

他誌掲載論文抄録

(令和4年4月～令和5年3月)

Nationwide and long-term molecular epidemiologic studies of mumps viruses that circulated in Japan between 1986 and 2017

(1986年から2017年に日本で流行したムンプスウイルスの全国的かつ長期的な分子疫学的研究)

Minoru Kidokoro (国立感染研), Teiichiro Shiino (国立国際医療研究C), Tomohiro Yamaguchi (岐阜東濃保), Eri Nariai, Hiroe Kodama (石川保環C), Keiko Nakata (大安研), Takako Sano (神奈川衛研), Keiko Gotou (茨城衛研), Tomoko Kisu (仙台医療C) Tomomi Maruyama (岐阜保環研), Yumani Kuba (沖縄衛環研), Wakako Sakata, Teruaki Higashi (北九州市保環研), Naoko Kiyota, Takashi Sakai, Shunsuke Yahiro (熊本保環研), Akira Nagita (水島中央病院), Kaori Watanabe, Chika Hirokawa (新潟保環研), Hirotsune Hamabata (アワセ第一医院), Yoshiki Fujii, Miwako Yamamoto (広島市衛研), Hajime Yokoi, Misako Sakamoto (千葉市環保研), Hiroyuki Saito, Chihiro Shibata (秋田健環C), Machi Inada, Misako Fujitani (奈良保研C), Hiroko Minagawa, Miyabi Ito (愛知衛研), Akari Shima (佐賀衛薬C), Keiko Murano, Hiroshi Katoh, Fumihiko Kato, Makoto Takeda (国立感染研), Shigeru Suga (三重病院) and The Surveillance Team for Mumps Virus in Japan., Front. Microbiol. 2022; 13: 728831. doi: 10.3389/fmicb.2022.728831

日本では、おたふくかぜワクチンが任意接種であり、接種率が低いことから(30～40%)、依然として、大規模なおたふくかぜの集団発生が4～5年毎に発生している。本研究では、おたふくかぜワクチン定期接種への導入に向けて、日本におけるムンプスウイルス(MuV)の全国的および長期的な分子疫学的傾向を明らかにすることを目的とした。さらに、次世代シーケンスで全ゲノム解析を行い、SH領域遺伝子シーケンスによる従来のジェノタイプ解析との結果を評価した。1986年から2017年までに25都道府県から収集されたムンプス臨床検体およびMuV分離株から1,064のSH遺伝子配列を解析した。その結果、B(110), F(1), G(900), H(3), J(41), L(9)が同

定され、優勢な遺伝子型は1980年代から10年毎に変化していることが分かった。遺伝子型Gは2000年代初頭から寡占的に流行しており、SH領域シーケンスにより、遺伝子型Gで7つのクレードが特定された。結果の検証のため、次世代シーケンスを使用して、遺伝子型Gの分離株77株について全ゲノム解析を行ったところ、5つのクレードが特定され、日本のクレード(JPC)-1, -2, -3, -4, -5として指定した。JPC-1および-3で遺伝子型G分離株の80%以上が占められた。JPC-2と-5は、この研究において日本で新たに特定されたクレードであった。次世代シーケンスを用いた全ゲノム解析は従来のSH領域シーケンスから得られた結果よりも正確であり、分子疫学研究のための強力なツールであることが分かった。

Natural mutation in the regulatory gene (*srrG*) influences virulence-associated genes and enhances invasiveness in *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* strains isolated from cases of streptococcal toxic shock syndrome

(劇症型溶血レンサ球菌感染症患者から分離された *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* において、制御遺伝子(*srrG*)の自然変異は、病原性関連遺伝子に影響を与え、侵襲性を高める)

Tadayoshi Ikebe¹, Hitoshi Otsuka², Kazuki Chiba³, Yu Kazawa³, Takahiro Yamaguchi⁴, Rumi Okuno⁵, Yoshimi Date⁶, Mari Sasaki⁷, Junko Isobe⁸, Makoto Ohnishi⁹, Yukihiro Akeda⁹

¹Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan.

²Department of Public Health Sciences, Yamaguchi Prefectural Institute of Public Health and Environment, Yamaguchi, Japan.

³Division of Microbiology, Fukushima Prefectural Institute of Public Health, Fukushima, Japan.

⁴Division of Microbiology, Osaka Institute of Public Health, Osaka, Japan.

⁵Department of Microbiology, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, Tokyo, Japan.

⁶,Division of Microbiology, Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, Kanagawa, Japan.

⁷,Laboratory of Microbiology, Oita Prefectural Institute of Health and Environment, Oita, Japan.

⁸,Department of Bacteriology, Toyama Institute of Health, Toyama, Japan.

⁹,Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan.
eBioMedicine, 6(81), 104133(2022)

Streptococcus dysgalactiae subspecies *equisimilis* (SDSE) は、劇症型溶血レンサ球菌感染症 (STSS) の重要な原因菌であり、侵襲性の STSS-SDSE 分離株と非侵襲性の SDSE 分離株の違いを特定することは効果的な治療やワクチンの開発においても不可欠なものである。本研究では国立感染症研究所および各都道府県から集めた株を用い、侵襲性の STSS-SDSE 分離株と非侵襲性の SDSE 分離株の侵襲性の違いに関与する遺伝子を特定した。まず、過去に侵襲性に関連する報告がある *csrS/csrR* の塩基配列を特定し、侵襲性 79 株および非侵襲性 34 株の SDSE 分離株について *csrS/csrR* の塩基配列を決定し、これらの遺伝子の変異頻度の評価を行った。その結果、15 株 (19.0%) の侵襲性の SDSE が *csrS/csrR* の様々な部位に欠失または点変異を有し、非侵襲性株は全て変異がないことが判明した。しかし、残りの 64 株に変異がみられないことから、*csrS/csrR* 変異株で上昇する 2 つの病原性遺伝子 (*sagA* および *slo*) の発現を評価したところ、*sagA* の発現量の多い 2 株が確認され、これらと非侵襲性株との全ゲノム配列について比較した結果、*sagA* 遺伝子と同じ方向に転写される、3 つの直列反復配列と 1 つの逆方向配列からなる低分子 RNA (sRNA) の変異を特定した。この sRNA は *srrG* (streptolysin S regulatory RNA in GGS) と呼ばれ、*srrG* の特定部位が変異することにより、プロモーターとしての機能を失い、*sagA* の発現を高めることを、遺伝子の変異株を作製し、変異株を接種したマウスの病原性発現試験により明らかとした。

Serotype distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus agalactiae* isolates in nonpregnant adults with Streptococcal Toxic Shock Syndrome in Japan in 2014 to 2021

(2014 年から 2021 年までの日本における非妊娠成人劇症型溶連菌性レンサ球菌感染症分離株の血清型分布と抗菌薬耐性について)

Tadayoshi Ikebe¹, Rumi Okuno², Yumi Uchitani², Mami Takano³, Takahiro Yamaguchi⁴, Hitoshi Otsuka⁵, Yu Kazawa⁶, Shohei Fujita⁶, Ayaka Kobayashi⁶, Yoshimi Date⁷, Junko Isobe⁸, Emi

Maenishi⁸, Makoto Ohnishi¹, Yukihiro Akeda¹; Working Group for Beta-Hemolytic Streptococci in Japan

¹National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan.

²Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, Tokyo, Japan.

³Oita Prefectural Institute of Health and Environment, Oita, Japan.

⁴Osaka Institute of Public Health, Osaka, Japan.

⁵Yamaguchi Prefectural Institute of Public Health and Environment, Yamaguchi, Japan.

⁶Fukushima Prefectural Institute of Public Health, Fukushima, Japan.

⁷Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, Kanagawa, Japan.

⁸Toyama Institute of Health, Toyama, Japan.
Microbiol Spectr 11(2), 2, 14(2023)

日本における B 群溶血性レンサ球菌 (GBS) による劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (STSS) の発生は、年々増加しており、深刻な問題となっている。さらに近年では、STSS の治療に用いられるペニシリンおよびクリンダマイシンの耐性株が報告されている。しかし、STSS の原因となる GBS について、100 株以上の分離株を解析した報告はない。そこで、2014 年から 2021 年にかけて日本で発生した非妊娠成人患者を含む STSS 患者から分離された 268 株の GBS の血清型分類と薬剤感受性試験を行った。血清型分類の結果、最も多い血清型は Ib 型であり、次いで血清型 V, III, Ia 型で、これらの型は分離株の 80% 以上を占めた。また、薬剤感受性試験の結果、7 株がペニシリン G に耐性であり、17.9% (48 株) がクリンダマイシンに耐性であった。ペニシリン耐性 GBS のうち、クリンダマイシン耐性株は 71.4% (5 株) であった。STSS の患者数を減らすためには、GBS ワクチン、特に六価型のワクチンを接種することが予防のため不可欠であり、このデータがそれを裏付ける重要な資料となった。

The cell transformation assay: A historical assessment of current knowledge of applications in an integrated approach to testing and assessment for non-genotoxic carcinogens

(細胞形質転換アッセイ: 非遺伝毒性発がん性物質の検査と評価への統合的アプローチにおける適用に関する現知識の歴史的評価)

Annamaria Colacci * (Agency for Prevention, Environment and Energy), Raffaella Corvi (European Commission, Joint Research Centre),

Kiyomi Ohmori (Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, Yokohama National University), Martin Paparella (Medical University of Innsbruck), Stefania Serra (Agency for Prevention, Environment and Energy), Iris Da Rocha Carrico (European Commission, Joint Research Centre), Paule Vasseur (Universite de Lorraine) and Miriam Naomi Jacobs (UK Health Security Agency)

* Corresponding author

International Journal of Molecular Sciences, 24(6), 5659 (2023)

細胞形質転換アッセイ (CTA) の開発の歴史を説明し、その起源から新しいトランスクリプトームに基づく CTA までの in vitro 細胞形質転換の概要を提供した。この知識の応用は、イニシエーションとプロモーションに対応するさまざまな種類の CTA を、非遺伝毒性発がん物質の試験と評価の統合アプローチ (IATA) 内にメカニズムベースで組み込む方法を検討するために活用される。さまざまな CTA モデルは、IATA の主要なイベントを対象としたアッセイ評価に基づいて、IATA の先行手順に従い、如何に適切に適合可能であるかを特定するものである。この過程は、プレスクリーニング トランスクリプトームアプローチ、そして炎症、免疫破壊、有糸分裂シグナル伝達、細胞傷害などの初期の重要なイベントにおける評価である。CTA モデルは、腫瘍形成につながる持続的な増殖と形態の変化という後の主要なイベントに対応する。前駆物質の重要なイベントとそれぞれの CTA に関する相補的な重要なバイオマーカーがマッピングされ、非遺伝毒性の発がんプロセスの複雑性、特にヒトにおける非遺伝毒性の発がん性化学物質を検出する能力を表すための構造化されたメカニズム的アプローチが関連する IATA に提供される。

Special issue "Advances in mechanism based toxicity and hazard assessment of NGTxC chemicals"

(特集「NGTxC 化学物質のメカニズムに基づく毒性とハザード評価の進歩」)

Miriam N. Jacobs * (UK Health Security Agency), Annamaria Colacci * (Agency for Prevention, Environment and Energy)

*Special Issue Editor

International Journal of Molecular Sciences (ISSN 1422-0067) (2023)

This special issue belongs to the section "Molecular Toxicology".

多くの製品および規制分野で公衆衛生をより良く保護するための非遺伝毒性発がん性化学物質のハザード

評価に対処するには規制上のギャップがあり、このギャップに対処するには代替法のメカニズムに基づくアプローチが必要である。この特別号は、非遺伝毒性発がん性 (NGTxC) 化学物質の危険性評価における最近の進歩に焦点を当てており、以下に関する論文が含まれる。

1. 関連するメカニズムと作用機序に対処しうるアッセイの開発とスクリーニングされた化学物質、免疫応答および炎症バイオマーカー、特にサイトカイン放出の測定、有害反応に対する適応性を区別するための細胞骨格の修飾、がん特異的なキナーゼの活性化、個々の細胞ベースの分子ベースのアッセイでは対処できない組織レベルでの複雑さに真に対処できる 3D モデル。
2. NGTxC に関連する定量的および定性的パスウェイに基づくアプローチ。
3. 発がん過程における主要なバイオマーカーのメカニズムを理解するための、ヒトの臨床データからの分子標的の応用。
4. メカニズムと作用機序の人間との関連性についての議論。例えば、げっ歯類の CAR/PXR や肝臓腫瘍におけるペルオキシソーム増殖/PPAR の誘導は、ヒトには関係がないと無視されていることに関して、全体的な観点における考察。
5. 化学物質の非遺伝毒性発がん性に対するウイルスの増強効果。

これらに該当する論文として下記が掲載された。

Gene expression over time during cell transformation due to non-genotoxic carcinogen treatment of Bhas 42 cells

(Bhas 42 細胞の非遺伝毒性発癌物質処理による細胞形質転換中の経時的な遺伝子発現)

大森清美* (神奈川衛研, 横浜国立大学), 亀井飛鳥 (神奈川県立産業技術総合研究所), 渡邊由紀 (かながわサイエンスアカデミー), 阿部啓子 (神奈川産総研, 東京大学)

* Corresponding author

International Journal of Molecular Sciences, 23, 3216 (2022)

Electrophysiological Effect of Citreoviridin on Human Induced Pluripotent Stem Cell-derived Cardiomyocytes (ヒト iPS 細胞由来心筋細胞に対するカビ毒シトレオビリジンの電気生理学的影響)

内山陽介 (神奈川衛研), 山崎大樹 (国立衛研), 小林直樹 (麻布大), 諫田泰成 (国立衛研), 小西良子 (東京農業大)

食品衛生学雑誌, 63(6), 210-217 (2022)

シトレオビリジン (CTV) は, *Penicillium*

citreonigrum を含むさまざまな真菌によって産生されるカビ毒である。CTV は神経毒性を特徴としているが、心臓に悪影響を与える可能性のある衝心脚気やケシャン病との関連が疑われている。 *in vivo* 及び *in vitro* で実験動物の心臓および心筋細胞における CTV の影響が報告されているが、ヒトの心筋細胞に対する CTV の影響はまだ完全には理解されていない。本研究では、ヒトの心臓に対する CTV の直接的な影響を、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞 (hiPSC-CMs) を使用した多電極アレイ (MEA) によって検討した。MEA の結果は、30 $\mu\text{mol/L}$ の CTV の直接曝露が hiPSC-CMs の拍動を止めたこと、Field potential duration および 1st peak amplitude は 10 $\mu\text{mol/L}$ の CTV で短縮されたことを明らかにした。hiPSC-CMs の拍動停止前に、スパイク間の間隔の長さは 2 倍から 4 倍に変化していた。これらの結果は、CTV がヒト心筋細胞の電気生理学的活性に直接影響を及ぼしたことを示唆している。この研究は、カビ毒に関連する食品の安全性を確保するための CTV のヒトへの直接的影響に対するリスク分析に貢献することが期待できる。

Characterization of synthetic turf rubber granule infill in Japan: polyaromatic hydrocarbons and related compounds

(日本における人工芝ゴムチップの特性評価：多環芳香族炭化水素類及び関連化合物)

西以和貴 (神奈川衛研), 河上強志 (国立衛研), 酒井信夫 (国立衛研), 小濱とも子 (国立衛研), 久保田領志 (国立衛研), 井上薫 (国立衛研), 五十嵐良明 (国立衛研), Science of The Total Environment, **842**, 156684 (2022)

欧米では人工芝の充填剤の健康影響について調査されているが、日本での実態は不明である。この問題を解決するため、日本国内の人工芝フィールドで使用される前のゴム製充填剤中の 46 種類の多環芳香族炭化水素 (PAHs) 及び関連化合物の濃度を分析した。調査試料は、試料供給者から得た情報に基づき、廃棄タイヤ、工業用ゴム、これらの製品の組み合わせまたは未確認成分 (混合物 / 不明)、人工芝用に特別に製造された合成ゴム、特殊用途の熱可塑性エラストマー (TPE) の 5 つのカテゴリーに分けた。工業用ゴムの試料は、スチレンブタジエンゴム、天然ゴム、エチレンプロピレンジエンゴム (EPDM) の混合物であった。合成ゴムのサンプルは EPDM のみから構成されていた。合成ゴムと TPE のサンプルからは、数種類の PAHs がわずかに検出されるか、まったく検出されなかった。しかし、廃棄タイヤと工業用ゴムの試料からは、ベンゾ [a] ピレン、シクロペンタ [cd] ピレン、その他 30 種類の化合物が検出された。この 2 つのカ

テゴリーを比較すると、廃棄タイヤは工業用ゴムに比べて対象化合物の濃度が高いことがわかった。これは、工業用ゴム試料のほとんどの EPDM が含まれており、廃棄タイヤ試料には含まれていないことに起因していると考えられた。本研究で得られた最大 PAHs 濃度は、これまで海外で報告されたゴム製充填剤中 PAHs 濃度と同程度かそれよりも低かった。また、欧州化学品庁 (ECHA) の健康リスク評価に用いられた 8 種類の PAHs の合計濃度は、ECHA の調査結果よりも本研究のものが低かった。さらに、4 種類の模擬生体液 (胃液、腸液、唾液、汗) を用いて溶出試験を実施した。その結果、すべての化合物の実際の溶出量は、定量下限値未満であった。本論文は、ゴム製充填剤中 PAHs のリスク評価のための基礎データを提供するものである。

Simultaneous determination of seven β_2 -agonists in livestock products using an LC-MS/MS system (LC-MS/MS を用いた畜産食品中の β 作動薬 7 種の一斉分析)

林 孝子 (神奈川衛研), 浜瀬健司 (九州大学)

Chromatography, **43**, 101-109, (2022)

DOI: 10.15583/jpchrom.2022.005

動物用医薬品として残留基準が設定されているクレンブテロール、ラクトパミン、ジルパテロールを含む β 作動薬 7 種の LC-MS/MS による一斉分析法を開発した。試料はアルカリ性条件下で酢酸エチル抽出を行い、無水硫酸ナトリウムによる脱水後、ヘキサン脱脂、C18 による分散固相精製を行い試験溶液とした。セミマイクロ ODS カラムを固定相とし、1% から 100% アセトニトリルの 10 分間のグラジエント溶離により、各化合物は 5-8 分の間に溶出した。畜産食品を用いた添加回収試験による真度は 60.1-103.5%、精度は併行精度が 1.26-8.94%、室内精度は 1.93-10.55% と良好な再現性が得られた。本分析法を用いた残留実態調査により、国内に流通している輸入食品からラクトパミンのピークが検出された。LC-MS/MS/MS 測定により、ラクトパミンの保持時間に定量範囲未満ではあるが明確なピークが確認され、ラクトパミンが流通輸入食品に残留していることが示された。本研究で開発した LC-MS/MS による β 作動薬一斉分析法および LC-MS/MS/MS によるラクトパミン分析法により、微量の β 作動薬を食品試料から検出可能な実用性のある高感度分析を達成した。