

## 〔Ⅶ〕 QFT-2Gによる臨床例の検討

研究協力者 倉島篤行 独立行政法人国立病院機構東京病院 臨床研究部長

### 研究要旨

QFT検査で用いられる刺激抗原ESAT-6, CFP10は、結核菌群の他M. kansasii, M. marinum, M. szulgaiに含まれている。28例のM. kansasii症例においてQFT-2G検査を施行、陽性は5例であり、M. kansasii症例では結核症とは免疫応答の程度が異なると考えられた。

### A. 研究目的

今日、多剤耐性結核は21世紀の健康に対する脅威の最大の一つとなる可能性が指摘されている。多剤耐性結核の治療成績は極めて悪く、現在の如何なる治療にもかかわらず、少なくとも約4割以上の患者が治癒できない現状にある。多剤耐性結核の新たな治療の試みの一つとして、IFN- $\gamma$ 吸入療法が行われているが、菌陰性化の達成は困難である。

我々は多剤耐性肺結核の治療の新たな試みとして活性化自己T細胞輸注療法の検討を行った。活性化自己T細胞輸注法は、自己血中のT細胞を固相化抗CD3抗体とインターロイキン2(IL-2)の存在下で培養し、約1000倍程度に増殖させた後、体内に戻すもので、現在までに、700症例以上の患者に対し投与が行われ、ホジキン病、肝細胞癌、卵巣腫瘍など様々な腫瘍で縮小効果を認めるとともに、特に治療がきわめて困難な慢性活動性エプスタインバールウイルス(EBV)感染症、免疫不全症に合併した化学療法抵抗性のサイトメガロウイルス(CMV)感染症、カリニ肺炎などに効果が認められた。LAK療法と異なりNK細胞は増殖しないので副作用は少なく、強い反応が起きた場合もステロイド剤などでコントロールすることが可能であり、その安全性は東京医科歯科大学においても再確認された。このようにT細胞機能不全がある症例でT細胞を生体外で活性化、増殖させ、生体内に戻すことによりT細胞機能を高めることが可能であることが明らかになってきている。結核感染症に対する生体側の防御機構はT細胞を中心とする細胞性免疫がになっている。多剤耐性結核患者では細胞性免疫機能の低下が指摘されており、治療のない多剤耐性結核患者に活性化自己T細胞輸注法の効果が期待出来る。

### B. 研究方法

菌陽性(塗抹、培養問わず)が持続する多剤耐性結核で、過去6ヶ月に治療薬剤の変更がない患者を対象に、多剤耐性結核患者を対象に、活性化自己T細胞輸注療法の有効性について調べるとともに安全性の検討を行った。平成14年春に東京病院、東京医科歯科大学。国際医療

センターからなるプロジェクトチームを結成し、免疫不全症に対する活性化T細胞輸注療法を参考にしつつ、多剤耐性結核患者に対する活性化T細胞輸注療法プロトコールを平成14年10月に東京病院倫理委員会に申請・承認を得た。その概要は、以下のとおりである。

1. フェーズ: 院内臨床試験〔単施設〕
2. 目的: 多剤耐性結核患者を対象に、活性化T細胞輸注療法の安全性と有効性について調べる。
3. 対象: 過去3ヶ月持続排菌している多剤耐性結核患者で、過去6ヶ月間治療レジメンの変更がない者。
4. 用法、用量  
試験投与: 本治療の前に1/10量の活性化T細胞を点滴静注し、有害事象の発現を調べる。副作用がなければ、本投与を開始する。  
本投与:  
プロトコール1:  $10^9$ 個の自己活性化Tリンパ球を2週間おきに計6回輸注。  
プロトコール2:  $10^9$ 個の自己活性化Tリンパ球を4日おきに計3回輸注。2週間あけて同様の輸注を行う。
5. プライマリ・エンドポイントおよび観察項目  
リンパ球輸注開始後3ヵ月間、培養検査で喀痰中の菌陰性状態が持続するものを有効とする。  
治療後の有害事象の観察、およびCRP、血沈、ツベルクリン反応、末梢血early secreted antigenic target 6 kda protein(ESAT-6)刺激下インターフェロン $\gamma$ 産生能(Quanti FERON -TB test)の変化をみる。

### C. 研究結果

4例の多剤耐性結核患者をプロトコール1に従った活性化自己T細胞輸注療法にて治療した。

4例ともに輸注中。輸注後に特記すべき有害事象は見られなかった。

排菌量の変化であるが、症例1では治療前に喀痰培養持続陽性であったのが、治療後3ヶ月間、喀痰培養陰性となり、その後再度培養陽性となった。

症例2では、喀痰塗抹培養陽性であったが、治療後喀痰塗抹・培養ともに陰性が治療後5ヵ月間持続し、その後培養陽性となった。

症例3に関しては、全く効果なく、排菌量に変化がなかった。

症例2については、プロトコール2による再治療を行った。治療後2ヶ月間培養陰性となったが、再度陽性となっている。

症例4では、喀痰塗抹、培養陽性であったが、治療後一時塗抹、培養陰性化した。培養陽性が出現、その後塗抹、培養陽性となった。

活動性肺結核57例の初回平均刺激下IFN- $\gamma$ 値は1.8857に対し、多剤耐性結核36例における初回平均刺激下IFN- $\gamma$ 値は1.4074とやや低値であった。

自己活性化T細胞輸注多剤耐性結核4例においては経過中ESAT-6刺激インターフェロン $\gamma$ 産生能の増強が見られた。

#### D. 考察

活性化自己T細胞輸注療法は、多剤耐性結核例において輸注期間中の培養での菌陰性を達成した。今日まで試みられた新しい免疫治療法としては国際的にIFN- $\gamma$ 吸入療法があるが、多剤耐性結核において喀痰塗抹の陰性化は得られてきたが、培養結果の陰性化は得られていない。その点で本法はより有効性が高いと言える。経過の分析では、空洞病変が無い症例においては、概ねリンパ球輸注により特異抗原刺激下IFN- $\gamma$ 値が増強され、その時点で、塗抹、培養とも陰性転化が観察された。

しかしその効果持続は一過性であり、今後効果の持続に関しての方法の探索が必要と考えられた。

#### E. 結果

治療法の無い多剤耐性結核に活性化自己T細胞輸注療法は一定の可能性が認められた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 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 Jul;11(7):808-13
2. Tanaka G, Shojima J, Matsushita I, Nagai H, Kurashima A, Nakata K, Toyota E, Kobayashi N,

Kudo K, Keicho N: Pulmonary Mycobacterium avium complex infection: association with NRAMP1 polymorphisms. *Eur Respir J* 2007 Jul;30(1):90-6

3. Takakura S, Tsuchiya S, Isawa Y, Yasukawa K, Hayashi T, Tomita M, Suzuki K, Hasegawa T, Tagami T, Kurashima A, Ichiyama S: Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory samples by transcription-reverse transcription concerted reaction with an automated system. *J Clin Microbiol* 43:5435-39, 2005.
4. 中田 光, 濱野栄美, 川辺芳子, 益田公彦, 永井英明, 有賀晴之, 倉島篤行, 森尾友宏, 清水則夫: 多剤耐性結核患者に対する活性化T細胞輸注療法の試み. *結核* 79:57-60, 2004.
5. 倉島篤行: 高齢者の抗酸菌感染症. *日本臨床* 65:490-494, 2007
6. 田村厚久, 蛇沢晶, 益田公彦, 島田昌裕, 久能木真喜子, 金子有吾, 松井芳憲, 川島正裕, 鈴木純子, 有賀晴之, 大島信治, 松井弘稔, 永井英明, 赤川志のぶ, 長山直弘, 川辺芳子, 町田和子, 倉島篤行, 中島由槻, 四元秀毅: 気管支結核の現状 103例の解析. *結核* 2007 82:647-54
7. 永井英明, 川辺芳子, 有賀晴之, 嶋山文子, 島田昌裕, 久能木真喜子, 松井芳憲, 川島正裕, 鈴木純子, 大島信治, 益田公彦, 松井弘稔, 田村厚久, 長山直弘, 赤川志のぶ, 町田和子, 倉島篤行, 四元秀毅: HIV感染症における結核感染診断に対するの QuantiFERON-TB第2世代の有用性についての検討. *結核* 2007 82:635-40
8. 倉島篤行: 高齢者の抗酸菌感染症. *日本臨床* 2007 Mar;65 増刊3 490-4
9. 松井芳憲, 赤川志のぶ, 川島正裕, 鈴木純子, 益田公彦, 田村厚久, 永井英明, 長山直弘, 川辺芳子, 町田和子, 倉島篤行, 四元秀毅: リファンピシンを含む結核治療におけるシクロスポリン投与量の検討. *結核* 2007 82 :563-567
10. 倉島篤行: 抗結核薬副作用への対応. *呼吸器科* 2007 Apr;11(4):383-9
11. 倉島篤行: 非結核性抗酸菌症の治療. *診断と治療* 2007 Nov;95(11):2008-14
12. 倉島篤行: 非結核性抗酸菌症の治療. *日本胸部臨床* 2007 Jul;66(7):549-57

13. 田村厚久, 蛇沢晶, 益田公彦, 島田昌裕, 市川昌子, 久能木真喜子, 金子有吾, 川島正裕, 鈴木純子, 有賀晴之, 八木理充, 大島信治, 松井弘稔, 永井英明, 赤川志のぶ, 長山直弘, 川辺芳子, 町田和子, 倉島篤行, 中島由槻, 四元秀毅:肺癌と活動性肺抗酸菌症の合併 特徴と推移. 日本呼吸器学会雑誌 2007 May;45(5):382-93
  14. 倉島篤行:抗結核薬副作用への対応. 呼吸器科 2007 Apr;11(4):383-9
  15. 倉島篤行:非結核性抗酸菌症治療の展望. 結核 2007 Mar;82(3):195-9
  16. 倉島篤行:非結核性抗酸菌症の診断と治療. 日本医事新報 2007 Feb;(4321):105
  17. 西村富啓, 河野晴一, 倉島篤行, 久保博昭, 小池勇一:RifampicinのPharmacokineticsに対する食事の影響. 臨床薬理 2006 Nov;37(6):353-7
  18. 倉島篤行:非結核性抗酸菌症. Modern Physician 2006 Mar;26(3):385-8
  19. 倉島篤行, 長山直弘:非結核性抗酸菌症の治療 肺MAC症の治療 再排菌例の検討. 結核 2006 Jan;81(1):38-41
  20. 大橋里奈, 赤川志のぶ, 倉島篤行, 土屋香代子, 宮本牧, 益田公彦, 田村厚久, 永井英明, 長山直弘, 川辺芳子, 町田和子, 四元秀毅, 蛇沢晶:過敏性肺炎類似のびまん性陰影を呈した肺Mycobacterium avium症の1例. 結核 2006 Jan;81(1):19-23
  21. 倉島篤行:肺結核. クリニカ 2005 Nov;32(6):351-7
  22. 倉島篤行:現在および近未来の結核に対する対応および問題点. Current Concepts in Infectious Diseases 2005 Oct;24(3):6-9
  24. 倉島篤行:気密空間における感染性疾患. 日本胸部臨床 2005 Apr;64(4):325-32
  25. 倉島篤行:目でみる症例 肺結核症. 内科 2005 Dec;96(6):1121-6
  26. 倉島篤行:肺結核. クリニカ 2005 Nov;32(6):351-7
  27. 倉島篤行:現在および近未来の結核に対する対応および問題点. Current Concepts in Infectious Diseases 2005 Oct;24(3):6-9
  28. 倉島篤行:非結核性抗酸菌症. Medicina 2005 Oct;42(10):1720-2
  29. 田村厚久, 蛇沢晶, 相良勇三, 鈴木純子, 益田公彦, 永井英明, 赤川志のぶ, 長山直弘, 川辺芳子, 町田和子, 倉島篤行, 小松彦太郎, 四元秀毅:肺癌と活動性肺抗酸菌症の混在する病態の検討. 結核 2005 May;80(5):413-9
  30. 倉島篤行:非結核性抗酸菌症の診断と治療. JIM: Journal of Integrated Medicine 2005 May;15(5):398-402
  31. 倉島篤行:気密空間における感染性疾患. 日本胸部臨床 2005 Apr;64(4):325-32
  32. 倉島篤行:非結核性抗酸菌症. 診断と治療 2005 Feb;93(2):239-44
2. 学会発表
1. 益田公彦, 田村厚久, 有賀晴之, 川島正裕, 金子有吾, 島田昌裕, 鈴木純子, 永井英明, 赤川志のぶ, 川辺芳子, 町田和子, 倉島篤行, 蛇沢晶, 四元秀毅:結核性胸膜炎における局所麻酔下胸腔鏡の意義.第47回日本呼吸器学会総会, 東京, 2007.
  2. 倉島篤行, 鈴木純子, 川島正裕, 島田昌裕, 久能木真喜子, 金子有吾, 大島信治, 有賀晴之, 益田公彦, 松井弘稔, 長山直弘, 田村厚久, 赤川志のぶ, 永井英明, 川辺芳子, 町田和子, 中島由槻, 四元秀毅: Mycobacterium avium complex検出肺微小病変の進展例と非進展例の検討. 第82回日本結核病学会総会, 大阪, 2007
  3. 大島信治, 川辺芳子, 倉島篤行, 川島正裕, 島田昌裕, 久能木真喜子, 松井弘稔, 赤川志のぶ, 町田和子, 田村厚久, 永井英明, 長山直弘, 四元秀毅, 大嶋秀元, 平澤誠, 竹田信邦, 瀬下明子, 長野誠, 伊藤伸子:アンプリコアマイコバクテリウムのPCR産物を利用したPCR-Invader法による抗酸菌迅速検出検査の有用性について. 第82回日本結核病学会総会, 大阪, 2007
  4. 有賀晴之, 川辺芳子, 永井英明, 倉島篤行, 島田昌裕, 久能木真喜子, 金子有吾, 川島正裕, 大島信治, 鈴木純子, 益田公彦, 松井弘稔, 田村厚久, 長山直弘, 町田和子, 四元秀毅, 蛇沢晶, 渡邊亜矢子, 井上康子:体腔液QFTを用いた結核性漿膜炎の診断. 第82回日本結核病学会総会, 大阪, 2007
  5. 川辺芳子, 有賀晴之, 永井英明, 赤川志のぶ, 町田和子, 倉島篤行, 中島由槻, 四元秀毅, 渡邊亜矢子, 井上康子:職員健診におけるQFT-2G検査の適用. 第82回日本結核病学会総会, 大阪, 2007
  6. 長山直弘, 赤川志のぶ, 町田和子, 蛇沢晶, 四元秀毅: 活動性結核性胸膜炎の新しい特異的診断法

Pleural fluid cell-QuantiFERON TB  
2G(FC-QFT). 第46回日本呼吸器学会総会, 東京,  
2006.

7. 永井英明, 有賀晴之, 川辺芳子, 川島正裕, 鈴木純子, 益田公彦, 田村厚久, 長山直弘, 赤川志のぶ, 町田和子, 倉島篤行, 四元秀毅, 森亨: AIDS合併結核におけるQuantiFERON-TB第2世代の有用性についての検討. 第80回日本結核病学会総会, 茨城 2005.03
8. 川辺芳子, 有賀晴之, 永井英明, 八戸敏史, 岡田徹, 田代尚樹, 川島正裕, 松井芳憲, 下之内康雄, 八木理充, 大島信治, 鈴木純子, 平間未知大, 益田公彦, 田村厚久, 長山直弘, 赤川志のぶ, 町田和子, 四元秀毅, 森亨: 活動性結核におけるQuantiFERON-TB第2世代陰性例の検討. 第80回日本結核病学会総会, 茨城 2005.03
9. 有賀晴之, 川辺芳子, 永井英明, 松井芳憲, 田代尚樹, 鈴木純子, 平間未知大, 大島信治, 益田公彦, 田村厚久, 長山直弘, 赤川志のぶ, 町田和子, 倉島篤行, 四元秀毅, 森亨: 活動性結核治療経過中におけるQuantiFERON-TB2G testの検討. 第80回日本結核病学会総会, 茨城2005.03
10. 川辺芳子, 有賀晴之, 鈴木順子, 八戸敏史, 川島正裕, 松井芳憲, 八木理充, 大島信治, 益田公彦, 田村厚久, 永井英明, 長山直弘, 赤川志のぶ, 町田和子, 倉島篤行, 四元秀毅: 病変の小さい喀痰塗抹陰性肺結核の診断におけるQuantiFERON-TB第2世代の評価. 第81回日本結核病学会総会
11. 益田公彦, 永井英明, 川辺芳子, 倉島篤行, 中田光: 多剤耐性結核に対する活性化T細胞輸注療法の3例. 結核 79: 253, 2004.

〔Ⅷ〕 BCG細胞壁アジュバント活性成分の構造免疫活性相関の解析

研究協力者 矢野郁也 BCG 日本BCG研究所 取締役研究顧問

研究要旨

「アジア地域との研究ネットワークの活用による多剤耐性結核の制御に関する研究」を目的として、「BCG細胞壁アジュバント活性成分の構造免疫活性相関の解析を行った。

A. 研究目的

BCG菌を初めとするMycobacteria cell wall (CW)には細胞壁骨格 (CWS)、cord factor(TDM)、lipoarabinomannan(LAM)、lipomannan(LM)等多彩な glycolipidやlipoglycan成分が含まれ、古くより免疫アジュバント、特に細胞性免疫反応 (Th-1) 増強活性が注目されてきたが、いずれも構造が複雑なことから取り扱いが困難で、動物への投与方法も十分確立していなかった。BCGワクチンに代る次世代結核ワクチンや抗腫瘍性免疫療法剤、更に花粉症やアレルギー疾患の根治療法剤としてこれらの抗酸菌高分子物質をアジュバントとして研究開発することは、新しい免疫療法剤の開発に必須であり、CWやCWSの臨床応用についても各分野で検討が始まっている。そこで我々はこれらのBCG細胞壁の単一アジュバント活性物質を単離してin vitro及びin vivo動物モデルによる構造・活性相関を解明しようとした。

表1 Median diameter and specific surface area of the w/o/w micelles of TDM from seven species of mycobacteria

Species	Median diameter <sup>a</sup> mean ±SD (nm)	Specific surface area <sup>b</sup> , mean ±SD (E+5 cm <sup>2</sup> /cm <sup>3</sup> )
Control	272.5 ± 5.9	2.2228 ± 0.0572
<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	237.2 ± 14.7	2.5487 ± 0.1596
<i>M. bovis</i> BCG Tokyo 172	162.9 ± 4.0	3.7050 ± 0.1023
<i>M. bovis</i> BCG Connaught	317.6 ± 8.6	1.9010 ± 0.0608
<i>M. kansasii</i>	145.7 ± 3.7	4.1406 ± 0.1052
<i>M. avium</i> serotype 4	198.0 ± 5.5	3.0588 ± 0.0724
<i>M. phlei</i>	174.1 ± 8.3	3.4824 ± 0.1556
<i>M. flavescens</i>	191.3 ± 1.7	3.1485 ± 0.0257

<sup>a</sup>Particle size equivalent to cumulative 50%.

<sup>b</sup>A total (cm<sup>2</sup>) of surface areas of particles per cm<sup>3</sup>.

B. 研究方法

CG加熱死菌 (Tokyo172) よりフレンチプレス破碎細胞壁画分 (CW) を得て未破碎菌を除去した後、200~350nmの粒度を示す標品からCWS、TDM、TMM、LAM、LMを単離した。その基本構造は質量分析・NMRを含む分析法により解析し、各々をMφや樹状細胞に添加してin vitroにおける細胞分化促進活性をしらべ、in vivoモデルとしてはモルモット又はマウスに投与して肺・脾・肝臓における肉芽腫形成能、体重増減による毒性、胸腺細胞のアポトーシス誘導能等を評価した。Th-1/Th-2増強活性はヒト末梢血をボランティアより採決し、Th-1又はTh-2増強条件下で各成分を添加し、IFN-γ<sup>+</sup>又はIL-4<sup>+</sup>細胞の比率の変動より評価した。ボランティアよりの採決はICを得た上で行った。TDMのoil in water micelleの粒度分布は菌種により特徴的であった (表1)。

C. 研究結果

TDM及びTMM : TDM (TMM) はmycobacteriaの全ての菌種に分布するミコール酸含有糖脂質で従来

virulence factorとして認められてきたが、今回の研究でTDMには強い毒性 (体重減少) を示すM. tuberculosis由来のものとは全く毒性を示さないm. phlei由来のものがあることが明らかとなり、BCG Tokyo株からのTDMも毒性は低かった。それにも拘わらずBCG TDMは胸腺アポトーシスを誘導し、結核菌TDMと同様強力な肉芽腫を誘導した (図1及び図2) リポグリカン (LAM及びLM) : M. bovis BCGより単離したLAMはMW15000中心でLMはマンノース20~48個からなるリポグリカンでLAM/LM比は約4:1、LAM/LMはヒト末梢血単核球に対して強力なTh-1免疫誘導能を示した。Th-2誘導条件下ではIL-4<sup>+</sup>細胞の著しい現象を示し、抗アトピー剤としての効果を期待できる性質を有することが明らかとなった。

細胞壁骨格 (CWS) : BCG-CWSは古くより抗癌免疫療法剤として期待されているが上記の系での検討から強力なTh-1アジュバントとして今後自然免疫・獲得免疫両面で強力なアジュバント物質としての開発が期待されるが製剤化、剤型の検討が必要と考えられる。

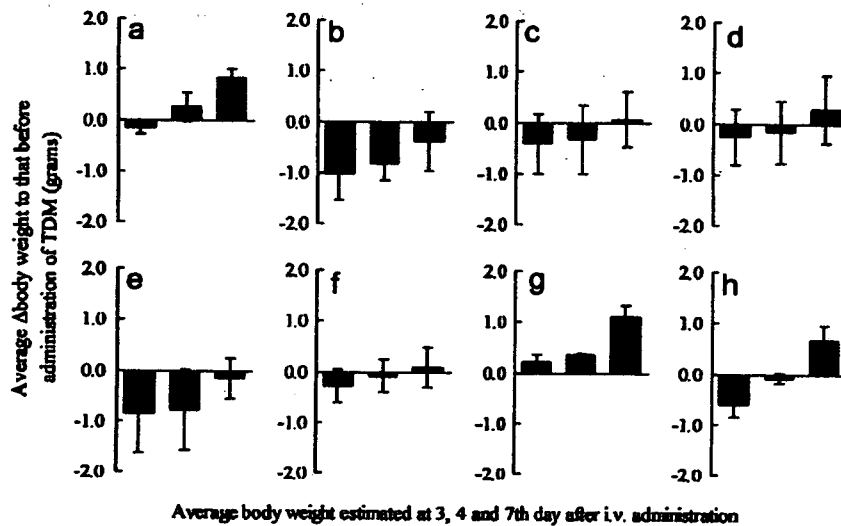


Fig 1 Comparison of time-dependent changes in body weight in mice administered with TDM from seven representative mycobacterial species. BALB/c mice (six mice) were given 300ug/mouse TDM from seven representative species of mycobacteria. A, control; b, *M. tuberculosis* H37 Rv; c, *M. bovis* BCG Tokyo 172; d, *M. bovis* BCG Connaught; e, *M. kansasii*; f, *M. avium* serotype 4; g, *M. phlei*; h, *M. flavescens*. At third, fourth and seventh day after i.v. administration, mice injected with TDM from *M. tuberculosis* H37Rv showed the most prominent body weight loss, whereas TDM from *M. phlei* did not show any decrease in body weight. The data represent the mean values  $\pm$  standard errors compiled from six mice per group.

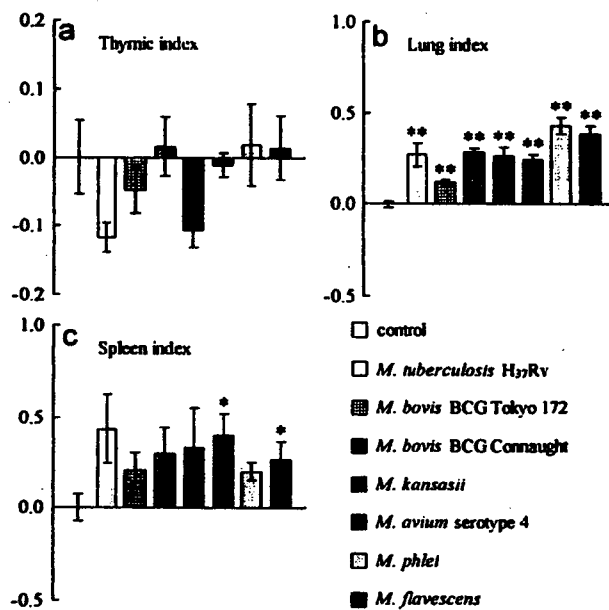


Fig 2 Comparison of changes in organ indices of mice seventh day after the administration with TDM from seven representative mycobacterial species. BALB/c mice (six mice) were given 300ug/mouse TDM from seven representative species of mycobacteria. The asterisks\*\* indicate a P value of <0.01 compared to w/o/w control mice. The asterisks\* indicate a P value of <0.05 compared to w/o/w control mice. Seventh day after challenge with TDM, lung index of TDM from *M. phlei* and *M. flavescens* injected mice showed the prominent increase (Fig.3b). Increase in spleen index and decrease in thymic index were observed with TDM from *M. tuberculosis* H37 Rv infected mouse. The data represent the mean values of differences between with and without TDM control  $\pm$  standard errors.

#### D. 考察

BCG菌細胞壁にはCWS、TDM (TMM)、LAM、LM等多彩な免疫アジュバント活性成分を有し、ワクチンへの組み合わせ、抗アトピー剤、抗腫瘍剤としての開発が期待されるが、これらの実用化に向けて剤形の検討が必要である。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kai M, Fujita Y, Maeda Y, Nakata N, Izumi S, Yano I, Makino M.: Identification of trehalose dimycolate (cord factor) in *Mycobacterium leprae*. FEBS Lett, 581, 3345-3350, 2007.
2. Miyamoto Y, Mukai T, Maeda Y, Nakata N, Kai M, Naka T, Yano I, Makino M.: Characterization of the fucosylation pathway in the biosynthesis of glycopeptidolipids from *Mycobacterium avium* complex. J Bacteriol, 188, 5515-5522, 2007.
3. Maeda Y, Mukai T, Kai M, Fukutomi Y, Nomaguchi H, Abe C, Kobayashi K, Kitada S, Mekura R, Yano I, Ishii N, Mori T, Makino M.: Evaluation of membrane protein II as a tool for serodiagnosis of leprosy. FEMS Microbiol Lett, 272, 202-205, 2007.
4. Homhuan A, Kogure K, Akaza H, Futaki S, Naka T, Fujita Y, Yano I, Harashima H.: New packaging method of mycobacterial cell wall using octaarginine-modified liposomes; Enhanced uptake by and immunostimulatory activity of dendritic cells. J. Controlled Res. 120, 60-69, 2007.
5. Fujita Y, Okamoto Y, Uenishi Y, Sunagawa M, Uchiyama T, Yano I.: Molecular and supramolecular structure related differences in toxicity and granulomatogenic activity of mycobacterial cord factor in mice. Mycob.Pathog. 43(1):10-21, 2007.
6. Kitada S, Nishiuchi Y, Hiraga T, Naka N, Hashimoto H, Yoshimura K, Miki K, Miki M, Motone M, Fujikawa T, Kobayashi K, Yano I, Maekura R.: Serological test and chest computed tomography findings in patients with MAC lung disease. Eur. Respir. J. 29:121701223, 2007.
7. Fujiwara N, Nakata N, Maeda S, Naka T, Doe M, Yano I, Kobayashi K.: Structural characterization of a specific glycopeptidolipid containing a novel N-acyl-deoxy sugar from *Mycobacterium Intracellulare* serotype 7 and genetic analysis of its glycosylation pathway. J. Bacteriol. 189(3), 1099-1108, 2007.
8. Watanabe Y, Watari E, Matsunaga I, Hiromatsu K, Dascher CC, Kawashima T, Norose Y, Shimizu K, Takahashi H, Yano I, Sugita M.: BCG vaccine elicits both T-cell mediated and humoral immune responses directed against mycobacterial lipid components. Vaccine, 14(29-30), 5700-5707, 2006.
9. Okamoto Y, Fujita Y, Naka T, Hirai M, Tomiyasu I, Yano I. Mycobacterial sulfolipid shows a virulence by inhibiting cord factor induced granuloma formation and TNF-alpha release. Microbial Pathogenesis. 40(6):245-253, 2006.
10. Shimada K, Takimoto H, Yano I, Kumazawa Y. Involvement of mannose receptor in glycopeptidolipid-mediated inhibition of phagosome-lysosome fusion. Microbiology and Immunology. 50(3):243-251, 2006.
11. Takimoto H, Maruyama H, Shimada KI, Yakabe R, Yano I, Kumazawa Y. 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
12. Ozeki Y, Tsutsui H, Kawada N, Suzuki H, Kataoka M, Kodama T, Yano I, Kaneda K, Kobayashi K. Macrophage scavenger receptor down-regulates mycobacterial cord factor-induced proinflammatory cytokine production by alveolar and hepatic macrophages. Microbial Pathogenesis. 40(4):171-176, 2006.
13. Miyamoto Y, Mukai T, Nakata N, Maeda Y, Kai M, Naka T, Yano I, Makino M. Identification and characterization of the genes involved in glycosylation pathways of mycobacterial glycopeptidolipid biosynthesis.

14. Fujita Y, Doi T, Maekura R, Ito M, Yano I: Differences in serological responses to specific glycol-peptidolipid-core and common lipid antigens in patients with pulmonary disease due to Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium avium complex. *J. Med. Microbiol.* 55:188-199, 2006.
15. Yano I: Identification of two subpopulations of Bacillus Calmette-Guerin (BCG) Tokyo172substrain with different RD16 regions. *Vaccine.* 24(23): 4969-4974, 2006
16. Yano I: Identification and characterization of the genes involved in glycosylation pathways of mycobacterial glycopeptidolipid biosynthesis. *Journal of Bacteriology.* 188(1): 86-95, 2006
17. Yano I: Involvement of mannose receptor in glycopeptidolipid-mediated inhibition of phagosome-lysosome fusion. *Microbiology and Immunology.* 50(3):243-251, 2006
18. Enomoto Y, Sugita M, Matsunaga I, Naka T, Sato A, Kawashima T, Shimizu K, Takahashi H, Norose Y, Yano I. Temperature-dependent biosynthesis of glucose monomycolate and its recognition by CD1-restricted T cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005 Nov 18;337(2):452-6.
19. Fujita Y, Ogata H, Yano I: Clinical evaluation serodiagnosis of active tuberculosis by multiple-antigen ELISA using lipids from Mycobacterium bovis BCG Tokyo172.; *Clin. Chem Lab. Med.* 43:1253-1262, 2005.
20. Fujita Y, Naka T, McNeil MR, Yano I. Intact molecular characterization of cord factor (trehalose 6,6'-dimycolate) from nine species of mycobacteria by MALDI-TOF mass spectrometry. *Microbiology.* 2005 Oct;151(Pt 10):3403-16.
21. Maekura R, Okuda Y, Hirotsu A, Kitada S, Hiraga T, Yoshimura K, Yano I, Kobayashi K, Ito M. Clinical and prognostic importance of serotyping Mycobacterium avium-Mycobacterium Intracellulare complex isolates in human immunodeficiency virus-negative patients. *J Clin Microbiol.* 2005 Jul;43(7):3150-8
22. Fujita Y, Doi T, Sato K, Yano I. Diverse humoral immune responses and changes in IgG antibody levels against mycobacterial lipid antigens in active tuberculosis. *Microbiology.* 2005 Jun;151(Pt 6):2065-74
23. Fujita Y, Naka T, Doi T, Yano I. Direct molecular mass determination of trehalose monomycolate from 11 species of mycobacteria by MALDI-TOF mass spectrometry. *Microbiology.* 2005 May;151(pt 5):1443-52
24. Kano H, Doi T, Fujita Y, Takimoto H, Yano I, Kumazawa Y. Serotype-specific modulation of human monocyte functions by glycopeptidolipid (GPL) isolated from Mycobacterium avium complex. *Biol Pharm Bull.* 2005, 28(2):335-9.
25. Kitada S, Maekura R, Toyoshima N, Naka T, Fujiwara N, Kobayashi M, Yano I, Ito M, Kobayashi K. Use of glycopeptidolipid core antigen for serodiagnosis of mycobacterium avium complex pulmonary disease in immunocompetent patients. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2005, 12(1):44-51.
26. Yano I: Modified multiplex PCR for identification of Bacillus Calmette-Guerin substrain Tokyo among clinical isolates. *Vaccine* 23(24): 3099-102, 2005
27. Yano I: Bacillus calmette-guerin Tokyo172substrain for superficial bladder cancer characterization and antitumor effect. *J Urol* 173(5): 1507-1, 2005



## [IX] ヒトマクロファージの結核菌殺傷機構の解明

研究協力者 赤川清子 北里研究所 基礎研究所 嘱託部長

### 研究要旨

健常者単球よりM-CSFで分化誘導したM型M $\phi$ は結核菌を殺菌するが、GM-CSFで分化誘導したGM型M $\phi$ （ヒト肺胞M $\phi$ に形質が似ている）は結核菌の増殖を促す。先に、これらM $\phi$ の抗結核菌活性の違いは、MAPキナーゼの活性化およびNLRP1の発現の違いと相関することを報告した。本研究では、①M型M $\phi$ の結核菌殺菌活性の活性化には、P38MAPKの活性化が一部関与すること、②結核菌感染M型M $\phi$ は、結核菌の増殖抑制因子を産生すること、③GM型M $\phi$ は、結核菌の増殖にポジティブに働くカタラーゼを大量に産生すること、④カタラーゼはM型M $\phi$ ではBCL-2の発現を、GM型M $\phi$ と肺胞M $\phi$ ではBCL-X<sub>L</sub>の発現を誘導してM $\phi$ の生存に関与していること、⑤ヒトM $\phi$ の結核菌感染感受性の違いはオステオポンチン産生能とは関連しないが、HckおよびC/EBP $\beta$ の発現増強と相関することを明らかにした。既にM型M $\phi$ とGM型M $\phi$ における、HckとC/EBP $\beta$ の発現パターンを変化させることで、HIV-1の増殖応答を変換できることを報告した。HckおよびC/EBP $\beta$ の発現を変えることで、M $\phi$ における結核菌の増殖を制御する可能性が示唆された。

### A. 研究目的

多剤耐性結核の制御のためには新薬の開発が重要であるが、抗菌剤は耐性菌の出現が常に伴う。そのため、宿主の抗結核防御機構の増強による病気の制御が必要である。結核菌はマクロファージ（M $\phi$ ）を主な増殖、生存の場所とするため、ヒトM $\phi$ の結核菌の殺菌、増殖制御機構を明らかにし、M $\phi$ の抗結核菌活性の増強法の開発に役立てる。

### B. 研究方法

ヒト単球の調整は、正常ボランティアの末梢血よりリンホプレップにて分離した単核球より、CD14ビーズ抗体とMACSによりCD14陽性の単球画分を分離精製した。これら単球をM-CSFおよびGM-CSF存在下に10%FCSを含むRPMI1640培地で1週間培養し、M型M $\phi$ 及びGM型M $\phi$ を作製した。これらのM $\phi$ にヒト型結核菌Mycobacterium tuberculosis H37Rvをmoi 1-2で感染させ、感染6日後に菌のCFUを測定して、菌の殺菌あるいは増殖を調べた。MAPキナーゼの活性化が殺菌能に及ぼす影響を検討するため、P38MAPKの阻害剤SB203580及びERK1/2の上流にあるMEKの阻害剤PD98059存在下に感染M $\phi$ を培養後CFUを測定した。結核菌感染あるいは非感染M $\phi$ の2日後の培養上清を回収し、それらの結核菌、BCG、M. aviumに対する増殖抑制活性を検討した。結核菌感染M $\phi$ からのオステオポンチン産生は、感染M $\phi$ の培養上清を、オステオポンチン測定ERISAキットにより測定した。カタラーゼの酵素活性は、スコポルチン法で測定した。カタラーゼ、Bcl-2ファミリー分子、Hck、C/EBP $\beta$ の蛋白発現は、それぞれの分子に対する抗体を用いてウェスタンブロットで、またそれらの遺伝子発現は、

RT-PCRにて検討した。

（倫理面への配慮）

正常ボランティアよりの血液の採取に関しては、インフォームドコンセントを得た。

### C. 研究結果

- 1) 結核菌感染M型M $\phi$ では、P38MAPK及びERK1/2の活性化が誘導されるが、P38MAPKの阻害剤SB203580添加群では対象群に比べ菌数が約2倍となったが、ERK1/2の上流にあるMEKの阻害剤PD98059添加群では対照群と差を認めなかった。このことより、P38MAPKのシグナルが結核菌増殖抑制活性に一部関係することが示唆された。
- 2) M型M $\phi$ は結核菌感染により、結核菌、BCG、M. aviumの増殖を抑制する因子を産生することが示唆された。
- 3) M型M $\phi$ のカタラーゼ産生はコロニー刺激因子（CSF）依存性であるが、GM型M $\phi$ ではCSF非依存性であり、その産生量も多いことが知られた。カタラーゼはM型M $\phi$ ではBCL-2の発現を、GM型M $\phi$ ではBCL-X<sub>L</sub>の発現を誘導してM $\phi$ の生存に関与することが知られた。また、ヒトの肺胞M $\phi$ のカタラーゼ産生能、及びカタラーゼによるBCL-2ファミリー遺伝子発現は、GM型M $\phi$ と同じであった。
- 4) M型M $\phi$ 及びGM型M $\phi$ のいずれのM $\phi$ も、結核菌感染によりオステオポンチンを大量に産生し、むしろGM型M $\phi$ の方が産生量が高い傾向が見られたことより、M $\phi$ のオステオポンチン産生能は殺菌能とは関連しないことが知られた。
- 5) 結核菌感染により、結核菌の殺菌や増殖抑制活性を

示すM型M $\phi$ およびIL-10処理GM型M $\phi$ でのみHckおよびC/EBP $\beta$ の発現増強が認められたことより、ヒトM $\phi$ の抗結核菌活性の発現とこれらの分子の発現が相関することが知られた。

#### D. 考察

1) M型M $\phi$ の結核菌殺菌活性には、ERK1/2よりP38MAPKの活性化が重要なことが示唆された。しかし、SB203580添加M型M $\phi$ の菌数は、GM型M $\phi$ に比べ遙かに少ないことより、P38MAPK以外のシグナル伝達分子がM $\phi$ の結核菌増殖抑制活性に重要なことが示唆された。

2) 結核菌感染M型M $\phi$ の培養上清は、結核菌、BCG, M.aviumのいずれの増殖も抑制する因子を産生していることから、今後、この増殖抑制因子の本体を明らかにするとともに、薬剤耐性菌に対する増殖抑制活性の検討、またその産生増強法の検討が必要である。

3) カタラーゼは結核菌のKatGにみられるように、M $\Phi$ の活性酸素に対し抵抗性を与え、結核菌の増殖にポジティブに働く。M型M $\phi$ とGM型M $\phi$ はカタラーゼ産生能がことなることより、このカタラーゼ産生能の違いもM型M $\phi$ とGM型M $\phi$ の結核菌感受性の違いの理由の一つと考えられる。

4) オステオポンチンは、肉芽腫形成、破骨細胞の活性化、細胞接着、IL-12産生誘導によるTh1/Th2バランスの調節などの機能がある。また、OPN-N-halfは、炎症細胞遊走活性を示す。他の研究者により、オステオポンチン産生の違いがM $\phi$ の結核菌増殖抑制に関与する可能性が報告された。しかし、結核菌の増殖制御機構の異なるM型M $\phi$ とGM型M $\phi$ のいずれも、結核菌感染によりオステオポンチンを大量に産生することから、オステオポンチン産生能が、これらM $\phi$ の結核菌の殺菌・増殖抑制能の違いと直接関連しないことが示唆された。

5) 最近、ヒトM $\phi$ においてHckの発現の違う2種類のリソソームの存在が知られ、殺菌にはHckを発現するリソソームとファゴソームの融合が重要であることが示唆された。ヒトM $\phi$ の結核菌の殺菌および増殖抑制活性の発現とHckの発現が相関することが知られたことより、M型M $\phi$ およびIL-10処理GM型M $\phi$ では、Hck陽性リソソームの発現が高く、そのため効率良く結核菌の殺菌増殖抑制活性が誘導されると考えられる。

6) 結核菌をはじめ細胞内寄生性細菌感染へのC/EBP $\beta$ の重要性は、ノックアウトマウスの実験から示唆されているが、ヒトM $\phi$ の場合も結核菌の殺菌および増殖抑制活性の発現とC/EBP $\beta$ の発現が相関したことより、ヒトM $\phi$ の抗結核菌活性の発現におけるC/EBP $\beta$ の重要性が示唆された。

7) 既にM型M $\phi$ とGM型M $\phi$ における、HIV-1の増殖応答の違いは、HckとC/EBP $\beta$ の発現パターンの違いに

よること、またこれらの分子の発現パターンを変化させることで、HIV-1の増殖応答を変えることができることを報告した(J. Exp. Med., 198: 443-453, 2003)。HckおよびC/EBP $\beta$ の発現の違いが結核菌の殺菌や増殖抑制活性の違いと関係するならば、これら分子の発現を変えることで、M $\phi$ における結核菌の増殖を制御することができるかもしれない。

#### E. 結論

1) M型M $\phi$ の結核菌殺菌活性には、P38MAPKの活性化が一部関与することが示唆された。

2) 結核菌感染M型M $\phi$ は、結核菌、BCG, M.aviumの増殖抑制因子を産生することが知られた。

3) M型M $\phi$ のカタラーゼ産生はCSF依存性であるが、GM型M $\phi$ および肺胞M $\phi$ のカタラーゼ産生はCSF非依存性であり、その産生量も多いことが知られた。

4) カタラーゼはM型M $\phi$ ではBCL-2の発現を、GM型M $\phi$ と肺胞M $\phi$ ではBCL-X<sub>L</sub>の発現を誘導してM $\phi$ の生存に関与していることが知られた。

5) カタラーゼは結核菌の増殖にポジティブに働くことより、M型M $\phi$ とGM型M $\phi$ のカタラーゼ産生能の違いも両M $\phi$ の結核菌感受性の違いの理由の一つと考えられた。

6) M型M $\phi$ とGM型M $\phi$ の結核菌感染感受性の違いは、オステオポンチン産生能とは関連しないことが明らかになった。

7) M型M $\phi$ およびIL-10処理GM型M $\phi$ でのみ結核菌感染によりHckおよびC/EBP $\beta$ の発現増強が認められたことより、ヒトM $\phi$ の抗結核菌活性の発現とこれらの分子の発現が相関することが知られた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Akagawa K.S., Komuro, I., Kanazawa H., Yamazaki, T., Mochida K. and Kishi, F.: Functional heterogeneity of colony-stimulating factor-induced human monocyte-derived macrophages. *Respirology* 11:S3 2-36, 2006
2. Komuro, I., Yasuda, T., Iwamoto, A. and Akagawa, K.S.: Catalase plays a critical role in the CSF-independent survival of human macrophages via regulation of the expression of Bcl-2 family genes. *J. Biol. Chem.* 280:41137-41145, 2005
3. 赤川清子: マクロファージの多様性とその起源、“生体防御医学事典”(鈴木和男監修)、p132-138, 朝倉書店, 2007

2. 学会発表

1. 赤川清子、金沢裕子、岸 文雄：結核菌感染ヒト単球由来マクロファージにおけるHck 及びC/EBP $\gamma$ の発現、第35回日本免疫学会総会・学術集会、平成17年12月14日、横浜市

G. 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

## 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
岡田全司	結核ワクチン	編集 泉孝英、 富岡洋海	結核 第4版	医学書院		2006	50-58
服部俊夫	内部障害のリハビリテーション	佐藤徳太郎 編	HIV感染症	医師薬出版		2007	213-228
服部俊夫	ウイルス感染とバイオディフェンス		Mebio			2007	16-21
高鳥毛敏雄	ホームレス研究 —釜ヶ崎からの発信—	高田敏・桑 原洋子・逢 坂隆子編	「7 ホームレスの健康と保健・医療」	信山社		2007	172-187
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
中島俊洋	「第2章 遺伝子治療用医薬品等の品質・安全性確保、第6節 非ウイルスベクター」、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保	早川 堯夫 監修		エル・アイ・シー		2007	631-651
赤川清子	マクロファージの多様性とその起源	鈴木和男監 修	生体防御医学事典	朝倉書店		2007	132-138
赤川清子	結核の免疫	泉考英監修	結核 第4版	医学書院		2006	
赤川清子	マクロファージおよび樹状細胞の分化と機能	日本エンドトキシン研究会 編	エンドトキシン研究 9—自然免疫の最前線	医学図書出版		2006	50-57

## 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
岡田全司	Neuritogenic Effects of T Cell-Derived IL-3 on Mouse Splenic Sympathetic Neurons In Vivo.	The Journal of Immunology	180	4227-4234	2008
岡田全司	Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB.	Vaccine	25(16)	2990-2993	2007
岡田全司	Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models.	Vaccine	25(16)	3038-40	2007

岡田全司	Molecular Epidemiology of Mycobacterium tuberculosis-Comparision between Multidrug-Resistant Strains and Pan-Sensitive Strains.	Kekkaku	82(6)	531-8	2007
岡田全司	Pulmonary Mycobacterium avium complex infection associated with the IVS8-T5 allele of the CFTR gene.	Int J Tuberc Lung Dis	11(7)	808-813	2007
岡田全司	Molecular epidemiological analysis of Mycobacterium kansasii isolates.	Kekkaku	82(2)	103-110	2007
岡田全司	Novel Vaccination (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) Against Tuberculosis Using Cynomolgus Monkey.	" 13 <sup>th</sup> International Congress of Immunology " Edit Jorge Kalil, Edecio Cunha-Neto, Luiz Viente Rizzo, MEDIMOUDI ntern		119-122	2007
岡田全司	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		66-69	2007
岡田全司	Novel vaccines against tuberculosis.	Kekkaku	81(12)	745-751	2006
岡田全司	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
岡田全司	Novel vaccination (HVJ-liposome/HSP65 DNA+IL-12 DNA ) against Tuberculosis using cynomolgus monkey.	41st Tuberculosis and Leprosy Research Conference		109-113	2006
岡田全司	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	15	2110-2219	2006
岡田全司	Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using mouse and SCID-PBL/hu mouse models.	Adv. Exp. Med. Biol.	581	561-566	2006
岡田全司	Chemotherapy for pulmonary M.kansasii disease.	Kekkaku	81	41-43	2006

岡田全司	Exogenous re-infection by multidrug-resistant tuberculosis.	Kekkaku	81	80-81	2006
岡田全司	The Development of vaccines against SARS Corona Virus in Mice and SCID-PBL/hu Mice.	Vaccine	23	2269-2272	2005
岡田全司	Novel recombinant BCG- and DNA-vaccination against tuberculosis in a cynomolgus monkey model.	Vaccine	23	2132-2135	2005
岡田全司	Frontier of Mycobacterium Research - Host Vs Mycobacterium. " the 80 <sup>th</sup> Annual Meeting Symposium	Kekkaku	80	613-629	2005
岡田全司	Novel vaccination (HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA and recombinant 72f BCG) against tuberculosis using cynomolgus monkey.	40 <sup>th</sup> Tuberculosis and Leprosy Research Conference US-JAPAN Cooperative Medical Science Program		46-50	2005
岡田全司	新しい結核ワクチンの開発	化学療法の領域			2007
岡田全司	新しい結核ワクチン	感染症	7	14-18	2007
岡田全司	国際ワクチン学会“学会レポート”	感染・炎症・免疫	37	66-67	2007
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	2007
岡田全司	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	61(8)	546-553	2007
岡田全司	新しい結核ワクチンの新展開	最新医学		125-130	2007
岡田全司	新しい結核ワクチンの開発	呼吸と循環			2007 in press
岡田全司	BCGと新たな結核ワクチン	呼吸器科			2007 in press
岡田全司	新しい結核ワクチンの新展開	結核	82(10)	794-797	2007
岡田全司	抗酸菌研究の最前線 新しい結核ワクチン開発	結核	82(10)	794-797	2007
岡田全司	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(6)	531-538	2007
岡田全司	新しい結核ワクチン	感染症	7(1)	14-18	2007
岡田全司	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
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	183-193	2006
岡田全司	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	934-939	2006
岡田全司	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

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
岡田全司	肺カンサシ症の治療. 第80回総会シンポジウム	結核	81(1)	41-43	2006
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
岡田全司	結核ワクチン	呼吸器科	7	63-70	2005
岡田全司	SARSワクチン	医学のあゆみ	214 (12)	1025-1026	2005
菅原 勇	Nude rat (F344/N-rnu) tuberculosis.	Cell. Microbiol	8	661-667	2006
菅原 勇	Experimental evidence for dual infection with two genetically distinguishable Mycobacterium tuberculosis strains using a guinea pig model.	Indian J. Tuberculosis	53	84-91	2006
菅原 勇	Protective efficacy of Recombinant BCG Tokyo (Ag85A) against M. -infected guinea pigs in comparison with that of DNA vaccine encoding Ag85A.	Tuberculosis	87(2)	94-101	2007
菅原 勇	BCG vaccination enhances reistance to M. tuberculosis infection in guinea pigs fed a low casein diet.	Tohoku J Exp Med	211	259-268	2007
菅原 勇	Prenatal exposure to diesel exhaust impairs mouse spermatogenesis.	Inhal Toxicol	19	275-281	2007
菅原 勇	Evaluation of accuracy of clinical diagnosis of TB by annual autopsy report.	Kekkaku	82	165-171	2007
菅原 勇	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
菅原 勇	Histological classification of systemic Mycobacterium avium complex infections in slaughtered domestic pigs.	Comp Immunol Microbiol Infect Dis			2007 In press
菅原 勇	Recombinant BCG Tokyo (Ag85A) protects cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) infected with H37Rv Mycobacterium tuberculosis.	Tuberculosis	87	518-525	2007
菅原 勇	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
菅原 勇	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
菅原 勇	Overview of anti-tuberculosis drugs and their resistance mechanisms.	Curr Reviews Medicinal Chem	11	1177-1185	2007

菅原 勇	Detection of streptomycin resistance in <i>M. tuberculosis</i> clinical isolates from China as determined by denaturing HPLC analysis and DNA sequencing.	Microbes Infect	9	1538-1544	2007
菅原 勇	Comparison of usefulness between VNTR analysis and RFLP in the genotyping of <i>M.</i>	Kekkaku	82	741-748	2007
菅原 勇	Report of the meeting for researchers in charge of TB molecular epidemiology in Japan, China and Korea.	Kekkaku	12	925-927	2007
菅原 勇	Frequency of MDR-TB/XDR-TB strains isolated from chronic Pulmonary tuberculosis patients in Japan.	Kekkaku	12	891-896	2007
菅原 勇	Imaging of pulmonary granulomas by a photon imager.	JJID	59	332-333	2006
菅原 勇	Emergence of Ofloxacin Resistance in Mycobacterium tuberculosis Clinical Isolates from China: gyrA Mutation Analysis by Denaturing HPLC and DNA Sequencing.	J. C. M.	44	4566-4568	2006
菅原 勇	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
菅原 勇	rpoB遺伝子と16SrRNA解析による抗酸菌同定の試み	Kekkaku	81	551-558	2006
菅原 勇	2症例から細菌学的同定された Mycobacterium heckeshornenseについて	Kekkaku	81	603-607	2006
菅原 勇	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
菅原 勇	The effects of inhalation of diesel exhausts on murine mycobacterial infection.	Exp. Lung Res	31	405-416	2005
菅原 勇	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
菅原 勇	Mycobacterium branderi isolated pus of a right pulmonary cavitory lesion.	Jap J Infect Dis	58	187-188	2005
菅原 勇	Diesel exhaust affects immunological action in the placentas of mice.	Environ Toxicol	20	431-440	2005
菅原 勇	The molecular epidemiology of ethambutol-resistant <i>M. tuberculosis</i> in Henan province, China. Jpn.	J. Infect. Dis	58	393-395	2005
野内英樹	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	35(2)	61-63	2007



野内英樹	Rapid Awareness and Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome.	American Journal of Tropical Medicine & Hygiene	73(1)	17-25	2005
野内英樹	Characteristics of Voluntary Counseling and Testing (VCT) Acceptance among Pregnant Women Attending an Antenatal Care Clinic at Lerdsin Hospital.	The Journal of AIDS Research	7	131-140	2005
野内英樹	Identification of an Alternative 5'-untranslated Exon and new Polymorphisms of Angiotensin-converting Enzyme 2Gene:Lack of Association With SARS in the Vietnamese Population.	Am J Med Genet	136(1)	52-57	2005
野内英樹	Polymorphisms of interferon-inducible genes OAS-1 and MxA associated with SARS in the Vietnamese population.	Biochem Biophys Res Commun,	329(4)	1234-9	2005
服部俊夫	Serological response against MAC glycolipid antigens in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).	Microbiology and Immunology			2007 in press
服部俊夫	Increased synthesis of anti-TBGL IgG and IgA with cavity formation in pulmonary tuberculosis.	Clinical Vaccine and Immunology			2007 in press
服部俊夫	Anti-tuberculosis drug susceptibility testing of Mycobacterium bovis BCG.	Int J Tuberc Lung Dis.	11(12)	1334-1338	2007
服部俊夫	Clathrin-dependent entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into target cells expressing ACE2 with the cytoplasmic tail deleted. J.	Virology	81(16)	8722-8729	2007
服部俊夫	Up-regulation of hepatitis C virus replication by human T-cell leukemia virus type I-encoded Tax protein.	Virology	369(1)	198-205	2007
服部俊夫	Small RNA Molecules as Therapeutic Gents for Viral Infectious Diseases.	Journal of Pharmacology and Toxicology	2	103-113	2007
服部俊夫	Efavirenz-induced neurological symptoms in rare homozygote CYP2B6 *2/*2 (C64T).	Int. J. STD AIDS	18(8)	575-576	2007
服部俊夫	Secondary bronchiolitis obliterans organizing pneumonia in a patient with carbamazepine-induced hypogammaglobulinemia.	Thorax	62	100	2007
服部俊夫	Decreased expression of antioxidant enzymes and increased expression of chemokines in COPD lung.	pulmonary pharmacology & Therapeutics	20	596-605	2007
服部俊夫	Increased synthesis of anti-TBGL IgG and IgA with cavity formation in pulmonary tuberculosis.	Microbiology and Immunology	50	131-134	2006

服部俊夫	Anti-tuberculosis drug susceptibility testing of Mycobacterium bovis BCG.	J J Infectious Diseases	59	42-45	2006
服部俊夫	Clathrin-dependent entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into target cells expressing ACE2 with the cytoplasmic tail deleted. J.	The Int. J. Tb Lung Dis.	10	906-910	2006
服部俊夫	Up-regulation of hepatitis C virus replication by human T-cell leukemia virus type I-encoded Tax protein.	The Int. J. Tb. Lung Dis.	9	1052-1053	2005
服部俊夫	Small RNA Molecules as Therapeutic Gents for Viral Infectious Diseases,	Respir. Med.	99	910-917	2005
服部俊夫	Efavirenz-induced neurological symptoms in rare homozygote CYP2B6 *2/*2 (C64T).	Pulm. Pharmacol. Ther.	18	297-302	2005
服部俊夫	Secondary bronchiolitis obliterans organizing pneumonia in a patient with carbamazepine-induced hypogammaglobulinemia.	Microbes and Infection	4	650-657	2005
服部俊夫	Decreased expression of antioxidant enzymes and increased expression of chemokines in COPD lung.	J Microbiol Immunol	3(4)	254-259	2005
服部俊夫	ウイルス感染とバイオディフェンス	Mebio	24	16-21	2007
服部俊夫	補中益気湯のリンパ球活性化作用と臨床症状の軽快を観察した難治性非定型抗酸菌症患者の1例	治療学	40(4)	117(465)-120(468)	2006
服部俊夫	HIVの感染と増殖のメカニズム	診断と治療.	94(12)	24-29	2006
服部俊夫	気道平滑筋のイオンチャンネル	Asthma Frontier	4	38-47	2005
服部俊夫	ステロイド療法と副作用としての感染症	総合臨牀	57(7)	2059-2064	2005
服部俊夫	SARSを含む新興感染症	日本内科学会雑誌	94(9)	211-216	2005
高鳥毛敏雄	Loss of conserved 7-methylguanosine modification in 16SrRNA confers low-level streptomycin resistance.	Mol. Microbiol.	63(4)	1096-1106	2007
高鳥毛敏雄	Development of in-house Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for detection of Mycobacterium tuberculosis and evaluation in sputum samples of Nepalese patients.	JMM			2007 In press
高鳥毛敏雄	The recovery of avium-intracellulare complex (MAC) from the residential bathroom of patients with pulmonary MAC. Clin.	Infect. Dis.	45(3)	347-351	2007
高鳥毛敏雄	ホームレス者の結核の実態とその対策に関する研究－結核検診の3年間の実践から－	結核	82(1)	19-25	2007

高鳥毛敏雄	結核高罹患地域における医療施設外来受診者に対する結核検診の意義	結核	82(5)	455-458	2007
高鳥毛敏雄	世界と日本の現状.新しい診断と治療のABC 呼吸器6結核・非結核性抗酸菌症	最新医学別冊		18-26	2006
高鳥毛敏雄	ドイツにおける一般対策の及びにくい人々に対する保健所活動	公衆衛生	70(2)	106-109	2006
高鳥毛敏雄	多剤耐性結核の菌検出法の進歩	化学療法の領域		1705-1713	2006
高鳥毛敏雄	英国リーズスタディツアー報告 英国公衆衛生制度改革	複十字	308	19-19	2006
高鳥毛敏雄	ドイツにおける一般対策の及びにくい人々に対する保健所活動	公衆衛生	70(2)	106-109	2006
高鳥毛敏雄	結核感染症の現状と今後の策	日本保険医学会誌	103(1)	41-49	2005
高鳥毛敏雄	英国、ロンドンで再興する結核とその対策	公衆衛生	69(3)	203-208	2005
高鳥毛敏雄	救急搬送要保護傷病入院患者の疾病構造と保健医療システムの現状の検討	社会医学研究	22	1-12	2005
高鳥毛敏雄	ホームレス者の健康・生活実態より健康権を考えるーホームレス者の生活習慣病対策からみた考察ー	社会医学研究	22	41-50	2005
高鳥毛敏雄	アウト・リーチ活動により認められた路上・公園・河川敷等野宿生活者の健康実態と医療・保健・福祉制度の課題	社会医学研究	22	51-61	2005
竹田 潔	Bone marrow retaining colitogenic CD4 <sup>+</sup> T cells may be a pathogenic reservoir for chronic colitis.	Gastroenterology	132(1)	176-189	2007
竹田 潔	Enhanced TLR-mediated NF-IL6 dependent gene expression by Trib1 deficiency.	J. Exp. Med	204	2233-2239	2007
竹田 潔	STAT3 signaling within hepatocytes attenuates systemic inflammatory response and lethality in septic mice.	Hepatology	46	1564-1573	2007
竹田 潔	Bone marrow retaining colitogenic CD4 <sup>+</sup> T cells may be a pathogenic reservoir for chronic colitis.	Gastroenterology	132	176-189	2007
竹田 潔	TLR-dependent induction of IFN- $\gamma$ mediates host defense against <i>Trypanosoma cruzi</i> .	J. Immunol.	177	7059-7066	2006
竹田 潔	Key function for the Ubc13 E2 ubiquitin-conjugating enzyme in immune receptor signaling.	Nat. Immunol.	7	962-970	2006
竹田 潔	Detection of pathogenic intestinal bacteria by Toll-like receptor 5 on intestinal CD11c <sup>+</sup> lamina propria cells.	Nat. Immunol.	7	868-874	2006
竹田 潔	Non-cell-autonomous action of STAT3 in maintenance of neural precursor cells in the mouse neocortex.	Development	33	2553-2563	2006
竹田 潔	Persistent expression of PDX-1 in the pancreas causes acinar-to-ductal metaplasia through Stat3 activation.	Genes	20	1435-1440	2006
竹田 潔	Plexin-A1 and its interaction with DAP12 in immune responses and bone homeostasis.	Nat. Cell Biol.	8	615-622	2006

竹田 潔	Limited contribution of Toll-like receptor 2 and 4 to the host response to a fungal infectious pathogen, <i>Cryptococcus neoformans</i> .	FEMS Immunol. Med. Microbiol.	47	148-154	2006
竹田 潔	MyD88-dependent signaling for IL-15 production is important for the development of CD8 $\alpha\alpha$ and TCR $\gamma\delta$ intestinal intraepithelial T lymphocytes.	J. Immunol.	176	6180-6185	2006
竹田 潔	Role of hepatic STAT3 in brain insulin action on hepatic glucose production.	Cell Metab.	3	267-275	2006
竹田 潔	IL-18 is redundant in T-cell responses and in joint inflammation in antigen-induced arthritis.	Immunol. Cell Biol.	84	166-173	2006
竹田 潔	IL-27 suppresses CD28-mediated IL-2 production through Suppressor of Cytokine Signaling 3.	J. Immunol.	176	2773-2780	2006
竹田 潔	$\kappa$ BNS inhibits induction of a subset of Toll-like receptor-dependent genes and limits inflammation.	Immunity	24	41-51	2006
竹田 潔	Toll-like receptors 2 and 4 are differentially involved in Fas-dependent apoptosis in Peyer's patch and liver at an early stage after bile duct ligation in mice.	Gut	5	105-113	2006
竹田 潔	The MyD88-dependent, but not the MyD88-independent, pathway of TLR4 signaling is important in clearing nontypeable haemophilus influenzae from the mouse lung.	J. Immunol	175	6042-6049	2005
竹田 潔	Essential function for the kinase TAK1 in innate and adaptive immune responses.	Nat. Immunol	6	1087-1095	2005
竹田 潔	Reduced prepulse inhibition of startle in STAT6-deficient mice.	Int. J. Mol. Med	16	73-675	2005
竹田 潔	Stat3 in resident macrophages as a repressor protein of inflammatory response.	J. Immunol	175	3354-3359	2005
竹田 潔	Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response.	Immunity	23	19-28	2005
竹田 潔	Macrophage migration inhibitory factor contributes to the development of acute dextran sulphate sodium-induced colitis in Toll-like receptor 4 knockout mice.	Clin. Exp. Immunol	141	412-421	2005
竹田 潔	MyD88, but not Toll-like receptors 4 and 2, is required for efficient clearance of <i>Brucella abortus</i> .	Infect. Immun.	73	5137-5143	2005
竹田 潔	Muramyl dipeptide enhances osteoclast formation induced by lipopolysaccharide, IL-1 $\gamma$ , and TNF- $\gamma$ through nucleotide-binding oligomerization domain 2-mediated signaling in osteoblasts.	Immunol	175	1956-1964	2005
竹田 潔	Priming effect of lipopolysaccharide on acetyl-coenzyme A: lyso-platelet-activating factor acetyltransferase is MyD88 and TRIF independent.	J. Immunol	175	1177-1183	2005