

4. 細菌第一部

部長 大西 真

概要

細菌第一部では、多様な病原細菌に対する菌種内多様性の解析、病原機構の解明、新規検査法の開発等に関する研究を行っている。また、肺炎球菌感染症に対する2種類のワクチン、4 価髄膜炎菌コンジュゲートワクチンの検定検査、梅毒体外診断薬の承認前試験を担当するとともに、病原細菌に対する行政検査あるいは臨床現場からの直接の検査依頼、レファレンス活動、病原体サーベイランスに係る業務を担当している。

腸管出血性大腸菌(EHEC)に関しては、地方衛生研究所から送付された菌株の多様性解析を実施した。EHEC O157, O26, O111, O103, O121, O145, O165 および O91 菌株 (n=2,768) に関しては、迅速性、多検体処理に秀でている MLVA 法によって解析し、結果を速やかに返送するとともにデータの蓄積につとめた。広域食中毒事例の解析に活用された。EHEC 感染症に続発する溶血性尿毒症候群の原因診断につながる血清診断、EHEC 分離同定も行われた。重症例由来 EHEC のうち、III 型分泌装置を保有しない O 群(O113, O174, O183, OUT, O74, O86)の株について、完全長ゲノム配列を決定し、保有遺伝子等の解析を行った。

感染症研究国際ネットワーク推進プログラムの協力のもと、海外の研究拠点との連携を深めた。特に、岡山大学インド拠点、長崎大学ベトナム拠点とのプロジェクトを引き続き実施した。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症、レジオネラ症、腸管出血性大腸菌感染症に関するレファレンス活動が進められた。赤痢菌、サルモネラ属菌、ビブリオ属菌、肺炎球菌、ボレリア属菌、薬剤耐性淋菌に関するサーベイランス等が進められ、感染症対策における基盤的情報の蓄積が進められている。特に、培養不能菌である梅毒トレポネーマに関して、国内伝播株のゲノム解析手法を用いた解析が開始され、検体から直接解析することで、国内で伝播している梅毒トレポネーマのゲノム配列情報の取得に成功した。

その他研究面においては、六室から構成される細菌第一部の各室が担当する細菌(腸管出血性大腸菌、サルモネラ、赤痢菌、チフス菌、ビブリオ等の腸管感染症原因菌、レジオネラ、レンサ球菌、肺炎球菌、ボレリア、髄膜炎菌、レプトスピラ、淋菌、梅毒スピロヘータ、口腔細菌等)の検査法の開発、分子疫学的手法の確立とその応用、薬剤耐性菌の疫学・耐性機

序の解明、病原性因子の発現制御、菌と宿主との相互作用および感染過程の分子機構の解明を目指した研究を従来に引き続いて行った。

H30 年 11 月には、国立感染症研究所において第22回腸管出血性大腸菌感染症研究会を開催した(世話人 大西真、事務局 伊豫田淳)。

石原朋子は H29 年度に引き続き、日本医療研究開発機構に派遣された。大西真は H30 年 4 月より副所長に着任した。

業績

調査・研究

I. 腸管感染症に関する研究

1. 腸管出血性大腸菌(EHEC)に関する研究

(1) EHEC の多様性解析

ア. EHEC の血清型別と重症例由来株

2018 年に全国から受け付けたヒト由来の EHEC は 2,954 株であった。頻度の高い O 血清群(O 群)の順に O157(56.3%)、O26 (20.9%)、O121 (5.2%)、O103 (4.5%)、O111 (3.3%)、O145 (1.8%)で、その他は 73 の O 群、104 の血清型(O:H 型)に分類された。ヒトの重症例(血便、溶血性尿毒症候群[HUS]、脳症、死亡例など)由来株はこのうち 1,050 株で、上記の 6 血清群に O165 を含めた 7 血清群で重症例由来株全体の 98%以上を占めた。[伊豫田淳、小澤さお美、竹本歩、中島雪絵、李謙一、泉谷秀昌、大西真]

イ. 重症例由来 EHEC の新規血清型の同定

2007 年から 2018 年までにヒトの重症例から分離された O 群型別不能 (OUT) の EHEC 株について、大腸菌の血清型を遺伝学的に決定出来る O-/H-genotyping PCR 法による型別を行ったところ、少なくとも 10 種類の新規 O 群および 15 種類の新規 O:H 型の重症例由来 EHEC 株が存在することが判明した。このうち、重症例由来として最も分離数の多い新規 O 群は OgN6 (n=5) であり、H 型は H2 (n=1)、H19 (n=3)、H34 (n=1) に分類されることが判明した。[伊豫田淳、井口純(宮崎大・農)、小澤さお美、竹本歩、李謙一、大西真]

ウ. 重症例由来 LEE 非保有 EHEC の完全長ゲノム配列解析
重症例由来 EHEC のうち、III 型分泌装置を保有しない O 群 (O113, O174, O183, OUT, O74, O86)の株について、完全長

ゲノム配列を決定し、保有遺伝子等の解析を行った。その結果、O86 は凝集性線毛等がコードされたプラスミド (pAA) を、その他の株は STEC autoagglutinating adhesin (Saa) がコードされたプラスミドを有することが明らかとなった。Saa がコードされたプラスミドは、subtilase toxin など他の病原性遺伝子を共通して保有しており、病原性等への関与が示唆された。

[李謙一、伊豫田淳、小澤さお美、竹本歩、大西真]

(2) 分子疫学的解析

ア. MLVA 解析

2018 年に当研究所に送付され解析された腸管出血性大腸菌は 2,972 株であった。このうち血清群 O157、O26、O111、O103、O121、O145、O165、O91 に該当した 2,768 株について MLVA による型別を行った。また 312 株について PFGE による解析を実施した。MLVA については 1,106 の型が同定された。最も多かった型は 18m0126、18m0241、16m4013 でありいずれも 55 株であった。18m0126 は 18m0384 (1 株) とともにコンプレックス 18c034 を形成し、これには 8 月に発生した広域食中毒事例関連株が含まれた。[泉谷秀昌、伊豫田淳、李謙一、石嶋希、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、大西真]

イ. 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析 (データベースサーバー)

jpulsenet サーバーを設置し、腸管出血性大腸菌の PFGE 解析結果に関するデータベースをアップデートした。血清群 O157 については同サーバー上に IS-printing system の解析結果に関するデータベースをアップデートした。上記データベースの活用について検討した。[泉谷秀昌、伊豫田淳: 岩渕香織 (岩手県環境保健研究センター)、鈴木淳 (東京都健康安全研究センター)、松本昌門 (愛知県衛生研究所)、河合高生 (大阪健康安全基盤研究所)、狩屋英明 (岡山県環境保健センター)、濱崎光宏 (福岡県保健環境研究所)、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、大西真]

(3) 血清診断による EHEC-HUS の確定診断

EHEC が不分離の HUS 発症例 (全体の約 30% を占める) では、患者血清中の大腸菌 O 抗原に対する抗体の検出 (血清診断) などで EHEC-HUS の確定診断となる。血清診断依頼があった HUS 症例 7 例のうち、大腸菌 O 抗原に対する抗体陽性となったのは 5 事例であった。このうち O157 抗体陽性が 2 例、O111 抗体陽性が 2 例 (うち 1 例は O145 抗体も陽性)、O121 抗体陽性が 1 例であり、これらの事例ではいずれも以下 (5) で述べる EHEC の分離と併せて EHEC 感染による HUS 症例と確定した。[伊豫田淳、小澤さお美、竹本歩、大西真]

(4) HUS 患者からの EHEC の分離同定

EHEC が分離されない HUS 症例の一部は非典型的 HUS (atypical HUS: aHUS) と診断される可能性があり、EHEC-HUS と aHUS の鑑別は重要である。当初 EHEC が不分離とされた HUS 発症例 4 事例について患者便を再検査したところ、このうちの 1 例 (残りの 3 例は依然として EHEC 不分離例であったが、いずれも上記の血清診断陽性例であった) では血清型が OUT/OgUT:H11 となる *stx2* および *eae* 陽性の EHEC が分離され、EHEC 感染による HUS 症例と確定した。[伊豫田淳、小澤さお美、竹本歩、大西真]

2. 赤痢菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア 赤痢菌の分子疫学解析

2018 年に当研究所に送付された赤痢菌 158 株について multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) およびパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による分子疫学解析を行った。菌株の内訳は *S. sonnei* 138 株、*S. flexneri* 17 株、*S. boydii* 3 株であった。*Shigella sonnei* では 76 の MLVA 型が検出された。このうち 39 株が同一の MLVA 型であり、さらに 2 株が当該 MLVA 型と類似の型であった。これらは 10 月に発生した食中毒事例関連株を含んでいた。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

イ 病原性の発現メカニズムにもとづいた、広汎な血清型に作用する赤痢ワクチン候補株の開発

これまで、多数の血清型で構成される赤痢菌群に共通に効果を示すワクチンは実用化されていない。赤痢の病原性発現メカニズムの研究から、赤痢菌群に共通する病原因子である III 型分泌装置 (T3SS) の発現が増える一方、ストレス応答の不調で宿主から排除されやすい変異 (*hfg*) を同定した。

この変異を利用したワクチン候補株が、モルモットを用いた複数の実験系で、現在の流行株であるソクネ菌と、志賀毒素遺伝子をもつ志賀菌に防御効果を示すことを明らかにした。また免疫した個体の産生する抗体はこれらを含む赤痢菌群に反応した。血清型を超えて免疫が誘導されるメカニズムとして、ワクチン候補株は共通抗原である T3SS の発現が増加している上に、弱毒化によって通常の感染量をはるかに超えた菌の投与が可能であることが考えられた。

このワクチン候補株の副反応をより弱めた候補株を作成し、インド国立コレラ腸管感染症研究所 (NICED) と解析を進めている。[三戸部治郎]

3. サルモネラ属菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア チフス菌、パラチフス A 菌のファージ型別

2018 年に国内で分離され、地方衛生研究所、保健所等から送付されたチフス菌、パラチフス A 菌についてファージ型別試験を行った。送付された菌株数はチフス菌 34 株、パラチフス A 菌 21 株であった。チフス菌では、ファージ型 E1 が 12 株と最多となった。パラチフス A 菌ではファージ型 1 が 10 株検出され最多となり、それに次いでファージ型 2 が 4 株検出された。[森田昌知、泉谷秀昌、大西真]

イ チフス菌、パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性試験

2018 年に国内で分離されたチフス菌、パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性を検討した。ニューキノロン系薬剤 3 薬剤、第 3 世代セファロスポリン系薬剤 2 剤、その他従来の治療薬等合計 16 剤を用いた。感受性試験の結果、ニューキノロン薬に対して非感受性となるナリジクス酸耐性菌の割合はチフス菌で 61.7%、パラチフス A 菌は 100%であった。第 3 世代セファロスポリンに耐性を示すチフス菌が 1 株検出された。[森田昌知、泉谷秀昌、大西真]

ウ サルモネラの血清型別、遺伝子型別、ファージ型別

2018 年に当研究所に送付されたサルモネラ株は 97 株であった。血清型は 16 種類からなり、上位 4 位は Enteritidis、Saintpaul、Bareilly、I 4:i:-であった。これらは、*Xba*I 消化による PFGE 解析により 18 パターンに分かれた。血清型 Enteritidis 28 株についてファージ型別を実施し、ファージ型 (PT)47 が 18 株、PT21 が 4 株、PT4 が 1 株、その他が 5 株となった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

エ 保菌者サルモネラの血清型別と薬剤耐性

2017 年に分離された保菌者由来サルモネラ O8 群 100 株、2016-2017 年に分離された保菌者由来サルモネラ O9 群 82 株について血清型別及び薬剤感受性試験を実施した。O8 群上位は Manhattan、Newport、Litchfield、O9 群上位は Enteritidis、Panama、Javiana であった。63 株が何らかの薬剤に耐性を示し、耐性パターンとしては、SM+TC2 剤耐性が多く観察された。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

オ 中国広東省で分離された *Salmonella* Typhimurium のゲノム解析

中国広東 CDC より送付された *Salmonella* Typhimurium のゲノム DNA を用いて、次世代シーケンサーによるゲノム解読を行った。得られたドラフトゲノム配列より、薬剤耐性遺伝子の保有状況と薬剤耐性に関与する染色体上の突然変異を確認

した。

[森田昌知、泉谷秀昌、大西真]

4. ビブリオ属細菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および遺伝子水平伝播に関する研究

ア コレラ菌の分子疫学解析

2018 年に当研究所に送付されたコレラ菌は 4 株であり、いずれも O1 であった。2 株は遺伝子型が一致したが、それ以外の 2 株はいずれも異なる遺伝子型を示した。[泉谷秀昌、森佳津美、荒川英二、森田昌知、大西真]

イ *V. cholerae* のゲノム解析

国内及びアジア地域で分離された *V. cholerae* のゲノム DNA を精製し、次世代シーケンサーによりゲノム配列を継続的に解読している。平成 30 年度は新たに 85 株のドラフトゲノム配列を取得した。これまでの累計は *V. cholerae* 及び他のビブリオ科細菌も含め約 1400 株となった。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、大西真]

ウ 平成 30 年度に同定、血清型別などを依頼された *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株

平成 30 年度に同定、血清型別、生物型、遺伝子型別および病原因子の検索の依頼を受けた *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株は 159 株で、*Vibrio cholerae* O1 が 2 株であり、うち 1 株は海外渡航歴のある患者由来株で小川型であり、もう 1 株は海外渡航歴の無い患者由来株で小川型であった。国内例の *Aeromonas caviae* 2 株(同一患者由来)および *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 149 株であった。*V. cholerae* non-O1/non-O139 のうち 140 株はフランスパストゥール研究所からの患者由来株、4 株は海外渡航者由来、5 株は海外の食品由来であった。その他、国内河川から分離されたコレラ毒素陽性 *V. mimicus* が 6 株であった。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

エ 単一染色体を保有するコレラ毒素産生性 O1 株の解析

昨年度はコレラ菌臨床分離株のゲノム解読を行い、1本の染色体を持つコレラ毒素産生性 O1 株を世界で初めて同定した。今年度は、この単一染色体株のゲノムおよび表現型を詳細に解析した。その結果、1) rRNA 遺伝子間での相同組換えによる大規模な逆位、2) 病原性遺伝子クラスター VSP-1 の重複、3) スーパーインテグロンにおける複数の遺伝子カセットの欠落、4) プラスミド性エレメントの挿入、といった種々のゲノム再編成が明らかになるとともに、増殖の高温感受性という一般的なコレラ菌には見られない表現型を示すことがわかった。

[山本章治]

(2) 検査法開発に関する研究

ア *V. cholerae* の LPS 合成遺伝子領域の解析および比較

V. cholerae の O 血清群は現在 207 種類あり、その中にはコレラの原因菌である O1、O139 も含まれており、世界的に疫学解析に利用されている。次世代シーケンサーを利用して 207 種類全ての O 血清群の全塩基配列を解読し、そこから O 抗原合成遺伝子領域の抽出を試みた。109 種類の O 血清群が 1 つの contig として O 抗原合成遺伝子領域を抽出できた。さらに複数の contig に分かれたものについても、gap を walking により繋げ、全ての O 血清群の全塩基配列が解読された。これら 207 種類の O 血清群の遺伝子領域中の ORF についてそのアノテーション及びパラログ解析を行った。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌、大西真、村瀬一典(宮崎大)、浦井誠 (東京農大)]

イ *V. fluvialis/V. furnissii* の O 抗原領域の遺伝子解析

中国のヒト下痢症および環境から分離された *V. cholerae* と *V. fluvialis* において、疫学解析に利用される O 血清型別を行うにあたっては抗 O 血清が必要とされる。中国のヒト下痢症および環境から分離された *V. fluvialis* の菌株を送付してもらいその O 血清型別を行った。*V. fluvialis* の O 血清型別は、感染研でしか行うことが出来ないため、O 抗原遺伝子群を調べることによって簡易に推定することを目的として、まず *V. fluvialis* の中国での分離頻度の高かった O 抗原型 O11、O14 について、ゲノム解析データから O 抗原遺伝子領域の抽出を行い、そこからその O 抗原型特異的 PCR の開発について検討を開始した。[荒川英二、Kan Biao(中国 CDC)]

5. カンピロバクターに関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア *Campylobacter jejuni* におけるマルチプレックスゲノム編集法の開発

C. jejuni が表現型の多様性を生み出すメカニズムを明らかにするために、ゲノム上に散在する多数の超可変部位に着目し、それらの分子遺伝学的な解析を開始した。まず今年度は、PCR 産物を用いた簡便かつ高効率な *C. jejuni* の形質転換法を確立するとともに、*C. jejuni* ゲノムの複数箇所の任意塩基配列を短時間で改変することを可能にするマルチプレックスゲノム編集法を開発した。この技術を用いて、Penner 血清型を決定する遺伝子クラスター内の超可変部位をすべて不変型に編集することに成功した。[山本章治、伊豫田淳、大西真]

6. エルシニア属菌に関する研究

(1) 検査法開発に関する研究

ア エルシニアの血清型別

2018 年に当研究所の送付されたエルシニア属菌は 6 株であり、すべて *Y. enterocolitica* であった。血清型は O:3 が 4 株、O:9 が 2 株であった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

II. 呼吸器感染症ならびに侵襲性感染に関する研究

1. *Streptococcus* 属に関する研究

(1) 菌株の多様性解析と疫学的解析

ア 日本における 2017 年の非侵襲性 A 群レンサ球菌感染症患者分離株の T 型別

2017 年に全国の衛生研究所に収集された A 群レンサ球菌の菌株総数は、843 株であり、すべての株に対して T 型別が行った。分離頻度の高かった T 型は、T12 (182/843, 21.6%)、T1 (176/843, 20.9%)、TB3264 (127/843, 15.1%)、T4 (118/843, 15.1%) であった。T12 型の分離比率は、2016 年以降、増加傾向である (2015 年, 15.5%、2016 年, 19.2%、2017 年, 21.6%)。T1 型の分離比率は、2015 年以降、増加傾向であったが (2014 年, 11.9%、2015 年, 14.4%、2016 年, 23.5%)、2017 年減少した (2017 年, 20.9%)。TB3264 型の分離比率は、減少傾向にあったが (2014 年, 27.1%、2015 年 15.8%、2016 年, 11.6%)、2017 年増加した (2017 年, 15.1%)。T4 型は、2015 年以降ほとんど同じ分離頻度を示していた (2015 年, 4.0%、2016 年 14.0%、2017 年, 14.0%)。[池辺忠義、大西真、賀澤優 (福島衛研)、大屋日登美 (神奈川衛研)、奥野ルミ (東京健安研セ)、内田薫 (富山衛研)、山口貴弘 (大阪公衛研)、大塚仁 (山口環保セ)、神田由子 (大分衛環研)、The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan]

イ 日本において 2017 年に分離された劇症型 A 群レンサ球菌感染症患者分離株の T 型別、*emm* 遺伝子型

2017 年、A 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (STSS) の報告が 153 症例あった。148 例が *S. pyogenes*、5 例が *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* による症例であった。

最も分離された型は、T1 型であり、昨年より分離比率が低かった (2015 年, 38.7%；2016 年, 49.7%；2017 年, 35.8%)。また、咽頭炎由来株の分離比率 (20.9%) に比べ、高い分離比率を示していた。次いで、TB3264 型が多く、その分離比率は昨年と比較して増加した (2015 年, 25.5%；2016 年, 16.1%；2017 年, 21.6%)。次いで T12、T3 型が多かった (T12, 12.8%；T3, 7.4%)。この 4 つの型で全体の 75% 以上を占めていた。

STSS の確定診断例 153 例中、*emm1* 型が 54 例 (35.3%) と最も多く、次いで *emm89* 型が 32 例 (20.9%)、*emm12* 型が 15 例 (9.8%)、*emm3* 型が 12 例 (7.8%) と多かった。2016 年と比較し、*emm1* 型は、47.6% (72/151) から 35.3% (54/153) に減少した。*emm89* 型は 16.6% (25/151) から 20.9% (32/153) に減少した。*emm12* 型は、0.7% (1/151) から 9.8% (15/153) に増加した。

emm3 型は、8.6% (13/151)から 7.8% (12/153)に増加した。

[池辺忠義、大西真、賀澤優(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、内田薫(富山衛研)、山口貴弘(大阪公衛研)、大塚仁(山口環保セ)、神田由子(大分衛環研)、The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan]

ウ 日本における劇症型/重症溶血性 A 群レンサ球菌感染症の薬剤感受性試験

2017 年に劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症を引き起こした A 群レンサ球菌 153 株について薬剤感受性試験を行った。全ての株において、ペニシリン G、アンピシリン、セファゾリン、セフトキシム、メロペネム、リネゾリドに対して感受性を示した。クリンダマイシンに対して 11.1% (17/153)の株が耐性を示し、薬剤耐性遺伝子としてすべての株が *ermB* 遺伝子を保有していた。2014 年以降(2014 年、16.2% (12/74)、2015 年 8.3% (9/151)、2016 年 2.6%(4/151))分離率が減少傾向であったが、2017 年上昇した。[池辺忠義、大西真、賀澤優(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、内田薫(富山衛研)、山口貴弘(大阪公衛研)、大塚仁(山口環保セ)、神田由子(大分衛環研)、The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan]

エ 日本における劇症型 G 群レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の遺伝子型別

2017 年、G 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告が 76 例あった。菌種はすべて、*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*であった。劇症型感染症患者分離株の *emm* 遺伝子型別を行った結果、*stG6792* 型が 48 例(37.2%)と最も多く、次いで、*stG485* が 24 例(18.6%)、*stG245* が 10 例(7.8%)と多かった。[池辺忠義、大西真、賀澤優(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、内田薫(富山衛研)、山口貴弘(大阪公衛研)、大塚仁(山口環保セ)、神田由子(大分衛環研)、The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan]

オ A 群、G 群以外の劇症型レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の血清型、遺伝子型

2017 年、B 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告が 53 例あった。菌種はすべて、*S. agalactiae* であった。血清型は、Ib 型が最も多く 17 例(32.1%)であり、次いで III 型が 12 例(22.6%)、Ia 型が 10 例(18.9%)、V 型が 8 例(15.1%)であった。

2017 年、C 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告が 1 例あった。菌種は、*S. dysgalactiae* subsp.

equisimilis であり、*emm* 遺伝子型は、*stC839* であった。

[池辺忠義、大西真、賀澤優(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、内田薫(富山衛研)、山口貴弘(大阪公衛研)、大塚仁(山口環保セ)、神田由子(大分衛環研)、The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan]

カ 小児侵襲性感染症由来原因菌の疫学調査。日本医療研究開発機構研究費(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業 ワクチン実地使用下における有効性・安全性及びその投与方法に関する基礎的・臨床的研究)の研究分担者として、日本国内 10 道県の小児の侵襲性感染症より分離された肺炎球菌および GBS の血清型別、薬剤感受性試験、シークエンスタイピングを行った。[常彬、菅秀(国立病院機構三重病院)]

キ 成人侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) 由来原因菌の疫学調査。厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業 成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの構築に関する研究)の研究分担者として、日本国内 10 道県の成人 IPD 由来肺炎球菌の血清型別、薬剤感受性試験、シークエンスタイピングを行った。[常彬、大石和徳(富山県衛生研究所)]

(2) 肺炎球菌の病原因子・宿主応答に関する分子基盤構築
ア 細胞内に侵入した肺炎球菌と宿主細胞との相互作用
肺炎球菌はヒトの上気道部に常在する日和見感染菌であり、小児や高齢者では重篤な侵襲性肺炎球菌感染症を引き起こす。近年、血清型交代現象によりワクチンが効かない血清型の肺炎球菌が増加している。また、臨床分離される肺炎球菌の 50%以上がペニシリン耐性であり、多剤耐性肺炎球菌の出現も報告されている。このことから、本研究では血清型に依存しない新規予防法・治療法の開発が必要とされている。そこで、細胞内に侵入した肺炎球菌と宿主細胞との相互作用についてオートファジーに焦点を当てて解析を行った。その結果、細胞内に侵入した肺炎球菌は感染 2 時間後には、ポリユビキチン-p62-LC3 からなるオートファジー受容体に認識され選択的オートファジー (Xenophagy) により捕捉・殺菌されることが明らかとなった。また、その誘導には肺炎球菌のニューモリン、宿主細胞の Rab41 と、Nedd4-1 を介した K63 型ユビキチン鎖形成が必要であった (Cell Microbiol. e12846, 2018)。

この肺炎球菌を標的とする Xenophagy は宿主因子 FIP200 依存的なカノニカルなオートファジーであったが、近年、FIP200 非依存的なノンカノニカルなオートファジーである LAP

(LC3-associated phagocytosis)が注目されていることから、肺炎球菌が LAP を誘導する可能性を模索した。その結果、肺炎球菌感染 1 時間後に、肺炎球菌を捕捉する LAP 様構造が一過性に出現し、感染 2 時間後には消失することが明らかになった。ここで観察された LAP 様構造は Atg14L、ROS、TLR2 非依存的に誘導されたことから、既報の貪食細胞における LAP の誘導機構とは異なる新規の LC3 陽性の膜構造体であることが明らかになった。さらに、LAP 誘導不全細胞を用いて肺炎球菌を感染させた結果、感染 1 時間後に誘導される LAP のみならず感染 2 時間後に誘導される Xenophagy も抑制された。以上の結果から、肺炎球菌感染細胞で誘導される hierarchical なオートファジー誘導の一端が明らかとなった。[小川道永、大西真、竹山春子(早大院・生命医科)]

2. レジオネラ属菌に関する研究

(1) 遺伝子型別に関する研究

ア レジオネラ属菌臨床分離株の収集および *Legionella pneumophila* 臨床分離株の SBT 法による遺伝子解析

平成 30 年度にレジオネラ・レファレンスセンターで収集したレジオネラ属菌臨床分離株は、*Legionella pneumophila* が 76 株(血清群(SG)1 が 70 株、SG2 および SG6 が各 2 株、SG8 および SG9 が各 1 株)と、*Legionella anisa*、*Legionella feeleii* が各 1 株であった。*L. pneumophila* については、SBT 法による遺伝子型別を実施し、その結果は各自治体に還元した。76 株は 47 種類の遺伝子型に分けられ、そのうち 13 種類が新規遺伝子型であった。47%が感染源不明で、温泉等の入浴関連が感染源と推定されているのが 23%、土壌あるいは塵埃等が感染源であると推定されているのが 21%、9%が冷却塔水など種々の水系と推定されていた。

[前川純子:千田恭子(仙台市衛研)、大屋日登美(神奈川県衛研)、磯部順子(富山衛研)、田中 忍(神戸市環保研)、平塚貴大(広島県総技研保健環境セ);吉野修司(宮崎県衛環研)、倉文明(バイオセーフティ管理室)、大西 真、The Working Group for *Legionella* in Japan]

イ *Legionella pneumophila* の MLVA 法による遺伝子型別

L. pneumophila において、利便性の高い分子タイピング法である MLVA 法を用いて、平成 30 年度は、*L. pneumophila* 血清群 1 の 124 株、血清群 1 以外の *L. pneumophila* 187 株の解析を行った。前年度までの結果も合わせると、SBT 法により 164 種類の ST (sequence type) に分類される 439 株の *L. pneumophila* SG1 は、233 種類の MLVA 型に分類された。分解能(HGDI)は、SBT 法で 0.9599、MLVA 法で 0.9717 となり、ほぼ同等の値を示した。119 種類の ST を含む 187 株の SG1 以外の *L. pneumophila* は、131 種類の MLVA 型に分類され

た。また、過去の集団事例 6 事例に由来する 65 株について、MLVA 型を決定し、PFGE および SBT 型別との比較を行った。患者株と同一の ST および PFGE パターンを示した浴槽水由来株および拭き取り由来株は MLVA 型も同一であった。簡便な MLVA タイピングは、感染源の推定のための遺伝子型別の迅速なタイピング方法として期待できると考えられた。[中西典子、田中忍、野本竜平、米澤武志(神戸市環保研)、水本嗣郎(静岡県環衛研)、前川純子]

(2) レジオネラ属菌検査精度管理サーベイと推奨検査法の提示

厚労科研レジオネラ研究班のサポートのもと、日水製薬株式会社を実施母体としたレジオネラ属菌検査精度管理サーベイが 2015 年度から行われている。2018 年度も実施され、全国 148 の検査機関が参加した。レジオネラ研究班への協力機関として参加した地方衛生研究所等 70 機関については、独自に集計・解析を実施した。本外部精度管理サーベイは、検査手技の安定性を確認し、不安定な機関へ検査手技の検証を促すことができる方法であり、今後も、継続的な外部精度管理サーベイができるよう、引き続き実施主体となる民間会社との連携が必要である。また、昨年度改訂された ISO との調整を図った「浴槽水に関するレジオネラ属菌検出のための検査方法」を「公衆浴場における衛生等管理要領」内の推奨検査法として提示した。[森本洋、小川恵子、三津橋和也(北海道衛研)、磯部順子、金谷潤一(富山衛研)、黒木俊郎(岡山理科大学)、大屋日登美(神奈川県衛研)、佐々木麻里(大分県衛環研)、緒方喜久代(大分県薬剤師会検査セ)、田中忍、中西典子(神戸市環保研)、千田恭子(仙台市衛研)、田栗利紹(長崎県環保研)、平塚貴大(広島県総技研保健環境セ)、武藤千恵子(東京都健安研)、山口友美(宮城県環保セ)、吉野修司(宮崎県衛環研)、倉文明(バイオセーフティ管理室)、前川純子]

(3) 浴槽水のレジオネラ消毒法の開発に関する研究

ア モノクロラミン消毒のアルカリ性温泉への応用

pH が高い温泉施設では従前より遊離塩素による消毒が困難であったが、これまでの研究成果としてモノクロラミン消毒であれば有効なことが実験的に明らかになってきた。本研究では pH8 から 10 の 3 浴場施設にモノクロラミン消毒を適用し、改めてその効果を確認した。モノクロラミンは高濃度溶液の保存ができないので現場調製を要するが、機械的に行うには初期投資が問題となる。そこで手投入の方法を用意して、うち 2 施設に適用して消毒が可能であることを確認した。モノクロラミン消毒の普及を企図して、一般利用者と業者向けの解説に、次の Web ページを用意した。

(https://sites.google.com/view/legionella-resgr/monochloramine_index)

[長岡宏美(静岡県環境衛生研究所 微生物部)、柳本恵太、山上隆也、植松香星、久田美子(山梨県衛生環境研究所 微生物部)、森康則、赤地重宏、永井佑樹(三重県保健環境研究所)、西尾正也、山本哲司、八木樹里奈(花王株式会社 ハウスホールド研究所)、杉山寛治、田中慶郎(株式会社マルマ)、市村祐二(ケイ・アイ化成株式会社 機能性薬品部)、泉山信司(寄生動物部)、前川純子]

イ モノクロラミン消毒の薬湯への応用、並びに雑菌への対応
公衆浴場等の入浴施設では、生薬や無機塩などの薬湯が使用されているが、レジオネラ属菌の増殖を招くことがある。ところが次亜塩素酸ナトリウムのいわゆる遊離塩素は激しく消費され、薬湯の種類によっては色が退色し、濃度管理は困難である。モノクロラミン消毒を用いることで、これら問題の解消と、レジオネラ抑制の両立が実現できた。一方、薬湯使用の有無にかかわらず、モノクロラミン消毒の長期継続により従属栄養細菌数の増加が確認されたため、その推移と菌種、並びに制御方法を検討した。モノクロラミン消毒下では、レジオネラが培養不検出であっても、LAMP法が高率に陽性となったことから、消毒がLAMP法の結果に及ぼす影響も確認した。

[藤井明、松田宗大(株式会社ヘルスケミカル)、松田尚子(株式会社ヘルスビューティー)、枝川亜希子(大阪健康安全基盤研究所)、吉田光範、星野仁彦(ハンセン病研究センター)、泉山信司(寄生動物部)、前川純子]

ウ 入浴施設及び医療機関におけるレジオネラ汚染実態調査
1 入浴施設においては、カラン・シャワーにレジオネラ属菌による継続的な汚染が検出された。そこで、高置貯湯槽に塩素添加装置を設置し、消毒する対策を行った。しかし継続的にレジオネラ属菌が検出され、夜間休日の停止などが問題と考えられた。蛇口のレジオネラ属菌汚染が継続している 1 医療機関において、塩素消毒の濃度を上げる対策を取った。水試料の遊離残留塩素濃度は上昇し、菌数の減少が観察されたが、増加した場所もあった。給水系の初流水で遊離塩素が 0.2mg/L 付近の濃度の試料、給湯系の水温が低い試料においてレジオネラ属菌が検出され、滞留が解消できていなかった。配管のレジオネラ汚染には塩素の添加や水温を上げることが有効であるが、対策の徹底が必要と考えられた。医療機関の給水・給湯系におけるレジオネラ汚染問題に関して、シンポジウムを開催した。参加者アンケートでは、問題を認識したことや、情報を得られた等の感想や要望が寄せられ、有意義であったことを確認した。

[黒木俊郎(岡山理科大学)、大屋日登美、陳内理生、鈴木

美雪、政岡智佳、中嶋直樹(神奈川県衛生研究所)、泉山信司(寄生動物部)、前川純子]

3. 髄膜炎菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および疫学解析

本年度に発生した髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫学的解析

本年度は患者由来株 31 株、健常者由来株 15 株の計 46 株の国内分離株が収集され、その血清学的及び分子疫学的解析を行なった。

患者由来株に関してはそれらの血清型は Y 群 20 株、B 群 7 株、W 群 2 株、C 群 1 株及び non-typable が 1 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は血清群 Y の株は ST-23 が 5 株、ST-1655 (ST-23 complex) が 14 株、ST-3015 が 1 株であった。血清群 B の株は ST-2057 が 3 株、ST-687、ST-154、ST-213、ST-3496 (ST-213 complex)、が各 1 株ずつであった。血清群 W の二株及び血清群 C の株は ST-11、non-typable の株は ST-11026 であった。

患者由来株に関してはそれらの髄膜炎菌株の血清型は Y 群 3 株、B 群 4 株、及び non-typable が 8 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は血清群 Y の株は ST-1655 (ST-23 complex)、ST-3015、ST-5953 が 1 株ずつであった。血清群 B の株は全て ST-2057 であった。non-typable の株は ST-11026 が 7 株、ST14239 (ST-179 complex) が一株であった。今年度の分離株の中では、例年通り ST-23 complex に属する分離株が依然として国内で多く分離された。しかし、ST-1655 に対して ST-23 の数が半減しており、国内における髄膜炎菌の分布状況も変化している可能性が示唆された。また、健常者由来株としては圧倒的に non-typable/ ST-11026 の検出率が高く、国内の健康保菌者に広く分布している可能性を示唆するものと考えられた。一方で、ST-213、ST-154、ST-3496、ST-3015 といった、過去 20 年間では国内では検出されなかった遺伝子型の髄膜炎菌も検出された。近年この様な傾向が強くなってきた可能性が考えられた。今年 9 月からのラグビーワールドカップ、来年度のオリンピック・パラリンピックの日本での開催が予定されており、国内で分離される髄膜炎菌株のプロファイルの変化を引き続き注視していく事が重要である。[高橋英之:土井育子、福住宗久、神谷元、砂川富正、(感染症疫学センター)、大西真]

(2) 病原機構に関する研究

髄膜炎菌の機能未知病原因子の非天然アミノ酸を用いた機能解析

過去に行なった signature tag mutagenesis の変法を用いた髄膜炎菌の病原性因子の網羅的探索によってヒト培養細胞へ

の侵入能のみが著しく欠損した髄膜炎菌変異株を単離した。しかし、その原因遺伝子は *hypothetical protein* とゲノム上で同定された、機能未知タンパクをコードした遺伝子 NMB1345 であった。これまでのデータベースの情報からも既知遺伝子やタンパクと全く相同性がなく、明確なドメインも見出されなかった。その NMB1345 遺伝子の機能を解明する目的で酵母の two-hybrid システムを用いた遺伝学的手法や、マルトース結合タンパク-NMB1345 融合体を用いた pull-down アッセイによる生化学的手法による NMB1345 遺伝子の解析を試みたが、明確な結果を得るには至らなかった。

そこで、近年新手法として広い生物種で適用され始めた遺伝暗号拡張による非天然型アミノ酸導入法を新たに髄膜炎菌に適用し、非天然型アミノ酸光クロスリンカーを NMB1345 分子内に特異的に導入して、NMB1345 因子の相互作用因子を生化学的・物理化学的手法を用いて髄膜炎菌内で探索することを試みた。プレート約 300 枚以上を用いて培養した髄膜炎菌を UV クロスリンクし、超音波破碎した抽出物を His-sepharose 及び Strep-tactin レジンで精製し、NMB1345 とクロスリンクするタンパクを精製した。そのタンパクのバンドを切り出し、LC-MS/MS 及び MASCOT による同定を行ったところ、複数の候補因子が挙がってきた。現在、その候補因子が真に NMB1345 と相互作用するか解析中であり、それらの因子が髄膜炎菌の宿 *virulence factor* としてどう機能するかを更に解析する予定である。[高橋英之、大西真: 柳沢達男、横山茂之、堂前直(理研)、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)]

III. ボレリアならびにレプトスピラ感染症に関する研究

I. ボレリア感染症に関する研究

(1) ボレリアのゲノム解析に関する研究

ボレリア属細菌は節足動物によって媒介されるスピロヘータで、人獣共通の感染症起因菌となっている。国内には、ライム病群ボレリア(LD)8 種、軟ダニ媒介性回帰熱群ボレリア(STB-RF)1種の他、硬ダニ媒介性回帰熱群ボレリア(HTB-RF)が複数種確認されており、それぞれヒトを含む哺乳類や鳥類、爬虫類への感染が報告されている。これに加え、輸入爬虫類に随伴して国内侵入した爬虫類型ボレリア(REP)が複数種存在することが 2010 年に我々の調査研究によって明らかにされた。本研究では、REP4株について、NGS による draft genome を取得し、既知ボレリアゲノム配列(LD ボレリア 29 株、STB-RF ボレリア 18 株、HTB-RF5 株)との比較検討を行った。使用した REP は、経代数が5以下でかつ clone 化したものを使用した。各々のゲノム相同性(ANI 値)は LD-REP 間では 71.66-74.74%、RF-REP 間では 75.99-82.67%であり REP は RF により近縁であることが示された。また真性細菌種で保存されている 24 遺伝子由来抗原のアミノ酸配列をもとにした系統解析

(MLSA)においても、REP は RF に近縁であることが示された。またボレリア属細菌の重要な形質の一つである媒介節足動物との和合性は、REP 群の確立後に新たな形質を獲得してきたと推定された。特に HTBRF の祖先が獲得した新たなダニ感染性が揚力となって STB-RF が形成された可能性が示唆された。本推論はゲノム解析から得られたものであり、今後はこれら進化イベントに関係した因子、遺伝子の同定が望まれる。

[川端寛樹、佐藤梢、大西真(細菌第一部)、関塚剛史、黒田誠(病原体ゲノムセンター)、高野愛(山口大学)]

(2) 新興回帰熱ボレリアの病原機構に関する研究

Borrelia miyamotoi のゲノム配列から表層抗原をコードすると推定された 90 遺伝子について、ボレリア内で恒常的に遺伝子発現可能なプロモーター配列に連結後、各々について HT59G 株へ導入し、この内、76 遺伝子について形質転換株を得た。これらの形質転換株について、ヒト血清感受性試験を行った結果、T027 ならびに T076 の遺伝子を導入した株でヒト血清に対する低感受性が見られた。このうち、低感受性を強く示した T027 遺伝子導入株の血清耐性機構について、さらさら解析を実施した。これにより補体経路の最終過程である Membrane Attack Complex(MAC)の形成を阻害するクラスティンと T027 抗原が結合し、補体系による殺菌が回避されている可能性を示唆する結果が得られた。T027 ならびに T076 遺伝子は、ボレリア属細菌に広く見いだされる表層抗原の一種 P35 をコードする遺伝子群の一つである。P35 遺伝子群は multi-copy 遺伝子であり、各々の遺伝子は複数の菌種間で lineage を形成する。また、P35 遺伝子群の一つの lineage として、フィブロネクチン等との結合活性や C1 補体複合体活性化の阻害機能が示されている *bbk32* が知れているが、T027 ならびに T076 遺伝子は互いに高い相同性を示す一方で *bbk32* とは異なる lineage に属した。クラスティンを介した MAC 形成阻害によるボレリアの補体抵抗性機構はこれまで報告がない。今後はその機能についてさらに詳細な解析を加えることで、新興回帰熱ボレリアの病原機構を明らかにしていきたい。

[川端寛樹、佐藤梢、大西真: 熊谷由美(順天堂大学)、関塚剛史、黒田誠(病原体ゲノム解析研究センター)、高野愛(山口大学)、林哲也(九州大学)]

2. レストスピラ症に関する研究

(1) 運動制御機構に関する研究

A レプトスピラべん毛鞘タンパク質 FcpB および FlaA2 欠損株解析

レプトスピラべん毛鞘タンパク質 FcpA 欠損株のべん毛中の局在が減少するタンパク質 FcpB を同定した。Δ*fcpB* 株の細胞末端は Δ*fcpA* 株と同様には直線状になとなったが、軟寒天中

のコロニーの大きさは *AfcpA* 株よりも大きかった。一方べん毛鞘タンパク質 FlaA1 および A2 二重欠損株の細胞末端は直線状でまたコロニーサイズは *AfcpA* 株と同程度の大きさであった。一方 *AflaA1* 株は野生株と同様の表現型であった。したがって、FcpB および FlaA2 は細胞末端を屈曲させるために必要であり、また FlaA2 は軟寒天中での運動に重要であることが示唆された。[小泉信夫、大西真:佐々木祐哉(東京農工大大学院)、中村修一(東北大学大学院)、川本晃大(大阪大学)]

(2) レプトスピラの病原性に関する研究

ア 維持宿主動物における持続感染に必須なレプトスピラ遺伝子の同定

人獣共通感染症病原体レプトスピラの維持宿主動物の腎臓への持続感染に必須の因子を明らかにするために、トランスポゾン挿入変異体を作製し、ラット感染実験を行った。レプトスピラ変異体 96 株を 1 群として、あるいは 414 株を 1 群としてラットに接種し、接種培養液 DNA と、接種 3 週間後の腎臓培養 DNA のトランスポゾン挿入位置の近傍の配列を次世代シーケンサーにより決定し配列比較を行った。その結果、96 株接種した実験では 2 遺伝子、414 株接種した実験では 7 遺伝子が腎臓から検出されなかった。したがってこれら 9 遺伝子が維持宿主における持続感染に必須な遺伝子であることが示唆された。[小泉信夫、森田昌知、大西真:佐々木祐哉(東京農工大大学院)]

(3) 小型哺乳動物由来レプトスピラの解析

ア ベトナム・ハノイのドブネズミが保有する *Leptospira interrogans* の分子疫学

2017 年および 2018 年にベトナム・ハノイの 8 ヶ所で 144 匹のラット(アゼネズミ 1 匹、クマネズミ 8 匹、ドブネズミ 135 匹)を捕獲し、17 匹のドブネズミから *L. interrogans* が分離された(分離率 12.6%)。16 株は血清群 Bataviae と同定され、このうちの 5 株は血清型 Bataviae 標準株(Van Tienen)と同一の MLVA 型であったが、11 株は VNTR31 のリピート数が標準株とは異なっていた。残り 1 株は増殖が非常に悪く血清群を決定することができなかったが、MLVA 型は日本のドブネズミから分離された血清群 Pomona と同一であった。nested PCR および塩基配列決定により、ドブネズミ腎臓 81 検体中 23 検体から 3 種類の *flaB* 配列が検出された(検出率 28.4%)。2 つの塩基配列は血清群 Bataviae および Pomona と同一であったが、残り 1 つの配列を持つ分離株は得られなかった。本研究により、ベトナム・ハノイのドブネズミは *L. interrogans* を高率で保有すること、またドブネズミが保有する *L. interrogans* には少なくとも 3 つの遺伝子型があり、遺伝子型により分離率が大きく異なることが

明らかとなった。

[小泉信夫、大西真:三浦こずえ(東京大学大学院)、竹村太地郎(長崎大学ベトナム拠点)]

イ アジアの小型哺乳動物由来レプトスピラのゲノム解析

1 分子シーケンサー PacBio, MiSeq およびキャピラリーシーケンサー(サンガー法)により *L. interrogans* 血清群 Bataviae WFA90 のゲノム配列を解読した結果、それぞれ大ゲノムおよび小ゲノムに相当するコンティグの環状化を行うことができた。また WFA90 と同じ MLVA タイプ分離株 20 株、血清群 Javanica 分離株 37 株および Autumnalis 分離株 12 株のゲノム配列を MiSeq により解読した。[小泉信夫、森田昌知、大西真:和田崇之(長崎大学熱帯医学研究所)、鈴木定彦、中島千絵(北海道大学 CZC)]

IV 泌尿生殖器感染症に関する研究

1. 淋菌に関する研究

(1) 菌株の多様性と薬剤耐性に関する解析

ア 淋菌の液体培養の検討

淋菌の簡易的な薬剤感受性試験法として、GW 液体培地を用いた微量液体希釈法の検討を行った。汎用されている薬剤感受性試験法として寒天平板希釈法(標準法)及び Etest との判定結果との比較検討を行った。薬剤感受性試験にはセフトリアキソン(CRO)、アジスロマイシン(AZM)、セフィキシム(CFM)、シプロフロキサシン(CPFX)、ペニシリン G(PCG)、スペクチノマイシン(SPCM)の 6 剤を用いた。国内分離された淋菌 44 株を対象とした。淋菌に対するブレイクポイントは EUCAST に準じ CRO、AZM、CFM、CPFX、PCG、SPCM それぞれ MIC 値が 0.125、0.25、0.125、0.03、0.06、64(mg/L) 以下を示す株を感受性株とし、0.125、0.5、0.125、0.06、0.25、64(mg/L)より大きい MIC 値を示す株を耐性株とした。それぞれの測定法から得られた判定結果を比較検討したところ、寒天平板希釈法と、微量液体希釈法における感受性の一致率は、CRO、AZM、CFM において 91.8%、89.0%、87.7%となり、Etest よりも高い一致率を示した。また、CPFX、PCG、SPCM は 3 つの測定法全てにおいて感受性・非感受性の一致率は 100%であった。また、寒天平板希釈法と微量液体希釈法における耐性の一致率は、CRO、AZM、CFM において 57.1%、83.3%、84.6% となり、Etest では CRO、AZM、CFIX はそれぞれ 50.0%、91.7%、100%であった。CPFX、PCG、SPCM においては微量液体希釈法、Etest とともに寒天平板希釈法との耐性率は一致した。寒天平板希釈法と微量液体希釈法より得られた、各種薬剤に対する感受性・非感受性の判定結果には概ね相関が見られた。しかし、微量液体希釈法より得られた MIC 値は、標準法である寒天平板希釈法より得られた結果よ

りも低い値を示す傾向にあり、薬剤によっては耐性率の差が認められた。よって、CLSI、EUCAST のブレイクポイントをそのまま採用することはできないが、お互いの測定試験結果の相関を考慮することで、今後、微量液体希釈法を淋菌の薬剤感受性試験代替法として応用することは可能と考えられる。
[志牟田健、大西真]

イ 淋菌サーベイランス

昨年度に引き続き 2018 年 4 月から 2019 年 3 月の間に、京都市内 2 ヶ所および大阪府内 3 ヶ所のクリニックより送付された臨床検体のうち、本研究所にて淋菌と分離同定した 157 株について penicillin G、cefixime、ceftriaxone、ciprofloxacin、azithromycin、spectinomycin に対する MIC 測定を実施した。その結果、それぞれ上記の薬剤に対して 0.6 %、60.5 %、86.6 %、38.9 %、72.6 %、100% が感受性株であった。昨年度と比較して 100% 感受性が続いている spectinomycin 以外の 5 剤とも感受性率に若干の改善が見られた。特に ciprofloxacin での感受性率が 20%代であった昨年度と比べ今年度 40%代に迫るほどに改善していることは注目に値する。近年危惧されている ceftriaxone 耐性株について、2015 年 1 月分離株で ceftriaxone MIC=0.5 のものが 1 株検出されたこと、H29 年度にはこのサーベイランスでもこの株由来と推定される同程度耐性度株 1 株が 5 月に検出された他、同様の型の耐性遺伝子を持つ株の分離報告が国内外で相次いだことを昨年度に報告したが、今年度の我々のサーベイランスではこれに相当する株は検出されなかった。

[中山周一、吉田愛、志牟田健：飛田収一(飛田病院)、伊東三喜雄(伊東泌尿器科)、石川和弘(京都市衛生環境研究所)、古林敬一(そねざき古林診療所)、亀岡博(亀岡クリニック)、川畑拓也(大阪府立公衆衛生研究所)、安本亮二(安本クリニック)、大西真]

ウ セフトリアキソン (CRO)耐性淋菌株の簡易検出系の開発
近年、penA (PBP2 をコードしている) 60.001 保持の CRO 耐性淋菌株が世界各地で報告されている。本研究では、CRO 耐性淋菌株 (penA 60.001 保持株を含む)の penA 遺伝子を標的とするリアルタイム PCR アッセイを開発した。本アッセイでは、淋菌と同属である他のナイセリア属菌のゲノム DNA は反応しなかったが、CRO 耐性淋菌が保持する penA-59.001 (GU140106)、penA-60.001 (FC428)、penA-64.001 (A8806) の遺伝子を保有する株のゲノム DNA の検出を可能とした。
[志牟田健、井川ジーン、中山周一、大西真]

2. 梅毒トレポネーマに関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア 梅毒トレポネーマの分子タイピング

昨年度から連携クリニックをさらに拡充しての、4つの STI クリニック(東京都 3、大阪府 1)と共同で、皮膚病変が有り、梅毒を疑う場合の病変漿液から、および個別相談例、試行例も合わせての梅毒トレポネーマ DNA 検出、分子タイピングとを実施した。

2018 年 4 月～2019 年 3 月の総計で、353 例の検体が有ったが、うち 97 例が PCR 陽性であった。97 例中タイピングに成功したものは 54 例で、このうち 41 例は海外でも最頻とされる 14d/f であった。他は 14d/g が 4 例、14b/c、14d/d が 2 例ずつ、他はいずれもそれぞれ単一型となる 6 例であった。

[中山周一、錦慎吾：井戸田一朗(しらかば診療所)、澤村正之(新宿さくらクリニック)、濱田貴(新宿レディースクリニック)、亀岡博(亀岡クリニック)、大西真]

イ マクロライド耐性型梅毒トレポネーマの 2016 年度からの急激な増加のフォローアップ

国内ガイドラインで azithromycin 等マクロライド製剤は梅毒治療には推奨されていないが、海外での耐性型の増加報告や、現実に期待される治療効果評価の観点から耐性型サーベイランスを行ってきた。2012 年から 2015 年までのトータルで 23S rRNA A2058G 変異解析が可能であったもので 11.1% が耐性型であったが 2016 年～2017 年 3 月の期間では、同じく解析ができたもので 58.3%と、2016 年からの急激な耐性型の増加を昨年度報告している。今年度もサーベイランスを続行し、23S rRNA 解析に成功した 51 例について耐性型分布を見ると、45 例(88.2%) と依然高い耐性率が維持されていることが判明した。現状では梅毒治療に azithromycin が無効と判断すべき状態が依然継続している。

[中山周一、錦慎吾：井戸田一朗(しらかば診療所)、澤村正之(新宿さくらクリニック)、濱田貴(新宿レディースクリニック)、亀岡博(亀岡クリニック)、大西真]

ウ 非典型的部位、症状での PCR、菌体検出による梅毒の確定診断

近年、非典型的な部位や、非典型的臨床症状経過を示す梅毒疑い例の相談が増えており、病原体ベースでの確定診断のサポートを依頼されるケースが多い。H30 年度において実際に検体の検査を行ったものはいずれも先天梅毒疑い児由来の検体で計 3 例分であった。このうち、1 例のみで PCR 陽性結果が得られ、病原体の存在を示すことが可能であった。

[中山周一、錦慎吾、大西真]

V 口腔内細菌に関する研究

1. う蝕原因菌に関する研究

(1) バイオフィーム形成機構に関する研究

ア *Streptococcus mutans* の Membrane vesicles による GtfC 依存バイオフィーム形成について

Streptococcus mutans は、スクロースを基質としてグルカンを合成することでバイオフィーム(BF)を形成している。このグルカンを合成する酵素がグルコシルトランスフェラーゼ (Gtf) であり、2 種類の Gtf 酵素: Gtf-I (*gtfB* によりコードされた酵素、非水溶性グルカン合成) および Gtf-SI (*gtfC* によりコードされた酵素、水溶性・非水溶性グルカン合成) が関与している。膜小胞 (Membrane vesicles, MVs) は細菌から放出されるナノ構造体であり、核酸や様々な蛋白質を含んでいる。これまでの研究から *S. mutans* の MVs は、その中に Gtfs が含まれていることが明らかとなった。本研究では MVs による BF 形成において Gtf-I、Gtf-SI のどちらが主に関与しているのか検討を行った。UA159 の MVs には Gtf-I よりも Gtf-SI が多く含まれており、MVs の BF 形成には Gtf-SI が主に関与していた。[泉福英信、岩淵佑介、中村知世、中尾龍馬、大西真]

イ *Streptococcus mutans* 由来ナノ粒子によるバイオフィーム形成機構と抗体の誘導

S. mutans の MVs には GtfB-I よりも Gtf-SI が多く含まれており、MVs の BF 形成には Gtf-SI が主に関与していた。そこで、ワクチン開発の一環として、GTF 抗体の誘導を目的として、MVs をマウス鼻粘膜にアジュバントである PolyI-C と共に免疫し、抗体誘導能を検討した。その結果、UA159 と *gtfB* 変異株の MVs はバイオフィーム形成能および抗 GTF 抗体誘導能が高く、*gtfC* 変異株の MVs は低かった。*S. mutans* の MVs は、主に Gtf-SI を利用してバイオフィームを形成し、粘膜免疫により抗 Gtf-SI 抗体を誘導することが明らかとなった。[泉福英信、岩淵佑介、中村知世、大西真]

ウ *Streptococcus mutans* の菌体凝集および GTF 産生調節が Membrane vesicles に及ぼす影響

MVs は菌体凝集やバイオフィーム(BF)形成の鍵になると考えられている。細胞壁合成に関わるグリコシルトランスフェラーゼである SMU833 と菌体凝集の調節に関わる SMU940 は、BF 形成に関わる GTFs や GBP-C (グルカン結合菌体表層蛋白質) 産生発現にそれぞれ関与している。本研究ではこれらの遺伝子が、MVs 産生に与える影響について検討を行った。MVs を電子顕微鏡 (SEM) で観察したところ、SMU833 変異株において野生株と比較してサイズの小さいものが多く観察された。しかし、SMU940 変異株は野生株との大きな差がなかった。SDS-PAGE と Western-blotting で GTF 量の確認を行ったとこ

ろ、Gtf 量が SMU833 変異株では減少し、SMU940 変異株では増加していた。これらの結果は、GTFs や GBP-C の産生調節が、MVs の産生調節にも関与していることが明らかとなった。[泉福英信、中尾龍馬、岩淵佑介、中村知世、大西真]

エ *Actinomyces* によるバイオフィーム形成に対する有機酸の影響

歯垢 (バイオフィーム) 内 pH は、糖を含む食物や飲料を摂取することで pH5.0 以下に低下する。pH5.0 以下にする要因は、バイオフィーム内細菌が糖を代謝して産生する有機酸 (乳酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸等) である。これら、有機酸のバイオフィームへの影響について、あまり検討が行われていない。そこで歯面初期付着および凝集菌であり、*Actinomyces naeslundii* や *Actinomyces oris* の初期付着およびバイオフィーム形成に対する有機酸の影響を検討した。有機酸の中で 6.25 mM の酪酸やプロピオン酸は、培養プレートにおいて *A. naeslundii* およびフローセルにおいて線毛依存的な *A. oris* のバイオフィーム形成を上昇させた。さらに、60mM の酪酸、プロピオン酸、酢酸は、両菌の付着および凝集、フローセルにおいて *A. naeslundii* のバイオフィーム形成を著しく促進させた。食事の際に産生される有機酸は、様々な条件下で *Actinomyces* の初期付着、凝集、バイオフィーム形成を誘導することが明らかとなった。[泉福英信、鈴木到、大西真]

2. 歯周病、および歯周病原細菌等に関する研究

(1) 歯周病原細菌外膜ヴェシクルの粘膜ワクチンへの応用

主要な歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) 及び *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) の外膜ヴェシクル (OMV) をマウスに経鼻免疫することにより、各細菌特異的な抗体産生を同時に誘導できた。そこで、経鼻免疫において問題に挙げられやすい中枢神経系への影響を検討するため、マウスの脳に Pg-OMV 及び Aa-OMV を接種した。OMV 接種後に一時的な体重減少が見られたが、その後体重は回復した。今後、脳組織の炎症の有無を詳細に調査する。[平山悟、泉福英信、大西真、中尾龍馬]

(2) グリシン誘導ヴェシクルの特性評価

培地にグリシンを添加して培養することで、大腸菌プロバイオティクス株 Nissle 1917 より、免疫活性を有するヴェシクルの産生を顕著に誘導できる。本グリシン誘導ヴェシクルのアジュバント活性を評価するため、オボアルブミンとともにマウスへ経鼻免疫した。その結果、オボアルブミンに対する抗体産生は、非誘導ヴェシクル併用時と同等であった。このことから、グリシン誘導の有無にかかわらず、どちらのヴェシクルも同等のアジュバント活性を有することが明らかになった。[平山悟、中尾

龍馬]

(3) 抗菌薬が細菌細胞に及ぼす影響の解析及びリアルタイムイメージング

ポリミキシン B を大腸菌に作用させると、濃度依存的に細胞の透過性が増大すること、及び多くのヴェシクル様の構造物を細胞表面に形成することを示してきた。高速原子間力顕微鏡システム BIXAM を用いて、細胞の透過性と形態変化を同時に観察することを試みた。細胞の透過性を評価できる蛍光試薬 TO-PRO-3 を使用することで、ポリミキシン B の添加によって細胞の蛍光強度が増大するところを撮影すると同時に、細胞表面の形態が変化する様子を原子間力顕微鏡で捉えることに成功した。このことから、細胞の構造とダイナミクスを同時にイメージングすることが可能となった。[平山悟:酒井信明、八木明(オリンパス)、泉福英信、大西真、中尾龍馬]

(4) ウェルシュ菌メンブレンヴェシクル(MV)による細菌-宿主間相互作用に関する研究

グラム陽性病原性細菌であるウェルシュ菌は免疫原性を有する MV を能動的に放出することが明らかとなっている。ウェルシュ菌の MV をマウスに鼻腔免疫すると、ウェルシュ菌特異的 IgG 抗体と分泌型 IgA 抗体の産生が誘導される。本 MV に豊富に含まれる 2 種の推定リポタンパク質をコードする遺伝子の欠損株を作製し、各欠損株が産生する MV をマウス鼻腔に投与した。各破壊株の MV を粘膜免疫に用いた場合には、ウェルシュ菌特異的な抗体産生量が低下する傾向が見られた。ウェルシュ菌 MV による抗体産生誘導には、MV によるリポタンパク質の輸送が関与することが予想された。

[尾花望、中尾龍馬、奥脇響、泉福英信:野村暢彦(筑波大学)]

(5) 有用大腸菌由来メンブレンヴェシクル (MV)の経鼻ワクチンへの応用

肺炎球菌の血清型 14 莢膜多糖を高発現するプロバイオテイクス大腸菌由来 MV (CPS14⁺MV)を遺伝子工学技術により作製し、経鼻ワクチンマウスモデルに供試し、粘膜免疫原性を調べた。経鼻免疫後、血中および粘膜面各部位には CPS14 特異的抗体が強く誘導された。血液および肺洗浄液由来 IgG は、肺炎球菌の菌体表層に結合した。新たな粘膜ワクチンデリバリーシステムとして外来性莢膜多糖を発現する MV の応用可能性が示唆された。

[中尾龍馬、平山悟、松本直子:Jens Karlsson (カロリンスカ研)、大西真]

(6) 歯周病患者歯周ポケット等へのプロポリス投与による効果

歯周病や口腔粘膜炎に対するプロポリスの効用を調べる臨床研究を実施した。その結果、プロポリスによる歯周病の病態(歯周ポケット深さ)の改善、歯周病原細菌の排除、口腔粘膜疼痛の緩和等、その有効性・有用性が示された。バッカリスを植物起源とするブラジル産プロポリスを口腔に適用する新しい歯周病等予防・治療法の可能性が示唆された。

[中尾龍馬、泉福英信、大西真:小方頼昌(日本大学)、上野尚雄(国立がん研究センター中央病院)]

レファレンス業務

I. 大腸菌に関するレファレンス業務

平成 30 年度厚生労働省外部制度管理事業として、腸管出血性大腸菌(O111、O121 および O165 各 1 株の計 3 株)の志賀毒素または志賀毒素遺伝子の検出と O 群の同定について、全国 80 カ所の地衛研または保健所を対象に精度管理を実施した [伊豫田淳、石嶋希、李謙一、小澤さお美、竹本 歩:梅山隆(真菌部)、河合康洋(バイオセーフティ管理室)、須藤直樹、山本章治、三戸部治朗、大西真]

II. 劇症型/重症レンサ球菌感染症に関するレファレンス業務
地方衛生研究所および病院から送られた 381 症例分の劇症型/重症レンサ球菌感染症患者分離菌株の血清型別、emm 遺伝子の塩基配列による型別、spe 遺伝子の保有状況等の検査及び結果および流行状況の報告、および、患者分離株の血清型別の流行に関する全国集計を行った。[池辺忠義、大西真、The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan]

III. レジオネラ症に関するレファレンス業務

地方衛生研究所、保健所、病院等から送られたレジオネラ属菌株の菌種同定、血清群別を行っている。L. pneumophila については、遺伝子型別を行っている。個別の結果は分与元に還元するとともに、集計し、経年変化等を確認している。[前川純子、大西真、The Working Group for Legionella in Japan]

品質管理に関する業務

I. 4 価髄膜炎菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定[川端寛樹、高橋英之]

II. 10 価結合型肺炎球菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定 [池辺忠義、小川道永、大西真]

III. 13 価結合型肺炎球菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定 [常彬、小川道永、大西真]

IV. 23 価肺炎球菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定 [前川純子、小川道永、大西真]

国際協力関係業務

I. 中国内モンゴル自治区 CDC ならびに Hetao 大学との共同研究

ライム病、BMD、アナプラズマ症、リケッチア症に関する共同研究を 2014 年より継続して実施している。ボレリア感染症の検査法、ボレリア細菌の分離技術指導とあわせ、疫学情報解析のためのツールの導入を行った。[川端寛樹]

研修業務

I. 腸管出血性大腸菌に関する研修

1. 平成 30 年度 地域保健総合推進事業 腸管出血性大腸菌 MLVA 技術研修会「腸管出血性大腸菌の MLVA 解析」、2018 年 10 月、東京 [泉谷秀昌]

2. 平成 30 年度 北海道・東北・新潟ブロック 腸管出血性大腸菌 MLVA 技術研修会、2018 年 11 月、岩手 [泉谷秀昌]

3. 平成 30 年度 希少感染症診断技術研究会「腸管出血性大腸菌の MLVA 解析」、2019 年 2 月、東京 [泉谷秀昌]

4. 平成 30 年度 食品衛生監視員研修会「基礎から分かる MLVA について」、2019 年 2 月、東京 [泉谷秀昌]

II. レジオネラ属菌に関する研修

1. 平成 30 年度短期研修新興・再興研修(国立保健医療科学院主催):実習「レジオネラ分子疫学実習」、講義「レジオネラ検査法」、実習補助「レジオネラ属菌培養法実習」他 6 実習、2018 年 10 月[前川純子]

2. レジオネラ属菌検査セミナー(日水製薬株式会社主催)「レジオネラ検査法の現状と今後の展望」、2019 年 3 月、東京 [前川純子]

3. 第 34 回レジオネラ対策シンポジウム(NPO 法人入浴施設衛生管理推進協議会主催)「培養法と遺伝子検査法の特徴と実際の検査事例」、2018 年 6 月、東京[前川純子]

4. 抗レジオネラ用空調水処理剤協議会講演会「最近のレジオネラ症の検査方法」2019 年 1 月、東京[前川純子]

III. ダニ媒介性感染症に関する研修: 国立国際医療研究センター・厚生労働省共催 第 4 回 節足動物媒介性感染症講習会. 2018 年 6 月. 東京 [川端寛樹]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Sudo N, Soma A, Iyoda S, Oshima T, Ohto Y, Saito K, Sekine Y. Small RNA Esr41 inversely regulates expression of LEE and flagellar genes in enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. Microbiology. 2018 May; 164(5): 821-834. doi: 10.1099/mic.0.000652.

2) Banjo M, Iguchi A, Seto K, Kikuchi T, Harada T, Scheutz F, Iyoda S; Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan. *Escherichia coli* H-genotyping PCR; a complete and practical platform for molecular H-typing. J Clin Microbiol. 2018 pii: JCM.00190-18. doi: 10.1128/JCM.00190-18.

3) Lee K, Nakayama S, Osawa K, Yoshida H, Arakawa S, Furubayashi K, Kameoka H, Shimuta K, Kawahata T, Unemo M, Ohnishi M. Clonal expansion and spread of the ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain FC428, identified in Japan in 2015, and closely related isolates. 2019. J. Antimicrob. Chemother. 74:1812-1819.

4) Lahra MM, Martin I, Demczuk W, Jennison A. V, Lee K, Nakayama S, Lefebvre B, Longtin J, Ward A, Mulvey M. R, Wi T, Ohnishi M, Whiley D. Cooperative recognition of internationally disseminated ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain. 2018. Emerg. Infect. Dis. 24:735-740.

5) Yahara K, Nakayama S, Shimuta K, Lee K, Morita M, Kawahata T, Kuroki T, Watanabe Y, Ohya H, Yasuda M, Deguchi T, Didelot X, Ohnishi M. Genomic surveillance of *Neisseria gonorrhoeae* to investigate the distribution and evolution of antimicrobial-resistance determinants and lineages. 2018. Microbial genomics 2018 Aug;4(8). doi: 10.1099/mgen.0.000205.

6) Yamamoto S, Lee K. I, Morita M, Arakawa E, Izumiya H, Ohnishi M. Single circular chromosome identified from the genome sequence of the *Vibrio cholerae* O1 bv. El Tor Ogawa strain V060002. Genome Announc. 2018 Jun 21;6(25). pii: e00564-18.

7) Matsukawa M, Igarashi M, Watanabe H, Qin L, Ohnishi M, Terajima J, Iyoda S, Morita-Ishihara T, Tateda K, Ishii Y, Saga T, Aoki K, Bonomo RA. Epidemiology and genotypic characterisation of dissemination patterns of uropathogenic *Escherichia coli* in a community. Epidemiol Infect. 2019;147:e148.

8) Arai N, Sekizuka T, Tamamura Y, Tanaka K, Barco L, Izumiya H, Kusumoto M, Hinenoya A, Yamasaki S, Iwata T, Watanabe A, Kuroda M, Uchida I, Akiba M. Phylogenetic Characterization of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and Its Monophasic Variant Isolated from Food Animals in Japan Revealed Replacement of Major Epidemic Clones in the Last 4 Decades. J Clin Microbiol. 2018 Apr 25;56(5). pii: e01758-17.

9) Laviad-Shitrit S, Izhaki I, Arakawa E, Halpern M Wild waterfowl as potential vectors of *Vibrio cholerae* and *Aeromonas* species. Trop Med Int Health. 2018 Jul;23(7):758-

764.

- 10) Amemura-Maekawa J, Kura F, Chida K, Ohya H, Kanatani JI, Isobe J, Tanaka S, Nakajima H, Hiratsuka T, Yoshino S, Sakata M, Murai M, Ohnishi M; Working Group for Legionella in Japan. *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species isolated from legionellosis patients in Japan between 2008 and 2016. *Appl Environ Microbiol*. 2018. e00721-18.
- 11) Chang B, Morita M, Lee K, Ohnishi M. Whole-genome sequence analysis of *Streptococcus pneumoniae* strains that cause hospital-acquired pneumonia infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2018. 56:e01822-17.
- 12) Miyahara R, Suzuki M, Morimoto K, Chang B, Yoshida S, Yoshinaga S, Kitamura M, Chikamori M, Oishi K, Kitamura T, Ishida M. Nosocomial outbreak of upper respiratory tract infection with β -lactamase-negative ampicillin-resistant nontypeable *Haemophilus influenzae*. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2018. 3:1-8.
- 13) Yanase T, Morii D, Kamio S, Nishimura A, Fukao E, Inose Y, Honma Y, Kitahara N, Yokozawa T, Chang B, Oda T. The first report of human meningitis and pyogenic ventriculitis caused by *Streptococcus suis*: A case report. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2018. 24:669-673.
- 14) Ikuse T, Habuka R, Wakamatsu Y, Nakajima T, Saitoh N, Yoshida H, Chang B, Morita M, Ohnishi M, Oishi K, Saitoh A. Local outbreak of *Streptococcus pneumoniae* serotype 12F caused high morbidity and mortality among children and adults. *Epidemiology and Infection*. 2018. 146:1793-1796.
- 15) Takeda H, Sato C, Chang B, Tsuchida F, Watanabe M, Yamamoto Y, Morita M, Oishi K, Suzuki H. Ten-year transition of pneumococcal vaccine coverage rates and bacterial serotype distribution in adult cases of non-invasive pneumococcal pneumonia. *Journal of Global Infectious Diseases*. 2019. 11:30-35.
- 16) Shimbashi R, Chang B, Tanabe Y, Takeda H, Watanabe H, Kubota T, Kasahara K, Oshima K, Nishi J, Maruyama T, Kuronuma K, Fujita J, Ikuse T, Kinjo Y, Suzuki M, Kerdsin A, Shimada T, Fukusumi M, Tanaka-Taya K, Matsui T, Sunagawa T, Ohnishi M, Oishi K, and the Adult IPD Study Group. Epidemiological and clinical features of invasive pneumococcal disease caused by serotype 12F in adults, Japan. *PLOS One*. 2019. 14:e0212418.
- 17) Chang B, Morita M, Lee K, Ohnishi M. Complete genome sequence of a sequence type 4846 *Streptococcus pneumoniae* serotype 12F strain isolated from a meningitis case in Japan. *Microbiology Resource Announcements*. 2019.14:e01632-18.
- 18) Hadano Y, Chang B. Sacroiliitis and osteomyelitis caused by serotype 3 *Streptococcus pneumoniae* in a previously healthy adult: a case report. *Infection and Drug Resistance*. 2018. 11:1043-1046.
- 19) Goda K, Kenzaka T, Chang B, Akita H. Two cases of pneumococcal spondylitis in the same household: a case report. *BMC Infectious Diseases*. 2018. 18:666.
- 20) Imai T, Matsumura T, Mayer-Lambertz S, Wells CA, Ishikawa E, Butcher SK, Barnett TC, Walker MJ, Imamura A, Ishida H, Ikebe T, Miyamoto T, Ato M, Ohga S, Lepenies B, van Sorge NM, Yamasaki S. Lipoteichoic acid anchor triggers Mincle to drive protective immunity against invasive group A *Streptococcus* infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018, 115 (45) E10662-E10671.
- 21) Gaowa, Wulantuya, Yin X, Guo S, Ding C, Cao M, Kawabata H, Sato K, Ando S, Fujita H, Kawamori F, Su H, Shimada Y, Masuda S, Ohashi N. Spotted fever group *Rickettsia* in Inner Mongolia, China. *Emerging Infectious Diseases*. 2018. 24(11): 2105-2107.
- 22) Hayashi T, Miura Y, Kawabata H. *Borrelia miyamotoi* disease rash. *Internal Medicine*. 2018. 57(17): 2601-2602.
- 23) Sato K, Sakakibara K, Masuzawa T, Ohnishi M, Kawabata H. Case control study: Serological evidence that *Borrelia miyamotoi* disease is distributed nationwide in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2018. 24(10): 828-833.
- 24) Yoshii K, Sato K, Ishizuka M, Kobayashi S, Kariwa H, Kawabata H. Serologic evidence of Tick-borne encephalitis virus infection in a patient with suspected Lyme disease in Japan. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2018. 99(1): 180-181.
- 25) Seki M, Watanabe Y, Kawabata H. A case of Lyme disease in a Japanese woman. *Infection and Drug Resistance*. 2018. 11: 625-628.
- 26) Kumagai Y, Sato K, Taylor KR, Zamoto-Niikura A, Imaoka K, Morikawa S, Ohnishi M, Kawabata H. A Relapsing fever group *Borrelia* sp. is widely distributed among wild deer in Japan. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2018. 9(3): 465-470.
- 27) Gaowa, Wulantuya W, Yin X, Cao M, Guo S, Ding C, Kawabata H, Ando S, Su H, Shimada M, Takamoto N, Shimamura Y, Masuda S, Ohashi N. Human Infection with *Anaplasma phagocytophilum* in Inner Mongolia, China. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2018. 71(2): 155-157.
- 28) Ito K, Taniguchi H, Ohtake N, Ando S, Kawabata H. A first case of tick bite by *Amblyomma coelebs* in Japan. *Journal of*

- Dermatology. 2018. 45(2): 243-244.
- 29) Shinozuka J, Takahashi H, Mori M, Awaguni H, Imashuku S. Bacteremia and meningitis caused by a novel clone of *Neisseria meningitidis* serogroup B. *Pediatrics International* doi:10.1111/ped.13718, 2018.
- 30) Takahashi H, Watanabe H, Kim KS, Yokoyama S, Yanagisawa T. The meningococcal cysteine transport system plays a crucial role in *Neisseria meningitidis* survival in human brain microvascular endothelial cells. *mBio* 9:e02332-18, 2018
- 31) Masuzawa T, Saito M, Nakao R, Nikaido Y, Matsumoto M, Ogawa M, Yokoyama M, Hidaka Y, Tomita J, Sakakibara K, Suzuki K, Yasuda S, Sato H, Yamaguchi M, Yoshida S, Koizumi N, Kawamura Y. Molecular and phenotypic characterization of *Leptospira johnsonii* sp. nov., *Leptospira ellinghausenii* sp. nov., and *Leptospira ryugenii* sp. nov. isolated from soil and water in Japan. *Microbiol Immunol.* 63(3-4):89-99, 2019.
- 32) Nisansala GGT, Muthusinghe D, Gunasekara TDCP, Weerasekera MM, Fernando SSN, Ranasinghe KNP, Marasinghe MGCP, Fernando PS, Koizumi N, Gamage CD. Isolation and characterization of *Leptospira interrogans* from two patients with leptospirosis in Western province, Sri Lanka. *J Med Microbiol.* 67 (9):1249-1252, 2018.
- 33) Tahara H, Takabe K, Sasaki Y, Kasuga K, Kawamoto A, Koizumi N, Nakamura S. The mechanism of two-phase motility in the spirochete *Leptospira*: Swimming and crawling. *Sci Adv.* 4: eaar7975, 2018.
- 34) Toma C, Koizumi N, Kakita T, Yamaguchi T, Hermawan I, Higa N, Yamashiro T. Leptospiral 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase as an early urinary biomarker of leptospirosis. *Heliyon* 4(4): e00616, 2018.
- 35) Sasaki Y, Kawamoto A, Tahara H, Kasuga K, Sato R, Ohnishi M, Nakamura S, Koizumi N. Leptospiral flagellar sheath protein FcpA interacts with FlaA2 and FlaB1 in *Leptospira biflexa*. *PLoS ONE* 13(4): e0194923, 2018.
- 36) Hijikata S, Hongo I, Nakayama S, Yamaguchi T, Sekikawa Y, Nozato T. Infective endocarditis due to *Treponema pallidum*: A case diagnosed by polymerase chain reaction analysis of aortic valve. *Canadian Journal of Cardiology*. Accepted. 2019.
- 37) Shimuta K, Igawa G, Yasuda M, Deguchi T, Nakayama S, Ohnishi M. A Real-Time PCR Assay for the Detection of a *penA* Mutation Associated with Ceftriaxone Resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. 2019. *J Glob Antimicrob Resist* pii: S2213-7165(19)30051-7
- 38) Golparian D, Rose L, Lynam A, Mohamed A, Bercot B, Ohnishi M, Crowley B, Unemo M. Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolate, belonging to the internationally spreading Japanese FC428 clone, with ceftriaxone resistance and intermediate resistance to azithromycin, Ireland, August 2018. *Euro Surveill.* 2018 Nov;23(47).
- 39) Ogura Y, Seto K, Morimoto Y, Nakamura K, Sato MP, Gotoh Y, Itoh T, Toyoda A, Ohnishi M, Hayashi T. *Emerg Infect Dis.* 2018 Dec;24(12):2219-2227
- 40) Kanai M, Arima Y, Nishiki S, Shimuta K, Itoda I, Matsui T, Oishi K, Ohnishi M, Nakayama S. Molecular Typing and Macrolide Resistance Analyses of *Treponema pallidum* in Heterosexuals and Men Who Have Sex with Men in Japan, 2017. *J Clin Microbiol.* 2019 Jan 2;57(1). pii: e01167-18.
- 41) Seki M, Kilgore PE, Kim EJ, Ohnishi M, Hayakawa S, Kim DW. Loop-Mediated Isothermal Amplification Methods for Diagnosis of Bacterial Meningitis. *Front Pediatr.* 2018 Mar 12;6:57.
- 42) Takahashi T, Arima Y, Yamagishi T, Nishiki S, Kanai M, Ishikane M, Matsui T, Sunagawa T, Ohnishi M, Oishi K. Rapid Increase in Reports of Syphilis Associated With Men Who Have Sex With Women and Women Who Have Sex With Men, Japan, 2012 to 2016. *Sex Transm Dis.* 2018 Mar;45(3):139-143.
- 43) Senpuku H, Yonezawa H, Yoneda S, Suzuki I, Nagasawa R, Narisawa N. *SMU.940* regulates dextran-dependent aggregation and biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *Molecular Oral Microbiology* 2018, 33, 47-58.
- 44) Iwamoto A, Nakamura T, Narisawa N, Kawasaki Y, Abe S, Torii Y, Senpuku H, Takenaga F. The Japanese fermented food natto inhibits sucrose-dependent biofilm formation by cariogenic streptococci. *Food Science and Technology Research*, 2018, 24, 129-137.
- 45) Suzuki I, Shimizu T, Senpuku H. Role of SCFAs for fimbriin-dependent biofilm formation of *Actinomyces oris*. *Microorganisms*, 2018, pii, E114, doi: 10.3390/microorganisms6040114.
- 46) Nakao R, Myint SL, Wai SN, Uhlin BE. Enhanced biofilm formation and membrane vesicle release by *Escherichia coli* expressing a commonly occurring plasmid gene, *kil* : *Front Microbiol.* 2018. 9:2605.

2. 和文発表

- 1) 伊豫田淳 国内における腸管出血性大腸菌感染症の現状. 特集:食中毒の最新動向. 医学と薬学. 75(7) 739-744, 2018.
- 2) 伊豫田淳 腸管出血性大腸菌感染症 I 腸管出血性大腸菌による感染症とは. 運動指導者のための医学の基本

131、健康づくり、2018. 480号 p.11.

3) 伊豫田淳 腸管出血性大腸菌感染症Ⅱ 腸管出血性大腸菌による食中毒. 運動指導者のための医学の基本 132、健康づくり、2018. 481号 p.11.

4) 伊豫田淳 腸管出血性大腸菌感染症Ⅲ 腸管出血性大腸菌の予防法. 運動指導者のための医学の基本 133、健康づくり、2018. 482号 p.11.

5) 泉谷秀昌 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析について. 獣医公衆衛生研究、第20巻第2号、6-11、2018年
泉谷秀昌 サルモネラ、医学と薬学、第75巻第7号、769-774、2018年

6) 泉谷秀昌、李謙一、伊豫田淳、大西真 2017年に分離された腸管出血性大腸菌のMLVA法による解析。IASR、第39巻、81-82、2018年5月
増田郷太、今村顕史、関谷紀貴、泉谷秀昌 腸チフス・パラチフスの診断とWidal反応。感染症学雑誌、第92巻第4号、561-567、2018年7月。

7) 泉谷秀昌 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析(MLVA法)について。食品衛生学雑誌、第60号第1巻、J-7-8、2019年2月。

8) 泉谷秀昌 広域散发事例探知に向けた取り組み。日本食品微生物学会雑誌、第36巻第1号、10-12、2019年

9) 大屋日登美、鈴木美雪、政岡智佳、中嶋直樹、古川一郎、前川純子、倉文明、泉山信司、黒木俊郎 医療機関の給水設備におけるレジオネラ属菌の汚染実態。感染症学雑誌、2018. 52:678-85.

10) 前川純子 レジオネラ属菌の同定法とSBT (Sequence-Based Typing)。日本防菌防黴学会誌。2019.

11) 泉福英信 感染性疾患の病理: 齶蝕および歯周病に関連する細菌と感染症、文光堂、2018, p139-144.

12) 泉福英信 歯科医療従事者における感染対策の意識改革、日本歯科理工学会誌、日本歯科理工学会、2018, 37: 207-210.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Yahiro K, Nagasawa S, Ichimura K, Takeuchi H, Ogura K, Tsutsuki H, Shimizu T, Iyoda S, Ohnishi M, Iwase H, Noda M. Mechanism of inhibition of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* SubAB cytotoxicity by steroids and diacylglycerol analogues. 52th US-Japan Cholera and Other Bacterial Enteric Infections Joint Panel Meeting, Hanoi, Vietnam, February, 2018.

2) Nakamura K, Murase K, Toyoda A, Itoh T, Mainil JG, Yoshino S, Kimata K, Isobe J, Seto K, Etoh Y,

Narimatsu H, Saito S, Yatsuyanagi J, Iyoda S, Ohnishi M, Ooka T, Gotoh Y, Ogura Y, Hayashi T. Genome diversity of EHEC O145:H28 and genome-wide search of high Stx2 producibility-associated genes. VTEC 2018, Florence, Italy, May 2018.

3) Ogura Y, Gotoh Y, Itoh T, Sato M, Kusumoto M, Akiba M, Tominaga K, Kirino Y, Ooka T, Ishijima N, Lee K, Iyoda S, Mainil J, Hayashi T. The population structure of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11 with recent and repeated stx2 acquisition in multiple lineages. VTEC 2018, Florence, Italy, May 2018.

4) Lee K, Iyoda S, Morita-Ishihara T, Kimata K, Watahiki M, Sekizuka T, Kuroda M, Ohnishi M, EHEC Working Group. Applicability of whole genome sequencing of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 in the national surveillance. The 10th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections. Florence, Italy, 2018.

5) Morita M, Shimmura R, Izumiya H, Ohnishi M. Genomic epidemiological analysis of *Salmonella enterica* serovar Typhi from domestic cases in Japan. 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Madrid, Spain, April 2018.

6) Kura F and Amemura-Maekawa J. Sources of infection and settings in outbreaks of legionellosis --- Japan, 2000-2017. ESGLI 2018. Lyon, August, 2018.

7) Taguri T, Guoxi C, Ebisu-Ojima H, Kura F, and Amemura-Maekawa J. On-site inspection method for *Legionella pneumophila* in bath water. ESGLI 2018. Lyon, August, 2018.

8) Isobe J, Kanatani J, Kimata K, Uchida K, Watahiki M, Kura F, Amemura-Maekawa J. Evaluation of an immunomagnetic separation method to detect *Legionella pneumophila* serogroup 1 from environmental specimens. ESGLI 2018. Lyon, August, 2018.

9) Kinjo Y, Miyatake H, Piao Z, Chang B, Kitano N, Abe M, Takatsuka S, Akeda Y, Miyazaki Y, Ikuta K, Oishi K. Bivalent pneumococcal surface protein A (PspA) fusion protein vaccine comprising PspA clade 1-4 provides broad protective properties against diverse clinical isolates. The 11th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases. Melbourne, Australia, 2018.

10) Oishi K, Shimbashi R, Chang B, Kinjo Y, Fukusumi M, Shimada T, Tanabe Y, Oshima K, Maruyama T, Watanabe H, Kuronuma K, Kasahara K, Takeda H, Nishi J, Fujita J, Kubota

- T, Ikuse T, Suzuki M, Sunagawa T, Matsui T, and the Adult IPD Study Group. Re-emergence of invasive pneumococcal disease (IPD) caused by 12F serotype in adults, Japan: the characteristic features of disease. The 11th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases. Melbourne, Australia, 2018.
- 11) Taira M, Ando S, Kawabata H, Fujita H, Kadosaka T, Sato H, Monma N, Saijo M. Isolation and Molecular Detection of *Ehrlichia* Species, which is related to Ehrlichiosis agent, from Ticks in Central and Western Japan. The 9th Joint Symposium of Veterinary Research in East Asia. Seoul, Korea, 2018.
- 12) Xu J, Koizumi N, Nakamura S. Analysis of adhesion and crawling behavior of *Leptospira* on the host animal cells. BLAST, USA, January 2019.
- 13) Mitobe J, Nishiumi F, Yanagihara I, Ohnishi M. Multimer formation of bacterial cytoskeletal protein RodZ. 54th United States-Japan Cooperative Medical Science Program. 26 February-1 March, 2019, Hanoi, Vietnam.
- 14) Ishikawa M, Senpuku H, Murata T, Hanada N, Shibuya K. Antibacterial effects of black cumin seed components on *Fusobacterium* Biofilm. 96th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, London, UK, July 25-28, 2018.
- 15) Senpuku H, Tominaga A, Nakao R. Effects of membrane vesicles from *Streptococcus mutans* on the biofilm formation and mucosal immunity. 96th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, London, UK, July 25-28, 2018.
- 16) Suzuki I, Shimizu T, Senpuku H. Roles of fimbriae for SCFAs-dependent initial attachment of *Actinomyces oris*. 96th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, London, UK, July 25-28, 2018.
- 17) Nakao R, Hirayama S, Ohnishi M, Senpuku H. Characterization of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles purified by density gradient centrifugation. 12th Vaccine Congress, Budapest, Sep. 2018.
- 18) Hirayama S, Nakao R. Glycine strongly enhances immunoactive membrane vesicle production from flagella-deficient *E. coli*. 12th Vaccine Congress, Budapest, Sep. 2018.
- 19) Nakao R, Yoshimasu Y, Ikeda T, Sakai N, Yagi A, Morinaga Y, Furukawa S. Visualization of spatiotemporal dynamics of membrane vesicle formation on bacteria triggered by antibacterial agents. Keystone Symposia, Exosomes/Microvesicles: Heterogeneity, Biogenesis, Function and Therapeutic Development. Breckenridge, Colorado. July 2018
- 20) Nakao R. Research on bacterial membrane vesicles as vaccine platforms. Joint MTC/CMM/CID seminar at Karolinska Institutet, Stockholm. Sweden. February 2019.
- 21) Nishiki S, Arima Y, Yamagishi T, Hamada T, Takahashi T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K, Ohnishi M. Syphilis Outbreak in Women Who Have Sex with Men in Japan: a Case-control Study in Tokyo, 2017-2018. ID Week 2018, San Francisco, USA. October 2018.
- 22) Ohnishi M. Surveillance for antimicrobial resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Japan - disseminating of a ceftriaxone resistant clone. IUSTI Asia Pacific Sexual Health Congress 2018, Auckland, New Zealand, November 2018.
- 23) Ohnishi M. The surveillance of bacterial infectious diseases and the study of genomics epidemiology in Japan. 広東省病原微生物年会 2018, Guangzhou, China. December 2018.

2. 国内学会

- 1) 八尋錦之助、永澤明佳、小倉康平、清水健、津々木博康、伊豫田淳、大西真、LEE-negative STEC の産生する Subtilase cytotoxin の毒性阻害薬の検索と阻害機構の解明。第 22 回腸管出血性大腸菌研究会、東京、2018 年 11 月
- 2) 石嶋希、李謙一、大西真、伊豫田淳 HUS 症例由来の *stx2e*、*stx2f* 遺伝子保有株の病原性解析。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018 年 11 月
- 3) 須藤直樹、伊豫田淳、関根靖彦、大西真 RNA 結合タンパク質 Hfq による LEE 遺伝子発現抑制。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、2018/11/9、国内。
- 4) 大岡唯祐、李謙一、桂啓介、伊豫田淳、藺牟田直子、林哲也、大西真、西順一郎 腸管出血性大腸菌 O111 用 IS-printing system の開発、口頭。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018 年 11 月
- 5) 須藤直樹、伊豫田淳、関根靖彦、大西真 腸管出血性大腸菌における、RNA 結合タンパク質 Hfq による病原性調節因子の発現抑制。第 15 回 21 世紀大腸菌研究会、山形、2018 年 5 月
- 6) 菊地孝司、李謙一、上野裕之、泊賢太郎、小堀すみえ、嘉悦明彦、松井真理、鈴木里和、関塚剛史、黒田誠、宮崎元伸、大西真 アウトブレイク中に腸管出血性大腸菌が ESBL 遺伝子を獲得した事例。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018
- 7) 泉谷秀昌、李謙一、石嶋希、伊豫田淳、大西真 腸管出血性大腸菌分離株の分子疫学解析状況について。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018

- 8) 李謙一、木全恵子、綿引正則、磯部順子、伊豫田淳、大西真、EHEC Working Group HUS 患者由来 LEE 非保有型 EHEC の完全長ゲノム配列解析。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018
- 9) 李謙一 牛やその他の動物における腸管出血性大腸菌の保菌状況。第 101 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2018
- 10) 泉谷秀昌 広域散発事例探知に向けた取り組み。第 39 回日本食品微生物学会学術総会、2018 年 9 月、大阪市
- 11) 泉谷秀昌 腸管出血性大腸菌の分子疫学。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、2018 年 11 月、東京都
- 12) 泉谷秀昌 腸管出血性大腸菌の MLVA について。平成 30 年度関東甲信静ブロック地域専門家会議、2018 年 12 月、埼玉県
- 13) 小林泰一郎、田中勝、福島一彰、関谷紀貴、矢嶋敬史郎、森田昌知、泉谷秀昌、味澤篤、今村顕 都立駒込病院における腸チフス・パラチフス 55 例の後方視的検。第 92 回日本感染症学会学術講演会、岡山、2018 年 5 月
- 14) 工藤仁隆、的野多加志、森田昌知、泉谷秀昌、吉野麻衣、大西真 多発皮下・筋内膿瘍をきたした非 K1 型過粘稠性 *Klebsiella pneumoniae* 株の高病原性因子解析。第 92 回日本感染症学会学術講演会、岡山、2018 年 5 月
- 15) 高田直輝、小川道永、大西真、竹山春子、Analysis of FIP200-independent autophagy induction mechanism in *Streptococcus pneumoniae* infected cells、5th Core-to-Core International Symposium “3D Lab-Exchange Program”、OIST、平成 31 年 2 月 25 日-27 日
- 16) 高田直輝、小川道永、竹山春子、大西真 肺炎球菌に対するゼノファジー誘導の分子メカニズム解析。第 41 回日本分子生物学会、パシフィコ横浜、平成 30 年 11 月 30 日
- 17) 高田直輝、小川道永、山下裕顕、竹山春子、大西真 宿主細胞内における肺炎球菌殺菌機構の解析。第 101 回日本細菌学会関東支部総会、北里大学大村ホール、平成 30 年 11 月 1 日
- 18) 雫石早矢佳、小川道永、松永智子、梁明秀、大西真 宿主オートファジーを誘導する肺炎球菌病原因子の探索とその誘導機構解析。第 101 回日本細菌学会関東支部総会、北里大学大村ホール、平成 30 年 11 月 1 日
- 19) 中井友博、小川道永、岡田信彦、大西真 肺炎球菌感染により惹起される炎症応答を制御する病原因子の探索。第 101 回日本細菌学会関東支部総会、北里大学大村ホール、平成 30 年 11 月 1 日
- 20) 小川道永、高田直輝、雫石早矢佳、大西真 Nedd4-1 を介した K63 型ユビキチン化による宿主細胞内肺炎球菌認識機構。第 50 回 レンサ球菌研究会、神戸市産業振興センター、平成 30 年 6 月 16 日
- 21) Michinaga Ogawa, Naoki Takada, Sayaka Shizukuishi, Isei Tanida, Mitsunori Fukuda, Makoto Ohnishi、Molecular mechanisms of *Streptococcus pneumoniae*-targeted selective autophagy via Golgi-resident Rab41 and Nedd4-1 mediated K63-linked ubiquitination、第 70 回日本細胞生物学会、第 51 回日本発生物学会合同大会、タワーホール船堀、平成 30 年 6 月 7 日
- 22) 前川純子 レジオネラ。第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会 シンポジウム「不思議なマイクロの世界一目からウロコの微生物学講座一」、東京、2019 年
- 23) 磯部順子、金谷潤一、木全恵子、内田薫、綿引正則、小澤賢介、権平文夫、倉文明、前川純子 浴用水から *Legionella pneumophila* 血清群 1 を検出するための免疫磁気ビーズによる濃縮分離法の検討。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、東京、2018
- 24) 田栗利紹、蔡国喜、下田貴宗、倉文明、前川純子 遊離塩素消毒下の入浴施設におけるレジオネラニューモフィラの生死スクリーニングを伴ったオンサイト半定量解析。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、東京、2018
- 25) 大河内由美子、前川純子、泉山信司 貯水槽水道で滞留した水道水からのレジオネラ属菌および関連微生物の検出状況。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、東京、2018
- 26) 森中りえか、前川純子、加藤尚之、大野章、原口浩幸、高崎一人、布藤聡、倉文明 比色系パルサー法によるレジオネラ属菌検出の特異性について。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、東京、2018
- 27) 金谷潤一、綿引正則、木全恵子、加藤智子、内田薫、倉文明、前川純子、磯部順子 大気エアロゾル中のレジオネラ属菌検出状況。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、東京、2018
- 28) 新橋玲子、常彬、福住宗久、島田智恵、田邊嘉也、大島謙吾、丸山貴也、渡邊浩、黒沼幸治、笠原敬、武田博明、西順一郎、藤田次郎、窪田哲也、砂川富正、松井珠乃、大石和徳 小児結合型肺炎球菌ワクチンの定期接種導入後の成人侵襲性肺炎球菌感染症の疫学的特徴。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、岡山、2018 年
- 29) 戸田誠也、合田建、見坂恒明、常彬 胆汁から肺炎球菌が培養された侵襲性肺炎球菌感染症を伴う急性胆嚢炎の 1 例。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、岡山、2018 年
- 30) 合田建、見坂恒明、常彬 夫婦間で発症した侵襲性肺炎球菌感染症/肺炎球菌性脊椎炎の 2 例。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 66 回日本化学療法学会学術

集会合同学会、岡山、2018年

31) 津畑千佳子、田邊嘉也、茂呂寛、坂上亜希子、佐藤瑞穂、張仁美、青木信将、小泉健、菊地利明、常彬、大石和徳 新潟県の成人の血清型 12F による侵襲性肺炎球菌感染症の臨床的特徴。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、岡山、2018年

32) 宮崎治子、渋谷理恵、常彬、大西真、松本哲哉 ワクチン定期接種開始後における高齢者分離肺炎球菌の疫学的検討。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、岡山、2018年

33) 川崎聡、山本絢子、阿部徹哉、青木信樹、常彬 救護施設で発生した血清型 19A による肺炎球菌性肺炎のアウトブレイク～入所者に対する咽頭保菌調査と予防的除菌療法の経験～。第 67 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第 65 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、東京、2018年

34) 藺傘田直子、児玉祐一、川村英樹、常彬、西順一郎 鹿児島県における小児と成人の侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) サーベイランス。第 88 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第 61 回日本感染症学会中日本地方会学術集会第 66 回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会、鹿児島、2018年

35) 常彬、西順一郎、丸山貴也、渡邊浩、福住宗久、新橋玲子、大石和徳 成人の侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) 原因菌の血清型分布の動向と細菌学的解析。

第 22 回日本ワクチン学会学術集会、神戸、2018年

36) 成相昭吉、常彬 PCV 導入後の定着肺炎球菌血清型の疫学変化と PCG・MEPM 耐性状況。第 22 回日本ワクチン学会学術集会、神戸、2018年

37) 池辺忠義 連鎖球菌感染症の疫学 (シンポジウム: 食品媒介連鎖球菌感染症の疫学・食品微生物学・病原機構)。第 39 回日本食品微生物学会学術総会、大阪、2018年9月

38) 池辺忠義 劇症型溶血性レンサ球菌について。2018年東海北陸ブロック地域レファレンスセンター連絡会議、愛知、2018年11月

39) 渡辺美絵、池辺忠義、岡村暢大 劇的な経過を辿った G 群溶血性連鎖球菌感染症の一例。第 88 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、鹿児島、2018年11月

40) 佐藤梢、熊谷由美、林哲也、高野愛、大西真、川端寛樹 ボレリア属細菌の新規病原性評価ツールの開発とその応用。第 161 回日本獣医学会学術集会、筑波、2018年

41) 川端寛樹 マダニ媒介性感染症 (教育講演)。森林総研セミナー、函館、2018年

42) 佐藤梢、熊谷由美、林哲也、高野愛、大西真、川端寛樹。ボレリア属細菌の新規病原性評価ツールの開発とその応用。

第 26 回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー、函館、2018年

43) 佐藤(大久保)梢、熊谷由美、福士秀悦、下島昌幸、西條政孝、山野公明、川端寛樹 新興回帰熱 (BMD: *Borrelia miyamotoi* disease) の新規抗体検査用抗原の性能評価に関する研究。第 26 回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー、函館、2018年

44) 川端寛樹、関塚剛史、高野愛、黒田誠、佐藤梢、大西真 比較ゲノム解析から推定されたボレリア属細菌のダイナミックな進化。第 70 回日本衛生動物学会大会、帯広、2018年

45) 佐藤梢、熊谷由美、林哲也、高野愛、大西真、川端寛樹 ボレリア属細菌の新規病原性評価ツールの開発とその応用。第 70 回日本衛生動物学会大会、帯広、2018年

46) 川端寛樹、関塚剛史、高野愛、黒田誠、佐藤梢、大西真 比較ゲノム解析から推定されたボレリア属細菌の進化イベント。第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018年

47) 川端寛樹 日常診療で出会う可能性があるボレリア感染症 (教育講演)。第 29 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、岐阜、2018年

48) 高橋 英之 侵襲性髄膜炎菌感染症「持ち込まれる危険と適性検査」。第 30 回臨床微生物学会総会、東京、2019年

49) 真井優、小泉信夫、Ung Thi Hong Trang、Nguyen Le Khanh Hang、竹村太地郎、長谷部太、平山和宏、三浦こずえ ベトナムにおける野鼠を対象としたレプトスピラ症の疫学調査。第 59 回日本熱帯医学会大会、長崎、2018年11月

50) Xu J, Koizumi N, Ozuru R, Morimoto YV, Masuzawa T, Nakamura S. Photoreactive behavior in the spirochete *Leptospira*. 2018 年度ぺん毛研究交流会、愛知県、2019年3月

51) 許駿、小泉信夫、中村修一 レプトスピラ症病原体の宿主選好性における運動と接着の関わり。2018 年度ぺん毛研究交流会、愛知県、2019年3月

52) Hijikata S, Hongo I, Nakayama S, Sekikawa Y, Iwai T, Yamaguchi J, Sagawa Y, Watanabe K, Masuda R, Miyazaki R, Miwa N, Hara N, Yamaguchi T, Nagata Y, Nozato T, and Hirano K. Infective endocarditis due to *Treponema pallidum*: A case diagnosed by polymerase chain reaction analysis of aortic valve. The 82nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. March 2018, Osaka.

53) 中山周一 梅毒の迅速診断の方向性—検査手技時間の短縮化と感染成立後陽性判定可能までのタイムラグの短縮化を目指す。日本性感染症学会第 31 回学術大会シンポジウム 1、2018年11月、東京

54) 安田満、志牟田健、中山周一、小林寅喆、大澤佳代、陳内理生、三宅啓文、濱砂良一、荒川創一、大西真 2015～

2017年にわが国で分離された淋菌の薬剤感受性報告。日本性感染症学会第31回学術大会、2018年11月、東京

55) 三戸部治郎、西海史子、柳原格、大西真 赤痢菌の細胞骨格 RodZ の多量体形成機構と局在の解析。第92回日本細菌学会総会、札幌、2019年

56) 三戸部治郎 病原性の発現メカニズムに基づいた汎赤痢菌群に対するワクチンの開発。第26回大阪府立母子医療センターシンポジウム2、2019年3月22日

57) 金坂伊須萌、山根夏枝、伊與田貴子、天野綾子、小山英明、松本哲、勝瀬明子、志牟田健、大西真、小林寅喆 CTRX耐性 *N.gonorrhoeae* および CTRX低感受性 *N.subflava* に対する *penA* 遺伝子解析。日本性感染症学会第31回学術大会、東京、2018年

58) 石川正夫、村田貴俊、泉福英信、花田信弘、渋谷耕司 ブラックミンおよび殺菌剤の *Fusobacterium nucleatum* のメチルメルカプトタン産生に及ぼす影響。第67回日本口腔衛生学会、札幌、2018年5月

59) 泉福英信 ヴェジクルを利用したさまざまな口腔細菌によるバイオフィーム形成戦略。第67回日本口腔衛生学会、札幌、2018年5月

60) 奥脇響、尾花望、永山恭子、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦 Functional analysis of putative lipoproteins accumulated in *C. perfringens* membrane vesicle inducing host immunity. 第32回日本微生物生態学会、沖縄、2018年7月

61) 奥脇響、尾花望、永山恭子、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦 宿主の免疫を誘導するウェルシュ菌メンブレンヴェシクルに濃縮されたタンパク質機能の解析。グラム陽性菌ゲノム機能会議、2018年8月

62) 泉福英信、中尾龍馬 膜小胞-細胞外 DNA 複合体の病原性と粘膜免疫による IgA 抗体の誘導、ポスター。第60回歯科基礎医学会、福岡、2018年9月

63) Hidenobu Senpuku, Tomoyo Nakamura, Yusuke Iwabuchi, Ryoma Nakao, Development of an oral biofilm-associated disease vaccine using membrane vesicles from *Streptococcus mutans*. 第47回日本免疫学会・総会、福岡、2018年12月

64) 泉福英信 バイオフィームが創りだす不思議な世界。第30回日本臨床微生物学会 教育講演、東京、2019年2月

65) 齋藤訓平、相内章、平山悟、鈴木忠樹、中尾龍馬、長谷川秀樹 The efficacy of outer membrane vesicle derived from *E. coli* Nissle 1917 as a mucosal adjuvant in intranasal inactivated influenza vaccine. 第66回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018年10月

66) 平山悟、吉益由莉、酒井信明、八木明、泉福英信、大西真、中尾龍馬 膜作用性抗菌薬が細菌細胞に及ぼす影響の解析及びリアルタイムイメージング。日本顕微鏡学会第61回

シンポジウム、富山市、2018年11月

67) 平山悟、泉福英信、大西真、中尾龍馬 歯周病原細菌 *P.gingivalis* 及び *A. actinomycetemcomitans* 外膜ヴェシクルの併用による経鼻免疫の粘膜ワクチン効果。第22回日本ワクチン学会学術集会、神戸市、2018年12月

68) 泉福英信、中尾龍馬 *Streptococcus mutans* から遊離した膜小胞・細胞外 DNA 複合体のバイオフィーム活性。第50回レンサ球菌学会、神戸、2018年6月

69) 奥脇響、尾花望、永山恭子、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦 宿主免疫を誘導するウェルシュ菌メンブレンヴェシクルの推定リボタンパク質解析。環境バイオテクノロジー学会2018、つくば、2018年6月

70) 奥脇響、尾花望、永山恭子、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦 宿主の免疫を誘導するウェルシュ菌メンブレンヴェシクルに集積されたタンパク質の機能解析。第32回日本微生物生態学会、沖縄、2018年7月

71) 泉福英信、中尾龍馬 膜小胞-細胞外 DNA 複合体による病原性と粘膜免疫応答の誘導。第60回歯科基礎医学会、福岡、2018年9月

72) 室井康平、生田智樹、奥村暢章、立藤智基、中尾龍馬 アルテピリン C による細胞膜上への膜小胞形成作用。第九回岐阜薬科大学機能性健康食品研究講演会、「岐阜市 2018年11月

73) 奥脇響、尾花望、永山恭子、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦 腸内細菌が放出する membrane vesicle による宿主免疫誘導の解析。第52回ビブリオシンポジウム、2018年10月

74) 泉福英信、中尾龍馬 Development of an oral biofilm-associated disease vaccine using membrane vesicles from *Streptococcus mutans*. 日本免疫学会、福岡、2018年12月

75) 大西真 梅毒および薬剤耐性淋菌感染症の動向。第71回日本細菌学会 中国・四国支部総会、松山、2018年8月

76) 大西真 淋菌感染症の迅速診断 いま必要とされていること。日本性感染症学会第31回学術大会、東京、2018年11月

77) 大西真 梅毒の国内の現状。第32回エイズ学会学術集会、大阪、2018年12月

78) 大西真 梅毒の全国の現状及び検査等について。第32回公衆衛生情報研究協議会研究会、岡山、2019年1月

79) 大西真 淋菌感染症の疫学・病原性と検査法。第30回日本臨床微生物学会、東京2019年2月

80) 大西真 国内の患者由来腸管出血性大腸菌の特性。72回日本細菌学会東北支部総会、仙台、2018年8月