

ワクチン株様のRFLPを示すムンプスウイルス野生株 の遺伝子解析

齋藤 博之 佐藤 宏康 原田誠三郎
須藤 恒久 森田 盛大 山田 章雄*¹
山崎 修道*¹

第44回日本ウイルス学会総会
講演抄録 1996:159

目的と意義：1993年4月から1994年1月にかけて、秋田県大館地域において、無菌性髄膜炎を高頻度に併発した流行性耳下腺炎の流行時に占部ワクチン株様のRFLPを示すムンプスウイルス(MV)が多数検出された(H. Saito, et al., Microbiol. Immunol., 40, 271-275, 1996)。この株(ODATE株)は、SSCP法、及びRFLP判定領域近傍の塩基配列からワクチン株そのものではないことが明らかとなったが、その由来については不明である。今回、我々はODATE株のより広範な塩基配列を解析し、ワクチン株との比較検討を行ったので報告する。

材料と方法：塩基配列の決定には、1993年10月大館地域において無菌性髄膜炎を併発したムンプス患者(10歳、男子)の咽頭拭い液からVero細胞で分離され、占部株様のRFLPを示したODATE-1株を用いた。方法は、基本的には、NP~HN遺伝子までを4つのブロックに分けてRT-PCR法で増幅し、そのDNA断片をpUC19のSmaI部位にクローニングすることにより行った。その後、占部AM-9株(森千里他、臨床とウイルス、23、341-352、1996)及びMiyahara株(GenBank)の塩基配列と比較した。

結果：ODATE-1株のゲノム15kbの内、NP、P/V、M、SH、HNの領域を含む8499bpの塩基配列を決定し、この内、Miyahara株及び占部株と相互比較可能な8385bpの領域について検討した。占部株の塩基配列をMiyahara株と比較してみると、占部株には150ヶ所の塩基置換が認められた。この150ヶ所の塩基置換がODATE-1株にも起きているか否かをみると、66ヶ所についてはODATE-1株でも共通して認められたが、他の84ヶ所は占部株にのみ認められ、ODATE-1株には認められなかった。一方、F遺伝子の1229番塩基のGからAへの置換が占部株の鑑別マーカーとして利用できるという報告(T. Forsey, et al., J. Gen. Virol., 71, 987-990, 1990)があるが、ODATE-1株ではGのままであった。さらに、昨年度の本学会で、ODATE-1株のように、野生株であるにもかかわらず占部株様のRFLPを示す株が1993年以降東日本を中心に検出されたことを報告したが、これらの株のF遺伝子マーカーもGのままであった。

考察：ODATE-1株は、P遺伝子内のマーカー部位が占部株と同じ配列であるため、RFLP法による検査で

は野生株であるにもかかわらずワクチン株として分類されてしまうことになる。しかし、占部株と野生株(Miyahara株)の間の150ヶ所の塩基置換の内、ODATE-1株とMiyahara株の間で共通して認められたのは半分以下の66ヶ所に過ぎず、また、F遺伝子内のマーカーは野生型を示していることから、ODATE-1株は占部株の野性化によって派生したものではないと考えられた。

謝辞：調査に御協力いただいた地方衛生研究所の皆様
に深謝致します。

本研究は、高橋義博(大館市立総合病院・小児科)との共同研究である。

*¹ 国立予防衛生研究所

秋田県内の冷却塔水からのレジオネラ属菌の 分離状況と分離菌のAP-PCR法による型別

木内 雄 八柳 潤 齊藤志保子
鈴木 陽子 佐藤 宏康 森田 盛大

第50回日本細菌学会東北支部総会

講演抄録：1996

【目的】レジオネラ症の感染源として冷却塔が重要視されている。しかし、秋田県内の冷却塔水中のレジオネラ属菌による汚染実態はまったく把握されていない。このため、我々は平成7年度に秋田県内の特定建築物の冷却塔水を対象としてレジオネラ属菌の汚染実態調査を実施した。また高頻度に分離されたL.pneumophila SG1(L.P SG1)についてAP-PCR法を用いて型別を試みたので、その成績について報告する。

【材料と方法】①冷却塔水からのレジオネラ属菌の分離：秋田県内の特定建築物10施設を検査定点とした。1995年6月から1996年5月まで毎月採取した冷却塔水69検体を対象とし、「レジオネラ症防止指針」に従い、レジオネラ属菌の分離を実施した。②AP-PCR法：冷却塔水から分離したL.P SG1 24株と秋田県内の温泉水由来のL.P SG1 6株、計30株を供試した。AP-PCR法はA. Belkumの方法(J. Clin. Microbiol. 31:2198-2200, 1993)に準じて実施した。

【結果と考察】調査した6月から翌年の4月までのうち、冷却塔水のレジオネラ属菌平均陽性率は42.0%(29/69)であった。7、8、9月の陽性率は60%を越え、特に9月は80%と最も高い陽性率であった。また冷却塔水中のレジオネラ属菌数も7、8、9月に増加し、レジオネラ症防止指針に定める要注意範囲($10^3 \sim 10^5$ 未満/100ml)に達する施設があった。このことは、夏期に冷却塔水の水温が上昇したことと関連すると考えられた。一方、冷却塔水から分離された菌種及び分離数は

L.bozemanii 3株、L.P SG 1 24株、Legionella spp. 5株であった。また、L.P SG 1 は10施設中9施設から分離され、この菌種が広範囲に分布していることが明らかとなった。温泉水由来と冷却塔水由来の L.P SG 1 の間には AP-PCR の泳動パターンが明らかに異なるものが認められ、また、冷却塔水由来の L.P SG1 にも泳動パターンが互いに異なるものが認められた。これらのことから、AP-PCR 法は L.P SG 1 の疫学的解析に有用であることが示唆された。

2細胞に付着性を示さない株が存在したことを考慮する必要があると考えられた。一方、散発事例由来株全てと EC-18株(O145 : NM)が eae 遺伝子を保有していたことは、eae 遺伝子が VTEC のヒトに対する感染成立機構に何らかの役割を果たしている可能性を示唆するものと考えられた。

秋田県で分離された牛由来VTECの性状

八柳 潤 齊藤志保子 木内 雄
佐藤 宏康 森田 盛大

第70回日本感染症学会総会

講演抄録：1996

【目的】ヒトの感染事例から分離報告がない種々の血清型の VTEC が牛などの家畜から分離されている。しかし、これらの VTEC が、ヒトの感染事例から分離頻度が高い VTEC O157 : H 7 などと同様に、ヒトに対して出血性大腸炎や溶血性尿毒症症候群などを惹起し得るかどうかについては不明な点が多い。我々は秋田県内で分離された牛由来 VTEC と、県内で発生した散発感染事例から分離された VTEC の eae 遺伝子保有状況、CVD 419プローブ反応性、HEp-2細胞付着性について比較検討したので、得られた成績を報告する。

【材料と方法】牛由来 VTEC 8株、散発感染事例由来 VTEC 6株を供試した。VT遺伝子の検出と型別は小林の PCR 法により、eae 遺伝子の検出はドットプロットハイブリダイゼーション法と PCR 法により実施した。CVD 419プローブ反応性はドットプロット、およびサザンプロットハイブリダイゼーションにより、HEp-2細胞付着性は Knutton の FAS TEST (6時間) に準じて検討した。

【結果・考察】牛由来 VTEC 8株のうち、ヒトからの分離報告がある血清型は EC-81株(O145 : NM) 1株のみであった。また、8株中 EC-81株1株のみが eae 遺伝子を保有し、EC-81株を含む6株が CVD 419プローブと反応したが、いずれの株も HEp-2細胞に付着性を示さなかった。これに対して、ヒト由来 VTEC 6株は全て eae 遺伝子を保有し、CVD 419プローブと反応した。また、6株中4株が EHp-2細胞に付着を示した。以上の結果から、CVD419プローブ反応性と EHp-2細胞付着性能は相関しないことが示された。また、EHp-2細胞付着性能を指標として VTEC のヒトへの感染成立機構を考察する場合、散発事例に由来しながら EHp-