

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

ハンセン病の啓発と難治症例に対する  
予防・診断・治療に関する研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 向井 徹

平成19（2007）年3月

## 目 次

### I. 総括研究報告書

ハンセン病の啓発と難治症例に対する予防・診断・治療に関する研究

向井 徹----- 1

### II. 分担研究報告書

1. ハンセン病の分子疫学・感染源解明の試み

松岡 正典----- 9

2. 啓発普及および難治性ハンセン病治療薬の開発

儀同 政一----- 13

3. 宿主内におけるらい菌の殺傷および菌増殖機構に関する研究

福富 康夫----- 21

4. 免疫原性機能低下を凌駕する細胞性免疫賦活法の開発

前田 百美----- 27

5. 免疫機能亢進抗原の開発

向井 徹----- 33

6. 難治性ハンセン病に対する免疫療法の開発

牧野 正彦----- 39

7. カニクイザルを用いたハンセン病モデル開発と新規ワクチンの有効性評価

寺尾 恵治----- 45

8. ハンセン病診療のネットワーク構築に関する研究

石井 則久----- 53

III. 研究成果の刊行に関する一覧表..... 57

IV. 研究成果の刊行物・別刷..... 61

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

ハンセン病の啓発と難治症例に対する  
予防・診断・治療に関する研究

平成18年度 総括研究報告書

主任研究者 向井 徹

（国立感染症研究所 ハンセン病研究センター）

## ハンセン病の啓発と難治症例に対する予防・診断・治療に関する研究

主任研究者 向井 徹 国立感染症研究所ハンセン病研究センター 病原微生物部 室長

研究要旨 新規ハンセン病患者は、今なお世界では年間数十万人を数え、減少傾向を未だ示さず、また、多剤耐性らい菌の出現や、免疫不全を伴い再発・再燃を繰り返す難治性ハンセン病の対策等が新たな問題として浮上している。これら諸問題の解決を目指し以下の研究を行った結果、ハンセン病の分子疫学では、流行地生活用水中にらい菌遺伝子を検出した。難治性ハンセン病治療薬の開発では、GRNX WQ-3402 の抗らい菌活性を示した。宿主内におけるらい菌の殺傷および菌増殖機構の解析では、IFN $\gamma$ により刺激を受けたヒト単球由来マクロファージには抗らい菌活性が誘導されることが判明した。ワクチン・免疫療法の開発では、らい菌リポペプチドL p Kが、パーフォリン産生を強く誘導することを示し、また、uerase 破壊 BCG を作製し、これは、親株に比較し各種免疫誘導を強く引き起こすことを示した。サルハンセン病モデル開発と新規ワクチンの有効性評価では、1頭のサルに、リンパ球幼若化反応およびPGL抗体価が継続して観察され、菌の持続感染を示唆する結果を得た。ハンセン病診療のネットワーク構築では、「ハンセン病治癒判定基準」、「ニューキノロン使用指針」、「ハンセン病アトラス 診断のための指針」の作製・配布、皮膚科医等を対象としたハンセン病の講習会を開催した。本研究より得られた知見は、ハンセン病対策に有用な貢献が可能と考えられた。

## 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

儀同政一 国立感染症研究所  
ハンセン病研究センター 室長

福富康夫 国立感染症研究所  
ハンセン病研究センター 室長

前田百美 国立感染症研究所  
ハンセン病研究センター 主任研究官

牧野正彦 国立感染症研究所  
ハンセン病研究センター 部長

寺尾恵治 医薬基盤研究所  
霊長類医科学研究センター長

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

## A. 研究目的

ハンセン病は、WHOにより推進されたMDT療法により、登録患者数は、減少を示してきた。しかし、新規ハンセン病患者は、今なお世界では年間数十万人を数え、減少傾向を未だ示していない。また、多剤耐性らい菌の出現や、免疫不全を伴い再発・再燃を繰り返す難治性ハンセン病の対策が新たな問題として浮上している。そのため、感染経路の解明、新規治療薬の開発、免疫療法・ワクチン開発が必要と考えられる。また、わが国におけるハンセン病症例は極めて少ないため、医師、医学生や医療従事者等に対するハンセン病に関する知識の啓発・教育の必要性が存在する。これら諸問題の解決を目指し以下の研究を行った。

1. ハンセン病の分子疫学 (松岡)
2. 啓発普及および難治性ハンセン病治療薬の開発 (儀同)
3. 宿主内におけるらい菌の殺傷および菌増殖機構の解析 (福富)
4. 免疫原性機能低下を凌駕する細胞性免疫賦活法の開発 (前田)
5. 免疫機能亢進抗原の開発 (向井)
6. 難治性ハンセン病に対する免疫療法の開発 (牧野)
7. サルのハンセン病モデル開発と新規ワクチンの有効性評価 (寺尾)
8. ハンセン病診療のネットワーク構築 (石井)

## B. 研究方法

1. 抜本的な新規感染防止策のため、家族内多菌型患者のみが感染源であるのかについて、インドネシアの高ハンセン病有病率を示す集落の井戸水について量的解析を行い、感染源としての意義について検討を行った。
2. 難治性ハンセン病治療に対処するため新規抗らい菌薬の開発を目的に、新規ニューキノロン系抗菌薬 moxifloxacin (MFLX) と garenoxacin (GRNX) の抗らい菌活性を、Buddemeyer 法とヌードマウス足蹠法を用い、rifampicin (RFP) など各種薬剤と比較検討した。
3. らい菌が宿主内で増殖、または殺菌される機構を *in vitro* において解明することを目的に、寄生増殖するマクロファージ内におけるらい菌の代謝活性、 $\text{INF}\gamma$  の産生量により抗らい菌活性を検討した。
4. らい菌に対する生体防御反応を司る分子として、リポ蛋白 LpK を同定してきた。樹状細胞、T細胞と lipK の相互作用に焦点をあて検討を加えた。
5. 安全性がこれまでに示されている BCG を改変することにより、免疫提示能等の亢進を目的とした BCG 株の作製、およびらい菌蛋白発現プラスミドの構築を行った。

6. ハンセン病の免疫療法の開発のために、作製された改変 BCG の免疫活性可能性を、樹状細胞の  $\text{INF}\gamma$  産生能、マクロファージ GM-CSF 産生能により検討した。
7. カニクイザルを用いたハンセン病感染・発症モデルを開発し、新規ワクチンの有効性評価に用いる免疫学的指標を確立することを目的とし、らい菌接種サルの経時変化を抗体価、PCR、リンパ球幼若化反応を指標に検討した。
8. 日本におけるハンセン病診療がスムーズに行われるようにネットワークの構築を目指す目的のため、ハンセン病診療に欠けている要素を抽出し、それらを補う資料や情報の提供を行った。

## (倫理面への配慮)

検体採取・利用等は、研究者の所属機関の倫理委員会で承認され、プライバシーを完全に守るため、研究結果発表に際しては個人が特定されないよう配慮し、使用目的と使用方法および医学上の貢献予測を十分に説明し、さらに拒否し得ることを説明した上で理解(インフォームドコンセント)を得た。さらに、結果について守秘義務に基づいて知る権利と知りたくない権利を守った。また、動物実験についても、各施設の動物実験委員会の承認を受けてから行った。研究の実施にあたっては、各施設の諸内規や作業方式に従い、動物愛護の精神で動物に与える苦痛の軽減と排除に努めた。

## C. 研究結果

1. 井戸水全 147 検体中 70 検体に抗酸菌が見られ、40 検体に、RLEP 配列と 16S rDNA の両 PCR が陽性であった。Real-Time PCR では 1-3, 620 菌体/20ml のらい菌が生活用水に存在する結果を示した。
2. GRNX は、Buddemeyer 法で LVFX に匹敵する抗らい菌活性を認め、ヌードマウス足蹠法で

- は、60 mg/kg で完全抑制を示した。Buddemeyer 法による OFLX 耐性らい菌に対する活性は、WQ-3402 が最も強く STFX, MFLX に強い抗菌活性を認めた。ヌードマウス足蹠法では、MFLX は 40mg/kg で完全抑制を示した。
3. radiorespirometry にてらい菌の代謝率を測定し、マクロファージ内らい菌の生存率評価では、7H12 培地中で、32 度での培養において 2 週間まで温存できた。感染マクロファージ、35 度での培養では 14 日目でも培養開始時と同程度の活性が維持されヒト GM-マクロファージ内の菌代謝は M-マクロファージ中の菌と比べ、より長期保たれていた。
  4. lipoK を樹状細胞にパルスし、naïve の T 細胞の活性化を IFN- $\gamma$  産性能で調べた。らい菌のみではほとんど産生されないが、菌存在下で lipoK をパルスすると有意に IFN- $\gamma$  を産生した。自己の CD8 陽性 T 細胞内パーフォリン産生能は、らい菌刺激によりパーフォリン産生細胞が増した。lipoK 存在下では、パーフォリン産生細胞がさらに増え、脂質部分を持つ lipoK が TLR2 を介してパーフォリン産生に重要な役割を果たしていると考えられた。
  5. ファゴソームとリソソームの融合後、ペプチド消化に重要な pH 環境に影響する urease の破壊 BCG Tokyo 株は、PCR 法およびウレアーゼ試験により、その活性を欠くことが証明された。各種発現プラスミドを遺伝子導入された BCG Tokyo 株は、菌体中および菌体外へも蛋白の発現・分泌が確認された。ウエスタブロットの解析では、HSP70 と MMP II の融合型が、高い分泌効率を示した。
  6. BCG- $\Delta$ UT または親 BCG (Tokyo 株) を末梢単球由来樹状細胞に感染させ、自己の CD4 陽性 T 細胞と混合培養した。BCG- $\Delta$ UT を用いた場合明らかに強いメモリータイプ CD4 陽性 T 細胞を活性化した。樹状細胞からの IL-12p70 の産生誘導能、マクロファージか

らの GM-CSF の産生能比較では、BCG- $\Delta$ UT 明らかに強い G 産生誘導能を有していた。

7. らい菌由来ペプチドで誘導されるリンパ球幼若化反応の検討では、左手根部に接種した 2 頭 (#006、#007) は、FAP および LpK に対する反応性はほぼ同様なパターンを示し、感染後 1 年を経過して LpK に対する幼若化反応が出現した。#007 では MMP-II に対する持続的な幼若化反応が観察されたが、#006 では顕著な反応は認められなかった。休止期記憶 CD4 細胞レベルが増加し、高レベルを維持することから、らい菌の持続感染が生じる可能性が高い。

8. 「ハンセン病治癒判定基準」、「ニューキノロン使用指針」を国際協力の経験などに基づき、追加・改訂作業を行った。

「ハンセン病アトラス 診断のための指針」を作成し、全国の大学皮膚科及び関係団体の教育に活用するようにした。皮膚科医に対して講習会を実施し、知識、回復者の心情、皮膚スミア検査実習により、知識・技術の伝達を行った。

ハンセン病患者（回復者）向けパンフレットと医療者向けパンフレットを作成した。パンフレットには、気軽に相談可能な皮膚科医を 29 名記載した。全国の大学皮膚科、療養所（施設、自治会、ケースワーカー）、関係機関に配布し活用を依頼した。

#### D. 考察

1. らい菌遺伝子陰性の水を使用する人に比し、3 倍の危険率を示したことを報告してきた。今回はらい菌を定量により、43 検体において 1/20ml から 3,620 菌体/20ml のらい菌が存在したことから、これらが感染源となっている可能性が示された。今後これらの生活用水中に存在する菌が感染力を有する菌、即ち生きているのか否かについて検討を加え、またどのように増殖あるいは生存するかを明

- らかにする必要がある。
2. ハンセン病は、PB で6ヶ月、MB で1年に及ぶ長い治療期間のため DDS と RFP 耐性が増加しつつある。キノロン耐性も増加しつつある。治療期間の短縮と薬剤耐性に対応するため臨床から新規抗らい菌薬の開発が求められている。ハンセン病の治療薬として重要な抗菌薬である。MFLX は、非ステロイド性抗炎症薬やテオフィリンとの相互作用が低く、また、GRNX は、光線過敏症や中枢神経系の副作用を軽減、非ステロイド性抗炎症薬やテオフィリンとの相互作用などの副作用が極めて低く、耐性発現を抑制するなど優れたハンセン病の治療に貢献すると考える。
  3. ヒトマクロファージの抗らい菌活性を *in vitro* にて証明した報告はなく、本研究で初めて IFN $\gamma$  刺激したマクロファージ中のらい菌の代謝低下を認めた。ハンセン病において少菌型である TT 型では病巣で Th1 型サイトカインが主に発現しており、その中で IFN $\gamma$  がマクロファージを活性化して抗らい菌作用を発揮することを示した。
  4. LpK のN末端 13 アミノ酸配列を含むリポペプチド LipoK は TLR2 を認識し、パーフォリン産生する CD8 陽性 T 細胞数を促進した。このことから、LipoK は、らい菌感染樹状細胞を活性化し、抗らい菌生体防御反応を増進させる作用を有するものと考えられた。
  5. 菌体の貪食後、ファゴソームとリソソームの融合後、結核などの urease を保有する抗酸菌は、その urease 活性により、周囲環境の pH を上げ、酸性蛋白分解酵素の機能を下げ菌体の生き延びが図られることが考えられている。そのため今回樹立された  $\Delta$ UT 株は、融合後の菌体分解を容易にし、抗原提示能の上昇等に結びつくことが考えられる。また、構築されたプラスミドを遺伝子導入した BCG を用いることにより、らい菌蛋白の免疫誘導能の増強効果が強く期待される。
  6. ハンセン病のワクチン開発あるいは免疫療法の開発においては、Key となるエフェクター因子が存在する。ワクチンにおいては、抗原提示細胞を介した T 細胞の活性化とその後には産生されるメモリー T 細胞であり、免疫療法においては、らい菌感染したマクロファージを活性化するために必要な十分量の IFN- $\gamma$  である。本研究班において作製したウレアーゼ活性を欠損する BCG 株 (BCG- $\Delta$ UT) は、ワクチンおよび免疫療法の開発の両者において有効に作用すると期待させる。
  7. らい菌の持続感染モデル成立の有無をらい菌由来ペプチドで誘導されるリンパ球幼若化反応を指標として調査した。その結果、手根部に接種した 2 頭のカニクイザルでは FAP、LpK、MMP-II のいずれのペプチドに対する休止期記憶 CD4 細胞と考えられる CD29<sup>high</sup>/CD4 細胞レベルの増加とペプチドで誘導される幼若化反応とが相関することから、持続感染が成立したと考えられた。
  8. ハンセン病患者を一度も診療機会がない皮膚科医が大多数を占めるようになっている。また、ハンセン病の歴史やハンセン病回復者の心情なども理解できていない。これらの解決には皮膚科医の教育が必要であり継続した教育機会を設けることが必要である。

ハンセン病回復者を一般医療機関に受診させる (インテグレーション) 事は難しいが、気軽に相談できる皮膚科医を回復者向けパンフレットに記載した。これらの皮膚科医を起点として他の診療科などに受診できることを期待したい。
- E. 結論
1. ハンセン病の流行地においては住民が使用する生活用水中にらい菌が存在し、そこからの感染が強く示唆された。
  2. GRNX は、小児から老人まで使用できる唯



一のニューキノロンとして、臨床導入が期待される。OFLX 耐性らい菌への治療が示唆された。

3. 細胞性免疫を賦活する Th1 型サイトカインの IFN $\gamma$ により刺激を受けたヒト単球由来マクロファージには抗らい菌活性が誘導されることが判明した。また、らい菌は 35 度の培養温度条件下でマクロファージ内において長期間生存することが分かった。
4. リポペプチド lipoK は、naïve CD4 陽性 T 細胞及び CD8 陽性細胞を活性化した。免疫療法に活用する分子として、または、抗酸菌感染症のワクチン候補分子として有用であると考えられた。
5. 免疫原性の向上した BCG 株の改良を目指し、urease C 破壊 BCG 株 (BCG $\Delta$ UT) を樹立し、各種らい菌蛋白分泌 BCG 株を構築した。
6. BCG- $\Delta$ UT は樹状細胞およびマクロファージを介して、ナイーブおよびメモリータイプ CD4 陽性 T 細胞を親 BCG に比し強く活性化した。ハンセン病のワクチンおよび免疫療法の開発に寄与するものと期待される。
7. 2 頭のカニクイザルではペプチドに対する反応性が比較的長期間維持することが判明した。さらに、CD29<sup>high</sup>/CD4 細胞レベルの増加とペプチドで誘導される幼若化反応とが相関することから、持続感染成立と考えられた。
8. ハンセン病診療を皮膚科医が主体的に実施するためのネットワーク作りは、まだ始まったばかりであるが、皮膚科医の教育、ハンセン病回復者の一般医療機関への受診の動きを、引き続き行うことが重要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Matsuoka M., Lopez R., Budiawan T., Kyaw K. and Chae G.-T. Genotypic analysis of *Mycobacterium leprae* isolates from Japan and other Asian countries reveals global transmission pattern of leprosy. FEMS Microbiol. Lett. 261:150-154, 2006.
- 2) Miyamoto, Y., T. Mukai, N. Nakata, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano, and M. Makino. Identification and characterization of the genes involved in glycosylation pathways of mycobacterial glycopeptidolipids biosynthesis. J. Bacteriol., 188:86-95, 2006.
- 3) Makino, M., Y. Maeda, T. Mukai, and S. H. E. Kaufmann. Impaired maturation and function of dendritic cells by mycobacteria through IL-1 $\beta$ . Eur. J. Immunol., 36:1443-1452, 2006.
- 4) Maeda Y. Diagnosis of leprosy-serological aspects. Jap J Leprosy 75, 285- 289, 2006.
- 5) Mukai, T., Y. Miyamoto, T. Yamazaki, and M. Makino. Identification of *Mycobacterium* species by comparative analysis of the *dnaA* gene. FEMS Microbiol. Lett., 254:232-239, 2006.
- 6) Suzuki, K., N. Nakata, P. D. Bang, N. Ishii, and M. Makino. High-level expression of pseudogenes in *Mycobacterium leprae*. FEMS Microbiol. Lett., 259:208-214, 2006.
- 7) Makino, M., Y. Maeda, and K. Inagaki. Immunostimulatory activity of recombinant *Mycobacterium bovis* BCG that secretes Major Membrane Protein II of *Mycobacterium leprae*. Infect. Immunity, 74:6264-6271, 2006.
- 8) Kikuchi T, Hara M and Terao K, Development of microsatellite marker set applicable

- to genome-wide screening in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*), Primates, 2006 Nov 22; [Epub ahead of print]
- 9) Hara M, Kikuchi T, Sata T, Nakajima N, Ami Y, Sato Y, Tanaka K, Narita T, Ono F, Akari H, Terao K, Mukai R. Detection of SRV/D shedding in body fluids of cynomolgus macaques and comparison of partial gp70 sequences in SRV/D-T isolates. *Virus Genes*. 2007 Jan 26; [Epub ahead of print]
- 10) Suzuki, K., F. Takeshita, N. Nakata, N. Ishii, and M. Makino. Localization of CORO1A in the macrophages containing *Mycobacterium leprae*. *Acta Histochemica et Cytochemica*, in press, 2007.
- 11) Makino, M., Y. Maeda, Y. Fukutomi, and T. Mukai. Contribution of GM-CSF on the enhancement of the T cell-stimulating activity of macrophages. *Microbes and Infection*, in press, 2007.
- 12) 向井 徹. 迅速・簡易遺伝子診断法の開発. 日本ハンセン病学会雑誌. 75:265-269, 2006.
- 13) 石井則久 : ハンセン病. 今日の治療指針 2006 (山口 徹、北原光夫、福井次矢総集) 医学書院 (東京) , p868-869, 2006.
- 14) 森 修一、石井則久 : ハンセン病と医学 I. -隔離政策の提唱とその背景-. 日本ハンセン病学会誌 75: 3-22, 2006.
- 15) 鈴木幸一、森 修一、石井則久 : 世界のハンセン病の将来戦略. 日本ハンセン病学会誌 75: 23-39, 2006.
- 16) 石井則久、森 修一、鈴木幸一 : 世界のハンセン病の現況. 日本ハンセン病学会誌 75: 41-49, 2006.
- 17) 福沢正男、石井則久 : Hansen 病-紅斑を伴う症例-. 皮膚病診療 28: 163-166, 2006.
- 18) 石井則久 : ハンセン病. 皮膚科学 (片山一朗、土田哲也、橋本 隆、古江増隆、渡辺晋一編) , 文光堂 (東京) , p708-713, 2006.
- 19) 小野友道、尾崎元昭、石井則久責任編集 : ハンセン病アトラス p1-70, 金原出版 (東京) , 2006.
- 20) 石井則久 : ハンセン病と皮膚科医. 皮膚科の臨床 48: 727-728, 2006.
- 21) 石井則久 : ハンセン病の現状. *MB Derma* 114: 39-45, 2006.
- 22) 佐藤かすみ、佐藤則子、小関正倫、石井則久 : ハンセン病回復者の爪変形について. 横浜医学 57: 95-100, 2006.
- 23) 後藤正道、野上玲子、畑野研太郎、岡野美子、石井則久、儀同政一、石田 裕、尾崎元昭 : ハンセン病治療指針 (第 2 版) . 日本ハンセン病学会 75: 191-226, 2006.
- 24) 石井則久、永岡 譲、森 修一、鈴木幸一 : ハンセン病制圧後のハンセン病対策戦略. 日本ハンセン病学会誌 75: 239-248, 2006.
- 25) 石井則久、中永和枝、松岡正典、鈴木幸一 : らい菌の遺伝子診断の現状. 日本ハンセン病学会誌 75: 261-264, 2006.
- 26) 鈴木幸一、石井則久 : 抗酸菌検査. 皮膚科の臨床 48: 1371-1375, 2006.
- 27) 石井則久 : ハンセン病-患者を診たときの対応-. 日本皮膚科学会雑誌 116: 1970-1972, 2006.
- 28) 山崎利雄、儀同政一、松岡正典 : 生物発光による抗らい菌活性測定法の開発. 日本ハンセン病学会雑誌 75 巻 3 号 227-237 2006.
- 29) 鈴木定彦、松岡正典 : DNA マイクロアレイを用いた *Mycobacterium leprae* の迅速薬剤感受性試験法. 日本ハンセン病学会雑誌 75 巻 3 号 271-277 2006.
- 30) 儀同政一 : Moxifloxacin と garenoxacin の抗らい菌活性 : 日本ハンセン病学会雑誌、76:11-17, 2007.
- 31) 牧野正彦. 生体防御機構. 牧野正直・長尾栄治・畑野研太郎編, 総説現代ハンセン病医学, 東海大学出版会, in press, 2007.

## 2. 学会発表

- 1) Maeda, Y., M. Kai, and M. Makino. LipoK activates *Mycobacterium leprae* infected macrophages and dendritic cells. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress, 18-23 June, 2006, Kyoto, Japan.
- 2) Matsuoka M., Suzuki Y., Gelber R., Tan E., Kyaw K., Khin S. A. and Budiawan T.: A simple method for detection drug resistant *Mycobacterium leprae* and its application in developing countries. 42<sup>th</sup> anniversary meeting of US-Japan cooperative medical science program. Kagoshima, July, 2006
- 3) Mukai T., Macdonard M., Ranjit C., Sapkota B. R., Miyamoto Y., Matsuoka M. and Makino M.: Development of rapid and simple diagnostic tool for leprosy. 42<sup>th</sup> anniversary meeting of US-Japan cooperative medical science program. Kagoshima, July, 2006
- 4) Fujimura T., Sato M., Yogi Y., Matsuoka M., Masuzawa M. and Katsuoka K.: Epithelial cell entry activity of *Mycobacterium leprae* depends on specific sequence within mceA. 42<sup>th</sup> anniversary meeting of US-Japan cooperative medical science program. Kagoshima, July, 2006
- 5) Fukutomi Y., Y Maeda and M Makino: Clofazimine-induced cell death in macrophages. Forty second Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Program, Kagoshima, July 2006.
- 6) Makino, M., Y. Maeda, K. Inagaki, and T. Mukai. Immunostimulatory activity of recombinant *M. bovis* BCG expressing the dominant antigen of *Mycobacterium leprae*. U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program. 41<sup>st</sup> Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Kagoshima, Japan, July 19-21, 2006.
- 7) 福富康夫, 前田百美, 牧野正彦. クロファジミンによるマクロファージの形態変化と細胞死. 第79回日本細菌学会総会 2006年3月 金沢
- 8) 宮本友司, 向井 徹, 前田百美, 甲斐雅規, 中田 登, 中 嵩, 矢野郁也, 牧野正彦. *Mycobacterium avium* 由来 2 型 Glycopeptidolipid の生合成解析. 第79回日本細菌学会総会 2006年3月 金沢
- 9) 前田百美, 稲垣勝也, 牧野正彦. らい菌由来 MMP-II 抗原を分泌する rBCG の作製とその T 細胞活性化能の解析. 第79回日本細菌学会総会 2006年3月 金沢
- 10) 牧野正彦, 前田百美, 福富康夫, 向井 徹. GM-CSF によるらい菌感染マクロファージの抗原提示能の増強. 第79回日本細菌学会総会 2006年3月 金沢
- 11) 中田 登, 甲斐雅規, 鈴木幸一, 牧野正彦. *Mycobacterium smegmatis* を用いたらい菌遺伝子変異と薬剤感受性に関する解析. 第79回日本細菌学会総会 2006年3月 金沢
- 12) 松岡正典, Rico Ivette Lopez Roa, Gue-Tae Chae, Kyaw Kyaw: らい菌の SNP 型別と地理的分布および疫学への応用. 第79回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006年5月
- 13) 藤村響男、山本英希、狩野真帆、佐藤直哉、増澤真美子、与儀ヤス子、松岡正典、増澤幹男、勝岡憲生: AIDA 法を用いたらい菌 mce1A 領域の組換え発現と active sequence の同定. 第79回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006年5月
- 14) 圓 純一郎、後藤正道、松岡正典、北島信一、浜田博文: らい性神経炎の動物モデルにおける末梢神経病変の定量的解析. 第79回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006年5月

- 15) 甲斐雅規、Nguyen Phuc Nhu Ha、松岡正典、牧野正彦：リアルタイムPCR法を利用した耐性変異の多剤同時検出。第79回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006年5月
- 16) 和泉眞蔵、Teky Budiawan 松岡正典：新しいNested PCR法を用いたらい菌感染の分子疫学。第79回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006年5月
- 17) 鈴木定彦、松岡正典：*M. leprae*の迅速薬剤感受性試験法。第79回日本ハンセン病学会総会、シンポジウム、ハンセン病の予防と診断。高松市、2006年5月
- 18) 儀同政一：Moxifloxacin, garenoxacinの抗らい菌活性、第76回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006年5月
- 19) 向井 徹。迅速・簡易遺伝子診断法の開発。(シンポジウム；ハンセン病の診断と予防：最近の進歩) 第79回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2006年5月 高松
- 20) 福富康夫・前田百美・牧野正彦：クロファジミンによるマクロファージの細胞死と核の形態変化、第79回日本ハンセン病学会総会、高松、2006年5月
- 21) 中田 登、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦。*Mycobacterium smegmatis*を用いたらい菌*folP*遺伝子変異とダブソン感受性に関する解析。第79回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2006年5月 高松
- 22) 牧野正彦。高免疫原性分子の同定と予防法への応用。(シンポジウム；ハンセン病の診断と予防：最近の進歩) 第79回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2006年5月 高松
- 23) 石井則久：らい菌の遺伝子診断法の現状。シンポジウム：ハンセン病の診断と予防：最近の進歩、第79回日本ハンセン病学会総会、高松、2006年5月。
- 24) 石井則久、熊野公子、杉田泰之、並里まさ子、野上玲子、細川 篤、牧野正直：2005年のハンセン病新規患者発生状況。第79回日本ハンセン病学会総会、高松、2006年5月。
- 25) 石井則久：ハンセン病-患者を診たときの対応-。教育講演：ハンセン病、第105回日本皮膚科学会総会、京都、2006年6月。
- 26) 吉澤奈穂、大内健嗣、杉浦 丹、石井則久：らい性結節性紅斑を呈したLL型ハンセン病1例。第105回日本皮膚科学会総会、京都、2006年6月。
- 27) 福富康夫・牧野正彦：らい菌感染ヒトマクロファージの*in vitro*培養。第36回日本免疫学会総会、大阪、2006年12月
- 28) 大谷倫代、永山博敏、鈴木良夫、石井則久：ハンセン病の1例。日本皮膚科学会第811回東京地方会、東京、2007年1月。
- 29) 宮本樹里亜、石橋正史、長坂 武、陳 科榮、石井則久、桜井美佐：BT型ハンセン病の1例。日本皮膚科学会第811回東京地方会、東京、2007年1月。
- 30) 福富康夫・前田百美・牧野正彦：ハンセン病におけるマクロファージのサイトカイン産生調節機構、第80回日本細菌学会総会、大阪、2007年3月
- 31) 前田百美・田村敏生・福富康夫・牧野正彦：らい菌由来リポ蛋白の抗らい菌生体防御反応に及ぼす影響、第80回日本細菌学会総会、大阪、2007年3月
- 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）

ハンセン病の分子疫学・感染源解明の試み

平成18年度 分担研究報告書

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）

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

ハンセン病の分子疫学・感染源解明の試み

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 抜本的な新規の感染防止策構築のために、従来いわれているような家族内多菌型患者のみが感染源であるのかについて、らい菌の遺伝子型別を応用して検証を行なった結果、それ以外の感染源の存在が強く示唆された。他の抗酸菌感染症の例から類推して住民が使用する生活用水が感染源であることを想定し、インドネシア北スラベシ州の高ハンセン病有病率を示す 1 集落の井戸から検体を採取し、PCR によりらい菌の存在を検証し、Real-Time PCR によりその定量を行った。72 検体中 40 検体にらい菌の存在が証明され、流行地における生活用水からの感染が示された。

A. 研究目的

新たな感染を防止するための抜本的な感染防止策構築のためには、感染源を含めたハンセン病の感染様式の解明が必須である。家族内患者間の遺伝子型の比較の結果、あるいは流行地における住民の血清抗体価に関する結果は、これまで言われてきたような、多菌型患者との住居内濃厚接触が感染の機会ではなく、それ以外の感染源の存在と、そこからの感染を示している。これまでに行なった研究の結果、流行地の住民が生活用水として用いる水が感染であることが示されたことから、インドネシアの高ハンセン病有病率を示す集落から得た井戸水について量的解析を行い、感染源としての意義について検討を行った。

B. 研究方法

インドネシア、北スラベシ州に存在する島の 1 集落において日ごろ住民が生活に用いる井戸水を 72 検体採取した。戸数

450 戸、人口 2,020 名、過去 2002 年から 2004 年の間には 10 例、10 例、7 例の新たな感染者が登録されている。

遠心操作により、20ml の井戸水検体を 1ml に濃縮し、塗抹検体を作成した。Ziehl-Neelsen 染色の後に鏡検を行った。さらに遠心を行い、その沈渣を 100ul の Lysis buffer に浮遊し、DNA を調整した。RLEP 配列、16S rDNA の一部を増幅する PCR により、検体中のらい菌遺伝子の有無を判定した。同一材料の 5ul を用いて RLEP 配列の共通配列を標的とした Real-Time PCR を行い、一定量中のらい菌を定量した。検体の採取は、Dr. Teky Budiawan, TB-Leprosy program manager, North Sulawesi Province, Health Service の協力を得て行われた。

C. 研究結果

全 147 検体中 70 検体に抗酸菌が見られた。RLEP 配列による PCR では 85 検体

が陽性を示し、16S rDNA を標的とする PCR では 53 例の陽性結果が得られた。Real-Time PCR では 43 検体がらい菌の存在することを示し、それらは 1 菌体/20ml から 3,620 菌体/20ml のらい菌が生活用水に存在する結果を示した。

PCR 産物のシーケンス結果がデータベースと一致する場合、および RLEP 配列と 16S rDNA の両 PCR に陽性を示したものをらい菌の遺伝子が存在する検体とした場合、40 検体にらい菌が存在すると判定された。

#### D. 考察

世界のハンセン病はいまだに年間約 30 万人の新患登録が見られる。これまでの感染に関する概念から多剤併用療法により感染源となる多菌型患者の治療により、新たな感染が防げると考えられてきた。流行地域では多くの一般住民がらい菌に対する抗体を有し、その陽性率は家族内接触者との間に差が無いこと、また、らい菌の遺伝子型別によって同一住居内の患者間でその異同を比較した結果、同一家族内に複数の患者が存在する場合、患者間で異なる遺伝子型のらい菌を保有するなどの事実から、ハンセン病の感染はこれまでいわれてきたような多菌型患者を感染源とする濃厚接触によって起こるのではなく、住居以外からの感染が強く示唆された。多くの抗酸菌の水における存在と、そこからの感染による抗酸菌感染症の例から、ハンセン病の感染源として日頃住民が生活用水として用いる水を想定し、そこにおけるらい菌遺伝子の検索を行った。インドネシアのハンセン病流行地において、これまでの検討の結果、流行地域の井戸水からは PCR によってら

い菌遺伝子が存在することを明らかにし、らい菌遺伝子が存在する水を水浴、洗濯に使用している住民の感染危険率は、らい菌遺伝子陰性の水を使用する人に比し、3 倍の危険率を示したことを報告してきた。今回はらい菌を定量することにより、どの程度のらい菌が生活用水中に存在するかについて検討した。43 検体において 1/20ml から 3,620 菌体/20ml のらい菌が存在したことから、これらが感染源となっている可能性が示された。

今後これらの生活用水中に存在する菌が感染力を有する菌、即ち生きているのか否かについて検討を加え、またどのように増殖あるいは生存するかを明らかにする必要がある。感染源と目される生活用水中に存在するらい菌とそれを使用する住民および患者から分離されるらい菌の遺伝子型の比較も必要と考える。

#### E. 結論

ハンセン病の流行地においては住民が使用する生活用水中にらい菌が存在し、そこからの感染が強く示唆された。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Matsuoka M., Lopez R., Budiawan T., Kyaw K. and Chae G.-T. Genotypic analysis of *Mycobacterium leprae* isolates from Japan and other Asian countries reveals global transmission pattern of leprosy. FEMS Microbiol. Lett. 261 150-154, 2006.

2) 山崎利雄、儀同政一、松岡正典: 生物発光による抗らい菌活性測定法の開発。日本ハンセン病学会雑誌 75 巻 3 号 227-237 2006.

3) 石井則久、中永和枝、松岡正典、鈴木幸一：らい菌の遺伝子診断の現状。日本ハンセン病学会雑誌 75 巻 3 号 261-264 2006.

4) 鈴木定彦、松岡正典：DNA マイクロアレイを用いた *Mycobacterium leprae* の迅速薬剤感受性試験法。日本ハンセン病学会雑誌 75 巻 3 号 271-277 2006.

## 2. 学会発表

1) Matsuoka M., Suzuki Y., Gelber R., Tan E., Kyaw K., Khin S. A. and Budiawan T.: A simple method for detection drug resistant *Mycobacterium leprae* and its application in developing countries. 42<sup>th</sup> anniversary meeting of US-Japan cooperative medical science program. Kagoshima, July, 2006

2) Mukai T., MacdonardM., Ranjit C., Sapkota B. R., Miyamoto Y., Matsuoka M. and Makino M.: Development of rapid and simple diagnostic tool for leprosy. 42<sup>th</sup> anniversary meeting of US-Japan cooperative medical science program. Kagoshima, July, 2006

3) Fujimura T., Sato M., Yogi Y., Matsuoka M., Masuzawa M. and Katsuoka K.: Epithelial cell entry activity of *Mycobacterium leprae* depends on specific sequence within mceA. 42<sup>th</sup> anniversary meeting of US-Japan cooperative medical science program. Kagoshima, July, 2006

4) 松岡正典、Rico Ivette Lopez Roa、Gue-Tae Chae、Kyaw Kyaw：らい菌の SNP

型別と地理的分布および疫学への応用。第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006 年 5 月

5) 藤村響男、山本芙希、狩野真帆、佐藤直哉、増澤真美子、与儀ヤス子、松岡正典、増澤幹男、勝岡憲生：AIDA 法を用いたらい菌 mce1A 領域の組換え発現と active sequence の同定。第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006 年 5 月

6) 圓 純一郎、後藤正道、松岡正典、北島信一、浜田博文：らい性神経炎の動物モデルにおける末梢神経病変の定量的解析。第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006 年 5 月

7) 甲斐雅規、Nguyen Phuc Nhu Ha、松岡正典、牧野正彦：リアルタイム PCR 法を利用した耐性変異の多剤同時検出。第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006 年 5 月

8) 和泉眞蔵、Teky Budiawan 松岡正典：新しい Nested PCR 法を用いたらい菌感染の分子疫学。第 79 回日本ハンセン病学会総会、高松市、2006 年 5 月

9) 鈴木定彦、松岡正典：*M. leprae* の迅速薬剤感受性試験法。第 79 回日本ハンセン病学会総会、シンポジウム、ハンセン病の予防と診断。高松市、2006 年 5 月

H. 知的財産権の出願・登録状況  
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）

## 啓発普及および難治性ハンセン病治療薬の開発

平成18年度 分担研究報告書

分担研究者 儀同 政一

（国立感染症研究所 ハンセン病研究センター）

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

啓発普及および難治性ハンセン病治療薬の開発

分担研究者 儀同 政一 国立感染症研究所ハンセン病研究センター  
生体防御部第4室長

研究要旨 難治性ハンセン病治療に対処するため新規抗らい菌薬の開発を行った。新規ニューキノロン系抗菌薬 moxifloxacin(MFLX, バイエル薬品)と garenoxacin(GRNX, 富山化学工業)の抗らい菌活性を、Buddemeyer 法とヌードマウス足蹠法を用い、rifampicin(RFP), sparfloxacin(SPFX), gatifloxacin(GFLX), levofloxacin(LVFX)と比較検討した。Buddemeyer 法での抗らい菌活性は、RFP>MFLX>SPFX>GFLX>GRNX, LVFX の順で、MFLX は SPFX を凌ぐ強い抗らい菌活性を示し、GRNX は LVFX と同等の抗らい菌活性を示した。ヌードマウス足蹠法で GRNX は 60 mg/kg でヌードマウス足蹠内のらい菌の増殖を完全抑制し、LVFX に匹敵する抗らい菌活性を示した。OFLX 耐性らい菌 (Zensho-4) に対する新規フルオロキノロン MFLX は、ヌードマウス足蹠内のらい菌を 40 mg/kg で完全抑制を示した。ハンセン病の啓発普及のため 2000 年に作成したハンセン病治療指針の全面改訂を行った。今回の改訂では、薬剤耐性検査、ニューキノロン薬の使用法、治癒判定基準、外科的治療、眼科的ケア、外国人患者の対応、皮膚科医用簡易マニュアルを新たに加えた。

A. 研究目的

1)ハンセン病は、多剤併用療法の普及により有病率は低下したが、世界では今なお約 40 万人の新患発生があるばかりか、耐性菌増加の問題も生じている。さらに PB で 6 ヶ月、MB で 1 年以上の長い治療期間を要する。治療期間の短縮と薬剤耐性に対応するため、rifampicin (RFP)を除くと唯一らい菌に対する殺菌作用を持つ抗菌薬としてニューキノロン系薬はハンセン病の治療薬として重要である。既存ニューキノロン系薬の中で抗らい菌活性の最も強い sparfloxacin (SPFX)は、副作用として光線過敏症がある。8-methoxyquinolone である gatifloxacin(GFLX)は、光線過敏症や非ス

テロイド性消炎剤鎮痛薬との相互作用などの副作用が少なく抗らい菌活性は強いが、高血糖・低血糖発現に課題がある。抗らい菌活性が強く、かつ光線過敏症や薬物相互作用などの副作用の少ない新規ニューキノロン薬の開発が求められている。

Moxifloxacin(MFLX)は、キノロン骨格の 7 位にピロロピリジン基、8 位にメトキシ基を導入することで、強い抗菌力、薬物相互作用と光線過敏症など安全性を重視してドイツ・バイエル社により開発された新規 8-methoxyquinolone である。MFLX は、高要量短期併用療法と単回併用療法についての報告は数編あるが、単剤での同系統薬と抗らい菌活性を比較検討した報告はない。

また garenoxacin(GRNX)は、従来のニューキノロン系薬の抗菌活性に必須とされたキノロン骨格の 6 位にフッ素基が無く、7 位にベンゾピロール基、8 位にジフルオロメトキシ基を導入し、既存ニューキノロン系薬と異なった構造式を有し、MRSA や VRE などの薬剤耐性菌に対し強い抗菌活性を示すが、光線過敏症や薬物相互作用など副作用の少ない新規ニューキノロン系薬として富山化学と大正製薬で開発中の薬剤である。

今回 Buddemeyer 法を用いて MFLX 及び GRNX の抗らい菌活性を SPFX, GFLX, levofloxacin(LVFX)及び RFP と *in vitro* 抗らい菌活性を比較検討した。またヌードマウス足蹠法を用いて MFLX と GRNX の単剤での抗らい菌活性を SPFX と比較検討した。また、Buddemeyer 法とヌードマウス足蹠法で検討した。OFLX 耐性らい菌 (Zensho-4) に対する新規フルオロキノロン系抗菌薬、特に MFLX の抗らい菌活性を検討した。

2) 1996 年にらい予防法が廃止され、これに伴いハンセン病の新規患者は一般医療機関で保険診療が行われることになった。この「ハンセン病治療指針」は、ハンセン病の新患を初めて経験する臨床医にとって、役に立つ指針になることを目的として作成した。今回の改訂では、薬剤耐性検査、ニューキノロン薬の使用法、治癒判定基準、外科的治療、眼科的ケア、外国人患者の対応、皮膚科医用簡易マニュアルを新たに加えた。

## B. 研究方法

1) らい菌(Thai-53 株), (Zensho-4 株): ヌードマウス(BALB/c)足蹠より集菌・精製し、Shepard 法により菌数計算後所定の濃度に

希釈し実験に用いた。

2) 抗菌薬: moxifloxacin(MFLX, バイエル薬品)、garenoxacin(GRNX, 富山化学工業)、sitafloxacin (STFX, 第一三共製薬)、sparfloxacin (SPFX, 大日本住友製薬)、gatifloxacin (GFLX, 杏林製薬)、levofloxacin (LVFX, 第一三共製薬)、ofloxacin (OFLX, 第一三共製薬)、WQ-3402 (湧永製薬)は、各製薬会社から原末の提供を受けた。rifampicin (RFP, 和光純薬)は、市販品を用いた。

3) Buddemeyer 法: 4-ml のガラスバイアル中に 7H12 培地、らい菌( $2 \times 10^7$ )、抗菌薬 (最終濃度: 32, 8, 2.0, 0.5, 0.125  $\mu\text{g/ml}$ ) を加えよく混合する。このガラスバイアルのキャップを緩く締め、32°C の炭酸ガス培養器で 4 日間培養後、 $^{14}\text{C}$ -パルミチン酸(1  $\mu\text{Ci}$ )を加え混合後、再びキャップを緩く締めたガラスバイアルを、NaOH-シンチレータで処理済みろ紙片を入れたプラスチックバイアルに入れキャップを強く締める。さらに 32°C の培養器で 7 日間培養を継続し、発生した  $^{14}\text{CO}_2$  量を液体シンチレーションカウンターで測定し、各抗菌薬の抗らい菌活性を求めた。

MFLX と GRNX の抗らい菌活性を SPFX, GFLX, LVFX, STFX, RFP と比較検討した。

OFLX 耐性らい菌(Zensho-4)に対する新規ニューキノロン系薬の抗らい菌活性を WQ-3402, STFX, MFLX, SPFX, GFLX, LVFX, OFLX と比較検討した。

## 4) ヌードマウス足蹠法

ヌードマウス (BALB/c, 5 週令・雌) の両後肢足蹠に  $10^7$  のらい菌を接種した。菌接種後 60-150 日の 91 日間、ステンスカ

テールで各薬剤を週 5 日毎日経口投与した。菌接種後 8 ヶ月から 11 ヶ月まで毎月、ヌードマウス足蹠内のらい菌数を計測し各薬剤の抗らい菌活性を求めた。

- a. GRNX(40,50,60,70mg/kg)の抗らい菌活性を SPFX(10mg/kg)と比較検討した。
- b. OFLX 耐性らい菌(Zensho-4)に対する MFLX(10,20,30,40mg/kg)の抗らい菌活性を OFLX(150mg/kg)と比較検討した。

(倫理面での配慮)

使用マウスは、頸骨脱臼により安楽致死させてから所定の実験に用いた。

5) ハンセン病治療指針は、日本ハンセン病学会の委員により構成され、2005 年 5 月から会議および電子メールによる審議を行い、日本ハンセン病学会のホームページに案を公開して意見を求め、本治療指針を作成した。

## C. 研究成果

### 1) GRNX の抗らい菌活性

Buddemeyer 法で LVFX に匹敵する抗らい菌活性を認めた。結果を図 3 に示す。ヌードマウス足蹠法では、60 mg/kg で完全抑制を示した。結果を図 1, 図 2 に示す。

2) OFLX 耐性らい菌(Zensho-4)に対する新規ニューキノロンの抗らい菌活性 Buddemeyer 法で OFLX 耐性らい菌(Zensho-4)に対する新規ニューキノロン系薬の抗らい菌活性は、WQ-3402 > STFX, MFLX > SPFX > GFLX > LVFX > OFLX の順で WQ-3402 が最も強く STFX, MFLX に強い抗菌活性を認めた。ヌードマウス足蹠法で OFLX 耐性らい菌に対し、OFLX は 150mg/kg でも不完全抑制であったが MFLX は 40mg/kg で完全抑制を示した。結

果を図 3、図 4 に示す。

3) 少菌型(PB)は、WHO の多剤併用療法(MDT)通りに 6 ヶ月間の WHO/MDT/PB を採用し、多菌型(MB)は、(a)MB で治療前に菌指数 BI(+3)以上の場合、原則として WHO/MDT/MB を 2 年間継続する。経過中の皮疹の吸収が良好で 2 年間終了時点で菌陰性であれば、維持療法なしで 1 年間の経過観察をする。2 年間終了時点で菌陽性ならば、あと 1 年間 WHO/MDT/MB を行い、その後は菌陰性で活動性病変がなくなるまで、DDS+B663 などの 2 薬以上の組み合わせで維持療法を行う。皮疹の吸収が遅ければ耐性菌の可能性を検討する。(b) MB で治療前に BI(+3)未満あるいは発症後極めて早期(6 ヶ月以内)で、BI(+3)以上の場合には、原則として WHO/MDT/MB を 1 年間行う。治療開始後 1 年以内に菌陰性化して活動的臨床所見がなければ、維持療法なしで経過観察とする。菌陽性あるいは活動性臨床所見があれば、WHO/MDT/MB をあと 1 年間行う。結果を図 5 に示す。

## D. 考察

1)ハンセン病は、PB で 6 ヶ月、MB で 1 年に及ぶ長い治療期間のため DDS と RFP 耐性が増加しつつある。また抗らい菌活性の弱い ofloxacin の単剤または低用量長期投与によるキノロン耐性も増加しつつある。治療期間の短縮と薬剤耐性に対応するため臨床から新規抗らい菌薬の開発が求められている。しかし、抗らい菌活性を示す抗菌薬は、DDS, B663, RFP とニューキノロン系では SPFX, GFLX, LVFX, OFLX など、マクロライド系では clarithromycin、テトラサイクリン系では minocycline に限られている。特にらい菌に対し殺菌作用を示し、RFP に匹敵する強い抗らい菌活性を持つニ