

4 . 細菌 第 一 部

部長 渡 邊 治 雄

概 要

食中毒の主たる原因菌であるサルモネラ、カンピロバクターの多剤耐性化が世界的に拡大してきている。耐性菌による感染症を治療するに当たり、患者の治療に困難を示す例が報告されてきている。「食用動物に対して抗菌薬を使用することがどの程度耐性菌を選択し、かつ食物連鎖を介してヒトに耐性菌がどれほど伝播しているのか。更に、ヒトへの細菌感染症の治療を困難にする潜在的危険性を孕んでいるのか。それをどの程度予測できるのか」が国際的大命題になっている。WHO を中心として、上記の薬剤耐性菌のヒトの健康に及ぼす影響についての評価、およびヒトへの抗菌薬の重要度に関するランク付けが行われた。わが国においても、細菌第一部が中心となり、食品媒介性病原細菌としてサルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌をそれぞれ調査対象としての耐性菌の現状把握を行うための厚生労働科学研究費による研究班を組織した。

1) 薬剤耐性菌の現状と薬剤耐性因子の分布状況の調査、及び、2) ヒト、食品および動物等から分離された薬剤耐性菌について、分子遺伝学的手法を用い、お互いの関連性を解明するための解析を行った。特に治療薬として臨床的に重要なフルオロキノロン系薬、第 3, 4 世代セファロスポリン系薬に対する耐性状況に注目している。また、当該研究班は、厚生、農林関係の組織の共同で行うことを特徴としており、農林水産省関連研究組織から、農林水産省動物医薬品検査所、(独法) 農技研動物衛生研究所、厚生労働省関係からは国立感染症研究所、国立医薬品食品衛生研究所および地方衛生研究所が参加して横の連携を図っている。特に *Salmonella* Typhimurium においてフルオロキノロン高度耐性菌が乳幼児等から分離され、治療に困難を示す事例が報告されてきており、今後の動向に注目が必要である。この研究班の成果が、食品安全委員会で行われている「動物等に使用する抗菌薬の評価」に活かされることを期待している。

今年度の研究としても、昨年度と同様に細菌第一部の各室が担当する細菌(腸管出血性大腸菌、サルモネラ、赤痢菌、ピブリオ等の腸内細菌、レジオネラ、レンサ球菌、ブドウ球菌、レプトスピラ、ボレリア、髄膜炎菌、セラチア、口腔内細菌、結核菌等)の検査法の開発、分子疫学的手法

の確立とその応用、薬剤耐性の疫学・耐性機序の解明、病原因子の発現制御、菌と宿主との相互作用および感染の過程の分子機構の解明を目指した研究を行った。

研究費としては、厚生労働省科学研究費新興・再興研究事業費(アジアネット、パルスネット、人畜共通感染症、薬剤耐性機序、バイオテロ対策等に関する研究等を担当)、厚生労働省科学研究費食品安全確保研究事業費、国際医療協力事業費、文部科学省科学研究費、および広域食中毒対策事業費等を得た。

部の人事としては、平成 18 年 7 月 1 日付で、石原朋子が研究職員(任期付き)として採用された。

研究業績

・腸管出血性大腸菌(志賀毒素産生性大腸菌)に関する研究

(1) 腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2006 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち 2053 株および O26, O111 等を含むその他の血清型 788 株に対して、パルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)を用いて、患者由来株、食品由来株、環境由来株等について解析を行った。2006 年分離の O157 については、*Xba*I 消化により 929 種類の PFGE パターンが観察され、多様なクローンの存在が継続していることが示唆された。また、2005 年に観察されたパターンと同じと思われるパターンが 39 種類検出された。一方、少なくとも 3 つ以上の異なる都道府県から分離された同一 PFGE パターンが 37 種類あり、このうち、5 以上の都道府県から分離された O157 には 5 種類の泳動パターンがあり、*Bln*I 消化によってもそれぞれ同一パターンを示した。広域に及ぶ同一 PFGE タイプの O157 による事例が発生していることから、今後の事例発生への早期探知による拡大予防の必要性とともに原因究明に向けた対策が重要であることが示唆された。[寺嶋 淳、斉藤康憲、鈴木玲子、今泉綾子、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、渡邊治雄]

(2) 腸管出血性大腸菌 O157 の Multiple Locus VNTR Analysis による解析

26 都府県に及ぶ広域の散発事例から分離された Type No.

a259 を示す 131 株の 0157 のうち 67 株、及び集団発生由来株も含む Type No. b330, b701 のパターンを示す株 68 株について MLVA による解析を行った。a259 については、同一 MLVA タイプが 17 株、1 locus で 1 repeat 数の異なる variant が 37 株、1 locus で 2 repeat 数が異なる variant が 5 株、2 loci での variant が 7 株あった。*XbaI* 及び *BlnI* による PFGE で同一パターンである株に MLVA で異なる株も含まれるものの、MLVA 及び PFGE で同一パターンとなる株が存在することから、これらの広域分布株においても感染源の関連性を示唆する結果となった。b330 の株では MLVA で a259 の主要なパターンと同一となった。集発由来株での解析では、variation が見られる b701 のタイプにおいて *BlnI* で同一パターンとなったものの、MLVA では 29 株中 4 株が一致したが、大部分は locus 10 での 1 repeat 数の変異株であった。[寺嶋 淳、齊藤康憲、鈴木玲子、今泉綾子、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、渡邊治雄]

(3) PFGE によるデータベース構築とその解析結果利用のネットワーク化に関する研究

2004 年より米国疾病管理センター (CDC) の方法に準拠した新プロトコールによる PFGE 解析を行い、データベース構築を継続した。また、全国の地方衛生研究所等の担当者に対してユーザー名とパスワードを配布し、感染症研究所のホームページ利用による解析結果公開を開始した。腸管出血性大腸菌 0157 の PFGE パターンのサブタイピングは、PFGE 解析ソフトによるデンドログラムに基づいて行った。そして、解析結果の一部は、PDF の書類として、感染症研究所のサーバーを利用して「Pulse Net Japan」(<http://www0.nih.go.jp/~terajima / opn/ index.html>) で公開し、ほぼ 1 ヶ月おきにデータを更新した。[寺嶋 淳、齊藤康憲、鈴木玲子、今泉綾子、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、渡邊治雄]

(4) 腸管出血性大腸菌 0157 のファージ型別による解析

2006 年に送付された腸管出血性大腸菌 0157 のうち、91 株についてファージ型別を実施した。主なファージ型 (PT) は、PT14 が 45%、PT33 が 16%、PT21 が 10%、PT2 が 7%であった。昨年と比較して PT14 が大幅に増加した。[泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邊治雄]

(5) 志賀毒素産生性大腸菌の血清型に関する研究

平成 18 年度に細菌第一部に送付された志賀毒素産生性大腸菌は総計 2,856 株であり、上位を占めた O 血清群は 0157 (約 74%: H7 または H-)、026 (約 17.5%: H11 また

は H-)、0111 (約 3.2%: H-, H21 または HUT)、0103 (約 0.98%: H2, H- または HUT)、091 (約 0.95%: H14, H21 または H-)、0121 (約 0.6%: H14 または H19) で、その他の菌株 (約 2.5%) は少なくとも 27 の O 血清群、42 の血清型に分類された。[伊豫田淳、高井信子、泉谷秀昌、小泉信夫、森田昌知、佐藤人美、陸彦 (流動研究員)、寺嶋淳、石原朋子、渡邊治雄]

(6) LEE 遺伝子群の発現制御に関する研究

腸管出血性大腸菌の多くは、病原性に必須な locus of enterocyte effacement (LEE) と呼ばれる遺伝子領域を保有する。LEE は 3 型蛋白質輸送装置 (T3SS) や、これを介して宿主細胞へターゲティングされる作用因子などをコードしており、これらの遺伝子発現は LEE にコードされるセントラル・レギュレータ、Ler によって正に制御されている。Ler の発現は同じく LEE にコードされる GrIR および GrIA によって、負および正にそれぞれ制御されている。GrIA は運動器官である鞭毛の発現を抑制する負の制御因子としても機能している。

(7) GrIR-GrIA 制御システムによるエンテロヘモリシンの発現調節機構

LEE 遺伝子発現の負の制御因子である GrIR の欠失株では、腸管出血性大腸菌の多くが低レベルで産生する溶血素、エンテロヘモリシン (Ehx) の活性が著しく上昇し、ヘモリシン様の強い活性を示すことを見出した。この現象は GrIR と GrIA の二重欠失株では見られないが、プラスミドを用いて GrIA だけを過剰に産生させた株では Ehx の活性および発現レベルの上昇が観察されることから、GrIA は Ehx 発現の正の制御因子として機能すると考えられる。[伊豫田淳、齊藤剛仁 (感染症情報センター)、佐藤人美、陸彦、志牟田健、大西真、寺嶋淳、渡邊治雄]

(1) GrIA によるエンテロヘモリシン発現の活性化機構

GrIA による LEE の発現制御は Ler の発現制御を介して行われ、一方、鞭毛遺伝子群の発現制御には Ler の機能が必要としない。(ア)で見出されたエンテロヘモリシンの活性上昇は Ler と GrIR の二重欠失株、または Ler 欠失株における GrIA の構成的発現でも見られることから、Ler の機能とは非依存的に GrIA によって活性化されることが示唆された。すなわち、GrIA は LEE、鞭毛およびエンテロヘモリシンの発現を制御するグローバル・レギュレーターであると考えられる。[伊豫田淳、齊藤剛仁、佐藤人美、寺嶋淳、渡邊治雄]

(7) LEE 非保有型志賀毒素産生性大腸菌 (LEE-negative Shiga-toxin producing *E. coli*: LN-STEC) の接着遺伝子に関する研究

血清群 091 に属する LN-STEC の一群は、免疫グロブリン結合活性を持つ EibG によって宿主細胞へ強固かつ特徴的に接着する (chain-like adhesion: CLA) ことが明らかとなっている。

(7) LN-STEC 株の免疫グロブリン結合活性の解析

これまでの研究から明らかとなった 166 株の様々な O 血清群に属する LN-STEC 株について、免疫グロブリン結合活性を解析したところ、76 株 (47 株の 091 を含む) においてヒト由来の IgG (Fc) への結合活性が確認され、このうち 41 株が *eibG* 陽性であった。既知の *eib* に共通な塩基配列からプライマーを設計して PCR を行ったところ、IgG Fc への結合能を示した *eibG* 陰性の 35 株のうち 7 株は既知の *eib* 遺伝子と共通部分を持つ新規の遺伝子であることが示された。[陸彦、伊豫田淳、佐藤人美、伊藤健一郎 (感染症情報センター)、大西真、寺嶋淳、渡邊治雄]

(4) 新規免疫グロブリン結合蛋白質の同定

(7) で明らかとなった *eib* 陽性の 7 株のうち、3 株について *eib* 遺伝子をクローニングして塩基配列を決定したところ、既知の Eib とは異なる新規免疫グロブリン結合蛋白質をコードしていることが明らかとなった。これらの遺伝子を導入した大腸菌実験室株は CLA パターンで培養細胞へ強固に接着することから、EibG と同様に宿主細胞への接着因子として機能していることが明らかとなった。[陸彦、伊豫田淳、佐藤人美、寺嶋淳、渡邊治雄]

・サルモネラに関する研究

(1) *Salmonella* Enteritidis のファージ型別による解析

2006 年に当研究所に送付された *Salmonella* Enteritidis 496 株 (うち、2006 年分離株は 196 株) に対し、ファージ型別を行った。このうち集団事例由来株に関する解析結果は以下の通りである。解析された 2006 年の集団事例 28 件のファージ型 (PT) の内訳としては、PT1 が 7 件 (25%)、PT4 が 5 件 (18%)、PT6a が 4 件 (14%)、その他 12 件であった。PT1 および PT4 以外の PT 株の割合が増加傾向にあり、PT6a、14b、47 はある程度の頻度で同定されるようになってきている。[泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邊治雄]

(2) *Salmonella* Typhimurium のファージ型別による解析

2006 年に当研究所に送付された多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium の菌株 76 株について、ファージ型別を行っ

た (患者、環境、動物由来を含む)。近年欧米を中心に注目されているファージ型、DT104 およびその関連株はこのうち 29 株であった。[泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邊治雄]

(3) *Salmonella* Enteritidis 薬剤感受性試験

上記ファージ型別に供した 2006 年に発生した集団事例のうち 27 件に関する株について薬剤感受性試験を行った。試験した薬剤全てに感受性のものが 23 件と大勢を占めた。これ以外に SM 単剤耐性および NA 単剤耐性のものが各 2 件検出された。[泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邊治雄]

(4) 鶏肉由来 *S. Enteritidis* 株の解析

1994 年から 2006 年に分離された主として鶏肉由来の *S. Enteritidis* 株について薬剤感受性試験を行った。近年問題となりつつある NA 耐性株が輸入鶏肉においてのみ同定された。このうち 2004 年に分離された輸入鶏肉由来株 1 株は CTX に対しても耐性を示し、blaCTX-M-14 を有すことが明らかとなった。また、2005 年に分離された 1 株も CTX 耐性を示し、blaCTX-M-2 を有すことが明らかとなった。[泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邊治雄、松本裕子 (横浜市衛研)]

(5) フルオロキノロン高度耐性 *Salmonella* Typhimurium 株の解析

2006 年に送付されたフルオロキノロン高度耐性 *Salmonella* Typhimurium 株 (n=15) について、解析を行った。ファージ型別に関しては、DT12 が 9 株、DT193 が 6 株であった。キノロン耐性に関与しているとされている *gyrA* および *parC* 遺伝子のキノロン耐性決定領域に関しては、3 株を除き、いずれもこれまで検出されているものと同様の変異が観察された (GyrA: 83 番目のセリンがフェニルアラニンに、87 番目のアスパラギン酸がアスパラギンに、ParC: 80 番目のセリンがアルギニンに置換)。残り 3 株に関しては、上記 3 箇所の変異のうち、GyrA87 番目のアスパラギン酸がグリシンに置換されており、なおかつ ParE の 458 番目のセリンがプロリンに置換される変異が見出され、これらはフルオロキノロンに対してより高い MIC を示した。また、2 株は Toho-1 型 ラクタマーゼをコードする遺伝子も保有していた。[泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邊治雄]

(6) 日本国内で分離されたチフス菌・パラチフス A 菌のファージ型別法による疫学的解析

2006 年に国内で分離され、地方衛生研究所・保健所から送付されたチフス菌・パラチフス A 菌についてファージ型別試験を行った。送付された菌株数はチフス菌 56 株、

パラチフス A 菌 17 株で、チフス菌・パラチフス A 菌ともに例年に比べ分離数が増加した。ファージ型別試験で主に検出されたファージ型はチフス菌では、E1、B1 であった。パラチフス A 菌では 1、2、6 であった。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、渡邊治雄]

(7) 日本国内で分離されたチフス菌・パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性試験

2006 年に国内で分離されたチフス菌・パラチフス A 菌のニューキノロン系及び第 3 世代セフェム系抗菌薬等に対する MIC を測定しチフス菌、パラチフス A 菌の感受性を検討した。薬剤は、ニューキノロン系薬剤 3 薬剤、第 3 世代セフェム系薬剤 2 剤、その他に従来の治療薬等合計 15 剤を検討した。感受性試験の結果、チフス菌で約 57.1%、パラチフス A 菌で約 82.4%がニューキノロン低感受性菌であることが分かった。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、渡邊治雄]

(8) ニューキノロン高度耐性チフス菌の解析

2006 年に国内で分離されたチフス菌の中でニューキノロン剤に耐性を示す菌が 2 株存在した。これら 2 株は共にファージ型 UVS4 に分類され、パルスフィールドゲル電気泳動による分子疫学的解析の結果では、極めて類似した特有の泳動パターンを示した。キノロン耐性決定領域の遺伝子配列を決定したところ、DNA ジャイレース GyrA サブユニット遺伝子及びトポイソメラーゼ IV ParC サブユニット遺伝子に共通の変異が確認された。ニューキノロン剤に対して高度耐性を示すチフス菌の分離は本邦初である。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、渡邊治雄]

(9) *Salmonella enterica* serovar Typhimurium の細胞侵入に関与する SPI-1 遺伝子群の 1,2-propanediol 及び Propionate による発現抑制について

引き続き、*Salmonella enterica* serovar Typhimurium の細胞侵入に関与する SPI-1 遺伝子群の 1,2-propanediol 及び Propionate による発現抑制について、その詳細なメカニズムの解明を目指して解析を続行している。その際、SPI-1 遺伝子群発現をその統括的 activator 遺伝子、*hliA* の発現レベルを指標としている。現在まで、1,2-propanediol による抑制効果は一部、その代謝産物である Propionate によるものであるが、それに依存しない抑制経路もあること、1,2-propanediol による抑制効果には *hliE* 遺伝子が必須であること、Propionate による効果には *yieP* 遺伝子が関与するものの必須ではないこと等を報告してきた。

(7) *hliE* による効果の Propionate 非依存性の確認 :

hliE 変異株においては 1,2-propanediol による *hliA* 発現抑制がほぼなくなるが、5~10%程度の発現レベル減少が依然見られる。この変異株では 1,2-propanediol から Propionate を産生する代謝経路は正常であるため、この僅かな残存抑制は Propionate 産生による可能性が考えられた。*hliE* 変異株に当該代謝経路遺伝子 (*pdu* 遺伝子群) の変異を導入したところ、残存抑制が完全に消失した。従って、Propionate 非依存的な 1,2-propanediol による抑制効果は、*hliE* 遺伝子の機能のみで説明可能であることが結論できた。

(4) *hliE* による 1,2-propanediol 依存的な *hliA* 発現抑制効果への *hliD* の関与の検討 :

hliD は *hliA* 発現に必須な転写因子である。Micro array を用いた予備的な検討で、*hliA* の他に *hliD* の発現レベルも 1,2-propanediol によって抑制されることがわかった。そこで、*hliE* による 1,2-propanediol 依存的な *hliA* 発現抑制は *hliD* 発現抑制を通して行われている可能性が考えられたので、*hliD* 発現レベルを *hliE* +、- の background、1,2-propanediol の有無の組み合わせでモニターした。*hliD* 発現は *hliE* の有無、1,2-propanediol の有無のどちらによっても変化したが、それらの効果は互いに独立であった。従って、1,2-propanediol 依存的な *hliE* の効果は *hliD* 以外の経路を通じている。

(5) Propionate 依存抑制に関与する *yieP* 以外の遺伝的ファクターの探索 :

yieP 変異株では Propionate 依存的な *hliA* 発現抑制が loose になるが完全には release されない。*yieP* 以外でこの抑制に関与する遺伝的ファクターの存在が予想されるので、*yieP* 変異株を出発材料とした 2ndary mutagenesis で、この抑制が完全に release する変異株のスクリーニングを試みた。Tn10 系の transposon を用いた mutagenesis で、*fliT* 変異株をスクリーニングできたが、詳細な解析の結果この変異単独では効果が Propionate 依存ではなく、無条件に *hliA* 発現を上昇させる変異であることが判明した。また、この効果は *hliA* の positive regulator の一つ、*fliZ* の発現が *fliT* 変異株で上昇するためと判明した。現在、Tn5 系の transposon を用いた mutagenesis を試行しており、Propionate による抑制が完全に release する変異株の候補を数株得た。現在、これら変異のマッピング等を急いでいる。[中山周一、渡邊治雄]

・ピブリオに関する研究

(1) コレラ毒素の多型検出系の構築

古典型及びエルトール型コレラ毒素の検出のため、コレラ毒素Bサブユニット遺伝子の203番目における1塩基変異多型を利用した mismatch amplification mutation assay 法を試みた。コレラ毒素Bサブユニット遺伝子の塩基配列の分かっている古典型およびエルトール型コレラ菌を用いて検証したところ、各々のプライマーによる特異的増幅が確認された。[森田昌知、大西 真、荒川英二、泉谷秀昌、渡邊治雄]

(2) *Vibrio parahaemolyticus* 用の PFGE 標準化プロトコールの作成に関する研究

Vibrio parahaemolyticus について、米国 CDC を中心として香港 (Public Health Laboratory Centre; PHLC)、Bangladesh (International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh; ICDDR, B)、India (National Institute of Cholerae and Enteric Diseases, NICODE), Thailand (National Institute of Health) 及び国立感染症研究所細菌第一部において PFGE 標準化プロトコールの作成を試みた。泳動条件としては、*Sfil*, *NotI* による消化後、Switch time; 10 35.03 秒、電圧; 6V/cm、泳動角度; 120°、泳動時間; 18h、温度; 14℃ を用いることを決定した。CDC、ICDDR, B、PHLC、NICED Thailand NIH 及び細菌第一部から供出された *Vibrio parahaemolyticus* 計 36 株について、それぞれの研究室において標準化プロトコールにより泳動を行い、画像を PHLC に電送後、解析ソフト BioNumerics により比較解析を行った。[寺嶋 淳、斉藤康憲、荒川英二、泉谷秀昌、渡邊治雄]

(3) 平成 18 年度に同定、血清型別などを依頼された *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株

平成 18 年度に同定、血清型別、生物型、遺伝子型別および病原因子の検索の依頼を受けた *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株は 67 株で *Vibrio cholerae*、*V. mimicus*、*V. vulnificus*、*V. parahaemolyticus*、*Photobacterium(Vibrio) damsela* および *Aeromonas* spp. が含まれ、62.7%(42)は国外(イスラエル-25、米国-17)から依頼された。国内株 25 株は 7 株が *V. cholerae* non-01, non-0139 で、*V. vulnificus* が 11 株、*V. parahaemolyticus* が 4 株、*Aeromonas* spp. が 2 株、*Photobacterium(Vibrio) damsela* が 1 株であった。国内株は 6 株の *V. cholerae* non-01, non-0139 が環境由来株であり、昨年度創傷感染のあった受傷河川で分離されたものであった。血清型は患者由来株(08)とは異なっていた(06-3株、07、014、0164-

各 1 株)。残る 1 株は患者由来株であり、コレラ毒素(CT)産生性の 0141 であった。米国の 17 株は 0141 血清に凝集の見られる株で、一部は過去に 0141 と型別されたが、精査の結果 075 であることがわかった。いずれも CT 産生性で、III 型分泌装置関連遺伝子陽性であった。米国を始め国内でも *V. cholerae* 0141 によるコレラ様下痢症が散発的に発生しており、今後 075 も含めて注視していく必要がある。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

(4) *V. parahaemolyticus* の食品からの標準検査法に関する研究

平成 17 年度より厚生労働科学研究費補助金、食品の安心・安全確保推進研究事業「畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究」(主任:宮原美知子)において、腸炎ピブリオの食品からの検査法について、標準となる試験方法の検討を開始した。現行の検査法では成績が出るまでに 3-4 日かかり、消費するまでの時間からすると、生食用魚介類では実用的とは言い難い。近年、酵素基質培地が開発され、培地上での発育および集落の色調で菌種を特定できるものと期待された。市販の冷蔵アサリとハマグリを無菌的にアルカリペプトン水中で振盪し、表面ぬぐい、あるいは貝浸出液を抽出し、一夜培養後その一部を酵素基質培地あるいは TCBS 寒天培地に塗抹した。約 5% が色調の一致しない菌であり、酵素基質培地だけでは不十分である事がわかった。[荒川英二、甲斐明美(東京都健康安全研究センター)、宮原美知子(国立衛研)]

(5) *V. fluvialis* を特異的に検出する系の開発

V. fluvialis は開発途上国の下痢症では比較的頻繁に分離される菌株である。該菌は白糖分解性であるため、選択分離培地である TCBS 寒天上ではコレラの原因菌である *V. cholerae* と色調からは区別がつかない。したがって、両菌を迅速簡便に区別するため、*V. fluvialis* は *toxR* 遺伝子を *V. cholerae* は *ompW* 遺伝子を標的として multiplex PCR の開発を行った。*toxR* 遺伝子はすべての *Vibrio* 属菌が持っており、*V. fluvialis* 特異的な領域を新たに選択し、反応条件についても検討した。参照株および類縁の *Vibrio* 属菌などで検討したところ、*toxR* 遺伝子、*ompW* 遺伝子ともにそれぞれの菌にのみ増幅産物が認められ、特異的検出が可能であった。臨床検体でさらに検討を行う予定である。[荒川英二、泉谷秀昌、T. Ramamurthy(NICODE, India)]

・赤痢菌

(1) 赤痢菌感染による細胞破壊抑制機構に関わる病原因

子の機能解析

赤痢菌は、腸管上皮細胞に侵入・拡散し上皮細胞を破壊することによって出血性下痢を引き起こす。赤痢菌は約 220kb からなる大プラスミドを持ち、感染において重要な役割を果たす病原因子の遺伝子をコードする。このうち細胞侵入に必須の領域(約 30 kb)がすでに決定されている。この領域のみを保持する赤痢菌に感染した上皮細胞においては、核の損傷が認められた。このことから、大プラスミド上には、核の損傷に対して抑制的に作用する遺伝子も存在すると推測される。現在、この遺伝子を探索するとともに、赤痢菌感染細胞の核の損傷に対する抑制機構を解析している。[石原朋子、三浦雅史(協力研究員)、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡邊治雄]

(2) 赤痢菌の Type III 分泌装置発現の転写後調節機構の解析

赤痢菌の細胞侵入に必須な Type III 分泌装置は、温度と塩濃度によって発現が厳密に制御されるがその分子機構は長らく不明であった。本研究は温度と塩濃度が、アクチベーターである InvE 蛋白の発現を転写後に調節する機構を初めて見出した。細菌の主要な RNA 結合蛋白である Hfq の欠損変異体を赤痢菌で作製したところ、翻訳レベルで InvE 発現が増加し、温度や浸透圧による制御が消失していることが示され、mRNA の分解を比較したところ、*hfq* 変異体では *invE*-mRNA が安定化していることが示された。また Hfq 蛋白と *invE*-mRNA の結合が、温度や塩濃度依存的に減少することをゲルシフトアッセイで証明した。[三戸部治郎、石原朋子、渡邊治雄]

(3) 赤痢菌の病原性に関与する因子 OspE2 の解析

赤痢菌の病原性プラスミド上の遺伝子 *ospE2* に変異を起こさせると、菌が侵入した宿主細胞の形態が著しく変化し、感染細胞が rounding する形態変化が観察される。また、*ospE2* 変異株は、宿主細胞への侵入能および宿主細胞内での増殖能は、野生株と同程度であるが、隣接細胞への伝播能の低下が生じる。さらに、赤痢菌は細胞侵入後に III 型分泌装置により種々のタンパク質を宿主細胞質内に分泌することが知られているが、OspE2-HA 融合タンパク質を用いて調べたところ、この融合タンパク質も宿主細胞質内に分泌され、細胞接着斑に局在していることが免疫蛍光染色法により明らかになった。これらの結果から OspE2 タンパク質は感染宿主細胞の伸展形態の維持に働いていることがわかった。OspE2 タンパク質と相互作用する宿主細胞の因子を同定するために、大腸菌のツーハイブリッドシステムおよび GST プルダウンアッセイにより探索した

ところ、ダイニン軽鎖(DYNLT1)が同定された。今後これらの結果を手がかりにメカニズムを解明して行く予定である。[三浦雅史(協力研究員)、寺嶋淳、泉谷秀昌、大西真、三戸部治郎、石原朋子、渡邊治雄]

. レンサ球菌に関する研究

(1) 日本における 2005 年の溶レン菌感染症サーベイランス

2005 年に全国の衛生研究所に収集された A 群レンサ球菌の菌株総数は、1868 株であり、1860 株に対して T 型別が行われた。分離頻度の高かった T 型は、T12 (580/1868, 31.0%)、T4 (262/1868, 14.0%)、T1 (248/1868, 13.3%)、T28 (156/1868, 8.4%)、T3 (130/1868, 7.0%)であった。T12、T4、T1 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。T28 型の分離比率は、2000 年以降ほとんど一定である(2000, 7.0%; 2001, 7.3%; 2002, 7.1%; 2003, 7.4%; 2004, 6.7%; 2005, 8.4%)。T3 型は、昨年と比較して増加した(2004, 3.8%; 2005, 7.0%)。[池辺忠義、渡邊治雄、平澤恭子(福島衛研)、岡崎則男(神奈川衛研)、遠藤美代子(東京都健康安全研究センター)、嶋智子(富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、富田正章(山口環境保健センター)、緒方喜久代(大分衛生環境研究センター)、The Working Group for *α*-hemolytic Streptococci in Japan]

(2) 日本における劇症型 A 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の *emm* 型別

2005 年、25 症例報告があり、そのうち 23 症例が劇症型溶血性レンサ球菌感染症の診断基準を満たしていた。T1 分離株 11 例は、*emm* 遺伝子はすべて *emm1* と相同性を示し、M 血清型別でもすべて M1 型であった。2004 年、T3, T4, T28, TB3264 型が各 2 例で分離され、T3 型はすべて *emm3* (M3)、T28 型はすべて *emm28* (M 型別不能)であったが、T4 型は *emm4* (M4) が 1 例、*emm60* (M 型別不能)が 1 例、TB3264 型は *emm1* (M1)が 1 例、*emm89* 型 (M 型別不能) が 1 例であった。T12, T14/49, T-imp.19 分離株の *emm* の塩基配列は、それぞれ、*emm12* (M 型別不能)、*emm58* (M 型別不能)、*st2147* (M 型別不能)であった。[池辺忠義、渡邊治雄、平澤恭子(福島衛研)、岡崎則男(神奈川衛研)、遠藤美代子(東京都健康安全研究センター)、嶋智子(富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、富田正章(山口環境保健センター)、緒方喜久代(大分衛生環境研究センター)、The Working Group for *α*-hemolytic Streptococci in Japan]

(3) 日本における劇症型 B 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の血清型別

2005年、劇症型B群レンサ球菌感染症は2例の報告があった。これらの株の血清型は、それぞれ、7271型(NIH306)、III型(NIH308)であった。[池辺忠義、常 彬、渡邊治雄、平澤恭子(福島衛研) 岡崎則男(神奈川衛研) 遠藤美代子(東京都健康安全研究センター) 嶋 智子(富山衛研) 河原隆二(大阪公衛研) 富田正章(山口環境保健センター) 緒方喜久代(大分衛生環境研究センター) The Working Group for α -hemolytic Streptococci in Japan]

(4) ブタレンサ球菌の virulence markers の保有状況に関する調査

日本国内で患者から分離されたブタレンサ球菌 8 株について、本菌の virulence markers といわれている遺伝子 *mrp* (encode for muramidase-released protein); *epf* (encode for extracellular factor EF); *sly* (encode for hemolysin) の保有状況の調査を行った。その結果、8 株中の 5 株は *mrp+*/*epf+*/*sly+*、1 株は *mrp-*/*epf+*/*sly+*、残りの 2 株は *mrp+*/*epf-*/*sly-* 遺伝子型を示した。[常 彬、渡邊治雄]

(5) ブタレンサ球菌の培養細胞への細胞毒性の調査

日本国内で患者から分離されたブタレンサ球菌 8 株の Human brain microvascular endothelial cells (HBMEC) およびマウスマクロファージ J774 への細胞毒性を調べた。*sly* を有する 6 株は HBMEC および J774 へ強い細胞毒性を示したが、*sly* を有しない 2 株の細胞毒性は低かった。この結果から、*sly* 遺伝子によってコードされるブタレンサ球菌の溶血毒素は培養細胞への細胞毒性に関与することが示唆された。[常 彬、渡邊治雄]

レジオネラに関する研究

(1) 日本各地から分離された *Legionella pneumophila* の *flaA* 遺伝子による型別

日本国内の冷却塔からの分離株 128 株、浴場施設からの分離株 167 株、計 295 株について *flaA* 遺伝子の一部領域を PCR で増幅し、塩基配列を決定した。冷却塔水分離株の *flaA* 型は 10 種類に分かれたものの *flaA1* と *flaA11* の 2 種類で 88% を占めたのに対し、浴槽水分離株は *flaA6* が 34%、*flaA3* が 20%、*flaA7* が 18%、*flaA2* が 13% で、その他合わせて 9 種類に分かれ、冷却塔水分離株に比べ浴槽水分離株は多様性に富むことがわかった。[前川純子、倉 文明、常 彬、鈴木敦子・市瀬正之(東京都予防医学協会) 遠藤卓郎(寄生動物部) 渡邊治雄]

(2) 日本で分離された *Legionella pneumophila* のモノク

ローナル抗体を用いたドレスデンパネルによる分類

(7) 遺伝子型別法との併用

L. pneumophila 血清群 1 の臨床分離株 38 株、環境由来株 27 株(浴槽水分離株 13 株、冷却塔水分離株 14 株)、計 65 株について、6 種類のモノクローナル抗体でサブグループを決定するドレスデンパネルを用いた分類を我が国において初めて試みた。その結果、モノクローナル抗体型は 9 種類あり、欧米にはない日本独自の型も認められた。遺伝子型別法では 65 株は 34 種類に分かれ、両者の型別法を併用すると 41 種類(臨床分離株 29 種類、環境分離株 14 種類)に細分化された。臨床分離株と浴槽水分離株は多様性に富んでいたのに対し、冷却塔水分離株は 2 種類のみで型別された。

(1) モノクローナル抗体 MAb1/3 陽性株の分布について

ドレスデンパネルのモノクローナル抗体の 1 つである MAb1/3 は *L. pneumophila* 血清群 1 の LPS の O 鎖 8-O-アセチル基を認識することがわかっているが、環境分離株に比べ臨床分離株の方が MAb1/3 陽性株が多いことが知られていた。今回調べた日本の分離株 65 株についても、臨床分離株の 74% が陽性であったのに対し、環境分離株の陽性率は 22% で、すべて浴槽水分離株であった。

[前川純子、倉 文明、常 彬、渡邊治雄、Jürgen H. Helbig (ドレスデン工科大学)]

(3) 掛け流し式温泉の温泉成分検査、微生物実態調査および施設の衛生管理状況についての調査

(7) 泉質とレジオネラ陽性率の関係

日本全国の多様な泉質をもつ 8 自治体、48 の温泉入浴施設について泉質、微生物検査および設備調査を行った。46% の施設からレジオネラが検出された。陽性検体の平均菌数は 29 CFU/100mL で、最高が 500 CFU/100mL であった。分離されたレジオネラは、9 割が *L. pneumophila* で、血清群 1、6、untypable が多かった。泉質別では酸性泉と硫黄泉のレジオネラ検出率が低かった。検査した温泉成分との関係では、レジオネラの陽性率が有意に低かったのは、単変量解析の結果から、pH6 未満、酸消費量(炭酸水素イオン濃度) 400 mg/L 未満、電気伝導率 225mS/m 未満、全硬度 650 mg/L 未満の温泉水であったが、多重ロジスティック回帰解析では、pH6 未満のみが有意となった。

(1) 微生物汚染とレジオネラ陽性率の関係

レジオネラ陽性率と他の微生物量との関係については、多重ロジスティック回帰解析により、従属栄養細菌 200CFU/mL 以上、一般細菌 30CFU/mL 以上、アメーバ

20PFU/100mL以上で有意に高く、特に連続量として見ると、一般細菌数が重要なリスク因子で、一般細菌が10倍になると、レジオネラ汚染のリスク(オッズ比)は2.2倍になった。各種泉質は、一般細菌数に影響してレジオネラ汚染のリスクに関与すると示唆された。[前川純子、山崎利雄、遠藤卓郎(寄生動物部)、岩淵香織(岩手県環境研センター)、緒方喜久代(大分県衛環研センター)、黒木俊郎(神奈川県衛研)、杉山寛治(静岡環衛研)、藤田雅弘・星野利得(群馬県衛環研)、森本洋・池田徹也・清水俊一(北海道衛研)、最首信和・井田正己(鳥取県衛環研)、熊田裕子(福島衛研)、新川晶子(石川県保環センター)、原信行(岐阜県保環研)、宮坂次郎(熊本県保環研)、倉文明]

(4) 循環式入浴施設における本邦最大のレジオネラ症集団感染事例の診断検査

2002年7月の宮崎県の事例において、入院患者を中心に95名について検査した。その結果、発症者24名のうち3名の喀痰から、*Legionella pneumophila* 血清群(SG)1が分離され、75名のうち23名が尿中抗原陽性と判定された。また、マイクロプレート凝集法および間接蛍光抗体法を用いた血清抗体価測定により、66名のうち、SG1および*Legionella dumoffii*による感染がそれぞれ5名(1名は混合感染で合計9名)と判定され、計32名がレジオネラ症と診断された。[河野喜美子・岡田美香(宮崎県衛環研)、倉文明、前川純子、渡邊治雄]

(5) 尿中抗原測定キット、PCRによる臨床検体からのレジオネラの検出

宮崎の集団感染事例において、尿中抗原測定キットのうちBinaxイムノクロマト法による陽性率31%は、Biotest EIAの16%より高かった。2種のキットともに、通常の方法では、尿中抗原は発症後4週以内の患者にしか検出されなかった。喀痰のPCRにより、17名中5名(29%)が*L. pneumophila*による感染と判定された。尿中抗原検出やPCRは、培養や血清抗体価測定よりも陽性率が高く検査法として有用であった。しかし、培養法は感染源の特定のために公衆衛生上重要である。[河野喜美子・岡田美香(宮崎県衛環研)、倉文明、前川純子、渡邊治雄]

(6) 掛け流し式温泉由来のレジオネラ属菌の菌種・血清群の同定

厚労省科研費の班研究として、鹿児島、長崎、愛媛、神奈川、山形、静岡の地研で同定困難とされた15施設由来の合計38株のレジオネラ属菌の内36株の菌種を同定し、残り2株は既存の種にはあてはまらなかった。内訳は温泉

水由来34株(湯口13株、浴槽水13株、貯湯槽5株、配管2株、吐出湯1株)、冷却塔水由来4株であった。16S rRNA遺伝子の塩基配列決定により15株が*Legionella londiniensis*と同定され、温泉水・浴槽水にこの菌種が広く生息していることが示唆された。16S rRNA遺伝子の塩基配列決定及びDNA-DNAハイブリダイゼーションにより10株が*Legionella oakridgensis*であった。*Legionella anisa* 8株(冷却塔由来株4株を含む)、*Legionella sainthelensi* 2株、*Legionella jordanis* 1株が同定された。*L. sainthelensi*はすべて酸性泉由来であった。[前川純子、倉文明、井上博雄(愛媛県衛環研)]

(7) 市販されていないレジオネラ免疫血清の作成と特異性

支部レジオネラレファレンスセンターに配布済みのボゼマニ2群、ロングビーチ1群、及び新たに作成し未配布のロングビーチ2群とフィレイ1群の免疫血清の特異性検査を、レジオネラ属菌71株(種の基準株及び血清群参照株)の加熱死菌を用いてスライド凝集テストにより検査した。ロングビーチ2群血清は交差反応が認められなかった。一方、ロングビーチ1群血清は*Legionella sainthelensi*血清群2、*Legionella tucsonensis*と交差反応し、*L. sainthelensi*との交差反応性は有効に除去できなかった。フィレイ1群血清は*Legionella donaldsonii*と交差反応したが、その反応性は吸収可能であった。ボゼマニ2群血清は*Legionella anisa*と交差反応した。[倉文明、渡邊治雄]

(8) 市販レジオネラ免疫血清ボゼマニの交差反応性

レジオネラ免疫血清ボゼマニ(デンカ生研)で凝集するが、*Legionella bozemanii*の特徴である青白色の自発蛍光が認められない温泉水由来レジオネラ属菌1株を検査した。16S rRNA遺伝子の塩基配列決定及びDNA-DNAハイブリダイゼーションkitで、*Legionella jordanis*と同定された。また、この免疫血清は*L. jordanis*の基準株と交差反応することが確認されたので、支部レファレンスセンター及び免疫血清の発売元に注意を喚起した。[倉文明、前川純子、渡邊治雄、蔵元強(鹿児島県環境保健センター)]

(9) 平成18年度浴槽水中のレジオネラ属菌検出状況

平成18年度(4月から1月)に主として関東地方から分離された浴槽水由来株441株の94.8%は*Legionella pneumophila*で、群別不能株(25.9%)、血清群1(25.4%)、血清群5(15.0%)、血清群6(12.7%)が多く検出された。

平成 8~12 年度 (48.0%)、平成 13 年度 (28.6%)、平成 17 年度 (10.0%) に比べ検体当りの陽性率は、平成 18 年度は 9.4% に低下した。一方、浴槽水分離株にしろ *L. pneumophila* 血清群 1 の割合は、昨年度 (35%) に比べ低くなっているものの、平成 8~12 年度 (5.7%)、13 年度 (18.8%) に比べ高い。[倉 文明、前川純子、常 彬、鈴木敦子・市瀬正之(東京都予防医学協会検査研究センター)、遠藤卓郎(寄生動物部)]

(10) 平成 18 年度冷却塔水中のレジオネラ属菌検出状況

平成 18 年度に主として関東地方から分離された冷却塔水由来株 276 株の 78.3% は *L. pneumophila* で、血清群 1 (50.0%)、*Legionella anisa* (18.5%)、血清群 7 (15.7%) が多く検出された。これらの菌種、血清群の分布は、浴槽水分離株とは異なった。検体当りの陽性率は、平成 8~12 年度 (46.0%)、平成 13 年度 (45.9%)、平成 17 年度 (29.3%) に比べ、平成 18 年度は 26.0% に低下した。浴槽水の検出率の低下に比べて、冷却塔水では緩やかな低下となっている。[倉 文明、前川純子、常 彬、鈴木敦子・市瀬正之(東京都予防医学協会検査研究センター)、遠藤卓郎(寄生動物部)]

(11) アメーバを用いた *Legionella pneumophila* の接合伝達の研究

L. pneumophila は環境中で自由生活するアメーバや繊毛虫など細菌捕食性原虫内で増殖し、ヒトに肺炎を引き起こす細胞内寄生菌である。本菌の染色体遺伝子(病原因子を含む)が接合伝達されることが知られていた。また、弱毒株は病原因子の獲得によって強毒化するが報告された。原虫内でプラスミド接合伝達が高率に起こっているという報告もある。そこで、我々はアメーバ内での *L. pneumophila* の接合伝達の効率を調べた。しかし、アメーバが存在しない場合の遺伝子伝達効率に比べ、アメーバ内での伝達効率の上昇は見られなかった。[常 彬、渡邊治雄]

(12) *Legionella pneumophila* の二成分制御系に関する研究

二成分制御系 CheA-CheY は細菌の走化性、バイオフィルムの形成、鞭毛や線毛の発現を調節し、さらに、病原性に関与することが多く報告されていた。我々は *L. pneumophila* の CheA-CheY と相同性を持つ二つの遺伝子の機能について調べている。これらの遺伝子に薬剤耐性カセットの導入により変異株を作成した。野生株と比べて、変異株のバイオフィルムの形成、宿主細胞への接着や侵入、

病原性の違いの有無について調べ、CheA-CheY 二成分制御系の *L. pneumophila* の感染機構における役割を明らかにする予定である。[常 彬、渡邊治雄]

(13) *Legionella pneumophila* 感染が自然免疫系の宿主応答を誘導する作用の解析

自然免疫は脊椎動物や昆虫を含む多くの生物が持つ生体防御機構で、その普遍性と重要性が明らかになってきている。ショウジョウバエは自然免疫研究のモデル動物として優れている。我々はショウジョウバエ S2 細胞およびその small interfering RNA を用いて、*L. pneumophila* 感染による自然免疫系を制御するシグナル系の解析を行った。その結果、*L. pneumophila* 感染は S2 細胞の Imd 経路(Imd dYAK1 dIKK 複合体 Relish といった因子群から構成され、ヒトの自然免疫系である TNF 経路と共通性を示している)を活性化することにより、抗菌ペプチドの Dipterocin の産生を誘導した。一方、JAK/STAT 経路の活性化は見られなかった。また、この自然免疫系を活性化する作用には *L. pneumophila* の病原遺伝子群 Icm/Dot の関与が見られなかった。[常 彬、本田尚子、渡邊治雄]

(14) ミエロペルオキシダーゼ依存酸化系の *Cryptococcus neoformans* に対する生体防御への寄与

ミエロペルオキシダーゼ欠損マウス(MPO^{-/-})は、対照マウスに比べ、*C. neoformans* の鼻腔内投与、静脈投与後の生存率が低下し、鼻腔内投与後の肺生菌数が多かった。MPO^{-/-}マウスでは、感染 7 日後の肺で IL-4 が多く、IL-2、IL-12、IFN- γ が少ないことから、Th1 応答の低下が示唆された。また肺の強い炎症像を示し、肺 IL-1 β が多かった。さらに MPO^{-/-}マウスでは、鼻腔内投与により脳でも菌が検出され、脳 KC が多かった。以上、MPO の主要な役割が示唆された。[荒谷康昭(横浜市大) 倉 文明、渡邊治雄、赤川久義・高野幸枝・大川原明子・鈴木和男(生物活性物質部) Nobuyo Maeda(ノースカロライナ大) 小山秀機(横浜市大)]

髄膜炎菌に関する研究

(1) 培養細胞を用いた in vitro 感染実験における日本固有株 ST-2032 と ST-2046 の感染能の比較解析

日本において年間 20 例程しか発生しない髄膜炎菌性感染症が日本における髄膜炎菌株の病原性の低さに由来するか否かを検証するためにヒト内皮及び上皮培養細胞(HBMEC, HUVEC, A546, HEp-2)を用いた in vitro 感染実験における感染能を比較した。その結果、日本固有株であり、

患者からのみ分離される ST-2032 が優位に高い接着・侵入能を示したのに対して分離株の 90%以上が健常者からである日本固有株である ST-2046 は ST-2032 株とは反対に低い接着・侵入能を示した。髄膜炎菌のヒト細胞への接着に必須の線毛の遺伝子を破壊した ST-2032 株でも ST-2046 株よりも約 10 倍の接着・侵入能を保持しており、今回使用した株はすべて莢膜多糖体や Opc といった既知接着因子を保持していないことから ST-2032 株には未知の病原因子が潜在している可能性が示唆された。[高橋英之、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)、渡邊治雄]

(2) ホスホエタノールアミン(PEA)付加酵素による髄膜炎菌のヒト培養細胞への接着効率上昇の解析

日本固有株で in vitro 感染実験において強い感染性を示すある ST-2032 の遺伝子ライブラリーを broad-host-range vector で構築し、同じく日本固有株で感染性の低い ST-2046 株に導入し、ヒト脳血管内皮細胞 HBMEC に対する感染性の高くなった形質転換株を単離した。その結果、髄膜炎菌の LPS (LOS) に PEA 基を付加する酵素の遺伝子 (*lptA*) を保持することが明らかとなった。ST-2046 株へ *lptA* 遺伝子をプラスミドで導入した場合には HBMEC への接着が約 10 倍に増加し、ST-2032 株の *lptA* 遺伝子破壊株はその接着能力が約 1/10 に低下していた。またこの *lptA* 遺伝子による接着効率の変化は他のヒト内皮・上皮細胞でも認められた。以上の結果から髄膜炎菌は自身の LOS の PEA 修飾を介して接着効率を調節している可能性が示唆された。[高橋英之、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)、David Stephens (Emory University)、渡邊治雄]

(3) 本年度に発生した髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫学的解析

2005 年度 1 年間に感染研に収集された髄膜炎菌 12 株の疫学的解析を行なった。血清型は B:1 株、Y:6 株、29E:1 株、型別不能:4 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 が 5 株、ST-3015、ST-5583 (ST-32 complex)、ST-5711、ST-2045、ST-2330、ST-6003、ST-6004 が 1 株ずつであった。昨年度までの解析結果と合わせて考察しても日本国内には ST-23 が最も多く分布している結果が推測された。今年度解析した髄膜炎菌株のうち ST-5583、ST-5711、ST-6003、ST-6004 といった日本固有の遺伝子型も新たに検出されており、日本国内には未同定の遺伝子型の髄膜炎菌株が未だ潜在している可能性も昨年同様に示唆された。また、血清型 29E は髄膜炎菌株で非病原性と一般的に考えられているにも関わらず今回

ST-5711 (ST-35 complex) が患者から分離されてきていることは医学的には注目すべきことであると考えられた。また、本年度も日本固有の ST に分類される髄膜炎菌株が分離されていることから日本の髄膜炎菌株は未だ未解析で潜在していると推測された。[高橋英之、渡邊治雄]

・臨床細菌に関する研究

(1) *Clostridium perfringens*に関する研究

高齢者医療施設入院病棟において発生した腹痛、下痢、嘔吐の集団発生の起炎菌として分離された *C.perfringens* の解析を行った。患者便より分離された *C.perfringens* 39 株のうち、27 株 (69.2%) がエンテロトキシン遺伝子 *cpe* を保持していた。これら *cpe* 陽性菌は 8 種類の染色体切断パターンを持っていたが、1 株を除く 26 株は、共通の 75 kb プラスミドを持ち、このプラスミドの上にエンテロトキシン遺伝子 *cpe* が存在していた。異なる菌株間でのプラスミド伝達によるエンテロトキシン産生形質の獲得が示唆されたが、その伝達がどの段階で起こったに関しては不明であった。[和田昭仁、稲松孝忠(東京都老人医療センター感染症科)]

・レプトスピラ、ボレリア等に関する研究

(1) マダニ媒介性感染症に関する研究

(ア) マダニのヒト刺咬例に対する検査体制の確立

4 類感染症であるライム病、日本紅斑熱に加え、国内でも浸潤が確認されたエーリキア・アナプラズマ感染症の早期診断体制の確立を目的として、媒介マダニ刺咬例の疫学調査を行っている。検査材料であるヒト刺咬マダニより唾液腺を単離、病原体 DNA を検出することによって早期診断が可能か否かを調べている。[川端寛樹、渡邊治雄、安藤秀二・岸本寿男・倉根一郎(ウイルス第一部)]

(イ) 海外から持ち込まれる動物寄生のマダニが保有する病原体の検索

わが国では近年のペットブームの影響で、これまでのペットとは異なる種類の野生動物が無検疫で輸入されている現状があり、その危機管理対応の確立が急がれている。一方で、検疫対象とされる動物に関しても、動物に寄生する節足動物に対しては、家畜伝染病予防法第 3 6 条 2 項以外による規制に該当しない節足動物が無検疫で輸入されている。そこで、まず病原体の侵入実態を明らかにするために、環境研究所、麻布大学など共同で、輸入動物寄生性マダニに関して、病原体保有調査を開始した。調査対象は、ボレリア、リケッチア、エーリキア、アナプラズマでいずれもヒトを含む動物のマダニ媒介性感染症病原体

である。これまでに、ボレリア、リケッチアなどの病原菌に類縁な細菌種が分離、検出されており、現在、これら分離株について生物学的・病原性解析を進めている。また、検出対象を拡大するために、感染症研究所内にネットワークを構築した。現在ダニ媒介性ウイルス等についても検査可能な状況を整備しつつある。[川端寛樹、渡邊治雄、安藤秀二・岸本寿男・高崎智彦・倉根一郎(ウイルス第一部)、五箇公一(環境研)、宇根有美(麻布大)]

(2) レプトスピラ抗原 Lig タンパク質のワクチンへの応用に関する研究

レプトスピラの感染防御タンパク質 LigA-m の組換えタンパク質を免疫することで、イヌにおいても LigA-m に対する抗体産生を誘導することができた。今後感染実験を行って、イヌでの感染防御効果を評価する。一方、LigA-m の経口ワクチンへの応用を目指して、LigA-m 発現大腸菌を作製し、マウスに経口投与を行ったが、血中抗体産生は認められなかった。[小泉信夫、渡邊治雄、樋坂光明・川上和夫・鈴木 悟・村上保人・岸 雅彦(共立製薬先端技術開発センター)]

(3) 宮崎県北部におけるレプトスピラ保有動物調査

2006年8、9月に宮崎県北部で7例のレプトスピラ症患者が発生したため、同地域のレプトスピラ保菌動物調査を行った。同地域でネズミ57匹を捕獲し、そのうちアカネズミ6匹からレプトスピラが分離できた。患者の推定感染場所付近で捕獲されたアカネズミからの分離株は、患者血清と特異的に反応をした。また同地域で捕獲されたイノシシ、シカ、タヌキの腎臓中からレプトスピラ遺伝子 *flaB* を検出した。またレプトスピラ症疑いの猟犬からレプトスピラ抗体を検出した。[小泉信夫、武藤麻紀、渡邊治雄、宮崎県衛生環境研究所、宮崎県延岡保健所、宮崎県高千穂保健所、宮崎県日向保健所]

(4) フィリピンにおける野鼠からのレプトスピラの分離・性状解析

フィリピン・マニラ首都圏およびロスパニョス地方で野鼠66匹を捕獲し、そのうち36匹からレプトスピラを分離した。分離株の *flaB* 塩基配列、*Not* - PFGE の切断パターンおよび標準抗血清との反応性から、分離株は *L. interrogans* serovar Manilae, *L. interrogans* serovar Losbanos, *L. interrogans* serogroup Grippotyphosa および *L. borgpetersenii* serogroup Javanica と同定された。[小泉信夫、武藤麻紀、渡邊治雄、吉田真一(九大)]

(5) 各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

大日本猟友会の協力により、1道8県のシカ腎臓32検体、また11県のイノシシ腎臓45検体からレプトスピラ遺伝子 *flaB* の検出を行ったところ、シカ腎臓1検体およびイノシシ腎臓7検体から *flaB* が検出された。またそれらの塩基配列を決定したところ、*L. interrogans* (6検体) および *L. borgpetersenii* (2検体) と同定された。東京都の2ヶ所で捕獲したドブネズミそれぞれ4匹と1匹からレプトスピラが分離された。*flaB* 塩基配列からこれら分離株は *L. interrogans* と同定された。東京都動物愛護相談センターに収容されたイヌの腎臓、尿からレプトスピラの分離および腎臓培養液、尿からレプトスピラ遺伝子の検出を試みたがすべて陰性であった。[小泉信夫、武藤麻紀、谷川力(イカリ消毒技術研究所)、林栄治(東京医科歯科大学大学院)、今岡浩一(獣医科学部)、水谷浩志(東京都動物愛護相談センター)]

腸管外病原性大腸菌、セラチアに関する研究

(1) 腸管外病原性大腸菌の遺伝的型別

尿路をはじめとする腸管外に様々な病変を惹起する腸管外病原性大腸菌に関しては、下痢原生大腸菌と比較して十分な解析がなされておらず、病原性に関しても未解明な部分が多く残されている。腸管外病原性大腸菌の分子系統解析から疫学解析の基盤情報を供することを目的とし本研究を行った。そこで膀胱炎患者由来58株、腎盂腎炎患者由来72株、前立腺炎患者由来48株、計178株のExPECの系統解析を行い、対照としてECORコレクション株72株および便由来大腸菌45株との比較解析を行った。Multi-locus sequence typing (MLST)法により系統解析を行った。膀胱炎由来菌株58株は21の異なったシークエンス型を示し、腎盂腎炎および前立腺炎由来株(72株および48株)もそれぞれ21および19型に分けられ、多様であることが示された。糞便由来株(45株)においても、28型に分けられ同様に多様であることが示された。しかしながら、便由来大腸菌は71%が系統A/B1に属することとは対照的に、膀胱炎由来、腎盂腎炎由来、前立腺由来菌株のほとんどが系統B2に属することが明らかにされ(それぞれ88%、88%、85%)、系統B2に属する菌株が尿路感染症に深く関係していることが示された。[大西 真、渡邊治雄、山本新吾(兵庫医大)、倉園久生(大阪府大)]

(2) *Serratia marcescens* に関する研究

Serratia marcescens は尿路感染症や日和見感染症の原因菌である。抗生物質非依存的な治療の構築を念頭に *S. marcescens* の基礎的な病原性のメカニズムの解明をめ

ざした。溶血活性として、赤血球から遊離するヘモグロビンを指標にしたコンタクトヘモリシス(30)と血液寒天培地におけるハロー形成能(37)の2種類がみられた。*S. marcescens*では現在、溶血素としてShIAが知られている。*shIA*欠損株を作成したところ、コンタクトヘモリシス活性はほぼ消失していたにも関わらず、ヒト血液寒天培地におけるハロー形成能は失われてなかった。ヒト血液寒天培地(37)を用いた系により、新たな溶血素(病原性因子)遺伝子をショットガンクローニング法により検索し、4株を得た。このうち一株は既知の溶血因子である*shIA*を含むDNA断片を所持していたが、他の3株は溶血素として想定出来るホスホリパーゼA1(PhIA)が存在していた。*phIA*は963bp(321aa)をコードしており約33.4kDaのタンパク質である。そこで、*phIA*が溶血活性の責任遺伝子であることを確かめるために、pGEM-TEasy vector(promega)に*phIA*遺伝子を挿入後、DH5 α を形質転換し、得られた株の溶血活性を血液寒天培地で調べた。その結果、先のスクリーニングと同様な溶血環がみられた。このことは、*phIA*が*S. marcescens*の新規溶血素であることを強く示唆するものであった。[志牟田健、伊豫田淳、大西 真、渡邊治雄]

・口腔内細菌に関する研究

(1) *Streptococcus mutans*と他のstreptococciとの混合培養におけるバイオフィーム形成能の検討

う蝕原因菌である*S. mutans*や*S. sobrinus*と他のstreptococciとの混合培養におけるバイオフィーム形成能を検討すると、*Streptococcus mitis*や*Streptococcus salivarius*と混合培養した場合に*S. mutans*や*S. sobrinus*の単独培養よりもそのバイオフィーム形成量が低下することが明らかとなった。また、*S. salivarius*によりバイオフィームが低下するメカニズムにQuorum-sensing system(細胞密度依存的制御機構, QS-System)を制御するオートインデューサーのCSPを不活性化させる*S. salivarius*が産生する蛋白分子が存在することが明らかとなった。この分子は、バイオフィーム形成初期に働き、バイオフィームの厚みを制御していた。この分子を特定することは、新たなう蝕予防剤の開発に繋がることが考えられた。[泉福英信、田村昌平、茂木瑞穂、米沢英雄、渡邊治雄]

(2) *Streptococcus mutans*と他のstreptococciとの混合バイオフィーム形成能における*glrA*の役割の検討

バシトラシンのトランスポーターに関与する遺伝子である*glrA*の発現のない*S. mutans*ミュータント株は、バイオフィーム底面の形成量がワイルド株よりも減少して

いた。よって、*glrA*はバイオフィーム底面の形成に関与する遺伝子であることが明らかとなった。このミュータント株とワイルド株のそれぞれに*S. salivarius*や*S. mitis*を混合しバイオフィームを形成させると、ワイルド株ではバイオフィーム形成が低下するのに対してミュータント株で低下しなくなった。よって、*glrA*は*S. salivarius*や*S. mitis*によるバイオフィーム形成抑制にも関与する遺伝子であることが明らかとなった。このミュータント株はワイルド株よりもCSPの分泌量が増加しており、このことが抑制に関わった可能性が考えられた。[泉福英信、茂木瑞穂、米沢英雄、渡邊治雄]

(3) *S. gordonii* SspB ペプチドの唾液アグルチニンへの結合におけるリジン置換の影響

*S. gordonii*の菌体表層蛋白質(SspB)のSspB(390-T400K-402)ペプチドは、唾液アグルチニン(gp-340/DMBT1)のペプチド(SRCRP2)と強く結合する。この結合には、リジン置換による陽電荷表出が影響していることが考えられている。17年度の検討により、このペプチドの2か所置換ペプチドSspB(390-A393K-T400K-402)は、1か所置換のSspB(390-T400K-402)ペプチドよりもpHが低下していくと結合量が上昇していくことが明らかとなった。これは、ペプチド表層に表出した陽電荷のリジンの追加が、結合に影響していることを示唆していた。そこで、18年度はペプチドの立体構造を予測して、リジン置換により陽電荷がどのように表出しているか立体構造を描画できるコンピューターソフトMOEを利用してその解析を行った。その結果、アミノ酸残基番号393のアラニンと400のスレオニンを置換したリジンは、ヘリックス構造上一列に並んで同方向に表出していることが明らかとなった。このようなリジンによる陽電荷の表出がSRCRP2との結合に関与すると考えられた。[泉福英信、木庭秀彦、中尾龍馬、渡邊治雄]

(4) *Streptococcus mutans* 臨床分離株におけるBacteriocin Smbの遺伝子パターンとその抗菌性への関与

*S. mutans*の産生する抗菌物質であるバクテリオシンの一つにSmbがある。このSmbは、抗菌性の強いLantibioticタイプであり、Quorum-sensingによりその発現が制御されている。Smbの保有率が臨床分離株や実験室株の中でどの程度か、またSmb保有菌株間における抗菌性について検討を行った。その結果、17臨床分離株の中で5株(29%)、7種の実験室株の中で2株(29%)がSmb保有株であった。これらのすべてのSmb保有株は、Smb感受性菌であるRP66(Group C streptococci)への抗菌活性を示した。これ

らのことから、約 30%の *S. mutans* において、Smb が主要な抗菌性物質であることが示唆された。[泉福英信、米沢英雄、渡邊治雄]

(5) *S. mutans* のバイオフィーム形成中期と後期に発現する遺伝子の検討

S. mutans において Quorum-sensing (QS) system は、細胞密度を感知し、遺伝子発現を制御することでバイオフィーム形成に関与していることが明らかとなっている。*S. mutans* は、オートインデューサーである Competence stimulating peptide (CSP) を介した QS-system が存在している。我々は *S. mutans* の CSP により誘導される 32 遺伝子を明らかにし、その中でバイオフィーム形成中期と後期に発現する遺伝子を検討した。その結果、8 時間培養(中期)では SMU1913、SMU1882、14 時間培養(後期)では、SMU104、SMU482 を含む 5 つの遺伝子がバイオフィーム形成時に強く発現することが明らかとなった。これらの遺伝子は、QS-system を介してバイオフィーム形成の調節に関与していると考えられた。[泉福英信、米田早織、米沢英雄、中尾龍馬、渡邊治雄]

(6) *Enterococcus faecium* による分泌物質による *Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成阻害効果

E. faecium は、*S. mutans* のバイオフィーム形成を阻害することが明らかとなっている。そこで、*E. faecium* がその阻害物質を分泌するか検討するために、BHI 透析外液培地にて培養後、培地中に分泌された物質を硫酸沈殿による塩析により濃縮することを試みた。その後、沈殿試料を PBS にて透析後、分子量 10kDa 以上を回収するために限外ろ過を行い、蛋白質濃度測定後 *S. mutans* のバイオフィーム形成実験にこの試料を付与した。その結果、その試料は蛋白質濃度依存的にバイオフィーム形成を阻害した。また、この試料を熱、ブタノール、フェノールで処理しその影響を検討すると、阻害効果が消失した。よって、*E. faecium* は、*S. mutans* のバイオフィーム形成を阻害する蛋白質を分泌することが明らかとなった。[泉福英信、熊田昌幸、米沢英雄、中尾龍馬、渡邊治雄]

(7) アッサム茶成分による *S. mutans* バイオフィーム形成への効果に関する研究

齲蝕予防剤開発のため、近年注目されているアッサム茶成分のう蝕原因菌：*S. mutans* および *S. sobrinus* への効果について検討を行った。*S. mutans* および *S. sobrinus* のバイオフィーム形成において、アッサム茶は中国産緑茶よりもその抑制効果が高いことが示唆された。アッサム茶

成分を 10kDa の分子量以下と以上に限外ろ過を用いて分け検討を行うと、10kDa の分子量以下に抑制物質が含まれていることが明らかとなった。その成分は、SDS-PAGE とクマシーブルー染色により、10kDa 前後に染まるスミア層に含まれることも明らかとなった。[泉福英信、米田早織、渡邊治雄]

(8) 酪酸による Streptococci と *Actinomyces neorundii* バイオフィームへの効果に関する研究

歯周病の原因菌の中で特に *Porphyromonas gingivalis* は歯周病患者のポケット内に多くみられ、感染部位の嫌気条件下にて、各菌種特有の短鎖脂肪酸(SCFA)を作り分泌している。SCFA は、腸内細菌が水溶性食物繊維等を発酵する際に作られる酪酸・プロピオン酸・酢酸などの最終有機酸を指し、結腸の癌細胞の増殖抑制や粘膜の栄養分となることが知られている。そこで我々は口腔内常在菌である *S. mutans*、*S. sanguinis* などの Streptococci と、*Actinomyces neorundii* が形成するバイオフィームに対する SCFA の効果を調べることにより、歯周病原菌の分泌 SCFA が口腔内バイオフィームに及ぼす影響を明らかにすることを目的とし検討を行った。その結果、SCFA は Streptococci よりも *A. neorundii* に対してよりスクロース存在下バイオフィーム形成を増加させることが明らかとなった。よって SCFA は、う蝕や歯周病に関連する菌によるバイオフィーム形成の調節に関与している可能性が考えられた。[米田早織、落合邦康(日本大学歯学部)、泉福英信]

(9) 口腔ケアと *S. mutans* の歯表面付着阻害抗体との関係

平成 18 年度は、唾液 Pac(361-386)ペプチドに対する抗体の口腔への影響と口腔ケアの際の作用について要介護高齢者を対象に検討した。介護施設入居高齢者 60 名を被験者とし、抗体有と無で 2 群に、さらに週 1 回の歯科衛生士による歯牙表面の清掃群と歯牙表面および粘膜表面の清掃群に分けて、口腔ケアの効果を唾液中の *S. mutans* 菌量にて検討した。その結果、口腔ケアによる抗体価の変動はなかったが、抗体有の群はケア後 1 か月で有意に *S. mutans* 菌量が減少し、抗体なしの群ではそのような減少効果が認められなかった。また、粘膜ケアを歯牙表面ケアに加えると *S. mutans* 菌量の減少効果が強く認められた。これらの結果から、粘膜ケアや抗体が *S. mutans* の歯牙表面への再付着を抑え、それが結果的に *S. mutans* 菌量を減少させることに繋がったことが考えられた。[泉福英信、稲葉英理佳、植松 宏(東京医科歯科大学)、渡邊治雄]

(10) 歯科医療における院内感染対策の現状について

関東某県歯科医師会所属歯科医師 3873 人にアンケート調査を行い、有効回答のあった 392 人(10.1%)のアンケート結果の分析を行った。年齢、患者来院数によりそれぞれグループに分け、院内感染対策に関連する意識、知識、行動に関するアンケート調査を行い、それぞれの質問項目に対する回答の割合を算出した。それらの結果を検討すると、60 才以上の歯科医師は院内感染に対する意識と行動が他の年代よりも大きく欠けていることが示唆された。また、HIV 患者の受け入れ意識は 39 才以下の歯科医師で高く、院内感染対策の行動にも反映していることが示唆された。グローブの着用、スタッフへの感染防止の教育、感染防止マニュアルの作成など、来院患者数が増加する程有意に高くなる傾向を示した。年齢が若く、患者数の多い歯科医院に勤務する歯科医師ほど感染対策をより行う意欲のあることが考えられた。[泉福英信、多田章夫(千葉県健康企画課)、小森康雄(東京医科大学)]

(11) デンタルユニット内循環水における微生物の同定および評価システムの開発

デンタルユニットの歯科用ハンドピース、超音波スケーラー、エアースリッジからの排水サンプルを採取して、一般細菌、従属細菌、緑膿菌、大腸菌、レジオネラ、黄色ブドウ球菌、非結核性非定型抗酸菌、原虫の測定を行った。平成 18 年度は、一般歯科医院 5 施設の検討を行った。その結果、従属細菌のみ 1×10^6 CFU/ml 以上スリーウェイシリッジやタービンなどから検出された。このデンタルユニットはいずれも製造および使用を開始してから 15 年以上経過していた。一方、製造および使用を開始してから 1 年以内のデンタルユニットでは、従属細菌も検出されなかった。長い期間使用したデンタルユニットは、排水の微生物汚染の検査を行い、デンタルユニット内微生物汚染の改善が必要であると考えられた。[泉福英信、小森康雄(東京医科大学)、山崎利雄、八木田健司(寄生動物部)]

(12) *Porphyromonas gingivalis* Omp85 ホモログの糖鎖修飾

グラム陰性菌に保存される外膜タンパク Omp85 は菌の生存に必須の外膜タンパクであり、多くの外膜構成タンパクの集合に寄与する。本研究では *Porphyromonas gingivalis* の Omp85 ホモログにおける糖修飾の有無を脱糖化変異株たる *galE* 変異株を用いて検討した。全長 Omp85 タンパクおよび表層ループ領域ペプチドを免疫源として得られた 2 種類の Omp85 抗体のウエスタンブロット解析により、*galE* 変異株においては Omp85 の分子量が野生株の

それよりも低下することが明らかとなった。さらに野生株 Omp85 はトリフルオロメタンスルホン酸による脱糖処理によっても分子量が減少した。以上より、Omp85 は数 kDa の糖修飾を受ける外膜タンパクであることが明らかとなった。また、野生株よりも *galE* 変異株で分子量が変化するいくつかの外膜タンパクの存在が確認され、そのうちウエスタンブロットと TOF/MS 解析によりヘマグルチニン HagB/C タンパクの糖修飾も確認された。[中尾龍馬、泉福英信、渡邊治雄]

(13) Opr86 ポリクローナル抗体による緑膿菌バイオフィルムの制御

緑膿菌は日和見感染菌の一つとして知られており、そのバイオフィルム形成は嚢胞性繊維症など感染症の原因として問題視されている。バイオフィルム形成時において、細菌は細胞表層を調節することで環境に適応している。*Neisseria meningitidis* の外膜タンパク Omp85 は生育必須な膜貫通型タンパクであり、全てのグラム陰性菌にホモログが存在する。そのため、様々な病原菌において Omp85 ホモログはワクチンの抗原として研究されてきている。我々はこれまでに、緑膿菌における Omp85 ホモログであり機能未知の因子 Opr86 の機能を解明してきた。その結果、Opr86 は外膜タンパクの集合・輸送に関与する生育に必須な因子であることが示された。本研究では、Opr86 ポリクローナル抗体を用いた緑膿菌バイオフィルムの制御を目的として更なる解析を行った。マイクロタイタープレートによるバイオフィルム形成において、Opr86 抗体による形成抑制が確認された。また、この Opr86 抗体によるバイオフィルム制御は富栄養・貧栄養両培地において観察された。バイオフィルム形成は固体表面の付着及び細胞外マトリクス生成が主な要素となっているが、この Opr86 抗体によるバイオフィルム制御は付着の阻止が要因であった。さらにこの抗体の臨床株における有用性を検討したところ、多くの緑膿菌臨床株においてバイオフィルム形成の抑制が確認された。以上の結果から、Opr86 は緑膿菌バイオフィルム形成に対するワクチン抗原として有用である可能性が示唆された。[田代陽介、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦(筑波大学)]

(14) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* バイオフィルム形成を抑制する *Porphyromonas gingivalis* の培養上清中因子の解析

Aggregatibacter actinomycetemcomitans および *Porphyromonas gingivalis* は、ともに主要な歯周病原菌として知られている。また、歯周病患者の歯周ポケットに

においてこの二菌種が同時に単離されることは少ないとされるが、両菌種間の相互作用についてはほとんど報告が無い。まず、様々な口腔細菌に対して *Porphyromonas gingivalis* の培養上清を加えた時、プラスチックへの各口腔細菌のバイオフィーム形成量が変化するかを調べた。結果、実験に供した *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* の2菌株のバイオフィーム形成がいずれも著しく阻害されたが、その他の口腔細菌のバイオフィーム形成にはほとんど影響を与えなかった。一方、*Porphyromonas gingivalis* の上清による、その他の細菌種バイオフィーム形成への影響はほとんど観察されなかった。この上清中の因子は熱感受性で、既知のジンジパインとは異なる分子量 10,000 以上の分子と推察された。今後このバイオフィーム抑制因子を同定する予定である。[中尾龍馬、泉福英信、渡邊治雄]

(15) 口腔から単離されたテトラサイクリン耐性レンサ球菌の解析

口腔細菌はしばしば心内膜炎や粥状動脈硬化症などの原因となるので、口腔細菌の薬剤耐性化はそれらの治療を困難にする恐れがある。本研究では、口腔内環境において検出頻度が高いことが報告されているテトラサイクリン耐性口腔レンサ球菌を、6名の被験者の歯肉縁上プラークから単離培養し、どのような細菌種が分布しているのかを調査した。テトラサイクリン耐性口腔レンサ球菌種の同定は、各細菌 16s rDNA のシーケンス解析により行った。結果、単離されたテトラサイクリン耐性菌株には、*Streptococcus gordonii*、*S. mitis*、*S. sanguinis*、*S. cristatus* や *S. salivarius* が検出され、特にテトラサイクリン耐性 *S. sanguinis* が高頻度に認められた。今後も引き続き、分離株の同定を行う予定である。[瀧川智子、中尾龍馬、米田早織、菅野直之(日本大学)、泉福英信、渡邊治雄]

・結核菌に関する研究

(1) 新しい結核のワクチン開発に関する研究

前年度に引き続きらい菌の MMP-II 抗原遺伝子を、ベクターに組み込んだプラスミッドをもつ、rBCG(pMV261-SM)のモルモットにおける結核菌噴霧感染後の結核菌防御能を、肺、肝、脾、胸部リンパ節の還元培養成績から検討した。rBCG(pMV261-SM)を 10^6 cfu/匹に接種した場合には、PBS群に比べて各臓器の還元培養の菌数は低く、明らかに結核菌防御効果が見られた。しかし、結核菌防御能は、BCG-Tokyo 株が最もよく rBCG(pMV261-SM)は若干劣っている程度であった。このことは、結核とハンセン

病の多目的ワクチンとして利用できる可能性が示唆された。[山崎利雄、宮本友司・牧野正彦(病原微生物部)]

(2) BCG の結核菌防御能の持続性について

あらかじめ BCG 0.5mg または PBS を下腹部皮下に注射後、5年間または1年半飼育した(それぞれ老年期または壮年期)モルモット及び新たに購入した幼年期モルモットを対照群として用いた。BCG あるいは PBS を接種(幼年期モルモットでは初回接種)6週間後、結核菌 H37RV 株を噴霧感染し、5週後に解剖した。解剖時の肉眼所見では、壮年期群は、BCG の再接種の有無に関係なく結核菌抑制効果が見られた。また、老年期群も BCG 再接種群で効果が認められた。還元培養でも、この傾向は変わらず、老年期に BCG を再接種した場合に幼年期と同程度の結核菌の抑制傾向が見られた。このことは、老年期モルモットであっても、BCG の免疫効果があることを示唆している。[山崎利雄、宮本友司(病原微生物部)、相澤志保子・服部真一郎(エイズ研究センター)、山本三郎(遺伝子・疾患研究所)]

(3) 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

昨年に引き続き、信頼できる PZA 感受性試験法の確立を最終目的とし、ATP 法による結核菌 PZA 感受性試験法の検討を、臨床分離菌 75 株を用いて行った。ATP 法と参照法との一致率は、液体テスト法 93.3%、寒天比率法 82.2%、ピラジナミダーゼ試験 93.3%であった。ATP 法による PZA 感受性試験は、迅速で正確な結核菌薬剤感受性試験法として有用であった。[山崎利雄、山本三郎(遺伝子・疾患研究所)、岡沢 豊(極東製薬工業)]

(4) ATP 測定による BCG 生菌数測定法の検討

BCG ワクチンのアンプル中の生菌数は、通常 1%小川培地に希釈菌液を接種して3週目と4週目に肉眼的にコロニー数を数える。この方法は、煩雑であり時間がかかる。そこで、アンプル中の生菌数を ATP 測定法にて検討した。7H9 broth 希釈系列を用いた場合、BCG の濃度に依存して RLU 測定値は減少し、同一ロットであっても、RLU 測定値は異なり、その大小は固形培地で測定した生菌数に依存していた。また、BCG 同一ロットのアンプルを各3本ずつ切って各3測定を行い、ATP 法の再現性も確認した。希釈係数と RLU 値によりアンプル中のおよその生菌数を知ることができる ATP 法は、アンプル切断後、およそ1時間で終了する迅速簡単な方法である。[山崎利雄、山本三郎(遺伝子・疾患研究所)]

(5) 入浴施設の浴槽水より分離された抗酸菌の分離状況
循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化を検討する上に、浴槽水中にいかなる抗酸菌が存在するかの調査を行った。その結果 55 検体中、2 検体から抗酸菌 5 株が分離された。分離菌は、*Mycobacterium avium* 4 株、*M. fortuitum* 1 株と同定された。また、ろ過槽等のろ過剤からは、*M. gordonae* 1 株、*M. avium* 4 株、*M. goodii* 9 株が分離された。結核菌(*M. tuberculosis*)は、検出されなかった。[山崎利雄、遠藤卓郎(寄生動物部)、杉山寛治(静岡県環境衛生研究所)]

・その他

(1) 体外診断薬承認前検査：

厚生労働省より依頼される承認前検査中、輸血に関連するものとして、抗梅毒抗体検出用診断薬及び抗カルジオリピン抗体検出用診断薬の検査を行っている。18年度は一件の化学発光 EIA 法を用いた抗梅毒抗体検出試薬の検査を実施した。本品目は規格試験に合格した。[中山周一、志牟田健、大西 真]

(2) 研修業務

(ア) 平成 18 年度特定研修、新興再興感染症技術研修(国立保健科学医療院)

レジオネラの基礎、感染事例、レジオネラの検査法について、地研、保健所及び食肉衛生検査所の職員 18 名に対して 2 時間の講義を行った。11 月 13 日、武蔵村山市。[倉文明、前川純子]

(イ) レジオネラ属菌の宿主となる自由生活性アメーバ類の検査に関する講習および実習

厚生科研費補助金地域健康危機管理研究事業「温泉の泉質等に対応した適切な衛生管理手法の開発に関する研究」において、8 地研 8 名に対して研修を行った。森本 洋(北海道衛研)、岩瀬香織(岩手県環保研)、熊田裕子(福島県衛研)、藤田雅弘(群馬県衛環研)、新川晶子(石川県保環センター)、最首信和(鳥取県衛環研)、緒方喜久代(大分県衛環研センター)、宮坂次郎(熊本県保環科研)、6 月 8 日~9 日、感染研。[八木田健司・遠藤卓郎(寄生動物部)、前川純子、常 彬、倉 文明]

(3) 取材協力

(ア) 倉 文明、山崎利雄：浴槽内の温水による感染症について知る。Spa & Treatment No. 19 (December):42, 2006.

(イ) 倉 文明：園芸で肺炎ご用心...腐葉土にレジオネラ菌、死亡例も、読売新聞平成 18 年 12 月 24 日

(ウ) 倉 文明：浴室ぬめり取り去って、レジオネラ症どう対策、園芸用腐葉土に注意、日本経済新聞平成 19 年 1 月 13 日

(4) 承認前試験

肺炎球菌ワクチンの製法、規格および試験方法が変更になったことにより、承認前試験を行い、その結果を医薬品第二部会に報告した。新製法肺炎球菌ワクチンは承認され、平成 18 年 9 月 1 日に官報告示された。(第三室)

発表業績一覧

・誌上発表

1. 欧文論文

1) Nakayama, S. and Watanabe, H. Mechanism of *hlyA* repression by 1,2-propanediol consists of two distinct pathways, one dependent on and the other independent of catabolic production of propionate, in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. J. Bacteriol. 188: 3121-3125. 2006.

2) Amemura-Maekawa, M., Kura, F., Chang, B., and Watanabe, H. Pulsed-field gel electrophoresis analysis and sequence-based typing of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from Japan. p. 159-162. In Legionella: state of the art 30 years after its recognition Eds. Cianciotto, N.P. et. al. ASM Press, Washington, D. C. 2006.

3) Akagawa, K., Komuro, I., Kanazawa, H., Yamazaki, T., Mochida, K., and Kishi, F. : Functional heterogeneity of colony-stimulating factor-induced human monocyte-derived macrophages. Respirology. 11: S32-S36, 2006.

4) Kura F, Amemura-Maekawa J, Yagita K, Endo T, Ikeno M, Tsuji H, Taguchi M, Kobayashi K, Ishii E, Watanabe H: Outbreak of legionnaires disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pneumophila* serogroup 5. Epidemiol Infect 134:385-391, 2006.

5) Aratani Y, Kura F, Watanabe H, Akagawa H, Takano Y, Ishida-Okawara A, Suzuki K, Maeda N, Koyama H: Contribution of the myeloperoxidase-dependent oxidative system to host defense against *Cryptococcus neoformans*. J Med Microbiol 55:1291-1299, 2006.

6) Kobayashi S, Kura F, Amemura-maekawa J, Chang B, Yamamoto N, Watanabe H: Locus on chromosome 13 in mice involved in clearance of *Legionella pneumophila* from

- the lungs. p.310-312. In Cianciotto NP et al. (ed.) *Legionella :State of the Art 30 Years after Its Recognition*, ASM Press, Washington, D. C., 2006.
- 7) Terajima J, Tosaka N, Ueno K, Nakashima K, Kitsutani P, Gaynor MK, Park SY, Watanabe H. *Shigella sonnei* outbreak among Japanese travelers returning from Hawaii. *Jpn J Infect Dis.* 59:282-283. 2006.
- 8) Terajima J, Izumiya H, Iyoda S, Mitobe J, Miura M, Watanabe H. Effectiveness of pulsed-field gel electrophoresis for the early detection of diffuse outbreaks due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Japan. *Foodborne Pathogens and Disease.* 3:68-73.2006.
- 9) Cooper KL, Luey CK, Bird M, Terajima J, Nair GB, Kam KM, Arakawa E, Safa A, Cheung DT, Law CP, Watanabe H, Kubota K, Swaminathan B, Ribot EM. Development and validation of a PulseNet standardized pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Vibrio cholerae*. *Foodborne Pathogens and Disease.* 3: 51-58. 2006.
- 10) Miura M, Terajima J, Izumiya H, Mitobe J, Komano T, Watanabe H. OspE2 of *Shigella sonnei* is required for the maintenance of cell architecture of bacterium-infected cells. *Infection and Immunity.* 74: 2587-95. 2006.
- 11) Iguchi, A., Iyoda, S., Terajima, J., Watanabe, H. and Osawa, R. Spontaneous recombination between homologous prophage regions causes large-scale inversions within the *Escherichia coli* O157:H7 chromosome. *Gene.* 372:199-207, 2006.
- 12) Toma C, Higa N, Iyoda S, Rivas M, Iwanaga M. The long polar fimbriae genes identified in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* are present in other diarrheagenic *E. coli* and in the standard *E. coli* collection of reference (ECOR) strains. *Res Microbiol.* 157:153-161, 2006.
- 13) Iyoda, S. Koizumi, N., Satou, H., Lu, Y., Saitoh, T., Ohnishi, M. and Watanabe, H. The GrIR-GrIA regulatory system coordinately controls the expression of flagellar and LEE-encoded type III protein secretion systems in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 188: 5682-5692, 2006.
- 14) Lu, Y., Iyoda, S., Satou, H., Satou, H., Itoh, K., Saitoh, T. and Watanabe, H. A new immunoglobulin-binding protein, EibG, is responsible for the chain-like adhesion phenotype of locus of enterocyte effacement-negative, shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 74: 5747-5755, 2006.
- 15) Leotta, G., Deza, N., Origlia, J., Toma, C., Chinen, I., Miliwebsky, E., Iyoda, S., Sosa-Estani, S. and Rivas, M. Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in captive non-domestic mammals. *Vet Microbiol.* 118: 151-157, 2006.
- 16) Chang, B., Ikebe, T., Wada, A., Ogata, K., Tomita, M., Katsukawa, C., Kawahara, R., Suzuki, R., Endo, M., Isobe, J., Tanaka, D., Hirasawa, K., Watanabe, H., and the Working Group for Streptococci in Japan: Surveillance of Group B streptococcal toxic shock-like syndrome in nonpregnant adults and characterization of the strains in Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 59: 182-185, 2006.
- 17) Chang, B., Wada, A., Ikebe, T., Ohnishi, M., Mita, K., Endo, M., Matsuo, H., Asatuma, Y., Kuramoto, S., Sekiguchi H., Yamazaki, M., Yoshikawa, H., Watanabe, N., Yamada, H., Kurita, S., Imai, Y., Watanabe, H: Characteristics of *Streptococcus suis* isolated from patients in Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 59: 397-399, 2006.
- 18) Taguchi, M., Seto, K., Yamazaki, W., Tsukamoto, T., Izumiya, H., and Watanabe, H.: CMY-2 -lactamase-producing *Salmonella enterica* serovar Infantis isolated from poultry in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 59: 135-137, 2006.
- 19) Masuzawa T, Okamoto Y, Une Y, Takeuchi T, Tsukagoshi K, Koizumi N, Kawabata H, Ohta S, Yoshikawa Y. Leptospirosis in squirrels imported from United States to Japan. *Emerg Infect Dis* 12(7):1153-1155 2006.
- 20) Morita, M, K. Ito, K. Hirose, H. Takahashi, K. Shimuta, J. Terajima, M. Ohnishi, M. Harada, M. Matsuzaki, H. Watanabe, and H. Izumiya. Development of a real-time PCR assay for detection of *gyrA* mutations associated with reduced susceptibility to ciprofloxacin in *Salmonella enterica* serovar Typhi and Paratyphi A. *Microbiology and Immunology.* 50: 707-711.2006.
- 21) Morita, M, K. Mori, K. Tominaga, J. Terajima, K.

- Hirose, H. Watanabe, and H. Izumiya. Characterization of lysine decarboxylase-negative strains of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis disseminated in Japan. FEMS Immunology and Medical Microbiology. 46: 381-385. 2006.
- 22) Tapinos, N., Ohnishi, M. and Rambukkana, A.: ErbB2 receptor tyrosine kinase signaling mediated early demyelination induced by leprocy bacilli. Nature Medicine. 12: 961-966. 2006.
- 23) Salam MA, Nakao R, Yonezawa H, Watanabe H, and Senpuku H. Human T-cell responses to oral streptococci in human PBMC-NOD/SCID mice. Oral Microbiol Immunol. 21:169-176. 2006.
- 24) Tada A, Senpuku H, Motozawa A, Hanada N, and Tanzawa H. Association between commensal bacteria and opportunistic pathogens in the dental plaque of elderly individuals. Clin Microbiol Infect. 12: 776-781. 2006.
- 25) Motegi M, Takagi Y, Yonezawa H, Hanada N, Terajima J, Watanabe H and Senpuku H. Assessment of genes associated with *Streptococcus mutans* biofilm morphology. Appl Environ Microbiol. 72: 6277-6287. 2006.
- 26) Nakao R, Senpuku H, and Watanabe H. Porphyromonas gingivalis *galE* involved in lipopolysaccharide O-antigen synthesis and biofilm formation. Infect. Immun. 74: 6145-6153. 2006.
- 27) Saotome Y, Tada A, Hanada N, Yoshihara A, Uematsu H, Miyazaki H and Senpuku H. Relationships of cariogenic bacteria levels with periodontal status and root surface caries in elderly Japanese. Gerodontology. 23: 219-225. 2006.
- 28) Maeda T, Kitasako Y, Senpuku H, Burrow MF, and Tagami J. Role of oral streptococci in the pH-dependent carious dentin. J. Med. Dent. Sci. 53: 159-166. 2006.
- 29) Botkin DJ, Abbott A, Stewart PE, Rosa PA, Kawabata H, Watanabe H, Norris SJ. Identification of potential virulence determinants by Himar1 transposition of infectious *Borrelia burgdorferi* B31. Infection and Immunity. 74: 6690-6699. 2006.
- 30) Tabara K, Hoshina K, Itagaki A, Katayama T, Fujita H, Kadosaka T, Yano Y, Takada N, Kawabata H: Epidemiological study on Japanese spotted fever and scrub typhus in Shimane Prefecture, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases. 59 (3), 204-205, 2006.
- 31) Kawabata H, Sakakibara S, Imai Y, Masuzawa T, Fujita H, Tsurumi M, Sato F, Takano A, Nogami S, Kaneda K, Watanabe H: First record of *Leptospira borgpeterseni* isolation in the Amami Islands, Japan. Microbiology and Immunology. 50: 429-434, 2006.
- 32) Kawabata H, Ando S, Kishimoto T, Kurane I, Takano A, Nogami S, Fujita H, Tsurumi M, Nakamura N, Sato F, Takahashi M, Ushijima Y, Fukunaga M, Watanabe H: First detection of Rickettsia in soft-bodied ticks associated with seabird, Japan. Microbiology and Immunology. 50: 403-406, 2006.
- 33) Naitou H, Kawaguchi D, Nishimura Y, Inayoshi M, Kawamori F, Masuzawa T, Hiroi M, Kurashige H, Kawabata H, Fujita H, Ohashi N: Molecular identification of Ehrlichia species and 'Candidatus Neoehrlichia mikurensis' from ticks and wild rodents in Shizuoka and Nagano prefectures, Japan. Microbiology and Immunology. 50: 45-51, 2006.
- 34) Miyoshi-Akiyama T, Ikebe T, Watanabe H, Uchiyama T, Kirikae T, and Kawamura, Y.. Use of DNA arrays to identify a mutation in the negative regulator, CsrR, responsible for the high virulence of a naturally occurring M3-type group A streptococcus clinical isolate. J Infect Dis 193: 1677-1684. 2006.
- 35) Ogura Y, Kurokawa K, Ooka T, Tashiro K, Tobe T, Ohnishi M, Nakayama K, Morimoto T, Terajima J, Watanabe H, Kuhara S, and Hayashi T: Complexity of the genomic diversity in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 revealed by the combinational use of the O157 Sakai oligo DNA microarray and the Whole Genome PCR Scanning. DNA Research. 13: 3-14. 2006.
- 36) Alam, M., Hasan, N-A., Ahsan, S., Pazhani, G.P., Tamura, K., Ramamurthy, T., Gomes, D.J., Rahman, S.R., Islam, A., Akhtar, F., Shinoda, S., Watanabe, H., Faruque, A.M., Nair, G.B. Phenotypic and molecular characteristics of *Escherichia coli* isolated from aquatic environment of Bangladesh. Microbiol. Immunol. 50: 359-370. 2006.
- 37) Kaiser Talukder, Bijay Khajanchi, M. Islam, Zahirul Islam, Dilip Dutta, Mustafizur Rahman, Haruo Watanabe, G. Nair, and David Sack. Fluoroquinolone resistance linked to both *gyrA* and *parC* mutations in quinolone resistance-determining region (QRDR) of *Shigella dysenteriae* type 1. Current Microbiology. 52: 108-111. 2006

- 38) Iguchi, A., Iyoda S., Watanabe, H. and Osawa, R. O Side chain deficiency enhances sensitivity of *Escherichia coli* to Shiga Toxin 2-converting bacteriophages. *Curr Microbiol.* 54: 14-19, 2007.
- 39) Yoneda S, Imai S, Hanada N, Yamazaki T, Senpuku H, Ota Y and Uematsu H. Effects of oral care on development of oral mucositis and microorganisms in esophageal cancer patients. *Jpn J Infect Dis.* 60:23-8. 2007.
- 40) Senpuku H, Tada A, Nakao R, Yonezawa H, Yoneda S, Yoshihara A and Miyazaki H. Relationships of anti-PAC (361-386) peptide salivary IgA antibody, eosinophils, and basophils with periodontal status in elderly. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 49:84-90. 2007.
- 41) Saito-Ito A, Kasahara M, Kasai M, Dantrakool A, Kawai A, Fujita H, Yano Y, Kawabata H, Takada N. Survey of *Babesia microti* infection in field rodents in Japan: records of the Kobe-type in new foci and findings of a new type related to the Otsu-type. *Microbiology and Immunology.* 51(1):15-24, 2007.
- ## 2. 和文発表
- 1) 山崎利雄、儀同政一、松岡正典：生物発光法による抗らい菌活性測定法の開発、日本ハンセン病学会誌 75：227-237、2006.
- 2) 山崎利雄、佐々木次雄編著、図説呼吸器系細菌感染症疫学・診断・治療、第9章結核菌、p140-p176、株式会社じほう、2006.
- 3) 倉 文明、常 彬、前川純子：レジオネラ、図説 呼吸器系細菌感染症：疫学、診断、治療（荒川宜親、渡邊治雄監修、佐々木次雄編集）、105-122、じほう、東京、2006.
- 4) 倉 文明、登坂直規、渡邊治雄：5 章日本と世界のレジオネラ感染症情報、わが国の感染症法に基づいた届け出の現状、レジオネラ感染症ハンドブック（斎藤 厚編）、254-266、日本医事新報社、東京、2007.
- 6) 河野喜美子、岡田美香、倉 文明、前川純子、渡邊治雄：循環式入浴施設における本邦最大のレジオネラ症集団感染事例 II . 診断検査法の比較、感染症誌 81(2):173-182、2007.
- 7) 寺嶋 淳、渡邊治雄：腸管出血性大腸菌（細菌性）とその対策. 臨床と微生物、33, 243-247, 2006.
- 8) 志牟田健、黒木俊郎、大西 真：新感染症学 下巻 - 新時代の基礎・臨床研究 - 淋菌感染症. 日本臨床、65 巻増刊号 3、423-427、2007.
- 9) 常 彬、渡邊治雄：レジオネラ感染の分子機構、レジオネラ感染症ハンドブック（斎藤 厚編）、86-95、日本医事新報社、東京、2007.
- 10) 泉谷秀昌、田村和満、渡邊治雄：サルモネラ. 化学療法の領域、第 21 巻第 4 号、509-515、2005.
- 11) 泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邊治雄：腸管出血性大腸菌感染症. 化学療法の領域、第 22 巻第 6 号、922-928、2006.
- 12) 泉谷秀昌：事例から見たサルモネラ食中毒、食と健康、第 50 巻第 12 号、8-15、2006.
- 13) 小泉信夫、渡邊治雄：レプトスピラ症 . 新感染症学(下) 日本臨床増刊号 220-203、2007.
- 14) 小泉信夫、渡邊治雄：レプトスピラ症の最新の知見 . モダンメディア 52(10): 299-306、2006.
- 15) 小泉信夫、渡邊治雄：ウイルス病・秋やみ混合ワクチン予防接種のすべて 2006、130-133、日本小児医事出版社、東京、2006.
- 16) 小泉信夫、渡邊治雄：レプトスピラ抗体 . 検査値のみかた、634 - 636、中外医学社、東京、2006 .
- 17) 泉福英信、インプラント対応型「清掃空間」とは？アポロニア 8: 66-69、2006.
- 18) 泉福英信：歯科ユニットのバイオフィルム、化学療法の領域、22: 26-30、2006.
- 19) 泉福英信、米田早織：抗ウイルス薬、歯科におけるくすりの使い方、p. 78-79、監修佐々木次郎、東理十三雄、デンタルダイヤモンド社、2006.
- 20) 泉福英信：感染症対策はどこまでやればよいか？日本歯科評論、771: 13-15、2007.
- 21) 泉福英信：歯科医療に関わる全身感染症の最近の動向、日本歯科評論、773: 123-128、2007.
- 22) 増沢俊幸、岡本能弘、宇根有美、竹内隆浩、塚越啓子、川端寛樹、小泉信夫、吉川泰弘：輸入動物（アメリカモモンガ）に起因するレプトスピラ症感染事例、獣医畜産新報、59(4)、295-297、2006.
- 23) 川端寛樹：回帰熱（回帰熱ボレリア感染症）relapsing fever、ダニと新興再興感染症、SADI 組織委員会編、全国農村教育協会、pp201-203、2007.
- 24) 川端寛樹、高崎智彦：警戒すべきウイルス感染症「マダニが関わる出血熱と西ナイル熱」、ダニと新興再興感染症、SADI 組織委員会編、全国農村教育協会、pp229-232、2007.
- 25) 川端寛樹、高野愛、渡邊治雄：ライム病、新感染症学（下）-新時代の基礎・臨床研究-、日本臨床、62(3) 196-199、2007.
- 26) 川端寛樹：ライム病、日常臨床に役立つ小児感染症マニユアル 2007. 日本小児感染症学会編、東京医学社、233-243. 2006.
- 27) 高橋英之、渡邊治雄：新感染症学（下）-新時代の基

- 礎・臨床研究-、ベスト、日本臨床 65 増刊号 3、54-59、2007.
- 28) 池辺忠義、渡邊治雄：劇症型（重症）溶連菌感染症サーベイランス、小児科 金原出版 1885-1861、2006.
- 29) 池辺忠義：A群溶血レンサ球菌、呼吸器系細菌感染症、疫学・診断・治療、じほう、133-148、2006.
- 30) 渡邊治雄：腸内細菌ゲノムの多様性解明と分子疫学的解析への応用（第41回小島三郎記念文化賞）、モダンメディア、52:30-35、2006.
- 31) 渡邊治雄：食中毒検査・診療のコツと落とし穴、編集渡邊治雄、中山書店、2006.
- 32) 渡邊治雄：腸管出血性大腸菌感染症の特徴と近年の発症傾向、食中毒検査・診療のコツと落とし穴、中山書店、10、2006.
- 33) 渡邊治雄：細菌性赤痢の特徴と近年の傾向、食中毒検査・診療のコツと落とし穴、中山書店、10、2006.
- 34) 渡邊治雄：菌株解析ネットワーク「バルスネット」Medical Tribune.39:42、2006.
- 35) 渡邊治雄：食中毒由来細菌の薬剤耐性、食品衛生、56:17-24、2006.
- 36) 渡邊治雄：薬剤耐性食中毒菌の現状と対策、臨床病理レビュー、136:19-26.2006.

学会発表

1. 欧文発表

- 1) Amemura-Maekawa, M., Kura, F., Chang, B., Suzuki-Hashimoto, A., Ichinose, M, and Watanabe, H. Typing of *Legionella pneumophila* Isolates in Japan by *flaA* Gene. 21st Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* Infections Lisbon, Portugal, May, 2006.
- 2) Kawano K, Okada M, Kura F, Amemura-Maekawa J, Watanabe H: The largest outbreak of legionellosis in Japan associated with spa baths: Diagnostic tests. 21st Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Lisbon, Portugal. May 2006.
- 3) Jun Terajima, Yingxin Pei, Hidemasa Izumiya, Sunao Iyoda, Jiro Mitobe, Haruo Watanabe : Molecular epidemiological investigation of enterohemorrhagic *E. coli* Isolates in Japan 2004 - 2005、6th International Symposium on 'Shiga Toxin(Verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* Infections, Oct. 2006, Melbourne Australia
- 4) Yoshitoshi Ogura, Tadasuke Ooka, Ken Kurokawa, Jun Terajima, Keisuke Nakayama, Haruo Watanabe, Toru Tobe,

- Tetsuya Hayashi: Comparative genome analysis of O157 and Non-O157 enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains using the whole genome PCR scanning and the O157 OligoDNA microarray, 6th International Symposium on 'Shiga Toxin(Verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* Infections, Oct. 2006, Melbourne Australia
- 5) Tadasuke Ooka, Yoshitoshi Ogura, Keisuke Nakayama, Ken Kurokawa, Makoto Ohnishi, Jun Terajima, Haruo Watanabe, Tetsuya Hayashi: The mechanism of genomic diversification in Enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7, 6th International Symposium on 'Shiga Toxin(Verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* Infections, Oct. 2006, Melbourne Australia
- 6) Iyoda, S., Koizumi, N., Satou, H., Lu, Y., Saitoh, T., Ohnishi, M. and Watanabe, H. The GrIR-GrIA regulatory system coordinately controls the expression of flagellar and LEE-encoded type III protein secretion systems in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. VTEC 2006. October 2006, Melbourne, Australia.
- 7) Lu, Y., Iyoda, S., Satou, H., Satou, H., Toma, C., Saitoh, T., Ohnishi, M., Terajima, J. and Watanabe, H. Identification and characterization of a new immunoglobulin-binding protein, EibG, that is responsible for the chain-like adherent phenotype of a LEE-negative Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. VTEC 2006. October 2006, Melbourne, Australia.
- 8) Iguchi, A., Iyoda, S., Watanabe, H. and Osawa R. Defective O side chain enhances sensitivity of *Escherichia coli* to Shiga toxin 2-converting bacteriophages. VTEC 2006. October 2006, Melbourne, Australia.
- 9) Iyoda, S., Saitoh, T., Lu, Y., Satou, H., Shimuta, K., Ohnishi, M., Terajima, J. and Watanabe H. Coordinate expression of virulence-related genes under the control of GrIR/GrIA regulatory system in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. 41th Joint Conference on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections Panel. November 2006. Gifu.
- 10) Lu, Y., Iyoda, S., Satou, H., Satou, H., Toma, C., Saitoh, T., Ohnishi, M., Terajima, J. and Watanabe, H. Identification and characterization of a new adhesion/immunoglobulin-binding protein, EibG, in LEE-negative Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. 41th Joint Conference on Cholera and Other Bacterial

Enteric Infections Panel. November 2006. Gifu.

11) H. Izumiya, S. Iyoda, J. Terajima, M. Ohnishi, S. Yamasaki, and H. Watanabe: Distribution of the subA gene among LEE-negative STEC isolates in Japan. 6th International symposium on Shiga toxin (verocytotoxin) producing *Escherichia coli* infections, Oct. 2006, Melbourne, Australia.

12) H. Izumiya, S. Iyoda, J. Terajima, M. Ohnishi, T. Ishihara, S. Yamasaki, and H. Watanabe: Distribution of the subA gene among the Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates in Japan. 4th Meeting of PulseNet Asia Pacific, Dec. 2006, Nanjing, China.

13) Koizumi N, Watanabe H. Leptospirosis vaccine. The 1st Thailand Japan Joint Forum on Infectious Diseases, Bangkok, Thailand, 2007.

14) Yoneda S, Nakao R, and Senpuku H, Inhibiting effects of Assam tea to cariogenic bacteria growth. 84th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2006. Brisbane, Australia.

15) Nakao R, Watanabe H, Yoneda S, and Senpuku H, UDP-galactose 4-epimerase of *Porphyromonas gingivalis* effects on the biofilm formation. 84th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2006. Brisbane, Australia.

16) Takeuchi H, Okuda K, Okayama H, Imai S, Senpuku H, and Hanada N, New fluorescence method to detect periodontopathic biofilm. 84th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2006. Brisbane, Australia.

17) Koba T, Tagami J, and Senpuku H, Lysine substitution in *S. gordonii* SspB peptide binding with SRCRP2. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. New Orleans, USA.

18) Fujimaru T, Ishizaki T, Hayman R, and Senpuku H, Adsorption of oral pathogenic microbes by small crystal hydroxyapatite. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. New Orleans, USA.

19) Tominaga T, Komori Y, Nakajima J, Chiba H, and Senpuku H, Roles of produced hTNF- α in HIV-1 inhibition by lactoferrin. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. New Orleans, USA.

20) Naito H, Masuda H, Tachino A, Takagi K, Matsumoto Y, Ishihara Y, Kageyama K, Sasaki T, Sasaki M, Tsuge S, Okayama H, Nomura Y, Hanada N and Senpuku H, A simple and quick detection system for PAc-specific salivary IgA. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. New Orleans, USA.

21) Kamoda Y, Uematsu H, Yoshitake Y, H, Miyazaki H and Senpuku H, Relationship among NK cells, Oral bacteria infection, and physical fitness. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. Brisbane, Australia.

22) Nakao R, Watanabe H and Senpuku H, *P. gingivalis* galE mutant released few vesicles with LPS. 85th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, 2007. New Orleans, USA.

23) Yoneda S, Yonezawa H, Motegi M, Nakao R, Senpuku H. Gene expressions in early and late stages of *Streptococcus mutans* biofilm. ASM conferences Biofilm 2007. Quebec, Canada.

24) Senpuku H, Tamura S, Yonezawa H, Motegi M, Nakao R, Watanabe H. Effects of oral streptococci to biofilm formation of cariogenic bacteria. ASM conferences Biofilm 2007. Quebec, Canada.

25) Nakao R, Senpuku H. A heat-labile substance in the culture supernatant of *Porphyromonas gingivalis* inhibits biofilm formation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. ASM conferences Biofilm 2007. Quebec, Canada.

2. 和文学会

1) 前川純子、倉 文明、常 彬、渡邊治雄：新しい分子疫学的手法である sequence-based typing (SBT) による *Legionella pneumophila* 血清群 1 の臨床および環境分離株の型別、第 80 回日本感染症学会総会、2006 年 4 月、東京

2) 前川純子、倉 文明、常 彬、渡邊治雄：*Legionella pneumophila* のモノクローナル抗体を用いたドレズデンパネルによる分類、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪

3) 村井美代、前川純子、渡邊治雄：高度な多型を示す黄色ブドウ球菌フィブロネクチン結合タンパク A 領域におけるアミノ酸配列の比較、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪

細菌第一部

- 4) 山崎利雄：入浴施設の浴槽水における抗酸菌の検出、第 81 回日本結核病学会総会、2006 年 4 月、仙台
- 5) 山崎利雄、山本三郎：ATP 測定による BCG 生菌数測定法の検討、第 76 回実験結核研究会総会、2006 年 4 月、仙台
- 6) 山崎利雄：東日本地区の温泉浴槽水からの抗酸菌の分離状況、第 35 回 結核・非定型抗酸菌治療研究会、2006 年 6 月、東京
- 7) 山崎利雄：結核の現状について、衛生微生物協議会第 27 回研究会、2006 年 6 月、札幌
- 8) 深沢 豊、内山良介、角泰人、原英樹、野村卓正、河村伊久雄、山崎利雄、光山正雄：ストレプトマイシン要求性結核菌 18b 株のストレプトマイシン依存的 IFN- γ 産生誘導（続報）、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
- 9) 三戸部治郎、石原朋子、石浜明、渡邊治雄：赤痢菌の Type III secretion system の post-transcriptional な温度制御、第 1 回感染症若手コロッセウム、平成 19 年 1 月、神戸市
- 10) 三戸部治郎、石原朋子、石浜明、渡邊治雄：赤痢菌の Type III secretion system の post-transcriptional な発現制御、第 80 回日本細菌学会総会、平成 19 年 4 月、大阪
- 11) 荒谷康昭、倉 文明、渡邊治雄、高野幸枝、大川原明子、鈴木和男、小山秀機：ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスのクリプトコッカス感染防御機能の解析、第 17 回日本生体防御学会総会、2006 年 7 月、札幌
- 12) 倉 文明：レジオネラの検査法、平成 18 年度特定研修、新興再興感染症技術研修、2006 年 11 月、東京
- 13) 倉 文明：レジオネラ属菌の管理基準、第 5 回全国レジオネラ対策会議、2007 年 3 月、東京
- 14) 寺嶋 淳、泉谷秀昌、渡邊治雄：細菌性腸管感染症診断の変遷、第 47 回日本熱帯医学会・第 21 回日本国際保健医療学会合同大会、2006 年 10 月、長崎
- 15) 寺嶋 淳：堺以後の日本における O157 の発生動向、第 27 回日本食品微生物学会学術総会、2006 年 9 月、大阪
- 16) 久高 潤、安里龍二、糸数清正、中村正治、平良勝也、国吉秀樹、金城夕子、寺嶋 淳、渡邊治雄、J. Kobayashi、B. Swaminathan、C. R. Barden、J. R. Dunn：米軍基地で販売されたハンバーグに関連する腸管出血性大腸菌 O157:H7 による感染事例、第 10 回腸管出血性大腸菌シンポジウム、2006 年 8 月、東京
- 17) 大岡唯祐、小椋義俊、中山恵介、黒川 顕、大西 真、寺嶋 淳、渡邊治雄、林 哲也：腸管出血性大腸菌 O157 のゲノム多様性メカニズムの解析 第 10 回腸管出血性大腸菌シンポジウム、2006 年 8 月、東京
- 18) 寺嶋 淳、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、渡邊治雄：EHEC の疫学 - 最近の状況 第 10 回腸管出血性大腸菌シンポジウム、2006 年 8 月、東京
- 19) 寺嶋 淳、伊豫田 淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、田村和満、渡邊治雄：2006 年における O157:H7 を中心とした EHEC の動向について、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
- 20) 三浦雅史、伊豫田 淳、大西 真、安部 裕順、戸邊亨、林 哲也、泉谷秀昌、寺嶋 淳、渡邊治雄：感染宿主細胞の形態維持に関与する病原性因子の機能解析、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
- 21) 井口純、伊豫田淳、寺嶋淳、渡邊治雄、大澤朗：大規模な逆位による腸管出血性大腸菌 O157 ゲノムの多様化、第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 4 月、金沢
- 22) 陸彦、伊豫田淳、伊藤健一郎、齊籐剛仁、渡邊治雄：LEE 非保有型 EHEC に存在する新規免疫グロブリン結合蛋白質は宿主細胞への接着因子として機能する、第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 4 月、金沢
- 23) 伊豫田淳、小泉信夫、陸彦、大西真、渡邊治雄：負の発現制御因子 GrIR の活性制御による III 型蛋白発現制御機構質輸送装置とべん毛の協調発現制御機構、第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 4 月、金沢
- 24) 朝倉宏、石和玲子、荒川英二、牧野壮一、山本茂貴、五十君静信：Vibrio cholerae の低温ストレスによる VBNC 移行と網羅的遺伝子解析、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
- 25) 荒川英二、泉谷秀昌、森田昌知、T. Ramamurthy、渡邊治雄：Vibrio fluvialis の toxR を標的とした検出法の検討、第 40 回腸炎ピブリオシンポジウム、2006 年 11 月、東京
- 26) 志牟田健、伊豫田淳、小川倫洋、後藤直正、渡邊治雄、大西 真：Serratia marcescens における新規溶血因子の探索、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
- 27) 常 彬、和田昭仁、池辺忠義、渡邊治雄：本邦で患者より分離された Streptococcus suis の性状、第 80 回日本感染症学会総会、2006 年 4 月、東京
- 28) 常 彬、和田昭仁、池辺忠義、大西 真、渡邊治雄：日本国内で患者より分離された Streptococcus suis の性状、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
- 29) 泉谷秀昌：多剤耐性 Salmonella Typhimurium 感染症、第 80 回日本感染症学会総会、2006 年 4 月、東京
- 30) 池ヶ谷諭史、吉尾伸之、林雅之、末吉泰信、泉谷秀昌、渡邊治雄：Shewanella algae による壊死性筋膜炎、第 80 回日本感染症学会総会、2006 年 4 月、東京

細菌第一部

- 31) 泉谷秀昌：食中毒菌の疫学解析に利用される分子遺伝学的手法について、衛生微生物技術協議会第 27 回研究会、2006 年 6 月、札幌
- 32) 森田昌知、廣瀬健二、泉谷秀昌、渡邊治雄、相楽裕子：日本国内で分離されたチフス菌、パラチフス A 菌の薬剤感受性動向、第 45 回感染性腸炎研究会総会、2006 年 3 月、東京
- 33) 森田昌知、泉谷秀昌、寺嶋 淳、廣瀬健二、渡邊治雄：リジンデカルボキシラーゼ陰性 *Salmonella* Enteritidis 株における発現制御遺伝子の変異、第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 3 月、金沢
- 34) 森田昌知、泉谷秀昌、渡邊治雄、相楽裕子：2006 年に日本国内で分離されたチフス菌・パラチフス A 菌の各種薬剤感受性の検討、第 46 回感染性腸炎研究会総会、2007 年 3 月、東京
- 35) 倉園貴至、近真理奈、砂押克彦、大島まり子、山口正則、泉谷秀昌、渡邊治雄：腸管感染症の薬剤耐性マーカーの利用について、衛生微生物技術協議会第 27 回研究会、2006 年 6 月、札幌
- 36) 泉谷秀昌：微生物ハザード I、お茶の水女子大学、化学・生物総合管理の再教育講座、生物総合評価管理学概論 2、2006 年 10 月、東京
- 37) 泉谷秀昌：MLVA (総論) 平成 18 年度「地域保健総合推進事業」地・域ブロック研修会、2007 年 1 月、埼玉
- 38) 泉谷秀昌、大西真、伊豫田淳、寺嶋淳、山崎伸二、石原朋子、渡邊治雄：サチラーゼ様プロテアーゼをコードする subA 遺伝子の志賀毒素産生性大腸菌株における分布状況、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
- 39) 小泉信夫、武藤麻紀、渡邊治雄、馬場義孝、工藤桃利、玉得吉信、下村高司、山本正悟、高取一郎、岩切章：宮崎県北部におけるレプトスピラ保菌動物調査、第 44 回レプトスピラシンポジウム、2007 年 3 月、大阪
- 40) 泉福英信、黒田亘一朗、松井光、米沢英雄：糖尿病と唾液分泌に関連する分子、E2F-1 について (#46)、第 48 回歯科基礎医学会、2006 年 9 月、鶴見
- 41) 茂木瑞穂、米沢英雄、高木裕三、泉福英信：Streptococcus mutans 臨床分離株における QS システム関連遺伝子 (#194)、第 48 回歯科基礎医学会、2006 年 9 月、鶴見
- 42) 泉福英信、多田章夫、小森康雄：歯科医療における院内感染対策の意識向上と行動について、第 55 回口腔衛生学会、2006 年 10 月、大阪
- 43) 武内博朗、奥田健太郎、野村義明、岡山秀仁、的場一成、河村勝美、田中和也、泉福英信、花田信弘：歯周病関連バイオフィルムの光学的手法による臨床検出法の検討、第 55 回口腔衛生学会、2006 年 10 月、大阪
- 44) 米沢英雄、渡邊治雄、泉福英信：Streptococcus mutans 臨床分離株における Bacteriocin Smb の遺伝子パターンとその抗菌性への関与、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪
- 45) 中尾龍馬、泉福英信、渡邊治雄：UDP-galactose 4-epimerase of Porphyromonas gingivalis effects on the biofilm formation、第 6 回 cell cell communication & biofilm セミナー、2006 年 5 月、東京
- 46) 中尾龍馬、泉福英信、渡邊治雄：The role of the Porphyromonas gingivalis UDP-galactose 4-epimerase in the formation of the outer membrane structure and biofilms. 第 3 回口腔バイオフィルム研究会、2006 年 7 月、東京
- 47) 田代陽介、野村暢彦、中尾龍馬、泉福英信：古園さおり、渡邊治雄、中島敏明、内山裕夫：外膜タンパク Omp85 制御による緑膿菌バイオフィルムの形成阻害、2007 年度日本農芸化学会総会、2007 年 3 月、東京
- 48) 石橋哲也、千々和勝己、山本正悟、藤田博己、片山丘、古屋由美子、田原研司、御供田睦代、大瀬戸光明、荻野和正、川端寛樹：福岡県の紅斑熱患者発生地における媒介マダニの調査、リケッチア・クラミジア研究会、2006 年 10 月、北九州市
- 49) 近藤玲子、大瀬戸光明、稲荷公一、豊嶋千俊、市川高子、井上博雄、田原研司、山本正悟、御供田睦代、古屋由美子、藤田博己、川端寛樹、高野愛：愛媛県の日本紅斑熱発生地域におけるマダニ類の Rickettsia japonica 保有状況、リケッチア・クラミジア研究会、2006 年 10 月、北九州市
- 50) 井上快、丸山総一、壁谷英則、山田直樹、佐藤雪太、湯川真嘉、大橋典男、増沢俊幸、川森文彦、角坂照貴、高田伸弘、藤田博己、小泉信夫、川端寛樹：わが国の野生齧歯類における Bartonella 属菌の分布、第 14 回 SADI (ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー)、2006 年 6 月、青森
- 51) 川端寛樹、齋藤幹、小泉信夫、藤田博己、高野愛、渡邊治雄：海外での Borrelia valaisiana 近縁種感染によるライム病輸入例、第 14 回 SADI (ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー)、2006 年 6 月、青森
- 52) 高野愛、新田芳樹、角坂照貴、藤田博己、御供田睦代、本田俊郎、増沢俊幸、河村好章、江崎孝行、渡邊治雄、川端寛樹：南西諸島における Borrelia valaisiana 近縁種の浸潤、第 14 回 SADI (ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー)、2006 年 6 月、青森
- 53) 田原研司、保科 健、新井 智、辻 正義、川端寛樹、

角坂照貴、藤田博己、矢野泰弘、高田伸弘：島根県下に生息する野ネズミからの *Babesia microti* SSU rRNA 遺伝子の検出、日本衛生動物学会大会、2006 年 4 月、長崎

54) 田原研司、板垣朝夫、藤田博己、角坂照貴、矢野泰弘、高田伸弘、川端寛樹：島根県産アカネズミ寄生個体に基づくタヌキマダニ幼虫期確定、日本衛生動物学会大会、2006 年 4 月、長崎

55) 角坂照貴、藤田博己、後藤郁夫、川端寛樹：石垣島におけるカメキラルマダニ幼虫の人体寄生例、日本衛生動物学会大会、2006 年 4 月、長崎

56) 高橋英之：病原性ナイセリア属菌に関して、平成 18 年度希少感染症・細菌・中級コース（国立保健医療科学院主催）、2006 年 11 月、東京

57) 高橋英之：バイオセーフティの観点から見た病原細菌・ペスト、第 6 回日本バイオセーフティ学会総会、2006 年 11 月、東京

58) 高橋英之、渡邊治雄：髄膜炎菌 LOS の phosphoethanolamine 修飾酵素の病原性因子としての機能解析、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪

59) 池辺忠義、平澤恭子、磯部順子、田中大祐、鈴木理恵子、勝川千尋、河原隆二、富田正章、緒方喜久代、遠藤美代子、奥野ルミ、渡邊治雄：劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者由来株のサーベイランス、第 15 回 Lancefield レンサ球菌研究会および第 39 回レンサ球菌感染症研究会合同学会、2006 年 6 月、神奈川

60) 田中大祐、綿引正則、遠藤美代子、奥野ルミ、熊谷奈々子、池辺忠義、渡邊治雄：国内で分離された A 群 *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* の遺伝子型の解析、第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 3 月、石川

61) 渡邊治雄：特別講演「腸管感染症の最近の話題」、日本臨床腸内微生物学会、2006 年 9 月、東京