

## 23. ハンセン病研究センター

### 感染制御部

部長 石井 則久

#### 概要

感染制御部では、(1) らい菌・結核菌・非結核性抗酸菌により発症する疾病の病理・診断・治療・予防・薬剤感受性に関する研究業務に加えて、(2) らい菌の分離・同定・薬剤感受性試験（行政検査、2006年以降、日本でのほぼ全症例を行っている）、(3) 希少非結核性抗酸菌の分離・同定・薬剤感受性試験（依頼検査）、並びに(4) ハンセン病の社会疫学に関する研究業務を行っている。

らい菌(*Mycobacterium leprae*)に関する基礎研究においては、薬剤耐性機構および簡便な検出法に対する研究に進展が見られた。

*M.leprae* は人工培地培養が現在まで実現しておらず、薬剤感受性試験を容易に施行することができなかったが、*M.leprae* の薬剤標的遺伝子を *M.smegmatis* の ortholog と交換することで、*M.leprae* の薬剤感受性表現型を人工培地に発育する抗酸菌で評価することに成功した。今年度はフルオロキノロン感受性に関連する *gyrase BA* の置換株を作成し、らい菌 *gyrase BA* の薬剤感受性と温度感受性について解析し、温度感受性に関連する遺伝子変異を同定した。また、ハンセン病の3大主要治療薬の一つであるクロファジミンについてクロファジミン感受性関連遺伝子の解析を進めている。

細胞学的研究として、らい菌感染マクロファージにおける NADPH オキシダーゼの防御的役割、らい菌感染シュワン細胞に特異的に形成される脂肪滴の病態への関与などの研究が行われた。

また、途上国において利用可能な簡便な *M.leprae* 検出法の開発は喫緊の課題であり、LAMP 法を用いた *M.leprae* 特異的検出法を開発した。さらに、新規らい菌特異抗原を検索し、血清診断法の開発を行っている。現在、ザンビア、中国、ベトナムにおいて国際共同研究が進展している。

非結核性抗酸菌に関する基礎研究は *M. abscessus complex* の分離・同定・薬剤感受性に関する開発研究が進展した。

*M. ulcerans* によって生じる「ブルーリ潰瘍」は無痛性難治性潰瘍を特徴とする皮膚疾患である。*M. ulcerans* 感染症は重篤な身体後遺症を残す事が多くハンセン病同様

社会的偏見差別を受けやすい。WHO はブルーリ潰瘍を「Neglected Tropical Diseases」(顧みられない熱帯病)の一つに定め、その疫学・診断・治療・予防などに精力的に活動を行っており、世界で毎年数千人規模の新規患者が登録されており、WHO の *M. ulcerans* 感染症対策には感染制御部が連携を行っており活発に活動を展開している。日本においては2017年3月末までに累計63例のブルーリ潰瘍が集積されている。また、*M. ulcerans* の subspecies である *M. shinshuense* については全ゲノム解析が行われ *M. marinum* や *M. ulcerans* との比較ゲノム解析を行った。

新規に発見されたハンセン病類似疾患である「Lucio型ハンセン病」の起原菌である *M. lepromatosis* の変異を同定し、薬剤耐性と相関等を解析している。

ハンセン病に関しての社会疫学研究が進展した。ハンセン病対策の進展要因の検証に寄与することを目的として、Web 公開学術データベース「ハンセン病近現代資料アーカイブス」の作成を行い、ハンセン病医学・公衆衛生政策に関する資料を中心に数万点の資料の収集・検証を行い、これらの資料のデジタル化による保存作業を行うと共に、資料のデータベース化を行いβ版の公開を始めた。その他、外来診療を中心としたハンセン病の解放医療の試みと、それが日本で進展しなかった要因を、1950年代から行われた厚生省、療養所、入所者の三位一体の社会復帰推進検討会である「社会復帰研究会」と社会復帰者用営農訓練施設「東北農場」の調査研究と当事者への事例研究などから検証している。

BSL3、ABSL3 施設が稼働している第二研究棟においては、結核菌に関する研究を行っている。結核菌の培養、保存、*in vitro* での結核菌の各種解析を行うとともにマウス、サルを使用した *in vivo* における感染実験を行い、ハンセン病や結核に対する組換え BCG ワクチンの持続性・安全性に関する研究、結核菌による制御性 T 細胞誘導による免疫回避の解析研究で進展が認められた。

最後に人事であるが、2017年3月31日付で第三室長甲斐雅規が定年退官した。

業績

調査・研究

I. らい菌の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

ハンセン病による末梢神経障害に関する研究課題として、らい菌の末梢神経への感染経路、それに伴う障害機序の解明が重要であるが、らい菌の感染が末梢神経修復に与える影響についても、後遺症の軽減を考える上でも重要な課題である。そこでらい菌感染後の末梢神経ミエリン再生機能に着目し、ほぼ脂質成分で構成されるミエリンの産生細胞であるシュワン細胞の脂質代謝、特に脂肪滴の形成にらい菌感染が及ぼす影響について、主に蛍光抗体法を用いて解析した。らい菌の感染によりシュワン細胞の細胞質内に多量の脂肪滴の形成が認められ、その蓄積量は MOI 並びに感染期間に依存した。また形成された脂肪滴付近に、多量のらい菌の存在を認めた。シュワン細胞における脂肪滴形成は、らい菌感染時にもみ顕著に観察され、他の抗酸菌感染時には認められなかった。その他、シュワン細胞とらい菌相互作用の解析に関連する研究を随時遂行した。

[遠藤真澄、前田百美]

II. 生体防御機構とワクチン開発に関する研究

1. ハンセン病のワクチン開発に関する研究

らい菌感染樹状細胞から得られたエキソソームを精製し、自己 T 細胞と混合培養すると、T 細胞が活性化し、らい菌リポペプチド LipoK によってさらに T 細胞活性が増加した。そこで、エキソソームに含まれる miRNA の網羅的解析を東レの高性能 DNA チップで行った。らい菌感染樹状細胞から得られたエキソソームは幾つかの miRNA をより多く含んでいた。今回ハンセン病患者血液を用いて、ハンセン病特異的な miRNA の同定を試みたが、内在性コントロールの選定が難しく、現在幾つかの報告されていない発現変動の少ないターゲットを見つけた。これを用いてハンセン病特異的な miRNA が同定できれば、新たな発想に基づくワクチン開発に進める。

[前田百美、向井徹、福富康夫、田村敏生]

2. 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機能的細胞傷害性 T 細胞の分化誘導機序の解析-

末梢を循環するエフェクターメモリー様細胞傷害性 T 細胞 (CTL)の分化には Th17 細胞とは異なるレジデントメモリー様 CD4 T 細胞が産生する IL-17F と未知の液性因子の共作用によって成熟化した樹状細胞による抗原提示が必須であるこ

と、BCG 接種及び結核感染ではこの IL-17F 産生 CD4 T 細胞の分化・活性化が PD1 陽性抑制性 CD4 T 細胞によって制御されている可能性を明らかにした。

[田村敏生、下袴田陽子]

(2)抗酸菌感染防御における濾胞ヘルパー T 細胞の役割

リンパ濾胞に存在する CD4 ヘルパー T 細胞(TFH:PD1 陽性-CXCR5 陽性)は IL-21 を産生することによって B 細胞及び NK 細胞の分化、活性化を制御している。IL-21 遺伝子の片方のアレルを EGFP 遺伝子に置き換えたノックインマウスを用い、抗酸菌感染後の TFH の動態を解析した結果、抗酸菌感染後に IL-21 を産生する TFH の分化が誘導されると同時に PD1 陽性-CXCR5-FoxP3 陽性で IL-21 を産生しない抑制性 CD4 T 細胞(Treg)の分化が顕著に誘導されること、この細胞集団には内因性 Treg と抗原特異性を有する誘導性 Treg が含まれることを明らかにした。

[下袴田陽子、田村敏生]

3. HSP70-MMP-II 融合蛋白質発現組換え BCG の改良

(1)これまでの組換え BCG の研究から、シャペロン分子 HSP70 およびらい菌由来膜蛋白質 MMP-II の融合抗原を発現させた組換え BCG をワクチンとしてマウスに投与すると結核菌、らい菌の増殖を抑制することが明らかになっている。さらにその効果を高めるために、蛋白質分解のシグナルとなる配列を融合抗原に挿入した組換え BCG を作製した。マウスを使用し、組換え BCG 接種後長期間置いた場合の抗結核菌ワクチン効果について解析を行った。

(2) (1)の組換え BCG ワクチン株について、長期間培養・継代を繰り返した場合の安定性について解析を行った。

(3) (1)の組換え BCG ワクチン株をマウスに接種し、その安全性について解析を行った。

[塚本裕美子、前田百美、田村敏生、宮本友司、向井 徹]

4. 結核菌に対する液性免疫を利用したワクチン開発のための基礎研究

最近になって結核菌に対する新規アジュバントを用いた新規 BCG ワクチンや新規組み換え BCG ワクチンの臨床試験の結果が、次々報告されているがいずれも果々しい成績を示していない。これは結核菌に対する BCG による細胞性免疫を利用した感染防御が限界に達している可能性を映している可能性もある。結核菌においても現在市販されている殆どのワクチンと同様液性免疫を利用したワクチン開発の基礎研究を行い、性別年齢を一致させた健常者においては活動性結核患者と比べて結核特異的 IgA が有意に上昇していることを見出した。また経時

的解析を行ない、活動性結核患者特異的な抗体産生を見出した。

[仁木満美子 (大阪市大細菌学)、松本宗吉 (新潟大学細菌学)、永井英明 (国立病院機構東京病院)、工藤翔二 (複十字病院)、星野仁彦]

#### 5. ヒトマクロファージにおけるらい菌殺菌機構

らい菌感染ヒトマクロファージ(Mφ)を 35 度で IFN $\gamma$  存在下にて 7 日間培養すると Mφ 内らい菌の代謝活性が著しく低下した。一方、IFN $\gamma$  非添加対照培養では、この間代謝活性の大幅な低下はみられなかった。タンパクレベルで各種 phox(ファゴゾームオキシダーゼ)発現を調べたところ、IFN $\gamma$  存在下で培養すると p22-phox と p47-phox の発現増強がみられ、一方、SOD の発現には変化が見られなかった。phox は殺菌作用を発揮するスーパーオキシドを産生する NADPH 構成タンパクであり、SOD はこのラジカルを中和する作用がある。IFN $\gamma$  により phox 発現が高まり殺菌作用が増強されたことが、らい菌の代謝活性低下(殺菌作用増強)につながったと思われ、病巣で IFN $\gamma$  が発現している TT 型ハンセン病におけるらい菌増殖抑制機構の一因が示された。

[福富康夫]

#### 6. 共焦点レーザー顕微鏡によるマクロファージの抗らい菌作用発現機構解析

IFN $\gamma$  刺激を受けて活性化したらい菌感染マクロファージは phox 構成タンパク量が増加し、ファゴゾーム膜に通常存在するといわれる p22phox は細胞表面膜やファゴゾームに局在し、通常細胞質に存在する p40 や p47phox も細胞質内の量が増加するのみでなくファゴゾームに多く蓄積するようになることから、活性化して抗らい菌活性を発現しているマクロファージでは NADPH 複合体タンパク質のファゴゾームにおける量が増加するため殺菌作用が高まっていると示唆された。また、生菌選択的蛍光発色試薬を用いて細胞内のらい菌の生死を鑑別したところ、IFN $\gamma$  により活性化したマウスやヒトマクロファージでは生菌(蛍光発光しているらい菌)数が減少しており、有用な抗らい菌活性測定法だと思われた

[福富康夫]

### III. 病原性抗酸菌症の診断および治療に関する研究

#### 1. ハンセン病の血清診断法の開発

らい菌由来膜タンパク MMP-II を使用したハンセン病の血清診断法は、従来の PGL-I 抗原に比べて、少菌型ハンセン病患者を高感度に検出できることを明らかにした。しかしながら、少菌型ハンセン病患者の陽性率は 60%に留まる。さらに高感度で検出できる方法を得るため、現在患者血液を用い

て、らい菌特異的な抗原を網羅的に ELISA 法でスクリーニングを行い、幾つかの抗原候補が存在する事が明らかとなった。ハンセン病濃厚流行地でも簡単にハイリスク患者を発見するため、キットの開発も行っている。

[前田百美、遠藤真澄、Hongsheng Wang (Chinese Academy of Medical Sciences)、塚本裕美子、田村敏生、向井徹]

#### 2. ハンセン病診断抗原の開発

ハンセン病の血清診断は、PGL-1 を抗原とした凝集反応キットが市販されている。しかし、ハンセン病の病型により低い検出率である。そのため、血清診断に用いる新規らい菌抗原の検索を進めた。迅速発育抗酸菌である *M. smegmatis* および大腸菌を宿主とし、公表されているらい菌塩基配列より、他の抗酸菌と相同性の低い ORF 百数十種を選択し、組換えらい菌蛋白の発現精製を行った。今後それらの抗原性の検討により検出率の向上が図られると考えられた。

[向井 徹、宮本友司、前田百美]

#### 3. LAMP 法によるらい菌検出法の開発

途上国において、利用可能ならい菌遺伝子検出法として、特殊ろ紙を用いた試料からの核酸抽出・保存と恒温遺伝子増幅法であるらい菌特異 LAMP 法を組み合わせ、検出感度 50 菌体の結果が得られ、感染源の一つと考えられる無症候性排菌者の screening には十分使用可能と考えられた。コストの低減化のため判定の可視化に用いる試薬の検討を行い、既法と同程度の感度を得た。また、cold-chain 不要な試薬の乾燥化を図ったが、さらなる検討が必要であった。これらの結果より、実装可能な検出系開発が可能であると考えられた。

[向井 徹、宮本友司、前田百美]

#### 4. クロファジミンによるマクロファージのアポトーシス誘導機構

ハンセン病における抗らい菌薬であるクロファジミン(B663)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が、他の抗らい菌薬にはそのような活性はなく、抗炎症作用にアポトーシスが関与していることが種々の系で示唆されていることを考慮するとクロファジミンに特徴的にみられる抗炎症作用に関係があると思われた。この細胞死はらい菌を感染させたマクロファージでも起こり、アポトーシスに特徴的な核の形態的变化が明瞭に観察された。また、IFN $\gamma$  でアポトーシスの感受性が増すことから、らい反応を抑制する抗炎症効果の一因とも考えられた。さらに、クロファジミンによるアポトーシスでは小胞体ストレス関連タンパク質の発現を伴うカスパーゼの活性化が起こっており、小胞体ストレスがアポトーシスの一因であることが示唆された。

[福富康夫]

[吉田光範、深野華子(日本獣医生命科学大学)、和田新平  
(日本獣医生命科学大学)、石井則久、星野仁彦]

5. 病原性抗酸菌 *M. abscessus* と *M. massiliense* および *M. boletii* 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、これまで報告のない皮膚疾患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、一般の方法では鑑別できない *M. abscessus* と *M. massiliense*, *M. boletii* 症を鑑別する簡便なマルチプレックス PCR 法を開発し、早期診断への応用を展開中である。

[吉田光範、宮本友司、星野仁彦、石井則久]

6. 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など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。最近では結核菌特異的抗原を使用するクオンティフェロン(QFT)検査や T-SPOT.TB などのインターフェロンガンマ放出アッセイ(IGRA)が臨床の場を使用されているが、現在の IGRA は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中で結核菌特異的タンパクのみを認識するリンパ球を識別する解析法(テトラマーアッセイ)を開発し、新規感染と既感染を鑑別できるかどうか検討中である。

[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)]

7. 潜在性肺結核症診断法の開発

結核菌は治療後も患者肺内に潜伏し細胞性免疫の減弱と共に再活性化し活動性結核を再燃することがある。潜在性結核症の活動性を評価する方法として、結核菌が潜伏期に発現するとされるタンパク質を使用し、患者末梢血単核球を用いたアッセイで潜在性結核の活動性を評価できないか検討中である。

[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)、松本壮吉(新潟大学細菌学)]

8. 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、これまで報告のない皮膚疾患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、水棲動物の非結核性抗酸菌症について、人への感染性を検討中である。

9. C型レクチン受容体と抗酸菌の相互作用に関する研究

C型レクチン受容体(CLR)は Toll 様受容体、Nod タンパク質などと共に宿主の自然免疫を司る構造パターン認識受容体の一つである。特に *macrophage inducible c type lectin* (mincle)や *macrophage c type lectin*(MCL)のリガンドは結核菌の病原因子の一つとされる *trehalose di-mycolate* (TDM)であり、*dendritic cell-associated C-type lectin-2* (dectin-2)のリガンドは抗酸菌の *mannose-capped lipoarabinomannan* (Man-LAM)であることが明らかとなった。TDM や Man-LAM は多くの抗酸菌が発現している所以他の抗酸菌免疫にも関連する可能性がある。CLR を欠失したマウスを利用して抗酸菌と宿主自然免疫の相互作用を検討中である。

[星野仁彦、片野晴隆(感染病理部)、鈴木真穂(東京病院)、西城 忍(千葉大学医学部)、山崎 晶(九州大学生体防御医学研究所)]

IV.らい菌生存度の判定に関する研究

1. らい菌 16S rRNA 前駆体を利用したハンセン病治療効果評価法の検討

らい菌は、人工培地を用いた分離培養が不可能であるため、治療を経たハンセン病患者内のらい菌の生存度を評価することは困難な面が多い。これまでの研究により、らい菌の生存度を鋭敏に反映する分子として 16S rRNA 前駆体が見出されている。そこで、本分子が患者検体内のらい菌の生存度を正確に評価し得るかどうかについて検討を行った。多剤併用療法の前後の患者検体において 16S rRNA 前駆体の定量比較を行ったところ、多剤併用療法後の検体では 16S rRNA 前駆体が低下する傾向を示した。このことは、16S rRNA 前駆体がハンセン病の治療効果を評価する上で、有効な指標分子となり得ると考えられる。

[宮本友司、向井 徹、甲斐雅規、前田百美]

2. マクロファージ内におけるらい菌の生存機構

らい菌感染マウスマクロファージ(Mφ)を IL-10 持続存在下にてらい菌の至適発育温度である 32 度で長期培養すると 2ヶ月間にわたって Mφ 内らい菌の代謝活性が低下しなかった。一方、IL-10 非添加対照培養では代謝活性が著しく減少した。35 度で培養したヒト Mφ 中でも IL-10 添加により非添加培養に比べらい菌の代謝活性はより長期間維持された。Western blot 法により各種 phox(ファゴソームオキシダーゼ構成タンパク)の発現を調べたところ、IL-10 存在下で培養すると p22-phox と p67-phox の発現が低下した。IL-10 により phox

発現が抑制され phox による酸素ラジカル産生量が減少し殺菌作用が低下したことが、らい菌の代謝活性維持につながったと思われる、病巣で IL-10 が発現している多菌型ハンセン病におけるらい菌増殖機構の一因が示された。

[福富康夫]

## V. 抗酸菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

### 1. らい菌 *gyrBA* 遺伝子とキノロン耐性に関する研究

*M. smegmatis* の DNA ジャイレース遺伝子 *gyrBA* をらい菌、結核菌、*M. avium* のもので置換した株を作製し、オフロキサシン他4種のキノロン系薬剤の MIC を測定したところ、らい菌 *gyrBA* を持つ菌では他のものに比べ 1/4 程度の MIC を示し、らい菌 DNA ジャイレースのキノロン感受性が高いことが示唆された。これら作製した菌は、人工培養不可のらい菌に対して有効なキノロン系薬剤をスクリーニングするために有用と考えられる。

[中田登、吉田光範、星野仁彦]

### 2. らい菌 DNA ジャイレースの温度感受性に関する研究

らい菌の *gyrBA* で置換した *M. smegmatis* は 33°C で増殖したが、37°C で増殖しなかった。ハンセン病の病態と関係が深いらい菌の温度感受性増殖の少なくとも一因が DNA ジャイレースの温度感受性であることが示された。作製した菌から 37°C で増殖する変異株を分離したところ、*gyrB* と *gyrA* のそれぞれ1か所に変異が見られた。

[中田登、吉田光範、星野仁彦]

### 3. 抗酸菌のクロファジミン耐性に関わる遺伝子

*M. avium* を用いて分離した2種類のクロファジミン耐性変異株は、親株に対してそれぞれ4倍、16倍の MIC を示し、全ゲノム解析の結果、両株は共に *mmpL* 遺伝子と *tetR* 遺伝子に非同義変異が見られた。RNA-seq で mRNA の発現を網羅的に比較したところ、どちらの株も *tetR-mmpS-mmpL* の遺伝子クラスターの発現が特異的に高くなっており、このことは qPCR でも確認され、これが耐性の原因であることが示唆された。

[中田登、吉田光範、星野仁彦]

## VI. ブルーリ潰瘍および近似疾患に関する研究

### 1. *M. ulcerans* および *M. shinshuense* のゲノム解析

*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) 63 症例 (2017

年3月末まで) を収集し、世界のブルーリ潰瘍との比較ゲノム研究、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ゲノム研究を展開中である。

[星野仁彦、吉田光範、宮本友司、小椋義俊(九州大学)、林哲也(九州大学)、石井則久]

## VII. ハンセン病の社会疫学に関する研究

### 1. 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。これらの事柄を明らかにするために、明治期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、日本と世界のハンセン病医学の医学史的研究、日本のハンセン病療養所の統計記録の解析、諸外国のハンセン病政策の研究、諸外国のハンセン病療養所の統計記録の解析などから考証している。

[森 修一]

### 2. 近代のハンセン病学術誌の研究

1897年の「第一回国際らい会議」以降、世界ではハンセン病患者の隔離が進展したが、その学術的な背景、意思決定過程は未だ明らかではない。本研究では第一回国際らい会議以降の国際学術誌を研究し、ハンセン病隔離政策の進展に医学がどのように関与したのかを検証している。

[森 修一、廣野義幸(東京大学大学院総合文化研究科相關基礎科学系)、田中丹史(東京大学大学院総合文化研究科相關基礎科学系)]

### 3. ハンセン病近現代資料データベースの作成

ハンセン病の隔離政策は19世紀後半から20世紀にかけて公衆衛生政策として世界中で行われた。また、20世紀半ばからは隔離から解放医療への移行が WHO 主導により行われた。しかし、世界および日本におけるこれらのダイナミズムは未だ明らかでない。これまでの一般的研究は社会科学を主としたものであるが、非常に概念的な研究が多く、その実態は見えない。本研究では医学、公衆衛生政策、ハンセン病療養所 OB などの資料を中心に研究を行うと共に、収集した資料をデータベース化して公開し(専門性の高い資料はサマライズを行う)、ハンセン病対策の進展要因(隔離→解放)を広く検証するため寄与することを目的とする。現在は数万点の資料の収集とデジタル化が進み、約3千点の資料のデータベース化が行われ、ベータ版の条件付き公開が開始さ

れている。

データベース名「近現代ハンセン病資料アーカイブス:The archives of materials on Hansen's disease in modern times (ARCHHDJP)」

[森 修一、廣野義幸(東京大学大学院総合文化研究科相關基礎科学系)、川西健登(国立療養所松丘保養園、尾崎元昭(京都大学、国立療養所長島愛生園)、野上玲子(国立療養所菊地恵楓園)]

#### 4. 日本におけるハンセン病解放医療に関する研究

日本のハンセン病隔離政策は1907年-1996年の89年間にわたり継続されたが、戦前・戦後を通じ解放医療を目指す動きも活発であった。本研究では昭和20年代よりプロミン治療を中心として進展する解放医療の実態をハンセン病療養所OB(医師、看護師、事務官)、厚生省OB、社会復帰者(退所者)、入所者への調査から明らかにすると共に、世界の解放医療(台湾、韓国、インド、香港、沖縄など)との比較研究から検証している。

[森 修一、瀬川将広(国立療養所東北新生園)、廣野義幸(東京大学大学院総合文化研究科相關基礎科学系)、田中丹史(東京大学大学院総合文化研究科相關基礎科学系)]

### VIII. 新規ウイルス感染マウスモデルの開発と応用に関する研究

#### 1. 自然免疫抑制を生じるウイルス感染マウスモデルの開発と細菌感染モデルへの応用に関する研究

種々のウイルス(インフルエンザウイルス、RSウイルス、麻疹ウイルスなど)の感染により生体ではTLRなどの脱感作や種々の免疫応答の不全が生じる。本研究で通常のH3N2インフルエンザ株を用い、免疫抑制剤による生体免疫の操作により、スペイン風邪様インフルエンザ感染マウスモデル、トリインフルエンザ様インフルエンザ感染マウスモデルの樹立に成功し、これらのモデルへ、らい菌・結核菌・非結核性抗酸菌の重感染を行うという方法でこれらの抗酸菌の感染モデル樹立を試みている。この他、新たな感染マウスモデルの樹立を目指し、RSウイルス臨床分離株、麻疹ウイルス臨床分離株の高タイター化を試みている。

[森 修一、細谷光亮(福島県立医科大学小児科学講座)、橋本浩一(福島県立医科大学小児科学講座)佐藤由起夫(東北大学医学部)]

### IX. 新しいハンセン病の病原体 *M. lepromatosis* に関する研究

#### 1. *M. lepromatosis* の検出と薬剤耐性変異

これまでメキシコにおいてハンセン病患者のうち症状が激しいルシオ現象を疑われた患者由来バイオプシーサンプルを得たので、*M. lepromatosis* 菌の検出、薬剤耐性関連遺伝子の変異の有無を調べ、19サンプル中2サンプルで本菌を検出した。2サンプルの薬剤耐性遺伝子では特徴的なサイレント変異と1カ所アミノ酸の置換を伴う変異を発見した。これら変異が *M. lepromatosis* 特有の配列であるのか、また薬剤耐性と相関があるのか等を証明するため、さらに多くのらい菌DNAについて世界各国からこれまで収集したサンプルについて *M. lepromatosis* の検出と特徴的な変異の有無を調査している。これまで数サンプルで一部の *M. lepromatosis* に特徴的な配列を検出した。

[甲斐雅規、宮本友司、向井 徹]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Kai M, Fafutis-Morris M, Miyamoto Y, Mukai T, Mayorga-Rodriguez J, Rodriguez-Castellanos MA, Martínez-Guzman MA, Matsuoka M. 2016. Mutations in the drug resistance-determining region of *Mycobacterium lepromatosis* isolated from leprosy patients in Mexico. *J Dermatol.*, doi: 10.1111/1346-8138.13483.
  - 2) Namkoong H, Kurashima A, Morimoto K, Hoshino Y, Hasegawa N, Ato M, Mitarai S. 2016 Nationwide survey on the epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease in Japan(1). *Emerg Infect Dis.* 22:1116-7. doi:10.3201/eid2206.151086.
  - 3) Miyamoto Y, Mukai T, Matsuoka M, Kai M, Maeda Y, Makino M. 2016. Profiling of Intracellular Metabolites: An Approach to Understanding the Characteristic Physiology of *Mycobacterium leprae*. *PLoS Negl Trop Dis.* 10: e0004881. doi:10.1371/journal.pntd.0004881.
  - 4) Nomura H, Funakoshi T, Chaya A, Tanikawa A, Miyamoto Y, Ishii N. 2016. Cutaneous *Mycobacterium massiliense* infection after body piercing. *Eur J Dermatol* 26: 635-637. doi: 10.1684/ejd.2016.2870.
  - 5) Tsukamoto Y, Maeda Y, Tamura T, Mukai T, Mitarai S, Yamamoto S, Makino M. 2016. Enhanced protective efficacy against tuberculosis provided by a recombinant urease deficient BCG expressing heat shock protein 70-major membrane protein-II having PEST sequence. *Vaccine* 34:6301-6308. DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.10.069.
  - 6) Yoshida M, Nakanaga K, Ogura Y, Toyoda A, Ooka T, Kazumi Y, Mitarai S, Ishii N, Hayashi T, Hoshino Y. 2016. Complete genome sequence of *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*. *Genome Announcements* 4: pii: e01050-16. doi: 10.1128/genomeA.01050-16..
  - 7) Mitjà O, Marks M, Bertran L, Kollie K, Argaw D, Fahal AH, Fitzpatrick C, Fuller LC, Garcia Izquierdo B, Hay R, Ishii N, Johnson C, Lazarus JV, Meka A, Murdoch M, Ohene SA, Small P, Steer A, Tabah EN, Tiendrebeogo A, Waller L, Yotsu R, Walker SL, Asiedu K. 2017. Integrated control and management of neglected tropical skin diseases. *PLoS Negl Trop Dis* 11: e0005136. doi: 10.1371/journal.pntd.0005136.
  - 8) Morimoto K, Hasegawa N, Izumi K, Namkoong H, Uchimura K, Yoshiyama T, Hoshino Y, Kurashima A, Sokunaga J, Shibuya S, Shimojima M, Ato M, Mitarai S. 2017 A Laboratory-Based Analysis of Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease in Japan from 2012 to 2013. *Ann Am Thorac Soc.* 14: 49-56. doi: 10.1513/AnnalsATS.201607-573OC.
- #### 2. 和文発表
- 1) 石井則久: 感染症の最新動向. MB Derma 242(増): 1-6, 2016.
  - 2) 菅原万理子、石井則久: ブルーリ潰瘍のすべて. MB Derma 242(増): 115-122, 2016.
  - 3) 石井則久: 皮膚結核. 皮膚科研修ノート(佐藤伸一、藤本 学編集), p440-441, 診断と治療社(東京), 2016年.
  - 4) 石井則久: 感染症法. 皮膚科研修ノート(佐藤伸一、藤本 学編集), p603-606, 診断と治療社(東京), 2016年.
  - 5) 野網淑子、堀米玲子、奥山隆平、中永和枝、石井則久: 顔面の日光角化症の部位に生じた *Mycobacterium chelonae* 感染症の1例. 皮膚臨床 58: 1188-1191.
  - 6) 森 修一、向井 徹、四津里英、石井則久: ハンセン病医学夏期大学講座の啓発効果に関する研究. 日本ハンセン病学会雑誌 85: 55-64, 2016.
  - 7) 谷口真也、山本敬三、新谷洋一、石井則久、森田明理: LL型 Hansen 病の2例. 臨皮 70: 801-806, 2016.
  - 8) 石井則久: 抗酸菌感染症. JOHNS 32: 1553-1555, 2016.
  - 9) 西口麻奈、渡邊有史、上中智香子、古川福実、小森涼子、安井昌彰、村田顕也、伊東秀文、立石千晴、鶴田大輔、石井則久、金澤伸雄: サルコイドーシスと診断されていた多菌型ハンセン病の日本人新規発症例. 日皮会誌 126: 2433-2439, 2016.
  - 10) 四津里英、石井則久、和泉眞藏、岡野美子、甲斐雅規、熊野公子、野上玲子、前田百美、宮本友司: 第19回国際ハンセン病学会参加報告—2016年9月—. 日本ハンセン病学会雑誌 85: 169-172, 2016.
  - 11) 水野雄貴、伊藤 満、周 円、中山麻美、山内雅裕、石井則久、清島真理子: 滞日東ティモール人にみられた多菌型ハンセン病の1例. 皮膚臨床 58: 2027-2031, 2016.
  - 12) 石井則久: 皮膚結核、非結核性抗酸菌症. 今日の治療指針 2017 (福井次矢、高木 誠、小室一成総編

集), p1214-1215, 医学書院 (東京), 2017 年.

- 13) 石井則久: 非結核性抗酸菌症. 皮膚疾患最新の治療 2017-2018 (渡辺晋一、古川福実編集), p170, 南江堂 (東京), 2017 年.
- 14) 三井田 博、三輪 仁、池滝勝史、石井則久、中永和枝: 両側前腕に病変が多発したブルーリ潰瘍の 1 例. 臨床皮 71: 71-76, 2017.
- 15) 福澤正男、宮本友司、石井則久: 結核ともハンセン病とも違う皮膚抗酸菌症: ブルーリ潰瘍. Visual Dermatology 16: 346-348, 2017.
- 16) 森修一: 草津温泉とハンセン病 - 日本人による救済の進展 - 日本ハンセン病学会雑誌 85: 79 -86 2016.

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Tamura T, Y. Shimohakamada, and M. Umemura. Enhancing effect of Peptide-25 on the induction of functional activation of CD8 cytotoxic T lymphocytes. 16th International Congress of Immunology, 21-26 August 2016. Melbourne, Australia.
- 2) Shimohakamada Y, T. Tamura, and M. Umemura: The role of IL-21 producing and non-producing follicular helper T cells in mycobacterial infection. 16th International Congress of Immunology, 21-26 August 2016. Melbourne, Australia.
- 3) Umemura M, M. Fukui, T. Tamura, S. Nakae, Y. Iwakura, and G. Matsuzaki. The involvement of IL-17A and IL-17F in chronic pulmonary mycobacterial infection. 16th International Congress of Immunology, 21-26 August 2016. Melbourne, Australia.
- 4) Miyamoto Y, N. Ha Nguyen Phuc, M. Kai, Y. Maeda, T. Mukai, Thanh Tan Nguyen: Characterization of pre-rRNA as a viability indicator for *Mycobacterium leprae*. 19th International Leprosy Congress, 18-21 September 2016. Beijing, China.
- 5) Maeda Y, T. Mukai, H. Wang and T. Tamura. Search for biomarkers of *M. leprae* infection. 19th International Leprosy Congress, 18-21 September 2016. Beijing, China.
- 6) Yotsu RR., N. Ishii, K. N'guessan, A. Akpa, A. Yao, J. Akê, K. Kouadio, RA. Abbet and B. Vagamon: School-based survey for neglected tropical diseases presenting skin symptoms (Skin NTDs) in Côte d'Ivoire: project implementation and preliminary results.

19th International Leprosy Congress, 18-21 September 2016. Beijing, China.

- 7) Tsukamoto Y, Y. Maeda, T. Tamura, T. Mukai, S. Mitarai, S. Yamamoto, and M. Makino.: Development of the Vaccine Efficacy of Recombinant BCG Producing the Major Membrane Protein-II (MMP-II) antigen. Keystone Symposia, New Developments in Our Basic Understanding of Tuberculosis, January 14-18, 2017. Vancouver, British Columbia Canada
- 8) Maeda Y, T. Mukai, Y. Tsukamoto, and T. Tamura. Efforts to detect paucibacillary leprosy patients by serological methods. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 19th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim 9-10 February, 2017. Seoul, Republic of Korea.
- 9) Mukai T, Y. Maeda, and Y. Miyamoto. Production and screening of *M. leprae* specific antigens for detection of leprosy. 51st US-Japan Cooperative Medical Science Program, 9-10 January 2017. Seoul, Republic of Korea.
- 10) Mukai T, Development of detection methods for *M. leprae* infection. The 2nd International Conference on the Control Measure of Neglected Tropical Diseases, 20 February 2017. Obihiro.
- 11) Yotsu RR., C. Murase, M. Sugawara, K. Suzuki, Y. Miyamoto, M. Yoshida, and N. Ishii: Buruli ulcer in Japan: update 2015-2016. WHO Meeting on Buruli ulcer Control and Research, 20-22 March. 2017. Geneva, Switzerland.
- 12) Yotsu RR., A. Akpa, K. N'Guessan, A. Yao, A. N'Guetta, E. Yeboue, N. Ishii, K. Kouadio, RA. Abbet and B. Vagamon: Skin disease prevalence survey among primary schoolchildren in Cote d'Ivoire: focus on Buruli ulcer, leprosy, and yaws (skin NTDs): project implementation and preliminary results. WHO Meeting on Buruli ulcer Control and Research, 20-22 March. 2017. Geneva, Switzerland.
- 13) Yoshida M, K. Nakanaga, Y. Miyamoto, M. Sugawara, RR. Yotsu, N. Ishii, and Y. Hoshino: Whole-genome comparative analysis of *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* and other mycolactone-producing mycobacteria. WHO Meeting on Buruli ulcer Control and Research, 20-22 March. 2017. Geneva, Switzerland.

### 2. 国内学会

- 1) 星野仁彦、吉田光範、中田 登: Clofazimine と



- Bedaquiline 両薬剤耐性を示す *Mycobacterium avium* 実験室株の解析. 第 91 回日本結核病学会総会. 2016 年 5 月 金沢市
- 2) 吉田光範、星野仁彦、中田 登: 結核菌 *gyrBA* 遺伝子変異とフルオロキノロン耐性の新たな解析法. 第 91 回日本結核病学会総会. 2016 年 5 月 金沢市
  - 3) 朝倉崇徳、石井 誠、南宮 湖、八木一馬、鈴木翔二、鎌田浩史、鹿住祐子、中田 登、上養義典、藤原 宏、西村知泰、田坂定智、星野仁彦、長谷川直樹: 節外政鼻型 NK/T 細胞リンパ腫と鑑別を要した播種性 *Mycobacterium marinum* 症の 1 例. 第 91 回日本結核病学会総会. 2016 年 5 月 金沢市
  - 4) 甲斐雅規、向井 徹、宮本友司、松岡正典: メキシコ検体を用いた *M. lepromatosis* 検出とその薬剤耐性関連遺伝子解析. 第 89 回日本ハンセン病学会総会. 2016 年 6 月 草津町
  - 5) 前田百美、向井 徹、宮本友司、田村敏生、牧野正彦、Hongsheng Wang: MMP-II を用いた中国西南部地域のハンセン病患者の血清診断. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月 草津町
  - 6) 向井 徹、前田百美、宮本友司、松岡正典、Benjawan Phetsuksiri: LAMP 法によるらい菌簡易迅速検出法の開発とその応用. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月 草津町
  - 7) 前田百美、向井 徹、宮本友司、田村敏生、牧野正彦、Hongsheng Wang: MMP-II を用いた中国南西部地域のハンセン病患者の血清診断. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月 草津町
  - 8) 向井 徹、前田百美、宮本友司、松岡正典、Benjawan Phetsuksiri: LAMP 法によるらい菌簡易迅速検出法の開発とその応用. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月 草津町
  - 9) 石井則久: 新興・再興感染症ー結核、ハンセン病、ブルーリ潰瘍などー. 第 115 回日本皮膚科学会総会. 2016 年 6 月 京都市
  - 10) 金澤伸雄、渡辺有史、西口真奈、上中智香子、古川福実、小森涼子、村田顕也、伊東秀文、立石千晴、鶴田大輔、石井則久: 多菌型ハンセン病を新規に発症した日本人の 1 例. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月 草津町
  - 11) 石井則久、四津里英: ハンセン病新規患者の動向. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月 草津町
  - 12) 森 修一: 草津温泉とハンセン病ー日本人による救済の進展ー. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月 草津町
  - 13) 森 修一、田中丹史、廣野義幸: 近代のハンセン病学術誌の研究. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月 草津町
  - 14) 森 修一、廣野義幸、川西健登: 近現代ハンセン病資料アーカイブス(The archives of materials on Hansen's disease in modern times)事業の進展と展望. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月 草津町
  - 15) 山岡聖子、中村和子、岡田里佳、井上雄介、河野真純、蒲原 毅、石井則久、中森三千代: 在日バングラデシュ人にみられたハンセン病の 1 例. 第 866 回日本皮膚科学会東京地方会神奈川地区. 2016 年 6 月 横浜市
  - 16) 遠藤真澄: 抗酸菌感染後の末梢神経の修復とシュワン細胞における脂肪滴蓄積との関係について. 第 59 回日本神経化学学会大会. 2016 年 9 月 福岡市
  - 17) 塚本裕美子、前田百美、向井徹、田村敏生、宮本友司、御手洗聡、山本三郎、牧野正彦: MMP-II 抗原を使用した新規リコンビナント BCG の開発. 抗酸菌研究会. 2016 年 9 月 沖縄県中頭郡
  - 18) 千葉美紀、築場広一、小原明希、中川秀己、吉田 健、石井則久: *Mycobacterium marinum* による関節炎の 1 例. 第 80 回日本皮膚科学会東部支部学術大会. 2016 年 10 月 浜松市
  - 19) 大場 操、石部純一、白濱茂穂、八木悠樹、榎本泰典、小澤雄一、若林 康、石井則久: *Mycobacterium chelonae* による全身播種状皮疹. 第 80 回日本皮膚科学会東部支部学術大会. 2016 年 10 月 浜松市
  - 20) 長田麻友美、原 真喜子、石井則久、青笹尚彦: 右手に生じた *Mycobacterium marinum* による非結核性抗酸菌症. 第 869 回日本皮膚科学会東京地方会. 2016 年 11 月 中央区
  - 21) 前田百美、田村敏生、遠藤真澄、向井 徹、牧野正彦: ハンセン病の抹消神経障害に関わるバイオマーカーの探索・シュワン細胞由来のエキソソームの役割. 第 39 回日本分子生物病学会年会. 2016 年 11 月 横浜市
  - 22) 大方詩子、渡辺絵美子、宮川俊一、石井則久: ネパール人に生じたハンセン病の 1 例. 第 871 回日本皮膚科学会東京地方会. 2017 年 1 月 伊勢原市
  - 23) 竹下雅子、井上多恵、宮田聡子、出光俊郎、石井則久: 在日ネパール人に発症したハンセン病の 1 例. 第 80 回日本皮膚科学会東京支部学術大会. 2017 年 2 月 横浜市

- 24) 山岡聖子、中村和子、石井則久、千葉由幸：ハンセン病の1例。第80回日本皮膚科学会東京支部学術大会, 2017年2月 横浜市
- 25) 石井則久：皮膚抗酸菌症の診断と治療。第80回日本皮膚科学会東京支部学術大会, 2017年2月 横浜市
- 26) 田村愛子、栗山幸子、鈴木陽子、富田浩一、宮本友司、石井則久：*Mycobacterium marinum* 感染を疑った皮膚非結核性抗酸菌症の一例。第117回日本皮膚科学会静岡地方会, 2017年3月 浜松市
- 27) Tsukamoto Y, Maeda Y, Tamura T, Mukai T, Mitarai S, Yamamoto S, and Makino M.: Development of the new recombinant BCG utilizing MMP11 antigen and PEST sequence. 第90回日本細菌学会総会. 2017年3月 仙台市
- 28) Nakata N, Yoshida M, and Hoshino Y. Analysis of fluoroquinolone susceptibility and temperature sensitivity of the *Mycobacterium leprae* DNA gyrase. 第90回日本細菌学会総会. 2017年3月 仙台市
- 29) Yoshida M, Hoshino Y, and Nakata N. A novel method for assessing *Mycobacterium tuberculosis gyrBA* mutations and fluoroquinolone resistance. 第90回日本細菌学会総会. 2017年3月 仙台市