

り、大きく解釈が異なるが、その比較が出来る。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研究発表している。しかし、症例の蓄積、血漿、PBMCの保存は検体バンクとして進めてきたが、宿主側の要因検索は進んでいなかったので、今回の研究を機会として進行させる。

コホートは倫理委員会の承認が得られたので、前向きの取り込みを増やし、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る。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。

その研究開発での課題を明確に同定する為、長崎大学が中心メンバーであるアジア西太平洋地域の倫理審査委員会フォーラム (FERCAP) 主催の国際シンポジウムに参加して、より倫理的な側面から、本研究班の中心テーマである多剤耐性結核の制御に役立つ具体的な製品開発の具体的な方向性を検討したい。

結核患者の血漿中グラニュライシン値は正常人よりも難治性結核で高い傾向があった。岡田班長はCD8陽性キラーTでin vitroで発見した現象 (TB患者やMDR-TB患者ではキラーTリンパ球内のグラニュライシンやin vitro培養上清中Graが低下) と矛盾しない、慎重な考察が必要である。可能性の1つは15k granulysinと9k granulysinの分泌量の差とも思われる。結核の活動性が高い時は血漿中グラニュライシンが低下し、治療や薬剤投与で上昇等、TBのstageや薬剤投与の影響について報告がある。患者のstageや治療を詳細に解析する前向きコホート研究が重要現在、前向きコホートではPPD-tuberculinと結核死菌でStimulationして培養した検体を保存しているが、それを活用して検討を進める。

岡田班長の志向する「免疫賦活療法」の研究開発には、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変化しているかどうか突き止めて、次に免疫賦活療法がそれを指標として活用できるか検討するステップが必要と指摘された。今後は、今回測定した免疫マーカーがその様な意義に活用できるか検討を進めたい。

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。

長崎大学は海外拠点も活用した国際的な医薬品の製品開発の分野において、パイオニアの活動

を展開しており、結核分野においても結核専門家と連携をしながら、多剤耐性結核の制御に役立つ製品開発のあり方を検討できる。

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。

健康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等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が、日本国内で実施した予備実験の結果から、患者検体を使用した場合、さらに大きな差異が認められる可能性が予測される。

今後のタイ国内での研究を成功させる鍵はチェンライーバンコックの間の検体の移送システムにあると考えられるため、移送システムの整備を急いでいる。今のところ、現地共同研究者が定期的にバンコックに検体を移送する方法が考えられている。検体のすべてはタイNIHに保管され、実験の大半もそこで実施されることから、このシステムの運用が非常に重要であることは言うまでもない。

本研究では、granulysinの測定が重要なポイントである。細胞レベルの検索と併せてgranulysinのレベルの高低がHIV結核ならびにHIV非感染結核発症のリスク要因たるか注目される。今後、HIV結核患者を含めて、これらエフェクター分子の発現レベルの検討をさらに進めていく。一方、菌側の情報としては、全例が塗末検査陽性培養陽性の患者のみ対象としているため、薬剤耐性に関する情報を結核データベースから確実に得ることできる。従って、多剤耐性結核とgranulysin, osteopontinといったエフェクター分子ならびにTh1サイトカインについてHIV結核と非HIV結核の双方において有用な知見が得られると想定される。

現在の課題は研究の継続すなわち、HIV結核患者の登録、試料採取、実験、データ解析、症例のフォローアップ、とくに多剤耐性菌等の細菌学的検索結果を含めたより包括的な分析が必要である。

国立国際医療センターではタイで実施する臨床研究の基礎的検討として分化した二種類の異なる表現型のマクロファージ (M型とGM型) を使用して抗結核免疫、とくに細胞の運動、菌の貪食、細胞内殺菌等に関与していると考えられているosteopontinの発現についてmRNAレベルとタンパクレベルにおいて検討した。その結果、双方の型のマクロファージにおいて単球からマクロファージへの分化過程で遺伝子発現が起きること、BCG感染によって発現が著明に増強されるが、M型とGM型の間にはmRNAレベルとタンパクレベルの発現の間に乖離が観察されたことは注目に値する。GM型に比較してM型がBCGを効率的に殺菌するにもかかわらず、osteopontinのタンパクレベルの発現量の多寡は、殺菌効率とパラレルにはなっていない。またWestern blottingから二つの異なるマクロファージのタイプが産生するosteopontinの分子量に違いがないことが

分かっている。このことから、osteopontinは細胞の運動や菌の貪食に関わってはいても、殺菌には直接関わっていない可能性が示唆された。

2 中国:

中国で160の結核菌株より5株の薬剤耐性株を得た、これらの臨床症状からすると5例全例が以前に結核を罹患したことのある患者であり、その治療の際の問題点があげられる。今後はVNTRを用いてこの結核菌が昨年報告したSuper Spreader MDRと近似のものであるかどうかを検討する準備を進めている。またこれらの菌株の第二選択薬に対する薬剤感受性試験を行いXDR-TB菌であるかの検証も大事である。中国からの菌株の受け入れは困難であるのでこれらの実験をハルビン医科大学で行えるべく共同研究体制を強化する必要がある。

中国で、すでにオフロキサシンを含むFluoroquinolone耐性が存在することを示している。この原因を、早急に調べる必要がある。Ethambutol, Ofloxacin, SM耐性の割合は、以前に報告されているものより高かった。また、Ethambutol, Ofloxacin, SM高度耐性結核菌が多いことも、第二の特徴としてあげられる。中国で、Ethambutol, Ofloxacin, SM耐性結核菌が多い理由は、結核患者が、第一に、完全に治癒しないうちに、金銭上の理由から、退院し、また再入院するうちに、SM耐性になる、第二に、売薬で、患者が、勝手に服薬する、のが、主な原因と考えられる。中国では、結核と診断されても、100%、国からの補助が受けられない。支払い能力がないと、患者は、治療途中で、退院しなければならない。DOTSを施行して、完全に服薬させることと、医療費の払えない患者を、政府が、財政的に補助する仕組みを生み出して、結核治療を施行することが必要であろう。以上の研究を通じて、不完全に治癒した中国人が、日本にきて、その後、再発する可能性もある。すなわち、輸入感染症としての結核の位置づけも、重要である。この点から、日本政府としても、隣国である中国の結核対策に、積極的に関与することが望まれる。

3 インド:

インドは世界の中で最も多くの結核患者を有する地域である。インドにおける多剤耐性結核菌の状況を明らかにすることは、経済のグローバル化、人々の移動の自由化などに伴い世界の多剤耐性結核菌対策のための重要な研究課題と考えられる。本研究は、アジア結核高蔓延地域であるインドにおいて結核菌の遺伝子型、薬剤耐性を明らかにし、その流行状況を明らかにすることを目的とした。またわが国の薬剤耐性菌株との比較分析を行うことにより多剤耐性結核菌流入のモニタリングを行うわが国の結核対策に対しても資することを目的とした。最終的にはインド・ニューデリーのVardhman Mahavir Medical CollegeのProf. Saudan Singhの協力を得て、同大学公衆衛生学講座、Safdarjung Hospital併設結核センター、同病院感染症病理検査センターの細菌検査室（以下、研究協力施設）との研究協力の関係を構築し、インド臨床分離結核株と日本における臨床分離株について菌株の遺伝子型別分析を行うために必要な、分

子疫学に最適なVNTR対象locusの研究を実施することになった。政府の許可が得られた後に、インドの研究協力施設における結核患者の塗抹陽性喀痰の処理済み沈査をすべて収集、保管してもらい、提供してもらい、提供検体を日本で結核菌同定、耐性遺伝子検出、遺伝子型別分析を実施することからはじめ、最終的にはLAMP法による結核菌同定とVNTR法による遺伝子型別法をSafdarjung Hospital細菌検査室において実施できるように技術提供を行い、基本的な研究は現地で行うことを目標とした。インドの対象地域の結核検査技術を移転することによりインドにおける結核対策の推進方策の向上にも寄与することができると考えた。しかし、本研究の計画実施時期は、知的財産保護、病原体に関する研究について両国政府の関与が厳しくなってくる時期と重なり、日印双方とも共同して結核菌の分析研究を推進することが出来ない状況の中で3年間の研究期間が終了してしまった。幸いにも、3年間の訪印しての協議と調整を繰り返した結果、平成20年度からは共同研究を行うことについて両国の許可が得られることになったことできた。日印の共同研究を行うための拠点形成を確立したことが本研究の成果となった。

4 シンガポール:

シンガポールにもINH低レベル耐性菌が存在することを示している。

5 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療法を慎重にしなければ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-エンベロープ/Hsp65DNA+IL-12DNAワクチンはマウスの系でBCG東京よりも1万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から、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により、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、高鳥毛、田丸、岡田、菅原、服部、慶長、JICA、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・慶長・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。1987年から現在まで延べ人数で、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。多剤耐性結核症例及び治療失敗となる率は、再登録例で高い。

(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解析プロトコル作製。

(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、M ϕ)の研究がスタート。ヒトPBMCからマグネットビーズ法でM ϕ を分離し分化させるシステム構築に成功した。オステオポンチン、granulysinやM ϕ 、リンパ球(キラーT、M ϕ 、NKT、 $\gamma\delta$ T)の解析を行いつつある。(e) 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)の検体バンクとコホート研究を立ち上げ、結核症に対するフィールド研究開発を実施した。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進めた。チェンライ県で結核研究の検体バンクとコホートでの血漿より、再発例30名、治療失敗例29名、慢性排菌例15例の血漿を活用して、通常初発結核(再発なしを確認)30例、結核症のない健康人30人と比較した。血漿中グラニューライシンの値は、結核症でない正常人と初回結核群では有意差がなかった。しかし、再発例、治療失敗例、慢性排菌例の難治性結核が通常初発結核と比較して有意に高かった。同じ患者群について、血漿中インターフェロン γ ・ガンマの測定を測定した。結核症でない正常人では、殆ど皆無であったが、結核患者では全ての群で有意に高く同定された。しかし、再発例、治療失敗例、慢性排菌例の難治性結核が通常初発結核と比較して測定値が異なることはなかった。今後、治療の経過による変化が、ツベルクリンや結核死菌で刺激した前後でどうなるかを突き止め、これらの免疫マーカーを指標として、何らかの免疫賦活療法が適応となるかどうか検討したい。

(f) 櫻田らは北タイ・チェンライ県における結核とHIV結核患者における宿主側危険因子(granulysinとosteopontin)の同定のための臨床免疫学的研究プロジェクトを立ち上げた。平成19年5月にタイ公衆衛生省ならびに同年6月にチェンライ病院の倫理委員会から本研究は承認された。同月より患者登録を開始、平成20年2月25日時点で74名の患者と対照健康者を登録され、採血により試料を採取し現在解析を続けている。患者登録は最短でも本年度3月末日まで続けられる予定である。

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

(a) アジア地域(中国瀋陽)の多剤耐性結核菌DNA 50例中VNTR 6例(12%)で日本のスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌S・S MDR-TBと全く同じVNTR(MIRU)配列を示した。アジアにも日本と同じS・S MDR-TBが高率に存在することを初めて発見した(岡田、服部)。S・S

MDR-TBは通常多剤耐性結核菌より毒力が強力を証明。

(b)多剤耐性結核菌(河南省・北京と瀋陽)300例を解析。OFLX耐性(*gyrA*変異)が多い発見。瀋陽はMDR-TB中12%でXDR-TBの可能性。(菅原、服部、Ling)

(c)中国北京市結核・肺腫瘍研究所で得られた215の結核菌臨床株のうち、115株がSM耐性株で100株が感受性株であった(比率法による)。115株の遺伝子突然変異の有無を調べたところ、98株(85%)に*rpsL*遺伝子、*rrs*遺伝子の変異が見つかった。*rpsL*変異が、主で88株が該当した。この割合は、すでに発表されているものより高い。(菅原、服部、Ling)

- ③ インド：(高鳥毛、岡田)インドと結核ワクチン臨床応用と結核菌DNA解析の共同研究。
 - (a)結核対策の実情調査。(b)ニューデリー・シン教授とインド最大の結核病院より多剤耐性結核菌株の提供とDNA解析。
 - ④ シンガポール：(阿部)INH低レベル耐性菌を初めて発見。アジアでの分布解析し、共同研究。
 - ⑤ 国際的評価を得た。*pacific-rimTB*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、野内、松本発表(ハノイ：平17)APSR(平18京都)、国際ワクチン学会シンポジスト(岡田 平18トロント)。
2. HVJ-エンベロープ/Hsp65 DNA+IL-12 DNAワクチンはBCGワクチンよりも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)。結核菌由来 HSP65蛋白に対するキラーT細胞やINF- γ 産生T細胞の分化を強力に誘導した。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)でワクチン免疫を行い、結核予防効果を解析した。モルモットで効果あり。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)でHVJ/HSP65+IL-12DNAワクチン投与群は100%生存率(BCGワクチン群は33%の生存率)の画期的な結核予防ワクチン効果を示した。
 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。超薬剤耐性結核菌(XDR-TB)に対しても治療効果。多剤耐性結核(XDR-TB)に対する強力な治療ワクチンを発見。さらにカニクイザルの系でもHVJ-エンベロープ/HSP65DNA+IL-12DNAワクチンは生存率改善、体重増加、免疫反応増強の治療効果を得た。
 4. XDR-TBは本邦では多剤耐性結核菌の50%以上に認められることを明らかにした。中国ではXDR-TB12%。タイではXDR-TB0.96%。
 5. 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。特にCPZはXDR-TBにも効果。OPCはRFPやINHより10倍強力(初めて開発した結核ヒト治療モデルSCID-PBL/huで)。
 6. Toll-like receptorを介した自然免疫が消失TRIF/MyD88二重欠損マウスを作製し、結核菌易感染性を初めて示した。TLR活性化により肺胞上皮細胞産生リポカリンが結核菌の増殖抑制を初めて示した。
 7. 結核菌殺傷タンパクである15K及び9K

Granulysin (Gra) 遺伝子導入マウス作製に成功し、15K Graが生体内でも結核菌殺傷を初めて証明。多剤耐性結核患者でキラーT産生Gra有意に低下を発見。

8. 殺結核菌ヒトM型M ϕ は結核菌増殖抑制因子産生。GM-M ϕ はHIV・TB感受性のヒト肺胞M ϕ と同じ。
9. 高活性の新規HVJ-Eベクター製剤(HVJ-エンベロープ・パウダーベクター：純国産技術で今までのHVJ-Eより200倍強い発現効率を示す新ベクター)を開発。HVJ-エンベロープ封入製剤を調製し、品質レベル(品質管理基準)を確認(標準操作手順書と治験薬GMPレベル)。(図19)pVAXにHSP65DNAとIL-12DNAの二つの遺伝子を導入し、臨床応用を計画。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kannan-Hayashi Y, Okamura K, Hattori S, Kuwamura M, Higuchi E, Terayama H, Moriyama M, Mukamoto M, Okada M, Ohnishi Y, Nakamura Y.: Neuritogenic Effects of T Cell-Derived IL-3 on Mouse Splenic Sympathetic Neurons In Vivo. The Journal of Immunology, 2008, vol.180, p4227-p4234.
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, David N. McMurray, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, R Gelber, 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;25(16):2990-3
3. Mai HN, Hijikata M, Inoue Y, Suzuki K, Sakatani M, Okada M, Kimura K, Kobayashi N, Toyota E, Kudo K, Nagai H, Kurashima A, Kajiki A, Oketani N, Hayakawa H, Tanaka G, Shojima J, Matsushita I, Sakurada S, Tokunaga K, Keicho N.: Pulmonary Mycobacterium avium complex infection associated with the IVS8-T5 allele of the CFTR gene. Int J Tuberc Lung Dis. 2007;11(7):808-13.
4. 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, JSM Peiris, Pei-Jer Chen, 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;25(16):3038-40.
5. Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Okada M, Sakatani M.: Molecular Epidemiology of Mycobacterium tuberculosis-Comparison between Multidrug-Resistant Strains and

- Pan-Sensitive Strains. *Kekkaku*. 2007;82(6):531-8.
6. Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Okada M, Sakatani M.:Molecular epidemiological analysis of *Mycobacterium kansasii* isolates. *Kekkaku*. 2007;82(2):103-10.
 7. 秋山一男, 手塚文明, 岡田全司, 石橋大海, 島津章, 堀部敬三, 是恒之宏, 村中光, 下田照文, 山本初美, 岡村純, 佐伯行彦, 福田信夫, 山内芳忠, 城ヶ崎倫久, 藤内智, 藤澤隆夫, 友保洋三, 谷山清己, 羽金和彦, 平成17年度国立病院機構共同臨床研究「国立病院機構における臨床研究部の活性化と適切な評価法に関する研究」班:施設長を対象とした臨床研究部・研究センターに関するアンケート調査. *医療* 2007; 61(8):546-553.
 8. 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 綱井良恵, 井上ルリ子, 深水玲子, 浅木亮子, 仲谷均, 山田順子, 高尾京子, 浅井律子, 浪江由美: 新しい結核ワクチンの開発. 化学療法の領域 出版中 2007.
 9. 岡田全司: 新しい結核ワクチン. *感染症* 7: 14-18 2007.
 10. 岡田全司: 国際ワクチン学会“学会レポート” Fifth World Congress on Vaccines, Immunization and Immunotherapy 感染・炎症・免疫 37: 66-67, 2007
 11. 岡田全司: 新しい結核ワクチンの新展開. *最新医学* 2007:125-130
 12. 岡田全司: 新しい結核ワクチンの開発. 呼吸と循環. (in press)
 13. 岡田全司: BCGと新たな結核ワクチン. 呼吸器科. (in press)
 14. M. Okada, Y. Kita, N. Kanamaru, S. Hashimoto, T Nagasawa, Y. Kaneda, Y. Nishida, H. Nakatani, K. Takao, R. Asai, R. Suhara, E.C. Dela Cruz, E.V. Tan, R.M. Abalos, R. Gellber, P. Saunderson, S. Yoshida, M. Matsumoto, D. McMurray, M. Sakatani: Novel Vaccination (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) Against Tuberculosis Using Cynomolgus Monkey. "13th International Congress of Immunology" Edit Jorge Kalil, Edecio Cunha-Neto, Luiz Viente Rizzo, MEDIMOU Intern p.119-122,2007
 15. David Neil McMurray, 岡田全司 The study of vaccine against *Mycobacterium tuberculosis* using Aerosol Exposure Chamber system in mice and guinea pig. 平成18年度 新興・再興感染症研究推進事業研究報告集 p. 5-13, 2007
 16. 岡田全司 カニクイザルを用いた、新しい結核治療ワクチン (HVJ / HSP65 DNA + IL-12 DNA) による新しい結核治療法の開発 平成18年度 新興・再興感染症研究推進事業研究報告書 p.146-159, 2007
 17. Masaji Okada, Yoko Kita, Noriko Kanamaru, Satomi Hashimoto, Yasuko Nishida, Hitoshi Nakatani, Junko Yamada, Kyoko Takao, Ritsuko Asai, Ryoko Asaki, Rika Suhara, Reiko Fukamizu, Yoshikazu Inoue, Toshihiro Nakajima, Tetsuji Nagasawa, Yasuhumi Kaneda, Shigeto Yoshida, Makoto Matsumoto, Robert Gelber, Esterlina V. Tan, E.C.Dela Cruz, David McMurray, Mitsunori Sakatani Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB Forth-Second Tuberculosis and Leprosy Research Conference U.S-JAPAN Cooperative Medical Science Program: p66-69, 2007
 18. 岡田全司 新しい結核ワクチンの新展開 *結核* 82 10 : p.794-797, 2007
 19. 岡田全司 結核の抗体と細胞性免疫 *日本医事新報* 4351号 : p.95-97, 2007
 20. 吉田志緒美, 鈴木克洋, 露口一成, 岡田全司, 坂谷光則 結核菌の分子疫学的解析 多剤耐性結核菌と全剤感受性結核菌との比較 *結核* 82巻6号 : p.531-538, 2007
 21. Okada M: Novel vaccines against tuberculosis. *Kekkaku* 81:41-43, 2006
 22. 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
 23. Okada M, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Fukunaga Y, Furukawa I, Nakajima M, Teramoto S, Nishida Y, Namie Y, Tsunai Y, Inoue Y, Nakajima T, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Matsumoto M, R Gelber, E V Tan, E.C.Dela Cruz, D McMurray, Sakatani M.: Novel vaccination (HVJ-liposome/HSP65 DNA+IL-12 DNA) against Tuberculosis using cynomolgus monkey. 41st Tuberculosis and Leprosy Research Conference. 109-113. 2006.
 24. Nakano H, Nagata T, Suda T, Tanaka T, 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 an epitope on antigen 85A. *Vaccine*. 2006 15;24(12):2110-9
 25. 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. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2006; 581-566
26. Suzuki K, Yoshida S, Tuyuguchi K, Minamoto S, Inoue G, Hayashi S, Okada M, Iuchi K, Sakatani M.: Chemotherapy for pulmonary *M. kansasii* disease. *Kekkaku.* 81:41-43, 2006
 27. Tuyuguchi K, Yoshida S, Suzuki K, Okada M, Sakatani M.: Exogenous re-infection by multidrug-resistant tuberculosis. *Kekkaku.* 81:80-81, 2006
 28. 岡田全司: 結核ワクチン開発の現況と展望 “呼吸器6 結核・非結核性抗酸菌症; 新しい診断と治療のABC 41”. *最新医学・別冊* 170:183, 2006
 29. 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 1691-1695, 2006.
 30. 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* 25(5):477-484 2006.
 31. 岡田全司: 結核ワクチン. “結核 第4版” p50-58 (編集 泉孝英, 富岡洋海) 医学書院 2006.
 32. 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 巻 8 号 Page934-939, 2006.
 33. 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 巻 7 号 Page475-479, 2006.
 34. 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.
 35. 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.
 36. Okada M and Shirakawa T. : Frontier of *Mycobacterium* Research - Host Vs *Mycobacterium*. “ the 80th Annual Meeting Symposium” *Kekkaku* 80:613-629, 2005.
 37. 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. 40th Tuberculosis and Leprosy Research Conference US-JAPAN Cooperative Medical Science Program. 2005; 46-50.
 38. 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.
 39. 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.
 40. 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
 41. 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. 岡田全司、小林和夫 抗酸菌研究の最前線 “第82回 日本結核病学会総会” *結核* 82 : 330, 2007
 2. 岡田全司: ワクチン開発. (特別講演 抗酸菌研究の最前線). 第82回日本結核病学会. (2007. 6. 大阪)
 3. 喜多洋子、金丸典子、深水玲子、浅木亮子、井上義一、坂谷光則、岡田全司 ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた結核に対する新しいDNAワクチン開発: HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン (4) *結核* 82 : 409, 2007
 4. 金丸典子、喜多洋子、深水玲子、浅木亮子、井上義一、坂谷光則、岡田全司 結核に対する新しいワクチン (HVJ-liposome / HSP65 + IL-12 DNA) の開発とT細胞分化誘導作用 *結核* 82 : 408, 2007
 5. 井上義一、喜多洋子、深水玲子、浅木亮子、坂谷光則、岡田全司 プライム・ブースター法を用いた新しいワクチン (HVJ-liposome / HSP65 + IL-12 DNA) による肺結核病理像作用 *結核* 82 : 408, 2007
 6. 深水玲子、喜多洋子、金丸典子、浅木亮子、坂谷光則、岡田全司 HSP65遺伝子導入マウス及びIL-12遺伝子導入マウスを用いた結核感染防御機構の解析モデルの開発 *結核* 82 : 405, 2007

7. 浅木亮子、喜多洋子、金丸典子、深水玲子、井上義一、坂谷光則、岡田全司 気道内投与・鼻腔内投与による新規結核ワクチン効果解析 (エアゾル吸入感染系を用いた) 結核 82: 409, 2007
8. 町田和子、四元秀毅、岡田全司、坂谷光則 国立病院機構 (NHO) 呼吸器ネットにおける2004年結核死亡調査と死亡推移の検討 結核 82: 390, 2007
9. 藤山理世、田中賀子、樋口紀子、河上靖登、白井千香、片上祐子、平岡恭典、青山博、千原三枝子、岩本朋忠、園部俊明、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則 神戸市で結核定期外健康診断時に実施したQFT-2G検査の有用性と接触度について 結核 82巻4号: p.358, 2007
10. Masaji Okada, Yoko Kita, Noriko Kanamaru, Satomi Hashimoto, Yoichi Nakamura, Yukiko Kannan, Tatsuji Nomura Induction of CTL by using granulysin, IL-6 related genes and IL-2 Receptor disrupted SCID mouse Proceedings 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association: 245, 2007
11. Okada Masaji, Kita Yoko, Kanamaru Noriko, Hashimoto Satomi, Nishida Yasuko, Nakatani Hitoshi, Yamada Junko, Takao Kyoko, Asai Ritsuko, Suhara Rika, Fukamizu Reiko, Inoue Yoshikazu, Nakajima Toshihiro Immunological enhancement of a novel vaccine (HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB 日本免疫学会総会・学術集会記録 250, 2007
12. 藤山理世、田中賀子、中谷幸子、榎林成之、樋口純子、渋谷雄平、青山博、白井千香、片上祐子、千原三枝子、吉岡伸子、伴貞彦、河上靖登、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則 神戸市で結核接触者健康診断時に実施したQFT-2G検査と接触度について 第66回 日本公衆衛生学会総会抄録集 p.588, 2007
13. 久保昭仁、伊佐俊一、楠洋子、高田實、青野奈々、田村太郎、辻野和之、村上真理、湯峯克也、上平和孝、沖塩協一、川口知哉、安宅信二、田中壽一、松村晃秀、北市正則、河原正明、岡田全司、坂谷光則 胸部悪性腫瘍症例を対象とした包括的多種類検体保存システムの構築 肺癌 47巻5号: p.607, 2007
14. 露口一成、吉田志緒美、源誠二郎、鈴木克洋、岡田全司、洪泰浩、林清二、坂谷光則 INHの予防内服によりINH耐性が誘導されたと考えられた結核の1症例 結核 82 10: p.801, 2007
15. 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 Line Probe Assayを用いた抗酸菌同定キットの有用性の検討 結核 82 10: p.801, 2007
16. 白井千香、藤山理世、田中賀子、河上靖登、岩本朋忠、園部俊明、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則 神戸市でのVNTR法による結核菌の遺伝子型別データベースが有用であり、QFTも併用した接触者健康診断事例について 結核 82 10: p.801, 2007
17. 岡田全司 特異抗原をターゲットとした Immunotherapy 新しい結核ワクチンの開発 日本臨床免疫学会誌 30巻4号: p.265, 2007
18. 伊佐俊一、楠洋子、久保昭仁、岡田全司、高田實、河原正明、安宅信二、川口知哉、沖塩協一、湯峯克也、大宮英泰、上平和孝、村上真理、田村太郎 悪性腫瘍における多種類検体保存システムの構築 肺癌 47巻4号: p.400, 2007
19. 武本優次、深水玲子、井上義一、岡田全司、坂谷光則、影山圭吾、前田光一、神野正敏、藤本眞一、中村忍 高齢者薬剤性肺炎の1例 日本老年医学会雑誌 44巻4号: p.528, 2007
20. 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た後肺M.avium complex症を生じた1例 結核 82巻6号: p.553, 2007
21. 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 薬剤感受性試験でRFP感受性、耐性遺伝子検査でRFP耐性となる結核菌の検討 結核 82巻6号: p.551, 2007
22. 大家晃子、井上義一、審良正則、田中勲、深水玲子、新井徹、橋和延、岡田全司、林清二、坂谷光則 リンパ脈管筋腫症における volumetric CTと重症度との関係 日本呼吸器学会雑誌 45巻増: p. 276, 2007
23. 橋元里美、武本優次、喜多洋子、金丸典子、西田泰子、網井良恵、井上ルリ子、深水玲子、仲谷均、山田順子、高尾京子、浅井律子、浅木亮子、浪江由美、奥野良信、加瀬哲男、吉田栄人、坂谷光則、岡田全司 SCID-PBL/huモデルマウスを用いたSARSウイルスM蛋白に対するヒト中和抗体誘導DNAワクチンの開発 日本呼吸器学会雑誌 45巻増: p. 264, 2007
24. 新井徹、井上義一、橋和延、高藤淳、深水玲子、田村太郎、大塚淳司、源誠二郎、露口一成、鈴木克洋、林清二、岡田全司、坂谷光則 間質性肺炎加療に伴うサイトメガロウイルス抗原血症 日本呼吸器学会雑誌 45巻増: p. 234, 2007
25. 深水玲子、喜多洋子、金丸典子、橋元里美、西田泰子、網井良恵、井上ルリ子、浅木亮子、仲谷均、山田順子、高尾京子、浅井律子、浪江由美、坂谷光則、岡田全司 HSP 65遺伝子導入マウス及びIL-12遺伝子導入マウスを用いた結核感染防御機構の解明 日本呼吸器学会雑誌 45巻増: p. 200, 2007
26. 岡田全司、喜多洋子、金丸典子、橋元里美、西田泰子、網井良恵、井上ルリ子、深水玲子、浅木亮子、仲谷均、山田順子、高尾京子、浅井律子、浪江由美、井上義一、吉田栄人、中島俊洋、坂谷光則 結核に対する新しいワクチン(Hsp 65+IL-12 DNA)の開発とキラーT細胞分化誘導効果 日本呼吸器学会雑誌 45巻増: p. 200, 2007
27. 喜多洋子、金丸典子、橋元里美、西田泰子、網井良恵、井上ルリ子、深水玲子、浅木亮子、仲谷均、山田順子、高尾京子、浅井律子、吉田栄人、中島俊洋、坂谷光則、金田安史、Tan E.V., DelaCruz D.L.C., 岡田全司 肺感染症の病態と診療の研究における進歩 ヒト結核感染モデルに最も近いカンイクザルを用いた新しい結核ワクチン開発 HSP 65 DNA+IL-12 DNA ワクチン 日本呼吸器学会雑誌 45巻増: p.

- 122, 2007
28. 岡田全司: 新しい結核ワクチン. (特別講演 未来に繋がる結核対策). 第47回日本呼吸器病学会. (2007.5.)
 29. 吉田志緒美, 鈴木克洋, 露口一成, 岡田全司, 坂谷光則, 岩本朋忠. M.kansasii症における多クロン性感染の検討 結核 82巻4号: p.447, 2007
 30. 露口一成, 吉田志緒美, 鈴木克洋, 岡田全司, 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 結核 82巻4号: p.442, 2007
 31. 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, 末竹寿紀. ヒラジナミド耐性遺伝子検出キットの有用性の検討 結核 82巻4号: p.416, 2007
 32. Masaji Okada, Yoko Kita, Noriko Kanamaru, Satomi Hashimoto, Tetsuji Nagasawa, Yasufumi Kaneda, Yasuko Nishida, Reiko Fukamizu, Yoshie Tsunai, Ruriko Inoue, Hitoshi Nakatani, Yumi Namie, Junko Yamada, Kyoko Takao, Ritsuko Asai, Ryoko Asaki, E.V. Tan, Mitsunori Sakatani. Novel vaccination (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA against Tuberculosis) The American Association of Immunology Meeting, 2007
 33. Masaji Okada. Novel Vaccination (HVJ-Liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) Against Tuberculosis Using Cynomolgus Monkey Leonard Wood Memorial International Meeting 2007: Oct 23, 24, 2007
 34. 岡田全司. 最新の結核ワクチン・SARSワクチン及び肺癌ワクチンについて 箕面医師会特別講演: 2007年6月
 35. 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, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, R Gelber, Sakatani M.: Treatment of Multi-drug resistant Tuberculosis(XDR-TB, super-spreader MDR-TB) by Novel vaccination (HVJ-envelope/HSP65 DNA+ IL-12 DNA). 13th International Congress of Immunology, Rio de Janeiro. Brazil. 2007.8.
 36. Okada M(Symposist): Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB. Fifth World Congress on Vaccines, Immunization and Immunotherapy (WCVII), November 6-9, 2006. Montreal, Canada.
 37. Okada M. (Symposist): Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models. Fifth World Congress on Vaccines, Immunization and Immunotherapy (WCVII), November 6-9, 2006. Montreal, Canada.
 38. Okada M(Symposist), 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.: Novel vaccination (HVJ-liposome/Hsp65DNA+ IL-12DNA) against tuberculosis using cynomolgus monkey. The 6th Awaji: International Forum on Infection and Immunity. 4-7 September 2006 Awaji Island, Japan.
 39. Okada M(Symposist): Novel Vaccines Against Tuberculosis; Non-antibiotic Strategy for Pulmonary Infection. 46th JRS-International Symposium (Japanese Respiratory Society). June 1-3, 2006. Tokyo, JAPAN.
 40. Kanamaru N, Kita Y, Hashimoto S, Tanaka T, Takai H, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Yoshida S, Nakajima T, Kaneda Y, Matsumoto M, Tan E.V, Gelber R, Dela Cruz E.C, Ohara N, McMurray D, Sakatani M, Okada M. : Novel vaccination (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) against Tuberculosis using cynomolgus monkey. The Second International Conference on TB Vaccination for the World (TBV 2006), 19-21 April 2006, Vienna, Austria.
 41. Okada M(Symposist): Novel vaccination (HVJ-liposome/HSP65 DNA+ IL-12DNA)against tuberculosis. 4th International Symposium for Gene Therapy: Development of Preventive and Therapeutic Gene Treatment against Infectious Diseases and Neuron Diseases. Feb.3, 2006. OSAKA, JAPAN.
 42. 岡田全司: 新しい結核ワクチン(教育講演). 第81回日本結核病学会総会. (2006.4 仙台)
 43. 岡田全司: (第80回記念企画 講演) 新しい結核ワクチンの開発: 新世代ワクチン・ストラテジー. (第80回記念企画: 感染症学のBreak-Through を目指して)第80回日本感染症学会総会. (2006.4. 東京)
 44. Okada M.: Novel vaccination (HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA) against Tuberculosis using cynomologas monkey. Educational seminar for infectious deseases: Tohoku University Medical School (Japan) and Benza University (South Africa) collaborative study. (Aug 21, 2006. Sendai, Japan)
 45. 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, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, R Gelber,

- Sakatani M.: Novel vaccination (HVJ-liposome/ HSP65 DNA+ IL-12 DNA) against Tuberculosis using cynomolgus monkey. Keystone 2007. Vancouver, Canada.
46. 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, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, R Gelber, Sakatani M.: Novel vaccination (HVJ-liposome / HSP65 DNA+ IL-12 DNA) against tuberculosis using cynomolgus monkey. 11th Congress of the Asian Pacific Society of Respirology. November 19-22, 2006. Kyoto, Japan.
 47. Okada M, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Tanaka T, Takai H, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Takatani N, Izumiya M, Yoshida S, Kaneda Y, Nakajima T, Matsumoto M, Gelber R, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, McMurray D N, Sakatani M.: The Development of novel HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA vaccination against tuberculosis using cynomolgus monkey. FASEB Meeting AAI (Washington D.C. 2006.5)
 48. Okada M, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Tanaka T, Takai H, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Yoshida S, Nakajima T, Kaneda Y, Matsumoto M, Tan E.V, Gelber R, Dela Cruz E.C, Reed S, Ohara N, McMurray D, Sakatani M. : Novel vaccines (HSP65 DNA+ IL-12 DNA Vaccine) Against Tuberculosis using cynomolgus monkey. Keystone Symposia (Pathogen-Host Stand off : Persistent and Latent Infection). Jan 5-10, 2006.
 49. 岡田全司、喜多洋子、金丸典子、橋元里実、深水玲子、中島俊洋、松本真、吉田栄人、井上義一、金田安史、坂谷光則: BCGワクチンよりも強力な新しい結核ワクチン (HVJ-エンベロープ/Hsp65DNA+IL-12DNA) 開発とキラーT細胞分化誘導作用. 第36回日本免疫学会総会・学術集会 (2006.12.大阪)
 50. 岡田全司、喜多洋子、中島俊洋: ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた結核に対する新しいDNAワクチン開発: HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン. 日本ワクチン学会 2006.
 51. 岡田全司、喜多洋子、田中高生、井上義一、坂谷光則: 結核に対する新しいワクチン (HVJ-liposome/Hsp65+IL-12 DNA) によるキラーT細胞分化誘導作用. 第81回日本結核病学会総会 (2006.4. 仙台)
 52. 井上義一、田中高生、喜多洋子、坂谷光則、岡田全司: 結核に対する新しいワクチン (HVJ-liposome/Hsp65+IL-12 DNA) の開発と肺結核病理像改善作用. 第81回日本結核病学会総会 (2006.4. 仙台)
 53. 喜多洋子、田中高生、井上義一、坂谷光則、岡田全司: ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた結核に対する新しいDNAワクチン開発: HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン. 第81回日本結核病学会総会(2006.4. 仙台)
 54. 藤山理世、河上靖登、白井千香、青山 博、千原三枝子、岩本朋忠、園部俊明、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則: 神戸市において、結核定期外検診時に施行したQFT-2G検査について. 第81回 日本結核病学会総会(2006.4. 仙台)
 55. 沖塩協一、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則、鎌田有珠、藤岡智、大場泰良、中野泰克、駿田直俊、阿部聖裕、森健一: 政策医療呼吸器ネットワークシステムの分析による抗酸菌症入院症例菌種の検討. 第81回日本結核病学会総会(2006.4. 仙台)
 56. 鈴木克洋、露口一成、吉田志緒美、林清二、岡田全司、坂谷光則: QuantiFERON-TB第二世代による結核院内感染対策の試み. 第81回日本結核病学会総会(2006.4. 仙台)
 57. 藤山理世、田中賀子、中谷幸子、樋口順子、渋谷雄平、青山博、白井千香、伴貞彦、片上裕子、千原三枝子、栗木茂一、吉岡伸子、河上靖登、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則: 神戸市で結核定期外健康診断時に施行したQFT-2G検査と接触度について. 公衆衛生学会 2006.
 58. 鈴木克洋、露口一成、吉田志緒美、林清二、岡田全司、坂谷光則: QuantiFERON-TB第二世代による結核院内感染対策の試み. 結核81巻3号 Page276(2006.03)
 59. 沖塩協一、坂谷光則、岡田全司、鎌田有珠、藤内智、大場泰良、中野泰克、阿部聖裕、駿田直俊、森健一、鈴木克洋: 政策医療呼吸器ネットワークシステムの分析による抗酸菌症入院症例菌種の検討. 結核81巻3号 Page244(2006.03)
 60. 岡田全司、喜多洋子、金丸典子、橋元里実、高井寛子、福永有可里、坂口弥生、古川いづみ、山田恭子、和泉谷美和、高谷直子、田中高生、井上義一、橋本幸子、吉田栄人、中島俊洋、坂谷光則: 結核に対する新しいワクチン (HVJ-liposome/Hsp65+IL-12 DNA) の開発とT細胞免疫増強効果. 第46回日本呼吸器学会学術講演会 (2006. 6. 東京)
 61. 喜多洋子、金丸典子、橋元里実、高井寛子、福永有可里、坂口弥生、古川いづみ、山田恭子、和泉谷美和、高谷直子、田中高生、井上義一、橋本幸子、吉田栄人、中島俊洋、坂谷光則、金田安史、大原直也、Tan E.V, DelaCruz E.C, Gelber R, 岡田全司: ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた結核に対する新しいDNAワクチン開発: HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン. 第46回日本呼吸器学会学術講演会 (2006. 6. 東京)
 62. 庄嶋淳子、田中剛、慶長直人、松下育美、桜田紳策、土方美奈子、井上義一、鈴木克洋、坂谷光則、

- 岡田全司, 木村謙太郎, 小林信之, 豊田恵美子, 工藤宏一郎, 永井英明, 倉島篤行, 加治木章, 桶谷典弘, 早川哲史, 白川太郎, 玉利真由美, 中田光, 岡晃, 安藤覚, 田宮元, 笹月健彦, 猪子英俊 : 肺非結核性抗酸菌症感受性領域の全ゲノム高解像度マッピング. 第46回日本呼吸器学会学術講演会 (2006.6東京)
63. 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. 13th Annual Congress of the ESGT, 29th Oct - 1st Nov, 2005 Prague, Czech Republic (Symposist)
64. 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(7th), Disease immunization and Immunotherapy. 5thMar-7th Mar, 2005, Dubai,UAE (Symposist)
65. 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. 10th International Nidovirus Symposium: Toward Control of SARS and other Nidovirus Diseases, 25th Jun - 30th Jun, 2005 Colorado Springs, USA (Symposist)
66. 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 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity, 5th Sep-8th Sep, 2005, Awaji Island,Hyogo
67. Y.Inoue,A.Ohya,H.Tokoro,Y.Maeda,K.Hirai,T.Arai,N.Kodo,Y.Hashimoto,S.Hayashi,M.Okada ,K.Kimura,M.Sakatani., Quality of Life in the Japanese Patients with Pulmonary Lymphangioliomyomatosis, ATS 2005 International Conference, San Diego,California, May 20-25
68. 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
69. 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
70. 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
71. 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
72. 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
73. 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
74. 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
75. 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
76. 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

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1. 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
出願 2002年
2. 岡田全司、吉田栄人、中島俊洋、松本真
「結核ワクチン HVJ-liposome/Hsp65
DNA+IL-12 DNA」
整理番号：MED-A0504
受付番号：50501768464
特許番号：特願2005-280379
提出日：2005年9月27日
発明の名称：DNAワクチン組成物
3. 岡田全司、大杉義征、三原昌彦
「キラーT細胞の誘導抑制剤」
出願番号：特願2005-330637
出願日：2005年11月15日
4. 岡田全司、高橋将文、伊澤淳、大杉義征、
三原昌彦 「キラーT細胞の誘導抑制剤」
出願番号：特願2006-170950
出願日：2006年6月21日
5. 岡田全司、大杉義征、三原昌彦、高橋将文、
伊澤淳 「キラーT細胞の誘導抑制剤」
出願番号：PCT-JP2006/322726
出願日：2006年11月15日

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

〔I〕中国オフロキサシン耐性結核の現状に関する研究

分担研究者 菅原 勇（財）結核予防会結核研究所 センター長

研究要旨

過去3年間にわたり中国におけるethambutol, ofloxacin, streptomycin(SM)耐性結核菌を用いて、その遺伝学的変異を、各年度ごとに調べた。いずれも中国におけるembB, gyrA, rpsL, rrs遺伝子の突然変異率は、既存の報告よりも高く、また高度薬剤耐性結核菌が、多いのが特徴である。

A. 研究目的

中国北京市結核・肺腫瘍研究所で集められた薬剤耐性結核菌を用いて、ethambutol, ofloxacin, streptomycin耐性の頻度を、比率法で求める。次に標的遺伝子の突然変異を変性HPLCにより求めることを研究目的とする。あわせて、その結果を、日本における結核対策に、利用する。

B. 研究方法

北京市結核肺腫瘍研究所で集められた臨床株のうち、比率法で、Ethambutol, ofloxacin, SM耐性を決める。この研究は、中国で行う。培養して結核菌を死滅させた後、結核研究所に送ってもらった結核菌株から、DNAを抽出する。この研究は、結核研究所で行う。一定のDNAと特異的プライマーを用いてPCRを施行しPCR産物を得る。その後、WAVEシステムを用いて変性HPLCを行う。突然変異があると、HPLCパターンが違っているので、判別できる。この装置は、結核研究所にあるので、ここで実験を行う。

（倫理面への配慮）

提供された結核菌に該当する患者情報が、外部に漏れないように、番号を付す。

C. 研究結果

1. Ethambutol 耐性

中国で集められた171結核菌臨床株を使用した。比率法で133株がEthambutol耐性であった。標的遺伝子であるembBの突然変異を調べたところ、43株にATG---GTG変異が認められ、7例がATG---ATA変異であった。5例が、ATG---ATT変異であった。133株中、63株（47%）で突然変異が見つかった。興味深いことに、薬剤耐性が高いほど、embB変異の程度も高かった。

2. Ofloxacin 耐性

比率法で決定した87Ofloxacin耐性株のうち、56%に標的遺伝子gyrAの突然変異が認められた。興味深いことに、結核治療前にOfloxacin耐性が存在した。

3. Streptomycin 耐性 215の結核菌臨床株のうち、115株がSM耐性株で100株が感受性株であった（比率法）。115株の遺伝子突然変異の有無を調べたところ、98株にrpsL, rrsの変異が見つかった。rpsL変異が、主で88株が該当した。98株のMICを求めたところ、変異型とSM耐性度との有意差は見られなかった。感受性株には、遺伝子突然変異は、認められなかった。DNAシーケンスのデータは、変性HPLCのデータと一致した。

D. 考察

Ethambutol, Ofloxacin, SM耐性の割合は、以前に報告されているものより高かった。また、Ethambutol, Ofloxacin, SM高度耐性結核菌が多いことも、第二の特徴としてあげられる。中国で、Ethambutol, Ofloxacin, SM耐性結核菌が多い理由は、結核患者が、第一に、完全に治癒しないうちに、金銭上の理由から、退院し、また再入院するうちに、耐性になる、第二に、売薬で、患者が、勝手に服薬する、のが、主な原因と考えられる。中国では、結核と診断されても、100%、国からの補助が受けられない。支払い能力がないと、患者は、治療途中で、退院しなければならない。DOTSを施行して、完全に服薬させることと、医療費の払えない患者を、政府が、財政的に補助する仕組みを生み出して、結核治療を施行することが必要であろう。

以上の研究を通じて、不完全に治癒した中国人が、日本にきて、その後、再発する可能性もある。すなわち、輸入感染症としての結核の位置づけも、重要である。この点から、日本政府としても、隣国である中国の結核対策に、積極的に関与することが望まれる。

E. 結論

中国におけるembB, gyrA, rpsL, rrs遺伝子の突然変異率は、既存の報告よりも高く、また高度薬剤耐性結核菌が、多いのが特徴である。隣国である中国の結核対策に、積極的に関与することが必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sugawara I, 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.
2. 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.
3. 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.
4. Isamu 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.
5. 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.
6. 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(4):431-440, 2005.
7. Sugawara I, H. Yamada and S. Mizuno: Nude rat (F344/N-rnu) tuberculosis. *Cell. Microbiol*. 8: 661-667, 2006.
8. Sugawara I, 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.
9. Yoshida, M. Yoshida, I. Sugawara, and K. Takeda: Mice strain differences in effects of fetal exposure to diesel exhaust gas on male gonadal differentiation. *Environ. Sci.* 13: 117-123, 2006.
10. Sugawara I, T. Udagawa, and T. Taniyama: Protective efficacy of recombinant (Ag85A) BCG Tokyo with Ag85A peptide boosting against M. tuberculosis-infected guinea pigs in comparison with that of DNA vaccine encoding Ag85A. *Tuberculosis* 87: 94-101, 2006.
11. Sugawara I, T. Udagawa, and Y. Kazumi: Experimental evidence for dual infection with two genetically distinguishable M. tuberculosis strains using a guinea pig model. *Ind. J. Tuberc.* 53: 84-91, 2006.
12. Sugawara I, S. Mizuno, T. Tatsumi, and T. Taniyama: Pulmonary granuloma imaging by a photon imager. *Jap. J. Infect. Dis.* 59: 332-333, 2006.
13. Kazumi Y, Sugawara I, Wada M, Kimura K, Itono H. Microbiologically identified isolates of Mycobacterium *heckeshornense* in two patients. *Kekkaku*, 81: 603-607, 2006.
14. Sugawara I, Yamada H, Mizuno S. BCG vaccination enhances resistance to M. tuberculosis infection in guinea pigs fed a low casein diet. *Tohoku J Exp Med*, 211: 259-268, 2007.
15. Ono N, Oshio S, Niwata Y, Yoshida S, Tsukue N, Sugawara I, Takano H, Takeda K. Prenatal exposure to diesel exhaust impairs mouse spermatogenesis. *Inhal Toxicol*, 19: 275-281, 2007.
16. Hoshino H, Sugawara I, Ohmori M, Wada M. Evaluation of accuracy of clinical diagnosis of TB by annual autopsy report. *Kekkaku*, 82: 165-171, 2007.
17. Li Y, Kawada T, Matsumoto A, Azuma A, Kudoh S, Takizawa H, Sugawara I. Airway inflammatory responses to oxidative stress induced by low-dose diesel exhaust particle exposure differ between mouse strains. *Exp Lung Res*, 33: 227-244, 2007.
18. Hibiya K, Kazumi Y, Sugawara I, Fujita J. Histological classification of systemic Mycobacterium *avium* complex infections in slaughtered domestic pigs. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2007 (in press).

19. Sugawara I, Li Z, Sun L, Udagawa T, Taniyama T. Recombinant BCG Tokyo (Ag85A) protects cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) infected with H37Rv *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis*, 87: 518-525, 2007.
20. Shi R, Zhang J, Li C, Kazumi Y, Sugawara I. Emergence of ofloxacin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from China as determined by *gyrA* mutation analysis using denaturing HPLC and DNA sequencing. *J Clin Microbiol*, 44: 4566-4568, 2006.
21. Shi R, Zhang J, Otomo K, Zhang G, Sugawara I. Lack of correlation between *embB* mutation and ethambutol minimal inhibitory concentration in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from China. *Antimicrob Agents Chemother*, 51: 4515-4517, 2007.
22. Yamada H, Mizuno S, Sugawara I: Retinoic acid therapy attenuates the severity of tuberculosis while altering lymphocyte and macrophage numbers and cytokine expression in rats infected with *M. tuberculosis*. *J Nutr*, 137: 2696-2700, 2007.
23. Shi R, Itagaki N, Sugawara I: Overview of anti-tuberculosis drugs and their resistance mechanisms. *Curr Reviews Medicinal Chem* 11: 1177-1185, 2007.
24. Kazumi Y, Udagawa T, Maeda S, Murase Y, Sugawara I, Okumura M, Azuma Y, Goto M, Tsunematsu N: Comparison of usefulness between VNTR analysis and RFLP in the genotyping of *M. avium*. *Kekkaku*, 82: 741-748, 2007.
25. Maeda S, Sugawara I, Kato S: Report of the meeting for researchers in charge of TB molecular epidemiology in Japan, China and Korea. *Kekkaku*, 12: 925-927, 2007.
26. Kazumi Y, Itagaki N, Ohmori M, Wada M, Hoshino H, Mitarai S, Sugawara I, Ishikawa N, Mori T: Frequency of MDR-TB/XDR-TB strains isolated from chronic pulmonary tuberculosis patients in Japan. *Kekkaku*, 12: 891-896, 2007.
27. Shi R, Zhang J, Li C, Kazumi Y, Sugawara I: Detection of streptomycin resistance in *M. tuberculosis* clinical isolates from China as determined by denaturing HPLC analysis and DNA sequencing. *Microbes Infect*, 9: 1538-1544, 2007.
28. 菅原 勇 : poB遺伝子と16SrRNA解析による抗酸菌同定の試み *Kekkaku* 81:551-558,2006
- G. 知的所有権の取得状況
- なし

〔Ⅱ〕タイ国における多剤耐性等の難治性結核患者の検体バンクとコホート研究

分担研究者 野内英樹 長崎大学国際連携研究戦略本部 特任教授

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）の検体バンクとコホート研究を立ち上げ、結核症に対するフィールド研究開発を実施した。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進めた。チェンライ県で結核研究の検体バンクとコホートでの血漿より、再発例30名、治療失敗例29名、慢性排菌例15例の血漿を活用して、通常の初発結核（再発なしを確認）30例、結核症のない健康人30人と比較した。血漿中グラニューライシンの値は、結核症でない正常人と初回結核群では有意差がなかった。しかし、再発例、治療失敗例、慢性排菌例の難治性結核が通常の初回結核と比較して有意に高かった。同じ患者群について、血漿中インターフェロン・ガンマを測定した。結核症でない正常人では、殆ど皆無であったが、結核患者では全ての群で有意に高く同定された。しかし、再発例、治療失敗例、慢性排菌例の難治性結核が通常の初回結核と比較して測定値が異なることはなかった。今後、治療の経過による変化が、ツベルクリンや結核死菌で刺激した前後でどうなるかを突き止め、これらの免疫マーカーを指標として、何らかの免疫賦活療法が適応となるかどうか検討したい。

A. 研究目的

タイ最北端の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）の検体バンクとコホート研究を立ち上げ、結核症に対する研究開発のフィールド基盤を作成した。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進めた。

B. 研究方法

結核研究所が主体となり、タイNIH、長崎大学等とコンソーシアムを組んで運営しているタイ国チェンライ県の結核研究フィールドを活用して、(1)難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）の検体バンクとコホート研究を立ち上げた。(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している。(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しての種々の要因検討、(3)と結核症群(1-2)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。岡田班長は、多剤耐性結核患者でキラーTリンパ球の分化因子やキラーT蛋白やToll like receptorで免疫応答が悪化している事を発表しており、検討事項とした。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年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。チェンライ県は、住民登録での人口は推定にて1,310,000人で、タイの中でも大きな県である。出稼ぎも少なく人口は安定している。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。チェンライ病院、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。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。

患者サンプルは末梢血から血漿とPBMCに分離し、ツベルクリンや、結核死菌の刺激前後で血漿中のイ

インターフェロンガンマ量とグラニューライシン量を、マヒドン大学学術担当副学長Srisin教授の基で、大学院博士課程を学んでいるNada氏を日本へ招聘し、岡田班長の実験室でアッセイを習得してもらった。同じELISA法のプロトコールにて、タイNIHの協力を得て測定した。

(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ールを作成し、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、今回のプロトコールも正式な研究として承認を得た。

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た。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いる。タイ人若手研究者の育成の為、Nada氏を岡田班長の基でトレーニングしたのは意義深い。現在タイ国にて本研究を主体となり進めた。

C. 研究結果

初年度は、本岡田班のテーマを鑑みながら、チェンライ県における結核疫学状況を見返した。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。結核菌喀痰塗抹陽性肺結核患者は、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。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ところ、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、脱落後再発で多かった。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%)の喀痰塗抹陽性再排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。この基礎情報を基に、タイ保健省にコホート研究の研究計画書提出した。

次年度は、上記計画書が倫理委員会で承認されるのを進めたと共に、待っている間、チェンライ県で結核研究の検体バンクのプロトコールにてコホートとしてフォローアップが認められている患者群について、対象となる患者群を同定した。初発例が440名、再発例11名、治療失敗例25名、慢性排菌例9例、治療脱落後再排菌例が34例、合計520例のPBMC、血漿、菌体が保存してある検体バンクを活用した。この中で、多剤耐性結核症例は、初発例で8例(1.8%)、再発例で1名(9.1%)、治療失敗例で4名(16.0%)、慢性排菌例1例(11.1%)、治療脱落後再排菌例で4例(11.8%)含まれていて、再登録例で初発例と比較して頻度が非常に高い。また、WHO式のコホート治療成績の分析で治療失敗となる率(治療途中を除いて)が、初発例で16例(4.5%)、再発例で1名(11.1%)、治療失敗例で4名(16.7%)、慢性排菌例4例(50.0%)、治療脱落後再排菌例で4例(13.8%)とこれも、再登録例で初発例と比較して非常に高い。よって、再登録結核症例を初発例と比較しながら、難治性結核のメカニズムを検討する事の有用性が示唆された。

3年目の今年度は、このチェンライ県で結核研究の検体バンクとコホートでの血漿より、再発例30名、治療失敗例29名、慢性排菌例15例の血漿を活用して、通常の初発結核(再発なしを確認)30例、結核症のない健康人30人と比較した。血漿中グラニューライシンの値は、結核症でない正常人と初回結核群では有意差がなかった。しかし、再発例、治療失敗例、慢性排菌例の難治性結核が通常の初回結核と比較して有意に高かった。同じ患者群について、血漿中インターフェロン・ガンマを測定した。結核症でない正常人では、殆ど皆無であったが、結核患者では全ての群で有意に高く同定された。しかし、再発例、治療

表1 タイ国チェンライ県結核Specimen Bankよりの人検体

結核登録分類	検体数	MDR-TB	%MDR	オッズ比
New(新規)	440	8	1.8%	1
Relapse(再発)	11	1	9.1%	5.40
Failure(治療失敗)	25	4	16.0%	10.29
Chronic (慢性排菌)	9	1	11.1%	6.75
Return after default	34	4	11.8%	7.20
Other (その他)	1	0	0.0%	0.00
Total (総数)	520	18	3.5%	

表2 タイ国チェンライ県結核Specimen Bankよりの菌体

西暦年	再発患者数	1996年以前に初発	両菌株有		片方菌株欠如
			総数	RFLP済	
1996	23	21	0	0	2
1997	24	17	0	0	7
1998	30	12	4	4	14
1999	29	9	4	4	16
2000	41	9	10	9	22
2001	33	5	9	6	19
2002	37	5	7	1	25
2003	35	0	11	1	24
2004	38	4	6	1	28
2005	31	2	15	0	14
2006	20	0	11	0	9
総数	477	220	77	26	180

失敗例、慢性排菌例の難治性結核が通常の初回結核と比較して測定値が異なることはなかった。

この検体バンクの菌株より、再発例に関して、以前の菌が得られる例が77例同定されて、結核菌指紋分析と症例検討を進めている。また、再発 (Relapse) 例のみならず、治療失敗例、慢性排菌例についても同様に検討を進めている。現在まで得られている39例では、再発例で、前と同じ菌による再燃 (reactivation) と考えられる症例が80%、前と違う菌により再感染 (reinfection) と考えられる症例が20%の比率であった。

長崎大学は世界保健ニーズに応える医薬品研究開発ディプロマコースを熱帯医学研究所でタイ国チュラロンコン大学、タマサート大学と共同して開催されている機会にて、結核に関する研究開発の課題をタイ人の研究者を長崎に招聘して検討した。結核の多剤耐性結核、再登録例にも活用できる薬剤の開発を国策として推進しているタイでは、倫理的な課題を論理的に整理して研究開発を進める可能性が示唆された。

D. 考察

結核患者の血漿中グラニューライシン値は正常人よりも難治性結核で高い傾向があった。岡田班長がCD8陽性キラーTでin vitroで発見した現象 (TB患者やMDR-TB患者ではキラーTリンパ球内のグラニューライシンやin vitro培養上清中Graが低下) と矛盾しない、慎重な考察が必要である。可能性の1つは15k granulysinと9k granulysinの分泌量の差とも思われる。結核の活動性が高い時は血漿中グラニューライシンが低下し、治療や薬剤投与で上昇等、TBのstageや薬剤投与の影響について報告がある。患者のstageや治療を詳細に解析する前向きコホート研究が重要。現在、前向きコホートではPPD-tuberculinと結核死菌でStimulationして培養した検体を保存しているが、それを活用して検討を進める。

岡田班長の志向する「免疫賦活療法」の研究開発には、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変化しているかどうか突き止めて、次に免疫賦活療法がそれを指標として活用できるか検討するステップが必要と指摘された。今後は、今回測定した免疫マーカーがその様な意義に活用できるか検討を進めたい。

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。

長崎大学は海外拠点も活用した国際的な医薬品

の製品開発の分野において、パイオニアの活動を展開しており、結核分野においても結核専門家と連携をしながら、多剤耐性結核の制御に役立つ製品開発のあり方を検討できる。

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。

E. 結論

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) の検体バンク、コホート研究を進めた。今回測定した2つの免疫マーカーの詳細な意義を今後、倫理委員会の承認が得られた前向きコホート研究で進めている。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yanai H, Thiem VD, Matsubayashi T, Huong VTT, Suzuki M, Mai LP, Anh NH, Tho LH, Minh TT, Yoshida LM, Kilgore P, Anh DD, Ariyoshi K The Khanh Hoa Health Project: Characterization of Study Population and Field Site Development for Clinical Epidemiological Research on Emerging and Re-Emerging Infectious Diseases Tropical Medicine and Health 2007;35(2):61-63

2. 学会発表

1. Thiem VD, Goto K, Tanimura S, Tsuzuki A, Suzuki M, Tho LH, Kilgore P, Ariyoshi K, Mizota T, Takagi M, Yanai H, Anh DD Utility and methodological development of geographic information systems (GIS) in Khanh Hoa Health Project The 1st Research Seminar, "The Collaborative Study on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases in Vietnam: Enhancement of Research Capacity" program, National Institute of Hygiene and Epidemiology (NIHE), September 20, 2007, Hanoi, Vietnam

2. 野内英樹, Vu Dnih Thiem, 松林格、鈴木基、吉田レイミント、Dang Duc Anh, 有吉紅也 ベトナムでのコホート設置による研究促進— Khanh Hoa Health Project の臨床疫学フィールド設定の経験より— 第30回日本熱帯医学会九州支部会シンポジウム、長崎、2007年2月

3. 野内英樹、石川信克、有吉紅也 結核-エイズ - アジア-アフリカのフィールド研究活動と人材育

成のネットワーク構築へ向け 第21回日本国際保健医療学会(ワークショップ16)、長崎、2006年10月

4. 山田紀男、野内英樹、今津里沙、石川信克 エイズと結核の国際共同研究と人材育成システムとの連携：タイ国チェンライ県での経験よりHuman Resource Development and International Cooperative Research: Experiences from Chiang Rai, Thailand 第21回日本国際保健医療学会(ワークショップ演題 W16-1)、長崎、2006年10月

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他

〔Ⅲ〕 中国東北部における結核菌の薬剤感受性に関する解析 南アフリカ由来植物の抗結核菌活性

分担研究者 服部俊夫 東北大学 教授

研究要旨

結核の高精度の診断方法を開発するために、TBGL抗体と結核の病態との関連を解析した。またアジア諸国との共同研究も推進し、中国東北部における多剤耐性結核菌の流布状況を明らかにし、タイにおいては、小児を対象にTBGL抗体と結核の病態との関連を解析した。

A. 研究目的

結核はHIV感染症に合併する疾病の一つである。HIV感染は宿主の免疫応答を低下させることがあり、その結果感染症の早期の発見を困難にする。多剤耐性結核はそれ自体では感染力が弱い、治療の失敗した患者や免疫不全状態にある患者で見られた場合には、治療がきわめて困難である。本研究では、HIVに合併する結核の早期診断方法開発を目的とした研究を行った。

B. 研究方法

平成17年度)

我が国の結核患者を対象にTuberculous Glycolipid (TBGL)抗体の産生について検討を行った。

57人を対象にT-spotTBと抗TBGL抗体により結核感染の有無をテストし、検出精度を比較した。19人は結核、20人は結核以外の炎症性肺疾患、17人はいずれの症状も示さない健常対照群であった。

平成17～19年度)アジア諸国との共同研究アジア諸国との研究ネットワークを活用した研究も推進した。

中国東北部：ハルビン医科大学 リン・ホン教授とともに、中国東北部における多剤耐性結核の状況を明らかにするための研究を開始した。

患者より結核菌サンプルを収集し、242検体の薬剤感受性試験を実施した。これらの研究を進めるために、ヒューマンサイエンス振興財団の外国人招へい事業としてリン教授を招へいし、中国で得た結核菌サンプルの、薬剤耐性遺伝子を同定するための研究計画の検討を行った。その結果、中国で結核菌DNAを抽出して、日本に運搬する方法がもっとも効率的であると判断した。

タイ：バンコク子ども病院 小児感染症部門 タウイー・チョップピタヤスノン 教授と共同研究を実施した。ヒューマンサイエンス振興財団の海外研究機関への委託事業として実施し、小児を対象として症例の収集を現在も継続中である。

(倫理面への配慮)

患者から得られたサンプルは現地共同研究者による匿名化を行った上で、必要なデータのみを日本における解析に用いた。

C. 研究結果

平成17年度)

結核群においてT-spotTBはTBGLよりも高い陽性率を示した。反対にその他肺疾患群においてはTBGLの陽性率の方が高かった。健常群においてT-spotTBの陽性率が高かったが、これは被験体が結核蔓延国由来であり潜伏感染しているためと解釈される。TBGLについては、消化器疾患により胃切をした患者においては、TBGL値が低いことを示した。さらにエイズ患者においても抗体価が低下する傾向を示している。

また府立病院との共同研究でTBGLIgG値はCRPとTBGLIgA値はsCD40lと相関することを示した。

平成17～19年度)アジア諸国との共同研究

中国との共同研究によって同地の多剤耐性結核菌の流布状況が明らかとなった。MDR-TB 12.7%、XDR-TB 9.5%、何らかの薬剤耐性を持つサンプル56%という結果を得た。Super Spreader MDRの存在も確認した。

タイの臨床例の検索の結果、TBGLとKL-6が高い症例を得た。症例は、1歳 女 喀痰陽性 PPD20mm リスクコンタクトは父親。症状は、発熱、咳漱、息切れ。粟粒結核と結核性の髄膜炎を合併。白血球20590 血小板1063000 AST43 ALT115 IgG 925mg/ml IL-6 6.2pg/ml KL-6 2080U/ml TBGL 6.3 U/mlである。

D. 考察

3年間の研究により、TBGLを用いた結核診断方法は結核発症や病態の進行を把握するためのマーカー