

今後の方向性に関して

会議で提示された内容(一部)
 ・具体的準備に関し「薬局の手引き」作成と「学校・地域」の啓蒙資料の作成

緊急		非常時		平常時		非常時		平常時	
患者	来院	来院	来院	来院	来院	来院	来院	来院	来院
患者	来院	来院	来院	来院	来院	来院	来院	来院	来院
患者	来院	来院	来院	来院	来院	来院	来院	来院	来院

今後の方向性に関して 会議で提示された内容(一部)
 ・必要 manpower を含めた補強・補充・補足体制を具体的に準備する必要
 ・ポトムアップ(現場判断・決定)も重要だが、トップダウンの面からも不十分であったとの意見も一部あり(政府からの指示・指導・情報提供など)

まとめると: 基本的考え方として、
 1. 気づき→教育→トレーニング→エクササイズ、2. ICS,
 3. 横の連携×縦 レベル、4. 弱毒→強毒→他原因の方向研究
 今年度は、特に不足が想定される「診療所対応の手引き」と
 「企業対応」への訓練動画等を作成した

● 考察とまとめ

まとめ

基本的考え方

1. 気づき→教育→トレーニング→エクササイズ
2. 体制・態勢 : インシデント コマンド システム
3. 横方向 の連携 × 縦方向 レベル体制向上
4. 更に 1. に戻る(弱毒→強毒想定→他原因)

以上の方向性で研究を継続中

特に不足が想定される「診療所対応の手引き」
医療機器・製薬会社を含むライフライン企業対応
への動画による訓練報告等を作成した。

厚生労働科学研究費補助金新型コロナウイルス等新興・再興感染症研究事業
新型コロナウイルス等新興・再興感染症研究事業発表会

記 1. 日時:平成22年1月26日(火)9:00~2. 場所:国立感染症研究所2階共用第一会議室

平成 21 年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：バイオリスク管理の包括的強化及び必要な教材等の開発と実践の評価に関する研究

課題番号：H20-新興-一般-009

研究代表者：杉山和良

I. 研究の意義

- (1) バイオリスク管理の基本は人材育成と事故と事件の未然防止の考え方の普及と対応の向上であり、教育訓練がきわめて重要であるが、国内には、科学研究活動と研究者の技能レベルの多様性と多種の関係者に対応した育成プログラムがまだ整備されていない。
- (2) 個々の施設での研修プログラムは存在するが、人材育成プログラムの有効性評価方法が確立されていない。教育プログラム評価を受けずに運用しているため、研修そのものによる効果の客観的な検討も報告されていない。従って、効果的なプログラム改良の検討もほとんど見られない。
- (3) 効果的にバイオリスクを低減する管理システムの確立が国際的にもテロ対策、新興感染症対策として取り組まれており、本邦においても重要課題である。
- (4) 研究者の流動性と国際協力が日常化しているため、国際標準に基づく系統的教育プログラムの提案と、必要な教材の提供による研究環境および研究者の質的管理と証明が求められている。
- (5) 学問としての認知が遅かったため、バイオリスク管理学の教科書に始まり、研修・訓練に利用できる教材や資材が国際的にも非常に少ない。
- (6) 近年、法整備などの枠組みが急速に進展しており、日本も、アジア各国と同様に、比較分析を基に国際標準を踏まえた国内基準を採用して行くことが、国際社会の一員として求められる。
- (7) 感染症法に基づきバイオセキュリティのみ先行しているが、バイオリスク管理全般についての社会的ニーズに関する学術的調査が報告されていない。研究者の意識調査も断片的である。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) バイオリスク管理の重要因子であるリスクの認知、正確な評価、的確な対策の選択を可能にする。基本知識の普及に必要な材料を提供し、啓発セミナーなどを反復実施する。
- (2) 人材育成と関係者の教育・訓練の構築に必要な、多様な教育・研修プログラムの提案（事例提供）と評価方法について研究し実例を提供する。
- (3) 病原体との関わり方別に、適切な教育プログラムを示す。
- (4) 国際的な基準（CWA15793 および LBM3）に基づく教育訓練計画の立案と提供を行う。
- (5) 既存のプログラムを改良・活用し、バイオリスク低減の為の管理機構を提案する。
- (6) バイオセーフティとバイオセキュリティの均衡を得たバイオリスク管理機構の確立を図る。

(7) 各国で昨年より開始された教育・研修を中心とした施設内プログラムを比較検討し、最新の国際的現状の質的分析を示す。

Ⅲ. 2年間の研究成果

・研究代表者（杉山和良）、研究分担者（倉田毅、森川茂）

- (1) 国内の病原体取扱機関のバイオリスク管理及び教育訓練、病原体輸送の社会的受け入れについての現状調査の実施。
- (2) オートクレーブ、輸送等についての実験データを作成し、教育用テキストの改訂改定に協力。
- (3) 一般市民の病原体輸送への理解促進を目的としたコミュニケーション手法を検討するため、グループインタビューによる情報収集とその解析を実施。

・研究分担者（重松美加、安藤秀二）

- (1) 地域、大学、学会でリスクコミュニケーションの項目を加えたバイオリスク管理の講座を反復実施し、ニーズと知識のギャップを把握する為の質問票調査とプログラム評価を実施。
- (2) 実習教育用の内部構造と内部の気流を可視化した教育用安全キャビネットと、その構造の解説に利用する模型を作成、関連説明パネルの作成し、運用時の問題点の改良のために構造改修し、研修に活用。同教材を用いた研修資料を作成および既存研修内での試行。受益者評価の実施。
- (3) 最新の海外の研修プログラムの比較分析の開始と、シナリオを用いたバイオリスクコミュニケーション研修の提案（平成20年後半の国際基準導入により多種機関で変更があったため）。

・研究分担者（重松美加、藤本秀士）

- (1) WEB学習用プログラムの作成と実施、モジュール教材の作成、実施と評価手法の検討
- (2) リスク評価用ソフトウェアの頒布用CD-ROM化の完了。

・研究分担者（佐多徹太郎、安藤秀二、重松美加）

- (1) 地方衛生研究所ブロックにおいて病原体輸送に関するワークショップを開催。
- (2) 実務者からの質問を基にした病原体輸送Q&Aの編纂。

・研究分担者（鹿住祐子）

- (1) 保険所、病院、検査センター関係者に対し、結核菌等の取扱いと輸送のセミナーを実施。
- (2) 危険物輸送用の国連規格容器の強度に関する実地検証を実施。

Ⅳ. 22年度の課題

- (1) 改訂版教育訓練プログラムの実践、プログラム評価法の提示、電子媒体活用対象を拡大する。
- (2) 各施設での研究計画の承認に参照可能な、実技を含む教育プログラムの提案と、科学的に検証可能な方法により適性に認定管理する国際合意の形成に協力し、同方法を国内実情に合致する形で提案する。
- (3) 各レベルの封じ込め施設および安全キャビネット使用者に対する実習訓練のプログラム開発を継続する。病原体輸送教育の2年間の成果を評価し、最終提案と電子プログラムを作成する。
- (4) 教育訓練の受講成績の評価方法を国際的基準とも互換性のある形で提案し、各施設での管理目標の設定と達成評価に活用できるソフトウェアや、WEB上で利用できるプログラムとして提供。

進行中のバイオリスク管理者の教育項目および認証手法に関する国際合意基準作成に協力する。

(5) 病原体輸送Q & Aの完成、病原体輸送と管理に関する実習プログラムの作成、2年次成果物の新型インフルエンザの梱包手順リーフレットを基に、輸送手順マニュアル等の日常的に活用できるツールを提供。

(6) オートクレーブの性能、安全キャビネットの海外基準に応じた性能検査、輸送容器の強度等の検証を実施しデータを教材追加する。

(7) WEB自習モジュールの拡充を行い、フィールドでの試行と初期評価を行う。

(8) 安全キャビネットを用いた研修の実施。受講者のニーズ調査および、社会の受け入れ意識の調査を実施し、バイオリスクのコミュニケーション方法の提案を行う。

V. 行政施策への貢献の可能性

(1) 実験室の安全性の確保のための国際標準に基づく教育訓練プログラムの提案。

(2) 各施設、個人の特性に合わせた教育訓練プログラムの提案と教材（教育用安全キャビネット、事故対応研修シナリオなど）の提供により、多省庁・民間を含めたオンデマンド型教育の実現が期待できる。感染症法に基づく国の運搬責任者、同行者等の教育に利用できる。

(3) コンピュータ環境を利用し、時間的制約が少ない研修と教育方法の提案。研究者等のバイオリスク管理の知識と技能に関して、同一コンテンツの提供により、国内標準化が期待できる。専門家不足を補うことができる。受講者数の増加と緊急時対応の向上が期待できる。

(4) バイオセーフティ管理者養成の教育研修に必要な資料と機構の提案を通じ、安心・安全な社会の確立を目指し本邦のバイオリスク管理を向上できる。

(5) 病原体輸送に関するマニュアルを作成。

(6) 国の病原体取扱施設の運営・設備等の認定、確認制度等の導入に際した基礎資料を提供。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

(1) 安藤秀二、重松美加、浜本いつき: 感染性物質の輸送規則に関するガイダンス 2009-2010版 WHO (翻訳) 宮村達男 監修、国立感染症研究所 2009

(2) 杉山和良: バイオリスク管理 (マネジメント); ズーノーシスハンドブック. 岸本寿男、山田章雄 監修 20-22, 2009

(3) 杉山和良: バイオセーフティ、バイオハザード他; 食品微生物学用語辞典 2009

(4) 杉山和良: バイオセーフティからバイオセキュリティ. 感染・炎症・免疫 Vol. 38, No. 4, 345-357, 2008

(5) 杉山和良: 感染症法における病原体の分類と管理体制. 化学療法の領域 Vol. 24, No. 4, 547-552, 2008

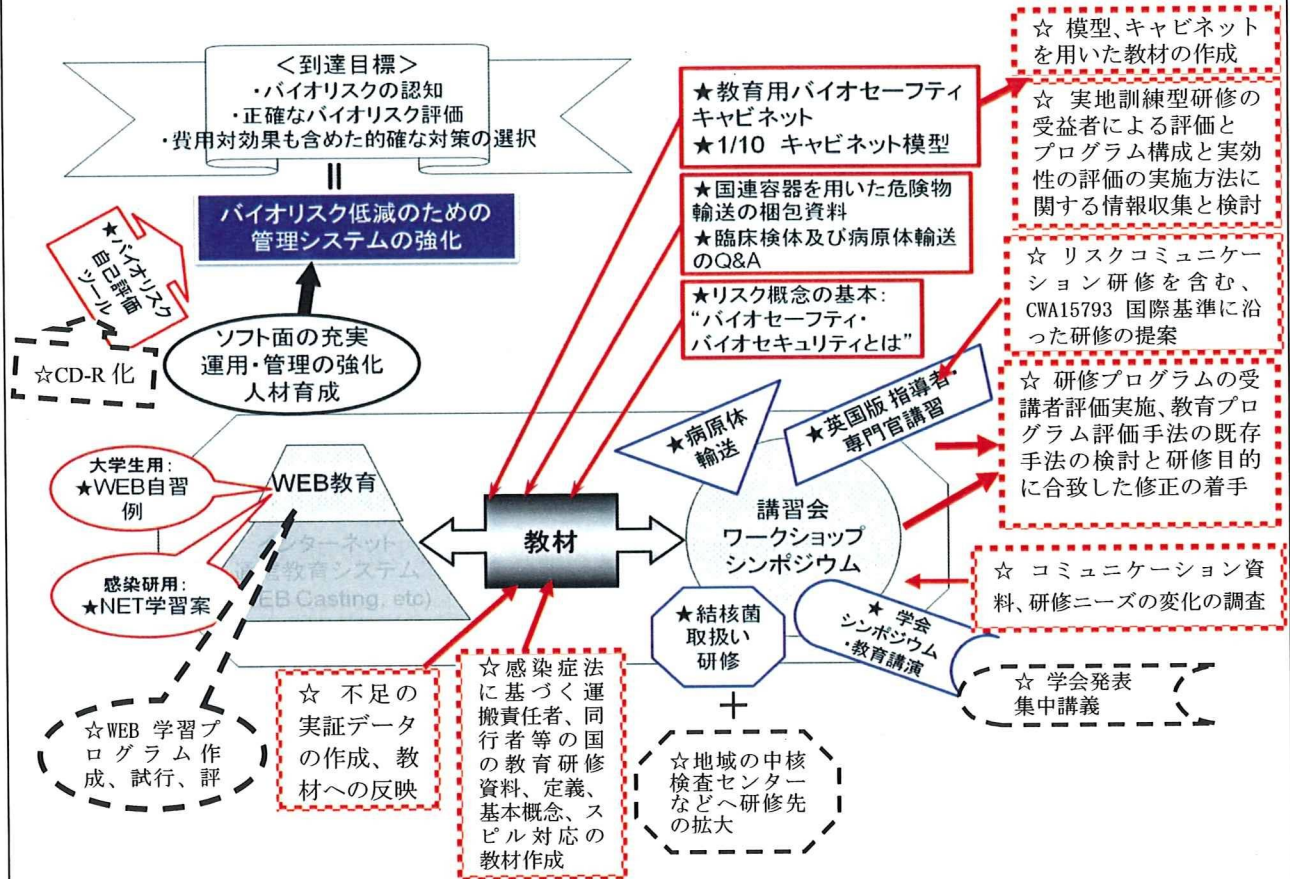
(6) 杉山和良: V 病原体の輸送; 病原体等安全取扱・管理指針 日本細菌学会 85-100, 2008

(7) 杉山和良: 第4章バイオセーフティの組織体制と活動、第7章病原体の取扱い; バイオメディカルサイエンス研究会編集, バイオセーフティの事典 みみずく舎/医学評論社, 2008

(8) 安藤秀二: 第7章病原体の取扱い; 病原体の実験技術. バイオメディカルサイエンス研究会編集, バイオセーフティの辞典, みみずく舎/医学評論社, 2008年

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

★印が初年度から継続のもの、☆が2年度の成果で、全体の目標と機構の中での位置を矢印で示した。



バイオリスク管理の強化・教育訓練システム構築

成果	内容
国内外機関における教育訓練および関連各種調査	<ul style="list-style-type: none"> ■感染症、理研、NPO BMSA、地方衛生研修所、保健所、検査センター、結核菌取扱い研修所 ■大阪大学、九州大学、千葉大学、岡山大学 ■米国サンディエゴ国立研究所、米国NIH、英国MRC&HPA、カナダPEAC、ベトナムNIET、DITV、シンガポールTUS
研修および訓練 (外国人研修者を含む)	<ul style="list-style-type: none"> ■Arthur R. Mitchell氏(英国)を招聘し、英国認定の基本バイオセーフティコースの紹介版を2箇所で開催した ■学会発表およびシンポジウム、同業者研修、異職種などでのバイオリスク意識の喚起
教材・資料の作成	<ul style="list-style-type: none"> ■感染症バイオリスク管理講座をシステム化モデルとし、教材の検討を行った ■E-learning導入に向け、バイオリスク入門、定義、基本概念、臨床スビル対応基本等のモジュールを作成し、既存の大学内WEB学習システムを利用し、試行、受講者による評価の実施、対象の拡大と反映の継続中。 ■CWA15793国際基準に沿った研修が海外で増加しており、これらに関する情報収集と分析を開始。継続中。研修プログラムへ反映の予定。
病原体輸送(酒正監支機)	<ul style="list-style-type: none"> ■輸送トレーニングコース(実習を含む)の開発(準備中) ■国際標準の病原体輸送(結核菌)の輸送手引の編纂に際して ■一般市民の病原体輸送への理解促進を目的としたコミュニケーション手法を検討するため、グループインタビューによる情報収集とアンケート ■輸送Q&A、新型インフルエンザ検体の輸送手引資料の作成、イロカードの取戻
バイオセーフティの強化	<ul style="list-style-type: none"> ■バイオリスク評価ツールのCD-R化完成。バグの対応終了後、希望国産への配布予定 ■オートクレーブ滅菌工程中の二重検閲を実施。凍結物の危険物の産の影響を検査。 ■ATPの測定による電生菌汚染率、手洗い効果、拭き取り等についての検討を行った。 ■国際的なバイオセーフティ研修の調査と国際認定の機関の取戻の調査に協力
スケルトンタイプ安全キャビネットおよび廃液用模型の試作と使用	<ul style="list-style-type: none"> ■安全キャビネットのサイド、バック及びHEPAフィルターユニット等を選定し、実験の病原体使用環境に適合した模型を作成。取戻版を作成。同利研施設および、キャビネットを保持していない施設での研修に際しての模型作成。 ■JICAバイオハザード対策アジア研修及びエイズ研修等で実習に際し、その結果を反映し、利研研修の資料を作成。地方大学等の研修に模型を活用。評価方法を検討中。

○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

三菱油化メディカルサイエンス研究所（昭和53年から昭和56年）

国立感染症研究所（昭和56年から現在）

英国自然環境研究院ウイルス研究所（昭和61年から63年）

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

北村敬、小松俊彦、森田千春、有川二郎、松浦善治、森川茂

・主な研究課題

ウイルス診断法（IAHA法）の改良

腎症候性出血熱ウイルスの疫学、性状、診断法の開発に関わる研究

バキュロウイルスを用いた腎症候性出血熱ウイルスの構造タンパクの発現

安全キャビネットの経過観察と保守プログラムに関する研究

感染研バイオリスク管理講習会の強化に関する研究

・これまでの研究実績

1. 杉山和良：ズーノーシスハンドブック 岸本寿男、山田章雄監修 バイオリスク管理（マネジメント） 20-22, 2009
2. 杉山和良：食品微生物学用語辞典 バイオセーフティ、バイオハザード他 2009
3. 杉山和良：注意すべきウイルス感染症 アウト・ブレイクにどう対応するのか 診断と治療 Vol. 97, No. 3, 165-171, 2009
4. 杉山和良：バイオセーフティからバイオセキュリティ 感染・炎症・免疫 Vol. 38, No. 4, 345-357, 2008
5. 杉山和良：感染症法における病原体の分類と管理体制. 化学療法の領域 Vol. 24, No. 4, 547-552, 2008
6. 杉山和良：V 病原体の輸送;病原体等安全取扱・管理指針 日本細菌学会 85-100, 2008
7. 杉山和良：第4章バイオセーフティの組織体制と活動、第7章病原体の取扱い; バイオメディカルサイエンス研究会編集, バイオセーフティの事典 みみずく舎/医学評論社, 2008
8. 宮村達男、杉山和良、佐多徹太郎、安藤秀二、重松美加：感染性物質の輸送規則に関するガイダンス 2007-2008版 WHO（翻訳） 国立感染症研究所 2007
9. 杉山和良：改正感染症法とCDCガイドラインについて 月刊薬事 Vol. 49, No. 11, 1699-1704, 2007
10. 杉山和良：病原微生物等の適正管理の実際 公衆衛生 Vol. 71, No. 10, 841-844, 2007

11. 安藤秀二、佐多徹太郎、重松美加、杉山和良、倉田毅、中嶋建介：バイオリスクマネジメント 実験施設バイオセキュリティガイダンス WHO (翻訳) 国立感染症研究所 2006
12. 北村敬、小松俊彦、杉山和良、森川茂 (北村敬、小松俊彦監修)：実験室バイオセーフティ指針 3版 WHO (翻訳) バイオメディカルサイエンス研究会 2006
13. 杉山和良：Bウイルス感染症 獣医感染症カラーアトラス, 325-326, 文永堂出版, 2006
14. 倉田毅、杉山和良、安藤秀二、重松美加、篠原克明、高木弘隆、富田康浩： 感染性物質の輸送規則に関するガイダンス WHO (翻訳) 国立感染症研究所 2005
15. 杉山和良：バイオハザード対策用クラスIIキャビネット キャビネットの使い方 空気清浄 Vol. 43, No. 2, 51-58, 2005
16. 杉山和良：バイオセーフティのあり方 汚染時の対応 臨床と微生物 Vol. 32, 増刊号, 575-579, 2005
17. 杉山和良：医学研究におけるバイオセーフティとバイオセキュリティ Mebio (メジカルビュー社) 73, 2005
18. 杉山和良：バイオセーフティの考え方と実践 静電気学会誌 Vol. 28, No. 3, 220-224, 2004
19. 杉山和良：バイオハザード病原体 ファルマシア Vol. 40, No. 3, 220-224, 2004
20. 杉山和良：SARSの実験室感染とその対策 感染症と化学療法 37 日経 大阪 2004
21. 杉山和良：実験動物施設におけるバイオセキュリティ 実験動物と環境 Vol. 11, No. 2, 105-109, 2003
22. 杉山和良：腎症候性出血熱 動物由来感染症その診断と対策 92 真興交易 (株) 東京 2003

新興・再興感染症研究事業（20年度，21年度）報告

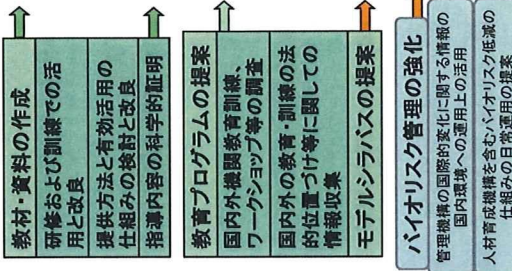
「バイオリスク管理の包括的強化及び
必要な教材等の開発と実践の評価に関する研究」

研究代表者 杉山 和良

バイオリスク管理強化・必要な教材等の開発と実践の評価

研究の目的

1. バイオリスク管理の基礎知識の普及に必要な資料、教材を作成、提供する。
2. バイオリスク管理分野の人材育成と知識普及のための教育・研修プログラムの提案とプログラムの評価方法を提供する。
3. バイオセーフティとバイオセキュリティのバランスを得たバイオリスクの統合管理の仕組みを提案する。



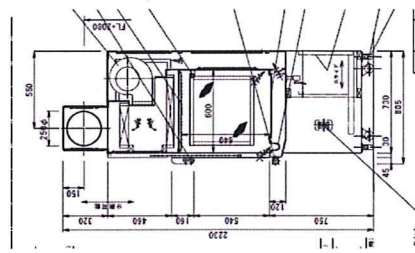
教材・資料の作成



アニメーション型教材
(基本的知識)



3Dバーチャルリアリティ教材
(事故対応など)



設置スペースと、研修の焦点を考慮した改良を行ったキヤベネットNo2

提供方法と有効活用の仕組みの検討と改良



- 時間の制限がある環境でも、必要な研修機会を提供する仕組み
- 基礎知識レベルが違う際にも対応できる仕組み
- 講習講師の不足を補う仕組み

指導内容の科学的証明

高圧蒸気滅菌処理における缶体内温度の検証

【目的】高圧蒸気滅菌処理における実際の温度を測定し、期待される滅菌効果を現実に得るための留意点を知る

【方法】滅菌袋に実験衣2着を入れ、以下の条件で滅菌した。温度計を図のように設置した。

- 滅菌袋の口：閉(φ6cm)または閉
- 設定温度と時間：121℃、20minまたは60min
132℃、20minまたは60min



【結果】滅菌袋の外の温度は設定どおりであったが、滅菌袋の内側は設定温度に達しなかった。特に、実験衣の中は、口を閉じた場合は93℃でまじか上昇しなかった。

【考察】高圧蒸気滅菌処理(オートクレーヴ)での滅菌は、被滅菌物の内部が設定温度まで上がらないことはあまり知られていないが、現実には滅菌が期待できる温度までの上昇していないことが多く、一度の滅菌量や、滅菌時の密封の手法など、処理時の注意が必要である。

指導内容の科学的証明

病原体輸送容器の消毒・滅菌処理後の強度に関する検討

【目的】病原体輸送容器の消毒・滅菌処理後の強度を調べ、再利用の可否について検討する。

【方法】国産品及び輸入品(各1種類)に対し以下の処理の後、既定の破裂試験及び内圧試験を実施し合否を判定した。

- 高圧蒸気滅菌処理(121℃、20min×3または10、135℃、30min×10)
- 紫外線照射(内側に対し156μm/cm²以上のUVC、48時間)
- 80%エタノール浸漬(4 days)
- 0.1%次亜塩素酸ナトリウム浸漬(4 days)

【結果】試験回数と対象数の不足から、暫定結果である。破裂試験にはすべて合格。10回の高圧蒸気滅菌処理(121℃、135℃)により、国産品は内圧試験が不合格となったものの、蓋のパッキン交換により合格した。輸入品はパッキン交換後も不合格であった。

【考察】容器の種類で消毒・滅菌処理後の国連規格試験の合否に違いが生じたことから、容器の再利用について注意が必要であることが分かった。検査項目の追加、現場での使用方法に準拠した条件の設定など、さらに検討が必要である。

指導内容の科学的証明

高圧蒸気滅菌処理における缶体内温度の検証

【目的】高圧蒸気滅菌処理における実際の温度を測定し、期待される滅菌効果を現実に得るための留意点を知る

【方法】滅菌袋に実験衣2着を入れ、以下の条件で滅菌した。温度計を図のように設置した。

- 滅菌袋の口：閉(φ6cm)または閉
- 設定温度と時間：121℃、20minまたは60min
132℃、20minまたは60min



【結果】滅菌袋の外の温度は設定どおりであったが、滅菌袋の内側は設定温度に達しなかった。特に、実験衣の中は、口を閉じた場合は93℃でまじか上昇しなかった。

【考察】高圧蒸気滅菌処理(オートクレーヴ)での滅菌は、被滅菌物の内部が設定温度まで上がらないことはあまり知られていないが、現実には滅菌が期待できる温度までの上昇していないことが多く、一度の滅菌量や、滅菌時の密封の手法など、処理時の注意が必要である。

指導内容の科学的証明

交通事故による国連規格容器破損を想定したトランクによる加重負荷試験

【目的】現実に考えられる事故を想定し、病原体輸送国連規格容器の加重負荷による一次、二次容器への影響を検討する。

【方法】3tと5tトランク(中型トラック)を使用して、路上での事故を想定したタイヤの踏み潰し試験を行い、一次、二次容器の破損状況を調べる。

【結果】国連規格容器の二次容器は歪んでいたが破損はなかった。内部に入っていた一次容器には破損は無かった。(下図参照)

【考察】現実に考えられる事故の想定でも、国連規格容器の強度が実証された。一次容器からの液漏れは、吸収材、緩衝材により防げる。

5tトランクにて国連規格容器を潰した様子



2次容器の破損はないがゆがみ有り



一次容器の破損なし



指導内容の科学的証明

病原体輸送のイメージに関する質的調査

【目的】運送業者が病原体輸送に際して主張する「風評被害の発生」の有無とその防止法について検討する。

【方法】質的調査として30代～50代の専業主婦12名を対象にフォーカスグループ・インタビューを実施した。

- テーマ：病気の原因となる菌やウイルスなどの運搬
- 質問内容：①病原体輸送について知っているか。知らなかった場合、病原体輸送のイメージは？
②風評被害はどのようにすれば防止できるか。
③分析：KJ法を用いて分析した。

【結果】運送業者が運ぶという実態を知った際には全員が驚いたが、「必要性」と「輸送容器の強度」を軸に適切に説明することで理解が得られた。分析の結果、「現状」と「対策」の2つのカテゴリから、「絶対に必要」というカテゴリ一つにたつながる構造図を作成した。

【考察】本研究を基に量的調査を実施し、風評被害防止策に関する知見を提示し、運送業者教育訓練の題材に加えるべきである。

国内外機関教育訓練、ワークショップ等の調査

- 英国・スイスの国家認証された教育カリキュラム
- DINVから民間機関が国際基準に沿って作成したシラバス
- 国立機関が提供する無償研修: 米国、欧州、アジア
- 国際機関による研修項目の提案

VS

- 各大学・研究機関の独自研修

バイオリスク
を取り扱う者
は...

2-1	Biological and other hazards as
2-2	Contaminated handlers and biosecurity
2-3	Contaminated pathogens (Genetic
2-4	Engineering (Genetic, synthetic and
2-5	Facility design, construction, and
2-6	Containment, decontamination, and
2-7	Classified microbiological products
2-8	Genetic engineering, genetic
2-9	Microbiological identification
2-10	Emergency preparedness and
2-11	Biological/ biosecurity programmes
2-12	Training
2-13	Audits and inspections
2-14	Transport of pathogens
2-15	Environmental law
2-16	Plant pathogens

欧州で提案されている学習項目 (共通基礎の例) 欧州で提案されている学習領域
CEN WSS3資料より

研修および訓練での活用と改良

バイオリスク入門編(作業型:ワークショップ)



9月	コース概要説明	講師と施設
14日	バイオリスク管理とは(WEB教材) 明達法規について バイオリスク管理の仕組みとハイ マゼードとリスク、病原体 種類培養と遺伝子組み換え リスクアセスメント実習 (リスク評価、消滅滅菌、廃棄物処理)	施設設計 病原体/検体の輸送 バイオセキュリティ 事故とニアミスの対応 実験室アサイン基準 実験室の管理と運営 まとめ

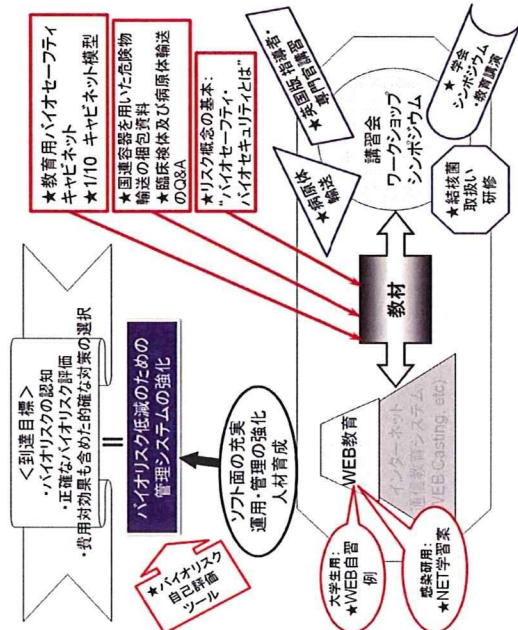
系統だった教育を早期に導入することで、最も基本的な実験室での手洗いの習慣や、PPE(手袋などの個人予防具)の適正な使用などの基本的なバイオセーフティを理解し、順守できる可能性が見られた。

研修および訓練での活用と改良

その他各種セミナー

1. 日本結核病学会総会(札幌)緊急セミナー
2. 結核研究所内における保健所関係者への
研修時にバイオリスクの講義を行う
3. 日本検査所協会北陸支部
4. 東京特別区保健所バイオリスク管理セミナー

2年次までの具体的な成果



■ 22年度の予定

- (1) 改訂版教育訓練プログラムの実践、プログラム評価法の提示、電子媒体活用対象を拡大する。
- (2) 各施設での研究計画の承認に参照可能な、実技を含む教育プログラムの提案と、科学的に検証可能な方法により適性に認定管理する国際合意の形成に協力し、同方法を国内実情に合致する形で提案する。
- (3) 各レベルの封じ込め施設および安全キャビネット使用者に対する実習訓練のプログラム開発を継続する。病原体輸送教育の2年間の成果を評価し、最終提案と電子プログラムを作成する。
- (4) 教育訓練の受講成績の評価方法を国際的基準とも互換性のある形で提案し、各施設での管理目標の設定と達成評価に活用できるソフトウェアや、WEB上で利用できるプログラムとして提供。進行中のバイオリスク管理者の教育項目および認証手法に関する国際合意基盤作成に協力する。
- (5) 病原体輸送Q&Aの完成、病原体輸送と管理に関する実習プログラムの作成、2年次成果物の新型インフルエンザの梱包手順リーフレットを基に、輸送手順マニュアル等の日常的に活用できるツールを提供。
- (6) オートクレープの性能、安全キャビネットの海外基準に応じた性能検査、輸送容器の強度等の検証を実施しデータを教材追加する。
- (7) WEB自習モジュールの拡充を行い、フィールドでの試行と初期評価を行う。
- (8) 安全キャビネットを用いた研修の実施。受講者のニーズ調査および、社会の受け入れ意識の調査を実施し、バイオリスクのコミュニケーション方法の提案を行う。

ありがとうございました

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 成果概要

研究課題： 持続性結核菌感染の病原性や発症に関わる分子機構の解明及び治療・予防の基礎研究

課題番号： H20-新興-一般-010

研究代表者： 小林 和夫

I. 研究の意義

- (1) 人類の約 1/3 が結核菌に持続性潜在感染（日本：2,500 万人）しているが、その分子機構（休眠菌及び宿主因子）は不明である。
- (2) 潜在性結核菌感染から内因性再燃機序により成人結核を発症するが、その対策（診断・治療・予防）は不十分である。
- (3) 非結核性抗酸菌（*Mycobacterium avium* complex : MAC など）も持続性感染をするが、その分子機構は不明である。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 持続潜在性結核菌・抗酸菌感染の分子機構を明らかにすることは病態解明を推進する。
- (2) 持続潜在性結核菌・抗酸菌の発現分子を明らかにすることにより、それらを標的とした診断（免疫学的診断）・治療（抗微生物薬）・予防（ワクチン）方法の開発が期待される。
- (3) 新規診断・治療・予防方法の研究開発は産官学連携を促進し、経済振興にも寄与する。

III. 2 年間の研究成果**・研究代表者（小林 和夫）**

- (1) 結核菌や抗酸菌に特徴的な糖脂質と宿主免疫応答について総括した。
- (2) MAC 感染症の血清迅速・簡便診断キットが活動性 MAC 感染症の診断に有用（感度：84%、特異度：100%、日本国内多施設共同研究）であった。
- (3) 抗酸菌細胞壁糖ペプチド脂質（GPL）代謝経路を明らかにし、血清型（12 や 16 型）の起源を解明した。

・研究分担者（松本 壮吉）

- (1) 低酸素休眠期抗酸菌に発現する遺伝子群を網羅的解析（マイクロアレイ）・同定した。
- (2) 同定した休眠期発現抗原を用い、潜在性結核菌感染の診断について予備的な臨床評価を実施した。
- (3) 結核菌の生体内生存に重要な、かつ、薬剤標的分子を同定した。

・研究分担者（杉田 昌彦）

- (1) グルコースを基質とした抗酸菌糖脂質産生系の解明及び当該酵素の同定に成功した
- (2) サル CD1（糖脂質認識）分子結合菌由来分子を同定し、脂質抗原提示機能を実証した

・研究分担者（宮本 友司）

- (1) 高病原性 MAC（血清型：4 型及び 8 型）の細胞壁糖ペプチド脂質（GPL）の糖鎖生合成経路を解明した。

・研究分担者（小出 幸夫）

- (1) 休眠期結核菌が発現する遺伝子群（48）及び再活性化に関与する遺伝子（5）の DNA ライブラリーを完成し、宿主免疫応答の解析を開始した。
- (2) マウス感染実験結果から、少なくとも 8 種類のワクチン候補抗原を同定した。

・研究分担者（前倉 亮治）

- (1) 結核菌糖脂質抗原による血清診断やインターフェロン遊離試験（Quantiferon）を用い、潜在性結核菌感染者（32 例）を登録した。
- (2) アメリカ合衆国において、多人種（白人、アジア、黒人系）を対象として MAC 感染症の血清迅速・簡便診断キットの有用性（感度：77%、特異度：94%）を確認した。

IV. 平成 22 年度の課題

- (1) 持続性抗酸菌感染の動物実験モデルを確立し、診断・治療・予防方法の開発研究を推進する。
- (2) 休眠期抗酸菌の発現遺伝子・蛋白質・脂質を同定し、診断抗原や薬剤標的候補を探索する。
- (3) 休眠期抗酸菌に発現する遺伝子・蛋白質・脂質を同定し、それらに対する宿主免疫応答を解析し、ワクチン開発に基盤を提供する。
- (4) 低酸素や低鉄環境下における防御免疫応答を解析し、ワクチン開発に基盤を提供する。
- (5) 潜在性結核菌感染者 (50 症例) を登録し、新規診断抗原を用いて、血清抗体価を測定する。
- (6) 関節リウマチ患者で持続潜在性結核菌の効率的な診断を確立し、発病防止を指向する。
- (7) 潜在性 MAC 感染症の診断系の開発を進める。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 持続潜在性結核菌・抗酸菌感染診断キットの開発により、診断基準の作成
- (2) 持続潜在性結核菌・抗酸菌感染に対する抗微生物薬の開発
- (3) 現行 BCG (潜在性結核菌感染に無効) を凌駕する結核ワクチンの創製

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 (小林 和夫)**

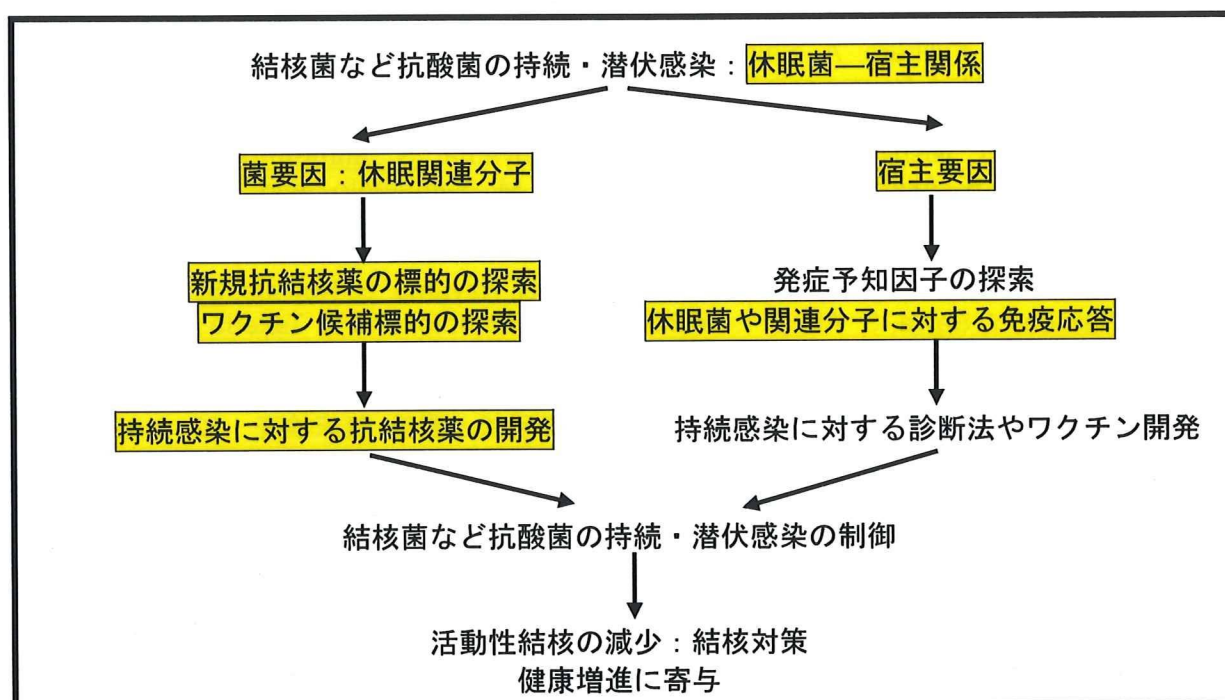
1. Hirayama, Y., M. Yoshimura, Y. Ozeki, I. Sugawara, T. Udagawa, S. Mizuno, N. Itano, K. Kimata, A. Tamaru, H. Ogura, **K. Kobayashi**, and S. Matsumoto. 2009. Mycobacteria exploit host hyaluronan for efficient extracellular replication. PLoS Pathog. 5: e1000643.
2. Tateishi, Y., Y. Hirayama, Y. Ozeki, Y. Nishiuchi, M. Yoshimura, J. Kang, A. Shibata, K. Hirata, S. Kitada, R. Maekura, H. Ogura, **K. Kobayashi**, and S. Matsumoto. 2009. Virulence of *Mycobacterium avium* complex strains isolated from immunocompetent patients. Microb. Pathog. 46: 6-12.
3. **小林和夫**. 2009. マイコバクテリウム属 (抗酸菌). 標準微生物学 第 10 版 (平松啓一、中込 治 編) 東京: 医学書院. 286-298. ISBN: 978-4-260-00638-5
4. Fujiwara, N., and **K. Kobayashi**. 2008. Chapter IV. Mycobacterial glycolipids and host responses. *Glycolipids: New Research*. Sasaki, D., editor. Nova Science Publishers: New York/USA. 99-116. ISBN: 978-60456-216-3
5. Kitada, S., **K. Kobayashi**, S. Ichiyama, S. Takakura, M. Sakatani, K. Suzuki, T. Takashima, T. Nagai, I. Sakurabayashi, M. Ito, and R. Maekura. 2008. Serodiagnosis of *Mycobacterium avium*-complex pulmonary disease using an enzyme immunoassay kit. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 177: 793-797.
6. Nakata, N., N. Fujiwara, T. Naka, I. Yano, **K. Kobayashi**, and S. Maeda. 2008. Identification and characterization of two novel methyltransferase genes that determine the serotype 12-specific structure on glycopeptidolipids of *Mycobacterium intracellulare*. J. Bacteriol. 190: 1064-1071.
7. Fujiwara, N., N. Nakata, T. Naka, I. Yano, Doe, M., Chatterjee, D., McNeil, M., Brennan, P.J., **K. Kobayashi**, M. Makino, S. Matsumoto, H. Ogura, and S. Maeda. 2008. Structural analysis and biosynthesis gene cluster of an antigenic glycopeptidolipid from *Mycobacterium intracellulare*. J. Bacteriol. 190: 3613-3621.
8. **小林和夫**、菅原 勇. 2008. ミニシンポジウム I. ワクチン研究の現在と将来. 結核 83 : 635-640.

・研究分担者 (松本 壮吉)

9. Hirayama, Y., M. Yoshimura, Y. Ozeki, I. Sugawara, T. Udagawa, S. Mizuno, N. Itano, K. Kimata, A. Tamaru, H. Ogura, **K. Kobayashi**, and **S. Matsumoto**. 2009. Mycobacteria exploit host hyaluronan for efficient extracellular replication. PLoS Pathog. 5: e1000643.
10. Okazaki, M., K. Ohkusu, H. Hata, H. Ohnishi, K. Sugahara, C. Kawamura, N. Fujiwara, **S. Matsumoto**, Y. Nishiuchi, K. Toyoda, H. Saito, S. Yonetani, Y. Fukugawa, M. Yamamoto, H. Wada, A. Sejimo, A. Ebina, H. Goto, T. Ezaki, and T. Watanabe. 2009.

- Mycobacterium kyorinense* sp. nov., a novel, slow-growing species, related to *Mycobacterium celatum*, isolated from human clinical specimens. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 59:1336-1341.
11. Wada, T., S. Fujihara, A. Shimouchi, M. Harada, H. Ogura, **S. Matsumoto**, and A. Hase. 2009. High transmissibility of the modern Beijing *Mycobacterium tuberculosis* in homeless patients of Japan. Tuberculosis 89: 252-255.
 12. Saiga, H., J. Nishimura, H. Kuwata, M. Okuyama, **S. Matsumoto**, S. Sato, N. Matsumoto, S. Akira, Y. Yoshikai, K. Honda, M. Yamamoto, and K. Takeda. 2008. Lipocalin 2-dependent inhibition of mycobacterial growth in alveolar epithelium. J. Immunol. 181: 8521-8527.
 13. Nishimura, J., H. Saiga, S. Sato, M. Okuyama, H. Kayama, H. Kuwata, **S. Matsumoto**, T. Nishida, Y. Sawa, S. Akira, Y. Yoshikai, M. Yamamoto, and K. Takeda. 2008. Potent antimycobacterial activity of mouse secretory leukocyte protease inhibitor. J. Immunol. 180: 4032-4039.
 14. 松本壮吉、**小林和夫**. 2008. 結核ワクチン研究の現状と展望. 臨床検査 52: 1149-1153.
・研究分担者 (杉田 昌彦)
 15. Nakao H, Matsunaga I, Morita D, Aboshi T, Harada T, Nakagawa Y, Mori N, **Sugita M**. 2009. Mycolyltransferase from *Mycobacterium leprae* excludes mycolate-containing glycolipid substrates. J. Biochem. 146: 659-665.
 16. Matsunaga I, Naka T, Talekar RS, McConnell MJ, Katoh K, Nakao H, Otsuka A, Behar SM, Yano I, Moody DB, **Sugita M**. 2008. Mycolyltransferase-mediated glycolipid exchange in mycobacteria. J. Biol. Chem. 283: 28835-28841.
 17. Morita D, Katoh K, Harada T, Nakagawa Y, Matsunaga I, Miura T, Adachi A, Igarashi T, **Sugita M**. 2008. Trans-species activation of human T cells by rhesus macaque CD1b molecules. Biochem. Biophys. Res. Commun. 377: 889-893.
・研究分担者 (宮本 友司)
 18. **Miyamoto, Y.**, T. Mukai, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano, and M. Makino. 2008. The *Mycobacterium avium* complex *gftTB* gene encodes a glucosyltransferase required for the biosynthesis of serovar 8-specific glycopeptidolipid. J. Bacteriol. 190: 7918-7924.
・研究分担者 (小出 幸夫)
 19. Seto, S., S. Matsumoto, I. Ohta, K. Tsujimura, and **Y. Koide**. 2009. Dissection of Rab7 localization on *Mycobacterium tuberculosis* phagosome. Biochem. Biophys. Res. Commun. 387:272-277.
 20. Aoshi T, Zinselmeyer BH, Konjufca V, Lynch JN, Zhang X, **Koide Y**, Miller M. 2008. Bacterial entry to the splenic white pulp initiates antigen presentation to CD8⁺ T cells. Immunity 29: 476-486.
 21. Aoshi T, Nagata T, Suzuki M, Hashimoto D, Refiei A, Suda T, Chida K, **Koide Y**. 2008. Identification of an HLA-A*0201-restricted T-cell epitope on the MPT51 protein, a major secreted protein derived from *Mycobacterium tuberculosis*, by MPT51 overlapping peptide screening. Infect. Immun. 76: 1565-1571.
 22. Uchijima M, Nagata T, **Koide Y**. 2008. Chemokine receptor-mediated delivery of mycobacterial MPT51 protein efficiently induces antigen-specific T-cell responses. Vaccine 26: 5165-5169.
 23. Hashimoto D, Nagata, Uchijima M, Seto S, Suda T, Chida K, Miyoshi H, Nakamura H, **Koide Y**. 2008. Intratracheal administration of third-generation lentivirus vector encoding MPT51 from *Mycobacterium tuberculosis* induces specific CD8⁺ T-cell responses in the lung. Vaccine 26: 5095-5100.
・研究分担者 (前倉 亮治)
 24. Kitada, S., K. Kobayashi, S. Ichiyama, S. Takakura, M. Sakatani, K. Suzuki, T. Takashima, T. Nagai, I. Sakurabayashi, M. Ito, and **R. Maekura**. 2008. Serodiagnosis of *Mycobacterium avium*-complex pulmonary disease using an enzyme immunoassay kit. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 177: 793-797.

VII. III (2年間の研究成果) の概要図等



持続・潜伏感染は結核菌—宿主関係を基盤とし、結核菌は代謝の低下した休眠状態、宿主は防御免疫を誘導することにより、成立していることが考えられる。従来の結核対策（感染症法：2類）は活動性患者の早期発見や治療など、増殖期結核菌感染による活動性結核に対する化学療法を中心に構築されてきた。結核発病の多くが無症候性持続感染からの内因性再燃に起因していることから、持続結核菌感染の分子機序の解明は診断、治療：新規抗結核薬や予防：ワクチン研究開発を推進し、結核対策に基盤を提供することが期待される。また、結核近縁MAC感染症は感染症法対象外疾患であるが、近年増加傾向、かつ、薬剤耐性であることから、対応に苦慮している。本研究の成果はMAC感染症の制圧にも寄与することが期待される。

2年間の研究成果として、持続潜伏感染における**休眠菌—宿主関係**の解析、特に、1) **菌要因：休眠関連分子**、2) **宿主要因**、3) **新規抗結核薬の標的の探索**、4) **ワクチン候補標的の探索**が挙げられる。1) **菌要因：休眠関連分子**として、低酸素休眠期抗酸菌に発現する遺伝子群を網羅的解析（マイクロアレイ）し、同定した。現在、これらの遺伝子の機能解析を進めている。さらに、同定した休眠期発現抗原を用い、潜在性結核菌感染の診断について予備的な臨床評価を実施した。2) **宿主要因（休眠菌や関連分子に対する免疫応答）**として、感染宿主の抗体免疫応答を指標として、MAC感染症の血清迅速・簡便診断キットを開発し、活動性MAC感染症の診断に有用（感度：84%、特異度：100%、日本国内多施設共同研究）であった。また、人種差や地域差による診断キットの有用性を検証するため、アメリカ合衆国において、多人種（白人、アジア、黒人系）を対象としてMAC感染症の血清キットの有用性（感度：77%、特異度：94%）を確認した。3) **新規抗結核薬の標的の探索**として、新規ニトロイミダゾール系抗結核薬：OPC-67683（研究協力者：大塚製薬微生物研究所 松本 真 所長）が代謝活性の低下した休眠菌に有効であることを示した。OPC-67683の詳細な抗菌作用機序は不明であるが、少なくとも、抗酸菌の糖脂質代謝酵素（ミコール酸合成酵素）を阻害することから、糖脂質代謝酵素は持続潜在菌の薬剤標的候補となることが期待される。4) **ワクチン候補標的の探索**として、網羅的解析結果から、休眠抗酸菌由来蛋白質や糖脂質抗原、さらに、休眠→覚醒（再活性化）に際し、発現する遺伝子群・蛋白質を同定した。マウス感染実験結果から、少なくとも8種類のワクチン候補抗原を同定した。

○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

1982年09月-1985年08月 アメリカ合衆国コネチカット大学医学部病理学博士研究員
 1985年09月-1995年06月 昭和大学助手・専任講師・助教授・医学部・第1内科学・細菌学
 1997年04月-1999年06月 国立感染症研究所ハンセン病研究センター-生体防御部長
 1999年07月-2006年06月 大阪市立大学大学院教授・医学研究科感染防御学分野
 2006年07月-現在 国立感染症研究所免疫部長 (厚生労働技官)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

コネチカット大学 :	吉田 彪 博士	肉芽腫炎症の細胞・分子機構、免疫病理学
	Stanley Cohen 博士	サイトカイン生物学
昭和大学医学部 :	笠間 毅 博士	リウマチ性疾患の炎症機序
	笠原 慶太 博士	肉芽腫炎症とサイトカイン
大阪市立大学大学院医学研究科 :		
	前田 伸司 博士	結核の分子疫学、薬剤耐性機構
	藤原 永年 博士	結核菌糖脂質の病原性や血清診断
	松本 壮吉 博士	結核菌蛋白質の病原性やワクチン開発

・主な研究課題

抗酸菌感染症の戦略的制圧研究
 肉芽腫炎症の細胞・分子機構
 自己免疫およびアレルギー-疾患の分子医学

・これまでの研究実績 (2000年以降、主要英文論文)

1. **Hirayama, Y., M. Yoshimura, Y. Ozeki, I. Sugawara, T. Udagawa, S. Mizuno, N. Itano, K. Kimata, A. Tamaru, H. Ogura, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2009. *Mycobacteria exploit host hyaluronan for efficient extracellular replication. PLoS Pathog.* 5: e1000643.**
2. **Tateishi, Y., Y. Hirayama, Y. Ozeki, Y. Nishiuchi, M. Yoshimura, J. Kang, A. Shibata, K. Hirata, S. Kitada, R. Maekura, H. Ogura, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2009. *Virulence of Mycobacterium avium complex strains isolated from immunocompetent patients. Microb. Pathog.* 46: 6-12.**
3. Yamamoto, T., Y. Tsunetsugu-Yokota, Y.-y. Mitsuki, F. Mizukoshi, T. Tsuchiya, K. Terahara, Y. Inagaki, N. Yamamoto, **K. Kobayashi**, and J.-i. Inoue. 2009. Selective transmission of R5 HIV-1 over X4 HIV-1 at the dendritic cell-T cell infectious synapse is determined by the T cell activation state. *PLoS Pathog.* 5: e1000279.
4. Takahashi, Y., H. Hasegawa, Y. Hara, M. Ato, A. Ninomiya, H. Takagi, T. Odagiri, T. Sata, M. Tashiro, and **K. Kobayashi**. 2009. Protective immunity afforded by inactivated H5N1 (NIBRG-14) vaccine requires antibodies against both hemagglutinin and neuraminidase in mice. *J. Infect. Dis.* 199: 1629-1637.
5. Mizukoshi, F., T. Yamamoto, Y.-y. Mitsuki, K. Terahara, A. Kawana-Tachikawa, K. Kobayashi, A. Iwamoto, Y. Morikawa, and Y. Tsunetsugu-Yokota. 2009. Activation of HIV-1 Gag-specific CD8⁺ T cells by yeast-derived VLP-pulsed dendritic cells is influenced by the level of mannose on the VLP antigen. *Microbes Infect.* 11: 191-197.
6. **Fujiwara, N., and K. Kobayashi. 2008. Chapter IV. Mycobacterial glycolipids and host responses. *Glycolipids: New Research. Sasaki, D., editor. Nova Science Publishers: New York/USA. 99-116. ISBN: 978-60456-216-3***
7. **Kitada, S., K. Kobayashi, S. Ichiyama, S. Takakura, M. Sakatani, K. Suzuki, T. Takashima, T. Nagai, I. Sakurabayashi, M. Ito, and R. Maekura. 2008. Serodiagnosis of Mycobacterium avium-complex pulmonary disease using an enzyme immunoassay kit. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177: 793-797.**

8. Nakata, N., N. Fujiwara, T. Naka, I. Yano, K. Kobayashi, and S. Maeda. 2008. Identification and characterization of two novel methyltransferase genes that determine the serotype 12-specific structure on glycopeptidolipids of *Mycobacterium intracellulare*. *J. Bacteriol.* 190: 1064-1071.
9. Mitsuki, Y.-y., K. Ohnishi, H. Takagi, M. Oshima, T. Yamamoto, F. Mizukoshi, K. Terahara, K. Kobayashi, N. Yamamoto, S. Yamaoka, and Y. Tsunetsugu-Yokota. 2008. A single amino acid substitution in the S1 and S2 Spike protein domains determines the neutralization escape phenotype of SARS-CoV. *Microbes Infect.* 10: 908-915.
10. 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. 2007. Control of cell wall assembly by a histone-like protein in mycobacteria. *J. Bacteriol.* 189: 8241-8249.
11. Bhatt, A., N. Fujiwara, K. Bhatt, S. S. Gurcha, L. Kremer, B. Chen, J. Chan, S. A. Porcelli, K. Kobayashi, G. S. Besra, and W. R. Jacobs, Jr. 2007. Deletion of *kasB* in *Mycobacterium tuberculosis* causes loss of acid-fastness and subclinical latent tuberculosis in immunocompetent mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 5157-5162.
12. Kitada, S., Y. Nishiuchi, T. Hiraga, N. Naka, H. Hashimoto, K. Yoshimura, K. Miki, M. Miki, M. Motone, T. Fujikawa, K. Kobayashi, I. Yano, and R. Maekura. 2007. Serological test and chest computed tomography findings in patients with *Mycobacterium avium* complex lung disease. *Eur. Respir. J.* 29: 1217-1223.
13. Fujiwara, N., N. Nakata, S. Maeda, T. Naka, M. Doe, I. Yano, and K. Kobayashi. 2007. Structural characterization of a specific glycopeptidolipid containing a novel N-acyl-deoxy sugar from *Mycobacterium intracellulare* serotype 7 and genetic analysis of its glycosylation pathway. *J. Bacteriol.* 189: 1099-1108.
14. Wada, T., S. Maeda, A. Hase, and K. Kobayashi. 2007. Evaluation of variable numbers of tandem repeat as molecular epidemiological markers of *Mycobacterium tuberculosis* in Japan. *J. Med. Microbiol.* 56: 1052-1057.
15. Matsumoto, S., M. Matsumoto, K. Umemori, Y. Ozeki, M. Furugen, T. Tatsuo, Y. Hirayama, S. Yamamoto, T. Yamada, and K. Kobayashi. 2005. DNA augments antigenicity of mycobacterial DNA-binding protein 1 and confers protection against *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice. *J. Immunol.* 175: 441-449.
16. Maekura, R., Y. Okuda, A. Hirotsu, S. Kitada, T. Hiraga, K. Yoshimura, I. Yano, K. Kobayashi, and M. Ito. 2005. Clinical and prognostic importance of serotyping *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* complex isolates in human immunodeficiency virus-negative patients. *J. Clin. Microbiol.* 43: 3150-3158.
17. Kitada, S., R. Maekura, N. Toyoshima, T. Naka, N. Fujiwara, M. Kobayashi, I. Yano, M. Ito, and K. Kobayashi. 2005. Use of glycopeptidolipid core antigen for serodiagnosis of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease in immunocompetent patients. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 12: 44-51.
18. Fujiwara, N., and K. Kobayashi. 2005. Macrophages in inflammation. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy* 4: 281-286.
19. Aoki, K., S. Matsumoto, Y. Hirayama, T. Wada, Y. Ozeki, M. Niki, P. Domenech, K. Umemori, S. Yamamoto, A. Mineda, M. Matsumoto, and K. Kobayashi. 2004. Extracellular mycobacterial DNA-binding protein 1 participates in *Mycobacterium*-lung epithelial cell interaction through hyaluronic acid. *J. Biol. Chem.* 279: 39798-39806.
20. Wada, T., S. Maeda, A. Tamaru, S. Imai, A. Hase, and K. Kobayashi. 2004. Dual-probe assay for rapid detection of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.* 42: 5277-5285.
21. Kitada, S., R. Maekura, N. Fujiwara, I. Yano, T. Ogura, M. Ito, and K. Kobayashi. 2002. Serodiagnosis of pulmonary disease due to *Mycobacterium avium* complex with an enzyme immunoassay that uses a mixture of glycopeptidolipid antigens. *Clin. Infect. Dis.* 35: 1328-1335.
22. Maeda, S., M. Matsuoka, N. Nakata, M. Kai, Y. Maeda, K. Hashimoto, H. Kimura, K. Kobayashi, and Y. Kashiwabara. 2001. Multidrug resistant *Mycobacterium leprae* from patients with leprosy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 3635-3639.
23. Kasama, T., F. Shiozawa, K. Kobayashi, N. Yajima, M. Hanyuda, H.T. Takeuchi, Y. Mori,

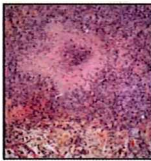
- M. Negishi, H. Ide, and M. Adachi. 2001. Vascular endothelial growth factor expression by activated synovial leukocytes in rheumatoid arthritis. Critical involvement of the interaction with synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 44: 2512-2524.
24. Kawasaki, S., H. Takizawa, K. Takami, M. Desaki, H. Okazaki, T. Kasama, **K. Kobayashi**, K. Yamamoto, K. Nakahara, M. Tanaka, M. Sagai, and T. Ohtoshi. 2001. Benzene-extracted components are important for the major activity of diesel exhaust particles. Effect on interleukin-8 gene expression in human bronchial epithelial cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 24: 419-426.
25. Yamagami, H., T. Matsumoto, N. Fujiwara, T. Arakawa, K. Kaneda, I. Yano, and **K. Kobayashi**. 2001. Trehalose 6,6'-dimycolate (Cord factor) of *Mycobacterium tuberculosis* induces foreign-body- and hypersensitivity-type granulomas in mice. *Infect. Immun.* 69: 810-815.
26. **Kobayashi, K.**, K. Kaneda, and T. Kasama. 2001. The immunopathogenesis of delayed-type hypersensitivity. *Microsc. Res. Tech.* 53: 241-245.
27. Lu, J., T. Kasama, **K. Kobayashi**, Y. Yoda, F. Shiozawa, M. Hanyuda, M. Negishi, H. Ide, and M. Adachi. 2000. Vascular endothelial growth factor expression and regulation of murine collagen-induced arthritis. *J. Immunol.* 164: 5922-5927.
28. Kasama, T., **K. Kobayashi**, N. Yajima, F. Shiozawa, Y. Yoda, H.T. Takeuchi, Y. Mori, M. Negishi, H. Ide, and M. Adachi. 2000. Expression of vascular endothelial growth factor by synovial fluid neutrophils in rheumatoid arthritis (RA). *Clin. Exp. Immunol.* 121: 533-538.
29. Hamasaki, N., K. Isowa, K. Kamada, Y. Terano, T. Matsumoto, T. Arakawa, **K. Kobayashi**, and I. Yano. 2000. In vivo administration of mycobacterial cord factor (trehalose 6,6'-dimycolate) can induce lung and liver granulomas and thymic atrophy in rabbits. *Infect. Immun.* 68: 3704-3709.
30. Saita, N., N. Fujiwara, I. Yano, K. Soejima, and **K. Kobayashi**. 2000. Trehalose 6,6'-dimycolate (Cord factor) of *Mycobacterium tuberculosis* induces corneal angiogenesis in rats. *Infect. Immun.* 68: 5991-5997.

持続性結核菌感染の病原性や発症に関わる分子機構の解明及び治療・予防の基礎研究 (H20—新興—一般—010)

研究代表者：小林 和夫
国立感染症研究所免疫部

E-mail: kobayak@nih.go.jp

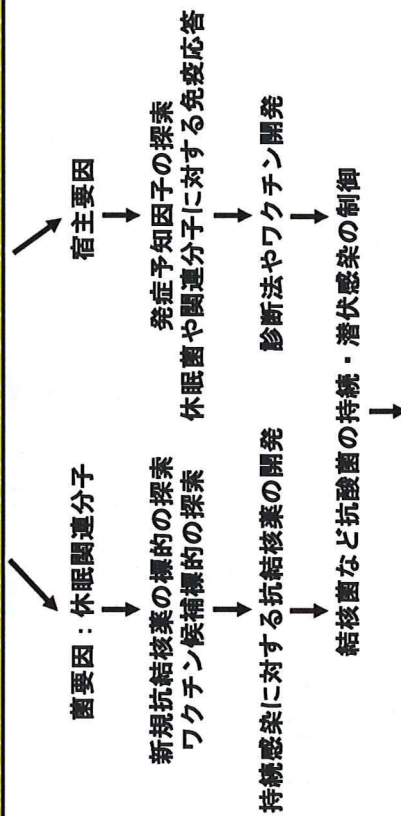
<http://www.nih.go.jp/niid/immunology>



研究班の構成

研究者氏名	区分	所属
小林 和夫	研究代表者	国立感染症研究所免疫部
岡部 真裕子	研究協力者	国立感染症研究所免疫部
大西 和夫	研究協力者	国立感染症研究所免疫部
阿戸 学	研究協力者	国立感染症研究所免疫部
高橋 宜聖	研究協力者	国立感染症研究所免疫部
松本 杜吉	研究分担者	大阪市立大学大学院医学研究科細菌学
杉田 昌彦	研究分担者	京都大学ウイルス学研究所細胞制御研究分野
宮本 友司	研究分担者	国立感染症研究所ハンセン病研究センター—感染制御部
小出 幸夫	研究分担者	浜松医科大学感染症学
前倉 亮治	研究分担者	国立病院機構刀根山病院内科
大原 直也	研究協力者	岡山大学大学院医歯薬総合研究科口腔微生物学
菅原 勇	研究協力者	結核研究所
松本 真	研究協力者	大塚製薬微生物研究所
笠間 毅	研究協力者	昭和大学医学部リウマチ・膠原病内科

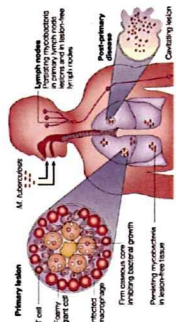
結核菌など抗酸菌の持続・潜伏感染：休眠菌—宿主関係



活動性結核の減少：結核対策
健康増進に寄与

潜在性結核菌感染 (90%)

- 世界：20億人 日本：0.25億人
- TSTやIGRA (QFT) 陽性
- 胸部X線：著変なし
- 呼吸器症状：なし
- 喀痰検査：陰性、無症候性結核菌感染



Nat. Rev. Microbiol. 1: 97-105, 2003.

活動性肺結核 (10%)

- 世界：927万人 日本：2.5万人/年 (死亡：世界：176万人 日本：0.2万人/年)
- TSTやIGRA (QFT) 陽性
- 胸部X線：病的陰影 (結節、浸潤、胸水・胸膜炎など)
- 呼吸器症状：発熱、盗汗、咳嗽、咯痰・血痰、体重減少、倦怠感など
- 喀痰検査：塗抹や遺伝子増幅・培養陽性

