

- Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 804-807.
4. Maeda Y, Mukai T, Kai M, Fukutomi Y, Nomaguchi H, Abe C, Kobayashi K, Kitada S, Maekura R, Yano I, Ishii M, Mori T, and Makino M: Evaluation of major membrane protein-II as a tool for serodiagnosis of leprosy. FEMS Microbial Lett 2007, 272: 202-205.
 5. Chiba T, Takii T, Nishimura K, Yamamoto Y, Morikawa H, Abe C, and Onozaki K: Synthesis of new sugar derivatives from Stachys sieboldi Miq and antibacterial evaluation against Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium avium, and Staphylococcus aureus. Bioorg Med Chem Lett 2007; 17: 2487-2491.
 6. 阿部千代治: 肺結核—診断と治療における進歩: 遺伝子診断法の現状と将来. 日呼吸会誌 2004; 42: 475-480.
 7. 阿部千代治: 抗結核薬耐性の分子機構. 医学のあゆみ 2004; 209: 550-555.
 8. 阿部千代治: 結核菌の薬剤耐性に関する遺伝子. 結核 2005; 80: 623-625.
 9. 小林郁夫, 阿部千代治, 御手洗聡: 結核菌薬剤感受性検査のための BACTEC MGIT 960 AST の評価: 外部精度管理株を用いた研究. 結核 2006; 81: 57-62.
 10. 御手洗聡, 小林郁夫, 阿部千代治, 和田雅子, 鈴木克洋, 高嶋哲也, 川辺芳子, 町田和子, 田野正夫, 瀧川修一, 鎌田有珠, 重藤えり子, 藤井俊司, 森健一, 須山尚史, 矢野修一, 川城丈夫, 尾形秀雄: バクテック MGIT 960 結核菌薬剤感受性検査用ミジットシリーズ(MGIT AST)および小川標準法によるイソニアジド低濃度薬剤感受性検査の判定不一致に関する検討. 結核 2007; 82: 449-454.
 11. 阿部千代治: 結核菌のバイオハザード対策. Med Technol 2008; 36: 137-141.
 12. 阿部千代治: 今回の結核菌検査指針改訂のポイント. 結核 2008; 83: 46-47.
2. 学会発表
 1. Abe C, Kobayashi I, Mitarai S, Wada M, Ogata H, and Sng Li-Hwei: Characterization of Mycobacterium tuberculosis isolates with low-level resistance to isoniazid. 27th Annual Congress of European Society of Mycobacteriology, 9-12 July 2006, London.
 2. Abe C, Kobayashi I, Mitarai S, Wada M, Ogata H, and Sng Li-Hwei: Characterization of Mycobacterium tuberculosis isolates with low-level resistant to isoniazid. 107th General Meeting of the American Society for Microbiology, 20-25 May 2007, Toronto.
 3. Abe C, Kobayashi I, Mitarai S, Wada M, Ogata H, and Sng Li-Hwei: Molecular characteristics of isoniazid resistant Mycobacterium tuberculosis isolates in Japan. 28th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, 1-4 July 2007, Athens.
 4. 阿部千代治, 平野和重: 結核菌の薬剤耐性に関する遺伝子. 第 80 回日本結核病学会総会, 12-13 May 2005, さいたま市.
 5. 小林郁夫, 阿部千代治, 御手洗聡: バクテック MGIT 960 による結核菌の薬剤感受性検査の評価—WHO/IUATLD の SRL の成績との比較. 第 80 回日本結核病学会総会, 12-13 May 2005, さいたま市.
 6. 阿部千代治: 結核感染に対する安全対策. セッション 3. 病院・検査室バイオセーフティ「検査室のその後の対応と改善に向けての対策」. 第 6 回日本バイオセーフティ学会総会, 24-25 November 2006, 東京都.
 7. 小林郁夫, 阿部千代治, 御手洗聡: バクテック MGIT 960 AST による二次抗結核薬に対する結核菌の感受性検査. 第 18 回日本臨床微生物学会総会, 17-18 February 2007, 長崎市.
 8. 阿部千代治, 小林郁夫, 御手洗聡, 和田雅子, 川辺芳子, 高嶋哲也, 鈴木克洋, 尾形秀雄: BACTEC MGIT 960 AST でイソニアジド耐性・小川法で感受性結核菌の性状. 第 82 回日本結核病学会総会, 5-6 June 2007, 大阪市.
 9. 御手洗聡, 小林郁夫, 阿部千代治, 和田雅子, 鈴木克洋, 高嶋哲也, 川辺芳子, 尾形秀雄: バクテック MGIT 960 結核菌薬剤感受性検査用ミジットシリーズ(MGIT AST)および小川標準法によるイソニアジド低濃度薬剤感受性検査の判定不一致に関する検討. 第 82 回日本結核病学会総会, 5-6 June 2007, 大阪市.
 10. 小林郁夫, 阿部千代治, 御手洗聡, 青野昭男: バ

クテック MGIT 960 AST による二次抗結核薬に
対する結核菌の感受性検査。第 82 回日本結核病
学会総会，5-6 June 2007，大阪市。

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

〔Ⅷ〕新しい結核治療ワクチンによる臨床応用（国立病院機構政策医療呼吸器ネットワークを利用した）計画に関する研究及び新規化学療法剤との併用療法計画

分担研究者 坂谷光則 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 病院長
研究協力者 螺良英郎 （財）大阪結核研究会 理事長

研究要旨

- 〔Ⅰ〕結核治療ワクチン：HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチンはマウスの系で治療効果を示した。さらにHSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン+BCGワクチンもマウスの系で強い治療ワクチン効果を示した。したがって①HVJ/HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン ②HVJ/HSP65 DNA + IL-12 DNA+BCG ワクチン、を中心に治療ワクチンの開発計画を立案した。
さらに、
- 〔Ⅱ〕多剤耐性結核菌に対する治療ワクチン
多剤耐性結核菌を感染させたマウスにおいて、HVJ-エンベロープ/HSP65DNA + IL-12 DNAワクチンは、強力な結核治療効果（結核治療ワクチン）を示した。
さらに、(HVJ-エンベロープ/HSP65DNA + IL-12 DNA)ワクチン+BCGワクチンも強力な結核治療効果を示した。更に、超薬剤耐性結核（XDR-TB）に対しても、治療ワクチン効果を示す画期的な成果を得た。
- 〔Ⅲ〕カニクイザルを用いた、結核治療ワクチン効果：このHVJ-エンベロープ/Hsp65 DNA + IL-12 DNAワクチンを臨床応用に適したpVAXベクターに二つのこれらの遺伝子を導入したワクチンを作製した。これをあらかじめ結核菌感染させてカニクイザルに治療ワクチンとして投与した。その結果、生存率の改善及び体重増加、免疫反応の増強等治療効果が示された。
- 〔Ⅳ〕新規化学療法剤との併用療法計画。
新規化学療法剤カプラザマイシン（CPZEN-45）とOPCの二種類を共同研究で開発した。
これらの新規化学療法剤と上記のワクチンの併用療法を計画中である。

A. 研究目的

結核に対するワクチンとしては、BCGが世界各国で用いられ、小児期における結核予防に関しては一定の成果を納めている。しかし、現行のBCGワクチンの追加接種が、大人（成人）の結核発病予防に効果があるか否かについては、議論の分かれるところであり、確証がないのが現状である。

従って、BCGよりも切れ味の鋭い新しい結核ワクチンの開発が必須である。しかしながら、未だ臨床応用に有効な新しい結核ワクチンは開発されていない。我々は結核予防ワクチンとしてカニクイザルのレベルで有効な新しい結核ワクチンを開発したことより、臨床応用への計画を立案した。

さらに、治療ワクチンについては、結核治療phaseに有効なワクチンは我々以外全く開発されていない。したがって結核治療ワクチンについても将来的な臨床結核ワクチンについての動物モデルでの実験を行った。

B. 研究方法

結核治療ワクチン効果を判定するモデル動物として、DBA/1マウス TNF R(-/-)DBA/1マウス、IL-6(-/-)DBA/1マウス、BALB/cマウス、を用いた。結核菌は

H37Rvヒト結核菌やErdmanヒト結核菌を使用した。また政策医療呼吸器ネットワークを用いた計画も立案した。

（倫理面での配慮）

当院の倫理委員会は、大阪国際大学政経学部教授と関西学院大学学院長を含む多職種の委員により構成され、毎月1回以上開催しており、本研究は、この委員会での承認を得ている。

C. 研究結果

〔Ⅰ〕結核治療ワクチン

結核治療ワクチンの開発が世界的に急速に熱気を帯びてきている。

すなわち、HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチンはマウスの系で治療効果を示した。さらにHSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン+BCGワクチンはこれより強い治療ワクチン効果を示した。またユニバシナント72f BCGは強力な結核ワクチン効果を示した。したがって、

① r72f BCGワクチン ②HVJ/HSP65 DNA + IL-12DNAワクチン ③HVJ/HSP65 DNA +

IL-12 DNA+ BCGワクチンを単独又は組み合わせて、治療ワクチンの開発計画を立案した。具体的には、HVJ/HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチンはマウスの系で治療ワクチン効果を得た。したがって、これらのワクチンを組み合わせ、priming-booster法を用いより強力なワクチンの開発をスタートした。(表1)

用いる系は

- (1) マウス
- (2) モルモット (表2)
- (3) カニクイザル (表3)
- (4) ヒト免疫応答を解析できる

SCID-PBL/huモデルである。(表4)

[II] 多剤耐性結核菌に対する治療ワクチン

- (1) さらに多剤耐性結核菌を 5×10^5 i.v. 投与したマウスに対してもHVJ/HSP65 DNA+ IL-12DNAワクチンを3回投与することにより結核治療ワクチン効果を得た。(2) RFP、INH

と結核治療ワクチンを併用することにより、RFP、INH低濃度でも結核治療効果、特に多剤耐性結核に対してもRFP、INH等が有効となる可能性が大である。

[III] カニクイザルを用いた、結核治療ワクチン効果：このHVJ-エンベロープ/Hsp65 DNA + IL-12 DNAワクチンを臨床応用に適したpVAXベクターに二つのこれらの遺伝子を導入したワクチンを作製した。これをあらかじめ結核菌感染させてカニクイザルに治療ワクチンとして投与した。その結果、生存率の改善及び体重増加、免疫反応の増強等治療効果が示された。

[IV] さらに、新しい抗結核化学療法剤OPC (大塚 松本博士らが開発) やCPZ (カプラザマイシン：微生物科学研究所 三宅博士らが開発) と、このHVJ-エンベロープ/HSP65DNA+ IL-12DNAを組み合わせ、結核治療の相乗効果及び治療期間の短縮を計画している。

(表6)

表1

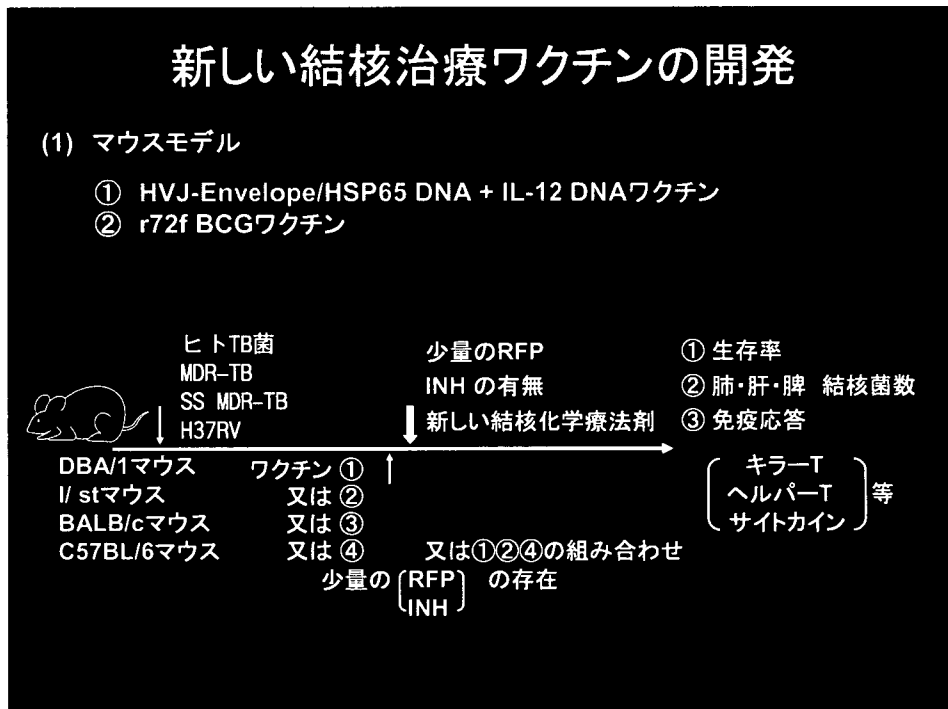


表 2

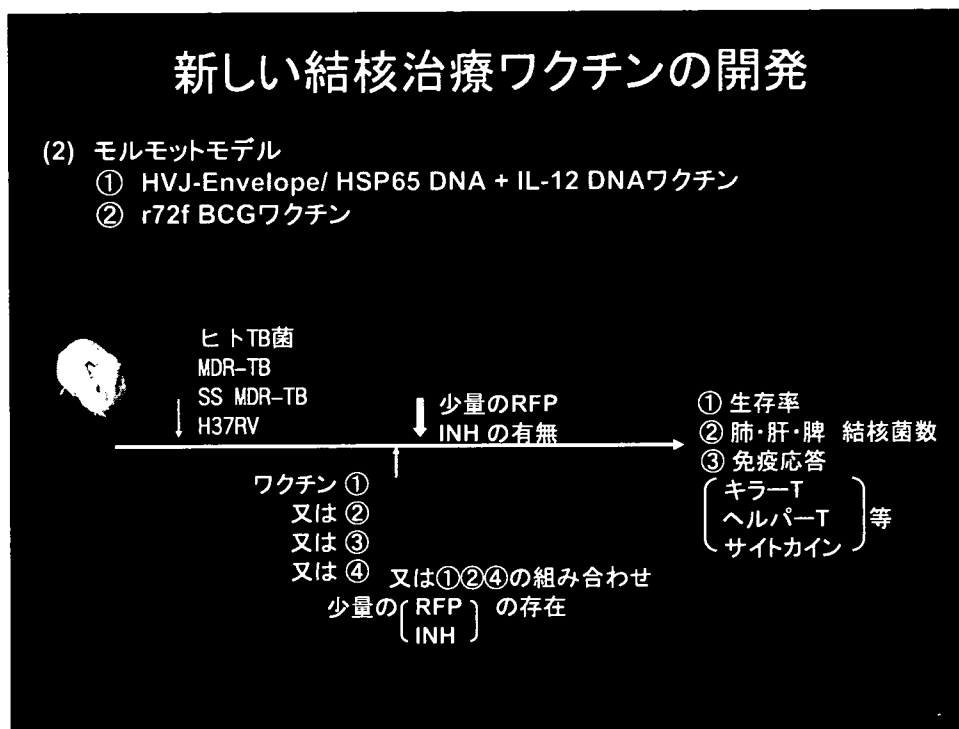


表 3

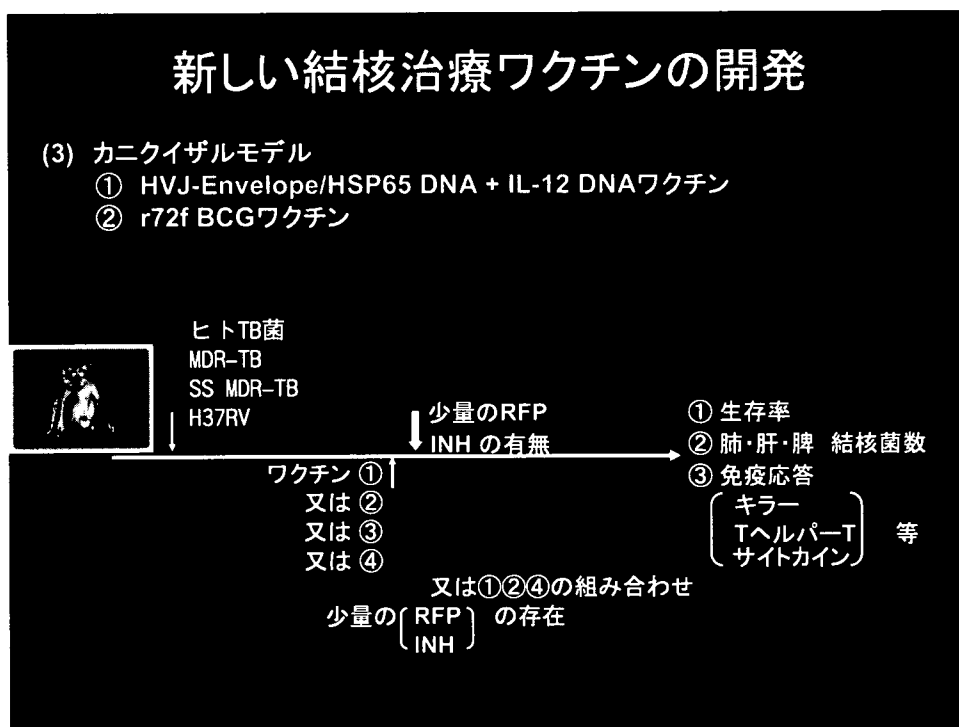


表 4

新しい結核治療ワクチンの開発

(4) SICD-PBL/huモデル

- ① HVJ-Envelope/HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン
- ② r72f BCGワクチン

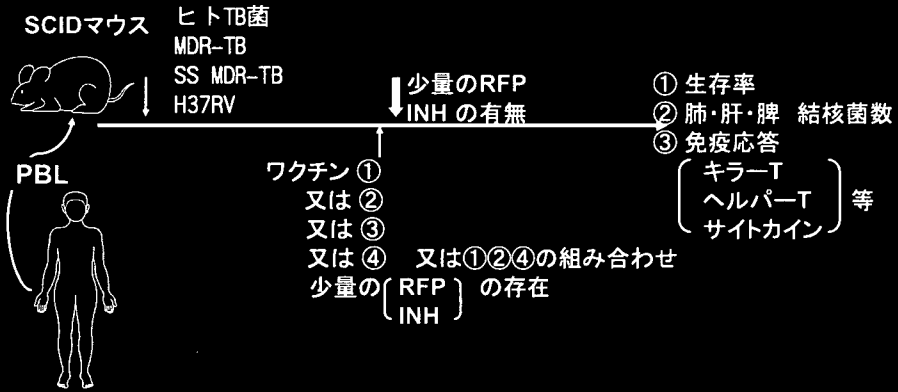


表 5

新しい結核ワクチン

- ① HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン
- ② リコンビナント72f BCG

等

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1 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
- 2 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.
- 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, 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.
- 4 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.
- 5 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.
- 6 M. Okada, Y. Kita, N. Kanamaru, S. Hashimoto, T Nagasawa, Y. Kaneda, Y. Nishida, H. Nakatani, K. Takao, R. Asai, R. Suhera, 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
- 7 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.
- 8 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; 581-596
- 9 Suzuki K, Yoshida S, Tuyuguchi K, Minamoto S, Inoue Y, Hayashi S, Okada M, Iuchi K, Sakatani M.: Chemotherapy for pulmonary M.kansasii disease. *Kekkaku*. 81:80-81, 2006
- 10 Tsuyuguchi K, Yoshida S, Suzuki K, Okada M, Sakatani M.: Exogenous re-infection by multidrug-resistant tuberculosis. *Kekkaku*. 81:41-43, 2006
- 11 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.
- 12 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.
- 13 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.
- 14 Arai T, Inoue Y, Yamamoto S, Akira M, Uesugi H, Hayashi S, Sakatani M.: Incipient stage of

- pulmonary Langerhans-cell histiocytosis complicated with pulmonary tuberculosis was examined by high-resolution computed tomography. *Respir Med.* 2005 ;99(9):1188-90.
- 15 Sakatani M.: The non-tuberculous mycobacteriosis. *Kekkaku.* 2005. 80:25-30.
- 16 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 E.V, Abalos R.M, Burgos J.A, 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.
- 17 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.
- 18 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, Dela Cruz 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 2005; 46-50.
2. 学会発表
- 1 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
- 2 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
- 3 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
- 4 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
- 5 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
- 6 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
- 7 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
- 8 藤山理世、田中賀子、中谷幸子、楢林成之、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
- 9 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
- 10 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
- 11 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
- 12 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
- 13 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
- 14 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 結核 82巻6号:p.553, 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 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
- 16 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
- 17 大家晃子, 井上義一, 審良正則, 田中勲, 深水玲子, 新井徹, 橘和延, 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
- 18 橋元里実, 武本優次, 喜多洋子, 金丸典子, 西田泰子, 綱井良恵, 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
- 19 新井徹, 井上義一, 橘和延, 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
- 20 深水玲子, 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, 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
- 21 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, 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
- 22 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, 吉田栄人, 中島俊洋, 坂谷光則, 金田安史, TanE.V., DelaCruzD.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クイ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
- 23 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症における多クローン性感染の検討 結核 82巻4号:p.447, 2007
- 24 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
- 25 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 ピ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
- 26 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
- 27 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.
- 28 岡田全司, 喜多洋子, 深水玲子, 井上義一, 坂谷光

- 則: 結核に対する新しいワクチン (HVJ-Envelope/Hsp65DNA+IL-12DNA) による T 細胞活性化機構. 第 82 回結核病学会総会.2007.6.大阪
- 29 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.
- 30 藤山理世, 河上靖登, 青山博, 白井千香, 樋口純子, 片上祐子, 平岡恭典, 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, 結核定期外健診時に施行した QFT-2G 検査について. 結核 81 巻 3 号 Page279, 2006.
- 31 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.
- 32 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.
- 33 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. 日本免疫学会 2006.
- 34 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 2006.10. 富山
- 35 藤山理世, 田中賀子, 中谷幸子, 河上靖登, 大西理絵, 大福春子, 青山博, 白井千香, 片山裕子, 岩本朋忠, 園部俊明, 田中忍, 鈴木克洋, 岡田全司, 坂谷光則: 神戸市内での小中学生に QFT-2G を併用した定期外健康診断事例について. 第 97 回日本結核病学会近畿地方会. 2006.6. 奈良
- 36 露口一成, 鈴木克洋, 坂谷光則: 肺結核患者の新退院基準 実際の運用と問題点について 国立病院機構退院基準の実際と運用上における問題点. 結核 81 巻 3 号 Page199(2006.03)
- 37 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)
- 38 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)
- 39 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 (4): 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)
- 40 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)
- 41 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)
- 42 喜多洋子, 金丸典子, 橋本里実, 高井寛子, 福永由可里, 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)
- 43 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. 日本呼吸器学会雑誌 44 巻増刊 Page225(2006.06)
- 44 Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Tanaka T, Takai H, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Yoshida S, Nakajima T, Tan E.V, McMurray D, Sakatani M. : Novel vaccination (Hsp65 DNA+IL-12 DNA vaccine) against Tuberculosis using cynomolgus monkey. The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity. 5-8 September, 2005. Awaji Island, Japan.
- 45 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.
- 46 Okada M, Tanaka T, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Takai H, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Muraki Y, Kuwayama S, Izumiya M, Matsumoto M, Sakatani M. : In Vivo Efficacy of Novel Antituberculous Candidate OPC-67683 against Multidrug-Resistant M.tuberculosis (MDR-TB) using SCID Mice and SCID-PBL/hu Mice. F-1463, 45th ICAAC Dec. 2005, Washington D.C.
- 47 Okada M, Yoshida S, Tanaka T, Kuwayama S, Kita Y, Kanamaru N, Muraki Y, Hashimoto S, Takai H, Okada C, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Izumiya M, Inoue Y, Kaneda Y, Sakatani M. : The Development of Strong HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA vaccination against tuberculosis. FASEB Meeting AAI 2005, San Diego.
- 48 Okada M, Tanaka T, Kuwayama S, Yoshida S, Kita Y, Kanamaru N, Muraki Y, Hashimoto S, Kaneda Y, Ohara N, Yamada T, Inoue Y, Matsumoto M, Gelber R, Tan E.V, Dela Cruz 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 and plan for clinical trial. 2005 Keystone Symposia.
- 49 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 (II). 第35回日本免疫学会総会 (2005. 12. 横浜)
- 50 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1例. 結核80巻8号 Page587(2005)
- 51 岡田全司, 田中高生, 喜多洋子, 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)の開発とT細胞免疫増強効果. 結核80:270, 2005
- 52 喜多洋子, 田中高生, 井上義一, 岡田全司, 坂谷光則: 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(3). 結核80:269,2005
- 53 田中高生, 喜多洋子, 井上義一, 坂谷光則, 岡田全司: モルモット吸入感染モデルを用いた新しい抗結核DNAワクチン(HVJ-liposome/HSP65 DNA+IL-12 DNA)の開発. 結核80:265, 2005
- 54 坂谷光則, 中島由槻: 非結核性抗酸菌症の治療一症長のことば. 結核80:203, 2005
- 55 田中高生, 喜多洋子, 桑山さち子, 村木裕美子, 金丸典子, 橋元里実, 高井寛子, 岡田知佳, 福永有可里, 坂口弥生, 古川いづみ, 山田恭子, 和泉谷美和, 武本優次, 井上義一, 坂谷光則, 永田年, 小出幸夫, 岡田全司: 新しい抗結核弱毒化リステリアワクチンの開発. 日本呼吸器学会雑誌43巻増刊 Page280(2005)
- 56 岡田全司, 田中高生, 喜多洋子, 桑山さち子, 金丸典子, 橋元里実, 村木裕美子, 高井寛子, 岡田知佳, 福永有可里, 坂口弥生, 古川いづみ, 山田恭子, 和泉谷美和, 橋本幸子, 武本優次, 井上義一, 金田安史, 吉田栄人, 坂谷光則: BCGワクチンより100倍以上強力な新しい結核ワクチン(HSP 65 DNA+IL-12DNAワクチン)開発. 日本呼吸器学会雑誌43巻増刊 Page280(2005)

- 57 露口一成, 鈴木克洋, 木村謙太郎, 井上康, 新井徹, 林清二, 坂谷光則, 田中壽一, 松村晃秀, 井内敬二: 肺結核の既往を有さない結核類似型肺M.avium complex症の検討. 日本呼吸器学会雑誌43巻増刊 Page199(2005)
- 58 庄嶋淳子, 田中剛, 慶長直人, 松下育美, 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: 呼吸器疾患と遺伝子多型 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. 日本呼吸器学会雑誌43巻増刊 Page54(2005)
- 59 桑山さち子, 喜多洋子, 金丸典子, 田中高生, 村木裕美子, 橋元里実, 高井寛子, 岡田知佳, 福永有可里, 坂口弥生, 古川いづみ, 山田恭子, 和泉谷美和, 橋本幸子, 井上義一, 武本優次, 坂谷光則, 金田安史, 吉田栄人, 岡田全司: 免疫不全と肺感染症 ヒト結核感染に最も近いモデル動物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:HSP 65 DNA+ IL-12DNAワクチン. 日本呼吸器学会雑誌43巻増刊 Page47(2005)
- 60 露口一成, 鈴木克洋, 坂谷光則: 高齢者結核・非結核性抗酸菌症の現状と問題点 非結核性抗酸菌症の診断. 化学療法の領域21:218-223, 2005

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 (出願中)
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）
研究協力報告書

〔I〕多剤耐性結核菌の院内感染対策

研究協力者 鈴木克洋 NHO近畿中央胸部疾患センター 感染症研究部長

研究要旨

多剤耐性結核菌（MDRTB）の院内集団感染事例を報告した。分子疫学的検討で、MDRTBの感染様式が感受性結核菌と同等である可能性が示唆された。以上より結核病棟での院内感染対策が重要課題となっている。本来喀痰塗抹陽性の結核患者はMDRTBが否定されるまで、個室隔離すべきである。しかしながらわが国の医療資源では不可能なので、薬剤耐性遺伝子検査を用い迅速にMDRTBをスクリーニングする体制の構築が求められている。

A. 研究目的

分子疫学的手法と分子生物学的手法を駆使し、多剤耐性結核（MDRTB）の感染性と感染様式を探求する。その結果を元に、結核病棟における院内感染対策を構築する。

B. 研究方法

当院保存中の多剤耐性結核菌株と全剤感受性結核菌に対して、各種分子疫学的方法を駆使し、集団感染の有無と感染様式の比較を行う。RFP耐性遺伝子であるrpoBの変異の有無を迅速に判定する事で、MDRTBの迅速スクリーニングを行い、速やかに隔離処置をとる。

C. 研究結果

われわれは二つの結核療養所を舞台とした、MDRTBの院内集団感染事例を報告した。特に全剤感受性結核治療中にMDRTBが重感染した2症例の報告はわが国結核行政にも大きな影響を与えた。分子疫学的検討で、MDRTBの感染様式が、感受性結核菌と同等である事を発見した。以上の結果から、MDRTBの中に感染力の強い菌株が存在する事、MDRTBの院内感染対策が重要であると判明した。そこで喀痰塗抹陽性の結核患者のRFP感受性をrpoBの変異から迅速に判定する方法を実行した。3ヶ月間で107検体に応用し、7件でrpoBの変異を発見。速やかに患者の隔離に成功。7件中6件は後に薬剤感受性検査で多剤耐性が確定した。

D. 考察

多剤耐性結核菌は感染しない、結核の再感染はない、以上二つのドグマがわが国における結核の感染対策を遅らせた事は間違いない。現在は両者ともに否定されている。むしろ薬剤が無効でいつまでも排菌の続くMDRTBの感染力は強いと考えねばならない。今後は結核病棟に陰圧個室を増加し、MDRTBが否定されるまで、

個室隔離する体制の構築が急務である。

E. 結論

多剤耐性結核は感染する。特に結核病棟での感受性結核患者への重感染は深刻な問題で、各種感染対策を駆使して防止せねばならない。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Shunji Takakura, Shigeo Tsuchiya, Yuichi Isawa, Kiyoshi Yasukawa, Toshinori Hayashi, Motohisa Tomita, Katsuhiro Suzuki, Tatsuro Hasegawa, Takanori Tagami, Atsuyuki Kurashima, and Satoshi Ichiyama: 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
2. 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
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 肺がん症の治療 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（富岡洋海編）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 26:424, 2006
 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 43(4):664-665, 2006
 12. 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
 13. 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
 14. 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 82(2):103-110,
2007
 15. 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
 16. 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
 17. 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
 18. 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
 19. 鈴木克洋：非結核性抗酸菌症。 Infectious
Diseases Report2006 37号、2006
 20. 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
 21. 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
 22. 御手洗聡、小林郁夫、阿部千代治、和田雅子、鈴
木克洋、高島哲也、川辺芳子、町田和子、田野正
夫、瀧川修一、鎌田有珠、重藤えり子、藤井俊司、
森健一、須山尚史、矢野修一、川城丈夫、尾形英
雄。バクテックMGIT960結核菌薬剤感受性検査
用ミジットシリーズ (MGIT AST) および小川標
準法によるイソニアジド低濃度薬剤感受性検査の
判定不一致に関する検討。結核82(5):449-454,
2007
 23. 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の比較— 結核
82:531-550, 2007
 24. Iwamoto T, Yoshida S, Suzuki K, Tomita M,
Fujiyama R, Tanaka N, Kawakami Y, Ito M. :
Hypervariable loci that enhance the
discriminatory ability of newly proposed
15-loci and 24-loci variable-number tandem
repeat typing method on Mycobacterium
tuberculosis strains predominated by the
Beijing family. FEMS Microbiol Lett.
270(1):67-74. 2007.
 25. 鈴木克洋：わが国における結核の現状とクオンチ
フェロン検査。Schneller 62 : 20-25, 2007
 26. 鈴木克洋：結核患者院内発生時の対応—
QuantiFERONの可能性も含めて。感染症37(3) :
105-108, 2007
 27. 審良正則、鈴木克洋、喜久山綾乃：肺結核の典型
像、非典型像。日本医事新報 4358 : 53-56,
2007
 28. 鈴木克洋、審良正則、喜久山綾乃：肺非結核性抗
酸菌症の画像所見。日本医事新報 4362:53-56,
2007
 29. 鈴木克洋：非結核性抗酸菌症、小児科診療
71(1):83-88, 2008
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)
 2. 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)
 3. 鈴木克洋：肺カンサシ症の病態と治療 「ワー
クショップ 非結核性抗酸菌症の病態と治療」
第47回日本呼吸器学会学術講演会 (2007 5.12

東京)

4. 鈴木克洋： そこが知りたい結核の臨床 「呼吸器学会・結核病学会合同プログラム 未来に繋がる結核対策」第47回日本呼吸器学会学術講演会 (2007 5.11 東京)
5. 鈴木克洋： 非結核性抗酸菌症の診断と治療 教育講演 第81回日本感染症学会 (2007 4.10 京都)
6. 鈴木克洋： 多剤耐性結核 教育講演 第82回日本結核病学会学術講演会 (2007、6.6 大阪)
7. 鈴木克洋： 難治抗酸菌感染症の治療 「合同シンポジウム感染症成立機構と化学療法—難治感染症の克服」第50日本感染症学会中日本地方会・第55回日本化学療法学会西日本支部総会 (2007.10.30. 神戸)
8. 鈴木克洋： 肺真菌症の診断と治療—新しい抗真菌薬を中心に—教育セミナー 第70回日本呼吸器学会近畿地方会・第100回日本結核病学会近畿地方会 (2007.12.8、京都)

H. 知的所有権の取得状況

なし

〔Ⅱ〕新しいワクチン開発のための前臨床試験について

研究協力者 松本 真 大塚製薬株式会社微生物研究所 所長

研究要旨

岡田班において見出されてきた有望なワクチン候補について、将来の臨床試験を開始するための前臨床試験としてどのような試験が必要かの調査を行った結果、安全性評価として①単回投与による毒性試験、②反復投与による毒性試験、③局所刺激性試験、④安全性薬理試験（hERG 試験、ラット一般行動への影響、無麻酔下のイヌを用いた呼吸・循環器系への影響）が、Phase I までに必要かと考えられた。また、まずそれに先立ち、最終被験物の企画の設定、企画の取れたものでの、信頼性保証に則った薬効薬理試験の実施が必要であると結論された。

A. 研究目的

岡田班において見出されてきた有望なワクチン候補について、将来の臨床試験を開始するための前臨床試験としてどのような試験が必要かの調査を行い、臨床第1相試験開始に必要な薬効薬理試験について計画することを目的とした。

B. 研究方法

岡田班により見出されたワクチン候補物質である HSP65+IL-12/HVJ-envelope、HSP65+IL-12/HVJ-envelope+BCG についての有用性については過去何年間に渡り、検討が行われ、良好な結果が得られている。また、サルを用いた評価試験も現在進行中であり、その結果が待たれるところである。そこで、本ワクチン候補のヒトでの安全性評価を実施するためには、どのような試験が前臨床で必要であるかについて調査を行い、その準備を行うことを計画した。方法としては、近況のワクチン開発された事例の調査、公的機関が作成しているガイドラインの調査を行うことを計画した。また、臨床試験に向け、企画についても勘案した。

C. 研究結果

通常健常成人での第一相臨床試験（Phase I へと移行する場合、安全性を担保するだけの十分な根拠（毒性、ADME などの非臨床試験成績）及び有効性を示唆する根拠（薬理試験などの非臨床試験成績、さらに医薬品（この場合、DNA ワクチンあるいはベクター）の品質・規格に関するデータを準備する必要がある。医薬品製造販売承認申請に用いることを前提に、毒性試験に関しては G L P 基準、臨床試験では G C P 基準、品質・規格では関連する標準規格基準（合成品の場合、日局など）を遵守して実施されなければならない。

臨床第1相試験へ移行するために最も重要な前臨床試験である安全性評価試験について、関連すると思わ

れるガイドラインとして、バイオ医薬品の非臨床安全性評価の実施に関する注意事項（ICH ガイドライン S 6）が、医薬審第326号、平成12年2月22日付で通知されているが、記載事項をみると『本ガイドラインはウイルスワクチン、DNA ワクチンに適用されない』という記載がある。したがって、日本にはワクチンの毒性評価するためのガイドラインがなく、現在検討段階であることが判明した。但し、欧州においては『Preclinical Pharmacological and Toxicological Testing of Vaccines』と題したガイドラインが、また『WHO Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines』題したガイドラインが WHO より発表されている。

現行ワクチンは、2つのプラスミドが別々のベクターに封入されており、現状のままでは、配合比率の問題など様々な問題が派生してくることが予想された。

D. 考察

新規医薬品に分類される従来型のワクチンで、臨床で複数回の投与が予定されるワクチンについては以下の試験が安全性評価として Phase I までに必要かと考えられた。

- ・単回投与による毒性試験
- ・反復投与による毒性試験
- ・局所刺激性試験
- ・安全性薬理試験（hERG 試験、ラット一般行動への影響、無麻酔下のイヌを用いた呼吸・循環器系への影響）

今回、岡田班で計画されているワクチン候補は、DNA ワクチンであるため、従来型のワクチンとは異なり、恐らく追加項目として遺伝毒性試験が必要であると考えられる。また過去事例がないということでのどのような試験が更に要求されるか、またはされないかについては更なる調査および検討が必要と考えられた。

今後、臨床へ向けての第一の作業として、申請を念頭においた信頼性保証に則った試験の実施が必要であると考えられた。

E. 結論

現行の2つのプラスミドを1つでできる可能性があるかどうかの検討と、最終被験物の企画の設定、企画の取れたものの、信頼性保証に則った薬効薬理試験の実施が必要であると結論した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Makoto Matsumoto, Hiroyuki Hashizume, Hidetsugu Tsubouchi, Hirofumi Sasaki, Motohiro Itotani, Hideaki Kuroda, Tatsuo Tomishige, Masanori Kawasaki, and Makoto Komatsu : Screening for Novel Antituberculosis Agent that are Effective Against Mutidrug Resistant Tuberculosis, Current Topics in Medicinal Chemistry, 7(5):499-507 (2007)
2. Makoto Matsumoto : OPC-67683, A Promising Drug Candidate to Combat Unmet Needs in TB Chemotherapy in in vitro and in Mice. PLoS Medicine, 3(11): 466 2006.
3. Makoto Matsumoto : Selective delivery of rifampicin incorporated into poly(DL-lactic-co-glycolic) acid microspheres after phagocytotic uptake by alveolar macrophages, and the killing effect against intracellular Mycobacterium bovis Calmette-Guérin. Microbes and Infection. 8:2484-2491, 2006.
4. Makoto Matsumoto : Synthesis and Antituberculosis Activity of a Novel Series of Optically Active 6-Nitro-2,3-dihydroimidazo[2,1-b] oxazoles. Journal of Medicinal Chemistry, 2006.
5. Matsumoto S, Matsumoto M, Umemori K, Ozeki Y, Furugen M, Tatsuo T, Hirayama Y, Yamamoto S, Yamada T, Kobayashi K. : DNA augments antigenicity of mycobacterial DNA-binding protein 1 and confers protection against Mycobacterium tuberculosis infection in mice. J Immunol. 175(1):441-449 (2005)
6. 松本 真 : 新たな抗結核薬開発の必要性と世界の現状 化学療法の領域 22(11):1715-1722 2006.
2. 学会発表
 1. M.MATSUMOTO:ACS 229th Spring National Meeting Screening Novel Antituberculosis Agents Effective Against MDR-TB. San Diego, USA. 3.16 2005.
 2. M.MATSUMOTO:36th Union World Conference on Lung Health OPC 67683:A novel anti-TB drug candidate with potential to shorten treatment duration. Paris-France. 10.18-22 2005.
 3. M.MATSUMOTO:Tenth International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim New anti-TB drug development in JAPAN. Hanoi. 11.15-16 2005.
 4. MATSUMOTO, H.HASHIZUME, T.TOMISHIGE, M.KAWASAKI, M.KOMATSU, H.TSUBOUCHI, H. SASAKI and T. SUMITA:OPC-67683: A Novel Class Anti-Tuberculosis Drug Candidate. Washington, DC 45th ICAAC. 12.16-19 2005.
 5. Sohkiichi Matsumoto, Makoto Matsumoto, Kiyoko Umemori, Yuriko Ozeki, Makoto Furugen, Tomishige Tatsuo, Yukio Hirayama, Saburo Yamamoto, Takeshi Yamada, and Kazuo Kobayashi:US-JAPAN COOPERATIVE MEDICAL SCIENCE PROGRAM THIRTY EIGHT TUBERCULOSIS AND LEPROSY RESEARCH CONFERENCE DNA AUGMENTS ANTIGENICITY OF MYCOBACTERIAL DNA-BINDING PROTEIN 1 AND CONFERS PROTECTION AGAINST MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS INFECTION IN MICE 7.19-21 2005.
 6. M. OKADA, T. TANAKA, Y. KITA, N. KANAMARU, S. HASHIMOTO, H. TAKAI, Y. FUKUNAGA, Y. SAKAGUCHI, I. FURUKAWA, K. YAMADA, Y. MURAKI, S. KUWAYAMA, M. IZUMIYA, M. MATSUMOTO, M. SAKATANI:In Vivo Efficacy of Novel Antituberculous Candidate OPC-67683 against Multi-Drug Resistant M. tuberculosis (MDR-TB) using SCID Mice and SCID-PBL/hu Mice. Washington, DC 45th ICAAC. 12.16-19 2005.
 7. M.KAWASAKI, K.YAMAMOTO, M.MATSUMOTO : Mechanism of Action of OPC-67683 against Mycobacterium tuberculosis. Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

Tokushima, Japan. Washington, DC45th
ICAAC. 12.16-19 2005.

8. H. HASHIZUME, T. TOMISHIGE, and M. KAWASAKI.:In Vitro and In Vivo Efficacy of Novel Antituberculous Candidate OPC-67683. Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokushima, Japan Washington, DC 45th ICAAC. 12.16-19 2005.
9. H. HASHIZUME, K. OHGURO, T. ITOH, T. SHIRAGIKU, Y. OHARA, T. AWOGI, M. MATSUMOTO.:A Novel Imidazo-oxazole Antituberculous Compound, Free from Mutagenicity : tructure-Activity-Mutagenesity Relationships.. Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokushima, Japan Washington, DC 45th ICAAC 12.16-19 2005.
- 10 T. TOMISHIGE, M. MATSUMOTO.:Intracellular Activity of OPC-67683against M.tuberculosis H₃₇Rv in THP-1 Human Macrophages and A549 Type II Alveolar Cells. Otsuka Pharmaceutical Co.,Ltd., Tokushima, Japan Washington, DC45th ICAAC
11. 平山 幸雄、松本 壮吉、青木 圭子、和田 崇之、尾関 百合子、松本 真、小林 和夫：抗酸菌の肺胞上皮細胞接着における分子機構；日本細菌学会，2004
12. 平井真吾、本圭介、巖岩靖子、菊地晴久、播口徳充、松本 真、大島吉輝:抗マラリアアルカロイド febrifugineを基盤とした新規誘導体の開発，日本薬学会3月29日～31日、2004
13. 菊地晴久、平井真吾、山本圭介、巖岩靖子、播口徳充、松本 真、大島吉輝:新規抗マラリア剤の創製を目指したキナゾリンアルカロイド febrifugine関連化合物の合成、第23回メディスナルケミストリーシンポジウム（つくば市）、2004年 11月 24～26日
14. Makoto Matsumoto, Hiroyuki Hashizume, Tatsuo Tomishige, Masanori Kawasaki, Hidetsugu Tsubouchi, Hirofumi Sasaki, Yoshihiko Shimokawa, and MakotoKomatsu :OPC-67683, A Promising Drug Candidate to Combat Unmet Needs in TB Chemotherapy (Submit)

〔Ⅲ〕結核に対する新規DNAの製造・製剤化技術の開発に関する研究

研究協力者 中島俊洋 ジェノメディア株式会社 代表取締役社長・最高技術責任者

研究要旨

AIDSの蔓延に伴う結核の拡大や多剤耐性結核菌の出現により、アジア地域で緊急の課題となっている結核感染症を制御する事を目的として、新規の結核DNAワクチンを開発したこのワクチンは、国内においては幼児期に摂取が行われているBCGと相乗効果があり、既存薬との組み合わせによりアジア地域での結核感染の制御に貢献できると期待される。また、多剤耐性結核も含めて、予防と治療の両効果が認められており、有用性の高い治療用ワクチンになると期待できる。

そこで、本事業で開発したDNAワクチンの臨床応用のために、最終製剤化を含むGMP製造技術開発、製造したDNAワクチンの動物を用いた評価（薬効薬理試験、安全性試験）を行った。その結果、開発したDNAワクチンの凍結乾燥製剤（DDS兼アジュバントであるHVJ-E）は、常温で10ヶ月以上安定である事、種々の動物の結核感染モデルで有効である事、樹状細胞を介する免疫を活性化し長期持続性が期待できる事が明らかとなった。また、安全性試験データの取得や、臨床試験で使用する治験薬GMP製造に必要な製造工程、製造施設などの整備についても進めることが出来た。

このように3年間の研究開発により、臨床開発を行うために重要なGMP製造技術の開発、新規DNAワクチンの薬効評価、治験薬GMP製造用設備の整備のそれぞれ研究項目について成果を得た。また、この技術成果は、結核以外の感染症ワクチンに対しても応用可能な技術であり、今後の新興・再興感染症の制御への適用拡大も期待できる。

A. 研究目的

アジア地域においては、AIDSの蔓延に伴って結核の患者数が増加している。特に重要な課題は、多剤耐性結核（MDR-TB：Multidrug-Resistant TB）の制御であり、WHOの調査によれば2004年の全世界のMDR-TB患者の推定合計は424,203人であるが、このうち62%にあたる261,362人が、中国、インドなどのアジア地域とロシア連邦に集中していることが明らかになっている。また、WHOと米国疾病予防管理センターの共同調査によれば、MDR-TBの中で特に耐性の高い超多剤耐性結核（XDR-TB：Extensive or Extreme Drug-Resistant TB）は、世界中で症例が見られるが、やはりアジア地域と旧ソ連邦の被害がもっとも深刻であることが明らかになっている。そのため、結核感染症の予防と治療に対して有効性の高い治療薬の開発が切望されている。

これまで感染症の制御は、抗生物質など抗菌作用を持つ治療薬の開発が中心であったが、超多剤耐性結核菌の出現で明らかのように、抗菌物質のみの治療による制御は困難であると予想される。そのため、難治性の癌治療で実施されているようにメカニズムの異なる複数の医薬品を組み合わせる治療を行なう必要がある。特に、アジア地域においては、投与回数が少なく有効性が高い優れたワクチンの開発が急務であると考えられた。そこで、本事業では、国内で幼児期の投与が行わ

れているBCGと相乗効果を持つDNAワクチンを予防薬・治療薬として開発し、アジア地域に蔓延する成人の結核感染を制御することに貢献する事を目的として研究開発を行った

B. 研究方法

1. DNAワクチン用プラスミドの構築改変と遺伝子発現の確認

本研究においては、臨床応用を目的として研究を実施するため、臨床応用に適したプラスミドの構築を行なう必要がある。従来の発現プラスミドは、基礎検討用のバックボーンであったので、臨床実績のあるプラスミドベクターへの組み換えを行なった。

まず、従来のpcDNA3.1ベクターから、IL-12（マウス、ヒト、モルモットの3種類）とHSP65のそれぞれの遺伝子断片を制限酵素により切り出し、新規プラスミドの適切な部位への組み込みを行なった。次に、1つのプラスミド上にIL-12とHSP65のそれぞれの遺伝子の発現ユニットを組み込むために、上記のようにして構築した新規プラスミドよりIL-12遺伝子の発現ユニットの断片を制限酵素により切り出し、HSP65遺伝子の発現プラスミドに組み込みを行なった。この際に、正方向と逆方向の組み込みが発生したため、それぞれについて発現レベルを確認して、薬効検討に用いるプラスミドの構築を選定した。