

表7 受診時期別予防内服実施状況

	予防内服なし	予防内服実施	合計
直後	25	35	60
1ヶ月未満	11	5	16
2ヶ月未満	7	5	12
3ヶ月未満	6	5	11
4ヶ月未満	4	4	8
4ヶ月以上	3	1	4
合計	56	55	111

### C. 考察

従来の報告にあるように、小児結核発症例はBCG未接種者が多く当院の症例でも約半数が未接種であった。このため幼少時期(現在は生後6ヶ月までに実施)に確実にBCG摂取を行える体制を作り、期間内に摂取できなかった乳幼児の再接種機会を設ける必要がある。

保健所に於ける家族検診の時点で対象者が小児の場合、BCG接種の有無の確認は重要で未接種者はむろん、幼少児においては遅滞なく検診を実施し早期の診断が必要である。また1回の検診で良しとして、その後の経過観察が十分出来ず発症した症例もあり、結核発症のリスクを十分家族に認識してもらうための専門的指導が必要である。

小中学校に於けるツ反が中止になり、学校での結核検診が問診として実施されるようになった。BCG未接種者は確実にツ反等を実施し陽性の場合は胸部Xp等の検査が必要である。また発展途上国との人の交流が増える中、結核蔓延国からの帰国子女や入国労働者子弟の場合はハイリスクとして検診が必要と考えられる。

当院で行った家族検診で予防内服を行った症例は全体の半数に上る。これは感染源のリスク評価の結果であるが、はたして過剰な予防内服を行っていないかどうか再評価が必要である。この場合「感染した」事を客観的に診断する手段がこれまで無かったが、近年特異抗原（ESAT-6, CFP-10）を用いた結核特異診断法（クオンティフェロンテスト；QFT）が導入されるようになった。しかし小児領域での有用性は十分に検討されていないが、家族検診に於けるQFTはその診断特異性からBCG既接種者の感染診断には有力な手段になると考えられる。QFTが陽性の場合「結核感染が有り」と考え胸部造影CT等を積極的に行い発症の診断が重要となる。QFT陽性で画像上所見がない場合、積極的に予防内服を実施しながら経過観察が必要である。しかし成人で使用している陽性・陰性判断のカットオフ値が小児でも当てはまるか否か今後の検討課題である。

### D. 結論

(1) 小児結核ではその予防の基礎とな

- る BCG 接種を幼少時に確実に実施する
- (2) 家族検診においては遅滞なく小児科で精密な検査を行い感染と発病の有無を判断する事が重要である
  - (3) 予防内服適応の根拠として客観的な結核菌感染の診断のため QFT の有効性を早急に検討することが必要である
  - (4) 学校の結核検診に於ける問診から要精査群の効率的な検診体制の構築が望まれる

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

職員結核感染防止対策におけるQFT2G測定とツベルクリン反応の比較検討

研究協力者 鈴木克洋 近畿中央胸部疾患センター 感染症研究部長

研究要旨

BCG接種が広範に普及している我が国で、ツベルクリン反応を用いて結核感染を正確に判定することは難しい。特に結核病棟をもつ病院職員では、ほとんど不可能と考えられる。近年結核菌特異的な抗原を用いてリンパ球を刺激し、インターフェロン $\gamma$ 産生量からBCGの影響を受けずに結核感染を正確に判定できるQuantiferon TB第二世代(QFT2G)が開発され、その有用性が内外で報告されている。本研究は結核病棟をもち常時結核菌にさらされている当院職員の結核感染対策におけるQFT2Gとツベルクリン反応の有用性を比較するために計画された。現在までの途中経過では、QFT2Gを用いるとツベルクリン反応と比べてより正確に結核感染を判定できる可能性が示唆されている。

A. 研究目的

結核病棟をもつ病院での感染対策の柱の一つは結核を発病した職員を早期に発見することである。そのために半年に一度胸部レントゲンを撮影するとともに、結核の初期症状を十分に教育する必要がある。さらに発病前の感染の段階で発見し、発病を防止するために化学予防を実施することが求められている。しかし全国民にBCGを最大3回接種してきた我が国では、ツベルクリン反応で結核感染を正確に判定することが難しいことは周知の事実である。20歳のツベルクリン反応陽性率は80%に近いが、そのほとんどがBCGによる陽性であると考えられている。特に結核病棟を持つ旧国立療養所である当院職員は常時結核菌に曝露され

ており、ブースター効果のためツベルクリン反応が増強されていると思われるため、感染の有無を判定することは不可能に近い。近年BCGには存在せず結核菌に特異的な抗原であるESAT-6とCFP-10が遺伝子工学的手法で開発された。試験管内でリンパ球をこの2抗原で刺激し産生されるインターフェロン $\gamma$  (IFN) 量から、結核菌特異的な細胞性免疫の有無を判定する検査キットであるQuantiferon TB第二世代(QFT2G)が開発され、その有用性が内外で報告されている。結核菌特異的な細胞性免疫の存在は間接的に結核感染を示しているため、同キットを用いて結核の診断や集団感染事例での感染者の選定が可能になる。そこで結核病棟を多数もつ旧療養所である当院職員

の結核感染がQFT2Gを用いて正確に判定  
ることを計画した。

## B. 研究方法

当院職員全員（約450名）に当計画を詳細に説明し、研究参加に同意した259名を対象とした。QFT2Gの測定はキットの説明書に従い実施した。ESAT-6、CFP-10のいずれかの抗原刺激でのIFN産生量が0.35以上を陽性、0.1未満を陰性、間を疑陽性とした。QFT2G採血後に通常通りにマントー法によるツベルクリン反応を実施した。判定も通常通り行い、発赤10mm以上を陽性、30mm以上を強反応、二重発赤・水泡・壊死がある場合を強陽性と判定した。結核感染を判定するゴールドスタンダードが存在しないため、QFT2Gとツベルクリンの妥当性は以下の二つの視点から判断した。

1) 結核罹患率の推移から計算した推定感染率との合致:20歳で1.4%、30歳で3.3%、40歳で6.7%、50歳で14.9%が推定値である。一般に医療従事者での結核罹患率は一般人の2-3倍である事を勘案すると、当院職員の結核感染率は10-20%程度と推測される。

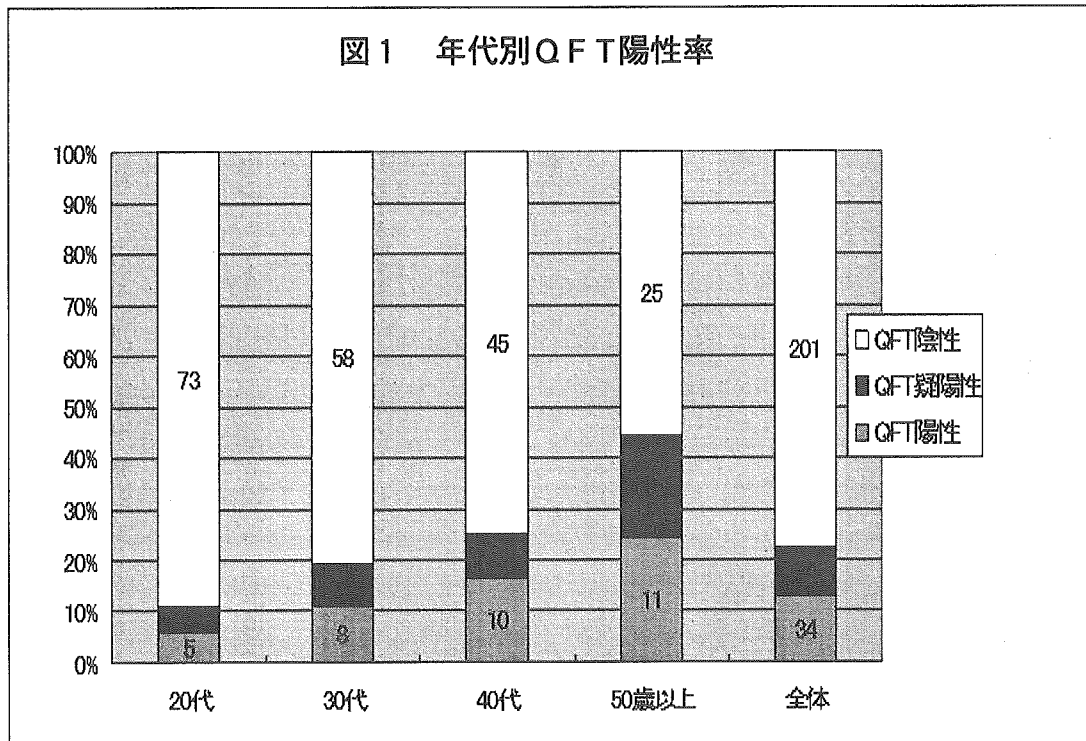
2) 臨床的な要因との相関の有無:年齢が高いほど陽性率が高い、治療や化学予防の既往歴がある場合陽性率が高い、感染の危険性が高い(経験年数や職種など)ほど陽性率が高い、などの関係が認められるはず

できるのかツベルクリン反応と比較検討  
すである。

## C. 研究結果

QFT2Gは12%が陽性(疑陽性も含めると21%)、一方ツベルクリン反応は、陽性96%、強反応(強陽性も含む)57%、強陽性34%であった。推定値に近いのはQFT2G陽性もしくは陽性+疑陽性であり、ツベルクリン反応は現在用いられているどの基準でも過剰に判断していると考えられた(図1)。年代ごとの推移を検討すると、QFT2G陽性率と疑陽性+陽性率ともに高齢になるほど上昇しているのに対して、ツベルクリン強陽性は30代で、強陽性+強反応は40代でそれぞれピークとなりその後低下している(図1)。結核治療や化学予防の有無との関係を図2に示す。QFT2Gの陽性率は有る群で無い群の3倍以上であったのに対してツベルクリン強陽性率は高々1.3倍であった。結核病棟をもつ病院での勤務年数5年未満と以上での比較を図3に呈示した。QFT2G陽性率が以上群で約2.5倍であったのに対して、ツベルクリン強陽性率にはほとんど差がなかった。職種ごとの検討では、QFT2G陽性者は医師・看護師・看護助手・検査技師に多く、事務職と薬剤師には皆無であった。一方ツベルクリン反応ではQFT2Gほど顕著な差を認めなかった(図4)

図1 年代別QFT陽性率



年代別ツベルクリン反応

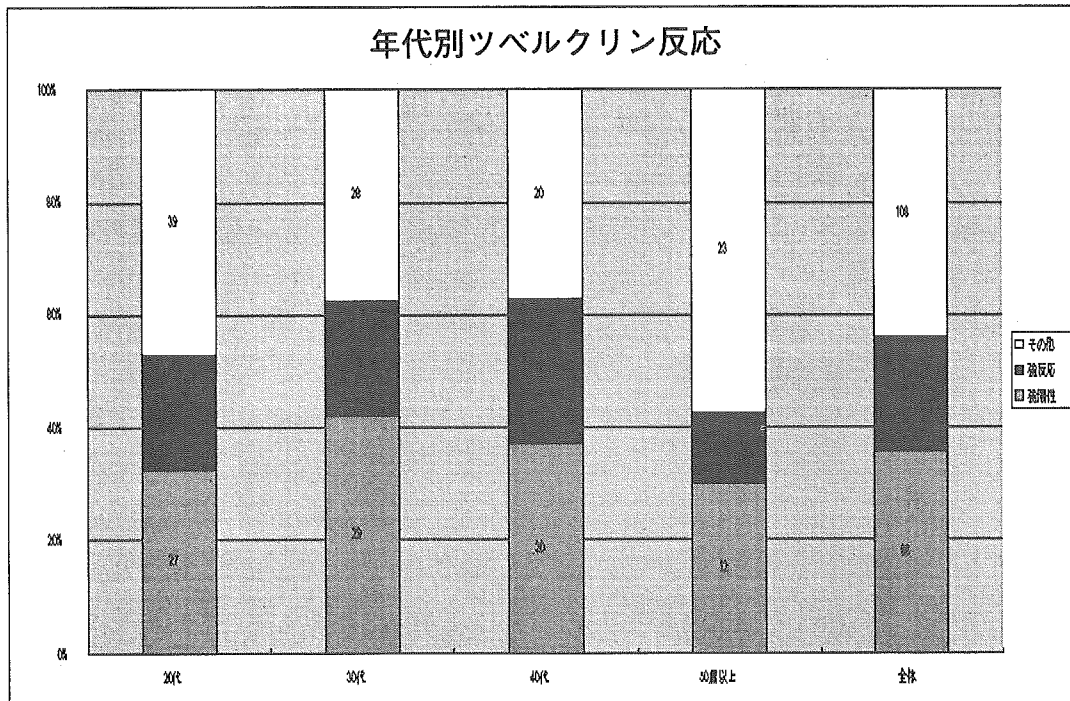
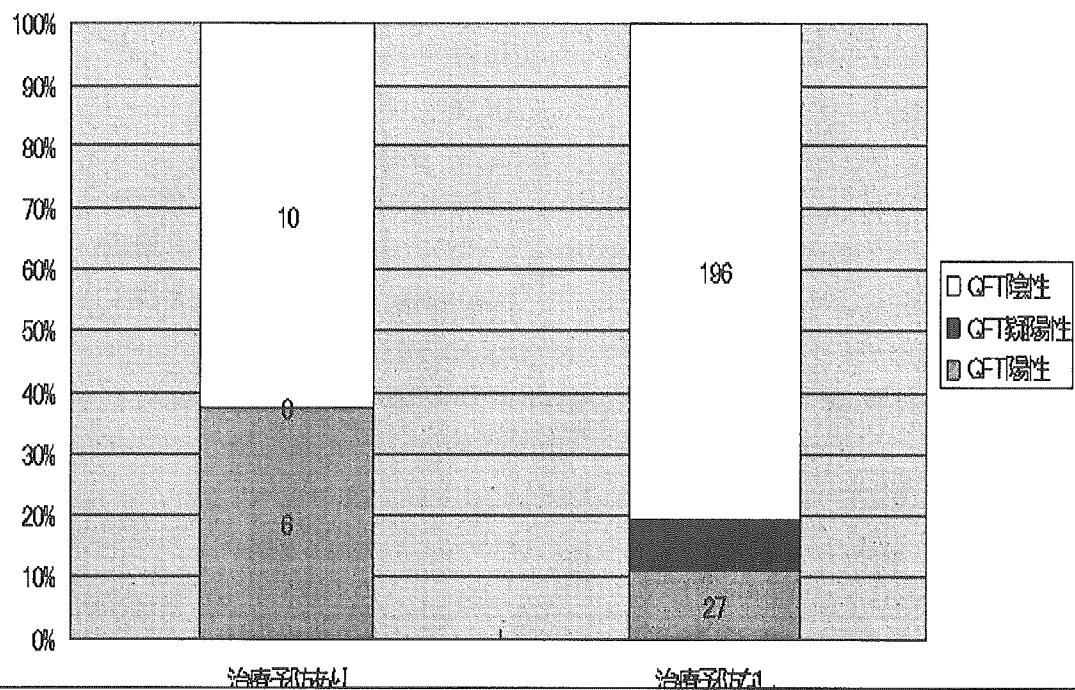


図2 治療予防の有無とQFT結果



治療・予防の有無とツベルクリン反応

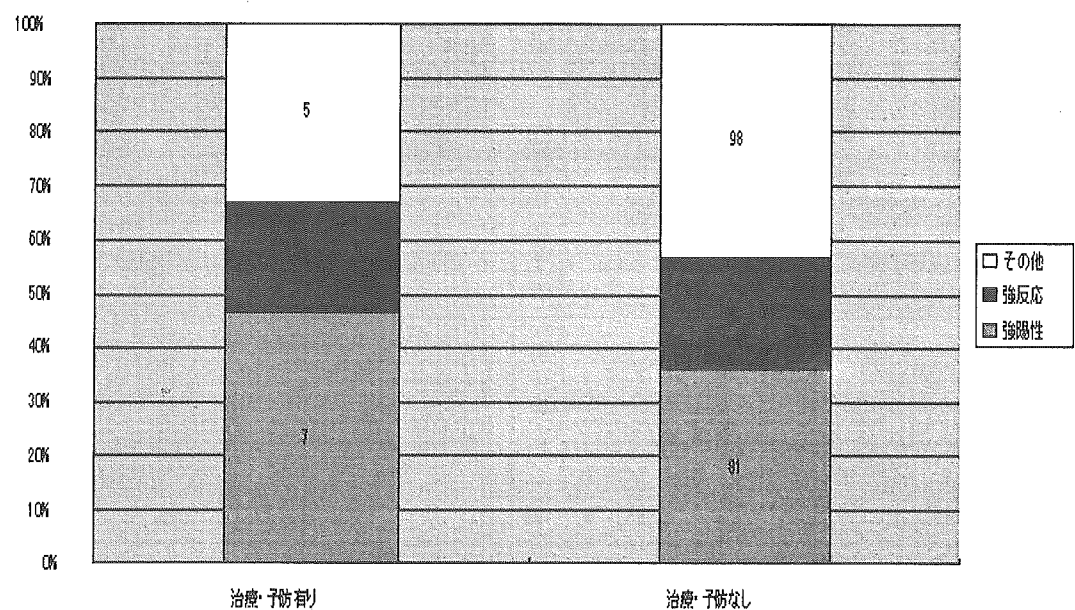
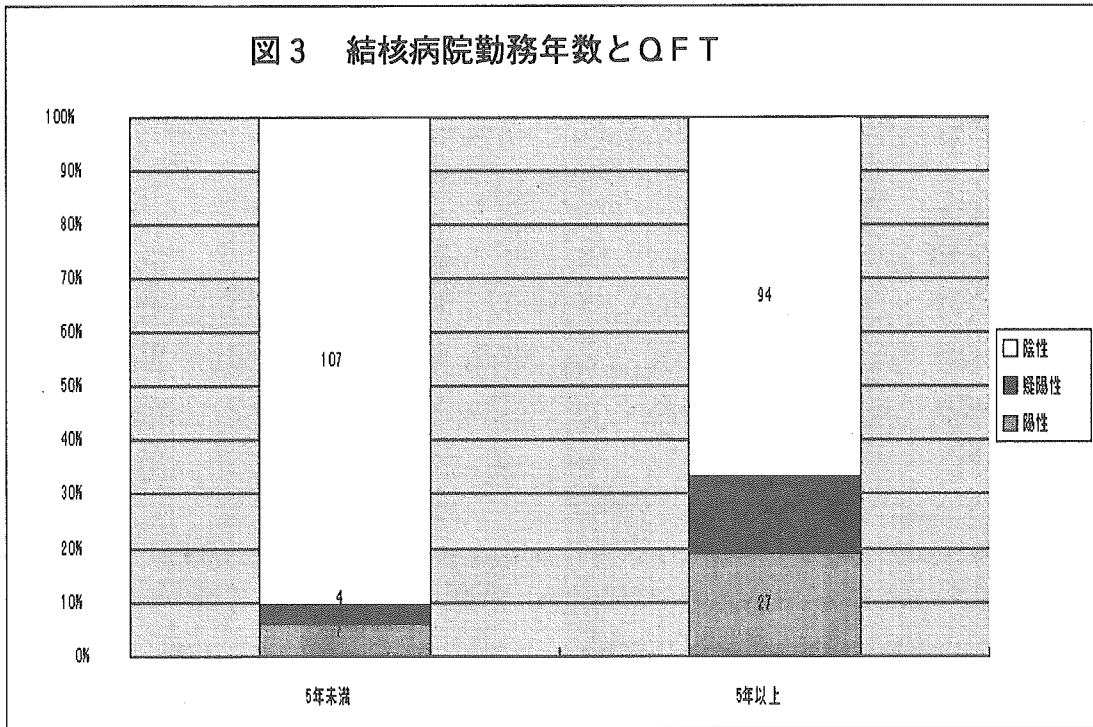


図3 結核病院勤務年数とQFT



結核病院勤務年数とツベルクリン反応

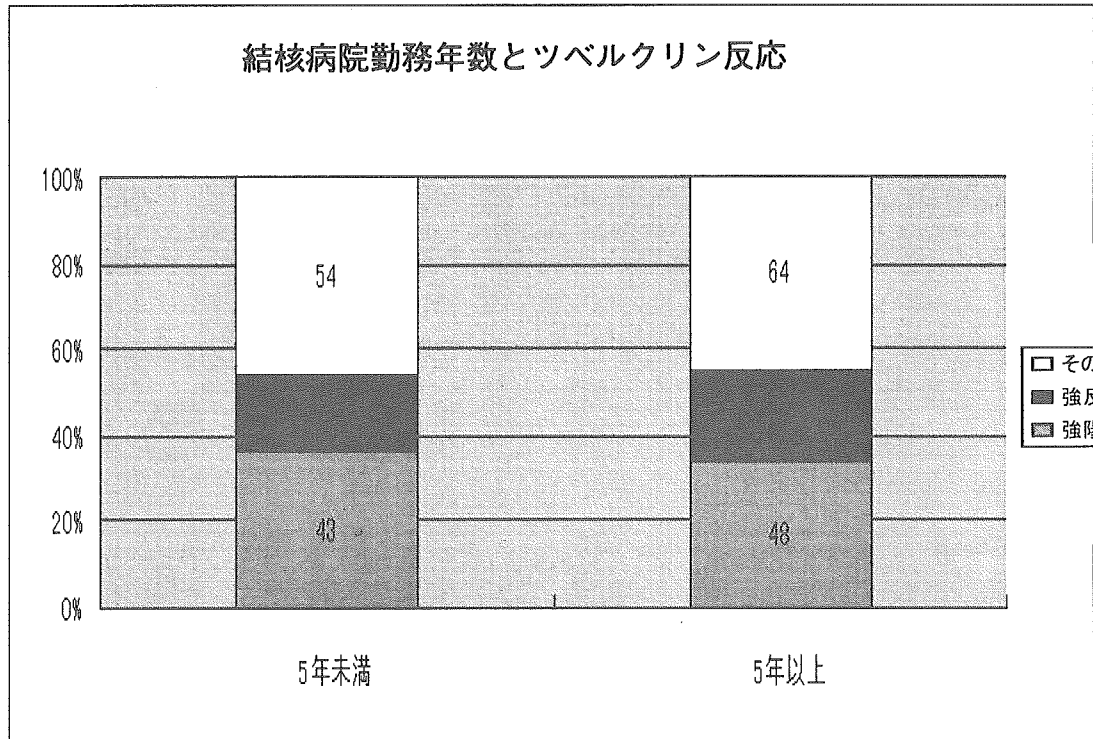
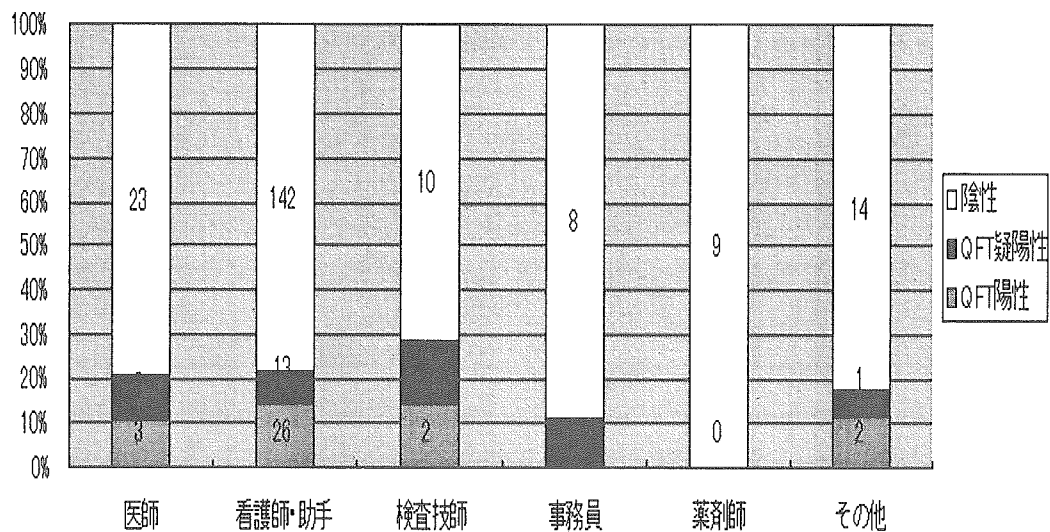
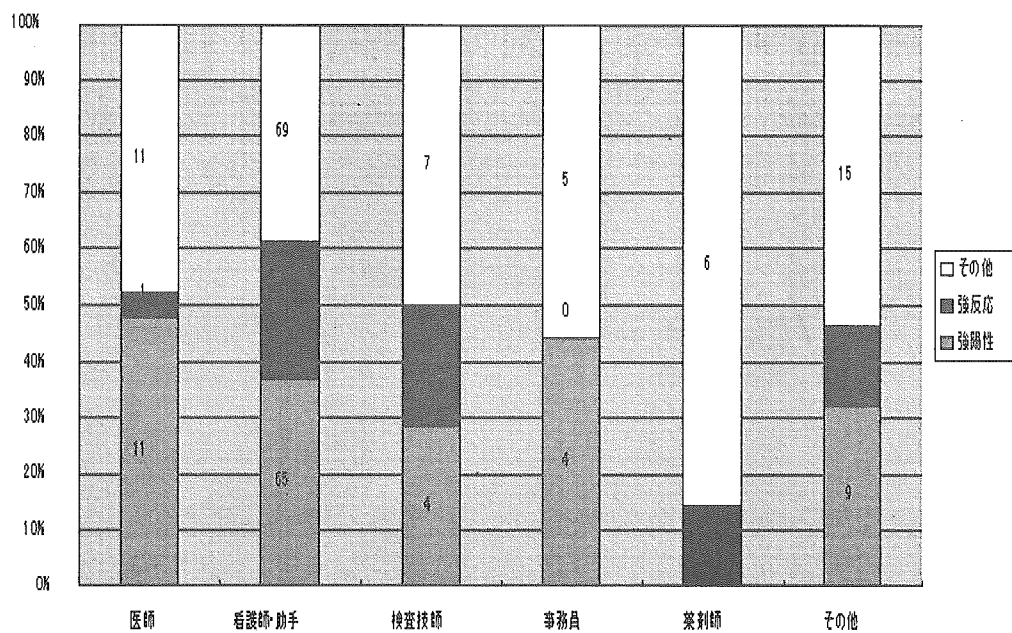


図4 職種ごとのQFT結果



職種とツベルクリン反応





#### D. 考察

結核罹患率が低下しているため、今後結核対策の重点を感染・未発病者への積極的な化学予防へとシフトしていく必要がある。特に結核感染の危険性が高い結核病棟を持つ病院職員は、早期に感染を見つけて化学予防を実施し、発病を極力阻止することが重要である。結核が発病し、入院患者へ感染を広げる危険性をなくすためである事は言うまでもない。しかしBCG接種を広範に実施してきた我が国で結核感染を正確に判定する方法がない点が問題であった。ツベルクリン反応を用いるとどのような基準でも、結核感染を過剰に判定することは専門家の常識である。これは少量の結核菌に常時曝露されている医療従事者では、感染に至らない場合でも、ブースター効果によりツベルクリン反応が増強されているためである。近年結核菌には存在するがBCGには存在しない抗原が開発され、それを用いてリンパ球を試験管内で刺激し産生されるIFN $\gamma$ 量から、BCG免疫と関わりなく結核感染を判定する、QFT2Gキットが発売されその有用性が内外で報告されている。本研究は結核病棟を多数もつ病院での職員の結核感染の判定にQFT2Gが有用かどうか、ツベルクリン反応と比較するものである。計画は2年間で今回は中間報告となる。来年度再度QFT2Gとツベルクリン反応を実施して新たな感染者の発見への有用性を検討する。

今回の検討では、QFT2G陽性率は12%、一方ツベルクリン強陽性者は34%であり、一般人の結核感染推定率から予想した10-20%の範囲内であったのはQFT2Gであった。年齢が高いほどQFT2G陽性率は上昇し

たが、ツベルクリン反応の強さは30-40代にピークを持ち以後低下した。結核治療や化学予防歴があるとQFT2G陽性率は明らかに高かったが、ツベルクリン反応の強さには差がなかった。結核病棟をもつ病院での勤務年数、また職種での検討でもQFT2Gがより正確に結核感染を判定していることは明らかであった。結核病棟を多数抱える当院職員の結核感染の判定は最も難しいものと考えられる。当院職員においてQFT2Gの有用性が明らかになれば、今後同法の結果を我が国でのゴールドスタンダードとして用いることが可能となるであろう。

#### E. 結論

当院職員の結核感染の有無を判定する方法として、QFT2Gはツベルクリン反応より明らかに優れていた。今後同法を用いて感染早期の未発病職員を発見し積極的に化学予防することが、結核院内感染対策の重要な柱になるであろう。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 富田元久、竹野華、鈴木克洋、坂谷光則、木下幸保、小林郁夫. バクテック MGIT960による薬剤感受性検査における接種菌量の検討と検査の再現性. 結核 79 (11) : 625-630, 2004
2. Shunji Takakura, Shigeo Tsuchiya, Yuichi Isawa, Kiyoshi Yasukawa, Toshinori Hayashi, Motohisa Tomita, Katsuhiko Suzuki, Tatsuro Hasegawa, Takanori Tagami, Atsuyuki Kurashima, and Satoshi I

- chiyama: Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory samples by transcription – reverse transcription concerted reaction with an automated system. J. Clin. Microbiol 43:5435-5439, 2005
3. 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 結核 81 : 41-43, 2006
  4. 鈴木克洋 : 「結核」第4版、結核の感染と発病・結核菌検査・臨床検査(pp117-118)・症例編: 薬剤アレルギーのため化学療法が施行できず無治療 (富岡洋海編) 印刷中、医学書院、東京、2006
  5. 鈴木克洋 : 質疑応答、肺MAC症の診断・治療. 日本医事新報4225 : 90-91、2005
  6. 鈴木克洋 : 病気と薬の説明ガイド2005 肺結核 薬局 56 (1) : 899-905、2005
  7. 鈴木克洋 : 診療の秘訣「ツベルクリン反応の解釈」 Modern Physician 印刷中
  8. 鈴木克洋 : 私の処方「肺MAC症」 Modern Physician 25:1596, 2005
  9. 鈴木克洋 : 肺結核を見落とさないために呼吸と循環 54:63-69, 2006
  10. 鈴木克洋 : 肺非結核性抗酸菌症は増加している : 臨床からみた病原性と宿主要因の考察 最新医学61 : 258-265、2006
  11. 鈴木克洋 : 抗菌薬をつかいこなそう「結核」メディチーナ 印刷中
2. 学会発表
    1. 鈴木克洋. 肺カンサシの治療 <シンポジウム非結核性抗酸菌症の治療>第80回日本結核病学会総会 (2005.5.12 埼玉)
  - H. 知的財産権の出願状況・登録状況  
なし

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

費用対効果の高い新規結核ワクチンの開発研究

研究協力者 吉田 栄人 自治医科大学 講師

研究要旨

Hsp65DNA+IL-12DNAワクチンは、BCGワクチンと比較して強力な結核予防ワクチンであり、費用対効果に優れていると考えられる。また、このDNAワクチンとは別に費用対効果の非常に高いワクチンベクターとしてバキュロウィルスベクターの改良を行う。

A. 研究目的

費用対効果に優れたBCGに代わる強力な新規結核ワクチンを開発する。

B. 研究計画

IL-12遺伝子を”DNAアジュバンド”としたHsp65結核DNAワクチンをHVJリポソームに包埋し(Hsp65+IL-12/HVJ)、これを実験モデル動物（マウス、モルモット、カニクイザル）に接種する。結核菌のエアゾル感染を行い、ワクチン効果を解析する。これらの動物実験結果をもとに、プロトタイプ改良および臨床試験申請のためのデータをまとめる。また、DNAワクチンとは別に費用対効果の非常に高いワクチンベクターとしてバキュロウィルスベクターの改良を行う。

C. 研究成果・考察

現在までにマウス、モルモット、ヒトよりIL-12遺伝子をクローニングし、DNAワクチン用高発現ベクターを独自に開発した。

これにより、実験動物として、マウス、モルモット、カニクイザルを用いてHVJリポソームDNAワクチンを評価することが可能となった。Hsp65+IL-12/HVJリポソームワクチンを接種したマウスBCG単独と比較して100倍もの強力なワクチン効果を示すことが明らかとなった。並行して、治療用ワクチンとしての効果も検討中である。現在、カニクイザルを用いた大規模動物実験を進行中である。

費用対効果のさらなる効率化を目指し、生産コストが非常に安価なワクチンベクターとしてバキュロウィルスの改良型ベクターを開発した。バキュロウィルスはヒトに感染しない安全性の高いウィルスベクターである。作製した(i) Hsp65タンパクをウィルスビリオン上に提示した組換えバキュロウィルス(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ィルスの二種類の組換えバキュロウィルスは、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見

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。バキュロウィ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。今後、上記の確立した動物実験系を用いて解析を行っていく予定である。

#### D. 結論

平成15年度より開始しているカニクイザル実験は順調に成果を上げており、世界に先駆けた結核DNAワクチンの臨床応用に着実に前進している。

DNAワクチンの成果と合わせて、新しいタイプの結核ワクチンとしてバキュロウィルスベクターの可能性を見出したことは、研究の独創性を有し、今後の展開に大きな期待が寄せられる。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Yoshida S & Watanabe H.: Robust salivary gland-specific transgene expression in *Anopheles stephensi* mosquito. *Insect Mol Biol* 2006, in press.
2. Yoshida S, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Kanamaru N, Muraki Y, Hashimoto S, Inoue Y, Sakatani Y, 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* 24:1191-204, 2006.

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 ECD, 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 in a cynomolgus monkey model. *Vaccine* 23:2132-5, 2005.
4. 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 JSM, Chen P-J, Yamamoto N, Yoshinaga 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 23:2269-72, 2005.

2. 学会発表

1. Yoshida S & Watanabe H.: Establishment of robust salivary gland-specific transgene expression system in Anopheline mosquito. 54th Annual Meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene (2005) USA.
2. Yoshida S & Watanabe H.: Robust salivary gland-specific expression in transgenic Anopheline mosquito. EMBO WORKSHOP 2005 "Molecular and Population Biology of Mosquitoes and Other Diseases Vectors" (2005) Greece.
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 J, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M : The development of DNA vaccines and antibody vaccine against SARS corona virus in mice and SCID-PBL/hu mice. The American Association of Immunologists Annual Meeting, "Immunology 2005" (2005) USA.
4. 吉田栄人 : トランスジェニック蚊を用いたハマダラカーマラリア原虫の寄生適応性の解明。基盤研究 (C) (企画研究調査) 「感染現象のマトリックス的解明をめざす企画調査研究」シンポジウム 感染現象のマトリックス (2006) 東京.
5. 吉田栄人 : トランスジェニックカを用いたハマダラカーマラリア原虫の生物学的適応性の解明。第4回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム シンポジウム (2005) 東京.
6. 渡辺裕之、吉田栄人 : ハマダラカ唾液腺に特異的な外来遺伝子の大量発現。第46回日本熱帯医学会大会 (2005) 京都.
7. 嶋田陽平、近藤大介、上妻由章、吉田栄人 : 海洋生物由来のレクチンを発現するトランスジェニックマラリア伝播阻止。第46回日本熱帯医学会大会 (2005) 京都.
8. 吉田栄人 : トランスジェニックカによる蚊唾液腺-病原体の相互作用解明。第57回衛生動物学会生理分子生物学談話会 (2005) 札幌.
9. 吉田栄人、渡辺裕之、松岡裕之、羅恩傑 : ハマダラカ唾液に存在するカルシウム結合タンパクの分子生物学的解析。第57回衛生動物学会 (2005) 札幌.
10. 渡辺裕之、吉田栄人 : 唾液腺特異的に外来遺伝子を発現するトランスジェニ

ックハマダラカの作製。第57回衛生動物学会(2005)札幌。

11. 吉田栄人、渡辺裕之、松岡裕之、羅恩傑：唾液腺特異的に外来異種タンパクを発現するトランスジェニックハマダラカの作製。第74回日本寄生虫学会(2005)米子。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

1. 特願2005-280379「DNAワクチン組成物」(2005年)岡田全司、吉田栄人、中島俊洋

2. 特願2005-320817「血小板凝集阻害組成物」(2005年)吉田栄人、周藤俊樹

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

組み換えBCGワクチン改良・開発の研究

研究協力者 大原直也 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 助教授

研究要旨

結核菌の感染防御免疫で主要な役割を演じているヒトIL-12を産生するリコンビナントBCGワクチン (rBCG/hIL-12) を作成した。rBCG/hIL-12はIL-12を可溶性の蛋白質として産生していた。抗酸菌で産生させた組み換え体ヒトIL-12は活性を有することが示唆された。rBCG/hIL-12は発育速度が遅く、IL-12遺伝子を乗せたプラスミドの脱落が起こりやすいという特徴を有していた。

A. 研究目的

効率的な結核対策のひとつに現行のBCGワクチンよりも著効なワクチンの開発が考えられる。現行のBCGを組み換えることで著効なワクチンができれば安いコストで、運搬が容易 (乾燥に強く、室温で取り扱える) というBCGのメリットを生かすことができる。結核菌の感染防御においては細胞性免疫が重要であるが、IL-12は細胞性免疫を正に制御する中心的なサイトカインである。主任研究者岡田博士と分担研究者吉田博士によるこれまでの研究の結果、IL-12 DNAワクチンが結核菌の感染防御に著効であることが示されている。宿主の中でBCGからIL-12を産生させることができれば、単独使用あるいはIL-12 DNAワクチンとの併用でさらに著効な結核ワクチンとなることが期待できる。これまでにマウスIL-12産生rBCG (rBCG/mIL-12)

を作製したが、本年度ではヒトIL-12産生rBCG (rBCG/hIL-12) を作製するとともにその解析をおこなう。

B. 研究方法

IL-12サブユニットp35とp40のcDNAをin frameでタンデムにつないだ融合遺伝子を、Mycobacteriumの $\alpha$ 抗原遺伝子プロモーターおよびターミネーターを付与した形で、大腸菌—抗酸菌プラスミドに組み入れた。そしてBCG Tokyo株を形質転換した。得られたrBCGの培養速度、IL-12の産生、産生されたIL-12の性状を調べた。培養後、培養上清、菌体破碎物の可溶性画分、不溶性画分に分離し、抗IL-12抗体によるウェスタンブロットにより評価をおこなった。

C. 研究結果

rBCG/mIL-12同様およびrBCG/hIL-12

はIL-12を可溶性タンパク質として産生した。しかし、菌対外への分泌は確認できなかった。菌体内に存在するIL-12が活性型であるかを調べるため、ヒスチジンタグを付与した形でIL-12をM. smegmatisから発現させ、その菌体破砕物からニッケルカラムを使用してIL-12-(His)<sub>6</sub>を回収した。そしてIL-12-(His)<sub>6</sub>をヒト末梢血単核細胞に反応させたところ、わずかなinterferon- $\gamma$ の産生が認められた。次にrBCGからIL-12遺伝子を挿入したプラスミドが脱落する程度を調べるため、rBCG/hIL-12をマウスに接種し、2ヵ月後脾臓中の抗酸菌を、カナマイシン含有およびカナマイシン非含有培地上のコロニー形成数を指標に調べた。その結果プラスミドの保持率は33%であり、抗酸菌 $\alpha$ 抗原遺伝子を挿入した株であるBA51株が99%であったのに比べ、脱落しやすいことが明らかになった。また培地上での発育速度も他のrBCGに比べ顕著に遅かった。

#### D. 考察

今回作製されたrBCG/hIL-12は他のrBCGに比べ発育速度が顕著に遅かった。またプラスミドの脱落率が高かった。これらの理由として、菌体内に蓄積したhIL-12が菌にとって障害となっていることが考えられる。しかし、根本的な理由は现阶段では不明であり、今後解明するとともにその改善が求められる。ひとつの改善策として菌体外へ分泌させることが考えられるが、このことはまた産生されたhIL-12を効率的なものにするためにも有効な手段であると考えられる。

#### E. 結論

結核菌の感染防御に重要な役割を果たすヒトIL-12を産生するrBCG/hIL-12を作製した。今回作製したrBCG/hIL-12を実用的なものとするためには種々の改善の必要がある。

#### F. 健康危険情報

一般の組み換えDNA実験に準ずる。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Takahashi H, Sasaki K, Takahashi M, Shigenori N, Honda S, Arimitsu H, Ochi S, Ohara N, Tsuji T. (2006) Mutant Escherichia coli enterotoxin as a mucosal adjuvant causes specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells to produce IFN  $\gamma$  and TNF  $\gamma$  in response to nasal killed-bacillus Calmette-Guerin vaccine in mice. Vaccine in press.
2. Matsuo K, Hotokezaka H, Ohara N, Yoshimura A, Fujimura Y, Okada Y, Hara Y, Yoshida N, Nakayama K. (2006) A phospholipase C inhibitor suppresses amphotericin B-induced production of proinflammatory cytokines. Microbiol. Immunol. in press.
3. Fujimura Y, Hotokezaka H, Ohara N, Naito M, Sakai E, Yoshimura M, Narita Y, Kitaura H, Yoshida N, Nakayama K. (2006) Hemoglobin receptor protein (HbR) of



- Porphyromonas gingivalis inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis from bone marrow macrophages. Infect. Immun. in press.
4. Ohara N, Kikuchi Y, Shoji M, Naito M, Nakayama K. Superoxide dismutase-encoding gene of the obligate anaerobe Porphyromonas gingivalis is regulated by the redox-sensing transcription activator OxyR. (2006) Microbiology in press.
  5. Kamijo K, Ohara N, Abe M, Uchiyama A, Hosoya H, Lee J-S, Miki T. (2006) Dissecting the role of Rho-mediated signaling in contractile ring formation. Mol. Biol. Cell. 17: 43-55
  6. Naito M, Sakai E, Shi Y, Ideguchi H, Shoji M, Ohara N, Yamamoto K, Nakayama K. Porphyromonas gingivalis-induced platelet aggregation in plasma depends on Hgp44 adhesin but not Rgp proteinase. Mol. Microbiol. 59: 152-167.
  7. Kita Y, Tanaka T, Yoshida S, Ohara N, Kaneda Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Takai H, Okada C, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Inoue Y, Takemoto Y, Naito M, Yamada T, Matsumoto M, McMurray DN, Cruz EC, Tan EV, Abalos RM, Burgos JA, Gelber R, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M, Okada M. (2005) Novel recombinant BCG and DNA-vaccination against tuberculosis in a cynomolgus monkey model. Vaccine. 23:2132-2135.
  8. Sato K, Sakai E, Veith PD, Shoji M, Kikuchi Y, Yuki take H, Ohara N, Naito M, Okamoto K, Reynolds EC, Nakayama K. (2005) Identification of a new membrane-associated protein which influences transport/maturation of gingipains and adhesions of Porphyromonas gingivalis. J. Biol. Chem. 280: 8668-8677.
  9. Kikuchi Y, Ohara N, Sato K, Yoshimura M, Yuki take H, Sakai E, Shoji M, Naito M, Nakayama K. (2005) The novel stationary-phase-upregulated protein of Porphyromonas gingivalis influences the production of superoxide dismutase, thiol peroxidase and thioredoxin. Microbiology. 151: 841-853.
  10. 大原直也 (2005) BCGを用いた抗酸菌の抗原性および病原性に関する研究. 日本細菌学雑誌 60:349-356.

2. 学会発表
1. Kamijo K, Ohara N, Abe M, Uchimura T, Hosoya H, Lee J, Miki T. (2005) Dissecting the Role of Rho-mediated Signaling in Contractile Ring Formation. 45th Annual Meeting, The American Society for Cell Biology (San Francisco, U.S.A.)
  2. Yoshimura M, Ohara N, Shoji M, Nakayama K. (2005) Effect of Porphyromonas gingivalis infection on monocyte-to-macrophage differentiation. The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity: (Awaji island), Abstract p79.
  3. Ohara N, Yoshimura M, Saito K, Hotokezaka H, Nakayama K. (2005) Bacterial infection inhibits osteoclastogenesis in vitro. 11th International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology Division, Joint Meeting of the 3 Divisions of the International Union of Microbiological Societies 2005 (San Francisco, U.S.A.), Abstracts p6.
  4. Ohara N, Ohara N, Yoshimura M, Ganno T, Yamada S, Nakayama K, Hayashi Y. (2005) Effects of water-soluble chitosan on invasion of Porphyromonas gingivalis. 11th International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology Division, Joint Meeting of the 3 Divisions of the International Union of Microbiological Societies 2005 (San Francisco, U.S.A.), Abstracts p6.
  5. 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 VE, Dela Cruz EC, Abalos RM, Young LJ, Burgos JA, McMurray, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M. (2005) Novel vaccination (HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA and recombinant 72f BCG) against tuberculosis using cynomolgus monkey. Fortieth Joint Research Conference on Leprosy and Tuberculosis: The United State-Japan Cooperative Medical Science Program. (Seattle) Program & Abstracts p.46-50.
  6. Ohyama H, Ogata K, Takeuchi K, Uemura Y, Oyama M, Ohara N, Namisato M, Kogoe N, Yamada N, Terada N, Matsushita S. (2005) Polymorphism of the 5' flanking region of the IL-12 receptor b2 gene partially determines the clinical types of leprosy through impaired transcriptional activity. Fortieth Joint Research Conference

- on Leprosy and Tuberculosis: The United State-Japan Cooperative Medical Science Program. (Seattle) Program & Abstracts p.100-104.
7. Ohara N, Yoshimura M, Shoji M, Nakayama K. (2005) Effect of BCG infection on in vitro osteoclastogenesis. Fortieth Joint Research Conference on Leprosy and Tuberculosis: The United State-Japan Cooperative Medical Science Program. (Seattle) Program & Abstracts p.230.
  8. 岡田全司、田中高生、吉田栄人、井上義一、武本優次、大原直也、内藤真理子、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（2）、第35回日本免疫学会総会・学術集会、横浜、12月 {第35回日本免疫学会総会・学術集会記録35、174、2005}
  9. 大原直也：組み換えBCGワクチンの作製とその応用。シンポジウム「ホストパラサイトインターフェイス研究—基礎から応用へ—」。第47回歯科基礎医学会学術大会、仙台、{Journal of Oral Biosciences, 47 Suppl, 73, 2005}
  10. 大原直也、吉村満美子、庄子幹郎、中山浩次：P. gingivalis およびBCG感染の破骨細胞分化への影響、第47回歯科基礎医学会学術大会、仙台、9月 {Journal of Oral Biosciences, 47 Suppl, 142, 2005}
  11. 吉村満美子、大原直也、庄子幹郎、中山浩次：Porphyromonas gingivalis 感染による単球/マクロファージの分化の成熟への影響、第47回歯科基礎医学会学術大会、仙台、9月 {Journal of Oral Biosciences, 47 Suppl, 143, 2005}
  12. 中山浩次、藤村裕治、吉村満美子、大原直也、吉村満美子、佛坂齊社、吉田教明：Porphyromonas gingivalis 感染による末梢血単球の分化への影響、第47回歯科基礎医学会学術大会、仙台、9月 {Journal of Oral Biosciences, 47 Suppl, 167, 2005}
  13. 内藤真理子、庄子幹郎、大原直也、中山浩次：Porphyromonas gingivalis の血小板凝集活性における血清成分、抗体の役割、第78回日本細菌学会総会、東京、4月 {日本細菌学雑誌, 60, 80, 2005}
  14. 菊池有一郎、大原直也、佐藤啓子、吉村満美子、雪竹英治、坂井詠子、庄子幹郎、内藤真理子、中山浩次：Porphyromonas gingivalis の新規低分子蛋白 (UstA) と酸化ストレス応答蛋白との関係について、第78回日本細菌学会総会、東京、4月 {日本細菌学雑誌, 60, 137, 2005}
  15. 大原直也、吉村満美子、齋藤幹、佛坂齊社、中山浩次：骨芽細胞と骨髓細胞

の共存培養系における BCG および P. gingivalis 感染の効果, 第 78 回日本細菌学会総会, 東京, 4 月 {日本細菌学雑誌, 60, 160, 2005}

16. 大原直也, 吉村満美子、中山浩次：  
Porphyromonas gingivalis のヒト単球/マクロファージの分化への影響, 第 78 回日本細菌学会総会, 東京, 4 月 {日本細菌学雑誌, 60, 161, 2005}

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし