

## 22. 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

病原微生物部は、らい菌・非結核性抗酸菌・結核菌などの病原性抗酸菌の研究を行っている。らい菌あるいはハンセン病に関し、発症機構の解析・診断技術の開発および改良と、薬剤耐性菌に関する研究・治療および予防に関する研究を中心としている。これらの中で、I.発症機構に関しては、マクロファージの抗菌活性の発現調節、糖脂質抗原の生合成経路の解析、らい菌全ゲノムを網羅した遺伝子ライブラリの構築と病原性因子の解析、カニクイザルを用いたハンセン病動物モデルの開発を行い、II.診断に関しては、LAMP法を応用した遺伝子診断法の開発、ハンセン病の新しい血清診断法の開発、ハンセン病濃厚流行地における疫学調査を行い、III.薬剤耐性菌に関しては、薬剤耐性を誘導する遺伝子変異の迅速検出法、薬剤耐性と遺伝子変異の相関、結核菌の迅速薬剤感受性試験法の開発、IV.治療に関しては、リポタンパクを用いたハンセン病免疫療法の開発、

CD4 T細胞とのサイトカイン非依存性相互作用によるマクロファージの活性化、V.予防に関しては、改良型リコンビナントBCGの作製と予防効果、BCG非依存性ブースターワクチンの開発を行っている。この中で特記に値するものは、薬剤耐性菌に関する研究である。薬剤耐性をもたらす原因として、薬剤ターゲット遺伝子の突然変異が上げられ、突然変異の同定は臨床分離株が薬剤耐性である可能性を示唆する。しかし、らい菌は試験管内での培養ができないため、らい菌と薬剤を混合培養することによって耐性菌であることを直接的に証明することはできない。そこで、*M. smegmatis* など培養可能菌に対し、らい菌の薬剤耐性ターゲット遺伝子を導入し同定された突然変異が直接的に薬剤耐性と関わるか否かを診断する技術を開発した。長年苦勞を重ねて開発してきた技術であり、今後幅広く利用されることを望む。また、らい菌の簡易遺伝子同定法が開発された。LAMP法を応用し、さらに、菌の保存・運搬についても考慮したものであり、ハンセン病濃厚流行国の主体となっている開発途上国でも十分利用できる診断法と考えられる。今後、

安価なキットが生産されることを望む。また、非結核性抗酸菌の代表である *M. avium* の GPL の生合成に関わる遺伝子が同定された。これまで不明なまま残されてきた *M. avium* の病原性因子に関わる研究が進展すると考えられる。マクロファージとらい菌の相互作用についての研究が昨年度に引き続き行われ、マクロファージの分化・誘導に用いるサイトカインによって、マクロファージの抗らい菌生体防御反応が大きく左右される可能性が示唆された。多菌型ハンセン病と少菌型ハンセン病の発症機構、とくに抗原提示細胞の選択性については大きな謎に包まれていたが、その謎を紐解く研究と考えられる。ハンセン病に対する新しいワクチンの開発研究の一環として、これまでらい菌の主要抗原として Major Membrane Protein-II (MMP-II) を同定してきたが、本年度は MMP-II を有効利用したりコンビナント BCG を作製した。本 BCG は、感染した細胞内で MMP-II を分泌し、T 細胞を効率よく刺激するものである。T 細胞の活性化能は従来の BCG より遥かに優れており、今後の検討が待たれる。さらに、MMP-II を用いた新しい血清診断法の開発研究も手がけた。特に、これまで診断が難しかった少菌型ハンセン病にも用いられる診断法と期待される。同時に国際共同研究においても導入を図った。

最後に人事についてであるが、昨年第四室長鈴木幸一が生体防御部へ移り、後任として東京大学医学研究所から田村敏生が平成 18 年 1 月 1 日付で着任した。

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 由来 Glycopeptidolipids (GPLs) 糖鎖生合成の解明

*M. avium* complex 由来の GPLs は、本菌の血清型を決定づける主要糖脂質である。その糖鎖生合成を解明するため、推測される各生合成遺伝子群を *M. smegmatis* に発現させ、得られた GPLs の構造比較から各生合成遺伝子の機能を解析した。その結果、多くの血清型 GPLs に共

通なフコース残基の形成に関与する遺伝子を同定した。  
[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. 結核菌遺伝子 Rv2957 の機能解析

結核菌 *M. tuberculosis* には機能不明の糖鎖転移酵素遺伝子が数多く存在する。それらの中より、*M. avium* complex の glycopeptidolipids (GPLs) 生合成遺伝子と高い相同性を示す遺伝子 Rv2957 につき、*M. smegmatis* を用いて機能解析を行った。その結果、結核菌遺伝子 Rv2957 は GPLs 生合成の一経路を相補し得るフコース転移酵素遺伝子であることが判明した。

[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]

## 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、第二成分の RegX3 は、その遺伝子上流部分の欠失のためほとんど機能していないことが判明した。また、第一成分の SenX3 のプロモーター活性を調べた結果、結核菌 SenX3 と同等だった。自己制御するこの系のプロモーター活性は、RegX3 がほとんど機能しなくとも、らい菌 SenX3-RegX3 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プロモーターに作用することが示唆された。遺伝子破壊株を *M. smegmatis* を用い作成し、プロテオーム解析を実施中である。

[甲斐雅規、中田 登、牧野正彦]

## 4. らい菌の偽遺伝子発現に関する研究

らい菌コスミドライブラリー-DNA とのハイブリダイゼーションによって同定された、らい菌に高発現する偽遺伝子に関する解析を行った。その結果、らい菌は結核菌と比べ、酸化還元酵素関連遺伝子の偽遺伝子化率が高いことが判明し、これが菌の遅増殖性などに関連する可能性が示された。

[鈴木幸一、中田 登、牧野正彦]

## 5. 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樹立した。シュワン細胞は、らい菌刺激により、数々のサイトカインを産生した。サイトカイン産生を誘導するらい菌抗原を検討するため、らい菌画分を調整したところ、らい菌膜蛋白がもっとも強い

サイトカイン誘導能を示した。しかし、シュワン細胞を 30 回以上継代培養すると、S100 抗原陽性であるにもかかわらず、サイトカイン産生能は極度に低下した。

[前田百美、遠藤真澄(生体防御部)、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]

## 6. らい菌感染モデルサルの樹立

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、サルの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ている。

[向井 徹、松岡正典(生体防御部)、鈴木幸一(生体防御部)、  
齋藤直之(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]

## ・生体防御機構とワクチン開発に関する研究

### 1. ハンセン病ワクチン開発のための新しいリコンビナント BCG の検討

らい菌の主要抗原の一つ Major Membrane Protein (MMP-II) を有効利用したリコンビナント BCG を作製した。MMP-II をコードする遺伝子上流に結核菌由来 Ag85A 分子の分泌シグナルを付加したリコンビナント BCG ( BCG-SM ) 及びベクターコントロール BCG(BCG-pMV)の免疫誘導能を比較検討した。ヒト末梢単球由来樹状細胞をコンビナント BCG でパルスすると、BCG-SM は BCG-pMV に比べて自己 T 細胞を有意に強く活性化させ、IFN- $\gamma$  産生性タイプ 1 CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞を産生した。

[前田百美、向井 徹、牧野正彦]

### 2. らい菌特異的リポ蛋白 LpK の免疫学的な解析

らい菌のリポ蛋白 LpK の N 末端 13 アミノ酸配列を含む合成リポペプチド lipoK は、TLR2 を認識し、樹状細胞の抗原提示能を増強する。今回はらい菌が強い親和性を示す、ヒト単球由来マクロファージの抗原提示能に及ぼす影響を検討した。マクロファージを lipoK で刺激したところ、炎症性サイトカイン IL-12 及び TNF- $\alpha$  の産生を誘導し、同時に自己の CD4 陽性 T 細胞を刺激し、IFN- $\gamma$  を産生した。従って、lipoK は免疫療法に活用し得る分子である事が示唆された。

[前田百美、田村敏生、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 BCG-Tokyo 株に結核菌由来 Ag85a の分泌シグナルを付加したらい菌の 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)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(pMV261-SM)を  $10^6$ cfu/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。しかし、結核菌防御能は、BCG-Tokyo 株とほぼ同程度であったことからハンセン病と結核の多目的ワクチンとして期待される。

[山崎利雄、宮本友司、牧野正彦]

#### 4. 鼻腔を介したワクチン投与法の開発

ヒト小児の風邪の起因ウイルスであるレオウイルスの構成蛋白 因子を用い鼻腔粘膜への効率的な、粘膜誘導法の開発を行った。らい菌由来 MMP I I 蛋白の融合型は、非融合型に比較し、マウスの鼻腔内投与により、液性免疫誘導及び N A L T 組織 T 細胞 I F N - 誘導の上昇を認めたと、I L - 4 産生は、同等であることを示した。

[向井 徹、宮本友司、牧野正彦]

#### 5. 効率的な抗原提示を行う B C G の開発

Hsp70 による蛋白の免疫誘導上昇を目的とし、らい菌由来 MMP I I 蛋白を B C G 由来 Hsp70 もしくは、らい菌由来 Hsp70 との融合蛋白発現ベクターおよび、各種分泌シグナルを上流に付加した発現ベクターを構築し、B C G の transformation を行った。各種 B C G を検討した結果、培養上清中へ、各種蛋白の分泌が確認された。

[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

血清診断用の抗原として、Major Membrane Protein-II (MMP-II)を用いた ELISA 法を検討してきた。今回、サンドイッチ ELISA 法を用いて、MMP-II 及び PGL-I 抗体の陽性率を詳細に比較検討した。患者血清中の抗 MMP-II 抗体陽性率は、多菌型ハンセン病患者では 83.9%、少菌型ハンセン病患者では 41.0%を示した。抗 PGL-I 抗体の陽性率は多菌型ハンセン病患者では 68.3%、少菌型ハンセン病患者では 20.5%で、X2 検定法により有意な差が見られた。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、向井 徹、石井則久(生体防御部)、  
牧野正彦]

#### 2. 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 L A M P 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 F T A カードを用いた。F T A カードに既知数のらい菌体を添加し、3 ヶ月室温保存を行い、L A M P 法による検討を行った。その結果、50 菌体まで検出が可能であり、このカードのしよにより、検体採取後冷蔵保存を施すことなく検査室まで輸送が可能であることが示された。

[向井 徹、松岡正則(生体防御部)、宮本友司、牧野正彦]

#### 3. クロファジミンによるマクロファージの形態変化と細胞死

ヒト末梢血単球由来培養マクロファージをクロファジミン存在下で培養したところ、数時間内に細胞が収縮しアポトーシス小体が出現し、24 時間後にはほとんどの細胞が顕著な形態異常を示した。ミトコンドリア活性を指標とした代謝試験によりこれらの細胞の死滅が確認された。また、ギムザ染色により、核は顆粒状に染まる傾向にあり著明な核の凝縮と細胞質の縮小がみられ典型的なアポトーシスの形態を示した。クロファジミンがマクロファージにアポトーシスを起こすことでハンセン病における抗炎症作用(らい反応抑制)を発揮する可能性が示唆された。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

#### 4. らい菌感染ヒトマクロファージの *in vitro* 培養

らい菌を *in vitro* にてマウス Mφ に貪食させ感染させた。らい菌の生存率を調べたところ、35 で培養すると著明な改善がみられ、代謝活性が1ヶ月程度保持されることを見出した。さらに IL-10 の添加により Mφ 内らい菌の生存が2ヶ月間良好に保たれた。ヒト Mφ に *in vitro* にてらい菌を感染させて同様に培養を行い、35 で培養したところマウス Mφ と同様、細胞内らい菌の生存率が高くなった。さらに IL-10 を添加すると生存率が高まった。ヒト Mφ 中のらい菌の生存は培養温度に依存し、また IL-10 により生存率が高まったことから、病巣の低温状態や産生される IL-10 が Mφ 内におけるらい菌の増殖に有利な環境を産み出していると考えられた。

[福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦]

#### 5. らい菌由来糖脂質の解析

結核菌などの抗酸菌では菌体成分糖脂質である Trehalose Dimycolate (TDM)は、病原性因子の1つであり、各種生物活性を示す。らい菌ではこれまで TDM の存在

は証明はされていない。らい菌由来糖脂質を検討したところ、結核菌の糖脂質 TDM, TMM と同等のものが得られ、質量分析でも結核菌の TDM、TMM と同様の物質であった。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、らい菌と同じミコール酸のサブクラスを持つ BCG 菌コンノート株を用い、らい菌 TDM, TMM 類似物質としてそれら糖脂質の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をコードする遺伝子の変異が知られている。その遺伝子変異はアミノ酸配列上で 53 位と 55 位の変異を起こすものが多い。臨床分離株でしばしば発見される、他の位置での変異については耐性との相関は不明のままである。そこで、3次元分子構造解析ソフトウェア (MOE) を利用し、その相関の推察を試みている。これまで、野生株のアミノ酸配列を用い酵素と基質である PABA あるいはダブソンとの結合をシュミレーションできた。その結果から確かに 53 位あるいは 55 位での変異が 3次元構造上ある一定の変化をもたらすことが予想できた。

[甲斐雅規、中田 登、牧野正彦]

##### 2. らい菌 *folP* 遺伝子変異とダブソン感受性に関する解析

ハンセン病治療薬ダブソンはらい菌 *folP* 遺伝子産物を阻害するとされる。そこで、*Mycobacterium smegmatis* の *folP* 遺伝子をらい菌の *folP* 遺伝子で置き換え、21 種の点変異を導入してダブソン感受性を調べた。その結果、53、55 番のアミノ酸の置換は一部を除きダブソン耐性を引き起こしたが、48、54 番のアミノ酸置換は感受性に大きな影響を与えなかった。また、53 番の変異の一部はむしろダブソン感受性を上昇させ、臨床分離株に見られる全ての変異がダブソン耐性を引き起こすわけではないことが示された。

[中田 登、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦]

##### 3. 抗酸菌 *gyrA* 遺伝子変異とキノロン剤感受性に関する解析

キノロン系化学療法剤は *gyrA* 遺伝子産物と結合し、その活性を阻害して抗菌作用を発揮すると考えられている。そこで、抗酸菌における *gyrA* 遺伝子変異とキノロン系薬剤感受性との関係を明らかにするため、*Mycobacterium smegmatis* の *gyrA* 遺伝子をプラスミドにクローニングし

て同菌に導入後、染色体上の *gyrA* 遺伝子の破壊を行った結果、変異の積極的な導入が可能であることがわかった。現在、らい菌や結核菌臨床分離株に塩基置換が見られる位置に変異を導入して薬剤感受性の変化を検討している。

[中田 登、甲斐雅規、牧野正彦]

#### V. 結核菌と非結核性抗酸菌に関する研究

##### 1. 新規結核ワクチン開発のための基礎研究：Th1 分化の分子機構に関する解析

結核に対する有効な防御反応の誘導、効果的なワクチンの開発には、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 Ag85B 由来のペプチドが選択的に Th1 免疫応答を惹起し、この Th1 活性化によって効果的に結核防御エフェクター細胞 (細胞障害性 T 細胞など) が活性化することを見出した。このペプチドによる Th1 分化が T 細胞抗原受容体を介した活性化シグナルによって規定され得ることを明らかにした。現在、このペプチドによる T 細胞抗原受容体を介した Th1 分化誘導の分子機構及び Th1 細胞によるエフェクター細胞活性化誘導の分子機構に関し検討を行っている。

[田村敏生、高津聖志 (東京大学・医科学研究所)]

##### 2. ATP 測定法によるらい菌の薬剤感受性試験法の検討

昨年度に引き続き、ATP 測定法によるらい菌の薬剤感受性試験法の検討を行った。今年度は、同一日に調製したらい菌 Thai53 株を用いて、RFP、CAM は 0.125、0.5、2µg/ml、OFLX は 0.5、2、8µg/ml の濃度について ATP 法と Buddemeyer 法についての比較実験を行った。各薬剤の低濃度では、両法間で差が大きいところもあったが、抑制傾向は、良く一致した。また、ATP 法の方が Buddemeyer 法よりも高い抑制率を示す傾向にあった。

[山崎利雄；儀同政一、松岡正典 (生体防御部)]

##### 3. 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

現行の PZA 感受性試験法では、信頼性に問題がある。そこで、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 感受性試験法の基礎的検討を行った結果、Middlebrook 7H9 液体培地の pH は、5.9 を採用、7 日目に ATP 量を測定し、PZA の濃度は 100µg/ml が適当と思われた。ATP 法と参照法 (液体テスト法、寒天比率法、ピラジナミダーゼ試験) で得られた結果との比較を行い、ATP 法の信頼性を検討した。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望である。

[山崎利雄、山本三郎(細菌第二部)  
岡沢 豊(極東製薬工業)]

4. 入浴施設の浴槽水より分離された抗酸菌の分離状況  
東日本の入浴施設の循環式浴場より採取された浴槽水における抗酸菌の汚染状況を調査した。各施設の浴槽水124検体のうち23検体から39株の抗酸菌が検出された。検出された抗酸菌39株の内訳は、*M. gordonae* 8株、*M. scrofulaceum* 1株、*M. avium* 18株、*M. intracellulare* 1株、*M. noncromogenicum* 1株、*M. fortuitum* 4株、*M. phlei* 5株、*M. flavescens* 1株であった。病原性の高い非結核性抗酸菌が検出された入浴施設では、浴用水の浄化・消毒による衛生管理が必要である。

[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) 黒木俊郎(神奈川県衛生研究所)]

## 国際協力関係業務

### ・ベトナム国との国際共同研究

ベトナム国中部のハンセン病病院において、らい菌のPGL-I抗原及びMMP-II抗原に対するELISA法による抗体検査およびDNA診断の技術供与を行い、各らい菌抗原の血清診断法の評価を行った。患者及び患者接触者の血清約1500サンプルについて検査した結果、新しい抗原であるMMP-IIがより高い特異性を示した。また、その後の解析からMMP-IIはPGL-Iと比較しより多くの少菌型患者血清と反応した。現在、健常人血清の数を増加させより確実な統計解析を行っている。

[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]

## 発表業績一覧

### ・誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Maeda Y., Mukai T., Spencer J. and Makino M.: Identification of immunomodulating agent from *Mycobacterium leprae*. *Infect. Immunity*, 73:2744-2750, 2005.
- 2) Makino M., Maeda Y. and N. Ishii.: Immunostimulatory activity of major membrane protein-II from *Mycobacterium leprae*. *Cell. Immunol.*, 233:53-60, 2005.
- 3) 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.

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

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

6) Ohyama H., Ogata K., Takeuchi K., Namisato M., Fukutomi Y., Nishimura F., Naruishi H., Ohira T., Hashimoto K., Liu T., Suzuki M., Uemura Y., Matsushita S. Polymorphism of the 5' flanking region of the IL-12 receptor beta2 gene partially determines the clinical types of leprosy through impaired transcriptional activity. *J Clin Pathol* 58:740-743, 2005.

7) Seki, M., Sato, A., Honda, I., Yamazaki, T., Yano, I., Koyama, A., and Toida, I. Modified multiplex PCR for identification of Bacillus Calmette-Guerin substrain Tokyo among clinical isolates. *Vaccine*. 23: 3099-3102, 2005.

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

#### 2. 和文発表

1) 牧野正彦：結核・ハンセン病．倉田毅編，ネオエスカ 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、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．

3) 福富康夫：らい菌による免疫抑制の機序(特集 I: 微生物の免疫回避機序より) *臨床免疫* 43:392-399, 2005．

### ・学会発表

#### 1. 国際学会

1) Suzuki K., Takeshita F., Nakata N., Ishii N. and Makino M.: Functional counteraction between toll-like receptor 2 and CORO1A that affects intracellular survival of mycobacteria. The 14th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophage, Saitama, Japan, June, 2005.

2) Makino M., Maeda Y. and Mukai T.: IL-1 at the early stage of monocyte differentiation to dendritic cells impairs functional activities of dendritic cells. Fortieth Annual U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 40th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Seattle, USA,

July, 2005.

3) Mukai T., Miyamoto Y., Matsuoka M. and Makino M.: Rapid detection of *Mycobacterium leprae* by a loop-mediated isothermal amplification method. Fortieth Annual U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 40th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Seattle, USA, July, 2005.

4) Suzuki K, Takeshita F, Nakata N, Ishii N. and Makino M.: Toll-like receptor 2 and CORO1A counteract for the survival of intracellular mycobacteria. The 18th Naito Conference. Hayama, October, 2005.

## 2. 国内学会

1) 宮本友司、向井 徹、中田 登、甲斐雅規、前田百美、中 崇、矢野郁也、牧野正彦：細胞内寄生に影響を与える抗酸菌糖脂質 Glycopeptidolipids の構造 . 第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月 .

2) 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誘導 . 第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月 .

3) 牧野正彦、前田百美、向井 徹：らい菌感染末梢血単球由来サイトカインの樹状細胞による生体防御反応に及ぼす影響 . 第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月 .

4) 中田 登、甲斐雅規、宮本友司、鈴木幸一、牧野正彦：*Mycobacterium smegmatis* の持つ第 2 の *katG* 遺伝子の機能 . 第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月 .

5) 前田百美、石井則久、向井 徹、甲斐雅規、福富康夫、北田清悟、小林和夫、矢野郁也、牧野正彦：MMP-II を用いたハンセン病血清診断法の開発 . 第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月 .

6) 山崎利雄、芳賀伸治、関谷幸江、鹿住祐子、高橋光良：結核患者だった飼い主より感染したと思われた犬の結核例 . 第 75 回実験結核研究会総会、さいたま市、2005 年 5 月 .

7) 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：RD16 BCG の生物学的活性、第 75 回実験結核研究会総会、さいたま市、2005 年 5 月 .

8) 山崎利雄、芳賀伸治、関谷幸江、鹿住祐子、高橋光良：感染源が特定された飼い犬の結核例、第 79 回日本結核病学会総会、さいたま市、2005 年 5 月 .

9) 山崎利雄、松岡正典、儀同政一：生物発光法によるらい菌の薬剤感受性試験法、第 78 回日本ハンセン病学会、青森、2005 年 5 月 .

10) 甲斐雅規、Nguyen Phuc Nhu Ha、松岡正典、牧野正彦：リアルタイム PCR 法を利用した薬剤耐性変異検出の試み：第 78 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、青

森、2005 年 5 月 .

11) 福富康夫、前田百美、牧野正彦：クロファジミンによる細胞死誘導：第 78 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、青森、2005 年 5 月 .

12) 鈴木幸一、中田 登、Pham Dag Bang、牧野正彦：らい菌偽遺伝子の一部は高レベルで発現しており感染後に発現量が変化する . 第 78 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、青森、2005 年 5 月 .

13) 前田百美、向井 徹、山下康子、牧野正彦：らい菌膜免疫調整性蛋白の同定 . 第 78 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、青森、2005 年 5 月 .

14) 向井 徹、宮本友司、松岡正典、牧野正彦：LAMP 法によるらい菌遺伝子診断法の確立 . 第 78 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、青森、2005 年 5 月 .

15) 鈴木幸一：甲状腺濾胞機能ネガティブフィードバック自己調節機構の発見と臨床への展望 . 第 78 回日本内分泌学会クリニカルアワー 9 甲状腺の基礎と臨床：Update、東京、2005 年 6 月 .

16) 牧野正彦、前田百美、向井 徹：Analysis of mechanisms of multibacillary leprosy development: the role of IL-1 $\beta$  . 第 35 回日本免疫学会総会、横浜、2005 年 12 月 .

17) 福富康夫、前田百美、牧野正彦：マクロファージの in vitro における抗らい菌活性発現 . 第 35 回日本免疫学会総会、横浜、2005 年 12 月 .

18) 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形態変化と細胞死 . 第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月 .

19) 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：*Mycobacterium avium* 由来 2 型 Glycopeptidolipid の生合成解析 . 第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月 .

20) 前田百美、稲垣勝也、牧野正彦：らい菌由来 MMP-II 抗原を分泌する rBCG の作製とその T 細胞活性化能の解析 . 第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月 .

21) 牧野正彦、前田百美、福富康夫、向井 徹：GM-CSF によるらい菌感染マクロファージの抗原提示能の増強 . 第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月 .

22) 中田 登、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦：*Mycobacterium smegmatis* を用いたらい菌遺伝子変異と薬剤感受性に関する解析 . 第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月 .

23) 甲斐雅規：らい菌 2 成分情報伝達系 SenX3-RegX3 の解析 . 第 79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月 .

24) 藤原 永年、前田 伸司、中田 登、中 崇、矢野 郁也、小林 和夫 1：非結核性抗酸菌 MAC 由来血清型 7 型

病原微生物部

glycopeptidolipid (GPL) の構造と合成遺伝子の解析. 第  
79 回日本細菌学会総会、金沢、2006 年 3 月 .