

24. ハンセン病研究センター

()病原微生物部

部長 牧野正彦

概要

ハンセン病新患患者数は徐々に減っているもののいまだに年間数十万人を数えている。ハンセン病を文字通り制圧するためには、有効に作用するワクチンの存在が不可欠である。当部においても有効かつ信頼に足るワクチンの開発を主な研究テーマの一つとして取り上げている。ハンセン病は多菌型と少菌型に大別されるが、少菌型ハンセン病においては菌体成分に対する細胞性免疫、とりわけ獲得性免疫応答が作用し、菌の体内分散を防いでいる。そこで、少菌型ハンセン病患者 T 細胞が生体内において認識している菌体分子を同定することがワクチンの開発に結びつくと思定し、少菌型ハンセン病患者血清を用いてらい菌をスクリーニングした。その結果、らい菌の細胞膜に存在する Major Membrane Protein-II (MMP-II) が同定された。本分子は、樹状細胞やマクロファージなど抗原提示細胞を活性化し種々のサイトカインを産生すると同時に T 細胞をも活性化した。さらに、少菌型患者メモリー T 細胞は正常健常者に比し、より強く MMP-II に反応することが明らかになり、目的とした分子である可能性が強く示唆された。今後、ハンセン病に対するワクチンと成り得るか検討を加えていきたい。さらに、MMP-II に対する抗体が少菌型ハンセン病患者血清中に存在したことから、MMP-II が血清診断に応用可能である可能性が示唆された。多菌型患者の 80%、少菌型患者の 40% 強が MMP-II 抗体陽性であり、従来の PGL-I に比し有効であることが判明した。国際共同研究を通じハンセン病濃厚流行国での有用性を検討する。ハンセン病の確定診断には、らい菌の遺伝子診断法、特に PCR 法を用いた検査法が有効である。しかし、高価な機械を必要とするため途上国ではなじまない側面を有していた。この点を凌駕するため、恒温槽があれば検査が完了する等温遺伝子増幅法(LAMP 法)を確立した。また、

病原体を安全に検査室まで運ぶ FTA カードを組み合わせた方法の開発にも成功した。今後、途上国への技術移転を図り、国際的厚生行政に貢献したい。つくば霊長類センターと共同でカニクイザルを用いたハンセン病モデル動物の作製研究を展開している。らい菌の投与ルート、投与回数、投与量などの基本的なデータの蓄積を行っているが、カニクイザルのハンセン病発症には至っていない。ヒトと同様サルにおいても、らい菌感染から長時間を経て病変が発症するものと推定している。

らい菌は細胞内寄生性菌であるが、生体防御機構をかいくぐり細胞内に長期に宿る免疫学的機構、特に TCR と TACO の関係あるいはサイトカインの果たす役割についても昨年に引き続き研究を行った。薬剤耐性菌は、「ハンセン病新時代」の中核を成す重要な研究課題の一つである。薬剤耐性菌に見られる薬剤ターゲット遺伝子の突然変異が、直接的に薬剤耐性に関わっているかを知るためモデル菌の作製を試みている。本試験法が確立されれば、従来の疫学調査を待たずして結論が得られるため、難治性ハンセン病患者には大きな福音となる。非結核性抗酸菌の研究では、糖脂質 Glycopeptidolipid (GPL) の糖移転酵素遺伝子を解析した。その結果、非病原性菌である *M. smegmatis* と病原性菌 *M. avium* では、共通した糖移転酵素とそれぞれに特異的な酵素の両者を有していて、両者が働いてそれぞれの菌に特徴的な GPL を形成していることを明らかにした。

最後に人事についてであるが、ヒューマンサイエンス財団からの流動研究員として活躍していた稲垣勝也が中途退所してアメリカ合衆国へ留学した。

業績

調査・研究

I. 抗酸菌の病原性因子と病変発症機構に関する研究

病原微生物部

1. 抗酸菌糖脂質 Glycopeptidolipids (GPLs)糖鎖生合成の解析

M. avium や *M. smegmatis* などの抗酸菌には GPLs が存在する。GPLs 生合成における糖鎖形成機構を解明するため、糖転移酵素遺伝子の破壊株を *M. smegmatis* により作製した。破壊株より抽出した GPLs を構造解析した結果、骨格部分の糖鎖は複数の転移経路を経て形成され、さらに末端部分では *M. smegmatis* は *M. avium* と異なった糖鎖生合成を持つことが判明した。

[宮本友司、向井 徹、中田 登、前田百美、甲斐雅規、中 崇(BCG 中央研究所)、矢野郁也(BCG 中央研究所)、牧野正彦]

2. 抗酸菌糖脂質 Glycopeptidolipids (GPLs)の細胞内寄生に与える影響

GPLs の糖鎖構造が変化した糖鎖転移酵素遺伝子の破壊株及び過剰発現株を *M. smegmatis* において作製し、J774 細胞へ感染させ、経時的に細胞内細菌の CFU を測定して各株の細胞内寄生性を算出した。その結果、野生株型 GPLs とは異なる糖鎖が付加された *gtf3* 遺伝子過剰発現株において野生株の 10~100 倍の CFU 値が認められ、GPLs の糖鎖構造が細胞内寄生に影響を与えることが示唆された。

[宮本友司、向井 徹、中田 登、前田百美、甲斐雅規、中 崇 (BCG 中央研究所)、矢野郁也 (BCG 中央研究所)、牧野正彦]

3. らい菌 2 成分情報伝達系の解析

らい菌 2 成分情報伝達系 SenX3-RegX3 の機能を解析した結果、第 2 成分 RegX3 がほとんど機能していないこと、原因として RegX3 遺伝子上流部分の欠失のためであることが判明した。しかし第 1 成分 SenX3 のプロモーター活性を lacZ レポーター遺伝子を利用し調べた結果、結核菌 SenX3 とほぼ同等の活性が観察された。また、このプロモーター活性は、らい菌 SenX3-RegX3 は RegX3 がほとんど機能していなかったにもかかわらず、らい菌 SenX3-RegX3 領域を強発現させると活性が上昇することから、RegX3 はリン酸化の有無にかかわらず SenX3 プロモーターに結合し、オートレギュレーションの可能性が示された。現在遺伝子破壊株を作成してい

る。

[甲斐雅規、中田 登、P. J. Brennan

(コロラド州立大学)、牧野正彦]

4. サル由来シュワン細胞を用いた神経障害機構の解明

らい菌のシュワン細胞への感染がヒト末梢神経障害の誘導に深く関与しているが、その障害機構は未だに不明である。そこで、私たちは幾つかのサル由来シュワン細胞株を樹立した。これらシュワン細胞は、MHC クラス I 抗原は発現していたが TLR2 などのレセプターは発現していなかったが、らい菌感染またはらい菌膜画分の刺激により、サイトカイン産性が誘導されることが明らかとなった。

[前田百美、遠藤真澄(生体防御)、寺尾恵治(筑波医学実験用霊長類センター)、牧野正彦]

5. らい菌感染モデルサルの樹立

ワクチン開発において、候補抗原の効果判定、安全性の確認が必要になる。そのため、系統的ならい菌感染サルの樹立を目的とした。幼若カニクイサルへ、鼻腔内、鼻尖皮下、静脈の 3 経路を選択し、らい菌を接種した。11ヶ月後鼻尖皮内にらい菌の存在が確認された。鼻腔内投与では、接種後3ヶ月まで鼻腔内洗浄液に菌の存在が確認された。

[向井 徹、松岡正典(生体防御部)、鈴木幸一、寺尾恵治(筑波医学実験用霊長類センター)、小野文子(予防衛生協会)、牧野正彦]

6. 抗酸菌の細胞内寄生と自然免疫活性化のバランス決定の分子機構に関する研究

抗酸菌は宿主マクロファージのファゴゾーム内で様々な殺菌機構から免れて寄生する。ファゴゾームとライソゾームの融合阻害に関わる蛋白として CORO1A が見い出された。我々は、CORO1A の発現がマクロファージにおける TLR シグナルを抑制することを示し、その作用には CORO1A の coiled-coil モチーフと WD リピートの両方の構造が必要であることを示した。一方、マクロファージにおいては、抗酸菌感染、TLR リガンド刺激、活性化ビタミン D3 処理等で、CORO1A mRNA 発現量が低下することを示した。

病原微生物部

[鈴木幸一、中田 登、牧野正彦]

7. らい菌が持つ多くの偽遺伝子に関する研究

らい菌全遺伝子領域の約 98%をカバーするコスミドライブラリーを膜にスポットし、らい菌由来標識 cDNA をプローブにアレイ解析を行い、さらにサザン法にて発現遺伝子を同定した。その結果、偽遺伝子の多くが強く発現しており、その発現量が感染によって変化することが判明した。このことから、これら偽遺伝子由来 mRNA がたの遺伝子発現に影響を与えている可能性を示した。

[鈴木幸一、中田 登、牧野正彦]

球を刺激し、細胞性免疫応答の誘導に重要な IL-12 を産生することを明らかにした。今回 LpK の N 末端 13 アミノ酸配列を含む合成リポペプチド Palmitoyl-Cys (2,3-di(palmitoyloxy)-propyl)-Leu-Pro-Asp-Trp-Leu-Ser-Gly-Phe-Leu-Thr-Gly-Gly-OH (lipoK) を合成し、抗原提示細胞の活性化を検討した。その結果、lipoK は抗原提示細胞上に発現する TLR2 を認識し、単球由来樹状細胞の抗原提示能を増強した。従って、lipoK はらい菌感染防御機構に重要な役割を担っていることが明らかになった。

[前田百美、牧野正彦]

II. 生体防御機構とワクチン開発に関する研究

1. 新しい T 細胞活性を示すらい菌分子の探索

ハンセン病に対する有効なワクチンの開発は切望されている。今回らい菌の細胞壁画分に注目し、最も高い T 細胞活性を示す画分を探索した。水溶性の細胞壁画分に比べて非水溶性画分が高い T 細胞活性を示し、さらに非水溶性画分をクロロフォルムとメタノール (2:1) を用いて分離したところ、脂溶性画分より、非脂溶性画分の活性が高く、さらに非脂溶性画分を熱処理したところ、T 細胞刺激活性は若干低下した。このことから、蛋白質以外の糖質などの関与が示唆された。

[前田百美、牧野正彦]

2. 新しいワクチン候補分子 MMP-II の抗原性の評価

新たに同定されたタンパク Major Membrane Protein (MMP-II) を樹状細胞にパルスすると自己のナイーブ及びメモリー T 細胞の両者を刺激し、IFN- γ 産生性タイプ 1 CD4 陽性および CD8 陽性 T 細胞を活性化した。ナイーブ T 細胞の反応性は正常健常者とハンセン病患者で差はなかった。しかし、メモリー T 細胞においては、少菌型ハンセン病患者では、T 細胞反応は正常健常者に比し著しく亢進していた。従って、MMP-II は生体内で認識され得る抗原性に富んだらい菌由来抗原であることが明らかとなった。

[前田百美、向井 徹、石井則久(生体防御)、牧野正彦]

3. らい菌特異的リポ蛋白 LpK の免疫学的な解析

これまでに、らい菌のリポ蛋白 LpK はヒト末梢血単

4. 鼻腔を介したワクチン投与法の開発

らい菌の感染経路の一つとして鼻腔が考えられる。鼻腔内に効率的な粘膜免疫を誘導することを目的とし、粘膜の抗原補足細胞 M 細胞と特異的に結合するレオウィル因子とらい菌抗原融合蛋白をマウス鼻腔内に投与した。その結果、因子依存的に NALT において、T 細胞の活性化、IFN- γ の産生が上昇し、粘膜面に効率的に細胞性免疫が誘導されたことが示唆された。

[向井 徹、宮本友司、牧野正彦]

5. 新しい結核のワクチン開発に関する研究

BCG-Tokyo 株に結核菌由来 Ag85a の分泌シグナルを付加した抗原遺伝子を、ベクターに組み込んだプラスミッドをもつ、rBCG をモルモットに皮下接種し、結核菌 H37Rv 株 10-20cfu/匹を噴霧感染して結核菌防御能を調べた。rBCG を 10⁴cfu/匹に接種した場合には、PBS 群に比べて臓器の還元培養の結果から、明らかに結核菌防御能が見られた。また、rBCG(pMV261-SM)は、rBCG(pMV306-SM)より強い結核菌防御能であった。

[山崎利雄、芳賀伸治(細菌第一部); 宮本友司、稲垣勝也、牧野正彦]

6. DC-SIGN 分子による抗酸菌認識機構の検討

結核菌群の抗酸菌は、DC-SIGN を受容体とし樹状細胞へ感染することが知られている。そこで各種抗酸菌の DC-SIGN を介した細胞内感染の分子機構の解析を目的とした。GFP 発現 BCG, *M. avium*, *M. smegmatis* を作製し、樹立された DC-SIGN 発現細胞への細胞内侵入

病原微生物部

性を検討した。その結果、*M. smegmatis*は、DC-SIGNを受容体として使用しないが、*M. avium*は、DC-SIGN N依存的に細胞内侵入が認められた。つまり、一量体MAN-LAMもDC-SIGNのリガンドとなることが示唆された。

[向井 徹、宮本友司、牧野正彦]

III. ハンセン病の診断および治療に関する研究

1. ハンセン病の新しい血清診断の開発

昨年度、血清診断用の抗原として、Major Membrane Protein-II (MMP-II)が同定された。今回、199例の患者血清中の抗MMP-II抗体を測定し、ROC曲線を用いて統計的な処理を行った結果、多菌型ハンセン病患者83.9%、少菌型ハンセン病患者では約48.2%の陽性率を示した。この陽性率は抗PGL-I抗体の陽性率に比べて極めて良好な成績を示した。今後、ハンセン病流行地での検討が望まれる。

[前田百美、甲斐雅規、福富康夫、向井 徹、石井則久(生体防御)、牧野正彦]

2. クロファジミンによる細胞死誘導

ハンセン病の治療にはDDS・リファンピシン・クロファジミン(B663)等の抗菌薬が用いられている。マウス腹腔正常マクロファージや健常人末梢血単球由来マクロファージをB663存在下にて培養すると細胞死が観察された。さらに、THP-1細胞でもB663により著明な細胞死が観察されたが、annexinV染色陽性細胞が現れヌクレオソーム単位でのDNAの断片化も観察されたことから、アポトーシスを起こしていることが分かった。B663にはハンセン病におけるらい反応、特にENLを抑制する作用が知られているがその機構については明らかにならず、アポトーシス誘導能と何らかの関係があると思われる。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

3. マクロファージの*in vitro*における抗らい菌活性発現

ヒトマクロファージをヒト正常血清存在下でらい菌と共に培養して細胞内に取り込ませた後、同マクロファージをIFNとTNF、若しくはTNF inducerであるLPS存在下で37度にて培養した後、らい菌を回収しラジオ

レスピロメトリーにて代謝活性を調べたが、サイトカインを添加しない群との差はなかった。一方、マウス腹腔マクロファージはIFNとTNFやLPSの組み合わせで活性化してらい菌の代謝が著明に低下し、かつ殺菌作用に関与するNOの産生も起こった。ヒトマクロファージではIFN刺激してもNOの産生がみられなかったことから、ヒトマクロファージの抗らい菌活性発現には種々の因子が必要であることが示唆された。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

4. らい菌由来糖脂質の解析

抗酸菌菌体成分糖脂質の1つであるTrehalose Dimycolate (TDM)が結核菌などの抗酸菌ではある種の病原性因子であること、また各種生物活性を示すことなどから、らい菌由来糖脂質の存在の有無を各種溶媒分画で調べたところ、結核菌の糖脂質TDM、TMMと同等のバンドが得られた。また、質量分析でも結核菌のTDMおよびTMMと同様の物質であることを明らかにした。これら糖脂質はらい菌からの収量が著しく悪いことから、半合成の試みと他抗酸菌糖脂質かららい菌と類似の物を検索した。現在、類似TDMを用いて各種活性を調べている。

[甲斐雅規、藤田由希子 (BCG中央研究所)、矢野郁也 (BCG中央研究所)、牧野正彦]

IV. 薬剤耐性らい菌に関する研究

1. らい菌のダブソン耐性に関する研究

らい菌のダブソン耐性機構として、らい菌の葉酸合成酵素DHPSをコードする遺伝子*folP*の変異が見つかった。その変異はアミノ酸配列で53位と55位であったが、臨床分離株でしばしば発見される、それ以外の位置でのマイナー変異については耐性との相関は不明である。そこで、3次元分子構造解析ソフトウェア(MOE)を利用し、従来の耐性変異で示される耐性変異した酵素と基質であるPABAあるいはダブソンとの結合シミュレーションを行い、他の可能性のある変異酵素モデルでの結合シミュレーションを行い、比較することで新しい耐性関連変異の同定を行っている。

[甲斐雅規、中田 登、牧野正彦]

病原微生物部

2. *Mycobacterium smegmatis* の第 2 の *katG* 遺伝子の役割

katG 遺伝子は、結核菌などの病原性への関与が知られている。私達は *M. smegmatis* のゲノムに第 2 の *katG* 配列を見出したため、 H_2O_2 抵抗性、およびイソニアジド感受性への寄与について既報の *katG* 遺伝子と比較したところ、両者には役割分担があることが明らかになった。抗酸菌では、らい菌の *katG* 配列が偽遺伝子であり、結核菌などは唯 1 つの *katG* 遺伝子を持つが、*M. smegmatis* は 2 種の役割の異なる *katG* 遺伝子を持つことで、より広い生存環境に適応していると考えられる。[中田 登、甲斐雅規、宮本友司、鈴木幸一、牧野正彦]

V. 結核菌と非結核性抗酸菌に関する研究

1. 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

昨年度に続き、2 次抗結核薬である Capreomycin (CPM)、Cycloserine (CS)、Ethionamide (TH)、para-Aminosalicylic acid (PAS)、Emviomycin (EVM) について ATP 法による薬剤感受性試験の有用性を検討した。ATCC 標準結核菌株を用いて再現性を確認後、臨床分離結核菌 55 株を用いて ATP 法の信頼性を調べた。ATP 法と寒天比率法との判定結果の一致率は、CPM 96.4%、CS 96.4%、TH89.1%、PAS 94.1%、VM 98.2% と高く、二次抗結核薬についても、ATP 法は、迅速で正確な結核菌の薬剤感受性試験であることを確認した。

[山崎利雄；山下研也、岡沢 豊（極東製薬工業）]

2. 飼いイヌの臓器由来の結核菌の RFLP 分析

昨年度、飼い主が結核患者であり、安楽死の処置がとられたイヌの肺、気管リンパ節、肝臓より結核菌を分離した。犬の各臓器由来の結核菌と飼い主から分離された結核菌の RFLP パターンは、完全に一致した。また、スポリゴタイピング法でも同一パターンを示し、北京ファミリーの結核菌であり、*M. bovis* や *M. bovis* BCG では無いことも確認された。イヌの結核症は非常に稀であり、RFLP 分析の結果や、犬の生活環境から、飼い主から感染したものであろうと推察された。

[山崎利雄、芳賀伸治、渡邊治雄、神山恒夫（獣医科学）、高橋光良（結核研究所）宇根有美（麻布獣医科大学）]

3. ATP 測定法によるらい菌の薬剤感受性試験法の検討

昨年度までに、現行の *in vitro* の薬剤感受性試験法である放射性の Buddemeyer 法に代わる、非放射性的らい菌の薬剤感受性試験法の確立をするために、ATP 測定による検討を行ってきたが、今年度は、菌液均等化のために、超音波処理やボルテックスのらい菌に及ぼす影響と、供試菌の凍結の有無の影響等を検討し、より測定精度の高い方法に改良した。

[山崎利雄；儀同政一、松岡正典（生体防御部）]

4. 非結核性抗酸菌迅速診断法の開発

らい菌遺伝子検出のため、RLEP 遺伝子領域を標的に loop-mediated amplification method (LAMP 法) の開発を行った。その結果、抗酸菌 27 菌種を非特異増幅せず、また、国内各地、韓国、インドネシア臨床分離株を増幅し、らい菌特異増幅であることを示した。また、検出感度は、ゲノム DNA 5 コピーであった。昨年に引き続き *dnaA* 遺伝子を標的に *M. kansasii*, *M. gastri* 鑑別可能な LAMP 法を検討した結果、両菌共に、500 コピーまで検出が可能になった。

[向井 徹、宮本友司、山崎利雄、松岡正典(生体防御部)、牧野正彦]

国際協力関係業務

I. ハンセン病血清診断及び DNA 診断に関するベトナム国との国際共同研究

ベトナム国、中部クイニョンのクイホーハンセン病病院において、DNA 診断のための技術供与として、らい菌感染を迅速・高感度に検査する PCR 法を指導した。各種精製 DNA を用い、4 セットのらい菌検出用 PCR プライマーを作成しテストした結果、らい菌の RLEP 領域を増幅させる LP1-4 プライマーを用いた neted-PCR 法が感度、特異性ともに成績がよかった。現地ラボでの機器及び実験室条件で最適な条件を検討し、患者由来 slit skin smear サンプルからの検出を行い、よい成績を得た。また、血清診断技術として PGL-I を用いた ELISA 法の技術指導を行った。

[甲斐雅規、福富康夫、宮本友司、前田百美、向井 徹、中田 登、山崎利雄、鈴木幸一、牧野正彦]

発表業績一覽

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Kai, M., Y. Maeda, S. Maeda, Y. Fukutomi, K. Kobayashi, Y. Kashiwabara, M. Makino, M. A. Abbasi, M. Z. Khan and P. A. Shah. Active surveillance of leprosy contacts in country with low prevalence rate. *Intl. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.*, 72:50-53, 2004.
- 2) Miyamoto, Y., T. Mukai, F. Takeshita, N. Nakata, Y. Maeda, M. Kai and M. Makino. Aggregation of mycobacteria caused by disruption of fibronectin-attachment protein-encoding gene. *FEMS Microbiol. Letters*, 236:227-234, 2004.
- 3) Kimura, H., Y. Maeda, F. Takeshita, L. E. Takaoka, M. Matsuoka and M. Makino. Upregulation of T-cell-stimulating activity of mycobacteria-infected macrophages. *Scand. J. Immunol.*, 60:278-286, 2004.
- 4) Yamashita, Y., Y. Maeda, F. Takeshita P. J. Brennan and M. Makino. Role of the polypeptide region of 33 kDa mycobacterial lipoprotein for efficient IL-12 production. *Cell. Immunol.*, 229:13-20, 2004.
- 5) Maeda, Y., T. Mukai, J. Spencer and M. Makino. Identification of Immunomodulating Agent from *Mycobacterium leprae*. *Infect. Immun.*, 73:2744-2750, 2005.
- 6) Makino, M., Y. Maeda, and N. Ishii. Immunostimulatory activity of major membrane protein-II from *Mycobacterium leprae*. *Cell. Immunol.*, 233:53-60, 2005.
- 7) Fukutomi, Y., M. Matsuoka, F. Minagawa, S. Toratani, G. McCormick, and J. Krahenbuhl.: Subversion of macrophage anti-microbial function bolsters intracellular survival of *M. leprae*. *Int. J. Lepr.* 72: 16-26, 2004.
- 8) Yoshida A., I. Hisatome, S. Taniguchi, N. Sasaki, Y. Yamamoto, J. Miake, H. Fukui, H. Shimizu, T. Okamura, T. Okuda, O. Igawa, E. D. Green, L. D. Kohn and K. Suzuki. Mechanism of iodide/chloride exchange by Pendrin. *Endocrinology*. 145: 4301-4308, 2004.
- 9) Takeshita F., K. Suzuki, S. Sasaki, N. Ishii, D. M. Klinman and K. J. Ishii. Transcriptional regulation of the human Toll-like receptor 9 gene. *J Immunol*, 173: 2552-2561, 2004.
- 10) Grassadonia A., N. Tinari, B. Fiorentino, K. Suzuki, M. Nakazato, M. De Tursi, C. Giuliani, G Napolitano, D. S.

Singer, S. Iacobelli and L. D. Kohn. The 90k protein increases MHC class I expression and is regulated by hormones, g-interferon and double strand polynucleotides. *Endocrinology*. 145:4727-4736, 2004.

11) Takeshita F., I. Gursel, KJ. Ishii, K. Suzuki, M. Gursel and D. M. Klinman. Signal transduction pathways mediated by the interaction of CpG DNA with toll-like receptor 9. *Semin. Immunol.*, 16: 17-22, 2004.

2. 和文発表

- 1) 牧野正彦. 結核・ハンセン病. 倉田毅編、ネオエス力感染症・アレルギーと生体防御、同文書院出版、105-110、2005.
- 2) 牧野正彦. 生体防御機構. 牧野正直・長尾栄治・畑野研太郎編. 総説現代ハンセン病医学、東海大学出版会、in press、2005.
- 3) 福富康夫. ハンセン病におけるマクロファージの機能変化. *Jpn. J. Leprosy*, 73:253-261、2004.
- 4) 甲斐雅規. らい菌のダブソン耐性変異. *日本ハンセン病学会雑誌*, 73:221-226、2004.
- 5) 牧野正彦、鈴木幸一、福富康夫、山下康子、前田百美、宮本友司、向井 徹、中田 登、甲斐雅規、山崎利雄、儀同政一、松岡正典. ハンセン病基礎医学研究のトピックス. *Jpn. J. Leprosy*, 74:3-22、2005.
- 6) 山崎利雄. 結核患者であった飼い主から感染した犬の結核の一例報告. *BAMS*, 16:6-9、2005.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Makino, M., M. Maeda, T. Mukai and N. Ishii. Development of a new vaccine candidate against mycobacteria. 4th The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, Hyogo, Japan. 30 August-2 September, 2004.
- 2) Maeda, Y., M. Endoh, K. Terao and M. Makino. Study of the interaction of *M. leprae* with Schwann cells. 4th The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, Hyogo, Japan. 30 August-2 September, 2004.
- 3) Miyamoto, Y., T. Mukai, N. Nakata, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano and M. Makino. The genes involved in

病原微生物部

glycosylation steps of mycobacterial glycopeptidolipids.. 4th The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, Hyogo, Japan. 30 August-2 September, 2004.

4) Makino, M., Y. Maeda and T. Mukai. Identification of anti-mycobacterial host defense-associated antigen and assessment of its immunological significance. Fortieth Anniversary US-Japan Cooperative Medical Science Program. 39th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kyoto, December 7-10, 2004.

5) Mukai, T., Y. Miyamoto, M. Matsuoka, T. Yamazaki and M. Makino. Loop-mediated isothermal amplification of the *dnaA* sequence for rapid detection of *Mycobacterium leprae*. Fortieth Anniversary US-Japan Cooperative Medical Science Program. 39th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kyoto, December 7-10, 2004.

6) Fukutomi, Y., F. Takeshita, M. Matsuoka and M. Makino. Regulation by clofazimine of cytokine production in *M. leprae*-infected macrophages. Fortieth Anniversary US-Japan Cooperative Medical Science Program. 39th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kyoto, December 7-10, 2004.

7) Aye, K-S., Y-T-N. Oo, K. Kyaw, M. Matsuoka, M. Kai. Molecular detection of primary dapsone resistant *Mycobacterium leprae* in Myanmar. Forth Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Program. Kyoto, Japan. December 7-10, 2004.

2. 国内学会

1) 中田 登、松岡正典、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦. らい菌ゲノム DNA の株間における多様性の検討. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

2) 稲垣勝也、前田百美、牧野正彦. らい菌由来抗原 MMP-II の分泌型および脂質付加型発現抗酸菌株の作製. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

3) 前田百美、牧野正彦、遠藤真澄、寺尾恵治. サルシユワン細胞のらい菌感受性の検討. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

4) 宮本友司、向井 徹、武下文彦、中田 登、甲斐雅規、牧野正彦. 抗酸菌糖脂質 Glycopeptidolipids (GPLs) 糖酵素遺伝子の破壊株作製とその機能解析. 第 77 回日本細菌

学会総会、大阪、2004 年 4 月.

5) 牧野正彦、前田百美、向井 徹、武下文彦、山下康子、稲垣勝也、石井則久. らい菌由来 Major Membrane Protein-II による自然免疫および獲得免疫の活性化. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

6) 山下康子、前田百美、武下文彦、牧野正彦. らい菌由来リポ蛋白 LpK の IL-12 産生活性中心の解析. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

7) 向井 徹、宮本友司、前田百美、牧野正彦. DC-SIGN を介した抗酸菌感染の解析. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

8) 福富康夫、甲斐雅規、中田 登、牧野正彦. *M. smegmatis katG* 変異株の機能. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

9) 甲斐雅規、山崎利雄、藤田由希子、矢野郁也、牧野正彦. らい菌由来糖脂質抗原の分離とその免疫原性の解析. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

10) 前田伸司、中田 登、中 崇、小林和夫. 抗酸菌におけるフォスファチジルセリン合成酵素欠損による表現型の変化. 第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月.

11) 山崎利雄、佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊、三輪昭成、田村俊秀. 結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法 2 次抗結核についての検討. 第 74 回実験結核研究会、名古屋、2004 年 4 月.

12) 山崎利雄、芳賀伸治、佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊、三輪昭成、田村俊秀. 結核菌の ATP 測定による多剤併用薬剤感受性試験法の検討. 第 79 回日本結核病学会総会、名古屋、2004 年 4 月.

13) 赤川清子、山崎利雄、芳賀伸治. 結核菌感染ヒトマクロファージにおける NRAMP1 の発現と MAP カイネーアの活性化について. 第 79 回日本結核病学会総会、名古屋、2004 年 4 月.

14) 向井 徹、宮本友司、武下文彦、牧野正彦. LAMP 法によるらい菌遺伝子の検出. 第 77 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、大宮、2004 年 5 月.

15) 中田 登、松岡正典、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦. らい菌ゲノム DNA の多様性についての検討. 第 77 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、大宮、2004 年 5 月.

16) 福富康夫、武下文彦、松岡正典、牧野正彦. クロファジミンによるマクロファージのサイトカイン産生調節.

病原微生物部

- 第 77 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、大宮、2004 年 5 月。
- 17) 福富康夫. らい菌によるマクロファージの機能の変化(ワークショップマクロファージの機能と肉芽腫性炎) 第 77 回日本ハンセン病学会総会、大宮、2004 年 5 月。
- 18) 甲斐雅規. らい菌のダブソン耐性変異. 第 77 回日本ハンセン病学会総会、大宮、2004 年 5 月。
- 19) 山崎利雄、松岡正典、儀同政一生物発光法を用いたらい菌の薬剤感受性試験法. 第 77 回日本ハンセン病学会、大宮、2004 年 5 月。
- 20) 山崎利雄、三輪昭成: 結核菌の ATP 測定による 2 次抗結核薬を用いた迅速薬剤感受性試験法の検討. 第 31 回 結核・非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2004 年 6 月。
- 21) 山崎利雄、佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊、三輪昭成: 結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法 - 2 次抗結核についての検討. 第 51 回日本臨床検査医学会総会、東京、2004 年 9 月。
- 22) 内藤晴道、横田和也、尾崎佐記、柑本敦子、宇根有美、芳賀伸治、山崎利雄、鹿住裕子、高橋光良. 人型結核菌による犬の結核症の 1 例. 第 138 回日本獣医学会学術集会、札幌、2004 年 9 月。
- 23) 宇根有美、金本英之、内藤晴道、芳賀伸治、山崎利雄、高橋光良. 犬の人型結核症の 1 例. 第 138 回日本獣医学会学術集会、札幌、2004 年 9 月。
- 24) 鈴木幸一、武下文彦、中田 登、松岡正典、牧野正彦. 抗酸菌感染マクロファージにおける菌の細菌内寄生と排除に関わる分子機構. 第 45 回日本組織細胞化学学術集会、鹿児島、2004 年 10 月。
- 25) 山崎利雄、芳賀伸治、鹿住祐子、高橋光良. 人犬感染が疑われた結核症の一例. 第 146 回日本結核病学会関東支部会、千葉、2004 年 11 月。
- 26) 山崎和子、鈴木幸一、山田恵美子、金地嘉夫、武下文彦、瀬谷司、加藤佳幸、佐藤幹二、高野加寿恵、小原孝男. ヒト甲状腺細胞には toll-like receptor 3 が発現しウイルス由来二本鎖 RNA によりホルモン合成が抑制される. 第 47 回日本甲状腺学会、前橋、2004 年 11 月。
- 27) 牧野正彦、前田百美、向井 徹、山下康子、石井則久. 自然免疫および獲得免疫の活性化能を有する新たな抗酸菌抗原の同定. 第 34 回日本免疫学会総会、札幌、2004 年 12 月。
- 28) Takeshita F., K. Suzuki, S. Sasaki, N. Ishii, DM. Klinman and KJ. Ishii. Transcriptional regulation of the human Toll-like receptor 9 gene. 第 34 回日本免疫学会総会ワークショップ、札幌、2004 年 12 月。
- 29) 福富康夫、牧野正彦. ヒトマクロファージのらい菌貪食とサイトカイン産生. 第 34 回日本免疫学会総会、札幌、2004 年 12 月。
- 30) 山崎利雄、芳賀伸治、関谷幸江、鹿住祐子、高橋光良、宇根有美、内藤晴道. 飼い主が感染源と思われた犬の結核例. 第 32 回結核・非定型抗酸菌治療研究会、東京、2004 年 12 月。
- 31) 赤川清子、山崎利雄、芳賀伸治. ヒトマクロファージの結核菌の増殖抑制機構. 平成 16 年度日米医学協力結核ハンセン病専門部会議、京都、2005 年 3 月
- 32) 山本三郎、芳賀伸治、山崎利雄、山崎剛、関昌明、本田育郎、池田のり子. RD16BCG の DTH 誘導能および抗結核活性. 平成 16 年度日米医学協力結核ハンセン病専門部会議、京都、2005 年 3 月。