

## 黄色ブドウ球菌食中毒における可動性遺伝因子の役割と近年の知見

## 1. ブドウ球菌エンテロトキシンと可動性遺伝因子

ブドウ球菌食中毒は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) の産生するブドウ球菌エンテロトキシン (Staphylococcal Enterotoxins ; SEs) の摂取により引き起こされる一般的な毒素型食中毒である。本食中毒は、平均3時間の潜伏時間の後に発症し、主症状は嘔吐及び悪心であり、場合によっては下痢を伴う。厚生労働省の統計によると、日本では年間およそ50事例のブドウ球菌食中毒が発生しているとされている。そのうち、東京都における事例は全体のおよそ10%を占め、年間5事例前後の報告がなされている。

*S. aureus* による食中毒事例は、食品製造・販売段階での食品の衛生的な取扱い及び適切な保存管理により近年減少傾向にあるが、2000年に関西地方において加工乳に混在した SEs を原因とする大規模食中毒事例 (患者数13,420名以上) が発生するなど、*S. aureus* は公衆衛生上常に注意を払わなければならない食中毒起因菌の一つであり、同菌の制御、特にその毒素産生の制御は、食の安全を確保する上で重要視される。

原因毒素の SEs は、1971年までに抗原性の異なる5種類の型 (古典的 SEs ; SEA~SEE) が存在することが報告された。食中毒検査の分野においては、現在に至るまで血清学的手法に基づく市販キットを用いてこれら古典的 SEs の産生型別を実施している。しかし、近年、古典的 SEs 以外にも嘔吐活性を持つ新型 SEs、及び SEs と構造が類似するエンテロトキシン様毒素 (Staphylococcal enterotoxin-like toxins ; SEIs) が次々と報告され、現在までに SEA~SEE、SEG~SEIY の24種類 (SEF は欠番) が同定されている。

SE/SEIs 遺伝子の多くは、菌株間で移動することが可能な DNA である可動性遺伝因子 (mobile genetic elements ; MGE) 上に存在し、

MGE が *S. aureus* の食中毒起病性の獲得に深く関与することが知られている。この事実は、各種の MGE を同定しその特性を解析することが、*S. aureus* の食中毒病原体としての起病性を考察する上で非常に有益であることを想起させる。本稿では、*S. aureus* の持つ MGE を解説し、食中毒に関与する MGE の特性について筆者らが得た研究結果を交えて紹介する。

## 2. SE/SEIs 遺伝子に関連する可動性遺伝因子の種類

近年、*S. aureus* のゲノム解析が盛んに行われている。その過程で SE/SEIs 遺伝子が存在する MGE が同定され、本遺伝子がどのような組み合わせで MGE 上に存在するのか明らかにされつつある。SE/SEIs 遺伝子が存在する MGE には以下のものが知られており、本遺伝子の獲得形式は多岐にわたる。また、同じ毒素型遺伝子が異なる MGE 上に存在することもあり、毒素遺伝子の存在様式はその毒素の産生量に影響することが示唆されている。

1) プラスミド (*sed*, *selj*, *ser*, *ses*, *set* など)

プラスミドは最も代表的な MGE である。*S. aureus* が保有するものの内、特定のプラスミドに SE/SEIs 遺伝子が隣接して存在することが知られている。例えば、*sed*, *selj*, *ser* が存在する pIB485 や *selj*, *ser*, *ses*, *set* が存在する pF5 などが同定されている。

2) プロファージ (*sea*, *sek*, *sep*, *seq* など)

SE/SEIs 遺伝子が存在するプロファージは Siphoviridae に属する。食中毒の原因毒素として最も多く検出される *sea* はプロファージ上に存在し、そのタイプによって高 SEA 産生型プロファージと低 SEA 産生型プロファージに大別される。*sea*, *sek*, *seq* が存在する  $\phi$ Sa3mw や *sea* が存在する  $\phi$ SaMu3A などが知られている。

3) ブドウ球菌病原性アイランド (SaPI) (*seb*, *sec*, *sek*, *sel*, *seq* など)

SaPIは14-17 kb程の大きさにファージ様の遺伝子構造を持ち、ゲノム内に特定の6か所の挿入可能領域を持つMGEである。現在までに30種類以上のSaPIが同定され、SE遺伝子が存在するものとしては*seb, sek, seq*が存在するSaPI3や*sec, sel*が存在するSaPI*mw2*などが知られている。また、筆者らは*seb*が存在するSaPITokyo11212とSaPITokyo12413及び*sec, sel*が存在するSaPITokyo12381とSaPITokyo12571を新たに同定した(後述)。

4) vSa ゲノムアイランド (*seg, sei, sem, sen, seo, selv, selw* など)

vSaは、ゲノム上の特定の領域に挿入されている*S. aureus*特有のゲノムアイランドである。vSaゲノムアイランドは主に2種類(vSa $\alpha$ 及びvSa $\beta$ )あり、SE/SEIs遺伝子が存在するのはvSa $\beta$ である。vSa $\beta$ 内にはエンテロトキシン遺伝子クラスター(enterotoxin gene cluster; *egc*)と呼ばれる複数のSE/SEIs遺伝子の連なった領域が存在する。*egc*におけるSE/SEIs遺伝子の組み合わせは複数あり、例えば、*egc1*には*seg, sei, sem, sen, seo*が、*egc4*には*seg, sen, seo, selv, selw*が存在する。これらは共通の祖先遺伝子から重複、組換え等により新しい毒素遺伝子のバリエーションを生み出された結果構成されたものと考えられている。

5) Staphylococcal cassette chromosome (SCC) 近接遺伝子 (*seh*)

*seh*は*S. aureus*の持つトランスポゾンの一つであるSCCに近接して存在する。なお、SCCの中で、メチシリン耐性に関与する遺伝子*mecA*を持つものはSCC*mec*と呼ばれ、いくつかの構造の異なるアロタイプが存在する。これを利用したタイピング法(SCC*mec* typing)が、院内感染の原因菌の一つであるMethicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)の分子疫学的研究に広く用いられている。

### 3. 都内食中毒事例 *S. aureus* 株から同定された新規 SEs 関連 SaPI の特性

筆者らは、都内食中毒事例由来の*S. aureus*株の中から、*seb*保有SaPIであるSaPITokyo12413とSaPITokyo11212、*sec, sel*保有SaPIであるSaPITokyo12571とSaPITokyo12381を新たに同定<sup>1)</sup>した(図1)。それぞれの新規SaPIを保有する*S. aureus*株は、既知のSEs関連SaPIを保有する株と比較し同等もしくは有意に多いSE産生量を示し(表1)、高い食中毒起病性を持つ

ことが示唆された。また、これらのSaPIが菌株間で移動することが可能か否かを検証するため、移動するための一過程(SaPIDNAを複製する過程)に必要なタンパク質(複製開始タンパク質)の機能解析を行った。SaPITokyo11212, SaPITokyo12571及びSaPITokyo12381は既知SaPIと同様にその機能を保持していたが、SaPITokyo12413はその機能を失っていたため、移動能力を欠如することを示唆するものであった。

### 4. プラスミドによる食中毒事例への関与と変異型 *sed* 遺伝子の同定

筆者らは、食中毒由来*sed*陽性*S. aureus*株の持つSEs関連プラスミドを同定し、同プラスミドによる食中毒起病性を検討した<sup>2)</sup>。解析した全ての*S. aureus*株(7株)は、pIB485-like plasmidを保有し、SEIjを産生していなかった1株を除き、本プラスミド上にコードされるSEIj及びSERを産生していた。このことは、*S. aureus*が本プラスミドの伝播により、嘔吐活性を持つSERやそれを持つ可能性があるSEIjの産生能を獲得し、食中毒起病性を高めることを示唆する。また供試*S. aureus*7株は、SED産生型(>500 ng/ml)とSED非検出型(<0.1 ng/ml)に分けられた(図2)。後者に属する*S. aureus*株が持つpIB485-like plasmid内の*sed*の塩基配列において、514番目の塩基が欠損しフレームシフト変異が生じていた(図3)。その結果、C末端部分のアミノ酸残基を欠失するmSED配列が存在した。これらの*S. aureus*株において、*msed*遺伝子の転写を認めしたが、抗SED抗体を用いての検証からは、mSEDタンパク質が菌体外に分泌されているかを明確にすることができなかった。mSEDがSEとして食中毒の原因毒素になりえるか否か、今後更なる検証が必要である。

### 5. 食中毒分離株の持つ可動性遺伝因子

*S. aureus*のゲノムは、本菌の生存維持や基本的な生化学的性状を作る遺伝子群が存在するコアな部分(コアゲノム)と生存には直接関与しない外来性の遺伝子群(すなわちMGE)によって構成され、前者が全ゲノムのおよそ7-8割を、後者が残りを占めている。*S. aureus*の病原性(SEによる嘔吐活性を含め)の有無や強弱は、各株が持つMGEの保有パターンが深く関与している。しかし、実際の食中毒事例分離株がどのようなMGEの保有パターンを持ち、食中毒の発

生に関与しているのか、どのような遺伝学的特性を持つ *S. aureus* が食中毒を起こしやすいのかは未だ不明な点が多い。

筆者らは、SE/SEIs 遺伝子の網羅的解析を実施し、東京都で分離された食中毒由来 *S. aureus* 株が持つ MGE の保有パターンを予測した<sup>3)</sup>。また、それらとコアグラマーゼ型、MLST 型を組み合わせた結果、特定の遺伝学的特性を持つ 8 種類の *S. aureus* が存在することが明らかとなった。このことは、*S. aureus* の中で、特定の遺伝学的特性を持つ *S. aureus* 株が食中毒を引き起こしやすいという、疾病特異的な *S. aureus* の集団が存在することを示唆するものである。

今後、次世代シーケンサ等を用いた大規模ゲノム解析がより身近となり、食中毒を引き起こしやすい *S. aureus* のより詳細な遺伝学的特性が明らかとなっていくであろう。これは、食中毒防除を行う際の科学的情報として重要であり、食品を取り巻く環境中の汚染実態調査や汚染源の特定、食品への付着経路の推定等に寄与できると考えられる。また、豊富なデータによって裏付けられたゲノム情報が、PCR など簡易かつ迅速な検査方法の開発に応用されることも期待

される。

(食品微生物研究科食品細菌研究室 鈴木康規)

#### 参考文献

- 1) Suzuki, Y. *et al.* (2015) Identification and characterization of novel *Staphylococcus aureus* pathogenicity islands encoding staphylococcal enterotoxins originating from staphylococcal food poisoning isolates. *J. Appl. Microbiol.* 118, 1507-1520.
- 2) Suzuki, Y. *et al.* (2015) Detection of the staphylococcal enterotoxin D-like gene from staphylococcal food poisoning isolates over the last two decades in Tokyo. *J. Vet. Med. Sci.* 77, 905-911.
- 3) Suzuki, Y. *et al.* (2014) Molecular epidemiological characterization of *Staphylococcus aureus* isolates originating from food poisoning outbreaks that occurred in Tokyo, Japan. *Microbiol. Immunol.* 58, 570-580.

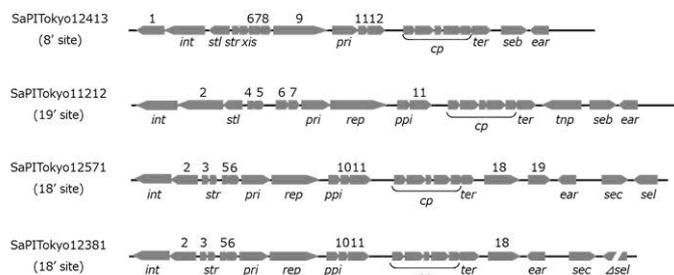


図1 新規SaPIの遺伝子構造

表1 新規SaPIを保有する各菌株のSEs産生量の比較

菌株名	保有するSaPI名	SEB産生量 ( $\mu\text{g/ml}$ )	SEC産生量 ( $\mu\text{g/ml}$ )	SEL産生量 ( $\text{ng/ml}$ )	
seb陽性株	Tokyo12413	SaPITokyo12413	82.6 $\pm$ 2.9*		
	Tokyo11212	SaPITokyo11212	201.8 $\pm$ 52.8**		
	seb陽性対照株	SaPIIno10	80.6 $\pm$ 7.8*		
sec及びsel陽性株	Tokyo12381	SaPITokyo12381		52.3 $\pm$ 1.6**	Not detected*
	Tokyo12571	SaPITokyo12571		23.2 $\pm$ 2.2*	56.1 $\pm$ 8.7**
	sec及びsel陽性対照株	SaPI68111		30.4 $\pm$ 2.8*	149.3 $\pm$ 18.5***

( $P < 0.01$ )

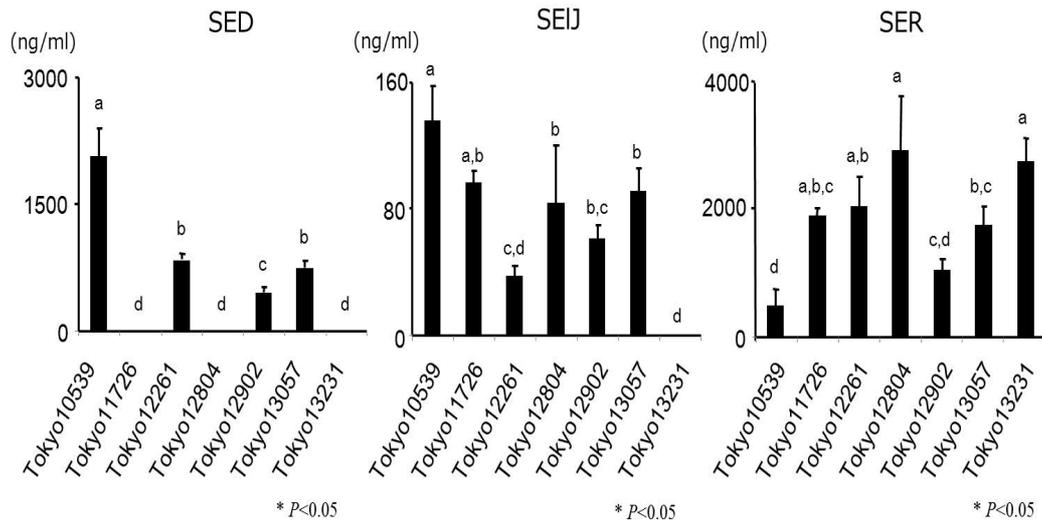


図2 食中毒由来*S. aureus* 株におけるSED, SEIJ及びSERの産生量

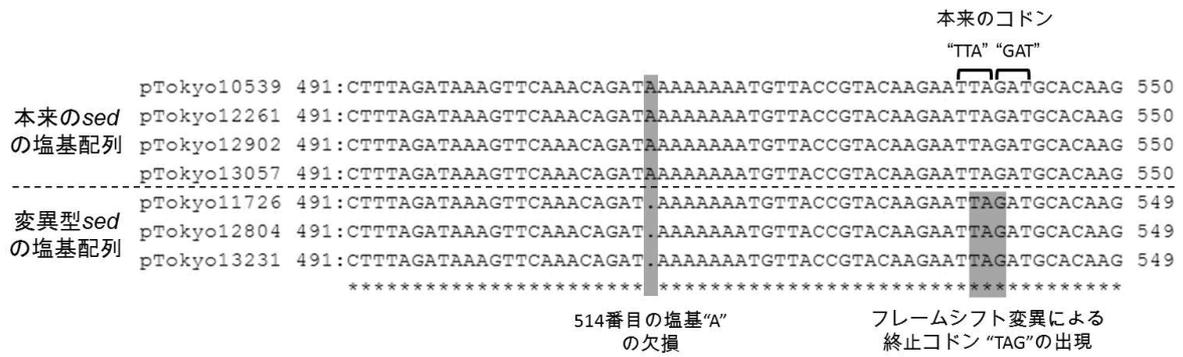


図3 食中毒由来 *S. aureus* 分離7株の持つプラスミド上の *sed* 配列と変異型 *sed* 配列の比較

表1 検査機関別検査件数及び病原菌検出状況

2015年8月分

検査機関名	検査件数	病原菌検出状況													
		コレラ菌		赤痢菌					チフス菌	パラチフスA菌	その他のサルモネラ	腸管出血性大腸菌	その他*	合計	
		O1, O139	O1, O139以外	A	B	C	D	計							
千代田区千代田保健所	375											1	1		2
中央区保健所	991														
港区みなと保健所	107														
新宿区保健所	8														
文京区保健所保健サービスセンター 本郷支所	12														
台東区台東保健所	0														
墨田区保健所	1550											1			1
江東区深川南部保健相談所	214											1			1
品川区保健所検査室	99														
目黒区碑文谷保健センター	1732											2			2
大田区保健所	8														
世田谷区世田谷保健所	148													5	5
渋谷区保健所															
中野区保健所	39												1		1
杉並区衛生試験所	1354												1		1
豊島区池袋保健所															
北区保健所	1876												1		1
荒川区保健所	225														
板橋区保健所	5														
練馬区保健所	4883											6	4	5	15
足立区衛生試験所	1313														
葛飾区保健所	0														
江戸川区保健所	3682											3	1	3	7
小計	18621											14	9	13	36
島しょ保健所大島出張所															
島しょ保健所三宅出張所	67														
島しょ保健所八丈出張所	122														
島しょ保健所小笠原出張所	58														
小計	247														
健康安全研究センター	707 (5)											33	7	12	52
小計	707 (5)											33	7	12	52
合計	19575 (5)											47	16	25	88

( ) : 海外旅行者分再掲

\* : 表2参照

表2 病原微生物検出状況(全国及び東京都)

菌 種 名	全国 (2015年7月分)		東京都 (2015年8月分)		
	地研・保健所		健康安全 研究センター	島しょ・区 検査機関	民間登録 衛生検査所
大腸菌	161		7	9	671
毒素原性	131				
組織侵入性					
病原血清型	20				
腸管出血性			7	9	26
その他・不明	10				645
赤痢菌	1	(1)			
A群					
B群					
C群					
D群	1	(1)			
その他・不明					
チフス菌					
パラチフスA菌					
その他のサルモネラ	48		33	14	80
O4	30		22	2	42
O7	7			5	17
O8	6		11	3	15
O9	3			1	4
その他	2			3	2
不明					
エルシニア・エンテロコリチカ	4				7
エルシニア・シュードツベルクローシス					
コレラ菌(O1)					
コレラ菌(O139)					
コレラ菌(O1, O139以外)					1
腸炎ビブリオ					7
その他のビブリオ			1		12
エロモナス					176
ブレジオモナス・シグロイデス			2		5
カンピロバクター	50		9		429
黄色ブドウ球菌	28			5	183
A型ウエルシュ菌	12				58
ボツリヌス菌					
リステリア・モノサイトゲネス	1				
セレウス菌	2				4
淋菌					36
クラミジア・トラコマチス					
髄膜炎菌					3
レンサ球菌(A群)	45	(1)			228
レンサ球菌(B群)	1				2643
レンサ球菌(CまたはG群)					
レンサ球菌(その他)	1				543
肺炎球菌	8				677
ジフテリア菌					
百日咳菌	4				
インフルエンザ菌	2				
レジオネラ	5			8	7
肺炎桿菌					
結核菌	15				
非結核性抗酸菌					
マイコプラズマ	1				
レプトスピラ					
赤痢アメーバ					
マラリア					
その他	1				
合計	390	(2)	52	36	5770

( ) : 海外旅行者分のうち、全国は別掲、東京都は再掲

全国の数字は「病原微生物検出情報」(国立感染症研究所)より引用  
民間登録衛生検査所の集計値は、LSIメディエンス株式会社の協力による

表3 性感染症検査成績

2015年8月分

東京都健康安全研究センター

区 分	梅毒検査		クラミジア検査				淋菌遺伝子検査	
			抗体検査		遺伝子検査			
	検査数	陽性	検査数	陽性	検査数	陽性	検査数	陽性
保健所*	165	4	48	14	117	14	89	1
東京都南新宿検査・相談室	308	19						
計	473	23	48	14	117	14	89	1
累計(2015年1月～)	3725	103	517	124	1757	87	1413	5

保健所\* : 当センターで検査した区または都保健所検体の合計

梅毒検査\*\* : TPLA 法と RPR 法にてスクリーニングを行い、TPHA 法・TPLA 法中和試験にて特異性を確認した。

区及び島しょ保健所

	梅毒血清反応			クラミジア抗体				
	検査件数	STS法 陽性	TP抗原法 陽性	検査件数	陽性件数	内訳		
						IgA 抗体陽性	IgA/IgG 抗体陽性	IgG 抗体陽性
男	77	0	1	36	6	1	1	4
女	44	0	0	28	6	0	1	5

表4 都内性感染症病原体定点医療機関から送付された検体の細菌検査成績

2015年8月分

東京都健康安全研究センター

検査項目		検査数	検出数	検査材料	臨床診断名	
クラミジア	トラコマチス	遺伝子	29	9	陰部擦過物、尿	尿道炎、クラミジア膣炎、性器クラミジア症、淋菌性尿道炎
ナイセリア	淋菌	遺伝子	29	7	陰部擦過物、尿	尿道炎、膣炎、性器クラミジア症、淋菌性尿道炎
		培養	29	4	陰部擦過物、尿	
その他の菌種	<i>Candida albicans</i>	培養	1	1	尿	尿道炎

表5 HIV検査数および陽性数

2015年8月分

東京都健康安全研究センター

区 分	男性		女性		性別不明		合計	
	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数
東京都南新宿検査・相談室	590	8	229	0	0	0	819	8
特別区保健所	167	1	68	0	0	0	235	1
確認検査依頼	2	2	0	0	0	0	2	2
合計(2015年 8月分)	759	11	297	0	0	0	1056	11
累計(2015年 1月～)	6064	90	2566	2	1	0	8631	92

区及び島しょ保健所

	男	女	不明
検査者数	231	92	0
陽性者数	3	0	0

表6 東京都におけるヒト由来ウイルス検出状況

2015年8月分

東京都健康安全研究センター

ウイルス/型	検出数	検査材料	臨床診断名	
インフルエンザ	AH3亜型	1	咽頭拭い液/鼻腔拭い液	発熱、関節痛
	B型	1	咽頭拭い液/鼻腔拭い液	発熱、頭痛、上気道炎
アデノ	1型	1	咽頭拭い液	扁桃炎
	4型	1	咽頭拭い液	咽頭結膜熱
	37型	1	結膜拭い液	流行性角結膜炎
	型別不明	4	咽頭拭い液、糞便	咽頭結膜熱、感染性胃腸炎、咽頭炎
コクサッキー	A群6型	31	咽頭拭い液、髄液、糞便	手足口病、ヘルパンギーナ、水痘、不明発疹、無菌性髄膜炎
	A群9型	3	咽頭拭い液	手足口病、不明発疹、咽頭炎
	A群16型	6	咽頭拭い液	手足口病、不明発疹症
	B群2型	3	咽頭拭い液、髄液	無菌性髄膜炎
エコー	9型	3	咽頭拭い液、髄液	無菌性髄膜炎
エンテロ	型別不明	2	髄液、咽頭拭い液	無菌性髄膜炎、肺炎
ライノ		2	咽頭拭い液	気管支炎、川崎病
単純ヘルペス	1型	3	陰部尿道頭管擦過物/分泌物、咽頭拭い液	性器ヘルペス感染症、無菌性髄膜炎
	2型	1	陰部尿道頭管擦過物/分泌物	性器ヘルペス感染症
ヒトヘルペス	6型	5	咽頭拭い液	突発性発疹、麻しん、不明発疹症
ムンプス		3	咽頭拭い液、髄液	流行性耳下腺炎
ヒトパルボ	B19	4	咽頭拭い液	伝染性紅斑、不明発疹症
風疹		1	咽頭拭い液	不明発疹症
デング	1型	4	血清	デング熱
	2型	1	血液	デング熱
	4型	2	血清	デング熱
	型別不明	2	血清	デング熱
ヒトパピローマ	6型	4	陰部尿道頭管擦過物/分泌物	尖圭コンジローマ
	11型	4	陰部尿道頭管擦過物/分泌物/コンジローマ患部生検	尖圭コンジローマ
	18型	1	陰部尿道頭管擦過物/分泌物	尖圭コンジローマ

表7 東京都におけるウイルス性胃腸炎・食中毒疑い検査成績

2015年8月分

東京都健康安全研究センター

区分	検体数	検出病原体	陽性数
ふん便・吐物	179	ノロウイルス (G I)	40
		ノロウイルス (G II)	4
		ノロウイルス (G I, G II)	2
		ロタウイルス	0
		サポウイルス	0
		アデノウイルス	0
食品・拭き取り	27	ノロウイルス (G I)	0
		ノロウイルス (G II)	2
合計	206	陽性数合計	48

表8 ヒト由来抗酸菌検出状況

区及び島しょ保健所

	管理健診	家族健診	接触者健診	その他	計
検査件数	0	0	0	37	37
陽性件数	0	0	0	2	2
結核菌	0	0	0	0	0
非結核性抗酸菌	0	0	0	0	0

◆東京都微生物検査情報◆

2015年 10 月 19日

編集・発行

東京都健康安全研究センター

〒169-0073

東京都新宿区百人町3-24-1

TEL:03-3363-3213

FAX:03-5332-7365

S0000786@section.metro.tokyo.jp

<http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/>