

## 4. 細菌第一部

部長 渡邊治雄

### 概要

細菌学会黒屋奨励賞を、昨年度の伊豫田に引き続き、今年は高橋が受賞したことは喜ばしいことである。細菌第一部からだけではなく細菌第二部からも同時に出ていることから、感染研における細菌関係の若手の研究者が学会に認められるよい仕事をしていることの証でもあり更にうれしいことである。選考委員の個人的意見として、大学は独法化により、資金的小および時間的小締め付けが厳しくなると同時に、期限付採用が多くなっているため落ち着いて研究できる環境ではなくなっており、若手が学会賞の対象となるようなよい業績を上げにくくなっている。それに比べると研究機関は羨ましいという言葉が耳にする。確かに感染研では今でも終身雇用として採用される人が多いので、腰を据えたテーマで研究しやすい環境にはある。各自がその利点を大いに認識し、さらなる向上を励んでほしいものである。良い実績をあげているさらなる多くの若手がいるので、一つの励みとして黒屋奨励賞を目指してほしい。40歳未満が対象であるので、年齢的に残念な人も多くいることは確かであり、それらの人は小林六造記念賞を目指してほしいと期待している。研究は何も学会賞を取ることが目的ではないが、励みになることは確かである。

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、腸チフス菌、ビ

ブリオ等の腸内細菌、レジオネラ、レンサ球菌、肺炎球菌、レプトスピラ、ボレリア、髄膜炎菌、淋菌、セラチア、梅毒スピロヘータ、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（アジア連携、パルスネット構築、人畜共通感染症、薬剤耐性機序、劇症型レンサ球菌感染症、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、厚生労働省科学研究費レギュラトリーサイエンス研究費、厚生労働省科学研究費健康安全・危機管理対策総合研究事業（レジオネラ感染症）、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。

高橋英之が「髄膜炎菌の病原性に関する研究」の成果により平成21年3月に細菌学会黒屋奨励賞を受賞した。部の人事としては、中尾龍馬がスウェーデンに留学のため平成20年4月から休職し、平成20年5月1日付で、河原井武人が研究職員（任期付き）として採用された。

### 研究業績

#### I. 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)血清型に関する研究

平成 20 年度に細菌第一部に送付されたヒト由来の志賀毒素産生性大腸菌は総計 2,866 株で、分離頻度の多い O 血清群の順に O157 (約 71%: H7, H-) , O26 (約 16%: H11, H-) , O111 (約 4.6%: H-) , O145 (約 1.9%: H-) , O121 (約 1.4%: H19, H-) , O103 (約 1.3%: H2, H11, H51, HUT, H-) , O91 (約 1.2%: H14, H21, H51, HUT, H-) , O165 (約 0.59%: H-) で構成されており、その他 (約 2%) は少なくとも 31 の O 血清群、50 の血清型に分類された。1997 年から 2008 年までに HUS 患者から単離された株で最も多い O 血清群は O157 で全体の約 89% を占める。分離総数が少ないものの、HUS 患者からの分離数が比較的多い O 血清群として、O121 と O165 が注目される (伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡邊治雄)。

### (2)腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2008 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち 1959 株および O26, O111 等を含むその他の血清型 745 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。2008 年分離の O157 については、*Xba*I 消化により 963 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、多くの都府県 (11~24 ヶ所) から分離されたパターンとして、Type No. (TN) c47, c57, c293, d92, d148 の 5 種類があった。これらの 5 種類のパターンを示す株は、*Bln*I 消化によってもそれぞれ大部分が同一パターンを示した。分離株の示す PFGE パターンが異なっている

ものの、例年に引き続いて広域に及ぶ同一 PFGE タイプの O157 による事例が発生していることが明らかになった。広域事例発生を早期に探知してその拡大を阻止し得る監視網の充実とともに原因究明に向けた対策が重要である。(寺嶋 淳、斉藤康憲、菱谷 愛、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)腸管出血性大腸菌 O157 の Multiple-Locus VNTR Analysis による解析

PFGE により TN c47, c57, c293, d92, d148 を示す腸管出血性大腸菌 O157 のうち、*Bln*I パターンが一致している株を Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) 法により 9 種類の遺伝子座について調べた。PFGE で同一パターンを示す株のなかでも、MLVA により複数の遺伝子座でリピート数が異なる株があったことから、遺伝学的に異なる株が存在することが示唆された。一方、PFGE に加え MLVA においてもすべての遺伝子座でリピート数が一致する株については、その遺伝子構成が極めて類似していることが示唆された。さらに、24 都府県から 56 株が分離されている TN d148 では、55 株が *Bln*I パターンにおいても同一パターンを示し、44 株は MLVA でもすべての遺伝子座で繰返し数が一致した。また、集団発生由来株で報告されているわずかなりリピート数の変異、すなわち、1 遺伝子座について繰返し数が一つ及び 2 つ異なる変異株が 6 株あったことから、TN d148 56 株中 50 株については、やはり遺伝子構成が極めて類似し、関連性が高いことが示唆された。(寺嶋 淳、斉藤康憲、菱谷 愛、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) 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

全国の地方衛生研究所等から送付された分離株について、PFGE 解析と解析結果のデータベース構築を継続した。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 (BioNumerics) による dendrogram に基づいて行った。菌株送付機関に対する解析結果の返信をメールで行うとともに、解析結果の一部は、ユーザ名とパスワード管理下で感染症研究所のサーバーを利用して「PulseNet 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、今泉綾子、斉藤康憲、菱谷 愛、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、渡辺治雄)

(5) 病原性遺伝子群 LEE の発現制御に関する研究

腸管出血性大腸菌の多くは、LEE と呼ばれる病原性遺伝子領域を保有する。LEE は 3 型蛋白質輸送装置や宿主細胞へ局在する作用因子などをコードしており、これらの機能は宿主細胞への強固な接着に必須である。LEE の発現は 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る。Ler の転写は LEE 領域外に散在的にコードされるマスターレギュレータ PchA, PchB, PchC によって正の制御を受ける。昨年度構築した染色体上の *pch* 遺伝子と *lacZ* の融合遺伝子の活性を指標に、環境変化に応答した LEE の発現制御機構について研究を開始した。

ア) *pch* の転写活性とプロモーター構造の解析

*pchA*-, *pchB*-, *pchC-lacZ* 遺伝子の転写量を解析した結果、いくつかの環境 (培養) 条件で LEE の発現変化に同調して、*pch* の転写活性が変化することが明らかとなった。すなわち、Pch は様々な環境シグナルを統合し、LEE の発現調節を行う制御因子であると考えられる。*pch* の転写制御機構を解明する目的で、キャピラリー型オートシーケンサーを用いた 5' -RACE 法およびプライマー伸長法から *pchA*, *pchB* および *pchC* の転写開始点とプロモーター構造をそれぞれ明らかにした (本田尚子 [東大・院医・博士課程]、伊豫田淳、寺嶋淳、渡辺治雄)。

イ) トランスポゾン挿入変異法による *pchA* の転写制御因子の同定

染色体上に *pchA-lacZ* 遺伝子を保有する腸管出血性大腸菌 0157 株に Tn5 をランダムに挿入した変異ライブラリーを構築し、*pchA* の転写活性が低下した変異株をスクリーニングした。その結果、グラム陰性細菌に広く存在し、LysR ファミリーに属する転写制御因子をコードする *lrhA* に Tn5 が挿入されたいくつかの変異株では *pchA* の転写活性が顕著に低下していた。この現象は *lrhA* を運ぶ低コピープラスミドによって相補されたことから、LrhA は *pchA* の転写活性化因子であることが示唆された (伊豫田淳、佐藤人美、本田尚子、寺嶋淳、渡辺治雄)。

ウ) LrhA による LEE 遺伝子の発現制御機構の解析

野生株と比較して *lrhA* の欠損株では *pchA* と *pchB* の転写活性が低下し、LEE にコードされる 3 型分泌蛋白質 EspB, EspD, EspA の発現レベルが顕著に低下することが判明した。

*pchA* と *pchB* の LrhA 依存性の転写に必要な調節領域をプロモーター上流の欠失解析によって同定した。精製した His-LrhA 蛋白質は、これらの欠失解析で明らかとなった転写調節領域に結合することを non-RI のゲルシフト法および DNaseI フットプリンティング法によって明らかにした (本田尚子、伊豫田淳、寺嶋淳、渡邊治雄)。

#### (6) 腸管出血性大腸菌のエフェクタータンパク質 EspFu の機能解析

EspFu は III 型分泌装置を介して宿主細胞へ局在するエフェクタータンパク質である。宿主細胞内における EspFu の分子機構を解明する目的で、EspFu と相互作用する宿主因子の探索を行った。その結果、EspFu と宿主因子 IRSp53 の結合が認められ、上皮細胞内におけるそれらの相互作用によって細胞膜の再構築が誘導されることが明らかとなった。(石原朋子、泉谷秀昌、寺嶋淳、渡邊治雄)

## II. 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

2008 年に当研究所に送付された *Salmonella* Enteritidis 232 株 (うち、2008 年分離株は 155 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 2008 年の集団事例 13 件のファージ型 (PT) の内訳としては、PT14b が 6 件 (46%)、PT21 が 3 件 (23%)、PT4 が 2 件 (15%)、PT1 および 47 が各 1 件 (8%) であった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、李志英、渡邊治雄)

### (2) *Salmonella* Typhimurium のファージ型別

による解析

2008 年に当研究所に送付された多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium の菌株 33 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)。DT104 およびその関連株はこのうち 15 株であった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、李志英、渡邊治雄)

### (3) 鶏肉由来 *S. Infantis* 株の解析

ヒト、鶏肉、トリ由来の *S. Infantis* 株について PFGE による遺伝子型別を行った。これらの株には *bla*CMY-2、*bla*CTX-M-14 などを保有するセフェム系抗菌薬耐性株も含まれていた (但しヒト由来株は除く)。解析の結果、ヒト、食品、トリの株が同じクラスターに含まれることがわかり、由来に応じたクラスターを形成するわけではないことが明らかとなった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、李志英、渡邊治雄、松本裕子 (横浜市衛研)、田口真澄 (大阪府公衛研)、倉園貴至 (埼玉県衛研)、甲斐明美 (東京都健安研)、浅井鉄夫 (動薬検))

### (4) サルモネラ血清型別

2008 年に依頼、送付された 28 株について血清型別をおこなった。検出された血清型は、亜種 I の株に関しては、Newport, Poona, Infantis, Offa などであった。亜種 I I I b、IV の株もあり、血清型は I I I b 61:1, v:1, 5, IV 50:z4, z23:- であった。(泉谷秀昌、工藤珠代、高井信子、李志英、渡邊治雄)

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

2008 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 49 株、パラチフス A 菌 21 株であり、例年と比べて大きな増減はなかった。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、E9、M1 型であった。パラチフス A 菌ではファージ型 1、2 型が多かった。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、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 菌の各種抗菌薬に対する感受性試験

2008 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感受性を検討した。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 16 剤を用いた。感受性試験の結果、チフス菌で約 71.4%、パラチフス A 菌でも約 71.4%がニューキノロン低感受性であった。また、第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示すチフス菌が 1 株検出されたが、ニューキノロン耐性チフス菌・パラチフス A 菌は検出されなかった。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、渡邊治雄]

(7) *Salmonella* SPI-2 遺伝子の 1 つ、*ssaB* の *ssrAB* 非依存的発現制御機構の解析

*Salmonella* の SPI-2 遺伝子群は、宿主細胞内での菌の生存、増殖に必須であり、その発現には master regulator、*ssrAB* が必須であり、「栄養飢餓かつ低 pH」条件で特にその発現が上昇する。SPI-2 中 *ssaB* だけは、*ssrAB* 非存在下でも低 pH に反応して発現上昇する。*ssaB* は SPI-2 の TTSS apparatus であるが、同時に effector でもあり、また *Salmonella* の鞭毛遺伝子発現を調節する制御因子でもあ

ることなどが近年になって報告され、SPI-2 の中でも特異な存在と目されている。このことから、*ssaB* 特有の *ssrAB* 非依存的制御機構解明は有意義と思われる。解析の端緒として *ssaB* 発現 reporter 用の *ssaB'* - '*lacZ* 転写融合遺伝子を含む plasmid を作製したが、この plasmid からの *ssaB* 発現は既報のような *ssrAB* 非依存的な低 pH 下での上昇を示さなかった。*ssaB'* - '*lacZ* 転写融合遺伝子を染色体上に組み込んだ株では、前述の制御が再現できた。現在この株に Tn5 での random mutagenesis を行い、*ssaB* 発現が低 pH でも上昇しない mutant、及び、高 pH でも発現が高い mutant をスクリーニングしている。(中山周一、渡邊治雄)

### III. ビブリオに関する研究

(1) 平成 20 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 20 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 84 株で *Vibrio cholerae*、*V. mimicus* および *Aeromonas* spp. が含まれ、66.7%(56)は国外(バングラデシュ-29、イタリア-14、米国-13)から依頼された。国内株 28 株は 12 株が *V. cholerae* non-01, non-0139 で、01 コレラ菌が 7 株、*Aeromonas* spp. が 9 株であった。国内株のうち 9 株の *Aeromonas* spp. は河川から分離されたものであり、6 株の *V. cholerae* non-01, non-0139 は海水から分離されたものであった。また、別の国内株 6 株の *V. cholerae* non-01, non-0139 については、下痢症患者から分離されたものであり、渡航者の検疫所での検出であった。これまで検疫所においては

年間 100 例前後の検出例があり、海外ではコレラ菌のみならず *V. cholerae* non-01, non-0139 による下痢症に対しても注意すべきである。この菌については病原因子が不明なため血清型別や遺伝子型別等の疫学情報の解析、蓄積が重要であると考えられる。(荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌)

### (2) 変異エルトール型コレラ菌の遺伝的多様性

現在のコレラ流行株である古典型コレラ毒素を産生するエルトール型コレラ菌(変異エルトール型コレラ菌)の分離株間の遺伝的多様性を、*NotI* 消化による PFGE 及び 7 遺伝子座を用いた MLVA により解析した。いずれの分子疫学解析を用いても、変異エルトール型コレラ菌はサブタイプに分類されたことから、変異エルトール型コレラ菌株間には遺伝的多様性が存在していることが明らかとなった。[森田昌知、泉谷秀昌、荒川英二、山本章治、大西 真、渡邊治雄]

### (3) *Vibrio cholerae* における III 型分泌装置遺伝子群の分布

環境由来 110 株、患者由来 14 株の *V. cholerae* について、III 型分泌装置遺伝子群の有無を PCR により判別し、陽性菌株については 0 血清型別を行った。その結果、環境由来 110 株中 10 株が陽性であった。それらの血清群の内訳は、06 が 3 株、012 が 2 株、039、054、084、0103 がそれぞれ 1 株ずつであり、1 株はラフ型菌であった。患者由来株はラフ型菌 2 株が陽性を示した。全ての陽性菌株は、コレラ毒素遺伝子を保有していなかった。[森田昌知、大倉正稔(農研機構・動衛研)、泉谷秀昌、荒川英二、山本章治、大西 真、渡邊治

雄]

### (4) *V. parahaemolyticus* の食品からの迅速検査法に関する研究

平成 18 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「食品における微生物迅速検査法の開発及びその精度評価システムに関する研究」(主任:小崎俊司)において、腸炎ビブリオの食品からの検査法について、標準試験法を基準としてそれよりも迅速な検査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。*Vibrio* 属菌はその生化学的性状が非常に類似しており、分離、同定に複数の試験が必要であり、そのために検査に時間がかかる。近年の PCR 法の利用により、特異的遺伝子の検出により同定の補助的手法として取り入れられている。PCR 法は酵素反応による DNA 増幅であるため、食品由来成分による酵素反応の阻害での偽陰性も問題となる。すでに *toxR* 遺伝子を標的とした *V. parahaemolyticus* に特異的な PCR 法を新たに開発したが、そこに pBR322 由来の DNA 断片に *toxR* 遺伝子増幅用 primer 配列を持たせた内部陽性コントロール DNA(positive control template; PCT)を PCR 反応液に添加する事を試みた。標的遺伝子の検出において、PCT 添加による感度の変化や非特異反応等は認められず、魚介類を材料とした場合においても良好な成績が得られた。(荒川英二;磯部順子(富山県衛生研究所)、緒方喜久代(大分県衛生環境研究センター)、宮原美知子(国立衛研))

### (5) コレラ菌の遺伝子を迅速に改変する手法

の確立

$\lambda$  Red recombinase を利用した遺伝子組換え法 ( $\lambda$  Red recombineering) は、遺伝子を迅速に改変する上で有用な技術であるが、その適用範囲は大腸菌やサルモネラなどごく一部の細菌に限られている。本研究は、この技術をコレラ菌 (*Vibrio cholerae*) の遺伝子操作に応用し、その遺伝子機能解析を容易にする目的で行われた。 $\lambda$  Red recombineering に用いられる組換えの供与 DNA は、改変部位の上流と下流それぞれに相同な配列 (相同拡張配列) に両端を挟まれた薬剤耐性カセットである。相同拡張配列の長さは組換え効率の決定因子の一つであり、大腸菌においては 50bp 程の配列が必要とされる。まず、コレラ菌の *ctxB* を欠失させるために、相同拡張配列を様々な長さで含む供与 DNA を PCR 増幅し、これらを  $\lambda$  Red recombinase を発現させた菌細胞に導入した。その結果、相同拡張配列を 100bp 以上含む供与 DNA を用いた場合のみ、*ctxB* を欠失させることができた。さらに、他の遺伝子 (*toxT* など) を欠失させる場合でも、供与 DNA の相同拡張配列は 100bp 以上必要であった。以上の結果より、コレラ菌において  $\lambda$  Red recombineering を行う場合には、少なくとも 100bp の相同拡張配列を含む供与 DNA が必要であると結論された。(山本章治、泉谷秀昌、森田昌知、荒川英二、渡辺治雄)

#### IV. 赤痢菌

##### (1) 赤痢菌の遺伝子型別

2008 年に依頼、送付された赤痢菌 87 株についてパルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子型別を行った。使用した制限酵素は *XbaI* であった。2008 年夏に輸入イカが原因と疑われた事例について、複数の県からの菌株

について PFGE クラスターの集積が観察された。(泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、李志英、石原朋子、渡辺治雄)

##### (2) *Shigella sonnei* の MLVA による遺伝子型別法の検討

1998 年から 2005 年までの海外渡航歴のある患者から分離された *S. sonnei* 株について 8 遺伝子座による multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) の検討をおこなった。195 株について検討した結果、分解能 (Simpson's index of diversity) は 0.993 と高い値を示し、その有用性が示唆された。(泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、李志英、石原朋子、渡辺治雄)

##### (3) 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。一連の研究はアクチベーターである InvE 蛋白が、細菌の主要な RNA 結合蛋白である Hfq 蛋白を介して発現調節される機構を初めて明らかにした。また、遺伝的に同定された機能未知の蛋白 YfgA の欠損株を作製したところ、Hfq 欠損株と同様に、翻訳レベルで InvE 発現が増加し、温度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、*yfgA* 変異体では *invE*-mRNA が安定化していることが示された。(三戸部治郎、渡辺治雄)

##### (4) 赤痢菌感染による細胞破壊抑制機構の機能解析

これまでの研究から、赤痢菌野生株は感染細

胞の生存を維持する機構（破壊抑制機構）を持つことが示唆されている。赤痢菌による感染細胞の破壊抑制機構においてどのような分子メカニズムが関与しているのかを明らかにするために、抗リン酸化特異抗体を含む抗体マイクロアレイ解析によって感染細胞の細胞内シグナル分子の挙動をモニタリングした。本実験には野生株および細胞侵入に必要とされる最小限の病原因子のみを保有する変異株の感染細胞を用い、それらの比較解析を行った。その結果、いくつかの細胞内シグナル分子（DNA の損傷、細胞周期に関与するシグナル分子など）において発現量およびリン酸化/脱リン酸化の相違、ならびにその経時的变化が認められた。（石原朋子、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡辺治雄）

## V. レンサ球菌に関する研究

(1) 日本における 2007 年の溶レン菌感染症サーベイランス

2007 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、1682 株であり、1663 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 (389/1663, 23.4%)、T1 (278/1663, 16.7%)、T4 (225/1663, 13.5%)、T6 (189/1663, 11.4%)であった。T12、T1、T4 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。T6 型の分離比率は、2006 年と比較して急激に上昇した。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京都健康安全研究センター）、嶋智子（富山衛研）、勝川千尋（大阪公衛研）、富永潔（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  $\beta$ -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

2007 年、38 症例報告があり、そのうち 36 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 14 例の *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。T3 分離株 3 例の *emm* 遺伝子は、すべて *emm3* と相同性を示し、M 血清型別でもすべて M3 型であった。T12 分離株 3 例は、2 例が *emm12* (M12) 型、1 例が *emm22* (M22) 型であった。T28 分離株 3 例は、すべて *emm28* 型 (M28 型 1 例、型別不能 2 例) であった。T4 分離株 2 例は、すべて *emm4* (M4) 型であった。2 例で分離された T14/49 型の *emm* 遺伝子は、それぞれ *emm49*、*emm113* と相同性を示し、M 血清型別は型別不能であった。1 例ずつ分離された T22、TB3264、T5/27/44 型株の *emm* 型は、それぞれ *emm22* (M22)、*emm89* (M 型別不能)、*emm91* (M 型別不能) であった。T 型別不能株 6 株の *emm* 型は、*stg485* (M 型別不能) が 2 株、*emm9* (M 型別不能)、*emm12* (M12)、*emm53* (M 型別不能)、*stg245* (M 型別不能) がそれぞれ 1 株であった。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京都健康安全研究センター）、嶋智子（富山衛研）、勝川千尋（大阪公衛研）、富永潔（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  $\beta$ -hemolytic 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遺伝子型別

2007 年、3 症例報告があり、そのうち 2 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。これら劇症型感染症患者分離株の *emm* 遺伝子型を行った結果、*stg652*, *stg2078* がそれぞれ 1 例であった。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京都健康安全研究センター）、嶋智子（富山衛研）、勝川千尋（大阪公衛研）、富永潔（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  $\beta$ -hemolytic Streptococci in Japan]

(4) 日本における劇症型 C 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の遺伝子型別

2007 年、劇症型 C 群レンサ球菌感染症は 1 例の報告があった。この株の *emm* 型は、*st11929* (NIH438) であった。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京都健康安全研究センター）、嶋智子（富山衛研）、勝川千尋（大阪公衛研）、富永潔（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  $\beta$ -hemolytic Streptococci in Japan]

(5) 日本における非 A, B, C, G 群溶血性レンサ球菌による劇症型/重症レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株

2007 年、重症レンサ球菌感染症の報告があり、生化学的性状および 16S rDNA の配列から *S. intermedius* (NIH407) によることが明らかとなった。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄；岡崎則男、大屋日登美（神奈川衛研）、The Working Group for  $\beta$ -hemolytic Streptococci in Japan]

(6) 日本における劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症の薬剤感受性試験

2007 年に発症した劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症を引き起こした 53 株について薬剤感受性試験を行った。エリスロマイシンに対し、24.5%の株が、耐性を示した。また、クリンダマイシン、テリスロマイシンに対し、5.7%の株が、耐性を示した。シプロフロキサシンに対し、9.4%が低感受性、1.9%が耐性を示した。一方、ペニシリン G、アンピシリン、セファゾリン、セフォタキシム、イミペネム、パニペネムに対して感受性を示した。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京都健康安全研究センター）、嶋智子（富山衛研）、勝川千尋（大阪公衛研）、富永潔（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  $\beta$ -hemolytic Streptococci in Japan]

(7) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の菌の遺伝的特徴と免疫回避機構

劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症を引き起こした *emm49* 型株について調べたところ、共通してセンサー蛋白質をコードする *csrS* 遺伝子に変異が起きていることが判明した。この変異により、様々な病原遺伝子の発現が上昇していることが判明した。この変異により発現が上昇したストレプトリジン 0 と IL-8 プロテアーゼの作用により、好中球による貪食から回避していることが判明した。[池辺忠義、川端寛樹、渡邊治雄；阿戸学、小林和夫（免疫部）、竹森利忠（理研）]

## VI. レジオネラに関する研究

(1) Ethidium monoazide (EMA) 処理と Real-time PCR のコンビネーションによって環境水からレジオネラ生菌のみを定量解析できる検査法の開発

レジオネラ属菌は人工的水利用設備に生息する細菌捕食性原虫の中で増殖してヒトに感染する。レジオネラ感染を予防するため、これらの水利用設備は定期的に清掃、消毒、レジオネラの培養検査が行われている。しかし、レジオネラの培養には時間(4-7日)がかかり、環境や患者由来検体よりレジオネラを迅速に検出できる方法の開発が求められている。Ethidium monoazide (EMA) は特異的に死菌の損傷した細胞膜を透過し、その菌の染色体 DNA に結合し、可視光の照射により DNA を切断することができ、PCR 増幅を抑制できる。我々は EMA のこの特性を利用し、PCR/real-time PCR によって生菌のレジオネラ DNA のみを検出する方法を試した。昨年度は実験室内で調製した菌液を用い、EMA 処理したレジオネラ死菌の 16S rRNA 遺伝子をターゲットとする Real-time PCR により推定された菌数は EMA 処理しない場合の菌数の  $10^{-4}$ - $10^{-5}$  となったことを報告した。本年度、環境水サンプルを用いて、レジオネラ生菌のみの定量解析を行った。その結果、この方法で環境水からレジオネラの生菌のみを迅速に検出できることを明らかにした。(常彬、前川純子、倉文明、渡辺治雄)

(2) Ethidium monoazide (EMA) 処理および 5S rRNA 遺伝子をターゲットする Real-time PCR のコンビネーションによるレジオネラ生菌のみの定量解析

EMA 処理およびレジオネラ 16S rRNA 遺伝子をターゲットする Real-time PCR のコン

ビネーションは環境中のレジオネラ生菌のみを迅速に検出できるが、PCR 増幅するフラグメントの長さは約 460 bp で、検出感度 ( $\geq 100$  CFU/100 ml) が低かった。一方、レジオネラの 5S rRNA 遺伝子をターゲットする Real-time PCR の増幅するフラグメントの長さは 108 bp で、検出感度 (1 CFU/100 ml) が高かった。検出感度を上げるために、我々は EMA 処理および 5S rRNA 遺伝子をターゲットする Real-time PCR のコンビネーションによる定量解析を試した。その結果、Real-time PCR により推定された環境水中のレジオネラの菌数は培養で得られた実際の生菌数より多かった。EMA 処理および 5S rRNA 遺伝子をターゲットする Real-time PCR のコンビネーションでは環境水の中に含まれているレジオネラ死菌の PCR 増幅を完全に抑制することができなかつた。その理由として: 1) 16S rRNA および 5S rRNA 遺伝子のフラグメントの長さの差による PCR の増幅効率の違い; 2) EMA の 16S rRNA と 5S rRNA 遺伝子 DNA への結合率の差による PCR 増幅阻害率の違いが考えられた。(常彬、前川純子、倉文明、渡辺治雄)

(3) 掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌汚染

ア) レジオネラ汚染の実態

2005年6月~2006年12月の期間、全国の循環系を持たない掛け流し式温泉 182 施設を対象に、レジオネラ属菌等の病原微生物汚染調査を行い、29.5% (119/403) の試料からレジオネラ属菌を検出した。採取地点別の検出率は浴槽が 39.4% と最も高く、貯湯槽 23.8%、湯口 22.3%、源泉 8.3% と続いた。陽性試料の平均菌数(幾何平均値)は 66 CFU/100mL で、

## 細菌第一部

菌数の最高値は源泉、貯湯槽、湯口でそれぞれ 180、670、4,000 CFU/100mL と増加し、浴槽では 6,800 CFU/100mL に達した。陽性試料の 84.7%から *Legionella pneumophila* が分離され、血清群 (SG) 別では SG 1、5、6 がそれぞれ 22、21、22%と同程度の検出率であった。

### イ) レジオネラ汚染とそのリスク因子

レジオネラ属菌の汚染に関与する構造設備及び保守管理の特徴を明らかにするため、浴槽と湯口上流側とに分けて、多重ロジスティック回帰分析を行った。浴槽での汚染リスクは、湯口水がレジオネラに汚染されている場合 (OR=6.98, 95%CI=2.14~22.8) 及び浴槽容量が 5m<sup>3</sup> 以上の場合 (OR=2.74, 95%CI=1.28~5.89) に高く、pH 6.0 未満 (OR=0.12, 95%CI=0.02~0.63) では低下した。同様に、湯口上流では pH 6.0 未満 (OR=0.06, 95%CI=0.01~0.48) 及び 55°C 以上 (OR=0.10, 95%CI=0.01~0.77) でレジオネラ汚染を抑制した。レジオネラ属菌以外の病原微生物として抗酸菌、大腸菌、緑膿菌及び黄色ブドウ球菌を検査し、汚染の実態を明らかにした。〔烏谷竜哉、井上博雄(愛媛県立衛生環境研究所)；黒木俊郎(神奈川県衛生研究所)、大谷勝実(山形県衛生研究所)、山口誠一(元山形県村山保健所)、佐々木美江(宮城県保健環境研究所)、齊藤志保子(秋田県衛生科学研究所)、藤田雅弘(群馬県衛生環境研究所)、杉山寛治(静岡県環境衛生科学研究所)、中嶋 洋(岡山県環境保健センター)、村上光一(福岡県保健環境研究所)、田栗利紹(長崎県環境保健センター)、藏元 強(鹿児島県伊集院保健所)；倉 文明、前川純子；八木田健司、泉山信司(寄生動物部)；山崎利雄(バイオセー

フティ管理室)；縣邦雄(アクアス(株)つくば総合研究所)〕

### (4) クロラミンによるレジオネラに対する不活化作用

結合塩素として作用する消毒薬であるモノクロラミンについて、pH 7.5 および pH 8.8 の緩衝液に *Legionella pneumophila* 血清群 1 (Nagasaki 80-045 株) を浮遊させ、40°C で静置し、一定時間後に採取して、その中の生菌数を BCYE  $\alpha$  培地でコロニー数として求めた。10 分あるいは 30 分間の実験期間中、全残留塩素の減少は 9.3%未満であった。pH 7.5 では、1.0 mg/L の残留塩素濃度で、10 分以内に生菌は非検出(対数で < -4.31) となった。3.0 mg/L では 5 分以内で非検出、5.6 mg/L では、2 分以内で非検出となった。一方、pH 8.8 では pH 7.5 に比べ不活化効果が緩やかになり、非検出となるまでの時間は約 2 倍に延びた。1.1 mg/L の残留塩素濃度で 20 分以内に生菌は非検出、3.1 mg/L では 9 分以内で非検出、6.1 mg/L では 5 分以内で非検出となった。不活化効果は 2 相性で、緩やかな殺菌とその後の急速な殺菌が見られた。急速な不活化に至るまでの時間はモノクロラミンの濃度に依存した。さらに種々の血清群の *L. pneumophila* 浴槽水由来 9 株も 1.1 mg、30 分処理で非検出となった。これらのことから、*L. pneumophila* の消毒には 1 mg/L で十分に有効であった。〔倉 文明、遠藤卓郎、渡辺治雄；泉山信司(寄生動物部)〕

### (5) DNA-DNA ハイブリダイゼーション (DDH) による新菌種の同定

日本の環境水から分離されるが市販の DDH キットで同定できないレジオネラ属菌種を

DDH 法により同定するため、*L. busanensis*、*L. greisilensis*、*L. londiniensis*、*L. nautarum*、*L. quinlivanii* の 5 菌種について基準株間の相対類似度の測定・検査精度の検討を行った。その結果、これまで *mip*、16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定で同定されていた *L. londiniensis*、*L. nautarum*、*L. quinlivanii* が DDH でも同定され、塩基配列決定では同定不能であったレジオネラ属菌株が *L. busanensis* と新たに同定された。〔山崎利雄（バイオセーフティ管理室）；前川純子、倉 文明、渡辺治雄〕

#### (6) レジオネラの迅速検査

ア) qRT-PCR を用いたレジオネラ属菌迅速検査法の検討

簡便、迅速で定量性に優れたレジオネラ属菌の核酸検出法を開発する目的で、レジオネラのリボソーム RNA を鋳型として検出する qRT-PCR 法（逆転写産物を鋳型とした定量 PCR）を検討した。培養法と同様に濃縮した試料をさらに遠心濃縮し、Proteinase K を用いた酵素溶解反応後、カラム精製のステップを省略して希釈するだけの簡便な方法によって逆転写反応用の鋳型 RNA を調製した。これを鋳型として逆転写反応を行った後、市販の DNA 検査試薬を用いて qPCR を実施した。本法は、培養標準株を用いた検量線の検討から高感度検出（qPCR と比較して 1000 倍程度高感度）が可能であること、ならびに、実試料を用いて阻害を受けないことを確認した。実試料の検討結果は、通常のリアルタイム PCR 法と高い相関（ $R^2=0.771$ ）を示し、これまでの DNA 検査と同様の結果が簡便かつ高感度に得られた。一般に RNA は不安定で速やかに分解されると考えられているが、当該研究においては、

rRNA は DNA とほぼ同じ挙動を示し、環境中においても比較的長く保存されていることが示唆された。死菌の rRNA が安定であることは、試験管内試験においても確認した。培養法で 10 CFU/100mL 以上の検体は、qRT-PCR 法の定量値でも 10 CFU/100mL 以上の値を示し、実施した範囲では培養陽性の検体から確実に qRT-PCR 陽性が得られた。本方法を、DNA 検査法にかわる、次世代の検査法として提案したい。〔烏谷竜哉（愛媛県立衛生環境研究所）、青木紀子（愛媛県立衛生環境研究所）、山本純子（タカラバイオ（株）製品開発センター）、泉山信司（寄生動物部）；倉 文明、遠藤卓郎〕

イ) 専用試薬による *Legionella londiniensis* の迅速検査

レジオネラ属菌の迅速検査法は培養試験法に比べて短時間に結果が得られることから期待が寄せられているが、迅速検査法と従来の培養試験法の結果に不一致が生じて判断に苦慮する場面がある。特に培養陽性、迅速検査法陰性になった場合が問題となり、理由として阻害による偽陰性、あるいは迅速法で検出できない菌種の培養検出がある。後者で特に問題とされているのは *L. londiniensis* の不検出で、培養で検出されることはしばしばあるが、市販の検査試薬 2 種のいずれも検出しないことが反応特異性の検討結果からすでに明らかとなっている。この *L. londiniensis* を検出するためのプライマーセットを開発し、培養陽性、迅速検査法陰性となった試料のコロニーから PCR および LAMP を行って実際に *L. londiniensis* であることが確認できた〔烏谷竜哉（愛媛県立衛生環境研究所）、佐々木美江（宮城県保健環境センター）、山本純子（タカラバイオ（株）製品開発センター）、安中敏

光（栄研化学（株）生物化学研究所）、泉山信司（寄生動物部）；前川純子、倉 文明、遠藤卓郎]

#### ウ) DNA 抽出法の改良

H19 年度提案した DNA 抽出法（酵素溶菌法）の簡便性や精度などに対する改良の必要性から、リゾチーム処理の削除と繰り返し溶出（50  $\mu$ L で 2 回、計 100  $\mu$ L）を追加した新プロトコルを作成したことにより、簡便性と精度の改善を実現できた。2log 菌液を用いた 3 連の繰り返し回収実験における回収率の平均±標準偏差は 113.63±9.07% となり、高濃度菌液における回収率も向上した（30～70% から全て 100% 超に向上）。改良酵素溶菌法はフミン酸の影響をほとんど受けなかったのに対し、キレックス樹脂法とアルカリ抽出法は、共に 1.6 mg/L 水溶性フミン酸および 0.1mg/L 不溶性フミン酸で阻害されることが明らかとなり、前者のフミン質含有温泉試料適用における優位性が示された。後二者はフミン酸含有試料への適用は制限されるが、簡便性は十分確認されたため白湯などへの応用は可能であると考えられた。さらに、改良酵素溶菌法を基盤とした試作キットが有効であることを実証した。

〔田栗利紹（長崎県環境保健研究センター）、泉山信司（寄生動物部）；倉 文明、遠藤卓郎]

#### エ) 阻害回避試薬を用いた迅速検査

レジオネラ属菌の迅速検査法は培養試験法に比べて短時間に結果が得られることから期待が寄せられているが、迅速検査法は阻害物質による偽陰性が問題となる場合がある。アルカリ熱抽出法は簡便な鑄型調製法として好まれているが、フミン酸等の影響を受ける場合があることから温泉試料等への適用には注

意が必要で、利用は白湯など阻害物質が含まれないと考えられる試料に限定されていた。当該研究では反応阻害回避試薬に着目し、アルカリ熱抽出法との併用を検討した。依頼検体として持ち込まれた不特定多数の浴槽水 126 件からアルカリ熱抽出法で鑄型を調製し LAMP 反応を実施した。反応阻害回避試薬の使用の有無で反応性を比較した結果、反応の陽転が 10 件、反応時間（ $T_t$  値）の短縮が 22 件あり、明らかな改善が認められた。環境試料における迅速検査においては、反応阻害回避試薬の利用が推奨された。〔泉山信司（寄生動物部）、安中敏光（栄研化学（株）生物化学研究所）；倉 文明、遠藤卓郎]

#### (7) *Legionella pneumophila* の遺伝子型およびモノクローナル抗体型の解析

##### ア) 環境分離株の解析

日本各地から分離された *Legionella pneumophila* 血清群 1 の環境分離株（浴槽水分離株 30 株、冷却塔水分離株 34 株）について遺伝子型別（SBT）を行った。従来の 6 つの遺伝子に *neuA* 遺伝子が追加され、7 つの遺伝子により SBT を行うことになったため、以前に型別を行った浴槽水分離株 10 株、冷却塔水分離株 14 株について *neuA* 遺伝子の型別を追加した。浴槽水分離株 40 株は 29 種類に型別され、多様であった。冷却塔水分離株 48 株は 6 種類に型別され、多様性に乏しく、37 株（77%）が ST1 であった。モノクローナル抗体（MAb）型別の結果は、浴槽水分離株 40 株は 9 種類、冷却塔水分離株 48 株は、4 種類に型別された。

##### イ) 臨床分離株の解析

昨年度より、レジオネラレファレンスセン

## 細菌第一部

ターにおいて *L. pneumophila* 臨床分離株の収集を行っており、収集した 20 株を含む 61 株の臨床分離株について SBT を行ったが、今年度は新たに収集された 15 株および従前に収集された 10 株について SBT を行った。昨年度解析を行なった菌株を含め、臨床分離株 86 株は 53 種類に型別された。また、昨年度及び今年度に収集された菌株のうち血清群 1 の菌株についてはモノクローナル抗体 (MAb) 型別を行った。血清群 1 の臨床分離株 69 株は 7 種類に型別された。SBT と MAb 型別を組み合わせると、86 株は 58 種類に型別され、その疫学的有用性が確認できた。

ウ) 分離株の由来による違いについて

臨床分離株、浴槽水分離株、冷却塔水分離株あわせて 174 株が、82 種類に型別され、それぞれ、遺伝子型やモノクローナル抗体型の分布や頻度が異なっていた。さらに得られた遺伝子型について minimum spanning tree 法による解析を行った。冷却塔水分離株は、ST1 以外の株も 1 株を除いて、ST1 にやや近縁で、また互いに似ており、1 つの complex を形成していた。それ以外の大きな complex はすべて浴槽水分離株と臨床分離株を両方含んでいた。[前川純子、倉 文明、常 彬、渡辺治雄、青木敏也(山形衛研)、渡辺祐子(神奈川県衛研)、安形則雄(名古屋市衛研)、貫名正文(神戸市環境保健研)、中嶋 洋(岡山県環境保健センター)、河野 喜美子(宮崎県衛生環境研)、多田有希(感染症情報センター)、Jürgen H. Helbig(ドレスデン工科大学)]

(8) 土 壌 から 分 離 さ れ た *Legionella pneumophila* の鞭毛遺伝子型別について -浴槽・給湯水、冷却塔水および臨床分離株との

比較-

昨年度は日本各地の土壌から分離された *Legionella pneumophila* 33 株と都内の給湯水分離株 12 株について *flaA* 遺伝子の塩基配列の差異に基づく型別を行い、以前調べた浴槽水、冷却塔水および臨床分離株と比較した。今年度は、土壌分離株 48 株の結果を追加した。冷却塔水分離株は *flaA1* と *flaA11* の 2 つの遺伝子型が 88% を占める一方、浴槽水・給湯水分離株は *flaA2*、*flaA3*、*flaA6*、*flaA7* の 4 つで 85% となり、*flaA* 遺伝子型の分布に違いが見られる。土壌由来株の *flaA* 遺伝子型は、一部浴槽水由来のものと同重なっていたが、頻度が大きく異なり (*flaA2* と *flaA6* で 40%、*flaA3* と *flaA7* は合わせて 2% と少ない)、また浴槽水および冷却塔水分離株ではほとんど見られない遺伝子型 (*flaA5* と *flaA12* で 48%) も存在した。冷却塔水分離株に多い、*flaA1* と *flaA11* は見られなかった。したがって、土壌分離株、浴槽水・給湯水分離株、冷却塔水分離株のそれぞれで、*flaA* 遺伝子型の頻度が異なることが明らかとなった。[前川純子、倉文明、常 彬、鈴木敦子(東京都予防医学協会)、市瀬正之(左同)、古畑勝則(麻布大学、環境保健学部)、渡辺治雄]

(9) *Legionella rubrilucens* の最初の臨床分離事例

肺炎患者の喀痰と患者が入浴した温泉水から *L. rubrilucens* を分離した。温泉水と患者からの *L. rubrilucens* 株の PFGE パターンが一致したので温泉水からの感染であると示唆された。レジオネラ尿中抗原 (Biotest EIA) も陽性であったので、*L. rubrilucens* と *Legionella pneumophila* の複合感染であると示唆された。温泉水から *L. pneumophila* 血清

群 1 は分離されなかったが、温泉水から分離された *L. pneumophila* Untypable の可溶性抗原に、この尿中抗原測定キットは反応した。温泉水中のレジオネラ属菌量は 100 CFU/100mL であった。患者血清抗体価も測定したが力価は低かった。*L. rubrilucens* のヒトからの分離例は国内外で初めてである。[藤井伸一郎 (岩手県環境保健研究センター)、松井美紀夫 (松井内科医院)、白岩利恵子 (二戸保健所) ; 前川純子、倉 文明]

## VII. 髄膜炎菌に関する研究

(1) Signiture Tag Mutagenesis (STM) を用いた髄膜炎菌の新規病原性因子の網羅的スクリーニング

これまでの研究から ST-2032 株には既知因子以外の接着・侵入因子の存在が示唆された。その因子を探索するために、トランスポゾンを用いた *in vitro* で精製染色体 DNA 上にランダムに挿入させた後にその DNA を ST-2032 株に戻すという手法を用いた STM による ST-2032 株の網羅的な変異体ライブラリーを作製し、ヒト脳血管内皮細胞 HBMEC に対する接着性もしくは侵入性が低下した変異株を単離、同定した。約 5700 の変異株から 3 段階のスクリーニングを経て約 120 株が単離された。そのうち、機能が未同定だと推定される遺伝子が破壊された変異株は約 56 株で破壊株が重複するものが 4 種類得られた。またさらに 4 種類の変異を加えた、計 8 種類の変異株に関して野生株へのもどし交配と野生型遺伝子の導入による機能相補試験を行った結果、5 種類に関してはトランスポゾンによる遺伝子挿入破壊によって細胞侵入性が低下していることが明らかとなった。今後はそれらの遺伝子に関して個々に解析を行い、宿主細胞感染にお

けるその遺伝子の機能についてさらに解析する予定である。[高橋英之、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)、渡辺治雄]

(2) グルタミン酸トランスポーターオペロン中の遺伝子 NMB1964 による宿主細胞侵入誘導機構の解析

前項の遺伝子の中で NMB1965-NMB1964 の遺伝子群 (オペロン) にトランスポゾンが挿入された変異株が同定された。NMB1965 は低 Na<sup>+</sup> 濃度下で駆動される Na<sup>+</sup>/glutamate symporter として細胞内生育に必要な因子として 2005 年に同定されており、当初は我々の NMB1965-NMB1964 トランスポゾン挿入変異株も細胞内生育の低下による顕著な細胞内侵入低下として観察されていると考えられた。しかし、得られた NMB1965-NMB1964 トランスポゾン挿入変異株及びその欠失変異株は細胞内の生育は我々のアッセイ条件では顕著な細胞内生育の低下は認められず Na<sup>+</sup>/glutamate symporter の欠損による細胞内生育低下だけでは細胞内侵入の低下は説明できないと推測された。今後は NMB1964 遺伝子の宿主細胞感染における機能についてさらに分子遺伝学的及び細胞生物学的に解析を進める予定である。[高橋英之、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)、渡辺治雄]

(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

2007 年度 1 年間に感染研に収集された 2 株の髄膜炎菌の疫学的解析を行なった。それらの髄膜炎菌株の血清型は共に Y 群であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 が 1 株、ST-3015 が 1 株であった。帆年度は例年になく感染研への株の回収が少なかった

が、近年日本で検出され始めて今回で4例目となるST-3015が検出されたことが注目される。髄膜炎菌性髄膜炎は全数把握にもかかわらず菌株の回収が困難なために日本の髄膜炎菌株の分類の全容把握はかなり難しいが、今回のように珍しいST株が検出・分類されるといことは日本で最も検出されるST-23のような古典的な髄膜炎菌株が広く存在している中にまだまだ未知の遺伝子型の髄膜炎菌が潜在している可能性が示唆され、引き続きサーベイランスをしていく必要性があろう。[高橋英之、渡辺治雄]

#### VIII. 臨床細菌に関する研究

##### (1) 肺炎球菌に関する研究

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業（ワクチン有用性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究）の協力研究者として8県の小児の無菌検体より分離された肺炎球菌の血清型別、薬剤感受性試験、シーケンスタイピングを行った。（和田昭仁、神谷斉[国立病院機構三重病院]、宮村達男[所長]）

#### IX. ボレリアに関する研究

(1) 国内産爬虫類寄生性マダニから見いだされたボレリアとそのマダニ体内での動態に関する研究

輸入爬虫類とそれらに寄生しているマダニの一部が、複数のボレリア種から構成される一群のボレリア（以下REP *Borrelia*）に感染していることを明らかにしてきた。一方で、国内に生息する爬虫類および爬虫類寄生性マダニのボレリア感染の有無については全く調べられていない。そこで本研究では、国内に分布する爬虫類寄生性マダニであるカメキラ

ラマダニ (*Amblyomma geoemydae*) のボレリア保有調査を行った。沖縄県にてセマルハコガメ、ヤエヤマシガメ等の体表から *A. geoemydae* 221 個体を採取し、個体別にボレリアのDNA検出・分離を実施した。また経ステージ感染の有無を明らかにするために、一部の飽血マダニについては脱皮後解剖し、中腸でのボレリア感染の有無を調べた。試験に供した *A. geoemydae* 221 個体中 93 個体 (42.08%) から、ボレリアが分離またはDNA陽性となった。見いだされたボレリアは鞭毛抗原遺伝子の塩基配列に基づく系統解析から、REP *Borrelia* の類縁種 (27.15%, 60/221)、および回帰熱群ボレリアの一種と推定される未知のボレリア (15.84%, 35/221) と同定された。このうち2個体のマダニは両ボレリアに重複感染していることが示された。また、脱皮マダニ個体の中腸から REP *Borrelia* の類縁種が見いだされたことから、本ボレリアが *A. geoemydae* 体内で経ステージ感染していることが確認された。以上の結果から、*A. geoemydae* が本ボレリアの媒介動物である可能性が考えられた。[川端寛樹、高野愛 (岐阜大)、武藤麻紀、小笠原由美子、渡邊治雄、岡村麻生 (西表野生生物保護センター)、藤田博己 (大原研究所)、角坂照貴 (愛知医科大学)、今内覚 (北海道大)、田島朋子 (大阪府大) ]

(2) 野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討

感染症法規定疾患には動物由来感染症約50疾患が含まれているが、この内の約半数は節足動物媒介性感染であり、公衆衛生上、重要な位置づけがなされている。そこで本研究では、マダニが媒介する動物由来感染症に関し



て、国内における生態系内でのボレリアの病原体拡散に関するリスク因子を明らかにすることを主目的とした。病原体拡散に関するリスク因子として、野生鳥類の移動に焦点を当てて研究を行った。野生鳥類の捕獲は31都道府県で行い、鳥類60種よりマダニ1463個体を得た。シウルツェマダニ(29.0%)、アカコッコマダニ(16.4%)、およびキチマダニ(28.8%)が主な鳥類寄生マダニとして同定された。また、病原体検索を行ったマダニ1337個体中、106個体(7.9%)でボレリアDNAが検出された。この内、ライム病病原体 *Borrelia garinii* が65.1%であったことから、鳥類(野鳥)の移動に付随してマダニ種とこれを媒介種とする病原体種が高い確率で拡散している可能性が示唆された。さらに、ボレリアを保有している確率が高い鳥種についても検討を行った。この他、アメリカで報告のある、Southern tick associated rash illness (STARI)の病原体である *B. lonestari* に類似の病原体DNAを見出したほか、回帰熱群ボレリアDNAをサワイカズキダニより見出した。今後、鳥類の移動(渡り)経路と、鳥種、寄生マダニ種、および病原体種との関連をさらに検討するとともに、公衆衛生に対する情報還元を計りたい。[川端寛樹、武藤麻紀、高野愛(岐阜大)、渡邊治雄、藤田博己(大原研究所)、坂田明子(ウイルス1部)、安藤秀二(ウイルス1部)、鶴見みや古(山階鳥類研究所)]

#### X. レプトスピラに関する研究

##### (1) 宮崎県におけるヒトおよびイヌのレプトスピラ症強化サーベイランス

2006年夏季にレプトスピラ症の多発があった宮崎県で、昨年度に引き続きヒトとイヌのレプトスピラ症強化サーベイランスを行った。

その結果、ヒトではレプトスピラ症疑い10例中1例のレプトスピラ症が確定診断された。またイヌは25例中16例がレプトスピラ症と確定診断された。このうちイヌ9頭の血液からレプトスピラが分離され、レプトスピラの鞭毛構成遺伝子のひとつである *flaB* 遺伝子の部分塩基配列から、分離株はすべて *Leptospira interrogans* と推定され、また血清群は Australis, Autumnalis, Hebdomadis であった。[小泉信夫、武藤麻紀、渡辺治雄、山本正悟(宮崎県衛生環境研究所)、下村高司(宮崎県衛生管理課)、相馬宏敏(宮崎県健康増進課)]

##### (2) 国内のイヌのレプトスピラ症発生調査

全国でのイヌのレプトスピラ症の発生状況を明らかにするための初動調査として、千葉、三重、福岡、佐賀、熊本および沖縄県で、宮崎県と同様に検査定点サーベイランスを行った。その結果、千葉、三重(奈良)、福岡、佐賀、熊本の各県で陽性イヌを検出した。また三重県のイヌからレプトスピラが分離され、*flaB* 遺伝子の部分塩基配列から、*L. interrogans* と推定された。[小泉信夫、武藤麻紀、渡辺治雄、横山栄二(千葉県衛生研究所)、赤地重宏(三重県保健環境研究所)、濱崎光宏、堀川和美(福岡県保健環境研究所)、坂本晃子、船津丸貞幸(佐賀県衛生薬業センター)、松本一俊、八尋俊輔、原田誠也(熊本県保健環境科学研究所)、岡野祥、平良勝也、中村正治(沖縄県衛生環境研究所)]

##### (3) 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

フィリピンで捕獲した野鼠からレプトスピラを分離し、性状解析により *L. interrogans*

serovar Manilae, serovar Losbanos, serogroup Grippotyphosa および *L. borgpetersenii* serogroup Javanica と同定した。これらの株は患者分離株と免疫学的・遺伝学的に同一であることから、フィリピンのレプトスピラ症は野鼠が原因となり洪水を介しておきていることが明らかとなった。また、野鼠およびスイギュウ由来 *L. borgpetersenii* の偽遺伝子および IS1533 のコピー数の解析結果から、IS を介した *L. borgpetersenii* ゲノムの再構成が示唆された。[小泉信夫, 武藤麻紀, 渡辺治雄, 吉田真一 (九大)]

#### (4) 各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

全国 33 か所の検疫港および検疫飛行場の政令区域で 270 匹のネズミを捕獲し、レプトスピラの分離を試みた結果、那覇空港で捕獲されたハツカネズミ 2 匹からレプトスピラが分離された。*flaB* 遺伝子の部分塩基配列から、分離株は *L. borgpetersenii* であると推定された。また長崎県(五島)のアカネズミ 2 匹および千葉県(ドブネズミ) 1 匹からレプトスピラが分離された。その他、埼玉県で捕獲されたネズミからレプトスピラの分離を、また東京都動物愛護相談センターに収容されたネコの腎臓、尿からレプトスピラの分離および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, 渡辺治雄, 山本正悟(宮崎県衛生環境研究所), 谷川力(イカリ消毒技術研究所), 宗村佳子(東京都動物愛護相談センター), 近真理奈, 山本徳栄(埼玉県衛生研究所)]

### XI. 腸管外病原性大腸菌, セラチア, 梅毒

#### に関する研究

##### (1) 腸管外病原性大腸菌の好中球食菌抵抗性

尿路感染症を原発巣とした大腸菌敗血症は、腸管外病原性大腸菌の中でもその重篤度が高い感染症であるが、その病原性に関しては未解明な部分が多い。そこで、腸管外病原性大腸菌 CK17 好中球食菌抵抗性に関して解析を行った。非オプソナイズ化大腸菌 K-12 は、好中球に食菌され生存率(加えた大腸菌数に対する比率)は 0.6 であったことと対照的に、CK17 はヒト好中球存在下において、オプソナイズ化した場合でも生存率は 3.54 と高値を示した。本条件で、CK17 による好中球の著しい細胞死は認められず、細胞致死活性による抵抗性でないと考えられた。また、好中球が CK17 にアソシエイトする像が顕微鏡観察で認められたが、貪食像の観察は稀であった。これらのことから、CK17 が食菌作用抑制機構を持つことを示唆した。(大西 真, 志牟田健, 渡辺治雄, 阿戸学(免疫部))

##### (2) 淋菌の薬剤感受性の動向

淋菌の各種薬剤に対する感受性の低下や、多剤耐性化が問題となっている。そこで神奈川県とその周辺地域医療機関で分離された淋菌(672 株)を対象に、主な治療薬剤に対する薬剤感受性の推移を検討した。さらに、セフィキシム低感受性株の遺伝子変異について詳細な検討を行った。今回の調査では 3~4 剤耐性株の占める割合は、1990 年代に比べ 2000 年代では約 10 倍の 60%となっていた。CFIX 耐性遺伝子(*pneA*)について検討したところ、MICCFIX 0.25 $\leq$ の菌株の 81.3% (26/32)は X 型の *penA* 遺伝子を保持していた。また、X 型のバリエーションである新規配列型 XXXII、XXXIII、XXXIV が見いだされ、これらが CFIX

耐性に寄与することが新規バリエーションを用いた形質転換実験で認められた。(渡辺祐子、高橋智恵子、大屋日登美、黒木俊郎、岡崎則男(神奈川県衛生研究所) 大西 真)

### (3) 淋菌の MLST 型別を用いた系統解析

淋菌の遺伝的多様性を検討するために分離菌株の系統解析を行い、薬剤耐性/低感受性株の増加傾向および多剤耐性化と系統との関連を検討した。神奈川県とその周辺地域医療機関で 1995、2000-2005 年に分離された淋菌からランダムに選択した 86 株に関して、Multi-locus sequence typing (MLST) を用いて系統解析を行った。86 株より、15 種の新規配列型(ST)を含む 27 種の ST を見いだした。さらに、同一地域分離株でありながら、分離時期(1995 および 2000-2005)によって分離頻度の高い ST が異なっていることが見出された。セフェキシム耐性株は異なる 3 つの ST 型に存在し、耐性遺伝子獲得が Multi-clonal に起きたことと、それらのクローナルエクспанションが 2000 年以降起きた可能性が示唆された。(大西 真, 志牟田健, 渡辺祐子 (神奈川県衛生研究所))

### (4) 梅毒抗体診断に使用される *Treponema pallidum* の主要抗原に関する解析

梅毒の起因菌である *Treponema pallidum* (以下 Tp) は現在まで試験管内培養が不可能であり、疾病時の検体中の菌数も皮膚病変部以外では極めて少ない。従って、皮膚病変が明らかでない場合を除いて、培養法はもちろん PCR 法によっても病原体そのものの検出、同定は効率が悪い。このため診断においては、Tp に対する血清中の抗体検出が非常に大きいウェイトを占める。Tp の主要かつ特異的な抗原とし

て TpN47、TpN17、TpN15 の 3 種が同定され、現在はこの 3 種リコンビナント蛋白の混合物が抗体検出用に使用されている。

### ア) *Treponema pallidum* の主要抗原 TpN47 の発現制御メカニズム解析へのアプローチ

試験管培養ができない Tp では遺伝子発現制御に関する研究はこれまで皆無と言っても過言ではない。発現プロファイルについては、前述の 3 種抗原は主要抗原であることから予想されるように、発現量が高い。2005 年に Tp での転写 array のデータが初めて報告され、これら 3 種抗原遺伝子、特に TpN47 の転写量が高いことが判明している。TpN47 は主要抗原であり、Natural の lipidiated form は培養細胞への炎症反応惹起能も報告され、仮想的病原因子の候補の 1 つである。TpN47 の高い転写量には Tp の持つ何らかの転写制御因子による積極的な制御が関与するという仮説を立て、そのメカニズムを探ることを試みた。Tp は試験管内培養不能であるため、mutant 作製、transformant 分離等の戦略は取れないため、TpN47 の上流域を *lacZ* 遺伝子に融合させた reporter plasmid を保持する *E. coli* に Tp total DNA library を導入し、転写量が上昇する clone を選別する方法で解析を進めた。結果、ssDNA 及び RNA 結合 domain の 1 つである KH domain を有する ORF、TP1018 を同定した。(中山周一、松岡ひろこ、大西 真、渡辺治雄)

### (5) セラチアの溶血因子の研究

昨年までに、本菌培養時にヒト血液寒天培地上で観察される溶血環の原因遺伝子が *phlA* (ホスホリパーゼ A) である可能性を示した。本年度は組換え体 His-PhlA を用いて、以下の事を明らかにした。1) His-PhlA はホス

ホリパーゼ活性を保持し、血液寒天培地上で溶血環形成を示した。蛍光基質を用いた解析で、Ph1A は PLA1 であることが示唆された。

2) His-Ph1A による溶血活性はリン脂質濃度依存的であった。更に、培養細胞でもリン脂質濃度依存的な His-Ph1A による細胞崩壊活性が認められた。以上より本菌による血液寒天培地上での溶血環は、培地中の赤血球より遊離したリン脂質が Ph1A によって加水分解された結果生じたリゾリン脂質(界面活性作用を持つ)に依存した現象であると推察された。(志牟田 健、伊豫田 淳、大西 真、渡辺 治雄)

## XII. 口腔内細菌に関する研究

(1) *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成を抑制する *S. salivarius* 分子の精製

*Streptococcus salivarius* は、う蝕原因菌である *S. mutans* のバイオフィルムを阻害する分子を産生することが明らかとなった。この抑制分子を精製するためにゲル濾過クロマトグラフィーおよび DEAE イオン交換クロマトグラフィーを行った。抑制活性のあるフラクションに SDS-PAGE 後のシルバー染色にて 6 つのバンドが認められた。それぞれのバンドを切り出し、処理後、TOF Mass 解析を行うため理化学研究所の小園先生へサンプルを送り解析した。また、*S. salivarius* のゲノム解析が行われていなかったため、使用した *S. salivarius* HT9R 株を用いてゲノム解析を行った。ゲノム解析は、国立感染症研究所の黒田病原体ゲノムセンター室長にお願いした。そのデータをもとに、TOF Mass 解析の結果を分析すると 5 つの候補タンパク質が認められた。Replicative DNA helicase、Gram-positive signal peptide YSIRK family protein、

Glutamine-5-semialdehyde dehydrogenase、Homoserine dehydrogenase、Glucosyltransferase-S1 などが明らかとなった。[泉福英信、小川綾子、三戸部治郎、古園さおり(理化学研究所)、黒田 誠(病原体ゲノムセンター)、渡辺治雄]

(2) う蝕原性菌 *Streptococcus mutans* 多様性出現機構の解明

バクテリアは均一な系で培養しても非均一で多様な細胞集団を形成する。多様性出現によりバクテリアは抗生物質耐性の上昇など優れた環境適応性を示すことから、本現象を理解することは病原菌の制御にとって重要である。う蝕原性菌 *Streptococcus mutans* の 3 株は、寒天培地上で表面が粗な Rough (R) 型コロニーを形成したが、いずれの株においても表面が平滑な Smooth (S) 型が  $10^{-3}$  程度出現した。バイオフィルム形成量を比較した結果、S 型は R 型と比較して形成量が著しく低下し、これに関連して S 型は非水溶性グルカン生産性が減少していた。一方、S 型は R 型より生育速度の上昇が確認された。これら S 型の特徴は、20 回以上の継代培養後も維持されたことから、S 型の出現は不可逆的な遺伝的変異が影響しているものと推察された。[泉福英信、成澤直規、河原井武人、米田早織、茂木瑞穂、渡辺治雄]

(3) *S. gordonii* SspB ペプチドの唾液アグロチニンへの結合におけるリジン置換および 2 次構造の解析

*S. gordonii* の菌体表層蛋白質 (SspB) の SspB (390-T400K-402) ペプチドは、唾液成分がコートされたハイドロキシアパタイトに対する *S. mutans* の結合を阻害する。そのペプチ

ドは、*S. mutans* の歯表面に付着する際、唾液由来獲得ペリクルに存在するアグルチニン (gp-340/DMBT1) ペプチド (SRCRP2) と強く結合して、*S. mutans* の結合を阻害する。この結合阻害には、リジン置換による陽電荷表出が影響していると考えられている。このペプチドの部分ペプチドや置換ペプチドを合成して、どの領域が *S. mutans* の結合を阻害するために重要か検討を行った。アミノ酸残基 390 番目のアスパラギン酸 (D) をヒスチジン (H) や (K) に置換したペプチドは抑制できなくなった。402 番目のロイシン (L) のみを削除しても抑制したが、401 と 402 番目のグルタミン酸 (E) と L を削除すると抑制できなくなった。その結果、390-T400K-402 のアミノ酸残基 12 個中の D, K や E の陽電荷と負電荷が *S. mutans* の結合抑制に重要であることが明らかとなった。[泉福英信、奥田健太郎、木庭秀彦、渡辺治雄]

#### (4) *Streptococcus mutans* による非水溶性グルカン非依存的なバイオフィーム形成

*S. mutans* は、ショ糖からの非水溶性グルカン産生を介して強固なバイオフィームを形成する。一方、細菌によるバイオフィーム形成は環境ストレスに応答して増大することが知られている。口腔において迅速、かつ大きく変動する pH は口腔細菌が最も頻繁に受ける環境ストレスである。我々は、初期培地 pH の酸性化によって生じる *S. mutans* の非水溶性グルカン非依存的なバイオフィーム形成現象を見出した。*S. mutans* を中性培地で培養した時と比較し酸性培地において明らかな生育の低下を示したが、酸性培地においても中性培地と同等の顕著なバイオフィームを形成した。また、非水溶性グルカン産生は、酸性

培地において著しく低下した。以上の結果から、酸性培地におけるバイオフィームの一部は、非水溶性グルカン非依存的経路を介して形成されたものと推察された。[河原井武人、泉福英信、成澤直規、渡辺治雄]

#### (5) アッサム茶葉抽出成分による *Streptococcus mutans* バイオフィーム形成阻害に関する研究

う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性細菌 *S. mutans* バイオフィーム形成に対する阻害効果について検討を行った。中国産緑茶及び紅茶葉抽出物に比較し、アッサム茶葉抽出物は非常に強いバイオフィーム形成阻害効果を示した。そこで、アッサム茶葉抽出物中に含まれる活性物質の精製を行った。熱水抽出→分子量分画→逆相シリカゲルクロマトグラフィーにより活性物質の精製を行い、HPLC によりほぼ単一な精製品を得た。得られた精製品はカテキン類似物であると推察されたが、既存のカテキン標準品に比較して強いバイオフィーム形成阻害活性を示した。現在、NMR による活性物質の構造解析を行っている。[河原井武人、米田早織、成澤直規、泉福英信、渡辺治雄]

#### (6) ヒノキチオールによる口腔上皮細胞に対する付着抑制効果

*Candida albicans* は口腔常在菌であり、免疫抑制剤の使用や生体防御機構の低下などの要因で日和見感染菌としても知られている。要介護高齢者の口腔では、*C. albicans* の検出率が高くなり、誤嚥により肺炎になる率が高くなる。檜から抽出されるヒノキチオールは強い抗菌性と広い抗菌スペクトルが明らかにされている。このヒノキチオール 0.25mM を

*C. albicans*に30分間作用すると、静菌活性は示さずに有意な *C. albicans* の上皮細胞への付着抑制活性が観察された。また、この条件では、上皮細胞を傷害することも、口腔常在菌である連鎖球菌に対する静菌活性も示さなかった。それ以上の濃度および作用時間では、*C. albicans* の上皮細胞への付着抑制活性が観察されるものの *C. albicans* および口腔連鎖球菌への静菌活性および上皮細胞の傷害が観察された。使用濃度と時間を考慮すれば、ヒノキチオールは口腔ケア剤として有用であることが示唆された。[泉福英信、中村盛幸、渡辺治雄]

(7) *Candida albicans* の口腔上皮細胞への付着に対する鶏卵抗体 IgY の抑制効果について  
*C. albicans* は口腔内の常在菌であり、また日和見感染菌としても知られており、口腔粘膜の炎症を引き起こす。*Candida* の上皮細胞への付着に関して、食品原料として利用できる鶏卵由来のポリクローナル抗体の抑制効果に関する報告は少ない。そこで本研究は、*C. albicans* を免疫した鶏卵由来抗体 IgY を用いて *Candida* sp. の口腔上皮への付着抑制効果を検討した。その結果、2 mg/ml の IgY は有意に各 *Candida* の上皮細胞への付着を抑制した。また、Germ tube を形成する培養条件に関係なく、2 mg/ml の IgY は有意に *C. albicans* のバイオフィーム形成を抑制した。しかし、その抑制量は、Germ tube を形成しない培養条件の方が、Germ tube を形成する培養条件よりも高かった。[泉福英信、藤林泰介、渡辺治雄]

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

*Porphyromonas gingivalis* などの菌周病関連菌は、最終代謝産物として各菌種特有の短鎖脂肪酸(SCFA)を作り分泌している。そこで菌周病原菌の分泌 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て、口腔常在菌である *Actinomyces naeslundii* が形成するバイオフィームに対する SCFA の効果を検討した。その結果、SCFA の一つである酪酸は 6.25mM、吉草酸は 3.125mM、プロピオン酸は 3.125mM において、*A. naeslundii* X600 のバイオフィーム形成を促進することが明らかになった。また、この濃度では *A. naeslundii* の生育に影響しなかった。一方、培養してから 0, 6, 10 時間後に加えても 16 時間後にバイオフィーム形成の上昇が認められた。しかし、14 時間後に加えてもバイオフィーム形成の上昇は認められなかった。さらに、RT-PCR による解析により、SCFA を加えてから 8 時間後の細胞において heat shock protein の中の GrpE や Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B の発現が上昇していた。これらの heat shock protein とバイオフィーム形成の上昇になんらかの関係があることが推察された。[泉福英信、米田早織、河原井武人、落合邦康(日本大学歯学部)、渡辺治雄]

(9) カテキン含有ジェルを用いた口腔ケアの口腔微生物に対する抗菌効果

要介護高齢者は、自立高齢者に比べ口腔内に *Candida* などの日和見菌が多く検出され、誤嚥により肺に侵入する機会が増えている。その結果、肺炎を発症する可能性が高まっている。緑茶に含まれるカテキンは、抗菌的に働くことが知られ、安全に使用できる薬剤として注目されている。そこで、カテキンが留ま

りやすいジェルを利用し、それを口腔ケアに応用し *Candida* などの病原菌を除菌できるか検討を行った。その結果、カテキンジェルは口腔ケアを夕食後に行った施設において *Candida* と *S. mutans* 菌数の減少効果が認められた。しかし、昼食後に行った施設において有意な減少効果が認められなかった。カテキンジェルの使用時期の違いが、効果の違いに表れた可能性が高い。つまり、夕食後では、その後飲食する機会がないことから、カテキンジェルが希釈されず効果が表れたと考えられた。一方、昼食後では、その後の飲食によりカテキンジェルが希釈され、カテキン効果が減弱したものと考えられた。[泉福英信、河原井武人、田村宗明（日本大学歯学部）、落合邦康（日本大学歯学部）]

(10) *Porphyromonas gingivalis* 表層タンパクパラログヘマグルチニン HagB/C とアルカリフォスファターゼの結合

*Porphyromonas gingivalis* は、アルカリフォスファターゼ産生することが報告されている。このアルカリフォスファターゼが *P. gingivalis* の菌体表層に結合することが明らかになり、どの部位であるか検討することを計画した。*P. gingivalis* のヘマグルチニン HagB, C は赤血球凝集活性を示す細胞表層タンパク質であり、すでに *P. gingivalis* 菌体の内皮細胞付着に関与することが報告されている。また、*P. gingivalis* は付着性の高い繊毛を有しており、生体表層への付着 Biofilm 形成に大きく関わっている。そこで、HagB, C や繊毛の mutant 株を作成し、アルカリフォスファターゼとの結合性を検討した。その結果、HagB, C, B/C mutant はアルカリフォスファターゼと結合できなくなることが明らかとな

った。これは、HagB, C とアルカリフォスファターゼが結合することを示している。このアルカリフォスファターゼが HagB, C に結合することと *P. gingivalis* の病原性発現との関係について今後研究していく予定である。[泉福英信、伊藤龍朗、中尾龍馬、河原井武人、渡邊治雄]

(11) 口腔感染症のモデル動物の作成- 唾液分泌低下における *e2f-1* の役割

ヒトにおいてう蝕が多発するシェーグレン症候群のモデルマウスである Non-obese diabetic (NOD) マウスは、*e2f-1* をノックアウトすると症状が悪化する。この症状の悪化が、自己反応性成熟リンパ球によるものか明らかにするため NOD/SCID. *e2f-1*<sup>-/-</sup> マウスを作製した。このマウスを用い、*e2f-1* のシェーグレン症候群発症への関わりについて検討した。その結果 NOD/SCID. *e2f-1*<sup>-/-</sup> マウスは、唾液腺における HE 染色においてリンパ球の組織浸潤は見られず、しかし唾液分泌低下が有意に認められた。*E2f-1* は、シェーグレン症候群と異なったメカニズムで唾液分泌低下に関与していることが明らかとなった。[泉福英信、猪原光、河原井武人、米田早織、米沢英雄、渡辺治雄]

(12) 口腔における疫学的な調査- 歯科医療における院内感染対策の評価指標の開発と有効性の検証

歯科医療において、SARS、新型インフルエンザ、AIDS、結核などの新興再興感染症の患者が来院した時に対応ができるような院内感染対策を導入するための新たな評価指標を確立することを目的とし検討を行った。平成 19～20 年度の研究において、HIV 感染者や AIDS 患

者数の地域差や都市と地方の違いに院内感染対策への影響がある可能性を踏まえ、HIV 感染者や AIDS 患者数が多い都市 1 県および少ない地方都市 1 県の歯科医師を対象にアンケート調査を行った。その結果、感染者数や地域差に関係なく、年齢の若さおよび経済的な余裕に左右される傾向が見られた。また、平成 19 年度に挙げた院内感染対策の評価基準 11 項目についてその有効性を検証した。その結果、1 年以内にその対策を講じることが可能という回答が 75%以上を占めた院内感染対策の講習会への参加、院内感染対策のスタッフへの教育、防護用メガネ、グローブの使用、問診票の作成が他の院内感染対策に大きく影響を与えることが明らかになった。これらの 4 項目が有効な院内感染対策の評価指標の基本になりうると考えられた。この 4 つの質問項目を軸にして有効な院内感染対策の指標を確立していくことが重要である。[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) ]

### XIII. ペスト菌の研究

(1) ペスト菌 F1 antigen 及び V antigen に対するモノクローナル抗体を用いた間接抗体法によるペスト菌の迅速検出法の開発

昨年に引き続きペスト菌の主要抗原である F1 antigen さらに V antigen に対するモノクローナル抗体を用いた間接抗体法 (Indirect Fluorescent Antibody) を用いてペスト菌を迅速に検出する方法の確立を試みた。ペスト菌をフォルマリン、アセトンもしくはメタノールで死滅・固定処理したサンプルに F1 antigen のモノクローナル抗体 3YP8 は良好に反応した。一方、ペスト菌の類縁菌である *Y. pseudotuberculosis* 及び *Y.*

*enterocolitica* へのクロス反応は認められなかった。一方、V antigen のモノクローナル抗体 Va22 はすべてのペスト菌に対して反応性を示さず、ペスト菌に体するモノクローナル抗体 6033 は 3YP8 と比較するとペスト菌に対する反応性が非常に弱く、共にペスト菌検出用抗体としては適さないことが明らかとなった。以上の結果から市販品であるペスト菌に対するモノクローナル抗体もその反応性には大きな差が認められ、検出系に適用するにはその性能を十分に検証する必要性が明らかになった。また、ペスト菌 F1 antigen に対するモノクローナル抗体 3YP8 を用いることにより検体の処理方法に依存しないでペスト菌を検出できる間接抗体法を確立した。[高橋英之]

### XIV. 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

二次抗結核薬である Ethionamide (TH)、para-Aminosalicylic acid (PAS) に対する ATP 測定による薬剤感受性試験法 (ATP 法) の参照法との一致率が、他の薬剤に比べ TH 81.7%、PAS 86.2%と低かったので、ATP 法で耐性、参照法感性和判定された 10 菌株を用いて、ATP 法使用濃度を、TH は 5-15  $\mu$ g/ml、PAS は 4-12  $\mu$ g/ml で検討したがいずれも耐性と判定された。これらの株の最低阻止濃度 (MIC) を測定したところ TH では、64-2  $\mu$ g/ml、PAS では 64-0.13  $\mu$ g/ml と幅があった。TH と PAS は、静菌的薬剤のため、ATP 法の 5 日判定では、対照との差が出難いので更なる検討が必要である。[山崎利雄; 山本三郎 (日本 BCG 研究所)、岡沢 豊 (極東製薬工業) ]



## 細菌第一部

(2) ストレプトマイシン依存性結核菌(18b株)の確保

ストレプトマイシン(SM)依存性結核菌は、1955年に橋本らにより確立された株であるが、凍結保存していたため、生死とSM依存性を再確認するために、SM100, 200  $\mu$ g/ml 入り Middlebrook 7H9 液体培地と Middlebrook 7H10 寒天培地に接種した。3週間後にSMの入っていない培地には増殖が見られなかったが、SM100, 200  $\mu$ g/ml 培地には旺盛な増殖が見られた。抗結核剤であるSM存在下でのみ増殖できる特殊な菌であることを確認し、18b株を用いた今後の研究のための供試菌株の確保ができた。〔山崎利雄；大原直也(免疫部)〕

### XV. その他

(1) 梅毒血清検査標準化委員会

2008年5月28日より、日本性感染症学会梅毒血清検査標準化委員会(委員長。慈恵医大 本田まりこ、敬称略)の委員に就任し、検討作業、雑務、討議等に参加している。重要な議題として、自動化試薬による表示値と従来の倍数希釈法での表示値との対応関係の検査現場での周知徹底と、ガイドラインでの自動化試薬表示値での基準の明文化等である。ガイドラインとしては2008年12月に暫定的部分改訂となり、一応の結実を見た。(中山周一)

(2) 平成20年度短期研修 新興再興感染症技術研修(国立保健医療科学院)

レジオネラの基礎、感染事例、検査法について、地衛研及び保健所の担当職員20名に対して2時間の講義を行った。11月11日、武蔵村山市。〔倉 文明、前川純子〕

(3) 平成20年度生活衛生関係技術担当者研修会(厚生労働省健康局生活衛生課)

レジオネラ症の感染対策について、都道府県、政令市及び特別区の公衆浴場等生活衛生関係技術担当職員約200名に講義を行った。3月9日、東京。〔倉文明、遠藤卓郎；泉山信司(寄生動物部)〕

(5) 国際協力・研修生受け入れ

ア) ベトナム National Institute of Hygiene and Epidemiology の Phan Le Thanh Huong 準教授、細菌部副部長に対して4日間レジオネラに関する研修を行った。研修内容は、日本の菌の検出状況及び発生動向調査講義、検査法全般講義、浴槽水からの分離講義とデモ、尿中抗原検査デモ、PCR及びPFGEの講義とデモ、コロニー観察・血清群同定実習、DDHキットの紹介であった。3月23日～26日。〔前川純子、常 彬、倉 文明〕

イ) WPROからの経済支援を得、NIHEから4名、ベトナム各地の地方衛生研究所、病院から7名が参加し、ブタレンサ球菌の疫学、病原性に関する発表、討論、ならびに基礎的細菌検査技術、分子生物学的検査方法、分子疫学手法に関する講習をNIHEにて10月6日～10月10日にわたり開催した。(常 彬、和田昭仁)

ウ) ラオス国立検査疫学センターの機能強化；ラオス国立検査疫学センター細菌検査業務部門の機能強化の一環として、WHO フェロー (Dr. Noikaseumy, および Ms. Vongdouangchanh) の2名に対する病原細菌の分子タイピング法の研修を行った(9月29日～11月7日)。(泉谷秀昌、大西 真)

エ) 中南米血液スクリーニング研修会 : JICE  
主催の頭書研修会で梅毒を担当し、中南米か  
らの医療、検査現場担当者等に講義を行った。  
(中山周一)

(7) 検定検査業務

製剤担当室として、沈降 7 価肺炎球菌結合型  
ワクチンの承認前検査の結果報告を行った。  
(和田昭仁、前川純子)

(8) レファレンス業務

地方衛生研究所および病院から送られた劇  
症型/重症レンサ球菌感染症患者分離菌株の  
血清型別、*emm* 遺伝子の塩基配列による型別、  
*spe* 遺伝子の保有状況等の検査及び結果およ  
び流行状況の報告、および、患者分離株の血  
清型別の流行に関する全国集計を行っている。  
それらをもとに、レファレンスセンター会議  
の資料を作成するとともに、その一部をイン  
ターネット上で公開している。(池辺忠義、和  
田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、地衛研 The  
Working Group for  $\beta$ -hemolytic  
Streptococci in Japan)

発表業績

誌上发表

欧文論文

1) Kam KM, Luey CK, Parsons MB, Cooper KL,  
Nair GB, Alam M, Islam MA, Cheung DT,  
Chu YW, Ramamurthy T, Pazhzni GP,  
Bhattacharya SK, Watanabe H, Terajima  
J, Arakawa E, Ratchtrachenchai OA,  
Huttayananont S, Ribot EM,  
Gerner-Smidt P, Swaminathan B; for the  
*Vibrio parahaemolyticus* PulseNet PFGE  
protocol work group. Evaluation and

validation of a PulseNet standardized  
Pulsed-Field Gel Electrophoresis  
protocol for subtyping *Vibrio*  
*parahaemolyticus*: an international  
multicenter collaborative study. J  
Clin Microbiol. 46 (8):2766-2773. 2008

2) Saitoh T, Iyoda S, Yamamoto S, Lu Y,  
Shimuta K, Ohnishi M, Terajima J,  
Watanabe H. Transcription of the *ehx*  
enterohemolysin gene is positively  
regulated by GrlA, a global regulator  
encoded within the locus of enterocyte  
effacement in enterohemorrhagic  
*Escherichia coli*. J Bacteriol.  
190:4822-4830, 2008.

3) Oshima K, Toh H, Ogura Y, Sasamoto H,  
Morita H, Park SH, Ooka T, Iyoda S,  
Taylor TD, Hayashi T, Itoh K, Hattori  
M. Complete genome sequence and  
comparative analysis of the wild-type  
commensal *Escherichia coli* strain SE11  
isolated from a healthy adult. DNA Res.  
15: 375-386, 2008.

4) Une, Y., Sanbe, A., Suzuki, S., Niwa,  
T., Kawakami, K., Kurosawa, R.,  
Izumiya, H., Watanabe, H., and Kato,  
Y.: *Salmonella enterica* serotype  
Typhimurium infection causing  
mortality in Eurasian tree sparrows  
(*Passer montanus*) in Hokkaido. Jpn. J.  
Infect. Dis. 61: 166-167, 2008.

5) Tobin-D'Angelo, M., Smith, A.R.,  
Bulens, S.N., Thomas, S., Hodel, M.,  
Izumiya, H., Arakawa, E., Morita, M.,  
Watanabe, H., Marin, C., Parsons, M.B.,  
Greene, K., Cooperz, K., Haydel, D.,

- Bopp, C., Yu, P., and Mintz, E. : Severe diarrhea caused by cholera toxin-producing *Vibrio cholerae* serogroup O75 infections acquired in the Southeastern United States. Clin. Infect. Dis. 47: 1035-40, 2008.
- 6) Tsuji, A., Hirasawa, K., Arakuma, T., Izumi, K., Kobori, K., Sunohara, K., Yoshizawa, N., Watanabe, H., and Izumiya, H. : A 12-year-old boy with acute gastroenteritis caused by *Edwardsiella tarda* O4:H4. J. Infect. Chemother. 14: 433-435, 2008.
- 7) Asai, T., Harada, K., Kojima, A., Sameshima, T., Takahashi, T., Akiba, M., Nakazawa, M., Izumiya, H., Terajima, J., and Watanabe, H. : Phage type and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from food-producing animals in Japan between 1976-2004. New Microbiol. 31: 555-559, 2008.
- 8) Morita, M., Ohnishi, M., Arakawa, E., Bhuiyan, N.A., Nusrin, S., Alam, M., Siddique, A.K., Qadri, F., Izumiya, H., Nair, G.B., Watanabe, H. Development and validation of a mismatch amplification mutation PCR assay to monitor the dissemination of an emerging variant of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor. Microbiol. Immunol. 52: 314-317. 2008.
- 9) Okura, M., Osawa, R., Tokunaga, A., Morita, M., Arakawa, E., Watanabe, H. Genetic analyses of the putative O and K antigen gene clusters of pandemic *Vibrio parahaemolyticus*. Microbiol. Immunol. 52: 251-264. 2008.
- 10) Zo YG, Chokesajjawatee N, Grim C, Arakawa E, Watanabe H, Colwell RR. Diversity and seasonality of bioluminescent *Vibrio cholerae* populations in Chesapeake Bay. Appl Environ Microbiol. 75(1):135-46 .2008
- 11) Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Ando S, Takano A, Watanabe H, Kawabata H. Isolation of *Rickettsia* sp. from Ixodes granulatus, Japan. Emerging Infectious Diseases 14: 1963-1965, 2008.
- 12) Ato M, Ikebe T, Kawabata H, Takemori T, Watanabe H. Incompetence of neutrophils to invasive group A streptococcus is attributed to induction of plural virulence factors by dysfunction of a regulator. PLoS ONE. 3: e3455. 2008.
- 13) Tanaka, D., Isobe, J., Watahiki, M., Nagai, Y., Katsukawa, C., Kawahara, R., Endoh, M., Okuno, R., Kumagai, N., Matsumoto, M., Morikawa, Y., Ikebe, T., Watanabe, H., and the Working Group for Group A Streptococci in Japan. Genetic features of clinical isolates of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. equisimilis possessing Lancefield's group A antigen. J. Clin. Microbiol. 46: 1526-1529, 2008.
- 14) Inoue K, Maruyama S, Kabeya H, Yamada N, Ohashi N, Sato Y, Yukawa M, Masuzawa T, Kawamori F, Kadosaka T, Takada N, Fujita H, Kawabata H. Prevalence and

- genetic diversity of *Bartonella* species isolated from wild rodents in Japan. Applied Environmental Microbiology. 74: 5086-5092, 2008.
- 15) Amemura-Maekawa J, Kura F, Chang B, Suzuki-Hashimoto A, Ichinose M, Endo T, Watanabe H. Distinct difference of *flaA* genotypes of *Legionella pneumophila* between isolates from bath water and cooling tower water. Microbiol. Immunol. 52: 460-464, 2008.
- 16) Koizumi N, Muto M, Yamamoto S, Baba Y, Kudo M, Tamae Y, Shimomura K, Takatori I, Iwakiri A, Ishikawa K, Soma H, Watanabe H. Investigation of reservoir animals of *Leptospira* in the northern part of Miyazaki Prefecture. Jpn J Infect Dis. 61(6):465-468, 2008
- 17) Kawaguchi L, Sengkeopraseuth B, Tsuyuoka R, Koizumi N, Akashi H, Vongphrachanh P, Watanabe H, Aoyama A. Seroprevalence of leptospirosis and risk factor analysis in flood-prone rural areas in Lao PDR. Am J Trop Med Hyg. 78(6):957-61, 2008
- 18) Nakayama, K., Yamashita, A., Kurokawa, K., Morimoto, T., Ogawa, M., Fukuhara, M., Urakami, H., Ohnishi, M., Uchiyama, I., Ogura, Y., Ooka, T., Oshima, K., Tamura, A., Hattori, M. and Hayashi, T. The whole-genome sequencing of the obligate intracellular bacterium *Orientia tsutsugamushi* revealed massive gene amplification during reductive genome evolution. DNA Research. 15:185-199. 2008
- 19) Yonezawa H, Kuramitsu HK, Nakayama S, Mitobe J, Motegi M, Nakao R, Watanabe H and Senpuku H. Differential expression of the Smb bacteriocin in *Streptococcus mutans* isolates. Antimicrob Agents Chemother. 52: 2742-2749, 2008.
- 20) Kokubu K, Senpuku H, Tada A, Saotome Y and Uematsu H. Impact of routine oral care to on opportunistic pathogens in institutionalized elderly. J Med Dent Sci. 55:7-13, 2008.
- 21) Kamoda Y, Uematsu H, Yoshihara A, Miyazaki H and Senpuku H. Role of activated natural killer cells in oral diseases. Jpn J Infect Dis, 61:469-474, 2008.
- 22) Inaba E, Uematsu H, Nishiyama Y, Watanabe H, and Senpuku H. The role of anti-PAc (361-386) peptide sIgA antibody in professional oral hygiene of the elderly. Gerodontology, Feb 13. 2008. on line.
- 23) Nakao R: Polysaccharides of gram-negative periodontopathic bacteria, p. 130- p. 142, Chapter 7, Bacterial Polysaccharides, Edited by Matthias Ullrich, Caister Academic Press.
- 24) Senpuku H, Effects of professional oral care on oral infection in elderly, Dental Tribune Asia Pacific. 6: 21-24, 2008.
- 25) Narisawa, N., Furukawa, S., Kawarai, T., Oishi, K., Kanda, S., Kimijima, K.,

- Negishi, S., Ogihara, H., Yamasaki, M.: Solid portions of skim milk decrease the inactivation ratio of *Escherichia coli* K-12 by high hydrostatic pressure treatment. *Int. J. Food Microbiol.* 10: 103-107, 2008.
- 26) Arai, S., Kawarai, T., Arai, R., Yoshida, M., Furukawa, S., Ogihara, H., Yamasaki, M.: Cessation of cytokinesis in *Schizosaccharomyces pombe* during growth after release from high hydrostatic pressure treatment. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72: 88-93, 2008.
- 27) Hideyuki Takahashi, Kwang Sik Kim and Haruo Watanabe: Differential in vitro infectious abilities of two common Japan-specific sequence type (ST) clones of disease-associated ST-2032 and carrier-associated ST-2046 *Neisseria meningitidis* strains in human endothelial and epithelial cell lines. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 52:36-46. 2008.
- 28) Takahashi, H., R.W. Carlson, A. Muszynski, B. Choudhury, D.S. Stephens, K.S. Kim and H. Watanabe: Modification of lipooligosaccharide (LOS) with phosphoethanolamine by LptA in *Neisseria meningitidis* enhances meningococcal adhesion to human endothelial and epithelial cells. *Infect. Immun.* 76(12):5777-5789. 2008
- 29) Nakao, R., Tashiro Y, Nomura N, Kosono S, Ochiai K, Yonezawa H, Watanabe H and Senpuku H. Glycosylation of the OMP85 homolog of *Porphyromonas gingivalis* and its involvement in biofilm formation. *BBRC.* 365: 784-789. 2008
- 30) Pei, Y., Terajima, J., Saito, Y., Suzuki, R., Takai, N., Izumiya, H., Ishihara, T., Ohnishi, M., Miura, M., Iyoda, S., Mitobe, J., Binyou, W., and H. Watanabe. Molecular characterization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 isolates dispersed across Japan by pulsed-field gel electrophoresis and multiple-locus variable number tandem repeat analysis. *Jpn. J. Infect. Dis.* 61: 58-64. 2008
- 31) Tashiro, Y., Nomura, N., Nakao, R., Senpuku, H., Kariyama, R., Kumon, H., Kosono, S, Watanabe, H., Nakajima, T., and Uchiyama, H. Opr86 is essential for viability and is a potential candidate for a protective antigen against biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 190:3969-3978. 2008.
- 32) Kawaguchi, L., Bounthanom Sengkeopraseuth, Reiko Tsuyuoka, Nobuo Koizumi, Hidechika Akashi, Phengta Vongphrachanh, Haruo Watanabe, and Atsuko Aoyama. Seroprevalence of leptospirosis and risk factor analysis in flood-prone rural areas in Lao PDR. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 78: 957-961. 2008
- 33) Horino, T., Kato, T., Sata, F., Sakamoto, M., Nakazawa, Y., Ysoshida, M., Onodera, S., Kohda, M., Ishiji, T.,

- Takahashi, H., and Watanabe, H. Meningococemia without meningitis in Japan. Intern Medicine. 47:1543-1547. 2008.
- 34) Kobayashi, S., Wada, A., Shibasaki, S., Annaka, M., Higuchi, H., Adachi, K., Mori, N., Ishikawa, T., Masuda, Y., Watanabe, H., Yamamoto, N., Yamaoka, S., and Inamatsu, T. Spread of a large plasmid carrying the *cpe* gene and the *tra* locus in *Clostridium perfringens* isolates from nosocomial outbreaks and sporadic cases of gastroenteritis in a geriatric hospital. Epidemiol. Infect. 137: 108-113. 2008
- 35) Mitobe, J., Tomoko Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe. Involvement of RNA binding protein Hfq in the post-transcriptional regulation of *invE* gene expression of *Shigella sonnei*. J. Biol. Chem. 283:5738-5747. 2008.
- 36) Koizumi N, Watanabe H. Leptospirosis. In: Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases (2009)
- 37) Kobayashi H, Kanazaki M, Ogawa T, Iyoda S, Hara-Kudo Y. Changing prevalence of O-serogroups and antimicrobial susceptibility among STEC strains isolated from healthy dairy cows over a decade in Japan between 1998 and 2007. J Vet Med Sci. 71: 363-366, 2009.
- 38) Yamamoto S., Izumiya H., Morita M., Arakawa E., Watanabe H. Application of  $\lambda$  Red recombination system to *Vibrio cholerae* genetics: Simple methods for inactivation and modification of chromosomal genes. Gene 438:57-64, 2009.
- 39) Chang B, Sugiyama K, Taguri T, Amemura-Maekawa J, Kura F, and Watanabe H. Specific detection of viable *Legionella* cells by combined use of photoactivated ethidium monoazide and PCR/real-time PCR. Appl. Environ. Microbiol. 75:147-153, 2009.
- 40) Chang B, Amemura-Maekawa J, and Watanabe, H. An improved protocol for the preparation and restriction enzyme digestion of PFGE agarose plugs for the analysis of *Legionella* isolates. JJID. 62:54-56, 2009.
- 41) Jiro Mitobe, Tomoko Morita-Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe. Involvement of RNA binding protein Hfq in the osmotic-response regulation of *invE* gene expression in *Shigella sonnei*. BMC microbiol. vol.9 110. 2009
- 42) Chiou, C-S., Watanabe, H., Wang, Y-W., Wang, W-L., Terajima, J., Thong, K-L., Cam, P-D, and Tung, S-K. Utility of multilocus variable-number repeat analysis as a molecular tool for phylogenetic study of *Shigella sonnei*. J. Clin. Microbiol. 47: 1149-1154. 2009.

#### 和文発表

- 1) 荒川英二, 甲斐明美. 腸炎ビブリオの標準検査法作成へ向けての検討. p. 69-75 月

## 細菌第一部

- 刊フードケミカル 24巻7号. 2008
- 2) 伊豫田淳:平成20年黒屋奨学賞受賞論文「腸管出血性大腸菌における病原性遺伝子の協調的発現制御機構」、日本細菌学雑誌、63, 407-415, 2008.
  - 3) 伊豫田淳、寺嶋淳、渡邊治雄:腸管出血性大腸菌感染症の現状と細菌学的特徴、化学療法の領域、24: 736-741, 2008.
  - 4) 石原(森田)朋子. 腸管病原菌のIII型分泌装置と細胞附着・侵入のメカニズム. 日本乳酸菌学会誌 19: 37-45, 2008.
  - 5) 小泉信夫, 渡辺治雄. 抗レプトスピラ抗体. 臨床検査項辞典 663, 2008.
  - 6) 常彬、前川純子、渡辺治雄。レジオネラを解析するパルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)法の改良。病原微生物情報、29, 333-334, 2008.
  - 7) 木股裕子、南出正之、貫名正文、常彬、前川純子。2008年1月、神戸市における公衆浴場でのレジオネラ症集団発生事例。病原微生物情報、29, 329-330, 2008.
  - 8) 烏谷竜哉, 黒木俊郎, 大谷勝実, 山口誠一, 佐々木美江, 齊藤志保子, 船渡川圭次, 藤田雅弘, 杉山寛治, 中嶋洋, 村上光一, 田栗利紹, 藏元強, 倉 文明, 八木田健司, 泉山信司, 前川純子, 山崎利雄, 縣邦雄, 井上博雄: 掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌汚染とリスク因子、感染症学雑誌, 83(1):36-43, 2009.
  - 9) 遠藤卓郎、縣 邦雄、倉 文明、古畑勝則、泉山信司: 第5章レジオネラ属菌の検査法、レジオネラ症防止指針第3版、財団法人ビル管理教育センター、28-36、東京、2009年3月.
  - 10) 遠藤卓郎、縣 邦雄、倉 文明、古畑勝則、泉山信司: 第6章レジオネラ属菌消毒の原則、レジオネラ症防止指針第3版、財団法人ビル管理教育センター、37-40、東京、2009年3月.
  - 11) 遠藤卓郎、縣 邦雄、倉 文明、古畑勝則、泉山信司: 付録1レジオネラ属菌の汚染量と感染事例について、レジオネラ症防止指針第3版、財団法人ビル管理教育センター、105-106、東京、2009年3月.
  - 12) 遠藤卓郎、縣 邦雄、倉 文明、古畑勝則、泉山信司: 付録2レジオネラ属菌検査法について、レジオネラ症防止指針第3版、財団法人ビル管理教育センター、107-115、東京、2009年3月.
  - 13) 遠藤卓郎、縣 邦雄、倉 文明、古畑勝則、泉山信司: 付録6掛け流し式温泉の衛生管理について、レジオネラ症防止指針第3版、財団法人ビル管理教育センター、126-128、東京、2009年3月.
  - 14) 藤丸武、荒川正嘉、石崎勉、泉福英信、ハイドロキシアパタイトの口腔疾患関連微生物に対する吸着能、Fragrance Journal、6: 19-25, 2008.
  - 15) 泉福英信、熊田昌幸、田上順次、細菌間相互作用における乳酸菌の口腔バイオフィルム形成抑制効果、日本歯科評論. 789: 39-40. 2008
  - 16) 河原井武人、米田早織、佐伯洋二、落合邦康、泉福英信. *Actinomyces naeslundii*のバイオフィルム形成に及ぼす短鎖脂肪酸の影響. Bacterial Adherence and Biofilm, 22: 87-93, 2008.
  - 17) 寺嶋 淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原明子、渡辺治雄; 分子疫学的手法に基づいた食中毒の監視体制: パルスネットについて。第26回獣疫学会学

## 細菌第一部

- 術集会教育講演。89-92, 2008
- 18) 寺嶋 淳。検査質問箱 QA 無症状の病原性大腸菌が検出された場合。検査と技術、36, 862-864, 2008
- 19) 寺嶋 淳。腸管出血性大腸菌による食中毒。化学療法の領域、24, 1017-1024, 2008
- 20) 泉谷秀昌：サルモネラ食中毒。化学療法の領域、第 24 巻第 7 号、1009-1015、2008 年 7 月。
- 21) 泉谷秀昌：チフス菌・パラチフス A 菌。バイオセーフティの事典。バイオメディカルサイエンス研究会、2008 年 12 月。
- 22) 川端寛樹。野兎病菌。バイオセーフティの辞典-病原微生物とハザード対策の実際-。NPO 法人バイオメディカルサイエンス研究会編集。みみずく舎/医学評論社。pp181-182, 2008.
- 23) 川端寛樹。ボレリア・ブルクドルフェリ抗体。Medical Technology 別冊「新・臨床検査項辞典」医歯薬出版。pp664-665, 2008.
- 24) 川端寛樹, 高野愛, 渡邊治雄。ライム病。「ズーノーシスハンドブック」。メディカルサイエンス社。2008.
- 25) 川端寛樹, 高野愛, 渡邊治雄。回帰熱。「ズーノーシスハンドブック」。メディカルサイエンス社。2008.
- 26) 高橋英之・渡邊治雄、新領域別症候群シリーズ No. 8、呼吸器症候群 (第 2 版)、エルシニア肺炎-肺ペストとペスト肺炎、258-260、2008.
- 27) 高橋英之・今岡浩一、ズーノーシスハンドブック、ペスト、159-161、2008
- 28) 池辺忠義、阿戸学、小林和夫、渡邊治雄。劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序-菌の特徴と免疫回避機構-。BIO Clinica 北隆館 23 (14): 1321-1326, 2008.
- 29) 村上光一, 長野英俊, 野田多美枝, 濱崎光宏, 堀川和美, 石黒靖尚, 乙藤武志, 迎田惠之, 泉山信司, 八木田健司, 遠藤卓郎: 浴場施設でのレジオネラ属菌と宿主アメーバの関連, およびレジオネラ属菌を塩素消毒により制御する場合の問題点、防菌防衛, 36(11): 749-756, 2008.
- 30) 前川純子, 倉 文明, 金子紀子, 渡辺祐子, 磯部順子, 貫名正文, 中嶋 洋, 河野喜美子, 多田有希:レジオネラ臨床分離株の収集と型別から得られた知見、病原微生物検出情報 29(12):332-333, 2008.

### 学会発表

### 欧文発表

- 1) Jiro Mitobe, Tomoko Morita-Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe. Involvement of RNA binding protein *hfq* in the osmotic response regulation of *invE* gene expression in *Shigella sonnei*. The 38th US-Japan Medical conference Cholera board. Fukuoka, Japan. 2008 Dec. 16-19,
- 2) Jun Terajima: Molecular epidemiological analysis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 isolates in Japan. National Agriculture and Food Research Organization International Symposium on Food Safety 2008, Tsukuba, Ibaragi. Oct. 2008,
- 3) H. Izumiya, J. Terajima, and Haruo Watanabe: Fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica* serovar



- Typhimurium in Japan. 48th Annual ICAAC/ISDA 46th Annual Meeting, Washington, DC, USA. Oct. 2008,
- 4) Kura F, Amemura-Maekawa J, Yamazaki T, Endo T, Watanabe H, Morimoto Y, Iwabuchi K, Kumada H, Fujita M, Kuroki T, Sugiyama K, Niikawa A, Hara N, Saishu N, Ogata K, Agata K: Surveillance of *Legionella* in hot springs with physicochemical and microbiological water quality parameters. 23<sup>rd</sup> Annual Meeting of the European Working Group for Legionella infections. Madrid. May 2008.
  - 5) Senpuku H, Yoneda S and Watanabe H, A quick diagnosis system for salivary antibody to *S. mutans* and potential caries risk, 108th ASM General meeting, Boston, Jun, 2008.
  - 6) Nakamura M, Fujibayashi T, Tominaga A, Kawarai T, Satoh N, Yamazaki T, and Senpuku H, Preventive effects of hinokitiol against *C. albicans* adherence to epithelial Cells, 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Toronto, Canada. July. 2008.
  - 7) Takeuchi H, Kawauchi T, Okuda K, Tanaka K, Kawamura K, Nomura Y, Senpuku H, and Hanada N, Physicochemical treatment against periodontopathic bacteria using 3DS and azithromycin, 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Toronto, Canada. July. 2008.
  - 8) Motegi M, Yonezawa H, Nakao R, Yoneda S, Takagi Y, and Senpuku H. 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research., Toronto, Canada. July. 2008.
  - 9) Senpuku H, Koba H, and Okuda K, Characterizations of peptide binding to SRCRP2 and inhibiting streptococcal adherence, 87th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Toronto, Canada. July. 2008.
  - 10) Kawabata H, Takano A, Watanabe H. Lyme disease and other tick-borne infectious diseases. 4th International Infection Control Conference of Theodore Bilharz Research Institute (TBRI). Egypt, Nov. 2008.
  - 11) Takano A, Kawabata H, Watanabe H, Shino T, Goka K, Une Y, Fujita H. The reptile associated ticks and *Borrelia* from imported Reptiles. International Symposium on Mite & Whitefly. Korea, Oct. 2008.
  - 12) Tabara K, Fujita H, Yano Y, Arai S, Kawabata H, Takada N: Survey of acari-borne emerging/reemerging rickettsiae in Shimane Prefecture facing the Asian continent, with reference to the geopathological significance in countries around East China Sea. International Conference on Rickettsiae and Rickettsial diseases. France, May, 2008.
  - 13) Morita, M., Izumiya, H., Ohnishi, M.,

- Arakawa, E., Yamamoto, S., Nair, G. B., Alam, M., Matsushita, S., Yokoyama, K., Kai, A., Seto, K., Nishimura, K., Watanabe, H.: Easy method for detection of the biotype specific cholera toxin B subunit of *Vibrio cholerae* O1 and dissemination of the altered El Tor strains. 43rd US-Japan Cholera and Other Bacterial Infections Joint Panel Meeting, Fukuoka. Nov. 2008.
- 14) Tokunaga, A., Yamaguchi, H., Osawa, R., Morita, M., Arakawa, E., Izumiya, H., Watanabe, H., Novel PCR-based DNA fingerprinting, using genomic variability between repetitive sequences of *Vibrio cholerae* O1 El Tor and O139 isolates. 43rd US-Japan Cholera and Other Bacterial Infections Joint Panel Meeting, Fukuoka. Nov. 2008.
- 15) Junko Amemura-Maekawa, Fumiaki Kura, Bin Chang, and Haruo Watanabe, Jürgen H. Helbig. Sequence based typing and monoclonal antibody typing of *Legionella pneumophila* serogroup 1 clinical and environmental isolates in Japan. 23rd Annual Meeting of the European Working Group for Legionella infections. Madrid, Spain. May 2008.
- 16) Miyo Murai, Hideaki Moriyama, Junko Amemura-Maekawa and Haruo Watanabe. The sequence divergence of the A region of fibronectin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* among isolated strains from patients and healthy nasal carriers. The 13th International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections (ISSSI), Cairns, Australia. September 2008.
- 17) Ikebe, T., Ato, M., Kobayashi, K., Watanabe, H. Impairment of global regulatory network of *Streptococcus pyogenes* virulence genes provokes neutrophil incompetence and subsequent streptococcal toxic shock-like syndrome. Forum of the network of research centers on infectious diseases. Hanoi, 2008.
- 18) Morita M and Yamamoto S. Research activities of *Vibrio cholerae* at NIID. 1st Training Mission in Cholera: Collaborative Research and Case Management, Kolkata, India. Sep 2008.
- 19) Tomoko Ishihara, Jun Terajima, Hidemasa Izumiya, Haruo Watanabe. Analysis on the inhibition mechanism of cell destruction by *Shigella* infection. Forum of the Network of Research Centers on Infectious Diseases. Hanoi, Vietnam. October 2008.
- 20) Chang B, Honda N, Yoshida S, Amemura-Maekawa J, Kura F, and Watanabe H. Discrimination of viable and dead *Legionella* cells by a combined use of photoactivated ethidium monoazide and PCR/real-time PCR. XII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Istanbul, Turkey, 2008.

和文学会

- 1) 本田尚子、伊豫田淳、山本 章治、渡邊治雄：EHEC における 3 型蛋白質分泌システムのマスター制御遺伝子 pch の LysR 型転写制御因子 LrhA による発現制御機構。第 91 回日本細菌学会関東支部総会、2008 年 10 月、千葉
- 2) 本田尚子、伊豫田淳、山本 章治、寺嶋 淳、渡邊治雄：腸管出血性大腸菌における LEE 遺伝子群のマスターレギュレーター Pch の LrhA による発現制御。第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋
- 3) 伊豫田淳、本田尚子、山本 章治、寺嶋 淳、渡邊治雄：腸管出血性大腸菌における LEE とエンテロヘモリシンの多重発現制御機構、第 82 回日本細菌学会総会・ワークショップ・「大腸菌の病原性」、2009 年 3 月、名古屋
- 4) 中山周一、日本性感染症学会 第 21 回学術大会 シンポジウム 2 「梅毒血清反応の問題点」；「自動測定法の検査方法について」（2008 年 12 月、東京）
- 5) 荒川英二、宮原美知子 PCR による食品からの腸炎ビブリオ迅速検査法の検討、第 42 回腸炎ビブリオシンポジウム、2008 年、富山
- 6) 荒川英二、森田昌知、山本章治、泉谷秀昌、渡邊治雄 コレラ様下痢症から分離される *Vibrio cholerae* non-01/non-0139 の血清学的、遺伝学的解析、第 42 回腸炎ビブリオシンポジウム、2008 年、富山
- 7) 山本章治、泉谷秀昌、森田昌知、荒川英二、渡邊治雄：コレラ菌の遺伝子を迅速に改変する手法の確立、第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋
- 8) 徳永暁彦、大澤朗、森田昌知、荒川英二、渡邊治雄 *Vibrio cholerae* の可変 DNA 領域を標的とした新規 DNA フィンガープリンティング法の開発、第 42 回腸炎ビブリオシンポジウム、2008 年、富山
- 9) 山崎貢、青木日出美、松本昌門、平松礼司、遠山明人、池川敬、森下高行、長谷川敏博、八柳潤、加藤美和子、尾畑浩魅、本庄峰夫、岩出義人、福島博、緒方喜久代、犬塚和久、熊谷則道、一戸邦彦、荒川英二、伊藤健一郎、皆川洋子 *Vibrio parahaemolyticus* 耐熱性溶血毒類似毒素 (*trh*) 遺伝子の亜型分布について、第 42 回腸炎ビブリオシンポジウム、2008 年、富山
- 10) 志牟田 健、伊豫田 淳、後藤 直正、渡辺 治雄、大西 真、*Serratia marcescens* ホスホリパーゼ A Ph1A の解析。第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2009、3 月
- 11) 石原朋子、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡邊治雄：赤痢菌による感染上皮細胞の破壊抑制機構についての解析、第 82 回日本細菌学会総会、2008 年 3 月、名古屋
- 12) 近藤 誠、伊藤 芳幸、磯田 憲一、山中 恵一、黒川 一郎、水谷 仁、山崎利雄、クラリスロマイシンが奏功した非定型抗酸菌症の一例、第 107 回日本皮膚科学会総会、2008、4 月、京都
- 13) 山崎利雄、山本三郎、結核菌の ATP 測定による迅速薬剤感受性試験法 二次抗結核薬についての検討、第 83 回日本結核病学会総会、2008、4 月、東京
- 14) 山崎利雄、山本三郎、ATP 法による二次抗結核薬を用いた迅速薬剤感受性試験法の検討、第 78 回実験結核研究会、2008、

- 4月、東京
- 15) 山崎利雄、生物発光法を用いた結核菌の二次抗結核薬にたいする迅速薬剤感受性試験法の検討、第55回日本臨床検査医学会総会、2008、11月、名古屋
  - 16) 小泉信夫, Sharon Y. A. M. Villanueva, 大西真, 柳原保武, 吉田真一, 渡辺治雄. フィリピンの動物から分離・検出されたレプトスピラの解析. 第82回日本細菌学会総会, 2009年3月.
  - 17) Sharon Y. A. M. Villanueva, 江副浩和, 柳原保武, 小泉信夫, 増澤俊幸, 吉田真一. Human and Animal Studies on Leptospirosis in the Philippines. 第82回日本細菌学会総会, 2009年3月.
  - 18) 増澤俊幸, 岡本能弘, 福井貴史, 小泉信夫, Sharon Y. A. M. Villanueva, 柳原保武, 吉田真一. DNA ジャイレース B サブユニット遺伝子 gyrB によるレプトスピラ分類とその応用. 第82回日本細菌学会総会, 2009年3月.
  - 19) 小泉信夫, 武藤麻紀, Sharon Y. A. M. Villanueva, 大西真, 柳原保武, 吉田真一, 渡辺治雄. フィリピンの動物から分離・検出されたレプトスピラの解析. 第46回レプトスピラシンポジウム, 2009年3月.
  - 20) Sharon Y. A. M. Villanueva, Chakraborty A, Ezo H, Koizumi N, Yanagihara Y, Yoshida Y. ligA DNA vaccine trial on Golden Syrian hamsters. 第46回レプトスピラシンポジウム, 2009年3月.
  - 21) 増澤俊幸, 川谷慶太, 川島遥, 岡本能弘, 福井貴史, 小泉信夫, Sharon Y. A. M. Villanueva, 柳原保武, 吉田真一. DNA ジャイレース B シークエンス解析による血清型の推定 フィリピン分離株への応用. 第46回レプトスピラシンポジウム, 2009年3月.
  - 22) 小泉信夫, 武藤麻紀, 山本正悟, 下村高司, 相馬宏敏, 渡辺治雄. 宮崎県におけるイヌのレプトスピラ症の発生状況及び分離株の性状解析. 人と動物の共通感染症感染症研究会, 2008年11月
  - 23) 鈴木智之, 高橋亮太, 塩山陽子, 山本正悟, 岩切章, 三浦美穂, 石川幸治, 相馬宏敏, 小泉信夫, 武藤麻紀, 中島一敏, 岡部信彦. 宮崎県におけるレプトスピラ症の実地疫学調査. 人と動物の共通感染症感染症研究会, 東京, 2008年11月.
  - 24) 塩山陽子, 山本正悟, 岩切章, 三浦美穂, 佐藤弘, 中島一敏, 大山卓昭, 谷口清洲, 岡部信彦, 鈴木智之, 高橋亮太, 小泉信夫, 武藤麻紀, 渡辺治雄. 宮崎県におけるレプトスピラ症の発生とその対応. 衛生微生物技術協議会第29回研究会, 2008年6月.
  - 25) 塩山陽子, 山本正悟, 岩切章, 佐藤弘, 中島一敏, 大山卓昭, 谷口清洲, 岡部信彦, 鈴木智之, 高橋亮太, 小泉信夫. 宮崎県におけるレプトスピラ症の発生とその対応. 第82回日本感染症学会総会, 2008年4月.
  - 26) 坂本光男, 加藤哲朗, 佐藤文哉, 堀野哲也, 中澤靖, 吉田正樹, 小野寺昭一, 河野緑, 保科定頼, 小泉信夫, 渡辺治雄. 当院で経験したレプトスピラ症の3例. 第82回日本感染症学会総会, 2008年4月.
  - 27) 服部耕己, 磯崎泰介, 櫻井隆之, 大曲貴夫, 小泉信夫. 急激な経過をたどったレプトスピラ症の一例. 第82回日本感染症

## 細菌第一部

- 学会総会, 2008年4月.
- 28) 常彬、前川純子、渡辺治雄. レジオネラ解析用パルスフィールド電気泳動(PFGE)法の改良. 第82回日本細菌学会総会、名古屋、2009年3月.
- 29) 三戸部治郎、石浜明、渡辺治雄. 赤痢菌の Type III secretion system の post-transcriptional な発現制御に関わる新規 RNA 結合蛋白. 平成21年3月第82回日本細菌学会総会、名古屋国際会議場. 2009
- 30) 大西 真, 志牟田健, 渡辺治雄. 腸管外病原性大腸菌の系統および性状解析. 第81回日本細菌学会. 2008
- 31) 渡辺祐子、高橋智恵子、大屋日登美、黒木俊郎、岡崎則男、大西 真. 淋菌の薬剤感受性の動向とセフィキシム耐性について. 第21回性感染症学会. 2009
- 32) 大西 真, 志牟田健, 渡辺祐子. 淋菌の MLST 型別を用いた系統解析. 第21回性感染症学会. 2009
- 33) 倉 文明、前川純子、鈴木敦子、市瀬正之、遠藤卓郎、渡辺治雄: *Legionella anisa* の同定法の比較検討. 第82回日本感染症学会総会、2008年4月、松江.
- 34) 黒木俊郎、伊東久美子、石原ともえ、倉 文明: 入浴施設に関連したレジオネラ症発生時の浴槽水の菌濃度調査. 第82回日本感染症学会総会、2008年4月、松江.
- 35) 神田 隆、高橋奈緒美、杉山寛治、泉山信司、倉 文明、遠藤卓郎: 浴槽水を用いた核酸検出法と培養法の比較検討. 防菌防黴学会第35回年次大会、2008年9月、浜松.
- 36) 倉 文明、泉山信司、縣 邦雄、遠藤卓郎: クロラミン B によるレジオネラ属菌の消毒. 防菌防黴学会第35回年次大会、2008年9月、浜松.
- 37) 遠藤卓郎、泉山信司、倉 文明: クロラミン B によるレジオネラ属菌と *Naegleria* 属アメーバの消毒. 環境技術学会第8回研究発表大会、2008年9月、堺.
- 38) 泉山信司、倉 文明、縣 邦雄、八木田健司、遠藤卓郎、クロラミン B による *Naegleria* アメーバの消毒. 第68回日本寄生虫学会東日本支部大会、2008年10月、浜松.
- 39) 倉 文明: レジオネラの検査法. 国立保健医療科学院平成20年度短期研修新興再興感染症技術研修、2008年11月、武蔵村山.
- 40) 倉 文明: レジオネラの管理基準、分子疫学、検査法および感染事例. 神奈川県衛生研究所平成20年度第3回公衆衛生専門技術研修、2008年12月、茅ヶ崎.
- 41) 倉 文明: 最近のレジオネラ属菌検査法と分子疫学への応用(前半). 平成20年度地域保健総合推進事業、「科学的根拠に基づく政策決定を支援するための地方衛生研究所の試験研究機能の強化及び情報ネットワークの構築」に関する地方衛生研究所間等甲信静ブロック専門家会議、2009年1月、静岡.
- 42) 倉 文明: 入浴施設の迅速・簡便な衛生管理のための検査法の最前線. 厚生労働省健康局生活衛生課平成20年度生活衛生関係技術担当者研修会、第2部レジオネラ症対策等について、2009年3月、東京.
- 43) 倉 文明: 浴槽水環境におけるレジオネラの増殖リスクおよび必要とされる迅速

## 細菌第一部

- 検査、ワークショップ環境改変と感染症、第 82 回日本細菌学会総会、招請講演、2009 年 3 月、名古屋。
- 44) 泉福英信、奥田健太郎、*S. mutans* の歯表面付着阻害ペプチドの特徴、第 50 回歯科基礎医学会、東京、2008 年 9 月 24 日
- 45) 猪原光、河原井武人、米田早織、植松宏、泉福英信、1 型糖尿病およびシェーグレン症候群発症における e2f-1 の役割、第 50 回歯科基礎医学会、東京、2008 年 9 月 24 日
- 46) 米田早織、河原井武人、佐伯洋二、津金貴則、泉福英信、落合邦康、歯周病原菌代謝産物・短鎖脂肪酸の *Actinomyces naeslundii* バイオフィーム形成におよぼす影響、第 50 回歯科基礎医学会サテライトシンポジウム、東京、2008 年 9 月 23 日
- 47) 泉福英信、歯科診療における院内感染対策の導入に関するアンケート調査の分析、第 57 回日本口腔衛生学会・総会、大宮、2008 年 10 月 4 日
- 48) 泉福英信、池辺忠義、河原井武人、渡辺治雄、におけるバイオフィーム形成遺伝子の検討、第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2008 年 3 月 12 日～3 月 14 日
- 49) 成澤直規、河原井武人、米田早織、渡辺治雄、泉福英信、う蝕原性 *Streptococcus mutans* 多様性出現機構の解明、第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2008 年 3 月 12 日～3 月 14 日
- 50) 河原井武人、成澤直規、米田早織、津金貴則、佐伯洋二、落合邦康、渡辺治雄、泉福英信、*Streptococcus mutans* による非水溶性グルカン非依存的なバイオフィーム形成、第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2008 年 3 月 12 日～3 月 14 日
- 51) 寺嶋 淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原朋子、渡邊治雄；最近の腸管出血性大腸菌感染症の動向について。第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋
- 52) 大岡唯祐、小椋義俊、井口 純、Md Asadulghani、中山恵介、小林秀樹、寺嶋淳、渡辺治雄、林 哲也；腸管出血性大腸菌 (EHEC) 及び腸管病原性大腸菌 (EPEC) における LEE 領域の多様性解析。第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋
- 53) 寺嶋 淳；近年の腸管出血性大腸菌感染症の発生状況。日本獣医公衆衛生学会シンポジウム「腸管出血性大腸菌による感染症の実態と対策」平成 20 年度日本獣医師会学会年次大会 2009 年 1 月、盛岡
- 54) 寺嶋 淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原明子、渡辺治雄；分子疫学的手法に基づいた食中毒の監視体制：パルスネットについて 第 26 回獣疫学会学術集会、2008 年 11 月、東京
- 55) 泉谷秀昌、多田有希、伊藤健一郎、寺嶋淳、渡辺治雄；渡航者由来赤痢菌の遺伝子型別。第 82 回日本感染症学会総会、松江市、2008 年 4 月。
- 56) 泉谷秀昌；サルモネラ。薬剤耐性菌解析機能強化研修会、東京都、2008 年 6 月。
- 57) 木股裕子、郡司明博、森田友美、加藤愛、若山裕晃、吉田信一郎、藤村彩子、古賀寛二、財前孝亮、泉谷秀昌、仲西寿男；*Salmonella Enteritidis* の過去と現在 (2)。第 29 回日本食品微生物学会学術総会、広島市、2008 年 11 月。
- 58) 深澤鈴子、田嶋智美、泉谷秀昌；血液培

## 細菌第一部

- 養から *Helicobacter trogontum* を検出した 1 症例。第 20 回日本臨床微生物学会総会、仙台市、2009 年 1 月。
- 59) 泉谷秀昌：国内発生の赤痢事例から分離された赤痢菌の解析。平成 20 年度希少感染症診断技術研修会、東京都、2009 年 2 月。
- 60) 泉谷秀昌：細菌検査の現状と問題点について。精度管理：外国の現状。第 48 回感染性腸炎研究会総会、東京都、2009 年 3 月。
- 61) 泉谷秀昌：我が国におけるサルモネラ感染症の動向。第 82 回日本細菌学会総会、名古屋市、2009 年 3 月。
- 62) 高野 愛，川端寛樹，渡邊治雄，藤田博己，椎野貞一郎，五箇公一，宇根有美：爬虫類から見出された新規ボレリア：ボレリア-媒介節足動物間の coevolution に関する新見解。第 53 回日本応用動物昆虫学会大会，2009 年 3 月。北海道。
- 63) 高野 愛，藤田博己，安藤秀二，川端寛樹，渡邊治雄。野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討。第 82 回日本細菌学会総会。2009 年 3 月。愛知。
- 64) 大橋典男，鳥日図，高蛙，川森文彦，高野愛，川端寛樹，安藤秀二，岸本壽男。国内初の新興感染症「アナプラズマ症」について。第 82 回日本細菌学会総会。2009 年 3 月。愛知。
- 65) 井上 快，壁谷英則，川端寛樹，宇根有美，吉川泰弘，丸山総一。小型哺乳類を自然宿主とする病原性 *Bartonella* 属菌の生態に関する研究。第 147 回日本獣医学会学術集会。2009 年 3 月。栃木。
- 66) 岡田玲奈，木花いづみ，武藤麻紀，高野愛，川端寛樹，渡邊治雄。ライム病の一例。第 823 回日本皮膚科学会東京地方会。2009 年 1 月。神奈川。
- 67) 川端寛樹，高野 愛，渡邊治雄。実験室内に病原体の姿を探る。第 63 回日本衛生動物学会西日本支部大会（教育講演）。2008 年 11 月。神戸。
- 68) 大橋典男，高蛙，鳥日図，川森文彦，千屋誠造，安藤秀二，川端寛樹，岸本寿男。新興感染症「アナプラズマ症」患者の発見。第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会。2008 年 11 月。岐阜。
- 69) 安藤秀二，坂田明子，宇根有美，五箇公一，藤田博己，花岡 希，高野 愛，川端寛樹，岸本寿男。輸入爬虫類が病原体を持ち込むリスクに関する考察。第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会。2008 年 11 月。岐阜。
- 70) 岸本寿男，安藤秀二，猪熊壽，岩崎博道，大橋典男，岡部信彦，川端寛樹，倉田毅，高田伸弘，堤寛，田原研司，藤田博己，古屋由美子，山本正吾。リケッチア感染症の早期警鐘システム構築-国内実態調査及び早期診断体制の確立に向けた現状と課題。第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会。2008 年 11 月。岐阜。
- 71) 安藤秀二，坂田明子，鶴見みや古，尾崎清明，藤田博己，花岡希，高野 愛，川端寛樹，渡邊治雄，岸本寿男。鳥類に関連するマダニ類からのリケッチアの検出。第 146 回日本獣医学会学術集会。2008 年 9 月。宮崎。
- 72) 高野 愛，鶴見みや古，尾崎清明，藤田博

- 己, 安藤秀二, 川端寛樹, 渡邊治雄. 野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 73) 森 亜紀奈, 今内 寛, 山田慎二, 今村彩貴, 伊東拓也, 川端寛樹, 小沼 操, 大橋和彦. シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 唾液腺由来免疫抑制因子の同定および発現解析. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 74) 下長根藍, 井上 快, 壁谷英則, 川端寛樹, 高田伸弘, 林谷秀樹, 丸山総一. わが国の野鼠における *Yersinia enterocolitica* の保有状況と分離株の *gyrB* 遺伝子系統解析. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 75) 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 坂田明子, 武藤麻紀, 高野愛, 山内健生, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本壽男. 鳥類外部寄生虫からの病原体の検出—鳥類標識調査を主とした外部寄生虫採集—. 日本鳥学会 2008 年度大会. 2008 年 9 月. 東京.
- 76) 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 坂田明子, 高野 愛. 福島県のハシブトマダニとタネガタマダニからのリケッチア分離例. 第 60 回日本衛生動物学会大会. 2008 年 4 月. 栃木.
- 77) 本田俊郎, 藤田博己, 藏元強, 御供田睦代, 角坂照貴, 高田伸弘, 矢野泰弘, 川端寛樹, 高野 愛, 山本正悟, 田原研司, 及川陽三郎. 鹿児島県トカラ列島のマダニ相とマダニ保有病原体の調査. 第 60 回日本衛生動物学会大会. 2008 年 4 月. 栃木
- 78) 本田俊郎, 角坂照貴, 川端寛樹, 高野 愛, 藤田博己, 藏元強, 御供田睦代, 高田伸弘, 矢野泰弘, 山本正悟, 田原研司, 及川陽三郎. 鹿児島県トカラ列島の野鼠類と野鼠保有病原体の調査. 第 60 回日本衛生動物学会大会. 2008 年 4 月. 栃木
- 79) 川端寛樹, 坂田明子, 安藤秀二, 高野 愛, 渡邊治雄, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己. 国内生態系における *Borrelia* 属細菌の拡散に関与する宿主鳥類と媒介マダニ. 第 60 回日本衛生動物学会大会. 2008 年 4 月. 栃木.
- 80) 川端寛樹, 高野 愛, 安藤秀二, 花岡希, 坂田明子, 藤田博己, 河村好章, 清島真理子, 角坂照貴, 渡邊治雄. マダニ刺咬例調査によって見いだされた新しいボレリア感染症. 第 82 回日本感染症学会総会 2008 年 4 月. 島根
- 81) 田原研司, 藤田博己, 新井 智, 矢野泰弘, 高田伸弘, 片山 丘, 川端寛樹. 島根県におけるダニ媒介性感染症の実態と病原体の浸淫状況. 第 82 回日本感染症学会総会 2008 年 4 月. 島根
- 82) 高橋英之: 病原性ナイセリア属菌に関して、平成 20 年度希少感染症・細菌・初級コース (国立保健医療科学院主催)、東京、2007 年 11 月。
- 83) 高橋英之、渡邊治雄: Signature tag mutagenesis による髄膜炎菌の新規病原性因子の網羅的探索、第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2008 年 3 月。
- 84) 森田昌知、泉谷秀昌、渡邊治雄、相楽裕子、大西健児: 2008 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 48 回感染性腸炎研究会総会、2009 年 3 月、東京
- 85) 森田昌知、大倉正稔、泉谷秀昌、荒川英



- 二、山本章治、大西 真、渡辺治雄: *Vibrio cholerae*における III 型分泌装置遺伝子群の分布、第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋
- 86) 徳永暁彦、山口博史、大澤 朗、森田昌知、荒川英二、渡辺治雄、*Vibrio cholerae* の可変 DNA 領域を標的とした新規 DNA フィンガープリンティング法の開発：第 82 回日本細菌学会総会、2009 年 3 月、名古屋
- 87) 前川純子. レジオネラの検査法の進歩. ワークショップ レジオネラの細菌学、第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2009 年 3 月.
- 88) 村井美代、前川純子、渡辺治雄. 黄色ブドウ球菌ファイブロネクチン結合タンパク A 領域の変異が立体構造へ及ぼす影響. 第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2009 年 3 月.
- 89) 前川純子、倉 文明、常 彬、市瀬正之、渡辺治雄. *Legionella pneumophila* 血清群 1 分離株の遺伝子型別およびモノクローナル抗体型別. 第 82 回日本細菌学会総会、名古屋、2009 年 3 月.
- 90) 池辺忠義、阿戸学、川端寛樹、小林和夫、渡辺治雄. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株における *csrS* 変異の解析. 第 82 回日本細菌学会総会、愛知、2009.
- 91) 阿戸学、池辺忠義、渡辺治雄、小林和夫. 劇症型感染分離溶血性レンサ球菌株はストレプトリジン 0 および接触依存的にヒト好中球を傷害する. 第 82 回日本細菌学会総会、愛知、2009.
- 92) 泉福英信、池辺忠義、河原井武人、渡辺治雄. *Streptococcus pyogenes* におけるバイオフィルム形成遺伝子の検討. 第 82 回日本細菌学会総会、愛知、2009.
- 93) 池辺忠義. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序. 第 82 回日本感染症学会総会、島根、2008.
- 94) 池辺忠義、阿戸学、川端寛樹、小林和夫、渡辺治雄. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株でみられる *csrS* 変異の病原性への影響. 第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008.
- 95) 阿戸学、池辺忠義、竹森利忠、渡辺治雄. 劇症型溶血性レンサ球菌は好中球機能障害を介して宿主防御からエスケープする. 第 6 回感染症沖縄フォーラム、沖縄、2008
- 96) 阿戸学、池辺忠義、渡辺治雄、小林和夫. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株による好中球機能障害を介する宿主防御修飾機構. 第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008