

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

ハンセン病における末梢神経機能障害の解明・予防・治療法に関する研究

分担研究者 後藤正道 鹿児島大学医学部病理学第二講座 助教授

研究要旨

Buruli潰瘍は抗酸菌*Mycobacterium ulcerans*感染による難治性皮膚疾患であり、ハンセン病と同様、社会的な偏見を受けやすいことから、原因の究明と治療法の確立が望まれている。今回我々は、実験的マウスBuruli潰瘍における病理所見とくに末梢神経病変の有無について検討した。*M. ulcerans*をBALB/Cマウスの足蹠内に接種して経時的に病理組織像を観察したところ、ヒトのBuruli潰瘍に見られる組織像と類似した、深い皮膚潰瘍と皮下組織の広範な浮腫が見られた。ほとんどの末梢神経に異常は認められないが、一部の末梢神経内に抗酸菌の集塊が認められた。しかし、抗酸菌陽性の末梢神経内は、*M. leprae*接種マウスと比べると頻度が低い。

研究協力者

中永和枝・石井則久（国立感染症研究所ハンセン病研究センター）

斎藤肇（広島県環境保健協会）

えられた。そこで、実験的マウスBuruli潰瘍における病理所見、とくに末梢神経病変の有無についての検討を行った。

A. 研究目的

抗酸菌である*Mycobacterium ulcerans*感染によるBuruli潰瘍は、熱帯、亜熱帯地域で見られるヒトの難治性皮膚疾患であり、大きく深い皮膚潰瘍が形成される。ハンセン病と同様、社会的な偏見を受けやすいことから、原因の究明と治療法の確立が望まれている。

*M. ulcerans*はハンセン病の起原菌である*Mycobacterium leprae*と同じく低温で発育し、また*M. leprae*のシュワン細胞侵入に関与するとされるPhenolic Glycolipid-Iが免疫組織化学でBuruli潰瘍病変にも陽性になることが報告されている。これらのことから、ハンセン病の病変とBuruli潰瘍の病変の組織学的な相違点・類似性について検索することが、ハンセン病の神経障害発症機構を理解するためにも有用であると考

B. 研究方法

M. ulcerans 97-107株の32°C、7H9培養から調整した菌浮遊液(CFU=1.3X10⁶/ml)の25μlをマウス(BALB/c、雌)の両後足蹠内に接種し、局所に明らかな発赤・腫脹がみられるようになった33日目から、経時的に病理組織像を観察した。接種後、54日目まで観察できたが、それ以降のマウスは死亡した。フォルマリン固定した後足、腎、脾をヘマトキシリン・エオジン染色とFite法抗酸菌染色で観察した。

C. 研究結果

接種後33日の*M. ulcerans*接種マウスの接種部では、打ち抜いたような明瞭な辺縁を持つ皮膚潰瘍と、皮下組織の脂肪壊死を伴った広範な浮腫、その中への少量のフィブリンの浸出、少数の好中球と単球の浮腫性間質の浸潤、拡張し

た血管内の赤血球のうっ滞などが見られた。また、血管内皮細胞の腫大と腔内への突出 (High Endothelial Venulid) も見られた。肉芽腫の形成は認められない。少数の抗酸菌をマクロファージ内と間質に認めた。接種後40日目以降では、潰瘍は広範で深くなり、また、多数の細長い抗酸菌が壊死巣内に集簇していた。

以上をまとめると、Buruli潰瘍においては、一般の皮膚潰瘍と比べて細胞反応に乏しく、肉芽組織の出来ない、極めて特殊な形の打抜き潰瘍が形成される。血管内皮のHEV化と炎症細胞の血管内停滞は、急性炎症に認められる一般の形であるが、フィブリン血栓の形成が見られることから、血流の停滞が病変形成に関与している可能性が高い。抗酸菌は細胞内外で増殖するが、とくに析出したフィブリンの中に多く見られる。抗酸菌が血管内の単球は認められたことから、菌は血行性に全身に散布される可能性がある。

ほとんどのマウスの末梢神経に異常は認められないが、54日目の一部の末梢神経内に抗酸菌の集塊が数個認められた。この末梢神経内の抗酸菌陽性所見は、*M. leprae*接種マウスと比べると頻度が低く、より大きな抗酸菌集塊を形成していた。

D. 考察

ヒトのBuruli潰瘍においては、脂肪壊死を伴う深い皮膚潰瘍と皮下組織の広範な浮腫、血流うっ滞などが報告されているが、マウスの病変もそれらと類似していた。これらのことから、マウスへの*M. ulcerans*の接種はBuruli潰瘍の動物モデルとして適していると考えられた。

一方、ヒトのBuruli潰瘍の末梢神経ではシュワン細胞の基底膜の肥厚と軸索の空胞化を伴う変

性所見が見られるものの、抗酸菌の浸潤は見い出されていない (Mwanatambwe, 2000)。今回我々が観察した末梢神経内の抗酸菌集塊は、ハンセン病とBuruli潰瘍との類似性を示唆する所見だと考えられる。

末梢神経内における*M. ulcerans*の宿主細胞については電顕的検索を行わないと確定はできないが、おそらくシュワン細胞ではなくマクロファージであろうと推測される。ハンセン病との病態の比較検討のために、これらの神経内の抗酸菌の局在を明らかにする必要があると考えられた。

また、Buruli潰瘍に対する各種抗菌薬の治療効果を、このマウスモデルを用いて評価することも有用と推測された。

E. 結論

実験的マウスBuruli潰瘍における病理所見とくに末梢神経病変の有無について検討したところ、ヒトのBuruli潰瘍に見られる組織像と類似した病変が見られた。また、一部の末梢神経内に抗酸菌の集塊が認められた。しかし、抗酸菌陽性の末梢神経は、*M. leprae*接種マウスと比べると出現頻度が低かった。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 後藤正道:ハンセン病(日本人の貢献). 日本内科学会雑誌 91(10):2899-2902 (2002)
- 2) 後藤正道:太平洋の島々におけるハンセン病. 南太平洋海域調査研究報告 No.36, 鹿児島大

学多島圏研究センター、鹿児島, 43-52 (2002)

3) 並里まさ子、後藤正道、儀同政一、細川 篤、杉田泰之、石井則久、長尾榮治、尾崎元昭: ハンセン病治癒判定基準. 日本ハンセン病学会雑誌 71(3): 235-238, 2002

4) 後藤正道、尾崎元昭: ハンセン病学会サテライトセッション・第12回症例検討会報告. 日本ハンセン病学会雑誌 71(3): 269-270, 2002

5) 後藤正道、北島信一: ハンセン病治療指針. 日本臨床2003年増刊「新世紀の感染症学」III. グローバル時代の感染症治療法 2. 治療指針 (印刷中)

6) Chiaki Taki, Shinichi Kitajima, Kazunobu Sueyoshi, Suguru Yonezawa, Sadao Tanaka, Koro Sakoda, Tatsuro Irimura, Eiichi Sato, Masamichi Goto: MUC1 mucin expression in follicular dendritic cells and lymphoepithelial lesions of gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Pathology International* 52(10): 691-701, 2002

7) Shugo Tamada, Masamichi Goto, Mitsuharu Nomoto, Koji Nagata, Takeshi Shimizu, Sadao Tanaka, Koro Sakoda, Kohzo Imai, Suguru Yonezawa: Expression of MUC1 and MUC2 mucins in extrahepatic bile duct carcinomas: Its relationship with tumor progression. *Pathology International* 52(10): 713-723, 2002

8) Sumika Matsukita, Mitsuharu Nomoto, Shinichi Kitajima, Sadao Tanaka, Masamichi Goto

Tatsuro Irimura, Young S. Kim, Eiichi Sato, Suguru Yonezawa: Expression of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6) in mucinous carcinoma of the breast: comparison with invasive ductal carcinoma. *Histopathology* 42(1): 26-36, 2003

9) 折原義行、小片守、後藤正道、米澤傑、吾郷一利、吾郷美保子: 髄膜炎により死亡した全身性エリテマトーゼス患者の1剖検例. 法医学の実際と研究 45:13-16, 2002

2. 学会発表(抄録)

1) 後藤正道: 太平洋の島々におけるハンセン病. 第26回日本熱帯医学会九州支部大会. シンポジウム「南太平洋島嶼の諸問題」、鹿児島, 2002

2) 後藤正道: ハンセン病における末梢・中枢神経病変. 第7回神経感染症研究会 国際シンポジウム「神経系新興・再興感染症」、東京, 2002

3) Shinichi Kitajima, Masamichi Goto, Mitsuharu Nomoto, Chiaki Taki: Cured tuberculoid leprosy patients live longer than lepromatous patients in Japanese leprosy sanatoria. 37th US-Japan Tuberculosis and leprosy research conference. Kyoto, 2002

4) Masamichi Goto, Shinichi Kitajima, Mitsuharu Nomoto, Suguru Yonezawa, Eiichi Sato: Pathogenesis of silent neuropathy: analysis of PGP9.5 positive dermal nerve in the skin of cured leprosy patients. 26th International Congress of the International Academy of Pathology, Amsterdam, 2002 (*Histopathology* 41 (suppl. 1):124, 2002)

5) 後藤正道、辻正敏、上原文行、大庭紀雄、米澤傑. 髄膜芽腫における新しい腫瘍マーカー MLGAPCの免疫組織化学. 第91回日本病理学会総会、横浜(日本病理学会雑誌 91(1):342, 2002)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

ハンセン病による末梢神経炎発症および制御機構の解析

分担研究者 遠藤 真澄 国立感染症研究所ハンセン病研究センター主任研究官

研究要旨

ハンセン病性末梢神経炎発症機構を解明する上で、らい菌とシュワン細胞の相互作用を解析することは極めて重要である。我々はシュワン細胞株を樹立し、シュワン細胞株由来生理活性物質遺伝子発現の解析を行ってきた。今回、ケモカイン MIP-1a がらい菌感染時にのみ特異的にシュワン細胞より誘導されることを見いだした。本研究で神経再生・修復に重要な役割を果たしている生理活性物質の発現調節機構を解明することにより、それらの物質による後遺症を含めたハンセン病性末梢神経炎の新しい治療や予防戦略を構築することが期待できる。

A, 研究目的

ハンセン病による末梢神経炎発症機構は、現在でもほとんど不明であり、適切な治療方法や予防方法も確立されていない。臨床的には、化学療法によりハンセン病の原因菌であるらい菌を完全に排除してもなお末梢神経炎は完治せず、後遺症として残存する。末梢神経炎の発症は、神経組織構成細胞であるシュワン細胞にらい菌が特異的に感染し、局所的な炎症性細胞浸潤を惹起することに起因していると考えられる。シュワン細胞は神経栄養因子やサイトカインなどの生理活性物質を産生し、末梢神経や組織の恒常性維持に関与している。そして末梢神経炎の際、これらの生理活性物質の発現レベルが変動することから、末梢神経炎あるいは炎症後の神経組織の再生・修復にシュワン細胞は重要な役割を果たしている。しかしながら、ハンセン

病性末梢神経炎におけるシュワン細胞やシュワン細胞由来生理活性物質の役割はほとんど不明である。したがって、ハンセン病性末梢神経炎発症機構を解明する上で、らい菌感染シュワン細胞と末梢神経との相互作用を解析することは極めて重要である。本研究は、株化した培養シュワン細胞にらい菌を感染させ、シュワン細胞由来生理活性物質の発現調節機構の動態を解析し、後遺症を含めたハンセン病性末梢神経炎の新しい治療や予防戦略を構築することを目的とする。これまでに我々は、ラット坐骨神経由来シュワン細胞の株化・クローニングを行い、各種抗酸菌のシュワン細胞への侵入を確認する共に、感染シュワン細胞が産生する神経栄養因子、サイトカイン等、生理活性物質遺伝子発現の解析を行ってきた。その結果今年度は、ケモカイン MIP-1a がらい菌感染時にのみ特異的にシ

シュワン細胞より誘導されることを見いだした。

B、研究方法

シュワン細胞株にらい菌(Thai53), BCG, *M. smegmatis*, *M. avium* を感染させた後、経時的に定法に従い細胞より全 RNA を分離し、RT-PCR 法にてケモカイン mRNA 発現を解析した。抗酸菌の感染は、カバースリップ上で培養した感染シュワン細胞株を、チール・ネールセン法による抗酸菌染色を施すことにより確認した。

C、研究結果

既に報告のとおり、我々が樹立したラットシュワン細胞株は、 β -ケモカインである MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, RANTES のうち RANTES のみ構成的発現を認めるが、らい菌感染により RANTES 発現の upregulation のみならず、MIP-1 α の発現が誘導された。MIP-1 α の発現誘導はらい菌感染 1 時間で既に認められ、6 時間でピークに達し、検討した 72 時間まで発現は持続した。らい菌のシュワン細胞への侵入は、感染 1 時間では抗酸菌染色法では確認できず、シュワン細胞中に存在を確認するには 24 時間を要した。MIP-1 α の発現誘導はらい菌感染時にのみ特異的に認められ、BCG, *M. avium*, *M. smegmatis* 感染時にはいずれも認められなかった。MIP-1 α のケモカインレセプターは CCR1, CCR4, CCR5 とされているが、いずれもシュワン細胞に構成的に発現していることを確認した。

D、考察

らい菌はマクロファージやシュワン細胞に貪食、あるいは自身侵入することにより細

胞内に寄生し、その結果宿主細胞が産生する種々の因子が、ハンセン病の病態形成に大きく係わってくる。ハンセン病による末梢神経障害は依然その機序は不明であり、化学療法によりらい菌を完全に排除してもなお神経障害は完治せず、神経障害に起因する不可逆性の四肢機能障害などの後遺症は、解決すべき大きな問題として残っている。一方、ケモカインは特定の白血球の組織への浸潤を誘導することにより、生体防御において重要な働きをしている。炎症、アレルギー反応、自己免疫疾患などに加え、感染症の病態に深く関与していると考えられており、特に HIV、*H. pylori*、マラリア感染におけるケモカインの関与は詳細な検討が成されている。また種々の神経変性疾患の病態形成においてもケモカイン類が重要な役割を果たしていることが明らかにされつつある。末梢神経系においても、今回検討を加えた β -ケモカインの MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, RANTES は、神経損傷時、自己免疫性神経炎等の病態においての変動が明らかにされている。

しかしながらこれらの変動が神経の修復に係わるのか、障害に関与するのか、報告により様々である。今回らい菌感染時にのみシュワン細胞より MIP-1 α の発現誘導が見られることを初めて示した。これまで我々が報告している感染時に変動を認めるシュワン細胞由来因子の多くは、神経細胞の生存維持・軸策再生に係わる主要な因子であるが、MIP-1 α の神経系における役割は明らかにされていない。一方、 β -ケモカインの抗酸菌に対する作用として *M. tuberculosis* の増殖を抑制することが報告されている。今後、らい菌感染時における MIP-1 α の発現誘導の意義、特にハンセン病の神経障害の要因となりうるか否

か検討を加え、そして最終的にはらい菌感染
シュワン細胞が産生する因子の発現制御に
よる、ハンセン病性末梢神経炎の新しい治療
や予防戦略の構築を試みる。

E, 結論

らい菌の感染に伴い β -ケモカイン MIP-1a
が特異的にシュワン細胞より誘導されるこ
とを見いだした。

F, 健康危険情報

無し

G, 研究発表

1, 論文発表

2, 学会発表

1) 遠藤真澄

シュワン細胞における抗酸菌感染によ
る神経栄養因子・サイトカインの発現
第25回日本神経科学大会、東京、
7.7.2002

2) Masumi Endoh

Studies of the peripheral nerve re-
generation in leprosy patients.
3rd Asia Pacific Symposium on Neural
Regeneration, Perth Australia,
3rd - 5th December 2002

H, 知的財産権の出願・登録情報

- | | |
|-----------|----|
| 1, 特許取得 | 無し |
| 2, 実用新案登録 | 無し |
| 3, その他 | 無し |

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

末梢神経機能障害の解明・予防・治療に関する研究

分担研究者 岩田 誠 東京女子医科大学神経内科 教授

研究要旨

16～23 年の長期にわたって追跡観察したハンセン病ニューロパチー9 症例における臨床像の変化を、個々の体肢別に、ハンセン病の病型並びに治療の成果に基づいて詳細に分析検討した。特に表在感覚障害の分布領域の変化と、運動麻痺や筋萎縮、並びに深部感覚障害などの他の神経症候の変化との比較検討を行った。

A. 研究目的

末梢神経の軸索には再生能力があるため、様々な原因によって破壊されても神経細胞体が残存していれば軸索再生の可能性は保たれる。長期経過したハンセン病のニューロパチーにおいては、神経細胞体の破壊が生じることは皆無ではないが、神経細胞体の破壊よりも髄鞘の破壊や、軸索の変性消失の方がより一般的な病理像である。しかし、ハンセン病ニューロパチーにおいて一旦変性消失した軸索が再生するかどうかは今だ全く不明である。われわれは、長期にわたって観察出来た症例に基づいて、この可能性を検討した。

B. 研究方法

1978 年から 1985 年にかけて詳細な神経内科的診察を行ったハンセン病患者 58 例中、本分担研究者による第 2 回目の神経内科的診察を行い得た患者 9 例を対象とした。今年度はこれら 9 例における末梢神経皮枝領域の障害の変化と、筋枝領域の障害の変化について、個々の体肢ごとに比較検討を行った。

(倫理面への配慮)

本調査は日常的な診療の範囲で行われたものであり、患者には調査の目的を説明し承諾を得ているので倫理的問題はないと判断された。

C. 研究結果

解析したのは、LL5 例、BL4 例における、欠損のない 35 体肢である。調査期間は、16 年から 23 年に及んでいた。ハンセン病は治癒していると考えられた BL4 名の 15 体肢中、10 体肢では表在感覚脱失範囲の明らかな縮小を認め、4 体肢では拡大しており、1 体肢ではほとんど不変であった。表在感覚脱失領域の縮小をみた体肢では、第 1 回調査時において振動覚はよく保たれ、運動麻痺は見られないものが多かった。LL5 例中、ハンセン病が治癒していると考えられた患者 3 名の 12 体肢のうち、表在覚脱失範囲の縮小をみたのは 2 体肢のみであり、6 体肢では範囲の拡大を認め、他の 4 体肢では範囲はほぼ不変であった。DDS 使用中であるが、非活動性ハンセン病であると考えられた

1例では、4体肢の全てにおいて僅かながら感覚脱失範囲の縮小を認めた。これに対し、18年間にわたる治療にもかかわらずENLを繰り返している難治性ハンセン病で、現在も治療を継続しているLL型1例においては、2体肢において表在感覚脱失領域の著明な拡大を認めたが、他の2体肢では表在感覚脱失領域はほぼ不変であった。LLにおいては、筋力低下や深部感覚障害の有無と表在感覚の回復程度との間には、明らかな関係は見出せなかった。

D. 考察

ハンセン病の治癒例においては、末梢神経障害による表在感覚脱失の範囲が縮小するが、その回復の程度はハンセン病の病型によって大きく異なっていることが明らかとなった。BLにおいては15体肢中10体肢に回復が見られたのに対し、LLにおいては12体肢中2体肢にしか表在感覚脱失領域の縮小は見られず、逆の半数の体肢においては表在感覚脱失領域の拡大を認めた。このことは、両病型における末梢神経の病態が異なっていることを示唆している。すなわち、LLにおいては末梢神経の軸索再生が生じにくくなっているのに対し、BLにおいては軸索再生の能力が比較的良好に保たれている可能性があると言える。

BLの末梢神経障害における表在感覚脱失領域は、体肢の一部に限局しているものが多く、左右非対称であるのが普通である。表在感覚脱失領域の縮小は、このような限局した表在感覚脱失領域の近位部とともに、体肢末端部からも生じている。例えば前腕から手全体にかけて表在感覚脱失の見られるような場合、表在感覚は近位端と同時に

手指末端や手掌からも回復し、手背のみに限局するようになる。このことは、皮枝の軸索再生が周辺感覚正常領域の軸索から生じているのではないことを示しており、本病型においては、末梢神経の病変部位において、再生能力を有する軸索が残存していることを示していると言える。

これに対し、LLにおける表在感覚脱失領域は左右対称であり、体肢から体幹にかけて広範囲におよんでいる。ハンセン病が治癒しているにもかかわらずこれらの表在感覚脱失領域に縮小が見られないことは、この領域に分布する末梢神経皮枝の、病変部位における軸索破壊の程度は極めて高度であり、再生能力を有する軸索がほとんど残存していないことを示している。この点において、LLとBLにおける末梢神経病変の成り立ちには大きな質的違いがあると考えられる。

E. 結論

ハンセン病の治癒患者における表在感覚脱失範囲の縮小傾向は、BLとLLでは大きな違いがあり、BLの治癒例では約2/3で縮小が見られるのに対し、LLでは1/6にしか縮小が見られなかった。このことから、BLの末梢神経病変においては、再生可能な軸索が、LLに比してより多く残存していると考えられた。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sasaki S, Warita H, Abe K, Iwata M: Neuronal nitric oxide synthase

- (nNOS) immunoreactivity in the spinal cord of transgenic mice with G93A mutant SOD1 gene. *Acta Neuropathol* 103: 421-427, 2002.
- 2) Kondo M, Shibata T, Kumagai T, Osawa T, Shibata N, Kobayashi M, Sasaki S, Iwata M, Noguchi N, Uchida K: 15-Deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2: The endogenous electro-ophile that induces neuronal apoptosis. *PNAS* 99(11): 7367-7372, 2002.
- 3) Nakamura T, Uchiyama S, Yamazaki M, Okubo K, Takakuwa Y, Iwata M: Flow cytometric analysis of reticulated platelets with ischemic stroke. *Thrombosis Res* 106: 171-177, 2002.
- 4) Nakamura T, Uchiyama S, Yamazaki M, Iwata M: Effects of dipyridamole and aspirin on shea-induced platelet aggregation in whole blood and platelet-rich plasma. *Cerebrovasc Dis* 14: 234-238, 2002
- 5) 清水優子, 内山真一郎, 森 豪志, 堤 由紀子, 竹内 恵, 岩田 誠: 子宮体癌により血管炎と Trousseau 症候群を呈した若年性脳梗塞。臨床神経 42(3): 227-232, 2002.
- 6) 富樫尚子, 宮崎晶子, 永井知代子, 岩田 誠: 前頭葉損傷患者の視空間的ワーキングメモリーの障害 -迷路課題による検討-。失語症研究 22(4): 272-279, 2002.
- 7) 橋本しをり, 岩田 誠: ドパミン作動薬の特性と役割。Brain Medical 14(2): 139-144, 2002.
- 8) Sasaki S et al. Immunohistochemical and ultrastructural study of basophilic inclusions in adult-onset motor neuron disease. *Acta Neuropathol* 102: 200-206, 2001.
- 9) Sasaki S et al. Neuronal nitric oxide synthase immunoreactivity in the spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Medical* 14(2): 139-144, 2002.
- 10) 永井知代子, 岩田 誠: Williams 症候群における視知覚障害。神経進歩 46(6): 883-889, 2002.

2. 学会発表

- 1) 竹内 恵, 大澤美貴雄, 岩田 誠. 炎症性脱髄性ニューロパチーにおける馬尾伝導検査の有用性. 第43回日本神経学会総 2002年5月札幌
- 2) 佐々木彰一, 割田 仁, 阿部康二, 岩田 誠. 変異 SOD1(G93A)トランスジェニックマウスの脊髄における iNOS と nitrotyrosine の免疫活性. 第43回日本神経学会 総会 2002年5月 札幌

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

ハンセン病の再発に関する調査・解析

分担研究者 長尾 榮治 国立療養所大島青松園副園長

研究要旨

5箇所の国立ハンセン病療養所において現入所者・1,504名におけるハンセン病再発状況を調査した。多菌型患者の約36%が再発を経験しており、使用薬剤別の再発ではDDS単独投与は47.3%、RFPは4.1%、CLFは2.7%であった。MDT/WHO投与からはみられなかった。少菌型における再発率は1.4%であった。近年はRFPやCLFの再発が出現してきている。現入所者からの再発が今後もあることが推測され、何らかの対策が必要である。

A. 研究目的

日本では多くのハンセン病既往歴者は高齢化しているため、再発予防のためにWHOが薦めているMDTの再投与は困難である。そこで、各自が受けた治療法の実態を調査し、再発防止対策を考える。

B. 研究方法

今回、国立ハンセン病療養所・1ヶ所の調査成績を追加して、5カ所（沖縄2園と瀬戸内3園）から、現存している入所者の再発状況をカルテの記述内容から調査した。

「再発者」は「スキンスメアテストにおいて菌陰性化後再び菌陽性となった者、又は再発皮疹が出現した者」と定義した。「薬剤」は投与方法に多岐の方法を試みている為、分類・類型化することが不可能であったので、方法の内容に関わらず投与事実がある者を「薬剤受療者」とした。

（倫理面への配慮）

個人データの推測が出来ないよう、個々のカルテからのデータは項目のみを収集し、統計的なデータ分析のみにした。又、診察時には現地スタッフと受診者の了解を取り、個人データは数字のみの扱いとした。

C. 研究成果

2001年末に5カ所の国立ハンセン病療養所で1,504名の調査を実施した（入所者総数1,773人）。調査対象人数は全国の入所者の約35%に相当した。

MB（多菌型）における薬剤の投与率をみると、RFPは48.9%、CLFは38.3%で、いずれも入所者の半数に達していなかった。MDT/WHO（多剤併用療法）の投与率は2.8%しかなかった。PB（少菌型）は89.3%がDDS単独投与で治療を終了していた。

MB(1,214人)の再発経験者は35.8%(434人)であった。投与薬剤別にみると、DDS単独投与件数からの再発数は47.3%

(462/975 件)、RFP は 4.1% (25/617 件)、CLF は 2.7% (13/475 件) であった。MDT 投与者 (35 件) からの再発はみられなかった。

一方、PB(290 人)における再発率は 1.4% (4 人) であった。

MB における再発時期をみると、DDS 単独服用者の場合は菌陰性化後 5-9 年間に最も多く、51.3% が出現した。10 年後から徐々に発生率は低下し、40 年後からの再発は無かった。RFP 服用者は菌陰性化後 50% が 4 年以内に、96% が 15 年未満で発症していた。CLF 服用者の場合は、徐々に発生率は低下するが、菌陰性化後 20 年を経過した者からの再発は無かった。

再発患者数の推移をみると、DDS 単独治療後の再発は 1950 年代後半から出現し始めて増加をし、1970 年代が最多数となったが、1980 年代からは減少傾向を示した。しかし現在も、少数ではあるが、DDS 単独治療者からの再発は出現しており、加えて RFP や CLF 服用者の再発が見られるようになってきている。

D. 考察

全国国立ハンセン病療養所全ての入所者を調査することは困難であった。そこで、全国の入所者の約 35% に相当する人数をもって、入所者の服薬・再発状況を推測することにした。5 ケ所の療養所における RFP・CLF・MDT の服用率には差異 (52~34%、58~6%、8~0%) があつたが、各薬剤別の再発率においては有意差を認めなかった。

MB の現入所者の再発経験者数から、3 人に 1 人以上が再発に苦しんだ事実が判明

した。

DDS 単独服用者の再発率は 30% 前後とされていた。今回の調査結果が 47.3% と高率になったのは、“再発経験が原因の一つとなって、現在まで退所しなかった (出来なかった) 又は再入所した既往歴者” を対象とした調査であると思われる。

RFP、CLF、MDT の再発率は各々 4.1%、2.7%、0% であった。しかし、調査対象者各々の 78%、74%、94% が菌陰性化後 20 年未満であるので、確定的な再発率とは言えない。

DDS 単独投与の時代が、1970 年頃に RFP や CLF の投与が開始されるまで、20 年間も続いたために MB の約半数 (49.5%) は DDS のみの投与で治療を終了していた。彼らの中からは今後も再発が予測されるため、何らかの予防策が必要である。

MB における再発で、DDS 単独投与者は菌陰性化後 40 年以上にならないと再発は無くなっていない。又、30 年を過ぎないと WHO/MDT レベルになったとは言い難いことが推定された。CLF の再発状況は RFP と異なり、菌陰性化後 5-9 年後に再発数が最も多く、DDS の場合と類似している様に見える。RFP 及び CLF 服用者の場合は菌陰性化後 20 年を過ぎると安全圏になることが推定された。しかし、現状は、未だ再発は無いが RFP・CLF 服用後 20 年未満の者が 70% 以上存在している。何らかの再発予防対策を講じる必要がある。

再発患者数の推移は、1948 年から日本の各療養所において始まった DDS 単独治療後の再発対策でもある。DDS 単独治療による菌陰性化後の再発が 1950 年代後半から出現して増加してきたが、1970 年代からの

RFP や CLF 投与によって、1980 年からは減少傾向をたどったものと考えられる。興味深いことは、各療養所における再発者数の推移は RFP や CLF 服用者の状況と相関していることであった。

しかし、MB における RFP や CLF 投与率は患者の半数に達していない。しかも、日本ではハンセン病の治療は WHO/MDT の恩恵を受けた者が極めて少ないことを示している。現在の再発状況及び今後の予測から考えて何らかの対応が必要である。RFP や CLF の使用のみならず、日常の感染症対策に使用される OFLX・SPFX・MINO・CAM 等の効果も期待できる、と考える。

E. 結論

国内 5 カ所の国立ハンセン病療養所において、再発状況を調査した。

結果、現在入所中の MB 患者であった人たちの 3 人に 1 人は再発を経験しており、特に DDS 単独治療者は菌陰性化後も長期間にわたって、再発の安全圏に到達できないことが判明した。一方、RFP や CLF の投与を受けた者の再発率は 4%までであり、菌陰性化後 20 年を過ぎると安全圏に入ることが推測できた。WHO レジメンによる MDT 投与を行って再発を予防することが困難な日本においては、新しい薬剤の組み合わせによる予防対策が必要である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文 なし
2. 学会発表 第 76 回日本ハンセン病学

会総会に発表予定

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

ハンセン病患者（新患・既往者）データベース化の確立に関する研究

分担研究者 石井 則久 国立感染症研究所ハンセン病研究センター 部長

研究要旨

日本におけるハンセン病の新規患者数の把握と、統計学的解析を行った。日本ハンセン病学会雑誌、日本皮膚科学会雑誌、その他の学術雑誌に掲載された論文を調査、解析した。ハンセン病の新規患者は年間約15名で、日本人は5名前後で、ほとんどは60歳以上であった。在日外国人は10名前後で、南米、東南アジアなどの出身者が目立った。なお、平成14年（2002年）については、日本人6名（うち沖縄県出身者2名）、在日外国人8名（うちブラジル人5名）であった（平成14年12月末日現在）。なお日本人のうち2名は小児期にブラジルに在住していた。

A. 研究目的

日本におけるハンセン病の発生動向を探るために、プライバシーに配慮し、データベース化し、日本におけるハンセン病の動向を明らかにする。

論文に発表、公表されており、それらを用いており、個人の特定はできないようになっている。また国立感染症研究所の「ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会」から承認を得ている。

B. 研究方法

日本ハンセン病学会、日本皮膚科学会など各種学会発表、論文発表などをもとに、ハンセン病の新規患者を特定した。それらから得られたデータから年齢、性、国籍、治療、経過などを検討した。

また、1993年から2002年までの新規患者をデータベース化して統計学的観察を行った。

（倫理面への配慮）すでに日本ハンセン病学会、日本皮膚科学会など各種学会や

C. 研究結果

平成14年（2002年）の新規ハンセン病患者調査を行った。平成14年12月31日現在14名の患者を登録した（表1、2）。それらのうち依頼のあった5名については実際に患者の状態を観察し、適正な検査、診断、治療の指導をした。また8名については診断のための検査指導、治療指導を行った。調査の詳細は、日本人は6名（男3、女3）、うち沖縄県出身者は2名であった。日本人患者は平均43.2歳（5

名が60歳未満)、病型は3名がMB(多菌型)であった。小児期ブラジルで生活していた日本人2名は共に60歳未満であった。一方、外国人患者は8名(男5,女3)、ブラジル人5名、フィリピン人2名、ミャンマー人1名であった。平均年齢は36.3歳、病型は全員がMB(多菌型)であった。診察した医師は皮膚科が11名、国立ハンセン病療養所の医師が3名であった。

D. 考察

らい予防法廃止後、厚生省による新患調査は廃止され、ハンセン病の動向調査の継続が切望されていた。この調査は日本におけるハンセン病の将来、施策を決定する上での基本になるものである。

今年度も引き続き新規ハンセン病患者調査を行った。ハンセン病患者のデータベースを活用して日本における発生動向の将来予測を立てる予定である。特に在日日系ブラジル人においては、毎年新規患者として多数登録されているので、ブラジル国内の現況を調査して今後の外国人患者の動向を予測すべきである。データベースの内容は、動向調査に最低限必要な項目を作成した。データベースは1993年から入力した。ハンセン病に関する情報を多くの国民が共有できる様な情報公開を考慮している。治療効果や副作用、再燃、再発などの貴重な情報を得ることが必要であるが、プライバシーや倫理面の問題などに課題がある。

ハンセン病患者を診察しているのは殆どが皮膚科医である。新患の全例把握を目標にするためには、皮膚科医を対象に

啓発(ハンセン病について、疑診の時、検査方法、学会発表など)すると共に、ハンセン病を診療する機会のある整形外科医、神経内科医などへも働きかけも必要である。

外国人患者の問題にも言及したい。在日外国人は新患の約半数以上を占めている。ほとんどは労働のため来日しており、金銭的に困窮し、通院の時間も確保しづらいなど、継続治療に困難をきたしている。彼らを継続治療することは、国際関係などからも支援すべきである。さらに、日本における将来の労働力不足が予想され、外国人患者の予測をする必要がある。

E. 結論

ハンセン病の新患は年間約15名前後で、日本人は5名前後で、ほとんどは60歳以上である。在日外国人は10名前後で、20歳代から30歳代の若者が多くを占め、南米、東南アジアなどの出身者が目立った。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 石井則久: ハンセン病, 医学の歩み 200: 252-254, 2002.

2) 細川 篤、屋宜宣武、池宮あや乃、稲福寿史、稲福和宏、丸野元美、野中薫雄、石井則久: 沖縄県地方のハンセン病-病型診断が難しい境界群症例-, 沖縄医学会雑誌 40: 47-51, 2002.

3)石井則久、小原安喜子、尾崎元昭、熊野公子、杉田泰之、並里まさ子、野上玲子、細川 篤、牧野正直、佐々木 津：ハンセン病新規患者の統計解析（1993年-2000年）.日ハンセン会誌, 71: 223-233, 2002.

4)並里まさ子、後藤正道、儀同政一、細川 篤、杉田泰之、石井則久、長尾榮治、尾崎元昭：ハンセン病治癒判定基準. 日ハンセン会誌 71: 235-238, 2002.

5)石井則久：細菌感染症の日常診療. Visual Dermatol 1: 896-899, 2002.

6)石井則久：ハンセン病. 2002 今日の治療指針(多賀須幸男、尾形悦郎監修), pp770-771, 医学書院(東京), 2002.

7)石井則久：知覚異常を愁訴とする皮膚疾患. 皮膚疾患診療実践ガイド(宮地良樹、古川福実編集), p40, 文光堂(東京), 2002.

8)石井則久：細菌検査法. 皮膚疾患診療実践ガイド(宮地良樹、古川福実編集), pp96-97, 文光堂(東京), 2002.

9)石井則久：ハンセン病. 皮膚疾患診療実践ガイド(宮地良樹、古川福実編集), pp509-510, 文光堂(東京), 2002.

10)石井則久：抗・抗酸菌剤. 今日の皮膚疾患治療指針(斎田俊明、塩原哲夫、宮地良樹、渡辺晋一編集), pp204-206, 医学書院(東京), 2002.

11)石井則久、佐々木 津、杉田泰之：ハンセン病. やさしい皮膚免疫学(西岡 清編集), pp250-260, 医薬ジャーナル(大阪), 2002.

2.学会発表

1)徳永千春、新井春枝、小林米幸、石井則久：背部に大きな局面を形成したハンセン病の1例. 日本皮膚科学会第772回東京地方会, 伊勢原, 2002年4月.

2)石井則久、小原安喜子、熊野公子、杉田泰之、並里まさ子、野上玲子、細川 篤、牧野正直：2001年のハンセン病新患発生状況. 第75回日本ハンセン病学会総会, 三島, 2002年5月.

3)鈴木陽子、戸倉新樹、瀧川雅浩、石井則久：多菌型ハンセン病の1例. 第75回日本ハンセン病学会総会, 三島, 2002年5月.

4)松尾英一、石井則久、川津邦雄、儀同政一、與儀ヤス子：ハンセン病剖検例のdata base化について. 第75回日本ハンセン病学会総会, 三島, 2002年5月.

5)鈴木幸一、武下文彦、中田 登、川津邦雄、松岡正典、石井則久、牧野正彦：ファゴソーム・ライソゾーム融合阻止に関わる因子 TACO の宿主細胞内らい菌潜伏における役割. 第75回日本ハンセン病学会総会, 三島, 2002年5月.

6)石井則久：細菌感染症と環境因子. シンポジウム「環境と皮膚疾患」. 第66

回日本皮膚科学会東部支部総会，つくば，
2002年10月。

7)石井則久：世界のハンセン病の現状。シンポジウム「世界のハンセン病の現状」。
第43回日本熱帯医学会総会，高知，
2002年11月。

8)牧野正彦、前田百美、儀同政一、石井
則久：抗ハンセン病ワクチン候補分子検
索のためのらい菌分画の細胞性免疫応答
誘導能の検討。第32回日本免疫学会総
会，東京，2002年12月。

H. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | 無し |
| 2. 実用新案登録 | 無し |
| 3. その他 | 無し |

国籍	性別	年代	病型	診察 医 所属	治療	転帰
日本(沖縄)	M	30	PB/ TT	療養 所	MDT/PB	治療中
日本(小児期 ブラジル)	F	40	MB/ BL	大学	MDT/MB,L VFX	ENL, PSL
日本(沖縄)	F	50	PB/ BT	大学	MDT/PB	治療中
ブラジル	M	20	MB/ BL	病院	なし	帰国
フィリピン	F	30	MB/ BB	病院	MDT/MB	DDS中止、 MINOに変
ミャンマー	F	30	MB/ BB	大学	MDT/MB	DDS中止、 CAMに変
ブラジル	M	40	MB/ BL	大学	なし	帰国
ブラジル	M	30	MB/ BT	療養 所	MDT/MB	治療中
フィリピン	M	30	MB/ LL	大学	MDT/MB	治療中
日本(小児期 ブラジル)	M	10	MB/ LL	病院	RFP,DDS, OFLX	治療中
ブラジル	M	30	MB/ LL	大学	MDT/MB, OFLX	ENL, PSL
日本(熊本)	F	80	MB/ BL	病院	RFP,DDS	治療中
ブラジル	F	50	MB/ BL	病院	MDT/MB	治療中
日本(鹿児島)	M	20	PB/ I	診療 所	MDT/PB, MINO	治療中

表2 平成14年(2002年)新患のまとめ

日本人			在日外国人	
性	人数	平均年齢	人数	平均年齢
男	3	25.7(19-34)	5	33.2(21-48)
女	3	60.7(42-89)	3	41.3(31-56)
計	6	43.2(19-89)	8	36.3(21-56)
MB:3 PB:3			MB:2 PB:4	
沖縄県出身者:2人 42.5(34-51)			ブラジル人:5人 37.6(21-56)	
小児期ブラジル生活 者2人 30.5(19-42)				

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

らい菌の型別と地理的歴史的伝播および感染経路解析への応用

分担研究者 松岡正典 国立感染症研究所ハンセン病研究センター 室長

研究要旨

ハンセン病の感染経路追跡の手段となるらい菌の型別法の開発とその疫学解析への応用を目指した。らい菌の *rpoT* 遺伝子中の 6 塩基配列の繰り返し数を 3 個有するらい菌と 4 個のらい菌の中南米における地理的分布を調べたところ、メキシコからのらい菌は 27 株中 25 株が 4 型であり、他のラテンアメリカの国に分布する遺伝子型は 3 型が全てであったことと際立った違いが示され、メキシコのらい菌は他のラテンアメリカ諸国とは由来を異にすると考えられた。らい菌の TTC 繰り返し配列多型による型別は *rpoT* 遺伝子多型による分類より多数の型への分類が可能であることが示された。インドネシアの流行地域から得たらい菌の TTC 繰り返しによる型別とその分布を検討したところ同一家族内の患者間で異なる型のらい菌が検出され、また同一住居で生活を共にする住民から異なる遺伝子型が示される例があり、家族内接触感染以外の感染経路の存在が示唆された。

A. 研究目的

ハンセン病の感染経路を解明することにより、抜本的な新たな感染阻止策を構築する為の基礎手段となる個々の感染例のらい菌を分別するための型別法の開発を行い、ハンセン病の感染経路解明を行うことを目的とする。これまでに明らかになっている *rpoT* 遺伝子多型により分類されるらい菌の世界的な地理的分布を明らかにし、過去の人類移動とハンセン病の歴史的拡散との関連性を明らかにする。TTC 繰り返し多型に基づく型別について、分離株をより細分類可能な手段としての有用性であるかを検討し、流行地

域での小集団での異なる遺伝子型の分布を明らかにすることにより、感染様式の解析を行う。

B. 研究方法

菌指数検査と同様の方法により、メキシコ合衆国、Jarisco 州および Guanajuato 州のハンセン病患者からそれぞれ 15 検体及び 10 検体の結節部位かきとり検体を得て同国におけるらい菌の *rpoT* 遺伝子型を検査した。メス刃先を 70%エタノールに浸漬して日本に送付した。*rpoT* 遺伝子中の 6 塩基繰り返し配列を含む部位を PCR により増幅

し、4% Methaphore agarose により泳動の後、移動度によりその繰り返し配列数を比較した。

らい菌遺伝子中の TTC 塩基配列繰り返し数多型 (TTC·RV) によるらい菌の型別法の疫学解析への有用性を検討するために研究室維持株についてその多型性を調べた。マウス足蹠より定法により template DNA を作成し、約 130 塩基の PCR 産物を BigDye Terminator Cycle Sequencing キット (Applied Biosystems)、及び ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) により塩基配列を読み、繰り返し数を決定した。

インドネシア北マルクの人口約 500 人、有病率 4% の流行地域集落から得た住民の鼻粘膜材料に存在するらい菌の TTC·RV による遺伝子型別を行い、個々の住居に同居する住民のそれぞれの遺伝子型の分布を調べた。スワブより遠心操作により、らい菌を分離し、シーケンスを行った。

北 Sulawesi 地方のハンセン病患者より感染らい菌を得、異なる部位からのらい菌の TTC·RV および家族内接触間感染と推定される症例の遺伝子型を比較した。

検体採取においては研究目的を説明し、同意が得られた場合にのみ材料の提供を受けた。

C. 研究結果

メキシコからは 25 検体中 2 検体は 3 個の 6 塩基配列繰り返し配列を示し、他の 23 検体は 4 コピーの 6 塩基繰り返しを示した。

ヌードマウスにより維持された 4 株はそ

れぞれ 3 代と 11 代、3 代と 8 代、4 代と 6 代、初代と 3 代の間で 13、9、11、9、コピーを示し長期間安定であることが示された。

北マルクの集落に住む住民の鼻粘膜より得たらい菌の TTC·RV は 10,14,11,12,13 コピーの繰り返し配列を示す遺伝子型が見出された。その中で、9 世帯について複数の同一住居内居住者が検討可能であった。それらのうち 5 世帯では異なる TTC 多型のらい菌が分布することが示された。同一家住居に居住する家族から得た検体の繰り返し数が A)10,12,13、B)10,11,13、C)10,12、D)10,13 のそれぞれ異なる遺伝子型を示す例があった。

2 例の父子関係にある感染例のうち 1 組の TTC·RV それぞれ父子共に 10 コピーであり同一型であったが、他の 1 組は子供からのらい菌が 10 コピー、父親のものが 18 コピーであり異なる遺伝子型が示された。

D. 考察

世界各地に分布する微生物の遺伝子型が民族によって特徴を示し、それは過去の人類の移動に伴って形成されたことが知られている。らい菌の *rpoT* 遺伝子型の 6 塩基配列を 3 コピー有する株と 4 コピーを有する株の分布を見ると、韓国、日本、中国東部より分離されるらい菌は殆どが 4 型であり、この特徴ある分布は弥生人を形成した集団の移動と密接に関連したものであると推察された。一方約 12,000 年前のモンゴロイドの中南米への拡散に伴って 4 型がモンゴロイドとも

にアメリカ大陸に到達したとの想定のもとに中南米に分布するらい菌の *rpoT* 型を示すか観察したところ、これまでに調べたパラグアイ、ペルーの株は全て 3 型でありその仮定は証明できなかった。本年、メキシコより得たらい菌は全 25 株中 23 株が 4 型であり、南米におけるらい菌の分布とは著しく異なっており、モンゴロイドの子孫が分布するこれらの地域にでもその分布するらい菌の由来が異なることが推察された。今後、メキシコ国内でより広い範囲から得たらい菌の分布を検討するとともに、中米各国での分布について詳しく検討することによりその由来を明らかにし、この地域でのハンセン病の拡散の歴史的な経過を明らかにすることが可能と思われた。

メキシコ、ブラジル、アルゼンチンの野生アルマジロに自然感染例が報告されており、それらからのらい菌の遺伝子型を明らかにすることもその解明に有用と考えられる。

らい菌の TTC 繰り返し多型は同一株では 8 年以上の継代を行っても変化することが無く、またその多型性の範囲が大きいことから、疫学解析に有用と考えられた。

これまでハンセン病の主たる感染様式は家族内の濃厚接触によると説明されているが、感染源と推察される症例と感染を受けたとされる症例の間で細菌学的に菌の異同が証明されてはいない、また家族内に患者がある場合の感染率は優位に高いものの家族内接触などの濃厚接触層が明らかな感染例は全新患例の 15% であったとするアフリカでの大規模な調査

結果があり、家族内濃厚接触が主たる感染様式ではないことが示唆されている。本研究ではまず初めに、約 3% の高いハンセン病の有病率を示すインドネシア共和国の北マルク地方の一集落の住民から得た鼻粘膜上のらい菌の遺伝子型を観察し、どのような分布が見られるかについて検討した。この地域の住民の約 30% の鼻粘膜上にらい菌が存在することが明らかになっており、それらの検体を用いて観察を行った。本研究での同一住居内での異なる遺伝子型のらい菌の分布、親子間での異なる遺伝子型のらい菌の感染例はハンセン病の感染様式として、一つの感染源にいくつかの異なる型のらい菌が存在し、それぞれ別の機会に各個人が異なる型のらい菌の感染を受ける可能性、あるいはハンセン病の感染様式は家族内感染主たるものではなく異なる患者あるはそのほかの感染源から感染を受けることの方が主要な感染であることの可能性を示した。

結論を得るには、同一患者の異なる部位からのらい菌が全て同一なのかあるいは異なるのかについての検討、同一家庭内に生活をともにする患者からのらい菌の型別、更に集落内でのらい菌の詳しい分布調査、家族内発生例での遺伝子型の更なる検討が必要と思われる。

E. 結論

メキシコ合衆国に分布するらい菌は日本、韓国と同様に 4 型が多いことが明らかとなりラテンアメリカ諸国においては由来をことにするらい菌が分布することが明らかとなった。ハンセン病流行地域