

11. 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
12. 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
13. 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
14. 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
15. 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
16. 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
17. 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
18. 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
19. 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
20. 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
21. 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
22. 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
23. 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
24. 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

・ **平成 23 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**

「国際的なバイオリスク管理の基準に基づく病原体取扱いと管理のモデル総合システムの構築と検証に関する研究」

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業  
最終年度(H20-22) 報告

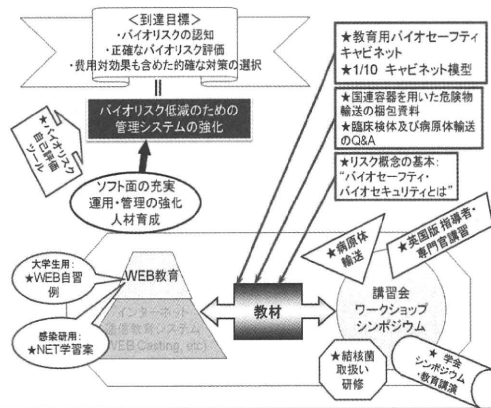
「バイオリスク管理の包括的強化及び  
必要な教材等の開発と実践の評価に関する研究」

研究代表者 杉山 和良

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、教材を作成し、研修等の場で使いやすさを確認し、改良し、共有と提供を図る。
2. バイオリスク管理の常識の科学的根拠を探索し、証明、共有する
3. 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研究し、提案する。
4. 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。

2年次までの具体的成果



1. 教材・資料の作成

アニメーション型教材(基本的知識)とバーチャルリアリティ体験型教材(事故対応など)

へパフィルター機能の学習用資料

設置スペースと、研修の焦点を考慮した改良を行ったキャビネットNo2(上)と、設置の現場(下)

基本の三重梱包の手順書(病原体等輸送研修)

海外各国の関連資料の翻訳、提供

1-3. 提供方法の検討からプログラムの提案へ

Web教材によるオンライン学習、フィードバック、改良

教材を用いた入門編研修(作業型:ワークショップ)

病原体輸送関係者への講習および研修、研修効果の確認

具体例を用いた実務者用の問題解決型研修

学会発表・展示

1-3. 提供方法の検討からプログラムの提案へ

研修・講習

- 全国の臨床検査センターへの病原体等運搬講習会
- 保健所感染症担当者へ病原体等運搬・バイオリスク管理・結核菌取扱いと保管等の講習
- 学会でのワークショップ・セミナー
- 特定病原体運搬同乗者講習

要望

- ✓ 時間の制限がある環境でも、必要な研修機会を提供する
- ✓ 基礎知識レベルが違う際にも対応できる
- ✓ 研究の合間の時間で自由に取り組める
- ✓ 講師・インストラクターの不足を補う
- ✓ 留学生にも対応できる

研修・訓練

- バイオリスク管理の入門セミナー
- リスクアセスメントのワークショップ・研修
- バイオリスク管理の集中講義と演習
- 英国版バイオリスク管理専門家研修ベーシック
- 研究者のための継続講習シリーズ

## 2. バイオリスク管理の常識の科学的根拠、調査、検証実験

三種・四種病原体等の運搬シミュレーション(国内搬送と輸出入) 国連規格容器の安全性検証

5tトラックにて国連規格容器を潰した様子



二次容器の破損はないがゆがみ有り



一次容器の破損なし



交通事故による国連規格容器破損を想定した加重荷試験

3tと5tトラック(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での踏み潰し試験を行い、一次、二次容器の破損状況調べた。国連規格容器の強度が証明され、梱包がきちんとしていれば、内部のガラス製、プラスチック製の一次容器は保護されることが確認された。

## 2. バイオリスク管理の常識の科学的根拠、調査、検証実験

高圧蒸気滅菌処理の効果 国連規格容器に対する消毒・滅菌処理の影響

高圧蒸気滅菌処理時の滅菌袋内温度



【目的】 汎用される複数の滅菌袋により差があるかを検討する。

【結果と考察】 滅菌袋の種類により上昇温度に差が見られたが、日常的滅菌の際と同様に縛った滅菌袋内及び被滅菌物内が設定温度に達することはなかった。内部への水蒸気の透過性が異なること、滅菌のために入れたものによって温度上昇が妨げられることが示された。滅菌操作では、処理対象により適切な調整が必要であり、インジケータ等による内部温度の上昇と滅菌確認が必須であることが示唆された。

病原体輸送容器への消毒・滅菌処理の影響

【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。

【結果と考察】 4種類の容器で、高圧蒸気滅菌、紫外線照射、80%エタノール清拭、0.5%次亜塩素酸ナトリウム浸漬の処理を行った。破裂試験では全て合格したが、内圧試験では半分が処理後に不合格となった。パッキンの交換の効果も容器により異なっていた。安全性の面から、検査を省いての再利用については注意が必要である。

## 2. バイオリスク管理の常識の科学的根拠、調査、検証実験

全国の医療機関へのアンケート調査 病原体輸送に関する一般認識の調査

結核菌サーベイランスとリファレンスに関連した全国医療機関、診断機関、保健所への調査

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】 30代~50代の専業主婦のフォーカス・グループ・インタビュー

【結果と考察】 運送業者が運ぶという実態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。分析の結果から、「絶対に必要」というカテゴリーにつながる構造図を作成した。

病原体輸送のイメージに関する量的調査

【目的】 質的調査に基づく、インターネット調査を行い、大きな標本数での再現性を確認し、風評被害の発生の有無と防止法について検討する。

【方法】 3,000標本の調査を現在回収中

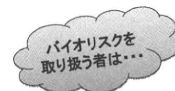
## 3. バイオリスク管理の教育・研修プログラムの提案

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
- DNVから民間機関が国際基準に沿って作成したシラバス
- 学会が提供する国際基準に沿った研修
- 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



欧州で提案されている学習項目(共通基礎の例) CEN WS53資料より

Basic areas of work
Microbiology
Antimicrobiology
Immunology
Transgenetics
Protein engineering
Biotechnology
Cell culture
Health issues in biotechnology
Animal biotechnology
Microbiology
Control systems
Risks and risk groups
Biosafety
AS & Management
PPE
Identification in microbiology
Distillation (from liquids)
Waste
Bio management
Communication of biotechnology
Training skills
Transport of specimens
Law & standards
Environmental law
Plant pathogens
...

欧州で提案されている学習領域 CEN WS53資料より

## 3. バイオリスク管理の教育・研修プログラムの提案

例: バイオリスク入門編(作業型:ワークショップ)

目標

- 用語と定義になれる
- 基本的考え方としてのバイオリスクの評価を理解し、実践する

9月	コース概要説明	9月	施設と設備
14日	バイオリスク管理とは(WEB教材)	15日	施設設計
	経路図について		病原体/媒体の輸送
	バイオリスク管理の 組みとバイ		バイオセキュリティ
	オペレーション担当者		事故とニアミス対応
	ハザードとリスク、病原体		実験室デザイン実習
	細胞培養と遺伝子組み換え		実験室の管理と運営
	リスクアセスメント実習		まとめ
	リスク評価、毒菌、物理		

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。

## 3. バイオリスク管理の教育・研修プログラムの提案

例: バイオリスク実践編(短時間、反復開催)

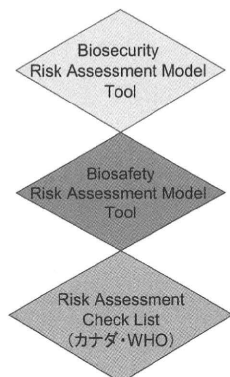
目標

- 基本理論と日常活動のリンクを図る(どのように毎日を安全にすることに生かせるか)
- 即効性のある対策、実技を提供する
- 全体像をつかむ(シリーズ講義の相互の関連性を理解する)

講義	バイオリスク評価とはいつ、どこで、誰が実施するのか	講義	アクセス管理の理論 何故必要か、制限区域の理想的構造
実技	スピル対応(状況設定する) 自分たちの方法で実施し、全体でリスク評価	実技	実験室改築プラン 実験予定の設定とリスク評価/国際輸送の手続き

#### 4. バイオリスクの統合管理の仕組みを提案

- バイオリスク管理の基本はリスク評価から
- バイオリスク管理方法は、より完全にバイオリスクを消滅させることができ、人為的、経済的理由により影響を受けないものから順に選択する
- 人材が全ての基本である
- 記録が改善のために最も重要な材料



#### ■ 23年度のまとめに向けて

- (1) 教材、資料を用いたバイオリスク管理学の学習・研修シラバスを提案する。併せて、系統的な教科書についての検討を報告。
- (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、認定管理の国内実情に合致する提案を行う。
- (3) 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) バイオリスク管理の最初のステップとしてのリスク評価のための支援資料を完成し、提供する。日本語以外でも使える形で準備する。
- (6) 検証実験の結果の考察と解釈を深め、関係者へ提供する。

ありがとうございました

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：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  
 予定期間：H20 年度から H22 年度まで  
 研究代表者：小林 和夫  
 所属研究機関：国立感染症研究所  
 所属部局：免疫部  
 職名：部長

年次別研究費（交付決定額）：

1 年目 23,000,000 円 2 年目 23,000,000 円 3 年目 25,000,000 円 計 71,000,000 円

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・抗酸菌の発現分子や宿主要因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. 3 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) 休眠抗酸菌において発現する蛋白質群を同定した。
- (2) 同定した休眠期発現抗原を用い、ヒトにおける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) 宿主体内結核菌が特異的に産生する脂質を同定し、その生合成の分子機構ならびに免疫認識機構を明らかにした。
- (2) サル脂質認識 CD1 遺伝子と蛋白質を同定し、脂質に対するサル T 細胞応答を実証した。

**・研究分担者（宮本 友司）**

- (1) 高病原性を示す MAC 株に存在する GPL の糖鎖生合成を解明した。また、それらの糖鎖構造が病

原性に関連する菌体の生化学的性状に影響を及ぼす可能性を示した。

**・研究分担者 (小出 幸夫)**

- (1) 休眠期の結核菌が発現する遺伝子 (48 種) および再活性化に関与する遺伝子 (5 種) の DNA ワクチン・ライブラリーを完成した。
- (2) マウス感染実験結果から上記抗原で T 細胞応答が誘導できることを証明した。
- (3) 抗酸菌 DNA 結合蛋白質 1 (MDP1) の CD4 T 細胞抗原決定基および CD8 T 細胞抗原決定基をそれぞれ 1 つずつ決定した。
- (4) 結核菌熱ショック蛋白質やマクロファージ炎症性蛋白質-1alpha を利用した新規分子融合型結核ワクチンを開発した。

**・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。

**・研究分担者 (北田 清悟)**

- (1) MAC 感染症の血清迅速・簡便診断キットを開発し、培養検査 (喀痰や気管支肺胞洗浄液) と診断キットの比較検討を行った。
- (2) 気管支内視鏡的に診断された肺 MAC 感染症における血清診断の感度: 79%、特異度: 96%であり、血清迅速診断キットの臨床的有用性を証明した。
- (3) MAC 感染症迅速免疫診断キット (キャピリア MAC 抗体-ELISA、株式会社タウンズ) の製造販売が承認され、保険点数 (120 点) も収載され、保険医療として認められた。

**IV. 今後考えられる新たな課題**

- (1) 潜在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) 潜在性感染→活動性結核・抗酸菌感染症への発病予知因子を探索する。
- (3) 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。
- (4) 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。
- (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) 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・提案
- (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) を凌駕する潜在性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) : 3 年間発表論文総計、17 編**

1. **Kitada, S., K. Kobayashi**, Y. Nishiuchi, K. Fushitani, K. Yoshimura, Y. Tateishi, K. Miki, M. Miki, H. Hashimoto, M. Motone, T. Fujikawa, T. Hiraga, and **R. Maekura**. 2010. Serodiagnosis of pulmonary disease due to *Mycobacterium avium* complex proven by bronchial wash culture. *Chest* 138: 236-237.
2. 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
3. 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.

**・研究分担者 (松本 壮吉) : 3 年間発表論文総計、16 編**

1. Sena, C.B.C., T. Fukuda, K. Miyonagi, **S. Matsumoto, K. Kobayashi**, Y. Murakami, Y. Maeda, T. Kinoshita, and Y.S. Morita. 2010. Controlled expression of branch-forming mannosyltransferase is critical for mycobacterial lipoarabinomannan biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 285: 13326-13336.

2. 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.
3. 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.
4. 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.

・研究分担者 (杉田 昌彦) : 3 年間発表論文総計、3 編

1. 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.
2. 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.
3. 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) : 3 年間発表論文総計、2 編

1. **Miyamoto Y.**, T. Mukai, T. Naka, N. Fujiwara, Y. Maeda, M. Kai, S. Mizuno, I. Yano, and M. Makino. 2010. Novel rhamnosyltransferase involved in biosynthesis of serovar 4-specific glycopeptidolipid from *Mycobacterium avium* complex. J. Bacteriol. 192:5700-5708.
2. **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) : 3 年間発表論文総計、9 編

1. Eweda G, Suzuki D, Nagata T, Tsujimura K, **Koide Y**. 2010. Identification of murine T-cell epitopes on low-molecular-mass secreted proteins (CFP11, CFP17, and TB18.5) of *Mycobacterium tuberculosis*. Vaccine 28: 4616-4625.
2. Wang L-X, Nagata T, Tsujimura K, Uchijima M, Seto S, **Koide Y**. 2010. Identification of HLA-DR4-restricted T-cell epitope on MPT51 protein, a major secretory protein derived from *Mycobacterium tuberculosis* using MPT51 overlapping peptides screening and DNA vaccination. Vaccine 28: 2026-2031.
3. Suzuki D, Nagata T, Eweda G, **Matsumoto S**, Matsumoto M, Tsujimura K, **Koide Y**. 2010. Characterization of murine T-cell epitopes on mycobacterial DNA-binding protein 1 (MDP1) using DNA vaccination. Vaccine 28: 2020-2025.
4. 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.

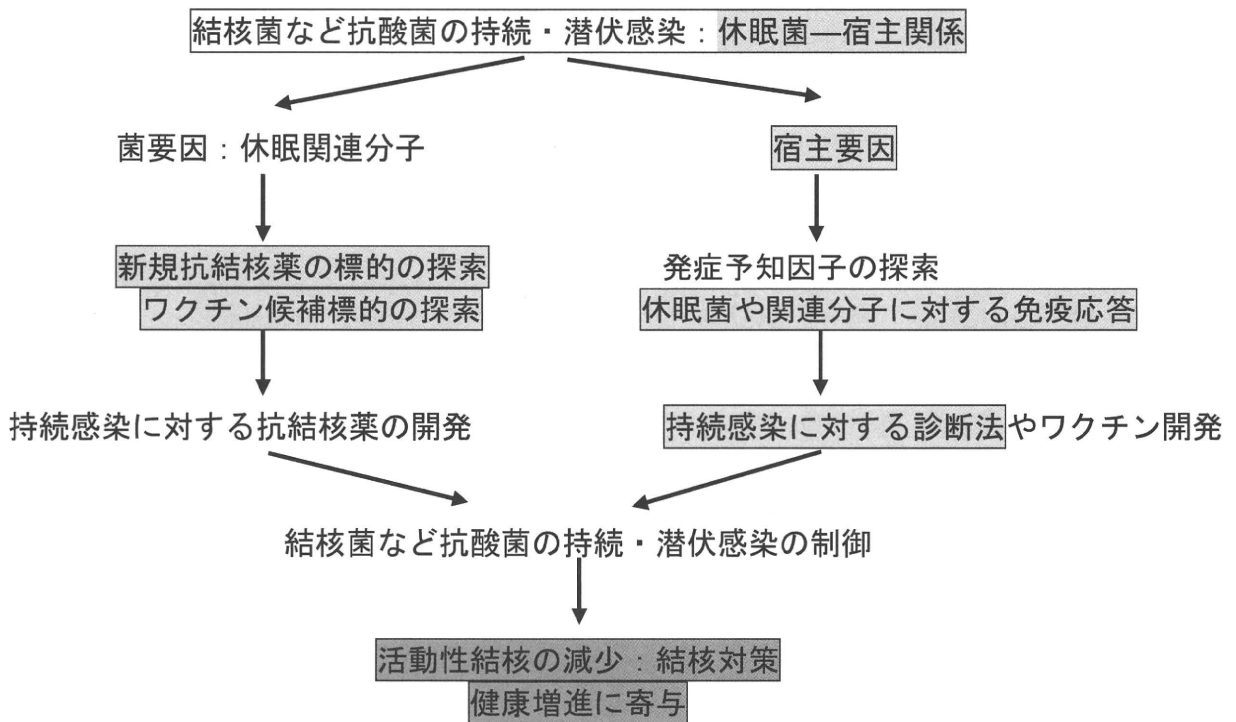
・研究分担者 (前倉 亮治) : 3 年間発表論文総計、2 編

1. **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.

・研究分担者 (北田 清悟) : 3 年間発表論文総計、2 編

1. **Kitada, S., K. Kobayashi**, Y. Nishiuchi, K. Fushitani, K. Yoshimura, Y. Tateishi, K. Miki, M. Miki, H. Hashimoto, M. Motone, T. Fujikawa, T. Hiraga, and **R. Maekura**. 2010. Serodiagnosis of pulmonary disease due to *Mycobacterium avium* complex proven by bronchial wash culture. Chest 138: 236-237.

**Ⅶ. Ⅲ(3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抗微生物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・潜伏感染からの内因性再燃に起因（約70%）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。

3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」

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）」

MAC感染症の血清迅速・簡便診断キット（所要時間：約3時間、従来の複数回培養による所要時間：約2か月であり大幅短縮）を開発し、活動性MAC感染症の診断に有用（感度：84%、特異度：100%、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）を対象として血清診断キットの有用性（感度：77%、特異度：94%）を確認した。また、気管支内視鏡的に診断された肺MAC感染症における血清診断の感度：79%、特異度：96%であり、迅速診断キットの臨床的有用性を証明した。MAC感染症迅速免疫診断キット（キャピリアMAC抗体-ELISA、株式会社タウンズ）の製造販売が承認され、保険点数（120点）が収載され、保険医



療として認められた。

休眠結核菌が高発現する抗酸菌DNA結合蛋白質1 (MDP1) を抗原とし、血清抗MDP1抗体価を検索した結果、陳旧性や治癒後 (潜在性) 結核患者で、活動性結核や健常者に比し、有意に高値を示した。今後、症例を増やし、臨床診断学的有用性を検証する予定である。

### 3) 新規抗結核薬の標的の探索

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試験管内休眠菌に有効であることを示した。OPC-67683の詳細な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。今後、潜在性抗酸菌感染の動物実験モデルを確立し、生体内における有用性を検証する。

### 4) ワクチン候補標的の探索

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、抗酸菌休眠→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。今後、潜在性抗酸菌感染の動物実験モデルを確立し、効果を検証する。

## ●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. Yuki, N., Y. Takahashi, T. Ihara, S. Ito, T. Nakajima, K. Funakoshi, K. Furukawa, **K. Kobayashi**, and M. Odaka. 2010. Lack of antibody response to Guillain-Barre syndrome-related gangliosides in mice and men after novel flu vaccination. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* In press.
2. Tomizawa, K., T. Nagao, R. Kusunoki, K. Saiga, M. Oshima, **K. Kobayashi**, T. Nakayama, M. Tanokura, and K. Suzuki. 2010. Reduction of MPO-ANCA epitopes in SCG/Kj mice by 15-deoxyspergualin treatment restricted by IgG2b associated with crescentic glomerulonephritis. *Rheumatology* 49: 1245-1256.
3. **Sena, C.B.C., T. Fukuda, K. Miyanagi, S. Matsumoto, K. Kobayashi, Y. Murakami, Y. Maeda, T. Kinoshita, and Y.S. Morita.** 2010. **Controlled expression of branch-forming mannosyltransferase is critical for mycobacterial lipoarabinomannan biosynthesis.** *J. Biol. Chem.* 285: 13326-13336.
4. Ikebe, T., M. Ato, T. Matsumura, H. Hasegawa, T. Sata, **K. Kobayashi**, and H. Watanabe. 2010. Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates. *PLoS Pathog.* 6: e1000832.
5. **Kitada, S., K. Kobayashi, Y. Nishiuchi, K. Fushitani, K. Yoshimura, Y. Tateishi, K. Miki, M. Miki, H. Hashimoto, M. Motone, T. Fujikawa, T. Hiraga, and R. Maekura.** 2010. **Serodiagnosis of pulmonary disease due to Mycobacterium avium complex proven by bronchial wash culture.** *Chest* 138: 236-237.
6. Ozeki Y., I. Sugawara, T. Udagawa, T. Aoki, M. Osada-Oka, Y. Tateishi, H. Hisaeda, Y. Nishiuchi, N. Harada, **K. Kobayashi**, and **S. Matsumoto.** 2010. Transient role of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in mycobacterial infection in mice. *Int. Immunol.* 22: 179-189.

7. **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.***
8. **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.***
9. 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.*
10. 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.*
11. 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<sup>+</sup> 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.*
12. **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***
13. **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.***
14. **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.***
15. 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.*
16. 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.*
17. 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.*
18. 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.*
19. 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.*
20. 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.*
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. Fujiwara, N., and **K. Kobayashi**. 2005. Macrophages in inflammation. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy* 4: 281-286.
25. 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.
26. 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.
27. 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.
28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. **Kobayashi, K.**, K. Kaneda, and T. Kasama. 2001. The immunopathogenesis of delayed-type hypersensitivity. *Microsc. Res. Tech.* 53: 241-245.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. 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.

・平成 23 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

潜在性抗酸菌感染症の病態機構の解明及び診断・治療・予防に関する研究 (23210801)

(研究代表者：国立感染症研究所免疫部 小林 和夫)

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業-発表会-013111 #1/14

### 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



NIID KK-Immunol-NIID

### 研究班の構成 #2/14

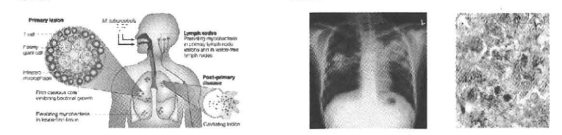
研究者氏名	区分	所属
小林 和夫	研究代表者	国立感染症研究所免疫部
岡部 真裕子	研究協力者	国立感染症研究所免疫部
大西 和夫	研究協力者	国立感染症研究所免疫部
阿戸 学	研究協力者	国立感染症研究所免疫部
松本 壮吉	研究分担者	大阪市立大学大学院医学研究科細菌学
杉田 昌彦	研究分担者	京都大学ウイルス研究所細胞制御研究分野
宮本 友司	研究分担者	国立感染症研究所ハンセン病研究センター-感染制御部
小出 幸夫	研究分担者	浜松医科大学感染症学
前倉 亮治	研究分担者	国立病院機構刀根山病院
北田 清悟	研究分担者	国立病院機構刀根山病院呼吸器内科
大原 直也	研究協力者	岡山大学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・膠原病内科学

NIID KK-Immunol-NIID

### 潜在性結核菌感染 (90%) 活動性肺結核 (10%) #3/14

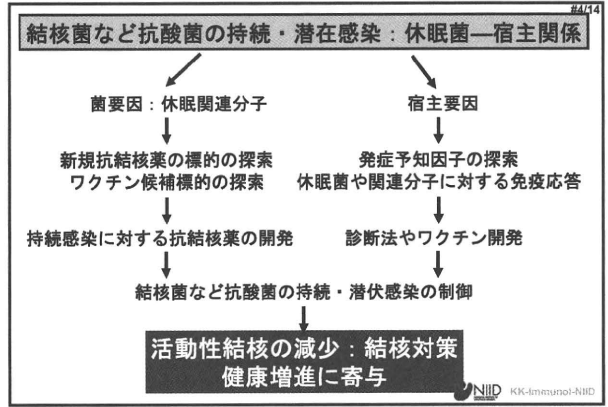
- 世界：20億人、日本：0.25億人
- TSTやIGRA (QFT) 陽性
- 胸部X線：著変なし
- 呼吸器症状：なし
- 喀痰検査：陰性、無症候性結核菌感染

- 世界：927万人、日本：2.4万人/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：咳嗽、喀痰・血痰など
- 喀痰検査：塗抹や遺伝子増幅・培養陽性



潜在性感染 → 内因性再燃 → 活動性結核

NIID KK-Immunol-NIID



### 休眠期発現蛋白質による持続性潜在結核菌感染を検出する診断法の開発 #5/14

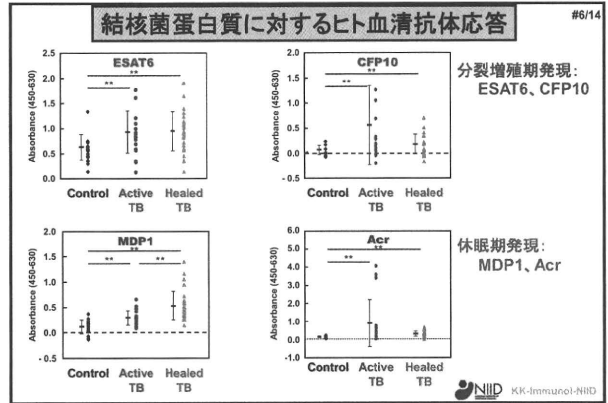
方法：酵素抗体法 (EIA) による血清IgG抗体検出

抗原：増殖期に発現が増大する結核菌蛋白質：ESAT6, CFP10, Antigen 85A, Antigen 85B  
休眠期に発現が増大する結核菌蛋白質：MDP1, Acr, HBHA, HrpA

DNA Microarray解析  
休眠期 < 増殖期 休眠期 > 増殖期  
1,239 929

血清：健康対象者：大阪市立大学医学部・学生 (n=17)  
活動性肺結核患者：NHO刀根山病院ならびに大阪社会医療センターの結核患者 (n=18)  
治療後陈旧性 (潜在性) 肺結核：NHO刀根山病院の結核治療歴のある患者 (n=31)

NIID KK-Immunol-NIID





## 研究成果の総括

#13/14

### ・基礎研究：

- 低酸素休眠期抗酸菌に発現する遺伝子群を網羅的解析（DNAマイクロアレイ）・同定し、休眠期発現蛋白質抗原を精製した。
- 休眠期結核菌が発現する遺伝子群及び再活性化に関する遺伝子の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。
- MAC細胞壁糖ペプチド脂質（GPL）生合成の制御を解明した。

### ・橋渡し研究：

- 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臨床評価を実施した。
- MAC-GPLを抗原とした血清診断キットは国内外・多民族における活動性MAC感染症の診断に有用であった。
- 活動性MAC感染症に関し、MAC-GPL診断キット（酵素抗体法）の体外診断用医薬品製造販売が承認された（保険点数：120点）。

 NIID KK-Immuno@NIID

## 今後の課題

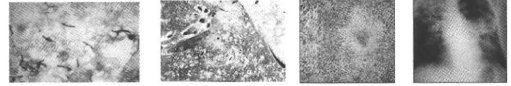
#14/14

### ・基礎研究：

- 持続・潜在性抗酸菌感染の小動物実験モデルの確立
- 休眠期抗酸菌の発現遺伝子・分子の解析
- 休眠関連分子に対する宿主免疫応答の解析
- 休眠関連遺伝子・分子を用い、ワクチン候補を探索
- 潜在性MAC感染における遺伝子・分子制御の解明

### ・橋渡し研究：

- 潜在性結核菌・MAC感染者（50症例）を登録し、新規診断抗原による免疫診断法（抗体および細胞性免疫）を開発
- 肺MAC感染症の診断指針（ATS-IDSA）にGPL抗体検査を適用
- 潜在性や肺外MAC感染症におけるMAC-GPL診断キットの有用性
- 免疫不全や関節リウマチ患者における潜在抗酸菌感染の免疫診断



 NIID KK-Immuno@NIID

研究課題：罹患構造の変化に対応した結核対策の構築に関する研究

課題番号：H20-新興-一般-011

予定期間：H20 年度から H22 年度まで

研究代表者：石川信克

所属研究機関：公益財団法人結核予防会結核研究所

所属部局：(申請時空欄)

職名：所長

年次別研究費(交付決定額)：

1 年目 50,700,000 円 2 年目 45,630,000 円 3 年目 36,504,000 円 計 132,834,000 円

## I. 研究の意義

本邦の結核対策研究は本研究代表らによる研究を除き殆ど行われていない。今後の日本での結核低蔓延化によって起こる罹患構造の変化に対応した有効かつ効果的な結核対策を、患者/菌/医療/行政の多面的観点から考察し、新たに提言を行った。

## II. 研究の目的、期待される成果

医療・対策評価と実施体制整備・リスク集団対策・病原体サーベイランス体制の運用確立をめざした研究を行っており、今後のわが国での結核対策構築および厚生労働行政に直接に寄与する成果が得られると期待される。

## III. 3 年間の研究成果

・本研究の成果は、個別および全体としてさまざまな形で公衆衛生審議会等の資料として提出されている。

・研究代表者(石川信克)：①研究全体の総括調整を行い、国内結核専門家のワークショップによる「予防指針改訂のための提言」を作成、また国際結核専門家参加による日本の結核対策レビューを実施した。②社会学的研究により、結核対策・DOTS による患者・サービス提供者のエンパワメント効果を示した。

・研究分担者

(1)御手洗聡：①結核研究所結核菌検査・保管施設を活用し日本国内標準 VNTR 法開発・国内 XDR 調査・Rifabutin の評価・日本国内 *M. bovis* 感染の頻度解析・新規検査キットの精度評価等を実施。②精度管理用標準株を用いて検査施設の薬剤感受性検査のパネルテストを実施。③病原体サーベイランスに重要な菌株保存のために多剤耐性結核菌の受け入れ保管を行った。④衛生検査所・検査センターの協力下で、代表性のある薬剤耐性サーベイランス手法開発を行った。

(2)岡田全司(坂谷光則)：①国立病院機構呼吸器疾患研究ネットワーク施設を活用した薬剤感受性結核菌の遺伝子タイピングを行い、東京大阪間を含む広域地域に分布する共通菌株の存在を明らかにした。②結核菌送付・感受性検査に関する調査を行って実態を明らかにした。

(3)阿彦忠之：①国内低蔓延地域(山形県)における最近の結核患者の詳細な分析の結果、高齢者での外来性再感染発病事例の遍在・超高齢者や危険因子を有する者への偏在化・入院中や介護保健サービス利用中の結核診断例の増加等を明らかにし、低蔓延状況下での早期発見策・患者の QOL を重視した日本版 DOTs 戦略見直し・院内施設内感染予防に役立つ方策等を提案した。②全国保健所で指針として使用される「結核の接触者健診の手引き」を作成し3度の改訂を行った。

(4)伊藤邦彦：①全国調査により治療中断者の中断要因を明らかにした。②モデル病床全国実態調査を行い運営上の問題点を明らかにした。③米国における結核医療の一般病院移行や、治療非協力者に対する法的強制力に関する文献レビューを行い本邦制度構築の際の基礎資料とした。④結核医療の質測定のための QI (Quality indicator) 開発の基礎的検討を行った。

(5)重藤えり子：①全国調査により合併症治療が可能な病床の不足を明らかにした。②検査・治療体制の問題点、特に多剤耐性結核治療に必要な薬剤確保の問題点を示した。③結核専門病院と保健所を軸にした一般医療機関との地域連携パスを作成しその有用性を実証し全国で使用可能な連携モデルを示した。

(6)大森正子：①結核疫学サーベイランスのあり方に関する研究を行い薬剤感受性サーベイランス



等における精度向上策の具体的モデルを示した。②全国保健所からの情報を分析し次期結核疫学サーベイランスへの具体的提案を行った。③結核対策に不可欠なサーベイランス情報を分析された形で現場へ還元するモデルを示した。

(7) 吉山崇：①自治体の結核対策改善のためのツールとして結核対策外部評価手法を開発し、諸自治体に適用し自治体間の対策状況の格差を明らかにした。

(8) 加藤誠也：①ノルウェー及び米国のニューヨーク市とニュージャージー州の視察及びヨーロッパの結核対策会議の参加により、低蔓延下での医療提供体制・現場における患者支援・医療の質の確保・新入国者対策・入院勧告に従わない患者への対策・病原体サーベイランス体制整備等に関する情報を収集し、わが国の結核対策に役立つ提言を行った。

(9) 下内昭：①吉山による自治体の結核対策外部評価を元にその後再評価を行い対策の質向上を確認した。これをもとに各自治体での対策の質向上のための手法を示し、他地域に適用しその有用性を検討中。

(10) 吉田英樹(下内 昭)：①ホームレスの結核健診・治療支援により、リスク集団検診および治療支援策の具体的モデルを示した。②ホームレス結核患者の分子疫学分析により「新興型北京株」結核菌が直近の感染発症につながるケースが多いこと、多発性大規模感染株が存在していることを明らかにし、都市リスク集団での未発見の感染の場が存在する可能性を示した。④接触者健診にツベルクリン反応検査およびクオンティフェロン検査両者を用い、初発患者の病変の進行度や排菌量・咳症状の期間・接触時間・接触場所の空間床面積などの要因に関する分析を行うことで、阿彦らによる「結核の接触者健診の手引き」に実証的根拠を与えた。

#### IV. 今後考えられる新たな課題

低蔓延下の結核対策に必須と考えられている、全国的な広域連携網の構築による結核菌分子疫学調査を含めた、病原体サーベイランス・薬剤耐性サーベイランスの実用化が急務である。またこれらによりリスク集団を中心とした感染の場を明らかにする必要がある。診療面では具体的な診療の質指標の開発や一般病院での合併症結核患者医療における具体的モデルの提示と試行が、サーベイランスでは次期 web 化サーベイランスシステムに向けた見直しが、必要である。対策面では、結核対策の見直しが随時行なわれている欧米諸国からの情報収集が重要であり、各自治体の結核対策の強化に向けた方策のより具体的なモデル提示と試行が望まれる。社会学的側面では結核対策の双方向エンパワメント効果についてより詳細に研究することも必要である。

#### V. 行政施策への貢献の可能性

今後の低蔓延下での結核対策構築、およびこれに不可欠な結核病原体サーベイランスの構築に向け、実際の検討・様々な提案・制度構築の基礎資料となるデータの発表が多数なされ、今後の結核対策に直接寄与し得る。

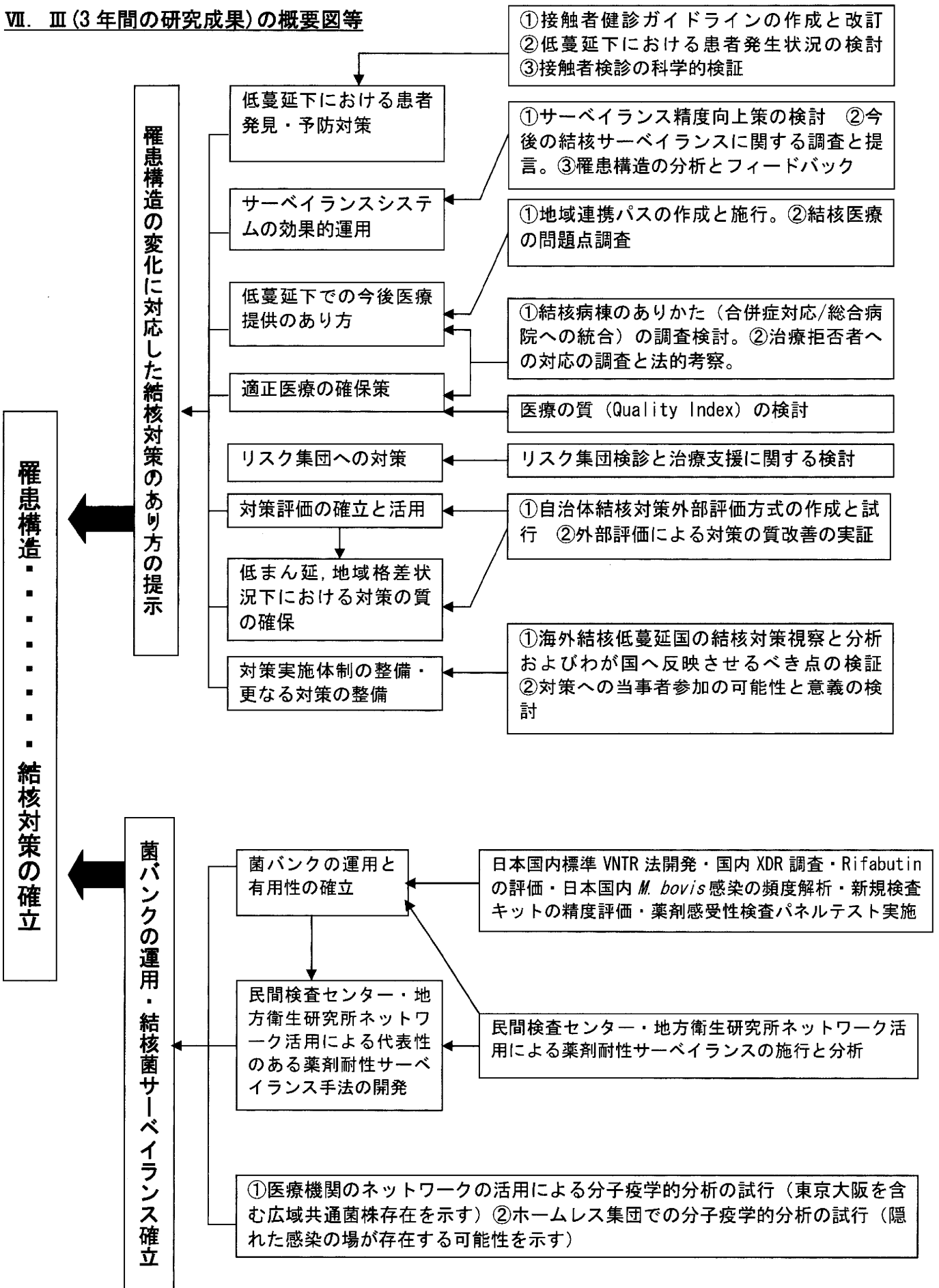
#### VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

**研究代表者(石川信克)**：①石川信克：わが国の結核対策の現状と課題〈3〉『世界、日本の結核の疫学と課題』：日本公衆衛生雑誌 55(11)：791-794, 2008. ②石川信克. 社会的弱者の結核. 結核 2009;84:545-550. ③Jacob Kumaresan, Amit Prasad, Ala Alwan, and Nobukatsu Ishikawa. Promoting Health Equity in Cities Through Evidence-Based Action. Journal of Urban Health. 2010;87:727-732

**分担研究者 御手洗聡**：①前田伸司, 御手洗聡. 結核菌の分子疫学研究の現状と課題. 公衆衛生学会雑誌 2009; 56: 48-51. ②Yamada H, Mitarai S, Chikamatsu K, Mizuno K, Yamaguchi M. Novel freeze-substitution electron microscopy provides new aspects of virulent *Mycobacterium tuberculosis* with visualization of the outer membrane and satisfying biosafety requirements. J Microbiol Methods. 2009 Sep 29. [Epub ahead of print]. ③Ando H, Mitarai S, Kondo Y, Suetake T, Sekiguchi JI, Kato S, Mori T, Kirikae T. Pyrazinamide resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Japan. Clin Microbiol Infect. 2009 Oct 14. [Epub ahead of print]. ④水野和重, 近松絹代, 青野昭男, 東 由桂, 山田博之, 御手洗聡. 発光ダイオードを使用した蛍光顕微鏡による抗酸菌塗抹検査精度. 結核 2009; 84: 627-628. ⑤近松絹代, 水野和重, 山田博之, 御手洗聡. 多剤耐性結核菌における Rifampicin と Rifabutin の交差耐性の検討. 結核 2009; 84: 631-633. **岡田全司(坂谷光則)**：①松本智成, 阿野裕美, 露口一成, 鈴木克洋, 岡田全

司, 阿部聖裕, 西村一孝, 田尾義昭, 村上一生, 豊田恵美子, 中島由槻, 四元秀毅, 坂谷光則. : 国立病院機構呼吸器ネットワークを利用した薬剤感受性結核菌の VNTR 解析. 実験結核. 80;29-30, 2010. ②松本智成, 阿野裕美, 岡田全司, 鈴木克洋, 露口一成, 喜多洋子, 金丸典子, 阿部聖裕, 西村一孝, 田尾義昭, 村上一生, 豊田恵美子, 中島由槻, 四元秀毅, 坂谷光則. : 国立病院機構呼吸器ネットワークを利用し入手した薬剤感受性結核菌の VNTR 解析. 結核. 2010;85(4):410. ③松本智成, 阿野裕美, 露口一成, 鈴木克洋, 岡田全司, 阿部聖裕, 西村一孝, 田尾義昭, 村上一生, 豊田恵美子, 中島由槻, 四元秀毅, 坂谷光則. 大阪・東京・宇部・愛媛における薬剤感受性結核菌の分子疫学解析. 実験結核 2009; 79, 24-26. ④Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Tomita M, Okada M, Sakatani M. : Evaluation of the Inno-Lipa Mycobacteria v2 for Mycobacterial identification, Kekkaku 2009; 84: 15-21. ⑤豊田恵美子, 川辺芳子, 四元秀毅, 坂谷光則, 露口一成, 前倉亮治, 藤川健弥, 高嶋哲也, 小川賢二, 吉山崇, 杉江琢美. : 多剤および超薬剤耐性結核の全国調査 (2006年). 結核 2008, 87: 773-777. ⑥Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M. : Evaluation of the discrepant Mycobacterium tuberculosis strains between any ordinary susceptibility testing and rpoB gene analysis by the line probe assay. Kekkaku. 83:577-583. 2008. ⑦Tomita M, Takeno H, Yoshida S, Suzuki K, Sakatani M. : Comparison of BBL Mycoprep and 2%NaOH decontamination procedures for MGIT. Kekkaku. 2008;83(6):471-3. 阿彦忠之 : ①阿彦忠之, 森亨, 石川信克 : 感染症法に基づく結核の接触者健康診断の手引きとその解説 (平成 22 年改訂版), 結核予防会, 2010 年 11 月発行. ②阿彦忠之 : わが国の結核対策の現状と課題~「結核対策における都道府県, 保健所の役割と課題」. 日本公衆衛生雑誌 2008 ; 55 : 848-852. ③阿彦忠之 : 多職種からなる地域連携の輪~「日本版 DOTS」の新たな基本要素としての提案. 保健師・看護師の結核展望 2010 ; 95 : 8-12. 伊藤邦彦 : ①伊藤邦彦. 治療に非協力的な結核患者への法的強制力. 結核 (印刷中). ②伊藤邦彦. 米国における結核医療の総合病院への統合. 結核, 2010 ; 85 : 615-630. ③伊藤邦彦, 吉山崇, 加藤誠也他. アンケート調査に基づく結核患者収容モデル病床の運営上の問題点. 結核, 2009 ; 84 : 9 - 14. ④伊藤邦彦, 吉山崇, 永田容子他. 結核治療中断を防ぐために何が必要か? 結核, 2008 ; 83 : 621-628. 重藤えり子 : ①結核治療におけるフルオロキノロン剤及びその他の保険適応外薬剤使用の現状—アンケート調査より. 結核, 85 : 757-760, 2010. ②薬剤耐性結核の医療に関する提言 (重藤を中心に日本結核病学会で作成中). ③感染症法の下での結核治療困難者への対応—アンケート調査から. (結核投稿中). 大森正子 : ①大森正子, 吉山崇, 石川信克 : 日本の結核蔓延に関する将来予測. 結核 Vol. 83, No. 4; 365-377, 2008. ②長嶺路子, 大森正子, 永井恵, 深澤啓治, 神楽岡澄, 辰己由里子, 大角晃弘, 村瀬良朗, 和田雅子, 内村和広, 山田紀男, 前田伸司, 前田秀雄, 石川信克 : 新宿区内の全結核患者に対する IS6110RFLP 分析の実施と評価—接触者健診への応用の可能性について—. 結核 Vol. 83, No. 4; 379-386, 2008. ③星野齊之, 大森正子, 内村和広・山内祐子 : 高齢者結核の疫学的検討. 結核 Vol. 83, No. 5; 423-429, 2008. ④神楽岡澄, 大森正子, 高尾良子, 山田万里, 室井雅子, 長嶺路子, 深澤啓治, 永井恵, 和田雅子, 星野齊之, 吉山崇, 前田秀雄, 石川信克 : 新宿区保健所における結核対策—DOTS事業の推進と成果—. 結核 Vol. 83, No. 9; 611-620, 2008. ⑤大森正子 : 第 83 回総会教育講演 II. 結核サーベイランスを用いた対策評価. 結核 Vol. 83, No. 12; 811-820, 2008. ⑥大森正子 : わが国の結核対策の現状と課題 (11) 「結核の発生動向調査—これまでとこれから」. 日本公衛誌 56: 530-534. 2009. ⑦~⑩疫学情報センター : 結核年報 2008 Series 1 ~ 10. 結核 84: 693-696, 743-746, 795-798. (以上 2009), 結核 85: 61-64, 139-142, 213-216, 495-498, 561-564, 643-646, 683-686, (以上 2010). ⑪山田万里, 大森正子, 神楽岡澄, 高尾良子, 佐藤和央, 福内恵子 : 新宿区保健所におけるリスクアセスメント表を用いた服薬支援. 結核 85; 69-78, (以上 2010). 加藤誠也 : ①加藤誠也. 低蔓延時代の結核対策の保健・医療組織と人材育成の課題. 日本公衆衛生学会雑誌 2009; 56 (7): 481- 484. ②加藤誠也, 高鳥毛敏雄, 伊藤邦彦, 成田友代, 吉田道彦, 御手洗聡. 低蔓延下に向けた結核対策のあり方. 結核 2009; 84: 91-94. 下内昭 : ①滋賀県外国人結核対策ガイドライン (作成準備中).

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

- ・結核予防会結核研究所（1967-現在）
- ・東京大学医学部公衆衛生学教室（非常勤講師：1986-2007）
- ・London School of Hygiene and Tropical Medicine（1974-76）

### ・主な共同研究者（又は指導を受けた研究者）

- ・岩崎龍郎（故人：元結核予防会結核研究所所長）、島尾忠男（元結核予防会結核研究所所長、現エイズ予防財団会長）、青木正和（元結核予防会結核研究所所長、現同会会長）、森亨（結核予防会結核研究所名誉所長）
- ・J. N. Morris (LSHTM、ロンドン大教授 1974-76), Ian Sutherland (BMRC 医学統計ユニット長 1974-76)
- ・Kenneth Casstro (米 CDC 結核制圧課長)
- ・Lee Reichman (米ニュージャージー大教授国家結核センター長)
- ・Martin Schweiger (英 HPALeeds 地区感染症専門官)
- ・Donald Enarson (IUATLD 研究部長 1990-現在)
- ・Mustaque Chawdhry (バングラデシュ BRAC 大学公衆衛生学教授 1990-現在)
- ・Akramul Islam (バングラデシュ BRAC 結核対策部長、1984-現在)
- ・Jacob Kumaresan (元 WHOHQ 結核部、現 WHO 神戸センター長 2000 年～現在)
- ・小野崎郁史 (WHOHQ StopTB 部医官 2007～現在)

### ・主な研究課題

- ・結核病学（結核の疫学及び対策）
- ・国際保健学（住民参加と地域 DOTS）

### ・これまでの研究実績

1) O Jacob Kumaresan, Amit Prasad, Ala Alwan, and Nobukatsu Ishikawa. *Promoting Health Equity in Cities Through Evidence-Based Action. Journal of Urban Health. 2010;87:727-732.*

2) R Zachariah, K Tayler-Smith, J Ngamvithayapong-Yanai, M Ota, K Murakami, A Ohkado, N Yamada, W Van Den Boogaard, B Draguez, N Ishikawa, AD Harries. The published research paper: is it an important indicator of successful operational research at programme level? *Tropical Medicine and International Health. 2010;15:1274-1277.*

3) Ohkado A, Pevzner E, Sugiyama T, Murakami K, Yamada N, Cavanaugh S, Ishikawa N, Harries AD. Evaluation of an international training course to build programmatic capacity for tuberculosis control. *Int J Tuberc and Lung Dis. 2010;14:371-373.*

4) 石川信克：社会的弱者の結核—人間の安全保障の視点から 結核. 2009;84:545-550,

5) 石川信克：世界の結核の現状と日本の役割. 日本胸部臨床 2009; 68:389-394,

6) Rony Zachariah, Anthony D Harries, Nobukatsu Ishikawa, et al.: *Operational Research in Low-income Countries: What, Why, and How? : Lancet. 2009; 9:711-717.*

7) 石川信克：わが国の結核対策の現状と課題〈3〉『世界、日本の結核の疫学と課題』：日本公衆衛生雑誌 55(11)：791-794, 2008

8) Ngamvithayapong-Yanai J., Ishikawa N.: The role of social science research in reducing the burden of tuberculosis in high HIV prevalence settings: *Tropical Medicine and Health* 34(1), 7-13, 2006.

9) 石川信克：公衆衛生の及びにくい人々の結核対策：公衆衛生 70(2)：96-100, 2006

10) Ohkado A., Williams G., Ishikawa N. et al.: The management for tuberculosis control in Greater London in comparison with that in Osaka City: lessons for improvement of TB control Management in Osaka City urban setting. *Health Policy* 73, 104-123, 2005

11) 石川信克：世界の結核問題にいかに関わるべきか—国際協力の課題と実践—：結核 80(2)：89-94, 2005

12) Islam M. A. : Wakai S., Ishikawa N., et al.: Cost-effectiveness of community health workers in tuberculosis control in Bangladesh: *Bull. World. Health Org.* 80 : 445-450, 2002