

抗酸菌部主任研究員 瀧井 猛将

本研究室では結核菌・抗酸菌の病原性に関する研究と新たな抗菌薬のシーズの探索、ワクチンの研究を展開しています。共同研究等につきましてはお問い合わせください。

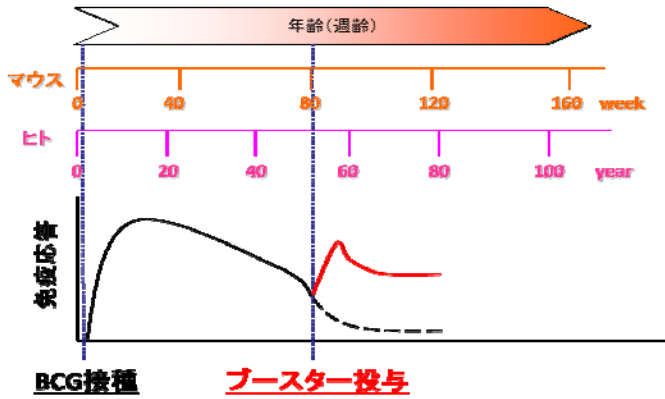
1. 主な研究項目

a) 結核の病原性の研究

結核菌が宿主細胞に対して細胞傷害活性を持つことを見いだしました(JICR, 2001)。本活性は生菌特異的であり、抗結核薬の活性測定に応用できることを示しました(AAC, 2002, 2005)。現在、本活性の発現誘導機構について菌側と宿主側からオミックス解析を試みています。

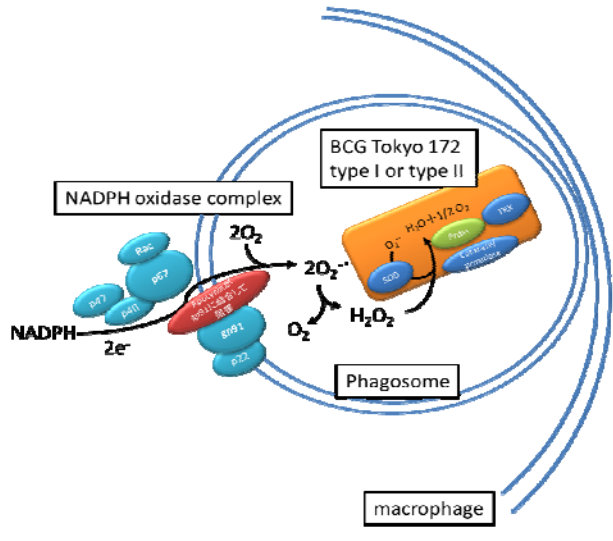
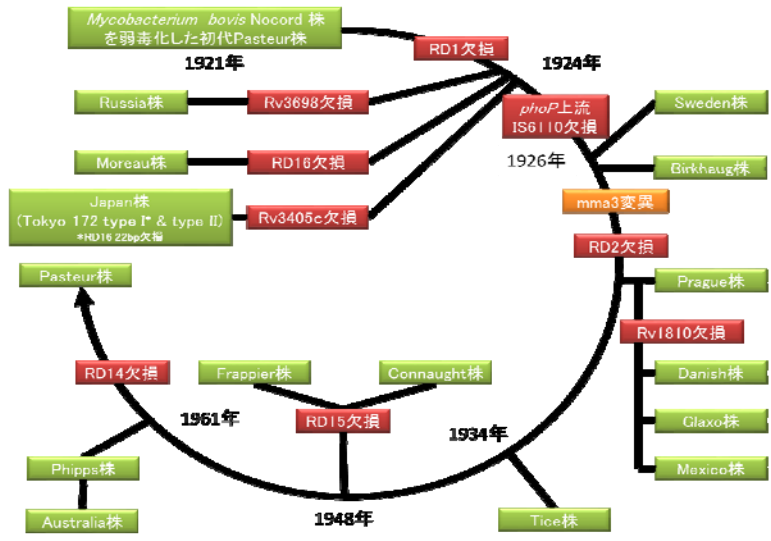
b) ワクチンの研究

ウシ型結核菌の弱毒株であるBCGは結核ワクチンとして唯一世界で使用されています。BCG株にはパスツール研究所からの分与時期やゲノムに株特異的な欠失や変異がある亜株が存在します。亜株の中でリメキシニコール酸の有無によって免疫原性が異なることを報告しています(FEMS Immunol. Med. Microbiol., 2009)。BCGワクチンは接種後、加齢とともに感染防御能が減少しますが、加齢による免疫低下時(ヒト年齢換算で50歳代後半)にオリゴDNAを接種することで免疫能が回復することを実験動物モデルで示しました(Immunity & Ageing, 2013)。下図に概念図を示します。現在、さらにより良い結核ワクチンを目指した研究を進めています。



最新の話: BCG Tokyo 172 type I と type IIの酸化ストレス応答の比較研究 (mSphere誌 2021年2月9日 accept)

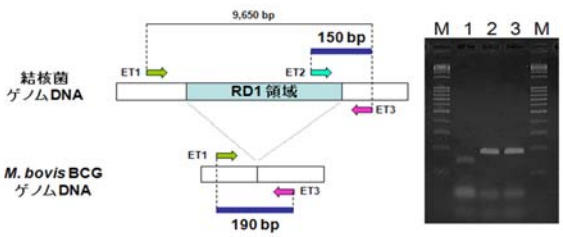
概要: BCGワクチンは1921年にパスツール研究所で結核ワクチンとして確立された後、各国に分与され現在も乳幼児に接種されている。分与されたBCGワクチンには下図の様にゲノム中に株特異的な遺伝子欠損や変異があることが報告されている。凍結乾燥技術の導入により作製されたシードロットから一定の継代数までの培養菌から製品化されているため、現在では各亜株の性状は安定している。日本株(BCG Tokyo 172)のワクチン製剤にはRD16領域に22bpの欠損があるtype Iと欠損がないtype IIの両型が含まれている。本研究ではin vitroと感染したマクロファージから産生される活性酸素に対する応答と感染マクロファージからのサイトカイン(IL-1β, TNF-α, IL-12 p40)産生誘導能の違いについて両type間で比較した。in vitroの酸化ストレスとして過酸化水素(H₂O₂)を用いた。下図に示したように感染マクロファージからの活性酸素産生に関与するNADPH oxidaseの阻害剤としてアポシニンを使用した。type IIはtype Iと比べて酸化ストレスに対して耐性であった。特にcatalase/peroxidase, SOD, thioredoxinの関与が示された。宿主細胞内での生存数も多く、また、結核感染防御に重要なサイトカイン(IL-1β, TNF-α, IL-12 p40)の産生誘導もtype Iの方が高い結果となった。2014年から2016年までに結核ワクチンおよび膀胱がん治療薬として製造されたBCG Tokyoの製造ロット全100 Lot内のtype Iとtype IIの含有割合を調べた結果、type Iが殆どであり、type IIの含有量はわずかであった。また、ロット間のばらつきは少なく安定していた。まとめると、BCG Tokyo 172 type Iの方がtype IIと比べてワクチンとして望ましい形質を多く持つ結果となった。また、製品ロット中にはtype Iが多くを占め、ロット間のばらつきも少ないことから、type Iとtype IIの含有比を一定に保つことはワクチン製造の品質管理の指標として有用であると考えられる。



c) 結核菌・BCG鑑別

ウシ型結核菌の弱毒株であるBCGはヒトの結核のワクチンとして小児に接種されています。また、膀胱がんの治療薬としても利用されています。ワクチンやがん治療薬の副作用として体内でBCG増殖することがあり、皮下膿瘍や尿等の検体から菌が検出されることがあります。現在、結核菌群とBCGを鑑別する方法としてキャピリアTBが多く使われていますが、BCGの株の中にはTBと同じ測定結果を示すものがあります。臨床の支援として、ゲノムの違いを測定するマルチプレックスPCR法により結核菌群とBCGを鑑別を行っています。

鑑別を依頼を受けております。詳細は、結核研究所抗酸菌部主任研究員瀧井猛将(t-takii@jata.or.jp)までお問い合わせください。



結核菌では、主としてET2とET3プライマーから150 bpが、BCGでは、ET1とET3プライマーから190 bpのPCR産物が得られる。

- M: 390-bp DNA マーカー
- 1: 結核菌 (M. tuberculosis)
- 2: BCG
- 3: 結核

d) 抗菌薬の探索

糖骨格を持った化合物ライブラリーから探索を進め、多剤耐性結核菌に抗菌活性を示す化合物を複数見出しました(BMCL, 2009, 2011)。その中の1つOCT313の構造活性相関の研究から抗嫌菌薬であるジスルフィラム(製品名: ノックピン)が多剤耐性結核菌に有効であることを見いだしました(AAC, 2012)。ジスルフィラムは感染実験動物でも治療効果が認められました(AAC, 2012)。現在、さらにより有効な抗結核薬のシーズを探索しています。

c) 非結核性抗酸菌の病原性の研究と治療薬の探索

非結核性抗酸菌(NTM)を原因とした感染症が近年増えています。日本では*Mycobacterium avium*と*Mycobacterium intracellulare*を原因菌とした感染症MAC症患者が多いことが知られています。MAC症をはじめNTM症の原因菌の病原性はよくわかっていません。また、有効な治療薬の開発が強く望まれています。現在NTMの病原性の機構の解明やNTMに対して有効な抗菌薬の探索を進めています。

2. 主な研究業績

a) 主な著書

- 1 (執筆分担) 瀧井猛将:
化学療法学～病原微生物・がんと戦う。(分担項目)抗結核薬
(監修)上野芳夫, 大村 智, (編集)田中春雄, 土屋友房, 南江堂, pp167-176, 2009
- 2 (編者・執筆分担) Takemasa Takii, Jun-ichi Maeyama, Saburo Yamamoto:
BCG – Vaccine and Adjuvant –
ISBN: 978-4-87451-270-8 Japan Anti-Tuberculosis Association, 2011
- 3 (執筆分担) Takemasa Takii, Yasuhiro Horita, Ryuji Kuroishi, Taku Chiba, Mashami Mori, Tomohiro Hasegawa, Tastuya Ito, Tatsuaki Tagami, Tetsuya Ozeki, Saotomo Itoh an Kikuo Onozaki:
The potential therapeutic usage of dithiocarbamate sugar derivatives for multi-drug resistant tuberculosis. Understanding Tuberculosis - New Approaches to Fighting Against Drug Resistance, Pere-Joan Cardona (Ed.), ISBN: 978-953-307-948-6, InTech, pp263-272, 2012
- 4 (執筆分担) 瀧井猛将:
薬学用語辞典
日本薬学会編, 東京化学同人, 2012
- 5 (執筆分担) 瀧井猛将:
生物系薬学 Ⅲ. 生体防御と微生物
日本薬学会編, (分担項目)抗酸菌, 東京化学同人, pp284-287, 2016

b) 主な論文

(総説)

- 1 小野寄菊夫, 竹井 豊, 千葉 拓, 林 秀敏, 瀧井猛将:
インターロイキン1の作用発現調節
BCG・BRM療法研究会会誌 20:21-26, 1996
- 2 瀧井猛将, 伊藤 淳, 小野寄菊夫:
IL-1レセプターの発現誘導機構
臨床免疫 29:1313-1322, 1997
- 3 Takemasa Takii: In vitro and in vivo study of regulation mechanisms of type I interleukin-1 receptor
Yakugaku Zasshi 121(1):9-21, 2001
- 4 瀧井猛将:
古くて新しい結核の研究
臨床薬理の進歩2001, 別冊 :165-167, 2001
- 5 瀧井猛将, 近藤真紀, 金井啓太, 藤原綾希子, 山本三郎, 小野寄菊夫:
Mycobacterium bovis BCG亜株間の一酸化窒素(NO)感受性とNO産生誘導能の差異に関する研究
BCG・BRM療法研究会会誌 29: 3-8, 2005
- 6 瀧井猛将, 林 大介, 山本三郎:
最前線:結核ワクチンの新しい展開
ファルマシア 49(3): 206-210, 2013
- 7 瀧井猛将:
抗酸菌とレドックス
結核, 90(7):579-91, 2015
- 8 瀧井猛将:
結核分子疫学研究における全ゲノム解析の役割
結核, 94(11-12):547-52, 2020

(原著)

- 1 Matsumoto, K., Takii, T., and N. Okada:
Characterization of new termination signal for RNA polymerase III responsible for generation of a discrete-sized RNA transcribed from salmon tota genomic DNA in a HeLa cell extract.
Journal of Biological Chemistry 264(2):1124-1131, 1989
- 2 Takii, T., Akahoshi, T., Kato, K., Hayashi, H., Marunouchi, T., and K. Onozaki:
Interleukin-1 up-regulates transcription of its own receptor in a human fibroblast cell line TIG-1: role of endogenous PGE₂ and cAMP.
European Journal of Immunology 22(5):1221-1227, 1992
- 3 Kawashima, S., Hayashi, M., Takii, T., Kimura, H., Zhang, H. L., Nagatsu, A., Sakakibara, J., Murata, K., Oomoto, Y., and K. Onozaki:
Serotonin Derivative, *N*-(*p*-coumaroyl)serotonin, inhibits the production of TNF- α , IL-1 α , IL-1 β and IL-6 by endotoxin-stimulated human blood monocytes
Journal of Interferon and Cytokine Research 18(6):423-428, 1998
- 4 Ito, A., Takii, T., Matsumura, T., and K. Onozaki:
Augmentation of type I receptor expression and IL-1 signaling by IL-6 and glucocorticoid in murine hepatocytes.
Journal of Immunology 162(7):4260-4265, 1999
- 5 Takii, T., Hayashi, M., Hiroma, H., Chiba, T., Kawashima, S., Zhang, H. L., Nagatsu, A., Sakakibara, J., and K. Onozaki:
A serotonin derivative, *N*-(*p*-coumaroyl)serotonin isolated from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) oil cake is a specific growth-promoting compound for natural human and mouse fibroblasts.
Journal of Biochemistry 125(5):910-915, 1999
- 6 Takii, T., Ito, A., Kawashima, S., Ninomiya, A., Matsumura, T., Hayashi, H., and K. Onozaki:
Tyrosine kinase is essential for the constitutive expression of type I interleukin 1 receptor in human fibroblast cells.
European Cytokine Network 10(2):237-246, 1999
- 7 Matsumura, T., Ito, A., Takii, T., Hayashi, H., and K. Onozaki:
Endotoxin and cytokine regulation of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 gene expression in murine liver and hepatocytes.
Journal of Interferon and Cytokine Research 20(10):915-921, 2000
- 8 Takii, T., Abe, C., Tamura, A., Ramayah, S., Belisle, J. T., Brennan, P. J., and K. Onozaki:
Interleukin 1 or tumor necrosis factor α augmented cytotoxic effect of mycobacteria on human fibroblasts: application to evaluation of pathogenesis of clinical isolates of *M. tuberculosis* and *M. avium* complex.
Journal of Interferon and Cytokine Research 21(3):187-196, 2001
- 9 Takii, T., Yamamoto, Y., Chiba, T., Abe, C., Belisle, J. T., Brennan, P. J., and K. Onozaki:
Simple fibroblast-based assay for screening of new antimicrobial drugs against *Mycobacterium tuberculosis*.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46(8):2533-2539, 2002
- 10 Takii, T., Kawashima, S., Chiba, T., Hayashi, H., Hayashi, M., Hiroma, H., Kimura, H., Inukai, Y., Shibata Y., Nagatsu, A., Sakakibara, J., Oomoto, Y., Hirose, K., and K. Onozaki:
Multiple mechanisms involved in the inhibition of proinflammatory cytokine production from human monocytes by *N*-(*p*-coumaroyl)serotonin and its derivatives
International Immunopharmacology 3(2):273-277, 2003
- 11 Matsumura, T., Degawa, T., Takii, T., Hayashi, H., Okamoto, T., Inoue, J., and K. Onozaki:
TRAF-6-NF- κ B pathway is essential for IL-1-induced TLR2 expression and its functional response to TLR2 ligand in murine hepatocytes.
Immunology 109(1):127-136, 2003
- 12 Matsumura, T., Hayashi, H., Takii, T., Thorn, C. F., Whitehead, A.S., Inoue, J., and K. Onozaki:
TGF- β down-regulates IL-1 α -induced TLR2 expression in murine hepatocytes.
Journal of Leukocyte Biology 75(6):1056-1061, 2004
- 13 Takii, T., Hamasaki, S., Hirano, K., Abe, C., and K. Onozaki:
Simple fibroblast-based assay to test the pyrazinamide susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis*.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 49(2):804-807, 2005
- 14 Chiba, T., Takii, T., Nishimura, K., Yamamoto, Y., Morikawa, H., Abe, C., and K. Onozaki:
Synthesis of new sugar derivatives from *Stachys sieboldii* Miq and antibacterial evaluation against *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, and *Staphylococcus aureus*.
Bioorganic Medical Chemistry Letter 17(9):2487-2491, 2007
- 15 Hayashi, D., Takii, T., Fujiwara, N., Fujita, Y., Yano, I., Yamamoto, S., Kondo, M., Yasuda, E., Inagaki, E., Kanai, K., Fujiwara, A., Kawarazaki, A., Chiba, T., and K. Onozaki:

- Comparable studies of immunostimulating activities in vitro among *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin (BCG) substrains.
FEMS Immunology and Medical Microbiology 56(2):116-128, 2009
- 16 Horita, Y., Takii, T., Chiba, T., Kuroishi, R., Maeda, Y., Kurono, Y., Inagaki, E., Nishimura, K., Yamamoto, Y., Abe, C., Mori, M., and K. Onozaki:
Synthesis of new sugar derivatives and evaluation of their antibacterial activities against *Mycobacterium tuberculosis*.
Bioorganic Medical Chemistry Letter 19(22):6313-6316, 2009
- 17 Hayashi, D., Takii, T., Mukai, T., Makino, M., Yasuda, E., Horita, Y., Yamamoto, R., Fujiwara, A., Kanai, K., Kondo, M., Kawarazaki, A., Yano, I., Yamamoto, S., and K. Onozaki:
Biochemical characteristics among *Mycobacterium bovis* BCG substrains.
FEMS Microbiology Letters 306(2):103-109, 2010
- 18 Ito, T., Takii, T., Maruyama, M., Hayashi, D., Wako, T., Asai, A., Horita, Y., Taniguchi, K., Yano, I., Yamamoto, S., and K. Onozaki:
Effectiveness of BCG vaccination to aged mice.
Immunity and Ageing 7:12, 2010
- 19 Horita, Y., Takii, T., Kuroishi, R., Chiba, T., Ogawa, K., Kremer, L., Sato, Y., Lee, Y., Hasegawa, T., and K. Onozaki:
Synthesis and evaluation of anti-tubercular activity of new dithiocarbamate sugar derivatives.
Bioorganic Medical Chemistry Letter 21(3):899-903, 2011
- 20 Horita, Y., Takii, T., Yagi, T., Ogawa, K., Fujiwara, N., Inagaki, E., Kremer, L., Sato, Y., Kuroishi, R., Lee, Y., Makino, T., Mizukami, H., Hasegawa, T., Yamamoto, R., and K. Onozaki:
Antitubercular activity of disulfiram, an antialcoholism drug, against multidrug- and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 56(8):4140-4145, 2012
- 21 Adachi, M., Okamoto, S., Chujyo, S., Arakawa, T., Yokoyama, M., Yamada, K., Hayashi, A., Akita, K., Takeno, M., Itoh, S., Takii, T., Waguri Nagaya, Y., Otsuka, T., Hayakawa, K., Miyazawa, K., and K. Onozaki:
Cigarette smoke condensate extracts induce IL-1- β production from rheumatoid arthritis patient-derived synoviocytes, but not osteoarthritis patient-derived synoviocytes, through aryl hydrocarbon receptor-dependent NF- κ B activation and novel NF- κ B site:
Journal of Interferon and Cytokine Research 33(6):297-307, 2013
- 22 Taniguchi, K., Takii, T., Yamamoto, S., Maeyama, J., Iho, S., Maruyama, M., Iizuka, N., Ozeki, Y., Matsumoto, S., Hasegawa, T., Miyatake, Y., Itoh, S., and K. Onozaki:
Reactivation of immune responses against *Mycobacterium tuberculosis* by boosting with the CpG oligomer in aged mice primarily vaccinated with *Mycobacterium bovis* BCG.
Immunity and Ageing 10(1):25, 2013
- 23 Taniguchi, K., Miyatake, Y., Hayashi, D., Takami, A., Itoh, S., Yamamoto, S., Hida, S., Onozaki, K., Takii, T.:
Early-shared *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin sub-strains induce Th1 cytokine production in vivo.
Microbiology and Immunology 2015 Nov;59(11):684-9.
- 24 Takeno, M., Kitagawa, S., Yamanaka, J., Teramoto, M., Tomita, H., Shirai, N., Itoh, S., Hida, S., Hayakawa, K., Onozaki, K., Takii, T.:
5-Hydroxy-2-methylpyridine Isolated from Cigarette Smoke Condensate Aggravates Collagen-Induced Arthritis in Mice.
Biological and Pharmaceutical Bulletin 2018;41(6):877-884.
- 25 前田伸司, 藤原永年, 山本三郎, 瀧井猛将
反復配列多型(VNTR)分析を利用した結核菌とBCG推定の可能性
感染症学会誌. 2018. 92(85):705-709
- 26 Takadama, S., Nakaminami, H., Takii, T., Noguchi, N.:
Identification and detection of USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones with a partial deletion in the *crbB2* gene on the type IV SCCmec element
Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2019;94(1):86-87.
- 27 Iwamoto, T., Murase, Y., Yoshida, S., Aono, A., Kuroda, M., Sekizuka, T., Yamashita, A., Kato, K., Takii, T., Arikawa, K., Kato, S., Mitarai, S.:
Overcoming the pitfalls of automatic interpretation of whole genome sequencing data by online tools for the prediction of pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*
PLoS One. 2019;14(2):e0212798.
- 28 Izumi, K., Murase, Y., Uchimura, K., Kaebeta, A., Ishihara, K., Kaguraoka, S., Takii, T., Ohkado, A.:
Transmission of tuberculosis and predictors of large clusters within three years in an urban setting in Tokyo, Japan: a population-based molecular epidemiological study
BMJ Open. 2019;9(5):e029295.
- 29 Takii, T., Seki, K., Wakabayashi, Y., Morishige, Y., Sekizuka, T., Yamashita, A., Kato, K., Uchimura, K., Ohkado, A., Keicho, N., Mitarai, S., Kuroda, M., Kato, S.:
Whole-genome sequencing-based epidemiological analysis of anti-tuberculosis drug resistance genes in Japan in 2007: Application of the Genome Research for Asian Tuberculosis (GRaT) database.
Scientific Reports 2019;9(1):12823.
- 30 Maeda, R., Ito, T., Tagami, T., Takii, T., Ozeki, T.:
Development of Dried Emulsion/Mannitol Composite Microparticles through a Unique Spray Nozzle for Efficient Delivery of Hydrophilic Anti-tuberculosis Drug against Alveoli
Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2019;42(11):1846-1853.
- 31 Minakata, T., Nakano, Y., Tamura, S., Kazuki, Y., Hayakawa, K., Hayakawa, T., Oota, T., Fuzimoto, T., Yamano, Y., Takii, T.:
Tuberculous Spondylitis Caused by Intravesical Bacillus Calmette-Guérin Therapy.
Internal Medicine 2020;59(5):733-737.
- 32 Kawakita, T., Mukai, T., Yoshida, M., Yamada, H., Nakayama, M., Miyamoto, Y., Suzuki, M., Nakata, N., Takii, T., Ryo, A., Ohara, N., Ato, M.:
Point mutation in the stop codon of MAV_RS14660 increases the growth rate of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis*
Microbiology 2020; DOI 10.1099/mic.0.001007
- 33 Taniguchi, T., Hayashi, D., Yasuda, N., Nakayama, M., Yazawa, K., Ogawa, S., Miyatake, Y., Suda, S., Tomita, H., Tokuda, M., Itoh, S., Ohara, N., Yamamoto, S., Hida, S., Onozaki, K., Takii, T.:
Comparative Study of the Susceptibility to Oxidative Stress between TWO Types of *Mycobacterium bovis* BCG Tokyo 1' mSphere 2021; 6(2): e00111-21

(その他)

- 1 瀧井猛将 BCG110 years after its conception (Institute Pasteur de Lille)に参加して
臨床と微生物. 2019; 46(3):274-275.
 - 2 瀧井猛将 Topics.環境・衛生
あらたな挑戦:キメラ抗原(M72)で結核の発症を抑え込み!
ファルマンシア. 2020; 56(7): 684
- c) 主な招待講演等
- 1 (招待講演) Takemasa Takii:
"Drug susceptibility test of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates by simple fibroblast assay"
World Conference on Magic Bullets Celebrating Paul Ehrlich's 150th birthday (Nurnberg, Germany)
 - 2 (教育講演) 瀧井猛将:
「抗酸菌とレドックス」
第89回日本結核病学会総会 教育講演
 - 3 (教育講演) 瀧井猛将:
「結核分子疫学研究における全ゲノム解析の役割」
第94回日本結核病学会総会 教育講演
- d) 受賞
- 1 瀧井猛将:
平成11年度 日本薬学会東海支部学術奨励賞
「I型インターロイキン1レセプターの発現調節機構に関する研究」
 - 2 瀧井猛将:
日本化学療法学会第15回上田泰記念 感染症・化学療法研究奨励賞
「新規スクリーニング系を用いた多剤耐性結核菌に有効な抗結核薬の探索」
- e) 所属学会等
- 結核病学会, 細菌学会, 薬学会, 免疫学会, 化学療法学会, アメリカ微生物学会, 実験結核研究会