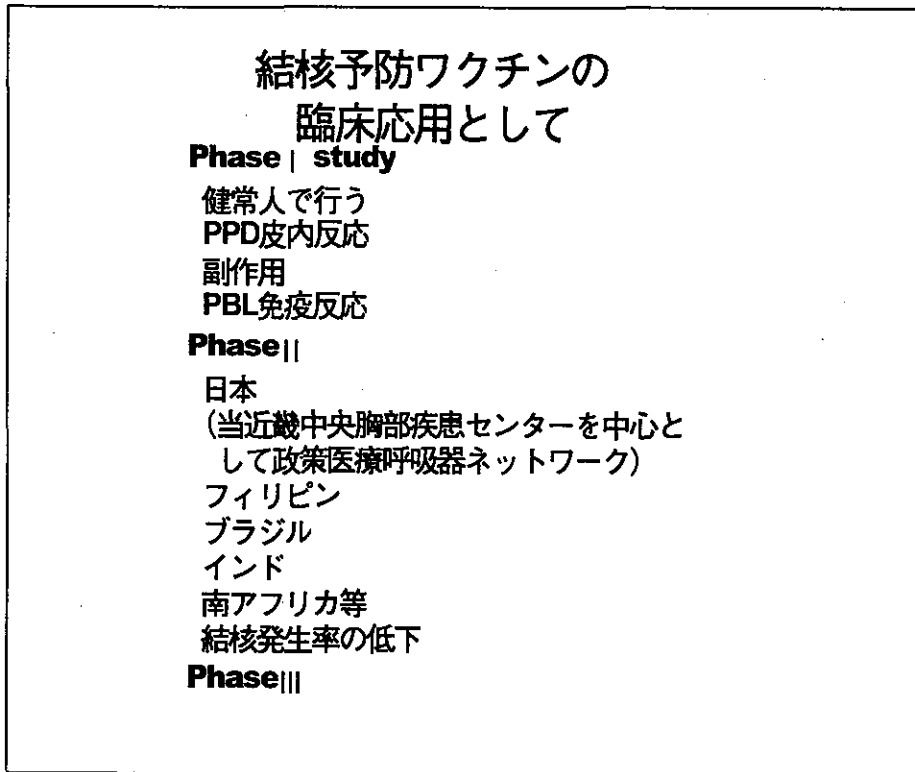


表 3

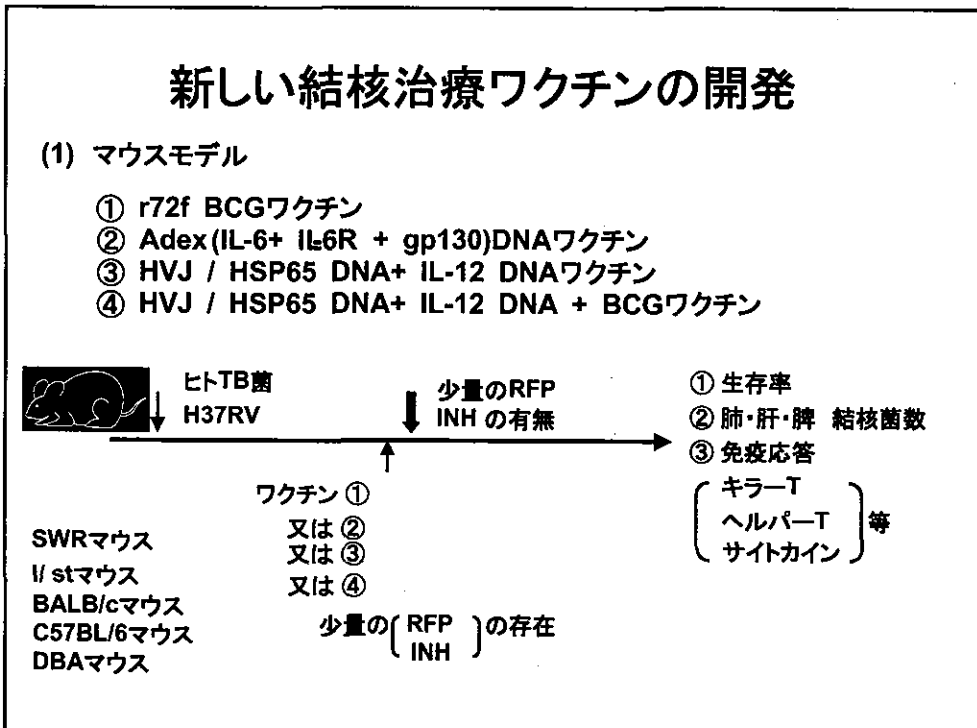


表4

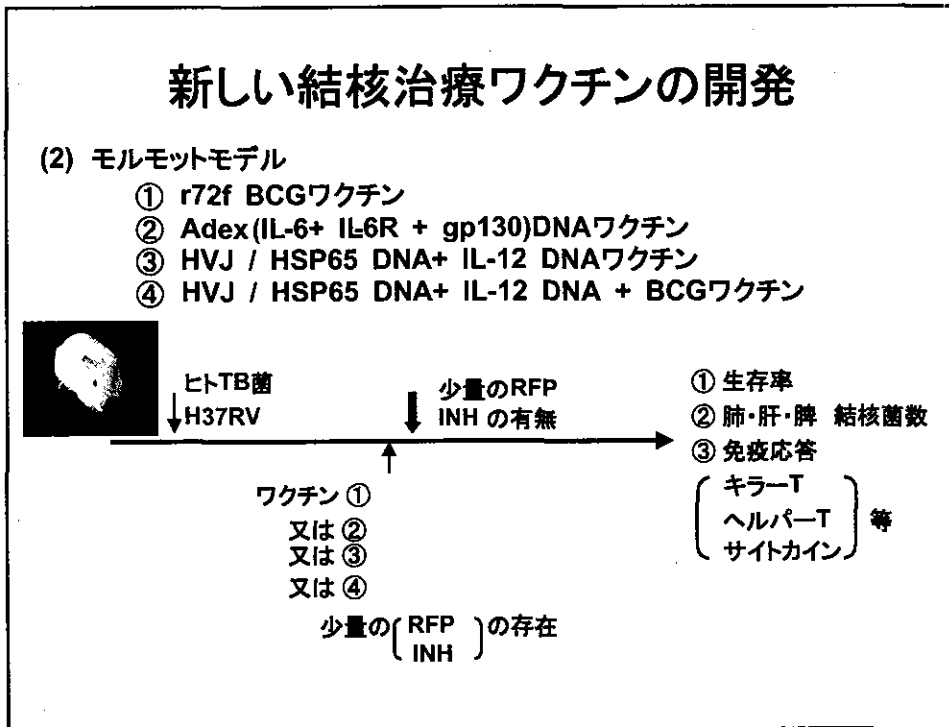


表5

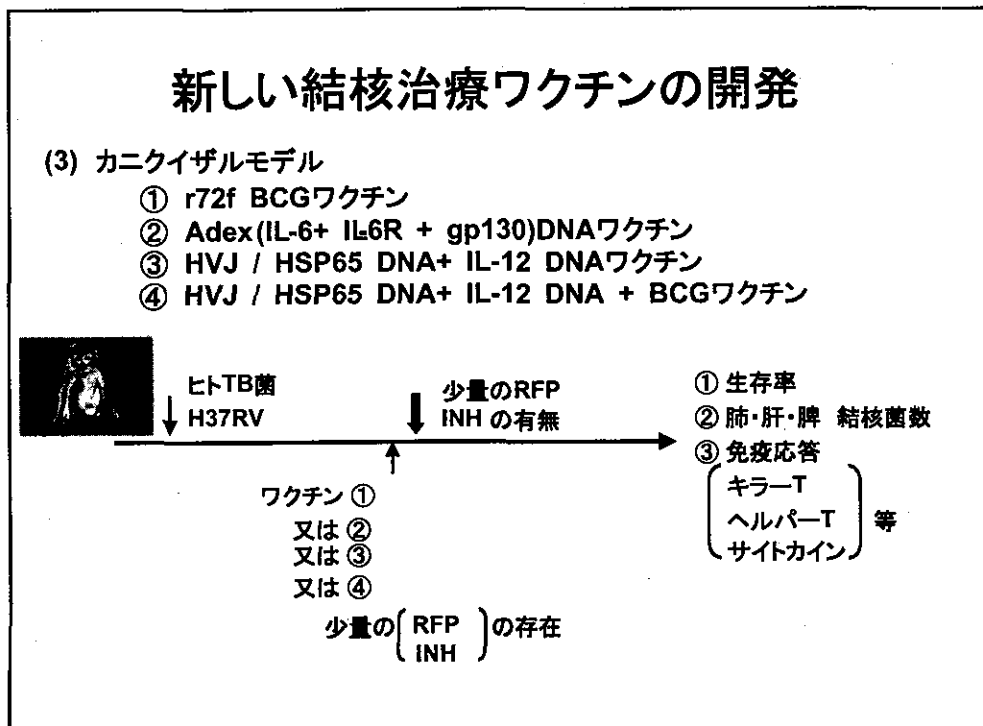
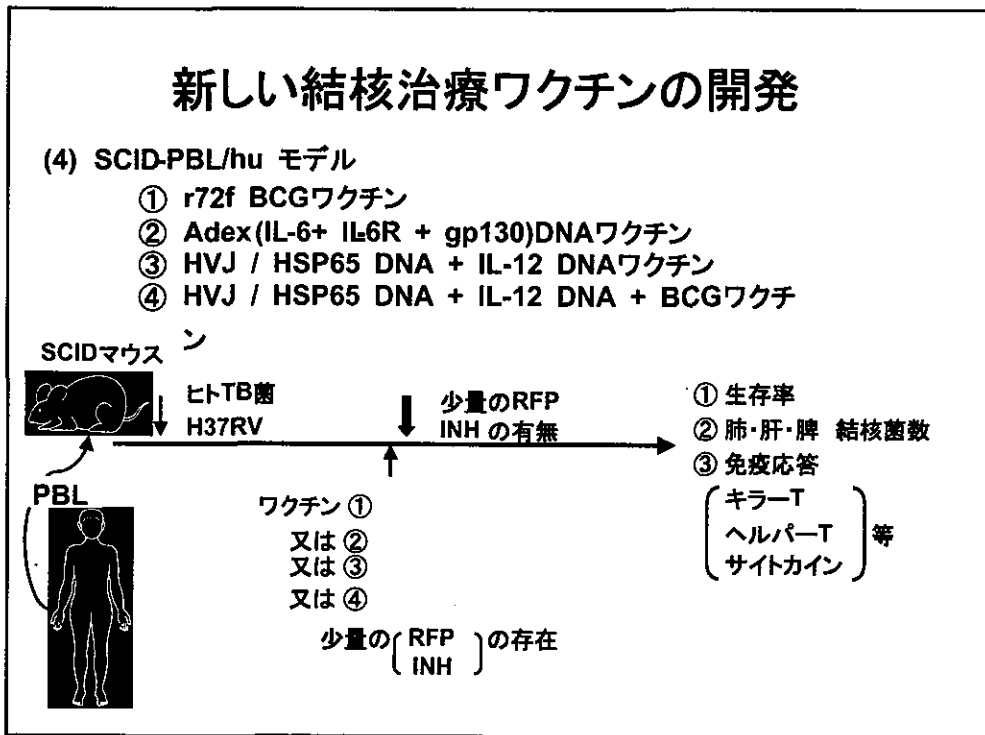


表 6



F. 研究発表

1. 論文発表

(1) 論文発表

1. Sakatani M, Kobayashi S, Takahashi M.: Effects of heat shock on in vitro development and intracellular oxidative state of bovine preimplantation embryos. *Mol Reprod Dev.* 2004;67(1):77-82.
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, 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.

3. 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.

4. 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
5. 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
6. 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
7. Minami S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Sakatani M.: Four cases of Mycobacterium xenopi pulmonary disease. Kekkaku. 2004;79(4):313-20
8. Arai T, Hamano E, Inoue Y, Ryushi T, Nukiwa T, Sakatani M, Nakata K.: Serum neutralizing capacity of GM-CSF reflects disease severity in a patient with pulmonary alveolar proteinosis successfully treated with inhaled GM-CSF. Respir Med. 2004 Dec;98(12):1227-30.
9. Akira M, Kozuka T, Inoue Y, Sakatani M.: Long-term follow-up CT scan evaluation in patients with pulmonary sarcoidosis. Chest. 2005;127(1):185-91.
10. Hayashi S, Abe K, Matsuoka H, Goya S, Morishita H, Mori M, Arai T, Kida H, Nishino K, Takeda Y, Osaki T, Tachibana I, Kimura K, Yokota S, Inoue Y, Sakatani M.: Increased level of soluble E-selectin in the serum from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. Inflammation. 2004;28(1):1-5.
11. 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)
12. 露口一成, 鈴木克洋, 坂谷光則: 推奨処方とその解説. 非定型抗酸菌(非結核性抗酸菌)症. 今月の治療 2004;12; 94-952004
 13. 鈴木克洋, 坂谷光則: 高齢者の結核. 日本医師会雑誌2004;132(1):KM77-KM80
 14. 井上義一, 審良正則, 田中勲, 西村和英, 新井徹, 源誠二郎, 馬渡秀徳, 小林久美[松本], 黒川恵理, 山本暁, 坂谷光則: 胸部の最新画像情報 2004: 三次元CTによる特発性肺胞蛋白症肺内リボプロテイン様物質定量の試みとその意義. 臨床放射線2004;49(1):101-107
 15. 鈴木克洋, 坂谷光則: 結核の現状と薬物療法: 高齢者結核. 医薬ジャーナル 40(2):98-103
 16. 南誠剛, 井上義一, 新井徹, 馬渡秀徳, 鈴木真優美, 林清二, 山本暁, 坂谷光則: 肺多発性結節影を伴った multicentric Castleman's diseaseの1症例. 呼吸23(3):242-247
 17. 露口一成, 鈴木克洋, 坂谷光則: 非結核性抗酸菌症の病態と治療: 非結核性抗酸菌症の疫学. 呼吸と循環 2004;152(6):561-564
 18. 田村光信, 林清二, 松村晃秀, 田中壽一, 川口知哉, 河原正明, 坂谷光則, 廣島健三: 気管支鏡下電気焼灼術(高周波スネア)により摘出した, 気管原発の神経鞘腫の1例. 気管支学. 2004;26(6):531-535.
 19. 南誠剛, 鈴木克洋, 露口一成, 馬渡秀徳, 鈴木真優美, 新井徹, 井上義一, 林清二, 坂谷光則: Mycobacterium kansasiiによる感染性肺嚢胞の1症例. 日本呼吸器学会雑誌. 2004;42(5):440-445.
 20. 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.
 21. 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
 22. 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
 23. 井上義一, 大家晃子, 新井徹, 黒川恵理, 橋本幸子, 林清二, 山本暁, 木村謙太郎, 坂谷光則, 谷尾吉郎, 伏見博彰 肺リンパ脈管筋腫症におけるマスト細胞の役割. 厚生労働省難治性疾患 呼吸不全に関する調査研究. 厚生労働省特定疾患呼吸不全研究班 平成15年度研究報告書 2004;100-102
 24. 井上義一, 大家晃子, 新井徹, 林清二, 木村謙太郎, 坂谷光則: 肺リンパ脈管筋腫症をめぐる問題点と今後の展望. 厚生労働省難治性疾患 呼吸不全に関する

- る調査研究 平成15年度研究報告書
2004;103-104
25. 石原英樹, 児玉昌身, 長谷川克子, 柏庸三, 木村謙太郎, 井上義一, 坂谷光則: 当院における在宅人工呼吸療法の現状—全国呼吸ケア実態アンケート調査のデザイン構築に向けて—. 厚生労働省特定疾患呼吸不全研究班 平成15年度研究報告書 2004;41-44
 26. 児玉昌身, 石原英樹, 長谷川克子, 柏庸三, 井上義一, 木村謙太郎, 坂谷光則: COPDデータベースによる女性患者と若年発症患者の検討 厚生労働省特定疾患呼吸不全研究班 平成15年度研究報告書 2004;45-47
 27. 安藤守秀, 進藤丈, 堀場通明, 林清二, 新井徹, 坂谷光則, 井上義一, 木村謙太郎: COPD患者におけるシャトルウォーキングの歩行距離の検討. 厚生労働省特定疾患呼吸不全研究班平成15年度研究報告書 2004;59-63
- (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. 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, Kwahara 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
5. 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
 6. 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 lymphangioliomyomatosis American Thoracic Society. Sandiego 2004
 7. 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
 8. 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, Montral. 2004.07
 9. 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
 10. 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

11. 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
12. 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
13. 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
14. Inoue Y, Ohya A, Akira M, Tanaka I, Arai T, Hayashi S, Kimura K, Sakatani M.: Evaluation of pulmonary cystic lesions by three-dimensional computed tomography in lymphangiomyomatosis. The LAM Foundation international Research Conference. 2004.03
15. Inoue Y, Arai T, Hamano E, Nakata K, Tazawa R, Nukiwa T, Kudo K, Keicho N, Hizawa N, Yamaguchi E, Eda R, Oishi K, Uchida K, Sakatani M.: Idiopathic Pulmonary Alveolar Proteinosis in Japan(Epidemiological Study). 2004 International Conference, American Thoracic Society. Orlando, U.S.A. 2004.05
16. Inoue Y, Yamamoto S, Hebisawa A, Yamadori I, Akira M, Arai T, Mochizuki Y, Sato T, Fujita Y, Nagata N, Akagawa S, Saito Y, Eda R, Abe M, Kitada S, Fukushima K, Yokosaki Y, Kobashi Y, Hayashi S, Nagai S, Kitaichi M, Nishimura K, Sakatani M, Travis WD.: Prognostic Evaluation of Radio-Pathological Findings in Fibrotic Idiopathic Interstitial Pneumonias(Multicenter Study). 2004 International Conference, American Thoracic Society. Orlando, U.S.A. 2004.05
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, 斎藤泉, 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. 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, 斎藤泉, 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
27. 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
28. 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
29. 井上義一, 山本暁, 蛇澤晶, 山鳥一郎, 審良正則, 新井徹, 望月吉郎, 佐藤利雄, 藤田結花, 永田忍彦, 赤川志のぶ, 斎藤泰晴, 丸山倫夫, 斎藤武文, 江田良輔, 阿部聖裕, 北田清悟, 福島一雄, 横崎恭之, 小橋陽一郎, 林清二, 長井苑子, 北市正則, 西村一孝, 坂谷光則: 新しい基準による特発性間質性肺炎の

- 再評価(多施設共同研究). 第44回日本呼吸器学会 東京 2004.04
30. 井上義一, 山本暁, 蛇澤晶, 山鳥一郎, 審良正則, 新井徹, 望月吉郎, 佐藤利雄, 藤田結花, 永田忍彦, 赤川志のぶ, 斉藤泰晴, 丸山倫夫, 斉藤武文, 江田良輔, 阿部聖裕, 北田清悟, 福島一雄, 横崎恭之, 小橋陽一郎, 林清二, 長井苑子, 北市正則, 西村一孝, 坂谷光則: 線維化をきたす特発性間質性肺炎(IPF, Fibrosing NSIP)の画像, 病理, 予後の関係(多施設共同). 第44回日本呼吸器学会 東京 2004.04
 31. 新井徹, 井上義一, 馬渡秀徳, 源誠二郎, 山本暁, 審良正則, 林清二, 中田光, 木村謙太郎, 坂谷光則: 特発性肺胞蛋白症の重症度評価としての肺機能検査. 第44回日本呼吸器学会 東京 2004.04
 32. 新井徹, 井上義一, 馬渡秀徳, 高藤淳, 井上康, 鈴木克洋, 林清二, 山本暁, 審良正則, 坂谷光則: 総合感冒薬による薬剤性肺炎3例の臨床的検討 第44回日本呼吸器学会 東京 2004.04
 33. 馬渡秀徳, 新井徹, 井上義一, 高藤淳, 安藤性實, 山口徹, 林清二, 審良正則, 山本暁, 鈴木克洋, 坂谷光則: 間質性肺炎に対するシクロスポリンの使用経験 第44回日本呼吸器学会 東京 2004.04
 34. 林清二, 井上義一, 森雅秀, 山本暁, 坂谷光則: 間質性肺炎組織中の肝癌由来増殖因子発現の検討 第44回日本呼吸器学会 東京 2004.04
 35. 安藤守秀, 進藤丈, 堀場通明, 林清二, 新井徹, 坂谷光則, 井上義一, 露口一成, 鈴木克洋, 木村謙太郎.: COPD患者におけるシャトルウォーキングテストの評価. 第44回日本呼吸器病学会 2004.04
 36. 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
 37. 小河原光正, 鈴木克洋, 坂谷光則: 咯痰中に複数種の非結核性抗酸菌を認め, CD4低値にも拘わらず空洞を形成し, 化学療法4ヵ月後にHAARTを開始したところ再増悪を認めた非結核性肺抗酸菌症合併AIDSの一症例. 第79回日本結核病学会総会 名古屋 2004.04
 38. 立花暉夫, 竹中雅彦, 林清二, 坂谷光則, 上田英之助, 大森文夫: 血清IL-18高値持続サルコイドーシス症例の検討. サルコイドーシス/肉芽腫性疾患 2004.10
 39. 深水玲子, 井上義一, 新井徹, 井上康, 安藤性實, 鈴木克洋, 坂谷光則, 審良正則, 山本暁: 脾病変を認めたサルコイドーシスの2例. 日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会研究会近畿地区地方会 2004.03
 40. 馬渡秀徳, 新井徹, 林清二, 坂谷光則, 井上義一, 源誠二郎, 鈴木克洋, 西山明秀: 再発性多発軟骨炎と考えられた1例. 第173回日本内科学会近畿地方会 大阪 2004.06
 41. 安藤性實, 新井徹, 田村光信, 井上義一, 林清二, 河原正明, 山本暁, 北市正則, 小塚健倫, 審良正則, 坂谷光則: FDG-PETが病巣の局在診断に有用であったIPFに合併した肺腺癌の一例. 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 2004.07
 42. 石川秀雄, 木村剛, 大家晃子, 林清二, 坂谷光則, 黒田修, 井内敬二, 井上義一, 鈴木克洋, 高橋由利子, 木村謙太郎, 小塚健倫, 審良正則: IDCによる気

- 管支動脈塞栓術により治療し得た気管支動脈瘤の一例. 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
43. 馬渡秀徳, 新井徹, 高藤淳, 林清二, 坂谷光則, 審良正則, 山本暁, 北市正則, 井上義一, 鈴木克洋: 羽布団使用により発症したと考えられた鳥飼病の一例: 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
44. 立花暉夫, 林清二, 坂谷光則, 大崎匡, 竹中雅彦, 富永信彦, 道清勉, 小泉祐介: 悪性腫瘍合併サルコイドーシス症例の検討. 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
45. 鈴木真優美, 南誠剛, 井上義一, 林清二, 坂谷光則, 松村晃秀, 山本暁, 北市正則: 5年間肺野病変の変化を観察しえたmulticentric Castileman's diseaseの1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
46. 源誠二郎, 井上康, 小河原光正, 露口一成, 新井徹, 井上義一, 鈴木克洋, 林清二, 北市正則, 坂谷光則: 肺結核症の治療中に出現した間質性肺炎、髄膜炎症状から後天性免疫不全症候群と診断された1症例. 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
47. 深水玲子, 井上義一, 新井徹, 林清二, 坂谷光則, 審良正則, 北市正則: 吸入ステロイド療法により呼吸器症状の改善を認めた慢性過敏性肺臓炎の一例. 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
48. 立花暉夫, 竹中雅彦, 林清二, 坂谷光則, 井上義一, 上田英之助: ウイルス性感染症合併サルコイドーシス症例の検討. 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
49. 濱口直彦, 井上義一, 新井徹, 深水玲子, 林清二, 審良正則, 山本暁, 大住寿俊, 坂谷光則, 馬渡秀徳: 全肺洗浄前後で血清中CYFRA、CEAの測定が有用であった特発性肺胞蛋白症の1例. 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
50. 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
51. 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
52. 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
53. 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

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

「結核サブユニットワクチンの開発」
モルモットにおけるBCG-Tokyo細胞壁画分(CCW)の結核感染防御効果の検討
に関する研究

分担研究者 矢野 郁也 日本BCG研究所 中央研究所
菅原 勇(財)結核予防会結核研究所

研究要旨

BCGに替わる次世代抗結核ワクチンとして要求されることは、1)強力な結核発病阻止効果を有し、2)ヒトに接種して安全であること、に要約される。BCG菌菌体成分の強力な自然免疫(innate immunity)の誘導と、結核菌と共通する強力なT-リンパ球活性化能を有し、獲得免疫(acquired immunity)を成立させるための蛋白質抗原を組み合わせることによって従来のBCGワクチンに勝る新しいワクチンの研究開発を試みた。自然免疫成立を誘導するために、種々のアジュバント脂質(cord factor, lipoarabinomannan, lipomannan, CpG及びnon-CpG oligodeoxy nucleotide及びcell wall skeleton等)を含むBCG細胞壁(CW)に、同じくBCG培養濾液中に含まれる蛋白質抗原を組み合わせ、ヒトに近いCD-1抗原提示分子を有するモルモットの系を用いて結核菌Kurono株に対する感染防御効果を検討した。

A. 研究目的

BCGワクチンは、これ迄ヒトに於ける抗結核ワクチンとして長年世界的に広く用いられてきた弱毒生菌ワクチンであるがその効果にバラツキがあることからなお改善が求められている。これに対応して感染等の副作用が少なく、かつ強力な抗結核ワクチンとしてDNAワクチンやサブユニットワクチン(component)が考案されているが、各々優劣があり、なお実用化されるに至っていない。一方結核免疫においては、菌特異的な抗原に対する細胞性免疫反応に基づく獲得免疫以外に、特に感染防御に際しては、NK細胞やNKT細胞の働きを中心とする自然免疫(innate immunity)のかかわりが大きく、特異タンパク抗原のみからなるサブユニットワクチンの構築は困難である。

我々は、BCG菌細胞壁成分(主として脂質及びオリゴヌクレオチドからなる)をアジュバント又はDC活性化物質として用い、BCG培養濾液濃縮抗原(主としてタンパク抗原)を組み合わせた多目的サブユニットワクチンを構築し、ヒトに対して最も安全で有効な、又調節が容易なワクチンを開発しようと考えた。

昨年度は、BCG菌からの細胞壁画分(CCW)の調整と、その物理化学的性質の解析、特に粒子サイズやミセルの性状を粒度分布計、電子顕微鏡等により解析しBCG-CCWの感染防御効果をモルモットモデルにより検討したが、さらに本年は、これらのBCG-CCWとBCG培養濾液濃縮抗原(BCG-CF)を組み合わせモルモットに投与し、強毒結核菌に対する感染防御効果を検討した。

B. 研究方法(平成16年度)

(1) BCG細胞壁(BCG-CCW)の調整

BCG-Tokyo(37℃、8日間表面培養)加熱死菌をフレンチプレス(180MPa×3回)により破碎し、6500×g、20分遠心後未破碎菌を除去し、18000×g、60分遠心後沈殿を回収し、BCG-CCW(BCG-crude cell wall)とした。

純度は抗酸性染色、粒度分布測定により確認を行った。

(2) BCG-CCW免疫実験

雌性ハートレイ系モルモット(約300g)を用い、BCG-CCW(1mg/匹)を頸背部皮内に接種し3、6週間後解剖を行い肺、脾臓の病理組織観察、リンパ節細胞、脾細胞の増殖反応測定、皮内反応測定を行った。Control群ではBCG-CCWの代わりにPBSを用いた。

(3) 感染防御実験

雌性ハートレイ系モルモット(約300g)を用い、BCG-CCW(1mg)を3週間隔で2回投与後、Kuronoz株(5×10^5 CFU)をエアロゾル感染させ、感染7週間後に解剖し、脾臓と肺の生菌数測定、およびHE染色による病理学的観察を行った。

C. 研究結果・考察(平成16年度)

BCG-CCW及びBCG-CFを投与したモルモットは、3週及び6週後に強いDTH型皮内反応を示し(図1)、その反応はCW濃度依存的であった。同じくBCG-CCW及びBCG-CF投与モルモットの肺及び脾臓には、3週及び6週後に顕著な肉芽腫性変化が認められたが、結核菌感染後の病理学的変化はCCW及びCF投与群では軽微であった(図2)。一方、BCG-CCW又はBCG-CCW+CFで免疫したモルモットに強毒結核菌を感染させた後、3週後の肺及び脾臓の生菌数は、対象として用いたBCG生菌投与モルモットに匹敵する強力な抗結核効果を示したのみならず、BCG-CCW単独投

与に比べてBCG-CCW+BCG-CF投与群及びBCG-CCW+BCG-TDM投与群で更に強力な抗結核効果を示したことから(図3)、本法は安全で強力な抗結核サブユニットワクチン候補となる可能性が示唆された。

以上の結果から考察されることは、

(1) BCG細胞壁画分(BCG-CCW)を用いた抗結核ワクチンは、従来のBCG(生菌)と比べて安全で感染の危険性が少なく、常に安定した防御免疫効果が得られると予測され、新しいワクチンとしての実用化が期待される。

(2) BCG-CCWには、細胞壁骨格(CWS)をはじめ、TDM、TMM、LAM、PIM等、多数の脂質分子が含まれるためCD1拘束性のinnate immunityを強化する一方、MHC拘束性タンパク質抗原の含量は低いものの、BCG培養濾液等特異抗原を組み合わせることにより感染防御に関わる特異(獲得)免疫を成立させ、これにより抗結核ワクチン効果が発現するものと考えられる。

(3) さらに強力なcell wall vaccineの開発研究には、結核菌特異タンパク質抗原(又は各エピトープペプチド、アジュバント等)を選択して組み合わせることにより改良が必要であると考えられる。

D. 結論

BCG生菌ワクチンに替わる新しい成分ワクチンとして、BCG菌細胞壁画分(CW)及び培養濾液タンパク質抗原をFIA存在下にモルモット皮下に接種し、抗結核効果を検討したところ、接種後3週及び6週にわたり、少なくともBCG生菌に匹敵する強力なワクチン効果を得ることが判った。この系では、DTHに基づく皮内反応、脾臓及び局所リンパ節内リンパ球のin vitro抗原刺激による増殖反応と、接種した肺及び脾臓の組織学的所見を調べた結果、安全で副作用

の少ない新規抗結核ワクチンとして priming及びboostingのいずれの用途にも有用であることが明らかとなった。

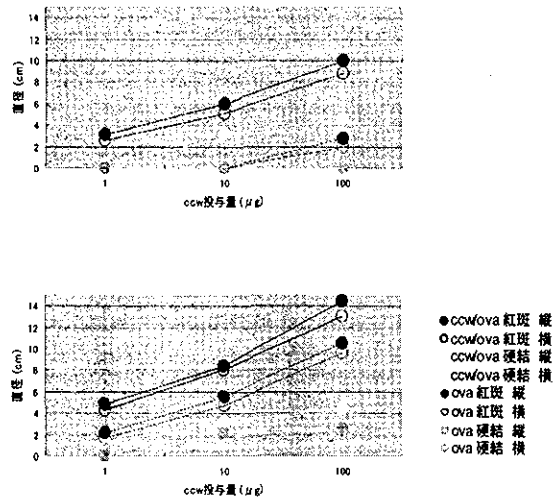


図1 *M. bovis* BCG Tokyo CCW投与モルモットの皮内反応測定

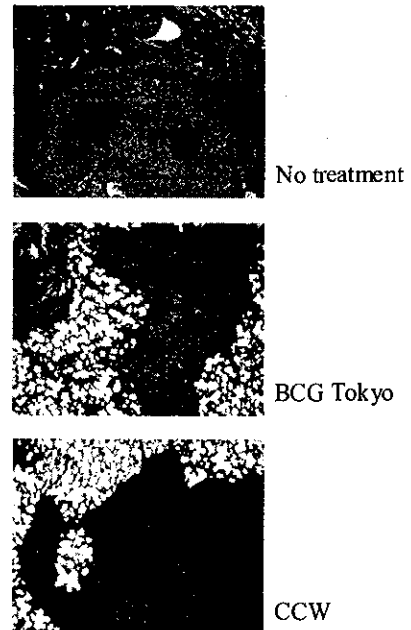


図2 *M. bovis* BCG Tokyo CCW投与による免疫後、*M. tuberculosis* Kurono株をエアロゾル感染後肺の病理組織像 (HE染色)

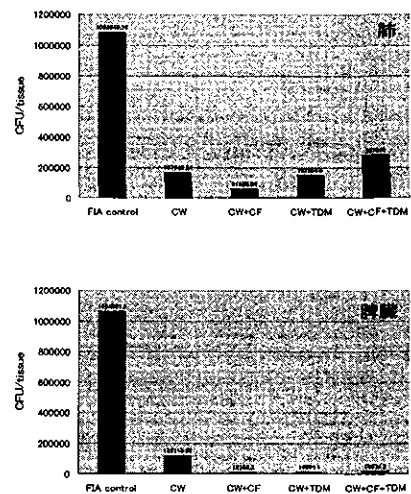


図3 肺、脾臓における*M. tuberculosis* Kurono株の生菌数測定

E. 研究業績研究計画

(1) 論文発表

1. Kudo, K., Sano, H., Takahashi, H.,
Kuronuma, K., Yokota, S., Fujii, N.,
Shimada, K., Yano, I., Kumazawa, Y.,
Voelker, D.R., Abe, S. and Kuroki,
Y.: Pulmonary Collectins Enhance
Phagocytosis of Mycobacterium
avium through Increased Activity of
Mannose Receptor. J Immunol.,
172: 7592-7602, 2004
2. Kano, H., Doi, T., Fujita, Y.,
Takimoto, H., Yano, I. and
Kumazawa, Y.: Serotype-specific
Modulation of Human Monocyte
Functions by Glycopeptidolipid
(GPL) Isolated from Mycobacterium
avium complex. Biol. Pharm. Bull.
(in press, 2005)

(2) 学会発表

1. 矢野郁也, 岡本祐子, 前田美紀, 藤田
由希子, 中崇, 本田郁郎, 宇田川忠, 鈴
木浩之, 横溝秀裕, 菅原勇.: BCG細胞
壁画分(CW)及び培養濾液抗原投与モル
モットにおける結核感染防御効果. 日本
免疫学会総会・学術集会記録, 34
(2004)
2. 藤田由希子, 矢野郁也: 日本結核病学
会総会(第79回)総会シンポジウム講演
「抗酸菌菌体構成高分子の構造解析と生
物活性」(結核, 79 (8) pp488-489)
(2004)

分担研究報告書

ツベルクリン反応に代わる結核菌感染特異的診断の開発に関する研究

分担研究者 螺良英郎 (財)大阪結核研究会 理事長

研究要旨

ツベルクリン反応に代わる結核菌感染特異的診断の開発に成功した。

- (1) 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- γ 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。
- (2) ツ反に用いられるPPDは多種の蛋白を含む。Dr. Gillisはこれらのアミノ酸配列を解読し、結核感染患者のみにskin test陽性でBCG接種者には反応しない蛋白のアミノ酸配列とDNAをクローニングした。さらに、DPPDのヒト成人のskin testにおいて、結核感染特異性を証明した。すなわち、BCG接種者では、PPD(通常ツベルクリン反応)に対する反応は陽性であったのに対し、DPPDに対するskin testは陰性であった。結核患者ではPPD及びDPPDとも両者皮内反応陽性を示した。

A. 研究目的

ツベルクリン反応(ツ反)はBCG接種者で陽性に出る欠点があり、結核感染特異的診断は困難である。したがって結核感染特異的診断法が切望されている。

B. 研究方法

BCG菌にはコードする遺伝子が欠失して、ヒト型結核菌に存在するESAT-6及びCFP-10抗原を用いた。結核患者と健常人末梢血を分離せずに全血24wellプレートに1ml培養し、ESAT-6又はCFP-10で抗原刺激した。16~20時間後に培養上清を集めIFN- γ をELISAで測定した。(表1)

また、ESAT-6ペプチド及びCFP-10ペプ

チドも抗原刺激に用いた。(図1)

米国Corixa研究所Dr.S.Gillis Dr.S.Reedと共同研究を行い、極めて結核感染に特異性の高い、ツ反に代わる新しい診断法の進展が認められた。ツ反に用いられるPPDは多種の蛋白を含む。Dr.Gillisらはこれらの全ての蛋白のアミノ酸配列を解読し、結核感染患者のみにskin test陽性でBCG接種者には反応しない蛋白のアミノ酸配列とDNAをクローニングすることに成功した。さらに、結核患者末梢血Tリンパ球を使ってのin vitroのサイトカイン産生能や増殖反応を解析した。この研究は国立病院機構近畿中央胸部疾患センターで、共同研究を行なった。さらにブラジルの健常者を対象としてskin testを行った。

(倫理面での配慮)

DPPDのin vitroでのヒトリンパ球の反応性を見ることにあたり末梢血リンパ球の臨床研究等、研究対象者に対する人権擁護上の配慮を行う文書を作製している。もちろん研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と理解(インフォームドコンセント)に対する文面も記載されている。

C. 研究結果

(1) 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の確立。結核患者(表2)と健常人末梢血(表3)をESAT-6又はCFP-10で抗原刺激した。16~20時間後に培養上清を集めIFN- γ 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。(図2)(岡田、坂谷、鈴木、井上)さらに、ESAT-6抗原とCFP-10抗原を同時に加えた診断法の方がESAT-6単独刺激又はCFP-10単独刺激よりも感度が良く、カットオフ値が0.35で鋭敏な結核感染特異的診断法となることを明らかにした。(表4)

また、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。

(2) 新しい結核特異的診断法(DPPD)

① DPPDのヒト成人のskin testにおいて、結核感染特異性を証明した。すなわち、BCG接種者では、PPD(通常ツベルクリン反応)に対する反応は陽性であったのに対し、DPPDに対するskin testは陰性であった。結核患者ではPPD及びDPPDとも両者皮内

反応陽性を示した。一方、従来PPD陰性で結核感染が完全に否定されていた医療従事者が最近結核感染が強く疑われ、1年以内にPPD陽性となった人においてはDPPD陽性であった。(S.Gillis, S.Reed、岡田、坂谷、螺良)

② さらに、数百名の成人健常人に行ったskin test研究においては、DPPD皮内反応は陰性群と陽性群にきれいに分かれた。一方、PPD skin testでは大多数が陽性であった。すなわちDPPD陰性群はBCGを接種した人でも結核非感染者を選別する画期的な方法となることが示された。

D. 考察

ツ反に代わる画期的な新しい診断法(結核感染特異的)DPPD skin testの本邦での普及を目指したい。DPPDは、大腸菌にDPPD DNAを発現させた場合、大腸菌での発現が低い。したがってこの蛋白の大腸菌での大量発現、大量産生法を検討中である。さらに、DPPDのskin testの際により少量の蛋白を小微粒子コートしskin testを行う方法を開発しつつある。

E. 結論

ツベルクリン反応に代わる結核感染特異的診断法の開発に成功した。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(岡田、坂谷、鈴木、井上)。

ツ反に用いられるPPDは多種の蛋白を含む。Dr.Gillisはこれらのアミノ酸配列を解読し、結核感染患者のみにskin test陽性でBCG接種者には反応しない蛋白のアミノ酸配列とDNA