

図19

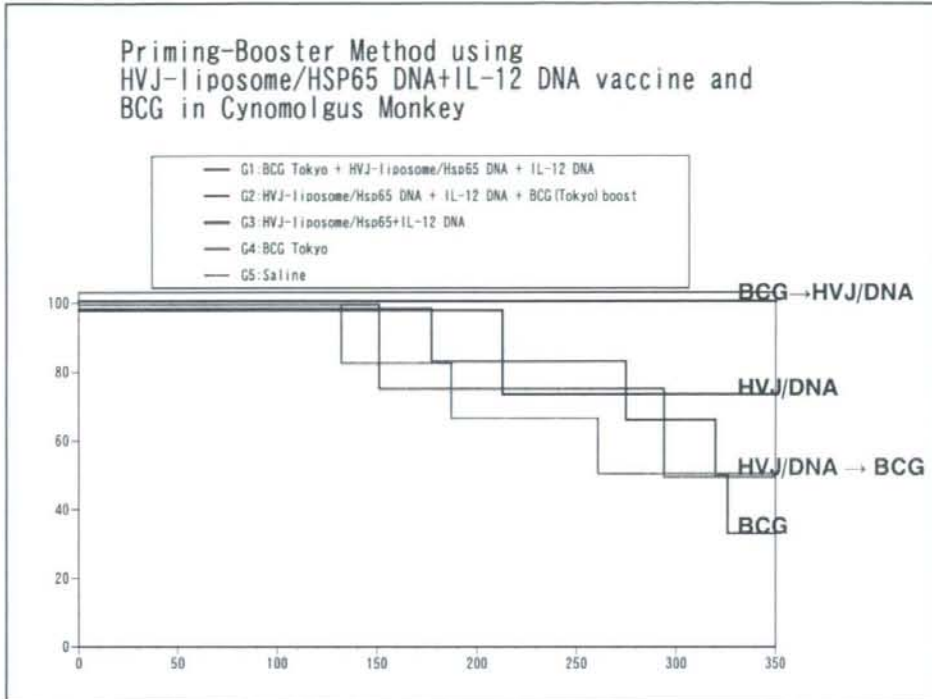


図20

臨床開発用DNAワクチンの構築

HSP-65とIL-12遺伝子は1つのプラスミドで発現される

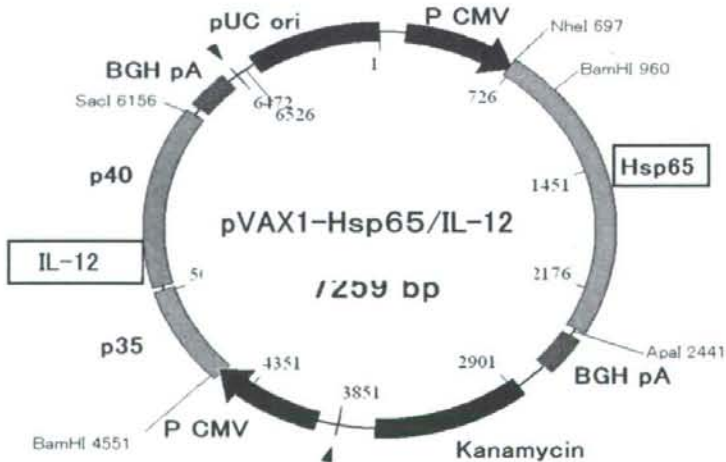


图 2 1

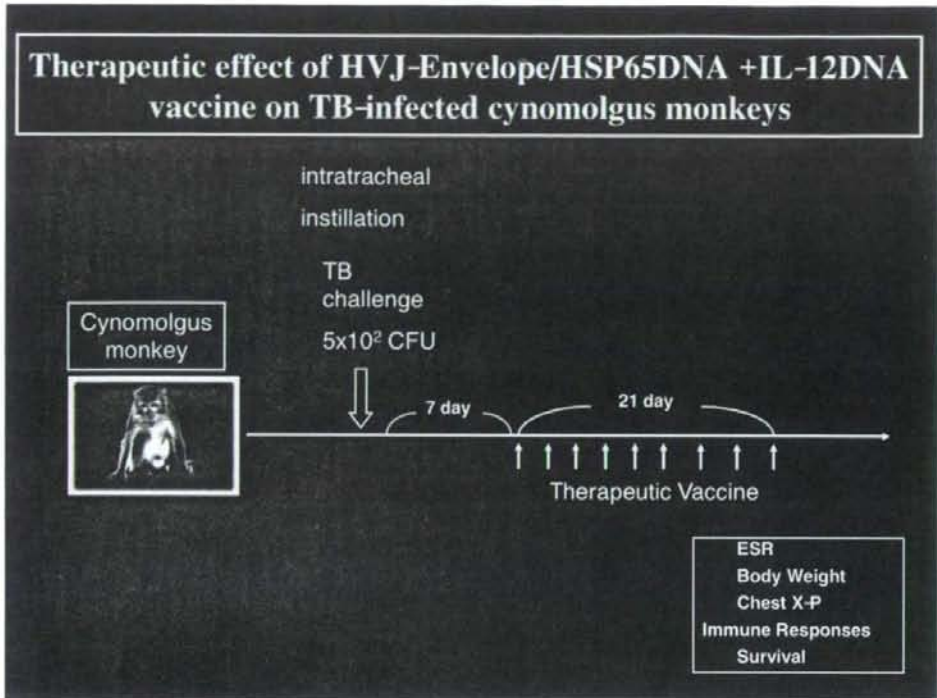


表 1 6

Body weight of cynomologus moukey treated with HSP65DNA+IL-12DNA vaccine

Increase in Body Weight		Survival	
G1 (DNA 9 times)	+	4/5	5/5
	+		
	+		
	+		
	0		
G2 (control saline)	-	1/5	3/5
	+		
	0		
	-		
	-		

図2 2

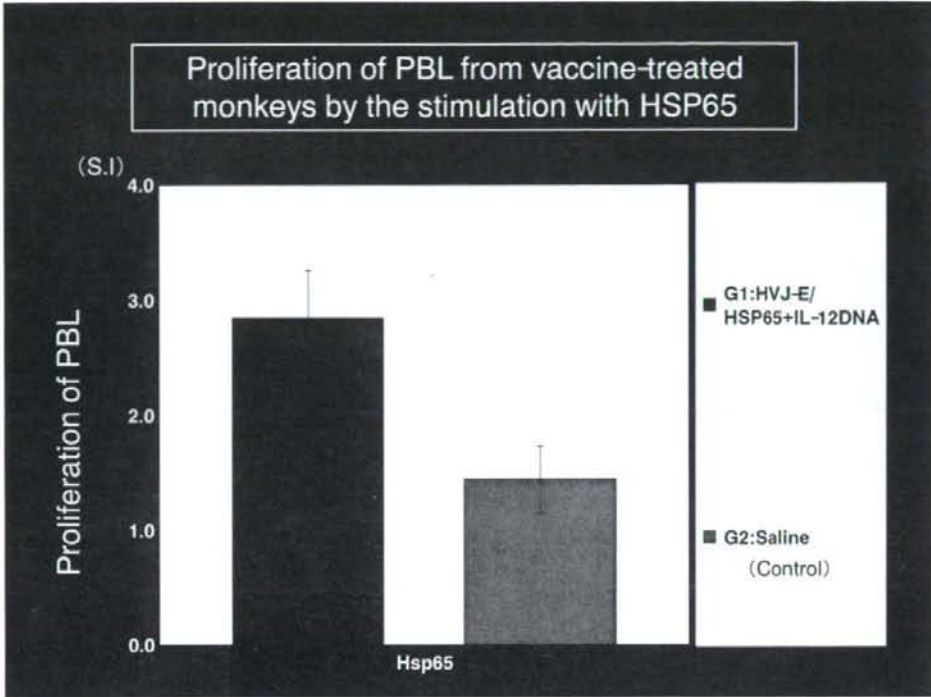


図2 3

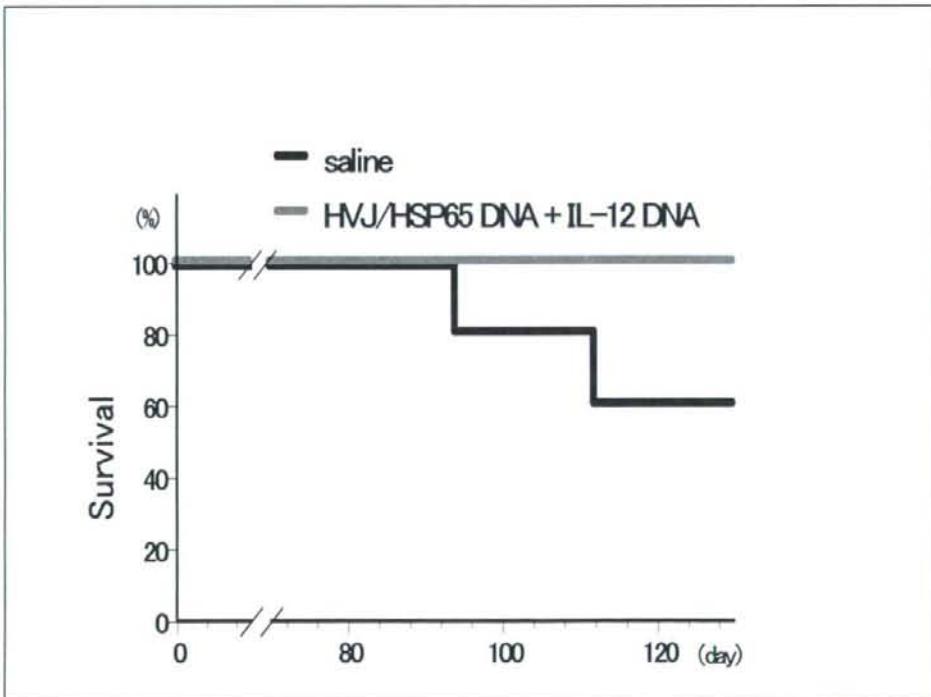


表17

プライム - ブースト長期間間隔を用いた
結核予防ワクチン効果(カニクイザルを用いた)

Prevention of TB using long-term interval between prime and boost, and then challenge TB by the intratracheal instillation into monkeys 4 weeks after last boost. (each group: 5 monkeys)

	prime	— 4 month —	boost	— boost 1 month
Group 1	BCG		HVJ-Envelope/ Hsp65DNA+IL-12DNA	
Group 2	HVJ-Envelope/ Hsp65DNA+IL-12DNA		BCG	
Group 3	HVJ-Envelope/ Hsp65DNA+IL-12DNA		HVJ-Envelope/ Hsp65DNA+IL-12DNA	
Group 4	BCG		(-)	
Group 5	(-)		(-)	

図24

Induction of Cytotoxic T Cells and Killing Mechanism

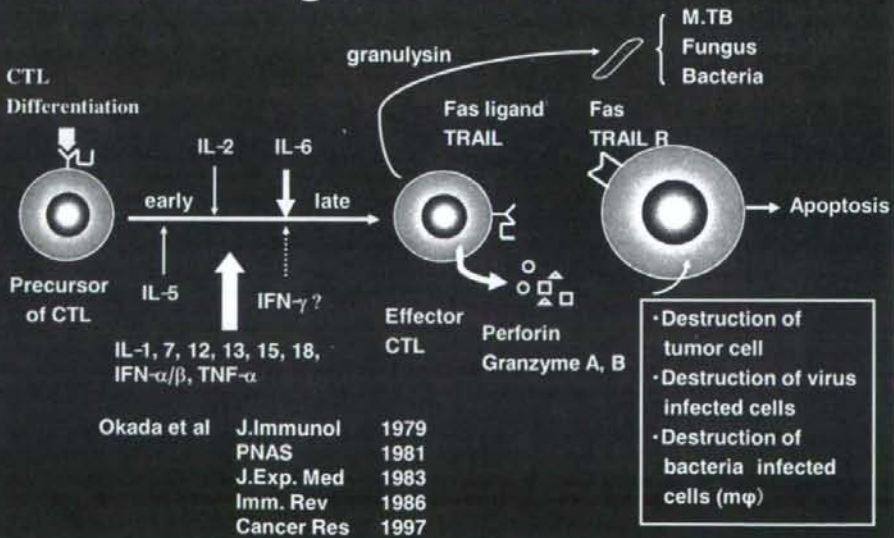


图 2 5

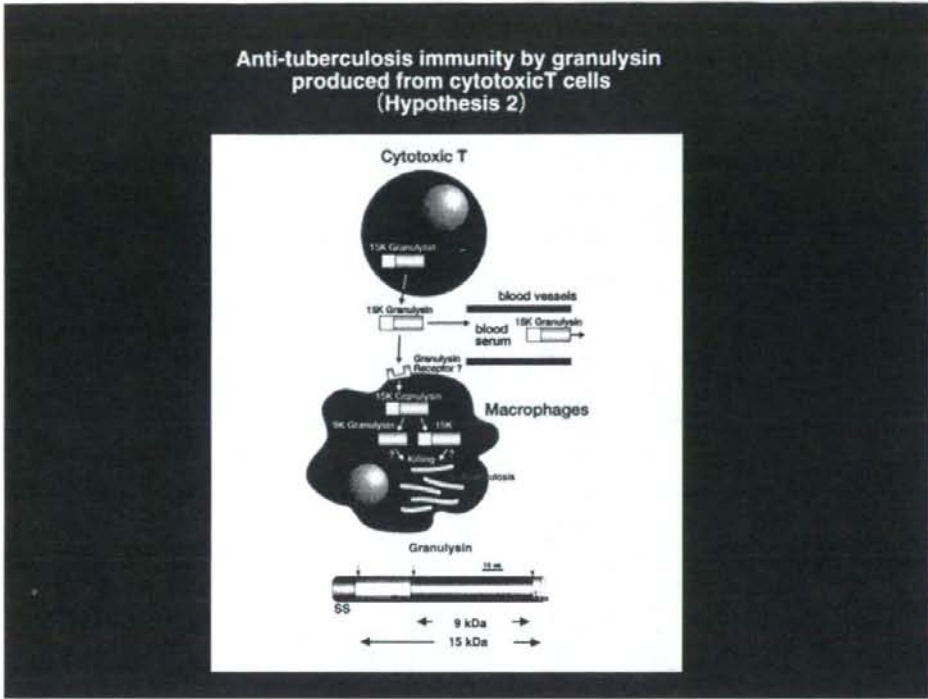


图 2 6

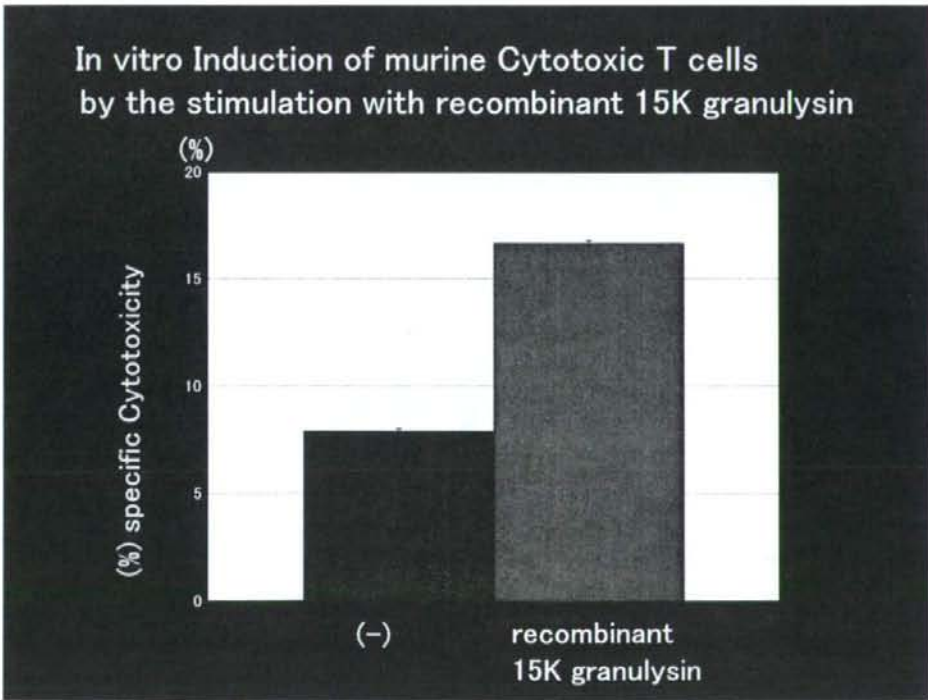


図27

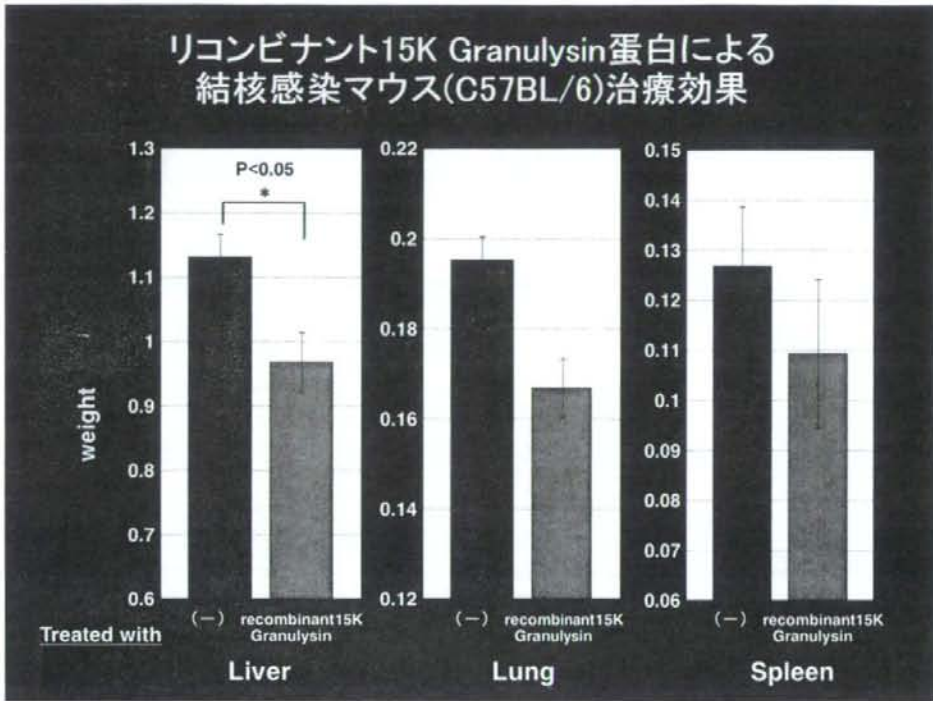


図28

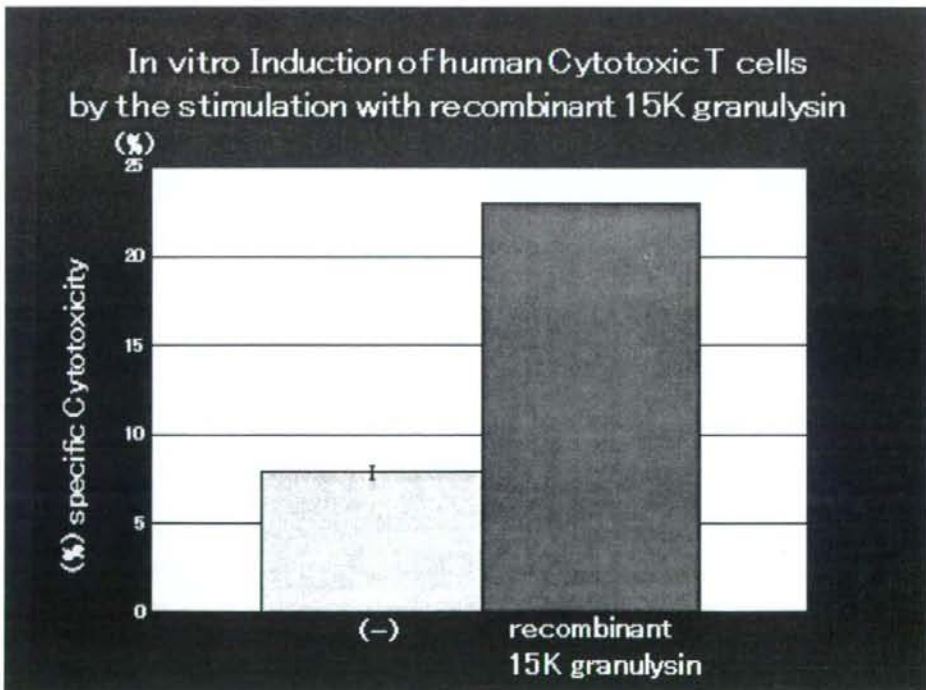


表18



表19

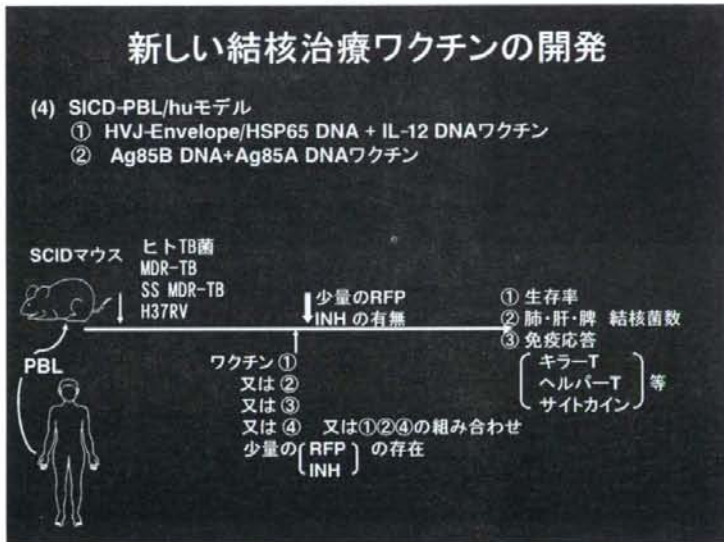


表20

呼吸器疾患（結核を含む）		診療中央							
高度専門医療施設		北海道	東北	関東	中部	近畿	中国	四国	九州
診療区域	施設	青森	岩手	宮城	秋田	山形	福島	茨城	群馬
専門医療施設	高崎中央 高崎第一 高崎第二 高崎第三	青森中央 青森第一 青森第二	岩手中央 岩手第一 岩手第二	宮城中央 宮城第一 宮城第二	秋田中央 秋田第一 秋田第二	山形中央 山形第一 山形第二	福島中央 福島第一 福島第二	茨城中央 茨城第一 茨城第二	群馬中央 群馬第一 群馬第二

D. 考察

I. 日本における外国人結核

- (1) 当センターにおける外国人結核の入院患者の比率は年々増加傾向にある。今回の調査の結果、年齢別では20歳～30歳代の若年層が多く、性別では女性の比率が日本人と比べて高く、国籍別では中国・韓国の患者が多かったが、これらは1990年代の報告と同様であった。結核発症の時期については、入国1年以内の発症の割合は以前に比べて減少しているようである。薬剤耐性に関しては以前の報告と比べて減少傾向であったが、3例が多剤耐性で、うち1例は病院から脱走し治療脱落しており、大きな課題を残している。治癒/治療完遂例は以前と比べて増加しており、翻訳パンフレットの利用や通訳サービス、DOTS徹底などの対策が奏功していると考えられる。

結核菌の分子疫学解析には、IS6110をプローブとしたRFLP解析とVNTR解析を実施する予定である。RFLP解析の手技は確立されており、ゲノム抽出後すぐに実施できる。一方、VNTR解析に関しては、米国疾病管理センターで採用されている方法と、日本独自のJATA (12)-VNTR法がある。後者は、日本及び北京型結核菌の割合が高い地域で前者よりも優れた識別能を有するという報告(結核研究所・前田伸司)がある。本研究においてどちらの方法を採用するのか、プロトコール作成も含めて検討していく。わが国における外国人結核患者は、その国籍、発見動機、治療成績、薬剤耐性などについては地域による差が大きいと考えられる。外国人結核に関して全国レベルで行う実態調査は、輸入感染症としての多剤耐性結核に対する方策を構築する上で必要不可欠である。そして、どの時点でMDRとなったのか(MDRのままにわが国に持ち込んだのか、来日後にMDRにしまったのか)ということ解析することはMDR-TB対策・制御の上で重要と考えられる。

- (2) 結核の統計2008によると、2007年のわが国の外国人結核発症は842人で全結核患者の3.3%を占めている。この割合は欧米の低蔓延国に低い徐徐に上昇している。最も多い年齢は20代で390人で20%を占めている。国立病院機構東京病院では、外国人結核は2.7%で全国より低めである。東京都は外国人結核は179人で、5.3%で年次推移は横ばいである。当院では、中国、韓国、フィリピンが主な出身国である。若年層にみられるように男女差はなく、肺外結核の割合も日本の同年層とかわりが

ない。HIV、MDRが3例ずつありいずれも5.5%で多いが、母数が少ないので推測は避ける。80%に標準治療がおこなわれていた。

今回のデータはカルテの記録から収集したものであるが、国籍や入国、職種などの情報の記録は乏しく、不十分であった。その理由は言葉上の障害、個人情報への配慮等が推測されるが、外国人結核への関心のなさも感じられた。外国人結核の重要性を理解して診療にあたること、必要なポイントを押さえた外国人結核診療マニュアルやアナムネーゼ聴取用の質問票を準備する方がよいと思われた。

- (3) 年齢別患者割合では20代(18.7%)でも最も高かったが、それでも全国の20.3%よりやや低く、相対的にはまだ小さい問題であるが、日本語学校に留学する学生や就職する外国人が多いことから、在留外国人結核の問題は今後とも大きくなると思われる。また、症例は少ないが、在留外国人とその他の大阪府在住の患者との間にVNTR分析で一致した例はない。

今回の集計では、保険に加入している者がほとんどで、不法滞在の者も見られなかった。発見方法で医療機関受診の割合が67.2%で大阪府全体の81.2%より低いのは、在留外国人の大半は若年者で定期健診を受診しているため、健診発見割合が高いことによる。また、健診発見割合が高いことにより、早期発見割合が高く、空洞を有する割合が低い。

予防可能な課題は、来日後、2年以内に発病している事例が半数を占めており、例えば、学校、職場において、来日後2年以内の発病者が多いことを啓発することが必要である。

- (4) 神戸市では平成20年結核新登録患者419名(概数)のうち、外国人または海外居住歴のある者は9名であった。健診で発見された者が2名おり、比較的軽症である者が多かった。20代、入国6ヶ月未満の留学生・就労者が多く、入国前の健診があってもよいのではないかと考えられた。また20代は健診の機会が少ないが、留学生・就労者とも集団生活となることもあり、健診が必要と考えられた。
- (5) 学生の結核では、在留する外国人就学生数が、30691名(1998年)から、50583名(2003年)でピークを取り、その後28147名(2005年)に急減し、その後漸増している(在留外国人統計)。学生の結核患者数の増減は、就学生数が影響すると思われる。労働者の結核については、正規の推定外国人労働者数は40万人(1998年)から

75.5万人(2006年)に増加しており(厚生労働省推計)、常雇の結核患者数は正規の外国人労働者数に影響されると思われる。無職の結核については、不法残留者数が27万人(1998年)から21万人(2004年)まで漸減し、その後15万人(2007年)に急減しており(不法残留者推計)、無職の結核患者数は183名(1998年)から216名(2004年)まで変動しつつ増加したが、その後157名(2007年)に急減した。無職の結核患者数は、不法残留者数に影響される可能性がある。なお、外国人入国者数は1998-2004年の間に、405万人増加(367万人から772万人)したが、その98.2%(398万人)は短期滞在目的であり、その他の増加分は7万人(26万人から33万人)にすぎず(出入国管理統計)、入国者数増加の影響は小さいと思われる。

II. アジア諸国の結核分子疫学研究と宿主要因解析(ネットワーク研究)

- (6) 東アジアの国で広がっている北京型結核菌は、遺伝的背景が異なる株がそれぞれの国で広まっていることが判明した。中国(北京や上海)株は、Modern型の割合が高く、またVNTR 4120の例のようにHGIが日本のものと大きく異なることがわかった。このような北京型株(Modern型)は、最近ヨーロッパ、南アフリカおよびロシアで広がっている北京型結核菌と同じと考えられるため、Supply(15)-VNTRで型別できる可能性もある。他方、韓国で広がっている結核菌は、日本の株と非常に似ていてAncient型が高い割合で検出された。しかし、Ancient型でもRD181欠損が起こっていないRD181陽性株の割合が日本国内で分離された株より高いことが判明した。次年度、それぞれの国から分離された結核菌を用いてminimum spanning tree (MST)解析を行う予定である。このような解析から各国で広がっている結核菌の遺伝的背景が異なるということを客観的に示すことができる。また、MST解析により、各国の結核菌を共通に区別できる適切なlociを選択すれば、本研究の目的である東アジアで共通に利用できるコアとなるVNTRシステムの構築が可能となる。同時に日本国内株と、韓国あるいは中国由来の株等を高い確率で判別できるloci等も明らかにすることができると考えられる。
- (7) 結核菌のRFLP-IS6110パターンは北京株(Beijing family)が52.7%とタイ国の新規結核菌の全国レベルの20.8%、北タイにおける分布の17.

7%[Dhanida Rhienthong et al, 2005]に比して有意に高かった。多剤耐性結核菌の北京株は更に高く66.7%であった。北京株はより病原性が高いという報告がされている点と関連して興味深いので、今後はチェンライにおけるRFLP6110パターンデータベースより新規結核患者の情報を得て、臨床情報を基に詳細な解析を進める。

日本の輸入感染症としての結核対策の為、これらの菌の薬剤耐性・DNA指紋分析パターンの日本での結核例、特にタイ人を含む外国人発症事例との比較検討を日本のデータベースに取り込む事で可能である事が本年度判ったので、来年度以降実施する。タイで認められる耐性結核、難治性結核の菌が日本に伝播しているかどうか、その伝播の理由とルートが検討される。タイで感染した後の内因性再燃であるのか、また日本で感染発病したのか、どこで耐性化が起きたのかを検討する。逆に少数であっても、日本人のタイからの輸入例がないか上記の過程で同定する。研究会会議では、事例であっても同一の菌が日タイで見つかる(特にタイで特有とされているノンタブリ株で)と重要でとのコメントが出された。

- (8) ベトナムにおける薬剤耐性結核は、リファンピシンに対して、イソニアジドの耐性が多いことが特徴であり、これは、ベトナムで採用している結核治療方式が、維持期に、リファンピシンを含まない治療薬剤を組み合わせていることに起因するものと考えられている(2SHRZ/6HE)。今回、ベトナム人多剤耐性結核について、カウンターパートとなるホーチミン市の病院が決まり、多剤耐性結核症例について、具体的な研究プロトコルを協議し、詳細にわたり検討することができた。多剤耐性菌に関しては、ベトナムでもその増加が懸念されており、深刻な問題としてとらえられており、このような研究に、積極的に取り組む姿勢のカウンターパートを得て、速やかに上記プロトコルを完成させ、倫理委員会の承認を得て、来年度、実施する予定である。
- (9) 以前に、東村らは、SM耐性結核菌株はKM, AMKに感受性であると報告している。これらは、いずれも低レベルのSM耐性を問題にしている。我々は、SM高度耐性株であるなら、KM, AMKにも耐性を示すのではないかと考えて実験を行った。中国で得られたSM耐性株は、高度耐性でMICが100 µg/ml以上であった。従って、S

M耐性を考える場合、低レベル、高レベルの2つを考える必要がある。低レベルでは、rpsL変異が見つかり、KM, AMKに感受性を示すが、高レベルでは、KM, AMKに耐性を示すことが多い。これからの、結核治療で考慮すべき点だと考えられる。日本でも、少数ながら見つかり、外国の結核問題だとは考えられない。

Ⅲ. 新結核ワクチン・治療・診断

(10) [将来計画]

1. 開発した結核ワクチン (Hsp65+IL-12 DNAワクチン) を流行地 (アジア地域等) で臨床応用し、結核予防ならびに結核治療を行う。平成18~19年はこのワクチンの第I相臨床試験。
2. 開発した結核ワクチンならびに化学療法剤 (opc) を流行地で活用し、多剤耐性結核治療。
3. 開発したワクチン・診断法を呼吸器ネット及びWHOネットワークを用い、全国・全世界に普及。
4. granulysinとTLR認識をさらに解明し、薬剤耐性を生じない新しい機序の結核治療剤を開発。
5. BCGに代わる1万倍強力な結核ワクチン (Hsp65+IL-12DNAワクチン)・化学療法剤・granulysin予後診断法は日本、世界の結核対策に貢献し、日本国内行政・国際協力施策に極めて重要。
6. 国立病院機構政策医療呼吸器ネットワーク54施設を活用し、多くの国民に実施できる行政施策。
7. スーパー・スプレッダー多剤耐性結核の発見・研究は結核病室の個室化等の重要な行政施策。
8. 新しい結核予防ワクチン・結核治療ワクチン (HVJ/Hsp65+IL-12DNAワクチン) の臨床応用
- (1) 開発した結核ワクチン (HVJ/Hsp65+IL-12DNAワクチン: BCGワクチンより1万倍強力) がマウスのみでなくモルモットの系でもHVJ-リポソーム/Hsp65+IL-12 DNA及びBCGと比較してはるかに強力な予防ワクチン効果を示すことを解明する。
- (2) 開発したこの結核ワクチン (Hsp65+IL-12 DNA) を流行地 (日本、アジア地域、アフリカ、南アメリカ等) で臨床応用し、結核予防ならびに結核治療を行う。
- (3) このワクチン効果はBCGでブライムし開発したワクチンでブースターする方法が最も強く、本邦において乳幼児 (BCG・ブライム) -成人 (開発したワクチン・ブースター) で結核予防を行う。日本では乳幼児にBCGを接種しており、Hsp65+IL-12DNAワクチンは成人ワクチンとして極めて強力なワクチンとなることを証明する。
- (4) 開発した結核ワクチンを流行地 (日本、インド、中国、アジア地域) で活用し多剤耐性結核治療を行う。
- (5) 開発した結核ワクチン・新しい診断法を本邦の国立病院機構政策医療呼吸器ネットワーク (54施設より組織化され、本邦の50%の結核

- 患者診療) を用い、全国に普及させる。当院は呼吸器疾患 (結核を含む) 準ナショナルセンターであり54施設を活用し、統括しうる。
- (6) 開発したワクチン・診断法をWHO STOP TB Partnership (岡田がメンバー) のネットワークを用い、アジア・世界で臨床応用する。
 - (7) HVJ-エンベロープはすでにGMP (Good Manufacturing Practice) レベルであり、純国産のベクターで、基本特許を有することにより、世界に普及させる
 - (8) このワクチンを多剤耐性結核患者に治療ワクチンとして用い、多剤耐性結核の制御と撲滅を目指す。
 - (9) このHsp65+IL-12 DNAワクチンを第一候補ワクチンとして焦点を絞って研究を進展させる。すでにタイ国に臨床試験の共同研究者がいる。
 - (10) 平成19~20年はBCGより1万倍強力なワクチンの第I相臨床試験を行う。さらに、これに基づき第II相臨床試験を行う。第III相臨床試験の後、厚生労働省の認可を得て臨床応用を目指す。
 9. 新しい結核ワクチン組み合わせによる結核撲滅戦略
HVJ/Hsp65+IL-12DNAワクチンとリコンビナント72f BCGワクチンを組み合わせ、更により強力なワクチンを創製する。
 10. 新しい多剤耐性結核化学療法剤の臨床応用
開発した結核ワクチンならびに化学療法剤 (opc及びCPZ) を流行地 (日本、インド、中国、アジア地域、アフリカ) で活用し多剤耐性結核治療を行う。
 11. 自然免疫系に属するマクロファージや樹状細胞はT細胞を中心とした獲得免疫系との連携などにより、結核感染防御に深く関与している。しかし、今回の研究から、結核菌の呼吸器感染において、最初の侵入サイトとなる肺胞上皮細胞が、抗結核応答の最前線の応答場所としてLcn2を分泌することにより、極めて重要な役割を担っていることが明らかになった。Lcn2は、一度分泌されたあと、細胞内に受容体を介して取り込まれ、細胞のアポトーシスを抑制することが報告されている。そのため、結核感染の最前線でも上皮細胞内に侵入した結核菌を細胞内でその増殖を抑制している可能性もあるのではないかと考えている。
 12. 多剤耐性結核・難治性結核の予後診断法の開発
開発した新しい難治性結核予後診断法 (granulysin, KSP37の測定による予後診断法) を流行地、特に日本、アジア地域で活用し知見の収集。
 13. 結核菌殺傷蛋白 (granulysin) の臨床応用
granulysin機能解明とTLR認識をさらに解明し、(開発した多剤耐性結核治療モデルを用い) 薬剤耐性を生じない新しい機序の結核治療剤を開発する。
 14. スーパー・スプレッダー結核に対する制御とTLRアゴニストによる治療剤の開発
(1) スーパー・スプレッダー多剤耐性結核のTLR認識エスケープと感染性を解明。この方法論を用い、流行地での多剤耐性結核の制御研

究を行う。

(2) スーパー・スプレッダー多剤耐性結核の発見・研究結果を踏まえ、本邦の全ての結核病室の個室化等による多剤耐性結核制御を行う。

〔アジアとのネットワーク研究を活用した多剤耐性結核の制御〕

- (11) 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に有益な情報が得られる可能性が示唆された。

- (12) 〔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。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療法を慎重にしながらはい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, KSP371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た。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より、このワクチンを全世界に提供する計画である。

- (13) ① 実験動物による前臨床試験データ取得

現在までに実施した一般毒性試験を中心とする安全性試験のデータは、HVJ-Eの毒性プロファイルや、想定される臨床用量に対して乖離幅を確保できる事を示唆している。これらの結果を基に、今後臨床用量・用法の設定を実施する必要がある。

現在までに、類似の研究としては、センダイウイルス（野生型、組換え型）、ミズルスウイルス、ニューキャッスル病ウイルス（NDV）を利用した臨床試験がある。組換え千台ウイルス以外は、がんを中心に研究開発が進められている。本研究で利用している、HVJ-Eの原料は、上記のセンダイウイルスと同様であるが、不活性化を行ってベクターとして使用している点で、上記の類似例とは全く異なるシステムとなっている。

ただし、上記の類似例の臨床試験では、初回投与時に発熱が認められる事が明らかになっている。この減少は、炎症性サイトカイン (TN

F-α) やインターフェロンの産生誘導によると推測されている。HIV-Eについても、サイトカインを誘導する活性があることから、サイトカイン産生プロファイルで類似する点があれば、類似例の臨床試験での毒性プロファイルを参考にして、より安全性を確保できる臨床デザインを進める必要があると考えられる。

② 治験薬GMP製造技術の確立

ワクチン製造技術の確立として、臨床応用の申請に必要な治験薬GMP製造のデータ取得を進めた。治験薬の場合には、製造バッチ数が少ない事や、製造工程の変更がありうる事から規格設定については暫定規格とする場合が多く、今回の規格設定においても暫定規格として設定している。開発段階が進み、上市品目と同様の製造スケール、バッチ数になった時点で蓄積された製造データを基にして規格設定を行う。今回の原薬製造については、10バッチ以上の製造データを参照して設定している事から、今後製造工程の変更がなければ最終的な規格設定値に近い数値となる可能性もある。

安定性試験については、今回進めた予備安定性試験データ(加速、苛酷)を参考にして、長期安定性試験を実施することになる。予備安定性試験は月単位であるが、長期安定性試験は年単位にする事が予測されるため、予備安定性試験データを詳細に解析して、傾向を正確に判断した上で、慎重に試験デザインを進める必要がある。整備した自社施設での実施を予定しており、臨床試験に向けて少なくとも6ヶ月程度のデータまで取得を進める事を想定している。

- (14) 結核感染に際し、いわゆる免疫細胞ではなく、感染防御の最前線となる上皮系細胞から分泌されるSLPIが結核菌の殺菌作用を有していることが明らかになった。今後、SLPIを用いた抗結核薬の開発などが期待される。
- (15) 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。我々の経験を活かし、全国的に院内感染対策を普及させたい。
- (16) ジェノスカラーRifTBは、従来法によるRFP感受性結果ときわめて高い一致率を示した。また、

本法によりRFP耐性と判定された15例中11例(73.3%)は多剤耐性結核例であり、本法は多剤耐性結核のスクリーニング法としても有用であることが示唆された。本法は臨床検体を採取してから1日以内に結果を得ることが可能であり、多剤耐性結核の迅速な診断、隔離を行う上で有用である。

IV. 先進国の外国人結核

英国では結核患者の診断・治療は結核診療所(TB Clinic)で行われている。この診療所と連携して結核専門看護師(TB Specialist Nurse)が患者の支援を担っている。この地域活動を行っている専門看護師が英国における結核対策の特徴である。移民に対する保健サービスの要となっていた。英国の結核に係る保健医療システムが近年新しい専門組織であるHPAがつくって行われていることが特徴である。英国、およびロンドンの結核は増加傾向にあり、これに対するために英国政府は保健省(DOH)の首席医務監(Chief Medical Officer)に新たな結核対策の行動計画「Stopping Tuberculosis in England: An Action Plan」を作成させた。2004年10月に出されている。英国の結核対策はこの行動計画に沿って進められている。その結核戦略は10の重点行動計画から成り立っている。それは、「結核の積極的な啓発」、「行政当局の強い政策意志の確立」、「高水準で、質の高いサーベイランスシステムの構築」、「最善の治療体制の整備」、「患者を中心にしたサービスの組織的な連携体制の確立」、「最高水準の検査体制の整備」、「地域レベルにおける効果的な結核対策の推進」、「専門職の確保」、「周辺領域の研究の推進」、「結核対策のための国際的な連携体制の構築」というものである。患者発見を含めた結核対策全体の強化が必要であると考えられているが、最後の英国の結核問題の解決の根本は国際的な連携の下で世界の結核問題を解決することとしていた点はわが国も同様な課題を有していると考えられる。

E. 結論

I. 日本における外国人結核

5. 東日本：国際医療センターと東京病院入院の外国人結核患者169名解析。20代、中国、韓国籍。学生と社会人が多い。HIV陽性者6%。薬剤耐性は9.9%、多剤耐性結核は5%。薬剤耐性の獲得は母国(小林、豊田等 結核 2008)
6. 日本全国：調査票(外国人結核および入国者結核)を当班で作製した。班員施設・保健所に配布し、入力施行。全国保健所に配布中(岡田)
7. 日本全国：結核発生动向調査を分析。労働者、学

生等が外国人結核患者数に影響（星野、岡田）

8. 西日本：大阪市・神戸市で外国人結核39名、学生が多く、日本語学校の定期健診必要。VNTR分析で一致例なし。ユーラシア大陸型で、大阪市流行株の型なし。母国で感染例が多い（下内）

II. アジア諸国の結核菌分子疫学研究と宿主要因解析（ネットワーク研究）

4. アジアでの感染伝播状況の解析。3カ国（日本、中国、韓国）の結核研究施設が分子疫学共同研究。IS6110遺伝子とVNTR MST解析で、日本・韓国の結核菌は“祖先型”。上海、ロシアや欧米は“蔓延型”で、遺伝的背景は異なる発見（加藤ら結核2008）
5. ハルビンの結核315株解析中。SM耐性株解析
6. タイに特有な結核株発見。難治性結核でGra産生異常
ベトナムで宿主要因研究

III. 新結核ワクチン・治療・診断

1. ヒト結核に酷似のカニクイザルを用い、HSP65+IL-12 DNAワクチンの結核治療効果を世界で初めて報告（岡田Vaccine出版中）。前臨床試験、一般毒性試験、安全性試験施行
2. GraはキラーT分化因子活性を有す発見。Graワクチンは結核治療効果（喜多・岡田Vaccine出版中）
リポカリン2やSLPI（分泌白血球プロテアーゼ阻害物質）の結核菌殺菌機序（竹田J.I 2008）
3. 多剤耐性結核患者の迅速発見法（rpoB）で迅速入院方法・体制を構築（鈴木 結核 出版中）

IV. 先進国 ロンドンの外国人結核75%。結核対策の中核組織調査（移民専門職員設置）

・研究代表者（岡田全司）（表1, 2, 3, 4）

- (1) 日本全国：外国人結核の診療及び疫学解析の専門家下内、小林、豊田、星野、加藤等の案の改訂を繰り返し、岡田が調査票（外国人結核及び入国者結核）を当班で作製した。班員の各施設・周辺の保健所・病院等に配布し、すでに症例入力を施行した。全国の保健所に配布中。（岡田）（表5）
- (2) 日本全国：結核発生動向調査を分析。外国人労働者、外国人学生、日本人配偶者、不法在留者の人数が外国人結核患者数に影響することを明らかにした。（星野、岡田）
- (3) 平成20年度神戸市内結核届出患者366名中外国人結核9名。神戸市保健所で調査票で調査。
- (4) 新結核治療ワクチン：ヒト結核感染に最も近いカ

ニクイザルを用い、HVJ-E⁺ローブ/HSP65+IL-12 DNAワクチンが結核治療効果を発揮することを世界で初めて報告（岡田,Vaccine 出版中）

- (5) このワクチンの動物実験による前臨床試験データ取得：一般毒性試験、安全性試験。
- (6) 結核菌殺傷蛋白GranulysinはキラーT細胞分化因子活性も有することを発見した。リコンビナント15キログラムGranulysin（特許取得）蛋白ワクチンは結核治療効果（喜多、岡田,Vaccine in press）。
- (7) 多剤耐性結核患者の迅速発見法（rpoB変異）を用い、多剤耐性結核患者迅速入院方法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制を構築した（鈴木、岡田等、結核2008）。

・研究分担者（小林信之・豊田恵美子） 日本における外国人結核：東日本：国立国際医療センター及び東京病院入院の外国人結核患者169名を解析。20代、中国、韓国籍。学生と社会人が多い。HIV陽性者6%。薬剤耐性は9.9%、多剤耐性結核は5%。薬剤耐性の獲得は母国。入国から発症まで1~3年。治療完遂率の向上にDOTS等結核対策関与。

・研究分担者（下内昭） 西日本：大阪市で在留外国人結核患者は30名、20代。中国、韓国籍。学生が多く、日本語学校の定期健診必要。VNTR分析で一致例なし。ユーラシア大陸型で、大阪市流行株の型なし。母国で感染例が多い。

・研究分担者（加藤誠也） アジアでの感染伝播状況の解析。3カ国（日本、中国、韓国）の結核研究施設が分子疫学共同研究会。IS6110遺伝子とVNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”。上海、ロシアや欧米は“蔓延型”で、遺伝的背景は異なることを発見。

・研究分担者（野内英樹・櫻田紳策） タイから日本への伝播の解析。RFLPでタイに特有な結核株（Nonthaburi株）発見。難治性結核でGra産生異常。

・研究分担者（服部俊夫） ハルビンの結核315株で薬剤感受性解析。S-S多剤耐性結核、XDR-TB解析。

・研究分担者（慶長直人） ベトナム結核リファレンスセンターと多剤耐性結核宿主要因（免疫遺伝子）解析。

・研究分担者（竹田潔） リポカリン2やSLPI（分泌白血球プロテアーゼ阻害物質）の結核菌殺菌機序機序解析。

・研究分担者（高島毛敏雄） 先進諸国における移民結核対策：ロンドンでは外国人結核患者が増加し、結核患者の75%と大問題。結核対策の中核組織調査。（移民、ホームレス等の分野に分け専門職員設置。）

・研究分担者（坂谷光則） 発現効率が高いHVJ-E封入製剤調整。安全性・毒性検査。OPCの臨床応用。

【日本における外国人結核】

- (8) わが国における外国人結核患者は増加傾向にあるが、薬剤耐性菌とくに多剤耐性結核 (MDR-TB) 菌の国内への持ち込みが危惧されている。国立国際医療センターでは外国人結核患者を扱うことが多く、ここ数年間に入院加療した外国人結核の臨床像、およびMDR-TB症例について検討した。結核患者の中で外国人の占める割合は年々増加しており、2007年の入院患者は全体の7.2%であった。以前の報告と同様に、20歳～30歳代 (とくに女性)、中国・韓国の患者が多かった。薬剤耐性は減少傾向であったが、3例がMDR-TBで、うち1例は病院から脱走し治療脱落している。治癒/治療完遂率は以前と比べて増加していた。今後は菌の分子疫学的解析を行い、特定の菌株が特定の集団に蔓延しているかどうかを明らかにする。また、わが国全体における外国人結核の実態調査を行うにあたり、研究班全体で調査票を作成した。その作成した調査票の記入を新宿区保健所に依頼し、2007年および2008年における外国国籍の結核新登録患者36名 (約半数は当センターの症例) について調査をした。
- (9) わが国の結核患者発生数は徐々に減少し、低蔓延状況 (罹患率10/人口10万以下) へ近づいてきた。欧米諸国では、自国の結核が減るにつれて外国生まれの人の結核の割合は50%～80%以上を占めている。その割合はまだわが国では結核患者の3.3%に過ぎないが、少しずつ上昇する兆しである。最近の分子疫学手法により、わが国は高病原性で突然変異を起こしやすい北京株のうち古代株が主流であることがわかってきたが、若年層ではアジアで主流をなしている近代株がみられるという。国際社会となり人の行き来は加速する。日本人の結核のみならず、外国人結核も対策のターゲットであり、しっかりしたデータベースが必要になってくる。
- (10) (結果)2007-2008年に登録された在留外国人結核患者は64名(2.1%)であり、年齢別では20代が実数(30名)でも全体に占める割合(18.7%)でも最も高かった。国籍は中国、韓国が最も多く両国で54.7%を占める。職業は学生(高校、大学、専門学校、日本語学校)が最も多く(26.6%)、続いて常勤者(25.0%)であった。保険は大半が国保一般・家族、被用者保険本人・家族15に加入していた。日本語会話能力は滞在年数が経つにつれて、高まるが、最初の6ヶ月はほとんどの者が理解できない。来日後5年以内発病割合は72.1%で、全国の53.4%より高い。2年以内発病が50.8%であり、さらにその内訳は、6ヶ月未満12.5%、6ヶ月以上1年未満10.9%

と、来日直後に発病する者が多い。発見方法は医療機関受診67.2%が最も多く、次に定期健診・個別健診29.7%であった。感受性検査では42名中、多剤耐性(HR耐性)2名(4.8%)であり、国籍は中国と韓国であった。2007年登録患者の治療結果は治癒4名(21.1%)、治療完了(36%)、死亡(結核外)1名、5.3%、中断2名(10.5%)、転出5名(26.3%)であった。結核菌の疫学遺伝子分析として、11例のVNTR分析で、大阪市の他の患者との一致例はなかった。(考察)来日後すぐに発病する者が多いため、学校、職場での健診を強化する必要がある。また、患者に対する健康教育を強化して、日本で治療を完了させるか、帰国する場合に母国の医療機関との連携を強化する必要がある。

- (11) 結核の罹患率は低下してきているが、先進諸国の例から、今後日本でも外国人の結核が増加する可能性が考えられる。神戸市での外国人結核の現状を調査し、問題点を把握し、今後の結核感染予防対策の示唆を得ることを目的とし、外国人の結核患者さんの実態を調査した。平成20年結核新登録患者419名(概数)のうち、外国人は9名で、20代が6名であった。神戸市ではまだ外国人結核の割合は全体としては少ないが、若い世代では割合が高い傾向にあり、その実態を調査しておくことは重要であると考えられる。
- (12) 在日外国人結核患者数の推移について、結核発生动向調査と出入国管理統計、在留外国人統計、不法残留者推計を用いて背景を検討した。外国人結核患者数は739名(1998年)から毎年増加し、931名(2004年)でピークを迎え、その後漸減し2007年は842名だった。外国人結核患者数の変動は、正規労働者、就学生、不法在留者の人数が影響すると考えられた。

【アジア諸国の結核分子疫学研究と宿主要因解析(ネットワーク研究)】

- (13) 近年、日本から中国、韓国への渡航者およびそれらの国々から日本への渡航者が増加している。そのため、結核を含めた感染症が各国に持ち込まれ国内で広まる可能性も考えられる。そこで、日本、中国、韓国において結核菌の分子疫学(型別)担当者と会議を持ち結核に関する状況等の情報交換を行った。共通の反復配列多型(VNTR)結核菌型別システムの構築を目指し、各国で広まっている結核菌の遺伝的背景の解析を行った。中国で広まっている北京型結核菌は、ヨーロッパや米国と同様に9割以上がModern型であった。しかし、日本および

韓国の北京型株は、7割以上がAncient型であった。また、韓国の広まっている結核菌は日本のものと似ているが、RD181領域を持つ結核菌の割合が高い点が異なることが明らかになった。一方、台湾では北京下部株が44.4%で、北部、東部では北京株が数十年間流行株になっていると考えられた。このように、日本、中国、韓国では、共通して北京型結核菌の割合が高いことが知られているが、それぞれの国で広まっている北京型結核菌の遺伝的背景が異なることが明らかになった。

- (14) 結核菌の分析をRFLP等のDNA指紋分析標準タイプングを活用しておこなった。RFLPパターンは、北京株 (Beijing family) が52.7%、ノンタブリ株 (Nonthaburi group) が8.8%、この2つに属さないが6バンド以上の多型群 (Heterogeneous group) が13.2%、2-5バンド群が13.2%、1バンド群が12.1%であり、HIV陰性例における詳細な42例の経時的検討が終了し、40例 (95%) がRFLPパターンが一致し、同じ菌による再燃、2例 (5%) が、RFLPが異なる菌による再感染と考えられた。多剤耐性結核菌では北京株が66.7%であった。タイ国の新規結核菌の全国レベルの20.8%、北タイにおける分布の17.7%。多剤耐性結核菌の北京株は更に高く66.7%であった。
- (15) PPD-でありながら結核菌特異的高原に対して陽性反応を示すアネルギーに、CD4+CD25+ T細胞がサイトカインの産生を制御することで関与していることを示した。ハルビン医科大学との共同研究を継続し、結核症と診断された患者の中に非定型抗酸菌に感染している患者が存在することを、4種類のプライマーを用いたPCRにより明らかにした。
- (16) OPNならびにgranulysin等の細胞障害性顆粒とHIV感染者とHIV合併結核を標的として臨床試料を用いた解析を行った。OPN、granulysinともにHIV感染における結核発症の高いリスクと密接に関わっている可能性が示唆された。
- (17) ベトナム南部唯一の結核拠点病院であるホーチミン市のファムゴックタック病院との共同研究を計画し、多剤耐性結核の宿主要因を免疫遺伝学的な手法により明らかにするための研究プロトコールを作成した。また、薬剤代謝酵素 (NAT2など)、免疫応答関連遺伝子 (Th1系サイトカイン系、エフェクター分子など)、耐性結核の宿主要因の候補遺伝子の特徴的な遺伝子変異、アジア人の遺伝子分布の特徴を明らかにするための遺伝子タイプング法を確立し、患者末梢血全血を用いた遺伝子発現解析のためのリアルタイム逆転

写PCR法による測定系の開発を行った。

- (18) 74のSM耐性結核菌株のうちKM,AMK耐性の有無を調べた。15株が、KM, SM, AMK耐性であった。15株ともrrs突然変異が見つかり、2株は、rrs,rpsL突然変異を有していた。この15株は、SM高度耐性株であり、rrs変異と有意な相関が認められた。
- (19) シンガポールで分離されたイソニアジド (INH) 耐性菌のMICを調べたところ、シンガポールにもINH低レベル耐性菌が存在することが分かった。遺伝子解析の結果、INH低レベル耐性菌23株中16株 (69.6%) のkatGまたはinhA遺伝子に変異がみられ、BACTEC 460 TBの信頼性が確認された。

[新規結核ワクチン・治療・診断]

- (20) 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見出し (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。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。カニクイザルでHVJ/HSP65+IL-12 DNA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。
- 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 (XDR-TB) に対しても治療効果。多剤耐性結核 (XDRTB) に対する強力な治療ワクチンを見出し (マウスの系)。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。
- (21) 結核菌殺傷タンパクである15K及び9K Granulysin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有意に低下を見出し。
- (22) AIDSの蔓延に伴う結核の拡大や、多剤耐性結核菌の出現など、特にアジア地域での制御が緊急の課題となっている結核感染症の治療薬の開発を目的として、新規に開発した治療用DNAワクチンの臨床応用に必要な前臨床研究を行った。そのために、実験動物 (ラット、カニクイザル) による安全性試験を行い、予測される臨床試験での投与用量に対して乖離幅を確保できる事を示

唆するデータを取得した。

また、治験薬GMP製造に関しては、原薬や凍結乾燥HVJ-Eに対する暫定規格の設定を行った上、原薬については10バッチ以上の製造を行って製造データの蓄積を進めた。また、保存安定性の検討のために、加速及び苛酷条件下での短期安定性試験データの取得を行った。今後は、長期保存安定性試験を進める必要がある。

- (23) 結核菌の感染により肺で遺伝子発現が誘導されるsecretory leukocyte protease inhibitor (SLPI)の機能を解析した。マウスに結核菌の感染を感染させると、気道上皮細胞から気道腔内、肺胞腔内にSLPIが2日目をピークに分泌される。Recombinant SLPIは、結核菌の細胞膜の透過性を亢進させることにより殺菌作用を示し、in vitroでの結核菌の増殖を抑制した。SLPIは2つのwhey acidic protein (WAP)ドメインを有しているが、各WAPドメインが結核菌の増殖を抑制した。さらに、WAPドメイン内の陽性電荷を有するアミノ酸が増殖抑制に必須であることが明らかになった。SLPI欠損マウスは、結核菌の気道感染に対する感受性が高いことから、SLPIが生理的にも結核感染防御に関与していることが明らかになった。今後、SLPIを用いた多剤耐性結核菌などへの新規治療法の開発が期待される。

- (24) 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。病院内で多剤耐性結核が感染しない体制の構築が可能となった。

- (25) 多剤耐性結核の感染防止のためには多剤耐性の迅速な診断が必要である。今回我々は、リファンピシン (RFP) の耐性遺伝子であるrpoBの変異を検出することによるRFP耐性迅速診断法と従来の薬剤感受性検査結果の比較検討を行った。耐性遺伝子による診断法は、従来法をgold standardとした場合、感度93.3%、特異度99.7%と優れた結果であった。本法は一日で結果が得られ、耐

性結核の迅速な診断において有用であると考えられた。

- (26) ヒトマクロファージ (Mφ) のHIV感受性を抵抗性に変換することで、HIV増殖を抑制するエリスロマイシン誘導体EM201, EM703は、ヒトMφの結核菌感受性を抵抗性に変換できず、結核菌の増殖を抑制できなかった。

[先進国の外国人結核対策]

- (27) 外国生まれの結核患者の割合が高く、高まん延国からの人々による輸入感染症としての結核問題が大きな課題となっている英国における結核対策の現状を調査し、わが国の結核対策に必要な内容を明らかとすることを目的とした。英国の首都ロンドン、北部イングランドのブラッドフォード、リーズにおいて、輸入感染症としての結核対策として行われている対策について調査を行った。英国では2003年から感染症対策の新しい全国組織 Health Protection Agencyがつくられていた。近年、入国前、入国時に移民に対し健診に力を入れてきていたが費用が高く、健診のカバー率が低いなどの問題がありこの戦略は見直しされている途中であった。今後の対策として、一つは入国後の移民の人々に対するプライマリーケアの中の結核問題の対応力を高めることが最も重要と考えていた。次いで高まん延国の結核対策を支援し、結核罹患率を低下させることが根本的な結核対策であると考えた戦略へ移行しようとしていた。わが国も低まん延国に仲間入りしつつあるが今後同様の課題に対応していく必要がある。

G. 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, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Inoue Y, Matsumoto M, McMurray D.N, Dela Cruz E.C, Tan E.V, Abalos R.M, Burgos J.A, Saunderson P, Sakatani M. :Novel prophylactic and therapeutic vaccine against Tuberculosis. Vaccine. (in press)
2. Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Sakatani M, Okada M. :The study of Novel Vaccination using Granulysin transgenic mice. Vaccine. (in press)
3. Shojima J, Tanaka G, Keicho N, Tamiya G, Ando S, Oka A, Inoue Y, Suzuki K, Sakatani M, Okada M, Kobayashi N, Toyota E, Kudo K, Kajiki A,

- Nagai H, Kurashima A, Oketani N, Hayakawa H, Takemura T, Nakata K, Ito H, Morita T, Matsushita I, Hijikata M, Sakurada S, Sasazuki T, Inoko H.: Identification of MICA as a susceptibility gene for pulmonary Mycobacterium avium complex infection. J.Infect. Dis. (in press).
4. Kobayashi K, Sugawara I, Okada M, Hussey G, Andersen P, Sadoff J C. :Research and Development of vaccines against Tuberculosis. Kekkaku. 2008;83:635-640
 5. Kannan-Hayashi Y, Okamura K, Hattori S, Uwamura M, Higuchi E, Terayama H, Moriyama M, Mukamoto M, Okada M, Ohsugi Y and Nakamura Y.: Neuritogenic Effects of T Cell-Derived IL-3 on Mouse Splenic Sympathetic Neurons In Vivo. The Journal of Immunology. 180: 4227-4234. 2008
 6. Okada M.: The Journal of Gene Medicine Japanese Society of Gene Therapy Young Investigator Award 2008., J Gene Med. 2008:10(12)
 7. Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Evaluation of the discrepant Mycobacterium tuberculosis strains between any ordinary susceptibility testing and rpoB gene analysis by the line probe assay. Kekkaku. 83:577-583.2008
 8. Minamoto S, Tsuyuguchi K, Suzuki K, Okada M, Sakatani M.: An adolescent case of pulmonary MAC infection, found 3 years later from bone marrow transplantation for myelodysplastic syndrome. Kekkaku. 2008;83(8):585-90.
 9. 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 仲谷均, 高尾京子, 岸上知恵.: 感染症に対するワクチン開発とその免疫理論. 臨床免疫・アレルギー科. 50(5):533-542.2008.
 10. 岡田全司.: 特異抗原をターゲットとした Immunotherapy. 日本臨床免疫学会会誌. 31(5):356-368.2008.
 11. 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.: 遺伝子を用いた抗酸菌鑑別同定試薬 INNO-LiPA MYCOBACTERIA v2の有用性の検討. 結核. 84(1):15-21.2009
 12. 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 仲谷均, 高尾京子, 岸上知恵:【結核対策の現状を考える】 新しい結核ワクチンの開発. 呼吸と循環. 56(7): 685-695. 2008
 13. 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 仲谷均, 高尾京子, 橋原里佳, 岸上知恵: BCG と新たな結核ワクチン. 呼吸器科. 13: 99-106, 2008
- (2) 学会発表
1. 藤山理世, 田中賀子, 楳林成之, 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.: 接触度を用いた、結核接触者健康診断時に行った QFT-2G 検査の有用性の検討. 日本公衆衛生学会総会抄録 67 回. 582.2008
 2. 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 野村達次.: リコンビナントグラニュリシン、グラニュリシン DNA によるマウス及び SCID-PBL/hu マウスにおけるキラーT細胞の活性と抗腫瘍効果. 日本癌学会総会記事 67 回 .444-445. 2008
 3. 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.: 院内服薬用飲料水汚染に起因する Mycobacterium chelonae 感染の疑似アウトブレイク. 結核. 83(9):658. 2008
 4. 竹原由紀子, 三室由紀子, 西尾郁子, 宅見久子, 山形久美子, 伴貞彦, 田中賀子, 藤山理世, 河上靖登, 岩本朋忠, 園部俊明, 鈴木克洋, 岡田全司, 坂谷光則.: 若年多国籍集団における、QFT 検査を併用した、接触者健康診断の 1 事例. 結核. 83(9): 65. 2008
 5. 田中賀子, 藤山理世, 樋口純子, 河上靖登, 岩本朋忠, 園部俊明, 鈴木克洋, 岡田全司, 坂谷光則.: 結核菌の遺伝子型別解析を行い、QFT 検査も併用した教育機関での接触者健康診断の 1 事例. 結核. 83(9): 65. 2008
 6. 藤山理世, 田中賀子, 樋口純子, 河上靖登, 白井千香, 千原美枝子, 青山博, 片上祐子, 岩本朋忠, 園部俊明, 鈴木克洋, 岡田全司, 坂谷光則.: 神戸市で QFT 検査を併用した結核患者家族の接触者健康診断事例について. 結核. 83(9): 658. 2008
 7. 露口一成, 吉田志緒美, 鈴木克洋, 岡田全司, 井上康, 林清二, 坂谷光則.: 透析を要する腎不全に合併した多剤耐性結核症例の検討. 結核. 83(9): 657. 2008
 8. 岡田全司.: ワクチン研究の現在と将来 新し

- い結核 DNA ワクチン. 結核. 83(9): 636-637. 2008
9. 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 仲谷均, 高尾京子, 栖原里佳, 岸上知恵, 吉田栄人, 中島俊洋, 坂谷光則, 金田安史, TanE.V., DeraCruzD.L.C., 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. 46: 239. 2008
 10. 藤山理世, 田中賀子, 河上靖登, 白井千香, 青山博, 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QFTを併用した特別養護老人ホームでの結核接触者健康診断 3 事例について. 結核. 83(4): 401-402. 2008
 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, 岩本朋忠: Line Probe Assay を用いた抗酸菌同定キットの有用性の検討(2). 結核. 83(4): 401. 2008
 12. 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 井上義一, 坂谷光則. 新しい結核治療ワクチン (HVJ-エンベロープ/Hsp65+IL-12 DNA) の開発. 日本結核病学会. 4月24・25日
 13. 喜多洋子・金丸典子・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治療ワクチン開発:HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン. 日本結核病学会. 2008年4月24・25日
 14. 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 仲谷均, 高尾京子, 栖原里佳, 岸上知恵, 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 (Hsp65+IL-12 DNA) の効果と CD8 陽性 T 細胞の重要性. 日本呼吸器学会. 2008年6月15~17日
 15. 岡田全司. 結核におけるサイトカインの関与. 日本臨床免疫学会イブニングセミナー. 2008年10月17日
 16. 岡田全司. 特異抗原をターゲットとした Immunotherapy. 日本臨床免疫学会シンポジウム. 2008年10月17日
 17. Masaji Okada, Yoko Kita, Noriko Kanamaru, Satomi Hashimoto, Yasuko Nishida, Hitoshi Nakatani, Kyoko Takao, Kishigami Chie, Yoshikazu Inoue, Toshihiro Nakajima. Activation of CD8 positive T-cells by a novel vaccine (HSP65 DNA+ IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey and mice. 日本免疫学会 2008年12月1~3日
 18. HAYASHIDA Daisuke, TAKII Takemasa, ITO Tsukasa, OKADA Masaji, ONOZAKI Kikuo.: ポリオウイルスベクターを用いた新規結核ワクチンの開発/ Expression of Mycobacterium tuberculosis antigens in poliovirus vector: 日本免疫学会 2008年12月1~3日
 19. Masaji Okada, ¹Yoko Kita, ¹Noriko Kanamaru, ¹Satomi Hashimoto, ¹Yasuko Nishida, ¹Hitoshi Nakatani, ¹Kyoko Takao, ¹Ritsuko Asai, ¹Rika Suhara, ¹Chie Kishigami, ¹Yoshikazu Inoue, ²Toshihiro Nakajima, ²Tetsuji Nagasawa, ³Yasuhumi Kaneda, ⁴Shigeto Yoshida, ⁵Makoto Matsumoto, ⁶Robert Gelber, ⁶Esterlina V.Tan, ⁶E.C.Dela Cruz, ⁷David McMurray, ¹Mitsunori Sakatani.: Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome/HSP65 DNA+ IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB. TBV (TB vaccines for the world, TBV 2008) .4/19~21 (Atlanta, USA)
 20. Masaji Okada.: A novel PROPHYLATIC AND THERAPEUTIC vaccine (HVJ - envelope/HSP65 DNA+ IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model. ICWO. 2008, 9/23~25. 6th ICWO (Italia, Milan)
 21. Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Sakatani M, Okada M. :The study of Novel Vaccination using Granulysin transgenic mice. ICWO. 2008, 9/23~25. 6th ICWO (Italia, Milan)
- 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)
岡田全司, 高森靖, 安井正文
「感染症治療剤 15K granulysin」
特許 4149713号
2008年
岡田全司, 大杉義征
「移植免疫制御剤」 2005年
岡田全司, 吉田栄人, 松本真
「抗酸菌症ワクチン baculo virus /Hsp65DNA」

2005年

岡田全司、吉田栄人、金田安史、松本真

「結核ワクチンHVJ-liposome/Hsp65

DNA+IL-12 DNA」

2005年

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

2002年

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

日本・中国・韓国分子疫学共同研究

分担研究者 加藤誠也 結核予防会結核研究所 副所長
研究協力者 前田伸司 結核予防会結核研究所 抗酸菌リファレンス部
細菌情報科 科長

研究要旨

近年、日本から中国、韓国への渡航者およびそれらの国々から日本への渡航者が増加している。そのため、結核を含めた感染症が各国に持ち込まれ国内で広まる可能性も考えられる。そこで、日本、中国、韓国において結核菌の分子疫学（型別）担当者と会議を持ち結核に関する状況等の情報交換を行った。

共通の反復配列多型（VNTR）結核菌型別システムの構築を目指し、各国で広まっている結核菌の遺伝的背景の解析を行った。中国で広まっている北京型結核菌は、ヨーロッパや米国と同様に9割以上がModern型であった。しかし、日本および韓国の北京型株は、7割以上がAncient型であった。また、韓国で広まっている結核菌は日本のものと似ているが、RD181領域を持つ結核菌の割合が高い点が異なることが明らかになった。一方、台湾では北京下部株が44.4%で、北部、東部では北京株が数十年間流行株になっていると考えられた。このように、日本、中国、韓国では、共通して北京型結核菌の割合が高いことが知られているが、それぞれの国で広まっている北京型結核菌の遺伝的背景が異なることが明らかになった。

研究協力者

韓国

韓国結核研究所
分子疫学部門長 Dr. Park Young-Kil
分子疫学部門 Hee-yoon Kang

中国

中国疾病予防センター(CDC)
結核研究部長 Dr. Zhao Yan-Lin
上海市疾病予防センター(CDC)
結核部門長 Dr. Mei Jian
上海Fudan大学医学部
微生物教室 教授 Dr. Gao Qian

台湾

台湾疾病予防センター(CDC)
抗酸菌リファレンス検査室長
Dr. Ruwen Jou

日本

大阪市立環境科学研究所
和田崇之
神戸市環境保健研究所
岩本朋忠
結核予防会結核研究所
抗酸菌リファレンス部
前田伸司、村瀬良朗、菅原勇

A. 研究目的

近年、日本から中国、韓国への渡航及びそれらの国から

の来日者が増加している。人の移動に伴い結核を含めた感染症がアジア地域内の国々に広まる可能性も考えられる。そこで、迅速で容易に型別結果を比較できる反復配列多型（VNTR）分析を用いた東アジア諸国内で利用できる結核菌型別データベースの構築を目的として共同研究を開始した。VNTR分析では、分析 locus の選択が分解能を決定する上で最も重要である。型別結果比較のためには共通の locus で結核菌の型別を行う必要がある。そのため日本、中国、韓国の分子疫学を専門とする結核研究者で会議を開き議論し、最初にそれぞれの国で蔓延している結核菌の遺伝的背景を解析し、共通に利用できるコアとなるVNTR loci を決定することにした。共通のVNTR分析システムを構築し、型別情報のデータベース化できれば、例えば、各国において広がっている多剤耐性菌や病原性の高い株の型別情報を共用することができる。

B. 研究方法

1. 日中韓分子疫学研究

平成21年1月20日から22日結核予防会結核研究所において研究会議を開催し、各国における結核の状況や対策および型別に関する研究状況について発表してもらい、今後進める共同研究について議論した。（資料1～8参照）

10株程度の分析による予備実験から、日本、中国、韓国で広まっている結核菌は、進化の段階つまり遺伝的背景が異なることが示唆された。そのため、各国で利用できる共通のコアとなるVNTRシステムを共同で構築することにした。さらに、必要ならそれぞれの国で独自にlociを追加することにより、人口ベースの分子疫学調査に応用でき