

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。低温培養可能な細胞株を用いたらい菌の細胞内寄生機構、らい菌の分裂に関する形態の解析を進めている。また、らい菌の DNA ジャイレースの温度感受性解析を行なっている。らい菌の薬剤耐性遺伝子検査は、ヒトDNAの混在が問題となるが、次世代シーケンサーを用いた検査手法の解析を行っている。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サイトカイン産生の役割、C型レクチン受容体と抗酸菌の相互作用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、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。*M.leprae* の近縁種 *M.lepromatosis* はらい菌 PCR の標的配列を保有していないため、その鑑別法を開発し、疫学調査を行っている。さらに、2型らい反応(ENL)の発生と関連するらい菌 RNA の探索を行っている。現在、ザンビア、中国、ベトナム、ミャンマー、インドネシア、スリランカ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に関わる新規遺伝子探索、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2020年は3件の登録があり、累計76例のブルーリ潰瘍が集積されている。また、*M. ulcerans* については感染伝播経路の探索研究として、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継続した。

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ス」(内部データベース)の作成を継続すると共に、web 公開型学術データベース「近現代ハンセン病資料アーカイブス」(<https://www.archhdjp.jp/>)の作成・公開を行い、国際ハンセン病会議資料、国内外ハンセン病学術誌、明治期のハンセン病患者の実態に関する資料、療養所の内部の様相を知る資料の公開を行った。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進展した。

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、組換え株の有効性・安全性の検証で進展が認められた。組換え BCG 技術を活用して COVID-19 ワクチンの開発も行なっている。また、潜在性結核における免疫応答研究、結核菌異物排出トランスポーターの一分子動態解析研究などが行われた。

最後に人事であるが、2020年4月1日付で、辻村祐佑、深野華子が主任研究官として、着任した。

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

[塚本裕美子、田村敏生、前田百美]

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。らい菌の増殖には 30℃前後が至適温度である。そこで、低増殖性低体温性シュワン細胞株の獲得を試み、それに成功した。30℃で培養したシュワン細胞は S-100 陽性で、らい菌を貪食することが明らかになった。

[前田百美、田村敏生、遠藤真澄、阿戸学]

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に含まれる miRNA の網羅的解析を行った。幾つかの miRNA は非感染細胞に比べて、より多く含んでいた。ハンセン病特異的な miRNA の同定により新たな発想に基づくワクチン開発に進める。さらに、マウスではヒト様の病変を形成しないが、C3HeB/FeJ マウスでは乾酪壊死を伴う肉芽腫を形成することから、らい菌感染動物モデルとしての有用性を検討する。

[辻村祐佑、前田百美、田村敏生、塚本裕美子、向井徹、阿戸学]

2. 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、ワクチン効果の高い BCG 株を選抜し上記外来抗原を組み込んだ組換え BCG を作製し、継代を繰り返しても外来抗原を安定的に発現することを見出した。

[塚本裕美子、前田百美、田村敏生、辻村祐佑、宮本友司、向井徹]

3. 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

行い、特定の配列上のメチル化アデニンが免疫応答を活性化することを見出した。

4. マクロファージにおけるらい菌刺激に対する調節性サイトカイン産生反応の種差

IL-10 はヒトのハンセン病において LL 型病巣局所で発現量の多い調節性 regulatory サイトカインである。らい菌刺激によるマウスマクロファージのサイトカイン産生には、脂質シグナリングに関与する PGE2 が大きく影響していて、COX-2 活性化による PGE2 産生が、PGE2 受容体を刺激して細胞内 cAMP 濃度が上昇することが IL-10 の産生に必要であることが分かったが、M-CSF で培養して得られたヒト末梢血単球由来 M 型マクロファージの IL-10 産生には PGE2 の関与は低いことが分かった。

[福富康夫、前田百美、阿戸学]

5. T 型ハンセン病発症における IFN- γ 産生の役割

IFN- γ はヒトのハンセン病において TT 型病巣局所で発現量が多いサイトカインである。らい菌貪食刺激によるマウスマクロファージの TNF 産生は IFN- γ により増強されたが、IFN- γ は IL-10 産生を抑制する作用を有し、その結果、TNF 産生は増強された。ヒトマクロファージでも同様に IFN- γ は IL-10 を抑制し TNF を増強した。しかし IL-10 産生機構における脂質シグナリングの関与は少なく、その原因が、マクロファージの種差というよりも、「末梢血単球由来」M-マクロファージ(ヒト)と「腹腔常在細胞中」マクロファージ(マウス)という由来組織の違いによる可能性も否定できない。

[福富康夫、前田百美、阿戸学]

6. BCG を用いた COVID-19 ワクチンの開発

SARS-CoV-2 の receptor binding domain (RBD) を分泌発現する組換え BCG の構築を行った。親株として BCG Tokyo 由来の2株を用い、安定した分泌のため BCG ゲノム上へ RBD 発現ユニットを6種設計し構築を試みた。さらに構築に用いた薬剤耐性マーカーの除去を行った。結果2種の発現ユニットが良好な RBD 蛋白を分泌発現した。今後実用化に向け、継代による発現の安定性検討および免疫原性の検討を進めていく。

[向井徹、阿戸学、松本壮吉(新潟大)]

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、2018-2019 年にてザンビアで検診を行った。ELISA 法を用いて血清中の抗 MMP-II 抗体を測定した。南部州の農村部での抗体陽性率は 14.1% (n=362)に対し西部州の都市部においては 3.2% (n=401)と低い抗体陽性率が見られた。高い抗体値を呈しているヒトのさらなる、フォローアップが必要と考えられた。

[前田百美、向井徹、宮本友司、遠藤真澄、松岡正典、阿戸学、鈴木定彦（北海道大）]

2. ミャンマー連邦共和国における *M. lepromatosis* の疫学調査

もう一つのハンセン病起因菌 *M. lepromatosis* の疫学調査をミャンマー国において開始した。同国の倫理審査通過後、日本で確立したらい菌と *M. lepromatosis* の鑑別 PCR を同国にて臨床サンプルを用い検討した結果、鑑別可能であることが示された。現在、新規患者の臨床サンプルの収集進め、今後鑑別 PCR 法により *M. lepromatosis* の感染状況の検討を行う。

[向井徹、阿戸学、Khin SA (DMR, Myanmar)]

3. ハンセン病治療薬存在下におけるらい菌の網羅的遺伝子発現解析

ハンセン病治療薬に対し、らい菌がどのように反応しているのかを解明するため、治療薬存在下でのらい菌の網羅的な遺伝子発現解析を実施した。ヌードマウス内で増殖させたらい菌を、Rifampicin で処理し、RNA-seq 解析した結果、一部の基礎代謝系に属する遺伝子群の発現が、Rifampicin 無しの場合に比べ比較的強く亢進していることが判明した。一方、結核菌を同様に処理した場合は、異なる発現傾向を示した。これらの結果は、らい菌が他の抗酸菌とは異なる特有のメカニズムによって Rifampicin に反応することにより、代謝機構又は菌体成分を変化させている可能性を示唆している。

[宮本友司、前田百美、吉田光範、阿戸学]

4. Nested Multiplex PCR によるらい菌薬剤耐性と型別解析

らい菌 DNA を含み、ヒト DNA が多量に混在する臨床試料かららい菌ゲノム上の様々な領域の塩基配列情報を得るために、Nested Multiplex PCR と次世代シーケンサーを組み合わせた方法を開発した。これを用いて日本、フィリピン、ネパール等に由来する 17 臨床試料(少菌型の 2 試料を含む)を調べた結果、フィリピン由来の 3 試料、ブラジル、バングラデシュ、東チモール、ネパール由来のそれぞれ 1 試料は遺伝子型 1A、ネパール由来の 3 試料が 1D、日本由来 5 試料、インドネシア、フィリピン由来それぞれ 1 試料は 3K であり、日本由来の 3 試料がダブソン耐性を示す *folP1* 変異を持って

いた。

[中田登、森修一、阿戸学]

5. 皮膚に病変を作る抗酸菌の温度感受性増殖のメカニズムに関する研究

皮膚に病変を作る抗酸菌は、らい菌を含めて 37°C ではほとんど増殖せず、30°C から 33°C でよりよく増殖しこれが病因と密接に関係している可能性がある。この分子機構を明らかにするため、*M. marinum* 臨床分離株からまず 35°C でよく増殖する変異株を分離し、ゲノムシーケンシングにより親株から変異した DNA 配列部分を複数検出した。これらの変異の中で温度感受性増殖と関連している部分の特定を行っている。

[中田登、阿戸学]

6. 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、これがらい菌の温度感受性増殖の一因となっていると考えられるが、アミノ酸配列で 95%以上一致する *M. haemophilum* の DNA ジャイレースは温度感受性を示さないことから、両者の配列で一致しない主な領域 7カ所について、らい菌 DNA ジャイレースをそれぞれ 1カ所ずつ *M. haemophilum* の配列で置き換えて温度感受性を調べた結果、これらの置換では温度感受性の性質を維持したままであったことから、複数の領域が温度感受性に関与していることが示唆された。

[中田登、阿戸学]

7. らい菌遺伝子検出法および精度管理法の確立

ハンセン病の診断においてらい菌遺伝子の検出は重要な検査である。検出法さらに鑑別法として Real Time PCR, Nested PCR, LAMP 法を選択し、各手法および精度管理の標準化を図る。各種方法の確立は、様々な検査環境にある開発途上国において、状況に合致した検出法の技術移転に貢献すると考えられる。

[向井徹、前田百美、宮本友司、阿戸学]

8. 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

TOF-MS 法では鑑別できない MABC の亜種分類を鑑別し、また MABC のマクロライド誘導耐性の有無を簡便に示唆する方法を搭載した核酸クロマト法を開発し、論文報告を行うとともに国内・国際特許を申請し、国内販売に関しては 2021 年前半を目処に開始の予定である。また、東アジア地域における肺 MABC 患者より分離した菌株を使用し次世代シーケンサ(NGS)による菌株情報に基づいたゲノム疫学を沖

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)、長野宏昭(沖縄中部病院)、森本耕三(複十字病院)、佐野創太郎(カネカ)、宮本重彦(カネカ)、御手洗聡(結核研究所)、周如文(台湾 CDC)、薛博仁(国立台湾大)、長谷川直樹(慶應義塾大)、阿戸学、星野仁彦]

9. 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、吉山崇(複十字病院)、永井英明(国立病院機構東京病院)、山崎晶(大阪大)]

10. 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)、吉山崇(複十字病院)、山崎晶(大阪大)]

11. 同定不明抗酸菌の分離・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。

[深野華子、鹿住祐子、阿戸学、坂上伸哉(株式会社エス・アール・エル)、星野仁彦]

12. 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。CLR には、抗酸菌免疫を増強する活性化型受容体と免疫を減弱させる抑制型受容体があることが判

明した。抑制型受容体を発現した細胞株を使用して受容体のアンタゴニストを探索する解析を開始した。治療薬開発に結びつく可能性が考えられる。

[星野仁彦、深野華子、片野晴隆(感染病理部)、山崎晶(大阪大)]

13. 人獣共通感染症としての *M.kansasii* の病原性

肺 NTM 症のうち MAC 症、MABC 症に次いで国内の患者数が多いのが *M. kansasii* 症である。これまで、*M. kansasii* には *hsp65* 遺伝子制限酵素パターン解析により 7 亜型に分類されてきたが、ゲノム解析手法の進展により 2019 年に再分類が行われた。このうち、*M. kansasii* (subtype I) がヒト呼吸器疾患の原因菌であるが、感染源やリザーバーの存在、感染経路については殆ど理解されていない。

生涯屋内飼育されたイエネコが眼瞼に膿瘍性肉芽腫を呈し、菌株分離と NGS 解析を実施したところ、ネコ由来株は *M. kansasii* (subtype I) であり、呼吸器疾患由来 *M. kansasii* ゲノムとの比較において、平均 99.23% の一致率を示した。このことからイエネコは呼吸器疾患原因菌である *M. kansasii* (subtype I) のリザーバーになり得、NTM に対するワンヘルスアプローチの重要性を示唆するものとなった。

[深野華子、吉田光範、寺園司(寺園動物病院)、星野仁彦]

14. *Mycobacterium shigaense* のゲノム解析

M. shigaense は 2009 年に初めて報告された比較的新しい NTM であり、2018 年までに国内外で 7 症例が報告されている。これまでに報告された 7 症例のうち 5 症例についてはいずれも患者の居住地が滋賀県内であり、非常に高い地域特異性を持った NTM 症である。7 症例中 6 症例は皮膚疾患だが 1 症例は呼吸器疾患であり、病態の特徴も明らかではない。また、同菌種は滋賀県内に存在する琵琶湖の流出河川である淀川河川水からも分離されており、臨床分離株と環境分離株との関連については定かでない。国内外の臨床分離株・環境分離株について SNP 解析および決定した完全ゲノム配列長を元に、リアレンジメント・リコンビネーション解析、相同性解析を実施した国内外由来株は非常に高い相同性を持つことが明らかとなったが、特に滋賀県在住患者由来株と淀川河川由来環境株間では SNP 数が非常に少なく、この結果はこれらが同一クローンであることを強く示唆していた。このことから今後、患者への感染経路の検討が急がれる課題となった。

[深野華子、吉田光範、有川健太郎(神戸市健康科学研究所) 岩本朋忠(神戸市健康科学研究所)、星野仁彦]

15. 非結核性抗酸菌感染小動物の非侵襲的モニタリング法の開発

非結核性抗酸菌に対する新規治療薬開発には、動物モデルの開発も重要である。抗菌薬候補物質の小動物に対する効果判定に肺内細菌数を測定する場合は、サクリフェイスしてCFU数を計算することで計算しているのが現状である。これは動物愛護の点からも、研究者の労力や研究費の点からも、正確性の点からも問題があると考えられる。そこで蛍光・発光物質を組み込んだ抗酸菌を小動物へ感染させ、IVIS (in vivo imaging system)と小動物用CTスキャン装置で、サクリフェイスする事なく経過観察を行う系を構築中である。

[深野華子、山本健太郎、吉田光範、星野仁彦]

IV. らい菌生存度の判定に関する研究

1. らい菌など抗酸菌の形態観察

ヌードマウスフットパッドに接種して増殖してきたらい菌を回収して固定した後に光学顕微鏡で観察すると、松葉状の形をしている菌は、走査型電顕にて観察した結果、分裂直後の菌であることが分かった。すなわち、隔壁形成の後、細胞壁の一部分で繋がっている二つの菌であり、抗酸菌増殖時に特徴的な形態変化であった。隔壁形成は細胞壁直下の内側の細胞膜部分から起こり、最後に中央部分が絞込まれるような形で菌体が二分されていた。現在、分裂に関与する各種タンパクの発現や局在を調べている。

[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]

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因子

M. avium の MmpL の異なる 3 カ所のアミノ酸残基における、計 4 種類の変異がクロファジミン耐性を増強することを明らかにしたが、これらのアミノ酸残基をコードするコドンに変異を加え、新たに計 11 種類の変異体を作製して *M. bovis* BCG をホストとする系で調べたところ MIC に変化が見られたことから、これらのアミノ酸残基がクロファジミン排出に重要な役割を担っていることが示唆された。

[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* と *pepQ* はともにクロファジミン耐性に関与しているが、両者の関係を調べるため *M. bovis* BCG の *mmpSL5* 破壊株と、発現亢進株についてそれぞれ *pepQ* 破壊株を分離した。その結果、*mmpSL5* 破壊株では *pepQ* 破壊

によってクロファジミン感受性に変化がみられなかったが、発現亢進株では MIC が上昇した。このことから *pepQ* が *mmpSL5* に直接または間接的に作用してクロファジミン排出に影響を与えていることが示唆された。

[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。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、これまで解析した 10 臨床試料に加えて 7 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、らい菌遺伝子解析に有効であることが示された。

[中田登、岩尾泰久、森修一、阿戸学]

4. 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)、阿戸学、星野仁彦]

5. 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ミ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 存在下において MmpL5 は三量体を形成し細胞膜上に固定された。一方で、MmpS5 非存在下では単量体を形成し膜上を自由拡散することがわかった。薬剤の排出にはこの三量体化が必須であると示唆される。以上の結果をまとめ、論文を投稿した。さらに、MmpS5 と MmpL5 の直接的な結合を解析する実験を進めている。

[山本健太郎、中田登、向井徹、川岸郁朗(法政大)、阿戸学]

6. 非結核抗酸菌の増殖速度に関与する遺伝子変異

非結核抗酸菌 *M. avium* subsp. *hominisuis* 104株の培養中に、コロニー出現時期の早い変異株を見出した。変異株は、親株に比べ増殖速度の亢進と高い流動性を示した。ゲノム解析の結果、変異株はタンパクをコードする遺伝子の停止コドンに点変異が起こり、オペロンを形成する2つの隣接するタンパクが融合タンパクとなっていることが判明した。変異の親株型への遺伝子置換によって、本変異が増殖速度増大に関する責任遺伝子であることが判明した。

[河喜多智美、向井徹、吉田光範、宮本友司、山田博之(結核研究所)、瀧井猛将(結核研究所)、中田登、中山真彰(岡山大)、梁明秀(横浜市立大)、大原直也(岡山大)、阿戸学]

[森修一、阿戸学]

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)は2020年度までで76症例を収集し、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。2019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)、小椋義俊(九州大)、林哲也(九州大)、四津里英(長崎大)、鈴木敏彦(東京医科歯科大)、鈴木幸一(帝京大)、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。

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)、和文医学雑誌(レプラ(日本癩学会雑誌))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。LEPRA誌および日本癩学会誌、国際らい会議録のデジタル化も平行して行い、「近現代ハンセン病資料アーカイブス」(<https://www.archhdjp.jp/>)に掲載し、本HPをプラットフォームとして共同研究者とのデータ共有を進め、研究を進展させている。

[森修一、阿戸学、廣野義幸(東京大)]

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開放医療への移行がWHO主導により行われたが、日本や米国では隔離政策が継続された。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、ハンセン病隔離政策の進展と維持の要因を広く検証する事に寄与することを目的とする。

本年度は引きつづき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ス」(内部データベース)の作成を継続すると共に、「近現代ハンセン病資料アーカイブス」(<https://www.archhdjp.jp/>)に日本癩学会雑誌(レプラ)、社会復帰者の記録である『愛情の壁』、『生活の壁』、『としつきの音』、ハンセン病ワーカーの記録である『道遙か ハンセン病患者の傍らに』、光田健輔の記録である『光田健輔と日本のらい予防事業』、その他、100点を追加公開した。また、元多磨全生園園長である大平馨資料のデジタル目録を完成し(約1600点)し資料のデジタル化、データベース化を進めた。療養所の内部の様相を知る資料として『甲田の裾』(松丘保養園機関誌1931-2019年)のデジタルを完了し、HPへの公開(「甲田の裾電子図書室」)の基礎システムを開発した。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進展し、入所者日記「菊地日記62年分」のデジタル化を終了、元松丘保養園園長の資料である「荒川巖デジタルアーカイブス」679点の公開を行った。

[森修一、阿戸学、廣野義幸(東京大)、川西健登(元国立療養所松丘保養園)、横山 慎(国立療養所松丘保養園)、尾崎元昭(国立療養所長島愛生園)、野上玲子(国立療養所菊地恵楓園)、熊野公子(兵庫県立がんセンター)]

4. 日本におけるハンセン病開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・戦後を通じ開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開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、戦後の療養所の実態の再検証を進め、療養所の役割を再考し、その維持の要因を検討した。また、日本の隔離政策を世界の開放医療(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。今年度は沖縄でのハンセン病医療援助の実態を明らかにし、戦後のハンセン病対策を検証した。

[森修一、阿戸学、尾崎元昭(国立療養所長島愛生園)、
廣野義幸(東京大)]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Toyama T, Mori T, Kato J, Sugita K, Hasegawa N, Nakata N, Hoshino Y, Okamoto S. 2020. Disseminated *Mycobacterium massiliense* infection in a patient with myelodysplastic syndrome undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Transpl Infect Dis.* 22(3): e13278. doi: 10.1111/tid.13278.
- 2) Shibata T, Makino A, Ogata R, Nakamura S, Ito T, Nagata K, Terauchi Y, Oishi T, Fujieda M, Takahashi Y, Ato M. 2020. Respiratory syncytial virus infection exacerbates pneumococcal pneumonia via Gas6/Axl-mediated macrophage polarization. *J Clin Invest.* 130(6): 3021-3037. doi: 10.1172/JCI125505.
- 3) Nithichanon A, Chetchotisakd P, Matsumura T, Takahashi Y, Ato M, Sakagami T, Lertmemongkolchai G. 2020. Diagnosis of NTM active infection in lymphadenopathy patients with anti-interferon-gamma auto-antibody using inhibitory ELISA vs. indirect ELISA. *Sci Rep.* 10(1): 8968. doi: 10.1038/s41598-020-65933-x.
- 4) Nithichanon A, Tussakhon I, Samer W, Kewcharoenwong C, Ato M, Bancroft GJ, Lertmemongkolchai G. 2020. Immune responses in beta-thalassaemia: heme oxygenase 1 reduces cytokine production and bactericidal activity of human leucocytes. *Sci Rep.* 10(1): 10297. doi: 10.1038/s41598-020-67346-2.
- 5) Niki M, Yoshiyama T, Nagai H, Miyamoto Y, Niki M, Oinuma KI, Tsubouchi T, Kaneko Y, Matsumoto S, Sasaki Y, Hoshino Y. 2020. Nutritional status positively impacts humoral immunity against its *Mycobacterium tuberculosis*, disease progression, and vaccine development. *PLoS One.* 15(8): e0237062. doi: 10.1371/journal.pone.0237062.
- 6) Morishita Y, Aoki Y, Ito M, Hagiwara D, Torimaru K, Morita D, Kuroda T, Fukano H, Hoshino Y, Suzuki M, Taniguchi T, Mori K, Asai T. 2020. Genome Mining-Based Discovery of Fungal Macrolides Modified by glycosylphosphatidylinositol (GPI)-Ethanolamine Phosphate Transferase Homologues. *Org Lett.* 22(15): 5876-5879. doi: 10.1021/acs.orglett.0c01975.
- 7) Fukano H, Miyama H, Takatsuki S, Hirabayashi A, Suzuki M, Yoshida M, Uwamino Y, Hasegawa N, Hoshino Y. 2020. Complete Genome Sequence of *Mycolicibacterium* sp. Strain NIID-NTM18, Isolated from Cardiac Implantable Electronic Device Infection and Most Similar to *Mycolicibacterium litorale*. *Microbiol Resour Announc.* 9(36): e00830-20. doi: 10.1128/MRA.00830-20.
- 8) Matsumura T, Nishiyama A, Aiko M, Ainai A, Ikebe T, Chiba J, Ato M, Takahashi Y. 2020. An anti-perfringolysin O monoclonal antibody cross-reactive with streptolysin O protects against streptococcal toxic shock syndrome. *BMC Res Notes.* 13(1): 419. doi: 10.1186/s13104-020-05264-2.
- 9) Uno S, Asakura T, Morimoto K, Yoshimura K, Uwamino Y, Nishimura T, Hoshino Y, Hasegawa N, Nontuberculous Mycobacteriosis and Bronchiectasis-Japan Research Consortium (NTM-JRC). 2020. Comorbidities associated with nontuberculous mycobacterial disease in Japanese adults: a claims-data analysis. *BMC Pulm Med.* 20(1): 262. doi: 10.1186/s12890-020-01304-6.
- 10) Fujita F, Kawakami Y, Yamasaki H, Sugihara S, Miyake T, Miyamoto Y, Hoshino Y, Ishii N, Yamasaki O, Morizane S. 2020. Coexistence of *Mycobacterium ulcerans* ssp. *shinshuense* and *Mycobacterium avium* in a patient with Buruli ulcer-compatible lesions. *J Dermatol.* 47(11): e400-e401. doi: 10.1111/1346-8138.15542.
- 11) Yonekawa A, Miyake N, Minami J, Murakami D, Fukano H, Hoshino Y, Kubo K, Chong Y, Akashi K, Shimono N. 2020. Parotitis caused by *Mycobacteroides abscessus* subspecies *abscessus*. *Auris Nasus Larynx.* S0385-8146(20): 30304-7. doi: 10.1016/j.anl.2020.11.005.
- 12) Nithichanon A, Samer W, Chetchotisakd P, Kewcharoenwong C, Ato M, Lertmemongkolchai G. 2020. Evaluation of plasma anti-GPL-core IgA and IgG for diagnosis of disseminated non-tuberculous mycobacteria infection. *PLoS One.* 15(11): e0242598. doi: 10.1371/journal.pone.0242598.
- 13) Tsujimura Y, Shioyama Y, Soma S, Okamura T, Takano J, Urano E, Murakata Y, Kawano A, Yamakawa N, Asaka MN, Matsuo K, Yasutomi Y. 2020. Vaccination with intradermal bacillus Calmette-Guérin (BCG) provides robust protection against extrapulmonary tuberculosis but not pulmonary infection in cynomolgus

- macaques. *J Immunol.* 205(11): 3023-3036. doi: 10.4049/jimmunol.2000386.
- 14) Yamamoto K, Nakata N, Mukai T, Kawagishi I, Ato M. 2021. Co-expression of MmpS5 and MmpL5 Contributes to Both Efflux Transporter MmpL5 Trimerization and Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *mSphere.* 6(1): e00518-20. doi: 10.1128/mSphere.00518-20.
- 15) Enany S, Ato M, Matsumoto S. 2021. Differential Protein Expression in Exponential and Stationary Growth Phases of *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* 104. *Molecules.* 26(2): 305. doi: 10.3390/molecules26020305.
- 16) Tajiri K, Imanaka-Yoshida K, Tsujimura Y, Matsuo K, Hiroe M, Aonuma K, Ieda M, Yasutomi Y. 2021. A New Mouse Model of Chronic Myocarditis Induced by Recombinant Bacille Calmette-Guèrin Expressing a T-Cell Epitope of Cardiac Myosin Heavy Chain- α . *Int J Mol Sci.* 22(2): 794. doi: 10.3390/ijms22020794.
- 17) Kato S, Shida H, Okamura T, Zhang X, Miura T, Mukai T, Inoue M, Shu T, Naruse TK, Kimura A, Yasutomi Y, Matsuo K. 2021. CD8 T Cells Show Protection against Highly Pathogenic Simian Immunodeficiency Virus (SIV) after Vaccination with SIV Gene-Expressing BCG Prime and Vaccinia Virus/Sendai Virus Vector Boosts. *J Virol.* 95(4): e01718-20. doi: 10.1128/JVI.01718-20.
- 18) Kawakita T, Mukai T, Yoshida M, Yamada H, Nakayama M, Miyamoto Y, Suzuki M, Nakata N, Takii T, Ryo A, Ohara N, Ato M. 2021. Point mutation in the stop codon of *MAV_RS14660* increases the growth rate of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis*. *Microbiol.* 167(2): 001007. doi: 10.1099/mic.0.001007.
- 19) Yoshida M, Sano S, Chien JY, Fukano H, Suzuki M, Asakura T, Morimoto K, Murase Y, Miyamoto S, Kurashima A, Hasegawa N, Hsueh PR, Mitarai S, Ato M, Hoshino Y. 2021. A novel DNA chromatography method to discriminate *Mycobacterium abscessus* subspecies and macrolide susceptibility. *EBioMedicine.* 64: 103187. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103187.
- 20) Fukano H, Terazono T, Hirabayashi A, Yoshida M, Suzuki M, Wada S, Ishii N, Hoshino Y. 2021. Human pathogenic *Mycobacterium kansasii* (former subtype I) with zoonotic potential isolated from a diseased indoor pet cat, Japan. *Emerg Microbes Infect.* 10(1): 220-222. doi: 10.1080/22221751.2021.1878935.
- 21) Yoshida M, Fukano H, Asakura T, Suzuki M, Hoshino Y. 2021. Complete Genome Sequence of *Mycobacterium heckeshornense* JCM 15655^T, Closely Related to a Pathogenic Nontuberculous Mycobacterial Species, *Mycobacterium xenopi*. *Microbiol Resour Announc.* 10(10): e00020-21. doi: 10.1128/MRA.00020-21.
- 22) Tanigawa K, Hayashi Y, Hama K, Yamashita A, Yokoyama K, Luo Y, Kawashima A, Maeda Y, Nakamura Y, Harada A, Kiriya M, Karasawa K, Suzuki K. 2021. *Mycobacterium leprae* promotes triacylglycerol *de novo* synthesis through induction of GPAT3 expression in human premonocytic THP-1 cells. *PLoS One.* 16(3): e0249184. doi: 10.1371/journal.pone.0249184.
2. 和文発表
- 1) 鎗山あずさ、米井希、口広智一、宮本友司、深野華子、石井則久。ミノサイクリン内服で著名に縮小したブルーリ潰瘍の1例。臨床皮膚科、74(6): 447-452, 2020.
- 2) 西内由紀子、大田篤、矢野大和、岩本朋忠、阿戸学、松本壮吉、大原直也、丸山史人。抗酸菌のバイオフィルム形成と休眠時遺伝子発現比較。BACTERIAL ADHERENCE & BIOFILM、33: 49-52, 2020.
- 3) 琴基天、岡崎静、深野華子、吉田光範、星野仁彦、幸野健、佐伯秀久、神田奈緒子。皮膚 *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* 感染症の1例。皮膚科の臨床、62(7): 1053-1058, 2020.
- 4) 村上遥子、佐々木優、岸晶子、宮本友司、石井則久、林伸和。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。皮膚科の臨床、62(7): 1049-1052, 2020.
- 5) 深野華子、奥田マキ、柏木彩、星野仁彦。ベタキリンを含む肺 MAC 症多剤併用療法確立への検討。臨床薬理の進歩、41: 1-7, 2020.
- 6) 森修一、阿戸学。「近現代ハンセン病資料アーカイブ」の公開と今後の展開。日ハンセン病学会雑誌、89(1): 13-18, 2020.
- 7) 森修一、森山一隆、岸田松美、阿戸学。「ハンセン病文庫友の会」11年の活動の歴史とその意義について—奄美大島での調査協力を通じて知ったこと—。日ハンセン病学会雑誌、89(1): 19-23, 2020.
- 8) 森修一、阿戸学。近現代ハンセン病資料アーカイブ事業—「沖縄らい検診等援助計画報告書」資料の公開—。日ハンセン病学会雑誌、89(2): 27-95, 2020.
- 9) 森修一、阿戸学。近現代ハンセン病資料アーカイブ

事業「昭和 42 年度 沖縄らい検診等援助計画報告書」資料の公開。日 Hansen 病学会雑誌、89(3): 101-142, 2021.

II. 学会発表

1. 国際学会

なし

2. 国内学会

- 1) 李殷先、北見由季、末木博彦、深野華子、三上万里子、石井則久 前額、上肢に繰り返し出現し、原因菌同定に難渋した皮膚非結核性抗酸菌症の 1 例。第 119 回日本皮膚科学会総会、2020 年 6 月、WEB
- 2) 阿戸学、松村隆之、池辺忠義 劇症化病態の解明に向けて。第 94 回日本感染症学会学術集会、2020 年 8 月、東京
- 3) 深野華子、寺園司、平林亜希、吉田光範、鈴木仁人、和田新平、石井則久、星野仁彦 イエネコにおける *Mycobacterium kansasii* (subtype I) 感染症例とゲノム解析。第 4 回日本ワンヘルスサイエンス学会、2020 年 9 月、WEB
- 4) 藤原啓司、森本耕三、吉田光範、村瀬良朗、古内浩司、御手洗聡、大田健 複十字病院における肺 *M. abscessus* complex (MABC) 患者のゲノム分子疫学解析。第 60 回日本呼吸器学会学術講演会、2020 年 9 月、WEB
- 5) 藤原永年、中屋愼、山本三郎、水野浄子、宮本友司、吉田光範、深野華子、前田伸司、星野仁彦 魚類感染する *Mycobacterium ulcerans* 近縁抗酸菌の脂質生化学的特徴。第 95 回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会、2020 年 10 月、WEB
- 6) 村瀬良朗、青野昭男、御手洗聡、吉田光範、藤原啓司、古内浩司、大田健、森本耕三 病原体ゲノム情報に基づく肺 *M. abscessus* complex (MABC) 患者の感染経路の推定。第 95 回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会、2020 年 10 月、WEB
- 7) 深野華子、吉田光範、鈴木仁人、于連升、有川健太郎、岩本朋忠、星野仁彦 地域特異性の高い *Mycobacterium shigaense* のロングリードシーケンサーを使用した比較ゲノム解析。第 95 回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会、2020 年 10 月、WEB
- 8) 星野仁彦、吉田光範、深野華子 抗酸菌に対して next generation sequencer (NGS) を用いた比較ゲノム解析。第 95 回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会、2020 年 10 月、WEB
- 9) 阿戸学、松村隆之 感染制御における抗体医薬の現状と未来。第 90 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第 63 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 68 回日本化学療法学会西日本支部総会、2020 年 11 月、福岡市
- 10) 岩立和子、北見由季、村上遥子、末木博彦、深野華子 左上腕に生じ、家族内感染を疑わせた *Mycobacterium (M.) abscessus* subsp. *massiliense* による皮膚非結核性抗酸菌症の 1 例。第 84 回日本皮膚科学会東京支部学術大会、2020 年 11 月、WEB
- 11) 三上万里子、村瀬千晶、四津里英、鈴木幸一、山崎正規、阿戸学、石井則久 日本国内の皮膚関連の顧みられない熱帯病(皮膚 NTDs)2019-2020 の傾向。第 84 回日本皮膚科学会東京支部学術大会、2020 年 11 月、WEB
- 12) 星野仁彦 *Mycobacterium abscessus* complex×3 亜種とマクロライド感受性を識別する新規 DNA クロマトグラフィ法の開発。第 51 回結核・非定型抗酸菌症治療研究会、2020 年 12 月、東京
- 13) 阿戸学 科学研究を生業として持続させていくために—国立研究所の場合を中心に—。第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、WEB
- 14) 小野寺大志、橋香奈、戸高玲子、阿戸学、長谷川秀樹、Garnet K、片山和彦、高橋宜聖 ウイルス様粒子構造はノロウイルスに対する IgA 抗体応答を増強する。第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、WEB
- 15) 藤原永年、中屋愼、宮本友司、綾田稔、中崇、前田伸司 臨床分離株 *Mycobacterium intracellulare* Ku11 株由来新規糖ペプチド脂質抗原の糖鎖延長遺伝子群解析。第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、WEB
- 16) 松村隆之、西山紋恵、相内章、池辺忠義、千葉丈、阿戸学、高橋宜聖 SLO に交差反応する抗 PFO モノクローナル抗体は STSS に対して宿主防御的に作用する。第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、WEB
- 17) 河喜多智美、前田百美、山崎晶、梁明秀、阿戸学 C 型レクチン受容体 Mincle はらい菌感染マウスの宿主防御機構に関与する。第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、WEB