

24. ハンセン病研究センター

感染制御部

部長 牧野正彦

概要

感染制御部においては、らい菌・結核菌・非結核性抗酸菌に起因する疾病の病態生理・発症機構の解明ならびに診断・治療・予防に関する研究業務とハンセン病に関する行政検査および非結核性抗酸菌に関する依頼検査を行っている。ハンセン病に関する研究においては、薬剤耐性菌に関する研究に大きな進展があった。本研究は国際研究協力事業の一環としてなされたものであるが、ダブソン・リファンピシン・ニューキノロンについて、インドネシア・ミャンマー・フィリピンにおいて大規模な薬剤耐性菌疫学踏査を行い、各国において薬剤耐性菌が数パーセント存在することを明らかにした。さらに、ベトナム国において再発患者を検索したところ、57%においてダブソン耐性菌が存在することが判明した。こうした疫学調査は、ハンセン病の世界においては世界で初めて大々的に行われたもので、耐性菌に関する事実が初めて明らかにされた。また、シークエンサーを用いないで薬剤耐性菌を検索する方法として、DNA Dot Blot Hybridization 法が開発され、ミャンマーおよびインドネシアへ技術移転され、信頼できる薬剤耐性検査結果が得られるようになった。さらに、11月9日・10日の2日間にわたり、第3回WHO薬剤耐性らい菌拠点監視事業に関するワークショップを、国立感染症研究所とWHOの共催で戸山庁舎において開催し、ハンセン病研究センターが事務局を務めた。本会議においては、19ヶ国46名の研究者が参加し、渡邊所長、南波疾病対策課長の挨拶に引き続き、最近の薬剤耐性菌の研究の進展と各国の実情が紹介され、ホットな話題が多数紹介された。ハンセン病のワクチン開発および免疫療法の開発に関する研究は、昨年引き続き展開された。ワクチン開発においては、BCGの固有の欠点であるファゴゾームとライソゾームの融合を阻止することを凌駕し得る方法二つを組み合わせた新しいリコンビナントBCGが開発され、その有用性がマウスモデルを用いて実証された。免疫療法の開発では、細胞内に寄生性感染しているらい菌を殺戮すると同時にらい菌抗原を保持している抗原提示細胞を効率的

に殺戮するキラーCD4陽性T細胞およびキラーCD8陽性T細胞の誘導法が開発された。

結核の研究は、新築された第二研究棟を中心にして繰り広げられた。マウス等の小動物に結核菌をエアロゾル感染させる噴霧感染装置の使用がようやく認可されたため、結核菌に関する動物実験が本格的に可能となった。ワクチン開発においては、ハンセン病に対するワクチン開発研究の経験を生かした試験管内研究が開始され、ワクチンの根幹をなす新しい免疫原性に富んだ主要抗原が同定された。今後、本抗原を有効利用するための新規リコンビナントBCGの作製が進むものと期待される。また、結核ワクチン開発において不可欠な、タイプ1CD4陽性T細胞を選択的に活性化し、かつT細胞レセプターを介して活性化される新しい転写因子が同定された。全世界的にもこうした研究はほとんどなされておらず、今後の展開がおおいに期待される。さらに、薬剤耐性結核菌の研究を行うために必要な多剤耐性結核菌の入手がされ、法的処置がつつがなく遂行された。地方衛生研究所を中心に、薬剤耐性結核菌の研究進展が強く求められており、こうしたニーズに応えるべく研究が推進されるものと期待される。

非結核性抗酸菌の研究では、ブルーリ潰瘍の研究が中心に行われた。*M. ulcerans*の近縁菌が日本国内で数例同定され、今後これらの菌について、特に薬剤耐性試験を中心とした研究が進むものと期待される。また、*M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. massiliense*といった希少抗酸菌の同定試験が活発になされ、今後こうした症例が増加する可能性が示唆された。希少抗酸菌に対する対応が急がれる。

最後に人事であるが、4月1日付で松岡正典と儀同政一が再び再任用職員として採用された。

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

1. シュワン細胞を用いた末梢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。これまでにサル由来シュワン細胞株を樹立し、サイトカイン産生能を検討してきた。今回、らい菌感染後、シュワン細胞の膜抗原を分析すると HLA-ABC および CD86 抗原の発現が見られた。そこで、らい菌に対するポリクローナル抗体で、らい菌感染シュワン細胞を染めると、菌壁に対する抗体では染まらないが、らい菌膜に対する抗体では染まることが判明した。このことから、シュワン細胞は抗原提示能を有する可能性が示唆された。[前田百美、遠藤真澄、牧野正彦]

2. らい菌代謝産物の構成・動態解析

らい菌は *in vitro* 培養が不可能であり、宿主内でのみ増殖する性質を持つ。このことは、らい菌が特異な代謝系を保持することを示唆するものであるが、代謝に関わる物質の構成・動態については未だ解明されていない。そこで、らい菌及び BCG の菌体内物質群を抽出・分離し、CE-MS 法によって含まれる化合物の解析を行った。両者を比較した結果、らい菌菌体内にはアミノ酸類が著しく蓄積していることが判明した。このことは、らい菌が他の抗酸菌とは異なる代謝系を保持していることの一端を示すものであった。

[宮本友司、松岡正典、福富康夫、向井 徹、甲斐雅規、前田百美、牧野正彦]

3. らい菌感染マクロファージの脂質蓄積機構に関する研究

らい菌がマクロファージに感染した後のファゴゾーム内潜伏メカニズムに関する研究を行った。ファゴゾーム内の脂質の蓄積や分解に関わる宿主因子について、特に ADRP/perilipin と HSL の相互作用に関して重点的に検討を行い、脂質蓄積と分解の制御が別々の機序で起こるのか、相互に影響し合うのかについて解析した。

[鈴木幸一]

II. 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の樹立

ハンセン病を発症する動物は、現在ヒトとサル以外に知られていない。そのためワクチン候補の効果判定・安全性確認のため、サルの感染系が必要になる。幼若および新生仔カニクイザルにらい菌を接種し、その経過解析を進めている。これまでに、接種後 58, 59 カ月に 1 頭の鼻腔洗浄液より PCR 陽性が認められた。しかし、その後 PCR 陰性であった。

[向井 徹、松岡正典、片貝裕子（予防衛生協会）、牧野正彦]

2. 効率的な抗原発現を行う BCG の開発

M. bovis BCG を宿主としたハンセン病ワクチン開発のため、抗酸菌ファージプロモーター領域を用い、らい菌抗原と BCG 抗原の融合蛋白分泌する遺伝子を Urease C 遺伝子部位と置換した。本菌は、プラスミドによる発現と同等の蛋白分泌し、ワクチン開発に有用と考えられた。[向井 徹、福富康夫、宮本友司、前田百美、牧野正彦]

3. らい菌由来リポ蛋白 LpK の免疫学的な解析

らい菌由来 LpK 由来の合成リポペプチド LipoK は、樹状細胞を成熟化し、らい菌抗原を T 細胞に提示することによって免疫応答を引き起こすことを明らかにしてきた。LipoK は TLR2 を認識し、らい菌感染樹状細胞を活性化し、自己 CD4 及び CD8 陽性 T 細胞の増殖を促した。LipoK で刺激したらい菌感染樹状細胞が産生するエキソゾームを分析すると、Class II 抗原と共にらい菌抗原が含まれている事が明らかになった。このことから、エキソゾームはシグナル伝達因子として重要であると考えられる。

[前田百美、田村敏生、福富康夫、牧野正彦]

4. 新規結核ワクチン開発のための基礎研究

(1) 結核菌分泌蛋白による Th1 分化誘導機序の解析-

結核菌分泌蛋白由来のペプチド (Peptide-25) は、Th1 分化の主要調節因子である T-bet に加え、転写調節因子 TATA box binding protein associated factor の発現を誘導することで *ifn- γ* 遺伝子座のクロマチンリモデリングを誘導し、またサイトカイン非依存的に STAT4 の活性化することで Th1 分化の固定化に重要な役割を果たしている IL-12 受容体 $\beta 2$ 鎖の発現を誘導することで選択的に Th1 分化を誘導していることを明らかにした。

[田村敏生、牧野正彦]

(2) Th1 細胞依存的機能的細胞傷害性 T 細胞の分化誘導機序の解析

ナイーブ CD8+ T 細胞からグランザイム B の発現を伴う機能的な細胞傷害性 T 細胞への分化には Th1 細胞への分化を誘導するような環境下で CD4+ T 細胞と相互作用した樹状細胞の活性化が重要であること、この樹状細胞の活性化を CD4+ T 細胞が産生する IL-17F と CD4+ T 細胞上に発現誘導される CXCR3 が制御している可能性があることを明らかにした。

[田村敏生、牧野正彦]

5. 結核菌ワクチン開発の基礎研究のための組換え蛋白質作製

(1) MMP II、HSP70 融合 MMP II の作製

これまでのらい菌に関する研究から、Major Membrane Protein II (MMP II) は 宿主免疫系の活性化能が高く、更に MMP II と HSP70 とを融合させた蛋白質ではその活性化能が高まることが知られている。結核菌ワクチン開発のために、結核菌由来の MMP II 及び結核菌由来 MMP II と HSP70 の融合蛋白質を非病原性抗酸菌 *M. smegmatis* に発現させ精製した。その結果、らい菌由来 MMP II よりも結核菌由来 MMP II の方が高い免疫系の活性化能を持ち、HSP70 との融合蛋白質の方が MMP II 単独の場合よりも免疫系をより強く活性化することを明らかにした。

[塚本裕美子、牧野正彦]

(2) 結核菌特異的蛋白の精製

これまでの結核菌に関する研究から、ESAT6、CFP10 は抗原性が高く、さらに病原性因子としても知られている。また、BCG に代わる結核菌ワクチンの開発に有用と考えられている。結核菌ワクチン開発のために、結核菌由来リコンビナント ESAT6、CFP10 を非病原性抗酸菌 *M. smegmatis* に発現させ精製した。今後これらの蛋白質に対する宿主の免疫応答について解析を行う。

[塚本裕美子、牧野正彦]

6. 噴霧感染装置を使用したマウスへの結核菌感染方法の確立

結核菌は主に飛沫感染することが知られているため、実験動物をモデル系として使用する場合にも飛沫感染により結核菌を感染させることが望ましい。そこで噴霧感染装置を使用したマウスへの結核菌感染の条件検討を行い、安定的に結果を再現できる条件を決定した。今後、ワクチン効果等の評価をマウス等小動物を用いて行う際に有用と考えられる。

[塚本裕美子、牧野正彦]

III. 病原性抗酸菌症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

これまでに血清診断用の抗原として、Major Membrane Protein-II (MMP-II) の有用性を検討してきた。ハンセン病流行地である、インドネシア (南スラウェシ島)、ベトナムの患者血清中の抗 MMP-II 抗体値を測定した結果、抗 MMP-II 抗体の陽性率は高く、血清診断に有用であるこ

とが示唆された。しかし、中国の患者血清はインドネシアのそれと比べて比較的低い抗体値を示し、さらなる検討が必要であった。

[前田百美、Wang Hongsheng (Chinese Academy of Medical Sciences), 鮫島朝之 (国立療養所星塚敬愛園)、甲斐雅規、牧野正彦]

2. ヒトマクロファージにおける抗らい菌作用発現の仕組み

M-CSF 存在下で培養して得られたヒト末梢血単球由来マクロファージを IFN γ で刺激すると、FACS 解析と共焦点レーザー顕微鏡による観察により、スーパーオキシド産生酵素である NADPH オキシダーゼを構成する phox サブユニットタンパクの発現が著明に増強していることが判明した。また、らい菌を含むファゴゾーム周囲への各種 phox タンパクの集積が観察され、ライソゾームマーカータンパクのらい菌周囲への集積もみられた。よって、NADPH オキシダーゼの発現やファゴゾームとライソゾーム融合がらい菌に対する殺菌作用を増強してい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]

3. クロファジミン抗らい菌活性機構

ハンセン病の化学療法に用いられるクロファジミンは組織親和性が強く in vitro で培養マクロファージに添加すると短時間で細胞内に沈着するが、aurintricarboxylic acid (ATA) により沈着が阻害された。分光光度計による吸収スペクトルの解析結果から ATA とクロファジミンは会合している可能性が示唆され、クロファジミンのフェナジン構造の窒素原子との間で水素結合が起こった結果、細胞への沈着が阻害された可能性が考えられた。同様に、クロファジミンの抗酸菌 *M. smegmatis* に対する殺菌作用も ATA により阻害を受けたことから、らい菌に対してもフェナジン構造がらい菌に対する親和性と殺菌に関与していることが示唆された。

[福富康夫、前田百美、牧野正彦]

4. クロファジミンの抗炎症作用機構の解明

ハンセン病の化学療法剤であるクロファジミンには、らい反応などを抑制するなど抗炎症作用が報告されている。この機序については不明な点が多い。ヒトやマウスマクロファージをクロファジミン存在下にて培養すると、小胞体ストレス関連タンパクの発現が強まり caspase 活性化を伴った細胞死が誘導されることを見出したが、細胞死が起こる前に PGE2 産生が増強することが判明した。

PGE2 は、B 細胞の抗体産生を抑制し、また、T 細胞の増殖を抑えることが知られており、クロファジミンにより誘導される PGE2 が抗炎症作用の一因となっている可能性が示唆された。

[福富康夫、前田百美、牧野正彦]

5. 肺結核症の新規診断法の開発

結核症はツベルクリン皮内反応で診断されてきたが、BCG 菌との交差反応などの問題点があった。最近クオンティフェロン(QFT)検査などのインタフェロンガンマ放出アッセイが臨床の場では使用されるようになった。しかし QFT も新規感染と既感染を区別することはできない。そこで QFT 陽性者の末梢血単核球の表現型を利用して新規感染と既感染を区別する方法を開発中である。

[星野仁彦、工藤翔二(複十字病院)、永井英明(国立病院機構東京病院)、牧野正彦]

6. 潜在性肺結核症診断法の開発

結核菌は治療後も患者の肺内に潜伏し細胞性免疫が減弱すると再活性化し活動性結核を再燃することがある。そこで潜在性肺結核症の活動性を評価する方法が求められている。我々は結核菌が潜伏期に発現するとされるタンパク質を用いて、末梢血単核球と培養しリンパ球から放出されるサイトカインを検出することで潜在性結核の活動性を評価できないかどうか検討中である。

[星野仁彦、永井英明(国立病院機構東京病院)、工藤翔二(複十字病院)、横田恭子(免疫部)、松本壮吉(大阪市立大学細菌学)、有吉紅也(長崎大学熱研内科)、牧野正彦]

7. 病原性抗酸菌の分離・同定・薬剤感受性に関する研究

培養や同定が困難な病原性抗酸菌について、1. 培養条件の検討、2. 菌の生化学的性状、3. 各種遺伝子の配列解析、による分離・同定および薬剤感受性に関して検討し、これまでに、報告例のない皮膚疾患由来および肺疾患由来の新種抗酸菌の分離・同定に成功し、症例を収集中である。また、DDH 法による同定で *M. abscessus* とされている症例の 1/3 は *M. massiliense* 症で、日本にすでに多くの *M. massiliense* 症が存在することを明らかにするとともに、分子生物学的手法を用い簡便な診断法を開発中である。

[中永和枝、星野仁彦、牧野正彦、石井則久]

IV. 薬剤耐性らい菌に関する研究

1. メキシコにおける薬剤耐性菌の伝播に関する研究

メキシコのハンセン病における Dapsone、Rifampicin、Quinolone に対する薬剤耐性菌の伝播状況を遺伝子変異の検索により検討した。38 例中 2 例が左右一か所の耳朶からの菌が Rifampicin 耐性を示し、1 例は一か所の耳朶内に Quinolone 耐性菌と感受性菌が混在していた。Rifampicin に対する耐性の割合は東南アジア 3 カ国の結果とはほぼ同じであったが、Quinolone 耐性はそれらの国々では検出されず、同国における Quinolone に対する高い耐性菌の割合が示唆された。感染者体内における薬剤耐性菌の拡散の様式を表すものと考えられた。

[松岡正典、牧野正彦]

2. Rifabutin の抗らい菌活性

多剤耐性菌に対処するため、新規リファマイシン系抗菌薬 rifabutin(RFT)の抗らい菌活性を、ヌードマウス足蹠法で検討した。感受性らい菌(Thai-53 株)に対して RFP は 5mg/kg、RFT は 2mg/kg で完全抑制し、RFT は強い抗らい菌活性を示した。多剤耐性らい菌(Zensho-4 株)に対して RFT は 20mg/kg で完全抑制し、RFP と部分交差耐性を認めた。以上の結果から、多剤耐性患者に RFT を含む多剤併用療法を用いることで治療効果が期待できる。

[儀同政一、牧野正彦]

3. らい菌の薬剤耐性菌遺伝子変異の迅速検出法に関する研究

ハンセン病治療薬に対する耐性と遺伝子変異についての関連はダブソン耐性と *foIPI* 遺伝子、リファンピシン耐性と *rpoB* 遺伝子、キノロン耐性と *gyrA* 遺伝子で知られており、耐性菌検出の指標となっている。その検査は一般に PCR 法で各遺伝子領域の増幅とシーケンスを行い変異を決めるものであるが、より簡便、迅速な新しい検査法確立を目指した。ダブソン耐性で *foIPI* の 53 位と 55 位の変異、リファンピシン耐性では *rpoB* の 410 位、420 位、425 位、427 位の変異、キノロン耐性は *gyrA* の 89 位、91 位の変異に関し、各変異部位を Forward プライマーの 3' 末端とし、末端塩基のみ異なる 4 種のプライマーを設計しそれらと共通の Reverse プライマーによるリアルタイム PCR 法により増幅効率の違いから末端塩基を同定し変異の有無を知る方法を確立した。現在、臨床サンプルを用いてその有効性を評価している。

[甲斐雅規、中田 登、松原久美子、牧野正彦]

4. 抗酸菌のクロファジミン耐性機構に関する研究

ハンセン病主要治療薬の一つであるクロファジミンの作用機序は明らかとなっておらず、そのため耐性変異に

についても知見が無いことから、DNA 診断も不可能である。その作用機構を明らかにするため、非結核性抗酸菌を用いてクロファジミンに特異的に耐性を示す変異株を分離した。親株と変異株のゲノムシーケンシングを行い、全ゲノム比較を行ったところ、167 箇所の一塩基置換を見出した。これらの中からクロファジミン耐性の直接の原因となっている変異について解析している。

[中田登、甲斐雅規、牧野正彦]

5. 抗酸菌のリファンピシン耐性変異に関する研究

rpoB 遺伝子の変異はリファンピシンに対する耐性に関与し、らい菌と結核菌で様々な変異が報告されている。迅速発育抗酸菌 *M. smegmatis* の *rpoB* 遺伝子をらい菌 *rpoB*、または結核菌 *rpoB* 遺伝子で置換したモデル抗酸菌株を用いて、17ヶ所のコドン・38種の点変異、及びインフレーム欠失2種と挿入1種について試験し、耐性を引き起こすものを明らかにした。また、リファブチンに対する感受性を調べた結果、コドン516の変異はリファンピシン耐性を引き起こすが、リファブチンに対する耐性は弱いことが明らかとなった。

[中田登、甲斐雅規、牧野正彦]

6. 抗酸菌のフルオロキノロンの耐性変異に関する研究

抗酸菌の *gyrA* 遺伝子上の変異とフルオロキノロン系薬剤耐性の関係を *M. smegmatis* を用いて直接試験できる実験系を開発済みであるが、*gyrB* 遺伝子上変異についても耐性に関与する可能性が報告されているため、同様に試験する系の開発を行った。*M. smegmatis* に結核菌 *gyrB* 遺伝子を導入し、その後 *M. smegmatis* の *gyrB* 遺伝子を破壊して遺伝子を置き換えたモデル菌を作成した。これに点変異を加えて *gyrB* 変異とフルオロキノロン耐性の関係について詳細に検討している。

[中田登、甲斐雅規、牧野正彦]

V. らい菌の遺伝情報に関する研究

1. DNA マイクロアレイによるらい菌遺伝子発現の網羅的解析と臨床応用

らい菌の全遺伝子を対象とした DNA マイクロアレイ解析の結果、特定のらい菌 RNA の発現や消長を治療効果や予後の判定に応用できる可能性がわかったことから、検査法の確立を目標に研究を行った。臨床材料でのデータを集積した。

[鈴木幸一]

2. らい菌ゲノムの次世代シーケンス解析

次世代ゲノムシーケンサーにてらい菌3株、Thai-53、Kyoto-2、Ryukyu-6のシーケンスを行った。これまでに増殖速度がThai-53と異なり遅い株であるKyoto-2の全シーケンスが決定した。現在DNAデータバンクへの登録準備をするとともに全ゲノムシーケンスが解明されているらい菌TN株、Br4923株との相互比較を行ない、特に増殖速度の異なるらい菌株から、これまで知られていないらい菌の増殖に関与する遺伝子もしくは遺伝子群の検索を行っている。TN株との比較から発見されたKyoto-2株のSNPsで特有のアミノ酸変異を持つもの94か所を同定したので、各遺伝子のアミノ酸変異による増殖能に与える影響を調査している。また、これまで同定してきたSNPs情報および今回得られたものより、らい菌の疫学調査に有用なSNPsパターンの検討を行っている。

[甲斐雅規、中田 登、松岡正典、牧野正彦]

VI. 抗酸菌の抗原性および補助因子に関する研究

1. ミコール酸合成系に関する研究

BCG菌を用いてミコール酸合成系の解析を行っている。これまでにミコール酸合成系のうち *mmaA4* 及び *mmaA2* 遺伝子の破壊株をBCG菌コンノート株で作成し構成されるミコール酸を調べたところ *mmaA4* 破壊株がらい菌のミコール酸と類似していることがわかった。変異株の電子顕微鏡観察を行ったところコード形成に違いが見られた。そこで、破壊した元の遺伝子を持つプラスミドを、破壊株に戻した復帰変異株を作成し、電子顕微鏡像とコード形成能について解析を行っている。また、これら変異株よりミコール酸を主要構成成分とするTMM及びTDMを抽出し質量分析したところらい菌のそれと類似していることがわかった。

[甲斐雅規、宮本友司、向井 徹、牧野正彦]

VII. ブルーリ潰瘍および近似疾患に関する研究

1. *Mycobacterium ulcerans* 感染症に関する研究

M. ulcerans によるブルーリ潰瘍は難治性の皮膚疾患である。これまでに、マウス実験感染モデル系を用い Rifalazil の有効性や末梢神経傷害と毒性脂質マイコラクトンの関係を明らかにした。また日本のブルーリ潰瘍 ("*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*" 感染症) 19症例を収集し、世界のブルーリ潰瘍との比較研究、近縁菌 *M. marinum*, *M. pseudoshottsii* などマイコラクトン産生抗酸菌との比較研究を展開中である。

[中永和枝、星野仁彦、四津里英(国立国際医療研究センター)、牧野正彦、石井則久]

VIII. ハンセン病回復者と家族への偏見・差別の是正に関する社会研究

1. ハンセン病回復者と家族の社会課題と共生政策に関する国際研究

ミャンマーの Mandalay 管区、Yangon 管区のハンセン病患者村（コロニー）のハンセン病患者・回復者（PAL: Person Affected by Leprosy）と家族の直面する社会課題を調査し、その対策としての有効事例を研究するなどして、PAL と家族への偏見・差別とスティグマの成立要因を分析し、それらを是正するプログラムなど研究した。その結果、回復者・患者への偏見・差別の是正には、彼らの経済的自立、教育水準の向上、アイデンティティの確立が必要と考えられ、早期発見・早期治療、障害予防のための医療制度の改革、経済的自立のための microcredit loan や効果的な職業訓練の導入、教育水準を高めるためのファンドの設立などが効果的であることが明らかとなった。

[森 修一、石井則久]

IX. ハンセン病の疫学に関する研究

1. 日本のハンセン病疫学の歴史的研究

日本におけるハンセン病の流行とその終焉への過程は未だ明らかではない。また、感染症対策としてのハンセン病政策がハンセン病の流行と終焉にどのような役割を果たしたのかも不明である。本研究ではハンセン病を疑われるヒト骨化石から、らい菌の DNA を検出し、その SNPs を調べ、各時代にどの地域でハンセン病の流行があったのか、その菌は世界のどこから伝搬したのか、埋葬の形式などにハンセン病特有の文化的扱いがあるのかなどを調べた。現在はこの事例を増やしている。また、明治末に始まる感染症対策としての日本のハンセン病政策が新規患者の減少にどのような影響を与えたのかを、ハンセン病療養所の統計記録や、諸外国のハンセン病政策研究、諸外国のハンセン病療養所の統計記録などから考証している。

[森 修一、鈴木幸一、石井則久]

国際協力関係業務

I. ハンセン病の早期診断法と薬剤耐性らい菌に関する研究及び WHO の薬剤耐性監視事業への協力

ベトナム国とミャンマー国において実施している共同研究では、ハンセン病の早期診断法に結核で確立されている免疫学的な診断法である IGRA(interferon- γ release assay)法の検討を行っている。これまでにハンセン病診断への応用を可能にするための実験室準備と現地担当者

の教育を行い、各種抗原候補を探索している。薬剤耐性らい菌の検査に関しては WHO より依頼を受けた薬剤耐性サーベイへの協力（ベトナム国、ミャンマー国で得られた試料を用い、薬剤耐性遺伝子変異の確認）を継続して行い、結果を東京で行われた WHO によるワークショップにて報告した。

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

らい菌の供給

平成 22 年 4 月より同 23 年 3 月までの 1 年間において、30 回、95 匹、5 施設（国内 2、国外 3）、10 名（国内 7、国外 3）の研究者に対し、らい菌感染ヌードマウス足蹠の供給を行った。

[甲斐雅規、天内肇、前田百美、宮本友司、牧野正彦]

らい菌感染ヌードマウス足蹠の分与
(平成 22 年 4 月より平成 23 年 3 月)

No.	年月日 平成 22 年	分与先	マウス匹数
1)	4.10	前田	ハンセン研 1
2)	5.20	前田	ハンセン研 2
3)	6.8	宮本	ハンセン研 8
4)	6.15	甲斐	ハンセン研 2
5)	6.17	前田	ハンセン研 1
6)	6.24	前田	ハンセン研 1
7)	6.30	松岡	ハンセン研 1
8)	7.2	前田	ハンセン研 1
9)	7.7	天児	九州大学 2
10)	7.22	前田	ハンセン研 1
11)	7.22	福富	ハンセン研 1
12)	7.29	甲斐	ハンセン研 1
13)	8.2	前田	ハンセン研 1
14)	9.10	前田	ハンセン研 1
15)	9.12	甲斐	ハンセン研 4
16)	9.13	前田	ハンセン研 4
17)	11.15	前田	ハンセン研 2
18)	11.15	宮本	ハンセン研 3
19)	11.16	Dr. Myo Thet Htoon	WHO 4
20)	11.24	Dr. Vissa Vara	コロラド州立大学 36
21)	12.3	宮本	ハンセン研 2
22)	12.3	前田	ハンセン研 1
23)	12.14	森	ハンセン研 2
24)	12.28	甲斐	ハンセン研 4
25)	1.13	前田	ハンセン研 1
26)	1.25	宮本	ハンセン研 4
27)	2.9	前田	ハンセン研 1
28)	2.24	前田	ハンセン研 1
29)	3.22	Dr. Indropo	Airlanga Univ 1
30)	3.25	前田	ハンセン研 1

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Mukai T., Maeda Y., Tamura T., Matsuoka M., Tsukamoto Y., and Makino M. 2010. Enhanced activation of T lymphocytes by urease-deficient recombinant Bacillus Calmette-Guérin producing heat shock protein 70-major membrane protein-II fusion protein. *J Immunol* 185:6234-6243.
- 2) Miyamoto Y., Mukai T., Naka T., Fujiwara N., Maeda Y., Kai M., Mizuno S., Yano I., and Makino M. 2010. Novel rhamnosyltransferase involved in biosynthesis of serovar 4-specific glycopeptidolipid from *Mycobacterium avium* complex. *J Bacteriol* 192:5700-5708.
- 3) Hayashi D., Takii T., Mukai T., Makino M., Yasuda E., Horita Y., Yamamoto R., Fujiwara A., Kanai K., Kondo M., Kawarazaki A., Yano I., Yamamoto S., and Onozaki K. 2010. Biochemical characteristics among *Mycobacterium bovis* BCG substrains. *FEMS Microbiol Lett* 306:103-109.
- 4) Yahagi A., Umemura M., Tamura T., Kariyone A., Begum M. D., Kawakami K., Okamoto Y., Hamada S., Oshiro K., Kohama H., Arakawa T., Ohara N., Takatsu K., and Matsuzaki G. 2010. Suppressed induction of mycobacterial antigen-specific Th1-type CD4⁺ T cells in the lung after pulmonary mycobacterial infection. *Int Immunol* 22:307-318.
- 5) Matsuoka M. 2010. Drug resistance in leprosy. *Jpn J Infect Dis* 63:1-7.
- 6) Watanabe T., Ohkusu K., Nakanaga K., Ishii N., Nakashima K., Shindo M., Yoshida Y., and Yamamoto O. 2010. Buruli ulcer caused by “*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*”. *Eur J Dermatol* 20:809-810.
- 7) Komine-Aizawa S., Yamazaki T., Yamazaki T., Hattori S., Miyamoto Y., Yamamoto N., Haga S., Sugitani M., Honda M., Hayakawa S., and Yamamoto S. 2010. Influence of advanced age on *Mycobacterium bovis* BCG vaccination in guinea pigs aerogenically infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Vaccine Immunol* 17:1500-1506.
- 8) Kobiyama K., Takeshita F., Jounai N., Sakaue-Sawano A., Miyawaki A., Ishii K. J., Kawai T., Sasaki S., Hirano H., Ishii N., Okuda K., and Suzuki K. 2010. Extra-chromosomal histone H2B mediates innate antiviral immune responses induced by intracellular double-stranded DNA. *J Virol* 84:822-32.
- 9) Akama T., Tanigawa K., Kawashima A., Wu H., Ishii N., and Suzuki K. 2010. Analysis of *Mycobacterium leprae* gene expression using DNA microarray. *Microb Pathog* 49:181-185.
- 10) Suzuki K., Takigawa W., Tanigawa K., Nakamura K., Ishido Y., Kawashima A., Wu H., Akama T., Sue M., Yoshihara A., Mori S., and Ishii N. 2010. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA from archaeological skeletal remains in Japan using whole genome amplification and polymerase chain reaction. *PLoS ONE* 5:e12422.
- 11) Suzuki K., Udono T., Fujisawa M., Tanigawa K., Idani G., and Ishii N. 2010. Infection during infancy and long incubation period of leprosy suggested in the case of a chimpanzee used for medical research. *J Clin Microbiol* 48:3432-3434.
- 12) Matsuoka M. 2010. The history of *Mycobacterium leprae* Thai-53 strain. *Leprosy Rev* 81:137.
- 13) Matsuoka M. 2010. The history and characteristics of isolates maintained at the Leprosy Research Center. *Jpn J leprosy* 79:247-256.
- 14) Matsuoka M., Suzuki Y., Garcia I.E., Fafutis-Morris M., Vargas-González A., Carreño-Martinez C., Fukushima Y., and Nakajima C. 2010. Possible drug resistant leprosy is revealed by an analysis of samples from Mexico. *Jpn J Infect Dis* 63:412-416.
- 15) Kobiyama K., Jounai N., Ishii K.J., Horii T., Suzuki K., Ryo A., and Takeshita F. Modulation of intracellular signaling using protein transduction technology. *Crit Rev Immunol* 30: 395-421, 2010.
- 16) Akama T., Suzuki K., Tanigawa K., Nakamura K., Kawashima A., Wu H., Sue M., Yoshihara A., Ishido Y. and Ishii N. Whole-genome expression analysis of *Mycobacterium leprae* and its clinical application. *Jpn J Infect Dis* 63:387-392, 2010.
- 17) Tsukamoto Y., Endoh M., Mukai T., Maeda Y., Tamura T., Kai M., and Makino M. 2011. Immunostimulatory Activity of Major Membrane Protein II from *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Vac Immunol* 18:235-242.
- 18) Nakanaga K., Hoshino Y., Era Y., Matsumoto K., Kanazawa Y., Tomita A., Furuta M., Washizu M., Makino M., and Ishii N. 2011. Multiple cases of cutaneous *Mycobacterium massiliense* infection in a “hot

spa” in Japan. J Clin Microbiol 49:613-617.

- 19) Kai M., Nguyen P.N.H., Nguyen H.A., Pham T.H.B.D., Nguyen K.H., Miyamoto Y., Ymaeda Y., Fukutomi Y., Nakata N., Matsuoka M., Makino M., and Nguyen T.T. 2011. Analysis of drug-resistant strains of *Mycobacterium leprae* in an endemic area of Vietnam. Clin Infect Dis 52: e127-132.
 - 20) Khin S. A., Matsuoka M, Kai M., Kyaw K., Win A. A., Shwe M. M., Thein M., Htoo M. M., and Htoon M. T. 2011. FTA Card Utility for PCR Detection of *Mycobacterium leprae*. Jap J Infect Dis 64: 246-248.
2. 和文発表
- 1) 森 修一、鈴木幸一、スマナ バルア、永岡 譲、石井則久. 2010. ハンセン病による負荷のさらなる軽減のための強化された世界戦略. 日本ハンセン病学会誌 79:53-73.
 - 2) 石井則久、スマナ・バルア、森修一、永岡譲、鈴木幸一. 2010. WHO 第 10 回ハンセン病制圧のための技術勧告 (Technical Advisory Group: TAG) 会議報告書. 日本ハンセン病学会誌 79:37-42.
 - 3) 鈴木幸一、森修一、永岡譲、石井則久. 2009 年における世界のハンセン病の現状について. 2010. 日本ハンセン病学会誌 79:43-51.
 - 4) 松岡正典、鈴木定彦、牧野正直. DNA マイクロアレイを用いた薬剤耐性らい菌の簡易検出法の創出と、その開発途上国における有用性. 2010. 日本ハンセン病学会雑誌 79: 257-261.
 - 5) 儀同政一. 国際保健機関(WHO)とわが国の多剤併用療法 MDT). 2010. 国立ハンセン病資料館研究紀要 1 : 66-68.
 - 6) 石井則久、中永和枝、笹野正明、加藤陽一. 2010. 1. 最近話題の皮膚疾患: 深い潰瘍を形成する新たな非結核性抗酸菌感染症 *Mycobacterium shinshuense* 感染症. 臨床皮膚科 64(5 増):8-12.
 - 7) 青野昭男、鹿住祐子、前田伸司、東由桂、土屋滋夫、岩本朋忠、中永和枝、早川啓史、齋藤肇. 2010. 結核菌群用同定キットで陽性を示した非結核性抗酸菌について. 結核 85:461-464.
 - 8) 生長奈緒子、山本瑞穂、白井明、朝比奈昭彦、三富弘之、中永和枝、石井則久. 2010. 非結核性抗酸菌症と考えられた 2 例. 皮膚科の臨床 52:195-198.
 - 9) 金玄、鈴木晴香、松岡正典、松葉隆司、横山和正、中島千絵、鈴木定彦. らい菌および結核菌のニューキノロン耐性獲得機構と耐性菌迅速鑑別法. 2011.

日本ハンセン病学会雑誌 80:17-27.

- 10) 松岡正典、甲斐雅規.WHO・薬剤耐性らい菌拠点監視事業に関する会議 報告. 2011. 日本ハンセン病学会雑誌 80: 71-77.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Maeda, Y., T. Tamura, Y. Fukutomi, and M. Makino. The fate of *Mycobacterium leprae* in human dendritic cells. 11th International Symposium on Dendritic Cells in Fundamental and Clinical Immunology. 26-30 September, 2010, Lugano, Switzerland.
- 2) Tamura, T., Y. Shimohakamada, M. Makino, and K. Takatsu. Peptide-25 of Ag85B induces Th1 differentiation in a T-bet-independent manner. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 45th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 13-16 July, 2010, Cambridge, Massachusetts, USA.
- 3) Fukutomi, Y., Y. Maeda, M. Matsuoka, and M. Makino. Anti-*M. leprae* activity and Phox expression in human macrophages. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 45th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 13-16 July, 2010, Cambridge, Massachusetts, USA.
- 4) Makino, M., T. Mukai, Y. Maeda, T. Tamura, Y. Tsukamoto, and M. Matsuoka. Induction of crosspriming of naïve CD8⁺ T lymphocytes by recombinant BCG that secretes HSP70-MMP-II fusion protein. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 45th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 13-16 July, 2010, Cambridge, Massachusetts, USA.
- 5) Mukai, T., Y. Fukutomi, Y. Maeda, Y. Miyamoto, M. Matsuoka, and M. Makino. Expression of the fluorescent protein in *Mycobacterium leprae*. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 45th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 13-16 July, 2010, Cambridge, Massachusetts, USA.
- 6) Miyamoto, Y., and M. Makino. Characterization of the glycopeptidolipid biosynthesis in *Mycobacterium avium* complex serovar 20. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 45th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 13-16 July, 2010, Cambridge, Massachusetts, USA.

- 7) Akama, T., Y. Ishido, K. Tanigawa, A. Kawashima, H. Wu, M. Sue, A. Yoshihara, N. Ishii, K. Suzuki. Development of a DNA microarray to detect prokaryotes and its application to the environmental water in Japan. Florence conference on phenotype microarray analysis of microorganisms, 13-15 September, 2010, Florence, Italy.
- 8) Yotsu R. R., K. Nakanaga, Y. Hoshino, and N. Ishii. Surveillance of Buruli Ulcer in Japan. Annual Meeting of the WHO Global Buruli Ulcer Initiative. 28-30 March, 2011, Geneva, Switzerland.
- 9) Nakanaga K., R. R. Yotsu, Y. Hoshino, and N. Ishii. Laboratory Examination of Buruli Ulcer in Japan. Annual Meeting of the WHO Global Buruli Ulcer Initiative. 28-30 March, 2011, Geneva, Switzerland.
2. 国内学会
- 1) 森 修一. 草津湯の沢ハンセン病自由療養地の研究. 生物学史研究会 2010年1月 東京
- 2) 宮本友司, 向井 徹, 甲斐雅規, 前田百美, 中 崇, 藤原永年, 水野淨子, 矢野郁也, 牧野正彦. *Mycobacterium avium* complex 血清型4型株における glycopeptidolipid の生合成解析. 第83回日本細菌学会総会 2010年3月 横浜
- 3) 向井 徹, 前田百美, 福富康夫, 宮本友司, 松岡正典, 牧野正彦. 抗酸菌フェージ TM4 に由来する強力な抗酸菌プロモーターの同定. 第83回日本細菌学会総会 2010年3月 横浜
- 4) 中田 登, 甲斐雅規, 牧野正彦. 抗酸菌 *rpoB* 遺伝子変異とリファンピシン感受性に関する解析. 第83回日本細菌学会総会 2010年3月 横浜
- 5) 前田百美, 田村敏生, 甲斐雅規, 福富康夫, 牧野正彦. らい菌リポ蛋白由来リポペプチドによる宿主細胞内らい菌の殺戮. 第83回日本細菌学会総会 2010年3月 横浜
- 6) 福富康夫, 前田百美, 牧野正彦. ヒトマクロファージの抗らい菌活性発現と phox タンパクの動態. 第83回日本細菌学会総会 2010年3月 横浜
- 7) 天児和暢, 飯田健一郎, 松岡正典, 甲斐雅規, 吉田真一. らい菌が培養できない理由. 第83回日本細菌学会総会 2010年3月 横浜
- 8) 中永和枝, 齋藤肇, 石井則久, 丸茂健治, 松本英伸, 秋山也寸史, 洲鎌芳美, 重藤えり子, 児玉朱実, 小橋吉博. *Mycobacterium abscessus* とその類似抗酸菌 *Mycobacterium massiliense* および *Mycobacterium bolletii* との鑑別・同定. 第84回日本感染症学会総会 2010年4月 京都
- 9) 齋藤肇, 中永和枝, 石井則久. *Mycobacterium abscessus* 近縁の新菌種 *Mycobacterium massiliense* 感染症の2例. 第84回日本感染症学会総会 2010年4月 京都
- 10) 渡邊徹心, 中島圭子, 進藤真久, 吉田雄一, 山本修, 大楠清文, 中永和枝, 石井則久. 足背に生じた *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* による皮膚潰瘍. 第109回日本皮膚科学会総会 2010年4月 大阪
- 11) 中永和枝, 齋藤肇, 江良悠子, 松本賢太郎, 金澤裕司, 石井則久. *Mycobacterium abscessus* とその近縁菌 *Mycobacterium massiliense* および *Mycobacterium bolletii* との鑑別・同定 (付) *Mycobacterium massiliense* 皮膚感染症の2例. 第80回実験結核研究会 2010年5月 京都
- 12) 中永和枝, 星野仁彦, 石井則久, 牧野正彦, 齋藤肇, 丸茂健治, 松本英伸, 秋山也寸史, 洲鎌芳美, 重藤えり子, 児玉朱実, 小橋吉博, 永井英明, 吉田志緒美, 富田元久, 倉岡敏彦, 矢野修一, 加治木章, 伏脇猛司, 岡崎充宏, 佐藤敦夫, 森本耕三, 倉島篤行. *Mycobacterium abscessus* とその近縁の抗酸菌 *Mycobacterium massiliense* および *Mycobacterium bolletii* について. 第42回非結核性抗酸菌症研究協議会 2010年5月 京都
- 13) 中永和枝, 齋藤肇, 岩本朋忠, 吉田志緒美. *Mycobacterium marinum* とその近縁菌 *Mycobacterium pseudoshottsii*: ヒト皮膚並びに肺疾患由来菌と魚病由来菌の比較検討. 第85回日本結核病学会総会 2010年5月 京都
- 14) 中永和枝, 石井則久, 齋藤肇, 丸茂健治, 松本英伸, 秋山也寸史, 洲鎌芳美, 重藤えり子, 児玉朱実, 富田元久, 永井英明, 矢野修一, 加治木章, 小橋吉博, 伏脇猛司, 倉岡敏彦. *Mycobacterium abscessus* と近縁の抗酸菌 *Mycobacterium massiliense* および *Mycobacterium bolletii* との鑑別・同定ならびに日本における分布相. 第85回日本結核病学会総会 2010年5月 京都
- 15) 齋藤肇, 中永和枝, 石井則久. *Mycobacterium massiliense* 皮膚感染症の2例. 第85回日本結核病学会総会 2010年5月 京都
- 16) 福富康夫, 前田百美, 松岡正典, 牧野正彦. クロファジミンによる細胞死誘導の機序. 第83回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010年5月 鹿児島

- 島市
- 17) 前田百美, 田村敏生, 福富康夫, 牧野正彦. らい菌のリポペプチドによる抗らい菌生体防御反応に及ぼす影響. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 18) 甲斐雅規, 松岡正典, 宮本友司, 牧野正彦. 次世代シーケンス解析によるらい菌株のゲノム配列比較. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 19) 向井 徹, 松岡正典, 前田百美, 宮本友司, 福富康夫, 牧野正彦. 抗酸菌フェージプロモーターによるらい菌の蛍光蛋白発現. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 20) 鮫島朝之, 前田百美, 後藤正道, 牧野正彦. Major Membrane Protein (MMP)-II 血清抗体価とハンセン病の病型について. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 21) 石井則久, 鈴木幸一, 永岡 譲. ハンセン病の医療充実に向けた取り組み. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 22) 森 修一, San Shwe, Le Le Win, Kyaw Myint, 鈴木幸一, 石田 裕, 石井則久. ハンセン病回復者と家族の社会課題と共生政策に関する国際研究－ミャンマーのハンセン病コロニーとコミュニティーの調査から－. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 23) 鈴木幸一, 鶴殿俊史, 藤澤道子, 谷川和也, 矢島幹久, 宮村達男, 伊谷原一, 石井則久. 乳幼児期感染と約 30 年の潜伏期間を証明し得た LL 型ハンセン病チンパンジーの 1 例. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 24) 鈴木幸一, 谷川和也, 瀧川 渉, 石藤雄子, 赤間剛, 川島 晃, Huhehasi Wu, 須江麻里子, 森 修一, 石井則久. 遺跡で発掘されたハンセン病疑い人骨からのらい菌 DNA の証明. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 25) 木庭愛, Paul E. M. Fine, 森修一, 石井則久. わが国のハンセン病患者の動向の概観 -1964 年より 2008 年までのデータをもとに-. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 26) 天児和暢, 飯田健一郎, 松岡正典, 吉田真一. らい菌の試験内培養. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 27) 松岡正典. 薬剤耐性らい菌の遺伝子変異およびその簡易検出法の開発. 日本ハンセン病学会賞受賞講演. 第 83 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2010 年 5 月 鹿児島市
- 28) 鶴殿俊史, 谷川和也, 鈴木幸一, 石井則久, 藤澤道子, 伊谷原一. 早期診断と治療に成功したチンパンジーにおけるハンセン病の 1 例. 第 16 回日本野生動物医学会 2010 年 9 月 福岡市
- 29) 大月隆志, 伊崎誠一, 中永和枝, 星野仁彦, 石井則久, 長村洋三. 下肢の紅色結節から *M. massiliense* が同定された非結核性抗酸菌症の 1 例. 日本皮膚科学会第 832 回東京地方会 (四地区分会) 2010 年 9 月 横浜
- 30) 深野華子, 和田新平, 倉田修, 畑井喜司雄, 水野かおり, 中永和枝. 抗酸菌症を疑う養殖カワハギの疾病に関する病理学的所見. 平成 22 年度日本魚病学会 2010 年 9 月 三重
- 31) 佐宗亜衣子, 星野敬吾, 櫻井準也, 谷川和也, 森修一, 石井則久, 鈴木幸一, 平田和明. 近世鍋被り葬人骨の分子古病理学的検討. 第 64 回日本人類学会 2010 年 10 月 北海道伊達市