

- Takano A, Kawabata H, Hanaoka N, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T. : Human *R. heilongjiangensis* Infection, Japan. *Emerg Infect Dis.*, 16: 1306-1308, 2010.
2. Takeshita N, Imoto K, Ando S, Yanagisawa K, Ohji G, Kato Y, Sakata A, Hosokawa N, Kishimoto T. Murine typhus in two travelers returning from Bali, Indonesia: an underdiagnosed disease. *Journal of Travelers Medicine*, 17:356-358, 2010.
3. 森志朋、櫻井英一、赤坂俊英、坂田明子、安藤秀二、岸本寿男: Pre-DIC を併発し polymerase chain reaction (PCR)法で診断したツツガムシ病の1例. *臨床皮膚科*, 64(7):512-516, 2010
4. 山内健生, 高野愛, 坂田明子, 馬場俊一, 奥島雄一, 川端寛樹, 安藤秀二. タカサゴキラマダニによる人体刺症の5例. *日本ダニ学会誌*, 19: 15-21, 2010
5. 岩崎博道、安藤秀二、高田伸弘 肝リケッチア症, *日本臨床 肝・胆道系症候群 I(第2版)*、日本臨床社、別冊:140-144、2010
6. つつが虫病・日本紅斑熱 2006~2009 病原微生物検出情報 31(5):120-121, 2010
竹之下秀雄, 成田雅, 山本正悟, 安藤秀二, 藤田博己. 福島県におけるタテツツガムシによるつつが虫病. *病原微生物検出情報* 31(5):125-126, 2010
7. 松本一俊, 八尋俊輔, 松尾繁, 原田誠也, 山本正悟, 本田俊郎, 安藤秀二. 熊本県における日本紅斑熱患者の急増. *病原微生物検出情報* 31(5):134-135, 2010
8. 安藤秀二, 坂田明子, 花岡希, 川端寛樹, 藤田博己, 黒澤昌啓, 斉藤若奈, 矢野泰弘, 高田伸弘, 酒井克朗, 勝見正道, 関根雅夫, 小黒美舎子, 熊谷正憲, 岸本寿男. *Rickettsia heilongjiangensis* 国内感染の第一症例の確認経過と感染源調査. *病原微生物検出情報* 31(5):136-137, 2010
9. 安藤秀二, 坂田明子. 日本国内のリケッチア症実験室診断に関する状況と課題. *病原微生物検出情報* 31(5):139-140, 2010
10. 中野敏明, 衛藤光, 横田恭子, 古川恵一, 安藤秀二, 坂田明子. モザンビーク共和国で感染した *Rickettsia africae* によるマダニ刺症の2例. *病原微生物検出情報* 31(5):137-138, 2010
11. 安藤秀二 リケッチア性紅斑熱, *化学療法の領域*, 医薬ジャーナル社, 26:240-248, 2010
12. Hanaoka N, Matsutani M, Kawabata H, Yamamoto S, Fujita H, Sakata A, Azuma Y, Ogawa M, Takano A, Watanabe H, Kishimoto T, Shirai M, Kurane I, and Ando S. : Diagnostic assay for *Rickettsia japonica*: *Emerging Infectious Diseases*, 15: 1994-1997, 2009.
13. Hanaoka N, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T, Ando S. Development of a pUC19-based recombinant plasmid to serve as a positive control in PCR for *Orientia tsutsugamushi*. *Microbiology and Immunology*. 53: 305-308, 2009.
14. Yamauchi T, Obara M, Watanabe M, Ando S, Ishikura M, Shinagawa Y, Hasegawa S, Nakamura K, Iwai M, Kurata T & Takizawa T. Survey of tick fauna possessing the ability to act as vectors of rickettsiosis in Toyama Prefecture, Japan. *Medical Entomology and Zoology*, 60: 23-31, 2009.
15. 安藤秀二. ロッキー山紅斑熱. *ズーノーシスハンドブック*(岸本寿男, 山田章雄 編), メディカルサイエンス社, p201-203, 2009.
16. 安藤秀二, 高橋洋. Q熱. *ズーノーシスハンドブック*(岸本寿男, 山田章雄 編), メディカルサイエンス社, p193-194, 2009.
17. 馬原文彦, 安藤秀二. 日本紅斑熱. *ズーノーシスハンドブック*(岸本寿男, 山田章雄 編), メディカルサイエンス社, p198-200, 2009.
18. Takada N, Fujita H, Kawabata H, Ando S, Sakata A, Takano A, Chaithong U. Spotted fever group *Rickettsia* sp. closely related to *Rickettsia japonica*, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*. 15: 610-611, 2009.

研究分担者(林)

1. Nakayama K, Kurokawa K, Fukuhara M, Urakami H, Yamamoto S, Yamazaki K, Ogura Y, Ooka T, Hayashi T.: Genome comparison and phylogenetic analysis of *Orientia tsutsugamushi* strains. *DNA Research* 2010;17(5):281-91. Epub 2010 Aug 3.
2. Nakayama K, Yamashita A, Kurokawa K, Morimoto T, Ogawa M, Fukuhara M, Urakami H, Ohnishi M, Uchiyama I, Ogura Y, Ooka T, Oshima K, Tamura A, Hattori M, Hayashi T.: The whole-genome sequencing of the obligate intracellular bacterium *Orientia tsutsugamushi* revealed massive gene amplification during reductive genome evolution. *DNA Res.* 2008;15:185-199.
3. Ogura Y, Abe H, Katsura K, Kurokawa K, Asadulghani M, Iguchi A, Ooka T, Nakayama K, Yamashita A, Hattori M, Tobe T, Hayashi T: Systematic identification and sequence analysis of the genomic islands of the enteropathogenic *Escherichia coli* strain B171-8 by the combined use of Whole Genome PCR Scanning and fosmid mapping. *J Bacteriol.* 2008;190(21):6948-6960.

研究分担者(藤田)

- 1.藤田博己：野兎病の臨床と保険診療の課題. 医学のあゆみ, 232: 203-205, 2010.
- 2.藤田博己：野兎病. IX. 免疫学的検査 E. 感染症関連検査 (抗原および抗体を含む) 非ウイルス性感染症. 広範囲 血液・尿化学検査 免疫学的検査 —その数値をどう読むか—[第7版](3), 日本臨床, 68: 259-262, 2010.
- 3.佐藤寛子, 柴田ちひろ, 佐藤了悦, 斎藤博之, 安部真理子, 齊藤志保子, 國生泰範, 高橋 守, 藤田博己, 角坂照貴, 高田伸弘, 川端寛樹, 高野 愛, 須藤恒久：夏季の古典型つつが虫病症例と感染推定地周辺におけるツツガムシの生息状況調査—秋田県. 病原微生物検出情報, 31: 123-124, 2010.
- 4.竹之下秀雄, 成田 雅, 山本正悟, 安藤秀二, 藤田博己：福島県におけるタテツツガムシによるつつが虫病. 病原微生物検出情報, 31: 125-126, 2010.
- 5.安藤秀二, 坂田明子, 花岡 希, 川端寛樹, 藤田博己, 黒澤昌啓, 斎藤若菜, 矢野泰弘, 高田伸弘, 酒井克朗, 勝見正道, 関根雅夫, 小黒美舎子, 熊谷正憲, 岸本壽男：*Rickettsia heilongjiangensis* 国内感染の第1症例の確認経過と感染源調査. 病原微生物検出情報, 31: 136-137, 2010.
- 6.佐藤寛子, 國生泰範, 柴田ちひろ, 斎藤博之, 齊藤志保子, 藤田博己, 須藤恒久：秋田県において15年ぶりに確認された古典型つつが虫の1例. 感染症誌, 84: 454-456, 2010.
- 7.Ando, S., Kurosawa, M., Sakata, A., Fujita, H., Sakai, K., Sekine, M., Katsumi, M., Saitou, W., Yano, Y., Takada, N., Takano, A., Kawabata, H., Hanaoka, N., Watanabe, H., Kurane, I. and Kishimoto, T. Human *Rickettsia heilongjiangensis* Infection, Japan. Emerging Infectious Diseases. 16: 1306-1308, 2010.
- 8.浅野重之, 藤田博己, 佐多徹太郎：医師からみた野兎病. Journal of Small Animal Medicine, 12: 80-84, 2010.
- 9.藤田博己, 藤田信子, 馬原文彦：紅斑熱群と発疹熱リケッチアから簡易抽出したアルカリ多糖体感作赤血球凝集反応によるリケッチア症の迅速抗体検出法の検討 (予報). 大原年報, 50 (印刷中), 2010.
- 10.Yamauchi, T., Tabara, K., Kanamori, H., Kawabata, H., Arai, S., Katayama, T., Fujita, H., Yano, Y. & Takada, N.: Tick fauna associated with sika deer density in the Shimane Peninsula, Honshu, Jpn. Med. Entomol. & Zool. 60, 2009.
- 11.藤田博己：過去15年間における培養細胞を用いた病原体分離法の改良と実績. 大原年報. 2008;48:21-42.
- 12.Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Ando S, Takano A, Watanabe H, Kawabata H.: *Rickettsia* sp. in Ixodes granulatus ticks, Japan. Emerg Infect Dis. 2008;14:1963-1965.

研究分担者(阿戸)

- 1.Ikebe T, Ato M, Matsumura T, Hasegawa H, Sata T, Kobayashi K, Watanabe H. Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates. PLoS Pathogen. 2010. 6:e1000832.
- 2.Murase Y, Konnai S, Hidano A, Githaka W.N, Ito T, Takano A, Kawabata H, Ato M, Tajima T, Tajima M, Onuma M, Murata S and Ohashi K. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in cattle and *Ixodes persulcatus* ticks. Vet. Microbiol., in press
- 3.Takahashi Y, Hasegawa H, Hara Y, Ato M, Ninomiya A, Takagi H, Odagiri T, Sata T, Tashiro M, Kobayashi K. Protective Immunity Afforded by Inactivated H5N1 (NIBRG-14) Vaccine Requires Antibodies against Both Hemagglutinin and Neuraminidase in Mice. J Infect Dis. 1;199(11):1629-37, 2009.

研究分担者(鈴木)

- 1.Inokuma H, Seino N, Suzuki M, Kaji K, Takahashi H, Igota H, Inoue S.: Detection of *Rickettsia helvetica* DNA from peripheral blood of sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) in Japan. J Wildl Dis. 2008;44:167-167.
- 2.Otsuka S, Suzuki M, Kamezaki N, Shima T, Wakatsuki M, Kon Y, Ohtaishi N.: Growth-related changes in histology and immunolocalization of steroid receptors in gonads of the immature male Green turtle (*Chelonia mydas*). J Exp Zool. 2008; Part A 309A:166-174.
- 3.Nakamura S, Okano T, Shibata M, Komatsu T, Asano M, Sugiyama M, Tsubuta T, Suzuki M.: Relationships among changes of serum leptin concentration, leptin mRNA expression in white adipose tissue (WAT), and WAT fat-cell size in female Japanese black bears (*Ursus thibetanus japonicus*). Can J Zool. 2008;86:1042-1049.

研究分担者(高田)

- 1.Ando, S., Kurosawa, M., Sakata, A., Fujita, H., Sakai, K., Sekine, M., Katsumi, M., Saitou, W., Yano, Y.,

- Takada, N., Takano, A., Kawabata, H., Hanaoka, N., Watanabe, H., Kurane, I. & Kishimoto, T. : Human *Rickettsia heilongjiangensis* Infection, Japan. Emerg. Infect. Dis., 16:1306-1308, 2010.
2. Iwasaki, H., Mizoguchi, J., Takada, N., Tai, K., Ikegaya, S. & Ueda, T. : Correlation between the concentrations of tumor necrosis factor- α and the severity of disease in patients infected with *Orientia tsutsugamushi*. Int. J. Inf. Dis., 14:328-333, 2010.
3. 高田伸弘 : 我国のリケッチア症多発の地理病理学的要因, 紀伊半島の例から. 第 84 回日本感染症学会総会, 京都市(2010.4)プログラム : W14-4, 感染症学会誌, 223 : 84, 2010, 3.
4. 川上万里, 梅川康弘, 木田浩司, 石井 学, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 岸本寿男, 高田伸弘, 矢野泰弘, 藤田博己, 田原研司, 島津幸枝, 及川陽三郎 : 岡山県で初めて確認された日本紅斑熱と疫学調査について. 第 84 回日本感染症学会総会, 京都市(2010.4)プログラム : P12-8, 感染症学会誌, 326 : 84, 2010, 3.
5. 山下眞史, 岩永 健, 渡邊雅男, 芝崎謙作, 井口保之, 木村和美, 木田浩司, 石井 学, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 岸本寿男, 高田伸弘, 矢野泰弘, 藤田博己, 田原研司, 島津幸枝, 及川陽三郎 : 急性感染症電撃性紫斑病(AIPF)を合併した日本紅斑熱の 1 例. 84 回日本感染症学会総会, 京都市(2010.4)プログラム : P12-9, 感染症学会誌, 326 : 84, 2010, 3.
6. 高田伸弘, 及川陽三郎, 藤田博己, 成田 雅 : 福島県南半部に多発する Kawasaki 型ツツガムシ病の感染推定地に対応するタテツツガムシの分布. 第 62 回日本衛生動物学会, 鹿児島市(2010. 4). 衛生動物, 61 : 54, 2010. 4.
7. 高橋 守, 三角仁子, 増永 元, 田原義太慶, 角坂照貴, 鳥羽通久, 三保尚志, 高橋久恵, 高田伸弘, 藤田博己, 岸本寿男, 菊池博達 : ウミヘビツツガムシの生活環. 第 62 回日本衛生動物学会, 鹿児島市(2010. 4). 衛生動物, 61 : 55, 2010. 4.
8. 本田俊郎, 藤田博己, 御供田陸代, 角坂照貴, 矢野泰弘, 高田伸弘, 及川陽三郎, 安藤秀二, 川端寛樹, 山本正悟 : 鹿児島県薩南諸島におけるアサヌマダニと紅斑熱群リケッチア保有状況調査. 第 62 回日本衛生動物学会, 鹿児島市(2010. 4). 衛生動物, 61 : 56, 2010. 4.
9. 矢野泰弘, 高田伸弘 : 新型走査電顕画像によるマダニの幼若虫の有用分類の試行. 第 62 回日本衛生動物学会, 鹿児島市(2010. 4). 衛生動物, 61 : 56, 2010. 4.
10. Takada, N., Fujita, H., Kawabata, H., Ando, S., Sakata, A., Takano, A. & Udom, C.: Spotted fever group *Rickettsia* sp. closely related to *Rickettsia japonica*, Thailand. Emerg. Infect. Dis. , 46: 610-611, 2009. 及川陽三郎, 田原研司, 荒井朋子, 所 正治, 高田伸弘 : わが国の野鼠血液からの病原体検出状況 - 特にネズミバベシアについて分布と感染性の考察., 大原年報, 49: 9-14, 2009.
11. 高田伸弘 : 島嶼調査の方法論. 大原年報, 49: 15-22, 2009.
12. 玉置幸子, 那須征太郎, 玉置信彦, 辻 薫, 山西康仁, 水本博章, 西本英一郎, 東 冬彦, 玉置英人, 永井 勲, 森田祐二, 高田伸弘 : 郷土病 (ダニ媒介) への取り組み. 感染と消毒, 12 : 39-43, 2009.

研究分担者(大橋)

1. S. Fujimoto, K. Mochizuki, M. Shimada, T. Hori, Y. Murayama, N. Ohashi, and T. Goda: Insulin resistance induced by a high-fat diet is associated with the induction of genes related to leukocyte activation in rat peripheral leukocytes. *Life Sci.* in press.
2. T. Hayashi, M. Nakamichi, H. Naitou, N. Ohashi, Y. Imai, and M. Miyake: Proteomic analysis of growth phase-dependent expression of *Legionella pneumophila* proteins for identifying novel virulence-associated factors. *PLoS One* 5, e11718 (2010)
3. Y. Katanasaka, T. Ishii, T. Asai, H. Naitou, N. Maeda, F. Koizumi, S. Miyagawa, N. Ohashi, and N. Oku: Cancer antineovascular therapy with liposome drug delivery systems targeted to BiP/GRP78. *Int. J. Cancer* 127, 2685-2698 (2010)
4. A. Kato, H. Naitou, M. Namioka, M. Akimoto, T. Ishii, H. Sakakibara, K. Shimoi, T. Nakayama, and N. Ohashi: Proteomic identification of serum proteins associated with stress-induced gastric ulcers in fasted rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* 74, 812-818 (2010)
5. 藤野知美, 伊藤由彦, 瀧優子, 柿澤希実, 尾上誠良, 今井康之, 奥直人, 野口博司, 伊藤邦彦, 小林裕和, 大橋典男, 合田敏尚, 木苗直秀, 梅垣敬三, 渡邊裕司, 山田静雄: Warfarin とビタミン K の相互作用に関する文献的研究. 臨床薬理 (*Jpn. J. Clin. Pharmacol. Ther.*), 41, 43-50 (2010).
6. Wuritu, Y. Ozawa, Gaowa, F. Kawamori, T. Masuda, T. Masuzawa, H. Fujita, and N. Ohashi: Structural analysis of a *p44/msp2* expression site of *Anaplasma phagocytophilum* in naturally infected ticks inhabiting Japan. *J. Med. Microbiol.* (in press).
7. Wuritu, Gaowa, F. Kawamori, M. Aochi, T. Masuda, and N. Ohashi: Characterization of *p44/msp2* multigene family of *Anaplasma phagocytophilum* from two different ticks species, *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ovatus*, in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 62, 142-145, 2009.

8.大橋典男, エーリキア症/アナプラズマ症, *ズーノーシスハンドブックー医療関係者・獣医療関係者のための診断・治療ガイド*, 岸本壽男・山田章雄 監修, (株)メディカルサイエンス社, p. 191-192. 2009年4月.

研究分担者(堤)

- 1.Mannami M, Mannami R, Mitsuhashi N, Nishi M, Tsutsumi Y, Nanba K, Fujita S.: Last resort for renal transplant recipients, 'restored kidneys' from living donors/patients. *Am J Transplant.* 2008;8:800-818.
Tsutsumi Y.: Histopathological diagnosis of infectious diseases using patients' sera. *Semin Diagn Pathol.* 2007;24(4):243-252.
- 2.Shimomura R, Tsutsumi Y.: Histochemical identification of MRSA, contributing to preventing nosocomial infection. *Semin Diagn Pathol.* 2007;24(4):217-226.
- 3.堤 寛、馬原文彦 (ほか4名) : 日本紅斑熱の病理。「ダニと新興再興感染症」(監修:柳原保武) 2007;119-128. 全国農村教育協会, 東京

研究分担者(猪熊)

- 1.Yoshimoto, K., Matsuyama, Y., Matsuda, H., Sakamoto, L., Matsumoto, K., Yokoyama, N., Inokuma H. Detection of *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* DNA from nymphs and larvae of *Haemaphysalis megaspinoso* in Hokkaido, Japan. *Vet.Parasitol.* 160 (1-2):170-172 (2010)
- 2.Sakamoto, L., Ichikawa, Y., Sakata, Y. Matsumoto, K., Inokuma, H. Detection of *Anaplasma bovis* DNA from peripheral blood of domestic dogs in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 63(5): 349-352 (2010)
- 3.Sashika, M., Abe, G., Matsumoto, K., Inokuma, H. Molecular survey of spotted fever group *Rickettsia* in feral raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 63(5): 353-354 (2010)
- 4.Inoue, K., Kabeya, H., Fujita, H., Makino, T., Asano, M., Inoue, S., Inokuma, H., Nogami, S., Maruyama, S. Serological survey of five zoonoses, scrub typhus, Japanese spotted fever, tularemia, Lyme disease, and Q fever in feral raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *Vector Born. Dis.* (in press)
- 5.Sashika, M., Abe, G., Matsumoto, K., Inokuma, H. Molecular survey of *Anaplasma* and *Ehrlichia* infection of feral Raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan. *Vector Born. Dis.* (in press)
- 6.Inokuma, H., Matsuda, H., Sakamoto, L., Tagawa, M., Matsumoto, K. Evaluation of *Rickettsia japonica* pathogenesis and reservoir potential in dogs by experimental inoculation and epidemiologic survey. *Clin. Vacc. Immunol.* (2011) (in press)
- 7.猪熊 壽. エーリキア症. *Small Animal Medicine.* Vol.12 (1). 29-30 (2010)
- 8.猪熊 壽、清野信隆、吉林台、早川大輔、鈴木正嗣、秦 寛、近藤誠司、松本高太郎、横山直明. 北海道の放牧牛からの *Anaplasma phagocytophilum* および *Anaplasma bovis* DNA の検出. *日仏獣医学雑誌.* 19 (1-2): 4-6 (2010)
- 9.Matsumoto K, Inokuma H. Identification of spotted fever group *Rickettsia* species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis of the *Sca4* gene. *Vector Born. Dis.* (in press)
- 10.Tagawa M., Matsumoto K., Yokoyama, N., Inokuma, H. Comparison of two hemoplasma species on hematological parameters in cattle. *J. Vet. Med. Sci.* (in press)
- 11.Yoshimoto, K., Matsuyama, Y., Matsuda, H., Sakamoto, L., Matsumoto, K., Yokoyama, N., Inokuma, H. Detection of *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* DNA from nymphs and larvae of *Haemaphysalis megaspinoso* in Hokkaido, Japan. *Vet.Parasitol.* (in press)
- 12.坂田義美、田淵正恵、市川康明、猪熊 壽. 特異的抗体検出キットを利用した犬の *Ehrlichia canis* および *Anaplasma phagocytophilum* 感染に関する全国的血清疫学調査. *日本獣医師会誌.* 2009.
- 13.猪熊 壽. 牛の新しい住血微生物- アナプラズマ感染症. *獣医畜産新報.* 62(5): 377-382, 2009.
- 14.猪熊 壽. マダニが媒介する小動物と人の共通感染症. *獣医畜産新報.* 62 ;2009.
- 15.猪熊 壽. リケッチア性疾患. *獣医畜産新報.* 62, 2009.
- 16.Ooshiro M, Zakimi S, Matsukawa Y, Yafuso M, Katagiri Y, Inokuma H.: *Anaplasma marginale* infection in a Japanese Black cow occurred 13 years after eradication of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, in Okinawa, Japan. *Vet Parasitol.* 2009
- 17.Tagawa M, Matsumoto K, Inokuma H.: Molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and 'Candidatus *Mycoplasma haemobos*' in cattle in Japan. *Vet Microbiol.* 2008;132(1-2):177-180.
- 18.Ooshiro M, Zakimi S, Matsukawa Z, Katagiri Y, Inokuma H.: Detection of *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* from cattle on Yonaguni Island, Okinawa, Japan. *Vet Parasitol.* 2008;54(3-4):360-364.
- 19.Jilintai, Seino N, Matsumoto K, Hayakawa D, Suzuki M, Hata, H, Kondo S, Yokoyama N, Inokuma H.: Serological and molecular survey of *Rickettsia* infection in cattle and sika deer in a pastureland in Hidaka

district, Hokkaido, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2008;61(4):315-317.

20. Inokuma H, Seino N, Suzuki M, Kaji K, Takahashi H, Inoue S.: Detection of *Rickettsia helvetica* DNA from peripheral blood of sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) in Japan. *J Wildl Dis.* 2008;44(1):164-167.

研究分担者(山本)

1. Matsui T, Kobayashi J, Satoh H, Fujimoto T, Okabe N, Ando S, Kishimoto T and Yamamoto S. Surveillance Recognition, and Reporting of Tsutsugamushi Disease (Scrub typhus) and Japanese Spotted Fever by General Practice Clinics in Miyazaki Prefecture, 2007. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 15: 269-272, 2009.

2. Koizumi N, Muto M, Yamamoto S, Baba Y, Kudo M, Tamae Y, Shimomura K, Takatori I, Iwakiri A, Ishikawa K, Soma H, Watanabe H.: Investigation of reservoir animals of *Leptospira* in the northern part of Miyazaki prefecture. *Jpn J Infect Dis.* 2008;61(6):465-8.

3. Yamamoto S, Ganmyo H, Iwakiri A, Suzuki S.: Annual incidence of tsutsugamushi disease in Miyazaki prefecture, Japan in 2001-2005. *Jpn J Infect Dis.* 2006;59(6):404-5.

4. Seki M, Ikari N, Yamamoto S, Yamagata Y, Kosai K, Yanagihara K, Kakugawa T, Kurihara S, Izumikawa K, Miyazaki Y, Higashiyama Y, Hirakata Y, Tashiro T, Kohno S.: Severe Japanese spotted fever successfully treated with fluoroquinolone. *Intern Med.* 2006;45(22):1323-6.

研究分担者(川端)

1. Tabara K, Kawabata H, Arai S, Itagaki A, Yamauchi T, Katayama T, Fujita H, Takada N: High incidence of rickettsiosis correlated to prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick. *Journal of Veterinary Medical Science.* (In press)

2. Ando S, Kurosawa M, Sakata A, Fujita H, Sakai K, Sekine M, Katsumi M, Sakai W, Yano Y, Takada N, Takano A, Kawabata H, Hanaoka N, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T: Human *Rickettsia heilongjiangensis* infection, Japan. *Emerging Infectious Diseases.* 16: 1306-1308, 2010.

3. 山内健生, 高野愛, 坂田明子, 馬場俊一, 奥島雄一, 川端寛樹, 安藤秀二. タカサゴキララマダニによる人体刺症の5例. *日本ダニ学会誌.* 19(1), 15-21, 2010.

4. 森下綾子, 谷口裕子, 大滝倫子, 川端寛樹. ワシントンDCで刺傷し帰国後発症したライム病の1例. *臨床皮膚科.* 64(4), 343-346, 2010.

Takano A, Ando S, Kishimoto T, Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Kawabata H, Watanabe H.: Novel *Ehrlichia* sp. found in *Ixodes granulatus* infested to rodents in Okinawa, Japan. *Microbiol Immunol.* (in press)

5. 安間安弥子, 馬場俊一, 下島博之, 照井正, 川端寛樹.: 東京都内で発生したアカコッコマダニ成虫複数刺咬の1例. *皮膚の科学.* 2007;6(4):387-391.

6. Kawabata H, Ando S, Kishimoto T, Kurane I, Takano A, Nogami S, Fujita H, Tsurumi M, Nakamura N, Sato F, Takahashi M, Ushijima Y, Fukunaga M, Watanabe H.: First detection of *Rickettsia* in soft-bodied ticks associated with seabird, Japan. *Microbiol Immunol.* 2006;50:403-406.

7. Naitou H, Kawaguchi D, Nishimura Y, Inayoshi M, Kawamori F, Masuzawa T, Hiroi M, Kurashige H, Kawabata H, Fujita H, Ohashi N.: Molecular Identification of *Ehrlichia* Species and 'Candidate *Neoehrlichia mikurensis*' from Ticks and Wild Rodents in Shizuoka and Nagano Prefectures, Japan. *Microbiol Immunol.* 2006;50: 45-51.

8. Inoue K, Maruyama S, Kabeya H, Yamada N, Ohashi N, Sato Y, Yukawa M, Masuzawa T, Kawamori F, Kadosaka T, Takada N, Fujita H, Kawabata H.: Prevalence and genetic diversity of *Bartonella* species isolated from wild rodents in Japan. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74:5086-5092.

9. Saito K, Ito A, Asashima N, Ohno M, Nagai R, Fujita H, Koizumi N, Takano A, Watanabe H, Kawabata H.: Case report: *Borrelia valaisiana* infection in a Japanese man associated with traveling to foreign countries. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77:1124-1127.

研究分担者(岡部)

1. Matsui T, Kobayashi J, Satoh H, Fujimoto T, Okabe N, Ando S, Kishimoto T and Yamamoto S. Surveillance Recognition, and Reporting of Tsutsugamushi Disease (Scrub typhus) and Japanese Spotted Fever by General Practice Clinics in Miyazaki Prefecture, 2007. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 15: 269-272, 2009.

2. 松井珠乃, 佐藤弘, 岡部信彦, 安藤秀二, 岸本寿男, 尹浩信, 坂崎善門, 瀬戸山充, 成田博実.: 熊本県, 宮崎県の皮膚科医におけるつつが虫病, 日本紅斑熱のサーベイランス認知度と, 2005年における診断・届出の現状. *日本皮膚科学会雑誌.* 2007;117:1977-1979.

研究分担者(岩崎)

1. Iwasaki H, Mizoguchi J, Takada N, Tai K, Ikegaya S, Ueda T. Correlation between the concentrations of tumor necrosis factor- α and the severity of disease in patients infected with *Orientia tsutsugamushi*. *Int J Infect Dis* 14: 328-333, 2010.
2. 岩崎博道、安藤秀二、高田伸弘. 肝リケッチア症. 新領域別症候群シリーズ No.13 肝・胆道系症候群(第2版) —その他の肝・胆道系疾患を含めて—, pp140-144. 日本臨牀社, 2010.
3. 池ヶ谷諭史、岩崎博道、上田孝典. 血液疾患患者の血液培養から検出された Coagulase-negative Staphylococci の臨床的意義. *臨床血液* 51: 398-401, 2010.
4. 岩崎博道. 第 84 回日本感染症学会・最新の話. *感染制御* 6: 212-214, 2010.
5. Ikegaya S, Inai K, Iwasaki H, Naiki H, Ueda T.: Azithromycin reduces tumor necrosis factor- α production in lipopolysaccharide-stimulated THP-1 monocytic cells by modification of stress response and p38 MAPK pathway. *J Chemother.* 21(4):396-402, 2009.
6. Ishiguro F, Takada N, Fujita H, Noji Y, Yano Y, Iwasaki H.: Survey of the vectorial competence of ticks in an endemic area of spotted fever group rickettsioses in Fukui Prefecture. *Microbiol Immunol.* 2008;52:305-309.

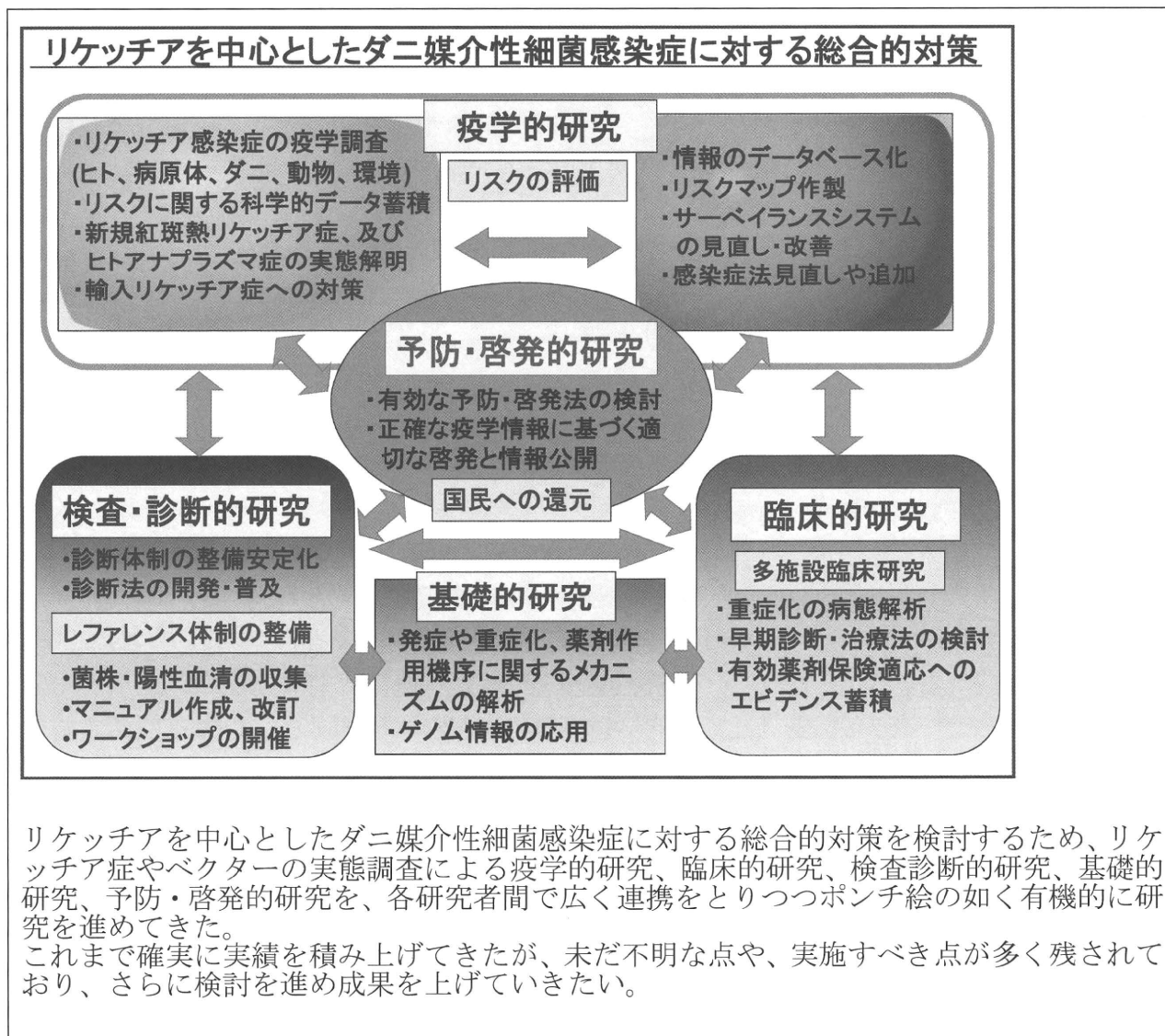
研究分担者(内山)

1. 内山恒夫. リケッチア —紅斑熱群—. 新居士郎・倉田 毅・林 英生・本田武司・小田 紘・松本 明 編, 病原細菌・ウイルス図鑑, 北海道大学出版会, 北海道, 印刷中.
2. 内山恒夫. 日本および東南アジアに見られる種々のリケッチア症の血清学的鑑別診断法の開発. 財団法人天山健康財団 年報 No.35 2009 年度版 14-17 頁. 2010.11.
3. Uchiyama T, Ogawa M, Kishi M, Yamashita T, Kishimoto T, Kurane I.: Restriction of the growth of typhus group rickettsiae in tick cells. *Clin Microbiol Infect.* (in press)
4. Chan, Y.G.Y., Cardwell, M.M., Hermanas, T.M., Uchiyama, T., and Martinez, J.J. Rickettsial outer-membrane protein B (rOmpB) mediates bacterial invasion through Ku70 in an actin, c-Cbl, clathrin and caveolin 2-dependent manner. *Cellular Microbiology* 11:629-644, 2009.
5. 内山恒夫. リケッチア —紅斑熱群—. 新居士郎・倉田 毅・林 英生・本田武司・小田 紘・松本 明 編, 病原細菌・ウイルス図鑑, 北海道大学出版会, 北海道, (In press)
6. Ogawa, M., Shinkai-Ouchi, F., Uchiyama, T., Hagiwara, K., Hanada, K., Kurane, I, and Kishimoto, T. Shotgun proteomics of *Orientia tsutsugamushi*. *Clinical Microbiology and Infection*, (in press)

特許の所得、ガイドライン・マニュアル等については、特になし

Ⅶ. Ⅲ(2年間の研究成果)の概要図等

※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。



●研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

・過去に所属した研究機関の履歴

1980年 川崎医科大学卒業

1987年 同大学院入学

1991年 医学博士、同大呼吸器内科講師

1993年 米国シアトル、ワシントン大学病原微生物学に客員研究員として留学

1994年 帰国後、同大学呼吸器内科講師

2000年 4月より 国立感染症研究所ウイルス第一部第5室(旧リケッチア・クラミジア室)室長

2009年 4月より岡山県環境保健センター所長。現在に至る。

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

安藤秀二、倉根一郎、松島敏春、松本 明、尾内一信、Chu.Cho.Kuo

・主な研究課題

リケッチアおよびクラミジアの疫学、診断、治療、予防に関する研究

・これまでの研究実績

・競争的資金

- ① 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築(研究代表者 岸本壽男)H18-20年
- ② 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究(研究代表者:吉川泰弘)分担研究者 岸本壽男 オウム病の早期診断体制とコントロールに関する研究 H16-18年
- ③ 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)生物テロに使用される可能性の高い細菌・ウイルス等による感染症の蔓延 防止、予防、診断、治療に関する研究 分担研究者(研究代表者 佐多徹太郎)研究分担者岸本壽男 Q熱の迅速診断に関する研究 H18-20年
- ④ 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)動物由来感染症の生態学的アプローチによるリスク評価等に関する研究(研究代表者 山田章雄) 分担研究者 岸本壽男 リケッチアに関する研究 H19-21年
- ⑤ 厚生科研費難治性疾患克服研究事業「特定疾患の微生物学的原因究明に関する研究」(研究代表者 佐多徹太郎) 分担研究者 岸本壽男 クラミジアとコクシエラと不明難治性疾患に関する研究 H17-19年

・受賞歴

1997年感染症学会二木賞受賞

・特許

クラミジアに関する特許3件、リケッチアに関する特許1件

・研究課題の実施を通じた政策提言数(寄与した指針又はガイドライン等)

- 1.動物展示施設における人と動物の共通感染症対策ガイドライン2003年
- 2.岸本寿男,小川基彦「小鳥のオウム病の検査方法等ガイドライン」2004年
- 3.日本呼吸器学会「咳嗽に関するガイドライン」2005年9月作成委員

・過去 3 年間の研究誌上報告

- (1) Ando S, Kurosawa M, Sakata A, Fujita H, Sakai K, Sekine M, Katsumi M, Saitou W, Yano Y, Takada N, Takano A, Kawabata H, Hanaoka N, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T : *Human R. heilongjiangensis Infection, Japan. Emerg Infect Dis.*, 16: 1306-1308, 2010.
- (2) Hanaoka N, Matsutani M, Kawabata H, Yamamoto S, Fujita H, Sakata A, Azuma Y, Ogawa M, Takano A, Watanabe H, Kishimoto T, Shirai M, Kurane I, and Ando S. : *Diagnostic assay for Rickettsia japonica: Emerging Infectious Diseases*, 15: 1994-1997, 2009.
- (3) Hanaoka N, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T, Ando S. *Development of a pUC19-based recombinant plasmid to serve as a positive control in PCR for Orientia tsutsugamushi. Microbiology and Immunology*. 53: 305-308, 2009.
- (4) Matsui T, Kobayashi J, Satoh H, Fujimoto T, Okabe N, Ando S, Kishimoto T and Yamamoto S. *Surveillance Recognition, and Reporting of Tsutsugamushi Disease (Scrub typhus) and Japanese Spotted Fever by General Practice Clinics in Miyazaki Prefecture, 2007. Journal of Infection and Chemotherapy*, 15: 269-272, 2009.
- (5) Ogawa, M., Shinkai-Ouchi, F., Uchiyama, T., Hagiwara, K., Hanada, K., Kurane, I, and Kishimoto, T. *Shotgun proteomics of Orientia tsutsugamushi. Clinical Microbiology and Infection*, doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02157.x, 2009.
- (6) Kishimoto, T. Recent Chlamydial Infections in Japan – Topics of Epidemiology and Diagnosis The Korean Journal of Laboratory Medicine Vol.29, Suppl.2, 209-211, 2009
- (7) Hisada H, Yamazaki T, Inoue M, Sato T, Ando S, Kishimoto T: In vitro activity of Garenoxacin against *Chlamydia* spp. *Journal of Chemotherapy*. 20:282-284, 2008
- (8) Yamazaki T, Takemura H, Inoue M, Ogawa M, Ando S, Sato K, Kishimoto T: The intracellular accumulation of phagocytic and epithelial cells and the inhibitory effect on *Chlamydia pneumoniae* of Telithromycin and comparator antimicrobials. *Journal of Chemotherapy*. 20:428-430, 2008.
- (9) Matsui, T., Nakashima, K., Ohyama, T., Kobayashi, J., Arima, Y., Kishimoto, T., Ogawa, M., Cai, Y., Shiga, S., Ando, S., Kurane, I., Tabara, K., Itagaki, A., Nitta, N., Fukushi, H., Matsumoto, A., and Okabe, N. An outbreak of psittacosis in a bird park in Japan. *Epidemiology and Infection*, 136(4):1-4, 2008.

和文発表

- (1) 安藤秀二, 坂田明子, 花岡希, 川端寛樹, 藤田博己, 黒澤昌啓, 斉藤若奈, 矢野泰弘, 高田伸弘, 酒井克朗, 勝見正道, 関根雅夫, 小黒美舎子, 熊谷正憲, 岸本寿男. *Rickettsia heilongjiangensis* 国内感染の第一症例の確認経過と感染源調査. *病原微生物検出情報* 31(5) :136-137, 2010
- (2) 森志朋, 櫻井英一, 赤坂俊英, 坂田明子, 安藤秀二, 岸本寿男: Pre-DIC を併発し polymerase chain reaction (PCR) 法で診断したツツガムシ病の 1 例. *臨床皮膚科*, 64(7) :512-516, 2010
- (3) 岸本壽男, 木田浩司, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志: 特集「非定型肺炎の診断と治療」、肺炎クラミジアー病因と診断, 薬剤感受性測定法と耐性菌 2 特殊微生物の抗微生物薬感受性測定法クラミジア, リケッチア. *化学療法の領域*, Vol.26, No.1, 46-52, 2010
- (4) 岸本壽男, 木田浩司, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志: クラミジア感染症・リケッチア感染症. *臨床と微生物*, Vol.36, 増刊号, 581-587, 2009
- (5) 岸本壽男: 病気がみえる vol.6 免疫・膠原病・感染症 (チーム医療を担う医療人共通のテキスト) 「クラミジア感染症」 209-211, 「リケッチア感染症」 212-213
- (6) 岸本壽男: ズーノーシスハンドブック 医療関係者・獣医療関係者のための診断・治療ガイド 「オウム病」 121-1, 2009
- (7) 安藤秀二, 小川基彦, 岸本壽男, 倉根一郎: 感染症法施行後 10 年間における国内のリケッチア感染症の発生状況. *感染症学雑誌* Vol.84, 臨時増刊号, 222, 2010
- (8) 花岡希, 岸本壽男 他: *In silico* 解析から新規に構築した日本紅斑熱迅速診断法とその応用 *感染症学雑誌* Vol.84, 臨時増刊号, 323, 2010
- (9) 川上万里, 梅川康弘, 木田浩司, 石井学, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 岸本壽男 他: 岡山県で初めて確認された日本紅斑熱と疫学調査について. *感染症学雑誌* Vol.84, 臨時増刊号, 326, 2010
- (10) 山下眞史, 岩永健, 渡邊雅男, 芝崎謙作, 井口保之, 木村和美, 木田浩司, 石井学, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 岸本壽男 他: 急性感染症電撃性紫斑病 (AIPF) を合併した日本紅斑熱の 1 例. *感染症学雑誌* Vol.84, 臨時増刊号, 327, 2010
- (11) 岸本壽男: Q 熱コクシエラ. *バイオセーフティの事典 病原微生物とハザード対策の実際バイオメディカルサイエンス研究会編* p227-228, 2008 みみずく社 東京
- (12) 岸本壽男: 発疹チフスリケッチア. *バイオセーフティの事典 病原微生物とハザード対策の実際バイオメディカルサイエンス研究会編* p229, 2008 みみずく社 東京

- (13)岸本寿男:発疹熱リケッチア. バイオセーフティの事典 病原微生物とハザード対策の実際バイオメディカルサイエンス研究会編 p230,2008 みみずく社 東京
- (14)岸本寿男:つつが虫病リケッチア. バイオセーフティの事典 病原微生物とハザード対策の実際バイオメディカルサイエンス研究会編 p231,2008 みみずく社 東京
- (15)岸本寿男:日本紅斑熱リケッチア. バイオセーフティの事典 病原微生物とハザード対策の実際バイオメディカルサイエンス研究会編 p232,2008 みみずく社 東京
- (16)岸本寿男:ロッキー山紅斑熱リケッチア. バイオセーフティの事典 病原微生物とハザード対策の実際バイオメディカルサイエンス研究会編 p233,2008 みみずく社 東京
- (17)岸本寿男:リケッチア感染症. わかりやすい内科学 第3版 井村裕夫他編 p510-511,2008 文光堂,東京
- (18)岸本寿男:Q熱. わかりやすい内科学 第3版 井村裕夫他編 p512,2008 文光堂,東京
- (19)岸本寿男,安藤秀二:つつが虫病. 小児疾患診療のための病態生理 第4版小児内科増刊号40:p1226-1228,2008 東京医学社,東京

厚生労働科学研究費補助金
 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
**「リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の
 総合的対策に関する研究」**

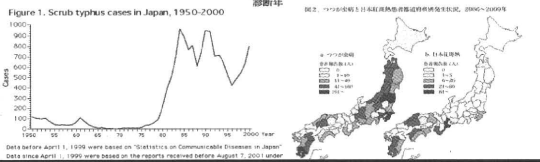
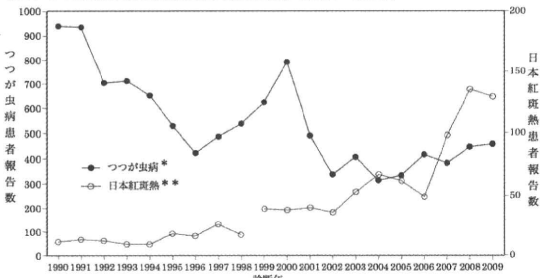
研究代表者 岸本壽男(岡山県環境保健センター)

- 研究分担者
- 安藤秀二 (国立感染症研究所ウイルス第一部)
 - 猪熊 壽 (帯広畜産大学獣医学部)
 - 岩崎博道 (福井大学医学部)
 - 大橋典男 (静岡県立大学微生物学)
 - 岡部信彦 (国立感染症研究所感染症情報センター)
 - 川端寛樹 (国立感染症研究所細菌第一部)
 - 高田伸弘 (福井大学医学部)
 - 田原研司 (鳥取県環境科学研究所)
 - 松本道明 (高知県衛生研究所)
 - 堤 寛 (藤田保健衛生大学医学部)
 - 藤田博己 (大原総合病院付属大原研究所)
 - 山本正信 (宮崎県衛生環境研究所)
 - 鈴木正嗣 (岐阜大学応用生物科学部)
 - 内山恒夫 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部)
 - 林 哲也 (宮崎大学フロンティア科学実験総合センター)
 - 阿戸 学 (国立感染症研究所免疫部)

リケッチア感染症の疫学の現状

- つつが虫病は、年間数百例で推移しており、死亡例も毎年報告され依然として侮れない。古典型つつが虫病も15年ぶりに再出現。
- 日本紅斑熱は、2001年以降、急激に増加し、2008年以降100例を超え、重症例、死亡例も近年相次いで報告。
- *R. japonica*以外の紅斑熱群リケッチアによる症例が複数報告されているが、それらの実態は不明。
- 輸入感染症として、東南アジアからのつつが虫病、紅斑熱、発疹熱、ヨーロッパからの地中海紅斑熱の事例報告あり、アメリカ大陸からのロッキー山紅斑熱等の発生の可能性。
- 海外で問題となっているエーリキア感染症、アナプラズマ感染症については、国内実態は不明。アナプラズマ症は、最近発生が高知県、鹿児島県で確認された。
- しかしながら、リケッチア感染症の早期診断体制はまだまだ未整備であり、病態解析や治療法の確立も不十分で、予防啓発に関しても立ち遅れているのが現状である。

図1. つつが虫病と日本紅斑熱患者年別報告数, 1990年~2009年

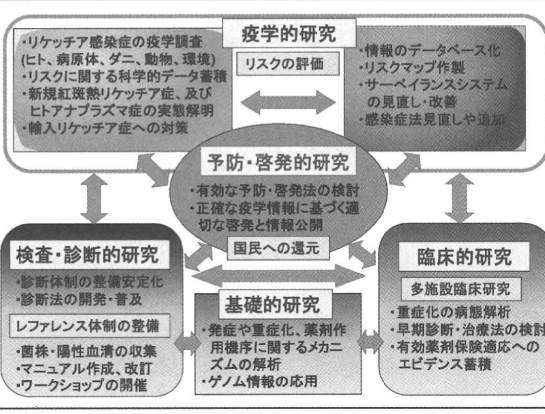


本班研究の目的と概要

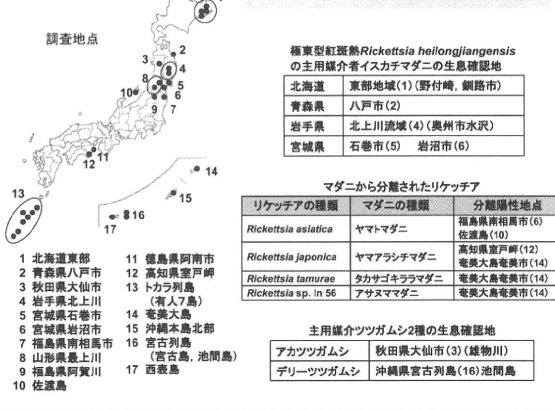
「リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策」

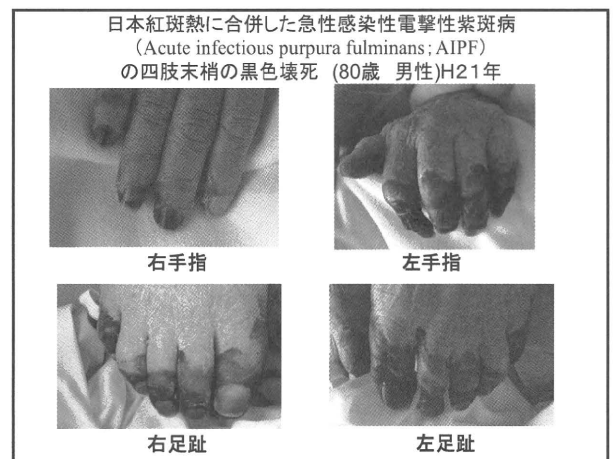
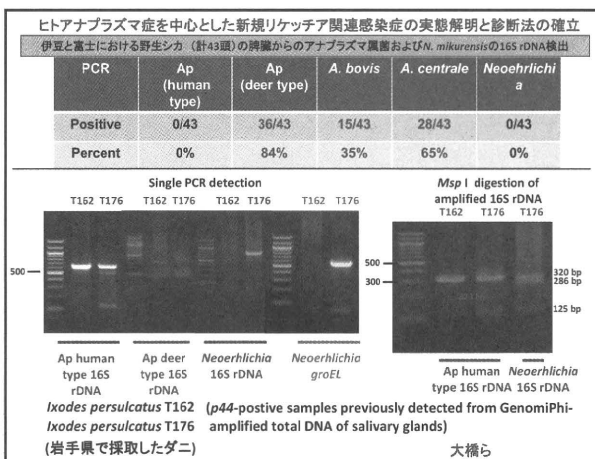
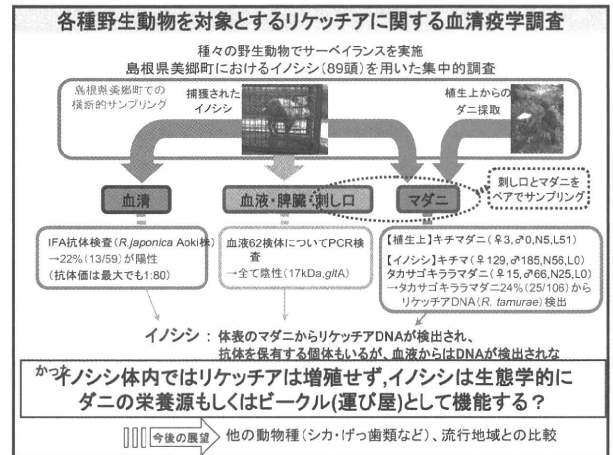
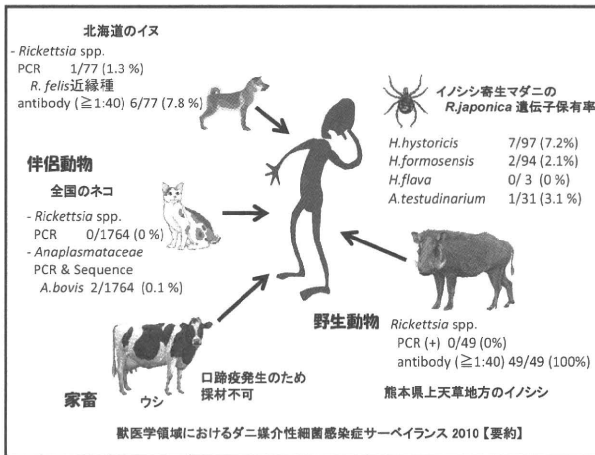
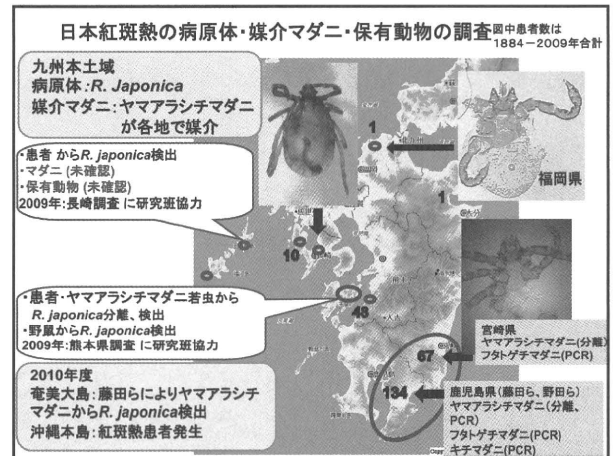
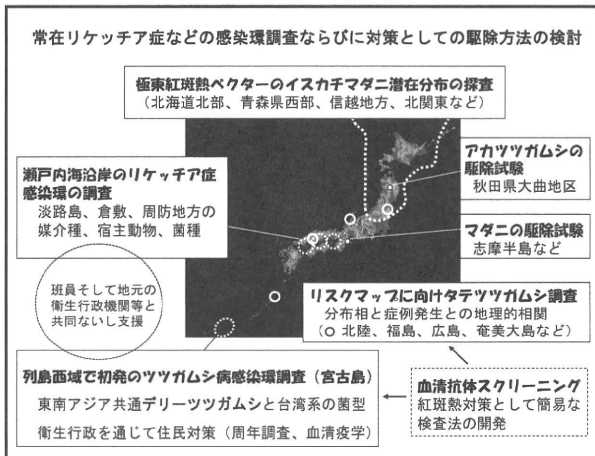
- ①疫学的研究: ヒト、病原体、ダニ、動物、環境についての疫学と、感染リスクとの相関に関する研究を進め、リスクマップの作成と予防啓発への利用を目指す。(地域特有のファクターがある。)
- ②臨床的研究: 多くの医療施設での症例解析をもとに臨床像や重症化の病態解析をすすめ、治療法のエビデンスを蓄積し、治療指針等の作成や有効薬剤の保険適応化につなげる。
- ③検査・診断的研究: 検査体制の現状の検証を行うとともに、より有用な診断法の開発や、レファレンス体制の確立、臨床や検査施設間の連携を構築する。また病理学的診断法の有用性の確立を目指す。
- ④基礎的研究: 重症化の病態や薬剤の作用機序等に関して、細胞レベル、宿主の免疫学的レベル、病原体のゲノムレベルで解析する。
- ⑤予防・啓発的研究: 有効な予防啓発法の検討を行い、国民への情報提供を実施する。

リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症に対する総合的対策



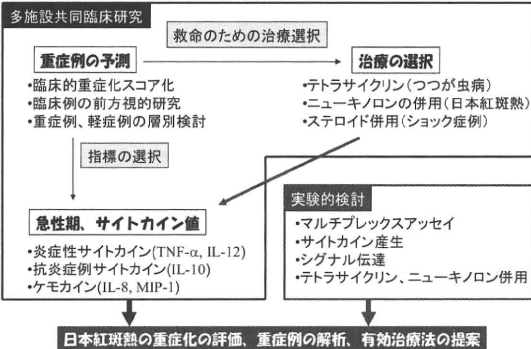
リケッチア症に関係するダニ類の実態調査





リケッチア症重症化に関する臨床および基礎的検討

岩崎ほか



レファレンス体制の構築が重要

検査体制の整備・精度管理・地衛研間の連携・ネットワーク構築
(リケッチア症レファレンスセンター設置に向けた課題改善) 安藤ら

・検査法に関して: 藤田、田原、山本、安藤、堤ら

血清診断(IF, IP) 遺伝子検出(PCR) 早期診断法として

創口の痲皮・発疹部生検: 有用性確認

リアルタイムPCR法の普及が重要
リケッチア属、日本紅斑熱
つつが虫病

病原体の分離(L cell)

組織学的診断

- 酵素免疫染色
- 免疫電顕

基礎的研究の進捗状況概略

- ①ゲノム情報に基づいたつつが虫病発症・重症化機序の解明とその応用。オリエンチアIkeda株の系統解析(Nakayama et al., DNA Res, 17(5):281-91, 2010)。オリエンチアにおけるペプチドグリカン産生の有無の解明と新規治療法の開発への応用。ホスホマイシンの効果の実証(林ら)。
- ②新興リケッチアの1つである*Rickettsia heilongjiangensis*のゲノム解析中。(林ら)
- ③アナプラズマ等とボレリアの共感染に関する研究のための基礎的調査を実施中(川端ら)。
- ④複数種のリケッチアの重感染と重症化との関連について細胞レベルで検討し、重感染ではリケッチア産生量が多くなることで、重症化に繋がる可能性が示唆された(内山ら)。
- ⑤リケッチア感染における宿主免疫応答を解明するためのマウスモデルの作成(阿戸ら)。

リケッチア感染症の今後の課題

- ①疫学としては、国内における実態には未だ不明な点が多く、患者、病原体、ベクター、動物についてさらに総合的に把握、解析する必要がある。
- ②臨床的には、診断・治療法のエビデンスが不足しており、有効薬剤の保検適応がない。重症化の病態、免疫応答、共感染時の病態などについては臨床データが不足。共通のフォーマットによる多施設症例蓄積と解析。
- ③検査・診断に関しては、迅速で確実な診断法の確立と、レファレンスネットワークの構築が必要。レファレンスセンターとの協働。
- ④基礎的研究では、遺伝子レベルや細胞レベル、動物実験等で、重症化のメカニズム解明や、治療薬、治療法の開発につなげることが求められる。
- ⑤予防・啓発については、これまで地域での啓発効果を解析してきたが、今後は全国レベルでの適切な疫学情報の提供(HP作成中)や、啓発による効果的な感染予防対策を検討。

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 成果概要

研究課題：ハンセン病の再発・再燃、難治症例に対する予防・診断・治療とハンセン病の啓発に関する研究

課題番号：H21-新興-一般-007

予定期間：H21年度からH23年度まで

研究代表者：向井 徹

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：ハンセン病研究センター 感染制御部

職名：室長

年次別研究費(交付決定額)：1年目 55,000,000円 2年目 55,000,000円

I. 研究の意義

- (1) 薬剤耐性ハンセン病の世界的疫学情報及び簡易遺伝子変異検出法がない。
- (2) ハンセン病の再燃・再発の早期診断法がない。
- (3) らい菌の細胞内寄生機構は不明な点が多い。
- (4) らい菌特異免疫能低下患者の抗らい菌免疫賦活する免疫的治療分子がない。
- (5) ハンセン病の感染・発症を予防または遅延させる方策がない。
- (6) ワクチンの有効性評価のための再現性の高い霊長類感染モデルが必要。
- (7) 偏見が払拭されていないため、正確な知識の共有を図り啓発が必要。
- (8) 正確に診療できる医師が少なく、回復者の医療体制が不備。
- (9) 我が国のハンセン病患者数の把握ができない現状。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 各国における簡易検査法による疫学調査により、状況把握を図り耐性菌拡散防止が可能。
- (2) 抗体価や細胞性免疫能と病型の比較解析より、再燃・再発の事前把握を期待。
- (3) 各種遺伝子発現と寄生機構の関連解明により、治療効果・予後判定に関する知見が得られる。
- (4) 新規分子による免疫能亢進は、難治性ハンセン病の発症予防が期待される。
- (5) ワクチンによる感染予防と免疫療法による発症予防は、差別と偏見のない社会を確立。
- (6) 霊長類感染モデルは、有効なワクチンの実用化を促進。
- (7) 療養所創立以来の医療と生活環境のレビューを行い、偏らない情報のアーカイブ化・発信が真の啓発に繋がる。
- (8) ハンセン病の正確な診療が可能になり、また、回復者の医療体制が構築される。
- (9) 日本国内のハンセン病患者数の把握。

III. 2年間の研究成果

・研究代表者 向井 徹

- (1) BCGにおいて一遺伝子でも充分量の蛋白を産生させる強力な新規プロモーターを発見した。
- (2) 新規プロモーターを用い、らい菌ワクチン抗原を長期安定に充分量発現させるBCGを構築した。

- (3) 妊娠カニクイザル及びその出産仔へらい菌の接種を行った。
- (4) 接種後 58, 59 カ月目の若年サルに鼻腔から菌体排泄を検出した。その後、陰性となった。

・研究分担者 甲斐雅規

- (1) WHO の薬剤耐性拠点監視事業の一環として検査技術の向上と統一を図り、ミャンマー・ベトナム等のリファレンスラボとして耐性検査を実施した。
- (2) DNA-DNA hybridization およびヘアピンプライマーReal time PCR による耐性菌の遺伝子変異検出法を開発した。
- (3) ダブソン耐性と任意の位置での遺伝子変異の相関を検査する系を確立。

・研究分担者 鮫島朝之

- (1) MMP-II 抗体は従来法の PGL-1 抗体より陽性率が高く、広範囲な皮膚病変症例ほど高値を示した。

・研究分担者 鈴木幸一

- (1) らい菌感染後にマクロファージの脂質分解経路が抑制される可能性を示した。
- (2) らい菌に強く発現する遺伝子の種類を明らかにした。

・研究分担者 前田百美

- (1) らい菌 LipoK は抗らい菌生体防御反応を賦活し、CD4 または CD8 陽性 T 細胞から、パーフォリン及びグランザイム B のみならず、グラニューライシンを産生する事が明らかとなった。

・研究分担者 牧野正彦

- (1) らい菌主要抗原 MMP-II および HSP70 融合蛋白を分泌する BCG は、ヒト未感作 CD4 陽性 T 細胞及び CD8 陽性 T 細胞を強く活性化して大量の IFN- γ の産生を誘導した。
- (2) MMP-II-HSP70 融合蛋白を分泌する *ureC* 破壊 BCG では、T 細胞活性化能は更に増強され、未感作 CD8 陽性 T 細胞からキラーT 細胞が産生され、マウスにおいてらい菌増殖を強く抑制した。

・研究分担者 野上玲子

- (1) 療養所菊池恵楓園創立以来の医療・看護・生活環境を、熊本におけるハンセン病の歴史の中の立ち位置視点も含め、出版物『百年の星霜』を作成し、啓発に供した。同誌を海外向けに再編集し英訳を進めている。
- (2) アーキビストを交え、医学資料の取扱いに関するフォーラムを開催し、アーカイブズ関連の人々との情報交換のネットワークを構築した。

・研究分担者 石井則久

- (1) ハンセン病の講習会・実習を 2 回実施（福岡、東京）。
- (2) ハンセン病回復者を診療できる医療機関をホームページで公開。
- (3) 2009, 2010 年のハンセン病新規患者数を把握。

IV. 23 年度の課題

- (1) 耐性菌検出検査の簡便化・性能の向上及び拠点監視への応用検討。
- (2) 各病型の細胞性免疫能および保存血清の抗体価を測定し、病態との関連性を解析。
- (3) 臨床材料におけるらい菌および感染マクロファージに発現する遺伝子の解析。
- (4) らい菌 LipoK により活性化したらい菌感染樹状細胞の DNA マイクロアレイより、抗らい菌生体防御反応に関わるヒト遺伝子の検索。

- (5) 薬剤耐性遺伝子をもたない安定したらい菌蛋白発現 BCG 構築法および追加免疫用ワクチンを開発し、その有効性を動物モデルにより検証。
- (6) らい菌接種サルを経時観察。
- (7) 出版物の英訳、さらに海外発信。
- (8) ハンセン病を正確に診療できる医師を増やし、診療のネットワークの拡大。
- (9) 2011 年のハンセン病患者数の把握。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 耐性機構解明は、治療法の開発および WHO との耐性菌疫学は、拡散防止策立案が可能。
- (2) ハンセン病の再発・再燃の可能性のある入所者、回復者の事前予想が可能。
- (3) 感染予防および潜伏感染者の発病予防は、働き手を確保し途上国社会問題の早期解決に貢献。
- (4) ハンセン病診療態勢の構築、社会で生活するハンセン病回復者の医療の充実。
- (5) 日本のハンセン病患者数などを WHO へ報告。

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

向井 徹 : Mukai T., Y Maeda, T Tamura, M Matsuoka, Y Tsukamoto and M Makino. Enhanced activation of T lymphocytes by urease-deficient recombinant *Bacillus Calmette-Guérin* producing heat shock protein 70-major membrane protein-II fusion protein. *J. Immunol.*, 185: 6234-6243. 2010.

研究分担者

甲斐雅規 : Kai M, Nguyen PNH, Nguyen HA, Pham THBD, Nguyen KH, Miyamoto Y, Maeda Y, Fukutomi Y, Nakata N, Matsuoka M, Makino M, & Nguyen TT. Analysis of drug-resistant strains of *Mycobacterium leprae* in an endemic area of Vietnam. *Clin Infect Dis*. 2010. in press.

鮫島朝之 : 鮫島朝之, 前田百美, 後藤正道, 牧野正彦. Major Membrane Protein (MMP)-II血清抗体価とハンセン病の病型について. *日本ハンセン病学会雑誌*, 79:156, 2010.

鈴木幸一 : Akama T, Tanigawa K, Kawashima A, Wu H, Ishii N and Suzuki K. Analysis of *Mycobacterium leprae* gene expression using DNA microarray. *Microb Pathog* 49:181-185, 2010.

前田百美 : Maeda Y, Tamura T, Matsuoka M, and Makino M. 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.

牧野正彦 : 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.*, 183: 6561-6568. 2009.

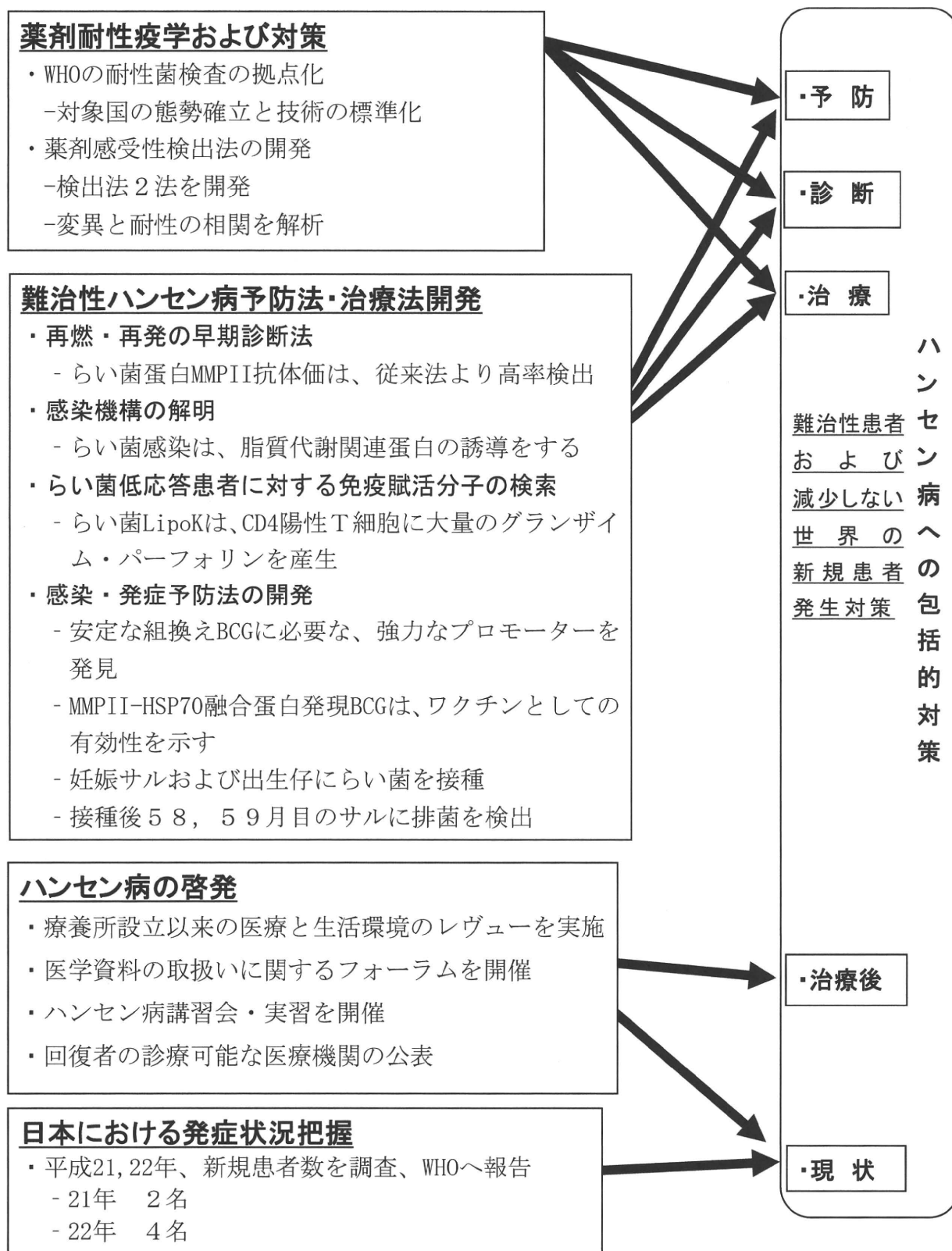
野上玲子 : 編集責任者 野上玲子 菊池恵楓園百年誌「百年の星霜」縮刷版 (準備中)

石井則久 : 石井則久、小野友道 : ハンセン病の医療充実に向けた取り組み. *日本皮膚科学会雑誌* 120: 1673-1674, 2010.

研究協力者

中田 登 : Nakata N, Kai M, & Makino M. Mutative analysis of the *Mycobacterium leprae folP1* gene and dapsone resistance. *Antimicrobe Agents Chemother* 2010. in press

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

| | |
|----------------------------|------------------|
| 大阪大学歯学部 口腔細菌学講座 | 昭和 63年4月～平成 2年3月 |
| 大阪大学微生物病研究所 麻疹部門 | 平成 2年4月～平成 8年2月 |
| 米国カリフォルニア大学サンディエゴ校 医科学部 | 平成 8年3月～平成10年7月 |
| 北海道大学免疫科学研究所 血清学部門 | 平成10年7月～平成11年2月 |
| 大阪大学微生物病研究所 ウイルス免疫分野(教授転任) | 平成11年2月～平成13年3月 |
| 国立感染症研究所ハンセン病研究センター 感染制御部 | 平成13年4月～現在 |

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

浜田茂幸
山西弘一
生田和良
牧野正彦

・主な研究課題

ヒトヘルペスウイルス6型、7型(HHV-6, -7)に関する研究
HIV-1に関する研究
抗酸菌症に関する研究(ワクチン開発、遺伝子検出法開発)(現在)

・これまでの研究実績

- 1) Miyamoto, Y., T. Mukai, T. Naka, N. Fujiwara, Y. Maeda, M. Kai, S. Mizuno, I. Yano, and M. Makino. Novel rhamnosyltransferase involved in biosynthesis of serovar 4-specific glycopeptidolipid from *Mycobacterium avium* complex. *J Bacteriol*, 192: 5700-5708. 2010.
- 2) Mukai, T., Y. Maeda, T. Tamura, M. Matsuoka, Y. Tsukamoto, and M. Makino. Enhanced activation of T lymphocytes by urease-deficient recombinant *Bacillus Calmette-Guérin* producing heat shock protein 70-major membrane protein-II fusion protein. *J Immunol*, 185: 6234-6243. 2010.
- 3) Hayashi, D., T. Takii, T. Mukai, M. Makino, E. Yasuda, Y. Horita, R. Yamamoto, A. Fujiwara, K. Kanai, M. Kondo, A. Kawarazaki, I. Yano, S. Yamamoto, and K. Onozaki. Biochemical characteristics among *Mycobacterium bovis* BCG substrains. *FEMS Microbiol Lett*, 306: 103-109. 2010.
- 4) Mukai, T., Y. Maeda, T. Tamura, M. Matsuoka, Y. Tsukamoto, 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*, 183:6561-6568. 2009.
- 5) 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.
- 6) Miyamoto, Y., T. Mukai, Y. Maeda, M. Kai, T. Naka, I. Yano, and M. Makino. The *Mycobacterium avium* complex *gftTB* gene encodes a glucosyltransferase required for the biosynthesis of serovar 8-specific glycopeptidolipid. *J Bacteriol*, 190:7918-7924. 2008.
- 7) 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.

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 H21-新興-一般-007
 ハンセン病の再燃・再燃、難治症例に対する予防・診断・治療と
 ハンセン病の啓発に関する研究
 研究代表者 向井 徹(国立感染症研究所ハンセン病研究センター)

- ・*M. leprae* (らい菌)の慢性感染症
- ・培地での培養不可能
- ・感染者の極く一部が、数年から数十年後に発症
- ・神経・皮膚症状
- ・世界で20数万人発症

| 目的 | 方法 | ハンセン病への包括的対応 |
|------------------------------------|---|--------------|
| 1. 薬剤耐性対策 甲斐、(松岡、中田) | 1. 薬剤耐性遺伝子迅速検出法開発 耐性菌疫学への応用 | |
| 2. 再燃・再燃に対する モニタリングシステム開発 数島 | 2. らい菌抗原による経時抗体価、細胞性免疫能と再燃相関解析 | |
| 3. ワクチン・免疫療法開発 鈴木、前田、牧野、向井 | 3. 特異脂質蓄積機構の解析 新規標的の解析 BCGの変異とその免疫学的解析 サル感染症系の樹立 | |
| 4. 啓発 野上、石井 | 4. ハンセン病医療史の発信 医師のネットワーク構築 講習会開催 | |

薬剤耐性ハンセン病に関する研究

5 X 10³ bac. (6-8ヶ月)
 6-8ヶ月 → 菌数比較
 薬剤 (+) (-)

・初報告 臨床 1953年
 ・マウス体内増殖系による確認 1964年
 ・WHO多剤療法開始 1981年～
 ・遺伝子変異とマウス増殖系との相関 1997年～
 症例蓄積⇒統計処理、他菌との比較

短時間で主要3薬剤の耐性変異9か所の判定系を確立

Multiplex PCR
 DNA抽出 → *folP1* ダブゾン, *rpoB* リファンピシリン, *gyrA* キノロン → 結果判定 → 臨床サンプルへの応用へ

ヘアピンループリアルタイムPCR法

WHOのハンセン病薬剤耐性菌監視拠点への貢献
 基盤技術の開発・教育 Protocol改善 Quality Control

薬剤耐性ハンセン病に関する研究

| | | |
|----------|------------------------------|---|
| 1st line | ダブゾン リファンピシリン クロファジミン | <i>folP1</i> <i>rpoB</i> ??? |
| 2nd line | キノロン ミノサイクリン クラリスロマイシン | <i>gyrA</i> <i>rrs</i> ? <i>rli</i> ? |

迅速発育菌による変異と耐性相関試験法

1. らい菌耐性変異導入 2. 宿主酵素破壊

変異酵素 Hyg^R 宿主酵素

M. smegmatis

3. プレートによる薬剤耐性試験

ダブゾン 確立
 リファンピシリン 確立
 キノロン 確立中

薬剤耐性を起こす変異
 薬剤耐性と無関係な変異
 ⇒DNA診断への応用

近年、既存の変異ではない耐性らい菌

5 X 10³ bac. (6-8ヶ月)
 6-8ヶ月 → 菌数比較
 薬剤 (+) (-)

再燃・再発患者に対する血清診断法およびモニタリングシステムの開発

らい菌の細胞膜蛋白Major Membrane Protein (MMP-II)
 従来のPGL-1より診断用抗原として有用である

過去の再燃6例の病理所見

| 症例 | 菌染色 | PGL-1 | MMP II |
|---------------|-----|-------|--------|
| '98 5 4662 L | + | + | + |
| '99 2 2397 L3 | - | + | - |
| '99 1 3877 L2 | + | + | + |
| '05 7 3877 BT | - | - | + |
| '02 4 4389 L3 | + | + | + |
| '05 4 4579 L | - | - | - |

過去の病態と現在の抗体価相関

回復者検血清ELISA

H21 231検体 H22 215検体

皮膚病変の広範囲の症例ほど高値

菌陰性で抗MMP IIで染色
 ⇒抗体価が持続高値の場合、再燃・再発を予測するには、
 抗体価以外の因子を検討する必要性が考えられた

過去の病態と現在の細胞性免疫能相関

対照: 回復者11名、職員7名
 刺激: らい菌菌体破砕、rMMPII蛋白
 測定: FACSによりIL-10, IFN-γ 測定

現在までの結果
 回復者は、低い応答性の傾向
 MMPII応答者が存在

らい菌の細胞内寄生機構に関する研究
 らい菌感染が誘導する宿主細胞変化

細胞内寄生戦略

CORO1A HSL
 ADRP Perilipin TLR2
 自然免疫活性化

宿主因子の検討
 ADRP: Adipose Differentiation-Related Protein
 HSL: Hormone-sensitive lipase

control M. leprae(+)

Oil Red O
 ADRP
 HSL

皮膚生検のHSL発現は病態や治療効果を反映する可能性がある

| | | | | | | | | | | | |
|---------|----------------------|----|----|----|---|---|---|---|---|---|----|
| MDT | 0 | 4 | 2 | 3 | 5 | 6 | 0 | 1 | 1 | 4 | 24 |
| HSL | [Western blot bands] | | | | | | | | | | |
| β-actin | [Western blot bands] | | | | | | | | | | |
| | 14 | 15 | 16 | 17 | | | | | | | |
| | 感染者検体No | | | | | | | | | | |

らい菌のいかなる成分(遺伝子発現)が上記変化を起こすか?

・ADRPの誘導(脂質蓄積)
 ・HSL発現阻害(脂質分解阻害) 生菌のみ

難治症例に対する免疫療法の開発

LipoK: らい菌リポ蛋白LpKの免疫活性部位
 Palmitoyl-G(2,3-di-palmitoyloxy)-propyl
 CLPDLVSGRLTGG (13 AA)

抗らい菌免疫賦活する機序解明

LipoK添加により細胞内らい菌は死ぬ

CO₂ evolved (CPM)

| Condition | CO ₂ evolved (CPM) |
|-----------|-------------------------------|
| ML | ~1000 |
| ML+LipoK | ~400 |

LipoK添加によりGranulysin分泌上昇

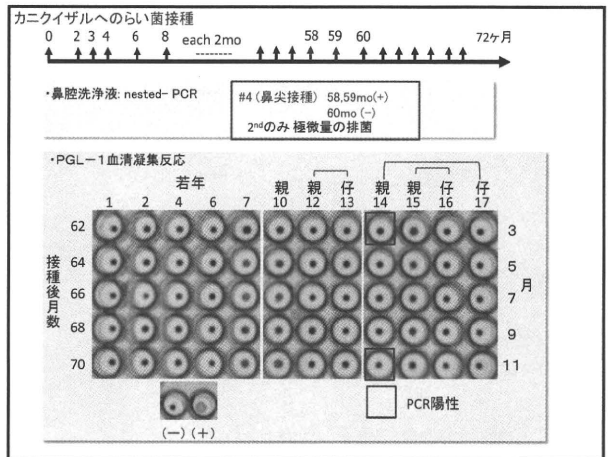
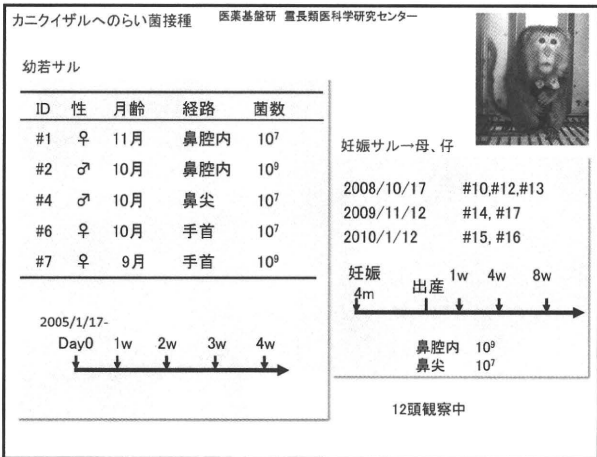
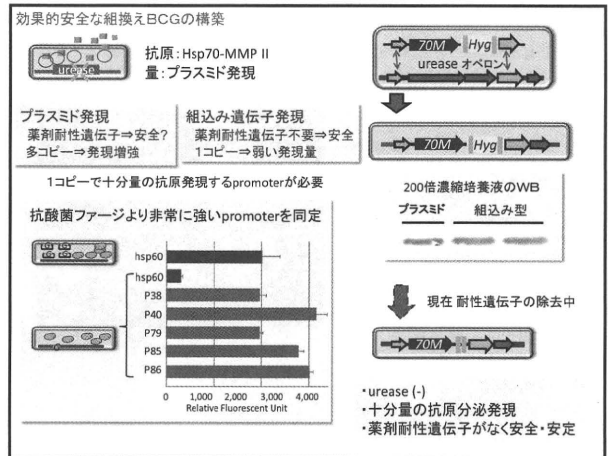
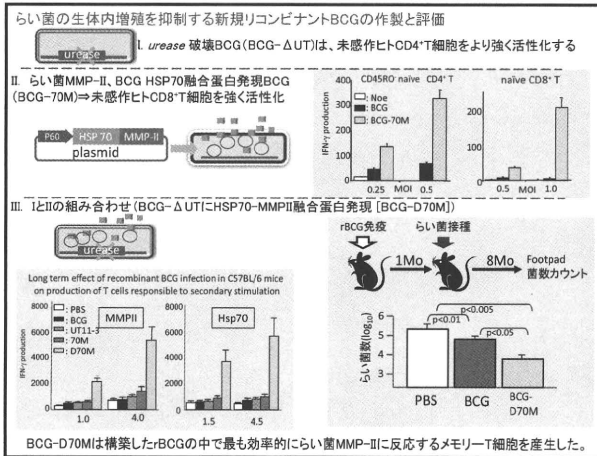
| Condition | Granulysin |
|-----------|------------|
| ML | 1.67 |
| ML+LipoK | 18.9 |

CD8

Granulysin、Granzyme Bは
 直接らい菌を殺菌する
 p<0.01, p<0.02

・LipoKは、パーフォリン、Granzyme BおよびGranulysinの発現上昇誘導
 ・Granzyme BおよびGranulysinは、らい菌を直接破壊

LipoKは、ハンセン病の免疫療法分子として活用可能



啓発 ハンセン病の理解の促進

療養所に蓄積されている(医学)資料のアーカイブ化
中立な立場で、医学・医学史上の貴重な資料として残す方法を策定

① 關所当初の明治42~45年死亡者来歴(44名)の検討
資料のデジタルデータ化・整理
職業、病型、発病年齢、入所までの経過年数、等

当時の患者の状況、医療上どのようなスタンスがなどの解析
これはさらに、他の感染症等との比較において貴重な研究資料

② サリドマイド使用例(22名)の検討
1970~80年代前半に、ENL(2型らい反応)に苦しむ患者にサリドマイドが効果を現した際の投与方法など、今般、同薬剤使用ガイドラインの策定に参考となりうる資料を作成

療養所(菊池恵楓園)からの情報発信
資料編纂
ハンセン病史における地域と療養所の関係、歴史的役割を明らかにし、今後の多方面の研究に利用可能

日本のハンセン病医療史を広く世界に情報発信するための英語版を作成中

社会交流会館(歴史資料館)
見学者の資料
ボランティアガイドの教育に活用

