

VII. 概要図：アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

目的：

- 1) アジアの CDC (疾病制御センター) 様機能を持つ研究機関と感染研との連携強化を図る。
- 2) アジアで流行している新興感染症 (細菌性疾患；新型コレラ、新型腸炎ビブリオ、その他の腸管感染症。ウイルス性疾患；デング熱、麻疹、風疹、狂犬病、新型インフルエンザ。原虫；マラリアを対象) の正確な情報を得るためのゲノムに基づいた検査法の基盤を構築する。検査法の標準化、精度管理およびゲノム情報に基づいたデータベース化を推進する
- 3) 病原体伝播の迅速把握および阻止に役立てることができる

モデルケース；細菌、ウイルス、原虫等の対象病原体を選出し対応：

細菌 (アジアで流行しているコレラ、腸チフス等の下痢性疾患)

ウイルス (アジアで問題となっているデング熱、狂犬病、インフルエンザ、麻疹等を対象)

原虫 (マラリアを対象)

方法：

- ・ Asia-Pacific (中国、韓国、ベトナム、タイ、インドネシア、フィリピン、マレーシア、インド、バングラデシュ、オーストラリア、ニュージーランド、米国等を中心に) の CDC 様の国立の感染症研究機関との連携
- ・ ゲノムの多様性解析；各国で分離される病原体のゲノム構造を塩基配列に基づいて解析し、データベースの構築を行う (各国の機関に委託研究費を出し、各国の病原体解析を促進させる)
- ・ 迅速診断法の開発；ゲノムの多様性を利用して、迅速検出法の開発を行う (国内研究機関が中心に行う)
- ・ アジア諸国へ解析法、診断法の技術伝達、および精度管理、研修を行う (国内研究機関が中心に行う)

研究成果：

- ・ アジア (韓国、中国、台湾、ベトナム、マレーシア、フィリピン、タイ、バングラデシュ、インド、オーストラリア、ニュージーランド) および米国 CDC 等の国立の感染症研究所との連携を図り、コレラ菌等の腸管系細菌のゲノム情報 (PFGE) に基づくデータベース化およびそのネットワーク (Pulse-Net) の構築を行った
- ・ デングウイルスおよびチクングニヤウイルスの NS1 抗原 ELISA の開発、診断技術を実施した。また、検査法に関する情報をタイ NIH に提供し、タイ南部に侵入したチクングニヤ熱診断に寄与した。
- ・ 狂犬病の簡易・迅速遺伝子検出を可能とする RT-LAMP 法、迅速抗原検出法「DRIT 法 (a direct, rapid immunohistochemical test)」を確立して、フィリピンで流行している野外の狂犬病ウイルス株に対して検出感度の検証を行った
- ・ ブタインフルエンザウイルス由来の新型 A/H1N1 ウイルスの PCR 高感度診断系を開発し、そのマニュアルをアジア周辺諸国へ提供した。
- ・ アジア・アフリカのマラリア浸淫地から得られた熱帯熱マラリア原虫集団の遺伝的多様性とその分布の定量的解析を行った。各地域において遺伝的多様性は大きく異なり、マラリア獲得免疫やワクチン効果は一様には現れないことが示唆された。

行政施策への貢献の可能性

アジア諸国とサーベイランス、感染診断検査で協力、連携を強化することにより、輸入感染症への国内対策ばかりではなく WHO あるいは ASEAN+3EID 等に対して日本としての国際貢献ができる。

・過去に所属した研究機関の履歴 (研究代表者：渡邊治雄)

- 1975-1980 群馬大学医学部医学科博士課程修了 (医学博士)
 1980-1985 国立公衆衛生院衛生微生物学部研究員
 1985-1988 国立予防衛生研究所 (現：国立感染症研究所) 細菌部第二室室長
 1988- 2004 同研究所 細菌第一部部長
 2004- 2009 同副所長 (細菌第一部部長併任)
 2010- 現在 同所長

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

三橋進、橋本一 群馬大学教授, K. N. Timmis' ジュネーブ大学教授, G. Nair インド国立コレラ感染症研究所所長

・主な研究課題

- 1) 腸内細菌のゲノムの多様性に基づいた分子疫学的手法の開発
- 2) 赤痢菌の細胞侵入性の分子メカニズムの解析；宿主細胞との相互作用
- 3) 腸管出血性大腸菌の病原性遺伝子の発現調節機構の解明とその制御法の開発

・主な受賞歴：昭和 61 年 3 月 日本細菌学会黒屋奨学賞；平成 11 年 4 月日本感染症学会二木賞；
 平成 17 年 10 月小島三郎記念文化賞；平成 22 年 3 月 日本細菌学会浅川賞

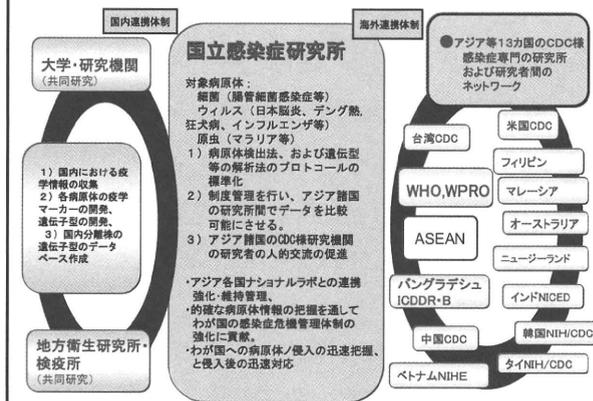
・これまでの研究実績：(今までの英文原著論文数 306 編)

- 1) Yamamoto S, Morita M, Izumiya H, Watanabe H. Chitin disaccharide (GlcNAc)₂ induces natural competence in *Vibrio cholerae* through transcriptional and translational activation of a positive regulatory gene *tfoXVC*. *Gene*. 457:42-49. 2010.
- 2) Tadayoshi Ikebe, Manabu Ato, Takayuki Matsumura, Hideki Hasegawa, Tetsutaro Sata, Kazuo Kobayashi, and Haruo Watanabe. Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates. *PloS Pathogens*. 6:issue 4. e1000832. 2010.
- 3) Naoko Honda, Sunao Iyoda, Shouji Yamamoto, Jun Terajima and Haruo Watanabe. LrhA positively controls the expression of the locus of enterocyte effacement genes in enterohemorrhagic *Escherichia coli* by differential regulation of their master regulators PchA and PchB. *Molecu. Microbiol.* 74: 1393-1411. 2009.
- 4) Ooka Tadasuke, Yoshitoshi Ogura, Md Asadulghani, Makoto Ohnishi, Keisuke Nakayama, Jun Terajima, Haruo Watanabe, Tetsuya Hayashi. Inference of the impact of insertion sequence (IS) elements on bacterial genome diversification through analysis of small-size structural polymorphisms in *Escherichia coli* O157 genomes. *Genome Research*. 19:1809-1816. 2009.
- 5) Mitobe J, Tomoko Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe. Involvement of RNA binding protein Hfq in the post-transcriptional regulation of *invE* gene expression of *Shigella sonnei*. *J. Biol. Chem.* 283:5738-5747. 2008.
- 6) Saitoh, T., Sunao Iyoda, Shouji Yamamoto, Yan Lu, Ken Shimuta, Makoto Ohnishi, Jun Terajima, and Haruo Watanabe. Transcription of enterohemolysin gene is positively regulated by GrlA, a global regulator encoded within the locus of enterocyte effacement in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 190:4822-4830. 2008.

アジアの研究機関との連携における ラボラトリーネットワークの強化に関する研究 (H20 - 新興 - 一般 - 013)

- **研究の意義**
- アジアで新興・再興感染症が発生し、わが国に侵入する可能性が高い
- アジアで分離される病原体のゲノム情報のデータベースがない
- わが国が中心となりアジアの感染症研究機関との連携を図り、病原体情報ネットワークの構築を図る必要がある

アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究



細菌関係:

パルスネット・アジアパシフィック会議

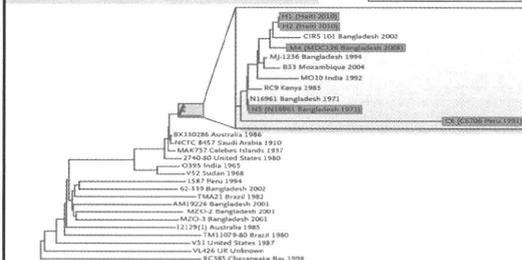
- 1) 合同会議の開催: 2009年12月 タイ、2010年12月 香港
- 2) 参加各国 (国立感染症研究所、中国CDC、韓国CDC/NIH、香港PHLC、フィリピンRITM、台湾CDC、タイNIH、マレーシアMalaya大学、ベトナムNIHE、インドNICE、バングラデシュICDDR,B、オーストラリアメルボルン大学、ニュージーランドIESR、米国CDC: 14研究機関)
- 3) PFGE解析法の標準化、精度管理に関する研究報告
- 4) PFGE解析の研修コースに関する討論
ワークショップ、香港(Public Health Laboratory Center, PHLC)、PFGE解析に関する研修
PFGE解析ソフト(BioNumerics, Applied Maths社)使用による解析及びデータベース構築に関する研修
- 5) パルスネットアジアパシフィックのWebBoard設置の報告
- 6) 新規解析法の開発、評価。MLVA、
EHEC O157のvirulent cloneの国際比較

パルスネット・アジアパシフィックの構築

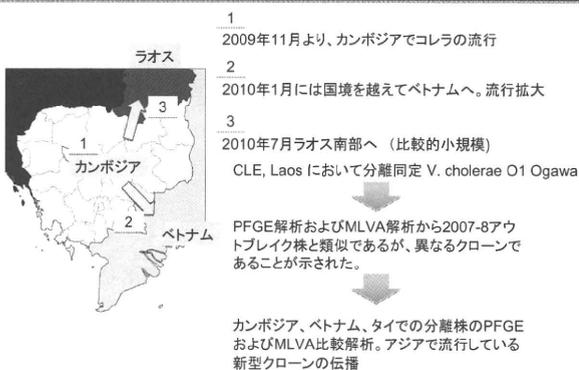


アジア地域における細菌性食中毒感染症対策に役立てる目的で、パルスネット・アジアパシフィックを構築した。

- 1) アジアの中で各国の関心はビブリオ、特にコレラ菌の伝播
- 2) 2000年頃からエルトル型コレラ菌であるが、コレラ毒素として白痢型の毒素を持つクローンが蔓延してきている。臨床所見も重症化傾向にある
- 3) ハイチで大流行を起こしているコレラ菌は、このアジアで流行しているタイプと同じであることが分かった



Cholera Outbreak in Lao PDR 2010



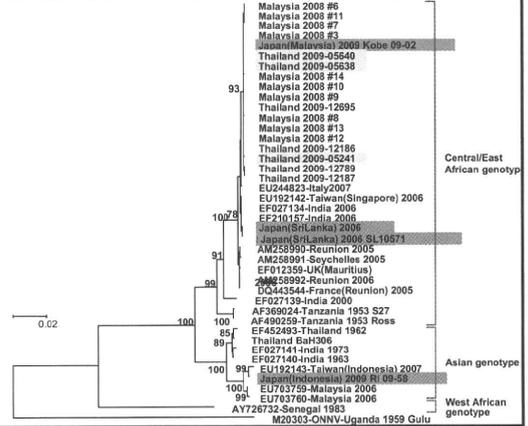
目的: デング熱、チクングニア、日本脳炎等アジアで問題となる蚊媒介性感染症につき、アジア各国の研究機関とネットワークを構築し病原体検査法の標準化を行い、分子疫学的解析や病原体情報の情報交換を促進する

- Dr. G. D. Liang (China CDC): 日本脳炎
- Dr. H. Huang (Taiwan CDC): デング熱
- Dr. Olveda (Philippines RITM): デング熱、ウイルス性出血熱
- Mrs. S. Anantapreecha (Thai NIH): デング熱、チクングニア
- Dr. K.B. Chua (Malaysia, The National Public Health Lab): デング熱、チクングニア
- Dr. M. Sudiro (Univ. Indonesia): デング熱

Contribution to WHO as JE-GSL

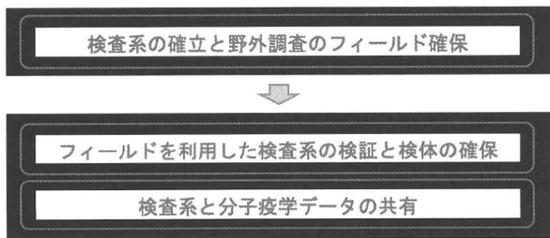
1. JE IgM captured ELISAを用意し米国CDCからも高い評価を得た。
2. IgM Ab coated plateを作製し、米国CDC、ベトナムNIHEに評価を依頼した。
3. JE IgM captured ELISA 用HRP標識2次抗体を作製した。
4. FRNT (Focus Reduction Neutralization Test)による中和抗体測定技術を中国CDCに技術移転した。
5. WHO西太平洋事務局主催の日本脳炎実験室診断トレーニングコースをサポートした。

タイ患者血清より分離されたチクングニヤウイルス遺伝子配列の統計学的解析



アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

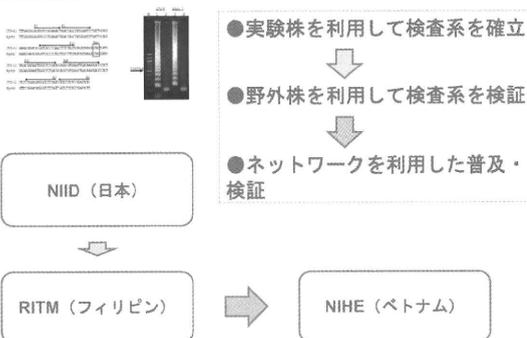
● ウイルス班 - 狂犬病



— 委託共同研究機関と主任研究者 —

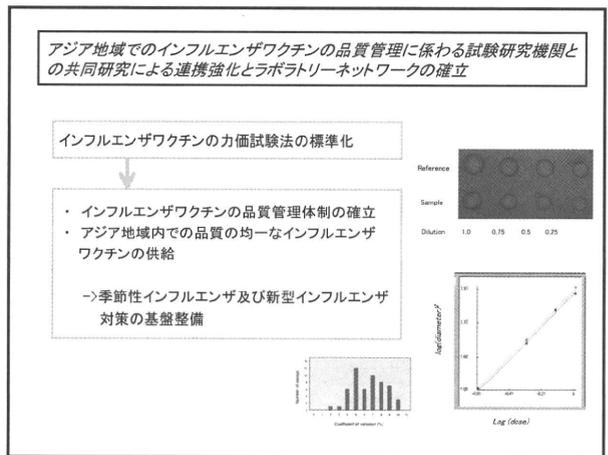
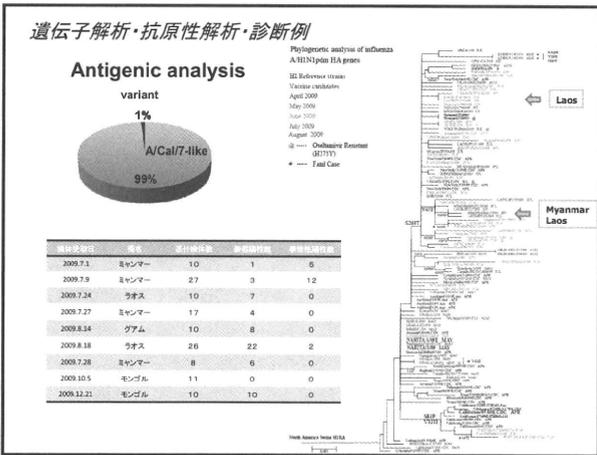
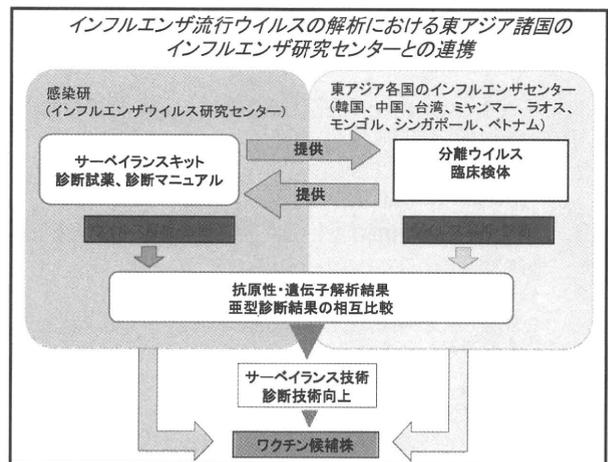
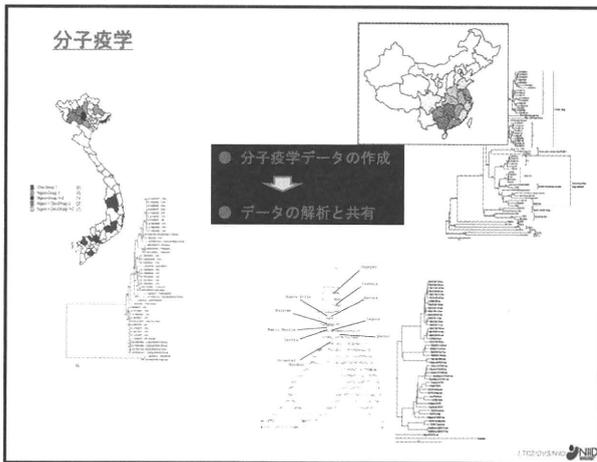
- ・ フィリピン: RITM
Dr. Beatriz P. Quiambao
(Project Chief, Rabies group)
- ・ ベトナム: NIHE
Dr. Kieu Anh
(Head of Rabies Laboratory, Dept. Virol.)
- ・ 中国: China CDC, IVDCP
Dr. Qing Tang
(Professor of Department of Encephalitis)
- ・ 韓国: NIH/KCDC
Dr. Myung Guk Han
(Deputy Scientific Director)

RT-LAMP 法



dRIT 法





目標・研究組織の構成

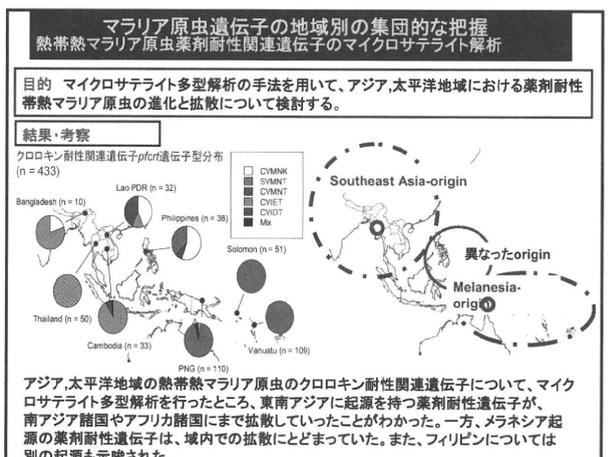
目的 アジア、太平洋地域におけるマリア原虫への動きを加速し、日本の防疫にも役立つような研究ネットワークを形成。病原体遺伝子情報の共有、検査法の開発・評価や標準化をはかる。

アジア諸国の研究機関とのネットワークの形成

三日熱マリアネットワーク会議 (2010年1月末、WPRO、SEARO、中国CDCとの共催、参加14カ国) アジア・太平洋地域におけるマリア原虫の障害となる三日熱マリアの研究と対策の促進、Asian Pacific Malaria Elimination Network (APMEN) との連携・参加

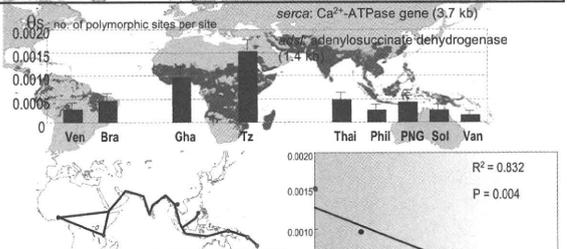
国内における研究組織の構成と課題

- マリア原虫遺伝子の地域別の集団的な把握
分担: 中野由美子 (感染研) 田邊和祐 (阪大微研), 協力: 美田敏宏 (東京女子医大)
マリア原虫遺伝子の集団的な動き、特に薬剤耐性と関連した動きを、アフリカとアジア・太平洋地域、アジア・太平洋地域における大陸部と島嶼部で比較
- マリアの新しい疫学的指標やRapid assessment手法の開発と評価
分担: 大前比呂恩 (感染研), 坪井敬文 (愛媛大) 協力: 伊藤誠 (愛知医大)
典型的な臨床症状を示さない例が多数を占めるマリア原虫 (タイとソロモン諸島) で最近の疫学的変化を把握・モニタリングできる指標やRapid assessment手法の開発と評価を行う。
- マリア原虫などの主要病原体の媒介蚊の検査法の改良
分担: 津田良夫 (感染研) 協力: 沢辺京子 (感染研), 當麻孝子 (琉球大), 比嘉良子 (長崎大)
形態学的分類と遺伝学的分類の異同を整理し、標準化する。



マラリア原虫遺伝子の地域別の集団的な把握
熱帯熱マラリア原虫遺伝的多様性の地理的分布

目的 熱帯熱マラリア原虫の *serca*, *adsl* といった遺伝子を用い、遺伝的多様性の地理分布に関する解析を行う。



結果・考察 熱帯熱マラリア原虫の遺伝的多様性は専ら東アフリカからの地理的距離によって決まり、地域毎に大きく異なるマラリア流行度、伝播度、媒介蚊の種類、過去のマラリアコントロールは原虫の遺伝的多様性にそれほど大きな影響を与えていない。

成果と今後の課題:

- 1) 開発した検査法の共有化をアジア諸国の研究機関と継続的に行う。野外で流行している株を利用した診断、検査、サーベイランス等の検証を継続する
- 2) 病原体の変化を迅速に検知するためのゲノムベースのサーベイランスの強化を図る

行政施策への貢献:

- 1) 共通の“物差し”で各国の病原体の比較解析が可能となり、各国の感染症対策に役立てられる。
- 2) アジアのCDC機能を持つ国立研究機関との相互交流は、お互いの国で発生する感染症および病原体の情報を迅速に交換し、各国レベルでの感染症制圧への協力体制を構築するために大きな貢献をする。

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：輸入感染症としての多剤耐性結核の対策・制御に関する研究

課題番号：H20-新興-一般-014

予定期間：H20 年度から H22 年度まで

研究代表者：岡田全司

所属研究機関：独立行政法人国立病院機構近畿中央胸部疾患センター

所属部局：臨床研究センター

職名：臨床研究センター長

年次別研究費(交付決定額)：

1 年目 19,000,000 円 2 年目 17,100,000 円 3 年目 18,810,000 円 計 54,910,000 円

I. 研究の意義

- (1) 近年、輸入感染症としての多剤耐性結核が問題。①日本国内への流入・蔓延防止 ②日本の外国人結核年々増加 ③費用莫大。治療困難。新結核ワクチン、治療薬必要。
- (2) 日本における外国人結核の発生と治療の実態把握及び対策・制御。
- (3) 多剤耐性結核の多数発症が日本・世界(特にアジア地域)で大問題。有効な治療法なし。
- (4) HIV、多剤耐性結核増加は DOTS 戦略変更、DOTS プラス新治療剤、ワクチン開発必要。
- (5) BCG に代わる結核ワクチンは欧米でも臨床応用に未だ至らず。BCG は成人には無効。
- (6) 多剤耐性結核菌に対する宿主側の防御機構と菌側の要因との両面からの解明が切望。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 日本における外国人結核の発生と治療実態把握及び結核の日本国内への流入・蔓延防止の成果。国際医療研・国立病院機構・保健所・結研の全国研究で早期予防・マニュアル作成の対策の成果。
- (2) 日本語学校、外国人雇用事業所で、早期発見の定期健診(QFT)を実施し、成果が期待。
- (3) アジア諸国との研究ネットワークを活用し、海外から流入する結核菌株を迅速に把握するシステム(分子疫学解析)構築。外国人結核が多い(母国)中国・韓国の結核情報で日本への結核流入防止。
- (4) 新しい結核ワクチン、新化学療法剤の開発。アジアの多剤耐性結核、XDR-TB 制御成果。
- (5) スーパー・スプレッダー(S・S)多剤耐性及び超薬剤耐性結核(XDR-TB)対策。低医療費。
- (6) 先進諸国の移民結核対策の調査により、有効な移民結核対策・制御の成果が期待。

III. 3 年間の研究成果

・研究代表者

- (1) 日本全国：岡田が調査票(外国人結核)を当班で作成し(下内、小林、豊田、星野、加藤)、全国保健所 527、結核病床を有する病院 273、合計 800 施設に送付。2006 年～2008 年の 2136 例の対象者を解析。日本における外国人結核は 20 代、国籍は中国、フィリピン、韓国の順、来日 1～3 年発症多し。多剤耐性結核は 3.8%と高頻度。INH 耐性や RFP 耐性も高率。XDR-TB も存在。学生 18%、常勤者 38.2%。HIV 合併 1.3%。患者管理上の問題として言語の壁や治療途中の帰国率が高い。(岡田)
- (2) 先進国、米国サンフランシスコの調査(公衆衛生局 Dr. Kawamura と)で外国人移民結核(特に中国から)が多く問題。ツ反から QFT 診断に変えてから外国人結核減少。(岡田)
- (3) 日本全国：結核発生動向調査を分析。外国人労働者、学生が増加し、日本人配偶者、不法在留者の人数が外国人結核患者数に影響。脱落率と転出率の高さが課題。(星野、岡田 結核 2010)
- (4) 平 20 年・21 年神戸市内結核届出患者 769 名中外国人結核 3.6%。日本語学校で集団感染あり。日本語学校での定期健診重要。(藤山、岡田)
- (5) 新結核治療ワクチン・化学療法剤：①ヒト結核感染に最も近いカニクイザルを用い、HVJ-エンベロープ/HSP65+IL-12DNA ワクチンが結核治療効果を発揮することを世界で初めて報告(Vaccine 2009、Human vaccine 2010)。XDR-TB に治療効果。このワクチンの動物実験による前臨床試験データ取得：一般毒性試験、安全性試験(中島、岡田)。(ア)前臨床試験：a.薬効薬理試験。b.安定(凍結乾燥)(イ)GMP 製造で臨床応用可能。
②新しい化学療法剤カプラザマイシンの発見とマウスで XDR-TB 治療ワクチン効果。
- (6) 結核菌殺傷蛋白 Granulysin(Gra)はキラーT 分化因子活性も有する発見。15kDa Gra(特許取得)ワクチンは結核治療効果(Human Vaccine 2010)。Gra と上記 DNA ワクチンで結核治療相乗効果。
- (7) 多剤耐性結核患者の迅速発見法(rpoB 変異)を用い、多剤耐性結核患者迅速入院法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制を構築した(鈴木、岡田等、結核 2008)。107 人に応用し、rpoB 変異を発見し、迅速入院したうちの 86%は後に多剤耐性結核が確定。

・研究分担者(小林信之)

- (1) 日本における外国人結核:国際医療研究センターの外国人結核 113名解析(2007~2010年)。結核患者全体の8.9%、20-30才、中国・韓国、入国後1年以内多し。薬剤耐性ではRFP耐性及び多剤耐性結核が2.3%で高率。治療中断例は、以前に比し少なく、通訳、パンフレット等の使用が寄与。
- (2) 外国人結核 91株の分子疫学解析を行い、26株(28.6%)が相同性の高いクラスターIを形成。VNTR、スポリゴタイピングの結果、クラスターIはすべて北京型のモダンタイプ。一方、クラスターII形成菌株はすべて非北京型。これら分子疫学解析から特定菌株の蔓延が示唆(切替)。

・研究分担者(豊田恵美子)

東京病院で過去7年87人の外国人結核。全結核の3.2%。HIV合併結核は日本人結核より多い。高蔓延国から帰国の児童(外国生まれ)も多くQFT陽性者(5.7%)多し。帰国者結核調査が重要。

・研究分担者(下内昭)

①西日本:大阪市で在留外国人結核患者は過去3年間で93名。INH耐性率が高い。大阪では20代韓国籍多い。フィリピン籍学生が多く大きな集団感染。日本語学校の定期健診必要。ユーラシア大陸型で、大阪市流行株の型なし。母国で感染例が多い。②日本語学校 33校にアンケート調査。55%は健診なしが不十分。③大阪市における外国人結核対策マニュアルの策定に向けて大阪市保健所内で検討した。

・研究分担者(加藤誠也)

アジアでの感染伝播状況の解析。4カ国(日本、中国、韓国、台湾)の結核研究施設が分子疫学共同研究会。①IS6110遺伝子とVNTRのMST(minimum spanning tree)解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”(75%)。中国(上海、北京)は“モダンタイプ”(90%)で、遺伝的背景は異なることを発見。②日本と韓国との比較:MST解析により韓国に特徴的なRD181陽性株はVNTRでB5グループに区分。日本の結核菌RD181陰性。日本の結核菌と区分可能な発見。台湾株も区分可能。③VNTR結核菌遺伝子型別には共通の10-locusを用い、さらに系統別に分けるSNPs部位(20箇所)を組み合わせ解析開始。各国で広がっている結核菌をこの方法で解析してグループ化し、各国に特徴的な株を判明させる。

・研究分担者(野内英樹) ①タイから日本への伝播の解析。タイに特有な結核株(Nonthaburi株)発見。11%がNonthaburi株。②難治性結核でGra産生異常。③再発の関与因子。HIV陽性結核患者は高率。

・研究分担者(櫻田紳策) タイのHIV陽性結核の宿主要因:①IL-10の上昇により抑制的制御。②Gra、IFN- γ 、オステオポンチン値がHIV合併結核で高い。③活性型ビタミンDは結核群で低下。

・研究分担者(服部俊夫) 中国・ハルピンの薬剤耐性結核解析:①S-S多剤耐性結核(12%)、XDR-TB解析。rpoB、KatG、変異を解析。②VNTR解析で4サブグループと10個のクラスター形成。

・研究分担者(慶長直人) ベトナムの多剤耐性結核調査と宿主要因。①多剤耐性結核5%で、都市部、再排菌例に多い。②ファムゴックタック病院と多剤耐性結核患者の結核免疫、薬剤代謝遺伝子解析。

・研究分担者(竹田潔) 多剤耐性結核に対する自然免疫治療法:①TLRを介し産生されるリポカリン2の鉄取り込み抑制で結核菌増殖抑制を発見。②secretory leukocyte protease inhibitor(SLPI)が細胞膜透過性を亢進させ結核菌感染防御を発見。③リポカリン2、SLPIワクチンは結核治療効果。(岡田、竹田)。

・研究分担者(高鳥毛敏雄) 先進諸国における移民結核対策:ロンドン、ニューヨークでは外国人結核患者が増加し、結核患者の75%と大問題。結核対策の中核組織調査。(移民の分野に専門職員設置。)

・研究分担者(鈴木克洋 坂谷光則) S-S多剤耐性結核菌の発見。多剤耐性結核患者の迅速診断法・迅速隔離法の発見。発現効率が高いHVJ-E封入製剤調整。安全性・毒性検査。OPC67683(新結核治療剤)の臨床応用。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 外国人結核の分子疫学解析。特定菌株が特定集団に蔓延を解明。
- (2) 結核高蔓延国からの移住者・日本語学校・外国人雇用事業所の早期診断(入国時・入国後QFT)。
- (3) 外国人結核の最多数国、中国・韓国と10-locusのVNTR+20SNPs系統解析の分子疫学解析。
- (4) RFP、INHやPZA耐性結核の迅速診断迅速入院法の確立と新しい化学療法剤ワクチンの開発。
- (5) HIV合併結核・多剤耐性結核の実態把握と分子疫学研究。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 日本の外国人結核の全国研究(実態把握・マニュアル作成)で早期予防、治療の厚生行政に寄与。
- (2) アジア各国共通利用のVNTRシステム構築。結核菌が由来した国の同定。
- (3) アジア諸国の分子疫学・宿主要因研究は日本への結核流入・蔓延防止の行政に寄与。
- (4) 結核ワクチンと新薬開発は多剤耐性結核やXDR-TBの医療費節減・行政施策に重要。国際貢献。
- (5) S-S MDR-TBの発見は結核病室の個室化等、重要な厚生行政施策にすでに寄与した。
- (6) 外国人の間で特定の結核菌株蔓延示唆。輸入感染症蔓延対策、厚生行政に貢献。

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(岡田全司)

- (1) Hoshino H, Ohmori M, Okada M.: Trends in tuberculosis infection among foreigners in Japan according to work status. *Kekkaku*;85(9):697-702, 2010.
- (2) Pitabut N, Sakurada S, Keicho N, Okada M, Khusmith S.: Cytolytic granule-associated proteins in tuberculosis patients with or without HIV coinfection from northern Thailand. 45th Tuberculosis and Leprosy Reserch Conference. 45:67-71, 2010.
- (3) Yoshida S, Suzuki K, Iwamoto T, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M. Comparison of rifabutin susceptibility and rpoB mutations in multi-drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by DNA sequencing and the line probe assay. *J Infect Chemother*. 16(5):360-3, 2010.
- (4) 金丸典子, 岡田全司, 喜多洋子, 坂谷光則, 小林信之, 豊田恵美子, 下内昭, 加藤誠也, 星野齊之.: 本邦における外国人結核に対する調査研究. *結核*. 85(4):425, 2010.
- (5) Kanamaru N, Kobayashi N, Toyota E, Shimouchi A, Kato S, Okada M.: Study of tuberculosis of foreigners in Japan. *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*. 41:ps-101032-15, 2010.
- (6) Okada M, Kita Y. The development of novel (preclinical) DNA vaccine. *Human Vaccine*. 6(4):297-308, 2010.
- (7) Okada M(1番目/23人中), Nakajima T(3/23), Sakatani M(23/23): Novel therapeutic vaccine: granulysin vaccine against tuberculosis. *Human Vaccine*. (in press)
- (8) Kita Y, Okada M(2/22), Nakajima T(3/22), Sakatani M(22/22): Therapeutic and prophylactic vaccine against tuberculosis using monkey and granulysin transgenic mice models. *Human Vaccine*. (in press)
- (9) Okada M(1/21), Nakajima T(3/21), Tan E.V, Sakatani M(21/21). : Novel prophylactic and therapeutic vaccine against Tuberculosis. *Vaccine*. 27:3267-3270, 2009
- (10) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Evaluation of the Inno-Lipa Mycobacteria v2 for Mycobacterial identification, *Kekkaku* 84:15-21, 2009
- (11) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Evaluation of the discrepant Mycobacterium tuberculosis strains between any ordinary susceptibility testing and rpoB gene analysis by the line probe assay. *Kekkaku*. 83:577-583. 2008
- (12) 岡田全司, 小林信之, 豊田恵美子, 下内昭, 加藤誠也, 星野齊之.: 調査票(外国人結核)作成(2009年5月28日)
- (13) 知的財産権の取得: 岡田全司, 高森靖, 安井正文. : 「感染症治療剤 15K granulysin」特許 4149713号(2008年)
- (14) 知的財産権の取得及び申請状況.: 岡田全司, 五十嵐雅之, 高橋良昭.: 「CPZEN-45. 抗 XDR-TB 薬、抗 MDR-TB 薬、及び併用抗結核薬」出願番号 PCT2010-038874 出願日 2010年4月8日
- (15) Takahashi Y, Okada M(12番目/15人中):. Synthesis and SAR of Caprazamycin derivatives CPZEN-45: as a promising drug candidate for treating XDR-TB. *ACS Medical Chemistry Letters*. (in press)

・研究分担者(小林信之、豊田恵美子)

- (16) 鈴木学, 小林信之(3/9), 豊田恵美子(9/9). : 当センターにおける外国人結核症患者の臨床的特徴の変遷. 8年前との比較ならびに今後の対策に向けて. *結核* 83:661-666, 2008.
- (17) 岡田全司(1/16), 小林信之(11/16), 豊田恵美子(12/16), 下内昭(13/16), 加藤誠也(14/16), 星野齊之(15/16):. 輸入感染症としての本邦における外国人結核に対する調査研究. *日本呼吸器学会雑誌*. 248:359, 2010.

・研究分担者(加藤誠也)

- (18) Kang HY, Wada T, Iwamoto T, Maeda S, Murase Y, Kato S, Kim HJ, Park YK.: Phylogeographical particularity of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family in South Korea based on international comparison with surrounding countries. *J Med Microbiol* 59:1191-7, 2010.
- (19) 前田伸司, 菅原勇, 加藤誠也(5/5): 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型(VNTR)分析システム—JATA(12)-VNTR 分析法の実際—, *結核*. 83: 673-678, 2008.
- (20) Murase Y, Sugawara I, Kato S(4/5):. Promising loci of variable numbers of tandem for typing Beijing family Mycobacterium tuberculosis. *J Med Microbiol*. 57:873-80, 2008.

・研究分担者(野内英樹、慶長直人、櫻田紳策、服部俊夫)

- (21) Ridruechai C, Yanai H(4/18), Keicho N(14/18):. Association analysis of susceptibility candidate region on chromosome 5q31-33 for tuberculosis. *Genes and Immunity*. (5):416-22, 2010.
- (22) Lien LT, Kobayashi N(3/15), Yanai H(4/15), Toyota E(5/15), Sakurada S(6/15), Keicho N(15/15). Prevalence and risk factors for tuberculosis infection among hospital workers in Hanoi. *PLoS ONE*. 4 (8): e6798, 2009.
- (23) Mahasirimongkol S, Yanai H(2/9), Keicho N(19/19):. Genome-wide SNP-based linkage analysis of tuberculosis in Thais. *Genes Immun* 10 (1): 77-83, 2009.
- (24) Guio H, Hattori T(8/8):. Increased Synthesis of Anti-tuberculous glycolipid immunoglobulin in Active compared to Latent tuberculosis Infection Tohoku. *J Exp Med*. 220:21-5, 2010.

・研究分担者(竹田潔、下内昭、高鳥毛敏雄)

- (25) Saiga, H., Takeda, K.(12/12):. Lipocalin 2-dependent inhibition of mycobacterial growth in alveolar epithelium. *J. Immunol*. 181, 8521-8527, 2008.
- (26) Nishimura J, Takeda K(13/13):. Potent antimycobacterial activity of mouse secretory leukocyte protease inhibitor. *J. Immunol*. 180:4032-4039, 2008.
- (27) 下内昭.: 大阪市において多言語による健康教育資料を印刷する提言. 接触者健診のためのリーフレットを多言語(英語、ハンガール、タガログ、ベトナム語)に翻訳することを提言した。(2008年)
- (28) Wada T, Shimouchi A(3/7):. High transmissibility of the modern Beijing Mycobacterium tuberculosis in homeless patients of Japan. *Tuberculosis* (89), 252-255, 2009
- (29) 加藤仁一, 下内昭(6/7):. 大阪市における在留外国人の結核. *日本公衆衛生学会*, 2009年10月
- (30) 高鳥毛敏雄: 米国、イギリス、ドイツにおける結核医療の提供体制, *結核*, 85(2):98-101, 2010.

・研究協力者(星野齊之、阿部千代治)(鈴木克洋、露口一成、中島俊洋は研究代表者の項も参照)

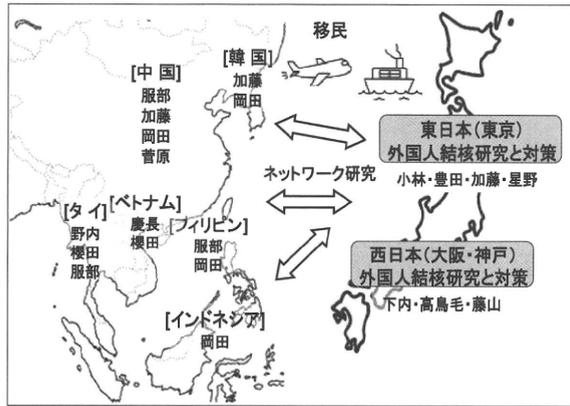
- (31) Abe C(1/11), Suzuki K(7/11):. Biological and molecular characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates with low-level resistance to Isoniazid in Japan. *J. Clin. Microbiol*. 46:2263-2268, 2008

Ⅶ. Ⅲ (3年間の研究成果)の概要図等

輸入感染症としての多剤耐性結核の対策・制御に関する研究

目的

(日本における外国人結核の対策・制御研究とアジア諸国の結核対策研究ネットワークの確立・活用による多剤耐性結核制御)



期待される効果

- ①対策の向上 ②診療の向上(新しい診断法, 新しい結核ワクチン・化学療法剤)
- ③日本の外国人結核減少 ④日本人結核患者減少(特に多剤耐性結核)
- ⑤アジア諸国の結核患者減少 ⑥医療費節減 ⑦国際貢献

日本

- アジア諸国の結核対策研究ネットワークの確立
岡田, 加藤, 野内, 服部, 慶長, 櫻田, 菅原
- 日本の外国人結核
岡田, 小林, 豊田, 下内, 星野, 加藤, 藤山, 高鳥毛, 竹田, 切替, 坂谷

研究方法

- ①日本の外国人結核の発生と治療の実態。(調査票)
- ②アジア諸国の結核菌分子疫学と宿主要因と対策。
- ③新しい診断法。
- ④新しい結核ワクチン・化学療法。
- ⑤先進諸国の移民結核対策調査。(高鳥毛, 岡田)

研究成果

日本の外国人結核

- 1.日本全国:調査票(外国人結核)を複製。保健所・病院800施設に配布。2136例解析。20代、中国・フィリピン・韓国、入国3年以内多い。多剤耐性3.8%と高率。INH耐性、RFP耐性も高率。HIV合併結核1.3%。言語の壁や治療途中の帰国が問題。(岡田)
- 2.日本全国:結核発生動向調査を分析。労働者、学生が影響。(星野, 岡田)
- 3.東日本:国際医療センター及び東京病院。HIV合併結核多し。RFP耐性、多剤耐性結核は高率。分子疫学解析にて特定の菌株(北京型のモダンタイプ)蔓延。(小林, 豊田, 切替)
- 4.西日本:大阪市で在留外国人結核患者。学生が多く、集団感染。日本語学校の定期健診が必要。VNTRで大阪市流行株なし。(下内, 藤山, 岡田)

アジア諸国

- [結核菌分子疫学研究・宿主要因解析(ネットワーク研究)]
- (1)中国(加藤, 服部, 岡田, Ling, Heping)
 - 1.アジアでの感染伝播状況の解析。4カ国(日本、中国、韓国、台湾)の分子疫学共同研究。VNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”。中国は“モダンタイプ”で、遺伝的背景異なる発見。韓国株はRD181陽性で日本株とも分離可。台湾株も分離可。10 locusを用いた日・中・韓・台共通のVNTRで解析。(加藤)
 - 2.ハルビンで薬剤耐性遺伝子解析。S・S MDR-TB12%。VNTRで90%が北京型。(服部)
 - (2)タイ(野内, 櫻田, Pathom)・タイから日本への伝播の解析。HIV合併結核は再発率高く、Gra産生異常。タイ特有な結核株発見。
 - (3)フィリピン(Tan, 岡田, 服部)
 - ・カニクイザルで結核治療ワクチン開発。
 - (4)ベトナム(慶長, Duong) 宿主要因解析。

先進国の情報

先進国ロンドン・ニューヨーク・サンフランシスコの外国人結核75%。外国人結核減少にQFT有用。(高鳥毛, 岡田)

新しい迅速診断・入院法の開発
結核治療ワクチンの開発

- (1)多剤耐性結核患者迅速発見法(rpoBの変異)を用いて、多剤耐性結核患者の迅速入院・迅速隔離方法を構築。(鈴木, 岡田)
- (2)多剤耐性結核に対する初めての治療ワクチンを開発(サルで)。XDR-TBに対して治療効果。(岡田)
- (3)BCGよりも1万倍強力な結核予防ワクチン。カニクイザル(レオナルド研究所; ヒト結核感染に最も近い)で100%生存率。前臨床試験データを取得(毒性・安全性・安定性試験)。
- (4)Granulysin (Gra)のキラーT分化因子活性発見。Graワクチンは結核治療効果。(岡田)
- (5)リポカリン2はTLRを介し結核菌増殖抑制。SLPIによる結核菌殺菌機構(細胞膜透過性亢進)解明。SLPIは強力な治療ワクチン及びGraとの相乗効果。(竹田, 岡田)

- ・日本への流入・蔓延防止
 - ・外国人移民健康診断
 - ・多剤耐性結核治療・予防
 - ・早期発見・QFT診断
- 新しい多剤耐性結核治療ワクチン
(a)マウス
(b)サル
(c)SCID PBL/hu

- ①薬剤耐性遺伝子解析、VNTR、RFLP解析
- ②XDR-TB、スーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌解析
- ③宿主granulysinの解析。SNP解析(宿主要因解明)

(倫理委員会)

ワクチン	マウス	モルモット	カニクイザル	ヒト
HVJエンベロープ/HSP65 DNA + IL-12 DNA	BCGより1万倍強力な予防ワクチン効果	効果	効果	計画中
	結核治療ワクチン効果	計画	効果	計画中
	強力な多剤耐性結核・XDR-TB治療効果	計画	計画	

●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

- 1973 年 4 月 大阪大学大学院医学研究科(第三内科学)博士課程入学(指導山村雄一元教授、岸本忠三前教授)
- 1977 年 3 月 大阪大学大学院医学研究科(第三内科学)博士課程修了 医博
- 1978 年 7 月 アメリカ合衆国、University of Washington, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Basic Immunology Program, Research Fellow (Christopher S. Henney 教授、Steven Gillis 助教授)
- 1992 年 9 月 大阪大学医学部内科学第三講座・学内講師
- 1993 年 1 月 九州大学生体防御医学研究所 臨床遺伝学部門助教授
- 1998 年 5 月 財団法人結核予防会大阪府支部大阪病院副院長
- 1998 年 10 月 国立療養所近畿中央病院 臨床研究部部長
- 2005 年 4 月 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター 研究センター長
(2006 年 4 月～現在) 大阪大学大学院(医学研究科)連携大学院 招へい教授

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

大阪大学時

大阪大学: 岸本忠三(元総長)・山村雄一(元総長)・審良静男・平野俊夫教授、東京大学: 吉田進昭教授

九州大学時

ハーバード大: R.C.Mulligan 教授、NIH: S.A.Rosenberg 博士・G.J.Nabel 教授、ノース・カロライナ大: O. Smithies 教授、Corixa 研: S.Gillis 所長、ミュンヘン工科大: G. Gansbacher 教授、東京大: 齊藤泉教授・岩倉洋一郎教授、大阪大: 岸本忠三元総長・辻本賀英教授、九州大: 秋吉毅教授・森正樹教授、実中研: 野村達次所長、中外研: 大杉義征所長

近畿中央胸部疾患センター時

(結核)長崎大: 野内英樹・山田毅教授、東北大: 服部俊夫教授、レオナルド・ウッド研究所: E.Tan 部長・R.Gelber 所長、P.Saunderson 所長、中国: H. Ling 教授、Corixa 研: S.Reed 副所長、マヒドン大: S.Khusmith 副学長、Texas 大: D. N. McMurray 教授、ハーバード大: R.C.Mulligan 教授・J-S Lee 博士・S.M.Behar 講師、結核予防会: 螺良英郎院長、大阪大: 金田安史・審良静男・高鳥毛敏雄・竹田潔教授、金沢大: 吉田栄人教授、浜松医大: 小出幸夫教授、大塚製薬: 松本真所長、結核研究所: 加藤誠也副所長・下内昭副所長・石川信克所長・森亨所長、国際医療研究センター: 小林信之医長、慶長直人部長、切替照雄部長

(SARS)大阪公衛研: 奥野良信部長、香港大: J.S.M.Peiris 教授、国立感染研: 田代真人センター長、山本直樹センター長

・主な研究課題

- (1) 「輸入感染症としての多剤耐性結核の対策・制御に関する研究」(平 20-)厚労科研(研究代表者)
- (2) 「アジア地域との研究ネットワークの活用による多剤耐性結核の制御」(平 17-19)厚労科研(主任研究者)
- (3) 「結核菌症の病態解明に基づく新たな治療法等の開発に関する研究」厚労科研(平 14-16)(主任研究者)
BCGに代わる新しい結核ワクチンの開発研究。新しい結核感染特異的診断法開発。
- (4) 「抗結核キラーT と rBCG-DNA-ワクチンの開発による新しい予防・診断・治療法」(平 11-13)厚労科研(主任研究者)
- (5) 「SARS ウイルスに対する DNA ワクチンの開発」科学技術新興調整(分担研究)、文部科研・特定領域(主任研究者)(平 15-17)
- (6) 「サイトカイン遺伝子導入と遺伝子欠損モデルを用いたヒト癌・遺伝子治療の国際調査研究」平 8~9 年度 文部科研・国際学術研究ーがん特別調査研究。(主任研究者)
「サイトカイン遺伝子導入・欠損と SCID マウスを用いた抗腫瘍効果」平 6-8 年 文部科研・重点領域がん重点“がん治療”計画研究、平 3~5 年重点領域“バイオサイエンスの進展に基づくがんの重点研究”(バイオがん)。(主任研究者)
「IL-6 による抗腫瘍活性及び IL-6 と異なるキラーT 分化因子(ヒト T 細胞ハイブリドーマ由来)の遺伝子クローニング」昭 60 年~平 2 年度 文部科研「がん」特別研究(主任研究者)
- (7) キラーT 細胞分化因子の解明(世界に先駆けて発見)。CD4+ヘルパーT 細胞からキラーT 細胞分化因子が産生され直接 CD8+キラーT 細胞に働くことを世界に先駆けて明らかにした。(J.Immunol)

1979, 1980, 1981, 1982)

- (8) 「腫瘍免疫に関するヒトT細胞ハイブリドーマ由来キラーT細胞分化因子の解析」(昭58~59)文部科
研「がん」特別研究(主任研究者)
- (9) 種々のサイトカイン(B細胞増殖因子、B細胞分化因子、キラーT分化因子IL-2)をそれぞれ産生する
ヒトT細胞ハイブリドーマの確立(世界で最初)。これらの分子は異なることを明らかにした。B細胞分
化因子(後にIL-6と命名)を最初に発見。IL-6は強力なキラーT分化因子の発見(Okada et al.
Proc.Natl.Acad.Sci. USA 1981, J.Exp.Med. 1983, J.I. 1981, 1982, 1986, 1988)。ヒト生体免疫解
析モデル SCID-PBL/hu の最初の確立。(Cancer Res. 1997)

・ これまでの研究実績

- (1) **Hoshino H, Ohmori M, Okada M. Trends in tuberculosis infection among foreigners in Japan according to work status. Kekkaku. 85(9):697-702, 2010.**
- (2) **Takahashi Y, Igarashi M, Ishikawa K, Komatsuki Y, Shotome H, Koyama Y, Miyake T, Nakagawa N, Hattori S, Inoue K, Doi N, Okada M, Matsumoto S, Tamaru A, Akamatsu Y: Synthesis and SAR of Caprazamycin derivatives CPZEN-45: as a promising drug candidate for treating XDR-TB. ACS Medical Chemistry Letters. (in press)**
- (3) **Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Nishimatsu S, Sekine Y, Inoue Y, McMurray DN, Sakatani M.: Novel vaccine against tuberculosis using prime-boost method. Clin. Develop Immunol. (in press)**
- (4) **Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Nishimatsu S, Sekine Y, Inoue Y, Matsumoto M, McMurray DN, E.C.Dela Cruz, E.V. Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, Saunderson P, Sakatani M: Novel therapeutic vaccine: granulysin vaccine against tuberculosis. Human Vaccine. (in press)**
- (5) **Kita Y, Okada M, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Nishimatsu S, Sekine Y, Takamori Y, McMurray DN, E.C.Dela Cruz, Tan EV, R.M.Abalos, J.A.Burgos, Saunderson P, Sakatani M.: Development of therapeutic and prophylactic vaccine against tuberculosis using monkey and granulysin transgenic mice models. Human Vaccine. (in press)**
- (6) **Yoshida S, Suzuki K, Iwamoto T, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M. Comparison of rifabutin susceptibility and rpoB mutations in multi-drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by DNA sequencing and the line probe assay. J Infect Chemother. 16(5):360-3, 2010.**
- (7) Yoshida S, Suzuki K, Iwamoto T, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M. Detection of molecular epidemiology of Mycobacterium gordonae isolates. Kekkaku. 85(7):609-14, 2010.
- (8) **Okada M, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Nishimatsu S, Sekine Y, Inoue Y, Nakajima T, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Matsumoto M, P Saunderson, E V.Tan, Dela Cruz E.C., D McMurray, Sakatani M.: A Novel Therapeutic and Prophylactic Vaccine (HVJ-Envelope/Hsp65 DNA+IL-12 DNA) against Tuberculosis Using The Cynomolgus Monkey Models. Procedia in Vaccinology. Vol.2. Issue1:34-39, 2010.**
- (9) **Okada M, Kita Y. Tuberculosis vaccine development: The development of novel (preclinical) DNA vaccine. Human Vaccine. 6(4):297-308, 2010.**
- (10) **Okada M, Kita Y. Anti-tuberculosis immunity by cytotoxic T cells granulysin and the development of novel vaccines (HSP-65 DNA+IL-12 DNA). Kekkaku. 2010;85(6):531-8.**
- (11) **Okada M. Immunity against Mycobacterium tuberculosis (introduction). Kekkaku. 85(6):501-8, 2010.**
- (12) **Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Inoue Y, Matsumoto M, McMurray D.N, Dela Cruz E.C, Tan E.V, Abalos R.M, Burgos J.A, Saunderson P, Sakatani M.: Novel prophylactic and therapeutic vaccine against Tuberculosis. Vaccine. 27:3267-3270,2009.**
- (13) **Shojima J, Tanaka G, Keicho N, Tamiya G, Ando S, Oka A, Inoue Y, Suzuki K, Sakatani M, Okada M, Kobayashi N, Toyota E, Kudo K, Kajiki A, Nagai H, Kurashima A, Oketani N, Hayakawa H,**

- Takemura T, Nakata K, Ito H, Morita T, Matsushita I, Hijikata M, Sakurada S, Sasazuki T, Inoko H.: Identification of MICA as a susceptibility gene for pulmonary Mycobacterium avium complex infection. J. Infect. Dis. 199:1707-1715, 2009.
- (14) **Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Tomita M, Okada M, Sakatani M.:** *Evaluation of the INNO-LiPA Mycobacteria v2 for Mycobacterial identification, Kekkaku 84: 15-21, 2009*
- (15) Kannan-Hayashi Y, Okamura K, Hattori S, Uwamura M, Higuchi E, Terayama H, Moriyama M, Mukamoto M, Okada M, Ohsugi Y and Nakamura Y.: Neuritogenic effects of T cell-derived IL-3 on mouse splenic sympathetic neurons. J. Immunol. 2008; 180(6): 4227-34.
- (16) **Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M.:** *Evaluation of the discrepant Mycobacterium tuberculosis strains between any ordinary susceptibility testing and rpoB gene analysis by the line probe assay. Kekkaku. 83:577-583.2008*
- (17) Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Fukamizu R, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, Matsumoto M, McMurray D.N., Dela Cruz E.C., Tan E.V., Abalos R.M., Burgos J.A., Gelber R, Sakatani M.: Evaluation of a novel vaccine (HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB. Vaccine. 2007;25(16):2990-3
- (18) Mai HN, Hijikata M, Inoue Y, Suzuki K, Sakatani M, Okada M, Kimura K, Kobayashi N, Toyota E, Kudo K, Nagai H, Kurashima A, Kajiki A, Oketani N, Hayakawa H, Tanaka G, Shojima J, Matsushita I, Sakurada S, Tokunaga K, Keicho N.: Pulmonary Mycobacterium avium complex infection associated with the IVS8-T5 allele of the CFTR gene. Int J Tuberc Lung Dis. 2007;11(7):808-13.
- (19) Okada M, Okuno Y, Hashimoto S, Kita Y, Kanamaru N, Nishida Y, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Fukamizu R, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, Kase T, Takemoto Y, Yoshida S, Peiris JSM, Chen P-J, Yamamoto N, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M.: Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models. Vaccine. 2007;25(16):3038-40.
- (20) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Okada M, Sakatani M.: Molecular Epidemiology of Mycobacterium tuberculosis-Comparison between Multidrug-Resistant Strains and Pan-Sensitive Strains. Kekkaku. 2007;82(6):531-8.
- (21) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Okada M, Sakatani M.: Molecular epidemiological analysis of Mycobacterium kansasii isolates. Kekkaku. 2007;82(2):103-10.
- (22) Yoshida S, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Kanamaru N, Muraki Y, Hashimoto S, Inoue Y, Sakatani M, Kobayashi E, Kaneda Y, Okada M.: DNA vaccine using hemagglutinating virus of Japan-liposome encapsulating combination encoding mycobacterial heat shock protein 65 and interleukin-12 confers protection against Mycobacterium tuberculosis by T cell activation. Vaccine. 2006;24 1191-1204
- (23) Nakano H, Nagata T, Suda T, Tanaka T, Aoshi T, Uchijima M, Chida K, Nakamura H, Okada M, Koide Y.: Immunization with dendritic cells retrovirally transduced with mycobacterial antigen 85A gene elicits the specific cellular immunity including cytotoxic T-lymphocyte activity specific to an epitope on antigen 85A. Vaccine. 2006;24(12):2110-9
- (24) Okada M, Takemoto Y, Okuno Y, Hashimoto S, Fukunaga Y, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Takai H, Okada C, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Izumiya M, Yoshida S, Matsumoto M, Kase T, Peiris M, DeMello D, Chen P.J, Yamamoto Y, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M. : Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using mouse and SCID-PBL/hu mouse models. Adv. Exp. Med. Biol. 2006; 581-566
- (25) Watanabe Y, LePage S, Elliott M, Secrist H, Tanaka T, Kawahara M, Matsumura A, Hosoe S, Ogawara M, Okada M, Repasky B, Sleath P, Wang T, Henderson R.; Characterization of preexisting humoral immunity specific for two cancer-testis antigens overexpressed at the mRNA level in non-small cell lung cancer. Cancer Immunity. 2006; 13: 3.
- (26) Tsuyuguchi K, Yoshida S, Suzuki K, Okada M, Sakatani M.: Exogenous re-infection by multidrug-resistant tuberculosis. Kekkaku. 2006;81:80-81.
- (27) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Detection of

- rpoB mutations in rifampicin-resistant *Mycobacterium kansasii*. *Kekkaku*. 2006;81(7) 475-9.
- (28) Kita Y, Tanaka T, Yoshida S, Ohara N, Kaneda Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Takai H, Okada C, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Inoue Y, Takemoto Y, Naito M, Yamada T, Matsumoto M, McMurray DN, Cruz EC, Tan EV, Abalos RM, Burgos JA, Gelber R, Skeiky Y, Reed S, Sakatani M, Okada M. : Novel recombinant BCG- and DNA-vaccination against tuberculosis in a cynomolgus monkey model. *Vaccine* 2005; 23: 2132-5.
- (29) Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, Shigeto E, Harada N, Mitarai S, Okada M, Suzuki K, Inoue Y, Tsuyuguchi K, Sasaki Y, Mazurek GH, Tsuyuguchi I.: Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;70(1):59-64
- (30) Miki K, Nagata T, Tanaka T, Kim YH, Uchijima M, Ohara N, Nakamura S, Okada M, Koide Y.: Induction of protective cellular immunity against *Mycobacterium tuberculosis* by recombinant attenuated self-destructing *Listeria monocytogenes* strains harboring eukaryotic expression plasmids for antigen 85 complex and MPB/MPT51. *Infect Immun*. 2004;72(4):2014-21.
- (31) Yoshida S, Kondoh D, Arai E, Matsuoka H, Seki C, Tanaka T, Okada M, Ishii A.: Baculovirus virions displaying *Plasmodium berghei* circumsporozoite protein protect mice against malaria sporozoite infection. *Virology* 2003, 316(1): 161-70.
- (32) Wang T, Fan L, Watanabe Y, McNeill PD, Moulton GG, Bangur C, Fanger GR, Okada M, Inoue Y, Persing DH, Reed SG.: L523S, an RNA-binding protein as a potential therapeutic target for lung cancer. *Br J Cancer*. 2003 88(6):887-94.
- (33) Watanabe K, Ryll R, Fujiwara N, Hasunuma R, Kumazawa Y, Okada M, Yano I : Mycobacterial cord factor, but not sulfo lipid, causes depletion of NKT cells and upregulation of CD1d1 on murine macrophages. *Microbiol. Pathogenesis* 3: 611-619 2001
- (34) Iwasaki T, Nakashima M, Watanabe T, Yamamoto S, Inoue Y, Yamanaka H, Matsumura A, Iuchi K, Mori T, Okada M: Expression and prognostic significance in lung cancer of human tumor-associated antigen RCAS1. *Int. J.Cancer* 89 : 488-493, 2000
- (35) Tanaka F, Abe M, Akiyoshi T, Nomura T, Sugimachi K, Kishimoto T, Suzuki T, Okada M: The anti-human tumor effect and generation of human cytotoxic T cells in SCID mice given human peripheral blood lymphocytes by the in vivo transfer of the Interleukin-6 gene using adenovirus vector. *Cancer Research* 57: 1335-1343, 1997
- (36) Ezaki I, Okada M, Yoshikawa Y, Fujikawa Y, Hashimoto M, Otuka M, Nomura T, Yamamoto K, Watanabe T, Shingu M, Nobunaga M.: Human monoclonal rheumatoid factors augment arthritis in mice by the activation of T cells. *Clin. Exp. Immunol*. 104: 474-482, 1996
- (37) Okada M, Kishimoto T : The potential application and limitations of cytokine/growth factor manipulation in cancer therapy. In "Cell Proliferation in Cancer : Regulatory Mechanisms of Neoplastic Cell Growth" (Ed.) Puzstai L, Lewis C and Yap E, pp218-244, Oxford University Press, Oxford, 1996
- (38) Shirasaka T, Kawase I, Okada M, Kitahara M, Ikeda T, Hosoe S, Komuta K, Yokota S, Masuno T and Kishimoto S : Augmentative effect of *Nocardia rubra* cell wall skeleton (N-CWS) on the induction of human lymphokine-activated killer (LAK) cells by the production of LAK helper factor (s). *Cancer Immunol. Immunother*. 30: 195-204, 1990
- (39) Kitahara M, Kishimoto S, Hirano T, Kishimoto T and Okada M: The in vivo anti-tumor effect of human recombinant IL-6. *Jpn. J. Cancer Res*. 81: 1032-8. 1990
- (40) Fukuta K, Sone S, Kitahara M, Okada M, Ogura T.: Enhancement of therapeutic effect of interleukin-2 on spontaneous pulmonary metastases of Lewis lung carcinoma by killer helper factor (KHF) associated with increased induction of killer activity. *Jpn. J. Cancer Res*. 80: 562-569, 1989
- (41) Okada M, Kitahara M, Kishimoto S, Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T: IL-6/BSF-2 functions as a killer helper factor in the in vitro induction of cytotoxic T cells. *J. Immunol*. 141: 1543-9. 1988
- (42) Okada M, Yoshimura N, Ichimori Y, Kishimoto S, Nakai S, Nishino N, Kishimoto T: Immunological and molecular characterizations of T cell-derived T cell activating factor. *J. Immunol*. 136: 1288-1294, 1986
- (43) Kishimoto T, Yoshizaki K, Kimoto M, Okada M, Kuritani T, Kikutani H, Shimizu K, Nakagawa T, Nakagawa N, Miki Y, Kishi H, Fukunaga K, Yoshikubo T, Taga T: B cell growth and differentiation

factors. Immunol. Rev. 78: 97-118, 1984

- (44)Kishimoto T, Yoshizaki K, Okada M, Kuritani T, Kikutani H, Shimizu K, Nakagawa T, Nakagawa N, Miki Y, Kishi H, Fukunaga K, Taga T : Growth and differentiation factors and activation on human B cells. Lymphokines 10: 15-28, 1985
- (45)Okada M, Sakaguchi N, Yoshimura N, Hara H, Shimizu K, Yoshida N, Yoshizaki K, Kishimoto S, Yamamura Y, Kishimoto T: B cell growth factors and B cell differentiation factor from human T hybridomas; two distinct kinds of B cell growth factor and their synergism in B cell proliferation. J. Exp. Med. 157: 583-589, 1983
- (46)Kaieda T, Okada M, Yoshimura N, Kishimoto S, Yamamura Y, Kishimoto T: A human helper T cell clone secreting both killer helper factor (s) and T cell replacing factor (s). J. Immunol. 129: 46-51, 1982
- (47)Kishimoto T, Okada M, Kaieda T, Yoshimura N : Immunoregulatory molecules (Lymphokines) secreted from human monoclonal T cell lines. In "Self-Defense Mechanisms" (Ed.) Mizuno Z, Cohn A, Takeya K and Ishida N, pp.137-151, Elsevier North Holland, New York, 1982
- (48)Kishimoto T, Suemura M, Sugimura K, Okada M, Nakanishi K, Yamamura Y : Characterizations of T cell-derived Immunoregulatory molecules from murine or human T hybridomas. Lymphokines 5: 129-160, 1981
- (49)Okada M, Yoshimura N, Kaieda T, Yamamura Y, Kishimoto T: Establishment and characterization of human T hybrid cells secreting Immunoregulatory molecules. Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 78: 7717-7722, 1981
- (50)Kern DE, Gillis S, Okada M, Henney CS : The role of Interleukin-2 (IL-2) in the differentiation of cytotoxic T cells ; The effect of monoclonal anti-IL-2 antibody and absorption with IL-2 dependent T cell lines. J. Immunol. 127: 1323-1328, 1981
- (51)Okada M, Stanton TH, Kuppers RC, Henney CS : The differentiation of cytotoxic T cells in vitro. IV. Interleukin-2 production in primary mixed lymphocyte cultures involves cooperation between Qa-1⁺ and Qa-1⁻ "helper" T cells. J. Immunol. 126: 1635-1639, 1981
- (52)Okada M, Henney CS : The differentiation of cytotoxic T cells in vitro, III. The role of helper T cells and their product in the differentiation of cytotoxic cells from "memory" cell populations. J. Immunol 125: 850-857, 1980
- (53)Okada M, Henney CS : The differentiation of cytotoxic T cells in vitro, II. Amplifying factor(s) produced in primary mixed lymphocyte cultures against K/D stimuli require the presence of Lyt2+cells but not Lyt1+cells. J. Immunol. 125: 300-307, 1980
- (54)Klimpel GR, Okada M, Henney CS : Inhibition of in vitro cytotoxic responses by BCG-induced macrophage-like suppressor cells II. Suppression occurs at the level of a "helper" T cell. J. Immunol. 123: 350-356, 1979
- (55)Okada M, Klimpel GR, Kuppers RC, Henney CS: The differentiation of cytotoxic T cells in vitro. I. Amplifying factor (s) in the primary response is Lyt 1+ cell dependent. J. Immunol. 122: 2527-2535, 1979
- (56)Okada M, Kishimoto T, Igarashi T, Teranishi T, Yamamura Y: LPS- or 8 Bromo-cyclic AMP-induced production of T-cell activating factor (s) in macrophage tumor cell line J774.1. J. Immunol. 120: 1097-1101, 1978
- (57)Igarashi T, Okada M, Azuma I, Yamamura Y: Adjuvant activity of synthetic N-acetyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine and related compounds on cell-mediated cytotoxicity in syngeneic mice. Cell. Immunol.34: 270-278, 1977
- (58)Igarashi T, Okada M, Kishimoto T, Yamamura Y : In vitro induction of polyclonal killer T cells with 2-mercapto-ethanol and the essential role of macrophages in this process. J. Immunol. 118: 1697-1703, 1977

〔知的財産権の取得及び申請状況〕

- (1) 岡田全司、大杉義征等、「キラーT 細胞の誘導抑制剤」、出願番号:PCT-JP2006/322726、2006 年 11 月 15 日
- (2) 岡田全司等、特許番号:特願 2005-280379、提出日:2005 年 9 月 27 日、発明の名称:DNA ワクチン組成物

- (3) 岡田全司、高森靖、安井正文、「感染症治療剤 15K granulysin」WO 03/070268 A1、2002 年。2008 年特許取得。特許 4149713 号
- (4) 岡田全司、五十嵐雅之、高橋良昭、「CPZEN-45。抗 XDR-TB 薬、抗 MDR-TB 薬、及び併用抗結核薬」、出願番号:PCT2010-038874、2010 年 4 月 8 日

[研究課題の実施を通じた政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)]

- (1) 2004 年 WHO STOP TB Vaccine Meeting において Member として、新しい結核ワクチンおよび新しい結核特異的診断法(QFT)の世界各国での取り組みの推進の提言を共同で WHO に対して行った。2004 年 WHO STOP TB Partnership に選出される。
- (2) 2009 年 WHO WGND(Working Group on New TB Drugs)メンバーに選出される。2ヶ月に1回国際電話会議等を通じ世界に新しい結核治療法、結核治療剤について提言。特に2009年8月5日WHO WGND 国際電話会議で新しい結核治療ワクチンの前臨床試験結果に基づき臨床応用について提言。
- (3) 平成 16 年度厚生労働省労働科学研究費「結核菌症の病態解明に基づく治療等の開発に関する研究」において、スーパー・スプレッター多剤耐性結核菌の発見は厚生行政の多剤耐性結核患者の個室化を反映させた。
- (4) 岡田全司、小林信之、豊田恵美子、下内昭、加藤誠也、星野齊之。:調査票(外国人結核及び入国者結核)作成。(2009 年 5 月 28 日)
- (5) WHO WGND Annual Meeting (2010 年 11 月 12 日 Berlin)で新しい結核化学療法剤と新結核治療ワクチンの併用治療法開発について提言。

・ 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

申請課題名:海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

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(平成20年度・21年度・22年度研究成果)

輸入感染症としての多剤耐性結核の 対策・制御に関する研究

研究代表者

岡田全司 (独) 国立病院機構 近畿中央胸部疾患センター 研究の統括
臨床研究センター長

研究分担者

I 日本における外国人結核

小林信之 (国際医療研究センター) 東日本(東京)の外国人結核実態把握と対策・制御
倉田恵美子 (国立病院機構 東京病院) 東日本(東京)の外国人結核
下内 昭 (結核研究所 大阪市保健所) 西日本(大阪・神戸)の外国人結核

研究協力者 星野: 日本全国の外国人結核、切替・結核菌遺伝子解析、藤山・神戸

II アジア諸国との結核菌分子疫学研究と宿主要因解析(研究ネットワークを活用した)

加藤誠也 (結核研究所) 韓国、中国の結核菌分子疫学・日本の結核菌と比較
野内英樹 (長崎大学) タイの結核菌分子疫学
原部俊夫 (東北大学) 中国の結核菌分子疫学
廣長直人 (国際医療研究センター) ベトナムの多剤耐性結核宿主要因
椋田紳策 (国際医療研究センター) タイ・ベトナム

III 多剤耐性結核に対する迅速診断迅速入院法の開発・結核治療ワクセンの開発

坂谷・鈴木 (国立病院機構 近畿中央) 結核ワクセン開発と多剤耐性結核迅速入院法
竹田 深 (大阪大学) 新しい結核治療ワクセン開発

研究協力者 中島: 結核ワクセン安全性、露口: 多剤耐性結核迅速入院法

IV 先進国の外国人結核対策

高島毛敏雄 (大阪大学) イギリス・アメリカの外国人(移民)結核対策

研究目的

(意義)

- 近年、輸入感染症としての多剤耐性結核が問題。①日本国内への流入・蔓延防止 ②日本の外国人結核年々増加 ③費用莫大。治療困難。新結核ワクセン、治療薬必要。
- 多剤耐性結核の多数発症が日本・世界(特にアジア地域)で大問題。
- BCGは成人には無効。

(目的)

- 日本における外国人結核の発生と治療実態把握及び対策・制御による結核の日本国内への流入・蔓延防止。国立病院機構呼吸器ネットワーク・国際医療研究センター・保健所・結核研の全国レベル研究(情報収集)で早期予防・治療マニュアル作成の対策。
- アジア諸国との研究ネットワークを活用し、結核の分子疫学と宿主要因研究。外国人結核が多い(母国)中国・韓国の結核情報(日本の結核への影響)で日本への結核流入防止。
- 多剤耐性結核迅速診断法・迅速入院法の開発。
- 結核治療ワクセン、新化学療法剤の開発。アジアの多剤耐性結核、超薬剤耐性結核制御成果。スーパー・スプレッター(S-S)多剤耐性結核対策。
- 新しい結核予防ワクセン(BCGより1万倍強力なHSP65+IL-12DNAワクセン)で結核制御。
- 先進諸国の移民結核対策の調査により、有効な移民結核対策・制御。

研究成果 輸入感染症としての多剤耐性結核の対策・制御に関する研究

(日本における外国人結核の対策・制御研究とアジア諸国の結核対策研究ネットワークの確立・活用による多剤耐性結核制御)



II. アジア諸国の結核菌分子疫学研究(ネットワーク研究)

a. アジアでの感染伝播状況の解析。4カ国(日本、中国、韓国、台湾)の分子疫学共同研究。(加藤)

中国株、韓国株、日本株、台湾株、分離可能な発見



b. HbVpでS-S多剤耐性結核・遺伝子解析。中国からの日本移民にS-S多剤耐性結核発見。(原部、岡田)

III. 多剤耐性結核迅速診断・入院法。結核治療ワクセン

- 多剤耐性結核患者迅速発見法(roBo変異)を用いて迅速入院(隔離)法を確立。(鈴木・岡田)
- 多剤耐性結核の治療ワクセン(HSP65 DNA+IL-12DNAを開発(鈴木)で、超薬剤耐性結核に治療効果。(岡田、Tan)
- 100%生存率の予防効果。前臨床試験データを取得(毒性・安全性試験)、臨床用のGMPレベル製造実施。

I. 日本の外国人結核

a. 日本全国調査票(外国人結核)作成。全保健所・病院800施設 2136名解析。20代、中国・フィリピン・韓国多い。多剤耐性3.8%で日本人結核より多い(岡田)。学生、外国人結核対策マニュアルを作成した。

b. 東京・国際医療センター・東京病院。特定の菌株蔓延(RFLP-VNTR)。(小林、豊田)

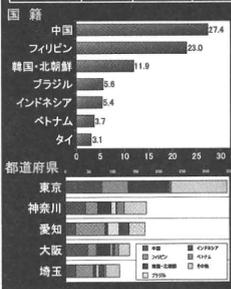
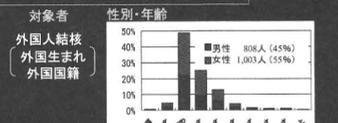
c. 大阪 学生が多く、集団感染。日本語学校の定期健診必要。(下内、岡田)

IV. 先進国の情報

ロンドン・ニューヨーク・サンフランシスコの外国人結核75%。外国人結核減少にQFT有用。(高島毛、岡田)

[1] 外国人結核調査票による解析 (日本全国保健所と結核治療施設800施設)

調査施設	送付	回答
保健所	527施設	436施設 2,130件
国立病院機構	54	38 357
結核病院を有する病院	219	114 274
計	800	588(74%) 2,787



対象者 性別・年齢
外国人結核 外国人生まれ 外国国籍

来日年数
来日1~3年以内 29.7%

職業
常勤者 29.1%
学生 14.5%

基礎疾患(合併症)
なし 76.1%
糖尿病 3.5%
HIV 1.3%

	外国人結核	日本人結核(胸手洗報告)
INH耐性	10.0%	5.9%
SM耐性	7.1	7.9
RFP耐性	3.7	2.4
EB耐性	4.4	2.4

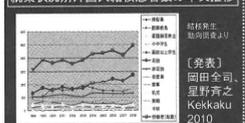
転帰

治療完了	75.0%
継続中	6.5
帰国	15.8

言語障壁への対応

通訳の有無	翻訳パンフレット等の有無
行政サービス	英語 23.7%
ボランティア	中国語 34.7%
友人・知人	韓国語 6.3%
職場・学校など	タガログ語 6.4%
	ポルトガル語 2.8%

就業状況別外国人結核患者数の年次推移



東京の外国人結核患者の臨床像と結核菌 国外及び国内感染

国立国際医療研究センター 東京病院

外国人結核患者 113名 (2007~2010年) 外国人結核患者 87名 (2004~2010年)

全TB患者の 8.4% ●多剤耐性結核 5.7%

●日本人結核患者との比較 ●HIV合併結核 5.7%

●外国人結核はRFP耐性菌、多剤耐性結核が多い (日本人0.5%)

●日本語学校等での集団発生 (下表) ●日本語学校等での集団発生

外国人結核(東京)は多剤耐性結核菌及びRFP耐性結核菌多し

薬剤耐性	日本人(1900株)	外国人(131株)	オッズ比(95%信頼区間)
INH	5.4	6.1	0.97(0.44-2.12)
RFP	0.8	3.1	6.34(1.58-25.9)**
SM	8.2	8.8	0.73(0.37-1.43)
EB	0.8	1.5	3.47(0.8-20.1)
LVFX	0.5	0.8	1.00(0.11-9.0)
多剤耐性	0.4	2.3	7.31(1.43-41.2)*

西日本(大阪・神戸)の外国人結核

大阪市保健所 神戸市保健所

在留外国人結核 131名 (過去3年間)

●大きな集団感染(学生)

●日本語学校の定期健診必要

●学生・韓国籍・INH耐性が多い

●大阪市流行株の型なし

●母国で感染例多し

●健診で、発見率上昇

●転出者で帰国した患者対応が問題(脱落・転出多し)

外国人結核対策マニュアルの作成

大阪市内における外国人結核対策マニュアル(要点)

- 定期健診の徹底
 - 外国人では入国後早期健診重要。外国人雇用企業、学校(大学、日本語学校など)に於いて定期健診の徹底推奨。
- 患者面接時の注意点
 - 日本語によるコミュニケーションが困難な場合、家族・友人の同席やボランティア通訳を依頼。
- 国内での治療・接触者健診の完了を目標として

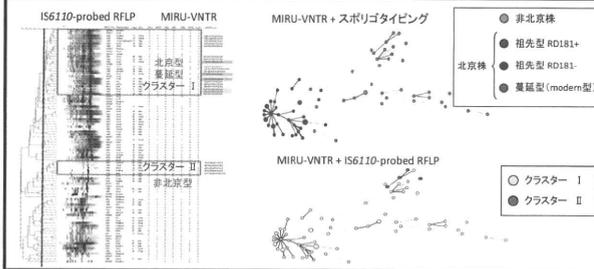
東京都における外国人結核診療マニュアル(医療者向け)(要点)

- 外国人結核の最近の傾向
 - 増加傾向(全体の4%が外国人)。
- 外国人結核の診療上の課題点
 - 高い薬剤耐性率(多剤耐性結核の輸入)。
 - 結核高蔓延国からの移住者に対する感染源と発病者の早期発見
 - 入国時の健診(胸部レントゲン)の履行。入職時、接触者健診におけるクワンチアスロン(QFT)検査の実施。
 - 外国人結核に対する適切な治療体制の確立
 - 母国語で書かれた結核診療ハンドブック、在日外国人結核相談室。

東京の外国人結核菌の分子疫学解析

外国人結核の国内流行示唆

- ① RFLP解析 70%以上のクラスター形成(2種のクラスター形成を発見)より特定の菌株蔓延示唆
- ② VNTR解析でクラスター I は北京型蔓延型(modern型)で形成。クラスター I は91株中26株(28.6%)
- ③ クラスター II は非北京型結核菌

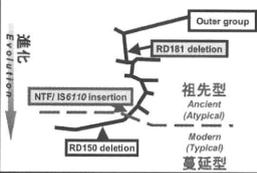


〔II〕 アジア諸国との多剤耐性結核の分子疫学研究と宿主要因解析

アジアでの感染伝播状況の解析

1. 4カ国(中国、韓国、台湾、日本)の結核研究施設(結核研究所)が分子疫学共同研究
2. 結核菌IS6110遺伝子とVNTR(Variable Number of Tandem Repeat)解析のMST(minimum spanning tree)解析により、
 - ① 日本・韓国の結核菌“祖先型(ancient型)”75~80%
 - ② 中国(北京、香港)は“蔓延型(modern型)”90%で、結核菌の遺伝的背景が国により異なることを発見
 - ③ 台湾では非北京型結核菌60%。

北京型結核菌の系統発生樹



中国の結核菌と日本の結核菌の区分法

国名(結核菌由来)	北京型			
	日本	北京	香港	韓国
祖先型(ancient型)	80(%)	5	14	75
蔓延型(modern型)	20	95	86	25

アジアでの感染伝播状況の解析

日本の結核菌と韓国の結核菌の区分法発見

1. 日本の結核菌と韓国の結核菌は遺伝子型で区分可能
2. MST解析により韓国に特徴的なRD181陽性株(韓国の結核菌の6割)
3. RD181陽性株はVNTRでB5グループに区分
4. B5グループには韓国株に特徴的なk-strain株(RD181陽性株)が含まれる。

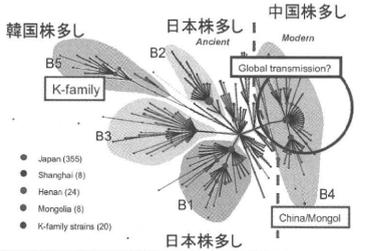
韓国に特徴的なRD181陽性株

Ancient型結核菌のRD181部位の有無

	祖先型(Ancient型)	RD181	
		陽性	陰性
大阪	130 株	15 (12%)	115 (88%)
東京	87	17 (20%)	70 (80%)
韓国	46	29 (63%)	17 (37%)

韓国の結核菌と中国株と台湾株と日本株の区分可能

北京型結核菌のMST解析



台湾の結核菌と中国の結核菌の区分法

国名(結核菌由来)	台湾		北京・上海	
	北京型	非北京型	北京型	非北京型
(大多數がmodern型)	40	60%	90	10

⇒ 遺伝子解析により、結核菌の由来(出身)国が同定可能

韓国結核菌はB5、中国結核菌はB4、日本結核菌はB1、B2に多い

中国・韓国・台湾・日本ネットワーク共同研究施設
 1. 中国疾病予防管理センター 2. 上海Fudan大学 3. 韓国結核研究所 4. 釜山国立大学 5. 上海CDC 6. 台湾CDC
 7. 香港健康予防センター 8. 結核予防会結核研究所(日本)加藤・前田 9. 神戸市環境保健研究所 10. 大阪市立環境科学研究所
 (発表)加藤誠也 他 Kekkaku 2008, J.Med. Microbiol. 2010, 2008

中国(ハルビン)のスーパー・スプレッダー多剤耐性結核と薬剤耐性結核

1. スーパー・スプレッダー(S-S)多剤耐性結核 12%(50例中6例)
2. 中国からの移民にもS-S多剤耐性結核菌
3. rpoB変異86.4%, KatG変異45.6%, GyrA変異34.1%
4. 中国ハルビンでVNTR+スプリング・4グループ、16クラスター、多剤耐性結核 20.8%

中国株と日本株からの移民結核株VNTR比較

(中国におけるスーパー・スプレッダー多剤耐性結核)												
E-A	E-B	E-C	E-D	E-E	E-F	M2	M10	M16	M20	M23	M24	
中国株(50株中6株)(12%)												
4	2	4	3	5	3	2	3	2	3	2	5	1
中国から日本への移民(外国人結核)												
4	2	4	3	5	3	2	3	2	3	2	5	1
近畿中央胸部疾患センター株												
4	2	4	3	5	3	2	3	2	3	2	5	1

ベトナムにおける多剤耐性結核の宿主要因の解析

ファムゴックタック病院(ホーチミン市)

遺伝子タイピング
 薬剤耐性酵素
 免疫系調節、エフェクター分子
 (granulysinを含む)

タイにおける結核の分子疫学

タイにおける難治性結核症における北京株とノンタブリ株の割合

	再発例(n=22)	治療失敗例(n=20)	北タイ(n=34)	タイ全国(n=828)
北京株	59.1%*	40%**	17.7	20.8
ノンタブリ株	4.5%	10	8.8	14.3

1. 難治性結核患者(再発例、治療失敗例)の結核菌は北京株の方がタイ特有のノンタブリ株より多い
2. HIV陽性結核患者は再発率高し

タイにおける結核の宿主要因



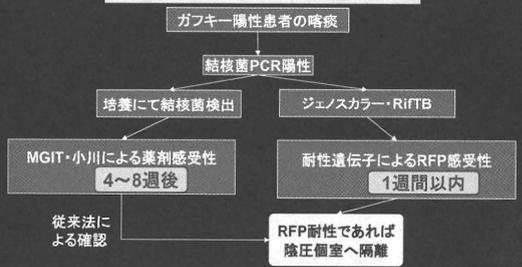
難治性結核で、Granulysin産生低下

HIV合併結核

血中オステオポンチンIL-10 高値

〔III〕 多剤耐性結核迅速診断・迅速入院法と新しい結核ワクチンの開発

多剤耐性結核患者の迅速発見法(rpoB変異)による迅速入院法確立



1. RFP耐性 20人中(rpoB遺伝子変異) 80%がINH耐性(多剤耐性結核)
2. 迅速入院した患者の86%は1週間以内に多剤耐性結核が確定

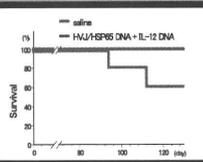
(鈴木、露木、岡田 Kekkaku 2008)

〔III〕 新しい結核ワクチン

新しい結核ワクチンの開発

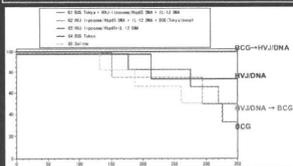
1. HVJエンベロープ(HSP65 DNA+IL-12 DNA)ワクチンはBCGよりも1万倍強力な結核予防ワクチン効果。カニキザルで(ヒト結核感染に最も近い)結核予防効果あり。
2. 超薬剤耐性結核に対しても治療効果。
3. サルで100%生存率の画期的な結核予防ワクチン効果。(BOG群は33%)
4. サルで治療ワクチン効果100%生存。

新しい結核治療ワクチン開発 (ヒトの結核感染に最も近いカニキザル)



ワクチン	マウス	モルモット	カニキザル	ヒト
HVJエンベロープ HSP65 DNA+IL-12 DNA	有効	効果	効果	計画中
結核治療ワクチン効果	計画	計画	計画	計画中
超薬剤耐性結核治療効果	計画	計画	計画	計画中
HVJエンベロープ HSP65 DNA+IL-12 DNA	有効 (BCG+100%)	有効	有効 (100%生存)	

カニキザルにおける新しい結核ワクチン予防効果 (BCGブライム-HSP65 DNA+IL-12 DNAワクチンブスター法)



前臨床試験(安全性・毒性試験、GMPレベル製造)と臨床応用

新規結核HSP65+IL-12DNAワクチンの開発状況(まとめ) 岡田、中島



HVJ-Eベクターの治験薬GMP製造技術・製剤化技術



1. 前臨床開発(動物での有効性、安全性試験)
 - ① 有効性(マウス、モルモット、サル、SCID/hu)
 - ② 安全性(サル、ラット、GLP適合試験)実証
 2. 製造関連(非臨床、臨床試験用製造)
 - ① 長期安定性
 - ② 臨床用のGMP製造実績
- 実際に臨床研究用に供給
- 臨床応用の申請用データパッケージを整備
3. 臨床応用
 - ① 研究施設と臨床応用 HSP65DNA+IL-12DNAワクチン
 - ② WHO STOP TB 会議で推奨された(2009年)
 - ③ 臨床研究(大阪大学病院):HVJ-Eベクターは悪性黒色腫に対し第I/II相試験

岡田 Vaccine2009 Clin. Dev. Imm. 2011 Human Vaccine 2010, 2011

リポカン2(Lcn2)とSLPIによる結核治療ワクチンと感染防御機構



(竹田 J.J.2009a, J.J.2009b)

Granulysin ワクチンによる結核治療効果

HSP65 DNA +IL-12 DNA ワクチンと相乗効果 岡田 Human Vaccine 2010

新しい結核化学療法剤 Opv-67683 第II相臨床試験 カブラザマイシン: 特許、WHO/ミネート

IV. 先進国の外国人結核対策

先進国における輸入感染症としての結核対策の評価(高島毛)

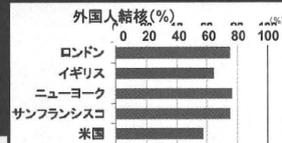
イギリス(ロンドン)

ロンドンでは外国人結核 75%
イギリスでは外国人結核 64%

- 入国後における移民のプライマリーケアサービス
- 世界の結核対策の感染診断や治療支援投資
- 近い将来低蔓延国の日本の結核対策も同様に必要

米国(ニューヨーク)

ニューヨークでは外国人結核 76% 米国 57%
● 外来治療を中心 ● 既存の医療機関で対応

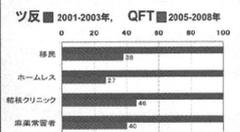


米国(サンフランシスコ)

Dr. Masae Kawamura
サンフランシスコ
Public Health

サンフランシスコにおけるQFT診断法を活用した結核有病率の低下

調査(岡田)
ツベルクリン反応診断をQFT診断に変えてからサンフランシスコの移民結核が減少



行政施策への貢献

1. 日本の外国人結核の全国研究(実態把握・マニュアル作成)で早期予防、治療の厚生行政に寄与。
2. アジア各国共通利用のVNTRシステム構築。結核菌が由来した国の同定法を確立。(中国、韓国、日本、台湾の結核菌はそれぞれ区分できる発見)
3. アジア諸国の分子疫学研究は日本への結核流入・蔓延防止行政に寄与。
4. 多剤耐性結核患者迅速診断法・迅速入院(隔離)法の確立及びS-S 多剤耐性結核の発見は結核病室の個室化等、重要な厚生行政施策にすでに寄与。
5. 結核ワクチンと新薬開発は多剤耐性結核や超薬剤耐性結核の医療費節減・行政施策に重要。国際貢献。
6. 日本の外国人結核患者の間で特定の結核菌株蔓延示唆。

今後考えられる新たな課題

1. 外国人結核の分子疫学解析。特定菌株が特定集団に蔓延を説明。
2. 結核高蔓延国からの移住者・日本語学校・外国人雇用事業所の早期診断(入国時・入国後QFT)。
3. 外国人結核の最多国、中国・韓国と10-locusのVNTR + 20 SNPs系統解析の分子疫学解析。
4. INHやPZA耐性結核の迅速診断迅速入院法の確立。新しい化学療法ワクチンの開発。
5. HIV合併結核・多剤耐性結核の実態把握と分子疫学研究。

