

平成 30 年 9 月 11 日現在

機関番号：35308

研究種目：基盤研究(A) (海外学術調査)

研究期間：2014～2017

課題番号：26257506

研究課題名(和文) 熱帯・災害感染症におけるマトリセルラー蛋白質の臨床的意義に関する研究

研究課題名(英文) A study on the clinical significance of matri-cellular proteins in tropical and disaster infections

研究代表者

服部 俊夫 (Hattori, Toshio)

吉備国際大学・保健医療福祉学部・教授

研究者番号：30172935

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 25,600,000円

研究成果の概要(和文)：タイのマラリア患者血漿を用いて、Galactin-9(Gal-9)の測定を行った。マラリアでは重症型と軽症型ともに、Gal-9値が入院時に上昇し、徐々に低下した。また前者が後者より有意に上昇している。Gal-9が重症度を反映していた。災害感染症であるレプトスピロシスでは患者尿のProteomics解析を行い、尿中にDefensin alpha1が存在していることを報告した。気象との関連ではマニラの5月の降雨後にデングとレプトの発生があり、降雨のみではなく気温と湿度が発生に関与することを明らかにした。マニラ及びインドネシアの結核患者血漿をもちいて、Osteopontinの上昇を報告した。

研究成果の概要(英文)：Galactin-9 (Gal-9) was measured using Thai malaria patient plasma. In malaria, the Gal - 9 value increased markedly at hospitalization in both severe and mild cases. Also, the former was significantly higher than the latter, indicating Gal-9 reflects the severity of malaria.

Proteomics analysis of patient urine was performed in leptospirosis, a disaster infectious disease, and it was reported for the first time that Defensin alpha 1 was present in the urine. The involvement of neutrophils were implicated in pathogenesis. In the context of weather, Manila rained in May after dengue and lept occurred, revealed that not only rain but temperature and humidity are involved in the epidemics of the diseases.

We also reported the rise in Osteopontin (OPN), using plasma from tuberculosis patients in Manila and Indonesia. The rise of OPN, iP10 and neutrophils were the most remarkable changes.

研究分野：感染免疫

キーワード：ガレクチン9 オステオポンチン デング マラリア レプトスピロシス 災害 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

温暖化に伴い我が国でも発生した熱帯感染症であるデング熱、及び世界の2億人が罹患し、200万人が死亡するマラリア感染症。マニラでは2009年の洪水後89名が死亡し、我が国にも未だ散見される代表的な災害感染症であるレプトスピロシス。ここではこれらの疾患を対象とする。既にデング熱でマトリセルラー蛋白である Galectin-9 (Gal-9) が病勢を反映すること、及び Osteopontin (OPN) も上昇するが切断型が回復期に現れることを見出してきた。今回はこれらの蛋白の意義を上記疾患に加え熱帯・災害感染症でもある結核も対象にして検索する。

2. 研究の目的

デング熱は世界最大の熱帯感染症である。また蚊媒介感染症はヒトが自然に直接曝された際の災害感染症でもある。既にデング熱患者血漿を用いて、バイオマーカーとして、マトリセルラー蛋白が重要であることを世界に先駆けて明らかにしてきた。Gal-9 は炎症初期に迅速に出現し、重症度関連項目、血小板、plasma leakage (ヘマトクリット値) と強く相関し他の疾患ではみられない高値を示す。トロンピンで切断される OPN の切断型 (N-Half) もヒト疾患として報告されていない程の高値を示す。ここではマニラのデング熱に加え、タイのマラリア患者、インドネシアの結核患者由来血漿を新たにサンプルとして加えマトリセルラー蛋白が予後決定因子であることを明らかにする。さらに代表的な災害感染症であるレプトスピロシスの患者サンプルより新たなバイオマーカーを同定する試みを行った。

3. 研究の方法

マラリアサンプルはマヒドール大学の共同研究者である、スリピチャ教授の協力で班員の狩野繁之が得た。また臨床データ、統計学的処理はマヒドール大学とともに行った。インドネシアの研究協力者であるアリスジャバナ博士の研究室よりインドネシアの健常人、LTBI、結核患者血漿と修士学生を得て解析を行った。さらにサンラザロ病院の共同研究者であるエリザベステラン所長より、レプトスピロシスの尿検体及び発生数と年間の気象データを得た。Gal-9 を仁木班員の協力でホル口班員が ELISA で測定し、データを解析した。OPN も ELSA で測定し、また多種類のサイトカインを Luminex で測定した。さらに気象と感染症の相関を札幌市大の鷲見准教授との共同研究で行った。

4. 研究成果

マラリア (文献2)

マヒドール大学に入院した50例(41例は軽症で9例は重症例のマラリア患者の血漿を解析した。

図1に示すように Gal-9 値は day0 では day 7, 28 に比べて有意に高値であった。また重症例

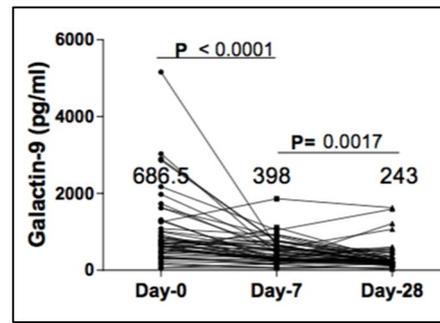


図1. マラリア患者血漿中の Gal-9

が軽症例に比べて高く、さらに BUN/Creatinine 比の高い群の Gal-9 値は低い群にくらべて、有意に高く(図2) 病勢を反映する因子であることを明らかにした。

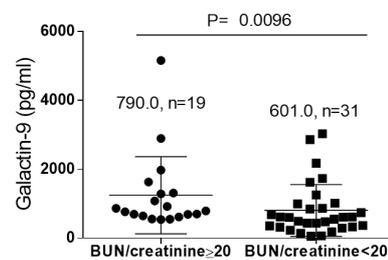


図2 BUN/Creatinine 比と Gal-9

さらに Gal-9 は TNF, IL-6, IFN- α 2, IFN- γ , IL-1R α や IL-10 などの従来病勢マーカーと知られている因子と相関がみられた。

レプトスピロシス (文献1,6) サンラザロ病院から収集した135例のレプトスピロシスの患者尿の proteomics 解析で今まで報告されていない、defensin α 1 (uDA1) を同定したので、その意義を検討した。

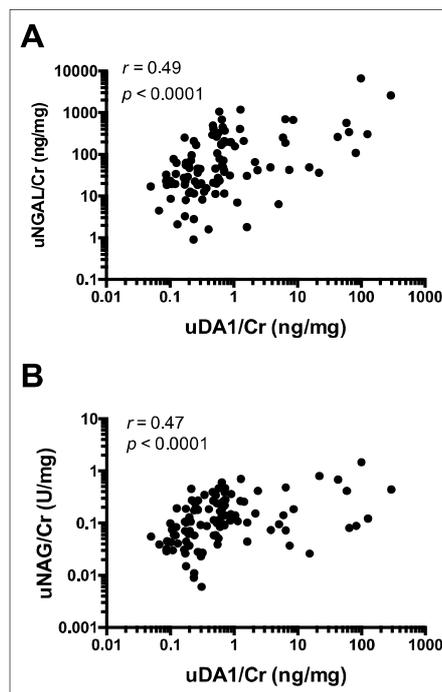


図3 uDA-1 と NGAL, uNAG との相関

uDAI/Creatinine 比は 49%のレプトスピロシスの患者で上昇していた。また uDAi/Cr 比は他の腎疾患マーカー uNGAL/Cr 値 ($r=0.49, p<0.01$) 及び uNAG/Cr 値 ($r=0.47, p<0.0001$)とよく相関し、病態マーカーであることを示した。(図3)

レプトスピロシス特異的な LAMP 法による遺伝子診断法を開発し、血清反応である MAT で 113 例中 92 例が陽性で 21 例が陰性であった。その陰性のサンプルのうち 2 例が LAMP で陽性であった。このことより、血清と遺伝子診断が相補的な役割をしていることを明らかにした。

さらに 2012 年から 2014 年に東北地方で診断された 4 例のレプトスピロシスを報告した。マニラ症例と比べ、高齢者が多く、農作業中にネズミにかまれた例などがあった。(図4)



図4 ネズミ咬傷 文献 9
結核感染症 (文献 8,11,12)

インドネシアの結核患者血漿を活動性結核 (16 例) 潜在性結核感染症(66 例)を 35 例の正常人血清とともに解析した。検索した三種類のマトリセラー蛋白 (OPN, Gal-9, Tenascin-C(TN-C))のうち、結核患者で有意に上昇してたのは OPN, TN-C であり, Gal-9 は胸水中で非常に高い値をしめした。

OPN は HC に比べ LTBI では有意に高値を示し、LTBI における診断的価値をしめした。また免疫組織染色では結核性肉芽腫において、OPN は肉芽腫に存在するマクロファージと思われる細胞に点状に発現した。

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 13 件)

1. Jones-Konneh TEC, Murakami A, Sasaki H, Egawa S. Intensive Education of Health Care Workers Improves the Outcome of Ebola Virus Disease: Lessons Learned from the 2014 Outbreak in Sierra Leone. *Tohoku J Exp Med* . 査読有, Vol. 243, No. 2, 2017, pp101-10 . DOI: 10.1620/tjem.243.101.
2. Chagan-Yasutan H, Chen Y, Lacuesta TL, Leano PSA, Iwasaki H, Hanan F, Taurustiati D, Ohmoto Y, Ashino Y, Saitoh H, Kiyomoto H, Suzuki Y, Freda O, Telan E, Hattori T. Urine Levels of Defensin $\alpha 1$ Reflect Kidney Injury in Leptospirosis Patients. *Int. J. Mol. Sci.* 査読有 , 2016; 17: 1637. DOI: 10.3390/ijms17101637
3. Demebele BP, Chagan-Yasutan H, Niki T, Ashino Y, Tangpukdee N, Shinichi E, Krudsood S, Kano S, Hattori T. Plasma levels of Galectin-9 reflect disease severity in malaria infection. *Malar J.* 査読有 , 2016; 15(1):403. DOI: 10.1186/s12936-016-1471-7.
4. Sumi A, Telan EFO, Chagan-Yasutan H, Piolo MB, Hattori T, Kobayashi N. Effect of temperature, relative humidity and rainfall on dengue fever and leptospirosis infections in Manila, the Philippines. *Epidemiol Infect.* 査読有 , 2016; 9:1-9. DOI: 10.1017/S095026881600203X
5. Hattori T, Chagan-Yasutan H, Shiratori B, Egawa S, Izumi T, Kubo T, Nakajima C, Suzuki Y, Niki T, Alisjahbana B and Telan E. Development of point-of-care testing for disaster-related infectious diseases. *Tohoku J Exp Med.* 査読有, 2016; 238(4) 287-293. DOI: 10.1620/tjem.238.287.
6. Pascapurnama DN, Murakami A, Chagan-Yasutan H, Hattori T, Sasaki H, Egawa S. Prevention of Tetanus Outbreak Following Natural Disaster in Indonesia: Lessons Learned from Previous Disasters. *Tohoku J Exp Med.* 査読有, 2016; 238(3)219-227. DOI: 10.1620/tjem.238.219.
7. Iwasaki H, Chagan-Yasutan H, Leano PSA, Koizumi N, Nakajima C, Taurustiati D, Hanan F, Lacuesta TL, Ashino Y, Suzuki Y, Gloriani NG, Telan EFO, Hattori T. Combined antibody and DNA detection for early diagnosis of leptospirosis after a disaster. *Diagn Microbiol Infect Dis* 査読有, 2016; 84(4):287-291. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.01.001
8. Abdel-Mohsen M, Chavez L, Tandon R, Chew GM, Deng X, Danesh A, Keating S, Lanteri M, Samuels ML, Hoh R, Sacha JB, Norris PJ, Niki T, Shikuma CM, Hirashima M, Deeks SG, Ndhlovu LC, Pillai SK. Human Galectin-9 Is a Potent Mediator of HIV Transcription and Reactivation. *PLoS Pathog.* 査読有 , 2016 12:e1005677. doi: 10.1371/journal.ppat.1005677.
9. Maeda N, Ohashi T, Chagan-Yasutan H, Hattori T, Takahashi Y, Harigae H, Hasegawa H, Yamada Y, Fujii M, Maenaka K, Uede T. Osteopontin-integrin interaction as a novel molecular target for antibody-mediated immunotherapy in adult T-cell leukemia. *Retrovirology.* 査読有, 2015; 12(1):99. DOI: 10.1186/s12977-015-0225-x.
10. Hasibuan FM, Shiratori B, Senoputra MA,

- Chagan-Yasutan H, Koesoemadinata RC, Apriani L, Takahashi Y, Niki T, Alisjahbana B, Hattori T. Evaluation of matricellular proteins in systemic and local immune response to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Microbiol Immunol*. 査読有, 2015; 59(10):623-32. DOI: 10.1111/1348-0421.12320.
11. Saitoh H, Koizumi N, Seto J, Ajitsu S, Fujii A, Takasaki S, Yamakage S, Aoki S, Nakayama K, Ashino Y, Chagan-Yasutan H, Kiyomoto H, Hattori T. Leptospirosis in the Tohoku Region: Re-emerging Infectious Disease. *Tohoku J Exp Med*. 査読有, 2015;236(1):33-7. DOI: 10.1620/tjem.236.33.
 12. Yugo Ashino, Haorile Chagan-Yasutan, Shinichi Egawa, Toshio Hattori. Ebola Virus Disease: Preparedness in Japan. *Disaster Med Public Health Prep*. 査読有, 2015; 9(1):74-8. DOI: 10.1017/dmp.2014.130.
 13. Beata Shiratori, Susan Leano, Chie Nakajima, Haorile Chagan-Yasutan, Toshio Niki, Yugo Ashino, Yasuhiko Suzuki, Elizabeth Telan, and Toshio Hattori. Elevated OPN, IP-10, and Neutrophilia in Loop-Mediated Isothermal Amplification Confirmed Tuberculosis Patients. *Mediators Inflamm*. 査読有, 2014; 2014:513263. DOI: 10.1155/2014/513263.
- [学会発表](計15件)
1. Egawa S. One Health in Sendai Framework for Disaster Risk Reduction 2015-2030. GRF One Health Summit 2015年10月ダボス、スイス)
 2. Haorile Chagan-Yasutan, Yue Chen, Prisca Susan A. Leano, Hiroko Iwasaki, Firmanto Hanan, Delsi Taurustiati, Yugo Ashino, Freda O. Elizabeth Telan and Toshio Hattori. Detection of defensin alpha1 in the urine of leptospirosis patients with kidney injury. 4th European Congress of Immunology. 20150906, Wien, Austria. Poster presentation
 3. 浩日勤、服部俊夫。 Dengueウイルス感染症におけるガレクチン9の著増とその臨床的意義。Glyco-Immunology 2015 糖鎖免疫、20150819 東京 口頭発表
 4. Chagan-Yasutan H, Hattori T. 血漿中のマトリセルラー蛋白質は Dengueウイルス感染症の重症度マーカーである。第20回日本集団災害医学学会総会・学術集会、20150228, 立川市 東京
 5. Shiratori B, Chagan-Yasutan H, Hattori T. Expression of matricellular proteins in latent and active tuberculosis. The 43rd Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology 20141212 京都 I
 6. Toshio Hattori, Talitha Lacuesta, Susan Leano, Efren Dimmano, Elizabeth Telan, Haorile Chagan-Yasutan. Increase of thrombin-cleaved form of OPN in recovery phase of dengue virus infection. Joint International Tropical Medicine Meeting 2014, Bangkok, Dec.4, 2014.
 7. Haorile Chagan-Yasutan, Toshio Hattori. Dramatic increases of matricellular proteins in plasma of dengue virus infection. 第76回日本血液学会学術集会, 大阪、2014.11.1
 8. Shiratori B, Hasibuan FM, Senoputra MA, Chagan-Yasutan H, Alisjahbana B, Hattori T. Role of matricellular proteins in systemic and local immune response to *Mycobacterium tuberculosis* infection, International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance. Vienna, Austria 20141031-1103.
 9. Beata Shiratori, Haorile Chagan-Yasutan, Toshio Hattori. Diversity of matricellular protein secretion in active and latent tuberculosis infection. The 63th Annual Meeting of Japanese Association for Infectious Diseases, 20141029-31 Tokyo, Japan.
 10. Shiratori B, Hasibuan FM, Senoputra MA, Chagan-Yasutan H, Raspati C, Lika A, Takahashi Y, Niki T, Alisjahbana B, Hattori T. Different expression of galectin-9, osteopontin and tenascin-C in granulomatous diseases. 20141023-24, NIH-Japan-JSPS Joint Symposium. Washington DC, USA.
 11. Haorile Chagan-Yasutan, Toshio Hattori. Analysis of biomarkers in plasma and urine of leptospirosis patients. The 12th Asia Pacific Conference on Disaster Medicine, Tokyo Sep 17-19, 2014.
 12. Hasibuan FM, Senoputra MA, Shiratori B, Chagan-Yasutan H, Cundarani R, Apriani L, Alisjahbana B, Hattori T. The Levels of Matricellular Proteins in Plasma of Active Tuberculosis and Latent Tuberculosis in the Setting of Helicobacter Pylori Co-infection. Sep 6-7 2014, 4th Annual Conference of Japan Association for Human Security Studies. Sendai.
 13. Haorile Chagan-Yasutan, Susan Leano, Talitha Lacuesta, Elizabeth Telan, Toshio Hattori. Elevation of matricellular proteins in dengue virus infection. 10th China-Japan International Conference of Virology, Harbin Aug.25-28, 2014.
 14. Chagan Yasutan H, Lacuesta TL, Ndhlovu LC, Leano PSA, Telan EFO, Dimaano EM, Hattori T. Dengueウイルス感染症における炎症及び凝固関連マーカー研究海外学術調査フォーラム プログラム, 2014年

06月28日

15. Hattori T, Iwasaki H, Leano S, Telan E, Koizumi N, Nakajima C, Suzuki Y, Chagan Yasutan H. Combination of antibody and DNA method improve diagnosis of leptospirosis. 114th General Meeting ASM2014, Boston, 2014 0517

〔遺伝子配列登録〕(計10件)

Deng ウイルス 遺伝子登録 GenBank (KY709127-KY709135)(久保班員)

〔産業財産権〕

出願状況(計03件)

(1) 名称: 新規免疫チェックポイント阻害剤
発明者: 菊地晴久、大島吉輝、服部俊夫、
久保原禎、山田修、周張菁、松下芳久、
喜田進也

権利者: 国立大学法人東北大学、国立大学法人群馬大学、扶桑薬品工業株式会社

種類: 特許

番号: 特願 2016-062267

出願年月日: 2016年3月25日

国内外の別: 国内

(2) 名称: アミド誘導体

発明者: 菊地晴久、大島吉輝、服部俊夫、
久保原禎、山田修、周張菁、松下芳久、
喜田進也

権利者: 国立大学法人東北大学、国立大学法人群馬大学、扶桑薬品工業株式会社

種類: 特許

番号: 特願 2016-505324(日本)

PCT/JP2015/055873(国際)

出願年月日: 2015年2月27日

国内外の別: 国内及び国外

(3) 名称: ジクチオピロン誘導体又はジヒドロジクチオピロン誘導体を有効成分とするオステオポンチン産生阻害剤

発明者: 菊地晴久、大島吉輝、服部俊夫、
久保原禎、山田修、周張菁、松下芳久、
喜田進也

権利者: 国立大学法人東北大学、国立大学法人群馬大学、扶桑薬品工業株式会社

種類: 特許

番号: 特願 2013-046197(日本)

PCT/JP2013/06943(国際)

出願年月日: 2013年3月8日

国内外の別: 国内及び国外

〔その他〕代表者 web 情報

<https://researchmap.jp/read0013429/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

服部 俊夫 (HATTORI Toshio)

吉備国際大学・保健医療福祉学部作業療法学科・教授

研究者番号: 30172935

(2) 研究分担者

江川新一 (EGAWA Shinichi)
東北大学災害科学国際研究所・
災害医療国際協力学分野・教授
研究者番号: 00270679

狩野繁之 (KANO Shigeyuki)
国立研究開発法人国立国際医療研究
センター研究所・熱帯医学・マラリア研
究部・部長
研究者番号: 60233912

仁木敏郎 (NIKI Toshiro)
香川大学医学部医学系研究科 免疫学分
野・助教
研究者番号: 40558508

久保亨 (KUBO Toru)
長崎大学・熱帯医学研究所ウイルス学
分野・客員研究員
研究者番号: 50444873

C.-Y. HAORILE
東北大学災害科学国際研究所
災害感染症学分野
研究者番号: 50624821

(3) 研究協力者

Srivicha Krudsood タイ マヒドール大学
教授

Elizabeth Telan フィリピン サンラザロ
病院 SACCL 所長

Bachti Alsijahbana インドネシア パ
ジャジャラン大学 診療部長