

24. ハンセン病研究センター

感染制御部

部長 阿戸 学

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、あるいは菌同定試験不能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いない。ヌードマウス足蹠で増殖するらい菌の電子顕微鏡による形態解析、共焦点顕微鏡を用いた透過性イメージング解析を進めている。らい菌の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。らい菌の DNA ジャイレースは温度感受性を示すが、らい菌 DNA ジャイレースのサブユニット A が温度感受性の性質を持つことが明らかとなった。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 PGE2 の役割と細胞内シグナリング、らい菌感染シュワン細胞における F アクチンの菌取込み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、開発した *M.leprae* 特異的 LAMP 法を用いて、ザンビアのハンセン病流行状況が不明な地域で調査を行なった。さらに、新規らい菌特異抗原を検索し、途上国において利用可能なラテラルフローテストを用いた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では、市販の検査で

分類が不能な *M. abscessus complex* の亜種同定を可能にする PCR 法、マクロライド誘導耐性の有無を簡便に示唆する PCR 法を開発し、早期診断への応用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感染症である。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。WHO の *M. ulcerans* 感染症対策には感染制御部が連携している。日本においては2018年は3件の登録があり、累計70例のブルーリ潰瘍が集積されている。また、*M. ulcerans* については比較ゲノム解析が行われ、ブルーリ潰瘍の多発地域であるガーナとコートジボアールとの共同研究を開始した。

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、国立感染症研究所内に「国立感染症研究所ハンセン病資料デジタルアーカイブズ」の作成を行うと共に、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、国際ハンセン病会議資料、国際ハンセン病学術誌 (LEPRA 誌)、ハンセン病撲滅対策関連資料のデジタル化(笹川記念保健協力財団関連16mmビデオなど)、国立長島愛生園および国立療養所松丘保養園関連のハンセン病資料のデジタル化による保存作業を行うと共に、約6千点の資料のデータベース化を行った。

BSL3、ABSL3 施設が稼動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 ワクチンに関して、より有効性の高い親株の選択、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、2018年6月1日付けで山本健太郎が第三室研究員(若手育成型)として採用された。また、2018年10月1日付けで吉田光範が主任研究員(招聘型)として

感染制御部

採用された。2019年3月31日付で主任研究官遠藤真澄が定年退官した。

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の解析がまず重要な課題である。数ある抗酸菌の中でらい菌のみが末梢神経に感染する機序としては、らい菌特異的分子 PGL-1 とシュワン細胞の laminin-2 の結合が initiation-factor であると考えられており、その後のシュワン細胞内への侵入にはアクチン繊維と微小管で構成される葉状仮足が重要な役割を果たしている事が示唆されている。そこで今回は、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共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析した。まず蛍光 Phalloidin 染色によりシュワン細胞における F-actin の発現を確認した。次に、アクチン重合阻害剤 cytochalasin、並びに仮足形成における Rho/Rac pathway の阻害剤である Fasudil により前処理したシュワン細胞におけるらい菌の取り込みを観察した結果、仮足形成に抑制を掛けたシュワン細胞のらい菌の取り込み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、らい菌の感染が末梢神経修復に与える影響についての研究も継続した。

[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キソソームは T 細胞を活性化することが判明した。そこで、ハンセン病患者血清中に含む、エキソソーム中の miRNA の解析を Agilent human miRNA array を用いて行った。いくつかの miRNA 発現が有意に患者で高く見られた。現在マクロファージ-T 細胞系を用いて miRNA の機能解析を行っている。

[前田百美、田村敏生、向井徹、Gao Wei (Institute of Dermatology, CAMS)]

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てきた。そこで、この誘導性濾胞 Treg 細胞が濾胞ヘルパー T 細胞の機能を制御し得るかを *in vitro* 培養系に検討したところ、PPD 特異的誘導性濾胞 Treg 細胞は PPD 特異的濾胞ヘルパー T 細胞による IL-21 産生を減弱できることが示された。

[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、ホストとなる BCG のワクチン効果について解析を行い、よりワクチン効果の高い BCG 株を選抜した。

[塚本裕美子、前田百美、田村敏生、宮本友司、向井徹]

4. BCG ゲノム DNA 上に存在するメチル化アデニンについての解析

BCG のゲノム DNA には、メチル化修飾を受けたアデニン塩基が存在する。細菌由来 DNA は免疫系の応答を活性化することが知られているが、BCG ゲノム DNA 上のメチル化アデニンがその活性化に影響するかどうかについては報告が得られていない。そこで BCG のゲノム DNA 配列上に存在するメチル化アデニンの免疫応答への影響について解析を行った。

[塚本裕美子、田村敏生、前田百美]

5. 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、潜在性結核患者では、活動性結核患者やその治療後と比較すると、多くの結核特異抗原に対する抗体 (IgG, IgA) が有意に低値であることや、炎症マーカーである CRP と、コレステロールや TG などの栄養因子とは負の相関があることを見出した。結核特異抗体産生が治療とともに経

時的に変化することを見出した我々の過去の報告と合わせると、栄養因子が結核治療に影響することを示唆する所見と考えられ、ワクチン開発の基礎研究として有用であると考えられる。

[仁木満美子(大阪市立大)、松本壮吉(新潟大学)、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]

6. ヒトマクロファージの抗らい菌活性発現機構

ヒトとマウスのマクロファージでは殺菌機構が違うといわれ、マウスではこれまで報告されているように、NO 合成阻害剤により殺菌作用が抑制されたことから NO による殺菌機構は明らかであった。しかし、ヒトでは同阻害剤を加えても抑制されないことから違った殺菌機構が考えられた。共焦点レーザー顕微鏡で、IFN γ 刺激したヒト単球由来 M-CSF 型マクロファージにおける phox タンパク複合体の挙動を調べたところ、菌の周囲に複合体タンパクが集積した像が多く得られた。一方、殺菌活性が弱い GM 型マクロファージでは集積がみられなかった。らい菌は SOD を持っていることが以前から報告されている。らい菌を殺傷する能力が低い GM マクロファージに比べて、IFN γ 刺激した M マクロファージでは、らい菌を含むファゴソームにおいて、スーパーオキシドなど酸素ラジカル産生が亢進していて、らい菌に対する殺菌力が高まっている可能性が示唆された。

[福富康夫、前田百美、天内肇、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。そこで昨年、途上国でも使用できる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)の開発を始めた。MMP-II 抗体を検出できる LFT を大量に生産し、ザンビアの患者のスクリーニングに応用できるか検討中である。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。

[前田百美、向井徹、宮本友司、遠藤真澄、塚本裕美子、田村敏生、阿戸学、鈴木定彦(北海道大学)]

2. ザンビア共和国におけるハンセン病検診

ハンセン病疫学が不確かなザンビア共和国南部州シナゾング郡の2か所の Health Clinic において、当地保健担当部署とハンセン病検診を行った。約 400 人の被験者より3名の新規ハンセン病患者を見出した。また、採取された血清を用

い抗体検簡易テストを、鼻腔拭い液を用い PCR 法と Dry-LAMP 法によりらい菌遺伝子の検出を行い、らい菌への暴露および感染状況を検討した。その結果約 10%の被験者が、陽性反応を示した。これまで、当地域では、ハンセン病に関する調査等は行われていなかったが、かなり高い頻度の感染、発症が存在することが明らかにされた。

[向井徹、宮本友司、前田百美、鈴木定彦(北海道大学)、C. Habeenzu (ZATULET)]

3. 病原性抗酸菌 *M. abscessus* と *M. massiliense* および *M. bolletii* (*M. abscessus* complex, MABC) 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 MABC の亜種分類を鑑別する簡便なマルチプレックス PCR 法や MABC のマクロライド誘導耐性の有無を簡便に示唆する 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、朝倉崇徳、宮本友司、金城武士(琉球大学)、長野宏昭(沖縄中部病院)、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(国立台湾大学)、長谷川直樹(慶應義塾大学)、阿戸学、星野仁彦]

4. 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)が臨床の場に使用されているが、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)]

5. 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)]

6. 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、朝倉崇徳、阿戸学、星野仁彦]

7. 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ため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(大阪大学)]

IV.らい菌生存度の判定に関する研究

1. らい菌と培養抗酸菌の電顕による形態比較

BCG や *M. fortuitum* を培養して走査型電顕により観察すると、菌体表面が菌の発育状態によって変化することが明らかとなった。対数増殖期の菌をみると、伸長する longitudinal な方向に、大小の鎖状構造が並び、特徴的なトラフを形成していた。菌体中央付近から隔壁が形成されて、二分された菌体も多くあった。分裂後と思われる菌体のそれぞれの断面は網目構造をしていて凹凸があり、その分裂断面構造と側面傍の鎖型構造とは連続性を持っていた。この鎖のような微細構造は、抗生剤などによって菌が発育阻害を受けると消失して、菌体全体が平坦な構造になり、細長く伸長した菌体や、菌体側面から別の菌体が直角に枝分かれしているような形態もみられた。ヌードマウスフットパッドに接種して増殖したららい菌を観察したところ、BCG や *M. fortuitum* を培養した時と

同様の形態がみられ、様々な状態の菌がフットパッドに存在する可能性が示唆された。

[福富康夫、山本健太郎、前田百美、天内肇、小林宏尚(感染病理部)、阿戸学]

2. らい菌の増殖様式

人工培養ができないので、増殖様式は不明である。世代時間が 10 日以上と非常に長いと思われているが、それを *in vitro* で証明されてはいない。透過型電顕による観察から判断したところ、ヌードマウスから回収した菌のうち 2~3 割しか生きていないとの報告もあるが、その証明もされていない。個々の菌に対する生死判定法として、共焦点レーザー顕微鏡を利用したイメージング解析が応用できないかその可能性を探った。グラム陽性菌に対する抗生剤として知られているバンコマイシンは、らい菌にも取り込まれることが分かった。蛍光標識したバンコマイシンを液体培地に添加して 33℃にて培養した後、同顕微鏡で観察した。菌体全体が光っているものもあったが、分裂面と思われる箇所や菌体の片側に局在しているものもあったが、全く光っていない菌体も半数以上あった。この結果の解釈については、さらなる検討が必要である。

[福富康夫、山本健太郎、前田百美、天内肇、阿戸学]

V. 抗酸菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

1. 抗酸菌のクロファジミン耐性に関わる遺伝子変異

M. avium の転写制御因子 *tetR* 遺伝子の不活化によって発現が亢進した MmpL の作用により菌はクロファジミン耐性となるが、変異株の分離・解析、及び発現実験の結果、*mmpL* 遺伝子の異なる3カ所、計4種類の変異がクロファジミン耐性を増強することが明らかとなった。

[中田登、岩尾泰久、星野仁彦、阿戸学]

2. 結核菌の多剤排出ポンプ MmpSL5 と転写制御因子による薬剤耐性

結核菌の *mmpSL5* の機能を解析するため、*M. bovis* BCG を用い、転写制御因子-*mmpSL5* (Rv0678-Rv0676)破壊株、及び転写制御因子 (Rv0678)破壊株を作製し、クロファジミン、ベダキリンに対する感受性を調べた結果、前者は上昇し、後者は低下したことから、*mmpSL5* の発現制御と薬剤耐性への寄与が示唆された。

[中田登、岩尾泰久、山本健太郎、阿戸学]

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 DNA を含む試料を鋳型に Nested Multiplex PCR と次世代シ

ーケンサーでゲノムの約 100 カ所を一度に解析する手法を開発し、10 臨床試料を解析した結果、全ての試料で薬剤耐性と型別に関する情報が得られた。

[中田登、岩尾泰久、森修一、阿戸学]

4. 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 DNA ジャイレースは温度感受性を示し、らい菌の DNA ジャイレース遺伝子で置換した *M. smegmatis* は 37°C で増殖しない。らい菌と近縁の菌種の DNA ジャイレースとモザイク産物を作製して調べた結果、らい菌 DNA ジャイレースのサブユニット A が温度感受性の性質を持つことが明らかとなった。

[中田登、岩尾泰久、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、朝倉崇徳、長谷川直樹(慶應義塾大学)、阿戸学、星野仁彦]

6. 休眠状態における結核菌の菌体成分解析

結核菌の休眠機構はその病原性に強い影響を及ぼしていると考えられているが、詳細なメカニズムは不明である。国内の臨床分離株の多くを占める北京型株と他系統株で休眠機構にどのような違いがあるかを解明するため、両者を休眠状態と関連のある低酸素状態で培養し、菌体成分の比較解析を行った。その結果、北京型株は、他系統株に比べ、一部の主要菌体成分が著しく減少することが判明した。これらの結果は、北京型株が休眠状態に適応するために菌体成分の構成を変化させる傾向が強いこと、さらに結核菌の系統株間で異なる休眠機構が存在する可能性を示している。

[宮本友司、田村敏生、阿戸学]

7. 結核菌異物排出トランスポーターの一分子動態解析

結核菌 RND 型異物排出トランスポーターの 1 つである MmpL5 はベダキリンやクロファジンなどの結核治療薬を菌体内から排出することで結核菌の潜在的な薬剤耐性能を獲得している。また、薬剤排出活性には膜融合タンパク質 MmpS5 が必須であるものの、その詳細な機能は不明である。そこで、MmpL5 を蛍光標識、細胞膜上における動態

を解析した。その結果、MmpS5 により MmpL5 は細胞膜上にアンカー、固定されることが示唆された。

[山本健太郎]

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톤の関係性を明らかにした。また日本のブルーリ潰瘍 ("*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*" 感染症) 71 症例 (2019 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톤産生抗酸菌との比較ゲノム研究を展開中である。今年度より世界的にブルーリ潰瘍の多発地域である西アフリカ諸国(ガーナとコートジボアール)と共同研究を開始して、*M. ulcerans* の伝播経路探索を行うこととなった。

[吉田光範、深野華子、宮本友司、藤原永年(帝塚山大学)、小椋義俊(九州大学)、林哲也(九州大学)、四津里英(長崎大学)、鈴木幸一(帝京大学)、Abraham Anang (Noguchi Memorial Institute for medical research, Ghana)、Bamba VAGAMON (IRFCI, Côte d'Ivoire)、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考証している。

[森修一、阿戸学]

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 1897 年の「第一回国際らい会議」以降の国際ハンセン病学術誌 (LEPRA 誌など) 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、阿戸学、廣野義幸(東京大学)]

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。本年度は国立感染症研究所内に「国立感染症研究所ハンセン病資料デジタルアーカイブズ」(内部データベース)の作成を行うと共に、国際ハンセン病会議資料、国際ハンセン病学術誌(LEPRA誌)、ハンセン病撲滅対策関連資料のデジタル化(笹川記念保健協力財団関連16mmビデオなど)、国立長島愛生園および国立療養所松丘保養園関連のハンセン病資料のデジタル化も始まり、現在まで約1万2000点の資料の収集とデジタル化が進み、約6千点の資料のデータベース化が行われた。

[森修一、阿戸学、廣野義幸(東京大学)、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、阿戸学、瀬川将広(国立療養所東北新生園)、廣野義幸(東京大学)]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Matsuzaki G, Yamasaki M, Tamura T, Umemura M. 2019. Dispensable role of chemokine receptors in migration of mycobacterial antigen-specific CD4⁺ T cells into *Mycobacterium*-infected lung. *Immunobiology*. 224(3): 440-448. doi: 10.1016/j.imbio.2019.01.006.
- 2) Asakura T, Suzuki S, Fukano H, Okamori S, Kusumoto T, Uwamino Y, Ogawa T, So M, Uno S, Namkoong H, Yoshida M, Kamata H, Ishii M, Nishimura T, Hoshino Y, Hasegawa N. 2019. Sitafloxacin-Containing Regimen for the Treatment of Refractory *Mycobacterium avium* Complex Lung Disease. *Open Forum Infect Dis*. 6(4): ofz108. doi: 10.1093/ofid/ofz108.
- 3) Izumi K, Morimoto K, Hasegawa N, Uchimura K, Kawatsu L, Ato M, Mitarai S. 2019. Epidemiology of Adults and Children Treated for Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease in Japan. *Ann Am Thorac Soc*. 16(3): 341-347. doi: 10.1513/AnnalsATS.201806-366OC.
- 4) Kitaoka N, Fukano H, Yoshida M, Miyamoto Y, Mori S, Ishii N, Ato M, Ohara N, Hoshino Y. 2019. Discrimination of *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium haemophilum* in clinical isolates/specimens by multiple PCR assay and prediction of drug susceptibility. *J Clin Microbiol*. 57(2): e01760-18. doi: 10.1128/JCM.01760-18.
- 5) Sato K, Takahashi Y, Adachi Y, Asanuma H, Ato M, Tashiro M, Itamura S. 2019. Efficient Protection of Mice from Influenza A/H1N1pdm09 Virus Challenge Infection via High Avidity Serum Antibodies Induced by Booster Immunizations with Inactivated Whole Virus Vaccine. *Heliyon*. 5(1): e01113. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e01113.
- 6) Yoshida M, Nakata N, Miyamoto Y, Fukano H, Ato M, Hoshino Y. 2018. A rapid and non-pathogenic assay for association of *Mycobacterium tuberculosis gyrBA* mutations and fluoroquinolone resistance using recombinant *Mycobacterium smegmatis*. *FEMS Microbiol Lett*. 365(23). doi: 10.1093/femsle/fny266.
- 7) Scherr N, Bieri R, Thomas SS, Chauffour A, Kalia NP, Schneide P, Ruf MT, Lamelas A, Manimekalai MSS, Grüber G, Ishii N, Suzuki K, Tanner M, Moraski GC, Miller MJ, Witschel M, Jarlier V, Pluschke G, Pethe K. 2018. Targeting the *Mycobacterium ulcerans* cytochrome bc₁:aa₃ for the treatment of Buruli ulcer. *Nat Commun*. 9(1): 5370. doi: 10.1038/s41467-018-07804-8.
- 8) 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(12): 1305-1310. doi: 10.1016/j.cmi.2018.02.022.
- 9) Fukano H, Yoshida M, Kazumi Y, Fujiwara N, Katayama K, Ogura Y, Hayashi T, Miyamoto Y, Fujimoto N, Hongsheng W, Mizumoto C, Koizumi Y, Maeda H, Hiranuma O, Mitarai S, Ishii N, Hoshino Y. 2018. *Mycobacterium shigaense* sp. nov., a slow-growing, scotochromogenic species, is a member of the *Mycobacterium simiae* complex. *Int J Syst Evol Microbiol*. 68(8): 2437-2442. doi: 10.1099/ijsem.0.002845
- 10) Yoshida M, Fukano H, Ogura Y, Kazumi Y, Mitarai S, Hayashi T, Hoshino Y. 2018. Complete Genome Sequence of *Mycobacterium shigaense*. *Genome Announc*. 6(25): e00552-18. doi: 10.1128/genomeA.00552-18.
- 11) Nakanaga K, Ogura Y, Toyoda A, Yoshida M, Fukano H, Fujiwara N, Miyamoto Y, Nakata N, Kazumi Y, Maeda S, Ooka T, Goto M, Tanigawa K, Mitarai S, Suzuki K, Ishii N, Ato M, Hayashi T, Hoshino Y. 2018. Naturally occurring a loss of a giant plasmid from *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* makes it non-pathogenic. *Sci Rep*. 8(1): 8218. doi: 10.1038/s41598-018-26425-1.
- 12) Fukano H, Yoshida M, Shimizu A, Iwao H, Katayama Y, Omatsu T, Mizutani T, Kurata O, Wada S, Hoshino Y. 2018. Draft genome sequence of *Mycobacterium montefiorensis* isolated from Japanese black salamander (*Hynobius nigrescens*). *Genome Announc*. 6(21):

- e00448-18. doi: 10.1128/genomeA.00448-18.
- 13) Yoshida M, Fukano H, Miyamoto Y, Shibayama K, Suzuki M, Hoshino Y. 2018. Complete genome sequence of *Mycobacterium marinum* ATCC 927^T, obtained using Nanopore and Illumina sequencing technologies. *Genome Announc.* 6(20): e00397-18. doi: 10.1128/genomeA.00397-18.
 - 14) Imai T, Matsumura T, Mayer-Lambertz S, Wells C, Ishikawa E, Butcher SK, Barnett TC, Walker MJ, Imamura A, Ishida H, Ikebe T, Miyamoto T, Ato M, Ohga S, Lepenies B, van Sorge NM, Yamasaki S. 2018. Lipoteichoic acid anchor triggers Minicell to drive protective immunity against invasive group A *Streptococcus* infection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 115(45): E10662-E10671. doi: 10.1073/pnas.1809100115.
 - 15) Han K, Jung K, Oh H, Song H, Park S, Kim JH, Min G, Lee BH, Nam HS, Kim YJ, Ato M, Jeong J, Ahn C. 2018. A collaborative study to establish the second Korean national reference standard for snake venom. *Toxicol Res.* 34(3): 191-197.
 - 16) Yotsu RR, Kouadio K, Vagamon B, N'guessan K, Akpa AJ, Yao A, Aké J, Abbet Abbet R, Tchamba Agbor Agbor B, Bedimo R, Ishii N, Fuller LC, Hay R, Mitjà O, Drechsler H, Asiedu K. 2018. Skin disease prevalence study in schoolchildren in rural Côte d'Ivoire: Implications for integration of neglected skin diseases (skin NTDs). *PLoS Negl Trop Dis.* 12(5): e0006489. doi: 10.1371/journal.pntd.0006489.
 - 17) Niki M, Yoshiyama T, Miyamoto Y, Okumura M, Niki M, Oinuma KI, Kaneko Y, Matsumoto S, Sasaki Y, Ogata H, Goto H, Kudoh S, Hoshino Y. 2018. Longitudinal evaluation of humoral immunity and bacterial and clinical parameters reveals that antigen-specific antibodies suppress inflammatory responses in active tuberculosis patients. *J Immunol Res.* Article ID: 4928757. doi: 10.1155/2018/4928757.
 - 18) Morimoto K, Nakagawa T, Asami T, Morino E, Fujiwara H, Hase I, Tsujimoto Y, Izumi K, Hayashi Y, Matsuda S, Murase Y, Yano R, Takasaki J, Betsuyaku T, Aono A, Goto H, Nishimura T, Sasaki Y, Hoshino Y, Kurashima A, Ato M, Ogawa K, Hasegawa N, Mitarai S. 2018. Clinico-microbiological analysis of 121 patients with pulmonary *Mycobacteroides abscessus* complex disease in Japan - An NTM-JRC study with RIT. *Respir Med.* 145: 14-20. doi: 10.1016/j.rmed.2018.10.012.
 - 19) Reche P, Flower DR, Fridkis-Hareli M, Hoshino Y. 2018. Peptide-Based Immunotherapeutics and Vaccines 2017. *J Immunol Res.* 2018: 4568239. doi: 10.1155/2018/4568239. eCollection 2018.
 - 20) Le W, Haiqin J, Danfeng H, Ying S, Wenyue Z, Jun Y, Li X, Tiejun S, Limei S, Jie L, De W, Yong N, Yangying L, Hao W, Yanfei K, Bin L, Maeda Y, Duthie M, Meiwen Y, Hongsheng W, Liangbin Y, Guocheng Z, Baoxi W, Heng G. 2018. Monitoring and detection of leprosy patients in Southwest China: A retrospective study, 2010-2014. *Scientific Reports.* 8(1): 11407. doi: 10.1038/s41598-018-29753-4.
 - 21) Iwabuchi R, Ikeno S, Kobayashi-Ishihara M, Takeyama H, Ato M, Tsunetsugu-Yokota Y, Terahara K. 2018. Introduction of Human Flt3-L and GM-CSF into Humanized Mice Enhances the Reconstitution and Maturation of Myeloid Dendritic Cells and the Development of Foxp3⁺CD4⁺ T Cells. *Front Immunol.* 9: 1042. doi: 10.3389/fimmu.2018.01042.
 - 22) Kobayashi-Ishihara M, Terahara K, Martinez JP, Yamagishi M, Iwabuchi R, Brander C, Ato M, Watanabe T, Meyerhans A, Tsunetsugu-Yokota Y. 2018. HIV LTR-Driven Antisense RNA by Itself Has Regulatory Function and May Curtail Virus Reactivation From Latency. *Front Microbiol.* 9: 1066. doi: 10.3389/fmicb.2018.01066.
 - 23) Oh H, Shin J, Lee CK, Ochiai M, Nojima K, Ye O, Yoo KY, Lim CK, Raut S, Lisowski I, Han K, Lee C, Lee N, Hong J, Jung K, Van Hung PV, Ato M, Williams S, Jeong J. 2018. The 2nd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific. *Osong Public Health Res Perspect.* 9(3): 133-139. DOI: <https://doi.org/10.24171/j.phrp.2018.9.3.10>
 - 24) Yamamoto A, Harano S, Sinya N, Nagano A, Miyatsu Y, Sawabe K, Matsumura T, Ato M, Takahashi M, Taki H, Hifumi T. 2018. Freeze-dried equine-derived redback spider antivenom: A local irritation study by intramuscular injection in rabbits and a repeated-dose toxicity study in rats. *J Toxicol Pathol.* 31(2): 105-112. doi: 10.1293/tox.2017-0053.
 - 25) Htet L, Kai M, Miyamoto Y. 2018. New etiology of leprosy in Myanmar: another two patients. *Lepr Rev.*

89: 316-318.

2. 和文発表

- 1) 赤芝知己、瀬底里美、深野華子、石井則久、関根万里 BCG 肉芽腫の 1 例。臨床皮膚科、72: 1095-1099, 2018.
- 2) 森修一 ハンセン病対策の歴史と現状 ―日本と世界―。日本ハンセン病学会雑誌、87: 73-90, 2018.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Hoshino Y. Cell-based Comprehensive and Systematic Binding Analysis Between HLA -DR or -DQ Regions and T Cell Epitopes of TB Antigens ,Keystone Symposia. 15-20 April, 2018. Whistler, Canada
- 2) Hoshino Y. Cell-based Comprehensive and Systematic Binding Analysis Between HLA -DR or -DQ Regions and T Cell Epitopes of TB Antigens , ATS 2018, 18-23 May, 2018. CA, The USA.
- 3) Mukai T., Habeenzu C, Y. Suzuki Y. Leprosy Survey in 2018 at Sinazongwe District. Leprosy Surveillance Meeting at Zambia Government. 31 July, 2018. Lusaka, Zambia.
- 4) Tsukamoto Y., Maeda Y., Tamura T., Mukai T., Mitarai S, Yamamoto S, Makino M. Improving the vaccine efficacy of recombinant BCG utilizing the major membrane protein-II (MMPH) antigen against tuberculosis. 5th European Congress of Immunology 2018, 2-5 September, 2018. Amsterdam, The Netherlands.
- 5) Ato M. Diagnostic tools for non-tuberculous Mycobacterium diseases. 1st International Scientific Meeting on Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ISM-CMID), 10th National Congress of Indonesian Association for Clinical Microbiology (KONAS PAMKI) and 12th National Symposium of Indonesian Antimicrobial Resistance Watch (NS-IARW) 13-14 October, 2018. Surabaya, Indonesia.
- 6) Suzuki Y, Sugimoto C, Higashi H, Isoda N, Yamagishi J, Nakajima C, Hayashida K, Inoue N, Suganuma K, Mukai T., Maeda Y., Miyamoto Y., Chiluba C, Simukoko H, Kapata N, Mblo G, Solo E, Bwalya P, Hachaambwa L, Simuza 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. The 3rd International Joint Symposium, Promotion of Infectious Disease Research Cooperation between Africa and Japan toward Science, Technology and Innovation. Accra, 15-16 November, 2018. Accra, Ghana.
- 7) Miyamoto Y., Kai M, Maeda Y., Mukai T., Matsuoka M, Makino M, Ato M. Profiling of intracellular metabolites in *Mycobacterium leprae*. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. 26-27 February, 2019. Hanoi, Vietnam.
- 8) Mukai T., Isoda N, Yamaguchi T, Miyamoto Y., Maeda Y., Habeenzu C, Suzuki Y. Detection of *Mycobacterium lepra* DNA in nasal swabs by dried loop-mediated isothermal amplification. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. 28 February-1st March, 2019. Hanoi, Vietnam.
- 9) Maeda Y., Mukai T., Miyamoto Y., Tamura T., Suzuki Y, Ato M. Leprosy diagnostic methods: detection of paucibacillary patients. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, 28 February-1st March, 2019. Hanoi, Vietnam.
- 10) Ato M., Kitada S, Jou R, Samer W, Morimoto K, Lertmemongkolchai L, Kobayashi K. Evaluation of anti-glycopeptidelipid core antigen ELISA for non-tuberculous mycobacterium diseases in Asian countries. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. 28 February-1st March, 2019. Hanoi, Vietnam.
- 11) Murase C, Yotsu RR, Mikami M, Suzuki K, Ato M., Hoshino Y., Akiyama M, Ishii N. Buruli ulcer in Japan: update 2017-2018. WHO meeting on Buruli ulcer and other Skin NTDs. 25-27 March, 2019. Geneva, Switzerland.

2. 国内学会

- 1) 星野仁彦、宮寺浩子、徳永勝士、永井英明、吉山崇 結核菌抗原 T cell epitope 領域の HLA class II 結合解析。第 58 回日本呼吸器学会学術講演会、2018 年 4 月、大阪

- 2) 星野仁彦、中田登、阿戸学、小椋義俊、林哲也 ハンセン病治療薬 clofazimine 薬剤耐性機序の分子生物学的解明。第 91 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、2018 年 6 月、宮城
- 3) 向井徹、前田百美、宮本友司、鈴木定彦 らい菌遺伝子検出 Dry-LAMP 法の開発。第 91 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、2018 年 6 月、宮城
- 4) 宮本友司、前田百美、向井徹、甲斐雅規 らい菌の生存度を反映する RNA 分子の解析。第 91 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、2018 年 6 月、宮城
- 5) 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 91 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、2018 年 6 月、宮城
- 6) 森修一 ハンセン病対策の歴史と現状。第 91 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、2018 年 6 月、宮城
- 7) 後藤啓元、欠田成人、波部幸司、山中恵一、宮本友司、石井則久 ブルーリ潰瘍の 1 例。第 284 回日本皮膚科学会東海地方会例会、2018 年 6 月、三重
- 8) 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 地域特性を疑う新規同定抗酸菌 *Mycobacterium shigaense* の特徴とその感染源についての調査研究。第 93 回日本結核病学会総会、2018 年 6 月、大阪
- 9) 中川拓、朝倉崇徳、森本耕三、南宮湖、鈴木翔二、八木光昭、福井保太、林悠太、垂水修、山田憲隆、星野仁彦、倉島篤行、長谷川直樹、小川賢二 肺 *Mycobacterium avium complex* 症に対する間欠的治療の検討 後ろ向き多施設共同研究。第 93 回日本結核病学会総会、2018 年 6 月、大阪
- 10) 星野仁彦、永井英明、吉山崇、宮寺浩子、徳永勝士 結核菌抗原 T cell epitope 領域の HLA class II 結合解析。第 93 回日本結核病学会総会、2018 年 6 月、大阪
- 11) 吉田光範、星野仁彦、宮本友司、小椋義俊、林哲也、石井則久 ブルーリ潰瘍の原因菌 *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* の比較ゲノム解析。第 93 回日本結核病学会総会、2018 年 6 月、大阪
- 12) 村上遥子、佐々木優、岸晶子、林伸和、宮本友司、石井則久 後頭部に生じた *Mycobacterium mageritense* による皮膚非結核性抗酸菌症の 1 例。第 880 回日本皮膚科学会東京地方会例会、2018 年 7 月、東京
- 13) 星野仁彦 非結核性抗酸菌研究の最近の潮流。第 101 回日本細菌学会関東支部総会、2018 年 11 月、東京
- 14) 星野仁彦 非結核性抗酸菌症と結核～疫学と微生物学から～。第 60 回日本小児血液がん学会総会、2018 年 11 月、京都