

- (1)
- (2)
- :

IV. 23～24年度の課題

- (1) 開発したシステムを用いて、UC 発症患者の抗菌薬治療前後の糞便に内在する細菌種を定量化・特定する。
- (2) UC 患者特有の細菌種が同定された場合、患者菌株を単離し、動物実験等において発症に関与するかどうか検討する。
- (3)
- :

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) UC 発症に係る関与因子を解明できる。
- (2) ステロイド抵抗性 UC 患者への代替治療法として抗菌薬治療を科学的に提言することができる。
- (3) より有効な抗菌薬選択の基礎データとなりうる。
- :

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

※本研究費において行った研究に対するもののみを記載してください。

※研究代表者、研究分担者、研究協力者ごとに、発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、

知的財産権の取得及び申請状況、ガイドライン名・作成主体・策定年月日等を記載して下さい。

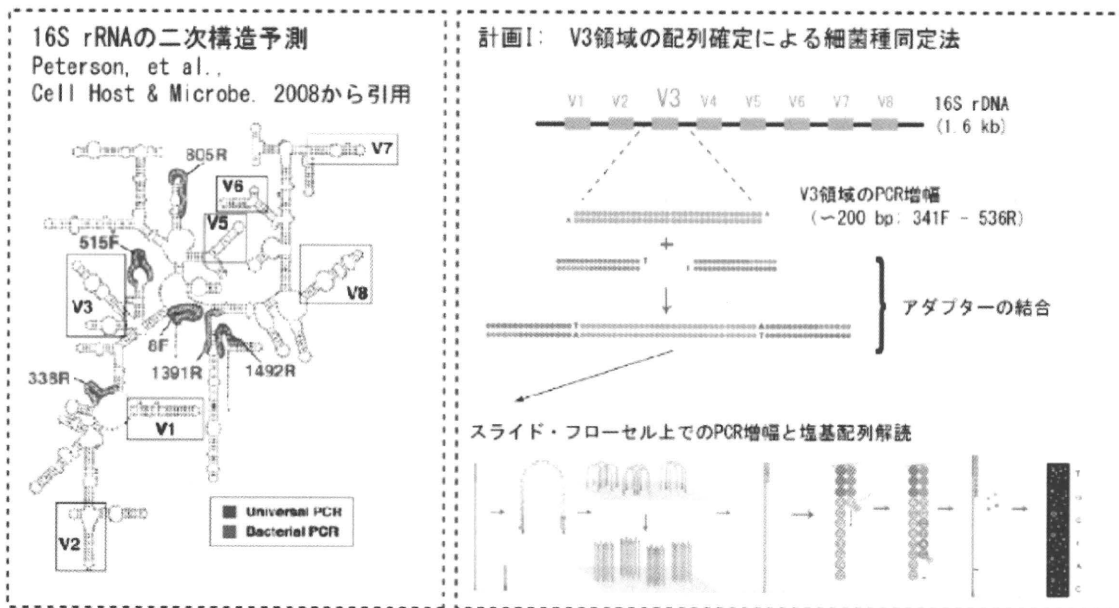
※執筆者全員を明記し、当該研究者名に下線を引いてください。

- (1) 無し
- (2)
- (3)
- :

Ⅶ. Ⅲ(1年間の研究成果)の概要図等

※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。

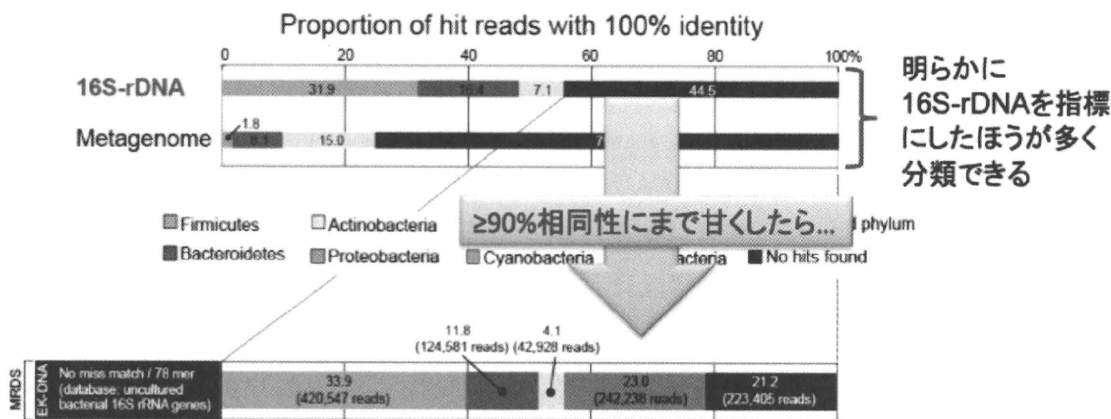
16S-rDNAを元にした網羅的細菌叢解析



80 merのリードを 1000万本解読

従来の16S-rDNAを元にした細菌フローラ解析法では、 10^{11} 菌/gの菌数を有する腸内細菌フローラの氷山の一角しか検討されてこなかった。本研究課題により、 $\sim 10^4$ 菌/gの検出感度まで深く解析・同定できる方法を開発した。

16S-rDNAを指標にした細菌フローラ解析



16S-rDNAを指標にした場合と、網羅解読によるメタゲノム解析法とで比較検討した。16S-rDNAを指標にしたほうが多くの細菌種を同定することができ、16S-rDNAデータベースによる判定のほうが好ましいことが分かった。この結果は、現状の細菌ゲノム・データベース(Microbiome)は未だ不十分であり、網羅的な細菌種の特定のためにはより広範なデータベース策定が必須であることを示している。

●研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

・過去に所属した研究機関の履歴

筑波大学大学院博士課程医学研究科生物系専攻	平成11年3月修了	博士(医学)取得
順天堂大学医学部細菌学	助手	自 平成11年4月 至 平成15年3月 4年
ワシントン大学・微生物学	ポストドクトラルフェロー	自 平成15年4月 至 平成16年3月 1年
筑波大学大学院人間総合科学研究科	講師	自 平成16年4月 至 平成19年2月 2年11月

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

東京慈恵会医科大柏病院・消化器肝臓内科・教授 大草敏史
 国立感染症研究所・感染病理部・部長 佐多徹太郎
 国立感染症研究所・寄生動物部・部長 野崎智義
 国立感染症研究所・細菌第1部・部長 大西真
 国立感染症研究所・細菌第2部・部長 荒川宜親
 国立感染症研究所・ウイルス第1部・主任研究官 水谷哲也
 国立感染症研究所・獣医科学部・室長 井上智
 国立成育医療研究センター研究所・免疫アレルギー研究部・室長 阿部淳

・主な研究課題

1. ブドウ球菌属のゲノム解析
2. バイオテロ・新興感染症対策としての超高速ゲノム解読システムの構築
3. 薬剤耐性食中毒菌に係るゲノム配列レベルでの検出系開発
4. 感染症の関与が疑われる難治性疾患の病原体検索・解析

・これまでの研究実績

※本研究の成果以外の実績も記載してください。

(成果概要VIと重複するものや本研究成果によるものは、**太字・斜体**文字で記載してください)

※発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、知的財産権の取得及び申請状況、研究課題の実施を通じた政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)のうち、主なものを選択し、直近年度から順に記載してください。

1. 著書

- (1) Makoto Kuroda, and Keiichi Hiramatsu.
Chapter "Genome sequencing and annotation: an overview" in *Genomics, Proteomics and Clinical Bacteriology*. Humana Press Inc. (2003) (筆) (ゲノム配列解読と遺伝子予測法)
- (2) Hiramatsu K., Kuroda M., Baba T., K. Okuma.
Application of Genomic Information to the Diagnosis, Management and Control of Bacterial Infections: *Staphylococcus aureus* model. *Diagnostic Molecular Microbiology* 2nd Ed. D. Persing. ASM Press. (2002)
(他) (黄色ブドウ球菌をモデルにしたゲノム情報による細菌感染症の診断・マネジメント)

2. 学術論文

1) 欧文.

- (1) Kuroda M., Serizawa M, Okutani A, Sekizuka T, Banno S, Inoue S. Genome-wide single nucleotide polymorphism typing method for identification of *Bacillus anthracis* species and strains among *B. cereus* group species. *J Clin Microbiol*. 2010 Aug;48(8):2821-9. Epub 2010 Jun 16.
(筆) (炭疽菌のゲノムワイドな SNPs を利用した株系統検査法の開発)
- (2) Kuroda M., Katano H, Nakajima N, Tobiume M, Ainai A, Sekizuka T, Hasegawa H, Tashiro M, Sasaki Y, Arakawa Y, Hata S, Watanabe M, Sata T. Characterization of Quasispecies of Pandemic 2009 Influenza A Virus (A/H1N1/2009) by De Novo Sequencing Using a Next-Generation DNA Sequencer. *PLoS ONE* 2010 April 23rd. [Epub ahead of print], 2010
(筆) (次世代シーケンサーの網羅解読法によるパンデミックインフルエンザウイルス A/H1N1/2009 の多種性解析)
- (3) Serizawa M, Sekizuka T, Okutani A, Banno S, Sata T, Inoue S, Kuroda M. Genome-wide screening for novel genetic variations associated with ciprofloxacin resistance in *Bacillus anthracis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Apr 12. [Epub ahead of print], 2010
(他) (炭疽菌キノロン耐性変異のゲノムワイドなスクリーニング)
- (4) Nakajima N, Hata S, Sato Y, Tobiume M, Katano H, Kaneko K, Nagata N, Kataoka M, Ainai A, Hasegawa H, Tashiro M, Kuroda M., Odai T, Urasawa N, Ogino T, Hanaoka H, Watanabe M, Sata T. The first autopsy case of pandemic influenza (A/H1N1pdm) virus infection in Japan: detection of a high copy number of the virus in type II alveolar epithelial cells by pathological and virological examination. *Jpn J Infect Dis*. 63(1): 67-71, 2010 Jan.
(他) (本邦初のパンデミックインフルエンザウイルス A/H1N1/2009 死亡症例報告)
- (5) Okutani A, Sekizuka T, Boldbaatar B, Yamada A, Kuroda M., Inoue S. Phylogenetic typing of *Bacillus anthracis* isolated in Japan by multiple locus variable-number tandem repeats and the comprehensive single nucleotide polymorphism. *J Vet Med Sci*. 72(1): 93-97. 2010 Jan; Epub 2009 Nov 13.
(他) (多様重複配列と塩基変異による炭疽菌日本分離株の系統分類解析)
- (6) Yamao T, Eshita Y, Kihara Y, Satho T, Kuroda M., Sekizuka T, Nishimura M, Sakai K, Watanabe S, Akashi H, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, Miyata T, Sakata A, Hosokawa M, Nakashima M, Kashige N, Miake F, Fukushi S, Nakauchi M, Saijo M, Kurane I, Morikawa S, Mizutani T. Novel virus discovery in field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). *Arch Virol*. 154(1): 153-158. 2009; Epub 2008 Dec 16.
(他) (改変迅速ウイルス決定法 v4 による蚊唾液腺の新規ウイルスの同定)
- (7) Kuroda M., Ito R, Tanaka Y, Yao M, Matoba K, Saito S, Tanaka I, Ohta T. *Staphylococcus aureus* surface protein SasG contributes to intercellular autoaggregation of *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun*. 377(4): 1102-1106. 2008 Dec 26; Epub 2008 Nov 5.
(筆) (黄色ブドウ球菌表層タンパク質 SasG による菌体自己凝集の解析)

- (8) Sakamoto S, Tanaka Y, Tanaka I, Takei T, Yu J, Kuroda M, Yao M, Ohta T, Tsumoto K. Electron microscopy and computational studies of Ebh, a giant cell-wall-associated protein from *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun*. 376(2): 261-266. 2008 Nov 14; Epub 2008 Sep 2.
(他) (黄色ブドウ球菌の細胞表層巨大タンパク質 Ebh の電子顕微鏡像とその構造解析)
- (9) Watanabe M, Tanaka Y, Suenaga A, Kuroda M, Yao M, Watanabe N, Arisaka F, Ohta T, Tanaka I, Tsumoto K. Structural basis for multimeric heme complexation through a specific protein-heme interaction: the case of the third neat domain of IsdH from *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem*. 283(42): 28649-28659. 2008 Oct 17; Epub 2008 Jul 30.
(他) (黄色ブドウ球菌の鉄獲得系 IsdH のへム結合ドメイン構造解析)
- (10) Kuroda M, Tanaka Y, Aoki R, Shu D, Tsumoto K, Ohta T. *Staphylococcus aureus* giant protein Ebh is involved in tolerance to transient hyperosmotic pressure. *Biochem Biophys Res Commun*. 374(2): 237-241. 2008 Sep 19; Epub 2008 Jul 17.
(筆) (黄色ブドウ球菌の細胞表層巨大タンパク質 Ebh による一過性の高浸透圧適応機構の解析)
- (11) Miyafusa T, Tanaka Y, Kuroda M, Ohta T, Tsumoto K. Expression, purification, crystallization and preliminary diffraction analysis of CapF, a capsular polysaccharide-synthesis enzyme from *Staphylococcus aureus*. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*. 64(Pt 6): 512-515. 2008 Jun 1; Epub 2008 May 23.
(他) (黄色ブドウ球菌の莢膜合成酵素 CapF の結晶構造解析)
- (12) Higashide M, Kuroda M, Omura CT, Kumano M, Ohkawa S, Ichimura S, Ohta T. Methicillin-resistant *Staphylococcus saprophyticus* isolates carrying staphylococcal cassette chromosome *mec* have emerged in urogenital tract infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 52(6): 2061-2068. 2008 Jun; Epub 2008 Mar 24.
(筆) (staphylococcal cassette chromosome *mec* を保有する腐生ブドウ球菌の伝播とその遺伝子構造解析)
- (13) Tanaka Y, Sakamoto S, Kuroda M, Goda S, Gao YG, Tsumoto K, Hiragi Y, Yao M, Watanabe N, Ohta T, Tanaka I. A helical string of alternately connected three-helix bundles for the cell wall-associated adhesion protein Ebh from *Staphylococcus aureus*. *Structure*. 16(3): 488-496. 2008 Mar.
(他) (黄色ブドウ球菌の細胞表層巨大タンパク質 Ebh のヘリカル線状構造の解析)
- (14) Tanaka Y, Kuroda M, Yasutake Y, Yao M, Tsumoto K, Watanabe N, Ohta T, Tanaka I. Crystal structure analysis reveals a novel forkhead-associated domain of ESAT-6 secretion system C protein in *Staphylococcus aureus*. *Proteins*. 69(3): 659-664. 2007 Nov 15.
(他) (黄色ブドウ球菌の ESAT-6 の分泌系タンパク質 C に存在する新規フォークヘッド・ドメインの結晶構造解析)
- (15) Kuroda M, Nagasaki S, Ito R, Ohta T. Sesquiterpene farnesol as a competitive inhibitor of lipase activity of *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett*. 273(1): 28-34. 2007 Aug; Epub 2007 Jun 7.
(筆) (天然物テルペノイドであるファルネソールは黄色ブドウ球菌リパーゼの競合阻害剤である)
- (16) Kuroda H, Kuroda M, Cui L, Hiramatsu K. Subinhibitory concentrations of beta-lactam induce haemolytic activity in *Staphylococcus aureus* through the SaeRS two-component system. *FEMS Microbiol Lett*. 268(1): 98-105. 2007 Mar.
(他) (最小発育濃度以下の β ラクタム剤は、SaeRS 二成分制御系を介して黄色ブドウ球菌の溶血活性を増大させる)
- (17) Kuroda M, Nagasaki S, Ohta T. Sesquiterpene farnesol inhibits recycling of the C55 lipid carrier of the murein monomer precursor contributing to increased susceptibility to beta-lactams in

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 59(3): 425-432. 2007 Mar; Epub 2007 Jan 22. Erratum in: *J Antimicrob Chemother.* 2008 Jan;61(1):230.

(筆) (天然物テルペノイドであるファルネソールは黄色ブドウ球菌の C55 リピッドサイクルを阻害することにより、 β ラクタム剤による感受性を増大させる)

- (18) Masato Higashide, Makoto Kuroda, Saburo Ohkawa and Toshiko Ohta. Evaluation of a Cefoxitin Disk Diffusion Test for the Detection of *mecA*-Positive Methicillin-resistant *Staphylococcus saprophyticus*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2006 27: 500-4.

(他) (セフォキシチン・ディスクによる *mecA* 陽性腐性ブドウ球菌の検出法改良)

- (19) Takeuchi F, Watanabe S, Baba T, Yuzawa H, Ito T, Morimoto Y, Kuroda M, Cui L, Takahashi M, Ankai A, Baba S, Fukui S, Lee JC, Hiramatsu K. Whole-genome sequencing of *Staphylococcus haemolyticus* uncovers the extreme plasticity of its genome and the evolution of human-colonizing staphylococcal species. *J. Bacteriol.* 187: 7292-7308. 2005 Nov.

(他) (*Staphylococcus haemolyticus* ゲノムが明らかにしたヒト常在細菌としてのゲノム可塑性とその進化)

- (20) Makoto Kuroda, Atsushi Yamashita, Hideki Hirakawa, Miyuki Kumano, Kazuya Morikawa, Masato Higashide, Atsushi Maruyama, Yumiko Inose, Kimio, Matoba, Hidehiro Toh, Satoru Kuhara, Masahira Hattori, and Toshiko Ohta. Whole genome sequence of *Staphylococcus saprophyticus* reveals the pathogenesis of uncomplicated urinary tract infection. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 13272-7. 2005 Sep 13.

(筆) (単純性尿路感染症を発症する腐性ブドウ球菌の全ゲノム解読により明らかになった病原性因子)

- (21) Ohta, T., Hirakawa, H., Morikawa, K., Maruyama, A., Inose, Y., Yamashita, A., Oshima, K., Kuroda, M., Hattori, M., Hiramatsu, K., Kuhara, S., and Hayashi, H. Nucleotide substitutions in *Staphylococcus aureus* strains, Mu50, Mu3, and N315. *DNA Res* 11: 51-56. 2004 Feb 29.

(他) (黄色ブドウ球菌 Mu50, Mu3, N315 株における塩基置換の解析)

- (22) Makoto Kuroda, Kuroda, H., Oshima, T., Takeuchi, F., Mori, H., and Hiramatsu, K. Two-component system *VraSR* positively modulates the regulation of cell-wall biosynthesis pathway in *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol* 49: 807-821. 2003 Aug.

(筆) (黄色ブドウ球菌の二成分制御系 *VraSR* は、細胞壁生合成系を正に転写調節する)

- (23) Baba, T., F. Takeuchi, M. Kuroda, H. Yuzawa, K. Aoki, A. Oguchi, Y. Nagai, N. Iwama, K. Asano, T. Naimi, H. Kuroda, L. Cui, K. Yamamoto, and K. Hiramatsu. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet* 359:1819-27. 2002 May 25.

(他) (高病原性・市中感染型 MRSA のゲノム解読と病原性因子の同定)

- (24) Hiramatsu, K., L. Cui, M. Kuroda, and T. Ito. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 9:486-93. 2001 Oct.

(他) (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の出現とその進化)

- (25) Kuroda, M., T. Ohta, I. Uchiyama, T. Baba, H. Yuzawa, I. Kobayashi, L. Cui, A. Oguchi, K. Aoki, Y. Nagai, J. Lian, T. Ito, M. Kanamori, H. Matsumaru, A. Maruyama, H. Murakami, A. Hosoyama, Y. Mizutani-Ui, N. K. Takahashi, T. Sawano, R. Inoue, C. Kaito, K. Sekimizu, H. Hirakawa, S. Kuhara, S. Goto, J. Yabuzaki, M. Kanehisa, A. Yamashita, K. Oshima, K. Furuya, C. Yoshino, T. Shiba, M. Hattori, N. Ogasawara, H. Hayashi, and K. Hiramatsu. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 2001 357:1225-40. 2001 Apr 21.

(筆) (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の全ゲノム配列解読)

- (26) Kuroda, M., K. Kuwahara-Arai, and K. Hiramatsu. Identification of the up- and down-regulated genes in vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strains Mu3 and Mu50 by cDNA differential hybridization method. *Biochem Biophys Res Commun* 269:485-90. 2000 Mar 16.

(筆) (cDNA ディフアレンシャル・ハイブリダイゼーション法による黄色ブドウ球菌のバンコマイシン耐性関連遺伝子の同定)

- (27) Kuroda, M., H. Hayashi, and T. Ohta. Chromosome-determined zinc-responsible operon *czr* in *Staphylococcus aureus* strain 912. *Microbiol Immunol* 43:115-25. 1999.
(筆) (黄色ブドウ球菌 912 株の染色体局在性・亜鉛耐性オペロン *czr* の同定)
- (28) Kuroda, M., D. Kobayashi, K. Honda, H. Hayashi, and T. Ohta. The *hsp* operons are repressed by the *hrc37* of the *hsp70* operon in *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Immunol* 43:19-27. 1999.
(筆) (熱応答蛋白質 Heat Shock Protein *hsp* オペロンは Hrc37 蛋白質により転写抑制される)
- (29) Ohta, T., S. Nettikadan, F. Tokumasu, H. Ideno, Y. Abe, M. Kuroda, H. Hayashi, and K. Takeyasu. Atomic force microscopy proposes a novel model for stem-loop structure that binds a heat shock protein in the *Staphylococcus aureus* HSP70 operon. *Biochem Biophys Res Commun* 226:730-4. 1996 Sep 24.
(他) (原子間力顕微鏡により見いだした黄色ブドウ球菌の HSP70 オペロン転写調節領域のステム・ループ構造と結合因子)
- (30) Kuroda, M., T. Ohta, and H. Hayashi. Isolation and the gene cloning of an alkaline shock protein in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun* 207:978-84. 1995 Feb 27.
(筆) (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌のアルカリ誘導蛋白質の精製と遺伝子クローニング)
- (31) Ohta, T., K. Saito, M. Kuroda, K. Honda, H. Hirata, and H. Hayashi. Molecular cloning of two new heat shock genes related to the *hsp70* genes in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol* 176:4779-83. 1994 Aug.
(他) (黄色ブドウ球菌 Hsp70 オペロンを構成する新規熱応答蛋白質の遺伝子クローニング)
- (32) Ohta, T., K. Honda, M. Kuroda, K. Saito, and H. Hayashi. Molecular characterization of the gene operon of heat shock proteins HSP60 and HSP10 in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun* 193:730-7. 1993 Jun 15.
(他) (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の熱応答蛋白質 HSP60 と HSP10 の遺伝子解析)
- 2) 邦文
- (1) 黒田誠 (筆) ブドウ球菌属のゲノム解析とゲノムから見える薬剤耐性・病原因子の解析
日本細菌学雑誌 61 卷(2): 235-41 2006 年 6 月
- (2) 黒田誠、平松啓一 (筆) バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌の薬剤耐性機構
蛋白質・核酸・酵素 45:1329-38. 2000 年

平成 22 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：コクサッキーA16型ウイルス特異的受容体の同定と機能解析

課題番号：H22-新興-若手-020

予定期間：H22年度からH23年度まで

研究代表者：西村順裕

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：ウイルス第二部

職名：主任研究官

年次別研究費(交付決定額)：1年目 2,000,000 円

I. 研究の意義

(1) 手足口病は四肢末端・口腔粘膜の水疱性発疹を主症状とし、幼児に流行する。患者からはエンテロウイルス属であるコクサッキーA16型ウイルス(CVA16)、エンテロウイルス71型(EV71)が頻繁に分離される。

(2) 手足口病の症状は一般に軽いが、EV71感染者では時として髄膜炎・脳炎・脳症を起こし重症化し、死に至る場合がある。なぜCVA16感染は重症化せずに経過するのかは解明されていない。

(3) 申請者は、EV71とCVA16が細胞に感染する際に結合する受容体として、P-selectin glycoprotein ligand-1(PSGL-1)を発見した。また、PSGL-1を受容体としないEV71(PSGL-1非結合株)が存在することを明らかにした。さらに、Tリンパ球細胞株であるJurkat細胞には、未知のEV71(PSGL-1非結合株)受容体およびCVA16受容体が存在することを明らかにした。

II. 研究の目的、期待される成果

有効な治療法を確立するためには、感染の分子基盤を解明することが必要である。この解明には、重症化を起こしやすいEV71と、重症化を起こさないが遺伝学的に最も近縁なCVA16の、病原性発現機構を比較解析することが妥当であろう。そのため、CVA16がJurkat細胞に感染するための受容体の同定を目的とする。

III. 1年間の研究成果

・研究代表者 Jurkat細胞において、EV71(PSGL-1結合株、非結合株)とCVA16の増殖を検討した(Ⅶ. 概要図①②③)。

(1) Jurkat細胞でのEV71(PSGL-1結合株)の増殖は、硫酸化阻害剤で阻害された。つまり、PSGL-1の硫酸化が、PSGL-1とEV71の結合に重要であることを明らかにした(概要図①)。

(2) Jurkat細胞でのEV71(PSGL-1非結合株)の増殖は、硫酸化阻害剤で阻害されなかった。つまり、EV71(PSGL-1非結合株)未知受容体は、硫酸化を受けない分子であることが明らかとなった(概要図②)。

(3) Jurkat細胞でのCVA16の増殖は、抗PSGL-1抗体では阻害されなかった。しかし、硫酸化阻害

剤で阻害された。したがって、CVA16 未知受容体は PSGL-1 以外の硫酸化を受ける分子であることが明らかとなった (概要図③)。

IV. 23 年度の課題

- (1) Jurkat 細胞における CVA16 受容体は、硫酸化を受ける分子であることが明らかとなったので、これを手がかりに受容体の絞り込みを行う。
- (2) Jurkat 細胞 cDNA ライブラリーからの発現クローニングにより、CVA16 受容体の同定を試みる。

V. 行政施策への貢献の可能性

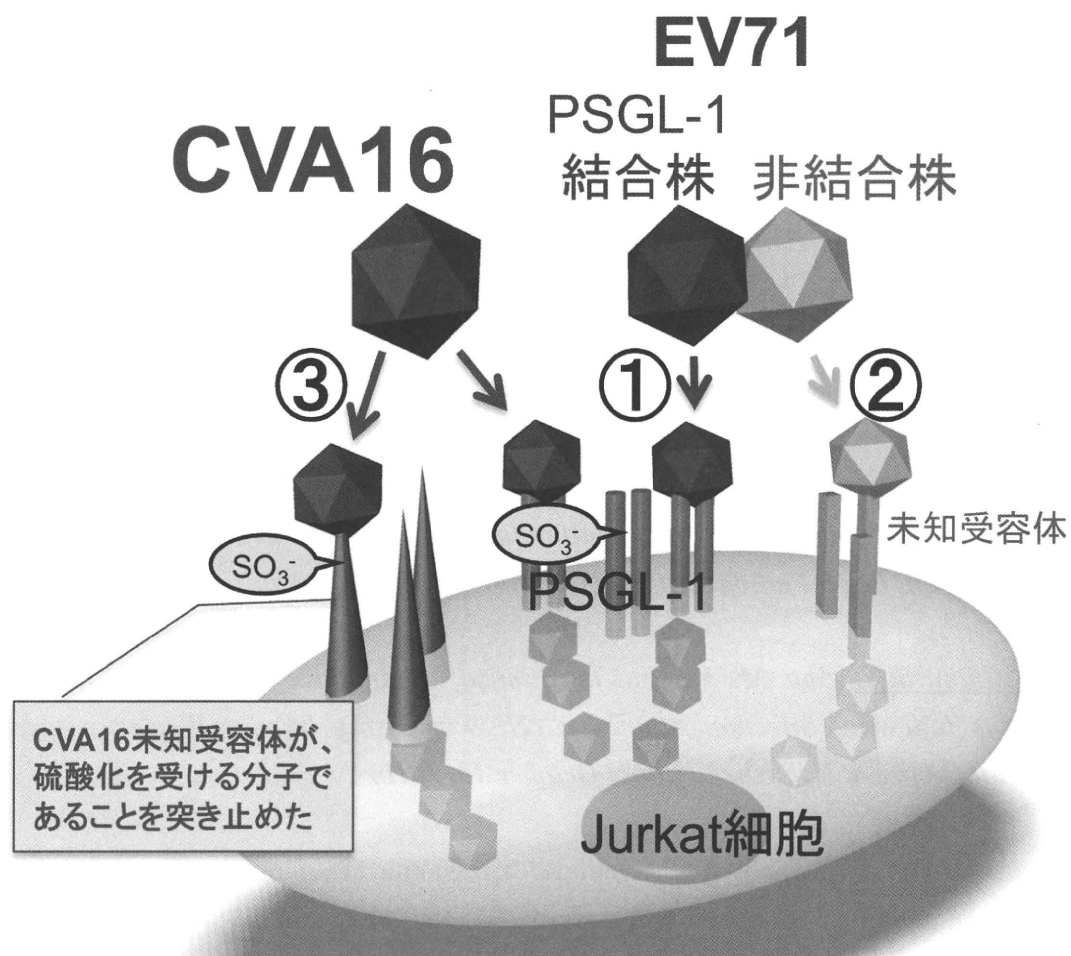
CVA16 感染はなぜ軽症の経過を辿るのかを解明するためには、重症化し遺伝学的に最も近縁な EV71 感染と比較解析するのが妥当であろう。CVA16 に関する本研究成果と、申請者が現在までに行ってきた EV71 研究の成果とを比較することにより、CVA16 と EV71 の病原性の違いに関する分子的基盤を解明できる。その結果、EV71 に特有な中枢神経疾患に効果的な手足口病ワクチン、抗ウイルス薬の開発に展開できる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

・ 研究代表者

- (1) Nishimura, Y., Wakita, T., and Shimizu, H. Tyrosine sulfation of the amino terminus of PSGL-1 is critical for enterovirus 71 infection. *PLoS Pathog.* 2010 6(11):e1001174.
- (2) Miyamura, K., Nishimura, Y., Abo, M., Wakita, T., and Shimizu, H. Adaptive mutations in the genomes of enterovirus 71 strains following infection of mouse cells expressing human P-selectin glycoprotein ligand-1. *J. Gen. Virol.* in press (published online, October 13, 2010).

Ⅶ. Ⅲ(1年間の研究成果)の概要図等



●**研究代表者の研究歴等**

・**過去に所属した研究機関の履歴**

大阪大学微生物病研究所
東京大学大学院農学生命科学研究科

・**主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)**

国立感染症研究所： ウイルス第二部部長 脇田隆宇
ウイルス第二部第二室室長 清水博之
前所長 宮村達男
大阪大学微生物病研究所： エマージング感染症研究センター教授 松浦善治
東京大学大学院： 農学生命科学研究科 獣医微生物学教室教授 見上彪・高橋英司

・**主な研究課題**

手足口病ウイルスの感染機構に関する研究

・**これまでの研究実績**

1. Nishimura, Y., Wakita, T., Shimizu, H. Tyrosine Sulfation of the Amino Terminus of PSGL-1 Is Critical for Enterovirus 71 Infection. *PLoS Pathog.* 2010 6(11):e1001174
2. Miyamura, K., Nishimura, Y., Abo, M., Wakita, T., Shimizu, H. Adaptive mutations in the genomes of enterovirus 71 strains following infection of mouse cells expressing human P-selectin glycoprotein ligand-1. *J. Gen. Virol.* (In press. Published online; October 13, 2010)
3. Nishimura, Y., Shimojima, M., Tano, Y., Miyamura, T., Wakita, T., Shimizu, H. Human P-selectin glycoprotein ligand-1 is a functional receptor for enterovirus 71. *Nat. Med.* 2009, 15(7)794-7
4. Nishimura, Y., Shimojima, M., Tohya, Y., Akashi, H., and Miyazawa, T., Molecular cloning of a cDNA encoding the feline CD62L. *J. Vet. Med. Sci.*, 2007. 69:81-4.
5. Okamoto, T., Nishimura, Y., Ichimura, T., Suzuki, K., Miyamura, T., Suzuki, T., Moriishi, K., and Matsuura, Y., Hepatitis C virus RNA replication is regulated by FKBP8 and Hsp90. *EMBO J.*, 2006. 25:5015-25.
6. Nishimura, Y., Shimojima, M., Sato, E., Izumiya, Y., Tohya, Y., Mikami, T., and Miyazawa, T., Downmodulation of CD3ε expression in CD8α⁺β⁻ T cells of feline immunodeficiency virus-infected cats. *J. Gen. Virol.*, 2004. 85:2585-9.

7. Nishimura, Y., Shimojima, M., Miyazawa, T., Sato, E., Nakamura, K., Izumiya, Y., Ikeda, Y., Mikami, T., and Takahashi, E., Molecular cloning of the cDNAs encoding the feline B-lymphocyte activation antigen B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) homologues which interact with human CTLA4-Ig. *Eur. J. Immunogenet.*, 2000. 27:427-30.
8. Nishimura, Y., Miyazawa, T., Ikeda, Y., Izumiya, Y., Nakamura, K., Sato, E., Mikami, T., and Takahashi, E., Molecular cloning and sequencing of the cDNA encoding the feline FcγRIIIA (CD16) homologue. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2000. 73:353-9.
9. Nishimura, Y., Miyazawa, T., Ikeda, Y., Izumiya, Y., Nakamura, K., Sato, E., Mikami, T., and Takahashi, E., Molecular cloning and sequencing of a cDNA encoding the feline cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA4) homologue. *Eur. J. Immunogenet.*, 2000. 27:99-101.
10. Nishimura, Y., Miyazawa, T., Ikeda, Y., Izumiya, Y., Nakamura, K., Sato, E., Mikami, T., and Takahashi, E., Molecular cloning and sequencing of a cDNA encoding the feline T-cell activation antigen CD26 homologue. *Immunogenetics*, 1999. 50:366-8.
11. Nishimura, Y., Miyazawa, T., Ikeda, Y., Izumiya, Y., Nakamura, K., Sato, E., Mikami, T., and Takahashi, E., Molecular cloning and sequencing of a cDNA encoding the feline T-cell antigen CD28 homologue. *Immunogenetics*, 1999. 50:369-70.
12. Nishimura, Y., Miyazawa, T., Ikeda, Y., Izumiya, Y., Nakamura, K., Cai, J.-S., Sato, E., Kohmoto, M., Mikami, T., and Takahashi, E., Characterization of feline CD56 molecule expressed on insect cells by the baculovirus expression system. *J. Vet. Med. Sci.*, 1999. 61:701-3.
13. Nishimura, Y., Miyazawa, T., Ikeda, Y., Izumiya, Y., Nakamura, K., Cai, J.-S., Sato, E., Kohmoto, M., and Mikami, T., Molecular cloning and sequencing of feline CD56 (N-CAM). *Eur. J. Immunogenet.*, 1999. 26:29-32.
14. Nishimura, Y., Miyazawa, T., Ikeda, Y., Izumiya, Y., Nakamura, K., Cai, J.-S., Sato, E., Kohmoto, M., and Mikami, T., Molecular cloning and sequencing of feline stromal cell-derived factor-1α and β. *Eur. J. Immunogenet.*, 1998. 25:303-5.
15. Nishimura, Y., Miyazawa, T., Ikeda, Y., Izumiya, Y., Nakamura, K., Cai, J.-S., Sato, E., Kohmoto, M., and Mikami, T., Molecular cloning and expression of feline CD3ε. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1998. 65:43-50

申請中の特許「エンテロウイルス感染症の診断薬および予防・治療用薬剤」特願 2008-330983

2 年目研究課題

平成 22 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題： 性感染症に関する予防、治療の体系化に関する研究

課題番号： H21-新興-一般-001

予定期間： H21 年度から H23 年度まで

研究代表者： 小野寺 昭一

所属研究機関： 東京慈恵会医科大学

所属部局： 感染制御部

職名： 客員教授

年次別研究費(交付決定額)：1 年目 21,000,000 円 2 年目 16,800,000 円

I. 研究の意義

- (1) 性感染症の定点調査を検証するサーベイランスが行われておらず、性感染症患者の全数調査や無症候性性感染症患者の数的な実態も把握されていない。
- (2) 梅毒の自動化法と倍数希釈法の相関性が評価されていない。
- (3) 性行動の多様化に伴う咽頭の性感染症病原体の実態が把握されていない。
- (4) 性器ヘルペスの蔓延防止のための血清疫学調査や、尖圭コンジローマにおける HPV 型別蔓延状況の実態把握が行われていない。
- (5) 薬剤耐性淋菌の顕著な増加に対し拡散の実態が検討されていない。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) わが国の性感染症患者の数的な実態把握のため、7 モデル県における性感染症の全数調査を行って発生動向調査を検証するとともに、若者における性感染症の無症候感染者についても実態を調査し、性感染症の予防と治療に結びつけられるシステムの構築が可能になる。
- (2) STD 患者、耳鼻咽喉科受診者等の咽頭の性感染症病原体保有状況について質的な実態把握ができる。梅毒の届け出基準が見直され、治癒判定基準も明らかになる。
- (3) 性器ヘルペスについてはウイルス型の血清疫学調査を、HPV については HPV-DNA 検出法により HPV 型別蔓延状況の調査を、薬剤耐性淋菌については分子型別法を確立することにより、これらの性感染症の将来予測が可能となる。
- (4) 疾患毎の対策を明らかにし、総合的な性感染症の蔓延予防策と治療体系が構築できる。

III. 2 年間の研究成果

・研究代表者

- (1) 性感染症患者の数的実態把握のための研究

平成 19 年度から 21 年度までの 3 年間の 7 モデル県における性感染症の全数調査と発生動向調査との比較では年齢分布は比較的一致しており乖離は大きくなかった。一方、定点調査では性器クラミジア、淋菌感染症の減少傾向がみられるが、全数調査では男性の性器クラミジア感染症で増加傾向が認められた。

- (2) 若者における性器クラミジアの無症候感染者の調査はイベント及び大学の学園祭で行ったが、陽性者は男性で 4.0%、女性で 3.6%で平成 20 年と同程度であった。

・研究分担者(川名 尚)

- (1) 性器ヘルペスにおける HSV-1 と HSV-2 の分布について検討した結果、2000 年代になり HSV-1 の占める割合が増加していた。また、再発例においても HSV-1 が増加していた。

・研究分担者(本田まりこ)

- (1) 梅毒の診断における自動化法検査キット間の相関性の評価のため早期梅毒患者から血清 26 検体を採取して検討したが、倍数希釈法と自動化法で強い相関性を認めた。

・研究分担者（大西 眞）

(1) 淋菌では中部地方の複数の施設からの分離株について MLST 法と NG-MAST 法を用いた型別を実施し、ST7363 および ST1901 が高頻度で認められた。NG-MAST 法では 180 のタイプに型別され高解像度の解析が可能であることが示された。さらに世界で初めてのセフトリアキソン体制淋菌の性状解析を行い、ST7363 でありセフィキシム耐性淋菌の分子進化によることが示唆された。

・研究協力者（川名 敬）

(1) HPV11 は、男性の尖圭コンジローマから優位に検出され、女性では、発癌性 HPV との混合感染が半数に見つかったが、男性では 1 例も検出されなかった。尖圭コンジローマ患者の HPV 分布は、男性と女性で異なることが判明した。

IV. 23 年度の課題

(1) 性感染症患者の数的実態把握のための研究

7 モデル県における性感染症の全数調査を継続して行う。より詳細な解析を行うために流動人口が多い県と少ない県において、性感染症患者の年齢や地域性を考慮して調査する。郵送による若者の無症候の性感染症患者の調査を継続して行い、検査結果を受診に結び付ける体制を構築する。梅毒に関しては、梅毒患者の治療に関わる倍数希釈法と自動化法の相関性の評価を行う。この結果を梅毒患者の数的実態把握の調査に応用できるか検討する。

(2) 性行動の多様化などの行動学的な背景調査

STD 患者、MSM 患者、耳鼻咽喉科患者などを対象として性感染症病原体の咽頭における保有状況の調査を行う。うがい液などを用いた診断法で調査し、性行動についても調査する。

(3) 病原体の微生物学的な解析の実施による質的な実態把握に関する研究

1) 性器ヘルペス：①血清疫学的に HSV-1 と HSV-2 の動向を調べると同時に HSV 感受性者の動向をみて将来のワクチン戦略への資料とする。②ウイルス排泄部位について検討しコンドームによる感染予防法への資料とする。③性器ヘルペス合併妊婦について母子感染予防法を確立する。

2) 尖圭コンジローマ：男性患者（HIV 感染者を含む）、女性尖圭コンジローマ患者を対象とし、HPV6/11 の分布の違い、発癌性 HPV の混合感染の頻度を調査する。さらに、不顕性感染者を把握するために、他の疾患で来院した患者もしくは健常男性、女性からの検体により、コンジローマタイプの検出率を試みる。

3) 淋菌：2000 年以降分離された淋菌のうち、経口セフェム剤耐性淋菌を全国から収集し、MLST 型別、*penA* 配列型を決定する。得られた配列データを利用して、地域間比較・経年比較を行う。NG-MAST 法を用いた解析を加味する。また、淋菌、クラミジアの菌株収集、薬剤感受性を継続して行い、新たなガイドライン作りの資料とする。

V. 行政施策への貢献の可能性

(1) 地域を限定した調査を 9 年間に渡って継続することにより、わが国の性感染症患者の数的な実態把握が可能となり、きめ細かい性感染症対策の立案に資する。

(2) 無症候の性感染症感染者の郵送による検査法を確立し、治療まで結び付けるシステムを構築することによって若者の性感染症蔓延の抑制に貢献できる。

(3) 咽頭における性感染症病原体の保有状況について、うがい液を用いた簡便な検査法を確立することにより、咽頭における淋菌やクラミジアなどの病原体の感染状況が明らかになる。その結果を踏まえて性感染症蔓延の温床となっている咽頭感染に対する予防法と治療法を確立できる。

(4) 性器ヘルペスについては、本邦における HSV-1 型と HSV-2 型の動向と感染病態を調査し、HPV については HPV6/11 の分布の違い、発癌性 HPV の混合感染の頻度を調べ、何れも将来のワクチン戦略の基礎データとする。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

小野寺昭一

○小野寺昭一：尿路感染症および性感染症における最近の動向。医学のあゆみ（別冊）；感染症と感染制御 Update -診断・治療からネットワークまで- 医歯薬出版 東京 2010 pp53-58

川名 尚

○川名 尚：周産期ウイルス感染症の診断と治療 産婦人科治療 100(2):194-210, 2010.

○川名 尚：性器ヘルペス 日本臨牀 67(1):143-152, 2009.

○Umene K, Kawana T, Fukumaki Y : Serologic and genotypic analysis of a series of herpes simplex virus type 1 isolates from two patients with genital herpes. J Med Virol. 81(9):1605-12, 2009.

○川名 尚：性器ヘルペスウイルス感染症(性器ヘルペス) 日本性感染症学会誌 20(1):45-49, 2009

○西澤美香、川名 尚、西井 修：新しい単純ヘルペスウイルス型特異抗体検出キットの評価 日本性感染症学会誌 20(1):162-168, 2009.

大西 眞

○Ohnishi M, Watanabe Y, Ono E, Takahashi C, Oya H, Kuroki T, Shimuta K, Okazaki N, Nakayama S, Watanabe H: Spreading of a chromosomal cefixime resistant *penA* gene among different *Neisseria gonorrhoeae* lineages. Antimicrob Agents Chemother, 54: 1060-7, 2010.

○Ohnishi M, Ono E, Shimuta K, Watanabe H. Okamura N: Identification of TEM-135 β -lactamase in penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* in Japan. Antimicrob Agents Chemother, 54: 3021-3023, 2010.

○Ohnishi M, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, Nakayama S, Watanabe H, Kitawaki J: Emerging ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. **Emerging Infectious Diseases (in press)**

川名 敬

○Miura S, Kawana K, Schust DJ, Fujii T, Yokoyama T, Iwasawa Y, Nagamatsu T, Adachi K, Tomio A, Tomio K, Kojima S, Yasugi T, Kozuma S, Taketani Y: CD1d, a sentinel molecule bridging innate and adaptive immunity, is downregulated by the human papillomavirus (HPV) E5 protein: a possible mechanism for immune evasion by HPV. *J Virol*, 84: 11614-11623, 2010

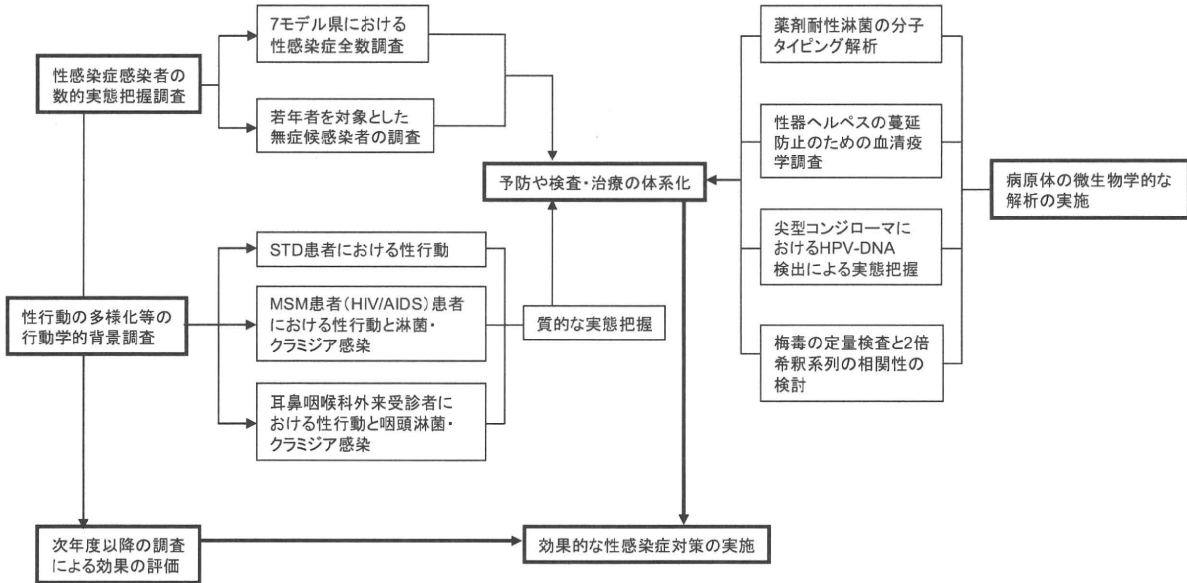
○Adachi K, Kawana K, Yokoyama T, Fujii T, Tomio A, Miura S, Tomio K, Kojima S, Oda K, Sewaki T, Yasugi T, Kozuma S, Taketani Y: Oral immunization with *Lactobacillus casei* vaccine expressing human papillomavirus (HPV) type 16 E7 is an effective strategy to induce mucosal cytotoxic lymphocyte against HPV16 E7. *Vaccine*, 28: 2810-2817, 2010

余田敬子

○余田敬子, 尾上泰彦, 西田 超, 新井寧子：淋菌およびクラミジアの咽頭および性器感染：性感染症クリニック受診者からみた現状 口腔咽頭科 23: 207-212, 2010.

○余田敬子, 新井寧子：核酸増幅検査による咽頭の淋菌およびクラミジアの検出性の検討 日耳鼻感染症研究会誌 28: 93-96, 2010.

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

1977年7月～1978年5月：群馬大学医学部微生物学教室

1978年6月～2005年7月：東京慈恵会医科大学泌尿器科教室

2005年8月～現在：東京慈恵会医科大学感染制御部

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

群馬大学医学部微生物学教室；三橋 進教授

東京慈恵会医科大学泌尿器科教室；町田豊平教授

東京慈恵会医科大学皮膚科学教室；新村真人教授

帝京大学医学部溝口病院産婦人科；川名 尚教授

国立感染症研究所感染症情報センター；岡部信彦センター長

産業医科大学泌尿器科；松本哲朗教授

・主な研究課題

- 1) 薬剤耐性緑膿菌のRプラスミドの分離と耐性伝達に関する研究
- 2) 尿路・性器感染症および性感染症の基礎的・臨床的研究
- 3) 2003～2005年：厚生労働省科学研究補助金 新興・再興感染症研究事業
課題；「性感染症の効果的な蔓延防止に関する研究班」 主任研究者
- 4) 2006～2008年：厚生労働省科学研究補助金 新興・再興感染症研究事業
課題；「性感染症に関する特定感染症予防指針の推進に関する研究」 研究代表者

・これまでの研究実績

- ・○小野寺昭一：尿路感染症および性感染症における最近の動向。医学のあゆみ(別冊)；感染症と感染制御 Update ー診断・治療からネットワークまでー 医歯薬出版 東京 2010 pp53-58
- ・○小野寺昭一：我が国における性感染症の現状と将来。日本臨床；67(1):5-15,2009.
- ・○小野寺昭一：わが国における性感染症の現状。Urology View；7(5):10-17,2009.
- ・○小野寺昭一：わが国における性感染症の現状と問題点ー厚生労働省科学研究を通じて見えてきたものー。日本性感染症誌 2008；19(1):16-30.
- ・○Kazuyoshi Osaka, Tadakazu Takakura, Kayo Narukawa, Masahiro Takahata, Katsuhisa Endo, Hiroshi Kiyota, Shoichi Onodera: Analysis of amino acid sequence of penicillin binding protein 2 in clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone. J Infect Chemother 2008；14；195-203.
- ・○小野寺昭一：細菌感染症 21) 淋菌。岡部信彦編 小児感染症学 診断と治療社。東京。2007；333-338.
- ・○小野寺昭一：人の行動と感染症 1) 性感染症 杉本恒明、矢崎義雄総編集 内科学(第9版) 朝倉書店。東京。2007；254-258.
 - ・○小野寺昭一：性器クラミジア感染症の現状。小児科 2006；47(9):1301-1306.
- ・○Shoichi Onodera, Hiroshi Kiyota, Katsuhisa Endo, Hiroo Suzuki, Takahide Hosobe, Tomohiro Takahashi, Shin Egawa, Intetsu Kobayashi: Enhancement of antimicrobial activities of ceftazidime or clavulanic acid/amoxicillin against cefixime-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in the presence of clarithromycin or azithromycin. J Infect Chemother 2006；12:207-209.

ガイドライン

- ・性感染症 診断・治療ガイドライン 2008：日本性感染症学雑誌；19(1) Supplement

研究の要約

1. 性感染症患者の数的な実態把握に関する研究
 - 1) 性感染症の定点調査を検証するための性感染症患者の全数調査と性感染症における無症状病原体保有者の実態把握
 - 2) 梅毒患者の実態把握のための梅毒検査における自動化法と倍数希釈法の相関性の評価
 - 3) 性行動の多様化にともなう咽頭の性感染症病原体保有状況の実態把握
 - 4) 病原体の微生物学的な解析実施による質的な実態把握
2. 効果的な性感染症対策の実施に資する研究
 - 1) 若者を対象とした、検体の自己採取と郵送による性感染症検査の普及に関する研究
 - 2) 性感染症の無症状病原体保有者の推移に関する研究

7モデル県における性感染症 サーベイランスのまとめ

- ◆ 性感染症の発生動向調査と全数調査は全体として大きな乖離はなかった。
- ◆ 発生動向調査、全数調査とも減少していたのは、男性の性器ヘルペス、女性の淋菌感染症、尖圭コンジローマなどであった。
- ◆ 一方、男性の性器クラミジア感染症では、全数調査で増加傾向が認められた。
- ◆ 全数調査による性感染症の動向は各県により異なる傾向がみられたが、報告数の多い県の動向が全体の動向として示される傾向がみられた。

若者を対象とした性器クラミジア無症候 感染者の調査

対象と方法

- Bboy Park、ディワリ横浜、アースガーデン秋、A大学祭、B大学祭、アースデイ、ジャマイカフェス、不明のイベント、でクラミジア検査キットと質問紙配布（配布数：1075）
- 質問紙の項目
性感染症の治療を受ける場合にどのような医療機関を受診したいか（22項目 2件法）、性感染症に感染した場合に医療機関を受診しにくい理由（26項目 2件法）、フェイスシート、性感染症に感染したことがあるか、等

結果

- 回答（検査）者数：299名（M=101名，F=198名）
- 回収率：27.0%
- 平均年齢：23.05歳（SD=2.77）
- クラミジア陽性率：3.3%
（M=4.0%，F=3.0% n.s.）
- STD経験率：17.7%
（M=8.2%，F=22.5% p<.01）

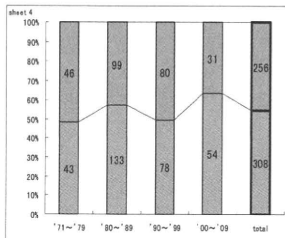
性器ヘルペスの型別蔓延状況調査

研究分担者：川名 尚

性器ヘルペスにおけるHSV-1とHSV-2の割合

HSV-1 ■ HSV-2 ■

初発



再発

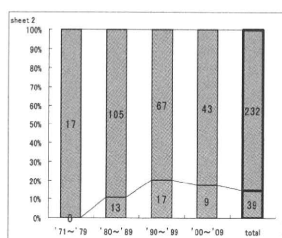


図3 性器と上半身または下半身に病変を有する例とHSVの型

	HSV-1	HSV-2	計
性器と上半身	17 (94.4%)	1 (5.6%)	18 (100%)
性器と下半身	19 (35.8%)	34 (64.2%)	53 (100%)
計	36 (50.7%)	35 (49.3%)	71 (100%)

有意差 $p < 0.0001$

HPVの型別蔓延状況調査 東京大学産婦人科:川名 敬

研究の方法と目的

【方法】

✓WHOのHPV研究グループであるHPV LabNetが推奨しているHPV-DNAタイピング法(PGMY法)を用いることで、世界標準の解析を行う。
 ✓本年度は、53例の尖圭コンジローマ患者(男性35例、女性18例)の陰茎、外陰、もしくは子宮頸部(尖圭コンジローマは存在しない)から擦過細胞を採取した。

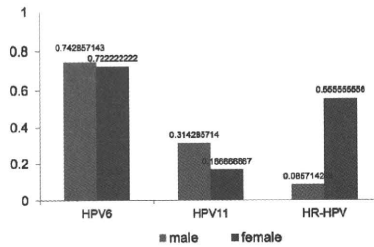
【目的】

✓尖圭コンジローマの原因ウイルスのタイプを検査する。
 ✓ハイリスクHPVの混合感染の実態を知る。
 ✓これらの性差を検査する。



研究結果

尖圭コンジローマ患者(男性&女性)におけるHPV感染の実態



- HPV6型の検出率は、男女差がなかった。(男:女=74% vs 72%)
- HPV11型の検出頻度は、男性の方が高い。(男:女=31% vs 17%)
- 女性では、ハイリスクHPVの混合感染が多い。(男:女=9% vs 56%)
- 女性の1例(5%)に、HPV6/11以外のHPV(HPV44)による尖圭コンジローマが存在した。

倍数希釈法および自動化法による梅毒血清検査の検討
 研究分担者 本田まりこ

目的:カルジオリピンを抗原とした梅毒血清検査の新しい検査法(自動化法)の試薬間の相関性の検討,従来の検査方法(倍数希釈法)と自動化法の相関性の検討,治療前後の抗体価の減少の比較などを主な目的とした。

方法:既知の梅毒患者のうち、治療開始前あるいは治療開始後の期間が明確な患者の血清98検体を自動化法および倍数希釈法で抗体価を測定した。自動化法の試薬は厚労省に認可されている6種類(メディエース RPR, メディエースRPR「N」、ランリーム STS、イムノティクス オート3 RPR, LASAY オート RPR, ラピディア オート RPR)を使用した。倍数希釈法は市販されているRPRテスト“三光”で測定した。対象試薬間および対象試薬とRPRカードテストの相関性は単回帰分析およびピアソンの相関係数検定によって解析した。P < 0.05を統計的に有意であると判断した。

結果:

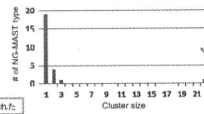
- * 従来から懸念されている通り、倍数希釈法では、施行した施設により結果にばらつきが目立ち、検査結果の客観性に疑問を呈した。
- * 全ての自動化法試薬間で有意な相関性を認めたが、ランリームとその他の試薬間の相関係数は他の試薬間と比し低値であった。単回帰分析の結果からは試薬毎の単位の互換性には問題があり、抗体価の推移を評価する際には同一の試薬を使用することが望ましいと考えた。
- * 倍数希釈法に比し自動化法では、治療後に抗体価が大きく減少する傾向が強かった。
- * 倍数希釈法の16倍以上と16倍未満と自動化法の16単位以上あるいは16単位未満を比較した検討では、全体一致率は高く、日本性感染症学会が暫定的に推奨している「16単位以上」を無症候性梅毒の届出基準とすることに明らかな問題点は見出せなかった。

「淋菌の分子タイピングー淋菌の時間的・地理的変遷に関する研究」大西 真分担研究者

1. 中部地方分離淋菌(330株)ー分子タイピング(NG-MAST法)。
- (3) NG-MAST法の解析でNG-MAST2958のアウトブレイクが示唆された。

NG-MAST: 岐阜大コレクション/MLST1901の解析

Year	# of types	Diversity Index
2002-2005	152	0.9564
2002	25	0.6888
2003	35	0.7437
2004	31	0.8389
2005	57	0.8247



23株が同一の配列型 NG-MAST2958であったことが、遺伝的多様性の低下(0の低下)の理由であった。

NG-MAST2958のアウトブレイクを示唆。

NG-MAST 2958は2002-2004では見いだせなかった。

NG-MAST 2958株は2005年神奈川でも、2006-2008東京でも分離されていた。

リアルタイムで解析結果を出すことが出来れば、感染拡大を抑制することが可能

「淋菌の分子タイピングー淋菌の時間的・地理的変遷に関する研究」

2. セフトリアキソン耐性淋菌の出現

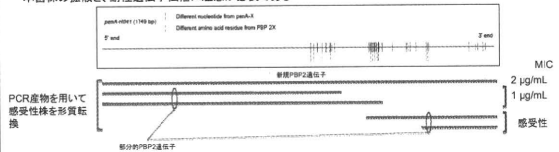
シナリオ1 ペニシリン耐性の基質拡張(ESBL)による機構

既存のTEM-1型β-lactamaseとは異なる、TEM-135型を産生する淋菌が出現していることを見いだした。TEM-135自身は狭域スペクトラムであるが、TEM-20型(ESBL)への変換の第一歩(pre-ESBL)と考えられる。今後の広がりをモニターする必要がある。

Ohnishi M et al. Antimicrob Agents Chemother, 54: 3021-3023, 2010.

シナリオ2 ペニシリン結合タンパク(PBP2)の変異による機構

京都において新規PBP2遺伝子を獲得したセフトリアキソン耐性淋菌(MIC=2 μg/mL)が出現した。新規PBP2遺伝子のみで耐性化することを示し、耐性に必要な領域を2カ所推測することが出来た。本菌株の拡散と、耐性遺伝子伝播に注意が必要である



Ohnishi M et al. Emerging Infectious Diseases, 17, 2011

Ohnishi M et al. in preparing