

果は相関した。

- (3) 72f Fusion蛋白ワクチン(結核蛋白 Mtb39とMtb32のfusion蛋白ワクチン)のサブユニットワクチンがカニクイザル (cynomolgus monkey)のレベルでBCGよりも有効であることを明らかにした。新しい72f fusion蛋白ワクチンはヒト多剤耐性結核患者T細胞の結核免疫を増強した。BCGでprimingし、後に72f融合蛋白ワクチン(boosterワクチン)を行うと、カニクイザルで極めて強力な予防効果を示した。日本における成人での72f融合蛋白のboosterワクチンが有効である可能性を示唆。
- (4) Priming-Booster法で最も強力な新しい結核ワクチンを作製しつつある。本邦では乳幼児にBCG接種を行う。したがって成人におけるboosterワクチンとして上記のワクチン①HSP65DNA+ IL-12DNAワクチン、②r72f BCGワクチン、③72f fusion蛋白ワクチンを用いたモデルを62頭のサルの系で行いつつある。PrimingはBCG東京ワクチンを用い、すでに免疫をした。4ヶ月後からboosterワクチンを投与。Priming-Booster法は2003年第一回国際結核ワクチン学会で結核ワクチン効果を得る極めて良い方法であるとのコンセンサスが得られた。
- (5) 新しい治療ワクチンの開発: IL-6関連遺伝子ワクチン(Adenoウイルスベクター/IL-6 DNA+ IL-6レセプターDNA+ gp130 DNA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。我々は72f fusion蛋白ワクチンがマウスのみならずカニクイザルでも治療ワクチン効果を示す予備実験結果を得た。したがって、①IL-6関連遺伝子ワクチン+ 72f蛋白ワクチン、又は、②IL-6関連遺伝子ワクチン+ リコンビナント72f BCGワクチンの組み合わせで強力な治療ワクチンを開

発する。

- (6) ① 1000倍発現効率が高い画期的なAAVベクターワクチンを開発した。AAV(2/5)型ベクターに組み込んだHSP65 DNAワクチン すなわちAAV(2/5)/ HSP65ワクチンは、今までのAAV(2/1)/ HSP65 DNAワクチンに比しHSP65蛋白抗原に対するT細胞免疫反応を極めて強く増強した。さらに、AAV(2/5)/Ag85B DNAワクチンもAg85B蛋白に対するT細胞反応を増強した(ハーバード大学医学部R.C.Mulligan教授との共同研究)。すなわち、これらのワクチンをBALB/cマウス又はC57BL/6マウスに投与すると、極めて強力な結核菌特異的キラーT細胞の分化やヘルパーT細胞増殖増強効果が認められた。又IFN- $\gamma$ 産生の強い増強が認められた。特にAAV(2/5) / HSP65 DNAワクチンは $1 \times 10^{10}$ particleでと全く同等のこれらのT細胞活性化が認められた。このことより、有力な結核ワクチンとなることが示唆された。
- ② Adenovirusベクター/ HSP65 DNA及びAdenovirusベクター/Ag85B DNAワクチンも作製した。これらのワクチンも強力なT細胞免疫誘導効果を示した(Mulligan教授との共同研究)。
- ③ 弱毒化したリステリア菌(act geneを欠損させた)にAg85A, Ag85B, MPB51 DNAを導入し免疫したマウスは結核感染予防効果を示した。我々が世界に先駆けての報告となった。
- ④ ユビキチンDNA- HSP65 DNAワクチン及びユビキチンDNA-Ag85B DNAワクチンもそれぞれ抗原特異的に結核免疫を増強した。プ

ロテアソーム阻害剤であるMG-132、エポキシマイシン等を用いることで、抗原提示におけるユビキチン-プロテアソーム経路の重要性について詳細に確認した。免疫プロテアソームのアクティベーターPA28及び免疫プロテアソームのメインコンポーネントであるLMP7のノックアウトマウスを用いて、ワクチンに対するユビキチンプロテアソーム経路の影響についてin vivoでの詳細な解析を行った。その結果、SAG1に対するCD8+ CTLの誘導には、PA28は関与してないが、LMP7が必須の関わりを持つことが明らかとなった

- ⑤ バキュロウイルスはヒトに感染しない安全性の高いウイルスベクターである。昨年度作製した(i) Hsp65タンパクをウイルスピリオン上に提示した組換えバキュロウイルス(ii) Hsp65遺伝子をCMVプロモーター下流に挿入した組換えバキュロウイルスの二種類の組換えバキュロウイルスは、マウスマクロファージRAW264.7細胞に作用し、NOの発現を強力に誘導することを検出した。結核菌は、マクロファージの細胞内殺菌をエスケープして増殖する。活性化マクロファージでは結核菌に対する殺菌活性が亢進するが、その重要な役割を果たしているのがNOであると考えられている。バキュロウイルスワクチンによりこの抗菌エフェクター分子であるNOが誘導されたことは、ワクチン開発に大きな期待がもたれる。
- さらに、Sendaiウイルスベクターを用いてT bet DNAワクチンも開発した。強力なIFN- $\gamma$ 産生の誘導を有する転写因子であるT-bet遺伝子を

組み込んだセンダイウイルスベクター(SeV-Tbet)を用いてマウス脾臓由来DCへの導入を試みたところ、SeV-Tbet導入樹状細胞において有意なIFN- $\gamma$ 産生能とT細胞増殖能を持つことがin vitroで示された。Tbet遺伝子導入DCによる細胞遺伝子療法は技術的に十分可能であり、今後も結核感染マウスモデルにおいてその有用性を検討する予定である。

これらの、①②③④を組み合わせ、さらにBCG東京ワクチンとpriming-booster法を用い、最も強力なワクチンを作製する。

一方、マウスに結核菌抗原感作(TB2ペプチド刺激)樹状細胞を投与することで脾臓の菌量が減少していた。結核に対する細胞免疫療法の有用性を検討するため、マウス由来の樹状細胞(dendritic cell: DC)を結核菌抗原で感作し、これをマウスに投与した。その結果、抗原特異的CD8陽性T細胞が誘導され、BCGを腹腔内感染(全身感染モデル)させるとコントロールマウスと比較してPEC・脾臓において有意な菌数の減少が認められた。以上より、結核菌抗原感作DCを用いた細胞免疫療法は抗酸菌易感染性患者あるいは多剤耐性結核菌患者など難治性結核患者に対するワクチン療法として利用できる可能性が示唆された。この実験系を用いて、今後、センダイウイルスベクターを用いてTbet遺伝子を樹状細胞に導入し、結核菌感染に対する感染防御能の解析を行うことを検討している。

- ⑥ 感作と追加免疫を異なったベクターで行う所謂「ヘテロ免疫法」は強力な免疫能を誘導することが知られ

ている。日本人はBCGで感作を受けている。そこで、我々は結核に対する追加免疫に有効なワクチンの研究を行った。1) 第三世代レンチウイルスベクター：MPT51またはHsp65を発現する安全なレンチウイルスベクターを作製した。このワクチンの経気管接種により、縦隔リンパ節に特異的T細胞を誘導できた。しかし、脾臓には特異的T細胞を検出できなかった。2) ケモカイン融合ワクチン：未熟樹状細胞に発現しているケモカイン受容体のリガンドとMPT51またはHsp65を融合させたDNAワクチンを作製した。これはマウスに特異的T細胞を効率よく誘導できた。3) アルファ-ガラクトシルセラミド( $\alpha$ -GalCer)を用いた樹状細胞ワクチン：CD1dのリガンドであり、NKT細胞を活性化する $\alpha$ -GalCerとMPT51のCD8+ T細胞エピトープを樹状細胞にパルスし、マウスに接種することで特異的T細胞の誘導が増強された。今後は、上記ワクチンをBCG免疫マウスの追加ワクチンとして用い、ヘテロ免疫の効果を判定する予定である。

(7) リコンビナントBCGワクチン：

BA51(Ag85A+ Ag85B+ MPB51)リコンビナントBCGはBCGよりも強力なワクチンであることを明らかにした。種々のリコンビナントBCGワクチンを作製した。特に結核菌の感染防御免疫で主要な役割を演じているIL-12を産生するリコンビナントBCGワクチン(rBCG)を作成した。作成されたrBCGはIL-12を可溶性の蛋白質として産生していた。

また、チミン要求性を指標とした、薬剤耐性遺伝子をマーカーとして使用

しないBCG宿主-ベクター系構築のため、BCG thyA欠損株の作成をおこない、thyA欠損株の候補株を得た。

- (8) 我々が世界に先駆けて開発したSCID-PBL/huの系で結核患者リンパ球をSCIDマウスに生着させ、結核蛋白ESAT-6ペプチドで免疫し、画期的な結核菌に対する生体内ヒトT細胞免疫解析モデルを開発した。さらに、IL-2レセプター $\gamma$ 鎖ノックアウト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。
- (9) 一方、我々は世界に先駆けて多くのヒトに感染するSuper Spreader多剤耐性結核菌SS 0308-0783株(一人のSuper Spreader患者から多数のヒトに感染)を発見した。IL-2R(-/-)SCID PBL/huモデルで治療ワクチン・治療薬を解析中。

[XII] 新しい診断法の開発

1. リコンビナントDPPD蛋白は結核感染に特異的で、BCG接種群には反応しないことを明らかにした。すなわち、ツベルクリン反応に代わる新しい結核特異的診断法DPPD skin testを開発した。(ツ反に用いられるPPDは多種の蛋白を含む。この中より、結核感染に極めて特異性の高い、ツ反に代わる蛋白DPPDのアミノ酸配列及び遺伝子クローニングに成功した。リコンビナントDPPD蛋白は結核感染に特異的で、BCG接種群には反応しないことをモットですでに示した) 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(通常のツベルクリン反応)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。

DPPDの皮内反応を200例以上のヒトで行った。その結果DPPD陽性群と陰性群の二峰性のピークが鋭敏に認められた。一方、PPD皮内反応では二峰性のピークは認められなかった。このことより、DPPDは結核感染に特異的な新しい診断法となることが示された。

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。

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%)。であった。

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。Ksp37はキラーT細胞、NK細胞から主として産生される。我々はこの蛋白がヒト血清中に検出されることを明らかにした。当国立療養所近畿中央病院結核患者40例と、健常人40例の血清中のKsp37濃度を抗Ksp37抗体を用い有意差(<0.05)をもって結核患者血清中のKsp37値が低下していることを明らかにした。すなわち、結核の病態と、Ksp37が密接な関連があることを初めて明らかにした。
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カインースの活性化が重要なことを強く示唆する。

#### [XIV] 結核菌症の病態解明とIFN- $\gamma$ レセプター欠損患者

細胞内寄生性細菌であるBCG接種により全身播種を来した日本人症例を現在までに14例集積し、本邦で初めて4症例（うち2例は父子例）の常染色体優性遺伝形式をとるIFN- $\gamma$ レセプター1欠損症を報告した(J.Infect.Dis.2002)。播種性BCG感染症例、難治性非定型抗酸菌感染症例について現在も集積を続けている。これらの症例でのBCG刺激によるIL-12, IL-18, IFN- $\gamma$ 産生能やIFN- $\gamma$ R1以外にもIFN- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ R2, IL-12, IL-12Ra, IL-12R $\beta$ , STAT1の遺伝子解析を行った。

[XV] 遺伝子ノックアウトマウス、遺伝子導入マウスを用いた新しい結核治療法の解明  
IRF-1(-/-)マウス、STAT4(-/-)、NKT(-/-)を用い、これらは結核免疫の重要であることを明らかにした。すなわち、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IL-12やNKT細胞は結核感染抵抗性に重要であることが示唆された。

[XVI] 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。  
Super Spreader MDR-TB菌(SS 0308-0783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。

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/ $\epsilon$ のノックアウトマウスの解析から、TBK1, IKKi/ $\epsilon$ 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I $\kappa$ B $\zeta$ 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、I $\kappa$ B $\zeta$ 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、他のマウスに比べて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。

#### [XVII]BCG接種が真に大人の結核予防に有効であるかの検討

これまで1~3年の間、観察を継続している48名(BCGワクチン接種者23名、非接種者25名)の中の1名が平成14年に結核を発病した。当人は平成11年度のBCGワクチン接種者であり、経過観察中の3年目に発病しており、対照となるBCGワクチン非接種者群からは未だ発病者を認めていない。

今年度初めて発生した結核発病者は、BCGワクチン接種直前のツベルクリン皮

内反応は陰性であり、病型がリンパ節結核であることを含め、ワクチン接種後に感染し、初感染発病したものと判断される。ワクチン接種群と非接種群の対象者が少ないため、推計学的な有意差は認められないが、成人に対するBCGワクチン追加接種の結核発病予防効果に疑問を投げ掛けるに十分な結果であると考える。

#### [XVIII] 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。

#### [XIX] 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-リボソーム/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。
  10. 新しい結核ワクチン組み合わせによる結核撲滅戦略
    - (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。

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では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γ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

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 Secretory 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発見した(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。

## 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. Koide Y, Miki K, Nagata T, Suzuki M, Aoshi T, Tanaka T, Kim Y-H, Uchijima M, Ohara N, Okada M.: Induction of protective cellular immunity against Mycobacterium tuberculosis using a DNA vaccine

- encoding MPB51 antigen carried by attenuated suicide *Listeria monocytogenes* and identification of T-cell epitopes of the antigen.: Thirty-eighth Research Conference on Tuberculosis and Leprosy, US-Japan Cooperative Medical Science Program 2003, p.32-38.
11. Mitsuyama M, Akagawa K, Kobayashi K, Sugawara I, Kawakami K, Yamamoto S, Okada M.: Up-to-date understanding of tuberculosis immunity. *Kekkaku*. 78(1): 51-5.,2003
  12. Okada M, Tanaka T, Inoue Y, Matsumoto K, Yoshida S, Ohara N, Naito M, Yamada T, Kaneda Y, Matsumoto M, E.C.dela Cruz, E.V. Tan, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M.: Novel (recombinant BCG- and DNA-) vaccination against tuberculosis *Keystone* 2003, P93, 335.
  13. Okada M, Tanaka T, Inoue Y, Takemoto Y, Yoshida S, Ohara N, Naito M, Yamada T, Kaneda Y, Matsumoto M, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M. Abalos, L.J. Young, J.A. Burgos, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M.: Novel (Recombinant BCG- and DNA- )Vaccination against Tuberculosis *FASEB* 2003 17(7) C25, 32.9.
  14. Okada M, Tanaka T, Inoue Y, Takemoto Y, Yoshida S, Ohara N, Naito M, Yamada T, Kaneda Y, Matsumoto M, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M. Abalos, L.J. Young, J.A. Burgos, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M.: Novel (Recombinant BCG- and DNA- )Vaccination against Tuberculosis. *Thirty-Eighth Tuberculosis and Leprosy Research Conference* 2003, P191.
  15. Okada M, Tanaka T, Inoue Y, Takemoto Y, Yoshida S, Ohara N, Naito M, Yamada T, Kaneda Y, Matsumoto M, E.V.Tan, E.C.Dela Cruz, R.M. Abalos, L.J. Young, J.A. Burgos, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M.: Novel (Recombinant BCG- and DNA- )Vaccination against Tuberculosis . *The Awaji International Forum Infection Immunity*. 2003, P126.
  16. Wang T, Fan L, Watanabe Y, McNeill PD, Moulton GG, Bangur C, Fanger GR, Okada M, Inoue Y, Persing DH, Reed SG.: L523S, an RNA-binding protein as a potential therapeutic target for lung cancer. *Br J Cancer*. 2003 88(6):887-94.
  17. Yoshida S, Kondoh D, Arai E, Matsuoka H, Seki C, Tanaka T, Okada M, Ishii A.: Baculovirus virions displaying Plasmodium berghei circumsporozoite protein protect mice against malaria sporozoite infection. *Virology* 2003, 316(1): 161-70.
  18. Wang T, Fan L, Watanabe Y, McNeill P, Moulton G.G., Bangur C, Fanger GR, Okada M, Inoue Y, Persing DH, Reed SG: L523s, a RNA binding protein as a potential



- therapeutic target for lung cancer. British J Cancer 2003, 88(6) 887-94
19. Okada M, Tanaka T, Inoue Y, Matsumoto K, Kita Y, Kimura K, Yoshida S, Ohara N, Naito M, Yamada T, Kaneda Y, Matsumoto M, Matsumoto S, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M: Novel (recombinant BCG- and DNA-) vaccination against tuberculosis. Thirty-Seventh Tuberculosis and Leprosy Research Conference 2002, p171-175
  20. Okada M, Yoshida S, Ohara N, Yamada T, Kaneda Y, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Muraki Y, Inanaga Y, Kanamaru N, Inoue Y, Matsumoto M, Kimura K, Sakatani M, Mori T: Novel DNA and Recombinant BCG Vaccination against Tuberculosis by the Augmentation of Cytotoxic Activity. Faseb J. 2002 A308-A309
  21. Okada M, Tanaka T, Inoue Y, Matsumoto K, Yoshida S, Ohara N, Naito M, Yamada T, Kaneda Y, Matsumoto M, Matsumoto S, Skeiky Y, Reed S and Sakatani M: Novel (recombinant BCG- and DNA-) vaccination against tuberculosis. 2002, The Awaji International Forum on Infection and Immunity p91
  22. M. Okada: Development of new vaccines (DNA vaccine, recombinant BCG vaccine and subunit vaccine) against Mycobacterium Tuberculosis. Kekkaku 2002
  23. Gillis S, Reed S, Skeiky Y and Okada M: New Therapy with DNA vaccination and recombinant BCG vaccination against Mycobacterium Tuberculosis using Monkeys. 平成13年度新興・再興感染症研究推進事業研究報告集 2002 (財)ヒューマンサイエンス振興財団 東京 p.330-341, 2002
  24. Gillis S, Reed S, Okada M: New therapy, Diagnosis and Protection using recombinant BCG-, DNA-vaccination and cytotoxic T lymphocytes against Mycobacterium tuberculosis: New Vaccine and new diagnosis. 平成13年度新興・再興感染症研究推進事業研究報告集 2002(財)ヒューマンサイエンス振興財団 東京 p.501-512, 2002
  25. 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)
  26. 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.
  27. 岡田全司: 自然免疫と獲得免疫の基礎. 最新医学 2005
  28. 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.

29. 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
30. 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
31. 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.
32. 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.
33. 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
34. 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.
35. 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
36. 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
37. 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
38. 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
39. 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
40. 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.
41. 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
42. 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 Researcher Invitation Program) 2004;1-7
43. 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
44. 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
45. 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.
46. 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.
47. 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
48. 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: 新しい治療法の開発に関する研究:[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
49. 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: 新しい治療法の開発に関する研究:[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
50. 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
51. 岡田全司: 結核“分子予防環境医学(生命科学研究所の予防・環境医学への統合)” 分子予防環境医学研究会編 pp150-161, 2003, 本の泉社, 東京
52. 岡田全司: 1週1話 新たな抗結核ワクチン. 日本醫事新報 No.4121 Page89 2003.4.
53. 岡田全司: 抗結核キラーTとリコンビナントBCG-DNAワクチン・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(マウス, モルモット, カニクイザルを用いた) 平成14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 Page185-192 Annual report 2002 U.S. Japan cooperative medical science program tuberculosis and leprosy panel 2003.4
54. 岡田全司: 国立病院・療養所における臨床研究と評価 呼吸器疾患(結核・肺癌)に対する臨床研究(新しい結核ワクチン, 肺癌ワクチン及び新しい診断法・予防法の開発)と評価. 医療57巻1号 Page51-53 2003
55. 大西保行, 日置恭司, 臼居敏仁, 玉置憲一, 岡田全司, 新井敏郎, 西銘千代子, 富沢政史, 鬼頭千佳, 末水洋志: 各種遺伝子操作動物を用いた発ガン予防とがん進展抑制の評価システムの確立. 平成12年度~平成14年度文部科学省科学研究費補助金 基盤研究(B) Page1-9, 85-87 2003.4
56. 井上義一, 松本久美, 岡美穂, 黒川恵理, 山本暁, 新井徹, 林清二, 岡田全司, 坂谷光則: Idiopathic Pulmonary Fibrosisにおけるマスト細胞増加の意義: 免疫組織学的検討. 厚生労働省特定疾患「びまん性疾患調査研究班平成14年度研究報告」Page43-45 2003
57. 岡田全司: 新しい結核ワクチン 最新医学 2002, 57:1942-1952
58. 岡田全司, 田中高生: 結核に対する遺伝子ワクチン 遺伝子医学 2002 6:251-258