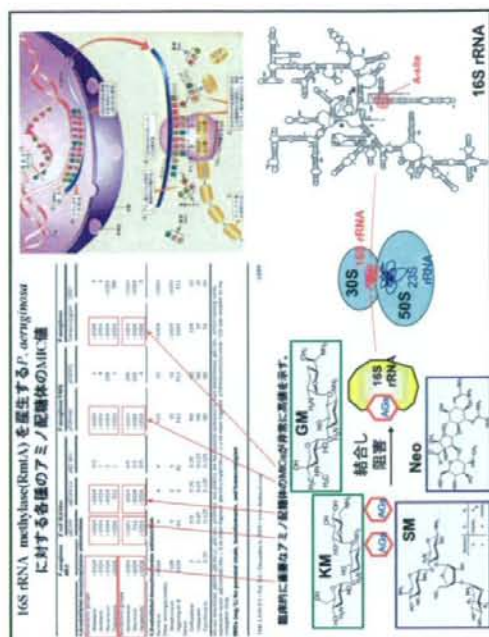


新型薬剤耐性菌の分子機構の解析

1. 汎アミノ配糖体超高度耐性菌
2. プラスミド媒介性
フルオロキノロン排出ポンプ
3. ペニシリン低感受性B群連鎖球菌



New! Plasmid-Mediated 16S rRNA Methylase, RmtC, Found in a *Pseudomonas* Strain with High-Level Resistance against Various Aminoglycosides

Journal Highlights

New 16S rRNA Methylase Adds to Aminoglycoside Resistance Threat

Aminoglycosides are key antibiotics from the last 70 years, resistance, New York-based researchers report. The study, published in *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, describes a plasmid-mediated 16S rRNA methylase, RmtC, found in *Pseudomonas* strain with high-level aminoglycoside resistance through acquiring cryptic 16S rRNA methyltransferase genes, says the researchers. "We will continue to monitor further proliferation of these genes and track their evolution. We will conduct a worldwide surveillance on clinical strains that produce plasmid-mediated 16S rRNA methyltransferase."

Journal Highlights

New 16S rRNA Methylase Adds to Aminoglycoside Resistance Threat

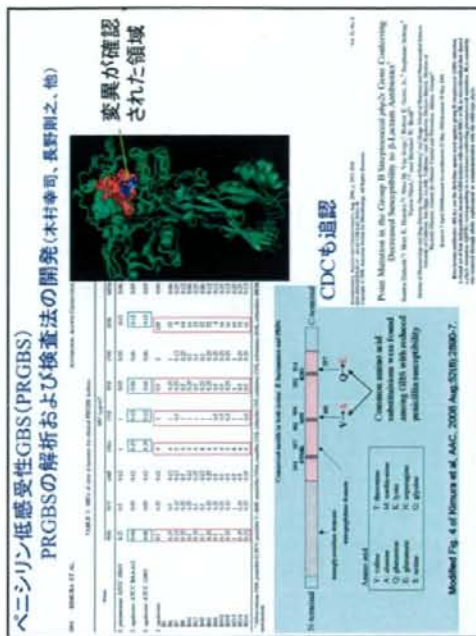
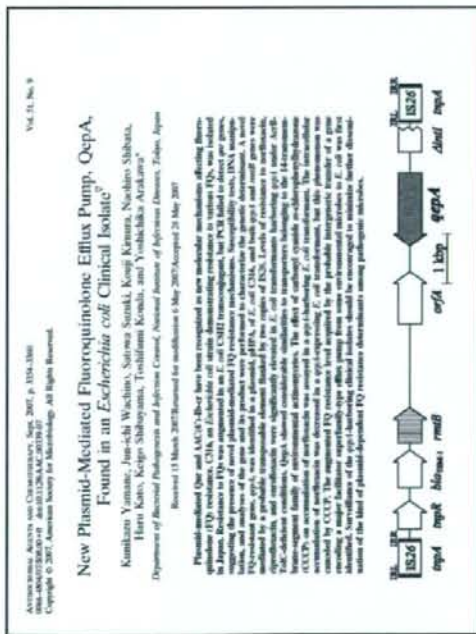
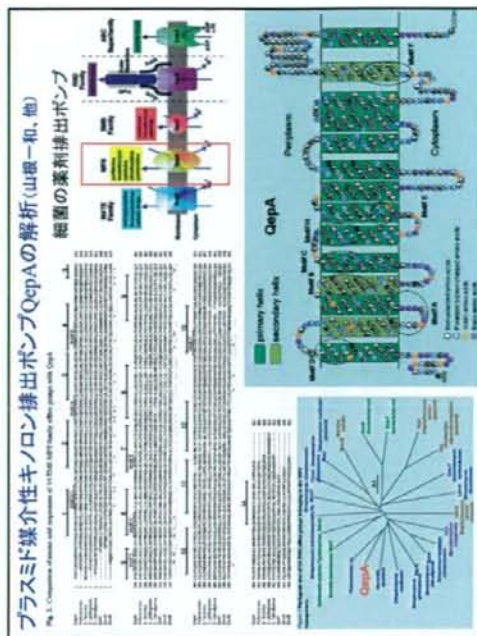
Aminoglycosides are key antibiotics from the last 70 years, resistance, New York-based researchers report. The study, published in *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, describes a plasmid-mediated 16S rRNA methylase, RmtC, found in *Pseudomonas* strain with high-level aminoglycoside resistance through acquiring cryptic 16S rRNA methyltransferase genes, says the researchers. "We will continue to monitor further proliferation of these genes and track their evolution. We will conduct a worldwide surveillance on clinical strains that produce plasmid-mediated 16S rRNA methyltransferase."

New! Plasmid-Mediated 16S rRNA m/AL169 Methyltransferase, Npm2A, Found in a Clinically Isolated *Enterobacter* and *Shigella* Resistant to Neo, GM, KM, SM, Neo, GM, KM, SM

Journal Highlights

New! Plasmid-Mediated 16S rRNA m/AL169 Methyltransferase, Npm2A, Found in a Clinically Isolated *Enterobacter* and *Shigella* Resistant to Neo, GM, KM, SM

Aminoglycosides are key antibiotics from the last 70 years, resistance, New York-based researchers report. The study, published in *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, describes a plasmid-mediated 16S rRNA methylase, Npm2A, found in *Enterobacter* and *Shigella* strains with high-level aminoglycoside resistance through acquiring cryptic 16S rRNA methyltransferase genes, says the researchers. "We will continue to monitor further proliferation of these genes and track their evolution. We will conduct a worldwide surveillance on clinical strains that produce plasmid-mediated 16S rRNA methyltransferase."



JOURNAL HIGHLIGHTS

Journal Highlights

Group B Streptococcus with Reduced Penicillin Susceptibility Show Heterogeneity in Penicillin-Binding Protein Genes

Group B streptococcus (GBS), part of the normal vaginal flora in 10–35% of healthy women, is one of the most important causes of neonatal sepsis and meningitis, and penicillin remains the first-line drug against GBS infections. Earlier this year, Koop-Korner et al. reported that penicillin-resistant GBS isolates from Japan, Italy, and the United States showed reduced penicillin susceptibility (PBCs), with the rate of altered penicillin-binding protein (PBP2X) in the GBS isolates from both recent PBCs isolates and penicillin-susceptible strains, including neonatal invasive strains, isolated during the last three decades. They have confirmed earlier findings about *plyA* alterations, and have shown that PBCs strains have emerged, even among clonally unrelated clinical isolates, showing a diversity of mutations in their *ply* genes, even while the PBP sequences of the penicillin-susceptible strains tend to be highly conserved, irrespective of their isolation dates, says coauthor Yoshihiko Anikawa. Clinical studies will be needed to determine the best prophylaxis against PBCs, and large-scale epidemiologic studies should be conducted to confirm their clinical significance, says Anikawa.

H. Nagano, Y. Nagano, K. Emura, K. Tanaka, H. Yanagisawa, and Y. Anikawa. 2008. Genetic heterogeneity in *ply* genes among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother.* 52:4259–4267.

2007年7月の新体制への移行

参加医療機関数 推移

参加医療機関数 (実数) 約250
参加医療機関数 (推定) 約250
参加医療機関数 (推定) 約250
参加医療機関数 (推定) 約250

箱ひげ図

- 参加医療機関数の推移
- 参加医療機関数の推移
- 参加医療機関数の推移

JARIS

感染情報 例：全人院患者部門 月報 ICU部門感染情報

例：感染症患者数 全患者数比較

感染症患者数 全患者数比較

感染症患者数 全患者数比較

感染症患者数 全患者数比較

今後、発展させるべき研究目標、研究課題

薬剤耐性菌およびそれらによる感染症に対する対策の充実と強化

薬剤耐性菌の迅速な検出法の開発

薬剤耐性菌の分子生物学的手法などの改良開発

薬剤耐性菌やそれらによる感染症のサーベイランス機能の強化

疫学調査および対策支援

地方自治体における薬剤耐性菌や薬剤耐性菌感染症への対応能力の強化

地方衛生研究所の調査体制の強化 子会学検査手法やマニュアルの整備

薬剤耐性菌の基礎研究の推進

平成20年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：結核菌に関する研究課題番号：H18-新興一般-012研究代表者：加藤 誠也**I. 研究の意義**

- (1) 薬剤耐性結核の発生現状の把握と過去と比較により結核対策の評価になる。
- (2) VNTR法を用いた結核菌遺伝子型別は集団感染及び薬剤耐性や高病原性株の迅速な特定が可能。
- (3) 臨床適用可能な多剤耐性結核、超多剤耐性結核を含む薬剤耐性の迅速診断法がない。
- (4) 抗酸菌検査の精度保証活動は未実施であり、薬剤耐性の監視体制が必要。
- (5) 日本版DOTSの質の向上と普及は治療成績の向上のために有意義。
- (6) 化学療法、外科療法、免疫療法、感染防止等含めた多剤耐性結核の治療システムは未確立。
- (7) 小児結核対策変更による影響や医療状況の把握と新結核感染診断法の評価は不十分。
- (8) 感染性の消失が期待できない患者及び入院勧告に従わない患者の処遇は未解決の課題である。
- (9) HIV合併結核に関する全国的調査は極めて限られている。
- (10) 今後の入院医療提供体制整備にあたって、結核病床の現状の把握が必要。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 対象施設から収集した結核菌についてINH, RFP, SM, EB,の薬剤感受性検査を実施、過去のデータと地域別、年齢、性別、未治療/既治療の比較による対策の評価。
- (2) 通常業務の範囲内で迅速・客観的に分析・比較可能なVNTR法による結核菌型別システムの開発
- (3) ラインプローブ法を用いた臨床応用可能な多剤耐性を含む薬剤耐性結核の迅速診断法の開発。
- (4) 薬剤感受性試験の内部・外部精度評価方法の確立と耐性結核発生动向の監視体制構築。
- (5) 薬剤耐性の発生防止を目的に、日本版DOTSを良質かつ広範に普及ための保健所・主治医連携システム、患者支援システムの開発。
- (6) ①国立病院機構呼吸器ネットワークを利用した多剤耐性患者診療の実態調査。②治療の成否に関連する宿主の免疫学および遺伝学的要因及び結核菌の分子学的要因についての研究。③多剤耐性結核の外科治療ガイドラインの作成。④耐性結核患者の診療システムの確立。
- (7) ①コホ現象の対応指針・判定のための図版集作成、②小児結核診療におけるクオンティフェロン使用指針作成、③小児結核に対する効果的対策の提言
- (8) 拘束下治療施設とその運用実績のあるオランダ及びドイツを視察し、医療施設、患者、処遇、実定法の規定状況や法理念等を考察、我が国における制度設計のための重要な資料を得る。

- (9) HIV感染者への潜在性結核感染症の診断・治療の実態及び結核患者における HIV 合併率把握。
- (10) 結核病床またはモデル病床を持つ医療施設及び第二種感染症指定医療機関に対する陰圧病室の有無、設備、結核医療等に関する調査。

Ⅲ. 3年間の研究成果

研究代表者

- (1) オランダ・ドイツの拘束下治療施設を視察し、対象患者、法的規定、運用等に関する調査終了。
- (2) HIV感染者に対する LTBI 診断・治療の調査を終了。結核患者における HIV 合併調査は進行中。
- (3) 結核病床、モデル病床、感染症医療機関の病床調査を終了。

研究分担者(山岸文雄)

- (1) 2002年度実施の薬剤耐性調査結果を解析終了。MDR 中の約3割が XDRであることを証明。
- (2) 2007年開始の全国調査では3,408株の抗酸菌株を収集、1,354株の感受性検査を終了。

研究分担者(前田伸司)

- (1) 全国から集めた結核菌を使って国内株の型別に特化した JATA(12)-VNTR システムを構築。
- (2) JATA(12)-VNTR の集団感染や院内感染の疑い例での識別能は IS6110 RFLP 分析と同程度であったが、特定地域内での識別能が IS6110 RFLP より低く、新たに loci を加えた改良システムを構築。

研究分担者(切替照雄)

- (1) PZA、INH、キノロンの迅速診断法(ラインプローブ法)を開発・キット化し、臨床試験を開始。
- (2) イソニアジド耐性結核に関与する2種類の新規結核菌遺伝子を同定。

研究分担者(御手洗聡)

- (1) 塗抹検査と薬剤感受性検査の外部精度評価の方法論と評価の方法をほぼ確立。
- (2) 定点観測の方法としての適切性は同じ研究班での耐性調査との整合性から評価予定。

研究分担者(森 亨)

- (1) 「服薬支援システム」を開発・試行し、充実及び結核登録者情報システムへ適合のために改良。

研究分担者(坂谷光則)

- (1) MDR に関する調査を実施、新規入院の MDR 中 XDR は 13%、持続排菌 MDR 中 XDR は 43%
- (2) 大阪における分子疫学調査のクラスター形成率から XDR-TB 株の感染力が強い可能性を示唆。
- (3) 多剤耐性結核症の肺切除術の治療成績は極めて良好。再排菌因子は残存肺空洞遺残。
- (4) RFP 耐性の結核菌遺伝子診断により多剤耐性結核患者を迅速に診断し入院が可能である。
- (5) MDR 患者では、NRAMP1 の SNP パターンに違いがあり、キラーT細胞から分泌される結核菌殺傷蛋白 granulysin の著明な低下が認められ、多剤耐性結核・難治性結核の予後因子となる。
- (6) 多剤耐性結核菌の遺伝子 (VNTR) パターンから全国に蔓延している菌株の存在が示唆。

研究分担者(徳永修) :

- ①皮膚局所所見に関する Grade 案及びコッホ現象事例集を作成、②小児にけるクオンティフェロンの使用指針(案)を作成、③小児結核の発生動向調査から小児結核対策に関する提言。

研究分担者(重藤えり子・磯部哲)

- (1) 拘束下治療の対象患者の多くはアルコール依存、薬物依存、精神疾患を合併していた。治療脱落、無断離院を繰り返し対象となった患者に確実な治療が行われていた。
- (2) 強制措置については公共の安全という視点が重要であり、比例原則等の観点から厳しい規律が必要。患者の権利保障には、実体法上の法整備及び裁判所が関与する公正で慎重な手続が重要。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 薬剤耐性の実態調査：感染症法の改正に伴う問題等のため、任意の施設が参加する現在の方法ではデータの精度確保及び菌株の収集が困難で、病原体サーベイランスシステムが必要。
- (2) 薬剤耐性の分子疫学的研究：①特定地域内での型別結果のデータベース化とその情報の提供、②近隣諸国との結核菌型別結果情報の共有化（岡田班で実施中）③分析の簡便化および自動化
- (3) 薬剤耐性の迅速診断：新規耐性遺伝子情報をもとに INH 耐性、AMK 耐性を 95%以上検出できる MDR-TB、XDR-TB の迅速遺伝子診断法の改良・開発。
- (4) 培養及び同定検査での外部精度評価法が確立。基質の改善による生菌保持可能な人工痰の開発。
- (5) 日本版 DOTS に関する継続的な職員の教育と啓発。
- (6) ①多剤耐性患者の感染防止と外来診療・入院診療対策。②外科療法ガイドラインの全国病院への普及。③結核菌殺傷蛋白 granulysin 迅速診断法開発及び結核易感染性要因 SPN 解析法による予後診断法の確立。④多剤耐性結核菌の輸送法令改訂と迅速安全輸送法の確立
- (7) ①乳幼児における T-SPOT *TB 等の有用性の検討、②学校健診の有効性評価とハイリスクグループに対する選択的健診導入の検討、③BCG 接種後副反応に関する情報収集と検討
- (8) 我が国における慢性排菌患者・勧告に従わない患者の処遇のための法的整備及び施設の整備
- (9) HIV・結核：①HIV 感染者に対する LTBI 診断・治療の普及、②結核患者における HIV 検査の推進
- (10) 医療法改正等の法的再整備

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 薬剤耐性の実態調査：耐性結核菌の現状は結核対策の評価及び今後の有効な対策を策定に有用。
- (2) 結核菌型別結果のデータベース化により接触者健診における迅速な判断、感染実態の把握が可能
- (3) 多剤耐性を含む薬剤耐性結核の迅速診断法の普及は結核の早期治療及び感染伝播防止に貢献
- (4) 抗酸菌検査の精度保証は不適切な診断・治療による医療損失を軽減、耐性情報の信頼性を向上
- (5) 日本版 DOTS は結核対策の中心の一つであり「服薬支援システム」は質の向上に貢献。
- (6) 多剤耐性結核の実態調査、感染性のデータは今後の政策立案に必須である。外科治療、結核菌遺伝子診断、予後因子は早期診断治療のために重要である。
- (7) コッホ現象への対応ガイドライン及び小児を対象とした精度の高い接触者健診の資料
- (8) 慢性排菌患者への医療提供及び入院勧告に従わない患者に対する制度を検討する資料を提供。
- (9) HIV 感染者に対する LTBI 診断・治療の普及及び結核患者における HIV 検査の必要性
- (10) 結核病床調査は医療提供体制整備検討の基礎資料を提供。

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) 御手洗聡, 加藤誠也. 「ワクチン予防可能疾患の病原診断とその読み方」. 結核. 小児科 (印刷中)
- 2) Murase Y, Mitarai S, Sugawara I, Kato S, Maeda S. Promising loci of variable numbers of tandem repeats for typing Beijing family *Mycobacterium tuberculosis*. J Med Microbiol. 2008; 57: 873-880
- 3) 前田伸司, 村瀬良朗, 御手洗 聡, 菅原 勇, 加藤誠也. 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型 (VNTR) 分析システム—JATA (12) VNTR 分析法の実際. 結核 2008; 83: 73-678
- 4) 伊藤邦彦, 吉山 崇, 永田容子, 小林典子, 加藤誠也, 石川信克. 結核治療中断を防ぐために何が必要か? 結核 2008; 83: 621-628
- 5) A. Ohkado, M. Nagamine, Y. Murase, K. Uchimura, Y. Tastumi, N. Yamada, M. Ohmori, S. Maeda, H. Maeda, S. Kato, T. Mori, N. Ishikawa. Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* in an urban area in Japan, 2002-2006. INT J TUBERC LUNG DIS 2008; 12(5): 548-554
- 6) 加藤誠也. 超多剤耐性結核 - その概要. 保健師・看護師の結核展望 2008; 90: 14-19

研究分担者(山岸文雄)

- (1) Tuberculosis Research Committee (RYOHKEN). Drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Japan: A nationwide surveillance in 2002. Int J Tuber Lung Dis 2007; 11: 1129-1135.

研究分担者(前田伸司)

- (1) Murase Y, Mitarai S, Sugawara I, Kato S, Maeda S.: Promising loci of variable numbers of tandem repeats for typing Beijing family *Mycobacterium tuberculosis*. J Med Microbiol. 2008; 57: 873-80.
- (2) 前田伸司, 村瀬良朗, 御手洗聡, 菅原勇, 加藤誠也: 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型 (VNTR) 分析システム —JATA (12) -VNTR 分析法の実際—. 結核. 2008; 83: 673-678.
- (3) Wada T, Iwamoto T, Maeda S.: Genetic diversity of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family in East Asia revealed through refined population structure analysis. Published Online: Nov 27 2008, FEMS Microbiol Lett. (in press)
- (4) 前田伸司, 村瀬良朗: 共通化した反復配列多型 (VNTR) 分析法による結核菌の型別. 第 83 回総会シンポジウム IV 「分子疫学研究の進歩と対策への応用」. 結核. 2009. 1 月号

研究分担者(切替照雄)

- (1) Obata, S., Zwolska, Z., Toyota, E., Kudo, K., Nakamura, A., Sawai, T., Kuratsuji, T., Kirikae, T.: Association of *rpoB* mutations with rifampicin resistance in *Mycobacterium avium*. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 27(1): 32-39, 2006.
- (2) Sekiguchi, J., Miyoshi-Akiyama, T., Augustynowicz-Kopeć, E., Zwolska, Z., Kirikae, F., Toyota, E., Kobayashi, I., Morita, K., Kudo, K., Kato, S., Kuratsuji, T., Mori, T., Kirikae, T.: Detection of multi-drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.* 45: 179-192, 2007.
- (3) Sekiguchi, J., Nakamura, T., Miyoshi-Akiyama, T., Kirikae, F., Kobayashi, I., Augustynowicz-Kopeć,

E., Zwolska, Z., Morita, K., Suetake, T., Yoshida, H., Kato, S., Mori, T., Kirikae, T.: Development and evaluation of a line probe assay for rapid identification of *pncA* mutations in pyrazinamide-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains. *J Clin Microbiol* 45:2802-2807, 2007.

- (4) 切替照雄、関口純一郎、中村友彦、末竹寿紀：ピラジナミド耐性菌検出用プローブセット、特許公開 2006-180746
- (5) 切替照雄、関口純一郎、中村友彦、末竹寿紀：新規変異を含む *pncA* 遺伝子、特許公開 2006-180753
- (6) 切替照雄、安藤弘樹、末竹寿紀、中村友彦：結核菌におけるイソニアジド感受性を検出するための方法および試験片 (*furA* 主体)、特願 2008-173477
- (7) 切替照雄、安藤弘樹、末竹寿紀、中村友彦：結核菌におけるイソニアジド感受性を検出するための方法および試験片 (*fabG1* 主体)、特願 2008-173478

研究分担者(御手洗聡)

- (1) 大友幸二、水野和重、御手洗聡、和田雅子(結核療法研究協議会)：結核療法研究協議会 2002年度入院時結核菌薬剤感受性に関する研究：検査精度の検討 結核 2007, 82, 155-164.
- (2) 御手洗聡、小林郁夫、阿部千代治、和田雅子、鈴木克洋、高嶋哲也、川辺芳子、町田和子、田野正夫、瀧川修一、鎌田有珠、重藤えり子、藤井俊司、森 健一、須山尚史、矢野修一、川城丈夫、尾形英雄：バクテック MGIT 960 結核菌薬剤感受性検査用ミジットシリーズ (MGIT AST) および小川標準法によるイソニアジド低濃度薬剤感受性検査の判定不一致に関する検討。結核 2007; 82: 449-454.
- (3) Shishido Y, Mitarai S, Otomo K, Seki M, Sato A, Yano I, Koyama A and Hattori T. Anti-tuberculosis drug susceptibility testing of *Mycobacterium bovis* BCG Tokyo strain. *Int J Tuber Lung Dis* 2007; 11: 1334-1338.
- (4) Abe C, Kobayashi I, Mitarai S, Wada M, Kawabe Y, Takashima T, Suzuki K, Sng LH, Wang S, Htay HH, Ogata H. Biological and molecular characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates with low-level resistance to isoniazid in Japan. *J Clin Microbiol*. 2008; 46: 2263-2268.
- (5) 御手洗聡. 特集/抗酸菌感染症：[話題] 超多剤耐性結核菌. 呼吸器科, 2008; 13: 68-73.
- (6) 御手洗聡. 結核の感染対策と今後の問題点. 日本医事新報. 日本医事新報社 2008, 4402; 57-61.
- (7) 御手洗聡. 超多剤耐性結核菌の現状と対策. 感染症, 2008; 37: 224-236.
- (8) 水野和重, 山田博之, 御手洗聡. 多剤耐性結核菌. 臨床検査, 2008; 52: 1133-1138.

研究分担者(森 亨)

- (1) 山内祐子、永田容子、小林典子、森亨、「結核看護システム」の紹介. 保健師・看護師の結核展望 2007; 45, 74-84

研究分担者(坂谷光則)

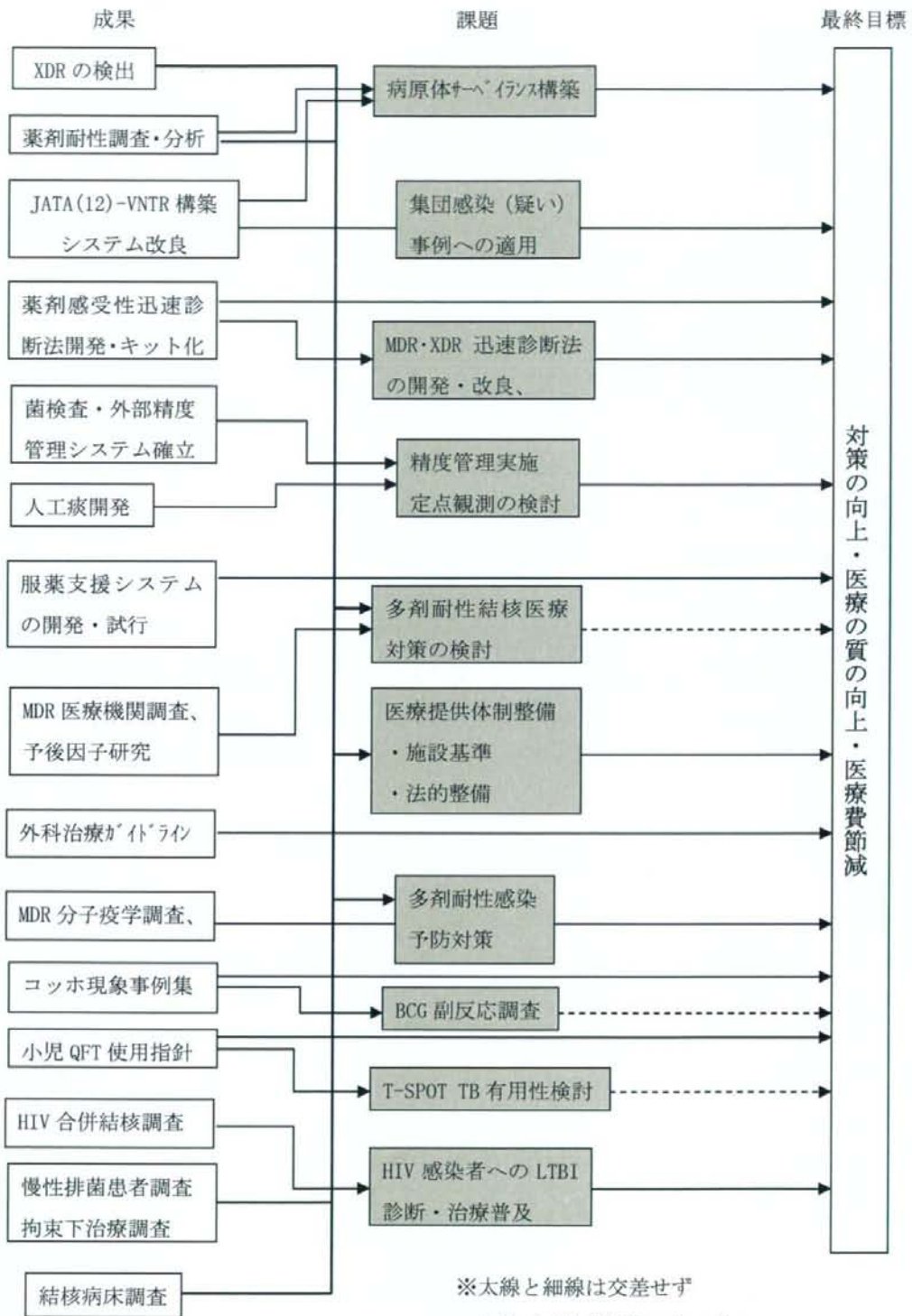
- (1) 豊田恵美子、川辺芳子、四元秀毅、坂谷光則、露口一成、前倉亮治、藤川健弥、高嶋哲也、小川賢二、吉山崇、杉江琢美. : 多剤および超薬剤耐性結核の全国調査 (2006年)。結核 vol.83, No12: 773-777, 2008.

- (2) Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Sakatani M, Okada M. :The study of Novel Vaccination using Granulysin transgenic mice. Vaccine. (in press)
- (3) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Evaluation of the discrepant Mycobacterium tuberculosis strains between any ordinary susceptibility testing and rpoB gene analysis by the line probe assay. Kekkaku. 83:577-583.2008
- (4) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Evaluation of the discrepant Mycobacterium tuberculosis strains between any ordinary susceptibility testing and rpoB gene analysis by the line probe assay. Kekkaku. 83:577-583.2008
- (5) Tomita M, Takeno H, Yoshida S, Suzuki K, Sakatani M. : Comparison of BBL Mycoprep and 2%NaOH decontamination procedures for MGIT. Kekkaku. 2008;83(6):471-3.
- (6) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Okada M, Sakatani M.: Molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis--comparison between multidrug-resistant strains and susceptible strains. Kekkaku. 2007 ;82(6):531-8
- (7) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Detection of rpoB mutations in rifampicin-resistant Mycobacterium kansasii. Kekkaku. 2006;81(7):475-9.
- (8) 露口一成, 鈴木克洋, 坂谷光則.: 肺結核患者の新退院基準 実際の運用と問題点について 国立病院機構退院基準の実際と運用上における問題点. 結核.2007;82(2):129-132.

研究分担者(徳永修)

- (1) 徳永修, 濱谷舟, 宮野前健, 樋口一恵, 原田登之: 小児結核感染診断における QuantiFERON TB-2G の有用性に関する検討. 日本小児呼吸器疾患学会雑誌 2007 ; 18 : 127-136
- (2) 徳永修, 村田祐樹, 濱谷舟, 宮野前健, 末永麻由美, 宮川知土, 錦戸知喜, 吉田之範, 亀田誠, 高松勇, 土居悟, 岡田賢司, 樋口一恵, 原田登之: 小児活動性結核症例におけるクオンティフェロン*TB-2G 反応性の検討. 日本小児呼吸器疾患学会雑誌 2008 ; 19 (掲載予定)

Ⅶ. Ⅲ (3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**

財団法人結核予防会結核研究所 (平成12年4月から現在まで)

札幌医科大学医学部内科学第三講座 (昭和56年4月から平成4年12月まで)

主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

石川信克、森亨、

主な研究課題

- ・ 低まん延状況下における結核対策 (厚生労働科学研究「石川班」分担研究)
- ・ 労働安全衛生法に基づく胸部エックス線検査の評価に関する研究 (省略できない有所見者の範囲に関する研究 (平成19年厚生労働科学研究「相澤班」分担研究))
- ・ 潜在性結核症の治療 (平成17年度厚生労働科学特別研究)

これまでの研究実績

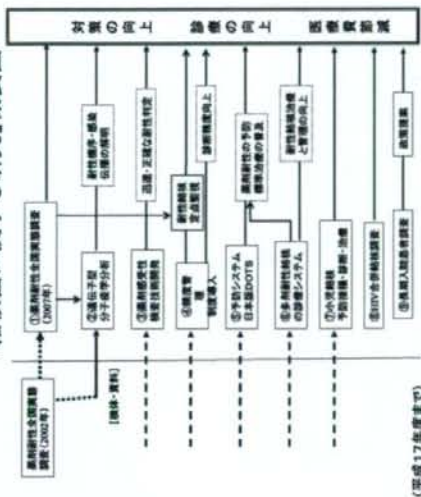
- 1) 加藤誠也、高鳥毛敏雄、伊藤邦彦、成田友代、吉田道彦、御手洗聡、低まん延下に向けた結核対策のあり方。結核 2009; 84 (投稿中)
- 2) 御手洗聡、加藤誠也。「ワクチン予防可能疾患の病原診断とその読み方」。結核。小児科 (印刷中)
- 3) 加藤誠也。潜在性結核感染症と結核の入退院基準について。小児科 (印刷中)
- 4) 加藤誠也。感染症法の改正と結核対策。化学療法の領域 2008; 24: 553-559
- 5) Murase Y, Mitarai S, Sugawara I, Kato S, Maeda S. Promising loci of variable numbers of tandem repeats for typing Beijing family *Mycobacterium tuberculosis*. *J Med Microbiol*. 2008; 57: 873-880
- 6) 前田伸司、村瀬良朗、御手洗 聡、菅原 勇、加藤誠也。国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型 (VNTR) 分析システム-JATA (12) VNTR 分析法の実際。結核 2008; 83: 73-678
- 7) 伊藤邦彦、吉山 崇、永田容子、小林典子、加藤誠也、石川信克。結核治療中断を防ぐために何が必要か? 結核 2008; 83: 621-628
- 8) 藤木明子、加藤誠也。結核菌検査の国際的人材育成とその成果-結核研究所・国際研修結核菌検査コースの33年(1975-2007)。結核 2008; 83: 475-479
- 9) A. Ohkado, M. Nagamine, Y. Murase, K. Uchimura, Y. Tastumi, N. Yamada, M. Ohmori, S. Maeda, H. Maeda, S. Kato, T. Mori, N. Ishikawa. Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* in an urban area in Japan, 2002-2006. *INT J TUBERC LUNG DIS* 2008; 12(5): 548-554
- 10) 加藤誠也。職場における新しい結核予防管理の実際。PP.27-34。職場の感染症対策。産業医学振興財団。平成20年9月
- 11) 加藤誠也。入退院基準とその運用について-法改正その後の結核対策。保健師・看護師の結核展望 2008; 90: 10-13
- 12) 加藤誠也。超多剤耐性結核-その概要。保健師・看護師の結核展望 2008; 90: 14-19
- 13) 加藤誠也。新たな結核対策の体制づくり。結核 2007; 82: 954-956
- 14) 加藤誠也。結核予防法の感染症法統合と呼吸器臨床。呼吸器科 2007; 11: 435-441

- 15) 加藤誠也. 感染症法における結核対策. 主な改正点とその運用. 保健師・看護師の結核展望 2007; 89: 6-12
- 16) 加藤誠也. 改正感染症法における結核対策. 病原微生物検出情報 2007; 27: 190-192.
- 17) 加藤誠也. 感染症法廃止後の結核対策. 健康管理 2007; 640: 6-17
- 18) 湯浅資之, 加藤誠也, 中原俊隆. 結核に対する関心を惹きつける保健医療政策(DOTS). 公衆衛生 2007; 71: 67-72
- 19) 伊藤邦彦, 星野斉之, 中園智昭, 増山英則, 杉田博宣, 吉山崇, 加藤誠也. イソニアジドによる潜在性結核治療での肝障害以外の副作用. 結核 2007; 82: 1-9
- 20) 前田伸司, 菅原勇, 加藤誠也: 日本, 中国, 韓国における結核分子疫学担当者会議開催報告. 結核. 2007; 82: 925-927
- 21) S Sekiguchi J, Miyoshi-Akiyama T, Augustynowicz-Kopec E, Zwolska Z, Kirikae F, Toyota E, Kobayashi I, Morita K, Kudo K, Kato S, Kuratsuji T, Mori T, Kirikae T: Detection of multi-drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. J Clin Microbiol 45: 179-192, 2007
- 22) Sekiguchi J, Nakamura T, Miyoshi-Akiyama T, Kirikae F, Kobayashi I, Augustynowicz-Kopec E, Zwolska Z, Morita K, Suetake T, Yoshida H, Kato S, Mori T, Kirikae T.: Development and evaluation of a line probe assay for rapid identification of pncA mutations in pyrazinamide-resistant Mycobacterium tuberculosis strains. J Clin Microbiol 45:2802-2807, 2007
- 23) 加藤誠也. 結核予防法の改正. 健康管理 2006, 620; 6- 20;
- 24) 加藤誠也. 結核対策はどうなるか. 保健師・看護師の結核展望 2006; 87: 7-10
- 25) 加藤誠也. コッホ現象の厚生労働省報告について. 保健師・看護師の結核展望 2006; 87: 60-62
- 26) 加藤誠也. 州およびCDCにおける対策. 保健師・看護師の結核展望 2006; 88:17-21
- 27) 伊藤邦彦, 星野斉之, 中園智昭, 増山英則, 杉田博宣, 吉山崇, 加藤誠也. イソニアジドによる潜在性結核治療での肝障害. 結核 2006; 81: 651-660
- 28) 加藤誠也. BCG 直接接種. 保健師・看護師の結核展望 2005; 85: 2-6
- 29) 加藤誠也. 確実な服薬支援の取り組みー日本版 21 世紀型 DOTS. 地域保健 2004; 35 (6): 38-47
- 30) 加藤誠也, 小林典子, 永田容子. 結核対策における保健師・看護師の役割ーロンドンの TB ナースの活動からー. 公衆衛生 2005, 69; 199- 202
- 31) 加藤誠也. ハイリスク層に対する健診を考える委員会よりー高齢者施設における健診の考え方ー. 保健師・看護師の結核展望 2004: 83; 83- 85
- 32) 加藤誠也. ロンドンスタディツアー報告. 保健師・看護師の結核展望 2004; 84: 157- 160
- 33) 加藤誠也, 小林典子, 永田容子: 事例研究 多剤耐性結核症によって死亡に至った一例から学ぶこと. 保健師・看護師の結核展望 82 2003: 86-91

・平成 21 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

結核対策の評価と新たな診断・治療技術の開発・実用化に関する研究 (2 1 2 6 2 0 1)

「結核菌に関する研究」概要図



薬剤感受性状況に関する研究(療研全国調査)

【目的】日本における結核菌の薬剤感受性を総合的に把握する
 【対象】参加依頼施設220中、63施設が参加、2007年8月1日から2008年7月31日までに当該施設における培養陽性症例
 【方法】INH, RFP, SM, EBについて1%小川培地による標準比率法

2005年の菌陽性患者数に基づき必要予測数と現状
 分析総数(2009年1月30日現在)
 -3,408株中1,309株(38.4%)検出

プロトック	検出数	比率	予定数	検出数	検出率
北海道・東北	856	0.08	214	254	1.09
関東	3,937	0.35	984	1,383	1.41
中部・北陸	1,666	0.15	416	374	0.90
近畿	2,745	0.24	686	498	0.73
中国・四国	901	0.08	225	377	1.68
九州	1,213	0.11	303	542	1.79
計	11,318	1	2,828	3,408	1.21

【結論】1. 参加施設及び菌株数の地域的バラツキが大きく、全国調査として不十分
 2. 中間報告では耐性率は全薬剤で低下。ただし、輸送問題の影響の可能性あり。

耐性結核菌定点観測

【目的】薬剤感受性検査の定点観測体制の確立のための調査と評価
 【方法】薬剤感受性検査を毎月実施する10施設を調査対象とし、薬剤感受性検査の結果を毎月報告する。調査対象は、北海道、東北、関東、中部、北陸、近畿、中国、四国、九州にそれぞれ1施設ずつ、計10施設を調査対象として、2007年分の耐性結核菌発生状況を調査し、これを同時期に実施した一般診療科結核菌検査結果と比較検討する。

【結果】2007年12月4日施設(北海道)施設、東北、関東、中部、北陸、近畿、中国、四国、九州にそれぞれ1施設、計10施設を調査対象として、2007年分の耐性結核菌発生状況を調査し、これを同時期に実施した一般診療科結核菌検査結果と比較検討する。

定点観測施設	調査2007	調査2002	検査施設(10)一般診療科
新規	1,545	1,545	1,545
再発	50	50	50
合計	1,595	1,595	1,595
新規	1,545	1,545	1,545
再発	50	50	50
合計	1,595	1,595	1,595

2007年調査結果との比較では、主要4菌の耐性率は定点観測施設と一般診療科とで高く、INHとRFPについては統計的有意差が認められた。また、RFPについても有意差が認められたものの、大差が認められなかった。これは、定点観測対象となったのは、定点観測施設が少なくても一般診療科で検出された、耐性結核菌が検出されている可能性があることと、検出頻度ではそれ以外の施設が多く検出されることによるものと考えられた。結果として、主要4菌の耐性率を比較すると、定点観測施設と一般診療科とでは、主要4菌の耐性率を比較すると、定点観測施設の方が高かった。

薬剤感受性検査外部精度保証

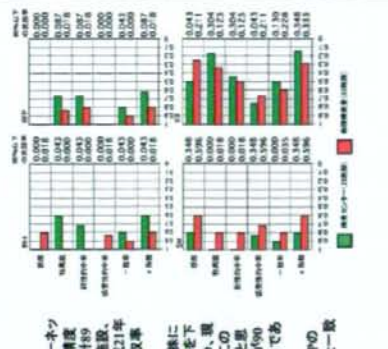
【目的】薬剤感受性検査精度を評価する。

【方法】結核菌10株を用いたパネルテスト

【対象】2006年度は、結核菌検査のインターネットホームページ、結核菌検査センターにて外部精度保証パネルテストへの参加を呼びかけた。計89施設(検査センター4施設、病院検査室59施設、地方衛生研究所6施設)の参加を得た。平成21年1月31日現在で5施設が未回答である。(回収率94.4%)

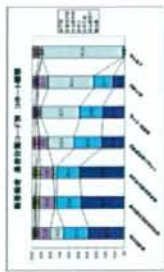
【結果】今回のパネルテストでは、IS-3325株についてSMAでの一致率が48.3%であり、80%を下回った。方法的な誤りはないと思われるため、現時点で明確な基準を設けていないものの、この結果については評価の対象外と判定してもよいと思われる。また、全ての薬剤について一致率が90%以上であった。参加施設数は64施設(76.2%)であった。

今回のパネルテストにおいても、INHとRFPの感度・特異度は平均99%を超過しており、また一致率も全ての薬剤で平均90%を超過していた。



保健所・主治医連絡システム、患者支援システムの構築

- 服薬支援システムの開発・改良
- 医療機関と保健所での情報交換
- 登録者情報システムからのデータ移行(追加機能)
- レポート検討会用の集計表出力
- レポート情報処理機能
- 全国の自治体26保健所で活用



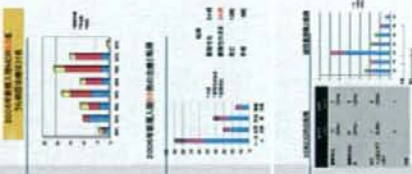
中断例(7例)の検討

年齢	性別	国籍	中断理由	最終経過
24	男	韓国	4か月目、転居	治療終了
23	男	韓国	一時帰国	治療終了
25	女	フィリピン	仕事が忙しい、あまい	治療終了
22	女	韓国	2か月で帰国(韓国で療養)	中断後再治療(療養)
25	男	中国	生活経済不安定	中断
23	男	中国	日本結核帰国後	中断
23	男	中国	1か月半～薬疹(3か月半で中断)	中断

医療機関システム試行
平成18年5月～19年1月、結核予防会第一健康相談看護連携連携会検討者：外国人35人

耐性結核診療システムの確立

- 多剤耐性結核および超薬剤耐性結核全国調査(2006年新規入院例と持続排菌例)
 - 多剤耐性結核患者は196名あった。推定200名とほぼ一致した。
 - 2006年の新規入院MDRは93例であった。
 - 初回治療は31例で、若年者に多かった。
 - XDRは12例であった(初回1例)
 - 持続排菌例は103例であった。
 - 2年以内の例が24例あった。
 - XDRは43例であった。
 - 在宅患者は19例であった。
 - XDRの割合は新規入院MDRの11.8%、持続排菌MDRの41.7%であった。(ただし、二次薬の感受性検査が不十分な例が20%程度あった。)



2. 診療ガイドライン作成に向けて(多剤耐性結核の外來診療システム)



(pB)実薬後出による多剤耐性結核患者迅速入院)

pB)実薬後出することにより、RPT耐性生虫菌に感染し、多剤耐性結核患者を早期入院する方法を確立した。(RPT耐性の判別はINHにも耐性を判別)

3. 多剤耐性結核外科療法の適応基準

多剤耐性結核症例に対する93回の前切除術を統計。前後1年以上経過した30例中76例で手術中止、治療が得られ、治療率は93%であった。前切除術の治療成績は極めて良好。前後再診療の因子は再行前立回診、多剤耐性結核に対する外科療法ガイドライン作成。

4. 感染力の強い多剤耐性結核菌の検出

- 国立病院機構福島医療センター呼吸器ネットワークを活用し、大数の多剤耐性結核菌株と、福岡・埼玉・愛媛の病院の結核菌株が各々遺伝子(VNTR)パターンが一一致し、全国に蔓延している多剤耐性結核菌の存在が示唆された。
 - 大宮・九州・四国・関東等全国国立病院機構ネットワークを活用した多剤耐性結核菌流行後の(VNTR)等の遺伝子多型において三つのクラスター形成が認められ、多剤耐性結核菌にも流行が存在することが示された。

5. 多剤耐性結核の宿主要因検出

国立病院機構呼吸器ネットワークを利用してMDR-TBの宿主要因を解析した。(a)多剤耐性結核患者では、NRAMP1(GSNP/P497>)に遺伝的変異を有する割合を伴った。(b)MDR-TB患者ではキラード細胞から分泌される細胞免疫抑制因子granulysinは多剤耐性結核下を明らかにした。granulysinは多剤耐性結核・難治性結核の予後因子となることが示された。またgranulysinはマウスで結核治療効果を示した。

分担研究「小児結核の予防方策及び診療システムの確立」

- コホort対象に関する検討
 - 局所免疫増強の分類：
 - 重症例、接種2週間以内に生じる反応が最大でその数倍に反応は上昇し、接種1～2か月後の本来の局所反応が認められない。
 - 中等例、接種2週間以内に生じる反応が最大でその数倍に反応は上昇し、接種1～2か月後の本来の局所反応が認められる。
 - 軽微例、局所に限る軽微な反応が1日～数日みられるが、その後徐々に一旦増えるかわらなくなる。初1ヶ月後に本来のBCG接種後の局所反応が出現。
 - コホort対象への対応、作成
 - コホort対象の選定、例への対応
 - ツブ、問診、胸レントゲン検査の適応、接種後2週間以内にGranada以上の変化がみられる場合は、またGranada以下であっても、その後局所免疫が顕著する患者
- 結核感染診断に関する検討
 - 小児結核を診断する小児科医とIGRA研究員によって組織された「小児OFT研究員」において
 - 結核感染症例における検討、
 - 潜在性結核感染診断における検討
 - 診断結果に基づいて「小児結核感染診断」におけるOFT使用指針(案)を作成
 - 診断を前提とした結核感染診断において感度の高く有用、精確度や感度よりもより感度の可塑性が高いと評価され、しかもかわらぬ「真の証明が困難な症例でOFT適性」と判別した場合、診断の意義は非常に大きい
 - 潜在性結核感染診断においてはOFTの感度はツブに比べて必ずしも高いものではなく、「OFT陰性」のみを重視して感染を否定することは不適切である。
 - T-SPOT TBの有用性に関する検討も行った。

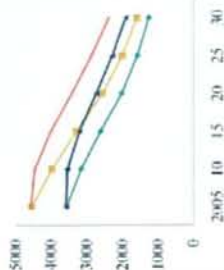
分担研究“小児結核の予防方策及び診療システムの確立”

3. 小児結核に対する効果的対策の検討:
医療機関・保健所の合同症例検討会
大都市地域における小児結核対策のモニタリングとして小児結核症例検討会を定期的に開催した。
医療機関と保健所が一面に委ねてきた小児結核症例を対症にその予防可能性、診断に至る経過、治療、院内感染対策などの問題点について患者・家族、共通の理解を深め、共同して患者支援や予防活動を実施するための連携作りの場とした。
- これらの症例に関する検討の中より、成人と同様に強力な治療支援が必要
- 小児結核の増加
- 結核ウイルスがグループとしての外周
- 人小児へ対応
- コツ小児患者への適切な対応の必要性
- 結核症例の増加に起因するQOLの有用性
など現在の小児結核を取り囲む状況とその問題点を明らかにすることができた
4. BCG副反応(青炎)事例の検討
近年、特に皮膚病変及び骨髄炎病変の報告例が増加する傾向が指摘。
過去10年間に学会・論文報告された事例を対象にアンケート調査を実施した。(回答例は20症例)
過去10年間、接種年度毎に1~4例の骨炎発生を認めており、これまでの報告に比して高い発生頻度で推移している。
調査が可能であった20症例のうち、Mendelian susceptibility to Mycobacterial diseaseなど高度不全の存在が明らかであった症例は2症例のみであった。生後4ヶ月までにBCG接種した児が14(70%)を占めていたなどが明らかとなった。
重大な接種後副反応であり、その正確な発生頻度のモニタリングに発症原因の検討が強く望まれる

結核病床調査

必要病床数の将来推定

結核	モデル	推定値
病院数	300	76
運営あり病院数	227	62
TB入院可能病院数	38	90
病床数		
2005年総病床数	10791	377
運営病院の総病床数	8180	317
回春病院の総病床数	6200	215
回春病院の稼働病床数	4902	195
回春病床数	2520	143
機任病床数	495	90
機任運営数	1063	528

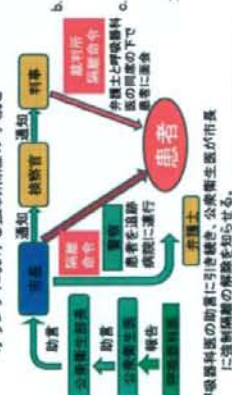


2005 10 15 20 25 30
 →モデル1 少なめ
 →モデル2 多め
 →モデル3 少なめ

入院勧告に従わない患者

- オランダドイツにおける拘束下治療の対象者は精神疾患・薬物中毒がほとんどであった。
- 当初入院を拒否しても、拘束下治療制度と施設があることにより、通常は入院する。
- 看護スタッフは精神科の研修を受けており、患者の対応に習熟
- 患者のアメニティは必須。
- セキュリティガードが必要。

オランダにおける強制隔離の手続き



日本のTB/HIV実態調査

入院結核患者HIV合併率調査

- 目的:入院患者に対し同意の上でHIV抗体検査を実施し、入院結核患者中のHIV陽性率を推定する
- 第1回HIV合併率調査結果
 - 粗率:1/222=0.45%(参加率47/282)
 - 首都圏調査対象地域:1/145=0.69%
 - それ以外の地域:0.77=0%
- 2006年の全活動性結核患者数の地域分布で補正した値:0.13%
- 第2回HIV合併率調査
 - 参加率56/278
 - 2009年1月27日時点で結果回収された59症例中ではHIV陽性者は認められない

HIV合併抗酸菌症調査

- 目的:HIV合併抗酸菌症の予防可能性、抗酸菌治療に併用するARTの薬価・効果・問題点等の状況を把握する。
- 対象施設:全国の結核病棟を有する施設および全国エイズ拠点病院(計555施設)
- 方法:2003年1月から2006年12月の期間に経験されたHIV合併抗酸菌症例についての質問票による後ろ向き調査
- 結果:全国218施設より回答があり
 該当症例あり:10施設(30症例)
 調査中:30施設、該当症例なし:124施設、不参加:54施設
 集計・分析は3月に実施する



法的観点から参考となる点
 立法上も制度の運用上も、人身における自己決定権は非常に強く尊重されるべき権利である。
 公共の安全(=公衆を構成する個々人の健康)を守る必要性が高いという観点も重要。
 その結果、一部の患者は自由を制約されることにはやむを得ない面がある。
 問題は、その際の患者の権利保障のあり方にある。

平成20年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：臓器移植や悪性腫瘍による免疫低下状態で発生するウイルス感染症の予防と治療に関する研究

課題番号：H18-新興-一般-013

研究代表者：森 康子

I. 研究の意義

- (1) 免疫抑制者における帯状疱疹発症および重症化予防のため、水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)に対する細胞性免疫能の測定法確立の必要性。
- (2) 帯状疱疹発症のリスクが高い疾患を知ることで安全に効率良く発症および重症化予防ができる。
- (3) 臓器移植後のヒトヘルペスウイルス 6(HHV-6)感染症、特に移植後 HHV-6 脳炎は予後不良であり、発症機序解明や予防、診断および治療法の確立が急務である。
- (4) 移植後日和見感染症の代表的存在である EB ウイルス (EBV) 感染症の治療法開発に貢献する。
- (5) 免疫不全者での難治性薬剤耐性ウイルス感染症の耐性ウイルス検査法とそれに対する抗ウイルス薬が承認されていない薬剤の有効性の解析。
- (6) 既存の抗ヘルペス薬は有効であるが、耐性株の出現、副作用、投与方法などのため使用上の制約があり、作用機序の異なる新規薬剤の開発が求められている。
- (7) 移植患者の予後に関係するサイトメガロウイルス(CMV) 感染症の免疫抑制剤による予防効果の実証。
- (8) 免疫低下を伴う成人T細胞白血病のモデル動物の作成は免疫低下に伴った潜伏ウイルスによる疾患の予防法、治療法を開発する上で必須である。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) VZV 特異的細胞性免疫能の評価系を確立することで、再活性化の早期診断、予防法の開発に繋がる。
- (2) ワクチン接種の必要性の根拠となる疾患別帯状疱疹発症頻度、発症リスクを検討する。
- (3) リスク因子の同定、ウイルス感染モニタリング方法の確立および診断(髄液PCRや神経放射線など)治療法の確立。
- (4) HHV-6 脳炎・脳症の発症機構や、再活性化機構を解明し、予防法を開発する。
- (5) CMV 及び VZV の感染初期過程を阻害する新規薬剤を検索し、リード化合物としての可能性を明らかにする。
- (6) EBV 感染モデルマウスを作成し、発症機序解明および治療法開発を促進する。
- (7) 免疫抑制患者から分離された耐性ウイルスの解析による希少抗ウイルス薬の有効性の検証と臨床的必要性と有用性の解明。
- (8) 成人T細胞白血病リンパ腫(ATLL)のモデル動物を用いて悪性腫瘍に伴う免疫不全の発症機序を明らかにする。

かにする事を目的とする。モデル動物を用いた in vivo での解析ができる事が期待される。

Ⅲ. 3年間の研究成果

研究代表者 (森 康子)

- (1) VZV 特異的細胞性免疫能をエリスポット法と皮内テストにおいて比較検討した。結果、両者は相関性を示したことより、VZV 特異的細胞性免疫能の測定法として皮内テストの有用性が示された。
- (2) 糖尿病患者において健常者に比較し、VZV 特異的細胞性免疫能の低下が有意に認められた(分担研究者、羽田敦子との共同研究)。
- (3) HHV-6 感染によって誘導されるサイトカイン、ケモカインを同定した。
- (4) HHV-6 の初感染における伝播機構を in vitro において明らかにした。HHV-6 は、先ず局所の樹状細胞に感染した後、T 細胞に伝播され、その後 T 細胞において爆発的に増殖することを証明した。

研究分担者 (吉川哲史)

- (1) 全血から抽出した DNA をリアルタイム PCR 法でモニタリングすることにより、HHV-6 再活性化を確実に診断ができる。さらに、血清を用いた直接 LAMP 法(より簡便且迅速な検査法)の結果も、先のリアルタイム PCR 法の結果と良く相関することが明らかとなった。
- (2) 移植後 HHV-6 脳炎患者髄液中のウイルス DNA 量は極めて高いことを明らかにした。初感染時の脳炎とは病態が異なる。

研究分担者 (井上直樹)

- (1) ランダムな 9600 化合物を検索し、CMV 及び VZV に対し EC50 が 20 μ M 以下の化合物を数種同定した。
- (2) 146F7(別名 DPPC)は、ヒト CMV の遺伝子発現前過程の阻害という新規機序を有し、動物 CMV にも効果を示した。
- (3) 3化合物は、CMV 及び VZV の前初期蛋白による遺伝子活性化を阻害する新規性のあるものであった。

研究分担者 (白木公康)

- (1) 造血幹細胞移植後の免疫不全患者から CMV の薬剤耐性ウイルスを分離し、その性状解析を行った。そして、薬剤耐性 CMV に関しては未承認薬による治療が奏功した。
- (2) 腎移植で使用される免疫抑制剤が抗 CMV 効果を有し、ガンシクロビルと相乗効果を示すことを明らかにした。腎移植患者での CMV 感染予防の一つの方法の確立につながる。

研究分担者 (藤原成悦)

- (1) ヒト化マウスを用いて EBV 感染症モデルを作成し、その病態と免疫応答を再現した。
- (2) EBV 蛋白質 LMP1 により、プロトオンコジーン *Bcl-3* の発現が誘導されることを示した。

研究分担者 (羽田敦子)

- (1) 基礎疾患別帯状疱疹発症頻度を判定し、基礎疾患別帯状疱疹発症リスクを評価した。

研究分担者 (近藤一博)

- (1) HHV-6 の脳炎・脳症に関わる遺伝子を同定した。HHV-6 再活性化が疲労によって誘導されることと、疲労の分子機構を明らかにした。

研究分担者 (末松佐知子)

(1) 人エリンパ節には抗原特異的エフェクターT細胞が高率に存在し、人エリンパ組織を移植することによって、免疫不全マウスにインターフェロン γ 産生エフェクターT細胞を効率よく供給できることを証明した。

研究分担者 (水口裕之)

(1) 簡便な shRNA 発現アデノウイルス (Ad) ベクター作製システムを構築した。また VZV ORF68 に対する shRNA 発現 Ad ベクターにより、VZV の増殖を有意に抑制することに成功した。

研究分担者 (長谷川秀樹)

(1) 悪性腫瘍に伴った免疫低下のモデル動物として成人T細胞白血病リンパ腫 (ATLL) のモデル動物 (HTLV-1 の tax 遺伝子がT細胞特異的に発現するトランスジェニックマウス)を用い白血病を発症する単純ヘルペスウイルス1型(HSV-1)潜伏感染モデルを作成した。

(2) HSV-1 の初感染におけるレクチン分子 MGL-1, MGL-2 の関与を調べたところ両分子が発現した細胞において HSV-1 の増殖が増強される事がわかった。

IV. 今後考えられる新たな課題

(1) VZV 特異的免疫とウイルス再活性化および帯状疱疹発症の関連性の解析による早期診断、予防法開発。

(2) これまでは、小児造血幹細胞移植患者を対象に前方視的に解析した。今後成人造血幹細胞移植患者について同様に前方視的に解析。

(3) 移植後患者の髄液中サイトカイン、ケモカイン、MMP-9、TIMP-1 などのバイオマーカーを測定し、移植後 HHV-6 脳炎の病態解明を進める。また、HHV-6 再活性化のバイオマーカーを探索する。

(4) 同定した新規抗ウイルス化合物すべての作用点を解明し、構造活性相関解析をさらに進める。

(5) 同定した新規抗ウイルス化合物の実用化の可能性を、モルモット及びマウス感染動物モデルを用いて解析をさらに進める。

(6) 薬剤耐性株の選択および性状解析、耐性遺伝子の同定。

(7) 我が国で、承認された抗ウイルス薬の制限のため、薬剤耐性ウイルスによる難治性感染症に標準的に使用できる抗ウイルス薬の導入。

(8) HHV-6 の再活性化誘導因子である疲労を防止する物質を同定し、再活性化を予防すると共に、患者の QOL を改善する。

(9) 新規ウイルス感染症治療薬の EBV マウス感染モデルを用いた開発と評価。

(10) 同意を得られた帯状疱疹発症リスクの高い基礎疾患をもつ成人に発症予防のための水痘ワクチンを接種する。

(11) 水痘ワクチンが基礎疾患のある成人に対して安全か否かを評価する。

V. 行政施策への貢献の可能性

(1) VZV 再活性化の早期診断法の確立、帯状疱疹発症の予防および重症化の防止に繋がる。

(2) 帯状疱疹が重症化あるいは遷延しやすい免疫不全患者のワクチン接種の効果を判定できる。

- (3) 抗ウイルス薬は高価であり、帯状疱疹の予防は医療費削減に貢献できると予想される。
- (4) 造血幹細胞移植後 HHV-6 脳炎の診断・治療ガイドラインの整備。
- (5) 高度先進医療として、移植後に重要な 4 種類のヘルペスウイルス (EBV, CMV, HHV-6, VZV) のモニタリングシステムを提供する。
- (6) 既存薬と異なる作用点をもつ新規薬剤の開発により、治療方法の改善に貢献できる。
- (7) 新規治療法の開発による保健医療向上への貢献が期待できる。
- (8) 薬剤耐性ウイルスによる難治性感染症に標準的に使用できる抗ウイルス薬の導入により、難治性ヘルペスウイルス感染症を減らし、入院日数の減少などにも寄与できる。
- (9) 移植後難治性 EBV 感染症の予防と治療に関する指針の作成。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) Takemoto, M, Imasawa, T, Yamanishi, K, **Mori, Y.** Role of dendritic cells infected with human herpesvirus 6 in virus transmission. *Virology*, in press.
- (2) Sadaoka, K., Okamoto, S., Gomi, Y., Tanimoto, T., Yoshikawa, T., Asano, Y., Yamanishi, K., **Mori, Y.** Measurement of varicella-zoster virus (VZV)-specific cell-mediated immunity - Comparison of VZV-skin test and interferon-gamma ELISPOT assay. *J Infect Dis* 198:1327-1333, 2008.
- (3) Fukui, Y, Shindoh, K, Yamamoto, Y, Koyano, S, Kosugi, I, Yamaguchi, T, Kurane, I, **Inoue, N.** Establishment of a cell-based assay for screening of compounds inhibiting very early events in cytomegalovirus replication cycle and characterization of a compound identified using the assay. *Antimicrob Agents Chemother.* 52:2420-7, 2008.
- (4) Yajima, M., Imadome, K., Nakagawa, A., Watanabe, S., Terashima, K., Nakamura, H., Ito, M., Shimizu, N., Honda, M., Yamamoto, N., and **Fujiwara, S.** A new humanized mouse model of EBV infection reproducing persistent infection, lymphoproliferative disorder, and cell-mediated and humoral immune responses. *J. Infect. Dis.* 198: 673-682, 2008.
- (5) Nakamura, H., Ishii, C., Suehiro, M., Iguchi, A., Kuroda, K., Shimizu, K., Shimizu, N., Imadome, K., Yajima, M., **Fujiwara, S.** The Latent Membrane Protein 1 (LMP1) Encoded by Epstein-Barr Virus Induces Expression of the Putative Oncogene Bcl-3 Through B. *Virus Res* 131: 170-179, 2008.
- (6) Human herpesvirus 6 infection in adult living related liver transplant recipients. Ohashi M, Sugata K, Ihira M, Asano Y, Egawa H, Takada Y, Uemoto S, **Yoshikawa T.** *Liver Transplant* 14:100-9, 2008
- (7) Elevated serum cytokine levels are associated with human herpesvirus 6 reactivation in hematopoietic stem cell transplantation recipients. Fujita A, Ihira M, Suzuki R, Enomoto Y, Sugiyama H, Suga S, Asano Y, Yagasaki H, Kojima S, Matsumoto K, Kato K, **Yoshikawa T.** *J Infect.*; 57:241-8, 2008
- (8) Direct detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by the loop-mediated isothermal amplification method. Ihira M, Akimoto S, Miyake F, Usui C, Fujita A, Sugata K, Suga S, Ohashi M, Nishimura N, Ozaki T, Asano Y, **Yoshikawa T.** *J Clin Virol* 39:22-6, 2007
- (9) Oshima K, Kanda Y, Kako S, Asano-Mori Y, Watanabe T, Motokura T, Chiba S, **Shiraki K.** Kurokawa M. Case report: persistent cytomegalovirus (CMV) infection after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab: emergence of resistant CMV due to mutations in the UL97 and UL54 genes. *J Med Virol.* 80, 1769-1775, 2008.
- (10) Shimada Y, Suzuki M, Shirasaki F, Saito E, Sogo K, Hasegawa M, Takehara K, Phromjai J, Chuhjo T, **Shiraki K.** Genital herpes due to acyclovir-sensitive herpes simplex virus caused secondary and recurrent herpetic whitlows due to thymidine kinase-deficient/temperature-sensitive virus *J Med Virol* 79 :1731-1740, 2007.
- (11) 近藤一博、小林伸行 (発明人) HHV-6 潜伏感染に関連する気分障害を治療又は予防する方法、米国出願番号 No.61/102,441 出願日 2008 年 10 月 3 日
- (12) 渡辺恭良、平山佳伸、近藤一博、倉恒弘彦、日本疲労学会 抗疲労臨床評価ガイドライン (2008 年 2 月 16 日)