

4. 細菌第一部

部長 渡邊 治雄

概要

今年度の目標の一つは、アジアの研究機関とのラボネットワークの構築が挙げられる。厚生労働科学研究費新興・再興研究事業によっても支援され、3年目を迎える節目として、インド国立下痢症研究所(NICED)で米国CDCをはじめとしアジア13カ国のCDC様研究機関の細菌担当者が集まり、Pulse-Net Asia Pacificの会議を開催した。プロトコルの標準化、および解析結果のデータベース化に関する方向性が確認された。各国から感染研の資金面等への支援に対する謝辞が述べられ、アジアの中での共同研究の促進、および研究者間の交流促進に寄与できていると確信ができた。参加国による *V. cholerae* を用いての PFGE 法の標準化および精度管理を行ったデータが国際雑誌にまとめられ、publicationができたことも成果を形に残せたということで評価ができる。また、今年から WPRO の要請もあり、ラオスの NCLE(National Center for Laboratory and Epidemiology)の細菌関係部門の実験室診断・研究強化支援を開始した。実験手技の SOP、菌株の stock management, data management、sample collection 等を一から支援しているが、軌道に乗るまでにはしばらく時間がかかるであろう。国際貢献というものは、人的な信頼性が基盤となるところが大きいので、足を地につけながら一步一步踏みしめていくしかない。今後も部員の活動に期待したい。

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

立とその応用、薬剤耐性の疫学・耐性機序の解明、病原性因子の発現制御、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(アジアネット、パルスネット、人畜共通感染症、薬剤耐性機序、パ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、厚生労働科学研究費レギュラトリーサイエンス研究費、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。

伊豫田淳が「腸管出血性大腸菌の病原性遺伝子の発現調整機構」の研究成果により細菌学会黒屋奨励賞を受賞した。部の人事としては、平成19年11月1日付で、山本章治が研究職員(任期付き)として採用された。

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) 志賀毒素産生性大腸菌の血清型に関する研究

平成19年度に細菌第一部に送付された志賀毒素産生性大腸菌は総計3,105株であり、上位を占めたO血清群はO157(約77%: H7またはH-)、O26(約14%: H11またはH-)、O111(約3.3%: H-、またはH8)、O121(約1.4%: H-またはH19)、O103(約1.2%: H2, H11、またはH-)、O91(約0.64%: H14, H21またはH-)で、その他の菌株(約2.2%)は少なくとも19のO血清群、30の血清型に分類された。[伊豫田淳、高井信子、泉谷秀昌、寺嶋淳、

佐藤人美、陸彦、石原朋子、小泉信夫、森田昌知、渡辺治雄]

(2) 腸管出血性大腸菌が保有する病原性遺伝子群の発現制御に関する研究

腸管出血性大腸菌の多くは、病原性に必須な locus of enterocyte effacement (LEE) と呼ばれる遺伝子領域を保有する。LEE は 3 型蛋白質輸送装置 (T3SS) や、T3SS を介して宿主細胞へ局在する作用因子などをコードしており、これらの遺伝子発現は LEE にコードされる Ler によって正に制御されている。Ler の転写発現は LEE にコードされる GrIR および GrIA によって負および正にそれぞれ制御されている。GrIA は運動器官であるべん毛の発現を抑制する負の制御因子であると共に、メガブラスミド p0157 にコードされる溶血素、エンテロヘモリシン (Ehx) の発現を正に制御する。

ア. 染色体上の任意の部位に発現レポーター遺伝子を迅速に導入する技術の確立

Datsenko と Wanner が開発した遺伝子破壊法を応用し、染色体上の任意の部位にレポーター遺伝子を迅速・簡便に導入する方法を確立した。レポーター遺伝子と薬剤耐性マーカー遺伝子がタンデムに並んだ DNA 断片 (両末端に任意の部位との相同配列をもつ) を二段階の PCR 反応を介して増幅し、これを染色体上の任意の部位に導入する。このレポーター遺伝子の発現は非常に安定であり、構築法も従来の方法に比べると極めて迅速かつ簡便である。現在、主要な病原性遺伝子の下流に *lacZ* レポーター遺伝子を導入した株を構築し、それらのレポーター遺伝子の発現に影響を及ぼす新規な因子を探索中である。[山本章治、伊豫田淳、佐藤人美、寺嶋淳、渡辺治雄]

イ. GrIA による *ehx* オペロンの転写活性化

GrIA による Ehx 発現上昇の分子機構を解明する

目的で、*ehx* オペロンの先頭の遺伝子 *ehxC* と *lacZ* の転写融合体を上記の方法によって構築し、転写活性を解析した。その結果、GrIA の増加に伴う *ehxC-lacZ* の発現上昇が確認され、GrIA による Ehx の発現制御は転写開始レベルで行われていると結論された。*ehx* オペロンの最下流遺伝子 *ehxD* の転写発現量を RT-PCR によって解析したところ、GrIA によって転写が活性化されており、GrIA の発現上昇に伴って *ehx* オペロン全体の転写発現が活性化されることが判明した。[伊豫田淳、山本章治、齋藤剛仁(感染症情報センター)、佐藤人美、寺嶋淳、渡辺治雄]

ウ. 発現制御能欠損 GrIA 変異体の単離と GrIA による病原性遺伝子群の発現制御機構の遺伝学的解析

負の制御因子 GrIR は GrIA に結合してその活性を阻害する。*grIR* 欠損株では GrIA が構成的に発現するため、Ehx の発現上昇に伴って血液寒天平板上で大きな溶血環を形成し、一方、低濃度寒天平板上で非運動性を示す。これら二つの表現型を利用して、GrIA の機能欠損変異株を自然発生的に単離した。その結果、べん毛および Ehx の発現制御能が欠損しているが、LEE の発現制御には影響のない突然変異株が複数単離可能であることが明らかとなった。以上の結果は、GrIA によるべん毛と Ehx 発現制御機構と LEE に対する作用機構が同じではないことを示唆している。[伊豫田淳、佐藤人美、山本章治、寺嶋淳、渡辺治雄]

(2) 腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2007 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち 2436 株および O26, O111 等を含むその他の血清型 702 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。

2007年分離の0157については、*Xba*I消化により973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(6~22ヶ所)から分離されたパターンとして、Type No.(TN) a829, a259, b142, b293, b705, c47の6種類があった。これらの6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。広域に及ぶ同一PFGEタイプの0157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、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、渡辺治雄]

(3) 腸管出血性大腸菌0157のMultiple-Locus VNTR Analysisによる解析

PFGEによりTN b142, b293, b705, c47を示す腸管出血性大腸菌0157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。それぞれのパターンを示す株において、すべての遺伝子座でリピート数が一致する株がある一方で、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、PFGEで同一パターンを示す株のなかでも遺伝学的に異なる株が存在することが示唆された。さらに、22都府県から119株が分離されているTN c47では、*Bln*Iパターンにおいても全てが同一パターンを示し、83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31株あったことから、TN c47 119株中114株については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、渡辺治雄]

(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解析ソフトによるデンドログラムに基づいて行った。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) シガ毒素産生性大腸菌(STEC)における*subA*遺伝子の分布

2004年にSTECにて報告されたSubはAB5毒素ファミリーに属す新規細胞障害性因子である。我が国のSTEC株に本毒素をコードする遺伝子*subA*がどの程度存在するのか2005年までの分離株について検索した。その結果、STECおよびEPECが腸管上皮に接着する際に必要なLEE領域を持たないSTEC株については、約4割程度保有することが判明した。LEE陽性株については*subA*遺伝子を持つものはなかった。[泉谷秀昌、伊豫田淳、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、石原朋子、渡辺治雄]

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

細菌第一部

2007年に当研究所に送付された *Salmonella* Enteritidis 480株(うち、2007年分離株は210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2007年の集団事例22件のファージ型(PT)の内訳としては、PT21が5件(23%)、PT6aが4件(18%)、PT14bが3件(14%)、その他10件であった。PTの多様性が進んでいることが窺えた。[泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、渡辺治雄]

(2) *Salmonella* Enteritidis 薬剤感受性試験

上記ファージ型別に供した2007年に発生した集団事例のうち22件に関する株について薬剤感受性試験を行った。試験した薬剤全てに感受性のものが15件と大勢を占めた。これ以外にSM単剤耐性およびNA単剤耐性のものが各2件検出された。[泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、渡辺治雄]

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

2007年に当研究所に送付された多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium の菌株147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30株であった。また、50株は型別不能(UT)であった。[泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、渡辺治雄]

(4) 鶏肉由来 *S. Infantis* 株の解析

2002年から2007年に分離された鶏肉由来の *S. Infantis* 182株について薬剤感受性試験を行った。セフェム系抗菌薬に耐性を示す株が19株同定された。保有していた耐性遺伝子の内訳は、*bla*CMY-2、*bla*CTX-M-14、*bla*CTX-M-2、*bla*CTX-M-3、*bla*TEM-52および *bla*TEM-52c であった。[泉谷秀昌、寺嶋淳、

工藤珠代、高井信子、渡辺治雄、松本裕子(横浜市衛研)、田口真澄(大阪府公衛研)]

(5) サルモネラ血清型別

2007年に依頼、送付された16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、Enteritidis, Poona, Weltevreden, 14:i:-, 16,8:-:1,5などであった。亜種II I b、IVの株もあり、血清型はII I b 48:k:z35、IV 43:z4,z23:-であった。[泉谷秀昌、工藤珠代、高井信子、渡辺治雄]

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

2007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35株、パラチフスA菌18株で、チフス菌の分離数が前年に比べて減少した。ファージ型別試験で主に検出されたファージ型はチフス菌では、E1、M1、E9であった。パラチフスA菌では、1、2、6であった。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、渡辺治雄]

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

2007年に国内で分離されたチフス菌・パラチフスA菌のニューキノロン系及び第3世代セフェム系抗菌薬等に対するMICを測定し、感受性を検討した。使用薬剤は、ニューキノロン系薬剤3薬剤、第3世代セフェム系薬剤2剤、その他に従来の治療薬等合計15剤であった。感受性試験の結果、チフス菌で約40.0%、パラチフスA菌で約72.2%がニューキノロン低感受性菌であり、さらに1株のニューキノロン耐性チフス菌が検出された。一方、第3世代セフェム系薬剤に耐性を示すチフス菌・

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]

(8) 菌種同定

2007 年に菌種の同定依頼が 4 件あった。それぞれ、*Actinobacillus actinomycescomitans*、*Yersinia enterocolitica* 03 群、*Yersinia pseudotuberculosis* 01 群、*Helicobacter trogontum*-like であった。[泉谷秀昌、工藤珠代、高井信子、渡邊治雄]

III. ビブリオに関する研究

(1) 新興型腸炎ビブリオの O 及び K 抗原合成に関わる遺伝子群の比較解析

腸炎ビブリオ O4:K68 株の O 及び K 抗原合成に関わると推定される遺伝子群の塩基配列を決定したところ、その配列は O3:K6 株のそれと一部を除き全く異なっていた。O4 及び K68 血清群に分類される菌株間ではそれぞれの領域において類似した遺伝子群を保有していたことから、これらの領域が入れ替わることにより、新興型腸炎ビブリオにおける抗原変換が起こっていると考えられた。[大倉正稔 (協力研究員)、大澤 朗 (神戸大院)、森田昌知、荒川英二、渡邊治雄]

(2) エルトール型コレラ菌のコレラ毒素遺伝子型の推移

生物型特異的コレラ毒素 B サブユニット遺伝子の検出法を用いて、輸入事例のコレラ菌についてコレラ毒素遺伝子型別を実施した。その結果、アジア地域で流行しているコレラ菌は全て古典型コレラ毒素を産生するエルトール型コレラ菌であり、従来の流行株である典型的なエルトール型コレラ菌に完全に取って代わっていることが明らかとなった。[森田昌知、大西 真、荒川英二、泉谷秀昌、渡邊治雄]

(3) 平成 19 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 19 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 128 株で *Vibrio cholerae*、*V. mimicus*、*V. vulnificus*、*V. parahaemolyticus*、*V. furnissii*、*Plesiomonas shigelloides* および *Aeromonas* spp. が含まれ、35.9%(46) は国外 (バングラデシュ-29、ベトナム-12、タイ-5) から依頼された。国内株 82 株は 13 株が *V. cholerae* non-01、non-0139 で、*V. vulnificus* が 17 株、*V. parahaemolyticus* が 3 株、*Aeromonas* spp. が 49 株であった。国内株は 7 株の *Aeromonas* spp が患者由来株であり、飲食店で有症者 6 名、および療養施設の給食による有症者 2 名の食中毒事例によるもの 6 株と敗血症由来の 1 株であった。それ以外の 42 株の *Aeromonas* spp. は上記食中毒関連の推定食材、あるいは調理施設のふき取り、近辺の河川から分離されたものであった。*Aeromonas* spp. は環境中に広く分布している水生細菌であり、井戸水などからも分離される。今回の飲食店での事例は調理施設内で井戸水が一部利用されており、そこからの汚染が強く疑われた。*Aeromonas* spp. による食中毒事例の検出は年間 20 例弱と少なく、いずれも散發事例である。今回のような集団事例としては稀であるが、環境中には常在しているので、水を介した汚染には今後も注意が必要である。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

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

平成 17 年度より厚生労働科学研究費補助金、食品の安心・安全確保推進研究事業「畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究」(主任：宮原美知子) において、腸炎ビブリオの食品からの検査法

について、標準となる試験方法の検討を開始した。現行の検査法では成績が出るまでに3-4日かかり、消費するまでの時間からすると、生食用魚介類では実用的とはいえない。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。しかし、遺伝子レベルにおいても Vibrio 属菌はかなり類似性が高いため、これまでの標的配列では偽陽性が出やすく、信頼度の低いものであった。Vibrio 属菌に広く分布している *toxR* 遺伝子から *V. parahaemolyticus* に特異的な領域を再検索し、PCR 法への適用を試みた。参照株による試験では、*V. parahaemolyticus* にのみ特異的な増幅が見られ、偽陽性や偽陰性は認められなかった。増幅サイズが小さく、アニーリング温度を高く設定出来るため、これまでの PCR 検出系よりも迅速に検出が可能となった。標準検査法の補助的手法として取り入れる事で、検査時間の短縮が期待出来る。[荒川英二；甲斐明美(東京都健康安全研究センター)、宮原美知子(国立衛研)]

IV. 赤痢菌

(1) 赤痢菌感染による細胞破壊抑制機

構に関わる病原因子の機能解析

赤痢菌の病原性プラスミドのうち細胞侵入に必須の領域のみを保持する変異株を HEp-2 細胞に感染させた結果、感染細胞において DNA damage および細胞破壊の著しい昂進が認められた。赤痢菌感染では、菌の細胞侵入において誘導される DNA damage を抑制することによって、感染細胞の著しい破壊を抑制することが示唆された。また、変異株感染細胞において、核の DNA fragmentation や caspase inhibitor 存在下における細胞破壊の抑制が認められなかったことから、DNA damage の誘導

には caspase cascade は関与しないと考えられた。[石原朋子、三浦雅史(協力研究員)、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡辺治雄]

(2) 赤痢菌の Type III 分泌装置発現の転写後調節機構の解析

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

(3) OspE ファミリータンパク質による感染宿主細胞の RhoA シグナル伝達系の制御に関する研究

赤痢菌の OspE2 タンパク質は、感染宿主細胞の伸展形態の維持に働くことで病原性発現に関与しており、そのオーソログが腸管出血性大腸菌 O157 にも存在する (Esp01-1, Esp01-2)。腸管出血性大腸菌 O157 における *esp0* の二重欠損株では、赤痢菌の場合と同様に感染細胞における形態変化 (cell rounding) を引き起こした。さらに、赤痢菌の感染細胞における局在と同様、Esp01-1 は細胞接着斑に局在していた。したがって、腸管出血性大腸菌の Esp0 は感染細胞内において、OspE2 と類似した役割を担っていることが推察された。*esp0* 二重欠損株の感染による cell rounding は、Rock inhibitor 処理によって抑制されることから、感染

細胞の形態維持に RhoA シグナル伝達系が関与していることが示唆された。[三浦雅史、伊豫田 淳、石原朋子、大西 真、泉谷秀昌、寺嶋 淳、渡辺治雄]

(4) 赤痢菌の遺伝子型別

渡航者由来 *Shigella sonnei* 株を中心に 263 株の赤痢菌について、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。クラスター解析の結果、南アジア、南米、東南アジアなど地域ごとに大きなクラスターが観察された。[泉谷秀昌、寺嶋淳、工藤珠代、高井信子、三戸部治郎、石原朋子、渡辺治雄]

V. レンサ球菌に関する研究

(1) 日本における 2006 年の溶レン菌感染症サーベイランス

2006 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、2198 株であり、2188 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、T1 (728/2188, 33.3%)、T12 (443/2188, 20.2%)、T4 (274/2188, 12.5%)、T28 (159/2188, 7.3%)、TB3264 (113/2188, 5.2%) であった。T1、T12、T4 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。特に、T1 型は昨年と比較して増加している (2005, 13.3%; 2006, 33.3%)。T28 型の分離比率は、2000 年以降ほとんど一定である (2000, 7.0%; 2001, 7.3%; 2002, 7.1%; 2003, 7.4%; 2004, 6.7%; 2005, 8.4%, 2006, 7.3%)。TB3264 型は、昨年と比較して減少した (2005, 6.0%; 2006, 5.2%)。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子 (福島衛研)、岡崎則男 (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)、河原隆二 (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 α -hemolytic Streptococci in Japan]

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

2006 年、41 症例報告があり、そのうち 33 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 16 例は、*emm* 遺伝子はすべて *emm1* と同性を示し、M 血清型別でもすべて M1 型であった。T3 分離株 5 例は、*emm* 遺伝子はすべて *emm3* と同性を示し、M 血清型別でもすべて M3 型であった。T28、TB3264 型は、それぞれ 2 例で分離され、*emm* 遺伝子はそれぞれ *emm28*、*emm89* と同性を示し、M 血清型別は型別不能であった。2005 年、T4、T11 が各 1 例で分離され、T4 型は *emm60* (M 型別不能)、T11 型は *emm11* (M 型別不能) であった。T 型別不能株の *emm* 型は、*emm11* (M 型別不能)、*emm49* (M49) がそれぞれ 2 株、*emm12* (M 型別不能)、*emm87* (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)、岡崎則男 (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)、河原隆二 (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 α -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

2006 年、劇症型 G 群レンサ球菌感染症は 9 例の報告があった。これら分離株の *emm* 遺伝子型を行った結果、*stg485* が 3 例、*stc36* が 2 例、*stg10*、*stg2078*、*stg6792*、*stc74a* 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)、岡崎則男 (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)、河

原隆二(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 α -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

2006 年、劇症型 C 群レンサ球菌感染症は 3 例の報告があった。これらの株の *emm* 型は、それぞれ、*stg643* (NIH328), *stc6979* (NIH364), *stc653* (NIH396)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)、岡崎則男(神奈川県衛研)、奥野ルミ(東京都健康安全研究センター)、嶋智子(富山衛研)、河原隆二(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 α -hemolytic Streptococci in Japan]

(5) 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

2006 年、劇症型 B 群レンサ球菌感染症は 1 例の報告があった。この株の血清型は、1b 型(NIH385)であった。[池辺忠義、常彬、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子(福島衛研)、岡崎則男(神奈川県衛研)、奥野ルミ(東京都健康安全研究センター)、嶋智子(富山衛研)、河原隆二(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 α -hemolytic Streptococci in Japan]

(6) 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レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株

2006 年、*S. anginosus*, *S. constellatus* subsp. *constellatus*, *Solobacterium moorei* (NIH379)の混合感染による劇症型レンサ球菌感染

症の報告があった。[池辺忠義、和田昭仁、松永聡子、渡辺治雄、小黒祐子(福島衛研)、岡崎則男(神奈川県衛研)、奥野ルミ(東京都健康安全研究センター)、嶋智子(富山衛研)、河原隆二(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 α -hemolytic Streptococci in Japan]

(7) 患者から分離されたブタレンサ球菌の解析

2007 年に、日本国内発症の 1 症例から分離されたグラム陽性球菌 2 株について解析を行った。患者は職業上ブタとの接触歴があり、指には皮膚損傷があり、関節炎および敗血症の症状が見られた。この 2 株はそれぞれ血液と関節液より分離された。2 株とも Lancefield 群別では D 群に属し、生化学的性状検査でブタレンサ球菌と同定され、血清型 2 型であった。また、この 2 株はパルスフィールド電気泳動解析で同じパターンを有し、Multilocus Sequence Typing (MLST) 解析でも同じシーケンスタイプ (ST1) を示した。[常彬、和田昭仁、渡辺治雄、棚橋定衛(新潟市衛生環境研究所)]

(8) ブタレンサ球菌の宿主細胞への侵入および細胞内での生存に関する研究

ブタレンサ球菌が産生する溶血毒素 (Suilyisin) は病原性や宿主細胞への細胞毒性に関与することが報告されている。我々は Suilyisin を産生すると産生しない臨床分離株を用いて、Human brain microvascular endothelial cells (HBMEC) およびマウスマクロファージ J774 細胞への侵入率および細胞内での生存力の違いについて調べた。その結果、Suilyisin はブタレンサ球菌の HBMEC および J774 細胞への感染力および細胞内生存力などについて関与しないことが明らかになった。[常彬、渡辺治雄]

VI. レジオネラに関する研究

(1) *Legionella anisa*の同定法の比較検討

青白自発蛍光を有し、DNA-DNA ハイブリダイゼーション (DDH レジオネラ極東) で *L. anisa* 株と同定された、異なる施設由来の環境分離株 43 株 (冷却塔水由来 40 株、湯口水由来 2 株、浴槽水由来 1 株) および基準株 ATCC 35292 を用いた。これらの株について、最近発売された *L. anisa* の特異的同定のためのラテックス粒子凝集試験 (スライデックス レジオネラキット、日本ビオメリュー) と種の同定のための 16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定 (約 500 bp) を行った。塩基配列決定により、*L. anisa* は基準株と同じ配列の型とそれから 1 塩基欠失ヘテロ型の 2 型に分類され、環境分離株 43 株中 72.1% が 1 塩基欠失ヘテロ型であった。一方、ラテックス凝集試験では偽陰性の株がみられ、感度は 69% であった。[倉 文明、前川純子; 鈴木敦子、市瀬正之 (東京都予防医学協会); 遠藤卓郎 (寄生動物部)、渡辺治雄]

(2) 土壌由来のレジオネラ属菌の同定

日本全国の土壌に由来しスキムミルクに凍結保存されていたレジオネラ属菌 87 株について、新たにレジオネラ免疫血清 (*L. pneumophila* 血清群 7 ~ 15) を用いて検索した。86 株 (99%) は *L. pneumophila* であった。血清群 1 (40%)、血清群 8 (18%)、血清群 3 (16%)、血清群 6 (10%) の順に多かった。その他、UT、血清群 9 ~ 11 がみられた。*L. pneumophila* 血清群 1 は、浴槽水、冷却塔水、土壌のいずれでも最も多くみられている。土壌由来株では、他の環境由来株に比して血清群 8 が多いという特色があった。[倉 文明、前川純子、常 彬、古畑勝則 (麻布大学)、渡辺治雄]

(3) クロラミン B によるレジオネラ属菌の消毒

浴槽水におけるレジオネラ属菌の汚染が問題となっているが、高 pH、アンモニア等を含む温泉では遊離残留塩素による消毒が困難であることから、代替消毒法が求められている。そこで、試薬の取り扱いが比較的容易と考えられ室温で安定なクロラミン B を検討した。Page amoeba solution (pH7.7) ではクロラミン B 濃度 1.1mg/L で、*Legionella pneumophila* 血清群 1 (長崎 80-045 株) は 6 時間以内に培養法で不検出 (4.5-log 不活化) となった。3.5mg/L では 3 時間、5.5mg/L では 30 分以内で不検出となった。一方、ホウ酸緩衝液 (pH8.9) の実験条件では消毒効果は低下し、1.1mg/L では 6 時間経過後も 1.9-log の不活化に留まった。3.2mg/L および 5.1mg/L では 30 分で 3-log の不活化が得られ、3 時間後に不検出 (4.5-log) となった。以上のことから、高 pH でのクロラミン B による消毒は 3 ~ 6mg/L において実用的と考えられた。[倉 文明、渡辺治雄; 泉山信司、遠藤卓郎 (寄生動物部)]

(4) 遺伝子検査法を用いたレジオネラの定量方法

浴槽水等におけるレジオネラ検査において、培養法に替わる迅速検査法が求められている。市販レジオネラ検出用試薬の検出特性と定量試験への利用を検討した。該研究で検討した 2 社の検査キットは、臨床分離株やわが国の環境分離株をほとんど洩れなく検出した。一方、*L. londiniensis* は環境中からしばしば分離されるが、いずれの検査キットでも検出されないことから、遺伝子検査法を選択する場合にはこの点に留意する必要がある。基準菌株として暫定的に採用した *L. pneumophila* 長崎 80-045 株 (30、4 日間培養) を用いて検量線を作成した。

[倉 文明、前川純子; 荒井桂子 (横浜市衛研)、緒方喜久代 (大分県衛環研センター)、杉山寛治 (静岡県環衛科学研)、田栗利紹 (長崎県環保研センタ

細菌第一部

一) 中嶋 洋(岡山県環境センター)、磯部順子(富山県衛研)、佐々木美江(宮城県保環センター)、山本純子(タカラバイオ株)、安中敏光(栄研化学株); 泉山信司、遠藤卓郎(寄生動物部)]

(5) 遺伝子迅速検査による浴槽水の検査

レジオネラ検査においては、培養法に替わる迅速検査法が求められている。そこで、浴槽水を対象としてGVPC培地を用いた培養法と遺伝子迅速検査法を比較した。浴槽水 366 試料からのレジオネラ属菌検出率は培養法で15.8%、LAMP法で41.3%、定量的PCR(qPCR)法で44.0%であった。遺伝子迅速検査法では培養法と比較して偽陽性が認められ、全体としては定量値に相関は認められなかったが、遊離残留塩素0.4 mg/L以下の試料に制限すると、qPCR法は培養法とよく相関していた。qPCR法は遊離残留塩素の濃度に関わらず、レジオネラ属菌の遺伝子量を定量することが可能で、管理状態を把握するのに優れた手法である。循環式モデル浴槽の実験から、qPCR法を用いて、適切な塩素管理がされ菌検出がない期間と、無殺菌循環で菌数の増加した期間の菌数の変化を正確につかむことができた。浴槽水の検査で、LAMP法及びqPCR法に強い阻害がかかった場合、前処理を工夫して(酵素溶菌法、洗浄、希釈、酵素処理時間の延長)阻害を回避することができた。[荒井桂子(横浜市衛研)、緒方喜久代(大分県衛環研センター)、杉山寛治(静岡県環衛科学研)、田栗利紹(長崎県環境保研センター)、中嶋 洋(岡山県環境保健センター)、磯部順子(富山県衛研)、佐々木美江(宮城県保環センター); 泉山信司、遠藤卓郎(寄生動物部); 前川純子、倉 文明]

(6) サーベイランス業務および感染事例

A. 民間検査機関に依頼されるレジオネラ検査試料の汚染実態

浴槽におけるレジオネラ属菌の集団感染を受けて、緊急避難的な措置として塩素消毒が義務付けられたが、浴槽水で感染したとされる報告数は増加の一途をたどっている。受託検査機関の試料測定結果に基づき、現在の浴槽の汚染状況について検討した。浴槽試料から培養で高濃度の検出が複数認められ、消毒の必要性を改めて確認した。ろ過器ドレーン等の培養試験では検討対象のほぼ全てから(29/30件)レジオネラ属菌が検出された。ろ過器内のバイオフィームは通常の消毒剤濃度では対処できず、定期的な洗浄の重要性が改めて確認された。指針ではやむをえない場合を除き回収槽の設置を避けるよう勧奨されているが、回収槽の設置されている1施設3件よりレジオネラ属菌が検出され、施設の改修等の対策が必要である。[倉文明; 泉山信司、遠藤卓郎(寄生動物部)]

イ. 共同住宅の温泉水からのレジオネラ検出事例

温泉設備を持つ共同住宅の温泉貯湯槽および給湯末端から6,900~89,000 CFU/100mlという多数のレジオネラ属菌が検出された(源泉槽からは非検出)。そのうち*L. pneumophila*は270~1,800 CFU/100ml検出され、血清群は1群、5群および6群であった。レジオネラ属菌の中で優占菌種は、16S rRNA遺伝子の塩基配列により*L. londiniensis*と同定された。この汚染の原因は、1)源泉が約25℃、加温しても最大45℃であり、温泉水の温度域がレジオネラ属菌の発育に適していた。2)鉄分、硬度分、アンモニア性窒素および有機物が多く、二酸化塩素の殺菌効力を落とすとともに、沈殿物を多く生成しバイオフィームやスケールが出来やすい状態であった。3)二酸化塩素消毒設備はあったが、適正な薬剤管理がされてなかった。また、二酸化塩素濃度を測定していたが、色や濁りが妨害して正確な測定がされていなかった。4)あるレジオネラ検査機関で分譲後数回行われていた検査結果で

は、常に 10CFU/100ml 未満という結果であり、精度の確保がなされていなかった。これまで、共同住宅の入浴施設は自主管理に委ねられているため衛生管理の実態は不明であったが、温泉の質と使用実態を踏まえた適正な衛生管理が必要である。[郡山洋一郎、中村由美子、青木眞里子、柴 早苗(足立区衛生試験所);高橋朝子、鈴木龍雄、工藤寛子(足立保健所生活衛生課);前川純子、倉 文明]

ウ．循環式浴槽における感染事例

55 歳及び 58 歳の男性患者 2 名由来 *L. pneumophila* 血清群 1 の菌株と、患者が利用したある入浴施設のエステバス及びドリームバスの各浴槽水由来の環境由来株のパルスフィールド電気泳動型が一致し、原因施設が特定された。これまでパルスフィールド電気泳動では、4 日間を要していたが、新規に 2 日間で結果の得られる方法で行った。また、これらの株の Sequence-based typing の型も一致していた。[常 彬、前川純子、倉 文明、渡辺治雄]

(7) *L. pneumophila* 臨床分離株の遺伝子型の解析

レジオネラレファレンスセンターにおいて *L. pneumophila* 臨床分離株の収集を開始した。うち 20 株について遺伝子型別 (SBT) を行った。以前に収集、型別した臨床分離株についても、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、*neuA* 遺伝子の型別を行った。あわせて 61 株のわが国の臨床分離株について型別を行い、EWGLI (European Working Group for *Legionella* Infections) のデータベースに登録した。61 株は 39 種類に型別され、多様性に富み、SBT による型別の分子疫学的有用性が確認された。また、

浴槽水分離株と冷却塔水分離株とで *flaA* の遺伝子型に違いがあることを既に明らかにしているが、61 株の臨床分離株について、*flaA* 遺伝子型を見ると 50 株 (82%) が浴槽水分離株型であった。感染源が浴槽と確定している 8 株と推定されている 9 株の計 17 株はすべてその中に含まれていた。[前川純子、倉 文明、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)]

(8) 土壌および給湯水から分離された *L. pneumophila* の鞭毛遺伝子型別について

浴槽水、冷却塔水および臨床分離株との比較
日本各地の土壌から分離された *L. 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。冷却塔水由来株は *flaA1* と *flaA11* の 2 つの遺伝子型で 88% を占め、浴槽水分離株は *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たが、給湯水由来株は、*flaA2*、*flaA3*、*flaA6*、*flaA7* の 4 つの遺伝子型で 83% となり、浴槽水由来株とよく似た傾向を示した。土壌由来株の *flaA* 遺伝子型は、一部浴槽水由来のものとなっていたが、頻度が大きく異なり (*flaA2* と *flaA6* で 57%)、また浴槽水由来株では見られない遺伝子型 (*flaA5*、36%) も存在した。臨床分離株の *flaA* 遺伝子型から感染源の推測がどの程度可能かを考察した。[前川純子、倉 文明、常 彬、遠藤卓郎(寄生動物部)、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) 市販 DDH キットで同定できないレジオネラ属菌種の同定法の確立

市販 DDH キットで同定できないレジオネラ菌種を、DDH 法により同定可能にする事を最終目的として、*Legionella pneumophila*、*L. feeleii*、*L. micdadei* を用いて基準株のプレートへの固定方法を検討し、基準株 DNA のプレートへの固定法を確立した。[山崎利雄・前川純子・倉文明]

(10) Ethidium monoazide (EMA) 処理および PCR のコンビネーションによるレジオネラ生菌のみの検出

レジオネラ属菌は自然界では湿った土壌や淡水に生息するが、人工的水利用設備とくに空調冷却塔、給水給湯設備、循環濾過式浴槽など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、人工的水利用設備は定期的に清掃、消毒、検査が行われている。しかし、レジオネラの培養には時間がかかり、環境や患者由来検体よりレジオネラを迅速検出できる方法の開発が必要とされている。PCR 法はレジオネラ検査にはよく使用されているが、死菌の DNA も検出することが欠点である。EMA は特異的に死菌の損傷された細胞膜を透過し、その菌の染色体 DNA に結合し、光照射により DNA を切断することができる。我々は EMA のこの特性を利用し、PCR による生菌のレジオネラ DNA のみを検出する方法の開発を試みた。レジオネラの生死は培養法により判定した。その結果、EMA 処理を行うと、PCR でレジオネラの死菌 DNA の検出が見られなくなり、生菌 DNA のみが検出された。[常 彬、前川純子、倉 文明、渡辺治雄]

(11) Ethidium monoazide (EMA) 処理および 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

Real-time PCR は病原細菌を定量的に検出できる方法で、近年環境からレジオネラの定量にも使われているが、生菌と死菌の DNA 両方が検出される。EMA が特異的に死菌の細胞膜を透過する特性を利用し、Real-time PCR によるレジオネラ生菌のみの定量解析を試した。その結果、EMA 処理したレジオネラ死菌の Real-time PCR により推測された菌数は EMA 処理しない場合の測定菌数の 10^{-4} - 10^{-5} となった。一方、日本国内の人工的水利用設備のサーベイランス検査の結果では、90% 以上の環境検体の Real-time PCR により推測されたレジオネラの菌数（生菌と死菌の和）は 10^5 CFU/100ml 以下であることが明らかにされていた。これらの結果から、EMA 処理および Real-time PCR のコンビネーションはレジオネラ生菌の DNA のみを迅速検出できると示唆される。[常 彬、前川純子、倉 文明、渡辺治雄]

(12) レジオネラ属菌の pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 法の改良

PFGE 法は電場の方向を交替させることで分子量の大きい DNA 断片を分離するゲル電気泳動の方法である。この解析法はレジオネラ感染の感染源の同定や疫学調査によく使われている。しかし、従来のプロトコルは時間がかかり（4日）、制限酵素の未消化段片が多く残っていて、また染色体 DNA へのダメージがよく見られるため、再現性がよくなかった。これらを改善するために、我々は溶菌処理の時間を短くし、制限酵素の濃度を上げ、消化時間を短くした。その結果、PFGE 解析時間が2日間に短縮でき、不完全な消化段片および染色体 DNA へのダメージが見られなくなり、再現性が取れるようになった。[常 彬、前川純子、渡辺治雄]

VII. 髄膜炎菌に関する研究

(1) ホスホエタノールアミン (PEA) 付加酵素によ

髄膜炎菌のヒト培養細胞への接着効能亢進の解析

昨年度に引き続き髄膜炎菌の LOS に PEA 基を付加する酵素の遺伝子 (*lptA*) による髄膜炎菌のヒト培養細胞変への接着効能亢進に関する研究を行なった。ST-2032 株の *lptA* 遺伝子破壊株はその接着効能力が約 1/10 に低下し、この *lptA* 遺伝子破壊株の接着効能の低下はヒト内皮・上皮細胞で普遍的に認められた。*lptA* 遺伝子破壊株は精製 LOS の MALDI-TOF MS や NMR による解析からその LOS の Lipid A 内の PEA 基のみを欠如していることが確認された。その *lptA* 遺伝子破壊株の接着効能低下は既知の接着因子である線毛や Opa, Opc 等の外膜タンパクを介さないで起こっていることが明らかとなった。さらに ST-2032 野生株への *lptA* 遺伝子のプラスミド導入により LptA タンパクの発現量は 10 倍程度に増加したにもかかわらず細胞への接着効能及び Lipid A の PEA 付加量に変化は認められなかった。また、代表的な髄膜炎菌の臨床分離株においても LptA は普遍的に発現しており、その量的な差もないことが Western blotting から明らかとなった。以上の結果から髄膜炎菌は自身の LOS の PEA 修飾を介して宿主細胞への接着を効率化している可能性が示唆された。[高橋英之、Russel W. Carlson (Univ. of Georgia)、David S. Stephens (Emory Univ.), Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ), 渡辺治雄]

(2) 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。24 株は既知の接着因子、もしくはその発現に関与する因子であり、遺伝子の機能が既知ではあるが髄膜炎菌の接着・侵入と関与が薄いと考えられる変異株が 37 株であった。それ以外は他の生物にホモログも存在しない機能が不明の遺伝子が破壊された株であった。今後は、未知遺伝子が破壊された変異株に関して重点的に解析を行い、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]

(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髄膜炎菌として 16 株の疫学的解析を行なった。菌の同定の結果、16 株中 1 株は非病原性ナイセリア属菌である *Neisseria lactamica* と同定された。残り 15 株の血清型は B:2 株、C:1 株、Y:6 株、29E:3 株、型別不能:3 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 が 6 株、ST-3506 が 3 株、ST-437 (ST-41/44complex)、ST-32、ST-8、(ST-32 complex)、ST-5711、ST-2045、ST-2330、ST-6003、ST-6004 が 1 株ずつであった。昨年度までの解析結果と合わせて考察しても日本国内には ST-23 が最も多く分布していることが推測された。注目すべき点は今年度も臨床分離株として非病原性と一般的に考えられている血清型 29E の髄膜炎菌株である ST-3506 (ST-35 complex) が患者から分離されてきていることである。昨年度は血清群 29E の ST-5711 株が同様に患者からの分離株として同定されており、今後のサーベイランスにおいては血清群 A、B、C、Y、W-135 群と共に 29E にも注意が

必要であることが示唆された。また、昨年度検出された ST-6003、ST-6004 株が今年度も検出されており、比較的新しい遺伝子型の検出も頻繁になってきたことから 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新しい遺伝子型の髄膜炎菌も徐々に広がっている可能性が示唆された。引き続きサーベイランスが必要であろう。[高橋英之、渡辺治雄]

(4) 尿路感染症由来の臨床分離髄膜炎菌株の疫学的解析

前項とは別に関東エリアの 3 病院において尿路感染症(STD)の患者から分離された 9 株に関して血清学的、分子疫学的解析を行なった。その結果、血清群 Y が 7 株、B が 1 株、型別不能株が 1 株であった。遺伝子型の解析は ST-23 が 7 株、ST-687 が 1 株、ST-2045 が 1 株であった。泌尿器系からの髄膜炎菌の分離は昨今の性行為の多様性により増加している傾向がある。本研究において ST-23 が分離株の大部分を占めたが、その要因が、ST-23 株が国内において圧倒的多数で分布していることによるのか、ST-23 株が泌尿器系への感染特質を保持することによるものなのかは不明であり、今後の更なるサーベイランスが必要であると考えられた。

[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)]

(2) 臨床より分離されたテリスロマイシン低感

受性肺炎球菌の遺伝子解析を行い、染色体上に存在する変異(23S rDNA、L4)をその原因として報告した。[和田昭仁、Y Hirakata, Y Mizuta, A. Kondo, S Kurihara, K Izumikawa, M Seki, K Yanagihara, Y Miyazaki, K Tomono, S Kohno (長崎大学医学部第二内科)]

(3) ウェルシュ菌に関する研究

都内の高齢者医療施設で見られたウェルシュ菌による下痢症の集団発生の解析を行い、プラスミドにエンテロトキシン遺伝子を持つウェルシュ菌が原因であることを報告した。

[和田昭仁, S Kobayashi, S Shibasaki, M Annaka, H Higuchi, K Adachi, N Mori, T Ishikawa, Y. Masuda, T Inamatsu(東京都老人医療センター), H Watanabe, N Yamamoto(エイズ研究センター), S Yamaoka(医科歯科大学ウイルス学講座)]

IX. レプトスピラ、ボレリア等に関する研究

(1) マダニのヒト刺咬例に対する検査体制の確立

4 類感染症であるライム病、日本紅斑熱に加え、国内でも浸潤が確認されたエーリキア・アナプラズマ感染症の早期診断体制の確立を目的として、媒介マダニ刺咬例の疫学調査を行っている。2007 年度は 20 例のヒト刺咬例マダニが感染症研究所に送付され、うち一例より南部ダニ紅斑病(STARI)起因菌様病原体が見出された。これまで国内では本型の病原体は報告されていない。また *Ehrlichia* 感染が疑われる高度の局所炎症像を呈した症例を見出した。今後、これら細菌種について疾患との因果関係について検討が必要であると考えられた。[川端寛樹、安藤秀二、坂田明子、武藤麻紀、高野愛(岐阜大)、岸本寿男、倉根一郎、渡邊治雄]

(2) 島根県における *Orientia tsutsugamushi* の

流行株

島根県におけるつつがむし病の流行状況把握を目的として、環境モニタリング調査を行った。つつがむし病は *Orientia tsutsugamushi* (O.t) を病原体とするダニ媒介性の熱性・発疹性疾患で、感染症法四類感染症に規定されている。島根県では毎年数人～10人程度の患者発生が報告されている。2003年には隠岐島(中の島)で感染したと思われる患者が初めて報告された。このことから2004年11月に島根県隠岐島(島後、中の島)および東部地域(松江市、雲南市、奥出雲町)において野鼠の病原体保有調査を行った。野鼠96匹を捕獲、内47匹の野鼠について間接免疫ペルオキシダーゼ法(IP法)によりO.tに対する血清抗体価(IgG)を測定した。また、脾腫を認めた57匹について、脾臓から直接DNAを抽出し、nested PCR法を用いて *bor56* DNA断片の検出を試みた。PCR陽性検体については、型別PCR法(or増幅DNA多型性解析)及びnested-PCRによる増幅DNAのダイレクトシーケンシングを行った。野鼠3検体からO.t *bor56* DNAの検出に成功、奥出雲町で捕獲した2検体はJP-2(血清型:Karp型)であった。一方、隠岐中の島で捕獲した1検体はO.t LX-1株に比較的高い相同性を示したが、新種型の可能性があり、今後詳細に解析する予定である。[田原研司(島根保環研)、板垣朝夫(島根保環研)、角坂照貴(愛知医大)、藤田博己(大原研究所)、矢野泰弘(福井大)、高田伸弘(福井大)、川端寛樹]

(3) ライム病と多発性硬化症に関する血清疫学研究

多発性硬化症(MS)における微生物感染の有無を明らかにするために、ライム病ボレリア組換抗原を用いたWestern blotting法によるMS患者における抗ライム病抗体検索、および髄液中の病原体DNA検索をおこなった。試験法の精度向上を目

的として、血清診断においては偽陽性を低減させる新たな判定基準を導入した。また髄液中の微量の病原体DNAを検出するために、genome-wideなDNA増幅を前処理として行い、高感度な特異的PCRを実施した。MS患者検体は、近畿大学、昭和薬科大学、および聖マリアンナ医科大学より分与頂いた。評価のために供与を受けたMS患者27例中、抗ライム病IgG抗体陽性例は3例(11.1%)であった。この結果は1993年に米国で行われた血清疫学調査結果(陽性率=6.7%)に近似する一方、欧州での調査結果(陽性率=14.2-38.5%)より低値であった。ペア血清が得られた5例において抗体調査では顕著な抗体変動は見られなかった。さらに、血清診断では反応抗原の特異性に応じた判定のためのpoint制を導入し、健常者、ライム病患者、およびMS患者における、各群間でのpoint数を比較した場合、MS-健常者間におけるpoint数での有意差は見出されなかった。以上の結果から、我が国のMS患者において、ライム病ボレリアの慢性感染を疑わせる積極的な知見は得られなかった。多発性硬化症とライム病の国内多発性硬化症(MS)症例において、血清疫学的に、また髄液中の病原体検出結果から、ライム病ボレリア感染とMS発症の因果関係を疑わせる結果は得られなかった。[川端寛樹、武藤麻紀、岸本寿男、倉根一郎、楠進(近畿大)、宮本勝一(近畿大)池島秀明(昭和薬科大)、星恵子(昭和薬科大)、加茂力(聖マリアンナ医大)、渡邊治雄]

(4) ライム病ボレリア形質転換技術の確立とその応用

ライム病ボレリアは動物由来スピロヘータ感染症で、その重篤かつ多彩な病態から予防・治療といった臨床面での研究が先行した一方で、ボレリア自身の病原性は感染性株による遺伝学的ツールが確立されていなかったために未だに不明な部分

が多い。感染性を維持した株で形質転換が行えないことは、ボレリアの病原性、感染性を調べる上で致命的であると考えられた。そこで我々は、感染に必須の因子をコードし、かつ非感染性株で脱落しているボレリアプラスミドに着目、本プラスミド上に形質転換を制限する因子があると考え、本因子の破壊による形質転換可能な感染性ボレリア株の樹立を目指した。プラスミドプロファイルが異なる低経代株について形質転換効率を調べた。次いで形質転換効率と相関性が見出されたプラスミド上で制限修飾酵素モチーフを有する遺伝子を検索した。検索された遺伝子は相同性組換えにより破壊、得られた破壊株は親株と形質転換効率を比較した。また本推定制限修飾酵素破壊株についてはその感染性をマウス感染モデルにより調べた。また本変異株を用いたテキサス大学との共同研究でHimarI transposonによる変異導入法についても検討した。形質転換効率と相関するプラスミドを同定した。また推定制限修飾遺伝子の破壊により感染性を維持したまま形質転換が行えることを明らかにした。Transposon変異導入法により複数の新規病原因子を同定した。ボレリアの慢性感染、組織特異的集積性などそのメカニズムは不明であり、今後、本遺伝子破壊ボレリア変異株を用いたin vivoでの病原性研究が進むことで、これらメカニズムが明らかになると考えられる。[川端寛樹、Steven J. Norris (テキサス大学)、渡邊治雄]

(5) 動物寄生のマダニが保有する病原体の検索-ボレリア

国内への生物輸入に際して、多くの爬虫類や両生類、及びこれら動物に寄生する節足動物等の一部は、家畜伝染病予防法、外来生物法及び感染症法などの法律の規制対象に含まれていない。本研究では、これら規制対象外の動物、主に爬虫類の輸入に伴って国内へ侵入してくるボレリア属細菌

菌に関して調査を行った。対象は、輸入爬虫類及びこれら爬虫類に寄生していたマダニで、各々の輸入先は、アフリカ、南アメリカ、アジアの11カ国で、多岐に渡っていた。ボレリアの分離はBSK培地を用いた培養法及び遺伝子の検出はPCR法によった。試験に供した輸入爬虫類20頭中12頭、寄生マダニ85頭中58頭よりボレリアが分離あるいは遺伝子が検出された。これらボレリア属細菌は、鞭毛遺伝子、16SrDNAの塩基配列等から、回帰熱群の新種ボレリア及び*Borrelia turcica*であることが明らかとなった。回帰熱ボレリアの媒介節足動物は、一部を除き*Ornithodoros*属等の軟ダニである。また、ライム病ボレリアは*Ixodes*属の硬ダニによって媒介される。一方、本研究で見出されたボレリアは*Hyalomma*属等の硬ダニの唾液腺から分離もしくは遺伝子が検出されていることから、既存の回帰熱群ボレリアとは異なり、ライム病ボレリアと同様の媒介メカニズムにより伝播されている可能性が考えられた。これまでボレリアは、媒介マダニ種によって伝播されるボレリア種が規定されることから、ボレリアの祖先がマダニ祖先に入り込んだ後、各々のマダニ種へ適合進化したと考えられてきた。しかし本研究で見出されたボレリアはこの一般論に当てはまらないことから、進化の過程での適合進化に加え、宿主乗換等のイベントがあったことが示唆された。[高野愛(岐阜大)、五箇公一(環境研)、宇根有美(麻布大)、川端寛樹、渡邊治雄]

(6) ガーナから輸入されたボールパイソンの*Trypanosoma cf. varani*感染

アフリカ大陸産爬虫類に寄生するトリパノソマとして、ツェツェバエにより媒介されるナイルクロコダイル(*Crocodilus niloticus*)寄生の*Trypanosoma grayi* Novy, 1906と、サシチョウバエにより媒介されるナイルオオトカゲ(*Varanus*

niloticus) 寄生の *Trypanosoma varani* Wenyon, 1908 がよく知られている。ペット動物としてガーナから輸入されたボールパイソン(*Python regius*) から検出されたトリパノソーマについて、その同定を試みた。ボレリア細菌培養用の BSK 培地 4ml に 0.1ml のボールパイソン血液を加えて 32 で静置培養していたところ、17 日目から上鞭毛体の集合がみられるようになった。これら原虫を集め、定法により DNA を抽出し、18S~5.8S リボソーム RNA 遺伝子 (rDNA)、および glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 遺伝子 (gGAPDH) について塩基配列を検討した。18S rDNA の後半 1,445 塩基配列を、データバンクに登録される *T. varani* (AJ005279、AJ223572) と比較すると、4 塩基を除いて一致し、99.7% の相同性であった。gGAPDH の 900 塩基配列については、*T. varani* (AJ620261) と 2 塩基を除いて一致し 98.7% の相同性であった。今回の症例について、宿主血液中のトリパノソーマの形態学的観察は実施できていないが、18S rDNA および gGAPDH の高い相同性から、*T. varani* の感染が強く示唆された。ガーナ産クロクビコブラ (*Naja nigricollis*) から *T. voltariae* Macfie, 1919 の記載もあり、爬虫類寄生種の異同性について遺伝学的な再確認が望まれる。[戸田正枝 (山口大) 佐藤宏 (山口大) 宇根有美 (麻布大) 高野愛 (岐阜大) 川端寛樹、渡邊治雄]

(7) Megasort 法によるレプトスピラ strain-specific 遺伝子の網羅的解析

Megasort 法により、*Leptospira interrogans* の全ゲノム配列決定 2 株とも相同性を示さない強毒株および弱毒株に特異的な遺伝子群を同定した。弱毒株には強毒株、ゲノム株に比べて trasposase, IS, ファージ遺伝子断片が多く存在することが示唆された。また全ゲノムの制限酵素 *Not* 切断パタ

ーンは、強毒株やゲノム株の血清型では株間で保存されているのに対し、血清型 *Hebdomadis* 分離株では多様であることが明らかとなり、転移因子やファージによるゲノムの再構成が起こったことが示唆された。一方強毒株では、他の病原細菌の細胞接着因子 *internalin* と相同性を示す遺伝子断片が同定された。[小泉信夫、大西真、武藤麻紀、渡辺治雄]

(8) 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 4 例のレプトスピラ症が確定診断された。またイヌは 20 例中 17 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 *L. interrogans* であり、また血清群は *Australis*, *Canicola*, *Hebdomadis* であると推定された。[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)]

(9) 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

平成 18 年度および 19 年度の 2 年間でフィリピンマニラ首都圏およびその郊外で 106 匹のネズミを捕獲し、45 匹のラット腎臓からレプトスピラの分離に成功した (得られた分離株は 81 株)。分離株の *flaB* 塩基配列、*Not* - PFGE の切断パターンおよび標準抗血清との反応性から、分離株は *L. interrogans* serovar *Manilae* 27 株、*L. interrogans* serovar *Losbanos* 16 株、*L.*

interrogans serogroup Grippotyphosa 16 株および *L. borgpetersenii* serogroup Javanica 22 株と同定された。[小泉信夫, 武藤麻紀, 渡辺治雄, 吉田真一 (九大)]

(10) 各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

大日本猟友会の協力により, 1 道 9 県のシカ腎臓 31 検体, また 10 県のイノシシ腎臓 39 検体から PCR によりレプトスピラ遺伝子 *flaB* の検出を行ったところ, シカ腎臓 1 検体およびイノシシ腎臓 9 検体から *flaB* が検出された。またそれらの塩基配列を決定したところ, すべて *L. interrogans* と同定された。全国 31 か所の検疫港および検疫飛行場の政令区域 (以下, 港湾区域) で, 185 匹のネズミを捕獲しレプトスピラの分離を試みた結果, 名古屋港で捕獲されたドブネズミ 2 匹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* であると推定された。また新千歳空港で捕獲されたエゾアカネズミ 2 匹の腎臓から *L. interrogans* の *flaB* を検出した。東京都および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イヌの腎臓, 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, 谷川力 (イカリ消毒技術研究所), 水谷浩志 (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)]

X. 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血清耐性

尿路をはじめとする腸管外に様々な病変を惹起する腸管外病原性大腸菌に関しては, 下痢原性大腸菌と比較して十分な解析がなされておらず, 病

原性に関しても未解明な部分が多く残されている。特に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。血流感染を引き起こすためには, 補体による殺菌機構から逃れることが必要となると考えられる。そのため本研究では, 腸管外病原性大腸菌の分子系統解析をもとに選定した多様な腸管外病原性大腸菌から, 血清耐性に関して解析を行った。代表株の選定は系統 B2 大腸菌サブグループ 1・8 からそれぞれ複数株, 計 25 株を選んだ。非動化血清中での増殖能を確認後, ヒトプール血清 10%, および 50% 血清で各菌株を 2 時間処理後, colony forming unit を測定することで耐性を評価した。その結果, 系統 B2-3, B2-7 に属する菌株および B2-6 の一部の菌株は 10% 血清で殺菌されることが示された。また, B2-5 の菌株および B2-8 の一部の菌株では 50% 血清で感受性を示す一方で, B2-1, B2-2, B2-4 の菌株および B2-6 と B2-8 の一部の菌株は耐性を示した。これらの血清耐性は既知の血清耐性に関わる遺伝子の有無とは関連が認められなかった。特に既知の血清耐性因子を持たない B2-4 菌株には新規の血清耐性因子の存在することが示唆された。[大西 真, 渡辺治雄]

(2) 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, 皮膚病変が明らかな場合を除いて, 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エイトを占める。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, 現在はこれらの 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* の主要抗原の多型性の検討

3 種抗原の混合物を抗体検出に使用するの、従来の全菌体抗原で陽性の血清中、10%近くが 3 種リコンビナント蛋白のどれか 1 つにしか陽性を示さないことが経験的に知られているからである。しかし、この現象の原因については未だ明確な説明がない。1 つの仮説として、実際に感染した Tp の TpN47、TpN17、TpN15 のエピトープ部分の配列がある確率で、診断用に確立したリコンビナントのそれとは変換している可能性も考えられる。そこで、これら遺伝子の多型性についての検討を開始した。ウサギ睾丸内で培養（実験的には唯一の大量培養法）しストックした Tp 菌体集団を鋳型に高い fidelity を有する PCR 用酵素で 3 遺伝子領域を増幅、plasmid に組み込んだクローンを多数調製し、シーケンス解析をする方法で検討を行っている。現在確立しているリコンビナント抗原を用いて今後とも抗体検査を行うことの信頼性に関して、確認または疑義を提出できるものと予想して

イ . *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。発現プロフィールについては、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 lipidated 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。これらのことから、TpN47 の発現制御メカニズムにアプローチすることは重要と考えられる。Tp はウサギ睾丸内でしか実験的に培養できないという性質、限定的

な条件以外では増殖そのものを静止するという性質から、転写制御因子はあまり保有していないと考えられてきた。しかし 1998 年に公表されたゲノムデータはこの概念とは合い入れず、sigma factor については 38、32 に相当する物以外、これまで細菌で知られているセットは全て保有している。また、いわゆる 2 成分制御系についても数セットがアノテーションされている。これらを考え合わせて、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 Trans な効果もあるという仮説を立てた。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ている。現在までに 10 数個の候補クローンを得ており、効果の定量化、クローン化断片のシーケンス等を行っている。[中山周一、松岡ひろこ、大西 真、渡辺治雄]

(3) セラチアの溶血因子の研究

Serratia marcescens は尿路感染症を始め、創傷感染、肺炎、髄膜炎、などの種々の感染を惹起する。しばしば、院内感染の原因菌としても同定される。病原性は弱いと考えられているが、易感染患者に感染すると敗血症等の重篤な症状におちいる危険性がある。その病原性に関する研究は、あまり行なわれておらず、発症のメカニズム等の解明は進んでいない。そこで本研究では、*S. marcescens* の基礎的な病原性のメカニズムの解明をめざしている。現在、ヒト赤血球による溶血活性を指標にして、*S. marcescens* とホストの相互作用を調べている。昨年までに、ショットガンクローニング法により既知の溶血因子である *sh1A* 以外に、ホスホリパーゼ A である *ph1A* が新規溶血素である可能性を示した。今年度はより詳細な解析

を、遺伝学的・生化学的な方法により進めた。λRED recombination system により *phIA* 欠失株を作成し、血液寒天培地における溶血活性を調べた結果、変異体は溶血活性を失っており、この遺伝子が溶血活性に直接影響を与えることが分かった。またこのタンパク質の直接的な溶血活性を調べるために、大腸菌による組み換えタンパク質(His-PhIA)の発現と精製を試みた。SDS-PAGE により精製タンパク質が、ほぼ単一の精製品であることを確認した。この組み換えタンパク質を用いて、血液寒天培地(ヒト、ウマ、ヒツジ)による溶血活性を調べたところ、ヒトのみ 30 または 37 で溶血環が観察された。これらの事より、PhIA は *S. marcescens* の新規溶血因子であることが明らかとなった。現在、培養細胞等を用いて PhIA と病原性の関連について詳細な解析をおこなっている。[志牟田 健、伊豫田 淳、大西 真、渡辺 治雄]

XI. 口腔内細菌に関する研究

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

う蝕原因菌である *S. mutans* や *S. sobrinus* と他の streptococci との混合培養におけるバイオフィーム形成能を検討すると、*Streptococcus salivarius* と混合培養した場合にバイオフィーム形成が低下することが明らかとなった。*S. salivarius* によるバイオフィームの低下メカニズムに、Quorum-sensing system (細胞密度依存的制御機構, QS-System) を制御するオートインデューサーである CSP を不活性化させる蛋白分子が関与していることが明らかになった。この抑制蛋白分子は、*S. salivarius* の培養上清中に存在することが明らかとなった。この分子の精製を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用いて行くと、分子量約 60 と 75 kDa のバンドを含むフラクションに抑制活性が認められた。

この分子は、native な状態の時に複合体を形成していることも明らかになった。[泉福英信、小川綾子、藤田周平、三戸部次郎、渡辺治雄]

(2) 母子感染における *Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成に関する遺伝子の検討

母子伝播における *S. mutans* のバイオフィームの形成能および構造とその遺伝子の役割を明らかにすることを目的として、Quorum sensing System の制御を受けた *S. mutans* のバイオフィーム形成に関わる45の遺伝子を明らかにした。それらの中で SMU832, 833遺伝子については、母子が一致しない子供の *S. mutans* から100%に近い値で検出されているのに対して、一致した子供の *S. mutans* では60%以下であった。このことから、SMU832, 833遺伝子において、子が母親以外の者から *S. mutans* を獲得する際に、何らかの関連がある可能性が示唆された。また、SMU832, 833遺伝子欠損株を用いた6時間培養において、培地中のsucroseの有無に関わらず、バイオフィーム形成能が親株(UA159)よりも高くなった。以上の結果から、これら遺伝子によるバイオフィーム形成の制御が *S. mutans* の伝播に関与している可能性が考えられた。[泉福英信、茂木瑞穂、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および2次構造の解析

S. gordonii の菌体表層蛋白質(SspB)の SspB(390-A393K-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。このペプチドの立体構造を予測して、リジン置換により陽電荷がどのように表出しているか立体構造を描画できるコンピューターソフト MOE を

利用してその解析を行った。その結果、アミノ酸残基番号 393 のアラニンと 400 のスレオニンを置換したリジンは、ヘリックス構造上一列に並んで同方向に陽電化を表出しなおかつ推定上の距離が 12.1 で、SRCRP2 のシート上の負電荷間の推定上の距離が 11.9 と近似していた。このような陽電荷の表出とその距離が、SRCP2 との結合に関与していると考えられた。[泉福英信、木庭秀彦、奥田健太郎、渡辺治雄]

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

S. mutans の産生する抗菌物質であるバクテリオシンの一つに Smb がある。この Smb は、抗菌性の強い Lantibiotic タイプであり、Quorum-sensing によりその発現が制御されている。Smb の保有率が我々の所有する臨床分離株や実験室株の中で約 30% であることが明らかとなった。これらの Smb 保有株の中で抗菌活性の強弱が認められ、またその強弱と Smb 遺伝子発現の関連性も認められた。抗菌活性の低い株と高い株で Smb Structural gene の遺伝子配列に違いが認められず、また Promotor 領域の Sequence にも違いが認められなかった。しかし、ATG start codon から -46 に 1 塩基の変異があることが明らかとなった。この変異が、Smb 遺伝子発現の強弱に関与している可能性が示唆された。[泉福英信、米沢英雄、中山周一、三戸部次郎、渡辺治雄]

(5) う蝕原因菌 *Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成におけるキシリトール及びフノランの阻害効果

代用糖キシリトール及び海藻多糖体フノランの *S. mutans* バイオフィーム形成に及ぼす影響を検討した。唾液をコートした表面では、スクロース添

加培地のみバイオフィーム形成が認められたが、キシリトール添加培地ではその形成が認められなかった。唾液をコートしない条件では、キシリトール添加培地でもスクロース添加培地の時よりも少ないバイオフィーム形成が認められたが、そこにフノランを加えると完全に阻害された。以上の結果は、代用糖としてのキシリトールの使用、及び食品へのフノランの添加が、*S. mutans* を主体とする口腔内バイオフィームの形成阻害に有効であることを示唆している。[泉福英信、米田早織、米沢英雄、中尾龍馬、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 0.5mM を *C. albicans* に作用すると、静菌活性は示さずに *C. albicans* の上皮細胞への付着抑制活性が観察された。このことは、ヒノキチオールが *C. albicans* の表層に作用し、上皮細胞への付着分子になんらかの影響を与えていることが考えられた。ヒノキチオールは、高齢者の口腔ケア剤として有用となるかもしれない。[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ボ

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 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、IgY は有意に各 *Candida* の上皮細胞への付着を抑制した。

[泉福英信、藤林泰介、渡辺治雄]

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

Porphyromonas gingivalis などの歯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。そこで我々は口腔常在菌である *Actinomyces naeslundii* が形成するバイオフィルムに対する SCFA の効果を調べることに より、歯周病原菌の分泌 SCFA が口腔内バイオフィルムに及ぼす影響を明らかにすることを目的とし検討を行った。その結果、SCFA の一つである酪酸は、ある一定濃度において、*A. naeslundii* のバイオフィルム形成を促進することが明らかになった。また、唾液コート上へのバイオフィルム形成においても同様の現象が見られたことから、口腔内においても同様の効果を発揮するものと推察された。一方、その効果は培養後期の 16 ~ 20 時間目において発揮されたことから、*A. naeslundii* のバイオフィルムの成熟化に何らかの影響を及ぼしているものと考えられた。[米田早織、河原井武人、落合邦康 (日本大学歯学部)、泉福英信]

(9) *Porphyromonas gingivalis* Omp85 ホモログの推定される糖鎖修飾部位とバイオフィルム形成への関与

グラム陰性菌に保存される外膜タンパク Omp85 は菌の生存に必須の外膜タンパクであり、多くの外膜構成タンパクの集合に寄与する。前年度まで、*Porphyromonas gingivalis* の Omp85 が数 kDa の糖修飾を受ける外膜タンパクであることが明らかに

した。引き続き、OMP85 の修飾糖鎖が *P. gingivalis* のバイオフィルム形成へ関与するか否かを調べた。ガラクトース関連糖鎖の変異株となる *galE* 変異株においては、修飾糖鎖が野生株に比べて短縮化し、かつ OMP85 の loop-3 ペプチド領域に対する抗体によるバイオフィルム形成阻害が野生株よりも著明であった。以上より、OMP85 loop3 領域の糖鎖修飾の可能性とバイオフィルム形成への関与が示唆された。[中尾龍馬、泉福英信、渡辺治雄]

(10) *Porphyromonas gingivalis* 表層タンパクパラログヘマグルチニン HagB/C のグリコシレーション

Porphyromonas 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。前年度までの検討により、HagB/C が糖鎖修飾を受けている可能性が示唆されていた。本年度は、HagB/C の糖鎖修飾の有無を明らかにし、その修飾部位を推定した。外膜抽出物をトリフルオロメタンスルホン酸処理によって糖鎖切断処理し、HagB 抗体のウェスタンブロット解析した結果、糖鎖切断処理により HagB のバンドシフトが観察されたことから、HagB/C が糖タンパク質であり、その修飾糖鎖分子は数 kDa であることが示された。また、*hagB* 及び *hagC* の配列解析から、N 結合型糖鎖のコンセンサス配列は認められず、O 結合型糖鎖の基部となるセリン、スレオニン残基は特に C 末端側で豊富であった。今後は、本分子および修飾糖鎖が付着・バイオフィルム形成などの病原性発現に果たす役割についても検討する予定である。[中尾龍馬、河原井武人、泉福英信、渡邊治雄]

(11) 口腔ケアと *Candida albicans* の口腔内検出率との関係

施設内要介護高齢者 60 名に対する持続的な歯表面ケアと歯表面ケアおよび粘膜ケアの効果を口腔内 *Candida albicans* 検出率について検討を行った。その結果、口腔ケアを開始してから 1、2 か月目は両群に有意差が認められなかったが、口腔ケアを開始して 3 か月目以降の歯表面ケアおよび粘膜ケアを行った群の *C. albicans* の検出率は、歯表面ケアのみを行った群よりも有意に低いことが明らかとなった。粘膜ケアを歯牙表層ケアに加えると *C. albicans* の検出率抑制効果が強く認められた。これらの結果から、要介護高齢者における誤嚥性肺炎の予防に長期的な口腔粘膜ケアが有効であると考えられた。[泉福英信、稲葉英理佳、植松宏（東京医科歯科大学） 渡辺治雄]

(12) 歯科医療における院内感染対策の現状について

HIV 感染者および AIDS 患者数の比較的少ない某 D 県に所属する歯科医師 1329 人に対し院内感染対策の意識、知識、行動についてアンケート調査を実施した。376 人(回収率 28.3%)から回答がありその分析を行った。平成 18 年度に行った HIV 感染者および AIDS 感染者が全国的に多い某 A 県との比較も併せて行った。地域の HIV 感染者および AIDS 患者の数に関係なく、若い年齢層および来院患者数の多い歯科医師において、院内感染対策の意識、知識、行動の良好な結果を得ることができた。院内感染対策を歯科医療に導入していくためには、手間のかからない部分は研修会や実習等で短期に向上させていくことが可能であるが、手間のかかる部分や経済的な投資が必要な部分は簡単に向上させることが難しいと考えられた。経済的に余裕のある歯科医院に対しての研修会や実習等は効果的に働くことが予想されるが、経済的に余裕のない歯科医院に院内感染対策を導入させるのが難しいと考えられた。院内感染対策の導入は、項目に

おいては若干の地域差が認められ、実際の感染者や患者の数にも影響を受けることが考えられた。院内感染対策を導入していくためには、高年齢の歯科医師に対しての研修等を長期的に行い、若い歯科医師には積極的に意識改革のために研修会へ参加させることが必要である。まずは、経済的に負担の少なく手間のかからない院内感染対策から始めることが重要であると考えられた。[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）]

XII. ペスト菌の研究

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

ペスト菌をペスト菌の F1 antigen に対するモノクローナル抗体を用いた直接抗体法 (Direct Fluorescent Antibody) を用いて迅速に検出する方法の確立を試みた。ペスト菌をホルマリンで処理したサンプルに対しては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ず、いずれのペスト菌株に対しても良好な蛍光像が得られる陽性を示したが、ペスト菌を一般的な臨床検査で用いられるメタノール(熱)固定処理した場合には DFA による染色像は殆ど認められなかった。以上の結果からペスト菌 F1 antigen に対するモノクローナル抗体によりホルマリン処理した検体における DFA によるペスト菌の検出法を確立した。[高橋英之]

(2) 生育温度の異なる死菌体を用いたペスト菌に対するヒトの自然免疫応答の検討

ペスト菌が 37 生育菌の LPS(LPS-37)は LPS-27 が示すようなヒト細胞に対するアゴニスト活性を失い、逆にアンタゴニストとして強い抑制作用を

示すことを菌体レベルでの反応を明らかにするために、フォルマリン死菌（FKB）を用いて検討した結果、LPS の場合と同様に菌体レベルでも、FKB-27 のヒトマクロファージ様細胞である U937 細胞に対する活性は強く、FKB-37 の活性は弱かった。この FKB-27 の活性に対しても LPS-37 はアンタゴニスト活性を示したが、FKB-37 はほとんど示さなかった。貪食に関しては、FKB-27 よりむしろ FKB-37 の方が貪食を受けやすい傾向が見られた。これらの結果から、人の体内で、37 で生育したベスト菌は、菌体レベルでも TLR4 による認識から回避できるが、アンタゴニストとして TLR4 をブロックするには LPS を遊離する必要があると考えられた。[松浦基博、平井義一（自治医科大）、高橋英之、渡邊治雄、川原一芳（関東学院大）]

XIII. 結核菌に関する研究

（1）ダニから分離された抗酸菌の同定

ダニから分離された抗酸菌の同定を、11 項目の生化学的検査法、DNA-DNA ハイブリダイゼーション法、16S rRNA の塩基配列を調べる塩基配列決定法にて行った結果、*Mycobacterium chelonae* と同定した。*M. chelonae* は、通常ヒトの皮膚から分離されるが、ダニから分離された珍しいケースであった。[山崎利雄・川端寛樹]

（2）ヒトの皮膚由来抗酸菌の同定

ヒトの皮膚から分離され DDH 法により、*M. marinum* と同定された菌株中に、黄オレンジ色の他に灰白色のコロニーが観察されたということで分離同定依頼を受けた。原株を希釈し純化後、単コロニーより増菌させた 15 菌株について 15 項目の生化学的検査法、DDH 法、16S rRNA の塩基配列を調べる塩基配列決定法を行い、全て *M. shinsuense* と同定された。灰白コロニーは、観察中に色が変化する光発色性の菌であり、わが国で

分離されるケースがまれな菌種であった。[山崎利雄・伊藤芳幸（三重大学）]

（3）*M. avium* の Variable Numvers of Tandem Repeats 型別解析

浴槽水から分離された *M. avium* より DNA を抽出し、西森らが報告した 17 組のプライマーを用いて PCR を行い、PCR 産物の電気泳動により DNA サイズを測定し、含まれる VNTR 数を調べ、*M. avium* の菌株間の違いを検討した。また、われわれが保存している *M. avium* との違いも検討した。*M. avium* 症の患者さん宅の循環浴槽から分離された *M. avium* は、VNTR 法では、同じ菌株由来と判定されたが、RFLP では、それぞれのバンドパターンが異なるので、別由来の菌であると判定された。浴槽水由来のクラスター形成率は 16.7%（2/12 株）、濾材は 25%（1/4 株）であった。患者さん由来のクラスター形成率は 14.0%（6/43）であった。鳥由来のクラスター形成率は 16.7%（2/12 株）であった。[山崎利雄；遠藤卓郎（寄生動物部）、杉山寛治（静岡県環境衛生研究所）、前田伸治（結核研究所）]

（4）結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

結核菌の迅速薬剤感受性試験のために、二次抗結核薬である Capreomycin (CPM)、Cycloserine (CS)、Ethionamide (TH)、para-Aminosalicylic acid (PAS)、Emviomycin (EVM) について、ATP を測定する方法 (ATP 法) と参照法の結果を比較し、ATP 法の信頼性を検討した。臨床分離菌 109 株について寒天比率法と ATP 法との一致率は、CPM 92.7%、CS 95.4%、TH 81.7%、PAS 86.2%、EVM 96.3% であり、ビットスペクトル法との一致率は、CS 92.7%、TH 78.0%、PAS 78.9%、EVM 94.5% であった。ATP 法は、二次抗結核薬についても、結核菌薬剤感受性試験法として、5 日間で判定可能な迅速な検査法で

あるが、TH、PASのATP法の濃度については、検討が必要である。[山崎利雄；山本三郎（遺伝子・疾患研究所）、岡沢 豊（極東製薬工業）]

XIII.その他

(1) 体外診断薬承認前検査：

厚生労働省より依頼される承認前検査中、輸血に関するものとして、抗梅毒抗体診断薬及び抗カ

ルジオリピン抗体診断薬の検査を行っている。19年度は一件の化学発光EIA法による抗梅毒抗体検出試薬の検査を実施した。本品目は規格試験に合格した。[中山周一、志牟田 健、大西 真]

(2) 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]

(2) 研修業務

ア．平成19年度特別課程細菌コース（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、地研、保健所及び行政担当の職員29名に対して2時間の講義を行った。11月15日、和光市。[倉 文明、前川純子]

イ．厚生労働科研費地域健康危機管理研究事業「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」でLAMP法とサイクリングプローブ法によるレジオネラの迅速

な定量的検出に関して研修を、7地研から7名に対して2日間行った。森本 洋（北海道衛研）、佐々木美江（宮城県保環センター）、渡辺祐子（神奈川県衛研）、杉山寛治（静岡県環衛科学研）、磯部順子（富山県衛研）、中嶋 洋（岡山県環保センター）、緒方喜久代（大分県衛環研センター）、7月10日～11日（泉山信司、遠藤卓郎〔寄生動物部〕；前川純子、常 彬、倉 文明）。

発表業績一覧

1. 誌上発表

1. 欧文論文

1)Matsumoto, Y., Kitazume, H., Yamada, M., Ishiguro, Y., Muto, T., Izumiya, H., and Watanabe, H.: CTX-M-14 type beta-lactamase producing *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolated from imported chicken meat. Jpn. J. Infect. Dis. 60: 236-8, 2007.

2)Kawagoe, K., Mine, H., Asai, T., Kojima, A., Ishihara, K., Harada, K., Ozawa, M., Izumiya, H., Terajima, J., Watanabe, H., Honda, E., Takahashi, T., and Sameshima, T.: Changes of multi-drug resistance pattern in *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar typhimurium isolates from food-producing animals in Japan. J. Vet. Med. Sci., 69: 1211-3, 2007.

3) Morita-Ishihara T. Supramolecular structure of the *Shigella* type III secretion machinery. Bioscience and Microflora. 26: 29-36. 2007.

4)Asakura H, Morita-Ishihara T, Yamamoto S, Igimi S. Genetic characterization of thermal tolerance in *Enterobacter sakazakii*. Microbiology and Immunology. 51: 671-677. 2007.

5)Yamamoto S., He Y., Arakawa K. and Kinashi H. γ -butyrolactone-dependent expression of the

- Streptomyces* antibiotic regulatory protein gene *srrY* plays a central role in the regulatory cascade leading to lankacidin and lankamycin production in *Streptomyces rochei*. J Bacteriol. 190:1308-1316, 2008.
- 6) Tokunaga A., Kawano M., Okura M., Iyoda, S., Watanabe, H. and Osawa, R. Identification of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157-Specific DNA sequence obtained from amplified fragment length polymorphism analysis. Microbiol Immunol. 51: 883-888, 2007.
- 7) Asakura H, Ishiwa A, Arakawa E, Makino S, Okada Y, Yamamoto S, Igimi S. Gene expression profile of *Vibrio cholerae* in the cold stress-induced viable but non-culturable state. Environ Microbiol., 9(4), 869-79 .2007.
- 8) Shinoda S, Nakagawa T, Hirakawa N, Miyoshi S, Arakawa E, Ramamurthy T, Dutta B, Faruque SM, Nair GB. Molecular epidemiological studies of *Vibrio cholerae* in Bengal region. Biocontrol Sci., 13(1), 1-8 .2008.
- 9) Koizumi N, Watanabe H. Leptospirosis. In: Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases (in press)
- 10) Jiro Mitobe, Tomoko Morita-Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe. Involvement of RNA binding protein hfq in the post-transcriptional regulation of *invE* gene expression in *Shigella sonnei*. J. Biol. Chem. 283: 5738-47.2008.
- 11) Ino T, Akio Tada, Akira Tominaga, Yasuo Komori, Hiroshige Chiba, and Hidenobu Senpuku. Role of salivary tumour necrosis factor alpha in HIV-positive patients with oral manifestations. International Journal of STD & AIDS.18: 565-569.2007.
- 12) Ryoma Nakao, Yosuke Tashiro, Nobuhiko Nomura, Saori Kosono, Kuniyasu Ochiai, Hideo Yonezawa, Haruo Watanabe and Hidenobu Senpuku. Glycosylation of the OMP85 homolog of *Porphyromonas gingivalis* and its involvement in biofilm formation. Biochemical and Biophysical Research Communications, 365:784-789. 2008..
- 13) Masayuki Kumada, Hidenobu Senpuku, Mizuho Motegi, Ryoma Nakao, Hideo Yonezawa, Hideki Yamamura, Haruo Watanabe and Junji Tagami. Effects of *Enterococcus faecium* on *Streptococcus mutans* biofilm formation using flow cell system. Journal of Oral Biosciences, 50: 68-76, 2008.
- 14) Yosuke Tashiro, Nobuhiko Nomura, Ryoma Nakao, Hidenobu Senpuku, Reiko Kariyama, Hiromi Kumon, Saori Kosono, Haruo Watanabe, Toshiaki Nakajima, Hiroo Uchiyama. Opr86 is essential for viability and is a possible protective antigen in *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacterol. 190: 3969-3978. 2008.
- 15) Ikebe, T., Hirasawa, K., Suzuki, R., Ohya, H., Isobe, J., Tanaka, D., Katsukawa, C., Kawahara, R., Tomita, M., Ogata, K., Endoh, M., Okuno, R., Tada, Y., Okabe, N., Watanabe, H. and the Working Group for Beta-hemolytic Streptococci in Japan. Distribution of emm genotypes among group A streptococcus isolates from patients with severe invasive streptococcal infections in Japan, 2001-2005. Epidemiol. Infect. 135: 1227-1229. 2007.
- 16) Pei Y, Terajima J, Saito Y, Suzuki R, Takai N, Izumiya H, Morita-Ishihara T, Ohnishi M, Miura M, Iyoda S, Mitobe J, Wang B, Watanabe H. 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.* Jan;61(1):58-64.2008.
- 17) Liang SY, Watanabe H, Terajima J, Li CC, Liao JC, Tung SK, Chiou CS. Multilocus Variable-Number Tandem Repeat Analysis for Molecular Typing of *Shigella sonnei*. *J Clin Microbiol.* Nov;45(11):3574-80.2007.
- 18) Yoshitoshi Ogura, Tadasuke Ooka, Asadulghani ., Jun Terajima, Jean-Philippe Nougayrede, Ken Kurokawa, Kousuke Tashiro, Toru Tobe, Keisuke Nakayama, Satoru Kuhara, Eric Oswald, Haruo Watanabe and Tetsuya Hayashi. Extensive genomic diversity and selective conservation of virulence-determinants in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* strains of O157 and non-O157 serotypes. *Genome Biology.* (7): R138.2008.
- 19) Y Hirakata, Y Mizuta, A Wada, A Kondoh, S Kurihara, K Izumikawa, M Seki, K Yanagihara, Y Miyazaki, K Tomono and S Kohno. The First Telithromycin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* Isolate in Japan Associated with *erm(B)* and Mutations in 23S rRNA and Riboprotein L4. *Jpn J Infect Dis*, 2007. 60:48-50.
- 20) S Kobayashi, A Wada, S Shibasaki, M Annaka, H Higuchi, K Adachi, N Mori, T Ishikawa, Y Masuda, H Watanabe, N Yamamoto, S Yamaoka and T Inamatsu. Spread of a large plasmid carrying the *cpe* gene and the *tcp* locus amongst *Clostridium perfringens* isolates from nosocomial outbreaks and sporadic cases of gastroenteritis in a geriatric hospital. *Epidemiol Infect*, 2008. in press.
- 21) Saito K, Ito A, Asashima N, Ohno M, Nagai R, Fujita H, Koizumi N, Takano A, Watanabe.H, Kawabata H. Case report: *Borrelia valaisiana* infection in a Japanese man associated with traveling to foreign countries. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 77:1124-1127, 2007.
- 22) Fujita H, Takada N, Kawabata H, Ishiguro F, Yamamoto S, Oikawa Y, Yano Y, Ma XH, Oh,HS. Some suggestive records of rickettsiae isolated from ticks in Korea and central China. *Annual report of Ohara General Hospital.* 47: 21-24, 2007.
- 23) 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
- 24) Iguchi A, Iyoda S, Watanabe H, and Osawa R. O side chain deficiency enhances sensitivity of *Escherichia coli* to Shiga toxin 2-converting bacteriophages. *Current Microbiol.* 54: 14-19. 2007.
- 25) Alam, M., Sultana, M., Nair, G.B., Siddique, A, K ., Hasan, N.A., Sack, R.B. Sack, D.A., Ahmed, K.U., Sadique, A., Watanabe, H., Grim, C.J., Huq, A., and Colwell, R.R. Viable but non-culturable *Vibrio cholerae* O1 in biofilms in the aquatic environment and their role in cholera transmission. *Pro.Natl.Acad.Scie:* 104: 17801-17806. 2007.
- 26) Shiu-Yun Liang, Haruo Watanabe, Jun Terajima, Chun-Chin Li, Jui-Cheng Liao, Sheng Kai

Tung, and Chien-Shun Chiou . Multilocus variable-number tandem repeat analysis for molecular subtyping of *Shigella sonnei*. J.Clin.Microbiol. 45:3574-3580. 2007

27) Zo, YG., Chokesajjawatee, N., Arakawa, E., Watanabe, H., Huq, A., and Colwell RR. Covariability of *Vibrio cholerae* microdiversity and environmental parameters. Appl. Environ. Microbiol. 74: 2915-2920. 2008

2. 和文発表

- 1) 伊豫田 淳、勢戸和子、寺嶋 淳：世界的に見た感染症の検査法「腸管出血性大腸菌」、臨床と微生物、34, 273-278, 2007.
- 2) 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.
- 3) 小泉信夫、渡辺治雄．レプトスピラ症とは／レプトスピラ症の検査法．IASR 29: 5-8, 2008.
- 4) 西園隆三、小泉信夫．医師からみたレプトスピラ症．SA Medicine 49: 68-70, 2007.
- 5) 小泉信夫．レプトスピラ症およびレプトスピラワクチン．World Focus 98: 5-6, 2007.
- 6) 寺嶋 淳．堺以後の日本における O157 の発生動向．日本食品微生物学会誌、24, 74-79, 2007
- 7) 寺嶋 淳．便細菌検査による病原性大腸菌検出時の対応．日本医事新報、質疑応答、4345, 162, 2007
- 8) 寺嶋 淳．腸管出血性大腸菌 O157 の近年の発生状況について - 分子疫学的解析からわかること - 、獣医公衆衛生研究、10, 8-10, 2008
- 9) 志牟田 健．最新細菌かび酵母図鑑(分担執筆)、第二章-18 *Serratia marcescens* (セラチア菌)。p92-95. 技術情報協会. 2007.
- 10) 倉 文明：微生物感染と NOX、生体防御医学事典(鈴木和男監修) 217-221、朝倉書店、東京、2007 年 5 月 20 日 .
- 11) 倉 文明： *Legionella pneumophila*、最新細菌・カビ・酵母図鑑(高鳥浩介、五十君静信監修) 71-74、技術情報協会、東京、2008 年 12 月 27 日 .
- 12) 倉 文明：レジオネラ属菌の管理基準、感染事例と菌濃度との関連、および分子疫学、第 66 回日本公衆衛生学会総会(愛媛)報告書日本公衆衛生学会誌、240, 2007.
- 13) 宇根有美、三部あすか、加藤行男、鈴木 智、仁和岳史、川上和人、泉谷秀昌、渡辺治雄：北海道のスズメ大量死事例から見出された *Salmonella* Typhimurium DT40 感染症。IASR、第 28 巻第 2 号、49-51、2006.
- 14) 泉谷秀昌：食中毒予防必携第 2 版、サルモネラ。日本食品衛生協会、2007.
- 15) 泉谷秀昌：サルモネラ属菌、最新細菌カビ・酵母図鑑。技術情報協会、2007.
- 16) 馬場俊一、川端寛樹、高野愛．ライム病．小児内科．東京医学社、39(11)、2007 .
- 17) 安間安弥子、馬場俊一、下島博之、照井正、川端寛樹．東京都内で発生したアカコッコマダニ成虫複数刺咬の 1 例．皮膚の科学．6(4)、387-391、2007 .
- 18) 矢野泰弘、田原研司、保科健、板垣朝夫、藤田博己、角坂照貴、川端寛樹、高田伸弘．島根県におけるツツガムシの分布調査-ツツガムシ病発生相と関連して-．大原総合病院年報．47、7-10. 2007.
- 19) 坂本光男、小野寺昭一、高橋英之、渡辺治雄、髄膜炎菌による急性気管支炎を発症した HIV 感染症の一例、感染症学雑誌、81: 731-735、2007
- 20) 高橋英之、渡辺治雄、新感染症学(下) -新時代の基礎・臨床研究-、ベスト、日本臨床 65 増刊号 3、54-59、2007.
- 21) 池辺忠義、渡辺治雄．劇症型溶血性レンサ球菌感染症．In 新感染症学(下) -新時代の基礎・臨床研究-．日本臨床増刊号．65 suppl 3: 255-258

(2007).

22) 泉福英信、歯科医療機関における院内感染対策の導入について .日本歯科評論 .774:135-140 .2007

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Jiro Mitobe, Tomoko Morita-Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe. Involvement of RNA binding protein hfq in the post-transcriptional regulation of *invE* gene expression in *Shigella sonnei*. The 37th US-Japan Medical conference Cholera board. Austin Texas, USA. Dec.4-7, 2007
- 2) Iyoda, S., Saitoh, T., Lu Y. and Watanabe H. Coordination of virulence-related genes under the control of GrIR/GrIA regulatory system in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. 107th ASM General Meeting, . Toronto, Canada. May 2007
- 3) Suzuki-Hashimoto, A., Amemura-Maekawa, J., Kura, F., Chang, B., Izumiyama, S., Ichinose, M., Watanabe, H., Endo, T.; The surveillance of *Legionella* from cooling towers between 2001 and 2006 in Japan. 22nd Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* Infections, Stockholm, Sweden. June 2007.
- 4) Miyahara, M., Miyahara, M., Arakawa, E.: Detection of *Vibrio parahaemolyticus* by PCR in food and effect of electron-beam irradiation on the detection of *Vibrio parahaemolyticus*., *Vibrio* 2007, Paris, France. Nov 2007
- 5) Okura, M., Osawa, R., Tokunaga, A., Morita, M., Arakawa, E., and Watanabe, H.: Comparative and genetic analyses of the putative O and K-antigen gene clusters of *Vibrio parahaemolyticus* pandemic group O3:K6 and O4:K68 strain, 42th U.S.-Japan Cholera and Other Bacterial

Infections Joint Panel Meeting, Texas, USA. Dec 2007,

6) Kura F, Amemura-Maekawa J, Suzuki-Hashimoto A, Chang B, Izumiyama S, Ichinose M, Endo T, Watanabe H: Surveillance of *Legionella* isolates from bathtub water in Japan: An increase of the rate of *Legionella pneumophila* serogroup 1. 22nd Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Stockholm. June 2007.

7) H. Izumiya: Application of MLVA to EHEC isolates of Japan. 5th Meeting of PulseNet Asia Pacific, Kolkata, India. Feb. 2008.

8) Senpuku H, Tominaga A, Nakajima J, and Komori Y. Relationship between inhibition effects on HIV-1 infection of Lactoferrin and TNF-production . 13th International Congress of Mucosal Immunology, Tokyo July. 2007

2. 国内学会

- 1) 大西真、山本新吾、倉園久生、濱砂良一、渡邊治雄. 腸管外病原性大腸菌の系統解析 第81回日本感染症学会 京都 2007 4月
- 2) 前川純子. レジオネラの検査法と分子疫学. シンポジウム講演. 衛生微生物技術協議会. 第28回研究会、岡山、2007年7月.
- 3) 村井美代、前川純子、渡辺治雄. 黄色ブドウ球菌のファイブロネクチン結合タンパク A 領域にみられる菌株間の多型. 第52回日本ブドウ球菌研究会、徳島、2007年9月
- 4) 前川純子. *Legionella pneumophila* SBT について. 「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」に関する九州地区研修. 福岡、2007年12月.
- 5) 前川純子、山崎利雄、渡辺治雄、倉 文明; 森本 洋、熊田裕子、藤田雅弘、黒木俊郎、杉

細菌第一部

- 山寛治、緒方喜久代、縣 邦雄. 掛け流し式温泉の温泉成分検査、微生物実態調査、および施設の衛生管理状況についての調査. 第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月.
- 6) 山崎利雄、相澤志保子、服部真一郎、宮本友司、山本三郎、結核菌の噴霧感染実験による BCG ワクチン効果の有効性、持続性の再評価、第77回実験結核研究会、2007、6月、大阪
- 7) 山崎利雄、相澤志保子、服部真一郎、宮本友司、山本三郎、加齢ホルモットにおける BCG ワクチン再接種の結核防御効果、第82回日本結核病学会総会、2007、6月、大阪.
- 8) 村井美代、前川純子、渡辺治雄. 黄色ブドウ球菌のファイブロネクチン結合タンパク A 領域の多型と立体構造への影響. 第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月.
- 9) 大倉正稔、大澤朗、徳永暁彦、森田昌知、荒川英二、渡辺治雄 新興型腸炎ピブリオ03:K6株と04:K68株の0およびK抗原の合成に関わる遺伝子群の比較解析、第41回腸炎ピブリオシンポジウム、2007年11月、神戸
- 10) 宮原美知子、荒川英二. 腸炎ピブリオの食品からの迅速検査法の検討、第41回腸炎ピブリオシンポジウム、2007年11月、神戸
- 11) 荒川英二. エロモナス感染症の現況、平成19年度保健所検査業務研究発表会、2008年3月、岡山
- 12) 伊豫田淳、齊藤剛仁、石原朋子、小泉信夫、志牟田健、陸彦、大西真、寺嶋淳、渡辺治雄: 腸管出血性大腸菌の GrIR-GrIA 制御システムによる病原性関連遺伝子群の協調発現機構、第80回日本細菌学会総会・ワークショップ「細菌における遺伝子発現制御機構の特異性と普遍性」、2007年3月、大阪
- 13) 陸彦、伊豫田淳、トーマ・クラウディア、伊藤健一郎、八柳潤、大西真、寺嶋淳: LEE 非保有型の志賀毒素産生性大腸菌が保有する新規免疫グロブリン結合遺伝子ファミリーの解析、第80回日本細菌学会総会、2007年3月、大阪
- 14) 齊藤剛仁、伊豫田淳、陸彦、志牟田健、大西真、寺嶋淳、渡辺治雄: 腸管出血性大腸菌におけるエンテロヘモリシンの発現制御機構。第80回日本細菌学会総会、2007年3月、大阪
- 15) 伊豫田 淳、山本 章治、佐藤 人美、寺嶋 淳、渡辺 治雄: LEE の発現制御因子 GrIA による病原性遺伝子群のグローバル発現制御機構、第11回 EHEC シンポジウム、2007年8月、長野
- 16) 石原朋子: 腸管病原菌の III 型分泌装置と細胞付着・侵入のメカニズム、7年度日本乳酸菌学会秋季セミナー、2007年11月、東京
- 17) 石原朋子、三浦雅史、寺嶋淳、泉谷秀昌、渡辺治雄: 赤痢菌感染による細胞破壊抑制機構の解析、第81回日本細菌学会総会、2008年3月、京都
- 18) 小泉信夫、武藤麻紀、山本正悟、下村高司、相馬宏敏、渡辺治雄. 宮崎県のイヌから分離されたレプトスピラの性状解析. レプトスピラシンポジウム、京都、2008年3月.
- 19) 小泉信夫、大西真、渡辺治雄. Megasort 法を用いたレプトスピラ strain-specific 遺伝子の網羅的解析. 日本細菌学会、京都、2008年3月.
- 20) 三戸部治郎、石原朋子、石浜明、渡辺治雄. 赤痢菌の Type III secretion system の post-transcriptional な温度、浸透圧制御. 平成20年5月2008年4月第81回日本細菌学会総会 京都国際会議場
- 21) 泉福英信、口腔ケアによる口腔微生物叢への効果の実際、歯科人間ドック学会特別講演、東京、2007年6月17日。
- 22) 泉福英信、茂木瑞穂、田村昌平、*S. mutans* と他の streptococci との混合培養バイオフィルムにおける GrIA の役割、第49回歯科基礎医学会、札幌、2007年8月。
- 23) 泉福英信、木村晴夫、西牟田守、島田美恵子、

細菌第一部

- 中川直樹、吉武裕、体力と口腔微生物叢との関係、第62回日本体力医学会、秋田、2007年9月。
- 24) 泉福英信、薬液を利用した口腔ケアによる口腔微生物叢への効果の実際、日本化学療法学会、ワークショップ4 講演、仙台、2007年9月14日。
- 25) 泉福英信、多田章夫、小森康雄、歯科医療における院内感染対策の導入とその対策について、第56回口腔衛生学会、東京、2007年10月。
- 26) 佐藤則文、中村盛幸、山崎統資、泉福英信、*Candida albicans*のBiofilm形成および口腔上皮細胞への付着性に及ぼすヒノキチオールの効果に関して、第56回口腔衛生学会、東京、2007年10月。
- 27) 金子 昇、葭原明弘、泉福英信、花田信弘、宮崎秀夫、高齢者における唾液中抗PAC(361-386) IgA抗体と根面齲蝕との関連、第56回口腔衛生学会、東京、2007年10月。
- 28) 泉福英信、口腔ケアによる口腔細菌叢への効果の実際、第16回日本口腔感染症学会時・第56回ICD講習会特別講演、横浜、2007年11月10日。
- 29) 泉福英信、口腔細菌叢に及ぼす口腔ケアの役割について、第13回摂食・嚥下リハビリテーション学会、シンポジウム講演、大宮、2007年9月14日。
- 30) 泉福英信、口腔ケアによる口腔細菌叢への効果の実際と歯科医療における全身感染症対策、北陸地区HIV歯科診療情報交換会・研修会特別講演、金沢、2008年2月24日。
- 31) 泉福英信、歯科医療における院内感染対策に対する意識と行動およびその評価指標の開発、第9回日本口腔機能水学会学術大会特別講演、新潟、2008年3月23日。
- 32) 中尾龍馬、泉福英信、渡辺治雄、*Porphyromonas gingivalis*表層タンパクパラログ、ヘマグルチニンHagB/Cのグリコシレーション、第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月。
- 33) 河原井武人、米澤英雄、米田早織、杉田大悟、佐伯洋二、落合邦康、泉福英信、う蝕原因菌 *Streptococcus mutans*のバイオフィーム形成におけるキシリトール及びフノランの阻害効果、第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月。
- 34) 金子昇、花田信弘、泉福英信、唾液中抗PAC(361-386) IgA抗体の高齢者における根面う蝕プレディクターとしての可能性、第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月。
- 35) 米田早織、河原井武人、杉田大悟、佐伯洋二、泉福英信、短鎖脂肪酸の*Actinomyces naeslundii*バイオフィーム形成に及ぼす影響、第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月。
- 36) 寺嶋 淳、伊豫田 淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原朋子、渡邊治雄：2006年におけるO157:H7を中心としたEHECの動向について。第81回日本細菌学会総会、2008年3月、京都
- 37) 三浦雅史、伊豫田 淳、大西 真、安部 裕順、戸邊 亨、林 哲也、泉谷秀昌、寺嶋 淳、渡辺治雄：OspEファミリータンパク質による感染宿主細胞のRhoAシグナル伝達系の制御。第81回日本細菌学会総会、2008年3月、京都
- 38) 大岡唯祐、小椋義俊、中山啓介、寺嶋 淳、渡辺治雄、林 哲也：腸管出血性大腸菌O157の小規模ゲノム構造多型に関する詳細な解析。第81回日本細菌学会総会、2008年3月、京都
- 39) 寺嶋 淳：腸管出血性大腸菌感染症の動向と分離菌株の分子疫学解析。第12回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2008年3月、東京
- 40) 江藤良樹、中村祥子、濱崎光宏、村上光一、竹中重幸、堀川和美、大岡唯祐、林哲也、楠本正博、寺嶋 淳：腸管出血性大腸菌O157のIS-printing法とパルスフィールドゲル電気泳動法の比較。第12回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2008年3月、東京
- 41) 杉本典彦、寺嶋 淳、伊豫田 淳、嶋 謙介、呉 育羅、日野根谷淳、朝倉昌博、渡邊治雄、山崎伸二：我が国で分離した様々な血清型の腸管出

細菌第一部

血性大腸菌を用いた志賀毒素ファージを標的とした PCR-RFLP 法の評価。第 12 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2008 年 3 月、東京

42) 寺嶋 淳、伊豫田 淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原朋子、渡邊治雄：2006 年における O157:H7 を中心とした EHEC の動向について。第 11 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2007 年 8 月、安曇野市

43) 倉 文明、前川純子、鈴木敦子、常 彬、泉山信司、市瀬正之、遠藤卓郎、渡邊治雄：浴槽水からのレジオネラ属菌の検出状況 *Legionella pneumophila* 血清群 1 の増加。感染症学会、2007 年 4 月、京都。

44) 鈴木敦子、前川純子、倉 文明、常 彬、泉山信司、市瀬正之、渡邊治雄、遠藤卓郎：冷却塔水からのレジオネラ属菌の検出状況 2001 年度から 2006 年度まで。第 81 回日本感染症学会総会、2007 年 4 月、京都。

45) 倉 文明：レジオネラ属菌の管理基準と検出データからの知見、平成 19 年度環境衛生監視員研修会（兵庫県）、2007 年 6 月、神戸。

46) 倉 文明：レジオネラ属菌の管理基準、感染事例と菌濃度との関連、および分子疫学、招請講演、行政研修フォーラム、公衆衛生学会、2007 年 10 月、松山。

47) 倉 文明：レジオネラの基礎、国立保健医療科学院平成 19 年度特別課程細菌コース、2007 年 11 月、和光。

48) 郡山洋一郎、中村由美子、青木真里子、柴早苗、高橋朝子、鈴木龍雄、工藤寛子、前川純子、倉文明：足立区における温泉水からのレジオネラ属菌検出事例について、第 20 回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌部会、2008 年 2 月、千葉。

49) 倉 文明：遺伝子検査法の進展状況と活用方法、第 6 回全国レジオネラ対策会議、3 月、東京。

50) 宇根有美、三部あすか、鈴木智、仁和岳史、加藤行男、川上和人、泉谷秀昌、渡邊治雄：北海道におけるスズメ *Passer montanus* の *Salmonella* Typhimurium 感染症の発生。第 143 回日本獣医学会学術集会、つくば市、2007 年 4 月。

51) 野田裕之、長田美母衣、大沼正行、金子通治、泉谷秀昌、渡邊治雄：山梨県で分離された散発下痢症患者由来の *Salmonella* serovar Enteritidis の分離頻度と疫学マーカーの頻度。第 81 回日本感染症学会総会、京都市、2007 年 4 月。

52) 宇根有美、三部あすか、鈴木智、仁和岳史、加藤行男、川上和人、黒沢令子、泉谷秀昌、渡邊治雄：スズメ (*Passer montanus*) の集団死と *Salmonella* Typhimurium 感染症。第 13 回日本野生動物医学会大会、盛岡市、2007 年 9 月。

53) 木股裕子、郡司明博、吉田信一郎、仲西寿男、池田律子、泉谷秀昌：*S. Enteritidis* の過去と現在。第 28 回日本食品微生物学会学術総会、東京、2007 年 9 月。

54) 三部あすか、宇根有美、鈴木智、仁和岳史、泉谷秀昌、渡邊治雄、加藤行男：本州におけるスズメ (*Passer montanus*) の *Salmonella* Typhimurium 感染症の集団事例。第 7 回人と動物の共通感染症研究会学術集会、東京、2007 年 11 月。

55) 川畑大輔、塚原みゆき、山本雅枝、永野貞明、泉谷秀昌、大石毅：市販の抗血清に凝集を示さなかった *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* の一症例。第 19 回日本臨床微生物学会総会、東京、2008 年 1 月。

56) 戸田正枝、佐藤 宏、高野 愛、川端寛樹、渡邊治雄、宇根有美。ガーナから輸入されたボールパイソンの *Trypanosoma* cf. *varani* 感染。第 145 回日本獣医学会学術集会。2008 年 3 月。神奈川。

57) 川端寛樹、高野 愛、渡邊治雄。ライム病-近年の研究から分かってきたこと。第 145 回日本獣医学会学術集会。2008 年 3 月。神奈川。

細菌第一部

- 58)高野 愛, 川端寛樹, 渡邊治雄, 藤田博己, 宇根有美, 五箇公一. 爬虫類から見出された新規ボレリア~ボレリア-媒介節足動物間の共分岐進化に関する新見解~. 第 145 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 3 月. 神奈川.
- 59)川端寛樹, 高野 愛, 渡邊治雄. ライム病ボレリア形質転換技術の確立とその応用. 第 81 回日本細菌学会総会. 2008 年 3 月. 京都.
- 60)高野 愛, 川端寛樹, 藤田博己, 渡邊治雄. 爬虫類から見出された新規ボレリア:ボレリア-媒介節足動物間の共分岐進化に関する新見解. 第 81 回日本細菌学会総会. 2008 年 3 月. 京都.
- 61)池辺忠義, 阿戸学, 川端寛樹, 小林 和夫, 渡邊治雄. 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. 2008 年 3 月. 京都.
- 62)鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 川端寛樹, 安藤秀二, 高橋守. 鳥類標識調査における外部寄生虫採取調査. -2006 年度調査結果および本年度経過報告-. 日本鳥類標識協会全国大会. 2007 年 12 月. 東京
- 63)藤田博己, 角坂照貴, 高野愛, 川端寛樹, 本田俊郎, 御供田睦代, 及川陽三郎, 山本正悟, 高田伸弘. トカラ列島のマダニ類とツツガムシ. 日本衛生動物学会西日本支部会. 2007 年 10 月. 大津
- 64)花岡 希, 安藤秀二, 坂田明子, 川端寛樹, 高野 愛, 岸本寿男, 倉根一郎. PCR 法を用いたリケッチア症病原体検出法の改良 コンタミネーション防止のためのポジティブコントロール作製. リケッチア・クラミジア研究会. 2007 年 10 月. 東京
- 65)藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹. 福島市の山林におけるタネガタマダニの紅斑熱リケッチア保有状況調査. 日本衛生動物学会北日本支部会. 2007 年 9 月. 仙台
- 66)藤田博己, 高田伸弘, 川端寛樹, 田原研司, 高野 愛, 山内健生, 川森文彦. 東北地方中部のマダニ相とマダニ保有リケッチア検査. 日本衛生動物学会北日本支部会. 2007 年 9 月. 仙台
- 67)安藤秀二, 坂田明子, 高野 愛, 川端寛樹, 藤田博己, 宇根有美, 五箇公一, 岸本壽男. 爬虫類寄生ダニ類からのリケッチアの検出. 日本衛生動物学会北日本支部会. 2007 年 9 月. 仙台
- 68)川端寛樹, 齋藤幹, 新田芳樹, 角坂照貴, 藤田博己, 御供田睦代, 本田俊郎, 河村好章, 江崎孝行, 高田伸弘, 高野 愛, 渡邊治雄. マダニ媒介性の *Borrelia valaisiana* 近縁種 (*Candidatus Borrelia orientalis*) 感染が疑われたライム病の 1 症例と, *B. valaisiana* 近縁種の国内分布, 病原性に関する解析. 日本衛生動物学会北日本支部会. 2007 年 9 月. 仙台
- 69)高野 愛, 安藤秀二, 坂田明子, 鶴見みや古, 仲村 昇, 佐藤文男, 高橋 守, 岸本寿男, 倉根一郎, 渡邊治雄, 藤田博己, 川端寛樹. *Carios* 属ダニの病原体ベクターとしてのリスク評価. 日本衛生動物学会北日本支部会. 2007 年 9 月. 仙台
- 70)高橋英之: 病原性ナイセリア属菌に関して、平成 19 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。
- 71)高橋英之、渡邊治雄: 髄膜炎菌 LOS の phosphoethanolamine 修飾と宿主細胞接着性の相関. 第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月。
- 72)松浦基博、高橋英之、渡邊治雄、川原一芳、平井義一: ペスト菌に対するヒトの自然免疫応答: 生育温度の異なる死菌体を用いた検討、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月。
- 73)常彬、和田昭仁、池辺忠義、大西真、渡邊治雄. 日本国内で患者より分離された *Streptococcus suis* の性状. 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007.
- 74)佐藤俊、阿部諭史、関根聡子、渡邊香奈、斎藤純平、石田卓、棟方充、塚田泰彦、鈴木栄子、池辺忠義. 背部痛と咯血で発症した劇症型溶血性連

鎖球菌感染症の一例、第 181 回日本内科学会東北
地方会、宮城、2007

75) 森田昌知、大西 真、荒川英二、G.B. Nair、
M. Alam、泉谷秀昌、渡邊治雄：コレラ毒素 B
サブユニット遺伝子の多型検出系の構築、第
41 回腸炎ビブリオシンポジウム、2007 年 11
月、神戸。

76) 森田昌知、泉谷秀昌、渡邊治雄、相楽裕子、大
西健児：2007 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
47 回感染性腸炎研究会総会、2008 年 3 月、東京

77) 徳永暁彦、大倉正稔、大澤 朗、森田昌知、荒
川英二、渡邊治雄：RDA 法を用いた *Vibrio cholerae*
の可変遺伝子・DNA 領域の網羅的探索、第 81 回日
本細菌学会総会、2008 年 3 月、京都

78) 大倉正稔、大澤 朗、徳永暁彦、森田昌知、荒
川英二、渡邊治雄：新興型腸炎ビブリオ 03:K6 株
と 04:K68 株の O および K 抗原の合成に関わる遺伝
子群の比較解析、第 81 回日本細菌学会総会、2008
年 3 月、京都