

- (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) 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: 37-40, 2010.
- (9) 佐藤寛子, 佐藤了悦, 柴田ちひろ, 斎藤博之, 安部真理子, 齊藤志保子, 高橋 守, 藤田博己, 角坂照貴, 高田伸弘, 川端寛樹, 高野 愛, 國生泰範, 須藤恒久: 雄物川流域におけるツツガムシの生息状況とツツガムシ病病原体 *Orientia tsutsugamushi* の検索 (平成 21 年度の調査成績). *秋田県健康環境センター年報*, 5: 63-67, 2010.
- (10) 藤田博己: 国内において *Rickettsia japonica* 以外の紅斑熱群リケッチアを媒介するマダニ種の寄生生態. *Clinical Parasitology*, 21: 120-122, 2010.
- (11) 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: 297-304, 2009.
- (12) Wurutu, Ozawa, Y., Gaowa, Kawamori, F., Masuda, T., Masuzawa, T., Fujita, H. and Ohashi, N.: Structural analysis of a *p44/msp2* expression site of *Anaplasma phagocytophilum* in naturally infected ticks in Japan. *J. Med. Microbiol.*, 58: 1638-1644, 2009.
- (13) 島津幸枝, 谷澤由枝, 高尾信一, 田原研司, 藤田博己, 矢野泰弘, 高田伸弘: 広島県内の野鼠におけるつつが虫病リケッチア侵淫状況. *広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告*, 17: 15-20, 2009.
- (14) 藤田博己: 田辺市におけるアライグマのダニとダニ媒介性感染症検査. *田辺鳥獣害調査研究報告 II* (田辺鳥獣害対策協議会編), p. 12-17, 2009.
- (15) 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.
- Japan. Med. Entomol. Zool.*, 60: 297-304, 2009.
- 研究分担者(田原研二)
- (1) Tabara, K., Kawabata, H., Arai, S., Itagaki, A., Yamauchi, T., Katayama, T., Fujita, H. and Takada, N.: High incidence of rickettsiosis correlated to prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick. *J. Vet. Med. Sci.*, 73: 507-510, 2011.
- (2) 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: 297-304, 2009.
- (3) 島津幸枝, 谷澤由枝, 高尾信一, 田原研司, 藤田博己, 矢野泰弘, 高田伸弘: 広島県内の野鼠におけるつつが虫病リケッチア侵淫状況. *広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告*, 17: 15-20, 2009.
- (4) 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一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.

研究分担者(山本正悟)

(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 Res.;17(5):281-291, 2010.

(2) 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.

研究分担者(岩崎博道)

(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. 肝・胆道系症候群(第2版) 日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No. 13 I 肝臓編(上), 日本臨牀社(大阪).

研究分担者(安藤秀二)

(1) 安藤秀二, リケッチア, 平松啓一監修, 中込治, 神谷茂編集, 標準微生物学, 第11版, in press

(2) Takano A, Nakao M, Masuzaka T, Takada N, Yano Y, Ishiguro F, Fujita H, Ito T, Ma X, Oikawa Y, Kawamori F, Kumagai K, Mikami T, Hanaoka N, Ando S, Honda N, Tayler K, Tsubota T, Konnai S, Watanabe M, Ohnishi M, and Kawabata H. Multilocus sequence typing Implicates rodents as the main reservoir host of Human-pathogenic *Borrelia garinii* in Japan. Journal of Clinical Microbiology, 49: 2035-2039, 2011.

(3) 安藤秀二, 最近の輸入発疹熱事例について. 人と動物の共通感染症研究会のニューズレター, 10: .4-6, 2011年10月

(4) Takeshita N, Imoto K, Ando S, Yanagisawa K, Ohji G, Kato Y, Sakata A, Hosokawa N, Kishimoto T. Murine typhus in two travelere returning from Bali, Indonesia: an underdiagnosed disease. Journal of Travelers Medicine, 17:356-358, 2010.

(5) 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 .

(6) 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: 512-516, 2010.

(7) 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: 15-21, 2010.

(8) 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.

(9) 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.

(10) 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: 134-135, 2010.

(11) 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 : 136-137, 2010.

(12) 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 : 139-140, 2010.

(13) 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 : 137-138, 2010.

(14) 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.

(15) 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*: Emerg Infect Dis, 15: 1994-1997, 2009.

(16) Takano A, Muto M, Sakata A, Ogasawara Y, Ando S, Hanaoka N, Tsurumi M, Sato F, Nakamura N, Fujita H, Watanabe H, Kawabata H. Relapsing fever spirochete in seabird tick, Japan. Emerg Infect Dis. 15: 1528-1530, 2009 .

(17) Tamano Matsui, John Kobayashi, Hiroshi Satoh, Tsuguto Fujimoto, Nobuhiko Okabe, Shuji Ando, Toshio Kishimoto and Seigo Yamamoto 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.

(18) Nozomu Hanaoka, Akiko Sakata, Ai Takano, Hiroki Kawabata, Haruo Watanabe, Ichiro Kurane, Toshio Kishimoto, and Shuji Ando. 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.

(19) Takeo Yamauchi, Mayumi Obara, Mamoru Watanabe, Shuji Ando, Mitsuhiro Ishikura, Yasuhiro Shinagawa, Sumiyo Hasegawa, Kazuya Nakamura, Masae Iwai, Takeshi Kurata & Takenori Takizawa. Survey of tick fauna possessing the ability to act as vectors of rickettsiosis in Toyama Prefecture, Japan. Med. Entomol. Zool., 60: 23-31, 2009.

(20) Nobuhiro Takada, Hiromi Fujita, Hiroki Kawabata, Shuji Ando, Akiko Sakata, Ai Takano, and Udom Chaithong. Spotted Fever Group *Rickettsia* sp. Closely Related to *R. japonica*, Thailand. Emerging Infectious Diseases, 15: 610-611, 2009.

(21) Ai Takano, Shuji Ando, Toshio Kishimoto, Hiromi Fujita, Teruki Kadosaka, Yoshiki Nitta, Hiroki Kawabata, Haruo Watanabe. Presence of novel *Ehrlichia* sp. in *Ixodes granulatus* found in Okinawa, Japan. Microbiology and Immunology, 53: 101-106, 2009.

(22) 中橋伸江, 山本貴子, 馬場俊一, 川端寛樹, 安藤秀二, 照井正. *Ixodes holocyclus* によるマダニ刺咬症の 1 例. 臨床皮膚科, 63: 159-161, 2009.

(23) 平良勝也, 岡野祥, 仁平稔, 中村正治, 稲福恭雄, 伊禮史朗, 畑芳夫, 藤田博己, 下地崇, 砂川洋子, 宮城鈴代, 下地久代, 平良セツ子, 上原真理子, 上原健司, 宮川桂子, 糸数公, 矢野泰弘, 高田伸弘, 角坂照貴, 本田俊郎, 安藤秀二 縄県宮古島で初めて確認されたつつが虫病. 病原微生物検出情報, 30 : 17-18, 2009.

(24) 安藤秀二 ロッキー山紅斑熱. ブーノースハンドブック(岸本寿男, 山田章雄 編), メディカルサイエンス社, p201-203, 2009.

(25) 安藤秀二, 高橋聡 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.

(26) 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.

研究分担者(堤 寛)

(1) Tamakuma K, Mizutani Y, Ito M, Shiogama K, Inada K, Miyamoto K, Utsunomiya H, Mahara F, Tsutsumi Y. Histopathological diagnosis of Japanese spotted fever using formalin-fixed, paraffin-embedded skin biopsy specimens. Usefulness of immunohistochemistry and real-time PCR analysis. *Clin Microbiol Infect*. Available on line, 2011.

(<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-0691.2011.03569.x/abstract>)

(2) 堤寛. 劇症型感染症の病理. *法医病理* 16:69-82, 2010.

(3) 堤寛. 感染症における病理診断の役割. *病理と臨床* 28(4): 360-366, 2010.

研究分担者(阿戸 学)

(1) Murase Y, Konnai S, Hidano A, Githaka NW, Ito T, Takano A, Kawabata H, Ato M, Tajima T, Tajima M, Onuma M, Murata S, Ohashi K. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in cattle and *Ixodes persulcatus* ticks. *Vet Microbiol*. 2011 May 5;149(3-4):504-7.

(2) 阿戸 学:分担執筆【リケッチア】免疫の事典 桂 義元 河本 宏 小安重夫 山本一彦 編集 朝倉書店 2011

研究分担者(大橋典男)

(1) Gaowa, Wuritu, Wu, D., Yoshikawa, Y., Ohashi, N., Kawamori, F., Sugiyama, K., Ohtake, M., Ohashi, M., Yamamoto, S., Kitano, T., Takada, N., and Kawabata, H. Detection and characterization of *p44/msp2* transcript variants of *Anaplasma phagocytophilum* from naturally infected ticks and wild deer in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* (in press.)

(2) Matsumoto, K., Takeuchi, T., Yokoyama, N., Katagiri, Y., Ooshiro, M., Zakimi, S., Gaowa, Kawamori, F., Ohashi, N., Inokuma, H. Detection of the new *Ehrlichia* species closely related to *Ehrlichia ewingii* from *Haemaphysalis longicornis* in Yonaguni Island, Okinawa, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 73, 1485-1488, 2011.

(3) Wuritu, Ozawa, Y., Gaowa, Kawamori, F., Masuda, T., Masuzawa, T., Fujita, H., and Ohashi, N. Structural analysis of a *p44/msp2* expression site of *Anaplasma phagocytophilum* in naturally infected ticks inhabiting Japan. *J. Med. Microbiol.* 58, 1638-1644, 2009.

(4) Wuritu, Gaowa, Kawamori, F., Aochi, M., Masuda, T., and Ohashi, N. Characterization of *p44/msp2* multigene family of *Anaplasma phagocytophilum* from two different tick species, *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ovatus*, in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 62, 142-145, 2009.

研究分担者(川端寛樹)

(1) Gaowa, Wuritu, Wu D, Yoshikawa Y, Ohashi N, Kawamori F, Sugiyama K, Ohtake M, Ohashi M, Yamamoto S, Kitano T, Takada N, Kawabata H: Detection and characterization of *p44/msp2* transcript variants of *Anaplasma phagocytophilum* from naturally infected ticks and wild deer, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases* (Accepted).

- (2) 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*. 73, 507-510, 2011.
- (3) 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.
- (4) 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.
- (5) 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. タカサゴキア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.
- (6) 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.
- (7) Yamauchi T, Tabara K, Kanamori H, Kawabata H, Arai S, Katayama T, Fujita H, Yano Y, Takada N, Itagaki A: Tick fauna associated with sika deer density in the Shimane Peninsula, Honshu, Japan. *Medical Entomology and Zoology*. 60: 297-304, 2009.
- (8) 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, Ando S: Diagnostic assay for *Rickettsia japonica*. *Emerging Infectious Diseases*. 15: 1994-1997, 2009.
- (9) 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.

分担研究者 (猪熊 壽)

- (1) Sasaki, H., Ichikawa, Y., Sakata, Y., Endo, Y., Nishigaki, K., Matsumoto, K., Inokuma, H. Molecular survey of *Rickettsia*, *Ehrlichia* and *Anaplasma* infection of domestic cats in Japan. *Ticks and Tick-Borne Diseases* (in press)
- (2) 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.* 18 (1): 161-166, 2011.
- (3) 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.* 11 (1): 15-19, 2011.
- (4) Matsumoto, K., Takeuchi, T., Yokoyama, N., Katagiri, Y., Ooshiro, M., Zakimi, S., Gaowa, Kawamori, F., Ohashi, N., Inokuma, H. Detection of the new *Ehrlichia* species closely related to *Ehrlichia ewingii* from *Haemaphysalis longicornis* in Yonaguni Island, Okinawa, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 73, 1485-1488, 2011.

- (5) 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.
- (6) 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.
- (7) 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)
- (8) 猪熊 壽. エーリキア症. *Small Animal Medicine*. Vol.12 (1). 29-30, 2010.
- (9) 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.

研究分担者(内山恒夫)

- (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) Uchiyama, T., Kishi, M., and Ogawa, M. Restriction of the growth of a nonpathogenic spotted fever group rickettsia. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, in press.
- (3) Uchiyama, T., Ogawa, M., Kishi, M., Yamashita, T., Kishimoto, T., and Kurane, I. Restriction of the growth of typhus group rickettsiae in tick cells. *Clinical Microbiology and Infection* 15 (Suppl. 2) 332-333, 2009.
- (4) 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* 15 (Suppl. 2), 239-240, 2009.
- (5) 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.

研究分担者(林 哲也)

- (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 Res.*; 17(5):281-291, 2010.

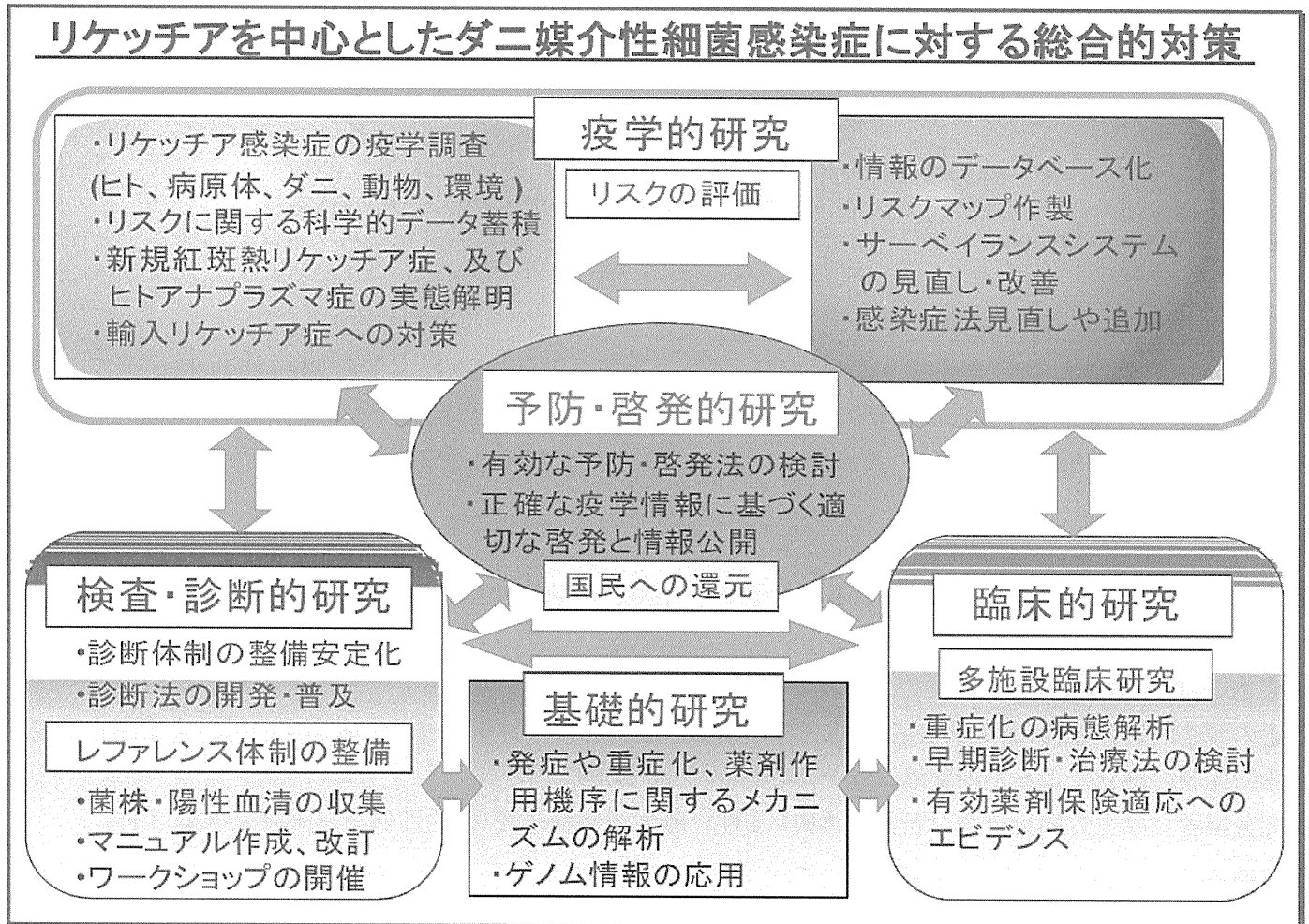
研究分担者(角坂照貴)

- (1) 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.
- (2) Ai Takano, Shuji Ando, Toshio Kishimoto, Hiromi Fujita, Teruki Kadosaka, Yoshiki Nitta, Hiroki Kawabata, Haruo Watanabe. Presence of novel *Ehrlichia* sp. in *Ixodes granulatus* found in Okinawa, Japan. *Microbiology and Immunology*, 53: 101-106, 2009.

研究分担者(岡部信彦)

- (1) 富岡鉄平, 島田智恵, 藤本嗣人, 松井珠乃, 佐藤弘, 八幡祐一郎, 橘とも子, 岡部信彦: 日本紅斑熱発生地域および近隣の発生が少ない地域における知識および受診行動. 感染症学雑誌. 85(2);180-183, 2011.
- (2) 松井珠乃, 藤本嗣人, 佐藤 弘, 安井良則, 岡部信彦: つつが虫病および日本紅斑熱について発生頻度が異なる地域での市民医学講座参加者における認知度比較, 感染症学雑誌. 84(1);48-51, 2010.
- (3) Matsui T, Kobayashi J, Satoh H, Fujimoto T, Okabe N, Ando S, Kishimoto T, Yamamoto S. : Surveillance, recognition, and reporting of Tsutsugamushi disease (scrub typhus) and Japanese spotted fever by general practice clinics in Miyazaki Prefecture, determined by questionnaire survey in 2007. J Infect Chemother. 15(4), 269-272, 2009.

Ⅶ. Ⅲ(3年間の研究成果)の概要図等



図のごとく、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を検討するため、リケッチア症やベクターの実態調査による疫学的研究、臨床的研究、検査・診断的研究、基礎的研究、予防・啓発的研究を、各研究者間で広く連携をとりつつ、同時に有機的に研究を進めてきた。これまで確実に実績を積み上げてきたが、未だ不明な点や、実施すべき点が多く残されており、今後さらに検討を進めていく必要がある。特にレファレンス体制の整備については、今後の本格的な実施に向けた準備段階にあり、さらなる推進が望まれる。

研究代表者の研究歴等

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 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 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)

副島林造(川崎医科大学)、松島敏春(川崎医科大学)、松本 明(川崎医科大学)、Cho chou Kuo(米ワシントン大学)に指導を受ける。主な共同研究者: 倉根一郎、安藤秀二、山田章雄、佐多徹太郎(以上国立感染症研究所)、尾内一信(川崎医科大学)、吉川泰弘(東京大学)、本研究班の研究分担者各位

・主な研究課題

リケッチアおよびクラミジアの疫学、臨床、診断、治療、予防に関する研究

・これまでの研究実績

最近の競争的資金取得: 研究代表者: 厚生労働科研費(新興・再興)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 2006-2008

研究分担者: 厚生労働科研費(新興・再興)4件、厚生労働科研費(難治性疾患克服研究事業)1件
 発表論文

(1) 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.

(2) 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.

(3) 川上万里, 梅川康弘, 田原研司, 木田浩司, 藤井理津志, 岸本寿男: 日本紅斑熱の一例: 岡山県初発例. *肝臓*. 51;714-721, 2010.

(4) 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 : 512-516, 2010.

(5) 山下真史, 木田浩司, 岸本壽男, 田原研司: 急性感染性電撃性紫斑病を合併した日本紅斑熱の1例. *病原微生物検出情報 IASR, Vol. 31, 135-136, 2010.*

(6) 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 : 136-137, 2010.

- (7) 岸本寿男: リケッチア感染症 (つつが虫病・日本紅斑熱) 小児科診療 小児の治療指針 2010 増刊号. 73:141-142, 2010.
- (8) 岸本寿男: つつが虫病, エーリキア症, Q 熱, オウム病, 日本紅斑熱, 肺炎クラミジア感染症 日本紅斑熱. 家庭医学大全科 6 訂版 法研 (東京):2495-2498, 2010.
- (9) 岸本寿男, 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
- (10) 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*: *Emerg Infect Dis*, 15: 1994-1997, 2009 .
- (11) Tamano Matsui, John Kobayashi, Hiroshi Satoh, Tsuguto Fujimoto, Nobuhiko Okabe, Shuji Ando, Toshio Kishimoto and Seigo Yamamoto: 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.
- (12) 岸本寿男, 木田浩司, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志: 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. 臨床と微生物. 36, 581-587, 2009.
- (13) Nozomu Hanaoka, Akiko Sakata, Ai Takano, Hiroki Kawabata, Haruo Watanabe, Ichiro Kurane, Toshio Kishimoto, and Shuji Ando. 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) Ai Takano, Shuji Ando, Toshio Kishimoto, Hiromi Fujita, Teruki Kadosaka, Yoshiki Nitta, Hiroki Kawabata, Haruo Watanabe. Presence of novel *Ehrlichia* sp. in *Ixodes granulatus* found in Okinawa, Japan. *Microbiology and Immunology*, 53: 101-106, 2009.
- (15) Kishimoto T, Ando S, Numazaki K, Ouchi K, Yamazaki T, Nakahama C : Assay of *Chlamydia pneumoniae*-specific IgM Antibodies by ELISA Method -Reduction of Non-specific Reaction and Resetting of Serological Criteria by Measuring IgM Antibodies-. *Jpn J Infect Dis* 62 : 260-264, 2009.
- (16) 岸本寿男: 「オウム病」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. *Medical Science*(東京) 121-122, 2009.
- (17) 岸本寿男: 新型インフルエンザについて. *教育時報* 12. 4-7, 2009.
- (18) 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 *Chlamydophila (Chlamydia) pneumoniae* of Telithromycin and comparator antimicrobials. *J Chemother.* ;20:428-430, 2008.
- (19) Hisada H, Yamazaki T, Inoue M, Sato K, Ando S, Kishimoto T. : In vitro Activity of Garenoxacin against *Chlamydia* spp. *J Chemother.* ;20:282-284, 2008.
- (20) 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. *Epidemiol Infect.* ;36:492-495, 2008.

知的財産権の所得および申請状況: 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 件申請中

研究課題の実施を通じた政策提言・ガイドライン(寄与した指針又はガイドライン等)

1. 日本性感染症学会「性感染症 診断・治療ガイドライン2011」2011年7月
2. 日本呼吸器学会「咳嗽に関するガイドライン」2005年9月
3. 「小鳥のオウム病の検査方法等ガイドライン」2004年
4. 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

・ **平成24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公募課題の応募状況**

研究代表者としてはなし

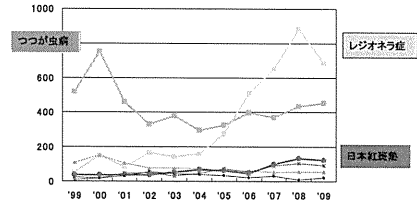
「リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の
総合的対策に関する研究」

研究代表者 岸本壽男(岡山県環境保健センター)

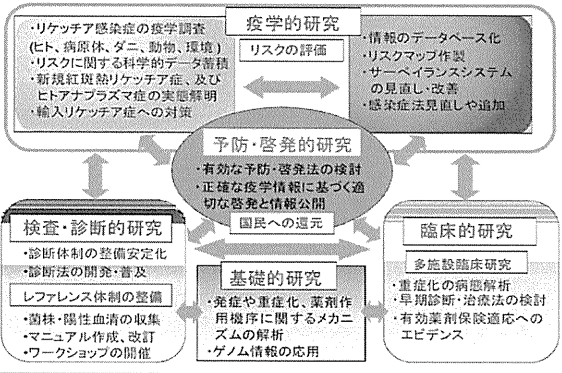
- 研究分担者
- 安藤秀二 (国立感染症研究所ウイルス第一部)
 - 岡部信彦 (国立感染症研究所感染症情報センター)
 - 川端寛樹 (国立感染症研究所細菌第一部)
 - 阿戸 学 (国立感染症研究所免疫部)
 - 猪熊 壽 (帯広畜産大学獣医学部)
 - 岩崎博道 (福井大学医学部)
 - 大橋典男 (静岡県立大学微生物学)
 - 高田伸弘 (福井大学医学部)
 - 堤 寛 (藤田保健衛生大学医学部)
 - 角坂照貴 (愛知医科大学)
 - 鈴木正嗣 (岐阜大学応用生物科学部)
 - 内山恒夫 (徳島大学フロンティア科学実験総合センター)
 - 藤田博己 (大原総合病院付属大原研究所)
 - 田原研司 (島根県保健環境科学研究所)
 - 山本正悟 (宮崎県衛生環境研究所)
 - 御供田睦代 (鹿児島県衛生研究所)
 - 松本道明 (高知県衛生研究所)

【背景】

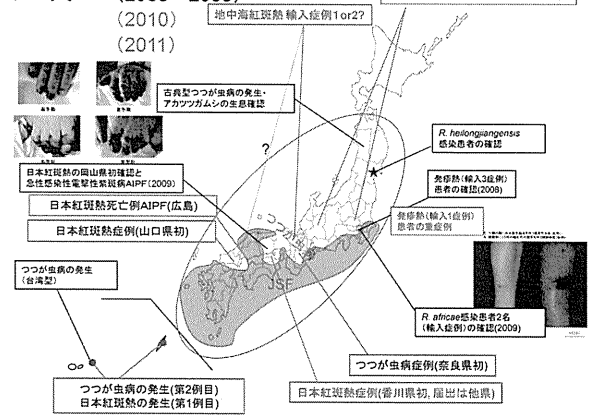
- (1)リケッチア等のダニ媒介性細菌感染症の発生例増加の要因や、新規リケッチア症の実態は、ほとんど不明である。
- (2)これらの早期診断体制は未整備であり、病態解析や治療法の確立も不十分である。
- (3)疫学、臨床、診断・検査、基礎的検討、予防・啓発を含めた総合的対策が求められている。



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



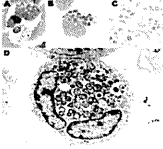
トピックス (2008~2009)



アナプラズマ・エーリキアに関する研究

研究分担者(大橋典男)

- (1)西日本地域に生息するマダニから新遺伝子型の紅斑熱群リケッチア、アナプラズマ、新型エーリキアの検出に成功。これらの地域の不明発熱性疾患の起因細菌である可能性を示唆。
- (2)野生シカと野ネズミからの3種のアナプラズマ属細菌の検出に成功。このうち1つはシカ感染型アナプラズマと確認。
- (3)シュルツェマダニからヒト感染型アナプラズマおよびヒト感染型ネオエーリキアの検出に成功した。
- (4)血清中のアナプラズマ抗体の検出技術の開発に成功した。
- (5)リケッチア症が疑われた不明発熱性疾患の血清中のアナプラズマ抗体の検出に成功した。
- (6)リケッチア症が疑われた患者の中に、*R. japonica*と*A. phagocytophilum*の混合感染を発見した。



ライム病に関する研究

研究分担者(川端寛樹)

- (1)ライム病*Borrelia garinii*国内流行型と欧州型の病原性解析、特に宿主応答を指標とした病原性解析を行った。感染初期(皮内での免疫反応)、播種期における免疫逃避能力および髄膜刺激性についてIn vitro解析を行い、国内流行株は欧州株と同等かそれ以上の病原性を示すことが明らかとなった。
- (2)In vivoでのマウスモデル実験でも確認された。

以上から、我が国で見出される*B. garinii*株の一部は、欧州での神経ボレリア症などのように重篤な症状を引き起こす可能性が高いことが示された。

伴侶動物、野生動物の、リケッチア疾患への疫学的役割

分担研究者(猪熊 壽)

- (1)伴侶動物の調査:全国のネコとイヌの血液を用い、*Anaplasma*科細菌と紅斑熱群リケッチア感染状況を調査し、ネコで*A. bovis*感染個体が2検体得られ、同病原体がネコにも感染することが示されたが、紅斑熱の保菌動物としての可能性は低いものと考えられた。イヌについては、紅斑熱群リケッチア感染状況では1頭が陽性を示し、遺伝子解析の結果 *R. felis*近縁であったが、ヒトへの関与は不明。
- (2)野生動物調査:日本紅斑熱患者が増えている熊本県上天草地方においてイノシシの疫学的役割を解明するため、感染状況を調査した。イノシシは*R. japonica*に感染するものの、保菌動物になる可能性は低いと考えられたが、イノシシ寄生マダニの調査では、イノシシが、*R. japonica*感染マダニを人や家畜の生活環境内に持ち込む可能性が示唆された。

野生動物の生息状況との関連性に着目した紅斑熱群リケッチア症の疫学評価 研究分担者(鈴木正嗣)【イノシシの疫学的役割について】(鳥根県美郷町での調査)

- R. tamurae*を保有するマダニの吸血源・運搬役となる
- 体内での増殖は確認できず(血液・脾臓)
- 刺し口周辺の皮膚から*R. tamurae*遺伝子断片検出
- 地域により抗体価・抗体陽性率に違いがある
- 3~5ヶ月よりも1歳の方が抗体陽性率が高い



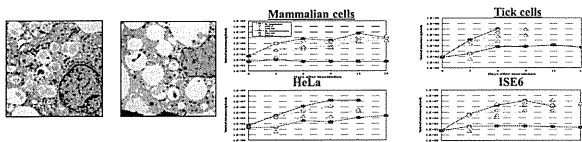
限定された皮膚の部位で病原体が伝播する可能性

- 季節や捕獲方法の影響への考慮
- 疫学的指標の確立

一病原性ならびに共感染に関する研究一

研究分担者(内山恒夫)

- (1)ほ乳動物由来細胞および節足動物由来細胞についてリケッチア感染細胞実験系を確立し、以下を明らかにした。
- 病原性リケッチアを種々の細胞で共感染しても、単独感染と同様の増殖動態をとる。
- 非病原性リケッチアは、ほ乳動物細胞中で増殖抑制を受けるが、病原性リケッチアの重感染により増殖が誘導される。非病原性リケッチアの増殖抑制には、オートファジーが関与する。
- (2)*O. tsutsugamushi*に関する病原性の解析



リケッチア症における宿主の免疫に関する研究

研究分担者(阿戸 学)

- (1)基礎実験に支障を来たすマイコプラズマ汚染リケッチア株について、正常マウスおよび免疫不全マウス内での継代により、マイコプラズマ除菌に成功。*O. tsutsugamushi*ストックを順次清浄化した。
- (2)*O. tsutsugamushi*感染マウスモデルで病原性、宿主免疫について検討するため、臨床経過、サイトカイン産生応答、肝臓の病理組織学的検索を行った。その結果、従来のOrientiaの遺伝学的分類とは異なり、①サイトカインストームを伴うGilliam株およびKarp株感染、②炎症性サイトカインの産生を伴わず、腹水の貯留とOrientiaの増殖のみを認めるKaisei株およびKato株感染、③マウスに病原性を示さないKawasaki株およびKuroki株の3群に分類されることを明らかにした。

一ゲノム情報を基にした治療等に関する研究一

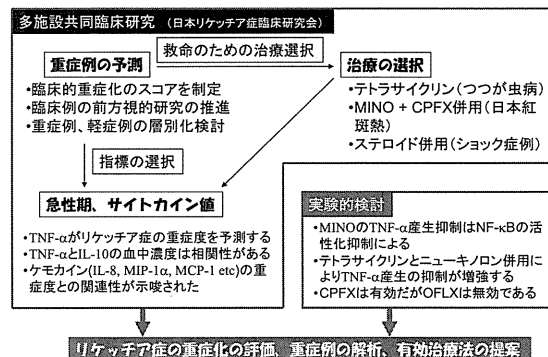
研究分担者(林 哲也)

- (1)*O. tsutsugamushi*の全ゲノム情報を基に、ペプチドグリカン合成阻害薬であるホスホマイシンがつつが虫病治療薬となりうる可能性を細胞レベルおよびマウス感染モデルで明らかにした。
- (2) *O. tsutsugamushi*のIKEDA株およびBoryong株のゲノム情報および両株のゲノム比較から、MLST解析に有効な遺伝子群を同定し、*O. tsutsugamushi*のMLST解析のプロトコールを作成し、進化系統を正確に反映した精度の高い菌株タイプングシステムであることを示した。
- (3) 日本紅斑熱リケッチア(2株)、新型紅斑熱リケッチアである*R. heilongjiangensis* および近縁の非病原性リケッチアであるLONタイプ株の全ゲノム解析を行い、日本紅斑熱リケッチア(1株)および*R. heilongjiangensis*については全ゲノム解読に成功した。日本紅斑熱リケッチア(1株)とLONタイプ株についても概要配列を取得し、現在フィンッシング作業中である。

リケッチア症重症化に関する臨床および基礎的検討

-3年間の研究成果-

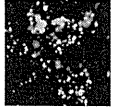
福井大学医学部 内科学(1) 岩崎博道



検査・診断に関する研究

早期診断法として

血清診断 (IF, IP)



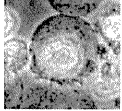
遺伝子検出 (PCR)



刺刺の痲皮・発疹部生検：有用性確認

リアルタイムPCR法を開発。今後の普及が重要。
リケッチア属、日本紅斑熱、つつが虫病他

病原体の分離 (L cell)



組織免疫染色による感染の証明とPCRとの併用で臨床応用を開始
研究分担者(堤 寛)



診断法ならびにレファレンスに関する研究

研究分担者(安藤秀二)ほか

- (1)国内のつつが虫病と日本紅斑熱検査体制の実態を調査し、将来的な課題を浮き彫りにした。
- (2)現行のリケッチア症の実験室診断・検査法に関する問題点について解析した。
- (3)国内に分布するリケッチアの多様性について分子生物学的解析を行い、情報の蓄積を行った。

つつがムシ幼虫に対する殺ダニ試験に関する基礎研究

愛知医科大学寄生虫学講座 角坂 照貴

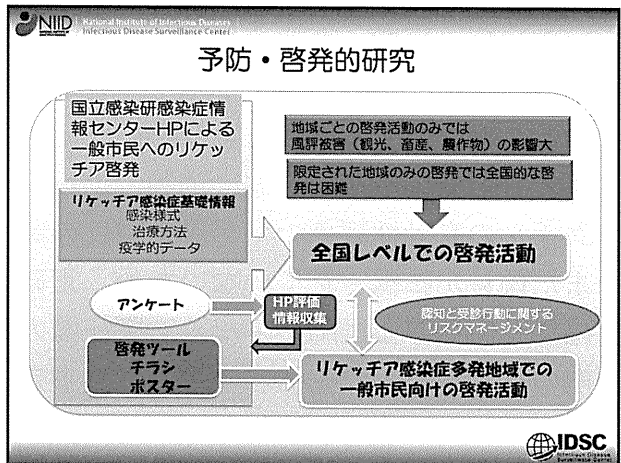


(1)殺ダニ効果が期待される8種の製剤(農業および天然物)を使用して、2種のつつがムシ幼虫に対する殺ダニ効果を継続接触試験法と直接噴霧試験法で検討した。スミチオン(フェントロチオン)は、樹木類から草本植物まで広域にわたって使用可能であることから、河川、養殖池等に飛散、流入しないよう注意して使用すれば生息数低減に効果的と考えられた。

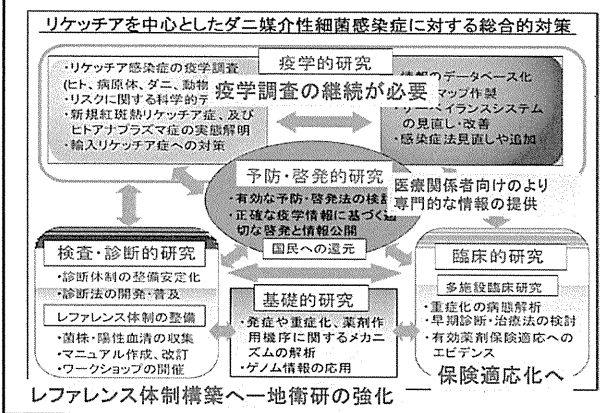
スミチオンで死んだつつがムシ幼虫

秋田県立大学

予防・啓発的研究



今後の課題



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『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 3年目 48,400,000 円 計 158,400,000 円

I. 研究の意義

- (1) 薬剤耐性の原因となるらい菌遺伝子変異の簡便・迅速な検出法がない
- (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が不明
- (4) ハンセン病の四肢機能障害発症を予防する免疫療法剤がない
- (5) 生体内らい菌の増殖を的確に抑制し、ハンセン病の発症を予防する信頼できるワクチンがない
- (6) ワクチンの有効性評価のため、再現性の高い霊長類感染モデルが必要
- (7) いまだ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、既往歴のある人(ハンセン病回復者)の医療体制が不備
- (9) 国内の正確なハンセン病患者数が把握できていない現状

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 世界規模の薬剤耐性菌の迅速な状況把握により、耐性菌拡散防止策の立案が可能
- (2) 細胞性免疫能と病型の比較解析による再発・再燃の早期診断法開発は早期治療に有用
- (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療法開発は、薬剤以外の難知性ハンセン病発症予防を期待
- (5) 感染予防および未発症のまま、生涯を閉じる方策が確立され、四肢機能障害を防ぎ差別と偏見のない社会の確立に貢献
- (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) 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. 3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) 上記成果により、抗原を長期安定に十分量かつ薬剤耐性遺伝子を持たない BCG を構築した。
- (3) 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による拠点監視事業における各検査機関ミャンマー、ベトナム、メキシコ等の遺伝子変異検出技術を統一することにより、正確なデータの収集に寄与した。
- (2) ダプソン、リファンピシンおよびキノロン薬剤耐性のDNA診断がより正確に行えるようになった。

・ **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。
- (2) 入所者の細胞性免疫能評価より、IFN- γ 、IL-10 産生は多菌型で少菌型より低い傾向を認めた。

・ **研究分担者 鈴木幸一**

- (1) 感染マクロファージ内で脂質の蓄積に関わるタンパクが誘導されることを示した。
- (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、パーフォリン等を T 細胞から産生させ、直接的に殺菌する事を明らかにした。
- (2) 細胞内の酸性条件は、らい菌を殺菌する事を示唆した。

・ **研究分担者 牧野正彦**

- (1) BCG HSP70 とらい菌主要抗原 MMP-II 遺伝子の融合分泌蛋白産生 BCG (BCG-70M) は、ヒト未感 CD4 もしくは 8 陽性 T 細胞を強く活性化し、大量の IFN- γ の産生を誘導した。
- (2) *ure-C* 遺伝子破壊 BCG に HSP70-MMP-II 融合遺伝子を導入すると (BCG-D70M 作製) 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、マウス生体内でらい菌の増殖を強く抑制した。

・ **研究分担者 野上玲子**

- (1) 療養所創立以来の医療・看護・生活環境を含めた『百年の星霜』を出版し、啓発に供した。海外向けに英語版『アーカイブズから見るハンセン病の歴史』として出版した。
- (2) アーキビストを交え、医学資料の取扱いを主題とするフォーラムを開催し、医学史研究者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 3 回実施し、ハンセン病回復者を診療できる医療機関を公開
- (2) 2009, 2010, 2011 年のハンセン病新規患者数を把握

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 薬剤耐性らい菌のより広範な監視
- (2) 各病型の細胞性免疫能の相関につき解析症例を増し、再発・再燃早期診断法の構築
- (3) 病態や治療により変化することが明らかになった遺伝子発現を、多くの臨床検体で検証
- (4) らい菌の細胞内殺戮メカニズムの解明とその免疫療法への応用
- (5) ハンセン病・結核共通ワクチンの開発
- (6) らい菌接種サルの経時観察

- (7)他疾患に先駆ける医学資料アーカイブズ構築のモデル化
- (8)ハンセン病を正確に診療できる医師数を増やし、診療のネットワークを拡大する
- (9)毎年のハンセン病新規患者数および再発患者数の把握

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1)薬剤耐性早期診断はWHOの耐性菌監視事業を通じ世界へ向け日本の貢献を示すことができる。
- (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・発症予防ワクチンの確立、有用な免疫療法剤の同定は、濃厚流行国における若年発症者をなくし働き手を確保し、差別等の社会問題の解決に貢献
- (4)社会で生活するハンセン病回復者の医療の充実
- (5)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.*, 2010. 185: 6234-6243.

研究分担者

甲斐雅規: Kai M., Nguyen Phuc NH, Nguyen HA, Pham TH, 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.* 2011;52:e127-32.

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*, 2010.79:156.

鈴木幸一 : Suzuki K., Akama T, Kawashima A, Yoshihara A, Yotsu RR and Ishii N. Current status of leprosy: epidemiology, basic science and clinical perspectives. *J Dermatol* 2011.38:1-9.

前田百美 : Maeda Y., Tamura T, Fukutomi Y, Mukai T, Kai M, and Makino M. A lipopeptide facilitate induction of Mycobacterium leprae killing in host cells. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011, (in press).

牧野正彦 : 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.*, 2010.185: 6234-6243.

野上玲子 : The view from archives-History of Hansen's disease in Kumamoto, Japan-Information dispatch from Kikuchi Keifuen 編集責任者 野上玲子

石井則久 : 石井則久, 石田 裕, 岡野美子, 尾崎元昭, 儀同政一, 熊野公子, 後藤正道, 野上玲子, 畑野研太郎, 山田 暁, 四津里英:らい性結節性紅斑(ENL)に対するサリドマイド診療ガイドライン. *日本ハンセン病学会誌* 2011.80: 275-285.

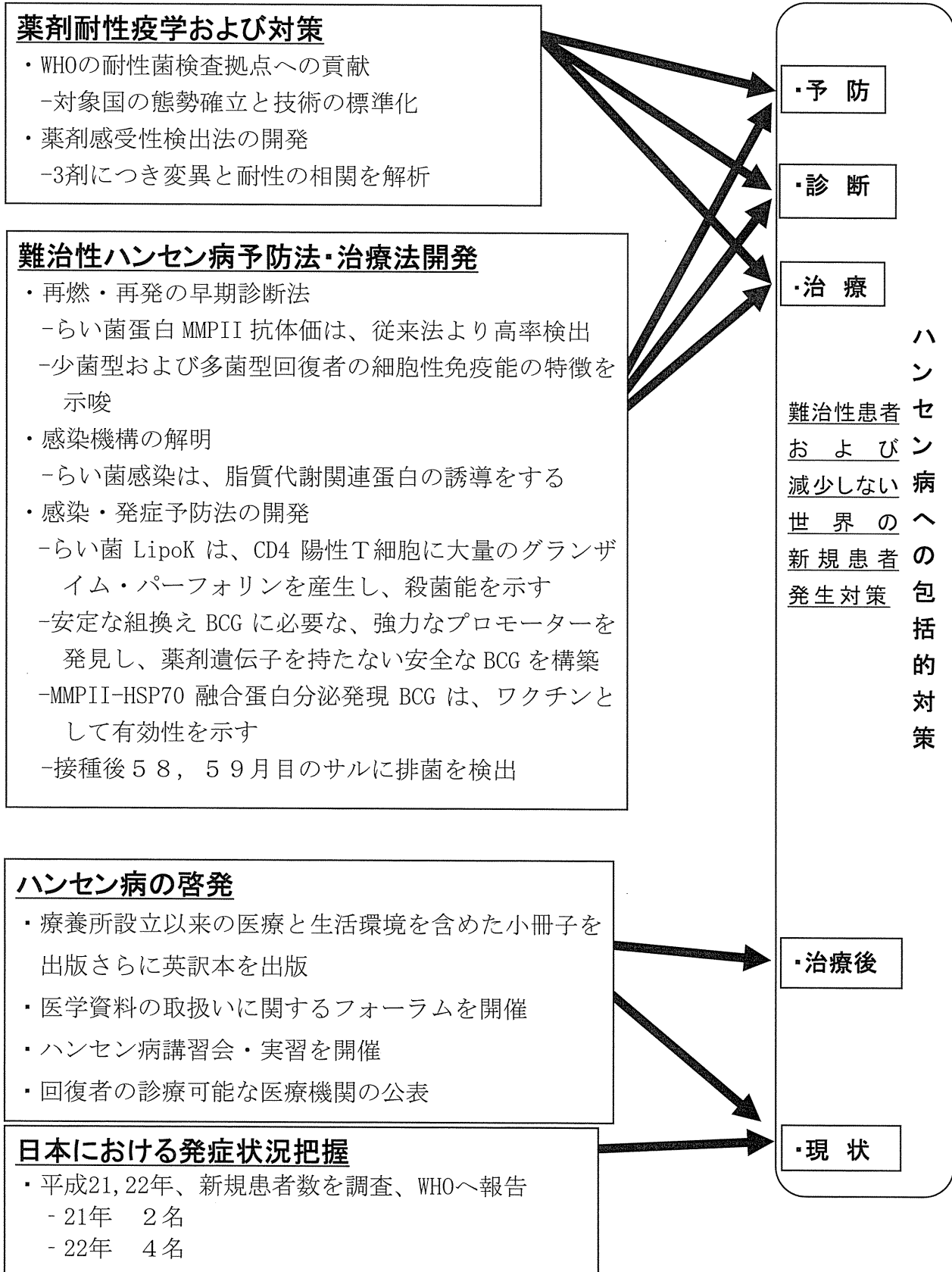
研究協力者

中田 登: Nakata N., Kai M., & Makino M. Mutative analysis of the Mycobacterium leprae folP 1 gene and dapsone resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011. 55: 762-766.

松岡正典 : Yokoyama K, Kim H, Mukai T, Matsuoka M., Nakajima C, Suzuki Y. Amino acid substitutions at position 95 in GyrA can add fluoroquinolone resistance to Mycobacterium leprae. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012 in press

Ⅶ. Ⅲ(3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

・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 (教授転任)	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	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) Yokoyama K, Kim H, Mukai T, Matsuoka M, Nakajima C, Suzuki Y. Amino acid substitutions at position 95 in GyrA can add fluoroquinolone resistance to *Mycobacterium leprae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012 in press
- 2) Maeda Y, Tamura T, Fukutomi Y, Mukai T, Kai M, Makino M. A lipopeptide facilitate induction of *Mycobacterium leprae* killing in host cells. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011. in press
- 3) Tsukamoto Y, Endoh M, Mukai T, Maeda Y, Tamura T, Kai M, Makino M. Immunostimulatory activity of major membrane protein II from *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Vaccine Immunol.* 2011, 18:235-42.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.

・平成24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公募課題の応募状況

ハンセン病の予防法及び診断・治療法の開発・普及に関する研究

平成23年度 新型コロナウイルス等病原体・再燃等感染症研究事業 H21-研創一一般-007
 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
 研究代表者 向井 敏(国立感染症研究所ハンセン病研究センター感染制御部)

・*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

1. 薬剤耐性対策
甲斐、(松岡、中田)
2. 再発・再燃に対する
モニタリングシステム開発
飯島
3. ワクチン・免疫療法開発
鈴木、前田、牧野、向井
4. 啓発
野上、石井

方法

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. 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. 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
サル感染症の樹立
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

ハンセン病への包括的対応

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 → ヘアピンルーブリアルタイムPCR法

folP1 ダブゾン
 rpoB リファンピシ
 gyrA キノロン

結果判定 → 臨床サンプル応用

サンプル採取 → 最短4時間で、9変異検討

WHOのハンセン病薬剤耐性菌監視拠点への貢献(18カ国、31拠点)

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

近年、既存の変異ではない耐性らい菌

迅速発育菌による変異と耐性相関試験法

M. smegmatis

1. らい菌耐性変異導入
2. 宿主酵素破壊

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 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

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

1st line 1. ダブゾン folP1
 WHO/MDT リファンピシ rpoB
 クロファジミン ???

2nd line キノロン gyrA
 ミノサイクリン rrs?
 クラリスロマイシン ml?

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例の血清所見

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

再燃・再発の事前予測モニタリングシステムへの応用を検討

過去の病態と現在の抗体価相関
 回復者検診血清ELISA

H21 231検体 H22 215検体 H23 193検体

過去の病態と現在の細胞性免疫能相関

対照: 入所者23名、対照16名
 PB 11名
 MB 12名

刺激: らい菌破砕液、rMMPII蛋白
 測定: FACSによりIL-10, IFN- γ 測定

入所者は、低い応答性の傾向
 MMPII応答者が存在

皮膚病変の広範囲の症例ほど高値

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, OLR2

自然免疫活性化

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

Oil Red O, ADRP, HSL

皮膚スミアのHSL発現は病態や治療効果を反映する可能性がある

Case No.	MDT	HSL	β -actin
1	0	+	+
2	4	+	+
3	5	+	+
4	6	+	+
5	0	+	+
6	1	+	+
7	1	+	+
8	4	+	+
9	1	+	+
10	1	+	+
11	4	+	+
12	24	+	+
13		+	+
14		+	+
15		+	+
16		+	+
17		+	+

・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-G12.3-dipalmitoyloxy-propyl
 CLPDLWLSGLTGG (13 AA)

抗らい菌免疫賦活機序解明

LipoK添加により細胞内らい菌は死ぬ

CO₂ evolved (CPM)

ML, IFN γ , IL2, ML+LipoK, CDS⁺ IFN γ , IL2

LipoK添加によりGranulysin分泌上昇

Granulysin, ML, ML+LipoK

1.67, 18.9

CD8

グラニューライシン、グランゼイムBは
 直接らい菌を殺菌する
 p<0.01, p<0.02

ML, +granulysin, +granzyme B

・LipoKは、Granzyme BおよびGranulysinの発現上昇を誘導
 ・Granzyme BおよびGranulysinは、らい菌を直接破壊

LipoKは、ハンセン病免疫療法分子として活用可能

免疫応答を賦活する治療分子の探索

none ML ML+LipoK

54, 38.7, 29.8, 8.4

LipoKおよびらい菌を感染させたヒト樹状細胞より放出されたエキソソームには、35kDaのらい菌膜蛋白が、含まれる