

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
総括研究報告書-平成 25 年度

潜在性抗酸菌感染症の病態機構の解明及び診断・治療・予防に関する研究
（H23-新興-一般-008）

研究代表者	阿戸 学	（国立感染症研究所・免疫部・部長）
研究分担者	御手洗 聡	（結核研究所・抗酸菌レファレンス部・部長）
研究分担者	松本 壮吉	（新潟大学大学院医歯学総合研究科・細菌学・教授）
研究分担者	杉田 昌彦	（京都大学ウイルス研究所・細胞制御研究分野・教授）
研究分担者	小出 幸夫	（浜松医科大学・理事・副学長）
研究分担者	前倉 亮治	（国立病院機構刀根山病院・副院長）
研究協力者	松村 隆之	（国立感染症研究所・免疫部・主任研究官）
研究協力者	岡部 真裕子	（国立感染症研究所・免疫部・第二室研究員）
研究協力者	松本 真	（大塚製薬微生物研究所・所長）
研究協力者	大原 直也	（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・口腔微生物学・教授）
研究協力者	星野 仁彦	（国立感染症研究所ハンセン病研究センター・感染制御部・第六室長）
研究協力者	山田 博之	（結核研究所・抗酸菌レファレンス部・細菌検査科）
研究協力者	加藤 朋子	（結核研究所・抗酸菌レファレンス部・細菌検査科）
研究協力者	青野 昭男	（結核研究所・抗酸菌レファレンス部・細菌検査科）
研究協力者	近松 絹代	（結核研究所・抗酸菌レファレンス部・細菌検査科）
研究協力者	岡 真優子	（京都府立大学大学院生命環境科学科・准教授）
研究協力者	王 亜軍	（大阪市立大学大学院医学研究科・細菌学・博士研究員）
研究協力者	平山 幸雄	（大阪市立大学大学院医学研究科・細菌学・研究員）
研究協力者	仁木 満美子	（大阪市立大学大学院医学研究科・細菌学・助教）
研究協力者	尾関 百合子	（園田学園女子大学・人間健康学部食物栄養学科・教授）
研究協力者	辻村 邦夫	（浜松医科大学・感染症学・准教授）
研究協力者	瀬戸 真太郎	（浜松医科大学・感染症学・助教）
研究協力者	北田 清悟	（国立病院機構刀根山病院・呼吸器内科・医長）
研究協力者	小林 和夫	（社会福祉法人あそか会・あそか病院・副院長）

研究要旨

世界で約 20 億人（総人口の約 30%、日本：0.25 億人）が結核菌に無症候・潜在性既感染、年間 860 万人（日本：2.1 万人）が結核を発病、130 万人（日本：0.21 万人）が死亡し、結核は甚大な健康被害を与え続けている（2012 年）。90%の感染宿主は無症候潜在性結核菌感染として経過し、発病は約 10%である。結核を制圧するため、活動性結核の発生源である無症候潜在性結核菌感染対策は必須となるが、病態の把握、診断、治療や予防は不十分である。基礎研究成果として、潜在性（休眠）結核菌の生物学的特性、遺伝子発現、や宿主免疫応答を解明した。橋渡し研究成果として、ヒト潜在性結核菌感染の免疫血清診断や結核と近縁 *Mycobacterium avium* complex 感染症の血清診断キットの臨床的有用性が多数例示された。

A. 研究目的

世界で約 20 億人（日本：2,500 万人）が結核菌に既感染、860 万人（日本：2.1 万人）が結核を発病、130 万人（日本：2.1 千人）が死亡し、現在でも、結核は甚大な健康被

害を提供している（2012 年）。活動性結核の発病は感染者の約 10%であり、潜在性結核菌感染や発病に対する機構の解明は結核対策に寄与する。

結核の発症機序には「感染後早期に発症

する「一次性結核」、「潜在性感染から発症する二次性結核（内因性再燃）」や「既感染宿主に再感染し発病（外来性再感染）」があるが、成人結核のほとんど（70%）は「内因性再燃」に起因している。潜在性感染機序の解明は新規診断法、新規抗結核薬や感染曝露後（治療的）ワクチン開発を促進し、結核制圧に寄与することが期待される。

本研究では、潜在性抗酸菌感染に関わる宿主および菌の分子機構を解明し、病態の理解、診断・治療やワクチン標的候補の探索を目的とした。

担当者 研究課題

阿戸 学	潜在性結核菌感染モデルの樹立と研究総括
御手洗 聡	長期保存結核菌株の細菌学的解析
松本 壮吉	潜在性結核の成立を担う菌と宿主双方の分子とその機能解明
杉田 昌彦	休眠結核菌の脂質代謝と免疫応答
小出 幸夫	休眠結核菌由来遺伝子を用いたDNAワクチンの開発研究および宿主応答解析
前倉 亮治	潜在性抗酸菌感染における臨床診断法の開発

B. 研究方法

長期保存結核菌株の細菌学的解析

結核予防会結核研究所抗酸菌部細菌科に1960年代から低酸素培養状態で保存されている *M. tuberculosis* H37Rv 4株を使用した。培養ボトルから結核菌を回収、RNAを精製し、Whole Transcriptome AmplificationでcDNAを増幅し、Agilent社のカスタム合成マイクロアレイにより遺伝子発現解析を行った。

回収した長期低酸素培養菌（NN15株）から得られた活動性結核菌を培養し、低酸素濃度下で休眠菌作製を実施し、RNA抽出ののち遺伝子発現解析を実施した。

結核菌 H37Rv からプロトプラスト様の菌

体を作成した。培養後、Ziehl-Neelsen 染色にて抗酸性を確認し、さらに Middlebrook 7H9+OADC 培地に再接種し、発育した結核菌の形態と染色性を確認した。

潜在性結核の成立を担う菌と宿主双方の分子とその機能解明

各種結核菌蛋白質は、遺伝子導入した大腸菌から抽出を行った。精製した結核菌蛋白質は、ELISA法による抗体価測定用の抗原として用いた。

結核既往歴のない17名の非感染健常者、活動性結核患者15名を対象とした。血清をELISA法により抗体価を測定した。

ホルマリン固定ヒト肺切片を、ヘマトキシリン・エオシン染色、抗酸性（チール・ネールゼン染色）、抗MDP1抗体、抗Antigen85抗体で染色し、顕微鏡下で観察した。

休眠結核菌の脂質代謝と免疫応答

BCG Tokyo 172株を、5%グリセロール、0.05% Tween 80、10% ADC エンリッチメントを含有した Middlebrook 7H9 液体培地中で震盪培養した。クロロホルム/メタノール抽出を行い、脂質分画を得た。この画分を薄層クロマトグラフィーにより展開し、GroMMに相当するスポットをかきとって脂質抽出を行った。分子種はマススペクトロメトリーにより確認した。

GroMM、ホスファチジルコリン、コレステロール、ステアリン酸付加オクタアルギニンを混合し、溶媒を蒸発除去、蒸留水を加え、ソニケーションによりリポソーム化した。

2B4-NFAT-GFP レポーター細胞（山崎晶博士・九大生体防御医学研究所より恵与）に種々の Mincle 遺伝子あるいは変異遺伝子を導入し、リガンド脂質を固相化したプレートで培養した後、フローサイトメトリーを用いて GFP 陽性細胞を検出した。また、抗ヒト Mincle 特異的抗体クローンを単離した。

ヒト Mincle 遺伝子トランスジェニックマウスを作製した。さらにこのマウスをマウス Mincle ノックアウトマウスと掛け合わせることにより、ヒト Mincle のみを発現した

マウス系統を樹立した。GroMM 皮内接種を受けたマウスから皮膚組織を採取し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびギムザ染色を行った。

休眠結核菌由来遺伝子を用いた DNA ワクチンの開発研究および宿主応答解析

結核菌 Erdman 株を感染させた樹状細胞を固定後、抗 LC3 抗体、抗 p62 抗体、抗コピキチン抗体などで免疫染色を行った。LS-1 共焦点レーザー顕微鏡システムを用いて観察した。

樹状細胞の遺伝子ノックダウン実験は siRNA をトランスフェクションすることによって行った。

潜在性抗酸菌感染における臨床診断法の開発

1) 肺 MAC 症診断に対するキャピリア MAC 抗体 ELISA の有用性を、多数例を用いて再検証した。

2) 結核菌接触感染の危険が高い結核病棟に勤務する医師および看護師の内、1 年以内に QFT が陽転化した 13 例を早期潜在感染(Recent LTBI)例とし、休眠菌と増殖菌に由来する各種抗原に対する抗体価を測定した。

倫理面への配慮

生命倫理、動物愛護や遺伝子組換え実験、また、安全対策の観点から、機関で定められた規程に準拠し、機関で承認を得て実施した。なお、利益相反はなかった。

C. 研究結果

長期保存結核菌株の細菌学的解析

NN15、NN16、NN17 及び NN19 株について発現解析結果が得られた。このうち NN19 株については発現を検出できない遺伝子が多数認められたため、解析上不適切と考え対象から除外した。NN15 を基準として、NN16 及び NN17 と各遺伝子の発現量について有意差は無く、本法の再現性が確認された。

長期低酸素培養 NN15 株(長期 NN15)から直接 RNA を抽出した検体と、酸素濃度を 2.5~10% で調整して短期間(21 日間)培養

した NN15 (短期 NN15 O₂ 2.5%、5% 及び 10%) について相互比較を行った。クラスター解析により、短期 NN15 の発現状態が最も近似していた。酸素濃度と発現の関係を解析するため、短期培養株間での発現の変動を解析した。酸素濃度の上昇に従って発現が増加する遺伝子群が 897、逆に低下する遺伝子群が 1,356 認められた。

長期低酸素培養結核菌の形態を検討するために、同様に抗酸性の低下・消失したプロトプラストを作成し、長期低酸素培養株と電子顕微鏡下で比較した。長期培養株及びプロトプラストは増殖期の結核菌に比べて内部構造が単純化しており、細胞壁の厚さも異なっていて形態的にも一定でない。しかしながら、プロトプラストではリボソームと思われる顆粒が増殖期の結核菌と同程度観察されるのに対し、長期培養菌では殆ど認められなかった。

潜在性結核の成立を担う菌と宿主双方の分子とその機能解明

ケニア共和国における、ビクトリア湖畔 Mb QFT 試験で用いられている結核菌抗原、ESAT6 と CFP10 に対する血清抗体を検出した。その結果、T 細胞の IFN-gamma 産生検出同様に、ESAT6 と CFP10 に対する抗体応答は活動性結核患者で顕著であることが判明した。

低酸素センサーである DosR で誘導される蛋白質 (DosR-regulon) 16 種類の蛋白質のうち Acr に対して、一定の高い抗体価が認められ、非感染健常者と活動性結核患者間および非感染健常者と陳旧性肺結核間で有意差が検出された。

Antigen 85A と MDP1 については、陳旧性肺結核患者で高い抗体の産生が認められ、これらの抗体価測定が、発症ハイリスクグループの検出に有用である可能性が示された。

結核菌感染による結核種の肺組織切片の染色を行った結果、結核種中央部が抗酸性染色に濃染し、同部位を Antigen85 抗体が若干、MDP1 抗体が強く染色することが分かった。本結果から、未発症の結核菌感染者の結核肉芽腫内で、実際に Antigen85 や

MDP1 が産生されていることが判明した。

休眠結核菌の脂質代謝と免疫応答

ヒト Mincle 遺伝子をトランスフェクトした 2B4-NFAT-GFP 細胞を、GroMM あるいは TDM を固相化したプレートで培養すると、GroMM あるいは TDM 濃度依存的に GFP 陽性細胞が出現し、ヒト Mincle は TDM と GroMM を認識することが明らかになった。

一方、マウス Mincle はヒト Mincle と異なり、GroMM のみを認識する自然免疫受容体として機能する可能性が示唆された。

そこで、ヒト Mincle トランスジェニックマウスを作製し、ヒト Mincle トランスジェニック/マウス Mincle ノックアウトマウス (hMincle+ マウス: ヒト Mincle のみを発現)、ヒト Mincle による GroMM 認識能の比較検討を行った。

マウスの皮膚に GroMM リポソームを接種したところ、hMincle+ マウスにおいては、多数の細胞の浸潤を認めた。そのうち概ね 40% が好酸球であった。したがって、GroMM に対する好酸球優位の組織応答は、Mincle 依存的に誘起されると結論づけた。

休眠結核菌由来遺伝子を用いた DNA ワクチンの開発研究

樹状細胞に結核菌を感染させると、結核菌を含むファゴソームにオートファゴソーム形成が行われていることが明らかになった。

樹状細胞結核菌ファゴソームにはオートファジーアダプタータンパク質である p62 が局在し、結核菌オートファゴソームの成熟によってオートファゴリソーム形成が起こるとともに、結核菌抗原の抗原提示が促進されることを示唆する。

潜在性抗酸菌感染における臨床診断法の開発

1) 肺 MAC 症 485 例、肺結核 133 例、肺カンサシ症 23 名、健常コントロール 265 名を対象に検討した。感度は 78.6%、特異度 96.9% であり、従来の報告と同様の結果が得られ、補助診断としての有用性が確認された。

2) 休眠菌感染由来の抗体価は他の職

員に比して有意に上昇しており、両関連抗体は有意な正の相関関係を示した。接触感染による結核菌潜在感染も、休眠菌と増殖菌が共存した状態で感染しているものと考えられた。このうち 1 例が発病し、この抗体価は 95% 確立楕円外に増殖菌関連抗体価が陽性方向に大きく外れた症例であった。

D. 考察

潜在性結核菌感染には「結核菌」と「宿主」の要因が関与し、成立していることが考えられる。しかし、活動性結核の発病は感染者の約 10% であり、発病の 70% は潜在性感染に起因している。従って、潜在性抗酸菌感染機構の解明は結核や非結核性抗酸菌感染症対策に寄与することが考えられる。さらに、潜在性結核菌感染者を早期に発見し、治療・予防介入することにより、結核の発病を未然に防止することが可能となる。

休眠結核菌は長期培養条件として比較的低酸素であることが確認された。遺伝子発現解析と微小形態解析では一般的な 1% 酸素濃度下での短期培養株や好気培養株とプロファイルが異なり、いくつかの遺伝子の発現状況からは半休眠状態が想定された。長期培養株に特異的な発現を示す遺伝子も同定されており、潜在結核感染症の理解と診断に有用性が期待される。

ヒト陳旧性や潜在性結核菌感染患者血清は分裂増殖期 (Ag85) および休眠期 (MDP1) 結核菌抗原に対する抗体を含有し、潜在性感染には分裂増殖期および休眠期結核菌が混在している可能性が考えられる。また、未発症者の結核種肺切片を用いて、Antigen 85 と MDP1 の発現を確認した。これらの結果から、Antigen 85 と MDP1 に対する抗体の検出によって結核発症ハイリスクグループを特定できる可能性が示された。

休眠菌による GroMM 産生が潜在性抗酸菌感染の維持に合目的的な菌側応答であり、GroMM はヒト自然免疫受容体 Mincle を介して微小環境を Th2 優位にすることにより Th1 サイトカイン応答による制御を長期に回避する手段として捉えることができる。

休眠期結核菌を標的としたワクチン戦略

として、樹状細胞における抗原提示能の増強は重要である。結核菌オートファゴソーム形成機構と抗原提示能の関係を明らかにして、潜在性結核菌免疫応答を正に調節する因子をアジュバントとして使用することによって、潜在性結核に対するワクチン開発を目指す。

肺 MAC 症診断に対するキャピリア MAC 抗体 ELISA の有用性を、多数例を用いて再検証した。今後、MAC 抗体価が、治療開始や治療終了の指標となるかどうかの検討が課題とされる。

結核菌の休眠菌(MDP1、Acr)と増殖菌(CFP10,ESAT6,Ag85A)感染に由来する抗原を使って、潜在感染から発病の危険が高い前発病状態を正確に診断出来る血清診断キットの開発に本研究の成果を応用できると考えられる。また、結核のより明確な予防内服基準を作成することが可能である。今回は単施設での成績であるので、今後、多施設での検討が必要になる。

E. 結論

- 長期培養株に特異的な発現を示す遺伝子と特徴ある形態が同定された。
- ヒト潜在性結核感染症血清では Ag85A および MDP1 抗原に対する高い抗体応答が認められ、これらの因子をもちこれらの因子を用いた潜在性感染血清診断開発の可能性が示唆された。
- 休眠菌が産生する GroMM はヒト自然免疫受容体 Mincle に認識され、Th2 応答を誘導し、潜在性抗酸菌感染の維持に重要である。
- 結核菌感染樹状細胞では、オートファジーが殺菌と抗原提示に影響を及ぼす因子とである可能性が示唆された。
- キャピリア MAC 抗体 ELISA 検査を非結核性抗酸菌症の診断・治療ガイドラインに反映することが期待される。
- 結核菌の休眠菌と増殖菌感染に由来する抗原を使って、潜在感染から発病の危険が高い前発病状態を正確に診断できるキットを開発し、結核のより明確な予防内服基準の作成に寄与すること

が期待される。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shu, C.C.*, Ato, M.*, Wang, J.T., Jou, R., Wang, J.Y., Kobayashi, K., Lai, H.C., Yu, C.J., Lee, L.N., K.T., Lue. (*S.C.C. and M.A. contributed equally to this work). 2013. Sero-diagnosis of Mycobacterium avium complex lung disease using serum immunoglobulin A antibody against glycopeptidolipid antigen in Taiwan. PLoS One 8(11): e80473.
2. Fukuda, T.*, Matsumura, T.*, M. Ato, M. Hamasaki, Y. Nishiuchi, Y. Murakami, Y. Maeda, T. Yoshimori, S. Matsumoto, K. Kobayashi, Kinoshita T, Y.S. Morita (*T.F. and T.M. contributed equally to this work). 2013. Critical roles for lipomannan and lipoarabinomannan in cell wall integrity of mycobacteria and pathogenesis of tuberculosis. mBio. 4(1):e00472-12.
3. Nishiuchi, Y., Tamaru, A., Suzuki, Y., Kitada, S., Maekura, R., Tateishi, Y., Niki, M., Ogura, H., and Matsumoto, S. 2013. Direct detection of *Mycobacterium avium* in environmental water and scale samples by loop-mediated isothermal amplification. J Water Health, in press.
4. Manabu I, Nagi S., Chadeka E., Mutungi F., Osada-Oka M., Ono K., Oda T., Michinori T., Ozeki Y., Dan Justin Yombo K., Okabe M., Niki M., Hirayama Y., Fukui M., Kobayashi K., M. Matsumoto, M. Shimada, S. Kaneko, H. Ogura, Y. Ichinose, SM. Njenga, S. Hamano, and S. Matsumoto. 2013. Relationship between *Mycobacterium tuberculosis* and hookworm infections among school children in Mbita, Kenya, J Trop Dis. in press.
5. Yamashita, Y., Y. Hoshino, M. Oka, S. Matsumoto, H. Ariga, H. Nagai, M. Makino, K. Ariyoshi, and Y. Tsunetsugu-Yokota. 2013. Multicolor flow cytometric analyses of CD4(+) T cell

- responses to *Mycobacterium tuberculosis*-related latent antigens. *Jpn J Infect Dis* 66:207-215.
6. Tateishi, Y., A. Tamaru, Y. Ogura, **M. Niki**, T. Wada, T. Yamamoto, K. Hirata, T. Hayashi, and **S. Matsumoto**. 2013. Whole-genome sequence of the potentially hypertransmissible multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strain OM-V02_005. *Genome Announc* 1 e00608-13.
 7. Taniguchi, K., T. Takii, S. Yamamoto, J. Maeyama, S. Iho, M. Maruyama, N. Iizuka, **Y. Ozeki**, **S. Matsumoto**, T. Hasegawa, Y. Miyatake, S. Itoh, and K. Onozaki. 2013. Reactivation of immune responses against *Mycobacterium tuberculosis* by boosting with the CpG oligomer in aged mice primarily vaccinated with *Mycobacterium bovis* BCG. *Immun Ageing* 10:25.
 8. **Osada-Oka, M.**, Y. Tateishi, **Y. Hirayama**, **Y. Ozeki**, **M. Niki**, **S. Kitada**, **R. Maekura**, **K. Tsujimura**, **Y. Koide**, **N. Ohara**, T. Yamamoto, **K. Kobayashi**, and **S. Matsumoto**. 2013. Antigen 85A and mycobacterial DNA-binding protein 1 are targets of immunoglobulin G in individuals with past tuberculosis. *Microbiol Immunol* 57:30-37.
 9. Fukuda, T., T. Matsumura, **M. Ato**, M. Hamasaki, Y. Nishiuchi, Y. Murakami, Y. Maeda, T. Yoshimori, **S. Matsumoto**, **K. Kobayashi**, T. Kinoshita, and Y. S. Morita. 2013. Critical roles for lipomannan and lipoarabinomannan in cell wall integrity of mycobacteria and pathogenesis of tuberculosis. *MBio* 4:e00472-00412.
 10. **仁木 満美子**, **松本 壮吉**. 2013 . 鉄代謝およびイソニアジド耐性にかかわる結核菌分子の機能と治療法開発の可能性。化学療法の領域、Vol29 2 号、P119-124 .
 11. Morita, D., Miyamoto, A., Hattori, Y., Komori, T., Nakamura, T., Igarashi, T., Harashima, H., **Sugita, M.** 2013. Th1-skewed tissue responses to a mycolyl glycolipid in mycobacteria-infected rhesus macaques. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 441: 108-13.
 12. **瀬戸真太郎**, **辻村邦夫**, 堀井俊伸, **小出幸夫**. 2013. 結核菌の細胞内寄生戦略. *医学のあゆみ*. 246: 474-478.
 13. Hozumi H, Tsujimura K, Yamamura Y, Seto S, Uchijima M, Nagata T, Miwa S, Hayakawa H, Fujisawa T, Hashimoto D, Inui N, Suda T, Chida K, **Koide Y.** 2013. Immunogenicity of dormancy-related antigens in individuals infected with *Mycobacterium tuberculosis* in Japan. *Int J Tuberc Lung Dis.* 17:818-824.
 14. **Seto S, Tsujimura K,** Horii T, **Koide Y.** 2013. Mycobacterial survival in macrophages in the lung as a result of coronin-1a inhibition of autophagosome formation. In *AUTOPHAGY: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, and Infection.* Hyatt MA. edited. Elsevier. 161-170.
 15. **Seto S,** Sugaya K, Nagata T, Horii T, **Koide Y.** 2013. Rab39a interacts with phosphatidylinositol 3-kinase and negatively regulates autophagy induced by lipopolysaccharide stimulation in macrophages. *PLoS One.* 8:e83324.
 16. **Seto S, Tsujimura K,** Horii T, **Koide Y.** 2013. Autophagy adaptor protein p62/SQSTM1 and autophagy-related gene Atg5 mediate autophagosome formation in response to *Mycobacterium tuberculosis* infection in dendritic cells. *PLoS One*:8: e86017.
- ## 2 . 学会発表
1. **北田清悟**, **前倉亮治**, 藤川健弥 .2013 . 肺 MAC 症診断におけるキャピリア®MAC 抗体 ELISA の臨床的有用性 .第 88 回日本結核病学会総会 (千葉、3 月) .
 2. **岡 真優子**, **松本 壮吉**, **尾関 百合子**, 市川 寛, 南山 幸子. 2013. 結核菌感染に対するマクロファージの生体防御機構. 第 66 回日本酸化ストレス学会 (名古屋市、6 月).
 3. **岡 真優子**, **松本 壮吉**, **尾関 百合子**, 南山 幸子. 2013. 宿主細胞内で増殖する結核菌のエネルギー産生と増殖機構.

- 第7回細菌学若手コロッセウム。(広島県三原市、8月)。
4. Nishiuchi, Y. and **S. Matsumoto**. 2013. *Mycobacterium avium* Infects Human Erythrocytes *in vitro*. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting in Japan. (札幌、8月)。
 5. **Osada-Oka, M., S. Matsumoto, Y. Ozeki, Y.** Minamiyama. 2013. Ferritin superfamily protein-like activity in mycobacterial DNA-binding protein 1. 6th Joint Meeting of The Societies for Free Radical Research Australasia and Japan. (Sydney, Australia、9月)。
 6. **松本 壮吉**. 2013. 抗酸菌の潜伏感染や薬剤抵抗性に関わる分子メカニズム. 第86回日本ハンセン病学会総会・学術大会。(さいたま市、9月)。
 7. **Mitarai S, Hoshino Y,** Kato T, **Aono A, Chikamatsu K, Yamada H.** 2013. Gene expression analysis of 40-years' hypoxic culture of *Mycobacterium tuberculosis*. Int J Tuber Lung Dis 2013; 17: S528. 44th world conference on lung health of the international union against tuberculosis and lung disease. (Paris, France. 10月)。
 8. **Kitada, S** K. Yoshimura, K. Miki, M. Miki, M. Mori and **R. Maekura**. 2013. Utility of a serodiagnostic kit for diagnosing *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease in Japan The 44th Union World Conference on Lung Health(Paris France 、10月)
 9. 戸田 彩季、瀬戸 俊之、時政 定雄、新宅 治夫、**松本 壮吉**. 2013. BCG ワクチン接種が原因と思われる骨髄炎の幼児. 第54回日本熱帯医学会大会。(長崎市、10月)。
 10. 井上 学、**岡 真優子、仁木 満美子、尾関 百合子**、一瀬 休生、濱野 真二郎、**松本 壮吉**. 2013. ケニア共和国 Mbita 地区の児童における結核菌感染と鉤虫感染の関連. 第54回日本熱帯医学会大会。(長崎市、10月)。
 11. **岡 真優子**、立石 善隆、**平山 幸雄、尾関 百合子、前倉 亮治、小林 和夫、松本 壮吉**. 2013. 潜在性結核のバイオマーカーとしての抗 Antigen85 および Mycobacterial DNA-binding protein 1 抗体. 第54回日本熱帯医学会大会。(長崎市、10月)。
 12. 前山 順一、山崎 利雄、山本 十糸子、林 大介、**松本 壮吉**、網 康至、伊保 澄子、山本 三郎. 2013. 結核ブースターワクチンとしての結核菌組換えタンパク MDP1 および TLR9 リガンド G9.1 アジュバントの結核菌噴霧感染による評価. 第17回日本ワクチン学会学術集会。(津市、11月)。
 13. **杉田昌彦**. 2013. CD1 と獲得免疫. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会。(東京、11月)。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし