

## 24. ハンセン病研究センター

### 感染制御部

部長 石井則久(4月30日まで)

阿戸 学 (5月1日から)

#### 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 はハンセン病とブルーリ潰瘍を

「Neglected Tropical Diseases」(顧みられない熱帯病)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いる。ブルーリ潰瘍は、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年は6件の登録があり、累計66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。

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ズ」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。また、国立療養所松丘保養園のハンセン病資料デジタルアーカイブスの作成を開始した。

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4月1日付けで深野華子が第6室の任期付き研究員として採用された。2017年5月1日付けで、石井則久が感染制御部長の併任を解除され、阿戸学が感染制御部長として赴任した。2018年3月31日付けで第二室長福富康夫が定年退官した。

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

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、そして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。らい菌は形成された脂肪滴付近に多量の存在を認め、脂肪滴の形成に抑制をかけると、らい菌は減少する傾向にあった。

また、シュワン細胞とらい菌相互作用の研究の一環として、シュワン細胞における F-actin の発現とらい菌の取り込みとの関連性について解析した。

[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培養液中に放出されるエクソソームを精製し、自己 T 細胞と混合培養すると、T 細胞が活性化された。このエクソソームをウエスタンブロットで解析すると、エクソソーム中にらい菌の蛋白抗原も検出された。また、ハンセン病患者血清中に含む、エクソソーム中の miRNA の解析を網羅的に行った。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と考える。

[前田百美、向井 徹、MS Duthie(IDRI,Seattle,USA)、田村敏生]

2. 新規結核ワクチン開発のための基礎研究

(1)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。その結果、①抗酸菌特異的獲得免疫が誘導されないと考えられている感染早期に IL-21 を産生する TFH の分化が誘導されること、②それと同時に PD1 陽性-CXCR5-FoxP3 陽性で IL-21 を産

生しない抑制性 CD4 T 細胞(Treg)の分化も顕著に誘導されること、③この細胞集団には抗酸菌抗原特異的に TGF-β を産生する誘導性 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

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。

このメカニズムを利用したワクチンを実用化につなげるために、よりワクチンの安定性を高める手法について DNA 組換え技術の検討を行った。その結果、ある組換え技術では他の技術よりも高い安定性が見られることが明らかになった。

[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 ワクチンの臨床治験の結果が、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。結核による炎症反応や特異的抗体産生と末梢血アルブミン値やコレステロール値など代謝因子の間に相関関係を見出し、immunometabolism という新分野へ進出しようとしている。

[仁木満美子(大阪市大細菌学)、松本壮吉(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. らい菌感染マウスマクロファージの機能および(サイトカイン産生解析

らい菌食食刺激を受けたマウスマクロファージにおいて誘導型シクロオキシゲナーゼの発現増強があり、それに伴って PGE2 産生が強く起こった。PGE2 産生ブロッカーであるインドメタシンにより PGE2 産生が阻害され、誘導型シクロオキシゲナーゼ特異的な阻害剤により特に強く抑制された。そして、この PGE2 は、IFN-γ など、Th1 型サイトカイン産生を抑制する作用がある IL-10 の産生に必須であることが判明した。

[福富康夫、阿戸 学]

#### 6. らい菌感染マクロファージ内のシグナル伝達系の解析

細胞は一般的に細胞内情報伝達系を持っており、それぞれに関わるタンパク質のリン酸化がおきて最終的な産物(例えば免疫細胞によるサイトカイン産生)につながっている。らい菌貪食マクロファージにおいても各種細胞内シグナル伝達因子(38MAPK, ERK44/42)のリン酸化は、未刺激細胞ではほとんどみられないが、らい菌を加えて10分後には起こり、30分後にピークとなった。特に、ERKを介したMAPキナーゼはPGE2産生に必須なタンパク質であり、すなわち、らい菌感染動物モデルとしてのマウスマクロファージにおけるIL-10産生に必須であることが判明した。

[福富康夫、阿戸 学]

### 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てきた。今回MMP-IIまたはMMP-IIに対するモノクローナル抗体を用いて、イムノクロマトグラフィーを原理としたラテラルフローテスト(LFT)の開発を進めた。LFTはハンセン病濃厚流行地でもハイリスク患者を発見できる、簡便なキットとなりうる可能性がある。現在、患者血清を用いて、LFTの有効性、特異度、感度を検討中である。

[前田百美、向井 徹、宮本友司、菅沼啓輔(帯広畜産大学)、遠藤真澄、塚本裕美子、田村敏生、阿戸 学]

#### 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、病型により低い検出率であるため、新規らい菌抗原の検索を進めた。これまでに迅速発育抗酸菌である*M. smegmatis*および大腸菌を宿主とし、いくつかの血清と高い反応性を示す新規候補蛋白を同定した。さらに、両菌種では、発現困難な組換え蛋白の調製を、人工培地で生育可能な抗酸菌の中で最もらい菌に近いとされる*M. haemophilum*を宿主として用いた。今後こ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

らい菌特異的恒温遺伝子増幅、LAMP法の途上国における応用を念頭に、判定の可視化、試料の室温保存など改良を進めている。さらに、反応試薬のcold-chain free化のため、

プライマーセット、判定試薬、酵素等の乾燥化と反応チューブへの固相化の検討を進めた。各種緩衝液の条件、反応温度等の検討を加え、冷凍保存試薬と同等の検出感度を得た。現在のところ、2ヶ月の室温保存においても良好な検出感度を示した。今後、ザンビア国における検診にて同法の評価を行う予定である。

[向井 徹、宮本友司、前田百美、鈴木定彦(北海道大学)]

#### 4. 病原性抗酸菌*M. abscessus*と*M. massiliense*および*M. bolletii*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. bolletii*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、沖縄、台湾などとの国内・国際共同研究として展開中である。

[吉田光範、深野華子、宮本友司、金城武士(琉球大学医学部)、森本耕三(複十字病院)、御手洗 聡(結核研究所)、周如文(台湾CDC)、薛博仁(台湾大学医学部)、阿戸 学、星野仁彦]

#### 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)が臨床の場で使用されているが、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)]

#### 6. 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)]

#### 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。

[深野華子、吉田光範、阿戸 学、星野仁彦]

#### 8. 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)、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. らい菌の細胞内培養

らい菌を宿主細胞であるマクロファージ内で培養する試みを行ってきた。マクロファージを培養する際には、らい菌の最適発育温度に近づけることが肝要である。しかし、PBMC 由来のヒトマクロファージは 35 度以下にすると 1 か月以上にわたる培養が不可能である。ところが、マウスマクロファージは 32 度でも培養可能であった。最適なマクロファージはらい菌が感染して増殖するアルマジロのマクロファージを用いることである。アルマジロマの PBMC から付着性のマクロファージを回収して PHA で刺激し培養すると、33 度が最適であったが、ヒト用の培地中では 1 か月以上の培養は維持できなかった。

[福富康夫、J.Krahenbuhl、阿戸 学]

### V. 抗酸菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

#### 1. らい菌・結核菌 *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. Multiplex PCR によるらい菌薬剤耐性と型別解析

らい菌は人工培養できないため、らい菌 DNA の臨床試料には多量のヒト DNA の混在が避けられない。そこでらい菌ゲノムシーケンスから薬剤耐性に関わる領域を含む約 100 組のプライマーを inner と outer それぞれ設計し、らい菌 DNA を含む試料を鋳型に Nested Multiplex PCR を行った。得られた産物を次世代シーケンサーで解析した結果、全ての領域でリードが得られ、臨床試料から直接 multiple loci 解析が可能であることが示唆された。

[中田 登、岩尾泰久、森 修一、阿戸 学]

#### 4. 抗酸菌のクロファジミン耐性に関わる遺伝子変異

*M. avium* より分離したクロファジミン耐性変異株2株は、親株に対してそれぞれ 4 倍、16 倍の MIC を示し、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。これらの株では、転写制御因子 *tetR* 遺伝子の不活化により発現した *MmpL* の作用により耐性となるが、両株の MIC の相違は *mmpL* 遺伝子の変異の相違によるもので、これらの変異は共に耐性を増強するが程度が異なることが示された。

[中田 登、岩尾泰久、星野仁彦、阿戸 学]

#### 5. 抗酸菌のマクロライド耐性に関わる遺伝子

我々は *M. avium* などの非結核性抗酸菌のキードラッグであるマクロライドに対して分離菌が耐性化すると、多剤耐性結核患者と同等の生存率となることを示したが、マクロライド耐性関連遺伝子は完全には解明されていない。臨床分離株を用いて、マクロライド耐性関連遺伝子の解析を次世代シーケンサーを用いて行っている。

[深野華子、吉田光範、星野仁彦]

## 6. 結核菌の代謝産物解析

結核菌の代謝機構は、その病原性や休眠機構と深く結びついていることが指摘されているが詳細は不明である。そこで、国内で主要な位置を占める北京型株と他系統に属し且つ一般に研究に使用される標準株から菌体内代謝産物を抽出し、メタボロミクスによる網羅的な比較解析を行った。その結果、北京型株は、標準株に比べ、解糖系や TCA cycle などに関連する一部の代謝成分が著しく減少していることが判明した。このことは、北京型株がエネルギー代謝に関わる代謝系を抑制している、さらには結核菌の系統間において代謝機構の違いが存在することを示唆するものであった。

[宮本友司、田村敏生、阿戸 学]

## VI. ブルーリー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* によるブルーリー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ー潰瘍 ("*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*" 感染症) 66 症例 (2018 年 3 月末まで) を収集し、世界のブルーリー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。

[吉田光範、深野華子、宮本友司、小椋義俊 (九州大学)、林 哲也 (九州大学)、星野仁彦]

## 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検証している。

[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 関連基礎科学系)、田中丹史 (東京大学大学院総合文化研究科 関連基礎科学系)]

### 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。本年度は国立療養所松丘保養園のハンセン病資料のデジタル化も始まり、現在まで約 1 万点の資料の収集とデジタル化が進み、約 4 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、阿戸 学、廣野義幸 (東京大学大学院総合文化研究科 関連基礎科学系)、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 関連基礎科学系)、田中丹史 (東京大学大学院総合文化研究科 関連基礎科学系)]

## 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)]

## 発表業績一覧

## I. 誌上発表

## 1. 欧文発表

- 1) Duthie MS, Pena MT, Ebenezer GJ, Gillis TP, Sharma R, Cunningham K, Polydefkis M, Maeda Y, Makino M, Truman RW, Reed SG. 2018. LepVax, a defined subunit vaccine that provides effective pre-exposure and post-exposure prophylaxis of *Mycobacterium leprae* infection. *NPJ vaccines* 3: 12. doi: 10.1038/s41541-018-0050-z.
- 2) Benjak A, Avanzi C, Singh P, Loiseau C, Girma S, Busso P, Fontes ANB, Miyamoto Y, Namisato M, Bobosha K, Salgado CG, da Silva MB, Bouth RC, Frade MAC, Filho FB, Barreto JG, Nery JAC, Bühner-Sékula S, Lupien A, Al-Samie AR, Al-Qubati Y, Alkubati AS, Bretzel G, Vera-Cabrera L, Sakho F, Johnson CR, Kodio M, Fomba A, Sow SO, Gado M, Konaté O, Stefani MMA, Penna GO, Suffys PN, Sarno EN, Moraes MO, Rosa PS, Baptista IMFD, Spencer JS, Aseffa A, Matsuoka M, Kai M, Cole ST. 2018. Phylogenomics and antimicrobial resistance of the leprosy bacillus *Mycobacterium leprae*. *Nat Commun*. 9: 352. doi: 10.1038/s41467-017-02576-z.
- 3) Cambau E, Saunderson P, Matsuoka M, Cole ST, Kai M, Suffys P, Rosa PS, Williams D, Gupta UD, Lavania M, Cardona-Castro N, Miyamoto Y, Hagge D, Srikantam A, Hongseng W, Indropo A, Vissa V, Johnson RC, Cauchoix B, Pannikar VK, Cooreman EAWD, Pemmaraju VRR, Gillini L; WHO surveillance network of antimicrobial resistance in leprosy. 2018. Antimicrobial resistance in leprosy: results of the first prospective open survey conducted by a WHO surveillance network for the period 2009-15. *Clin Microbiol Infect*. 24:1305-1310. doi: 10.1016/j.cmi.2018.02.022.
- 4) Oaku S, Nagata M, Miyamoto Y, Ishii N, Aozasa N. 2017. Two cases of *Mycobacterium marinum* infection on the upper limbs. *J Dermatol*. 44: e270-e271. doi: 10.1111/1346-8138.
- 5) Yoshida M, Fukano H, Miyamoto Y, Shibayama K, Suzuki M, Hoshino Y. 2018. Complete genome sequence of a type strain of *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii*, a member of the *Mycobacterium abscessus* complex. *Genome Announc*. 6: e01530-17. doi: 10.1128/genomeA.01530-17.
- 6) Yoshida M, Miyamoto Y, Ogura Y, Hayashi T, Hoshino Y. 2018. Complete chromosome sequence of a mycolactone-producing *Mycobacterium*, *Mycobacterium pseudoshottsii*. *Genome Announc*. 5: e01363-17. doi: 10.1128/genomeA.01363-17.
- 7) Yoshida M, Izumiyama S, Fukano H, Sugiyama K, Suzuki M, Shibayama K, Hoshino Y. 2017. Draft genome sequence of *Mycobacterium* sp. strain shizuoka-1, a novel mycobacterium isolated from groundwater of a bathing facility in Shizuoka, Japan. *Genome Announc* 5: e01309-17. doi: 10.1128/genomeA.01309-17.
- 8) Fukano H, Wada S, Kurata O, Katayama K, Fujiwara N, Hoshino Y. 2017. *Mycobacterium stephanolepidis* sp. nov., a rapidly growing species related to *Mycobacterium chelonae*, isolated from marine teleost fish, *Stephanolepis cirrhifer*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 67: 2811-2817. doi: 10.1099/ijsem.0.002028.
- 9) Nishimura T, Tamizu E, Uno S, Uwamino Y, Fujiwara H, Nishio K, Nakano Y, Shiono H, Namkoong H, Hoshino Y, Iwata S, Hasegawa N. 2017. hsa-miR-346 is a potential serum biomarker of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease activity. *J Infect Chemother*. 23: 703-708. doi: 10.1016/j.jiac.2017.07.015.
- 10) Fukano H, Yoshida M, Katayama Y, Omatsu T, Mizutani T, Kurata O, Wada S, Hoshino Y. 2017. Complete Genome Sequence of *Mycobacterium stephanolepidis*. *Genome Announc*. 5: e00810-17. doi: 10.1128/genomeA.00810-17.
- 11) 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.
- 12) Enany S, Yoshida Y, Tateishi Y, Ozeki Y, Nishiyama A, Savitskaya A, Yamaguchi T, Ohara Y, Yamamoto T, Ato M, Matsumoto S. 2017. Mycobacterial DNA-binding protein 1 is critical for long term survival of *Mycobacterium smegmatis* and simultaneously coordinates cellular functions. *Sci Rep*. 7: 6810. doi:10.1038/s41598-017-06480-w
- 13) Yano H, Iwamoto T, Nishiuchi Y, Nakajima C, Starkov

DA, Mokrousov I, Narvskaya O, Yoshida S, Arikawa K, Nakanishi N, Osaki K, Nakagawa I, Ato M, Suzuki Y, Maruyama F. 2017. Population structure and local adaptation of MAC lung disease agent *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis*. *Genome Biol Evol.* 9: 2403-2417. doi: 10.1093/gbe/evx183.

- 14) Iwao Y, Nakata N. 2018. Roles of the three *Mycobacterium smegmatis* *katG* genes for peroxide detoxification and isoniazid susceptibility. *Microbiol Immunol.* 62: 158-167. doi: 10.1111/1348-0421.12574.

## 2. 和文発表

- 1) 森 修一、石井 則久: 国立ハンセン病療養所における入退所動向に関する研究－1909年から2010年の入退所者数調査から－. 日本ハンセン病学会雑誌 86: 69-90, 2017.
- 2) 宮本友司: らい菌における菌体内代謝産物の動態解析. 日本ハンセン病学会雑誌 86: 115-118, 2017.
- 3) 森 修一: ハンセン病アーカイブズに求められるもの－「近現代ハンセン病資料アーカイブズ」の意義と課題－. 日本ハンセン病学会雑誌 86: 121-127, 2017.
- 4) 向井 徹、前田百美: ハンセン病の早期診断の試み. 病原微生物検出情報 39: 18-19, 2018.
- 5) 森 修一: 世界のハンセン病政策に関する研究 I－ハワイにおける絶対隔離政策の変遷－. 日本ハンセン病学会雑誌 86: 189-211, 2018.

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Tsukamoto Y, Maeda Y, Tamura T, Mukai T, Mitarai S, Yamamoto S, Makino M. Development of New Recombinant BCG Utilizing Major Membrane Protein-II (MMP-II) Antigen and PEST Sequence. International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2017, 17-21 July 2017. Singapore, Singapore.
- 2) Suzuki Y, Sugimoto C, Higashi H, Isoda N, Yamagishi J, Nakajima C, Hashida K, Inoue N, Sukanuma K, Mukai T, Maeda Y, Miyamoto Y, Chiruwa B, Simukoko H, Kapata N, Mbulo G, Solo E, Bwalya P, Hachaambwa L, Simuunza M, Habeenzu C, Namangala B. Establishment of the model for controlling neglected tropical diseases based on the development of rapid diagnostic methods and risk analysis. 2<sup>nd</sup> International Joint Symposium Promotion of Infectious Disease Research Cooperation

between Africa and Japan toward Science, Technology and Innovation, 19-20 October. 2017, Lusaka, Zambia.

- 3) Mukai T, Maeda Y, Miyamoto Y, Suzuki Y. Development of Dried loop-mediated isothermal amplification reagents for rapid detection of *Mycobacterium leprae*. The 52<sup>nd</sup> U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program, 15-16 March, 2018, Niigata, Japan.
- 4) Miyamoto Y, Nguyen Phuc NH, Mukai T, Maeda Y, Kai M. Search for the indicators to determine the viability of *Mycobacterium leprae*. The 52<sup>nd</sup> U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program, 15-16 March, 2018, Niigata, Japan.
- 5) Maeda Y, Mukai T, Tsukamoto Y, Miyamoto Y, Tamura T. Detection of leprosy patients by serological methods. The 52<sup>nd</sup> U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 15-16 March, 2018, Niigata, Japan.
- 6) Nakayama M, Shirasaki K, Tachibana M, Yamamoto S, Takii T, Okabe M, Ato M, Ohara N. Inhibitory mechanism of JTY3476 expression by JTY3475 in BCG Tokyo The 52<sup>nd</sup> U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 15-16 March, 2018, Niigata, Japan.

### 2. 国内学会

- 1) 星野仁彦、吉田光範、石井則久. *Mycobacterium abscessus* complex 3 亜種を同時に鑑別できる multiplex PCR 法の開発. 第 57 回日本呼吸器学会総会. 2017 年 4 月 東京
- 2) 西村知泰、田水映子、宇野俊介、上養義典、藤原 宏、西尾和三、中野 泰、岩田 敏、星野仁彦、長谷川直樹. 肺 *Mycobacterium avium* complex 症における血清バイオマーカーの探索 第 57 回日本呼吸器学会総会. 2017 年 4 月 東京
- 3) 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 92 回日本結核病学会総会. 2017 年 5 月 金沢市
- 4) 矢代 聖、笠井弘子、河原由恵、菅原万理子、宮本友司、石井則久. *Mycobacterium massiliense* 皮膚感染症の 1 例. 第 116 回日本皮膚科学会総会 2017 年 6 月 仙台.
- 5) 西村真帆、葉山惟大、藤田英樹、宮本友司、石井則久、照井正. *Mycobacterium massiliense* による皮膚非結核性抗酸菌感染症. 第 116 回日本皮膚科学会総会. 2017 年 6 月 仙台市
- 6) 前田百美、田村敏生、宮本友司、石井則久、阿戸 学、向井 徹. ハンセン病患者の血清診断法の開発. 第 90



- 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2017年6月  
熊本.
- 7) 向井 徹、宮本友司、前田百美. らい菌特異抗原の調整法開発. 第90回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2017年6月 熊本.
- 8) 鮫島朝之、後藤正道、前田百美. ハンセン病治癒期の末梢血単核球培養上清に Major Membrane Protein-II 刺激により分泌されるサイトカインの解析. 第90回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2017年6月 熊本.
- 9) 森 修一、田中丹史、廣野義幸. 宮城県下のハンセン病患者集住地の調査報告 —私設療養所鈴蘭園事業を中心に—. 第90回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2017年6月 熊本.
- 10) 森 修一. ハンセン病アーカイブズに求められるもの—「近現代ハンセン病資料アーカイブズ」の意義と課題—. 第90回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2017年6月 熊本.
- 11) 江原佳恵、西本周平、石井則久、宮本友司、山川有子、村山功子、畑 康樹. サブロー寒天培地が有用だった *M. abscessus* による臀部皮下腫瘍の2例. 第873回日本皮膚科学会東京地方会 2017年7月 東京.
- 12) 南宮湖、倉島篤行、森本耕三、星野仁彦、長谷川直樹、阿戸 学、御手洗 聡. 本邦の肺非結核性抗酸菌症患者における菌種の地域分布について. 環境微生物系学会合同大会 2017年8月 仙台.
- 13) 遠藤真澄. Regulation of lipid droplets by *Mycobacterium leprae* infection in Schwann cells. 第60回日本神経化学学会大会 2017年9月 仙台市.
- 14) 小崎弘貴、中山真彰、橋理人、西内由紀子、阿戸 学、大原直也. 非結核性抗酸菌 (non non-tuberculous mycobacteria, NTM) の薬剤排出能に関する検討. 第70回日本細菌学会中国・四国支部総会 2017年10月 岡山.
- 15) 泉 清彦、森本耕三、長谷川直樹、内村和弘、阿戸 学、御手洗 聡. ナショナルデータベースを用いた非結核性抗酸菌症の疫学研究. 第66回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第64回日本化学療法学会東日本支部総会 2017年11月 東京.
- 16) 三上万理子、石井則久、宮本友司、相原道子. 国内における *Mycobacterium* subsp. *massiliense* 皮膚感染症. 第81回日本皮膚科学会東京支部学術大会 2017年11月 東京.
- 17) 星野仁彦、中永和枝、小椋義俊、豊田 敦、吉田光範、深野華子、鹿住祐子、御手洗 聡、阿戸 学、林 哲也. 巨大プラスミドの欠落は *M. ulcerans* subsp. *shinshuense* の病原性を喪失する. 第91回日本細菌学学会総会 2018年3月 福岡.
- 18) 深野華子、吉田光範、鹿住祐子、有川健太郎、岩本朋忠、星野仁彦. 新規同定病原性抗酸菌 *Mycobacterium shigaense* sp. nov. の特徴とその感染源についての研究. 第91回日本細菌学学会総会 2018年3月 福岡.
- 19) 吉田光範、中永和枝、宮本友司、小椋義俊、林 哲也、石井則久、星野仁彦. ブルーリ潰瘍の原因菌 *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* の比較ゲノム解析. 第91回日本細菌学学会総会 2018年3月 福岡.
- 20) 白崎かおり、中山真彰、橋理人、山本三郎、瀧井猛将、岡部真裕子、阿戸 学、上岡寛、大原直也. BCG Rv3405c による Rv3406 の遺伝子発現抑制機構の解析 第91回日本細菌学学会総会 2018年3月 福岡.
- 21) 竜門亜矢子、中山真彰、和田崇之、橋理人、阿戸 学、中島千絵、鈴木定彦、小崎弘貴、大原直也. Investigation of genes involved in promoting the growth rate of BCG. 第91回日本細菌学学会総会 2018年3月 福岡.