

エビデンスからみた

感染症研究

エビデンスからみた感染症研究

A M E D
先進的研究開発戦略センター (SCARDA)



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
Japan Agency for Medical Research and Development

先進的研究開発戦略センター (SCARDA)



2024.11



Japan Agency for Medical Research and Development

Strategic Center of Biomedical Advanced Vaccine
Research and Development for Preparedness and Response



先進的研究開発戦略センター (SCARDA)
センター長 濱口 道成

今、人類社会は危機的な転換点を経験しつつある。いまだ完全な収束とは言えないコロナ禍はもとよりの事、ロシアによるウクライナ侵攻、パレスチナ・イスラエル間の紛争等、日を増す毎にこの世界は紛争が連続・多発しつつある。他方、ウクライナ侵攻は世界の穀倉地帯を直撃し、ロシアからのガス輸入に困難を来し、エネルギー危機、食糧危機を誘発しつつある。更に、紛争下においても、地球温暖化は確実に進行し、必然的に農業、漁業にそして感染症の分布に大きな影響を来すであろう。

一見これらの危機は、不連続、ランダムに起きてるように見える。しかし、実は共通する深い原因を持っている。それは、何か? 「人口の爆発的増加」である。18世紀以来の産業革命とそれに続く食糧増産は、急激な人口増加をもたらした。有史以来、19世紀末までは10億人を越えることのなかった世界の人口は、1950年には25億人、2000年には約61億人と50年間で2.4倍の増加を示している。その結果、資源的にも、空間的にもそして環境的にも、生存圏としての地球は、限界に近づきつつあると言える。人口の爆発的増加による環境破壊に端を発した危機は、エネルギー危機、食糧危機、更にはその帰結としての貧困等の二次的、三次的危機を誘発しつつある。そして、危機の連鎖の表象としてコロナ禍がある。

何故、人口爆発がパンデミックの原因となるのか。20世紀後半から多発しているパンデミック(ラッサ熱、エボラ、マールブルグ病、サース、ニパ、そしてコロナ等)は、密林に閉じ込められていた「人獣共通感染症」が、密林の破壊によって人類社会に解き放たれたものである。例えば、ニパウイルス感染症は、20年ほど前に初めて報告された致死的な感染症であるが、きっかけは密林を開き、洞窟のそばに豚舎を作ったことから始まった。元々コウモリのウイルスであったニパが豚に感染し、豚舎で働いていた人が2次感染した結果、4人の感染者の内3人が亡くなったことから注目を浴びるようになった。当初、人から人への感染はないとされていたが、近年バングラデシュ、インド等で200人規模の流行が頻発しており、致死率4割から7割と報告されている。

一説に、地球上に存在するウイルスは、160万種とも推定されており、その内の半数が人獣共通感染症の可能性があると示唆されている。更には、熱帯病とされていたデングやマラリア等が、地球温暖化と共に北上しつつある。また一説に、気温が2度上昇すれば、日本国内で熱帯病が蔓延する条件が整うと言う。今や、人類社会は感染症蔓延の時代を迎えつつあると言っても過言ではないだろう。さて、これら膨大な数の人獣共通感染症、熱帯病の持つ潜在的リスクに、我々はどう対処すべきか。改めて指摘するまでもなく、コロナ禍は、我々に明白な教訓を示している。mRNAワクチンの開発である。mRNAワクチンは、パンデミックに対してワクチンの明確な有効性を示したと共に、mRNAの活用という従来の手法を超越した革新的な科学技術を生み出した。従来ワクチンの製造は、主に鶏卵や細胞などで培養したウイルスを不活化/弱毒化する手法によっていたが、この手法では効果的なワクチンを作成するのに長い年月を必要とする。他方 mRNA ワクチンは、分子生物学、遺伝子工学、RNAの化学等を駆使することにより、極めて迅速に効果的なワクチンを作成する技術となった。

残念ながら、日本はこの mRNA ワクチンの開発に貢献できず、パンデミック発生の初期においては苦汁をなめる状況を経験した。何故か。一因として日本の研究体制が所謂「たこつぼ型」であり、幅広い研究成果を活用する活力が欠けていることがある。更には、事実に基づき科学技術の進展を分析し、戦略的に技術開発を進める機能が欠けていたことにある。換言すれば、現代のワクチン開発の戦略を描くためには、ワクチンそのものに加え、科学技術を広く俯瞰しながら新たな革新や結合を見極めていくことが求められる。従って、論文や特許の動向を大局的に捉え洞察し戦略化することは SCARDA の最も重要な機能の一つである。

本書は SCARDA での日常的な論文動向分析を基に、読み物風に再編集したものである。我々の趣旨をご理解頂き、是非、気軽に手に取っていただければ幸いである。

Contents

序	2
目次	3
<hr/>	
第一章 ジカ熱・デング熱	
<hr/>	
1.1 デング熱・ジカ熱 小史と論文動向	6
1.1.1 デング熱	6
1.1.2 ジカ熱	7
1.1.3 論文からみたデング熱・ジカ熱研究	8
1.2 デング熱 デングウイルスワクチン / 治療薬	11
1.2.1 デングウイルスの構造と血清型	11
1.2.2 臨床評価が進む弱毒生ワクチン	12
1.2.3 その他のワクチン	12
1.2.4 デング熱治療薬	12
1.3 ジカ熱 オルガノイドを用いた小頭症モデル	14
1.3.1 幹細胞を培養して作製するミニ臓器「オルガノイド」	14
1.3.2 オルガノイドを用いたジカウイルス感染・小頭症モデル	15
1.4 ジカウイルス立体構造とクライオ電子顕微鏡	16
1.4.1 Cryo-EM が明らかにしたジカウイルス立体構造	16
1.4.2 第3のタンパク質構造解析手法	17
1.4.3 2010年代から急増する Cryo-EM 論文	18
1.5 デング熱 ボルバキア感染蚊によるデング熱制圧	19
1.5.1 共生細菌ボルバキアと蚊	19
1.5.2 論文からみたボルバキア研究	21
1.5.3 野外放出実験	22
1.5.4 実用に向けてさらなる研究を	24
1.6 感染症媒介蚊と遺伝子ドライブ	26
1.6.1 遺伝子ドライブで個体数を減らす	26
1.6.2 論文からみた「遺伝子ドライブ蚊」	28

Contents

第二章 結核

2.1	結核研究	32
2.1.1	世界動向	32
2.1.2	最近の結核論文キーワード	33
2.2	潜在性結核感染症	34
2.2.1	論文から見た LTBI 研究	35
2.2.2	LTBI を診断する	36
2.2.3	結核バイオマーカー	39
2.3	多剤耐性結核菌	42
2.3.1	薬剤耐性結核の登場	43
2.3.2	論文から見た MDR/XDR-TB 研究	44
2.4	最近のプレス発表	49
2.5	科研費による結核研究	52

第三章 ニパウイルス感染症・エンテロウイルス感染症

3.1	ニパウイルス感染症	56
3.1.1	ニパウイルス感染症小史	56
3.1.2	論文から見た「ニパウイルス」	58
3.1.3	NiV ワクチン	61
3.2	エンテロウイルス感染症	62
3.2.1	エンテロウイルス	63
3.2.2	エンテロウイルス感染症小史	64
3.2.3	論文からみたエンテロウイルス研究	65
3.2.4	エンテロウイルスワクチン	68
	編集後記	71
	索引	72

第一章

ジカ熱・デング熱

みなづきのころ あやしき家に
ゆふがほの白く見えて
蚊遣火ふすぶるもあはれなり

《徒然草 第十九段》

1.1 デング熱・ジカ熱 小史と論文動向

デング熱、ジカ熱は、同種の蚊（ヤブ蚊: *Aedes spp.*¹⁾）によって媒介される感染症である。デングウイルス、ジカウイルスはいずれも、プラス鎖1本鎖RNAをゲノムとするフラビウイルス科フラビウイルス属である（西ナイルウイルス、黄熱ウイルス、日本脳炎ウイルスも同属）。

1.1.1 デング熱

デング熱は、1780年にフィラデルフィアで最初に流行した後、1826～1828年にカリブ海周辺で大流行した（Table 1.1.1）。第二次世界大戦後、1960年代からデング熱患者が急増、50年で約30倍に増加した[1]。世界保健機構（WHO）に報告されたデング熱の症例数は2000年には50万人であったものが2019年には129カ国で520万人と最近の20年で10倍以上に増加した。2020～2022年にCOVID-19の影響で報告数は減少したが、2023年には再び世界的に急増、WHOアメリカ地域の410万人を筆頭に全世界で500万人以上の患者数と5,000人以上の関連死が報告された[2]。近年の特徴として、大規模発生、アウトブレイクの同時発生、これまで発生していなかった地域への拡大が挙げられる。しかし、感染初期はほぼ無症状であること、多くの国でデング熱報告が義務づけられていないことから報告数は実際よりも過小とみなされている。2024年4月のWHOのキーファクトによると感染の実数は毎年1億～4億人と推定されている[3]。

戦前にもワクチン株樹立が試みられた

1903年にペイルート・アメリカ大のハリス・グラハム（Harris Graham）はシリアでの感染実験に基づき「アカイエカがデング熱を媒介している」と報告した。その後、1920年前後にワクチン株樹立が試みられたが、いずれも成功には至らなかった。

1919年にアデレード大のジョン・クレランド（John Cleland）は「ヒト→ヒト通過」の実験を行った。これは患者の血液を健常者に注射し、発症した場合にはその発症者の血液を次の健常者に注射するという手法である

Table 1.1.1 デング熱小史

年	動向
1780	フィラデルフィアで最初に流行
1826	カリブ海周辺で大流行（～1828）
1903	ペイルート・アメリカ大のグラハムが「蚊がデング熱を媒介」を報告
1919	アデレード大・クレランドらは「ヒト→ヒト通過」を実験。ウイルス毒力に変化なし。ワクチン株樹立に失敗。
1926	米陸軍・サイラーらは「ヒト→蚊→ヒト→蚊通過」を実験。ウイルス毒力に変化なし。ワクチン株樹立に失敗。
1942	日本で流行（～1945）。流行地から戻った帰還兵によってウイルス輸入、数十万人もの感染者が出る大流行に。
1943	京帝大・木村、堀田らが、長崎でデング熱患者からウイルス分離に成功。デングウイルス1型望月株は世界最初のデングウイルス分離株として認められている。
1945	シンシナティ小児科病院・セーピンがハワイでデングウイルス1型（ハワイ株）を分離 同年、シンシナティ小児科病院・シュレジンガーがニューギニアでウイルスを分離。現在では2型に分類
1956	ウイルスおよびリケッチア感染症委員会、米軍疫学委員会のハモンにより3型と4型のウイルスがフィリピンで分離された。
1960	1960年代からデング熱患者急増
2014	代々木公園を中心に都内のデング熱国内感染事例発生
2020	ガジャマタ大のウタリーニが「ネイチャーの10人」に選出
2021	英・オキシテック社、米フロリダで遺伝子操作蚊の実証実験。州内一部地域で数百万匹の遺伝子操作蚊を放出
2023	WHOアメリカ地域で大規模なデング熱流行（7月時点で300万例（参考：2022年通年のデング熱登録症例数280万例））

が、ウイルス毒力に変化は認められなかった。
1926年には米陸軍医療部門研究委員会のジョセフ・サイラー（Joseph Siler）が、クレランドの手法を改変し「ヒト→蚊→ヒト→蚊通過」を実験したが、同じくウイルス毒力に変化は認められなかった（マニラで兵士64人を被験者にした）[4]。

戦後相次いだデングウイルス分離

日本でのデング熱大流行の最中にあたる1943年、京帝大の堀田進と木村廉は、長崎でデング患者からウイルスを分離することに成功した。患者にちなんで**デングウイルス1型望月株**²⁾と名付けられ、これは、世界で最初のデングウイルス分離株として認められている（→コラム「デングウイルスは日本で最初に分離された」(P.13)）。

1945年にはシンシナティ小児科病院の**アルバート・セーピン**（Albert Sabin）³⁾がハワイでウイルス1型⁴⁾を分離した。また同年、シンシナティ小児科病院の**ウォルター・シュレジンガー**（Walter Schlesinger）がニューギニアでウイルスを分離、現在では**2型**に分類されている。**3型**と**4型**のウイルスは、ウイルスおよびリケッチア感染症委員会、米軍疫学委員会のウィリアム・ハモン（William Hammon）により1956年にフィリピンで分離された[5]。

遺伝子操作蚊と共生細菌ボルバキア感染蚊

デング熱対策として、英・オキシテック（Oxitec）社は、**遺伝子操作蚊**による蚊の駆除を目的とした実証試験を進めている。致死性遺伝子を組み込んだオス蚊を開発し、英領ケイマン諸島を皮切りに、ブラジルなどでの放出実験を重ねた。2021年には米フロリダ州南部の島において数百万匹規模の放出実験も行った[6]

（→「致死遺伝子が組み込まれたOX513A」(P.29)）。
また、この遺伝子操作蚊による駆除方式とは別に、豪・モナシュ大のグループが中心となって、ネッタイシマカに**ボルバキア**を共生させ、蚊の体内におけるデングウイルスの増殖を抑制する試みも推進されている。2021年からブラジルでボルバキア感染蚊を週160万匹ずつ放出するプログラムが開始された[7]。推進者のひとりであるインドネシア・ガジャマタ大の**アディ・ウタリーニ**（Adi Utarini; 写真）は、2020年に「ネイチャー誌の10人」⁵⁾[8]、2021年には「タイムズ誌が選ぶ100人」⁶⁾にそれぞれ選出された[9]。

オキシテック社

英バイオテクノロジー企業オキシテックは2002年、オックスフォード大の技術移転会社アイシスイノベーション（2016年よりオックスフォード大イノベーションに社名変更）と協力してオキシテック社を設立。オックスフォード大学からわずか数マイルに本社を構える。同年、テトラサイクリン系抗生物質を投与しないと死に至るネッタイシマカを開発した[10]。2015年には米・イントレクソン（Intrexon）社に買収され子会社となった。



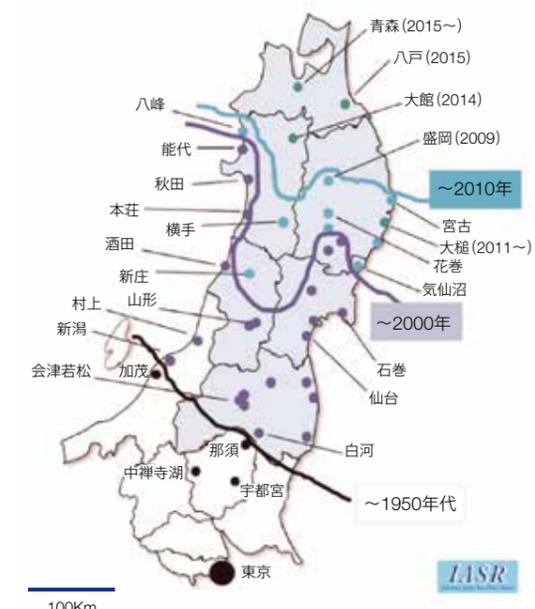


Fig. 1.1.1 ヒトスジシマカの生息北限（2018年）[11]
括弧内は幼虫が初めて発見された年。1950年代までの分布域は当時の米進駐軍および宇都宮大の調査報告に基づいている。出典：国立感染症研究所ホームページ

²⁾ Dengue virus type 1, Mochizuki strain

³⁾ アルバート・セーピンは経口ポリオワクチン開発者としても著名である。

⁴⁾ Dengue serotype 1 Hawaii strain

日本で北上する生息域

近年、デング熱感染流行の要因として、都市化、人口増加、輸入症例の増加、地球温暖化などが考えられる。実際、日本でもヒトスジシマカの生息域が拡大し、1950年代までの本州での生息北限は福島以南であったが、2015年には青森県に北上した[11] (Fig. 1.1.1)。

2014年に代々木公園を中心に国内での輸入感染症例が認められたが、輸入症例が増加傾向にあることから、生息域拡大は北上に限らないようだ[12]。



アディ・ウタリーニ（ガジャマタ大）

1.1.2 ジカ熱

ジカウイルスは1947年にウガンダのジカ森林に生息するアカゲザルから発見された。1960年代後半には、マレーシアでジカウイルスのアジア系統が出現した。

21世紀になって感染流行

長きにわたり、ヒトへのジカウイルス感染症例は少なく、また症状も軽度にとどまっていた（Table 1.1.2 次頁）。が、21世紀になって大規模な感染流行となった。2007年に太平洋のヤップ島、ミクロネシア、さらに2013年には仏領ポリネシアでそれぞれ流行発生。2015年には、ブラジル、コロンビアなど南米大陸で流行し、

⁵⁾ Nature's 10

⁶⁾ TIME100: The Most Influential People of 2021

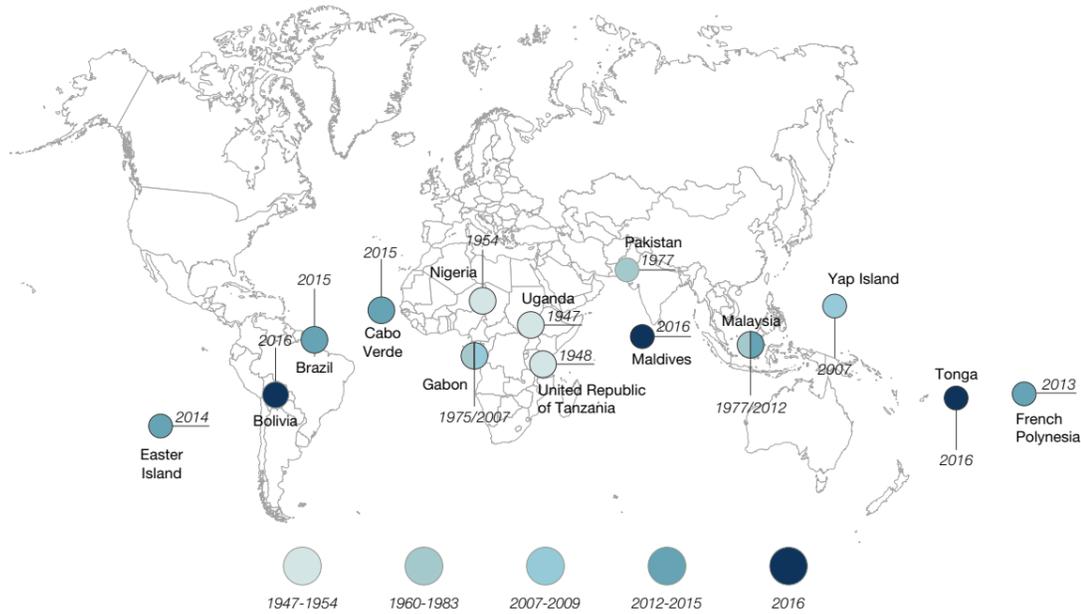


Fig. 1.1.2 ジカウイルスの伝播 (WHO publications [13]を基に編集)

翌2016年に北米にまでパンデミックは拡散した (Fig. 1.1.2).

2015年からの中南米での大規模流行に至り、ジカウイルス感染症とギラン・バレー症候群との関連、および母子感染による胎児の小頭症との関連が指摘された。2016年2月1日、WHOは小頭症およびその他の神経障害の集団発生に関してPHEIC⁷を宣言した。

ジカウイルス感染は年間50万人以上の症例が報告されたが、ワクチン接種を待たずに南北アメリカ大陸で著しく減少し、翌々年(2018年)には3万件未満となった。このように症例は減少したものの、2017年以降も米大陸の国々やその他の流行地域で依然一定数発生し続けているように見える。

Table 1.1.2 ジカ熱小史

年	動向
1947	ウガンダ・ジカ森林でアカゲザルからジカウイルス分離
1952	ウガンダとタンザニアでヒトからジカウイルス発見
1968	ナイジェリアで初めてヒトからジカウイルス分離
1969	マレーシアでネッタイシマカからジカウイルス分離
2007	ヤップ島で流行
2013	仏領ポリネシアで流行
2014	イースター島で流行
2015	中南米で流行。ギラン・バレー症候群との関連(7月), 小頭症との関連(10月)が報告される
2016	WHO, PHEIC宣言(2月)
2017	2017年以降, 感染症例減少
2019	欧州で初めてジカウイルス感染症の現地感染例(輸入症例にみえず)の報告
2021	インドでジカウイルス感染症の発生確認

ている。また、2019年には欧州で初めて蚊を媒介とする輸入症例ではない現地感染例が報告され、2021年にはインド南西部で発生が確認された[14]。

1.1.3 論文からみた Dengue 熱・ジカ熱研究

Fig. 1.1.3 に Dengue 熱論文とジカ熱論文の出版数を示す⁸。前者は1990年代から緩やかに増え続け、2000年代半ばから増加の割合が高まっている。一方、後者は特徴的なプロファイルである。突如2016年に1,700報が出版されたもののピークアウトしており、上述したジカ熱流行が比較的短期間でいったん終息した動きに同期しているように見える。

Dengue 熱論文は米・印・ブラジル・タイが多い

Dengue 熱論文数を国別にみてみよう。(a) 2017~2019年, (b) 2007~2009年, (c) 1997~1999年と年代を遡って分類したものが Fig. 1.1.4 だ。一貫して米

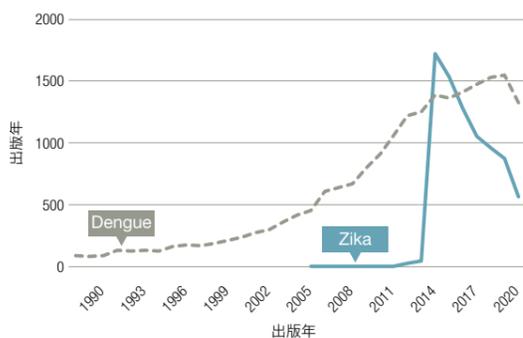
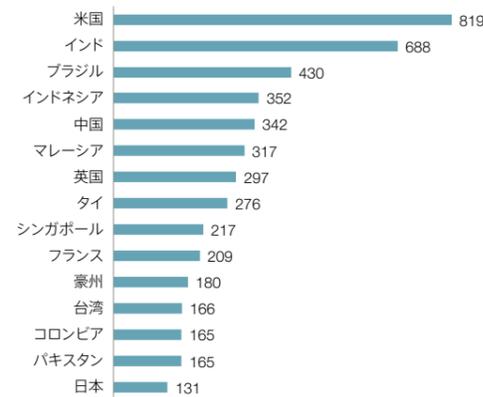


Fig. 1.1.3 Dengue 熱とジカ熱の論文数 Scopus 2023.10.15

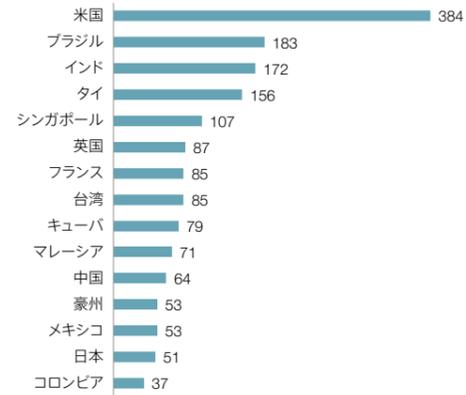
国が最多である。インド、ブラジル、タイも比較的多い。2023年11月に報告されたタイにおける Dengue 熱患者数は約13.7万人、死亡者数は147人で、前年同時期の3倍にあたる[15]。

次に機関別にみてみる (Fig. 1.1.5)。1990年代後半は欧米の機関が上位を占めていたが、2000年代に入ると、オズワルドクルス財団、マヒドン大、ペドロコウリ熱帯医学研究所など、感染が流行した熱帯・亜熱帯地域の機関が上位に現れた。日本は1997~1999年では6位、2007~2009年は14位、2017~2019年は15位であり、感染研や長崎大の Dengue 熱論文数が多い。

(a) 2017~2019



(b) 2007~2009



(c) 1997~1999

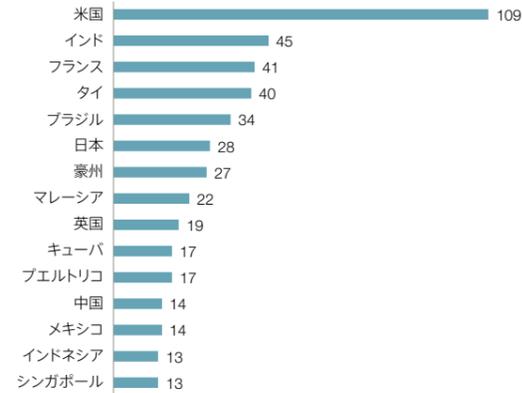
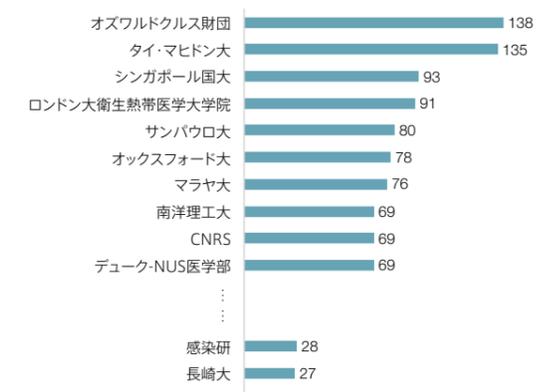


Fig. 1.1.4 Dengue 熱論文数(国別) Scopus 2023.10.15

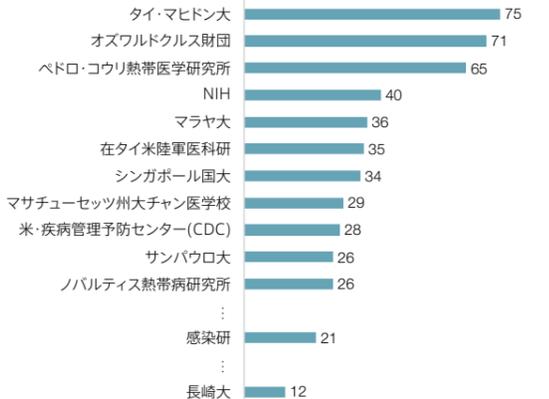
熱帯感染症研究で連携する阪大微研とマヒドン大

マヒドン大では、2017~2019年に出版した Dengue 熱論文135報中20報が日本との共著で、うち、11報が阪大微生物病研究所(微研)とである⁹。微研とマヒドン大は熱帯感染症の分野において深い連携を築いてきた[16]。2010年にはマヒドン大熱帯医学部にマヒドン・大阪感染症センターを設置、2023年には、タイのセンターに常駐する微研の教員3人とセンター所属のタイ人研究員4人で感染症の共同研究を実施していた。(2019年にはマヒドン大インターナショナルオフィスが阪大に、2023

(a) 2017~2019



(b) 2007~2009



(c) 1997~1999

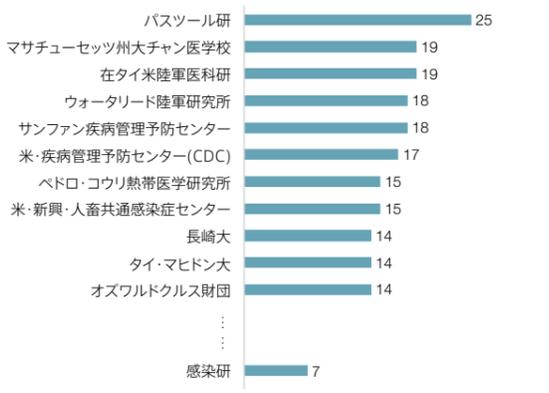


Fig. 1.1.5 Dengue 熱論文数(機関別) Scopus 2023.10.15

⁹"BIKEN Endowed Department of Dengue Vaccine Development, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Japan" や "Mahidol-Osaka Center for Infectious Diseases" などの著者所属が認められる。

年には大阪・マヒドンインターナショナルオフィスがマヒドン大サラヤキャンパスにそれぞれ設置された[17]).

ジカ熱論文は米国が圧倒 ブラジル、中国が続く

ジカ熱論文数 (2017~2019) を Fig. 1.1.6 に示す、米国が最多、次いでブラジル、中国、英国と続き、日本は21位、米国がブラジルの倍以上で、中国はそのブラジルの半分程度と上位3か国間の差は大きい。

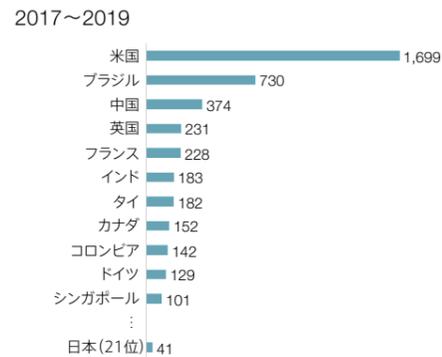


Fig. 1.1.6 ジカ熱論文数 (国別) Scopus 2023.10.15

機関別にみると、オズワルドクルス財団、サンパウロ大、リオデジャネイロ連邦大などブラジルの機関が上位を占めている (Fig.1.1.7)。

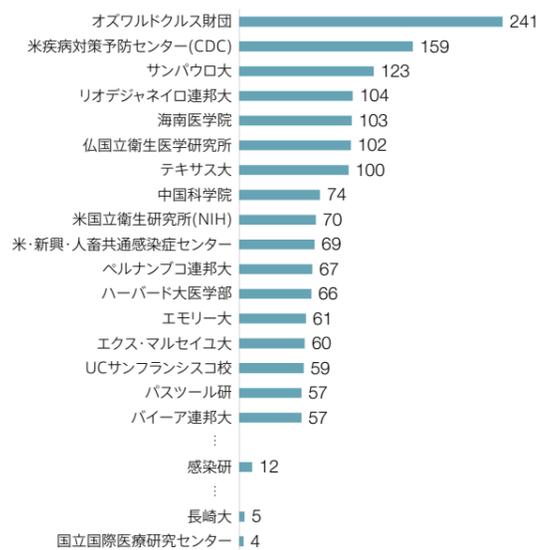


Fig. 1.1.7 ジカ熱論文数 (機関別) Scopus 2023.10.15

References

[1] https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/75303/9789241504034_eng.pdf?sequence=1
 [2] <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498>
 [3] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
 [4] 栗原毅, Pest Control Tokyo, 68, 15, 2015
 [5] 藤田宣哉, 日本熱帯医学会雑誌, 42, 9, 99, 1976
 [6] <https://gigazine.net/news/20220422-oxitec-genetically-engineered-mosquitoes-results/>
 [7] <https://www.afpbb.com/articles/fp/3140949>
 [8] <https://www.nature.com/immersive/d41586-020-03435-6/index.html>
 [9] <https://time.com/collection/100-most-influential-people-2021/6095805/adi-utarini/>
 [10] <https://www.oxitec.com/our-company-and-culture>

オズワルドクルス財団



Dengue熱論文やジカ熱論文でも存在感を示しているブラジルのオズワルドクルス財団。設立は1900年で、当初はペストに対する血清とワクチンの生産を目的としていた(当時の名称は血清療法研究所)。黄熱病、天然痘などにも活動範囲を拡大していった。

現在の名称は“オズワルドクルス財団(Oswaldo Cruz Foundation).”略称はFIOCRUZである。英語名称と符合していないように感じるが、現地呼称はFundação Instituto Oswaldo CruzでFIOCRUZと略記される。(「財団」を意味するポルトガル語がFundação)。

Who is Oswald Cruz?

オズワルド・クルスを顕彰するためにその名を財団名に冠した。一体クルスとは何者なのか——。リオデジャネイロ大の医学部を卒業したクルスは、バリに渡りパスツール研究所で血清製造のノウハウを学んだ。腺ペストがブラジルで猛威を振るう最中、27歳のクルスはその経験を生かし技術部門の責任者として参画、翌々年には所長に抜擢された[18]。当時は黄熱病も流行しており、クルスは蚊とその繁殖場所の根絶、家屋の燻蒸、病人隔離といった措置を主導した。感染症に際してのこれら措置の重要性は現代にも引き継がれている。

天然痘が流行した1904年、クルスは天然痘予防接種を強制する法案を議会に提出した*。しかし、この法案に対する国民の反発は強く、反ワクチン連合の行為はストライキ、バリケードにまで及んだため、ワクチンの義務化は実現しなかった。ところが、1908年に到来した天然痘大流行で約9,000人も生命が奪われた惨事を機に、ようやくクルスの功績は再評価された。

長きにわたる低迷期

一連の“衛生キャンペーン”の拠点となったのが、血清療法研究所、すなわち現在のオズワルドクルス財団である。1930年のヴァルガス革命や1970年前後の軍事独裁政権など、国内政局の混乱に翻弄された同財団は自立性を脅かされた。また優秀な研究者が退職に追い込まれるなど長きにわたって苦難を強いられた。

中興果たし主要研究機関に

1980年代になって風向きが変わった。会長に就任した衛生学者セルジオ・アロウカによる構造改革が奏功。折しも1987年にはラテンアメリカ初のHIV分離を成し遂げ、同財団は科学面でもプレゼンスを示した。黄熱病、天然痘、泡沫状ペストなど熱帯医学分野で先進的な研究に従事し、今やラテンアメリカを代表する研究機関になった**。

日伯(ブラジル)をつないだ日系二世の総裁

日本との関係は——。1989~1990年に同財団の総裁を務めたのが本間晃。日本人風の名前だがれっきとしたブラジル人(日系2世)である。日伯技術協力「麻疹・ポリオワクチン製造」プロジェクトではブラジル側の実質的な責任者として活躍。以降、同財団と日本が関わるほぼすべての案件で日伯の架け橋となった。また、このプロジェクトはブラジルの麻疹・ポリオワクチンの国内自給自足に重要な貢献を果たした[19]。

* 子供に天然痘の予防接種を義務づける法律自体はすでに制定されていたが施行はされていなかった。
 ** 現在は、ブラジル連邦政府保健省所管の国立研究所。

[11] <https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/2522-related-articles/related-articles-484/9694-484r02.html>
 [12] <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-sp/2305-related-articles/related-articles-421/5449-dj4211.html>
 [13] <https://www.who.int/publications/m/item/zika-the-origin-and-spread-of-a-mosquito-borne-virus>
 [14] https://www.forth.go.jp/topics/2023/20230403_00002.html
 [15] <https://www.thaich.net/news/20230709wx.htm>
 [16] 武田直和ら, 最新医学, 70, 4, 693, 2015
 [17] <https://www.osaka-u.ac.jp/ja/news/topics/2023/08/22001>
 [18] <https://portal.fiocruz.br/en/history>
 [19] <https://www.rio.br.emb-japan.go.jp/nihongo/whatsnew/akirahomma-jp.pdf>

1.2 デング熱 デングウイルスワクチン / 治療薬

みなづきの比、あやしき家に夕顔の白く見えて、蚊遣火ふすぶるもあはれなり——徒然草第19段「折節の移り変わるこそ……」で兼好法師はこう述べた。蚊を駆除することが予防策の初手だが、その効果ははれている。現在、遺伝子改変した蚊の放出や蚊の可逆的不妊化などの技術も開発されているが、最も期待されるのはワクチン開発である。

1.2.1 デングウイルスの構造と血清型

デングウイルスの構造

ウイルスは一般にエンベロープ(envelope)と呼ばれる脂質二重膜構造をもつ。エンベロープはウイルス粒子の最も外側に位置し、ウイルスゲノムとカプシド(タンパク質の殻)を覆っている。デングウイルス(DENV)の場合はエンベロープ型RNAウイルスにあてはまる。

直径約50 nmのDENV粒子中には11 kb¹のプラス鎖1本鎖RNAゲノムがパッケージングされている。ゲノムRNAには5'端と3'端に非翻訳領域があり、ポリA鎖は付加されていない(ポリアデニル化されていない)。デングゲノムRNAの5'末端はキャップ構造が付加されているが、この5'非翻訳領域(Five prime untranslated

region; 5'UTR)と3' UTRに挟まれたゲノムRNAの前半にはウイルス粒子を形作るために必要な3種類の構造タンパク質、すなわちC(カプシド)、PrM(Premembrane; 前駆膜)、E(エンベロープ)がコードされている。また、後半領域には、感染細胞内でのウイルスRNAやタンパク質の合成に必要な7種類の非構造タンパク質(NS1~5)がコードされている(Fig. 1.2.1) [1]。

異なる血清型の感染で重症化することも

デングウイルスには4つの血清型(セロタイプ) DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4があり、それぞれがデング熱感染を引き起こす可能性がある。したがって、全血清型に対して中和抗体を誘導する4価ワクチンの開発が不可欠である。

初回と異なる血清型デングウイルスに感染すると重症化する——。デングウイルスでは血清型間の交差防御率は低く、初回と異なる血清型に感染すると重症化するリスクが知られている [2-4]。初回に感染した血清型ウイルスによって誘導された抗体は他の血清型ウイルス感染をむしろ増強してしまう(ADE²)。4価ワクチンの開発において、障害のひとつになっているのがこのADE現象である。

¹ キロベース、ベース(base)は塩基 DNA や RNA の長さを表す単位、1kb は 1,000 塩基に相当

² Antibody-Dependent Enhancement; 抗体依存性増強

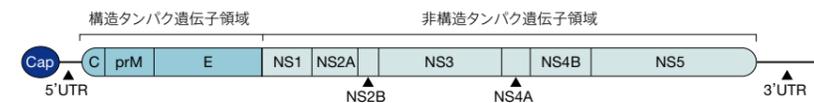


Fig. 1.2.1 デングゲノム RNA [1]

Table 1.2.1 本稿で取り上げた主なデングワクチン/治療薬 (太字は上市済み)

タイプ	名称	開発者	
弱毒生	Dengvaxia®	サノフィパスツール	
	QDenga®	武田薬品工業	
	TetraVax-DV (TV003/TV005)	ブタントン研/NIH/メルクなど	
ワクチン	KD382	KM/バイオ	
	不活化	TDEN-PIV	ウォルターリード陸軍研 グラクソ・スミスクライン
	DNA	TVDV	米海軍医学研究センター
	組換えサブユニット	V180	メルク
治療薬	ペプチド	AGS-v/AGS-v PLUS	英・SEEK
	複製阻害剤	JNJ-1802	ルーヴェン・カトリック大レガ医研, ヤンセン

1.2.2 臨床評価が進む弱毒生ワクチン

現在、開発されている主なデングワクチンを表にまとめた (Table 1.2.1 前頁)。これらの中で臨床評価が最も進んでいるのが、CYD-TDV (「Dengvaxia®」, サノフィパスツール), TAK-003 (「QDenga®」, 武田薬品工業), TV005 (「TetraVax-DV」, NIAID/ブタンタン研) である。これら3ワクチンはいずれも、異なるウイルス骨格にある膜に埋め込まれたデングウイルスの prM/E 領域をコードする4価の弱毒生ワクチンである。自然感染時と同様に中和抗体と細胞性免疫から誘導され、中和抗体が長期に持続したりADEが低減したりすることが期待される。

日本でも弱毒生ワクチンの開発が進められている。KMバイオロジクス社 (熊本市) はカニクイザルを用いたGLP非臨床試験 [5], オーストラリアでの第I相臨床試験を行った [6]。

1.2.3 その他のワクチン

他にも、遺伝子組換えワクチン, mRNA ワクチン, DNA ワクチンなどが開発されている。遺伝子組換えワクチンはウイルスそのものを使用しないので弱毒生ワクチンより副作用が低いとされる。

蚊の唾液を標的にした新型ワクチンAGS-v/AGS-v PLUS

蚊媒体感染症全般に効くワクチン——。現在、臨床試験が行われている「AGS-v」。デング熱やマラリア, ジカ熱, チクングニア熱, 日本脳炎など広範な蚊媒介感染症を予防するという。英・SEEK社が開発したこのワクチンが標的としたのは、特定の病原体ではなく、蚊の唾液 (saliva)。蚊が媒介する感染症は蚊の唾液により感染力が強まることが知られており、唾液への免疫反応を調節することで感染を防ぐという。

蚊の唾液線に由来する4種類の合成タンパク質を含有し、誘導された抗体は蚊の吸血時の免疫反応を調節するように設計されている [7]

2017年にNIAIDが健康な成人 (18~50歳) に対し第I相臨床試験を実施した (於NIH臨床センター) [8]。

1.2.4 デング熱治療薬

タンパク質間の相互作用を遮断してウイルス複製阻害

ルーヴェン・カトリック大レガ医学研究所のヨハン・ネイツ (Johan Neyts; 写真) らとヤンセン社のグループは、デングウイルスの非構造タンパク質 NS3とNS4B間の相互作用が、汎血清型デング熱ウイルス (DENV) 阻害剤開発の有望な標的になると、2021年にネイチャー誌に報告した。ネイツらは、培養細胞における大規模スクリーニングから、JNJ-A07がNS3とNS4Bの相互作用を遮断することによってウイルスの複製を妨害することを発見し、抗ウイルス作用の全く新しい機構を明らかにした [9]。

同グループは2023年、前臨床で安全性をさらに高めたJNJ-1802 (Fig. 1.2.2) を報告した [10]。ネイツは「薬剤設計発見センター (CD3) の化合物ライブラリーにある何千もの分子を調べて、実験室で培養した細胞でウイルスを阻害する分子をみつけた。干し草の山から針を探し当てる作業であった」と12年間を振り返った [11]。



ヨハン・ネイツ (ルーヴェン・カトリック大レガ医学研究所)

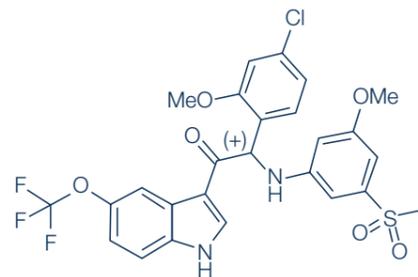


Fig. 1.2.2 JNJ-1802の分子構造

デングウイルスは日本で最初に分離された



堀田 進 (京大)

長崎, 佐世保, 福岡, 広島, 呉, 神戸, 大阪...かつて日本でもデング熱が大流行した。1942~1945年に西日本の諸都市で夏季にデング熱が流行したのである。

1942年8月に長崎市で突如デング熱がアウトブレイクすると、佐世保, 大阪, 神戸と拡大した。同年11月に一旦終息したが、翌夏に再び蔓延, 結局

1945年まで毎夏デング熱に見舞われた。当時の世相に照らせば、南方戦線での感染者が国内にウイルスを持ち込んだこと、焼夷弾に備えた防火水槽でヒトスジシマカが繁殖したことに起因するものと推測される。事実、終戦後にはデング熱も終息した [12]

大流行最中の1943年、京都帝大の堀田進 (写真) と木村廉は、長崎でデング患者からウイルスを分離することに成功。患者にちなんでデングウイルス1型望月株 (Dengue virus type 1, Mochizuki strain) と名付けられた。これは世界で最初のデングウイルス分離株である。

木村と堀田は1943年に日本語の論文でウイルス分離を報告、英文論文は1952年に感染症専門雑誌 (*J. Infect. Dis.*) に掲載された。

References

- [1] 鈴木 隆一, 生化学, 90, 2, 192, 2018
- [2] 渡邊 浩, 日内会誌, 108, 962, 2019
- [3] モイメンリン, ウイルス, 71, 1, 1, 2021
- [4] Leah C Katzelnick et al., Science, 7, 358, 6365, 929, 2017
- [5] Masaya Yoshimura, et al., Vaccine, 39, 23, 3169, 2021
- [6] https://www.kmbiologics.com/corporate/news/2021/pdf/20210310_01.pdf
- [7] <https://www.bloomberg.co.jp/news/articles/2022-08-22/RH0TGBT1UM0W01>
- [8] Friedman-Klabanoff, D.J. et al., eBioMedicine, 86, 104375, 2022
- [9] <https://www.natureasia.com/ja-jp/research/highlight/13836>
- [10] <https://www.jnj.com/janssen-announces-novel-dengue-antiviral-demonstrates-efficacy-in-preclinical-data-published-in-nature>
- [11] <https://www.eurekalert.org/news-releases/930356>
- [12] 高崎 智彦, ウイルス, 65, 1, 115, 2014

1.3 ジカ熱 オルガノイドを用いた小頭症モデル

デング熱と比べて比較的軽症であったことから、ジカ熱感染症はそれまで注目を浴びることが少なかった。しかし、2015年、ブラジル北東部でジカ熱に感染した妊婦の新生児に小頭症と認められる事例報告が相次いだことから、この感染症への警戒がにわかに高まった。妊婦のジカウイルス感染と新生児の小頭症にどのような関連性があるのか——。その原因究明を目指す研究に新技術「オルガノイド (Organoid)」が貢献している。

1.3.1 幹細胞を培養して作製するミニ臓器「オルガノイド」

“ミニ臓器”とも言われるオルガノイドは臓器や組織を模した3次元構造をもつ培養細胞である。1960～1980年代には成熟細胞や株化細胞を中心に研究されていた[1]が、近年では、多能性幹細胞 (ES細胞やiPS細胞) や組織幹細胞をマトリゲル (細胞外マトリックス) に包埋し、多様な条件下で培養・作製できるようになった。

適切な細胞培養条件を用いると幹細胞自身も自己複製能と分化能に従って、組織や器官が自発的に形成される。これは多能性幹細胞や組織幹細胞を利用して作製されるオルガノイドの最大の特徴である。それまでもこの自立性現象自体は知られていたが、2008年、理研・笹井芳樹らが実際にES細胞から大脳皮質を発生させたことで大きな注目を集めた[2]。

直接的に“ミニ臓器”を対象にできることから、病態モデルの作製、医薬品の薬効解析・安全性解析、臓器移植などオルガノイドを活用した研究開発は多岐にわたる (Fig. 1.3.1)。

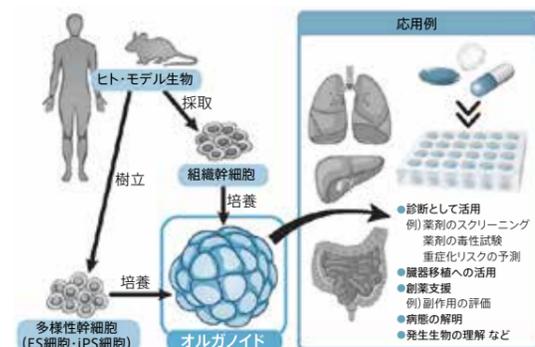


Fig. 1.3.1 幹細胞を培養して作製するオルガノイドと応用例 (医学書院 週刊医学界新聞より引用 [3])

一方で、(i) 個体発生期や成長段階の若い細胞群である、(ii) 入出力系統が確保されていない、(iii) 栄養循環をもたらす血管構造などがなくサイズや構造が限定的である、といった制約や限界も見えており、いまなお日進月歩な技術である。

課題は残りつつも、ヒト組織を *in vitro* で直接取り扱える意義は非常に大きい。事実、オルガノイドに関する論文は2015年以降急速に増えている (Fig. 1.3.2)。

日本人では、慶大・佐藤俊朗、東京医歯大・武部貴則の論文が比較的多い (Table 1.3.1)。

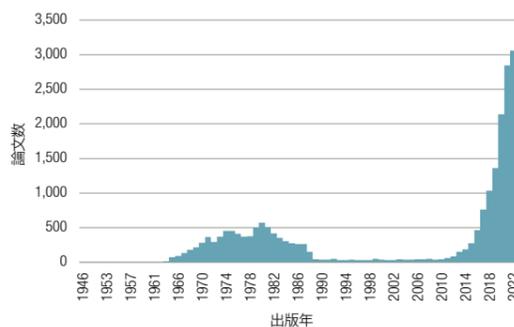


Fig. 1.3.2 オルガノイド関連論文数 PubMed 2023.9

Table 1.3.1 オルガノイド関連論文の著者と所属機関 Scopus 2023.9

論文数	著者名	所属機関
230	Hans Clevers	ユトレヒト大医療センター
61	Jason Spence	ミシガン大
56	佐藤 俊朗	慶大
46	Jeffrey Beekman	ユトレヒト大医療センター
45	Luc van der Laan	蘭エラスムス医療センター
44	武部 貴則	東京医歯大/阪大/シンシナティ小児病院
40	James M. Wells	シンシナティ小児病院
39	Melissa Little	メルボルン大
38	Alysson Muotri	UCサンディエゴ校
37	Meritxell Huch	マックスプランク研究所
37	Bon-Kyoung Koo	ウィーン分子生物学研究所

1.3.2 オルガノイドを用いたジカウイルス感染・小頭症モデル

新生児小頭症はジカウイルスの直接感染による胎児期神経細胞 (神経前駆細胞) の障害である可能性が高い——。

2016年5月、ブラジルと米国の研究グループからそれぞれ報告された論文は、ジカウイルス感染と小頭症の因果を示唆するものであり、いずれもオルガノイドを用いた研究成果であった。

リオデジャネイロ連邦大のパトリア・ガルセス (Patricia Garcez)、ステイーブンス・レーエン (Stevens Rehen) らは、35日齢の脳オルガノイド (ヒトiPS細胞を用いて作製) から神経細胞を分化し、その細胞にジカウイルスを感染させた[4]。すると、細胞増殖過程で細胞の一部が脱落するなどして成長が鈍り、感染11日後には非感染細胞群に比べて約40%小さくなった。また、iPS細胞から作製した神経幹細胞に直接ジカウイルスを感染させたところ、3日後には変形し6日後にはほぼ死滅した。一方、同様の方法でデングウイルスを感染させたいずれの実験系においても細胞形状に差異は認められなかった。

同様に、ジョンズホプキンス大のソン・ホンギョン (Song, Hongjun)、ミン・グオリ (Ming, Guo-li) らもヒトiPS細胞から作製したオルガノイドを用いた実験により、小頭症の原因が神経前駆細胞へのジカウイルス直接感染であることを示唆しセル誌に報告した[5]。ソングら

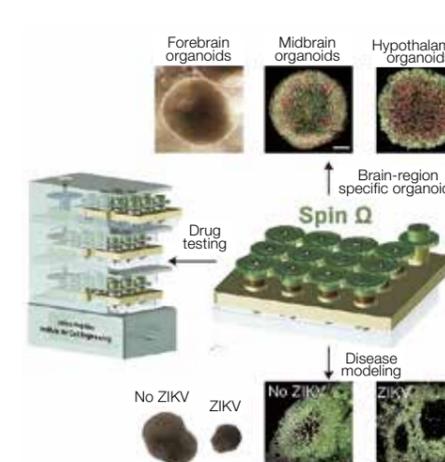


Fig. 1.3.3 脳オルガノイド培養システム Spin Ω [5]

が開発したオルガノイド培養システム Spin Ω で作製した脳オルガノイドは、前駆細胞叢の組織化、神経発生、遺伝子発現、グリア細胞層など、ヒト大脳皮質発生の主要な特徴を再現していた。また同様の手法を用いると、培養条件を変えることで中脳と視床下部など異なる脳の部位のオルガノイド化が可能であることを示している (Fig. 1.3.3)。

ミンらは、この前脳オルガノイドプラットフォームによるジカウイルス暴露モデルを用いた定量解析により、神経前駆細胞はアフリカまたはアジアのジカウイルス株に感染することを明らかにした。ウイルス感染による細胞死の増大、細胞増殖の低下に伴い、小頭症に類似する神経細胞層の体積減少が認められた (Fig. 1.3.4)。

このように2つのグループが、母体を通して胎児の神経細胞もしくは神経前駆細胞に直接感染したジカウイルスによって小頭症が発症することをオルガノイドを用いた実験で示した。他にもサンパウロ大のグループが同年6月に、妊娠マウスを用いて小頭症胎児が生まれたジカウイルス感染実験結果をネイチャー誌に報告した[6]。

感染症研究の汎用ツールとなった

オルガノイドはCOVID-19研究でも汎用ツールとして活用されている。2020年、ミンらは Spin Ω システムを用いて、COVID-19による神経障害は神経細胞へのウイルス直接感染ではなく、むしろ非神経細胞である内皮細胞への感染が主要因になっている可能性を報告した[7]。

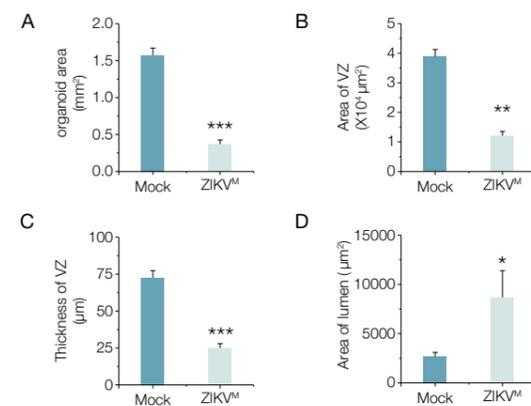


Fig. 1.3.4 前脳オルガノイドにおけるジカウイルス感染 [5] (A) それぞれの条件下で培養したオルガノイドの平面積 (B) 免疫染色画像から測定したVZ面積 (C) VZの厚さ (D) 内腔の面積 VZ: 脳室様構造物

References

[1] Hans Clevers, Cell, 165, 1586, 2016
 [2] Mototsugu Eiraku et al, Cell Stem Cell, 3, 519, 2008
 [3] 医学書院 週刊医学界新聞 (通常号), 3441, 2021
 [4] Patricia P. Garcez, et al, Science, 352, 816, 2016
 [5] Xuyu Qian et al, Cell, 165, 1238, 2016
 [6] Fernanda R. Cugola et al, Nature, 534, 267, 2016
 [7] Fadi Jacob et al, Cell Stem Cell, 27, 937, 2020

1.4 ジカウイルス立体構造とクライオ電子顕微鏡

タンパク質の立体構造はきわめて複雑だ。ウイルスそのものや疾患の原因となる“タンパク質の立体構造”はワクチンや医薬品の設計において重要な情報である。COVID-19のワクチン開発ではウイルス表面から突出している「スパイクタンパク質」が標的となった。本節では、クライオ電子顕微鏡 (Cryo-EM) を用いてジカウイルス立体構造を報告した論文2報を紹介するとともに、Cryo-EMに関連した背景・経緯を概観する。

1.4.1 Cryo-EMが明らかにしたジカウイルス立体構造

2016年2月に緊急開催されたWHO委員会は小頭症および神経障害の集団発生に関するPHEICを宣言した¹。この年、Cryo-EMを用いたジカウイルス構造解析結果を報告する重要な論文が相次いで出版された。同年3月、米・パデュー大のマイケル・ロスマン (Michael Rossmann) らが、Cryo-EM (分解能3.8Å) を用いたジカウイルス構造の解析結果をサイエンス誌に発表した[1]。翌4月には、デューク/シンガポール国立大のシーメイ・ロク (Shee-Mei Lok) らが、Cryo-EM (分解能3.7Å) を用いて解析したジカウイルス構造をネイチャー誌に発表した[2]。

ジカウイルスは正20面体構造だった

ロスマンらは「ジカウイルスの立体構造は180個のタンパク質ユニット (エンベロープ糖タンパク質) からなる正20面体 (Fig. 1.4.1) である」ことを明らかにした。同じフラビウイルスである西ナイルウイルスおよび日本脳炎ウイルスと構造が一部酷似し、また、デング熱ウイルス (DENV) に類似した部位も認められた。

さらに、ジカウイルスのグリコシル化サイトであるAsn154に結合している糖鎖 (N結合型糖鎖) がCryo-EMで捉えられ、この部位が機能して宿主細胞へ結合・侵入している可能性が指摘された。

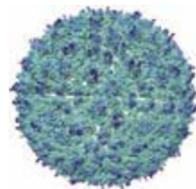


Fig. 1.4.1 Cryo-EMで決定したジカウイルス立体構造 [3]

40°Cでも安定なジカウイルス構造

ロクらは立体構造解析に加え、ジカウイルス熱安定性をデングウイルスと比較した。Fig. 1.4.2は、4水準のインキュベート温度 (4°C, 29°C, 37°C, 40°C) にてウイルスのプラーク形成単位 (PFU) を測定したものである (4°CでのPFUで標準化)。デングウイルス2型や4型がインキュベート温度上昇とともに熱的に不安定になったのとは対照的に、ジカウイルス粒子は40°Cでインキュベートした場合でも構造的に安定していた。また、ウイルス表面では4°Cよりも40°Cの方がタンパク質が密集していた。このようにジカウイルス構造が40°Cでも安定であることは、精液、唾液、尿の中でもウイルスが感染力を維持できることを示唆している。したがって、抗体や薬剤を用いてジカウイルス構造を不安定化させることが病気の転帰軽減、ウイルスの拡散制限に必要と考えられる。

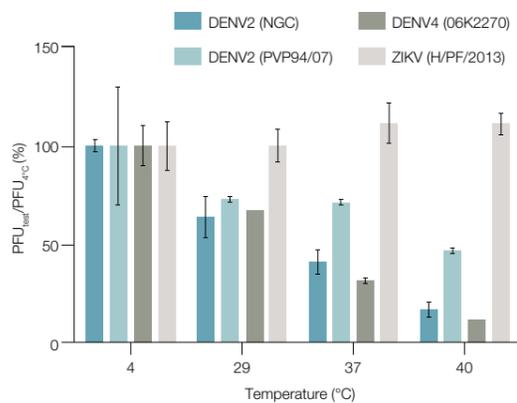


Fig. 1.4.2 ジカウイルスの熱安定性 [2] ウイルスを異なる温度で30分間ブレインキュベートした時のプラーク形成単位 (PFU) を4°CでのPFUで割ったものを示した。

1.4.2 第3のタンパク質構造解析手法

これまでタンパク質の構造解析には主にX線結晶解析法と核磁気共鳴 (NMR) 分光法が用いられていた。近年、クライオ電子顕微鏡 (Cryo-EM) 法の分解能が劇的に向上したことで“第3のタンパク質構造解析手法”としての地位を確立し、ジカウイルスの立体構造決定にも大きく貢献した²[4]。

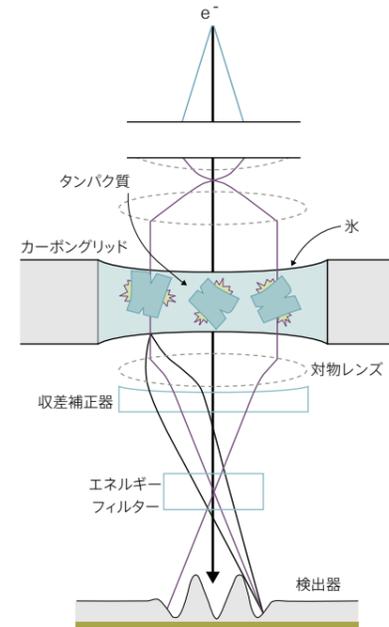


Fig. 1.4.3 クライオ電子顕微鏡の原理 [7]

結晶化が不要になる

名大・芦田玉一によれば「結晶構造解析の成否は結晶の良否が左右し、その精度と信頼度を制御する」、「結晶化がタンパク質結晶解析の最大の律速段階である」³[6]。Cryo-EMでは極低温で凍結した水溶液中のタンパク質を直接観測するため、この結晶化が不要となる (Fig. 1.4.3)。

巨大タンパク質も解析可能

NMR分光法はタンパク質溶液で測定できるものの、分子量が大きくなるにつれ得られる情報が膨大となるため巨大タンパク質の構造決定に難があった。Cryo-EM法では数十キロダルトンから数メガダルトンのタンパク質複合体に至るまで、幅広い分子量範囲の構造解析が可能である[8]。さらには実際の存在状況に近い状態で撮影することができるために生体分子機能解析の研究にもさかんに用いられるようになった。

2010年代に始まる分解能の劇的な向上

2000年代初期にはCryo-EMの分解能はX線結晶回折法やNMR分光法よりも劣っていた。当時20%程度だった電子検出器の量子検出効率 (DQE) は、2012年には50%まで向上しノイズを激減した。Fig. 1.4.4に示すように、2014年までは分解能が概ね10.0Å~25.0Åだったが、2015年から急速に向上、2020年には1.18Åを達成し、原子構造の解析に必要とされる1.50Åをクリアした。

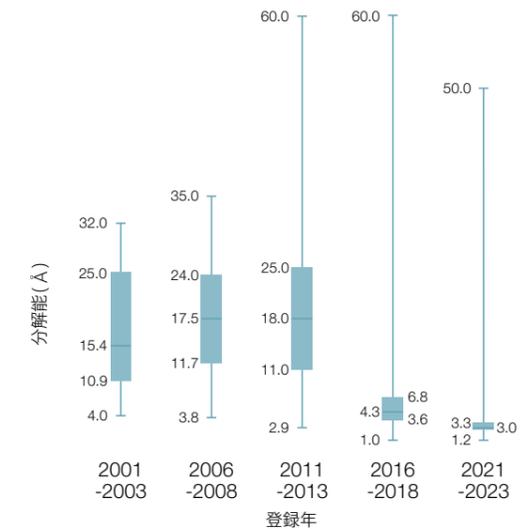


Fig. 1.4.4 EMDBに登録されたタンパク質解析データのCryo-EM分解能分布 (EMDBウェブサイト [9]を基に作成)

ソフトウェアの技術革新

分解能の向上にはハードウェアの改良のみならず、ソフトウェアの革新もまた不可欠であった。中でも、多数の2次元投影像から高コントラスト部を抽出し3次元高解像度画像を構築するアルゴリズムが大幅に進歩した [10-11]。特に、英・MRC分子生物学研究所のショールス・シェーレス (Sjors Scheres) が2012年に構造生物学誌 (*J. Struct. Biol.*) に報告した構造解析ソフトウェア“RELION”は、解析のユーザービリティを格段に向上させた⁴[12]。

²Cryo-EMを開発したローザンヌ大のジャック・ディボシェ、コロロンビア大のヨアヒム・フランク、英MRC分子生物学研究所のリチャード・ヘンダーソンの3人は2017年にノーベル化学賞を受賞した [5]。

³結晶は規則正しく乱れの少ない構造であるほどX線を強く回折する。このような“良い結晶”の作成は多分に試行錯誤や経験に基づく困難な作業である。

⁴現在は2017年にトロント大の学生アリ・バンジャビ (Ali Pujani) が開発した cryoSPARC との“二強”時代。

1.4.3 2010年代から急増するCryo-EM論文

2014年頃から、急速にCryo-EMを用いた研究が盛んになった (Fig. 1.4.5)。特に、タンパク質複合体に関する原子分解能での構造解析結果が多くの研究グループにより報告された。

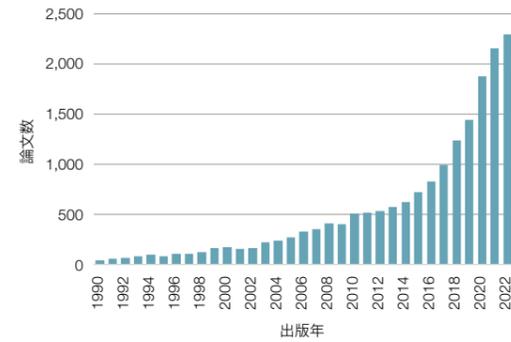


Fig. 1.4.5 Cryo-EM の論文数 Scopus, 2023.10
検索式: ((TITLE-ABS-KEY(em) OR TITLE-ABS-KEY (electron AND microscop*)) AND TITLE-ABS-KEY (cryo))

タンパク質結晶学の巨人・ロスマン

X線結晶解析を用いてタンパク質結晶学を切り拓いたマイケル・ロスマンはまた、早くからCryo-EMに可能性を見出していた。本文でも紹介したように、2016年、いち早くCryo-EMを用いてジカウイルスの立体構造を世に示し、翌々年には、さらに高分解能 (3.1Å) で立体構造を解析した [13]。

"I never retire."

昔からの口癖通り [14]、2019年5月に88歳で亡くなる直前まで論文発表を続け、その数は518報を数えている (Fig. 1.4.6)。

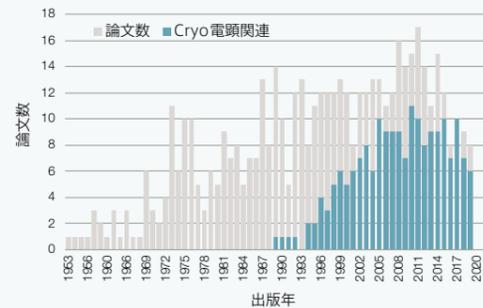


Fig. 1.4.6 ロスマンの生涯著作論文 (Scopus)

研究対象はタンパク質の解析のみにとどまらず…

ロスマンが手がけたウイルスやバクテリオファージ (バクテリアに感染するウイルス) のうち、現在 Electron Microscopy Data Bank (EMDB) [9] に登録されているものを Table 1.4.1 に列挙した。ロスマンの研究対象が多岐にわたっていたことが改めてわかる。

Table 1.4.1 EMDBに登録されているロスマンが関わったウイルスとバクテリオファージ

Organism	Organism
Acanthamoeba polyphaga	Invertebrate iridescent virus 6
Avian orthoavulavirus 1	Mayaro virus
Bacillus phage phi29	Mimivirus-dependent virus sputnik
Carnivore protoparvovirus 1	Paramecium bursaria chlorella virus
Chikungunya virus	Primate erythroparvovirus
Coxsackievirus	Pseudoalteromonas phage tw1
Dengue virus	Pseudomonas phage phikz
Eastern equine encephalitis virus	Rhinovirus b
Enterobacteria phage n4	Rhinovirus c
Enterobacteria phage t4	Ross river virus
Enterovirus a	Sindbis virus
Enterovirus b	Streptococcus virus c1
Enterovirus c	Usutu virus
Enterovirus d	Venezuelan equine encephalitis virus
Escherichia phage phix174	Vibrio phage xm1
Faustovirus	West nile virus
Hantaan orthohantavirus	Zika virus
Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus	

References

[1] Devika Sirohi et al, Science, 352, 6284, 467 2016
 [2] Victor A. Kostyuchenko et al, Nature, 533, 425, 2016
 [3] https://www.ebi.ac.uk/emdb/EMD-8116
 [4] https://arc.asahi-kasei.co.jp/member/watching/pdf/w_263-13.pdf
 [5] https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2017/summary/
 [6] 芦田玉一, 日本結晶学会誌, 38, 378, 1996
 [7] 佐藤主税, 実験医学, 36, 8, 1288, 2018

[8] 宋致宏, 村田和義, 日本結晶学会誌, 63, 80, 2016
 [9] https://www.ebi.ac.uk/emdb/
 [10] https://www.chem-station.com/blog/2017/10/nobel2017cryo.html
 [11] 岩崎憲治, 領域融合レビュー, 5, e010, 2016
 [12] Sheres, Sjors, J. Struct. Biol., 180, 3, 519, 2012
 [13] Madhumati Sewana et al., Structure, 26, 9, 1169, 2018
 [14] 福山恵一, 日本結晶学会誌, 61, 4, 209, 2019

1.5 デング熱 ボルバキア感染蚊によるデング熱制圧

'Miraculous' mosquito hack cuts dengue by 77%'. 2021年6月, BBCは「ボルバキア菌に感染した蚊を放ったところデング熱の感染が77%減った」と報じた [1].

ワールド・モスキート・プログラム (→P. 21) の一環としてインドネシア・ガジャマダ大の **アディ・ウタリーニ** (Adi Utarini →P. 7) らが主導した実証実験 (無作為比較試験) の成果だ (Fig. 1.5.1)。昆虫に共生する細菌ボルバキアに感染させた¹蚊の卵500万個を用意。ジョグジャカルタ市内に置いたバケツの水に2週間ごとに卵を投入する作業を9か月続け、感染した蚊を増やした。ジョグジャカルタ市を便宜上24区画に分け、そのうちの12区画にボルバキア感染蚊を放ったところ、デング熱発症者が77%減り、入院が必要な患者も86%少なくなった (対非リリース地区比)。この結果は、トップ医学誌の1つニュー・イングランド・ジャーナル・オブ・メディシン² (NEJM) に掲載された [3]。



Fig. 1.5.1 インドネシアにおけるボルバキア感染蚊野外実験の成果を報じるワールド・モスキート・プログラムのファクトシート [2]

1.5.1 共生細菌ボルバキアと蚊

ボルバキアに感染したメスの蚊の子孫はボルバキアを保有する——。ボルバキア感染蚊について、時系列に追ってみよう (Table 1.5.1)。

100年前にアカイエカから発見

1924年にミネソタ大の **マーシャル・ヘルティヒ** (Marshall Hertig) とハーバード大の **シメオン・ウォ**

Table 1.5.1 ボルバキアと蚊小史

年	動向
1924	ボルバキア 発見
1937	英国系統アカイエカと仏国系統アカイエカ同士の交配において一部で後代が得られない現象が認められる
1953	不和合因子がメスのみを介して遺伝する細胞質不和合性の発見
1971	細胞質不和合の原因因子がボルバキアであることが明らかに (これを機に多くの昆虫で細胞質不和合が報告されるように)
1997	宿主 (キロシヨウジョウバエ) が成虫になるとwMelPopの毒性により神経変性・早期死亡することが判明
2008	病原性RNAウイルスによるキロシヨウジョウバエの致死率がボルバキア感染によって劇的に改善
	ボルバキアに感染させたネッタイシマカでデング熱ウイルス、チクングニア熱ウイルス、マラリア原虫感染を抑制
2009	クイーンズランド大のオニールら、ネッタイシマカにwMelPopを感染させることに成功
	wMelPop感染ヒトスジシマカでデングウイルス増殖を抑制
2011	クイーンズランド大のウォーカーら、ネッタイシマカに対する病原性がないwMel株をネッタイシマカに感染させることに成功
	比較野外試験 (豪北東部の住宅街) によって、ボルバキア感染ネッタイシマカを放飼、自然界の蚊個体群にボルバキアが侵入することを実証
2016	米国で「デバッグ・フレズノ」開始
	シンガポールで「プロジェクト・ボルバキア」開始
2019	ボルバキア感染蚊 (オス) 放飼に不妊化法を組み合わせてボルバキア非感染蚊 (メス) の混入を防ぐことで、野外実験からヒトスジシマカを94%減 (ネイチャー誌)
2021	BBCが「ボルバキア感染蚊を放ったところデング熱の感染が77%減った」と報じた (NEJM誌)

¹昆虫の約7割が自然に保有している共生細菌で人体に悪影響はないといわれる。

²The New England Journal of Medicine, 略称: N Engl J Med または NEJM. マサチューセッツ内科学会が発行。世界5大医学誌の一角で、他の4誌は『the Lancet』『JAMA』『BMJ』『Annals of Internal Medicine』。

宿主の寿命を縮めるボルバキア系統 wMelPop

通常、ボルバキア系統wMel株は宿主に対して共生的あるいは片利共生的であるが、1997年に突然変異による“病原性”のボルバキアポップコーン株 (wMelPop) が発見された。カリフォルニア工科大のシーモア・ベンザー (Seymour Benzer)、ミン・キュンタイ (Kyung-Tai Min) らは、成虫になった宿主 (キイロショウジョウバエ) のwMelPopがポップコーンのように爆発的に増殖し、神経が変成して成虫の寿命が半減することを報告した[4]。



スコット・オニール (クイーンズランド大)

ボルバキア感染したキイロショウジョウバエは他の病原体に感染しにくくなる

2008～2009年、病原体を媒介する昆虫にボルバキアを感染させた研究報告が相次いだ。2008年、ケンブリッジ大のルイス・テイシェイラ (Luis Teixeira) ら[5]、クイーンズランド大のローレン・ヘッジス (Lauren Hedges) ら[6]はそれぞれ、wMel株に感染したキイロショウジョウバエは他のウイルスに感染されにくくなることを見出した。すなわち、ボルバキア感染したキイロショウジョウバエの病原性RNAウイルスによる致死率は劇的に改善した。

wMelPopに感染したネッタイシマカは デングウイルス増殖が抑制される

2009年、モナシュ大のコナー・マクメニマン (Conor McMeniman) らは、本来ボルバキアを保有しないネッタイシマカにwMelPopを人工感染させることに成功、後代にも細胞質不和合性と短寿命が引き継がれることをサイエンス誌に報告した[7]。

同年、クイーンズランド大のスコット・オニール (Scott O'Neill; 写真)、ルチアーノ・モレイラ (Luciano Moreira) らはwMelPopに感染したネッタイシマカ体内でデングウイルス、チクングニアウイルス、西ナイルウイルスの密度が著しく低下、増殖が抑制されたことをセル誌に報告した。ショウジョウバエのみならずネッタイシマカにおいても同様の現象が認められたというこの報告を契機に研究が加速した[8]。

ボルバキアを使って蚊の個体数を制御する

2011年、クイーンズランド大のトーマス・ウォーカー (Thomas Walker) らは、ネッタイシマカに対する病原性がないwMel株をネッタイシマカに感染させることに成功、ネッタイシマカのボルバキア感染を促進させた[9]。

同年、メルボルン大のアリー・ホフマン (Ary Hoffmann) らは、デング熱の被害がある豪北東部の住宅街 (ケアンズ近郊のヨーキーズノブとゴードンペール)

で、ボルバキアに感染させたネッタイシマカを放飼し、ボルバキア感染を拡散できることを確認した[10]。

ボルバキアに感染したオスは非感染メスと交配してもその卵は孵化しない (細胞質不和合)。しかし感染メスとの卵は孵化するので偶発的に混入してしまうと感染メスが定着することになる。

2019年、中山大・ミシガン州大熱帯病昆虫媒介抑制共同研究センターのチェン・シャオイン (Xiaoying Zheng) らは、オスのボルバキア感染とメスの放射線照射 (不妊化) を組み合わせた野外試験を実施、野生型ヒトスジシマカの平均個体数が1年で83～94%減少したことをネイチャー誌に報告した[11]。

ワールド・モスキート・プログラム

豪・モナッシュ大の研究者らによって設立された非営利団体であるワールド・モスキート・プログラム (WMP) は、共生細菌ボルバキアを用いて、デング熱、ジカ熱、チクングニア熱、黄熱病などの蚊媒介感染症の感染者数を減らす活動を精力的に行っている。出資者はビル & メリンダ・ゲイツ財団 (Bill & Melinda Gates Foundation; B&MGF「ビル&メリンダ・ゲイツ財団」(→ P. 29)) である。日本のアース製薬は、WMP によるベトナム (ピンズオン省トゥーザウモット市) でのデング熱防圧プログラムを2021年から支援している。

1.5.2 論文からみたボルバキア研究

“ボルバキア”をタイトルに含む論文

Fig. 1.5.2は“ボルバキア”をタイトルに含む論文 (以下、ボルバキア論文) の出版状況である。ボルバキア論文数 (濃青点線) は1990年代半ばから増加し、2003年～2008年頃までは年50～100報で推移したが、2009年頃から年々増え、2021年には約200報になった。また、ボルバキア論文における“デング”をタイトルに含む論文 (薄青実線) は2006年頃に初出、近年増加傾向である。被引用数上位のボルバキア論文をTable 1.5.2 (P. 24) に示す、

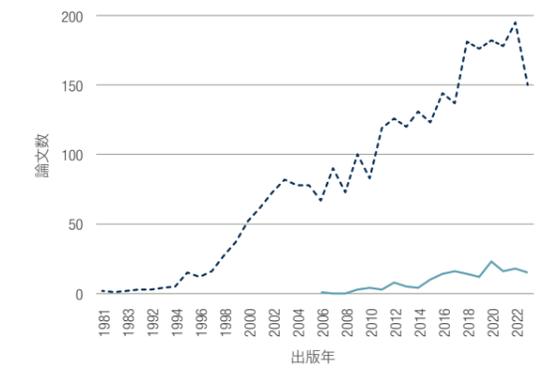


Fig. 1.5.2 ボルバキア論文の出版状況 Scopus 2023.10.8
 ---: ボルバキア論文数
 —: ボルバキア論文における“デング”をタイトルに含む論文数

細胞質不和合 (Cytoplasmic Incompatibility)

ボルバキアは共生する宿主昆虫の生殖システムを様々な方法で操作し、宿主集団内で急速に広まる。ボルバキア感染蚊は特に“細胞質不和合 (cytoplasmic incompatibility; CI)”を利用して、ボルバキアの生殖操作としては、この他にも単為生殖誘導 (オスなしでメスを産んで繁殖)、性転換 (遺伝的にオスである宿主をメスに転換)、オス殺し (オスの卵のみ発生初期に殺してメスを孵化させる) が知られている。

世代を経るごとに感染を拡める

Fig. 1.5.3に示したように、雌雄をそれぞれボルバキアの感染有無で4通りに分類すると、感染オスと非感染メスが交配した場合のみ孵化しない。この現象が細胞質不和合である。さらに、雌雄ともに感染していた場合、異常は起こらず、正常に胚発生が進む (レスキュー現象) [12]。したがって、感染メスにとっては、

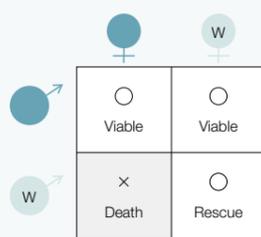


Fig. 1.5.3 細胞質不和合
 ● 非感染 W 感染

交配相手が感染していようがいが問題なく子を残せる。一方、非感染メスにとっては、非感染オスと交配したときしか子を残すことができないわけである。これは取りも直さず「集団中で感染メスの割合が高まる」ことを意味しており、結果としてボルバキアの感染は世代を経るごとに確実に広まることになる。

産総研・深津武馬はこれを「非感染メスの適応度を下げることにより感染メスの頻度を高めていくという巧妙な (ボルバキアの) 戦略」と指摘する [13]。

細胞不和合はアカエイカで見出された

1937年、英・蚊制御研究所のジョン・マーシャル (John Marshall) らは、英国の数系統のアカエイカと仏国系統のアカエイカとで交配実験したところ、一部の組み合わせでは後代が得られない現象を見出した。1953年、ヨハネス・グーテンベルク大遺伝学研究所のハンネス・ラヴェン (Hannes Laven) は、不和合因子がオスのみを介して親から子に伝わることを示し、この現象を細胞質不和合性と名付けた。さらに1967年、ラヴェンは、ビルマの小村のアカエイカの根絶実験に成功した。1971年、UCLAのジャニス・イェン (Janice Yen) らは細胞質不和合の因子がボルバキアであることをネイチャー誌に報告した。これを機に、多くの昆虫で細胞質不和合が報告されるようになった。

Table 1.5.3 ボルバキア論文の主なキーワード出現数 Scopus 2023.10.8 青色帯:蚊に関連 灰色帯:デング熱に関連

1997-1999	2007-2009	2012-2015	2017-2019
74 Wolbachia	247 Wolbachia	475 Wolbachia	438 Wolbachia
36 Bacteria (microorganisms)	181 Article	345 Animals	306 Animals
34 Nonhuman	165 Animals	311 Article	306 Animal
30 Article	122 Nonhuman	265 Animal	277 Microbiology
29 Arthropoda	106 Female	248 Microbiology	211 Nonhuman
20 CI	80 Hexapoda	121 Bacteria (microgramms)	103 Aedes
17 Insecta	74 Arthropoda	99 Hexapoda	73 Aedes Aegypti
14 Hexapoda	34 CI	83 Aedes	65 Mosquito
14 Arthropod	24 Insect	82 Arthropoda	64 Dengue
14 Hymenoptera	19 Aedes	60 Mosquito	63 Mosquito Vector
11 Proshpila	16 Mosquito	51 Aedes Aegypti	59 Mosquito Vectors
	15 Aedes Albopictus	44 CI	49 Dengue Virus
	13 Aedes Aegypti	39 Drosphila	28 Mosquito Control
		39 Dengue	

⁷当初、ビル&メリンダ・ゲイツ財団のグローバルヘルス・グランド・チャレンジ・イニシアチブを通じて米国立衛生研究所(NIH)から資金提供を受け、その後、地方政府から多額の資金援助を受けた。

⁶プロジェクト・ボルバキア



キーワードの変遷

Table 1.5.3にボルバキア論文の主なキーワード変遷を示した。1997～1999年には“蚊”に関連するキーワード(表中の青色帯)は認められなかったが、10年経った2007～2009年には“Mosquito”“*Aedes Albopictus*(ヒトスジシマカ)”“*Aedes Aegypti*(ネッタイシマカ)”などが現れた。2012～2015年になると“Dengue”(表中の灰色帯)も認められ、2017～2019年になると“蚊”に関連するキーワードが出現数・種類ともに増加した。

豪州のオニールらが顕著 英米にも主要研究者

著者レベルでボルバキア論文をみると、クイーンズランド大(現モナシュ大)のスコット・オニール(126報)、メルボルン大のアリー・ホフマン(112報)らが大きく貢献していることがわかる(Table 1.5.4)[7-16]。

リバプール熱帯医学校(Liverpool School of Tropical Medicine; LSTM)のマーク・テイラー(Mark Taylor)は、A・WOLコンソーシアムのディレクターである。LSTMは、オンコセルカ症(河川盲目症)とリンパ系フィラリア症(象皮病)対策として抗ボルバキアの取り組みを行っている。

ペンシルバニア州大のエリザベス・マグロウ(Elizabeth McGraw; 写真)は、デング熱ウイルスがボルバキアに対して耐性をもないこと、またボルバキア菌感染下で増殖したデング熱ウイルスは蚊の細胞への感染・複製能力が低いことを示した[10]。



エリザベス・マグロウ(ペンシルバニア州大)

日本では産総研・深津武馬が目立つ

日本では産総研・深津武馬(写真)のグループがボルバキアに関する複数の被引用数が高い論文を米国科学アカデミー紀要(PNAS)に発表している[17-19]。



深津 武馬(産総研)

Table 1.5.4 主なボルバキア論文著者 Scopus 2023.11.12

論文数	著者名	所属機関
126	スコット・オニール	モナシュ大
112	アリー・ホフマン	メルボルン大
66	マーク・テイラー	リバプール熱帯医学校
62	エリザベス・マグロウ	ペンシルバニア州大
61	コスタス・ポトルチス	ギリシャ・ヨアニア大
61	ジョン・ヴェレン	ロチェスター大
...
23	陰山 大介	農研機構
...
21	深津 武馬	産総研, 東大
...
20	佐々木 年則	感染研

2002年、深津、東大・今藤夏子らは、アズキノウムシが、異なる3系統のボルバキア(wBruCon, wBruOri, wBruAus)に感染していること、このうちwBruAusのwsp遺伝子を含むゲノム断片は、宿主X染色体に水平転移した遺伝子断片として存在することを明らかにした。これは原核生物から真核生物へゲノム遺伝子の水平転移(Horizontal gene transfer)が自然界で実際に起こったことを意味する[17]。

産総研・深津、細川貴弘らは、ボルバキアが宿主のトコジラミ(吸血性のカメムシ類; 別名南京虫)に必須栄養素ビタミンB類を供給していることを実験的に示した。これはボルバキアが宿主相利共生となっている実例である[18]。また、深津、放送大・二河成男らは、トコジラミに共生するボルバキアの全ゲノム配列を決定し、他の細菌から遺伝子水平転移で獲得したビタミンB7(ピオチン)合成遺伝子群が宿主トコジラミの生存を支えていることを解明した[19]。

1.5.3 野外放出実験

他にも大規模な実証試験が世界各所で行われてきた。2022年3月には、ベトナム東南部地方ビンズオン省保健当局とホーチミン市パストゥール研究所が同省トゥーザウモット市南部にて、ボルバキアに感染した蚊3,000万匹を放った[20]。

以下、米国、シンガポール、中国の3事例を紹介する。

事例①：米国

2022年にWHOアメリカ地域で報告されたデング熱の症例数は約280万例(うち死者約1,300例)、前年が約120万例(うち死者437例)であったことから、1年で症例数は2倍以上、死者は約3倍に増加した。2023年は3月4日の時点で86例の死亡を含む約34万例が報告された(Fig. 1.5.4)[21]³。

ヘルステック企業のベラリー・ライフ・サイエンス社⁴とモスキートメイト社⁵が害虫根絶を目指すプロジェクト「Debug」の実証実験としてカリフォルニア州フレズノ郡で開始したのが「デバッグフレズノ(Debug Fresno)」だ。モスキートメイト社が開発したオスのボルバキア感染ネッタイシマカ「ZAP」を2週にわたり100万



Fig. 1.5.5 フレズノで蚊を放出するバン

匹/週放出する大規模な試験である(Fig. 1.5.5)。2020年4月にネイチャーバイオテクノロジー誌に、「3か所のリリースサイトでメスのネッタイシマカ数が95%以上減少した」と報告された[23]。

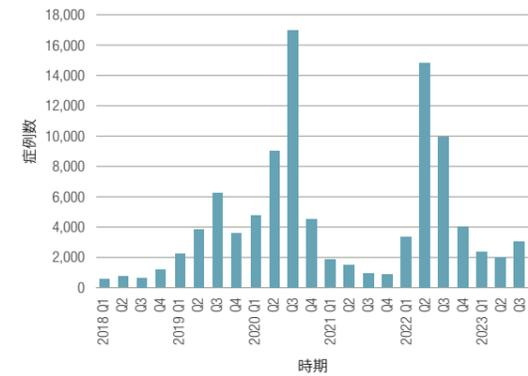


Fig. 1.5.6 シンガポールにおけるデング熱症例 [26]

事例②：シンガポール

シンガポールはデング熱感染症例が多く、特に2020年と2022年は年30,000症例を超えた(Fig. 1.5.6)。2016年から同国の国家環境庁(NEA)が「プロジェクト・ボルバキア」⁶を主導。ボルバキアに感染したネッタイシマカ(オス)のリリースサイトでは個体数が最大98%減少。1年間以上放出された地域では、デング熱症例数が最大88%減少した[24]。

一方で、シンガポールのような密集した都市部でのボルバキア感染蚊戦略の有効性に対し懐疑的な向きもある[25]。

事例③：中国

広東省の中山市に「モスキート・ファクトリー」と呼ばれる研究所がある。ミシガン州大と中山大が合同で設

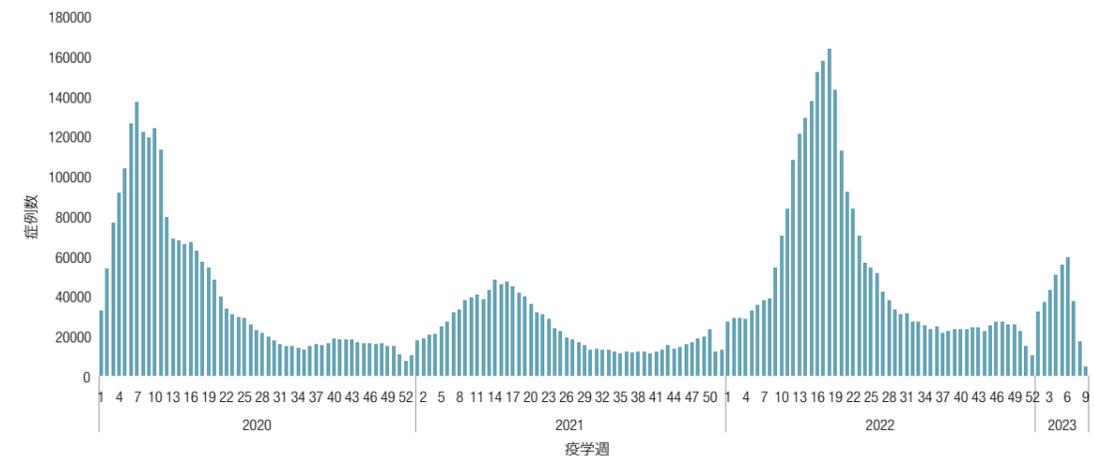


Fig. 1.5.4 WHO アメリカ地域におけるデング熱疑い症例(疫学週別, 2020.1.1-2023.3.14) [21]

立した中山大・ミシガン州大熱帯病昆虫媒介抑制共同研究センター(センター長:ミシガン州大・シー・ジーヨン(Zhiyong Xi))がそれである⁷[27]。

ボルバキアに感染した卵から孵化したオスのサナギだけを目視で選別してケージに移す(サナギはメスのほうが大きい見分けがつく)。十分に成長したら、沙仔島などの孤島に運び放出する。その数は約200万匹/週に上り、感染したメスは孵化しない卵を産む。結果、リリースサイトでの蚊の個体群密度を99%減らせた[28]。

1.5.4 実用に向けてさらなる研究を

宿主の体内でRNAウイルスが増殖するのをボルバキアが抑制していると理解されている。ボルバキア感染によって多様な病原体への防衛が誘導されていることから、宿主の自然免疫活性化に寄与しているという説が今のところ有力である[29]。だが、このウイルス増殖を抑制する機構はまだ完全には解明されていない。メカニズム解明に向けて現在も活発な研究が行われている。

— このようにみると、ボルバキアは様々な病原体に対して抑制効果があり、まるで夢のようなツールとして使えそうな印象を受けるが、話はそう単純ではない。

農研機構・陰山大輔はこう指摘する[30]。例えば、西ナイルウイルスに対しては、ボルバキアがむしろウイルスの増殖を促進させてしまう[31]。さらに温度など環境要因によっても様々な形質が変化するという報告もある[32]。ボルバキアを「夢のようなツール」にするには、さらなる研究が必要なようである。

³2023年の第49週時点では約420万の症例報告(死者2,000例)で過去最多を記録している[22]。

⁴元グーグルのライフサイエンス部門であり、現在はAlphabet傘下となった。



⁵MosquitoMate; ケンタッキー州レキシントン



Table 1.5.2 ボルバキア論文(被引用数上位) Scopus 2023.11.12 青色帯は著者がオニールの共著論文

被引用数	内容	掲載誌	年	著者(筆頭)	著者(責任)
1,941	ボルバキア: 無脊椎動物生物学のマスターマニキュレーター	<i>Nat. Rev. Microbiol.</i>	2008	Werren, John H.	ロチェスター大 同左
1,156	ボルバキアはデング熱・チクングニア熱・マラリア原虫の感染を制限する	<i>Cell</i>	2009	Moreira, Luciano A.	クイーンズランド大; スコット・オニール 同左
1,053	ボルバキアの生態	<i>Annu. Rev. Entomol.</i>	1997	Werren, John H.	ロチェスター大 同左
1,031	ボルバキア菌: 節足動物の繁殖を操作する微生物	<i>Annu. Rev. Microbiol.</i>	1999	Stouthamer, Richard	ワーゲニンゲン大 同左
1,024	wsp 遺伝子配列を用いたボルバキア株の系統発生および PCR に基づく分類	<i>Proc. Royal Soc. B</i>	1998	Zhou, Weiguo	クイーンズランド大 スコット・オニール 同左
1,016	ネッタシマカ集団におけるボルバキア定着に成功	<i>Nature</i>	2011	Hoffmann, Ary A.	メルボルン大 スコット・オニール 同左
949	ボルバキアに感染している種は何種類? 現在のデータの統計分析	<i>FEMS Microbiol. Lett.</i>	2008	Hilgenboecker, Kirsten	フンボルト大 同左
896	wMel ボルバキア株はデングウイルスを阻害し檻のネッタシマカ集団に定着する	<i>Nature</i>	2011	Walker, Thomas	クイーンズランド大 スコット・オニール 同左
850	ボルバキアと昆虫のウイルス防御	<i>Science</i>	2008	Hedges, Lauren M.	クイーンズランド大 Johnson, Karyn N. 同左
834	ボルバキアがキイロショウジョウバエのRNAウイルス感染耐性を誘導する	<i>PLoS Biology</i>	2008	Teixeira, Luis	ケンブリッジ大 同左
753	ボルバキアの進化と系統: 節足動物の生殖寄生虫	<i>Proc. Royal Soc. B</i>	1995	Werren, John H.	ロチェスター大 同左
703	ネッタシマカを短命化するボルバキアを安定に導入する	<i>Science</i>	2009	McMeniman, Conor J.	クイーンズランド大 スコット・オニール 同左
674	ボルバキア wMel の系統ゲノミクス	<i>PLoS Biology</i>	2004	Wu, Martin	ゲノム科学研究所 (現クレイグ・ヴェンター研) Eisen, Jonathan A. 同左
641	昆虫におけるボルバキア感染頻度: 世界的な平衡の証拠?	<i>Proc. Royal Soc. B</i>	2000	Werren, John H.	ロチェスター大 同左
632	ボルバキアのMLST(多座位配列タイピング)システム	<i>Appl. Environ. Microbiol.</i>	2006	Baldo, Laura	UCリバーサイド 同左
625	依然として多いボルバキア宿主: 陸生節足動物種の40% が感染	<i>PLoS ONE</i>	2012	Zug, Roman	フンボルト大 同左
622	Long PCRによりボルバキアDNA増幅が改善: 63種の節足動物種の76% にwsp遺伝子配列を発見	<i>Insect Mol. Biol.</i>	2000	Jeyaprakash, Ayyamperumal	フロリダ大 同左
565	ボルバキアの主要表面タンパク質をコードする遺伝子のクローニングと特性評価	<i>J. Bacteriol.</i>	1998	Braig, Henk R.	イエール大 スコット・オニール 同左
541	細菌細胞に関連した栄養共生者としてのボルバキア	<i>PNAS</i>	2010	細川 貴弘	産総研 深津 武馬 同左
535	内部共生細菌ボルバキアはネッタシマカにデング熱ウイルス耐性を誘導する	<i>PLoS Pathogens</i>	2010	Bian, Guowu	ミシガン州大 Xi, Zhiyong 同左
533	節足動物の生殖寄生虫の多様性: ボルバキアは独り歩きしない	<i>BMC Biology</i>	2008	Duron, Olivier	ユニバーシティカレッジロンドン (UCL) 同左
513	新熱帯区の節足動物におけるボルバキア分布	<i>Proc. Royal Soc. B</i>	1995	Werren, John H.	ロチェスター大 同左
490	マレー糸状虫に共生するボルバキア系統wBmの全ゲノム配列決定	<i>PLoS Biology</i>	2005	Foster, Jeremy	ニューイングランドバイオラボ Slatoko, Barton 同左
487	フィラリア線虫におけるボルバキアの系統	<i>Proc. Royal Soc. B</i>	1998	Bandi, Claudic	ミラノ大 同左
440	ショウジョウバエの共生生物ボルバキアは毒性が強く変性や早期死亡を引き起こす可能性がある	<i>PNAS</i>	1997	Min, Kyung-Tai	カリフォルニア工科大 Bezer, Seymoure 同左
297	マダニ内の共生生物とボルバキアの関係: ヒトおよび動物のダニ媒介病原体	<i>Appl. Environ. Microbiol.</i>	1997	野田 博明	農業生物資源研究所 同左
257	昆虫とボルバキアの栄養相利共生の進化的起源	<i>PNAS</i>	2014	二河 成男	放送大 深津 武馬 同左
249	ボルバキア細胞内共生生物のゲノム断片が宿主昆虫のX染色体に転移	<i>PNAS</i>	2002	今藤 夏子	東大 深津 武馬 同左
165	ボルバキアの感染密度と2種のウンカ種(ヒメトビウンカとセジロウンカ)の不和合性レベル	<i>Insect Biochem. Mol. Biol.</i>	2001	野田 博明	農業生物資源研究所 同左
141	ボルバキアにおけるバクテリオファージ WO の分布と進化	<i>J. Mol. Evol.</i>	2000	升井 伸治	東大 石川 統 同左
119	同じ昆虫宿主内に共存するボルバキア属とスピロプラズマの内部共生生物間の非対称相互作用	<i>Appl. Environ. Microbiol.</i>	2006	後藤 俊輔	産総研;筑波大 深津 武馬 同左

References

[1] <https://www.bbc.com/news/health-57417219>
 [2] <https://www.worldmosquitoprogram.org/sites/default/files/2023-02/RCT%202021-WMP%20Indo-factsheet.pdf>
 [3] Adi Utalini, et al., N. Eng. J. Med., 384, 23, 2177, 2021
 [4] Min, KT, et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 94, 20, 10792, 1997
 [5] Luis Teixeira, et al., Plos Biol., 6, 12, 273, 2008
 [6] Lauren Hedges, et al., Science, 322, 5902, 2008
 [7] Conor McMeniman, Science, 323, 5910, 141, 2009
 [8] Luciano Moreira, Cell, 1397, 1268, 2009
 [9] Walker, T., et al., Nature, 476, 450, 2011
 [10] Hoffmann, AA., Nature, 476, 454, 2011
 [11] Xiaoying Zheng, et al., Nature, 572, 56, 2019
 [12] 星崎杉彦, 植物防疫, 52, 11, 471, 1998
 [13] 深津武馬日本農業
 [14] Zhou, Weiguo, Proc.Royal Soc. B, 265, 1395, 509, 1998
 [15] Wu, Martin, et al., Plos Biol., 2, 3, 327, 2004
 [16] Braig, Henk R., et al., J. Bacteriol., 180, 9, 2373, 1998
 [17] Kondo N, Proc. Nat. Acad. Sci., 99, 22, 14280, 2002
 [18] Hosokawa T, Proc. Nat. Acad. Sci., 107, 2, 769, 2009
 [19] Nikoh N, Proc. Nat. Acad. Sci., 111, 28, 10257, 2014
 [20] <https://www.viet-jo.com/news/social/220326001130.html>
 [21] https://www.forth.go.jp/topics/2023/20230403_00001.html
 [22] <https://www.paho.org/en/documents/situation-report-n1-dengue-epidemiological-situation-americas-14-december-2023>
 [23] Crawford JE et al., Nat. Biotechnol., 38, 4, 1, 2020
 [24] <https://www.channelnewsasia.com/singapore/project-wolbachia-mosquito-dengue-nea-facility-3773176>
 [25] <https://ipdefenseforum.com/ja/2021/05/シンガポール-当局は記録的なデング熱の流行に/>
 [26] <https://www.nea.gov.sg/dengue-zika/dengue/quarterly-dengue-surveillance-data>
 [27] <https://msutoday.msu.edu/news/2019/successful-suppression-of-mosquitoes-using-sterile-males-in-china>
 [28] <https://www.wired.jp/2016/08/22/inside-lab-brewing>
 [29] 内井喜美子, ファルマシア, 50, 5, 449, 2014
 [30] 陰山大輔, 蚕糸・昆虫バイオテック, 83, 3, 3, 2014
 [31] Dodson, B. L., et al., PLoS Negl. Trop. Dis., 8, e2965, 2014
 [32] Murdock, C. C. et al., Sci. Rep., 4, 3932, 2014

1.6 感染症媒介蚊と遺伝子ドライブ

「瓜の蔓に茄子はならぬ」「蛙の子は蛙」「鶯の子は鷹にならず」…… 親の特徴が子へ受け継がれる遺伝現象は古来経験的に知られていた。メンデル遺伝では、子は対をなす親の染色体のどちらか一方だけを継承する。1866年に**グレゴール・メンデル** (Gregor Mendel) が発見した遺伝の一般則は現在では中学理科の教科書でも扱われている。

本節では、前節で紹介したボルバキア感染蚊とはまた異なるアプローチである「感染症媒介蚊の遺伝子ドライブ (Gene drive)」について概説する (Table 1.6.1)。

Table 1.6.1 最近の遺伝子改変蚊研究の動向

年	動向
2003	インペリアル・カレッジ・ロンドン (ICL) のパートナー、「ターゲット・マラリア」プロジェクト開始
2011	ICL, プルキナファソ, ウガンダ, マリと連携し昆虫飼育場, 屋外実験室開設
2014	MITのエスベルトが「CRISPR/Cas9で蚊の遺伝子改変」を着想
2015	UCサンディエゴ校のガンツ, ピーアらがショウジョウバエの遺伝子を編集, 変異誘発が集団内で連鎖的に伝播することを実証 オキシテック社, 「自己制御遺伝子」をもつコナガ (DBM) によって個体数が劇的に削減 ガンツ, ピーアとUCアーバイン校のジェームス, マラリア耐性蚊を作出. 耐性遺伝子がほぼ100%後代に伝達することを実証 ICLグループ, CRISPRベースの遺伝子ドライブ蚊開発. メス蚊の卵産生に関与する遺伝子を不活化することによりマラリア媒介蚊を集団減少
2016	サンパウロ州ピラシカーバにおいてオキシテック社が放出した遺伝子組換え蚊「Friendly Aedes」により, デング熱の年間発症率が91%減少
2017	DARPAが「セーフジーンズ」プロジェクト開始
2021	オキシテック社がフロリダ州キーズ諸島で遺伝子組換え蚊の放出実験を開始 (7カ月間で計500万匹放出)

1-6-1 遺伝子ドライブで個体数を減らす

遺伝子工学の技術を用いて改変した特定の遺伝子を偏って遺伝させ、集団の遺伝構成を制御する「遺伝子ドライブ」。メンデルの法則によれば、遺伝子を改変しても野生型と交配すると必ず対立遺伝子が交雑する。したがって交配を繰り返すうちに改変遺伝子が希釈されてしまう (Fig. 1.6.1(a))。ところが「遺伝子ドライブを用いると、遺伝子改変型と野生型が交配しても必ず改変遺伝子をもつ子が生まれる (Fig. 1.6.1(b))。この交配を繰り返すと、ついには交配する野生型がいなくなり、遺伝子改変型が100%になる[1]。近年この遺伝子ドライブを用いて、特定の蚊の個体数を根絶あるいは激減させようという研究開発が盛んになってきた。

Table 1.6.1から、インペリアル・カレッジ・ロンドンを中心とした英国のグループとUCサンディエゴ校を中心とした米国のグループがこの研究を先行しているようにみえる。

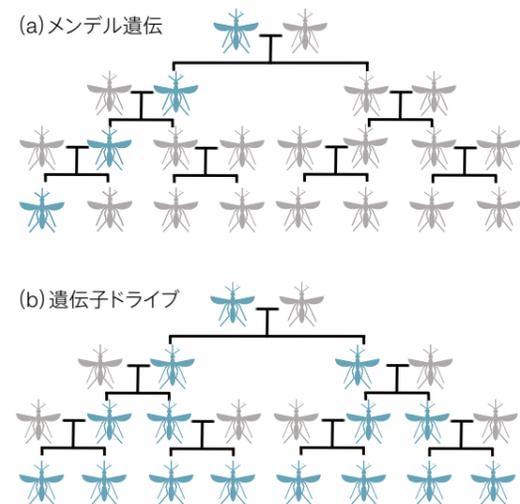


Fig. 1.6.1 改変遺伝子をもつ蚊と野生型蚊の交配パターン
メンデル遺伝に基づく交配 (a) では変異遺伝子をもつ青い蚊は世代を重ねるにつれて減少するが、遺伝子ドライブ (b) では子孫の蚊はすべて変異遺伝子をもつ青い蚊となる。

インペリアル・カレッジ・ロンドン

2003年、インペリアル・カレッジ・ロンドン (ICL) のオースティン・バート (Austin Burt)、アンドレア・クリサンティ (Andrea Crisanti) らが開始した「ターゲット・マラリア」プロジェクトは、遺伝子ドライブによって蚊の地域個体群を絶滅させようという試みだ。2011年には、実地試験を視野に、プルキナファソやウガンダ、マリのパートナー機関と正式に連携し、昆虫の飼育場や屋外実験場を開設した。2018年、プルキナファソ政府はターゲット・マラリアに対し、「不妊遺伝子」を組み込んだオスのガンビアハマダラカ (*Anopheles gambiae*) の個体群を自然放出することを承認した。

2018年、クリサンティ、バートらは、CRISPR¹を用いてケージ内のガンビアハマダラカの個体群を7世代で全滅させることに成功。これは遺伝子ドライブで生物種を絶滅させた最初の事例となった[2-3]。

ターゲット・マラリア


A Vector Control Research Alliance

世界中には3,500種以上の蚊が存在し、そのうち837種がアフリカに生息しているといわれる。マラリア伝播の原因となるのはハマダラカだ。アフリカでのマラリア抑制に向けた新しい遺伝子技術を開発するために、アフリカと欧米の研究機関や大学が集まった非営利の国際研究コンソーシアムが「ターゲット・マラリア」である。

大学ベースの研究プログラムとして始まったが、現在ではアフリカ・欧米の科学者、ステークホルダー、規制問題の専門家、プロジェクト管理チーム、リスク評価の専門家、コミュニケーションの専門家といった広範なメンバーが参画するまでに成長した。個々の研究室では、英・環境・食糧・農村地域省 (DEFRA)、欧州委員会、米国立衛生研究所 (NIH)、ウガンダ国家科学技術評議会 (UNCST)、ウガンダ保健省、英ウェルカムトラスト、世界銀行など様々な外部資金を集めながら研究を推進している。

遺伝子ドライブの実現に貢献した CRISPR/Cas9

DNA二本鎖を切断して任意のゲノム配列を削除・置換・挿入する——。2012年、マックスプランク研究所のエマニュエル・シャルパンティエ (Emmanuelle Charpentier) とUCバークレー校のジェニファー・ダウドナ (Jennifer Doudna) によって報告されたCRISPR/Cas9は、ZFN、TALENに続く第3世代のゲノム編集ツールだ。

2014年、MITのケビン・エスベルト (Kevin Esvelt) が「CRISPR/Cas9で蚊の遺伝子改変」を着想。それまでの標的遺伝子の配列に合わせたタンパク質を作製する必要があったZFNやTALENとは異なり、標的遺伝子に相補的な核酸配列をもつ特異的なgRNAを準備するだけで済む。CRISPR/Cas9を用いる新たなツールの導入により、遺伝子ドライブの効率は格段に高まった。

UCサンディエゴ校

2015年、UCサンディエゴ校のヴァレンティノ・ガンツ (Valentino Gantz) とイーサン・ビーア (Ethan Bier) は、CRISPR/Cas9を利用したMCR法 (Mutagenetic Chain Reaction) でショウジョウバエにおける高効率遺伝子ドライブを実証した[4-5]。

ゲノム上の標的部位がCas9/gRNAで切断され (Fig. 1.6.2 A)、相同組換え修復 (Homology Directed Repair; HDR) によってCas9とgRNAが発現するコンストラクト (標的細胞や標的組織に移植される人工的な核酸セグメント) を繋げるカセットがプラスミドからゲノム上の標的配列に挿入 (ノックイン) される (Fig. 1.6.2 B~C)。ゲノム上に挿入されたカセットからCas9とgRNAが発現 (Fig. 1.6.2 D)、もう一方の染色体上にある対立遺伝子を切断し、自らのカセットをノックインし続ける (Fig. 1.6.2 E~F)。こうして変異はホモ接合となる[6]。このMCR法を用いてショウジョウバエの遺伝子に改変遺伝子を挿入したところ、97%の効率で連鎖的に伝播した。

同年、ガンツらは蚊でもMCR法の有効性を実証した[7]。UCアーバイン校の分子生物学者アンソニー・ジェームス (Anthony James) らとの共同研究で、ハマダラカの遺伝子进行操作して作出したマラリア耐性蚊により99.5%の子孫に耐性遺伝子を継承させることに成功した。

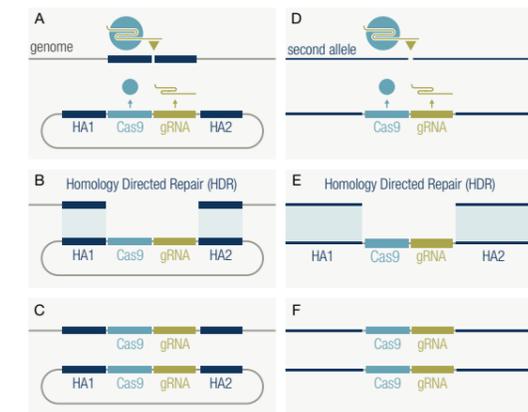


Fig. 1.6.2 MCR法による遺伝子ドライブ [4]
ゲノム上の標的部位をCas9/gRNAで切断 (A)、HDRによってプラスミドのCas9とgRNAがゲノムの標的配列にノックイン (B-C)。ゲノムに挿入されたカセットからCas9とgRNAが発現し、もう一方の染色体上にある対立遺伝子を切断 (D)、自らのカセットをノックインし続ける (E-F)

¹ Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats.

1.6.2 論文からみた「遺伝子ドライブ蚊」

“遺伝子ドライブ”をタイトルに含む論文の主なキーワードの変遷を Table 1.6.2 に示す。10 年前 (c), 5 年前 (b), 現在 (a) と論文数の増加もさることながら, 「蚊」や「蚊媒介感染症」に関連するワード (表中で青色帯) が頻出している。

また, Scopus 上で “Mosquito” と “Gene Drive” をタイトルに含む論文は 63 報抽出された (感染症以外も含む)。Fig. 1.6.3 に出版年ごとの累積値を示す。CRISPR/Cas9 システムが報告された 2012 年頃を境に論文数の増加に拍車がかかった様子である。なお, 各論文が対

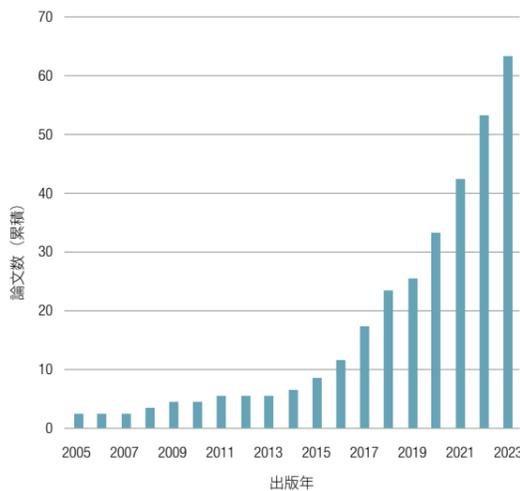


Fig. 1.6.3 “蚊”と“遺伝子ドライブ”をタイトルに含む論文数(累積値) Scopus 2023.12

象とする蚊媒介感染症はマラリアが最多で 54 報, ジカ・デング熱は 22 報である。

次に 63 報それぞれの内容から「CRISPR/Cas9 による遺伝子ドライブ」「遺伝子ドライブ抵抗性」「個体数制御」「数理モデル」「環境 (含規制/倫理)」に分類し, 論文動向を概観した (Fig. 1.6.4)。「環境」に関する論文が近年特に目立つ。

遺伝子ドライブで人為的に遺伝子を改変した生物を自然環境に放出する是非について, 活発に議論されている [8-9]。2017 年, 米国防高等研究計画局 (DARPA) は国家安全保障の観点から「セーフジーンズ」プログラムを立ち上げた。これは危険な遺伝子が組み込まれた時など想定外の事態に対していつでも中断・無効化ができるような技術開発を目的としたものである。DARPA は遺

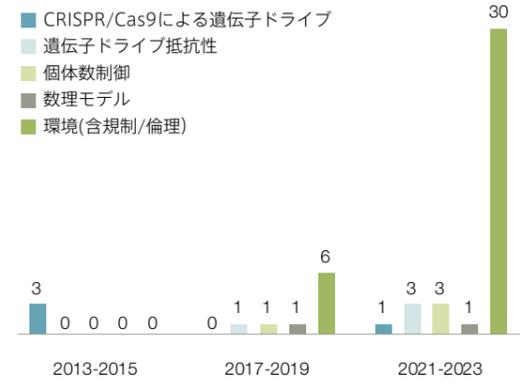


Fig. 1.6.4 “蚊”と“遺伝子ドライブ”をタイトルに含む論文の分類

Table 1.6.2 “遺伝子ドライブ”をタイトルに含む論文の主なキーワード (青色帯:蚊媒介感染症に関連) Scopus 2023.12

(a) 2021-2023	(b) 2016-2018	(c) 2011-2013
120 Gene drive technology	62 Genetics	16 Genetics
81 Genetics	54 Animals	11 Animals
77 Gene drive	54 Animal	10 Animal
72 Animals	53 Non human	10 Non human
71 Animal	51 Gene drive technology	9 Controlled Study
⋮	⋮	⋮
37 Malaria	37 CRIPR Cas System	4 Mosquito
⋮ CRISPR Cas System	⋮	4 <i>Drosophilla melanogaste</i>
36 Allele	32 CRIPR-CAS Systems	
35 CRIPR-CAS Systems	⋮	
⋮	23 Malaria	
28 Risk assessment	⋮	
27 Mosquito Vector	18 Mosquito	
26 Mosquito Vectors	⋮	
⋮	17 Allele	
19 <i>Anopheles Gambiae</i> Allele	⋮	
⋮	15 Risk assessment	
18 <i>Anopheles</i>	⋮	
	11 Mosquito Control	
	Insect Vectors	
	⋮	
	10 <i>Anopheles Gambiae</i>	

伝子ドライブを研究する UCサンディエゴ校のオマー・アクバリ (Omar Akbari) ら 7 つの研究機関に研究資金を配賦した [10]。

もう一点特筆したいのが, 近年, 「遺伝子ドライブ抵抗性」に関する論文が現れてきたこと。遺伝子ドライブで改変したはずの遺伝子が継承されずに修復される現象が報告されている [11-13]。

致死遺伝子が組み込まれた OX513A

英・オキシテック社は致死遺伝子を組み込んだ OX513A のオスを用い, 野外試験を行っている。致死性遺伝子としてコードされたのは tTAV*。遺伝子改変蚊の体内で tTAV が高レベルで発現すると細胞の発達が妨げられ死に至る。

しかし「テトラサイクリン抑制性」なのでテトラサイクリン系抗生物質が与えられれば tTAV の発現が抑制されて生き延びる。そうすると, 野に放たれた「テトラサイクリン系抗生物質を与えて飼育した OX513A のオス」と野生メスの間で生まれた次世代は, テトラサイクリン系抗生物質を与えられなければ, 父親が受け継いだ致死性遺伝子のために生殖機能をもつ前に死んでしまう。結果, 個体数が縮小していく [14]。

OX513A を用いた野外試験は 2009 年にケイマン諸島で実施されたのを発端に, 2010 年代に実験が重ねられた。中でも 2011 年に実施されたブラジルでの大規模実験では 85% 減少が報告された [15]。

2021 年には OX513A を改良した OX5034 の大規模野外実験が米フロリダ州キーズ諸島で始まった。

* Tetracycline-repressible transcriptional transactivation; テトラサイクリン抑制性転写活性化因子

性比のバランスを壊す

蚊の個体数減少に対して遺伝子ドライブ以外の方法も検討されている。性染色体をゲノム編集の標的とし「性比異常 (Sex-ratio distortion)」を誘導するというものだ。

2014 年に ICL のクリサンティ, パートらはこの手法で集団内のザンビエハマダラカの個体数減少に成功した。ザンビエハマダラカのゲノムにエンドヌクレアーゼ*を組み込み精巣で発現させることで, X 染色体の特定領域 (リボソーム DNA 遺伝子配列) を選択的に切断した。ケージ内のザンビエハマダラカにこの措置を施したところ, 次の世代の性比バランスが大きく歪み (オスが 95% 超), 個体群が縮小していった [16]。

* Endonuclease. 核酸の内部から切断する核酸分解酵素 (核酸を加水分解する酵素)。DNA と RNA の両方を分解するのはヌクレアーゼ, 末端から分解していくのはエキソヌクレアーゼ。

ビル&メリンダ・ゲイツ財団

世界蚊プログラム「ワールド・モスキート・プログラム」も「ターゲット・マラリア」のいずれもビル&メリンダ・ゲイツ財団から多大な研究資金が支援されている。同財団の研究プログラム「グランド・チャレンジズ・イン・グローバルヘルス」の第 1 期募集では, 致死性の高い病気を対象とする 44 プロジェクトに対して総額 4.5 億ドルを超える研究費を助成した。

マイクロソフト社の創業者ビル・ゲイツは 1997 年, メリンダ・ゲイツと共同でゲイツ図書館財団を設立した。時あたかもインターネット黎明期, 全米の公共図書館でインターネットアクセスの無料提供を目指すことが設立趣旨であった。後にゲイツ学習財団と名称変更, さらに 2000 年, 実父が設立していたウィリアム・ゲイツ財団と合併し, ビル&メリンダ・ゲイツ財団となった。

Malaria No More の 10-to-End イノベーター



「マラリア・ノーモア」は、2016年、米大統領のマラリア・イニシアチブの一環で設立された非営利団体である。2019年、同団体は、米政府と「10-to-ENDイノベーター」を選出・表彰した。マラリア撲滅の取り組みに貢献した10人を「長期持続殺虫網 (LLIN)」「データ革命 (診断・ゲノムクス)」「根治治療」「モスクイトコード解読」の4カテゴリーごとに選出。オキシテック社CEOのグレイ・フランゼン、住友化学・西本麗らが名を連ねた [17] (Table 1.6.3)。

長期持続殺虫網 (Long-Lasting Insecticidal Net, LLIN)

住友化学は、防虫剤処理蚊帳「オリセット® ネット」(写真) を世界へ供給している。この蚊帳は、ポリエチレンネットに練り込まれた防虫剤ピレスロイドが徐々に表面に染み出てくることで長期にわたり効力を発揮する [18]。元々は工場の虫除け網戸に活用していた技術である。



オリセット® ネット
(住友化学(株)提供)

2001年にはWHOから長期残効型蚊帳として公式に推奨された [19]。現在は国連児童基金 (UNICEF) などの国際機関を通じて約100の国々に供給されている [20]。

Table 1.6.3 10-to-End イノベーター

長期持続殺虫網 (LLIN) の構築		
西本 麗	住友化学	殺虫剤耐性を超える新たな化学
ミッケ・ベスターガー	ベスターガード・フランドセン	殺虫剤耐性に警鐘, LLINの普及
データ革命 - 診断からゲノムクスまで		
ジェニファー・ガーディ	ビル&メリンダ・ゲイツ財団	マラリアに公衆衛生ゲノムクスのツールを導入
サイモン・ト・ヘイ	保健指標評価研究所	「ビッグデータ」と地理空間科学を活用してマラリアを撲滅する取り組み
テレヴァー・マーティン	マンモス バイオサイエンス	CRISPR を診断に応用
キャロライン・バッキー	ハーバード大	携帯電話の通信データを活用した感染拡大モデル
クリス・スコギンズ	アボット	最前線の医療従事者の手に最先端の診断機能を提供
三日熱マラリア原虫に対する根治治療法		
ジュリア・ザック	ノバルティス	アルテミシニン治療の先駆研究
モスクイトコードの解読		
グレイ・フランゼン	オキシテック	Friendly™ ネットイシマカの開発と野外実験
スレーシュ・スプラマニ	UCSD/タタ遺伝学・社会研究所	蚊感染症におけるCRISPR 主導「アクティブ遺伝学」の適用

References

- [1] Kevin M Esvelt, eLife, Jul 17, 2014
- [2] <https://www.sankei.com/article/20190203-CTNZMLMYIBKLDMA7WAFIQCNLLQ>
- [3] Kyrrou, K. et al Nat. Biotechnol., 36, 106, 2018
- [4] Gantz, V.M. and Bier, E., Science 348 442, 2015
- [5] <https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/report/16/011900001/16/07/06/00044>
- [6] 山本大介, 日本蚕糸学会, 86, 2, 105, 2017
- [7] Gantz, V.M. et al, Proc. Natl. Acad. Sci., 112, E6736, 2015
- [8] Servik, K, Science, 365, 1234, 2019
- [9] <https://globe.asahi.com/article/11651583>
- [10] <https://www.darpa.mil/program/safe-genes>
- [11] Hammond A.M., et al., PLoS Genet., 13, 10, e1007039, 2017
- [12] Chamber, Jackson, et al., PLoS Genet., 13, 7, e1006796, 2017
- [13] Unckless R.L., et al., Genetics, 205, 2, 827, 2017
- [14] <https://wired.jp/2016/03/14/gm-mosquitoes-clear-an-fda-hurdle-for-florida-release>
- [15] Emily Waltz, Nat. Biotechnol., 34, 221, 2016
- [16] Galizi, R. et al, Nat Commun, 5, 3977, 2014
- [17] <https://www.malariannotmore.org/news/malaria-no-more-honors-innovators-and-ideas-helping-to-make-the-end-of-malaria-possible-in-our-lifetimes/>
- [18] 伊藤高明ら, 住友化学, II, 4, 2006
- [19] https://www.unic.or.jp/news_press/features_backgrounders/4296/
- [20] https://www.sumitomo-chem.co.jp/sustainability/social_contributions/olysetnet/initiative/

第二章

結核

私達はその月末にハケ岳山麓のサナトリウムに行くための準備をし出していた。私は、一寸した識合しりあいになっている、そのサナトリウムの院長がときどき上京する機会を捉えて、其処へ出かけるまでに一度節子の病状を診て貰うことにした。

《堀辰雄 風立ちぬ》

2.1 結核研究

「不治の病」と呼ばれていた結核は、第二次大戦後、治療薬の開発、BCG ワクチンの普及、集団検診の充実、生活水準の向上などによって国内では激減した。しかし、世界に目を向ければ漸減しているものもまだまだ蔓延が続いている。

WHO統計によれば、2022年、世界中で1,060万人が新規に結核を発病、死者は138万人に及んでいる。罹患率は発展途上国に多く、「再興感染症」と呼ばれる。特に最近では「潜在的結核感染症」「多剤耐性結核」「HIV/TB共感染」など、質的にも難しい問題が浮上している[1]。

2.1.1 世界動向

「結核 (Tuberculosis)」をタイトル・抄録・キーワードに含む論文は Fig. 2.1.1 の青線に示すように、2000年以降も堅調に増えている。論文数の年代動向を国別に見ると、Fig. 2.1.2 に示すように、この20年、米国、英国、インドが上位を占める。中国は2000～2002年に12位であったが、2010～2012年には4位、2020～2022年には3位と順位を上げている。日本は2000～2002年に4位であったが、2010～2012年に9位、2020～2022年には15位と中国とは逆に順位を下げている(Fig.

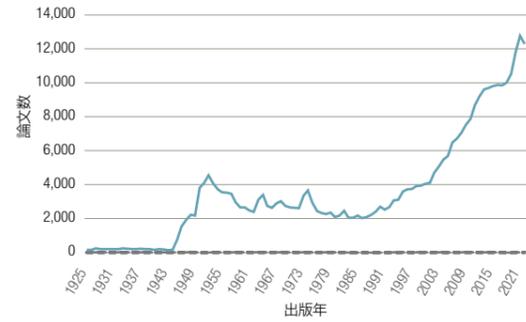


Fig. 2.1.1 結核 (tuberculosis) をタイトル・抄録・キーワードに含む論文数 Scopus 2023.6.22

2.1.2 濃紺棒)。南アは特徴的で2000～2002年は7位、2010～2012年と2020～2022年は5位である。

Table 2.1.1 (次頁) に論文数上位の著者所属機関を示す。米国疾病予防管理センター (CDC)、ロンドン大衛生熱帯医学校、WHO、ハーバード大医学大学院などの米・英の機関に並び、南アの機関 (灰色帯) が上位に加わった。2020～2022年には、ケープタウン大を筆頭にステレンボッシュ大、南ア医療研究評議会、ウィットウォーターズランド大、クワズール・ナタール大と上位10機関の半数を南アが席巻した。南アは結核の蔓延が特に著しく、年間患者数は32.8万人と推定される。人口10万人当たりの結核患者数は554人でレソトに次い

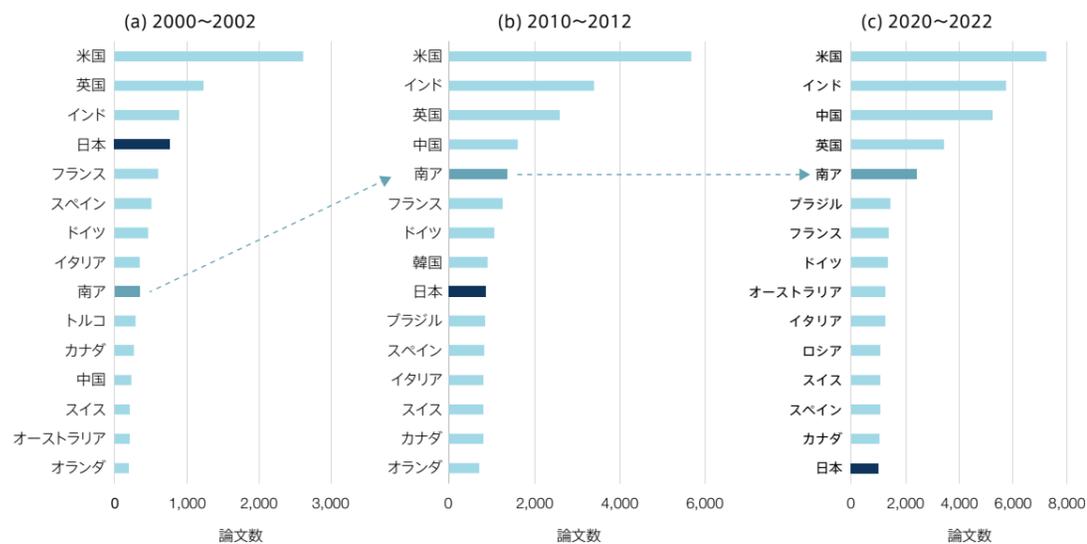


Fig. 2.1.2 論文数の国別順位 (年代別集計) Scopus 2023.6.22

Table 2.1.1 結核論文の著者所属機関 (論文数上位) Scopus 2023.7.4

(a) 2000～2002			(b) 2010～2012			(c) 2020～2022		
論文数	著者所属機関	国	論文数	著者所属機関	国	論文数	著者所属機関	国
1	170	米・疾病予防管理センター (CDC)	1	495	ケープタウン大	1	786	ケープタウン大
2	117	ロンドン大衛生熱帯医学校	2	405	ロンドン大衛生熱帯医学校	2	706	ロンドン大衛生熱帯医学校
3	90	コロラド州大	3	355	米・疾病予防管理センター (CDC)	3	674	ステレンボッシュ大
4	88	世界保健機関 (WHO)	4	351	世界保健機関 (WHO)	4	513	南ア医療研究評議会
5	87	バスターン研	5	347	ステレンボッシュ大	5	489	ハーバード大医学大学院
6	75	ステレンボッシュ大	6	324	インペリアル・カレッジ・ロンドン	6	464	ウィットウォーターズランド大
7	73	チャンディーガル医学研究所	7	274	ハーバード大医学大学院	7	423	ユニバーシティ・カレッジ・ロンドン
8	73	国立衛生研究所 (NIH)	8	216	サンパウロ大	8	422	世界保健機関 (WHO)
9	70	ハーバード大医学大学院	9	213	全インド医科大学	9	407	インペリアル・カレッジ・ロンドン
10	68	アルベルト・アインシュタイン医学校	10	209	国立衛生研究所 (NIH)	10	391	クワズール・ナタール大

で世界第2位である。結核患者の71%がHIV陽性であることから[2]、HIV感染症が結核蔓延の一因と考えられている (→コラム「HIV/TB共感染」(P. 48))。

2022年、ケープタウン大のグループが *Lancet Infect. Dis.* 誌に掲載した『細菌学的に確認した南アにおける肺結核の有病率 (2017～2019)』は結核疫学に関する重要な論文である[3]。研究グループは、多段階クラスターに基づく横断調査から南アの肺結核の罹患率を推定した。110クラスター (クラスター規模500人) の住民 (年齢15歳以上) を対象に、対面式の症状アンケートを実施、「結核を示唆する症状が少なくとも1つある」「胸部X線写真に異常がある」または「それらの組み合わせが確認された」場合に陽性と記録した。スクリーニング陽性の参加者の喀痰サンプルは、Xpert MTB/RIF Ultra¹ (第1サンプル)、MGIT培養² (第2サンプル) により検査され、結核菌培養が陽性の参加者は、「細菌学的に確認された肺結核」と定義された。培養陰性の場合、「活動性結核を示唆する胸部X線写真異常があり」、「現在または過去の結核既往がないXpert MTB/RIF Ultra陽性者」を「細菌学的に確認された肺結核」と定義した。

全体として、細菌学的に確認された肺結核の人口10万人あたりの推定有病率は、852人 (95%信頼区間679～1,026) であった。年代別では、35～44歳の1,107人 (95%信頼区間703～1,511) と、65歳以上の1,104人 (95%信頼区間680～1,528) が高かった。

References

- [1] <https://www.otsuka.co.jp/health-and-illness/tuberculosis/global-challenge/>
- [2] 濱田洋平, 複十字, 405, 18, 2022
- [3] Sizulu Moyo, et al., *Lancet Infect. Dis.*, 22, 8, 1172, 2022

2.1.2 最近の結核論文キーワード

Scopusで抽出した最近の結核論文 (2021～2023) 16,359報の上位25キーワードを Table 2.1.2 に示す。なお、“human”, “article”などの一般語は対象外とした。HIV (緑色帯)、多剤耐性結核菌 (青色帯)、潜在性結核菌 (灰色帯) が結核研究の主流になっていることがわかる。

Table 2.1.2 「結核論文 (2021-2023)」のキーワード Scopus 2023.7.4

回数	キーワード
5,047	Mycobacterium Tuberculosis
2,615	Tuberculostatic Agent
2,320	Rifampicin
2,241	Isoniazid
2,236	Human Immunodeficiency Virus Infection
2,127	Lung Tuberculosis
1,340	Pyrazinamide
1,054	HIV Infections
1,035	Immune Response
1,026	Multidrug Resistant Tuberculosis
941	BCG Vaccine
924	Tuberculosis, Pulmonary
911	Latent Tuberculosis
744	Macrophage
701	Human Immunodeficiency Virus
632	Tuberculosis, Multidrug-Resistant
618	HIV
564	CD4+ T Lymphocyte
552	Interferon Gamma release Assay
525	Human Immunodeficiency Virus Infected Patient
524	Extrapulmonary Tuberculosis
510	CD4 Lymphocyte Count
488	Rifampin
478	Streptomycin
470	Interleukin 6

¹ コラム「結核菌群およびリファンピシン耐性遺伝子を同時検出するXpert MTB/RIF『セフィエド』」(P. 46)

² Mycobacteria Growth Indicator Tube 法。アイソトープを用いず蛍光発色によって抗酸菌を迅速に検出する方法。米・ベクソンディキンソン社が開発。汎用性として推奨されてきた小川培地法に比べ培養期間が短縮化し培養感度が高いとされる。

2.2 潜在性結核感染症

結核菌に感染していながら発病はしていない——。結核菌が体内で潜伏感染している状態（疾患）が“潜在性結核感染症（Latent Tuberculosis Infection; LTBI）”である。

病原体に感染してから症状が現れるまでの期間を“潜伏期間（Latent period）”といい、その期間は数日の場合もあれば、年単位の場合もある。結核に感染した人のうち約9割は無症状である。すなわち細胞内に潜伏した結核菌は臨床的にも細菌学的にも、またX線上にも気配が見えない。しかし、そのうちの5～10%が最終的に結核疾患を発症するといわれる。

世界結核終息戦略『End TB Strategy¹』は「2035年までの結核流行の終息」を目標としている。これを達成するためには、発症者にとどまらず、いきおい無症状の結核感染者にまで介入しなくてはならない[1]。

2000年から広まったLTBIという概念

LTBIが概念として広まったのは、2000年に米国での声明『選択的ツベルクリン検査と潜在性結核感染症の治療²』が契機といわれる[2] (Fig. 2.2.1)。これは米国胸部疾患学会（ATS³）と米国疾病予防管理センター（CDC）による共同声明で、結核を根絶するためには「リスクの高い対象者に選択的にツベルクリン反応（ツ反→「ツ反検査」（P. 37））を実施し、陽性者に対して治療を行うことが重要である」とし、「結核菌に感染していること自体が潜在的な疾患」と捉えている⁴。

WHOは2015年に「LTBIに関するガイドライン⁵」でLTBI治療の推奨レジメンを示し、さらに、2018年にその改訂版⁶でLTBI治療レジメンを改定し推奨した。

国内LTBI登録者 2019年から減少傾向

日本では2007年から無症状結核感染者のうち抗結核薬による治療が必要と認められる場合、LTBIとしての届け出が義務になった[3]。Fig. 2.2.2に示すように、国内の新規年間LTBI登録者は2007～2010年は3,000～5,000人で推移していたが、2011年には前年の2倍強（4,930人→10,046人）となった。2013年からは

7,000人前後で推移していたが、2019年以降減少している。（2019年7,684人→2020年5,575人→2021年5,140人→2022年5,025人）[3]。

潜伏して再活動する結核菌

HIVに感染したり、免疫抑制剤によって炎症性サイトカインの産生が低下したりしたときなど宿主側の免疫不全によって、潜伏感染していた結核菌が再活性化して発症する可能性がある。

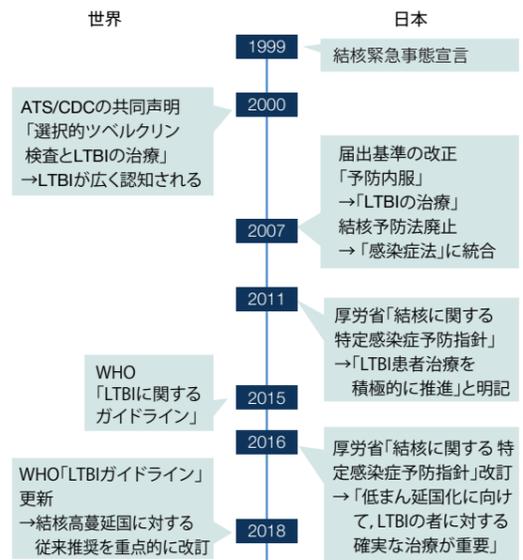


Fig. 2.2.1 LTBIに関する取り組み

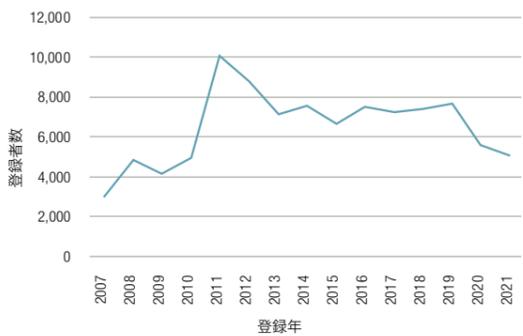


Fig. 2.2.2 LTBI登録者（日本）結核研究所疫学情報センターが2023年9月に公開したデータを基に作成

結核菌はなぜ長期にわたって体内に潜在できるのか、またどのようなメカニズムに基づいて再び活動するのか、潜伏して再活動する結核菌の正体を科学的に解き明かすため、現在も着実に研究が進められている[4]。

マクロファージに潜伏する結核菌

白血球の一種であるマクロファージ⁷は、体内に侵入してきた微生物や細菌を貪食して殺菌分解する。気管支から肺胞に到達した結核菌もまた肺胞マクロファージに貪食されるが、中には殺菌分解機構から逃れ、長期にわたりマクロファージ内で潜伏することがある[5-7]。結核菌がマクロファージ内で生存・増殖できるのは、自身を分解するファゴリソソームとの融合を阻害し、細胞死を制御するためである[8]。

休眠結核菌に発現する分子や再増殖を促進する因子

LTBIでは結核菌は休眠状態にあると考えられることから、休眠結核菌に発現する分子や再増殖を促進する因子なども鋭意研究されている。前者として、米・国立アレルギー感染症研究所のクリフトン・バリー（Clifton Barry）らは低酸素状態でのタンパク質発現を解析し、α-クラスタリン様タンパク質（Acr）が顕著に発現誘導されることを見出した[9]。また、新潟大・松本壮吉らはヒストン様タンパク質 MDP1⁸が休眠結核菌に大量発現することをそれぞれ報告した[10-12]。一方、レスター大のガリーナ・ムカモロバ（Galina Mukamolova）らは Resuscitation-promoting Factor D は最も寄与が大きい休眠結核菌の再増殖促進因子であると報告した[13]。

2.2.1 論文から見たLTBI研究

“Latent tuberculosis Infection”をタイトルに含む論文（LTBI論文）の年次・累積出版数はFig. 2.2.3の通りである。2000年のATS/CDC共同声明に呼応して論文が報告され始めた様子がうかがえる。著者所属国は米国が最も多い（Fig. 2.2.4）。著者所属機関は、米・CDCが群を抜いているが、カナダ・マギル大も際立っている（Table 2.2.1）。カナダ・マギル大のディック・メンジーズ（Dick Menzies）らは、活動性結核の予防効果



Fig. 2.2.3 LTBI論文数（年次・累積）

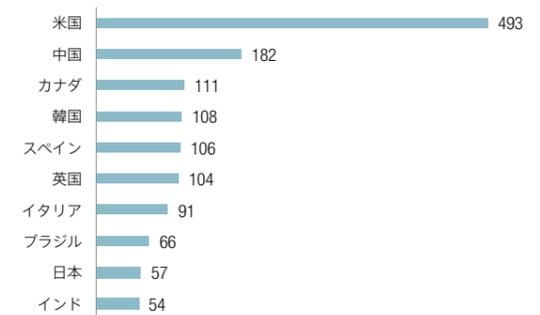


Fig. 2.2.4 LTBI論文数（国別）

Table 2.2.1 LTBI論文の著者所属機関

論文数	著者所属機関（整数カウント）
91	米・疾病対策予防センター（CDC）
40	カナダ・マギル大
37	UCサンフランシスコ校
31	北京連合医科大学
28	カナダ・マギル大モントリオール胸部研究所
27	ジョンズ・ホプキンス大
27	ユニバシティ・カレッジ・ロンドン
26	全米HIV・ウイルス性肝炎・性感染症・結核予防センター
25	ロンドン大衛生熱帯医学大学院
23	中華人民共和国教育部
23	ジョンズ・ホプキンス・ブルームバーグ公衆衛生大学院
23	インペリアル・カレッジ・ロンドン
16	公益財団法人結核予防会

⁷ Macrophage (MΦ)

⁸ Microbacterial DNA-binding protein 1

において、リファンピシム4か月投与がイソニアジド9か月投与に劣っていないこと、リファンピシムは治療完遂率が高く、また安全性にも優れることを示した[14]。

Table 2.2.2に被引用数上位20報と責任著者が日本人の論文上位14報を示す。薄い灰色帯はLTBIの診断手法「IFN- γ 遊離アッセイ (IGRA)」に関するものであり、このテーマが比較的多い。日本人著者では「クオンティフェロン (QFT) 検査」に関する論文が目立つ。次項ではIGRAやQFTなどによる「LTBI診断」にフォーカスする。

2.2.2 LTBIを診断する

活動性結核発症リスクの高いLTBIを見分けたい——。発症する可能性が高いLTBI患者をあらかじめ特定し治療する。そうすれば、結核発症が抑制され、すなわち結核の終焉につながる。世界人口の4分の1に相当する約17億人がLTBIで、そのうち約10%活動性結核を発症する可能性があるといわれるが、現在、どの患者が結核を発症するかを特定するには至っていない[15] (→コラム『3分の1』から『4分の1』に書き換わった』(P.41))。

Table 2.2.2 LTBI論文(被引用数上位) Scopus 2024.4.22

被引用数	内容	掲載誌	著者(責任)
1,612	標的ツベルクリン検査とLTBIの治療(総説)	<i>Am.J.Respir.Crit.Care Med.</i> 2000	著者記載なし
1,198	LTBIの世界的負担: 数学的モデリングを使用した再推定	<i>PLoS Medicine</i> 2016	R.M.G.J. Houben ロンドン大衛生熱帯医学大学院
1,194	系統的レビュー: LTBI診断のためのT細胞ベースのアッセイ: 最新情報	<i>Ann Intern Med</i> 2008	M. Pai カナダ・マギル大
1,153	標的ツベルクリン検査とLTBI治療	<i>Morb. Mortal. Wkly. Rep.</i> 2000	著者記載なし
916	メタ分析: LTBI診断の新検査: 不確実領域と研究への推奨事項	<i>Ann Intern Med</i> 2007	D. Menzies モントリオール胸部研究所
760	LTBIに対するリファンピシムとイソニアジドの3か月投与	<i>N Engl J Med</i> 2011	T.R. Sterling 米・ヴァンダービルト大医療センター
585	腫瘍壊死因子拮抗薬で治療された患者におけるLTBI再活性化を防ぐための推奨事項の有効性	<i>Arthritis Rheum.</i> 2005	J.J. Gómez-Reino スペイン・サンティアゴ・デ・コンポステーラ大学病院
546	米国におけるLTBI治療の優先事項	<i>N Engl J Med</i> 2004	C.R. Horsburgh Jr ボストン大
481	LTBI: 潜在的な結核感染症か、それとも結核菌に対する持続的な免疫反応か?	<i>Eur Respir J</i> 2009	C. Lange 独・ポルステル医療研究センター
408	中程度結核罹患率国のLTBI診断におけるツベルクリン皮膚検査と全血IFN- γ 検査間の不一致	<i>JAMA</i> 2005	J.-J. Yim ソウル国大
407	HIV感染者のLTBI治療(総説)	<i>Cochrane DB of Syst Rev</i> 2004	Woldehanna S.; Volmink J. 米・グローバル・ヘルス・カウンシル
401	LTBI	<i>N Engl J Med</i> 2002	R.M. Jasme UCサンフランシスコ校
389	低~中所得国における肺結核患者の濃厚接触者の結核およびLTBI: 体系的レビューとメタ分析	<i>Lancet Infect Dis</i> 2008	Dr Hopewell サンフランシスコ総合病院
315	LTBIの診断と治療におけるケアのカスケード: 系統的レビューとメタ分析	<i>Lancet Infect Dis</i> 2016	D. Menzies モントリオール胸部研究所
298	結核菌特異的T細胞の計数によるHIV陽性者の活動性およびLTBIの迅速検出	<i>AIDS</i> 2002	A. Lalvani オックスフォード大
286	有害事象データとLTBI治療におけるリファンピシムとピラジナミドの使用に対する米胸部学会/CDCの改訂勧告	<i>Morb. Mortal. Wkly. Rep.</i> 2003	著者記載なし
278	HIV感染者のLTBI治療(総説)	<i>Cochrane DB of Syst Rev</i> 2010	Akolo C. オックスフォード大
256	HIV感染者におけるLTBI診断のためのIFN- γ 遊離試験: 系統的レビューとメタ分析	<i>J. Acquir. Immune Defic. Syndr.</i> 2011	M. Pai カナダ・マギル大
250	米国におけるLTBI	<i>N Engl J Med</i> 2011	E. J. Rubin ハーバード公衆衛生大学院
247	LTBI治療ガイドライン: 米結核管理者協会およびCDCからの推奨事項(2020)	<i>Morb. Mortal. Wkly. Rep.</i> 2020	C.A. Winston 米・CDC
66	小児のLTBI診断のためのIFN- γ 遊離試験	<i>Epidemiol. Infect.</i> 2008	岡田 耕輔 公益財団法人結核予防会 結核研究所
50	インフリキシマブ投与中の関節リウマチ患者におけるLTBI検出のためのIFN- γ アッセイ	<i>Rheumatol Int</i> 2007	高橋 弘毅 札幌医科大
31	結核菌特異抗原ESAT-6およびCFP-10を用いた新規LTBI診断法(QuantiferON-TB-G2)	結核 2004	原田 登之 公益財団法人結核予防会 結核研究所
22	医療従事者の接触調査におけるLTBI診断法クオンティフェロンTB-2Gの有用性	<i>Intern. Med.</i> 2007	小橋 吉博 川崎医科大
21	関節リウマチにおけるLTBIに対するQuantiferON-TB Gold Plus およびT-Spot.TBでのリンパ球サブセット分析	<i>J. infect. Chemother.</i> 2018	猪狩 英俊 千葉大
20	LTBI予防療法中のイソニアジド誘発性急性肝不全	<i>Intern. Med.</i> 2015	松岡 俊一 日大
18	日本におけるLTBI患者の傾向と治療状況	<i>PLoS ONE</i> 2017	河津 里沙 公益財団法人結核予防会 結核研究所
14	日本人関節リウマチ患者におけるQuantiferON-TB Goldの有用性と限界	<i>Mod Rheumatol</i> 2010	坂野 章吾 名古屋大病院
12	日本における活動性結核感染とLTBIを区別するため新規バイオマーカー同定	<i>Tuberculosis</i> 2020	小林 信明 横浜市大
12	日本の腎移植レシピエントにおけるLTBIの有病率を推定するためのIFN- γ 遊離試験の陽性率	<i>J. Infect. Chemother.</i> 2019	猪狩 英俊 千葉大
11	フィリピンにおけるLTBIの医療従事者から頻りに検出される抗結核糖脂質-IgGおよび-IgA抗体	<i>Clin Dev Immunol</i> 2012	服部 俊夫 東北大
11	新型コロナウイルス感染症による死亡率低下におけるLTBIの役割: 操作変数法分析による証拠	<i>Med Hypotheses</i> 2020	高橋 青天 明治学院大
9	C型慢性肝炎に対する抗ウイルス3剤併用療法中のLTBIによる結核発症	<i>Intern. Med.</i> 2016	松岡 俊一 日大
9	刑事施設被収容者におけるLTBIの有病率と発生率に関する系統的レビュー	結核 2016	河津 里沙 公益財団法人結核予防会 結核研究所

IGRAで結核菌に対する宿主免疫応答を検出する

体内に封じ込められている結核菌を直接検出することは技術的に難しい。近年、インターフェロン γ 遊離試験(IGRA)によって間接的にLTBIを診断している。IGRAは結核に特異的な抗原に刺激されてリンパ球から遊離されるIFN- γ を測定することで、結核菌に対する宿主免疫応答を検出するという原理に基づいている[16]。

Table 2.2.3にIGRAと従来のツベルクリン反応(ツ反)を示した。IGRAは次の4点においてツ反より優れているとされる。①BCG株や大部分の非結核性抗酸菌にはない抗原を用いるため、これらの影響を受けにくく特異度がツ反より高い⁹、②IFN- γ を機器により定量測定するため、目視によるツ反よりも客観的な結果が得られる、③ツ反では被検者は医療機関に2度出向く必要があるが、IGRA検査は1回で結果が得られる、④ツ反には精製タンパク質誘導体(PPD¹⁰)投与によって反応が増幅される“ブースター効果”があるため短期間に反復検査できない。一方、IGRA検査はPPDを投与しないためブースター効果の影響を受けない。

Table 2.2.3 IGRAとツ反

	IGRA	ツ反
抗原	ESAT-6, CFP-10	PPD
BCG株の影響	なし	あり
測定	機器	目視(硬結, 発赤)
検査受診回数	1回	2回
PPD投与によるブースター効果	なし	あり

ツ反検査

かつてツベルクリン反応検査(ツ反)が結核の標準検査だった。1890年にロベルト・コッホは、結核菌からグリセリン抽出したPPD(Purified Protein Derivative)を抗原にして結核治療に活かそうとしたが不調に終わった。獣医ピアソンはPPDがウシの結核感染診断に使える可能性を示唆し、さらにクレメン・フォン・ピルケは人の結核感染診断への応用を提唱した。「アレルギー」という概念を提唱し立証したことで知られるピルケは、このPPDが抗原となってアレルギー反応が起こることを見出した。1908年にシャルル・マントゥーが皮内注射法を開発、現在のツ反がほぼ完成した。抗原として皮内に注射されたPPDは、局所マクロファージに取り込まれて消化される。過去に結核感染している場合、感染によって生じた記憶T細胞がこれに反応してサイトカインを産生する。サイトカインによって誘導された炎症性細胞により、PPD投与部位すなわち注射箇所には体液が蓄積し、それが硬結・発赤する。この硬結や発赤を抛り所にする皮内注射法はマントゥー試験(あるいはマントー試験)とも呼ばれ、結核診断試験として確立し広く普及した[17-18]。

感度と特異度

検査の精度には「感染者を検出する能力」を示す感度と「非感染者を検出する能力」を示す特異度がある。したがって、

	感染	非感染
陽性	真陽性	偽陽性
陰性	偽陰性	真陰性

感度 = (真陽性) / {(真陽性) + (偽陰性)}
 特異度 = (真陰性) / {(真陰性) + (偽陽性)}
 となる。感度が低いと偽陰性が多くなり、治療の遅れや感染拡大につながり得る。一方、特異度が低いと不要な治療や隔離につながる恐れがある。



ピーター・アンダーセン (デンマーク国立血清研究所)

BCGには存在せず結核菌に存在する特異抗原

ESAT-6の発見

1995年、デンマーク国立血清研究所のピーター・アンダーセン(Peter Andersen; 写真)らは、結核菌にあってBCGにはないタンパク質ESAT-6¹¹と、そのアミノ酸配列をコードする遺伝子を発見した[19]。

⁹ツ反で抗原として使用するBCG株もPPD(→注射10)を保有しているため、BCG既往者はツ反と同じ反応を示してしまうことがある。

¹⁰Purified Protein Derivative: 精製タンパク質誘導体

¹¹Early secreted antigenic target-6kDa protein

¹²Pathogenesis Corp., 所在地: シアトル

¹³Subtractive genomic hybridization

RD領域 (Region of Difference) の発見

1996年に、米・パソジェネシス社¹²のグレゴリー・マハラス(Gregory Mahairas)らがゲノム差し引きハイブリダイゼーション法¹³を用いてウシ型結核菌(*M.bovis*)とBCGの遺伝子レベルでの相違を解析した。結果、*M.bovis*に存在する一方、BCGで欠落している遺伝子座を見出し、これをRD領域とした。ESAT-6は*M.bovis*には存在するがBCGでは欠落している遺伝子座RD1上に位置することが明らかになった[20]。

1999年、マギル大のグループが結核菌とBCGの遺伝子構造を詳細に比較、RDが16か所存在することを明らかにした[21]。このうちRD1からRD3については、*M.bovis*とBCGでのサブトラクション法で報告された3か所の欠落と一致した。

次いで発見された特異抗原CFP-10, TB7.7

1998年にアンダーセンらは特異抗原CFP-10¹⁴を発見した。ESAT-6同様、CFP-10もIFN- γ 産生を強く誘導する結核菌抗原であり、RD1領域内に位置する[22]。

さらに、2004年には、デンマーク・スタテンス血清研究所のクラウス・アーガード(Claus Aagaard)らが特異抗原TB7.7を見出した[23]。

¹⁴10kDa culture filtrate protein

IGRA ベースの実用診断キット

QFTとT-SPOT

現在 IGRA ベースの実用診断キットとしては「クオンティフェロン®TB (QFT)」と「T-スポット®.TB (T-SPOT)」の2種がある。両者の開発動向を Table 2.2.4 に、仕様比較を Table 2.2.5 に示す。いずれも上述の結核菌特有の抗原に曝露されて産生された IFN- γ に着目した手法である。

QFT が酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) により全血を用いて特異抗原刺激を行った後の遊離 IFN- γ 量を測定するのに対し、T-SPOT は酵素結合免疫スポット (ELISPOT) 法により IFN- γ 産生細胞の個数を測定する。

Table 2.2.4 QFTとT-SPOTの開発動向

年	動向
1995	デンマーク国立血清研・アンダーセンらが ESAT-6 を報告
1996	米・バソジェネシス社のマハイラスらがウシ型結核菌に存在し BCG で欠落している部位 (RD) が3か所あることを報告
1998	アンダーセンらが CFP-10 を報告
1999	マギル大のグループが RD が16か所存在することを明らかに
2001	米国、結核感染診断薬として QFT-1G を承認
2001	英オックスフォード大のグループが ELISPOT 法で ESAT-6 が結核菌感染マーカーであることを確認
2004	デンマーク・スタテンス血清研・アーガードらが TB7.7 を報告
2005	QFT-2G (クオンティフェロン®TB ゴールド) が日本で承認
2009	QFT-3G (クオンティフェロン®TB ゴールドイン-チューブ) が日本で承認
2012	T-スポット®.TB, 日本で承認
2018	QFT-4G (クオンティフェロン®TB ゴールドプラス) が日本で承認

Table 2.2.5 QFTとT-SPOTの仕様比較

	QFT				T-SPOT
	1G	2G	3G	4G	
添加特異抗原	PPD	ESAT-6 CFP-10	ESAT-6 CFP-10 TB-7.7	ESAT-6 CFP-10	ESAT-6 CFP-10
定量	ELISA 法				ELISPOT 法
臨床試験 (日本)	1996 臨床試験開始 有用性認められず	2002 臨床試験開始 2005 承認	2005 臨床試験開始 2009 承認	2018 承認	2012 承認

Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

1971年、ストックホルム大のピーター・パールマン (Peter Perlmann) とエヴァ・エングヴァール (Eva Engvall) が発明した酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) は、抗体が認識する特定物質のみを効率よく測定できることが強みである [5]。日本語では、エライザ、エライサ、イライザ、イライサなど様々に呼ばれている。

新原理による牛結核の診断 BOVIGAM

ウシ型結核菌の PPD でウシの血液を刺激し産生される IFN- γ を測定するという新たな結核診断法が 1990 年代初頭に開発された。当初、豪・セレスティス社¹⁵より「BOVIGAM」として発売され、2024年現在は米・サーモフィッシャーサイエンティフィック社が「Thermo Scientific™ BOVIGAM™ 2G TB Kit」(Fig. 2.2.5)として販売し、世界に広く普及している¹⁶[24]。



Fig. 2.2.5 BOVIGAM™ 2G TB Kit (サーモフィッシャーサイエンティフィック(株)提供)

QFT クオンティフェロン TB

(1) プロトタイプ クオンティフェロン TB

ウシに適用した原理をヒトの結核菌に応用したものが、現在のクオンティフェロン TB である。セレスティス社は、試験管内で感染者の血液に PPD と類似した抗原を作用させ、24時間後に放出されるサイトカイン (この場合は IFN- γ) を簡便なキットで測定する方法を開発した。

(2) 第2世代 QFT クオンティフェロン TB-2G

第2世代 QFT (クオンティフェロン TB-2G, 以下 QFT-2G) では、結核菌に特異的な ESAT-6, CEP-10 を抗原とすることで、ヒトの結核感染を診断することが可能になった。これらを全血に添加し、血液中のエフェクター Tリンパ球 (感作白血球) を刺激することによって放出される IFN- γ を ELISA 法で定量する [24]。

(3) 第3世代 QFT クオンティフェロン TB ゴールドイン-チューブ

第3世代 QFT 検査 (クオンティフェロン TB ゴールドイン-チューブ, 以下 QFT-3G) の検査キット「クオンティフェロン®TB ゴールド」が 2009年夏に市販された。従来の結核菌特異抗原 (ESAT-6 と CFP10) に加え、新たな特異抗原 TB7.7 を用いることで診断精度が向上した。また、QFT-2G では採血してから血液刺激までの制限時間内に検査施設に戻らなくてはならず、採血場所がおのずと制約されていたが、QFT-3G では専用の採血管にあらかじめ抗原を含有することでこの問題を改善した [25]。

(4) 第4世代 QFT クオンティフェロン®TB ゴールド プラス

日本において 2018年2月に第4世代 QFT であるクオンティフェロン®TB ゴールド プラス (Fig. 2.2.6, 以下 QFT-4G) が承認された。QFT-3G では主に CD4T 細胞の応答を利用していたが、QFT-4G では CD4T 細胞と CD8T 細胞のシグナルを併用する。さらに「採血から培養までの検体保存期間を延長できるオプション追加」「判定保留がなくなった」などの改善もあった [26]。



Fig. 2.2.6 QuantiFERON®TB ゴールド プラス (株)キアゲン提供)

T-スポット®.TB

オックスフォード大のグループは IFN- γ の酵素結合免疫スポット (ELISPOT)¹⁷アッセイを用いて、ESAT-6 が結核菌感染の正確なマーカーであることを確認した [28]。ELISPOT は一般的に特定のサイトカインを産生する細胞をスポット (点) として可視化し、サイトカイン産生細胞数を測定する方法である¹⁸。

この技術を基盤に、オックスフォード・イムノテック社



Fig. 2.2.7 T-スポット®.TB (株)レビティジャパン提供)

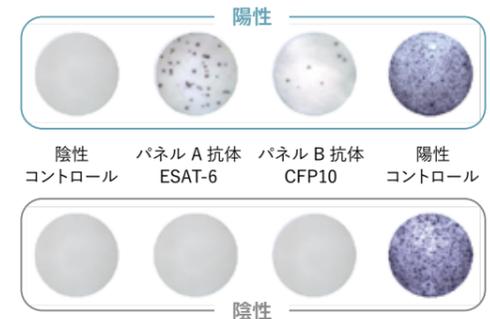


Fig. 2.2.8 T-スポットの測定例 [27] (株)レビティジャパン提供)

(2002年設立) は、T-スポット®.TB (Fig. 2.2.7) を製品化した。T-SPOT では血液から分離したリンパ球の数を調整した後、特異抗原 ESAT-6 と CFP-10 により刺激する。この刺激に反応したリンパ球に対応する SPOT 数と抗原刺激を伴わない SPOT 数をそれぞれ計測し、これらの差を判定値とする [27]。

2004年に欧州で T-SPOT の試験が開始され、2008年に米国、2012年に日本でそれぞれ販売が開始された。T-SPOT では、血漿を取り去った後の一定数の末梢血単核球を検査に用いるため、血漿成分による影響を受け難い。よって、糖尿病や血液透析中の患者のような免疫抑制状態の被験者においても検査結果の再現性が高くなる¹⁹[2]。

2.2.3 結核バイオマーカー

LTBIからの発症を予測したい

活動性結核発症リスクの高い LTBI を見分けたい——。LTBI の約 10% が活動性結核を発症する可能性があるといわれるが、発症を特定する方法は未確立だ [16]。

宿主の免疫反応を評価する IGRA でも結核感染の時期を特定できない。したがって、活動性結核の発症予測能にすぐれた血液バイオマーカーを開発することが診断法研究の本筋であると思われる。

“結核 (Tuberculosis)” と “血液 (blood)” をタイトルに含む論文のうち、被引用数上位 20 報、および日本人責任著者 6 報を Table 2.2.6 (次頁) に示す。2008年頃から急激に性能が向上してきた次世代シークエンサーや機械学習などのデータ解析技術の進歩を背景に、新規血液バイオマーカーを目指した研究が散見されるようになった [15]。

以下、被引用数上位 2 報とスタンフォード大グループの論文を概観する。

¹⁹ さらに、磁気ビーズ法を用いた前処理試薬により血液からリンパ球を効率的に分離することで、採血後の検体保管時間を最長 54 時間まで可能にした。日本では「T-Cell Select 試薬」として 2023 年より販売されている。

¹⁷ Enzyme-Linked Immuno Spot

¹⁸ 1983 年にヨーテポリ大のセルシ・チェルキンスキーらによって提案された [29]。

活動性結核患者の血液から
転写シグネチャーを特定



アン・オガーラ
(英・医学研究会議)

2010年に英・医学研究会議(MRC)のアン・オガーラ(Anne O'Garra; 写真上), マシュー・ベリー(Matthew Berry)らは, 活動性結核患者の血液を分析し, 393個の転写シグネチャーを特定した。さらに, 活動性結核とその他の炎症性/感染性の疾患とを区別する86個の転写シグネチャーも特定した。また, 「I型IFN- α B」のシグナル伝達が, 結核発症に関係していることを示した[30]。加えて, LTBI患者の10~20%において活動性結核の予兆が観察されたことから, 発症リスク予測の可能性が示唆された。



ダニエル・ザック
(米・感染症疾患研究センター)

大規模コホート研究から
バイオマーカーを提唱

2016年, 米・感染症疾患研究センターのダニエル・ザック(Daniel Zak; 写真下)らは, 南アフリカを中心し10,829人を2年間(2005.7.6~2007.4.23)大型コホート研究として追跡調査し, 119人が活動性結核を発症したとランセット誌に報告した[31]

半年ごとに参加者から血液サンプルを収集, 活動性結核を発症したグループと健康なグループに分類して, 次世代シーケンサーによるRNA配列データを提示比較した。さらに機械学習を用いて予測精度を確認し16遺伝子のバイオマーカーを提唱した(結核診断前の12か月間に, 感度66.1%(95% CI 63.2-68.9) および特異度80.6%(79.2-82.0)で結核の進行を予測)。

Table 2.2.6 タイトルに“結核”と“血液”を含む論文 Scopus 2024.5

被引用数	内容	掲載誌	著者(責任)
1,436	ヒト結核におけるインターフェロン誘導性好中球駆動の血液転写サイン	Nature	2010 A. O'Garra 英・医学研究会議(MRC)
570	結核発症リスク予測のための血中RNAシグネチャー:前向きコホート研究	Lancet	2016 Willem A Hanekom ビル&メリンダ・ゲイツ財団
290	抗結核薬の道筋:血液から病変・抗酸菌細胞まで	Nat. Rev. Microbiol.	2014 V. Dartois ニュージャージー医科大
275	活動性結核の発症に対する全血IGRAの陰性および陽性の中率: 最新情報	Am J Respir Crit Care Med	2011 R. Diel 独・ハノーファー医科大
264	全血RNA発現シグネチャーを使用したHIV感染および非感染アフリカ成人における結核検出	PLoS Medicine	2013 M. Levin インペリアル・カレッジ・ロンドン
236	転写血液シグネチャーにより肺結核/肺サルコイドーシス/肺炎/肺がんを区別する	PLoS ONE	2013 C. I. Bloom 英・医学研究会議(MRC)
186	結核治療による血液遺伝子発現パターンは体液性免疫応答の調節を反映する	J. Infect. Dis.	2013 J.M. Cliff ロンドン大衛生熱帯医学校
170	アフリカで得られた4つ転写シグネチャーで結核発症を予測する	Am J Respir Crit Care Med	2018 G. Walzl 南ア・ステレンボッシュ大
128	サルコイドーシスの血液トランスクリプトームは肺の炎症を反映し結核と重複する	Am J Respir Crit Care Med	2011 L.L. Koth UCサンフランシスコ校
126	肺結核患者の喀痰(EBA)および血液(WBA)におけるステゾリド(PNU-100480)の殺菌活性	PLoS ONE	2014 R.S. Wallis 南ア・オウラム研究所
121	血液からみた結核に対するヒトの免疫反応と治療	Immunol Rev	2015 A. O'Garra 英・医学研究会議(MRC)
113	宿主の血液RNAシグネチャーから結核治療の結果を予測する	Tuberculosis	2017 D.E. Zak 米感染症研究センター
109	血液中の代謝物の変化から結核の発症を予測する	Nat. Commun.	2018 S.H.E. Kaufmann マックスプランク感染生物研
107	結核初期の全血転写シグネチャー:系統的レビューと患者レベルでプールされたメタ分析	Lancet Respir Med	2020 M. Noursadeghi ユニバシティ・カレッジ・ロンドン
106	健康ボランティアにおけるPNU-100480の単回用量の対結核菌薬物動態および全血殺菌活性	J. Infect. Dis.	2010 R. S. Wallis ファイザー
98	抗原特異的CD4T細胞サイトカインプロファイルの全血フローサイトメトリー分析	PLoS ONE	2011 M. Sester 独・ザールラント大
92	末梢血中の単球とリンパ球の比により抗レトロウイルス治療中の HIV 感染成人のうち結核発症リスクがある成人を特定	J. Infect. Dis.	2014 V. Naranbhai オックスフォード大
91	PD-1は活動性結核患者の血液中の好中球によって過剰発現	Eur. J. Immunol	2011 A. O'Garra 英・医学研究会議(MRC)
87	結核の進行・診断・重症度・治療反応に対する血液ベース 3 遺伝子シグネチャー スコアの妥当性	JAMA network open	2018 Purvesh Khatri スタンフォード大 Jason R.Andrews
79	高負担環境における活動性肺結核の血液転写バイオマーカー	Lancet Respir Med	2020 M. Noursadeghi ユニバシティ・カレッジ・ロンドン
24	全血上清中の結核関連タンパク質の同定	BMC Infect. Dis.	2011 慶長 直人 国立国際医療研究センター
10	年齢・脱水症状・呼吸不全・見当識障害・血圧スコアにより日本におけるHIV陰性の非多剤耐性塗抹陽性肺結核の院内死亡率の予測	Sci. Rep.	2016 堀田 信之 横浜市大
3	結核専用棟のない日本の病院の医療従事者を対象とした全血IGRA結核検査	SpringerPlus	2013 安達 英輔 東大医科研附属病院
3	難治性末梢性T細胞リンパ腫に対する無関係帯血移植後の播種性結核: 血清プロカリトニン濃度の臨床的役割	J. Infect.	2011 黒川 峰夫 東大
1	血液培養で結核菌陽性を示した汎血球減少症を伴う粟粒結核の1例	IRYO - Japanese Journal of National Medical Services	2011 町田 久典 国立病院機構高知病院
1	結核の危険因子としてのABO血液型:ネットワークメタ分析	Int. J. Infect. Dis.	2021 堀田 信之 横浜市大

活動性結核と他疾患を区別する
3 遺伝子を発見

スタンフォード大のピューベシュ・カトリ(Purvesh Khatri; 写真)らは活動性結核を他の疾患と区別する3遺伝子を発見, さらに血中でこれらを検出する方法を開発した[32]。この検査法によりHIVに同時感染した患者, 小児患者の86%についても正しく結核を検出した。



ピューベシュ・カトリ
(スタンフォード大)

「3分の1」から「4分の1」に書き換わった



レイン・ハウベン
(ロンドン大公衆衛生熱帯医学大学院)

「世界人口の3分の1が結核菌を保有している」と言われてきた。"About a quarter of the global population is estimated to have been infected with TB".『世界結核レポート2023』の緒言では「世界人口のおおよそ4分の1が結核に感染している推定される」と述べている。上記文献はロンドン大公衆衛生熱帯医学大学院のレイン・ハウベン(Rein Houben; 写真)らが2016年にPLOS Medicine誌に報じた論文だ。

も多い——。ハウベンらは「3分の1」はもはや口伝だ, この数字を見直す時がきた」と看破した[33]。

数理疫学モデルで見積もった

2014年には世界人口の4分の1弱に相当する約17億人の潜在結核感染者がいた。ハウベンらは数理疫学モデルを用いてこう推定した(1950年から2011年までの131件のLTBI調査の直接推定値とWHOのデータから導出した間接推定値を対比して, 1934年から2014年までの年間感染リスク傾向を構築した)。

Clearly it's time to reevaluate the "one-third" figure, which has become an oral tradition.

潜在的な結核感染者数が世界人口の3分の1と推定されてから20年が経過しており, その間, 世界人口は20%以上増加, 高齢化が進んだ。一方でサハラ以南では人口の半分近くを子どもが占めている国々

WHOの『世界結核レポート』でも引用された

WHOの『世界結核レポート』2015年版, 2016年版では「約20~30億人が結核に感染」と記述されていたが, 2017年版ではハウベンの論文を拠り所に「約17億人」, さらに2018年以降では「世界人口の4分の1」という文言も加筆された(Table 2.2.7)。

Table 2.2.7 直近10年の『世界結核レポート』におけるLTBIの感染者数についての言及

年	頁	該当する記述
2023	1	About a quarter of the global population is estimated to have been infected with TB (3). Following infection, the risk of developing TB disease is highest in the first 2 years(approximately 5%), after which it is much lower (4). Some people will clear the infection (5, 6). Of the total number of people who develop TB disease each year, about 90% are adults, with more cases among men than women. The disease typically affects the lungs(pulmonary TB) but can affect other sites as well.
2023	43, 44	A global modelling study published in 2016 estimated that about a quarter of the world's population had been infected with M. tuberculosis (8). Recent analyses and commentary suggest that the number of those currently infected is lower, given that some people will clear the infection (9, 10).
2022	1	About a quarter of the global population is estimated to have been infected with TB (1), but most people will not go on to develop TB disease and some will clear the infection (2, 3).
2021	1	About a quarter of the world's population has been infected with M. tuberculosis.
2020	116	Achieving this accelerated rate (which averages 17% per year between 2025 and 2035) will require substantial reductions in the probability of progression from TB infection to TB disease among the approximately 2 billion people already infected worldwide (1).
2020	24	To reach the 2030 and 2035 targets, the rate at which TB incidence falls globally needs to accelerate to an average of 17% per year between 2025 and 2035. This is only possible if there are technological breakthroughs that can substantially reduce the risk of developing TB disease among the approximately 1.7 billion people (2) (about one quarter of the world's population) already infected with Mycobacterium tuberculosis.
2019	13, 14	After 2025, reaching the 2030 and 2035 targets requires an unprecedented acceleration in the rate at which TB incidence falls globally, to an average of 17% per year. Such an acceleration will depend on technological breakthroughs that can substantially reduce the risk of developing TB disease among the approximately 1.7 billion people (11) (equivalent to about one quarter of the world's population) who are already infected with Mycobacterium tuberculosis.
2018	14	Such an acceleration will depend on a technological breakthrough that can substantially reduce the risk of developing TB disease among the approximately 1.7 billion people (approximately one quarter of the world's population) who are already infected with Mycobacterium tuberculosis.
2017	10	After 2025, an unprecedented acceleration in the rate at which TB incidence falls globally is required if the 2030 and 2035 targets are to be reached. Such an acceleration will depend on a technological breakthrough that can substantially reduce the risk of developing TB disease among the approximately 1.7 billion people who are already infected with Mycobacterium tuberculosis.
2016	10	After 2025, an unprecedented acceleration in the rate at which TB incidence falls globally is required if the 2030 and 2035 targets are to be reached. Such an acceleration will depend on a technological breakthrough – for example, a post-exposure vaccine or a short, efficacious and safe treatment for latent TB infection (LTBI) – so that the risk of developing TB disease among the approximately 2–3 billion people who are already infected with Mycobacterium tuberculosis is substantially reduced.
2015	4	Overall, a relatively small proportion (5–15%) of the estimated 2–3 billion people infected with M. tuberculosis will develop TB disease during their lifetime.

References

[1] 濱田洋平, 複十字, 381, 7, 12, 2018
 [2] 日本結核病学会予防委員会・治療委員会, 結核, 88, 5, 497, 2013
 [3] 大角晃弘, 複十字, 406, 9, 4, 2022
 [4] 森重雄太ら, 複十字, 387, 7, 12, 2019
 [5] 瀬戸真太郎, 複十字, 368, 16, 5, 2016
 [6] 瀬戸真太郎, 複十字, 406, 22, 9, 2016
 [7] 松本智成, 日本内化学雑誌, 102, 11, 2888, 2013
 [8] 河村伊久雄, 結核, 88, 3, 315, 2013
 [9] Ying Yuan et al., J Bacteriol., 178, 15, 4484, 1996
 [10] 松本壮吉, Jpn. J. Lepr., 82, 119, 2013
 [11] 特開2000-219699
 [12] 松本壮吉, 複十字, 390, 1, 16, 2020
 [13] Loraine J., et al., Antimicrob. Agents Chemother., 60, 6227, 2016
 [14] Dick Menzies et al., N Eng J Med, 379, 5, 440, 2018
 [15] 土方美奈子, 複十字, 399, 12, 2021
 [16] https://www.niid.or.jp/contents/category/faq/
 [17] 山本三郎, 結核, 186, 6, 599, 2011
 [18] 青野昭男, モダンメディア, 56, 12, 2010
 [19] P. Andersen et al., J. Immunol., 154, 3359, 1995
 [20] Gregory, G., J. Bacteriol., 178, 5, 1274, 1996
 [21] Behr, MA., Science, 28, 284, 5419, 1520, 1999
 [22] Berthet FX, Microbiology. 1998; 144:3195-3203.
 [23] Aagaard C, et al., J. Infect. Dis., 189, 812, 2004
 [24] 原田登之, 結核, 81, 11, 2006
 [25] 日本結核病学会予防委員会, 結核, 86, 10, 839, 2011
 [26] 福島喜代康, 複十字, 379, 3, 18, 2018
 [27] https://www.tspot.com/resource/results-interpretation/
 [28] Francois-Xavier Berthet et al., Microbiol., 144, 3195, 1998.
 [29] Cecil Czekinski et al., J. Immunol. Methods, 65, 1-2, 109, 1983
 [30] Berry, MP et al., Nature, 466, 973, 2010
 [31] Zak DE, et al., Lancet, 387, 4, 2312, 2016
 [32] https://www.natureasia.com/ja-jp/ndigest/v13/n6/結核を血液検査で診断/
 [33] https://www.ishm.ac.uk/newsevents/expert-opinion/new-estimate-suggests-quarterworlds-population-has-latent-tuberculosis

2.3 多剤耐性結核菌

¹「微生物が産生し、他の微生物や生細胞の発育を阻害する物質」を“Antibiotic”と名付け、その訳語「抗生物質」が日本で定着した。1952年にノーベル生理学・医学賞受賞。

²1943年にワクスマン研究室の卒業研究生アルバート・シャッツが土壌から分離した放線菌の一種 *Streptomyces griseus* の代謝物から単離した。日本では通称「ストマイ」が遣われることもある。

明治から戦前にかけて「不治の病」と恐れられていた結核。有効な治療薬もなく、ただ栄養と安静しか打つ手がなかった。1943年にラトガス大のセルマン・ワクスマン¹らが単離に成功した抗生物質**ストレプトマイシン (SM)**²はまさに結核の“特効薬”となり、多くの結核患者が救われた。

Table 2.3.1に示すように、戦後、**パラアミノサリチル酸 (PAS)**、**イソニアジド (INH)** など抗結核薬が続々と開発され、1960年代に登場した**リファンピシン (RFP)** が臨床使用されるに至り、もはや結核は化学療法で治癒するという考え方が社会的に認知された [1]、事実、結核死亡者数、死亡率は共に激減した (Fig. 2.3.1)。

Table 2.3.1 主な抗結核薬 [1]

開発年	抗結核薬		作用機序
	略号	和名	
1940s	SM	ストレプトマイシン	タンパク質合成阻害
	PAS	パラアミノサリチル酸	
1950s	INH	イソニアジド	細胞壁ミコール酸合成阻害
	PZA	ピラジナミド	
1950s	CS	サイクロセリン	細胞壁ペプチドグリカン合成阻害
	KM	カナマイシン	
	TH	エチオナミド	
1960s	EB	エタンブトール	細胞壁アラビナン合成阻害
	RFP	リファンピシン	
⋮			
1990s	RBT	リファブチン	RNA 合成阻害
	MFLX	モキシフロキサシン	
2000s	INN	リネゾリド	タンパク質合成阻害
2010s	BDQ	ベダキリン	ATP 合成阻害
	DLM	デラマニド	
	PMD	プレトマニド	

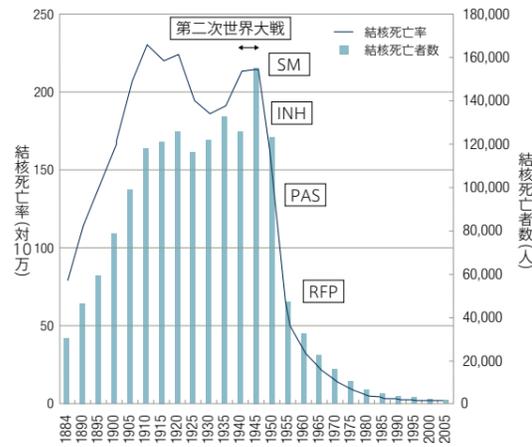


Fig.2.3.1 日本における結核死亡率と死亡者数の推移 [2]
 SM:ストレプトマイシン, INH:イソニアジド, PAS:パラアミノサリチル酸, RFP:リファンピシン (いずれも国内導入時期を示す)

2.3.1 薬剤耐性結核の登場

抗生物質が効かなくなる・・・

抗生物質を使い続けると、その薬剤に対して細菌の抵抗力が高くなり効かなくなってしまう、すなわち細菌が“**薬剤耐性 (Antimicrobial Resistance; AMR)**”を獲得することがある。1970年代後半から従来の病原菌による感染症が再興し始めたが、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MESA)³に代表されるような新たな耐性菌がその要因のひとつであった [3]。英国のAMRレビュー委員会⁴が2016年にまとめたレポートでは「何ら対策を講じなければ、2050年までに全世界におけるAMRによる死者数は1,000万人に上り、がんによる死亡者数をも上回る」と推計された [4]。

抗結核薬耐性を獲得した結核菌

抗結核薬が普及するにつれ薬剤耐性菌も増えた。単剤による治療では結核菌は投薬初期に減少するものの、投薬を継続するにつれ生き残り増殖する。やがて薬耐性を獲得する [5]。

かつて結核の特効薬と謳われたストレプトマイシンに対しても、結核菌はすでに耐性をもってしまった。しかし、単剤に耐性をもつ結核菌も、複数の抗結核薬を同時に使用することで耐性化が起こりづらくなることが分かってきた。特に**INH**と**RFP**を軸とした組み合わせが最も強い抗結核作用を発揮することから、INH/RFPが多剤併用治療のコアとなった [6]。

多剤耐性結核菌 (MDR-TB) の出現

しかし、1990年代になると、この抗結核薬2剤 (INH/RFP)に耐性を獲得した“**多剤耐性結核菌 (MDR-TB⁵)**”が出現した [7]。『世界結核レポート2023』によれば、2022年に結核罹患患者数は1,060万人、多剤耐性結核患者数は約41万人と推定される (RFP耐性患者数も含む)。また、日本国内では、2022年の新規登録肺結核患者で感受性検査結果判明者4,086人のうち、INH耐性は200人 (4.9%)、RFP耐性は41人 (1.0%)、多剤耐性 (MDR) は26人 (0.6%) であった [8]。RFPが登場した時、薬で結核が治る時代が到来したかと思われたが、MDR-TBの出現に、化学療法の治療効果を上げるために外科治療 (病巣の切除など) が再び注目されるようになった [1]。

MDR-TB 治療の主要抗結核薬にも耐性をもつ超多剤耐性結核菌 (XDR-TB)

2000年代、MDR-TB治療の主要抗結核薬にさえも耐性をもつ結核菌が出現した。これらは、**超多剤耐性結核菌 (XDR-TB⁶)**と命名され、2006年10月、WHOは「MDR-TB」に加え「フルオロキノロン (FQ) 耐性」かつ「アミカシン (AMK)、カプレオマイシン (CM)、カナマイシン (KM)⁷などに対していずれか1種以上の注射剤耐性」をもつ結核菌をXDR-TBと定義した。2020年にWHOが注射剤のみならず全経口薬によるMDR-TB治療を推奨したことから、2021年、XDR-TBの定義は「『MDR-TB』に加え『レボフロキサシン (LVFX)⁸あるいはモキシフロキサシン (MFLX) 耐性』かつ『ベダキリン (BDQ) あるいはリネゾリド (LZD) 耐性』をもつ結核菌」と書き換えられた [9] (Table 2.3.2)。

Table 2.3.2 MDR/XDRの定義 (●は耐性あり)

抗結核剤	MDR	XDR
イソニアジド (INH)	●	●
リファンピシン (RFP)	●	●
レボフロキサシン (LVFX) and/or モキシフロキサシン (MFLX)		●
ベダキリン (BDQ) and/or リネゾリド (LZD)		●

⁶ Extensively drug-resistant tuberculosis

⁷ コラム「日本発の抗結核薬 剤 カナマイシンとエンビオマイシン」(P.47)

⁸ 1960年頃から欧米で広く用いられた抗菌薬メチシリンに対する耐性菌。日本でも1980年代初期から院内感染菌として全国的に蔓延・定着した。

⁴ 2014年7月に英・キャメロン首相 (当時) から「AMR増加を分析し国際的に取り組む指針を提案する」ことを委託された委員会。経済学者のジム・オニールが座長を務めたことから「オニール委員会」とも称される。2016年夏に最終報告書と勧告をまとめた。

⁸ ニューキノロンと総称されるキノロン系合成抗菌薬。1993年12月、第一製薬 (現第一三共) が広範囲経口抗菌剤「クラビット®」として発売した。

MDR-TB 治療薬 ベダキリンとデラマニド

現在、ベダキリン (BDQ) とデラマニド (DLM) がMDR-TB治療薬として承認されている (Table 2.3.3)。

Table 2.3.3 MDR-TB治療薬 デラマニド(DLM)とベダキリン(BDQ)

	デラマニド(DLM)	ベダキリン(BDQ)
販売	大塚製薬	ヤンセンファーマ
商品名	デルティバ®錠50mg	サチュロ®錠100mg
作用機序	ミコール酸合成阻害	ATP合成酵素阻害
承認・販売	2014 欧・日で承認・販売	2012 米承認・販売 2014 欧承認・販売 2018 日承認

⁵ Multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis

ATP合成酵素を阻害するベダキリン

2005年に、ジョンソン&ジョンソンファーマスーティカルRDのグループが同定したベダキリン化合物は、結核菌自身のATP合成酵素を特異的に阻害し、増殖期、休眠期のいずれの結核菌に対しても強い殺菌活性を示した [10]。MDR-TB治療薬「SIRTURO®」として、2012年

に米国で、2014年に欧州で承認・販売された。日本でも2018年より使用され、現在は医療用医薬品「サチュロ (サチュロ®錠100mg, Fig. 2.3.2)」としてヤンセンファーマ社が製造・販売している [11]。



Fig. 2.3.2 サチュロ®錠100mg (ヤンセンファーマ(株)提供)

日本発の新規抗結核薬 デラマニド

大塚製薬は、1970年代より抗結核薬の研究に着手し、2001年に抗結核作用を有する新規誘導体デラマニド(ニトロイミダゾール誘導体)を発見した [12]。デラマニドは、細胞壁を構成するミコール酸の生成を阻害することで新規の抗結核作用機序を示し、MDR-TBに対しても強い効力を示した。世界的にはベダキリンが先陣を切った形であるが、日本ではデラマニドが先行している (2014年7月に承認・販売)。現在は「デルティバ (デルティバ®錠50mg, Fig. 2.3.3)」として大塚製薬が販売し、130以上の国・地域で入手可能である。



Fig. 2.3.3 デルティバ®錠50mg (大塚製薬(株)提供)

2.3.2 論文から見たMDR/XDR-TB研究

“MDR”または“XDR”をタイトルに含む論文数の推移をFig. 2.3.4に示す。前項で述べたように、MDR-TBが1990年代、XDR-TBが2006年にそれぞれ定義され

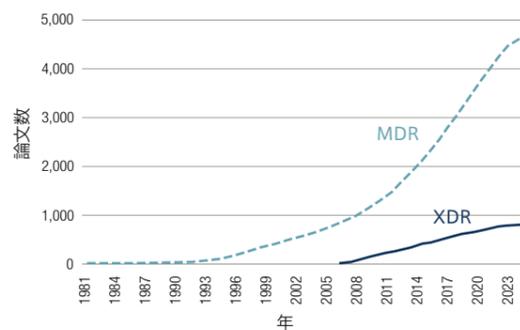


Fig. 2.3.4 論文の推移 Scopus 2024.5.16
検索式: ((TITLE(tuberculosis) AND TITLE(multi* AND resistan*)))
検索式: ((TITLE(tuberculosis) AND TITLE(extensive* resistan*)))

たが、論文数の増加時期も合致している。

Table 2.3.4 (次頁) にMDR/XDR-TB論文で被引用数上位25報と、責任著者が日本機関所属である被引用数上位22報を示す。一般的に、治療薬や診断方法に関する論文が目立つ。以下では、被引用数1位、3位、4位の論文と日本人著者の論文について、簡単に紹介する。

被引用数上位の論文

南ア農村でのXDR-TBの実態を報告

被引用数が最多(1,400回超)の論文は、**イェール大のニール・ガンジー (Neel Gandhi)** らによる『南アの農村地域のMDR/XDR-TBの罹患率とその影響評価』。ガンジーらは南ア・クワズール・ナタール州の農村地域を調査し「MDR-TBの蔓延」と「XDR-TBとHIVの重複感染による高い死亡率」をランセット誌に報告した。2005年1月～2006年3月にかけて、結核が判明または疑われる患者1,539人から採取した喀痰を分析し、221人からMDR-TBを検出した。そのうち53人がXDR-TB(うち44人はHIVにも重複感染)であり、53人中52人が死亡した。死亡日が確認された42人については診断時からの生存期間中央値は16日であった。

この事実を受けて、WHOは2006年10月に専門家会議を開催、「MDR-TB」で、「FQ⁹のいずれかと注射二次薬のいずれかに耐性」をもつ結核菌をXDR-TBと定義した [9]。

XDR-TBの脅威を世界に知らしめた

MMWR誌¹⁰2006年3月24日号に掲載された『第二選択薬に対して広範な耐性をもつXDR-TBの出現』は、WHOと米・CDCが2000～2004年に実施した結核菌17,690株の解析結果を報じたもので、XDRの脅威を世界に知らしめることになった。XDR-TBの定義を「MDR-TBに加え、主要2次結核6剤中3剤以上に耐性をもつ結核」とし、結核菌17,690株のうちMDR-TBの割合は全検体の20%、そのうちの10%がXDR-TBであることを報告した。

MDR-TB治療の主要抗結核薬にも耐性をもつ

超多剤耐性結核菌(XDR-TB)

スイス・FIND¹¹の**カタリーナ・ベーム (Catharina Boehme)** らは、結核菌感染とRIF耐性を同時に簡便かつ高性能に検出できる「Xpert MTB/RIF」を用いて、南ア、ペルー、インド、アゼルバイジャン、フィ

Table 2.3.4 MDR/XDR-TB論文(被引用数上位) Scopus 2024.5.17 (灰色帯は本文で取り上げた論文)

被引用数	内容	掲載先	掲載年	著者(責任)	著者(責任)
1,410	南アの農村地域のMDR/XDR-TBの罹患率とその影響評価	Lancet	2006	N.R. Gandhi	イェール大附ニューヘブレン病院
855	MDR-TBおよびXDR-TB:世界的な結核制御に対する脅威	Lancet	2010	N.R. Gandhi	アルバート・アインシュタイン医科大
829	MDR-TB診断のための Xpert MTB/RIF 検査の分散使用の実現可能性・診断精度・有効性:多施設実施研究	Lancet	2011	C. C. Boehme	スイス・FIND
769	第二選択薬に対して広範な耐性を持つXDR-TBの出現-2000~2004年	MMWR	2006	Wright, A.	WHO
758	AIDS入院患者におけるMDR-TBの発生	N Engl J Med	1992		
742	MDR-TBに対するジアリルキノリン TMC207	N Engl J Med	2009	D. F. Mc Neeley	米ティボテック
696	MDR-TBの治療	N Engl J Med	1993	M D Iseman	米・国立コダヤ医療センター
650	MDR-TBに対するデラマニド	N Engl J Med	2012	L.J. Geiter	オーツカ・ノベル・プロダクツ
599	MDR-TBとベダキリンによる培養変換	N Engl J Med	2014	Dannemann, Brian	ヤンセン
591	短期間・高効果・安価なMDR-TB標準治療	Am J Respir Crit Care Med	2010	Van Deun A	アントワープ熱帯医学研究所
537	HIV感染者間のMDR-TBの院内感染 - フロリダとニューヨーク, 1988~1991年	MMWR	1991		
507	MDR-TB菌の院内感染:患者と医療従事者へのリスク	Ann Intern Med	1992	Jarvis, William R.	米CDC
495	慢性XDR-TB治療のためのリネゾリド	N Engl J Med	2012	C.E. Barry III	米国立アレルギー・感染症研
492	新種の完全薬剤耐性結核菌の出現:イランにおける超XDR-TBまたは完全薬剤耐性株	Chest	2009	P. Farnia	イラン・シャヒードベヘシュティ大
490	MDR-TBにおける治療法と結果の相関:患者個別データのメタ分析	Lancet	2018	D. Menzies	マギル大
489	進行したHIV感染症患者におけるMDR-TB菌による外因性再感染	N Engl J Med	1993		
484	MDR-TB患者の治療成績:系統的レビューとメタアナリシス	Lancet Infect Dis	2009	E.W. Orenstein	南ア・トゥグラフェリー治療・研究連携体
483	MDR-TBの治療計画と患者の転帰:9,153人の患者の個別の患者データのメタ分析	PLoS Medicine	2012	D. Menzies	マギル大
475	MDR-TBおよびXDR-TBの最適な薬物治療	Lancet Infect Dis	2010	J.A. Caminero	ラス・バルマス・デ・グラン・カナリア大学病院
459	世界的に発生するXDR-TB	Emerg Infect Dis.	2007	N.S. Shah	アルバート・アインシュタイン医科大
456	結核菌およびRFP耐性の検出のための Xpert MTB/RIF Ultra:前向き多施設診断精度研究	Lancet Infect Dis	2018	C.M. Denkinger	スイス・FIND
453	ペルー・リマにおけるMDR-TBの地域ベースの治療	N Engl J Med	2003	C. Mitnick	ハーバード大医科
450	MDR-TBの世界的発生率	J. Infect. Dis.	2006	M. Zignol	WHO
441	MDR-TB, XDR-TB, 不治結核の疫学・病因・伝播・診断・管理	Lancet Respir Med	2017	K. Dheda	ケープタウン大
425	XDR-TBに有効なメロペネムクラブラン酸塩	Science	2009	J. S. Blanchard	アルバート・アインシュタイン医科大
146	結核菌におけるMDR-TBの検出	J. Clin.Microbiol.	2007	切替 照雄	国立国際医療研究センター研究所
83	依然MDR-TB治療法に併用される切除手術と化学療法	J. Thorac. Cardiovasc. Surg.	2004	白石 裕治	複十字病院
60	特定の亜系統とMDRとの関連を示す結核菌北京ファミリー	Antimicrob.Agents Chemother.	2008	岩本 朋忠	神戸市環境保健研究所
53	抗アルコール症薬であるジスルフィラムのMDR/XDR結核菌分離株に対する抗結核活性	Antimicrob.Agents Chemother.	2012	瀧井 猛将	名古屋市大
47	マイコバクテリウム種の同定およびMDR-TB検出のための新ラインプローブアッセイキットの包括的な多施設評価	J. Clin.Microbiol.	2012	切替 照雄	国立国際医療研究センター研究所
46	日本におけるMDR-TB菌分離株のピラジナミド耐性	Clin Microbiol Infect	2010	切替 照雄	国立国際医療研究センター研究所
42	積極的なMDR-TB外科的治療	J. Thorac. Cardiovasc. Surg.	2009	白石 裕治	複十字病院
35	MDR-TBに有効な新規抗結核薬のスクリーニング	Curr. Top. Med. Chem.	2007	松本 真	大塚製薬
22	DNA配列決定とラインプローブアッセイによるMDR-TB菌株におけるリファブチン感受性とrpoB変異の比較	J. Infect. Chemother.	2010	吉田 志緒美	近畿中央呼吸器センター
22	ミャンマーにおけるMDR-TB菌分離株の遺伝子型特性解析	J. Infect. Chemother.	2016	鈴木 定彦	北大人獣共通感染症リサーチセンター
20	結核菌と薬剤耐性を特定するためのマルチプレックスリアルタイムPCRおよび融解温度分析に基づくAnyplex™ II MTB/MDR および MTB/XDRテストの臨床評価	Diagn Microbiol Infect Dis	2017	五十嵐 ゆり子	長崎大
20	MDR-TB菌に対する一般的な消毒薬の有効性	Int J Tuberc Lung Dis	2002	力丸 徹	久留米大
19	MDR/XDR結核菌に対する(±)-プラテンシンの強力な増殖阻害活性	MedChemComm	2013	好光 健彦	阪大
17	MDR-TBに関連するSLC11A1 (IBNRAMP1) 多型	Tuberculosis	2008	長谷川 好規	名大
15	MDR-TBにおけるフルオロキノロン耐性に関連するgyrA変異を迅速に検出するためのラインプローブアッセイの評価	J. Med. Microbiol.	2011	切替 照雄	国立国際医療研究センター研究所
13	日本人MDR-TB患者におけるベダキリンの安全性/有効性/薬物動態:非盲検第2相試験の中間解析	Respir Investig.	2019	露口 一成	近畿中央呼吸器センター
13	MDR-TBの小児参加者におけるデラマニドの集団薬物動態および濃度 QTC分析	Antimicrob.Agents Chemother.	2022	佐々木 智啓	大塚製薬
12	リネゾリドは日本におけるMDR-TB治療に有効な可能性のある薬剤である	Jpn.J.Infect.Dis.	2017	伊 麗娜	複十字病院
12	高度薬剤耐性結核に対する肺切除の経験	Interact CardioVasc Thorac	2008	白石 裕治	複十字病院
10	日本におけるHIV陰性の非多剤耐性塗抹陽性肺結核の院内死亡率を年齢・脱水症状・呼吸不全・見当識障害・血圧スコアから予測	Scientific Reports	2016	堀田 信之	横浜市大
10	ベダキリンとデラマニドに対する薬剤耐性を同時獲得したMDR-TB	Clin Infect Dis	2021	吉山 崇	複十字病院
10	肺切除後の様々な罹患率:MDR-TBと非結核性抗酸菌感染症	Interact CardioVasc Thorac	2010	白石 裕治	複十字病院

リピンで、結核またはMDR-TBの疑いのある成人に試験を実施した。その結果、HIV重複感染患者においても結核/RIF検査の感度が低下しないこと、また従来検査法よりも迅速にRIF耐性を検出できることを示した。

日本人著者による論文

国立医療研究センターの論文

Table 2.3.4に挙がっている国立国際医療研究センター・切替照雄らの論文は「抗結核薬に対する耐性遺伝子の同定」や「ラインプローブ法による薬剤耐性結核診断法開発」に関連する。

切替、関口純一朗らは、結核菌臨床分離株の変異を網羅的に解析し、INH耐性が示唆される*katG*遺伝子において複数の新規変異を同定した。

結核菌はゲノム上の特定領域に変異を生じることによって薬剤耐性を獲得することが知られている¹²。切替らが開発した「ラインプローブ法」では、ライン上に固定したストリップを用いて検出対象となる結核菌の遺伝子と遺伝子配列の断片（オリゴプローブ）との塩基配列の違いを検出し、結核菌ゲノムの特定領域における変異を同定する [13]。

この手法によって、病院検査室で薬剤耐性結核を診断できるようになった。医療機器メーカー・ニプロに所属する共著者がいることからもうかがえるように、切替らのグループの研究成果がニプロ製「ラインプローブアッセイ」の開発につながった [14]。

北京型結核菌とMDR/XDR-TB

神戸市健康科学研究所・岩本朋忠らは、東アジアに特徴的に現れる北京型結核菌について祖先型・新興型に大別、祖先型をさらに4遺伝系統に分類して疫学的特徴を精査した。その結果、祖先型のうち特に2系統にMDR/XDR-TBで高頻度に分離される遺伝系統を認めた [15-16]。

抗酒薬ジスルフィラムの抗結核薬への応用

名古屋市大・瀧井猛将（現・結核予防会結核研究所・北里大・名古屋市大）らは、MDR/XDR-TBの臨床分離株に対するジスルフィラム（DSF）¹³およびジエチルジチオカルバメート（DDC）の抗結核活性を*in vitro*（試験管内）で評価し、DSFとDDCがともにMDR/XDR-TB株を含む結核菌の臨床分離株42株に対して強力な抗結核活性を示した。さらに、DSFは*ex vivo*（生体外）および*in vivo*（生体内）で殺菌活性を顕著に示した [17]。

最新の結核研究

① ディープラーニングで耐性菌に有効な抗生物質ハリシン発見（Cell, 2020）

近年、薬剤耐性菌に有効な抗生物質を発見する新しい手法として人工知能（AI）技術への期待が高まっている。MITのジェームズ・コリンズ（James Collins; 写真）らは、抗菌能力を推定するニューラルネットワークモデルを構築し、同モデルのトレーニングに用いる特徴量と

して大腸菌増殖を阻害する2,335個の分子コレクションにおける、分子構造中の原子間結合をデータとして採用した。次に、ブロード研究所¹⁴のドラッグ・リパーバシング・ハブ（Drug Repurposing Hub）のライブラリに含まれる約6,000化合物についてスクリーニングを行い、抗菌

活性の高い99分子を絞り込んだ。そのうちの51分子に実際に抗菌能力が備わることが実験的に明らかになり、さらに「既知の抗生物質との構造的類似性が低い」「独自の作用機序を持つ」「ヒト細胞に対する毒性予測が低い」などの基準を満たした分子を1つに絞り込んだ。

映画『2001年宇宙の旅』¹⁵に登場する架空のAIシステムHALにちなんでこの分子を「ハリシン」と名付けた。患者から分離・培養した数十種類の細菌株に対してこの分子薬をテストしたところ、クロストリジウム・ディフィシル、アシネトバクター・バウマニ、結核菌など多くの耐性菌に有効であることが確認された。さらに既知の抗生物質すべてに耐性があるアシネトバクター・バウマニに感染したマウスにハリシン含有軟膏を塗布すると24時間以内に完治したという [25]。

② 結核菌の細胞壁合成に関与する酵素複合体の立体構造解明（Science, 2020）

EMBタンパク質（EmbA, EmbB, EmbC）は、結核菌の細胞壁の生合成に関与する転移酵素（アラビノシルトランスフェラーゼ）であり、抗結核薬「エタンプトール（EB）」はこれらを標的分子にして結核菌の細胞壁形成を阻害している。

上海科技大のワン・クアン（Wang Quan）らは、2つの酵素複合体（EmbA-EmbB複合体とEmbC-EmbC複合体）の3D構造をクライオ電子顕微鏡およびX線結晶解析法から決定した [26]。さらに、EBはEmbBとEmbCの両方の基質と同じ部位に結合することで転移酵素を阻害していることを突き止めた。また、ほとんどの薬剤耐性変異がこのEB結合部位の近くに位置していることも明らかにした。

リファンピシンとイソニアジドの耐性遺伝子

結核菌の染色体遺伝子に突然変異が生じることによって薬剤耐性を獲得すると考えられている。抗結核薬は、それぞれの作用標的に特異的に結合して、結核菌自身のDNA合成やタンパク質合成、あるいは菌体脂質やミコール酸の生合成などを阻害している。したがって、ある抗結核薬の結合部位を規定する遺伝子領域に突然変異が起こると、その薬剤は作用機序を失ってしまうことになる。一方、結核菌からすれば“耐性”を得たことになる [21]。

このような結核菌の耐性遺伝子構造を分子遺伝学的な手法で解析し、その変異から耐性を確認する研究が1990年代から続々と報告されるようになった。1993年、ベルン大学のグループは、リファンピシン耐性結核菌の90%以上の株に*rpoB*（RNA合成酵素βサブユニットを規定する遺伝子）の異常（突然変異）があることをランセット誌に報告した [22-23]。

また、INHの耐性機構は主には2つで*katG*遺伝子あるいは*inhA*遺伝子の変異が関与していることが知られている。

RFPとINHの耐性関連遺伝子と機能をTable 2.3.5にまとめる。

Table 2.3.5 リファンピシンとイソニアジドの耐性遺伝子 [24]

薬剤	耐性関連遺伝子	機能
リファンピシン (RFP)	<i>rpoB</i>	RNAポリメラーゼのβサブユニットをコード
イソニアジド (INH)	<i>katG</i>	INHを活性体に変換するカタラーゼ-ペロキシダーゼをコード
	<i>inhA</i>	ミコール酸の合成に関わるケトエノイルレダクターゼをコード

¹³ アルコール依存症の治療に用いられる抗酒薬

¹² 「リファンピシンとイソニアジドの耐性遺伝子」(P. 47)



ジェームズ・コリンズ (MIT)

結核菌群およびリファンピシン耐性遺伝子を同時検出する Xpert MTB/RIF「セフィエド」

Xpert MTB/RIF「セフィエド」(Fig. 2.3.5 (a)、ベックマン・コールター(株)製)は、同社製自動遺伝子解析装置 GeneXpert® システム (Fig. 2.3.5 (b))を用いて専用試薬カートリッジ内で喀痰検体中の結核菌ゲノムを抽出し、PCR法*により結核菌群の*rpoB*にあるRFP耐性に関連する特異的遺伝子を増幅・検出する検査試薬である。用手法が必要なのは検査前に喀痰に試薬を加えて溶解・不活化する工程のみ。喀痰検体



Fig. 2.3.5 (a) Xpert MTB/RIF「セフィエド」 (b) GeneXpert®システム GX-IV (共にベックマン・コールター(株)提供)

* ポリメラーゼ連鎖反応

1.0mLに検体前処理試薬を添加し15分反応させた後、GeneXpertシステムに装填して110分で結果を判定する。(従来法だと300分、外注だと1~2日、また、標準的な培養では結核菌が増殖するまでに2~6週間要する)。

ニュージャージー医歯大のデビッド・アランド (David Alland; 写真)とセフィエド社が共同で、2003年から診断プラットフォーム GeneXpert、2005年から結核菌診断薬MTB/RIFの開発をそれぞれ始めた。スイス・FINDが次世代NAAT**の有力技術としてGeneXpertを指定したことを端緒に、米国立アレルギー感染症研究所 (NIAID)、米国立衛生研究所 (NIH)、ヒル&メリング・ゲイツ財団など様々な機関から開発資金が提供され、研究開発に拍車がかかった [18]。2009年に開発が完了し、2010年12月にはWHOから推奨されるや、その簡便さもあいまって多くの国で導入されるに至り、広くRFP感受性検査が行われるようになった [19]。日本では2016年11月から販売されている [20]。海外では2017年に、感度を向上させ測定時間を30分に短縮したXpert®MTB/RIF Ultraが実用化され、こちらもWHOが推奨している。



デビッド・アランド (ニュージャージー医歯大)

** Nucleic Acid Amplification Test; 核酸増幅検査

日本発の抗結核剤 カナマイシンとエンビオマイシン

梅澤演夫らが抗生物質カナマイシンを発見

1957年、国立予防衛生研究所(当時)の梅澤演夫らは、水溶性塩基性の新規抗生物質を探索する過程で、長野県の土壌で採取・分離した放射菌培養液から金色すなわちカナ色を帯びた菌を発見した。化学分析に基づき新種に分類されたこの放射菌がつくる抗生物質を梅澤は「カナマイシン」と命名した。 [27-29]。

翌1958年には製造許可を得、明治製菓(現Meiji Seikaファルマ)が感染症に対する化学療法剤として製造、国内に発売した (Fig. 2.3.7)。さらにその翌年(1959年)には、米プリストル・マイヤーズ社が上市し、日本発の抗生物質は一気に世界に広がった。広範囲な細菌感染症に有効なカナマイシンは、特に結核の治療薬として世界中から注目され、治療現場でも多大な威力を発揮した [30]。



Fig. 2.3.6 カナマイシン (Meiji Seika ファルマ(株)提供)

カナマイシンをベースにしたアミカシン

プリストル・マイヤーズ社が日本拠点として萬有製薬と共同設立したプリストル萬有研究所(1961年設立)の川口洋は、1972年、カナマイシン耐性菌に有効なKM誘導体を創製した。カナマイシンのアミノ基にアミノ酸の一種*をアミド結合させ合成したこの物質は、1977年にはアミカシンとして工業化され、緑膿菌を含むグラム陰性桿菌感染症に優れた効果を示す標準治療薬として、世界各国で汎用されている [31-33]。

東洋醸造・永田明徳らが抗生物質エンビオマイシン硫酸塩を発見

エンビオマイシン硫酸塩は1966年、静岡県大仁町の土壌で分離された放線菌培養液から東洋醸造(現旭化成ファーマ)の永田明徳らが発見したペプチド系抗生物質である [34]。動物試験の成績から、カナマイシン硫酸塩に比べて腎毒性と聴器毒性が軽度であることが認められ、1975年に抗結核抗生物質注射剤「ツペラクチン」として承認・発売に至った**。

* (S)-4-アミノ-2-ヒドロキシ酪酸

** 2008年に「ツペラクチン」から「ツペラクチン筋注用1g」へ販売名を変更

③ ベダキリンと結合した結核菌の ATP合成酵素の構造 (Nature, 2021)

MDR-TBの基本治療薬の1つベダキリン (BDQ) は、結核菌のATP合成酵素 (シンセターゼ) を標的として特異的に結合し、そのプロトンポンプ¹⁶能を阻害する。結合したATP合成酵素の構造はまだ完全には解明されておらず、その作用機序も十分に理解されていない。トロント大のジョン・ルビンスタイン (John Rubinstein) らは、BDQと結合した酵素の様々な回転状態でのクライオ電子顕微鏡像と結晶構造 (Fig. 2.3.7) をネイチャー誌に報告した [35]。結核菌が肉芽腫¹⁷内のような低酸素状態でもATPを合成しながら潜伏し続けられるのは自身のATP合成酵素がもつフック状構造によってATP加水分解を抑制しているためではないかと指摘した。また、結核菌ATP合成酵素は、BDQと結合するとサブユニット同士の界面に強固な結合ポケットが形成されていた。著者らは、この構造変化が結核抗生物質として機能している可能性も指摘した。

のATP合成酵素がもつフック状構造によってATP加水分解を抑制しているためではないかと指摘した。また、結核菌ATP合成酵素は、BDQと結合するとサブユニット同士の界面に強固な結合ポケットが形成されていた。著者らは、この構造変化が結核抗生物質として機能している可能性も指摘した。

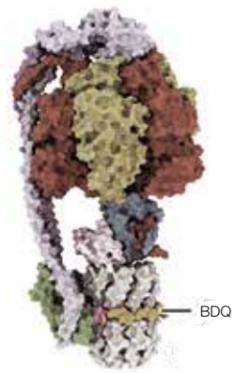


Fig. 2.3.7 ベダキリン(BDQ)およびATP合成酵素の構造と結合 [35]

2.4 最近のプレス発表

日本の結核研究はどうか — 2021~2024年に各大学がホームページに公開した成果記事から結核研究に関する記事を数例紹介する。

- ① 結核菌が産生する Zmp1 が宿主の GRIM-19 を標的に IL-1β 産生を阻害する (琉球大・高江洲義一, 松崎吾朗ら, FASEB, 2022)

マクロファージに結核菌が取り込まれ始めると、オートファゴソームと呼ばれる袋状の構造が形成され、さらにリソソーム¹と融合してファゴリソームが形成されて、取り込んだ結核菌を分解する。結核菌は、このファゴリソームの形成を阻害する様々な機構をもつことが明らかにされてきた。オートファゴソームとリソソームはインターロイキン-1β (IL-1β) に誘導されて融合することが知られていたが、2008年にニューメキシコ大ヘルサイエンスセンターのグループは、結核菌が産生するメタロプロテアーゼ²Zmp1³がIL-1β生成を抑制することでファゴリソーム融合を阻害していることを明らかにした [1]。

2022年、琉球大・高江洲義一らは、Zmp1の標的となっている宿主側の分子を同定した。Zmp1と会合する宿主タンパク質のスクリーニングからGRIM-19⁴を特定。このGRIM-19をコードする遺伝子をノックアウトしたマ

クロファージ細胞株を樹立して細胞応答を調べた結果、確かにZmp1がGRIM-19を標的にしていることを明らかにした (Fig. 2.4.1) [2]。

Zmp1とGRIM-19の相互作用をブロックすることで、新たな治療薬開発につながる事が期待される。

- ② 糖脂質が結合した Mincle の構造と糖脂質を認識する機構 (北大・前仲勝実, 古川敦, 阪大微研・山崎晶ら, Structure, 2023)

免疫細胞表面に発現する受容体分子 Mincle は結核菌表面に存在するトレハロースジミコール酸 (TDM) (→2.5②) など幅広い糖脂質を認識し、免疫の活性化に関わる。北大・前仲勝実らはこれまでX線構造解析から Mincle の結晶構造を解明し、その糖脂質認識機構を推定していた [3-4]。

ここでは、糖脂質が結合した状態での Mincle の構造や Mincle が糖脂質を認識する機序を明らかにした。核磁気共鳴 (NMR) 法で Mincle タンパク質の立体構造を解析した結果、溶液中の Mincle の構造は揺らいでいた (Fig. 2.4.2) [5-6]。

¹ 様々な加水分解酵素を含む酸性のオルガネラ (細胞小器官)

² 酵素活性中心に金属イオンが結合するタンパク質分解酵素プロテアーゼ

³ Zn²⁺メタロプロテアーゼ 1

⁴ GRIM-19 は宿主のミトコンドリアに局在しているタンパク質である。

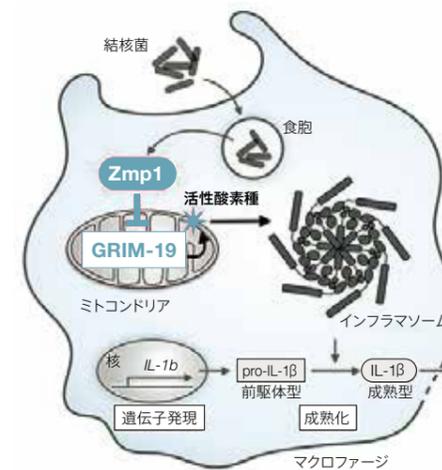


Fig. 2.4.1 結核菌による宿主免疫応答抑制の模式図 [2]

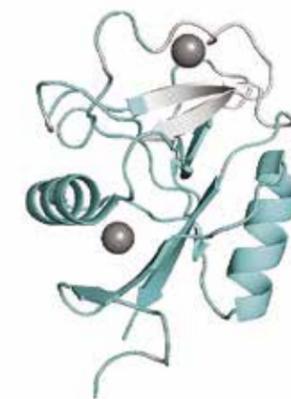


Fig. 2.4.2 NMR法によりMincleのシグナルが観測されたアミノ酸 (緑色) と揺らぎなどにより観測されなかったアミノ酸 (灰色)。黒灰色の球はカルシウムイオン [4]。

HIV/TB 共感染

かつて「国民病」や「亡国病」と恐れられた結核であったが、戦時中と比べて1970年代には死亡率は100分の1以下まで激減した。しかし1980年代になって結核罹患率の減少速度が鈍化した。この要因のひとつとして、1970年代から広まったHIV*感染症の関与、すなわちHIVと結核の両方に感染するHIV/TB共感染**が指摘されている。2021年、世界で新たに結核を発病したと推定される約1,000万人のうちHIV感染者は6.7%に及ぶという [36]。

HIVによる免疫低下がHIV/TB共感染の発症リスクを高める

HIV感染者の潜在性結核感染はHIV非感染者よりも重篤な結核疾患に進行する可能性が高いと言われる。HIVは免疫システムを弱めるため、日和見感染症***である結核は発症しやすくなる。HIVは主にCD4陽性Tリンパ球に感染し、さらにマクロファージ機能への障害をきたす。CD4陽性Tリンパ球とマクロファージはいずれも、結核感染防御に重要な免疫機能を担っていることから、HIV感染者においては結核に感染し発症しやすいとされる [37-38]。

抗HIV薬と抗結核薬の相互作用

また、抗結核薬と抗HIV薬の相互作用も見逃せない。両者を同時に内服すると起こりうる副作用例として、抗結核薬であるRFP系薬剤と

抗HIV薬との薬剤相互作用が挙げられる。RFP系薬剤が小腸と肝臓に誘導する薬物代謝酵素CYP3A4が、抗HIV薬であるプロテアーゼ阻害薬や非核酸系逆転写酵素阻害薬を代謝することによって、抗HIV薬の血中濃度が著しく低下、ひいては抗HIV作用が低下すると言われる [39]。

論文からみる HIV/結核

タイトルに「結核 (Tuberculosis)」と「HIV (HIV infection)」を含む論文の年出版数は1980年代後半から増加してきた (Fig.2.3.8)。国際ウイルス学会によってエイズ原因ウイルスがHIVと命名されたのは1986年なので、早い段階でHIVと結核の因果関係が疑われていたようである。

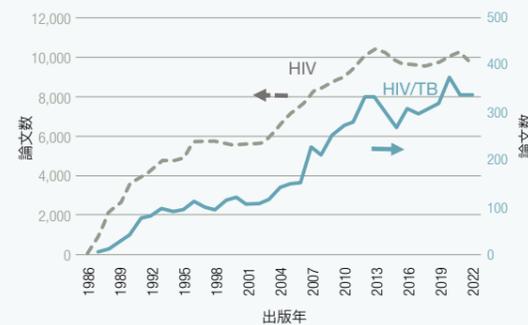


Fig. 2.3.8 結核・HIV関連論文の推移 Scopus 2024.5.20

References

[1] 白石裕治, 複十字, 5, 12, 2011
 [2] 四元秀毅ら, 医療者のための結核の知識, 医学書院, 2013
 [3] 野口雅久, ファルマシア, 34, 7, 689, 1998
 [4] Jim O'Neill, "The Review on Antimicrobial Resistance. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations", May 2016
 [5] 豊田恵美子, 日本老年医学会, 47, 3, 5, 174, 2010
 [6] 日本結核・非結核性抗酸菌症学会 抗酸菌検査法検討委員会, 結核, 99, 4, 2024
 [7] Iseman MD, New Engl J Med., 329, 11, 784, 1993
 [8] 内村和宏, 複十字, 412, 9, 3, 2023
 [9] 御手洗聡, 結核, 99, 4, 105, 2024
 [10] Koen Andries et al, Science, 307, 5707, 223, 2005
 [11] 吉山崇, 複十字, 380, 1, 5, 2018
 [12] 佐々木博文, Mechem News, 26, 3, 125, 2016
 [13] 切替照雄, 結核, 88, 2, 125, 2013
 [14] https://www.ri.ncgm.go.jp/ri005/020/index020.html [WO2010-001924]
 [15] 岩本朋忠, 複十字, 329, 9, 20, 2009
 [16] 岩本朋忠, 結核, 84, 12, 755, 2009
 [17] Horita Y., et al., Antimicrob. Agents Chemother., 56, 8, 4140, 2012
 [18] https://kyokuhp.ncgm.go.jp/library/tenkai/2021/tenkaiseminar202203_light.pdf
 [19] Boehme, CC et al., New Eng J Med, 363, 11, 1005, 2010

[20] 上養義典ら, モダンメディア, 64, 12, 358, 2018
 [21] 和田崇之, 生活活性, 51, 3, 141, 2007*
 [22] 御手洗聡, モダンメディア, 59, 7, 194, 2013
 [23] A Telenti et al., Lancet, 13, 341, 8846, 647, 1993
 [24] 長谷川直樹, 日本臨床微生物学会雑誌, 30, 2, 1, 2020
 [25] Jonathan M. Stokes et al., Cell, 180, 4, 688, 2020
 [26] Zhang, L., et al., Science, 368, 6496, 1211, 2020
 [27] H. Umezawa, et al., J. Antibiot., 10, 181, 8, 1957
 [28] 大場昇, 複十字, 357, 7, 22, 2017
 [29] https://www.bikaken.or.jp/aboutus/history.html
 [30] https://www.meiji.com/corporate/history/history2.html
 [31] H. Kwaguchi, J. Infections Diseases, 134, s 242, 1976
 [32] 深津俊三, 有機合成化学, 40, 3, 188, 1982
 [33] 近藤信一, 有機合成化学, 49, 9, 858, 1991
 [34] Nagata, A. et al., J. Antibiotics, 21, 12, 681, 1968
 [35] Guo H et al., Nature, 589, 7840, 143, 2021
 [36] https://www.stoptb.jp/dcms_media/other/TB%20FACT2022_6.pdf
 [37] 永井英明, 結核, 78, 1, 45, 2003
 [38] https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/hiv-and-tuberculosis-tb
 [39] 永井英明, 複十字, 307, 1, 18, 2006

③ 膜小胞を作り分けるミコール酸含有細菌

(筑波大・豊福雅典, 野村暢彦, 大阪市大・宮田真人ら, *iScience*, 2022)

微生物が細胞外に放出する多様な小胞(膜小胞)が、医療やバイオテクノロジーに応用できる可能性を秘めていることが近年明らかにされてきた。ミコール酸を合成する結核菌やジフテリア菌などの「ミコール酸含有細菌」が細胞外に放出する膜小胞は、病原性に関わる重要な機能をもつことが報告されている。

筑波大・豊福雅典らは、ミコール酸含有細菌が状況に応じて様々な組成の膜小胞を作り分ける仕組みを明らかにした。無毒なミコール酸含有細菌であるコリネ菌に、様々なストレスを与えたところ「DNAの複製が阻害されたとき」「細胞壁の合成が阻害されたとき」「細胞膜の合成に必要なビオチン(ビタミンの一種)が少なくなったとき」のいずれかの場合に膜小胞が放出されることを見出した(Fig. 2.4.3)。作られる膜小胞の構造や化学的な組

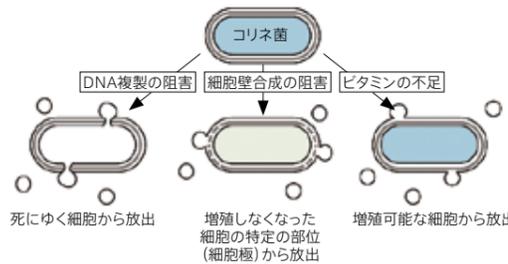


Fig. 2.4.3 コリネ菌が有する3つの膜小胞放出経路 [7]

成は、それぞれの場合で異なり、入れ子構造や鎖状構造であるなど非常にユニークな特徴を示した。また、コリネ菌以外のミコール酸含有細菌にも同様の仕組みが保存されていることも明らかにした[7]。

④ 抗酸菌は宿主受容体TREM2に作用することで免疫を回避する

(鹿児島大・原博満, 飯笹英一ら, *Nat. Commu.*, 2021)

鹿児島大・原博満らは、マクロファージ上に発現する免疫受容体TREM2⁵が抗酸菌の外膜脂質の主成分であるミコール酸を認識することを見出した。また、ミコー

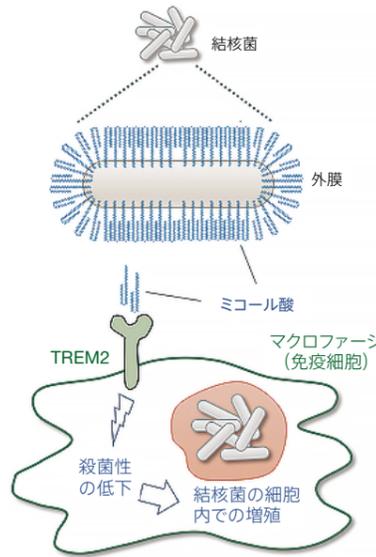


Fig. 2.4.4 TREM2に作用する結核菌 [11]

MincleとDectin-2は異なる細胞応答

(阪大微研・山崎晶ら, *Science Signaling*, 2023)

山崎らは、病原体センサー(受容体)からの刺激の持続時間や強さが変わると応答が異なることを見出し、その仕組みを明らかにした。アダプター分子FcRγは、受容体と会合することで受容体からのシグナルを細胞内に伝達する。このFcRγと会合する受容体Dectin-2とMincleについて、サイトカイン産生を指標に応答を比較した(Mincleは結核菌のTDMを認識するが、同じC型レクチン受容体のDectin-2は結核菌の細胞壁を構成するリポアラビノマンナン(LAM)を認識することが知られている)。同一のFcRγを介して入力された活性化シグナルに対して、Dectin-2のみがサイトカイン(IL-2)産生を誘導した。細胞内応答の経時的変化では、Mincleに比べDectin-2は刺激早期にシグナル分子のリン酸化が強く検出された。受容体の発現様式を調節してMincleを恒常的に発現させるとIL-2産生を誘導でき、また受容体は刺激の「強弱」も見分けていることも併せて明らかになった。このように受容体は刺激を認識する際の「持続時間」と「強さ」によって細胞応答が異なることを見出された[8]。

らい菌特有の糖脂質中間体がMincleと反応すると宿主の自然免疫が活性化

(阪大微研・山崎晶ら, *ACS Cent. Sci.*, 2023)

ハンセン病の原因菌であるらい菌は、免疫反応が起きにくいことで知られる。らい菌に多量に含まれる糖脂質PGL-I(フェノール糖脂質-I)は、免疫抑制作用に加え、ハンセン病に特徴的な神経障害を引き起こす要因であると言われる。阪大・山崎、蘭ライデン大・Joen Codéeらの研究グループは、このPGL-Iの合成中間体で、らい菌に微量に含まれているPGL-III(フェノール糖脂質-III)がMincleに反応して自然免疫が活性化することを報告した[9]。らい菌は、自らの酵素反応によりPGL-IIIを速やかにPGL-Iに変換することで、宿主免疫から逃れている可能性がある。この経路を阻害することで宿主の免疫系によるらい菌排除が期待できる[10]。

ル酸を認識したTREM2が活性化するとマクロファージの殺菌力が低下し、逆にTREM2欠損マウスでは殺菌力が高まった。このことから、結核菌などの抗酸菌はTREM2に作用することで免疫細胞からの攻撃を弱め、自身の生存と増殖に有利な環境を作り出すことを示唆した(Fig. 2.4.4)[11]。

⑤ 天然変性タンパク質によるDNA凝集が抗酸菌の休眠を誘導する

(新潟大・松本壮吉, 西山晃史ら, *Nucleic Acids Res.*, 2024)

投薬された薬剤から生き延びた一部の菌が長期間生存する——。このような薬剤感受性が低い一群は薬剤パーシスター(→2.5①)と呼ばれ、慢性感染症や感染症の再発などに影響する。結核や非結核性抗酸菌⁶(NTM)症などの抗酸菌症が難治性で、投薬期間がいきおい半年から年単位に及ぶのは、抗酸菌が休眠して薬剤パーシスター化する性質が根底にある。

新潟大・松本壮吉(写真上)、西山晃史(写真下)らはすでに、天然変性ヒストン様タンパク質MDP1⁷が低酸素休眠菌で高発現し、DNAを凝集させながら休眠を誘導していることを明らかにしていたが⁸(→P. 35, 2.5①)、本研究では、その休眠誘導メカニズム解明に迫った⁹。高速原子間力顕微鏡(高速AFM)による撮影と分子動力学計算の組み合わせにより、細菌には珍しい“天然変性領域”という不定型領域(Fig. 2.4.5)が存在すること、この領域が両面テープのように機能して2本のDNA

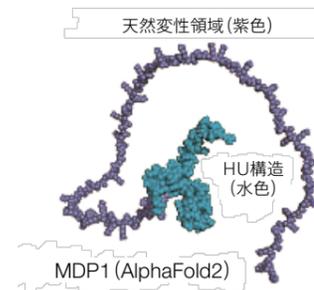


Fig. 2.4.5 AlphaFold2⁹で予測したMDP1 [12]
水色はHU構造(単量体)。紫色は天然変性領域。

二重らせんを静電引力で架橋・凝集することを示した。他の生物では報告のない抗酸菌に特徴的な休眠メカニズムである[12]。

⑥ フィリピンにおける全血アッセイを用いた休眠結核菌抗原に関連するサイトカインプロファイルの評価

(福島県医大・安田一行, 長崎大・山下嘉郎, 田中健之, 新潟大・松本壮吉ら, *Front Immunol.*, 2024)

潜在性結核感染者の一部では活動性結核に進行・発症することで周囲に感染が広がっていく(→2.2)。しかしながら、従来の結核菌感染診断法では、活動性結核と潜在性結核感染の識別や発症予測は困難であった。福島県医大・安田一行らは、フィリピンでのフィールド研究において、休眠状態の結核菌に高発現する物質MDP1を用いて被検者の血液を刺激し、血液中の免疫反応により産生するインターフェロンγ(IFN-γ)を測定した。その結果、「活動性結核患者」・「活動性結核患者の同居家族(発症リスクの高い潜在性結核感染者を想定)」・「結核患者と接触のない病院職員(発症リスクの低い潜在性結核感染を想定)」を識別できることを示唆した。すなわち、MDP1応答性のIFN-γ産生は健康者で顕著で、活動性結核患者では殆ど認められなかった(Fig. 2.4.6)[13]。

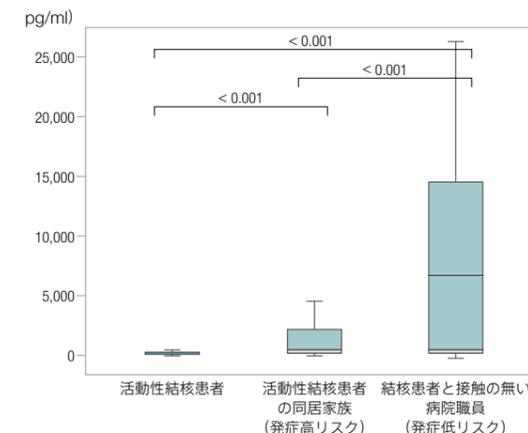


Fig. 2.4.6 MDP-1で血液を刺激した際のIFN-γ [13]

⁶ non-tuberculosis mycobacteria: NTM. 結核菌群とらい菌を除いた約150種の抗酸菌の総称。



松本 壮吉 (新潟大)



西山 晃史 (新潟大)

⁷ Mycobacterial DNA-binding protein 1

⁸ 「休眠結核菌に発現する分子や再増殖を促進する因子」(P. 35)

⁹ 2021年、サイエンス誌のBreakthrough of the year 2021に選出された。また、AlphaFoldの開発を主導したディープマインド社・ジョン・ジャンパーは同年、Nature's 10の1人に選出された。ディープマインド社によれば、2024年5月にリリースされたAlphaFold3は従来のタンパク質の他にもDNA, RNA, 創薬に不可欠なリガンドなどの分子構造を予測できるとい

References

[1] Master SS, et al., *Cell Host Microbe*. 3, 4, 224, 2008
 [2] <https://www.u-ryukyu.ac.jp/news/31356/>
 [3] Atsushi Furukawa et al., *PNAS*, 110, 43, 17438, 2013
 [4] https://www.lfsci.hokudai.ac.jp/info/wp-content/uploads/2014/03/131008_Maenaka.pdf
 [5] https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/230626_pr.pdf
 [6] Atsushi Furukawa et al., *Structure*, 31, 9, 7, 1077, 2023
 [7] <https://www.tsukuba.ac.jp/journal/pdf/210115toyofuku.pdf>
 [8] Shigenari Ishizuka et al., *ACS Cent. Sci.*, 9, 7, 1388, 2023
 [9] [http://www.biken.osaka-u.ac.jp/achievement/research/2023/198\[吉田2\]](http://www.biken.osaka-u.ac.jp/achievement/research/2023/198[吉田2])
 [10] ifrec.osaka-u.ac.jp/jpn/research/20230713-0900.html
 [11] <https://www2.kufm.kagoshima-u.ac.jp/~meddent/topics/content/1545-2021-04-29-23-39-01.html>
 [12] <https://www.niigata-u.ac.jp/news/2024/564353/>
 [13] <https://www.fmu.ac.jp/univ/kenkyuseika/research/20240410.html>

2.5 科研費による結核研究

比較的大型の科研費研究(基盤A, 新学術, 特定領域)について, KAKENデータベース¹から「結核」をキーワードにもつ研究課題を抽出した(Table 2.5.1)。「免疫系」に関する研究課題が比較的多く, 「細胞壁」や「ミコール酸」も着目されている。

1 抗酸菌長期潜伏の分子メカニズム解明

ヒトに感染した結核菌は宿主の免疫応答に屈することなく生体内で生存し続ける。初感染で発病するケースは

稀であるため, 結核菌はパーシスター(休眠状態の菌)²として長期間潜伏することになる(潜在性結核)が, 宿主の免疫機能が低下すると結核が発症することがある。成人の肺結核の多くはパーシスターの内因性再燃によるもので, 発症リスクは感染者の5~10%とされる[1]。

1999年, 大阪市大(現新潟大)・松本壮吉らは休眠結核菌においてヒストン様タンパク質MDP1が大量に発現することを発見, これが休眠の導入・維持に関与すると報告した(→P. 35)。2000年代には, 科研費特定領域研究を断続的に推進しており, 「潜在性結核対策

¹ https://kaken.nii.ac.jp/ja/
² パーシスタンス(persistence)は1944年にトリニティ・カレッジ・ダブリンのジョセフ・ビッガー(Joseph Bigger)によってランセット誌に報告された。その後も多くのバクテリア種と抗生物質の組み合わせでこの現象が確認されている。

Table 2.5.1 科研費(特定領域・新学術・基盤A)における結核研究

分類	プログラム	研究課題	研究期間(年度)	研究代表者
MDR	特定領域	酵素katGの分子構造に基づく結核菌の薬剤耐性化メカニズムの解明	2003	藤原 健智 静岡大
遺伝子	特定領域	バイオフィーマティクスを融合した結核菌強毒株H37Rvの病原性遺伝子発現解析	2002	荒牧 弘範 第一薬科大
ゲノム	新学術	新型シーケンサーを用いた細菌における自然環境でのゲノムアダプテーション解析法	2013-2014	小椋 義俊 宮崎大
ゲノム	新学術	マルチゲノミック解析による非結核性抗酸菌の環境適応機構解明と対応技術基盤構築	2011-2012	小椋 義俊 宮崎大
ゲノム	基盤A		2020	丸山 史人 広島大
細胞	基盤A	結核菌関連細胞表面糖脂質TDCM類の系統的合成と免疫活性化・制がん性	2002-2005	西沢 麦夫 徳島文理大
細胞壁	基盤A	結核菌の細胞壁多糖に存在する鏡像体アラビナンとその分解酵素群の分子解析	2019-2022	伏信 進矢 東大
細胞壁	新学術	結核菌細胞壁脂質の化学生物学研究	2018-2019	細川 誠二郎 早大
潜在性結核	特定領域	潜在性結核対策を想定した, 抗酸菌の長期生存を可能にする分子メカニズムの解明	2009-2010	松本 壮吉 大阪市大
潜在性結核	特定領域	結核菌の休眠誘導と潜伏感染成立/回避の分子機構	2006-2007	松本 壮吉 大阪市大
潜在性結核	特定領域	結核菌のヒストン様タンパク質MDP1による菌の休眠誘導と潜伏感染成立/回避の分子機構	2005	松本 壮吉 大阪市大
潜在性結核	特定領域	結核潜伏感染と宿主防御機構の解明	2007-2008	吉開 泰信 九大生体防御研
免疫	特定領域	細胞内寄生菌のマクロファージ活性化と細胞内寄生の分子機構	2001-2005	光山 正雄 京大
免疫	特定領域	細胞内寄生菌および抗酸菌の増殖と病原性	2006-2010	光山 正雄 京大
免疫	特定領域	細胞表面抗原分子を標的とした免疫治療	2005-2009	日野田 裕治 山口大
免疫	特定領域	ヒト型結核菌菌体成分によるTh1活性化と抗腫瘍免疫増強機構の解析	2005-2009	高津 聖志 富山大
免疫	特定領域	免疫アジュバントによるTh1活性化と抗腫瘍免疫増強	2000-2004	高津 聖志 東大医科研
免疫	特定領域	グループ1CD1トランスジェニックマウスを用いた結核菌感染防御生体反応の解析	2004-2005	杉田 昌彦 京大ウイルス研
免疫	特定領域	結核菌脂質をターゲットにした免疫応答とその制御	2003	杉田 昌彦 日本医大
免疫	特定領域	病原性及び非病原性結核菌感染防御における, CD1を介した脂質抗原提示の重要性	2002	杉田 昌彦 日本医大
免疫	特定領域	自然免疫によるウイルス感染細胞認識機構の解明	2003	荒瀬 尚 千葉大
免疫	特定領域	抗酸菌感染における気道上皮細胞応答の分子機構	2002	小林 和夫 大阪市大
Mincle	新学術	死細胞センサーによる炎症細胞社会の制御機構	2020-2021	菅波 孝祥 名大
レクチン	基盤A	レクチン受容体を介する自己認識の生物学的意義と分子基盤	2020-2022	山崎 晶 阪大微研
レクチン	新学術	細胞死に伴って放出される内因性糖脂質アジュバントの同定	2014-2018	山崎 晶 阪大微研
レクチン	新学術	Mincleによる内因性リガンド認識とその破綻に伴う炎症性疾患の解明	2010-2011	山崎 晶 阪大微研
レクチン	特定領域	レクチン受容体を介する自己・非自己認識機構とその意義の解明	2010-2011	山崎 晶 阪大微研
生体反応	新学術	シデロフォアによるMhuD型ヘム分解酵素の機能制御	2022-2023	松井 敏高 東北大多元研
生体反応	新学術	ケージド中間体を用いた2種のヘム分解酵素の機構解明	2020-2021	松井 敏高 東北大多元研
生体反応	新学術	歪みに感応するヘム分解機構とその精密制御	2015-2016	松井 敏高 東北大多元研
生体反応	新学術	ゆがんだヘムの分解機構と触媒反応への応用	2013-2014	松井 敏高 東北大多元研
自己集合	基盤A	自己集合性生理活性小分子の開拓	2019-2021	上杉 志成 京大化研
ミコール酸	新学術	脂質中分子の網羅的合成を実現する集積型アルキル-アルキルカップリング反応の開発	2018-2019	岩崎 孝紀 東大

を想定した, 抗酸菌の長期生存を可能にする分子メカニズムの解明」(2009~2010)では, 休眠スメグマ菌(Mycobacterium smegmatis)が発現する遺伝子群を同定, スメグマ菌遺伝子のうち1,200余りは休眠期に発現が減少するが, 逆に900余りは増加することを明らかにした。また, MDP1の欠失により休眠期に減少する約700遺伝子, 増加する約500遺伝子を観察した。これらの結果から, スメグマ菌休眠菌が発現を継続すること, MDP1が休眠期に発現する遺伝子の多くを制御していることを明らかにした³。

2 Mincleによる結核菌糖脂質認識機構

結核菌の細胞壁表面に存在している脂肪酸トレハロースジミコール酸(trehalose-6,6'-dimycolate: TDM)⁴は, マウスに投与すると肉芽腫を形成するなど, 免疫賦活能をもつことが知られていた(Fig. 2.5.1)が, このTDMを認識する宿主側の受容体はまだ明らかではなかった。

2009年, 阪大微研・山崎晶(当時九大生体防御研; 写真)らは, C型レクチン⁵受容体であるMincle⁶が, 結

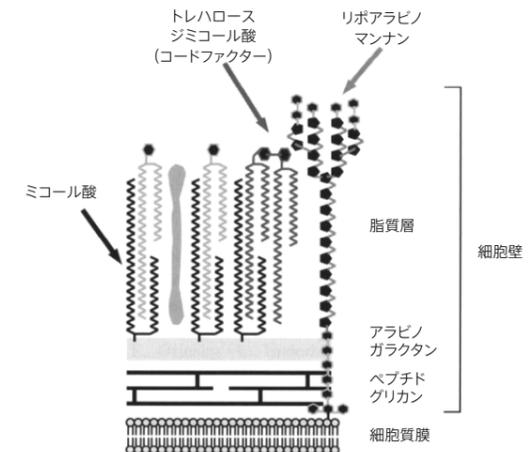


Fig. 2.5.1 結核菌細胞壁の模式図 [3]

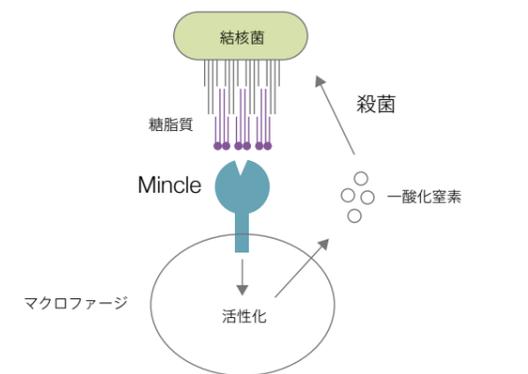


Fig. 2.5.2 マクロファージによって排除される結核菌 [4]

核菌の細胞壁表面のTDM分子を認識し免疫応答を惹起する⁷ことを見出した(Fig. 2.5.2) [2]。

3 ミコール酸をターゲットにしたグルコースの縮合反応に注目

日本医大(現京大)の杉田昌彦(写真)らは, ミコール酸と宿主由来グルコースの縮合反応に注目した⁸。この反応により産生するグルコースモノミコール酸(GMM)に対する免疫応答が, 抗酸菌感染の指標となり得ることを示唆した(Fig. 2.5.3)。近年はさらに研究対象を拡げ, 微生物やがん細胞が産生する脂質に対して特異的に応答する免疫システムの解明, またこの免疫システムを利用した脂質ワクチンの開発を進めている [5]。

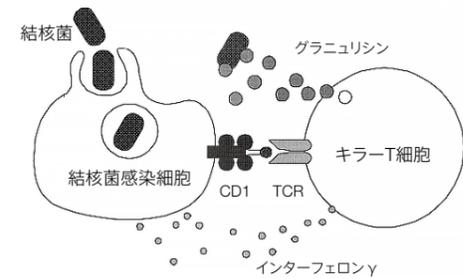


Fig. 2.5.3 CD1分子による結核菌感染防御 [5]

4 ミコール酸生合成を阻害する酵素katGの構造解析

抗結核剤イソニアジド(INH)の活性化に酵素katGが必要なのは, katGの働きによって生じたラジカル中間体が, 結核菌細胞壁成分であるミコール酸の生合成を阻害するためとされている。静岡大・藤原健智(写真)

抗結核薬とミコール酸

結核菌の菌体の最外周部外側(アラビノガラクトンが主成分の部位)よりもさらに外側にトレハロースを間に挟んでミコール酸同士が連なっている。イソニアジド(INH)デラマニド, プレトマニドなどは結核菌によるミコール酸の合成を阻害するタイプの抗結核薬である(→2.3.1)。INHは1898年に初めて合成され, 当初は抗うつ剤などに用いられてきたが, 1952年に英・医学研究評議会(MRC)のウォーレス・フォックス(Walles Fox)によって, すぐれた抗結核作用を示すことが発表された。1975年, ウィスコンシン大のクニ・タカヤマらは, INHの第一作用点は細胞壁成分によるミコール酸の生合成阻害であることを明らかにした [8]。上述のように, 結核菌のミコール酸は内側にあるアラビノガラクトンとも結合しているが, アラビノガラクトンの構成単位であるアラビノースがミコール酸に付加されるのを阻害するタイプの抗結核薬としてエタンブロールが挙げられる。

³ 2024年には, MDP1が特有の天然変性領域によってDNAを凝集させ, 菌の休眠を誘導することを示した(→2.4 ⑤)。

⁴ コードファクター(Cord-factor)とも呼ばれる。1950年にニューヨーク公衆衛生研究所のフーベルト・プロッホが発見した。



杉田 昌彦 (日本医大)

⁵ Ca²⁺に依存して糖鎖に結合するタンパク質

⁶ macrophage-inducible C-type lectin

⁷ Mincleが結核菌の糖脂質を認識するとマクロファージが活性化し一酸化窒素を排出して殺菌する。

⁸ T細胞はタンパク質(ペプチド)を抗原として認識するとみなされていたが, 1994年, ハーバード大医学部プリガム・アンド・ウィメンズ病院のマイケル・ブレナー(Michael Brenner)らは, ミコール酸がCD1分子によってT細胞に抗原提示されることをネイチャー誌に報告した [6]。強い疎水性の脂質をT細胞が認識する事実は, 免疫学の新たなパラダイムとなった [3]。



山崎 晶 (阪大微研)



藤原 健智 (静岡大)

らは、好塩菌から精製した *katG* のホモログの結晶構造を解析し、*katG* 分子中にINH活性化反応に重要な働きをするアミノ酸残基や構造を同定した。

⑤ クロスカップリングによるミコール酸の形式全合成



岩崎 孝紀
(東大)



高津 聖志
(富山大)

遷移金属触媒による sp^2 炭素同士のクロスカップリングに比べ、 sp^3 炭素上でのクロスカップリングは、 sp^3 炭素-ハロゲン結合の遷移金属に対する酸化的付加が遅いため、難易度の高い反応とされてきた。東大・岩崎孝紀(写真上)らは、ハロゲン化アルキルとアルキルグリニャール試薬との反応に有効な後周期遷移金属触媒システムを多数開発した。特に *cis*-シクロプロパン含有ビルディングブロックを用いて逐次的なアルキル-アルキルカップリング反応を実現し二官能性のビルディングブロックを連結、 α -ミコール酸の形式全合成⁹を達成した[7]。

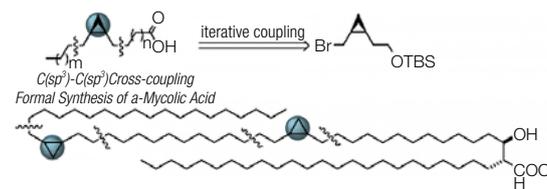


Fig. 2.5.4 α -ミコール酸の形式全合成[7]

⁹ Formal total synthesis.すでに全合成が達成されている天然物において、途中の化合物までを別の合成ルートで合成すること

¹⁰ Cytotoxic T lymphocyte.がん細胞やウイルス感染細胞などの異常細胞を認識し、直接攻撃し排除する免疫細胞

クロスカップリング

構造の異なる2種類の有機化合物同士をカップリングする有機合成反応。2010年、「パラジウム触媒によるクロスカップリングの発展への寄与」の功績により、パドュー大・根岸英一、北大・鈴木章、デラウェア大・リチャード・ヘックの3人にノーベル化学賞が授与された。今日では医薬品製造にも使われ、例えば血圧降下剤・ロサルタン、同・バルサルタン、HIV/エイズ治療・予防薬・アタザナビルの中間体や抗がん剤・イマチニブの合成で用いられている。

⑥ ヒト型結核菌が分泌する成分が抗腫瘍免疫を増強

富山大・高津聖志(写真下)らは、ヒト型結核菌が分泌するAg85BのC末端側のペプチド25 (P25)が、自身に特異的なCD4+T細胞が存在する下で抗原提示細胞を活性化してTh1反応誘導型とすること、その結果、腫瘍特異的な細胞傷害性T細胞(CTL)¹⁰が増殖してクローン出現頻度が上昇することを示した。特にCTL増殖によって抗腫瘍免疫反応が増強し、生体内で腫瘍細胞が生着し難くなった。P25を特異的に認識するT細胞受容体(TCR)を発現させたトランスジェニックマウス(P25 TCR-Tg)に対しても、Ag85BとP25によりTh1応答が活性化された。さらにP25が免疫アジュバント活性を示し、がん免疫を増強することを明らかにした。

References

- [1] 松本社吉, 日本細菌学雑誌, 66, 4, 531, 2011
- [2] 山崎晶, 化学と生物, 51, 3, 154, 2013
- [3] <https://www2.infront.kyoto-u.ac.jp/SugitaLab/SugitaFolder/res1.html>
- [4] <https://www.kyushu-u.ac.jp/f/1229/2009-12-11.pdf>
- [5] 杉田昌彦, 日本細菌学会誌, 614, 405, 2006
- [6] Evan M. Beckman et al., Nature, 372, 691, 1994
- [7] Iwasaki, T. et al., Adv. Synth. Catal. 360, 3810, 2018
- [8] Takayama, K., et al., J. Lipid Res., 16, 4, 308, 1975

第三章

ニパウイルス感染症・ エンテロウイルス感染症

夏風邪はなかなか老に重かりき

《高浜虚子》

3.1 ニパウイルス感染症

— 謎の病気が突然マレーシアの田園地帯をおそった。最初は日本脳炎だと思われたが、ワクチンの接種を受けていた人からも患者が発生した。病気になった人は、奇妙な咳をする豚の世話をしていたという共通点があった。まったく新種のウイルスかもしれない— 研究者が必死にその正体をつきとめようとしている間にもウイルスは猛威をふるい…

日経サイエンス誌1999年11月号に掲載された「マレーシアを震撼させた新ウイルス」の一節¹からは、正体不明の新感染症に対する恐怖と動揺が伝わってくる[1]。マレーシアに出現したニパウイルス (NiV) は、ヒトに致死性の脳炎を引き起こし、1999年以来、南アジア諸国で断続的に流行を繰り返している。2015年、WHOは優先的に研究開発を推進すべき感染症としてNiVを「重点疾患リスト²」に加えた[2]。

本節ではNiV感染症の小史 (Table 3.1.1), 論文からみたNiV感染症研究を概観し、NiVワクチンの最近の動向について紹介する。

3.1.1 ニパウイルス感染症小史

マレーシア北部の養豚場に相次ぐ急性脳炎

1997年、マレーシア北部のペラ州³において、養豚場労働者の間に急性脳炎が流行、1人の死者が出た。翌1998年9月、再び同州の首都イポー市⁴で養豚業者の間で急性脳炎患者の発生があり、1999年2月までに265件の急性脳炎が発生し105人が死亡した (致死率39.6%)。マレーシア政府は100万頭超のブタ (マレーシア国内の約45%) を殺処分、800か所以上の養豚場 (マレーシア全養豚場の約48%) を閉鎖、1999年5月末、流行はようやく終息した[3]。

日本脳炎ウイルスではなかった

当初、日本脳炎ウイルスによるものと考えられたが、疫学的な所見⁵から別のウイルスである可能性が疑われた[4]。1999年3月1日、発生地に近いセレンバン病院からマラヤ大に届けられた患者の血清と髄液から**チュア・コー・ビン** (Chua Kaw Bing; 写真) らがウイルス分離に成功した。血清学的に調べてみると、このウイルスは日本脳炎ウイルスをはじめとする数種のウイルスとは異なっていることが分かった。米・CDC (疾病管理予防センター) ウイルス・リケッチャ病部門にウイルスを持ち込み調べた結果、ヘンドラウイルス⁶と性状が類似していることが判明した。「エンベロープを有しウイルス粒態が多様」「ウイ

ルス粒子表面に15~18nmの突起を伴う二重構造をもつ」「細胞・動物種の宿主域が広い」「ウイルスタンパクが遺伝子レベルで70.5~88.5%の相同性」といった共通性が認められ、一時は「ヘンドラ様ウイルス」と呼ばれていた⁷[5]。しかし、上述のようにHeVとは分子配列が異なることから、同年の4月10日、この発生地点ニパ村⁸にちなみ「ニパウイルス」と命名された[6-7]。その後、2002年の分類委員会でNiVとHeVからなるヘニパウイルス属 (Henipavirus) が新設された。また、2022年にヘンドラウイルス (Henipavirus hendraense)、ニパウイルス (Henipavirus nipahense) が正式名称となった。

日本脳炎

フラビウイルス科に属する日本脳炎ウイルス (JEV) によって引き起こされるウイルス感染症。JEVはブタの体内で増殖し、蚊を介してブタからブタにウイルスが伝播する (ブタ→蚊→ブタ)。一方、ヒトの場合は、ブタから感染した蚊に刺されて感染する (ブタ→蚊→ヒト)。日本を初め多くのアジア諸国に生息しているコガタイアカイエカ (コガタイエカ) が主なウイルス媒介蚊 [8]。

オオコウモリがNiVの自然宿主

流行が終息した後、大規模な野生動物の調査による伝播経路の究明が行われ、原因ウイルスの自然宿主がオオコウモリ⁹であることが明らかになった。ここにおいて、マレー半島のケースでは、まずオオコウモリからブタにウイルスが伝播し、次にブタで増幅されたウイルスがヒトに伝播したという経路が推測された[3]。

インドとバングラデシュで断続発生するアウトブレイク

2001年以降、インドとバングラデシュでも断続的にNiV感染症が発生している (Fig. 3.1.1)。インドでは、2001年に西ベンガル州シリグリで最初のNiV感染症が発生、以降も2007年 (西ベンガル州ナディア地区)、2018年 (ケララ州コジコード地区)、2019年 (ケララ州コチ地区)、2021年と2023年 (ケララ州コジコード地区) と6回のアウトブレイクが発生した[9]。それぞれ高い致死率を記録したが、特に2018年にケララ州で発生したアウトブレイクでは致死率が91%にも達した。バングラデシュにおいても2001年、2003年、2004年と発生が相次ぎ、2004年1~4月の発生では57人の感染者のうち死者は43人で、高い致死率 (75%) となった。2016年以降は報告数が比較的少なかったが、2023年1~2月中旬に8人の死亡者を含む11人の患者 (症例致死率73%) が報告された[9]。このほか、シンガポール、フィリピンなどでも流行が認められた (Table 3.1.2)。

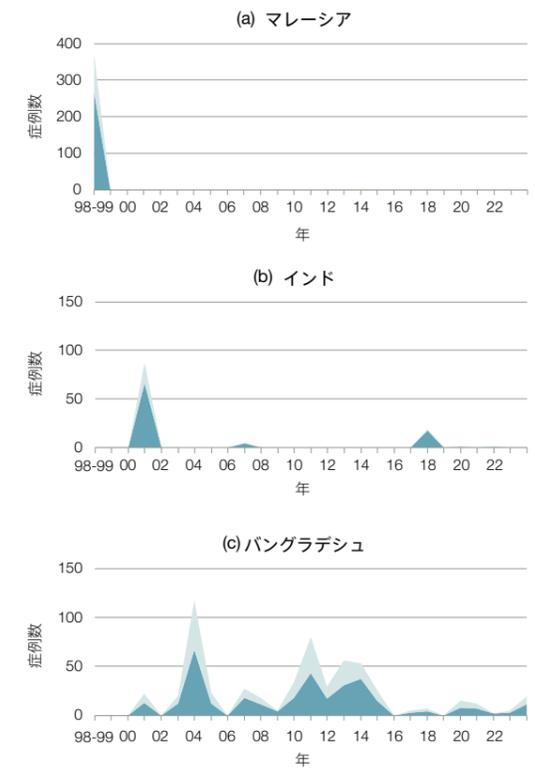


Fig. 3.1.1 NiV感染症の症例数 (淡青) および死者数 (濃青) [10]

Table 3.1.2 各国の症例数・死亡者数 [10-11] (添字 M: マレーシア株, I: インド株, B: バングラデシュ株)

国	対象年	症例	死亡	致死率	株
					NiV _M NiV _I NiV _B
マレーシア	1998-1999	265	105	39.6%	●
シンガポール	1998-1999	11	1	9.1%	●
インド	2001-2021	90	68	75.6%	● ●
バングラデシュ	2001-2023	336	239	71.1%	● ●
フィリピン	2014	17	9	52.9%	● ● ●

⁶ Hendra virus; HeV. 1994年に豪・ブリスベン近郊のヘンドラ (Hendra) において発生。自然宿主のオオコウモリの尿などで汚染された牧草を介してウマに感染、さらにヒトにも感染する。

⁷ ウイルスの分離から遺伝子解析による同定まで17日間であった [5]。

⁸ Kampung Nipah. マレーシアペラ州に位置する。

⁹ 俗称フルーツバット。主食は昆虫ではなく果実。

ブタを介さず...マレーシアと異なる伝染経路

インドとバングラデシュでは、ブタ (および他の哺乳類) に感染流行が認められず、オオコウモリ→ヒト、あるいはヒト→ヒトで直接伝播した可能性が指摘された [3, 11] (Fig. 3.1.2)。実際、オオコウモリの尿や食べ残した果実片からこのウイルスが分離された。また、バングラ

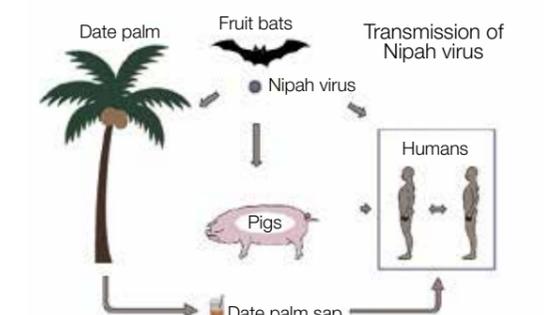


Fig. 3.1.2 NiV伝染経路 [12]

¹ 元々は同年8月にサイエンス誌に掲載された記事

² Blueprint list of priority diseases. 2024年6月時点でWHOは重点疾患として以下を挙げている。「COVID-19」「クリミア・コンゴ出血熱」「エボラウイルス病」「マールブルグウイルス病」「ラッサ熱」「MERS/SARS」「ニパウイルス病とヘニパウイルス病」「リフトバレー熱」「ジカ熱」「Disease X」。WHOは、必要性や方法論の変更に応じ、このリストを随時更新している。

³ Perak. 人口ではサワラク州に次ぐ第2の州。

⁴ Ipoh. 人口ではクアラルンプール、スパンジャヤに次ぐ第3の都市。

⁵ 日本脳炎ワクチン既接種者からも患者が発生していること、養豚場の豚に呼吸器・神経系の症状を示す死亡例があることなど



チュア・コー・ビン (マラヤ大)

¹⁰ Date palm sap. 毎朝習慣的に飲むほどバングラデシュ全土でナツメヤシジュースは愛飲される。

¹¹ 2016年以降、バングラデシュでの報告数が減少した背景に、バングラデシュ保健省による啓蒙活動（生のナツメヤシジュースの摂取を控える）の効果を指摘する向きもある。ただ完全に終息した訳ではなく、2024年1～2月にはダッカ管区からNiV感染症例が2件報告された（両症例とも死亡）[13]。

¹² Langya henipavirus (LayV)

¹³ The New England Journal of Medicine, 略称: N Engl J Med または NEJM.

¹⁴ 2024年6月時点で同ウイルスによる死者は報告されていない。

¹⁵ マレーシアではヒトのサンプル検査はマラヤ大医学部、ブタはイポーにある獣医学研究所 (Veterinary Research Institute; VRI) が担当している [19]。



ヒューム・フィールド (クイーンズランド第一次産業省・動物研究所)

¹⁶ フィールドは、NiV以外にも、ヘンドラウイルス、オーストラリアンコウモリリッサウイルス、SARSコロナウイルス、レストンエボラウイルスの自然宿主がコウモリであることを特定した [21]。



ステファン・ルビー (ICDDR, B)

デシュのNiV脳炎初症例は、ナツメヤシジュース¹⁰を飲んだ後に発熱したというものである。WHOのホームページでは、バングラデシュでのNiV感染発生には季節性(12～4月)があり、ナツメヤシの樹液の収穫と消費時期に合致していることが指摘されている¹¹[9]。

中国で新種「狼牙ヘニパウイルス」

2018～2021年にかけ、山東省と河南省の病院で、発熱などの症状がある患者35人からヘニパウイルスが検出された。2022年8月、中国東部(山東省・河南省)で動物由来の新種ヘニパウイルス「ランヤウイルス¹²」についての報告がニューイングランド・ジャーナル・オブ・メディスン¹³ (NEJM) 誌に掲載された。このウイルスの自然宿主はトガリネズミと見られている¹⁴[14-16]。

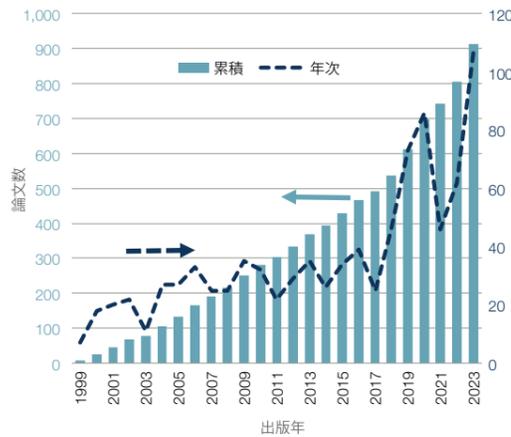


Fig. 3.1.3 ニパ論文数(年次・累積) Scopus 2024.2.4

オオコウモリは日本にも生息する

昆虫を主食としているコウモリ類に対して、オオコウモリは花蜜や果実を主食とし「フルーツコウモリ」とも呼ばれる。主に熱帯地域に生息しているオオコウモリであるが、実は日本でも小笠原諸島と琉球列島に生息している。中でも小笠原諸島に生息しているオガサワラオオコウモリ (*Pteropus pselaphon*) は現在200～300匹ほどしかいないとされており、絶滅の危機が心配されている[17]。エラブオオコウモリ (*P. d. dasymallus*) は、鹿児島県の口永良部島、宝島、中之島、平島、悪石島に分布し、琉球列島に広く分布するクビワオオコウモリ (*P. dasymallus*) とは亜種の関係とされる。エラブオオコウモリの生息域は世界のオオコウモリ分布とからするとかなり北方にあたる[18]。このエラブオオコウモリと大東列島亜種のダイトオオコウモリは、学術的にも貴重であるとして、それぞれ1975年と1973年に国の天然記念物に指定された。

3.1.2 論文から見た「ニパウイルス」

タイトルに“Nipah”を含む論文(ニパ論文)は1999年の初出から922報に累積した(Fig. 3.1.3)。

被引用数上位30報および責任著者が日本機関所属の論文をTable 3.1.3(次頁)に示す。総じて、**マラヤ大¹⁵、バングラデシュ国際下痢性疾患研究センター(ICDDR, B)、印・ウイルス研究所**など感染被害が甚大な国々の中核研究機関が目立つ。

また、日本著者としては**東大医科研・甲斐知恵子**らの複数論文が比較的多く引用されている。

新興ウイルスを分離・解析

被引用数上位に責任著者がマラヤ大の論文が4報位置するが、うち2報の責任著者が**チュア・コー・ビン**だ(他の2報でも共著者)。先述の通り、チュアらは、初期に死亡した3人の髄液から分離したウイルスがいずれもヘンドラウイルス抗原に対するIgM抗体をもっていることを確認した。米・CDCで解析した結果、1994年にオーストラリアにおいて発見されたパラミクソウイルスの新種(ヘンドラウイルス)と性状が類似していた[20]。

NiVの自然宿主はコウモリ

クイーンズランド第一次産業省・動物研究所のヒューム・フィールド (Hume Field; 写真) らはマレーシア半島で収集した14種324匹のコウモリのうち5種からNiVに対する中和抗体を検出、マレーシア半島の広範囲にわたるコウモリ個体群にNiVが感染していることを示唆した¹⁶。

コウモリからヒトへの感染経路

ICDDR, Bのステファン・ルビー (Stephen Luby; 写真) らは、バングラデシュとマレーシアのNiV感染症を比較し、前者ではウイルスを増幅させる動物が介在しないこと(マレーシアではブタが介在)、ヒト→ヒト感染が認められることを指摘した。また、コウモリにより汚染された生のナツメヤシ樹液をヒトが摂取し感染に至ったと推定した。

Table 3.1.3 ニパ論文(被引用数上位および日本人著者) Scopus 2024.2.4

被引用数	内容	掲載誌	著者(責任)
989	ニパウイルス: 新興致死性パラミクソウイルス	Science	2000 Chua Kaw Bing マラヤ大
603	マレーシアの養豚業者の間でニパウイルスによる致死性脳炎が発生	Lancet	1999 Khean Jin Goh マラヤ大
484	マレーシア島のオオコウモリからニパウイルスを分離	Microbes Infect.	2002 Chua Kaw Bing マラヤ大
449	バングラデシュでニパウイルス脳炎が再燃	Emerging Infect. Dis.	2004 Vincent P. Hsu 米・CDC
422	マレーシアの養豚農家におけるニパウイルス脳炎の臨床的特徴	N. Engl. J. Med.	2000 Tan, Chong Tin マラヤ大
408	インド・シリグリにおけるニパウイルス関連脳炎の発生	Emerging Infect. Dis.	2006 Mishra A.C. 印・ウイルス研究所
406	マレーシア半島のコウモリ(翼手目)のニパウイルス感染	Emerging Infect. Dis.	2001 Hume Field クイーンズランド第一次産業省・動物研究所
382	エフリンB2がニパウイルスの侵入受容体	Nature	2005 Benhur Lee UCロサンゼルス校
352	シンガポール食肉処理場労働者の中でニパウイルス感染が発生	Lancet	1999 Nicholas I Paton 米・CDC
342	マレーシアでニパウイルスが発生	J. Clin. Virol.	2003 Chua Kaw Bing マレーシア・国際医療大
341	エフリン-B2リガンドがヘンドラウイルス/ニパウイルスの機能的受容体	PNAS	2005 Christopher C Broder 米軍医保健科学大
340	バングラデシュにおけるニパウイルス食中毒	Emerging Infect. Dis.	2006 Luby, Stephen P. ICDDR,B(バングラデシュ国際下痢性疾患研究C)
337	バングラデシュにおけるニパウイルスのヒト-ヒト感染	Emerging Infect. Dis.	2007 Emily S Gurley ICDDR,B(バングラデシュ国際下痢性疾患研究C)
326	ニューカッスル病ウイルス (NDV) ベースのアッセイはNDV V タンパク質およびニパウイルスV,W,Cタンパク質に対するインターフェロン拮抗活性を裏証	J. Virol.	2003 Christopher F. Basler マウントサイナイ医科大
314	ヘンドラウイルスとニパウイルス: 相違と危険性	Nat. Rev. Microbiol.	2006 Bryan T. Eaton 豪・家畜衛生研究所
307	ニパウイルス感染症: 新興パラミクソウイルス性人獣共通感染症の病理学と発症機序	Am. J. Pathol.	2002 Sherif R Zaki 米・CDC
306	ヘンドラウイルスとニパウイルスの自然史	Microbes Infect.	2001 Hume Field クイーンズランド第一次産業省・動物研究所
287	ニパウイルスのヒト感染伝播	Clin. Infect. Dis.	2009 Luby, Stephen P. ICDDR,B(バングラデシュ国際下痢性疾患研究C)
285	バングラデシュにおけるニパウイルス人獣共通感染(2001～2007年)	Emerging Infect. Dis.	2009 Luby, Stephen P. ICDDR,B(バングラデシュ国際下痢性疾患研究C)
267	ニパウイルスの分子特性解析	Virology	2000 Paul A. Rota 米・CDC
261	カンボジア・ライルオオコウモリのニパウイルス	Emerging Infect. Dis.	2005 Jean-Marc Reynes パスツール研究所
239	パラミクソウイルス/ニパウイルスのヒト感染危険因子	J. Infect. Dis.	2000 Umesh Parashar 米・CDC
238	NiV V タンパク質がIFN応答性転写因子STAT1 または STAT2 のプロテアソーム分解を誘導することでIFNシグナル伝達を回避	J. Virol.	2002 Curt M. Horvath マウントサイナイ医科大
232	ヘンドラウイルスとニパウイルスの分子生物学	Microbes Infect.	2001 Lin-Fa Wang 豪・家畜衛生研究所
227	マレーシア半島の豚のニパウイルス感染	OIE Rev. Sci. et Tech.	2000 Mohd Nor M.N. マレーシア獣医局
223	ニパウイルスの遺伝的キャラクター化: バングラデシュ, 2004	Emerging Infect. Dis.	2005 Paul A. Rota 米・CDC
221	エフリンB3の2つ残基はNiV受容体を代替する	PLOS Pathog.	2006 Benhur Lee UCロサンゼルス校
220	農業の集約化/持続化への準備とニパウイルスの出現	J R Soc Interface	2012 Peter Daszak 米エコヘルスアライアンス
219	フェレット動物実験モデルにおける中和ヒトモノクローナル抗体の治療可能性	PLOS Pathog.	2009 Katharine N. Bossart 豪・家畜衛生研究所 Christopher C Broder 米軍医保健科学大
213	タイにおけるコウモリニパウイルス	Emerging Infect. Dis.	2005 Supaporn Wachara-pluesadee タイ・チュラロンコン王記念病院
85	リバースジェネティックによるクローン化DNAからの複製NiVレスキューシステム確立	PNAS	2006 甲斐 知恵子 東大医科研
72	ニパウイルス非構造タンパク質が感染実験の病原性に重要な役割	PLoS ONE	2010 甲斐 知恵子 東大医科研
71	NiV エンベロープ糖タンパク質を発現する組換え麻疹ウイルス (rMV) ワクチンはアフリカミドリザルにも有効	PLoS ONE	2013 米田 美佐子・甲斐 知恵子 東大医科研
50	緑色蛍光タンパク質を発現する組換え水疱性口内炎ウイルスを用いたNiV 中和抗体測定のための血清中和試験	J. Virol. Methods	2009 加来 義浩 感染研
45	ベトナムのコウモリにおけるニパウイルス感染の血清学的エビデンス	Emerging Infect. Dis.	2012 長谷部 太 長崎大
42	組換えNiV-N タンパク質を抗原とする ELISA システムによる血清診断	J. Clin. Microbiol.	2006 森田 公一 長崎大
38	第2世代偽型ニパウイルス抗体血清中和アッセイ: 分泌型アルカリホスファターゼを利用した高感度ハイスループット分析	J. Virol. Methods	2012 加来 義浩 感染研
31	ニパウイルスヌクレオカプシドタンパク質の新規リタンパク質相互作用領域とウイルス複製への関与	J. Virol.	2010 甲斐 知恵子 東大医科研

NiV の遺伝子解析



ポール・ロタ (CDC)

米・CDCの**ポール・ロタ** (Paul Rota; 写真) はNiV 遺伝子を詳細に系統解析し、ヘンドラウイルスとNiVの分類上の関係を特定した。「ヘンドラウイルスに対する抗体がNiVと交差反応を示すこと」「ヘンドラウイルスとNiVのヌクレオチド配列が75~79%の相同性を示すこと」「Nタンパク間の相同性がアミノ酸配列で89%と高いこと」などから、これら2つのウイルスが新たな属を構成することを提案した。

抗ウイルスタンパクの産生を抑制



カート・ホルヴァート (マウントサイナイ医科大)

一般的に、宿主の細胞がウイルスに感染すると、抗ウイルス作用をもつインターフェロン (IFN) を発現して防御機能を発揮することが知られている [3]。マウントサイナイ医科大の**カート・ホルヴァート** (Curt Horvath; 写真) らは、NiV Vタンパク質がSTAT1¹⁷ およびSTAT2の核移行を直接阻害し、宿主細胞のIFN応答を阻害する機構を明らかにした。

¹⁷ Signal transducer and activator of transcription 1

NiV は EphrinB2/B3 から侵入する



ベンファァー・リー (UCLA)

2005年、カリフォルニア大ロサンゼルス校 (UCLA) の**ベンファァー・リー** (Benhur Lee; 現マウントサイナイ・アイコン医科大; 写真) らは、膜貫通型リガンドであるエフリンB2が融合タンパク質 (NiV-F) と付着タンパク質 (NiV-G) の受容体であることをネイチャー誌に報告した。

同年7月、米軍保健科学大 (USU) の**クリストファァー・ブローダー** (Christopher Broder) らとベンファァー・リーらの2つのグループは、膜貫通型タンパクであるエフリンB2がNiVとHeVのGタンパク (付着タンパク質) の受容体であることをそれぞれ米国科学アカデミー紀要 (PNAS) 誌、ネイチャー誌に報告した。翌2006年、

Table 3.1.4 ニバ論文(国別) Scopus 2024.2.4

(a) 2017-2019		(b) 2000-2002	
論文数	国	論文数	国
48	米国	27	マレーシア
44	インド	23	米国
12	バングラデシュ	20	オーストラリア
10	マレーシア	7	シンガポール
8	カナダ	2	日本
8	フランス	2	英国
⋮			
5	日本		

リーらは、エフリンB3もNiV受容体として機能することをプロス・パソジェン誌に報告した。

インド・バングラデシュの論文が増えた

NiV感染症の発生当初にあたる2000~2002年は、発生地マレーシアの論文が多かった。2017~2019年は米国が最多であるが、インド・バングラデシュの論文も多くなっている (Table 3.1.4)。

2017年以降、質も高いインド論文

そこで、2017年以降に出版された論文で、被引用数上位のニバ論文20報および責任著者が日本機関所属の論文5報をTable 3.1.5 (次頁) に示した。

上位20報中8報の責任著者はインド機関所属 (表中青色帯) であり、論文数もさるものながら、被引用数の多さからも質の高さもうかがえる。

治療薬検討、工学、数学モデルなど 報告内容が多様化

2005年、**感染研・加来義浩**はNiV感染症の研究について「ウイルス発見当初は、流行時の症例報告や疫学的解析、ウイルス学的性状の解明といった研究が主体であった」と指摘した [3]。

Table 3.1.5 からもうかがえるように、レムデシビル・ファビピラビルなど治療薬の検討、光学的な不活化、工学・数学などのモデルによるナノテク診断と報告内容が多様化している。

Table 3.1.5 被引用数上位のニバ論文 (出版年2017年以降) 灰色帯: インドの研究機関 Scopus 2024.2.15

被引用数	内容	掲載誌	著者 (責任)
153	ニパウイルス感染症	<i>J. Clin. Microbiol.</i>	2018 B.S.P. Ang シンガポール・タントックセン病院
146	アフリカミドリザルを用いたNiVに対するレムデシビルの有効性試験	<i>Sci Transl Med.</i>	2019 Emmie de Wit NIH
138	インド・ケララ州におけるニパウイルス病の発生調査 (2018年)	<i>J. Infect. Dis.</i>	2019 G. Arunkumar 印・マニパル高等教育アカデミー
110	ニパウイルス: 疫学/病理学/免疫生物学/診断の/ワクチン設計/制御戦略	<i>Veterinary Quarterly</i>	2019 K. Dhama 印・獣医研究所
99	新興3ウイルス (SARS, クリミア・コンゴ出血熱ウイルス, NiV) を濃縮血小板/血漿中で光学的に不活化	<i>Vox Sanguinis</i>	2020 Axel Seltsam 独・赤十字血液サービス
90	NiV感染のナノベース診断	<i>Nanomedicine</i>	2019 Jayanta Kumar Patra 韓・東国大
86	コウモリにおけるニパウイルスの動態とヒトへの波及への影響	<i>PNAS</i>	2020 J.H. Epstein 米・エコヘルスアライアンス
86	ニパウイルスの新たな傾向: レビュー	<i>Rev. Med. Virol.</i>	2019 S. Kaushik 印・マハーシ・ダヤーナンド大
84	ニパウイルスの伝播 - バングラデシュにおける14年間の調査	<i>N. Engl. J. Med.</i>	2019 Henrik Salje バスツール研
80	ニパウイルスのコードン使用と宿主への適応の解析	<i>Front. Microbiol.</i>	2019 Jayashankar Das Ashok Munjal 印・グジャラートバイオテック C パーカチュラー大
75	ファビピラビルがニパウイルスに対して強力な抗ウイルス活性 (ハムスターモデル)	<i>Sci. Rep.</i>	2018 Alexander N. Freiberg テキサス大医学部
66	NiV感染ダイナミクスのモデリング: 分次アプローチ	<i>Physica A</i>	2020 P. Agarwal 印・アーナンド国際工科大
65	ニパウイルス感染症: レビュー	<i>Epidemiol. Infect.</i>	2019 M. Shariff 印・パテル胸部医学研究所
62	ニパウイルス: 過去の発生と今後の封じ込め	<i>Viruses</i>	2020 M.V. Veetil 印・コーチン科技大
62	ニパウイルス: 人獣共通感染症パラミクソウイルスの伝播	<i>Curr Opin Virol</i>	2017 Clayton B.A. 豪・家畜衛生研究所
59	機械学習を用いたインドにおけるニパウイルス波及リスク評価	<i>PLoS Negl Trop Dis</i>	2019 R.K. Plowright モンタナ州大
59	バングラデシュのニパウイルス感染における人間/コウモリ/樹木/文化の融合	<i>Emerging Infect. Dis.</i>	2017 Emily Gurley ジョンズ・ホプキンス公衆衛生大学院
49	NiV-G, F, Mタンパク質から構成される哺乳動物細胞由来の天然NiVLP	<i>npj Vaccines</i>	2017 Michael Holbrook 米・国立アレルギー・感染症研究所
47	計算免疫学に基づいたマルチエピトープ サブユニットワクチンの設計	<i>ACS Omega</i>	2019 V.K. Prajapati 印・ラジャスタン中央大
46	HeVとNiVにおけるWタンパク質の核内移行特異性の構造的根拠	<i>Nat. Commun.</i>	2018 Jade K. Forwood 豪・チャールズ・スタート大
⋮			
25	NiVおよびHeVの核タンパク質は複合体形成を妨害してシグナルトランスデューサーおよびSTAT1/STAT2の核内蓄積を阻害する	<i>J. Virol.</i>	2017 甲斐 知恵子 東大医科研
24	RIG-I 様受容体シグナル伝達の負の制御因子であるUBX1ドメイン含有タンパク質1 (UBXN1) をNiVと相互作用する宿主タンパク質として同定	<i>Sci. Rep.</i>	2018 米田 美佐子 東大医科研
⋮			
8	NiVゲノムの3'非コード領域内に存在する遺伝子末端のような配列はウイルスのRNAポリメラーゼによって弱い転写終結シグナルとして認識されウイルス遺伝子の転写を弱める	<i>Virology</i>	2017 甲斐 知恵子 東大医科研
7	血清サンプル中のニパウイルスの効果的な不活化	<i>Virol. J.</i>	2020 渡辺 俊平 岡山理大, 感染研 下島 昌幸 感染研 西條 政幸 感染研
⋮			
3	組換え核タンパク質を発現するHeLa細胞を用いてNiVに対するIgM抗体を検出する免疫蛍光アッセイ	<i>J. Virol. Methods</i>	2019 加来 義浩 感染研

3.1.3 NiV ワクチン

NiV ワクチンとして、これまで主にG, Fタンパクを目的抗原としたサブユニットワクチンやDNA ワクチン、組換えウイルスワクチン (ワクチニアウイルス、カナリア痘ウイルスなどをウイルスベクターとしたもの) が報告されている [8, 22]。まだ実用化されたワクチンはないが、2020年には、豪・プリンセスアレクサンドリア病院などのグループが、ヒトモノクローナル抗体m102.4の第I相臨床試験の結果を報告した [23]。

2022年に米・モデルナ社などが共同開発したmRNA ワクチン、2024年1月にはオックスフォード大が開発したChAdOx1 NipahB ワクチンの臨床第I相試験開始がそれぞれ報じられた。日本では東大医科研の甲斐, 米田 (現在は東大生研) らが開発したNiV ワクチンの研究開発が進められている。

NiV ワクチン mRNA-1215

2022年7月、米・国立アレルギー・感染症研究所 (NIAID) は、NIAID ワクチン研究所 (NIAIDVRC) と米・モデルナ社が共同開発したNiV感染症ワクチン (mRNA-1215) の臨床第I相試験開始を発表した。この試験では、18~60歳の健常な成人40例を対象に、用量を漸増した条件での、安全性、忍容性、免疫原性を評価した [24]。

ChAdOx1 NipahB ワクチン

NiV感染症の発生から25年経った2024年1月、オックスフォード大は、NiV感染症ワクチン (ChAdOx1 NipahB ワクチン) のヒトへの臨床試験開始を発表した。この試験はオックスフォードワクチングループが主導

¹⁸ Coalition for Epidemic Preparedness Innovations: 感染症流行対策イノベーション連合、(発音は“seppy”)。ワクチン開発を行う製薬企業・研究機関に資金を拠出する国際基金で2017年1月にダボス会議で発足。日本、ノルウェー、ドイツ、英国、EU、オーストリア、カナダ、ベルギーに加え、ビル&メリンダ・ゲイツ財団やウェルカム・トラストなどが拠出している。

¹⁹ Chimpanzee Adenovirus とOxfordを組み合わせた造語で日本語では「チャドックス」と読まれる。



甲斐 知恵子 (東大医科研)



米田 美佐子 (東大医科研)

し、CEPI¹⁸の資金提供を受けている。

サルアデノウイルスベクターChAdOx1¹⁹は、オックスフォード大ジェンナー研究所が開発したアデノウイルスワクチンベクターである。2019年、NiVB 糖タンパク質 (ChAdOx1-NiVG) を組み込むことに成功し、ハムスター試験によりNiVワクチンとしての有効性を確認した [25]。

なお、SARS-CoV-2 に対して開発されたChAdOx1 nCoV-19は、AZD1222, VaxzevriaあるいはCovishieldとしても知られ、25億回分を超えるChAdOx1 nCoV-19 ワクチンが日本を含む170カ国以上に配布された [26]。

References

[1] <https://www.nikkei-science.com/page/magazine/9911/virus.html>
 [2] <https://globalbiodefense.com/2018/02/12/who-updates-blueprint-list-of-priority-diseases/>
 [3] 加来義浩, モダンメディア, 51, 10, 257, 2005
 [4] <https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/447-nipah-intro.html>
 [5] <https://primate.or.jp/forum/人獣共通感染症連続講座-第97回-ニパウイルス/>
 [6] 小澤義博, ニパ(Nipah)ウイルス感染症について (第一報), 日本獣医学会 62, 12, 121, 2000
 [7] <https://www.primare.or.jp/old/PF/yamanouchi/74.html>
 [8] <https://www.forth.go.jp/moreinfo/topics/name46.html#:~:text=日本脳炎は、フラビウイルス、の直接感染はありません。>
 [9] https://www.forth.go.jp/topics/2023/20230224_00001.html
 [10] Gayatri Mishra et al., Immunology, 171, 155, 2024
 [11] 白井淳資, 日本獣医師会雑誌, 60, 9, 2007
 [12] <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON508>
 [13] https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/jkkendoubutsu/cepi-project_ja.html
 [14] Zhang, X.a. et al., N. Engl. J. Med., 387, 470, 2022

NiV の抗原をもつ組換え麻疹ウイルスワクチン

2006年、東大医科研の甲斐知恵子 (写真上)、米田美佐子 (写真下) らは、NiV について遺伝子からRNA ウイルスを作成するリバースジェネティクス法を樹立、さらに2013年、同様の方法を用いてNiVの抗原をもつ組換え麻疹ウイルスワクチン (MV-NiV) を作出することに成功した。MV-NiVを投与したハムスターやサルに致死量のNiVを接種しても発症せず、このワクチンが完全な生体防御脳を付与することを示した [13, 22]。2019年にはCEPIによる支援が決定したが、これは日本の研究機関としては初めての事例である [27]。

[15] Mallapaty, S., Nature, 608, 656, 2022
 [16] <https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/2607-related-articles/related-articles-516/11813-516r02.html>
 [17] https://petpedia.net/article/588/fruit_bat
 [18] <https://www.2r.biglobe.ne.jp/~fruitbat/japanese/fruitbat.htm>
 [19] https://www.jsvetsci.jp/05_byouki/prion/pf82.html
 [20] <https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/447-nipah-intro.html>
 [21] <https://www.ecohealthalliance.org/personnel/dr-hume-field>
 [22] 米田美佐子, ウイルス, 64, 1, 105, 2014
 [23] Playford EG et al., Lancet Infect Dis., 20, 4, 445, 2020
 [24] <https://investors.modernatx.com/news/news-details/2022/Moderna-Announces-First-Participant-Dosed-in-a-Phase-1-Trial-of-its-Nipah-Virus-mRNA-Vaccine-mRNA-1215/default.aspx>
 [25] van Doremalen, N., et al., PLoS Negl Trop Dis., 13, 6, e0007462, 2019
 [26] <https://www.ox.ac.uk/news/2024-01-11-first-human-vaccine-trial-deadly-nipah-virus-launched>
 [27] https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/ja/press/z0201_00059.html#

3.2 エンテロウイルス感染症

—夏風邪はなかなか老に重かりき—

晩年の高浜虚子が「老いた者にとって夏風邪は重い」と詠んだ裏には「若い人には夏風邪は軽い」という前提があったのかもしれない。夏風邪の代表のひとつが「手足口病」。英語でもHand, Foot, and Mouth Disease (HFMD)。その名の通り、「手」「足」「口」に発疹や水疱ができる急性ウイルス感染症だ。

多くは自然治癒するので虚子の理解はあながち間違っていない。しかし、手足口病にも中枢神経系の合併症や心肺合併症などにより重症化あるいは死亡する例

もある。特にエンテロウイルス71型 (EV-A71) によって重症化する恐れがある [1]。

21世紀になっても、アジア太平洋地域でEV-A71のアウトブレイクが周期的に発生しており、その度に主に乳幼児が数百人から数千人死亡している。

手足口病

手足口病は、1957年にニュージーランドにおいて、初めて記録された。その後、カナダのトロントで患者からCV-A16が分離されて以来、新しい疾患として注目され、1960～1964年に英国、米国、ニュージーランドで局所的に流行した。日本各地でも1960年代から流行の報告が相次いだ。

3.2.1 エンテロウイルス

エンテロウイルス (EV) は一般的に感染者の粘膜や腸管で増殖するウイルスである¹[2]。ピコルナウイルス科²に分類され、主に腸管で増殖する小型RNAウイルスである (Fig. 3.2.1) [3]。

エンテロウイルス属は、エンテロウイルスA群からL群までの12種類とライノウイルスA群からC群までの3種類に細分化される。エンテロウイルスA群には手足口病の主な原因ウイルスであるエンテロウイルス71型 (EV-A71)、コクサッキーウイルスA16型 (CV-A16) などが、エンテロウイルスB群には心筋炎を引き起こすコクサッキーウイルスBが、エンテロウイルスC群にはポリオウイルスがそれぞれ含まれる。ポリオウイルスが引き起こすポリオ (急性灰白髄炎) は、日本では1960年に5,000人を超える大流行に見舞われたが生ポリオワクチンの導入により終息した。

本節では、手足口病など近年も流行した感染症の原因となったエンテロウイルスにフォーカスして概観する。

エンテロウイルスA71 (EV-A71)

時として重篤な中枢神経合併症を起こすことが知られているEV-A71は1969年、カリフォルニア州の無菌性髄膜炎や脳炎を発症した患者から新たなエンテロウイル

スとして分離された [4]。EV-A71はエンベロープをもたない正20面体の粒子 (粒径約30nm) である (Fig.3.2.2 右)。この正20面体構造は、4種類のカプシドタンパク質 (VP1, VP2, VP3, VP4) が規則的に組み合わされている。このうち、感染抑制に必要な抗原決定基がVP1を中心とした立体構造中に存在すると報告されている [5]。このウイルス粒子に一本鎖プラス鎖RNAが内包されている (Fig.3.2.2左)。

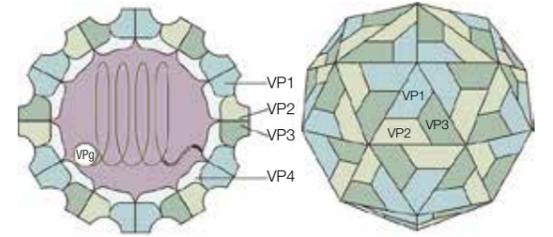
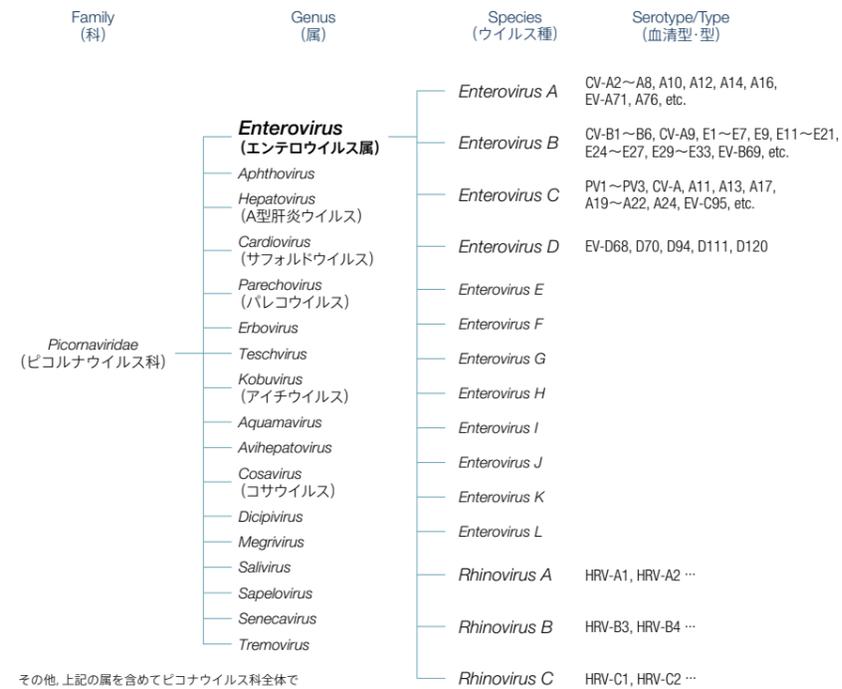


Fig .3.2.2 EV-A71の構造 [5]

EV-A71分離株は、VP1遺伝子の分子系統解析により少なくとも8つの遺伝子型 (A～H) に分類できる。遺伝子型BおよびCは、東アジアにおける分離の頻度と疾患への関与のため、最も関心が高く、それぞれ5つのサブ遺伝子型 (C1～C5およびB1～B5) に分類できる。C4が中国で流通している主要な遺伝子型であり、B4, B5, C5は他のアジア諸国で見られる。C1, C2は、欧州で主に見られる。

¹ “entero” は腸を意味する。

² ピコルナ=ピコ (pico) +ルナ (rna)。「小さいRNA」を意味する。これまでに200以上の血清型が異なるウイルスが同定されている



その他、上記の属を含めてピコルナウイルス科全体で68属が報告されている (2023年10月時点)

Fig .3.2.1 エンテロウイルスの分類

3.2.2 エンテロウイルス感染症小史

エンテロウイルスは全世界で流行し多くの死者を伴っている (Table 3.2.1)。エンテロウイルスにより引き起こされる疾患には手足口病、無菌性髄膜炎、脳炎・脊髄炎などが見られ、EV-A71、EV-D68などが関与している (Table 3.2.2)。

EV-A71 感染

1970年代, 東欧で流行

1975年, **ブルガリア**で乳幼児を中心としたEV-A71感染が集団発生した, 多くの病巣からEV-A71が分離されたという[6]。この時は手足口病を伴わないポリオ様疾患が多発し, 延髄型68例(死亡44例), ポリオ様麻痺52例, 無菌性髄膜炎545例が報告された。1978年にはハンガリーでのアウトブレイクが発生し, 死者は47人に上った。

Table 3.2.1 エンテロウイルス感染症小史

年	動向
1962	エンテロウイルスD68型(EV-D68)発見
1969	米カリフォルニアで神経疾患の症例からエンテロウイルス71(EV-A71)分離
1970年代	東欧でEV-A71によるポリオ様疾患の流行
1990年代後半	東アジアでEV-A71による小児の急性死症例が多発
1997	1997年4~7月, マレーシアのボルネオ島サラワク州にて手足口病の流行. 34人の乳幼児が死亡
1998	台湾でEV-A71感染症が流行. 78人が死亡
2000	日本で脳炎を伴うEV-A71による手足口病のアウトブレイクが発生(死亡例を含む)
2008	シンガポールでEV-A71が関与する手足口病のアウトブレイクが発生. 29,686人が発症. うち4人が脳炎, 1人が死亡
2008-2012	中国本土でEV-A71大流行. 同期間中に約720万件の手足口病症例が報告. うち, 82,484件で重症化(約1.1%), 2,457件で死亡(約0.03%)
2011-2012	ベトナム南部を中心に11万人以上の手足口病患者が報告. うち, 170人が死亡
2013	豪シドニーでEV-A71アウトブレイクが発生. 61件のエンテロウイルス陽性中枢神経症例が報告. うち, 4人が死亡
2014	米国でEV-D68感染症アウトブレイクが発生

Table 3.2.2 エンテロウイルスの関与する病態と血清型 [3]

疾患	EV68	EV70	EV71
急性熱性疾患			●
神経系疾患	無菌性髄膜炎		●
	脳炎・脊髄炎	●	●
その他	急性出血性結膜炎	●	
	閉塞性下気道炎	●	

1990年代後半から東アジアで大規模流行

1990年代後半からは東アジアで大規模なEV-A71の流行があった。1997年4~7月にかけて**マレーシア**のボルネオ島サラワク州にて手足口病が流行し34人の乳幼児が死亡した[1]。1998年, **台湾**での流行では12.9万もの人々に手足口病およびヘルパンギーナが発症した。重症患者405人で, うち78人が死亡した。死者のうちの71人(91%)は5歳以下の小児であった[7]。

日本でも1997年に大阪で死亡例が3件相次いだ。2000年以降は, 3~4年ごとにEV-A71による手足口病のアウトブレイクがみられ, 2000, 2003, 2006, 2010, 2013年にEV-A71が多く検出されたが, 翌年以降, 大がかりなアウトブレイクは認められなかった(2017年にはEV-A71が少数検出された[8])。

2008年以降, 中国本土で流行

中国では, 2008年以降, 多くの死亡例を伴う大規模な重症手足口病流行が発生している。2008~2012年の約5年間で 約720万人の手足口病症例が報告され, そのうち, 82,484例が重症(重症化率:約1.1%), 2,457例で死亡(致死率:約0.03%)と報告されている[9]。

2010年代も各地でアウトブレイク ベトナム, カンボジア, 豪

ベトナムでは, 2011~2012年に, 多くの重症例・死亡例を伴う大規模な手足口病アウトブレイクが発生した。2011年には南部ベトナムを中心に11万人以上の手足口病患者が報告され, そのうち170人が死亡した。2012年4~7月に**カンボジア**で生じたEV-A71の流行では, 78人の小児が感染し, そのうち54人が死亡した。

日本人が発見した EV-D70

1960年代の終わりに突如, 急性出血性結膜炎(AHC*)が大流行した。遺伝学的, 血清学的に全く異なる2つの型であるエンテロウイルス70(EV-D70)とコクサッキーウイルスA24変異株(CA24v)によって引き起こされた。EV-D70による流行が起きたのは, 時あたかもアポロ11号の月面着陸に世界が沸きあがった1969年, ガーナの首都アクラでのこの大流行に, この地域では「アポロ病」と呼ばれたそうである。

EV-D70は1971年, **国立予防衛生研究所**(当時)・**甲野禮作**らが北海道で発見・分離した株が標準株になっている。1980~1981年には2度目の大流行が報じられ, 西半球にも伝播した。一方, CA24vも1970年に東南アジアで流行していたAHC患者から分離された。この地域では以後約5年の周期でCA24vによる流行が断続した。

* Acute haemorrhagic conjunctivitis

2013年, **豪**におけるEV-A71アウトブレイクでは, エンテロウイルス陽性中枢神経症61人のうち4人の死亡例が報告されている。

その他の感染 (EV-D68, E-11)

2014年, 米国でエンテロウイルスD68(EV-D68)流行

エンテロウイルスD68(EV-D68)は1962年にカリフォルニア州で初めて検出されたが, その後, 世界的な流行はしばらくなかった。2014年の夏, 突如としてこのウイルスによる重症呼吸器疾患の報告が相次いだ。神経症状を呈するケースが多く, 急性弛緩性脊髄(AFM), 急性弛緩性まひ(AFP; 突然手足が動かなくなる病気)など重篤な神経疾患も急増した。ここに至り, EV-D68は新たな神経原性エンテロウイルスの可能性として注目を浴びることとなった。全米(49州)で呼吸器疾患を発症してEV-D68が検出された患者は2015年1月15日までに1,153人となり, うち14人が死亡した[10]。

日本では2005~2014年9月に31都府県の272人からEV-D68が検出された。また, 夏から秋にかけて感染者が増加する傾向が見られた。特に2010年と2013年には重症化するケースはまれであったものの, 感染者数は100人を超えた。2015年8月以降, AFPの報告が相次ぎ, 一部の患者からEV-D68が検出された[11]。

2022~2023年, フランスでエコーウイルス11型流行

2023年5月5日, フランスはエンテロウイルス(エコーウイルス³11型(E-11))に関連する重症新生児敗血症例が増加していると報告した。2022年7月~2023年4月に, フランス3地域の4病院から, 肝機能障害と多臓器不全を伴う新生児敗血症が9例報告された。2023年5月5日時点で, 7人が死亡した[12]。

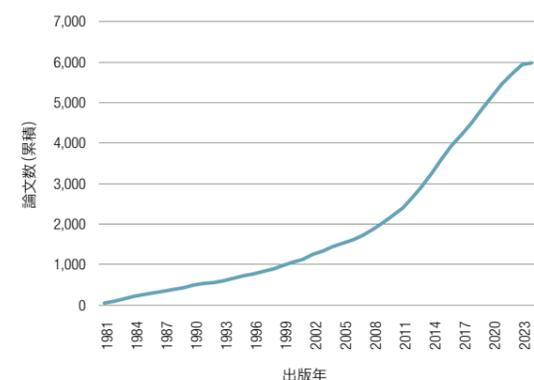


Fig. 3.2.3 エンテロウイルス論文数(累積) Scopus 2024.3.19

3.2.3 論文からみたエンテロウイルス研究

“Enterovirus”をタイトルに含む論文(エンテロウイルス論文)の出版数(1981年以降, 累積)をFig. 3.2.3に示す。2024年3月時点で累計6,000報に迫る(5,993報)。国別では, 中国(1,509報), 米国(1,038報), 台湾(500報), フランス(351報), 英国(338報), 日本(278報)・・・の順となる(整数カウント)。

これらの国々について, 1994~1996年, 1999~2001年, 2004~2006年, 2009~2011年, 2014~2016年, 2019~2021年における論文数の推移をみた(Fig.3.2.4)。最も特徴的なのが中国で, 2004~2006年までは他5か国に比べ論文数は甚だ少ないものであったが, 2009~2011年から急増し, 2014~2016年には米国を大きく上回った。

そこで, 中・米・台・日の累積論文数を出版年ごとに比較したのがFig.3.2.5である。台湾が1998年頃, 中国が2008年頃から急増し始めているが, これらはちょうどアウトブレイクの時期と一致している。台湾が2010年

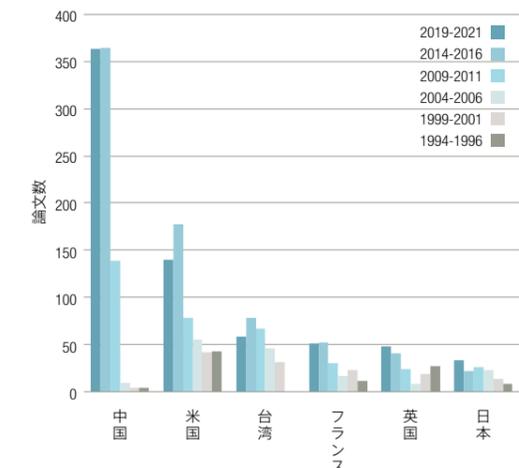


Fig. 3.2.4 エンテロウイルス論文数(国別) Scopus 2024.3.19

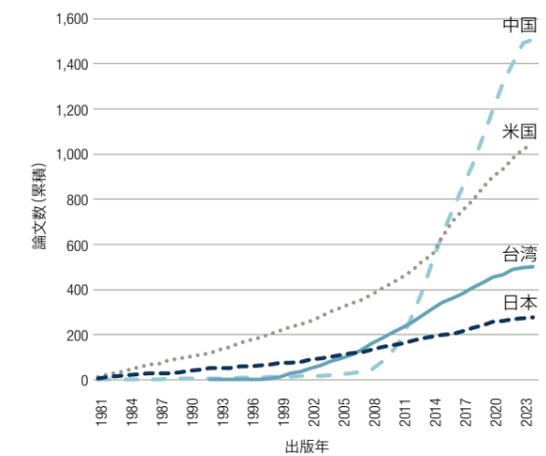


Fig. 3.2.5 エンテロウイルス論文数(国別・累積) Scopus 2024.3.19

³ enteric cytopathogenic human orphan virus の頭文字をとってエコー(ECHO)ウイルスと名付けられた。



小池 智
(都医学研)



清水 博之
(感染研)

⁴ human Scavenger receptor class B2

⁵ P-selectin glycoprotein ligand-1. 主に白血球表面に発現するシアロムチンファミリータンパク質で、セレクトリンやケモカインとの結合により初期炎症反応で重要な機能を果たす。



片山 浩之
(東大)

⁶ ヒト白血病T細胞由来の細胞株。抗がん剤や放射線に対する感受性の差異のメカニズム解明に用いられる。

水中のウイルスを検出

水中にウイルスが存在する可能性は古くから知られてきた。特に腸管系ウイルスは水環境におけるウイルスの主たる対象となる[16]。通常、水環境中のウイルスは感染者由来の試料に比べて非常に低濃度であるため、ウイルスを濃縮して検出精度を高める必要がある。近年、この濃縮技術の改良と水中のウイルスゲノムを増幅して検出するPCR法の導入により環境水中からRNAウイルスを検出する研究が盛んになった。

これらの研究に基づいて開発された検出方法は地域の集団感染を察知する手段としても期待されている。北大(現・東大)・北島正章らは、東京2020オリンピック・パラリンピック選手村の下水中に存在する新型コロナウイルスRNA量と陽性確定者数との間に正の相関があることを示した。また個人検査による陽性者発見の2日前に、すでに下水中ウイルスRNA量が増加していたことを示唆した[17-18]。

水中からエンテロウイルスを検出

ウイルス濃縮法の主流となってきた陽電荷膜法は、陰電荷を帯びたウイルスを膜に吸着させ少量のビーフエキス溶液で誘出することによって濃縮する。このビーフエキス溶液は再濃縮後にPCR法によるウイルス検出を阻害してしまうという問題がある。これまで様々な改良が試みられたが、操作の煩雑さもPCR阻害作用は払拭しきれなかった[16, 19-20]。

東大・片山浩之(写真)らは、希硫酸による酸洗浄工程を伴う陰電荷膜濃縮法を新たに開発した。陰電荷膜でウイルス濃縮する場合、誘出液は通常アルカリ性である。このため、ろ過原液中で陰イオンを帯びたウイルス粒子が陽イオン-ウイルス粒子複合体を形成した状態で陰電荷膜に吸着していると考えられる。そこで、あらかじめ誘出工程前に酸洗浄を行うことで陽イオンを誘出し陽イオン-ウイルス粒子複合体を分解する。次にアルカリ(水酸化ナトリウム水溶液)でウイルスを再び負に帯電させることで陰電荷膜から誘出させるという手法を構築した。この新たなウイルス濃縮法を用いることで、ビーフエキスを誘生することなく、夏季のレジャー海岸から汲み上げた海水2リットルから感染性エンテロウイルスを検出した[21]。

分子的基盤や予防治療法の研究にとっても重要である。

EV-A71の受容体については、都医学研・小池智(写真上)らがhSCARB2⁴を、感染研・清水博之(写真下)、西村順裕らがPSGL-1⁵を同定し、それぞれ2009年に報告した(Table 3.2.4)。

Table 3.2.4 主なEV-A71レセプター分子

レセプター分子	主な発現部位	研究者	発表年
hSCARB2	あらゆる組織主にリソソーム	都医学研・小池 智	Nat. Med., 2009
PSGL-1	白血球, 細胞表面	感染研・清水 博之, 西村 順裕	Nat. Med., 2009

hSCARB2

都医学研・小池智らは、EV-A71の感染受容体同定のため、低感受性であるマウス由来L929細胞にゲノムDNAを導入してクローニングを行い、EV-A71ウイルス感受性の付与を確認した(EV-A71感染を指標にした)。感受性付与実験、感染阻害実験、ウイルス結合実験などの結果、hSCARB2がEV-A71の感染受容体であることを示した[13]。

hSCARB2はヒトの全身で発現する細胞内タンパク質である。リソソーム近傍に局在するタンパク質をリソソーム内へ輸送する。一部のhSCARB2は細胞膜に存在し、EV-A71やコクサッキーウイルスA7, A14, A16といったエンテロウイルスの受容体となること、EV-A71感染の初期段階で細胞表面でのウイルスの結合、ウイルスの内部移行、脱コーティング開始の仲介など中心的な役割を果たすことを報告した。

PSGL-1

感染研・清水博之らは、PSGL-1(CD162)がJurkat細胞⁶におけるEV-A71の受容体であることを発見した。ヒトT細胞cDNAライブラリーを用いてEV-A71結合分子の発現クローニングを行い、EV-A71がPSGL-1に結合することを報告した[14-15]。

他にも報告されたEV-A71受容体

エンテロウイルスの受容体として報告されているものには、hSCARB2, PSGL-1以外に、Annexin II, シアリル化グリカン, ヘパリン硫酸, Vimentin, Nucleolinなどもある。

のウイルス検出に関する論文である。以下、日本の論文3報について紹介する。

EV-A71の受容体

ウイルスが宿主細胞に感染し増殖するためには、まずウイルスレセプター(受容体)を利用して細胞内に侵入する必要がある。したがって、受容体を同定することは、感染の初期のみならず、感染による病原性発現機構の

頃に日本を上回るまでは米>日>台>中の順であった。中国は2015年には米国を上回り今やエンテロウイルス論文の約4分の1を占めている。

Table 3.2.3に被引用数上位のエンテロウイルス論文30報を示した。エンテロウイルスの中ではEV-A71が特に多い。また、日本の論文が3報(12位, 14位, 25位)あり、うち2報はいずれも2009年に出版された「エンテロウイルスのレセプター」に関する論文、もう1報は水中

Table 3.2.3 エンテロウイルス論文(被引用数上位30報) Scopus 2024.3.10

被引用数	内容	掲載誌	年	著者(責任)	所属機関
1,075	台湾でEV-A71感染症が流行	<i>N Engl J Med</i>	1999	Monto Ho	台・国家衛生研究所
1,074	EV-A71のウイルス学/疫学/病因/制御	<i>Lancet Infect Dis</i>	2010	Solomon, Tom	リバプール大
771	ヒトエンテロウイルスの分子進化:血清型とVP1配列の相関とピコルナウイルス分類への応用	<i>J Virol.</i>	1999	Oberste, M. Steven	米・CDC
696	元の臨床検体から全エンテロウイルス血清型を直接同定するためのVP1配列の高感度セネステットPCR増幅	<i>J Clin Microbiol.</i>	2006	Oberste, M. Steven	米・CDC
675	EV-A71の臨床的特徴・診断・管理	<i>Lancet Neurol</i>	2010	Solomon, Tom	リバプール大
659	エンテロウイルスのサーベイランス - 米国, 1970 ~ 2005年	<i>MMWR. Surveillance summaries</i>	2006	Nino Khetsuriani	米・CDC
658	EV-A71の進化とその臨床的および公衆衛生上の重要性の概要	<i>FEMS Microbiol Rev</i>	2002	Peter C McMinn	テレソン小児健康研究所, プリンセス・マーガレット小児病院
624	EV-A71感染症の小児における神経合併症	<i>N Engl J Med</i>	1999	Huang, CC	台・国立成功大
611	エンテロウイルスとノロウイルスの自動ジェノタイプングツール	<i>J Clin Virol.</i>	2011	Annelies Kroneman	蘭・国立公衆衛生環境研究所
509	VP1の部分配列決定によるヒトエンテロウイルスの型別	<i>J Clin Microbiol.</i>	1999	Oberste, M. Steven	米・CDC
428	2008年に中国の富陽市で発生した手足口病の原因となった新興組換えヒトEV-A71	<i>Virology Journal</i>	2010	Li, Dexin	中・CDC
427	天然海水からのエンテロウイルス・ノーウォークウイルス濃縮法の開発と検出への応用	<i>Appl. Environ. Microbiol.</i>	2002	片山 浩之	東大
426	1970年から1998年に分離されたEV-A71株の分子疫学と進化	<i>J Virol.</i>	1999	Brown, BA	米・CDC
422	EV-A71受容体 SCARB2の同定	<i>Nat. Med.</i>	2009	小池 智	都医学研
407	エンテロウイルス感染症と1型糖尿病:分子観察研究の系統的レビューとメタアナリシス	<i>BMJ</i>	2011	M Craig	豪・ウェストミード小児病院
395	EV誘発性心筋炎と持続性心筋感染症との関連:ウイルス複製・組織損傷・炎症の定量分析	<i>PNAS</i>	1992	Karin Klingel	マックスプランク研
382	コロナウイルスおよびエンテロウイルスの複製プロテアーゼの活性を阻害するα-ケトアミド	<i>J. Med. Chem.</i>	2020	Liu, Hong; Hilgenfeld, Rolf	上海薬物研究所 上海薬物研究所 独・リュベック大
377	中国におけるEV-A71 ワクチンの有効性・安全性・免疫原性	<i>N Engl J Med</i>	2014	Wang, Nan	シノバック
374	中国山東省におけるヒトEV-A71の遺伝子型C4に関連する手足口病の発生	<i>J Clin Virol.</i>	2009	Wang, Zi-Jun	中・CDC
370	EV-A71 関連手足口病後の肺水腫の臨床的特徴と危険因子	<i>Lancet</i>	1999	Lin, TY	台・長庚小児病院
369	IDDMの病因におけるコクサッキーBおよび他のエンテロウイルス感染症の役割に関する前向き研究	<i>Diabetes</i>	1995	Heikki Hyöty	フィンランド・タンペレ大
359	西豪州における手足口病流行下の小児のEV-A71 感染による神経症状	<i>Clin Infect Dis</i>	2001	McMinn, P	豪・プリンセスマーガレット小児病院
349	ヒトEV-A71による流行性手足口病:シンガポール	<i>Emerg Infect Dis.</i>	2003	Kwai Peng Chan	シンガポール総合病院
344	中国の小児における不活化ミョウパンアジュバントEV-A71 ワクチンの有効性/安全性/免疫学:第III相試験	<i>The Lancet</i>	2013	Zhu, Feng-Cai	中・CDC
343	PSGL-1はEV-A71の機能的受容体	<i>Nat. Med.</i>	2009	清水 博之	感染研
333	ホスファチジルセリン小胞によってエンテロウイルスは効率的に感染する	<i>Cell</i>	2015	Nihal Altan-Bonnet	NIH
332	VP1 GHループが細胞受容体付着のアダプターセンサーとして機能:エンテロウイルス脱コーティングのモデル	<i>Nat. Struct. Mol. Biol.</i>	2012	Junzhi Wang, David I Stuart, Elizabeth E Fry, Zihe Rao	中・食品薬品検定研究院 オックスフォード大 オックスフォード大 中科院 生物物理研究所
332	手足口病の最大規模の発生。2008年にシンガポールで発生した口蹄疫:EV-A71株とコクサッキーウイルスA株の役割	<i>Int J Infect Dis</i>	2010	Vincent T.K. Chow	シンガポール国大
328	ピコルナウイルスとエンテロウイルスの多様性と関連するヒト疾患	<i>Infect Genet Evol</i>	2013	Caroline Tapparel	ジュネーブ大学病院
326	健康な小児に対する不活化EV-A71 ワクチン	<i>N Engl J Med</i>	2014	Li, Qihan	中国医学科学院 医学生物学研究所

3.2.4 エンテロウイルスワクチン

近年、重篤な手足口病の大規模流行を背景に、中国や台湾を中心にエンテロウイルスワクチン開発が進められている。不活化全ウイルスワクチン、弱毒生ワクチン、サブウイルス粒子ワクチン、DNAワクチン、ペプチド、各種組換えタンパク質 ウイルス様粒子 (Virus-like particle) など様々なワクチンが検討されている。

臨床開発が進むホルマリン処理不活化ワクチン

現在最も導入が進んでいるのは、アジュバント添加不活化ワクチン⁷である[22]。2015～2016年に中国で遺伝子型C4に基づく3種の不活化EV-A71ワクチンが承認・販売された。また、遺伝子型Bに基づくEV-A71ワクチン2種類が台湾で2023年に上市されている。この他、シンガポールでは遺伝子型B3に基づくEV-A71ワクチンが開発中(第I相試験実施)である(Table 3.2.5)。

中国 EV-A71 ワクチン

2008年以降、手足口病による多数の犠牲者を出した中国では、国家プロジェクトとしてEV-A71ワクチンの研究開発を推進、ワクチン品質の管理体制を整備している。

第III相臨床試験では、**シノバック社**、**北京微谷バイオ社**⁸、**中国医学科学院**⁹がそれぞれ開発した不活化EV-A71(遺伝子型C4)ワクチン製剤について、多施設共同・プラセボ対照・無作為化二重盲検試験を実施した。同試験ではそれぞれ10,000名以上の乳幼児・小児にワクチン製剤あるいはプラセボを計2回接種(4週間隔で筋肉注射)して、EV-A71中和抗体を測定した。その結果、いずれの不活化EV-A71ワクチンにおいても、ワクチン接種群は優れた中和抗体誘導能を示した¹⁰。第III相臨床試験結果が良好であったことから、中国食品医薬品検定研究院は2015～2016年にかけてこれらの不活化EV-A71ワクチンの製造を承認、世界初の新非ポリオエンテロウイルスワクチンが中国市場に登場するに至った。

Table 3.2.5 本稿で取り上げたEV-A71ワクチン

国	製造	製品名	遺伝子型	製造方法	接種対象	開発段階
中国	シノバック	Inlive	C4	H07	Vero	2010～2011年 第I相試験 2013年 第III相試験終了 2015～2016年 認可
	北京微谷バイオ	FY7VP5				
	中国医学科学院	FY-23		KMB-17		
台湾	MVC*	En71vac	B4	E79	Vero	2021年 第III相試験終了 2023年 第III相試験終了
	アディミュオン	EnVAX-A71				
シンガポール	Inviragen ⇒武田	INV21 ⇒TAK-021	B3	MS87	Vero	2019年 第I相試験終了

*メディジェン・ワクチン・バイオロジクス

台湾 EV-A71 ワクチン

台湾でも、1998年の手足口病大規模流行¹¹を契機に手足口病ワクチンの研究開発が盛んになった。**台湾国家衛生研究院**¹²は、Vero細胞バイオリアクターで増殖したEV-A71株(遺伝子型B4)を用いた基盤研究を基に、ホルマリン不活化EV-A71抗原を用いたワクチン候補EV-A71vac¹³の臨床開発を進めている。2010～2012年、国家衛生研究院と台北榮民総院、国立台湾大学附設医院が協力し第I相試験を実施。2013年、人体への安全性と良好な中和抗体誘導効果がワクチン誌に報告された。

同年、国家衛生研究院は台湾国内の製薬業者に対し、不活化EV-A71ワクチンの技術移転を行った。台湾ワクチンメーカーであるアディミュオン(国光生物科技)傘下のエニミュオン(安特羅科技)と、メディジェン・バイオテック(基亜生物科技)傘下のメディジェン・ワクチン・バイオロジクス(先端疫苗生物製剤)はそれぞれ第II相臨床試験を実施した。

2019年には、生後2～35か月の小児を対象とした第II相臨床試験で強力な免疫応答が確認され、B4遺伝子型に対するセロコンバージョン率¹⁴は100%であることが同誌に報告された[23]。

メディジェン・ワクチンは2018年に第II相臨床試験を終え、2021年、台湾の5病院とベトナムの2病院で、生後2～71か月の小児3,061人を対象として、En71vacの有効性、安全性、免疫原性を評価し(第III相臨床試験)、EV-A71一次エンドポイント効果(96.8%)を認めた。同ワクチンはEV-A71関連疾患を予防する効果が高く、安全で忍容性も高いという結果がランセット誌に報告された[24]。

武田/Inviragen ワクチン

武田薬品工業は、サブ遺伝子型B2 MS87株をベースにしVero細胞で増殖したEV-A71株(遺伝子型B2)を不活化した「TAK-021」の開発を進めている¹⁵。2019

年、健康な成人において安全で忍容性が高く免疫原性があったこと、異種のEV-A71サブ遺伝子型ウイルスに対する交差中和抗体を誘発したことを第I相臨床試験の結果としてワクチン誌に報告した[25]。この交差中和抗体誘発については、都医学研・小池智らとの共同研究で、

¹⁵ 2013年、武田薬品工業は、武田アメリカ・ホールディングス Inc.を通じて、米国とシンガポールに拠点をもち米・バイオ企業インビラーゲン社(Inviragen社)を買収した。

Table 3.2.6 タイトルに“エンテロウイルス”と“ワクチン”を含む論文 Scopus 2014.3.10 (青色帯:中国ワクチン論文, 灰色帯:台湾ワクチン論文, 緑色帯:日本ワクチン論文)

被引用数	内容	掲載誌	年	著者(責任)
377	中国におけるEV-A71 ワクチンの有効性・安全性・免疫原性	<i>N Engl J Med</i>	2014	Wang, Nan シノバック
344	中国の小児における不活化ミョウバンアジュバントEV-A71 ワクチンの有効性/安全性/免疫学: 第 III 相試験	<i>The Lancet</i>	2013	Zhu, Feng-Cai 中国CDC
326	健康な小児に対する不活化EV-A71 ワクチン	<i>N Engl J Med</i>	2014	Li, Qihan 中国医学科学院 医学生物学研究所
205	新生児マウスの致死性EV-A71感染に対する防御:不活化ウイルスワクチンとサブユニットワクチン(VP1 DNAワクチン)または組換えVP1タンパク質との比較	<i>Vaccine</i>	2001	Ho, Mei-Shang 台湾中央研究院
167	EV-A71 感染症とワクチン	<i>Clin Exp Vaccine Res</i>	2017	Sun-Young Chang 韓・亜洲大学校
115	ホルムアルデヒド不活化全ウイルスワクチンをEV-A71 脳脊髄炎のマウスモデルでテスト	<i>J Virology</i>	2010	Wong, Kum Thong マラヤ大
114	EV-A71ワクチンの開発	<i>Expert Rev. Vaccines</i>	2010	Lee, Min-Shi 台湾・国家衛生研究院 Chang, Luan-Ying 国立台湾大学病院
112	EV-A71 ワクチンのレビュー	<i>Clin. Infect. Dis.</i>	2015	Chong, Pele 国家衛生研究院 台湾・中国医薬大
90	シノバックEV-A71ワクチンの安全性と免疫原性: 無作為化・プラセボ対照・二重盲検・第I相臨床試験	<i>Vaccine</i>	2012	Wang, Jun-Zhi 中国食品薬品検定研究院
89	トランスジェニックマウスの乳汁中のVP1タンパク質の発現: EV-A71感染を防ぐ経口ワクチンの可能性	<i>Vaccine</i>	2008	Chen, Chuan-Mu 台・国立中興大
82	EV-A71 感染によって引き起こされる病気の現状: 疫学・病因・分子疫学・ワクチン開発	<i>Int. J. Environ. Res. Public Health</i>	2016	Chang, Ping-Chin 奇美医療センター Chen, Shou-Chien Chen, Kow-Tong
82	EV-A71 ワクチンの認可に対する課題	<i>PLOS Negl. Trop. Dis.</i>	2012	Su, Ih-Jen 国家衛生研究院; 国立成功大学医学院
79	バングラデシュの乳児における経口ポリオおよびロタウイルスワクチンの効果に対するEV-A71およびその他の腸内病原体の影響	<i>Vaccine</i>	2016	谷内 麻美 バージニア大
77	健康な中国人の小児および乳児におけるEV-A71ワクチンの免疫原性と安全性: 無作為化二重盲検プラセボ対照第II相臨床試験	<i>The Lancet</i>	2013	Xin-Liang Shen 北京微谷バイオ Jun-Zhi Wang,
76	EV-A71ワクチン認可: HFMDおよびその他の重篤な疾患を制御するための多価EVワクチン	<i>Emerg. Microbes Infect.</i>	2016	Liang, Zhenglun 中国食品薬品検定研究院
73	EV-A71ワクチンの評価のための抗原含有量と中和抗体反応に関する中国の国家基準の確立	<i>Vaccine</i>	2011	Wang, Junzhi 中国薬剤安全性評価センター
70	EV-A71 ワクチンの安全性と免疫原性を評価するための第I相ランダム化非盲検試験	<i>Vaccine</i>	2013	Hsieh, Szu-Min 台湾大学病院
68	VLPベース二価ワクチンniyoruマウスにEV-A71 およびCA16 感染に対する二重防御	<i>Vaccine</i>	2014	Li, Qihan 中国医学研究員
67	中国の健康な乳児・小児におけるEV-A71 C4遺伝子型ワクチンの交差中和活性	<i>PLoS ONE</i>	2013	Liang, Zhenglun 中国食品薬品検定研究院
66	不活化EV-A71とCA16 からなる混合ワクチンによる両ウイルスに対する防御免疫	<i>Vaccine</i>	2014	Huang, Zhong 上海バスツール研
21	ワクチン由来ポリオウイルスの神経毒性の観点から見たエンテロウイルス種 C との組換えおよびヌクレオチド G-480 復帰	<i>Scientific Reports</i>	2015	Xu, Wenbo 中国CDC
20	不活化EV-A71候補ワクチンの免疫原性と安全性の前臨床評価	<i>PLOS Negl. Trop. Dis.</i>	2013	Hwa, Shi-Hsia インビラーゲン(シンガポール)
16	乳児・小児における不活化アジュバント添加EV-A71ワクチンの有効性/安全性/免疫原性: 多領域/二重盲検/ランダム化/プラセボ対照/第III相試験	<i>The Lancet</i>	2022	I-Chen Tai, 国立台湾小児病院 Li-Min Huang,
14	不活化EV-A71 ワクチンは健康な成人において安全で免疫原性がある: 第I相・二重盲検・無作為化・プラセボ対照・2種類の投与量の研究	<i>Vaccine</i>	2019	Das, Subash C. 武田USA
7	hSCARB2トランスジェニックマウスと毒性ウイルスに基づく新 EV-A71 ワクチン有効性試験	<i>J Virol.</i>	2020	小池 智 都医学研
0	ヒトSCARB2トランスジェニックマウスにおいてTAK-021 が提供した 異種遺伝子サブタイプに対する交差防御	<i>Vaccine</i>	2022	Hansi J. Dean 武田ファーマシューテカルズUSA

¹⁵ TAK-021 が異種 EV-A71 遺伝子サブタイプに対して交差防御を提供できるかどうかは開発当初確認されていなかった。

複数の EV-A71 サブ遺伝子型に感染しやすい SCARB2 トランスジェニック (SCARB2-tg) マウスを用いたモデル動物実験でも実証した¹⁶ (2022 年にワクチン誌に発表 [26]).

おわりに

このように不活化 EV-A71 ワクチンの実用化は進んでいるが、誘導される中和抗体は血清型に特異的であるため、他の手足口病関連エンテロウイルス感染 (CV-A6 や CV-A16 など) には必ずしも対応しきれていない。より広範な血清型に発症予防できるワクチンの実現が待たれる。幸い日本では、重症 EV-A71 感染症の大規模流行には至っていないが、今後も発生しない保証はない。いまだ解明されていない EV-A71 感染症重篤化メカニズムなどの基礎研究にしっかり取り組む必要があると、

SCARB2 トランスジェニック (SCARB2-tg) マウス

マウスは SCARB2 が EV-A71 の結合・脱殻を起こさないため、ヒトとは異なり EV-A71 に感染しない (ただし、乳のみマウスは例外的に感染する)。2013 年、都医学研・小池智らは hSCARB2 の遺伝子を組み込んだトランスジェニックマウス (SCARB2-tg マウス) の作製に成功した [27]。

トランスジェニックマウスは EV-A71 に対する感受性を示し、強毒株においては中枢神経症状が引き起こされて死亡した。(ただし、ヒトが感染したときのような手足の水疱形成はなかった)。このようにトランスジェニックマウスの作製に成功したことで、EV-A71 感染動物モデル*を用いることによって、ウイルス病原性の実験的測定・解析、ワクチン有効性試験などが可能になった。

*サル (主にカニクイザル) を用いた動物モデルでも、手足口病様の症状は示さないがヒトと類似の中枢神経症状を示した [28-29]。

References

- [1] Tom Salomon et al., Lancet Infect. Dis., 10, 778, 2010
- [2] 武田直和, ウイルス, 51, 1, 1, 2002
- [3] 清水博之, 臨床とウイルス, 52, 1, 33, 2024
- [4] <https://www.who.int/teams/health-product-policy-and-standards/standards-and-specifications/vaccine-standardization/enterovirus-71>
- [5] Yee PT and Poh CL, Viruses, 8, 1, 1, 2016
- [6] <https://idsc.niid.go.jp/iasr/19/221/dj2212.html>
- [7] Mont Ho et al., N Engl J Med., 341, 13, 929, 1999
- [8] <https://idsc.niid.go.jp/iasr/19/217/dj2175.html>
- [9] <https://www.niid.go.jp/niid/ja/allarticles/surveillance/2412-iasr-related-articles/related-articles-452/7612-452r10.html>
- [10] Kevin Messacar et al., J Med Virol., 88, 5, 739, 2016
- [11] <https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/a/ev-d68.html>
- [12] https://www.forth.go.jp/topics/2023/20230606_00002.html
- [13] Seiya Yamayoshi et al., Nat. Med., 15, 7, 798, 2009
- [14] Yoshihiro Nishimura et al., Nat. Med., 15, 7, 794, 2009
- [15] 西村順裕, 清水博之, ウイルス, 59, 2, 195, 2009
- [16] 片山浩之, ウイルス, 66, 2, 163, 2016
- [17] Masaaki Kitajima et al., JAMA New Open. 5, 8, e2226822, 2022
- [18] https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/about/press/page_00188.html
- [19] 片山浩之, モダンメディア, 51, 6, 2006
- [20] 片山浩之ら, 水環境学会誌, 25, 8, 469, 2002
- [21] Hiroyuki Katayama et al., Appl. Environ. Microbiol., 68, 3, 2002
- [22] Mei-Ling Li et al., Vaccines, 9, 199, 2021
- [23] <https://medical.nikkeibp.co.jp/leaf/mem/pub/hotnews/lancet/202205/575058.html>
- [24] Trong Toan Nguyen et al., Lancet, 399, 10336, 1708, 2022
- [25] Paul A Tambyah et al., Vaccine, 18, 37, 31, 4344, 2019
- [26] Kanami Tamura et al., Vaccine, 26, 40, 24, 3330, 2022
- [27] Fujii, K., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 3, 110, 36, 14753, 201
- [28] Nagata N, et al., J Med Virol, 67, 2, 207, 2002
- [29] Nagata N, et al., J Gen Virol, 85, Pt10, 2981, 2004

ルールモデルは『球辞苑』？

—この一冊を紐解けば、プロ野球のすべてがわかる。そんな究極の野球辞典『球辞苑』の編集作業が今、急ピッチで進められている—

ナイツ・土屋伸之のナレーションで始まる野球番組『球辞苑〜プロ野球が100倍楽しくなるキーワードたち〜』(NHK BS)。初回放送は2014年ですから、もう11年目に突入した人気番組です。ロジンバッグ、投球間隔、セーフティーバント、アウトハイ、スライダー、地方球場……マニアックなテーマを深掘りして、「野球にまつわる究極の辞典」の項目に落とし込んでいくまさに「編集作業」です。

こうしたテーマを多角的に、そしてデータを絡めながら、専門家が掘り下げていくところがこの番組のユニークさであり真骨頂でもあります。例えばアウトハイ(打者の外角高め)の回。「アウトハイの配球率が高い投手」や「アウトハイを打たれなかった投手」「アウトハイを得意とする打者」などをデータ担当者が示し、レギュラーの里崎智也氏(元千葉ロッテ捕手)やゲストの大塚昌文氏(元近鉄他投手)らが洞察しました。

「多角的に」「データに基づいて」——。2023年にSCARDA(先進的研究開発戦略センター)内の定例会議で報告を重ねてきた内容をまとめた本書にとって、『球辞苑』は格好のルールモデルともいえそうです。この定例会議では、議論の段になると会議出席者が関連にコメントを加え、結果、全出席者は取り上げた感染症研究の経緯や動向への理解が深まります。議論の呼び水、あるいは触媒のような役割を果たすのがデータやエビデンスなのです。

デング熱・ジカ熱やニパウイルス感染症などから結核まで……取り上げた感染症が少々バラバラな印象を受けるかもしれませんが、その点をご容赦ください。むしろ系統的な構成でないので、興味・関心のあるところからお読みいただいても支障はありません。シリーズとして続刊する気満々です。どうぞ末永くご愛読の程、お願いいたします。

本書の作成に当たり、多くの先生方に原稿をご確認、併せて丁寧な加筆や修正のご提案をいただきました。また、出版社やメーカーの皆様からは写真や図の提供や使用許諾をいただきました。この場を借りて、改めてお礼申し上げます。最後に、制作会社の(株)PLOTの鈴木直樹さん、柳澤公代さんの強い熱意で本書が完成いたしました。末筆ながら感謝申し上げます。

2024年7月
編集子

用語 (英)

ADE	11, 12
AGS-v	11, 12
AlphaFold2	51
AMR	43
BDQ	42, 43, 48
ChAdOx1-NiVG	62
CRISPR/Cas9	26, 27, 28
Cytoplasmic Incompatibility	21
Dengvaxia	11, 12
ELISPOT	38, 39
ESAT-6	36, 37, 38, 39
EV-A71vac	68
EV-D68	63, 64, 65
EV-D70	64
GeneXpert	46
Hendra henipavirus	57
Homology Directed Repair	27
hSCARB2	67, 69, 70
Hume Field	58, 59
IGRA	34, 36, 37, 38, 39, 40
INH	42, 43, 46, 47, 53, 54
JNJ-1802	11, 12
JNJ-A07	12
LayV	56, 58
MDP1	35, 51, 52, 53
Mincle	49, 50, 52, 53
mRNA-1215	56, 61
OX5034	29
OX513A	7, 29
PHEIC	8, 16
PPD	37, 38
PSGL-1	66, 67
QDenga	11, 12
RFP	42, 43, 45, 46, 47, 48
<i>rhoβ</i>	46, 47
SCARB2-tg	70
Sex-ratio distortion	29
SIRTURO	43
T-SPOT	38, 39
TB7.7	37, 38, 39
wMelPop	19
Xpert MTB/RIF	33, 44, 45, 46

人物 (英)

David Alland	46
Catharina Boehme	44
Neel Gandhi	44, 45
Rein Houben	36, 41
Benhur Lee	59, 60
Stephen Luby	58, 59
Paul Rota	59, 60
Adi Utarini	7, 19

機関 (英)

BOVIGAM	38
CEPI	62
ICDDR, B	58, 59
Oxitec	7

用語 (日)

ChAdOx1 NipahB ワクチン	61
C型レクチン受容体	50
ELISA法	38
HIV/TB共感染	32, 33, 48
Jurkat 細胞	67
<i>katG</i> 遺伝子	46, 47, 52, 53, 54
SCARB2トランスジェニックマウス	69, 70
X線結晶解析法	17, 47
アミカシン	43, 47
イソニアジド	36, 42, 46, 47, 53
イマチニブ	54
ウイルス濃縮法	66, 67
エコーウイルス11型	65
エンドヌクレアーゼ	29
エンピオマイシン	43, 47
カナマイシン	42, 43, 47
ギラン・バレー症候群	8
クオンティフェロン	36, 38, 39
コクサッキーウイルスA16型	63
サチュロ	43, 44
ジスルフィラム	45, 46
ストレプトマイシン	42, 43
セーフジーンズ	26, 28
セフィエド	33, 46
ツ反	34, 37
デラマニド	42, 43, 44, 45, 53
デルティバ	43, 44
デングウイルス 1 型望月株	6, 7, 13
トレハロースジミコール酸	49, 53
プロジェクト・ボルバキア	19, 23
ベダキリン	42, 43, 44, 45, 48
ヘパラン硫酸	67
ヘンドラウイルス	56, 57, 58
ポリオ	7, 10, 63, 64
ボルバキアポップコーン株	20
ミコール酸	42, 43, 44, 47, 49, 50, 52, 53, 54
ヤップ島	7, 8
ラインブロープアッセイ	45, 46
ランヤウイルス	56, 58
ワールド・モスキート・プログラム	19, 21, 29
遺伝子ドライブ抵抗性	28, 29
陰電荷膜濃縮法	67
休眠結核菌	35, 51, 52
抗体依存性増強	11
細胞質不和合性	19, 21
性比異常	29
日和見感染症	48
狼牙ヘニバウイルス	58

人物 (日)

オマー・アクバリ	29
ピーター・アンダーセン	37, 38
トーマス・ウォーカー	19, 20
シメオン・ウォルバック	19
アディ・ウタリーニ	6, 7, 19
スコット・オニール	20, 22, 24
ピューベシュ・カトリ	41
ニール・ガンジー	44
ヴァレンティノ・ガンツ	26, 27
ハリス・グラハム	6
アンドレア・クリサンティ	27, 29
ジョン・クレランド	6
チュア・コー・ビン	56, 58
アンソニー・ジェームス	26, 27
ショールス・シェーレス	17
ウォルター・シュレジンガー	6, 7
アルバート・セービン	6, 7
ヨハン・ネイツ	12
オースティン・パート	26, 27
イーサン・ピーア	26, 27
ヒューム・フィールド	58
カタリーナ・ベーム	44
マーシャル・ヘルティヒ	19
シーモア・ベンザー	20
レイン・ホウベン	41
アリー・ホフマン	20, 22
カート・ホルヴァート	60
コナー・マクメニマン	20
エリザベス・マグロウ	22
ベンファー・リー	60
ステファン・ルビー	58
マイケル・ロスマン	16, 18
ポール・ロタ	60
芦田 玉一	17
岩崎 孝紀	52, 54
岩本 朋忠	45, 46
梅澤 演夫	47
甲斐 知恵子	58, 59, 61, 62
陰山 大輔	22, 23
片山 浩之	66, 67
川口 洋	47
切替 照雄	45, 46
小池 智	66, 67, 69, 70
甲野 禮作	64
佐藤 俊朗	14
清水 博之	66, 67
杉田 昌彦	52, 53
関口 純一郎	46

人物（日）

高江洲 義一	49
高津 聖志	52, 54
瀧井 猛将	46
武部 貴則	14
永田 明穂	47
二河 成男	22, 24
西村 順裕	67
西山 晃史	51
原 博満	50
深津 武馬	20, 22, 24
藤原 健智	52, 53
細川 貴弘	22, 24
堀田 進	6, 7, 13
本間 晃	10
前仲 勝実	49
松本 壮吉	35, 51, 52
安田 一行	51
山崎 晶	49, 50, 52, 53
米田 美佐子	58, 59, 61, 62

機関（日）

A・WOLコンソーシアム	22
Meiji Seikaファルマ	47
アディミュン	68
オキシテック社	6, 7, 26, 29, 30
オズワルドクルス財団	9, 10
スイス・FIND	44, 45, 46
ターゲット・マラリア	26, 27, 29
バングラデシュ国際下痢性疾患研究センター	58, 59
ビル&メリンダ・ゲイツ財団	21, 23, 29, 30
マヒドン・大阪感染症センター	9
メディジェン・ワクチン・バイオロジクス	68
国立医療研究センター	46

エビデンスからみた 感染症研究

2024年 7月31日 初版発行

2024年 11月15日 初版第2刷発行

発行 国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）
先進的研究開発戦略センター（SCARDA）
先進的研究開発事業部 戦略企画課

 Japan Agency for Medical Research and Development
Strategic Center of Biomedical Advanced Vaccine
Research and Development for Preparedness and Response



本書の内容について無断転載複製を禁じます。