

○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06月01日～ 広島大学医学部附属病院
 1981年10月01日～ 島根医科大学医学部附属病院
 1982年04月01日～ 広島大学医学部麻酔学教室
 1987年10月01日～ 松江赤十字病院
 2003年04月01日～ 国立国際医療センター
 2006年08月01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プロ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 (2005-2009)

1. 著書

- 1) 麻酔科学レビュー2009 (p61-67, 11 吸入麻酔薬). 天羽敬祐監修, 2009/2, 総合医学社, 東京.
- 2) NST完全ガイド・改訂版—経腸栄養・静脈栄養の基礎と実践 (p250-254, 5-1 ショック). 東口高志編, 2009/1/25, 照林社, 東京.
- 3) 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) 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) 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.
- 6) 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, 2007/9, 中山書店, 東京.
- 7) **生体防御医学事典 (p325-329, 63 ARDSの臨床)**. 鈴木和男監修, 2007/5, 朝倉書店, 東京.
- 8) 麻酔科学レビュー2007 (p60-65, 11 吸入麻酔薬). 天羽敬祐監修, 2007/2, 総合医学社, 東京.
- 9) 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.
- 10) 麻酔科学レビュー2006 (p71-77, 12 吸入麻酔薬). 天羽敬祐監修, 2006/2, 総合医学社, 東京.
- 11) NST完全ガイド—栄養療法の基礎と実践 (p198-202, 4-1 ショック). 東口高志編, 2005/11, 照林社, 東京.
- 12) 薬剤師のための褥瘡の治療とケア (p21-31, 2 褥瘡とその予防-栄養管理法を中心に-). 東京都病院薬剤師会編集, 2005, 薬事日報社, 東京.
- 13) 麻酔科学レビュー2005 (p69-74, 12 吸入麻酔薬). 天羽敬祐監修, 2005/2, 総合医学社, 東京.
- 14) 先端医療シリーズ 33. 麻酔科の新しい流れ (p52-55, 第3章 薬剤に対する最新情報, 1 吸入麻酔薬). 2005, 先端医療技術研究所, 東京.

2. 論文(英文)

- 1) **Yuka OSAKI, Yasuhiro MAEHARA, Masaki SATO, Akiyoshi HOSHINO, Kenji YAMAMOTO, Tomokazu NAGAO, Kazuo SUZUKI, Shoji KAWACHI. Analysis of cytokine/chemokine levels in bronchoalveolar lavage fluids from patients with acute respiratory distress syndrome: Increase in IL-6, G-CSF, MCP-1, MIP-1 β . Jap J Intens Care Med, in press.**
- 2) **Shoji KAWACHI, San T LUONG, Mika SHIGEMATSU, Hiroyuki FURUYA, Thuy Thi Bich PHUNG, Phuc Huu PHAN, Hiroyuki NUNOI, Liem Thanh NGUYEN, Kazuo SUZUKI. Risk parameters of fulminant acute respiratory distress syndrome followed by avian influenza(H5N1) infection in Vietnamese children. J Infect Dis 200; 510-515, 2009.**

- 3) *Nguyen Thanh Liem, Noriko NAKAJIMA, Late Le Phuc Phat, Yuko SATO, Hoang Ngoc Thach, Pham Viet Hung, Luong Thi San, Harutaka KATANO, Toshio KUMASAKA, Teruaki OKA, Shoji KAWACHI, Takeji MATSUSHITA, Tetsutaro SATA, Kohichiro KUDOH, Kazuo SUZUKI: Diffuse alveolar damage in exudative phase from a fatal case in Vietnam. Jap J Infect Dis 61:157-160, 2008.*
- 4) *Hidenori YASUDA, Nobuaki YOSHIKAWA, 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. 論文 (日本文)

- 1) 佐藤正規、前原康宏、尾崎由佳、松谷厚子、志賀由佳、山崎京子、平尾亜衣、河内正治：国立国際医療センターにおけるヒト免疫不全ウイルス感染者手術の動向。麻酔 58(12):1554-1559, 2009.
- 2) 河内正治：バイスタンダーCPR (今月の用語)。医療 63(7): 449, 2009.
- 3) 若菜宣明、本間和弘、田中閔郎、秋葉正文、田中寛、日野原千速、河内正治：外科系栄養サポートチーム (NST) における NST 介入の評価項目としての栄養補給ルートの検討。日本健康医学雑誌 18(1):11-17, 2009.
- 4) 河内正治：HSN1 鳥インフルエンザの人感染最前線。LiSA 16 別冊:72-82, 2009.
- 5) 鈴木和男、河内正治：はじめに。特集「ARDS とインフルエンザ (HSN1)」。医学の歩み 224(11): 813-814, 2008.
- 6) 河内正治：インフルエンザ (HSN1) による ARDS の病態と治療。特集「ARDS とインフルエンザ (HSN1)」。医学の歩み 224(11): 815-819, 2008.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 河内正治：とりインフルエンザとベトナム (編集余瀉)。医療 61(12): 831-832, 2007.
- 10) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (5)。月刊/保険診療 62(1): 106-109, 2007.
- 11) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (6)。月刊/保険診療 62(2): 104-107, 2007.
- 12) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (7)。月刊/保険診療 62(3): 102-105, 2007.
- 13) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (8)。月刊/保険診療 62(4): 126-128, 2007.
- 14) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (9)。月刊/保険診療 62(5): 126-129, 2007.
- 15) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (10)。月刊/保険診療 62(6): 116-119, 2007.
- 16) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (11)。月刊/保険診療 62(7): 116-119, 2007.
- 17) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (12)。月刊/保険診療 62(8): 116-119, 2007.
- 18) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (13)。月刊/保険診療 62(9): 106-108, 2007.
- 19) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (14)。月刊/保険診療 62(10): 115-118, 2007.
- 20) 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(11):1070-1074, 2006.
- 21) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (1)。月刊/保険診療 61(9): 108-111, 2006.
- 22) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (2)。月刊/保険診療 61(10): 108-111, 2006.
- 23) 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.
- 24) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (3)。月刊/保険診療 61(11): 106-109, 2006.
- 25) 河内正治：麻酔手技の要点解説 (4)。月刊/保険診療 61(12): 122-124, 2006.
- 26) 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.
- 27) 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.

・平成 22 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

- ・高病原性鳥インフルエンザの診断・治療に関する国際連携研究 (22181501)
 課題名：『高病原性鳥インフルエンザの主要重症化要因である劇症型 ARDS(FARDS)等
 に対する診断・治療法の開発と病態解明に関する国際連携研究』

2010 January 28 新興再興感染症研究事業研究発表会

インフルエンザ(H5N1)の死因となる劇症型ARDSの病態解析と治療法の開発に関する研究 (H19-新興一般-005)

字原 19-21年度厚生労働省科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業

国立国際医療センター
河内 正治

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

研究内容 (H19-新興一般-005)

臨床班

- ARDS BALF の採取 (Japan)
 - Osaki Y. et al. Analysis of cytokines in bronchoalveolar lavage fluid from patients with acute respiratory distress syndrome. *MCP-1 and MCP-1β increase in IL-6, IL-8, G-CSF, MCP-1, and MCP-1β*. *J. Jap. Soc. Intensive Care Med in press*
- Vietnamにおける活動(NHP-Hanoi)
 - H5N1-FARDS -
 - Chida K. et al. Risk parameters of fulminant acute respiratory distress syndrome (FARDS) followed by H5N1 influenza infection in Vietnamese children. *doi:10.1093/infdis/jin289*
 - Prospective study (H5N1-FARDS) BALF/Serum採取: Pathology

基礎班

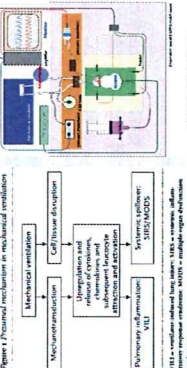
- FARDS model mice の作成
 - 器械的損傷モデル: VILI model mice
 - 化学的損傷モデル: LPS model mice
 - 感染モデル: PR8[H1N1] model mice
- ARDS(FARDS)症例のBio-markers測定
 - Cytokines, chemokines(橋本)
 - IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, INF-γ, TNF-α, IL-18, IL-5, IL-7, IL-17(P70), G-CSF, MCP-1(MCAF), MIP-1B
 - Metabolic markers(橋本, 赤池, 岡本, 布井)
 - MPO, G-CSF
 - CO-Haem, NO₂-Ty, 8NO₂-GUA, cGMP, cYr-cAMP, KL-6, SP-D, MMP-9
 - Cytokine-C
 - Cell function, m-RNA(中山, 川上, 橋本)
 - Ty/TG2 balance
 - xδ1, NKT-Subsets, Neutrophils, Macrophages, Lymphocytes
 - Pathological investigation(中島, 熊坂)
 - ハノイ国立小児病院症例(Prospective Study)

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

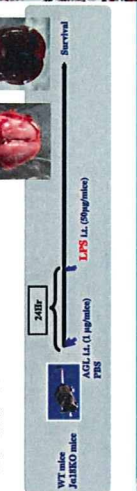
劇症型 ARDS model mice

a. 器械的損傷モデル-VILI model mice

Figure 1. Potential mechanism in mechanical ventilation

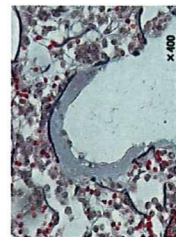
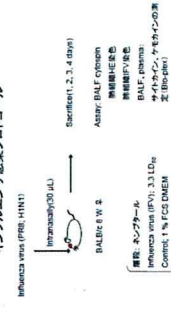


b. 化学的損傷モデル-LPS model mice



c. 感染モデル-PR8[H1N1] model mice

インフルエンザ感染プロトコール



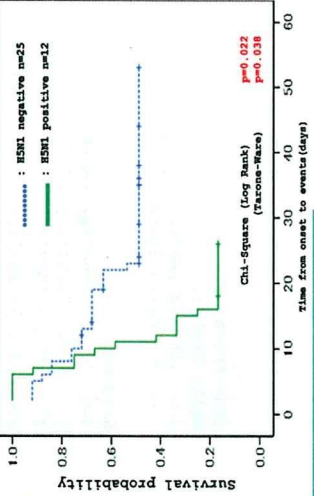
International Medical Center of JAPAN, Department of Surgical Operation, Division of Anesthesia

ハノイARDS-H5N1症例 Survival curves in NHP-Hanoi cases : H5N1 / H5N1-negative

RESULTS

Risk Parameters of Fulminant Acute Respiratory Distress Syndrome and Asian Influenza (H5N1) Infection in Vietnamese Children

Journal of Infectious Disease 2009, 200: 510-515.



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

ハノイARDS-H5N1症例 Summary

1. ハノイ国立小児病院PICUに入院したARDS症例 (H5N1感染症例を含む)のうち、年齢が一か月以上で経過中P/F値が100未満を呈した重症ARDS症例を先行的に症例集積した。
2. 臨床経過が集積できたH5N1感染ARDS症例12例と他病因ARDS27例について今回比較検討した。
3. 生存率は有意にH5N1感染例で低かった($p=0.022$) (13日 vs. 32日)。
4. H5N1感染例では、受診時の呼吸機能として換気能が正常範囲に保たれており、通常のARDS症例とは異なった所見であった。
5. H5N1感染症例で今までに報告されている特徴となる血清検査値は報告通りであった。
1)白血球数の減少、2)血小板数の減少、3)肝トランスアミナーゼ値の上昇。
6. 以上より、H5N1感染ARDSは病理診断はARDSであるが、通常のARDSとは死亡率など明らかに異なった臨床経過を呈し、われわれはこの差を明らかにするために劇症型ARDS (Fulminant ARDS) (H5N1-FARDS) と命名した。

ハノイARDS-H5N1症例 Basic drug therapy

n=13 Summary 2003.12-2008.3

Steroids: Methyl Prednisolone
1mg/kg 2weeks,
plus 0.5mg/kg 1week,
plus 0.25mg/kg 1week

Tamiflu: under 13 years old :
under 15kg 30mg×2times/day 7days
16-23 kg 45mg×2times/day 7days
24-40 kg 60mg×2times/day 7days
over 13 years old : 75 mg×2times/day 7days

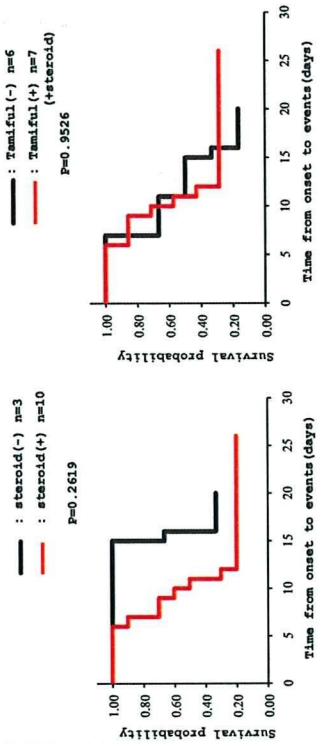
IVIg(ガンマグロブリン大量療法): total dosage 2g/kg
1g/kg × 2days

ハノイARDS-H5N1症例 Clinical features of all H5N1 patients in NHP-Hanoi

No.	Gender	Age	H5N1	Contact	Prognosis	IVIg (g/kg)	Tamiflu	Steroids	Days
1	F	12	Y	U	D	N	N	Y	7
2	M	5	Y	U	D	N	N	N	16
3	M	4	Y	U	A	N	N	N	20
4	M	10	Y	U	D	N	N	Y	11
5	F	5	Y	Y	D	N	N	Y	7
6	M	4	Y	Y	D	N	N	N	15
7	F	1	Y	Y	D	N	Y	Y	6
8	M	1.3	Y	N	D	N	Y	Y	9
9	M	11	Y	N	D	N	Y	Y	11
p1	M	4	Y	Y	D	N	Y	Y	12
10	F	9	Y	N	A	Y	Y	Y	26
p14	M	7	Y	Y	A	Y	Y	Y	18
p19	M	11	Y	Y	A	Y	Y	Y	10
Number of patients	M:F=9:4	6.5±3.8	13	6	D:A=10:3	3	7	10	12.9±5.9

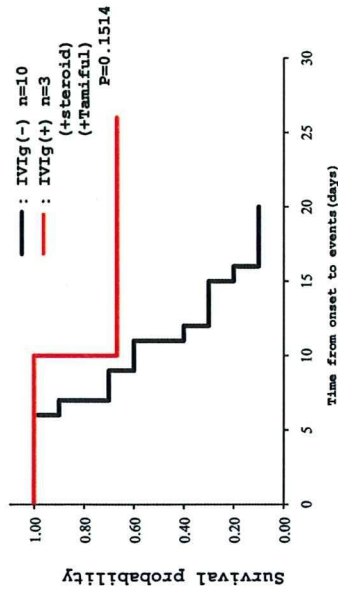
ハノイARDS-H5N1症例 Treatment

Survival curves (Kaplan-Meier method) : Steroids (+) / (-) , Tamiflu (+) / (-)



ハイARDS-H5N1症例 Treatment

Survival curves (Kaplan-Meier method) : IVIg (+) / (-)



ハイARDS-全症例 Clinical features of all ARDS patients in NHP-Hanoi

n=63 Summary 2003.12-2008.12

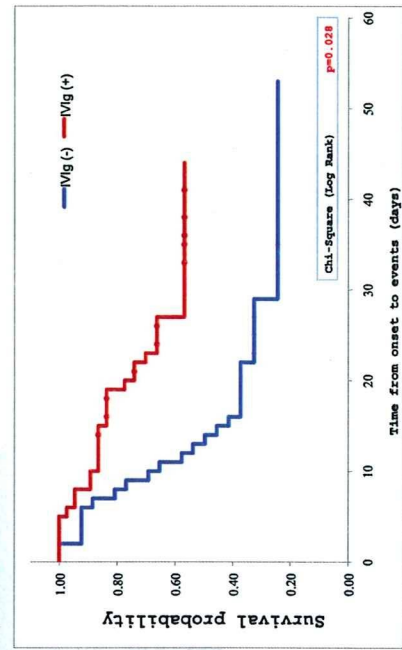
IVIg (-) n=27

No.	Gender	Age	RSNI	Contest	Days	IVig (g/kg)	WBC	RBC	PLT	CRP
1	F	12	Y	U	7	N	2100	510	45	3.1
2	F	10	Y	U	11	N	2000	520	145	6.2
3	F	5	Y	Y	7	N	1100	380	91	6.6
4	M	4	Y	Y	15	N	2300	4100	150	0.59
5	M	13	Y	Y	6	N				3.6
6	M	13	Y	N	9	N	1400	2300	31	4.8
7	M	13	Y	N	11	N	4800	4500	125	0.6
8	M	4	N	N	2	N	9300	3900	83	0.94
9	M	0.2	N	N	23	N	3250	4010	57	0.6
10	M	0.2	N	N	51	N	29200	4250	257	
11	F	3	N	N	29	N	4000	2010	27	2.4
12	M	0.4	N	N	2	N	4200	2550	232	4.2
13	M	0.4	N	N	2	N	10100	2600	458	2.8
14	F	0.18	N	N	13	N	4200	3100	403	0.6
15	F	0.18	N	N	22	N	11000	3800	442	0.6
16	F	14	N	N	12	N	28000	3510	278	2.5
17	F	0.2	N	N	17	N	21400	2350	498	4.2
18	F	0.5	N	N	29	N	19800	2720	495	
19	F	11	N	N	27	N				28.1
20	M	0.15	N	N	25	N	9300	2450	238	4.5
21	M	0.18	N	N	14	N	9900	2800	409	9.1
22	M	3	N	N	8	N	7500	3960	118	1.6
23	M	3	N	N	9	N	16100	4340	131	2.4

IVIg (+) n=36

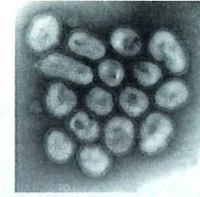
No.	Gender	Age	RSNI	Contest	Days	IVig (g/kg)	WBC	RBC	PLT	CRP
24	F	3	N	N	19	Y	3500	2010	132	3.2
25	F	0.3	N	N	6	Y	3500	2600	174	0.8
26	F	0.3	N	N	8	Y	10000	2500	176	3
27	F	0.3	N	N	9	Y	18000	4610	180	3.1
28	F	0.3	N	N	5	Y	8000	3500	242	0.3
29	M	0.3	N	N	19	Y	13000	3900	119	0.9
30	M	0.2	N	N	18	Y	1300	2900	119	0.9
31	F	0.2	N	N	14	Y	3200	2100	332	0.2
32	F	0.2	N	N	35	Y	21000	4200	332	0.2
33	F	0.2	N	N	44	Y	8100	4400	50	0.9
34	F	0.2	N	N	21	Y	10800	4100	500	0.53
35	F	0.2	N	N	23	Y	13000	2600	237	0.2
36	F	0.2	N	N	31	Y	11100	4200	154	16.4
37	F	0.2	N	N	41	Y	27000	4100	375	0.66
38	F	0.2	N	N	31	Y	12000	4200	302	2.4
39	F	0.17	N	N	35	Y	16000	435	702	5.0
40	F	0.17	N	N	29	Y	29000	4200	449	13.2
41	M	0.5	N	N	15	Y	14000	2800	109	0.7
42	F	0.2	N	N	31	Y	6000	2000	238	1.1
43	M	0.3	N	N	16	Y	1000	4610	207	4.2
44	M	0.3	N	N	31	Y	5000	4210	416	10
45	M	0.3	N	N	27	Y	12000	2600	311	11.3
46	M	0.3	N	N	27	Y	3500	2910	83	49
47	F	0.3	N	N	24	Y	8000	3300	131	2.3
48	F	1.5	N	N	16	Y	10000	5200	302	1.2

ハイARDS-全症例 Survival probability (Kaplan-Meier method): IVIg (+)/(-) n=63



インフルエンザA/H1pdm 日本の重症例

Severe case in Okinawa: from Dr Nunoi



9ヶ月 男児

Onset 高熱

意識昏迷

8月11日

呼吸困難増悪したため、沖縄南部病院転院

8月24日 皮下気腫、肺水腫、心臓液を認め人工呼吸管理。

8月26日 POPS導入、心塞トレーナージ施行。

8月31日 POPSより離脱。

生化学データ: ASTALT 100以下、BUN/Cr 10/0.3、Ab 2g/dl台



咳、喘鳴、頻呼吸

他院にて発症(39-40°C) 他院にて大量カンマダログロブリン投与。

呼吸困難増悪したため、沖縄南部病院転院

8月24日 皮下気腫、肺水腫、心臓液を認め人工呼吸管理。

8月26日 POPS導入、心塞トレーナージ施行。

8月31日 POPSより離脱。

生化学データ: ASTALT 100以下、BUN/Cr 10/0.3、Ab 2g/dl台

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: 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機序や獲得免疫機構による生体外排除を回避する機序が不明
- (2) 機能未知結核菌遺伝子が多数存在し結核菌病原性発現機序が不明
- (3) ワクチン開発に資する結核菌特異的抗原によるタイプ 1 T 細胞選択的活性化機構が不明
- (4) 潜在性抗酸菌感染から活動性抗酸菌症(内因性再燃)への発症機序が不明
- (5) 効果的な抗酸菌症治療の早期開始のための迅速・簡便な鑑別検査法がない
- (6) 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
- (7) 成人肺結核を含む結核等病原性抗酸菌感染症を的確に予防する方策・ワクチンがない
- (8) 糖尿病が結核増悪因子であることの証明が十分なされていない。機序も不明

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 機能未知遺伝子の解析から結核菌病原性候補因子を同定し、その宿主細胞に及ぼす影響及び免疫応答抵抗性発現における結核菌の修飾機序を解明
- (2) 内因性再燃誘導性結核菌因子を同定し高齢発症結核を診断・治療・予防し制圧に寄与
- (3) 新たな抗酸菌の検出・鑑別法を開発し、迅速診断・簡便な対応法を構築。感染ルート解明
- (4) 未感作 CD4 陽性 T 細胞及び CD8 陽性 T 細胞を同時に活性化し、ワクチンとして必須な記憶型 T 細胞及び抗酸菌殺戮を誘導する実効型 T 細胞を効率的に産生する BCG の作製
- (5) ワクチン接種目的の一つである長期生存 CD8 記憶 T 細胞の効率的産生に果たす CD4 陽性 T 細胞のヘルプ機能の解明
- (6) 選択的・効率的に結核反応性 CD8 記憶 T 細胞を産生・維持する追加免疫ワクチンの開発
- (7) 動物モデル・臨床で糖尿病が結核の増悪因子であることを証明。増悪機序を解明

III. 3年間の研究成果

・研究代表者(牧野正彦)

- (1) 抗酸菌共通主要抗原 MMP-II 分泌型 BCG は、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 はファゴライソゾームを形成し、樹状細胞・未感作 CD4 陽性 T 細胞を強く活性化。長期生存型 CD4 陽性記憶 T 細胞を産生
- (3) HSP70-MMP-II 融合蛋白分泌型新規 BCG は、実効型キラー T 細胞・多機能型 CD8 陽性 T 細胞を多種類産生し、抗酸菌の増殖を強く抑制
- (4) ウレアーゼ欠損 HSP70-MMP-II 遺伝子導入 BCG は、ヒト及びマウス未感作 CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞を同時に強力に活性化し、多機能型実効型及び記憶 T 細胞を産生

・研究分担者(河村伊久雄)

- (1) 結核菌の病原性遺伝子 RD1 は宿主細胞のカスパーゼ 1 活性化と細胞死を誘導
- (2) 結核菌感染後期に PD1 シグナル経路が活性化され抗結核防御免疫を抑制
- (3) 結核菌侵入因子 Mce-1 は肺胞マクロファージから免疫調整性ケモカイン産生を亢進

・研究分担者(小林和夫)

- (1) 潜伏感染に関与する結核菌の正と負の制御因子を同定
- (2) 血清型 3 型 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
- (3) キットとして確立した血清診断法の感度、特異度、疾患活動性を解析

・研究分担者(田村敏生)

- (1) 長期生存型 CD8 陽性記憶 T 細胞の産生には、タイプ 1 CD4 陽性細胞による樹状細胞の

活性化が必須

- (2) タイプ 1 CD4 陽性 T 細胞選択的活性化のトリガーをひく新規転写因子として TAF7 を発見
 ・研究分担者(菅原 勇)
- (1) ヒト及び糖尿病ラットでは結核菌感受性が増大し、肺胞マクロファージの機能低下が出現
 (2) 高血糖が結核菌の増殖を誘導. 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) 機能未知遺伝子 *Rv2613c* は新規ヌクレオチド加水分解酵素をコードした
 (2) 高分解能遺伝子タイピング用に新規 IS 1642 を発見。 *M. kansasii* の新しい鑑別法を確立

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) RD1 及び新規に同定した結核菌病原性因子の病原性発現分子機構の解析
 (2) 現行の IFN- γ 遊離試験を凌駕する潜伏結核菌感染者新規診断法の開発
 (3) ウレアーゼ欠損・HSP70-MMP-II 導入 BCG の結核・ハンセン病の予防効果の検討
 (4) ウレアーゼ欠損 HSP70 導入 BCG を基に結核用新規リコンビナント BCG の作製とその評価
 (5) 抗原特異的タイプ 1 CD4 陽性 T 細胞と樹状細胞の相互作用を司る分子の同定
 (6) ヘルパー T 細胞依存性活性化樹状細胞による未感作 CD8 陽性 T 細胞の活性化機構解析
 (7) インスリンによる結核菌増殖抑制機構を分子及び細胞レベルで解析
 (8) 非結核性抗酸菌の診断キットの確立・遺伝子タイピング方法の開発と *Rv2613c* 遺伝子と病原性との関連性の解析
 (9) 肺及び肺外 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

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 抗酸菌症の診断用ガイドラインを作成し感染ルートの解明に資する。公衆衛生学的な感染予防方策の樹立に向けた提言の作成
 (2) 潜伏感染者を早期診断・同定し、高齢発症の予防策の構築に寄与
 (3) 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
 (4) 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
 (5) 新規 BCG ワクチン作出による抗酸菌感染症、特に成人肺結核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構築へ貢献
 (7) 発症予防方策として血糖値コントロールを行政的に推奨する
 (8) MAC の血清診断法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

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.
- (3) Makino, M., Y. Maeda, M. Kai, T. Tamura, and T. Mukai. 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.*, 55: 39-46, 2009.
- (4) Maeda, Y., T. Tamura, M. Matsuoka, and M. Makino. Inhibition of the Multiplication of *Mycobacterium leprae* by Vaccination with a Recombinant *M. bovis* BCG Strain that Secretes Major Membrane Protein-II in Mice. *Clin. Vaccine Immunol.* 16: 1399-1404, 2009.
- (5) Mukai, T., Y. Maeda, T. Tamura, and M. Makino. Induction of cross-priming of naïve CD8⁺ T lymphocytes by recombinant Bacillus Calmette-Guérin that secretes heat shock protein

70-major membrane protein-II fusion protein. J. Immunol., in press, 2009.

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.
- (3) Kurenuma, T., I. Kawamura, H. Hara, R. Uchiyama, S. Daim, S. R. Dewamitta, S. Sakai, K. Tsuchiya, T. Nomura, and M. Mitsuyama. RD1 locus in *Mycobacterium tuberculosis* genome contributes to activation of caspase-1 via induction of potassium ion efflux in infected macrophages. Infect. Immun., 77: 3992-4001, 2009.

研究分担者(小林和夫)

- (1) Fujiwara, N., N. Nakata, S. Maeda, T. Naka, M. Doe, I. Yano, and K. Kobayashi. 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, 2007.
- (2) 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. 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, 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.
- (2) Wolf, A. J., B. Linas, G. J. Trevejo-Nuñez, E. Kincaid, T. Tamura, K. Takatsu, and J. D. Ernst. *Mycobacterium tuberculosis* Infects dendritic cells with high frequency and impairs their function *in vivo*. J. Immunol., 179:2509-2519, 2007.
- (3) Wolf, A. J., L. Desvignes, B. Linas, N. Banaiee, T. Tamura, K. Takatsu, and J. D. Ernst. Initiation of the adaptive immune response to *M. tuberculosis* depends on antigen production in the local lymph node, not the lungs. J. Exp. Med., 205:105-115, 2008.

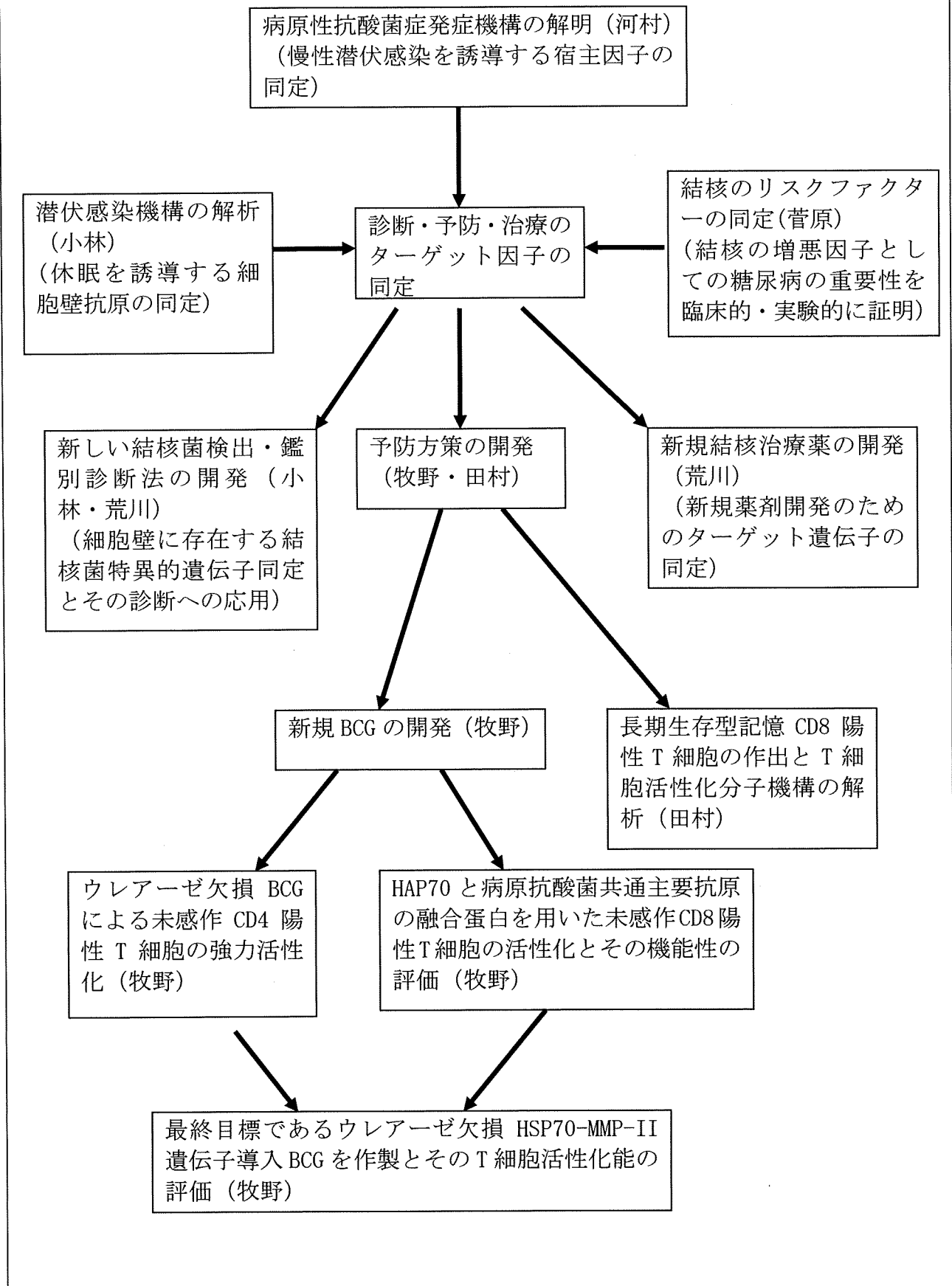
研究分担者(菅原 勇)

- (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 mycobacterial infection. Tohoku J. Exp. Med., 216:363-370, 2008.

研究分担者(荒川宜親)

- (1) Mori, S., K. Shibayama, J. Wachino, and Y. Arakawa. Purification and molecular characterization of a novel diadenosine 5',5'''-P(1),P(4)-tetrphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Protein. Expr. Purif., in press, 2009.
- (2) 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., 29:216-221, 2009.

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

- 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～2009年3月 国立感染症研究所ハンセン病研究センター病原微生物部(部長)
 2009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) *Mukai, T., Y. Maeda, T. Tamura, and M. Makino. Induction of cross-priming of naïve CD8⁺ T lymphocytes by recombinant Bacillus Calmette-Guérin that secretes heat shock protein 70-major membrane protein-II fusion protein. J. Immunol., in press, 2009.*
- 2) *Makino, M., Y. Maeda, M. Kai, T. Tamura, and T. Mukai. 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., 55: 39-46, 2009.*
- 3) *Maeda, Y., T. Tamura, M. Matsuoka, and M. Makino. Inhibition of the Multiplication of Mycobacterium leprae by Vaccination with a Recombinant M. bovis BCG Strain that Secretes Major Membrane Protein-II in Mice. Clin. Vaccine Immunol. 16: 1399-1404, 2009.*
- 4) *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.*
- 5) *Miyamoto, Y., T. Mukai, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano, and M. Makino. The Mycobacterium avium complex *gtfTB* gene encodes a glucosyltransferase required for the biosynthesis of serovar 8-specific glycopeptidolipid. J. Bacteriol., 190: 7918-7924, 2008.*
- 6) *Kai, M., N. P. N. Ha, H. T. T. Huong, N. H. An, Y. Fukutomi, Y. Maeda, Y. Miyamoto, T. Mukai, T. Fujiwara, N. T. Tan, and M. Makino. Serological diagnosis of leprosy in patients in Vietnamese by enzyme-linked immunosorbent assay with Mycobacterium leprae-derived major membrane protein-II. Clin. Vaccine Immunol., 15: 1755-1759, 2008.*
- 7) *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.

- 8) Maeda, Y., T. Mukai, M. Kai, Y. Fukutomi, H. Nomaguchi, C. Abe, K. Kobayashi, S. Kitada, R. Maekura, I. Yano, N. Ishii, T. Mori, and M. Makino. Evaluation of major membrane protein-II as a tool for serodiagnosis of leprosy. *FEMS Microbiol. Lett.*, 272: 202-205, 2007.
- 9) Miyamoto, Y., T. Mukai, Y. Maeda, N. Nakata, M. Kai, T. Naka, I. Yano, and M. Makino. Characterization of the fucosylation pathway in the biosynthesis of glycopeptidolipids from *Mycobacterium avium* complex. *J. Bacteriol.*, 189: 5515-5522, 2007.
- 10) Kai, M., Y. Fujita, Y. Maeda, N. Nakata, S. Izumi, I. Yano, and M. Makino. Identification of trehalose dimycolate (cord factor) in *Mycobacterium leprae*. *FEBS Lett.*, 581: 3345-3350, 2007.
- 11) Miyamoto, Y., T. Mukai, N. Nakata, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano, and M. Makino. Identification and characterization of the genes involved in glycosylation pathways of mycobacterial glycopeptidolipids biosynthesis. *J. Bacteriol.*, 188: 86-95, 2006.
- 12) Mukai, T., Y. Miyamoto, T. Yamazaki, and M. Makino. Identification of *Mycobacterium* species by comparative analysis of the *dnaA* gene. *FEMS Microbiol. Lett.*, 254: 232-239, 2006.
- 13) Makino, M., Y. Maeda, T. Mukai, and S. H. E. Kaufmann. Impaired maturation and function of dendritic cells by mycobacteria through IL-1 β . *Eur. J. Immunol.*, 36: 1443-1452, 2006.
- 14) Makino, M., Y. Maeda, and K. Inagaki. Immunostimulatory activity of recombinant *Mycobacterium bovis* BCG that secretes Major Membrane Protein II of *Mycobacterium leprae*. *Infect. Immunity*, 74: 6264-6271, 2006.
- 15) Maeda, Y., T. Mukai, J. Spencer, and M. Makino. Identification of immunomodulating agent from *Mycobacterium leprae*. *Infect. Immunity*, 73: 2744-2750, 2005.
- 16) Makino, M., Y. Maeda, and N. Ishii. Immunostimulatory activity of major membrane protein-II from *Mycobacterium leprae*. *Cell. Immunol.*, 233: 53-60, 2005.
- 17) Kimura, H., Y. Maeda, F. Takeshita, L. E. Takaoka, M. Matsuoka, and M. Makino. Upregulation of T-cell-stimulating activity of mycobacteria-infected macrophages. *Scand. J. Immunol.*, 60: 278-286, 2004.
- 18) Yamashita, Y., Y. Maeda, F. Takeshita, P. J. Brennan, and M. Makino. Role of the polypeptide region of 33 kDa mycobacterial lipoprotein for efficient IL-12 production. *Cell. Immunol.*, 229: 13-20, 2004.
- 19) Maeda Y., M. Gidoh, N. Ishii, C. Mukai, and M. Makino. Assessment of cell mediated immunogenicity of *Mycobacterium leprae*-derived antigens. *Cell. Immunol.*, 222:69-77, 2003.
- 20) Maeda, Y., M. Makino, D. C. Crick, S. Mahapatra, S. Srisungram, T. Takii, Y. Kashiwabara, and P. J. Brennan. Novel 33-Kilodalton Lipoprotein from *Mycobacterium leprae*. *Infect. Immunity*, 70: 4106-4111, 2002.
- 21) Shimokubo, S., S. Wakamatsu, Y. Maeda, M. Baba, and M. Makino. Fusion of mature dendritic cells and human T-lymphotropic virus type-I-infected T cells: its efficiency as an antigen-presenting cell. *Virology*, 301: 13-20, 2002.
- 22) Hashimoto, K., Y. Maeda, H. Kimura, K. Suzuki, A. Masuda, M. Matsuoka, and M. Makino. *Mycobacterium leprae* infection in monocyte-derived dendritic cells and its influence on antigen-presenting function. *Infect. Immunity*, 70: 5167-5176, 2002.
- 23) Makino, M., A. Utsunomiya, Y. Maeda, S. Shimokubo, S. Izumo, and M. Baba. Association of CD40 ligand expression on HTLV-I-infected T cells and maturation of dendritic cells. *Scand. J. Immunol.*, 54: 574-581, 2001.
- 24) Makino, M., S. Wakamatsu, S. Shimokubo, N. Arima, and M. Baba. Production of Functionally

- Deficient Dendritic Cells from HTLV-I-Infected Monocytes: Implication for the Dendritic Cell Defect in Adult T Cell Leukemia. *Virology*, 274: 140-148, 2000.
- 25) Makino, M., M. Azuma, S. Wakamatsu, Y. Suruga, S. Izumo, M. M. Yokoyama, and M. Baba. Marked suppression of T cells by a benzothiophene derivative in patients with Human T-lymphotropic virus type I-associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 6: 316-322, 1999.
 - 26) Makino, M., S. Shimokubo, S. Wakamatsu, S. Izumo, and M. Baba. The role of HTLV-I-infected dendritic cells in the development of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J. Virol.*, 73: 4575-4581, 1999.
 - 27) Wakamatsu, S., M. Makino, C. Tei, and M. Baba. Monocyte-Driven Activation-Induced Apoptotic Cell Death of Human T-Lymphotropic Virus Type I-Infected T Cells. *J. Immunol.*, 163: 3914-3919, 1999.
 - 28) Makino, M., S. Yashiki, T. Fujiyoshi, M. Baba, and S. Sonoda. An expression of anaplastic large cell lymphoma associated antigens on HTLV-I-infected CD4⁺ T cells. *Ann. Hematol.*, 76: 31-35, 1998.
 - 29) Suruga, Y., M. Makino, Y. Okada, H. Tanaka, E. De Clercq, and M. Baba. Marked suppression of murine AIDS development by (R)-9-(2-phosphonylmethoxypropyl)adenine. *J. AIDS and Hum. Retrovirol.*, 18: 316-322, 1998.
 - 30) Makino, M., and M. Baba. Establishment of a cryopreservation method of human peripheral blood mononuclear cells for efficient production of dendritic cells. *Scan. J. Immunol.*, 45: 618-622, 1997.
 - 31) Takamoto, T., M. Makino, M. Azuma, A. Tanaka, T. Kanzaki, M. Baba, and S. Sonoda. HTLV-I-infected T cells activate autologous CD4⁺ T cells susceptible to HTLV-I infection in a costimulatory molecule-dependent fashion. *Eur. J. Immunol.*, 27: 1427-1432, 1997.
 - 32) Makino, M., K. Yoshimatsu, M. Azuma, Y. Okada, Y. Hitoshi, H. Yagita, K. Takatsu, and K. Komuro. Rapid development of murine AIDS is dependent on signals provided by CD54 and CD11a. *J. Immunol.*, 155: 974-981, 1995.
 - 33) Makino, M., D. B. Murphy, R. W. Melvold, J. W. Hartley, and H. C. Morse III. Impact of MHC class I gene on resistance to murine AIDS. *Scand. J. Immunol.*, 42: 368-372, 1995.
 - 34) Makino, M., Y. Tang, T. N. Fredrickson, Y. Okada, D. B. Murphy, M. Fujiwara, T. Mizuochi, K. Komuro, H. C. Morse III, and J. W. Hartley. Influence of H-2 class II antigens on the development of Murine AIDS (MAIDS). *J. Immunol.*, 152: 4157-4164, 1994.
 - 35) Makino, M., G. Ishikawa, K. Yamaguchi, Y. Okada, K. Watanabe, Y. Sasaki-Iwaki, S. Manabe, M. Honda, and K. Komuro. Concentration of live retrovirus with a regenerated cellulose hollow fiber, BMM@. *Archives Virol.*, 139: 87-96, 1994.
 - 36) Makino, M., D. F. Winkler, J. Wunderlich, J. W. Hartley, H. C. Morse III, and K. L. Holmes. High expression of NK-1.1 antigen is induced by infection with murine AIDS virus. *Immunology*, 80: 319-325, 1993.
 - 37) Suzuki, K., M. Makino, Y. Okada, J. Kinoshita, R. Yui, H. Kanazawa, H. Asakura, M. Fujiwara, T. Mizuochi, and K. Komuro. Exocrinopathy resembling Sjogren's syndrome induced by a murine retrovirus. *Laboratory Invest.*, 69: 430-435, 1993.
 - 38) Gazzinelli, R. T., M. Makino, S. K. Chattopadhyay, C. M. Snapper, A. Sher, A. W. Hugin, and H. C. Morse III. CD4⁺ subset regulation in viral infection. Preferential activation of Th2 cells during progression of retrovirus-induced immunodeficiency in mice. *J. Immunol.*, 148: 182-188, 1992.
 - 39) Makino, M., S. K. Chattopadhyay, J. W. Hartley, and H. C. Morse III. Analysis of role of CD8⁺ T

- cells in resistance to murine AIDS in A/J mice. *J. Immunol.*, 149: 1702-1706, 1992.
- 40) Makino, M., Y. Sei, P. K. Arora, H. C. Morse III, and J. W. Hartley. Impaired calcium mobilization in CD4⁺ and CD8⁺ T cells in a retrovirus-induced immunodeficiency syndrome, murine AIDS. *J. Immunol.*, 149: 1707-1713, 1992.
- 41) Makino, M., W. F. Davidson, T. N. Fredrickson, J. W. Hartley, and H. C. Morse III. Effects of non-MHC loci on resistance to retrovirus-induced immunodeficiency in mice. *Immunogenetics*, 33: 345-351, 1991.
- 42) Cerny, A., A. W. Hugin, R. R. Hardy, K. Hayakawa, R. M. Zingernagel, M. Makino, and H. C. Morse III. B cells are required for induction of T cell abnormalities in a murine retrovirus-induced immunodeficiency syndrome. *J. Exp. Med.*, 171: 315-320, 1990.
- 43) Makino, M., H. C. Morse III, T. N. Fredrickson, and J. W. Hartley. H-2-associated and background genes influence the development of a murine retrovirus-induced immunodeficiency syndrome, MAIDS. *J. Immunol.*, 144: 4347-4355, 1990.
- 44) Makino, M., T. Morita, and M. Fujiwara. Histopathological characteristics of the kidney of recombinant inbred mice established from MRL/lpr x AKR crossing. Dissociation of severity of lupus nephritis from the degree of lymphadenopathy. *Virchows Archiv. B. Cell Pathol.*, 56: 59-65, 1988.
- 45) Makino, M., M. Fujiwara, and H. Watanabe. Studies on the mechanisms of the development of lupus nephritis in BXSB mice. II. Comparative studies between male BXSB and MRL/lpr mice at the onset period. *J. Clin. Lab. Immunol.*, 25: 83-88, 1988.
- 46) Makino, M., M. Fujiwara, and H. Watanabe. Studies on the mechanisms of the development of lupus nephritis in BXSB mice. I. Analyses of immunological abnormalities at the onset period. *J. Clin. Lab. Immunol.*, 22: 127-131, 1987.
- 47) Makino, M., M. Fujiwara, T. Aoyagi, and H. Umezawa. Immunosuppressive activities of deoxyspergualin. I. Effect of the long term administration of the drug on the development of murine lupus. *Immunopharmacology*, 14: 107-114, 1987.
- 48) Makino, M., M. Fujiwara, H. Watanabe, T. Aoyagi, and H. Umezawa. Immunosuppressive activities of deoxyspergualin. II. The effect on the antibody response. *Immunopharmacology*, 14: 115-122, 1987.
- 49) Makino, M., M. Fujiwara, H. Watanabe, H. Sugano, and M. Arakawa. Evaluation of different preparations of aggregated human IgG for use as a standard in the assays of circulating immune complexes. *J. Clin. Lab. Immunol.*, 21: 151-157, 1986.

・平成22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

- 1) 結核等抗酸菌感染症における生体防御及び抗菌制御を介した治療予防法の開発戦略

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

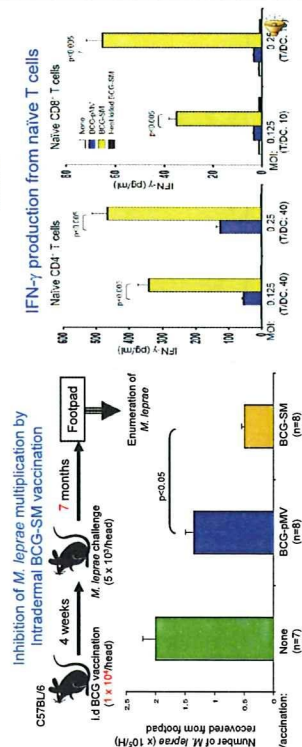
研究代表者： 牧野 正彦 (国立感染症研究所・部長)
 研究分担者： 荒川 宜親 (国立感染症研究所・部長)
 小林 和夫 (国立感染症研究所・部長)
 田村 敏生 (国立感染症研究所・室長)
 菅原 勇 (結核研究所・研究主幹)
 河村 伊久雄 (京都大学・准教授)

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

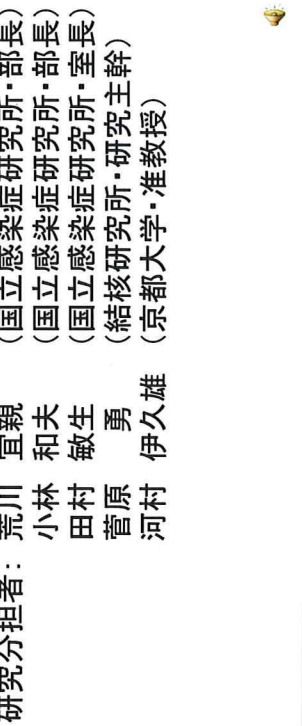
○病原性抗酸菌共通主要抗原：MMP-IIを同定
 (Major Membrane Protein-II)

○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)を複製



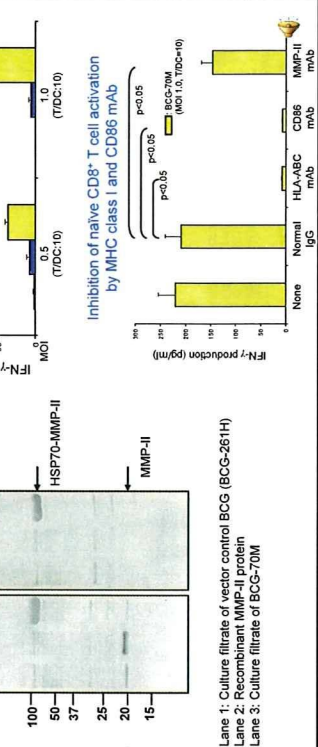
未感作CD4陽性T細胞の活性化を強く誘導する リコンビナントBCG (BCG-AUT)の複製

○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 (BCG-AUT)の複製



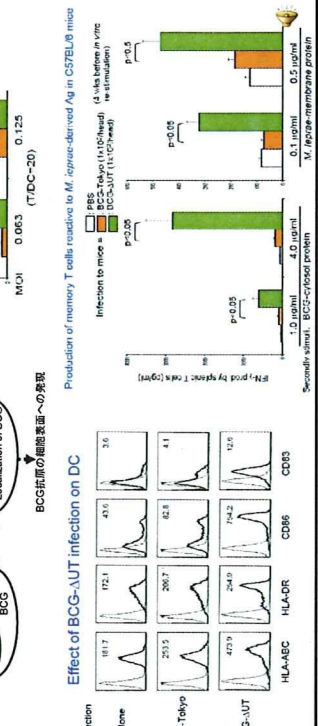
未感作CD8陽性T細胞を強く活性化するリコンビナントBCG (BCG-70M)の複製

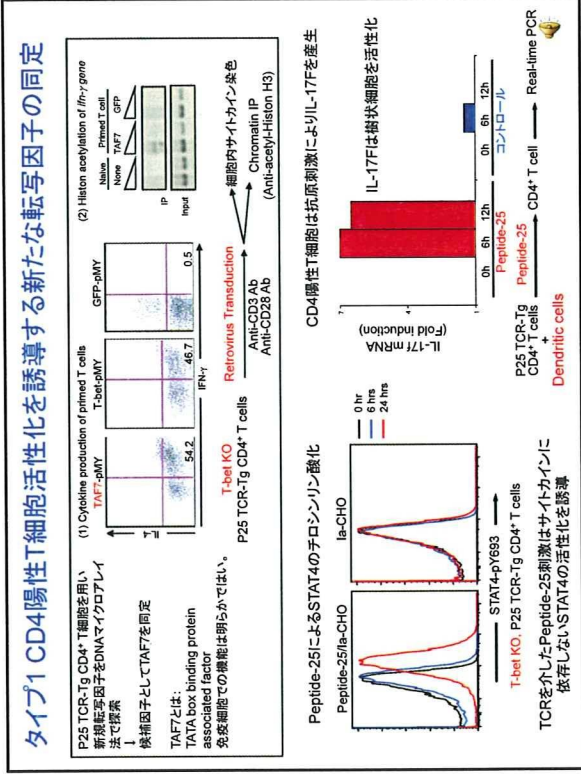
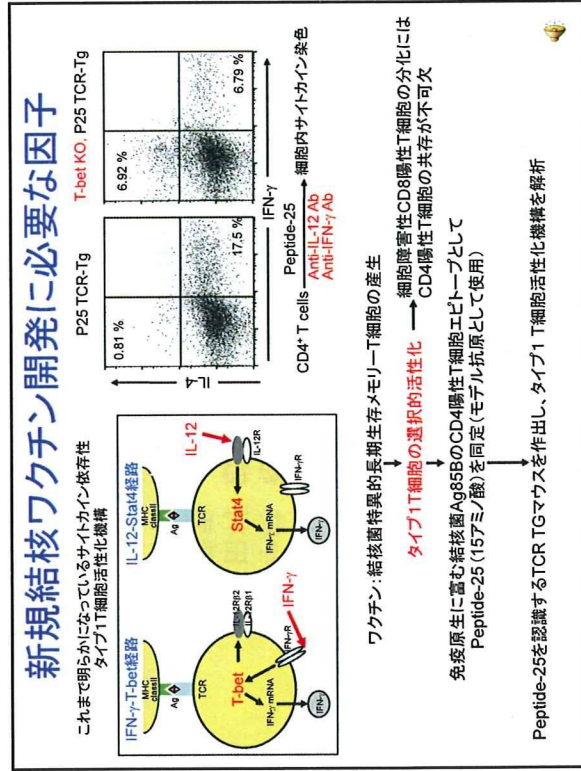
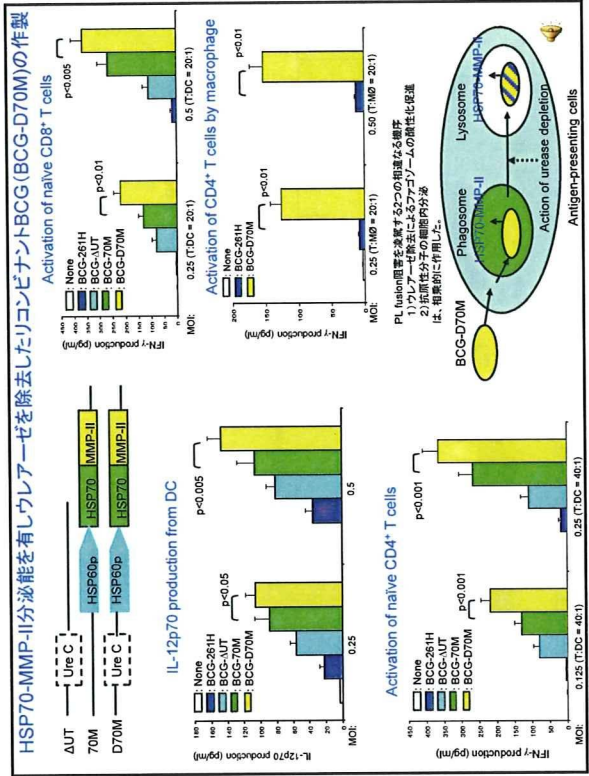
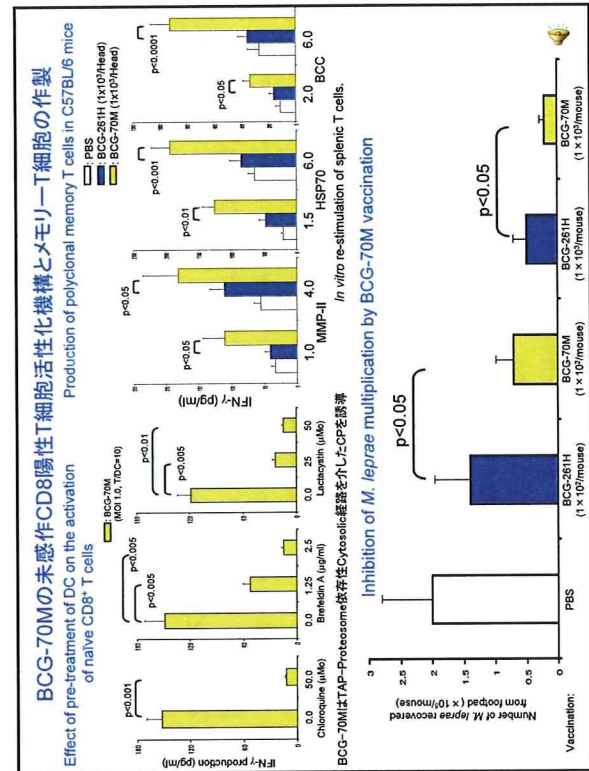
○未感作CD8陽性T細胞を強く活性化する
 リコンビナントBCG (BCG-70M)の複製



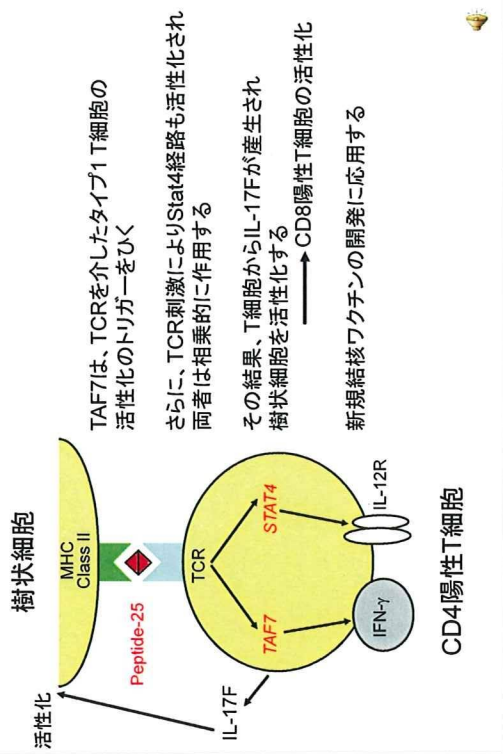
未感作CD4陽性T細胞の活性化を強く誘導する リコンビナントBCG (BCG-AUT)の複製

○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 (BCG-AUT)の複製

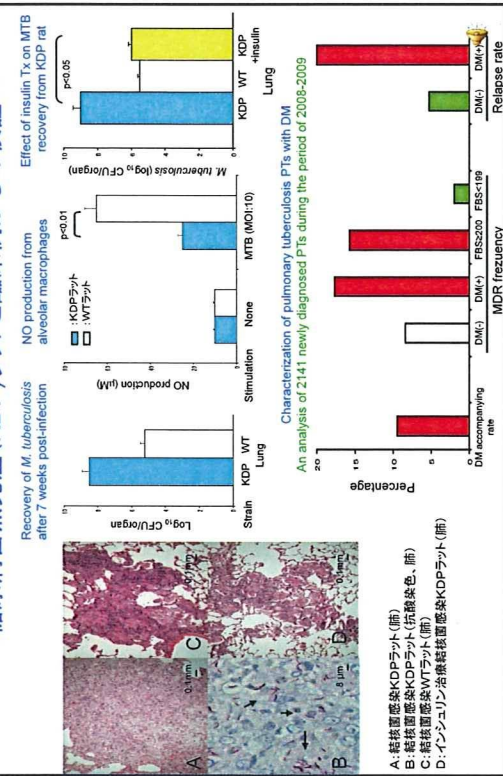




まとめ



糖尿病自然発症 (KDP)ラットと臨床例からの検証---



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：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はその実態すら把握されておらず、その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を確立する。
- (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。
- (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) 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遅滞する本研究領域の発展に寄与する。
- (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. 3年間の研究成果**・研究代表者 (宮平靖)**

- (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、在留外国人対象健診を実施し、506名の受診者を得た。
- (2) 健康管理手帳を6カ国語で独自に作成し、健診受診者へ配布した。
- (3) 健診受診者を対象に、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9回実施し、寄生虫症特殊検査を行った。
- (4) ベトナム国籍受診者2名が抗内臓リーシュマニア症抗体陽性であった。
- (5) 組換えウイルスベクター使用細胞内寄生病原体新規感染制御手法を開発中である。
- (6) 教育講演会を研究分担者らと共に3度実施し、啓発活動に努めた。
- (7) 本健康事案に対するマニュアルを作成中である。

・研究分担者 (H19：春木宏介、H20、H21：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) 健診受診者中、ボリビア人1名に抗シャーガス病抗体陽性者を見出した。
- (3) 在留ラテンアメリカ人に対する教育啓蒙活動を行った。
- (4) 抗シャーガス病抗体検査キットの有用性について比較検討、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) マラリア原虫検査では、陽性疑いの者1名を見出した (H21年度)。
- (3) トキソカラ抗体陽性17名、多包条虫症1名、顎口虫抗体陽性5名、赤痢アメーバ抗体陽性6名、旋毛虫抗体陽性1名を確認した。
- (4) 平成19年度には、糞便検査で鉤虫症1名を見出した。
- (5) 多種類寄生虫抗原に対する抗体検査を可能とする dot-ELISA 法を確立し、赤痢アメ

ーバの血清抗体検査のための迅速診断用キットを開発した。在留外国人対象健診において両法を実施し、その有用性を確認した。

・研究分担者(H19:大前比呂思、H20、H21:大西健児)

- (1) 研究代表者と共に超音波検査を行った。
- (2) 超音波画像からは、寄生虫感染症罹患を疑わせる異常所見を見出さなかった。
- (3) 血清診断の結果、2名に抗住血吸虫抗体陽性者を見出した。
- (4) 成虫・虫卵抗原を用い、尿を用いた住血吸虫症新規免疫診断法の開発を行った。
- (5) 住血吸虫症に対して、新規標的抗原の同定、防御免疫応答の解析等を推進した。

・研究分担者(H19:黒木俊郎、H20、H21: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) 感染症罹患者6名、ランブル鞭毛虫症罹患者は3名、クリプトスポリジウム症罹患者は6名であった。
- (3) 血清学的免疫診断法によってトキソプラズマ症抗体陽性者61名を見出した。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 在留外国人の慢性感染症罹患実態の把握には信頼関係の醸成に基づく継続的な健診実施が不可欠であり、これを継続する。
- (2) 研究班実施の健診は、長期的には地方自治体へその運用を移譲する。
- (3) 作成中である本健康事案に対する対策ガイドラインを47地方自治体等へマニュアルとして配布後、その運用について継続的に検証して行く。
- (4) 新規診断手法の有効性を、対象とする各慢性寄生虫/原虫症に対し検証する。
- (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。
- (6) 慢性寄生虫/原虫症に対する教育啓発活動を継続する。
- (7) 本健康事案に対する全国的なネットワークを構築する。

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明らかにしたことで、行政施策の立案を可能にする監視体制のガイドラインを作成中である。
- (2) 実態が明らかになることで、在留外国人数に対する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ぐ可能性があり、特に輸血行政上、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.: 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. 宮平 靖: 感染という数の現象. 防衛医科大学校雑誌, 32(1):1-16, 2007.

(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 toxocariasis due to consumption of raw bovine liver. *Parasitology International*, 2008;57(4):525-9.
 3. 赤尾信明. イヌ回虫症 (トキソカラ症). 岸本寿男, 山田章雄編. *ズーノーシスハンドブック*. 東京: メディカルサイエンス社; 2009. p.83-8.
 4. 赤尾信明. 臨床検査に必要な寄生虫感染症の知識. *Medical Technology*. 2008;36(1):12-6.
 5. Yoshikawa M, Nishiofuku M, Moriya K, Ouji Y, Ishizaka S, Kasahara K, Mikasa K, Hirai T, Mizuno Y, Ogawa S, Maruyama H, Akao N. A familial case of visceral toxocariasis due to consumption of raw bovine liver. *Parasitology International*. 2008; 57(4): 525-9.
 6. Akao N, Ohta N. Toxocariasis in Japan. *Parasitology International*. 2007; 56(2): 87-93.
- (4) 大西 健児
1. K. Ohnishi, F. Nakamura-Uchiyama, N. Komiya. Febrile period and maximum body temperature in patients with measles over 15 years old. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 40: 738-741, 2009.
 2. K. Ohnishi, et al.: Hepatic cystic echinococcosis with specific CT findings. *Internal Medicine*, 2008;47:803-5.
 3. 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]
 3. 高本雅哉、菅根一男、金井信一郎、宮平靖: 長野県における輸入糞線虫症の再興 *Clinical Parasitology* 20(1), 48-50, 2009