

4. 細菌第一部

部長 大西 真

概要

当部では、多様な病原細菌に対する菌種内多様性の解析、病原機構の解明、新規検査法の開発に関する研究を行っている。また、肺炎球菌ワクチン、13 価肺炎球菌コンジュゲートワクチン、4 価髄膜炎菌コンジュゲートワクチンの検定検査、梅毒体外診断薬の承認前試験を担当するとともに、多様な病原細菌に対する行政検査あるいは依頼検査、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た。

腸管出血性大腸菌感染症の制御が困難な現状において、分離株間の同一性解析、さらには過去に分離された菌株との比較解析等、地方自治体からの要請が増している。地方衛生研究所から送付される EHEC O157, O26, O111 菌株 (n=2680) に関しては、迅速性、多検体処理に秀でている MLVA 法による解析を第一に行うこととなり、結果を速やかに返送するとともにデータの蓄積につとめた。同時にドラフトゲノムデータを取得し、その解析手法の検討を実施した。特に既存の分子型別方法との比較に重点を置き、その評価を開始した。

感染症研究国際ネットワーク推進プログラムに海外の研究拠点との連携を深めるために、岡山大学インド拠点、大阪大学タイ拠点、長崎大学ベトナム拠点、神戸大学インドネシア拠点との連携プロジェクト(2014 年度途中から開始)を引き続き実施した。コレラ菌の大規模ゲノム解析に焦点を当て各拠点で分離された菌株のゲノム配列情報の比較解析を感染症研究国際ネットワーク推進プログラム海外研究として実施した。現在、より広いネットワーク構築を試みている。ドラフトゲノム比較解析に加えて、完全長ゲノム配列の決定方法について検討した。今後のゲノムデータを利用した疫学解析に十分に活用していくことが重要となる。また、これらの解析技術は腸管出血性大腸菌、コレラ菌にとどまらず、他の病原細菌の解析へ応用し、一部成果があげることができた。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症、レジオネラ症、腸管出血性大腸菌感染症に関するレファレンス活動が進められた。赤痢菌、サルモネラ属菌、ビブリオ属菌、肺炎球菌、ボレリア属菌、薬剤耐性淋菌に関するサーベイラン

ス等も進められ、感染症対策における基盤的情報の蓄積が進められている。特に、培養不能菌である梅毒トレポネーマの分子タイピング法によるデータ蓄積が進み、さらに国内伝播株のゲノム解析手法の検討が進められた。

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

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) 菌株の多様性解析による重症例由来株の同定 ア ヒト由来 EHEC の血清型別

2015 年に全国の地方衛生研究所(地衛研)等から受け付けたヒト由来の EHEC は 3,144 株であった。頻度の高い O 血清群の順に O157 (54.1%)、O26 (25.8%)、O111 (4.8%)、O121 (3.1%)、O103 (2.9%)、O145 (2.4%) で、その他は 53 の O 群、71 の血清型(O:H 型)に型別された。ヒトの重症例(血便、溶血性尿毒症症候群 [HUS]、脳症、死亡例など)由来株はこのうち 1,004 株で、上記の 6 血清群に O165 を含めた 7 血清群で重症例由来株全体の 98%以上を占めた [伊豫田 淳、小澤さお美、高井信子、李 謙一、石原朋子、大西 真]。

イ EHEC O26 の高病原性系統株の解析

EHEC O26 の多くは志賀毒素遺伝子として *stx1* のみを有するが、近年 *stx2* 保有株が多数分離されている。*stx2* のみを保有する O26 は、MLST によって ST21 または ST29 に分類される。*stx2* を保有する 27 株の全ゲノム配列を用いた系統解析を行ったところ、ST29 はさらに 2 つの亜系

統に分類された。このうち一方の垂系統は、Stx2 産生量および Vero 細胞傷害性が他の系統に比べて高いことが明らかとなり、マウスへの感染実験でも他の系統に比べて高病原性であることが判明した [石嶋 希、李 謙一、米田早織 (香川大)、桑原知己 (香川大)、大西 真、伊豫田 淳]。

(2) 分子疫学的解析

ア EHEC の MLVA 解析 (血清群 O157,O26,O111)

腸管出血性大腸菌の分子疫学解析 (血清群 O157,O26,O111)

2015 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 3,187 株であった。このうち血清群 O157、O26 および O111 として送付された 2,680 株について MLVA による型別を行った。また 1,077 株については PFGE による解析もあわせて実施した。MLVA については 947 の型が同定された。最も多かった型は 15m2036 で 158 株であり、次いで 13m0551 (103 株)、15m0201 (72 株) であった。15m2036 は、2015 年 6 月に発生した大規模集団事例関連株を含んでいた。MLVA および PFGE の分解能 (Simpson's Diversity Index) は、O157 667 株についてはそれぞれ 0.992 および 0.996 であった。同じく O26 333 株についてはともに 0.993 および 0.995 であった。[泉谷秀昌、石原朋子、伊豫田淳、李謙一、石嶋希、中島雪絵、齊藤康憲、高井信子、吉田愛、大西真]

イ EHEC の PFGE 解析

2015 年に国内で分離された EHEC O157、O26、O111 の 1,082 株とその他の O 群 505 株を *Xba*I 消化によるパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) で解析した。複数の都道府県で検出された PFGE 型が同定された O 群として、O5 (Type No [TN] TN5L1)、O103 (TN103i1、TN103L1、TN103L2)、O121 (TN121k6、TN121k9、TN121L1)、O146 (TN146k1) 等があり、様々な PFGE 型を持つ O 群による広域発生事例の存在が明らかになった [石原朋子、吉田 愛、齊藤康憲、中島雪絵、高井信子、伊豫田 淳、泉谷秀昌、大西 真]。

ウ 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析 (データベースサーバー)

jpulsenet サーバーを設置し、腸管出血性大腸菌の PFGE 解析結果に関するデータベースをアップデートした。血清群 O157 については同サーバー上に IS-printing system の解析結果に関するデータベースをアップデートした。いずれのデータベースも研究班において、その活用について検討してい

る。[泉谷秀昌、石原朋子、伊豫田淳、熊谷優子 (秋田県健康環境センター)、甲斐明美 (東京都健康安全研究センター)、鈴木匡弘 (愛知県衛生研究所)、勢戸和子 (大阪府立公衆衛生研究所)、中嶋洋 (岡山県環境保健センター)、世良暢之 (福岡県保健環境研究所)、李謙一、石嶋希、中島雪絵、齊藤康憲、高井信子、吉田愛、大西真]

エ EHEC O121 による散在的集団感染事例のゲノム解析

2014-2015 年にかけて、PFGE 型が極めて類似した O121 の散在性集団感染が疑われる事例が発生した。PFGE 解析の補助的手段として全ゲノム配列から得られた SNP 解析を行ったところ、PFGE 型の完全一致株を含む 23 株では同一クラスターを形成し、その他の株とは明確に区別が可能となった。さらに、同一クラスターに特異的な塩基配列を抽出することで、PCR による簡易スクリーニング系の構築が可能となった [李 謙一、石原朋子、伊豫田 淳、小澤さお美、小椋義俊 (九州大)、林 哲也 (九州大)、関塚剛史 (ゲノム解析セ)、黒田 誠 (ゲノム解析セ)、大西 真]。

(3) 血清診断による EHEC 感染症の確定診断

EHEC が不分離の HUS 発症例 (全体の 20-30%) では、患者血清中の大腸菌 O 抗原に対する抗体の検出 (血清診断) などで EHEC 感染症の確定診断とすることが出来る。血清診断依頼があった 11 例中 HUS 症例は 8 例あり、このうち大腸菌 O 抗原に対する抗体陽性となった事例は O157 が 4 例、O121 が 2 例、O145 が各 1 例で、いずれの事例も EHEC 感染による HUS 症例と確定した [伊豫田 淳、小澤さお美、高井信子、齊藤剛仁 (疫学セ)、大西 真]。

(4) マルチプレックス PCR による大腸菌 O 群型別法の実用化と新規 Og 型 EHEC の同定

大腸菌 O 群の PCR 検出法である *E. coli* O-genotyping PCR 法 (Iguchi et al., 2015) を実用化し、主要 O 群以外の O 群型別法として細菌第一部で運用を開始した。同法による型別結果を血清学的な型別結果と比較したところ、血清学的に OUT となる OgUT 型 (n=2) と O1, O39, O40, O141 にそれぞれ型別される OgUT 型 (n=4) の計 6 つの新規 Og 型をいずれも EHEC 株で同定した [井口 純 (宮崎大)、伊豫田 淳、小澤さお美、李 謙一、大西 真]。

2. その他の病原性大腸菌に関する研究

(1) 食中毒事例由来株の解析

2015年に地衛研等から受け付けた EHEC 以外の病原性大腸菌 (n=18) について、血清型別および PFGE 解析を実施したところ、同一および類似の PFGE 型を示す食中毒事例の存在が明らかとなった [石原朋子、吉田 愛、中島雪絵、高井信子、伊豫田 淳、大西 真]。

3. 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 2015 年に当研究所に送付された赤痢菌 138 株についてパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) および multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) による分子疫学解析を行った。菌株の内訳は *S. sonnei* 119 株、*S. flexneri* 19 株であった。*Shigella sonnei* では 2015 年に 78 の MLVA 型が検出された。[泉谷秀昌、李志英、高井信子、森佳津美、大西真]

イ 赤痢菌群に対するユニバーサルワクチンの開発

これまで開発された赤痢ワクチンの多くはワクチン株と同じ血清型の菌には有効であるが、血清型が異なる赤痢菌には無効で、多様な血清型で構成される赤痢菌群に対して効果を示すワクチンは実用化されていない。

担当者は赤痢菌群に共通する III 型分泌装置遺伝子の発現が増加する一方、ストレス応答の低下で生存性が低下する変異体を分離した。これが血清型を超えた免疫効果を示すユニバーサルワクチンとして利用できないか、モルモット眼球感染モデルを用いて調べた。

血清型 *S. flexneri* 2a 株で作製したワクチン候補株で免疫した動物は、血清型が異なる *S. sonnei* 株に対し防御効果を示した。これが腸管でも効果があることを示すため、モルモットの経口感染モデルを開発したインド国立コレラ・腸管感染症研究所 (NICED) の Dr. Hemanta Koley らと共同研究を行っている。[三戸部治郎]

4. 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

2015 年に国内で分離され、地方衛生研究所・保健所から送付されたチフス菌、パラチフス A 菌についてファージ型別試験を行った。送付された菌株数はチフス菌 32 株、パラチフス A 菌 30 株であった。チフス菌では、ファージ型 E1 が 7 株と最多となり、それに次いで D2、28 が 5 株検出された。パラチフス A 菌ではファージ型 1 が 23 株検出され大部分を占めた。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、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

2015 年に国内で分離されたチフス菌、パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性を検討した。ニューキノロン系薬剤 3 薬剤、第 3 世代セファロスポリン系薬剤 2 剤、その他従来の治療薬等合計 16 剤を用いた。感受性試験の結果、ニューキノロン系薬剤であるシプロフロキサシン非感受性菌の割合はチフス菌で 68.9%、パラチフス A 菌で 80.0%であった。両菌とも第 3 世代セファロスポリンに耐性を示す株は検出されなかった。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、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

2014年に当研究所に送付されたサルモネラ株は101株であった。血清型は26種類からなり、上位5位はEnteritidis、Montevideo、Chester、Thompson、Saintpaulであった。これらは、*Xba*I消化によるPFGE解析により48パターンに分かれた。血清型Enteritidis 20株についてファージ型別を実施し、RDNC (reacted but did not conform) が8株、UT (untypable) が5株、ファージ型1が4株となった。血清型Typhimurium 4株についてファージ型を実施しすべてRDNCとなった。

[泉谷秀昌、李志英、高井信子、森佳津美、大西真]

エ サルモネラのMLSTによる解析

S. I 4:b:-についてMLSTおよびPFGEによる遺伝子解析を行い類似血清型株34株 (Paratyphi B、Paratyphi B var Java、SchleissheimおよびII:4:b:-)と比較した。単相株は3つのSTC (19、32、155)に含まれ、既報のSTデータベースのデータも考慮するといずれもParatyphi B var Java (およびその単相菌)のSTCに含まれた。これらの結果から、今回試験した単相株はいずれも多様なParatyphi B var Javaに由来するものと推定された。本単相株の抗原構造は血清型Schleissheimなども類似しており、遺伝子解析の併用は、菌株の由来の推定に有用であると考えられた。[泉谷秀昌、李志英、高井信子、大西真、黒木俊郎 (神奈川県衛生研究所)、林賢一 (滋賀県衛生科学センター (元))、齊藤志保子、八柳潤、今野貴之 (秋田県健康環境センター)]

5. ビブリオ属細菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および遺伝子水平伝播に関する研究

ア コレラ菌の分子疫学解析

2015年に当研究所に送付されたコレラ菌は3株であり、いずれもO1であった。3株とも異なる遺伝子型を示した。[泉谷秀昌、李志英、高井信子、森佳津美、荒川英二、森田昌知、大西真]

イ *V. cholerae* のゲノム解析

国内及びアジア地域で分離された *V. cholerae* のゲノム DNA を精製し、次世代シーケンサーによりゲノム配列を継続的に取得している。これまでに *V. cholerae* 及び他のビブリオ科細菌も含め 970 株のドラフト配列を取得した。それらの中で *V. cholerae* 01 については、コアゲノムに存在する一塩基多型を抽出し、分子系統解析を行った。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、大西真]

ウ *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株

平成 27 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 89 株で、53 株が *Vibrio cholerae* non-01/non-0139 であり、うち 11 株は国内、42 株は海外からの依頼であった。国内株 11 株は、1 株が肝疾患患者の敗血症由来で、その他は下痢症から分離された株であった。散発事例であり、かつ同居者からの分離もなく、喫食調査などからも原因は明らかとならなかった。いずれの事例も異なる O 血清型であり、共通性は認められなかった。海外からの型別依頼株 42 株は中国と台湾の分離株であった。また、18 株が *Vibrio fluvialis* で、1 株が下痢症由来の国内株で、17 株は中国の分離株であった。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

エ コレラ菌におけるキチン応答性シグナル伝達の PTS による制御

二成分制御系はヒスチジンキナーゼ (HK) とレスポンスレギュレーター (RR) から成るリン酸基転移系の一つであり、細菌が外部環境を認識して遺伝子発現を制御する上で主要な役割を担う。コレラ菌の DNA コンピテンスに関わる遺伝子群の発現は、キチン応答性 HK である ChiS に支配されているが、そのシグナル伝達の様式は従来までのドグマから大きく逸脱している。ChiS は RR ではなく非二成分制御系の転写制御因子 TfoS を活性化するものの、その過程でリン酸基転移に関わるアミノ酸残基を必要としない。また、ChiS によるシグナル伝達は、細胞外からのキチン刺激だけでなく、グルコース等の糖の取り込みに関わるリン酸基転移系 PTS (phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase system) を介して細胞内からも調節される。PTS はリン酸基の転移と糖の取り込みが共役した機構であり、共通の蛋白質成分である EI と HPr および糖特異的な EII から構成されている。PTS の初期ステップに関わる EI の欠損下では、ChiS/TfoS 制御下にある遺

伝子の転写が活性化されないものの、後期ステップの成分 EIIA^{Glc} を追加的に欠損させるとその効果が抑圧された。また、各 PTS 成分の欠損は ChiS と TfoS の発現には影響を与えなかった。以上の結果は、非リン酸化型の EIIA^{Glc} が ChiS のシグナル伝達を阻害する作用をもつことを示唆している。現在、ChiS と EIIA^{Glc} 間の相互作用を詳細に解析しているところである。[山本章治]

(2) 検査法開発に関する研究

ア *V. cholerae* の LPS 合成遺伝子領域の解析および比較

V. cholerae の O 血清群は現在 210 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。すでに O141 およびそれと交差反応のある O53、O75、O162 について O 抗原合成遺伝子領域の全塩基配列を決定した。このうち O141、O75 については、真菌部との共同研究により、O 多糖の構造解析を行っている。また、次世代シーケンサーを利用して 210 種類全ての O 血清群の全塩基配列を解読し、そこから O 抗原合成遺伝子領域の抽出を試みた。109 種類の O 血清群が 1 つの contig として O 抗原合成遺伝子領域を抽出できた。この遺伝子領域中の ORF についてそのアノテーションから、機能について分類、マッピングを行い、遺伝子構造の比較を行った。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌、大西真；浦井誠、宮崎義継(真菌部)]

イ コレラ菌の検査における精度管理

厚労科研費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制構築に関する研究」(研究代表者：佐多徹太郎(富山県衛生研究所))の対象病原体としてコレラ菌について、検討を行った。コレラ菌検査マニュアルの全面改訂を行い、ワーキンググループによる菌株選定、予備試験を経て、全国 74 地研の参加のもと、感染研より精度管理菌株 3 株を発送し、検査の実施を依頼した。O1 抗原については、陰性とされる例も少数見られたが、菌株あるいは抗血清の問題として原因が特定できた。コレラ毒素に関しては、遺伝子検査、毒素産生試験ともに良好な成績であった。[荒川英二、緒方喜久代、森田昌知、泉谷秀昌、大西真；森本洋(北海道立衛研)、倉園貴至(埼玉県衛研)、勢戸和子(大阪公衛研)、磯部順子、佐多徹太郎(富山県衛研)]

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 2014 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

2014 年に全国の衛生研究所に収集された A 群レンサ球菌の菌株総数は、947 株であり、すべての株に対して T 型別が行われた。分離頻度の高かった T 型は、TB3264 (257/947, 27.1%)、T12 (179/947, 18.9%)、T4 (136/947, 14.4%)、T1 (113/947, 11.9%)であった。TB3264 型の分離比率は、2010 年に急激に上昇し、2014 年さらに増加した (2009 年, 5.3%、2010 年, 12.6%、2011 年, 11.1%、2012 年, 14.5%、2013 年, 19.9%、2014 年, 27.1%)。T12 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。2010 年に分離頻度が減少した T4 型は、それ以降増加傾向にある (2010 年, 5.6%、2011 年, 9.8%、2012 年, 10.9%、2013 年, 11.7%、2014 年, 14.4%)。2011 年最も分離比率の高かった T1 型は、2014 年さらに減少した (2011 年, 31.1%、2012 年, 26.8%、2013 年, 12.1%、2014 年, 11.9%)。[池辺忠義、大西真、二本松久子 (福島衛研)、大屋日登美 (神奈川県衛研)、奥野ルミ (東京健安研セ)、三井千恵子 (富山衛研)、河原隆二 (大阪公衛研)、亀山光博 (山口県衛研)、佐々木麻里 (大分衛環研)、The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan]

イ 日本において 2014 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

2014 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 74 症例あった。70 例が *S. pyogenes*、4 例が *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* による症例であった。

最も分離された型は、T1 型であり、2013 年と比較して分離比率が増加した (2013 年, 26.2%、2014 年, 39.2%)。また、咽頭炎由来株の分離比率 (11.9%) に比べ、高い分離比率を示している。次いで、TB3264 型が多く、その分離比率は昨年と比較して減少した (2013 年, 31.1%、2014 年, 16.2%)。この 2 つの型で全体の 50% 以上を占めている。STSS の確定診断例 74 例中、*emm1* 型が 29 例 (39.2%) と最も多く、次いで *emm89* 型が 12 例 (16.2%)、*emm3* 型が 4 例 (5.4%) と多かった。2013 年と比較し、*emm1* 型は、26.2% (16/61) から 39.2% (29/74) に増加し、*emm89* 型は 31.1% (19/61) から 16.2% (12/74) に減少した。

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

ウ 日本における劇症型/重症溶血性 A 群レンサ球菌感染症の薬剤感受性試験

2014 年に劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症を引き起こした A 群レンサ球菌 74 株について薬剤感受性試験を行った。全ての株において、ペニシリン G、アンピシリン、セファゾリン、セフトキシム、メロペネム、リネゾリドに対して感受性を示した。クリンダマイシンに対して 16.2% (12/74) の株が耐性を示し、薬剤耐性遺伝子としてすべての株が *ermB* 遺伝子を保有していた。昨年 (2013 年, 6.6% (4/61)) より分離率が増加した。[池辺忠義、大西真、二本松久子 (福島衛研)、大屋日登美 (神奈川県衛研)、奥野ルミ (東京健安研セ)、三井千恵子 (富山衛研)、河原隆二 (大阪公衛研)、亀山光博 (山口県衛研)、佐々木麻里 (大分衛環研)、The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan]

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

2014 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 38 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 16 例 (42.1%) と最も多く、次いで、*stG485* が 4 例 (10.5%) と多かった。

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

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

2014 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 17 例あった。菌種はすべて、*S. agalactiae* であった。血清型は、Ib 型が最も多く 8 例 (47.1%) であり、次いで III 型が 4 例 (23.5%)、V 型が 3 例 (17.6%) であった。

C 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告が 4 例あった。菌種はすべて *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であり、*emm* 遺伝子型は、それぞれ *stC15.0*、*stG643*、*stC6979*、*stGM220* であった。これらのほか 1 例の 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あった。菌種は、*S. constellatus* subsp. *constellatus* であった。

[池辺忠義、大西真、二本松久子 (福島衛研)、大屋日登美 (神奈川県衛研)、奥野ルミ (東京健安研セ)、三井千恵

子（富山衛研）、河原隆二（大阪公衛研）、亀山光博（山口環保セ）、佐々木麻里（大分衛環研）、The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan]

カ 小児侵襲性感染症由来肺炎球菌の疫学調査。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 Hib、肺炎球菌、HPV 及びロタウイルスワクチンの各ワクチンの有効性、安全性並びにその投与方法に関する基礎的・臨床的研究）の研究協力者として、日本国内の小児の侵襲性感染症より分離された肺炎球菌および GBS の血清型別、薬剤感受性試験、シークエンシングを行った。（常 彬、庵原俊昭[国立病院機構三重病院]

キ 小児健常児の後鼻腔における肺炎球菌の保菌調査。健常乳幼児の後鼻腔より分離された肺炎球菌の分離、同定および血清型別を行い、2013 年 11 月から導入された小児 13 価結合型肺炎球菌ワクチン（PCV13）の接種普及による肺炎球菌の保菌状況の変化を観測し、PCV13 接種が保菌に及ぼす影響を調べた。（常 彬、住田裕子[住田こどもクリニック]

(2) 次世代肺炎球菌ワクチンのための病原機構に関する研究

日本では高齢者用のポリサッカライドワクチンと小児用の結合型ワクチンが導入されているが、血清型交代現象による肺炎球菌ワクチンのワクチンカバー率の低下が大きな問題となっており、夾膜の血清型に依存しない次世代ワクチンの開発が急務である。本研究では次世代ワクチンの開発のために必要な分子基盤を構築することを目指し、肺炎球菌の病原因子の機能と肺炎球菌感染の発症機序の解明を目的とした。

ア 肺炎球菌病原因子の機能解析

肺炎球菌の 42 種類の病原因子に関して欠失変異株を作製しそれらを MEF 細胞に感染させ、細胞内生残性を野生株と比較することにより解析した。その結果、細胞内生残性が野生株と比較して顕著に低下する株を 15 株同定することができた。現在、細胞内生残性が低下した変異株 15 株について、当該病原因子の機能解析を行っているところである。[小川道永]

イ 宿主細胞内に侵入した肺炎球菌と Rab タンパク質との共局在性解析

58 種類の GFP-Rab タンパク質発現ベクターを用いて、

各 Rab タンパク質を発現させた培養細胞に、肺炎球菌を感染させ、菌を内包するエンドソームと各種 GFP-Rab タンパク質との経時的な局在性について現在解析を行った結果、10 種類の Rab タンパク質が肺炎球菌を内包するエンドソームと共局在していることを見出した。それぞれの Rab タンパク質が肺炎球菌感染により菌を内包するエンドソームにリクルートされる意義について今後解析を行う予定である。[小川道永]

2. レジオネラ属細菌に関する研究

(1) 遺伝子型別に関する研究

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

レジオネラ・レファレンスセンターで平成 27 年度に収集した *Legionella pneumophila* 51 株（血清群（SG）1 が 48 株、SG2、9、13 が各 1 株）について、SBT 法による遺伝子型別を実施した。2015 年は、入浴施設での集団感染事例が 2 例あり、1 例は SG1 と SG13 の混合感染事例で、もう 1 例からも 2 種類の遺伝子型の菌株が分離され、入浴施設からも、それぞれ臨床分離株と同じ遺伝子型および PFGE パターンの菌株が分離された。推定感染源については、3 分の 1 は感染源が不明で、入浴施設が感染源と推定されているのは 3 分の 1 で、残りの 3 分の 1 については土壌あるいは塵埃等が感染源であると推定されている。また、菌株が分離されなかった臨床検体（喀痰）から DNA 分離を行い、浴槽水から分離された菌株と遺伝子型が一致した。

平成 27 年度末現在で、合計 426 株の *L. pneumophila* 臨床分離株が収集され、ST1 から ST2134 まで 187 種類の遺伝子型に分けられた。遺伝子型別の結果は分与元に還元している。遺伝子型と菌が生息する環境に関連性が見られており、遺伝子型別は感染源を推測する手がかりになると考えられる。[前川純子；千田恭子（仙台市衛研）；大屋日登美（神奈川衛研）；磯部順子（富山衛研）；田中 忍（神戸市環境保健研）；中嶋 洋（岡山県環境保健センター）；吉野修司（宮崎県衛生環境研）；倉 文明、大西 真；Working Group for *Legionella* in Japan]

イ *Legionella pneumophila* 血清群 1 の PCR によるサブグループピング

Legionella pneumophila はそのリポ多糖体（LPS）の免疫性の違いにより、血清群 1 から 15 に分けられるが、*L. pneumophila* 血清群 1 がレジオネラ症起因菌のおよそ 8 割を占めている。血清群 1 は他の血清群に比べ、血清群内での免疫多様性が高いことが知られている。*L.*

pneumophila 血清群 1 の LPS 構造は 28 (あるいは 29) の ORF から成る LPS 合成遺伝子群により規定されている。環境分離株のおよそ 2 割に見られる ORF2 と ORF3 の間に位置する *lag-1* 遺伝子は、臨床分離株では、その 9 割に存在することから、病原性に関与していると考えられる。また、ORF7 と ORF8 の遺伝子配列は株によりそれぞれ大きく 2 種類に分けられ、その違いが、LPS のエピトープの差異をもたらしているとされるが、その機能は不明である。*lag-1* 遺伝子の有無と、それぞれ特異的な ORF7、ORF8 を検出する 3 種類の PCR を行うことにより、血清群 1 株のサブグループングが可能となった。さらに *lag-1* 遺伝子の多形を検出する PCR を行うことにより、*L. pneumophila* 血清群 1 株は 12 種類の型に分けられた。PCR による血清群 1 株のサブグループングは簡便で、疫学的解析に有用であると考えられる。[前川純子、倉文明；坂田美穂、村井美代(埼玉県立大・健康開発)；大西 真]。

(2) 検査法の開発に関する研究

ア *Legionella pneumophila* SG2 によるレジオネラ症の診断における脳梁膨大部病変の有用性

L. pneumophila SG1 以外の起因菌によるレジオネラ症の診断は、尿中抗原陰性のため容易ではない。今回、可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症を伴う 49 歳男性の肺炎事例において、入院 1 週間後から 4 週間後にかけて、*L. pneumophila* SG2 に対する血清抗体価が 1:64 まで 8 倍以上に上昇した(マイクロプレート凝集テスト)。肺炎を伴う脳梁膨大部病変の場合の診断には、レジオネラ感染が考慮されるべきである。

(富沢雄二、河尻澄宏、野田和幸、大熊 泰之[順天堂大学静岡病院]；星野泰延、佐々木悠子、栗田尚英、服部信孝 [順天堂大学医学部]；前川純子、倉 文明)

イ レジオネラ DNA 陽性検体からの直接遺伝子型別

レジオネラ症の届出の 9 割以上が尿中抗原陽性の実験室診断によるものだが、起因菌が *L. pneumophila* 血清群 1 の場合しか陽性にならない。近年保険収載となった LAMP 法は広くレジオネラ属菌の遺伝子検出が可能である。LAMP 法で陽性となった検体 DNA を用いて、nested sequence-based typing (SBT) 法を行うことで、起因菌が *L. pneumophila* である場合、遺伝子型別が可能となった。2015 年度は、菌が分離不能でレジオネラ DNA 陽性の喀痰から抽出された DNA 3 検体について、遺伝子型別を行うことができた。[前川純子、倉 文明、大西 真]

ウ レジオネラ症の診断のための検査等

レジオネラ症の診断のための依頼検査を実施した。臨床検体からのレジオネラ DNA の検出が 5 件(内陽性 1 件)、MAT による血清抗体価の測定が 2 件(いずれも陰性)であった。尿中抗原陰性でレジオネラ症を疑う症例の場合には、これらの検査が重要となる。市販の免疫血清に反応しない臨床分離株の菌種の依頼同定が 1 件あり、*Legionella bozemanii* 血清群 2 であった。[前川純子、倉文明、大西 真]

(3) 浴槽水のレジオネラ消毒法の開発に関する研究

ア マンガンイオンを含む浴槽水へのモノクロラミン消毒の適用と、高濃度モノクロラミン消毒の条件検討

より広範囲な泉質への、モノクロラミン消毒の適用を目指している。マンガンイオン(1.1 mg/L)を含む地下水を利用した循環式入浴施設において、モノクロラミン消毒の実証試験を行った。過去にレジオネラの集団感染を起こした気泡発生装置使用の浴槽水において、モノクロラミン濃度 (3 mg/L) を維持する 6 週間の試験中に、レジオネラやアメーバは検出されなかった。塩素消毒臭の原因であるトリクロラミンや、消毒副生成物のトリハロメタン類の生成はなく、N-ニトロソジメチルアミン (NDMA) の生成量は遊離塩素管理時と変わらなかった。マンガンイオンを含む浴槽水の消毒にもモノクロラミンは適用可能であった。高濃度塩素消毒に従来から用いられてきた遊離塩素消毒と、モノクロラミン消毒とは適合せず、不連続点処理あるいは完全換水が必要となる。この相性問題を回避するべく、高濃度塩素消毒の代替として、高濃度モノクロラミン消毒を検討した。実験室内の回流装置試験、循環式モデル浴槽、現場施設での実証試験より、モノクロラミン濃度 (10 mg/L 以上) と処理時間 (1 時間以上) の条件を求めた。浴槽水へのモノクロラミン消毒の普及が期待される。

[長岡宏美(静岡県環境衛生科学研究所)、縣 邦雄(アキアス株式会社つくば総合研究所)、八木田健司、泉山信司(寄生動物部)、杉山寛治(株式会社マルマ 研究開発部)、小坂浩司(国立保健医療科学院生活環境研究部)、前林公男、加藤千裕(静岡市保健所)、和田裕久、鈴木史恵(静岡市環境保健研究所)、寺田善直、壁谷美加(浜松市保健所)、土屋祐司(浜松市保健環境研究所)、市村祐二、青木信和(ケイ・アイ化成株式会社)、倉文明]

3. 髄膜炎菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および疫学解析

ア 本年度に発生した髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫

学的解析

本年度は 27 株の国内分離株が収集され、その血清学的及び分子疫学的解析を行なった。それらの髄膜炎菌株の血清型は Y 群 19 株、B 群 2 株、C 群 1 株、W 群 1 株及び non-typable が 4 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 株が 5 株、ST-1655 株が 13 株で、ST-23 と ST-1655 は 1 塩基違いであり、血清群 Y の 16 株のうち 14 株が ST-23 complex として同定された。残りの Y 群 1 株は新規遺伝子型の ST-11316 であった。血清群 B の株は ST-687 及び ST-2057、血清群 C の株は ST-211、血清群 W の株は ST-11、non-typable の血清群は ST-1448 (新規)、ST-2057 が 1 株ずつ、ST-11026 が 2 株であった。

今年度の分離株の中ではまず ST-23 complex に属する ST-23 及び 1655 が 18 株 (全株中の 66.6%) を占めることが注目される。日本の侵襲性髄膜炎感染症の起炎菌の大部分は血清群 Y、ST-23&1655 で占められていることになり、この結果から日本の髄膜炎菌の分布としてはやはりこの株が潜在している可能性が推測される。

また一方で、今回 non-typable の髄膜炎菌株が 4 株分離された。ST-11026 の 1 例は眼脂からの分離であるが、他の 3 例の ST-2057、ST-11026、ST-11448 はいずれも菌血症患者の血液からの分離株であった。一般に、血清群の抗原決定基は莢膜多糖体であり、莢膜多糖体は補体抵抗性を示すため、一般的には

患者分離株は莢膜多糖体があり、血清群が決まる一方で、健康保菌者からの分離株は莢膜多糖体非産生株であるケースも多く、それ故に血清群が決まらない (抗原決定基がないため) と考えられている。健康保菌者でもいわゆる「不顕性感染」のような状態で「莢膜多糖体あり」の髄膜炎菌が分離される例もあるが、莢膜多糖体を持たない株は侵襲性の患者から分離されたケースは数例を除いて殆どなく、疫学的には「侵襲性髄膜炎菌感染症」を起こさない株として考えられている。その観点から、今年度経験した 3 例の症例は莢膜多糖体非産生髄膜炎菌株でも侵襲性髄膜炎感染症の起炎菌になりうることを示しており、今後は Non-typable の髄膜炎菌株についても注視していく必要性を示唆する結果であると考えられた。

さらには血清群 Y の ST-11316、及び Non-typable の ST-11448 の 2 株は新規の遺伝子型で、本解析により新たに検出された遺伝子型であり、日本でも新規の遺伝型の株が分離されるという事実は日本国内でもまだ髄膜炎菌株の分布の全容は把握しきれていないことを意味すると思われた。今後も国内分離株の積極的な回収とその解析を継続して行く予定である。[高橋英之、福住宗久、

蜂巢友嗣、金井瑞恵 (FETP)、神谷元、砂川富正、(感染症疫学センター)、大西真]

イ 都内訓練学校における髄膜炎菌の健康保菌者の調査
都内の某訓練学校にて上気道炎の症状を示す学生が多く認められ、それらの学生から髄膜炎菌が分離されたことから、訓練学校における保菌調査を行なった。職員、学生を含む 939 名の咽頭スワブを髄膜炎菌の選択培地である Thyer Martin 培地に塗布後に、炭酸ガス培養にて一晚 37 度で培養後、髄膜炎菌の有無を調べた。その結果、296 名から髄膜炎菌が検出され、その陽性率は 31.5% になると計算された。過去の小規模の健康保菌調査では一般的な集団では 0.4~0.8% 程度の保菌率であると考えられていたため、このような高い保菌率を示す集団が日本に存在するという事は驚きであった。今後は某訓練学校が髄膜炎菌 4 価ワクチン (メナクトラ) の導入を行うという情報もあり、さらなる調査を行う必要が考えられた。[高橋英之、大西真 (細菌第一部)、福住宗久、蜂巢友嗣(FETP)、神谷元、砂川富正、斎藤剛仁 (感染症疫学センター)]

(2) 検査法に関する研究

ア LAMP 法を適用した髄膜炎菌の検出法及び血清群決定法の開発

髄膜炎菌の簡便な検出法としては今まで積極的には開発されてこなかった状況を踏まえ、新たに LAMP 法を適用した髄膜炎菌の迅速検出法を開発した。莢膜多糖体合成遺伝子の一つである *ctrA* を検出のターゲットとしてプライマーを設定し、系の開発を試みた。その結果、反応液あたり 10 コピー前後の染色体が存在する条件下でも検出可能とする系が確立できた。従来 PCR 法による検出では 10^4 コピー前後は必要であるとされており、検出感度を従来法より 1000 倍高めることが出来た。

さらには血清群特異的な遺伝子をターゲットにした LAMP 法も開発し、LAMP 法を用いて髄膜炎菌の血清群の同定ができる系も開発することが出来た。

[高橋英之、大西真 (細菌第一部)、関みつ子 (日本大学)]

(3) 病原機構に関する研究

ア 髄膜炎菌グルタミン酸トランスポーター *gltT-gltM* の細胞侵入時における機能解析

一昨年及び昨年までの解析から、1) グルタミン酸の一過的な取り込みは転写制御、翻訳制御には影響しない、2) 血清を含む培地 (Assay medium [AM]) では *gltT-gltM* 欠損株は野生株に比べて 1/100 の細胞侵入能の低下が認められたが、血清を含まない培地 (AM-serum [AM(-S)])

中ではその低下が 1/10 までに抑圧された、3) その *gltT-gltM* 欠損株の細胞侵入能低下の抑圧が AM(-S)への 500 μ M グルタミン酸添加で解除された、4) AM 中のグルタミン酸濃度は AM[-S]と比較して低濃度であった。5) 低 MOI で感染させた際には AM[-S]への 500 μ M グルタミン酸添加によっても *gltT-gltM* 欠損株の細胞侵入能低下の抑圧は解除されなかった、6) Ezrin の集積も AM 中の *gltT-gltM* 欠損株では認められず、AM(-S)中で認められるが、AM(-S)へのグルタミン酸添加によりその集積が解除される現象が認められた、7) GltT-GltM トランスポーターを介して取り込まれるグルタミン酸量は細菌のみの条件下では野生株と *gltT-gltM* 欠損株で相違がなかったが、培養細胞感染時には *gltT-gltM* 欠損株で顕著な低下が認められた、ことを明らかにし、髄膜炎菌の GltT-GltM トランスポーターは宿主細胞へ接着・侵入する際にマイクロコロニー内のグルタミン酸濃度を一過的に低下させて髄膜炎菌の細胞侵入を促進していることを明らかにしていた。

今年度はさらに詳細な解析を進め、1) グルタチオン量もそのグルタミン酸の取り込み低下に伴って感染時に *gltT-gltM* 欠損株で顕著な低下が認められ、2) グルタチオン合成酵素欠損株では野生株に比べ、細胞内での生存が低下していた。また、3) *gltT-gltM* 欠損株では野生株に比べ、細胞内生存率の低下が確認された。

以上の結果から、髄膜炎菌の GltT-GltM トランスポーターはグルタミン酸濃度を一過的に低下させて髄膜炎菌の細胞侵入を促進すると共に、さらにはグルタチオン量を増加させて細胞内生存率を上昇させると共に、髄膜炎菌にとって必須アミノ酸であるグルタミン酸を栄養源として取り込み、細胞内増殖に生かしていることが明らかとなった。このグルタミン酸トランスポーターのような普遍的な生物因子が髄膜炎菌の病原性に多面的に関与している、いわゆる“moonlight molecule”として機能していることを見出した。[高橋英之、大西真、柳沢達男、横山茂之（理研）、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)]

Ⅰ 髄膜炎菌翻訳促進因子 EF-P の機能解析

プロリンが連続する、いわゆるプロリンリッチ配列ではリボソームが遅滞し翻訳が止まりやすい場合があり、大腸菌のタンパク質では少なくとも 1400 カ所以上の Pro-Pro 配列を含むことが知られている。その停滞を解除するのが翻訳因子 EF-P であり、EF-P や EF-P の翻訳後修飾に関わるタンパク質は細菌にのみ存在しヒトなどの真核生物には存在しない。これまで大腸菌やサルモネ

ラといった腸内細菌では EF-P の機能解析はされてきたが、それ以外の細菌類に関しては未解析であったため、髄膜炎菌由来の EF-P に着目し解析を進めた。髄膜炎菌をプレート 1000 枚分培養し、その抽出液を調製し、内在性の髄膜炎菌 EF-P を精製してリコンビナント EF-P と MALDI-TOF MS による比較解析を行なった。その結果、髄膜炎菌 EF-P は大腸菌 EF-P とは異なり、翻訳後修飾であるラムノースが付加されていることが明らかとなった。さらに、そのラムノース修飾因子の遺伝子、*earP* も同定し、その欠損株を作成して検証した結果、EF-P が活性を示すためにはラムノース修飾が重要であることが明らかとなった。さらには髄膜炎菌 EF-P の遺伝子 *efp* の破壊株の作成を試みたが破壊株は作成されず、プラスミド上に *efp* 遺伝子を保持したプラスミドを導入した髄膜炎菌のみが誘導下でのみ染色体上の *efp* 遺伝子の破壊が可能であることを証明し、EF-P が髄膜炎菌の生育に不可欠であることを見出した。髄膜炎菌の他、淋菌、百日咳菌、セパシア菌など病原性細菌由来の EF-P およびその糖鎖修飾を阻害するような特定の細菌種に特化した薬剤は生体を維持して行くのに必要な常在細菌を殺さずに特定の病原細菌のみの生育を抑えることが可能で、副作用の無い有効な抗菌剤になる可能性があり、EF-P と関連するタンパク質をターゲットとした阻害剤を設計することで創薬開発にも繋がることを期待される。[高橋英之、柳沢達男、横山茂之（理研）]

III. ボレリアならびにレプトスピラ感染症に関する研究

1. ボレリア感染症に関する研究

(1) 検査法に関する研究

ア 新興回歸熱 (*Borrelia miyamotoi* disease: BMD) 患者血清を用い新規検査抗原を用いた検査法開発を開始した。本年度は、1) BOM1441 を抗原とした場合、ライム病感染による交叉反応が出現する可能性が見出されたため、この部分を欠失させた組換え体を作成し、交叉反応が消失することを確認し、また 2) G1pQ 抗原の N 末端部分がエピトープとして重要であることを見出した。今後、診断抗原の合成化のための基礎データを積み重ねる予定である。[佐藤梢、熊谷由美、大西真、川端寛樹（細菌第一部）]

(2) ボレリア感染症の疫学研究

ア 組換え抗原 (G1pQ 抗原) を用いた血清疫学的後向きケースコントロールスタディを実施し、BMD 国内感染実態の把握を試み、以下の知見を得た。1) ライム病もしくはライム病が疑われた患者 (以下ライム群) ならびに健

常者群での BMD 感染率は米国の先行研究とほぼ同等で各々 2.6%、0.2%であった。2) ライム群と健常者群では有意差 (Odds 比=14.5, 95%CI 1.88-112.13) があり、ライム群は BMD ハイリスク群であると考えられた。3) 抗 BMD 抗体陽性例の発生動向解析により、患者発生はダニの活動期と一致した。4) 北海道以外においても BMD 抗体陽性者を確認した。陽性例は中部地方から九州まで幅広く見出された。これまでの推定媒介マダニの生息域とは一致しない地域もあることから未知の媒介ベクターの存在が考えられた。5) 輸入例を経験した。国外感染例について、試験感度の特異性については今後の検討課題である。6) 行政検査等依頼検査検体を用いざるを得なかったため、臨床症状、生化学検査データに乏しい。今後の症例の積み重ねが必要である。

イ Drug compliance が高いアジスロマイシンに対する BMD 病原体の MIC/MBC を決定した。ライム病ボレリアと同様の感受性が認められることを確認した。試験菌数は 5 株ではあるが、いずれも薬剤耐性は見られなかった。[佐藤梢, 熊谷由美, 大西真, 川端寛樹 (細菌第一部)]

2. レプトスピラ症に関する研究

(1) レプトスピラ症疫学研究

ア 東アジアの小型哺乳動物から分離されたレプトスピラの反復配列多型解析法による分子型別
レプトスピラ分子型と維持宿主動物との関連性を明らかにするため、日本、フィリピン、台湾、ベトナムの小型野生哺乳動物から分離された *L. interrogans* 110 株および *L. borgpetersenii* 52 株の分子型別を反復配列多型解析法 (MLVA 法) により行った。*L. interrogans* 血清群 Autumnalis および Hebdomadis は、血清群 Bataviae, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona あるいは Pyrogenes よりも遺伝的多様性が高かった。前者の血清群は Hebdomadis の 1 株を除いてすべてアカネズミから分離されており、後者は Grippytyphosa を除いてドブネズミから分離された。*L. interrogans* は 5 種類の動物から分離されたのに対して、*L. borgpetersenii* は 11 種類と宿主域が広く、また 1 つのレプトスピラ分子型が同じ属だけでなく異なる属の動物から分離された。本研究により、レプトスピラ血清群間で遺伝的多様性に差異があり、これは維持動物および環境因子に起因すること示唆された。一方で、1 つのレプトスピラ分子型が複数の属の動物に定着できることも明らかとなった。[小泉信夫, 泉谷秀昌, 大西真 (細菌第一部)]

(2) 病原機構解明に関する研究

ア トランスポゾンランダム変異法によるレプトスピラの溶血活性関連因子の探索
ゲノムワイドな病原因子の探索のために、既報のトランスポゾンランダム変異法の改変を行い、ゲノムワイドなレプトスピラの溶血活性関連因子の探索を行った。大腸菌との接合方法および培地組成を改変することで、既報では $1/8.5 \times 10^{-8}$ であった形質転換効率が $1/1.6 \times 10^{-6}$ に改善することができた。またウシ赤血球を用いた溶液中での溶血アッセイ法を構築し、変法により作製したランダム変異体 5000 株のスクリーニングを行った。親株と比較して溶血活性が 50%以下となった変異体を 5 株得て、トランスポゾンの挿入部位を決定した。[小泉信夫, 大西真 (細菌第一部) 富澤莉那 (東京農工大学)]

(3) 運動制御機構に関する研究

ア トランスポゾンランダム変異法によるレプトスピラ運動性欠損変異株の探索
レプトスピラに特徴的な運動様式に関わる遺伝子群を同定するために、上記トランスポゾン変異法により 0.4%寒天培地中で運動性を欠失した変異体のスクリーニングを行った。運動性を欠失した変異体の 1 つ LBMD4-3 は、菌体末端のフックが消失し、螺旋の間隔が親株と異なっていた。また鞭毛の形態および鞭毛コアと鞘の結合に異常があることが示唆された。[小泉信夫, 大西真 (細菌第一部) 中村修一 (東北大学大学院)]

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 アジスロマイシン耐性淋菌の解析

2010 年 4 月から 2015 年 3 月までの 5 年間で京都府および大阪府の 5 つのクリニックで分離された淋菌 777 株のうちアジスロマイシン (AZM) に対して耐性を示した 42 株について、分子タイピングの解析を行った。AZM 耐性菌の MIC 値は 1-8 mg/L を示した。2010-2015 年における耐性株の分離率はそれぞれ 4.8%、3.1%、3.2%、2.8%、12.3%、13.2%であった。また、AZM 耐性に加えて CFM 低感受性を示す株の分離率は、この 5 年でそれぞれ、0%、2.3%、0.9%、1.4%、10.1%、7.5%と増加傾向にあった。MLST 解析では、AZM 耐性株の中では MLST1579 と MLST1901 優占 (占有率 85.7%) であり、NG-MAST 解析では、ST1407、ST6798、ST11863 の 3 つの ST が優占 (74.1%) であることを示した。[志牟田 健、中山周一、大西 真]

イ 神奈川県で分離同定された淋菌株の解析

神奈川県における 1998-2005 年での淋菌分離株 (n=372)における分子タイピングの解析を行った。第三世代セファロスポリン剤に対して非感受性を示す株では、MLST型 7363 を示しかつ *penAX* 遺伝子を保持する株が優勢株であった。また、近年世界的に問題となっている第三世代セファロスポリン剤に対して非感受性を示す株の優先株の一つである、MLST1901/NG-MAST1407、かつ *penAXXXIV* に派生した *penA* 遺伝子を保持する株が 2003 年にすでに本邦に存在したことを明らかにした。このタイプの株は世界でも、2003 年以前に分離報告された例はない。よって以上のことより、現在、世界で拡散している第三世代セファロスポリン剤耐性淋菌は、神奈川県で 2000 年代初頭に見られた MLST7363、MLST1901 に属した株が起因となっている可能性を示した。(志牟田 健、渡辺祐子(神奈川県衛研)、黒木俊郎(神奈川県衛研)、大西 真)

ウ 京都・大阪における薬剤耐性淋菌サーベイランス

2015 年 4 月から 2016 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 173 株について penicillin G、cefixime、ceftriaxone、ciprofloxacin、azithromycin、spectinomycin に対する MIC 測定を実施した。その結果、それぞれ上記の薬剤に対して 3.5%、49.1%、96.5%、16.8%、64.7%、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 剤での感受性率改善がみられ、特に cefixime でのそれが顕著であった。近年危惧されている ceftriaxone 耐性株について、2015 年 1 月分離株で ceftriaxone MIC=0.5 のものが 1 株検出されたことを昨年度報告した。この株を解析を行い、分子型別により系統的に国内ではこれまで報告であるが海外のペニシリナーゼ産生淋菌には一定の比率で見られる型であることが分かった。また、この株の ceftriaxonet 耐性責任遺伝子、*penA* が新規なモザイク型構造を持っていることを見だし、報告した。[中山周一、志牟田健、飛田収一(飛田病院)、伊東三喜雄(伊東泌尿器科)、石川和弘(京都市衛生環境研究所)、古林敬一(そねざき古林診療所)、亀岡博(亀岡クリニック)、川畑拓也(大阪府立公衆衛生研究所)、安本亮二(安本クリニック)、大西真]

2. 梅毒トレポネーマに関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア 梅毒トレポネーマの分子タイピング

昨年度に引き続き、2つの STI クリニックと共同で、皮膚病変が有り、梅毒を疑う場合の病変漿液からの梅毒トレポネーマ DNA 検出、分子タイピングとを実施した。2012 年 5 月のプロジェクト開始以来の総計で、93 の PCR 陽性例中タイピングに成功したものは 60 例で、このうち 40 例は海外でも最頻とされる 14d/f であった。他は 14d/c と 11o/c が 4 例ずつ、14e/f が 3 例、14d/g と 10b/a が 2 例ずつ、10d/f、11d/f、11o/f、14d/d、19d/f が 1 例ずつ、であった。昨年度も報告したように 14d/g 型は 2 例とも macrolide 耐性型 23S rRNA A2058G 変異を有し、他の型では変異を持つものは検出されていない。

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

イ 梅毒の分子タイピング基盤の評価検討

梅毒トレポネーマの分子タイピングは本菌が培養不能であることがネックとなり大きく立ち後れているが、現在は、多型の有る遺伝子 *arp*、*tpr*、*tp0548* の PCR 産物をタイピングし、それを列挙してタイプ名とする方法が採られている。*arp* は産物長、*tp0548* は直接塩基配列から型別され、その基盤は明確であるが、*tpr* については *tprE,G,J* の 3 遺伝子混合 PCR 産物の RFLP パターンで型別するため基盤がやや不明確で各タイプ間の遺伝的距離等が評価しにくい。そこで、我々がこれまで検出した *tpr* 型 d と o の検体、及び *tpr* 型 a のニコルス株を用いて、各 *tprE,G,J* を別々に座位特異的 PCR や、混合 PCR 産物からの選択クローニング、塩基配列決定、等を行った検討を昨年に引き続き行っている。予備的な結果として、*tpr* 型 a と d とは *tprE* と *tprJ* とが全く同一、*tprG* での 1 塩基置換のみの差でも型が分かれ得ることが判明し、これら 2 種は比較的遺伝的距離が近い、少なくともそのような場合があることを見いだした。また通常のタイピングで用いる *tprE,G,J* 混合 PCR 産物からのクローニングによるそれぞれの遺伝子断片の選択を試みたが、クローニングによる点変異生成が多く、手法として適当ではないことがわかった。今後は座位特異的 PCR での解析を進め、より分離能が高く遺伝距離をできるだけ反映した改良タイピング法開発を目指したい。[中山周一、大西真]

V 口腔内細菌に関する研究

1. う蝕原因菌に関する研究

(1) バイオフィーム形成機構に関する研究

ア *Streptococcus mutans* のクオラムセンシングを抑制するフルクタンナーゼの活性

Streptococcus mutans は、歯面上で口腔バイオフィルムを形成する主な細菌であり、腐原因菌として考えられている。一方、*Streptococcus salivarius* は口腔粘膜に多く存在する菌である。両者は口腔内で歯と粘膜に住み分かれて存在している。我々の研究により *S. salivarius* の産生するフルクタンナーゼ (FruA) は、*S. mutans* のバイオフィルム形成を阻害することが明らかになった。この FruA の *S. mutans* におけるクオラムセンシングへの影響について新たに検討した。その結果、FruA はクオラムセンシングにおけるオートインデューサー：Competence Stimulating Peptide (CSP) の活性であるバクテリオシン活性や遺伝子の取り込みを抑制した。よって、FruA はバイオフィルム形成に加えクオラムセンシングも抑制することが明らかとなった。[泉福英信、鈴木雄佑、大西 真]

イ Raffinose を基質とした *Streptococcus mutans* バイオフィルム形成の検討

昨年に引き続き、ヒトが代用甘味料として摂取するオリゴ糖に着目し、*S. mutans* のバイオフィルム形成へのオリゴ糖 (Raffinose) の影響を検討した。0.25% raffinose が含まれる Tryptic Soy Broth (TSB) 培地において、*S. mutans* のバイオフィルムが観察された。*S. mutans* のバイオフィルムは、主に細菌と細胞外ポリサッカライド (EPS)、細胞外 DNA (eDNA)、蛋白質からなる細胞外マトリックスにより構成されていた。このバイオフィルム形成には、TSB に含まれる微量の sucrose が関与していることも明らかとなった。よって、raffinose のようなオリゴ糖は、微量の sucrose と共に、バイオフィルム形成の基質になる可能性が示唆された。

[泉福英信、永沢亮、大西 真]

ウ Polypyrrole の *Streptococcus* のバイオフィルム形成への効果

Polypyrrole は、連続したカチオン (陽電荷) と電荷のバランスを有する高分子化合物で電導性と安定性を持ち基板上で簡単な膜を作る物質である。この物質の *S. mutans* や歯表面の初期付着菌である *Streptococcus sanguinis* のバイオフィルム形成への効果を検討した。その結果、Polypyrrole は 0.002% 以上の濃度で *S. mutans* のバイオフィルムを抑制する事が明らかとなった。一方、0.00003125% の濃度で *S. sanguinis* バイオフィルム形成を一時的に上昇させることも明らかとなった。菌種間でこのような効果の違いが生まれた理由を現在検討している。

[泉福英信、大西 真]

エ *Actinomyces naeslundii* のバイオフィルム形成を抑制する成分のミズナ成分の同定

昨年に引き続き、*Actinomyces naeslundii* のバイオフィルム形成を抑制するミズナ成分を同定するために、ミズナ成分の中で抑制分子の候補として明らかになった以下の 6 つの蛋白質を含む抗原を用いてラット抗体を作製した。Pentatricopeptide repeat-containing protein, Putative methyltransferase, Malate dehydrogenase, Myosin heavy chain, predicted protein, isopentenyl diphosphate isomerase。それらの抗体の中で、15kDa から 50kD の中に存在するいくつかの蛋白質群に反応する抗体が、ミズナ成分によるバイオフィルム抑制を解除することが明らかとなった。Malate dehydrogenase や Myosin heavy chain が、15kDa から 50kDa の範囲蛋白質群に含まれていた。[泉福英信、鈴木到、落合邦康 (日本大学歯学部)、大西 真]

2. 歯周病、および歯周病原細菌等に関する研究

(1) 歯周病予防に関する研究

ア 歯周病原細菌 *P. gingivalis* のメンブランヴェシクル (MV) の経鼻免疫によるワクチン効果

P. gingivalis の MV を免疫原とした歯周病ワクチンへの応用を視野に、ワクチン効果に関連する検討を行った。MV のマウスへの経鼻免疫実験により得られた血清は *P. gingivalis* ワクチン株及び同種の異なる菌株のタンパク分解酵素ジジパインの酵素活性を有意に阻害した。MV のマウスへの経鼻免疫により、全身に *P. gingivalis* 特異的抗体が産生されるが、血清 IgG、及び唾液 S-IgA は免疫後少なくともそれぞれ 18 週、及び 28 週間は高い抗体価で維持された。また、*P. gingivalis* MV の経鼻免疫によりマウス口腔内における *P. gingivalis* の排除効果が確認された。[中尾龍馬、長谷川秀樹 (感染病理部)、大西 真、泉福英信]

イ 歯周病原細菌 *P. gingivalis* の MV 経鼻免疫の安全性の評価

ワクチン投与時と同量の *P. gingivalis* の MV をマウス鼻腔へ接種し、MV が近傍組織へ蓄積するか否かをリアルタイム PCR で調べた。鼻腔接種 48 時間後の肺、嗅球、頸部リンパ組織、鼻咽頭関連リンパ組織における検出量はいずれも 0.8 ng 以下と算出された。また、MV の中枢神経毒性について、マウス脳内接種を行い検討したところ、嗅球への蓄積量の 125 倍以上に相当する MV を脳内に接種しても、脳実質における肉眼的及び病理学的な

炎症所見、体重減少を含めたマクロな異常所見は認められなかった。以上より、当該 MV 経鼻免疫に伴う中枢神経毒性の可能性は極めて低いことが確認された。[中尾龍馬、長谷川秀樹（感染病理部）、大西真、泉福英信]

ウ ウェルシュ菌の MV の動物細胞に対する影響に関する研究

ウェルシュ菌の MV をマウス培養細胞に添加したところ、炎症性サイトカインの分泌を促進することが明らかとなった。MV の構成成分を解析したところ、MV は細胞膜および複数のタンパク質だけでなく、細胞壁成分を豊富に含むことが明らかとなった。単離したウェルシュ菌の細胞膜画分はマウス培養細胞の IL-6 分泌を誘導しなかったことから、MV に含まれる細胞壁成分が炎症性サイトカイン誘導因子であることが示唆された。複数のウェルシュ菌株の *spo0A* 遺伝子欠損株において MV 産生の低下が観察された。Spo0A は応答調節因子であることから、周囲の環境が MV 産生のトリガーになると考えられた。[尾花望、中尾龍馬、永山恭子、泉福英信、野村暢彦（筑波大学）]

エ 食品由来抗菌物質の歯周病細菌等に対する殺菌過程のリアルタイムイメージング

高速原子間力顕微鏡は数十ナノメートルスケールの微細な物質の運動を測定することが可能であり、生体物質への応用が期待されている。本研究では、抗菌物質の添加に伴う菌体の形態変化をリアルタイムで観察することを目指し、その抗菌機序の詳細を構造の面から解明する試みである。今年度は、プロポリス、カレーリーフ、ジンジャー、クローブ等をスライドガラス上に定着させた *Porphomonas gingivalis* に添加した。その結果、菌体表層での様々な形態変化、例えばナノスケールの小胞形成などのリアルタイムイメージングに成功した。[中尾龍馬、吉益由莉、八木明（オリンパス）古川壮一（日本大学）、森永康(日本大学)]

オ 歯周病原細菌 *P. gingivalis* 抑制活性を有するプレニル化フラボノイドの同定

植物性生薬のイカリソウに含まれるフラボノイドを単離・同定した結果、既知、未報告も含め 30 以上のプレニル基を有するフラボノイド類(プレニル化フラボノイド)が見出された。それらのジンジパイン阻害能を解析した結果、数種が非競合的に阻害することを明らかとした。さらにプレニル化フラボノイドは、*P. gingivalis* の増殖及びバイオフィルム形成も抑制することが出来たが、

阻害活性と必ずしも相関しないことから、ジンジパイン阻害以外の増殖抑制機序の可能性が示唆された。[狩生徹（尚綱大学）、中尾龍馬]

3. 癌手術前後の口腔内微生物叢の変化の研究

30 の国立病院において癌手術を行う患者を対象に、癌手術前と後の口腔内微生物量の測定を行っている。口腔粘膜をスワブしたサンプル中の好気性菌、嫌気性菌、*Staphylococcus*, *Candida* の菌量を培養法で測定した。現在、データの集積を行っている。個々被験者の口腔内微生物量の変化を検討し、データをまとめ、最終的な口腔微生物叢への癌手術の影響を明らかにする。[泉福英信、岩渕博史（神奈川歯科大学）、大西真]

レファレンス業務

I. 劇症型/重症レンサ球菌感染症に関するレファレンス業務

地方衛生研究所および病院から送られた劇症型/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ている。[池辺忠義、大西真、The Working Group for β -hemolytic *Streptococci* in Japan]

II. レジオネラ症に関するレファレンス業務

1. 菌株の受け入れ

平成 27 年度は、地方衛生研究所、保健所、病院等からレジオネラ属菌 206 株（分離株臨床分離株 67 株、環境分離株 139 株）を受け入れた。臨床分離株は、*L. pneumophila* (Lp) SG1 の 62 株、Lp SG2・SG9・SG13 各 1 株、Lp 以外では *L. bozeman* SG2、*L. longbeachae* SG2 各 1 株であった。環境分離株は、Lp SG1 の 85 株、Lp SG3 の 27 株、SG10 の 5 株、Lp SG6・SG12・SG13 の各 3 株、Lp SG5、Lp untypable が各 1 株、Lp 以外では *L. feeleii* SG1 が 1 株、*L. micdadei* 1 株、*L. quinlivqni* が 6 株、*L. spiritensis* が 3 株であった。なお、収集された株は、必ずしも平成 27 年度に分離された株とは限らない。[前川純子、倉 文明、大西 真]

2. 市販されていないレジオネラ免疫血清等の依頼作製

DDH レジオネラ'極東'が販売中止となったことから、レジオネラ属菌同定のための免疫血清が要望されている。これまでロングビーチ 1 群、2 群、フィーレイ 1 群、2

群、ハッケリ、アニサ、ロンディニエンシス 1 群、2 群をデンカ生研に依頼作製し、レジオネラ・レファレンスセンターを通じて地衛研に配布してきたが、平成 27 年度はセントヘレンシ 1 群、2 群、ジョルダニスを依頼作製し、感度、交差性を検証した。[前川純子、倉 文明、大西 真]

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：1 lot [川端寛樹、高橋英之]

II. 10 価結合型肺炎球菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定：1 lot [池辺忠義、小川道永、大西真]

III. 13 価結合型肺炎球菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定：25 lot [常彬、小川道永、大西真]

IV. 23 価肺炎球菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定：20 lot [前川純子、小川道永、大西真]

国際協力関係業務

I. JGRID 各拠点との共同研究

コレラ菌に関する共同研究を開始し、インド、タイ、ベトナム、インドネシア分離株のゲノム解析を実施した。

研修業務

I. 腸管感染症に関する研修

1. 平成 27 年度国立保健医療科学院・国立感染症研究所細菌研修講義。「腸管出血性大腸菌感染症の重症例検出に関する検査法について」平成 27 年 11 月、東京都 [伊豫田 淳]。

2. 平成 27 年度国立保健医療科学院・国立感染症研究所細菌研修。平成 27 年 11 月、東京都 [石嶋 希、李 謙一、森田昌知、石原朋子、山本章治、三戸部治郎、泉谷秀昌、大西 真]。

3. 神奈川県衛生研究所平成 27 年度第 1 回病原細菌遺伝学的解析法研修、2015 年 6 月、神奈川県茅ヶ崎市 [泉谷秀昌]。

4. 泉谷秀昌：標準法から通知法に採用されたサルモネラ試験法解説。食の安全を確保するための微生物検査協議会平成 27 年度研修会、2015 年 11 月、東京都 [泉谷秀昌]。

5. 泉谷秀昌：腸管出血性大腸菌の MLVA 法について。平成 27 年度全国地研協議会中国四国リファレンスセンター連絡会議、2015 年 12 月、岡山県岡山市 [泉谷秀昌]。

6. RITM 研究者研修：フィリピン RITM 研究者 1 名に対し、

赤痢菌およびコレラ菌の分子疫学解析に関する研修を感染研細菌第一部において実施した。2016 年 2 月 [泉谷秀昌、大西真]

7. JICA 研修：JICA「高危険度病原体に係るバイオセーフティ並びに実験室診断能力の向上と連携強化プロジェクト」に関連し、コレラの病原体検査に係るバイオセーフティおよび GMT の研修をベトナム ゲアン省において実施した。2015 年 7 月 [泉谷秀昌]

II. レジオネラ属菌に関する講習会

1. 平成 27 年度富山県環境衛生監視員研修会「レジオネラ症 多様な感染源と感染事例」2015 年 6 月、富山 [倉 文明]

2. 平成 27 年度埼玉県環境衛生監視員等研修会、特別講義「レジオネラ症 多様な感染事例に学ぶ」、2015 年 7 月、さいたま [倉 文明]

3. 国立保健医療科学院平成 27 年度短期研修環境衛生監視指導「レジオネラ属菌の検査と感染対策」、2015 年 11 月、和光市 [倉 文明]

4. 平成 27 年度生活衛生関係技術担当者研修会（厚生労働省健康局生活衛生課）「レジオネラ症をめぐる話題と動向」2016 年 2 月、東京都 [倉 文明]

5. 平成 27 年度第 4 回病原細菌遺伝学的解析法研修（神奈川県衛生研究所）「レジオネラの感染事例と分子疫学解析」2016 年 3 月、茅ヶ崎市 [倉 文明]

6. 平成 27 年度短期研修 細菌研修「レジオネラ感染症検査法総論」2015 年 11 月、東京都 [前川純子]

7. 病原細菌遺伝学的解析法研修（神奈川県衛生研究所）「レジオネラの遺伝学的解析法」2015 年 12 月、神奈川県 [前川純子]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Morita-Ishihara T, Scheutz F, Ohnishi M; Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan. *Escherichia coli* O-Genotyping PCR: a Comprehensive and Practical Platform for Molecular O Serogrouping. *J Clin Microbiol.* 2015, 53(8): 2427-32.

2) Harada T, Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Taguchi M, Kumeda Y. Multiplex Real-Time PCR Assays for Screening of Shiga Toxin 1 and 2 Genes, Including All Known Subtypes, and *Escherichia coli* O26-, O111-, and O157-Specific Genes in

- Beef and Sprout Enrichment Cultures. *J Food Prot.* 2015, 78(10), 1800-11.
- 3) Sakai T, Sawai T, Shimizu Y, Morimune T, Okuda Y, Maruo Y, Iyoda S, Takeuchi Y. *Escherichia coli* O121:H19 infection identified on microagglutination assay and PCR. *Pediatr Int.* 2015, 57(5), 1001-3.
- 4) Akiba M, Senba H, Otagiri H, Prabhasankar VP, Taniyasu S, Yamashita N, Lee K, Yamamoto T, Tsutsui T, Ian Joshua D, Balakrishna K, Bairy I, Iwata T, Kusumoto M, Kannan K, Guruge KS. Impact of wastewater from different sources on the prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in sewage treatment plants in South India. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2015, 115: 203-8.
- 5) Diep TT, Nguyen NT, Nguyen TN, An HK, Nguyen TQ, Nguyen VH, Nguyen TV, Nguyen TN, Izumiya H, Ohnishi M, Yamashiro T, Nguyen LT. Isolation of New Delhi metallo- β -lactamase 1-producing *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 strain carrying *ctxA*, *st* and *hly* genes in southern Vietnam. *Microbiol Immunol.* 2015 May;59(5):262-7. doi: 10.1111/1348-0421.12248. PubMed PMID: 25683557.
- 6) Saitoh T, Morita M, Shimada T, Izumiya H, Kanayama A, Oishi K, Ohnishi M, Sunagawa T. Increase in paratyphoid fever cases in Japanese travellers returning from Cambodia in 2013. *Epidemiology and Infection.* 2016, 114(3): 602-606
- 7) Klionsky, DJ et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy.* 12:1-222. (2016)
- 8) Rinchai, D., Riyapa, D., Buddhisa, S., Utispan, K., Titball, R. W., Stevens, M. P., Stevens, J. M., Ogawa, M., Tanida, I., Koike, M., Uchiyama, Y., Ato, M., Lertmemongkolchai, G., Macroautophagy is essential for killing of intracellular *Burkholderia pseudomallei* in human neutrophils. *Autophagy.* 11:748-55. (2015)
- 9) Chang B, Nariai A, Sekizuka T, Akeda Y, Kuroda M, Oishi K, Ohnishi M. Capsule switching and antimicrobial resistance acquired during repeated *Streptococcus pneumoniae* pneumonia episodes. *Journal of Clinical Microbiology.* 2015. 53:3318-3324.
- 10) Suga S, Chang B, Asada K, Akeda H, Nishi J, Okada K, Wakiguchi H, Maeda A, Oda M, Ishiwada N, Saitoh A, Oishi T, Hosoya M, Togashi T, Oishi K, Ihara T.
- 11) Nationwide population-based surveillance of invasive pneumococcal disease in Japanese children: Effects of the seven-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Vaccine.* 2015. 33:6054-6060.
- 12) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Suga S, Noguchi T, Yamamoto M, Matsumura Y, Nagao M, Takakura S, Ohnishi M, Ihara T, Ichiyama S. Serotypes, antimicrobial susceptibility, and molecular epidemiology of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in paediatric patients after the introduction of 13-valent conjugate vaccine in a nationwide surveillance study conducted in Japan in 2012-2014. *Vaccine.* 2016. 34:67-76.
- 13) Ikebe T, Chiba K, Shima T, Masuda C, Okuno R, Ohya H, Ogata K, Katsukawa C, Kawahara R, Tominaga K, Yabata J, Tada Y, Okabe N, Watanabe H, Chang B, Ogawa M, Ohnishi M; Working group for beta-hemolytic streptococci in Japan. Evaluation of streptococcal toxic shock-like syndrome caused by group B *streptococcus* in adults in Japan between 2009 and 2013. *Journal of Infection and Chemotherapy.* 2015. 21:207-211.
- 14) Akata K, Chang B, Yatera K, Kawanami T, Yamasaki K, Naito K, Noguchi S, Ishimoto H, Mukae H. Distribution and annual changes in *Streptococcus pneumoniae* serotypes in adult Japanese patients with pneumonia. *Journal of Infection and Chemotherapy.* 2015. 21:723-728.
- 15) Nakano S, Matsumura Y, Ito Y, Fujisawa T, Chang B, Suga S, Kato K, Yunoki T, Hotta G, Noguchi T, Yamamoto M, Nagao M, Takakura S, Ohnishi M, Ihara T, Ichiyama S. Development and evaluation of MALDI-TOF MS-based serotyping for *Streptococcus pneumoniae*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2015. 34:2191-2198.
- 16) Matsubara K, Maihara T, Chang B. Ultra-late onset meningitis caused by serotype IX group B *Streptococcus*. *The Pediatric Infectious Disease Journal.* 2015. 34:801.
- 17) Naito S, Tanaka J, Nagashima K, Chang B, Hishiki H, Takahashi Y, Oikawa J, Nagasawa K, Shimojo N, Ishiwada N. The impact of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine on the incidence of childhood community-acquired pneumonia and bacteriologically confirmed pneumococcal pneumonia in Japan. *Epidemiology and Infection.* 2015. 30:1-13.
- 18) Kaneko M, Maruta M, Shikata H, Hanayama M, Ikebe T. Acute abdomen due to group A streptococcus bacteremia caused by an isolate with a mutation in the *csrS* gene. *J Infect Chemother.* 2015, 21 (11): 816-819.
- 19) Tomizawa Y, Hoshino Y, Sasaki F, Kurita N, Kawajiri S, Noda K, Hattori N, Amemura-Maekawa J, Kura F, Okuma Y. Diagnostic Utility of Splenic Lesions in a Case of

- Legionnaires' Disease due to *Legionella pneumophila* Serogroup 2. Intern Med. 2015, 54(23): 3079-3082.
- 20) Andoh M, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Fujita H, Une Y, Goka K, Kishimoto T, Ando S. *Rickettsia* and *Ehrlichia* detection from exotic animal-associated hard ticks. PLoS One 2015. 10(7): e0133700.
- 21) Gatzmann F, Metzler D, Krebs S, Blum H, Sing A, Takano A, Kawabata H, Fingerle V, Margos G, Becker NS. NGS population genetics analyses reveal divergent evolution of a Lyme Borreliosis agent in Europe and Asia. Ticks and Tick-borne Diseases. 2015. 6 (3): 344-351.
- 22) Murase Y, Konnai S, Yamada S, Githaka N, Isezaki M, Ito T, Takano A, Ando S, Kawabata H, Murata S, Ohashi K. An investigation of binding ability of *Ixodes persulcatus* Schulze Salp15 with Lyme disease spirochetes. Insect Biochemistry and Molecular Biology 2015. 60: 59-67.
- 23) Kutsuna S, Kawabata H, Ohmagari N. Imported Lyme disease. Internal Medicine. 2015. 54(6): 691.
- 24) Oda S, Kabeya H, Sato S, Shimonagane A, Inoue K, Hayashidani H, Takada N, Fujita H, Kawabata H, Maruyama S. Isolation of pathogenic *Yersinia enterocolitica* 1B/O:8 in from *Apodemus* mice in Japan. Journal of Wildlife Diseases 51(1):260-264, 2015.
- 25) Lee DK, Kim EJ, Kilgore PE, Kim SA, Takahashi H, Ohnishi M, Anh DD, Dong BQ, Kim JS, Tomono J, Miyamoto S, Notomi T, Kim DW, Seki M. Clinical Evaluation of a Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Rapid Detection of *Neisseria meningitidis* in Cerebrospinal Fluid. *Plos One* 10(4):e0122922, 2015.
- 26) Takahashi H, Yanagisawa T, Kim KS, Yokoyama S, Ohnishi M. Multiple Functions of Glutamate Uptake via Meningococcal GltT-GltM L-Glutamate ABC Transporter in *Neisseria meningitidis* Internal Internalization into Human Brain Microvascular Endothelial Cells. *Infect Immun* 83: 3555-3567, 2015.
- 27) Yanagisawa T, Takahashi H, Suzuki T, Masuda A, Dohmae N, Yokoyama S. *Neisseria meningitidis* Translation Elongation Factor P and Its Active-Site Arginine Residue Are Essential for Cell Viability. *Plos One* 11(2): e0147907, 2016.
- 28) Lee DK, Kim EJ, Kilgore P, Takahashi H, Ohnishi M, Tomono J, Miyamoto S, Omagari D, Kim DW and Seki M. A Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Serogroup Identification of *Neisseria meningitidis* in Cerebrospinal Fluid. *Frontiers in Microbiology* 6:1548, 2016.
- 29) Villanueva MA, Mingala CN, Gloriani NG, Yanagihara Y, Isoda N, Nakajima C, Suzuki Y, Koizumi N. Investigation of *Leptospira* infection and its circulation in one intensive-type water buffalo farm in the Philippines. Jpn J Vet Res. 2016. 64 (1):15-24.
- 30) Shiokawa K, Gamage CD, Koizumi N, Sakoda Y, Shimizu K, Tsuda Y, Yoshimatsu K, Arikawa J. Evaluation of truncated LipL32 expressed by *Escherichia coli* and *Pichia pastoris* for serodiagnosis of *Leptospira* infection in rodents. J Vet Med Sci. 2016. 78 (2):221-230.
- 31) Koizumi N, Izumiya H, Mu JJ, Arent Z, Okano S, Nakajima C, Suzuki Y, Mizutani Muto M, Tanikawa T, Taylor TR, Komatsu N, Yoshimatsu K, Ha HTT, Ohnishi M. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of *Leptospira interrogans* and *Leptospira borgpetersenii* isolated from small feral and wild mammals in East Asia. Infect Gen Evol. 2015. 36: 434-440.
- 32) Matono T, Kutsuna S, Koizumi N, Fujitani Y, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kato Y, Ohmagari N. Imported flood-related leptospirosis from Palau: Awareness of risk factors leads to early treatment. J Travel Med. 2015. 22 (6): 422-424.
- 33) Satou K, Shimoji M, Tamotsu H, Juan A, Ashimine N, Shinzato M, Toma C, Nohara T, Shiroma A, Nakano K, Teruya K, Terabayashi Y, Ohki S, Koizumi N, Okano S, Suzuki T, Hirano T. Complete genome sequences of low-Passage virulent and high-Passage avirulent variants of pathogenic *Leptospira interrogans* serovar Manilae strain UP-MMC-NIID, originally isolated from a patient with severe leptospirosis, determined using PacBio single molecule, real-time technology. Genome Announc. 2015. 3 (4): e00882-15.
- 34) Fujita R, Koizumi N, Sugiyama H, Tomizawa R, Sato R, Ohnishi M. Comparison of bacterial burden and cytokine gene expression in golden hamsters in early phase of infection with two different strains of *Leptospira interrogans*. PLoS ONE 2015. 10 (7): e0132694.
- 35) Kitashoji E, Koizumi N, Lacuesta TLV, Usuda D, Ribo MR, Tria ES, Go WS, Kojiro M, Parry CM, Dimaano EM, Villarama JB, Ohnishi M, Suzuki M, Ariyoshi K. Diagnostic accuracy of recombinant immunoglobulin-like protein A-based IgM ELISA for the early diagnosis of leptospirosis in the Philippines. PLoS Neglected Trop Dis. 2015. 9 (6): e0003879.
- 36) Saitoh H, Koizumi N, Seto J, Ajitsu S, Fujii A, Takasaki S, Yamakage S, Aoki S, Nakayama K, Ashino Y,

- Chagan-Yasutan H, Kiyomoto H, Hattori T. Leptospirosis in the Tohoku region: re-emerging infections disease. *Tohoku J Exp Med.* 2015. 236 (1): 33-37.
- 37) Ogawa H, Koizumi N, Ohnuma A, Mutemwa A, Hang'ombe BM, Mweene AS, Takada A, Sugimoto C, Suzuki Y, Kida H, Sawa H. Molecular epidemiology of pathogenic *Leptospira* spp. in the straw-colored fruit bat (*Eidolon helvum*) migrating to Zambia from the Democratic Republic of Congo. *Infect Gen Evol.* 32: 143-147, 2015.
- 38) Shimuta K, Watanabe, Y, Nakayama, S, Morita-Ishihara T, Kuroki T, Unemo M, and Ohnishi M. Emergence and evolution of internationally disseminated cephalosporin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* clones from 1995 to 2005 in Japan. *BMC infectious dis.* 2015; 15:378
- 39) Shaughnessy J, Gulati S, Agarwal S, Unemo M, Ohnishi M, Su XH, Monks BG, Visintin A, Madico G, Lewis LA, Golenbock DT, Reed GW, Rice PA, Ram S. A Novel Factor H-Fc Chimeric Immunotherapeutic Molecule against *Neisseria gonorrhoeae*. *J Immunol.* 196 1732-1740, 2016.
- 40) Gulati S, Schoenhofen IC, Whitfield DM, Cox AD, Li J, St Michael F, Vinogradov EV, Stupak J, Zheng B, Ohnishi M, Unemo M, Lewis LA, Taylor RE, Landig CS, Diaz S, Reed GW, Varki A, Rice PA, Ram S. Utilizing CMP-Sialic Acid Analogs to Unravel *Neisseria gonorrhoeae* Lipooligosaccharide-Mediated Complement Resistance and Design Novel Therapeutics. *PLoS Pathog.* 11(12): e1005290, 2015.
- 41) Kobayashi T, Kutsuna S, Hayakawa K, Kato Y, Ohmagari N, Uryu H, Yamada R, Kashiwa N, Nei T, Ehara A, Takei R, Mori N, Yamada Y, Hayasaka T, Kagawa N, Sugawara M, Suzaki A, Takahashi Y, Nishiyama H, Morita M, Izumiya H, Ohnishi M. Case Report: An Outbreak of Food-Borne Typhoid Fever Due to *Salmonella enterica* Serotype Typhi in Japan Reported for the First Time in 16 Years. *Am J Trop Med Hyg.* 2016 Feb;94(2):289-91.
- 42) Ogura Y, Mondal SI, Islam MR, Mako T, Arisawa K, Katsura K, Ooka T, Gotoh Y, Murase K, Ohnishi M, Hayashi T. The Shiga toxin 2 production level in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 is correlated with the subtypes of toxin-encoding phage. *Sci Rep.* 2015 Nov 16;5:16663.
- 43) Rashid MU, Rashed SM, Islam T, Johura FT, Watanabe H, Ohnishi M, Alam M. CtxB1 outcompetes CtxB7 in *Vibrio cholerae* O1, Bangladesh. *J Med Microbiol.* 2016 Jan;65(1):101-3
- 44) Tada A, Watanabe M, Senpuku H. Factors affecting changes in compliance with infection control practice by dentists in Japan. *American Journal of Infection Control.* 2015. 43(1): 95-97.
- 45) Ohsumi T, Takenaka S, Wakamatsu R, Sakaue Y, Narisawa N, Senpuku H, Ohshima H, Terao Y, Okiji T. Residual structure of *Streptococcus mutans* biofilm following complete disinfection favors secondary bacterial adhesion and biofilm re-development. *PLoS ONE.* 2015. 10(1): e0116647.
- 46) Ito T, Senpuku H, Ichinosawa T, Ikematsu-Ito N, Kimura N, Shimizu T. SspB peptide assay reveals saliva-mediated *Porphyromonas gingivalis* attachment. *Open Journal of Stomatology.* 2015. 5(11): 259-267.
- 47) Merritt J, Senpuku H, Kreth J, Let there be bioluminescence – 1 Development of a biophotonic imaging platform for in situ analyses of oral biofilms in animal models. *Environmental Microbiology.* 2016. 18(1):174-190.
- 48) Kawarai T, Narisawa N, Suzuki Y, Nagasawa R, Senpuku H. *Streptococcus mutans* biofilm formation is dependent on extracellular DNA in primary low pH condition. *Journal of Oral Biosciences.* 2016. 58(2): 55-61.
- 49) Bai D, Nakao R, Ito A, Uematsu H, Senpuku H : Immunoreactive antigens recognized in serum samples from mice intranasally immunized with *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles : *Pathogens and Disease.* 2015 April 73(3). pii: ftu006.
- 50) Kariu T, Nakao R, Ikeda T, Nakashima K, Potempa J, and Imamura T : Inhibition of gingipains and *Porphyromonas gingivalis* growth and biofilm formation by prenylated flavonoids : *Journal of Periodontal Research.* 2016 Feb.doi:10.1111/jre.12372

2. 和文発表

- 1) 井口 純、秋吉充子、伊豫田 淳、大西 真. 腸管出血性大腸菌の主要な O 血清群と病原性遺伝子を判定する One-shot マルチプレックス PCR 法の開発と評価. *日本食品微生物学会誌.* 2015, 32(4): 215-8.
- 2) 秋吉充子、中村寛海、伊豫田 淳、石原朋子、加藤結子、井口 純. 様々な O 血清群に属する志賀毒素産生性大腸菌の市販選択培地上での生育特性. *日本食品微生物学会誌.* 2015, 32(4): 192-8.
- 3) 石原朋子、伊豫田 淳. 腸管出血性大腸菌感染症の現状と課題. *感染と消毒.* 2015, 22(2): 117-20.
- 4) 泉谷秀昌、石原朋子、伊豫田淳、大西真:2014 年に分離された腸管出血性大腸菌 O157、O26 および O111 株の

- MLVA 解析について。IASR、第 36 卷、83-84、2015 年 5 月
- 5) 妹尾充敏、森田昌知. Infectious diseases in Asia/細菌感染症領域における国際協力. 日本細菌学雑誌. 70(2): 329-332, 2015.
- 6) 小川道永. 病原細菌と宿主オートファジーとの攻防化学と生物, 53:389-397. (2015)
- 7) 小川道永. 肺炎球菌の基礎(金澤實、大石和徳編、肺炎球菌ワクチンの新しい展開 改訂 4 版)、医薬ジャーナル社 (2015)
- 8) 阿戸学、池辺忠義. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症メカニズムと検査. 検査と技術. 医学書院. 44(1):40-46(2016).
- 9) 池辺忠義. 劇症型溶血性レンサ球菌について. バムサジャーナル. バイオメディカルサイエンス研究所. 27 (2): 37-40 (2015).
- 10) 倉 文明: レジオネラ症の国内外の動向、ビルと環境 149:36-44, 2015. 中臣昌広著、倉 文明監修: レジオネラ症対策のてびき、一般財団法人日本環境衛生センター、2015 年 8 月 21 日第 2 版発行
- 11) 高橋英之 髄膜炎菌性髄膜炎 (侵襲性髄膜炎菌感染症)、体と心 保健総合大百科 小学校編 2015 年 101-103.
- 12) 高橋英之 髄膜炎菌性髄膜炎 (侵襲性髄膜炎菌感染症)、体と心 保健総合大百科 中・高校編 2015 年 136-138.
- 13) 高橋英之、大西真 髄膜炎菌感染症 感染症 46(2): 34-39, 2016.
- 14) 泉福英信、病原性バイオフィルム形成メカニズムと全身疾患の制御手段、ザ. クインテッセンス、2015. 34(1): 118-119.
- 15) 泉福英信、口腔バイオフィルムと糖および代謝産物、化学療法領域、2015. 31(11): 45-51.
- 16) 緒方喜久代、荒川英二 「15 コレラ菌」 p. 463-477 食品衛生検査指針 微生物編 2015 日本食品衛生協会
- 17) 荒川英二 小・中・高保健ニュース (小中高保 11/28 「感染症」 7 赤痢、コレラ) 少年写真新聞社

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

- 1) Akiba M, Senba H, Otagiri H, Prabhasankar VP, Taniyasu S, Yamashita N, Lee K, Yamamoto T, Tsutsui T, Joshua DI, Balakrishna K, Bairy I, Iwata T, Kusumoto M, Kannan K, Guruge KS. Impact of wastewater from different sources on the prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in sewage treatment plants in South India. 3rd International

Symposium on the Environmental Dimension of Antibiotic Resistance. Wernigerode, Germany, May, 2015.

- 2) Lee K, Kusumoto M, Iwata T, Akiba M. Virulence and phylogenetic characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from cattle in Japan. The 9th triennial International Shiga toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections Symposium 2015. Boston, USA, September, 2015.

3) Lee K, Morita-Ishihara T, Iyoda S, Ogura Y, Hayashi T, Sekizuka T, Kuroda M, Ohnishi M, EHEC Working Group. Diffuse outbreak investigation in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O121 by whole genome sequence. SMBE Satellite Workshop on Genome Evolution in Pathogen Transmission and Disease. Nagano, Japan, February, 2016.

4) Morita-Ishihara T, Iyoda S, Iguchi A, Ohnishi M. Potential risk of Shiga-toxin producing *E. coli* (STEC) infection: investigation of STEC isolates from asymptomatic carrier in Japan. VTEC 2015. The 9th triennial International Shiga toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections Symposium 2015. Boston, USA, September, 2015.

5) Ishijima N, Iyoda S, Iguchi A, Izumiya H, Ishihara T, Saitoh T, Ohnishi M, and EHEC Working Group in Japan. Identification of an aggravation risk factor of EHEC O26 ST29, a possible high-virulence lineage. The 9th triennial International Shiga toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections Symposium 2015. Boston, USA, September, 2015.

6) Morita M, Izumiya H, Ohnishi M. Unusual increase of typhoid fever cases in Japan and molecular epidemiological analysis of the causative agent, *Salmonella* Typhi. The 6th Congress of European Microbiologists (FEMS 2015), Maastricht, The Netherlands, June 2016.

7) Amemura-Maekawa J, Chida K, Ohya H, Kanatani J-I, Tanaka S, Nakajima H, Yoshino S, Ohnishi M, Kura F. Genetic features of clinical and environmental isolates of *Legionella pneumophila* SG1 in Japan. ESGLI 2015. London, September 2015.

8) Isobe J, Kanatani J-I, Nakagawa T, Kimata K, Mitsui C, Amemura-Maekawa J, Kura F, Sata T, Watahiki M. Case report of legionellosis with infections at two different bath facilities within a single incubation period. ESGLI 2015. London, September 2015.

9) Kanatani J-I, Isobe J, Kimata K, Mitsui C, Amemura-Maekawa J, Kura F, Sata T, Watahiki M: ATP bioluminescence assay as an indicator of bacterial counts and

risk for *Legionella* occurrence in bath water. ESGLI 2015. London, September 2015.

10) Suzuki Y, Arai T, Ogura N, Kondoh T, Senpuku H. Inhibiting effects of fructanase on the competence-stimulating peptide-dependent genetic transformation and biofilm formation by *Streptococcus mutans*. EUROBIOPILMS 2015 – 4th European Congress on Microbial Biofilms. Brno, Czech, June 2015.

11) Nakao R, Yoshimasu Y, Furukawa S, Morinaga Y, Senpuku H : The mode of antimicrobial action of propolis on periodontopathic Gram-negative bacteria: Keystone Symposia, Gram-negative resistance, Tahoe, CA, USA. April. 2015.

12) Nakao R, Obana N, Nagayama K, Nomura N, Ohnishi M, Senpuku H : Assessment of immune responses in mice after intranasal immunization using outer membrane vesicles derive from 3 different Gram- negative pathogens : International Congress of Mucosal Immunology 2015, Berlin, Germany, July, 2015.

13) Nagayama K, Obana N, Nakao R, Senpuku H, Nakamura K, Nomura N : Functional analysis of membrane vesicles produced by gram-positive intestinal bacteria : Interdisciplinary Workshop on Science and Patents (IWP) , Tsukuba Japan, September, 2015

2. 国内学会

1) 秋庭正人、仙波裕信、清水春菜、Valipparambil P. Prabhakaran, 谷保佐知、山下信義、李 謙一、山本健久、筒井俊之、Derrick Ian Joshua, Keshava Balakrishna, Indira Bairy、岩田剛敏、楠本正博、Kurunthachalam Kannan、Keerthi S. Guruge. インド下水処理施設の薬剤耐性大腸菌分布率に及ぼす汚水流入源の影響. 第 44 回薬剤耐性菌研究会、宮城、2015 年.

2) 李 謙一、楠本正博、岩田剛敏、伊豫田 淳、秋庭正人. 国内牛群における志賀毒素産生性大腸菌の保有に関わる衛生管理指標の究明および分離株の性状解析. 第 19 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2015 年.

3) 李 謙一、石原朋子、伊豫田 淳、小椋義俊、林 哲也、関塚剛史、黒田 誠、大西 真、EHEC Working Group. 全ゲノム配列を用いた腸管出血性大腸菌 0121 の散在的集団感染事例の解析. 第 88 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

4) 伊豫田 淳、井口 純、勢戸和子、李 謙一、石原朋子、大西真、Working Group EHEC. 腸管出血性大腸菌 OUT 株の *E. coli* 0-genotyping 法による O 型別. 第 89 回日本

細菌学会総会、大阪、2016 年.

5) 井口 純、伊豫田 淳. ヒト由来 STEC から見出した 8 種類の新規 O 群遺伝子型と牛由来 STEC における分布. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

6) 西田留梨子、村瀬一典、後藤恭宏、大岡唯祐、中島遥子、片平雄之、伊豫田 淳、大西 真、小椋義俊、林 哲也. 腸管出血性大腸菌 0121:H19 の比較ゲノム解析. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

7) 須藤直樹、相馬亜希子、伊豫田 淳、齋藤健太、関根靖彦. Small regulatory RNA Esr41 による腸管出血性大腸菌 LEE 遺伝子群の発現制御. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

8) 石嶋 希、伊豫田 淳、井口 純、大西 真、EHEC Working Group. 腸管出血性大腸菌 026 の高病原性系統の同定. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

9) 井口 純、伊豫田 淳. 腸管出血性大腸菌で見つかった新規 O 血清群遺伝子型 (O-genotype) について. 第 36 回日本食品微生物学会学術総会、川崎、2015 年.

10) 石原朋子、伊豫田 淳、泉谷秀昌、大西 真. 最近の EHEC の発生動向について. 衛生微生物技術協議会第 36 回研究会、仙台、2015 年.

11) 石原朋子、伊豫田 淳、泉谷秀昌、大西 真、EHEC ワーキング グループ. 0157、026、0111 以外の腸管出血性大腸菌 2014 年分離株における PFGE 解析. 第 19 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2015 年.

12) 石原朋子、伊豫田 淳、寺嶋 淳、泉谷秀昌、大西 真、EHEC Working Group. 国内における腸管出血性大腸菌 0146 の発生動向について. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

13) 泉谷秀昌 : 赤痢菌の薬剤耐性と分子疫学の傾向について. 第 15 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2015 年 9 月、東京都.

14) 泉谷秀昌、石原朋子、李 謙一、石嶋希、伊豫田淳、大西真 : 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析について (血清群 0157、026、0111 を中心に). 第 36 回日本食品微生物学会学術総会、2015 年 11 月、神奈川県川崎市.

15) 山本章治. コレラ菌におけるキチン応答性シグナル伝達の PTS による制御. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月.

15) 森田昌知、泉谷秀昌、大西真. 2015 年に日本国内で分離されたチフス菌、パラチフス A 菌の解析. 第 54 回感染性腸炎学会総会、東京、2016 年 3 月.

16) 森田昌知、齋藤剛仁、李 謙一、泉谷秀昌、大西真. Genomic epidemiological analysis of *Salmonella* Paratyphi A isolated in Japan. 第 89 回日本細菌学会

総会、大阪、2016年3月。

17) 中野哲志、伊藤穰、常彬、菅秀、野口太郎、山本正樹、松村康史、長尾美紀、高倉俊二、大西真、庵原俊昭、一山智。小児侵襲性肺炎球菌感染症全国サーベイランス（ニューモキヤッチ）の菌株解析結果（2012-2014年）。第85回日本感染症学会西日本地方総会学術集会・第58回日本感染症学会中日本地方総会学術集会・第63回日本化学療法学会西日本支部総会 合同学会、奈良市、2015年。

18) 李相太、笠原敬、今北菜津子、米川真輔、中村ふくみ、小川拓、梶田明裕、平田一記、平位暢康、今井雄一郎、小川吉彦、宇野健司、前田光一、三笠桂一、山崎正晴、常彬。セフトリアキソン耐性・マクロライド耐性肺炎球菌による侵襲性肺炎球菌感染症の一例。第85回日本感染症学会西日本地方総会学術集会・第58回日本感染症学会中日本地方総会学術集会・第63回日本化学療法学会西日本支部総会 合同学会、奈良市、2015年。

19) 福住宗久、西順一郎、丸山貴也、渡邊浩、大島謙吾、青柳哲史、高橋弘毅、武田博明、田邊嘉也、笠原敬、藤田次郎、横山彰仁、山崎一美、常彬、大西真、高橋琢理、松井珠乃、砂川富正、大石和徳。成人侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）の臨床像と原因菌血清型分布に関する記述疫学（2013年-2014年）。第64回日本感染症学会東日本地方総会学術集会・第62回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、札幌市、2015年。

20) 黒沼幸治、小林智史、錦織博貴、常彬、大石和徳、高橋弘毅。北海道における成人侵襲性肺炎球菌感染症のサーベイランス。第64回日本感染症学会東日本地方総会学術集会・第62回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、札幌市、2015年。

21) 鈴木博貴、佐藤千紗、土田文広、常彬、山本友香、西塚碧、渡邊麻莉、大石和徳、武田博明。当院の *Streptococcus pneumoniae* の莢膜血清型および PPSV23 の接種効果の検討。第64回日本感染症学会東日本地方総会学術集会・第62回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、札幌市、2015年。

22) 池辺忠義。劇症型溶血性レンサ球菌感染症。第89回日本細菌学会総会、大阪、2016。

23) 松村隆之、池辺忠義、大西真、阿戸学。The defensive role of IL-6-producing immature myeloid cells in group A streptococcal infections。第89回日本細菌学会総会、大阪、2016。

24) 池辺忠義、緒方喜久代、大屋日登美、河原隆二、奥野ルミ、久保田寛顕、内谷友美、矢端順子、多田有希、岡部信彦、常彬、渡邊治雄、大西真。2009-2013年にお

ける劇症型 B 群レンサ球菌感染症の検討。第89回日本感染症学会学術講演会、京都、2015年。

25) 吉澤定子、池辺忠義、福井悠人、石井良和、舘田一博。当院における劇症型溶血性レンサ球菌感染症の臨床的特徴と免疫学的検討。第89回日本感染症学会学術講演会、京都、2015年。

26) 金子政彦、丸田雅樹、池辺忠義。致死的経過を辿った *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE) による劇症型 β 溶血性連鎖球菌感染症の3例。第85回日本感染症学会西日本地方学術集会、奈良、2015年。

27) 泉山信司、倉 文明、黒木俊郎、渡辺祐子：家庭の水環境における *Legionella* 汚染、2015年度 環境技術学会 第15回 年次大会、2015年9月、大阪府。

28) 浦山みどり、田栗利紹、石本陽介、金谷潤一、倉 文明：LC EMA-q PCR 法（レジオネラ菌迅速検査法）に与える夾雑菌の影響、日本防菌防黴学会第42回年次大会、大阪府、2015年9月。

29) 倉 文明：「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」の改正について、パネルディスカッション、第27回レジオネラ対策シンポジウム、NPO 入浴施設衛生管理推進協議会主催、東京、2015年5月。

30) 倉 文明：入浴施設などにおける衛生管理・レジオネラ対策と ATP 検査法の活用、ATP・迅速検査研究会第33回講演会、特別講演、2014年10月、東京。

31) 杉山寛治、長岡宏美、片山富士男、和田裕久、江原広里、市村祐二、青木信和、江口大介、神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、縣 邦雄、田中慶郎、倉 文明：循環式浴槽水のモノクロラミン消毒による長期間にわたるレジオネラ属菌の制御、日本防菌防黴学会第42回年次大会、大阪府、2015年9月。

32) 高野さかえ、前川純子、倉 文明、山元 佳：呼吸器検体から菌の分離を経ず直接 Sequence-based typing 法を行ったレジオネラ肺炎症例。第89回日本感染症学会学術講演会。京都、2015年4月。

33) 長岡宏美、市村祐二、青木信和、江口大介、神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、縣邦雄、片山富士男、江原広里、和田裕久、杉山寛治、倉 文明：気泡発生装置使用浴槽におけるモノクロラミン消毒効果の検証、日本防菌防黴学会第42回年次大会、大阪府、2015年9月。

34) 西堀武明、前川純子：*Legionella pneumophila* 血清群 13 によるレジオネラ肺炎の1例。日本感染症学会第62回東日本地方学術集会。札幌、2015年10月。

35) 前川純子、倉 文明、村井美代、大西 真：*Legionella*

pneumophila 血清群 1 の PCR によるサブグループリング.
第 89 回日本細菌学会総会. 大阪、2016 年 3 月.

10) 村井美代、前川純子: 黄色ブドウ球菌のファイブロネクチン結合タンパク A 領域の多型と clonal complex の関連. 第 89 回日本細菌学会総会. 大阪、2016 年 3 月.

36) 川端寛樹. *Borrelia miyamotoi* 感染症の現状. 第 23 回ダニと疾患のインターフェイス. 2015 年 6 月. 仙台.

37) 村瀬優介、今内覚、伊東 拓也、高野 愛、川端 寛樹、安藤秀二、村田史郎、大橋 和彦. シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 由来 Salp15 因子によるライム病ボレリア伝播促進機能の解析. 第 158 回日本獣医学会学術集会. 2015 年 9 月. 青森.

38) 川 端 寛 樹 *Borrelia miyamotoi* disease (BMD)-*Borrelia miyamotoi* 感染症の現状-. 第 3 回感染症を考える会 (DEKABEN). 2015 年 12 月. 静岡県

39) 高橋英之: 侵襲性髄膜炎菌感染症の世界及び国内の実態. 第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月

40) 小泉信夫, 泉谷秀昌, Jung-Jung Mu, 岡野祥, 中島千絵, 鈴木定彦, 武藤 (水谷) 麻紀, 大西真. MLVA typing of *Leptospira interrogans* and *L. borgpetersenii* isolated from small mammals in East Asia. 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪, 2016 年 3 月.

41) 富澤莉那, 小泉信夫, 大西真. Global identification of hemolysis-associated genes in *Leptospira* by transposon random mutagenesis. 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪, 2016 年 3 月.

42) 三戸部治郎, 小泉信夫, 志牟田健, Shiha Ritam, Soma Mitra, Dhrubajyoti Nag, Hemanta Koley. 赤痢菌の病原性発現機構にもとづいた, 汎血清型に作用するユニバーサル弱毒ワクチン候補株の開発. 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪, 2016 年 3 月.

43) 小泉信夫, 泉谷秀昌, 慕蓉蓉, 岡野祥, 中島千絵, 鈴木定彦, 谷川力, 小松謙之, 吉松組子, 武藤 (水谷) 麻紀, 大西真. 東アジアの小型哺乳動物から分離されたレプトスピラの反復配列多型解析法による分子型別. 第 53 回レプトスピラシンポジウム, 大阪, 2016 年 3 月.

44) 富澤莉那, 小泉信夫, 佐藤令一, 大西真. トランスポゾンランダム挿入変異法によるレプトスピラの溶血活性関連因子の探索. 第 53 回レプトスピラシンポジウム, 大阪, 2016 年 3 月

45) 志牟田 健, 中山周一, 石原朋子, 大 西 真: 2010-2015 年に京都府-大阪府で分離されたアジスロマイシン耐性淋菌の性状解析, 日本性感染症学会 第 28 回学術大会, 東京, 2015 年 12 月

46) 中山周一, 古林 敬一, 志牟田健, 大 西 真: 新たな

CTRX 耐性 PPNG 株 FC-428 の検出とその解析, 日本性感染症学会 第 28 回学術大会, 東京, 2015 年 12 月

47) 中西典子, 田中忍, 志牟田健, 石原朋子, 中山周一, 大澤佳代, 吉田弘之, 重村克己, 荒川創一, 安田満, 出口隆, 岩本朋忠, 大西真: MLVA によって見出された NG-MAST ST1407 型淋菌の遺伝学的特徴, 日本性感染症学会 第 28 回学術大会, 東京, 2015 年 12 月

48) 川畑拓也, 中山周一, 古林敬一, 亀岡 博, 安本亮二, 志牟田健, 石原朋子, 大西 真: 大阪府内で分離された淋菌株におけるアジスロマイシン感受性率の低下, 日本性感染症学会 第 28 回学術大会, 東京, 2015 年 12 月

49) 村田敬寛, 杉本美紀, 武井剛, 谷田川聡也, 檜垣 (狩野) 博嗣, 井田孔明, 渡辺博, 志牟田健, 大西真: インフルエンザ菌無莢膜株による急性巣状細菌性腎炎の 1 例. 第 47 回小児感染症学会総会・学術集会, 福島, 2015, 10 月

50) 桜井博毅, 深澤光晴, 中山周一, 本郷偉元, 堀越裕歩. 新生児期に PCR 法による診断が有用であった先天性梅毒の 2 例. 日本性感染症学会第 28 回学術大会 2015 年 12 月 東京

51) 石金正裕, 山岸拓也, 井戸田一朗, 加藤博史, 有馬雄三, 高橋琢理, 加納和彦, 砂川富正, 大石和徳, 大西真. 男性と性交する男性における梅毒罹患リスクを評価する質問紙の開発: Pilot Study. 第 64 回日本感染症学会東日本地方会総会学術集会 2015 年 11 月 札幌

52) 泉福英信. 口腔常在菌の特殊性とその口腔における意義、シンポジウム「口腔常在菌とその臨床的意義」、第 18 回日本臨床腸内微生物学会総会・学術集会、東京、2015 年 8 月.

53) 泉福英信. 口腔という特殊環境において繰り広げられる Biofilm/cell-cell communication、シンポジウム 4 Biofilm/cell-cell communication 研究が切り開く農芸化学分野～食品・環境から医薬まで～ 日本農芸化学会 2016、札幌、2016 年 3 月.

54) 尾花 望, 中尾龍馬, 永山恭子, 泉福英信, 野村暢彦. Immunoactive membrane vesicles are actively produced by the Gram-positive clostridial pathogen. WS12 細菌由来メンブランヴェジクル研究、基礎と応用、第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月.

55) 中尾龍馬, 大西 真, 泉福英信. *Porphyromonas gingivalis* の外膜ヴェジクル歯周病粘膜ワクチンの候補抗原としての効果一、WS12 細菌由来メンブランヴェジクル研究、基礎と応用、第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月.

- 56) 中尾龍馬、泉福英信、*Porphyromonas gingivalis* の外膜ヴェジクルは2型免疫応答を誘導する、第57回歯科基礎医学会、新潟、2015年9月。
- 57) 筑丸寛、上田敦久、小森康雄、泉福英信、竹林早苗、松山奈央、金子明寛、池田正一、白井輝、石々坪良明、藤内祝。神奈川県HIV歯科診療ネットワーク構築事業の経緯、第29回日本エイズ学会学術集会、東京、2015年11月。
- 58) 泉福英信、有家 巧、富永 燦、吉村和久。HIV感染者における口腔疾患関連マーカーの検討、第29回日本エイズ学会学術集会、東京、2015年11月。
- 59) 泉福英信、中尾龍馬：歯周病関連菌のLPSとその特徴：第58回春季日本歯周病学会学術大会、東京、2015年5月
- 60) 永山 恭子、尾花 望、中尾 龍馬、泉福 英信、中村幸治、野村 暢彦：ウェルシュ菌のメンブランベシクルを介した宿主免疫誘導。：第30回日本微生物生態学会2015、土浦市、2015年10月
- 61) 中尾龍馬：ミツバチ産品による歯周病バイオフィルム制御方法の開発：山田養蜂場みつばち研究助成基金第7回成果発表会、津山市、岡山、2016年3月
- 62) 吉益由莉、中尾龍馬：プロポリスによる *Porphyromonas gingivalis* の殺菌機序。第89回日本細菌学会総会、大阪、2016年3月
- 63) 永山恭子、尾花 望、中尾龍馬、泉福英信、中村幸治、野村 暢彦：Membrane vesicles of *Clostridium perfringens* induce host immune response：日本農芸化学会2016、札幌、2016年3月