

THE KANTO CHEMICAL CO., INC. Cica CHEMICAL TIMES



2011 No.3 (通巻221号)

ISSN 0285-2446

フラットパネルディスプレイ概論(5) 新規ディスプレイ(フレキシブル、3D)	鵜飼 育弘	2
細菌学の特別講義(3) 最終回	阿部 章夫	7
感染症四方山話(2) Geomedical scienceへの誘い	菊池 賢	11
Cica Geneus Staph POT Kitの原理とメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学	鈴木 匡弘	16
ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(34) アルバート・アインシュタイン(最終回)	原田 馨	22
編集後記		24



フラットパネルディスプレイ概論(5) 新規ディスプレイ(フレキシブル、3D)

Introduction to Flat Panel Display (5) New Display (Flexible, 3D)

Ukai Display Device Institute 代表 工学博士 鵜飼 育弘
YASUHIRO UKAI Ph.D.

Ukai Display Device Institute

1. はじめに

新規ディスプレイとして、フレキシブルディスプレイと立体(3D)ディスプレイを取り上げる。フレキシブルディスプレイの実現で、我々のライフスタイルは大きく変化することが予想される。3Dディスプレイは、家庭ではフラットテレビとして実用化され、モバイル機器にも種々の方式が実用化されている。ここではこれらの技術を概説する。

2. フレキシブルディスプレイ

薄くて軽く、曲げたり折りたたみたり、しかも落としても割れにくいフレキシブルディスプレイは、パネルサイズを問わず、携帯・収納・設置などの使い方の自由度が高まる。そのため、このディスプレイの実現には大きな期待が掛っている。しかも、このディスプレイの製造には、従来のガラス基板を一枚ずつ処理する枚葉式から、ロール・ツー・ロール(R2R)式への生産革命への期待も大きい。

フレキシブルディスプレイの実用化には、下記のような技術選択肢があり、如何に組み合わせて性能、品質、量産性、価格に対応できるかが大きな課題である。

- ①フィルム材料:プラスチックフィルム、SUSフォイル、極薄板ガラスなど
- ②TFT半導体材料:a-Si TFT(低温形成<150℃)、酸化物半導体TFT(TAOS-TFT)、有機物半導体TFT(OTFT)
- ③ディスプレイの種類:LCD、電子ペーパー(電気泳動:EPD)、有機EL(OLED)など
- ④基板のハンドリング:ラミネーション/デ・ラミネーション、転写など

⑤TFTのプロセス:真空+フォトリソグラフィ、印刷

以下、フレキシブル基板材料、ディスプレイの種類とTFTへの要求事項などについて概説する。

2.1 フレキシブル基板材料

ガラス、プラスチックフィルム(PEN)、SUSフォイルの特性比較を表1に示す。プラスチックフィルム(PEN)とSUSフォイルでは、重量が6倍以上重く、プロセス温度も400℃以上高く、大きく異なる。また、SUSは金属であるため、熱伝導性が良好である。従って、基板材料の軽さを重視した応用を考えるとプラスチックフィルムを選択するが、プロセス温度の低温化を実現する必要がある。一方、SUSフォイルは重いものの、プロセス温度はガラスと同じで問題なく、OLED基板として透明性が問われることもなく、熱伝導性が良好であることから放熱特性も優れている。なお、表中に熱膨張係数(CTE)を示した。基板とTFT

表1 各種基板材料の特性比較

	ガラス	PEN	SUS
重量 (mg/m ²) (for 100 μ m thick film)	220	120	800
可視域の透過率 (%)	92	87	0
最高プロセス温度 (°C)	600	180	>600
熱膨張係数 CTE (ppm/°C)	5	16	10
ヤング率 E (Gpa)	70	5	200
O ₂ およびH ₂ O浸透性	なし	あり	なし
加湿下での膨張係数 (ppm/%RH)	0	11	0
平坦化の必要性	なし	なし	あり
導電性	なし	なし	あり
熱伝導度(W/m°C)	1	0.1	16

構成材料のCTEを合わせることが、各層間のパターンズレを防ぐために重要である。

極薄板ガラスには、日本電気硝子が開発した50 μ m厚の無アルカリガラス基板がある。最近、コーニングやショットといったガラスメーカーもこの分野に参入してきた。この極薄板ガラスはロール状に巻くことも可能で、R2R式の生産にも適用の可能性がある。

プラスチックフィルムは表1に示したように、ガラスやSUSフォイルに比べガス(酸素や水分など)バリア性に劣る。従って、プラスチックフィルムをフレキシブルディスプレイ基板として用いるには、デバイスに応じたバリア膜の形成が必要である。図1に用途とガスバリア性の関係を示す。図からOLED用には 1×10^{-6} g(cc)/m²/day/atm以下、電子ペーパーには 1×10^{-1} g(cc)/m²/day/atm以下のガスバリア性が求められることが分かる。

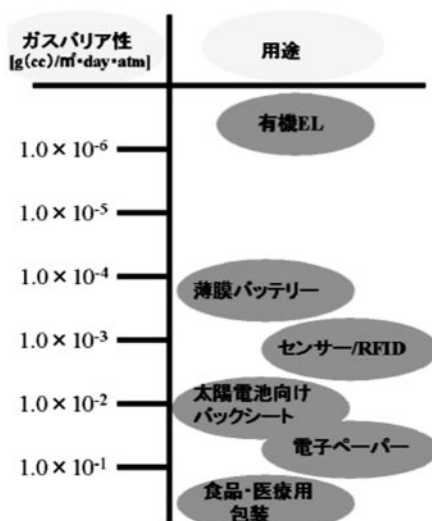


図1 用途とガスバリア性の関係

2.2 ディスプレイの種類とTFTおよび透明電極への要求性能

フレキシブルディスプレイの候補としては、LCD、EPD、OLEDなどがある。これらのバックプレーン用TFTに要求

表2 各種ディスプレイの駆動に要求されるTFT特性

TFT特性	EPD	LCD	OLED
移動度 (cm ² /Vs)	0.02 ~	0.5 ~	1.0 ~
V _{th} の安定性 (ΔV_{th}) V	< 9	< 3	< 1
I _{on} /I _{off}	>10 ⁶	>10 ⁶	>10 ⁶

される主な性能を表2に纏める。LCD、EPD、OLEDの移動度、しきい値電圧の安定性 (ΔV_{th})、オン/オフ電流 (I_{on}/I_{off}) をTFTの性能として取り上げた。このように、TFTへの要求性能は、ディスプレイの種類を明確にした上で検討することが重要である。なお、現在実用化されているLCDはセル厚や配向制御が必要であるため、フレキシブルとの両立は困難である。

ディスプレイに用いられる透明電極としてはITOが多く用いられている。しかし、ITOはフレキシブルディスプレイ用電極としては最適ではない。表3に現在実用化もしくは開発中の透明導電膜の種類と特性比較を示す。中でも、導電性高分子(例えばPEDT/PSS)やCNT(カーボンナノチューブ)は可撓性に優れている。

表3 透明導電膜の比較

項目	ITO(SP)	ITO(塗布)	Agワイヤ	CNT	導電性高分子
導電率	◎	△	○	○	○~△
透過率	◎	○	○	◎	◎
色調	黄色味	ほぼ無色	ほぼ無色	ニュートラル	青み
耐環境性	△~○	△~○	○	◎	△
可撓性・強靱性	△~○	○	○	◎	○
加工性	真空系	溶液塗布	塗布や印刷	溶液塗布	溶液塗布
エッチング性	◎	○	○	○	△~×
資源の安定性	△	△	○	◎	◎
価格	高い	普通	普通	?	安い

有機半導体材料は、Si系半導体に比べ柔軟性に富み、機械的な曲げに対して安定である。また、室温から100℃程度の比較的低い温度で作製可能なため、フレキシブルなプラスチック基板上に容易に形成することができる。さらに、大面積・低コスト化にも有利である。そのため、フレキシブルディスプレイのスイッチングデバイスとして大いに期待されている。しかし、実用化に関しては課題も多い。一般的に、有機半導体は水や酸素、熱、紫外線、有機溶剤によって特性が劣化してしまうため、無機半導体の微細加工に用いられているフォトリソグラフィやエッチングのプロセスをそのまま用いることができない。また、アレイ化したTFTの特性のバラツキも問題となる。

これらの材料は、フレキシブルで低価格に対応できる材料としてR2Rプロセスに適しており、幅広いエレクトロニクス分野への応用が期待される。

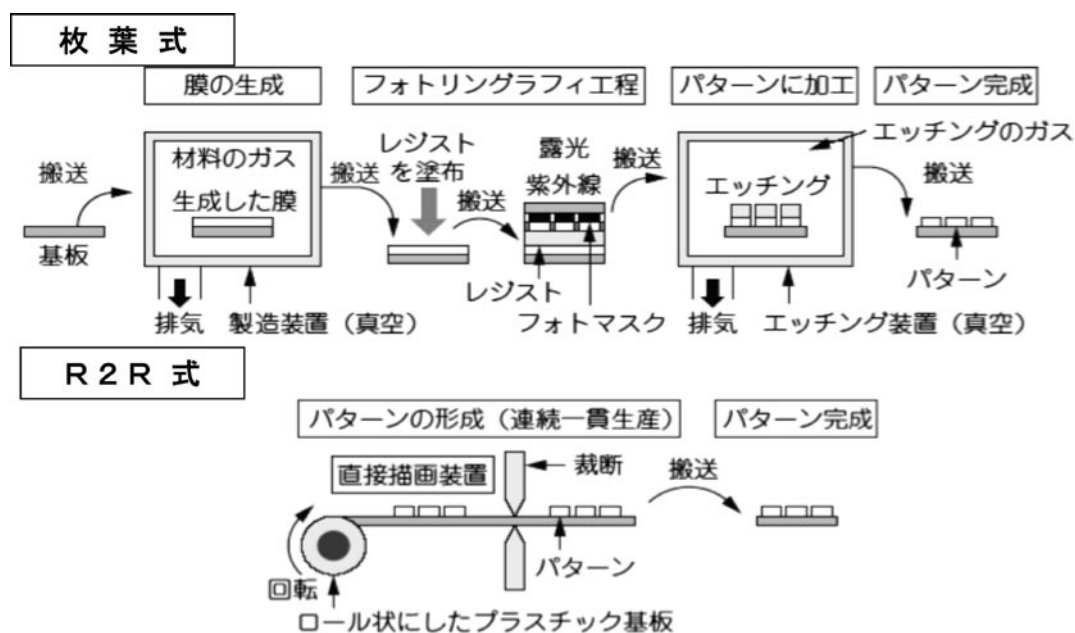


図2 枚葉式からR2R式へ

2.3 ロール・ツー・ロール(R2R)式生産

図2に枚葉式およびR2R式の概念図を比較して示す。例えば、長さ数百m、幅1mほどの大きなロール状の基板に回路パターンを印刷し、同じくロール状の封止膜などと貼り合わせてから、再びロール状に巻き取る(図では、個別に切り離す)。従来の枚葉式では個別に切り離された基板を使うため、次の工程に個々の基板を搬送する手間が掛る。搬入・搬出部を設けなければならず、製造装置の規模も大きかった。R2R式を採ると、基板は装置の間を連続的に流れることになる。そのため、製造装置はたがいに連結され、搬送に必要な手間や装置を大幅に省くことができる。

表4に各種印刷方式の比較を示す。印刷方式によって、基板サイズ、解像度、アライメント精度等が異なるた

表4 印刷方式の特性比較

方法	解像度 (μm)	アライメント精度 ±(μm)	基板サイズ (mm)
フレキシ印刷	20	5	1800 (a)
スクリーン印刷	20	10	3300 x 3700 (b)
インクジェット	50	15	2400 x 2400
インクジェット +PIバンプ	3	1	2160 x 2400 (c)
マイクロコンタクト	~1	1	6"径
R2PAT(d)	0.9	1	100径

(a) フレキシ印刷機のロール幅、(b) スクリーン印刷機のスクリーン・フレーム寸法
(c) G8用フォトリソ装置の仕様、(d) Sonyが開発中の技術

め、プロセス適用に際してはTFTの各層に要求される仕様を満たす印刷方式の選択が重要である。このR2R式に印刷技術を活用するとともに、半導体および金属材料によって回路を直接書き込む直接描画技術を併用すれば、ロール状のプラスチック基板を用い、薄いFPDパネルや軽い太陽電池、床や服などにびっしり埋め込むことができるセンサなど、これまで実現が難しかった部品を製造できる可能性がある。薄く、軽く、曲げられるといった性質を実現出来る上に、製造コストは従来に比べ何ケタも低くなる可能性を秘めている。例えば、実用化されているTFT-LCDの単価は1000ドル/m²程度であるが、高品質の印刷物は0.25ドル/m²程度である。

3. 立体(3D)ディスプレイ

ここでは、現在実用化されている立体(3D)ディスプレイ技術と特徴について概説する。図3に立体表示方式の分類を示す。

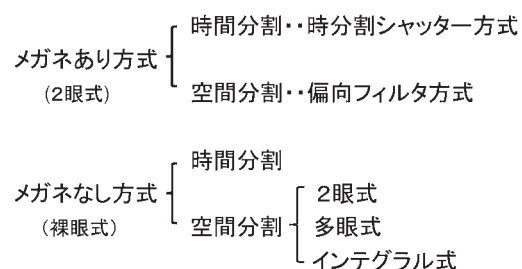
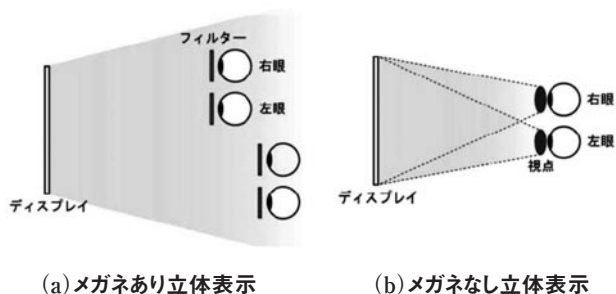


図3 立体表示方式

3.1 メガネあり方式(2眼式)

最も基礎的な立体表示方式がメガネあり2眼式立体表示である。立体映画(3D)映画や家庭用3D-TVなどで利用されている方式である。2眼式立体表示では、右目と左目にそれぞれの目から見た画像を表示することで、立体感を与える。図4(a)に示すように右目と左目に異なる映像を表示するために、光学フィルタを取り付けたメガネをかける。右眼用と左眼用の画像を同一画面に表示し、光学フィルタにより分離する。光学フィルタとしては、偏光フィルタ、波長フィルタ、液晶シャッターなどが用いられる。



(東京農工大学 高木先生資料)

図4 メガネあり・メガネなし立体表示

3.1.1 時分割シャッター方式

この方式では、表示は1サブ・フレームごとに左右の映像を順次出力し、メガネは左右交互にON/OFFする液晶シャッターを用いる。しかも、TFT-LCDやPDPの高速駆動が利用できる。TFT-LCDを4倍速駆動して、黒フレームを間に入れて左右の映像を表示することで、クロストークを低減した立体表示を実現できる。この方式は解像度の低下はない。

3.1.2 偏向フィルタ方式

この方式では、走査線ごとに回転方向が逆の円偏光を与える円偏光板を貼り付ける。奇数と偶数の走査線で左右の画像を表示する。この方式を用いると、比較的容易に立体化が実現できる。ただし、垂直解像度が半分に減少する。また、TFT-LCDやPDPのピクセルと偏向板の間隔が大きくなると、観察する垂直位置によって、偏光板と走査線の対応関係にずれが生じるといった問題点がある。

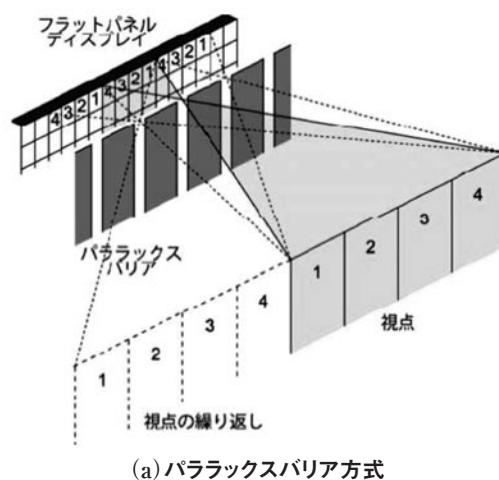
3.2 メガネなし方式(裸眼式)

メガネを用いないでどのようにして左右の画像を分離するのか。それは、「視点」を空間に設定する必要がある。視点とは、右眼と左眼を置いて見る位置のことをい

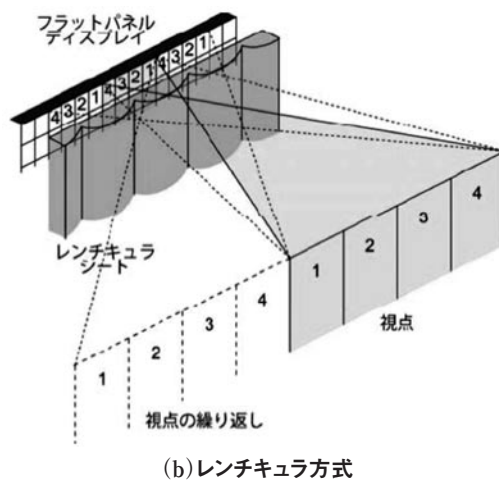
い、図4(b)に示すように、それぞれの視点位置に集光する光線で、対応する右眼用画像と左眼用画像を表示する。視点位置に眼を置いて見れば、対応する画像を見ることができる。このように、視点をを用いることでメガネなし表示が実現できる。しかし、観察位置が制限されることが分かる。以下にフラットパネル型としてのパララックス・バリア方式とレンチキュラ方式について述べる。モバイル用途の中小型ディスプレイ用に実用化されている。

3.2.1 パララックス・バリア方式

図5(a)に示すようにフラットディスプレイにパララックス・バリアを取り付けた構造である。パララックス・バリアとは、スリットを水平方向に並べた1次元スリット・アレイである。一つのスリットに対して水平方向に複数の色画素(色画素群)を対応させる。このとき、スリット間隔を、色画素の水平幅より若干小さくする。その結果、色画素群から出て対応するスリットを通過する光線群を考えたとき、すべてのスリットを通過した光線群が、ディスプレイか



(a) パララックスバリア方式



(b) レンチキュラ方式

(東京農工大学 高木先生資料)

図5 パララックスバリア方式とレンチキュラ方式

ら特定の距離で交わることが分かる。この交わった位置に視点が形成される。なお、一つのスリットに2個の色画素を対応させると2眼式となり、3個以上対応させると多眼式となる。

3.2.2 レンチキュラ方式

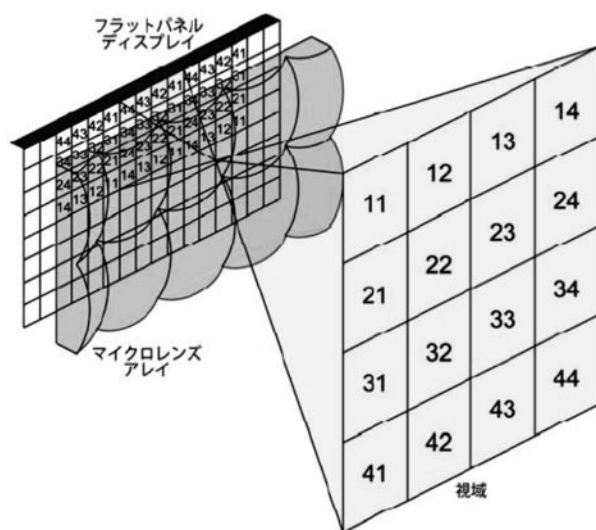
図5(b)に示すようにレンチキュラ・レンズを用いる方式である。レンチキュラ・レンズとは、1次元のレンズであるシリンドリカル・レンズを水平方向に並べたものである。このレンズは、光線の偏向に関しては、基本的にはパララックス・バリアと同じ働きを持つが、レンズであるため視点に対する光線の集光性に優れている。

いずれの方式でも、視点数の増加に伴い、水平解像度が逆比例して低下することが分かる。両者を比較すると、パララックス・バリア方式は作製が容易で作製精度も高いが、光の利用効率が低い。一方、レンチキュラ・レンズ方式は、光の利用効率は高いが、樹脂で作製される場合が多いため湿度や温度の環境変化による形状変化が問題となる。

3.2.3 インテグラル・イメージング方式

光線再生型の水平・垂直視差型立体ディスプレイはインテグラル・イメージングと呼ばれている。もともとは、写真技術として考案されたもので「インテグラル・フォトグラフィ」と呼ばれていたが、最近になり写真技術と区別するためインテグラル・イメージングと呼ばれるようになった。図6に代表的な構成例を示す。

インテグラル・イメージング方式は、物体が反射する光(反射光)を複数方向からサンプリングし、ディスプレイに



(東京農工大学 高木先生資料)

図6 インテグラル・イメージング方式の原理

よりその反射光を再現するという原理に基づいたもので、専用メガネを用いることなく、滑らかな映像表現が可能な方式である。従来の技術では、解像度が低下しやすい、明るさのむら(干渉縞)が出やすいなど実用化にあたっての課題があったが、3D映像のために専用画素配列と専用画素形状を施したTFT-LCDを採用し、垂直レンチキュラシートを貼ることで、鮮鋭感があり、干渉縞の少ない3D映像が実現されている。メガネなしで3D映像が見られるLCD-TVとして商品化されている。

4. おわりに

OTFTによるフレキシブルディスプレイの実用化に向けた開発は始まったばかりである。今後、さらなる印刷可能な高移動度でしかも安定性に富んだ有機半導体の登場を期待したい。また、全工程に印刷プロセスを用いるOTFTについては、パターン精細度の向上・制御と歩留まりを現行のフォトリソグラフィ・プロセス並みにまで向上すべく開発が進められている。環境に優しく、資源の有効利用が可能な生産方式で、Si系TFTでは実現不可能なディスプレイの創生に期待したい。

メガネ方式の3D-TVが次々に商品化され話題になっている。また裸眼3D-TVも商品化された。2次元表示から3次元表示への流れは、技術の進化を考えると自然と思える。しかし、立体映像は2次元映像に比べ人体に与える影響が大きい。現状の技術には課題も多く、今後は人間の立体知覚のメカニズムに対応した技術が求められる。

参考文献

東京農工大学 高木先生資料:

http://www.tuat.ac.jp/~e-takaki/pdf/nikkeibp_nenkan2010.pdf

*「フラットパネルディスプレイ概論(4)電子ペーパー」の訂正

THE CHEMICAL TIMES 2011 No.2(通巻220号)、2ページ左欄、下から5行目~同右欄、下から5行目の記載を、下記へ訂正させていただきます。

図1に代表的な電子ペーパーの方式を示す。元松下電器の太田氏が開発した電気泳動ディスプレイ(EPD: Electrophoretic Display)では、図2に示すように1粒子型(図2(a))と2粒子型(図2(b))が実用化されている。1粒子型は、当時の構造で、電極に挟まれた着色溶液の中に1種類の電荷を帯びた着色粒子が分散している。

細菌学の特別講義(3) 最終回

Special lecture of bacteriology (3) The last lecture.

北里大学 大学院感染制御科学府 細菌感染制御学研究室 教授 **阿部 章夫**
AKIO ABE Ph.D

Laboratory of Bacterial Infection, Graduate School of Infection Control Sciences, Kitasato University

1. 特別講義(3)のポイント

腸管病原性大腸菌の感染実験系を立ち上げるために、留学先のカナダから米国ボルチモアの大学に短期留学を決行。しかし、実験はことごとく失敗し何のデータも持ち帰ることもなく、失意のなかでカナダに戻りました。今回は失敗の連続からどのようにリカバリーしたのかについて述べるとともに、腸管病原性大腸菌のⅢ型分泌装置に依存した病原性発症機構について詳細に解説します。

2. ボルチモアからの撤退

私はどのようにボルチモアから引き揚げたのか、今となってはその記憶も定かではない。ただ電車で揺られ、どこかの駅に止めてあった錆びついたコンテナ列車を眺めながら、「もう二度とこの土地には来ることはない」と思ったのである。バンクーバー国際空港に降り立つと、久しぶりの妻がそこにいた。空港から妻が運転する車で、四条という寿司屋に直行した。ボルチモア滞在の2ヶ月間で酒は浴びるほど飲んだが、日本食は一度も食べていなかった。バンクーバーの日本料理店は、アジア系移民が経営している場合が多いが、四条の板前さんは腕が確かな日本人であった。寿司を食べながら、問題は山積しているものの治安の悪いボルチモアから生きて帰れたことに感謝した。

翌日、憂鬱な気持ちで教授室のドアをノックした。ボルチモア行きは1ヶ月という期間をボスから言い渡されていたが、それを振り切って2ヶ月滞在した理由をボスに説明

しなければならなかった。決定的なのはボルチモアから分与を受けた菌株¹⁾は、ウサギに投与しても何ら病原性を示さないことであった。ボルチモアでの2ヶ月間の実験結果は、今まで作製してきた変異株を全部捨てて、再度新たな菌株で変異株を作製することを意味した。しかし、それ以外に選択肢はなかった。これについてはボスも了承してくれて、何とか研究を継続することができた。問題はウサギに感染する腸管病原性大腸菌をどうやって選択するのかについてであった。文献を調べた結果、ウサギの腸管病原性大腸菌の研究は、ヨーロッパでさかんであることがわかった。私はいくつかの研究機関に手紙を送り、最終的にベルギーの研究機関から腸管病原性大腸菌を入手した。ボルチモアで習得した感染実験系を立ち上げ、ベルギーより分与された菌株の病原性を確認したところ、ウサギに下痢を惹起したのでこれを親株として変異株を作製した。

3. 病原因子排出システムとしての分泌装置

私の留学先での研究テーマは、腸管病原性大腸菌の下痢惹起のメカニズムを解明することであった。培養細胞を用いた感染実験系で、腸管病原性大腸菌の保持するⅢ型分泌装置が病原性に重要な役割を果たしていることが推察されていたが、実際の動物実験でそれを確認した研究者はいなかった。感染実験でⅢ型分泌装置の機能をはっきりさせるのが私の役目であった。結論を先に述べてしまうと、Ⅲ型分泌装置欠損株で感染したウサギは下痢を惹起しなかったことから、本分泌装置は腸管病原性大腸菌の下痢発症に関与している

ことが明らかとなった²⁾。欠損株を作製して感染実験でその病原性を確認する単純な研究テーマであったが、この実験を論文にまとめるために3年を要した。

Ⅲ型分泌装置については現在多くのことが明らかにされているが、当時はその高次構造も含めて断片的な情報しか得られていなかった。Ⅲ型分泌装置はグラム陰性病原菌の多くが保持する病原因子排出システムで、菌体外に針状構造を形成する(図1)。また、基部構造はべん毛のそれと類似しており、外膜リング、内膜リング、ネック領域から構成される³⁾。基部構造はペリプラスム領域を貫通するチャネルとして機能し、菌体外に突出した針状構造と連結している。サルモネラ属細菌、エルシニア属細菌、赤痢菌などの針状構造は一定の長さを保っており、その先端にはチップ複合体が付着している。エルシニア属細菌のチップ複合体は、タンパク質LcrVが5量体を形成することで構築されることが明らかになっている⁴⁾。腸管病原性大腸菌のⅢ型分泌装置は、サルモネラや赤痢菌の分泌装置と同じような構造をもつと推察されていたが、針状構造の先端には伸長可能な鞘状構造が付随していた(図1)。免疫電子顕微鏡像による解析から、この鞘状構造はⅢ型分泌装置に

よって分泌されるタンパク質EspAが重合して形成されることが明らかとなった^{5,6)}。腸管上皮細胞の微絨毛は厚さ0.5 μm ほどの糖衣で覆われ、微絨毛と異物の接触を防いでいるが、鞘状構造は糖衣のバリアー構造を越えるに十分な長さを有していた。一方、サルモネラや赤痢菌はパイエル板のM細胞からトランスサイトーシスによって宿主に取り込まれるので、生体のバリアーを越えるような鞘状構造を必要としない。このように感染形態の違いから、分泌装置の菌体外構造も大きく異なることが明らかとなっている。

4. エフェクターの宿主移行

エフェクターは細菌内で産生された後、Ⅲ型分泌装置を通過して宿主内に移行する(図1)。エフェクターの菌体外移行にはATP(アデノシン三リン酸)の加水分解によるエネルギーとプロトン駆動力が関与している。Ⅲ型分泌装置の基部付近にはATPase(ATP加水分解酵素)の6量体からなる複合体が局在しており、エフェクターはATPの加水分解エネルギーによって分泌装置基部に装填される⁷⁾(図1)。エフェクターが針状構造内を

通過し菌体外に分泌されるためには高次構造の巻き戻しが必要であり、これにはプロトン駆動力が関与している^{8,9)}。エフェクターの菌体外分泌にはⅢ型分泌装置のみで完了するが、さらに宿主細胞内に移行するためには、宿主形質膜に孔を形成する因子(トランスロコン)の介在が必要である³⁾(図1)。エフェクターの宿主移行に先立ちトランスロコンが宿主細胞膜上に移行することで細胞膜に孔が形成され、エフェクターの宿主内移行が可能となる。

Ⅲ型分泌装置とトランスロコンの働きによってエフェクターが細胞内に直接移行するモデルがこれまでの主流である³⁾。最近になって、1)エフェクターは宿主内に移行する前に菌体表層に移行すること、2)精製YopHエフェクターを菌体にコートするとⅢ型分泌装置依存的に宿主細胞内に移行すること、が実験的に証明された¹⁰⁾。これにより「エフェクターは一旦菌体外に輸

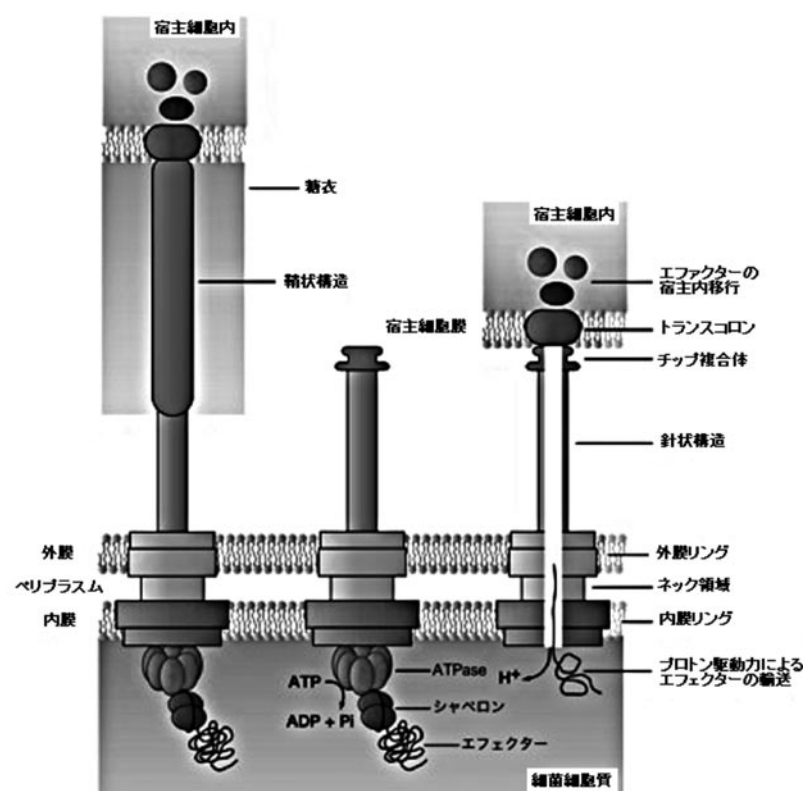


図1 Ⅲ型分泌装置によるエフェクターの宿主移行
グラム陰性病原菌の多くはⅢ型分泌装置によってエフェクターを宿主細胞内に移行させる。

送された後に、宿主細胞内に移行する」という2ステップモデルが新たに提唱され、従来のワンステップ移行説に異論を唱えるものである¹⁰⁾。新たなモデルについてはさらなる検証が必要であるが、エフェクターの移行システムについては再検討が必要な時期にきている。

5. 腸管病原性大腸菌のエフェクターの機能

宿主に移行したエフェクターは、宿主側因子と相互作用することで、宿主のシグナル伝達系を攪乱する¹¹⁾。その結果、生体の恒常性が破綻し、宿主を感染に至らしめる。すなわちエフェクターの宿主内での機能を解析することで、Ⅲ型分泌装置を介した病原性発揮の全体像が見えてくる。

腸管病原性大腸菌は腸管に付着する過程で微絨毛を破壊し、菌の付着下部に台座様構造(pedestal-like structure)を形成する¹²⁾(図2)。付着に伴う組織病理学的壊変はA/E(attaching and effacing)傷害と定義されている¹³⁾。A/E傷害の形成に必要な遺伝子は染色体上の病原性遺伝子塊LEE(locus of enterocyte effacement)¹⁴⁾にコードされ、Ⅲ型分泌装置、Intimin、Tir(translocated Intimin receptor)、Esp(EPEC-secreted protein)などを含む。Tirは台座様構造に関与するエフェクターで、Ⅲ型分泌装置によって宿主に移行後、細胞膜上に局在する¹⁵⁾(図2)。Tirは2つの細胞膜貫通領域を有しており貫通領域で囲まれたループ領域は細胞外に露出している¹⁶⁾このループ領域に菌の外膜タンパク質であるIntiminが結合する¹⁶⁾。IntiminとTirが相互作用することでTirのクラスターリングが誘導され、Tirに宿主側因子が順次結合することでアクチンを主とする台座様構造が形成される¹²⁾。腸管病原性大腸菌のTirはSrcキナーゼファミリーのc-FynによってC末端側の474番目のチロシン残基がリン酸化される¹⁷⁾。宿主側のアダプタータンパク質であるNckは、Tirのリン酸化チロシン残基を中心として周辺の12アミノ酸残基を認識して結合する¹⁸⁾。Tirと結合したNckはN-WASP(neural-Wiskott-Aldrich syndrome protein)と相互作用し¹⁹⁾、N-WASPはそのC末端領域を介してアクチン重合核形成因子のArp2/3複合体と結合する。このように腸管病原性大腸菌はリン酸化Tirを介してNck、N-WASP、Arp2/3複合体を付着下部に凝集させること

で台座様構造を形成する。

一方、O157に代表される腸管出血性大腸菌は、異なったメカニズムで台座様構造を形成する。腸管出血性大腸菌のTirは感染時にリン酸化されず、台座様構造の形成にNckを必要としない¹⁸⁾。腸管出血性大腸菌ではEspF_UエフェクターがN-WASPと相互作用しているが、EspF_UとTirは直接結合しておらず、これら因子を結合させる分子については長い間不明であった。最近の研究で、insulin receptor tyrosine kinase substrate(IRTKS)がTirのC末端に結合すること、さらにIRTKSのSH3ドメインはEspF_Uと結合することが明らかとなった²⁰⁾(図2)。以上、腸管出血性大腸菌ではIRTKSがTirとEspF_Uのアダプタータンパク質として機能していることが明らかになった²⁰⁾。

腸管病原性大腸菌と腸管出血性大腸菌は、Tir-Intiminの相互作用によって腸管上皮に強固に付着することで、Tir以外のエフェクター群を宿主内に持続的に移行させる。我々のグループではEspG、EspG2エフェクターが低分子物質の細胞間透過性を上昇させることを明らかにしている²¹⁾。これらのエフェクターは宿主細胞に移行後、微小管を破壊する。微小管の破壊にともない微小管に局在していたGEF-H1が遊離し、遊離型GEF-H1は活性化型に変換される²²⁾。活性化型GEF-H1はRhoAを特異的に活性化するので、RhoA-ROCKのシグナル伝達系の活性化によりアクチン繊維束の過形成が誘導される。また、GEF-H1は細胞間の透過性を制御する因子であり²³⁾、我々はEspG/EspG2がGEF-H1を利用することで細胞間透過性を上昇させることを検証している²¹⁾。EspGによる細胞間透過性の

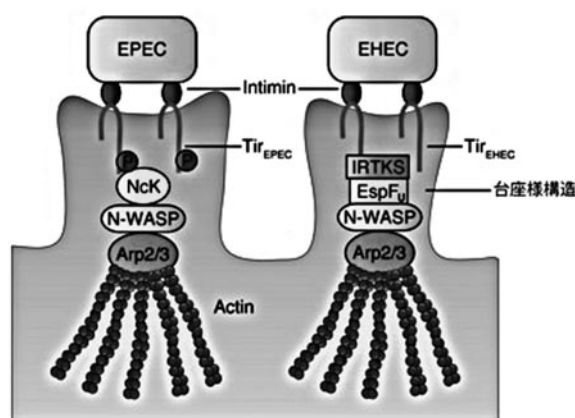


図2 腸管病原性大腸菌と腸管出血性大腸菌における台座様構造の形成
腸管病原性大腸菌(EPEC)と腸管出血性大腸菌(EHEC)はTirエフェクターによって台座様構造を形成するが、それぞれ異なった因子が関与する。

亢進²¹⁾、ならびにEspFやMapによるタイトジャンクションの破壊²⁴⁾は下痢発症に関与すると推察されるが、宿主に移行するエフェクターは多種多様であり、さらなる解析が必要である。

6. スパゲッティバグとの闘い

ベルギーからの分与株を用いてⅢ型分泌装置が腸管病原性大腸菌の下痢発症に関与することを明らかにした²²⁾、この強毒株でさえも実験結果が大きくばらつくことがあった。ウサギが腸管病原性大腸菌に感染すると感染後3～4日で下痢を発症する。しかしながらある種のウサギにおいては、まったく下痢を発症しなかった。腸管病原性大腸菌に抵抗性を示したウサギについて組織病理学的な解析を行った結果、腸管の表面にはびっしりと怪しげな細菌が付着していたのである²⁵⁾(図3)。電子顕微鏡で解析してみるとその細菌はスパゲッティのような形態をしていたので、我々はスパゲッティバグと呼んでいた。その後何度か感染実験を行い下痢を起こさなかったウサギを解剖してみると、高頻度でこの細菌が腸管上皮に観察されたので、ウサギがスパゲッティバグをもっていると腸管病原性大腸菌の感染に抵抗性を示すという結論に達した²⁵⁾。論文としてまとめるためにはスパゲッティバグでは具合が悪いので分類の専門家に尋ねたところ、segmented filamentous bacteria(SFB)という立派な名前をもっていることが明らかとなった。SFBについては

腸管粘膜固有層の宿主免疫系、特にIL-17を制御している細菌として非常に注目されているが²⁶⁾、当時の我々にとってSFBの出現は悪夢であった。後の実験でSFBをもつマウスは病原性細菌の感染に対して抵抗性を示すことが再確認され²⁶⁾我々の出した結論は正しかったことが証明されている。しかしながら当時の私にはSFBの重要性が理解できなかったのと、何よりも病原細菌の研究に固執したかったので、別なプロジェクトに移行してしまった。SFBは培養が困難でその解析は遅れているが、やがてはプロバイオティクスの領域で応用される日が近い。

7. 留学で学んだこと

2年間の留学期間で帰国するはずであったが実験上の様々な不運が重なり、結局私は4年間カナダに滞在することになった。しかし、今のアカデミックなキャリアがあるのも留学を通してのアウトプットがあったからだと思う。日本と海外先進国の研究環境を比較した場合、日本が劣っていることはなく、むしろ様々な面で整備されていることに気づく。順当に業績を残したいのであれば、わざわざ留学というリスクをおかさなくても日本でやっていくことは十分可能である。それでは何故留学が重要なのかというと、私は脳力の再構築にあるのだと思う。英語が通じず何をするにも多くのエネルギーと忍耐力が必要で「自分だけでは何もできない」と、無力感を痛切に感じるのも留学の醍醐味である。語学に堪能で、初めからコ

ミュニケーションに問題がなければ、「苦労がともなわない=得るモノも少なかった留学」であったかもしれない。逆説的に言えば、英語はできなければできないほど留学から得られる経験は大きいと思う。これから留学を考えている若手の皆さんへの助言として、英語の勉強はほどほどにして留学することを強く勧めたい。細菌学の特別講義はこれで最後になるが、細菌の病原性発揮における精緻なメカニズムを感じ取って頂けたならば筆者として幸甚である。

* 15ページ、右欄へ続く(参考文献)

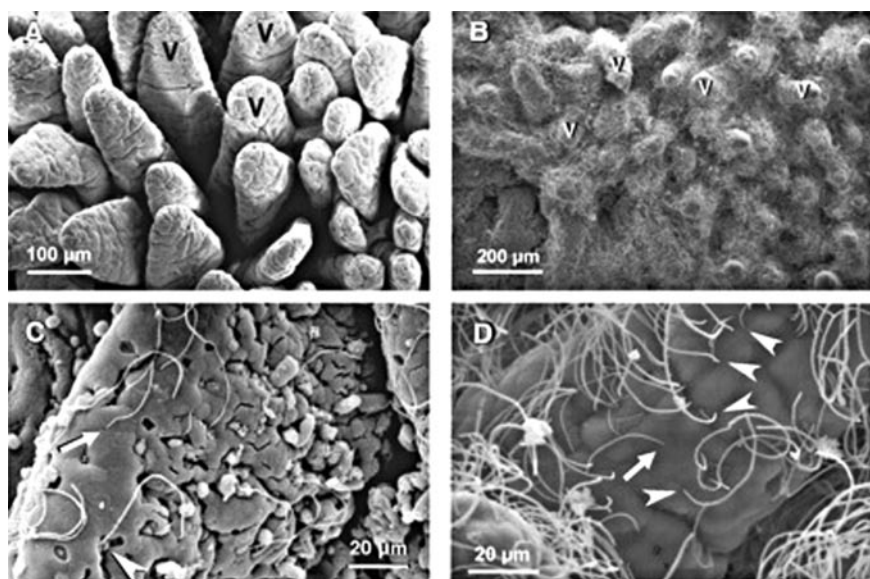


図3 ウサギ回腸の走査型電子顕微鏡における解析¹⁹⁾
通常のウサギの回腸絨毛(A)とSFBをもつ回腸絨毛(B)を示す。図中のVは絨毛を示す。SFBは絨毛に強固に付着している(C, D)。

感染症四方山話(2)

Geomedical scienceへの誘い

Various Topics concerning Infectious Disease (2) Invitation to Geomedical Science

順天堂大学医学部 感染制御科学／細菌学／総合診療科学 准教授 菊池 賢

KEN KIKUCHI, MD, PhD.(Associate Professor)

*Associate Professor, Department of Infection Control Science, Department of Bacteriology,
Department of General Medicine, Faculty of Medicine, Juntendo University*

1. はじめに

第1回¹⁾を編集部に渡してから、次に何を書いたら良いのか、悩んでいた。「これまでにない視点で感染症について論じる」などと、意気込みだけ入れていたのだが、どうも書き始めようとすると思ってしまう。考えあぐねた末、原点に戻って、自分が面白いと思って取り組んだ仕事を紹介することにした。

私は小学4年生の時から鉱物に魅せられ、小学6年生の卒業文集「将来の夢」にも「博物館を作って鉱物学者になりたい」などと書いている。高校3年生の時も最後まで理学部地質学科を受験するか医学へ進むか、悩んでいた。医学部に進学した後も教養の2年間は再受験をしようかどうか、ずっと考えていた。学部に進学してからは、そのまま医学の道を歩んできたが、卒業前「好きな鉱物のことができる時間を確保したい」という甘い考えがよぎり、「できるだけ自分の時間が取れそうな診療科を目指そう」と考えた時期もあった。

今も時間があれば廃坑になった鉱山(残念ながら国内で現在も稼働している金属鉱山は鹿児島県の菱刈金山だけである)を訪ね、ハンマー片手に鉱物採集にいそしむ。2010年は長野県、群馬県などのいくつかの金山、硫黄鉱山に加え、アメリカ、サンジエゴで学会に出かけたおりには、トルマリン(宝石になる)産地として名高いリチウムペグマタイトのPala鉱山を訪ねた。「医学と地学の融合」という分野が開ければ、これは私にとって何よりの僥倖である。鉱物と医学の接点は少ないと思われるがちであるが、昔から鉱物は「薬」として用いられてきた歴史もある。古来、様々な毒殺事件に用いられた猛毒の亜

砒酸はarsenoliteという無色透明～黄褐色の正八面体の結晶鉱物として天然に産するが、近年は急性前骨髄性白血病の治療薬(トリセノックス®)として認可され、注目を集めている。正に「毒をもって制す」である。尿管結石などの体内でできる「石」の成分分析は、鉱物の同定に汎用されるEPMA(Electron Probe Micro Analysis)が用いられている。最近、悪名高い中皮腫の原因となる「アスベスト(石綿)」は、蛇紋石(serpentine)ないし直閃石(anthophyllite:こちらの方がより発がん性が強い)という鉱物である。医学と地学の接点は思った以上に多い。先日、懇意にしている生化学の教授(この先生も高校時代、地学部で活躍された)と歓談中、「geomedical science」という言葉が浮かび、多に盛り上がった。後で調べてみると既に「geomedical system」という単語は地球規模での環境医学でよく使用される言葉のようで、「気候変動が疾患にどう影響するか」などを探求する分野とのこと。意外に注目されているのである。気候変動や地殻変動などが大きく影響する疾患を考えると、先ず浮かぶのは感染症である。無理矢理であるが、地学と感染症に関するテーマで何かできないかと思っていた。という訳で、「こじつけgeomedical science」で一席おつきあい頂きたい。

2. ヒストプラズマとの出会い

ヒストプラズマ症という真菌(カビ)感染症がある。原因となるヒストプラズマ(*Histoplasma capsulatum*)は土壌に生息しており、そこで形成された孢子(分生子)が空中に散布され、ヒトが吸い込むことで肺に感染を起こ

す。ヒストプラスマは世界中、特に南北アメリカ大陸、アフリカ大陸に多く分布しており、アメリカでは年間50万人のヒストプラスマ症患者が発生している²⁾。一方で、我が国ではこれまで60例程の報告があるが、そのほとんどは海外の汚染地域で感染した症例で、国内には病原体が存在しない「輸入感染症」として扱われている。しかし、国内で発症したヒストプラスマ症を調べると、2割程の患者は海外渡航歴がなく、日本国内で発症している³⁾。日本で最初に記載されたヒストプラスマ症の症例は、岡山市郊外在住の17歳女性で海外渡航歴もなく、輸入された土壌を扱ったりする職業上の危険因子もなかった⁴⁾。このことから、1960年から1970年代にかけて、我が国での大規模な疫学調査が行われたが、環境中からヒストプラスマが検出されたケースは皆無であった。その後、ヒストプラスマ症研究はほとんど顧みられなくなったが、むしろ患者数は増加し、依然として、国内発症者は一定の割合で推移してきたのである。

今から10年程前、厚生省新興・再興感染症の真菌症研究班で分担研究をしていたおり、班会議で帝京大学の山口英世先生から「ヒストプラスマ症について、永年の宿題に答えが出せないだろうか」というご提案があった。この宿題こそ、「日本にヒストプラスマは定着しているのか?」であった。

3. ヒストプラスマはどこにいる?

真菌(カビ)は、非常に種類が多く7万種程が記載されている。これは現時点で記載されている細菌が、7000種程ということを考えてもその多さが想像できよう。一方、ヒトに感染を起こしうるカビはごく限られており、感染症を起こしても、その病原性は極めて弱いものが多い。カビによる命にかかわる全身感染症(深在性真菌症)は、ほとんどが抵抗力の落ちた患者に起こる、いわゆる「日和見感染」の形式を取る。これは環境に存在する多くのカビが、室温付近を好み、ヒト体温の37℃付近で増殖できる種類が極めて限定されることを考えると理解しやすい。

ヒストプラスマはこうした仲間では数少ない、健康なヒトにも感染を起こしうるカビなのである。室温に近い温度では普通の「カビ」の形状をしているが、ヒトの体温付近では単細胞、即ち「酵母」の形態を取る。二形性と呼ばれる性質で、病原性の高いカビにしばしば認められる。ヒ

ストプラスマは大変発育が遅く、人工培地に増殖した外観はどのような特徴のない「白い黴」だ。ヒストプラスマは様々な地域の土中から検出されるが、土を構成する粘土鉱物の組成の違いが影響し、その分布には著しい偏りがある。モンモリロン石: montmorillonite (Na,Ca)_{0.33}(Al,Mg)₂ $\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ という粘土鉱物は、ヒストプラスマの増殖を促すが、逆にカオリナイト: kaolinite $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ 、アタパルジャイト: attapulgite $\text{Mg}(\text{Al}_{0.5-1}\text{Fe}_{0-0.5})\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH}) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ は発育を抑制する⁵⁾。また、ヒストプラスマは栄養源として鳥やコウモリの糞を好むので、そのような環境からよく見つかる。このため、ヒストプラスマ症の多発地域では鳥やコウモリの巣がある橋の下や古い家など、人が住んでいる地域からも、しばしばヒストプラスマが検出され、感染源となる。ヒストプラスマはごく稀にしか鳥には感染しないが、コウモリには人同様に感染を起こす。ヒストプラスマ症は、ヒト-コウモリ共通感染症とも言えよう。このため、ヒストプラスマ症発症地域でコウモリがいる環境は、ヒストプラスマに汚染されている危険性が高くなる。昔からコウモリの好む場所と言えば、「洞窟」である。洞窟は自然にできた岩穴ばかりではない。彼らにとって廃坑、地下水路、下水道などの人工洞も、立派な「洞窟」なのである。鉱物採集で訪れる廃坑は、コウモリの巣窟になっているところが少なくなく、私はしょっちゅう、彼らに遭遇していた。コウモリの寝泊まりする天井の下(彼らは天井にぶら下がって寝る、図1)の地面に彼らの落とした糞が積もっている。これをバット・グアノと呼び、古いものでは何メートルにも達している(図2)。燐に富むため、肥料として珍重され、農家の人たちが自家用に採取するばかりか、規模が大きければ採掘対象にもなっている。石灰岩の洞窟(鍾乳洞)にバット・グアノが堆積すると、石灰岩などと反応して、種々の燐酸塩鉱物(塩素燐灰石: chlorapatite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ 、水酸燐灰石: hydroxyapatite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ 、タラナキ石: taranakite $(\text{K,Na})_3(\text{Al,Fe}^{3+})_5(\text{PO}_4)_2(\text{HPO}_4)_6 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ 、ブラッシュ石: brushite $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ など)を生じる(図3)。これらの見てくれはいずれも「白い粉ないし粘土」であり、水晶(図4)のような美しい結晶ではないので、鉱物標本としてはあまり触手が延びない。しかしれっきとした鉱物なので、私の標本コレクションにもちゃんと入っている。話が脱線したが、洞窟内の温度は一定で湿度が高く、ヒストプラスマなどの真菌の生育に適している。バット・グアノ表

面で増殖したヒストプラズマは、多量の胞子を作り、狭い洞窟空間に濃厚に飛散する。このため洞窟内は人にヒストプラズマ感染を起こすのに非常に適した環境となる⁶⁾。

4. 洞窟病「ヒストプラズマ症」

急性ヒストプラズマ症は、洞窟などに浮遊するヒストプラズマ胞子を吸い込んでから1~3週の潜伏期を経て、発熱、全身倦怠、悪寒戦慄、胸痛、頭痛、呼吸困難感、息切れ、咳、食欲不振、筋肉痛、関節痛などのインフルエンザのような症状で発症する⁶⁾。濃厚感染源が洞窟にあるため、洞窟入洞後に発症することは古くから指摘されており、「洞窟病: cave disease, 洞窟熱: cave fever」などと呼ばれてきた⁶⁾。日本では古来、洞窟は神聖な場所として崇め奉られていることが多く、横溝正史の八ツ墓村ではないが「入ると祟る」という伝承が今でも残っている洞窟が少なくない。もしかすると、「祟る」というのはヒストプラズマ症であった可能性はないだろうか。私も会員となっている日本洞窟学会年次総会でのアンケート調査を行なった所、会員の20%程から、「行くとその後、呼吸

器症状が出る洞窟」というのが複数箇所指摘された⁶⁾。海外では洞窟関連学会に開催された洞窟巡検(地学関係の学会ではこうした巡検が学会のイベントとして組まれていることが多い)やテレビ取材で入洞者に集団発生したこともある⁶⁾。症状が全く出ない(不顕性感染)ことも多く、たとえ発症しても自然に治癒することがほとんどであるが、全身の免疫状態が不良な患者さんの場合は、全身に菌がまわり、死に至るケースや、一旦治癒したように見えても免疫状態が侵された時に再び活動を始める「再燃」という結核によく似た経過を取ることもある。これを慢性ヒストプラズマ症と呼び、臨床像は結核によく似ている。実際、日本で最初のヒストプラズマ症も長いこと結核と診断されて治療を受けていた。

ヒストプラズマ症の診断は、1) 痰や血液を培養して、ヒストプラズマが生えてくるのを確認する、2) 痰や血液などからPCRなどでヒストプラズマの遺伝子を検出する、3) 血清中のヒストプラズマ抗体を検出する、4) 血液、尿、胸水などのヒストプラズマ抗原を検出する、のいずれかで行う。以前は結核のツベルクリン反応のような皮内反応(ヒストプラスミン反応)がよく使われていたが、急



図1 鍾乳洞天井からぶら下がるキクガシラコウモリ



図2 10m以上堆積したバット・グアノの採取

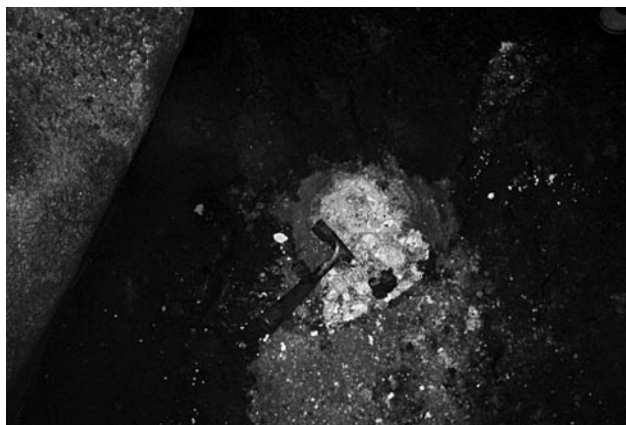


図3 バット・グアノと反応して生じた磷酸塩鉱物
白っぽい石:ブラッシュ石など。



図4 山梨県水晶峠産水晶
明治時代産出の古い標本と思われる、25kg程ある(菊池鉱物標本蔵)。

性ヒストプラスマ症の診断に使えないこと、特異性に問題があること、などの理由で2000年に製造中止になった。1)以外の診断が通常の医療機関で実施できないことも日本でのヒストプラスマ症の実態をわかりにくくしているのかも知れない。潜在的な国内発症患者は把握されている患者数よりもかなり多い可能性がある。

5. 国内で発症したヒストプラスマ症の感染源は?

前述したように、ヒストプラスマの感染源としては洞窟が最も疑われる。ヒストプラスマを保有していることが確認されているコウモリは多数あるが、そのほとんどは熱帯ないし亜熱帯に生息する種類で、日本の洞窟環境にみられるコウモリ種からは過去にヒストプラスマが検出された例はない。しかし、これまでに国内のコウモリ生息環境からヒストプラスマの検出を試みた報告はほとんどなかったため、我々は大規模な調査を行った。日本洞窟学会ならびに数々のアマチュアケイビング団体の協力を得て、北海道から沖縄まで全国67箇所(22都道府県)の洞窟に



図5 日本全国のヒストプラスマ調査洞窟一覧(67箇所)

入り、バット・グアノ187サンプルを集めた。特に、岡山市郊外は日本最初の症例発生地であるため、岡山県北部から広島県北東部にまたがる石灰岩台地には集中して調査を敢行した(図5)。採取したバット・グアノサンプルは3施設で、それぞれヒストプラスマの培養、PCRを行った。幸か不幸かヒストプラスマは1件も見つからなかった⁷⁾。このため、現時点で国内発症したヒストプラスマ症の感染源は洞窟以外の別のところにあるのではないかと考えている。少なくとも国内の洞窟調査やファンケイピング(洞窟探検)では、ヒストプラスマ症に罹患する危険性ははばないと考えて良いと思っている。また、2004年度の第30回日本洞窟学会総会時に調べさせてもらったケイバーの方々の血清抗体からも、急性ヒストプラスマ症を裏付ける成績は得られなかった(投稿準備中)。

一方、興味深い新事実も明らかとなった。バット・グアノに含まれる最優先菌種は、同じカビでも担子菌に属するトリコスポロン: *Trichosporon* だったのである。しかも洞窟内に生息するトリコスポロンは、既知のどの菌種とも異なる新菌種が多かった⁸⁾。考えてみれば当然かもしれない。誰も洞窟のトリコスポロンなど、見向きもしていなかったらうから。さて、トリコスポロンは夏型過敏性肺臓炎の原因菌として、日本の古い木造家屋に発生することが知られている。夏型過敏性肺臓炎は農夫肺などと同じアレルギー性肺臓炎なので、感染症ではないが、原因がカビであることに変わりはない。考えてみれば、急性ヒストプラスマ症の場合には1~3週間の潜伏期がある。洞窟探検家の人々は毎週のようにケイピングに出かける人も少なくないし、3週間も経過してしまえば、どの洞窟と発症の関係があるか、わからないだろう。アレルギー性肺臓炎なら、感作抗原に曝露されれば、すぐに症状が起こる。洞窟に入ると「祟る」のはヒストプラスマ症ではなく、アレルギー性肺臓炎だとすればむしろ納得し易い。先程のケイバーの方々の血清抗体価を調べると、これを裏付ける結果が得られた。このことから、我々は新しい疾患として「日本洞窟熱」を提唱したいと考えている。この内容の詳細は、近く論文として発表予定である。

6. おわりに

ヒストプラスマの研究をしていて、常に危惧していたことがある。万が一、国内の洞窟からヒストプラスマの存在

が証明され、そこが観光客も大勢訪れている鍾乳洞だったらどうなるか。厚生省ならびに厚生労働省の研究として行なっている訳であるから、当然、危険情報として発表せねばならない。入洞制限も実施されることになるだろう。そこで働く人々ばかりでなく、所属する自治体にも大きな影響を及ぼすことが考えられる。また、コウモリのことも心配の種であった。都会でも夕方になると外を飛び回るイエコウモリを見かけるが、洞窟に棲むコウモリの多くの種類は極めて狭い範囲に生息区域が限られており、ほとんどが絶滅危惧種であることをこの研究を通じて知った。もしかすると、ヒストプラスマの検出された洞窟にいるコウモリは「病害獣」として処分されることもあるかも知れない。考えてみれば、コウモリには何の責任も無い。我々人間が勝手に彼らのテリトリーに侵入した結果、ヒストプラスマ症のような疾患が起きたとも言える。人間の身勝手な理屈で、絶滅危惧種のコウモリを減らすような事態だけは避けたい、それを願っていた。幸いなことに、今回の調査からはヒストプラスマは検出されず、山口教授への宿題に満足いく回答は得られなかったが、negative studyはnegative studyとして形に残せたことは満足している。最近、アメリカ東部の洞窟で次々にコウモリが死滅する事件が問題となっている。犯人はまたしても *Geomyces* という低温でしか発育できない新種のカビだった⁹⁾。活動しているコウモリの体温は高いので、このカビに感染することはないのだが、いかんせん冬眠しているコウモリがもっぱら襲われるのである。「眠るな、眠ると死ぬぞ」とは冬山で遭難した登山隊のようであるが、コウモリには更に受難の時代が来ている。我々人間は、地球環境に共生する様々な生き物との生存をもっと考えねばならなければならないのでは、と痛感している。

参考文献

- 1) K Kikuchi, *The Chemical Times*, **217**, 13-16, 2010.
- 2) KJ Hammerman et al, *Sabouraudia* **12**, 33-45, 1974.
- 3) K Kamei et al, *J Infect Chemother* **9**, 16-20, 2005.
- 4) 大和人士 他, 総合臨床 **6**, 686-692, 1957.
- 5) S Lavie et al, *Appl. Environm. Microbiol.* **51**, 65-73, 1986.
- 6) 菊池 賢, *Caving Journal* **33**, 37-39, 2008.
- 7) K Kikuchi et al, *Microbiol Immunol* **52**, 455-459, 2008.
- 8) T Sugita et al, *Appl Environm Microbiol* **71**, 7626-7629, 2005.
- 9) 菊池 賢, *Caving Journal* **37**, 48, 2009.

*10ページより続く、「細菌学の特別講義(3)最終回」

参考文献

- 1) A. Abe, B. Kenny, M. Stein, and B. B. Finlay. *Infection & Immunity* **65**:3547-3555. (1997)
- 2) A. Abe, U. Heczko, R. G. Hegele, and B. Brett Finlay. *J Exp Med* **188**:1907-1916. (1998)
- 3) J. E. Galan, and H. Wolf-Watz. *Nature* **444**:567-573. (2006)
- 4) C. A. Mueller, P. Broz, S. A. Muller, P. Ringler, F. Erne-Brand, I. Sorg, M. Kuhn, A. Engel, and G. R. Cornelis. *Science* **310**:674-676. (2005)
- 5) T. Ogino, R. Ohno, K. Sekiya, A. Kuwae, T. Matsuzawa, T. Nonaka, H. Fukuda, S. Imajoh-Ohmi, and A. Abe. *J Bacteriol* **188**:2801-2811. (2006)
- 6) K. Sekiya, M. Ohishi, T. Ogino, K. Tamano, C. Sasakawa, and A. Abe. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**:11638-11643. (2001)
- 7) Y. Akeda, and J. E. Galan. *Nature* **437**:911-915. (2005)
- 8) T. Minamino, and K. Namba. *Nature* **451**:485-488. (2008)
- 9) K. Paul, M. Erhardt, T. Hirano, D. F. Blair, and K. T. Hughes. *Nature* **451**:489-492. (2008)
- 10) K. Akopyan, T. Edgren, H. Wang-Edgren, R. Rosqvist, A. Fahlgren, H. Wolf-Watz, and M. Fallman. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**:1639-1644. (2011)
- 11) A. Abe, T. Matsuzawa, and A. Kuwae. *Comptes rendus biologies* **328**:413-428. (2005)
- 12) A. P. Bhavsar, J. A. Guttman, and B. B. Finlay. *Nature* **449**:827-834. (2007)
- 13) H. W. Moon, S. C. Whipp, R. A. Argenzio, M. M. Levine, and R. A. Giannella. *Infect Immun* **41**:1340-1351. (1983)
- 14) T. K. McDaniel, K. G. Jarvis, M. S. Donnenberg, and J. B. Kaper. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**:1664-1668. (1995)
- 15) B. Kenny, R. Devinney, M. Stein, D. J. Reinscheid, E. A. Frey, and B. B. Finlay. *Cell* **91**:511-520. (1997)
- 16) M. de Grado, A. Abe, A. Gauthier, O. Steele-Mortimer, R. DeVinney, and B. B. Finlay. *Cell Microbiol* **1**:7-17. (1999)
- 17) N. Phillips, R. D. Hayward, and V. Koronakis. *Nat Cell Biol* **6**:618-625. (2004)
- 18) K. G. Campellone, N. Giese n, J. J. Tipper o, and J. M. Leong. *Mol Microbiol* **43**:1227-1241. (2002)
- 19) S. Gruenheid, R. DeVinney, F. Bladt, D. Goosney, S. Gelkop, G. D. Gish, T. Pawson, and B. B. Finlay. *Nat Cell Biol* **3**:856-859. (2001)
- 20) D. Vingadassalom, A. Kazlauskas, B. Skehan, H. C. Cheng, L. Magoun, D. Robbins, M. K. Rosen, K. Saksela, and J. M. Leong. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**:6754-6759. (2009)
- 21) T. Matsuzawa, A. Kuwae, and A. Abe. *Infect Immun* **73**:6283-6289. (2005)
- 22) T. Matsuzawa, A. Kuwae, S. Yoshida, C. Sasakawa, and A. Abe. *Embo J* **23**:3570-3582. (2004)
- 23) G. Benaï-Pont, A. Pun, C. Flores-Maldonado, J. Eckert, G. Raposo, T. P. Fleming, M. Cereijido, M. S. Balda, and K. Matter. *J Cell Biol* **160**:729-740. (2003)
- 24) P. Dean, and B. Kenny. *Mol Microbiol* **54**:665-675. (2004)
- 25) U. Heczko, A. Abe, and B. B. Finlay. *J Infect Dis* **181**:1027-1033. (2000)
- 26) Ivanov, II, K. Atarashi, N. Manel, E. L. Brodie, T. Shima, U. Karaoz, D. Wei, K. C. Goldfarb, C. A. Santee, S. V. Lynch, T. Tanoue, A. Imaoka, K. Itoh, K. Takeda, Y. Umesaki, K. Honda, and D. R. Littman. *Cell* **139**:485-498. (2009)

Cica Geneus Staph POT Kitの原理と メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学

Principle of Cica Geneus Staph POT Kit and molecular epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus

愛知県衛生研究所 主任研究員 鈴木 匡弘

MASAHIRO SUZUKI (Senior Researcher)

*Laboratory of Bacteriology, Department of Microbiology and Medical Zoology,
Aichi Prefectural Institute of Public Health*

1. はじめに

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は、現在においても医療現場で最も多く検出される薬剤耐性菌である。いわゆる院内感染原因菌として、感染管理が欠かせない病原菌である。日本で検出されるMRSAの多くは、全ての β -ラクタム薬(抗MRSA活性を持つセファロスポリンを除く)に耐性を獲得しているのみならず、ゲンタマイシンやクリンダマイシン、レボフロキサシンなど多くの临床上重要な薬剤にも耐性を示す。MRSAがマスコミの話題に上ることは少なくなったが、検出数自体は増加傾向にあり、普通に存在する薬剤耐性菌となってしまった。

さらに医療行為との関連性が見いだされないにもかかわらずMRSAが検出される、いわゆる市中獲得型MRSA(CA-MRSA)の存在が指摘されている。特に北米では高病原性型のCA-MRSAが蔓延し、問題視されている¹⁾。幸い日本では未だ高病原性型CA-MRSAの蔓延は見られないようだが、CA-MRSA自体は決して少なくない。

蔓延状態にあるMRSAだが、医療現場における感染管理の徹底によって院内感染を減らす事ができる。特に入院患者へのMRSA伝播抑制は医療現場の努力によって達成可能と考えられ、多くの病院で感染対策が効果を上げている。そこで感染対策の一助として院内伝播の実態を可視化できる分子疫学解析を紹介し、分子疫学解析の敷居を下げるために開発、キット化されたPhage ORF typing法(POT法)およびCica Geneus Staph POT Kit(以下Cica POT Kit)について解説する。

2. MRSAの系統

日本でどのようなMRSAが検出されるか整理するために、MRSAの分類法について紹介する。MRSAは、遺伝的背景の研究から多くの系統が存在することが判明している。MRSAはもともとメチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)が、耐性遺伝子である*mecA*を獲得したことによって発生したと考えられている。MRSAの系統は、*mecA*遺伝子が挿入されたゲノムそのものの系統と*mecA*遺伝子を黄色ブドウ球菌に運び込むStaphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*)のタイプとの組み合わせで決めると理解しやすい。

ゲノムそのものの系統を決めるためには、multilocus sequence typing (MLST)が利用される²⁾。MLSTでは、7カ所のハウスキーピングジーン塩基配列の多型を利用する。得られた塩基配列はMLSTのデータベースと照合し、sequence type (ST)を決める。また近縁なST型同士をまとめclonal complex (CC)とすることもある。

SCC*mecI*はcassette chromosome recombinaseと*mec* gene complexの種類の組み合わせからtypeが決められ、その他の挿入部分の構造からsubtypeが決められる。SCC*mec*のtypeやsubtypeの種類は研究の進展とともに増えつつあるが、世界で分離されるMRSAが保有するSCC*mec*の多くはtype I~Vである³⁾。

ST型とSCC*mec*の組み合わせで決めたMRSAの系統は、クローンと表現される。日本の病院では、ST5(またはCC5)かつSCC*mec* type IIを保有するNew York / Japan (NY/Japan)クローンが大多数を占める⁴⁾。また近年話題となることの多いCA-MRSAとしてはST8(またはCC8)か

つSCC*mec* type IVのクローンが多い。日本で分離されるCA-MRSAの中には、Toxic shock syndrome toxin-1 (毒素性ショック症候群毒素-1)を産生するものもある。しかし、ほとんどの場合Panton-Valentine Leicocidin (白血球破壊毒素)は産生しない。また小児を中心にST89かつSCC*mec* type IIのクローンが流行しており、表皮剥奪毒素(ETB)を産生することからブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群(SSSS)やとびひの起因菌となる。

3. クローンと株

臨床検体や環境材料などから分離同定された菌は株と呼ばれる。クローンは株の集合とも言えるが、同一クローンに分類される株間にも多様性が見られる。例えばNY/Japanクローンに分類される株を、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)解析すると多様なPFGEパターンを示す。しかし同一クローンに分類される株間には共通点が多く、保有する毒素遺伝子や薬剤感受性パターンなどには一定の傾向が見られる。

クローンによって多様性の程度は様々で、PFGE解析の結果を見る限りNY/Japanクローンには高い多様性が見られるが、小児で流行しているST89かつSCC*mec* type IIのクローンの多様性は乏しく、株を識別することが困難である(図1)。

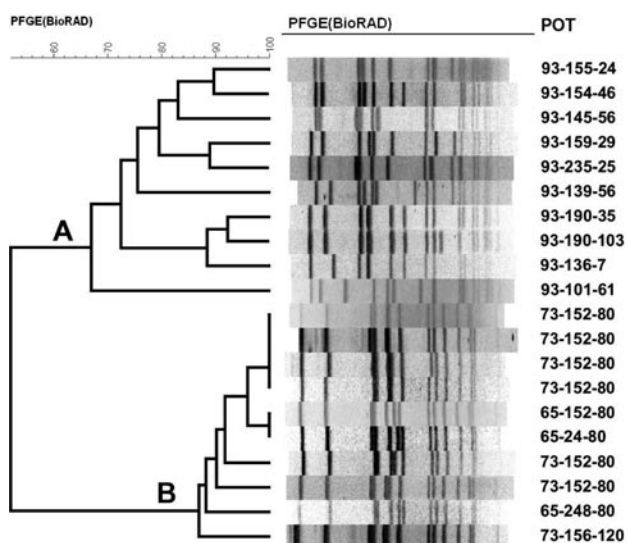


図1 NY/Japanクローンおよび小児流行クローン各10株のPFGEパターン疫学的に関連性が見いだされないNY/Japanクローン様分離株(2002~2006年、5医療機関で分離)および小児流行クローン分離株(2002~2006年、5医療機関で分離)各10株のPFGEパターンをデンドログラム解析。NY/Japanクローン様分離株は多様なPFGEパターンが見られる(クラスターA)。一方、小児流行クローン分離株のPFGEパターンはよく似ており、多様性に乏しい(クラスターB)。Cica POT Kit解析結果においても同様の傾向が見られる。

4. MRSAの感染対策

MRSAは日本では広く蔓延しているため、ある程度の規模の病院であれば1ヶ月に少なくとも数株程度は検出されることが考えられる。MRSAが検出される原因は、病院外部から持ち込まれるMRSAが存在することである。抗生物質の使用によってMSSAがMRSA化することは通常ない。

MRSAの感染対策としては接触感染予防策の徹底などが基本となるが、ここでは同一株の伝播を分離菌株の遺伝子型から解析し、集団感染の範囲を特定できる分子疫学解析について説明する。

病院には常に外部から持ち込まれるMRSAが存在することは、前述の通りである。したがって、MRSAが検出されたことと、MRSAが院内伝播したことは必ずしも一致しない。そこで検出されたMRSAが持ち込みなのか、院内伝播なのかを判断する必要が出てくる。

ここで分子疫学解析が威力を発揮する。MRSAには多様性があるため分子疫学解析によって、多種類の遺伝子型に分類できる。外部から持ち込まれた株の場合、それぞれの遺伝子型は異なると期待され、実際分子疫学解析を実施するとほとんどの場合すべて異なる遺伝子型となる。一方病院内伝播の場合、通常1つの株が広がることが多いと考えられ、分子疫学解析すると同一遺伝子型となる。

MRSAの遺伝子型を決める手法としては、PFGE法が標準法である。PFGE法ではゲノムDNA全体を制限酵素で切断、電気泳動し、電気泳動パターンから遺伝子型を決定する。菌株識別能力および再現性に優れ、適用可能な菌種が多いなど分子疫学解析にふさわしい多くの特徴を持つ。MRSAも含めた黄色ブドウ球菌の解析においても株レベルの多様性を検出可能な優れた菌株識別能を示し、特にNY/Japanクローンによる院内感染を調査するには、PFGE以外の方法では菌株識別能が不足するため分離株を十分に分けられない傾向にあった。その一方で特殊な電気泳動装置を必要とすることや作業者のトレーニングを必要とすることなどに加え、解析結果が得られるまで少なくとも3日と時間がかかるという欠点がある。また、手軽に実施することが困難であり、時間もかかることから院内感染が疑われた際の調査手法としてどの医療機関でもPFGE解析を行えるわけではない。

5. POT法開発の目的

先に述べたように、MRSA院内感染が疑われた際に、PFGE解析を実施することは敷居が高い。そこで黄色ブドウ球菌、特にMRSAの集団感染時に容易に分子疫学解析を実施可能とすることを目的にPOT法は開発された⁵⁾。NY/Japanクローンが圧倒的多数を占める日本の環境においても、十分な菌株識別能力を発揮するよう株レベルでの識別を可能とすることを目指した。そのため、POT法は、分離株の近縁関係を捉えるよりむしろ分離株が同一か否かを判定することに主眼が置かれている。POT法開発の目標をまとめると以下になる。

- (1) 菌株識別能力: NY/Japanクローンのタイピングが可能となるよう、PFGE法と同等の株レベルでの菌株識別能力の実現。
- (2) 解析時間: 半日程度で実施可能な迅速性の実現。
- (3) 必要機器: 一般的な実験機器で実施できるようにする。

Cica POT Kitでは論文発表されているPOT法の原法⁵⁾を改良し、MRSAとMSSAの区別ができるようにするとともに、MRSAクローンの簡易同定機能を加えた⁶⁾。

6. POT法の原理

POT法では菌株毎に保有状態が異なるORFを事前を選んでおき、それらの保有パターンをMultiplex PCRによって検出することで菌株の遺伝子型を決定する。

公表されている多くの黄色ブドウ球菌株全ゲノム配列をORF保有パターンの視点から比較すると、黄色ブドウ球菌内では菌株間に以下の違いが見られる。

Genomic islet: ゲノム内の所々にORF 1～数個から構成される菌株毎に保有状態の異なる小領域“genomic islet”が存在する。genomic islet は、全ゲノム塩基配列解析から存在が判明したが機能は明確でないことが多く今まであまり注目されてこなかった⁷⁾。しかし黄色ブドウ球菌では、genomic isletの保有パターンはMLST解析によって得られるCCと一対一で対応する⁶⁾。Cica POT Kitではgenomic islet 2個を検出し、クローンの簡易同定に利用している(表1 POT1-5, 6)。採用した2個はMRSAに多いクローンの識別がなるべく正確となるよう選択している。

Genomic island: ゲノム中に毒素遺伝子などが連なって挿入されている部分がある。これらの遺伝子群は、元々のゲノムには存在せず外来性である。病原性に関わるgenomic islandの場合、pathogenicity islandと呼ばれる。その他機能不明の外来性遺伝子群やSCCmecもgenomic islandの一種である。同一クローン内における保有genomic islandやgenomic island内の多様性は高くない。Cica POT Kitでは、Mu50⁸⁾と呼ばれるMRSA株で見いだされたgenomic islandから1個のORFを検出している(表1 POT2-8)。加えてSCCmecのtype IIとIVが同定できるようmec gene complex class AおよびB、cassette chromosome recombinase A2などSCCmec関連遺伝子を5個検出している(表1 POT1-1～4, 7)。

Prophage: 黄色ブドウ球菌のゲノムには、通常1～2個程度のファージが溶原化している^{7, 8)}。Prophageもgenomic islandの一種である。黄色ブドウ球菌ファージは様々なものが報告されているが、それぞれのファージを構成するORFのうち同一機能を担うと見られるORFの種類は限られており、各機能に相当するORFが組み合わさり、ファージを構成している。したがってファージの種類は多いが、ファージを構成する主なORFの種類はある程度限定される。これらの中から適当なものを選択すると、多くのクローンで株を識別可能な程度に保有パターンの多様性が見られる(図2)。Cica POT Kitでは、菌株

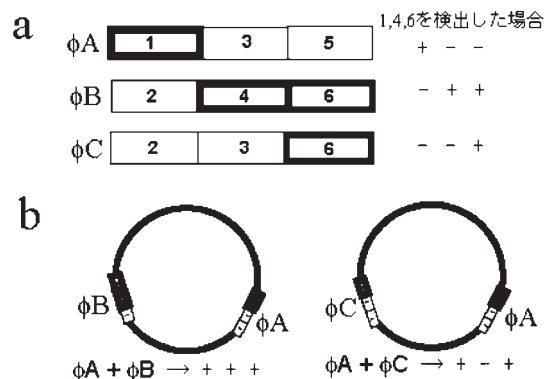


図2 POT法の概念図

POT法では菌株識別のためファージを構成するORFから適当なものを選んで検出し、その保有パターンによって遺伝子型を決める。

- ファージの模式図。黄色ブドウ球菌ファージは機能単位でORFが組み合わさったモザイク構造となっている。模式図では同一番号の部分は同一ORFから構成されているとする。1、4、6を検出した場合φA、φB、φCはそれぞれ++、-++、-++となる。
- 黄色ブドウ球菌ゲノムに溶原化しているファージの模式図。黄色ブドウ球菌ゲノム中には1～2個のファージが溶原化していることが多い。左のゲノムにはφAおよびφB、右のゲノムにはφAおよびφCが溶原化しているとする。模式図aの1、4、6を検出した場合左右のゲノムはそれぞれ+++、++-となり、POT法ではこのパターンを遺伝子型とする。ファージを構成するORFは多いため、溶原ファージを構成するORFの組み合わせは複雑となり、菌株識別に利用することができる。

識別のためprophageを構成するORFを13個検出し(表1 POT2-2~7, POT3-1~7)、株レベルでの菌株識別を実現している⁵⁾。

Cica POT Kitでは上記21種類のORFに加え、トランスポゾンTn554の検出を加えている(表1 POT2-1)。Tn554は同一CCに分類される株間においても保有の有無に差があるため、菌株識別能力の向上に貢献している。

7. Cica POT Kitの実施手順

POT法はMultiplex PCRによる分子疫学解析法であるため、通常のPCRを実施する機器が必要となる。Cica POT Kitの操作手順はPCRに不慣れな検査者が操作する可能性も考慮し、微量なピペッティングを極力減らすよう試薬が調製してある。

テンプレート調製:Cica POT Kitでは、熱抽出サンプルをテンプレートとして使用する。ところが黄色ブドウ球菌、特にMRSAは細胞壁が頑丈で単に蒸留水に懸濁して加熱しただけでは十分量のテンプレートが得られないことが多い。リボスタフィンを使うことで確実にテンプレート調製できるが、リボスタフィンの失活に注意する必要がある。Cica POT Kitでは、Cica Geneus DNA抽出試薬の使用を推奨しており、同試薬の使用によって容易に熱抽出サンプルを調製できる。

PCR反応液調製:Cica POT Kitには、プライマーやTaqなどPCR反応液調製に必要な試薬が一通り同梱されている。また、PCR反応液調製の際に蒸留水は必要ない。Cica POT Kitでは、菌株識別のためのORF 22個を2本のPCR反応チューブで増幅する。PCR反応液はプライマーミックス(Mix.1, Mix.2)それぞれについて調製する。5X AptaTaq DNA Master、PCRサプリメント、プライマーミックスを1検体当たり4μLずつ混合し、テンプレートを各反応液に8μLずつ添加し、遺伝子増幅装置にセットする。遺伝子増幅装置の機種間差による影響はほとんどないと考えられる。しかし、複雑なMultiplex PCRであるため、反応チューブと遺伝子増幅装置の相性が悪い場合、増幅が悪くなる可能性がある。

増幅産物の検出: 通常のミニゲル電気泳動装置で、各PCR増幅バンドを分離可能である。ゲルとしては4%アガロースゲル、バッファーとしては0.5Xあるいは1.0Xの

TBEバッファーを用いる。4%アガロースゲルの調製には慣れが必要なので、プレキャストゲルの利用も検討する価値がある。プレキャストゲルのブランドによっては染色に時間がかかるため、染まりが悪い場合は染色時間を延長する。Cica POT Kitによる増幅バンドは明瞭な事が多いが、薄いバンドでもサイズが一致すれば“+”にとる。非特異バンドの出現は少ないが、出現した場合は無視する。

8. POT型

POT型への変換:Cica POT Kitでは結果の取り扱いを容易とするため、増幅バンドの有無を1、0に置き換え、さらに十進法に変換することでPOT型としている(表1)。

表1 図3のCica POT Kit解析泳動パターンからPOT型への変換

ターゲット領域	係数	1-3, 5, 7		4, 6		8		9	
		結果	×係数	結果	×係数	結果	×係数	結果	×係数
<i>femA</i>		1		1		1		1	
POT1-1 <i>mecA</i>	64	1	64	1	64	1	64	1	64
POT1-2 Class B ^{*1}	32	0	0	0	0	0	0	0	0
POT1-3 IIa ^{*2}	16	1	16	1	16	1	16	1	16
POT2-1 Tn554	128	1	128	1	128	1	128	1	128
Mix. 1 POT2-2 Phage	64	0	0	0	0	1	64	1	64
POT2-3 Phage	32	1	32	1	32	0	0	1	32
POT2-4 Phage	16	1	16	1	16	1	16	0	0
POT2-5 Phage	8	1	8	1	8	1	8	0	0
POT2-6 Phage	4	1	4	1	4	1	4	0	0
POT2-7 Phage	2	1	2	1	2	1	2	1	2
POT2-8 Island ^{*3}	1	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>femA</i>		1		1		1		1	
POT1-4 <i>ccrA2</i>	8	1	8	1	8	1	8	1	8
POT1-5 Islet ^{*4}	4	1	4	1	4	1	4	1	4
POT1-6 Islet ^{*4}	2	0	0	0	0	0	0	0	0
POT1-7 Class A ^{*5}	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mix. 2 POT3-1 Phage	64	1	64	1	64	0	0	1	64
POT3-2 Phage	32	1	32	1	32	1	32	1	32
POT3-3 Phage	16	0	0	0	0	1	16	0	0
POT3-4 Phage	8	0	0	0	0	0	0	1	8
POT3-5 Phage	4	1	4	0	0	1	4	0	0
POT3-6 Phage	2	1	2	1	2	0	0	0	0
POT3-7 Phage	1	1	1	0	0	1	1	1	1
POT 1 POT1-1 + ... + POT1-7			93		93		93		93
POT 2 POT2-1 + ... + POT2-8			190		190		223		226
POT 3 POT3-1 + ... + POT3-7			103		98		53		105

*1. *mec* gene complex class B, *2. SCCmec type IIa specific, *3.genomic island, *4.genomic islet,

*5. *mec* gene complex class A

POT型は、POT1-POT2-POT3と3つに分けて記述している。同一株ではPOT1-POT2-POT3と3つの数値全てが一致する。

POT型の3つの数値のうち、株を識別している部分はPOT2とPOT3である。この部分は主にファージを構成するORFの保有パターンから計算されている。またPOT1の数値はSCCmec関連ORFの検出結果とgenomic isletの保有パターンの組み合わせから計算されるため、MRSA

クローンと相関があり、この数値から検査した株のMRSAクローンが大まかに推定できる(表2)。従ってPOT1の数値が異なる株の場合、両者は遺伝的に遠いと考えられる。例外としてSCCmec type IIのcassette chromosome recombinaseは脱落しやすいようで、例えばNY/JapanクローンのPOT1の値は通常93であるが85となる株も存在する。同様に小児流行クローンのPOT1の値は通常73であるが65となる株がしばしば見られる(図1)。

表2 POT1の値と日本で分離されるMRSAクローンの関係

POT1	CC	SCCmec	備考
64	59	V	PVL 産生株が多い。他に CC89 の SCCmec type V
65	89	不明	壊れた SCCmec type II b 保有株の可能性
70	121	V	ETA 産生株が多い
73	89	II b	小児流行クローン。ETB 産生株が多い
77	5	II ut	SCCmec type II, subtype 不明
85	5	不明	壊れた SCCmec type II a 保有株の可能性
93	5	II a	院内感染型 MRSA (NY/Japan クローン)
98	8	I	
104	多様	IV	CC12, CC59, CC72, CC78, CC89 などの SCCmec type IV
106	8	IV	他に CC1 の SCCmec type IV, USA300 の多くは 106-77-113
108	5	IV	
110	30	IV	PVL 産生株が多い

9. Cica POT Kitの性能

9.1 Simpson's index

Cica POT Kitの菌株識別能力を判断するために、病院内で水平伝播した可能性の低い392株の黄色ブドウ球菌を使用し、Simpson's indexを計算した⁹⁾。Simpson's indexは互いに関連のない2株をタイピングしたとき、異なる株と判定される確率である。使用菌株の内訳はNY/JapanクローンMRSA 255株、その他のMRSA 65株、MSSA 72株である。供試菌株は、Cica POT KitおよびSmaI切断によるPFGE解析を行った。PFGEパターンは、バンド1本違いで異なるパターンとした。

392株のMRSAはCica POT Kitでは232タイプに、PFGEでは249タイプに分類することができ、Simpson's indexはともに約0.99であった。

9.2 POT型の安定性

38名の患者から間隔を開けて1名につき2株ずつ、合計76株のMRSAを採取した。分離間隔は3~68日であった。供試菌株は、Cica POT KitおよびSmaI切断によるPFGE解析を行った。PFGEパターンは、バンド1本違いで異なるパターンとした。

32名の患者から分離された32組の分離株(84.25%)はPOT型、PFGEパターンともに同一となった(表3)。論

文発表済みのPOT法原法でORF 1個違いかつ同一PFGEパターンの分離株対⁵⁾については同一POT型となった。その一方5組(13%)は同一由来株である可能性が高いにもかかわらずORF 2個以上異なるPOT型となった。POT法では溶原ファージの脱落あるいは溶原化によって本来同一の株が異なるPOT型となる可能性が15%程度あると考えられる。ORF 1個違いのPOT型の判定についての判断は、さらなるデータの蓄積が必要である。

表3 同一患者由来株をCica POT KitおよびPFGE法解析した結果の比較

同一患者由来株間で異なる バンド数または ORF 数		同一患者由来株組 数 (n=38)	分離間隔 (平均値)
PFGE	POT 法		
0	0	32 (84.25)	3 - 68 (20.9)
0	3	1	27
1	1	1	15
2	2	1	27
2	3	2	43 - 44 (43.5)
2	5	1	4

10. Cica POT Kitによる院内感染の解析

図3は、ある病院の同一病棟で発生したMRSA集団感染から得られた株をCica POT KitとSmaI切断によるPFGE法で解析した結果である。同一感染源由来と考え

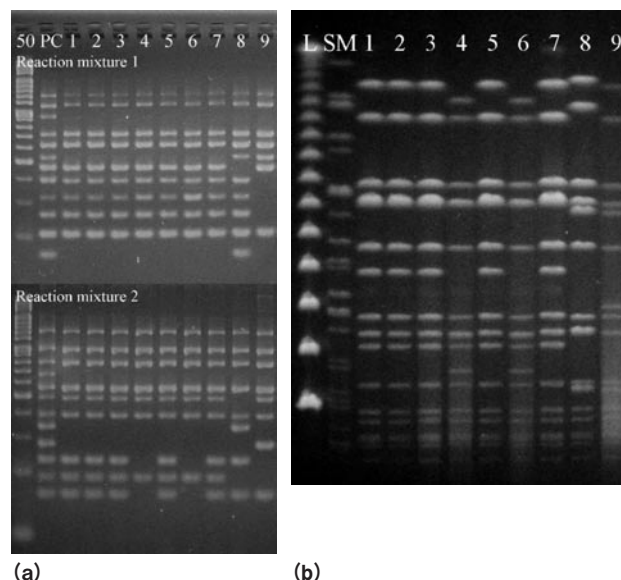


図3 集団感染由来MRSAのCica POT Kit解析及びPFGE解析
集団感染発生が疑われた同一病棟から得られた9株のMRSAをCica POT Kit (a) およびPFGE法 (b) で解析した。Cica POT Kit、PFGE法ともに菌株番号1~3、5、7が同一パターン(POT型93-190-103)となり集団感染が強く示唆された。加えて菌株番号4および6が同一パターン(POT型93-190-98)となり、93-190-103とは別の集団を形成していた。菌株番号8(POT型93-223-53)および9(POT型93-226-105)はPOT型、PFGEパターンともに異なっており、集団感染とは異なるMRSAと考えられる。
50: 50bpラダー、PC: ポジティブコントロール、1~9: 菌株番号、L: ラダー、SM: 画像解析用サイズマーカー

られる分離株(1~3、5、7)は、同一POT型(93-190-103)かつ同一PFGEパターンを示している。また別の2株(4、6)についても、同一POT型(93-190-98)かつ同一PFGEパターンを示し同一株であることを示唆している(表1)。一方菌株番号8および9については、POT型(8: 93-223-53、9: 93-226-106)およびPFGEパターンともに異なっており、集団感染とは関連のない株と判定される。

同一病院で短期間に分離された株を解析した場合、Cica POT KitとPFGE法の結果は良く一致する。Cica POT Kitでは、複数分離株が同一POT型となった場合に集団感染の発生を疑う。POT型から菌株間の近縁関係を推定することは困難であり、ORF 1個違いのよく似たPOT型となった場合は、異なる株である可能性が高い。例外的にPOT2とPOT3の値が同じ、かつPOT1の値が93と85となった場合に限り、同一株由来の可能性がやや高いと考えられる。院内感染の有無を判断する際にはCica POT Kit、PFGE法どちらの場合でも、入院病棟や担当した医療スタッフなど、遺伝子型以外の疫学情報も加味して総合的に判断する必要がある。

11. おわりに

POT法は、MRSA院内感染時における分子疫学解析の敷居を下げるための新しい方法である。現在のところ解析実績は少なく、今後性能の検証やデータの蓄積が必要になる。その一方でPOT法によって迅速に結果が得られ、結果は施設間比較が容易であるといった特徴がある。Cica POT Kitを利用することでMRSAの分子疫学解析は容易となる。Cica POT Kitが感染管理に役立つことを期待する。

参考文献

- 1) M. Z. David and R. S. Daum. *Clin. Microbiol. Rev.* **23**: 616-87. (2010)
- 2) M. C. Enright, N. P. Day, C. E. Davies, S. J. Peacock and B. G. Spratt. *J. Clin. Microbiol.* **38**:1008-15. (2000)
- 3) J.A. Otter and G. L. French. *Lancet. Infect. Dis.* **10**:227-39. (2010)
- 4) T. Ohkura, K. Yamada, A. Okamoto, H. Baba, Y. Ike, Y. Arakawa, T. Hasegawa and M. Ohta. *J. Med. Microbiol.* **58**:1329-36. (2009)
- 5) M. Suzuki, Y. Tawada, M. Kato, H. Hori, N. Mamiya, Y. Hayashi, M. Nakano, R. Fukushima, A. Katai, T. Tanaka, M. Hata, M. Matsumoto, M. Takahashi and K. Sakae. *J. Appl. Microbiol.* **101**:938-47. (2006)
- 6) M. Suzuki, M. Matsumoto, M. Takahashi, Y. Hayakawa and H. Minagawa. *J. Appl. Microbiol.* **107**:1367-74. (2009)
- 7) M.T. Holden, E. J. Feil, J. A. Lindsay, S. J. Peacock, N. P. Day, M. C. Enright, T. J. Foster, C. E. Moore, L. Hurst, R. Atkin, A. Barron, N. Bason, S. D. Bentley, C. Chillingworth, T. Chillingworth, C. Churcher, L. Clark, C. Corton, A. Cronin, J. Doggett, L. Dowd, T. Feltwell, Z. Hance, B. Harris, H. Hauser, S. Holroyd, K. Jagels, K. D. James, N. Lennard, A. Line, R. Mayes, S. Moule, K. Mungall, D. Ormond, M. A. Quail, E. Rabinowitsch, K. Rutherford, M. Sanders, S. Sharp, M. Simmonds, K. Stevens, S. Whitehead, B. G. Barrell, B. G. Spratt and J. Parkhill. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**:9786-91. (2004)
- 8) M. Kuroda, 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, U. 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, K. Hiramatsu. *Lancet.* **357**:1225-40. (2001)
- 9) P.R. Hunter and M.A. Gaston. *J Clin Microbiol* **26**: 2465-6. (1988)

ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(34)

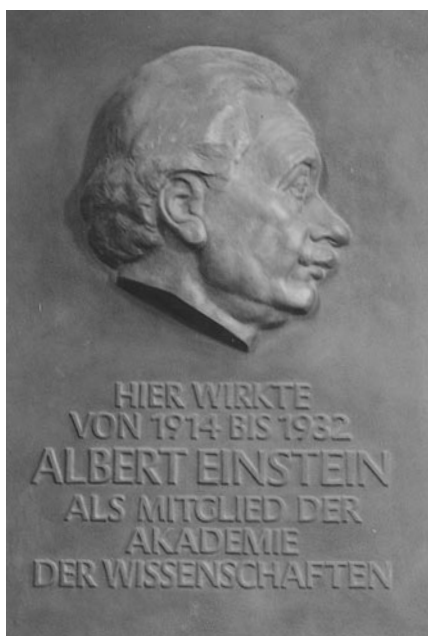
アルバート・アインシュタイン(最終回)

Scientists and Engineers in German Stamps (34). Albert Einstein

筑波大学名誉教授 原田 馨

KAORU HARADA

Professor Emeritus, University of Tsukuba.



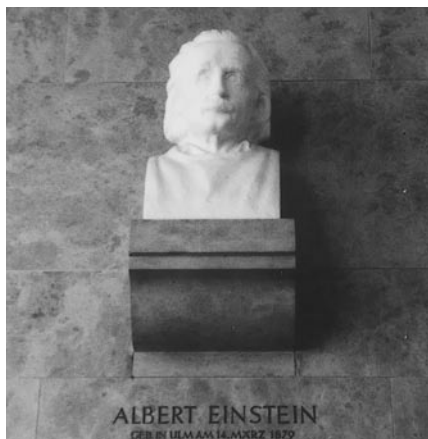
ベルリン国会図書館入口近くにあるアインシュタインのブロンズの記念板。
アインシュタインが、ドイツ科学アカデミーの会員としてこの図書館を利用したことを記念したものである。

アルバート・アインシュタイン

アルバート・アインシュタイン(Albert Einstein、1879-1955)、ドイツの物理学者、後にアメリカ国籍を取得した。

アインシュタインは、ユダヤ系ドイツ人の子として南ドイツのウルム(Ulm)に生まれた。子供の頃のアインシュタインは、将来の偉大な科学者をうかがわせるようなことはなく、3歳頃まで口もよくきけなかったようだ。1896年にスイスの連邦工科大学で電気工学と物理学を学んだが、なかなか就職先が見つからず友人の父親の世話で1902年にベルンにあるスイス特許局の技師となる。1909年にチューリッヒ大学の助教授となり、1911年にはプラハ大学の教授、1912年にはチューリッヒ大学の教授となる。1914年から1933年までベルリン大学教授、およびカイザー・ヴィルヘルム研究所物理学部長を務めた。アインシュタインは、1933年にナチスがドイツの権力を握るとアメリカへ亡命し、プリンストン高等研究所教授となり、1940年にアメリカの市民権を得た。

アインシュタインの研究はそのスケールが壮大であり、物理学の本質に関するものである。1905年にアインシュタインは、三編の論文を発表した。それらは、(1)特殊相対性理論、(2)ブラウン運動に関する分子運動論、および(3)光電効果の光電子理論に関するものであった。このようなノーベル賞クラスの画期的な新理論が、一個人により同じ年に三編発表されたことは驚くべきことであった。この1905年は、アインシュタインの「驚異の年」と云われる。この驚異の年から十年後には「一般相対性理論」を発表し、ニュートンの力学は宇宙法則の特別な場合であることを示し、この一般相対性理論に基づき宇宙論を展開した。この理論が発表されて間もなく、光は強力な重力場で屈折するという彼の予言がイギリスの皆既日食観測隊により証明され、学会に大きなインパクトを与えた。アインシュタインは、1921年に光電子理論の発



ミュンヘンのドイツ博物館に展示されているアインシュタインの胸像。



誕生の地、ウルムの駅前にあるアインシュタインのモニュメント。



ウルムにあるアインシュタインの泉。アイスクリームコーンと舌を出したアインシュタインが現れて驚く。

見によりノーベル物理学賞を受けたが、有名な相対性理論ではノーベル賞を受賞していない。

1921年ポツダム天文台に建てられたアインシュタイン塔は、相対性理論から予測される、太陽の巨大な質量によるスペクトルの赤方への変移を測定するための塔望遠鏡であり、塔が望遠鏡の筒の役割をした一種の分光器である。現在のアインシュタイン塔は、教育目的のために再建されたものである。アインシュタイン塔の近くに大きなドームがあり、その中に屈折天体望遠鏡がある。この天体望遠鏡は、現在では古く且つ小さいので天文学の第一線で使用されるわけではないが、教育目的のためには立派なものである。ドームの中には、アインシュタインの像があった。

1939年にアインシュタインは、ナチスが連合国に先んじて原子爆弾を開発することを恐れ、ルーズベルト大統領への原子力開発の進言に署名した。後に、マンハッタン計画として進められ、原子爆弾が完成した。アインシュタインは、

原子爆弾による広島、長崎の惨状を知り、核兵器廃止運動を含む平和運動に尽力した。数々の輝かしい業績を成し遂げたにもかかわらず、その生活は極めて質素であった。1945年にプリンストン高等研究所を退いた後も、研究室を貸与され生涯好きな研究を続けた。

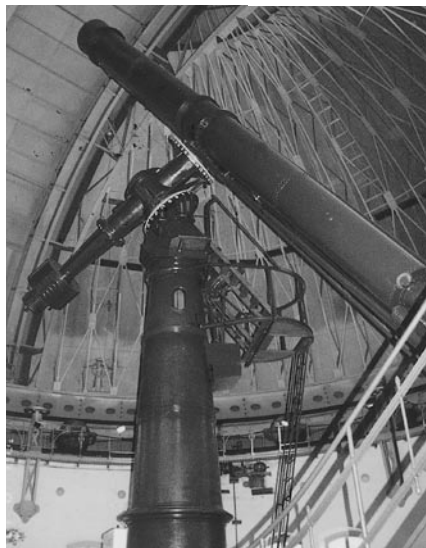
※本稿に掲載の写真は、著者の撮影によるものである。



ポツダム天文台のあるアインシュタイン・サイエンスパークの案内板。



ポツダム天文台にあるアインシュタイン塔。



ポツダム天文台にある屈折天体望遠鏡。



屈折天体望遠鏡のドーム内にあるアインシュタイン像。

ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(34) アルバート・アインシュタイン

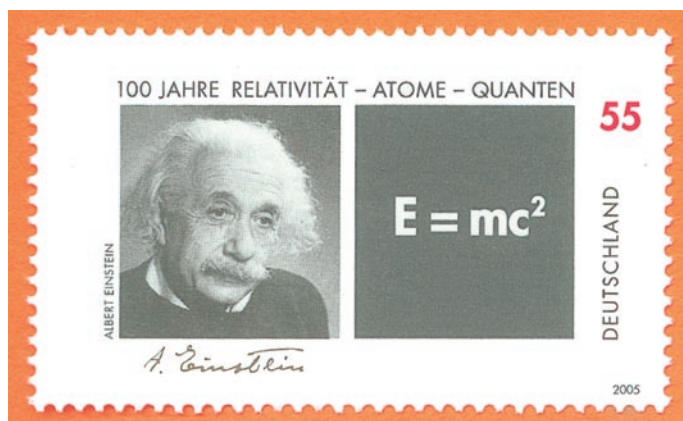


アインシュタイン生誕100年記念切手、1979年DDR発行。
切手の下の部分は、ポツダムのアインシュタイン塔のスケッチ。



1921年の光電子効果によるノーベル物理学賞受賞記念切手、1979年西ドイツ発行。

ゲッチンゲンにあるアインシュタイン通りの標識。



特殊相対性理論発表100周年記念切手、2005年ドイツ発行。
 $E=mc^2$: エネルギーと質量は、等価である。

表紙写真

チングルマ(稚児車) バラ科

チングルマは高山の雪渓周辺の草地や砂礫地に生え、草に見えますが背丈が10cm程の木で地面を這い、6、7月頃から径2～3cmほどの白い花を咲かせます。花の時期はもとより、咲き終わってからも穂の時期、葉の紅葉の時期とそれぞれ違う花のような姿を現し、このケミカルタイムズでも過去2回表紙に使っています。名の由来は、古来の風車の玩具を「稚児車」と言いますが、チングルマの花びらが落ち、その後から白い穂が生え揃った時に、玩具の稚児車(チゴグルマ)に似ている事からと伝えられています。(写真・文 北原音作)

編集後記

例年になく、いろいろな意味で厳しい夏をむかえる事となりそうです、皆様におかれましては、いかがお過ごしでしょうか。

本誌では、鶴飼先生の「フラットパネルディスプレイ概論(5)」、阿部先生の「細菌学の特別講義(3)」、菊池先生の「感染症四方山話(2)」、鈴木先生の「Cica Geneus Staph POT Kitの原理とメチリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学」ならびに原田先生の遺稿となりました「ドイツ

の切手に現れた科学者、技術者達(34) アインシュタイン」を掲載させていただきました。

「ドイツの切手に現れた科学者、技術者達」は、本誌がA4版に装いを新たにしました通巻187号(2003年1月)より掲載させていただいています、今回は最終回となりました。

なお、著者の原田先生の追悼特集の掲載を予定させていただきます。



関東化学株式会社

〒103-0022 東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号
室町東三井ビルディング
電話 (03)6214-1050 FAX (03)3241-1007
インターネットホームページ <http://www.kanto.co.jp>
編集責任者 原田 義美 平成23年7月1日 発行