

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 γ 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. 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
2. 吉田志緒美、鈴木克洋、露口一成、岩本朋忠、富田元久、岡田全司、坂谷光則、リファンピシン耐性 *Mycobacterium kansasii*における rpoB変異の解明 結核81:475-479, 2006
3. 吉田志緒美、鈴木克洋、岡田全司、富田元久、坂谷光則. 培養陰性、非結核性抗酸菌混在時における結核菌薬剤

- 耐性遺伝子検査キットの有用性 臨床検査 50(8):934-939、2006
4. 吉田志緒美、鈴木克洋、露口一成、岩本朋忠、岡田全司、坂谷光則.
Mycobacterium kansasii株における分子疫学的解析. 結核 印刷中
 5. 鈴木克洋：診療の秘訣「ツベルクリン反応の解釈」Modern Physician 26:424, 2006
 6. 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
 7. 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
 8. 鈴木克洋：抗菌薬をつかいこなそう「結核」メディチーナ 43(4):664-665、2006
 9. 鈴木克洋、吉田志緒美、露口一成、岡田全司、坂谷光則：多剤耐性結核菌の院内感染の現状と対策. 化学療法の領域 22(11):1691-1695、2006
 10. 鈴木克洋：非結核性抗酸菌症. Infectious Diseases Report2006 37号、2006
 11. 鈴木克洋：結核患者の新しい退院基準について. M.P. 23(11)：1992-1993、2006
 12. 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：（富岡洋海編）、医学書院、東京、2006
 13. 鈴木克洋：「結核・非結核性抗酸菌症」非結核性抗酸菌症、わが国における最近の動向、病態：（露口泉夫編）、最新医学社、大阪、2006
2. 学会発表
 1. 鈴木克洋 非結核性抗酸菌症の変貌 合同教育プログラム 抗酸菌症の変貌 第46回日本呼吸器学会学術講演会（2006 6.1 東京）
- 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

ヒトへの臨床治験に向けて、安全でコストパフォーマンスに優れた改良型DNAワクチン（Hsp65遺伝子とヒトIL12p40p35遺伝子の両遺伝子を一つのプラスミドに挿入）を構築した。GMPレベルで、この改良型DNAワクチンを包埋したHVJエンベロープを生産し、サル実験を開始した。また組換えバキュロウイルス（AcNPV-CMV-Hsp65）を免疫したマウスの脾臓細胞では、Hsp65タンパクに反応してIFN- γ が産生されることが確認された。

AcNPV-CMV-Hsp65ワクチンが感染防御効果を誘導する次世代の有望なワクチンとなりうることを示唆している。

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エンベロープに包埋し（Hsp65+IL-12/Env）、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、プロトタイプの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イ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エンベロープDNAワクチンを評価することが可能となった。Hsp65+IL-12/HVJエンベロープ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イルスの改良型ベクターを開発した。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。作製した (i) Hsp65タンパクをウイルスビリオン上に提示した組換えバキュロウイルス（AcNPV-Hsp65

surf) (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 (AcNPV-CMV-Hsp65)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AcNPV-CMV-Hsp65を免疫したマウスの脾臓細胞では、Hsp65タンパクに反応してIFN-gが産生されることが確認された。これらの結果は、結核バキュロウイルスワクチンが感染防御効果を誘導する有望なワクチンとなりうることを期待させる。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。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okada M, Okuno Y, Hashimoto S, Kita Y, Kanamaru N, Nishida Y, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Fukamizu R, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, Kase T, Takemoto Y, Yoshida S, Peiris JSM, Chen P-J, Yamamoto N, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M: Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models. Vaccine (2007) in press
2. Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Fukamizu R, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, Matsumoto M, McMurray D, Cruz D, Tan E, Abalus R, Burgos J, Gelber R, Sakatani M.: Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome/HSP65 DNA+ IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB. Vaccine (2007) in press
3. Okada M, Okuno Y, Hashimoto S, Kita Y, Kanamaru N, Nishida Y, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Fukamizu R, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, Kase T, Takemoto Y, Yoshida S, Peiris JSM, Chen P-J, Yamamoto N, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M: Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS coronavirus using mouse and SCID-PBL/hu mouse models. Adv Exp Med Biol 581: 561-6, 2006.
4. Yoshida S & Watanabe H.: Robust salivary gland-specific transgene expression in Anopheles stephensi mosquito. Insect Mol Biol 15:403-10, 2006.
5. 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.
6. 吉田栄人：遺伝子操作によるマラリアを媒介しないハマダラカの創出—新規マラリアコントロールへの挑戦— *日本衛生動物学会誌（総説）* 57:249-54, 2006.
7. 吉田栄人：遺伝子操作蚊を用いた蚊—マラリア原虫の寄生適応性解明—マラリアコントロールに向けての新規戦略— *蚕糸・昆虫バイオティク（総説）* 75:161-6, 2006.
2. 学会発表
1. Yoshida S & Watanabe H.: Robust salivary gland-specific transgene expression in *Anopheles stephensi* mosquito. 11th International Congress of Parasitology - ICOPA XI (August 6-11, 2006, Glasgow, Scotland, United Kingdom)
2. 周藤俊樹、吉田栄人、松岡裕之、嶋田陽平、川崎昌則、長村芳恵、林秀樹、問可和之、山田能久：ハマダラカ唾液腺からの抗血小板因子AAPPの発見。第29回日本血栓止血学会（2006）宇都宮。
3. 吉田栄人：遺伝子操作蚊を用いた病原体-蚊の寄生適応性解明—マラリアコントロールに向けての新規戦略—：独立行政法人 農業生物資源研究所主催公開シンポジウム「昆虫科学研究の未来—昆虫を学ぶ、昆虫に学ぶ—」（2006）東京。
4. 吉田栄人、嶋田陽平、渡辺裕之：スポロゾイトの蚊唾液腺侵入メカニズム解明に向けてのアプローチ—唾液腺特異的に赤色蛍光タンパクを発現するトランスジェニックハマダラカー。第5回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム（2006）東京。
5. 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ハマダラカのマラリア伝播阻止効果。第5回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム（2006）東京。
6. 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CEL-IIIを発現するトランスジェニックハマダラカのマラリア伝播阻止効果。第58回日本衛生動物学会東日本支部大会（2006）栃木。
7. 荒木一美、吉田栄人：ネズミマラリア原虫 (*Plasmodium berghei*) merozoite surface protein 1をウイルスベリオン上に提示した組換えバキュロウイルスのワクチン効果。第47

- 回日本熱帯医学会・第21回日本国際保健医療学会合同大会（2006）長崎.
8. 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遺伝子操作蚊のマラリア伝播阻止効果。第47回日本熱帯医学会・第21回日本国際保健医療学会合同大会（2006）長崎.
 9. 嶋田陽平、近藤大介、上妻由章、吉田栄人：ナマコのレクチンCEL-IIIを導入した遺伝子操作蚊によるマラリア伝播阻止。第58回日本衛生動物学会（2006）長崎
 10. 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.
 11. 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。第50回応用動物昆虫学会（2006）つくば.
- H. 特許
1. 特願2006-32863「新規ウイルスベクター」（2006年）吉田栄人、大庭義郎、播口徳充、水越真巳、川崎昌則、松本真
- I. その他（新聞等の報道）
 1. 2006.4.20.
メディカルレビューン
「結核DNAワクチンの開発」
 2. 2006.4.20. 日経新聞
「新ワクチンで結核撃退」
 3. 2006.5.30. 朝日新聞電子版
「BCG超える結核ワクチン開発 高齢者に用に期待」
 4. 2006.11.27. 日経新聞
「蚊の遺伝子改変、マラリア防ぐ」
 5. 2006.12.21. 日経産業新聞
「21世紀の気鋭」

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

結核患者及び健康人の単球・マクロファージによるPPD等抗原に対する
サイトカイン免疫応答（続報）

研究協力者 土肥義胤 大阪大学名誉教授
甲子園大学教授，栄養学部長，栄養学研究科長

研究要旨

現在の結核診断には、ヒトの体に結核菌由来蛋白質を皮内注射して、それに対する遅延型過敏症（所謂、ツベルクリン反応）を測定することが、最も信頼される主な方法である。ところが、副作用も結核患者については非常に大きく、in vitroで診断できることが望まれる。そこで、著者らは、末梢血単球、または、それを分化させたマクロファージから産生されるサイトカイン量から診断を試み、結核患者と非感染者を区別しようとしている。

A. 研究目的：

コッホが結核感染に対する遅延型過敏症を発見して以来、結核感染症の診断は、専ら、結核菌培養液中より精製された混合ペプチドPPDの皮内反応によって行われている。しかし、このヒトへのin vivoの反応は、陽性時には、紅斑、硬結（二重発赤）、潰瘍、ショックなどの不都合な状態を引き起こし、危険な場合さえある。免疫学が発展した現在、結核感染の診断をin vitroで正確に行う方法を工夫することは大切なことと考え、方法を開発することを目的とした。

B. 研究方法：

昨年までの研究によって、単球やマクロファージなどの細胞から産生され、種々の白血球を誘引するサイトカインIP-10 (IFN- γ -inducible protein 1) の血清中の含有量は、結核未治療患者が、非感染者

に比して有意に高値を示し、治療中患者も有意に高値ではあるが、未治療患者よりは低いことが明らかにした。昨年、更に、末梢血液中より、Ficoll-paqueにて、単核球層を分取し、 $11.2 \times 10^5 / 0.2$ mlにして分注し、PPD、結核菌死菌、BCG生菌などを食させた後、IFN- γ を添加して、産生されるIP-10量を測定した結果、非感染者及び結核患者ともに単核球は、IFN- γ を添加により多量のIP-10を産生した、しかしながら、BCG食菌させた後IFN- γ を添加した場合、非感染者のものは、IP-10を産生しなかったが、結核患者のものでは、多量のIP-10を産生した。結果は、予想に合致したものではあったが、BCG食菌が何故、非感染者の単核球におけるIFN- γ 誘導IP-10産生を抑制したかは、不明であった。また、PPD添加によって、非感染者、結核患者ともにIP-10を産生しなかった。これらの事実を解析するために、今年度は、混

合細胞を対象とするのではなく、GM-CSF またはM-CSFにより分化したマクロファージ（皮内のマクロファージがどちらに相当するかは未だ明らかではない）のIP-10産生に絞り、FN- γ を存在下で、IP-10産生量を測定する必要がある。

C. 研究結果と考察

平成17年度の結果を考察した結果、次のように変える必要を痛感した。

- 1) 単核球層には、単球の他に、リンパ球が多く含まれ、リンパ球から産生されるサイトカインには IL-10 などの単球の活性化に負の signal になるものが含まれる。
- 2) 結核患者においても（血液中に高値の IFN- γ の存在にも拘わらず）、ツベルクリンを皮内に投与しない限り、反応は現れない。従って、単球を分画して培養し、単球、M-CSF 分化マクロファージ、GM-CSF 分化マクロファージについて、IFN- γ の存在下で、PPD、HSP65、結核菌死菌の投与の影響を、IP-10 の産生量を指標として、非感染者と結核患者を比較する。

非感染者の末梢血液から、RossetteSep (Human Monocyte Enrichment Cocktail)を用いて、単球を分画した。GM-CSFまたはM-CSFを添加して5日間培養すると、形態は双方ともに大きな偽足をもった細胞に分化した、M-CSFよりもGM-CSFの方が大きく分化しているように観察された。（CSFを加えたかったものにも、極少数の細胞に偽足様のものが見られたが、全く異なった細胞集団に見られた。）IFN- γ を加え、24時間後、48時間後、72時間後の上清を調べ

た。IP-10産生は、全て、IFN- γ 存在の場合にのみみられ、M-CSF分化マクロファージよりもGM-CSF分化マクロファージが比較的に高かった。結核治療者のものについても、同様のことを行い、IP10産生量を比較検討する予定である。

D. 研究発表

1. 学会発表

1. 池田七衣、白井文恵、土肥義胤 頭髮に付着した院内感染起因菌の生残にシャンプー洗髪が与える影響 日本看護研究学会雑誌 29巻5号 19-25 2006

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

昨年度までに結核菌の感染防御免疫で主要な役割を演じているマウスおよびヒトIL-12 (mIL-12およびhIL-12) を産生するリコンビナントBCGワクチン (rBCG/mIL-12, rBCG/hIL-12) を作製した。rBCG/hIL-12はIL-12を可溶性の蛋白質として産生したが、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。この欠点を改善するため、hIL-12遺伝子の各コドンの使用頻度をヒト型から抗酸菌型に変えた改良型rBCG/shIL-12を作製した。発育速度および発現量の改善が認められた。

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。本班の岡田博士と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。このためマウスIL-12産生rBCG (rBCG/mIL-12) およびヒトIL-12産生rBCG (rBCG/hIL-12)

を作製し、mIL-12あるいはhIL-12を可溶性の蛋白質として産生することを確認した。しかし、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結果が得られた。この原因としてIL-12遺伝子とBCG ゲノムのGC比が大きく異なることが考えられる。そのため、IL-12遺伝子のGC比をBCGゲノムのGC比に近づけた改良型rBCG/shIL-12を作製する。

B. 研究方法

IL-12サブユニットp35とp40のcDNAの各コドンをコードするアミノ酸を変化させずに、サードレターをAあるいはTからGあるいはCに置換した遺伝子を人工合成する。in frameでタンデムにつないだ融合遺伝子を、Mycobacteriumの α 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、作製したプラスミドでBCG Tokyo株を形質転換する。得られたrBCGの培養速度、IL-12の産生、産生されたIL-12の性状を調べる。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抗体によるウエスタンブロットにより評価する。

C. 研究結果

rBCG/shIL-12の発育速度は7H10寒天平板上ではIL-12遺伝子非挿入プラスミド形質転換体（コントロールrBCG）と同じであった。しかし、完全合成培地であるSauton培地中ではコントロールrBCGに比し、発育速度は低下していた。IL-12の発現についてはIL-12を可溶性タンパク質として産生した。その発現量はrBCG/hIL-12に比し、上昇しており、改善が認められた。

D. 考察

BCGに導入するヒト遺伝子の配列（コドン使用頻度）を抗酸菌型に変更することで、目的とするタンパク質の発現量の改善が認められた。これはメッセンジャーRNAからの翻訳段階において、目的のタンパク質の発現を無理なくおこなわせることができた結果と考えられる。今後他の組換え

BCGを作製する際にも試行する価値は十分あると考えられる。今回作製した菌のプラスミドの保持率に関しては今後検討する必要があるが、プラスミドの保持に関してはそのプラスミドのサイズにも依存するため、プラスミドの一部を削除し、最小サイズにすることも検討課題である。

E. 結論

BCG型の塩基配列を持つヒトIL-12を産生するrBCG/shIL-12を作製した。IL-12

産生量の改善が認められた。

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. Hotokezaka H, Sakai E, Ohara N, Hotokezaka Y, Gonzales C, Matsuo K, Fujimura Y, Yoshida N, Nakayama K: TNF- α , lipopolysaccharide, and peptidoglycan induce cell fusion independently of RANKL at the latest step of differentiation of RAW264.7 cells into osteoclast-like cells, *Journal of Cellular Biochemistry*, in press.

2. Matsuo K, Hotokezaka H, Ohara N, Fujimura Y, Yoshimura A, Okada Y, Hara Y, Yoshida N, Nakayama K: Analysis of amphotericin B-induced cell signaling with chemical inhibitors of signaling molecules, *Microbiology and Immunology*, 50, 337-348, 2006

3. Fujimura Y, Hotokezaka H, Ohara N, Naito M, Sakai E, Yoshimura Y, Narita Y, Kitaura H, Yoshida N, Nakayama K: The hemoglobin receptor protein of *Porphyromonas gingivalis* inhibits receptor activator NF- κ B ligand-induced osteoclastogenesis from bone marrow macrophages, *Infection*

and Immunity, 74, 2544-2551,
2006

2. 学会発表

1. Kamijo K, Ohara N, Abe M, Uchimura T, Hosoya H, Lee J, N Usuda, Miki T: Positioning of the cleavage plane by Rho signaling. The Cell Cycle, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Cold Spring Harbor, NY, U.S.A. 2006 {Abstracts, 2006}
2. Kamijo K, Ohara N, Abe M, Uchimura T, Hosoya H, Lee J, N Usuda, Miki T: Accumulation of Rho at the equatorial cell cortex for contractile ring formation. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan 2006 {CD-ROM, 2006}
3. Ohyama H, Kogoe N, Takeuchi K, Nishimura F, Uemura Y, Matsushita S, Ohara N, Okano S, Abiko Y, Yamanegi K, Yamada N, Nakasho K, Terada N: The effect of 5' flanking region gene polymorphism of IL12RB2 on NK cell activity. Forty-first Joint Research Conference on Leprosy and Tuberculosis: The United State-Japan Cooperative Medical Science Program, Kagoshima, Japan 2006 {Abstracts, 41-45, 2006}
4. Ohara N, Yoshimura M, Shoji M, Kondo Y, Nakayama K: Diverse effects of BCG infection on various stages of RANKL-induced osteoclast differentiation. Forty-first Joint Research Conference on Leprosy and Tuberculosis: The United State-Japan Cooperative Medical Science Program, Kagoshima, Japan 2006 {Abstracts, 156-158, 2006}
5. 藤村裕治, 大原直也, 吉村満美子, 佛坂齊社, 内藤真理子, 中山浩次: Porphyromonas gingivalisのhomoglobin結合タンパクによる破骨細胞形成抑制作用について、第79回日本細菌学会総会, 金沢, 3月{日本細菌学雑誌, 61, p123, 2006}
6. 大原直也, 吉村満美子, 庄子幹郎, 近藤好夫, 中山浩次: 細菌感染症による破骨細胞形成の制御におけるMyD88の役割、第79回日本細菌学会総会, 3月{日本細菌学雑誌, 61, p149, 2006}
7. 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必須なIgGの特異性の解析、第79回日本細菌学会総会, 3月{日本細菌学雑誌, 61, p154, 2006}
8. 大原直也, 藤村裕治, 吉村満美子, 庄子幹郎, 佛坂齊社, 坂井詠子, 近藤好夫, 内藤真理子, 中山浩次: 細菌および菌体成分による破骨細胞形成抑制作用、第59回日本細菌学会九州支部総会, 第43回日本ウイルス学会九州支部総会, 9月{プログラムおよび抄録,

p37, 2006}

9. 大原直也、吉村満美子、庄子幹郎、近藤好夫、中山浩次：細菌感染によってもたらされる破骨細胞前駆細胞の分化の方向性、第48回歯科基礎医学会学術大会ならびに総会、9月{Journal of Oral Biosciences, 48, Suppl., p167, 2006}

10. 菊池有一郎、大原直也、上田青海、平井要、柴田幸永、中山浩次、藤村節夫：Porphyromonas gingivalisの新規低分子蛋白(UstA)と環境ストレスとの関係、第48回歯科基礎医学会学術大会ならびに総会、9月{Journal of Oral Biosciences, 48, Suppl., p202, 2006}

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

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

有用な結核対策（BCG及び結核感染特異的診断に関する費用対効果分析等）に関する研究

研究協力者 露口一成 NHO近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター室長
鈴木克洋 NHO近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター部長
藤山理世 神戸市保健所

研究要旨

神戸市の某特別養護老人ホームに入所していた83歳男性結核患者（最大Gaffky2号、咳嗽持続期間2ヶ月、感染危険度指数4）の接触者検診においてQFT-2G検査の有用性を検討した。本事例ではツ反は明らかな二峰性分布を示さず予防内服適応者決定が困難であったが、QFT-2G検査により適切に決定することが可能であったと考えられた。

A. 研究目的

BCGを幅広く接種しているわが国では、ツベルクリン反応（ツ反）による結核感染の正確な診断は困難である。近年開発された新たな結核感染診断法であるQFT-2G検査ではBCGの影響を受けずに結核感染を診断可能である。今回、神戸市の特別養護老人ホームで発生した結核の事例において接触者検診でのQFT-2G検査の有用性を検討した。

B. 研究方法

神戸市の某特別養護老人ホームに入所していた83歳男性結核患者（最大Gaffky2号、咳嗽持続期間2ヶ月、感染危険度指数4）の接触者である施設従業員56名に対してQFT-2G検査、ツ反、胸部X線検査を行い、同時に接触状況、既往歴、職業歴、BCG歴等につき問診を行った。

（倫理面への配慮）個人情報保護に配慮し匿名化を行って研究を行った。

C. 研究結果

対象者56名の内訳は、男性8名、女性48名で、年齢は20歳代28名、30歳代10名、40歳代5名、50歳代12名、60歳代1名であった。ツ反結果は、発赤径で0～9mm9名(20代1名)、10～19mm15名(6名)、20～29mm15名(13名)、30～39mm11名(4名)、40～49mm2名(2名)、50～59mm2名(0名)、60～69mm1名(1名)であった。QFT-2G検査結果は、陽性3名、判定保留1名、陰性51名、判定不能1名であった。陽性は30歳ツ反34mm結核治療歴あり、58歳ツ反54mm結核病棟勤務歴があり、28歳ツ反60mmの3名で、28歳の1名のみ、他に職業歴・家族歴等なく、胸部異常影及び症状なく、接触状況も考え予防内服を指示した。

D. 考察

本事例ではツ反は明らかな二峰性の分布を示さず予防内服者の決定が困難であ

った。QFT-2G検査ではツ反発赤径最大であった1名のみが予防内服適応と判断され概ね適切な判定であったと推測されるが、これが真に妥当であったかどうかについては今後の経過観察が必要である。

E. 結論

感染源結核患者の感染危険度指数が少なく、接触者のツ反発赤径が明らかな二峰性分布を示さない事例において、予防内服の適応を適切に決定するためにQFT-2G検査が有用である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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

2. 露口一成、吉田志緒美、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則: 第80回総会ミニシンポジウム II. 結核の外來性再感染 1. 多剤耐性結核の再感染 結核. 2006; 81: 80-81

3. 吉田志緒美、鈴木克洋、露口一成、岩本朋忠、富田元久、岡田全司、坂谷光則: リファンピシン耐性 Mycobacterium kansasii における rpoB 変異の解明 結核. 2006; 81: 475-479

4. 吉田志緒美、鈴木克洋、露口一成、岩本朋忠、富田元久、岡田全司、坂谷光則: Mycobacterium kansasii

株における分子疫学的解明 結核. 2007; 82: 103-110

5. 露口一成、鈴木克洋、坂谷光則: 第81回総会シンポジウム III. 肺結核患者の新退院基準 -実際の運用と問題点について- 2. 国立病院機構退院基準の実際と運用における問題点 結核. 2007; 82: 129-132

2. 学会発表

1. 露口一成: 結核院内感染の実状と問題点. 第21回日本環境感染学会総会シンポジウム4. 「医療現場における結核対策の盲点」. 東京、2006年2月24日

2. 新井徹、井上義一、鈴木克洋、露口一成、源誠二郎、大塚淳司、深水玲子、北市正則、林清二、坂谷光則、服部英喜: シクロスポリンが有効と考えられた肺結核による血球貪食症候群の1例. 第97回日本結核病学会近畿地方会、奈良、2006年6月24日

3. 露口一成、鈴木克洋、岡田全司、井上康、林清二、坂谷光則: 血液透析を必要とする腎不全に合併した結核患者の臨床的検討. 第60回国立病院総合医学会、京都、2006年9月23日

4. 吉田志緒美、鈴木克洋、露口一成、岡田全司、富田元久、坂谷光則: 薬剤感受性検査でRFP感受性、耐性遺伝子検査でRFP耐性となる結核菌の検討. 第98回日本結核病学会近畿地方会、神戸、2006年12月9日

5. 露口一成、吉田志緒美、鈴木克洋、源誠二郎、井上義一、岡田全司、北市正

則、新井徹、林清二、坂谷光則：肺結核治療中に閉塞性細気管支炎を生じその後肺M. avium complex症を生じた1例。第98回日本結核病学会近畿地方会、神戸、2006年12月9日

6. 新井徹、井上義一、大塚淳司、林清二、坂谷光則、露口一成、源誠二郎、鈴木克洋、北市正則：組織学的にOP patternを呈し、難聴を合併したANCA関連血管炎の1例。第68回日本呼吸器学会近畿地方会、神戸、2006年12月9日

H. 知的財産権の出願、登録状況
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
鈴木克洋	結核の感染と発病 ・結核菌検査・臨床 検査・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	結核 第4版	医学書院		2006	117-118
鈴木克洋	結核の感染と発病 ・結核菌検査・臨床 検査	富岡洋海編	結核 第4版	医学書院	東京	2006	

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
坂谷光則	Molecular Epidemiology of Mycobacterium tuberculosis-Comparision between Multidrug-Resistant Strains and Pan-Sensitive Strains.	Kekkaku			in press
坂谷光則	Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB.	Vaccine			in press
坂谷光則	Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models.	Vaccine			in press
坂谷光則	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	1191-1204	2006

坂谷光則	Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using mouse and SCID-PBL/hu mouse models.	Adv Exp Med Biol		581-596	2006
坂谷光則	Chemotherapy for pulmonary M.kansasii disease.	Kekkaku.	81	80-81	2006
坂谷光則	Exogenous re-infection by multidrug-resistant tuberculosis.	Kekkaku.	81	41-43	2006
坂谷光則	多剤耐性結核菌の院内感染の現状と対策.	化学療法の領域	22	1691-1695	2006
坂谷光則	培養陰性,非結核性抗酸菌混在時における結核菌薬剤耐性遺伝子検査キットの有用性.	臨床検査	50(8)	934-939	2006
坂谷光則	リファンピシン耐性 Mycobacterium kansasii における rpoB 変異の解明.	結核	81(7)	475-479	2006
内村和広	Transmission of Mycobacterium tuberculosis in an urban setting in Japan and its association with age, sex and homelessness	Respirology	5		2006
矢野郁也	BCG vaccine elicits both T-cell mediated and humoral immune responses directed against mycobacterial lipid components.	Vaccine	24(29-30)	5700-5707	2006
矢野郁也	Interferon-gamma independent formation of pulmonary granuloma in mice by injections with trehalose dimycolate (cord factor), lipoarabinomannan and phosphatidylinositol mannosides isolated from Mycobacterium tuberculosis.	Clinical and Experimental Immunology.	144(1)	134-141	2006
矢野郁也	Mycobacterial sulfolipid shows a virulence by inhibiting cord factor induced granuloma formation and TNF-alpha release.	Microbial Pathogenesis.	40(6)	245-253	2006

矢野郁也	Macrophage scavenger receptor down-regulates mycobacterial cord factor-induced proinflammatory cytokine production by alveolar and hepatic macrophages.	Microbial Pathogenesis.	40(4)	171-176	2006
矢野 郁也	Identification of two subpopulations of Bacillus Calmette-Guerin (BCG) Tokyo172substrain with different RD16 regions.	Vaccine	24(23)	4969-4974	2006
矢野 郁也	Identification and characterization of the genes involved in glycosylation pathways of mycobacterial lycopeptidolipid biosynthesis	Journal of Bacteriology	188(1)	86-95	2006
矢野 郁也	Involvement of mannose receptor in glycopeptidolipid-mediated inhibition of phagosome-lysosome fusion.	Microbiology and Immunology.	50(3)	243-251	2006
倉島篤行	Novel diagnosis of active tuberculous pleuritis ; Interferon- γ -based assay using M. tuberculosis specific antigen				投稿中
倉島篤行	高齢者の抗酸菌感染症	日本臨床	65	490-494	2007
倉島篤行	非侵襲性肺アスペルギルス症治療の新たな展開	結核	82	143-147	2007
倉島篤行	肝硬変に合併した結核症例の検討	結核	81(7)	457-465	2006
倉島篤行	肺結核とアスペルギルス症. 最新医学・別冊 新しい診断と治療のABC 41, 呼吸器 6 結核・非結核性抗酸菌症	最新医学社		227-238	2006
倉島篤行	非結核性抗酸菌症	Modern Physician	26(3)	385-388	2006
原 寿郎	Association of IL12RB1 polymorphisms with susceptibility to and severity of tuberculosis in Japanese: a gene-based association analysis of 21 candidate genes.	Int J Immunogenet	34	35-44	2007

原 寿郎	Novel roles of osteopontin and CXC chemokine ligand 7 in the defence against mycobacterial infection.	Clin Exp Immunol	143(2)	260-268	2006
藤山理世	結核定期外検診時に実施したQFT-2G検査について－神戸市の事例	病原微生物検出情報(IASR) Vol.27	10(320)	7(261)-8(262)	2006
鈴木克洋	Mycobacterium kansasii株における分子疫学的解析	結核			
鈴木克洋	肺カンサシ症の治療	結核	81	41-43	2006
鈴木克洋	リファンピシン耐性 Mycobacterium kansasiiにおける rpoB 変異の解明	結核	81	475-479	2006
鈴木克洋	培養陰性、非結核性抗酸菌混在時における結核菌薬剤耐性遺伝子検査キットの有用性	臨床検査	50(8)	934-939	2006
鈴木克洋	診療の秘訣「ツベルクリン反応の解釈」	Modern Physician	26	424	2006
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
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
鈴木克洋	抗菌薬をつかいこなそう「結核」	メディチーナ	43(4)	664-665	2006
鈴木克洋	多剤耐性結核菌の院内感染の現状と対策.	化学療法の領域	22(11)	1691-1695	2006
鈴木克洋	非結核性抗酸菌症	Infectious Diseases Report 2006	37		2006
鈴木克洋	結核患者の新しい退院基準について.	M.P.	23(11)	1992-1993	2006
鈴木克洋	「結核・非結核性抗酸菌症」非結核性抗酸菌症、わが国における最近の動向、病態：（露口泉夫編）	最新医学社			2006
吉田栄人	Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models.	Vaccine			2007 in press

吉田栄人	Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome/HSP65 DNA+ IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB.	Vaccine			2007 in press
吉田栄人	Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS coronavirus using mouse and SCID-PBL/hu mouse models.	Adv Exp Med Biol	581	561-566	2006
吉田栄人	Robust salivary gland-specific transgene expression in Anopheles stephensi mosquito.	Insect Mol Biol	15	403-410	2006
吉田栄人	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	1191-1204	2006
吉田栄人	遺伝子操作によるマラリアを媒介しないハマダラカの創出—新規マラリアコントロールへの挑戦—	日本衛生動物学会誌 (総説)	57	249-254	2006
吉田栄人	遺伝子操作蚊を用いた蚊-マラリア原虫の寄生適応性解明 - マラリアコントロールに向けての新規戦略 -	蚕糸・昆虫バイオテック (総説)	75	161-166	2006
大原直也	TNF- α , lipopolysaccharide, and peptidoglycan induce cell fusion independently of RANKL at the latest step Of differentiation of RAW264.7 cells into osteoclast-like cells,	Journal of Cellular Biochemistry			2006 in press
大原直也	Analysis of amphotericin B-induced cell signaling with chemical inhibitors of signaling molecules.	Immunology	50	337-348	2006