

# 第 73 回 日本細菌学会東北支部総会

日 時：令和元年8月 22 日（木）－ 23 日（金）

会 場：アイーナ いわて県民情報交流センター 8階

（岩手県盛岡市盛岡駅西通1丁目7-1）

総会長 佐々木 実

総会事務局：

岩手県紫波郡矢巾町医大通 1-1-1

岩手医科大学微生物学講座

分子微生物学分野

Phone : 019-651-5111

E-mail : thk.bact73@gmail.com



# アクセス

## 盛岡駅からアイーナおよびマリオスへのアクセス

盛岡駅北改札口から東西連絡通路をご利用いただくと便利です。



**アイーナ 8階 案内図**  
(地方委員会会場・総会会場  
共に赤枠で表示しております。)

エレベーターまたはエスカレーターで  
8階までお上がり下さい。

- 802 号室前に
- ・ 学会受付
  - ・ 入会受付
  - ・ 懇親会受付

803 号室前に

- ・ PC 受付

を準備しております。



**マリオス 20階 案内図**  
(懇親会会場 スカイメトロ)

アイーナよりマリオスまで御移動いただき、  
エレベーターで20階までお上がり下さい。

# 日程表1

| 時 間           |               |         | 演題<br>番号     | 演 者      | 座 長   |
|---------------|---------------|---------|--------------|----------|-------|
| 8月22日(木)      | 11:30 ~       | 受付開始    |              |          |       |
|               | 12:00 ~ 12:50 | 地方委員会   |              |          |       |
|               | 12:55 ~ 13:00 | 開 会     |              |          |       |
|               | 13:00 ~ 13:30 | 細菌・真菌 1 | 1-1          | 矢野 大和    | 角田 勤  |
|               |               |         | 1-2          | 胡 東良     |       |
|               |               |         | 1-3          | 鈴木 康規    |       |
|               | 13:35 ~ 14:15 | 細菌・真菌 2 | 2-1          | K. Asano | 中根 明夫 |
|               |               |         | 2-2          | 瓜生 慧也    |       |
|               |               |         | 2-3          | S. Yoon  |       |
|               |               |         | 2-4          | 管野 良子    |       |
|               | 14:20 ~ 15:00 | 免疫 1    | 3-1          | 佐藤 光     | 浅尾 裕信 |
|               |               |         | 3-2          | 斉藤 真一    |       |
|               |               |         | 3-3          | 小竹 夏未    |       |
|               |               |         | 3-4          | 佐々木 裕    |       |
| 15:00 ~ 15:10 | 休 憩           |         |              |          |       |
| 15:10 ~ 15:40 | ウイルス 1        | 4-1     | 小田切 崇        | 村木 靖     |       |
|               |               | 4-2     | 吉野 直人        |          |       |
|               |               | 4-3     | H. K. Labayo |          |       |
| 15:45 ~ 16:25 | ウイルス 2        | 5-1     | 下平 義隆        | 西村 秀一    |       |
|               |               | 5-2     | 木村 咲伽        |          |       |
|               |               | 5-3     | F. Chen      |          |       |
|               |               | 5-4     | 北井 優貴        |          |       |
| 16:35 ~ 17:20 | 特別講演          | S       | 川端 重忠        | 佐々木 実    |       |
| 17:25 ~ 18:10 | 公開教育講演        | E       | 佐藤 寿夫        | 赤池 孝章    |       |
| 18:30 ~ 20:00 | 懇親会           |         |              |          |       |

## 日程表2

| 時 間           |               |        | 演題<br>番号 | 演 者   | 座 長    |
|---------------|---------------|--------|----------|-------|--------|
| 8月23日(金)      | 9:00 ~        | 受付開始   |          |       |        |
|               | 9:30 ~ 10:10  | ウイルス3  | 6-1      | 水田 克巳 | 吉野 直人  |
|               |               |        | 6-2      | 大宮 卓  |        |
|               |               |        | 6-3      | 西村 秀一 |        |
|               |               |        | 6-4      | 佐藤 祐子 |        |
|               | 10:15 ~ 10:45 | 免疫2    | 7-1      | 伊藤 甲雄 | 小笠原 康悦 |
|               |               |        | 7-2      | 河部 剛史 |        |
|               |               |        | 7-3      | 松永 哲郎 |        |
|               | 10:50 ~ 11:20 | 細菌・真菌3 | 8-1      | 高橋 啓  | 胡 東良   |
|               |               |        | 8-2      | 高瀬 文瑛 |        |
| 8-3           |               |        | 中村 修一    |       |        |
| 11:25 ~ 11:45 | 細菌・真菌4        | 9-1    | 多田 浩之    | 下山 佑  |        |
|               |               | 9-2    | 古玉 芳豊    |       |        |
| 11:50 ~ 12:50 | 支部総会          |        |          |       |        |
| 12:50 ~       | 閉 会           |        |          |       |        |

## 地方委員会

日 時：令和元年8月22日（木） 12:00～12:50  
会 場：アイーナ いわて県民情報交流センター 8階 802号室  
受 付：アイーナ いわて県民情報交流センター 8階 802号室前

## 総 会

日 時：令和元年8月22日（木）11:30～18:10、23日（金）9:00～12:50  
会 場：アイーナ いわて県民情報交流センター 8階 803号室  
受 付：アイーナ いわて県民情報交流センター 8階 803号室前  
大会参加費：3,000円 （発表の有無に関わらず総合受付にてお支払い下さい）

## 懇親会

日 時：令和元年8月22日（木） 18:30～20:00  
会 場：マリオス 20階 スカイメトロ  
受 付：アイーナ いわて県民情報交流センター 8階 803号室前  
（参加をご希望の方は学会参加費とともに総合受付にてお支払い下さい）  
会 費：3,000円

### 注意事項

宿 泊：ご宿泊は手配しておりません。各自ご予約をお願いします。

昼 食：各自でご用意をお願いします。

服 装：クールビズにご協力ください。

# 演題発表について

発表方法：演題はすべて口頭発表になります。

発表時間：発表7分，質疑応答3分です。

発表機材：Windows を準備します。

発表スライドをUSBメモリーにてご持参いただき

PC受付にてデータをお渡し下さい。

(発表はすべてこちらで準備したPCで行います。)

使用ソフト：Power Point で作成をお願いします。

画像サイズ：4：3（標準）で作成をお願いします。

演者の方は、以下の時間までにPC受付でスライドの最終確認を行ってください。

- ・ 22日（木）の最初のセッションの発表者は発表30分前まで
- ・ 23日（金）の最初のセッションの発表者は可能であれば前日まで，  
困難な場合は当日の9:15まで
- ・ その他の演者の方は発表1時間前まで

利益相反：発表スライドにて利益相反の有無について開示をお願いします。

注 意：万が一に備えてバックアップデータをお持ちください。

## 石田・海老名記念「北斗医学賞」

財団法人仙台微生物研究所前理事長故石田名香雄博士は、天賦の才と類い稀なる情熱により、微生物学・免疫学・腫瘍学等の幅広い研究分野において世界的名声をあげた、東北地方が世界に誇る医学者です。博士は昭和28年のセンダイウイルス発見のみならず、昭和40年には仙台の土壌から制癌剤ネオカルチノスタチンを発見し、特許を基に財団法人仙台微生物研究所を設立しました。

博士の遺志は現代表理事海老名卓三郎博士の免疫細胞BAK療法として現在も発展を遂げています。このたび当財団は、平成21年12月の石田博士のご逝去を機に、その功績を記念し、医学研究、特に微生物学・免疫学・腫瘍学・公衆衛生学等の分野で卓越した業績を挙げ今後もこの分野の研究を推進する、東北の若手研究者を顕彰する北斗医学賞を創設しました。命名は石田名香雄博士が愛した北斗七星から由来しています。

今日、癌および感染症の問題は、世界人類への脅威であり、また、大きな社会的問題にもなっています。これら疾病の克服は容易なことではありませんが、困難を乗り越えるべき忍耐と勇気精神など、医学研究に対する石田名香雄・海老名卓三郎両博士の真摯な姿勢が今こそ求められています。この精神を引き継ぐ若手研究者を顕彰することにより、この賞は東北地方にあって日夜研鑽に励む若手研究者の活動を支え、勇気づけ、ひいては医学・医療の向上に資することを目的とします。

2010年に石田・海老名記念「北斗医学賞」が新設されました。

2011年より日本細菌学会東北支部総会での発表演題は自動的に北斗医学賞候補としてエントリーされます。



# プログラム 8月22日(木)

地方委員会 8月22日(木) 12:00~12:50 アイーナ8階 802

総会 開会 8月22日(木) 12:55~13:00 アイーナ8階 803

一般演題I 8月22日(木) 13:00~16:25 アイーナ8階 803

13:00~13:30

細菌・真菌1 座長 角田 勤 (北里大学)

1-1

肺MAC症原因菌 *Mycobacterium avium* のゲノム疫学

矢野大和

東北大学 大学院生命科学研究科

1-2

食鳥処理場に搬入された鶏におけるブドウ球菌の保菌状況と病原遺伝子の解析

小野久弥<sup>1</sup>, 木村珠子<sup>1</sup>, 岡本旺久<sup>1</sup>, 鈴木康規<sup>2</sup>, 岡村雅史<sup>1</sup>, 〇胡 東良<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北里大学・獣医学部・人獣共通感染症学, <sup>2</sup>北里大学・獣医学部・獣医衛生学

1-3

食中毒事例由来黄色ブドウ球菌株の全ゲノム解析と新規エンテロトキシンの同定

〇鈴木康規<sup>1</sup>, 小野久弥<sup>2</sup>, 下島優香子<sup>3</sup>, 久保田寛顕<sup>3</sup>, 加藤 玲<sup>3</sup>, 角田 勤<sup>1</sup>, 廣瀬昌平<sup>4</sup>, 胡 東良<sup>2</sup>, 中根明夫<sup>4</sup>, 貞升健志<sup>3</sup>, 高井伸二<sup>1</sup>

1) 獣医学部・獣医衛生学研究室 2) 獣医学部・人獣共通感染症学研究室 3) 東京都健康安全研究センター・微生物部 4) 弘前大学大学院・医学研究科

13:35~14:15

細菌・真菌2 座長 中根 明夫 (弘前大学)

2-1

Extracellular vesicles from *Staphylococcus aureus* stimulate inflammatory response and induce host cell death

〇Krisana Asano<sup>1,2</sup>, Shouhei Hirose<sup>1,2</sup>, Kouji Natira<sup>1,3</sup>, Akio Nakane<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Depart. Microbiol. Immunol., Hirosaki Univ. Grad. Sch. Med., <sup>2</sup>Depart. Biopolym. HealthSci., Hirosaki Univ. Grad. Sch. Med., <sup>3</sup>Inst. Anim. Exp., Hirosaki Univ. Grad. Sch. Med.

2-2

#### 細胞内細菌増殖を制御するオートファジーレセプター分子の同定

○瓜生慧也<sup>1</sup>、荒川将志<sup>1</sup>、廣瀬麻衣<sup>1</sup>、浅野クリスナ<sup>2</sup>、中根明夫<sup>2</sup>、森田英嗣<sup>1</sup>

<sup>1</sup>弘前大学・農学生命・分子生命科学、<sup>2</sup>弘前大学・院医・感染生体防御学

2-3

#### Biosynthesis and physiological functions of reactive cysteine persulfides in yeast

○Sunghyeon Yoon<sup>1</sup> Akira Nishimura<sup>1</sup>, Tomoaki Ida<sup>1</sup>, Minkyung Jung<sup>1</sup>, Masanobu Morita<sup>1</sup>,

Tetsuro Matsunaga<sup>1</sup>, Hiroshi Takagi<sup>2</sup>, Hozumi Motohashi<sup>3</sup>, Takaaki Akaike<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Medicine and Molecular Toxicology, Tohoku University Graduate School of Medicine, <sup>2</sup>Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology,

<sup>3</sup>Department of Gene Expression Regulation, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University

2-4

#### 味噌と味噌玉による抗肥満作用と脂肪肝の予防

○管野良子<sup>1</sup>、腰塚哲朗<sup>2</sup>、宮崎希<sup>1</sup>、小林敬広<sup>1</sup>、石岡賢<sup>1</sup>、千葉英樹<sup>3</sup>、錫谷達夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福島県立医科大学医学部微生物学講座、<sup>2</sup>岐阜薬科大学感染制御学研究室、<sup>3</sup>福島県立医科大学基礎病理学講座

14:20 ~ 15:00

### 免疫 1

座長 浅尾 裕信 (山形大学)

3-1

#### クリプトコックス感染における IL-17A による免疫応答の制御と防御機構への影響

○佐藤光<sup>1</sup>、笠松純<sup>1</sup>、山本秀輝<sup>2</sup>、石井恵子<sup>3</sup>、川上和義<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>東北大・院医・感染制御インテリジェンスネットワーク寄附講座、<sup>2</sup>新潟大・研究推進機構超域学術院・健康寿命医療科学、<sup>3</sup>東北大・院医・感染分子病態解析学

3-2

#### IL-21 isoform 過剰発現マウスにおける高脂肪食性肥満の喪失と脂肪組織異常

○斉藤真一<sup>1</sup>、荒木明美<sup>1</sup>、武田裕司<sup>1</sup>、浅尾裕信<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山形大学医学部免疫学講座

3-3

#### 新規アラミン S100A による自然免疫賦活と腫瘍微小環境制御

○小竹 夏未<sup>1,2</sup>、長島 隆一<sup>1,2</sup>、小鎌 直子<sup>2</sup>、田中 伸幸<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東北大学大学院 医学系研究科 がん病態学分野、<sup>2</sup>宮城県立がんセンター研究所 がん先進治療開発研究部

3-4

**肝臓に局在する宿主因子と交差反応する抗体は薬剤誘導性の肝障害を緩和する**

○佐々木裕, 吉野直人, 小田切崇, 村木 靖

岩手医科大学医学部 微生物学講座 感染症学・免疫学分野

休 憩 10 分

15:10 ~ 15:40

**ウイルス 1**

**座長 村木 靖 (岩手医科大学)**

4-1

**不活化インフルエンザウイルスに対するポリミキシンBの粘膜アジュバント効果**

○小田切崇, 吉野直人, 佐々木裕, 村木 靖

岩手医科大学医学部 微生物学講座 感染症学・免疫学分野

4-2

**アジュバント作用を有する天然物由来糖型界面活性剤の探索**

○吉野直人<sup>1</sup>, 佐々木裕<sup>1</sup>, 小田切崇<sup>1</sup>, 杉山育美<sup>2</sup>, 松本有機<sup>3</sup>, 菅野祐幸<sup>3</sup>, 佐塚泰之<sup>2</sup>, 村木 靖<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岩手医科大学医学部 微生物学講座 感染症学・免疫学分野, <sup>2</sup>岩手医科大学薬学部医療薬科学講座 創剤学分野, <sup>3</sup>信州大学医学部 病理組織学教室

4-3

**Anti-norovirus GII.4 Sydney 2012 IgA in breast milk can protect breastfed infants from having norovirus-associated diarrhea**

○ Hannah Karen Labayo<sup>1</sup>, Monica Pajuelo<sup>2</sup>, Robert Gilman<sup>3</sup>, Lilia Cabrera<sup>4</sup>, Holger Mayta<sup>2</sup>, Gerardo Sanchez<sup>2</sup>, Caryn Bern<sup>5</sup> Clyde Dapat<sup>1</sup>, Hitoshi Oshitani<sup>1</sup>, Mayuko Saito<sup>1</sup> and Norovirus Working Group in Peru.

Dept. of Virology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan<sup>1</sup>; Universidad Peruana Cayetano Heredia<sup>2</sup>, Lima, Peru; Johns Hopkins School of Public Health<sup>3</sup>, Maryland, USA, Assoc. Benefica PRISMA<sup>4</sup>, Lima, Peru, University of California San Francisco<sup>5</sup>, USA.

15:45 ~ 16:25

**ウイルス 2**

**座長 西村 秀一 (国立病院機構仙台医療センター)**

5-1

**C型インフルエンザウイルスの増殖に関与するCM2タンパク質の細胞質領域のアミノ酸配列**

○下平義隆<sup>1</sup>, 菅原勘悦<sup>1</sup>, 松寄葉子<sup>1</sup>, 邵力<sup>2</sup>, 村木靖<sup>3</sup>, 後藤崇成<sup>1</sup>, 本郷誠治<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山形大学 医学部 感染症学, <sup>2</sup>山形大学大学院 医学系研究科 公衆衛生学・衛生学, <sup>3</sup>岩手医科大学 微生物学講座 感染症学・免疫学分野

5-2

**ヒトパルボウイルス B19 ウイルス様粒子発現系の開発**

○木村咲伽<sup>1</sup>，鈴木明男<sup>2</sup>，蝦名博貴<sup>2</sup>，森田英嗣<sup>1</sup>

<sup>1</sup>弘前大学・農学生命科・分子生命科学，<sup>2</sup>阪大微生物病研究会

5-3

**Genetic diversity of human metapneumovirus in Biliran, the Philippines**

○ Fang Chen<sup>1</sup>, Michiko Okamoto<sup>1</sup>, Clyde P. Dapat<sup>1</sup>, Raita Tamaki<sup>1,2</sup>, Mayuko Saito<sup>1</sup>, Mariko Saito-Obata<sup>1,3</sup>, Socorro P. Lupisan<sup>4</sup>, Hitoshi Oshitani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Virology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan, <sup>2</sup> Nagasaki Women's Junior College, Nagasaki, Japan, <sup>3</sup> RITM - Tohoku Collaborating Research Center on Emerging and Reemerging Infectious Diseases, Muntinlupa, Philippines, <sup>4</sup> Research Institute for Tropical Medicine, Muntinlupa, Philippines

5-4

**HEp-2 細胞を用いた Respiratory syncytial virus 分離における臨床検体ごとの分離の難易のウイルス学的解析**

○北井優貴<sup>1,2</sup>，佐藤光<sup>3</sup>，白戸憲也<sup>4</sup>，竹田誠<sup>4</sup>，川上和義<sup>2,3</sup>，西村秀一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立病院機構仙台医療センター臨床研究部ウイルスセンター，<sup>2</sup>東北大学医学系研究科感染分子病態解析学分野，<sup>3</sup>東北大学医学系研究科感染制御インテリジェンスネットワーク 寄附講座，<sup>4</sup>国立感染症研究所ウイルス第三部

16:35 ~ 17:20

**特別講演**

**座長 佐々木 実 (岩手医科大学)**

S

**インフルエンザに続発する細菌性肺炎の重症化機構**

川端 重忠

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 教授

17:25 ~ 18:10

**公開教育講演**

**座長 赤池 孝章 (東北大学)**

E

**高発症率岩手県の腸管出血性大腸菌予防強化に向けた考察**

佐藤 寿夫

株式会社 日本微生物研究所 精度管理室長

# プログラム 8月23日(金)

総会 一般演題Ⅱ 8月23日(金) 9:30~11:45 アイーナ8階 803

9:30~10:10

ウイルス3 座長 吉野 直人 (岩手医科大学)

6-1

パレコウイルス A3 型による流行性筋痛症の探知には症候群サーベイランスが有効である

○水田克巳<sup>1</sup>、田中静佳<sup>1</sup>、駒林賢一<sup>1</sup>、池田辰也<sup>1</sup>、青木洋子<sup>1</sup>、田中和佳<sup>1</sup>、仙道大<sup>2</sup>、市川真由美<sup>2</sup>、豊田健太郎<sup>2</sup>、古山正幸<sup>2</sup>、山口佳剛<sup>3</sup>、永沢光<sup>3</sup>、和田学<sup>3</sup>

<sup>1</sup>山形県衛生研究所微生物部、<sup>2</sup>公立置賜総合病院小児科、<sup>3</sup>山形県立中央病院脳神経内科

6-2

インフルエンザウイルス抗原検出キット検査で偽陽性反応が生じた検体についての解析

○大宮 卓<sup>1</sup>、佐藤 光<sup>1,2</sup>、西村 秀一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立病院機構仙台医療センター臨床研究部ウイルスセンター、<sup>2</sup>東北大学大学院医学系研究科感染制御インテリジェンスネットワーク寄附講座

6-3

地域コミュニティにおける小児の抗エンテロウイルス D68 型抗体の経時的変動

François Marie Ngako Kadji<sup>1</sup>、○西村秀一<sup>1</sup>、岡本道子<sup>2</sup>、佐藤光<sup>1,3</sup>、大宮卓<sup>1</sup>、伊藤洋子<sup>1</sup>、鈴木陽<sup>4</sup>、永井幸夫<sup>5</sup>、押谷仁<sup>2</sup>

<sup>1</sup>国立病院機構仙台医療センター臨床研究部ウイルスセンター、<sup>2</sup>東北大学大学院医学系研究科感染症学分野、<sup>3</sup>東北大学大学院医学系研究科感染制御インテリジェンスネットワーク寄附講座、<sup>4</sup>宮城県石巻保健所、<sup>5</sup>永井小児科クリニック

6-4

アメナメビル耐性ヒト単純ヘルペスウイルスと野生株の混合感染

○佐藤祐子<sup>1</sup>、小林 誠<sup>2</sup>、石岡 賢<sup>1</sup>、錫谷達夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福島県立医科大学微生物学講座、<sup>2</sup>福島県立医科大学医学部

10:15~10:45

免疫2 座長 小笠原 康悦 (東北大学加齢医学研究所)

7-1

パラジウムに対する金属アレルギー発症における新規抗原提示機構の解析

○伊藤甲雄、小笠原康悦

東北大学加齢医学研究所 生体防御学分野

7-2

**新規のCD4 T細胞サブセット「MP細胞」の産生機構およびその自然免疫的感染防御機能**

○河部剛史<sup>1,2,3</sup>, 川尻昭寿<sup>1</sup>, 石井直人<sup>1</sup>, Ronald N. Germain<sup>3</sup>, Alan Sher<sup>2</sup>, William E. Paul<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東北大学大学院医学系研究科 免疫学分野, <sup>2</sup>Laboratory of Parasitic Diseases, <sup>3</sup>Laboratory of Immunology, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health

7-3

**活性イオウ分子種による自然免疫応答の制御機構**

○松永哲郎<sup>1</sup>, 張 田力<sup>2</sup>, 津々木博康<sup>2</sup>, 小野勝彦<sup>2</sup>, Waliul Islam<sup>2</sup>, 赤池孝章<sup>1</sup>, 澤 智裕<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北大学大学院医学系研究科・環境医学分野, <sup>2</sup>熊本大学大学院生命科学研究部・医学系微生物学分野

10:50 ~ 11:20

**細菌・真菌 3**

**座長 胡 東良 (北里大学)**

8-1

***Rhodococcus equi* 病原性プラスミドの接合伝達とプラスミド受容菌株間でのマウスにおける感染性の比較**

○高橋 啓, 高瀬 文瑛, 鈴木 康規, 角田 勤, 高井 伸二

北里大学, 獣医学部獣医学科, 獣医衛生学研究室

8-2

**新規毒力関連抗原 VapN を発現するロドコッカス・エキイの病原性及び発現量の変化**

○高瀬文瑛, 高橋 啓, 川島 豪, 沢田 望, 中山雄太, 鈴木康規, 角田 勤, 高井伸二

北里大学, 獣医学科, 獣医衛生

8-3

**レプトスピラ症病原体の宿主選好メカニズムに対する生物物理学的手がかり**

許駿<sup>1</sup>, 小泉信夫<sup>2</sup>, ○中村修一<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東北大・院農, <sup>2</sup>感染研・細菌 I, <sup>3</sup>東北大・院工

11:25 ~ 11:45

**細菌・真菌 4**

**座長 下山 佑 (岩手医科大学)**

9-1

***Porphyromonas gingivalis* ジンジパインによりマスト細胞が産生する IL-31 は, 歯肉上皮細胞の claudin-1 発現を抑制しバリア破綻を誘導する**

○多田 浩之<sup>1</sup>, 西岡 貴志<sup>2</sup>, 沼崎 研人<sup>1</sup>, 根本 英二<sup>3</sup>, 松下 健二<sup>4</sup>, 菅原 俊二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大学 大学院歯学研究科 口腔分子制御学分野, <sup>2</sup>東北大学 大学院歯学研究科 口腔診断学分野, <sup>3</sup>東北大学 大学院歯学研究科 歯内歯周治療学分野, <sup>4</sup>国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部

9-2

*Streptococcus intermedius* FbpI のフィブロネクチン結合領域の解析

○古玉芳豊、下山 佑、石河太知、佐々木実

岩手医科大学・微生物学講座・分子微生物学分野

**東北支部総会** 8月23日(金) 11:50~12:50 アイーナ8階 803

# 特別講演

## インフルエンザに続発する細菌性肺炎の重症化機構

川端 重忠

(大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 教授)

インフルエンザによる主な死因の一つは、肺炎球菌や化膿レンサ球菌による細菌性肺炎の合併症である。インフルエンザウイルス感染に続発する細菌性肺炎の発症には、ウイルス感染による細菌感染への宿主感受性が亢進されること重要であると報告されてきた。一方で、重複感染の初期段階における病態形成機構については不明な点が多い。

我々は、細菌感染初期におけるA型インフルエンザウイルス (IAV) 感染宿主と細菌間相互作用に着目し、小胞体局在シャペロンであるGlycoprotein 96 (GP96) がIAV感染に伴い、ストレスタンパク質として肺胞上皮細胞表層に誘導されることを見出した。IAV感染細胞への肺炎球菌および化膿レンサ球菌の菌体付着量はウイルス非感染細胞と比較して有意に増加したが、GP96阻害剤の添加により非感染細胞への付着と同等レベルまで減少した。また、IAV感染細胞ではGP96のクライアント分子であるインテグリン $\alpha V$ の宿主細胞表層での検出量が増加した。従って、二次的に感染する肺炎球菌や化膿レンサ球菌は、IAV感染により表在化したGP96およびGP96のシャペロン機能依存的に表層での発現量が増加したインテグリン $\alpha V$ をレセプターとして宿主細胞に定着することが明らかになった。

IAV感染細胞ではGP96のみならず、細胞内システインプロテアーゼであるカルパインもまた細胞表層、特に細胞膜領域に強く誘導されることを見出した。GP96の下流シグナルカスケードにより誘導される細胞内カルシウム濃度の上昇は、カルパインの活性化を介して、細胞間接着を開裂させることが示唆された。また、IAV感染細胞では、非感染細胞と比較して、細胞間接着分子群のリプレッサーであるSnail1の発現上昇と細胞間接着分子群の発現低下を認めた。実際、IAV感染細胞では、E-カドヘリンの染色性の低下および細胞間接着部位からの菌体の上皮バリア通過が認められた。さらに、IAV感染細胞におけるSnail1の発現、細胞間接着分子の分解、および菌体の上皮バリア通過は、TGF- $\beta$ 阻害剤の添加により抑制された。以上の知見より、インフルエンザウイルス感染による異所性のカルパイン発現およびSnail1の転写誘導は宿主上皮のバリア機能を障害し、ウイルス感染気道上皮に定着した細菌の細胞間隙部位からの上皮バリア突破を亢進させ、その結果、重症肺炎が惹起されると考えられる。



メモ

# 公開教育講演

## 高発症率岩手県の腸管出血性大腸菌予防強化に向けた考察

佐藤 寿夫

(株式会社 日本微生物研究所 精度管理室長)

日本の腸管出血性大腸菌による感染症発症者数は、ヨーロッパ全体の報告数に匹敵しており先進国では際立って高い状況です。その中でも岩手県は、発症者数が多く人口に対する比率が高い状態にあります。更に保健所管轄単位の地域別発症者数を見ると地域特性があります。又、都市部における腸管出血性大腸菌発症者の多さから公衆衛生レベルの高い日本の現状を検便検査や食品検査・ふき取り検査などの結果から考察すると健康保菌者由来のヒト-ヒト感染が発症に大きく関与していることが読み取れます。しかも健康保菌者由来の検出率は年々増加しており温暖化との関連等も危惧されます。今回、食品衛生法や学校保健法・水道法による検便検査から得られた健康保菌者由来の腸管出血性大腸菌について、現状と予防を考察致します。

検便検査における腸管出血性大腸菌の検査は、赤痢菌やサルモネラ属菌のようなヒトの糞便中に常在していない菌の検査と違い、大量に存在する無害の大腸菌から検出しなければならないため技術的には非常に難しい検査です。弊社は、この検査に自社開発による遺伝子技術をいち早く導入し一検体ずつ培養も行い高精度なデータを提供しております。更に腸管出血性大腸菌の発症に大きく関与している付着因子(インチミン)の存在にも注目し健康保菌者と発症者由来の比較を行っております。食中毒の発生防止には、健康保菌者の状況を正確に把握して予防のための適切な対応が求められます。弊社が実施しております遺伝子検査(リアルタイムPCRプローブ法)によるデータ解析は、従来の遺伝子検査法(PCR法やリアルタイムPCRインターカレーター法)に比較し検査精度等多くの点で優れており、医学関連学会の先生方から高い評価をいただいております。

又、厚生労働省やWHOなどが問題視している多剤耐性菌についても、検便検査を通して市中の一般的なヒトの腸管常在菌の耐性化状況把握に、弊社のデータが重要であると考えております。多剤耐性菌問題は、国際的な問題でもありヒトだけでなく環境や動物なども考慮したワンヘルスの考え方が問題解決につながると思います。特に日本は超高齢社会でありますので、弊社といたしましても、解決に向けて今後ともこのことに深くかかわっていきたくと考えております。

メモ

# 一般演題 8月22日 13:00 ~

## 細菌・真菌 1

### 1-1

#### 肺 MAC 症原因菌 *Mycobacterium avium* のゲノム疫学

○矢野大和<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東北大学 大学院生命科学研究所

【目的】肺 MAC 症原因菌 *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* (MAH) は、自然環境や浴室に生息し、ヒト肺への日和見感染を引き起こす。肺 MAC 症は難治性で、日本における患者数は年々増加している。しかし MAH の感染源や病原性発揮の機構は依然として不明である。発表者は、ゲノム科学の視点から日本に分布する MAH の特徴を明らかにするため、世界各地で分離された MAH のゲノムデータを対象とした比較解析を行った。

【結果】PATRIC に登録済みの 125 株のドラフト及び完全ゲノムデータからコアゲノムの SNPs を取り出し、それを用いて、遺伝集団構造解析及び系統間組み換えの検出を行った。世界に分布する本亜種は主に 6 系統から構成され、日本でヒト肺への感染を引き起こしているのは東アジア 2 系統 (EA1, EA2) であることを発見した。東アジア 2 系統のうち、EA2 系統の染色体には組み換えの痕跡が比較的少なく、EA1 系統の染色体には組み換えの痕跡が多く検出された。一方、アジア系統に偏って存在している遺伝子ファミリーが存在しているかどうか調べたところ、東アジア 2 系統に偏って存在している遺伝子ファミリーとして、トレハロース合成オペロンや MCE オペロンを構成する遺伝子群が見つかった (Yano et. al., Genome Biol. Evol. 2017)。MAH の系統間組み換えはゲノムワイド起こり、各株の染色体はモザイク状になっているため、分離株の系統推定は容易ではない。そこで、疫学研究を推進するため、組み換えのコールド領域から、系統特有の SNPs を保有している座位のスクリーニングを試みたところ、主要 5 系統を区別できる SNPs を保有しているマーカー遺伝子を見つけた。

【考察】EA2 系統の染色体には組み換えの痕跡が少ないため、それらは主にクローン増殖により東アジア地域に拡散したと推定した。EA1 系統の染色体には組み換えの痕跡が多く、染色体断片の主な提供者は EA2 系統であった。このことから、EA1 系統は EA2 系統と交配しながら、東アジア地域に拡散していると推定した。東アジア系統特有の対立遺伝子は、細胞外多糖の主要成分であるトレハロースの合成経路に関連していた。MCE オペロンは脂質の輸送に関与するという報告がある。そのため、東アジア系統の物体への付着能や病原性のレベルはヨーロッパ系統のそれらと異なっていると推測している。

## 1-2

### 食鳥処理場に搬入された鶏におけるブドウ球菌の保菌状況 と病原遺伝子の解析

小野久弥<sup>1</sup>, 木村珠子<sup>1</sup>, 岡本旺久<sup>1</sup>, 鈴木康規<sup>2</sup>, 岡村雅史<sup>1</sup>, 〇胡 東良<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北里大学・獣医学部・人獣共通感染症学, <sup>2</sup>北里大学・獣医学部・獣医衛生学

**【背景と目的】**黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は、家畜・家禽に感染し多様な感染症を引き起こす重要な病原菌であり、近年、家畜関連メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (LA-MRSA) の蔓延が世界的に問題となっている<sup>1-3)</sup>。一方、我が国において採卵鶏における *S. aureus* の保菌状況の調査はまだ報告されていない。本研究では、farm to table の一環である食鳥処理場に搬入された鶏における *S. aureus* の汚染実態および病原遺伝子の保有状況を明らかにすることを目的とした。また薬剤耐性ブドウ球菌の保菌状況も調査し、菌種の同定を試みた。

**【材料と方法】**2017年9月から2018年8月の期間に食鳥処理場に搬入された鶏800羽(月60または100羽)を対象にした。1羽につき3か所(頭部、翼下部、脚部)をぬぐい、選択培地および抗生物質加選択培地に直接塗抹し、さらにコアグラゼ試験、菌種同定用 Multiplex PCR を実施し、*S. aureus* および薬剤耐性ブドウ球菌の保菌状況を調査した。次に、*S. aureus* と同定できた株について、ブドウ球菌エンテロトキシン (SE)、表皮剥奪毒素、溶血毒素、ロイコシジンの保有状況を Multiplex PCR により解析した。また検出された薬剤耐性ブドウ球菌は一部の菌を ID32 アピスタフによる生化学性状および次世代シーケンサーによるゲノム解析に供し、その結果を踏まえて全耐性菌株を Multiplex PCR による菌株同定に供した。

**【結果と考察】**採卵鶏の81.1%(649/800)で *S. aureus* が検出された。*S. aureus* の保菌状況を部位別に見るとそれぞれ頭が18.1%(145/800)、翼下が30.1%(241/800)、脚が73.9%(591/800)であり、脚の保菌率が特に高かった。また、検出された *S. aureus* の SE 遺伝子保有率は全体で53.3%、頭および翼下では96.0%および94.3%であった。一方、脚では23.5%と少数であった。SE 遺伝子パターンを解析したところ、*seh*のみを保有する菌が18.4%(218/950)と最も多く、次いで *sed*, *seh*, *ser* が15.4%(146/950)であった。また、その他の病原遺伝子では、ロイコシジン E/D (95.6%)、 $\alpha$  毒素 (96.5%)、 $\gamma$ 2 毒素 (89.2%) および  $\delta$  毒素 (98.4%) の各遺伝子が多く検出された。この4遺伝子はいずれの部位由来株においても高い頻度でみられた。以上の結果から、採卵鶏は高い *S. aureus* 保菌率を示し、その多くが多数の病原遺伝子を有することが明らかとなった。また、本研究では薬剤耐性ブドウ球菌が18.1%(127/700)から検出された。これらの菌は MRSA ではなく、メチシリン耐性コアグラゼ陰性ブドウ球菌 (MR-CNS) であった。ゲノム解析および multiplex PCR の結果、64.6%(82/127)が *S. fleurettii*、10.2%(13/127)が *S. sciuri* であった。今後、さらに食鳥処理各段階における本菌の汚染状況の推移を追跡する必要がある。

## 1-3

### 食中毒事例由来黄色ブドウ球菌株の全ゲノム解析と 新規エンテロトキシンの同定

○鈴木康規<sup>1</sup>, 小野久弥<sup>2</sup>, 下島優香子<sup>3</sup>, 久保田寛顕<sup>3</sup>, 加藤 玲<sup>3</sup>,  
角田 勤<sup>1</sup>, 廣瀬昌平<sup>4</sup>, 胡 東良<sup>2</sup>, 中根明夫<sup>4</sup>, 貞升健志<sup>3</sup>, 高井伸二<sup>1</sup>

- 1) 獣医学部・獣医衛生学研究室 2) 獣医学部・人獣共通感染症学研究室  
3) 東京都健康安全研究センター・微生物部 4) 弘前大学大学院・医学研究科

【目的】ブドウ球菌エンテロトキシン (SE) は、嘔吐活性とスーパー抗原活性を有し、食中毒及び毒素性ショック症候群の原因毒素となる。構造の類似するものを含めると、SEA など 24 種類が報告されている。2004 年に東京都で発生したブドウ球菌食中毒 (SFP) 事例において、SEA 遺伝子を保有するが SEA 産生量が他の SFP 由来株より有意に少ない株 (<1  $\mu$ g/ml) が分離された。このことは、本分離株が未報告の SE を産生し SFP の発生に関与したことを予想させる。本研究では上記分離株が保有する新たな SE を同定し、その特性を解析することを目的とした。

【方法】上記 SFP の分離菌株 (Tokyo12480 及び Tokyo12482) について、MiSeq 及び MinION を用いた全ゲノム解析を行い、Unicycler によるハイブリットアセンブリでゲノム配列を決定した。続いて全ゲノム配列をアミノ酸配列へと変換し、2 種類の SE 特異的なドメインである Stap\_Strp\_tox\_C 及び Stap\_Strp\_toxin を持つ配列を検索した。同定した SE 様配列 (SE02) について、既報の SE との系統樹解析及び両菌株における経時的な遺伝子発現解析を行った。組換え SE02 タンパク質 (rSE02) を作製し、加熱及び消化酵素に対する抵抗性を調べた。また、rSE02 を培養マウス脾細胞に添加し、増殖性及び IFN- $\gamma$  放出量を測定するとともに、コモンマーモセット嘔吐モデルを用いて嘔吐活性を評価した。さらに、抗 SE02 ポリクローナル抗体を作製し、ウェスタンブロットにより両菌株の培養上清中における SE02 の検出を行った。

【結果】決定したゲノム配列は、2,766,239 bp (Tokyo12480) 及び 2,767,904 bp (Tokyo12482) であり、トランスポゾンの挿入場所を除きほぼ同一であった。ドメイン検索の結果、解析した両株は未報告 SE 様配列である SE02 を有しゲノムの 1' -2' 領域に存在していた。SE02 は SEB グループに属し、加熱及びペプシン処理に対して一定の抵抗性を示した。また、既報の SE と同様、スーパー抗原活性と霊長類に対する嘔吐活性を有していた。SE02 遺伝子是对数増殖期から発現し、定常期に至るとその発現量が低下した。培養上清中への SE02 タンパク質の産生が確認され、20 度で長時間培養することによりその産生量が増加することが明らかとなった。

【考察】SE02 は室温条件において産生され加熱工程や体内で分解されづらい特性を保有し、既報の SE と同様の生物活性を持つことから食中毒の原因毒素となることが示唆された。

2-1

Extracellular vesicles from *Staphylococcus aureus* stimulate inflammatory response and induce host cell death

○Krisana Asano<sup>1,2</sup>, Shouhei Hirose<sup>1,2</sup>, Kouji Natira<sup>1,3</sup>, Akio Nakane<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Depart. Microbiol. Immunol., Hirosaki Univ. Grad. Sch. Med.

<sup>2</sup>Depart. Biopolym. Health Sci., Hirosaki Univ. Grad. Sch. Med.

<sup>3</sup>Inst. Anim. Exp., Hirosaki Univ. Grad. Sch. Med.

【目的】 Extracellular vesicles (EVs) released by pathogens are involved in transferring information to the host cells. EVs from *Staphylococcus aureus*, an opportunistic pathogen, have been reported. However, their functions remain to be clarified. In order to investigate the function and potential of *S. aureus*-derived EVs (SAEVs) as a target for prevention of *S. aureus* infection, host immune response to SAEVs was examined.

【方法】 EVs of *S. aureus* 834 were purified by step-gradient ultracentrifugation. To investigate the potential of SAEVs as a vaccine candidate, BALB/c mice were subcutaneously immunized twice with SAEVs. Then, mice were infected with *S. aureus* and their survival was observed. To examine host immune response, splenocytes and RAW264.7 cells were treated with SAEVs and the production of proinflammatory cytokines was determined by ELISA. Toll-like receptor (TLR) was silenced to clarify the inflammatory stimulating molecules. Furthermore, the cytopathic effect of SAEVs was evaluated.

【結果】 All SAEVs-immunized mice died within one day after infection. As confirmed by Western blotting, SAEVs did not contain well-clarified virulence factors of *S. aureus* including superantigens. However, SAEVs potently stimulated splenocytes and RAW264.7 cells to produce proinflammatory cytokines. The cytokine production in RAW264.7 was reduced by silencing with TLR2, 4 and 9 but not by TLR3 and 7. In addition, SAEVs exhibited cytopathic effect to RAW264.7 cells and stimulated IL-1 $\beta$  production.

【考察・結論】 SAEVs fail to provide the protective effect against *S. aureus* infection and elicit a severe inflammatory response. Since cytokine production is reduced by TLR2, 4, 9 silencing, it is considered that proteins, lipoteichoic acids and/or DNA existing in SAEVs are ligands for stimulation via these receptors. In addition, the results of cytopathic effect and IL-1 $\beta$  production suggest that SAEVs induce pyroptosis, a programmed cell death. Our data indicate that not only exotoxins secreted by *S. aureus* but also SAEVs play the important role in pathogenesis of *S. aureus* infection.

## 2-2

### 細胞内細菌増殖を制御するオートファジーレセプター分子の同定

○瓜生慧也<sup>1</sup>、荒川将志<sup>1</sup>、廣瀬麻衣<sup>1</sup>、浅野クリスナ<sup>2</sup>、中根明夫<sup>2</sup>、森田英嗣<sup>1</sup>

<sup>1</sup>弘前大学・農学生命・分子生命科学、<sup>2</sup>弘前大学・院医・感染生体防御学

【目的】サルモネラ菌や A 群連鎖球菌など、細胞内に侵入した細菌の中にはエンドソーム膜を破り細胞質に侵入するものがある。そして、これらの細菌は細胞側の防御機構としての選択的オートファジー(ゼノファジー)の標的となることが知られている。しかしながら、オートファジー機構がどのように細胞質に侵入した細菌を識別するかまだ不明な点が多く残されている。本研究では、細菌が細胞内に侵入する際に生じる細胞膜損傷を標的とした選択的オートファジーに焦点を絞り、新たなオートファジーレセプター因子の検索を通して、その分子機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】選択的オートファジーの標的認識は、隔離膜上に存在する LC3-II と標的に集積するオートファジーレセプター分子の LIR (LC3 Interacting Region) 配列との直接相互作用に依存する。我々は LIR-LC3 の構造情報をもとに LIR に対して異なる親和性を示す LC3 変異体群を作成し、LIR を介して LC3 と相互作用する新たなレセプター因子の検索を行った。また、今回のスクリーニングによって同定された LIRP 8 の細菌に対する選択的オートファジーレセプター分子としての役割について種々の分子生物学的解析を行い検討した。

【結果】野生型 LC3 と変異体 LC3 の共沈物の比較定量プロテオーム解析より、LIR 依存的に LC3 と結合する新たな因子として LIRP8 を同定した。LIRP8 は細胞内に侵入したサルモネラ菌と LLOMe 処理によって誘導される損傷リソソームに、LC3 と共に集積することを明らかにした。また、種々の変異体を用いた解析により、LIRP8 上の LIR 配列および損傷膜への局在に必要な配列を同定した。さらに LIRP8 欠損細胞を用いた解析より、この分子が損傷リソソームの除去や、細胞内サルモネラ増殖の抑制に重要であることを明らかにした。また、LIRP8 欠損によってみられる効果は、他の既知のオートファジーレセプターを欠損させた場合よりも顕著であった。

【考察】上記の解析より、新たに同定した LIRP8 には細胞内細菌に対する選択的オートファジーにおけるレセプター因子としての役割があることが示された。



## Biosynthesis and physiological functions of reactive cysteine persulfides in yeast

○Sunghyeon Yoon<sup>1</sup>, Akira Nishimura<sup>1</sup>, Tomoaki Ida<sup>1</sup>, Minkyung Jung<sup>1</sup>, Masanobu Morita<sup>1</sup>, Tetsuro Matsunaga<sup>1</sup>, Hiroshi Takagi<sup>2</sup>, Hozumi Motohashi<sup>3</sup>, Takaaki Akaike<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Medicine and Molecular Toxicology, Tohoku University Graduate School of Medicine

<sup>2</sup>Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology

<sup>3</sup>Department of Gene Expression Regulation, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University

We reported earlier endogenous production of a large quantity of reactive persulfides including cysteine persulfide (CysSSH) in prokaryotic/eukaryotic cells, which plays a critical role in the regulation of electrophilic signaling. However, little is known about the biosynthesis and physiological functions. Currently, we discovered a moonlighting function of cysteinyl-tRNA synthetase (CARS), that is a pyridoxal phosphate (PLP)-dependent biosynthesis of CysSSH from the substrate L-cysteine (cysteine persulfide synthase: CPERS). The *in vitro* and *in vivo* analysis indicated that CysSSH production by CARS/CPERS is highly conserved among all organisms ever we tested. Further, we attempted to understand physiological functions of CysSSH using yeast *Saccharomyces cerevisiae*, a useful model for eukaryotic biology. A yeast mutant of PLP-binding site, which possessed the intact protein synthesis, showed decreased CysSSH production. Intriguingly, this mutant dramatically reduces chronological aging, compared with wild-type. In addition, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, a persulfide donor, rescued a decrease of chronological aging in this mutant. These results suggest that CysSSH produced by CARS/CPERS may play an important role in regulating longevity and sustaining the life span of the yeast. Investigating CysSSH-dependent-longevity regulation may thus promote further understanding of aging and diseases in terms of reactive persulfide functions for various organisms including humans.

## 2-4

### 味噌と味噌玉による抗肥満作用と脂肪肝の予防

○管野良子<sup>1</sup>, 腰塚哲朗<sup>2</sup>, 宮崎希<sup>1</sup>, 小林敬広<sup>1</sup>, 石岡賢<sup>1</sup>, 千葉英樹<sup>3</sup>, 錫谷達夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 福島県立医科大学医学部微生物学講座, <sup>2</sup> 岐阜薬科大学感染制御学研究室

<sup>3</sup> 福島県立医科大学基礎病理学講座

【目的】大豆の発酵食品である味噌の効能については、様々な研究がなされ報告されている。この味噌の新たな効能を明らかにするため、マウスを用いて高脂肪食の摂取による肥満に対する味噌・発酵前混合物である味噌玉の抗肥満作用を検証した。

【方法】C57BL/6J マウスのオス・メスをそれぞれ4群に分け、各群に20週間それぞれ普通食、高脂肪食、味噌を5%含む高脂肪食、味噌玉を5%含む高脂肪食を与えた。期間中、自由摂食・摂水させ、隔週で体重を測定した。20週時にCTにより腹部脂肪量を評価した。一晚の絶食後、採血・肝臓採取を行った。血液は血清分離後、生化学検査を行った。肝臓は重量測定の後ホルマリン固定しHE染色、エラスチカ・マッソン染色を行いNAFLD activity score (NAS)によって肝障害の程度を評価した。

【結果】メスのマウスにおいて、高脂肪食群と比較して味噌群・味噌玉群の体重増加が有意に抑制された。CTによる脂肪量解析では味噌群・味噌玉群の内臓脂肪が減少する傾向にあった。これらの有意な変化はオスのマウスでは見られなかった。

高脂肪食群は脂肪肝により肥大していたが、メスの味噌群・味噌玉群の肝臓重量は高脂肪食群と比較して有意に減少していた。NASによる肝障害のスコアも低下していた。また、血液生化学検査では総コレステロール量・肝機能が改善し、レプチン・レジスチンが減少していた。

【考察】味噌は大豆と麴を主原料とした日本の伝統的な発酵食品である。本研究ではメスのマウスに味噌・味噌玉による抗肥満作用が認められた。また、高脂肪食を摂食したマウスでは非アルコール性肝障害を発症していたが、味噌・味噌玉の摂食によりこの病変が有意に抑制されていた。これらの抗肥満作用・肝障害抑制作用はメスだけに効果が認められたことから、味噌の原料である大豆由来のイソフラボンや大豆ペプチドによるものと示唆された。これらのメカニズムを解明することで味噌の有用性が期待できる。

## 免疫 1

### 3-1

#### クリプトコックス感染における IL-17A による免疫応答の制御と 防御機構への影響

○佐藤光<sup>1</sup>, 笠松純<sup>1</sup>, 山本秀輝<sup>2</sup>, 石井恵子<sup>3</sup>, 川上和義<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup> 東北大・院医・感染制御インテリジェンスネットワーク 寄附講座,

<sup>2</sup> 新潟大・研究推進機構超域学術院・健康寿命医療科学,

<sup>3</sup> 東北大・院医・感染分子病態解析学

【目的】 *Cryptococcus neoformans* (Cn) は莢膜を持った酵母型真菌であり、エイズなど細胞性免疫の低下した宿主に重篤な脳髄膜炎を引き起こす日和見感染真菌である。IL-17A は好中球集積に関わるサイトカインの一つであり、細胞外増殖菌の排除との関係について詳細な解析が行われてきた。一方、細胞内増殖菌である Cn の感染防御における役割については、一定の結論が得られていない。本研究では、Cn 感染防御における IL-17A の役割について遺伝子欠損マウス及びリコンビナント IL-17A (rIL-17A) 投与マウスを用いて解析を行った。

【方法】 IL-17AKO (東京理科大 岩倉洋一郎教授より供与)、野生型 (WT) および MP98 特異的 TCR を高発現したトランスジェニック (Tg) (CnT-II) マウスを用いた。Cn として B3501 及びその莢膜欠損株 Cap67 を用いた。気管内に  $1 \times 10^6$  CFU/マウスの Cn を感染させた後、rIL-17A を気管内投与した。肺・脳内生菌数、肺病理像、肺内サイトカイン、肺内白血球、mRNA の発現を解析した。WT マウスの骨髄由来樹状細胞及び CnT-II マウスの脾細胞を rIL-17A 存在、非存在下で生菌、MP98、Cap67 溶解物により刺激し、サイトカイン産生、mRNA 発現を解析した。

【結果と考察】 KO マウスでは WT マウスに比べ、菌排除と IFN- $\gamma$  産生が亢進した。rIL-17A 投与では菌排除および IFN- $\gamma$  産生が低下した。rIL-17A は菌体刺激による BM-DCs からの IL-12 と、MP98 刺激による Tg マウス脾細胞からの IFN- $\gamma$  の産生を抑制したが、CD4<sup>+</sup>T 細胞からの IFN- $\gamma$  産生は直接抑制しなかった。以上の結果より、IL-17A は自然免疫の細胞に作用し IFN- $\gamma$  産生を抑制することで、Cn 感染防御を負に制御することが示唆された。

## 3-2

### IL-21 isoform 過剰発現マウスにおける高脂肪食性肥満の喪失と 脂肪組織異常

○齋藤真一<sup>1</sup>、荒木明美<sup>1</sup>、武田裕司<sup>1</sup>、浅尾裕信<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山形大学医学部免疫学講座

【目的】メタボリックシンドロームの基本病態は、肥満に伴う脂肪組織の肥大化であり、脂肪組織における慢性炎症がその増悪に関与することが明らかになってきた。病態初期の脂肪組織では、炎症性の免疫細胞の浸潤と、液性因子による免疫細胞の活性化などが起こっていると考えられる。インターロイキン 21 (IL-21) は活性化 CD4 陽性 T 細胞、NKT 細胞などから産生され、各種免疫系細胞に働き細胞を活性化し、免疫応答や炎症の亢進に寄与すると考えられている。本研究では、IL-21 isoform 過剰発現マウス (mIL-21iso-Tg) を用いて、肥満初期における免疫異常の脂肪組織に対する機能を解析することを目的とした。

【方法】mIL-21iso-Tg は見かけ上正常であるが、リンパ球総数の増大や DSS 誘導大腸炎の増悪、また十二指腸への好中球集積など、免疫細胞や炎症反応に異常が見られる。本研究では、通常食と高脂肪食 (HFD) 条件下での、mIL-21iso-Tg の体重変化および脂肪組織の異常の有無を解析した。また、皮下脂肪と内臓脂肪での脂肪合成関連遺伝子 (*Fabp4*, *Irf4*)、マクロファージマーカー (*Cd11c*, *Il-10*) 等の mRNA 発現解析を行った。

【結果】通常食では、WT マウスと比較し Tg マウスの脂肪組織の割合は高かった。HFD 群 Tg マウスでは、HFD による体重増加率が低く、脂肪組織量と脂肪細胞サイズも HFD 開始前よりも減少していた。また、Tg マウスでは通常食下で *Il-10* が亢進しており、HFD によりインターフェロン調節因子 4 (*Irf4*) の mRNA 発現の低下が見られた。

【考察】通常 HFD 条件下では脂肪食給餌性肥満が誘導され、脂肪組織は肥大化するが、Tg マウスでは、HFD による体重増加がみられず、脂肪組織は小さくなっていた。さらに、抗炎症性マクロファージのマーカーである *Il-10* 発現が高く、IL-21 による免疫細胞の変化が肥満の抑制に働く可能性が示唆された。

### 3-3

#### 新規アラミン S100A による自然免疫賦活と腫瘍微小環境制御

○小竹 夏未<sup>1,2</sup>, 長島 隆一<sup>1,2</sup>, 小鎌 直子<sup>2</sup>, 田中 伸幸<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東北大学大学院 医学系研究科 がん病態学分野

<sup>2</sup>宮城県立がんセンター研究所 がん先進治療開発研究部

【目的】S100 分子群は 25 分子からなるカルシウム結合タンパク質ファミリーであり、細胞内において DNA 修復などに働いている。癌においては、しばしば過剰発現し、腫瘍増殖や浸潤・転移を促進する。一方、感染や癌の浸潤などの侵襲によって損傷を受けた細胞から放出された S100 分子群は損傷関連分子（アラミン）として自然免疫細胞を刺激して炎症応答を惹起するが、その詳細は不明である。本研究では、大腸癌などで過剰発現する S100A4 に着目し、自然免疫系の活性化と腫瘍微小環境における機能の解明を目指した。

【方法】①N 末端に分泌シグナル配列および NanoLuc を付加した S100A4 を発現するテトラサイクリン誘導系レンチウイルスベクターを作製し、分泌型 S100A4 を超高感度にモニタリングする実験系を構築した。マウス大腸癌細胞株 CT26 を用いて、安定発現株 (CT26-iS100A4) を樹立し、*in vitro* における細胞増殖活性を測定した。②CT26-iS100A4 を BALB/c マウスに皮下移植し、生着確認後にドキシサイクリン (Dox) を給餌し S100A4 を分泌させ、腫瘍体積を経時的に計測した。1 週間後に腫瘍を採取し、腫瘍組織から CD45<sup>+</sup> 細胞分画中の F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>マクロファージおよび CD8<sup>+</sup>T 細胞についてフローサイトメトリー解析を行った。

【結果】①CT26 と CT26-iS100A4 の間に細胞増殖には変化は認めなかった。②S100A4 分泌群において、腫瘍体積が有意に増大した。腫瘍組織由来 CD45<sup>+</sup> 分画中の F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>マクロファージに増加傾向がみられた。一方、CD8<sup>+</sup>T 細胞の割合は減少傾向を示した。

【考察】S100A4 は腫瘍内でアラミンとして機能し、腫瘍随伴マクロファージ (TAM) の遊走・浸潤を促進することで、CD8<sup>+</sup>T 細胞の浸潤を抑制する可能性が示された。

### 3-4

#### 肝臓に局在する宿主因子と交差反応する抗体は 薬剤誘導性の肝障害を緩和する

○佐々木裕, 吉野直人, 小田切崇, 村木 靖

岩手医科大学医学部 微生物学講座 感染症学・免疫学分野

【目的】昨年の本学会で、われわれはマウスで作製した抗体（C型インフルエンザウイルスの糖蛋白質 HEF に対する単クローン抗体 S16）が、マウスの肝臓のミトコンドリアに発現する acetyl-CoA acyltransferase 2 (ACAA2) と交差反応することを報告した。さらにアセトアミノフェン (APAP) を腹腔内に投与することで誘導したマウスの肝障害が S16 の投与により緩和されたことを示し、この現象には肝細胞から血中に放出された ACAA2 と S16 との複合体形成が関与すると推測した。本研究では、上記の過程を詳細に解析し、仮説の検証を行った。

【方法】BALB/c マウスの腹腔内に APAP を投与し、その 4 時間後に S16（または生理的食塩水、コントロール抗体）を投与した。APAP 投与後の血清を採取し、ウェスタンブロットと変法サンドイッチ ELISA で解析した。また、トランスアミナーゼ (ALT) の定量により肝障害の程度を評価した。

【結果】ACAA2 は肝障害で血中に放出される。血清 ACAA2 は APAP 投与 8 時間後に検出され始め、28 時間後をピークとしその後減少した。血中の ACAA2 は S16 と複合体を形成する。APAP 投与 28 時間後 (S16 投与 24 時間後) の ELISA 吸光度の上昇は、コントロール抗体投与群では見られず、S16 投与群では全個体 (4/4 匹) で認められた。肝障害は S16 により緩和される。S16 投与群の APAP 投与 28 時間後 (S16 投与 24 時間後) における血清 ALT 値は対照群に比し有意に低下していた (減少率: 45~55%)。

【考察】APAP で肝障害を誘導したマウスにおいて、ACAA2 が血中に放出されること、それはその後投与した S16 と複合体を形成していることが強く示唆された。この結果は、S16 と ACAA2 の交差反応が肝障害の緩和に関わるという仮説を支持するものである。

## ウイルス 1

### 4-1

#### 不活化インフルエンザウイルスに対する ポリミキシン B の粘膜アジュバント効果

○小田切崇, 吉野直人, 佐々木裕, 村木 靖

岩手医科大学医学部 微生物学講座 感染症学・免疫学分野

【目的】我々はこれまでに、ヒトに用いられている医薬品や食品添加物の中に粘膜アジュバント効果をもつ物質があることを報告してきた。中でも卵白アルブミンを用いたマウスの免疫実験で、ポリペプチド系抗菌薬であるポリミキシン B (PMB) が有力な候補となることを見出した。本研究では、PMB の粘膜アジュバント効果がインフルエンザウイルスを抗原にした場合でも観察されるか否かを検討した。

【方法】抗原として A/Iwate/1130/2009 (H1N1pdm09) 株の全粒子不活化ウイルスを用いた。この抗原を単独 (単独群) または PMB と併用 (併用群) でマウスに 0 週および 4 週の 2 回経鼻投与した。対照として抗原のみを皮下接種した (皮下群)。最終投与から 2 週後に血漿、鼻腔および気管洗浄液中のウイルス特異的 IgG と IgA を ELISA で測定した。また、最終投与から 2 週後にマウス馴化ウイルスを 50MLD<sub>50</sub>/mouse で経鼻感染させ、継時的に体重変化を観察し、また気管洗浄液中のウイルスを定量した。

【結果】0.1 $\mu$ g/mouse の抗原を投与したマウスにおいて、単独群より併用群で鼻腔ならびに気管洗浄液中の IgA 抗体価が有意に高い値を示した。また、各群のマウスで投与後の外見的变化 (活動性低下、起毛、閉眼等) は観察されなかった。単独群、併用群、皮下群でウイルス感染後に死亡するマウスはいなかった。しかし群間で感染後の体重減少率に差がみられ、皮下群>単独群の順に大きく、併用群では体重減少は観察されなかった。感染後の気管洗浄液中のウイルス量は単独群に比べ併用群は有意に少なかった。

【考察】PMB の粘膜アジュバント効果が不活化ウイルスを抗原とした場合でも確認できた。粘膜中のウイルス特異的 IgA 抗体価はウイルス接種後の体重減少の程度と気管洗浄液中のウイルス量と相関していると考えられた。よって PMB は経鼻インフルエンザワクチンの粘膜アジュバントとなりうる可能性が示唆された。

## 4-2

### アジュバント作用を有する天然物由来糖型界面活性剤の探索

- 吉野直人<sup>1</sup>, 佐々木裕<sup>1</sup>, 小田切崇<sup>1</sup>, 杉山育美<sup>2</sup>, 松本有機<sup>3</sup>,  
菅野祐幸<sup>3</sup>, 佐塚泰之<sup>2</sup>, 村木 靖<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岩手医科大学医学部 微生物学講座 感染症学・免疫学分野, <sup>2</sup>岩手医科大学薬学部  
医療薬科学講座 創剤学分野, <sup>3</sup>信州大学医学部 病理組織学教室

【目的】病原体の侵入門戸となる粘膜組織に効果的な免疫を誘導するためには、抗原とともにアジュバントを経粘膜接種する必要がある。我々はこれまでにアジュバント作用を有する複数の界面活性剤を見出している。本研究では、安全性が高い天然物由来糖型界面活性剤にアジュバント作用をもつ化合物が存在するかを検討した。

【方法】食品や医薬品として用いられているクロシンとグリチルリチン酸二カリウム (GK2) を検討の対象とし、抗原として全粒子不活化 A 型インフルエンザウイルス (WIIV) を用いた。1) WIIV のみ (単独群)、2) WIIV とクロシン (クロシン併用群)、3) WIIV と GK2 (GK2 併用群) をそれぞれマウスに経鼻免疫後、気管洗浄液中のウイルス特異的 IgA 抗体価を測定した。また、免疫後に致死量のマウス馴化ウイルスを経鼻感染させ、継時的に体重と体温を測定し気管洗浄液中のウイルスを定量した。

【結果】気管洗浄液中の IgA 抗体価はクロシン併用群で単独群より有意に高かった。ウイルス感染後、単独群で死亡したマウス (8 匹中 1 匹) があったが、クロシン併用群で死亡例はなかった。単独群と比較するとクロシン併用群で体重減少と体温低下が有意に抑制され、クロシン併用群での気管洗浄液中のウイルス量は単独群の約 1/10 であった。GK2 併用群では気管洗浄液中の IgA 抗体価の上昇はみられなかった。

【考察】クロシンに粘膜アジュバント作用があることが明らかになった。一般にある化合物群から目的とする効果をもつ化合物を動物実験レベルで確認できる確率は、約 1/3,000 といわれている。そのため、2つの化合物を検討した段階だが、天然物由来糖型界面活性剤の中でアジュバント作用を有するものの頻度は比較的高く、このタイプの界面活性剤は探索効率が良いソースである可能性が示唆された。



## 4-3

### Anti-norovirus GII.4 Sydney 2012 IgA in breast milk can protect breastfed infants from having norovirus-associated diarrhea

○ Hannah Karen Labayo<sup>1</sup>, Monica Pajuelo<sup>2</sup>, Robert Gilman<sup>3</sup>, Lilia Cabrera<sup>4</sup>, Holger Mayta<sup>2</sup>, Gerardo Sanchez<sup>2</sup>, Caryn Bern<sup>5</sup> Clyde Dapat<sup>1</sup>, Hitoshi Oshitani<sup>1</sup>, Mayuko Saito<sup>1</sup> and Norovirus Working Group in Peru.

Dept. of Virology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan<sup>1</sup>; Universidad Peruana Cayetano Heredia<sup>2</sup>, Lima, Peru; Johns Hopkins School of Public Health<sup>3</sup>, Maryland, USA, Assoc. Benefica PRISMA<sup>4</sup>, Lima, Peru, University of California San Fransisco<sup>5</sup>, USA.

**Introduction.** Norovirus (NV) infection is one of the major causes of acute gastroenteritis in infants. Antibodies present in breast milk have been known to protect infants from diarrheal diseases caused by various enteric pathogens. However, the effect of human NV-specific IgA antibody on NV infection and associated diarrhea in infants is still unknown. Our study aimed to determine and compare the levels of anti-NV GII.4 Sydney 2012 IgA in the breast milk of mothers with infants who had different NV infection status.

**Methods.** From a Peruvian birth cohort study from 2016 to 2017, pre-exposure breast milk samples were collected and analysed for total IgA and anti-NV IgA against NV GII.4 Sydney 2012 virus-like particles (VLPs) by ELISA. Breast milk samples were grouped according to the NV infection status of their infants who were: NV real-time RT-PCR positive with diarrhea (NV+/D+, n=30); NV real-time RT-PCR positive without diarrhea (NV+/D-, n=35); and NV real-time RT-PCR negative and without diarrhea (NV-/D-, n=30). The ratio of anti-NV IgA to total IgA was compared among groups.

**Results.** Although the proportion of breast milk samples positive to anti-NV GII.4 IgA was similar among three groups (100%, 100%, and 90%, respectively), the median ratio of anti-NV GII.4 Sydney IgA to total IgA was significantly higher in the group NV+/D- when compared with the group NV+/D+ [-2.70 Log<sub>10</sub> vs. -3.00 Log<sub>10</sub>,  $p = 0.040$ ]. However, there was no difference in the ratio between group NV+/D- and NV-/D- (-2.70 Log<sub>10</sub> vs. -2.85 Log<sub>10</sub>,  $p > 0.05$ ).

**Discussion.** The high level of anti-NV GII.4 Sydney 2012 IgA seemed to protect breastfed infants from having NV-associated diarrhea but probably not from NV infection. The presence or absence of anti-NV IgA in breast milk of the mothers is possibly associated with not only the past but also current exposure of mothers to NV infection.

## ウイルス 2

### 5-1

#### C型インフルエンザウイルスの増殖に関与するCM2タンパク質の細胞質領域のアミノ酸配列

○下平義隆<sup>1</sup>, 菅原勘悦<sup>1</sup>, 松寄葉子<sup>1</sup>, 邵力<sup>2</sup>, 村木靖<sup>3</sup>, 後藤崇成<sup>1</sup>, 本郷誠治<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山形大学 医学部 感染症学, <sup>2</sup>山形大学大学院 医学系研究科 公衆衛生学・衛生学,  
<sup>3</sup>岩手医科大学 微生物学講座 感染症学・免疫学分野

**【目的】**C型インフルエンザウイルスのCM2 (115 アミノ酸)は、エンベロープに存在する膜タンパク質であり、ウイルスゲノムの粒子へのパッケージングと脱殻に関与する。最近我々は、単独発現細胞の解析で、CM2の細胞質領域にはCM2の発現量、糖鎖の成熟、量体形成に関与する配列が複数存在することを報告した(67-69位は発現量、47-48、113-115位は発現量と糖鎖の成熟、73-75位は発現量、糖鎖の成熟、量体形成に関与する)。今回はこれらの配列がウイルス増殖に関与するかについて解析した。

**【方法】**上記4箇所のアミノ酸配列をアラニン(Ala)に置換した変異CM2を持つ組換えウイルス(rCM2 Ala 47-48、67-69、73-75、113-115)を、リバーシジェネティクスで作製した。これらをMDCK細胞に感染させ、ウイルス産生量をプラーク法で定量した。ウイルス粒子と感染細胞内のウイルスタンパク質は、ウェスタンブロット法で解析した。

**【結果】**rCM2 Ala 47-48、67-69、73-75は回収できたが、rCM2 Ala 113-115は回収できなかった。ウイルス産生量は、rCM2 Ala 67-69、73-75で野生型ウイルス(rWT)より減少したが、rCM2 Ala 47-48はrWTと同等だった。また、rCM2 Ala 67-69、73-75ではウイルス粒子内のCM2量、感染細胞とその細胞膜に発現したCM2量も減少した。一方、これらのウイルス粒子内のCM2の糖鎖はrWTと同様に成熟され、2量体と4量体もrWTと同等の比率であった。

**【考察】**CM2の67-69位と73-75位の変異により、ウイルス感染細胞の細胞膜でのCM2量が減少したため、出芽部位でのゲノムパッケージングが抑制されたことが考えられた。また、ウイルス粒子内のCM2量が減少したため、脱殻が抑制された可能性が考えられた。さらに、rCM2 Ala 113-115が回収できなかったことから、この配列はウイルス増殖に必須であることが示唆された。

## 5-2

### ヒトパルボウイルス B19 ウイルス様粒子発現系の開発

○木村咲伽<sup>1</sup>，鈴木明男<sup>2</sup>，蝦名博貴<sup>2</sup>，森田英嗣<sup>1</sup>

<sup>1</sup>弘前大学・農学生命科・分子生命科学，<sup>2</sup>阪大微生物病研究会

【目的】ヒトパルボウイルス B19 は伝染性紅斑の原因ウイルスであり、妊婦に感染すると胎児水腫を発症させ流産を引き起こすことから予防ワクチンの開発が求められている。現在、B19 ウイルスを増殖させる実験感染系は確立されていないため、ワクチン抗原にはウイルス構造蛋白質由来の VLP (Virus like particle) が想定されている。本研究では、ヒト培養細胞を用いて高効率 B19VLP 発現系の開発を行った。また、B19 陽性献血血液サンプル由来の B19 ウイルス粒子と比較し、得られた VLP が抗原として利用可能か検討した。

【方法】B19 構造タンパク質である VP1 及び VP2 をヒトコドンに最適化し 293T 細胞に発現させ、VLP を作製した。VLP 形成はシヨ糖密度勾配遠心法、透過型電子顕微鏡観察にて調べた。また、精製した VLP の B19 半許容性培養細胞株 UT7/Epo-S1 への吸着について調べた。さらに、B19 陽性献血血液サンプルより B19 ウイルス粒子を精製し、粒子中に含まれる宿主因子のプロテオーム解析を行い、VLP と B19 粒子の違いについて解析した。

【結果及び考察】ヒト培養細胞 293T で単独または同時にヒトコドンに最適化した VP1、VP2 を発現させると、いずれの場合においても VLP の形成が確認された。これらの VLP は VP1 を同時に発現させた場合にのみ UT7/Epo-S1 細胞の表面に結合することから、VP1 が細胞への吸着に必要であることが確認された。シヨ糖密度勾配遠心法による解析では、VLP は B19 陽性血漿サンプル由来の B19 ウイルス粒子とは異なる比重を示した。この比重の違いはウイルスゲノムの有無によるものと考えられるが、プロテオーム解析より B19 ウイルス粒子特異的な因子がいくつか同定されており、これら宿主因子が B19 ウイルス増殖に関わっている可能性が示唆された。また、B19 ウイルス粒子では VP2 S321 がリン酸化修飾を受けていることがわかった。現在このリン酸化部位の変異体を作製し、その意義について解析を行っている。

## 5-3

### Genetic diversity of human metapneumovirus in Biliran, the Philippines

○ Fang Chen<sup>1</sup>, Michiko Okamoto<sup>1</sup>, Clyde P. Dapat<sup>1</sup>, Raita Tamaki<sup>1,2</sup>, Mayuko Saito<sup>1</sup>,  
Mariko Saito-Obata<sup>1,3</sup>, Socorro P. Lupisan<sup>4</sup>, Hitoshi Oshitani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Virology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan

<sup>2</sup> Nagasaki Women's Junior College, Nagasaki, Japan

<sup>3</sup> RITM - Tohoku Collaborating Research Center on Emerging and Reemerging Infectious  
Diseases, Muntinlupa, Philippines

<sup>4</sup> Research Institute for Tropical Medicine, Muntinlupa, Philippines

**Introduction:** Acute respiratory infection (ARI) is a leading cause of morbidity and mortality in children in low- and middle-income countries. Human metapneumovirus (HMPV) is one of the most common viral etiological agents for ARIs in children. Given that there is still a limited knowledge of HMPV-associated ARI in south-east Asia. The objective of this study is to reveal the genetic diversity of HMPV among children under 5 years old in Biliran, the Philippines.

**Methods:** Between February 2014 and April 2017, a total of 7,519 nasopharyngeal swabs (NPS) specimens were collected in households and health facilities from children younger than 5 years old with ARI, as a part of a prospective cohort study. HMPV was detected using PCR and genotyped by sequencing and phylogenetic analysis.

**Results:** HPMV was detected in 194 (2.6%) NPS specimens. Co-infection rate with other respiratory viruses was 20% (n=39). Activity of HMPV occurred all year-round compared to RSV, which peaked in August 2014 and November 2015. About a half of the HMPV positive cases were observed in children under 2 years old. Phylogenetic analysis of the attachment glycoprotein (G) genes demonstrated co-circulation of mainly three HMPV genotypes A2, B1 and B2 during the study period. Genotype A2 (66%) was the predominant HMPV genotype circulating in Biliran. The novel A2b strains with a 180-nucleotide duplication (180nt-dup) emerged from March 2014 and disappeared by the end of 2015.

**Conclusion:** In this study, we detected three genotypic strains A2, B1 and B2 of HMPV infection except for genotype A1, suggesting that old lineages have been replaced by emerging genetic strains. Consecutive surveillance of HMPV epidemic is still necessary. The high detection rate of HMPV in young children has a significance in future control strategies of the virus.

## 5-4

### HEp-2 細胞を用いた Respiratory syncytial virus 分離における 臨床検体ごとの分離の難易のウイルス学的解析

○北井優貴<sup>1,2</sup>, 佐藤光<sup>3</sup>, 白戸憲也<sup>4</sup>, 竹田誠<sup>4</sup>, 川上和義<sup>2,3</sup>, 西村秀一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立病院機構仙台医療センター臨床研究部ウイルスセンター,

<sup>2</sup>東北大学医学系研究科感染分子病態解析学分野,

<sup>3</sup>東北大学医学系研究科感染制御インテリジェンスネットワーク 寄付講座,

<sup>4</sup>国立感染症研究所ウイルス第三部

Respiratory syncytial virus (RSV) はときに重篤な細気管支炎や肺炎を引き起こし得る小児の呼吸器感染症の原因ウイルスのひとつであり、診断は临床上重要である。当センターでは、イムノクロマトグラフィー法を用いたウイルス抗原の検出と同時に HEp-2 細胞を用いたウイルス分離を長年実施してきた。ところが近年 RSV 抗原陽性にも関わらず RSV が分離されず、分離率が低下している時期があった。そこで本研究では分離率低下の原因について種々のウイルス学的解析を行い、分離効率に關与する可能性のあるウイルス遺伝子上の部位を見出した。

2009 年から 2018 年に採取した RSV 抗原陽性検体について real-time RT-PCR を用いてサブタイプ (A 型・B 型) を判別し、型別による分離率の差を比較した。さらに必要なものについては Next-Generation DNA Sequencing (NGS) 解析を行い詳細を調べた。

はじめに、RSV-A に比べ RSV-B が分離率が低いことが分かった。だが RSV-B が必ずしもすべて分離できないわけではなかった。そこで RSV-B について NGS 解析を実施した。分離の成否でコンセンサス配列をとったところ、17 か所で塩基配列の変異がみられた。その中でも 1785 番目の塩基の変異がもたらした Nucleocapsid Protein (NP) の 216 番目のアミノ酸に変異 (H/Y) において、H は Y と比較して分離しやすい傾向が認められた。

今後は NP におけるアミノ酸の変異が分離の成否にどのように關与しているのか詳細の解析が必要であると考えられる。

# 一般演題 8月23日 9:30 ~

## ウイルス 3

### 6-1

#### パレコウイルス A3 型による流行性筋痛症 の探知には症候群サーベイランスが有効である

- 水田克巳<sup>1</sup>、田中静佳<sup>1</sup>、駒林賢一<sup>1</sup>、池田辰也<sup>1</sup>、青木洋子<sup>1</sup>、田中和佳<sup>1</sup>、仙道大<sup>2</sup>、市川真由美<sup>2</sup>、豊田健太郎<sup>2</sup>、古山正幸<sup>2</sup>、山口佳剛<sup>3</sup>、永沢光<sup>3</sup>、和田学<sup>3</sup>

<sup>1</sup>山形県衛生研究所微生物部、<sup>2</sup>公立置賜総合病院小児科、  
<sup>3</sup>山形県立中央病院脳神経内科

**【背景と目的】**2008年の山形県におけるパレコウイルス A3 型 (PeVA3) による成人筋痛症流行について、第 66 回本学会及び論文で報告した。続いて山形県内で観察した 2011、2014、2016 年の成人及び小児の筋痛症については論文報告した。2014 年以降、日本国内では山形県以外の複数の地域から同疾患が学会・論文報告されるようになったが、外国からの論文報告はまだない。2017-2018 年、小児における PeVA3 感染症発生状況は 2016 年の流行時に比べて小さかったと考えられるが、山形県における症候群サーベイランスの中で、各 1 例の筋痛症散発例を経験したので報告する。

**【方法】**小児感染症（気道感染症、発疹症、手足口病など）及び筋痛症疑い患者の臨床検体から、PeVA3 の遺伝子検出・ウイルス分離を実施した。

**【結果】**2017 年 (958 検体)・2018 年 (937 検体) は県内のルーチン小児検体からのスクリーニングでは PeVA3 の検出はなかった。一方、以下の筋痛症散発例が見つかった。

① 2017 年症例 (9 歳女児)

2017 年 10 月 27 日発症、発熱・咳・食欲不振・四肢筋痛（歩行困難）を呈し、筋痛が悪化し 31 日に入院。Creatinine phosphokinase (CPK) 上昇が認められ、咽頭拭い液から PeVA3 遺伝子を検出した。筋痛は軽減し、11 月 2 日に退院となった。

② 2018 年症例 (38 歳女性)

2018 年 10 月 21 日ふくらはぎの痛みで発症、痛みが大腿・両上肢・首に広がり、25 日に入院。CPK 軽度上昇あり、便から PeVA3 を分離・検出した。痛みは改善し 30 日に消失した。

**【考察】**PeVA3 による筋痛症は、同ウイルスの小児における全国的な大流行の年に見つけやすい。しかし、上記のように、“四肢の筋肉痛（及び脱力）”という特徴的な症状に着目することで、PeVA3 の流行が比較的小さかったと思われる 2017-2018 年にも山形県内で散発例を見つけることができた。以上のことから、PeVA3 による筋痛症患者の探知には症候群サーベイランスが有効と考えられた。

## 6-2

### インフルエンザウイルス抗原検出キット検査で 偽陽性反応が生じた検体についての解析

○大宮 卓<sup>1</sup>, 佐藤 光<sup>1,2</sup>, 西村 秀一<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 国立病院機構仙台医療センター臨床研究部ウイルスセンター

<sup>2</sup> 東北大学大学院医学系研究科感染制御インテリジェンスネットワーク寄附講座

【目的】イムノクロマトグラフィーを原理とした抗原検出キット（以下キット）は、多くの医療施設でインフルエンザの診断に使用されているが、こうしたキットを用いた試験には偽陰性および偽陽性反応もまれではあるが起こる。昨年我々は、同キットでA、B両型のウイルス抗原陽性を示したものの偽陽性を疑った症例を経験した。この症例を通じて偽陽性の機序について解析したので報告する。

【方法】鼻腔ぬぐい検体を HEF、HEp-2、Vero、MDCK、MNT-1、LLC-MK2 の各細胞に接種し、ウイルス分離を試み、また、PCR 法によるウイルス遺伝子検出も実施した。キット抽出液中にキットの抗インフルエンザウイルス・マウス IgG に反応する成分の存在を疑い、その成分をあらかじめマウス IgG を添加する競合試験を行った。

【結果】A、B 両陽性を示した反応バンドの濃さは A>B であった。ウイルス分離ではインフルエンザウイルスは分離されず、RS ウイルスが分離された。PCR 法でもインフルエンザウイルス陰性、RS ウイルス陽性となり、キットの陽性は偽陽性であったと判断された。マウス IgG を用いた競合試験で陽性ラインが消失したことから、検体中にマウス IgG に反応する何らかの成分が存在するために起きた偽陽性であったことが強く示唆された。

【考察】偽陽性を引き起こす原因の一つとして、ヒトの体内における異好抗体としての抗マウス抗体の存在が報告されている。抗原との反応にマウスモノクローナル抗体を用いるキットであれば、原理上どのメーカーでも、どのような種類の抗原であっても偽陽性は起こりうることであろう。

## 6-3

### 地域コミュニティにおける小児の抗エンテロウイルス D68 型抗体の 経時的変動

François Marie Ngako Kadji<sup>1</sup>, ○西村秀一<sup>1</sup>, 岡本道子<sup>2</sup>, 佐藤光<sup>1,3</sup>, 大宮卓<sup>1</sup>,  
伊藤洋子<sup>1</sup>, 鈴木陽<sup>4</sup>, 永井幸夫<sup>5</sup>, 押谷仁<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 国立病院機構仙台医療センター臨床研究部ウイルスセンター,

<sup>2</sup> 東北大学大学院医学系研究科感染症学分野,

<sup>3</sup> 東北大学大学院医学系研究科感染制御インテリジェンスネットワーク寄附講座,

<sup>4</sup> 宮城県石巻保健所, <sup>5</sup> 永井小児科クリニック

【目的】エンテロウイルスには多くの型があり、感染者はそれぞれ特徴ある症状を示す。その中で、最喘息様の症状や脱力性麻痺の神経症状の発現の可能性が取りざたされている D68 型がある。

我々は以前、2015 年秋に起きた同ウイルス感染の地域流行らしきものを、地域の病院を訪れる患者の増加を介して捉え、報告した。本研究で我々は、それが真に当該地域コミュニティにおける流行を背景としたものか否かを、血清疫学的に検討した。

【方法】同病院のある地域をカバーする小児科医院で、感染症以外の種々の検査目的で採血し、検査に供したのち、倫理的承認のもとに研究目的で保存されていた 0 から 6 歳の血清ライブラリーから、同流行時期直後とその 1 年および 6 か月後、さらに 1 年後あたりに採取されていた血清、それぞれ 17, 30, 31, 25 検体を無作為に選び、各検体について流行株ウイルスを抗原とした中和試験を行い、抗体価を調べた。

【結果】流行直後の被解析集団の血清抗体価は、流行 6 か月前とのそれより有意に高く ( $p=0.0001$ )、一方流行後 1 年のそれは、流行前よりは高いものの有意に高かったものの ( $p=0.0001$ )、流行直後と比べ有意に低かった ( $p=0.005$ )。

【考察】地域の小児血清を用いて展開した本研究の血清疫学の結果は、以前我々が病院受診患者の増加を介して示唆したエンテロウイルス D68 感染症の地域流行の可能性を、強く補強するものであった。



## 6-4

### アメンナメビル耐性ヒト単純ヘルペスウイルスと野生株の混合感染

○佐藤祐子<sup>1</sup>, 小林 誠<sup>2</sup>, 石岡 賢<sup>1</sup>, 錫谷達夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 福島県立医科大学微生物学講座, <sup>2</sup> 福島県立医科大学医学部

【目的】ヘルペスウイルスは2本鎖DNAウイルスであるが、2017年に新たな抗ヘルペス薬・アメンナメビル(Amennamevir: AMNV)が上市された。AMNVはウイルスのヘリカーゼ・プライマーゼを直接阻害してウイルス増殖を抑制し、水痘-帯状疱疹ウイルス(VZV)とヒト単純ヘルペス(HSV)に有効である。これまで用いられてきたホスカルネット(Phosphonoformic acid: PFA)はDNAポリメラーゼ阻害薬、アシクロビル(Aciclovir: ACV)はウイルス由来のチミジンキナーゼ(TK)によりACV三リン酸となることでdGTPと競合し、DNA合成を阻害してウイルス増殖を抑制する。今回我々はAMNV耐性HSVを作成した。各抗ヘルペス薬耐性HSV-1と野生株をそれぞれ混合感染させ、各薬剤存在下でウイルス増殖を比較し、その性質の評価を行った。

【方法】AMNV耐性HSVは、HSV-1、HSV-2をそれぞれAMNV存在下で濃度を漸増させながら継代して得た。AMNV耐性HSV-1と野生株のVR3を混合して感染させ、AMNV存在下でのウイルス増殖を力価で測定した。コントロールとして、AMNV耐性ウイルスのみ、野生株のみを感染させてウイルス増殖を測定した。同様にしてPFA耐性ウイルス、ACV耐性ウイルスも野生株と混合感染させ、それぞれPFA、ACV存在下での増殖を測定した。

【結果】ACV耐性ウイルスと野生株の混合感染では、ACV存在下でウイルス増殖はほとんど見られなかった。一方、AMNV耐性ウイルス・PFA耐性ウイルスと野生株の混合感染では、各薬剤存在下で耐性ウイルスと比較して約50%程度のウイルス増殖を認めたが、野生株が全体の約20%の増殖を認めた。

【考察】薬剤の作用点の違いにより、ACVでは野生株の性質が、AMNV・PFAでは耐性ウイルスの性質が前面に表れたと考えられた。すなわち、混合感染した場合にACVでは野生株由来のTKにより耐性株の増殖も抑えられた(dominant positive)が、AMNV・PFAでは耐性ウイルス由来のヘリカーゼ・プライマーゼやDNAポリメラーゼの存在により野生株も増殖した(dominant negative)と考えられた。この性質の違いが、生体内で野生株と薬剤耐性ウイルスの混合感染が生じた場合の治療効果に影響を及ぼす可能性がある。今後、DNAコピー数での定量系を作り、臨床検体からの定量的診断法確立を目指す。

## 免疫 2

### 7-1

#### パラジウムに対する金属アレルギー発症における 新規抗原提示機構の解析

○伊藤甲雄、小笠原康悦

東北大学加齢医学研究所 生体防御学分野

[目的] パラジウム(Pd)は腐食に強いことから歯科治療に広く用いられている生体金属材料である。しかしながら、その普及とともに近年Pdアレルギー発症例が増加している。金属アレルギーは遅延型過敏症を特徴とするIV型アレルギーに分類され、T細胞の重要性が示唆されている。金属アレルギーの発症機序に関して多くの研究がなされているが、炎症の本因となる抗原の形成機構は明らかになっていない。そのため現行の治療法は発赤、腫脹、掻痒への対症療法、あるいは金属の置換が行われており、根本的な治療法の確立には至っていない。そこで本研究では、パラジウムによるMHC分子及び新規抗原形成への影響を検討した。

[方法] 初めに、パラジウム添加によるMHC発現への影響を検討するために、C57BL/6マウス脾臓細胞にPdCl<sub>2</sub>を添加し、経時的にMHCクラスI、クラスII細胞表面発現をフローサイトメトリーにより評価した。次に細胞内MHCの発現量を検討するために、PdCl<sub>2</sub>を添加1時間後に、細胞膜透過化を行い、細胞内MHC分子の発現を検討した。さらにin vitroで脾臓細胞をPdCl<sub>2</sub>処理した後に、マウスに移入し、24時間後に脾臓内の標識細胞上のMHCクラスIの発現を検討した。

[結果] PdCl<sub>2</sub>添加後、15分で細胞表面発現が低下し、2時間後には発現が回復することが分かった。その一方で、細胞内MHCクラスIの発現量はPdCl<sub>2</sub>の有無に関わらず変化が認められなかった。さらに、蛍光標識細胞を用いたin vivoの検討の結果、発現低下したMHCクラスIはその後、細胞表面発現が回復することが分かった。

[考察] PdはMHC分子の細胞内在化を誘導していることが明らかとなり、リサイクルの過程で新規抗原を獲得し、Pdアレルギーを誘導する可能性が考えられた。現在、このPdによるMHC分子の内在化がPdアレルギーに重要かどうかについて検討を行っている。本研究の結果、MHC分子の細胞内在化を阻害することがPdアレルギーの新規治療法となりうる事が期待される。

## 7-2

### 新規の CD4 T 細胞サブセット「MP 細胞」の産生機構 およびその自然免疫的感染防御機能

○河部剛史<sup>1,2,3</sup>, 川尻昭寿<sup>1</sup>, 石井直人<sup>1</sup>, Ronald N. Germain<sup>3</sup>, Alan Sher<sup>2</sup>, William E. Paul<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 東北大学大学院医学系研究科 免疫学分野, <sup>2</sup>Laboratory of Parasitic Diseases,  
<sup>3</sup>Laboratory of Immunology, National Institute of Allergy and Infectious Diseases,  
National Institutes of Health

**【目的】** CD4 T 細胞は、獲得免疫反応において必須の役割を果たすリンパ球である。定常状態下、同細胞はナイーブ細胞、記憶細胞、メモリー表現型細胞 (Memory-phenotype cell: MP 細胞) からなり、ナイーブ細胞は病原体の一次感染、記憶細胞は二次感染に対し、それぞれ重要な生体防御機能を果たす。しかしながら、MP 細胞の産生機構およびその免疫学的機能は全く不明であった。そこで本研究では、定常状態における MP 細胞の産生機構、ならびに病原体感染における同細胞の機能を明らかにすることを目的とする。

**【方法】** MP 細胞は末梢においてナイーブ細胞より何らかの機構で分化するものと考えられる。この仮説を検証するため、ナイーブ CD4 T 細胞を未感作コンジェニックマウスに移入し、本ドナー細胞より産生される MP 細胞を経時的に観察した。また、MP 細胞の機能を解明するため、マウスを *Toxoplasma gondii* 感染に供したうえで同細胞の IFN- $\gamma$  産生量を測定した。さらに、生体防御における同細胞の重要性を究明するため、全リンパ球を欠損する免疫不全マウスである Rag 共通  $\gamma$  鎖重欠損マウスに MP 細胞を移入し、同マウスを *T. gondii* 感染に供したうえで生存解析を施行した。なおこれらの実験は、抗体投与等により、TCR やサイトカインシグナル等を阻害した環境下においても施行した。

**【結果】** 定常状態下、MP 細胞はナイーブ前駆細胞から自己抗原認識依存的に産生された。同細胞は IL-12 依存的かつ抗原認識非依存的に IFN- $\gamma$  を産生する能力を有し、この自然免疫的エフェクター機能により、MP 細胞は *T. gondii* 感染に対するマウス抵抗性を有意に改善した。

**【考察】** MP 細胞は、自己抗原認識依存的に産生される点で、従来の記憶細胞とは一線を画する新たな T 細胞サブセットであると考えられる。同細胞の持つ極めて特徴的な自然免疫機能および生体防護機能から、近年着目される自然リンパ球と同様、MP 細胞システムが進化の過程で積極的に選択されてきた可能性が推察される。

## 活性イオウ分子種による自然免疫応答の制御機構

○松永哲郎<sup>1</sup>、張 田力<sup>2</sup>、津々木博康<sup>2</sup>、小野勝彦<sup>2</sup>、Waliul Islam<sup>2</sup>、  
赤池孝章<sup>1</sup>、澤 智裕<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北大学大学院医学系研究科・環境医学分野、  
<sup>2</sup>熊本大学大学院生命科学研究部・医学系微生物学分野

【目的】システインパーサルフィド (Cys-SSH) は、システインのチオール側鎖 (Cys-SH) に、さらに過剰な硫黄原子 (S) が付加したアミノ酸誘導体である。システインパーサルフィドは、グルタチオンパーサルフィド (GSSH) やタンパク質パーサルフィドなど多彩な分子形態で細胞内に存在する。パーサルフィドは元のチオールにわずかに1つの硫黄原子が付加しただけにも関わらず、その還元力や求核性が著しく高まっており、活性酸素を強力に分解する活性硫黄分子種として重要な役割を担っている。これまで活性硫黄分子種が細胞内シグナル伝達機構の制御に関わる可能性が示唆されているが、炎症応答に対する活性硫黄分子種の作用はほとんどわかっていない。本研究では、新規な活性硫黄ドナーを開発し、炎症応答における活性硫黄分子種の役割を解析する。

【方法】硫黄原子をN-アセチルシステインで安定化させたハイブリッド型の活性硫黄ドナー (NACポリサルフィド) を合成した。NACポリサルフィド処理による細胞内活性硫黄量を質量分析にて解析した。またリポポリ多糖により誘導される炎症応答に対するNACポリサルフィドの影響を解析した。

【結果・考察】マウスマクロファージ細胞株 (Raw264.7細胞) をNACポリサルフィドで処理すると、速やかに細胞内の活性硫黄含量が増加した。また、NACポリサルフィドで処理したRaw264.7細胞においてLPS刺激の下流シグナルで、特にMyD88-NF- $\kappa$ BとTRIF-IRF3経路が著しく抑制されることが分かった。その結果、炎症性サイトカインであるTNF $\alpha$ ならびにIFN $\beta$ の産生や、さらには誘導型一酸化窒素合成酵素の発現が顕著に抑制された。マウス腹腔内に致死量のLPSを投与するエンドトキシンショックモデルに対し、NACポリサルフィドを投与するとマウスの生存率が著しく改善した。このことから活性硫黄による自然免疫応答の活性面の抑制はin vivoにおいても起こりうる可能性が示された。以上のことから、活性硫黄分子種は、自然炎症応答の制御に密接に関わっている可能性が示唆された。

## 細菌・真菌 3

### 8-1

#### *Rhodococcus equi* 病原性プラスミドの接合伝達とプラスミド受容菌株間でのマウスにおける感染性の比較

○高橋 啓, 高瀬 文瑛, 鈴木 康規, 角田 勤, 高井 伸二

北里大学, 獣医学部獣医学科, 獣医衛生学研究室

【目的】 *Rhodococcus equi* は土壌細菌として環境中に広く分布している。本菌は病原性プラスミドを獲得することにより馬への感染力を獲得した。近年の研究で病原性プラスミドは接合により菌の間で伝達されることが報告された。しかし、遺伝的背景が多様な菌へ病原性プラスミドが伝達された際、それらの受容菌においてプラスミドが安定的に維持され、プラスミド上の遺伝子が適切に発現されるかは明らかにされていない。そこで由来の異なる様々な菌株に同一の病原性プラスミドを接合伝達させ、それらにおけるプラスミドの安定性、プラスミド上の遺伝子 (*vapA* など) の発現、マウスモデルにおける感染性を比較した。

【方法】 由来の異なる *Rhodococcus equi* (ウマ: 2株、イノシシ: 1株、ミミズ: 2株) をレシピエント株とし、病原性プラスミド保有株 (ドナー株) とを共培養することで接合伝達株を作製した。これらの株から病原性プラスミドを抽出し、*EcoRI* 切断像を比較した。また、ウエスタンブロットにより接合伝達株における VapA タンパク質発現を調べた。さらに、ddY マウスの尾静脈内に投与し、感染 4 日後の肝臓中の生菌数を算出した。

【結果】 接合伝達効率は株間で異なり、ミミズ由来株への伝達効率が最も低かった。各株から抽出したプラスミドの *EcoRI* 切断像はドナー株のプラスミドと同一であった。全ての接合伝達株は VapA を発現し、それらのマウス肝臓での生菌数はレシピエント株と比較して有意に増加したが、ドナー株の生菌数と同程度まで増加したものは 5 株中 1 株であった。

【考察】 病原性プラスミドを保有することでマウス体内からの排除に抵抗し生残する能力は高くなるが、同一の病原性プラスミドが伝達されたにもかかわらず感染性に株間で相異が認められたことからマウス体内環境への適応に染色体上の遺伝子も関与することが推測された。

## 8-2

### 新規毒力関連抗原 VapN を発現するロドコッカス・エクイの病原性及び発現量の変化

○高瀬文瑛, 高橋 啓, 川島 豪, 沢田 望, 中山雄太, 鈴木康規, 角田 勤, 高井伸二

北里大学, 獣医学科, 獣医衛生

【背景】近年、ウシの肺肉芽腫性病変部から分離されたロドコッカス・エクイが新規毒力関連抗原 VapN をコードする線状プラスミド (pVAPN) を保有することが明らかとなり、国内外で VapN 遺伝子保有株の分離報告が続いていることから、反芻動物における広範な分布が示唆されている。我々はヒト AIDS 患者から VapB 遺伝子保有株に加えて、VapN 遺伝子保有株が分離されることを明らかにした。さらに Vap を保有する本菌の病原性評価手法としてマウスを用いた感染モデルを確立している。本研究では、VapN 遺伝子保有株のマウスにおける感染性と VapN 発現との関連性を検討した。

【方法】ヒト由来 VapN 遺伝子保有 10 菌株をそれぞれ  $1 \times 10^7$  cfu/ml マウスの腹腔内に投与した。投与 4 時間後及び 4 日後に肝臓、脾臓、肺を摘出し、臓器中生菌数を測定した。また、組換え GST-VapN タンパク質をマウスに免疫することで得られた VapN 免疫血清を用いて、ウェスタンブロットにより上記 10 株の VapN 発現を調べた。VapN の発現が弱い H13-27 株 (親世代菌株 ; F0) をマウスに投与し、感染した肝臓から本菌を分離した (F1 世代株)。さらに、F1 株を用いて上記手法を繰り返し F2 株を得た。これらの菌株について pVAPN コピー数を定量すると共に VapN 遺伝子及びタンパク質発現量を比較した。

【結果】マウス接種 4 日後における臓器中の生菌数は接種 4 時間後の菌数と比較し 10 菌株中 7 菌株で増加し、3 菌株で減少した。これら 3 菌株の VapN 発現量は他の株と比較して低かった。また、F0、F1、F2 株の菌体当たりの pVAPN のコピー数に差は認められなかったが、VapN 遺伝子および VapN タンパク質の発現量は F0 株に比べ F1、F2 株で増加した。

【考察】VapN はマウス体内におけるロドコッカス・エクイの増殖に関与することが示唆された。また由来が同一の株において、病原性プラスミドが脱落せず保持されたまま VapN の発現が増強した菌がマウス体内で選択された可能性が考えられた。

## レプトスピラ症病原体の宿主選好メカニズムに対する 生物物理学的手がかり

許駿<sup>1</sup>, 小泉信夫<sup>2</sup>, ○中村修一<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東北大・院農, <sup>2</sup>感染研・細菌 I, <sup>3</sup>東北大・院工

【目的】レプトスピラ症の病原体であるレプトスピラ属細菌は、250 以上もの血清型に分類され、ヒトも含む様々な哺乳動物に経皮的に感染する。感染後の症状は動物種によって異なり、一部の動物ではレプトスピラが腎臓に持続的に感染し、保菌動物となる。症状の程度は概してレプトスピラの血清型と宿主の組み合わせによるが、レプトスピラ属細菌の「宿主選好」のメカニズムは不明である。本研究では、レプトスピラに関する「感染には運動性が必須である」、「組織に接着した後も、組織表面を這うように動き回る(クロウリング)」という過去の報告から、レプトスピラの動物細胞に対する接着性と、接着後の運動性が本属細菌の宿主依存的な病原性に関わるとの仮説を立て、これを実験的に検証することを目的とした。

【方法】試料として、動物細胞 4 株と、それらに対して異なる病原性を示すレプトスピラ属細菌 3 株を使用した。顕微鏡で観察可能なフローチャンバーに単層状に培養した動物細胞上に、レプトスピラ培養液を添加した。レプトスピラには緑色蛍光タンパク質 GFP を導入し、落射蛍光顕微鏡法により個々のレプトスピラ細胞の運動と接着の様子を記録した。動物細胞とレプトスピラのすべての組み合わせ (計 12 ペア) について、「遊泳」、「接着」、「クロウリング」の 3 状態を仮定したキネティックモデルをもとに、各状態間の平衡定数とクロウリング速度を計測した。

【結果】遊泳⇄接着間の平衡定数 (接着しやすさ)、接着⇄クロウリング間の平衡定数 (クロウリングしやすさ)、クロウリング速度を 3 軸プロットしたところ、比較的強い病原性が報告されているペアでは、レプトスピラが細胞に接着しやすく、また各菌体のクロウリング速度が速いことが分かった。一方、非病原性レプトスピラは、動物細胞にある程度接着するものの、クロウリング細胞の割合はかなり低いことが分かった。

【考察】本研究は、レプトスピラの病原性と運動・接着の相関を示した。病原性や保菌については宿主免疫の動態も含めて議論すべきであるが、感染初期においては、運動と接着が宿主依存的な病原性の違いに関わる重要因子であると思われる。

## 細菌・真菌 4

### 9-1

#### *Porphyromonas gingivalis* ジンジパインにより マスト細胞が産生する IL-31 は、 歯肉上皮細胞の claudin-1 発現を抑制しバリア破綻を誘導する

○多田 浩之<sup>1</sup>, 西岡 貴志<sup>2</sup>, 沼崎 研人<sup>1</sup>, 根本 英二<sup>3</sup>, 松下 健二<sup>4</sup>, 菅原 俊二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大学 大学院歯学研究科 口腔分子制御学分野, <sup>2</sup>東北大学 大学院歯学研究科 口腔診断学分野, <sup>3</sup>東北大学 大学院歯学研究科 歯内歯周治療学分野,

<sup>4</sup>国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部

【目的】慢性歯周炎の病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* は、システインプロテアーゼであるジンジパインを産生し慢性炎症の誘導に関わる。一方、interleukin (IL)-31 は Th2 細胞やマスト細胞から産生され、上皮細胞から炎症性サイトカインやケモカイン産生を誘導し慢性炎症の誘導に関わる。本研究は、*P. gingivalis* ジンジパインによるマスト細胞の IL-31 産生、ならびに IL-31 によるタイトジャンクション分子 claudin-1 発現ならびに歯肉上皮バリアの影響を検討した。

【方法】マウス口腔に *P. gingivalis* W83 株を感染後、辺縁歯肉の IL-31 mRNA 発現を測定した。ヒトマスト細胞株 HMC-1 に *P. gingivalis* W83 株ならびに ATCC33277 株を感染後、IL-31 産生を測定した。ヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 細胞に *P. gingivalis* W83 株を感染後、claudin-1 発現を測定した。また、Ca9-22 細胞を Transwell filter で培養し、同細胞間の FITC-dextran 透過量により上皮バリア機能を評価した。

【結果】野生型マウス口腔に *P. gingivalis* を感染させると歯肉の IL-31 mRNA 発現が亢進し、同作用は肥満細胞欠損マウスで減弱した。HMC-1 細胞に *P. gingivalis* を感染させると IL-31 が産生され、同作用はジンジパイン欠損株で減弱した。Ca9-22 細胞に *P. gingivalis* を感染させると claudin-1 発現が亢進し、同作用は IL-31 により抑制された。Ca9-22 細胞の FITC-dextran 透過量は、*P. gingivalis* によりマスト細胞が産生した IL-31 により増加した。

【考察】*P. gingivalis* 感染によりマスト細胞が産生する IL-31 は、歯肉上皮細胞の claudin-1 発現を抑制し、歯肉上皮細胞の claudin-1 発現を抑制させることにより、歯肉上皮のバリア機能を破綻させることを明らかにした。



*Streptococcus intermedius* FbpI の  
フィブロネクチン結合領域の解析

○古玉芳豊、下山 佑、石河太知、佐々木実

岩手医科大学・微生物学講座・分子微生物学分野

【緒言】我々はこれまで *Streptococcus intermedius* のフィブロネクチン結合タンパク質 FbpI を見出し、フィブロネクチンおよび上皮細胞への付着性ならびにマウスにおける病原性を解析して、同分子の *S. intermedius* 感染における役割について検討してきた。今回、リコンビナント FbpI (rFbpI) を作製しその活性領域の解析を行った。

【材料と方法】*S. intermedius* GAI 1157 を用いた。rFbpI は発現ベクター (pGEX 4T-2) に FbpI の CDS を組みこみ GST 融合タンパク質として作製した。リコンビナント体は全長の rFbpI (aa549)、first Met から 265 番目の Lys までの N 末領域 rFbpI-N (aa265)、266 番目の Ala から 549 番目の Met までの C 末領域 rFbpI-C (aa284) を作製した。各リコンビナント体のフィブロネクチンへの付着性は、フィブロネクチン固相化マイクロプレートに各リコンビナント体を加え、室温で 2 時間インキュベーションした。洗浄後、ウサギ抗 GST 抗体、さらに二次抗体として ALP 標識抗ウサギ IgG 抗体を加えてインキュベーションし、基質添加後 405 nm における吸光度を測定した。

【結果と考察】rFbpI は固相化フィブロネクチンに対し有意の付着能を示した。rFbpI-C は全長同様、フィブロネクチンに対し付着性を示したが、rFbpI-N では認められなかった。このことより FbpI のフィブロネクチン結合領域は rFbpI-C に存在することが示唆された。

# 協賛団体

株式会社 日本微生物研究所

東北化学薬品株式会社

岩手県科学機器協会会員

共立医科器械 株式会社

株式会社 サガワ・サイエンス

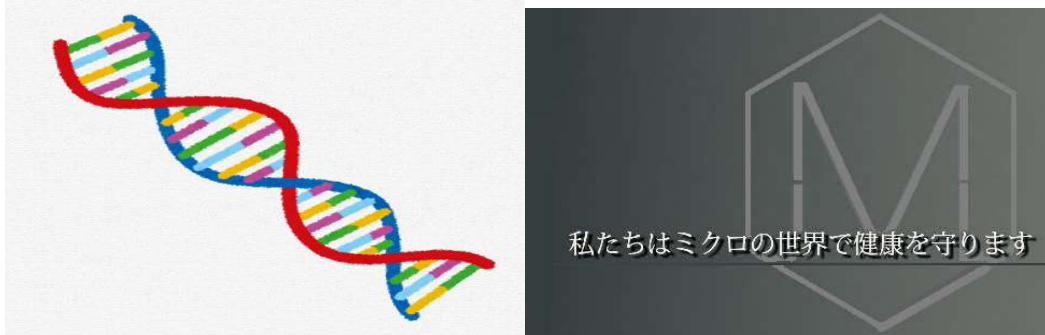
株式会社 成瀬器械

株式会社 成瀬理工

株式会社 南部医理科

本学会の趣旨にご賛同とご理解を賜り、ご支援を下さいました協賛団体の皆様に会員を代表して厚く御礼申し上げます。

第73回日本細菌学会東北支部総会  
会長 佐々木 実



臨床細菌検査：医療機関より臨床細菌検査・遺伝子検査受託  
腸内細菌検査：食品従事者等の検便検査(リアルタイムPCRプローブ法)  
ノロウイルス検査(リアルタイムPCRプローブ法) その他 遺伝子検査等受託  
食品細菌検査：食品衛生法上の登録検査機関業務 一般細菌検査 遺伝子検査等受託

私たちは 日本細菌学会東北支部 を応援しています

仙台市衛生検査所登録 第1号 厚生労働省登録検査機関(食品衛生法)

**(株)日本微生物研究所**

〒983-0034 宮城県仙台市宮城野区扇町2-3-36 Tel 022-783-8471 Fax 022-783-8433

# 岩手県科学機器協会会員

## 共立医科器械株式会社

代表取締役社長 小野寺 壽和  
盛岡市愛宕町15-9  
TEL 019-623-1205 FAX 019-653-5301

## 株式会社 サガワ・サイエンス

代表取締役社長 佐川 誠  
盛岡市上田4-13-30  
TEL 019-622-4365 FAX 019-622-4364

## 株式会社 成瀬器械

代表取締役社長 成瀬 雄二  
盛岡市厨川1-17-2  
TEL 019-648-8888 FAX 019-648-8889

## 株式会社 成瀬理工

代表取締役社長 成瀬 実  
盛岡市上田3-8-29  
TEL 019-623-1256 FAX 019-654-4750

## 株式会社 南部医理科

代表取締役社長 名郷根 正昭  
紫波郡矢巾町高田10-37  
TEL 019-697-3264 FAX 019-697-3519