

## 4. 細菌第一部

部長 明田 幸宏

### 概要

細菌第一部では、多種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ている。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。また富山市で発生した大規模食中毒事例にて分離された大腸菌 OgGp9:H18 のゲノム解析や病原性解析を実施し、その原因解明に協力している。

感染症研究国際ネットワーク推進プログラムやその他海外共同研究等の枠組みのもと、海外の研究拠点との連携を深めた。特に、大阪大学タイ拠点、岡山大学インド拠点、長崎大学ベトナム拠点、新潟大学ミャンマー拠点、東京医科歯科大学ガーナ拠点、中国内モンゴル自治区 CDC および Hetao 大学とのプロジェクトを実施している。

レファレンス業務として、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。また地方自治体等に対する研修業務として、腸管出血性大腸菌とレジオネラ属菌に対する研修・講義を実施している。

研究面においては、全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、カンピロバクターの抗原多様性に関する研究やグローバルな梅毒ゲノム解析研究に進捗を見た。

また新型コロナウイルスの蔓延に伴う国立感染症研究所でのウイルス検査業務の増加から、細菌第一部においても SARS-CoV-2 検査業務を実施した。

人事異動は以下の通りである。R3 年 4 月より細菌第一部部長として明田幸宏が着任した。また R3 年 10 月より石嶋希、R3 年 11 月より窪村亜希子、R3 年 12 月より山口雄大がそれぞれ研究員として着任した。また佐久間智里は R4 年 3 月末をもって国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構へ転出した。

### 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

2021 年に全国から受け付けた EHEC は 2,119 株であった。頻度の高い O 血清群(O 群)の順に O157 (54%)、O26 (17.1%)、O103 (5.1%)、O111 (5%)で、その他は 77 の O 群、100 以上の血清型(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)由来株はこのうちの 659 株で、上記の 4 血清群に O121, O145, O165 を加えた重症例由来の主要 7 血清群で重症例由来株全体の 96%を占めた。[伊豫田淳、小澤さお美、竹本歩、中島雪絵、李謙一、泉谷秀昌、明田幸宏]

##### イ. 大規模食中毒由来大腸菌 OgGp9:H18 の解析

2021 年 6 月に富山市で発生した大規模食中毒由来大腸菌 OgGp9:H18 の解析を行った。患者および食品由来株それぞれ 1 株について、全ゲノム配列解析を行い、両株が同一クローンであることを明らかにした。また、培養細胞への感染実験等から、HEp-2 細胞への定型的な付着性は認められないこと、HeLa 細胞への傷害性は認められないことを明らかにした。[李謙一、窪村亜希子、伊豫田淳、明田幸宏、瀧波賢治、(富山市保健所)、鈴木富勝(同左)、水上克己(同左)、大石和徳(富山県衛生研究所)、木全恵子(同左)、磯部順子(同

左)、綿引正則(同左)、工藤由起子(国立医薬品食品衛生研究所)、廣瀬昌平(同左)、大屋賢司(同左)、大西貴弘(同左)]

#### ウ. 腸管出血性大腸菌 O156:H25 の全ゲノム配列解析

腸管出血性大腸菌 O156:H25 は、例年数株が報告されるのみであったが、2021 年以降は 90 株以上が 20 以上の地衛研・保健所から感染研・細菌第一部に送付されている。このうち半数以上が同一の PFGE 型(156pt1)を示した。そこで、27 株の 2021 年分離株を含む 35 株の同血清型菌株の全ゲノム配列解析を行った。その結果、156pt1 の株はいずれも単一塩基多型数が最大で 3 か所であるクラスターを形成し、近縁株が全国的に分離されていることが明らかとなった。[李謙一、伊豫田淳、泉谷秀昌、明田幸宏、大西真、全国の地方衛生研究所・保健所]

#### エ. 腸管出血性大腸菌 O172:H25 の全ゲノム配列解析

2021 年に前橋市で重症例を含む集団感染が報告された、O172:H25 について全ゲノム配列解析を行った。2012~2020 年に全国で分離された 10 株の EHEC O172:H25 と併せて全ゲノム配列解析を行った。同血清型の株と感染研・細菌第一部内で全ゲノム配列解析を行った他血清型の株と比較したところ、O165:H25 と近縁であることが明らかとなった。O172:H25 菌株内の解析では、前橋市の集団感染由来株間に差異は認められず同一株であることが示唆された。また、他の菌株との間には 45 カ所以上の SNP が存在し、近縁株は存在しなかった。[李謙一、伊豫田淳、泉谷秀昌、明田幸宏、羽鳥徹(前橋市保健所)、西子枝里(同左)、関大輔(同左)、茂木望(同左)、関沼恭美(同左)、藤田明弘(同左)、大西一徳(同左)]

### (2) 分子疫学的解析

#### ア. MLVA 解析

2021 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 2,118 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 1,802 株について MLVA による型別を行った。また 316 株について PFGE による解析を実施した。MLVA については 792 の型が同定された。上位 5 型は 21m2017、18m0282、21m0012、20m2094、21m0166 であった(23-37 株)。21m2017 は 6 月上旬から 9 月上旬にかけて関東から関西にかけて分離された広域株であった。18m0282、21m0012、21m0166 は集団事例関連株を含んでいた。[泉谷秀昌、伊豫田淳、李謙一、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、大西真、明田幸宏]

#### 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 サーバーにデータセンターを設置し、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。上記データベースを用いて MLVA 型を付与するシステムを検討した。2021 年に当該システムで処理した件数は延べ 698 件であった。[泉谷秀昌、伊豫田淳、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、大西真、明田幸宏;岩渕香織(岩手県環境保健研究センター)、横山敬子(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)]

#### (3) EHEC 感染による HUS 症例(EHEC-HUS)の血清診断

EHEC が不分離の HUS 発症例は全体の約 30%を占め、患者血清中の大腸菌 O 抗原に対する凝集抗体の検出(血清診断)で EHEC-HUS の確定診断となる。血清診断依頼があった HUS 症例 9 例のうち、大腸菌 O 抗原に対する抗体陽性となったのは 7 事例であった。このうち O157 抗体陽性が 3 例、O172、OgN3、O55、O80 抗体陽性がそれぞれ 1 例ずつあり、これらの事例ではいずれも以下(4)で述べる EHEC の分離・同定と併せて EHEC-HUS 症例と確定した。[伊豫田淳、李謙一、小澤さお美、明田幸宏]

#### (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 7 例について患者便を当部にて再検査したところ、このうちの 3 例では *stx2* 陽性の血清群 O172、OgN3、O80 の大腸菌がそれぞれの便検体から分離され、EHEC 感染による HUS 症例と確定した。[伊豫田淳、李謙一、小澤さお美、明田幸宏]

### 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

2021 年に当研究所に送付された赤痢菌 3 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* 1 株、*S. flexneri* 2 株であった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真、明田幸宏]

### 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

2021 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。チフス菌は 3 株送付されたが、パラチフス A 菌は送付されなかった。チフス菌のフェージ型はそれぞれ A、E9、DVS であった。[森田昌知、泉谷秀昌、明田幸宏]

## 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

2021 年に国内で分離されたチフス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チフス菌が 2 株検出された。その他の薬剤に関してはチフス菌 3 株とも感受性であった。[森田昌知、泉谷秀昌、明田幸宏]

## ウ. サルモネラの血清型別、遺伝子型別、フェージ型別

2021 年に当研究所に送付されたサルモネラ株は 31 株であった。血清型は 8 種類からなり、上位 3 位は *Infantis*、*Enteritidis*、*Schwarzengrund* であった。集団事例由来の血清型 *Enteritidis* 2 株についてフェージ型別を実施した結果、フェージ型 47 であった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真、明田幸宏]

## 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. ビブリオ属細菌のゲノム解析

国内及び海外、主にアジア地域で分離されたビブリオ属細菌のゲノム配列を次世代シーケンサーにより解読し、データベース化を進めている。今年度は腸炎ビブリオのパンデミック株に特徴的なゲノム領域を同定した。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、明田幸宏]

イ. 令和 3 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 3 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 5 株で、国内例は下痢症由来 *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 が 1 例、血液及び胆汁から分離された白糖分解性の *V. vulnificus* が 3 例であった。また、インドの淡水魚から分離された白糖非分解であるが、ゲノム解析から *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 と決定された株が 1 株であった。その他に *Vibrionaceae* ではないが、オキシダーゼ陽性菌である *Plesiomonas shigelloides* の国内例 3 例の O 血清

型を決定した。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

## ウ. コレラ菌

コレラ菌を含むビブリオ属細菌の染色体数は従来まで 2 本と考えられていたが、近年我々の研究により 2 本の染色体が融合して 1 本になった染色体を持つコレラ菌株が同定されつつある。昨年度は染色体 2 特異的な複製因子 *RctB* の必須性を基にしてコレラ菌の染色体数をモニターするためのレポーター系を確立した。本年度はこの系を用いて 1 本の染色体が 2 本に分離したバリエントをスクリーニングすることに成功した。また、スクリーニングの過程において *RctB* に依存しない染色体 2 複製機構の存在を明らかにした。[山本章治、東孝真(北里大学)、明田幸宏]

## (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、全ての O 血清群参照株の全ゲノム塩基配列を解読し、そこから O 抗原合成遺伝子領域を抽出して解析を行っている。これら 205 種類の O 血清群の遺伝子領域中に大腸菌の 4 群莢膜の輸送に関連する *ymcABCD* のホモログがコレラ菌 O139 にあり、これを指標にそれを持たないコレラ菌 O1、O1 タイプと O139 タイプの複合タイプの 3 つに大別される事がわかった。また 3 つのタイプに *wzm-wzt*、あるいは *wzx-wzy*、*pglK* 輸送系がそれぞれあり、これら遺伝子は各 O 抗原相互には相同性が低く、相同性が高いものについては、交差関係が認められた。O 抗原特異性の高い配列であることから、遺伝子検出による O 抗原型の推定に応用することを検討している。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌、大西真;村瀬一典(京都大)]

イ. *V. cholerae* の LPS の SDS-PAGE による構造解析

O 抗原 LPS の解析において、抗原性のもとになる構成糖の解析は非常に重要である。コレラ菌 O1 の LPS は修飾ペロサミンのホモポリマーであることがすでに報告されており、*wzm-wzt* 輸送系で合成されている。また、大腸菌の O 抗原での解析では、そのほとんどが *wzx-wzy* 輸送系で数種の異なる糖の繰り返し配列によるポリマーでできているため、SDS-PAGE によりラダー構造が観測されている。*V. cholerae* の LPS について、SDS-PAGE による構造解析を行うことで、ラダー構造が認められればホモポリマー構造でないことが明らかとなる。*V. cholerae* のゲノム解析で得られた O 抗原合成遺伝子領域に、*wzx-wzy* 輸送系を持つ O 群について、SDS-PAGE 解析を行ったところラダー構造が認められた。すなわち、その O 抗原 LPS が複数糖の繰り返しで構成されていることを強く示唆する結果であった。

[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌、明田幸宏;一色恭徳(城西大)]

## 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. 主要血清型参照株における CPS 生合成遺伝子領域の解析

カンピロバクターの Penner 血清型は莢膜多糖 CPS の多様性に基づいており、ギランバレー症候群の発症リスクを判断するための指標の一つとなっているが、型別不能になる頻度が非常に高い。この要因として、CPS 生合成遺伝子領域に存在する超可変 polyG/C リピート配列群の phase variation が挙げられる。本年度は 47 血清型のうち、重症化リスクが高い 7 血清型の参照株ゲノムを解読し、CPS 遺伝子領域における polyG/C の分布を明らかにした。[山本章治、伊豫田淳、明田幸宏]

## 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

2021 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 *Yersinia enterocolitica* O:3 であった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真、明田幸宏]

## 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 2020 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

2020 年に全国の衛生研究所に収集された A 群レンサ球菌 353 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、T1 (60/353, 17.0%)、TB3264 (55/353, 15.6%)、T4 (49/353, 13.9%)、T12 (44/353, 12.5%) であった。T1 型の分離比率は、2016 年以降 20% を超えていたが、2020 年減少した(2016 年, 23.5%、2017 年, 20.9%、2018 年, 22.1%、2019 年, 21.5%、2020 年, 17.0%)。TB3264 型の分離比率は、2019 年と比較して増加した (2019 年, 14.7%、2020 年, 15.6%)。T4 型は、2019 年と比較して増加した (2019 年, 12.0%、2020 年, 13.9%)。T12 型の分離比率は、2019 年と比較して減少した(2019 年, 18.9%、2019 年, 12.5%)。[池辺忠義、明田幸宏、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 2020 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

2020 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 102 症例あった。94 例が *S. pyogenes*、8 例が *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* による症例であった。

最も多かったのは、型別不能であり、48.9%であった。次いで、TB3264 型が多く、その分離比率は昨年と比較して減少した(2019 年, 16.5%、2020 年, 14.9%)。昨年最も多かった T1 型は、分離比率が減少した(2019 年, 39.4%、2020 年, 13.9%)。

STSS の確定診断例 102 例中、emm81 型が 23 例(22.5%)と最も多く、次いで emm89 型が 18 例(17.6%)、emm1、emm49 型が 13 例(12.9%)と多かった。

2019 年と比較し、emm81 型は、3.7%から 22.5%に増加した。emm1 型は、39.0%から 12.9%に減少した。emm89 型は 16.5%から 17.6%に増加した。また、emm49 型は、3.3%から 12.9%に増加した。[池辺忠義、明田幸宏、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患者分離株の薬剤感受性試験

2020 年に劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症患者から分離された A 群レンサ球菌 102 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 5.9% (6/102)の株が耐性を示した。[池辺忠義、明田幸宏、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

2020 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 102 例あった。菌種は、101 例が *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*、1 例が *S. canis* 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 23 例(22.8%)と最も多く、次いで、stG485 が 21 例(20.8%)と多かった。[池辺忠義、明田幸宏、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

2020 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 47 例あった。菌種はすべて、*S. agalactiae* であった。血清型は、III 型が最も多く 12 例(25.5%)であり、次いで Ib 型が 11 例(23.4%)、V 型が 10 例(21.3%)であった。2020 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 3 例あった。菌種は、*S. constellatus* ssp. *pharyngis* が 2 例、*S. ruminatorum* が 1 例であった。2020 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1例あった。菌種は、*S. constellatus* ssp. *constellatus* であった。[池辺忠義、明田幸宏、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、シーケ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、シーケ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、菌体表層のコリン結合タンパク質 CbpC が、Atg14-CbpC-p62 複合体を形成し、肺炎球菌を排除しようとするオートファジーの誘導に必要な Atg14 を選択的に分解・枯渇させることを見いだした。CbpC による Atg14 分解は、オートファジー抑制、さらには肺炎球菌の細胞内生存性の促進に寄与していた。本研究から、肺炎球菌の病原因子が、オートファジー抑制という高度な細胞内生存戦略を持つことが明らかになり、さらに詳細を検討している。[小川道永、雫石早矢佳、大西真;梁明秀(横浜市・医)]

#### 2. レジオネラ属菌に関する研究

##### (1) *Legionella pneumophila* のゲノム研究

ア. *L. pneumophila* のマルチプレックス PCR による血清型別法の開発

*L. pneumophila* は15血清群に分けられるが、血清群特異的配列プライマーを用いたマルチプレックス PCR (M-PCR) により、血清群をグループ分けする方法を開発した。この M-PCR は2段階から成り、1段階目の M-PCR で、血清群1、血清群2、血清群3/15、血清群5、血清群6/12、血清群7、血清群8、血清群9、血清群11、血清群13、血清群14の判定ができる(血清群3と15、血清群6と12は区別することができない)。いずれの血清群のバンドも得られなかった場合は、血清群4/10プライマーを用いた2段階目の PCR を行い、バンドを確認する(バンドが得られた場合、血清群4か10と判定される。血清群4と10は区別できない)。供試菌株が *L. pneumophila* である場合には、1段階目か2段階目のいずれかで血清群特異的なバンドが確認できる。スライド凝集反応でいずれの免疫血清にも凝集せず、UTと判定される菌株も M-PCR ではいずれかに分類される。免疫血清による群別と区別するため、PCR による血清型別は、SGの後にgを加えて、SGg1のように記載することとする。[中植竜大(東大病院・検査部);前川純子、森田昌知、大西真;村井美代(埼玉県立大学)]

##### イ. *L. pneumophila* 80-045 株の全ゲノム配列

日本で最初に臨床から分離された *L. pneumophila* 80-045 株の全ゲノム配列を決定した。*L. pneumophila* 80-045 株から継代により派生した弱毒株は、*dotO* 遺伝子内の1塩基置換で生じた終止コドンにより、コードされているタンパク質の長さが1009aa から441aaと短くなっていて、これが病原性低下の原因と思われた。[前川純子、森田昌知、明田幸宏]

##### (2) 公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法の開発のための研究

ア. モノクロラミンと遊離塩素による *Mycobacterium phlei* の試験管内不活化試験

アルカリ性の温泉では遊離塩素消毒の効果が低下し、レジオネラ属菌の増殖が抑えきれず問題となることから、代替の方法としてモノクロラミン消毒が提案され、レジオネラをよく抑えられることが実地試験で確認されている。モノクロラミン消毒は遊離塩素消毒に比べれば穏やかな消毒方法であり、モノクロラミンを連続的に使用していると、*Mycobacterium phlei* が従属栄養細菌数測定用の R2A 培地で検出されるようになり、バイオフィルムの生成が懸念される場面があった。本研究では、モノクロラミン消毒における必要な消毒の程度や対策の検討を目的として、実地試験で増殖した *M. phlei* 単離株を用いて、遊離塩素とモノクロラミンによる不活化を試験管内で試験した。

*M. phlei* に対する消毒効果は、得られた不活化曲線から同じ CT 値で比較した場合、遊離塩素よりモノクロラミンの方が高く、想定とは逆の傾向であった。当初意図していなかった結果ではあるが、アルカリ泉におけるモノクロラミン消毒の優位性が改めて支持された。モノクロラミンを連続使用している浴槽では、モノクロラミンに弱い *M. phlei* がどうして増加してしまうのか。一連の実験結果をふまえて実地における *M. phlei* の挙動を推測すると、*M. phlei* はバイオフィーム中にあることで、モノクロラミン消毒に対する抵抗性を発揮しているものと考えられた。モノクロラミン消毒で *M. phlei* を制御するには、こまめな浴槽清掃はもとより、配管洗浄、高頻度の高濃度消毒、オーバーナイト洗浄等のバイオフィーム対策を徹底することの必要性や重要性が改めて示唆された。[森康則、永井佑樹、大市真梨乃、佐藤大輝、小林章人(三重県保健環境研究所)、枝川亜希子(地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所)、藤井明(株式会社ヘルスビューティー)、泉山信司(寄生動物部)、前川純子(細菌第一部)]

イ. 携帯型フローサイトメーターによる環境水中レジオネラリスクの現地評価技術の標準化

循環浴槽で再発を繰り返すレジオネラ汚染の迅速検出法の一つとして、フローサイトメリー法(FCM法)を開発し、その技術の標準化と普及を目的に共同調査を実施した。地方衛生研究所の3機関と民間企業の1機関が共同調査に参画した。当該技術の開発機関から参加機関に対して技術研修を実施し、*Legionella pneumophila* の模擬試料、試薬、使用するプロトコルおよび装置を配布した。自家調製した模擬試料の添加回収実験は、全参加機関で回収率 80~130%と良好な成績を示し、市販の模擬試料でも同等の成績が得られた。営業入浴施設の調査における、レジオネラ培養検査結果に対する FCM 法の感度と特異度は、全試料(N=267)で感度 83.1%、特異度 79.6%を示した。機関ごとでは感度 91.7%、特異度 95.3% (N=55) から感度 55.6%、特異度 75.3% (N=90) とばらつきがあり、検体輸送の影響や装置の器差ならびに研修時間の不足が考えられた。レジオネラ定量値と生菌数にはやや相関が認められ ( $y = 32.547x + 0.2577$ ,  $R^2 = 0.2091$ )、培養法の定量下限近くで FCM 値が高い値を示す傾向にあった。オゾンで逆洗処理した、循環ろ過器の逆洗液に FCM 法を適用したところ、全細菌数が逆洗前後で有意に減少し ( $p < 0.01$ )、オゾンを用いた逆洗方法の有効性を確認した。[田栗利紹、蔡国喜(長崎県環境保健研究センター)、中西典子、田中忍(神戸市健康科学研究所)、平塚貴広(広島県立総合技術研究所保健環境センター)、井上浩章、縣邦雄(アクアス株式会社)、新道欣也、鳥井良太(株式会社お風呂のシンドー)、齋藤利明、木村哲也、小森正人(株式会社ヤマト)、泉山信司

(寄生動物部)、倉文明、前川純子(細菌第一部)]

### 3. 髄膜炎菌に関する研究

#### (1) 菌株の多様性、薬剤感受性および疫学解析

ア. 令和 3 年度に発生した髄膜炎菌性感染症の起因菌株の疫学的解析

令和 3 年度も昨年度同様に新型コロナウイルス感染症(COVID-19)のために侵襲性髄膜炎菌感染症(IMD)の発生数が昨年度に比べても更に減少し、IMD の起因菌株はわずか 1 株のみ回収された。その血清学的解析の結果は B 群であった。更に分子疫学的解析を実施した結果、新規遺伝子型 ST-15947 (ST-213 complex)であることが明らかとなった。一方、非侵襲性由来株は 2 株回収された。それらの血清学的及び分子疫学的解析の結果は B ; ST-437 (ST-41/44 complex)、NT ; ST-11026 (ST-32 complex)であった。また、NESID に IMD 症例として登録され、髄膜炎菌として病院から送られてきた二例に関してはいずれも感染研で再同定を行った結果、*Neisseria subflava* と同定された。2020 年に開催予定だった東京オリンピックが 2021 年に開催されたが、COVID-19 対策が功を奏して危惧されていた IMD 流行は全くの杞憂に終わった。COVID-19 による IMD 症例の激減は日本のみならず、世界的にも報告され始めており、COVID-19 を警戒している間は IMD は沈静化を続けると考えられる。一方で、その警戒が解かれたアフターコロナと呼ばれる時期においては髄膜炎菌に免疫を持たない日本人にとって IMD は COVID-19 に代わる脅威として迫る可能性は十分にあり、引き続き注視していく必要があるであろう。[高橋英之、明田幸宏、小林美保、神谷元 (FETP、実地疫学研究センター)]

イ. 過去 6 年間に国内で分離された髄膜炎菌株のペニシリン G 及びシプロフロキサシンに対する感受性の解析

2016~2021 年の 6 年間に日本国内で分離された 156 株の髄膜炎菌の薬剤感受性に関して、侵襲性髄膜炎菌感染症治療に使用される PCG 及び予防内服の第一選択薬である CPFX の非感受性及び耐性菌の出現の可能性が指摘された為、PCG、CPFX、そして CTRX、予防内服第二選択薬 RFP に関して薬剤感受性試験を行なった。その結果、PCG は 31% (48 株) が非感受性 (MIC; 0.094 - 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、2% (3 株) が耐性 (MIC;  $\geq 0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) であることが明らかとなった。一方で、侵襲性細菌感染症の治療薬として広く使用されている CTRX は約 98% の株が感受性で、1.8% (3 株) が微弱な非感受性 (MIC; 0.016 - 0.032  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を示すことが明らかとなった。また、予防内服薬として使用される薬剤においては CPFX は 25.5% (39 株) が非感受性 (MIC; 0.004 - 0.064  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、21% (32 株) が耐性 (MIC; 0.094 - 0.19  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) と全

体の 54% (85 株) のみが感受性を示すことが明らかとなった。一方で RFP に関しては全てが MIC 0.19  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以下であり、CLSI が示す感受性の域値 (MIC < 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を大きく下回り、全て (100%) 感受性を示すことが明らかとなった。[高橋英之、志牟田健、明田幸宏; 齋藤良一 (東京医科歯科大)]

ウ. 2003~2020 年の 17 年間に分離された国内分離髄膜炎菌株の全ゲノム塩基解読 (WGS) による分子疫学的解析

2004 年に 1979~2003 年の約 25 年間に国内で分離された髄膜炎菌株の血清学的及び Multi Locus Sequence Typing (MLST) 法を用いて遺伝子型 (Sequence type:ST) による分子疫学的解析を行い、日本では血清群 B と Y が大多数で、遺伝子型では 1) 海外株、2) 日本固有株、3) 海外株から派生した日本固有株の 3 種類に分類されることを明らかにした。しかし、2003 年以降、総括的な解析を実施されておらず、また、近年では WGS による分子疫学的解析が主流となってきたため、2003 年から 2020 年までの 17 年間に国内で分離された髄膜炎菌株を WGS による分子疫学的解析を血清学的解析と共に実施した。その結果、血清群 Y と B が大多数を占める状況に変化は認められなかったが、血清群 Y の報告数が B の 2 倍に及ぶほど、血清群 Y が優勢になってきていることを確認した。更にその変化を WGS により詳細に解析すると、B 群髄膜炎菌株の ST プロファイルに大きな違いは認められなかったが、Y 群に関しては前回解析した 25 年間 (1979 年~2003 年) で主流であった ST-23 は依然として認められるが、当時認められなかったが現在の主流である ST-1655 が、非常にクローナルであることが明らかとなった。ST-1655 は世界的にも 2009 年に初めて検出され、日本でも同年から検出され始め、現在では国内の主流の株となっていることを考慮すると、ST-1655 が日本国内に流入して急速に伝播したことが推測され、また血清群 Y が優勢である日本の特徴もその株の遺伝学的バックグラウンドは過去 25 年間 (1979 年~2003 年) と比べて大きく変化していることが明らかとなった。また、IMD の起因菌株だけでなく、健康保菌者や尿道炎由来株等の非侵襲性髄膜炎菌株も収集し、同様の解析を行った結果、B 群に属する ST-32 の無莢膜型派生株となる ST-11026 が非常に多く分類された。ST-11026 は、昨年度明らかにした ST-2057 complex 髄膜炎菌株同様、日本以外で分離例が報告されていないことから、本系統株が非侵襲性髄膜炎菌株において日本固有であることを明らかにした。[高橋英之、森田昌知、志牟田健、大西真、明田幸宏; 神谷元、福住宗久、砂川富正 (FETP、実地疫学研究センター)]

(2) 病原機構に関する研究

ア. 非天然アミノ酸を用いた髄膜炎菌外膜タンパク TspA を介

したシグナル伝達系の解析

昨年度ヒト内皮培養細胞への侵襲にも関与する髄膜炎菌の一回膜貫通外膜タンパク TspA の機能解析を行なったが、本年度は TspA の C 末部分に相互作用する髄膜炎菌タンパク質を非天然アミノ酸型クロスリンカーを用いて検索することにより、それらの分子機序の更なる解明を試みた。その結果、TspA は機能不明の ResA と相互作用していることを明らかにした。更に、抗 ResA 抗体を作成し、解析を進めた結果、ResA はペリプラズムに局在していることを明らかにし、TspA-ResA 相互作用を介した細胞外から細胞内へのシグナル伝達経路の存在が示唆された。[高橋英之、志牟田健、明田幸宏; 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) 回帰熱ボレリアに関する研究

ア. 新興回帰熱病原体 *Borrelia miyamotoi* の比較ゲノム解析  
日本ならびにモンゴルでマダニより分離した、新興回帰熱病原体 *Borrelia miyamotoi* のゲノム配列の比較解析を実施した。得られた配列から、我が国を含むアジア地域で分離される *B. miyamotoi* ならびにロシア西部で分離された *B. miyamotoi* の SNiP はわずかであり、近年、野生動物の移動に伴って、病原体の広域拡散が起こった可能性が考えられた。[川端寛樹、佐藤梢; 高野愛 (山口大学)、林哲也 (九州大学)]

イ. ザンビアにおけるボレリア属細菌分布状況

ザンビアで収集した環境由来サンプル (野生動物、マダニ) を広汎に用い、ボレリア属細菌の分布状況の探査を実施した。研究成果として、マダニの遺伝情報取得と保菌微生物の包括的な遺伝情報の取得を継続的に実施した。またコウモリを対象とするバイオリギング調査に必要なデータロガーの実装実験を行い、GIS 情報からアフリカ南部でコウモリが広範囲で移動していること、また隣国への越境性も確認された。これら試みは、今後、感染症の発生予測などへの応用が期待される。[川端寛樹、佐藤梢; 邱永晋 (北海道大学)、中尾亮 (北海道大学)、梶原将大 (北海道大学)、飛龍志津子 (同志社大学)]

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. レプトスピラ光応答メカニズムの解明

トランスポゾン挿入変異法により光応答がみられなくなった *Leptospira kobayashii* 変異体 Prd の責任遺伝子 *lprA* は、光センサーと考えられる N 末端側領域とアデニル酸シクラーゼ

の C 末端側領域から構成されおり、大腸菌内で光に応答して cAMP を合成することが明らかとなった。また LprA-GFP 融合タンパク質を *L. kobayashii* で発現した結果、LprA はべん毛が存在する菌体末端に局在することが明らかとなった。また *L. kobayashii* E30 株の2つの環状染色体と1つのプラスミドから構成される完全長ゲノム配列を決定した。[小泉信夫、明田幸宏：中村修一(東北大院)、森本雄祐(九工大院)、中尾亮(北大院)]

## (2) ヒトおよび宿主動物由来レプトスピラの解析

ア 奄美大島および沖縄本島の動物由来レプトスピラの解析  
奄美大島におけるレプトスピラ保有動物調査を行い、アマミノクロウサギ(1/1)、クマネズミ(2/42)、リュウキュウイノシシ(3/12)からレプトスピラを分離した。MLST および MLVA による分子タイピングにより、クマネズミが本島でのイヌのレプトスピラ症の原因となっていること、また分離株は九州本島よりも沖縄県で分離されたレプトスピラが遺伝的に近縁であることが明らかとなった。また沖縄県のネコの17%からレプトスピラ血清群 Javanica に対する抗体が検出され、7%の尿から *L. borgpetersenii* 血清群 Javanica と同じ ST が検出された。さらに過去にネコから分離された *L. borgpetersenii* 血清群 Javanica の全ゲノム解析からネコ分離株は県内のヒトおよび野生動物から分離された *L. borgpetersenii* 血清群 Javanica と遺伝的に近縁であることが明らかとなり、本菌の重要な保有動物である可能性が示唆された。[小泉信夫、森田昌知、明田幸宏：新屋惣(ゆいの島どうぶつ病院)、柿田徹也(沖縄衛研)]

イ インドネシア・ボゴールの *L. borgpetersenii* 血清群 Javanica のゲノム解析

インドネシア・ボゴールのドブネズミから分離された *L. borgpetersenii* 血清群 Javanica の全ゲノム比較解析を行った結果、インドネシア分離株は他の東アジア分離株と遺伝的に関連しているものの独立したクラスターを形成した。またフィリピンのドブネズミ分離株よりも台湾のコキバラネズミ分離株に遺伝的に近縁であることが明らかとなった。これらのことは本菌の遺伝的多様性は宿主によってではなく、地理的に依存していることが示唆された。[小泉信夫、森田昌知、大西真；三浦こずえ(東京大学大学院)]

## 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. 淋菌サーベイランス

昨年度に引き続き 2021 年 4 月から 2022 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 301 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 4.7 %、54.5 %、93.4 %、18.6 %、84.1%、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 剤では ciprofloxacin での感受性率が一昨年度 40%台に迫るほどに改善した後、昨年度その傾向に一旦歯止めがかかり若干の悪化が見られたことを報告したが、今年度はさらに感受性率が低下し、20%を下回った。azithromycin に関しても感受性率が若干低下している。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と同系統と推定される同程度の ceftriaxone 耐性を示す株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報告してきたが、以降は我々のサーベランスではこれに相当する株は検出されない状況が継続している。[中山周一、吉田愛、志牟田健、大西真；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)]

## (2) 迅速検査法に関する研究

### ア. 淋菌の非モザイク型 *penA* の簡易検出系の開発

淋菌において Penicillin-binding protein 2 (PBP2)をコードしている *penA* 遺伝子の変異は、第三世代セファロsporin 剤(セフィキシム等)の MIC 値上昇に強く関与している。セフィキシムの 400mg 単回経口投与では、淋菌株の MIC が 0.06mg/L 以下を示す株(感受性株)について、その治療効果が認められる。本研究では、セフィキシムの MIC 値が 0.06mg/L 以下を示す株を同定可能な検出法の開発を計画した。*in silico* 解析による *PenA* の比較解析により 323-349 番目のアミノ酸配列において、セフィキシム感受性株は、多くのセフィキシム非感受性株 (MIC: > 0.06mg/L)には存在しない特徴的な配列が保存されており、これらの配列の SNP を利用したセフィキシム感受性株(非モザイク型 *penA* 保持)を検出可能な Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法によるアッセイ系の構築を行った (NG-*penA*-LAMP3)。淋菌、127 株及び非病原性ナイセリア属菌、103 株の精製ゲノム DNA を用いて評価を行った。その結果、構築したアッセイ系では、1)淋菌の非モザイク型 *penA* とモザイク型 *penA* を区別することが可能であり、更に 2)非病原性ナイセリア属菌(1 株を除く)に対しては、反応しなかった。[志牟田健、高橋英之、大西真、明田幸宏]

イ. NG-*penA*-LAMP3 を使用した臨床検体での検証

尿道炎疑い患者より得られた尿道分泌物検体 (n=101) を対象とした。この内、95 検体が淋菌陽性検体であった (Cobas 4800 System)。これまでに構築している淋菌の *penA* 特異的検出系である NG-*penA*-LAMP1 アッセイ (Shimuta et al. 2019. Antimicrob Agents Chemother.) では、これら、淋菌陽性検体は全て陽性となった。また、これら陽性検体の内、39 検体は、NG-*penA*-LAMP3 アッセイ陽性となり、残り 56 検体及び Cobas 陰性検体 (n=6) は陰性となった。更に、上記 Cobas 陽性検体 (n=95) からは淋菌が分離され、これら分離株の *penA* 配列の決定並びに薬剤感受性試験を行った。その結果、39 株が非モザイク型、56 株がモザイク型 *penA* を保持していることが分かった。非モザイク型 *penA* を保持する淋菌株 (n=39) の内、38 株はセフィキシムの MIC 値が 0.06mg/L 以下を示した。これらの結果より、臨床検体を使用した場合においても、淋菌の非モザイク型 *penA* の検出に NG-*penA*-LAMP3 アッセイが有効であることが示された。更に今回の検証により、セフィキシムの MIC 値が 0.06mg/L 以下を示す淋菌株の検出に、NG-*penA*-LAMP3 アッセイ陽性結果がサポートとなる可能性を示した。ただし、NG-*penA*-LAMP3 アッセイでは髄膜炎菌で陽性となるため、臨床検体に含まれるセフィキシムの MIC 値が 0.06mg/L 以下を示す淋菌株を検出するためには、NG-*penA*-LAMP1 アッセイ及び NG-*penA*-LAMP3 アッセイの結果を合わせて用いることが必要であることが示唆された。[志牟田健、高橋英之、大西真、明田幸宏]

ウ. 淋菌の変異型 *gyrA* 遺伝子の簡易検出系の開発

淋菌のフルオロキノロン (シプロフロキサシン) に対する耐性は、主に DNA gyrase subunit A (*gyrA*) をコードする遺伝子における Ser-91 (TCC) および Asp-95 (GAC) のミスセンス変異により生じる。これらの変異により、シプロフロキサシンの最小生育阻害濃度 (MIC) が上昇することが報告されている。更に、近年分離されるシプロフロキサシンに耐性を示す国内分離のほぼ全ての株は Ser-91、Asp-95 変異を保持しており、これらの変異を検出することは、シプロフロキサシン耐性株の同定に繋がる。本研究では、QProbe 法 (Kurata S et al. Nucleic Acids Res, 2001) を利用した上記の変異を特異的に検出する検査法の開発に着手した。QProbe 法では、異なる PCR 産物間での配列の違い (SNP) による、プローブとの親和性の違いで生じる Tm 値の差異を比較解析することで、野生型と変異型の PCR 産物を区別する (融解曲線分析)。今年度は、QProbe 法による、野生型 *gyrA* 遺伝子 PCR 産物と変異型 *gyrA* 遺伝子 (S91、S95 を含む) PCR 産物を識別可能なアッセイ系の開発を行った (QProbe プローブ、及び PCR 産物産生のためのプライマ

ーセットの構築)。開発したアッセイ系では、GyrA の Ser-91 及び Ser-95 に対応する一塩基変異の有無を精緻に区別した。[志牟田健、高橋英之、明田幸宏]

## 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、分子タイピングを実施した。

2021 年 4 月～2022 年 3 月の総計で、67 例の PCR 陽性検体が有った。67 例中タイピングに成功したものは 59 例で、このうち 58 例までが最頻検出率が続いている 14d/f であった。他は 14d/g が 1 例であった。[中山周一、大西真; 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)]

## イ. マクロライド耐性梅毒トレポネーマの 2016 年度からの急激な増加に対するフォローアップ解析

国内ガイドラインにおいて azithromycin 等マクロライド製剤は梅毒治療に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 年の期間で 23S rRNA A2058G 変異解析が可能であったもののうち、11.1% が耐性型であったが、2016 年から 2017 年 3 月までの期間では、同じく解析ができた検体の 58.3% が耐性型であり、2016 年からの急激な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、67 例の PCR 陽性検体中 23S rRNA 解析に成功した 58 例について 23S rRNA A2058G 変異解析をおこなったところ、全例が耐性型であった。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が、今年度は感受性例が検出されないという深刻な状況が明らかとなった。[中山周一、大西真; 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)]

## ウ. 国内梅毒トレポネーマ株の体系的ゲノム解析

昨年度、2014～2018 年の期間に国内で検出された国内梅毒トレポネーマ株のうち分子型別、23S rRNA 解析ともに成功した 49 株につき、検体からの非培養 DNA 増幅及びキャプチャー RNA を用いた梅毒トレポネーマゲノム画分濃縮処理を行い、全ゲノム解析をおこなった。その結果、21 株でゲノム解析に成功し、結果として国内株は中国株と最も近縁であること、但し、この 2 国株群は詳細には国により系統が細分化できるこ

と、両国株群の共通祖先と考えられる株は 2006 年頃に生じたと推定されることを見出した。

今年度はこれとは別に、Washington 大 L. Giacani 主導の梅毒ワクチン開発を目指したグローバルな梅毒トレポネーマゲノム解析プロジェクトに参加して 2019 年 1 月～2020 年 2 月までの日本国内陽性例 82 サンプルを共有し、共同でデータ解析を行い、結果を公表した。日本株のうち、Heterosexuals 患者由来株は全て中国株群と最近縁関係に有り、「SS14-East asia」と命名した Sub-clade を形成すること、この Sub-clade を簡便に検出するマーカーとして有用と思われる 1 塩基置換とを見出した。また日本株のうち、MSM 株は、同 Sub-clade のものを含む計 4 つの系統に分けられること、これら国内流通株群 4 系統を簡便に同定区分できる可能性の有る 1 塩基置換 3 ヶ所の組み合わせを見出した。今後その検証が課題と目される。[中山周一、錦信吾、李謙一、大西真; 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)]

## V 口腔内細菌に関する研究

### 1. 口腔細菌感染症の病因解明と制御方法の開発

#### (1) 抗菌物質による歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) のデフォーメーションと抗菌機序の分子機構

ある膜作用型抗菌物質の添加による歯周病原細菌 Pg の経時的な形態変化を、高速原子間力顕微鏡でナノイメージングした。抗菌物質添加後、菌体表層には膜小胞が多数形成され、さらに高濃度の抗菌物質添加により菌体容積は膨張して破裂した。過剰産生された膜小胞には、生育に必須の外膜トランスポーター RagA/B を多く含んでいたことから、膜小胞形成に伴う外膜からの同分子の枯渇が、抗菌機序に関与する可能性が示された。[中尾龍馬; 吉野七海(エスビー食品)、池田剛(崇城大学)]

#### (2) 抹茶抽出物による Pg の生育と付着に対する阻害

14 種 19 株の口腔細菌に対する抹茶抽出物の MIC を調べたところ、Pg は最も高い感受性を示す口腔細菌の一つであることが明らかとなった。また、Pg を抹茶抽出物で処理すると、Pg のメジャー線毛 FimA を介した自家凝集を認めた。以上より、抹茶による Pg の生育と付着の阻害効果に基づいた歯周病治療薬への応用可能性が示唆された。[中尾龍馬; 成澤直規(日本大学)]

#### (3) Pg に対する抗菌作用を示す抹茶由来化合物の探索

抹茶エキス由来カテキン類のメジャー成分として Epigallocatechin-3-O-gallate, Epigallocatechin, Epicatechin-3-O-gallate, Epicatechin, マイナー成分として、Catechin, 1, 4, 6-

tri-O-galloyl-glucose, Epigallocatechin-3-O-(3"-O-Methyl)-gallate を単離した。このうち Epigallocatechin-3-O-gallate, Epigallocatechin, Epicatechin-3-O-gallate, 1, 4, 6-tri-O-galloyl-glucose, Epigallocatechin-3-O-(3"-O-Methyl)-gallate において、Pg に対する増殖阻害活性を認めた。化合物の構造と活性の相関から、抗菌活性におけるガロイル基の重要性が示唆された。[中尾龍馬、池田剛(崇城大学)]

### 2. 細菌由来膜小胞に関する研究

#### (1) Pg と *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) の外膜小胞を用いた経鼻ワクチンの研究

Pg と Aa の 2 種類の膜小胞をマウスへ経鼻免疫すると、血中および唾液中に Pg と Aa の菌体に特異的な抗体産生が誘導された。Pg と Aa の口腔感染実験においては、ワクチンの接種により、Pg と Aa を口腔から排除することができた。[平山悟(新潟大学)、中尾龍馬、山口雄大、泉福英信(日本大学)、大西真]

#### (2) マウスにおける Pg 外膜小胞の血行動態

Pg の菌体、および外膜小胞をマウス尾静脈内へ投与した際の体内分布、およびその経時的変化について解析した。多くの臓器において、Pg 菌体は、接種後 6 時間から 24 時間という比較的早い段階で wash out、または臓器内で分解されることが示唆された。一方で、Pg 外膜小胞の一部は脳に蓄積することが明らかとなった。[内山大樹、山口雄大、菊池亨、明田幸宏、工藤敏史(東京医科歯科大学)、中尾龍馬]

#### (3) 犬の歯周病ワクチン候補となる細菌由来外膜小胞の探索

歯周病を自然発症するイヌに対する外膜小胞ワクチンの安全性と効果を調査する研究に先立ち、マウスモデルを用いて複数の歯周病原細菌の外膜小胞による液性免疫応答を調べた。ヒトとイヌに共通の歯周病原細菌である Pg と *Treponema denticola* (Td) に対する液性免疫を最も強く誘導できる 3 種類の外膜小胞ワクチンの組み合わせを決定した。[中尾龍馬、山口雄大、石原和幸(東京歯科大学)、明田幸宏]

#### (4) プロバイオティクス大腸菌 Nissle 1917 (EcN) 株由来膜小胞ワクチンの医療応用に向けた取り組み

これまでに、EcN 株を用いた膜小胞ワクチンの増産技術開発、外来性莢膜多糖の発現によるキメラ型 EcN 膜小胞の構築を行ってきた。今回、肺炎球菌血清型 14 の莢膜多糖抗原 (CPS14) を発現する EcN 膜小胞ワクチンの効果に関し、エイジングによる宿主免疫応答への影響をマウスモデルで調べた。比較対象に使用した現行 2 種類の肺炎球菌ワクチン (13 価の結合型ワクチン、23 価の多糖体ワクチン) は、いずれも加

齢とともに液性免疫誘導が著しく低下したのに対し、EcN 膜小胞ワクチンは、幅広い週齢のマウスにおいて(特に高齢マウスにおいても)液性免疫誘導能を高く維持していたことから、EcN ワクチンの既存ワクチンに対する優位性が示唆された。[中尾龍馬、明田幸宏、大西真]

(5) ウシ型結核菌弱毒株 BCG 由来膜小胞の結核ワクチンへの応用

*Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guerin (BCG) Tokyo 株 I 型から精製した膜小胞でマクロファージ様培養細胞を刺激すると、種々の炎症性サイトカインが産生されることが確認され、この現象が TLR2 欠失細胞では消失することから、膜小胞は TLR2 依存的な免疫誘導性があることが明らかとなった。また、BCG の膜小胞をマウスに経鼻または経皮免疫することによって、BCG 特異的な抗体産生が確認された。BCG の膜小胞によって免疫済みのマウスへ BCG 感染実験を実施したところ、膜小胞による免疫は有意な肺内の菌量を減少させ、BCG 生菌での免疫と同等の感染防御能を示した。[山口雄大、中尾龍馬、明田幸宏]

(6) 緑膿菌の膜小胞の免疫誘導能に関する研究

緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 株が産出する膜小胞の宿主免疫誘導特性を解析した。浮遊状態の膜小胞に比べて、バイオフィルム状態で産出される膜小胞は、マクロファージ細胞における IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-12p40 などのサイトカイン産生誘発効果が高いことが示された。また、どちらの膜小胞ともマウスの鼻腔内に接種すると、血中、口腔、上・下気道において、同病原体特異的な抗体の産生を認めた。[田代陽介、高原翠夏人、竹井奎太、明田幸宏、中尾龍馬]

(7) 病原性腸内細菌が産生する膜小胞を用いた免疫原性の検討

腸管の疾患に関連する病原細菌である *Clostridioides difficile*、*Fusobacterium nucleatum* が産生する細胞外膜小胞を精製し、その免疫原性に関する検討を行った。*C. difficile* については膜小胞の高度精製を可能とするため、遺伝子改変系を用いてフラジェリン遺伝子 *fliC* 欠損株を作製した。両細菌の膜小胞をマウスマクロファージ様細胞に添加したところ、炎症性サイトカイン産生を誘導し、また、*C. difficile* と *F. nucleatum* の膜小胞をそれぞれマウスに鼻腔粘膜接種および腹腔接種したところ、各細菌に特異的な抗体産生が誘導された。以上より、腸内細菌が産生する膜小胞はワクチン抗原として有用である可能性が示された。[尾花望(筑波大学)、中尾龍馬]

(8) 細菌、及び細菌由来膜小胞の微細構造の理解

ア. 細菌、及び細菌由来膜小胞の凍結断面の観察

細菌及び細菌由来膜小胞内部の構造、および分子の局在はほとんど明らかになっていない。本研究では、菌体や膜小胞の断面の FE-SEM による観察手法の確立を目指した。サンプルの包埋材として、5%アガーは比較的細かい網目構造を有しており、大腸菌の菌体や大きめの膜小胞であれば保持でき、それらの断面の観察が可能であった。[中尾龍馬、小林宏尚(感染病理部)、明田幸宏]

イ. 未処理細菌の電子顕微鏡観察手法開発

電子顕微鏡による高分解能観察は細菌などの詳細な構造を調べるために用いられる一方、試料にオスミウムコーティングするなど真空中に耐性を持たせる処理が必要である。そこで、濡れた細菌をそのまま直接電子顕微鏡観察する手法の確立を目指した。炭素原子 1 層からなるグラフェン 2 枚の間に大腸菌懸濁液を挟むことで、化学固定や染色を行うことなく走査型電子顕微鏡観察することに成功した。[佐々木祐生(一般財団法人ファインセラミックスセンター)、平山悟(新潟大学)、中尾龍馬]

## 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. 腸管出血性大腸菌 (EHEC)に関する研究 (1)EHEC の多様性解析、(2)分子疫学的解析 の項に記載の通り。[伊豫田淳、泉谷秀昌、小澤さお美、竹本歩、中島雪絵、齊藤康憲、李謙一、明田幸宏]
2. 国立感染症研究所ホームページからダウンロード可能な「EHEC 検査・診断マニュアル」を改訂した。[原田哲也(大阪健康安全基盤研究所)、井口純(宮崎大学)、勢戸和子(細菌第一部・客員研究員)、伊豫田淳]

### 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 358 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、明田幸宏、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、レジオネラ・レファレンスセンター]

#### IV. チフス菌・パラチフス A 菌に関するレファレンス業務

令和 3 年度厚生労働省外部精度管理事業として、チフス菌、パラチフス A 菌の同定について、全国 56 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。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、明田幸宏]

#### 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 [志牟田健、高橋英之、明田幸宏]

##### 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、明田幸宏]

##### 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、明田幸宏]

#### 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継続的に行った。2021 年度はマダニが媒介する病原体の網羅的検出法の開発研究を実施した。[川端寛樹、佐藤梢]

#### 研修業務

##### I. 腸管出血性大腸菌に関する研修

1. 令和 3 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」、2022 年 1 月、東京 [伊豫田淳]
2. 令和 3 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、2022 年 1 月、オンライン [泉谷秀昌]
3. 令和 3 年度希少感染症診断技術研修会「分子疫学解析の現状と問題点、課題など(総括)」、2022 年 2 月オンライン [泉谷秀昌]
4. 令和 3 年度 希少感染症診断技術研修会. [事例紹介 腸管出血性大腸菌(EHEC)関係] 2022 年 2 月 オンライン [李謙一]

##### II. レジオネラ属菌に関する研修

1. 令和 3 年度 国立保健医療科学院・短期研修 新興再興感染症技術研修・講義「レジオネラ検査法」、2021 年 10 月、東京 [前川純子]
2. 令和 3 年度 国立保健医療科学院・短期研修 環境衛生監視指導研修・講義「レジオネラ属菌の検査と対策」、2021 年 11 月、オンライン [前川純子]
3. 日本環境衛生センター・第 7 回保健所環境衛生監視員講座・講義「レジオネラ対策の基礎知識」、2021 年 11-12 月、e-ラーニング [前川純子]
4. 令和 3 年度 静岡県・レジオネラ属菌検査研修会「レジオネラ症とレジオネラ属菌検査法」、2021 年 12 月、静岡県 [前川純子]

#### 発表業績一覧

##### I. 誌上発表

###### 1. 欧文発表

- 1) Nguyen TTH, Kikuchi T, Tokunaga T, Iyoda S, Iguchi A. Diversity of the Tellurite Resistance Gene Operon in *Escherichia coli*. Front Microbiol. 2021; 12: 681175.
- 2) Sudo N, Lee K, Sekine Y, Ohnishi M, Iyoda S. RNA-binding protein Hfq downregulates locus of enterocyte effacement-encoded regulators independent of small regulatory RNA in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Mol Microbiol. 2022; 117(1): 86-101.
- 3) Tsunoi M, Iyoda S, Iwase T. Collateral effects of deletion of *nlpD* on *rpoS* and *rpoS*-dependent genes. J Clin Invest. 2021; 131(18): e152693.
- 4) Kashima K, Sato M, Osaka Y, Sakakida N, Kando S, Ohtsuka K, Doi R, Chiba Y, Takase S, Fujiwara A, Shimada S, Ishii R, Mizokoshi A, Takano M, Lee K, Iyoda S, Honda A. An outbreak of food poisoning due to *Escherichia coli* serotype O7:H4 carrying *astA* for enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin1 (EAST1). Epidemiol Infect. 2021; 149: e244.
- 5) Yahiro K, Ogura K, Tsutsuki H, Iyoda S, Ohnishi M, Moss J. A novel endoplasmic stress mediator, Kelch domain containing 7B (KLHDC7B), increased Harakiri (HRK) in the SubAB-induced apoptosis signaling pathway. Cell Death Discov. 2021; 7(1): 360.
- 6) Nishida R, Nakamura K, Taniguchi I, Murase K, Ooka T, Ogura Y, Gotoh Y, Itoh T, Toyoda A, Mainil JG, Piérard D, Seto K, Harada T, Isobe J, Kimata K, Etoh Y, Hamasaki M, Narimatsu H, Yatsuyanagi J, Kameyama M, Matsumoto Y, Nagai Y, Kawase J, Yokoyama E, Ishikawa K, Shiimoto T, Lee K, Kang D, Akashi K, Ohnishi M, Iyoda S, Hayashi T. The global population structure and evolutionary history of the

- acquisition of major virulence factor-encoding genetic elements in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O121:H19. *Microb Genom.* 2021; 7(12): 000716.
- 7) Tsutsuki H, Zhang T, Yahiro K, Ono K, Fujiwara Y, Iyoda S, Wei FY, Monde K, Seto K, Ohnishi M, Oshiumi H, Akaike T, Sawa T. Subtilase cytotoxin from Shiga-toxigenic *Escherichia coli* impairs the inflammasome and exacerbates enteropathogenic bacterial infection. *iScience.* 2022; 25(4): 104050.
- 8) Das L, Deb S, Arakawa E, Yamasaki S, Das SK. Pufferfish (*Tetraodon cutcutia*) Sampled from a Freshwater River Serves as an Intermediate Reservoir of a Sucrose Nonfermenting Variant of *Vibrio cholerae* PS-4. *Microbiol Spectr.* 2022; 10(1): e0122121.
- 9) Sekiya N, Sunagawa T, Takahashi H, Kamiya H, Yoshino S, Ohnishi M, Okabe N, Taniguchi K. Serogroup B invasive meningococcal disease (IMD) outbreak at a Japanese high school dormitory: An outbreak investigation report from the first IMD outbreak in decades. *Vaccine.* 2021; 39(15):2177-2182.
- 10) Fujita M, Ueno T, Horiuchi M, Mitsunashi T, Yamamoto S, Arai A, Tomiyama M. *Campylobacter coli* infection causes spinal epidural abscess with Guillain-Barré syndrome: a case report. *BMC Neurol.* 2022; 22(1): 9.
- 11) Yamamoto S, Iyoda S, Ohnishi M. Stabilizing Genetically Unstable Simple Sequence Repeats in the *Campylobacter jejuni* Genome by Multiplex Genome Editing: a Reliable Approach for Delineating Multiple Phase-Variable Genes. *mBio.* 2021; 12(4): e0140121.
- 12) Hanao M, Aoki K, Ishii Y, Shimuta K, Ohnishi M, Tateda K. Molecular characterization of *Neisseria gonorrhoeae* isolates collected through a national surveillance programme in Japan, 2013: evidence of the emergence of a ceftriaxone-resistant strain from a ceftriaxone-susceptible lineage. *J Antimicrob Chemother.* 2021; 76:1769-1775.
- 13) Yahara K, Ma K, Mortimer T, Shimuta K, Nakayama SI, Hirabayashi A, Suzuki M, Jinnai M, Ohya H, Kuroki T, Watanabe Y, Yasuda M, Deguchi T, Eldholm V, Harrison O, Maiden M, Grad Y, Ohnishi M. Emergence and evolution of antimicrobial resistance genes and mutations in *Neisseria gonorrhoeae*. *Genome Med.* 2021; 30; 13:51.
- 14) Kakita T, Okano S, Kyan H, Miyahira M, Taira K, Kitashoji E, Koizumi N. Laboratory diagnostic, epidemiological, and clinical characteristics of human leptospirosis in Okinawa Prefecture, Japan, 2003–2020. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021; 15(12): e0009993.
- 15) Nakao R, Masuzawa T, Nakamura S, Koizumi N. Complete genome sequence of *Leptospira kobayashii* strain E30, isolated from soil in Japan. *Microbiol Resour Announc.* 2021; 10: e00907-21.
- 16) Yasuda I, Saito N, Suzuki M, Umipig DV, Solante RM, de Guzman F, Sayo AR, Yasunami M, Koizumi N, Kitashoji E, Sakashita K, Ng CFS, Smith C, Ariyoshi K. Unique characteristics of new complete blood count parameters, the immature platelet fraction and the immature platelet fraction count, in dengue patients. *PLoS ONE* 2021; 16(11): e0258936.
- 17) Muthusinghe DS, Shimizu K, Lokupathirage SMW, Wei Z, Sarathkumara YD, Amanda Fonseka GR, Senarathne P, Koizumi N, Kawakami T, Koizumi A, Wickramasinghe C, Ebihara H, Matsuno K, Tsuda Y, Jiro Arikawa J, Gamage CD, Yoshimatsu K. Identification of novel rodent-borne orthohantaviruses in an endemic area of chronic kidney disease of unknown etiology (CKDu) in Sri Lanka. *Viruses* 2021; 13:1984.
- 18) Mukadi Kakoni P, Munyeku Bazitama Y, Nepomuceno JR, Pukuta-Simbu E, Kawhata Mawika F, Kashitu Mujinga G, Palla L, Ahuka-Mundeke S, Muyembe Tamfum J-J, Koizumi N, Kubo Y, Ariyoshi K, Smith C. Leptospirosis as a cause of fever associated with jaundice in the Democratic Republic of the Congo. *PLoS Negl Trop Dis* 2021; 15(8): e0009670.
- 19) Kamani J, Harrus S, Ocholi RA, Yague II, Nyango PG, González-Miguel J, Koizumi N. Molecular detection and characterization of pathogenic *Leptospira* species in bats (Chiroptera) roosting in human habitats in Nigeria, West Africa. *Zoonoses Public Health* 2021; 68:908-916.
- 20) Kakita T, Kuba Y, Kyan H, Okano S, Morita M, Koizumi N. Molecular and serological epidemiology of *Leptospira* infection in cats in Okinawa Island, Japan. *Sci. Rep.* 2021; 11: 10365.
- 21) Shinya S, Muraoka Y, Negishi D, Koizumi N. Molecular epidemiology of *Leptospira* spp. among wild mammals and a dog in Amami Oshima Island, Japan. *PLoS ONE* 2021, 16(4): e0249987.
- 22) Huy HL, Koizumi N, Nuradji H, Susanti, Noor SM, Dharmayanti NLPI, Haga T, Hirayama K, Miura K. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from brown rats and house shrews in markets, Bogor, Indonesia. *J Vet Med Sci.* 2021, 83(3): 531–534.
- 23) Kuronuma K, Bunya N, Chang B, Fujiya Y, Oishi K, Narimatsu E, Takahashi S, Chiba H. Invasive pneumococcal

- disease affected the fatal outcome in a COVID-19 patient. *J Infect Chemother.* 2021; 27:1108-1111.
- 24) Nagano K, Kawasaki S, Moro H, Chang B, Bamba Y, Yamamoto A, Morita M, Ohnishi M, Shibata S, Koizumi T, Aoki N, Honma Y, Abe T, Koya T, Aoki N, and Kikuchi T. An outbreak of serotype 19A pneumococcal pneumonia in a relief facility in Japan. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2021; 30:1-3.
- 25) Nakano S, Fujisawa T, Chang B, Ito Y, Akeda H, Fujita J, Matsumura Y, Yamamoto M, Suga S, Nagao M, Ohnishi M. Whole-genome analysis-based phylogeographic investigation of *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A sequence type 320 isolates in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022; 66: e0139521.
- 26) Chang B, Tamura K, Fujikura H, Watanabe H, Tanabe Y, Kuronuma K, Fujita J, Oshima K, Maruyama T, Abe S, Kasahara K, Nishi J, Kubota T, Kinjo Y, Serizawa Y, Shimbashi R, Fukusumi M, Shimada T, Sunagawa T, Suzuki M, Oishi K, and the Adult IPD Study Group. Pneumococcal meningitis in adults in 2014–2018 after introduction of pediatric 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in Japan. *Sci Rep.* 2022; 12:3066.
- 27) Takeshita K, Takeuchi N, Ohkusu M, Hishiki H, Shiko Y, Kawasaki Y, Chang B, Ishiwada N. Epidemiological characteristics in serotype 24 paediatric invasive pneumococcal disease according to an 11-year population-based study in Japan. *Epidemiol Infect.* 2022; 150: e66.
- 28) Tsuchiya M, Miyazaki H, Takata M, Shibuya R, Chang B, Ubukata K, Matsumoto T, Nakamura S. Comparative characteristics of the background and blood test findings in adults with pneumococcal pneumonia and invasive pneumococcal disease: A retrospective study. *J Infect Chemother.* 2022; 28:420-425.
- 29) Takahashi E, Ochi S, Mizuno T, Morita D, Morita M, Ohnishi M, Koley H, Dutta M, Chowdhury G, Mukhopadhyay AK, Dutta S, Miyoshi SI, Okamoto K. Virulence of cholera toxin gene-positive *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 strains isolated from environmental water in Kolkata, India. *Front Microbiol.* 2021; 12: 726273.
- 30) Gaowa, Wulantuya, Sato K, Liu D, Cui Y, Yin X, Li H, Wang T, Liu R, Wu L, Lu S, Gao T, Cao M, Wang G, Li C, Yan D, Ohashi N, Ando S, Kawabata H. Surveillance of *Borrelia miyamotoi*-carrying ticks and genomic analysis of isolates in Inner Mongolia, China. *Parasites Vectors* 2021; 14: 368.
- 31) Qiu Y, Squarre D, Nakamura Y, Lau ACC, Moonga LC, Kawai N, Ohnuma A, Hayashida K, Nakao R, Yamagishi J, Sawa H, Namangala B, Kawabata H. Evidence of *Borrelia theileri* in Wild and Domestic Animals in the Kafue Ecosystem of Zambia. *Microorganisms* 2021; 9(11):2405.
- 32) Nakao R, Kasama K, Bazartseren B, Ogura Y, Kawabata H, Toyoda A, Hayashi T, Takano A, Maeda K. The evolution of hard tick-borne relapsing fever borreliae is correlated with vector species rather than geographical distance. *BMC Ecology and Evolution* 2021; 21(1): 105.
- 33) Sato K, Kumagai Y, Sekizuka T, Kuroda M, Takano A, Hayashi T, Ohnishi M, Kawabata H. Vitronectin binding protein, BOM1093, confers serum resistance on *Borrelia miyamotoi*. *Scientific Report.* 2021; 11: 5462.
- 34) Mans BJ, Kelava S, Pienaar R, Featherston J, de Castro MH, Quetglas J, Reeves WK, Durden LA, Miller MM, Lavery TM, Apanaskevich D, Shao R, Takano A, Kawabata H, Moustafa MAM, Nakao R, Matsuno K, Greay TL, Evasco K, Barker D, Barker SC. Nuclear (18S-28S rRNA) and mitochondrial genome markers of *Carios (Carios) vespertilionis* (Argasidae) support *Carios Latreille, 1796* as a lineage embedded in the Ornithodorinae: re-classification of the *Carios sensu Klompen and Oliver (1993)* clade into its respective subgeneraa. *Ticks and Tick-borne Diseases.* 2021; 12(4): 101688.
- 35) Moriyama Y, Kutsuna S, Toda Y, Kawabata H, Sato K, Ohmagari N. Three cases diagnosed not Lyme disease but "tick-associated rash illness (TARI)" in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy.* 2021; 27(4): 650-652.
- 36) Seto J, Tanaka S, Kawabata H, Ito Y, Ikeda T, Mizuta K. Detection of Tick-Borne Pathogens in Ticks from Dogs and Cats in the Yamagata Prefecture of Japan in 2018. *Japanese Journal of Infectious Diseases.* 2021; 74(2): 122-128.
- 37) Barker SC, Kelava S, Mans B, Shao R, Moustafa M, Matsuno K, Takano A, Kawabata H, Sato K, Fujita H, Ze C, Plantard O, Hornok S, Apanaskevich D, Barker D, Nakao R. Phylogenies from mitochondrial genomes of 120 species of ticks: Insights into the evolution of the families of ticks and of the genus *Amblyomma*. *Ticks and Tick-borne Diseases.* 2021; 12(1): 101577.
- 38) Bugayong MP, Izumiya H, Bilar JM, Morita M, Arakawa E, Saito-Obata M, Oshitani H, Ohnishi M. Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O1 isolates obtained from outbreaks in the Philippines, 2015-2016. *J Med Microbiol.* 2021; 70.
- 39) Wakabayashi Y, Harada T, Kawai T, Takahashi Y, Umekawa N, Izumiya H, Kawatsu K. Multilocus variable-number tandem-repeat analysis of enterohemorrhagic *Escherichia coli*

- serogroups O157, O26, and O111 based on a *de novo* look-up table constructed by regression analysis. Foodborne Pathog Dis. 2021; 18: 647-654.
- 40) Nakaue R, Qin T, Morita M, Ren H, Chang B, Murai M, Amemura-Maekawa J, Ohnishi M. Development of a Multiplex-PCR Serotyping Assay for Characterizing *Legionella pneumophila* Serogroups Based on the Diversity of Lipopolysaccharide Biosynthetic Loci. J Clin Microbiol. 2021; 59: e0015721.
- 41) Morita M, Harada N, Shinohara Y, Murai M, Ishii N, Amemura-Maekawa J, Akeda Y. Complete Genomic Sequence of the Clinical Isolate *Legionella pneumophila* Serogroup 1 Strain 80-045 from Japan. Microbiol Resour Announc. 2021; 10: e0082221.
- 42) Seto J, Amemura-Maekawa J, Sampei M, Araki K, Endo M, Kura F, Ikeda T, Kato T, Ohnishi M, Mizuta K. Investigation of a Legionnaires' disease outbreak using direct sequence-based typing in Yamagata City, Japan, 2019. Jpn J Infect Dis. 2021.
- 43) Kanatani JI, Watahiki M, Kimata K, Kato T, Uchida K, Kura F, Amemura-Maekawa J, Isobe J. Detection of *Legionella* species, the influence of precipitation on the amount of *Legionella* DNA, and bacterial microbiome in aerosols from outdoor sites near asphalt roads in Toyama Prefecture, Japan. BMC Microbiol. 2021, 21(1):215.
- 44) Ikebe T, Okuno R, Kanda Y, Sasaki M, Yamaguchi T, Otsuka H, Kazawa Y, Suzuki M, Ohya H, Uchida K, Ohnishi M; Working Group for Beta-Hemolytic Streptococci in Japan. Molecular characterization and antimicrobial resistance of group A streptococcus isolates in streptococcal toxic shock syndrome cases in Japan from 2013 to 2018. Int J Med Microbiol. 2021; 311(3):151496.
- 45) Lieberman NAP, Lin MJ, Xie H, Shrestha L, Nguyen T, Huang ML, Haynes AM, Romeis E, Wang QQ, Zhang RL, Kou CX, Ciccarese G, Dal Conte I, Cusini M, Drago F, Nakayama SI, Lee K, Ohnishi M, Konda KA, Vargas SK, Eguiluz M, Caceres CF, Klausner JD, Mitjà O, Rompalo A, Mulcahy F, Hook EW 3rd, Lukehart SA, Casto AM, Roychoudhury P, DiMaio F, Giacani L, Greninger AL. *Treponema pallidum* genome sequencing from six continents reveals variability in vaccine candidate genes and dominance of Nichols clade strains in Madagascar. PLoS Negl Trop Dis. 2021; 15(12):e0010063.
- 46) Yoshino N, Ikeda T, Nakao R. Dual Inhibitory Activity of Petroselinic Acid Enriched in Fennel Against *Porphyromonas gingivalis*. Front Microbiol. 2022; 13:816047.
- 47) Sasaki Y, Hirayama S, Nakao R. Scanning electron microscopy of *Escherichia coli* encapsulated in a spacerized graphene sandwich. Microscopy (Oxf). 2022; 71(3):175-180.
- 48) Hirayama S, Nakao R. Glycine Induction Method: Effective Production of Immunoactive Bacterial Membrane Vesicles with Low Endotoxin Content. Methods Mol Biol. 2022; 2414:207-226.
- 49) Nakao R, Tsuyoshi Ikeda, Soichi Furukawa, Yasushi Morinaga. Curry leaf triggers cell death of *P. gingivalis* with membrane blebbing. Pathogens. 2021; 10(10):1286.
- 50) Hirayama S, Nakao R. Intranasal vaccine study using *Porphyromonas gingivalis* membrane vesicles: isolation method and application to a mouse model. Methods in Molecular Biology, 2021; 2210: 157-166.
- 51) Iwabuchi Y, Nakamura T, Kusumoto Y, Nakao R. Effects of pH on the properties of membrane vesicles including glucosyltransferase in *Streptococcus mutans*. Microorganisms. 2021; 9 (11):2308.
- 52) Nakao R, Ueno T. Effects of oral moisturizing gel containing propolis following head and neck radiotherapy: randomized controlled pilot trial. BDJ Open, 2021; 7: 12.
- 53) Lee K, Iguchi A., Uda K., Matsumura S., Miyairi I., Ishikura K., Ohnishi M., Seto J., Ishikawa K., Konishi N., Obata H., Furukawa I., Nagaoka H., Morinushi H., Hama N., Nomoto R., Nakajima H., Kariya H., Hamasaki M., and Iyoda S. Whole-genome sequencing of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* OX18 from a fatal hemolytic uremic syndrome case. Emerg. Infect. Dis. 2021; 27:1509-1512.
- 54) Nishiki S., Lee K., Kanai M., Nakayama S. I., and Ohnishi M. Phylogenetic and genetic characterization of *Treponema pallidum* strains from syphilis patients in Japan by whole-genome sequence analysis from global perspectives. Sci. Rep. 2021; 11:3154.
- 55) Shimuta K., Lee K., Yasuda M., Furubayashi K., Uchida C., Nakayama S. I., Takahashi H., and Ohnishi M. Characterization of 2 *Neisseria gonorrhoeae* strains with high-level azithromycin resistance isolated in 2015 and 2018 in Japan. Sex. Transm. Dis. 2021; 48:e85-e87.
- 56) Miyakawa K, Nishi M, Ogawa M, Matsunaga S, Sugiyama M, Nishitsuji H, Kimura H, Ohnishi M, Watashi K, Shimotohno K, Wakita T, Ryo A. Galectin-9 restricts hepatitis B virus replication via p62/SQSTM1-mediated selective autophagy of viral core proteins. Nat Commun. 2022; 13:531. doi: 10.1038/s41467-022-28171-5.
- 57) Abe R, Akeda Y, Sugawara Y, Matsumoto Y, Motooka D, Kawahara R, Yamamoto N, Tomono K, Iida T, Hamada S.

Enhanced Carbapenem Resistance through Multimerization of Plasmids Carrying Carbapenemase Genes. *mBio*. 2021 Jun 29;12(3):e0018621.

58) Abe R, Oyama F, Akeda Y, Nozaki M, Hatachi T, Okamoto Y, Yoshida H, Hamaguchi S, Tomono K, Matsumoto Y, Motooka D, Iida T, Hamada S. Hospital-wide outbreaks of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* horizontally spread through a clonal plasmid harbouring blaIMP-1 in children's hospitals in Japan. *J Antimicrob Chemother*. 2021 Nov 12;76(12):3314-3317.

## 2. 和文発表

1) 小林亜由香、中島淳、大塚武、飯草正実、酒井雄一郎、佐多章、大城健哉、菊地孝司、菊池俊、松本裕、宮原聖奈、宮平勝人、神谷元、高橋英之、東田修二、齋藤良一。市販輸送培地における *Neisseria meningitidis* 生菌数の経時的変動。日本臨床微生物学雑誌。2021; 31: 52-56.

2) 今野貴之、山田和弘、赤瀬悟、坂田淳子、尾羽根紀子、森美聡、横山敬子、山本章治、朝倉宏。国内の *Campylobacter jejuni* 血清型別に対応した改良 Penner PCR 型別法。日本食品微生物学会雑誌。2021; 38:123-128.

3) 泉谷秀昌、李謙一、伊豫田淳、大西真。2020年に分離された腸管出血性大腸菌の MLVA 法による解析。2021. *Infectious Agents Surveillance Report* 42:96-97.

4) 李謙一、伊豫田淳、泉谷秀昌、大西真。国内で分離された腸管出血性大腸菌の全ゲノム配列データベース化と食中毒事例の解析。2021. *Infectious Agents Surveillance Report* 42:97-98.

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

1) Shinya S, Yoshimura H, Yamamoto M, Koizumi N, Sato K, Muraoka Y, Negishi D, Torimoto R, Yamato O. Clinical and pathological characteristics in an Amami rabbit (*Pentalagus furnessi*) with *Leptospira interrogans* infection in Amami Oshima Island, Japan. 14th ASCM/27th JSZWM 2021, Sapporo, September, 2021.

2) Chang B, Kinjo Y, Oishi K, the Adult IPD study group. Distribution and variation of serotypes and pneumococcal surface protein A clades of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from adult patients with invasive pneumococcal disease in Japan. The 3<sup>rd</sup> Asian Pneumococcal Symposium, Karuizawa Town, Nagano, Japan, December, 2021.

3) Yoshino N, T. Ikeda T, Nakao R. Dual inhibitory effects of

fennel seeds against *Porphyromonas gingivalis*. *World Microbe Forum*. June, 2021. Online.

4) Nakao R, Iwabuchi Y, Kimura S, Hirayama S, Morino S, Suzuki M, Ohnishi M. Intranasal vaccine development using probiotic *E. coli*-derived membrane vesicles carrying pneumococcal capsular polysaccharides. 15th Vaccine Congress. Oct. 2021. Online.

5) Nakao R. Prospective vaccine strategy using bacterial membrane vesicles delivered into nasal cavity. EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications. Nov. 2021. Online and On-site at Tsukuba, Ibaraki.

6) Yamaguchi T, Samukawa T, Nakao R, Tomita S. Development of anti-TB vaccine using mycobacterial membrane vesicles EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications. Nov. 2021. Online and On-site at Tsukuba, Ibaraki.

7) Iwabuchi Y, Nakamura T, Kusumoto Y, Nakao R, Iwamoto T, Shinozuka O, Senpuku H. Effect of initial pH conditions on the membrane vesicles produced by *Streptococcus mutans*. EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications. Nov. 2021. Online and On-site at Tsukuba, Ibaraki.

8) Nakamura T, Narisawa N, Takenaga F, Nakao R, and Senpuku H. Study on glucosyltransferase of *Streptococcus mutans*. EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications. Nov. 2021. Online and On-site at Tsukuba, Ibaraki.

9) Okuda M, Obana N, Okuwaki H, Nakao R, Senpuku H, Nomura N. Effects of mucosal immunization of *Clostridium perfringens* membrane vesicles on humoral immunity and gut microbiota. EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications. Nov. 2021. Online and On-site at Tsukuba, Ibaraki.

10) Takahara M, Hirayama S, Nakao R, Futamata H, Tashiro Y. Characterization of immunomodulatory membrane vesicles derived from *Pseudomonas aeruginosa* biofilm (Fee Waiver Award). EMBO Workshop: Bacterial Membrane Vesicles: Biogenesis, functions, and medical applications. Nov. 2021. Online and On-site at Tsukuba, Ibaraki.

11) Lee K. WGS analysis of STEC in Japan for national surveillance. Enabling Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance in Food Safety and Public Health through Whole-Genome Sequencing. Online, 2021.

12) Michinaga Ogawa, Sayaka Shizukuishi, Yukihiro Akeda,

Akihide Ryo, Makoto Ohnishi, Evasion of autophagy by intracellular *Streptococcus pneumoniaei*, The 3rd Asian Pneumococcal Symposium, Karuizawa, Dec. 2021.

13) Kazuko Yamamoto, Shuhei Ideguchi, Nobuyuki Ashizawa, Kazuak Takeda, Naoki Iwanaga, Takahiro Takazono, Koichi Izumikawa, Katsunori Yanagihara, Yuichi Fukuda, Kazuhiro Yatera, Bin Chang, Michinaga Ogawa, Hiroshi Mukae. Relationship between the Opacity Variance of *Streptococcus pneumoniae* Colonies and the Clinical Features of Adult Pneumococcal Pneumonia. The 3rd Asian Pneumococcal Symposium, Karuizawa, Dec. 2021.

## 2. 国内学会

1) 井口純, Thi Thu Huong Nguyen, 菊地泰生, 伊豫田淳. 大腸菌における亜テレル酸耐性オペロンの多様性, 第 95 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2022 年 3 月.

2) 宮田達弥、谷口愛樹、中村 佳司、後藤恭宏、小椋義俊、大西真、伊豫田淳、林哲也. 完全長配列を用いた EHEC O157 clade 8 のゲノムと Stx2 ファージの多様性解析, 第 95 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2022 年 3 月.

3) 八尋錦之助、小倉康平、津々木博康、伊豫田淳、大西真. SubAB により発現する KLHDC7B は Harakiri を誘導し細胞死を引き起こす, 第 95 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2022 年 3 月.

4) 高橋英之、大西真、志牟田健、横山茂之、柳沢達男. Genetic incorporation of non-canonical amino acid photocrosslinkers in *Neisseria meningitidis* provides insights into the physiological function of the function-unknown protein. 第 95 回日本細菌学会総会、オンライン、2022 年 3 月.

5) 山本章治. カンピロバクター表現型の多様性が菌株解析に及ぼす影響とその対策. 第 41 回衛生微生物協議会シンポジウム、オンライン開催、2021 年 6 月.

6) 山本章治、伊豫田淳、大西真. マルチプレックスゲノム編集を用いて *Campylobacter jejuni* の表現型を制御する. 第 95 回日本細菌学会総会シンポジウム、オンライン開催、2022 年 3 月.

7) 矢原耕史、志牟田健、中山周一、平林亜希、鈴木仁人、安田満、陳内理生、大屋日登美、黒木俊郎、渡辺祐子、出口隆、Kevin C. Ma、Tatum D. Mortimer、Vegard Eldholm、Odile B. Harrison、Martin C. J. Maiden、Yonatan H. Grad、大西真. Emergence and evolution of antimicrobial resistance genes and mutations in *Neisseria gonorrhoeae*, 第 95 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2022 年 3 月

8) 阿部圭吾、小泉信夫、中村 修一. 腎臓細胞上でのレプト

スピラ運動における菌体外膜成分の役割. 第 95 回日本細菌学会総会、東京、2022 年 3 月.

9) 阿部圭吾、小泉信夫、中村修一. 背景分離法を利用した培養細胞上での細菌運動解析. 生物物理学会東北支部会、2022 年 3 月.

10) 菊池達也、鈴木哲也、佐藤ルブナ、野本英俊、山元佳、森岡慎一郎、早川佳代子、忽那賢志、小泉信夫、大曲貴夫. 東京都都市部でのネズミ咬傷を契機としたレプトスピラ症. 第 669 回日本内科学会関東地方会、2021 年 6 月.

11) 村瀬一典、森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、中川一路、大西真. Genomic dissection of the *Vibrio cholerae* O-serogroup global reference strains, 第 95 回日本細菌学会総会、オンライン、2022 年 3 月.

12) 泉谷秀昌、李謙一、伊豫田淳、大西真、明田幸宏: 腸管出血性大腸菌の MLVA による分子疫学解析 (2018-2020 年)。第 42 回日本食品微生物学会学術総会、2021 年 9 月、オンライン.

13) 淀谷雄亮、佐々木麻里、増輪文治、井原基、田栗利紹、緒方喜久代、武藤千恵子、田中奈緒美、湯澤栄子、小嶋由香、前川純子、岡部信彦: 新規酵素基質培地キットであるレジオラート/QT 法の有効性の検討. 日本防菌防黴学会第 48 回年次大会. Web 開催. 2021 年 9 月.

14) 奥田真由、尾花望、奥脇響、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦. 腸内細菌由来メンブレンベシクルによる宿主免疫を介した腸内細菌叢制御 (若手優秀発表賞)。日本バイオフィルム学会. 2021 年 8 月、オンライン開催.

15) 平山悟、中尾龍馬. グリシンにより誘導された細菌メンブレンベシクルの性質とアジュバント活性の解析 (歯科基礎医学会賞受賞講演)。第 63 回歯科基礎医学会. 2021 年 10 月、オンライン開催.

16) 奥田真由、尾花望、奥脇響、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦. 腸内細菌由来メンブレンベシクルによる宿主免疫を介した宿主微生物叢制御. 第 34 回微生物生態学会 2021 年 10-11 月、オンライン開催.

17) 中尾龍馬、池田剛. Inhibitory activity of mahanimbine against *Porphyromonas gingivalis*. 第 44 回日本分子生物学会年会. 2021 年 12 月、横浜.

18) 中尾龍馬、小林宏尚、岩淵佑介、佐々木祐生、Madeleine Ramstedt、平山悟、大西真. 外来性荚膜多糖を発現するプロバイオティクス大腸菌が作る膜小胞ワクチンの特性評価. 第 15 回日本ワクチン学会. 2021 年 12 月、軽井沢市.

19) 中尾龍馬、吉野七海、池田剛. *Porphyromonas gingivalis* への二重の阻害効果を示すフェンネル中の化合物 X. 第 95 回日本細菌学会総会. 2022 年 3 月、オンライン開催.

## 細菌第一部

- 20) 山口雄大、寒川訓明、尾関百合子、松本壮吉、富田修平. Mycobacterial protease clp is a promising anti-TB drug target, 第 95 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2022 年 3 月.
- 21) 西山 晃史、古寺 哲幸、清水 将裕、Anna Savitskaya、尾関 百合子、真柳 浩太、山口 雄大、立石 善隆、松本 壮吉. Inactivation of DNA function by intrinsically disordered histone-like protein in mycobacteria, 第 95 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2022 年 3 月.
- 22) 寒川訓明、山口雄大、尾関百合子、松本壮吉、徳留健太郎、松永慎司、富田修平. CRISPR Interference-based Screening for Prediction of Synergistic/Additive Effects of Novel Combinations of Anti-Tuberculosis Drugs, 第 95 回日本薬理学会年会、オンライン開催、2022 年 3 月.
- 23) 伊澤和輝、李謙一、泉谷秀昌、伊豫田淳、大西真、明田幸宏. MLVA 結果と機械学習モデルを用いた腸管出血性大腸菌の遺伝的距離の予測. 第 42 回日本食品微生物学会学術総会. オンライン、2021 年 9 月.
- 24) 泉谷秀昌、李謙一、伊豫田淳、大西真、明田幸宏. 腸管出血性大腸菌の MLVA による分子疫学解析 (2018-2020 年). 第 42 回日本食品微生物学会学術総会. オンライン、2021 年 9 月.
- 25) 赤坂龍矢、松本裕子、李謙一、小泉充正、佐藤寿夫、明田幸宏、大西真、伊豫田淳. 腸管出血性大腸菌 O157 における変異型亜テルル酸耐性遺伝子 *tehA* による耐性増強. 第 95 回日本細菌学会総会. 東京、2022 年 3 月
- 26) 小川道永、零石早矢佳、明田幸宏、梁明秀、大西真. 化学発光を用いた肺炎球菌の細胞付着・侵入効率を定量化する方法の開発とその応用、第 95 回日本細菌学会総会、東京(オンライン)、2022 年 3 月 30 日
- 27) 零石早矢佳、小川道永、明田幸宏、梁明秀、大西真. ルシフェラーゼ二分子技術を応用して肺炎球菌の細胞付着・侵入菌数を定量化する方法の開発、第 95 回日本細菌学会総会、東京(オンライン)、2022 年 3 月 30 日
- 28) 零石早矢佳、小川道永、明田幸宏、梁明秀、大西真. NanoBiT システムを応用した肺炎球菌の細胞付着からエンドソーム膜損傷までに関与する病原因子の探索、第 95 回日本細菌学会総会、東京(オンライン)、2022 年 3 月 30 日
- 29) 本庄優子、小川道永、○古屋瑠菜、齋藤良一、明田幸宏、竹山春子、大西真. 肺炎球菌が産生する過酸化水素に対する宿主細胞のストレス応答解析、第 95 回日本細菌学会総会、東京(オンライン)、2022 年 3 月 30 日.
- 30) 零石早矢佳、小川道永、明田幸宏、梁明秀、大西真. 宿主細胞への細菌の付着・侵入効率を化学発光で定量的に評価する方法の開発、第 94 回日本生化学会(オンライン)、2021 年 11 月 3-5 日.
- 31) 本庄優子、小川道永、明田幸宏、竹山春子、大西真. 肺炎球菌が産生する H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> が宿主オートファジー誘導に与える影響の解析、第 94 回日本生化学会(オンライン)、2021 年 11 月 3-5 日.
- 32) 零石早矢佳、小川道永、明田幸宏、梁明秀、大西真. ルシフェラーゼ二分子技術を応用した肺炎球菌の細胞付着・侵入菌数モニタリングアッセイの構築、第 104 回日本細菌学会関東支部総会、オンライン、2021 年 10 月 21 日.
- 33) 本庄優子、小川道永、明田幸宏、竹山春子、大西真. 肺炎球菌が産生する H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> と宿主との相互作用に関する解析. 第 104 回日本細菌学会関東支部総会、オンライン、2021 年 10 月 21 日.
- 34) 零石早矢佳、小川道永、明田幸宏、梁明秀、大西真. 肺炎球菌の細胞付着・侵入菌数を簡便に測定する方法の開発、第 15 回細菌学若手コロッセウム(オンライン)、2021 年 8 月 31 日
- 35) 零石早矢佳、小川道永、明田幸宏、梁明秀、大西真. 肺炎球菌感染時に p62-CbpC-Atg14 が誘導する選択的オートファジーの分子メカニズム解析、第 73 回日本細胞生物学会(オンライン)、2021 年 7 月 2 日.