

Y. Miyamoto, T. Mukai, N. Nakata, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano, <u>M. Makino.</u>	Identification and characterization of the genes involved in glycosylation pathways of mycobacterial glycopeptidolipids biosynthesis.	J. Bacteriol.	188 (1)	86-95	2006
T. Mukai, Y. Miyamoto, T. Yamazaki, <u>M. Makino.</u>	Identification of <i>Mycobacterium</i> species by comparative analysis of the <i>dnaA</i> gene.	FEMS Microbiol. Lett.	254	232- 239	2006
福富康夫	らい菌による免疫抑制の機序	臨床免疫	43	392-399	2005



分子生物学からみた結核研究の現在

① 背景、結核と菌の病原性

結核はエジプトのミイラにその痕跡が残るように、古くからヒトとともにある病気で、ヒト型結核菌はヒトを宿主としてきた。ワクチンにより制圧された、もしくは制圧可能な感染性疾患は、“二度がかりなし”の疾病である。一方、結核、マラリア、後天性免疫不全症候群(AIDS)は、それぞれ年間100万人以上の生命を奪い三大感染症と呼ばれるが、基本的に“二度がかりあり”である。三大感染症に対するワクチン開発の困難さが容易に想像できる。

マラリアやAIDSに対しては、液性免疫、細胞性免疫のいずれも効果がある。一方、結核には細胞性免疫のみが有効¹⁾で、結核菌の主要潜伏細胞であるマクロファージを活性化するサイトカイン、IFN- γ が防御の鍵を握る^{2,3)}。マラリア原虫やヒト免疫不全ウイルス(HIV、AIDSの原因ウイルス)は、主に抗原変異により免疫から逃れる。一方、結核菌は宿主の攻撃に曝されながらも、決して完全には駆逐されないという頑強さがある。通常兵器では破壊できない戦車のイメージがある。菌体重量の約40%を占める細胞壁の脂質が、菌の鎧として作用している。

マクロファージに貪食された後も結核菌は、貪食細胞とリソソームとの融合(P-L fusion)を阻害することで生き残る。感染した菌は感染個体の死滅まで、排除されることはないと言われており、潜伏感染時には一部、休眠している。そのベースに菌の遅発育性がある。結核菌は分裂に14時間あまりを要する。結核菌が一般環境で生き延びることは難しい。しかし生体内では他菌種の増殖を免疫が抑制するため、この菌は生育できる。結核菌は緩慢に増殖し時に休眠することで宿主を殺さず、潜伏感染が成立す

る。

この巧みにヒトに寄生する菌に対して対策を講じるには、マクロ的知見とともに、細胞-分子レベルの理解が必要だろう。本項は、その見地から結核について概説する。

② ゲノムプロジェクト

1998年、結核菌H37Rv株の全遺伝子配列が決定された⁴⁾。4,411,529塩基(後に4,411,532塩基と訂正)からなり、推定3,924(後に3,993と訂正)(2005年7月5日現在)の遺伝子がコードされていた(表1)。発表当時、40%の遺伝子機能が明らかで、44%が他生物遺伝子との相同性から推測可能、残りの16%が未知遺伝子であるとされた。以来、目的遺伝子を同定/抽出(クローニング)する過程は大幅に省略されることとなり、結核研究はポストゲノムの時代に移行した。

その後、*Mycobacterium tuberculosis* CDC1551、*Mycobacterium leprae*、*Mycobacterium bovis*(ウシ型結核菌)の全遺伝子配列が決定された。*M. leprae*には、実に1,116の偽遺伝子がみられた。機能のある遺伝子は、49.5%であった(結核菌:90.8%)。長年われわれは、ヒト型結核菌はウシ型結核菌から派生したと考えてきた。しかしウシ型結核菌とヒト型結核菌の全ゲノムを比較した結果、事実は逆のようである。ウシ型結核菌は遺伝子を失いつつある。興味深いことに*M. leprae*のそれに類似している。

③ 脂質と病原性

結核菌は総重量の40%が脂質である。脂質合成にかかわる酵素が250は存在する。ほぼ同サイズのゲノムをもつ大腸菌のおよそ5倍の数である。脂質

表1 これまでに決定された抗酸菌ゲノム

菌種	<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	<i>M. tuberculosis</i> CDC1551	<i>M. leprae</i>	<i>M. bovis</i> AF2122/97
決定年度(西暦)	1998	2002	2001	2003
主な決定機関	Pasteur研究所	TIGR ¹⁾	Pasteur研究所	Pasteur研究所
掲載雑誌	Nature	J Bacteriol ²⁾	Nature	PNAS ³⁾
ゲノムサイズ(bp)	4,411,529	4,403,836	3,268,203	4,345,492
推定遺伝子数	3,924	4,249	1,604	3,951
G+C含量	65.6	65.6	57.8	65.6

1) The Institute for Genomic Research

2) Journal of Bacteriology

3) Proceeding of the National Academy of Sciences

にはミコール酸やlipoarabinomannan (LAM) など特有の構造を有するものがあり、結核病態と密接にかかわる。ミコール酸は典型的結核病変である肉芽腫を単独で形成する。LAMは宿主防御に働くサイトカイン産生を抑制する。

潜伏感染時に細胞壁脂質をエネルギーとして利用している (lipid lunch) という説もある。休眠菌は細胞壁が薄くなり、抗酸性染色陰性となると主張する科学者もいる。実際、脂質代謝系のグリオキシル酸回路で働くイソクエン酸リアーゼをコードする酵素 (*icl*) を欠失させると、結核菌の病原性は減弱する。細胞壁は、物理的防御壁としてまたエネルギー源として菌の生体内増殖に必須であり、脂質合成酵素は薬剤標的分子でもある。

結核菌の脂質抗原が CD1 分子により T リンパ球に提示されることがわかり、蛋白質抗原に対するものとは違った新しい宿主応答として、新分野を形成している⁵⁾。

④ PE-PPE (PE-PGRS) ファミリー蛋白質

結核菌ゲノム解読で、予想外の発見があった。PE-PPEファミリーと呼ばれる遺伝子群が結核菌ゲノムの約10%にもわたってコードされていた。この蛋白質群は、グリシンに富み、アミノ末端にプロリン-グルタミン酸 (PE) もしくはプロリン-プロリン-グルタミン酸 (PPE) のモチーフをもつ。相同性

の高い遺伝子同士は組み換えを起こしやすい。抗原変異を招き、宿主の免疫系を欺く。

Epstein-Barr virusはB細胞に潜伏感染するBurkittリンパ腫の原因ウイルスである。このウイルスの核抗原 (EBNAs) が、実はPE-PPEファミリーと相同性がある。EBNAsは、ウイルス排除に有効なCD8キラー細胞の活性化を、外来抗原の切断を阻害することで抑制する。結核菌のPE-PPEファミリーでも同様の活性があると予想されている。2000年に *Mycobacterium marinum* で2種のPE-PPEファミリー遺伝子が、菌の細胞内増殖に必須であることが示されている。

⑤ ポリケチド合成酵素 (PKS)

植物にみられるポリケチド合成酵素 (PKS) が H37Rv 株に18種も存在することがゲノム解読で明らかとなった。これも驚くべき発見であった。1999年には、皮膚障害を起こす *Mycobacterium ulcerans* の産生する毒素がポリケチドであることがわかった。

2002年には、PKS15/1はphenolglycolipids (PGL) の合成にかかわることが明らかとなった。2004年には、PGLがTh1タイプのサイトカイン産生を抑制することで菌は病原性を獲得し、臨床分離株の毒力に密接にかかわることが判明した⁶⁾。

⑥ P-L fusion 阻害にかかわる知見

貪食胞とリソソームとの融合阻害、すなわちP-L fusion 阻害は、結核菌の重要な生体内での生き残り戦略である。1976年に細胞壁成分の sulfolipid (SL) が単独でP-L fusionを阻害することがわかった。最近SLの非分泌株が作製されたが、P-L fusionを阻害した。SLのみが阻害に関与するわけではないようだ。一方、LAMにも単独でP-L fusion阻害活性があることがわかってきた。その際、宿主のPI3キナーゼを活性化することが判明した。アクチン重合にかかわる宿主分子 (tryptophan-aspartate containing coat protein : TACO) がP-L fusion阻害に関与すると報告されたが、最近の知見は否定的である。2004年には、菌のセリン/スレオニンリン酸化酵素 (PkG) で、P-L fusionの阻害を説明できるとする論文がScience誌に発表される一方、多重因子によると推測する論文が米国科学アカデミー紀要 (PNAS) に公表されている。

⑦ dormancy (休眠)

休眠は、増殖/代謝がきわめて抑制された状態である。植物の種子を思い起こせばよい。ある条件下で再び増殖を開始する (発芽)。結核の場合は、内因性再燃となる。休眠菌には化学療法薬の効果が限られる。標的である代謝系が動いていないからだ。休眠状態の菌を殺傷することは難しい。

結核菌は好気性細菌である。結核菌の寄生先であるマクロファージ内は酸素分圧が低い。低酸素の環境が休眠を促すと考えられている。菌を低酸素分圧下で培養すると、ストレス蛋白質の一種である α クリスタリン様蛋白質 (Acr) が顕著に産生される⁷⁾。これが現在、休眠の初期マーカーとして研究に利用されている。 α クリスタリン蛋白質は本来シャペロン (蛋白質の活性構造を保つ、もしくは復活させる) で、眼球レンズの曇りをとる。結核菌のAcrもシャペロンである。休眠菌内で蛋白質の変性を回避していると思われる。Acrの転写を担う転写因子がある。DosRである⁸⁾。DosR欠失株は、Acr欠失株よりも試験管内で死滅しやすい。DosRの制御する遺伝子群が結核菌の休眠の鍵となるかもしれない。しかし動物体内では、DosR欠失株は十分な病原性を有し

ており、事態は混沌としている。

筆者らは、複製、転写、翻訳をいずれも顕著に抑制し結核菌の増殖を停止させうる蛋白質 mycobacterial DNA-binding protein 1 (MDP1) を見出している^{9,10)}。定常期や休眠初期の菌に、大量のMDP1が含まれている。

dormancyの誘導は菌側の一方的な生物現象ではない。宿主応答が誘導する。防御免疫を担う、IFN- γ や一酸化窒素が休眠を誘発する。

⑧ ワクチン開発

前述のようにワクチン開発は困難が予想されるが、必要に迫られている。

BCGからの外来遺伝子の発現系は、山田らが味の素研究所と共同で構築した¹¹⁾。感染防御抗原をBCGから大量発現させることで、新しいワクチンとなる可能性がある。組み換えBCGは結核のみにとどまらず、さまざまな疾病予防にも応用可能である¹²⁾。それはBCGの高い安全性と優れた免疫賦活 (アジュバント) 活性による。一方、DNAのアジュバント効果は、徳永、山本らによって見出され^{13,14)}。近年、Toll like receptor 9依存的細胞刺激であることが、審良らにより明らかにされた¹⁵⁾。また、防御抗原遺伝子を宿主体内で発現するように構築したDNAそのものを生体に投与する方法 (DNAワクチン) も確立されつつある。遺伝子組み換え技術を利用した成分ワクチンや、人工的に作製した栄養要求株 (auxotroph) をワクチンとして使用する試みもある。世界的に現在、200近いワクチン候補の鑑定が行われている。日本では近畿中央病院の岡田が中心となって開発が進められている。

⑨ 抗結核薬と薬剤耐性

既知薬剤の標的同一化は新規の薬剤開発につながる。表2に現在の主要化学療法薬と作用機序をまとめた。isoniazid (INH) は菌体内でKatGというカタラーゼより活性化される。KatGの欠失株はINH耐性である (表2)。細胞壁の合成阻害により薬効を発揮すると一般に考えられているが、実は明らかでない。*M. avium*はINH耐性であるが、INH処理で細胞壁合成は阻害される。活性化後、INH-enoyl-

表2 抗結核化学療法薬の作用機序と関連遺伝子

化学療法薬	作用機序	耐性関連遺伝子
isoniazid (INH)	細胞壁合成阻害	<i>katG</i> , <i>inhA</i>
pyrazinamide (PZA)	細胞壁合成阻害	<i>pncA</i>
ethambutol (EB)	細胞壁合成阻害	<i>emb</i>
ethionamide (ETH)	細胞壁合成阻害	<i>etaA</i>
rifampicin (RFP)	転写 (RNA 合成) 阻害	<i>rpoB</i>
streptomycin (SM)	翻訳 (蛋白質合成) 阻害	<i>rpsL</i> , <i>rrs</i>
kanamycin (KM)	翻訳 (蛋白質合成) 阻害	<i>rrs</i>
quinolone	複製 (DNA 合成) 阻害	<i>gyrA</i>

ACP-reductase (InhA)- β -ketoacyl-ACP synthase (KasA) の複合体が形成される。 *inhA* の変異はINH低度耐性となる。 KasAはINHの活性にかかわるとい報告もあったが、現在では否定的である。

rifampicin (RFP) はRNA合成酵素 (RpoB) の触媒作用を阻害する。 95%以上のRFP耐性株で、*rpoB*に変異が検出される。 RFPは増殖期の菌に対する抗菌作用でINHに劣るが、半休眠菌にも効果を発揮する。 休眠の維持にRNA合成が必須であるようだ。

パターンと菌の病原性や薬剤耐性との関連は、みられていない。 しかし、感染源の解明、再感染と内因性再燃の区別、汚染経路の判定などに威力を発揮している。

結核研究の目的は生命の救済である。 しかし、往々にしてわれわれはこの病原体に感嘆する。 巧みにオーガナイズされた寄生機構に対してである。 生命現象に魅了されつつも病原体のアキレス腱を探り当て、対策基盤の構築を促すことがわれわれの願いである。

10 挿入配列と分子疫学

結核菌ゲノム情報は感染源や病原体の同定にも利用される。 ゲノムに複数存在する、比較的安定な易動性遺伝因子 (transposon) や繰り返し配列を標的とすることで菌の型別が可能である。 IS6110と呼ばれる易動性遺伝因子の一種が、結核菌ゲノムに0-25コピー存在し、restriction fragment length polymorphism (RFLP: DNA指紋解析) に汎用されている。 DNA制限酵素 *PvuII* でゲノム切断後のIS6110のパターンを解析することで、菌の型別が行われる。 国際標準が定められており、世界的見地から流行株の起原が推測できる。 日本では結核研究所が中心となって患者由来株のタイピングが行われデータが蓄積されつつある¹⁶⁾。 IS6110の少ない菌株についてはIS内部のdirect repeat (DR) 配列を標的としたspoligotypingが、またIS6110を有さないものでは、他の類似マーカーが用いられる。 RFLP

●文献

- 1) Kobayashi K, Yoshida T: The immunopathogenesis of granulomatous inflammation induced by *Mycobacterium tuberculosis*. *Method* 9: 204-214, 1996
- 2) Kawamura I, Tsukada H, Yoshikawa H et al: IFN-gamma-producing ability as a possible marker for the protective T cells against *Mycobacterium bovis* BCG in mice. *J Immunol* 148: 2887-2893, 1992
- 3) Kawakami K, Kinjo Y, Uezu K et al: Interferon-gamma production and host protective response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice lacking both IL-12p40 and IL-18. *Microbes Infect* 6: 339-349, 2004
- 4) Cole ST, Brosch R, Parkhill J et al: Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 393: 537-544, 1998
- 5) Kawashima T, Norose Y, Watanabe Y et al: Cutting edge: major CD8 T cell response to live bacillus Calmette-Guerin is mediated by CD1 molecules. *J Immunol* 170: 5345-5348, 2003

- 6) Reed MB, Domenech P, Manca C et al : A glycolipid of hypervirulent tuberculosis strains that inhibits the innate immune response. *Nature* 431 : 84-87, 2004
- 7) Yuan Y, Crane DD, Barry CE 3rd : Stationary phase-associated protein expression in *Mycobacterium tuberculosis* : function of the mycobacterial alpha-crystallin homolog. *J Bacteriol* 178 : 4484-4492, 1996
- 8) Boon C, Dick T : *Mycobacterium bovis* BCG response regulator essential for hypoxic dormancy. *J Bacteriol* 184 : 6760-6767, 2002
- 9) Matsumoto S, Furugen M, Yukitake H et al : The gene encoding mycobacterial DNA-binding protein I (MDPI) transformed rapidly growing bacteria to slowly growing bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 182 : 297-301, 2000
- 10) Aoki K, Matsumoto S, Hirayama Y et al : Extracellular mycobacterial DNA-binding protein 1 participates in mycobacterium-lung epithelial cell interaction through hyaluronic acid. *J Biol Chem* 279 : 39798-39806, 2004
- 11) Matsuo K, Yamaguchi R, Yamazaki A et al : Establishment of a foreign antigen secretion system in mycobacteria. *Infect Immun* 58 : 4049-4054, 1990
- 12) Matsumoto S, Yukitake H, Kanbara H et al : Recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin secreting merozoite surface protein 1 (MSP1) induces protection against rodent malaria parasite infection depending on MSP1-stimulated interferon gamma and parasite-specific antibodies. *J Exp Med* 188 : 845-854, 1998
- 13) Tokunaga T, Yamamoto H, Shimada S et al : Antitumor activity of deoxyribonucleic acid fraction from *Mycobacterium bovis* BCG. I. Isolation, physicochemical characterization, and antitumor activity. *J Natl Cancer Inst* 72 : 955-962, 1984
- 14) Yamamoto S, Yamamoto T, Shimada S et al : DNA from bacteria, but not from vertebrates, induces interferons, activates natural killer cells and inhibits tumor growth. *Microbiol Immunol* 36 : 983-997, 1992
- 15) Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T et al : A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 408 : 740-745, 2000
- 16) Hirano K, Aono A, Takahashi M et al : Mutations including IS6110 insertion in the gene encoding the MPB64 protein of Capilia TB-negative *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Clin Microbiol* 142 : 390-392, 2004

Annual Review 神経 2005

2005 年 1 月 25 日 発行

中外医学社

1. ハンセン病の免疫病態

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科人体がん病理学助教授 後藤正道

同 人体がん病理学 ティダ アウン

鹿児島大学医学部・歯学部附属病院病理部助教授 北島信一

key words leprosy, immunology, pathology, neuropathy

動 向

ハンセン Hansen 病 (leprosy, Hansen's disease) は現在の日本では年間20例以下の新患しかみられないまれな疾患である¹⁾。しかし、世界中では年間約62万人の患者が新規登録されており (WHO, 2002年), その1/3以上が末梢神経障害を合併することを考慮すると²⁾, 神経内科医にとって, ハンセン病は糖尿病性神経障害と並ぶ重要な末梢神経疾患の一つと考えられる。1996年のらい予防法の廃止に伴い, 一般の神経内科医が接する機会も増えることが予想され, 的確な対応が求められる。なお, ハンセン病療養所入所者や社会復帰者が神経麻痺による重度の後遺症を示す場合があるが, 感染症としてのハンセン病は完治しており, 感染源にならないことを銘記しておく必要がある。

近年のハンセン病医学におけるトピックスとしては, らい菌 (*Mycobacterium leprae*, 以下 *M. leprae*) の末梢神経親和性の原因として *M. leprae* 特異抗原である phenolic-glycolipid-I (PGL-I) と Schwann 細胞基底膜 laminin 2 との特異的な結合, *M. leprae* ゲノムの全塩基配列の解読, *M. leprae* の genotyping などがあげられる。また, Toll-like receptor 2 を介したアポトーシスを *M. leprae* が誘導することによって神経障害を引き起

こすという報告もみられる。

本稿では, ハンセン病の基本的知識を簡潔に紹介するとともに, ハンセン病の神経障害に関与している免疫病理学的機序と治療について紹介する。なお, ハンセン病全体を理解するためには, Britton と Lockwood による総説³⁾ や, 成書⁴⁻⁶⁾ などを参考にされたい。

A. ハンセン病概論

1. ハンセン病の特徴

ハンセン病は, 抗酸菌である *M. leprae* によって引き起こされる慢性の感染症であり, 主として末梢神経と皮膚が侵される。*M. leprae* が成人に感染しても発症することはきわめてまれであり, 結核とは異なり HIV キャリアにおいてもハンセン病の発症リスクは上昇しない。

2. *M. leprae* の細菌学的特性と特異抗原, 細胞内培養

M. leprae はヒトではマクロファージ, Schwann 細胞, 血管内皮細胞を宿主細胞とするが, 無細胞培地による培養は成功していないことから偏性細胞寄生性細菌と考えられている。*M. leprae* を接種したヌードマウスや九帯アルマジロ (*Dasypus*

novemcinctus) の体内 (細胞内) で菌は増殖することから, そこから得られた菌を用いて研究が進められてきた. Brennanらによってみいだされた PGL-I は *M. leprae* の細胞壁に特異的な抗原であり, ハンセン病の血清学的診断に用いられている⁷⁾.

Haageらは, ラットの Schwann 細胞と後根神経節由来のニューロンの 33℃での混合培養に *M. leprae* を加えると, 菌は Schwann 細胞に取り込まれて3週間まで菌の代謝が56%維持されることを報告した⁸⁾. また Fukutomiらは, IL-10 を投与し 31℃で培養したマウス腹腔マクロファージの中で, *M. leprae* の代謝が8週間まで維持され, 菌の伸長が認められると報告している⁹⁾. これらの培養系を用いた *M. leprae* 免疫研究への発展が期待される.

3. *M. leprae* のゲノム解析と分子疫学

M. leprae の全ゲノム配列 3.2Mbp が 2001 年に Coleら¹⁰⁾ によって同定され (NCBI Accession No. AL583917-26), きわめて多くの偽遺伝子を含むことが明らかになった. 結核菌との比較から, *M. leprae* が偏性細胞寄生性になる過程で多くの蛋白を合成しなくなったものと考えられている. また, これまでに世界中から分離された *M. leprae* には遺伝子多型はほとんどないと考えられていたが, Matsuokaらはヌードマウス体内での増殖速度が分離株によって異なることに注目し, *rpoT* 遺伝子の多型性が特徴的な地理的分布を示すことを発見した¹¹⁾. すなわち, 韓国と日本本土からの分離株はほとんどが GACATC の 6塩基配列の 4回繰り返しを示すが, 沖縄・南アジア・アメリカからの分離株はほとんどが 3回繰り返しであることがわかっている. さらに TTC リピートに多様性のあることが Shinらによって報告され¹²⁾, *M. leprae* の分子疫学へと発展している. しかし, 同一家族内からの患者から得られた菌の

TTC リピートに一定の傾向が認められないことから¹³⁾, 遺伝子多型による感染経路の特定は, 今後の研究を待たねばならない.

4. ハンセン病の診断, 病型, 病理所見, 鑑別診断

ハンセン病は, 局所の知覚低下を伴う皮疹で皮膚科を受診することが多いが, 皮疹に気づかずに神経内科にくることも少なくないので, 全身皮膚の観察が不可欠である.

臨床的に, 知覚障害を伴った皮疹の出現, あるいは末梢神経幹の肥厚, あるいは病巣からの抗酸菌が認められた場合には, 皮膚生検や神経生検によってハンセン病に特異的な組織所見を確認し, さらに PCR (国立感染症研究所ハンセン病研究センターに依頼可能) によって *M. leprae* 特異的な塩基配列を検出することによって, ハンセン病の確定診断ができる. 抗 PGL-I 抗体による免疫組織化学も診断に有用である.

ハンセン病は免疫の違いによってさまざまなスペクトル (病型) を示し, 研究目的では Ridley & Jopling の分類 (TT, BT, BB, BL, LL) が使用されることが多い¹⁴⁾. 大別すると, *M. leprae* に対する一定の細胞性免疫を示す T 型 (tuberculoid leprosy), *M. leprae* に対する細胞性免疫が欠如した L 型 (lepromatous leprosy) と, その中間的な性質の B 群 (borderline leprosy) となる (表 1).

T 型では知覚低下を伴う少数の環状紅斑が出現し, 皮内にはリンパ球に縁取りされた類上皮細胞肉芽腫が形成され, 神経束は肉芽腫によって腫大し破壊されている. 皮疹を小切開した皮膚組織液の抗酸菌染色では菌は証明されないかごく少数のみで, 血清抗 PGL-I 抗体は低値を示す.

L 型では斑・丘疹・結節などが混在した皮疹が多数出現し, 組織液の塗抹抗酸菌染色で菌が陽性である. 皮内には大量の菌を含んだ泡沫状マクロ

表1 ハンセン病の病型とその特徴

	T型 (TT)	B型 (BT, BB, BL)	L型 (LL)
日本における発生頻度	まれ	BLとBTが多い	B型の次に多い
<i>M. leprae</i> に対する細胞性免疫	+	±	-
皮疹の数と分布	数個の環状紅斑	多彩な地図状皮疹	多数の斑か丘疹が左右対称に分布
障害される末梢神経の数	1~2本	少数~多数	多数
初期の知覚障害	皮疹部に強い	さまざま	ほとんどない
神経幹の腫大	麻痺の支配域に+	多発性不規則で圧痛+	初期には軽度
経過中の神経炎	(初発時から+)	強いことが多い	少ない
血清抗PGL-I抗体価	低い	中間	高い
病変内の抗酸菌の数	0~わずか	中等度	多い
組織像の特徴	類上皮細胞肉芽腫	両者の中間	泡沫状マクロファージ++
組織内のリンパ球	肉芽腫辺縁に++	中等量	ほとんどない
組織内のサイトカインパターン	Th1 (IFN- γ など)	中間	Th2 (IL-4, IL-6 など)
治療法 (WHO/MDT)	MDT/PBで6カ月	MDT/MBで12カ月	MDT/MBで12カ月
経過中の境界反応	—	起こりやすい	—
経過中のENL	—	BLでは起こりうる	起こりうる
後遺症としての神経麻痺	数カ所に限局	多発で高度のことが多い	軽いことが多い

ファージが大量に認められ、リンパ球はほとんどみられない。神経束内に抗酸菌が認められるものの炎症反応を欠くため、L型の初期には神経麻痺はほとんどない。血清抗PGL-I抗体は高値を示す。

臨床的にハンセン病と鑑別すべき神経疾患として、アミロイドーシス、膠原病、糖尿病、遺伝性肥大性ニューロパシー、Recklinghausen病、遺伝性感覚性ニューロパシー、中毒性ニューロパシー、エントラップメント、神経外傷などがあげられる。

5. 純神経型ハンセン病 pure neural leprosy (PNL)

純神経炎型 pure neuritic leprosyともよばれ、経過中に全く皮疹が認められないハンセン病である。我が国ではかつてハンセン病を結節型、斑紋型、神経型に分類していたが、その中の神経型に相当する。臨床的には多発単神経炎 mono-neuritis multiplexを示し、ハンセン病のすべて

の病型で起こりうる。インドなどの多発国ではPNLが多く、ハンセン病全体の5~18%を占めている。ブラジルにおける最近の報告では、PNLの89%が知覚障害を、81%が運動障害を示し、電気生理学的には軸索障害パターンを呈した。神経生検では14%に類上皮細胞肉芽腫が、16%に抗酸菌が、39%に非特異的炎症あるいは線維化が認められ、PCRでは47%が陽性であった¹⁵⁾。

近年、PNLの確定診断と病型分類のために、末梢神経の穿刺吸引細胞診を行う試みがなされており、良好な成績が得られている^{16,17)}。神経生検による侵襲なしにPNLの確定診断ができれば、患者の負担が少なく、また治療経過中に反復して行うことも可能であろう。

6. 急性の症状悪化—らい反応と神経障害

ハンセン病は基本的に慢性の経過を示す疾患であるが、経過中に急性の症状を示すことがあり、らい反応 lepra reactionとよばれている¹⁸⁾。ら

い反応は、細胞性免疫の賦活化により Th2 から Th1 へのシフトを示す境界反応 (borderline reaction またはリバーサル反応 reversal reaction) と、免疫複合体による血管炎を示すらい性結節性紅斑 erythema nodosum leprosum (ENL) に大別できる。ことに境界反応は治療開始後数カ月以内に起こることが多く、強い神経障害を起こすことが多いので注意が必要である¹⁹⁾。そのため、初診時にらい反応を伴っていないかを確認する必要がある。境界反応の治療にはステロイドが、ENL の治療にはステロイドやサリドマイドなどが有効である。

7. ハンセン病の治療

ハンセン病は現在では重篤な合併症がなければ外来で治療できる疾患となっている。ハンセン病多発地では、プライマリーヘルスケアシステムを用いた短期間の多剤併用投薬によるハンセン病対策 (multi drug therapy, 以下 MDT) が 1980 年代初期から WHO によって推奨され、成果をあげてきた²⁰⁾。その要点は、多菌型 (MB, 皮疹が 6 個以上または皮膚塗抹抗酸菌陽性) には rifampicin, diaphenylsulfone (レクチゾール), clofazimine (ランプレン) の 3 剤併用を 12 カ月、少菌型 (PB, 病変が 5 個以下または皮膚塗抹抗酸菌陰性) には rifampicin と diaphenylsulfone の 2 剤併用を 6 カ月行うこととなっている。また、皮疹が 1 個のみの少菌型 single lesion paucibacillary (SLPB) の場合には、rifampicin, ofloxacin, minomycin の 3 剤を単回投与して治療を終了する。これらの治療法の詳細を含む WHO/MDT の最近の動向については、我々が翻訳して²¹⁾、厚生労働省のインターネットサイトにも公開している。また、我が国でも WHO/MDT を基本としたハンセン病治療指針が 2000 年に作成され²²⁾、サイトにも公開されている。なお、多菌型の治療を始める前に、国立感染症研究所ハンセン病研究センタ

ーに薬剤耐性検査を依頼することが望ましい²³⁾。

B. ハンセン病と免疫

健康成人がハンセン病患者に接しても発症することはないが、乳幼児期において活動性ハンセン病患者と頻回に接触すると発症リスクが高くなることがわかっている。また、ハンセン病は単一の病因 (*M. leprae* の感染) で引き起こされる疾患でありながら、臨床的には T 型と L 型というかなり異なる病態を示すことから、多くの免疫学的研究がなされてきた。ここでは、ハンセン病の発症がどのような生体防御機構によって抑制されているのか、また発症後の病型を決定する因子についての、最近の研究を紹介する。

1. Th1/Th2 サイトカインパターンとハンセン病の病型

CD4⁺T 細胞は、IL-2 や IFN- γ を介して細胞性免疫を誘導する Th1 と、IL-4, 6, 10 等を介して抗体産生などの B 細胞を活性化する Th2 に分類される。ハンセン病の場合に、T 型では Th1 の、L 型では Th2 のサイトカインパターンを示すことがわかっている²⁴⁾。Stefani らは、治療開始前の SLPB 患者の皮膚組織内の Th1/Th2 サイトカイン発現パターンを調べることによって、治療予後を推定できる可能性を報告している²⁵⁾。

2. Toll-like receptor とハンセン病感受性

リンパ系と組織適合抗原 (MHC) による獲得免疫系をもたないハエにおいて真菌感染防御因子として発見された Toll から、その相同遺伝子である Toll-like receptor (TLR) がヒトにみいだされた。TLR は I 型の膜蛋白で、シグナルを伝達するのは細胞内の Toll-interleukin 1 receptor (TIR) ドメインである。TLR の下流にあるアダプター分子 MyD88 などを介して、最終的に NF- κ B お

よびMAPキナーゼの活性化が誘導され、抗菌ペプチドが産生される。これらの研究から、TLRは種を超えた普遍的な自然免疫の中心的役割を担っていることが明らかになった。TLRファミリーの中でも、Toll-like receptor 2 (TLR2)は抗酸菌に対する生体の免疫反応に重要で、その変異は重症の抗酸菌感染症を引き起こすことがわかっている。また、獲得免疫の活性化に不可欠な樹状細胞にもTLRは発現していることから、TLRは自然免疫における病原体排除のみならず、獲得免疫応答にも関わり、自然免疫と獲得免疫をつなぐ分子と考えられている^{26,27)}。

韓国のハンセン病患者において、L型患者にはTLR2の突然変異が高率にみられることがKangとChaeによって報告され²⁸⁾、Buchudら²⁹⁾やKrutzikら³⁰⁾によって確認されていることから、TLRはハンセン病の進展を防御する上でも重要な役割を果たしているものと考えられる。

一方でTLRの活性化は敗血症性ショックやアポトーシスの誘導を引き起こすことが知られているが、最近Oliveiraらはハンセン病の皮内神経のSchwann細胞がTLR2を発現し、かつアポトーシスを起こすことを報告しており³¹⁾、自然免疫系による神経障害の発症機序として注目される。

3. *Nramp 1*とハンセン病感受性

Nramp 1 (*bcg*) 遺伝子は抗酸菌などの細胞内寄生性細菌に対する宿主の自然抵抗性遺伝子の一つと考えられており、ハンセン病においても発症・病型との関連が調べられてきた。関連がないとする報告が多い中で、Meisnerらは*Nramp 1*多型性とハンセン病の疾患感受性とは関連しないが病型とは関連していることを³²⁾、Alcaisらはベトナムでのハンセン病患者の家族解析から、光田反応（現在はほとんど用いられないが、*M. leprae*に対する宿主の細胞性免疫を調べる皮内反応で、健康成人とT型では陽性、L型では陰性と

なる）と*Nramp 1*多型性に相関があることを報告している³³⁾。

4. HLAとハンセン病

発症後の病型とHLAとの関連については多くの研究がなされ、HLA DR2とDR3のアリルがT型と、HLA DQ1がL型とリンクしていることがわかっている³⁴⁾。Ohyamaらは、患者血液から得られた単球を抗HLAクラスII抗体で刺激して、IL-1 β とIL-12産生能力を調べた。IL-1 β 産生の病型による違いはなかったが、IL-12はL型がT型の約4倍の産生を示した³⁵⁾。IL-12はTh1細胞からのIFN- γ 産生を誘導することを考えると矛盾する結果である。いずれにせよ、これまで病型はT細胞の機能によって規定されるとする考えが主流であったが、単球・マクロファージ系の機能についてもさらなる検討が必要であろう。

5. CD1aを介した菌抗原の提示

ハンセン病皮膚病変においては、 $\gamma\delta$ レセプター陽性T細胞の存在が知られている³⁶⁾。また、抗酸菌のlipoarabinomannanやミコール酸を、CD1分子を介してCD4⁻、CD8⁻T細胞に抗原提示する樹状細胞がT型病変には存在することが明らかになっており、CD1拘束性T細胞も感染の制御に関わっていると考えられる³⁷⁾。

C. *M. leprae*の神経親和性

ハンセン病では病型にかかわらず、活動性病変では末梢神経内に*M. leprae*が認められる。Rambukkanaらは、*M. leprae*とSchwann細胞の接着性についての興味深い一連の研究を行っている。彼らは1997年に、*M. leprae*のSchwann細胞接着は、Schwann細胞の基底膜の構成成分であるラミニン $\alpha 2$ 鎖のGドメインによることを証明した³⁸⁾。また、ラミニンの受容体で細胞膜に

局在する α -dystroglycan が、ラミニン $\alpha 2$ 鎖 Gドメインが存在する場合にのみ *M. leprae* と特異的に結合することを報告した³⁹⁾。さらに、この接着における菌側のリガンドとして、21kDa 蛋白と *M. leprae* 特異抗原 PGL-I が重要であることを示した^{40,41)}。しかし Marques らは、ELISA による解析から、結核菌などの抗酸菌もラミニン結合能をもつことを示し、 $\alpha 2$ -ラミニンを介した Schwann 細胞接着の *M. leprae* 特異性に疑問を呈している⁴²⁾。また、Suneetha らは、*M. leprae* がヒト末梢神経の 25kDa のリン酸化糖蛋白と結合することをみいだしていたが、最近、この糖蛋白がミエリン P0 であることを同定した⁴³⁾。このように、*M. leprae* の神経親和性にはいくつかの経路がある可能性がある。

D. ハンセン病による神経障害の病態

ハンセン病の最大の特徴は「抗酸菌が末梢神経を侵す」ことであり、炎症のない末梢神経においても Schwann 細胞内を中心に *M. leprae* が認められる。T 型と B 型ではさまざまな程度の神経障害がみられるが、L 型でらい反応がない場合には障害は軽い。顔面・四肢ことに低温部の表在性知覚麻痺で始まるが、混合神経が巻き込まれると運動麻痺を合併する。ここではハンセン病の神経障害を3つに分類して述べ、さらに神経周膜と血管についての知見を紹介する。

1. 急性反応性神経炎

一般にらい性神経炎 leprous neuritis とよばれるものの多くはこれに相当し、神経学的には多発単神経炎の形をとる。境界（リバーサル）反応の一症状であることが多く、一部は ENL による神経炎である。神経は腫大して自発痛と強い圧痛を示す。リバーサル反応では組織学的には類上皮細胞肉芽腫が神経束の一部あるいは全体におよび、

神経線維・髄鞘はそのほとんどが消失して神経周膜の肥厚も伴う。炎症が隣接する運動神経束を巻き込むと急性の運動麻痺を伴う。初期にステロイドなどで強力な炎症の抑制を行わないと、麻痺の回復は困難となる。

Schwann 細胞に侵入して増殖した *M. leprae* を T 細胞が抗原認識して細胞性免疫反応を引き起こす機構として、いったん Schwann 細胞外に出た菌をマクロファージが貪食する必要があるのか、それとも Schwann 細胞が直接に抗原提示できるのかが問題となる。Spierings らは、ヒト坐骨神経由来の培養 Schwann 細胞が HLA クラス II を発現し、*M. leprae* 抗原をクラス II 拘束性 CD4⁺T 細胞に提示すること、この CD4⁺T 細胞が Schwann 細胞を障害することを示しており⁴⁴⁾、神経障害の発症にはマクロファージの関与が必ずしも必要ではないことが推測される。

WHO は、ハンセン病神経炎の標準的なステロイド使用法として、成人の場合には prednisolone を 40mg, 30mg, 20mg, 15mg, 10mg, 5mg と 2 週ごとに漸減する総計 12 週間の治療法を推奨している²¹⁾。我々は最初の数日は dexamethasone の点滴を行い、その後を経口 prednisolone に変更して漸減している。なお、この間も抗菌薬 (MDT) は継続することが必要である。

2. 慢性神経痛

急性の神経炎を繰り返したり遷延化することによって徐々に神経束の腫大・線維化が起こってくると、臨床的には繰り返す神経痛に悩まされることになる。このような症例の剖検では知覚神経の末梢にいくほど線維化は強く血管は狭小化している。ハンセン病後遺症に多くみられる、雨の前などの気圧低下に伴って出現する神経痛のほとんどはこの型であり、entrapment を伴う虚血性の神経痛ととらえることもできる。末梢循環を改善する薬剤が有効のことがある。最近になって、この

種の神経痛が neuropathic pain の一種であるという提唱がなされているが⁴⁵⁾、その妥当性も含め、今後の研究が必要であろう。

3. 無痛性神経障害 silent neuropathy (quiet nerve paralysis)

L型の一部では、臨床的治癒の状態になっても神経腫大も痛みもないままに数年から10年程度の経過で運動・知覚麻痺が進行することがある。この機序として Ridley は微小なリバーサル反応すなわち microreaction を想定しているが⁴⁶⁾、詳細はまだわかっていない。

Rambukkana らは、成熟したB細胞もT細胞ももたない *Rag1* ノックアウトマウスを用いた実験で、*M. leprae* は有髄 Schwann 細胞には侵入しないが菌の接着によって脱髄が起こること、また無髄 Schwann 細胞は多数の *M. leprae* を取り込むことを示した。さらに脱髄の後に再生する Schwann 細胞は無髄化することによって、*M. leprae* の隠れ家を提供していると考えている⁴⁷⁾。ハンセン病における神経障害の大部分は炎症性のものであるが、無痛性神経障害の発症機序の一つとして、彼らのデータは興味深い。

また、ハンセン病治癒症例の脳皮質には PGL-I 免疫組織化学は陰性であるが⁴⁸⁾、脊髄前角細胞の細胞質内には PGL-I 免疫組織化学が陽性で、空胞状の変性をきたしていたことから⁴⁹⁾、運動麻痺の進展に中枢神経の関与する可能性を我々は考えている。

4. 神経周膜障害と血管病変

木村は、ハンセン病の末梢神経生検の光学顕微鏡では病変の高度な例で神経周膜の高度肥厚と再生像を伴わない神経変性を認め、病変の軽度な例では神経周膜下浮腫を認めた。電子顕微鏡では前者で神経周膜の basal lamina (BL) のほぼ完全消失、後者では光学顕微鏡でほとんど異常のみら

れない例でも BL の分裂がみられたことから、ハンセン病の末梢神経障害の特徴は、病型を問わず神経周膜の障害と神経軸索の再生の欠如であると述べている⁵⁰⁾。また Scollard らは、*M. leprae* 感染アルマジロ末梢神経の詳細な形態学的観察から神経障害における血管・リンパ管内皮細胞の役割を強調している。感染アルマジロ神経では、最初に神経上膜の血管とリンパ管内皮に菌が侵入し、神経内膜の血管の感染や神経の虚血を引き起こすと考えている^{51,52)}。

E. 神経障害の予防と治療

神経内科医がハンセン病の治療を行う際には、前述したらい反応に伴う神経障害を引き起こさないように細心の注意を払うべきである。

Croft らは、バングラデシュにおける新患2,510例の追跡調査から、治療開始後2年間に神経障害を起こす確率は、治療開始時に神経障害を伴わない少菌型 (PB) 患者では1.3%、神経障害をもつ PB 患者あるいは神経障害をもたない多菌型 (MB) 患者では16.0%、神経障害をもつ MB 患者では65%であることを示し、治療終了後も経過観察が必要であることを⁵³⁾、さらに5年間の観察から、神経障害の95%は最初の2年間に起こっていること⁵⁴⁾を明らかにした。

また、ハンセン病による炎症性末梢神経障害を予防するために、治療開始時に WHO/MDT の抗菌薬と同時に少量のステロイドを持続投与する研究が最近行われており、4カ月目までは神経炎の発生を抑制する効果がみられたものの、12カ月では有意差がなかった⁵⁵⁾。

最後に、我が国の国際協力事業団 (JICA) ミャンマー・ハンセン病対策・基礎保健サービス改善プロジェクトについて紹介する。これは2000年から5年間の保健医療プロジェクトで、後遺症をいかに予防するかという観点でミャンマーのハ

ンセン病対策を支援している。足底潰瘍防止サングルのワークショップなど、現地に密着した活動が行われており、国際的に高い評価を受けている⁵⁶⁾。

文献

- 1) 石井則久, 小原安喜子, 尾崎元昭, 他. ハンセン病新規患者の統計解析(1993年-2000年). 日本ハンセン病学会雑誌 2002; 71: 223-33.
- 2) Richardus JH, Nicholls PG, Croft RP, et al. Incidence of acute nerve function impairment and reactions in leprosy: a prospective cohort analysis after 5 years of follow-up. *Int J Epidemiol* 2004; 33: 337-43.
- 3) Britton WJ, Lockwood DN. Leprosy. *Lancet* 2004; 363: 1209-19.
- 4) 斎藤 肇, 長尾榮治, 牧野正直, 他, 編集. ハンセン病医学. 東京: 東海大学出版会; 1997.
- 5) Hastings R. *Leprosy*. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1994.
- 6) Antia N, Shetty V. *The peripheral nerve in leprosy and other neuropathies*. New Delhi: Oxford University Press; 1997.
- 7) Maeda SM, Rotta O, Michalany NS, et al. Comparison between anti-PGL-I serology and Mitsuda reaction: clinical reading, microscopic findings and immunohistochemical analysis. *Lepr Rev* 2003; 74: 263-74.
- 8) Hagge DA, Oby Robinson S, Scollard D, et al. A new model for studying the effects of *Mycobacterium leprae* on Schwann cell and neuron interactions. *J Infect Dis* 2002; 186: 1283-96.
- 9) Fukutomi Y, Matsuoka M, Minagawa F, et al. IL-10 treatment of macrophages bolsters intracellular survival of *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2004; 72: 16-26.
- 10) Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, et al. Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature* 2001; 409: 1007-11.
- 11) Matsuoka M, Maeda S, Kai M, et al. *Mycobacterium leprae* typing by genomic diversity and global distribution of genotypes. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2000; 68: 121-8.
- 12) Shin YC, Lee H, Walsh GP, et al. Variable numbers of TTC repeats in *Mycobacterium leprae* DNA from leprosy patients and use in strain differentiation. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4535-8.
- 13) Matsuoka M, Zhang L, Budiawan T, et al. Genotyping of *Mycobacterium leprae* on the basis of the polymorphism of TTC repeats for analysis of leprosy transmission. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 741-5.
- 14) Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1966; 34: 255-73.
- 15) Jardim MR, Antunes SL, Santos AR, et al. Criteria for diagnosis of pure neural leprosy. *J Neurol* 2003; 250: 806-9.
- 16) Vijaikumar M, D'Souza M, Kumar S, et al. Fine needle aspiration cytology (FNAC) of nerves in leprosy. *Lepr Rev* 2001; 72: 171-8.
- 17) Singh N, Malik A, Arora VK, et al. Fine needle aspiration cytology of leprosy neuritis. *Acta Cytol* 2003; 47: 368-72.
- 18) 熊野公子. らい反応について. 日本ハンセン病学会雑誌 2002; 71: 3-29.
- 19) Spierings E, De Boer T, Zulianello L, et al. The role of Schwann cells, T cells and *Mycobacterium leprae* in the immunopathogenesis of nerve damage in leprosy. *Lepr Rev* 2000; 71 Suppl: S121-9.
- 20) 湯浅 洋. ハンセン病対策の現在と将来. 日本ハンセン病学会雑誌 2002; 71: 187-93.
- 21) World Health Organization. *The Final Push Strategy to Eliminate Leprosy as a Public Health Problem. Questions and Answers*. 2nd ed. WHO, Geneva 2003. 後藤正道訳. 日本ハンセン病学会雑誌 2004; 73: 295-320.
- 22) 後藤正道, 石田 裕, 儀同政一, 他. ハンセン病治療指針. 日本ハンセン病学会雑誌 2000; 69: 157-77.
- 23) Matsuoka M, Kashiwabara Y, Liangfen Z, et al. A second case of multidrug-resistant *Mycobacterium leprae* isolated from a Japanese patient with relapsed lepromatous leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2003; 71: 240-3.
- 24) Yamamura M, Uyemura K, Deans RJ, et al. Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. *Science* 1991; 254: 277-9.
- 25) Stefani MM, Martelli CM, Gillis TP, et al. In situ type 1 cytokine gene expression and mechanisms associated with early leprosy progression. *J Infect Dis* 2003; 188: 1024-31.
- 26) Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired

- immunity. *Nat Immunol* 2001; 2: 675-80.
- 27) 三宅健介. Toll-like receptorと感染防御. *感染症学雑誌* 2003; 77: 473-9.
- 28) Kang TJ, Chae GT. Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001; 31: 53-8.
- 29) Bochud PY, Hawn TR, Aderem A. Cutting edge: a Toll-like receptor 2 polymorphism that is associated with lepromatous leprosy is unable to mediate mycobacterial signaling. *J Immunol* 2003; 170: 3451-4.
- 30) Krutzik SR, Ochoa MT, Sieling PA, et al. Activation and regulation of Toll-like receptors 2 and 1 in human leprosy. *Nat Med* 2003; 9: 525-32.
- 31) Oliveira RB, Ochoa MT, Sieling PA, et al. Expression of Toll-like receptor 2 on human Schwann cells: a mechanism of nerve damage in leprosy. *Infect Immun* 2003; 71: 1427-33.
- 32) Meisner SJ, Mucklow S, Warner G, et al. Association of NRAMPI polymorphism with leprosy type but not susceptibility to leprosy per se in west Africans. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65: 733-5.
- 33) Alcais A, Sanchez FO, Thuc NV, et al. Granulomatous reaction to intradermal injection of lepromin (Mitsuda reaction) is linked to the human NRAMPI gene in Vietnamese leprosy sibships. *J Infect Dis* 2000; 181: 302-8.
- 34) Cooke GS, Hill AV. Genetics of susceptibility to human infectious disease. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 967-77.
- 35) Ohshima H, Kato N, Takeuchi K, et al. Monocytes of distinct clinical types of leprosy are differentially activated by cross-linking class II HLA molecules to secrete IL-12. *Apms* 2004; 112: 271-4.
- 36) Garcia VE, Sieling PA, Gong J, et al. Single-cell cytokine analysis of gamma delta T cell responses to nonpeptide mycobacterial antigens. *J Immunol* 1997; 159: 1328-35.
- 37) Hunger RE, Sieling PA, Ochoa MT, et al. Langerhans cells utilize CD1a and langerin to efficiently present nonpeptide antigens to T cells. *J Clin Invest* 2004; 113: 701-8.
- 38) Rambukkana A, Salzer JL, Yurchenco PD, et al. Neural targeting of *Mycobacterium leprae* mediated by the G domain of the laminin-alpha2 chain. *Cell* 1997; 88: 811-21.
- 39) Rambukkana A, Yamada H, Zanazzi G, et al. Role of alpha-dystroglycan as a Schwann cell receptor for *Mycobacterium leprae*. *Science* 1998; 282: 2076-9.
- 40) Shimoji Y, Ng V, Matsumura K, et al. A 21-kDa surface protein of *Mycobacterium leprae* binds peripheral nerve laminin-2 and mediates Schwann cell invasion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 9857-62.
- 41) Ng V, Zanazzi G, Timpl R, et al. Role of the cell wall phenolic glycolipid-1 in the peripheral nerve predilection of *Mycobacterium leprae*. *Cell* 2000; 103: 511-24.
- 42) Marques MA, Antonio VL, Sarno EN, et al. Binding of alpha2-laminins by pathogenic and non-pathogenic mycobacteria and adherence to Schwann cells. *J Med Microbiol* 2001; 50: 23-8.
- 43) Suneetha LM, Singh SS, Vani M, et al. *Mycobacterium leprae* binds to a major human peripheral nerve glycoprotein myelin P zero (P0). *Neurochem Res* 2003; 28: 1393-9.
- 44) Spierings E, de Boer T, Wieles B, et al. *Mycobacterium leprae*-specific, HLA class II-restricted killing of human Schwann cells by CD4⁺ Th1 cells: a novel immunopathogenic mechanism of nerve damage in leprosy. *J Immunol* 2001; 166: 5883-8.
- 45) Haanpaa M, Lockwood DN, Hietaharju A. Neuropathic pain in leprosy. *Lepr Rev* 2004; 75: 7-18.
- 46) Ridley D. Pathogenesis of leprosy and related diseases. London: WRIGHT; 1988. 75-6.
- 47) Rambukkana A, Zanazzi G, Tapinos N, et al. Contact-dependent demyelination by *Mycobacterium leprae* in the absence of immune cells. *Science* 2002; 296: 927-31.
- 48) Goto M, Kimura T, Hagio S, et al. Neuropathological analysis of dementia in a Japanese leprosarium. *Dementia* 1995; 6: 157-61.
- 49) Goto M, Minauchi Y, Nobuhara Y, et al. Immunohistochemical demonstration of *Mycobacterium leprae* in the nervous system of long-term cured leprosy patients using a *M. leprae* specific anti-PGL antibody. *Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1991; 21: 117-21.
- 50) 木村 隆. ハンセン病末梢神経障害における末梢神経の病理学的特徴. *日本ハンセン病学会雑誌* 2001; 70: 141-4.
- 51) Scollard DM, McCormick G, Allen JL. Localization of *Mycobacterium leprae* to endothelial cells of

- epineurial and perineurial blood vessels and lymphatics. *Am J Pathol* 1999; 154: 1611-20.
- 52) Scollard DM. Endothelial cells and the pathogenesis of lepromatous neuritis: insights from the armadillo model. *Microbes Infect* 2000; 2: 1835-43.
- 53) Croft RP, Nicholls PG, Steyerberg EW, et al. A clinical prediction rule for nerve-function impairment in leprosy patients. *Lancet* 2000; 355: 1603-6.
- 54) Croft RP, Nicholls PG, Steyerberg EW, et al. A clinical prediction rule for nerve function impairment in leprosy patients-revisited after 5 years of follow-up. *Lepr Rev* 2003; 74: 35-41.
- 55) Smith WC, Anderson AM, Withington SG, et al. Steroid prophylaxis for prevention of nerve function impairment in leprosy: randomised placebo controlled trial (TRIPOD 1). *BMJ* 2004; 328: 1459-63.
- 56) 疋田和生, 馬場洋子, 橋本千代子, 他. ミャンマー国ハンセン病対策・基礎保健サービス改善プロジェクト. *日本ハンセン病学会雑誌* 2002; 71: 201-10.

<ハンセン病に関する有用なサイト>

1. 世界保健機関 (WHO) のハンセン病サイト
<http://www.who.int/lep/>
2. 国立感染症研究所のハンセン病トピックス
<http://idsc.nih.go.jp/others/topics/LEPR/hansen.html>
3. 日本ハンセン病学会: ハンセン病治療指針
<http://www1.neweb.ne.jp/wb/hansen/>
4. WHO. 公衆衛生問題としてのハンセン病制圧の最終推進戦略・質問と答, 第二版, 日本語訳
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/hansen/kanren/3.html>

4. 結核・ハンセン病

結核は、20世紀最大の脅威であった細菌感染症であり、ハンセン病は末梢神経障害に伴う著しい変形のため、長い間差別と偏見の対象となってきた疾患である。結核は、結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) の感染により、ハンセン病はらい菌 (*Mycobacterium leprae*) の感染により発症する。結核菌もらい菌も共に抗酸菌に分類される。抗酸菌は、現在では100種類以上が知られ、これらのなかにはヒトに病気を発症させる病原性抗酸菌と、ヒトに対しては病気を誘導しない非病原性抗酸菌が存在する。

結核菌も、らい菌も代表的な病原性菌である。両者は一旦感染するとヒトの体内に長く宿り、たとえ病気を発症させなくても潜伏感染する特徴をもっている。多くの場合、マクロファージなどの細胞内に寄生虫のように潜んでいるため、細胞内寄生菌ともよばれている。このことが、結核およびハンセン病を理解するうえで重要である。

1) 結核

(1) 概要

全世界のおよそ3分の1の人が結核菌に感染している。結核の発病率は、結核菌感染者の約10%であり、初回感染者は感染後2年以内であることが多い。感染しても発病しない、いわゆる潜伏感染時には、結核菌はマクロファージなど抗原提示細胞内に留まっている。

結核菌に対する生体防御反応は、インターフェロンガンマー (IFN- γ) を産生するCD4陽性T細胞およびキラー活性を獲得したCD8陽性T細胞などの細胞性免疫が中心となって営まれている。結核菌はヒトからヒトへ感染し、主に咳やくしゃみによる飛沫感染による。結核菌は、大きさ数ミクロンの桿状の菌であり、酸・アルカリ・乾燥に対し抵抗性である。

結核の確定診断は、患者体内から結核菌を同定することであり、喀痰の塗抹検査あるいは培養検査を行うか、菌の核酸 (DNA) を抽出し、核酸増幅法 (PCR)

で検索して菌を証明する。結核菌が酸に対して抵抗性であることを利用して、抗酸菌染色（Ziehl-Neelsen 染色）を行う。結核は全身病であるが、肺を主病巣とする肺結核がもっとも多く、2週間以上続く咳・痰・発熱あるいは胸痛・血痰が観察される場合は、結核を疑う必要性が高い。

結核に対する治療は、発病初期に4剤（isonicotinic acid hydrazide [INH], rifampin [RFP], pyrazinamide [PZA]とstreptomycin [SM]またはethambutol [EB])を用いて徹底的に行うことが大切である。現在では、薬剤に対して抵抗性を示す薬剤耐性菌が出現していて、臨床上大きな問題となっている。結核に対するワクチンは、BCGが長い間用いられてきたが、高齢者に対しては無効であることが多く、新しい抗結核ワクチンの開発が強く求められている。

(2) 結核菌と感染経路

結核菌は、長さ1~4ミクロン、幅0.3~0.6ミクロンの桿菌である。その表面は脂質に富んで、他の菌種にはみられない厚い外壁により覆われている。そのため粘着性が高く、いくつもの菌が房状に寄り集まることが多い。酸・アルカリ・乾燥に強い反面、紫外線・熱に弱い性質がある。

結核菌の感染は、ほぼ100%気道を介した吸入感染である。排菌者の咳・くしゃみ・痰に結核菌が含まれていると周囲の人に容易に感染する。空気中に放出された結核菌はその周囲の粘液性水分を急速に失い、非常に軽くなって長時間空気中に漂っているためである。

換気が悪い場所、あるいはオフィスなど気密度が高い所では、多数の人間に感染させ、集団感染をもたらす原因となる。結核は全身症であって、腎臓・関節・骨・腹膜などにも病変をもたらすが、これらの患者は空気中に結核菌を放出する可能性は低く、結核菌の感染源の大部分は肺結核患者である。

(3) 疫学

全世界人口の約3分の1が結核菌に感染していて、毎年800万人が発病、200万人が死亡している。とくに、発展途上国は濃厚流行国でもある。結核死亡の99%は、アフリカ・中南米・東南アジアの人々である。

発病は、感染後2年以内が多く、結核菌に感染しても健常者の多くは発病しないで生涯を経過する（不顕性感染）。感染後に明らかな結核を発病するのは生涯を通じて約10%で、これに初感染結核など軽症の自然治癒する病気を加えても、発症するリスクは最大30%である。

不顕性感染した人では、免疫が作動して結核菌の体内拡散を防いでいる。この免疫反応は生体防御反応とよばれ、細胞性免疫すなわちIFN- γ を産生するCD4陽性T細胞、あるいはIFN- γ を産生すると同時に病原体に感染した細胞を殺戮することができるCD8陽性T細胞、または活性化したマクロファージが重要な働きをしている。

結核菌は一旦感染すると、多くはマクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞

などのなかに寄生虫のように長時間留まる。そのため、抗菌的に働いている細胞性免疫が何らかの要因で低下すると、結核菌の活動性は急速に高まり結核が発症する。

乳幼児期では、免疫力が十分備わっていないため、その発病率は成人に比べ著しく高い。また、免疫力の低下を伴う疾患、たとえばHIV-1感染・糖尿病・悪性腫瘍・慢性腎不全を患う患者、免疫力が低下した高齢者・低栄養状態者では発病率が増加する。抗がん剤・免疫抑制剤・副腎皮質ホルモンによる治療を受けている患者でも同様に発病率が高い。とくに、HIV-1と結核菌が重複感染した場合は重篤な病変が観察され、現在50万人以上が死亡している。

(4) 結核の診断

結核に特異的な症状はなく、とくに肺結核の初期は無症状であるともいわれる。しかし、肺結核の80%は自覚症状の出現により発見される。咳・痰・発熱または寝汗・血痰・胸痛・体重減少の6症状のいずれかが2週間以上続く場合は肺結核を疑わなければならない。咳はもっとも多い症状であるが、咳によって結核菌の感染が広がるので、2次感染を防ぐためにも、咳が2週間以上続く場合は早期受診を勧めたい。

結核の確定診断は、結核菌が生体内に存在することを証明することである。その方法として、①喀痰塗抹検査、②喀痰培養法、③DNA検査などがある。

喀痰塗抹検査では、患者から採取された喀痰から塗抹標本を作製してZiehl-Neelsen染色または蛍光染色をした後、顕微鏡で観察する。通常30視野を観察して、明らかな桿菌のみを陽性として判定する。陽性と判定された菌が一定の視野中に何個あるかによってガフキーの号数*を決める。採取された喀痰の検査で、結核菌が1個でも認められる場合には、喀痰1 ml中に結核菌が7,000個以上存在することを示している。こうした状態では、すでに肺のなかには空洞が形成され感染源となり得るため、2次感染を防ぐ意味でも直ちに入院治療を行うことが重要である。喀痰中の結核菌が数千個以下の場合には、喀痰培養を行わないと結核菌の同定はできない。

小川培地を用いた培養が通常行われるが、結核菌は増殖が遅いため、診断を確定するためには4～8週間が必要となる。感度を高いまま維持し、結核菌検出までの時間を短縮する目的で開発されたのがMGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) 法である。約2.5週間で菌の検出が可能となった。また、結核菌の核酸(DNAなど)を抽出し人工的に増幅して、結核菌固有の塩基配列が存在すること(結核菌陽性)を証明するPCR法も開発されている。DNAを用いた方法は、薬剤耐性菌の検出、結核菌の感染経路を分子疫学的に追跡する際に有効なRFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) 分析にも応用できる。

結核の補助診断として有効な検査法が、胸部X線写真・胸部CT検査などの画像診断法とツベルクリン反応検査である。肺結核では肺尖部や上肺野が好発部位であるが、特定の陰影はなく種々の陰影を呈するため、異常影を認めた時は菌検査あるいは肺生検など病理学的検査を勧めたい。

ガフキーの号数 Gaffky table
ガフキーの号数とは、Gaffkyによって提唱された、喀痰の塗抹染色標本中の結核菌の量を示した数字である。菌数の少ない方から多い方へ1号～10号に分けられている。標本中の菌数は、材料の採取部位や塗抹の厚薄により変動するので、最近では段階の簡便な記載法に変わって居る。