

## 二国間交流事業 共同研究報告書

平成25年 4月 9日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 (公財) 結核予防会結核研究所

(ふりがな) やない ひでき  
職・氏名 研究員 野内 英樹

- 事業名 相手国 ( タイ ) との共同研究 振興会対応機関 ( NRCT )
- 研究課題名 タイ人における結核症の関連遺伝子の機能ゲノム学的研究
- 全採用期間  
平成 22 年 4 月 1 日 ~ 平成 25 年 3 月 31 日 ( 3 年 0 ヶ月)
- 研究経費総額
  - 本事業により交付された研究経費総額 7,500 千円  
初年度経費 2,500 千円、 2年度経費 2,500 千円、 3年度経費 2,500 千円
  - 本事業による経費以外の国内研究経費総額 約9,000 千円 他にNRCTも含めたタイ側予算

## 5. 研究組織

## (1) 日本側参加者

(ふりがな) 氏名	所属・職名	研究協力テーマ
はらだ のぶゆき 原田 登之	結核予防会結核研究所抗酸菌リファレンス部・部長 (2012年9月まで研究代表者、現在は結核研究所顧問)	結核感染に関する基礎的研究
ひぐち かずえ 樋口 一恵	結核予防会結核研究所抗酸菌リファレンス部・研究員 (現在は特定非営利活動法人結核感染診断研究会・研究員)	結核感染に関する基礎的研究
やまだ のりお 山田 紀男	結核予防会結核研究所・国際協力部 部長	結核対策の国際協力

## (2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 タイ保健省医科学局衛生研究所 研究医員 スラカメ・マハシリモンコン

## (3) 相手国参加者 (代表者の氏名の前に○印を付すこと)

氏名	所属・職名 (国名)	研究協力テーマ
○ Surakameth Mahasirimongkol	Medical Officer, Genetics Section, National Institute of Health(NIH), Department of Medical Sciences (DMSc), Ministry of Public Health (MOPH)	遺伝疫学、結核病学
Pathom Sawanpanyalert Nuanjun Wichukchinda	Deputy Director-General, DMSc, MOPH Chief, Medical Genetics Section, National Institute of Health(NIH), DMSc, MOPH	医科学研究の政策 遺伝学、HIV学、臨床検査学
Busarawan Sriwanthana	Medical Scientist, NIH, DMSc, MOPH.	細胞性免疫学
Nusara Satproedprai	Medical Scientist, NIH, DMSc, MOPH.	機能ゲノム学、臨床検査学
Sukanya Wattanapokayakit	Medical Scientist, NIH, DMSc, MOPH.	遺伝疫学

## 6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

### 研究の背景と目的：

- 我々は、タイ国との過去の共同研究にて、ゲノムワイドにノンパラメトリック連鎖解析を実施し、染色体 5q 領域において結核との連鎖を検出した。更に、若年者のみの解析で染色体 17p と 20p を同定し、年齢により遺伝要因が異なる事を示した[Genes Immun 2008]。この基盤を生かして、更にゲノムワイド関連遺伝子も活用しながら遺伝子同定を継続している。
- 同定された結核関連遺伝子変異の機能的影響を決定する候補遺伝子発現測定を本事業の研究目的とした。

### 研究方法と内容：

- ゲノムワイド関連解析によりヒト遺伝子情報が明らかな元結核患者（難治性の再発例を含む）と健常人より新規血液検体を採取し、遺伝子多型と結核発現のフェノタイプの関連を検討。
- 元結核患者と健常人の両者共に、日本側研究者が専門としている IGRA（Interferon Gamma Releasing Assay）の中で全血を使い標準化されている QntiFERON-TB（QFT）にて測定して、現在の結核感染状況を測定しながら解釈が正確になる様にした。
- 血液採取後に PBMC（peripheral blood mononuclear cell）末梢血単核球と血漿に分離している。当初のタイ側計画では、そのまま測定する予定であったが、日本側と協議した結果、PBMC を PPD-tuberculin や結核菌特異抗原（ESAT-6, EFP10 等）で刺激をした後にも測定する事となった。
- mRNA への発現の度合を標準的に使われている real time RT-PCR 法にて測定し、QTL（quantitative loci association）analysis にて解析する。また、タンパク質レベルへの発現について、フローサイトメトリーを活用した免疫蛍光染色による測定で解析している。
- これらの新規 PBMC での測定の外に、検体を保存して、これまで遺伝疫学研究で活用してきた保存検体と共に、タイ保健省医科学局 NIH には多色のフローサイトメトリーで検討した。新鮮な PBMC が重要なのでタイのサンプルに関しては、なるべくタイ側で測定するが、結核研究所にも施設が充実しているので、日本の検体にて実験系の確立を進め、精度管理をして交流しながら実施した。
- 日本側研究者は、結核の特異抗原に対する免疫反応を利用して結核感染の診断をする QFT 等の Interferon-gamma Release Assay（IGRA）の研究開発を継続した。

### 研究成果：

- 前提となるゲノムワイド関連解析の結果は発表リスト論文[1]に詳細を著した。45 歳未満の群で 20q12 の領域に関連する遺伝子座を同定。遺伝子間に位置するが、一番近くに自己免疫性肝炎に関与する HSPEP1 遺伝子、マクロファージの分化に関与する MAFB 遺伝子を持ち、TNF 阻害薬の反応に関連[Liu, et. al. *Mol. Med* 2008] MAFB 遺伝子は、活動性結核症例で発現増加[Berry, et. al. *Nature* 2010]と治療による発現変化[Cliff, et. al. *J Infe Dis* 2012]が認められる。この 2 つの他に機能ゲノム解析をすべき対象となる遺伝子が多くリストされた。
- 発表リストの学会発表[4]や作成中論文[3]に記載されている様に、MAFB や他の関連遺伝子の発現が結核患者において健常人に比して有意に高く診断に活用できる可能性を示した。
- 日本側研究者は、発表リスト論文[2]や学会発表[5-9]に示すように、Interferon-gamma Release Assay（IGRA）の精度管理を含む研究開発の成果を発表した。今回の共同研究の結果と検体を活用し、タイ側が見つけた血液バイオマーカーも活用した結核診断の改善の為の研究を継続している。