

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、広域食中毒事例の調査に活用された。EHEC 感染症に続発する溶血性尿毒症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。

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。

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。特に、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た研究成果に進捗を見た。

日本医療研究開発機構に派遣されていた石原朋子は H31/R1 年度より復帰した。佐久間智理が、H31 年 4 月より招

聘型任期付研究員として着任した。須藤直樹が R1 年 7 月に北里大学・薬学部にて助教として転出した。

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

2019 年に全国から受け付けた EHEC は 2,891 株であった。頻度の高い O 血清群(O 群)の順に O157 (54.0%)、O26 (16.5%)、O103 (7.2%)、O111 (4.3%)、O145 (3.0%)、O121 (2.8%)、で、その他は 77 の O 群、125 の血清型(O:H 型)に分類された。ヒトの重症例(血便、溶血性尿毒症症候群 [HUS]、脳症、死亡例など)由来株はこのうち 1,034 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 97% 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、石嶋希、泉谷秀昌、大西真]

イ. 主要 7 血清群以外の O 群による重症例について

2007 年から 2019 年までにヒトの重症例から分離された EHEC のうち、上記アの主要 7 血清群(O157, O26, O111, O121, O103, O145, O165)以外の O 群の EHEC 株 (n=185) について解析を行ったところ、分離数の多い O 群として O5 (n=22)、O55 (n=10)、O76 (n=10) の順となった。[伊豫田淳、井口純(宮崎大・農)、小澤さお美、竹本歩、李謙一、石嶋希、大西真]

ウ. 志賀毒素産生性腸管凝集性大腸菌(Stx-EAEC) O86 の比較ゲノム解析

1999 年および 2014 年に重症例から分離された Stx-EAEC O86 の完全長ゲノム配列を決定し、既存の大腸菌ゲノムとの比較解析を行った。この結果、両株はコアゲノムおよび病原性遺伝子の類似性が非常に高い一方で、保有する志賀毒素ファージ配列は大きく異なることが判明した。2014 年分離株の Stx2 ファージは 2011 年にヨーロッパで大規模集団感染を起こした Stx-EAEC O104:H4 と 2 か所の塩基のみ異なるファージを有しており、国内でも同ファージが分布することが明らかとなった。

[李謙一、伊豫田淳、大西真]

(2) 分子疫学的解析

ア. MLVA 解析

2019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、2,896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2,584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1,135の型が同定された。上位5型は16m4011、19m2033、19m2103、19m6006、19m0080であった(34-58株)。19m6006は8月末から9月上旬にかけて東海地方を中心に分離された広域株であった。また、これら以外に MLVA 型19m0487、19m0488を含むコンプレックス19c058(43株)が11月を中心に東日本から西日本までの広い範囲で分離された。[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)

VPN サーバーにデータベースを設置し、腸管出血性大腸菌の MLVA 結果に関するデータベースを構築した。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、岩淵香織(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)、山田和弘(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10例のうち、大腸菌 O 抗原に対する抗体陽性となったのは8事例あった。このうち O157 抗体陽性が5例(このうち2例は O111 または O121 抗体もそれぞれ陽性)、O111 抗体陽性が2例、O121 抗体陽性が2例、O165 抗体陽性が1例、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(4)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9事例について患者便を再検査したところ、このうちの2例では O121 および O157 となる *stx2 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]

(5) EHEC O146 の国内流行株のゲノム解析

2007年から2015年までに国内で腸管出血性大腸菌感染症(EHEC)の患者および無症候性キャリアから分離された EHEC O146 株(n=66)について、国内における当該血清群の流行株の把握、広域・散発的発生事例を探知するため、EHEC O146 のゲノム解析を実施した。コアゲノム SNP 解析により、*stx1* 陽性の EHEC O146:H21 分離株(n=30)のうち、93.9%以上の類似した PFGE パターンを有する分離株(n=26)の間では9未満の SNP が認められ、これら遺伝学的に近縁な *stx1* 陽性の O146:H21 分離株による感染が2013年以降日本で増加していることが示唆された。[石原朋子、李謙一、滝沢木綿、伊豫田淳、泉谷秀昌、大西真]

(6) 全国的な集団感染株由来 EHEC のゲノム解析

2019年に食中毒疑い事例から分離された MLVA 型と同一型の菌株、およびその single locus variant および double locus variant の菌株が全国的に分離された。そこで、関連株23株について全ゲノム配列解析を行った。その結果、上記関連株内での SNP は0-5か所であり、解析した株は全て同一由来である可能性が示された。[李謙一、伊豫田淳、泉谷秀昌、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

2019年に当研究所に送付された赤痢菌65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。菌種の内訳は *S. sonnei* 52株、*S. flexneri* 11株、*S. boydii* 2株であった。*Shigella sonnei* では37の MLVA 型が検出された。このうち7株が同一の MLVA 型であり、いずれも11月から12月にかけて東北地方において分離された。[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(*hfq*)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 菌のフェージ型別

2019 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 菌についてフェージ型別試験を行った。送付された菌株数はチフス菌 28 株、パラチフス A 菌 16 株であった。チフス菌では、フェージ型 E1 が 8 株で最多であった。パラチフス A 菌ではフェージ型 1 が 7 株検出され最多となり、それに次いでフェージ型 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

2019 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、ニューキノロン系薬剤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 53.6%、パラチフス A 菌は 87.5%であった。ナリジクス酸耐性チフス菌のうち、アンピシリン、クロラムフェニコール、ST 合剤及び第 3 世代セファロスポリンにも耐性を示す株が 1 株存在した。[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、フェージ型別

2019 年に当研究所に送付されたサルモネラ株は 218 株であった。血清型は 23 種類からなり、上位 4 位は Enteritidis、Stanley、Typhimurium、Schwarzengrund であった。このうち 134 株について *Xba*I 消化による PFGE 解析を行った結果、34 パターンに分かれた。血清型 Enteritidis 53 株についてフェージ型別を実施した結果、49 株がフェージ型 47 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

2013 年に分離された保菌者由来サルモネラ O8 群 51 株、O9 群 20 株、2017 年に分離された保菌者由来サルモネラ O4 群 229 株、O8 群 129 株について血清型別及び薬剤感受性試験を実施した。O4 群上位は Schwarzengrund、Agona、I 4:i:-、O8 群上位は Newport、Manhattan、Corvalis、O9 群はほとんど Enteritidis であった。感受性試験を行った 429 株中 250 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+TC の 2 剤耐性、SM+TC+KM の 3 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. 集団食中毒、髄膜炎、および溶血性尿毒症症候群 (HUS) 由来 *Salmonella* Stanley のゲノム解析

2019 年に、それぞれ別の自治体で食中毒、髄膜炎、または HUS から *Salmonella* Stanley が検出された。そこで、3 事例の菌株計 32 株について、全ゲノム配列解析を行った。その結果、食中毒および HUS 事例の菌株は最大 5 か所の SNP のみ認められ、同一由来である可能性が示唆された。一方、髄膜炎由来株とは 569 か所以上の SNP が認められ、関連性が低いことが明らかとなった。[李謙一、伊豫田淳、泉谷秀昌、小澤さお美、竹本歩、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. *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。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 株である。コアゲノム系統解析の結果、特定期間に分離されたラオス、タイ、ベトナム由来のコレラ菌が同じ遺伝系統に属することが明らかとなった。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、大西真]

イ. 令和 1 年度に同定、血清型別などを依頼された *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株

令和 1 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 7 株で、すべて国内例の *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 であった。事例数としては 4 例であったが、いずれも血液培養からの分離株が含まれており、2 例は便培養からも分離されており、同じ O 血清型の *V. cholerae* non-O1/non-O139 の感染事例であった。1 例は海外渡航歴があったが、その他は海外渡航歴がなく、感染経路は

不明であった。O 血清型はすべての事例で異なっていたことから、それぞれに関連性はないものと考えられた。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

ウ. コレラ菌の染色体が単一化する遺伝的要因の探索

昨年度は単一染色体を保有するコレラ菌株のゲノム解析を行い、特徴的な変異やゲノム再編成を明らかにした。本年度はゲノム編集技術を用いて、それらの遺伝的变化を野生型に復帰させるとともに、典型的な2本の染色体を保有する株に導入した。また、染色体2の複製開始因子*RctB*の必須性を指標にして、染色体数が変動した株のスクリーニングを開始した。[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

O 血清群は現在 205 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。205 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。De novo assemble により1つの contig として得られないものもあったが、gap を walking により繋げ、205 種類全ての O 血清群の全塩基配列が解読された。これら 205 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。アノテーションを元に構成糖の合成遺伝子、糖転移酵素、多糖輸送因子に分類し、遺伝子構成を図解し比較検討した。[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

コレラ流行地でしばしば分離され、下痢症に関連する *V. fluvialis* について、血清型参照株の O 抗原合成遺伝子領域の解析を *V. cholerae* 同様、次世代シーケンサーを利用し全ゲノム配列を取得後、O 抗原遺伝子領域の抽出を行った。これまでに O1~O18 のドラフトゲノムの取得が完了した。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で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、De novo assemble を行い、O 抗原合成遺伝子領域の抽出、*V. cholerae* の O 抗原遺伝子群との比較、*V. fluvialis* 特異遺伝子の検索を行った。[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* における莢膜多糖合成遺伝子クラスターの解析

C. jejuni の Penner 血清型は、本菌に起因する感染症における重症化要因の一つとされているものの、型別率が 50% 以下と低いことに加え、型別の再現性が得られない場合しばしば報告されることから、疫学調査を行う上で深刻な問題の一つとなっている。本研究では、Penner 血清型が型別不能になる遺伝的要因を明らかにするために、その主要抗原である莢膜多糖の合成遺伝子クラスターに焦点を当て、分子遺伝学的な解析を開始した。[山本章治、伊豫田淳、大西真、尾羽根紀子(山口環保セ)、今野貴之(秋田健康セ)、山田和弘(愛知衛研)]

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

2019 年に当研究所の送付されたエルシニア属菌は 5 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 1 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 2018 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

2018 年に全国の衛生研究所に収集された A 群レンサ球菌 980 株に対して T 型別を行った。分離頻度の高かった T 型は、T1 (217/980, 22.1%)、TB3264 (186/980, 19.0%)、T12 (179/980, 18.3%)、T4 (121/980, 12.3%) であった。T1 型の分離比率は、2017 年 2016 年と比較して減少したが、2018 年増加した(2016 年, 23.5%、2017 年, 20.9%、2018 年, 22.1%)。TB3264 型の分離比率は、2017 年以降増加傾向にある(2016 年, 11.6%、2017 年, 15.1%、2018 年, 19.0%)。T12 型の分離比率は、2016 年以降増加傾向であったが(2015 年, 15.5%、2016 年, 19.2%、2017 年, 21.6%)、2018 年減少した(18.3%)。T4 型は、2018 年減少した(2017 年, 14.0%、2018 年, 12.3%)。[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

イ. 日本において 2018 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

2018 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 175 症例あった。171 例が *S. pyogenes*、4 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高かった(2017 年, 35.8%; 2018 年, 39.8%)。また、咽頭炎由来株の分離比率(22.1%)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低下した(2017 年, 21.6%; 2018 年, 18.7%)。この 2 つの型で全体の 55%以上を占めていた。

STSS の確定診断例 175 例中、*emm1* 型が 70 例(40.0%)と最も多く、次いで *emm89* 型が 40 例(22.9%)、*emm12* 型が 14 例(8.0%)と多かった。2017 年と比較し、*emm1* 型は、35.3% (54/153)から 39.8% (68/175)に増加した。*emm89* 型は 20.9% (32/153)から 22.9% (40/175)に増加した。*emm12* 型は、9.8% (15/153)から 8.0% (14/175)に減少した。

[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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

2018 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 175 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、メロペナム、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 9.1% (16/175)の株が耐性を示した。[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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

2018 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 137 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、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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

2018 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 49 例あった。菌種はすべて、*S. agalactiae* であった。血清型は、Ib 型と V 型が最も多く、ともに 14 例(28.6%)であり、次いで III 型が 11 例(22.4%)、Ia 型が 7 例(14.3%)であった。2018 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 6 例あった。菌種は、*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であった。最も多かった *emm* 遺伝子型は、*stC6979* 型で 3 例(50.0%)であった。2018 年、F 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 2 例あった。菌種は、ともに *S. constellatus* subsp. *constellatus* であった。

[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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 ワクチンの実地使用下における基礎的・臨床的研究及びワクチンの評価・開発に資する研究)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充実化に資する研究) 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。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。そこで、肺炎球菌が LAP を誘導する可能性を模索した結果、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。さらに、LAP 誘導不全細胞を作製し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階層的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、友清帝、松田竜太、雫石早矢佳、高田直輝、大西真、梁明秀(横市・医)、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

令和元年度にレジオネラ・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 77 株は、*Legionella pneumophila* が 76 株(血清群(SG)1 が 68 株、SG2、SG7、SG10 が各 2 株、SG3 および SG5 が各 1 株)と、*Legionella longbeachae* が 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、その結果は各自自治体に還元した。76 株は 46 種類の遺伝子型に分けられ、そのうち 3 種類が新規遺伝子型であった。50%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 34%、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 9%、7%が種々の水系と推定されていた。

[前川純子:大森恵理子(仙台市衛研)、大屋日登美(神奈川県衛研)、金谷潤一(富山衛研)、中西典子(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]

(2) レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ

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。2019 年度も実施され、全国 161 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 73 機関については、独自に集計・解析を実施し、過去4年間の結果とも比較した。5年連続参加した機関は 50 機関あった。解析の結果、これまで同様特定のいくつかの機関に検査手技の再確認が必要と判定される傾向が認められた。一方、本年度の回収率は、判定を開始した過去2年と比較し、全体的に低い傾向にあった。特に回収率0~10%未満の施設が全体の3割(30.1%)あり、過去2年(16.9%、8.5%)を大きく上回った。今後さらにシステムの検討を重ね、継続的かつ安定した外部精度管理調査ができるようにしたい。[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)、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)、中西典子(神戸市環保研)、大森恵理子(仙

台市衛研)、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)、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を導入した循環式浴槽を洗浄する必要性

pH9 以上の高 pH の温泉水に対して、次亜塩素酸ナトリウムが消毒剤として使用されると、高 pH 等が理由で消毒効果が減弱し、レジオネラ属菌の増殖が問題となることがある。これを回避すべく、高 pH においてもレジオネラ属菌への消毒効果が発揮される、モノクロラミン消毒の活用が進められている。ところがモノクロラミンを長期に使用すると、浴用水中の従属栄養細菌数が増加することがある。そこで、従属栄養細菌数の増加の再現と、洗浄・消毒の必要性について検討した。協力を得た 2 箇所の営業施設はいずれも高 pH の温泉水を循環利用している施設で、モノクロラミン消毒を行い、洗浄、消毒、換水をしながらか 6~7 週間の試験を行った。入浴中のモノクロラミン濃度が 3~6 mg/L、週に 1~3 回の完全換水と浴槽の清掃、ろ過器の 10~30 分間の逆流、10~20 mg/L の高濃度消毒を行った。浴用水は、レジオネラ属菌、大腸菌群ともに陰性であったが、従属栄養細菌数は増加した。モノクロラミン消毒はレジオネラ属菌の制御に有用だが、従属栄養細菌数が増加する問題が再現され、循環式浴槽には、より強力な洗浄・消毒が必要と考えられた。[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)、森康則、赤地重宏、永井佑樹(三重県保健環境研究所)、枝川亜希子(大阪健康安全基盤研究所)、山本哲司(花王株式会社)、杉山寛治、田中慶郎(株式会社マルマ)、市村祐二、茶山忠久(ケイ・アイ化成株式会社)、藤井明(株式会社ヘルスビューティー)、斎藤利明(株式会社ヤマト)、小坂浩司(国立保健医療科学院)、長岡宏美(静岡県環境衛生科研究所)、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 29 株、健常者由来株 6 株の計 35 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 18 株、B 群 10 株、W 群 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 2 株、ST-1655 (ST-23 complex)が 10 株、ST-13675 (ST-23 complex)が 2 株、ST-

14734 (ST-23 complex) が 2 株、ST-15195 (ST-23 complex) が 1 株、ST-3015 が 1 株であった。血清群 B の株は ST-2057 が 5 株、ST-14407 が 2 株、ST-687、ST-213、ST-5664 が各 1 株ずつであった。血清群 W の 1 株は ST-11 であった。健常者由来株に関しては、Y 群 ST-14734(ST-23 complex)、Non-Typable ST-11025、Y 群 ST-457、Y 群 ST-2057、29E 群 ST-3056(ST-178 complex)、Y 群 ST-23 株が 1 株ずつであった。

今年度の分離株の中では、例年通り血清群 Y に分類される髄膜炎菌株が最も多く分離され、ST-23 complex に属する ST-1655 が多数を占めていることから、国内における髄膜炎菌の分布状況は昨年と同様で国内における散発例の集積である可能性を示唆していると考えられた。一方で、健常者由来株からは国内検出が初となる血清群 29E 遺伝子型 3056 の髄膜炎菌株も分離され、未検出の髄膜炎菌が国内で未だ検出されることは国内における髄膜炎菌の分布像を把握しきれていない可能性が示唆された。

ST-457、ST-5664、ST-13675、ST-14407、ST-14734、ST-15495 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。注目すべき結果は血清群 Y 新規遺伝子型 ST-14734 髄膜炎菌株が 2020 年 8 月に神奈川県で分離されたが、10 月には千葉でも敗血症患者から同一の株が分離されている事である。ST-1655 株のような普遍的な株では散発例なのか関連事例なのかを区別する事は困難であるが、ST-14734 のような新規遺伝子型の髄膜炎菌が違う時期に違う場所で分離される事は国内においても髄膜炎菌株が流動的に伝播している可能性を強く示唆していると考えられた。延期された東京オリンピック・パラリンピックを来年度に控え、国内で分離される髄膜炎菌株のプロファイル変化を引き続き注視していく事が重要である。

また ST-2057 株は日本固有株として知られているが、過去の分離株は全て血清群 B の株であった。しかし、今年度健常者から分類された株は血清群が Y であり、莢膜多糖体合成遺伝子の組替え (capsule switching) が自然発生的に生じた結果であると推測された。髄膜炎菌ワクチンが導入されてなく、ワクチン選択圧がない日本国内においても髄膜炎菌の遺伝子変換は頻繁に発生している可能性を示唆すると考えられた。[高橋英之、大西真:中村晴奈、神谷元、砂川富正(感染症疫学センター)]

(2) 病原機構に関する研究

非天然アミノ酸を用いた髄膜炎菌の機能未知因子の病原性機能の総合的解析

過去に行なったヒト脳血管内皮細胞(HBMEC)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が、その原因遺伝子は hypothetical protein とアノテーションされた機能未

知タンパクをコードした遺伝子 NMB1345 であった。このタンパクは既知蛋白との相同性が全く見出せず、*in silico* 解析ではその機能推測は不可能であった。そこで、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、NMB1345 と相互作用因子を生化学的・物理化学手法を用いて髄膜炎菌内で探索することを試みた。NMB1345 分子とクロスリンクしたバンドに相当する蛋白を生化学的に精製後、LC-MS/MS 及び MASCOT による同定を行ったところ、線毛の主要蛋白である PilE であることが明らかとなった。線毛は髄膜炎菌の宿主細胞への接着及び侵襲に関して非常に重要な役割を担っている事が明らかとなっており、この結果は過去の知見とも非常に合致すると考えられた。NMB1345 を Pili associated molecule A (PamA) と命名し、さらに PamA と PilE の相互作用による機能解析を行うため、PamA と PilE のクロスリンクしているアミノ酸部位を LC-MS/MS を用いて同定した。その結果、PamA の 278 番目のリジンに導入した非天然アミノ酸型クロスリンカーは PilE の 12 番目のイソロイシン(I12)にクロスリンクしている事が明らかとなった。さらに PilE の I12 をアラニンに置換した *pilE I12A* 変異体を構築し、HBMEC への感染における影響を解析した結果、*pilE I12A* 変異体は野生株に比べて細胞侵襲能が低下しており、また生化学的解析から PamA と PilE I12A の相互作用は野生株に比べて著しく低下している事が明らかとなった。以上の結果から、物理化学的、生化学的及び遺伝学的解析により、機能未知であった髄膜炎菌 PamA 因子は線毛と相互作用することに髄膜炎菌の病原性を促進している分子機序が明らかとなった。[高橋英之、志牟田健、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

1. ボレリア感染症に関する研究

(1) 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 Terminal pathway を制御するピロネクチンと T027 抗原が T027 の C 末端側ペプチド配列を介して結合し、補体系による殺菌が回避されていることを明らかにした。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 pfam54 に分類される 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* や補体制御因子である F 因子と結合し補体による殺菌を負に制御する *bga71* などが知られているが、T027 ならびに T076 遺伝子は互いに高い相同性を示す一方でこれらの既知遺伝子とは異なる lineage に属した。ピトロネクチンを介した 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く、新興回帰熱起因菌の病原性を理解する上で重要な知見が得られた。

[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. レプトスピラ症に関する研究

(1) 運動制御機構に関する研究

ア. レプトスピラべん毛鞘タンパク質 FcpA、FcpB、FlaA のべん毛形成における役割

レプトスピラべん毛鞘タンパク質 FcpA、FcpB、FlaA1/2 それぞれを欠損する変異体の表現型およびべん毛のタンパク質プロファイルと比較した。 *AfcpA* 株のべん毛は直線状で FcpA、FcpB および FlaA2 の局在がみとめられなかった。一方 *AfcpB* 株のべん毛は屈曲しており、FcpA および FlaA2 は局在していた。また *AflaA1/2* 二重欠損株のべん毛は直線上で FcpA および FcpB は局在していた。二重欠損株の直線状のべん毛は、FlaA2 単独を発現させることで屈曲すること、 *AflaA1* 株のべん毛は屈曲していることが明らかとなった。以上の結果から、FlaA2 はべん毛を屈曲させるために必須のタンパク質であることが明らかとなった。

[小泉信夫、大西真: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 群として計 15 群をラットに接種し、接種培養液 DNA (インプット) と、接種 3 週間後の腎臓培養 DNA (アウトプット) 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、インプットに対するアウトプット比が 10% 以下となった DNA 配列を 129 同定することができた。

[小泉信夫、森田昌知、大西真]

(3) 小型哺乳動物由来レプトスピラの解析

ア. インドネシア・ボゴールのドブネズミ由来レプトスピラおよびカンボジアからベトナムへ輸出される野鼠由来レプトスピラの解析

ボゴール地域 4 ヶ所で捕獲したドブネズミ 90 匹の腎臓からレプトスピラの分離を行った。その結果、3 ヶ所 25 匹からレプトスピラが分離された。分離株は *flaB* 遺伝子の塩基配列および標準抗血清を用いた顕微鏡凝集試験により *Leptospira borgpetersenii* 血清群 Javanica (4 株)、*L. interrogans* 血清群 Bataviae (19 株)、*L. interrogans* (血清群未同定、2 株) と同定された。また血清群 Javanica 株および Bataviae 株、血清群未同定 2 株の遺伝子型は、MLST あるいは MLVA によりそれぞれの血清群間で同一であることが明らかとなった。

カンボジアからベトナムに輸出される野鼠 72 匹の腎臓からレプトスピラの分離を行った。その結果、アゼネズミ 3 匹からレプトスピラが分離された。分離株は *flaB* 遺伝子の塩基配列および標準抗血清を用いた顕微鏡凝集試験により *Leptospira borgpetersenii* 血清群 Javanica と同定された。

[小泉信夫、大西真:三浦こずえ(東京大学大学院)]

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

南西諸島、沖縄県、台湾およびフィリピンの野鼠から分離された *L. borgpetersenii* 血清群 Javanica 35 株の全ゲノム SNP に基づいて作成した系統樹により、血清群 Javanica は分離地域ごとに 5 つのクラスターを形成した。またそれぞれの地域によって分離野鼠種が異なることから、*L. borgpetersenii* 血清群 Javanica はさまざまな動物種に感染できる generalist であり、各地域の優占野鼠種に感染し宿主域を広げるとともに、地理依存的に遺伝的多様性を増してきたことが示唆された。

[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)]

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. 淋菌サーベイランス

昨年度に引き続き 2019 年 4 月から 2020 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 176 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%, 60.2%, 92.0%, 37.5%, 83.5%, 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 剤も感受性率がほぼ横ばいであった。特に ciprofloxacin での感受性率が昨年度 40%代に迫るほどに改善したが、その傾向が今年度も維持され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一昨年度に報告したが、昨年度、今年度の我々のこのサーベ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]

イ. 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*-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)の *penA* 遺伝子を標的とする LAMP 法による検出系の開発を行った。淋菌以外のナイセリア属菌に対する偽陽性判定を除くために、二つの独立したアッセイの結果より、淋菌株の *penA* 60.001 型遺伝子保持の判定を行った。アッセイの一つである淋菌の *penA* 遺伝子特異的増幅に用いる各プライマーは、その 5'末端の淋菌共通な配列よりデザインした。一方、*penA* 60.001 型遺伝子特異的増幅を目的としたアッセイには、多くの CRO 耐性淋菌株の PBP2 に見られる A311V の SNP を利用し、各プライマーはこの変異を含む *penA* 60.001 型遺伝子の配列よりデザインした。プライマー設定は、PrimerExplorer V5 を利用し、LAMP 反応の確認には、*penA* 60.001 型遺伝子を保持する FC428 株を用いた。FC428 株の gDNA をテンプレートにした反応では、両アッセイともに陽性反応が得られた。最小検出 genome 量は両アッセイ共に 10^4 copy (25pg 相当)/反応であった。更に、国内で分離された淋菌 204 株および淋菌以外のナイセリア属菌 95 株の gDNA を用いて検証した結果、両アッセイともに陽性反応を示したのは *penA* 60.001 型遺伝子を保持した CRO 耐性淋菌 3 株のみであった。今回、偽陽性判定が危惧された非病原性ナイセリア属菌に対して陽性判定とはならなかった。本検出系は、淋菌以外の他のナイセリア属には反応しないため、尿道、咽頭由来、両検体で有効である可能性が示唆された。[志牟田健、大西真]

ウ. 淋菌の *penA* 遺伝子変異によるセフトリアキソン耐性機序について

淋菌のセフトリアキソン (CRO)耐性化の主要因は、Penicillin Binding Protein 2 (PBP2)をコードする *penA* 遺伝子の一部変異であることが、これまでに報告されている。この現象は、非病原性ナイセリア属細菌の *penA* 遺伝子からの伝播による影響が示唆されているが、不明な部分も多い。本研究では、CRO 耐性を示す(ここでは CRO の MIC 値が 0.5mg/L 以上とする)非病原性ナイセリア属の *penA* 遺伝子による淋菌の CRO 耐性化のメカニズムを明らかにすることを目的とした。咽頭スワブ(202 検体)から収集されたグラム陰性球菌 108 株の薬剤感受性試験を行い、CRO の MIC 値を決定した。またこれら菌株のドラフトゲノム配列 (Illumina MiSeq)を取得し、菌種の同定、*penA* 遺伝子領域の配列決定に用いた。この内、CRO 耐性非病原性ナイセリア属菌 12 株を確認し、これら菌株の genomic DNA をドナーとし CRO 感受性淋菌に自然形質転換を行い、10 株の genomic DNA を用いた実験では、ドナー株と同等の CRO に対する MIC 値を示す形質転換体を得た。これら形質転換体のドラフトゲノム配列を取得し、組換えの行われた領域を決定し、形質転換体の *penA* 遺伝子は CRO 耐性非病原性ナイセリア属菌の *penA* 遺伝子の一部と組み変わっていることを明らかとした。淋菌の CRO 耐性獲得は *penA* 遺伝子依存的事であることが示唆された。またこの組換えは、*penA* 遺伝子のみではなくその 3'末端領域を含めた領域で起こっていた。形質転換体を得ることの出来なかった 2 株について、これら genomic DNA をドナーとし、CRO 感受性非病原性ナイセリア属菌に自然形質転換を行い、得られた形質転換体の内、CRO の MIC 値上昇が確認された菌株の *penA* 遺伝子領域が、CRO 耐性非病原性ナイセリア属菌の *penA* 遺伝子の一部と組み変わっていることを確認した。次に、ここで得られた非病原性ナイセリア属菌間で生じた形質転換体 (CRO 耐性)の genomic DNA をドナーとし CRO 感受性淋菌株に自然形質転換し、ドナー株と同等の CRO に対する MIC 値を示す形質転換体 (淋菌株)を得た。これら形質転換体株の *penA* 遺伝子領域の解析を行ったところ、CRO 耐性非病原性ナイセリア属菌の *penA* 遺伝子の一部と組み変わっていることを確認し、形質転換体の CRO の MIC 値上昇は CRO 耐性非病原性ナイセリア属菌の *penA* 遺伝子依存的事であることを示した。*penA* 遺伝子変異依存的な CRO 耐性淋菌出現には、CRO 耐性非病原性ナイセリア属菌の *penA* 遺伝子と CRO 感受性淋菌の *penA* 遺伝子が直接組み変わるまでに、いくつかのイベントを介した結果も含めて、起き得る現象である可能性を実験的に示した。[志牟田健、高橋奈央 (北里大)、大西真]

エ. シタフロキサシンの適応拡大による淋菌感染症治療に資する有効性の検討

国内で収集した淋菌株を利用して、当該株の薬剤耐性情報に基づき、既存薬の適応拡大による淋菌感染症治療(二剤併用療法の一剤としての利用)に資する有効性を評価するため、シタフロキサシン(STFX)に対する耐性株の出現可能性を継代培養法により *in vitro* で検証した。シプロフロキサシン(CPFX)のMIC値が >32 µg/ml の株について、寒天平板希釈法にて CPFX および STFX について薬剤感受性試験を行い、耐性化株の出現確率を算出した。5 回以下の継代培養では、CPFX に対する耐性獲得が認められなかった。一方、STFX は、CPFX をはじめとする既存のキノロン系抗菌薬高度耐性株に対しても高い効果を示すことが示唆された。[石原朋子、豊田真佑(新潟大学細菌学教室)、吉田愛、志牟田健、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

昨年度に続いて連携クリニックとして、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。

2019年4月～2020年3月の総計で、193例の検体が有ったが、うち50例がPCR陽性であった。コロナ禍で2020年2～3月に計画中断期間を設けた影響で、例数が例年より少ない。50例中タイピングに成功したものは40例で、このうち27例は海外でも最頻とされる14d/fであった。他は11o/cが4例、14d/gが2例、他はいずれもそれぞれ単一型となる7例であった。このうち、11o/cは中国、日本以外には報告が無く、今回の4例は同一クリニックから2019年5～7月の短期間に集中して検出されており、単一の感染経路を見ている可能性が有ることを報告した。

[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これまで報告している。今年度もサーベイランスを続行し、23S rRNA 解析に成功した40例について耐性型分布を見ると、36例(90.0%)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。

逆に感受性型の迅速検出法開発とその利用によってマクロライド治療可能判定を行う意義が出てきたものと考えられる。

[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]

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 によるバイオフィーム形成メカニズムについて

Streptococcus mutans は、砂糖をグルコシルトランスフェラーゼ(Gtf)によりグルカンに合成して、その粘稠性を利用してバイオフィームを形成する。2種類のGtf酵素:GtfB(*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GtfC(*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。*S. mutans* の膜小胞(Membrane vesicles, MVs)は、その中にGtfCが多く含まれていることが明らかとなった。MVsによるバイオフィーム形成において、MVsが表面に結合してGtfCによりグルカンを合成することで、バイオフィームが作られることが明らかになった。[泉福英信、中村知世、岩淵佑介、中尾龍馬、大西真]

イ. *Streptococcus mutans* 由来MVsにおける菌体表層蛋白質について

S. mutans は、歯表面へ付着するときに菌体表層蛋白質抗原(PAc)を利用して、唾液蛋白質が覆われた歯表面に結合する。*S. mutans* のMVsにPAcが含まれているか検討を行った。その結果、MVsにはPAcが存在していることが明らかとなった。また、PAcの発現はGtfsの有無に影響を受けることも明らかとなった。MVsが歯表面の唾液蛋白質にPAcを介して結合し、砂糖のある環境下でグルカンを合成し、様々なバイオフィーム形成菌を取り込んでバイオフィームが形成されると考えられた。[泉福英信、中村知世、岩淵佑介、大西真]

ウ. *S. mutans* のMVs産生における酸環境の影響

上述のようにMVsは菌体凝集やバイオフィーム形成の鍵になると考えられている。このMVsの産生は、菌体のストレス応答が関与していることから、歯垢中のpHの変動がMVs産生

に影響してくる可能性がある。そこで、歯垢中の酸(乳酸、酢酸)、対照(塩酸、水酸化ナトリウム)を用いて、酸性やアルカリ性域に pH を調整した培地で MVs を回収し、Gtf ならびにバイオフィーム形成に変化が生じるかを検討した。その結果、pH6.0 における Gtf の減少とバイオフィーム形成の低下が認められた。対して、水酸化ナトリウムによる pH8.0 では、Gtf に変化が無く、バイオフィーム形成にも変化がなかった。培養初期 pH 条件によって、MVs の産生や MVs に含まれる Gtf の量に変化を与えることが示唆された。

[泉福英信、岩淵佑介、中村知世、中尾龍馬、大西真]

エ. *Actinomyces* によるバイオフィーム形成に対する *S. mutans* MVs の影響

S. mutans が産生する MVs は、*Actinomyces naeslundii* や *Actinomyces oris* の初期付着およびバイオフィーム形成を促進する。その促進メカニズムを検討した。MVs には Gtfs が含まれているため、Gtfs によるグルカン合成が、*A. naeslundii* や *A. oris* のバイオフィーム形成を誘導するのではないかと考えた。しかし、Gtfs の発現を失った *gtfBC* 変異株から採取した MVs もバイオフィーム形成を誘導した。よって MVs は、Gtfs に関係なくバイオフィームを形成させた。このバイオフィーム形成実験に DNase を加えた。その結果、有意に DNase がバイオフィームを抑制した。この結果、MVs は DNA を介して、*A. naeslundii* や *A. oris* の初期付着およびバイオフィーム形成を促進しているのが明らかとなった。

[泉福英信、鈴木到、大西真]

オ. *RenG* 組換え *S. mutans* の作製

S. mutans の位置情報を可視化するため、ホタルの発光システムであるルシフェラーゼ遺伝子 (*renG*) を口腔内細菌の染色体へ導入した *S. mutans* を作製し、この *renG* 組換え *S. mutans* をマウス感染実験に使用することを計画した。*S. mutans* の *ldh* (乳酸脱水素酵素遺伝子、ORF)、その下流に *Renilla reniformis* 由来 *renG* (ルシフェラーゼ遺伝子) の ORF、*ermB-AM* (エリスロマイシン耐性遺伝子) の ORF を overlap extension PCR にて上記の遺伝子断片を繋げた。遺伝子断片を相同組換えにより *S. mutans* UA159 へ挿入した。エリスロマイシン入り寒天培地を用いてスクリーニング後、耐性株を獲得し、それを *renG* 組換え *S. mutans* とした。ルシフェリンを加えて、*RenG* 組換え *S. mutans* が十分に発光することを確認した。

[泉福英信、浦川絢加、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* 及び

Aggregatibacter actinomycetemcomitans の外膜ヴェシクル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。ウェスタンブロッティングにより、*A. actinomycetemcomitans* については、OmpA1 及び OmpA2 抗体が強く誘導されていることが推察された。[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産生を顕著に誘導できた。グリシン誘導ヴェシクルのタンパク質量あたりのエンドトキシン活性は、通常のヴェシクルに比較して約 1/8 に減少していた。O 抗原に対する抗体を用いたウェスタンブロッティングから、グリシン誘導ヴェシクルでは、セミラフタイプのリポ多糖が減少していることが示された。[平山悟、中尾龍馬]

(3) 外来糖鎖を発現する細菌メンブレンヴェシクルの研究

外来性糖鎖抗原とする大腸菌作製技術を活用し、肺炎球菌莢膜多糖を発現する膜小胞を得た。当該膜小胞の免疫原性を経鼻ワクチンマウスモデルを用いて検討しところ、血清、唾液、鼻腔洗浄液、気管支肺胞洗浄液に肺炎球菌に特異的に結合する抗体が産生された。上気道感染マウスモデルにおいては、膜小胞の経鼻ワクチンを投与すると、肺炎球菌の鼻腔への定着を阻害することが明らかとなった。[中尾龍馬、岩淵佑介、平山悟、松本直子、Jens Karlsson (カロリンスカ研)、木村聡一郎 (東邦大)、大西真]

(4) 抹茶抽出物の抗 *P. gingivalis* 作用の検討

P. gingivalis を 0.5 mg/mL の抹茶抽出物で処理すると、菌体表層に膜小胞様のナノ粒子が多数形成され、菌の増殖は抑制された。同時に、*P. gingivalis* の膜流動性は低下した。また、*P. gingivalis* を抹茶抽出物で処理すると、*P. gingivalis* の FimA 線毛依存的なガラス表面への付着が阻害された。[高塚絢巳、池田剛 (崇城大学)、成澤直規 (日本大学)、中尾龍馬]

(5) 抗菌性食品含有軟膏の歯周ポケット内投与による抗歯周病効果の検討：ランダム化比較試験

抗菌性食品含有軟膏を中等度歯周炎患者に投与し、臨床パラメータ、歯肉溝滲出液中の微生物の変動を調べた。プロポリス含有軟膏投与群においては、介入前にリアルタイム PCR において *P. gingivalis* 陽性であった 6 名のうち、3 名が介入後に *P. gingivalis* 陰性となった。プロポリス群はプラセボ群に比べ、歯周ポケット深さが有意に改善した。[中尾龍馬、泉福

英信、大西真、高井秀樹（日本大学）、小方頼昌（同）]

レファレンス業務

I. 大腸菌に関するレファレンス業務

1. 令和元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（O26、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 76 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 414 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、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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、石原朋子]

II. 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]

III. 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。また中国で初めて BMD 病原体である *Borrelia miyamotoi* の分離に成功した。[川端寛樹]

研修業務

I. 腸管出血性大腸菌に関する研修

1. 病原微生物検査体制の維持・強化に必要な地方衛生研究所における人材育成及び地域における精度管理に関する協力体制構築に向けた研究・細菌小班研修 WG 会議・講義「腸管出血性大腸菌の精度管理」、2019 年 10 月、名古屋 [伊豫田淳]
2. 令和元年度 国立保健医療科学院・細菌研修・講義「EHEC 総論・その他大腸菌」、2019 年 11 月、東京 [伊豫田淳]
3. MLVA 法の概要について。令和元年度特別区専門研修「検査技術」、2019 年 9 月、東京 [泉谷秀昌]
4. 腸管出血性大腸菌 O157、O26、O111 株の MLVA 解析について。令和元年度 地域保健総合推進事業 腸管出血性大腸菌 MLVA 技術研修会、2019 年 11 月、東京 [泉谷秀昌]
5. 令和元年度 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、2020 年 1 月、岩手 [泉谷秀昌]
6. 赤痢総論。令和元年度国立保健医療科学院 細菌研修、2019 年 11 月、東京 [泉谷秀昌]

II. レジオネラ属菌に関する研修

1. 関東甲信静ブロック 地域専門家会議「公衆浴場における衛生等管理要領の改正とレジオネラ属菌検査法について」、2019 年 12 月、埼玉 [前川純子]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Kikuchi K, [Lee K](#), Ueno H, Tomari K, Kobori S, Kaetsu A, Matsui M, Suzuki S, Sekizuka T, Kuroda M, Miyazaki M, [Ohnishi M](#). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O121:H19 acquired an extended-spectrum β -lactamase gene during the development of an outbreak in two nurseries. *Microb Genom*. 2019 Jun 19. doi: 10.1099/mgen.0.000278.
- 2) [Mitobe J](#), Nishiumi F, Yanagihara I, Yamamoto S, [Ohnishi M](#). Superstructure formation by RodZ hexamers of *Shigella sonnei* maintains the rod shape of bacilli. *PLoS One*. 2020 Feb 13;15(2):e0228052. doi: 10.1371/journal.pone.0228052.
- 3) Sekizuka T, [Lee K](#), Kimata K, Isobe J, Kuroda M, Iyoda S, [Ohnishi M](#), Sata T, Watahiki M. Complete Genome Sequence of an Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111:H8 Strain Recovered from a Large Outbreak in Japan Associated with Consumption of Raw Beef. *Microbiol Resour Announc*. 2019 Oct 3;8(40). pii: e00882-19.
- 4) Nakamura K, Murase K, Sato MP, Toyoda A, Itoh T, Mainil

- JG, Piérard D, Yoshino S, Kimata K, Isobe J, Seto K, Etoh Y, Narimatsu H, Saito S, Yatsuyanagi J, [Lee K](#), [Iyoda S](#), [Ohnishi M](#), Ooka T, Gotoh Y, Ogura Y, Hayashi T. Differential dynamics and impacts of prophages and plasmids on the pangenome and virulence factor repertoires of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O145:H28. *Microb Genom*. 2020 Jan;6(1):e000323. doi: 10.1099/mgen.0.000323.
- 5) Arimizu Y, Kirino Y, Sato MP, Uno K, Sato T, Gotoh Y, Auvray F, Brugere H, Oswald E, Mainil JG, Anklam KS, Döpfer D, Yoshino S, Ooka T, Tanizawa Y, Nakamura Y, Iguchi A, [Morita-Ishihara T](#), [Ohnishi M](#), Akashi K, Hayashi T, Ogura Y. Large-scale genome analysis of bovine commensal *Escherichia coli* reveals that bovine-adapted *E. coli* lineages are serving as evolutionary sources of the emergence of human intestinal pathogenic strains. *Genome Res*. 2019 Sep;29(9):1495-1505.
- 6) Masuda K, Ooka T, Akita H, Hiratsuka T, Takao S, Fukuda M, Inoue K, Honda M, Toda J, Sugitani W, Narimatsu H, Ishioka T, Hirai S, Sekizuka T, Kuroda M, Morita Y, Hayashi T, Kimura H, Oishi K, [Ohnishi M](#), Fujimoto S, Murakami K. Epidemiological Aspects of *Escherichia albertii* Outbreaks in Japan and Genetic Characteristics of the Causative Pathogen. *Foodborne Pathog Dis*. 2019 Oct 11. doi: 10.1089/fpd.2019.2654.
- 7) Murakami K, Maeda-Mitani E, Kimura H, Honda M, Ikeda T, Sugitani W, Konno T, Kawano K, Etoh Y, Sera N, Mizukoshi F, Saitoh T, Kawamura Y, Ishioka T, [Ohnishi M](#), Oishi K, Fujimoto S. Non-biogroup 1 or 2 Strains of the Emerging Zoonotic Pathogen *Escherichia albertii*, Their Proposed Assignment to Biogroup 3, and Their Commonly Detected Characteristics. *Front Microbiol*. 2019 Jul 5;10:1543.
- 8) Murakami K, Kimura S, Nagafuchi O, Sekizuka T, Onozuka D, Mizukoshi F, Tsukagoshi H, Ishioka T, Asai T, Hirai S, Musashi M, Suzuki M, [Ohnishi M](#), Oishi K, Saruki N, Kimura H, [Iyoda S](#), Kuroda M, Fujimoto S. Flagellum expression and swimming activity by the zoonotic pathogen *Escherichia albertii*. *Environ Microbiol Rep*. 2020 Feb;12(1):92-96. doi: 10.1111/1758-2229.12818.
- 9) Yamaji T, Hanamatsu H, Sekizuka T, Kuroda M, Iwasaki N, [Ohnishi M](#), Furukawa JI, Yahiro K, Hanada K. A CRISPR Screen Using Subtilase Cytotoxin Identifies SLC39A9 as a Glycan-Regulating Factor. *iScience*. 2019 May 31;15:407-420. doi: 10.1016/j.isci.2019.05.005.
- 10) Albert MJ, Bulach D, Alfouzan W, [Izumiya H](#), Carter G, Alobaid K, Alatar F, Sheikh AR, Poirel L. Non-typhoidal *Salmonella* blood stream infection in Kuwait: Clinical and microbiological characteristics. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 Apr 15;13(4):e0007293. doi: 10.1371/journal.pntd.0007293.
- 11) [Izumiya H](#), [Morita M](#), [Arakawa E](#), Ngo TC, Nguyen HT, Nguyen DT, [Ohnishi M](#). Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for *Vibrio cholerae* O1 and O139. *Mol Cell Probes*. 2019 Jun; 45: 65-67. doi: 10.1016/j.mcp.2019.05.001.
- 12) Tatebe M, Doi A, Nasu S, Hama N, Nomoto R, [Arakawa E](#), [Izumiya H](#), Nishioka H. *Vibrio cholerae* Infection in Japan Not Associated with Overseas Travel. *Intern Med*. 2019 Sep 1;58(17):2581-2583. doi: 10.2169/internalmedicine.2639-19.
- 13) Fukushima K, Yanagisawa N, Sekiya N, [Izumiya H](#). Bacteremia Caused by *Salmonella* Poona in a Healthy Adult in Tokyo, Japan. *Intern Med*. 2020 Jan 15;59(2):289-292. doi: 10.2169/internalmedicine.3161-19.
- 14) Kudo M, Matono T, [Morita M](#), [Izumiya H](#), [Ohnishi M](#), Hasegawa J, Izumi M, Yoshino M, Arai K, Imura H. Molecular analysis of virulence factors of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* in a diabetes patient with multifocal intramuscular and musculoskeletal abscesses. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2020 January; 26(1): 110-114. doi: 10.1016/j.jiac.2019.06.001.
- 15) [Morita M](#), Shimada K, Baba H, Morofuji K, Oda S, [Izumiya H](#), [Ohnishi M](#). Genome sequence of a *Salmonella enterica* serotype Senftenberg strain lacking *Salmonella* pathogenicity island-1 and isolated in Japan. 2019 August; 8(33): e00653-19. doi: 10.1128/MRA.00653-19.
- 16) [Ogawa M](#), Takada N, Shizukuishi S, Tomokiyo M, [Chang B](#), Yoshida M, Kakuta S, Tanida I, Ryo A, Guan JL, Takeyama H, [Ohnishi M](#). *Streptococcus pneumoniae* triggers hierarchical autophagy through reprogramming of LAPosome-like vesicles via NDP52-delocalization. *Commun Biol*. 3:25. doi: 10.1038/s42003-020-0753-3. (2020)
- 17) [Ogawa M](#), Matsuda R, Takada N, Tomokiyo M, [Yamamoto S](#), Shizukuishi S, Yamaji T, Yoshikawa Y, Yoshida M, Tanida I, Koike M, Murai M, Morita H, Takeyama H, Ryo A, Guan JL, Yamamoto M, Inoue JI, Yanagawa T, Fukuda M, Kawabe H, [Ohnishi M](#). Molecular mechanisms of *Streptococcus pneumoniae*-targeted autophagy via pneumolysin, Golgi-resident Rab41, and Nedd4-1 mediated K63-linked ubiquitination. *Cell Microbiol*. e12846 doi: 10.1111/cmi.12846. 2018
- 18) Nakamura I, [Amemura-Maekawa J](#), Kura F, Kobayashi T, Sato A, Watanabe H, Matsumoto T. Persistent *Legionella*

- contamination of water faucets in a tertiary hospital in Japan. *Int J Infect Dis.* 2020 April; 93: 300-304. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.002.
- 19) Jiang L, Amemura-Maekawa J, Ren H, Li Y, Sakata M, Zhou H, Murai M, Chang B, Ohnishi M, Qin T. Distribution of lag-1 Alleles, ORF7, and ORF8 Genes of Lipopolysaccharide and Sequence-Based Types Among Legionella pneumophila Serogroup 1 Isolates in Japan and China. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019 Aug 5;9:274. doi: 10.3389/fcimb.2019.00274.
- 20) Matsumura T, Ikebe T, Arikawa K, Hosokawa M, Aiko M, Iguchi A, Togashi I, Kai S, Ohara S, Ohara N, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K, Takeyama H, Yamasaki S, Takahashi Y, Ato M. Sequential sensing by TLR2 and Mincle directs immature myeloid cells to protect against invasive group A streptococcal infection in mice. *Cell Rep.* 2019 Apr; 27(2): 561-571.e6. doi: 10.1016/j.celrep.2019.03.056.
- 21) Yoshizawa S, Matsumura T, Ikebe T, Ichibayashi R, Fukui Y, Satoh T, Tsubota T, Honda M, Ishii Y, Tateda K, Ato M. Streptococcal toxic shock syndrome caused by β -hemolytic streptococci: clinical features and cytokine and chemokine analyses of 15 cases. *J Infect Chemother.* 2019 May; 25(5): 355-361. doi: 10.1016/j.jiac.2019.01.006.
- 22) Matsui T, Yamaguchi K, Ikebe T, Aiga S, Kusakawa I. Prolonged PR Interval and Erythema Marginatum in a Child with Acute Rheumatic Fever. *J Pediatr.* 2019 Sep; 212: 239-239.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2019.05.006.
- 23) Ikebe T, Okuno R, Uchitani Y, Kanda Y, Sasaki M, Uchida K, Chiba K, Yamaguchi T, Otsuka H, Suzuki M, Ohya H, Watanabe H, Ohnishi M, The Working Group for Beta-Hemolytic Streptococci in Japan. T Serotyping of group A streptococcus isolated from patients with pharyngitis or streptococcal toxic shock syndrome in Japan between 2005 and 2017. *J Infect Chemother.* 2020 Feb; 26(2): 157-161. doi: 10.1016/j.jiac.2019.10.010.
- 24) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Matsumura Y, Yamamoto M, Suga S, Ohnishi M, Nagao M. Whole-genome sequencing analysis of multidrug-resistant serotype 15A *Streptococcus pneumoniae* in Japan and the emergence of a highly resistant serotype 15A-ST9084 clone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2019 Apr; 63(5): e02579-18. doi: 10.1128/AAC.02579-18.
- 25) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Matsumura Y, Yamamoto M, Suga S, Ohnishi M, Nagao M. Penicillin-binding protein typing, antibiotic resistance gene identification and molecular phylogenetic analysis of meropenem-resistant *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A-CC3111 strains in Japan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2019 Aug; 63(9): e00711-19. doi: 10.1128/AAC.00711-19.
- 26) Noguchi S, Yatera K, Akata K, Chang B, Ikegami H, Hata R, Yamasaki K, Kawanami T, Mukae H. Distribution and annual changes in the proportion of *Streptococcus pneumoniae* serotypes in Japanese adults with pneumococcal pneumonia from 2011 to 2017. *Journal of Infection and Chemotherapy.* 2019 Nov; 25(11):925-929. doi: 10.1016/j.jiac.2019.07.007
- 27) Kawabata T, Tenokuchi Y, Yamakuchi H, Sameshima H, Katayama H, Ota T, Tokunaga M, Takezaki T, Tamae S, Nakamura T, Chang B, Kodama Y, Imuta N, Ooka T, Okamoto Y, Suga S, Nishi J. Concurrent bacteremia due to non-vaccine serotype 24F pneumococcus in twins: A rapid increase in serotype 24F-invasive pneumococcal disease and its high invasive potential. *The Pediatric Infectious Disease Journal.* 2020 Jan; 39(1): 85-87. doi: 10.1097/INF.0000000000002508.
- 28) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Matsumura Y, Yamamoto M, Suga S, Ohnishi M, Nagao M. Nationwide surveillance of paediatric invasive and non-invasive pneumococcal disease in Japan after the introduction of the 13-valent conjugated vaccine, 2015-2017. *Vaccine.* 2020 Feb; 38(7): 1818-1824. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.12.022.
- 29) Takano C, Kuramochi Y, Seki M, Kim DW, Omagari D, Sasano M, Chang B, Ohnishi M, Kim EJ, Fuwa K, Kilgore PE, Hoshino T, Hayakawa S. Molecular serotype-specific identification of *Streptococcus pneumoniae* using loop-mediated isothermal amplification. *Sci Rep.* 2019 Dec 27;9(1):19823. doi: 10.1038/s41598-019-56225-0.
- 30) Su H, Ito K, Kawarasaki Y, Morita H, Nose H, Ikeda K, Nakadouzono F, Gokuden M, Kamiyama S, Tokaji A, Rikitake Y, Kawaguchi T, Umekita K, Oishi S, Abe F, Kanda T, Kawabata H, Ando S, Ohashi N. Insight of diagnostic performance using B-cell epitope antigens derived from triple P44-related proteins of *Anaplasma phagocytophilum*. *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease.* 2019. 95(2): 125-130.
- 31) Fukushima K, Yanagisawa N, Kawabata H, Yajima K. Erythema migrans-like rash mimicking Lyme disease. *Internal Medicine.* 2019. 58(15): 2271.
- 32) Qiu Y, Simuunza M, Mwizabi D, Changula K, Harima H, Takada A, Kajihara M, Takadate Y, Nakao R, Kawabata H, Sugimoto C, Mweene A, Sawa H, Eto Y, Mudenda Hang'ombe B, Hayashida K, Yoshida R, Mori-Kajihara A, Ndebe J. Molecular characterization and phylogenetic analysis of

- Trypanosoma* spp. isolated from striped leaf-nosed bat (*Hipposideros vittatus*) in Zambia. International Journal for Parasitology. 2019. 9: 234-238.
- 33) Qiu Y, Nakao R, Hang'ombe BM, Sato K, Kajihara M, Kanchela S, Changula K, Eto Y, Ndebe J, Sasaki M, Thu MJ, Takada A, Sawa H, Sugimoto C, Kawabata H. Human borreliosis caused by a New World relapsing fever *Borrelia*-like organism in the Old World. Clinical Infectious Diseases. 2019. 69(1): 107-112.
- 34) Taira M, Ando S, Kawabata H, Fujita H, Kadosaka T, Sato H, Monma N, Ohashi N, Saijo M. Isolation and molecular detection of *Ehrlichia* species from ticks in central and western Japan. Ticks and Tick-borne Diseases. 2019. 10(2): 344-351.
- 35) Athapattu TPJ, Fernando BR, Koizumi N, Gamage CD. Detection of pathogenic leptospires in the urine of domesticated elephants in Sri Lanka. Acta Trop. 195:78-82, 2019.
- 36) Koizumi N, Miura K, Sanai Y, Takemura T, Trang UTH, Thanh LT, Hirayama K, Hasebe F, Hang NLK, Phuong HVM, Cam NN, Tuan KM, Mai LTQ, Ha HTT, Ohnishi M. Molecular epidemiology of *Leptospira interrogans* in *Rattus norvegicus* in Hanoi, Vietnam. Acta Trop. 194:204-208, 2019.
- 37) Lee K, Nakayama S, Osawa K, Yoshida H, Arakawa S, Furubayashi K-I, 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. J Antimicrob Chemother. 2019 Jul 1;74(7):1812-1819. doi: 10.1093/jac/dkz129.
- 38) 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*. J Glob Antimicrob Resist. 2019 Feb 27. pii: S2213-7165(19)30051-7. doi: 10.1016/j.jgar.2019.02.011.
- 39) Shimuta K, Nakayama S, Takahashi H, Ohnishi M. A loop-mediated isothermal amplification assay targeting *Neisseria gonorrhoeae penA*-60.001. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Dec 20;64(1). pii: e01663-19. doi: 10.1128/AAC.01663-19.
- 40) Nishiki S, Arima Y., Kanai M, Shimuta K, Nakayama S, Ohnishi M. Epidemiology, Molecular Strain Types, and Macrolide Resistance of *Treponema pallidum* in Japan, 2017-2018. J. Infect. Chemother. 2020 May 28 Accepted.
- 41) Sánchez-Busó L, Golparian D, Corander J, Grad YH, Ohnishi M, Flemming R, Parkhill J, Bentley SD, Unemo M, Harris SR. The impact of antimicrobials on gonococcal evolution. Nat Microbiol. 2019 Nov;4(11):1941-1950.
- 42) Ishikane M, Arima Y, Itoda I, Yamagishi T, Takahashi T, Matsui T, Sunagawa T, Ohnishi M, Oishi K. Case-control study of risk factors for incident syphilis infection among men who have sex with men in Tokyo, Japan. Western Pac Surveill Response J. 2019 Dec 9;10(4):1-8.
- 43) Senpuku H, Mohri S, Mihara M, Arai T, Suzuki Y, Saeki Y. Effects of 7S globulin 3 derived from the adzuki bean [*Vigna angularis*] on the CSP-and eDNA- dependent biofilm formation of *Streptococcus mutans*. Archives of Oral Biology. 2019 Jun; 102: 256-265. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.04.010.
- 44) Senpuku H, Nakamura T, Iwabuchi Y, Hirayama S, Nakao R, Ohnishi M. Effects of complex of DNA and MVs with GTF extracted from *Streptococcus mutans* on the oral biofilm. Molecules. 2019 Aug 28; 24(17): 3131. doi: 10.3390/molecules24173131.
- 45) Senpuku H, Tuna EB, Nagasawa R, Nakao R, Ohnishi M. The inhibitory effects of polypyrrole on the biofilm formation of *Streptococcus mutans*. PLoS ONE, 2019 Nov 27; 14(11): e0225584. doi: 10.1371/journal.pone.0225584.
- 46) Hirayama S, Nakao R. Glycine significantly enhances bacterial membrane vesicle production: a powerful approach for isolation of LPS-reduced membrane vesicles of probiotic *Escherichia coli*. Microbial Biotechnology. 13(4), 1162-1178, 2020.
- 47) Nakao R, Senpuku H, Ohnishi M, Takai H, Ogata Y. Effect of topical administration of propolis in chronic periodontitis. Odontology. 108(4):704-714. 2020.
- 48) Lee K, Izumiya H, Iyoda S, Ohnishi M; EHEC Working Group. Effective surveillance using multilocus variable number tandem repeat analysis and whole genome sequence analyses in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157. Appl Environ Microbiol. 2019 Jun 21. pii: AEM.00728-19. doi: 10.1128/AEM.00728-19.

2. 和文発表

- 1) 山本章治:コレラにおける下痢発生機序. 特集:慢性便秘症治療の革命、今こそ下痢を科学する! 消化器病学サイエンス. 3(2) 78-81, 2019.
- 2) 泉谷秀昌:腸管出血性大腸菌~分子疫学解析を利用した病原体サーベイランス. 感染制御と予防衛生、第3巻第2号、75-80、2019年。

- 3) 泉谷秀昌、李謙一、伊豫田淳、大西真:2018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40巻、81-82、2019年5月
- 4) 中植竜大、前川純子、村井美代:グラム陰性菌のリボ多糖の構造と合成経路の多様性—*Legionella pneumophila*の遺伝子検査による血清群別に向けて—。保健医療福祉科学。8:40-47、2019。
- 5) 池辺忠義:溶血性レンサ球菌感染症の疫学。特集:食品媒介連鎖球菌感染症の疫学・食品微生物学・病原機構。日本食品微生物学会雑誌。36(2):85-88、2019。
- 6) 荻根沢真帆子、折目真理、伊藤明子、佐藤梢、川端寛樹、阿部理一郎:*Borrelia miyamotoi*とライム病ボレリアの共感染により遊走性紅斑を呈した1例。皮膚病診療。41(10):913-916、2019。
- 7) 佐藤梢、川端寛樹:ボレリア感染症-ヒトの公衆衛生の観点から-。日本獣医師会雑誌。72(8):462-469、2019。
- 8) 佐藤(大久保)梢、高野愛、高娃、安藤秀二、川端寛樹:ダニ媒介性感染症-国内に常在する感染症を主に-。シリーズ:ダニ研究の最前線とダニ媒介性感染症制御の可能性を探る。衛生動物。70(1):3-14、2019。
- 9) 川端寛樹、田仲哲也:はじめに。シリーズ:ダニ研究の最前線とダニ媒介性感染症制御の可能性を探る。衛生動物。70(1):1-2、2019。
- 10) 平山悟:細菌の膜小胞を活用した感染症に対するワクチン。生物工学会誌、97(5)、278、2019。
- 11) 平山悟、吉益由莉、中尾龍馬:高速原子間力顕微鏡を用いた細菌の形態変化の観察—プロボリスが歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* に及ぼす抗菌作用、顕微鏡、54(2)、72-76、2019。
- 12) 竹本崇之、松原康策、磯目賢一、岩田あや、山田早紀、宮越千智、常彬:神戸西地域中核病院における小児侵襲性肺炎球菌感染症—肺炎球菌結合型ワクチン導入前後の変化、2002~2018年—。感染症学雑誌。93(4):485~492、2019。
- Cholera and Other Bacterial Enteric Infections, Osaka, Japan, December, 2019.
- 3) Kanatani J, Watahiki M, Keiko Kimata K, Kato T, Uchida K, Kura F, Amemura-Maekawa J, Isobe J. *Legionella* Species in Aerosols from Outdoor Sites near Asphalt Roads in Toyama Prefecture, Japan: Detection, Identification and Correlation with Precipitation. ESGLI 2019. Athens, Greece, September, 2019.
- 4) Xu J, Koizumi N, Nakamura S. Analysis of adhesion and crawling motility of *Leptospira* on the animal cell monolayers. 11th Meeting of the International Leptospirosis Society, Canada, July, 2019.
- 5) Xu J, Koizumi N, Ozuru R, Morimoto YV, Masuzawa T, Nakamura S. Proposal of the photo-responsive clade in the genus *Leptospira*. 11th Meeting of the International Leptospirosis Society, Canada, July, 2019.
- 6) Ishikawa M, Senpuku H, Hanada N, Shibuya K. Effect of Black Cumin Seed Oil on Methionine gamma-lyase from *Fusobacterium nucleatum*. The CED-IADR/NOF 2019, Madrid, Spain, 2019.
- 7) Okuwaki H, Obana N, Nagayama K, Nakao R, Senpuku H, Nomura N. Membrane vesicle-mediated immunogenic protein secretion in *Clostridium perfringens*. CLOSTPATH 11, Leiden, Netherland, Aug. 2019.
- 8) Nakao R, Hirayama S, Matsumoto N, Karlsson J, Ohnishi M. The probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917-derived membrane vesicles carrying pneumococcal capsule elicit mucosal immune responses. 13th Vaccine Congress, Bangkok, Sep. 2019.
- 9) Saito K, Aina A, Hirayama S, Suzuki T, Nakao R, Hasegawa H. The assessment of outer membrane vesicles derived from *Escherichia coli* Nissle 1917 as a novel mucosal adjuvant in intranasal inactivated influenza vaccine. 13th Vaccine Congress, Bangkok, Sep. 2019.
- 10) Nakao R, Hirayama S. Glycine significantly enhances bacterial membrane vesicle production – powerful approach for isolation of LPS-reduced membrane vesicles of probiotic *Escherichia coli*. 11th Annual Symposium of the Umeå Centre for Microbial Research, Umeå, Jan. 2020.
- 11) Lee K, Izumiya H, Iyoda S, Ohnishi M, EHEC Working Group. Whole genome sequence-based surveillance method and the comparison with multilocus variable number tandem repeat analysis in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157. ASM microbe. California, USA, June, 2019.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Murase K, Morita M, Takemura T, Arakawa E, Izumiya H, Nakagawa I, Kikuchi T, Ohnishi M. Comprehensive phylogenetic analysis and genome dynamics of O-serogroup reference strains in *Vibrio cholerae*. 8th Congress of European Microbiologists, Glasgow, Scotland, July, 2019.
- 2) Morita M, Izumiya H, Ke B, He D, Ke C, Ohnishi M. Phylogenetic analysis and antimicrobial resistance determinant of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates in Guangdong, China. 54th US-Japan Joint Panel Conference on

2. 国内学会

- 1) 山本章治: 単一染色体を保有するコレラ菌株の解析。第 93 回日本細菌学会総会、名古屋、2020 年 2 月
- 2) 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いて RNA 結合タンパク質 Hfq は sRNA 非依存的に LEE の発現を抑制する。第 92 回日本細菌学会総会、札幌、2019 年 4 月
- 3) 石嶋希、李謙一、大西真、伊豫田淳: HUS 患者から分離された stx2e, stx2f 遺伝子保有 EHEC 株の病原性解析。第 92 回日本細菌学会総会、札幌、2019 年 4 月
- 4) 中村佳司、村瀬一典、後藤恭宏、李謙一、伊豫田淳、大西真、小椋義俊、林哲也: EHEC O165:H25 の遺伝的多様性とプロファージおよびプラスミドの菌株間バリエーション。第 92 回日本細菌学会総会、札幌、2019 年 4 月
- 5) 津々木博康、張田力、八尋錦之助、小野勝彦、伊豫田淳、大西真、赤池孝章、澤智裕: Signaling analysis for inhibitory effect by Subtilase cytotoxin on innate immune system. 第 92 回日本細菌学会総会、札幌、2019 年 4 月
- 6) 井口純、伊豫田淳: PCR 法で血清型の遺伝子型が判定できなかった EHEC の解析。第 23 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、松山市、2019 年 11 月
- 7) 六車健太、高橋美帆、石嶋希、伊豫田淳、西川喜代考: Stx2f の受容体認識特性の解明と受容体結合部位を標的とした阻害剤開発、第 23 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、松山市、2019 年 11 月
- 8) 伊豫田淳、井口純、勢戸和子、大西真: HUS 発症例における血清診断と非定型 EHEC の分離例。第 23 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、松山市、2019 年 11 月
- 9) 津々木博康、張田力、小野勝彦、八尋錦之助、伊豫田淳、大西真、赤池孝章、澤智裕: 腸管出血性大腸菌毒素 Subtilase cytotoxin の病原性発現における レドックス調節機構。第 93 回日本細菌学会総会、名古屋、2020 年 2 月
- 10) 谷口 愛樹、中村佳司、西田留梨子、伊豫田淳、大西真、大岡唯祐、小椋義俊、林哲也: O121:H19 EHEC 用 IS-printing system の開発に向けた IS の網羅 的探索と国内分離株での IS 分布状況解析。第 93 回日本細菌学会総会、名古屋、2020 年 2 月
- 11) 泉谷秀昌: 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析について。衛生微生物技術協議会第 40 回研究会、2019 年 7 月、熊本県熊本市。
- 12) 泉谷秀昌、李謙一、石嶋希、伊豫田淳、大西真: 2018 年における腸管出血性大腸菌の MLVA による分子疫学解析。第 40 回日本食品微生物学会学術総会、2019 年 11 月、東京都。
- 13) 高橋栄造、Subha Sankar Paul、Goutam Chowdhury、Asish K. Mukhopadhyay、Shanta Dutta、森田昌知、大西真、三好伸一、岡本敬の介: 抗 O1 抗体固定化磁気ビーズを用いた、コルカタ環境水からの *Vibrio cholerae* O1 の単離。第 93 回日本細菌学会総会、名古屋、2020 年 2 月
- 14) 高橋栄造、森田昌知、大西真、三好伸一、岡本敬の介: インド コルカタ市の環境水中の病原性 *Vibrio cholerae* の調査、および単離株の病原性。第 60 回日本熱帯医学会大会、沖縄、2019 年 11 月
- 15) 小川道永、大西真: 肺炎球菌感染における hierarchical なオートファジー誘導、第 93 回日本細菌学会総会、名古屋、令和 2 年 2 月
- 16) 零石早矢佳、小川道永、高田直輝、梁明秀、大西真: 肺炎球菌感染細胞における LAPosome 様小胞の誘導機構解析第 93 回日本細菌学会総会、名古屋、令和 2 年 2 月
- 17) 零石早矢佳、小川道永、梁明秀、大西真: 肺炎球菌感染細胞における LAPosome 様小胞の誘導機構解析、第 12 回オートファジー研究会 第 1 回新学術領域研究「マルチモードオートファジー」班会議、掛川、令和元年 10 月
- 18) 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 102 回日本細菌学会関東支部総会、塩尻、令和元年 10 月
- 19) 小川道永、零石早矢佳、梁明秀、大西真: 宿主細胞に侵入した肺炎球菌に対する LAP 誘導機構の解析、第 102 回日本細菌学会関東支部総会、塩尻、令和元年 10 月
- 20) 零石早矢佳、小川道永、松永智子、梁明秀、大西真: 肺炎球菌の保有する病原因子によるオートファジー制御機構の解析、第 19 回日本蛋白質科学会年会・第 71 回日本細胞生物学会大会、神戸、令和元年 6 月
- 21) 小川道永、高田直輝、竹山春子、大西真: 肺炎球菌感染細胞における PcLAP の誘導メカニズム解析、第 19 回日本蛋白質科学会年会・第 71 回日本細胞生物学会大会、神戸、令和元年 6 月
- 22) 零石早矢佳、小川道永、松永智子、梁明秀、大西真: 肺炎球菌の保有する病原因子によるオートファジー制御機構の解析、第 51 回 レンサ球菌研究会、京都、令和元年 6 月
- 23) 森中理慧馨、前川純子、金谷潤一、磯部順子、加藤尚之、大野章、高崎一人、原口浩幸、布藤聡、倉文明: レジオネラ属菌の迅速検出法として比色系パルサー法の有用性の評価について。日本温泉科学会第 72 大会、台北市、2019 年 11 月
- 24) 淀谷雄亮、原俊吉、湯澤栄子、本間幸子、前川純子、森田昌知、大西真、岡部信彦: レジオネラ症患者から分離された菌株等における SBT 法による遺伝子型別について。第 68 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、仙台、2019 年 10 月
- 25) 田栗利紹、蔡国喜、新道欣也、下田貴宗、倉文明、前川

- 純子:レジオネラニューモフィラの定量検査が現地で可能となるフローサイトメトリー技術の有用性評価。日本防菌防黴学会第46回年次大会、大阪、2019年9月
- 26) 前川純子:レジオネラ症発生事例について—作業環境を中心に—。第29回日本衛生産業学会全国協議会シンポジウム「生物学的ハザードと作業環境」、仙台、2019年9月
- 27) 前川純子:*Legionella pneumophila* の遺伝子型別から分かること。第92回日本細菌学会総会、ワークショップ「レジオネラをめぐる新展開」、札幌、2019年4月
- 28) 池辺忠義:劇症型A群溶血性レンサ球菌感染症由来株の細菌学的特徴(シンポジウム:本邦における高病原性微生物研究)。第93回日本細菌学会総会、愛知、2020年2月
- 29) 松村隆之、吉澤定子、池辺忠義、大西真、山崎晶、高橋宜聖、阿戸学:Critical role of sequential sensing in protection against severe invasive streptococcal infection. 第93回日本細菌学会総会、愛知、2020年2月
- 30) 池辺忠義:劇症型溶血性レンサ球菌感染症の疫学(分子疫学を含む)(パネルディスカッション:今、考えたい日本におけるレンサ球菌感染症の現状と課題)。第93回日本感染症学会学術講演会、愛知、2019年4月
- 31) 松村隆之、池辺忠義、大西真、山崎晶、高橋宜聖、阿戸学:The TLR2-IL-6-Mincle axis is essential to protect against severe invasive streptococcal infection. 第92回日本細菌学会総会、北海道、2019年4月
- 32) 住友理映子、大霜智子、岩城佳子、谷畑慧子、中埜伸二、池辺忠義:急激な経過をたどった劇症型A群溶連菌感染症の1例～遺伝子型解析をふまえて～。第118回日本皮膚科学会総会、愛知、2019年6月
- 33) 木下典子、忽那賢志、安藤秀二、川端寛樹、大曲貴夫:Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA)の女児例。第51回日本小児感染症学会総会・学術集会、旭川、2019年10月
- 34) 川端寛樹:令和元年度動物由来感染症対策技術研修会。最近の動物由来感染症について・ダニ媒介感染症(ライム病)について。東京、2019年10月。
- 35) 川端寛樹:ボレリア感染症。第24回日本神経感染症学会総会・学術大会、東京、2019年10月。
- 36) 佐藤梢、熊谷由美、関塚剛史、黒田誠、林哲也、高野愛、大西真、川端寛樹:ボレリアの新規病原性評価ツールによる血清耐性機能の解析。第162回日本獣医学会学術集会、筑波、2019年9月
- 37) 中尾蘭那、笠間健太郎、小椋義俊、林哲也、川端寛樹、下田宙、前田健、高野愛:硬ダニ媒介性回帰熱群ボレリア菌のゲノム解析。第162回日本獣医学会学術集会。筑波、2019年9月
- 38) 新倉(座本)綾、佐藤雅彦、川端寛樹、安藤秀二、石原智明、花木賢一:利尻島における遺伝的なマダニ相と保有病原体保有調査。第162回日本獣医学会学術集会、筑波、2019年9月
- 39) 小泉信夫、三浦こずえ、真井優、竹村太地郎、Ung Thi Hong Trang、Nguyen Le Khanh Hang、大西真: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。第56回レプトスピラ・シンポジウム、北海道、2019年4月。
- 40) 許駿、小泉信夫、中村修一:レプトスピラの宿主特異性における接着と運動の関わり。第56回レプトスピラ・シンポジウム、北海道、2019年4月。
- 41) 許駿、小泉信夫、尾鶴亮、森本雄祐、増澤俊幸、中村修一:*Leptospira kobayashii* とその近縁種で発見された光応答性。第56回レプトスピラ・シンポジウム、北海道、2019年4月。
- 42) 小泉信夫、川本晃大、佐々木祐哉、大西真、中村修一:レプトスピラべん毛鞘タンパク質 FcpA, FcpB, FlaA のべん毛形成における役割。第92回日本細菌学会総会、北海道、2019年4月。
- 43) 許駿、小泉信夫、中村修一:Adhesion and motility of *Leptospira* on animal cultured cells. 第92回日本細菌学会総会、北海道、2019年4月。
- 44) 許駿、小泉信夫、中村修一:レプトスピラ症病原体の宿主選択メカニズムに対する生物物理学的手がかり。第73回日本細菌学会東北支部総会、岩手県、2019年8月。
- 45) 許駿、小泉信夫、中村修一:Involvement of adhesion and motility of in pathogenicity of *Leptospira*. 第93回日本細菌学会総会、愛知県、2020年2月。
- 46) 高橋英之、横山茂之、柳沢達男:髄膜炎菌 *Neisseria meningitidis* の宿主細胞感染時における Nutrient virulence factor としてのシステイン輸送システムの機能解析。第92回日本細菌学会総会、北海道、2019年4月
- 47) 高橋英之、大西真、横山茂之、柳沢達男:Expanding the genetic code of *Neisseria meningitidis* with unnatural amino acids. 第93回日本細菌学会総会、名古屋、2020年2月
- 48) 高橋英之:マシギザリングと髄膜炎菌感染症。第32回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会・研究会、埼玉、2020年2月
- 49) 花岡希、中山周一、尾上泰彦、錦信吾、萬田和志、大西真:梅毒核酸検査における唾液やうがい液の有用性についての検討。日本性感染症学会第32回学術大会、京都、2019年12月。
- 50) 樽本憲人、前崎繁文、前田拓哉、中山周一、大西真、早川智、井戸田一朗:PNA-LAMP 法を用いたマクロライド耐性梅毒トレポネーマの検出に関する検討。日本性感染症学会第32回学術大会、京都、2019年12月。
- 51) 中山周一、井戸田一朗、大西真:比較的稀な分子型梅

毒トレポネーアの短期間内での複数回検出例。

日本性感染症学会第 32 回学術大会、京都、2019 年 12 月。

52) 志牟田健、中山周一、高橋英之、大西真: 淋菌 *penA* 60.001 遺伝子の LAMP 法による検出。日本性感染症学会第 32 回学術大会、京都、2019 年 12 月。

53) 志牟田健: SNP タイピングによるセフトリアキソン耐性淋菌株の保持する *penA* 遺伝子の LAMP 法による検出。第 12 回 LAMP 研究会、東京、2020 年 1 月

54) 安田満、志牟田健、中山周一、高橋英之、小林寅喆、大澤佳代、陳内理生、三宅啓文、大西真: 2018 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 32 回学術大会、京都、2019 年 12 月。

55) 泉福英信、岩淵佑介: *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、第 68 回日本口腔衛生学会総会、滋賀、2019 年 5 月

56) 石川正夫、村田貴俊、岡本公彰、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カンジダに対する抗真菌活性について、第 68 回日本口腔衛生学会総会、滋賀、2019 年 5 月

57) 泉福英信、鈴木到: Actinomyces によるバイオフィーム形成に対する有機酸の影響、第 33 回日本バイオフィーム学会学術集会、久留米、2019 年 7 月

58) 中村知世、岩淵佑介、成澤直規、中尾龍馬、泉福英信: *Streptococcus mutans* の病原因子調節遺伝子が GTF 依存的 Membrane vesicle に与える影響、第 61 回歯科基礎医学会学術大会、東京、2019 年 10 月

59) 中尾龍馬、平山悟、泉福英信: 頭頸部放射線療法後患者におけるグルコン酸クロルヘキシジン、プロポリス、カレーリーフ、またはターメリック含有口腔保湿ジェルの効果、第 61 回歯科基礎医学会学術大会、東京、2019 年 10 月

60) 中村知世、岩淵佑介、成澤直規、竹永章生、中尾龍馬、泉福英信: *Streptococcus mutans* が生産する Membrane vesicles 中の付着因子に関する検討、第 102 回日本細菌学会関東支部総会、1-8、松本歯科大学、2019 年 10 月

61) 泉福英信: ペプチドを利用した菌の生残システムの検討、シンポジウム 19「細菌の取り巻く機能性ペプチドの up to date」、第 93 回日本細菌学会総会、愛知、2020 年 2 月

62) 中村知世、岩淵佑介、成澤直規、竹永章生、中尾龍馬、泉福英信: *Streptococcus mutans* の Gtfs に依存した membrane vesicles 産生と抗 Gtfs 抗体の誘導、ワークショップ 07、第 93 回日本細菌学会総会、愛知、2020 年 2 月

63) 奥脇響、尾花望、永山恭子、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦: ウェルシュ菌によるメンブレンヴェシクルを介した免疫優性抗原の輸送、ワークショップ 11、第 93 回日本細菌学会総会、愛知、2020 年 2 月

64) 岩淵佑介、中村知世、楠本康香、篠塚修、中尾龍馬、泉福英信: 培養初期 pH が影響する *Streptococcus mutans* のメンブレンヴェシクル産生と病原性、第 93 回日本細菌学会総会、愛知、2020 年 2 月

65) 大西真: STI 対策と解決すべき課題、第 29 回感染研シンポジウム、2019 年 5 月東京

66) 大西真: 未来の淋菌感染症対策、第 67 回日本化学療法学会、2019 年 5 月東京

67) 大西真: 梅毒を疫学と細菌学から考える、第 118 回日本皮膚科学会総会、2019 年 6 月名古屋

68) 大西真: 分子型別を利用した梅毒の分子疫学、日本性感染症学会第 32 回学術大会、2019 年 11 月京都

69) 藤倉裕之、山岸拓也、高橋琢理、佐藤哲郎、加納和彦、錦信吾、砂川富正、松井珠乃、鈴木基、大西真: 2015-2018 年の異性間性的接触における梅毒発生動向の傾向。第 68 回日本感染症学会東日本地方会学術集会。2019 年 10 月 17 日。

70) 高橋琢理、山岸拓也、佐藤哲郎、加納和彦、砂川富正、大西真、鈴木基: 感染症発生動向調査における梅毒妊娠例 2019 年第 1 四半期。第 78 回日本公衆衛生学会総会。2019 年 10 月 24 日。高知市

71) 芹沢悠介、藤倉裕之、山岸拓也、高橋琢理、有馬雄三、砂川富正、錦信吾、大西真: 季節性を認めてきた梅毒の報告数推移。日本性感染症学会第 32 回学術大会。2019 年 11 月 30 日。京都市

72) 中尾龍馬、平山悟、泉福英信、大西真: 細菌由来メンブレンヴェシクルを活用した粘膜ワクチンの研究。第 92 回日本細菌学会総会、札幌、2019 年 4 月。

73) 松本直子、平山悟、大西真、中尾龍馬: 肺炎球菌の莢膜多糖を運ぶ有用大腸菌株キメラから得たメンブレンヴェシクルの経鼻ワクチンへの応用。第 92 回日本細菌学会総会、札幌、2019 年 4 月。

74) 平山悟、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形態変化と膜透過性のリアルタイムイメージング。第 92 回日本細菌学会総会、札幌、2019 年 4 月。

75) 奥脇響、尾花望、永山恭子、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦: ウェルシュ菌メンブレンヴェシクルによる免疫優性抗原の輸送。第 92 回日本細菌学会総会、札幌、2019 年 4 月。

76) 尾花望、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦: グラム陽性細菌によるメンブレンヴェシクルの能動的な産生機構とワクチンプラットフォームへの応用。第 92 回日本細菌学会総会、札幌、2019 年 4 月。

77) 中村知世、岩淵佑介、成澤直規、竹永章生、中尾龍馬、泉福英信: *Streptococcus mutans* の膜小片による GtfC 依存性

- バイオフィルム形成について. 第 92 回日本細菌学会総会, 札幌, 2019 年 4 月.
- 78) 中尾龍馬: 抹茶の歯周病原細菌に対する阻害活性メカニズム. 抹茶と健康研究会報告会, 京都, 2019 年 9 月.
- 79) Hirayama S, Yoshimasu Y, Senpuku H, Nakao R. Spatiotemporal analysis of bacterial surfaces treated with antimicrobials. 第 61 回歯科基礎医学会学術大会, 千代田区, 2019 年 10 月.
- 80) 中村知世, 岩淵佑介, 成澤直規, 中尾龍馬, 泉福英信: *Streptococcus mutans* の病原因子調節遺伝子が GTF 依存的 Membrane vesicles に与える影響. 第 61 回歯科基礎医学会学術大会, 千代田区, 2019 年 10 月.
- 81) 高塚絢巳, 池田剛, 平山悟, 泉福英信, 成澤直規, 中尾龍馬: 抹茶による *Porphyromonas gingivalis* に対する阻害活性のメカニズム. 第 61 回歯科基礎医学会学術大会, 千代田区, 2019 年 10 月.
- 82) 中尾龍馬, 平山悟, 泉福英信, 上野尚雄: 頭頸部放射線療法後患者におけるグルコン酸クロルヘキシジン, プロポリス, カレーリーフ, またはターメリック含有口腔保湿ジェルの効果. 第 61 回歯科基礎医学会学術大会, 千代田区, 2019 年 10 月.
- 83) 齋藤訓平, 相内章, 平山悟, 鈴木忠樹, 西山千春, 中尾龍馬, 長谷川秀樹: 経鼻不活化インフルエンザワクチンにおける大腸菌 Nissle 株外膜小胞の粘膜アジュバントとしての評価. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会, 江戸川区, 2019 年 10 月.
- 84) 齋藤訓平, 相内章, 平山悟, 鈴木忠樹, 西山千春, 中尾龍馬, 長谷川秀樹: 経鼻不活化インフルエンザワクチンにおける大腸菌 Nissle 1917 株外膜小胞の粘膜アジュバントとしての利用. 第 23 回日本ワクチン学会学術集会, 千代田区, 2019 年 11 月.
- 85) 中尾龍馬, 平山悟, 松本直子, Jens Karlsson, 大西真: 肺炎球菌莢膜多糖を表層に纏うプロバイオティクス大腸菌由来メンブレンヴェシクルの経鼻ワクチンへの応用. 第 23 回日本ワクチン学会学術集会, 千代田区, 2019 年 11 月.
- 86) 平山悟, 中尾龍馬: グリシンによる大腸菌メンブレンベシクル産生の誘導とその特性解析. 第 93 回日本細菌学会総会, 名古屋, 2020 年 2 月.
- 87) 中尾龍馬, 平山悟, 松本直子, Jens Karlsson, 大西真: 外来抗原を運ぶ膜小胞キメラの経鼻投与後の粘膜免疫応答. 第 93 回日本細菌学会総会, 名古屋, 2020 年 2 月.
- 88) Takatsuka A, Ikeda T, Hirayama S, Senpuku H, Narisawa N, Takenaga F, Nakao R. 抹茶による *Porphyromonas gingivalis* に対する阻害メカニズム. 第 93 回日本細菌学会総会, 名古屋, 2020 年 2 月.
- 89) Yoshino N, Nakao R. 歯周病原細菌に抗菌活性を示す香料の探索, 及び抗菌活性機序の解析. 第 93 回日本細菌学会総会, 名古屋, 2020 年 2 月.
- 90) 米北太郎, 荒川英二: 腸炎ビブリオ特異的モノクローナル抗体の抗原解析 第 53 回ビブリオシンポジウム(SoV53) 名古屋 2019 年 10 月
- 91) 常彬, 菅秀: 侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) の疫学研究 ~小児 IPD 研究を中心に~. 第 93 回日本細菌学会総会, 名古屋, 2020 年 2 月
- 92) 李謙一, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 大西真: EHEC Working Group. WGS 解析による MLVA の評価と効率的腸管出血性大腸菌 O157 サーベイランス手法の確立. 第 92 回日本細菌学会総会. 札幌, 2019 年 4 月
- 93) 李謙一, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 大西真: 大規模集団感染から分離された O157 のゲノム解析. 第 19 回人と動物の共通感染症研究会学術集会. 東京, 2019 年 10 月
- 94) 李謙一, 伊豫田淳, 大西真: 同一株内および同一患者由来 EHEC における SNP および保有遺伝子の解析. 第 23 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 愛媛, 2019 年 11 月
- 95) 松本裕子, 小泉充正, 佐藤寿夫, 李謙一, 伊豫田淳: *ter operon* を保有しない亜テレル酸耐性腸管出血性大腸菌 O157 の解析. 第 40 回日本食品微生物学会学術総会. 東京, 2019 年 11 月
- 96) 李謙一, 伊豫田淳, 大西真: 同一感染者から分離された腸管出血性大腸菌のゲノム多様性解析. 第 40 回日本食品微生物学会学術総会. 東京, 2019 年 11 月
- 97) 木全恵子, 李謙一, 綿引正則, 磯部順子, 大西真, 伊豫田淳: 志賀毒素産生性腸管凝集性大腸菌 (Stx-EAEC) O86 における集団感染由来 O104:H4 と同一の Stx2a フェージの獲得. 第 93 回日本細菌学会総会. 愛知, 2020 年 2 月