

クロスロード(カードゲーム)

- 目的
 - ✓コミュニケーショントレーニング:「聴く」「話す」
 - ✓知識の欠如や、問題点に自ら気がつくこと
- テーマ
 - ✓新型インフルエンザ



新製品「クロスロード」は、流行に備えるため、鳥取県立保健福祉大学の感染と予防の専門家の協力、ゲームデザイン・コミュニケーションを利用して、山口美子、吉川麻子、角野万里、大井真二、藤野の指導(5巻)1年 Page11-15(2008.03)

2008.11.4読売新聞

トラベルトラブル(ボードゲーム)

- 目的
 - ✓海外における感染症とその予防方法についての知識を身につける



• プレ調査実施中
• 課題としてフィールド確保

ひっじいんフェクション(ボードゲーム)

- 目的
 - ✓ 感染症 胃腸炎とその対策に関する知識を習得する
 - ✓ 流行と対策との関連について、イメージできるようになる



• プレ調査終了
• 本調査(評価を次年度実施)

ひっじいんフェクション評価

- M市保健所管内の保健福祉施設勤務者を対象とした研修会
- 質問紙による評価
- 研修プログラム
 - ✓ 受付後、開始前に配布されたゲーミングシミュレーション「ひっじいんフェクション」ルール説明を自学学習する。
 - ✓ ノロウイルスに関する講話(10分)後、6人からなるグループ毎に「ひっじいんフェクション」を実施し(50分)
 - ✓ 最後に感染拡大防止に関する講話(10分)
 - ✓ 質疑応答、質問紙記入

調査結果

Table 1 Evaluation of a participational learning program and a graphic structure tool

項目名	(++)	(+)	(-)	(---)	合計
(1)構成	71.9% (16)	24.1% (52)	3.8% (8)	0.7% (1)	100.0% (137)
(2)所要時間	44.4% (9)	25.9% (56)	6.8% (15)	1.5% (3)	100.0% (137)
(3)資料	44.7% (9)	25.9% (56)	5.0% (11)	1.4% (3)	100.0% (137)
ゲーミング・エミュレーション	77.9% (107)	21.0% (29)	0.7% (1)	0.7% (1)	100.0% (138)
(1)楽しかったか	33.3% (46)	52.2% (74)	12.2% (17)	1.4% (2)	100.0% (139)
(2)ルールはわかりやすかったか	50.4% (70)	30.9% (43)	14.5% (20)	2.2% (3)	100.0% (139)
(3)想像して、くわん子が実感できたか	54.3% (81)	28.8% (40)	12.2% (17)	0.7% (1)	100.0% (139)
(4)対策の重要性が実感できたか	70.1% (96)	19.7% (27)	8.6% (12)	1.5% (2)	100.0% (137)
(5)連絡の重要性が実感できたか	54.0% (74)	37.2% (51)	7.3% (10)	1.5% (2)	100.0% (137)

残された課題

- 開発に着手したツールとプログラムの完成
- 各ツールとプログラムの評価
- 利用の在り方についての検討(サイエンスカフェなど)
- 情報弱者(視・聴覚障害者など)を対象としたツールとプログラムの開発に向けた検討

平成 20 年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：インフルエンザ⁺ (H5N1) の死因となる激症型 ARDS の病態解析と治療法の開発に関する研究

課題番号：H19-新興一般-005

研究代表者：河内 正治

I. 研究の意義

- (1) H5N1 が新型インフルエンザ⁺として流行した場合その脅威は極めて大きく、緊急の行政対応が必至である。したがって早期にインフルエンザ⁺ (H5N1)の病態解明、治療法の開発が必要である。
- (2) 治療方法が明確でないインフルエンザ⁺ (H5N1)による ARDS (H5N1-FARDS) の本態と治療法を提言する。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 海外 (ベトナム) の病院 (国立小児病院、国立熱帯感染症研究所) と連携してインフルエンザ⁺ (H5N1)によって誘発する ARDS 病態 (H5N1-FARDS) を明らかにし、その治療の方向性を決定する。
- (2) 劇症型 ARDS (H5N1-FARDS) の新たな ARDS モデル動物を開発する。
- (3) インフルエンザ⁺ (H5N1)における劇症型 ARDS の病態、脳症発症の有無を解析する。
- (4) インフルエンザ⁺ (H5N1)の特定マーカとなる因子を抽出する。
- (5) ARDS における好中球浸潤を誘発するサイトカイン群、関連する免疫細胞を特定する。
- (6) 迅速診断法の確立と新たな治療法の提案の準備ができる。このことにより劇症型 ARDS の進行および死亡を抑制することが可能になり、インフルエンザ⁺ (H5N1)による死亡率を低減する。
- (7) インフルエンザ⁺脳症についての新たな知見と発生機序の解明への手がかりを獲得する。

III. 2年間の研究成果

・研究代表者

- (1) インフルエンザ⁺ (H5N1)感染症例(H5N1-FARDS)の臨床データ確保 (ベトナム国立小児病院[NHP]13 例)。重症 ARDS 症例と比較検討(解析可能症例数 43 例を確保、39 例について解析終了[20 年 10 月発症症例まで]投稿準備中)。
- (2) H5N1 感染症例の病理標本の確保(NHP)、現在共同研究者により病理学的解析を施行。JJID に発表。
- (3) 成人 ARDS 超急性期症例の肺胞洗浄液中サイトカイン群の解析(学会発表済み、英文投稿準備中)。

・研究分担者

- (1) ARDS 症例において従来の薬物療法に加えて PMX-DHP 併用ならびに high-frequency oscillatory ventilation (HFOV)を用いた人工呼吸管理の有用性の確認。(本間 栄)
- (2) 劇症型 ARDS モデルとして、VILI(ventilator-induced lung injury)モデルマウス作製。(前原康宏)
- (3) インフルエンザ⁺ (H5N1)の肺においてウイルス感染細胞同定、およびレプター等の解析。(中島典子・熊坂利夫)
- (4) インフルエンザ⁺ (H5N1)の病理/血清標本を用いた解析を国立小児病院と共同研究遂行。(鈴木和男)
- (5) マウス馴化型 PR8(H1N1)を感染させ、劇症型 ARDS の病態を示すモデルマウス作製。(鈴木和男)
- (6) 劇症型を誘発する要因となる肺腔中のサイトカイン・ケモカインレベルの上昇と炎症細胞の浸潤および組織傷害が、感染 2-3 日後に誘導されることを確認。(鈴木和男)
- (7) 抗 CD69 抗体投与により、肺のアレルギー性炎症を抑制する治療効果の確認。(中山俊典)
- (8) ARDS におけるマクロファージ系炎症細胞について半導体ナノ粒子を用いて検討。(山本健二)
- (9) ウイルス抵抗性遺伝子を個別に誘導して発現できる系の作製。(大島正道)
- (10) IFI44,MxA について一時的誘導発現及び安定発現の系をもちいた解析。(川上和義)
- (11) 肺炎球菌肺炎と LPS 誘発肺炎(ARDS)における NKT 細胞の関与の違い明確化。(川上和義)
- (12) インフルエンザ⁺ウイルス感染に伴う酸化ストレスの新しいバイオマーカーを発見。(赤池孝章)
- (13) 肺炎症反応における TNF- α の重要性、その産生細胞 Gr-1 陽性細胞の役割の明確化。(川上和義)
- (14) SARS 発症モデルにおいて、IFN- γ が免疫調整作用として働き、ウイルス増殖局所における初期のサイトカインストームを抑制することを明らかにした。(永田典代)
- (15) 炎症初期に産生される好中球走化性因子(KC)の大量産生が、重篤な肺炎に寄与していることを抗体中和実験により示した。(荒谷康昭)

IV. 21年度の課題

- (1) ハイ国立病院と連携：H5N1感染は若年者に多いため、20年から小児の病態解析・データ収集に重心を移した。21年度はさらにハイ国立小児病院との臨床 (ICU) および病理・生化学ラボとの連携を強化する必要あり。特に病態および病因解明のために、病理解剖及び病理標本解析についてより強化する。迅速キットなどを用いたインフルエンザ (H5N1) の疫学的研究も必要。
- (2) ARDS 実験マウスを用いて ARDS の発症にともなう肺への免疫炎症細胞浸潤のイメージング解析を行う。肺障害のイベントに主要なサイトカイン・ケモカインの特定と治療薬投与による軽減についての検討。
- (3) FARDS マウスを用い、好中球エラスターゼ阻害剤の治療効果について解析。
- (4) インフルエンザウイルス肺炎・ARDS における酸化ストレスイマーカーの開発。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) ベトナムとの連携により新型インフルエンザのターゲットの一つであるインフルエンザ (H5N1) の臨床病態の把握が可能になり、パンデミック発生時のシミュレーションに役立てることができる。また、予想される病態、治療などの対策を予想するデータとして貴重な社会的成果として貢献できる。
- (2) 迅速キットなどを用いたインフルエンザ (H5N1) の疫学的研究は、新型インフルエンザの対策として大きな社会的貢献となり、迅速診断法の確立と新たな治療法の提案の準備ができる。
- (3) インフルエンザ (H5N1) を含むインフルエンザ脳症について、新たな知見と発生機序の解明への手がかりを獲得できる可能性がある。

VI. 本研究の成果 (発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

研究代表者

1. Nguyen Thanh Liem, Teruaki Oka, Late Le Phuc Phat, Hoang Ngoc Thach, Pham Viet Hung, Luong Thi San, Yuko Sato, Noriko Nakajima, Harutaka Katano, Toshio Kumasaka, Shoji Kawachi, Takeji Matsushita, Tetsutaro Sata, Koichiro Kudo, Kazuo Suzuki. The characterization for H5N1-infected cells in lung tissue sections of a fatal case in Vietnam. *Jap J Infect Dis* 61:157-160, 2008.
2. Hidenori Yasuda, Nobuyoshi Yoshizawa, Mikio Kimura, Mika Shigematsu, Shoji Kawachi, Masamichi Oshima, Kenji Yamamoto, Kazuo Suzuki. Preparedness for the Spread of Influenza: Prohibition of Traffic, School Closure, and Vaccination of Children in the Commuter Towns of Tokyo. *J Urban Health* 85: 619-635, 2008.
3. 河内正治. インフルエンザ (H5N1) による ARDS の病態と治療. 特集「ARDS とインフルエンザ (H5N1)」、*医学の歩み* 224(11): 815-819, 2008.
4. 鈴木和男、河内正治. はじめに、「ARDS とインフルエンザ (H5N1)」、*医学の歩み* 224(11): 813-814, 2008.

研究分担者

1. 杉野圭史、本間 栄: インフルエンザウイルス感染後に ARDS を合併した重症肺炎の病態と治療. *医学のあゆみ* 224: 820-825, 2008
2. 本間 栄: 特発性間質性肺炎の診断と最新治療. *東邦医学会雑誌* 330-336, 2008.
3. Akiyoshi Hoshino, Tomokazu Nagao, Noriko Nagi-Miura, Naohito Ohno, Masato Yasuhara, Kenji Yamamoto, Toshinori Nakayama, Kazuo Suzuki. MPO-ANCA induces IL-17 production by activated neutrophils in vitro via classical complement pathway-dependent manner. *J. Autoimmunity* 31:79-89, 2008.
4. Yamashita, M., Kuwahara, M., Suzuki, A., Hirahara, K., Shinnakasu, R., Hosokawa, H., Hasegawa, A., Motohashi, S., Iwama, A., and Nakayama, T.: Bmi1 regulates memory CD4 T cell survival via repression of the *Noxa* gene. *J. Exp. Med.* 205:1109-1120 (2008).
5. Hoshino, A., Nagao, T., Nagi, M. N., Ohno, N., Yasuhara, M., Yamamoto, K., Nakayama, T., and Suzuki, K.: MPO-ANCA induces IL-17 production by activated neutrophils in vitro via classical complement pathway-dependent manner. *J. Autoimmun.* 31:79-89 (2008).
6. 川上和義: ALI/ARDS と自然免疫リンパ球. *医学のあゆみ*, 224: 845-849, 2008.
7. Zaki MH, Fujii S, Okamoto T, Islam S, Khan S, Ahmed KA, Sawa T, and Akaike T. Cytoprotective function of heme oxygenase-1 induced by a nitrated cyclic nucleotide formed during murine salmonellosis. *J Immunol*, in press (2008).
8. Nagata N., Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Taguchi F, Morikawa S, Sata T. Mouse-Passaged Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus Leads to Lethal Pulmonary Edema and Diffuse Alveolar Damage in Adult but Not Young Mice. *Am J Pathol.* 2008 172:1625-1637.
9. 荒谷康昭: 好中球機能異常による呼吸器不全—ミエロペルオキシダーゼ欠損を中心に—. *医学のあゆみ* (医歯薬出版) 2008. 224: 861-862.

ほか。

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

平成 19 年度

平成 20 年度

平成 21 年度

劇症型 ARDS モデル動物の作成

1. インフルエンザ(H5N1)誘導の劇症型 ARDS モデルマウスの病態解析
2. インフルエンザ(H5N1)誘導 ARDS に最適な肺胞損傷モデルマウス (VILI モデル) の作製
3. マウス馴化型 PR8(H1N1)感染、劇症型 ARDS 病態モデルマウス作製

(至適換気量の予測・実証) ⇒ 基礎実験終了 ⇒ モデルマウス完成 ⇒ **検証実験 ⇒ 治療実験**
 生体情報の取得 (心電図、血圧、体温、気道内圧) (各種 knock-out mouse 使用)
 マウス肺胞洗浄液/血液中: 好中球数、サイトカイン、細胞機能、RNA 同定
 マウス肺胞病理像



基礎分科会 統括責任者: 鈴木和男

多種サイトカイン同時測定

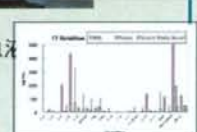
(予備実験) ⇒ 測定系の確立 ⇒ 測定開始 ⇒ **結果報告**

超急性期 ARDS 症例肺胞洗浄液/血液、ARDS モデルマウス肺胞洗浄液/血液

劇症型 ARDS マーカの同定開始

モデルマウス肺胞洗浄液/血液
 超急性期 ARDS 症例肺胞洗浄液/血液

⇒ ベトナム NHP 症例 (H5N1-FARDS, severe ARDS)



臨床分科会 統括責任者: 布井博幸、河内正治

ベトナムにおける共同研究 (NHP:国立小児病院、NIITD:国立熱帯感染研究所)

(予備調査)⇒ **研究計画書 JV-FARDS の作成** ⇒ 症例の確保(60 症例/3 年 NHP+NIITD)
 43 例確保 (NHP) ⇒ 60 症例 ⇒ **報告**

1. 劇症型 ARDS 症例 (インフルエンザ (H5N1)症例を含む) 肺胞洗浄液・血液・肺組織採取
2. Retrospective study:インフルエンザ (H5N1)を含む過去症例データ収集・検討 **NHP 終了 NIITD 終了**

劇症型 ARDS マーカの同定: 超急性期 ARDS 症例肺胞洗浄液/血液
 サイトカイン測定開始 (NHP)、測定器材搬入 (NHP)、細胞機能測定

Prospective Study (H5N1-FARDS)

H5N1-FARDS の病理学的検討/解析 (平成 21 年度)

1. H5N1 症例の病理解剖: 2 例実行⇒**症例数 UP**へ
 1 例報告 (JJID 61:157-160, 2008)

2. 病理解剖臓器種類、部位の指導
3. 検体解析 (特に免疫学的検索)

H5N1-FARDS, Severe ARDS の差異の解析

1. ARDS 症例データ集積、データ解析
2. 平均死亡年齢、死亡率、死亡原因など H5N1-FARDS の臨床的特異性の同定
3. H5N1-FARDS 有効治療法の分析 (Steroids、抗ウイルス薬、抗炎症薬、肺保護療法 (人工呼吸法) など)
4. H5N1 の迅速診断法の検証 (開発された診断法)



National Hospital of Pediatrics における全 H5N1 症例 (until March 2008)

No	Gender	Age	H5N1	Contact	Prognosis	PF	BT onset	Days
1	F	12	Y	U	D	29	39.5	7
2	M	5	Y	U	D	70	39	16
3	M	4	Y	U	A	157	39.5	20
4	M	10	Y	U	D	84	39.5	11
5	F	5	Y	Y	D	29	39.5	7
6	M	4	Y	Y	D	41	39.5	15
7	F	1	Y	Y	D	190	38.5	6
8	M	1.3	Y	N	D	607	39	9
9	M	11	Y	N	D	34	39	11
pl	M	4	Y	Y	D	31	38.5	12
10	F	9	Y	N	A	43	39.5	26
pl4	M	7	Y	Y	A	116	38.5	18
pl9	M	11	Y	Y	A	52	39.5	10

ARDS 超急性期 BALF 採取

(予備的実施) ⇒ 研究計画書の作成 (倫理委) ⇒ 症例確保

⇒ 報告 (第 32 回日本集中治療医学会) ⇒ **雑誌発表**

超急性期 ARDS 症例肺胞洗浄液・血液採取

JJICM 誌に投稿準備中⇒

劇症型 ARDS マーカの同定

サイトカイン測定開始、好中球数・細胞機能測定

○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

- 1980年6月1日～ 広島大学医学部附属病院
- 1981年10月1日～ 島根医科大学医学部附属病院
- 1982年4月1日～ 広島大学医学部麻酔学教室
- 1987年10月1日～ 松江赤十字病院
- 2003年4月1日～ 国立国際医療センター
- 2006年8月1日～ 国立感染研究所客員研究員 (併任)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- 鈴木 和男 千葉大学大学院・医学研究院・感染分子生物学・炎症制御学
- 布井 博幸 宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学分野・小児科学
- 本間 栄 東邦大学医学部呼吸器内科
- 中山 俊憲 千葉大学大学院・医学研究院・免疫発生 免疫学
- 山本 健二 国立国際医療センター研究所 国際臨床研究センター

・主な研究課題

- 『血管炎治療のための人工ホリコロナルゲロブリン製剤の開発と安全性確保に関する研究』
- 『インフルエンザ (H5N1) の死因となる急性肺障害 (ARDS) の病態解析とモデル動物の作製に関する研究』
- 『新型インフルエンザ 流行防御のための数理』

・これまでの研究実績 (2008-2006 のおもなもの)

1. Nguyen Thanh Liem, Teruaki Oka, Late Le Phuc Phat, Hoang Ngoc Thach, Pham Viet Hung, Luong Thi San, Yuko Sato, Noriko Nakajima, Harutaka Katano, Toshio Kumasaka, Shoji Kawachi, Takeji Matsushita, Tetsutaro Sata, Koichiro Kudo, Kazuo Suzuki. The characterization for H5N1-infected cells in lung tissue sections of a fatal case in Vietnam. *Jap J Infect Dis* 61:157-160, 2008.
2. Hidenori Yasuda, Nobuyoshi Yoshizawa, Mikio Kimura, Mika Shigematsu, Shoji Kawachi, Masamichi Oshima, Kenji Yamamoto, Kazuo Suzuki. Preparedness for the Spread of Influenza: Prohibition of Traffic, School Closure, and Vaccination of Children in the Commuter Towns of Tokyo. *J Urban Health* 85: 619-635, 2008.
3. 河内正治. 臨床手技の完全解説 適応疾患と手技 (p211-254 第5章麻酔/1麻酔料、2神経ブロック料). 寺島裕夫監修, 2008/9, 医学通信社, 東京.
4. 河内正治. ナースが取り組む栄養療法 (p86-91、part2-8 クリティカルな状態にある患者の栄養療法). 丸山道生監修, 2008/7, アンファミエ, 東京.
5. 前原康宏、松谷厚子、河内正治、尾崎由佳、鈴木洋平、佐藤正規、馬場万里子. 麻酔指導病院への HIV 陽性患者手術に関するアンケート調査. *麻酔* 57(10):1287-1292, 2008.
6. 河内正治. 自発呼吸、調節呼吸、同期式間欠的強制換気、圧支持法とバックアップ換気. 特集徹底理解! 人工呼吸器「換気モード」の仕組み. *呼吸器&循環器ケア* 8(1): 25-45, 2008.
7. 河内正治. インフルエンザ (H5N1) による ARDS の病態と治療. 特集「ARDS とインフルエンザ (H5N1)」、*医学の歩み* 224(11): 815-819, 2008.
8. 鈴木和男、河内正治. はじめに. 特集「ARDS とインフルエンザ (H5N1)」、*医学の歩み* 224(11): 813-814, 2008.
9. 河内正治. 麻酔科学レビュー2008 (p57-62、11 吸入麻酔薬). 天羽敬祐監修, 2008/2, 総合医学社, 東京.
10. 河内正治. とりインフルエンザとベトナム (編集余滴). *医療* 61(12): 831-832, 2007.
11. 河内正治. 生体防御医学事典 (p325-329, 63 ARDS の臨床). 鈴木和男監修, 2007, 朝倉書店, 東京.
12. 河内正治. ペインクリニックのための痛み診療のコツと落とし穴 (p98-100、星状神経節ブロック、p320-321、帯状疱疹後神経痛の治療). 宮崎東洋編, 2007, 中山書店, 東京.
13. 河内正治. 経腸栄養バイブル (p210-215, 6-5 Critical ill patients). 丸山道生編, 2007, 照林社, 東京.
14. 河内正治. クリティカルな状態にある患者に対する栄養療法. *ナース専科*, 26(12): 90-93, 2006.
15. 河内正治. 麻酔科学レビュー2007 (p60-65, 11 吸入麻酔薬). 天羽敬祐監修, 2007, 総合医学社, 東京.
16. 河内正治. 呼吸障害患者の栄養管理は? -重症患者と栄養管理 Q&A-. *救急・集中治療*, 18: 1541-1545, 2006.
17. 前原康宏、河内正治. ツベルクリン反応陽性: 結核が診断されたなら手術は延期、患者も職員も厳格に対応. *LiSA* 13:1070-1074, 2006.
18. 河内正治. 初期臨床研修を考える: 麻酔科の取り組みと課題. *臨床麻酔*, 30(11):1731-1735, 2006.
19. 河内正治. 麻酔科学レビュー2006 (p71-77, 12 吸入麻酔薬). 天羽敬祐監修, 2006, 総合医学社, 東京.
20. 河内正治. NST 完全ガイドー栄養療法の基礎と実践 (p198-202, 4-1 ショック). 東口高志編集, 2006, 照林社, 東京.

H5N1 vs. H5N1-negative cases - NHP-Hanoi 2003.12-2008.7

1. Retrospective survey : H5N1 cases with ARDS (P/F ratio <100)
2. Prospective survey : From Oct. 2007
ARDS cases (including H5N1) with
Age : over 1 month, P/F ratio < 100 at least 1 time in arterial-BOA

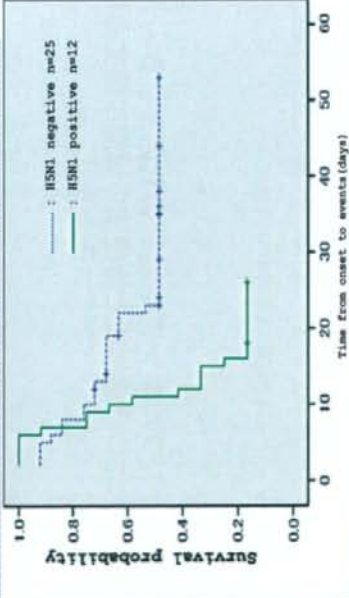
Confirmed H5N1 Cases (RT-PCR) : 12 cases, 25 cases
 Age (year-old: median): 6.5 ± 3.5, 1.2 ± 2.9
 Sex (male : female): 8:4, 17:8
 Prognosis: D:A = 10:2, 12:13 (0.022)
 Days onset to death (or discharge):
 12.3 ± 5.7, 21.5 ± 13.8
 Days admission to death (or discharge):
 6.3 ± 6.0, 14.3 ± 10.3 (0.0225)
 Days onset to admission: 6.0 ± 5.0, 7.2 ± 9.4
 Contact to poultry (yes : no : unknown): 6 : 3 : 3

H5N1 vs. H5N1-negative cases - NHP-Hanoi 2003.12-2008.7

Case No.	Age	Sex	Onset	Admission	Discharge	Death	Days Onset to Admission	Days Admission to Discharge	Days Onset to Death	Days Onset to Discharge	Days Onset to Death
1	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
2	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
3	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
4	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
5	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
6	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
7	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
8	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
9	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
10	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
11	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
12	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
13	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
14	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
15	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
16	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
17	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
18	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
19	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
20	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
21	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
22	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
23	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
24	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
25	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
26	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
27	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
28	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
29	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
30	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
31	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
32	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
33	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
34	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
35	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
36	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
37	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
38	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
39	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
40	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
41	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
42	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
43	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
44	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
45	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
46	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
47	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
48	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
49	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
50	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
51	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
52	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
53	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
54	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
55	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
56	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
57	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
58	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
59	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
60	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
61	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
62	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
63	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
64	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
65	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
66	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
67	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
68	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
69	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
70	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
71	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
72	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
73	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
74	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
75	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
76	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
77	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
78	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
79	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
80	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
81	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
82	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
83	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
84	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
85	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
86	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
87	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
88	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
89	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
90	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
91	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
92	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
93	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
94	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
95	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
96	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
97	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
98	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
99	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0
100	1	M	10/10	10/10	10/10	10/10	0	0	0	0	0

H5N1 vs. H5N1-negative cases - NHP-Hanoi 2003.12-2008.7

Survival curves in NHP-Hanoi cases : H5N1 / H5N1-negative



H5N1 vs. H5N1-negative cases - NHP-Hanoi 2003.12-2008.7

Survival probability

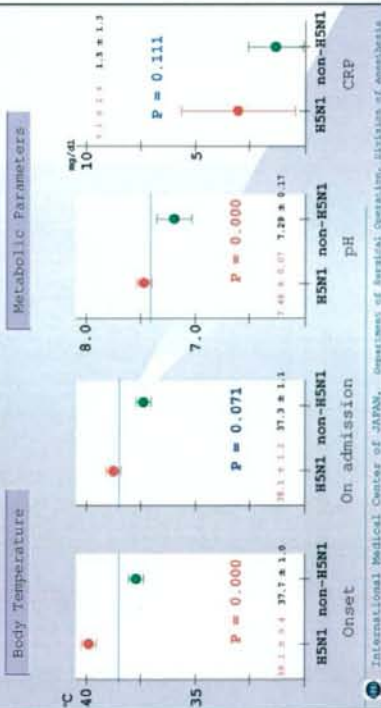
Number at risk	0	10	20	30	40	50	Days
non-H5	25	18	13	7	2	1	
H5N1	12	7	1	0	0	0	

Onset後7日あるいは8日まではnon-H5N1の方が死亡リスクが高い

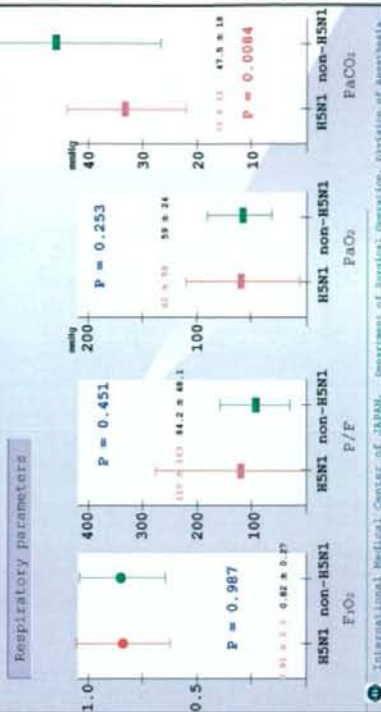
Overall comparisons of survival time
 non-H5 mean 32.09 ± 4.34 days (median 23)
 H5N1 mean 13.00 ± 1.88 days (median 11)

Test of equality of survival distributions for the different levels of H5N1 category
Chi-Square (Tarone-Ware) p=0.022
p=0.038

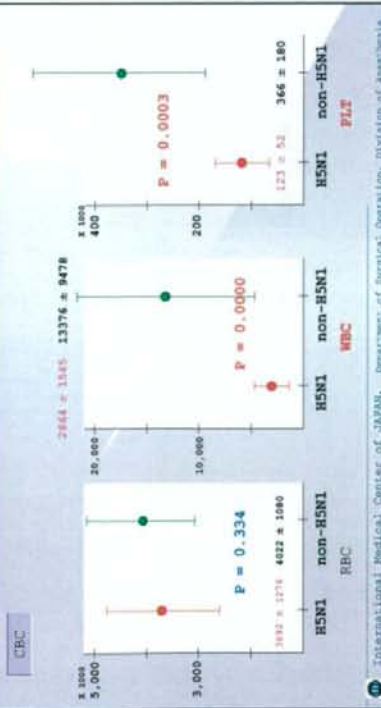
H5N1 vs. H5N1-negative cases - NHP-Hanoi 2003.12-2008.7



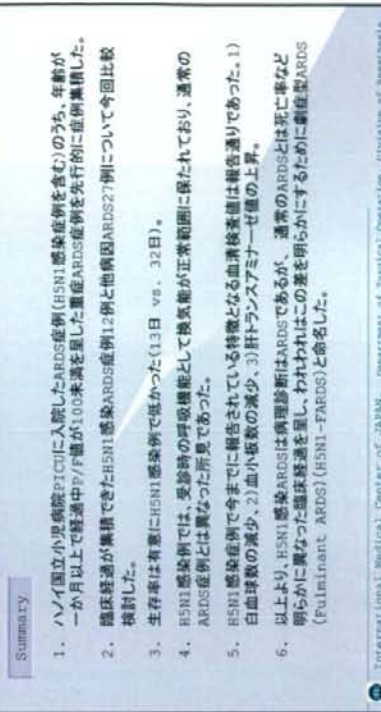
H5N1 vs. H5N1-negative cases - NHP-Hanoi 2003.12-2008.7



H5N1 vs. H5N1-negative cases - NHP-Hanoi 2003.12-2008.7



H5N1 vs. H5N1-negative cases - NHP-Hanoi 2003.12-2008.7



Shoji KAWACHI
08212 R11P-Tokyo

A Case From NHP-Hanoi

腫瘍芽腫男児(家畜業者と接触あり)
初発症状: 咳、高熱(39度以上)
<現病歴>
1-5病日: 高熱、咳、胸痛、呼吸困難
5病日: 地方の病院受診: 高熱、呼吸困難持続
7病日: NHP-Hanoi入院
入院時所見: 覚醒(GCS 15), 高熱

WBC: 1,700 RBC: 4.53 Hgb: 12.6 Plt: 207,000

AST/ALT: 757/253 BUN/Crea: 6.7/57 $\mu\text{m/L}$
ABGA (FiO₂=1.0): pH=7.375 PaO₂ 48.7 PaCO₂ 42 SaO₂ 82%
10病日: 死亡




09 March, 2008

International Medical Center of JAPAN, Department of Surgical Operations, Division of Anesthesia


Shoji KAWACHI

A Case From NHP-Hanoi


病理所見
病理標本抽出臓器: 肺臓、心臓、肝臓、空腸、腎臓、脾臓



Jung



Liver




Jejunum

International Medical Center of JAPAN, Department of Surgical Operations, Division of Anesthesia

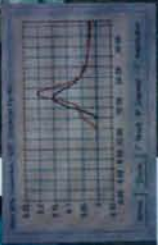
Shoji KAWACHI
08212 R11P-Tokyo

A Case From NHP-Hanoi

腫瘍経過 PICU-NHP-Hanoi



13 March 2008



International Medical Center of JAPAN, Department of Surgical Operations, Division of Anesthesia

Shoji KAWACHI
08212 R11P-Tokyo

平成20年度 (H19-新開-一般-005) 研究班

(主任研究者: 河内正治)

腫瘍分科会
東京大学 河内 正治
京都大学 橋本 博幸
大阪大学 本間 崇
(臨床医員) 東京大学 中島 典子, 松谷 淳子, 佐藤 正廣
京都大学 小林 深人
京都大学 齊藤 裕子
新潟大学 Nguyen Duc Hien
京都大学 Nguyen Hong Ha
京都大学 Nguyen Quoc Thai
京都大学 Nguyen Thanh Lien
京都大学 Luong Thi San
京都大学 Phung Thi Thuy

基礎分科会
千葉大学
国立国際医療センター
国立感染症研究所
東京大学
東京大学
東京大学
(研究協力者) Imperial College London
北海道大学
東京大学
東京大学
千葉大学
国立国際医療センター
国立感染症研究所
東京大学

Advisors
熊本大学
東北大学
東京大学

小川 謙雄
藤原 聡夫

International Medical Center of JAPAN, Department of Surgical Operations, Division of Anesthesia

平成20年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：抗酸菌感染症の発症・診断・治療・新世代予防技術に係わる分子機構に関する研究

課題番号：H19-新興一般-006

研究代表者：牧野正彦

I. 研究の意義

- (1) 抗酸菌の細胞内寄生性や宿主防衛免疫に対する抵抗性を誘導する結核菌の分子機構が不明
- (2) 潜在性抗酸菌感染から活動性抗酸菌症（内因性再燃）への発症機序即ち再活性化機構が不明
- (3) *Mycobacterium avium* complex (MAC) 感染症の迅速・簡便な検査法がない
- (4) 効果的な抗酸菌症治療の早期開始のための、抗酸菌の迅速・簡便な検出・鑑別診断法が必要
- (5) 臨床上観察される結核増悪因子である糖尿病の増悪誘導因子とその分子免疫機構が不明
- (6) 結核等病原性抗酸菌感染症を的確に予防する方策がない。成人肺結核に有効なワクチンが存在しない
- (7) 多剤耐性結核菌に有効な化学療法薬が十分整備されていない

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 結核菌病原性候補因子を同定し、宿主免疫応答抵抗性発現機構を解析し、新規予防・治療戦略を開発
- (2) 内因性再燃機構に関与する結核菌因子を同定し予防の視点から老人型高齢発症結核の制圧に寄与
- (3) 1型及び2型ラット糖尿病モデルで糖尿病が結核の増悪因子であることを細胞及び遺伝子レベルで証明
- (4) 未感作 CD4 陽性 T 細胞を強く活性化し、予防上必須な記憶型 CD4 陽性 T 細胞を産生する BCG の作製
- (5) 現行の BCG では活性化し得ない未感作 CD8 陽性 T 細胞を活性化し、実効型及び長期記憶型 CD8 陽性 T 細胞を効率的に産生する BCG の作製
- (6) ワクチン効果を決定する長期生存型 CD8 記憶 T 細胞の効率的産生機構と分化誘導機序の解明
- (7) 選択的・効率的に長期生存型 CD8 記憶 T 細胞を活性化する追加免疫用ワクチンの開発
- (8) 抗酸菌細胞壁に特異的な遺伝子・蛋白質の解析から新規治療薬標的分子を特定する
- (9) 新たな抗酸菌の血清診断を含む検出・鑑別法を開発し、迅速診断・簡便な対応法を可能とする

III. 2年間の研究成果

・研究代表者(牧野正彦)

- (1) 病原性抗酸菌共通主要抗原 MMP-II 分泌型 BCG は、病原性抗酸菌の生体内増殖を効果的に抑制
- (2) ウレアーゼ欠損リコンビナント BCG はファゴソームとライソソームの融合を促進し、樹状細胞及び未感作 CD4 陽性 T 細胞を強く活性化してマウス生体内で長期生存型 CD4 陽性記憶 T 細胞を産生
- (3) HSP70-MMP-II 融合蛋白を分泌する新規 BCG は、ワクチンとして最も重要な多機能型 CD8 陽性 T 細胞を多種類産生し、かつ実効性キラー T 細胞を産生し、同時に長期生存記憶型 T 細胞を大量に産生

・研究分担者(河村伊久雄)

- (1) 結核菌の病原性関連遺伝子領域 RD1 と結核菌因子 PPE37 の結核発症に果たす役割を確立
- (2) 結核菌感染により発現増加する抑制性分子 PDL-1 は、そのレセプター(PD-1)を介し感染後期の宿主防御反応を抑制

・研究分担者(小林和夫)

- (1) 潜伏感染に関与する菌の正と負の制御因子を解明
- (2) MAC 特異的糖タンパク脂質抗原の構造と生合成経路を解明。血清診断法の感度、特異度、疾患活動性を解析

・研究分担者(田村敏生)

- (1) 未感作 CD8 T 細胞の細胞障害活性発現には Th1 CD4 陽性細胞による樹状細胞の活性化が必須
- (2) CD8 T 細胞の活性化に資する樹状細胞の活性化には既知の T-bet 以外の転写因子の活性化も関与

・研究分担者(菅原 勇)

- (1) 1型及び2型と糖尿病ラットでは結核菌感受性が増大し、マクロファージの機能低下・炎症性サイトカイン産生能低下が出現
- (2) 1型糖尿病ラットはインスリン治療により結核菌抵抗性を獲得

・研究分担者(荒川宜親)

- (1) 結核菌の生育に重要な新規ヌクレオチド加水分解酵素の機能を明らかにした
- (2) 非結核性抗酸菌症の分子疫学調査に有用な新規 IS を *Mycobacterium avium* 感染者の臨床株より同定

IV. 21年度の課題

- (1) RD1・PPE37等の病原性結核菌因子の病原性発現をもたらす分子機構の解析とPDL-1を介した抑制性シグナルの感染防御に及ぼす影響を検討
- (2) 同定した潜伏感染に関与する結核菌の正と負の制御因子の中で最有力候補を探索
- (3) MAC感染症の血清診断の感度や特異度に関し、更なる症例を蓄積し解析する
- (4) 結核を重症化する糖尿病の責任因子をマクロファージを中心に免疫学的・分子遺伝学的に解析
- (5) 最終目標であるウレアーゼ欠損かつHSP70-MMP-II導入BCGを作製し、予防用ワクチンを確立
- (6) 細胞壁画分CD8陽性T細胞活性化抗原の同定とその活性化誘導機構の解明
- (7) CD8陽性T細胞の細胞障害機能発現を誘導するCD4陽性T細胞及び樹状細胞の活性化機構の解析
- (8) 菌の生育に必須な細胞壁新規遺伝子の機能解析と新規抗酸菌鑑別法の有効性を臨床分離株で検討

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 結核病原性因子をターゲットとした抗菌薬に代わる新たな治療用生物製剤の開発に貢献
- (2) 潜伏感染者の再燃機構を解析し、高齢発症の予防策の構築に寄与
- (3) MAC感染症の血清診断を国際的診断基準に加え、地球規模での迅速・簡便な診断に資する
- (4) 結核増悪高危険因子として日本人に多い糖尿病が重要であるとの注意喚起が発信可能となる
- (5) 新規BCGワクチン作出による病原性抗酸菌感染症の発症予防方策の確立
- (6) 高齢者肺結核発症予防用ワクチンの選択的開発と発症遅延誘導法の基本的方策の構築へ貢献
- (7) 多剤耐性結核症や非結核性抗酸菌症に対する有効な治療方法の開発に資する
- (8) 非結核性抗酸菌症の鑑別診断や分子疫学解析のための迅速な対応が可能となる

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)**研究代表者(牧野正彦)**

- (1) 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 Infect.*, 9:70-77, 2007.
- (2) Mukai, T., Y. Maeda, T. Tamura, Y. Miyamoto, and M. Makino. CD4⁺ T cell activation by antigen-presenting cells infected with urease-deficient recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 53:96-106, 2008.

研究分担者(河村伊久雄)

- (1) Kaku, T., I. Kawamura, R. Uchiyama, T. Kurenuma, and M. Mitsuyama. RD1 region in mycobacterial genome is involved in the induction of necrosis in infected RAW264 cells via mitochondrial membrane damage and ATP depletion. *FEMS Microbiol. Lett.*, 274:189-195, 2007.
- (2) Uchiyama, R., I. Kawamura, T. Fujimura, M. Kawanishi, K. Tsuchiya, T. Tominaga, T. Kaku, Y. Fukasawa, S. Sakai, T. Nomura, and M. Mitsuyama. Involvement of caspase-9 in the inhibition of necrosis of RAW 264 cells infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect. Immun.*, 75:2894-2902, 2007.

研究分担者(小林和夫)

- (1) Kitada, S., K. Kobayashi, S. Ichiyama, S. Takakura, M. Sakatani, K. Suzuki, T. Takashima, T. Nagai, I. Sakurabayashi, M. Ito, and R. Maekura. Serodiagnosis of *Mycobacterium avium*-complex pulmonary disease using an enzyme immunoassay kit. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177: 793-797, 2008.
- (2) Katsube, T., S. Matsumoto, M. Takatsuka, M. Okuyama, Y. Ozeki, M. Naito, Y. Nishiuchi, N. Fujiwara, M. Yoshimura, T. Tsuboi, M. Torii, N. Oshitani, T. Arakawa, and K. Kobayashi. Control of cell wall assembly by a histone-like protein in mycobacteria. *J. Bacteriol.* 189:8241-8249, 2007.

研究分担者(田村敏生)

- (1) Ariga, H., Y. Shimohakamada, M. Nakada, T. Tokunaga, T. Kikuchi, A. Kariyone, T. Tamura, and K. Takatsu. Instruction of naive CD4⁺ T-cell fate to T-bet expression and T helper 1 development: roles of T-cell receptor-mediated signals. *Immunology*, 122:210-221, 2007.

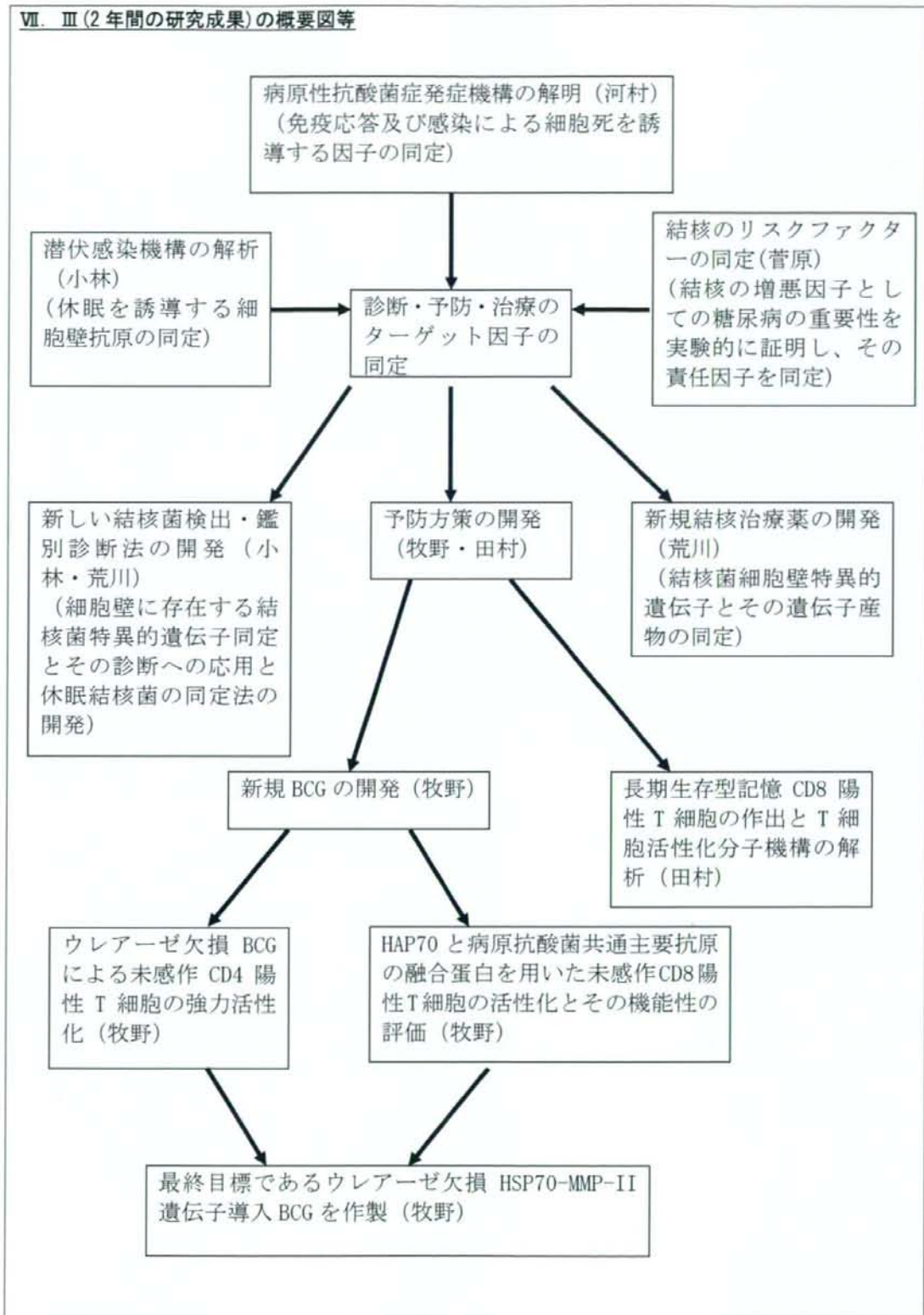
研究分担者(菅原 勇)

- (1) Sugawara, I., Z. Li, L. Sun, T. Udagawa, and T. Taniyama. Recombinant BCG Tokyo (Ag85A) protects cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) infected with H37Rv *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis*, 87:518-525, 2007.
- (2) Sugawara, I., and S. Mizuno. Higher Susceptibility of Type 1 Diabetic Rats to *M. tuberculosis* Infection. *Tohoku J. Exp. Med.*, in press, 2008.

研究分担者(荒川宜親)

- (1) Piao, Z., K. Shibayama, S. Mori, J. Wachino, and Y. Arakawa. A novel insertion sequence, IS1642, of *Mycobacterium avium*, which forms long direct repeats of variable length. *FEMS Microbiol. Lett.*, in press.

VII. III (2年間の研究成果)の概要図等



○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

- 1987年9月～1990年11月 アメリカ合衆国 National Institutes of Health (Visiting fellow)
 1991年4月～1994年12月 国立予防衛生研究所、細菌・血液製剤部(研究員)
 1995年1月～2000年3月 鹿児島大学医学部附属難治性ウイルス疾患研究センター(助教授)
 2000年4月～ 現職

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- ・ 藤原道夫(新潟大学教授)
- ・ 馬場昌範(鹿児島大学教授)
- ・ 園田俊郎(鹿児島大学教授)
- ・ 渡部久実(琉球大学教授)
- ・ 矢野郁也(日本 BCG 中央研究所所長)
- ・ 高津聖志(東京大学教授)
- ・ Herbert C. Morse III (NIH, Laboratory Chief)
- ・ Patrick J. Brennan (Colorado State University, Professor)
- ・ Stefan H. E. Kaufmann (Max-Planck-Institute for Infection Biology, Director)

・主な研究課題

- ・ 自己免疫性疾患の発症機構の解明
- ・ マウスエイズの発症機構の解明と免疫療法の開発
- ・ HAM/TSP 及び ATL の発症機構の解明と免疫療法の開発
- ・ 抗酸菌感染症の発症機構の解明、生体防御機構の解析並びに診断法・予防法及び免疫療法に関する開発研究

・これまでの研究実績

- 1) GM-CSF mediated T cell activation by macrophages infected with recombinant BCG that secretes major membrane protein-II of *Mycobacterium leprae*. FEMS Immunol. Med. Microbiol., in press, 2008.
- 2) Characterization of the fucosylation pathway in the biosynthesis of glycopeptidolipids from *Mycobacterium avium* complex. J. Bacteriol., 2007.
- 3) Evaluation of major membrane protein-II as a tool for serodiagnosis of leprosy. FEMS Microbiol. Lett., 2007.
- 4) Identification of trehalose dimycolate (cord factor) in *Mycobacterium leprae*. FEBS Lett., 581:3345-3350, 2007.
- 5) Immunostimulatory activity of recombinant *Mycobacterium bovis* BCG that secretes Major Membrane Protein II of *Mycobacterium leprae*. Infect. Immunity, 2006.
- 6) Impaired maturation and function of dendritic cells by mycobacteria through IL-1 β . Eur. J. Immunol., 2006.
- 7) Identification and characterization of the genes involved in glycosylation pathways of mycobacterial glycopeptidolipids biosynthesis. J. Bacteriol., 2006.
- 8) Immunostimulatory activity of major membrane protein-II from *Mycobacterium leprae*. Cell. Immunol., 233:53-60, 2005.
- 9) Identification of immunomodulating agent from *Mycobacterium leprae*. Infect. Immunity, 2005.
- 10) *Mycobacterium leprae* infection in monocyte-derived dendritic cells and its influence on antigen-presenting function. Infect. Immunity, 2002.
- 11) Novel 33-Kilodalton Lipoprotein from *Mycobacterium leprae*. Infect. Immunity, 2002.
- 12) The role of HTLV-I-infected dendritic cells in the development of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. J. Virol., 1999.
- 13) HTLV-I-infected T cells activate autologous CD4⁺ T cells susceptible to HTLV-I infection in a costimulatory molecule-dependent fashion. Eur. J. Immunol., 1997.
- 14) Rapid development of murine AIDS is dependent on signals provided by CD54 and CD11a. J. Immunol., 1995.
- 15) Influence of H-2 class II antigens on the development of Murine AIDS (MAIDS). J. Immunol., 1994.
- 16) Impaired calcium mobilization in CD4⁺ and CD8⁺ T cells in a retrovirus-induced immunodeficiency syndrome, murine AIDS. J. Immunol., 1992.
- 17) Analysis of role of CD8⁺ T cells in resistance to murine AIDS in A/J mice. J. Immunol., 1992.
- 18) H-2-associated and background genes influence the development of a murine retrovirus-induced immunodeficiency syndrome, MAIDS. J. Immunol., 1990.

抗酸菌感染症の発症・診断・治療・新世代 予防技術に係わる分子機構に関する研究

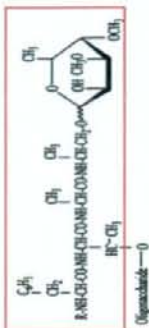
研究代表者: 牧野 正彦 (国立感染症研究所・部長)
 研究分担者: 荒川 宜親 (国立感染症研究所・部長)
 小林 和夫 (国立感染症研究所・部長)
 田村 敏生 (国立感染症研究所・室長)
 菅原 勇 (結核研究所・研究主幹)
 河村 伊久雄 (京都大学・准教授)

Mycobacterium avium complex (MAC)の血清診断用キットの確立

MAC: 非結核性抗酸菌感染症の70~80%を占める
 : 水・土壌・動物に普遍的に存在
 : 薬剤耐性
 : 確定診断に数ヶ月を要す

MAC由来糖ペプチド置質 (GPL) 核抗原

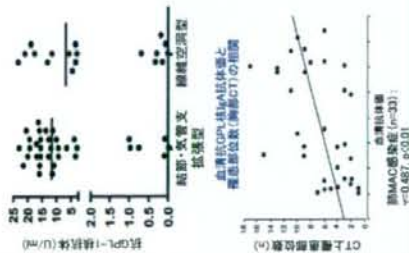
単独医療施設における
MAC症の診断



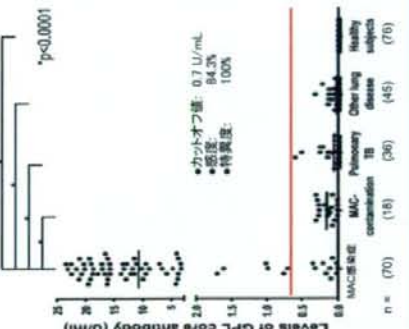
	GPL core-igA
感度:	92.5%
特異度:	95.1%
陽性的中率:	89.1%
陰性的中率:	96.7%

GPL 核: 31血清型MACに共通な主要抗原部分

血清抗体価とMAC感染症の病型

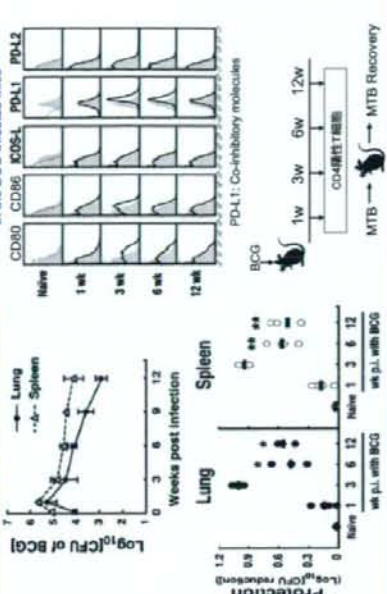


6施設共同研究によるMAC血清診断



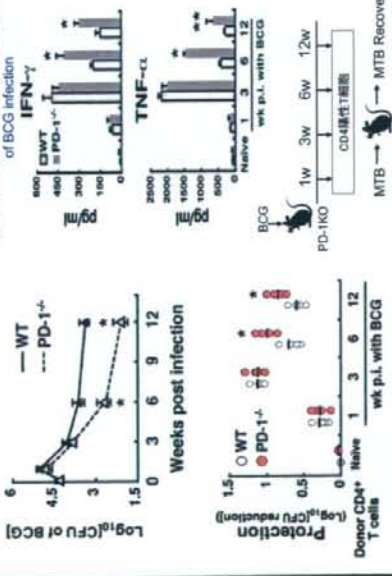
結核菌の慢性持続感染誘導機構

Protective efficacy of CD4⁺ T cells are attenuated in the late stage of BCG infection.



PD-1 抗原の役割 (PD-1KOマウスとWTマウスの比較検討)

Enhanced protection in PD-1KO mice
Cytokine-inducing ability of CD4⁺ T cells in PD-1KO mice is maintained in the late stage of BCG infection

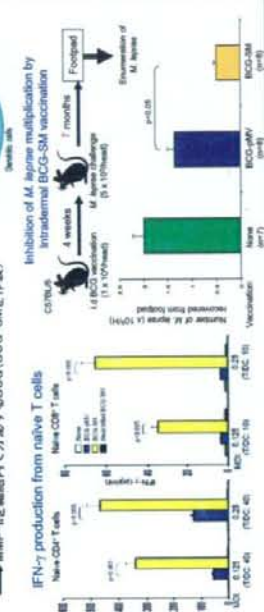


病原性抗酸菌の発症を抑制する新規リコンビナントBCG菌の開発

○抗酸菌に対する生体防御反応・獲得免疫応答が中心
CD4陽性T細胞 = 感染初期に作用
CD8陽性T細胞 = 感染後期に作用

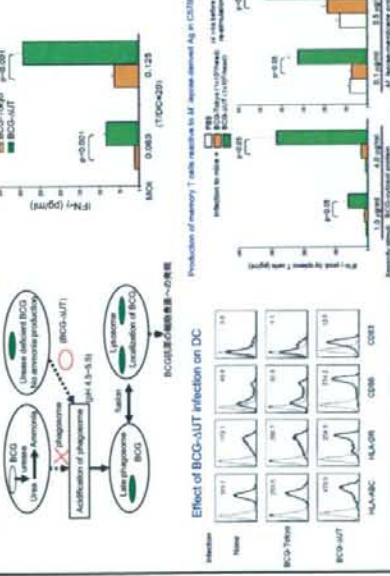
○病原性抗酸菌共通主要抗原・MMP-IIを同定 (Major Membrane Protein-II)

○MMP-IIはTLR2に結合し樹状細胞を活性化
→ MMP-IIを細胞内で分泌するBCG (BCG-SMを作製)



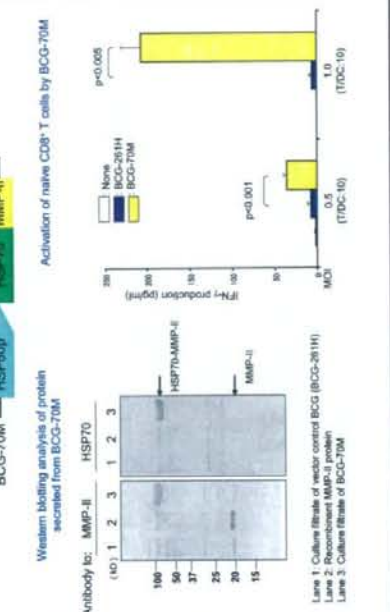
未感作CD4陽性T細胞の活性化を強く誘導するリコンビナントBCGの作製

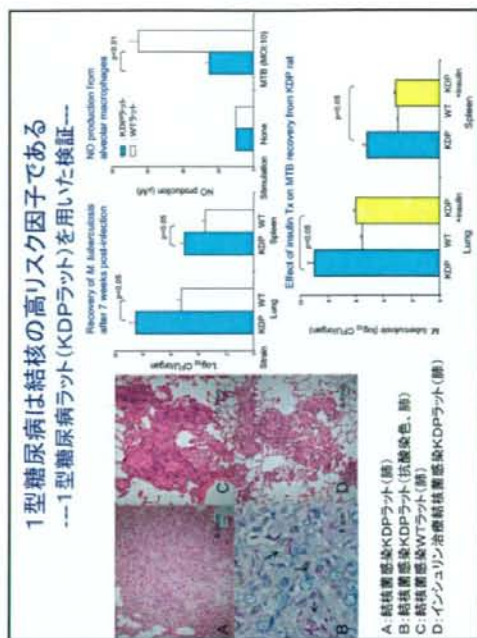
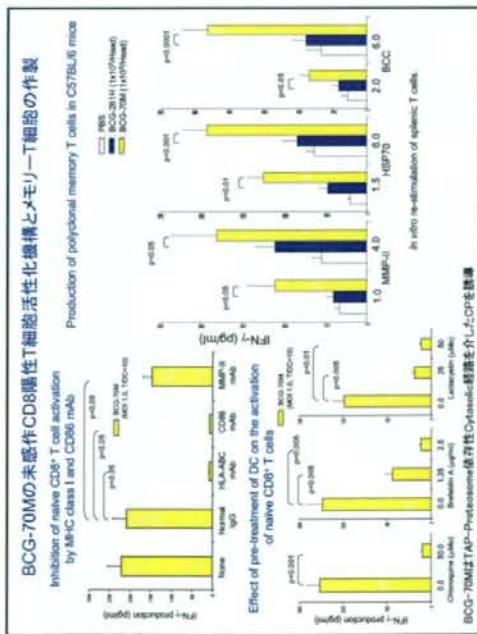
Inhibition of acidification of BCG-infected phagosome



未感作CD8陽性T細胞を強く活性化するリコンビナントBCGの作製

Western blotting analysis of protein secreted from BCG-70M





平成20年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：慢性寄生虫感染症の侵入監視及びその健康管理体制の確立

課題番号：H19-新興一般-007

研究代表者：宮 平 靖

I. 研究の意義

- (1) 在留外国人の慢性寄生虫/原虫症罹患状況について十分な調査が行われたことがなく、その実態が把握されていない。したがって、その対策手法、監視体制は十分に整備されていない。
- (2) 各慢性寄生虫/原虫症、特にシャーガス病、リューシュマニア症の血清学的免疫診断法、DNA診断法は、迅速性、簡便性、特異性、信頼性、感度等の面で、新規開発、改善の余地が残されている。
- (3) マラリア、シャーガス病、リューシュマニア症、住血吸虫症等に対し、これまでに報告されている予防的/治療的免疫療法では、感染制御手法としては不十分である。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 在留外国人の慢性寄生虫/原虫症罹患状況の実態を把握し、その監視体制の確立を目的とする。
- (2) 輸血行政等に対する国民の先入観や根拠の無い不安の払拭に寄与することが期待される。
- (3) 健康管理/教育体制の整備は予測外の感染事例の可能性を未然に防ぎ、作成ガイドラインは本事案に対する先駆的な対策マニュアルとなる成果が期待される。
- (4) 新規診断、治療手法の開発研究では、わが国には流行していない感染症という理由によって研究資金不足により遅滞している本研究領域の発展に寄与すると期待される。
- (5) 新規予防/治療的免疫療法の開発研究は、本領域に留まらない、ウイルス、細菌感染症や腫瘍のような他領域の制御手法へと応用される成果が期待できる。

III. 2年間の研究成果**・研究代表者**

- (1) 在留外国人の慢性寄生虫/原虫症罹患状況の実態把握のため、地方自治体で在留外国人対象の健康診断を企画、実施し、334名(男性121名、女性182名、性別不明31名)の受診者を得た。
- (2) 健診時に日本語/英語/中国語/スペイン語並書の健康管理手帳を独自に作成し配布した。
- (3) 健診受診者の出身国、出身地での感染症情報、感染症罹患歴、家族歴、現病歴等の情報を得た。
- (4) 調査研究へ同意された方々を対象に、問診、採血、検便、超音波検査(肝エコー、心エコー)による健診を計7回実施し、健診受診者から検体および超音波画像を得た。
- (5) 血液検体を用いて血清学的免疫診断法を行い、ベトナム国籍の受診者2名が抗内臓リーシュマニア症抗体陽性であることを見出した。
- (6) マラリア、シャーガス病に対する新規感染制御手法の開発研究では、有望な結果を得ている。
- (7) 地方自治体(神奈川県)の行政担当者らとマニュアルの作成等を前提にした協議を開始した。

・研究分担者(H19:春木宏介、H20:竹内勤)

- (1) 研究代表者と共に、調査研究参画への同意が得られた方々を対象に健診を行った。
- (2) 健診によって得られた血液検体から、マラリアの罹患状況を調査した。
- (3) 健診で得られた血清についてシャーガス病についてIgG抗体の有無を調べた。その結果、中南米出身者126名(アルゼンチン5名、コロンビア2名、チリ1名、ドミニカ2名、ブラジル51名、ペルー38名、ボリビア26名、メキシコ1名)のうち、ボリビア人1名の抗体陽性者を見出した。
- (4) 在留ラテンアメリカ人に対する教育啓蒙活動を行った。
- (5) 抗シャーガス病抗体検査用キットについて利便性、信頼性についての比較検討、評価を行った。

・研究分担者(赤尾信明)

- (1) 研究代表者と共に、調査研究参画への同意が得られた方々を対象に健診を行った。
- (2) 209名の血液のマラリア原虫検査では、迅速診断キットOptiMalで1名の抗原陽性者を見出したが、PanR-Malaria迅速診断キットでは陰性、さらに熱帯熱マラリア原虫と三日熱マラリア原虫特異プライマーを用いたPCR法でもマラリア原虫DNAは検出されず、擬陽性と判定した。
- (3) 平成19年度はトキシカラ抗体陽性9名(フィリピン4名、タイ3名、ベトナム1名、韓国1名)、多包条虫症1名(フィリピン)を確認し、平成20年度はトキシカラ抗体陽性8名(ベトナム4名、ボリビア2名、フィリピン1名、日本1名)、顎口虫抗体陽性3名(ボリビア3名)、赤痢アメーバ抗体陽性1名(ベトナム)、旋毛虫抗体陽性1名(ボリビア)を確認した。括弧内は国籍を示す。
- (4) 平成19年度には、糞便検査で鉤虫症1名(フィリピン人)を見出した。

・研究分担者(H19:大前比呂思、H20:大西健児)

- (1) 研究代表者と共に、肝臓を対象に腹部超音波検査を、場合により胸部超音波検査を行った。

- (2) 健診によって得られた超音波画像から、異常と思われる所見とそれが認められた参加者の人数及び出身国、年齢などを分析し、住血吸虫症、シャーガス病の罹患の有無を調査した。
- (3) 血清診断の結果、1名に抗住血吸虫抗体陽性者(国籍ナイジェリア)を見出した。
- (4) 成虫・虫卵抗原を用い、尿を用いた日本住血吸虫症の新規免疫診断法の開発を行っている。
- (5) 住血吸虫症に対して、新規標的抗原の同定から防御免疫応答の解析等を推進している。

・研究分担者(H19:黒木俊郎、H20:高本雅哉)

- (1) 研究代表者と共に、調査研究参画への同意が得られた方々を対象に健診を行った。
- (2) 糞便検査陽性者は計13名(うちブラジル人1名は、3種混合感染)であり、*Entamoeba* 属(*E. histolytica*か*E. dispar*は未確定)感染症罹患患者計6名(ブラジル人3名、うち1名は3種混合感染、ペルー人1名、ポリビア人1名、ベトナム人(血清診断陽性)1名)、ランブル鞭毛虫症罹患患者は計3名(ブラジル人1名は3種混合感染、ペルー人1名、ポリビア人1名)、クリプトスポリジウム症罹患患者は計6名(ブラジル人1名は3種混合感染、ベトナム人5名)であった。
- (3) 自治体行政担当者らと健診実施、マニュアル作成等を前提にした自治体の役割等について協議した。

IV. 21年度の課題

- (1) 在留外国人の慢性寄生虫/原虫症の罹患実態を把握するため、感染症情報、罹患歴、家族歴、病歴等の情報を網羅的に収集、解析する。(担当:全員)
- (2) 本調査研究への同意を得られた方々を対象に健診を継続して実施する。(担当:全員)
- (3) 血清診断、糞便検査陽性者の解析、フォロー・アップ、対策立案と提言のとりまとめ。(担当:全員)
- (4) 新規診断手法の開発研究に関しては、各種免疫診断法、DNA診断法等を改良、応用し、対象とする各慢性寄生虫/原虫症に対し有効性を検証する。(担当:赤尾、高本、竹内)
- (5) 慢性寄生虫/原虫症に対する新規感染制御手法の開発研究を継続する。(担当:宮平、大西)
- (6) 在留外国人の出身地の言語で書かれた感染症情報を用い、教育啓蒙活動を行う。(担当:全員)
- (7) 慢性寄生虫/原虫症に関する教育講演会を主催し、教育啓蒙活動に努める。(担当:全員)
- (8) 2年間の調査研究に基づいて、本健康事案に対する対策ガイドラインを作成し地方自治体の行政担当者らと合理性、信頼性を検証後、他46地方自治体へマニュアルとして配布する。(担当:全員)

V. 行政施策への貢献の可能性

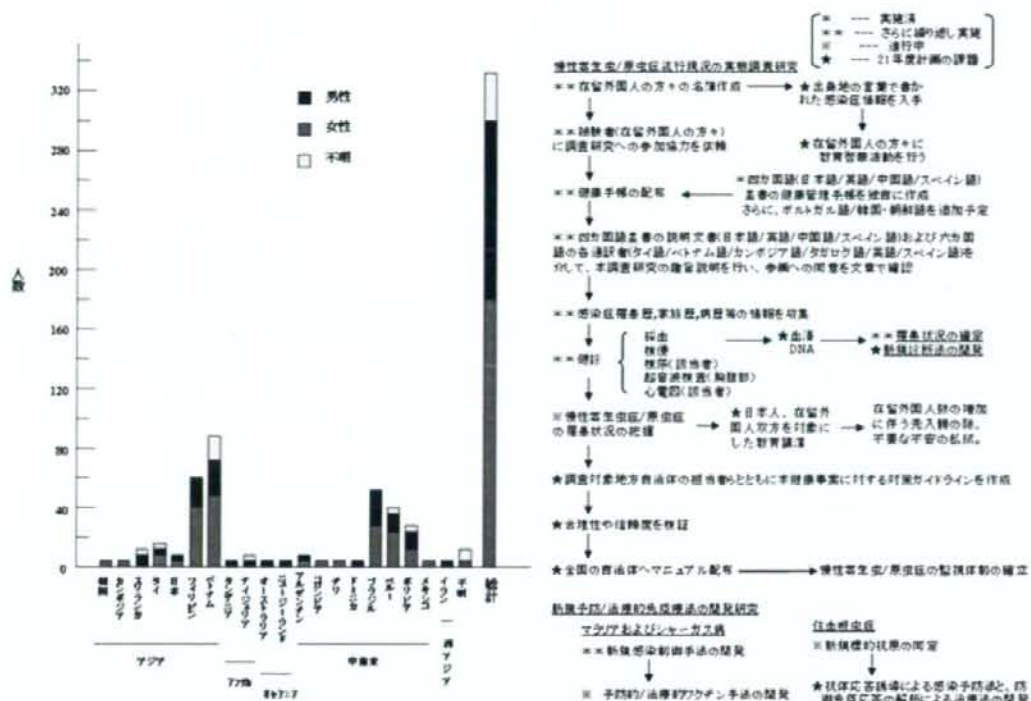
- (1) 在留外国人の慢性寄生虫/原虫症の罹患状況の実態を調査し明らかにすることで、行政施策の立案を可能にし、その監視体制のガイドラインの作成へもつながって行く。
- (2) 在留外国人数の増加に伴う感染症領域での先入観の排除、不必要な不安の払拭に寄与する。
- (3) 健康管理/教育体制の整備は、予測外の感染事例の可能性を未然に防ぎ、作成ガイドラインは本事案に対する先駆的な対策マニュアルとなる。
- (4) 輸血行政上、輸血により感染が拡大し得る慢性寄生虫/原虫症に対する対策立案の科学的根拠となる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) 宮平 靖
1. Miyahira Y, et al.: Immune responses against a single CD8⁺T-cell epitope induced by virus vector vaccination can successfully control *Trypanosoma cruzi* infection. *Infect Immun*, 2005; 73:7356-7365.
2. Miyahira Y.: *Trypanosoma cruzi* infection from the view of CD8⁺ T cell immunity - An infection model for developing T cell vaccine. *Parasitol Int*, 2008; 57(1):38-48.
- (2) 竹内 勤
1. Fukao T, Takeuchi T, et al.: An evolutionarily conserved mechanism for micro RNA-223 expression revealed by micro RNA gene profiling. *Cell*, 2007; 129:617-631.
2. Takeuchi T, et al.: Past Japanese successes show the way to accomplish future goals. *Trends Parasitol*, 2007; 23:25-29.
- (3) 赤尾 信明
1. 大友弘士, 赤尾信明.: 末梢血におけるマラリア原虫の検出, 検査と技術. 2008;36(4):311-6.
2. Yoshikawa M, Akao N et al.: A familial case of visceral toxocarosis due to consumption of raw bovine liver. *Parasitology International*, 2008;57(4):525-9.
- (4) 大西 健児
1. K. Ohnishi, et al.: Hepatic cystic echinococcosis with specific CT findings. *Internal Medicine*, 2008;47:803-5.
2. K. Ohnishi, et al.: Clinical case report: Falciparum malaria with hemophagocytic syndrome. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2007;76:1016-8.
- (5) 高本 雅哉
1. Hida S, Takamoto M, et al.: Fc receptor γ -chain, a constitutive component of the interleukin 3 receptor, is required for interleukin 3-induced interleukin4 production in basophils. *Nat. Immunol*, 2008; in press
2. Jin D, Takamoto M, et al.: STAT6 signalling is important in CD8⁺ T-cell activation and defence against *Toxoplasma gondii* infection in the brain. *Immunology*, 2008 Sep 13. [Epub]

VII. III (2年間の研究成果)の概要図等

在留外国人対象健康診断受診者: 334名 (男性121名、女性182名、性別不明31名)



慢性寄生虫/原虫症罹患可能性が疑われる在留外国人

免疫学的血清診断陽性 27名

- ※ 抗内臓リシシュマニア症抗体陽性
- ※ 抗シャーガス病抗体陽性
- ※ 抗トキソカラ症抗体陽性

- ※ 抗顎口虫症抗体陽性
- ※ 抗赤痢アメーバ症抗体陽性
- ※ 抗旋毛虫症抗体陽性
- ※ 抗住血吸虫症抗体陽性
- ※ 抗多包糸虫症抗体陽性

糞便検査陽性 14名(うち1名は、3種混合感染)

- ※ Entamoeba属感染症 (E. histolytica/E. disparは未確定)

- ※ ランブル鞭毛虫症
- ※ クリプトスポリジウム症
- ※ 鉤虫症

- ベトナム人 2名
- ボリビア人 1名
- 17名(ベトナム人5名、フィリピン人5名、タイ人3名、ボリビア人2名、韓国人1名、日本人1名)
- ボリビア人 3名
- ベトナム人 1名
- ボリビア人 1名
- ナイジェリア人 1名
- フィリピン人 1名

- 6名(ブラジル人3名、うち1名は3種混合感染、ペルー人1名、ボリビア人1名、ベトナム人1名)

- 3名(ブラジル人1名、ペルー人1名、ボリビア人1名)
- 6名(ブラジル人1名、ベトナム人5名)
- フィリピン人 1名