

## 4. 細菌第一部

部長 渡辺治雄

日本全国の地方衛生研究所の協力の下に、集団感染症事例を科学的に迅速に把握するためのシステムとして、分子疫学的手法（現在のところは PFGE を用いている）を用いたネットワーク Pulse-net Japan の構築を進めてきている。その成果としていくつかの diffuse outbreak を迅速に検出しており、厚生科学事業の成功例の一つとして取り上げられている。このシステムを特に国境を越えた細菌感染症の迅速検知に利用するため、アジア地域をネットワーク化（Pulse-net Asia）する試みが行われてきている。アジア諸国（中国、インド等の 12 カ国）および米国 CDC の参加の元に、第 2 回会合が 2004 年 3 月に香港で開催され、PFGE 手法の標準化に向けて動き出した。現在のところこのネットワーク化の維持のための大きな問題点は funding である。種々の感染症がアジアを基点として発生し伝播してきている事実からすれば、アジア地域の病原体解析ネットワーク化は、感染症制御の観点からも重要な課題である。またこのようなネットワーク化は、人的なコミュニケーションの確保のためにも重要である。研究者間の人的つながり程、迅速な情報交換の場として効果的なのはない。この推進を図っている予定である。

今年度の新しい研究成果としては、感染した生体内で病原菌が発現している物質を検索する試みを行い、新しい病原性因子あるいは感染防御因子を発見してきている。ひとつはレプトスピラの LigA, B タンパク質（感染防御因子として機能し、ワクチン候補因子である）、もうひとつはレジオネラの LaiA タンパク質（レジオネラの肺胞上皮細胞接着因子として機能している）である。また、病原性遺伝子の発現に関する研究においても新しい

知見が得られている。赤痢菌の侵入性因子の発現調節に關与する 2 成分制御系 CpxA-R の役割分担に關する知見、および腸管出血性大腸菌の病原因子の発現に關与する調節因子としての PchABC の存在とその意義に關する研究等がある。これらの研究成果が、実際の感染症の制御に寄与するように発展することが期待される。その他、サルモネラのニューキノロン剤に対する新規耐性菌の発見、髄膜炎菌の髄液内での増殖に關与する *ggT* の研究、ボレリアの遺伝子解析系の開発、ブドウ球菌の細胞壁合成に關する研究、レンサ球菌の劇症型菌の変遷に關する研究等に関して多くの成果が出ている。

研究費としては、厚生労働省科学研究費新興・再興研究事業（パルスネット、人畜共通感染症、薬剤耐性機序、バイオテロ対策に關する研究等を担当）、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。

本年度の人事としては、平成 15 年 4 月 1 日付けで、常 彬が第三室研究員に、志牟田健が第五室研究員に、中尾龍馬が第六室研究員に採用された。また、平成 16 年 3 月 31 日付けで北村勝が退官した。森田昌知、三浦雅史、小林静史、谷屋貴之、江崎英剛、菅原大輔、茂木瑞穂、浜田具之、M. A. Salam, 津覇雄三、田村昇平、富永燦、奥田健次郎、大部宏子、竹下精香、Somjai Phaisomboon, 村井美代、井上伸子、松本直子、北迫雄一、前田朋子、荒川正嘉、川田真祐、嶋川真木、黒木俊郎、大澤朗、久代明、橋本れい子、財津法子、浅原純代、松永聡子、野尻直未、斉藤康憲、鈴木玲子、佐藤裕美、高井信子、森佳津美らが協力研究員、研究生、臨職等で研究に参加した。

## 研究業績

### I. 病原性大腸菌に関する研究

#### 1. 細菌学的、疫学的研究

##### (1) 平成 15 年度における腸管出血性大腸菌 (EHEC) の血清型別分布に関する調査研究

平成 15 年度に疫学的解析のため国立感研に送菌されてきた株は総数 1,758 株で、その内で 0157:H7 および 0157:H- は 1,353 株、それ以外の大腸菌血清型別の依頼株は 405 株であった。0157 以外の血清型は 34 種類に型別され、優勢を占めた血清型は、026:H11, 026:H-, 0111:H-, 0121:H19, 0103:H2, 091:H14, 091:H- で、その傾向は例年とほぼ同様であった。(田村和満、寺島淳、伊豫田淳)

##### (2) 腸管出血性大腸菌 0157 のファージ型別による解析

2003 年に送付された腸管出血性大腸菌 0157 のうち、132 株についてファージ型別を実施した。主なファージ型 (PT) は、PT14 が 25%、PT4 が 10%、PT33 が 9%、PT2 が 7% であった。昨年 22% を占め、最も多く検出された PT33 は 3 位に後退した。(泉谷秀昌、渡辺治雄)

##### (3) 腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2003 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 0157 のうち 1472 株および 026, 0111 等を含むその他の血清型 369 株、また 2002 年以前に分離された腸管出血性大腸菌 206 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。2001, 2002 年に引き続き同一 PFGE タイプを示す株が広域から分離されたが、その頻度は約 5% であった。一方、疫学的な関連については不明

であるが、複数の地域からの分離株が同一の PFGE パターンを示すという事例が少なくとも 7 種類の異なる PFGE パターンについて観察された。一部の PFGE パターンを示す株については複数の散発事例とともに集団事例においても分離されている場合があった。(寺嶋 淳、斉藤康憲、鈴木玲子、浅原純代、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄)

##### (4) PFGE の標準化とその解析結果利用のネットワーク化に関する研究

PFGE による解析方法の標準化を行うために、米国疾病管理センター (CDC) の方法に準拠した PFGE 方法の提示を行った。新プロトコールでは、標準マーカーとして、CDC から分与をされた *Salmonella* Braenderup H9812 PulseNet standard 株を使用した。また、薄型プラグを用いることで泳動像がより鮮明になったため、腸管出血性大腸菌 (EHEC) 等の分離株では、PFGE 解析ソフトによる解析及びデータベース化がより正確に行えるようになった。泳動条件の変更及び新しいマーカーの採用により従来のデータベースとの互換性が失われたため、過去の代表株のデータを新規に加えた上で新しいデータベースの構築を開始した。PFGE の解析結果の一部は、PDF の書類として、厚生労働行政総合情報システム (WISH) 上の個別システム「PulseNet Japan」でほぼ 1 ヶ月おきにデータを更新中である。(寺嶋 淳、斉藤康憲、鈴木玲子、浅原純代、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄)

#### 2. 志賀毒素産生性大腸菌 [ STEC: 腸管出血性大腸菌 (EHEC) ] の遺伝子発現に関する研究

##### (1) 転写制御遺伝子 *pchABC* による LEE 遺伝子群の発現制御機構

腸管病原性大腸菌 (EPEC) における LEE の転写制御遺伝子 *perC* と同源性の高い遺伝子が EHEC には 5 コピー存在する。このうち 104 アミノ酸をコードする 3 つの遺伝子 (*pchA*, *pchB*, *pchC* と改名) をそれぞれ運ぶプラスミドは、EHEC において LEE の発現を顕著に上昇させることがこれまでの研究で判明している。そこで、これらの遺伝子の欠失変異体を構築し、LEE にコードされる Type III 分泌蛋白質の発現への影響を解析したところ、3 つの *pch* 遺伝子のうち、*pchA* の欠失による影響が最も大きいことが判明した。*pchA* を含む二重欠失変異体 (*pchA pchB*, および *pchA pchC*) は、それぞれ *pchA* 単独の欠失変異よりさらに LEE の発現を低下させることから、*pchA*, *pchB*, *pchC* すべての遺伝子が LEE の発現に重要であることが明らかとなった。これらの欠失変異体の培養細胞 (HEp-2) への接着能を野生株と比較したところ、*pchA* を含むいずれかの二重欠失変異によって HEp-2 への接着能が完全に失われることが明らかとなった。[伊豫田淳、渡辺治雄]

## (2) *pchABC* の発現制御機構

1) で明らかとなった *pchABC* に依存した正の発現制御機構は、LEE にコードされるいくつかの Type III 分泌蛋白質に共通して見られる現象であった。そこで、LEE のセントラルレギュレーターである *ler* の発現への影響を解析したところ、*pchABC* に依存して *ler* の転写活性が正の制御を受けることが判明した。一方、*pchABC* それぞれの発現機構を解析したところ、EHEC の LEE 遺伝子群が活性化するいくつかの環境条件下で同様な活性化を受けることが明らかとなった。以上の結果から、*pchABC* は LEE の発現を制御するマスターレギュレーターとして機能することが示唆された。[伊豫田淳、渡辺治雄]

## 3. LEE 非保有型 STEC が保有する病原性遺伝子の解析

日本国内でヒトから単離された LEE 非保有型 STEC (LEE-negative STEC: LN-STECS) について、培養細胞 (HEp-2) への接着能を解析したところ、いくつかの LN-STECS 株が、HEp-2 に効率よく接着することが明らかとなった。このうち、菌が鎖状に連鎖して繋がり、HEp-2 へ強く接着する (chain-like adhesion: CLA) パターンを示すものがこれまでのところ少なくとも 4 株存在し、これらはすべて血清群 O91 に属することが判明した。CLA パターンは他の下痢病原性大腸菌のカテゴリーのうち、腸管凝集性大腸菌 (EAEC) が示す接着パターンと一部類似しているものの、上記の 4 つの株にはこれまで EAEC において同定されているいずれの接着遺伝子も存在しないことが判明した。[伊豫田淳、佐藤裕美、陸彦 (協力研究員)、田村和満、伊藤健一郎 (感染症情報センター)、渡辺治雄]

## II. サルモネラに関する研究

### 1. 細菌学的、疫学的研究

#### (1) 平成 15 年度におけるサルモネラ血清型別分布に関する調査研究

平成 15 年度にサルモネラセンターに血清型別依頼のあった菌株は 63 株で、それらは 12 種類の血清型に分けられた。優勢を占めた血清型は例年どおり *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* であった。稀な血清型は *S. Urbana*, *S. Vinohrady*, *S. Singapore* であった。(田村和満、泉谷秀昌)

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

2003 年に当研究所に送付された *Salmonella* Enteritidis 1302 株 (うち、2003 年分離株は 873

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 2003 年の集団事例 77 件のファージ型 (PT) の内訳としては、PT4 が 19 件 (25%)、PT47 が 18 件 (23%)、PT1 が 16 件 (21%)、PT14b が 7 件 (9.1%)、その他 17 件であった。依然として PT47 の増加傾向が著しく、以前から多かった PT4 および PT1 と並ぶに至っている。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

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

2003 年に当研究所に送付された多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium の菌株 176 株について、ファージ型別を行った (患者、環境、動物由来を含む)。近年欧米を中心に注目されているファージ型、DT104 およびその関連株はこのうち 51 株であった。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

(4) *Salmonella* Enteritidis 薬剤感受性試験

上記ファージ型別に供した 2003 年に発生した 77 件の集団事例に関する株について薬剤感受性試験を行った。試験した薬剤全てに感受性のものが 48 件、SM 単剤耐性のものが 22 件と大勢を占めた。これ以外に NA 耐性、ABPC+SM 耐性および ABPC+SM+TMP+サルファ剤耐性株がそれぞれ 2 件、SM+TC+KM 耐性株が 1 件検出された。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

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

2003 年に送付されたフルオロキノロン高度耐性 *Salmonella* Typhimurium 株 (n=11) について、薬剤耐性パターン、ファージ型別、耐性遺伝子の塩基配列などによる解析を行った。薬剤感受性試験をディスク (KB) 法で行うと、ABPC, CP, SM, TC,

サルファ剤, NA および CPFX に耐性を示すもの (n=10)、並びに、ABPC, CP, SM, TC, ST (サルファ剤およびトリメトプリム), GM, NA および CPFX に耐性を示すもの (n=1) の 2 種類が存在した。ファージ型別に関しては、すべて DT193 と同定された。キノロン耐性に関与しているとされている *gyrA* および *parC* 遺伝子のキノロン耐性決定領域に関しては、1 株を除きいずれも同様の変異が同定された (*GyrA*:83 番目のセリンがフェニルアラニンに、87 番目のアスパラギン酸がアスパラギンに、*ParC*:80 番目のセリンがアルギニンに置換)。1 株は、*GyrA* の 83 番目および *ParC* の 80 番目のアミノ酸置換については同様であったが、*GyrA* の 87 番目のアスパラギン酸がグリシンに置換され、また *ParE* の 458 番目のプロリンがセリンに置換されており、フルオロキノロンに対する MIC も他の株に比べて高い値を示した。(泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄)

(6) 日本国内で分離された *Salmonella* Typhi (チフス菌), *Salmonella* Paratyphi A (パラチフス A 菌) のファージ型別法による疫学的解析

2003 年に国内で分離され地方衛生研究所・保健所から送付されたチフス菌株、パラチフス A 菌株についてファージ型別、薬剤感受性試験を行った。今年は、集団発生などはなく、送付された菌株数はチフス菌 50 株、パラチフス A 菌 38 株で、例年と比較してパラチフス A 菌がやや増加した。ファージ型別試験で主に検出されたファージ型はチフス菌では、E1, A, B1 であった。パラチフス A 菌では、1, 4, 6 型であった。

(廣瀬健二、田村和満、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

2003 年に日本で分離されたチフス菌、パラチフス

A 菌のニューキノロン薬及び第3世代セフェム系薬剤などに対するMICを測定し感受性を検討した。薬剤は、ニューキノロン系薬剤6薬剤、第3世代セフェム系薬剤3薬剤、その他に従来の治療薬等合計18剤を検討した。検査した株のうちニューキノロン低感受性菌はチフス菌で約30%と昨年と同程度であったが、パラチフスA菌では昨年と同程度の約60%であった。(廣瀬健二、田村和満、高井信子、渡辺治雄)

(8) ニューキノロン低感受性菌の迅速スクリーニング法の開発に関する研究

ニューキノロン低感受性チフス菌・パラチフスA菌を迅速にスクリーニングするためにPCR-RFLP法を用いた方法を開発した。この方法では、キノロン耐性決定領域の塩基配列を決定することなく、突然変異の入った場所がわかるため、耐性が低感受性菌かの区別もできる。(廣瀬健二、渡辺治雄)

## 2. サルモネラの病原性因子の研究

### (1) サルモネラ SipC 蛋白の機能解析

サルモネラの病原性に関与した蛋白質 SipC を INTESTINE407 細胞の中で発現し SipC の局在を蛍光顕微鏡で観察した。SipC は細胞内の細胞骨格である何らかの繊維と結合している様子が観察できた。今後発現した SipC が細胞内でどのような働きをしているかを解析する予定である。

(廣瀬健二、高橋英行、泉谷秀昌、荒川英二、寺嶋淳、渡辺治雄)

### (2) サルモネラ侵入性遺伝子群の発現制御についての研究

*Salmonella enterica* Serovar Typhimurium の細胞侵入性遺伝子群発現の統括的 activator である *hilA* 自体の発現制御について、解析を続行してい

る。これまで報告してきた2成分制御系 sensor、*cpxA* による低 pH 条件での *hilA* 発現活性化の具体的機構を解明するため、*cpxA* 変異株、低 pH 条件での *hilA* 発現を回復する multi copy suppressor をサルモネラの total DNA library から選択した。それらは、1)、SPI-1 にコードされ、既に *hilA* の activator として報告のある *hilC*、2) *hilC* と高い相同性を持つ新規転写因子(以下、*hilF* と仮称する)、3) NADH-dependent type glycerol dehydrogenase 群と高い相同性を持つ遺伝子(以下、*gdh* と仮称する)のいずれかであった。1)、2)の解析については昨年度報告した。本年度は、3)についての解析結果を以下ア)~ウ)に報告する。(中山周一、久代明\*、田中隆一郎\*、渡辺治雄)(\* = ヤクルト中研)

ア) *hilA* 発現に対する glycerol dehydrogenase の効果について

*gdh* 変異株では *hilA* 発現量は野生株と差が認められなかった。この原因として、サルモネラでは、glycerol dehydrogenase と考えられる遺伝子が、*gdh* と *gldA* の2種類存在するため、*gdh* が欠損しても *gldA* が代替的に機能する可能性が考えられた。この可能性の検討のため、*gldA* 変異株、*gdh*、*gldA* の2重変異株を作製し、*hilA* 発現をモニターしたところ、2重変異株においてのみ、発現が60%まで低下した。従って、*hilA* 発現の full activation には有限の glycerol dehydrogenase 活性が必要である。

イ) glycerol dehydrogenase の基質、1, 2-propanediol が *hilA* 発現に及ぼす影響について glycerol dehydrogenase が *hilA* 発現に影響するメカニズムとして、直接には、本酵素の基質となり得る化合物が効果を持つと考えられる。この観点でいくつかの化合物をスクリーニングし、1,

2-propanediol が *hiiA* 発現抑制効果を有することをつきとめた。効果は、培地中 150mM で 55%までの抑制、300mM で 20%までの抑制であった。R(-)、S-(+)による enantiomeric 効果は認められなかった。前述の glycerol dehydrogenase 2 重変異株でも 1, 2-propanediol 添加による、更なる *hiiA* 発現抑制が観察され、1, 2-propanediol は net の negative regulation を行うこと、glycerol dehydrogenase は 1, 2-propanediol を脱水素 conversion することで、その negative regulation を部分的に阻害することが結論付けられた。

ウ) 1, 2-propanediol による *hiiA* 発現抑制メカニズムの解析

サルモネラにおける 1, 2-propanediol の代謝経路や、それに関わる遺伝子群の発現制御等を参考にして、メカニズム解析を行った結果、前述の 1, 2-propanediol、150mM における抑制効果は、1, 2-propanediol からの代謝産物、propionate によるものであること、これに対して、300mM における抑制効果は、propionate の産生によらないものであることが判明した。このように、この抑制効果は濃度による Di-phasic なものであることが示され、それぞれの詳細な抑制機構の解明と同時に、この Di-phasic な抑制の、生物学的意義の解明が今後の課題となった。

### III. 赤痢菌に関する研究

#### 1. 細菌学的、疫学的研究

(1) 日本国内で分離された *Shigella sonnei* の各種抗菌薬に対する感受性試験

2001-2002 年に日本で分離された *Shigella sonnei* のニューキノロン薬及び第 3 世代セフェム系薬剤などに対する MIC を測定し感受性を検討した。薬剤は、ニューキノロン系薬剤 6 薬剤、第

3 世代セフェム系薬剤 3 薬剤、その他に従来の治療薬等合計 18 剤を検討した。検査した株のうちニューキノロン低感受性菌は国内由来、外国由来ともに 26%であった。チフス菌、パラチフス A 菌と比較するとニューキノロン低感受性菌は、はるかに少なかった。また、ニューキノロンに耐性を示す菌は見られなかった。(廣瀬健二、寺嶋淳、泉谷秀昌、田村和満、高井信子、渡辺治雄)

#### 2. 赤痢菌の病原性に関する研究

##### (1) 赤痢菌病原遺伝子の発現調節機構の解析

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

##### (2) 赤痢菌の細胞内侵入後の細胞骨格の維持機構に関する研究

赤痢菌は細胞内に侵入するが、侵入部位にアクチンをはじめとする細胞骨格に関する分子が集積し、ファゴサイトーシス様機構で細胞質内に入り込む。侵入後は、菌は細胞質内を動きながら増殖し、隣接細胞に伝播を繰り返す。我々は、菌が侵入した細胞の形態が維持されるには、菌が分泌する分子が必要とされていることを明らかにした。赤痢菌の病原性プラスミド上の遺伝子 *ospE2* が変

異を起こすと、菌が侵入した細胞骨格の異常、つまりアクチン線維の分断が起こり、細胞の形態が rounding-up した。ospE2 が正常な菌においては、細胞がプレートとコンタクトする部位に vinculin 等の細胞骨格因子が集積しているのに対し、ospE2 変異株においてはそれらの分子の集積が見られなくなり形態の変化、rounding-up が起こっていた。菌が細胞内に入り込むと、細胞骨格に異常を起こそうとするが、OspE2 がそれを正常に戻そうとしていると考えられた。(三浦雅史 (協力研究員)、寺嶋淳、三戸部治郎、泉谷秀昌、渡辺治雄)

#### IV. ビブリオに関する研究

##### 1. 平成 15 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 15 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 449 株で *Vibrio cholerae*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*, *V. vulnificus* および *Aeromonas* spp. が含まれ、78.4%(352)は国外(米国-267、ブラジル-62、インド-23)から依頼された。国内株は *Aeromonas* spp.、*V. cholerae* non-01, non-0139 が主で、血清型別依頼菌株の大部分は環境分離株であった。(荒川英二、田村和満；沖津忠行、鈴木理恵子(神奈川衛研))

##### 2. コレラ毒素遺伝子陽性の *V. cholerae* 08 感染事例

福岡県内の下痢症患者(78 歳男性、海外渡航歴なし)からコレラ毒素遺伝子陽性の *V. cholerae* が分離された。市販の抗 01 および抗 0139 血清には凝集が見られず、当部において血清型別を行ったところ、*V. cholerae* 08 と同定された。同時にコレラ毒素遺伝子、ヘモリジン遺伝子の検出を行

ったところどちらも陽性で、ヘモリジンについてはエルツール型であった。*V. cholerae* non-01, non-0139 であってもコレラ毒素遺伝子保有株は毒素の産生により、コレラ菌と同じ病原性を示す可能性もあり、*V. cholerae* が検出された場合は、コレラ毒素遺伝子の検出、血清型別を行い、監視していく必要があるものと考えられた。(荒川英二、田村和満；堀川和美、村上光一、長野英俊、濱崎光宏、石黒靖尚(福岡県保環研))

##### 3. *V. vulnificus* の PCR による病原因子の探索

*V. vulnificus* は汽水域などの環境中からも多数分離される菌である。また、分離された菌株のほとんどが、ヒトに対する病原因子と考えられる cytolysin-hemolysin を保持している。*V. vulnificus* の病原性についてはいまだ明らかになっておらず、分離株が起炎菌であるかどうかも判別できない。これまでに報告されている病原性関連遺伝子を、患者株、環境株について PCR によって探索してみた。capsular polysaccharide synthesis (*wza*)、mannose-sensitive hemagglutinin (*mshD*)、type 4 prepilin peptidase (*vvpD*)、vulnibactin utilization protein (*viuB*)、4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (*4-hppd*, *vlI*)、heme receptor (*hupA*)、manganese transport protein (*mntH*, NRAMP family)については、調べた株では患者株と環境株間には有意な差は認められなかった。(荒川英二、渡辺治雄)

#### V. レジオネラに関する研究

##### 1. 菌学的、疫学的研究

(1) 日本で分離された *Legionella pneumophila* 血清群 1 の sequence-based typing (SBT)による型

別

日本国内の冷却塔からの分離株 11 株、浴場施設からの分離株 12 株、温泉が原因と考えられる患者由来株 2 株の計 25 株について *flaA*、*mompS*、*proA* 遺伝子の一部の領域の塩基配列を決定した。*flaA*、*proA* ではそれぞれ 6 種類、*mompS* では、8 種類にタイプングすることができた。すべてを合わせると、25 株は 13 種類にタイプに分けられた。冷却塔 11 株はすべて 1 種類のタイプであった。残りの 14 株は 12 種類に分けられた。(前川純子、倉 文明、常 彬、渡辺治雄)

(2) 宮崎県日向市におけるレジオネラ症集団感染  
- 2002 年 7 月

医療機関から保健所に報告のあったレジオネラ症患者及び疑い患者（以下「発症者」とする）は、295 名であり、うち 7 名が死亡した。発症者のうち、検査の結果、46 名がレジオネラ症と確定した。原因となった施設は、2002 年 6 月 20 日のプレオープンから 7 月 23 日まで営業しており、19,778 人が利用していた（営業日数 22 日、1 日平均約 900 人）。患者喀痰の培養検査で 4 名から検出された *L. pneumophila* SG1 と、浴槽水から分離された *L. pneumophila* SG1 について、PFGE 型が一致し本事例は入浴施設が原因と結論した。〔河野喜美子、東 美香、齋藤信弘、鈴木 泉（宮崎県衛生環境研究所）；倉 文明、前川純子、渡辺治雄〕

(3) 宮崎県日向市における循環式温泉入浴施設を発生源としたレジオネラ症集団感染の環境調査

検出されたレジオネラ属菌は浴槽水、ろ材とも *L. pneumophila* SG1、SG8、*L. dumoffii* 等であった。6 基のろ過装置のうち 5 基のろ材からレジオネラ属菌が検出された。浴槽水からは、*L. londiniensis* も多量に検出された。また宿主アメーバはろ過装置 R4、R5 のろ材から大量に検出され、この系統

のろ過槽及び関連する浴槽でのレジオネラ属菌濃厚汚染をうかがわせる結果となった。〔河野喜美子、東 美香、齋藤信弘、鈴木 泉（宮崎県衛生環境研究所）；倉 文明、前川純子、渡辺治雄；八木田健司 遠藤卓郎（寄生動物部）〕

(4) 客船に関連したレジオネラ症の集団発生における感染源の分子疫学

2003 年 1 月、大型客船による台湾および国内のクルーズに参加した 70 歳代の乗客 3 名が肺炎になった。男性喀痰由来の株と環境分離株が比較され、感染源が循環式浴槽およびそのろ材であると分子疫学的に同定された。この報告は、*L. pneumophila* SG5 が起因菌であると分子疫学的に特定した最初の客船関連の報告である。また、客船に関連したレジオネラ症は本邦で最初である。

〔倉 文明、前川純子、渡辺治雄；八木田健司、遠藤卓郎（寄生動物部）；池野まり子、辻 英高（兵庫県立健康環境科学研究センター）；田口真澄、小林一 寛（大阪府立公衆衛生研究所）〕

## 2. レジオネラの病原性に関する研究

(1) B10. A-*Lgn1*<sup>o</sup>コンジェニックマウスの作成

*Legionella pneumophila* SG1 は、ヒトマクロファージ (Mφ) 内で増殖することが知られている。マウスにおいては、A/Jマウス由来腹腔Mφでは増殖できるのに対して、他の近交系マウス由来Mφでは増殖できず *Lgn1* で支配されていることが明らかになっている。我々は、*Lgn1* の機能を解析するために、A/JマウスとB10. Aマウスとの間で戻し交配と兄妹交配を交互に繰り返して 16 サイクル行い、*Lgn1* 領域のみA/Jマウス由来であるB10. A-*Lgn1*<sup>o</sup>コンジェニックマウスを作成した。〔倉 文明、前川純子、渡辺治雄〕



(2) B10. A-*Lgn1*<sup>+</sup>コンジェニックマウスの組み換え領域の決定

B10. A-*Lgn1*<sup>+</sup>は、STS mappingにより、*Lgn1* 近傍のテロメアから*D13Die3*まで、およびセントロメアから*D13Die24* までは少なくともB10. Aマウス由来であること、また*D13Die12*は、A/Jマウス由来であることが判明した。このことから作成したコンジェニックマウスはB10. Aマウス由来の *Naip2* をもつことが示唆された。[小林静史、倉 文明、前川純子、高橋朋子 (星薬科大学)、渡辺治雄]

(3) *Legionella pneumophila*感染における*Lgn1* 遺伝子の機能について、コンジェニックマウスを用いた解析

チオグリコレート誘導腹腔マクロファージ (Mφ) 内や鼻腔内投与マウスの肺における*L. pneumophila* SG1 80-045 株の増殖性を比較したところ、コンジェニックマウスでは顕著に菌数が増加していた。また*L. pneumophila*加熱死菌や Zymosanをそれぞれのチオグリコレート誘導腹腔Mφに添加しスーパーオキシド産生量を測定したところ、B10. A (*Lgn1*<sup>+</sup>) マウスMφの方が有為に高かった。今回作成したB10. A-*Lgn1*<sup>+</sup>コンジェニックマウスは、*L. pneumophila*に対して感受性が高く、レジオネラ症の研究に極めて有用である。[小林静史、倉 文明、前川純子、高橋朋子 (星薬科大学)、渡辺治雄]

(4) *Legionella dumoffii*の産生する新規蛍光物質の同定

レジオネラ症の起因菌であるレジオネラ属菌のうち*L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. bozemanii*など一部の菌種は、長波長の紫外線を照射すると青白色の蛍光を発することが知られている。*L. dumoffii*の菌体より総脂質を抽出し、シリカゲルカラムを用いたHPLCにより青白色蛍光物質を精製

した。マスマスペクトロメトリーおよび NMR を用いてその構造を決定したところ、新規イソクマリン化合物であることが判明した。

[前川純子、倉 文明、常 彬、渡辺治雄、森林敦子 (昆虫医科学部)、杉江 元 (農環研)、早川洋一 (東大・分生研、現・東京理科大・薬学部)]

(5) レジオネラ感染がヒト肺胞上皮 II 型細胞のサイトカイン発現・分泌を誘導する作用の解析

レジオネラはグラム陰性の細胞内寄生菌である。レジオネラ感染における肺胞上皮細胞のサイトカイン応答について調べた。*Legionella pneumophila*感染により、肺胞上皮細胞は IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$  および MCP-1などサイトカインの発現と分泌が見られた。これらのサイトカインの発現量および分泌量は感染したレジオネラの生菌数および感染時間に依存した。また、*L. pneumophila*の病原性の強さや外膜タンパクの存在はサイトカインの発現と分泌に関わっていた。[常 彬、前川純子、倉文明、渡辺治雄]

(6) レジオネラのヒト肺胞上皮 II 型細胞への uptake pathway の研究

病原細菌の細胞への侵入を阻害する inhibitor を用いて、*Legionella pneumophila* 2 株 (80-045 株と Philadelphia-1 株) のヒト肺胞上皮 II 型細胞 (A549) への uptake pathway を調べた。その結果、この 2 株とも microtubule-dependent および microfilament-dependent pathway によって細胞内に侵入するが、pinocytosis により細胞に摂取されることは見られなかった。また、Philadelphia-1 株のみは receptor-mediated endocytosis により肺胞上皮細胞に侵入することが明らかになった。[常 彬、前川純子、倉 文明、渡辺治雄]

## (7) レジオネラの肺胞上皮細胞への接着因子

レジオネラはレジオネラ肺炎やポンティアック熱の起炎菌である。我々はレジオネラのヒト肺胞上皮 II 型細胞への接着に関わる遺伝子 *laiA* を同定した。レジオネラ染色体上に *laiA* の paralog は3つ存在し、これらの paralog の塩基配列およびコードするアミノ酸配列を決定した。この4つの遺伝子間は約80%の相同性があった。2つの paralog (*laiB* と *laiC*) は *laiA* のすぐ上流に、*laiD* は他の3つの遺伝子と異なる部位に存在することが明らかになった。[常 彬、前川純子、倉 文明、渡辺治雄]

## VI. 黄色ブドウ球菌に関する研究

## 1. グリコペプチド系薬剤耐性に関する研究

黄色ブドウ球菌のグリコペプチド耐性、特にテイコプラニンに耐性を与える新たな遺伝子を同定した。テイコプラニン耐性株では、*Clostridium* の転写調節因子 MarR と38%の相同性を示す産物をコードする遺伝子に、感受性株と比べ1塩基の変異が見られた。この遺伝子を破壊することにより耐性株のテイコプラニン MIC は4 µg/ml に低下し、これを相補することにより、耐性が回復した。

## 2. 細胞壁合成酵素に関する研究

methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) の増殖に細胞壁合成酵素PBP1が必須であるかどうかを調べるために、遺伝学的手法を用いた検討を行った。最初に、染色体上のPBP1遺伝子*pbpA*を形質導入により破壊しようとしたが、このような形質導入株を得ることはできなかった。あらかじめエピソードに*pbpA*が存在するときは、染色体*pbpA*破壊株を得ることができたが、染色体*pbpA*が破壊されてしまった株からは、今度はエピソードの*pbpA*を取り除くことはできなかった。PBP1はMRSAにおい

てもMSSA同様、その増殖に必須であるという結論を得た。(和田昭仁; 大内史子、佐藤慈子、山河芳夫 [細胞科学部]; 巻 秀樹 [塩野義製薬]; Nadine McCallum, Markus Bischoff, Brigitte Berger-Bächi [Univ. Zürich])

## VII. ボレリアに関する研究

## 1. ライム病ボレリアの病原性に関する研究

ライム病ボレリアの感染メカニズム解明のための基盤として、遺伝子破壊・遺伝子導入などの遺伝学的ツールの開発が必須である。本研究では、形質転換効率を低下させる因子がコードされる2種の plasmid のうち、感染に必須の遺伝子と同じプラスミドにコードされている推定制限修飾遺伝子 *bbe02* 破壊株を作成し、この遺伝子が明らかに形質転換効率を低下させていることを明らかにした。さらに *bbe02* 破壊により感染性の変化は見出されなかったことから、本研究でえられた変異株がライム病の慢性化メカニズム解明などに使用可能であると考えられた。そこで、現在1) ライム病ボレリアの慢性感染機序、2) 関節炎重症化機構の解析を行うべく、以下研究が進行中である。

## (1) ライム病ボレリア関節炎重症化機構の解明に関する研究

国内ライム病患者で関節炎を示す重症例が見いだされない理由について、現在までに明確な回答は得られていない。一方で国内型ボレリアが分離される欧州においても、国内型ボレリアによる関節炎の報告はほとんどなされていないことから、ライム病ボレリア感染に起因する重度の関節炎は、米国型の強毒型ボレリア感染に起因する、すなわち病原体側の何らかの因子によって関節炎が引き起こされていると考えることができる。そこで本研究室において開発された形質転換可能な感染性

ボレリアのプラスミド欠失株を詳細に調べ、約 28kb の領域 (lp28-4) に関節炎を重症化させる因子がコードされていることを明らかにした。使用変異株はゲノムシーケンス株であり、microarray によって各遺伝子の発現は明らかにされていることから、この領域で特に *in vivo* で発現量が上昇するいくつかの遺伝子群に焦点を絞り、現在相補試験、および純系マウスを用いた関節炎再現試験を行っている。(川端寛樹、渡邊治雄)

## (2) ライム病ボレリア慢性感染機構の解明に関する研究

ライム病は抗生剤による治療を行わなかった場合、進行性の慢性の感染を引き起こす。しかしながらその慢性化機構については、多継代にて弱毒化させた株において非慢性化する現象が報告されているのみで、いずれの因子が慢性化に関係しているかは不明であった。本研究室では、上記関節炎発症メカニズム研究の過程で、関節炎に関与する領域とはことなる約 28kb の領域 (lp28-1) がライム病慢性化と強く相関していることを偶然見いだした。この領域を欠失している株では慢性感染がおこらないばかりではなく、さらに関節炎も発症しないことが明らかになった。この領域には抗原変換遺伝子群がコードされており、この遺伝子による宿主免疫からの逃避機構が慢性化に関与していると考えられる。(川端寛樹、渡邊治雄)

## 2. 小児顔面神経麻痺患者におけるライム病ボレリア抗体の検索

ライム病患者では顔面神経麻痺などの神経症状がみられることがある。特に欧州で endemic である *Borrelia garinii* 感染の場合、neuroborreliosis 患者が見いだされる傾向にあるとされる。本邦における流行種も *B. garinii* であることから、不明神経疾患のなかにライム病ボレ

リア感染に起因する患者が含まれている可能性があった。そこで我々は、ライム病の流行地である北海道で顔面神経麻痺を指標とするボレリア抗体の検索を試み、成人ではライム病性の顔面神経麻痺患者は欧州と比較し低頻度であることを明らかにしてきた。本研究では小児顔面神経麻痺についても同様に調べ、成人同様、ライム病性の小児顔面神経麻痺患者は極めて低頻度であることを明らかにした。欧州での調査結果と比較し、その頻度は低いことから、本邦に浸潤しているボレリアの病原性が低い可能性が考えられた。また小児顔面神経麻痺の主因として HSV-1、VZV が確認された。(川端寛樹、渡邊治雄、古田康 (北海道大学))

## 3. 新種ボレリア *Borrelia turcica* の発見

トルコで見いだされる *Hyalomma aegyptium* からボレリア、*Borrelia turcica* を発見し、新種記載を行った。回帰熱ボレリアとライム病ボレリアはともにボレリア属細菌ではあるが、急性の菌血症を起こし致死率も高い回帰熱ボレリアにくらべ、ライム病ボレリア感染では慢性の持続的感染が起こる。本ボレリアは遺伝学的に回帰熱型ボレリアとライム病ボレリアの中間に位置することから、これらボレリアの臨床上の性格を調べるために貴重な材料となる可能性がある。(川端寛樹、増沢俊幸 (静岡県立大)、角坂照貴 (愛知医科大))

## 4. ダニ媒介性疾患に関するリスク評価に関する研究

回帰熱浸潤のリスク評価を目的として、主に南西諸島に生息し、海鳥を吸血源としている *Ornithodoros* 属ダニ (*O. sawaii*)、及び吸血源鳥類の病原体調査を行った。ダニ、海鳥血液、ともに回帰熱病原体は PCR、分離培養ともに陰性であった。また形態学的に *Ornithodoros* ダニとされ、回帰熱媒介ダニであることが危惧された *O. sawaii* ではあるが、遺伝学的に *Ornithodoros* ではなく *Carios*

である可能性がミトコンドリア DNA の塩基配列より確認されたことから、本地域では回帰熱浸潤の可能性は極めて低いことが明らかとなった。(川端寛樹、渡邊治雄、藤田博己(大原研究所)、鶴見みや古、佐藤文男(山階鳥類研究所))

## VIII. レプトスピラに関する研究

### 1. レプトスピラ感染防御抗原 Lig タンパク質の解析

レプトスピラ血清型 Manilae の感染防御抗原 LigA-m, LigB-m が、他の血清型のレプトスピラ感染においても防御抗原となり得るかを調査し、その活性部位の同定を試みた。LigA-m, LigB-m 間で相同性の高い LigB-m の N 末端(LigB-mN)、相同性の低い C 末端(LigB-mC)の組換えタンパク質とも、Manilae 感染に対して防御活性を示した。また LigB-mN は、血清型 Icterohaemorrhagiae に対しても感染防御活性を示した。これまでに、相同性の高い *lig* 遺伝子の N 末端配列をプローブにしたサザンブロット解析により、*lig* 遺伝子は多くの血清型のレプトスピラに存在することが明らかになっている。また、Manilae, Icterohaemorrhagiae 以外の血清型に感染したレプトスピラ患者の血清中にも、Lig タンパク質に対する抗体が誘導されることから、Lig タンパク質は、多くの血清型に有効なワクチン候補となり得ることが示唆された。(小泉信夫、渡辺治雄)

### 2. 東京都内で捕獲したドブネズミからのレプトスピラの分離

新たに東京都内 5 ヶ所で捕獲した、レプトスピラの主要な保菌動物であるドブネズミ 30 頭中 4 頭からレプトスピラが分離された。また分離はできなかったものの、腎臓培養液の PCR により、これまで本邦では報告のなかった遺伝種 *noguchii* と相

同性のある遺伝子断片が検出された。これまで都内のドブネズミから分離されたレプトスピラ 13 株は、*flaB* 遺伝子の部分塩基配列、制限酵素 *Not I* によるパルスフィールド電気泳動切断パターンおよび抗血清に対する反応性がすべて同一であり、*Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae と同定された。(小泉信夫、谷川力(イカリ消毒技術研究所)、林栄治(東京医科歯科大)、渡辺治雄)

### 3. アライグマからのレプトスピラの分離

神奈川県および長崎県のアライグマから分離されたレプトスピラ 3 株について、1 株は *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae と同定できたが、残り 2 株については、抗血清の反応性からは serovar Hebdomadis であることが示唆されたが、*flaB* 遺伝子の部分塩基配列、制限酵素 *Not I* によるパルスフィールド電気泳動切断パターンが Hebdomadis 標準株とは異なっており、Hebdomadis に類似するがこれまで国内では未報告の serovar の可能性が示唆された。(小泉信夫、牧野敬(神奈川県自然環境保全センター)、渡辺治雄)

### 4. レプトスピラ病疑いの検体の抗体価測定

レプトスピラ病疑いの 13 検体について、顕微鏡下凝集試験によって抗体価の測定を行なった。このうち 5 検体で抗体価が陽性となった。(小泉信夫、渡辺治雄)

### 5. 全国規模での野鼠由来人獣共通感染症のリスク評価に関する研究

野鼠由来人獣共通の新興再興感染症のリスク評価を目的として、全国で野鼠捕獲を行い病原体保菌率の調査を、各地検疫所、地方衛生研究所、大学と共同で行っている。平成 15 年度は全国で 421 個体を捕獲、31 個体で病原性レプトスピラが分離

(分離率 7.4%) された。このうち、奄美諸島で分離された 7 株はすべて沖縄型のレプトスピラであったことから、水のレジャーにより流行が散見される沖縄地方同様、この地域でも水のレジャーに起因する流行が起こりうる危険性を明らかにした。(川端寛樹、小泉信夫、渡邊治雄、藤田博己(大原研究所)、増沢俊幸(静岡県立大)、角坂照貴(愛知医科大)、後藤郁夫(神戸検疫所)、中村正治(沖縄衛生研究所) ほか)

## IX. 髄膜炎菌に関する研究

### 1. 髄膜炎菌識別マーカー、

$\gamma$ -glutamylaminopeptidase の生物学的機能の解析

細菌分類学的にも注目されている GGT の生物学的機能は全く明らかとなっていなかったためにその解析を行なった。その結果、GGT 欠損 ( $\Delta ggt$ ) 髄膜炎菌はラット髄液中の増殖能には野生株に比べて著しい低下が見出された。さらに髄膜炎菌に必須の 4 amino acids (Arg, Cys, Gly, Glu) 及び 3  $\gamma$ -glutamyl peptides ( $\gamma$ -Glu-Glu,  $\gamma$ -Glu-Cys, Glutathione) を髄液と同じ濃度に調製した人工培地で解析を行なった結果、 $\Delta ggt$  株は野生株に比べ、有意な成育の欠損が認められ、その成育の欠損は  $60 \mu\text{M}$  のシステインの添加で抑圧された。この結果は髄膜炎菌が中枢神経系に侵入してシステイン濃度が限定された髄液の様な中での増殖をより活発にする際に  $\gamma$ -glutamyl peptides を分解し、システイン源を確保している可能性が示唆された。[高橋英之、廣瀬健二、渡辺治雄]

### 2. 髄膜炎菌識別マーカー、

$\gamma$ -glutamylaminopeptidase の生化学的機能の解析

髄膜炎菌の  $\gamma$ -glutamyl aminopeptidase (GGT) が

髄液中での髄膜炎菌の成育に重要である他に GGT の生理的機能を掘り下げて解析する目的で抗 GGT 抗体を作成し、それを用いて髄膜炎菌 GGT の生化学的な解析を試みた。部位特異的変異導入 *ggt* 変異体を構築して抗 GGT 抗体を用いて解析した結果、髄膜炎菌 GGT は翻訳後プロセッシングにより産生される二つのサブユニットから構成され、そのプロセッシングには 427 番目のスレオニン残基が重要な役割を果たすことが明らかとなった。さらに細胞内局在について抗 GGT 抗体を用いて解析した結果、他種生物の GGT には見られない、細胞質内の局在を示し、髄膜炎菌 GGT は他種生物の GGT とは異なり、独自の進化を遂げた性質を保持する可能性が示唆された。[高橋英之、渡辺治雄]

### 3. 髄膜炎菌識別マーカー、

$\gamma$ -glutamylaminopeptidase の分子進化に関する解析

髄膜炎菌の近縁菌である淋菌や *Branhamella catarrhalis* には GGT 活性は見出されておらず、その遺伝子も存在しないものと推定されていた。しかし、その 2 種の菌の染色体上に髄膜炎菌 *ggt* 遺伝子と 90% 以上の相同性を保持する偽遺伝子として例外なく存在していることを見出した。またその偽遺伝子の遺伝子配列の菌種内のバリエーションは髄膜炎菌の *ggt* 遺伝子の遺伝子配列のバリエーションと比較しても大きいことが明らかとなり、その偽遺伝子は進化上で比較的自由度をもって変異を蓄積していった可能性が示唆された。さらに淋菌と髄膜炎菌の *ggt* 遺伝子とその周辺遺伝子の遺伝子配列の相互比較した結果、*ggt* 遺伝子を含む周辺遺伝子の配列順序が 2 種の病原菌で 100% 同一であることが見出された。以上の結果は *ggt* 遺伝子と周辺遺伝子を含む DNA 領域は *Neisseria* 属が髄膜炎菌と淋菌に分岐する前の進化上の祖先菌に導入され、その後、進化上で淋菌の *ggt* ホモロ

グは変異を蓄積して不活化される一方で髄膜炎菌の *ggt* 遺伝子は機能を維持されてきた可能性を示唆している。これは髄膜炎菌が中枢系に対しては病原性を示すのに対して一般的に淋菌や *Branhamella catarrhalis* は示さない事実や髄膜炎菌の  $\gamma$ -glutamyl aminopeptidase (GGT) が髄液中での髄膜炎菌の成育に重要である解析結果と非常に合致すると考えられた。[高橋英之、渡辺治雄]

## X. レンサ球菌に関する研究

### 1. 日本における 2002 年の溶レン菌感染症サーベイランス

2002 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、2677 株であり、すべての株に対して T 型別が行われた。分離頻度の高かった T 型は、T4 (499/2677, 18.6%)、T12 (477/2677, 17.8%)、T1 (474/2677, 17.7%)、T25 (223/2677, 8.3%)、TB3264 (210/2677, 7.8%) であった。T4、T12、T1 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。T25 型は、2001 年の全国集計では増加はおさまったが、2002 年では再び増加している (2000, 7.8%; 2001, 7.2%; 2002, 8.3%)。TB3264 型は、2000 年以降増加傾向にある (2000, 6.0%; 2001, 6.8%; 2002, 7.8%)。昨年度増加した T3 型は、2002 年度急増した (2000, 0.4%; 2001, 1.1%; 2002, 5.6%)。特に東海・北陸、関東甲信静ブロックで分離比率の増加がみられる。T2、T8、T22、T14/49 型は、昨年に引き続きの減少傾向にある。[池辺忠義、平澤恭子 (福島衛研)、鈴木理恵子 (神奈川衛研)、遠藤美代子 (東京都健康安全研究センター)、田中大祐 (富山衛研)、河原隆二 (大阪公衛研)、富田正章 (山口環境保健研究センター)、緒方喜久代 (大分衛生環境研究センター)、渡辺治雄、The Working Group for Group A Streptococci in Japan]

### 2. 日本における劇症型 A 群レンサ球菌感染症のサ

### ーベイランスと起因株の *emm* 型別

2002 年、35 症例報告があり、そのうち 26 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 19 例は、*emm* 遺伝子はすべて *emm1* と相同性を示した。一方、M 血清型別では 19 例中、17 例が M1 型であったが、2 例 (NIH187, 219) は型別不能であった。2002 年、T3 型が 3 例で分離され、すべて *emm3.1* (M3) であった。T11 (NIH208), T22 (NIH197) 分離株の *emm* の塩基配列は、それぞれ、*emm89* (M 型別不能)、*emm22.2* (M 型別不能) であった。T 型別不能であった分離株 (NIH211, 216) の *emm* 遺伝子の塩基配列は、それぞれ *emm49* (M 型別不能)、*emm3.1* (M3) であった。[池辺忠義、平澤恭子 (福島衛研)、鈴木理恵子 (神奈川衛研)、遠藤美代子 (東京都健康安全研究センター)、田中大祐 (富山衛研)、河原隆二 (大阪公衛研)、富田正章 (山口環境保健研究センター)、緒方喜久代 (大分衛生環境研究センター)、渡辺治雄、The Working Group for Group A Streptococci in Japan]

### 3. 劇症型／重症溶血性レンサ球菌感染症分離株の薬剤感受性と非感受性株の遺伝子型の解析

1992 年から 2003 年に劇症型／重症溶血性レンサ球菌感染症患者から分離された 201 株について検討した。薬剤感受性試験は、エリスロマイシン、クリンダマイシン、アンピシリン、イミペネム、セフォタキシム、シプロフロキサシンの 6 種薬剤について E-test を用いて実施した。すべての株において、アンピシリン、イミペネム、セフォタキシムに対して感受性であった。一方、クリンダマイシン、エリスロマイシンおよびシプロフロキサシン耐性株は、それぞれ 4.0, 1.5 および 0.5% 存在した。また、シプロフロキサシンに対する低感受性株が 10.9% 存在することが判明した。(池辺忠義、渡辺治雄)

### 4. 日本における *emm49* 型 *Streptococcus pyogenes*

による劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症起因菌について

2000年から2003年において、1999年以前に劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症起因菌として分離されなかった *emm49*型 *Streptococcus pyogenes* による劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症が5例(2000年1例、2002年3例、2003年1例)発生した。これらの株について、制限酵素 *Sma*I 処理によるパルスフィールド電気泳動(PFGE)を行ったところ、NIH200, NIH211, NIH230についてはPFGEのパターンに違いが見られなかった。一方、その他の株のPFGEパターンはこれらのパターンと異なっていた。このことは、2000年になって引き起こされた *emm49* 型 *Streptococcus pyogenes* による劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症は、必ずしも同じ菌株によるものではないことが示唆された。[池辺忠義、渡辺治雄、遠藤美代子(東京都健康安全研究センター)、上田有香(近畿大学)、岡田京子(川崎市衛生研究所)、鈴木理恵子(神奈川県衛生研究所)、南健(聖マリアンナ医科大学病院)、田中博(愛媛県立衛生環境研究所)、中西徳彦(愛媛県立中央病院)、富田正章(山口県環境保健研究センター)、西江宏行、石井典子、佐々木恵美(社会保険広島市民病院)、三浦裕司、山村徹(河北総合病院)]

## XI. ペスト菌に関する研究

1. 全国規模での野鼠由来人畜感染症・サーベイランス、リスク評価、ペスト菌感染症：国内で捕獲された野鼠におけるペスト菌の潜在の可能性の検証

1920年代以降本邦においてペスト菌によるペスト患者の報告はないが、それが日本国内においてペスト菌が撲滅されたことを意味する訳ではない。全国規模での野鼠由来人畜感染症・サーベイランスの一環として潜在的なペスト菌の検出と検査体

制の再構築を行う目的で、全国で捕獲された野鼠のうち114匹に関してその摘出脾臓を用いたペスト菌の培養検出を試みた。その結果、雑菌(大腸菌、セラチア菌を含む)4種を除いて菌は検出されなく、ペスト菌も検出されなかった。今後はより感度の高い方法(間接抗体法、PCR法)などを用いて系の確立と共に引き続きサーベイランスを実施していく予定である。[高橋英之、小泉信夫、川端寛樹、渡辺治雄；増澤俊幸、大橋典男(静岡県立大学)、角坂照貴(愛知医科大学)、藤田博己(大原総合病院附属大原研究所)]

## XII. 結核に関する研究

1. BCG東京株ワクチンにおけるRD16領域の異なりについて

BCG東京株ワクチンにおいて379bp又は401bpのどちらかのバンドのみを示すワクチンをそれぞれ調整し、モルモットを皮下免疫した。免疫成立後に微量の結核菌をエアロゾル経気道感染し、ワクチンの結核防御能をしらべた。同様にして免疫したTokyo172株と剖検所見を比較すると、肺臓の大きさに差は認められなかった。又肺臓内の結核性結節の程度は軽く、その差も認められなかった。肝臓の病変は認められなかった。気管リンパ節及び脾臓の大きさは401bpのバンドを示す株のみが379bpのバンドを示す株又はTokyo172株免疫動物より若干大きかった。(芳賀伸治、山崎利雄、山崎剛；山本三郎(細菌第二部))

2. これまでに作成したリコンビナントBCG東京株ワクチンのRD16領域の異なりについて

GMPグレードのエイズワクチンとして調製した3株のBCGをRD16プライマーを用いて型別したところ *rBCG-V3J1* は379bp、*rBCG-pSOV3J1* 及び *rBCG-pSO-gagE* は401bpのバンドのみが認められた。

(芳賀伸治、井関博(日大獣医臨床病理学研究室)、  
本多三男(エイズ研究センター))

### 3. 結核菌の迅速薬剤感受性試験法に関する研究

#### (1) 多剤併用療法に則した薬剤感受性試験法の検討

昨年度に続き、RFP0.010  $\mu$ g/ml、INH0.10  $\mu$ g/ml、SM1.0  $\mu$ g/ml (あるいはEB1.0  $\mu$ g/ml)の混合薬剤に対する併用効果を、結核菌参照菌 6 株と臨床分離菌 20 株について調べた。RFP と INH の両薬剤耐性菌株でなければ、単剤試験法にて耐性菌と判定された菌株であっても、本法では感性菌と判定され、多剤併用療法による実際の治療結果と一致していた。[ 山崎利雄 ]

#### (2) ATP 測定による多剤併用療法に則した薬剤感受性試験法の検討

主要 5 薬剤に耐性を持つ ATCC 参照菌 6 株と臨床分離菌 20 株を、それぞれの単剤と RFP・INH・SM、RFP・INH・EB の混合薬剤をそれぞれ含む Middlebrook 7H9 液体培地に接種し、ATP 測定を行った。肉眼判定では判定までに 7 日から 10 日間を要し、判定に苦慮した場合もあったが、ATP 測定法では、5 日間で判定が可能であり、新しい迅速薬剤感受性試験法(ATP法)の確立ができた。[ 山崎利雄 ]

#### (3) ATP 法のマイクロ化の検討

主要 5 薬剤を所定濃度に固着させ、RFP0.010  $\mu$ g/ml、INH0.10  $\mu$ g/ml、SM1.0  $\mu$ g/ml (あるいはEB1  $\mu$ g/ml)の混合薬剤を固着させたマイクロプレートに、主要 5 薬剤に耐性を持つ ATCC 参照菌 6 株と臨床分離菌 50 株を接種し、培養 5 日目に ATP 測定法を実施した。判定結果は、試験管法で得られた結果と完全に一致したことから、新しい迅速薬剤感受性試験法のマイクロ化も可能であった。[ 山崎利雄; 佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊(極東製薬

工業) ]

#### (4) 2次抗結核薬を用いた場合のATP法の有用性の検討

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 法の有用性を検討した。結核菌 H37Rv 株を用いて ATP 法による結果の再現性を確認した。臨床分離菌 49 株を用いた、ATP 法と寒天比率法との一致率は、各薬剤とも 92%以上であり、ビットスペクトル法との一致率は、88%以上と比較参照法との一致率は高く、二次抗結核薬についても、結核菌の ATP 測定による薬剤感受性試験法は有用であると考えられた。[ 山崎利雄; 佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊(極東製薬工業) ]

### 4. BCG 免疫モルモットからの結核菌の還元培養

RD16 領域を PCR にて増幅させたとき BCG-Tokyo 株は、379bp と 401bp の 2 本バンドが観察される。単一バンドを生ずる様にクローン化した BCG 株にてモルモットを免疫し、結核菌 H37Rv 株を噴霧感染した。5 週間後に解剖し、肺臓、肺門リンパ節、肝臓、脾臓から、結核菌の還元培養を行った。379bp を生ずる BCG 株と 401bp を生ずる BCG 株によって免疫されたモルモットの各臓器からの結核菌数に、顕著な差は認められなかった。[ 山崎利雄、山崎剛、芳賀伸治、山本三郎(細菌第二部) ]

### 5. 飼いイヌの臓器からの抗酸菌の分離

飼い主が結核患者であり、イヌの咽頭部ぬぐい液より、結核菌が分離されたため、安楽死させたイヌの肺、肺門リンパ節、肝臓より抗酸菌を分離した。脾臓からは抗酸菌の分離はできなかった。各臓器由来の分離菌の同定試験の結果は、*M. tuberculosis* であった。分離菌は、主要抗結核薬



すべてに感受性菌であった。イヌの結核症は非常に稀であり、RFLP 分析の結果、飼い主から感染したものであろうと推察された。[山崎利雄、芳賀伸治、渡邊治雄、神山恒夫（獣医科学）、高橋光良（結核研究所）宇根有美（麻布獣医科大学）]

### XIII. セラチアに関する研究

#### 1. セラチアの病原性因子の探索

尿路感染症の起 因 菌 である、*Serratia marcescens* は尿路感染症や集団院内感染の原因菌であるが、その感染経路解明に関する研究は、国内外を問わずあまり行なわれていない。*S. marcescens* の基本的な感染経路が解明されない現在では、その治療法は他の感染症と同様に、種々の抗生物質に依存しているのが現状であり、新たな耐性菌を生み出す温床となっている。*S. marcescens* 独自の感染メカニズムが解明出来れば、抗生物質以外での治療法の確立にも期待もてる。よって、本研究では *S. marcescens* のホストへの感染経路の詳細を明らかにすることを目的とした。現在までに、培養細胞 (T24) を用いた感染モデルを構築した。更に、この時に観察される培養細胞の detachment という現象がその病原性に関係しているのかどうか、更なる研究を進めている。(志牟田 健、渡辺治雄)

### XIV. 口腔内細菌に関する研究

#### 1. 母子（3歳児と母親）により分離された *S. mutans* のバイオフィルム形成能の違いについて

平成14年度に行った横浜市在住の親子（3歳児と母親）の口腔より単離された *S. mutans* の遺伝子は、17の異なった PFGE パターンを示した。これらの *S. mutans* のバイオフィルム形成能を静止系の実

験方法（96穴マイクロプレート）にて検討すると、FSC-3のようなバイオフィルム形成能の高い株とFSC-4のようなバイオフィルム形成能の低い株を見つづけることができた。この2菌種を用いて流路系の実験方法（フローセルシステム）にて検討を行うと、静止系と同様に FSC-3 はバイオフィルム形成能が高く FSC-4 はバイオフィルム形成能が低いことが明かとなった。これらの結果、選択培地上形態的に同じ *S. mutans* であっても、遺伝子的、機能的に異なる *S. mutans* が3歳児の口腔に存在することが明かとなった。このバイオフィルム形成能の異なりが、母から子への感染にどのような影響しているのか現在検討中である。[茂木瑞穂、中尾龍馬、寺嶋淳、渡辺治雄、泉福英信]

#### 2. *Streptococcus mutans* および *Streptococcus gordonii* の歯表面への付着を制御するペプチドの解析

口腔バイオフィルム形成には、他の口腔細菌とともに Streptococci の歯表面への付着が重要な役割を果たしている。なかでも *Streptococcus gordonii* は歯表面への初期付着能が高い細菌として知られている。平成14年度からの研究で、*S. mutans* の歯表面付着に最も関わる菌体表層蛋白質領域 PAc (365-377) に共通部分の多い *S. gordonii* 菌体表層蛋白質 (SspB) の 390-T400K-402 は、BIACoreにおいて唾液成分と強く結合することが明かとなった。そこで、唾液成分が結合したハイドロキシアパタイト (sHA) をその SspB (390-T400K-402) ペプチドにより前処理した場合、*S. gordonii* や *S. mutans* の sHA 結合へどのように影響するか検討を行った。その結果、そのペプチドは、両菌の sHA への結合を約50% 阻害した。これらの結果、SspB (390-T400K-402) ペプチドは、歯表面への *S. mutans* および *S. gordonii* の付着を抑制できる製剤として有用であると考えられた。[泉福英信、奥田健太郎、中尾龍馬、浜田

具之、渡辺治雄]

### 3. ヒト型 PAc peptide 抗体の誘導に関与する HLA-DRB1 遺伝子の検討

*Streptococcus mutans* の菌体表層蛋白質抗原 (PAc) の PAc (361-386) ペプチドに対する唾液 IgA 抗体価を多く有する人は、唾液中の *S. mutans* 量が少ないことが明かとなった。よって、PAc (361-386) ペプチドに対する抗体は、*S. mutans* の菌表面付着阻害抗体であることが考えられた。この抗体の産生を制御する因子として HLA-DRB1 遺伝子が認められ、中でも DRB1\*1501 を有するヒトは唾液中抗 PAc (361-386) ペプチド IgA 抗体量が高く唾液 *S. mutans* 量が少ないことも明かとなった。以上の検討により、HLA-DRB1 遺伝子の検査はう蝕リスク判定に使用できる可能性が示唆された。[津覇雄三、M. A. Salam、泉福英信]

### 4. 歯周疾患における *S. mutans* の菌表面付着阻害抗体の意義

唾液 PAc (361-386) ペプチドに対する抗体が歯周検査における指標とどのように関係するか解析をおこない、歯周疾患におけるこの抗体の意義について検討した。新潟市在住 74 歳の高齢者 100 名を無作為に抽出し、調査対象とした。そのうちデータの得られた 87 名 (男性 60 名) を分析対象者とした。抗体価の高いグループ ( $> 2^2$ ) と低いグループ ( $< 2^2$ ) に分け、1 人あたりの歯石付着部位、最大歯周ポケットの深さ (PD)、最大付着歯肉の減少量 (AL) において、グループ間の比較を行った。その結果、ブラッシング時の出血 (BOP) や PD 値において低いグループと高いグループに差が認められなかったが、歯石の付着 (低;  $5.4 \pm 6.9\%$ , 高;  $1.3 \pm 2.0\%$ ) と AL 値 (4 mm 以上: 低;  $38.2 \pm 27.7\%$ , 高;  $20.4 \pm 19.7\%$ , 6mm 以上: 低;  $11.6 \pm 16.6\%$ , 高;  $2.4 \pm 4.6\%$ ) においては 5% 危険率で有意差が認められた。よって、この唾液

抗体を検査することは、歯周疾患の予知予後を的確に把握するために有用となるかもしれない。[泉福英信、多田章夫 (千葉市健康企画課)、宮崎秀夫 (新潟大学)]

### 5. 唾液分泌が減少したマウスを用いた口腔バイオフィーム形成モデルの作製

昨年度に引き続き、唾液分泌が減少したマウスを用いて口腔バイオフィーム形成モデル動物を作製する検討を行った。E2F-1 ノックアウトマウスは、コントロールマウスである C57BL/6 や 129SV マウスに比べ有意に唾液分泌が低下しており、唾液アミラーゼおよびムチン量も多いことが明かとなった。また、いくつかの oral streptococci を口腔に接種すると、*Streptococcus salivarius* の菌表面における付着量が多いことが明らかとなった。Oral streptococci を口腔に接種する前に、1% スクロース水を 1 昼夜飲ませることによって *S. mutans* の菌表面付着量が他の oral streptococci の付着量よりも多くなることが明かとなった。これらの結果は、ヒト口腔で起る現象に似ていることが明かとなった。[松本直子、サラムアブドウス、渡辺治雄、泉福英信]

### 6. Oral streptococci の菌種菌株間におけるバイオフィーム形成能の検討

本研究では *Streptococci* の 6 菌種 15 菌株を用いて、バイオフィーム形成能の違いについて、唾液とスクロースの影響も含め検討を行った。唾液コートと唾液非コートの 96-well microtiter plate を用いて、biofilm formation assay で評価した。培地として、TSB w/o dextrose+0.25% sucrose とスクロース非含有の SDM 培地を用いた。スクロース非存在下のとき、唾液をコートした plate では、全菌株でバイオフィーム形成抑制がみられた。スクロース存在下では、*S. mutans* (MT8148, ATCC 25175, GS5, OMZ175), *S. sobrinus* AHT, *S. mitis*

ATCC 6249, *S. sanguinis* ATCC 10556 において高い値が認められたが、唾液をコートすると *S. mitis* ATCC 6249 と *S. sanguinis* ATCC 10556 は強く抑制された。菌種間の差だけでなく同菌種においても菌株の違いでバイオフィーム形成に差がみられた。バイオフィームにはスクロース依存性と非依存性の2種類あり、菌株によって唾液の及ぼす影響に差があることが示唆された。[田村昌平、茂木瑞穂、中尾龍馬、泉福英信]

#### 7. 乳酸菌による *Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成阻害の評価

う蝕原因菌の一種である *Streptococcus mutans* (SM) のバイオフィーム形成に対する *Streptococcus faecalis* (SF) の影響について、フローセルシステムを用いて検討した結果、SMとSFを混合接種するとSMが形成するバイオフィーム内部の空洞化、間隙増加、密度の減少が認められた。そこで、本研究では96-well microtiter plate を用いた静止系によるその形成阻害を評価した。*S. mutans* ATCC25175, MT6229 を用いて96-well microtiter plate (SDM培地) によりバイオフィームが最も形成される菌液濃度を測定した。次いで最適濃度の2菌種に *Streptococcus faecalis* の超音波抽出液 (10 $\mu$ l) を各濃度において接種し96-well microtiter plate で培養し評価した。コントロールにはBSAを用いた。*Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成に *Streptococcus faecalis* の抽出液を接種した結果、高タンパク質濃度の場合にバイオフィームの形成阻害が起こった。またBSAを用いた場合にも同様に阻害が起こった。これらからバイオフィーム形成阻害は、タンパク質濃度に依存して起こることが示唆された。[熊田昌幸、田村昌平、中尾龍馬、泉福英信]

#### 8. *Porphyromonas gingivalis* 外膜タンパク Omp85 ホモログの歯周病進展への関わり

*Neisseria* の細胞外膜タンパク Omp85 がLPSや構成タンパクの生合成に関わり、かつ生命維持に必須のものであるという報告を基に、歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* の Omp85 ホモログにおける歯周病への関わりについて検討を行った。まず *Porphyromonas* の Omp85 ホモログとして、アミノ酸レベルで25%のidentityを示すPG0191をゲノムDBから特定した。続いて $\beta$ バレル型外膜タンパクの配向性予測プログラムによりPG0191の細胞外表出領域を予測し、その3ヶ所のペプチドを合成、これをウサギに免疫して抗体を得た。また、PG0191全長を大腸菌発現ベクター系に導入し組換えタンパクを発現精製し、これをウサギに免疫し抗体を作製した。結果、3つのペプチド抗体のうち1つは、全長の組換えPG0191に高いアフィニティーを持っており、PG0191抗体は *Porphyromonas* の表層に結合することが、それぞれELISAおよび金コロイドによる免疫電顕で確認された。また、*Porphyromonas* のPG0191変異株も現在作製中である。今後、これらの抗体によるLPS発現や歯周病バイオフィーム形成への影響を検討し、*Porphyromonas* 外膜タンパクPG0191の歯周病進展への関わりを明らかにしていく。[中尾龍馬 泉福英信 渡邊治雄]

#### 9. 免疫不全マウスにおけるヒト免疫システムの構築

近年、SCIDマウスなどの免疫不全マウスを用いて、マウスにヒトの免疫システムを再構築することができるようになってきている。しかしながら、再構築できるヒトの免疫システムは完全なものではないことが知られている。1次免疫応答を常に誘導できるヒトの免疫システムを再構築することを最終目的として、NOD/SCID  $\beta$ 2 マイクログロブリンノックアウトマウス (NOD/SCID  $\beta$ 2m KO マウス)

にヒト造血幹細胞を移植する実験を行った。臍帯血、末梢血、脾臓のリンパ球を NOD/SCID  $\beta$ 2m KO マウスの腹腔に注射して、ヒトの免疫システムを再構築した。臍帯血リンパ球や脾臓細胞の移植では、移植 5 週目からマウス末梢血中に高い割合（70%以上）でヒトリンパ球の定着が見られた。また、末梢血リンパ球の移植では、移植 7 週間後にマウス末梢血細胞・骨髄細胞・腹腔細胞・脾臓細胞中に高い割合でヒト B 細胞の定着が見られた。これまでの報告では、免疫不全マウスにヒト B 細胞はわずかにしか定着しないとされているので、NOD/SCID  $\beta$ 2m KO マウスで再構築されたヒトの免疫システムを用いて、1 次免疫応答を誘導できる可能性が高い。〔千葉丈 中尾龍馬 泉福英信〕

#### XV. ボツリヌス症に関する研究

これまでに単発及び集団ボツリヌス（中毒）症（宮崎のキャビヤと熊本の芥子蓮根による食餌性ボツリヌス中毒等）の対応を経験した。この経験から留意事項を列記する。ボツリヌス症は迅速な対応が必要であるが希少な疾病の為に病状からの臨床診断に手間取る。そのために疾病の重篤化と共に集団発生の対策が迅速に行えない事もある。それには医療従事者はコンピューターによる臨床診断が参考になる。都道府県と国は常時治療用抗血清を備蓄しその管理状況を常時掌握する必要がある。医療従事者が治療用抗血清管理状況と供給体制の情報を得られるようにする。食餌性ボツリヌス中毒の場合患者の摂取食品の流通経路の迅速に解明できる体制を整える。ボツリヌス症もしくはボツリヌス様患者を診た医療従事者関係機関に積極的に情報を提供する。（北村 勝）

#### XVI. 依頼検査およびその他の事項

##### 1. 体外診断薬

「医薬品製造（輸入）承認許可申請」中、輸血に関するものとして、3 件の梅毒血清検査用キットの試験検査を行った。1 件のラテックス凝集法によるキット、1 件のイムノクロマト法（磁力を併用し、反応時間短縮の改良あり）によるキットは規格試験に合格した。1 件のイムノクロマト法によるキットは検出感度不足を示した。（中山周一、志牟田 健、芳賀伸治）

##### 2. JICA 国際協力・研修生受け入れ

1) 地方衛生研究所の職員 1 名を 4 日間、レジオネラの検査法（16SrDNA のシーケンスによる種の同定）について研修を行った。宮崎県衛生環境研究所 微生物部細菌科 科長 河野喜美子 7 月 22 日-25 日〔前川純子〕

2) JICA のタイ・国立衛生研究所機能向上プロジェクト短期派遣専門家として、レジオネラの検査法、特に臨床検体からの検出法をタイで指導した。タイ NIH、Dep. of Medical Sciences、Wantana Paveenkittiporn 6 日間現地指導、8 月 17 日-26 日出張〔倉 文明〕

3) JICA 衛生・環境分析技術者 II 研修、4 名 インドネシア環境省 Tri Utomo；ケニア水資源管理・開発、James Icika；マレーシア科学・技術・環境、Elliza Matnor；マレーシア保健省、Puvanesvari Kuppusamy；10 月 14 日：日本におけるレジオネラ症の現状を講義した。〔倉 文明〕

##### 3. 出願中の特許

###### (1) 【特許出願】

出願番号 2004-0048115；出願日 平成 16 年 2 月 24 日

発明者：中山周一、久代 明\*、田中隆一郎\*、渡  
辺治雄（\*=ヤクルト中研）

発明の名称：1, 2-Propanediol によるサルモネラ  
病原遺伝子発現の抑制

(2) 【特許出願】

特許 2004-044889; 提出日平成 16 年 2 月 20 日

発明者：前川純子、渡邊治雄、倉 文明、常 彬、  
森林敦子、杉江 元、早川洋一

発明の名称：新規イソクマリン系蛍光物質

(3) 【職務発明】

感染研発第 140 号 平成 16 年 3 月 10 日

発明者：倉 文明、前川純子、渡邊治雄、小林静  
史、高橋朋子

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

47:161-165. 2003.

3) Nakaya, H., Yasuhara, A., Yoshimura, K.,  
Oshihoi, Y., Izumiya, H., Watanabe, H.  
Life-threatening infantile diarrhea from  
fluoroquinolone -resistant *Salmonella*  
*enterica* Typhimurium with mutations in  
both *gyrA* and *parC*. Emerg. Infect. Dis.  
9:255-257. 2003.

4) Iguchi, A., Osawa, R., Kawano, J., Shimizu,  
A., Terajima, J., and H. Watanabe. Effects  
of lysogeny of Shiga toxin 2-encoding  
bacteriophages on pulsed-field gel  
electrophoresis fragment pattern of  
*Escherichia coli* K-12. Current  
Microbiology .46 : 224-227. 2003

5) Hirose, K., Itoh, K., Arawawa, A., Tamura, K.,  
Watanabe, H. DNA-based diagnosis method for  
typhoid and paratyphoid fever, and the  
screenng method for *Salmonella*  
*enterica* serovar Typhi and serovar  
Paratyphi A with decreased susceptibility  
to fluoroquinolones by PCR-restriction  
fragment length polymorphism(RFLP).  
Res. Adv. in Microbiology. 3:109-121. 2003.

6) Ikebe, T., Murai, N., Murayama, S.,  
Saito, K., Yamai, S., Suzuki, R., Isobe,  
J., Tanaka, D., Katsukawa, C., Tamaru, A.,  
Katayama, A., Fujinaga, Y., Hoashi, K.,  
Ishikawa, J., Watanabe, H., and The working  
group For group A streptococci in Japan.  
Changing prevalent T serotypes and *emm*  
genotypes of *Streptococcus pyogenes*  
isolates from streptococcal toxic  
shock-like syndrome (TSLs) patients in  
Japan. Epidemiol & Infect. 130: 569-572.  
2003

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

1) Nagai, T, Sobajima, H., Iwasa, M., Tsuzuki,  
T., Kura, F., Amemura-Maekawa, J., and  
Watanabe, H.: Neonatal sudden death due  
to *Legionella pneumophila* associated  
with water birth in a domestic spa. J Clin  
Microbiol. 41:2227-2229, 2003.

2) Hirose, K., Tamura, K., and Watanabe, H.  
Screening method for *Salmonella enterica*  
serovar Typhi and Paratyphi A with reduced  
susceptibility to fluoroquinolone by  
PCR-rstriction fragment length  
polymorphism. Microbiol. Immunol.

- 7) Izumiya, H., Nojiri, N., Hashiwata, Y., Tamura, K., Terajima, J., and Watanabe, H. *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis, Japan. *Emerg. Infect. Dis.* 9: 1650-1651, 2003
- 8) Lim, YH., Hirose, K., Izumiya, H., Arakawa, E., Takahashi, H., Terajima, J., Itoh, K., Tamura, K., Kim, S.I., and Watanabe, H. Multiplex polymerase chain reaction assay for selective detection of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Jpn J Infect Dis.* 56(4):151-5, 2003
- 9) Okura, M., Osawa, R., Iguchi, A., Arakawa, E., Terajima, J., and Watanabe, H. Genotypic analyses of *Vibrio parahaemolyticus* and development of a pandemic group-specific multiplex PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 41: 4676-4682, 2003
- 10) Shaikh, N., Terajima, J., and Watanabe, H. IpaC of *Shigella* binds to the C-terminal domain of  $\beta$ -catenin. *Microbial Pathogenesis* 35, 107-117, 2003
- 11) Takayuki Taniya, Jiro Mitobe, Shu-ichi Nakayama, Qi Mingshan, Kenji Okuda, and Haruo Watanabe. Determination of the InvE binding site required for expression of IpaB of the *Shigella sonnei* virulence plasmid: Involvement of a ParB boxA-like sequence. *J. Bacteriol.* 185, 5158-5165. 2003
- 12) Shu-ichi Nakayama, Akira Kushiro, Takashi Asahara, Ryu-ichiro Tanaka, Lan Hu, Dennis J. Kopecko, and Haruo Watanabe. Activation of *hliA* expression at low pH requires the signal sensor CpxA, but not the cognate response regulator CpxR, in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Microbiol.* 149, 2809-2817. 2003
- 13) Hirano M, Ding X, Li TC, Takeda N, Kawabata H, Koizumi N, Kadosaka T, Goto I, Masuzawa T, Nakamura M, Taira K, Kuroki T, Tanikawa T, Watanabe H, Abe K. Evidence for widespread infection of hepatitis E virus among wild rats in Japan. *Hepatology Research* 27 (1): 1-5 2003.
- 14) Koizumi N, Watanabe H. Molecular cloning and characterization of a novel leptospiral lipoprotein with OmpA domain. *FEMS Microbiology Letters* 226 (2): 215-219 2003.
- 15) Koizumi N, Watanabe H. Identification of a novel antigen of pathogenic *Leptospira* spp. that reacted with convalescent mice sera. *Journal of Medical Microbiology* 52 (7): 585-589 2003.
- 16) Koizumi N, Kawabata H, Watanabe H. Probable laboratory contamination of clinical specimens with *Leptospira meyeri*. *Microbiology and Immunology* 47 (4): 305-306 2003.
- 17) Halpern M, Broza YB, Mittler S, Arakawa E, Broza M. Chironomid Egg Masses as a Natural reservoir of *Vibrio cholerae* Non-01 and Non-0139 in freshwater habitats. *Microb. Ecol.* Dec. 23 2003
- 18) Zhang YL, Lau YL, Arakawa E, Leung KY. Detection and genetic analysis of group II capsules in *Aeromonas hydrophila*. *Microbiology.* 149(Pt 4):1051-60, 2003
- 19) Ushijima Y, Keirans JE, Oliver Jr JH, Tsurumi M, Kawabata H, Watanabe H, Fukunaga M.: Mitochondrial sequence variation in

- Carios capensis* (NEUMANN), a parasite of seabirds, collected on Torishima island in Japan. *Journal of Parasitology*. 89(1), 196-198, 2003.
- 20) Watanabe H, Terajima J, Izumiya H, Iyoda S.: Molecular typing methods for STEC. *Methods Mol Med*. 73:55-65. 2003
- 21) Nakao, R., Hanada, N., Asano, T., Hara, T., Salam, MA., Matin, K., Shimazu, Y., Nakasone, T., Horibata, S., Aoba, T., Honda, M., Amagasa, T., Senpuku, H.: Assessment of oral transmission using cell-free human immunodeficiency virus-1 in mice reconstituted with human peripheral blood leucocyte. *Immunology*. 109: 271-82, 2003.
- 22) Matin, K., Senpuku H., Hanada, N., Ozawa, H. and Ejiri, S. Bone regeneration by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) around immediate implants: A pilot study in Rats. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 18: 211-217. 2003.
- 23) Kawashima, M., Hanada N., Hamada, T., Tagami, J. and Senpuku H. Real-time interaction of oral streptococci with human salivary components. *Oral Microbiol. Immunol*. 18: 220-225. 2003.
- 24) Senpuku, H., Sogame, A., Inoshita, E., Tsuha, Y., Miyazaki, H. and Hanada N. Systemic diseases in association with microbial species in oral biofilm from elderly requiring care. *Gerontology* 49: 301-309. 2003.
- 25) Hideyuki Takahashi, Kenji Hirose and Haruo Watanabe: Necessity of meningococcal  $\gamma$ -glutamyl aminopeptidase for *Neisseria meningitidis* growth in rat cerebrospinal fluid (CSF) and CSF-like medium. *Journal of Bacteriology* 186:253-257, 2004.
- 26) Salam, MA., Matsumoto, N., Matin, K., Tsuha, Y., Nakao, R., Hanada, N., Senpuku, H.: Establishment of an animal model using recombinant NOD.B10.D2 mice to study initial adhesion of oral streptococci. *Clin Diagn Lab Immunol*. 11: 379-86, 2004.
- 27) Harada, S., Kamata, Y., Ishii, Y., Eda, H., Kitamura, R., Obayashi, M., Ito, S., Ban, F., Kuranari, J., Nakajima, H., Kuze, T., Hayashi, M., Okabe, N., Senpuku, H., Miyasaka, N., Nakamura, Y., Kanegane, H., and Yanagi, K. Maintenance of serum immunoglobulin G antibodies to Epstein Barr Virus (EBV) nuclear antigen 2 in healthy individuals from different age groups in Japanese population with a high childhood incidence of asymptomatic primary EBV infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 11: 123-130. 2004.
- 28) Terajima, J., Tamura, K., Hirose, K., Izumiya, H., Miyahara, M., Konuma, H., and Watanabe, H. A multi-prefectural outbreak of *Shigella sonnei* infections associated with eating oysters in Japan. *Microbiol. Immunol*. 48, 49-52, 2004
- 29) Nadine McCallum, Markus Bischoff, Hideki Maki, Akihito Wada, and Brigitte Berger-Bächi. TcaR, a putative MarR-like regulator of *sarS* expression. *J. Bacteriol*. 186:2966-2972. 2004
- 30) Hideki Maki, Nadine McCallum, Markus Bischoff, Akihito Wada, and Brigitte

- Berger-Bächi. *tcaA* inactivation increases glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48:1953-1959. 2004.
- 31) Masuzawa T, Hashimoto N, Kudeken M, Kadosaka T, Nakamura M, Kawabata H, Koizumi N, Imai Y: New genomospecies related to *Borrelia valaisiana*, isolated from mammals in Okinawa archipelago, Japan. *Journal of Medical Microbiology.* 53(5):421-426. 2004.
- 32) Koizumi N, Watanabe H. Leptospiral immunoglobulin-like proteins elicit protective immunity. *Vaccine*, 22: 1545-1552. 2004.
- 33) Ahmed AM, Nakagawa T, Arakawa E, Ramamurthy T, Shinoda S, Shimamoto T. New aminoglycoside acetyltransferase gene, *aac(3)-IId*, in a class 1 integron from a multiresistant strain of *Vibrio fluvialis* isolated from an infant aged 6 months. *J. Antimicrob. Chemother.* 53(6):947-51, 2004
- 34) Kawabata H, Norris SJ, Watanabe H.: *bbe02* disruption mutants of *Borrelia burgdorferi* B31 have a highly transformable, infectious phenotype. *Infection and Immunity.* (2004) in press
- 35) Güner ES, Watanabe M, Hashimoto N, Kadosaka T, Kawamura Y, Ezaki T, Kawabata H, Imai Y, Kaneda K, Masuzawa T: *Borrelia turcica* sp. nov., isolated from hard tick, *Hyalomma aegyptium* in Turkey. *International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology.* (2004) in press
- 1) 寺嶋 淳、広瀬健二、渡辺治雄。最近の細菌性赤痢、チフス、パラチフスについて。診断と治療、91、1207-1210、2003
- 2) 寺嶋 淳。細菌性赤痢。動物由来感染症その診断と対策、神山恒夫、山田章雄編、真興交易書籍出版部、174-177、2003
- 3) 廣瀬健二。最近の腸チフス・パラチフスの薬剤感受性の動向。日本細菌学会 関東支部ニュース Vol.42、16-17。2003.
- 4) 廣瀬健二 渡辺治雄。キノロン薬。Medical Practice 臨時増刊号 実践 抗生物質・抗菌薬療法ガイド 2003年 Vol.20 170-176。2003年8月
- 5) 廣瀬健二 ほかに執筆者 104名。分子生物学歯科小事典 西沢俊樹(監修) 花田信弘 今井奨 西原達次(編集)。財団法人口腔保健協会 2003年6月発行
- 6) 廣瀬健二。腸チフス・パラチフス。総合臨床感染症診療・投薬ガイド vol52 増刊号 580-585。永井書店、大阪 2003.
- 7) 泉谷秀昌、渡辺治雄：施設における食中毒の傾向と対策。医薬ジャーナル、第39巻第5号、106-111。2003.
- 8) 泉谷秀昌、渡辺治雄：食中毒起因菌における耐性菌の現状と問題点。獣医畜産新報 JVM、第56巻第10号、828-832、2003。
- 9) 泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄：フルオロキノロン耐性 *Salmonella* Typhimurium。IASR 第24巻第8号、181、2003。
- 10) 小泉信夫、渡辺治雄、梅澤和夫、飯塚朝明、猪口貞樹。PCRにより早期診断が行えたレプトスピラ病の1例。感染症学雑誌 77(8): 627-630 2003.
- 11) 小泉信夫、渡辺治雄。人獣共通感染症としてのレプトスピラ病。Infovets 6(6): 18-21



- 2003.
- 12) 川端寛樹, 小泉信夫, 渡辺治雄. レプトスピ  
ラ症. 動物由来感染症 その診断と対策  
227-231 2003
- 13) 常 彬, 渡辺治雄: レジオネラ感染症の臨床  
病型と疫学. 化学療法の領域, 2004.
- 14) 荒川英二, 島田俊雄; 食品中の食中毒検査法  
「5. 腸炎ビブリオ」 防菌防黴誌, 31(8),  
445-456-3, 2003
- 15) 池辺忠義, 渡辺治雄. 劇症型 A 群レンサ球菌  
感染症. In 理解して実践する感染症診療・投  
薬ガイド. 総合臨床増刊号 52: 1061-1065  
(2003).
- 16) 池辺忠義, 渡辺治雄. レンサ球菌属 (劇症型  
溶血性レンサ球菌感染症起因菌を含む). In 新  
世紀の感染症学(下)-ゲノム・グローバル時代  
の感染症アップデート- 日本臨床増刊号 61  
suppl 3: 665-669 (2003).
- 17) 池辺忠義, 渡辺治雄, 遠藤美代子, 上田有香,  
岡田京子, 鈴木理恵子, 南健, 田中博, 中西  
徳彦, 富田正章, 西江宏行, 石井典子, 佐々  
木恵美, 三浦裕司, 山村徹. わが国における  
劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症起因菌  
*emm49*型 *Streptococcus pyogenes* について.  
病原微生物検出情報 24: 112-113 (2003)
- 18) 堀川和美, 村上光一, 長野英俊, 濱崎光宏,  
石黒靖尚, 荒川英二, 渡辺治雄, 近藤正治,  
森田繁, 原一美, 江崎泰之; *Vibrio cholerae*  
08 感染事例-福岡県 病原微生物検出情報,  
25(1), 10, 2004
- 19) 荒川英二, 渡辺治雄 病原菌の今日的意味  
改訂第三版「赤痢菌」, 482-492, 2003
- 20) 川端寛樹: ライム病. 理解して実践する感染  
症診療・投薬ガイド. 総合臨床増刊. 52,  
533-540, 2003.
- 21) 川端寛樹: ライム病. 感染症. 家庭医学大全  
科. 法研(株). (印刷中) 2004.
- 22) 川端寛樹: 回帰熱. 感染症. 家庭医学大全科.  
法研(株). (印刷中) 2004.
- 23) 川端寛樹: レプトスピラ症. 感染症. 家庭医  
学大全科. 法研(株). (印刷中) 2004.
- 24) 川端寛樹: ライム病. 感染症の辞典. (印刷中)  
2004.
- 25) 川端寛樹: 回帰熱. 感染症の辞典. (印刷中)  
2004.
- 26) 中村正治, 平良勝也, 大野惇, 増澤俊幸, 角  
坂照貴, 川端寛樹, 小泉信夫, 藤田博巳, 宮  
城朝光. 沖縄県におけるレプトスピラの保菌  
動物調査. 日本獣医学雑誌. 57(5), 321-325,  
2004.
- 27) 伊豫田淳, 渡辺治雄: 志賀毒素産生性大腸菌  
食中毒, 臨床検査, 47(5): 459-465, 2004
- 28) 伊豫田淳, 渡辺治雄: 腸管出血性大腸菌感染  
症, 化学療法の領域, 20(2): 56-59, 2004
- 29) 高橋英之, 渡辺治雄, 新世紀の感染症学(下),  
細菌の遺伝学, ナイセリア属, 髄膜炎菌, 日  
本臨床 61 増刊号 3, 683-688, 2003
- 30) 高橋英之, 渡辺治雄, 新世紀の感染症学(下),  
細菌の遺伝学, ナイセリア属, 淋菌, 日本臨  
牀 61 増刊号 3, 689-695, 2003
- 31) 森望, 周藤豊, 田川陽子, 渡辺祐子, 浅井良  
夫, 新川隆康, 高橋英之, 渡邊治雄, 海外渡  
航歴のあった髄膜炎菌性髄膜炎の一例, IASR,  
24 号, P. 26, 2003
- 32) 中尾龍馬, 泉福英信, ウイルス感染と口腔の  
関わり: HIV/AIDS-1, 日本歯科評論, 731: 22-24,  
2003
- 33) 中尾龍馬, 泉福英信, ウイルス感染と口腔の  
関わり: HIV/AIDS-2, 日本歯科評論, 732: 22-24,  
2003
- 34) 泉福英信, 血液感染症を知り適切な対応を,  
アポロニア 21, 3: 52 - 55. 2003.

- 35) 泉福英信、宇宙時代は歯科の時代、日本歯科評論, 728: 22-24, 2003.
- 36) 泉福英信、西沢俊樹: 第2章 今後期待される技術、p175 - 182、2003年; 第5部 ミュータンスレンサ球菌の除金技術、ミュータンスレンサ球菌の臨床生物学、監修花田信弘
- 37) 泉福英信、他 110名: 分子生物学歯科小辞典、監修西澤俊樹、6月30日、2003.
- 38) 泉福英信: 歯周病関連バイオフィルムの特性、p112-115、2003年; Dental Diamond 増刊号、監修鴨井久一
- 39) 泉福英信、要介護高齢者の口腔微生物叢の改善のための歯科保健医療データベースの構築、8020財団法人8020推進財団会誌、1: 85-87, 2004.
- 40) 和田昭仁、倉 文明、前川純子、池辺忠義、常 彬、渡辺治雄: 23 価肺炎球菌ワクチンの感染防止効果および医療経済効果について、病原微生物検出情報、25:44、2003.
- 41) 小林敦子、山本佳史、長 澄人、井上 申、倉 文明、前川純子: 台湾クルーズの客船に関連したレジオネラ肺炎・事例1 - 大阪府、病原微生物検出 情報、25:40, 2003.
- 42) 前川純子: レジオネラ。SRL 宝函、27:73-76, 2003.
- 43) 渡辺治雄。バイオテロ、ボーダレス時代への対応。Campus Health. p.101-105. 全国大学保健管理協会。2003年
- 44) 渡辺治雄。日常生活における食中毒の予防法。診断と治療。91: 1147-1149. 2003.
- 45) 渡辺治雄。モダンorクラシック。化学療法の領域。19: 15. 2003
- 46) 渡辺治雄。ベスト。臨床と微生物。31: 31-35. 2004
- 47) 北村 勝: ポツリヌス毒素 廣川タンパク質化学 第1巻 毒素タンパク質 II 植

物・微生物由来毒素タンパク質 (林 恭三、池田 潔、太田光熙 編集) 134-145, 廣川書店. 2003

- 48) 伊豫田淳, 渡辺治雄. 腸管出血性大腸菌症. 動物由来感染症 その診断と対策 186-189 2003

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Takayuki Taniya, Jiro Mitobe, Shu-ichi Nakayama, Qi Mingshan, Kenji Okuda, and Haruo Watanabe. Determination of the InvE binding site required for expression of IpaB of the *Shigella sonnei* virulence plasmid: Involvement of a ParB boxA-like sequence. 38<sup>th</sup> US-Japan Cholera and Other Related Enteric Infections Joint Panel Meeting. Lister Hill Auditorium, National Institutes of Health, Bethesda, MD. October, 2003.
- 2) Munirul Alam, Shu-ichi Nakayama, and Haruo Watanabe. Identification of *gatD* as a ranscription modulator for *virF* gene expression in *Shigella sonnei*. 3<sup>rd</sup> FAPMS Conference. Kuala Lumpur. October, 2003.
- 3) Iyoda S. and Watanabe H.: Isolation and characterization of positive regulatory genes on the expression of locus of enterocyte Effacement (LEE) -genes in Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O157:H7. VTEC2003, June 2003, Edinburg, UK.
- 4) Nakao, R., Amagasa, T., Aoba, T., Hanada, N., and Senpuku, H.: Assesment of oral transmission using cell-free HIV-1 in mouse

- models reconstituted with humana peripheral blood leukocytes. The 81th general session and exhibition of the International Associaciton for Dental Research, Jun 25-29. 2003. Goteborg, Sweden.
- 5) Salam, MA., Tsuha, Y., Nakao, R., Matsumonto N, Hanada, N, and Senpuku, H.: Human T-cell responses to oral biofilm bacteria in humanized NOD/SCID mice. The 81th general session and exhibition of the International Associaciton for Dental Research, Jun 25-29. 2003. Goteborg, Sweden.
  - 6) Senpuku, H., Tsuha, Y., Salam MA, and Hanada N. Recolonization of *Streptococcus mutans* on the tooth surface in microgravity. The 81th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Jun 25-29. 2003. Goteborg, Sweden.
  - 7) Arakawa, T., Ishizaki, T., Hayman, RE., Hanada N, and Senpuku. H. Interaction of Small Crystal Form of Hydroxyapatite with Mutans Streptococci. The 81th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Jun 25-29. 2003. Goteborg, Sweden.
  - 8) Tsuha, Y., Salam, MA., Hanada N, Kurosaki, N/, and Senpuku, H., DRB1 genotypes associated with induction of the inhibiting antibody to *Streptococcus mutans* in humans. The 81th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Jun 25-29. 2003. Goteborg, Sweden.
  - 9) Motegi, M., Takagi, Y., Sato, T., Tanaka, T., Hanada, N., and Senpuku, H., The current status of oral transmission of *S. mutans* from mother to 3-year-old child in Japan. The 81th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Jun 25-29. 2003. Goteborg, Sweden.
  - 10) Senpuku, H., Kawata, M., Yamamura, H., Hanada, N., Watanabe, H. Effects of lactic acid bacteria in biofilm foramation of *Streptococcus mutans*. ASM Conference Biofilm 2003, Victoria, British Colonia, November 1 - 6, 2003. Canada.
  - 11) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M.C., Maeda, N., and Koyama, H.:Critical role of myeloperoxidase and NADPH-oxodase in high-burden systemic infection of mice with *Candida albicans*. Gordon Research Conference on Phagocytes. June 2003, New London, USA.
  - 12) Kura, F: Incidence of Legionnaires' disease and epidemiological study: diagnosis, prevention and control in Japan. Seminar in JICA project, Strengthening of National Institute of Health capability for research and development of AIDS and emerging infectious diseases. August 2003, Bangkok, Thailand.
  - 13) Watanabe, H. Emergence of new pathogens and control of infectious diseases. International Symposium of Research Center for Pathogenic fungi and microbial Toxicoses. Tokyo. Nov. 21-22. 2003
  - 14) Watanabe, H. Genetic diversity and its application to epidemiology. The 8th

- Pan-pacific Emerging Infectious Diseases Conference. Bangladesh. Dec. 10-12. 2003
- 15) Terajima J., Iyoda S., Watanabe H.: Molecular epidemiological investigation of EHEC isolates in Japan 2001-2002. The 7th annual Enter-net workshop, Jun, 2003, Edinburgh, Scotland
  - 16) Terajima J., Izumiya H., Iyoda S., Mitobe J., Tamura K., and Watanabe H.: Molecular epidemiological investigation of EHEC isolates in Japan 2001-2002. The 5th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) producing *Escherichia coli* Infections, Jun., 2003, Edinburgh, Scotland
  - 17) Hideki Maki, Nadine McCallum, Markus Bischoff, Akihito Wada, and Brigitte Berger-Bächi. TcaA inactivation leading to reduced glycopeptide susceptibility, found in clinical vancomycin intermediate-resistant *Staphylococcus aureus* (VISA). 11th International Congress on Infectious Diseases, Cancun, Mexico, March, 2004.
  - 18) Salam, MA, Matsumoto, N., and Senpuku, H. Initial adhesion of oral streptococci in recombinant non-obese diabetic mice. Human T-cell responses to oral biofilm bacteria in humanized NOD/SCID Mice. The 82th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 10-13. 2004. Honolulu, USA.
  - 19) Arakawa, T., Ishizaki, R., Hayman, E., Hanada, N., and Senpuku, H. Reduction of oral streptococci by small-crystal hydroxyapatite. The 82th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 10-13. 2004. Honolulu, USA.
  - 20) Maeda, T., Kitasako, Y., Senpuku, H., Hanada, N., and Tagami, J. Identification of mutans streptococci, lactobacilli in the lowest-pH carious dentin. The 82th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, March 10-13. 2004. Honolulu, USA.
  - 21) Kawabata H and Watanabe H. Establishment of transformable/infectious Lyme disease *Borrelia burgdorferi* B31: Retention of lp25 in *bbe02* disrupted mutants. The Gordon Research Conference, The Biology of Spirochetes. Ventura, CA, USA. 2004.
- ### 3. 国内学会
- 1) 廣瀬健二、荒川英二、高井信子、田村和満、渡辺治雄. 日本国内で分離されたニューキノロン低感受性 *Salmonella* Typhi 及び *Salmonella* ParatyphiA の最近の分離状況. 日本感染症学会総会, 福岡, 2003
  - 2) 廣瀬健二 渡辺治雄. 日本国内でのチフス菌・パラチフスA菌の分離状況. 薬剤耐性菌研究会 群馬・伊香保温泉 2003
  - 3) 谷家貴之、三戸部治郎、中山周一、奥田研爾、渡辺治雄. D群赤痢菌 *S. sonnei* の細胞侵入因子 IpaB発現に関与するシス領域の解析. 第76回日本細菌学会総会、2003年4月、熊本
  - 4) 久代 明、朝原 崇、田中隆一郎、中山周一、渡辺治雄. サルモネラ *cpxR* 変異株のキャラクターゼーション. 第76回日本細菌学会総会、2003年4月、熊本
  - 5) 清水 健介、久代 明、田中隆一郎、中山周一、

- 渡辺治雄. エルシニア菌及び大腸菌の *cpxR-cpxA* オペロンによるpH依存的な転写制御について. 第86回日本細菌学会関東支部会、2003年、横浜
- 6) 泉谷秀昌、寺嶋淳、田村和満、渡辺治雄：*Salmonella* Enteritidis 関するフェージ型別および薬剤耐性の傾向。第76回日本細菌学会総会、2003年4月、熊本県熊本市。
- 7) 板垣道代、白木豊、山田万希子、所光男、河合直樹、泉谷秀昌、渡辺治雄：インターネットを利用した岐阜県下におけるサルモネラ症発生动向調査-S. Enteritidis のパルスフィールドゲル電気泳動による解析-。第24回日本食品微生物学会学術総会、2003年10月、岡山県岡山市。
- 8) 池辺忠義、渡辺治雄。近年分離された *Streptococcus pyogenes* M3 型株に特異的に存在するフェージ様DNA断片にコードされる遺伝子産物の解析。第12回Lancefieldレンサ球菌研究会、岡山、2003
- 9) 増澤俊幸、角坂照貴、小泉信夫、川端寛樹、中村正治、平良勝也、今井康之。ライム病の存在が予期されなかった沖縄で見出されたライム病関連ボレリアの性状。第3回人と動物の共通感染症研究会学術集会。東京、2003年
- 10) 林栄治、赤尾信明、小泉信夫、谷川力、藤田絃一郎。東京都心部における野ネズミの広東住血線虫の寄生状況と中間宿主の調査。第63回日本寄生虫学会東日本支部大会。横浜、2003年
- 11) 小泉信夫、渡辺治雄。レプトスピラの新規抗原タンパク質の探索。第76回日本細菌学会総会。熊本、2003年
- 12) 小泉信夫、星野真西、谷川力、牧野敬、林栄治、川端寛樹、黒木俊郎、川中正憲、田栗利紹、渡辺治雄。野生動物のレプトスピラ保有状況調査 - 東京都内ドブネズミ及びアライグマの場合 -。第40回レプトスピラシンポジウム。福岡、2003年
- 13) 小泉信夫、渡辺治雄。病原性レプトスピラの新規リポタンパク質の同定。第40回レプトスピラシンポジウム。福岡、2003年
- 14) 増澤俊幸、角坂照貴、川端寛樹、小泉信夫、後藤郁夫、中村正治。レプトスピラ病疫学調査結果 最終報告。第40回レプトスピラシンポジウム。福岡、2003年
- 15) 伊豫田淳、田村和満、伊藤健一郎、渡辺治雄：LEE遺伝子群非保有型志賀毒素産生性大腸菌に存在する病原性遺伝子の解析、第76回日本細菌学会総会、2003年4月、熊本
- 16) 常 彬、前川純子、倉 文明、渡辺治雄：IVIAT法による *Legionella pneumophila* の新たな病原因子の同定。第76回日本細菌学会総会、2003年4月、熊本
- 17) 常 彬、前川純子、倉 文明、渡辺治雄：*Legionella pneumophila* の新たな接着因子の同定。第86回日本細菌学会関東支部会、2003年10月、横浜
- 18) 大倉正稔、大澤朗、井口純、高木道浩、荒川英二、寺嶋淳、渡邊治雄 AP-PCR断片のDNA配列を利用した新興型腸炎ビブリオ同定用PCR法、第37回腸炎ビブリオシンポジウム、2003、11月、青森
- 19) 鈴木理恵子、楠本正博、荒川英二、沖津忠行 神奈川県における沿岸魚介類・汽水域からの腸炎ビブリオおよび *Vibrio vulnificus* 検出状況、第37回腸炎ビブリオシンポジウム、2003、11月、青森
- 20) 平川宣幸、中川知子、Faruque SM, Ramamurthy T, Nair GB, 荒川英二、三好伸一、篠田純男 ベンガル地域におけるコレラ菌およびナグビブリオの分子疫学的研究、第37回腸炎ビブリ

- オシンポジウム, 2003, 11月, 青森
- 21) 大倉正稔, 大澤朗, 井口純, 荒川英二, 寺嶋淳, 渡邊治雄. 新興型腸炎ビブリオの遺伝子型と同定用PCR法の開発, 第24回日本食品微生物学会, 2003, 10月, 岡山
  - 22) 山崎 剛, 山本三郎, 芳賀伸治, ERISA及びELISPOTによるモルモット・インターフェロンガンマ検出法の確立, 第78回日本結核病学会総会, 2003, 4月, 倉敷
  - 23) Tuyoshi Yamazaki, Makiko Hamatake, Saburou Yamamoto, Mituo Honda, Shinji Haga, IFN- $\gamma$  ELISPOT assay analysis of the lymphocytes in guinea pigs vaccinated with BCG Tokyo, 第73回実験結核研究会総会, 2003, 4月, 倉敷
  - 24) 川端寛樹, 榊原省司, 今井康之, 増澤俊幸, 藤田博己, 渡邊治雄. 奄美諸島におけるレプトスピラの浸潤. 第41回レプトスピラシンポジウム. 2004.
  - 25) 川端寛樹, 渡邊治雄. 制限修飾遺伝子破壊株による形質導入とその感染性. 第41回レプトスピラシンポジウム. 2004.
  - 26) 川端寛樹, 渡邊治雄: ライム病ボレリア推定制限・修飾遺伝子破壊による感染性株の形質転換法確立. 第86回日本細菌学会関東支部会(横浜). 2003.
  - 27) 川端寛樹: ポストゲノムにおけるライム病研究新戦略と展望-ライム病ボレリア遺伝子改変技術の現状. 講演. 第11回SADI(ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー)(長野). 2003.
  - 28) 川端寛樹, 足立拓也, 相楽裕子, 渡邊治雄: ライム病の輸入例. 第40回レプトスピラシンポジウム. 2003.
  - 29) 川端寛樹, 渡邊治雄: ライム病ボレリアのNew type-restriction/modification system: 遺伝子導入可能な感染性ボレリア作成の可能性について. 第40回レプトスピラシンポジウム. 2003.
  - 30) 前川純子, 倉 文明, 渡邊治雄: レジオネラ属菌のカタラーゼの解析. 第76回日本細菌学会総会, 2003年, 4月, 熊本
  - 31) 高橋英之, 渡邊治雄. 髄膜炎菌 *Neisseria meningitidis* の $\gamma$ -glutamyl aminopeptidaseの病原因子としての機能解析. 第76回日本細菌学会 2003年4月
  - 32) 武内博朗, 井田亮, 野色浩美, 早川浩生, 奥田健太郎, 由川英二, 野村義明, 泉福英信, 花田信弘, 3DS(Dental Drug Delivery System)によるミュータンスレンサ球菌の臨床的除菌法の問題点とその対策, 第52回口腔衛生学会総会, 小倉, 9月25日~9月27日, 2003.
  - 33) 田中とも子, 北田加代美, 野村義明, 泉福英信, 佐藤勉, 花田信弘, 桐村和子, 鴨井久一, 唾液を用いた歯周疾患診断のための臨床検査の可能性 第3報 疫学診断応用のためのアンケート調査結果の分析, 第52回口腔衛生学会総会, 小倉, 9月25日~9月27日, 2003.
  - 34) 中村諭, 佐藤勉, 泉福英信, 花田信弘, 由川英二, 井田博久, 定期的口腔ケアを実施している特別養護老人ホーム入所者(4施設)における口腔微生物検出状況, 第52回口腔衛生学会総会, 小倉, 9月25日~9月27日, 2003.
  - 35) 北田加代美, 田中とも子, 野村義明, 泉福英信, 花田信弘, 佐藤勉, 桐村和子, 鴨井久一, 唾液を用いた歯周疾患診断のための臨床検査の可能性 第2報歯周疾患治療に対する予後因子の解析 第52回口腔衛生学会総会, 小倉, 9月25日~9月27日, 2003年.
  - 36) 野村義明, 田中とも子, 北田加代美, 泉福英信, 花田信弘, 佐藤勉, 桐村和子, 鴨井久一, 唾液を用いた歯周疾患診断のための臨床検査の可

- 能性 第1報基準値設定のための解析 第52回口腔衛生学会総会、小倉、9月25日～9月27日、2003年。
- 37) Salam, MA., Senpuku H. *E2f1* mutation induces early onset of autoimmune diseases in non-obese diabetic mice. 第33回日本免疫学会総会・学術集会、福岡、12月8日～12月10日、2003年。
- 38) 泉福英信、中尾龍馬、渡辺治雄、唾液分泌低下遺伝子組み換えマウスを用いた oral streptococciによる歯面付着の検討、第77回日本細菌学会総会、大阪、4月1日～4月3日、2004年。
- 39) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Maeda, N., and Koyama, H. Contribution of myeloperoxidase-dependent oxidative system to the host defense against *Cryptococcus neoformans*. 第76回日本生化学会大会、2003年10月、横浜。
- 40) Shimono, M., Endo, R., Takahashi, H., Sugino, N., Kura, F., Dinauer, M., Maeda, N. Koyama, H., and Aratani, Y.: Increased sensitivity of mice deficient in myeloperoxidase and NADPH-oxidase to dextran sulfate-induced colitis. 第76回日本生化学会大会、2003年10月、横浜。
- 41) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Maeda, N., and Koyama, H.: Contribution of myeloperoxidase-dependent oxidative system to the host defense against *Cryptococcus neoformans*. 第9回MPO研究会、2003年10月、東京。
- 42) 東 美香、河野喜美子、斉藤信弘、鈴木 泉、倉 文明、前川純子、渡辺治雄：循環式入浴施設におけるレジオネラ症集団感染事例、第77回日本感染症学会総会、2003年4月、福岡。
- 43) 倉 文明：レジオネラ感染症、衛生微生物技術協議会第24回研究会、シンポジウム講演、2003年7月、福岡。
- 44) 河野喜美子、東 美香、斉藤信弘、鈴木 泉、倉 文明、前川純子、渡辺治雄、八木田健司、遠藤卓郎：循環式温泉入浴施設を発生源としたレジオネラ症 集団感染事例について、衛生微生物技術協議会第24回研究会、シンポジウム講演、2003年7月、福岡。
- 45) 荒谷康昭、倉 文明、鈴木和男、小山秀機：*Cryptococcus neoformans*感染に対する生体防御におけるミエロペルオキシダーゼの役割。第33回日本免疫学会総会・学術集会、2003年12月、福岡。
- 46) 倉 文明、前川純子。レジオネラ。平成15年度特別課程細菌学コースレジオネラ講義・実習、2004年1月、東京。
- 47) 渡辺治雄。PFGE解析の有効利用とネットワークの構築。平成14年度希少感染症診断技術研修会。2003年2月
- 48) 渡辺治雄。輸入感染症としての細菌性下痢症の細菌の問題点。ワークショップ“輸入感染症の今：ボーダーレス時代に生じた新しい問題”。第52回日本感染症学会東日本地方会。2003年10月。横浜。
- 49) 泉谷秀昌、寺嶋 淳、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄：0157を中心とした、2003年分離EHECの動向について。第8回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2004年3月、東京
- 50) 渡辺治雄。感染症法の改正に向けて。第42回感染性腸炎研究会。2003年3月
- 51) 渡辺治雄。耐性菌の現状と問題点。第2回領域横断ワークショップ。日本獣医学会。2003年

- 3月
- 52) 渡辺治雄。ワクチンの現状と展望-特に腸管感染症について。第77回日本感染症学会。2003年4月。福岡
- 53) 小林博司、藤原康司、斉藤義弘、大島左希子、久保政勝、衛藤義勝、門間千恵、北村 勝：A botulism case of a 12-year-old girl caused by intestinal colonization of *Clostridium botulinum* type Ab 第50回毒素シンポジウム、2003年7月、和歌山県
- 54) 寺嶋 淳、泉谷秀昌：PFGEによる分子疫学的解析：国立公衆衛生院平成15年度特別課程、2004年1月、東京、
- 55) 三戸部治郎 渡辺治雄。二成分制御系センサーCpxAを介した赤痢菌病原遺伝子の転写後調節。2004年4月第77回日本細菌学会総会
- 56) 榊原省司、増沢俊幸、川端寛樹。gyrB解析によるレプトスピラ螻清型推定法の開発。第41回レプトスピラシンポジウム。2004。
- 57) 増澤俊幸、渡邊むつみ、Ece S. Guner、角坂照貴、河村好章、江崎孝行、川端寛樹、今井康之、金田一秀。回帰熱ボレリアとライム病ボレリアの中間に位置する新種*Borrelia turcica*の性状。第41回レプトスピラシンポジウム。2004。
- 58) 増澤俊幸、渡邊むつみ、河村好章、川端寛樹、今井康之、金田一秀、江崎孝行：回帰熱ボレリアとも、ライム病ボレリアとも異なる新規なボレリア*Borrelia turcica* sp. nov. . 日本細菌学会総会（大阪）. 2004。
- 59) 泉谷秀昌：サルモネラによる食中毒の発生状況とその傾向について。第5回感染症フォーラム、2004年1月、東京都。
- 60) 泉谷秀昌：分子生物学概論。国立保健医療科学院平成15年度特別課程。2004年1月、東京都。
- 61) 柏木美智子、増田高志、佐野世乃、川森文彦、三輪憲永、倉重英明、泉谷秀昌、渡辺治雄：2003年に静岡県内で発生した*Salmonella* Enteritidisによる食中毒事例の疫学的解析。地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会第16回総会・研究会、2004年2月、山梨県東山梨郡春日居町。
- 62) 吉田英樹、砂川富正、大山卓昭、谷口清洲、岡部信彦、田村和満、寺嶋 淳、渡辺治雄：細菌性赤痢国内発生事例の疫学的検討-2001年11月~2002年3月-。2003年4月、福岡
- 63) 茂木瑞穂、泉福英信、高木裕三、佐藤 勉、花田信弘、寺嶋 淳、渡辺治雄：母子（3歳児と母親）により分離された*S. mutans*の相同性について。第74回日本細菌学会総会、2003年4月、熊本
- 64) 泉谷秀昌、寺嶋 淳、田村和満、渡辺治雄：*Salmonella* Enteritidisに関するファージ型別および薬剤耐性の動向。第74回日本細菌学会総会、2003年4月、熊本
- 65) 廣瀬健二、荒川英二、高井信子、田村和満、渡辺治雄。ニューキノロン低感受性チフス菌及びパラチフスA菌の日本国内での分離状況。日本細菌学会総会 熊本 2003
- 66) 寺嶋 淳、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄：2001-2002年におけるO157:H7を中心としたEHECの動向について。第7回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、2003年6月、奈良
- 67) 寺嶋 淳：赤痢菌のPFGE。第24回衛生微生物技術協議会、2003年7月、福岡
- 68) 寺嶋 淳、泉谷秀昌、伊豫田 淳、三戸部治郎、田村和満、渡辺治雄：2002年におけるO157:H7を中心としたEHECの動向について。第76回日本細菌学会総会、2003年4月、熊本
- 69) 和田昭仁。Penicillin-binding protein 1は*Staphylococcus aureus*の増殖に必須である、



## 細菌第一部

- 薬剤耐性菌研究会、伊香保町、群馬県、2003年11月
- 70) 和田昭仁 大内史子、佐藤慈子、山河芳夫、Brigitte Berger-Bächi. 黄色ブドウ球菌のテイコプラニン耐性に影響を与える因子の解析、第52日本感染症学会東日本地方会、第50回日本化学療法学会東日本支部会、第86回日本細菌学会関東支部会合同学会、横浜市、神奈川県、2003年10月
- 71) 寺嶋 淳:細菌性食中毒における分子生物学的識別。JICA臨床検査技術研修講義、2003年11月、東京。
- 72) 山崎利雄、芳賀伸治、佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊、三輪昭成、田村俊秀、生物発光を用いた結核菌の多剤併用薬剤感受性試験法の検討、第78回日本結核病学会総会、2003、4月、倉敷
- 73) 山崎利雄、芳賀伸治、佐藤直樹、山下研也、岡沢 豊、三輪昭成、田村俊秀、結核菌の多剤併用薬剤感受性試験法の検討、第73回実験結核研究会、2003、4月、倉敷
- 74) 山崎利雄、松岡正典、儀同政一、らい菌のATP測定による薬剤感受性試験法の検討、第76回日本ハンセン病学会、2003、7月、神戸
- 75) 赤川清子、金澤祐子、山崎利雄、岸文雄、芳賀伸治、ヒトマクロファージの結核菌の増殖抑制機構およびそれに関連したシグナル伝達機構の解析、平成15年度日米医学協力結核ハンセン病専門部会議、2004、3月、京都
- 76) 寺嶋 淳:腸管出血性大腸菌O157の近年の遺伝子型別の動向とその疫学調査への有用性。第86回。日本細菌学会関東支部会、2003年10月、横浜
- 77) 高橋英之、渡辺祐子。平成15年度特別課程細菌学コース髄膜炎講義・実習。2004年1月、東京。