

イ国研究機関との共同作業によるコホート研究の運営を通じて、今後の研究開発の組織化についての検討を進めたい。

タイ国では、BCGは東京株を使用しており、またBCGレコンビナントにてHIVワクチンを開発してきた事より、結核ワクチンの開発に関して興味を持っている。当班長はアジアにおける数少ない結核ワクチンの開発者であり、共同研究の意義は深い。

さらに多剤耐性結核の発生につながる、結核の難治化、再発、再感染に、宿主側の要因がどのように関わっているのかについては、ほとんど知見がなく、実情は不明である。今後、日本での予備的研究が今後のタイにおける研究に多くの示唆を与えてくれるものと予想している。

健常者であっても単球からマクロファージへの分化には、形態学上の或いはサイトカインの産生における差異が存在する。一応、タイにおける分化実験は成功した。

#### (2) 中国：

今まで、4つのエタンブトール耐性結核菌の英語論文が出ている。embBの変異検出率は、69、68、57、48.3%で用いた結核菌数は、最大で75である。我々の結果では、検出率45.2%で用いた結核菌数は、133である。それほど、embBコドン306の変異は高くないと考えられる。どのように考えたらいだろうか。コドン306の変異以外に、別の部位に変異が存在することが考えられる。この部位を見つけることが重要である。エタンブトール感受性結核菌のうちで3つにembB変異が見られた。この解釈として、結核菌以外の非結核性抗酸菌が存在した。エタンブトール耐性判定試験における誤判定などが考えられる。特に、固形培地を用いた比率法でのエタンブトール耐性の判定には、従来から、注意を要することが指摘されている。今回の研究から見いだされた興味深い点は、他の抗結核剤 (INH、SM、RFP) 耐性の結核菌が、エタンブトール結核菌である確率は70%強で、高いと言うことである。この機序は、不明だが、交差耐性と考えられる。

#### (3) インド：

インドにおいては、塗抹陽性の結核患者の人数は多く、現状では塗抹陽性患者の発見と、治療体制を整えることを徹底することが課題である状況にあった。多剤耐性結核の制御に

は、現在進めている現在の結核対策はBCG接種とDOTSの徹底である状況であった。わが国では当たり前である結核検診、入院治療、結核菌培養、菌株の保管は、人的にも、財政的にも、無理な状況にあった。今回の訪問により現地の医科大学スタッフからは概ね研究協力の確約を得ることができたが、共同研究を行っていくためには、菌株保管や検査のための機器や器材の提供が必要であり、また研究者の技術供与も必要な状況にあり、複数の研究者の研究チームをつくる必要性がある。

① 結核対策についてインドの現状は、国民の識字率が低く、医療保険制度が未発達であり、医師のいる医療機関も限られている。さらに、貧困者、その率も高い状況にある。このような状況の中で、結核問題を短期間に克服するにはBCG接種とDOTSだけでは困難であると考えられた。DOTSは患者の発生を直接克服する手段ではないからである。その意味では、このような地域の感染症の制御のためには、BCGよりも効力と予防効果の高いワクチンを開発し、投入ができれば短期間に結核問題を解決できる可能性があると考えられた。

② 結核菌株研究について地域では、塗抹検査のみで結核菌を培養していないし、保存もされていない。しかし、治療終了時に行う塗抹検査で陽性の者については薬剤感受性検査を行っている状況であることから、この菌株を収集して分析を行う計画であれば実現可能性があると考えられた。

#### (3) 日本：

多剤耐性結核の克服にとって、正しい薬剤感受性検査が迅速に得られることは必須の項目である。今回の5症例は従来の培養法を用いる薬剤感受性結果が得られないか、正確な結果を得るのに長期間要し、臨床的には問題の例であった。今回市販の2キットを用いて、薬剤耐性遺伝子の変異の有無の検討を実施した。その結果は臨床的な薬剤選択判断に有益な情報をもたらした。培養不能例では結果の妥当性の判断は正確にはできない。しかし臨床経過は順調であり、結果が正しかったものと推定している。一方NTM混在例の結果は、後に結核菌を純培養して得られた薬剤感受性結果との比較が可能

であった。一部若干の相違はあったものの臨床的に問題になるほどではなく、特にINH・RFPの結果は完全に一致していた。通常の薬剤感受性検査が不能な例、また結果が変動したり臨床経過と合わない例では、耐性遺伝子を用いた薬剤感受性検査で臨床上有益な情報が得られる可能性が示唆された。

#### 〔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60%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. 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。さらに、HVJ/ HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチンは薬剤感受性結核のみでなく多剤耐性結核に対しても、マウスの系で強力な治療ワクチン効果を世界に先駆けて明らかにした。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療法を慎重にしなくて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。

2. 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。
3. 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。

4. 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

〔1〕アジア地域との研究ネットワーク（野内、櫻田、JICA、岡田、菅原、服部、慶長、高鳥毛、WHO 等）はすでに確立されており、一層強固になった。

①タイ：（チェンライ県で野内と櫻田）多剤耐性結核の分子・疫学コホート対策について検討。チェンライ県では、結核菌喀痰塗抹陽性肺結核患者は、年間 950 人、再登録患者は約 100 人。現在まで 1987 年から延べ人数で、1081 人の再登録、再発例 442 人、治療失敗による再登録例 205 人、治療脱落による再登録例 319 人、430 人の死亡。再登録に対応した、疫学的危険因子を検討。

(a) 難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）のコホート研究を立ち上げた。

(b) 10年間近く菌体を保存している世界でも類をみないサンプルを用い再発例中の多剤耐性結核菌出現を解析。(c) 慶長らは野内が保存した多剤耐性結核患者 PBMC を用い、SNP 解析プロトコール作製。宿主側免疫応答に関連する遺伝子として、今年度は、NRAMP-1, VDR, MBL, に関する遺伝子タイピング系を確立した。(d) 櫻田らはチェンライに実験室を整備し、多剤耐性結核宿主側要因(リンパ球、Mφ)の研究がスタート。ヒト PBMC からマグネットビーズ法で Mφ を分離し分化させるシステム構築に成功した。タイにおいても日本国内と同様に単球のマクロファージへの分化には形態学的に個体差が認められた。

②中国、フィリピン：多剤耐性結核菌 DNA を入手。約 100 例。VNTR 等で DNA をすでに解析した。

(a) アジア地域(中国)の多剤耐性結核菌 DNA 50例をVNTR (Variable Number of Tandem Repeats (VNTR) : 瀋陽の多剤耐性結核菌50例中6例(12%)で日本のスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌と全く同じVNTR (MIRU) 配列を示した。)で解析し、アジアにも日本と同じスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌が高率に存在することを初めて発見した(岡田、服部)。スーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌は通常が多剤耐性結核菌より毒力が強力であることをマウス生体内で証明した。

(b) 多剤耐性結核菌(河南省と瀋陽)300例のEB、RFP等の薬剤感受性遺伝子変異を解析。arabinosyl transferase 遺伝子 emb306番目の変異を45%に認めた。

(菅原)

③インド：(高鳥毛)インドの大学(Singh 学長)と我々の新しい結核ワクチン臨床応用の共同研究が可能となった。

(a) インドの結核対策の実情を調査し、現地との研究協力体制を確立：インドのグループに行き、B. R. D 医科大学学長 Singh 博士、結核センター及びアグラ S. N. 医科大学学長(インド公衆衛生学会理事長)と研究協力。(b) 地域の結核センターで結核菌株収集の協力を確約。

④シンガポール：(阿部)INH 低レベル耐

性菌を初めて発見。シンガポールの INH 低レベル耐性菌の存在、アジアでの分布解明共同研究。迅速・臨床に有用な薬剤感受性検査(結核菌遺伝子)法を解明。

⑤国際的評価を得た。第10回 pacific-rim TB 国際会議(日米結核会議：アジアの多剤耐性結核対策)に岡田(Japanese/Asian efforts on new TB vaccine development)、野内、松本が発表(ハノイ：平成17年11月)。

[2] HVJ-エンベロープ/Hsp65 DNA+IL-12 DNA ワクチンは BCG よりも 1 万倍強力な結核予防ワクチン効果。結核菌数の減少効果のみでなくマウスで初めてワクチンによる延命効果を発見(マウス)。さらにモルモット(テキサス大 McMurray 教授)及びカニクイザル(レオナルド・ウッド研究所：ヒト結核感染に最も近いモデル。Nature Med. 1996)にワクチン免疫を行った。この群は体重増加。現在、抗結核効果解析中。

[3] 多剤耐性結核に対する世界で初めての治療ワクチン効果を明らかにした。当院の多剤耐性結核菌をマウスに投与した後 HVJ-エンベロープ/Hsp65DNA+IL-12DNA ワクチン治療を行い、多剤耐性結核菌の著明な減少を示した。すなわち多剤耐性結核に対する強力な治療ワクチンであることを発見した。

[4] 多剤耐性結核菌のみでなく薬剤感受性結核菌に対しても、マウスでこのワクチンは強力な治療効果を示した。CD8 キラーT が結核ワクチン効果に必要。

[5] HVJ-リポソーム/Hsp65+IL-12 DNA は、サルで 100%生存率の画期的な結核予防ワクチン効果。カニクイザルの系で HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチンのコントロールとして HVJ-liposome / GFP DNA をコントロールとした新たな確認実験で、この HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチンで著明な延命効果(100%)が認められた。

[6] 新しい化学療法剤(二種 OPC-67683 及び CPZ)が多剤耐性結核に有効を発見。OPC は RFP や INH より切れ味が 10 倍強い(我々が初めて作製した多剤耐性結核ヒト治療モデル SCID-PBL/hu で)。

[7] Toll-like receptor を介した自然免疫活性化が完全に消失する TRIF/MyD88 二重欠損マウスを作製し解析した。このマウスは、結核菌感染に対して、感受性が極めて高いこと

を初めて示した。

〔8〕結核菌殺傷タンパクである Granulysin (Gra) 遺伝子導入マウス作製に初めて成功し、Gra が生体内でも結核菌殺傷に関与することを初めて証明。抗 Gra モノクローナル抗体を作製し、血清中 Gra 測定系確立。多剤耐性結核患者でキラーT細胞産生 Gra 低下。

〔9〕結核菌殺菌ヒト M 型 Mφ は結核菌増殖抑制因子産生。結核菌増殖カタラーゼ産生も異なる発見。

〔10〕臨床応用に実績のあるプラスミドベクター (pVAX1) へ目的遺伝子 (Hsp65 DNA と IL-12 DNA) の組換えを行い、マウス、モルモット、サルにワクチンとして投与した。遺伝子を HVJ-エンベロープに封入した製剤を調製し、品質レベル (品質管理基準) を確認した。(標準操作手順書と治験薬 GMP レベル)

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表

(1) 論文発表

1. Okada M. : Novel vaccines in Asia against Mycobacterium Tuberculosis and SARS. Drug and Future (in press) 2006
2. Yoshida S, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Kanamaru N, Muraki Y, Hashimoto S, Inoue Y, Sakatani M, Kobayashi E, Kaneda Y, Okada M. : DNA vaccine using hemagglutinating virus of Japan-liposome encapsulating combination encoding mycobacterial heat shock protein 65 and interleukin-12 confers protection against Mycobacterium tuberculosis by T cell activation. Vaccine. 2006 24:1191-1204
3. Nakano H, Nagata T, Suda T, Tanaka T, Aoshi T, Uchijima M, Kuwayama S, Kanamaru N, 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 an epitope on antigen 85A. Vaccine (in press)
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, Izumiya M, Yoshida S, Matsumoto M, Kase T, Peiris M, DeMello D, Chen P. J., Yamamoto Y, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M. : Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using mouse and SCID-PBL/hu mouse models. In "Xth International Nidovirus Symposium: Toward Control of SARS and Other Nidovirus Diseases" (Edit.) K. Holmes and S. Perlman, Springer Press (in press)
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, 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: 2132-5.
6. 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 D. E., Peiris JSM, Chen P. J., 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; 23:2269-72.

7. Okada M and Shirakawa T. : Frontier of Mycobacterium Research - Host Vs Mycobacterium. "the 80<sup>th</sup> Annual Meeting Symposium" Kekkaku 80:613-629, 2005.
  8. Okada M, Tanaka T, Yoshida S, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Kaneda Y, Nakajima T, Ohara N, Takai H, Fukunaga Y, Inoue Y, Matsumoto M, Gelber R, Tan E.V, DelaCruz E.C, Abalos R.M, Young L.J, Burgos J.A, McMurray D, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M.: Novel vaccination (HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA and recombinant 72f BCG) against tuberculosis using cynomolgus monkey. 40<sup>th</sup> Tuberculosis and Leprosy Research Conference US-JAPAN Cooperative Medical Science Program. 2005; 46-50.
  9. 岡田全司: 結核ワクチンの開発 (抗酸菌感染症医療の進歩). 呼吸 出版中 2006.
  10. 岡田全司: 結核ワクチン. 結核 第4版 (編集 泉孝英, 富岡洋海) 医学書院 2006; (in press) .
  11. 岡田全司: 結核: 自然・獲得免疫と疾患 [免疫と疾患]. 最新医学 60:678-696, 2005.
  12. 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, 坂口弥生, 古川いづみ, 山田恭子, 和泉谷美和: 結核ワクチン. 呼吸器科 7:63-70, 2005.
  13. 岡田全司, 橋元里実: SARSワクチン. 医学のあゆみ vol.214 No.12, 1025-1026 2005
  14. 鈴木克洋、吉田志緒美、露口一成、源誠二郎、井上義一、林清二、岡田全司、坂谷光則. 肺カンサシ症の治療. 第80回総会シンポジウム p41-43. 結核 第81巻 第1号. 2006年1月
- (2) 学会発表
1. Okada M, : DNA and Recombinant Vaccines: Novel vaccination (HVJ-liposome / HSP65 DNA+ IL-12 DNA and recombinant 72f BCG) against tuberculosis and DNA vaccines against SARS corona virus. 13<sup>th</sup> Annual Congress of the ESGT, 29<sup>th</sup> Oct - 1<sup>st</sup> Nov, 2005 Prague, Czech Republic (Symposist)
  2. 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, Izumiya M, Yoshida S, Matsumoto M, Kase T, , Peiris M, Ishida I Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M ; Development of vaccines against the severe acute respiratory syndrome (SARS) corona virus. Groval Vaccinology International Forum (7<sup>th</sup>), Disease immunization and Immunotherapy. 5<sup>th</sup> Mar-7<sup>th</sup> Mar, 2005, Dubai, UAE (Symposist)
  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, Izumiya M, Yoshida S, Matsumoto M, Kase T, Peiris M, deMello D, Chen P.J, 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. 10<sup>th</sup> International Nidovirus Symposium: Toward Control of SARS and other Nidovirus Diseases, 25<sup>th</sup> Jun - 30<sup>th</sup> Jun, 2005 Colorado Springs, USA (Symposist)
  4. Okada M, Takemoto Y, Okuno Y, Hashimoto S, Fukunaga Y, Tanaka T, Kita Y, Kanamaru N, Takai H, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K,

- Izumiya M, Yoshida S, Matsumoto M, Kasa T, Peiris M, deMello D, Chen P.J, Yamamoto N, Yoshinaka Y, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M ; Development of vaccines against SARS corona virus infection using mouse and SCID-PBL/hu mouse models. The 5<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity, 5<sup>th</sup> Sep-8<sup>th</sup> Sep, 2005, Awaji Island, Hyogo
5. Y. Inoue, A. Ohya, H. Tokoro, Y. Maeda, K. Hirai, T. Arai, N. Kodo, Y. Hashimoto, S. Hayaishi, M. Okada, K. Kimura, M. Sakatani., Quality of Life in the Japanese Patients with Pulmonary Lymphangiomyomatosis, ATS 2005 International Conference, San Diego, California, May 20-25
  6. 橋元里実、福永有可里、武本優次、喜多洋子、金丸典子、田中高生、高井寛子、岡田知佳、坂口弥生、古川いづみ、山田恭子、和泉谷美和、桑山さち子、山本喜三子、白石尚子、橋本雄太、坂谷光則、岡田全司；SARSウイルスに対するDNAワクチンの開発研究. 第59回国立病院総合医学会 2005(10/14-10/15), 広島
  7. 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ワクチンとSARSウイルスレセプター遺伝子導入マウス作製によるT細胞・B細胞免疫応答機構の解明. 第35回日本免疫学会総会. 2005(12/13-12/15). 横浜
  8. 橋元里実、福永有可里、武本優次、喜多洋子、桑山さち子、金丸典子、田中高生、村木裕美子、高井寛子、岡田知佳、坂口弥生、古川いづみ、山田恭子、和泉谷美和、奥野良信、加瀬哲男、吉田栄人、坂谷光則、岡田全司；SARSウイルスに対するキラーT細胞分化誘導機構. 第45回日本呼吸器学会. 2005(4/14-4/16). 幕張
  9. 橋元里実、福永有可里、武本優次、喜多洋子、桑山さち子、金丸典子、田中高生、村木裕美子、高井寛子、岡田知佳、坂口弥生、古川いづみ、山田恭子、和泉谷美和、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ワクチンの開発研究. 第45回日本呼吸器学会. 2005(4/14-4/16). 幕張
  10. 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、高橋由利子、井上義一、鈴木克洋、岡田全司、木村謙太郎、小塚健倫、審良正則、気管支動脈塞栓術によって治療した気管支動脈瘤の5例、第45回日本呼吸器学会学術講演会、千葉、平成17年4月14、15、16日
  11. 鈴木克洋、吉田志緒美、北原直人、露口一成、源誠二郎、井上義一、林清二、岡田全司、井内敬二、坂谷光則、肘関節炎を合併した肺M.kansasii症の一例、第95回日本結核病学会 第65回日本呼吸器学会、京都市ばるるプラザ京都、平成17年6月25日
  12. 井上義一、四元秀毅、川城丈夫、是枝幸子、前田優華、小堂直彦、露口一成、鈴木克洋、岡田全司。坂谷光則. 結核教育における国立病院機構(NHO)病院の現状、問題点、今後期待される役割(全国アンケート調査報告). 第59回国立病院総合医学会. 広島. 2005年10月14、15日
  13. 露口一成、吉田志緒美、鈴木克洋、富田元久、新田忠善、酒井寛、北市正則、林清二、岡田全司、坂谷光則: 当院において *Mycobacterium lentiflavum* を分離した症例の検討. 第59回国立病院総合医学会、広島、2005年10月14-15日
  14. 露口一成、吉田志緒美、源誠二郎、鈴木克洋、岡田全司、富田元久、北市正則、濱口直彦、林清二、坂谷光則、田丸重貴: 当院において *Mycobacterium lentiflavum* を分離した症例の検討. 第96回日本結核病学会近畿地方会、大阪、2005年12月10日
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)
1. 特許取得(出願中)

**[岡田全司]**

岡田全司、高森靖、小川一行、永田欽也  
「感染症治療剤 15K granulysin」  
WO 03/070268 A1  
2002年

岡田全司、吉田栄人、中島俊洋  
DNAワクチン組成物(結核ワクチン HVJ-  
liposome/Hsp65 DNA+ IL-12 DNA)  
提出日:平成17年9月27日  
整理番号:MED-AO504 受付番号:  
50501768464  
出願番号通知:特願2005-280379  
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

岡田全司、大杉義征、三原昌彦  
「キラーT細胞の誘導抑制剤」  
特許申請中

岡田全司、大杉義征、三原昌彦  
「心臓移植における拒絶反応抑制剤」  
特許申請中

**[中島俊洋]**

中島俊洋  
「遺伝子導入のための不活性化ウイルス  
エンベロープベクター」  
特願2001-026185号(出願番号)  
特開2001-286282号(公開番号)  
主要国において  
出願中  
(公開番号 WO01/57204)

中島俊洋  
「HVJの融合タンパク質を含有する遺伝子  
移入ビヒクル」  
特願2000-264424号(出願番号)  
特開2002-065278号(公開番号)  
国内出願中

中島俊洋  
「不活性化センダイウイルスエンベロープの製造方法」  
PCT/JP02/07879(出願番号)  
WO03/014338(公開番号)  
主要国において出願中

**中島俊洋**

「ウイルスエンベロープを用いた生体分子の  
導入方法ならびにそのための組成物および  
システム」  
特願2004-108599号(出願番号)  
主要国において出願中

**中島俊洋**

「化学療法剤を封入した医薬製剤」  
PCT/JP03/13860(出願番号)  
主要国において出願中

**中島俊洋**

「細胞増殖性疾患を治療するための医薬組  
成物」  
特願2004-098839号(出願番号)  
国内出願中(海外出願予定)

**中島俊洋**

「ウイルスエンベロープからなる免疫アジュバ  
ント」  
特願2004-108599号(出願番号)  
国内出願中(海外出願予定)

**中島俊洋**

「ウイルスエンベロープからなる免疫アジュバ  
ント」  
特願2004-172449号(出願番号)  
国内出願中(海外出願予定)

**中島俊洋**

「ウイルスエンベロープの精製方法」  
特願2004-219381号(出願番号)  
国内出願中(海外出願予定)

**中島俊洋**

「ヒト細胞、その取得用法及び用途」  
特願2006-292045号(出願番号)  
国内出願中(海外出願予定)

**[金田安史]**

金田安史  
「HVJの融合タンパク質を含有する遺伝子  
移入ビヒクル」  
2000年

**金田安史**

「遺伝子導入のための不活性化ウイルス  
エンベロープベクター」

2001年

金田安史

「不活性化ウイルスエンベロープの製造方法」

2002年

金田安史、小谷均、山本誠司

「化学療法剤を封入した医薬製剤」

2002年

[松本真]

松本真

「医薬組成物」 特願 2005-292461

2005年

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

中国河南省におけるエタンブトール耐性結核の研究

分担研究者 菅原 勇（財）結核予防会結核研究所  
抗酸菌レファレンス センター センター長

研究要旨

中国河南省で多剤耐性結核の頻度が高い。今回、比率法でエタンブトール耐性と判定された結核菌におけるembB変異の割合を調べた。133例中60（45.2%）にembBの変異が見つかった。そのうち圧倒的に多い変異はATG→GTGで、43例であった。ATG→ATA、ATG→ATT、ATG→CTG、ATG→ATCは、それぞれ7、5、3、2例見つかった。NH、SM、RFP耐性結核菌では、エタンブトール耐性結核菌よりembBの変異が多かった。このエタンブトール耐性の研究は、我が国におけるエタンブトール耐性の研究に、embBの変異の観点からみて、役立つだろう。

A. 研究目的

多剤耐性結核のうち、エタンブトール耐性結核の研究は、少ない。アジアにおける多剤耐性結核研究のネットワーク構築の観点から、今回、多剤耐性結核の多い中国河南省におけるエタンブトール耐性結核の頻度を調べることを目的とした。

地上で2 $\mu$ g/ml以上と定義した。エタンブトールの標的遺伝子は、arabinosyl transferase遺伝子で、そのうちembBが主である。embBのコドン306が重要と考えられているので、この領域を含む260bpの遺伝子増幅産物を解析した。

精製した260bp産物を用いて、DNA sequencer (ABI PRISM Model 377) で塩基配列を決定した。

B. 研究方法

中国河南省30の県から集められた171の結核菌を用いた。このうち、133がエタンブトール耐性で、38が、エタンブトール感受性であった。平均年齢は、43.7歳であり、男女比は、2.2対1であり、農民が多かった。エタンブトール耐性は、比率法で、固形培

C. 研究結果

エタンブトール耐性結核菌と判定された133のうち、60でembBの点突然変異が見いだされた。主要な点突然変異は、ATG→GTGで43、ATG→ATA、ATG→ATT、ATG→CTG、ATG→ATC変

異は、それぞれ7、5、3、2であった。38のエタンブトール感受性菌のうち3で、embB変異が見つかった。次に多剤耐性の程度とembBの変異との関係を調べたところ、エタンブトールモノ耐性菌より、INH、SM、RFP耐性結核菌の方に、embB変異が多く見られた。

#### D. 考察

今まで、4つのエタンブトール耐性結核菌の英語論文が出ている。embBの変異検出率は、69、68、57、48.3%で用いた結核菌数は、最大で75である。我々の結果では、検出率45.2%で用いた結核菌数は、133である。それほど、embBコドン306の変異は高くないと考えられる。どのように考えたらいいだろうか。コドン306の変異以外に、別の部位に変異が存在することが考えられる。この部位を見つけることが重要である。

エタンブトール感受性結核菌のうちで3つにembB変異が見られた。この解釈として、結核菌以外の非結核性抗酸菌が存在した。エタンブトール耐性判定試験における誤判定などが考えられる。特に、固形培地を用いた比率法でのエタンブトール耐性の判定には、従来から、注意を要することが指摘されている。

今回の研究から見いだされた興味深い点は、他の抗結核剤(INH、SM、RFP)耐性の結核菌が、エタンブトール結核菌である確率は70%強で、高いとすることである。この機序は、不明だが、交差耐性と考えられる。

日本では、多剤耐性結核菌は少ないが、

あるとしても、コドン306の変異が大半であると考えられる。このようなエタンブトール耐性結核をなくすには、初回治療で結核を完治させる以外にない。河南省では、治療費が払えず、完全な結核治療を受けられないケースが多い。結核対策としては、早期結核発見、完全治療(DOTSの採用)の徹底しないと考える。

#### E. 結論

他の報告と同じように、エタンブトール耐性の原因は、コドン306の変異によるものが大半である。しかしながら、変異検出率が50%以下なので、別の領域にhot spotがあるかもしれない。中国では、多剤耐性結核が非常に多いので、その対策が急務である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. R. Shi, K. Otomo, H. Yamada, T. Tatsumi, I. Sugawara: Temperature-mediated heteroduplex analysis for the detection of drug-resistant gene mutations in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* by denaturing HPLC and SURVEYOR nuclease. *Microbes and Infection*, 8:128-135, 2006.
2. I. Sugawara, H. Yamada, R. Shi: Pulmonary tuberculosis in various

- gene knockout mice with special emphasis on roles of cytokines and transcription factors. *Current Respiratory Medicine Review*, 1:7-13 2005.
3. K. Hiramatsu, A. Azuma, H. Takizawa, S. Kudoh, I. Sugawara: The effects of inhalation of diesel exhausts on murine mycobacterial infection. *Exp. Lung Res.*, 31: 405-416, 2005.
  4. Hiroyuki Yamada, Tadashi Udagawa, Satoru Mizuno, Kumiko Hiramatsu, Isamu Sugawara: A reliable and reproducible method for evaluating cytokine and iNOS mRNA expression in guinea pig lung tissues by RT-PCR using newly designed primer sets. *Experimental Animals*, 54: 163-172, 2005.
  5. I. Sugawara, Y. Kazumi, Koji Otomo, Kosuke, Ooki, S. Mitarai, K. Mori: Mycobacterium *branderi* isolated pus of a right pulmonary cavitory lesion. *Jap J Infect Dis*, 58 : 187-188, 2005.
  6. Mycobacterium tuberculosis by denaturing HPLC and SURVEYOR nuclease. *Microbes and Infection*, 8:128-135, 2006.
  7. Fujimoto A, Tsukue N, Watanabe M, Sugawara I, Yanagisawa R, Takano H, Yoshida S, Takeda K.: Diesel exhaust affects immunological action in the placentas of mice. *Environ Toxicol.* 20:431-440, 2005.
  8. I. Sugawara, H. Yamada and S. Mizuno: Nude rat (F344/N-rnu) tuberculosis. *Cell. Microbiol.* 2005 (in press).
  9. I. Sugawara, K. Otomo, H. Yamada, G. Wang, C. Du, R. Shi and G. Zhang: The molecular epidemiology of ethambutol-resistant *M. tuberculosis* in Henan province, China. *Jpn. J. Infect. Dis.* 58: 393-395, 2005.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

タイ国の多剤耐性結核を含む難治性結核症例における宿主側要因の研究

分担研究者 野内英樹 結核予防会結核研究所研究部

（現：長崎大学熱帯医学研究所・国際連携研究戦略本部）

研究要旨

北タイ・チェンライ県において、難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）のコホート研究を立ち上げ、今後の研究開発の基盤として作成する。今年度は、コホート研究のプロトコールを作成しながら、過去の結核登録のデータベースを検討した。コホートの取り込みの際に得られた疫学情報、臨床情報、細菌学的情報と共に、血液サンプルを活用して、難治化していない新規の結核患者、及び結核症を発症していない正常タイ人と比較する事により、多角的に難治化に関する因子の同定を目指している。また、コホートでフォローアップをして、免疫マーカーがこれらの群で低下している事実を突き止めた場合、それを指標として、何らかの免疫賦活療法が適応となるかどうか検討する研究をタイ側と協議し、岡田班長の目指している研究開発の基盤としたい。

A. 研究目的

北タイ・チェンライ県において、難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）のコホート研究を立ち上げ、今後の研究開発の基盤として作成する。コホートの取り込みの際に得られた疫学情報、臨床情報、細菌学的情報と共に、血液サンプルを活用して、難治化していない新規の結核患者、及び結核症を発症していない正常タイ人と比較する事により、多角的に難治化に関する因子を同定する。

B. 研究方法

結核研究所はエイズに関連する結核症のフィールド研究を指向し、1995年よりタイ保健省との覚え書きの基に、結核研究所職員と関係者をタイ国チェンライ県に駐在させ、TB/HIV Research Projectという国際共同研究プロジ

ェクトを実施している。1996年にチェンライ県全県の喀痰塗抹陽性結核患者を対象として開始した薬剤耐性サーベイランスの開始以来、臨床分離結核菌株はタイ保健省結核課に保存されている。結核菌のDNA指紋法を活用して結核菌の感染ルート解明も追究している。また早期より、自発的HIV検査とカウンセリングを強化し実施している。結核登録を活用したサーベイランスに関しては1987までに遡って入力をして、結核疫学上の動きを見ると共に、薬剤耐性サーベイランスの治療歴の確認等に活用している。WHO方式のコホート治療結果評価を1995年登録の患者より実施している。更に、チェンライ県衛生局と協力して死亡統計や結核とエイズのサーベイランスデータを統合・電算化し、長期的予後の検索が可能なフィールドに確立している。出稼ぎもなく人口は安定して

いる。チェンライ県には、エイズや結核等の感染症診療では住民の最終診断・治療の場所となっているチェンライ県は、住民登録での人口は1,273,349人（推定にて1,310,000人）のタイの中でも大きな県である。チェンライ県には、県病院としてのチェンライ病院（Chiang Rai Regional Hospital）と、各郡に1つ存在する16の郡病院（District Hospital）がネットワークを形成している。国民皆保険制度にて、基礎的な患者フォローアップもされている。

今回、上記の研究基盤を活用して、①難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）のコホート研究を立ち上げる。①の群に関しては、菌側のRFLP等の標準タイピングを活用して、厳格に内因性の再燃と外来性再感染を区別する。②結核治療に反応が良く再発をしなかった群、結核に罹患していない③正常タイ人のコントロール群を設定し、比較の対象としたい。取り込み時にケース・コントロール研究の形態にて、①と②の比較にて結核症の難治に関する種々の要因検討、③と結核症群（②、①）の比較にて、結核自体の発症に関連する様々な臨床疫学、遺伝疫学、免疫学的な種々の宿主因子の検討を進めたい。

患者サンプルは末梢血から血漿、単球、単球以外の単核球にそれぞれ分離し、単球以外は各々の条件で保存する。本体研究と共同して、臨床免疫学的な研究を行う。分担研究者の櫻田、赤川と協力して、末梢血単球由来マクロファージを用いて、多剤耐性結核の宿主側要因としてマクロファージの自然免疫を中心とした検索を行う。単球は上記方法でマクロファージに分化させ、LPS、BCGなどの刺激前後での標的分子の発現の検出を試みる。標的分子はプロテームに関する手法を用いて、絞り込み中である。血漿は保存後、サイトカインの測定に、単核球に関してはフローサイトメトリーT細胞のサブセット（ヘルパーT、キラーT）の検索に使用する。班長の岡田と

は、血清中granulysin測定（患者リンパ球内の培養土壌中も）、サイトカイン（ヒトIFN $\gamma$ 、IL-2、IL-6）測定を考えている。また、キラーT細胞活性Assayの可能性も検討する。

一年目は、プロトコルを作成すると共に、チェンライ県でのデータベースを整理して、どの位の患者がコホートの対象とできるか検討した。また、タイ側の倫理委員会にも精通した研究者とコホート研究のプロトコルを作成しながら、岡田班長の将来的な目標である臨床研究の可能性について、検討した。

#### （倫理面への配慮）

タイ国側については、タイ保健省倫理委員会の定める倫理規定に沿って研究を実施している。参加研究者全員の合意を得た研究プロトコルを作成し、タイ国保健省倫理委員会および関連研究施設の倫理委員会に提出し、正式な研究として承認を得る。また、本研究に参加する患者については、担当医師による十分な説明の後、書面によるインフォームドコンセントを得る。研究を通して得られた個人情報厳密に管理し、参加研究者以外のものが内容を知り得ることはない。現在までの日泰間の共同研究でこれらの基本原則を遵守し、更に、検体等の日泰間の移動等に関しては文書での Material Transfer Agreement 等を結び、知的財産権（パテント）等の問題も含め国際共同研究に関連した倫理的な問題に配慮してきた実績がある。コホートの参加者にはインフォームド・コンセントに基づく自発的な参加を実施し、参加者のフォローアップにも強制は加えなかった。なるべく、医療的な利益が参加者に得られる様に、タイ保健省の発行する国民健康保険への参加の支援等を行ってきた。タイ人若手研究者の育成の為、マヒドン大学学術担当副学長の基で、大学院博士課程を学んでいる人を日本に来て貰い共同研究の為のアッセイ開発を分担研究者の櫻田の主導にて実施している。

### C. 研究結果

チェンライ県では、年間1500人前後の新規結核患者が発生している（2002年と2003年の新規結核患者数はそれぞれ、1,433人と1,566人）結核菌喀痰塗抹陽性肺結核患者は、表1にある様に、年間950人程度であり、再登録患者は表1と共に表2に示すように、年間約100人である。2003年と2004年はそれぞれ、再発（relapse）例が38人と47人、治療失敗による再登録例が23人と34人、2ヶ月以上の治療脱落による再登録例が17人と22人、慢性排菌例が5人と11人であった。コホート研究を立ち上げた場合、これらの症例数が期待できる。現在までに延べ人数として、1081人の再登録をした人数を同定しており、再発（relapse）例が442人、治療失敗による再登録例が205人、2ヶ月以上の治療脱落による再登録例が319人、慢性排菌例が76人であるが、チェンライ県での死亡データベースで430人の死亡は発見されている。これらの症例（1081人）を注意深く今回までのチェンライ県での登録回数を調べたのが、表の2となる。慢性排菌例がもちろん一番再登録回数が多かったが、再発例も3回以上が47例あった。この様な再登録に対応した、疫学的危険子を表3の様に検討した。年齢は再発例や慢性例が初発と比べて有意に高かった。

また、治療脱落後再発例で有意に女性が少なかった。HIV陽性者は治療失敗例で30%、治療脱落後再発例で23%、慢性排菌例で17%と少なかったが、再発例では37%と初発の35%より高いくらいであった。Ethnicityでは、タイ国籍でない人が山岳民族でないタイ国籍人と比較して有意に再発、治療失敗、慢性排菌、脱落後再発が多かった。

また、長期のフォローアップによる予後として、1997年から2000年に治療完了した1,267人の塗抹陽性の新規肺結核患者に関して、2年間の再発を検討した所、43人（3.4%）の喀痰塗抹陽性再発菌患者が発見された。また、26人（2.0%）が喀痰塗抹は陰性であったが、結核の悪

化による治療がされた。死亡は123人（9.7%）であった。

タイ側のキーパーソンとの協議では、岡田班長の志向する「免疫賦活療法」の研究開発したいと考えているが、それには、研究開発のボランティアの対象となる難治性結核患者で、指標となる免疫マーカーが低下しているかどうか先ず突き止めて、次に免疫賦活療法がそれを指標として評価できるかどうか検討する等のステップが必要と指摘された。単純な共同研究では、前述の様にタイ側若手研究者の研究能力の向上が強調される。しかし、Product Developmentの様な研究開発の過程においては、タイ側のオーナーシップが重要で、組織的対応が必要とのコメントであった。

表1 結核菌陽性再登録患者の登録分類別の数と死亡者数  
(Number of death with in TB patients by last of Pitype and year (Pulmonary TB and AFB positive))

最後の患者 登録分類	1985		1986		1987		1988		1989		1990		1991		1992		1993		1994		
	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	
Chronic	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
Redefa	1	1	0	3	2	7	2	3	1	6	3	6	4	9	4	3	2	6	3	6	3
Fail	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Other	0	0	0	0	0	3	0	3	2	0	0	3	1	0	0	0	1	0	3	2	2
Relap	1	1	0	5	1	5	2	25	10	19	8	18	9	12	9	10	9	10	11	4	4
Total	2	2	0	8	3	15	4	31	13	25	11	27	14	21	13	15	12	22	11	11	11

最後の患者 登録分類	1996		1997		1998		1999		2000		2001		2002		2003		2004		2005	
	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died	Total	Died
Chronic	3	1	10	7	12	7	12	5	5	3	5	2	5	2	11	2	5	0	3	0
Redefa	27	11	27	7	21	10	32	15	33	8	29	10	24	7	22	7	17	3	24	7
Fail	5	1	13	4	18	10	27	10	17	10	26	11	22	5	34	4	23	3	15	1
Other	0	0	3	1	1	1	4	3	6	3	6	2	0	0	2	0	1	0	3	1
Relap	23	14	27	12	29	20	27	18	40	18	35	19	26	6	38	13	47	14	25	2
Total	58	27	80	31	81	48	102	51	101	42	101	44	77	20	107	26	93	20	70	11

\* 2005 year is until September.

Grand Total: Chronic 76 (death 33), Return Deafault 319 (death 119), Failure 205 (death 63), other 39 (death 16), Relapse 442 (death 199)

表2 最後の患者登録分類毎の登録回数  
(Number of previous registration of Re-treatment TB )

	最後の患者登録分類					
	慢性排菌 (Chronic)	治療脱落後再発 (Return default)	治療失敗 (Failure)	その他 (Other)	再発 (Relapse)	合計 (Total)
1回	0	53	9	28	87	177
2回	4	211	154	8	308	685
3回	35	45	33	3	41	157
4回	16	6	9	0	3	34
5回	13	0	0	0	3	16
6回	6	1	0	0	0	7
7回	1	2	0	0	0	3
8回	1	1	0	0	0	2
Total	76	319	205	39	442	1,081





#### D. 考察

本研究は非常にユニークな研究である。元々疫学上のコホート研究のために整備されたフィールドを臨床免疫学的研究に利用する学際的な研究である。本岡田班は、アジア地域との研究ネットワーク活用による研究開発であり、現地での研究基盤が欠かせない。このような研究にはタイ国のチェンライ県の様に、地域ベースで20年近い地域結核登録データベースを持ち、しかも菌体保存を10年近くしている地域は非常に稀である。特に本研究の場合、結核菌のタイピングをして、前と同じ菌による再燃(reactivation)か、前と違う菌により再感染(reinfection)発病したものかにより、大きく解釈が異なるので、チェンライ県のフィールドは貴重である。これまで、システムの結核の再発と治療失敗の原因要因について、薬剤耐性菌出現の問題からの検討は一度、研究発表している(Development of acquired drug resistance in recurrent tuberculosis patients with various previous treatment outcomes. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease 2004; 8(1):31-38)。症例の蓄積、PBMCの一部保存は進めているが、様々の要因、特に宿主側の要因検索は進んでいない。

コホートの取り込みはパイロット的に進めているが、来年度は取り込みをする病院を増やし、症例数を増加させて、内部比較も出来る様に進める。免疫応答の継時的な変化を見ながら、免疫マーカーの低下の状況と臨床的予後を明らかにする事を進めたい。分担研究者の慶長らと遺伝学的素因を調べるには、サンプル数が必要なので、Retrospectiveの取り込みを考慮する。Retrospectiveな取り込みが出来た場合、その過程で、この様な結核

患者の長期予後の分析が出来ると思われる。免疫マーカーがこれらの群で低下している事実を突き止めた場合、それを指標として、何らかの免疫賦活療法が適応となるかどうか検討する研究をタイ側と協議し、岡田班長の目指している研究開発の基盤としたい。また、タイ保健省NIHやマヒドン大学の様な有力なタイ国研究機関との共同作業によるコホート研究の運営を通じて、今後の研究開発の組織化についての検討を進めたい。

タイ国では、BCGは東京株を使用しており、またBCGレコンビナントにてHIVワクチンを開発してきた事より、結核ワクチンの開発に関して興味を持っている。岡田班長はアジアにおける数少ない結核ワクチンの開発者であり、共同研究の意義は深い。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nishiura H, Kuratsuji T, Quy T, Phi NC, Ban V, Long HT, Yanai H, Keicho N, Kirikae T, Sasazuki T, Anderson R. Rapid Awareness and Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome in Hanoi French Hospital, Viet Nam. American Journal of Tropical Medicine & Hygiene, 2005; 73(1):17-25.
2. Sato R, Keiwa:nka B, Isaranurung S, Pattara-Archachai J, Yanai H, Tunekawa K. Characteristics of Voluntary Counseling and Testing (VCT) Acceptance among Pregnant

- Women Attending an Antenatal Care Clinic at Lerdsin Hospital, Bangkok, Thailand *The Journal of AIDS Research* 2005;7:131-140.
3. Itoyama S, Keicho N, Hijikata M, Quy T, Phi NC, Long HT, Ha LD, Ban VV, Matsushita I, Yanai H, Kirikae F, Kirikae T, Kuratsuji T, Sasazuki T Identification of an Alternative 5'-untranslated Exon and new Polymorphisms of Angiotensin-converting Enzyme 2 Gene: Lack of Association With SARS in the Vietnamese Population *Am J Med Genet* 2005;136(1):52-57.
  4. Hamano E, Hijikata M, Itoyama S, Tran Q, Nguyen PC, Hoang LT, Le HD, Vo BV, Matsushita I, Yanai H, Kirikae F, Kirikae T, Kuratsuji T, Sasazuki T Polymorphisms of interferon-inducible genes OAS-1 and MxA associated with SARS in the Vietnamese population. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005;329(4):1234-9.
2. 学会発表:
1. Yanai H. Overview of HIV/TB: focus on Asian experience 10th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim under US-Japan Medical Cooperation Program, Hanoi, Vietnam, (invited speaker) November 16 -17, 2005
  2. Yamada N, Nedsuwan S. Takahashi K, Yanai H, Piyaworawong S, Nampaisan O, Summanapan S, Marui E Estimation of incidence of tuberculosis in a population cohort based on existing health information system in the district. World Congress of Epidemiology, Bangkok August 2005
  3. Yanai H, Nantha S, Nampaisan O, Sumanaphun S, Riangthong D, Nateniyom S, Ishikawa N, Yamada N Trend of drug-resistant tuberculosis (TB) among Thai and non-Thai population in Chiang Rai, Thailand the 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific (ICAAP) Kobe, (Abstract SaC07-01), Japan, July 1-5, 2005
  4. Saint S, Kimura K, Okada K, Khun KE, Tamura M, Onozaki I, Yanai H, Mao TE Can National TB surveillance be an alternative of HIV surveillance? - Analysis of Cambodia National TB Surveillance the 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific (ICAAP) Kobe, (Abstract SaC07-05), Japan, July 1-5, 2005
  5. Yamazaki A, Ishikawa N, Yanai H HIV Testing for TB patients within TB hospital in the Tokyo metropolitan district the 7th International Congress on AIDS in

- Asia and the Pacific (ICAAP) Kobe, (Abstract MoPB0008), Japan, July 1-5, 2005
6. Imadzu, L Carter S, Yanai H. Possibilities and Limitations of a Regional Approach to HIV/AIDS among the Migrant Population in Asia-Lessons from the European Experience district the7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific (ICAAP) Kobe, (Abstract SuE03-01), Japan, July 1-5, 2005
  7. Imadzu L, Yanai H. Post-crisis Management: Implications for the Control of HIV/AIDS in the Asia-Pacific Region the7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific (ICAAP) Kobe, (Abstract MoPE0006), Japan, July 1-5, 2005
  8. Trongsakul, S, Kuptarat R, Narnpaison, O, Yamada N, Yanai H., Ngamvithayapong-Yanai J. Reasons of high and low HIV testing rate among tuberculosis patients in Chiang Rai, Thailand the7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific (ICAAP) Kobe, (Abstract SuPE0034), Japan, July 1-5, 2005
  9. Yamada, N, Nedsuwan' S, Buranabanjasatean, S, Piyaworawong S, Moolphate S, Sumanapun S, Nateniyom S, Thanprasertsuk S, Yanai H Tuberculosis detected by the screening among people living with HIV/AIDS (PLWHA) in Chiang Rai, Northern Thailand the 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific (ICAAP) Kobe, (Abstract SuPB0085), Japan, July 1-5, 2005
  10. Yamada N, Sumanapun S, Nampaisan O, Komsakorn S, Nateniyom, S, Uthavivoravit W, Yoshiyama T, Yanai H. The situation of HIV testing for tuberculosis patients in Chiang Rai Province, Thailand in 2000-2003 the 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific (ICAAP) Kobe, (Abstract SuPC0095), Japan, July 1-5, 2005
  11. Saejung S, Kantipong P, Uthavivoravit W, Nampaisan O, Sumanapun S, Yamada N, Yanai H Deaths during TB treatment of HIV co-infected tuberculosis cases before wide introduction of ARV in public health services in Chiang Rai, Northern Thailand the 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific (ICAAP) Kobe, (Abstract MoPC0120), Japan, July 1-5, 2005
  12. 伊藤千顕、今津里沙、野内英樹、黒岩宙