

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23406011

研究課題名(和文) 潜在性結核の検出と、結核の発症予知技術の確立を目指した、ケニア国における調査研究

研究課題名(英文) Research in Kenya for the development of diagnosis of latent and active tuberculosis

研究代表者

松本 壮吉 (Matsumoto, Sohkiichi)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：30244073

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円、(間接経費) 4,230,000円

研究成果の概要(和文)：ケニア西部の感染症高蔓延地区であるビクトリア湖畔のMbita地区、およびインド洋側のKwale地区の2地区において、参集の容易な小学生総数627名を対象に調査を行った。両地区では、小学生を問診後、体重、身長、体温等を測定、さらに検者より、血液、尿、糞便を採取して健康状態や結核菌をはじめとする各種病原体の感染を検出した。調査の結果、潜在期抗原が、増殖期抗原で検出できない結核菌感染者を検出する可能性を示した。加えて鉤虫や吸虫の感染やコレステロール量が、結核菌感染のリスクである可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Tuberculosis is deadly infectious diseases found worldwide and remains a leading public health problem. The majority of TB cases arise from latent Mycobacterium tuberculosis infection (LTBI). However the risk of LTBI and development of TB from infection is largely unknown. We conducted comprehensive health survey in TB endemic area, Kenya Africa. In this study, 627 children from schools situated in two different sites, Mbita and Kwale districts, Kenya were enrolled. And we conducted comprehensive survey including biochemical analysis of blood and detection of infections of parasitic and bacterial pathogens. We found latent antigens M. tuberculosis is a candidates for more sensitive diagnosis of LTBI and hookworm infection is a risk of Mycobacterium tuberculosis infection besides active tuberculosis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：6911

キーワード：感染症 結核 寄生虫 栄養 アフリカ

1. 研究開始当初の背景

結核菌のすみかにはヒトであり、感染者（潜在性結核）の5-10%で、潜伏菌の再増殖が生じ結核が発症する。したがって、感染者（活動性結核に加え、潜在性結核）に対処することが結核の制圧につながる。それには潜在性結核の検出技術や発症の予知法を開発する必要がある。また結核流行地では、国内と異なる栄養状況、HIV等のウイルス感染や寄生虫感染など多重感染が生じている可能性が十分にあり、それらの潜在性結核や結核発症に対するリスクは殆ど検討されていない。

2. 研究の目的

本研究では、増殖期の結核菌特異的抗原に加え、休眠期抗原に対する宿主応答の検出を軸に、問診、健康調査、血液生化学試験、各種病原体の感染状況を調査し、潜在性結核の検出や結核菌感染や疾患発症のリスク因子の同定を目指し、結核蔓延地区であるケニア共和国にて実施した。

3. 研究の方法

薬剤感受性試験

ケニア西部の感染症高蔓延地区であるピクトリア湖畔のMbita地区、およびインド洋側のKwale地区の2地区において、参集の容易な小学生総数627名を対象に調査を行った。両地区では、小学生を問診後、体重、身長、体温等を測定、さらに検者より、血液、尿、糞便を採取した。尿や糞便に関しては、pHや出血の有無等を確認後、各種寄生虫や寄生虫卵の存在を染色後、顕微鏡下で観察した。血液に関してはマラリア原虫感染、リンパ球数の測定、抹消血単核球を分離し、各種結核菌蛋白質と混和し、37度にて炭酸ガス培養器にて培養、経時的に培養上清を採取し、結核菌抗原刺激の結果、T細胞より産生された上清中のサイトカインの産生量をELISA法により測定した。また分離した血漿の成分を生化学に分析した。

本研究は、ケニア共和国の倫理委員会（ケニア中央医学研究所）に研究計画書を提出し、承認されたのちに実施した。また、全ての対象者もしくはその保護者（両親）から、同意を得た後に実施した。

4. 研究成果

潜在期抗原であるMDP1やAcrに対する反応者が19%を検出したが、増殖期抗原ESAT6—CFP10反応者(31%)と異なる感染者を検出する傾向があることが分かった。また地域格差も認められ、Mbita地区では、マンソン住血吸虫感染が多く小学校によっては感染者が80%を超える状況であったが、鉤虫感染率は低い傾向があった。一方、Kwale地区では、ビルハルツ住血吸虫と鉤虫感染率がそれぞれ、34.4%、26.7%と高く、その他の寄生虫感染はほとんど見られなかった。Mbita地区では、鉤虫（hookworm）感染（ $p=0.21$ 、オ

ッズ比3）と結核菌感染の相関が認められた。Kwale地区では、ビルハルツ住血吸虫感染（ $p=0.01<$ ）や高値のコレステロール量（ $p=0.046$ ）とは明らかな逆相関が認められた（ $p=0.01$ オッズ比0.3）。これらの知見は、結核の高度汚染地域において潜在期抗原が、増殖期抗原で検出できない感染者を検出する可能性を示した。加えて鉤虫や吸虫の感染やコレステロール量が、潜在性結核のリスクであることを示した。

一方、結核の再興を引き起こしてきたHIV感染については、倫理申請はパスしたものの、今回の調査では住民の賛同を得るに至らず、断念せざるを得なかった。しかし検査結果を生徒の父兄に周知して成果の還元を図るなど住民と接触してきた結果、HIV感染を調査できるまでに、協力体制・信頼関係が構築されている。本研究成果をベースとして、来年度以降は、小学生に限定せず地域住民全体を対象とし、HIV感染の有無のサーベイを加えた上で、経時的な結核菌感染と発症のリスク解析を継続していく予定である。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計22件)

1) Nagi S., Chadeka E., Sunahar T., Fernando Chaves L., Mutung F., Yombo KDJ., S. Kaneko, H. Ogura, Y. Ichinose, SM. Matsumoto S., Njenga S, Hashizume M., Shimada M., Hamano S., Risk Factors and Spatial Distribution of *Schistosoma mansoni* Infection among Primary School Children in Mbita District, Western Kenya. PLOS Neg Trop Dis, in press 2014. (査読有り)

2) Nishiuchi, Y., Tamaru, A., Suzuki, Y., Kitada, S., Maekura, R., Tateishi, Y., Niki, M., Ogura, H., and Matsumoto, S. 2014. Direct detection of *Mycobacterium avium* in environmental water and scale samples by loop-mediated isothermal amplification. J Water Health, in press 2014. (査読有り)

3) Manabu I, Nagi S., Chadeka E., Mutungi F., Osada-Oka M., Ono K., Oda T., Michinori T., Ozeki Y., Dan Justin Yombo K., Okabe M., Niki M., Hirayama Y., Fukui M., Kobayashi K., M. Matsumoto, M. Shimada, S. Kaneko, H. Ogura, Y. Ichinose, SM. Njenga, S. Hamano, and S. Matsumoto. 2014. Relationship between *Mycobacterium tuberculosis* and hookworm infections among school children in Mbita, Kenya, J Trop Dis. in press 2014. (査読有り)

- 4) 松本 壮吉、結核とその制圧を目指した研究、新潟医学会誌、766、2-7、2014（査読無し）
- 5) Yamashita, Y., Y. Hoshino, M. Oka, S. Matsumoto, H. Ariga, H. Nagai, M. Makino, K. Ariyoshi, and Y. Tsunetsugu-Yokota. 2013. Multicolor Flow Cytometric Analyses of CD4(+) T Cell Responses to Mycobacterium tuberculosis-Related Latent Antigens. Jpn J Infect Dis 66:207-215.（査読有り）
- 6) Tateishi, Y., A. Tamaru, Y. Ogura, M. Niki, T. Wada, T. Yamamoto, K. Hirata, T. Hayashi, and S. Matsumoto. 2013. Whole-Genome Sequence of the Potentially Hypertransmissible Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis Beijing Strain OM-V02_005. Genome Announc 1 e00608-13.（査読有り）
- 7) Taniguchi, K., T. Takii, S. Yamamoto, J. Maeyama, S. Iho, M. Maruyama, N. Iizuka, Y. Ozeki, S. Matsumoto, T. Hasegawa, Y. Miyatake, S. Itoh, and K. Onozaki. 2013. Reactivation of immune responses against *Mycobacterium tuberculosis* by boosting with the CpG oligomer in aged mice primarily vaccinated with Mycobacterium bovis BCG. Immun Ageing 10:25.（査読有り）
- 8) Osada-Oka, M., Y. Tateishi, Y. Hirayama, Y. Ozeki, M. Niki, S. Kitada, R. Maekura, K. Tsujimura, Y. Koide, N. Ohara, T. Yamamoto, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2013. Antigen 85A and mycobacterial DNA-binding protein 1 are targets of immunoglobulin G in individuals with past tuberculosis. Microbiol Immunol 57:30-37.（査読有り）
- 9) 仁木 満美子、松本 壮吉、鉄代謝およびイソニアジド耐性にかかわる結核菌分子の機能と治療法開発の可能性。化学療法の領域、Vol29 2号、P119-124. 2013.（査読無し）
- 10) 松本 壮吉、潜在性結核と結核菌の潜伏感染メカニズム、医学のあゆみ、246、470-473. 2013（査読無し）
- 11) 松本 壮吉、抗菌薬の休眠現象や薬剤抵抗性に関わる分子メカニズム、Jpn. J. Lepr、82、119-122、2013（査読無し）
- 12) Fukuda, T., T. Matsumura, M. Ato, M. Hamasaki, Y. Nishiuchi, Y. Murakami, Y. Maeda, T. Yoshimori, S. Matsumoto, K. Kobayashi, T. Kinoshita, and Y. S. Morita. 2013. Critical roles for lipomannan and lipoarabinomannan in cell wall integrity of mycobacteria and pathogenesis of tuberculosis. MBio 4:e00472-00412.（査読有り）
- 13) Tateishi, Y., S. Kitada, K. Miki, R. Maekura, Y. Ogura, Y. Ozeki, Y. Nishiuchi, M. Niki, T. Hayashi, K. Hirata, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2012. Whole-Genome Sequence of the Hypervirulent Clinical Strain Mycobacterium intracellulare M.i.198. J Bacteriol 194:6336.（査読有り）
- 14) Tamaru, A., C. Nakajima, T. Wada, Y. Wang, M. Inoue, R. Kawahara, R. Maekura, Y. Ozeki, H. Ogura, K. Kobayashi, Y. Suzuki, and S. Matsumoto. 2012. Dominant Incidence of Multidrug and Extensively Drug-Resistant Specific Mycobacterium tuberculosis Clones in Osaka Prefecture, Japan. PLoS One 7:e42505.（査読有り）
- 15) Niki, M., M. Niki, Y. Tateishi, Y. Ozeki, T. Kirikae, A. Lewin, Y. Inoue, M. Matsumoto, J. L. Dahl, H. Ogura, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2012. A novel mechanism of growth phase-dependent tolerance to isoniazid in mycobacteria. J Biol Chem 287:27743-27752.（査読有り）
- 16) Fujii, J., M. Naito, T. Yutsudo, S. Matsumoto, D. P. Heatherly, T. Yamada, H. Kobayashi, S. Yoshida, and T. Obrig. 2012. Protection by a Recombinant Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guerin Vaccine Expressing Shiga Toxin 2 B Subunit against Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in Mice. Clin Vaccine Immunol 19:1932-1937.（査読有り）
- 17) 松本 壮吉、尾関 百合子、小林和夫、新しい結核ワクチン開発の展望。臨床と微生物、Vol39 2号、P131-136、2012.（査読無し）
- 18) Takatsuka, M., M. Osada-Oka, E.F. Satoh, K. Kitadokoro, Y. Nishiuchi, M. Niki, M. Inoue, K. Iwai, T. Arakawa, Y. Shimoji, H. Ogura, K. Kobayashi, A. Rambukkana, and S. Matsumoto. 2011. A Histone-Like Protein of Mycobacteria Possesses Ferritin Superfamily Protein-Like Activity and Protects against DNA Damage by Fenton Reaction. PLoS One 6:e20985.（査読有り）
- 19) Ozeki, Y., Y. Hirayama, T. Takii, S. Yamamoto, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2011. Loss of anti-mycobacterial efficacy in mice over time following vaccination with Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin.

- Vaccine 29:6881-6887. (査読有り)
- 20) Kasahara, E., A. Sekiyama, M. Hori, K. Hara, N. Takahashi, M. Konishi, E. F. Sato, S. Matsumoto, H. Okamura, and M. Inoue. 2011. Mitochondrial density contributes to the immune response of macrophages to lipopolysaccharide via the MAPK pathway. *FEBS Lett* 585:2263-2268. (査読有り)
- 21) Kobayashi, K., M. Ato, and S. Matsumoto. 2011. Global threats and the control of multidrug-resistant tuberculosis. *J. Disaster Res.* 6: 443-450. (査読有り)
- 22) 仁木 満美子、仁木 誠、尾関 百合子、岡 真優子、松本 壮吉、結核研究の新たな展開-潜在性結核と結核菌：休眠現象の分子メカニズム-、最新医学、Vol66 3号、P149-155、2011 (査読無し)

〔学会発表〕(計 29 件)

1. Nishiuchi, Y. and S. Matsumoto. Mycobacterium avium Infects Human Erythrocytes in vitro. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting in Japan. 17-18 August, 2013, Sapporo, Japan.
2. Osada-Oka, M., S. Matsumoto, Y. Ozeki, Y. Minamiyama. Ferritin superfamily protein-like activity in mycobacterial DNA-binding protein 1. 6th Joint Meeting of The Societies for Free Radical Research Australasia and Japan. 12-14 September, 2013, Sydney, Australia
3. 松本 壮吉 抗酸菌の潜伏感染や薬剤抵抗性に関わる分子メカニズム. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2013 年 5 月 29-31 日さいたま市
4. 岡 真優子、松本 壮吉、尾関 百合子、市川 寛、南山 幸子. 結核菌感染に対するマクロファージの生体防御機構. 第 66 回日本酸化ストレス学会, 2013 年 6 月 13 日(木)~14 日(金), 名古屋市
5. 岡 真優子、松本 壮吉、尾関 百合子、南山 幸子. 宿主細胞内で増殖する結核菌のエネルギー産生と増殖機構. 第 7 回細菌学若手コロッセウム, 2013 年 8 月 7 日(水)~9 日(金), 広島県三原市.
6. 前山 順一、山崎 利雄、山本 十系子、林 大介、松本 壮吉、網 康至、伊保 澄子、山本 三郎. 結核ブースターワクチンとしての結核菌組換え蛋白 MDP1 および TLR9 リガンド G9.1 アジュバントの結核菌噴霧感染による評価. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会. 2013 年 11 月 30 日から 12 月 1 日 津市
7. 戸田 彩季、瀬戸 俊之、時政 定雄、新宅 治夫、松本 壮吉. BCG ワクチン接種が原因と思われる骨髄炎の幼児. 第 54 回日本熱帯医学会大会. 2013 年 10 月 4-5 日 長崎市.
8. 井上 学、岡 真優子、仁木 満美子、尾関 百合子、一瀬 休生、濱野 真二郎、松本 壮吉. ケニア共和国 Mbita 地区の児童における結核菌感染と鉤虫感染の関連. 第 54 回日本熱帯医学会大会. 2013 年 10 月 4-5 日長崎市.
9. 岡 真優子、立石 善隆、平山 幸雄、尾関 百合子、前倉 亮次、小林 和夫、松本 壮吉. 潜在性結核のバイオマーカーとしての抗 Antigen85 および Mycobacterium DNA-binding protein 1 抗体. 第 54 回日本熱帯医学会大会. 2013 年 10 月 4-5 日 長崎市.
10. 松本 壮吉. 結核菌の休眠現象と潜在性結核診断の可能性. 第 2 回結核感染診断研究会 2012 年 5 月 9 日 広島
11. 仁木 満美子 松本 壮吉. 定常期抗酸菌にみられるイソニアジド抵抗性獲得メカニズムの解析. 第 82 回実験結核研究会 2012 年 5 月 9 日 広島
12. 西内 由紀子、戸谷 孝洋、立石 善隆、前倉 亮治、松本 壮吉. 非結核性抗酸菌が形成するバイオフィルムの生態学的特徴. 第 26 回 Bacterial Adherence & Biofilm 学術集会 2012 年 7 月 13 日 大阪
13. 松本 壮吉. 結核菌の増殖、長期生存、および静止期以降の薬剤抵抗性獲得の分子メカニズム. 第 26 回 Bacterial Adherence & Biofilm 学術集会 2012 年 7 月 13 日 大阪
14. 松本 壮吉. 休止期結核菌の性状と、休止期抗原を利用した結核菌感染検出の試み. 第 44 回関西抗酸菌研究会. 2012 年 8 月 24 日 大阪
15. Nishiuchi Y., S. Kitada, S. Matsumoto, and R. Maekura. Recovery and genetic polymorphism of Mycobacterium avium complex (MAC) in the Bathroom. Tuberculosis 2012. 11-15 September, 2012, Paris, France.
16. Inoue M., S. Nagi, E. Faith, M. Osada-Oka, K. Ono, Y. Ozeki, M. Niki, K. Kobayashi, M. Matsumoto, M. Shimada, S. Kaneko, Y. Ichinose, S. Njenga, S. Hamano, and S. Matsumoto. ケニア共和国における、学生の潜在性結核菌感染と様々な寄生虫感染. 第 53 回日本熱帯医学会大会 2012 年 9 月 5-6 日 北海道

17. Matsumoto S. Functions of mycobacterial DNA binding protein and its contribution to the persistent infection of *Mycobacterium tuberculosis*. The 11th Korea-Japan International Symposium on Microbiology. 13-14 September, 2012, Buyeo, Korea.

18. 前山 順一, 伊保 澄子, 岡 真優子, 松本 壮吉, 山本 三郎. 結核ブースターワクチンとしての結核菌組換えタンパク質およびアジュバントの評価. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会 2012 年 11 月 17-18 日 神奈川

19. 立石善隆, 北田清悟, 前倉亮治, 松本壮吉. 結核血清診断の進歩. 第 86 回日本結核病学会総会 2011 年 6 月 2-3 日 東京

20. 仁木誠, 仁木満美子, 松本壮吉. 抗酸菌の薬剤感受性におけるヒストン様蛋白質の機能解析. 第 86 回日本結核病学会総会 2011 年 6 月 2-3 日 東京

21. Sohkichi Matsumoto. HOST FACTORS HAVING AN IMPACT ON THE GROWTH OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS. International Union Microbiological Societies 2011 Congress, 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

22. Yukiko Nishiuchi, Sohkichi Matsumoto, Yoshitaka Tateishi, Nobuyasu Yamaguchi, Masao Nasu. BIOFILM FORMATION OF MYCOBACTERIUM AVIUM ISOLATED FROM LIVING ENVIRONMENT. International Union Microbiological Societies 2011 Congress, 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

23. Jun-Ichi Maeyama, Sumiko Iho, Mayuko Osada-Oka, Sohkichi Matsumoto, Masanori Isaka, Saburo Yamamoto. IMMUNE RESPONSES IN GUINEA PIG ADMINISTERED WITH ANTI-TUBERCULOSIS BOOSTER VACCINE CANDIDATE International Union Microbiological Societies 2011 Congress, 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

24. Yuriko Ozeki, Kazuo Kobayashi, Sohkichi Matsumoto. THE EFFICACY OF BCG MAY BE A TIME-DEPENDENT AFTER THE VACCINATION AND AGE-INDEPENDENT IN MICE. International Union Microbiological Societies 2011 Congress, 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

25. 松本壮吉, 小林和夫. 結核菌の休眠現象と潜在性結核. 第 84 回日本生化学会

2011 年 9 月 21-24 日 京都

26. 松本壮吉. 結核菌がゆっくと長く生きるメカニズムと結核の制圧を目指した研究. 第 52 回日本熱帯医学会大会・第 26 回日本国際保健医療学会学術大会 2011 年 11 月 4-6 日 東京

27. 松本壮吉. 結核菌の増殖制御機構と結核制圧戦略. 第 7 回霊長類医科学フォーラム 2011 年 11 月 18 日 茨城

28. Yuriko Ozeki, Yukio Hirayama, Osada-Oka mayuko, Takemasa Takii, Saburo Yamamoto, Kazuo Kobayashi, and Sohkichi Matsumoto. Loss of anti-mycobacterial efficacy in mice over time following vaccination with *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin. 第 64 回日本細菌学会関西支部総会 2011 年 11 月 19 日 大阪

29. 岡真優子, 合田亘人, 曾我朋義, 尾関百合子, 小林和夫, 松本壮吉, 岩尾洋. マクロファージ内結核菌増殖における宿主グルコース代謝の重要性. 第 64 回日本細菌学会関西支部総会 2011 年 11 月 19 日 大阪

〔図書〕(計 2 件)

- 1) 西内 由紀子, 立石 善隆, 山田 毅, 松本 壮吉, 人獣共通感染症, 木村 哲, 喜田 宏 編集, 非結核性抗酸菌症 改訂版, 医薬ジャーナル社, 2011 p337-342.
- 2) Niki M and Matsumoto S. Host and bacterial factors that regulate *Mycobacterium tuberculosis* infection and persistence. Yamamoto S, Maeyama J, and Takii T editors. BCG vaccine and adjuvant, Japan anti-tuberculosis association, Tokyo, 2011, p215-238.

〔産業財産権〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

松本 壮吉 (MATSUMOTO SOHKICHI)
新潟大学・医歯学系・教授
(研究者番号 30244073)

(2)研究分担者

濱野 真二郎 (HAMANO SHINJIRO)
長崎大学・熱帯医学研究所・教授
(研究者番号 70294915)

研究分担者

小林 和夫 (KOBAYASHI KAZUO)
国立感染症研究所・免疫部・部長
(研究者番号 20142432)

研究分担者

阿戸 学 (ATO MANABU)
国立感染症研究所・免疫部・部長
(研究者番号 20392318)

(3)連携研究者

嶋田 雅暁 (SHIMADA MASA AKI)
長崎大学・熱帯医学研究所・教授
(研究者番号 70124831)

金子 聡 (KANEKO SATOSHI)
長崎大学・熱帯医学研究所・教授
(研究者番号 00342907)