

## 4. 細菌第一部

部長 渡辺治雄

### 概要

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、ビ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、病原性因子の発現制御、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。その中で特記すべき点は、一般的に菌が細胞内に侵入すると宿主細胞に変化が生じるが、赤痢菌の場合、菌が侵入した宿主細胞の形態を維持させ、菌の増殖・細胞間伝播を促進させる方向に働く新しい遺伝子 *ospE2* があることを発見した、レジオネラの増殖に関与する宿主遺伝子として *Lgn1* が見つかったが、それとは異なる肺組織内でのレジオネラの増殖に関与する新しい宿主遺伝子の存在を発見した、腸管出血性大腸菌のゲノムの不安定性に菌内に存在するバクテリオファージ間でのゲノムの逆位が関与することを新しく見出した、ことがあげられる。これらの発見を、大学院生が自ら行ったことに頼もしさを感じる。若いときにより仕事を行った経験は自信となりその後の研究生活に影響を及ぼす。頑張ってもらいたいものである。

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（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、文科省科研費、および広域食中毒対策事業費等を得た。

部の人事として、16年4月1日付けで、渡辺治雄が副所長となり、細菌第一部を兼務することとなった。また、森田昌知が第二室研究員として採用された。17年3月31日付けで、田村和満、芳賀伸治が定年退職した。

### 業績

#### 調査・研究

##### 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) 平成16年度における腸管出血性大腸菌（EHEC）の血清型分布に関する研究

平成16年度に疫学的解析のために、国立感染症研究所に送付された菌株は総数2975株でその内O157:H7およびO157:H-は2227株、それ以外の大腸菌血清型別の依頼株は748株であった。O157以外の血清型は21種類に型別された。その中でも、O26:H11、O26:H-、O111:H-が優勢を占めていた。（田村和満、寺嶋淳、伊豫田淳、渡辺治雄）

(2) 腸管出血性大腸菌 O157 のファージ型別による解析

2004年に送付された腸管出血性大腸菌 O157のうち、133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19%、PT1が12%、PT4が10%、PT33が9%であった。一昨年22%を占め、最も多く検出されたPT33は4位に後退した。（泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄）

(3) 腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2004年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157のうち2102株およびO26、O111等を含むその他の血清型752株、また2003年以前に分離された腸管出血性大腸菌270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。2004年分離のO157については、1032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。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29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7種類の泳動パ

ターンがあった。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、今村詔子、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄)

#### (4) PFGE の標準化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。PFGE パターンのサブタイプニングは、PFGE 解析ソフトによるデンドログラムに基づいて行い、解析結果の一部は、PDF の書類として、厚生労働行政総合情報システム (WISH) 上の個別システム「PulseNet Japan」でほぼ 1 ヶ月おきにデータを更新した。また、よりアクセスが容易である Internet を利用した解析結果の公開手段について、感染研のホームページ利用を想定し検討を始めた。(寺嶋 淳、斉藤康憲、鈴木玲子、今村詔子、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄)

#### (5) LEE 遺伝子群の発現制御に関する研究

##### ア) ATP 依存型プロテアーゼ ClpXP 複合体による LEE 遺伝子群の正の発現制御

LEE 遺伝子群の発現を上昇させる活性を持つマルチコピークロンとして、ATP 依存型プロテアーゼの一つである ClpX/ClpP をコードする DNA 断片が単離された。そこで *clpXP* の欠失変異体を構築したところ、LEE にコードされる Type III 依存型分泌蛋白質の発現が顕著に低下することが判明した。ClpXP の LEE 発現制御における作用点を同定する目的で、LEE の転写制御遺伝子である *pchA* と *ler* の転写活性を測定したところ、*clpXP* 欠失変異によってそれぞれの発現量が顕著に減少することが判明した。LEE の発現階層性において *pchA* は *ler* の上位に位置することから、ClpXP の効果は少なくとも *pchA* の転写制御を介して行われるものと考えられる。(伊豫田淳、渡辺治雄)

##### イ) 定常期シグマ因子 RpoS による LEE 遺伝子群の負

##### の発現制御

ClpXP は定常期シグマ因子として知られる RpoS の分解に関与し、定常期における遺伝子発現制御を行っていることが明らかとなっている。そこで、RpoS によって LEE の発現が制御されている可能性について解析する目的で、*clpXP* と *rpoS* の三重欠損株を構築した。その結果、(ア)で見られた *clpXP* 欠失による LEE 発現の低下が部分的に抑圧された。*rpoS* を運ぶプラスミドを野生株に導入したところ、LEE 発現の顕著な低下が見られた。従って、RpoS はその作用機構は現在のところ不明なものの、LEE の発現を負に制御することが示唆された。(伊豫田淳、渡辺治雄)

##### ウ) 負の制御遺伝子 *grlR* の活性制御による LEE 発現の脱抑制機構

他の研究グループの成果から、LEE にコードされる GrlR は LEE 発現の負の制御因子として機能するものと考えられている。O157 Sakai 株で *grlR* の欠失変異株を作製し、LEE 発現への効果を調べた結果、*grlR* 変異下では、LEE の発現が誘導されない富栄養条件下においてもその発現が構成的になることが判明した。*grlR* と *clpXP* の三重欠損株を構築したところ、(ア)で見られた *clpXP* 欠失による LEE 発現の低下がほぼ完全に抑圧された。そこで、*grlR*-FLAG 融合遺伝子を染色体上で構築し、GrlR の細胞内における存在量を定量化する系を構築したところ、GrlR は対数増殖期後期 (LEE の発現が誘導される増殖期) で顕著に減少するが、*clpXP* 欠損下では増殖期に関わらず構成的に存在した。以上の結果は ClpXP が GrlR の活性制御を介して LEE の発現制御を行っていることを示唆するものである。(伊豫田淳、渡辺治雄)

#### (6) LEE 非保有型志賀毒素産生性大腸菌 (LEE-negative STEC: LN-STEC) の病原性遺伝子に関する研究

LN-STEC の一群は培養細胞 (HEp-2) へ鎖状に結合する (Chain-like adhesion: CLA) ことが我々の研究で明らかとなっている。CLA に必須な接着遺伝子を同定する目的で、CLA を示す STEC O91 の一株について Tn5-kan を用いたランダム突然変異を行い、CLA を示

さなくなった（培養細胞への接着性を失った）変異株をいくつか単離した。Tn5-kanの挿入部位を同定したところ、大腸菌のimmunoglobulin結合蛋白質（EibACDEF）と相同性を示す蛋白質をコードする新規遺伝子にマップされた。この遺伝子の完全欠失体を構築したところ、Tn5-kan変異株同様HEp-2細胞への接着性を示さないことが確認された。さらに、この遺伝子を運ぶプラスミドを欠失株に導入したところ、CLAの表現型を相補することが確認された。以上の結果から、このeib様遺伝子はCLAの表現型を担う新規の接着因子をコードすることが示された。（陸彦〔流動研究員〕、伊豫田淳、佐藤裕美、佐藤人美、渡辺治雄）

（7）EHECに溶原化しているバクテリオファージに関する研究

ア) *stx2*を運ぶラムダ型ファージの感染におけるO抗原の役割について

*stx2*を運ぶラムダ型ファージの大腸菌宿主域を研究する過程において、ファージの感染率が上昇した大腸菌O157の突然変異株を単離した。この突然変異体の特徴付けを行ったところ、O抗原を欠損した株であることが判明した。そこで、Stxファージを持たないO157株を用いて、O157抗原合成遺伝子の一つである*rfbE*を欠損させた変異株を新たに作製した。*stx2A::cat*融合遺伝子を運ぶファージによる感染率を解析したところ、野生型O157株と比較して溶原株の出現数が顕著に増大していた。さらに、*rfbE*を運ぶプラスミドを用いて相補実験を行ったところ、O抗原の合成およびファージの溶原化率が野生株レベルまで戻った。以上の結果から、O側鎖はファージ感染において重要な役割を担っていることが示唆された。（井口純〔協力研究員〕、伊豫田淳、大澤朗〔神戸大・自然科学研究科〕、渡辺治雄）

イ) ファージゲノム間で起こる逆位DNAによるO157ゲノムの多様性に関する研究

EHEC O157のゲノム上には18個のファージDNAおよび数個のファージ様DNAが存在する。試験管内で継代培養を繰り返した結果、PFGEパターンに変化が見られたいくつかの株を用いて、その原因となる変異について解析した。その結果、*stx2*遺伝子をもつ933Wファージ

の欠落、Insertion Sequenceを介した欠失に加え、その多くは複製軸にほぼ対称に溶原化している二つのファージ間での逆位DNAにより起こることが判明した。逆位は7つのファージを介した5つの組み合わせでみられ、その大きさは250 kbpから1.4 Mbpと多様であった。以上の結果から、ゲノム上に存在するファージDNA間で起こる逆位がO157ゲノムの多様化に貢献していることが示唆された。（井口純〔協力研究員〕、伊豫田淳、大澤朗〔神戸大・自然科学研究科〕、寺嶋淳、渡辺治雄）

### ・サルモネラに関する研究

（1）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

2004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株、パラチフスA菌株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58株、パラチフスA菌66株で、例年と比較してパラチフスA菌の分離数が増加した。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、E9,E1,B1,D2であった。パラチフスA菌では、1,4,6、2型であった。（廣瀬健二、田村和満、高井信子、渡辺治雄）

（2）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

2004年に日本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剤及び第3世代セフェム系抗菌剤などに対する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6薬剤、第3世代セフェム系薬剤3薬剤、その他に従来の治療薬等合計18剤を検討した。検査した株のうちニューキノロン低感受性菌はチフス菌で約55%と昨年と比較してやや減少した。パラチフスA菌では昨年と同程度の約76%であった。（廣瀬健二、田村和満、高井信子、渡辺治雄）

（3）ニューキノロン低感受性菌の迅速スクリーニング法の開発に関する研究

ニューキノロン低感受性チフス菌・パラチフスA菌を迅速にスクリーニングするためにリアルタイムPCR法を用いた方法を開発した。この方法では、キノロン耐性

決定領域の塩基配列を決定することなく、突然変異の入った場所がわかるため、菌株が耐性、低感受性、感受性かの推定もできる。(廣瀬健二、伊藤健一郎(感染症情報センター)、森田昌知、渡辺治雄)

(4)平成16年度におけるサルモネラ血清型分布に関する研究

平成16年度にサルモネラセンターに血清型別以来のあった株は13株でそれらは8種類の血清型に分けられた。優勢を占めた血清型は例年通り *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* であった。(田村和満、泉谷秀昌)

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

2004年に当研究所に送付された *Salmonella* Enteritidis 602株(うち、2004年分離株は364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2004年の集団事例43件のファージ型(PT)の内訳としては、PT1が11件(26%)、PT4が10件(23%)、PT21が7件(16%)、その他15件であった。昨年まで増加傾向にあったPT47は3件で7%を占めるにとどまった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

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

2004年に当研究所に送付された多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium の菌株75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47株であった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

(7) *Salmonella* Enteritidis 薬剤感受性試験

上記ファージ型別に供した2004年に発生した43件の集団事例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32件、SM単剤耐性のものが10件と大勢を占めた。これ以外にSM+TC耐性が1件検出された。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

(8) ESBL産生性 *S. Enteritidis* 株の解析

2003年7月に分離されたCTX耐性 *S. Enteritidis* 株について解析を行った。本菌株はCTXに耐性であり、且つ本耐性はクラブラン酸によって阻害され、いわゆるESBL産生株であることが示唆された。耐性遺伝子をPCRで検索した結果、CTX-M型ラクタマーゼ遺伝子が検出され、塩基配列解析の結果、blaCTX-M-14を有することが明らかとなった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、廣瀬健二、田村和満、渡辺治雄、東出正人(江東微研))

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

2004年に送付されたフルオロキノロン高度耐性 *Salmonella* Typhimurium 株(n=5)について、薬剤耐性パターン、ファージ型別、耐性遺伝子の塩基配列などによる解析を行った。薬剤感受性試験をディスク(KB)法で行うと、ABPC, CP, SM, TC, ST(サルファ剤およびトリメトプリム), GM, NAおよびCPFXに耐性を示すもの(n=4)ならびに、ABPC, CP, SM, TC, ST(サルファ剤およびトリメトプリム), NAおよびCPFXに耐性を示すもの(n=1)の2種類が存在した。ファージ型別に関しては、すべてDT193と同定された。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、いずれも同様の変異が同定された(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)。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

(10) サルモネラ侵入性遺伝子群の発現制御についての研究

A) *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium の細胞侵入性遺伝子群発現の統括的 activator である *hilA* 自体の発現制御

昨年度報告したように、1,2-propanediol が *hilA* 発現抑制効果を有すること、低濃度の1,2-propanediol、150mMにおける抑制効果は、1,2-propanediolからのサルモネラ自身の持つPdu Enzymesによる代謝産物であるpropionateによるものであること、これに対して、高濃度、300mMにおける抑制効果は、propionateの産生

によらないものであることをつきとめた。これら2つの抑制経路、それぞれについて、その具体的メカニズム解析のため、300mM 1, 2-propanediol での *hilA* 発現抑制が解除される変異株、及び、30mM propionate (すなわち、低濃度 1, 2-propanediol によるものを mimic している) での *hilA* 発現抑制が解除される変異株を Tn10 random insertion によってスクリーニングすることを試みた。(中山周一、渡辺治雄)

イ) 高濃度 1, 2-propanediol による抑制を解除する mutant について

このような mutant として、ゲノム上、4つの loci に Tn10 が挿入された変異株をスクリーニングした。そのうち、complementation test により、遺伝子の機能が確認できたものは、*hilE* 遺伝子、1つだけであった。*hilE* は、*hilA* の negative regulator として、すでに報告がある。これに一致して、*hilE* mutant では、1, 2-propanediol を含まない、通常の培地中でも *hilA* 発現は大きく上昇していた。この表現型に加えて、*hilE* mutant は、300mM 1, 2-propanediol での *hilA* 発現抑制をほぼ完全に失っていること、これに対して、30mM propionate による *hilA* 発現抑制は、若干、悪化するものの、依然、保持していた。これらの結果より、*hilE* は、propionate 産生に非依存的な、1, 2-propanediol による *hilA* 発現抑制に必須な negative regulator であることが示されると同時に、1, 2-propanediol による *hilA* 発現抑制が、propionate 産生に依存的なものと、非依存的なものとの、遺伝学的に明確に分離できることが確認された。*hilE* が、1, 2-propanediol による *hilA* 発現抑制に必須であり、propionate による抑制には必須でないことから、*hilE* 自体の発現、または HilE 産物の activity が、1, 2-propanediol 存在下で特異的に上昇する可能性が考えられる。現在この仮説を検証中である。(中山周一、渡辺治雄)

ウ) propionate による抑制を解除する mutant について  
propionate による抑制が悪化する mutant として、ゲノム上、1つの locus、*yieP* 遺伝子に Tn10 が挿入された変異株を同定した。propionate による抑制を完全に失う変異株は、得られなかった。*yieP* 遺伝子を multicopy

plasmid に cloning し、大量発現株を作製したところ、特に、propionate 存在下での *hilA* 発現が大きく低下した。これらの結果から、*yieP* は propionate による *hilA* 発現抑制に関与するが、必ずしも必須ではなく、これと独立な抑制経路が併存していることが示唆された。今後、*yieP* mutant を出発材料とした secondary mutagenesis によって、この抑制を完全に失う変異株を再スクリーニングし、そのような経路を同定することを計画している。*yieP* は、ゲノム解析の結果、存在が判明した ORF に過ぎないが、予想されるアミノ酸配列から、AraC Type の転写因子と考えられる。このことから、YieP 産物は propionate、またはその代謝産物を Co-factor とし、特定の DNA 配列に結合することでターゲット遺伝子の発現制御を行う、という作用機序が考えやすい。今後、*yieP* については、直接の Co-factor の同定、結合する DNA 配列、直接のターゲット遺伝子の特定、が課題である。(中山周一、渡辺治雄)

### ・ピブリオに関する研究

(1) 平成 16 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 16 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 198 株で *Vibrio cholerae*、*V. mimicus*、*V. fluvialis*、*V. vulnificus* および *V. parahaemolyticus* が含まれ、38.4%(76)は国外(米国-13、インド-63)から依頼された。国内株は *V. cholerae* non-O1, non-O139 が主で、血清型別依頼菌株の大部分は患者由来株であった。(荒川英二、田村和満; 沖津忠行、鈴木理恵子(神奈川衛研))

(2) *Vibrio vulnificus* の抗 O 免疫血清の作成

*V. vulnificus* の血清型として既報の O1~O7 について抗血清を作成するため、血清型参照株の加熱死菌体を抗原として日本白色種ウサギに投与した。得られた抗血清について、全ての参照株に対して凝集反応を試みた。その結果、特異的な反応を示し、血清型別に利用可能であった。凝集反応力価を考慮して適宜生理食塩水で希釈し、凝集反応試験用血清とした。(森田昌知、田村和満、荒川英二、泉谷秀昌、渡辺治雄)

(3) *V. vulnificus* の O 血清型別

*V. vulnificus* 感染症の患者より分離された 14 株、沿岸海水、魚介類等の環境由来の 103 株について血清型別を試みた。患者由来株については、O1~O7 のいずれかの血清型しか認められなかった。その内訳は、O4a が最も多く 4 株、次いで O1 が 3 株であった。環境由来株についても、26 株の O4a が最も多く、O1 が 18 株と続いた。しかしながら、型別不能であった株が 21 株存在した。(森田昌知、田村和満、荒川英二、廣瀬健二、渡辺治雄)

(4) *V. vulnificus* の患者株と環境株の遺伝型の比較

*V. vulnificus* は汽水域などの環境中からも多数分離される菌である。また、分離された菌株のほとんどが、ヒトに対する病原因子と考えられる cytolysin-hemolysin を保持している。患者由来株と環境由来株のゲノム構造を解析すべく、パルスフィールド電気泳動(PFGE)法を用いて、それぞれのバンドパターン(RFLP)に類似性がないかを解析した。患者由来株、計 27 株の半数は血清型 O4 で占められており、病原性株が特定の血清型に偏る傾向は *V. vulnificus* においても存在するのかもしれない。しかし、血清型 O4 の PFGE-RFLP パターンが同一あるいは極めてよく似た株は同一患者の別集落の株以外には認められなかった。また、環境由来株にも患者由来株と PFGE-RFLP パターンが同一あるいは極めてよく似た株は認められなかった。血清型の異なる菌株についてはその PFGE-RFLP パターンも異なっていた。(荒川英二)

・赤痢菌に関する研究

(1) 日本国内で分離された赤痢菌の同定

2004 年 4 月から 2005 年 3 月に日本で分離され国立感染症研究所細菌第一部に送付された赤痢菌の同定・血清型別検査を行った。送付された菌株は 38 株であった。これらの生化学性状を検査し血清型を決定した。また、大腸菌と赤痢菌の鑑別の依頼は、3 件で、これらには生化学性状試験に加え遺伝子検査を行い、大腸菌と鑑別した。(廣瀬健二、田村和満、寺嶋淳、泉谷秀昌、高井信子、渡辺治雄)

(2) 赤痢菌病原遺伝子の発現調節機構の解析

赤痢菌の病原性に必須な TypeIII 分泌装置を構成する Mxi-Spa,Ipa 蛋白は病原性プラスミドにコードされており、プラスミド上のアクチベータ - である VirF 及び InvE を介して転写が活性化される。当研究は *mxi* 遺伝子の転写が低下する Tn10 変異体を分離し、二成分制御系 CpxRA のセンサーをコードする *cpxA* 遺伝子を同定した。この変異体では InvE の mRNA は正常な一方、蛋白の発現が低下しており、解析の結果 *cpxA* 変異体では翻訳レベルで蛋白発現が低下していることが示された。また *mxi* 遺伝子群のプロモーターの調節機構の解析に流動研究員の寺岡秀興が加わり解析を開始した。(三戸部治郎 寺岡秀興 渡辺治雄)

(3) 赤痢菌の細胞内侵入後の細胞骨格の維持機構に関する研究

赤痢菌は細胞内に侵入するが、侵入部位にアクチンをはじめとする細胞骨格に関する分子が集積し、ファゴサイトーシス様機構で細胞質内に入り込む。侵入後は、菌は細胞質内を動きながら増殖し、隣接細胞に伝播を繰り返す。赤痢菌の病原性プラスミド上の遺伝子 *ospE2* が変異を起こすと、菌が侵入した宿主細胞の細胞骨格の異常、つまりアクチン線維の分断が起こり、細胞の形態が rounding-up した。*ospE2* が正常な菌においては、細胞がプレートとコンタクトする部位に FAK,talin 等の細胞骨格因子が集積しているのに対し、*ospE2* 変異株においてはそれらの分子の集積が見られなくなっていた。また、隣接細胞への伝播の低下も起こっていた。*OspE2* は赤痢菌が侵入した細胞の形態維持に関与していることが考えられる。(三浦雅史(協力研究員) 寺嶋淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、渡辺治雄)

・レンサ球菌に関する研究

(1) 日本における 2003 年の溶レン菌感染症サーベイランス

2003 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、2697 株であり、すべての株に対して T 型別が行われた。分離頻度の高かった T 型は、T4 (572/2697, 21.2%)、T12 (547/2697, 20.3%)、T1 (355/2697, 13.2%)、T3 (200/2697, 7.4%)、T28 (199/2697,

7.4%)であった。T4、T12、T1型は1992年以降、毎年、高い分離頻度を示している。T3型は、2000年から増加傾向にある。(2000, 0.4%; 2001, 1.1%; 2002, 5.6%; 2003, 7.4%)。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%)。昨年、分離頻度の高かったT25、TB3264型は、2003年減少した。T6は昨年に引き続き増加傾向にある。T9型は、昨年に引き続きの減少傾向にある。(池辺忠義、渡辺治雄、平澤恭子(福島衛研) 鈴木理恵子(神奈川県衛研) 遠藤美代子(東京都健康安全研究センター) 田中大祐(富山衛研) 河原隆二(大阪公衛研) 富田正章(山口環境保健研究センター) 緒方喜久代(大分衛生環境研究センター)、The Working Group for Group A 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

2003年、16症例報告があり、そのうち12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7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。2003年、T3型が1例で分離され、*emm3.1* (M3)であった。T12 (NIH248), T22 (NIH236), TB3264(NIH238)分離株の *emm* の塩基配列は、それぞれ、*emm12* (M12), *emm22.2* (M22), *emm89*(M型別不能)であった。T型別不能であった分離株 (NIH245)の *emm* 遺伝子の塩基配列は、*stg485* (M型別不能)であった。(池辺忠義、渡辺治雄、平澤恭子(福島衛研) 鈴木理恵子(神奈川県衛研) 遠藤美代子(東京都健康安全研究センター) 田中大祐(富山衛研) 河原隆二(大阪公衛研) 富田正章(山口環境保健研究センター) 緒方喜久代(大分衛生環境研究センター) The Working Group for Group A Streptococci in Japan)

(3) 日本における劇症型 G 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

2003年、劇症型 G 群レンサ球菌感染症は1例の報告があった。2002年に引き続き、この分離株の *emm* 遺伝子型を行った結果、*stc36* と100%一致した。(池辺忠義、渡辺治雄、平澤恭子(福島衛研) 鈴木理恵子(神奈川県衛研) 遠藤美代子(東京都健康安全研究センター) 田中大祐(富山衛研) 河原隆二(大阪公衛研) 富田正章(山口環境保健研究センター) 緒方喜久代(大分衛生環境研究センター)、The Working Group for Streptococci in Japan)

研) 遠藤美代子(東京都健康安全研究センター) 田中大祐(富山衛研) 河原隆二(大阪公衛研) 富田正章(山口環境保健研究センター) 緒方喜久代(大分衛生環境研究センター) The Working Group for Streptococci in Japan)

(4) 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

2003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、V型 (NIH227)、Ib型 (NIH239)であった。(池辺忠義、常 彬、渡辺治雄、平澤恭子(福島衛研) 鈴木理恵子(神奈川県衛研) 遠藤美代子(東京都健康安全研究センター) 田中大祐(富山衛研) 河原隆二(大阪公衛研) 富田正章(山口環境保健研究センター) 緒方喜久代(大分衛生環境研究センター) The Working Group for Streptococci in Japan)

(5) 日本における *emm49* 型 *Streptococcus pyogenes* による劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症起因菌について

2000年から2003年において、1999年以前に劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症起因菌として分離されなかった *emm49* 型 *Streptococcus pyogenes* による劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症が5例(2000年1例、2002年3例、2003年1例)発生した。これらの株について、制限酵素 *SmaI* 処理によるパルスフィールド電気泳動 (PFGE) を行ったところ、NIH200, NIH211, NIH230 については PFGE のパターンに違いが見られなかった。一方、その他の株の PFGE パターンはこれらのパターンと異なっていた。また、これらの分離株が特異的に保有している毒素遺伝子を見出せなかった。(池辺忠義、渡辺治雄、遠藤美代子(東京都健康安全研究センター))

レジオネラに関する研究

(1) *Legionella pneumophila* のヒト肺胞上皮 II 型細胞への侵入様式における IV 型分泌装置 (Icm/Dot) の役割の研究

*Legionella pneumophila* 野生株の2株 (80-045 および JR32) と、その Icm/Dot 変異株の、ヒト肺胞上皮 II

型細胞(A549)への侵入率および侵入様式の差を調べた。野生株の侵入率と比較すると、変異株の侵入率は感染早期に低く、感染後期には高くなることが観察された。この結果から、野生株と変異株の侵入様式は異なり、Icm/Dot の変異によって *L. pneumophila* の細胞への侵入様式が変化することが示唆された。さらに、侵入阻害剤による阻害実験では、野生株は Icm/Dot-dependent molecule の媒介により細胞に侵入するが、Icm/Dot 変異株は  $\alpha_2$  macroglobulin レセプター媒介性 microfilament-dependent pathway によって細胞内に侵入することが明らかとなった。(常 彬、前川純子、倉 文明、渡辺治雄)

#### (2) *Legionella pneumophila* の接着因子 LaiA のレセプターの探索

*Legionella pneumophila* はレジオネラ肺炎を引き起す細胞内寄生菌である。我々はレジオネラのヒト肺胞上皮 II 型細胞への接着および侵入に関わる遺伝子 laiA を同定した。この接着因子の肺胞上皮細胞のレセプターについて調べている。(常 彬、前川純子、倉 文明、渡辺治雄)

#### (3) *Legionella dumoffii* の産生する蛍光物質についての遺伝学的解析

##### ア) レジオルリン合成酵素系の遺伝学的探索

我々が同定した新規蛍光物質であるレジオルリンは、その構造からポリケチド化合物であると考えられた。ポリケチド化合物は放線菌などが合成する二次代謝産物で、放線菌においては I 型ポリケチド合成酵素によりマクロライド環をもつポリケチドが合成され、II 型ポリケチド合成酵素により芳香環をもつポリケチドが合成されることが知られている。トランスポゾンメュータジェネシスにより、レジオルリンを産生しない株を複数得たところ、いずれも I 型ポリケチド合成酵素と相同性のある領域に挿入変異が生じていた。したがって、レジオルリンは芳香環を有するイソクマリン化合物であるにもかかわらず、I 型ポリケチド合成酵素系により合成されていると考えられた。(前川純子、早川洋一(東理大・薬)、倉 文明、常 彬、渡辺治雄)

イ) レジオルリン合成系の制御についての遺伝学的解析  
トランスポゾンメュータジェネシスによりレジオルリンの産生量が数分の一に減少している変異株を解析したところ、サルモネラの病原因子を制御する二成分制御系の転写因子 *sirA* の ortholog に挿入変異が生じていた。その遺伝子をプラスミドにクローニングし、*L. dumoffii* に導入したところ、レジオルリンの産生量が増大した。レジオルリン合成遺伝子系を正に制御している本遺伝子を *faIA* (fluorescence activator of *Legionella*) と名付けた。(前川純子、倉 文明、常 彬、渡辺治雄)

#### (4) *Legionella pneumophila* (*Lp*) 感染におけるマウス系統差

種々の近交系マウス 8 種に *Lp* を鼻腔内投与し、4 日後の肺の生菌数を測定した。C57BL/10 や AKR マウスは肺からすみやかに菌が排除されたが、B10.A/SgSnSlc マウスと CBA マウスでは肺からの菌の排除が遅れた。さらに、この B10.A/SgSnSlc マウスと C57BL/6 マウスと交配させ得られた F1 マウスおよび N1F1 マウスを解析した結果、菌の排除が遅れる現象が単一遺伝子座により制御されていた。*Lp* 80-045 株のみならず JR32 株をはじめ他の *Lp* SG1 の臨床由来株においても同様の現象が見られた。(小林静史、倉 文明、前川純子、山本直樹(東京医科歯科大院医歯学総合研究科)、渡辺治雄)

#### (5) 循環式浴槽水の *Legionella pneumophila* 血清群 (SG)1

近年いくつかのレジオネラ症の集団感染事例を通じて、循環式浴槽の塩素消毒が進み、相対的にレジオネラ属菌の検出率は低下してきている。一方、その集団感染事例の起因菌となってきた *L. pneumophila* SG1 の年度別の推移はこれまで明らかでなかった。そこで、平成 13~14 年度の浴槽水のレジオネラ属菌株の種類を、市販の免疫血清で同定されていなかったレジオネラ属菌株を含め詳細に同定した。その結果、不明株として保存されていた浴槽水由来 48 株の 94% は *L. pneumophila* で、群別不能株と SG7 が多かった。平成 8 年~12 年度に比べ、平成 13 年度は *L. pneumophila* SG1 分離株の割合が増え、検体当りの *L. pneumophila* SG1 の陽性率も増加した。〔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))

#### (6) レジオネラの検査

##### ア) 行政検査

レジオネラ症集団発生疑いの患者血清 5 検体、尿 5 検体、喀痰 2 検体及び浴槽水 2 検体、冷却塔水 2 検体の検査を行った。臨床検体からは喀痰培養陰性、血清抗体価陰性、尿中抗原陰性であった。浴槽水からは不検出だったが、冷却塔水から 690~2100 CFU/100 mL のレジオネラ属菌が検出された。喀痰培養、喀痰や尿中抗原からは、むしろ肺炎球菌感染が陽性であった。(前川純子、倉文明、和田昭仁)

##### イ) その他の検査

温泉旅行後に肺炎をきたした患者の BAL 1 検体及び血清 2 検体の検査を行ったが、レジオネラの DNA 陰性で血清抗体価の上昇は見られなかった。(倉文明、前川純子、和田昭仁; 横田恭子(国立国際医療センター・エイズ治療研究開発センター))

#### ・髄膜炎菌に関する研究

##### (1) 髄膜炎菌識別マーカー、 $\gamma$ -glutamylaminopeptidase 遺伝子(*ggt*)の淋菌ホモログ(*ggh*)に関する解析

髄膜炎菌の近縁菌である淋菌には GGT 活性は見出されておらず、その遺伝子も存在しないものと推定されていたが、淋菌染色体上に髄膜炎菌 *ggt* 遺伝子と 90% 以上の相同性を保持する偽遺伝子 (gonococcal *ggt* homologue; *ggh*) として例外なく存在していることを見出した。さらに淋菌と髄膜炎菌の *ggt* 遺伝子とその周辺遺伝子の遺伝子配列の相互比較した結果、*ggt* 遺伝子を含む周辺遺伝子の配列順序が髄膜炎菌と淋菌で 100% 同一であることが見出された。また、淋菌 *ggh* 遺伝子のプロモーター領域の塩基配列も髄膜炎菌 *ggt* 遺伝子と 100% 同一で実際に転写活性を保持しており、転写活性を保持した原核生物の偽遺伝子として初めて原核生物で初めて同定された。生物進化的観点から *ggt* 遺伝子と周辺遺伝子を含む DNA 領域が髄膜炎菌と淋菌に取り込まれた後、進化上で淋菌の *ggt* ホモログは構造遺伝子内に変異を蓄積して不活化される一方で髄膜炎菌の *ggt* 遺伝子は機能を維持されてきた可能性が推測された。(高橋英之、渡辺治雄)

##### (2) 本年度に発生した髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の分子疫学的解析

2004 年 1 年間に感染研に収集された、患者 16 名、健康者 1 名から分離された髄膜炎菌 17 株の分子疫学的解析を行なった。その結果、ST-23 が 6 株、ST-687 が 3 株、ST-3506 が 2 株、ST-198 が 2 株、ST-2162、ST-3709、ST-7、ST-823 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。また、ST-3506、ST-3709 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示唆された。さらに、ST-7 は中国より帰国した患者より検出され、かつて中国で流行を起こした遺伝子型と一致したため、中国からの輸入感染例であることが強く示唆された。(高橋英之、渡辺治雄)

#### ・エルシニア、ペスト菌に関する研究

##### (1) LAMP 法を用いたペスト菌の迅速診断法の確立

ペスト菌の検出方法としてはマッコンキー寒天培地等の腸内細菌選択培地を用いた培養検出が主たる方法となっている。しかし、自然発生以外にもバイオテロの可能性が示唆される場合も想定し、迅速で鋭敏な検出系の確立が求められていた。そこで、Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法を用いてペスト菌の迅速、簡便、そして鋭敏な迅速検出法の確立を試みた。プラスミノーゲンアクティベーター遺伝子(*pls*)をターゲットとし、プライマーを設計して検出を試みた結果、感染研で保管されているペスト菌 8 株に対して等しく陽性反応を示した。またペスト菌の類縁菌である、*Yersinia pseudotuberculosis*、*Yersinia enterocolitica* に対しては陰性反応を示し、ペスト菌特異的に陽性判定が出ることが確認された。さらに、ペスト菌の希釈溶液を用いた実験では理論上 1 菌体の反応液中でも陽性反応が認められ、LAMP 法の鋭敏性が確認された。今後はプラスミド性の *pla* 遺伝子ではなく、他の染色体性の病原遺伝子をターゲットとした Taqman PCR 法による迅速診断系を確立していく予定である。(高橋英之、渡辺治雄)

##### (2) ニューキノロン耐性仮性結核菌と PCR clamping

法を用いたニューキノロン耐性ペスト菌の迅速検出法の開発

PNA と呼ばれる、DNA 類似の構造をもつ非天然の化合物を用いた PCR clamping 法を用いて、バイオテロで使用される可能性が考えられるペスト菌のニューキノロン耐性ペスト菌の迅速検出系の確立を試みた。ペスト菌の類縁菌である仮性結核菌のニューキノロン耐性株を用いて検討した結果、ニューキノロン耐性ペストの DNA gyrase の遺伝子 *gyrA* の変異三種と同一の変異に対してはニューキノロン感受性のものと比較して完全に区別して検出された。更に小さいコロニーを形成した菌を 100 での処理によって破壊する操作のみで調製した粗 DNA 抽出液を用いた場合においても精製 DNA を用いた時と同様の感度を示すことも確認され、より簡便に検出可能であることも確認された。この PCR clamping 法により、従来の培養法に要した 3 日間の検査時間を 3 時間に大幅に短縮することが可能となった。今後はさらに時間の短縮が可能な他の系を検討し、より迅速な診断系を確立していく予定である。(高橋英之、廣瀬健二、渡辺治雄)

### ・ブドウ球菌に関する研究

(1) 黄色ブドウ球菌のグリコペプチド耐性に関する研究

実験室で得られたグリコペプチド耐性菌に見つかった *tcaA* 変異が、臨床分離グリコペプチド低感受性株にも存在することを明らかにした。また、この変異とは別の変異 *tcaR* もグリコペプチドの感受性に変化をもたらすことを発見した。(和田昭仁 H. Maki, N. McCallum, M. Bischoff, B. Berger-Bächi [チューリヒ大])

### ・レプトスピラ、ボレリアに関する研究

(1) レプトスピラ leucine rich repeat タンパク質の解析

レプトスピラゲノム中には、タンパク質 タンパク質相互作用に関与する leucine rich repeat をもつ遺伝子が多数存在し、またそれらはシグナル配列を持っていることから、これら遺伝子産物の細胞接着への関与を調べるための実験を行った。LRR タンパク質の 1 つ LRR3342

を大腸菌で発現すると大腸菌の HeLa 細胞への接着が促進した。現在 3342 に対する抗血清を作製し、レプトスピラの細胞接着へ LRR3342 の関与を調査している。(小泉信夫、渡辺治雄)

(2) 各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

関東 3 県および静岡県の計 12 ヶ所で捕獲したドブネズミ 78 頭中 4 頭(2 ヶ所)からレプトスピラが分離され、*Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageni と同定された。アライグマから分離されたレプトスピラ 2 株について性状解析を行った結果、2 株とも *Leptospira interrogans* serovar Hebdomadis と同定され、血清型 Hebdomadis の遺伝的多様性が明らかになった。そのほか、イヌ(東京都)、ブタ(沖縄県)からのレプトスピラの分離を試みたが、結果はすべて陰性であった。(小泉信夫、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)、長谷川徹(東京都動物愛護相談センター)、新田芳樹(沖縄家畜試)、廣瀬和彦(明治製菓生物産業研究所))

(3) レプトスピラ症疑い検体の抗体価測定

レプトスピラ症疑いの 22 検体について顕微鏡下凝集試験により抗体価の測定を行い、このうち 7 検体が抗体価陽性であった。小泉信夫、渡辺治雄

(4) ライム病ボレリアの病原性解析

ライム病は全身性の慢性感染を引き起こす細菌感染症である。全身性感染を引き起こすメカニズム解明のため、遺伝子欠損変異株の表現形質を調べ、特定の領域と全身移行性の相関を一部明らかにした。本領域(Lp28-3)の欠損により、感染後の組織集積性は保たれているが、感染部位からの血中移行性に差がある事、即ち Lp28-3 領域には感染部位より全身へ移行する過程を促進する因子がコードされている可能性が示唆された。(川端寛樹、渡邊治雄)

(5) ライム病ボレリアの実態調査

沖縄県内で捕獲された野鼠に吸着しているミナミネズ

ミマダニから高率にライム病ボレリアが分離された。41 個体のミナミネズミマダニを捕獲、うち 3 個体からボレリアが分離された。また同地域で捕獲された野鼠からも高率にボレリアが分離されている(7/63, 11.1%)。本ボレリアは台湾、タイ、韓国、中国で分離された *Borrelia valaisiana* に近縁なボレリアであることが遺伝学的解析で明らかになった。(川端寛樹、角坂照貴(愛知医科大学)、藤田博己(大原研究所)、新田芳樹(沖縄県畜産試験場)他)

#### (6) 紅斑熱群リケッチアの実態調査

沖縄県で捕獲された野鼠、およびミナミネズミマダニよりリケッチアを分離、Multi-Locus Sequencing Typing 法、抗血清に対する反応性により紅斑熱群リケッチア *Rickettsia honei* もしくは本種に近縁な *Rickettsia* sp. と同定した。本リケッチアに対する捕獲野鼠抗体陽性率はドブネズミ(17/20, 85.0%)、クマネズミ(4/6, 66.7%)、ジャコウネズミ(1/10, 10.0%)であった。本リケッチアは吸血後、脱皮したミナミネズミマダニからも分離されたことから、ミナミネズミマダニを主な媒介種とする可能性が示唆された。本リケッチアは、国内で分離された *Rickettsia* 属細菌 6 種 (*R. japonica*, *R. helvetica*, *Rickettsia* AT-type, *Rickettsia* IO-type, *Rickettsia* LON-type, *R. canadensis*) に続き 7 種目となる。(川端寛樹、角坂照貴(愛知医科大学)、藤田博己(大原研究所)、新田芳樹(沖縄県畜産試験場)他)

#### (7) ボレリア、リケッチア、エーリキアなどの節足動物媒介性感染症の実態調査

国内でのマダニ媒介性感染症起因菌の実態調査のため、*Ixodes* 属ダニ、*Haemaphysalis* 属ダニ、*Carios* 属ダニ、*Amblyomma* 属ダニ計 419 個体を野外より採取、国内および近隣諸国で見出されているボレリア、エーリキア、アナプラズマ、リケッチア各病原体について、国内浸潤状況を調べた。北海道では、ヤマトマダニ(陽性率; 59.4%)、シェルツェマダニ(7.3%)から、青森県でも同じくヤマトマダニ(52.4%)、シェルツェマダニ(33.3%)から、山梨県ではヤマトマダニ(50.0%)からそれぞれボレリア DNA が検出されている。なお、試験を行った *Haemaphysalis* 属 10 種 103 個体からは、ボレリア DNA

は検出されなかった。紅斑熱群リケッチア DNA は北海道、青森県、福島県、山梨県、兵庫県、鹿児島県、及び沖縄県で採取された、*Haemaphysalis* 属及び *Amblyomma* 属のダニからそれぞれ検出された。北海道、青森県、及び福島県では、ヤマトマダニ(各々100.0%、28.6%、33.3%)から、兵庫県ではフタトゲチマダニ(95.7%)から、鹿児島県ではオオトゲチマダニ(33.3%)、イエンチマダニ(100.0%)、ヤマアラシチマダニ(50.0%)から、沖縄県ではカメキラマダニ(100.0%)からリケッチア DNA が検出されている。エーリキア DNA は青森県、山梨県で採取されたヤマトマダニ(それぞれ14.3%、20.0%)から検出されている。一方、現在までアナプラズマは検出されていない。(川端寛樹、渡邊治雄、安藤秀二(ウイルス一部)、岸本寿男(ウイルス一部)、高野愛(日本大学)、藤田博己(大原研究所)他)

#### (8) ボレリア、レプトスピラ、エルシニアなどの動物由来感染症の実態調査

動物由来細菌感染症について、国内野鼠の病原体保有状況調査を行っている。平成 16 年度捕獲頭数は、北海道:28、青森:41、山形:14、福島:2、長野:52、福井:10、兵庫:3、島根:96(内、隠岐島:15)、徳島:6、鹿児島:61(内、屋久島:9、トカラ列島中之島:45)、沖縄西表島:2、計 315 頭である。レプトスピラ:捕獲野鼠 315 頭中 4 頭(分離陽性率=1.3%)で病原性レプトスピラが分離された。分離種 *flaB* 遺伝子塩基配列決定により長野分離 3 株は *Leptospira interrogans* と同定された。島根分離株は未同定である。分離陽性個体はいずれもアカネズミであった。ライム病ボレリア:徳島、鹿児島で捕獲された野鼠より病原体分離を試み、捕獲野鼠 1 頭耳組織より *Borrelia japonica* が分離された。鹿児島県種子島捕獲野鼠より *B. tanukii* が分離されている。この他、リケッチア属、フランシセラ属、エーリキア属、エルシニア属細菌について検出を試みている。この他、共同研究者である丸山らは、捕獲野鼠の内試験に供した 25 頭中 14 頭から *Bartonella* 属細菌を分離した。本バルトネラ属細菌はこれまで見出されているネコひっかき病、塹壕熱起因菌とは異なっていた。(川端寛樹、高橋英之、小泉信夫、渡邊治雄、藤田博己(大原研究所)、高田伸弘(福井大学)、本田俊郎(出水保健所)、御供田睦代(鹿児島

県環境保健センター)、丸山総一(日本大学)他多数)

作製してこれらの遺伝子の機能を明らかにすることを検討中である。(茂木瑞穂、米沢英雄、渡辺治雄、泉福英信)

### ・セラチアに関する研究

#### (1) セラチア病原性因子の探索

尿路感染症の起因菌である、*Serratia marcescens* は尿路感染症や集団院内感染の原因菌であるが、その感染経路解明に関する研究は、国内外を問わずあまり行なわれていない。

現在セラチアでは、二つのゲノムプロジェクトが進行している。この2株のゲノム比較解析により、ゲノム間には多数の variation があることがわかった。セラチアの病原性因子として、現在、線毛の形成、溶血毒産生(ヘモリジン)、タンパク質分解酵素等が知られている。しかし、株間におけるこれらの活性の多様性については、知られていない。そこで、これらの活性を定量化する系を構築し、臨床分離株(27株)とその他の株(39株)における、細胞溶解活性と、溶血活性を調べた。その結果、両活性とも多くの多様性が観られた。この多様性と、株間との関係を明らかにするために、現在、MLST(分子系統解析)による解析を行っている。(志牟田 健、渡辺治雄)

### ・口腔内細菌に関する研究

#### (1) *Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成能に関与する遺伝子の検討

平成15年度に行った横浜市在住の親子(3歳児と母親)の口腔より単離され、PFGE パターンの異なった17種類の *S. mutans* のバイオフィーム形成能を流路系の実験方法(フローセルシステム)にて検討した。その結果、FSC-3 のようなバイオフィーム形成能の高い株と FSC-4 のようなバイオフィーム形成能の低い株を見つけることができた。この2菌種を用いて、バイオフィーム形成時の遺伝子発現パターンを調べるために、16時間培養後の RNA サンプルを用いたマイクロアレイを行った。その結果、FSC-3 おいて FSC-4 よりも発現量が8倍以上増加した遺伝子(bacitracin transport ATP-binding protein *glrA*, putative immunity protein *BLpL*-like, 他)や減少した遺伝子(PTS system IIA, B, C and D, Na<sup>+</sup> driven multidrug efflux pump, 他)を明らかにした。これらの遺伝子はバイオフィームの増加や減少に関わる遺伝子と考えられ、現在ミュータント株を

#### (2) *Streptococcus gordonii* 菌体表層蛋白質(SspB)のミックペプチドの菌体付着抑制効果

口腔バイオフィーム形成には、他の口腔細菌とともに Streptococci の歯表面への付着が重要な役割を果たしている。なかでも *Streptococcus gordonii* は歯表面への初期付着能が高い細菌として知られている。平成15年度から引き続き、*S. gordonii* 菌体表層蛋白質(SspB)の付着領域から合成した 390-T400K-402 ペプチド(400番目のアミノ酸 T が K に置換したミックペプチド)が、唾液成分の結合したハイドロキシアパタイト(sHA)への *S. gordonii*, *S. mutans* や *Streptococcus mitis* の結合にどのように影響するか検討を行った。その結果、SspB 390-T400K-402 ペプチドは、*S. gordonii* と *S. mutans* の sHA への結合を約 50%阻害した。しかし、*S. mitis* の結合には影響しなかった。このペプチドは、oral streptococci の歯表面への付着を制御するために有用であると考えられた。(泉福英信、奥田健太郎、中尾龍馬、渡辺治雄)

#### (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。このペプチドをさらにリジン置換し、結合量が上昇するか検討を行った。MOE Chemical Computing Graphics を使用してリジン置換により表層にヘリックス構造上陽電荷を一列に表出する6つのペプチドを合成した。ペプチドと SRCRP2 ペプチドとの結合は、BIAcore バイオセンサーを用いて解析した。2か所をリジンにて置換した SspB(390-A393K-T400K-402)は、1か所置換の SspB(390-T400K-402)ペプチドよりも結合が約4倍高くなった。他のペプチドでは変化がなかった。リジン置換とその位置に依存した陽電荷の付与は、SspB ペプチドの唾液アグルチニンへの結合に影響を与えることが明らか

かとなった。(木庭秀彦、中尾龍馬、泉福英信)

#### (4) Oral streptococci の菌種菌株間におけるバイオフィルム形成能の検討

本研究では Streptococci の 5 菌種 5 菌株 (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*) を用いて、バイオフィルム形成能の違いについて検討を行った。唾液コートしたフローセルに菌を接種し、その後 TSB w/o dextrose+0.25% sucrose の流動下において 16 時間培養し、LIVE/DEAD® BacLight™ にて染色後、コンフォーカルレーザー顕微鏡により形態の観察を行った。*S. mutans* はドーム状、*S. sobrinus* は卵状、*S. sanguinis* は珊瑚状のバイオフィルムを形成した。一方、*S. salivarius* と *S. gordonii* は、平べったく厚みのないバイオフィルムを形成した。このように、それぞれの Streptococci の中で菌種の違いでバイオフィルムの形態が違ふことが明らかとなった。(田村昌平、茂木瑞穂、中尾龍馬、泉福英信)

#### (5) *Enterococcus faecalis* による *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成阻害効果

*Enterococcus faecalis*(EF)の超音波破碎抽出液(SE)は、濃度依存的に *S. mutans* のバイオフィルム形成を阻害することが明らかとなった。そこで阻害物質が何であることを明らかにする目的で、SE を熱処理したものおよび飽和硫酸アンモニウムによる塩析により抽出したものを利用して、阻害効果を検討した。その結果、熱処理したものは阻害効果が消失し塩析抽出したものは SE と同様の阻害効果を有していた。これらからバイオフィルム形成阻害物質は、タンパク質である可能性が考えられた。現在、この物質の精製を行っている。(熊田昌幸、米沢英雄、中尾龍馬、泉福英信)

#### (6) 歯周組織の状態と *S. mutans* の歯表面付着阻害抗体との関係

平成 15 年度に引き続き、唾液 PAc(361-386)ペプチドに対する抗体が歯周検査における指標とどのように関係するか解析をおこない、歯周組織の状態とこの抗体との関係について検討を行った。新潟市在住 74 歳の高齢者 100 名を無作為に抽出し、調査対象とした。そのうちデ

ータの得られた 87 名(男性 60 名)を分析対象者とした。さらに、2 年後(62 名)、3 年後(69 名)の同じ被験者の結果も併せて検討を行った。抗体価の高いグループ( $> 2^2$ )と低いグループ( $< 2^2$ )に分け、1 人あたりの歯石付着部位、最大歯周ポケットの深さ(PD)、最大付着歯肉の減少量(AL)において、グループ間の比較を行った。その結果、プロービング時の出血(BOP)や PD 値において低いグループと高いグループに差が認められなかったが、AL 値(4 mm 以上: 低:  $38.2 \pm 27.7\%$ , 高:  $20.4 \pm 19.7\%$ , 6mm 以上: 低:  $11.6 \pm 16.6\%$ , 高:  $2.4 \pm 4.6\%$ )においては 5% 危険率で有意差が認められた。また、2 年後 3 年後も同様に差が認められ、この唾液抗体を検査することは、歯周状態の予知に利用できる可能性が示唆された。(泉福英信、多田章夫(千葉市健康企画課)、宮崎秀夫(新潟大学))

#### (7) 歯周病原性口腔バイオフィルム由来 LPS の迅速診断法を用いた口腔の健康と全身状態との関係

本研究は口腔バイオフィルム内病原因子である LPS を迅速診断するシステムを開発し、LPS 量の測定、歯周病の進行症状、全身の健康状態との関連性を明らかにすることを目的として研究を行った。LPS の定量は、エンドスペシー ES24S セットを用いて行った。歯周ポケットが平均 3mm 以上の被験者において、剥がされたバイオフィルム内 LPS 濃度と出血率が歯周ポケット 3mm 未満の被験者よりも高い傾向となった。よってこの方法は口腔バイオフィルムの歯周病に対するリスク因子である LPS を測定するために有用な方法であると同時に平均 3mm 以上のポケットの深さと LPS の量と出血の程度になんらかの関連があることが明らかとなった。このような研究は、歯周病のリスク診断につながり口腔保健を推進するにあたり有用な情報を提供する。(泉福英信、早乙女裕彦)

#### (8) 歯科医療における院内感染対策の現状について

平成 16 年度厚生科学研究班において、関東 2 県の歯科医師会に所属する歯科医師 4047 人に対し院内感染対策の意識および現状を把握する目的でアンケート調査を実施した。803 人から回答があり、その結果、院内感染対策の基本であるユニバーサルプレコーションを理解し

ている割合が約 10%と低く、また防護用メガネ、マスク、グローブの全てを着用して診療している割合がいずれも約 31%と低いことが明らかとなり、現状の歯科医療における院内感染に対する意識が低いことが考えられた。研修を受けたグループは受けないグループよりも院内感染対策の認識が高くなる傾向が認められ、情報発信の重要性が再確認された。(泉福英信、多田章夫(千葉市健康企画課)、小森康雄(東京医科大学))

#### (9) *Porphyromonas gingivails* 外膜タンパク Omp85 ホモログの歯周病進展への関わり

昨年度から引き続き、歯周病細菌 *P. gingivails* の Omp85 ホモログについて研究を行っている。Omp85 は全てのグラム陰性細菌に保存され、細菌外膜の構築において重要な役割を果たすと考えられている菌体外膜タンパクである。昨年度までは *P. gingivails* Omp85 ホモログ(PG0191)の 14 回膜の外膜貫通型という立体構造予測を元に、大腸菌由来組換え PG0191 タンパクを得て、PG0191 と交叉反応性を示すウサギポリクローナル抗体の作製した。ELISA および金コロイドによる免疫電顕観察により菌体表面における本分子の局在性を示した。この PG0191 は生命維持に必須の分子と考えられる為、今後は PG0191 の条件致死変異株の作製し、PG0191 の生物学的役割を明らかにして、歯周病の疾患進展への関与を検討する予定である。(中尾龍馬、田代陽介、野村暢彦(筑波大学)、泉福英信)

#### (10) *galE* 変異が引き起こす *Porphyromonas gingivails* のバイオフィーム過形成と LPS 改変

歯周病細菌が形成するバイオフィームにおいては、*P. gingivails* の多糖生合成経路は重要な役割を担うと考えられる。本研究では、まず *Salmonella typhi* の多糖生合成に関連する *wecA*, *wbaP*, *galE*, および *wzt* シーケンスから BLAST にて、*P. gingivails* における各ホモログを同定した。それぞれの遺伝子につき、変異株を作製し、LPS プロファイルやバイオフィーム形成への影響などを検討した。各変異株はどれも野生株と同様の増殖曲線を描いたが、培地にガラクトースを添加すると *galE* 変異株のみが増殖できなかった。*galE* 変異株では、一部の抗菌薬に対する感受性が上昇した。*wecA* 変異株と *galE*

変異株で、それぞれ LPS の O 多糖ラダーのシフトと O 多糖の著しい減少が観察された。また *galE* 変異株のバイオフィーム形成能は 2 倍以上増強した。*galE* 変異株における O 多糖の著明な減少とバイオフィームの過形成より、*P. gingivails* バイオフィームにおけるガラクトース代謝経路の重要性が示唆された。(中尾龍馬、泉福英信)

#### (11) *Pseudomonas aeruginosa* における Omp85 homolog の解析

環境常在菌である *Pseudomonas aeruginosa* は、免疫力の低下している宿主に対して急性感染症を引き起こす日和見感染の原因菌として知られている。近年多くのグラム陰性菌で homolog の存在が報告されている Omp85 は、*Neisseria meningitidis* において研究が盛んに行われている。*N. meningitidis* における Omp85 は生育に必須な膜タンパクであり、また様々な Outer Membrane Protein (OMP) の集合に関連していることが明らかとなっている。そこで *P. aeruginosa* における Omp85 homolog の機能解析及び病原性への関連性の検討を目的とし、研究を行ってきた。これまでに *P. aeruginosa* PAO1 における *omp85* 遺伝子欠損株を作製し、Omp85 は生育に必須であること、また Omp85 欠損状態で OMP の量が低下することを明らかにした。今年度は Omp85 を精製し Omp85 に対するポリクローナル抗体作製を行った。今後は Omp85 における OMP 集合機構の詳細を解析していく予定である。(田代陽介、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦(筑波大学))

#### (12) 免疫不全マウスにおけるヒト免疫システムの構築

近年、SCID マウスなどの免疫不全マウスを用いて、マウスにヒトの免疫システムを再構築することができるようになってきている。しかしながら、再構築できるヒトの免疫システムは完全なものではないことが知られている。1 次免疫応答を常に誘導できるヒトの免疫システムを再構築することを最終目的として、NOD/SCID 2 マイクログロブリンノックアウトマウス (NOD/SCID 2m KO マウス) にヒト造血幹細胞を移植する実験を行っている。これまでの研究で、臍帯血あるいは脾臓のリンパ球を NOD/SCID 2m KO マウスの腹腔に注射すると、ヒトの免疫系 (T および B 細胞) を構築できる

ことを観察している。しかしながら、臍帯血や脾臓の入手は容易でないことから、抹消血リンパ球の移植を検討した。CD8 陽性 T 細胞を除去した抹消血リンパ球を移植すると、ヒト免疫系が構築できることがあった。しかしながら、CD8 陽性 T 細胞を除去してあるにもかかわらず、GVH と思われる反応によって、NOD/SCID 2m KO マウスが移植後数週間で死んでしまう例が多く、1 次免疫応答を解析できる実験系として確立することはできていない。GVH を抑制する新たな方法論の開発が必要と思われる。(千葉丈(東京理科大学)、中尾龍馬、泉福英信)

### ・結核菌に関する研究

#### (1) 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

昨年度に続き、2 次抗結核薬である Capreomycin (CPM)、Cycloserine (CS)、Ethionamide (TH)、para-Aminosalicylic acid (PAS)、Emvimiomycin (EVM) について ATP 法による薬剤感受性試験の有用性を検討した。ATCC 標準結核菌株を用いて再現性を確認後、臨床分離結核菌 55 株を用いて ATP 法の信頼性を調べた。ATP 法と寒天比率法との判定結果の一致率は、CPM 96.4%、CS 96.4%、TH 89.1%、PAS 94.1%、VM 98.2% と高く、二次抗結核薬についても、ATP 法は、迅速で正確な結核菌の薬剤感受性試験であることを確認した。(山崎利雄; 山下研也、岡沢 豊(極東製薬工業))

#### (2) 新しい結核のワクチン開発に関する研究

BCG-Tokyo 株に結核菌由来 Ag85a の分泌シグナルを付加した抗原遺伝子を、ベクターに組み込んだプラスミッドをもつ rBCG をモルモットに皮下接種し、結核菌 H37Rv 株 10~20cfu/匹を噴霧感染して結核菌防御能を調べた。rBCG を 10<sup>4</sup>cfu/匹に接種した場合には、PBS 群に比べて臓器の還元培養の結果から、明らかに結核菌防御能が見られた。また、rBCG(pMV261-SM)の方が、rBCG (pMV306-SM)より強い結核菌防御能であった。(山崎利雄、芳賀伸治; 宮本友司、稲垣勝也、牧野正彦(病原微生物部))

#### (3) 飼いイヌの臓器由来の結核菌の RFLP 分析

昨年度、飼い主が結核患者であり、安楽死の処置がと

られたイヌの肺、気管リンパ節、肝臓より結核菌を分離した。犬の各臓器由来の結核菌と飼い主から分離された結核菌の RFLP パターンは、完全に一致した。また、スポリゴタイピング法でも同一パターンを示し、北京ファミリーの結核菌であり、*M. bovis* や *M. bovis* BCG では無いことも確認された。イヌの結核症は非常に稀であり、RFLP 分析の結果、飼い主から感染したのものであろうと推察された。(山崎利雄、芳賀伸治、渡邊治雄、神山恒夫(獣医科学)、高橋光良(結核研究所)宇根有美(麻布獣医科大学))

#### (4) リコンビナント BCG-HIV ワクチンの安全性と挿入した *gag* 遺伝子の *in vivo* における安定性

後天性免疫不全症候群(AIDS)の原因ウイルスである HIV 遺伝子の一部(whole *gag* region)を BCG に組み込んだ rBCG-HIV ワクチンをモルモットに静脈内投与し、その安全性と挿入した *gag* 遺伝子の *in vivo* における安定性の解析を行った。rBCG は BCG Tokyo と比較して脾臓からの還元培養、皮膚 DTH 反応、血清中 MPB70 抗体の検出のそれぞれでやや低い成績となった。脾臓組織の侵襲性については rBCG の方が低かった。また rBCG に挿入した外来遺伝子は 90% で残存が確認された。rBCG は BCG Tokyo に比べて生体への侵襲性が低いことから、免疫力が低下した HIV 感染者に対して適用が期待できる。また外来遺伝子が *in vivo* においても長期間維持されていることが証明され、rBCG-HIV ワクチンの *in vivo* 投与の有効性が示唆された。(芳賀伸治、井関博(日本大学生物資源科学部獣医学科獣医臨床病理学研究室)、松尾和浩(科学技術振興事業団)、本多三男(エイズ研究センター))

#### (5) BCG 東京株ワクチンにおける RD16 領域の異なりについて

BCG 東京株ワクチンにおいて 401bp のバンドのみを示す株(以降 型)を調整し、これをモルモットに静脈内投与して安全性と血中の抗体価を投与後 30 週まで観察した。以前の実験で市販 BCG は 95% 以上が 379bp の RD16 領域を保有する株(以降 型)であることがわかっていたため、市販 BCG の静脈内投与による実験結果を 型の投与による結果と仮定して比較を行った。型は

型と比較して脾臓からの還元培養、皮膚 DTH 反応、血清中 MPB70 抗体の検出のそれぞれでやや低い成績となった。脾臓組織の侵襲性についても 型の方が低かった。(芳賀伸治、井関博(日本大学生物資源科学部獣医学科獣医臨床病理学研究室)、山崎利雄、山本三郎(細菌第二部))

(6) ELISPOT 法による BCG 接種モルモットにおける IFN- $\gamma$  産生細胞の同定

BCG Tokyo 株生菌(0.5mg)を皮下接種したモルモット及び、BCG Tokyo 死菌(0.5mg)を FIA に懸濁して前足下に接種したモルモットに対して、接種 9 週目に、ツベルクリン皮膚反応と末梢血細胞の PPD 刺激による Guinea Pig IFN- $\gamma$  ELISPOT アッセイを行った。ツベルクリン皮膚反応の発赤径は生菌 BCG 接種(約 13mm)、死菌 BCG 接種(約 16mm)と、両者にほとんど差は認められなかった。一方、末梢血細胞の Guinea Pig IFN- $\gamma$  ELISPOT アッセイでは、生菌 BCG 接種(106 個細胞あたり約 1200 スポット)、死菌 BCG 接種(106 個細胞あたり約 100 スポット)が検出された。この結果から、モルモットでは生菌 BCG により、死菌 BCG と比較してより多くの PPD 刺激特異的 IFN- $\gamma$  産生細胞が誘導されることが明らかになった。更に、BCG Tokyo 生菌(30mg)を皮下接種 16 週目に、鼠経部リンパ節から得たリンパ球画分から MACS system によりネガティブセレクションを行い、CD4 除去画分、CD8 除去画分、CD4 および CD8 除去画分に PPD 刺激による Guinea Pig IFN- $\gamma$  ELISPOT アッセイを行った。その結果、リンパ球全体と CD8 除去画分ではスポットが検出されたが、CD4 除去画分、CD4 および CD8 除去画分からはスポットが検出されなかった。従って、PPD 刺激による Guinea Pig IFN- $\gamma$  ELISPOT は CD4 陽性細胞と推定された。更に、結核菌の感染実験のデータから、CD4 陽性の IFN- $\gamma$  産生細胞がモルモットの結核防御において中心的役割を果たしている可能性が示唆された。(山崎剛、山本三郎\*、芳賀伸治、本多三男\*\* (\*細菌第二部、\*\*エイズ研究センター)

・その他

【特許出願】

特願 2004-201503 提出日平成 16 年 7 月 8 日

発明者：倉 文明、前川純子、渡邊治雄、小林静史、高橋朋子

発明の名称：マクロファージのレジオネラ・ニューモフィラ感受性を支配する遺伝子の導入マウス

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文論文

1) Ikebe, T., Murayama, S., Saito, K., Yamai, S., Suzuki, R., Isobe, J., Tanaka, D., Katsukawa, C., Tamaru, A., Katayama, A., Fujinaga, Y., Hoashi, K., Watanabe, H., and the Working Group for Streptococci in Japan: Surveillance of severe invasive group G streptococci infections and molecular typing of the isolates in Japan. *Epidemiol Infect.* 132: 145-149, 2004.

2) Ikebe, T., Endo, M., Ueda, Y., Okada, K., Suzuki, R., Minami, T., Tanaka, H., Nakanishi, N., Tomita, M., Nishie, H., Ishii, N., Sasaki, E., Miura, Y., Yamamura, T., and Watanabe H.: The genetic properties of *Streptococcus pyogenes emm49* genotype strains recently emerged among severe invasive infections in Japan. *Jap J Infect Dis.* 57: 187-188, 2004.

3) Morita, M., Ikebe, T., and Watanabe H.: Consideration of the cysteine protease activity for the serological M typing of clinical *Streptococcus pyogenes* isolates. *Micobiol Immunol.* 48: 779-782, 2004.

4) Amemura-Maekawa J, Hayakawa Y, Sugie H, Moribayashi A, Kura F, Chang B, Wada A, Watanabe H. Legiolulin, a new isocoumarin compound responsible for blue-white autofluorescence in *Legionella (Fluoribacter) dumoffii* under long-wavelength UV light. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 323:954-959. 2004.

5) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinuer, M.C., Maeda, N., and Koyama, H.: In vivo role of myeloperoxidase for the host defense. *Jpn J Infect Dis* 57:S15, 2004.

6) Hideyuki Takahashi, Kenji Hirose and Haruo Watanabe: Necessity of meningococcal  $\gamma$ -glutamyl aminopeptidase for *Neisseria meningitidis* growth in rat cerebrospinal fluid (CSF) and CSF-like medium. *Journal of Bacteriology*



- 186:253-257, 2004.
- 7) Hideyuki Takahashi and Haruo Watanabe: Post-translational processing of *Neisseria meningitidis*  $\gamma$ -glutamyl aminopeptidase and its association with inner membrane facing to the cytoplasmic space. *FEMS Microbiol Lett.* 234:27-35, 2004
- 8) Hideyuki Takahashi, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Surang Dejsirilert, Leelaowadee Saengsuk, Shiro Yamai and Haruo Watanabe: Examination of reliability of meningococcal  $\gamma$ -glutamyl aminopeptidase that is an identification marker for *Neisseria meningitidis*. *Microbiol. Immunol.* 48:485-487, 2004
- 9) Hideyuki Takahashi, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Hiroshi Tanaka, Hiroo Inouye, Shiro Yamai and Haruo Watanabe: Characterization of *Neisseria meningitidis* isolates collected from 1974 to 2003 in Japan by multilocus sequence typing. *J. Med. Microbiol.* 53:657-662, 2004.
- 10) Toma, C., Espinosa, E. M., Song, T., Miliwebsky, E., Chinen, I., Iyoda, S., Iwanaga, M., and Rivas, M.: Distribution of putative adhesins in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* of different seropathotypes. *J Clin Microbiol.* 42: 4937-4946, 2004.
- 11) Iyoda, S., and Watanabe, H.: Positive effects of multiple *pch* genes on expression of the locus of enterocyte effacement genes and adherence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 : H7 to HEP-2 cells. *Microbiology.* 150: 2357-571, 2004.
- 12) Nguyen, B.M., Phung, D.C., Nakasone, N., Toma C., Higa, N., Iyoda, S., and Iwanaga M.: Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in Vietnam. *Tropical Medicine and Health* 32: 339-341, 2004.
- 13) Terajima, J., Izumiya, H., Iyoda, S., Tamura, K., Watanabe, H. Evolving from PFGE network as PulseNet Japan to participation in PulseNet Asia Pacific. *PulseNet News Special Edition*, 2004
- 14) Shima, K., Terajima, J., Sato, T., Nishimura, K., Tamura, K., Watanabe, H., Takeda, Y., and Yamasaki, S. Development of a PCR-restriction fragment length polymorphism assay for the epidemiological analysis of shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*; 42, 5205-5213, 2004
- 15) Okura M, Osawa R, Iguchi A, Takagi M, Arakawa E, Terajima J, Watanabe H. PCR-based identification of pandemic group *Vibrio parahaemolyticus* with a novel group-specific primer pair. *Microbiol Immunol.* 2004;48(10):787-90.
- 16) Chang, B., Amemura-Maekawa, Kura, F., J., Kawamura, I., and Watanabe, H.: Expression of IL-6 and TNF- $\alpha$  in human alveolar epithelial cells is induced by invading, but not by adhering, *Legionella pneumophila*. *Microb Pathog.* 37:295-302, 2004.
- 17) Matsumoto N, Salam MA, Watanabe H, Amagasa T and Senpuku H. Role of gene *E2fl* in susceptibility to bacterial adherence of oral streptococci to tooth surfaces in mice. *Oral Microbiology and Immunology* 19: 270-276. 2004.
- 18) Senpuku H, Tada A, Yamaga T, Hanada N, and Miyazaki H Relationship between volatile sulfur compounds concentration and oral bacteria species detection in the elderly. *International Dental Journal.* 54: 149-153. 2004.
- 19) Tsuha Y, Hanada N, Asano T, Abei T, Yamaguchi S, Salam MA, Nakao R, Takeuchi H, Kurosaki N and Senpuku H. Role of peptide antigen for induction of inhibitory antibodies to *Streptococcus mutans* in human oral. *Clinical Experimental Immunology* 137: 393-401. 2004.
- 20) Kitasako Y, Senpuku H, Kawashima M, Foxton RM, Hanada N and Tagami J, Growth-inhibitory effect of antibacterial self-etching primer on *mutans* Streptococci obtained from arrested caries lesions. *Journal of Esthetic and Restorative Dent.* 2004 16: 176-184. 2004.
- 21) Salam MA, Matin K, Matsumoto N, Tsuha Y, Hanada N and Senpuku H. *E2fl* mutation induces early onset of diabetes and sjogren's syndrome in non-obese diabetic mice. *Journal of Immunology* 173:4908-4918. 2004.
- 22) Hamada T, Kawashima M, Watanabe H, Tagami J, and Senpuku H. Molecular interaction of surface protein peptides of *Streptococcus gordonii* with human salivary components. *Infection and Immunity* 72: 4819-4826. 2004.
- 23) Esaki, H., A. Morioka, A. Kojima, K. Ishihara, T. Asai, Y. Tamura, H. Izumiya, J. Terajima, H. Watanabe, and T. Takahashi. Epidemiological characterization of *Salmonella*

- Typhimurium DT104 prevalent among food-producing animals in the Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring program (1999-2001). *Microbiol Immunol* 48:553-6, 2004
- 24) Matsui, T., S. Suzuki, H. Takahashi, T. Ohyama, J. Kobayashi, H. Izumiya, H. Watanabe, F. Kasuga, H. Kijima, K. Shibata, and N. Okabe. *Salmonella* Enteritidis outbreak associated with a school-lunch dessert: cross-contamination and a long incubation period, Japan, 2001. *Epidemiol Infect* 132:873-9, 2004
- 25) McCallum, N., Bischoff, M., Maki, H., Wada, A., and Berger-Bächi, B.: TcaR, a putative MarR-like regulator of *sarS* expression. *J. Bacteriol.* 186:2966-2972, 2004.
- 26) Maki, H., McCallum, N., Bischoff, M., Wada, A., and Berger-Bächi, B.: *tcaA* inactivation; a step to vancomycin intermediate resistance in *Staphylococcus aureus* (VISA) clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48:1953-1959, 2004.
- 27) Masuzawa, T., Hashimoto, N., Kudeken, M., Kadosaka, T., Nakamura, M., Kawabata, H., Koizumi, N., and Imai, Y.: New genomospecies related to *Borrelia valaisiana*, isolated from mammals in Okinawa archipelago, Japan. *J Med Microbiol.* 53:421-426, 2004.
- 28) Koizumi, N., and Watanabe, H.: Leptospiral immunoglobulin-like proteins elicit protective immunity. *Vaccine* 22:1545-1552, 2004.
- 29) Kawabata H, Norris SJ, Watanabe H.: BBE02 disruption mutants of *Borrelia burgdorferi* B31 have a highly transformable, infectious phenotype. *Infection and Immunity.* 72(12): 7147-7154, 2004.
- 30) Güner ES, Watanabe M, Hashimoto N, Kadosaka T, Kawamura Y, Ezaki T, Kawabata H, Imai Y, Kaneda K, Masuzawa T: *Borrelia turcica* sp. nov., isolated from hard tick, *Hyalomma aegyptium* in Turkey. *International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology.* 54(5): 1649-1952, 2004.
- 31 ) Terajima,J., Tamura,k., Horose,K., Izumiya,H., Miyahara,M., Konuma,H., and Watanabe,H. A multi-prefectural outbreak of *Shigella sonnei* infections associated with eating oysters in Japan. *Microbiol. Immunol.* 48: 49-52. 2004.
- 32) Izumiya,H., Terajima,J., Tamura,K., and Watanabe,H. Drug resistances in non-typhoidal *salmonellae* in Japan. *Res. Adv. In Infectious Diseases.* 2: 121. 2004.
- 33) Talukder,K.A., Khajanchi,B.K., Islam.M.A., Dutta,D.K., Islam,Z., Safa,A., Khan,G.Y., Alam,K., Hossain,M.A., Malla,S., Niyogi,S.K., Rahman,H., Watanabe,H., Nair,G.B., Sack,D.A. Genetic relatedness of ciprofloxacin resistant *Shigella dysenteriae* type 1 strains isolated in south Asia. *J. Antimicrob. Chemother.* 54: 730-734. 2004.
- 34) Mitobe J., Arakawa E., Watanabe H.: A sensor of the two-component system CpxA affects expression of typeIII secretion system through post-transcriptional process of InvE. *J.Bacteriol.* 187, 107-113, 2005
- 35) Furuta Y, Ohtani F, Aizawa H, Fukuda S, Kawabata H, Bergström T.: Varicella-zoster virus reactivation is an important cause of acute peripheral facial paralysis in children. *The Pediatric Infectious Disease Journal.* 24: 97-101, 2005.
- 36) Adachi, T., Sagara, H., Hirose, K., Watanabe, H. High-level fluoroquinolone resistance in a clinical isolates of *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A and its association with mutaton in *gyrA* and *parC*. *Emerging Infectious Diseases* 11:172-174. 2005.
- 37) Hirose, K., Terajima, J., Izumiya, H., Tamura, K., Arakawa, E., Takai, N., Watanabe, H. Antimicrobial susceptibility of *Shigella sonnei* isolates in Japan and molecular analysis of *S. sonnei* isolates with reduced susceptibility to fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1203-1205, 2005.
- 38) Hirose, K., Itoh, K., Watanabe, H. *Salmonella* spp. *Encyclopedia of Medical Genomics and Proteomics.* p1186-1190. Maurizio Podda ed. Marcel Dekker, NY. 2005.
- 39) Oharaseki T, Kameoka Y, Kura F, Persad AS, Suzuki K, Naoe S. Susceptibility loci to coronary arteritis in animal model of Kawasaki disease induced with *Candida albicans*-derived substances. *Microbiol Immunol.* 49:181-189, 2005.
- 40) Kudaka, J., Asato, R., Itokazu, K., Nakamura, M., Taira, K., Kuniyosi, H., Kinjo, Y., Terajima, J., Watanabe, H., Kobayashi, J., Swaminathan, B., Braden, CR., and Dunn, JR.

*Escherichia coli* O157:H7 infections associated with ground beef from a U.S. military installation -- Okinawa, Japan, February 2004. Morbid. Mortal. Weelky Rep. 54, 40-42, 2005

## 2. 和文発表

- 1) 牧野正彦、鈴木幸一、福富康夫、山下康子、前田百美、宮本友司、向井徹、中田登、甲斐雅規、山崎利雄、儀同政一、松岡正典：ハンセン病基礎研究のトピックス. 日本ハンセン病学会雑誌 74 : 3 ~ 22, 2005.
- 2) 山崎利雄：結核患者であった飼い主から感染した犬の結核の一例報告. BAMS16 : 6 ~ 9, 2005.
- 3) 廣瀬健二、渡辺治雄. 薬剤感受性試験. 食品衛生検査指針 微生物編. p87-95, 日本食品衛生協会. 2004.
- 4) 廣瀬健二、渡辺治雄. 腸チフス、パラチフス. 食品衛生検査指針 微生物編 p315-325, 日本食品衛生協会. 2004.
- 5) 廣瀬健二、渡辺治雄. 腸チフスワクチン. ワクチンの辞典. p230-239, 朝倉書店. 2004.
- 6) 廣瀬健二、渡辺治雄. 腸チフス・パラチフス. 感染症の辞典. p158-160, 朝倉書店. 2004.
- 7) 廣瀬健二、渡辺治雄. サルモネラ感染症と反応性関節炎. 最新医. 60 巻 2 号. p36(202) -39(205). 最新医学社. 2005.
- 8) 廣瀬健二、渡辺治雄. キノロン薬 実践抗生物質・抗菌薬療法ガイド. 縮刷版. p170-176, Medical Practice 編集委員会編. 文光堂. 2005.
- 9) 池辺忠義、多田有希、登坂直規、岡部信彦、渡辺治雄、平澤恭子、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. 2004年に分離された劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株について. 病原微生物検出情報、25, 254, 2004.
- 10) 池辺忠義、渡辺治雄、平澤恭子、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. 劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症患者由来株の薬剤感受性及び耐性株の遺伝子型の解析. 病原微生物検出情報、25, 254-255, 2004.
- 11) 勝川千尋、河原隆二、田丸重貴、田中大祐、遠藤美代子、奥野ルミ、池辺忠義. A 群抗原を保有する *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. 病原微生物検出情報、25, 257-258, 2004.

- 12) 池辺忠義. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症. 感染症の事典、83-84, 2004.
- 13) 池辺忠義、渡辺治雄. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症. 新興再興感染症-SARS の教訓、181-183, 2004.
- 14) 倉 文明: 今ふえているレジオネラ症-その正体と予防対策, 食と健康, 48: 54-63, 2004.
- 15) 倉 文明、前川純子、渡辺治雄. レジオネラ症. 感染症の事典 (国立感染症研究所学友会編) 265 266, 朝倉書店、東京、2004.
- 16) 高橋英之、渡辺治雄、ワクチン-その開発と将来展望、髄膜炎菌ワクチン、臨床検査 48、441-448、2004
- 17) 周藤 豊, 森 望美, 高橋英之, 渡邊治雄, 中島 健二、中国への海外旅行を契機に発症した髄膜炎 ~ A 群髄膜炎菌性髄膜炎の一例 ~、Neuroinfection 神経感染症 Vol.9 No.2 2004, 9(2)
- 18) 高橋英之、渡邊治雄、髄膜炎菌とは、IASR、26 号、P.35-36、2005
- 19) 高橋英之、渡邊治雄、渡辺祐子、黒木俊郎、田中博、井上博雄、日本国内で分離された髄膜炎菌株の MLST 法を用いた分子疫学的解析、IASR、26 号、P.36-37、2005
- 20) 渡辺祐子、高橋英之、神奈川県での髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向、IASR、26 号、P.37-38、2005
- 21) 田中博、井上博雄、黒木俊郎、渡辺祐子、浅井良夫、山井志朗、益川邦彦、大谷勝実、須釜久美子、芹川俊彦、中嶋洋、砂原千寿子、帆足喜久男、山口仁孝、久高潤、高橋英之、渡邊治雄、わが国の健康者における髄膜炎菌の保菌状況、IASR、26 号、P.38-40、2005
- 22) 伊豫田淳、渡辺治雄. 腸管出血性大腸菌の病原性の分子機序. 化学療法の領域、20, 59-64, 2004
- 23) 伊豫田淳、渡辺治雄. 病原性大腸菌 (下痢原性大腸菌). 食品衛生検査指針・微生物編 (分担執筆). 第 2 章 細菌. 168-178, 2004
- 24) 高原賢守、伊豫田淳、浅田純子、水本洋、上松あゆ美、羽田敦子、渡辺治雄、田村和満、秦大資. 腸管出血性大腸菌 O177:HNM による溶血性尿毒症症候群の一例. 日本小児科学会雑誌、109, 54-57, 2004
- 25) 伊豫田淳、田村和満、渡辺治雄. 市販血清では同定できない腸管出血性大腸菌の分離状況(2000 年 ~ 2003 年). 病原微生物検出情報、25, 141-143, 2004

- 26) 伊豫田淳、田村和満、渡辺治雄。大腸菌の新規O血清群(O174~O181)に関する情報。病原微生物検出情報、26, 70-71, 2005
- 27) 寺嶋 淳、泉谷秀昌、渡辺治雄。菌株レベルの同定：パルスフィールドゲル電気泳動法による菌株のサブタイピング。腸内細菌学雑誌、18, 117-122, 2004
- 28) 寺嶋 淳、渡辺治雄。腸管出血性大腸菌感染症の疫学～日本及び世界における現状。化学療法の領域、20, 1295-1302, 2004
- 29) 泉福英信、要介護高齢者の口腔微生物叢の改善のための歯科保健医療データバンクの構築、8020財団法人8020推進財団会誌、1: 85-87, 2004.
- 30) 泉福英信、小森康雄、鈴木治仁、鈴木信治、内田きよみ、歯科における感染症の現状と対策、デンタルダイヤモンド、29: 34-49, 2004.
- 31) 泉福英信、SARS を正しく理解するために、東京都歯科医師会雑誌、52: 3-10, 2004.
- 32) 高田将成、佐藤勉、泉福英信、花田信弘、自立生活高齢者と要介護高齢者の口腔微生物叢の比較、口腔衛生学会誌、54: 178-188, 2004.
- 33) 武内博朗、阿部井寿人、泉福英信、花田信弘：う蝕の微生物学的リスク低減治療 Dental Drug Delivery System (3DS)による病原口腔細菌の制御；初期う蝕のマネージメント、p117-138、監修小松久憲、クインテッセンス出版、2004.
- 34) 石畝史、布施田哲也、重屋志啓盛、京田芳人、望月典郎、泉谷秀昌、渡辺治雄。多剤耐性 *Salmonella* Newport の国内初報告例。感染症学雑誌、78, 989-990, 2004.
- 35) 泉谷秀昌、渡辺治雄。サルモネラ。感染症発症動向、16, 2004.
- 36) 泉谷秀昌、サルモネラ食中毒。家庭医学大全科、2004.
- 37) 板垣道代、白木豊、山田万希子、所光男、泉谷秀昌、渡辺治雄。2000年4月から2003年3月に岐阜県において検出された *Salmonella* Enteritidis 株のPFGE型とファージ型の組み合わせによる疫学解析。感染症学雑誌、78, 690-698, 2004.
- 38) 荒川英二 感染症の事典「細菌性赤痢」、101-102、2004
- 39) 荒川英二、島田俊雄 感染症の事典「腸炎ピブリオ感染症」、153-154、2004
- 40) 荒川英二、渡辺治雄 ワクチンの事典「コレラワクチン」、194-203、2004
- 41) 荒川英二、島田俊雄 食品衛生検査指針「6.腸炎ピブリオ及びその類縁菌」、201-235、2004
- 42) 荒川英二、島田俊雄 食品衛生検査指針「13-3.コレラ菌および *Vibrio cholerae* O139」、326-334、2004
- 43) 小泉信夫 .レプトスピラ症 .感染症の事典 ,267-268, 2004.
- 44) 小泉信夫, 渡辺治雄 . レプトスピラ症 . 日本医師会雑誌臨時増刊号 , 132:180-181, 2004
- 45) 小泉信夫, 渡辺治雄 . ワイル病秋やみ混合ワクチン . ワクチンの事典 , 183 - 193, 2004
- 46) 増澤俊幸, 金田一秀, 角坂照貴, 小泉信夫, 川端寛樹, 中村正治, 平良勝也, 今井康之 . ライム病の存在が予期されなかった沖縄で見出されたライム病関連ボレリアの性状 . 獣医畜産新報 , 57: 662 - 664, 2004.
- 47) 中村正治, 平良勝也, 大野惇, 増澤俊幸, 角坂照貴, 川端寛樹, 小泉信夫, 藤田博巳 . 沖縄県におけるレプトスピラ保菌動物調査 . 日本獣医師会雑誌 , 57 : 321-325, 2004
- 48) 小泉信夫, 渡辺治雄 . 日本におけるレプトスピラ感染症の現状 . 日本醫事新報 , 4175: 97-98, 2004.
- 49) 小泉信夫, 渡辺治雄 . 鼠咬症 . 共通感染症ハンドブック , 150 - 151, 2004.
- 50) 小泉信夫, 渡辺治雄 . ワイル病 . 化学療法の領域 , 20: 220 - 223, 2004.
- 51) 小泉信夫, 渡辺治雄 . 鼠咬症 . 子どもにうつる動物の病気 , 209 - 213, 2005
- 52) 川端寛樹:ライム病. 感染症. 家庭医学大全科. 法研(株). pp 2718-2719, 2004.
- 53) 川端寛樹: 回帰熱. 感染症. 家庭医学大全科. 法研(株). pp 2719-2720, 2004.
- 54) 川端寛樹:レプトスピラ症(ワイル病). 感染症. 家庭医学大全科. 法研(株). pp 2772-2773, 2004.
- 55) 川端寛樹:ライム病. 感染症の辞典 . pp 251-253, 2004.
- 56) 川端寛樹: 回帰熱 . 感染症の辞典 . pp 40-41, 2004.
- 57) 渡辺治雄. ペスト. 臨床と微生物. 31: 31-35. 2004

## II. 学会発表

## 1. 欧文発表

- 1) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M.C., Maeda, N., and Koyama, H.: *In vivo* role of myeloperoxidase for the host defense. The 4th International Peroxidase Meeting. Kyoto, Japan. October 2004.
- 2) Iyoda, S., and Watanabe, H.: Multiple *pch* genes encode master regulators essential for the expression of LEE genes in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. 39th US-Japan Cholera and Other Related Enteric Infections Joint Panel Meeting. Kyoto, December, 2004.
- 3) Iguchi, A., Iyoda, S., Watanabe, H., and Osawa, R.: Loss of O side chain induces sensitivity of *Escherichia coli* to a Shiga toxin 2-converting bacteriophage. 39th US-Japan Cholera and Other Related Enteric Infections Joint Panel Meeting. Kyoto, December, 2004.
- 4) Toma, C., Espinosa, E. M., Song, T., Miliwebsky, E., Chinen, I., Iyoda, S., Nakasone, N., Rivas, M. and Iwanaga, M.: Adhesion of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* encoded outside the locus of enterocyte effacement. 39th US-Japan Cholera and Other Related Enteric Infections Joint Panel Meeting. Kyoto, December, 2004.
- 5) Nakao R, Watanabe H, and Senpuku H, Topological prediction and characterization of *omp85* homologue in *Porphyromonas gingivails*. 83th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 8-12. 2005. Bultimore, USA.
- 6) Tamura S, Motegi M, Kumada M, Yamazaki T, and Senpuku H, Quantification of the biofilm among the strains of oral streptococci. 83th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 8-12. 2005. Bultimore, USA.
- 7) Okuda K, Kumada M, Tamura S, Hanada N and Senpuku H, Effects of SspB-peptide for attachment of *Streptococcus mutans* to s-HA. 83th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 8-12. 2005. Bultimore, USA.
- 8) Tominaga A Komori Y, Nakajima J Chiba H, and Senpuku H, Roles of lactoferrin, lactoperoxidase and lysozyme for HIV-1 infection. 83th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 8-12. 2005. Bultimore, USA.
- 9) Kumada M, Tamura S, Kawata S, Yamamura H, Tagami J and Senpuku H, Biological effects of lactic acid bacteria to *Streptococcus mutans* biofilm. 83th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 8-12. 2005. Bultimore, USA.
- 10) Alam, M., Nakayama, S., and Watanabe, H. : Identification of *gatD* as a transcription modulator for *virF* gene expression in *Shigella sonnei*. 39th US-Japan Cholera and Other Related Enteric Infections Joint Panel Meeting. December, 2004. Kyoto.
- 11) Izumiya H. and Watanabe H.: Topics of *Salmonella* in Japan - characterization of drug resistant *Salmonella* isolates. 2004 annual Enter-net workshop, Berlin, Germany, Jul. 2004.
- 12) Konishi N., Kai A., Shimojima Y., Obata H., Shibata M., Monma C., Fujikawa H., Yokoyama K., Kawamura M., Takahashi M., Yano K., Matsushita S., Yamada S., Morozumi S., Izumiya H., and Kudoh Y.: Antibiotic resistance of *Salmonella* recently isolated from human and foods in Tokyo. 39th Joint conference on Cholera and other bacterial enteric infections panel, Kyoto, Japan, Dec. 2004.
- 13) Sumio Shinoda, Tomoko Nakagawa, Nobuyuki Hirakawa, Shin-ichi Miyoshi, Eiji Arakawa, T. Ramamurthy Molecular epidemiological analysis of *Vibrio cholerae* strains isolated in India, US-Japan Cooperative Medical Science Program, 2004, Dec, Kyoto
- 14) Ro Osawa, Masatoshi Okura, Eiji Arakawa, Jun Terajima, Haruo Watanabe Identification of pandemic group *Vibrio parahaemolyticus* specific DNA sequence by genomic subtraction, US-Japan Cooperative Medical Science Program, 2004, Dec, Kyoto
- 15) Maki, H., McCallum, N., Bischoff, M., Wada, A., and Berger-Bächli, B.: TcaA inactivation leading to reduced glycopeptide susceptibility found in clinical vancomycin intermediate-resistant *Staphylococcus aureus* (VISA). 11th International Congress on Infectious Diseases, Cancun,

Mexico, 2004.

16) Jiro Mitobe, Eiji Arakawa, and Haruo Watanabe: A Sensor of the Two-Component System CpxA Affects Expression of Type III Secretion System through Post-Transcriptional Process of InvE. 39th Joint Conference on Cholera and Other Bacterial Enteric Infection Panel. Dec. 8-9, 2004 Kyoto Japan

## 2. 和文学会

1) 甲斐雅規、山崎利雄、藤田由希子、土井健史、矢野郁也、牧野正彦：らい菌由来糖脂質抗原の分離とその免疫原性の解析。第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年 4 月。

2) 山崎利雄、芳賀伸治、佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊、三輪昭成、田村俊秀：結核菌の ATP 測定による多剤併用薬剤感受性試験法の検討。第 79 回日本結核病学会総会、名古屋、2004 年 4 月。

3) 赤川清子、山崎利雄、芳賀伸治：結核菌感染ヒトマクロファージにおける NRAMP1 の発現と MAP カイネーシスの活性化について。第 79 回日本結核病学会総会、名古屋、2004 年 4 月。

4) 山崎利雄、佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊、三輪昭成、田村俊秀：結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法—2 次抗結核についての検討。第 74 回実験結核研究会、名古屋、2004 年 4 月。

5) 山崎利雄、松岡正典、儀同政一：生物発光法を用いたらい菌の薬剤感受性試験法。第 77 回日本ハンセン病学会、大宮、2004 年 5 月。

6) 山崎利雄、三輪昭成：結核菌の ATP 測定による 2 次抗結核薬を用いた迅速薬剤感受性試験法の検討。第 31 回 結核・非定型抗酸菌症治療研究会、東京、2004 年 6 月。

7) 山崎利雄、佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊、三輪昭成：結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法—2 次抗結核についての検討。第 51 回日本臨床検査医学会総会、東京、2004 年 9 月。

8) 内藤晴道、横田和也、尾崎佐記、柑本敦子、宇根有美、芳賀伸治、山崎利雄、鹿住裕子、高橋光良：人型結核菌による犬の結核症の 1 例。第 138 回日本獣医学会学術集会、札幌、2004 年 9 月。

9) 宇根有美、金本英之、内藤晴道、芳賀伸治、山崎利雄、

高橋光良：犬の人型結核症の 1 例。第 138 回日本獣医学会学術集会、札幌、2004 年 9 月。

10) 山崎利雄、芳賀伸治、鹿住裕子、高橋光良：人犬感染が疑われた結核症の一例。第 146 回日本結核病学会関東支部会、千葉、2004 年 11 月。

11) 山崎利雄、芳賀伸治、関谷幸江、鹿住裕子、高橋光良、宇根有美、内藤晴道：飼い主が感染源と思われた犬の結核例。第 32 回 結核・非定型抗酸菌治療研究会、東京、2004 年 12 月。

12) 赤川清子、山崎利雄、芳賀伸治：ヒトマクロファージの結核菌の増殖抑制機構。平成 16 年度日米医学協力結核ハンセン病専門部会議、京都、2005 年 3 月。

13) 山本三郎、芳賀伸治、山崎利雄、山崎剛、関昌明、本田育郎、池田のり子：RD16BCG の DTH 誘導能および抗結核活性。平成 16 年度日米医学協力結核ハンセン病専門部会議、京都、2005 年 3 月

14) 廣瀬健二。薬剤耐性菌の今-腸管系病原菌を中心として チフス菌・パラチフス A 菌。

第 8 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム 東京 200 年

15) 伊藤健一郎、山下和予、吉川昌江、野地元子、齊藤剛仁、岡部信彦、寺嶋淳、廣瀬健二、渡邊治雄。赤痢菌同定の問題点：アンケート調査結果。衛生微生物協議会、埼玉、2004

16) 廣瀬健二 渡邊治雄。日本国内におけるチフス菌・パラチフス A 菌の分離状況。薬剤耐性菌研究会 群馬、2004 年

17) 伊藤健一郎、廣瀬健二、岡部信彦。わが国における赤痢菌の誤同定についての緊急アンケート調査、2003 年。日本臨床微生物学会総会、京都、2005 年。

18) 廣瀬健二、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 菌の薬剤感受性の傾向。感染性腸炎研究会総会、東京、2005 年

19) 相楽裕子 廣瀬健二 渡邊治雄。腸チフスパラチフスの治療に関する調査 2000 から 2003 年。感染性腸炎研究会総会、東京、2005 年

20) 池辺忠義、鈴木理恵子、磯部順子、田中大祐、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 / 重症溶血性レンサ球菌感染症分離株の薬剤感受性 & 非感受性株の遺伝子型の解析。第 77 回日本細菌学

- 会総会，大阪，2004年。
- 21) 池辺忠義、渡辺治雄．劇症型／重症溶血性レンサ球菌感染症起因株の薬剤感受性と *emm* 型．2004年レンサ球菌感染症研究会，東京，2004年。
- 22) 前川純子，倉 文明，常 彬，渡辺治雄．*Legionella dumoffii* の産生する新規蛍光物質の同定．第 77 回日本細菌学会総会，大阪，2004年。
- 23) 村井美代，前川純子，渡辺治雄．黄色ブドウ球菌の臨床分離株にみられるフィブロネクチン結合タンパク遺伝子の多型．第 77 回日本細菌学会総会，大阪，2004年。
- 24) 小林静史，倉 文明，前川純子，高橋朋子，渡辺治雄：*Legionella pneumophila* 感染における *LgnI* 遺伝子の機能についてコンジェニックマウスを用いた解析，第 77 回日本細菌学会総会，大阪，2004年4月。
- 25) 倉 文明，前川純子，八木田健司，遠藤卓郎，池野まり子，辻 英高，田口真澄，小林一寛，渡辺治雄：客船に関連したレジオネラ症の集団発生における感染源の分子疫学，第 78 回日本感染症学会総会，東京，2004年4月。
- 26) 荒谷康昭，倉 文明，渡辺治雄，高野幸枝，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生体防御能，ミニシンポジウム講演，第 26 回日本フリーラジカル学会学術集会，山形，2004年6月。
- 27) 関山敦生，上田晴康，倉 文明，柏村信一郎，武田雅俊，岡村春樹：拘束ストレスによる血中 IL-18 レベルの上昇，第 69 回日本インターフェロン・サイトカイン学会，三沢，2004年7月。
- 28) 関山敦生，上田晴康，倉 文明，柏村信一郎，武田雅俊，岡村春樹：ストレス負荷による血中サイトカインレベル上昇機構の検討，日本過酸化脂質・フリーラジカル学会 / 第 28 回大会，京都，2004年10月。
- 29) 倉 文明：レジオネラ症 菌の性状・疫学・検査法，平成 16 年度特定研修新興再興感染症技術研修（国立保健医療科学院），東京，2004年11月。
- 30) 倉 文明：レジオネラ症-その正体と予防対策-、レジオネラ症防止対策講習会（郡山市保健所生活衛生課主催）郡山，2005年2月。
- 31) 高橋英之，黒木俊郎，渡辺祐子，渡辺治雄．1974-2003 年における国内で分離された髄膜炎菌株の MLST 法を用いた分子疫学的解析、第 77 回日本細菌学会 2004 年 4 月、大阪市
- 32) 周藤 豊，森 望美，高橋英之，渡邊治雄，中島 健二．中国への海外旅行を契機に発症した髄膜炎～ A 群髄膜炎菌性髄膜炎の一例～、第 9 回日本神経感染症学会 2004 年 10 月、弘前市
- 33) 細川直登，矢内充，上原由紀，荒島康友，吉田省造，伊藤暢厚，野田彰浩，山口順子，和泉徹，矢越美智子，下口和雄，高橋英之，渡邊治雄．endotoxin 吸着療法を行い救命し得た *Neisseria meningitidis* 電撃性紫斑病の一例、第 53 回日本感染症学会東日本地方総会及び第 51 回日本化学療法学会東日本支部総会，2004 年 10 月、新潟市
- 34) 高原賢守，浅田純子，水本洋，飯田みどり，上松あゆ美，羽田敦子，秦大資，伊豫田淳，田村和満．軽症下痢翌日発症の腸管出血性大腸菌 O177 による溶血性尿毒症性症候群の 1 例．第 17 回近畿小児科学会，大阪，2004
- 35) 伊豫田淳，渡辺治雄．腸管出血性大腸菌に多コピー存在する *perC* 遺伝子による LEE 遺伝子群の発現制御機構．日本細菌学会第 77 回総会，大阪，2004
- 36) 寺嶋 淳：細菌性食中毒における分子生物学的識別。JICA 臨床検査技術研修講義，2004 年 11 月、東京
- 37) 寺嶋 淳，泉谷秀昌，伊豫田 淳，三戸部治郎，田村和満，渡辺治雄：2003 年における O157:H7 を中心とした EHEC の動向について。第 77 回日本細菌学会総会，2004 年 4 月、大阪
- 38) 井口 純，大澤 朗，寺嶋 淳，渡辺治雄：腸管出血性大腸菌 O157 に溶原化する Stx2 ファージ DNA の入れ替わり現象。第 77 回日本細菌学会総会，2004 年 4 月、大阪
- 39) 小椋義俊，黒川 顕，大西 真，中山啓介，寺嶋 淳，渡辺治雄，林 哲也：Whole Genome PCR Scanning とマイクロアレイを用いた EHEC ゲノムの比較解析。第 77 回日本細菌学会総会，2004 年 4 月、大阪
- 40) 大岡唯祐，大西 真，寺嶋 淳，小椋義俊，中山啓介，渡辺治雄，林 哲也マルチプレックス PCR を用いた迅速な O157 菌株識別システムの開発。第 77 回日本細菌学会総会，2004 年 4 月、大阪
- 41) 大倉正稔，大澤 朗，井口 純，荒川英二，寺嶋 淳，渡辺治雄：新興型腸炎ピブリオ同定用 PCR 法の開発。第 77 回日本細菌学会総会，2004 年 4 月、大阪

- 42) 常 彬、倉 文明、前川純子、渡辺治雄。レジオネラ感染のヒト肺胞上皮 II 型細胞に対するサイトカインの発現・分泌への誘導作用。第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年
- 43) 泉福英信、中尾龍馬、渡辺治雄、唾液分泌低下遺伝子組み換えマウスを用いた oral streptococci による歯面付着の検討、第 77 回日本細菌学会総会、大阪、2004 年、4 月。
- 44) 川田真裕、嶋川真木、大野裕史、山村秀樹、花田信弘、渡辺治雄、泉福英信、*Streptococcus mutans* の初期付着およびバイオフィルム形成に及ぼす乳酸菌の影響、消化器プロバイオティクスシンポジウム'04、東京、2004 年、4 月。
- 45) 泉福英信、多田章夫、津覇雄三、葎原明弘、宮崎秀夫、歯周疾患における *S. mutans* の歯表面付着阻害抗体の意義、第 53 回口腔衛生学会総会、盛岡、2004 年、9 月。
- 46) 泉福英信、第 20 回日本歯科医学会総会、シンポジウム 10 高齢者に対する口腔ケア、口腔ケアによる口腔微生物叢の変化、2004 年 10 月。
- 47) 泉福英信、日本農芸化学会関東支部若手シンポジウム、「Cell-Cell Communication と複合系」、分子生物学的手法による口腔バイオフィルム系の解析と制御、2004 年 11 月 1 日
- 48) 武内博朗、早川浩生、奥田健太郎、野村義明、泉福英信、花田信弘、3DS と化学療法の併用による歯周病関連菌の除菌、第 53 回口腔衛生学会総会、盛岡、2004 年、9 月。
- 49) 早乙女裕彦、山崎統資、加藤友久、植松宏、泉福英信、吸引装置付き歯ブラシの歯垢カンジダへの効果、第 53 回口腔衛生学会総会、盛岡、2004 年、9 月。
- 50) 茂木瑞穂、高木裕三、花田信弘、泉福英信、*Streptococcus mutans* 臨床分離株を用いたバイオフィルム形成評価法の確立、第 46 回日本歯科基礎医学会、広島、2004 年 9 月。
- 51) 熊田昌幸、田村昌平、田上順次、泉福英信、乳酸菌による *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成阻害の評価、第 46 回日本歯科基礎医学会、広島、2004 年、9 月。
- 52) 田村昌平、茂木瑞穂、山崎統資、泉福英信、Oral streptococci の菌種菌株間のバイオフィルム形成能の検討、第 46 回日本歯科基礎医学会、広島、2004 年、9 月。
- 53) 奥田健太郎、花田信弘、泉福英信、*Streptococcus gordonii* 由来 PAc 類似領域ペプチド: SspB 390-402, 400 (K) の特性、第 46 回日本歯科基礎医学会、広島、2004 年、9 月。
- 54) Senpuku H. Human Th1 and Th2 cell responses to oral streptococci in humanized NOD/SCID mice: 第 34 回日本免疫学会総会・学術集会、札幌、2004 年 12 月。
- 55) 中山周一、久代 明、田中 隆一郎、渡辺 治雄: サルモネラのグリセロールデヒドロゲナーゼとその基質 / 産物が *hilA* 遺伝子発現に及ぼす影響について。第 77 回日本細菌学会総会、2004 年、4 月、大阪。
- 56) 久代明、中山周一: 病原遺伝子の発現と環境因子との関わり、第 13 回腸内フローラシンポジウム、「腸内フローラと感染・免疫」、2004 年、10 月、東京。
- 57) 長田真理子、佐多辰、谷川力、加藤行男、壁谷英則、丸山総一、泉谷秀昌、渡邊治雄、黒木俊郎。クマネズミから分離された *Salmonella* Typhimurium の毒力の比較。第 137 回日本獣医学会学術集会、神奈川県、2004。
- 58) 泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄。2002 年における *Salmonella* Enteritidis のファージ型別および薬剤耐性の傾向。第 77 回日本細菌学会総会、大阪府、2004 年。
- 59) 泉谷秀昌、寺嶋淳、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄。最近の腸管出血性大腸菌感染症の発生動向について。衛生微生物技術協議会第 25 回研究会、埼玉県、2004 年。
- 60) 泉谷秀昌。サルモネラの薬剤耐性について。平成 16 年度希少感染症診断技術研修会、東京都、2005 年。
- 61) 田口真澄、勢戸和子、神吉政史、塚本定三、泉谷秀昌、渡辺治雄。多剤耐性 *Salmonella enterica* serovar Typhimurium definitive phage type 104 による大規模食中毒事例。第 44 回感染性腸炎研究会総会、東京都、200 年。
- 62) 大倉正稔、大澤朗、荒川英二、寺嶋淳、渡邊治雄ゲノムサブトラクション法による新興型腸炎ピブリオ特異的遺伝子の検索、第 38 回腸炎ピブリオシンポジウム、2004、11 月、岡山
- 63) 山崎貢、松本昌門、秦真美、松井博範、榮賢司、鈴



- 木康元、岩出義人、荒川英二、伊藤健一郎、宮崎豊。腸炎ピブリオの耐熱性溶血毒素類似毒素(TDH-related hemolysin:TRH)陽性株の分布及び TRH 遺伝子の塩基配列解析について、第 78 回日本感染症学会総会、2004、4 月、東京
- 64) 和田昭仁 黄色ブドウ球菌 PBP のイミペネムに対する反応性 第 2 回薬剤耐性菌研究会、群馬、2004 年。
- 65) 小泉信夫,渡辺治雄。レプトスピラ感染防御抗原 Lig タンパク質の解析。日本細菌学会総会、大阪、2004 年。
- 66) 小泉信夫、大部宏子、谷川力、牧野敬、林栄治、渡辺治雄。ドブネズミおよびアライグマ分離レプトスピラの性状解析。レプトスピラシンポジウム、大阪、2004 年。
- 67) 内田正紀,小泉信夫,Okatani Alexandre Tomomitu,加藤行男,渡辺治雄。アライグマにおけるレプトスピラの保有状況と分離株の性状解析。日本獣医学会学術集会、北海道、2004 年。
- 68) 三戸部治郎 渡辺治雄:二成分制御系センサーCpxA を介した赤痢菌病原遺伝子の転写後調節。日本細菌学会総会、東京 2005 年
- 69) 丸山総一、井上快、山田直樹、壁谷英則、見上彪、佐藤雪太、川森文彦、大橋典男、増沢俊幸、角坂照貴、高田伸弘、藤田博己、小泉信夫、川端寛樹。日本の野鼠に分布する *Bartonella* 属菌と同定法の開発。日本獣医学会学術集会。2005 年 3 月。
- 70) 川合さなえ、山中新也、藤沢智美、清島真理子、川端寛樹。遊走性紅斑を呈したライム病の 1 例。日本皮膚学会東海地方会。2004 年 12 月。
- 71) 川端寛樹。野生齧歯類とレプトスピラ症。学術フロンティア「人獣共通感染症のサーベイランスと制御」シンポジウム。2004 年 11 月。
- 72) 川端寛樹。ダニと鳥の感染症：ダニに起因する感染症。日本鳥学会 2004 年度大会。2004 年 9 月。
- 73) 川端寛樹。細菌・ウイルスが引き起こす人獣共通感染症。山階鳥類研究所セミナー。2004 年 7 月。
- 74) 川端寛樹、藤田博己、榊原省司、増沢俊幸、鶴見みや古、渡邊治雄。奄美諸島における回帰熱、レプトスピラ調査。第 12 回 SADI(ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー)。2004 年 6 月。
- 75) 増沢俊幸、渡邊むつみ、Ece S. Guner、角坂照貴、河村好章、江崎孝行、川端寛樹、今井康之、金田一秀。回帰熱ボレリアとライム病ボレリアの中間に位置する新種 *Borrelia turcica* の性状。第 41 回レプトスピラシンポジウム。2004 年 4 月。
- 76) 川端寛樹、渡邊治雄。制限修飾遺伝子破壊株による形質導入とその感染性。第 41 回レプトスピラシンポジウム。2004 年 4 月。
- 77) 榊原省司、増沢俊幸、川端寛樹。gyrB 解析によるレプトスピラ血清型推定法の開発。第 41 回レプトスピラシンポジウム。2004 年 4 月。
- 78) 川端寛樹、榊原省司、今井康之、増沢俊幸、藤田博己、渡邊治雄。奄美諸島におけるレプトスピラの浸潤。第 41 回レプトスピラシンポジウム。2004 年 4 月。
- 79) 増沢俊幸、渡邊むつみ、河村好章、川端寛樹、今井康之、金田一秀、江崎孝行：回帰熱ボレリアとも、ライム病ボレリアとも異なる新規なボレリア *Borrelia turcica* sp. nov.。日本細菌学会総会(大阪)。2004 年 4 月。
- 80) 山崎 剛、山本三郎、芳賀伸治、本多三男結核防御免疫におけるモルモット IFN- $\gamma$  及び CD4 double positive T 細胞の意義、第 73 回実験結核研究会総会、2004、4 月、名古屋