

4. 細菌第一部

部長 大西 真

概要

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

腸管出血性大腸菌(EHEC)に関しては、地方衛生研究所から送付された菌株の多様性解析を実施した。EHEC O157, O26, O111, O103, O121, O145, O165 および O91 菌株に関しては、迅速性、多検体処理に秀でている MLVA 法によって解析し、結果を速やかに返送するとともにデータの蓄積につとめ、広域食中毒事例の調査に活用された。EHEC 感染症に続発する溶血性尿毒症症候群の原因診断につながる血清診断、EHEC 分離同定も行われた。また EHEC の新規血清群 OX18 の分離状況について網羅的なゲノム解析を行い、OX18:H19 が継続的に国内で分離されていることを明らかにした。

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

劇症型溶血性レンサ球菌感染症、レジオネラ症、腸管出血性大腸菌感染症に関するレファレンス活動が進められた。赤痢菌、サルモネラ属菌、ビブリオ属菌、肺炎球菌、ボレリア属菌、薬剤耐性淋菌に関するサーベイランス等が進められ、感染症対策における基盤的情報の蓄積が進められている。

研究面においては、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、細胞内に侵入した肺炎球菌と宿主細胞との相互作用についてオートファジーに焦点を当てた研究成果に進捗を見た。

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。大西真の細菌第一部 部長の併任が R3 年 3 月末をもって解除された。第 6 室室長の泉福英信が R3 年 3 月末をもって日本大学松戸歯学部 教授として転出した。また三戸部治郎は R2 年 9 月に杏林大学医学部に教授として転出した。石原朋子は R2 年 6 月から 12 月まで厚生労働省新型コロナウイルス対策推進本部を併任した後、R3 年 3 月末をもって研究企画調整センターへ転任し、細菌第一部には併任となった。平山悟が R2 年 4 月に新潟大学大学院医歯学総合研究科に助教として転出した。石嶋希は R3 年 3 月末をもって杏林大学医学部へ転出した。

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

2020 年に全国から受け付けた EHEC は 2,271 株であった。頻度の高い O 血清群 (O 群) の順に O157 (51.6%)、O26 (18.8%)、O103 (7.8%)、O111 (4.3%)、O121 (2.8%) で、その他は 73 の O 群、100 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 750 株で、上記の 5 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、石嶋希、泉谷秀昌、大西真]

イ. EHEC OX18 の比較ゲノム解析

2017 年に国内で死亡例から分離された EHEC OX18 のゲノム解析を行った。同菌は、既存抗血清および既存 Og 型別では型別不能であったが、全ゲノム配列解析によって 2016 年に報告された新規血清群 OX18 であると同定された。国内 EHEC 菌株の網羅的なスクリーニングによって、2007 年から 2019 年の間に計 26 株の EHEC OX18 が分離されていることが明らかとなった。これらの全ゲノム比較解析を行なったところ、H 型毎に 5 種の系統に分かれ、このうち重症例由来株を含む OX18:H19 は継続的に国内で分離されていることが明らかと

なった。

[李謙一、大西真、伊豫田淳;井口 純(宮崎大)、宇田和宏(国立成育医療研究センター・都立小児医療センター)、松村壮史(国立成育医療研究センター・腎臓・神奈川県立こども医療センター)、宮入烈(国立成育医療研究センター)、石倉健司(国立成育医療研究センター・北里大)、瀬戸順次(山形県衛生研究所)、石川加奈子(茨城県衛生研究所)、古川 一郎(神奈川県衛生研究所)、小西典子(東京都健康安全研究センター)、尾畑浩魅(同左)、長岡宏美(静岡県環境衛生科学研究所)、森主博貴(同左)、濱夏樹(神戸市環境保健研究所)、野本竜平(同左)、中嶋洋(岡山県環境保健センター)、狩屋英明(同左)、濱崎光宏(福岡県保健環境研究所)、宮城県保健環境センター、群馬県衛生環境研究所、香川県環境保健研究センター、福岡市保健環境研究所]

(2) 分子疫学的解析

ア. MLVA 解析

2020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、2,271株であった。このうち血清群 O157、O26、O111、O103、O121、O145、O165、O91に該当した2,008株について MLVA による型別を行った。また 263株について PFGE による解析を実施した。MLVA については 887の型が同定された。上位5型は 19m0513、20m2053、18m0040、20m0245、20m0105であった(21-48株)。19m0513は8月中旬から11月上旬にかけて関東、東海地方を中心に分離された広域株であった。20m2053、18m0040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、石嶋希、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、大西真]

イ. 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析(データベースサーバー)

VPN サーバーにデータセンターを設置し、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。[泉谷秀昌、伊豫田淳、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、大西真;岩渕香織(岩手県環境保健研究センター)、鈴木淳(東京都健康安全研究センター)、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 8例のうち、大腸菌 O 抗原に対する抗体

陽性となったのは 6事例あった。このうち O157 抗体陽性が 4例、O111 抗体陽性が 1例、その他の O 群抗体陽性が 1例あり、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、竹本歩、大西真]

(4) HUS 患者からの EHEC の分離同定

EHEC が分離されない HUS 症例の一部は非典型的 HUS (atypical HUS: aHUS)と診断される可能性があり、EHEC-HUS と aHUS の鑑別は重要である。当初 EHEC が不分離とされた HUS 発症例 5事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 1例では *stx2* 陽性の血清群 O154 の大腸菌が分離され、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、竹本歩、石嶋希、大西真]

(5) EHEC O146 の国内流行株のゲノム解析

2007年から2015年までに国内で腸管出血性大腸菌感染症(EHEC)の患者および無症候性キャリアから分離された EHEC O146株(n=66)について、国内における当該血清群の流行株の把握、広域・散発的発生事例を探知するため、EHEC O146 のゲノム解析を実施した結果、93.9%以上の類似した PFGE パターンを有する分離株(n=26)の間では 9未満の SNP が認められた。これら遺伝学的に近縁な *stx1* 陽性の O146:H21 分離株については、2016年から2018年までの PFGE 解析では認められず、2013年から2015年に日本で一時的に増加したことが示唆された。また、海外の EHEC O146株についてゲノム解析した結果、本流行株は認められなかった。[石原朋子、李謙一、滝沢木綿、伊豫田淳、泉谷秀昌、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

2020年に当研究所に送付された赤痢菌 114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* 99株、*S. flexneri* 14株、*S. dysenteriae* 1株であった。*Shigella sonnei* では 39の MLVA 型が検出された。検出数の多かった SsV18-065、SsV20-033、SsV20-011はそれぞれ、2019年12月、2020年10月及び3月に発生した集団事例に関連する株であった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

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

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

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

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

3. サルモネラ属菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア. チフス菌、パラチフス A 菌のファージ型別

2020 年に国内で分離され、地方衛生研究所、保健所等から送付されたチフス菌、パラチフス A 菌についてファージ型別試験を行った。送付された菌株数はチフス菌 19 株、パラチフス A 菌 6 株であった。チフス菌では、ファージ型 M1 が 4 株で最多であった。パラチフス A 菌ではファージ型 1 が 5 株検出され最多となった。[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

2020 年に国内で分離されたチフス菌、パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性を検討した。ニューキノロン系薬剤 3 薬剤、第 3 世代セファロスポリン系薬剤 2 剤、その他従来の治療薬等合計 16 剤を用いた。感受性試験の結果、ニューキノロン系薬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 57.9%、パラチフス A 菌で 100%であった。アンピシリン、クロラムフェニコール、ST 合剤に耐性を示す多剤耐性チフス菌が 4 株存在した。[森田昌知、泉谷秀昌、大西真]

ウ. サルモネラの血清型別、遺伝子型別、ファージ型別

2020 年に当研究所に送付されたサルモネラ株は 61 株であった。血清型は 8 種類からなり、上位 4 位は Enteritidis、I4:i:-、Stanley、Typhimurium であった。このうち 40 株について *Xba*I 消化による PFGE 解析を行った結果、6 パターンに分かれた。血清型 Enteritidis 39 株についてファージ型別を実施した結

果、27 株がファージ型 14c、12 株がファージ型 47 であった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

エ. 保菌者サルモネラの血清型別と薬剤耐性

2013 年に分離された保菌者由来サルモネラ O8 群 58 株、O9 群 18 株、2015 年に分離された保菌者由来サルモネラ O8 群 112 株、O9 群 12 株について血清型別及び薬剤感受性試験を実施した。O4 群上位は Schwarzengrund、Agona、I4:i:-、O8 群上位は Manhattan、Corvalis、Newport、O9 群はほとんど Enteritidis であった。感受性試験を行った 200 株中 79 株が何らかの薬剤に耐性を示し。耐性パターンとしては、SM+TC の 2 剤耐性、NA1 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. ビブリオ属細菌のゲノム解析

国内及びアジア地域で分離されたビブリオ属細菌のゲノム DNA を精製し、次世代シーケンサーによりゲノム配列を継続的に解読し、これまでの累計は約 1700 株となった。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、大西真]

イ. 令和 2 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 2 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 4 株で、国内例の敗血症由来の *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 が 1 例、2 株(便、血液から分離)で、デンマークからの依頼、コレラ毒素遺伝子(*ctx*)陽性の *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 が 2 株であった。国内例の敗血症由来株は、いずれも O34 と同定され、デンマークからの依頼株はいずれも O75 で、すでに CT 陽性株として米国などで分離例のある O 血清型であった。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

ウ. コレラ菌の染色体が単一化する遺伝的要因の探索

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

(2) 検査法開発に関する研究

ア. *V. cholerae* の O 血清群参照株の見直し

現在、未発表も含め *V. cholerae* の独立した血清群として O1~O210 が存在する。これら全ての O 血清群参照株について全ゲノム解析を行い、各血清群の遺伝子配列の解析を行ったところ、O143、O167、O189、O203 については、誤同定であることがわかった。それぞれ *V. fluvialis* O50、*Aeromonas* O33、*Aeromonas* O18、*Aeromonas* O85 であった。また、O 抗原合成遺伝子領域を比較したところ O5-O185、O17-O198、O18-O136、O20-O101、O31-O84、O68-O129、O74-O200、O85-O163、O87-O119 がほとんど同一であり、実際各々の抗 O 血清による凝集反応を行ったところ、両者を区別することができなかった。したがって、これらの O 血清型は同一であり、数字の大きい方を欠番とすることとした。なお、O73 については保存株全てが抗原性を失っており、すでに欠番としている。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

イ. *V. cholerae* の LPS 合成遺伝子領域の解析および比較

O 血清群は現在 205 種類あり、その中にはコレラの原因菌である O1、O139 も含まれており、世界的に疫学解析に利用されている。205 種類全ての O 血清群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の抽出をした。これら 205 種類の O 血清群の遺伝子領域中の ORF についてそのアノテーション及びパラログ解析を行った。パラログ解析の結果と、Hidden-Markov-Model (HMM) to HMM alignments による ORF の相同性解析により、O 抗原合成遺伝子の *wzm-wzt*、*wzx-wzy*、*pglK* 輸送系の同定を行なった。これら輸送系は、各 O 抗原相互には相同性が低く、O 抗原特異性の高い配列であるとされている。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌、大西真; 村瀬一典(宮崎大); 浦井誠 (東京農大)]

5. カンピロバクターに関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア. *Campylobacter jejuni* NCTC11168 株の Penner 血清型を規定する遺伝子の同定

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。本研究では、*C. jejuni* NCTC11168 株 (Penner B 群) の CPS 遺伝子領域に存在する 8 個の polyG/C 含有遺伝子についてそれぞれの遺伝子の phase を ON もしくは OFF にロックした集団の中から、Penner 血清型の抗原性を安定に発現する個体をスクリーニングするとともに、抗原性の発現を規定

する遺伝子 *cj1426* を同定した。*cj1426* は CPS 糖鎖ユニットの特異的部位をメチル化する酵素をコードしていることから、その糖鎖修飾が Penner B 群の抗原性決定に寄与しているものと考えられる[山本章治、伊豫田淳、大西真]

6. エルシニア属菌に関する研究

(1) 検査法開発に関する研究

ア. エルシニアの血清型別

2020 年に当研究所の送付されたエルシニア属菌は 13 株であり、すべて *Y. enterocolitica* であった。血清型は O:3 が 12 株、O:9 が 1 株であった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

II. 呼吸器感染症ならびに侵襲性感染に関する研究

1. *Streptococcus* 属に関する研究

(1) 菌株の多様性解析と疫学的解析

ア. 日本における 2019 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

2019 年に全国の衛生研究所に収集された A 群レンサ球菌 883 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 (190/883, 21.5%)、T12 (167/883, 18.9%)、TB3264 (130/883, 14.7%)、T4 (106/883, 12.0%) であった。T1 型の分離比率は、2016 年以降 20% を超えている (2016 年, 23.5%、2017 年, 20.9%、2018 年, 22.1%、2019 年, 21.5%)。T12 型の分離比率は、昨年とほぼ同じ 18% 台であった (2018 年, 18.3%、2019 年, 18.9%)。TB3264 型の分離比率は、2018 年と比較して減少した (2018 年, 19.0%、2019 年, 14.7%)。T4 型は、昨年とほぼ同じ 12% 台であった (2018 年, 12.3%、2019 年, 12.0%)。[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

イ. 日本において 2019 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

2019 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 241 症例あった。236 例が *S. pyogenes*、5 例が *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* による症例であった。

最も分離された型は、T1 型であり、昨年と同程度の比率であった (2018 年, 39.8%; 2019 年, 39.4%)。また、咽頭炎由来株の分離比率 (21.5%) に比べ、高い分離比率を示している。次いで、型別不能が多く、昨年と比較して増加した (2018 年, 15.2%; 2019 年, 21.6%)。次いで、TB3264 型が多く、その分離比率は昨年とほぼ同じであった (2018 年, 18.7%; 2019 年, 16.5%)。

STSS の確定診断例 241 例中、*emm1* 型が 94 例 (39.0%) と

最も多く、次いで *emm89* 型が 47 例 (19.5%)、*emm12* 型が 15 例 (6.2%) と多かった。

2018 年と比較し、*emm1* 型は、39.8% (68/175) から 39.0% (94/241) とわずかに減少した。*emm89* 型は 22.9% (40/175) から 16.5% (47/241) に減少した。

[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

ウ. 日本における劇症型/重症溶血性 A 群レンサ球菌感染症患者分離株の薬剤感受性試験

2019 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 241 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 7.5% (18/241) の株が耐性を示した。[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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

2019 年、G 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告が 137 例あった。菌種はすべて、*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であった。劇症型感染症患者分離株の *emm* 遺伝子型別を行った結果、*stG6792* 型が 48 例 (28.6%) と最も多く、次いで、*stG485* が 29 例 (17.2%) と多かった。[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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

2019 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 56 例あった。菌種はすべて、*S. agalactiae* であった。血清型は、V 型が最も多く、14 例 (25.0%) であり、次いで III 型が 13 例 (23.2%) であった。2019 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 8 例あった。菌種は、*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* が 7 例、*S. constellatus* ssp. *pharyngis* が 1 例であった。*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* で最も多かった *emm* 遺伝子型は、*stC6979* 型で 6 例 (85.7%) であった。2019 年、F 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告が 2 例あった。菌種は、ともに *S. anginosus* であった。

[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

カ. 小児侵襲性感染症由来原因菌の疫学調査

日本医療研究開発機構研究費 (新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業 ワクチンの実地使用下における基礎的・臨床的研究及びワクチンの評価・開発に資する研究) の研究分担者として、日本国内 10 道県の小児の侵襲性感染症より分離された肺炎球菌および GBS の血清型別、薬剤感受性試験、シー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残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った。

[小川道永、零石早矢佳、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) 遺伝子型別に関する研究

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

令和 2 年度にレジオネラ・レファレンスセンターで収集したレジオネラ属菌臨床分離株は 37 株で、例年のおよそ半数であ

った。すべて *Legionella pneumophila* で、血清群 1 が 35 株、血清群 2 が 2 株であった。SBT 法による遺伝子型別を実施し、その結果は各自自治体に還元した。37 株は 24 種類の遺伝子型に分けられ、そのうち 6 種類が新規遺伝子型で、3 種類は国内では初めての検出であった。65%が感染源不明で、温泉等の入浴関連が感染源と推定されているのが 27%で、それ以外は種々の水系と推定されていた。[前川純子、大西真;大森恵梨子(仙台市衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、金谷潤一(富山衛研)、中西典子(神戸市環境研)、平塚貴大(広島県総技研保健環境セ)、吉野修司(宮崎県衛環研)、The Working Group for *Legionella* in Japan]

(2) レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ

厚労科研レジオネラ研究班のサポートのもと、日水製薬株式会社を実施母体としたレジオネラ属菌検査精度管理サーベイが 2015 年度から行われている。2020 年度も実施され、全国 171 の検査機関が参加した。レジオネラ研究班への協力機関として参加した地方衛生研究所等 72 機関については、独自に集計・解析を実施し、過去 5 年間の結果とも比較した。6 年連続参加した機関は 44 機関あった。解析の結果、これまで同様、特定のいくつかの機関に検査手技の再確認が必要と判定される傾向が認められた。回収率については、判定を開始した 2017 年度からの推移を見ると、良好範囲を報告した機関の割合は 2018 年度に大きく上がったものの(74.3%)その他の年では本年度含め 55%前後であった。良好範囲報告機関割合を上げるためには、各機関において検査手技について適切に理解すること、検査担当者間差を無くすこと、検査担当者の異動等に伴う変更に対応することなどが挙げられる。今後も、継続的かつ安定した外部精度管理調査ができるようにしたい。[森本洋、小川恵子、三津橋和也(北海道衛研)、磯部順子、金谷潤一(富山衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、佐々木麻里(大分県衛環研)、緒方喜久代(大分県薬剤師会検査セ)、中西典子(神戸市環境研)、大森恵理子(仙台市衛研)、平塚貴大(広島県総技研保健環境セ)、吉野修司(宮崎県衛環研)、倉文明、前川純子]

(3) 入浴施設及び医療機関のレジオネラ汚染実態調査

2020 年 5 月に新型コロナウイルス感染症の拡大を原因とした緊急事態宣言が発出され、入浴施設においても休業を余儀なくされた。入浴施設において、この休業がレジオネラ汚染に与えた影響を評価することを目的として、調査を行った。具体的には我々が 2015 年からレジオネラ属菌の汚染実態調査と対策を継続してきた入浴施設 1 施設において、営業再開前日及び再開後約 1、3、5 カ月にそれぞれ調査を実施した。前年度では 3 つの採水箇所

において、10~200 CFU/100 mL のレジオネラ属菌が検出されていたものが、営業再開前日には 1 カ所から 80 CFU/100 mL が、再開の 1 ヶ月後には同じ採水箇所において 10 CFU/100 mL のレジオネラ属菌が検出されるのみとなった。これは、休業期間中に定期的に配管内の原湯を入れ替え、循環させるとともに遊離残留塩素濃度を 0.8~2.0 mg/L と高濃度に保ったことによるものと考えられた。しかし、完全な排除には至らず、その後の調査においてレジオネラ属菌が増加している傾向が認められた。このため、今後も調査を継続するとともに新たなレジオネラ属菌対策を実施する必要があると考えられた。

医療機関の給水・給湯系におけるレジオネラ汚染は、レジオネラ感染症の院内感染の原因となりうることから、病院内の環境管理の重要な課題となっている。本研究ではレジオネラ属菌と合わせて一般細菌数と従属栄養細菌数を調査し、レジオネラ汚染に対する従属栄養細菌と一般細菌の指標性を検討した。一般細菌は蛇口水の試料から全く検出されないことから、レジオネラ汚染に関して指標にはならないと考えられた。従属栄養細菌数は、レジオネラ属菌陽性試料で検出される傾向があるとしても、1:1 の相関はしなかった。レジオネラ汚染の検討が必要な状況では、指標ではなく、レジオネラそのものを測定することが重要と考えられた。[黒木俊郎(岡山理科大学)、泉山信司(寄生動物部)、大屋日登美、陳内理生、中嶋直樹、鈴木美雪、政岡智佳(神奈川県衛生研究所)、前川純子]

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 2 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

令和 2 年度は新型コロナウイルス感染症の猛威のために侵襲性髄膜炎菌感染症(IMD)の発生数が例年に比べて激減し、IMDの起炎菌株は4例のみ回収された。それらの血清学的解析の結果は Y ; 1 株、B ; 2 株、莢膜多糖体非産生株(Non-Typable: NT) ; 1 株であった。それらの臨床分離株の血清学的及び分子疫学的解析を実施した結果、分子疫学的解析からは血清群 B 株は 2 株とも ST-2057、血清群 Y 株は ST-1655(ST-23 complex)、NT 株は新規遺伝子型 ST-15484(ST-32 complex)であった。一方、保菌者由来株、尿道炎由来株といった非侵襲性由来株は 9 株回収された。それらの血清学的解析の結果は Y ; 12 株、B ; 2 株、29E ; 1 株、NT ; 6 株であった。分子疫学的解析からは血清群 B 株は 2 株とも ST-2057、血清群 Y 株は ST-687(ST-41/44 complex)、NT 株は新規遺伝子型 ST-15484 及び ST-11026(ST 32 complex) であった。新型コロナウイ

ルス感染症 (COVID-19) により IMD 症例が激減している事自体、国内の IMD 発生抑制にはヒト-ヒト間のコンタクトの減少がいかにかに有効であるかを証明していると言える。一方で、アフターコロナと呼ばれる COVID-19 が鎮静化した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、大西真;三輪晴奈、鶴飼友彦、神谷元 (FETP、感染症疫学センター)]

イ. 髄膜炎菌の薬剤感受性の経年変化に関する解析

1998 年から 2020 年までに日本国内で分離された髄膜炎菌株から 3~5 株/年を抽出し、計 82 株のペニシリン G (PCG)、セフトリアクソン (CTRX)、シプロフロキサシン (CPFX)、リファンピシン (REF)、アジスロマイシン (AZM)、メロペネム (MEPM)の薬剤耐性を測定し、その薬剤感受性の幾何平均を求めることにより、経年変化を計測した。その結果、CTRX、REF、AZM、MEPM に関しては 1998 年から 2020 年に至るまで薬剤感受性は「感受性」のまま変化が認められなかった。一方で、PCG に関しては非感受性株が 2012 年頃から増加する傾向が認められ、中には耐性を示す株も認められた。また、CPFX に関しては 2017 年頃から非感受性株及び耐性株の著しい増加が認められた。PCG は IMD の第一選択薬、CPFX は予防内服薬として最も使用される薬剤として知られており、それぞれの第二選択薬である CTRX 及び REF の効力があるとはいえ、第一次選択薬の IMD に対する効力が低下しつつある傾向は看過できないことが明らかとなった。[高橋英之、森田昌知、志牟田健、大西真;齋藤良一 (東京医科歯科大)]

ウ. 過去 5 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

2016~2020 年の 5 年間に日本国内で分離された 153 髄膜炎菌株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 30 % (46 株) が非感受性 (MIC; 0.094 - 0.25 µg/mL)、2% (3 株) が耐性 (MIC; ≥0.5 µg/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 µg/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 µg/mL)、20.3% (31 株) が耐性 (MIC; 0.094 - 0.19 µg/mL) と全体の 54.2% (83 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 µg/mL 以下であり、CLSI が示す感受性の域値 (MIC < 0.5 µg/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、大西真;齋藤良一 (東京医科歯科大)]

エ. 髄膜炎菌日本固有株遺伝子型 2057 (ST-2057) complex の全ゲノム塩基解読 (WGS) による分子疫学的解析

血清群 B である 2002 年に世界で初めて日本で検出された ST-2057 株は 2011 年頃から再検出され始め、2020 年に至るまで 23 株が分離され、今では国内の血清群 B の主要な髄膜炎菌株となってきている。遺伝子型は ST-2057 が 18 株、ST-13100 が 2 株、それ以外の ST-12606、13838、14407 は 1 株ずつ分離された。ST-12606、ST-13838 及び ST-2057 の 1 株は健康保菌者から分離されたが、それ以外は全て IMD 患者から分離された。2020 年時点で日本以外の国々で ST-2057 株の検出報告はなく、ST-2057 株及びその派生株 (ST-2057 complex) は日本固有株であり、細菌学的にもその固有性は非常に貴重であると考えられたため、WGS を適用した解析を行なった。その結果、ST-2057 complex 株は系統学的に非常に近位であるが、さらに詳細に系統分析すると、18 株が構成するクレード 1 とそのクレードに属さず、別系統のクレードをお互いに形成しない独立的な 5 株から構成されることが明らかとなった。これらの結果から、ST-2057 complex 株は日本国内で大きく派生しないままヒト-ヒト感染により潜在している可能性が示唆された。また、ST-2057 complex は血清群 B の国内での主要な髄膜炎菌株であるが、血清群 Y に分類される NIID784 株が存在することが明らかとなった。その株の nanopore による全ゲノム塩基配列解読により完全長を解読し、莢膜多糖体合成遺伝子群を比較した結果、NIID784 株では血清群 B を規定する遺伝子 *csb* が血清群 Y を規定する遺伝子 *csy* に置換されており、遺伝子変換により capsule switching と呼ばれる現象が発生していたことが明らかとなった。capsule switching はワクチンを導入することによりワクチンにカバーされていない莢膜多糖体 (血清群) に変化することが肺炎球菌では知られているが、髄膜炎菌ワクチン、それも国内へのワクチンの未導入である血清群 B 髄膜炎菌が血清群 Y に変化したという現象を捉えたことは、遺伝子変換の激しい髄膜炎菌は選択圧が無い環境下でも常に発生しているという可能性が示唆された。[高橋英之、森田昌知、志牟田健、大西真]

(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 の病原性機能の総合的解析

髄膜炎菌の一回膜貫通外膜タンパク TspA はヒト上皮培養細胞への接着に関与していることが明らかとなっていたが、さらなる解析からヒト内皮細胞への侵襲にも関与することが明らかとなった。そのため、TspA に関する生化学的及び分子生物学的解析を行なった。リコンビナントタンパクから作成した抗 TspA ウサギ血清を用いて、遠心分離法による細菌の細胞成分のフラクション及び髄膜炎菌の免疫染色検証した結果、TspA は N 末側を外側に配向して外膜タンパク質に存在している事が明らかとなった。さらに C 末側の機能解析として MalE (大腸菌ペリプラズムタンパク)、さらに大腸菌のペリプラズムタンパクで二量体形成タンパクドメインを持つ DsbC、DsbG (Disulfate isomerase) または EmrA (Drug transport) を融合させた *tspA* 変異体を作成し、ヒト脳血管内皮細胞への接着及び侵襲能を検証した結果、どの TspA 融合変異体は野生株と同等の感染能を保持しなかった。この結果から、TspA の C 末端はペリプラズム側にありながら、髄膜炎菌の宿主細胞への感染に必要な N 側の構造を維持するのに必要か、C 末に髄膜炎菌タンパクが相互作用することにより、髄膜炎菌の宿主細胞への感染を惹起させる分子機構の存在が示唆された。現在、TspA と相互作用する髄膜炎菌タンパク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ている。[高橋英之、志牟田健、大西真; 柳沢達男、横山茂之、堂前直 (理研)、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)]

III. ボレリアならびにレプトスピラ感染症に関する研究

1. ボレリア感染症に関する研究

(1) 回帰熱ボレリアに関する研究

アフリカ南部で流行が予測されている回帰熱について、実験室診断法の確立と疫学調査を開始した。令和 2 年度は以下の研究を実施した。

ア. MGB プローブを用いたリアルタイム PCR 法による新 worldwide 型・旧 worldwide 型回帰熱ボレリアの核酸検出法を開発した。これにより、ザンビアで潜在する感染種不明の回帰熱症例において、感染種を問わず、幅広く病原体の検出が可能となった。具体的には (1) 各々のボレリア型の検出感度は 10 ゲノムコピー以下であること、(2) 同一反応で各型の鑑別が可能であること、また、(3) ヒト血液へ病原体をスパイクした模擬検体においても、その検出感度で 10 ゲノムコピー/反応であり、かつ閾値サイクル (C_q 値) は、旧来の方法と比較し、旧 worldwide 型ボレリアの検出感度で C_q=42.5 から 38.5 へ改善された。以上の結

果から、本研究で作成した新規リアルタイム PCR 法は回帰熱流行国での実験室診断へも応用が可能と考えられた。

イ. 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開始した。研究成果として、(1) ルーセットオオコウモリが新世界型回帰熱ボレリアの保菌宿主であることがあらためて確認された一方で、本コウモリの生息域等についてはさらなる調査が必要と考えられた。(2) ザンビア国内で捕獲されたげっ歯類等からはボレリア DNA は検出されなかった一方、インパラからは新興回帰熱ボレリアの一種、*B. theileri* が検出された。(3) アフリカ産の新世界型回帰熱ボレリアとして、世界で初めてゲノム解読に成功した。(4) 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・整備を目的として、ザンビア等で採取したマダニを用い遺伝情報取得を行った。また、(5) 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試作と実装のための必要な装着実験を実施した。

ウ. ダニ約 1,200 検体について、16SrDNA を標的とした PCR アンプリコン解析に供し、それぞれがもつ細菌叢を解析した。これまでに *Borrelia* 属細菌をはじめ多数の病原細菌属に由来する配列が検出されている。今後も高精度ゲノム情報の蓄積を進めるとともに、多地域間での遺伝情報の比較解析についても検討を行う予定である。[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. レストスピラ症に関する研究

(1) 運動制御機構に関する研究

ア. レプトスピラべん毛鞘タンパク質 FcpA 欠損株で発現が低下するタンパク質の同定

ΔfcpA 株のべん毛は野生株のコイル状とは異なり直線状の形態を示す。べん毛の形態を規定するさらなるタンパク質の同定のために、*ΔfcpA* 株と野生株のべん毛のタンパク質プロファイルを比較した結果、*ΔfcpA* 株で発現が低下している 35 kDa タンパク質を見出し、LC-MS/MS 解析により uncharacterized protein WP_012389257 と同定された。このタンパク質の機能を明らかにするためこれをコードする遺伝子の破壊株を作製した。[小泉信夫、大西真]

イ. レプトスピラ光応答遺伝子の同定

Leptospira kobayashii の光応答性の分子メカニズムの解明するために、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変異体 1H6 を同定した。トランスポゾンは

LPTSP3_02080 遺伝子に挿入されていたが、LPTSP3_02080 は LPTSP3_2090 とオペロンを形成していると考えられたため、それぞれの遺伝子を単独で 1H6 で発現した結果、LPTSP3_2090 遺伝子の単独発現で光応答性が回復することが明らかとなった。[小泉信夫、大西真；中村修一(東北大学大学院)]

(2) 患者および宿主動物由来レプトスピラの解析

ア. スリランカの患者および野鼠由来レプトスピラの解析

スリランカでは 2008 年以降レプトスピラ症の流行が報告されているが、その原因となるレプトスピラの解析は十分に行われていなかった。スリランカの患者分離株 24 株とクマネズミ分離株 3 株の血清学的解析と MLST による分子タイピングを行った結果、分離株は *L. borgpetersenii*、*L. interrogans*、*L. kirschneri* であり、MLST により新規の 6 ST を含む 15 ST が同定された。また 5 つの血清群、Autumnalis、Grippityphosa、Hebdomadis、Javanica、Pyrogenes が同定され、これまでに知られていなかった遺伝的、血清学的に多様なレプトスピラがスリランカで流行していることが明らかとなった。[小泉信夫、森田昌知、泉谷秀昌、大西真；Lilani Karunanayake (MRI)、Chandika D. Gamage (University of Peradeniya)]

イ. カンボジアからベトナムへ輸出される野鼠由来レプトスピラの解析

カンボジアからベトナムに輸出される野鼠 72 匹中アゼネズミ 3 匹からレプトスピラが分離された。分離株は *flaB* 遺伝子の塩基配列および標準抗血清を用いた顕微鏡凝集試験により *L. borgpetersenii* 血清群 Javanica と同定された。分離株の全ゲノムシーケンシングにより、カンボジ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 PCR により 38.9% のネズミ腎臓から *L. interrogans* の DNA が検出され、MLST により新規の遺伝子型 (ST) であることが明らかとなった。[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 2020 年 4 月から 2021 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 167 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 2.3 %、54.5 %、96.4 %、24.5 %、90.4 %、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、昨年度は 40%代に迫るほどに改善したが、その傾向に一旦歯止めがかかり若干の悪化が見られる。azithromycin に関しては逆に感受性率が若干上昇している。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由来と推定される同程度耐性度株 1 株が 5 月に検出された他、同様の型の耐性遺伝子を持つ株の分離報告が国内外で相次いだことを一昨年度に報告したが、昨年度、今年度の我々のこのサーベランスではこれに相当する株は検出されなかった。[中山周一、吉田愛、志牟田健、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)]

イ. アジスロマイシン高度耐性淋菌株の性状解析

本邦で最初に確認されたアジスロマイシン高度耐性 (HL-AziR) を示した淋菌 2 株 (FC488、GU20180115-5) の特徴を明らかにした。これら株の薬剤感受性試験を行った結果、azithromycin、ceftriaxone、cefixime、penicillin G、ciprofloxacin、spectinomycin の MIC は、FC488 株に対して 512、0.016、0.008、0.5、8、16 mg/L、GU20180115-5 株に対して 1024、0.016、0.016、1、8、16 mg/L を示した。いずれの菌株も azithromycin および ciprofloxacin に耐性を示した。また、両菌株ともに、4 つの 23S rDNA 遺伝子の全てのループ V に A2143G 変異 (大腸菌: A2059G) が確認された。*mtrR* 遺伝子の解析では、両株とも、*mtrR* プロモーター領域の 13bp の逆反復配列のアデニン欠失と、*mtrR* コード配列の G45D 変異を確認した。

更に既知の HL-AziR 淋菌株との遺伝学的関連性を調べるために、FC488 株と GU20180115-5 株の WGS データ、および BioProject データベースに公開登録されている HL-AziR 淋菌 116 株の WGS データを用いて、コアゲノムの一塩基多型をバイズ解析し Clade の構築を行った結果、5 つの Clade (A~E) が構築され、FC488 株と GU20180115-5 株は共に Clade A (n=9) に属した。Clade A は、A1 と A2 に細分化が可能で、A1 には 1 株を除き中国と日本 (FC488 株、GU20180115-5 株) で分離された菌が含まれた。一方、A2 にはイギリスとオー

オーストラリアで分離された ceftriaxone 耐性及び HL-AziR を示す株が含まれた。また分子系統解析の結果、FC488 株と GU20180115-5 株の属する MLST 型、NG-MAST 型、NG-STAR 型は、それぞれ、ST10899/ST12039、ST1866/ST16497、ST202/ST202 を示し、これら分子型は東アジアで分離された既知の HL-AziR 淋菌株でも見られた。[志牟田健、李謙一、高橋英之、中山周一、大西真]

2. 梅毒トレポネーマに関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア. 梅毒トレポネーマの分子タイピング

昨年度に続いて連携クリニックとして、4つの STI クリニック（東京都 3、大阪府 1）と共同で、皮膚病変が有り、梅毒を疑う場合の病変漿液からの梅毒トレポネーマ DNA 検出、分子タイピングを実施した。

2020 年 4 月～2021 年 3 月の総計で、128 例の検体が有ったが、うち 44 例が PCR 陽性であった。コロナ禍の関係で計画中断期間を設けただけでなく、通常期も検体数減少が顕著であった。44 例中タイピングに成功したものは 26 例で、このうち 21 例は最頻検出率が続いている 14d/f であった。他は 12b/f が 2 例、他はいずれもそれぞれ単一型となる 3 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. マクロライド耐性型梅毒トレポネーマの 2016 年度からの急激な増加のフォローアップ

国内ガイドラインで azithromycin 等マクロライド製剤は梅毒治療には推奨されていないが、海外での耐性型の増加報告や、現実に期待される治療効果評価の観点から耐性型サーベイランスを行ってきた。2012 年から 2015 年までのトータルで 23S rRNA A2058G 変異解析が可能であったもので 11.1% が耐性型であったが、2016 年～2017 年 3 月の期間では、同じく解析ができたもので 58.3%と、2016 年からの急激な耐性型の増加をこれまで報告している。今年度もサーベイランスを続行し、23S rRNA 解析に成功した 33 例について耐性型分布を見ると、30 例 (90.9%)と依然高い耐性率が維持されていること、検出される少数の感受性型が全て MSM 患者由来であること、が依然として継続していることが判明した。梅毒治療に azithromycin が無効と判断すべき状態が継続している。[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体系的ゲノム解析

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、全ゲノム解析を試行し、21 株で成功した。これらを現在データベースでデータ入手可能な海外株と比較したところ、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、両国の仮想的共通祖先株は 2006 年頃に位置すること、が判明し、さらに日本株・中国株を簡便に区分化可能な SNP 候補を提出し、報告した。

[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. 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. 初期 pH に影響した膜小胞による口腔バイオフィーム形成
歯表面では、様々な pH の環境下で *Streptococcus* を中心に多くの複合菌バイオフィームを形成している。そこで、塩酸、乳酸、酢酸で調整した初期 pH6.0 と NaOH で調整した初期 pH8.0 の培地で *Streptococcus mutans* の培養後得られた膜小胞を用いて、様々な菌のバイオフィーム形成実験を行った。初期 pH6.0 の培地で得られた膜小胞は、グルコシルトランスフェラーゼ (GTF) の量が pH7.0 の培地で得られた膜小胞よりも少ないことが明らかとなった。一方、NaOH で調整した初期 pH8.0 の培地で得られた膜小胞は、GTF の量が多かった。この結果は、スクロースが含まれた培地を用いた膜小胞による *S. mutans* UA150. *gtfBC* mutant, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces naeslundii* のバイオフィーム形成は、この GTF の量に依存していた。外環境の pH の変化は膜小胞の GTF の量に変化を与え、バイオフィーム形成に影響することが明らかになった。[泉福英信、岩渕祐介、中尾龍馬、大西真]

イ. 膜小胞による *Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成におけるキシリトールおよびフノランの影響

Streptococcus mutans の膜小胞によるバイオフィーム形成にキシリトールおよびフノランがどのように影響するか検討を行った。1%キシリトールでバイオフィーム形成が抑制されるが完全ではなく、そこにフノランを 0.004%加えると完全に抑制される。1%キシリトール存在下でフノランを時間を変えて添加すると、培養開始後 14 時間後の添加においてもバイオフィーム形成を抑制することが明らかとなった。また膜小胞に依存したバイオフィーム形成に対して 1%キシリトール存在下でフノラン

濃度を変えて添加すると、0.000006%のフノランからバイオフィルム形成を抑制することが明らかとなった。1%キシリトール存在下でフノランは低濃度でより強くバイオフィルム形成を抑制することが明らかとなった。[泉福英信、中村知世、中尾龍馬、大西真]

2. 歯周病、および歯周病原細菌に関する研究

(1) 歯科治療中に発生する飛沫に含まれる口腔細菌の測定

歯科治療中に発生する飛沫がどの方向にどの程度飛び散るか測定するために、歯科治療用の椅子の周囲に BHI 寒天培地と R2A 寒天培地を置いて、培養後コロニー数を計算した。さらに、椅子の周囲をスワブして、ルシフェラーゼ発光法を利用して、ATP 量についても測定した。歯科治療は、歯科衛生士によるスケーリング(歯石除去)を 10 分間行った。その結果、右利きの術者の場合、左側とその後方に飛沫が飛ぶことが明らかとなった。その飛沫を、口内バキュームと口外バキュームを使用することで減少させることができた。右利きの術者の場合、介助者が左に立つことになる。その介護者は感染リスクが高くなるので、口内・口外バキュームの使用は必須であることが明らかとなった。[泉福英信、大西真]

(2) 放射線治療後の口腔内不快症状に対する抗菌性食品添加口腔保湿ジェルの有効性に関する検討

頭頸部放射線治療後に必発する口腔内不快事項の出現、および口腔細菌に対する異なる 4 種の抗菌性食品添加保湿ジェルの影響を無作為ランダム化パイロット試験により検討した。唾液中の *Porphyromonas gingivalis* 菌数は、プロポリス含有ジェル群がプラセボジェルを含む他の群に比べ、統計学的有意に減少した。またプロポリスジェル群を使用した 5 名全ての患者において、自覚的口腔疼痛スコアが低下し、同ジェルの頭頸部放射線治療後の口腔内不快事項に対する有用性が示唆された。[中尾龍馬；上野尚雄 (国立がん研究センター中央病院)]

(3) フェネル抽出物の *P. gingivalis* に対する抗菌作用機序と責任化合物の単離同定

歯周病原細菌 *P. gingivalis* をフェネル抽出物で 5 分間処理すると、菌体表層に膜小胞が多数形成され、速やかに殺菌作用を示した。フェネルで過剰産生された膜小胞には、RagA および RagB を多く含んでいた。また、フェネル抽出物によりジンジパイン Rgps および Kgp のプロテアーゼ活性が阻害された。フェネル抽出物中の増殖阻害活性およびプロテアーゼ活性を示す主たる化合物としてペトロセリン酸を単離同定した。[中尾龍馬；吉野七海 (エスビー食品)、池田剛 (崇城大学)]

(4) カレーリーフに *P. gingivalis* に対する含まれる抗菌化合物の探索

P. gingivalis の増殖阻害活性を示したカレーリーフ抽出物から、その活性成分の単離を試みた。mahanimbine (MB) を含む 4 つの異なるプレニル化四環系カルバゾールアルカロイド (PTCAs) を単離した。PTCAs の中でも、特に MB が最も強力な *P. gingivalis* の増殖阻害活性を示した。また MB の *P. gingivalis* 菌体表層での特徴的な“クレーター様”構造の形成などが確認され、カレーリーフ抽出物、または MB による歯周病治療薬への応用可能性が示唆された。[中尾龍馬；池田剛 (崇城大学)]

(5) 細菌外膜小胞に関する研究

ア. 歯周病原細菌外膜小胞の粘膜ワクチンへの応用

歯周病原細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) の血清型 b の異なる 4 株について、その外膜小胞中のロイコキシン含有量を調べたところ、その量は大量に含まれるものから、含まれないものまで、株により全く異なっていた。特に、Y4 株の外膜小胞にはロイコキシンを検出されなかった。続いて Aa Y4 株と *P. gingivalis* の 2 種類の膜小胞をマウスに経鼻免疫し、血清中の特異的抗体プロファイリングを行ったところ、*A. actinomycetemcomitans* については、OmpA1 及び OmpA2 抗体が、*P. gingivalis* についてはリポ多糖の修飾を受けた CTD タンパクに対する抗体が誘導されていることが明らかとなった。[中尾龍馬、泉福英信、大西真；平山悟 (新潟大学)]

イ. 外来莢膜多糖を発現するプロバイオティクス大腸菌膜小胞の特性解析

肺炎球菌血清型 14 の莢膜多糖抗原 (CPS14) を発現するプロバイオティクス大腸菌膜小胞ワクチンを作製し、その特性解析を行った。大腸菌菌体内での CPS14 の局在は、膜画分、特に外膜画分に多かった。膜小胞における CPS14 発現量は、タンパク質 1 μg 当たり $13.2 \pm 6.3 \text{ ng}$ であり、膜小胞の表層に発現することが確認された。マウスへの皮下免疫実験においては、IgG へのクラススイッチとバランスの取れた Th1/Th2 免疫応答が誘導されたことから、様々な多糖体ワクチン開発において、プロバイオティクス大腸菌膜小胞を担体として活用する手法の利点が示唆された。[中尾龍馬、岩淵佑介、大西真；平山悟 (新潟大学)]

ウ. 腸内細菌が産生する膜小胞 (MVs) の粘膜免疫への応用

腸管常在細菌の一種である *Clostridium perfringens* の MVs をマウスに経鼻免疫することにより、全身の粘膜面（鼻腔、口腔、腸管）における細菌特異的な抗体産生を誘導することが可能であった。腸管に誘導された特異的抗体が腸内細菌叢に与える影響を評価するために、盲腸内容物の細菌叢解析を実施した。その結果、MVs を免疫したマウス群では、*Clostridium* 属細菌の相対存在量が有意に減少した。このことより、腸内細菌由来 MVs を利用することで、特定の腸内細菌の腸管定着を阻害できる可能性が示された。[尾花望、中尾龍馬、泉福英信]

エ. 腸内細菌叢が腸管内で生産する MVs の精製

個々の細菌が産生する MVs の機能はいくつか報告がある一方、宿主に定着している細菌叢が産生する MVs の機能については未知の部分が多い。そこで、腸内細菌叢が産生する MVs をマウスの便から精製し、それらの機能を明らかにすることを目指した。密度勾配遠心法と超遠心法を組み合わせることにより、便中より細菌由来の MVs の精製に成功した。MVs の内部に含まれる DNA の細菌叢解析を実施することにより、腸管内で MVs を産生していると予想される細菌群を同定した。[尾花 望、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、石嶋希、李謙一、山本章治、三戸部治朗、大西真]

II. 劇症型/重症レンサ球菌感染症に関するレファレンス業務

地方衛生研究所および病院から送られた 526 症例分の劇症型/重症レンサ球菌感染症患者分離菌株の血清型別、*emm* 遺伝子の塩基配列による型別、*spe* 遺伝子の保有状況等の検査及び結果および流行状況の報告、および、患者分離株の血清型別の流行に関する全国集計を行った。[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

III. レジオネラ症に関するレファレンス業務

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

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 2 年度厚生労働省外部制度管理事業として、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、大西真]

V. 動物由来感染症に関する研修

国立国際医療研究センター・国立感染症研究所共催 第6回 動物由来感染症研修会「ペスト」、2021 年 1 月、東京 [石原朋子]

品質管理に関する業務

I. 4価髄膜炎菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定 [川端寛樹、石原朋子]

II. 13 価結合型肺炎球菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定 [常彬、小川道永、大西真]

III. 23 価肺炎球菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定 [前川純子、小川道永、大西真]

国際協力関係業務

I. 中国内モンゴル自治区 CDC ならびに Hetao 大学との共同研究

ライム病、BMD、アナプラズマ症、リケッチア症に関する共同研究を 2014 年より継続して実施している。ボレリア感染症の検査法、ボレリア細菌の分離技術指導とあわせ、疫学情報解析のためのツールの導入を継続的に行った。また中国で分離された BMD 病原体 *Borrelia miyamotoi* のゲノム解読を実施し報告した。[川端寛樹]

研修業務

I. 腸管出血性大腸菌に関する研修

1. 令和 2 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」、2021 年 2 月、東京 [伊豫田淳]

2. 令和 2 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、2021 年 1 月、オンライン [泉谷秀昌]

II. レジオネラ属菌に関する研修

新通知法に基づくレジオネラ属菌検査。令和 2 年度特別区専門研修「検査技術」、2020 年 10 月、東京 [前川純子]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Misaki Y, Yamamoto S, Suzuki T, Iwakuni M, Sasaki H, Takahashi Y, Inada K, Kinashi H, Arakawa K. SrrB, a Pseud o-Receptor Protein, Acts as a Negative Regulator for Lankacid in and Lankamycin Production in *Streptomyces rochei*. Front Microbiol. 2020; 11: 1089. doi: 10.3389/fmicb.2020.01089.
- 2) Takahashi H, Dohmae N, Kim KS, Shimuta K, Ohnishi M, Yokoyama S, Yanagisawa T. Genetic incorporation of non-canonical amino acids photocrosslinkers in *Neisseria meningitidis*: New method provides insights into the physiological function of the function-unknown NMB1345 protein. PLoS One 2020; 15: e0237883.
- 3) Klancher CA, Yamamoto S, Dalia TN, Dalia AB. ChiS is a noncanonical DNA-binding hybrid sensor kinase that directly regulates the chitin utilization program in *Vibrio cholerae*. Proc Natl Acad Sci USA. 2020; 117: 20180-20189.
- 4) Shimuta K, Lee K, Yasuda M, Furubayashi K, Uchida C, Nakayama SI, Takahashi H, Ohnishi M. Characterization of two *Neisseria gonorrhoeae* strains with high-level azithromycin resistance isolated in 2015 and 2018 in Japan. Sex Transm Dis. 2021; 48: e85-e87.
- 5) Shizukuishi, S., Ogawa, M., Matsunaga, S., Tomokiyo, M., Ikebe, T., Fushinobu, S., Ryo, A. Ohnishi M. *Streptococcus pneumoniae* hijacks host autophagy by deploying CbpC as a decoy for Atg14 depletion. EMBO Rep. 2020; 21: e49232. doi: 10.15252/embr.201949232.
- 6) Shizukuishi S, Ogawa M, Ryo A. Ohnishi M. The multi-step mechanism and biological role of noncanonical autophagy targeting *Streptococcus pneumoniae* during the early stages of infection, Autophagy. 2020; 16: 1152-1153. doi: 10.1080/15548627.2020.1743937.
- 7) Shizukuishi, S., Ogawa, M., Ryo, A., Ohnishi, M. *Streptococcus pneumoniae* promotes its own survival via choline-binding protein CbpC-mediated degradation of ATG14. Autophagy. 2020; 16: 1529-1531. doi:10.1080/15548627.2020.1776475.
- 8) Klionsky DJ, Ogawa M, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). Autophagy, 2021; 17: 1-382. doi: 10.1080/15548627.2020.1797280.
- 9) Koizumi N, Izumiya H, Ohnishi M. Genetic relatedness of *Leptospira interrogans* serogroup Autumnalis isolated from humans, dogs, and mice in Japan. BMC Res Notes 2020; 13: 369.
- 10) Xu J, Koizumi N, Nakamura S. Crawling motility on the host tissue surfaces is associated with the pathogenicity of the zoonotic spirochete *Leptospira*. Front Microbiol. 2020; 11: 1886.
- 11) Karunanayake L, Gamage CD, Gunasekara CP, De Silva S, Izumiya H, Morita M, Muthusinghe DS, Yoshimatsu K, Niloofa R, Karunanayake P, Uluwattage W, Ohnishi M, Koizumi N. Multilocus sequence typing reveals diverse known and novel genotypes of *Leptospira* spp. circulating in Sri Lanka. PLoS Negl Trop Dis. 2020; 14: e0008573.
- 12) Koizumi N, Wada T, Morita M, Mu J-J, Ohnishi M. Comparative genomic analysis of *Leptospira borgpetersenii* serogroup Javanica isolated from *Rattus* species in Southern Japan, Philippines, and Taiwan. Infect Gen Evol. 2020; 85:104447.
- 13) Nagai R, Yamamoto K, Shiojiri D, Kutsuna S, Kato Y, Koizumi N, Ohmagari N. Multiple pulmonary nodules in leptospirosis: a case report. Intern Med. 2020; 59: 2941-2944.
- 14) Huy HL, Koizumi N, Ung TTU, Le TT, Nguyen HLK, Hoang PVM, Nguyen CN, Khong TM, Hasebe F, Haga T, Le MTQ, Hirayama K, Miura K. Antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from urban rodents in Hanoi, Vietnam. J Vet Med Sci. 2020; 82: 653-660.
- 15) Kakita T, Kyan H, Miyahira M, Takara T, Nakama E, Kuba Y, Kato T, Nidaira M, Kudaka J, Koizumi N. Novel genotypes of *Leptospira interrogans* serogroup Sejroe isolated from human patients in Okinawa Prefecture, Japan. J Med Microbiol. 2020; 69: 587-590.
- 16) Kawabata T, Tenokuchi Y, Yamakuchi H, Sameshima H, Katayama H, Ota T, Tokunaga M, Takezaki T, Tamae S, Nakamura T, Chang B, Kodama Y, Imuta N, Ooka T, Okamoto Y, Suga S, Nishi J. Concurrent bacteremia due to non-vaccine serotype 24F pneumococcus in twins: A rapid increase in serotype 24F-invasive pneumococcal disease and its high invasive potential. Pediatr Infect Dis J. 2020; 39: 85-87. doi: 10.1097/INF.0000000000002508.
- 17) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Matsumura Y, Yamamoto M, Suga S, Ohnishi M, Nagao M. Nationwide surveillance of paediatric invasive and non-invasive pneumococcal disease in Japan after the introduction of the 13-valent conjugated vaccine, 2015-2017. Vaccine. 2020; 38: 1818-1824. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.12.022.
- 18) Chang B, Akeda H, Nakamura Y, Hamabata H, Ameku K, Toma T, Miyagi M, Ohnishi M. Impact of thirteen-valent pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal carriage in healthy children under 24 months in Okinawa, Japan. J Infect

- Chemother. 2020; 26: 465-470.
doi: 10.1016/j.jiac.2019.12.009.
- 19) Shimbashi R, Suzuki M, Chang B, Watanabe H, Tanabe Y, Kuronuma K, Oshima K, Maruyama T, Takeda H, Kasahara K, Fujita J, Nishi J, Kubota T, Tanaka-Taya K, Matsui T, Sunagawa T, Oishi K, and the Adult IPD Study Group. Effectiveness of 23-Valent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine against Invasive Pneumococcal Disease in Adults, Japan, 2013–2017. *Emerg Infect Dis.* 2020; 26: 2378-2386. doi: 10.3201/eid2610.191531.
- 20) Ujita N, Kawasaki Y, Matsubara K, Kim K, Naito A, Hori M, Isome K, Iwata A, Yamaguchi Y, Chang B. Late onset group B streptococcus disease manifesting as acute suppurative parotitis. *IDCases.* 2020; 21: e00799. doi: 10.1016/j.idcr.2020.e00799.
- 21) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Matsumura Y, Yamamoto M, Suga S, Ohnishi M, Nagao M. Phylodynamics of emergent *S. pneumoniae* serotype 12F-CC4846 causing pediatric invasive pneumococcal disease after the introduction of PCV13 in Japan. *Emerg Infect Dis.* 2020; 26: 2660-2668. doi: 10.3201/eid2611.200087.
- 22) Miyazaki H, Shibuya R, Chang B, Inukai T, Miyazaki Y, Ubukata K, Nakamura S, Matsumoto T. Genetic characteristics of piliated *Streptococcus pneumoniae* serotype 35B, increased after introduction of pneumococcal vaccines in Japan. *J Infect Chemother.* 2020; 26: 1198-1204. doi: 10.1016/j.jiac.2020.06.016.
- 23) Tanaka Y, Yamamoto K, Fukuda Y, Umemura A, Yoshida M, Ideguchi S, Ashizawa N, Hirayama T, Tashiro M, Takazono T, Imamura Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Chang B, Mukae H. An adult case of invasive pneumococcal disease due to serotype 12F-specific polysaccharide antibody failure following a 23-valent polysaccharide vaccination. *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9: 2266-2268. doi: 10.1080/22221751.2020.1830716.
- 24) Samanta P, Mandal RS, Saha RN, Shaw S, Ghosh P, Dutta S, Ghosh A, Imamura D, Morita M, Ohnishi M, Ramamurthy T, Mukhopadhyay AK. A point mutation in carR is involved in the emergence of polymyxin B-sensitive *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype by influencing gene transcription. *Infect Immun.* 2020; 88: e00080-20.
- 25) Morita D, Morita M, Alam M, Mukhopadhyay AK, Johura FT, Sultana M, Monira S, Ahmed N, Chowdhury G, Dutta S, Ramamurthy T, Samanta P, Takahashi E, Okamoto K, Izumiya H, Ohnishi M. Whole-genome analysis of clinical *Vibrio cholerae* O1 in Kolkata, India, and Dhaka, Bangladesh, reveals two lineages of circulating strains, indicating variation in genomic attributes. *mBio.* 2020;11: e01227-20.
- 26) Morita M, Okada K, Yamashiro T, Sekizuka T, Roobthaisong A, Wongboot W, Chantaroj S, Tu ND, Xangsayarath P, Sithivong N, Noilath K, Vongdouangchanh A, Kuroda M, Hamada S, Izumiya H, Ohnishi M. Phylogenetic analysis revealed the dissemination of closely related epidemic *Vibrio cholerae* O1 isolates in Laos, Thailand, and Vietnam. *Open Forum Infect Dis.* 2020 Oct 16;7(11): ofaa492.
- 27) Izumiya H, Lee K, Ishijima N, Iyoda S, Ohnishi M. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis scheme for non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: Focus on serogroups O103, O121, O145, O165, and O91. *Jpn J Infect Dis.* 2020; 73: 481-490.
- 28) Kato H, Yahata Y, Hori Y, Fujita K, Ooura N, Kido T, Yoshimoto K, Matsui T, Izumiya H, Ohnishi M, Oishi K. A shigellosis outbreak associated with a sports festival at a kindergarten in Kitakyushu City, Japan. *J Infect Chemother.* 2020; 26: 1146-1151.
- 29) Matsumura T, Nishiyama A, Aiko M, Ainai A, Ikebe T, Chiba J, Ato M, Takahashi Y. An anti-perfringolysin O monoclonal antibody cross-reactive with streptolysin O protects against streptococcal toxic shock syndrome. *BMC Res Notes.* 2020; 13: 419. doi: 10.1186/s13104-020-05264-2.
- 30) Murase K, Nozawa T, Aikawa C, Nagao M, Ikebe T, Yoshida A, Kikuchi T, Nakagawa I. Complete Genome Sequences of *Streptococcus pyogenes* Serotype M3, M28, and M89 Strains Isolated from Human Patients in Japan, 1994 to 2009. *Microbiol Resour Announc.* 2020; 9: e01047-20. doi: 10.1128/MRA.01047-20.
- 31) Shinoda Y, Hori T, Sasai H, Ikebe T, Ohnishi H. Neonatal bacteremia caused by *emm* type 80 group A *Streptococcus*: A case report. *Pediatr Int.* 2020; 62: 1305-1306. doi: 10.1111/ped.14349.
- 32) Hirose Y, Yamaguchi M, Takemoto N, Miyoshi-Akiyama T, Sumitomo T, Nakata M, Ikebe T, Hanada T, Yamaguchi T, Kawahara R, Okuno R, Otsuka H, Matsumoto Y, Terashima Y, Kazawa Y, Nakanishi N, Uchida K, Akiyama Y, Iwabuchi K, Nakagawa C, Yamamoto K, Nizet V, Kawabata S. Genetic characterization of *Streptococcus pyogenes emm89* strains isolated in Japan from 2011 to 2019. *Infect Microbe Dis.* 2020; 2: 160-166. doi: 10.1097/IM9.0000000000000038.
- 33) Nishiki S, Arima Y, Kanai M, Shimuta K, Nakayama S,

- Ohnishi M. Epidemiology, Molecular Strain Types, and Macrolide Resistance of *Treponema pallidum* in Japan, 2017-2018. *J. Infect. Chemother.* 2020; 26: 1042-1047.
- 34) Shimuta K., Lee K., Yasuda M, Furubayashi K-I, Uchida C, Nakayama S., Takahashi H., Ohnishi M. Characterization of two *Neisseria gonorrhoeae* strains with high-level azithromycin-resistance isolated in Japan. *Sex. Transm. Dis.* 2021; 48: e85-e87.
- 35) Tarumoto N, Imai K, Nakayama S., Itoda I, Sakai J, Murakami T, Maesaki S, Hayakawa S, Ohnishi M., Maeda T. A novel peptide nucleic acid-and loop-mediated isothermal amplification assay for the detection of mutations in the 23S rRNA gene of *Treponema pallidum*, *J. Med. Microbiol.* 2020; 69: 1339-1345. doi: 10.1099/jmm.0.001275.
- 36) Nishiki S, Lee K., Kanai M, Nakayama S., 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. doi: 10.1038/s41598-021-82337-7.
- 37) Iguchi A, Nishii H, Seto K, Mitobe J., Lee K., Konishi N, Obata H, Kikuchi T, Iyoda S. Additional Og-Typing PCR Techniques Targeting *Escherichia coli*-Novel and *Shigella*-Unique O-Antigen Biosynthesis Gene Clusters. *J Clin Microbiol.* 2020; 58: e01493-20.
- 38) Nguyen TTH, Iguchi A, Ohata R, Kawai H, Ooka T, Nakajima H, Iyoda S. Distribution of Novel Og Types in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolated from Healthy Cattle. *J Clin Microbiol.* 2021; 59: e02624-20.
- 39) Yahiro K, Ogura K, Goto Y, Iyoda S., Kobayashi T, Takeuchi H, Ohnishi M., Moss J. Subtilase cytotoxin induces a novel form of Lipocalin 2, which promotes Shiga-toxigenic *Escherichia coli* survival. *Sci Rep.* 2020; 10: 18943.
- 40) 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, 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.
- 41) Kimata K, Lee K., Watahiki M, Isobe J, Ohnishi M., Iyoda S. Global distribution of epidemic-related Shiga toxin 2 encoding phages among enteroaggregative *Escherichia coli*. *Sci. Rep.* 2020; 10: 11738.
- 42) Nakamura K, Murase K, Sato M. P, Toyoda A, Itoh T, Mainil J. G, Piérard D, Yoshino S, Kimata K, Isobe J, Seto K, Etoh Y, Narimatsu H, Saito S, Yatsuyanagi J, Lee K., Iyoda S., Ohnishi M., Ooka T, Gotoh Y, Ogura Y, Hayashi T. Differential dynamics and impacts of prophages and plasmids on the pangenome and virulence factor repertoires of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O145:H28. *Microbial Genomics.* 2020; 6: e000323.
- 43) Yonekita T, Morishita N, Arakawa E., Matsumoto T. Development of a monoclonal antibody for specific detection of *Vibrio parahaemolyticus* and analysis of its antigen. *J Microbiol Methods* 2020; 173: 105919.
- 44) Nakamura I, Amemura-Maekawa J., Kura F, Kobayashi T, Sato A, Watanabe H, Matsumoto T. Persistent *Legionella* contamination of water faucets in a tertiary hospital in Japan. *Int J Infect Dis.* 2020; 93: 300-304. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.002.
- 45) 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. doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.815.
- 46) Becker NS, Rollins RS, Nosenko K, Paulus A, Martin S, Krebs S, Takano A, Sato K., Kovalev S, Kawabata H., Fingerle V, Margos G. High conservation combined with high plasticity: genomics and evolution of *Borrelia bavariensis*. *BMC Genomics.* 2020; 21: 702.
- 47) Adenyo C, Ohya K, Qiu Y, Takashima Y, Ogawa H, Matsumoto T, Thu MJ, Sato K., Kawabata H., Katayama Y, Omatsu T, Mizutani T, Fukushi H, Katakura K, Nonaka N, Inoue-Murayama M, Kayang B, Nakao R. Bacterial and protozoan pathogens/symbionts in ticks infecting wild grasscutters *Thryonomys swinderianus* in Ghana. *Acta Tropica.* 2020; 205: 105388.
- 48) Y, Konnai S, Ochi A, Okagawa T, Githaka N, Isezaki M, Yamada S, Ito T, Ando S, Kawabata H., Logullo C, da Silva Vaz I Jr, Maekawa N, Murata S, Ohashi K. Immunosuppressive effects of sialostatin L1 and L2 isolated from the taiga tick *Ixodes persulcatus* Schulze. *Ticks and Tick-borne Diseases.* 2020; 11: 101332.
- 49) Nakao R., Senpuku H., Ohnishi M., Takai H, Ogata Y, Effect of topical administration of propolis in chronic periodontitis. *Odontology,* 2020; 108: 704-714. doi: 10.1007/s10266-020-00500-4.
- 50) Nakamura T, Iwabuchi Y, Hirayama S, Narisawa N, Takenaga F, Nakao R., Senpuku H. Roles of membrane vesicles from *Streptococcus mutans* for the induction of antibodies to glucosyltransferase in mucosal immunity. *Microbial*

- Pathogenesis, 2020; 149: 104260.
doi: 10.1016/j.micpath.2020.10
- 51) Nagasawa R, Sato T, Nomura N, Nakamura T, Senpuku H. Potential risk to spread resistant genes within the extracellular DNA-dependent biofilm of *Streptococcus mutans* in response to cell envelope stress induced by sub-MIC of bacitracin, Applied Environmental Microbiology, 2020; 86; e00770-20. doi: 10.1128/AEM.00770-20.
- 52) Nozaki S, Tsutsumi Y, Takasaki Y, Yoshikawa H, Shinya T, Souta R, Nakamoto N, Marukawa K, Usami T, Sunami J, Takashima M, Tanaka K, Nishizawa R, Yanase S, Negoro K, Negishi A, Okumura H, Otsuka Y, Honda Y, Otsuru H, Arika T, Nakashima T, Nagasaka H, Watanabe Y, Kajiya M, Senpuku H, Iwabuchi H. Predictors of early postoperative pneumonia after oncologic surgery with the patients receiving professional oral health care: A prospective, multicentre, cohort study, Journal of Perioperative Practice, 2021; 31:289-295.
- 53) Suzuki I, Shimizu T, Senpuku H. Short chain fatty acids induced the type 1 and type 2 fimbriin-dependent and fimbriin-independent initial attachment and colonization of *Actinomyces oris* monoculture but not coculture with streptococci. BMC Microbiology, 2020; 20: 329.
- 54) Ishikawa M, Murata T, Okamoto M, Miyanojara M, Yamashita M, Hanada N, Senpuku H, Shibuya K. Inhibitory effect of black cumin (*Nigella sativa*) seed essential oil on *Fusobacterium nucleatum* L-methionine- γ -lyase (L-methioninase) activity. FEMS Microbiology Letters, 2021; 368: fnab041.
- 55) Tada A, Senpuku H. The impact of oral health on respiratory viral infection. Dentistry Journal, 2021; 9: 43.
- 56) Hirayama S, Nakao R. Glycine significantly enhances bacterial membrane vesicle production: a powerful approach for isolation of LPS-reduced membrane vesicles of probiotic *Escherichia coli*. Microbial Biotechnology, 2020; 13: 1162-1178.
- 57) 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.
- 58) Hirayama S, Nakao R. Intranasal vaccine study using *Porphyromonas gingivalis* membrane vesicles: isolation method and application to a mouse model. Methods in Molecular Biology, 2020; 2210: 157-166.
- 59) Nishiki S, Arima Y, Yamagishi T, Hamada T, Takahashi T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K, Ohnishi M. Syphilis in heterosexual women: case characteristics and risk factors for recent syphilis infection in Tokyo, Japan, 2017-2018. Int J STD AIDS. 2020;31: 1272-1281.
- 60) Yahara K, Ma KC, Mortimer TD, Shimuta K, Nakayama SI, Hirabayashi A, Suzuki M, Jinnai M, Ohya H, Kuroki T, Watanabe Y, Yasuda M, Deguchi T, Eldholm V, Harrison OB, Maiden MCJ, Grad YH, Ohnishi M. Emergence and evolution of antimicrobial resistance genes and mutations in *Neisseria gonorrhoeae*. Genome Med. 2021; 13: 51. doi: 10.1186/s13073-021-00860-8.
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) 亀山和明、大竹正悟、志牟田健、高橋英之、森田昌知、大西真、清水悠衣、大上朋子、笠井正志. 適切な培養検査の必要性を示唆した新生児淋菌性結膜炎の一例. 日本臨床微生物学会雑誌、2020; 31: 22-26.
- 3) 泉谷秀昌、李謙一、伊豫田淳、大西真. 2019年に分離された腸管出血性大腸菌の MLVA 法による解析. IASR、2020; 41: 71-72.
- 4) 伊豫田淳. 腸管出血性大腸菌感染症. 新興・再興感染症 update -グローバル化時代の感染症- 日本臨床 2020; 79: 200-204.
- 5) 大河内由美子、泉山信司、前川純子. 紙上ミニシンポジウムI～水の衛生管理～3. 貯水槽水道で滞留した水道水からのレジオネラ属菌および関連微生物の検出状況. 日本防菌防黴学会誌、2020; 48:377-382.
- 6) 金谷潤一、磯部順子、山口友美、武藤千恵子、淀谷雄亮、飯高順子、佐々木麻里、田栗利紹、蔡 国喜、川野みどり、倉文明、前川純子. 環境水を用いた各種レジオネラ属菌迅速検査法の有用性の評価. 日本防菌防黴学会誌. 2020; 48:515-522.
- 7) 大久保(佐藤)梢、川端寛樹. ダニ媒介性感染症. 獣医公衆衛生研究. 2020; 22: 17-22.
- 8) 川端寛樹、佐藤(大久保)梢. ボレリア感染症(ライム病を主に). 日本神経感染症学会誌(Neuroinfection). 2020; 25: 118-124.
- 9) 泉福英信. これからの院内感染対策のスタンダード、DENTAL DIAMOND、2020; 45: 45-60.
- 10) 泉福英信. COVID-19 と歯科医療、メディカル クォール、2020; 311: 40-43.
- 11) 泉福英信. 口腔常在菌叢の構成-形成過程、加齢に伴う

推移、その他の影響因子など、監修落合邦康、ヒト常在菌叢と生理機能・全身疾患、2020.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Senanayaka SGMSD, Senevirathne P, Fonseka PA, Dayaratne K, Toma C, Sato Y, Koizumi N, Rajapakse S, Gamage CD. Environmental contamination of pathogenic and intermediate pathogenic *Leptospira* spp. in two divisional secretariats of Kandy District. 2nd International Conference of the Center for Environmental Studies, Sri Lanka, July, 2020.
- 2) Senarathne P, Fonseka A, Kumara A, Muthusinghe D, Koizumi N, Yoshimatsu K, Gamage CD. An escalation of the disease burden of hantavirus infection in a hospital setting among the leptospirosis suspected patients. Research Conference in Health Science 2021, Sri Lanka, March, 2021.
- 3) Nakao R, Hirayama S, Iwabuchi Y, Ohnishi M. Probiotic *Escherichia coli* Membraned Vesicles Carrying Pneumococcal Capsular Polysaccharides: An In Vivo Study of intranasal Vaccines Using Safe and immunogenic Nanoparticles. 12th International Symposium on Pneumococci & Pneumococcal Diseases. Toronto, On-line. June, 2020.

2. 国内学会

- 1) 高橋英之. マスギャザリングと感染症, 事例から学ぶ: 「侵襲性髄膜炎菌感染症」、第 94 回日本感染症学会総会、東京、2020 年 8 月.
- 2) 中尾浩史、上原安紀子、仲田聡明、高良富頌、中山周二、志牟田健、大西真. 沖縄で分離された淋菌の薬剤耐性状況. 第 94 回日本細菌学会総会、岡山、2021 年 3 月.
- 3) 亀山和明、大竹正悟、志牟田健、高橋英之、清水悠衣、大上朋子、笠井正志. 出生時ニューキノロン系点眼薬使用の再検討と妊婦検診での淋菌検索の必要性が示唆された新生児淋菌性結膜炎の一例. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、Web 開催、2021 年 1 月.
- 4) 志牟田健. 尿道炎: 耐性化とその対策はどのように進んでいくのか (シンポジウム)、耐性機序: 主に淋菌の薬剤耐性化について、日本性感染症学会第 33 回学術大会、東京、2020 年 12 月.
- 5) 安田満、志牟田健、中山周二、高橋英之、小林寅詔、大澤佳代、陣内理生、三宅啓文、浜砂良一、荒川創一、大西真. 2019 年にわが国で分離された淋菌の薬剤感受性報告、日本性感染症学会 第 33 回学術大会、東京、2020 年 12 月.
- 6) 小川道永、大西真. 肺炎球菌に対する宿主オートファジ

一認識機構と菌によるその制御機構、第 94 回日本細菌学会総会、岡山(オンライン)、2021 年 3 月.

- 7) 雫石早矢佳、小川道永、梁明秀、大西真. オートファジーハイジャックによる肺炎球菌の新規生存戦略の分子機構解析、第 94 回日本細菌学会総会、岡山(オンライン)、2021 年 3 月.
- 8) 小川道永. 感染症分野のためのオートファジー入門～新たにわかってきた肺炎球菌のしなやかな生存戦略～、第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 67 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、グランドニッコー東京 台場、2020 年 10 月.
- 9) 小川道永、大西真. 肺炎球菌感染におけるマルチステップオートファジー、第 93 回日本生化学会大会、パシフィコ横浜、2020 年 9 月.
- 10) 雫石早矢佳、小川道永、梁明秀、大西真. 肺炎球菌は病原因子をおとりにして Atg14 を分解し宿主オートファジーを負に制御する、第 93 回日本生化学会大会、パシフィコ横浜、2020 年 9 月.
- 11) 小川道永、雫石早矢佳、梁明秀、大西真. 肺炎球菌感染初期に誘導されるノンカノニカルオートファジジーの意義とその誘導機構、第 72 回日本細胞生物学会大会、京都みやこメッセ、2020 年 6 月.
- 12) 雫石早矢佳、小川道永、梁明秀、大西真. 肺炎球菌は病原因子をおとりにして Atg14 を分解し宿主オートファジーを負に制御する、第 72 回日本細胞生物学会大会、京都みやこメッセ、2020 年 6 月.
- 13) 宮崎治子、常彬、渋谷理恵、生方公子、松本哲哉、中村茂樹. Pilus 遺伝子を保有する肺炎球菌血清型 35B の遺伝子型および薬剤感受性の特徴. 第 93 回日本感染症学会総会・学術講演会. 東京、2020 年 10 月.
- 14) 田村恒介、常彬、砂川富正、鈴木基、渡邊浩、西順一郎、丸山貴也、金城雄樹、大石和徳. 成人侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) の血清型による臨床像の特徴. 第 24 回に本ワクチン学会学術集会、WEB 開催、2020 年 12 月.
- 15) 成相昭吉、常彬. A 群レンサ球菌感染後急性糸球体腎炎に血清型 15C 肺炎球菌による菌血症を併発した 3 歳女児および国内 2 地域の下気道感染症乳幼児における血清型 15C 検出状況. 第 24 回に本ワクチン学会学術集会、WEB 開催、2020 年 12 月.
- 16) 池辺忠義. 劇症型 A 群溶血性レンサ球菌感染症由来株の細菌学的特徴 (シンポジウム: 劇症型 A 群レンサ球菌感染症の謎に迫る). 第 94 回日本感染症学会学術講演会、東京、2020 年 8 月.
- 17) 山口雅也、広瀬雄二郎、東孝太郎、竹本訓彦、秋山徹、住友倫子、池辺忠義、川端重忠. *emm89* 型化膿レンサ球菌

による侵襲性感染症の発症因子の遺伝統計学的探索、第 94 回日本細菌学会総会、国内(オンライン)、2021 年 3 月。

18) 大野誠之、山口雅也、広瀬雄二郎、東孝太郎、竹本訓彦、秋山徹、住友倫子、池辺忠義、山口貴弘、河原隆二、奥野ルミ、大塚仁、松本裕子、寺島祐司、賀澤優、中西典子、内田薫、秋山由美、岩渕香織、中川力、山本一成、川端重忠、*emm89* 型化膿レンサ球菌による侵襲性感染症のゲノム配列に基づく発症機構の解明、第 43 回日本分子生物学会、国内(オンライン)、2020 年 12 月。

19) 安田満、志牟田健、中山周一、高橋英之、小林寅喆、大澤佳代、陳内理生、三宅啓文、大西真、2019 年にわが国で分離された淋菌の薬剤感受性報告。日本性感染症学会第 33 回学術大会、東京、2020 年 12 月。

20) 中尾浩史、上原安紀子、仲田聡明、高良富頌、中山周一、志牟田健、大西真。沖縄で分離された淋菌の薬剤耐性状況。第 94 回日本細菌学会総会、オンライン、2021 年 3 月。

21) 宮田達弥、小椋義俊、中村佳司、後藤恭宏、吉村大、伊豫田淳、伊藤武彦、大西真、林哲也。EHEC O157 clade 8 のゲノム多様性と Stx2 と Stx2 フェージのバリエーション、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021 年 3 月。

22) 須藤直樹、佐々木万里香、今福拓也、伊豫田淳、岡田信彦。志賀毒素転換フェージにコードされる低分子 RNA の機能解析、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021 年 3 月。

23) 八尋錦之助、小倉康平、後藤義幸、伊豫田淳、大西真。SubAB により誘導される新規 Lipocalin-2 の発現制御とその機能解析、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021 年 3 月。

24) 木全恵子、李謙一、綿引正則、磯部順子、大西真、伊豫田淳。大規模集団感染由来 O104:H4 と同一の Stx2a フェージを有する志賀毒素産生性腸管凝集性大腸菌 (Stx-EAEC) O86 の解析、第 163 回日本獣医学会学術集会、オンライン開催、2020 年 9 月。

25) 李謙一。腸管出血性大腸菌の伝播要因の究明および伝播経路解明手法の高度化、第 163 回日本獣医学会学術集会、オンライン開催、2020 年 9 月。

26) 李謙一、井口純、宇田和宏、松村壮史、宮入烈、石倉健司、大西真、伊豫田淳。EHEC Working Group in Japan. 小児重症例から分離された腸管出血性大腸菌新規血清群 OX18 および関連株のゲノム解析、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021 年 3 月。

27) 前川純子。レジオネラ症の疫学。第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会シンポジウム 22。東京、2020 年 8 月

28) 淀谷雄亮、原俊吉、小嶋由香、本間幸子、前川純子、森田昌知、大西真、岡部信彦。川崎市におけるレジオネラ症患者からのレジオネラ属菌の分離及び解析状況。第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、web 開催、2021 年 1 月。

29) 藤田博己、角坂照貴、川端寛樹、安藤秀二。タネガタマダニとアサヌマママダニが保有する紅斑熱群リケッチア *Rickettsia monacensis* の国内における概要と感染症例の国内潜在の可能性。第 72 回日本衛生動物学会大会、東京、2020 年 4 月。

30) 泉福英信。口腔連鎖球菌からのナノ粒子の病原性とワクチン:2S09a 細菌が放出するナノ粒子の新たな病原性とワクチンとしての可能性、第 93 回日本生化学会、東京、2020 年 9 月 15 日。

31) 泉福英信。口腔バイオフィーム微生物集団の代謝産物が導く細菌の生存戦略、S5 集団微生物学と細菌バイオフィーム研究の前線、第 94 回日本細菌学会総会、岡山、2021 年 3 月 24 日。

32) 泉福英信。バイオフィーム形成による口腔および全身疾患とその予防、[S06-4am] 特別企画 感染症予防技術の構築を目指した化学的アプローチ、第 101 回日本化学会春季年会、東京、2021 年 3 月。

33) 鈴木到、清水武彦、泉福英信。Actinomyces oris の初期付着・凝集に対する口腔細菌が産生する有機酸の影響、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021 年 3 月。

34) 奥田真由、尾花望、奥脇響、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦。ウェルシュ菌の放出する膜小胞が宿主に与える影響の解析、2020 年度グラム陽性菌ゲノム機能会議、オンライン、2020 年 9 月。

35) 奥田真由、尾花望、奥脇響、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦。ウェルシュ菌が放出するメンブレンベシクルを介した宿主免疫誘導機構の解析、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン、2021 年 3 月。

36) 平山悟、中尾龍馬。グリシンによる細菌メンブレンベシクル産生の誘導とその特性、生物工学会 Web シンポジウム、オンライン、2020 年 9 月。

37) 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特性解析—歯周病細菌ベシクルワクチンの粘膜アジュバント開発等に向けて— 第 62 回歯科基礎医学会、オンライン、2020 年 9 月。

38) 中尾龍馬。Intranasal delivery of bacterial membrane vesicles carrying exogenous capsular polysaccharides: a proposed next-generation vaccine platform against a wide diversity of pathogens. 第 93 回日本生化学会、オンライン、2020 年 9 月。

39) 高原翠夏人、平山悟、中尾龍馬、二又裕之、田代陽介。

バイオフィルム由来膜小胞による免疫応答促進(学術奨励賞)、2020年度日本農芸化学会中部支部、オンライン、2020年9月。

40) 中尾龍馬. 粘膜免疫を強く誘導する細菌由来メンブレンヴェシクル、NIID/future セミナー ワクチン開発研究の現状と展望、オンライン、2020年11月。

41) 吉野七海、池田剛、中尾龍馬. *P. gingivalis* の膜小胞産生誘導及び迅速な殺菌効果を示すフェネル抽出物、第94回日本細菌学会、オンライン、2020年9月

42) 中尾龍馬. 細菌由来メンブレンヴェシクル:その優れた特性を活用したワクチン開発、第94回日本細菌学会、オンライン、2020年9月。

43) 山口 雄大、中尾 龍馬、富田 修、BCG 由来メンブレンヴェシクルを用いた結核ワクチン開発研究、第94回日本細菌学会、オンライン、2020年9月。

44) 大西真. 性感染症領域の今日的課題と今後の展望 “何故今、これからどうなる” 梅毒。第94回日本感染症学会学術講演会、東京、2020年8月。

45) 大西真. 淋菌 耐性進化のメカニズムと方向性。第94回日本感染症学会学術講演会、東京、2020年8月。

46) 大西真. 薬剤耐性淋菌 — 遺伝子の水平伝播。第32回日本薬学会 微生物シンポジウム。東京、2020年9月。

47) 大西真. ゲノムレベルで再考する細菌学。第69回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第67回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、東京、2020年10月。

48) 大西真. 淋菌感染症および性器クラミジア症ワクチンの未来、日本性感染症学会第33回学術大会、東京、2020年12月。