

2.2. ハンセン病研究センター

(i) 病原微生物部

部長 牧野正彦

概要

病原微生物部では、らい菌・非病原性抗酸菌・結核菌に関し、発症機構・病態生理・診断・治療・予防に関する研究を行っている。

ハンセン病に関する研究では、らい菌の特性に関する生化学的解析を行い、従来らい菌には存在しないと考えられていた Trehalose di-mycolate (TDM)が、らい菌にも存在することが初めて証明された。さらに、Trehalose mono-mycolate (TMM)の組成も、BCG 菌の TMM 組成とは大きく異なっていることが明らかとなった。一般に、らい菌は病原性も抗原性も弱く、種々の免疫反応を容易に惹起し得ない欠点を有しているが、TMM・TDM の組成の研究から、らい菌の有する重要な一面が明らかになるものと期待される。第二の取り組みは、らい菌細胞膜に主に存在する膜タンパク Major Membrane Protein (MMP)-II を利用した血清診断法の開発である。MMP-II は、らい菌の抗原性を規定する主要抗原の一つとして当部で同定したタンパクであり、近年ワクチン開発に用いてきた分子である。MMP-II の高免疫原性を利用して、日本人ハンセン病患者の血清中の抗 MMP-II 抗体価を測定したところ、多菌型および少菌型ハンセン病患者の両者が陽性を示し、MMP-II は感度・特異度ともに優れた血清診断用抗原であることが判明した。MMP-II を用いた血清診断法の有用性を確認するため、現在国際共同研究を通じて、ミャンマー・ベトナムなどハンセン病濃厚流行国との共同研究を行っている。

ハンセン病に対するワクチン開発研究においても、一定の成果が得られた。上述の MMP-II を分泌するリコンビナント BCG (BCG-SM) の有用性を検討した。従来の BCG がナイーブ CD8 陽性 T 細胞を活性化し得ないのに対し、BCG-SM はこの T 細胞をクロスプライミング機構を通じて MMP-II 特異的に強く活性化し、インターフェロンガンマを産生誘導した。さらに、BCG-SM をマウス皮内に接種すると、MMP-II に強くかつ迅速に反応するメモリー T 細胞が産生された。したがって、BCG の持つ欠点が明らかに凌駕されたことになり、BCG-SM のワクチンとしての有用性の更なる検討が待たれる。

ハンセン病の免疫療法の開発に関しても種々の取り組

みを行っているが、その中で、らい菌とマクロファージの相互作用について検討を加えた。マクロファージの誘導は従来 M-CSF を用いて行うが、今回 GM-CSF を用いて作製したところ、CD4 陽性 T 細胞を活性化する能力を勝ち取り、さらに免疫抑制性サイトカイン IL-10 の産生を抑制することが明らかになった。ハンセン病においては、らい菌はマクロファージ内に寄生性感染をし、長く細胞内に宿りハンセン病発症をもたらす。らい菌感染マクロファージにおいても生体防御反応が誘導され、らい菌の生体外排除を誘導し得ること、すなわちハンセン病に対する免疫療法の開発を考える上で有用な知見が得られた。

非結核性抗酸菌の研究では、*M. avium* complex (MAC) の Glycopeptidolipid (GPL) の糖鎖の生合成経路を解明した。GPL は、非病原性抗酸菌 *M. smegmatis* にも存在すると同時に、MAC の血清型を規定する分子である。*M. smegmatis* の GPL にどのような遺伝子が作用すると MAC の有する GPL が生合成されるかが初めて明らかになった。本研究により、MAC の病原性因子の一つである GPL の作用機序ならびに免疫応答誘導機構が明らかになるものと期待される。

結核菌については、昨年度新たに着任した第四室長を中心としたアジュバント活性を有するワクチンの開発が着手された。

業績 調査・研究

・抗酸菌の病原性因子と病変発症機構に関する研究

1. *Mycobacterium avium* complex 8 型 Glycopeptidolipid (GPL) の生合成解析

8 型 GPL を持つ *Mycobacterium avium* complex は、AIDS 患者から頻繁に分離される非結核性抗酸菌の一つであり、8 型 GPL 自身が菌体成分として病原性への関与が示唆されている。本菌株のゲノム上から、予測される生合成遺伝子領域をクローニングし、*M. smegmatis* において発現を行い各遺伝子の機能を解析した。その結果、8 型 GPL に特徴的なグルコース残基の形成に関与する生合成遺伝子を同定した。

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

2. らい菌 Thai53 株ゲノム情報から検索した SNPs 解析

らい菌の全ゲノムシーケンスは TN 株について 2001 年に報告されたが、当センター及び日本国内のらい菌研究のために維持、使用されているらい菌は Thai53 株である。これまでに Thai53 株ゲノムのショットガンライブラリーを作成し、部分的にシーケンスを決定してきた。これまでに決定した Thai53 株ゲノムの塩基配列を TN 株のものと比較し Thai53 株に特徴的な情報を検索している。現在までに報告されていない新規の SNPs 候補を十数カ所発見したので保存している臨床検体について解析を行っている。

[甲斐雅規、中田 登、松岡正典(生体防御部)、椎名 隆・猪子英俊(東海大学)、牧野正彦]

3. らい菌 2 成分情報伝達系の解析

らい菌の持つ 4 つの 2 成分情報伝達系のうち、SenX3-RegX3 を解析し、その第 2 成分である RegX3 が機能的に不完全であることが判明した。第 1 成分 SenX3 のプロモーター機能は RegX3 の機能不全にもかかわらず、結核菌 SenX3 と同等に見られることを lacZ を用いたプロモーター活性測定から明らかとなった。さらにゲルシフトアッセイで、RegX3 がリン酸化の有無にかかわらずプロモーター領域に結合することがわかった。*M. smegmatis* を用いた遺伝子破壊株を解析するとともに、最近報告されたリン酸化の有無による発現制御も解析中である。

[甲斐雅規、中田 登、牧野正彦]

4. らい菌由来糖脂質の解析

結核菌の菌体成分の 1 種である糖脂質、Trehalose Dimycolate (TDM) が病原性因子であるとともに、各種生物活性を示すことが知られている。らい菌ではこれまで TDM の存在の証明はされていなかったが、らい菌由来糖脂質を高性能の質量分析装置 (MALDI-TOF Mass) を用い調べたところ、結核菌および BCG 菌の糖脂質、TDM 及び Trehalose Monomycolate (TMM) と同等のものを同定できた。これら糖脂質はらい菌からの収量が著しく悪いこと、BCG 菌コンノート株がらい菌と同じミコール酸のサブクラスを持つことから、らい菌 TDM, TMM 類似物質として BCG 菌コンノート株由来の TMM, TDM を抽出し血清反応性を調べたところハンセン病患者血清が反応することがわかった。

[甲斐雅規、藤田由希子 (BCG 中央研究所)、前田百美、中田 登、和泉眞藏 (インドネシア・アイルラング大学)、矢野郁也 (BCG 中央研究所)、牧野正彦]

5. *Mycobacterium smegmatis* の *katG* 遺伝子発現

katG 遺伝子は、カタラーゼ-パーオキシダーゼをコードし、

結核菌ビルレンス因子の一つである。*M. smegmatis* は 2 つの異なる *katG* 遺伝子 (*katGI*, *katGII*) を持つが、これらの機能分担を明らかにするため各増殖期での発現を比較した。その結果、*katGI* の mRNA は全ての増殖期で一定の発現量を示したが、定常期では酵素活性の低下が見られ分解が示唆された。*katGII* は定常期にのみ mRNA、酵素活性とも強い発現が見られ、2 種の *katG* 間で巧みな発現の切替が行われていることが示された。

[中田登、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦]

6. *Mycobacterium intracellulare* 血清型 7 の GPL 合成遺伝子領域の解析

Mycobacterium avium complex (MAC) は *M. avium* と *M. intracellulare* から成るが、菌体が持つ糖脂質 GPL の糖鎖構造により現在 31 種の血清型に分類されており、GPL 糖鎖構造の相違は MAC のビルレンスに影響を与えることが疑われている。そこで *M. intracellulare* 血清型 7 の GPL 合成に関与する遺伝子領域 19.7kb の塩基配列を決定し、存在する open reading frame の機能を推定した。

[中田登、藤原永年 (大阪市立大)、前田伸司 (結核研究所)]

・生体防御機構とワクチン開発に関する研究

1. らい菌感染モデルサルでの樹立

ハンセン病の発症機構の解明およびワクチン開発における効果判定・安全性確認のため、サルモデル系が必要になる。そのため幼若カニクイサルにらい菌を接種し、その経過を解析している。鼻腔内、皮下の経路により接種を行い、鼻腔洗浄液の PCR、血清抗体価の検討を進め、1 個体において 7 ヶ月後より PGL 抗体価 \pm を示した。

[向井 徹、松岡正典 (生体防御部)、斎藤直之 (予防衛生協会)、寺尾恵治 (医薬基盤研 霊長類医科学研究センター)、牧野正彦]

2. サル由来シュワン細胞を用いた神経障害機構の解明

ハンセン病の末梢神経障害機構を解明するため、サル由来シュワン細胞株を用いて、らい菌刺激によるサイトカイン産性を検討した。CD40L 存在下ではシュワン細胞から産生される IL-8 が増加した。さらに数種類のサイトカイン下で IL-8 産生能に対する影響を調べたところ、IL-1 のみが、シュワン細胞の IL-8 誘導能を有していた。これらのことから、IL-8 及び IL-1 はらい菌感染後に神経障害に関与していると考えられた。

[前田百美、寺尾恵治 (筑波医学実験用霊長類センター)、牧野正彦]

3. ハンセン病におけるマクロファージのサイトカイン産生調節機構

マウスマクロファージはらい菌刺激により TNF や IL-10、IL-1 を産生した。IFN γ により TNF 産生は増強され IL-10 産生は著明に抑制された。ヒト単球はらい菌刺激による TNF や IL-10 産生反応が弱かったが、単球を M-CSF 存在下で培養して得たマクロファージはらい菌刺激により TNF や IL-10、PGE2 を産生し、PGE2 や IL-10 産生は特に著明であった。そして IFN γ は TNF 産生を増強し IL-10 産生を抑制した。以上、Th1 型サイトカインの IFN γ が Th2 型サイトカインである IL-10 を抑制する一方、マクロファージ活性化等に関する TNF 産生を増強することが示され、ハンセン病病巣におけるサイトカイン産生調節機構の一端が明らかとなった。

[福富康夫、前田百美、牧野正彦]

4. 宿主内におけるらい菌の殺傷および菌増殖機構に関する研究

ヒト末梢血単球由来マクロファージに *in vitro* にてらい菌を感染させて培養を行い、らい菌を回収して生存率を調べた。35℃ で培養したところ 37℃ と比べて著明に細胞内らい菌の生存率が高くなった。また、単球培養において GM-CSF 添加により多くの分化したマクロファージが確実に得られ、らい菌感染実験に適した条件を得ることができた。さらに IL-10 を添加するとマウスマクロファージの場合と同様にらい菌の代謝活性が未添加群と比べ高く維持され生存率が高まった。さらに IFN γ 存在下で培養したヒト単球由来マクロファージに抗らい菌活性が誘導されることが判明した。

[福富康夫、前田百美、松岡正典(生体防御部)、牧野正彦]

5. らい菌由来リポ蛋白 LpK の免疫学的な解析

らい菌由来 LpK の 13 アミノ酸からなる合成リポペプチド lipoK と樹状細胞、T 細胞との相互作用を検討した。らい菌存在下で LipoK をパルスした樹状細胞は、ナイーブ T 細胞を刺激し、有意に IFN γ を産生した。免疫細胞である CD8 $^{+}$ T 細胞は感染細胞や腫瘍細胞を抗原特異的に傷害することが知られている。lipoK は樹状細胞上の TLR2 を認識し、パーフォリン産生 CD8 $^{+}$ T 細胞数を増強することが明らかとなった。従って、lipoK は、免疫療法に活用し得る重要な分子であることが示唆された。

[前田百美、田村敏生、福富康夫、牧野正彦]

6. 効率的な抗原提示を行う BCG の開発

BCG を宿主とした、ハンセン病ワクチン開発のため、Urease C 遺伝子破壊 BCG 株を作製した。Urease は、尿素を分解しアンモニアを産生させ、菌体周囲の環境を塩基性

に傾ける。そのため酸性酵素の効果を抑制し、菌体破壊を回避する機構が考えられている。本酵素の破壊株は、酸性酵素により分解され、親株と比較し、より強い抗原提示誘導されることが期待された。

[向井 徹、宮本友司、牧野正彦]

7. Major Membrane Protein-II を用いたハンセン病予防ワクチンの開発

昨年らい菌由来 Major Membrane Protein-II (MMP-II) を分泌する BCG 株 (BCG-SM) を作製した。今回は BCG-SM 及びベクターコントロール BCG をマウス (C57BL/6J) に皮下接種し、らい菌の増殖抑制と抗原特異的な IFN γ 産生について検討した。その結果 BCG-SM はコントロール BCG より優れた効果をもたらすことが示唆された。BCG-SM はハンセン病ワクチンとして期待される。

[前田百美、田村敏生、松岡正典(生体防御部)、牧野正彦]

・ハンセン病の診断および治療に関する研究

1. 簡易・迅速らい菌遺伝子検出法の開発

らい菌遺伝子 RLEP を標的とした簡易遺伝子検出法である LAMP 法の開発を行ってきた。簡易な検体保存運搬法として、特殊な化学処理が施された FTA カードを用いた。インドネシア国由来の鼻腔拭い液を用い、PCR 法により遺伝子検出の比較検討を行った。その結果、FTA classic カードより、FTA elute カードは、より安定した検出率を示した。

[向井 徹、松岡正典(生体防御部)、宮本友司、和泉真藏(アイルランガ大学)、牧野正彦]

2. ハンセン病の新しい血清診断の開発

血清診断用の抗原として、Major Membrane Protein-II を用いた ELISA 法を報告した。今回、2 つの新たな、らい菌抗原である ML0405 及び ML2331 を用いて ELISA 法で患者中の抗体陽性率を検討した。患者血清中 (n=30) の抗 ML0405 抗体陽性率は、多菌型ハンセン病患者では 90%、少菌型ハンセン病患者では 70% を示した。抗 ML2331 抗体の陽性率は多菌型ハンセン病患者では 96.7%、少菌型ハンセン病患者では 26.7%。多菌型患者では特に高い陽性率を示した。

[前田百美、Malcolm S. Duthrie、Wakako Goto (IDRI, Seattle)、牧野正彦]

3. 新しいハンセン病のワクチン開発に関する研究

前年度に引き続き らい菌の MMP-II 抗原遺伝子を、ベクターに組み込んだプラスミドをもつ、rBCG(pMV261-SM) のモルモットにおける結核菌噴霧感染後の結核菌防御能を、肺、肝、脾、胸部リンパ節の還元培養成績から検討した。rBCG(pMV261-SM) を 10^6 cfu/匹に

接種した場合には、PBS 群に比べて各臓器の還元培養の菌数は低く、明らかに結核菌防御効果が見られた。しかし、結核菌防御能は、BCG-Tokyo 株が最もよく rBCG(pMV261-SM)は若干劣っている程度であった。このことは、結核とハンセン病の多目的ワクチンとして利用できる可能性が示唆された。

[山崎利雄、宮本友司、牧野正彦]

4. クロファジンによるマクロファージの形態変化と細胞死

ハンセン病における抗らい菌薬であるクロファジン(B663ともいう)にはマクロファージに対する細胞死誘導活性が存在した。健康人末梢血単球由来マクロファージやヒトマクロファージ細胞株 THP-1 をクロファジン存在下にて培養したところ、顕微鏡下で 6 時間後には細胞死が観察された。その過程で細胞質の縮小化や核の縮小化・断片化が認められた。また、ミトコンドリア代謝酵素活性測定による生細胞定量法においても細胞死が確認された。annexinV 染色陽性細胞が現れ、ヌクレオソーム単位の大ささでの DNA 断片化が観察されたことから、この細胞死はアポトーシスであることが判明し、アポトーシスに特徴的な caspase の活性化もみられた。

[福富康夫、前田百美、牧野正彦]

・薬剤耐性らい菌に関する研究

らい菌の薬剤耐性菌と感受性菌の混合感染に関する研究

ハンセン病治療薬、ダブソンの耐性がらい菌の葉酸合成酵素の 53 位及び 55 位のアミノ酸変異と関連することが知られており、耐性菌検出の指標となっている。しかし臨床分離株ではしばしば変異箇所周辺領域の塩基配列を決定するのが困難であることがしばしばあり、混合感染あるいは耐性化菌と感受性菌の混在が疑われた。そこで、種々の臨床検体から変異領域を PCR 増幅しダイレクトで塩基配列を決定するとともにクローニングして多数のクローンの塩基配列を決定し比較したところ、耐性菌と感受性菌が混在していると考えられる検体を発見した。

[甲斐雅規、中田 登、松原久美子、牧野正彦]

・結核菌と非結核性抗酸菌に関する研究

1. 多剤耐性抗酸菌感染症の治療法の確立の基礎研究

結核菌の排除・封じ込めに重要な役割を果たしているマクロファージの活性化は、CD4⁺ T 細胞が産生する IFN- γ 、TNF- α や、CD40 リガンド-CD40 を介した CD4⁺ T 細胞-マクロファージ相互作用によって調節されていると考えられている。そこで、マクロファージの活性化における T 細胞-マクロファージ相互作用の役割を検討した結果、BCG 感染後のマクロファージによる TNF- α 産生には CD4⁺ T 細胞との相互作用は必須ではないこと、また iNOS 発現には T 細胞に依存性の経路と非依存性の経路が存在することを明らかにした。

[田村 敏生、牧野 正彦]

2. 新規結核ワクチン開発のための基礎研究

結核に対する効果的なワクチンを開発するためには、効率よく且つ強力に Th1 細胞の分化・活性化を誘導することが必要である。我々は、結核菌分泌蛋白由来のペプチド(P25)が選択的に Th1 免疫応答を惹起すること、P25 による Th1 誘導にはこれまで知られている T-bet 依存性経路の他に非依存性の経路が存在することを見出した。また、P25 が誘導する Th1 免疫反応環境が他の免疫反応に影響を与えるか検討した結果、P25 は共免疫した抗原のクロスプレゼンテーションを増強し、共免疫抗原特異的 CTL 生成を増強することを明らかにした。

[田村 敏生、高津 聖志(東京大学・医科学研究所)]

3. BCG の結核菌防御能の持続性について

あらかじめ BCG 0.5mg または PBS を下腹部皮下に注射後、5 年間または 1 年半飼育した(それぞれ老年期または壮年期)モルモット及び新たに購入した幼年期モルモットを対照群として用いた。BCG あるいは PBS を接種(幼年期モルモットでは初回接種)6 週間後、結核菌 H37Rv 株を噴霧感染し、5 週後に解剖した。解剖時の肉眼所見では、壮年期群は、BCG の再接種の有無に関係なく結核菌抑制効果が見られた。また、老年期群も BCG 再接种群で効果が認められた。還元培養でも、この傾向は変わらず、老年期に BCG を再接種した場合に幼年期と同程度の結核菌の抑制傾向が見られた。このことは、老年期モルモットであっても、BCG の免疫効果があることを示唆している。

[山崎利雄、宮本友司、相澤志保子・服部真一郎(エイズ研究センター)、山本三郎(遺伝子・疾患研究所)]

4. 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

昨年に引き続き、信頼できる PZA 感受性試験法の確立を最終目的とし、ATP 法による結核菌 PZA 感受性試験法の検討を、臨床分離菌 75 株を用いて行った。ATP 法と参照法との一致率は、液体テスト法 93.3%、寒天比率法 82.2%、ピラジナミダーゼ試験 93.3%であった。ATP 法による PZA 感受性試験は、迅速で正確な結核菌薬剤感受性試験法として有用であった。

[山崎利雄、山本三郎(遺伝子・疾患研究所)、岡沢 豊(極東製薬工業)]

5. ATP 測定による BCG 生菌数測定法の検討

BCG ワクチンのアンプル中の生菌数は、通常 1%小川培地に希釈菌液を接種して 3 週目と 4 週目に肉眼的にコロニ

一数を数える。この方法は、煩雑であり時間がかかる。そこで、アンプル中の生菌数を ATP 測定法にて検討した。7H9 broth 希釈系列を用いた場合、BCG の濃度に依存して RLU 測定値は減少し、同一ロットであっても、RLU 測定値は異なり、その大小は固形培地で測定した生菌数に依存していた。また、BCG 同一ロットのアンプルを各3本ずつ切って各3測定を行い、ATP 法の再現性も確認した。希釈係数と RLU 値によりアンプル中のおよその生菌数を知らることができる ATP 法は、アンプル切断後、およそ 1 時間で終了する迅速簡単な方法である。

[山崎利雄、山本三郎(遺伝子・疾患研究所)]

6. 入浴施設の浴槽水より分離された抗酸菌の分離状況

循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化を検討する上に、浴槽水中にいかなる抗酸菌が存在するかの調査を行った。その結果 55 検体中、2 検体から抗酸菌 5 株が分離された。分離菌は、*Mycobacterium avium* 4 株、*M. fortuitum* 1 株と同定された。また、ろ過槽等のろ過剤からは、*M. goodii* 9 株が分離された。結核菌(*M. tuberculosis*)は、検出されなかった。

[山崎利雄、遠藤卓郎(寄生動物部)、杉山寛治(静岡県環境衛生研究所)]

国際協力関係業務

. ベトナム国との国際共同研究

当センターでハンセン病患者血清と反応するらい菌膜タンパクとして同定、精製した、Major Membrane Protein II (MMP-II)を利用したハンセン病の新しい血清診断法の評価をベトナム国中部のクイホーハンセン病病院において行った。血清約 1500 サンプルを用いて行った結果、感度・特異性ともに良好に患者血清と反応する成績を示したので、継続して本法の評価を行うとともに特に患者の治療経過での変動に注目して本法を用いたモニターを行っている。さらに PCR 法を用いた DNA 診断の技術供与の継続とその技術を活かした共同研究としてベトナム国中部地域における薬剤耐性らい菌の発生状況を調査している。

[甲斐雅規、福富康夫、宮本友司、前田百美、Nguyen Phuc Nhu Ha・Nguyen Thanh Tan(Quyhoa hospital, Vietnam)、牧野正彦]

. JICA 研修

平成 18 年度 JICA 研修として、4 名の研修生に対し、のべ 4 人の研究員が 2 ヶ月間マンツーマンで指導に当たった。

発表業績一覧

. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Miyamoto Y, Mukai T, Nakata N, Maeda Y, Kai M, Naka T, Yano I, and Makino M.: Identification and characterization of the genes involved in glycosylation pathways of mycobacterial glycopeptidolipids biosynthesis. J. Bacteriol., 188:86-95, 2006.

2) Mukai T, Miyamoto Y, Yamazaki T, and Makino M.: Identification of *Mycobacterium* species by comparative analysis of the *dnaA* gene. FEMS Microbiol. Lett., 254:232-239, 2006.

3) Makino M, Maeda Y, Mukai T, and Kaufmann SHE.: Impaired maturation and function of dendritic cells by mycobacteria through IL-1. Eur. J. Immunol., 36:1443-1452, 2006.

4) Suzuki K, Nakata N, Bang PD, Ishii N, and Makino M.: High-level expression of pseudogenes in *Mycobacterium leprae*. FEMS Microbiol. Lett., 259:208-214, 2006.

5) Suzuki K, Takeshita F, Nakata N, Ishii N, and Makino M.: Localization of COR01A in the macrophages containing *Mycobacterium leprae*. Acta Histochemica et Cytochemica, 39:107-112, 2006.

6) Makino M, Maeda Y, and Inagaki K.: Immunostimulatory activity of recombinant *Mycobacterium bovis* BCG that secretes Major Membrane Protein II of *Mycobacterium leprae*. Infect. Immunity, 74:6264-6271, 2006.

7) Akagawa K, Komuro I, Kanazawa H, Yamazaki T, Mochida K, and Kishi F.: Functional heterogeneity of colony-stimulating factor-induced human monocyte-derived macrophages. Respiriology, 11: S32-S36, 2006.

8) Maeda Y.: Diagnosis of leprosy: serological aspects. Jpn. J. Leprosy, 75:285-289, 2006.

9) Fujiwara N, Nakata N, Maeda S, Naka T, Doe M, Yano I, and 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: 1099-1108, 2007.

2. 和文発表

- 1) 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，92-104，2006．
- 2) 甲斐雅規：ハンセン病における血清学．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，119-134，2007．
- 3) 向井 徹：迅速・簡易遺伝子診断法の開発．Jpn. J. Leprosy, 75 : 265-269, 2006．
- 4) 山崎利雄，儀同政一，松岡正典：生物発光法による抗らい菌活性測定法の開発、日本ハンセン病学会誌 75 : 227-237, 2006 ．
- 5) 山崎利雄：佐々木次雄編著，図説呼吸器系細菌感染症疫学・診断・治療，第9章 結核菌，140-176，株式会社じほう，2006 ．

．学 会 発 表

1. 国際学会

- 1) Maeda Y, Kai M, and Makino, M.: LipoK activates *Mycobacterium leprae* infected macrophages and dendritic cells. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAO/BMB Congress, Kyoto, Japan, 18-23 June, 2006.
- 2) Kiyoshi Takatsu, Haruyuki Ariga, Yoko Shimohakamada, Makiyo Nakada, Takeshi Tokunaga, Takeshi Kikuchi, Ai Kariyone and Toshiki Tamura : Role of T-cell receptor signal and T-bet in the induction of Th1 differentiation and cross-priming of antigen. RCAI-JSI International Symposium on Immunology 2006, Yokohama, Japan, June 2006.
- 3) Mukai T, Macdonald M, Ranjit C, Sapkota BR, Miyamoto Y, Matsuoka M, and Makino M.: Development of rapid and simple diagnostic tool for leprosy. U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 41st Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kagoshima, Japan, July 19-21, 2006.
- 4) Makino M, Maeda Y, Inagaki K, and Mukai T.: Immunostimulatory activity of recombinant *M. bovis* BCG expressing the dominant antigen of *Mycobacterium leprae*. U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 41st Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kagoshima, Japan, July 19-21, 2006.
- 5) Fukutomi Y, Maeda Y, and Makino M.: Clofazimine-induced cell death in macrophages. U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 41st

Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kagoshima, Japan, July 19-21, 2006.

- 6) Toshiki Tamura, Ai Kariyone, Yoko Shimohakamada, Takeshi Tokunaga and Kiyoshi Takatsu : Enhancement of cross-priming activity of antigen-presenting cells by Peptide-25 of Ag85B. 41st US-JAPAN Conference on Tuberculosis and Leprosy, Kagoshima, Japan, July 19-21, 2006.

2. 国内学会

- 1) 山崎利雄：入浴施設の浴槽水における抗酸菌の検出．第81回日本結核病学会総会、仙台、2006年4月．
- 2) 山崎利雄、山本三郎、ATP測定によるBCG生菌数測定法の検討、第76回実験結核研究会総会、仙台、2006年4月．
- 3) 山崎利雄：東日本地区の温泉浴槽水からの抗酸菌の分離状況 第35回結核・非定型抗酸菌治療研究会、東京、2006年6月．
- 4) 山崎利雄：結核の現状について．衛生微生物協議会第27回研究会、札幌、2006年6月．
- 5) 福富康夫、前田百美、牧野正彦：クロファジミンによるマクロファージの細胞死と核の形態変化 第79回日本ハンセン病学会総会・学術大会、高松、2006年5月．
- 6) 甲斐雅規、Nguyen Phuc Nhu Ha、松岡正典、牧野正彦：リアルタイムPCR法を利用した耐性変異の多剤同時検出 第79回日本ハンセン病学会総会・学術大会、高松、2006年5月．
- 7) 中田 登、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦：*Mycobacterium smegmatis*を用いたらい菌 *foIP* 遺伝子変異とダブソン感受性に関する解析 第79回日本ハンセン病学会総会・学術大会、高松、2006年5月．
- 8) 牧野正彦：高免疫原性分子の同定と予防法への応用（シンポジウム；ハンセン病の診断と予防：最近の進歩）．第79回日本ハンセン病学会総会・学術大会、高松、2006年5月．
- 9) 向井 徹：迅速・簡易遺伝子診断法の開発（シンポジウム；ハンセン病の診断と予防：最近の進歩）．第79回日本ハンセン病学会総会・学術大会、高松、2006年5月．
- 10) 福富康夫、牧野正彦：らい菌感染マクロファージの *in vitro* 培養 ．第36回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2006年12月．
- 11) 刈米 アイ、田村 敏生、高津 聖志：Ag85B由来 Peptide-25によるクロスプライミング増強効果の解析 ．第36回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2006

年 12 月 .

1 2) Ayano Yahagi, Masayuki Umemura, Toshiki Tamura, Dilala Mst. Begum, Satoru Hamada, Ai Kariyone, Kiyoshi Takatsu, Goro Matsuzaki : Delayed induction of *Mycobacterium tuberculosis*(Mtb)-specific Th1 immune response in the lung of Mtb-infected TCR-transgenic mice. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2006 年 12 月 .

1 3) 山本 久美子、田村 敏生、高津 聖志、菊池 雄士 : 結核菌由来 Peptide-25 を用いたアレルギー反応制御機構の解析 . 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2006 年 12 月 .

1 4) 福富康夫、前田百美、牧野正彦 : ハンセン病におけるマクロファージのサイトカイン産生調節機構 . 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月 .

1 5) 前田百美、田村敏生、福富康夫、牧野正彦 : らい菌由来リポ蛋白の抗らい菌生体防御反応に及ぼす影響 . 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月 .

1 6) 宮本友司、向井 徹、前田百美、甲斐雅規、中田登、中 崇、矢野郁也、牧野正彦 : 抗酸菌糖脂質生合成における fucose 転移酵素遺伝子の解析 . 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月 .

1 7) 藤原永年、中田 登、前田伸司、中崇、矢野郁也、小林和夫 : *Mycobacterium intracellulare* serotype 16 由来特異糖ペプチド脂質の糖鎖構造と合成遺伝子の解析 . 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月 .

1 8) 深沢 豊、内山良介、角泰人、原英樹、野村卓正、河村伊久雄、山崎利雄、光山正雄 : ストレプトマイシン要求性結核菌 18 b 株のストレプトマイシン依存的 IFN- γ 産生誘導(続報) 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月 .