

## 4.細菌第一部

部長 大西 真

### 概要

当部では、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3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、多様な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。

腸管出血性大腸菌感染症の制御が困難な現状において、分離株間の同一性解析、さらには過去に分離された菌株との比較解析等、地方自治体からの要請が増している。地方衛生研究所から送付される EHEC O157, O26, O111 菌株 (n=2679) に関しては、迅速性、多検体処理に秀でている MLVA 法による解析を第一に行うこととなり、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。ドラフトゲノムデータとその利用法について検討が進められた。

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てきた。岡山大学インド拠点、大阪大学タイ拠点、長崎大学ベトナム拠点、神戸大学インドネシア拠点との連携プロジェクトを引き続き実施した。今後は疫学解析にゲノムデータを十分に活用していくことが重要となる。また、これらの解析技術は腸管出血性大腸菌、コレラ菌にとどまらず、他の病原細菌の解析へ応用し、一部成果があげることができた。

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も進められ、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の分子タイピング法によるデータ蓄積が進み、さらに国内伝播株のゲノム解析手法の検討が進められた。

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、腸チフス菌、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。

### 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) 重症例由来株の同定

###### ア ヒト由来 EHEC の血清型別

2016 年に全国の地方衛生研究所(地衛研)等から受け付けたヒト由来の EHEC は 2,679 株であった。頻度の高い O 血清群の順に O157 (57.9%)、O26 (24.4%)、O103 (4.6%)、O111 (2.7%)、O121 (1.9%)、O145 (1.5%) で、その他は 49 の O 群、82 の血清型 (O:H 型) に型別された。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 835 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、李 謙一、石原朋子、泉谷秀昌、大西 真]。

###### イ HUS 患者便からの Stx2f 産生性 *Escherichia albertii* の分離

大腸菌と近縁の新興下痢症起因菌である *Escherichia albertii* は近年、国内で大規模な集団感染事例が多数報告されているが、その大部分は志賀毒素 (Stx) 非産生株である。我々は、HUS 患者便から *E. albertii* を初めて分離し、Stx2f 産生性であることを確認した。さらに、分離菌株を用いた血清診断から、患者血清中に分離された *E. albertii* に対する特異的な凝集抗体価が一過的に上昇していることを確認した [伊豫田 淳、石嶋 希、小澤さお美、竹本 歩、李 謙一、大西 真]。

###### (2) 分子疫学的解析

###### ア 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析 (血清群 O157, O26, O111)

2016 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 2,679 株であった。このうち血清群 O157、O26 および O111 として送付された 2,276 株について MLVA による型別を行った。MLVA については 890 の型が同定された。最も多かった型は 15m0278 で 52 株であり、次いで 16m0234 (49 株)、16m0217 (47 株) であった。15m0278 は、2016 年 10 月に発生した広域食中毒事例関連株を含んでいた。MLVA の分解能 (Simpson's Diversity Index) は、O157 1,549 株については 0.992 であり、O26 655 株についてはともに 0.987、O111 72 株については 0.971 であった。[泉谷秀昌、石原朋子、伊豫田淳、李謙一、石嶋希、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、吉田愛、大西真]

#### イ EHEC の PFGE 解析

2016 年に国内で分離された EHEC O157、O26、O111 の 756 株とその他の O 群 381 株を *Xba*I 消化によるパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) で解析した。複数の都道府県で検出された PFGE 型が同定された O 群として、O121 (Type No [TN] TN121m1)、O103 (TN103m2、TN103m3、TN103m8)、O145 (TN145m1、TN145m2) 等があり、様々な PFGE 型を持つ O 群による広域発生事例の存在が明らかになった。[石原朋子、吉田 愛、齊藤康憲、中島雪絵、高井信子、伊豫田 淳、泉谷秀昌、大西 真]

#### ウ 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。いずれのデータベースも研究班において、その活用について検討している。[泉谷秀昌、石原朋子、伊豫田淳、熊谷優子 (秋田県健康環境センター)、平井昭彦 (東京都健康安全研究センター)、鈴木匡弘 (愛知県衛生研究所)、勢戸和子 (大阪府立公衆衛生研究所)、中嶋洋 (岡山県環境保健センター)、世良暢之 (福岡県保健環境研究所)、李謙一、石嶋希、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、吉田愛、大西真]

#### エ 輸入食品由来 EHEC O103 の PFGE 解析

2016 年 7 月に検疫所におけるモニタリング検査の結果、輸入キムチから EHEC O103 が検出され、当該株が当部に搬入された。食品由来株とヒト由来株の比較解析のため、当該株の PFGE 解析を実施し、データベースとの照合を行った。その結果、2017 年 3 月時点においてヒト由来株中に当該株と同一の PFGE プロファイルは検出されなかった [石原朋子、吉田 愛、齊藤康憲、中島雪絵、高井信子、伊豫田 淳、泉

谷秀昌、大西 真]

#### オ EHEC O146 の国内流行株の解析

2013 年以降 EHEC O146 分離株数の増加が認められたことから、国内における流行株の把握、広域・散発的発生事例を探索するため、分子疫学解析およびゲノム解析により EHEC O146 の発生動向を調べた。その結果、同一 PFGE 型 (TN) 146k1 株が広域で検出されていることが明らかとなった [石原朋子、吉田 愛、齊藤康憲、中島雪絵、高井信子、小澤さお美、寺嶋淳 (国立医薬品食品衛生研究所) 伊豫田 淳、泉谷秀昌、大西 真]

#### (3) 血清診断による EHEC 感染症の確定診断

EHEC が不分離の HUS 発症例 (全体の 20-30%) 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 感染症の確定診断となる。血清診断依頼があった 11 例中 HUS 症例は 10 例あり、このうち大腸菌 O 抗原に対する抗体陽性となった事例は O157 が 4 例、O111 が 1 例、O165 が各 1 例で、いずれの事例も 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、齊藤剛仁 (疫学セ)、大西 真]。

#### (4) 大腸菌の H 型を決定する PCR 法の確立

大腸菌のべん毛抗原型 (H 型) として定義されている 53 種類のうち、49 種類を単独の型として、残り 4 種類を 2 つのグループとして型別可能なマルチプレックス PCR 系を確立し、大腸菌 H 型の全標準株を用いて特異性及び整合性を確認した [番上将也 (宮崎大・農)、井口 純 (宮崎大・農)、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

2016 年に当研究所に送付された赤痢菌 72 株についてパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) および multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) による分子疫学解析を行った。菌株の内訳は *S. sonnei* 55 株、*S. flexneri* 17 株であった。*Shigella sonnei* では 2016 年に 46 の MLVA 型が検出された。[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。細菌第一

部では赤痢の病原性が発現する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。

これが血清型を超えた防御効果を示すワクチンとして利用できないか調べるため、インド国立コレラ・腸管感染症研究所 (NICED) と共同研究を進め、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血清型の壁を超えて、現在の流行株であるソンネ菌と、志賀毒素遺伝子をもつ志賀菌に対して、低い副反応で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がこれらを含む赤痢菌群に反応することを証明した。

効果的に免疫が誘導されるメカニズムとして、ワクチン候補株では T3SS の発現が増加している上に、変異による病原性の減弱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。これまで、赤痢菌の病原性の減弱は困難で、血清型に依存する従来タイプのワクチンも実用化されていない。まだ動物実験の段階ではあるが、血清型が全く異なる菌に対して効果が見られたことは、今後の発展に期待できそうである。[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

2016 年に国内で分離され、地方衛生研究所・保健所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 46 株、パラチフス A 菌 20 株であった。チフス菌では、フェージ型 E1 が 11 株と最多となり、それに次いで A が 10 株検出された。パラチフス A 菌ではフェージ型 1 が 11 株検出され最多であった。[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

2016 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 63.0%、パラチフス A 菌で 90.0%であった。両菌とも第 3 世代セファロスポリンに耐性を示す株は検出されなかった。[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

2016年に当研究所に送付されたサルモネラ株は120株であった。血清型は28種類からなり、上位5位はEnteritidis、Saintpaul、I 4:i:-、Goldcoast、Chesterであった。これらは、*Xba*I消化によるPFGE解析により54パターンに分かれた。血清型Enteritidis 13株についてフェージ型別を実施し、RDNC (reacted but did not conform)が6株、フェージ型6aが5株、フェージ型47が2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 O4 群の血清型別と薬剤耐性

2015年に分離された保菌者由来サルモネラ O4 群 300 株について血清型別及び薬剤感受性試験を実施した。上位 5 位は Schwarzengrund、I 4:i:-、Saintpaul、Agona、Stanley であった。182 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+KM3 剤耐性、SM+TC2 剤耐性、ABPC+SM+TC3 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]

### 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

2016 年に当研究所に送付されたコレラ菌は 3 株であり、いずれも O1 であった。3 株とも異なる遺伝子型を示した。[泉谷秀昌、李志英、高井信子、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取得している。これまでに *V. cholerae* 及び他のビブリオ科細菌も含め約 1100 株のドラフト配列を取得した。それらのうちインド由来 *V. cholerae* O1 について分子系統解析を行ったところ、コレラ流行株の継続的な推移が明らかとなった。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、大西真]

##### ウ *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* の同定および型別

平成 28 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 73 株で、*Vibrio cholerae* O1 が 4 株、O139 が 1 株であり、いずれも海外渡航歴のある患者由来であった。また、41 株が *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 であり、うち 1 株は国内、20 株は海外からの依頼で、20 株は国内国外不明であった。国内株 1 株は、下痢症から分離された株であった。散発事例であり、かつ同居者からの分離もなく、喫

食調査などからも原因は明らかとならなかった。海外からの型別依頼株 40 株は中国の分離株であった。また、21 株が *Vibrio fluvialis* で、1 株が下痢症由来の国内株で、20 株は中国の分離株であった。その他、国内例の下痢症由来の *Aeromonas* 1 株と、食中毒由来の腸炎ビブリオ O3:K6 5 株であった。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

エ コレラ菌におけるキチン応答性二成分制御系センサーキナーゼ ChiS を介した非典型的なシグナルネットワークの解析

二成分制御系はセンサーキナーゼとレスポンスレギュレーターから成るリン酸基転移系の一つであり、細菌が外部環境を認識して遺伝子発現を制御する上で主要な役割を担う。コレラ菌の DNA コンピテンスに関わる遺伝子群の発現は、キチン応答性センサーキナーゼである ChiS に支配されているが、そのシグナル伝達の様式は従来までのドグマから大きく逸脱している。ChiS はレスポンスレギュレーターではなく非二成分制御系の転写制御因子 TfoS を活性化するものの、その過程でリン酸基転移に関わるアミノ酸残基を必要としない。また、最近までの研究により、ChiS によるシグナル伝達は、細胞外からのキチン刺激だけでなく、グルコース等の糖の取り込みに関わるリン酸基転移系 PTS の成分である EIIA<sup>Glc</sup> を介して細胞内からも調節されることがわかった。現在、ChiS を介した非典型的なシグナルネットワークの形成機構を明らかにするために、ChiS と TfoS および ChiS と EIIA<sup>Glc</sup> 間の相互作用を解析するとともに、ChiS のリン酸基転移活性とそれに依存した遺伝子発現制御についても調べている。[山本章治]

オ エルシニアの血清型別

2016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、いずれも *Y. enterocolitica* であった。血清型は5株とも O:3 であった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

(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。

それらのうちコレラ様下痢症から分離される O141 および O75 については、真菌部との共同研究により、O 多糖の構造解析を行い、O 抗原には非常に稀な糖が含まれていることを見出した。全塩基配列が解読された 109 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から、機能について分類、マッピングを行い、遺伝子構造の比較を行った。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌、大西真; 浦井誠、宮崎義継(真菌部)]

イ *V. cholerae* と *V. mimicus* を峻別する PCR 法の検討

*Vibrio* 属細菌は性状がお互いに類似しており、通常の生化学性状でも例外性状を示す菌株も存在することから、誤同定される例が時々見られる。我々は、これまでに選択分離培地 TCBS 寒天培地ではともに黄色集落を形成する *V. cholerae* と *V. fluvialis* について、*toxR* 遺伝子配列の違いを PCR で検出する方法により峻別できる系を確立してきた。白糖の分解性にのみ違いのある *V. cholerae* と *V. mimicus* については *ftsZ* 遺伝子配列の違いに着目して、同様に PCR 検出による峻別法を検討し、参照株、分離株で良好な成績を得た。[荒川英二; Kan Biao(中国 CDC)]

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 2015 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

2015 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、1013 株であり、すべての株に対して T 型別が行われた。分離頻度の高かった T 型は、TB3264 (160/1013, 15.8%)、T12 (157/1013, 15.5%)、T1 (146/1013, 14.4%)、T4 (142/1013, 14.0%) であった。TB3264 型の分離比率は、2010 年に急激に上昇し、2014 年 27.1% を占めたが、2015 年減少した (2009 年, 5.3%、2010 年, 12.6%、2011 年, 11.1%、2012 年, 14.5%、2013 年, 19.9%、2014 年, 27.1%、2015 年 15.8%)。T12、T1 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。[池辺忠義、大西真、二本松久子 (福島衛研)、大屋日登美 (神奈川衛研)、奥野ルミ (東京健安研セ)、三井千恵子 (富山衛研)、河原隆二 (大阪公衛研)、亀山光博 (山口環保セ)、佐々木麻里 (大分衛環研)、The Working Group for  $\beta$ -hemolytic Streptococci in Japan]

イ 日本において 2015 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

2015 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 110 症例あった。106 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、昨年と同じ程度の分離比率であった(2014 年, 39.2%; 2015 年, 38.7%)。また、咽頭炎由来株の分離比率(14.4%)に比べ、高い分離比率を示している。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(2014 年, 16.2%; 2015 年, 25.5%)。この 2 つの型で全体の 60%以上を占めていた。

STSS の確定診断例 110 例中、*emm1* 型が 41 例(37.3%)と最も多く、次いで *emm89* 型が 27 例(24.5%)、*emm12* 型が 9 例(8.2%)と多かった。2014 年と比較し、*emm1* 型は、ほぼ横ばいであり、*emm89* 型は 16.0% (12/75)から 24.5% (27/110)に増加した。

[池辺忠義、大西真、二本松久子(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、三井千恵子(富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、亀山光博(山口県保セ)、佐々木麻里(大分衛環研)、The Working Group for  $\beta$ -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

2015 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 74 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 8.3% (9/109)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。昨年(2014 年, 16.2% (12/74)) より分離率が低下した。[池辺忠義、大西真、二本松久子(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、三井千恵子(富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、亀山光博(山口県保セ)、佐々木麻里(大分衛環研)、The Working Group for  $\beta$ -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

2015 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 59 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 14 例(23.7%)と最も多く、次いで、*stG485* が 9 例(15.3%)と多かった。

[池辺忠義、大西真、二本松久子(福島衛研)、大屋日登

美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、三井千恵子(富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、亀山光博(山口県保セ)、佐々木麻里(大分衛環研)、The Working Group for  $\beta$ -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

2015 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 19 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 7 例(36.8%)であり、次いで III 型が 5 例(26.3%)、V 型が 3 例(15.8%)であった。2014 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 4 例あった。菌種はすべて *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であり、*emm* 遺伝子型は、それぞれ *stC15.0*, *stG643*, *stC6979*, *stGM220* であった。

[池辺忠義、大西真、二本松久子(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ(東京健安研セ)、三井千恵子(富山衛研)、河原隆二(大阪公衛研)、亀山光博(山口県保セ)、佐々木麻里(大分衛環研)、The Working Group for  $\beta$ -hemolytic Streptococci in Japan]

(2) 肺炎球菌の病原因子・宿主応答に関する分子基盤構築

肺炎球菌侵襲性感染において肺炎球菌は、咽頭上皮細胞への付着・侵入、上皮細胞内の通過後組織下への移行を経て血流へと到達する。本研究では、一次バリアである粘膜上皮細胞内において感染を成立させるために必要な病原因子、および菌の排除に必要な宿主因子について、特にオートファジー誘導、炎症誘導に注目しながら探索をおこなった。肺炎球菌の膜孔形成毒素であるニューモリシン(Ply)欠変異株を作成し、野生株と共に MEF 細胞に感染させオートファジー誘導性を解析した結果、Ply 変異株でオートファジーが阻害され、選択的オートファジーに関与するすべての宿主因子のリクルートも消失した。さらに肺炎球菌を標的とするオートファゴソーム特異的にリクルートされる Rab タンパク質を網羅的に探索した結果、肺炎球菌を標的とするオートファゴソーム特異的にリクルートされる 7 種類の Rab タンパク質を見出した。それらの Rab タンパク質のノックダウン実験を行った結果、5 種類の Rab タンパク質で肺炎球菌に対するオートファゴソームの数が顕著に減少し、3 種類の Rab タンパク質でノックダウン時に菌の細胞内生残性が大幅に増加していた。ノックダウン実験で菌の生残性上昇が一番顕著であった Rab タンパク質に関してドミネガ体を作製した結果、ドミネガ体はオートファゴソームとの共局在性を消失していた。さらに、ノックアウト細胞を作成し肺炎球菌を感染させたところ、肺炎球菌に対するオートファゴソームの数が顕著に減少し、菌の細胞内生

残性が大幅に増加していた。[小川道永]

## 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 *Legionella pneumophila* 臨床分離株の SBT 法による遺伝子解析

レジオネラ・レファレンスセンターで平成 28 年度に収集した *Legionella pneumophila* 75 株（血清群（SG）1 が 71 株、SG2、5、9、10 が各 1 株）について、SBT 法による遺伝子型別を実施した。入浴施設の散発事例で施設由来の菌株と PFGE が一致した例が 2 例含まれている。およそ半数は感染源が不明で、入浴施設が感染源と推定されているのが 3 分の 1、残りの 6 分の 1 は土壌あるいは塵埃等が感染源であると推定されている。

平成 28 年度末現在で、合計 517 株の *L. pneumophila* 臨床分離株が収集され、ST1 から ST2387 まで 208 種類の遺伝子型に分けられた。遺伝子型と菌が生息する環境に関連性が見られ、遺伝子型別は感染源を推測する手がかりになると考えられる。[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（神戸市環境保健研）；平塚貴大（広島県立総合技術研究所保健環境センター）；吉野修司（宮崎県衛生環境研）；倉 文明、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 法を適用し、従来の遺伝子型別法である SBT (Sequence based Typing) 法との比較を行なった。32 種類の ST 型の臨床分離株 47 株を用いて MLVA 法を行ったところ、36 の MLVA タイプに分類され、MLVA 法は SBT 法と同等の識別能力があることが示唆された。また、MLVA 法によるタイピングは、SBT 法と関連した樹形を描くことを見出した。以上の結果から、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スクリーニングに期待できると考えられた。[中西典子、田中 忍、野本竜平（神戸市環境保健研）；前川純子]。

ウ *lag-1* 遺伝子保有状況の解析

*L. pneumophila* 血清群 1 の一部の菌株が保有している O 多糖修飾酵素をコードする *lag-1* 遺伝子は病原性マーカー遺伝子として知られている。日本と中国で、環境と患者から分離された *L. pneumophila* 血清群 1 における *lag-1* 遺伝子保有状況を調べたところ、日本の患者由来株 (208 株) の 90.4%、環境由来株 (225 株) の 19.1%が *lag-1* 遺

伝子保有株であったのに対し、中国の患者由来株 (14 株) では、42.9%、環境由来株 (127 株) は 0.8%が *lag-1* 遺伝子を保有しており、患者由来株、環境由来株ともに、日本と中国で *lag-1* 遺伝子の保有率に違いが見られた。

[前川純子、常 彬；秦 天（中国 CDC）]

### (2) レジオネラ属菌の調査研究

ア 医療機関の給水系におけるレジオネラ属菌汚染実態調査

神奈川県下の 3 医療機関の水道水試料において、27～67%の頻度でレジオネラ属菌が検出された。国内外の医療機関で院内感染の報告例が実際にある。医療機関では貯水槽が大きく、給水配管が長く枝分かれしているため、給水の末端では残留塩素濃度が不十分になる。当該医療機関の水道水について、pH、TOC、アンモニア態窒素、金属イオン等の理化学検査を実施したが、それらの数値とレジオネラ属菌検出の有無との間に明確な相関は見られなかった。追加塩素消毒装置を設置することで雑菌の繁殖を抑え、使用前に十分な流水を行うことで、レジオネラ感染の危険性を低減することができるが、病院設備設計時にレジオネラ対策を念頭においた給水配管がなされないと、配管からレジオネラを完全に除去することは困難であると思われた。[黒木俊郎、大屋日登美、鈴木美雪、政岡智佳、古川一郎、中嶋直樹（神奈川県衛研）；泉山信司（寄生動物部）；縣 邦雄（アクアス株式会社）；前川純子、倉 文明]。

イ レジオネラ症集団感染事例における菌株調査

2015 年に神奈川県の入浴施設で起きた 7 名のレジオネラ症集団感染事例（確定患者数 7 名）について菌株の解析を行なった。患者 4 名から血清群 1 (ST2114、新規遺伝子型) の菌株が分離され、そのうちの 1 名からは、血清群 13 (ST2113、新規遺伝子型) の菌株も分離された。入浴施設からは、原因菌と考えられる ST2113、ST2114 の他に、ST1447 (血清群 1)、ST2115 (血清群 10) の菌株も分離された。全ゲノム配列解析を行なったところ、ST2114 と ST2113 間の SNPs は血清群決定領域を含む 110 kb の領域に集中していた。[前川純子、森田昌知、李 謙一、大西 真、倉 文明；黒木俊郎、大屋日登美、古川一郎、鈴木美雪、政岡智佳、相川勝弘、日比和美（神奈川県衛研）]

### (3) 浴槽水のレジオネラ消毒法の開発に関する研究

ア 水泳プールのモノクロラミン消毒

入浴施設を原因としたレジオネラの集団感染が発生し、

水泳プールの管理に倣って浴槽水に遊離塩素消毒が導入された過去の経緯があった。ところが温泉や井戸水で遊離塩素消毒の効果が得られない場合があり、追加の対策として結合塩素消毒（モノクロラミン消毒）を浴槽水に導入し、消毒効果が得られている。モノクロラミン消毒の発展を目的に、水泳プールへの逆の応用として、水泳プールのモノクロラミン消毒を試みた。水温が 30℃程度の 270m<sup>3</sup>の水泳プールにモノクロラミン消毒を適用した結果、利用者のない 1 週間の短期であったが、塩素濃度はほとんど減少せず、追加塩素は必要なかった。消毒管理に問題が生じることなく、レジオネラの発生もなかった。実際に泳いでみたが、いわゆる典型的な塩素臭（プール臭）がほとんどなかった。短期間に完全換水して消毒洗浄を行う、小規模なプールへのモノクロラミン消毒の応用が期待された。[泉山信司(寄生動物部); 長岡宏美(静岡県環境衛生科学研究所); 青木信和、市村祐二、江口大介(ケイ・アイ化成株式会社); 杉山寛治(株式会社マルマ); 前川純子、倉 文明]

### 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

ア 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 22 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。それらの髄膜炎菌株の血清型は Y 群 14 株、B 群 3 株、C 群 1 株 及び non-typable が 4 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 株が 3 株、ST-1655 株が 9 株、ST-12416 株が 1 株で、ST-23、ST-1655、ST-12416 は 1 塩基違いであり、血清群 Y の 14 株のうち 13 株が ST-23 complex として同定された。残りの Y 群 1 株は新規遺伝子型の ST-12182 であった。血清群 B の株は ST-41、ST-2057 及びその一塩基違いの新規遺伝子型 ST-12060 の 3 株であった。血清群 C の株は ST-9087、non-typable の血清群は ST-11026 が 3 株ずつ、ST-1157 が 1 株であった。

今年度の分離株の中では、やはり 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ることが注目される。日本の侵襲性髄膜炎感染症の起炎菌の大部分は血清群 Y、ST-23&1655 で占められていることになり、この結果から日本の髄膜炎菌の分布としてはやはりこの株が潜在している可能性が推測される。また、昨年度も議論したが、non-typable の株は基本的には非侵襲性の患者の非侵襲部位（喀痰など）の分離例がほとんどであるが、近年は血液からの分離も認められるように

なってきた。髄膜炎菌は莢膜多糖体の合成遺伝子が入れ替わる、いわゆる「capsule switching」と呼ばれる現状がワクチン導入などの環境的な選択圧がかかると容易に起こることが明らかとなっており、non-typable の髄膜炎菌も国内の「髄膜炎菌プール」のサブポピュレーションとして国内の髄膜炎菌感染症の危機を脅かす可能性は否定できない。今後はラグビーワールドカップやオリンピック・パラリンピックの日本での開催が予定されており、海外から日本へのヒトの流入の増加が予想され、Non-typable の髄膜炎菌株を含めた国内で分離される髄膜炎菌株のプロファイルの変化を注視していく必要であろう。[高橋英之、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

ア 患者由来及び健康保菌者由来の髄膜炎菌株のプロテオーム解析による網羅的タンパク発現比較による髄膜炎菌の病原決定因子の同定

これまでの解析から、ゲノムサイズが小さく且つ発現制御因子の数も極端に少ない髄膜炎菌は赤痢菌の様に感染時の病原遺伝子の発現誘導により感染条件を整えられる「Active 型」とは異なり、ヒトの鼻咽頭に定着している際は既知もしくは未同定の膜局在因子や細胞外因子、普遍因子が個々の細菌でランダム且つ恒常的に細菌外で発現しており、偶然にもヒトへの侵襲に十分な病原性因子の発現プロファイルを揃えた細菌個体だけがヒト体内へ増殖を伴って侵襲し、病原性を顕わすという「Passive 型」の病原性機構を備えている可能性を考えるに至った。そこで、臨床分離株ライブラリーから患者由来高病原性 ST 株及び健康保菌者由来低病原性 ST 株を選定してその膜タンパクの発現プロファイルを網羅的に解析・比較することにより、髄膜炎菌の病原決定因子の発現プロファイルを同定することを試みた。臨床分離株ライブラリーから患者由来高病原性 ST 株及び健康保菌者由来低病原性 ST 株を各 30 株ずつ選定し、*in vitro* でのヒト脳血管内皮細胞(HBMEC)への感染能を検証した。その結果、高感染能の高病原性株 9 株、低感染能の低病原性株 9 株を選定することができた。それらの株の細胞膜画分を生化学的に単離して、Tandem Mass Tag ラベリング及び LC-MS/MS 法による膜局在因子の同定と比較定量を行なった。その結果、8 つの因子が高感染能株でその発現量が多く、低感染能の株では低い傾向が認められた。今後はそれらの因子の遺伝学を破壊した変異体の構築及び *in vitro* での HBMEC への感染能を検証し、病原性因子としての同定因子の必要性及び十分性を検討する予定で

ある。[高橋英之、柳沢達男、横山茂之（理研）、Kwang Sik Kim（Johns Hopkins Univ）]

#### Ⅰ 髄膜炎菌翻訳促進因子 EF-P とそのラミノース修飾酵素の機能構造解析

タンパク質合成時にリボソームはプロリンを多く含む配列でしばしば停止することが知られている。翻訳因子 EF-P はそのようなポリプロリン配列において停止したリボソームのタンパク質合成を再開させる因子である。大腸菌の EF-P はドメイン I の Lys34 に  $\beta$ -lysine が付加されることにより活性化される。ところが、 $\beta$ -lysine 付加に関与する酵素は細菌の約 3 割にしか存在せず、他の多くの細菌において EF-P が修飾を受けているかどうかは詳しく分かっていなかった。近年になり、髄膜炎菌などの細菌において新規糖転移酵素 EarP が dTDP-ラムノースを補因子として EF-P の Arg32 (大腸菌 EF-P の Lys34 に相当する) をラムノシル化し、それにより EF-P を活性化させることが明らかになった。これは、Arg 残基ラムノシル化の最初の報告である。

我々は髄膜炎菌由来 EarP の結晶構造を apo 型・dTDP-ラムノース複合体・EF-P ドメイン I 複合体の 3 つの状態で解析した。EarP は糖転移酵素スーパーファミリー B に特徴的な 2 個のタンデムに並んだ Rossmann fold ドメインを持っており、dTDP-ラムノースはドメイン間の溝に結合していた。N 末端ドメイン上には 2 ヶ所の保存性の高いループ (ループ 1, 2) が見出しされ、これらが dTDP-ラムノースの結合や EF-P の結合に応じて構造変化し、両基質との相互作用に関与していた。EarP が EF-P と dTDP-ラムノースの両方を結合した三重複合体のモデル構造を構築し分子動力学シミュレーションを行ったところ、ラムノース転移反応時にはループ 1 がさらなる構造変化を起こす可能性が示唆された。変異体の生化学的解析から、EarP は EF-P のドメイン I 全体の立体構造と Arg32 周辺の残基配列の両方を認識していることが明らかになった。我々の知る限り、本研究は厳密な基質特異性を示すタンパク質糖転移酵素による基質認識機構を構造生物学的に明らかにした最初の例である。また、EarP は淋菌・緑膿菌・百日咳菌などの臨床的に重要な病原菌にも保存されており、立体構造はこれらの EarP を持つ細菌にのみ有効な抗菌剤の開発にも道を開くと期待される。[高橋英之、柳沢達男、仙石徹、横山茂之 (理研)]

### 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) ボレリア感染症の疫学研究

ア 野生シカ由来材料を用い、ボレリア属細菌に関する疫学調査を実施した。北海道から南九州に至る全国規模

で野生シカが回帰熱群ボレリアに感染していることを明らかにした。ボレリアの陽性率は全国平均で 25.9% であり、またシカは高度の菌血症 (平均  $8.8 \times 10^3$  genome copies/ $\mu$ l) を呈していることが明らかとなった。本ボレリアは 1-lineage からなり、4 つのグループにより構成されることが明らかとなった。また、本研究で見出されたボレリアはウシボレリア症病原体 *Borrelia theileri* と近縁であることから、偶蹄類にボレリア症を引き起こすボレリアと考えられる。今後はウシなどの偶蹄類の感染状況について調査が望まれる。[熊谷由美、佐藤梢、大西真、川端寛樹 (細菌第一部)、森川茂、今岡浩一 (獣医科学部)、新倉綾 (動物管理室)]

イ 我が国における新興回帰熱 (*Borrelia miyamotoi* disease: 以下 BMD) の国内感染状況をより明らかにするために、高感度の抗体検査法の確立とその応用を試みた。平成 28 年度は、BMD 新規診断抗原の探索とその評価を行い、GlpQ 抗原を用いた既存の方法に対して約 4 倍の感度を有し、かつ特異性は 100% である新規抗原を見出した。これら新規診断抗原を用いて、マダニ媒介性関連感染症である重症熱性血小板減少症候群が臨床的に疑われながらも、実験室診断で本疾患が否定された患者群において BMD に関する血清疫学調査を行い、本集団には高頻度で BMD が潜在している可能性を明らかにした。患者は北海道のみならず本州や九州でも見出されている。今後、これらの地域での感染ボレリア種、ならびに媒介マダニ種の同定を進める必要がある。[佐藤梢、大西真、川端寛樹 (細菌第一部)、福士秀悦、下島昌幸、西條政孝 (ウイルス一部) 山野公明 (北海道立衛生研究所)]

##### (2) 軟ダニ媒介性感染症病原体のゲノム解析

若狭湾に浮かぶ無人島の杓島 (京都府) において *Cariosawaii* を捕獲した。採取した *C. sawaii* は個体ごとにビーズ破砕後、RNA・DNA 抽出を行った。その後、細菌 16S リボソーム RNA の V3-4 超可変領域を PCR 増幅し Illumina MiSeq によるアンプリコン解析に供した。また、*C. sawaii* の破砕乳剤はマダニ種ごとにプールし、フィルター濾過と遠心分離によりウイルス画分を精製した。RNA 及び DNA を抽出し、全ゲノム増幅を行った後に Illumina MiSeq によるショットガンシーケンス解析に供した。*C. sawaii* のアンプリコン解析からは、*Borrelia* 属細菌の他、*Coxiella* 属共生菌ゲノム等が検出された。最近の研究で、Q 熱の病原体である *Coxiella burnetii* は軟ダニから派生したものと学説が唱えられており、現在 *C. burnetii* との系統比較解析を行っている。[中



尾亮, 杉本千尋 (北海道大学), DeMar Taylor (筑波大学), 川端寛樹 (細菌第一部) ]

## 2. レプトスピラ症に関する研究

### (1) 病原機構解明に関する研究

#### ア レプトスピラ感受性の性差に関する研究

レプトスピラ感染では男性のほうが女性よりも重症化しやすく, またこれまでのハムスターにおける *L. interrogans* 血清型 Hebdomadis の感染実験により, 感染 120 時間後にオスでのみ肺出血がみられることを明らかにしてきた. 感染 72 時間および 96 時間後の肺でレプトスピラ DNA が検出されたが, 120 時間後には検出されなかったことから, 肺出血はレプトスピラの直接的な作用というよりはレプトスピラ感染にともなうハムスターの免疫応答により引き起こされた可能性が示唆された. また肺出血のみられない感染 96 時間後のメスあるいは感染 120 時間後に肺出血のみられなかったオスで一酸化窒素合成酵素遺伝子の発現が有意に上昇していたことから, 一酸化窒素が肺出血の抑制に関与している可能性が示唆された. [小泉信夫, 大西真 (細菌第一部) 富澤莉那 (東京農工大学) ]

### (2) 運動制御機構に関する研究

#### ア レプトスピラ運動変異体の解析

運動性を欠失した *L. biflexa* 変異体 LBMD4-3 の解析を行った. LBMD4-3 は *fcpA* 遺伝子にトランスポゾンが挿入された変異体であり, その菌体では両端のフックが消失し, また精製したべん毛は直鎖状に変形していた. LBMD4-3 は FcpA を発現しておらず, 精製べん毛ではべん毛タンパク質 FlaA1, FlaA2 および FlaB1 が検出されなかった. Bacterial two-hybrid法により大腸菌内で FcpA と FlaA1, FlaA2 の相互作用が明らかになった. また FcpA の FlaA1 および FlaA2 結合部位を同定した. [小泉信夫, 大西真 (細菌第一部), 佐々木祐哉 (東京農工大), 中村修一 (東北大学大学院), 川本晃大 (大阪大学大学院) ]

## 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 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, CRO 耐性淋菌の増加が懸念されている. 培養を基本とする従来の薬剤感受性試験法では CRO 耐性淋菌の検出に数日を要する. 本研究では, リアルタイム PCR 法による CRO 耐性淋菌の簡易検出系の構築を目指した. PBP2 をコードしている CRO 耐性淋菌の *penA* 遺伝子のトランスグリコシ-

ラーゼドメイン, トランスペプチダーゼドメインをコードする領域に各々フォワードプライマー, リバースプライマーを設定した. 蛍光標識は, *penA* 遺伝子の 933 番目を中心とした 23bp の DNA 配列を選択し 5' 側に FAM, 3' 側に TAMRA を付加し, TaqMan プローブとした. CRO 耐性淋菌 FC428 株の精製 gDNA をテンプレートにしたアッセイにおける最小検出濃度は 1pg (400 copy 相当分)であった. 更に, 近年における国内で分離された淋菌 205 株, 淋菌の近縁種である非病原性ナイセリア属菌 92 株の gDNA をテンプレートに, 同様のアッセイを行った結果, CRO 耐性淋菌 4 株のみが陽性反応を示した. False positive 反応が危惧された CRO 非感受性非病原性ナイセリア属菌については陽性反応を示さなかった. [志牟田 健, 井川 ジーン, 中山 周一, 大西 真]

#### イ 京都・大阪における薬剤耐性淋菌サーベイランス

昨年度に引き続き 2016 年 4 月から 2017 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 127 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 3.9%, 56.7%, 84.3%, 26.0 %, 85.0%, 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 剤のうち, ciprofloxacin, azithromycin の 2 剤の感受性率に若干改善が見られた反面, ceftriaxone で悪化が見られ感受性率 90% を割った. 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 株検出されたことを昨年度報告した. 今回はこの地域での我々の調査ではこのような株は検出されなかったが, 国内の他地域においてこの株のクローンと考えられる分離株の報告が有るため今後も注視する必要がある.

[中山周一, 松本喜美子, 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]

### 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

昨年度に引き続き, 2つの STI クリニックと共同で, 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.

2012 年 5 月のプロジェクト開始以来の総計で, 112 の PCR 陽性例中タイピングに成功したものは 70 例で, このうち 46 例は

海外でも最頻とされる 14d/f であった。他は 14d/c と 11o/c が 4 例ずつ、14e/f が 3 例、14d/g と 10b/a が 2 例ずつ、他はいずれもそれぞれ単一型であった。

[中山周一、井戸田一朗 (しらかば診療所)、本郷偉元 (武蔵野赤十字病院感染症科)、大西真]

#### イ 菌株の型別解析

梅毒トレポネーマは均質性がかなり高い上に培養不能であるため、その基本的生態に加えゲノム多様性についても検討が大きく立ち遅れている。近年、ヒトゲノムが多量に混在する検体から菌培養を経ずに目的菌ゲノムのみを濃縮し、事後に PCR を行い、次世代シーケンサーで多数菌株間での多様性解析を行う試薬キットが上市された。ただし、この有用性の高いキットにも、出発材料となる DNA 総量として比較的多量を要するという難点がある。

そこで我々はこのキットでの作業に入る前段階として、検体中の全 DNA をファージ由来の DNA polymerase とランダムヘキサマープライマーで増幅する試薬を流用し、増幅後のサンプルを上記試薬キットでの処理に使用することを着想した。

11 検体由来 DNA 及び前増幅でのエラー誘発検討のためのレファレンス株である Nichols 株オリジナル DNA と増幅後 DNA のペアを次世代シーケンサーで解析した。その結果、前段階増幅によるエラー誘発は認められないレベルであること、11 検体中、8 検体で多様性解析に十分なシーケンスリード数が得られた。今後、今回のプロトコルでは十分なリード数が得られない検体からの安定解析のため、上記キットのプロトコルの一部改変などの検討を行い、実際の解析をさらに検体数を増やして行う予定である。[中山周一、李謙一、森田昌知、大西真]

#### ウ マクロライド耐性型梅毒トレポネーマの 2016 年度における急激な増加

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ランスを行ってきた。2012 年から 2015 年に関しては 23S rRNA A2058G 変異解析が可能であった 27 検体中 3 検体 (11.1%) が耐性型、うち 2 検体が耐性型と強いリンクが有るとされる 14d/g であった。2016 年～2017 年 3 月の期間では、同じく解析ができた 12 検体中、7 検体 (58.3%) が耐性型であった。特に、分子タイピングで最頻である 14d/f での耐性型が 2015 年以前には検出されなかったものが、2016 年以降は逆に 14d/f は全て耐性型となっている点が着目される。また、解析成功検体の過半数が耐性であることから、現状では梅毒治療には azithromycin が無効と判断すべき状態である

(なお、2017 年 4 月以降も調査を続行しており、7 月末現在暫定で 2016 年以降の耐性率は 73.3%まで上昇している)。

[中山周一、井戸田一朗 (しらかば診療所)、本郷偉元 (武蔵野赤十字病院感染症科)、大西真]

#### エ 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、抗体検査に加えて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。2016 年度においては感染後数ヶ月という速さで脳内にゴム種ができた疑い例、及び、胃壁における梅毒感染疑い例についての依頼事案で PCR 陽性結果が得られ、病原体ベースで特定組織での梅毒トレポネーマ DNA の存在を確定できた。後者については感染病理部のご協力のもと組織免疫染色で菌体自体の存在も確定できた。[中山周一、片野晴隆 (感染病理部)、小泉祐介 (愛知医科大学)、伊東直哉 (静岡がんセンター)、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 CSP 依存クオラムセンシングに対するフルクタナーゼの抑制機構

*Streptococcus mutans* は、歯面上の唾液蛋白質と相互作用し、それをきっかけとして口腔バイオフィームを形成する細菌であり、う蝕原因菌の一つとして考えられている。*S. mutans* は、菌が増殖しバイオフィームを形成すると、菌の密集領域でクオラムセンシングが起こり、菌が生き残るための活性が起こる。我々の以前の研究により口腔常在菌である *Streptococcus salivarius* の産生するフルクタナーゼ (FruA) は、Competence Stimulating Peptide (CSP) 依存クオラムセンシング活性を阻害し、バクテリオシン活性や遺伝子の取り込みを抑制することを明らかにした。今年度は、その抑制メカニズムを解析した。その結果、FruA は CSP と結合することが明らかとなった。FruA は、CSP と結合することで CSP 活性を抑制することが考えられた。[泉福英信、鈴木雄佑、大西 真]

##### イ Raffinose を基質とした *Streptococcus mutans* バイオフィーム形成の検討

昨年に引き続き、ヒトが代用甘味料として摂取するオリゴ糖に着目し、*S. mutans* のバイオフィーム形成へのオリゴ糖 (Raffinose) の影響を検討した。0.25% raffinose が含まれる Tryptic Soy Broth (TSB) 培地において、*S. mutans* のバイオフィームが観察された。*S. mutans* のバイオフィームは、主に細

菌とフルクタンと細胞外 DNA(eDNA)との細胞外マトリックスにより構成されていた。このバイオフィーム形成には、*S. mutans* の疎水性に起因していることが明らかとなった。この疎水性は、TSB に含まれた微量のスクロースを利用して、グルコシルトランスフェラーゼを介して誘導されることが考えられた。*S. mutans* の疎水性が高まり、凝集、eDNA の産生が起こり、eDNA とフルクタンが混合し粘稠性が増加、その結果、初期付着量の増加、バイオフィーム形成量の上昇が起こることが考えられた。[泉福英信、永沢亮、大西 真]

ウ 細胞外 DNA(eDNA)による *Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成

*Streptococcus mutans* の eDNA によるバイオフィーム形成メカニズムを詳細に明らかにする目的で本研究を行った。まず2種類の DNA を抽出した。一つは精製 DNA。もう一つは粗抽出 DNA。粗抽出 DNA には蛋白質が多く含まれていたが、精製 DNA には蛋白質が含まれていなかった。粗抽出 DNA は、0.05 ng/ml~3.1 ng/ml で *S. mutans* UA159. *gtfB/C* に加えると、ヒト唾液をコートしたプレートにおいて、有意にバイオフィームを形成させた。しかし、同じ濃度で加えた精製 DNA はバイオフィームを形成させなかった。この粗抽出 DNA に蛋白分解酵素を事前に加え処理すると、形成量が半分程度に減少した。DNase で処理しても、有意に形成量が減少した。eDNA によるバイオフィーム形成には、蛋白質の存在が重要であることが明らかとなった。[泉福英信、永沢亮、大西 真]

エ Polypyrrole の *Streptococcus* のバイオフィーム形成への効果

Polypyrrole は、連続したカチオン(陽電荷)と電荷のバランスを有する高分子化合物で電導性と安定性を持ち基板上で簡単な膜を作る物質である。この物質の *S. mutans* のバイオフィーム形成への効果を検討した。その結果、ヒト唾液のコートプレートにおいて、0.002~0.016% の Polypyrrole は、*S. mutans* UA159. *gtfB/C* のバイオフィーム形成を著しく誘導した。*S. mutans* UA159. *gtfB/C* は、非水溶性グルカンを作る酵素を分泌できないため sucrose が含まれた培地でグルカンに依存したバイオフィームを形成することができない。この *S. mutans* UA159. *gtfB/C* に対して、ある一定の濃度の Polypyrrole は、グルカンに依存しないバイオフィーム形成を誘導した。陽電荷を表出する Polypyrrole のような長鎖構造体は、非水溶性グルカンに依存しないバイオフィームを誘導する際の重要な構造であることが示唆された。[泉福英信、大西 真]

オ *Actinomyces oris* のバイオフィーム形成に対する短鎖脂

肪酸の影響の検討

*Actinomyces oris* は *Actinomyces naeslundii* の遺伝種であり、線毛を介して歯面への初期付着やバイオフィーム形成及び他の口腔内細菌と共凝集する。短鎖脂肪酸の一つである酪酸(SCFAs)は、*A. naeslundii* のバイオフィーム形成の促進や初期付着菌量を増加させることが報告されている。*A. oris* のバイオフィーム形成メカニズムを明らかにするために、*A. oris* 及び線毛遺伝子欠損株 ( $\Delta fimA$ ,  $\Delta fimB$ ,  $\Delta fimP$ ,  $\Delta fimQ$ ) を用いて、初期付着菌及び口腔バイオフィーム形成に対して、SCFAs が与える影響について検討を行った。6.25 mM SCFAs は *A. oris* NG4 株と  $\Delta fimA$  のバイオフィーム形成を促進させず、NG4 株では酪酸、ギ酸、吉草酸が、 $\Delta fimA$  ではギ酸、プロピオン酸、吉草酸により阻害された。しかし、初期付着実験では 60 mM SCFAs は NG4 株の初期付着量を増加させる傾向にあることが認められた。しかし、 $\Delta fimA$  では若干の増加を認めたが、 $\Delta fimQ$  では増加を認めなかった。*A. oris* は、*A. naeslundii* と異なり、SCFAs によるバイオフィーム形成の促進効果は認められなかったが、初期付着量を増加させた。その増加には、*fimQ* が関与していた。[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) 歯周病予防に関する研究

ア マウスにおける歯周病細菌外膜ヴェシクルの複合的経鼻免疫による粘膜ワクチン効果

グラム陰性細菌は、外膜ヴェシクル(OMV)と呼ばれるナノサイズの小胞を菌体外へ放出する。OMV は種々の細胞構成要素を含有し、構造安定性も高いため、新規ワクチン抗原として応用が期待されている。本研究では、主要な歯周病細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) 及び *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) の OMV をマウスに経鼻免疫し、抗体産生を評価した。OMV は定常期初期の細菌の培養上清から精製し、マウスに経鼻免疫した。Pg と Aa の両方の OMV を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ることが明らかになった。特に、Pg-OMV 単独投与では少なかった Pg 特異的な抗体の産生量が、Aa-OMV を併用するとその投与量依存的に増大し、1  $\mu$ g で最大となった。一方で、Aa-OMV は単独でもその投与量に依存して Aa 特異的な抗体産生を誘導し、高いセルフアジュバント活性を示した。以上より、これら歯周病細菌 OMV の複合的経鼻免疫の優位性、粘膜ワクチンとして応用可能性が示唆された。[平山悟、泉福英信、大西真、中尾龍馬]

イ プロポリス由来化合物による歯周病細菌に対する作

## 用の検討

健康食品であるプロポリスは *P. gingivalis* に対して抗菌性を示す。本研究では、プロポリスのエタノール粗抽出物から *P. gingivalis* に対する抗菌活性を示す化合物 A, B, C の 3 種を同定した。そして、これら化合物による細菌表層への作用の詳細を、高速原子間力顕微鏡観察や膜電位アッセイにより調べた。化合物 A と B はプロポリスに多く含有される桂皮酸誘導体であり、いずれも *P. gingivalis* に対して静菌的に作用し、細胞表層に次々と小胞を形成した。一方で、化合物 C は殺菌的作用を示し、*P. gingivalis* 菌体を迅速に破裂させた。これら 3 種の化合物はいずれも、細菌の細胞質膜の透過性亢進と脱分極誘導の作用を有しており、この作用は特に化合物 C において顕著であった。[中尾龍馬、吉益由莉、池田剛 (崇城大学) 酒井信明・八木明 (オリンパス)、古川壮一・森永康 (日本大学)]

## ウ ウェルシュ菌のメンブランヴェシクル(MV)の動物細胞に対する影響に関する研究

ウェルシュ菌の MV はマウス培養細胞に対して炎症性サイトカインの分泌を促進すること、また、マウスに対する MV 免疫は血中および粘膜面におけるウェルシュ菌特異的な IgG および IgA 産生を促進することが明らかとなった。MV の構成成分を解析したところ、細胞壁成分を豊富に含むことが明らかとなった。一方で、精製した本菌のペプチドグリカン (PG) はサイトカイン誘導性を示さなかった。MV を免疫したマウスより単離した血清 IgG を用いたウエスタン解析の結果、MV に含まれる複数のリポタンパク質に対する結合性が認められた。以上のことより、MV に含まれるリポタンパク質が免疫誘導性に関与すると考えられた。

[尾花望、中尾龍馬、永山恭子、泉福英信、野村暢彦 (筑波大学) ]

## 3. 癌手術前後の口腔内微生物叢の変化の研究

30の国立病院において癌手術を行う患者を対象に、癌手術前後の日と見菌(*Staphylococcus*, *Candida*)、嫌気性菌、総菌の口腔内微生物量の測定を培養法にて行った。口腔粘膜をスワブしたサンプル中の好気性菌、嫌気性菌、*Staphylococcus*, *Candida* の菌量の変動は、病院によって異なることが明らかとなった。よって、癌手術後必ず菌量が上昇する結果にはならなかった。口腔ケアのやり方などが病院によって異なっていることが影響している可能性がある。今後、個々被験者の口腔内微生物量の変化を検討し、口腔ケアの方法や手術方法などの違いなどを考慮に入れて、最終的な

口腔微生物叢への癌手術の影響を明らかにする予定である。[泉福英信、岩節博史 (神奈川歯科大学)、大西真]

## レファレンス業務

### I. 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 204 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  $\beta$ -hemolytic *Streptococci* in Japan]

### II. 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]

### III. 大腸菌に関するレファレンス業務

腸管出血性大腸菌 (EHEC) 検査・診断マニュアルの改訂 2017 年 2 月に改訂を行い、感染研ホームページ上

(<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/EHEC20170215.pdf>) で公開した [改訂版著者: 勢戸和子 (大阪府)、井口純 (宮崎大)、磯部順子 (富山県)、原田哲也 (大阪府)、平井晋一郎 (千葉県)、横山栄二 (千葉県)、小西典子 (東京都)、甲斐明美、緒方喜久代、伊豫田淳]。

## 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 に関する共同研究を開始した。検査法の指導とあわせ、疫学情報収集を実施した。

II. PulseNet Asia Pacific 会議出席

PulseNet Asia Pacific Meeting Jan 4-5<sup>th</sup> 2017 Hong Kong に出席し、日本国内の食品由来感染症集団発生における分子型別の利活用に関して情報提供を行った。

## 研修業務

### I. 腸管感染症に関する研修

1 泉谷秀昌:改正されたサルモネラ試験法について。食品衛生登録検査機関協会、平成 28 年度微生物研修会、2016 年 11 月、東京都。

2 泉谷秀昌:腸管出血性大腸菌の MLVA 解析。平成 28 年度希少感染症診断技術研修会、2017 年 2 月、東京都。

3. 平成 28 年度関東甲信静ブロックレファレンスセンター連絡会議、「EHEC を中心とした大腸菌レファレンスセンターについて」、2016 年 12 月、千葉市環境保健研究所 [伊豫田淳]

### II 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 2 回節足動物媒介性感染症講習会。2016 年 6 月。東京 (川端寛樹)

### III 梅毒に関する研修

安全な輸血講習会コースにおいて梅毒の講義を行った。(中山周一)

### IV. レジオネラ属菌に関する研修

1. レジオネラ属菌検査セミナー「レジオネラ属菌検査の現状と今後の方向性」、2016 年 7 月、東京 [前川純子]

2. 岡山県レジオネラ属菌対策研修会「レジオネラ症の最近の話題と動向」、2016 年 7 月、岡山市 [倉 文明]

3. 国立保健医療科学院平成 28 年度新興再興感染症技術研修「レジオネラ感染症総論」「レジオネラ検査法」、2016 年 10 月、武蔵村山市 [倉 文明、前川純子]

4. 国立保健医療科学院平成 28 年度短期研修 環境衛生監視指導研修「レジオネラ属菌の検査と対策」、2016 年 11 月、和光市 [倉 文明]

5. 平成 28 年度レジオネラ対策講習会(東京都多摩府中保健所)「レジオネラ症集団感染事例」、2017 年 2 月、府中市 [前川純子]

6. 平成 28 年度生活衛生関係技術担当者研修会(厚生労働省健康局生活衛生課)「レジオネラ症の国際動向」、2017 年 2 月、東京都 [倉 文明]

7. 2016 年度 レジオネラ属菌検査セミナー(日水製薬株式会社)「レジオネラ属菌に関する ISO の動向、外部精度管理の重要性」、2017 年 3 月、東京都 [倉 文明]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

1) Murai M, Moriyama H, Hata E, Takeuchi F, Amemura-Maekawa J. Variation and association of fibronectin-binding protein genes *fnbA* and *fnbB* in *Staphylococcus aureus* Japanese isolates. *Microbiol Immunol*. 2016. 60:312-25.

2) Kuroki T, Amemura-Maekawa J, Ohya H, Furukawa I, Suzuki M, Masaoka T, Aikawa K, Hibi K, Morita M, Lee K, Ohnishi M, Kura F. Outbreak of Legionnaire's disease caused by *Legionella pneumophila* serogroups 1 and 13. *Emerg Infect Dis*. 2017. 23:349-351.

3) Ikebe T, Matsumura T, Nihonmatsu H, Ohya H, Okuno R, Mitsui C, Kawahara R, Kameyama M, Sasaki M, Shimada N, Ato M, Ohnishi M. Spontaneous mutations in *Streptococcus pyogenes* isolates from streptococcal toxic shock syndrome patients play roles in virulence. *Sci Rep* 2016, 6: 28761. doi:10.1038/srep28761

4) Suzuki J, Hashino M, Matsumoto S, Takano A, Kawabata H, Takada N, Andoh M, Oikawa Y, Kajita H, Uda A, Watanabe K, Shimizu S, Watarai M. Detection of *Francisella tularensis* and analysis of bacterial growth in ticks in Japan. *Letter in Applied Microbiology*. 2016. 63(4): 240-246.

5) Sakakibara Y, Sen E, Sato K, Kawabata H, Ohashi N, Masuzawa T. Detection and characterization of emerging relapsing fever pathogen, *Borrelia miyamotoi*, from Ixodes ricinus tick on rural Trakya (Thrace) region of north western Turkey. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*. 2016. 16(12): 797-799.

6) Hotta A, Tanabayashi K, Fujita O, Shindo J, Park CH, Kudo N, Hatai H, Oyamada T, Yamamoto Y, Takano A, Kawabata H, Sharma N, Uda A, Yamada A, Morikawa S. Survey of *Francisella tularensis* in Wild Animals in the Endemic Areas in Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2016. 69(5): 431-434.

7) Oba M, Omatsu T, Takano A, Fujita H, Sato K, Nakamoto A, Takahashi M, Takada N, Kawabata H, Ando S, Mizutani T. A Novel Bunyavirus Isolated from the soft tick, *Argas vespertilionis*, in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2016. 79(3): 443-445.

8) Khasnatinov MA, Danchinova GA, Takano A, Kawabata H, Masuzawa T. Prevalence of *Borrelia miyamotoi* in *Ixodes*

- persulcatus* in Irkutsk Region, Russia. Ticks and Tick-borne Diseases. 2016. 7(2): 394-397.
- 9) Toyomane K, Konnai S, Niwa A, Githaka WN, Isezaki M, Yamada S, Ito T, Takano A, Ando S, Kawabata H, Murata S, Ohashi K. Identification and the preliminary in vitro characterization of IRIS homologue from salivary glands of *Ixodes persulcatus* Schulze. Ticks Tick-Borne Dis. 2016. 7(1): 119-125.
- 10) Kim KS, Inoue K, Kabeya H, Sato S, Takada T, Pangjai D, Qiu SH, Fujita H, Kawabata H, Takada N, Kariwa H, Maruyama S. Prevalence and diversity of *Bartonella* species in wild small mammals in Asia. Journal of Wildlife Diseases. 2016. 52(1): 10-21.
- 11) Nakayama S, Shimuta K, Furubayashi K, Kawahata T, Unmeo M, Ohnishi M. New ceftriaxone- and multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain with a novel mosaic *penA* gene isolated in Japan. Antimicrob. Agents Chemother. 60:4339-4341. 2016.
- 12) Itoh N, Katano H, Nakayama S, Kurai H. Gastric syphilis. Internal Medicine. In press (Oct 2016 accepted).
- 13) Akther F, Neogi SB, Chowdhury WB, Sadique A, Islam A, Akhter MZ, Johura FT, Ohnishi M, Watanabe H, Boucher Y, Alam M. Major tdx (+) *Vibrio parahaemolyticus* serotype changes temporally in the Bay of Bengal estuary of Bangladesh. Infect Genet Evol. 2016 41:153-9.
- 14) Unemo M, Golparian D, Sánchez-Busó L, Grad Y, Jacobsson S, Ohnishi M, Lahra MM, Limnios A, Sikora AE, Wi T, Harris SR. The novel 2016 WHO *Neisseria gonorrhoeae* reference strains for global quality assurance of laboratory investigations: phenotypic, genetic and reference genome characterization. J Antimicrob Chemother. 2016 71: 3096-310.
- 15) Ishikane M, Arima Y, Itoda I, Takahashi T, Yamagishi T, Matsui T, Sunagawa T, Oishi K, Ohnishi M. Responding to the syphilis outbreak in Japan: piloting a questionnaire to evaluate potential risk factors for incident syphilis infection among men who have sex with men in Tokyo, Japan, 2015. Western Pac Surveill Response J. 2016;7:36-39.
- 16) Johura FT, Parveen R, Islam A, Sadique A, Rahim MN, Monira S, Khan AR, Ahsan S, Ohnishi M, Watanabe H, Chakraborty S, George CM, Cravioto A, Navarro A, Hasan B, Alam M. Occurrence of Hybrid *Escherichia coli* Strains Carrying Shiga Toxin and Heat-Stable Toxin in Livestock of Bangladesh. Front Public Health. 2017 4:287.
- 17) Tsuboi M, Koizumi N, Hayakawa K, Kanagawa S, Ohmagari N, Kato Y. Imported *Leptospira licerasiae* infection in traveler returning to Japan from Brazil. Emerg Infect Dis. 2017. 23(3):548-549.
- 18) Villanueva MA, Mingala CN, Balbin MM, Nakajima C, Isoda N, Suzuki Y, Koizumi N. Molecular epidemiology of pathogenic *Leptospira* spp. among large ruminants in the Philippines. J Vet Med Sci. 2016. 78(11):1649-1655.
- 19) Iwasaki H, Chagan-Yasutan H, Leano PS, Koizumi N, Nakajima C, Taurustiati D, Hanan F, Lacuesta TL, Ashino Y, Suzuki Y, Gloriani NG, Telan EF, Hattori T. Combined antibody and DNA detection for early diagnosis of leptospirosis after a disaster. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016. 84(4):287-91.
- 20) Senpuku H, Miyazaki H, Yoshihara A, Yoneda S, Narisawa N, Kawarai T, Nakagawa N, Miyachi M, Tada A, Yoshida G, Shimada M, Ohashi M, Nishimuta M, Kimura Y, Yoshitake Y. CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>high</sup> and CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> cell percentages associated with maximum knee extensor strength and incidence of death in elderly. SpringerPlus. 2016. 5: 244.
- 21) Kawarai T, Narisawa N, Yoneda S, Tsutsumi Y, Ishikawa J, Hoshino Y, Senpuku H. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation using extracts from Assam tea compared to green tea, Archives of Oral Biology, 2016, 68:73-82.
- 22) Nakao R, Dongying D, Ohnishi M, Hasegawa H, Senpuku H. Assessment of outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* as a mucosal immunogen candidate for development of periodontal disease vaccine. Vaccine. 2016. 34(38):4626-4634.
- 23) Obana N, Nakao R, Nagayama K, Nakamura K, Senpuku H, Nomura N. Immunoactive clostridial membrane vesicle production is regulated by a sporulation factor. Infect and Immunity. 2017. 21: 85(5)
- 24) Kosaka M, Senpuku H, Hagiwara A, Nomura Y, Hanada N. Oral infection, periodontal diseases and cytokine production in adults with down syndrome. Medical Research Archives. 2017. 5: 1-16.
- 25) Ichinosawa T, Ito T, Yonezawa H, Senpuku K, Shimizu T. Molecular interaction of the analogous peptide SspB(390-T400K-402) derived from *Streptococcus gordonii* surface protein peptide with periodontal bacteria. International Journal of Oral Medical Science. 2017. 15: 160-167.
- 26) Nagasawa R, Sato T, Senpuku H. Raffinose induces biofilm formation by *Streptococcus mutans* in low

concentrations of sucrose by increasing production of extracellular DNA and fructan. *Applied Environmental Microbiology*. 2017. in press.

27) Nakao R, Hasegawa H, Bai D, Ohnishi M, Senpuku H : Assessment of outer membrane vesicles of periodontopathic bacterium *Porphyromonas gingivalis* as possible mucosal immunogen : *Vaccine*. 2016. 34(38):4626-34

28) Kariu T, Nakao R, Ikeda T, Nakashima K, Potempa J, Imamura T : Inhibition of gingipains and *Porphyromonas gingivalis* growth and biofilm formation by prenylated flavonoids : *Journal of Periodontal Research*. 2017. 52(1):89-96.

29) Mitobe J, Sinha R, Mitra S, Nag D, Saito N, Shimuta K, Koizumi N, Koley H: An attenuated *Shigella* mutant lacking the RNA-binding protein Hfq provides cross protection against *Shigella* strains of broad serotype PLoS Negl Trop Dis. 2017 Jul 20;11(7):

30) Fukusumi M, Kamiya H, Takahashi H, Kanai M, Hachisu Y, Saitoh T, Ohnishi M, Oishi K, Sunagawa T. National surveillance for meningococcal disease in Japan, 1999-2014. *Vaccine* 2016 34(34):4068-71

31) Lee DK, Kim EJ, Kilgore P, Takahashi H, Ohnishi M, Tomono J, Miyamoto S, Omagari D, Kim DW, Seki M. A Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Serogroup Identification of *Neisseria meningitidis* in Cerebrospinal Fluid. *Frontiers in Microbiology* 2016 6:1548.

32) Yanagisawa T, Takahashi H, Suzuki T, Masuda A, Dohmae N, Yokoyama S. *Neisseria meningitidis* Translation Elongation Factor P and Its Active-Site Arginine Residue Are Essential for Cell Viability. *Plos One* 2016 11(2): e0147907.

33) Takahashi H, Haga M, Sunagawa T, Saitoh T, Kitahara T, Matsumoto S, Ohnishi M. Meningococcal carriage rates in healthy individuals in Japan determined using Loop-Mediated Isothermal Amplification and oral throat wash specimens. *J Infect Chemother*.2016. 22(7):501-4.

34) Njamkepo E, Fawal N, Tran-Dien A, Hawkey J, Strockbine N, Jenkins C, Talukder KA, Bercion R, Kuleshov K, Kolínská R, Russell JE, Kaftyeva L, Accou-Demartin M, Karas A, Vandenberg O, Mather AE, Mason CJ, Page AJ, Ramamurthy T, Bizet C, Gamian A, Carle I, Sow AG, Bouchier C, Wester AL, Lejay-Collin M, Fonkoua MC, Hello SL, Blaser MJ, Jernberg C, Ruckly C, Mérens A, Page AL, Aslett M, Roggentin P, Fruth A, Denamur E, Venkatesan M, Bercovier H, Bodhidatta L, Chiou CS, Clermont D, Colonna B, Egorova S, Pazhani GP, Ezernitchi AV, Guigon G, Harris

SR, Izumiya H, Korzeniowska-Kowal A, Lutyńska A, Gouali M, Grimont F, Langendorf C, Marejková M, Peterson LA, Perez-Perez G, Ngandjio A, Podkolzin A, Souche E, Makarova M, Shipulin GA, Ye C, Žemličková H, Herpay M, Grimont PA, Parkhill J, Sansonetti P, Holt KE, Brisse S, Thomson NR, Weill FX. Global phylogeography and evolutionary history of *Shigella dysenteriae* type 1. *Nat Microbiol*. 2016; 1:16027. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.27. PubMed PMID: 27572446.

35) Nguyen DT, Ngo TC, Le TH, Nguyen HT, Morita M, Arakawa E, Ohnishi M, Nguyen BM, Izumiya H. Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* O1 in northern Vietnam (2007-2009), using multilocus variable-number tandem repeat analysis. *J Med Microbiol*. 2016; 65(9):1007-12.

36) Tamamura Y, Uchida I, Tanaka K, Nakano Y, Izumiya H, Takahashi T, Kikuchi N. A case study on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium at a dairy farm associated with massive sparrow death. *Acta Vet Scand*. 2016; 58:23.

37) Chiou CS, Izumiya H, Kawamura M, Liao YS, Su YS, Wu HH, Chen WC, Lo YC. The worldwide spread of ciprofloxacin-resistant *Shigella sonnei* among HIV-infected men who have sex with men, Taiwan. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22(4):383.e11-6.

38) Nguyen VH, Pham HT, Diep TT, Phan CD, Nguyen TQ, Nguyen NT, Ngo TC, Nguyen TV, Do QK, Phan HC, Nguyen BM, Ehara M, Ohnishi M, Yamashiro T, Nguyen LT, Izumiya H. *Vibrio cholerae* O1 El Tor from southern Vietnam in 2010 was molecularly distinct from that present from 1999 to 2004. *Epidemiol Infect*. 2016; 144(6):1241-7.

39) Nishiumi, F., Ogawa, M., Nakura, Y., Hamada, Y., Nakayama, M., Mitobe, J., Sakai, N., Hiraide, A., Takeuchi, M., Yoshimori, T. and Yanagihara, I. Intracellular fate of *Ureaplasma parvum* entrapped by host cellular autophagy. *Microbiology Open*. doi: 10.1002/mbo3.441 (2017)

40) Klionsky DJ, Ogawa, M. et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy*. 12:1-222. (2016)

40) Tsutsuki H, Yahiro K, Ogura K, Ichimura K, Iyoda S, Ohnishi M, Nagasawa S, Seto K, Moss J, Noda M. Subtilase cytotoxin produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* induces stress granule formation. *Cell Microbiol*. 2016, 18(7), 1024-40.

41) Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Nishii H, Ohnishi M, Mekata H, Ogura Y, Hayashi T. Six Novel O Genotypes from Shiga

Toxin-Producing *Escherichia coli*. Front Microbiol. 2016, 7: 765.

42) Ishijima N, Lee KI, Kuwahara T, Nakayama-Imahiji H, Yoneda S, Iguchi A, Ogura Y, Hayashi T, Ohnishi M, Iyoda S. Identification of a New Virulent Clade in Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11/H- Sequence Type 29. Sci Rep. 2017, 7: 43136.

43) Kabeya H, Sato S, Oda S, Kawamura M, Nagasaka M, Kuranaga M, Yokoyama E, Hirai S, Iguchi A, Ishihara T, Kuroki T, Morita-Ishihara T, Iyoda S, Terajima J, Ohnishi M, Maruyama S. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from feces of sika deer (*Cervus nippon*) in Japan using PCR binary typing analysis to evaluate their potential human pathogenicity. J Vet Med Sci. 2017, 79(5): 834-41.

44) Ito S, Hanaoka N, Shimuta K, Seike K, Tsuchiya T, Yasuda M, Yokoi S, Nakano M, Ohnishi M, Deguchi T. Microbiological etiologies, including bacterial, viral, and protozoan species, and demographic and clinical features of male non-gonococcal urethritis. International Journal of Urology. 2016; 23: 325-331.

45) Morita-Ishihara T, Iyoda S, Iguchi A, Ohnishi M. Secondary Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infection, Japan, 2010-2012. Emerg Infect Dis. 22:2181-2184. 2016.

46) Matono T, Kato Y, Morita M, Izumiya H, Yamamoto K, Kutsuna S, Takeshita N, Hayakawa K, Mezaki K, Kawamura M, Konishi N, Mizuno Y, Kanagawa S, Ohmagari N. Case series of imported enteric fever at a referral center in Tokyo, Japan: antibiotic susceptibility and risk factors for relapse. Am J Trop Med Hyg. 95: 19-25. 2016.

47) Katanami Y, Kutsuna S, Morita M, Izumiya H, Ohnishi M, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kato Y, Ohmagari N. Six cases of Paratyphoid fever due to *Salmonella* Paratyphi A in travelers returning from Myanmar between July 2014 and August 2015. Am J Trop Med Hyg. 95: 571-573. 2016.

## 2. 和文発表

1) 倉 文明：特集：食品製造、生活環境における ATP 法と可能性、入浴施設等のレジオネラ対策に ATP 検査法を活用する、クリーン・テクノロジー 2017. 27:27-31.

2) 今野貴之、高橋志保、鈴木純恵、樫尾拓子、熊谷優子、木内雄、石井淳、前川純子、大西 真、倉 文明：2016 年に多発傾向がみられたレジオネラ症の解析－秋田県、病原微生物検出情報 2017. 38:22.

2) 高橋英之、大西真：髄膜炎菌感染症 感染症 46(2)：34-39, 2016.

3) 泉谷秀昌：標準法から通知法に採用されたサルモネラ属菌試験法について。食品衛生研究、第 66 巻第 4 号、11-15、2016 年 4 月。

4) 泉谷秀昌、石原朋子、李謙一、伊豫田淳、大西真：2015 年に分離された腸管出血性大腸菌 O157、O26 および O111 株の MLVA 解析について。IASR、第 37 巻、93-95、2016 年 5 月

5) 荒川英二  
体と心 保健総合大百科<中・高校編>2017 年間連載「感染症」 p. 110 7 赤痢、コレラ) 少年写真新聞社

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

1) Amemura-Maekawa J, Chida K, Ohya H, Isobe J, Kanatani J-I, Tanaka S, Nakajima H, Yoshino S, Ohnishi M, Kura F. Characterization for clinical *Legionella* species by *Legionella* Reference Center in Japan. ESGLI 2016. Amsterdam, September 2016.

2) Kuroki T, Watanabe Y, Teranishi H, S. Izumiya M, Amemura-Maekawa J, and Kura F. *Legionella* prevalence and risk of legionellosis in Japanese households. ESGLI 2016. Amsterdam, September 2016.

3) Nakayama S, Shimuta K, Furubayashi K, Kawahata T, Unemo M, Ohnishi M. New ceftriaxone- and multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain with a novel mosaic *penA* gene isolated in Japan. 19<sup>th</sup> IUSTI Asia-Pacific Conference. 2016. Dec. Okayama.

4) Tahara H, Koizumi N, Sasaki Y, Kasuga K, Kawamoto A, Kudo S, Nakamura S. Swimming and gliding motilities of the spirochete *Leptospira*. BLAST XIV, USA, January 2017.

5) Nakao R, Ogata Y, Shimizu T, Senpuku H. Therapeutic implications of propolis and curry leaf against periodontitis. 94<sup>th</sup> General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, Seoul, Republic of Korea, June 22-25, 2016.

6) Saeki Y, Mohri S, Tsugane T, Suzuki Y, Arai T, Ochiai K, Senpuku H. Effects of Potherb mustard extract on *Actinomyces naeslundii* biofilm formation. 95<sup>th</sup> General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, San Francisco, USA, March 22-25, 2017.

7) Ishikawa M, Senpuku H, Shibuya K, Nakasugi T,



Murata T, Hanada N. Effects of black cumin seed oil on *Streptococcus mutans* biofilm. San Francisco, USA, March 22-25, 2017.

8) Suzuki I, Shimizu T, Senpuku H. Effects of SCFAs on attachment and biofilm of *Actinomyces oris*. 95<sup>th</sup> General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, San Francisco, USA, March 22-25, 2017.

9) Nagasawa R, Sato T, Senpuku H. Raffinose induces extracellular DNA-dependent biofilm formation of *Streptococcus mutans*. 95<sup>th</sup> General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, San Francisco, USA, March 22-25, 2017.

10) Nakao R, Hasegawa H, Ohnishi M, Senpuku H : Assessment of outer membrane vesicle of *Porphyromonas gingivalis* as a mucosal immunogen candidate for development of a periodontal disease vaccine : 10th Vaccine Congress. Amsterdam, Netherland, Sep. 2016.

11) Nagayama K, Obana N, Nakao R, Senpuku H, Nakamura K, Nomura N : Functional analysis of membrane vesicles produced by gram-positive intestinal bacteria : Interdisciplinary Workshop on Science and Patents (IWP) 2016 , Tsukuba Japan, Sep. 2016.

12) Nagayama K, Obana N, Nakao R, Senpuku H, Nakamura K, Nomura N : A feasible intranasal vaccine strategy using bacterial outer membrane vesicles: -the safety and cross-protective immunity- : Keystone Symposia, Translational vaccinology for global health, London, UK. Oct. 2016.

13) Nakao R, Hasegawa H, Yoshimasu Y, Ohnishi M, Senpuku H : Assessment of outer membrane vesicle of *Porphyromonas gingivalis* as a mucosal immunogen candidate for development of a periodontal disease vaccine: ASM Conference on antibacterial development. Washington DC, USA. Dec. 2016.

14) Nakao R, Hasegawa H, Yoshimasu Y, Ohnishi M, Senpuku H Vaccine Efficacy and Safety of Outer Membrane Vesicles Derived from a Major Periodontopathic Bacterium, *Porphyromonas gingivalis* : Joint Meeting of Umeå University and Karolinska Institutet. Umeå, Sweden. Mar. 2017.

15) Tahahashi H, Yanagisawa T, KW Kim, Yokoyama S, Ohnishi M. Multiple Functions of Glutamate Uptake via Meningococcal GltT-GltM L-Glutamate ABC

Transporter in *Neisseria meningitidis* Internalization into Human Brain Microvascular Endothelial Cells. 2016 International Pathogenic Neisseria Conference, Manchester, 2016.

16) Ken Shimuta, Shu-ichi Nakayama, Tomoko Morita-Ishihara, Makoto Ohnishi: Characterization of azithromycin resistant *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated in Kyoto and Osaka, Japan, 2010-2015, 19th IUSTI Asia-Pacific Conference, Okayama, December, 2016.

## 2. 国内学会

1) 黒木俊郎, 大屋日登美, 鈴木美雪, 政岡智佳, 古川一郎, 前川純子, 倉 文明. 医療機関の給水系におけるレジオネラ属菌汚染実態調査. 第 90 回日本感染症学会学術講演会. 2016 年 4 月, 仙台.

2) 杉山寛治, 長岡宏美, 佐原啓二, 和田裕久, 土屋祐司, 市村祐二, 青木信和, 神野透人, 小坂浩司, 泉山信司, 八木田健司, 縣邦雄, 田中慶郎, 前川純子, 倉 文明. モノクロラミン消毒の事前適合性試験の提案. 日本防菌防黴学会第 43 回年次大会. 2016 年 9 月, 東京.

3) 泉山信司, 倉 文明, 大屋日登美, 黒木俊郎 : 病院の蛇口におけるレジオネラ汚染の検出. 第 16 回環境技術学会年次大会. 2016 年 9 月, 兵庫県.

4) 黒木俊郎, 泉山信司, 大屋日登美, 鈴木美雪, 前川純子, 倉 文明. 医療機関の給水系におけるレジオネラ属菌汚染調査. 日本水道協会平成 28 年度全国会議 (第 89 回総会・水道研究発表会). 2016 年 11 月, 京都.

5) 村井美代, 田野ルミ, 前川純子. 黄色ブドウ球菌の咽頭保菌の実態および影響要因. 第 90 回日本細菌学会総会. 2017 年 3 月, 仙台.

6) 松村隆之, 池辺忠義, 大西真, 阿戸学. IL-6-deficient immature myeloid cells have no protective function against *Streptococcus* infection. 第 90 回日本細菌学会総会, 仙台, 2017 年.

7) 大西 真. 薬剤耐性淋菌の耐性獲得・伝播の分子機構 第 104 回日本泌尿器科学会総会. 2016 年 4 月 仙台

8) 大西 真. 性感染症の発生動向. 第 115 回日本皮膚科学会総会. 2016 年 6 月 京都

9) 大西 真. 薬剤耐性淋菌の現状と将来展望. 第 64 回化学療法学会総会. 2016 年 6 月 神戸

10) 大西 真. 淋菌の薬剤耐性進化-わが国の薬剤耐性菌 (AMR) アクションプランの中での位置付け-. 第 7 回東海 STI 研究会. 2016 年 9 月 名古屋

11) 大西 真. 増加する梅毒-忘れてはならない病気-.

- 日本性科学連合第17回性科学セミナー。2016年9月 長野
- 12) 大西 真。症例から学ぶ感染症セミナー 梅毒。第65回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第63回日本化学療法学会東日本支部総会。2016年10月 新潟
- 13) 大西 真。梅毒 -国内の現状-。第30回日本エイズ学会学術集会。2016年11月 鹿児島
- 14) 大西 真。淋菌の薬剤耐性化とそのメカニズム。日本性感染症学会第29回学術集会。2016年12月 岡山
- 15) 大西 真。性感染症の最近の話題～急増する梅毒を中心に疫学、臨床、病理、予防、治療を学ぶ～、平成28年度 福島県性感染症対策研修会、2017年3月 富山
- 18) 大西 真。注目の性感染症 -梅毒と淋菌感染症-、平成28年度富山県臨床衛生検査研修会、2017年3月 郡山
- 19) 川端寛樹。ダニ媒介性感染症。山形県獣医師会講演。2016年3月。山形。
- 20) 川端寛樹。 *Borrelia miyamotoi* disease (BMD)。第8回リケッチア臨床研究会。2016年1月。滋賀。
- 21) 川端寛樹。マダニ媒介性感染症。国立国際医療研究センター・厚生労働省共催 第2回節足動物媒介性感染症講習会。2016年6月。東京。
- 22) 川端寛樹。ボレリア感染症。第9回東海血流感染セミナー。2016年7月。名古屋。
- 23) 伊藤幸枝, 古野希和, Bazartseren B, Naranbaatar O, Yondonjants E, 川端寛樹, 高田伸弘, 安藤匡子, 藤田博己, 度会雅久, 下田宙, 前田健, 高野愛。国内およびモンゴル国にて採取したマダニにおける新興回帰熱群ボレリアの疫学調査研究。第159回日本獣医学会学術集会。2016年9月。藤沢。
- 24) 越智晶絵, 今内覚, 伊東拓也, 川端寛樹, 高野愛, 安藤秀二, 村田史郎, 大橋和彦。シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 由来 sialostatinL2 の機能解析。第159回日本獣医学会学術集会。2016年9月。藤沢
- 25) 川端寛樹, 佐藤(大久保)梢, 熊谷由美, 大西真。新興回帰熱 (*Borrelia miyamotoi* disease: BMD) の新規抗体検査系の確立のための基盤的研究。第159回日本獣医学会学術集会。2016年9月。藤沢
- 26) 佐藤(大久保)梢, 大西真, 川端寛樹。抗体調査により新たに見出された新興回帰熱 (*Borrelia miyamotoi* disease: BMD) の後向き疫学調査。第159回日本獣医学会学術集会。2016年9月。藤沢
- 27) 平良雅克, 川端寛樹, 藤田博己, 角坂照貴, 西條政幸, 安藤秀二。国内のマダニにおけるエーリキア属菌浸潤状況。第23回リケッチア研究会。2016年12月。東京
- 28) 高娃, 曹民治, 大橋典男, 川端寛樹, 安藤秀二。内モンゴル自治区におけるリケッチアとボレリア菌種の多様性に関する実態調査。第23回リケッチア研究会。2016年12月。東京。
- 29) 富澤莉那, 小泉信夫, 杉山広, 佐藤令一, 大西真。Gender difference of histopathology and cytokine gene expression in hamsters in *Leptospira* infection。第90回日本細菌学会総会, 仙台, 2017年3月。
- 30) 佐々木祐哉, 川本晃大, 春日紀恵, 中村修一, 佐藤令一, 大西真, 小泉信夫。Morphological and molecular characterization of a motility-defective mutant of *Leptospira biflexa*。第90回日本細菌学会総会, 仙台, 2017年3月。
- 31) 田原孟, 小泉信夫, 佐々木祐哉, 春日紀恵, 川本晃大, 中村修一。細胞表面上でのレプトスピラの滑走運動。第90回日本細菌学会総会, 仙台, 2017年3月。
- 32) 三戸部治郎, 小泉信夫, 志牟田健, Shih Ritam, Soma Mitra, Dhruvajyoti Nag, Hemanta Koley。汎赤痢菌群に作用するユニバーサル弱毒ワクチン株の開発。第90回日本細菌学会総会, 仙台, 2017年3月。
- 33) 富澤莉那, 杉山広, 佐藤令一, 大西真, 小泉信夫。レプトスピラ感染ハムスターの組織病理とサイトカイン遺伝子発現の雌雄間比較。第54回レプトスピラシンポジウム, 仙台, 2017年3月。
- 34) 佐々木祐哉, 川本晃大, 田原孟, 中村修一, 春日紀恵, 佐藤令一, 大西真, 小泉信夫。レプトスピラ運動変異体の形態学および分子生物学的解析。第54回レプトスピラシンポジウム, 仙台, 2017年3月。
- 35) 高部響介, 田原孟, 小泉信夫, 佐々木祐哉, 川本晃大, 西山慶吾, 工藤成史, 中村修一。レプトスピラ感染症における病原体の動的特性の関わり。第54回レプトスピラシンポジウム, 仙台, 2017年3月。
- 36) 永沢亮, 泉福英信, *Streptococcus mutans* の eDNA 依存的バイオフィーム形成に対するラフィノースの影響。第30回日本バイオフィーム学会、東京、2016年、7月。
- 37) 鈴木雄祐, 荒井俊明、小倉直美、近藤壽郎、泉福英信、*Streptococcus mutans* における Fructanase の CSP 依存的 Quorum sensing への影響。第58回歯科基礎医学会、札幌、2016年8月。
- 38) 中尾龍馬、泉福英信、殺菌性を有する食品を利用した歯周病細菌の制御に関する研究、第58回歯科基礎医学会、札幌、2016年8月。
- 39) 永山恭子、尾花 望、中尾龍馬、泉福英信、中村幸治、野村暢彦、*Clostridium perfringens* はメンブレンペシ

クルを介して宿主免疫応答を誘導する、第 31 回日本微生物生態学会、横須賀、2016 年 10 月。

40) 井上紗智、稲葉知大、尾花望、八幡穰、泉福英信、野村暢彦、*Streptococcus mutans* releases extracellular DNA in response to sucrose. 第 31 回日本微生物生態学会、横須賀、2016 年 10 月。

41) 井上紗智、稲葉知大、尾花望、八幡穰、泉福英信、野村暢彦、スクロースは *Streptococcus mutans* の細胞外 DNA 放出を誘導する。第 31 回日本微生物生態学会、日本農芸化学会関東支部会 2016、武蔵野、2016 年 10 月。

42) 永山恭子、尾花望、中尾龍馬、泉福英信、中村幸治、野村暢彦、ウェルシュ菌の膜小胞を介した宿主免疫応答誘導メカニズムの解析、日本農芸化学会 2017、京都、2017 年 3 月。

43) 泉福英信、永沢亮、鈴木雄祐、大西真、*Streptococcus mutans* のグルカン依存およびグルカン非依存バイオフィーム形成へのポリピロールの効果、第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月。第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月。

44) 平山悟、泉福英信、大西真、中尾龍馬、*A. actinomycetemcomitans* 外膜ヴェジクルの粘膜炎アジュバント効果、第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月。

45) 花岡実梨、成澤直規、泉福英信、竹永章生、*Streptococcus mutans* の黄色色素産生に関する検討、第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月。

46) 井上紗智、稲葉知大、尾花望、八幡穰、泉福英信、野村暢彦、*Streptococcus mutans* releases extracellular DNA in response to sucrose. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月。

47) 中尾龍馬：歯周病細菌由来ヴェジクルの経鼻粘膜ワクチンへの応用：第 30 回日本バイオフィーム学会学術集会、東京、2016 年 7 月

48) 永山 恭子、尾花 望、中尾 龍馬、泉福 英信、中村幸治、野村 暢彦：*Clostridium perfringens* のメンブランベシクルを介した宿主免疫誘導：グラム陽性菌ゲノム機能会議、熱海、2016 年 8 月

49) 吉益由莉、中尾龍馬：プロポリスは細菌表層での異常な小胞形成と膜傷害を誘導し迅速に殺菌する。第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月

50) 山本章治、PTS によるコレラ菌 DNA コンピテンスの制御。第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月。

51) 仙石徹、柳沢達男、鈴木健裕、堂前直、渡邊千鶴、本間光貴、疋田泰士、高橋英之、横山茂之、髄膜炎菌由来の翻訳因子 EF-P のラムノース修飾による活性化の構

造的基盤、第 39 回日本分子生物学会年会、横浜、2016 年

52) 柳沢達男、高橋英之、鈴木健裕、益田晶子、堂前直、横山茂之、髄膜炎菌由来翻訳因子 EF-P とラムノシル化修飾部位 Arg32 は生存に不可欠である 第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年

53) 高橋英之、羽賀将衛、砂川富正、齋藤剛仁、北原武尊、松本 壯吉、大西真、咽頭うがい液を用いた髄膜炎菌の健康者保菌調査の実施、第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年

54) 泉谷秀昌、森田昌知、大西真：*Shigella sonnei* における分子疫学解析および薬剤耐性について。第 90 回日本感染症学会総会、2016 年 4 月、宮城県仙台市。

55) 朽名悟、米谷正太、荒木光二、泉谷秀昌：基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *Salmonella* Blockley による腸炎の 3 歳男児例。第 90 回日本感染症学会総会、2016 年 4 月、宮城県仙台市。

56) 泉谷秀昌、石原朋子、李謙一、石嶋希、伊豫田淳、大西真：2015 年における腸管出血性大腸菌 O157・026・0111 の分子疫学解析。第 37 回日本食品微生物学会学術総会、2016 年 9 月、東京都。

57) 泉谷秀昌：分子疫学解析を用いた赤痢菌のサーベイランスについて。第 37 回日本食品微生物学会学術総会、2016 年 9 月、東京都。

58) 炭山大輔、清水彩子、阿部慎太郎、泉谷秀昌、村田浩一：沖縄県における外来種グリーンアノールと生息環境試料からのサルモネラおよび大腸菌検出と薬剤耐性。第 159 回日本獣医学会、2016 年 9 月、神奈川県藤沢市。

59) 末石結衣、小川道永、木立壮洋、大西 真、肺炎球菌の  $\alpha$  溶血責任因子の探索、第 99 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2016 年 10 月 6 日。

60) 番上将也、井口 純、伊豫田 淳、勢戸 和子、腸管出血性大腸菌に関連するべん毛抗原型 (H 型) を判定する PCR 法の開発。第 37 回日本食品微生物学会学術総会、東京、2016 年。

61) 番上将也、井口 純、伊豫田 淳、勢戸 和子、大腸菌のべん毛抗原型 (H 型) を判定する PCR 法の開発。第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、富山、2016 年。

62) 綿引正則、木全恵子、磯部順子、李 謙一、伊豫田 淳、大西 真、比較ゲノム解析手法に基づいた集団食中毒事例で検出された II 型制限修飾酵素をもつ Stx2 フェージの特徴。第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、富山、2016 年。

63) 伊豫田 淳、腸管出血性大腸菌感染症の現況と分離菌株の解析。第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、シ

ンボジウム、富山、2016年。

64) 伊豫田 淳、漆原康子、石嶋 希、李 謙一、井口 純、齊藤剛仁、石原朋子、櫻井淑男、大西真. *stx2f* 陽性の *Escherichia albertii* 感染が確認された HUS 症例. 第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、富山、2016年。

65) 中村佳司、村瀬一典、西田 留梨子、伊藤武彦、Mainil Jacques、吉野修司、磯部順子、勢戸和子、江藤良樹、富永 潔、緒方喜久代、齊藤志保子、八柳 潤、黒木真理子、木全恵子、前田詠里子、亀山光博、成松浩志、矢端順子、伊豫田 淳、大西 真、大岡唯祐、後藤恭宏、小椋義俊、林 哲也、腸管出血性大腸菌 O145 のゲノム多様性の解析. 第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、富山、2016年。

66) 八尋 錦之助、津々木 博康、小倉康平、伊豫田 淳、市村公敏、大西真、勢戸和子、野田公俊、LEE-negative 腸管出血性大腸菌が産生する Subtilase cytotoxin のストレスグラニュー形成メカニズム. 第 39 回日本分子生物学会年会、横浜市、2016年。

67) 須藤直樹、相馬 亜希子、伊豫田 淳、関根靖彦. small RNA による *Ier* 発現抑制. 第 39 回日本分子生物学会年会、横浜市、2016年。

68) 満仲翔一、須藤直樹、伊豫田 淳、関根靖彦. Stx2 フェージに存在するべん毛遺伝子群発現抑制因子の同定及び機能解析. 第 39 回日本分子生物学会年会、横浜市、2016年。

69) 満仲翔一、須藤直樹、伊豫田 淳、関根靖彦、腸管出血性大腸菌 O157:H7 Sakai 株に存在する Stx2 フェージにコードされた small RNA SesR の同定及び機能解析. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017年。

70) 津々木 博康、張 田力、小野勝彦、八尋 錦之助、伊豫田 淳、勢戸和子、大西 真、野田公俊、赤池孝章、澤 智裕、腸管出血性大腸菌が産生する Subtilase cytotoxin によるインフラ マソーム抑制機構の解明. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017年。

71) 中村佳司、村瀬一典、伊藤武彦、Mainil Jacques、吉野修司、黒木 真理子、木全恵子、磯部順子、勢戸和子、江藤良樹、前田詠里子、緒方喜久代、成松浩志、齊藤志保子、八柳 潤、伊豫田 淳、大西 真、大岡唯祐、後藤恭宏、小椋義俊、林 哲也、比較ゲノムによる腸管出血性大腸菌 O145:H28 の多様性解析. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017年。

72) 八尋 錦之助、津々木 博康、小倉康平、伊豫田 淳、市村公敏、大西 真、勢戸和子、野田公俊. LEE-negative 腸管出血性大腸菌が産生する Subtilase cytotoxin のストレスグラニュー形成は PKC 依存性である. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017年。

73) 石嶋 希、伊豫田 淳、漆原康子、大岡唯祐、李 謙一、勢戸和子、井口 純、櫻井淑男、大西 真、HUS 患者から分離された *stx2f* 陽性 *Escherichia albertii* の性状解析. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017年。

74) 小椋義俊、黒木 真理子、吉野修司、木全恵子、磯部順子、勢戸和子、前田 詠里子、江藤良樹、楠本正博、秋庭正人、石嶋 希、李 謙一、伊豫田 淳、大西 真、大岡唯祐、後藤恭宏、林 哲也、国内外で分離された 521 株の腸管出血性大腸菌 O26 の全ゲノム系統解析と病原遺伝子レパートリー解析. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017年。

75) 須藤直樹、相馬 亜希子、伊豫田 淳、風間大輝、関根靖彦. Regulation of the LEE expression by a small RNA, Esr41, and RNA-binding protein, Hfq, in EHEC. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017年。

76) 青木 弘太郎、志牟田 健、大西 真、石井 良和、舘田 一博: モザイク PBP2 保有淋菌におけるセフトリアキソン耐性補助因子の探索 第 89 回日本細菌学会総会、仙台、2017、3月

77) 伊藤 晋、伊藤貴子、篠崎恭子、安田満、高橋聡、井川ジーン、志牟田健、大西真、出口隆: 咽頭淋菌の診断に関する検討一培養法を評価基準とした COBAS 4800、APTIMA Combo2 併施の意義一、日本性感染症学会 第 29 回学術大会、岡山、2016年12月

78) 伊藤 晋、伊藤貴子、篠崎恭子、安田満、井川ジーン、志牟田健、大西真、出口隆: 咽頭淋菌の診断に関する検討一うがい液検体を用いた AccuGene m-CT/NG と COBAS 4800、APTIMA Combo2 の比較一、日本性感染症学会 第 29 回学術大会、岡山、2016年12月

79) 石原朋子、伊豫田淳、泉谷秀昌、大西真. 2015年の Non-O157/O26/O111 腸管出血性大腸菌における分子疫学解析. 第 37 回日本食品微生物学会学術総会、東京、2016年。

80) 石原朋子、伊豫田淳、泉谷秀昌、李謙一、大西真. 2015-2016年における EHEC 広域 PFGE 型の発生動向. 第 20 回腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症研究会、富山、2016年。

81) 森田昌知、泉谷秀昌、大西真. 2014年、2015年に日本国内で分離されたチフス菌、パラチフス A 菌の解析. 第 90 回日本感染症学会学術講演会、宮城、2016年。

82) 森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、Alam M、今村大輔、篠田純男、大西真. ダッカ及びビロルカタで分離されたコレラ菌流行株のゲノム疫学解析. 第 50 回腸炎ビブリオンボジウム、大阪、2016年。

83) 今村大輔、Sarkar A、Nag D、Koley H、森田昌知、

大西真、水野環、三好伸一、篠田純男. インド、コルカタにおけるコレラ流行株の特徴と変化. 第50回腸炎ビブリオシンポジウム、大阪、2016年.

84) 森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、Alam M、今村大輔、篠田純男、大西真. ベンガル地方で分離されたコレラ菌流行株の比較ゲノム解析. 第90回日本細菌学会総会、宮城、2017年.