

- Persson J, Degerman E, Nilsson J & Lindholm MW (2007) Perilipin and adipophilin expression in lipid loaded macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* **363**: 1020–1026.
- Serlachius M & Andersson LC (2004) Upregulated expression of stanniocalcin-1 during adipogenesis. *Exp Cell Res* **296**: 256–264.
- Servetnick DA, Brasaemle DL, Gruia-Gray J, Kimmel AR, Wolff J & Londos C (1995) Perilipins are associated with cholesteryl ester droplets in steroidogenic adrenal cortical and Leydig cells. *J Biol Chem* **270**: 16970–16973.
- Suzuki K & Kohn LD (2006) Differential regulation of apical and basal iodide transporters in the thyroid by thyroglobulin. *J Endocrinol* **189**: 247–255.
- Suzuki K, Lavaroni S, Mori A, Okajima F, Kimura S, Katoh R, Kawaoi A & Kohn LD (1998a) Thyroid transcription factor 1 is calcium modulated and coordinately regulates genes involved in calcium homeostasis in C cells. *Mol Cell Biol* **18**: 7410–7422.
- Suzuki K, Lavaroni S, Mori A *et al.* (1998b) Autoregulation of thyroid-specific gene transcription by thyroglobulin. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**: 8251–8256.
- Suzuki K, Mori A, Ishii KJ, Saito J, Singer DS, Klinman DM, Krause PR & Kohn LD (1999a) Activation of target-tissue immune-recognition molecules by double-stranded polynucleotides. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**: 2285–2290.
- Suzuki K, Mori A, Saito J, Moriyama E, Ullianich L & Kohn LD (1999b) Follicular thyroglobulin suppresses iodide uptake by suppressing expression of the sodium/iodide symporter gene. *Endocrinology* **140**: 5422–5430.
- Suzuki K, Yanagi M, Mori-Aoki A, Moriyama E, Ishii KJ & Kohn LD (2002) Transfection of single-stranded hepatitis A virus RNA activates MHC class I pathway. *Clin Exp Immunol* **127**: 234–242.
- Suzuki K, Nakata N, Bang PD, Ishii N & Makino M (2006a) High-level expression of pseudogenes in *Mycobacterium leprae*. *FEMS Microbiol Lett* **259**: 208–214.
- Suzuki K, Takeshita F, Nakata N, Ishii N & Makino M (2006b) Localization of CORO1A in the macrophages containing *Mycobacterium leprae*. *Acta Histochem Cytoc* **39**: 107–112.
- Sztalryd C, Xu G, Dorward H, Tansey JT, Contreras JA, Kimmel AR & Londos C (2003) Perilipin A is essential for the translocation of hormone-sensitive lipase during lipolytic activation. *J Cell Biol* **161**: 1093–1103.
- Underhill DM, Ozinsky A, Hajjar AM, Stevens A, Wilson CB, Bassetti M & Aderem A (1999) The Toll-like receptor 2 is recruited to macrophage phagosomes and discriminates between pathogens. *Nature* **401**: 811–815.
- Wei P, Taniguchi S, Sakai Y, Imamura M, Inoguchi T, Nawata H, Oda S, Nakabeppu Y, Nishimura J & Ikuyama S (2005) Expression of adipose differentiation-related protein (ADRP) is conjointly regulated by PU.1 and AP-1 in macrophages. *J Biochem* **138**: 399–412.
- Wolins NE, Rubin B & Brasaemle DL (2001) TIP47 associates with lipid droplets. *J Biol Chem* **276**: 5101–5108.
- Zahoor A, Sharma S & Khuller GK (2005) Inhalable alginate nanoparticles as antitubercular drug carriers against experimental tuberculosis. *Int J Antimicrob Agents* **26**: 298–303.

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

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

〔受付：2008年10月3日、掲載決定：2008年11月21日〕

キーワード：構造活性相関、抗らい菌活性、ニューキノロン、ヌードマウス足趾法、Buddemeyer法

らい菌に対し強い殺菌作用を示すニューキノロン系抗菌薬 (NQ) は、多剤耐性らい菌に対する治療薬として重要である。NQなどの化学療法薬は *in vitro* 活性がいくら強くとも血中半減期や組織移行性などの体内動態が劣るならば、強い *in vivo* 活性は期待できない。今回 Buddemeyer 法とヌードマウス足趾法を用いて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を検討した。

実験結果からキノロン母核の1位にシクロプロピル基、3位にカルボキシル基、4位にオキシ基、5位にアミノ基または水素基、6位にフッ素基、7位に5員環または6員環の塩基性環状アミン、8位にフッ素基、塩素基またはメトキシ基に置換したNQが、抗らい菌活性を最も強めることが示唆された。

はじめに

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26万人¹⁾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。さらに少菌型で6カ月、多菌型で1年以上の長い治療期間を要する。rifampicin (RFP)を除くと唯一らい菌に対し殺菌作用を持つニューキノロン系抗菌薬 (NQ) は多剤耐性菌の治療薬として重要で、すでに一部のNQがハンセン病の治療に用いられている。ハンセン病は、らい菌により末梢神経と皮膚が侵される慢性感染症であることからNQは *in vitro* 活性がいくら強くとも血中半減期や組織移行性、代謝安定性などの体内動態が劣

るならば、強い *in vivo* 抗らい菌活性は期待できない。

ofloxacin (OFLX、第一三共)²⁾ は、キノロン骨格にオキサジン環を有することを特徴とする三環系NQで、血中半減期は4.5時間(空腹時200mg単回経口投与)で、光毒性など副作用が少ない。levofloxacin (LVFX、第一三共)³⁾ は、ラセミ体であるOFLXの一方の光学活性体S(-)のNQで、血中半減期は5.12時間(空腹時100mg単回経口投与)で、光毒性など副作用が少ない。sparfloxacin (SPFX、大日本住友製薬)^{4,5)} は、血中半減期が15.8時間(空腹時100mg単回経口投与)と長く、優れた組織移行性と強い抗菌力を持つNQである。sitafloxacin (STFX、第一三共)⁶⁾ は、血中半減期5時間(空腹時100mg単回経口投与)、強い抗菌力、特にMRSAやPRSPに強い活性を示すとともに、痙攣誘発などの副作用を軽減したNQである。gatifloxacin (GFLX、杏林製薬)^{7,8)} は、血中半減期7.1時間(空腹時200mg単回経口投与)、強い抗菌力と光毒性を軽減したNQである。WQ-

* Corresponding author:
国立感染症研究所ハンセン病研究センター
〒189-0002 東村山市青葉町4-2-1
TEL: 042-391-8211 FAX: 042-394-9092
E-mail: m-gidoh@nih.go.jp

3402 (湧永製薬)⁹⁾は、血中半減期が2.7時間(10mg/kg, dogs, 単回経口投与)で、CPFX耐性菌やMRSAに対し強い抗菌活性を示すNQである。moxifloxacin (MFLX, バイエル薬品)¹⁰⁾は、血中半減期が15.3時間(空腹時200mg 単回経口投与)と長く、強い抗菌力、耐性菌出現抑制作用が強く、薬物相互作用と光線過敏症などに対する安全性を重視して開発されたNQである。garenoxacin (GRNX, 富山化学工業)¹¹⁾は、既存NQと異なった構造式を有し、血中半減期が12.6時間(空腹時200mg 単回経口投与)と長く、MRSAやVREなどの薬剤耐性菌に対し強い抗菌活性を示し、光線過敏症や薬物相互作用などNQ中最も副作用が少なく小児や高齢者への適用が期待されるNQである。

これら薬理学的特長を持つ8種類のNQをBuddemeyer法とヌードマウス足跡法の実験結果から、NQの構造式と抗らい菌活性の相関を検討した。

材料と方法

- 1) らい菌: らい菌(Thai-53株)を接種後11ヶ月目のヌードマウス(BALB/c)の後肢足跡より集菌・精製¹²⁾し、Shepard法¹³⁾により菌数計算後所定の濃度に希釈しBuddemeyer法とヌードマウス足跡法に用いた。
- 2) 動物: ヌードマウス(BALB/c-*nu/nu*, 雌, 5週令)は、日本クレアから購入し、ビニールアイソレータ(三基科学工芸)の中で、滅菌したマウス用耐圧固形飼料(MB-6E, 船橋農場)で飼育した。
- 3) 抗菌薬: OFLX, LVFX, STFX(第一三共), SPFX(大日本住友製薬), GFLX(杏林製薬), WQ-3402(湧永製薬), MFLX(バイエル薬品), GRNX(富山化学工業)は各製薬会社から原末の提供を受けた。

上記供試薬剤はBuddemeyer法には0.2N-NaOHで溶解後、pH7.0のphosphate buffered saline(PBS)で最終濃度が2.0、0.5 $\mu\text{g/ml}$ になるように調整したものを用いた。他方、ヌードマウス足跡法は抗菌薬を所定の濃度(10、30、50、60、150mg/kg)になるよう0.001%-Tween 80含有PBS(pH 7.0)で調整後、冷凍庫(-30°C)中で保存し、

使用に臨み室温で溶解したものを使用した。

4) 抗らい菌活性の測定

- ① Buddemeyer法^{14, 15)}: 4-mlのガラスバイアル中にMiddlebrook-7H12培地、らい菌(1×10^7)、抗菌薬(最終濃度: 2.0及び0.5 $\mu\text{g/ml}$)を加えよく混和する。このガラスバイアルのキャップを緩く締め、32°Cの炭酸ガスフランジ器で4日間培養後、¹⁴C-パルミチン酸(56mCi/mmol, DuPont NEN)を1 μCi 加えて混和後、NaOH-シンチレータで処理をした紙片を入れた18-mlポリエチレンバイアルに入れキャップを強く締める。そして32°Cの培養器中で7日間培養を継続し、産生した¹⁴CO₂量を液体シンチレーションカウンターで測定し、NQの抗らい菌活性を比較検討した。
- ② ヌードマウス足跡法: ヌードマウスの両後肢足跡に1足跡当たり 10^7 のらい菌を接種した。菌接種後3ヵ月から5ヵ月の3ヵ月間に亘り、ステンレスカテーテルで各抗菌薬を毎日週5日経口投与した。菌接種後8ヵ月から11ヵ月まで月1回、4ヶ月間、1群2匹4足跡内のらい菌数を計測し、NQの最小抑制量を求めた。

結果

- 1) 表1に示したようにBuddemeyer法では、2.0 $\mu\text{g/ml}$ の濃度域でのNQの抗らい菌活性はSTFX > WQ-3402 \geq MFLX > SPFX > GFLX > GRNX \approx LVFX > OFLXの順であった。
- 2) 表2に示したようにヌードマウス足跡法では、SPFXとMFLXは10mg/kgで最も強く、STFXとGFLXは30mg/kg、LVFXとGRNXは60mg/kg、OFLXは150mg/kgでヌードマウス足跡内のらい菌の増殖を完全抑制したが、WQ-3402は、50mg/kg(製薬会社の合成部門の都合でこれ以上の濃度の実験ができなかった)で不完全抑制であった。
- 3) OFLX, LVFX, SPFX, GFLX, MFLX, GRNXの*in vitro*と*in vivo*抗らい菌活性間の相関係数は、-0.8593で強い負の相関が認められた。また*in vitro*と*in vivo*抗らい菌活性が一致しなかったSTFXとWQ-3402を加えた相関係数は、-0.7512で負の強い相関が認められた。

4) Buddemeyer 法とヌードマウス足蹠法の双方に強い抗らい菌活性を示した NQ は、キノロン母核 1 位にシクロプロピル基、3 位にカルボキシ基、4 位にオキシ基、5 位にアミノ基または水素基、6 位にフッ素基、7 位に 5 員環または 6 員環の塩基性環状アミン、8 位にフッ素基、塩素基またはメトキシ基を持つ MFLX、SPFX、STFX、GFLX であった。NQ 中で強い *in vitro*- 抗らい菌活性を示した WQ-3402 の *in vivo*- 抗らい菌活性は弱かった。

考 察

ハンセン病の化学療法では、治療期間の短縮と薬剤耐性に対応するため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、多剤併用療法で用いられている DDS、B663、RFP とニューキノロン系抗菌薬 (NQ) の SPFX、GFLX、MFLX など、マクロライド系の clarithromycin、テトラサイクリン系の minocycline に限られている。特にらい菌に対し殺菌作用を示し、多剤耐性菌に対し強い抗らい菌活性を示す NQ は、ハンセン病の治療薬として重要である。しかし、新世代 NQ であっても、強い抗らい菌活性を示すとは限らない。そこで NQ の構造式と抗らい菌活性の相関を検討した。今回実験に用いた NQs は、以下のような構造式的特徴を有する。

ofloxacin (OFLX、第一三共)²⁾ は、キノロン骨格にオキサジン環し、7 位にメチルピペラジ

Table 1. *In vitro* activities of new quinolones against *M. leprae* measured by the method of Buddemeyer.

Drug	inhibition(%) ^{a)}	
	2.0 μ g/ml	0.5 μ g/ml
OFLX	25.0 \pm 1.47	16.2 \pm 4.08
LVFX	31.1 \pm 0.87	19.8 \pm 1.64
SPFX	56.9 \pm 1.18	38.0 \pm 1.37
STFX	67.2 \pm 1.43	41.9 \pm 1.06
GFLX	47.7 \pm 1.12	23.6 \pm 1.31
WQ-3402	60.9 \pm 2.63	35.5 \pm 0.56
MFLX	60.2 \pm 0.74	41.6 \pm 1.54
GRNX	31.2 \pm 1.56	18.9 \pm 2.14

a: $\text{cpms of (control group) - (drug group) / control group} \times 100(\%)$

Table 2. Antibacterial activity of new quinolones against *M. leprae* inoculated into footpads of nude mice.

Drug	MID (mg/kg)
OFLX	150
LVFX	60
SPFX	10
STFX	30
GFLX	30
WQ-3402	50 >
MFLX	10
GRNX	60

MID: minimum inhibitory dose

Nude mice were infected in the each of hind footpads, with *M. leprae* (1×10^7) of a strain Thai-53. New quinolones were given by the gavage 5 times per week, between 3 to 5 months postinfection at a daily dose of 10, 30, 50, 60 or 150 mg/kg. At 8, 9, 10 and 11 months after inoculation, mice were killed and the numbers of AFBs in the 4 hind footpads of 2 mice were counted according to the methods of Shepard.

ニル基を有するNQである。levofloxacin (LVFX、第一三共)³⁾は、ラセミ体であるOFLXは、化学構造中に1個の不斉炭素を有し、2つの光学活性S(-)体、R(+)⁴⁾が1:1よりなり、そのうち抗菌活性本体S(-)体がLVFXである。sparfloxacin (SPFX、大日本住友製薬)⁵⁾は、キノロン骨格の1位にシクロプロピル基、5位にジメチルピペラジニル基、7位にフッ素基を導入し、8位へのフッ素基導入は、抗らい菌活性を強めるが光毒性を強める課題もある⁶⁾。sitafloxacin (STFX、第一三共)⁶⁾は、キノロン骨格の1位にフルオロシクロプロピル基、8位に塩素基、7位にスピロヘブタン基、8位に塩素基を導入したNQである。gatifloxacin (GFLX、杏林製薬)^{7,8)}は、キノロン骨格の1位にシクロプロピル基、7位にメチルピペラジニン基、8位にメトキシ基を導入した8-methoxyquinoloneである。WQ-3402(湧永製薬)⁹⁾は、キノロン骨格の1位に5-アミノ-2,4-ジフルオロフェニル基、7位にメチルアミノ基を有するNQである。moxifloxacin (MFLX、バイエル薬品)¹⁰⁾は、キノロン骨格の1位にシクロプロピル基、7位にピ

ロピリジン基、8位にメトキシ基を導入した8-methoxyquinoloneである。garenoxacin (GRNX、富山化学工業)¹¹⁾は、従来NQ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位にインドール基、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するNQである。

Buddemeyer法では、STFX、WQ-3402、MFLX、SPFX、GFLXの抗らい菌活性は強かったがLVFX、GRNX、OFLXの抗らい菌活性は弱かった(これらの実験は複数回行い、同様の結果が得られている)。またマウス足蹠法ではSPFX、MFLX、STFX、GFLXの抗らい菌活性は強かったがLVFX、GRNX、WQ-3402、OFLXの抗らい菌活性は弱かった。Buddemeyer法とマウス足蹠法の双方に強い抗らい菌活性を示したNQは、MFLX、SPFX、STFX、GFLXであった。

WQ-3402の*in vitro*活性は強いが*in vivo*活性が弱い理由として、血中半減期が2.7時間(犬、10mg/kg 単回経口)と短く、蛋白結合率が高いなど体内動態が劣ることが考えられる¹⁰⁾。また8位

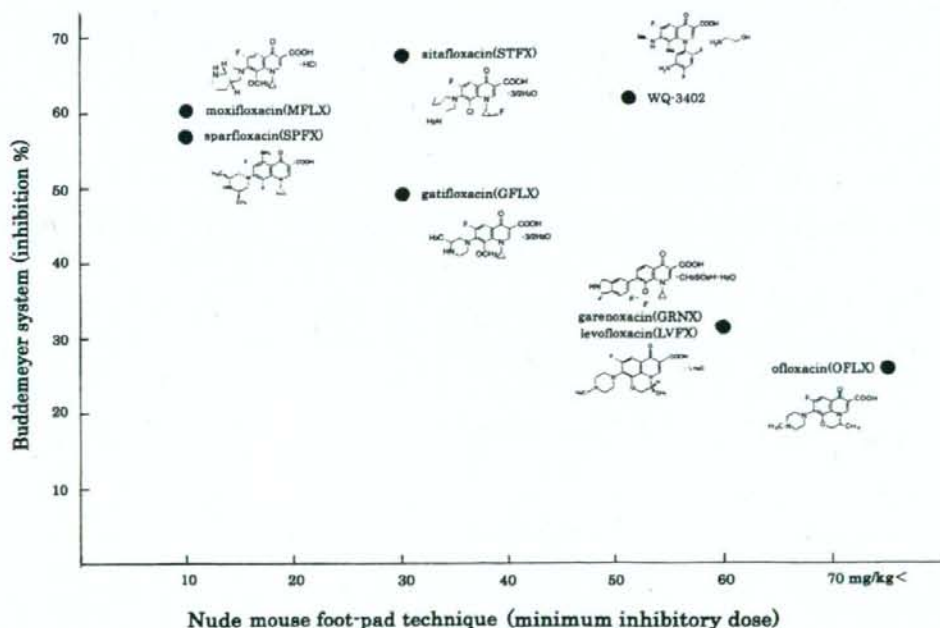


Fig. 1. *In vitro* and *in vivo* activities of new quinolones against *M. leprae*.

OCH₃、ClよりF置換は、脂溶性を増し、組織移行性、腸肝循環、代謝安定性を高め、長い血中半減期を持つことで強い抗らい菌活性を示すと考えられる。

1位のシクロプロピル基は抗らい菌活性を増大、6位フッ素基導入は代謝安定性と抗らい菌活性を増大、8位のF、Clのハロゲン基またはメトキシ基導入は組織移行性と抗菌活性の増大を図るなどの薬理的構造特性がある。さらに6位のハロゲン基は脂溶性、7位の塩基性環状アミンは親水性で双性イオン型構造であることから体内で適度な分配係数を示し、さらに7位の塩基性環状アミンは塩基性で3位のカルボキシル基は酸性で、これら双性イオン型構造は、菌体膜透過性、組織移行性、代謝安定性を高めることで強い抗らい菌活性を示すものと考えられる¹⁷⁻²⁰⁾。

以上の結果からキノロン母核の1位にシクロプロピル基、3位にカルボキシル基、4位にオキシ基、5位にアミノ基または水素基、6位にフッ素基、7位に5員環または6員環の塩基性環状アミン、8位にハロゲン基(フッ素基、塩素基)またはメトキシ基に置換したNQが、抗らい菌活性を最も強めることが示唆された。

謝 辞

本研究は、平成19年度及び平成20年度厚生労働研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)を受けて行われた。

文 献

- 1) WHO Geneva. Weekly epidemiological record. 82,225-232,2007.
- 2) Sato K, Matsuura Y, Inoue M, Une T, Osada Y, Ogawa H, Mitsunashi S: *In vitro* and *in vivo* activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob Agents Chemother* 22:548-553,1982.
- 3) Hayakawa I, Atarashi S, Imamura M, Sakano K, Furukawa M: Synthesis and antibacterial activities of optically active ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 29:163-164,1986.
- 4) Nakamura S, Minami A, Nakata K, Kurobe N, Kouno K, Sakaguchi Y, Kashimoto S, Yoshida H, Kojima T, Ohue K, Fujimoto M, Nakamura M, Hashimoto M, Shimizu M: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of AT-4140, a new broad-spectrum quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 33:1167-1173,1989.
- 5) Michael E, Guido R, Fritz S, Ulrike H.: Defluorinated sparfloxacin as a new photoproduct identified by liquid chromatography coupled with UV detection and tandem mass spectrometry. *Antimicrob Agents Chemother* 42:1151-1159,1998.
- 6) Sato K, Hoshino K, Hayakawa I, Osada Y: Antimicrobial activity of DU-6859a, a new potent fluoroquinolone, against clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 36:1491-1498,1992.
- 7) Hosaka M, Yasue T, Tomizawa H, Aoyama H, Hirai K: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of AM-1155, a new 6-fluoro-8-methoxy quinolone. 36:2108-2117,1992.
- 8) 草嶋久生、石田了三、内田 広: ニューキノロン系抗菌薬 Gatifloxacin および類薬のモルモットにおける光毒性. 薬理と治療 26:1655-1660,1998.
- 9) Kuramoto Y, Ohshita Y, Amano H, Hirano Y, Hayashi N, Aoki S, Niino Y, Yazaki A: Structure-activity relationships of novel acid, 7-amino or 2-alkylamino-1-(5-amino-2,4-difluorophenyl)-8-methylaminoquinolones. 40th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2000. (Toront. Canada)
- 10) Dalhoff A, Petersen U, Endermann R: *In vitro* activity of BAY12-8039, a new 8-methoxy quinolone. *Chemother* 42:410-425,1996.
- 11) Takahata M, Mitsuyama J, Yamashiro Y, Yonezawa M, Araki H, Yodo Y, Minami S, Watanabe Y, Narita H: *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activities of T-3811ME, a novel des-F(6)-quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 43:1077-1084,1999.
- 12) 中村昌弘: らい菌接種ヌードマウス足蹠乳剤

- 内迷入雑菌の除去. 日ハンセン病会誌 64:47-50,1994.
- 13) Shepard CC and DH McRae : A method for counting acid-fast bacteria. *Int J Lepr* 36:78-82,1968.
 - 14) Buddemeyer E, Hutchinson R, Cooper M : Automatic quantitative radiometric assay of bacterial metabolism. *Clin Chem* 22:1459-1464,1976.
 - 15) Franzblau SG : Oxidation of palmitic acid by *Mycobacterium leprae* in axenic medium. *J Clin Microbiol* 26:18-21,1988.
 - 16) Kuramoto Y, Ohshita Y, Amano H, Hirano Y, Hayashi N, Aoki S, Niino Y, Yazaki A: Structure-activity relationships of novel acid, 7-amino or 7-alkylamino-1-(5-amino-2,4-difluorophenyl)-8-methylquinolones. 40th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2000.
 - 17) Klopman G, Li JY, Wong S, Pearson AJ, Chang K, Jacobs MR, Bajaksouzian S, Ellner JJ: *In vitro* anti-*Mycobacterium avium* activities of quinolones: predicted active structures and mechanistic considerations. *Antimicrob Agents Chemother* 38:1794-1802,1994.
 - 18) Renau TE, Sanches JP, Shapiro MA, Dever JA, Gracheck SJ, Domagala JM: Effect of lipophilicity at N-1 on activity of fluoroquinolones against mycobacteria. *J Med Chem* 38:2974-2977,1995.
 - 19) Domagala JM: Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. *J Antimicrob Chemother* 33:685-706,1994.
 - 20) Renau TE, Gage JW, Dever JA, Roland GE, Joannides ET, Shapiro MA, Sanchez JP, Gracheck SJ, Domagala JM, Jacobs MR, Reynolds RC: Structure-activity relationships of quinolone against mycobacteria: effect of structural modifications at the 8 position. *Antimicrob Agents Chemother* 40:2363-2368, 1996.

Structure and anti-*M.leprae* activity relationships of new quinolones

Masaichi GIDOH

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

[Received : 3 Oct. 2008 / Accepted: 21 Nov. 2008]

Key words : anti-*M.leprae* activity, Buddemeyer system, new quinolones,
nude mouse footpad method, structure-activity relationship

Due to the emergence of drug resistant *M.leprae*, there is a need to look for new drugs for the treatment of leprosy. We evaluated the effectiveness of new quinolones *in vitro* as well as *in vivo*.

The *in vitro* and *in vivo* results suggested that a cyclopropyl group at the 1-position, COOH at the 3-position, OH at the 4-position, NH₂ or OH-substitutions at the 5-position, F at the 6-position, 5- and 6-membered rings at the 7-position, halogen (F or Cl) or OCH₃ at the 8-position of the quinolone core structure, remarkably enhance ant-*M.leprae* activities of the drug.

*Corresponding author :
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 : m-gidoh@nih.go.jp

2007年における世界のハンセン病の現況について

鈴木幸一^{*1)}、永岡 譲²⁾、森 修一³⁾、石井則久¹⁾

1) 国立感染症研究所ハンセン病研究センター生体防御部

2) 国立療養所多磨全生園皮膚科

3) 福島県立医科大学医学部微生物学講座

[受付・掲載決定：2007年10月15日]

キーワード：世界保健機関、多剤併用療法、ハンセン病、ハンセン病制圧、有病率

世界のハンセン病の疫学は各国の保健担当の部署から世界保健機関（WHO）に報告される。報告されたデータはWHOによってまとめられ、速報的に週間疫学記録（weekly epidemiological record）に掲載される。2007年6月に、2007年初頭のデータとして報告された。世界のハンセン病制圧は着実に進行しているが、今後患者数が減少することによる医療サービスの質の低下が起これないようにすることや偏見を無くすことなどのために、さらに努力が必要であることなどが述べられている。

世界保健機関（WHO）発行の週刊疫学記録（weekly epidemiological record）、2007年6月22日号（No.25, 2007, 82, 225-232）（<http://www.who.int/wer>）に掲載された「世界のハンセン病状況、2007年」（Global leprosy situation, 2007）についてWHOの許可を受け、日本語訳を行った。

世界のハンセン病の現況をWHO事務局別、各国別で表示してある。各国の報告は国情により内容の信頼性に温度差があるものの、概略はこの報告で伺うことができる。この報告を参考にして、ハンセン病の世界の現況を把握するとともに、我々日本人として行うことができる国際協力に関して考察を頂ければ幸いである。また表については原文のまま記載した。

世界のハンセン病の現況：2007

緒言

毎年の新規患者数によって数値化される世界のハンセン病問題は安定してきており、着実に減少する傾向にある。新規患者の早期発見と多剤併用療法（MDT）による迅速な対応が、これからもハンセン病制圧戦略の礎石となる。全ての流行国では、登録されている患者に対して無料で多剤併用療法を提供している。国家プログラムは、良質な診断と治療サービスが、公平に、手頃な価格で、そして身近な場所で提供されることを強調してきた。

ハンセン病問題のさらなる減少と制圧活動維持のための世界戦略案（2006-2010）：実行のためのガイドラインは、公衆衛生問題としてのハンセン病の制圧戦略により得た成果を維持させることを目的とし、全てのWHO地域において広く実

*Corresponding author:
国立感染症研究所ハンセン病研究センター生体防御部
〒189-0002 東京都東村山市青葉町4-2-1
TEL: 042-391-8211 FAX: 042-391-8558
E-mail: koichis@nih.go.jp

行されてきた。ハンセン病制圧のために働く全ての主要国内外組織は、この世界戦略案とそのガイドラインを支持し、そして彼らの積極的な協力によって、全ての流行国における国家プログラムは、ハンセン病の制圧活動の維持に成功している。障害を防ぎ、リハビリテーションを提供するためにも、サービスの質の維持と患者の介護の改善がより重要視されている。

統合プロセスの詳細は保健施設の基盤や資産の有効活用によって異なるものの、ほとんど全ての流行国において、制圧活動は一般保健サービスと統合されている。長年かけてこの統合プロセスは更に強化されており、特に末端レベルにおけるケアの質、サービス領域の拡大、そして活動の維持を改善させるきっかけとなった。

ハンセン病問題

Table 1 に示すように、2007 年初頭の世界にお

けるハンセン病の登録患者数は 224,717 人であり、2006 年の新規患者数 259,017 人であった。2006 年の新規患者数は、2005 年に比べると 40,019 人 (13.4%) 減少した。

Table 2 で見られるように、年間の新規患者数は減少し続けている。2007 年の 6 月現在、新規患者登録は、エチオピア、ギニアおよびシエラレオネのようなアフリカ地域の重要国の一部からも報告されている。東地中海地域の状態は安定している。南北アメリカ地域では、報告された新規患者数の増加は、主にブラジルにおける増加を反映している。

2007 年初頭に、タンザニアは公衆衛生問題としてのハンセン病制圧目標を達成した (登録されている有病率が人口 10,000 人あたり 1 人未満と定義される)。Table 3 に示されているように、(1985 年における 122 ヶ国あった内の) 4 ヶ国だけが未だに制圧目標を達成していない。その 4 ヶ国はブラジル、コンゴ民主共和国、モザンビークおよび

Table 1. Leprosy situation by WHO region (excluding European Region), beginning of 2007

WHO region ^a	Registered prevalence ^b at beginning of 2007	New cases detected ^c during 2006
African	29 548 (0.55)	27 902 (5.15)
Americas	64 715 (0.76)	47 612 (5.58)
South-East Asia	116 663 (0.70)	174 118 (10.51)
Eastern Mediterranean	3 986 (0.09)	3 261 (0.71)
Western Pacific	9 805 (0.06)	6 124 (0.35)
Total	224 717	259 017

^a *World population prospects: the 2004 revision*. United Nations Population Division, New York. (Population data from volume 1, comprehensive table A20.)

^b Figures in parentheses are prevalence rates: number of cases/10 000 population.

^c Figures in parentheses are case-detection rates: number of cases/100 000 population.

Table 2. Trends in the detection of new cases by WHO region (excluding the European Region), 2001-2006

WHO region	No. of new cases detected					
	2001	2002	2003	2004	2005	2006
African	39 612	48 248	47 006	46 918	45 179	27 902
Americas	42 830	39 939	52 435	52 662	41 952	47 612
South-East Asia	668 658	520 632	405 147	298 603	201 635	174 118
Eastern Mediterranean	4 758	4 665	3 940	3 392	3 133	3 261
Western Pacific	7 404	7 154	6 190	6 216	7 137	6 124
Total	763 262	620 638	514 718	407 791	299 036	259 017

ネパールである。ブラジルは2007年初頭に有病率の顕著な増加を示したが、これはブラジルにおける登録患者数対新規患者数比が1以上になったことで説明されるかもしれない。(訳注:WHOの方針の治療期間を延長して治療している、或いは治療終了後も登録からはずしていない)

この4ヶ国を合わせると、2006年の全ての新規

患者数の約23%、そして2007年初頭の登録患者数の34%を占める。GOやNGOからの援助や国家機関の協力の継続によって、これらの国は近い未来に、公衆衛生問題としてハンセン病の制圧目標を達成することが期待される。

2006年に新規患者数が1,000人以上であった国は15ヶ国あった(Table 4)。なお、2005年

Table 3. Prevalence rates and case-detection rates in 4 countries that have not eliminated leprosy (defined as having a registered prevalence of <1 case/10 000 population), 2007

Country	Registered prevalence ^a			No. of new cases detected ^b		
	Beginning of 2005	Beginning of 2006	Beginning of 2007	2004	2005	2006
Brazil	30 693 (1.7)	27 313(1.5)	60 567(3.21)	49 384 (26.9)	38 410(20.6)	44 436(23.53)
Democratic Republic of the Congo	10 530 (1.9)	9 785(1.7)	8 261(1.39)	11 781 (21.1)	10 737(18.0)	8 257(13.92)
Mozambique	4 692 (2.4)	4 889(2.5)	2 594(1.29)	4 266 (22.0)	5 371(27.1)	3 637(18.04)
Nepal ^c	4 699(1.8)	4 921(1.8)	3 951 (1.43)	6 958 (26.2)	6,150(22.7)	4 253(15.37)

^a Figures in parentheses are prevalence rates: number of cases/10 000 population.

^b Figures in parentheses are case-detection rates: number of cases/100 000 population.

^c Detection reported for mid-November 2004 to mid-November 2005.

Table 4. New-case detection in 15 countries reporting >1000 new cases during 2006 in comparison with 1993, 2002, 2003, 2004, 2005

Country	No. of new cases detected					
	1993	2002	2003	2004	2005	2006
Angola	339	4 272	2 933	2109	1 877	1 078
Bangladesh	6 943	9 844	8 712	8 242	7 882	6 280
Brazil	34 235	38 365	49 206	49 384	38 410	44 436
China	3 755	1 646	1 404	1 499	1 658	1 506
Democratic Republic of the Congo	3 927	5 037	7 165	11 781	10 369	8 257
India	456 000	473 658	367 143	260 063	169 709	139 252
Indonesia	12 638	12 377	14 641	16 549	19 695	17 682
Madagascar	740	5 482	5 104	3 710	2 709	1 536
Mozambique	1 930	5 830	5 907	4 266	5 371	3 637
Myanmar	12 018	7 386	3 808	3 748	3 571	3 721
Nepal	6 152	13 830	8 046	6 958	6 150	4 235
Nigeria	4 381	5 078	4 799	5 276	5 024	3 544
Philippines	3 442	2 479	2 397	2 254	3 130	2 517
Sri Lanka	944	2 214	1 925	1 995	1 924	1 993
United Republic of Tanzania	2 731	6 497	5 279	5 190	4 237	3 450
Total ^a	550 175(93)	593 995(96)	488 469(95)	383 024 (94)	281 716 (94)	243 124(94)
Global total	590 933	620 638	514 718	407 791	299 036	259 017

^a Figures in parentheses are percentages.

に1,000人以上の新規患者がいたエチオピアからは引き続き情報収集中である。これら15ヶ国は、2006年に発見された世界中の総新規患者の94%を占める。

各WHO地域の国々の新規患者数の詳細はTable 5に示してある。これらすべての地域の国々では、新規患者の中に様々な割合の多菌型ハンセン病患者数(multibacillary: MB)が報告された。アフリカ地域では、新規患者におけるMBの割合は、コンゴ民主共和国の56.7%からケニアの90.5%まで及んだ。アメリカ地域では、新規患者中のMBの割合はボリビアの44.24%からキューバの84.5%まで及んだ。南東アジア地域は、新規患者数の38.11%がMBであったバングラデシュに対してインドネシアでは80.49%であった。東地中海地域における割合はソマリアの34.10%からエジプトの89.74%まで及んだ。西太平洋地域はパプアニューギニアの27.27%からフィリピンの90.5%までの割合が報告された。

アフリカ地域における新規患者数に占める女性の割合は、コンゴ民主共和国の8.5%からウガンダの60%まで及んだ。アメリカ地域では、その割合はアルゼンチンの26.0%からブラジルの46.0%まで及んだ。南東アジア地域では、インドの34.0%からネパールの46.0%まで及んだ。東地中海地域

では、ソマリアの16.0%からパキスタンの41.0%まで及んだ。西太平洋地域におけるその範囲はカンボジアの28.0%からラオスの40.0%であった。

このような幅広いばらつきは、特にアフリカ地域・アメリカ地域・西太平洋地域における新規患者に占める小児の割合でもみられる。アフリカ地域の新規患者に占める小児の割合はニジェールの2.4%から中央アフリカ共和国の19.2%まで及んだ。アメリカ地域におけるその割合は、キューバの0.55%からブラジルの7.91%まで及んだ。南東アジア地域における割合はタイの4.51%からスリランカの10.3%まで及んだ。東地中海地域では、スーダンの2.71%からイエメンの12.3%まで及んだ。西太平洋地域では、中国の2.86%からカンボジアの9.84%の範囲にわたった。

同様に、新規患者中の第2級障害者(grade 2 disabilities: G2D, 目、手および足に目に見える損傷が障害があると定義される)の割合は、全ての地域で大きくばらついた。アフリカ地域では、割合はコモロの3.0%からブルンジの22.2%まで及んだ。アメリカ地域大陸では、それらはボリビアの2.42%からパラグアイの10.9%まで及んだ。南東アジア地域では、割合はインドの2.25%からタイの14.3%まで及んだ。東地中海地域では、それはエジプトの3.92%からソマリアの34.1%まで及

Table 5. Profile of newly detected cases by countries reporting >100 new cases by WHO region, 2006

WHO region	% multibacillary leprosy cases in countries with highest and lowest proportions	% of females in countries with highest and lowest proportions	% of cases in children in countries with highest and lowest proportions	% of cases with grade 2 disabilities in countries with highest and lowest proportions
African	Democratic Republic of the Congo : 56.7 Kenya : 90.5	Democratic Republic of the Congo : 8.5 Uganda : 60.0	Niger : 2.4 Central African Republic : 19.2	Comoros : 3.0 Burundi : 22.2
Americas	Bolivia : 44.24 Cuba : 84.5	Argentina : 26.0 Brazil : 46.0	Cuba : 0.55 Brazil : 7.91	Bolivia : 2.42 Paraguay : 10.9
South-East Asia	Bangladesh : 38.11 Indonesia : 80.49	India : 34.0 Nepal : 46.0	Thailand : 4.51 Sri Lanka : 10.3	India : 2.25 Thailand : 14.3
Eastern Mediterranean Mediterranean orientale	Somalia : 34.10 Egypt : 89.74	Somalia : 16.0 Pakistan : 41.0	Sudan : 2.71 Yemen : 12.3	Egypt : 3.92 Somalia : 34.1
Western Pacific	Papua New Guinea : 27.27 Philippines : 90.5	Cambodia : 28.0 Lao People's Democratic Republic : 40.0	China : 2.86 Cambodia : 9.84	Micronesia (Federated States of) : 0.66 China : 23.0

んだ。西太平洋地域では、ミクロネシア連邦は新規患者中の0.66%にG2Dがいると報告し、中国は23.0%と報告した。

Table 6は、109の国や地域の広域統計の報告である。これらは、アフリカ地域の28ヶ国、南北アメリカ地域の26ヶ国、南東アジア地域の10ヶ国、東地中海地域の16ヶ国、そして西太平洋地域の29ヶ国が含まれている。各国の詳細データは

Table 6にそれぞれの地域毎に示されている。これらのデータは登録患者数、新規患者数、新規MB患者数、新規女性患者数、新規小児患者数、新規G2D患者数、再発患者の絶対数、そして少菌型(PB)とMBの治癒率などの情報を含む。比率は国連人口部門の2006年人口データに基づいて計算された。

Table 6. Global leprosy situation by WHO region (excluding the European Region), country or territory, beginning of 2007

WHO region and country or territory	Registered prevalence ^a	Newly detected cases ^b	No. of new cases MB ^c	No. of new female cases	No. new cases among children	No. new cases with G2D ^d	No. of relapses ^e	Cure rate (%)	
								PB ^f	MB ^g
African									
Angola	1 309	1 078	824	532	89	88			
Benin	322	404	290	188	35	90			
Burkina Faso	723	776	557		59	63			
Burundi	322	288	258	76	13	64			
Cameroon	578	714	514		86	47			
Central African Republic	320	313	221	129	60	38			
Comoros	128	132	45	63	41	4	4		
Congo	222	65	48		5	9			
Cote d'Ivoire	1 242	976	704	450	77	105			
Democratic Republic of the Congo	8 261	8 257	4 682	701	902	784			
Eritrea	13	13	6	3	0	2	5		
Gambia	55	55	44	21	6	5			
Gabon	38	37	34	6	2	6			
Guinea	667								
Kenya	207	190	172	86	8	15			
Lesotho	5	3	3	2	0	1	1		
Liberia	290	285	164	74	45	28			
Madagascar	1 597	1 536	1 225	395	205	172			
Mali	562	509	363						
Mozambique	2 594	3 637	2 285		406	346	28		
Nigeria	4 830	3 544	3 073	1 069	352	444	154		
Niger	592	655	504	307	16	116			
Senegal	481	353	264	158	35	44	14		
South Africa	92	38	36	13	6	12			
Swaziland	0	0	0	0	0	0	0		
United Republic of Tanzania	3 448	3 450	2500						
Togo	145	171	123	71	6	30	2		
Uganda	505	423	283	253	48	63	3		
Total	29 548	27 902	19 222	4 597	2 502	2 576	211		
Americas									
Argentina	788	412	302	106	4	23	21	90.0	60.0
Brazil	60 567	44 436	23 480	20 437	3 513	2 106	1 584		

Bolivia		165	73	71	9	4	8		
Bahamas	0	0	0	0	0	0	0		
Belize	0	0	0	0	0	0	0		
Chile	0	0	0	0	0	0	0		
Colombia		398	286		14	31	19		
Costa Rica	43	10	10	3	0	2	2		
Cuba	190	183	154	84	1	10	4		
Dominican Republic	320	177	103	80	15	12	3		
Ecuador	186	95	64	32	2	2	4	93.5	93.8
El Salvador	11	5	1	1	0	1	0		
Guatemala	7	4	2	1	1	0	1		
Guyana		39	27	14	5	1		77.0	
Haiti		22	12	12	7	1			
Jamaica		6	3	5	0	1		100.0	80.0
Mexico	702	243	179	90	2	14	11		
Nicaragua		5	0	5		0	0		
Paraguay	365	404	316	151	11	44	7		
Peru	36	22	10	12	2	0	0		
Saint Lucia		5	3	0	0	0	0		
Suriname	45	41	27	14	4	1	0		
Trinidad and Tobago	51	28	14	11	4	2	4		
United States of America		137	72	45	4				
Uruguay	15	7	4	5	1	0	4		
Venezuela	1 389	768	496	261	56	47	32		
Total	64 715	47 612	25 638	21 440	3 655	2 302	1 704		

South-East Asia

Bangladesh	4 969	6 280	2 393	2 661	493	523			
Bhutan		16							
India	82 801	139 252	62 652	47 696	14 107	3 130			
Indonesia	22 175	17 682	14 232	311	1 775	1 388		93.6	92.7
Maldives	6	8	2	5	0	0			
Myanmar		3 721	2 345	1 328	253	421			
Nepal	3 951	4 253	2 095	1 968	225	127	47	94.0	90.0
Sri Lanka	1 382	1 993	874	885	205	107	11		
Thailand	1 157	665	454	253	30	95		74.89	80.67 ^b
Timor-Leste	222	248	161						
Total	116 663	174 118	85 208	55 107	17 088	5 791	58		

Eastern Mediterranean

Afghanistan	22	21	14	5	2	6	1	89.0	100
Egypt	1 795	945	848	316	52	37	4	84.0	84.4
Iran (Islamic Republic of)		64	57	31	0	25	2	69.0	61.0
Iraq	0	0	0	0	0	0	0		
Jordan	0	0	0	0	0	0	0		
Libyan Arab Jamahiriya	6	6	3	1	0	0	0		
Morocco	200	62	45	25	3	13	0		
Oman		4	2	1	1	0	0	100	
Pakistan	896	476	381	195	34	93	17	97.0	93.0
Qatar	22	22	6	1	0	0	0		
Saudi Arabia	17	24	16	4	1	2	0		
Somalia		390	133	63	15	30	0	87.0	80.0
Sudan	1 019	884	774	219	24	142		90.6	72.0
Syrian Arab Republic	4	4	1	3	0	0	0	100	100

Tunisia	5	1	0	0	0	0	4		
Yemen		358	229	122	44	36	7	98.98	91.87
Total	3 986	3 261	2 509	989	176	384	35		
Western Pacific									
American Samoa	6	6	4	1	0	0	1		
Australia		5	4	3	0	0	0		
Brunei	0	2	0	1	0	0	0		
Cambodia	305	376	277	104	37	60	0	88.5	90.76
China	3 264	1 506	1 332	507	43	346	161		
China, Hong Kong Special Administrative Region	30	6	6	3	0	1	3	100	100
China, Macao Special Administrative Region	0	0	0	0	0	0	0		
Commonwealth of the Northern Mariana Islands	16	7	7	2	0	0	1		
Cook Islands	0	0	0	0	0	0	0		
French Polynesia	15	8	3	3	0	1	2	100	60
Fiji	3	4	3	1	1	1	0	100	
Guam	3	3	3	0	1	0	0		
Japan	10	7	7	0	0	0	0		
Kiribati	26	41	18	20	20	0	0		
Republic of Korea	388	15	14	6	0	7			
Lao People's Democratic Republic	163	150	99	60	6	26	0	100	100
Malaysia	725	237	171	67	18	12	3		
Mongolia	0	0	0	0	0	0	0		
Micronesia (Federated States of)	107	151	69	47	39	1	0		
New Caledonia	10	7	5	4	2	0	1		
Niue	0	0	0	0	0	0	0		
Palau	1	6	6	2	1	0	2		
Papua New Guinea	338	385	105		35	22	0		
Philippines	3 787	2 517	2 278		199	74	78		
Samoa	4	5	4	1	0	1	1		
Singapore	30	12	4	5	0	0	0	80.0	86.0
Tonga	0	0	0	0	0	0	0		
Tuvalu	3	2	2	0	0	2	1		66.7
Viet Nam	571	666	411	245	42	117	8	97.0	97.0
Total	9 805	6 124	4 832		271				

* Prevalence at beginning of 2007.

^b Detection of new cases during 2006.

^c MB = multibacillary leprosy.

^d New G2D = grade 2 disabilities among new cases.

^e Relapses occurring during the year.

^f Paucibacillary (PB) cure rate among cohort cases in 2005.

^g Multibacillary cure rate among cohort cases in 2004.

^h Multibacillary cure rate among cohort cases in 2003.

結 論

WHO の南東アジア、東地中海、そして西太平洋地域における新規患者数は減少し続けている。全ての流行国においてハンセン病問題が減少することを確実にするためには、統計的な数値だけでなく、障害、小児ハンセン病およびハンセン病に関連する偏見の面においても、ハンセン病制圧活動の普及と良質なサービスが維持され、改善されることが重要である。

流行国のプログラムのほとんどは、ハンセン病制圧活動を一般保健サービスに統合させることに成功した。これはハンセン病流行地域において新規患者が発見され続ける限り、活動を維持するために役立っている。しかしながら、ハンセン病対策が未完の国々での活動の持続やこれらの活動の一線にたつ保健職員が専門知識を維持することは、特に比較的流行性の低い国において重要であり、彼らの能力を発揮させることが今後の課題である。また、我々の照会ネットワークを強固にすることは、統合されたハンセン病制圧サービスを支えるためにも重要である。通常、末端の医療機関ではこれらのサービスが利用できなくても、患者にとって身近な場所でサービスが受けられるために、照会ネットワークは一般保健サービスと統合されなければならない。これらの照会ネットワークで提供されるサービスが、効果的で手ごろな価格であることを保障することが重要である。

WHO は、技術支援と多剤併用療法 (MDT) の無料提供の支援、統合されたプログラムにおける保健職員の資質と能力の養成、一般社会の認識、

および患者の自己管理とリハビリテーションの改善、国ごとの独自の評価と、世界的および国家レベルでハンセン病状況の監視、などの方策によって国家プログラムを支援し続ける。MDT 終了後に再発した患者にリファンピシン (RFP) 耐性のらい菌が存在することを示す報告が散見されることに鑑みて、WHO とそのパートナーは、そのような状況を監視するための世界規模での調査システムを確立しようとしている。RFP 耐性らい菌の出現と拡散は、ハンセン病対策の将来における最も深刻な脅威である。

ブラジル、コンゴ民主共和国、モザンビークとネパールの計 4 カ国は、未だ公衆衛生問題としてのハンセン病制圧目標を達成していない。これらの国々におけるハンセン病制圧に向けた努力を支援し、国家の制圧活動を強化するために、さらなる努力が必要であろう。

多くの国におけるハンセン病対策プログラムは、ハンセン病が健康・保健問題として残存することが必要とされ続ける限り、そして成功が自己満足に終わらないことを確実にするために、全てのパートナーからの支援を引き続き必要とするであろう。

謝 辞

本論文は、平成 19 年度国際医療協力研究委託費「開発途上国で有効なハンセン病の診断、治療、障害予防に関する研究」の分担研究「開発途上国における偏見・差別の解消に向けた研究」の補助金を受けた。

Present leprosy situation in the world in 2007

Koichi SUZUKI*¹⁾, Yuzuru NAGAOKA²⁾, Shuichi MORI³⁾, Norihisa ISHII¹⁾

1) Department of Bioregulation, Leprosy Research Center, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo

2) Department of Dermatology, Tama-Zensho Leprosy Hospital, Tokyo

3) Department of Microbiology, Fukushima Medical University, Fukushima

[Received / Accepted: 15 Oct. 2007]

Key words : elimination, leprosy, multidrug therapy, prevalence rate, WHO

The epidemiological situation of leprosy is reported by the health division of each country to WHO. The reported data is collected by WHO and is immediately run on the Weekly Epidemiological Record. On this latest edition, data from the beginning of 2007 was reported. In almost all of the highly endemic countries, control activities have been integrated within the general healthcare system. However, Leprosy control programmes in many countries will need continued support from all partners to ensure that leprosy remains on the health agenda as long as necessary and that success does not lead to complacency.

*Corresponding author :
Department of Bioregulation, Leprosy Research Center, National
Institute of Infectious Diseases
4-2-1 Aoba-cho, Higashimurayama, Tokyo 189-0002, Japan
TEL : +81-42-391-8211 FAX : +81-42-391-8558
E-mail : koichis@nih.go.jp

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

谷川和也*¹⁾、鈴木幸一¹⁾、川島 晃¹⁾、三島眞代¹⁾、Huhehasi Wu¹⁾、
赤間 剛¹⁾、武下文彦²⁾、石井則久¹⁾

1) 国立感染症研究所ハンセン病研究センター生体防御部

2) 横浜市立大学医学部分子生体防御学

[受付・掲載決定：2007年11月1日]

キーワード：ファゴソーム、マクロファージ、CORO1A、*Mycobacterium leprae* (*M. leprae*)、
toll-like receptor2 (TLR2)

Mycobacterium leprae (*M. leprae*) 感染において、宿主のマクロファージのファゴソームの膜上には Toll 様受容体 (TLR2) および CORO1A (TACO, Coronin 1, p57) が発現していることが示されたが、両因子間の関係については未だ不明な点が多い。我々は *M. leprae* 感染後の細胞内生存における両因子間の機能的相互作用について検討を行い、両因子が互いに拮抗し合っていることを見いだした。

背景

通常、我々の免疫システムは「自己」と「非自己」を区別し、病原体などの「非自己」を排除する生体防御機構が備わっている。そのような十分な免疫反応を惹起するには自然免疫の働きが必須であり、現在では病原体に対するセンサーとして Toll 様受容体 (TLR)、Nod 蛋白、RIG-I などの重要なメカニズムが明らかとされている。免疫担当細胞として重要な役割を担うマクロファージは、「非自己」である病原体を感知し排除するメカニズムを有しており、その中核を担うのが TLR である。TLR の

主な役割は、病原体にのみ高度に保存される特徴的な構造 Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) を認識することであるが、マクロファージに発現する TLR2 は細菌の細胞壁成分であるペプチドグリカン (PGN) を認識する受容体であり、自然免疫系を活性化することで菌を排除する役割を担っている。

ハンセン病は leproma cell を蓄積することで形成される組織球性病巣を主体とし、末梢神経傷害および皮膚症状をきたす抗酸菌感染症である。ハンセン病の起原菌である *M. leprae* は、マクロファージを宿主とする細胞内寄生菌であり、食食された際に形成されるファゴソーム内で生存を維持できることが知られている (Fig 1)。*In vitro* の研究で *Mycobacterium bovis* Bacilli Calmette-Guerin (*M. bovis* BCG) を用いたライソソームとファゴソームの融合を阻害する TACO (CORO1A) という蛋白の存在が明らかとされた¹⁾。また、最近で

* Corresponding author:
国立感染症研究所ハンセン病研究センター生体防御部
〒189-0002 東京都東村山市青葉町4-2-1
TEL: 042-391-8211 FAX: 042-394-9092
E-mail: tanigawa@nih.go.jp

は Coronin 1 が Ca^{2+} シグナル伝達系の酵素カルシニューリンを活性化し、ファゴソームの maturation を阻害することで抗酸菌は生存を維持できるという報告もなされている^{2,3)}。

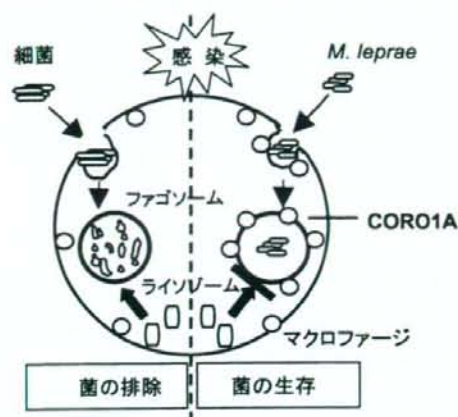


Figure 1. L型ハンセン病における *M. leprae* 感染に対する免疫反応

細菌感染に対してはマクロファージによって貪食された結果形成されるファゴソームにおいてライソソームと融合されることによって排除されるが、*M. leprae* が感染すると細胞膜の内側に発現する CORO1A がファゴソーム形成時にファゴソームの膜上に移動することによりライソソームとの融合を受けず、細胞内で生存を維持できる。

目的

我々のこれまでの研究により *M. leprae* を貪食したファゴソームの膜上に CORO1A の発現が誘導されることを見いだしている⁴⁾。そこで今回、*M. leprae* 感染において、菌を排除する役割を担う TLR2 と菌の生存の維持に働く CORO1A という相反する両因子の機能的相互作用について明らかにすべく研究を行った。

具体的には以下の3点について検討を行った。

1. L型ハンセン病皮膚組織における TLR2 と CORO1A の局在を免疫組織学的に検討した。2. CORO1A が TLR 下流のシグナルに与える影響について HEK293 細胞を用い、種々のベクターをトランスフェクションしルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイで評価した。3. TLR2 のシグナル

が CORO1A の発現に与える影響についてヒト単球由来細胞株である THP-1 細胞を用いて RT-PCR で評価した。

結果

それぞれの検討の結果、以下のようなことが明らかとなった。

1. L型ハンセン病皮膚組織における TLR2 と CORO1A の局在

L型ハンセン病皮膚組織について CORO1A および TLR2 の発現を確認するために免疫染色と抗酸菌染色の2重染色を行ったところ、*M. leprae* を含んだファゴソームの膜が染色されたことから TLR2 (Fig. 2A)、CORO1A (Fig. 2B) とともにファゴソームの膜上に局在することが明らかとなった。また、*M. leprae* を含まないファゴソームの膜には染まらなかったことから両因子共に感染時に局在が変化するものと考えられた。

2. CORO1A が TLR 下流のシグナルに与える影響

上記1の実験結果より CORO1A および TLR2 はらい菌を含むファゴソームの膜上に局在することが明らかとなったので、この両因子間の機能的相互作用についてさらに検討を行った。CORO1A が TLR2 シグナルに与える影響について検討を行うために HEK293 細胞に NF- κ B 依存性レポーター遺伝子および種々の TLR 発現ベクターを transfection し、そのリガンドで刺激した場合と細胞を TNF- α で刺激した場合のそれぞれの場合に誘導されるルシフェラーゼ活性に対して CORO1A が影響を及ぼすかどうかについて検討を行った。

TLR2 を発現させ、そのリガンドである PGN で刺激することにより誘導された NF- κ B によるルシフェラーゼ活性は CORO1A の用量依存的に抑制された。また、TLR とは独立した TNF- α によって誘導された NF- κ B 依存性ルシフェラーゼ活性も CORO1A の用量依存的に抑制された。しかし、コントロールとして用いた pGL3 control プラスミドによるルシフェラーゼ活性は CORO1A の影響を全く受けなかったことからルシフェラーゼの発現自体には影響がないことが分かった。

さらに、CORO1Aの影響がTLR2に特異的か、またNF- κ Bの発現に特異的なのかを確認するために、NF- κ BだけでなくType1 IFNの発現を誘導するTLR3および4をHEK293細胞に発現させ、それぞれのリガンドである二本鎖RNA(dsRNA)及びリポポリサッカライド(LPS)で刺激する系においても検討を行った結果、リガンド刺激することでNF- κ B依存性プロモーター及びIFN- β プロモーター活性が誘導されたが、CORO1Aの用量依存的に抑制された。

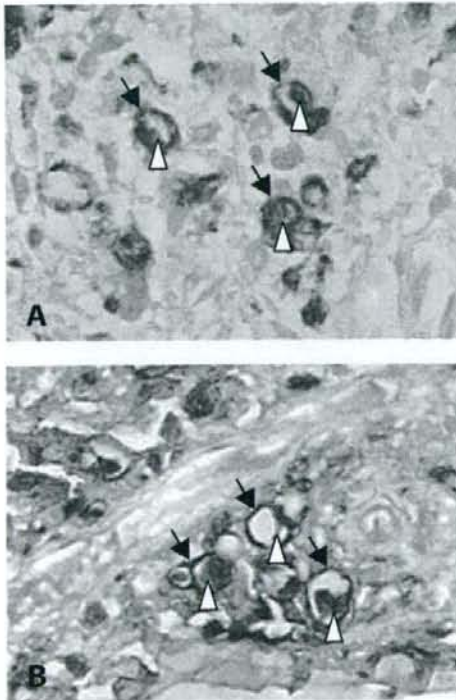


Figure 2. *M. leprae*を含んだファゴソームの膜上に局在するTLR2とCORO1A
L型ハンセン病皮膚組織を抗酸菌染色と免疫染色の2重染色を行った。(A)は抗酸菌染色後にTLR2の免疫染色を行ったもので、抗酸菌染色によって染色された白抜き三角形で示す*M. leprae*を含んだファゴソームの膜が黒矢印で示すようにTLR2の抗体で染まった。また、(B)も同様に抗酸菌染色後にCORO1Aの免疫染色を行ったもので、白抜き三角形で示す*M. leprae*を含んだファゴソームの膜が黒矢印で示すようにCORO1Aの抗体で染まった。このことから、両因子共に*M. leprae*を含んだファゴソームの膜上に局在することが確認された。

以上の結果から、CORO1AはTLR及びTNF- α によって誘導されるNF- κ Bを抑制し、またTLR3、4によるIFN- β プロモーター活性も抑制することが明らかとなった。このことより、CORO1Aは種々の自然免疫シグナルに対して抑制的に働くことで*M. leprae*が生存しやすい環境を作り出しているものと考えられた。

3. TLR2のシグナルがCORO1Aの発現に与える影響

これまでの結果より、CORO1AはTLR及びTNF- α を介して誘導されるNF- κ BおよびIFN- β の発現を抑制していることが明らかとなったので、逆にTLRシグナルがCORO1Aの発現に与える影響について検討を行った。また、TLR2のシグナルでも実際に*M. leprae*を感染させた場合とPGNで刺激した場合でCORO1Aの発現に違いがあるかどうか検討を行った。すなわち、ホルホルエステル(PMA)処理することで活性化させたTHP-1細胞にPGNおよび*M. leprae*で刺激後RT-PCRによりCORO1AのmRNAの発現を比較検討した。その結果、PMA未処理のTHP-1細胞においてはそれぞれの刺激による影響は見られなかった。一方でPMA処理後PGNによる刺激によってCORO1AのmRNAの発現が12時間をピークに強く抑制された。しかし、*M. leprae*による刺激においてはCORO1AのmRNAの発現に変動は見られなかった。このことから、活性化マクロファージにおいてPGNによるTLR2を介した刺激ではCORO1Aの発現は抑制されるが、*M. leprae*が感染した場合マクロファージに食食されることでCORO1Aの存在を必要とし維持することで、結果*M. leprae*が細胞内で生存しやすい環境を作っているのではいかと考えられた。

まとめ

これらのことより、TLR2とCORO1Aは機能的に拮抗していることが明らかとなり、両因子のバランスが抗酸菌感染症の予後に影響を与えるものと考えられた。また、PGNによってCORO1Aの発現は減少されたことから、菌の生存に不利に働くと考えられるが、*M. leprae*はCORO1Aの発現に影響を与えなかったことから、*M. leprae*にはファ