

- 岡正典、向井 徹:ハンセン病濃厚流行地健康住民血中からのらい菌の検出。第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜市、2007 年 5 月
- 51) Sitti Nur Rahmah、佐藤直哉、藤村馨男、与儀ヤス子、松岡正典、増澤幹男、藤岡憲生:各種培養ヒト気道上皮細胞に対するらい菌 mce1A 領域と結核菌 mce1A 領域との侵入活性の異同。第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜市、2007 年 5 月
- 52) 儀同政一: Moxifloxacin, garenoxacin の抗らい菌活性、第 80 回日本ハンセン病学会総会、2007、横浜
- 53) 儀同政一: 新規ニューキノロン系抗菌薬の構造式と抗らい菌活性の相関、第 55 回日本化学療法学会総会 2007、仙台
- 54) 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
- 55) 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 2007 年 3 月、大阪
- 56) 福富康夫、前田百美、牧野正彦: クロファジンによるマクロファージの細胞死と caspase 活性化、第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月
- 57) 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 2007 年 3 月 大阪
- 58) 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 2007 年 3 月 大阪
- 59) 宮本友司、向井 徹、前田百美、甲斐雅規、中田 登、中 崇、矢野郁也、牧野正彦: 抗酸菌糖脂質生合成における fucose 転移酵素遺伝子の解析、第 80 回日本細菌学会総会 2007 年 3 月 大阪
- 60) 福富康夫、前田百美、牧野正彦: クロファジンによるマクロファージの細胞死と caspase 活性化、第 80 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2007 年 5 月 横浜
- 61) 甲斐雅規、倉繁昌浩、松原久美子、中田 登、牧野正彦: 変異検出におけるダイレクトシーケンスとクローン化シーケンスの相違、第 80 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2007 年 5 月 横浜
- 62) 向井 徹、和泉真蔵、宮本友司、Cita Rosita、Indropo Agusni、松岡正典、牧野正彦: LAMP 法によるらい菌遺伝子検出の応用、第 80 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2007 年 5 月 横浜
- 63) 下袴田陽子、田村敏生、牧野正彦、高津聖志: 結核菌分泌蛋白による Th1 分化誘導機構の解析: TCR による抗原認識の役割、第 90 回日本細菌学会関東支部総会 2007 年 10 月 東京
- 64) 宮本友司、向井 徹、前田百美、甲斐雅規、中田 登、中 崇、矢野郁也、牧野正彦: *Mycobacterium avium* complex における fucose 含有糖脂質抗原の生合成解析、第 90 回日本細菌学会関東支部総会 2007 年 10 月 東京
- 65) 福富康夫、牧野正彦: ヒトマクロファージにおける抗らい菌活性誘導、第 37 回日本免疫学会総会 2007 年 12 月 東京
- 66) 寺尾 恵治: カニクイザルのらい菌持続感染モデル開発の試み、第 23 回日本霊長類学会大会、7 月 14 日-16 日、2007 年、彦根市
- 67) 石井則久: ハンセン病の現況、第 106 回日本皮膚科学会総会教育講演「ハンセン病: 基礎から臨床まで」、横浜、2007 年 4 月。
- 68) 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: 2006 年のハンセン病新規患者発生状況、第 80 回日本ハンセン病学会総会、横浜、2007 年 5 月。
- 69) 谷川和也、川島 晃、Huhehasi Wu、三島眞代、武下文彦、鈴木幸一、石井則久: らい菌感染マクロファージ内における菌の寄生と排除に

- 関わる分子機構の相互作用. 第 80 回日本ハンセン病学会総会, 横浜, 2007 年 5 月.
- 70) 谷川和也, 赤間 剛, 川島 晃, Huhehasi Wu, 三島眞代, 石井則久, 高橋伸一郎, 生山祥一郎, 鈴木幸一: らい菌感染マクロファージにおける細胞内脂質蓄積分子機構に関する研究. 第 48 回日本組織細胞化学会総会, 第 39 回日本臨床分子形態学会総会合同学術集会, 甲府, 2007 年 9 月.
- 71) 北村真人, 藤井紀和, 吉田末征, 藤本徳毅, 植西敏浩, 田中俊宏, 石井則久: DIC を合併し, らい菌反応の関与が疑われたハンセン病の一例. 第 58 回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 京都, 2007 年 10 月.
- 72) 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.
- 73) 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
- 74) 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
- 75) 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
- 76) 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.
- 77) 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.
- 78) 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
- 79) 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
- 80) 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.
- 81) 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.
- 82) 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
- 83) 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.
- 84) 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.
- 85) 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

- 86) 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
- 87) 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
- 88) 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
- 89) 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
- 90) 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
- 91) 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
- 92) 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
- 93) 福富康夫、前田百美、牧野正彦: クロファジ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
- 94) 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
- 95) 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
- 96) 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。
- 97) 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。
- 98) 福富康夫、前田百美、牧野正彦: クロファジ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
- 99) 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
- 100) 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
- 101) 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
- 102) 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

#### 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

## Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
石井則久 鈴木幸一	ハンセン病	川田 暁 編	よくわかる病態生理9皮膚疾患	日本医事新報社	東京	2008	187-190
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		2006	in press
石井則久	ハンセン病	山口 徹、 北原光夫、 福井次矢 総編集	ハンセン病、今日の治療指針2006	医学書院	東京	2006	868-869
石井則久	ハンセン病	片山一朗、 土田哲也、 橋本 隆、 古江増隆、 渡辺晋一 編	ハンセン病、皮膚科学	文光堂	東京	2006	708-713
石井則久	ハンセン病アトラス	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	金原出版	東京	2006	1-70

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Y. Fukutomi, Y. Maeda, M. Matsuoka, M. Makino.	Temperature dependency for survival of <i>Mycobacterium leprae</i> in macrophages.	Jpn. J. leprosy	78	7-16	2009
Matsuoka M.	Recent advances in the molecular epidemiology of leprosy.	Jpn. J. leprosy	78	67-73	2009
Y. Miyamoto, T. Mukai, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano, M. Makino.	<i>Mycobacterium avium</i> complex <i>gtfTB</i> gene encodes glucosyltransferase required for the biosynthesis of serovar 8-specific glycopeptidolipid.	J. Bacteriol.	in press		2009

M. Makino, Y. Maeda, M. Kai, T. Tamura, T. Mukai.	GM-CSF mediated T cell activation by macrophages infected with recombinant BCG that secretes major membrane protein-II of <i>Mycobacterium leprae</i> .	FEMS Immunol. Med. Microbiol.	in press		2009
Terao K.,	Dynamic changes in early development of immune system in macaque monkeys –The significance from standpoint of the preclinical toxicity test using nonhuman primates.	J. Toxicol. Sci.	in press		2009
Matsuoka M. Khin S. A. Kyaw K. Tan E. V. Balagon M. V. Saunderson P. Gelber R. Makino M. Nakajima C. Suzuki Y.	A novel method for simple detection of mutations conferring drug resistance in <i>Mycobacterium leprae</i> , based on a DNA microarray, and its applicability in developing countries.	J. Med. Microbiol.	57	1213-1219	2008
M. Kai, N. P. N. Ha, H. T. T. Huong, N. H. An, Y. Fukutomi, Y. Maeda, Y. Miyamoto, T. Mukai, T. Fujiwara, N. T. Tan, M. Makino.	Serological diagnosis of leprosy in patients in Vietnamese by enzyme-linked immunosorbent assay with <i>Mycobacterium leprae</i> -derived major membrane protein-II.	Clin. Vaccine Immunol.	15	1755-1759	2008
T. Mukai, Y. Maeda, T. Tamura, Y. Miyamoto, M. Makino.	CD4 <sup>+</sup> T cell activation by antigen-presenting cells infected with urease-deficient recombinant <i>Mycobacterium bovis</i> bacillus Calmette-Guérin.	FEMS Immunol. Med. Microbiol.	53	96-106	2008
N. Fujiwara, N. Nakata, T. Naka, I. Yano, M. Doe, D. Chatterjee, M. McNeil, P. J. Brennan, K. Kobayashi, M. Makino, S. Matsumoto, H. Ogura, S. Maeda.	Structural analysis and biosynthesis gene cluster of an antigenic glycopeptidolipid from <i>Mycobacterium intracellulare</i> .	J. Bacteriol.	190	3613-3621	2008

Bang PD, Suzuki K., <u>Ishii N.</u> , Khang TH.	Leprosy situation in Vietnam-reduced burden of stigma.	Jpn. J. Leprosy	77	29-36	2008
Tanigawa K., Suzuki K., Nakamura K., Akama T., Kawashima A., Wu H., Hayashi M., Takahashi S., Ikuyama S., Ito T., <u>Ishii N.</u>	Expression of adipose differentiation-related protein(ADRP) and perilipin in macrophages infected with <i>Mycobacterium leprae</i> .	FEMS Microbiol. Lett.	289	72-79	2008
<u>儀同政一</u>	ニューキノロン系抗菌薬の構造式と抗らい菌活性の相関	日本ハンセン病学会雑誌	78	17-23	2009
鈴木幸一、 永岡 譲、 森 修一、 <u>石井則久</u>	2007年における世界のハンセン病の現況について	日本ハンセン病学会雑誌	77	15-23	2008
谷川和也、 鈴木幸一、 川島 晃、 三島眞代、 Huhehasi Wu、 赤間 剛、 武下文彦、 <u>石井則久</u>	らい菌感染マクロファージにおける細胞内寄生と排除に関わる分子機構	日本ハンセン病学会雑誌	77	57-61	2008
<u>石井則久</u> 、 関根万里、 渡辺朋美、 朝比奈昭彦	輸入皮膚感染症	臨床皮膚科	62 (増刊号)	22-26	2008
<u>石井則久</u>	ハンセン病の最近の話題	皮膚の科学	7	416-420	2008
<u>M. Matsuoka</u> , T. Budiawan, K. S. Aye, K. Kyaw, E. Virtudes Tan, E. dela Cruz, R. Gelber, P. Saunderson, V. Balagon, V. Pannikar.	The frequency of drug resistance mutations in <i>Mycobacterium leprae</i> isolates in untreated and relapsed leprosy patients from Myanmar, Indonesia and the Philippines.	Lepr. Rev.	78	343-352	2007
<u>M. Makino</u> , <u>Y. Maeda</u> , <u>Y. Fukutomi</u> , <u>T. Mukai</u> .	Contribution of GM-CSF on the enhancement of the T cell-stimulating activity of macrophages.	Microbes Infect.	9	70-77	2007

Y. Maeda, T. Mukai, M. Kai, Y. Fukutomi, H. Nomaguchi, C. Abe, K. Kobayashi, S. Kitada, R. Maekura, I. Yano, N. Ishii, T. Mori, M. Makino.	Evaluation of major membrane protein-II as a tool for serodiagnosis of leprosy.	FEMS Microbiol. Lettr.	272	202-205	2007
M. Kai, Y. Fujita, Y. Maeda, N. Nakata, S. Izumi, I. Yano, M. Makino.	Identification of trehalose dimycolate (cord factor) in <i>Mycobacterium leprae</i> .	FEBS Lett.	581	3345-3350	2007
Y. Miyamoto, T. Mukai, Y. Maeda, N. Nakata, M. Kai, T. Naka, I. Yano, M. Makino.	Characterization of the fucosylation pathway in the biosynthesis of glycopeptidolipids from <i>Mycobacterium avium</i> complex.	J. Bacteriol.	189 (15)	5515-5522	2007
M. S. Duthie, W. Goto, G. C. Ireton, S. T. Reece, L. P. V. Cardoso, C. M. T. Martelli, M. M. A. Stefani, M. Nakatani, R. C. de Jesus, E. M. Netto, M. V. F. Balagon, E. Tan, R. H. Gelber, Y. Maeda, M. Makino, D. Hoft, S. G. Reed.	Use of Protein Antigens for early serological diagnosis of leprosy.	Clin. Vaccine Immunol.	14	1400-1408	2007
T. Kawakami, Y. Tsutsumi, M. Mizoguchi, N. Ishii, Y. Soma.	Leprosy with hepatic Involvement.	International Journal of Dermatology	46	348-349	2007
石井則久、 永岡 譲、 森 修一、 鈴木幸一	2006年における世界のハンセン病の現況について	日本ハンセン病学会雑誌	76	19-28	
森 修一、 石井則久	ハンセン病と医学 II. 絶対隔離政策の進展と確立	日本ハンセン病学会雑誌	76	29-65	2007
石井則久、 小坂真紀、 永岡 譲	ハンセン病の診断・治療 - 最近のトピックス	MB Derma	127	59-65	2007



石井則久、 鈴木幸一、 竹崎伸一郎、 永岡 譲	皮膚スミア検査のアンケート調査結果	日本ハンセン病学会雑誌	76	227-232	2007
石井則久、 永岡 譲	Hansen 病	診断と治療	95	1591-1596	2007
石井則久	ハンセン病	Visual Dermatology	6	1188-1189	2007
永岡 譲、 石井則久	ハンセン病	Visual Dermatology	6	1266-1271	2007
石井則久	ハンセン病の現況	日本皮膚科学会雑誌	117	2226-2227	2007
M. Hara, T. Kikuchi, T. Sata, N. Nakajima, Y. Ami, Y. Sato, K. Tanaka, T. Narita, F. Ono, H. Akari, K. Terao, R. Mukai.	Detection of SRV/D shedding in body fluids of cynomolgus macaques and comparison of partial gp70 sequences in SRV/D-T isolates.	Virus Genes	in press		2007
M. Matsuoka, R. Lopez, T. Budiawan, K. Kyaw, G.-T. Chae.	Genotypic analysis of <i>Mycobacterium leprae</i> isolates from Japan and other Asian countries reveals global transmission pattern of leprosy.	FEMS Microbiol. Lett.	261	150-154	2006
Y. Miyamoto, T. Mukai, N. Nakata, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano, M. Makino.	Identification and characterization of the genes involved in glycosylation pathways of mycobacterial glycopeptidolipids biosynthesis.	J. Bacteriol	188	86-95	2006
M. Makino, Y. Maeda, T. Mukai, S.H.E. Kaufmann.	Impaired maturation and function of dendritic cells by mycobacteria through IL-1 $\beta$ .	Eur. J. Immunol	36	1443-1452	2006
Y. Maeda	Diagnosis of leprosy-serological aspects	Jap Journal of Lep	75	285-289	2006

T. Mukai, Y. Miyamoto, T. Yamazaki, M. Makino.	Identification of <i>Mycobacterium</i> species by comparative analysis of the <i>dnaA</i> gene.	FEMS Microbiol. Lettr.	254	232-239	2006
K. Suzuki, N. Nakata, P. D.Bang, N. Ishii, M. Makino.	High-level expression of pseudogenes in <i>Mycobacterium leprae</i> .	FEMS Microbiol. Lettr.	259	208-214	2006
M. Makino, Y. Maeda, K. Inagaki.	Immunostimulatory activity of Recombinant <i>Mycobacterium bovis</i> BCG that secretes Major Membrane Protein II of <i>Mycobacterium leprae</i> .	Infect. Immunity	74	6264- 6271	2006
T. Kikuchi, M. Hara, K. Terao.	Development of microsatellite marker set applicable to genome-wide screening in cynomolgus monkeys ( <i>Macaca fascicularis</i> )	Primates	in press		2006
儀同政一	Moxifloxacin と garenoxacin の抗らい菌	日本ハンセン病 学会雑誌	76	11-17	2007
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
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 I	日本ハンセン病 学会雑誌	75	3-22	2006
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 学会雑誌	75	23-39	2006
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 学会雑誌	75	41-49	2006
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
石井則久	ハンセン病と皮膚科医	皮膚科の臨床	48	727-728	2006
石井則久	ハンセン病の現状	MB Derma	114	39-45	2006
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

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雑誌	75	191-226	2006
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雑誌	75	239-248	2006
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	261-264	2006
鈴木幸一、 石井則久	抗酸菌検査	皮膚科の臨床	48	1371-1375	2006
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
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	227-237	2006
鈴木定彦、 松岡正典	DNA マイクロアレイを用いた <i>Mycobacterium leprae</i> の迅速薬剤感受性試験法	日本ハンセン病学会雑誌	75	271-277	2006

### Ⅲ. 研究成果の刊行物・別刷

## 10 皮膚感染症

## ハンセン病

(石井則久・鈴木幸一)

- ハンセン病はらい菌による、皮膚と末梢神経を主な病変の場とする慢性感染症である。
- 有効な治療薬の無かった時代には顔面・手足などの変形が起こり、法律なども制定され、偏見・差別の対象になった。

## らい菌と免疫

ハンセン病 (Hansen's disease, leprosy) の原因菌であるらい菌 (*Mycobacterium leprae*) は、1873年に菌が発見されて以来現在に至るまで人工培養に成功していないが、全遺伝子塩基配列は2001年に解読された。らい菌の増殖は遅く(約12日で二分裂する)、至適発育温度は31℃前後で、主にマクロファージ内寄生菌である。また、らい菌と末梢神経のシュワン細胞との親和性が高いため、末梢神経障害が起こる。

らい菌を排除する免疫能は比較的強いと考えられ、らい菌は容易に排除されるが、免疫能が完全でない小児期に大量・頻回にらい菌を吸入すると、数年から10年以上の潜伏期間の後に発症する。発症に影響を与える因子としては、個々人のらい菌に対する特異的な細胞性免疫能のほか、公衆衛生の程度、経済状態、栄養状態などの環境・社会的因子が論じられている。また、感受性遺伝子の存在も議論されている。

生体のらい菌に対する免疫能の程度によって、らい菌がほとんどいない病型(少菌型、TT型など)と、らい菌が大量に存在する病型(多菌型、LL型など)に分類される(図10-22、表10-2)。

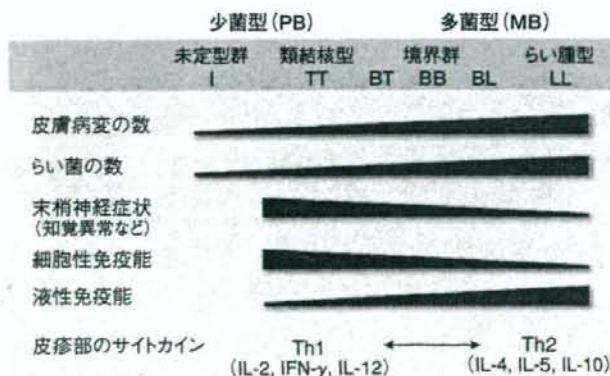


図10-22 ハンセン病の病型と宿主の免疫反応

表10-2 ハンセン病の病型分類

菌数による分類 (WHO分類)	少菌型 (paucibacillary ; PB)	多菌型 (multibacillary ; MB)
免疫学的分類 (Ridley-Jopling分類)	(I) TT	<div style="text-align: center;">           B            /  \            BT  BB  BL            LL         </div>
細胞性免疫能	良好	低下/なし
局所の免疫	Th1, IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-12	Th2, CD8 T細胞, IL-4, IL-5, IL-10
皮膚スミア検査	陰性	陽性
らい菌	少数/発見しがたい	多数
皮疹の数	少数	多数
皮疹の分布	左右非対称性	左右対称性
皮疹の性状	紅斑(環状斑), 境界明瞭	紅斑(環状斑), 丘疹, 結節
皮疹の表面	乾燥性, 無毛	光沢, 平滑
皮疹部の知覚異常	高度(触覚, 痛覚, 温度覚)	軽度/正常
病理所見	類上皮細胞性肉芽腫 巨細胞, 神経への細胞浸潤	組織球性肉芽腫 組織球の泡沫状変化
病理でのらい菌	陰性	陽性
主たる診断根拠	皮疹部の知覚異常	皮膚スミア検査などでらい菌の証明
感染性	なし	感染源になる

### ハンセン病の疫学

日本人の新規患者は毎年数人程度で、高齢者がほとんどである。一方、在日外国人の新規患者は毎年8人程度であるが、現在世界的にはWHOのハンセン病制圧運動が展開され、新規患者は毎年27万人を下回り、後遺症対策や人権問題、スティグマ対策が課題となってきている。

### 社会・医学とハンセン病

ハンセン病に対する有効な治療薬がなかった時代には、病状が進み、顔面、手足に皮疹および末梢神経麻痺(痛覚障害、度重なる外傷・火傷、変形、運動障害)などを形成した。そのため外見上の問題と手足の不自由による就労の困難、住民から疎外、さらに宗教からも差別され、世界的に偏見・差別の対象となった。日本においては明治時代になって救済から隔離に進み、「癩予防ニ関スル件」、「癩予防法」、さらにハンセン病に有効な治療薬が開発されていた1953年には「らい予防法」が制定された。医学的進歩とかけ離れ、人権を無視したこの法律は1996年まで存続した。医療関係者はその間患者の人権にはほとんど関心を示さず、医学の進歩の追求を優先してきた。今後、病気に関連する法律や社会的状況などにも常に眼を開いてい

ることが必要である。

ハンセン病の同義語として「らい」、「癩」などが用いられてきたが、現在は偏見・差別を助長するものとして使わない。

## 診 断

出生地(国)、小児期の生活歴、家族歴などの問診、自覚症のない皮疹や知覚異常による外傷や火傷、さらに神経肥厚などからハンセン病を鑑別にいれる。診療や検査、入院などに際しては通常の感染予防の対応で十分である。

ハンセン病に特徴的な皮疹はないが、皮疹にはほぼ一致して知覚(触覚、痛覚、温度覚)の鈍麻や麻痺を認めることが診断上有用である。また、末梢神経の肥厚や運動障害にも注意が必要である。らい菌に対し免疫能が高いTT型(図10-23)、全く反応しないLL型(図10-24)、それらの中間のB群(BT型、BB型、BL型)に病型分類される(Ridley-Jopling分類)。TT型などは検査でらい菌を検出しにくいので少菌型(paucibacillary; PB)、LL型



図10-24 多菌型ハンセン病(MB, LL型)  
らい菌がマクロファージ内で増殖し、組織球性肉芽腫を形成するため、皮膚は光沢を帯びた紅斑や結節、神経は軽度の障害を認める。

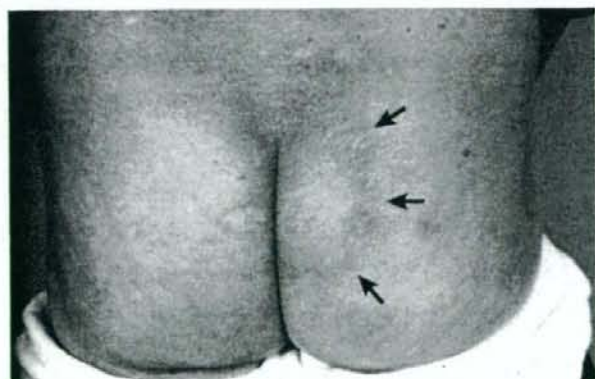


図10-23 少菌型ハンセン病(PB, TT型)

らい菌に対して免疫機能が働いている。らい菌浸潤を局所で防御して炎症を起こしているため、皮膚および末梢神経に症状(皮疹、知覚異常)が出現する。

などはらい菌を検出できるので多菌型 (multibacillary ; MB) とも分類される。このPBとMBの分類は治療法の選択にも応用され、WHO分類として知られている。

TT型では1ないし少数個の皮疹で、乾燥性で、辺縁やや隆起した境界明瞭な紅斑やときに環状斑として認められることが多い。皮疹部ではらい菌を排除するために類上皮細胞肉芽腫性炎症を起こし、知覚障害、発汗障害などを認める。LL型では皮疹は左右対称性で、多数の紅斑、黄褐色～淡紅色の丘疹ないし結節、板状の結節や硬結などが全身に出現する。組織球性肉芽腫の病像で、らい菌を排除しようとする炎症症状に乏しく、神経の障害は徐々に生じる。B群はTT型とLL型の中間の病像を示す。

治療中、あるいは治療前後にらい菌の菌体成分に対する免疫反応が活性化し、急速な末梢神経の障害 (疼痛、運動障害など) や皮疹の再燃や新生、発熱などが起こることがあるが、これをらい反応と呼んでいる。

らい菌検出は、①皮膚スミア検査、②病理組織特殊染色 (Fite染色)、③PCR検査で行う。

皮疹 (自覚症なし)、神経 (知覚障害、肥厚、運動障害)、らい菌検出、病理組織検査の4項目を総合して診断する。

## 治療

治療の基本は、神経症状 (神経炎、らい反応、後遺症など) を起こさず、らい菌を生体から排除することである。WHOの推奨する多剤併用療法を基本に行う。リファンピシン、ジアフェニルスルホン (DDS)、クロファジミンの3種類の抗菌薬を内服する。耐性菌の出現防止のため確実に内服することを指導する。らい反応や神経炎に対しては迅速にステロイド内服を行う。



## Temperature dependency for survival of *Mycobacterium leprae* in macrophages

Yasuo FUKUTOMI\*, Yumi MAEDA, Masanori MATSUOKA,  
and Masahiko MAKINO

Department of Microbiology, Leprosy Research Center, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan

[Received: 4 Aug. 2008 / Accepted: 15 Oct. 2008]

Key words : human, macrophage, mouse, *Mycobacterium leprae*, survival

Hansen's disease is caused by an infection with an intracellular pathogen, *Mycobacterium leprae*, which mainly inhabits macrophages and Schwann cells. However, little is known about the survival or growth mechanisms of the bacilli in mouse and human macrophages. In the present study, by using radiorespirometry analysis for the evaluation of the viability of *M.leprae*, we observed that *in vitro* incubation of *M.leprae*-infected macrophages at 35°C was more growth permissive than at 37°C, and supplementation with the immunosuppressive cytokine IL-10 supported the survival of the bacilli in the macrophages for 3 weeks, whereas viability of the bacilli was gradually lost if cultured without IL-10. In human macrophages, *M.leprae* retained its viability when cultured at 35°C for at least 4 weeks without IL-10. However, the viability of *M.leprae* was almost lost within 2 weeks if cultured at 37°C. These data suggest that temperature is a crucial factor for the survival of *M.leprae* in host cells.

### Introduction

Hansen's disease is caused by an infection with *Mycobacterium leprae*. *M.leprae* is an intracellular pathogen, mainly residing in macrophages and Schwann cells. In patients,

*M.leprae* is predominantly observed in the skin, nasal mucosa and peripheral nerves, particularly the more superficial ones. This clinical observation suggests that the optimal temperature of *M.leprae* for survival in human cells is less than 37°C<sup>1)</sup>. In animal models, *M.leprae* multiplies in the mouse footpad where the temperature is lower than the core temperature, and the optimal temperature for the growth of *M.leprae* is reported to be in the range of several degrees above and below 30°C<sup>2)</sup>.

From another aspect, the growth of *M.leprae* seems to be largely affected by the host immune

\*Corresponding author :  
Department of Microbiology, Leprosy Research Center,  
National Institute of Infectious Diseases  
4-2-1, Aoba-cho, Higashimurayama-shi, Tokyo 189-0002, Japan  
TEL : 81-42-391-8211 FAX: 81-42-394-9092  
E-mail : fukutomi@nih.go.jp

response. Hansen's disease is characterized by a broad spectrum of the host immune response, such as lepromatous type (towards the increased load of bacteria) and tuberculoid type (towards the decreased bacterial load). In lepromatous type leprosy, Th-2 cytokines (IL-4, IL-5 and IL-10) are predominantly expressed in local lesions. In contrast, in tuberculoid type, Th-1 cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-2) are predominantly expressed<sup>3)</sup>. Among cytokines, IFN- $\gamma$  has been demonstrated to play a central role in activating macrophages to kill intracellular pathogens including *M.leprae*, whereas IL-10 is reported to inhibit the microbicidal activity of macrophages, resulting in the survival of the intracellular pathogen<sup>4)</sup>. However, little is known about the survival and growth mechanisms of *M.leprae* in human macrophages since the viability of these uncultivable bacilli cannot be easily measured by in vitro study.

Previously we reported that metabolically active *M.leprae* were maintained in monolayer cultures of mouse peritoneal macrophages and supplemental IL-10 bolstered *M.leprae* metabolism in the macrophages for as long as 8 weeks. In the cell culture system temperature is extremely important and 31-33°C incubation temperature is more growth permissive than 37°C<sup>5)</sup>. In the present study, we observed that incubation of mouse macrophages at 35°C was also more permissive than at 37°C and supplemental IL-10, but not TGF- $\beta$ , supported the metabolic activity of *M.leprae* in the macrophages for several weeks. Moreover, *M.leprae* from infected human macrophages cultured in vitro sustained metabolic activity for at least 4 weeks if cultured at 35°C but not at 37°C. Collectively, these data demonstrate that temperature is one of the crucial factors for *M.leprae* survival in human host cells.

## Materials and Methods

***M.leprae* inoculum:** The Thai-53 strain of *M.leprae*<sup>6)</sup> was maintained in continuous passage in athymic *nu/nu* mice (Clea Co, Tokyo, Japan) by inoculation of bacilli into both hind foot pads. Experiments with mice were performed in compliance with the guidelines of the Experimental Animal Committee of the National Institute of Infectious Diseases. At approximately one year post inoculation, the foot pads were processed to recover *M.leprae* by Nakamura's method with a slight modification<sup>7)</sup>. Briefly, tissue was minced and homogenized with Hanks' balanced salt solution (HBSS) containing 0.05% Tween 80. The homogenate was centrifuged at 150 $\times$ g for 10 min and supernatant of the sample homogenate was treated with 0.05% trypsin at 37°C for 60min. The suspension was centrifuged at 4,000 $\times$ g for 20min and sediment was re-suspended in HBSS followed by treatment with 1% sodium hydroxide at 37°C for 15min. The treated material was washed and re-suspended in HBSS at the desired bacillary concentration. Bacillary number in each foot pad was enumerated individually according to standard techniques<sup>8)</sup>.

**Cytokines:** Murine recombinant IL-10 was obtained from Genzyme Corp. TGF- $\beta$  was obtained from Kurashiki Bouseki (Kurashiki, Japan). Both cytokines were stored at -80°C until use.

**Mouse macrophage culture:** Mouse peritoneal resident cells (approximately 50% macrophages) were harvested from retired ICR mice and suspended as previously described<sup>9)</sup> at a concentration of 2 $\times$ 10<sup>6</sup>/ml in RPMI 1640 (Gibco BRL, Invitrogen Corp., Carlsbad, CA) supplemented with 15% fetal bovine serum (FBS, HyClone Laboratories, Logan UT), 25 mM N-2-

hydroxyethylpiperazine -N'- 2-ethanesulfonic acid (HEPES), 2 mM glutamine and 100 µg/ml ampicillin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). One half ml was seeded into 24 well tissue culture plates (Corning) containing 13 mm LUX coverslips (Nunc Thermanox coverslips, NalgeNunc, Thermo Scientific, Rochester, NY). After 20 hr adherence of the cells, macrophage monolayers were obtained after washing non-adherent cells from the coverslip with Hanks Balanced Salt Solution (HBSS, Sigma) leaving approximately  $1 \times 10^6$  macrophages adhered per coverslip.

**Human macrophage culture:** Human peripheral blood was obtained under informed consent from healthy individuals. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated using Ficoll-Paque Plus (GE Healthcare Life Sciences, Buckinghamshire, HP7 9NA, UK) gradient centrifugation<sup>10</sup>. The cells were suspended in AIM-V medium (Gibco BRL, Invitrogen Corp., Carlsbad, CA) and  $1 \times 10^6$  PBMC were cultured in a well of a 24-well tissue culture plate (Falcon, Becton Dickinson Labware, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes) containing 13 mm LUX coverslips at 37°C in a 5%-CO<sub>2</sub> incubator for adherence of monocytes. After 1 hr incubation, the coverslips were washed with HBSS to remove non-adherent cells. The monocytes on the coverslips were cultured in a new 24-well plate containing RPMI1640 medium (Sigma) supplemented with 20% FBS (Whittaker Co., Walkersville, MD), 25mM HEPES, 2mM L-glutamine and 100 µg/ml ampicillin in the presence of 10 ng/ml of human M-CSF (R&D Systems, Minneapolis, MN) or 40 ng/ml of GM-CSF (R&D Systems). After 7 days, the M-CSF-conditioned macrophages (M-macrophages) and the GM-CSF-conditioned macrophages (GM-macrophages) were used for infection with *M.leprae*.

**Infection of macrophages with *M.leprae*:**

Purified mouse macrophage monolayers were infected with fresh *M.leprae* suspended in 0.5 ml medium per well. After 4 hr incubation for mouse macrophages and 20 hr incubation for human macrophages, non-phagocytosed bacilli were removed by washing and the cultures were incubated in 1.0 ml media supplemented with the appropriate cytokine in 5% CO<sub>2</sub> at the appropriate experimental temperatures<sup>9</sup>. Media were changed and cytokines were replenished at 5 days interval.

**Radiorespirometry:** The macrophages were lysed with 0.1 N NaOH to release the phagocytosed *M.leprae*, and the viability of the bacilli was determined by evaluating the oxidation of <sup>14</sup>C-palmitic acid to <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> by radiorespirometry as described previously<sup>11</sup>. Total isotope release was usually analyzed after one week of incubation at 31°C<sup>9</sup>.

**Staining of *M.leprae*-infected macrophages:** Coverslips of *M.leprae*-infected adherent macrophages were prefixed with absolute methanol and acid-fast stained. The specimens were observed under Nikon Optiphot light microscopy.

## Results

**Viability of *M.leprae* in mouse macrophages cultured *in vitro*:** Mouse peritoneal resident macrophages ( $1 \times 10^6$  cells per well) were incubated with freshly harvested *M.leprae* (multiplicity of infection (MOI), 5:1 or 10:1) for 4 hr to allow phagocytosis. Non-phagocytosed bacilli were washed off and the culture of the macrophages continued for up to 14 days. Viability (metabolic activity) of *M.leprae* in macrophages was assessed by radiorespirometry. As shown in Fig. 1, the viability of the bacilli was gradually decreased in macrophages cultured at 35°C. In contrast, the viability was significantly lost, if the macrophages were cultured at 37°C. Next, the mouse peritoneal

resident macrophages were incubated with 3 doses of *M.leprae* (MOI, 1:1, 4:1 and 10:1) for 4 hr to allow phagocytosis, and the culture continued for longer periods up to 21 days. Viability of *M.leprae* in macrophages was assessed at 7 day intervals. As

shown in Fig. 2, in each dose of *M.leprae* infection, decrease in viability was significant after 21 days.

Effects of cytokines on viability of *M.leprae* in mouse macrophages: Supplementation of IL-10 to the infected macrophage culture was

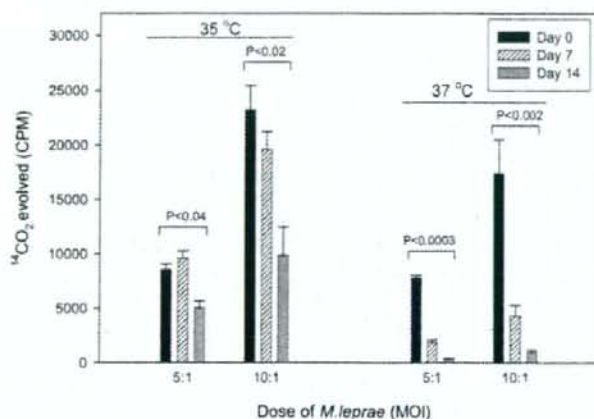


Fig.1. Viability of *M.leprae* in mouse macrophages cultured *in vitro*. Mouse peritoneal resident macrophages were incubated with  $5 \times 10^6$  or  $1 \times 10^7$  per well of *M.leprae* (MOI, 5:1 or 10:1), for 4 hr at 37°C to allow phagocytosis. Non-phagocytosed bacilli were washed off and the culture of the macrophages continued up to 14 days at 35°C or 37°C. The cells were lysed to obtain *M.leprae* and metabolism of the bacilli was assessed by radiorespirometry.

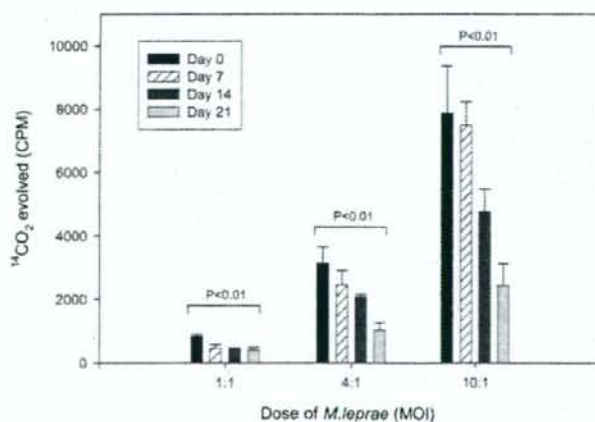


Fig.2. Viability of *M.leprae* in mouse macrophages cultured *in vitro*. Mouse peritoneal resident macrophages were incubated with 3 doses,  $1 \times 10^6$ ,  $4 \times 10^6$  and  $1 \times 10^7$  per well of *M.leprae* (MOI, 1:1, 4:1 and 10:1) at 35°C for 4 hr to allow phagocytosis, and the culture continued at 35°C for longer periods up to 21 days. The cells were lysed to obtain *M.leprae* and metabolism of the bacilli was assessed by radiorespirometry.