

浅川賞受賞講演

A 群レンサ球菌に対するゼノファジー誘導機構の解析

中川 一路 (京都大学大学院医学研究科微生物感染症学分野)

Mechanistic Insights into Xenophagy Induction Against Group A *Streptococcus*

Ichiro Nakagawa (Department of Microbiology, Kyoto University Graduate School of Medicine)

私は、1992 年に大阪大学歯学部を卒業後、大学院歯学研究科に入学し、歯周病原性細菌の線毛遺伝子の研究、大腸菌の易熱性毒素の研究等をおこなって 1996 年に学位を取得、同大学院を終了した。その後、米国留学を経て、2001 年より A 群レンサ球菌の研究を開始した。様々な菌の「組織や細胞に付着・侵入した病原性細菌は何をしようとしているのだろうか?」「なぜ病原性細菌はヒトという宿主を選んだのだろうか?」この 2 つの疑問点を明らかにしたいというというのが、その当時から現在でも研究の動機となっている。2006 年に東京大学医科学研究所、2009 年に東京医科歯科大学 (現・東京科学大学)、2014 年に京都大学と異動しながら、細胞生物学的な手法、細菌のゲノム解析・進化解析といった手法を用いて病原性細菌の進化と宿主の細胞自律性免疫のメカニズム、新規感染制御法の開発について研究を行っている。

【細胞内の A 群レンサ球菌は オートファジーによって分解される】

病原細菌が宿主細胞内に侵入する性質を持つことは古くから知られており、特に宿主細胞内で増殖が可能な菌は、細胞内寄生性細菌と呼ばれている。ところが、多くの病原性細菌は、侵入頻度の差異はあるものの、細胞内侵入性を示す。しかし、これらの細菌では細胞内で増殖することはないとされており、単純にエンドサイトーシスで侵入した後にリソソームを介した分解によって排除されていると理解されていた。細胞内への細菌の侵入するメカニズムについては、エンドサイトーシスそのものを利用している、カベオラが重要である等の報告が数多くあったものの、細胞侵入性細菌以外はなぜ増殖しないのかについての統一した見解は得られていなかった。

オートファジー (自食作用) は、真核生物に保存された細胞内における自己成分分解システムである。真核生物の細胞は、栄養飢餓状態になると隔離膜と呼ばれる膜構造体が伸長しながら細胞質成分を非特異的に取り囲み、二重膜構造体 (オートファゴソーム) を形成する。オートファゴソームは、リソソームと融合することで内容物をアミノ酸やペプチドに分解し、細胞内アミノ酸レベルの維持をはかるという自己成分の分解とメンテナンスを行う。

A 群レンサ球菌は、ヒトに咽頭炎や扁桃炎といった上気道感染、ときに血液や深部組織に侵入する侵襲性レンサ

球菌感染症の起因菌である。A 群レンサ球菌は上皮細胞内への侵入能を有しているが増殖能はないとされていた。そこで、A 群レンサ球菌を用いて様々な細胞種を用いて A 群レンサ球菌の細胞内での動態について観察を行ったところ、エンドソーム経路を介して侵入したはずの菌は、侵入後に巨大な膜構造体に包まれているという非常に特徴的な像を示した。そこで、この当時導入された共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析を試みたところ、この巨大な膜構造体がオートファゴソームマーカーである LC3 と共局在を示すことから細胞内に侵入した A 群レンサ球菌に対してオートファジーが誘導されていることが明らかになった。同時期に、A 群レンサ球菌の劇症型株である SSI-1 株の全ゲノム配列の解析にも着手し (1)、そこで比較ゲノム解析の手法や遺伝子改変技術も取得した。その結果、溶血毒素である SLO の遺伝子破壊株では、オートファジーに認識されず、細胞内で増殖していた (2, 3)。これらの結果は、宿主細胞内が菌の排除に機能しているという、それまで「自己成分のバルクな分解機構」とされていたオートファジーの概念を大きく変え、細胞自律性免疫機構の 1 つとしてオートファジーの機能を明らかにしたものであった。さらに、細胞内の細菌を選択的に分解していることから、「Xenophagy (ゼノファジー)」、すなわちオートファジーは、細胞質の自己成分だけでなく異種 (Xeno= 異種) である病原体をも選択的に分解できる能力があるという概念が確立された。

【A 群レンサ球菌によるゼノファジー誘導機構の解析】

飢餓誘導時に誘導されるオートファゴソームは直径 0.5 μm の小胞として観察されるが、A 群レンサ球菌感染時には連鎖状の菌を完全に包み込む時には直径 10 μm を超える巨大な膜構造体が形成されるという特徴があった。そのため、宿主細胞内における膜輸送系を制御する機構そのものが、菌の生存戦略を理解する上で必須であると考え、この細胞内小胞輸送系のレギュレーターである Rab GTPase ファミリータンパク質や膜融合に関わる SNARE タンパク質およびその制御因子についての解析を開始した。ヒトで保存されている 66 種類の Rab GTPase とその制御因子については Rab5, Rab7 以外は未解明であった。そこで A 群レンサ球菌感染時のオートファジーの膜制御の全貌を明らかにするため、これらの小胞輸送系に関わる因子の活

性化体発現細胞，不活性化体発現細胞，遺伝子破壊細胞等を用いた網羅的な解析を行った。その結果，A群レンサ球菌感染時のオートファジーの膜制御システムが飢餓誘導オートファジーと根本から異なることを見出し，Rab7A, Rab9A, Rab17, Rab23, Rab30がA群レンサ球菌感染時のオートファゴソーム形成に関与すること(3, 7)，リサイクリングエンドソームとオートファゴソームの融合を制御するSTX6複合体が関与すること(5)，Rab35がその制御因子であるTBC1D10Aを介してオートファジーアダプターであるNDP52のリクルートを促すことで菌を選択的に認識すること(6)，TBC1D9は感染時に起きるCa²⁺ reflexを感知してオートファジー誘導を促すこと(9)，SLOによるオートファゴソーム膜そのものの障害の修復にはRab41が関与して菌の分解が行われること(12)等を明らかとした。また，宿主細胞内でのDanger signalセンサーであるNLRP4がRho-F actinシグナルを制御することでオートファゴソーム形成を促進していること(4)，菌の細胞内侵入過程でアクチンの再構成を引き起こす分子としてATG9Aが関わっていること(13)，エンドソームで取り込まれた菌はRabGAP1Lを介して菌が細胞外に排出せずにゼノファジーによって分解されるように最適化していること(14)も明らかとした。これらの特徴は，他菌の感染では見られない特徴的な動態であることから，本菌による特異的な機構であることが明らかとなった。

【ゼノファジー誘導に関わる因子は？】

研究を開始した当時は，現在ほどA群レンサ球菌のゲノム情報は充実しておらず，米国から発表された2株のみであった。また，A群レンサ球菌による劇症型感染症が問題となり始めた時期も重なったことから，A群レンサ球菌の全ゲノム比較解析(1)や近縁種のゲノム解析を行って，病原性因子だけでなく，細胞侵入性やゼノファジー誘導機構に関わる因子の探索を行った。その結果，前述したSLO以外にも本菌が分泌する毒素NAD-glycohydrolase(Nga)が，一般的なオートファジーを完全にシャットアウトすることで，通常のオートファジーとは異なる小胞輸送系が動員されていることを明らかとした(8)。さらに，「細胞質」に脱出した菌体そのものを認識する分子は何か？という点を明らかにするため，A群レンサ球菌の最表層に存在する群特異的糖鎖であるGroup A carbohydrate: GACに着目した。このGACは，GACオペロンの10種の遺伝子によって形成されるが，このうちラムノース側鎖を形成する遺伝子破壊株の感染ではオートファゴソーム形成が著しく抑制されることを見出した。さらに，この多糖体を認識する宿主因子としてユビキチンリガーゼであるFBXO2を同定した(11)。また，本菌の細胞内動態のキーとなっているSLOそのものもユビキチン化され細胞内での量が制御されていること，それに関わるユビキチン化リガーゼであるSIAH1の同定した(15)。

【感染制御に向けた新規薬剤の開発】

これまでペニシリン系の抗菌剤が奏功すると言われてきたA群レンサ球菌ではあるが，徐々にペニシリン系も含む様々な薬剤耐性化が進行している。そこで，既存の抗菌剤とは異なる新規薬剤の開発を進めている。これまでに報告されているA群レンサ球菌のゲノム情報や，血清中抗体価の情報等を用いてA群レンサ球菌に特異的に進化したと考えられる鉄獲得レセプターであるShr系，糖トランスポーターでMts，前述したSLOやNgaの構造解析を基盤とした低分子化合物や低分子化抗体，大腸菌EVsの応用による感染制御法の確立を模索している(12, 16)。

【謝辞】

大阪大学学部学生時代から研究のご指導を賜りました浜田茂幸先生(当時教授)に深く感謝いたします。浜田先生は，大阪大学を離れた後も東京大学時代，東京医科歯科大学時代に日本大学，大阪大学日本・タイ感染症共同研究センターに在籍しておられ，慣れない東京生活や海外拠点利用等，非常にお世話になりました。また，様々なプロジェクト型研究班の総括者および評価者の先生方，共同研究をご一緒いただいたすべての関係者の皆様，財政的に支援を頂いた各省庁，財団法人の関係者の皆様にお礼を申し上げます。最後に，研究室の立ち上げの当時から共に移動にも付き合っていたいただいたスタッフの皆さま，および家族には苦勞をかけましたが，厚くお礼を申し上げます。

【参考文献】

1. Nakagawa I., et al., *Genome Res.* 13(6A):1042-55. (2003)
2. Nakagawa I., et al., *Science.* 306(5698):1037-40. (2004)
3. Sakurai A., et al., *J Biol Chem.* 285(29):22666-75. (2010)
4. Nozawa T., et al., *Autophagy.* 13(11):1841-1854. (2017)
5. Nozawa T., et al., *Autophagy.* 13(1):57-69. doi: (2017)
6. Minowa-Nozawa A., et al., *EMBO J.* 36(22):3405. (2017)
7. Nakajima K., et al., *Autophagy.* 15(3):466-477. (2019)
8. Toh H., et al., *Autophagy.* 16(2):334-346. (2020)
9. Nozawa T., et al., *Nat Commun.* 11(1):770. (2020)
10. Nozawa T., et al., *mBio.* 12(1):e01974-20. (2021)
11. Yamada A., et al., *EMBO Rep.* 22(11):e52584. (2021)
12. Nozawa T., et al., *Nat Commun.* 14(1):6230. (2023)
13. Iibushi J., et al., *iScience.* 27(5):109623. (2024)
14. Minowa-Nozawa A., et al., *Cell Rep.* 44(5):115599. (2025)
15. Wu M., et al., *Cell Rep.* 44(9):116275. (2025)
16. Kawagishi Y., et al., *Proc Natl Acad Sci U S A.* 122(18):e2416652122. (2025)

SL

Strengthening AMR Control in Japan: Surveillance, Research, and Global Collaboration at the Antimicrobial Resistance Research Center

座長：小松澤 均（広島大学）

Chair: Hitoshi Komatuzawa (Hiroshima University)

SL

Strengthening AMR Control in Japan: Surveillance, Research, and Global Collaboration at the Antimicrobial Resistance Research Center

○菅井 基行（国立健康危機管理研究機構）

○Motoyuki Sugai (Japan Institute for Health Security)

A review of the history of antibiotic development indicates that the discovery of truly novel antibiotics largely came to an end by the 1980s. Thereafter, until the 2000s, efforts focused mainly on improving existing lead compounds through chemical modification. During this period, Japan played a globally significant role in antibiotic development. In parallel with the expanding use of antibiotics, however, antimicrobial-resistant bacteria emerged successively. In the 1960s, MRSA became a considerable concern, followed by VRE in the 1980s, with resistance initially dominated by Gram-positive bacteria. From around 2000 onward, the focus shifted toward Gram-negative bacteria, including extended-spectrum β -lactamase-producing organisms, MDRP, MDRA, and CRE, as resistant pathogens continued to emerge. Against this background, Japan established the Antimicrobial Resistance Research Center as a national hub to integrate surveillance, research, and global collaboration on AMR.

Reflecting on its previous lack of a systematic and comprehensive response to antimicrobial resistance, the World Health Organization (WHO) released the Global Action Plan on Antimicrobial Resistance at the World Health Assembly in 2015 and called on Member States to develop national action plans. In 2016, the United Nations General Assembly adopted a Political Declaration on AMR, clearly demonstrating the international community's commitment to addressing this issue in a coordinated manner.

In the same year, Japan formulated its National Action Plan on Antimicrobial Resistance (2016–2020), aligning domestic efforts with global initiatives to strengthen countermeasures against AMR. The Action Plan is structured around six strategic pillars: public awareness and education; surveillance and monitoring; infection prevention and control; appropriate use of antimicrobials; research and development; and international cooperation.

Based on this Action Plan, the Antimicrobial Resistance Research Center was established at the National Institute of Infectious Diseases in 2017 as a national hub for AMR-related activities. The Center is responsible for basic research on antimicrobial resistance, epidemiological surveillance and trend analysis, integration and evaluation of AMR-related data, dissemination of information domestically and internationally, and the provision of scientific evidence to support policy development.

I assumed the position of Director of the Antimicrobial Resistance Research Center on January 1, 2018. Since then, together with the Center's staff, I have led a wide range of initiatives to strengthen AMR countermeasures. These include close collaboration with local governments to enhance responses to antimicrobial-resistant infections in Japan, as well as strengthening national surveillance systems, particularly national genomic surveillance, to monitor AMR trends. We have also promoted basic and clinical research on resistant pathogens and translated research findings into public health practice.

In addition, we have strengthened the Japan Antimicrobial Resistant Bacterial Bank by systematically collecting strains and distributing them to academic research institutions, the pharmaceutical industry, and hospitals, thereby supporting both domestic and international research infrastructure. At the global level, the Center has served as a WHO Collaborating Centre for AMR Surveillance and Research, contributing to international efforts through AMR surveillance cooperation, particularly in Southeast Asia, and through support for outbreak investigations and responses in overseas settings. Furthermore, the knowledge generated through these activities has been used to provide scientific evidence for national policy formulation and decision-making related to AMR.

In this lecture, I will present an overview of the activities conducted by the Antimicrobial Resistance Research Center over the past eight years and discuss the current status and future challenges of AMR control in Japan and globally, with particular emphasis on the contributions of bacteriology to surveillance, outbreak response, and translational research.

AMED 日米医学協力計画 共催シンポジウム 国際共同研究で切り開く感染症研究の新展開

コンピーナー：明田 幸宏（国立感染症研究所）
松本 壮吉（新潟大学）

New Frontiers in Infectious Disease Research through International Collaboration (co-hosted by Japanese Society for Bacteriology and AMED U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program)

Conveners: Yukihiro Akeda (National Institute of Infectious
Diseases)
Sohkichi Matsumoto (Niigata University)

細菌学研究の新たな展開には、病原体の分子機構に加え、代謝特性の解明、遺伝的多様性の把握、宿主応答の理解、さらに臨床的・疫学的視点を含む多様なアプローチが不可欠である。そのうえで、基礎から集団レベルに至る様々な国際共同研究は、研究の広がりや深度を加速させ、感染症や病原体の本質をより詳細に理解する手がかりを提供するとともに、単なるデータ共有にとどまらず、国を超えた比較解析や知見の統合を可能にし、学術的發展に加えて感染対策や公衆衛生対策にも資する基盤となる。本シンポジウムでは、多様な研究アプローチと国際連携が切り拓く未来像について共有したい。

S1-1

マイコバクテリアにおけるリポグリカンの生理的機能

○森田 康裕 (Dept. Microbiol., Univ. Mass. Amherst)

Physiological functions of lipoglycans in mycobacteria

○Yasu Morita (Dept. Microbiol., Univ. Mass. Amherst)

Lipoglycans are conserved components of actinobacterial cell envelopes. In pathogenic mycobacteria, lipoglycans such as lipomannan (LM) and lipoarabinomannan (LAM) are well known for their roles in host-pathogen interactions. However, their physiological functions within the bacterial cell have remained poorly defined since their description in the 1980s. We recently showed that loss of LAM biosynthesis (Δ mptA) severely impairs growth on rich medium and causes prominent morphological defects. Genetic and phenotypic analyses indicate that LAM is required to maintain cell wall integrity during cell division, likely by promoting peptidoglycan biosynthesis. In ongoing collaborative work, we isolated suppressor mutations that restore wildtype-like growth of Δ mptA on rich medium. One suppressor maps to pstB, encoding a component of the phosphate transport system. Comparative transposon sequencing (Tn-seq) analyses of Δ pstB and the Δ pstB Δ mptA double mutant implicate polyphosphate metabolism in alleviating envelope stress caused by LAM deficiency. Notably, Tn-seq further implies that accumulation of an immature LM intermediate in Δ mptA is essential for cell viability, suggesting an unrecognized functional role for early lipoglycan intermediates. Together, these findings reveal a functional coupling between phosphate homeostasis and lipoglycan biogenesis.

S1-2

Evolutionary trajectory of *Vibrio cholerae* and massive outbreaks of cholera, a climate-driven disease

○Munirul Alam (International Centre for Diarrheal Disease Research, Bangladesh)

Cholera killed millions and continues to be a major public health threat globally. *Vibrio cholerae* O1 causing cholera has two biotypes, classical and El Tor, responsible for the sixth and the ongoing seventh cholera pandemics, respectively. The El Tor initiated the 7th pandemic in Asia by displacing classical from cholera in 1960s. Our molecular epidemiological and environmental surveillance of cholera revealed aquatic reservoir and evolution of the 7th Pandemic El Tor (7PET) which initiated the 7th pandemic in Asia by displacing classical from cholera in 1960s. Recent studies have reflected 15 genetically distinct transmission lineages (T1-T15) for the 7PET in Africa, and three transmission lineages (LAT1- LAT3) in the Latin America. Our decade-long collaborative studies with the National Institutes of Infectious Diseases (NIID), Tokyo, Japan revealed two major circulating 7PET lineages in Bangladesh and India. The two major 7PET lineages, BD-1 and BD-2, were temporally subsiding each other from endemic cholera in Bangladesh. In 2022, a massive cholera epidemic broke out at Dhaka city killing many and affecting millions. The severity of the disease was very high, and the number of daily patient (1400/day) surpassed all past records, although the reason for such sudden upsurge of cholera was unknown. Our genomic studies of the outbreak strains confirmed a subtype of the BD-1, BD-1.2, which displaced the BD-2 from endemic cholera in Dhaka. Comparative genomic study confirmed BD-1.2 to be closely related to the recent African cholera outbreak strains for which the most recent common ancestor was that of endemic cholera in India. Genomic surveillance of the 7PET strains from 2% hospital-based surveillance at icddr,b (1994 -2024) combined with the climate data provide clue that the evolutionary events of *V. cholerae* strains such as, the co-circulation of multiple genetic variants (strain types), shifts in strain dominance, and the re-emergence or introduction of strains together with the climate factors play a significant role in the overall yearly number of cholera cases; and thus, explain large epidemics like the 2022 massive epidemic in Dhaka.

S1-3

Rethinking CD4⁺ T cell-mediated protection against tuberculosis

○酒井 俊祐 (ワクチン研究開発拠点・北大)

○Shunsuke Sakai (IVReD, Hokkaido Univ.)

Mycobacterium tuberculosis (Mtb) infection remains a leading cause of global mortality, underscoring the urgent need for effective vaccines against tuberculosis (TB). However, TB vaccine development has been hindered by the lack of predictive correlates of protection (CoP) against Mtb infection. While protective immunity against TB has long been attributed to IFN- γ -producing CD4⁺ T (Th1) cells, emerging evidence from human studies and experimental models demonstrates that CD4⁺ T cells can mediate control of Mtb infection through IFN- γ -independent mechanisms, but their relative importance is largely unknown. In this session, I will highlight how my work has tried to challenge the long-standing Th1-centric paradigm and discuss its implications for CoP and rational design of TB vaccines.

S1-4

***Vibrio cholerae* Epidemiologic and Genomic Surveillance in Congo: WASHmobile Cholera Outbreak Prevention Program**

○Christine Marie George¹ (¹Dept. International Health, Program of Global Disease Epidemiology and Control, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, ²Center for Tropical Diseases and Global Health, Université Catholique de Bukavu, Bukavu, Democratic Republic of the Congo, ³Div. Infectious Diseases, Dept. Internal Medicine, Univ. Utah Sch. Medicine, ⁴Dept. International Health, Program in Human Nutrition, Johns Hopkins Bloomberg Sch. Public Health, ⁵Bureau de l'Information Sanitaire, Surveillance Epidémiologique et Recherche Scientifique, Division Provinciale de la Santé Sud Kivu, Ministère de la Santé, Bukavu, Democratic Republic of the Congo, ⁶Fac. Medicine, Catholic Univ. Bukavu, Bukavu, Democratic Republic of the Congo, ⁷Univ. New Mexico Health Sciences Center)

Cholera killed millions and continues to be a major public health threat globally. *Vibrio cholerae* O1 causing cholera has two biotypes, classical and El Tor, responsible for the sixth and the ongoing seventh cholera pandemics, respectively. The El Tor initiated the 7th pandemic in Asia by displacing classical from cholera in 1960s. Our molecular epidemiological and environmental surveillance of cholera revealed aquatic reservoir and evolution of the 7th Pandemic El Tor (7PET) which initiated the 7th pandemic in Asia by displacing classical from cholera in 1960s. Recent studies have reflected 15 genetically distinct transmission lineages (T1-T15) for the 7PET in Africa, and three transmission lineages (LAT1- LAT3) in the Latin America. Our decade-long collaborative studies with the National Institutes of Infectious Diseases (NIID), Tokyo, Japan revealed two major circulating 7PET lineages in Bangladesh and India. The two major 7PET lineages, BD-1 and BD-2, were temporally subsiding each other from endemic cholera in Bangladesh. In 2022, a massive cholera epidemic broke out at Dhaka city killing many and affecting millions. The severity of the disease was very high, and the number of daily patient (1400/day) surpassed all past records, although the reason for such sudden upsurge of cholera was unknown. Our genomic studies of the outbreak strains confirmed a subtype of the BD-1, BD-1.2, which displaced the BD-2 from endemic cholera in Dhaka. Comparative genomic study confirmed BD-1.2 to be closely related to the recent African cholera outbreak strains for which the most recent common ancestor was that of endemic cholera in India. Genomic surveillance of the 7PET strains from 2% hospital-based surveillance at icddr,b (1994 -2024) combined with the climate data provide clue that the evolutionary events of *V. cholerae* strains such as, the co-circulation of multiple genetic variants (strain types), shifts in strain dominance, and the re-emergence or introduction of strains together with the climate factors play a significant role in the overall yearly number of cholera cases; and thus, explain large epidemics like the 2022 massive epidemic in Dhaka.

S1-5

病原細菌の代謝研究を起点とした国際共同研究の新展開

○広瀬 雄二郎 (阪大・院歯・微生物)

International Collaborative Research Initiated by Metabolic Studies of *S. pyogenes*

○Yujiro Hirose (Dept. Microbiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., UOsaka)

I conducted my research training at the Nizet Lab at the University of California, San Diego, a world-leading laboratory in the study of the pathogenic mechanisms of *Streptococcus pyogenes*, where I investigated the relationship between bacterial metabolism and virulence using a systems biology approach. Although animal studies had suggested that the metabolic functions of *S. pyogenes* influence pathogenicity at infection sites, a comprehensive integrative framework for investigating the relationship between metabolism and virulence had not been fully established. Just prior to my arrival in the United States, the Nizet Lab initiated a collaboration with the Pálsson Lab, a world authority in bacterial systems biology, allowing me to participate in this joint research program. We applied independent component analysis (ICA) to RNA-seq data to identify co-expressed gene modules (iModulons) in *S. pyogenes*, revealing functional links between metabolism and virulence (*mSystems*, 2023), and subsequently constructed the first genome-scale metabolic model (GEM) for *S. pyogenes* serotype M1 (*mSystems*, 2024). Currently, using GEM and iModulon as core analytical platforms, international collaborations with researchers from multiple countries are advancing. In this presentation, I will outline these collaborative efforts and highlight key scientific insights.

S1-6

Bacterial targeting of host nuclear functions

○Suzana P. Salcedo (Univ. Wisconsin-Madison, Pathobiological Sciences, Sch. Veterinary Medicine)

The nucleus is widely targeted by bacteria for modulating cellular defense mechanisms and enhancing host colonization. We have recently discovered that this is also the case for *Brucella*, a highly pathogenic bacterium that causes one of the most prevalent zoonotic diseases worldwide. One of the key features of its virulence is its ability to extensively replicate intracellularly by injecting bacterial proteins into host cells, thereby promoting infection. We have shown that two new effectors, NyxA and NyxB, modulate the spatial dynamics of host nucleus proteins during infection. Yet their contribution to disease pathology remains unknown. We have now found that NyxA and NyxB are actively imported into the nucleus by specific importins, where they anchor to host chromatin. We will discuss how this enables the Nyx effectors to control the expression of specific host proteins essential for cellular functions, placing the Nyx effectors at the center of the pathology caused by *Brucella* infection.

病原体進化のダイナミクス：ゲノム多様性・宿主適応・薬剤耐性の交差点

コンピーナー：松岡 悠美（阪大学免疫学フロンティア研究センター）
高橋 弘喜（千葉大学真菌センター）

Evolutionary dynamics of pathogens driven by genomic diversity, host adaptation, and drug resistance

Conveners: Yumi Matsuoka (Immunology Frontier Research Center, Osaka University)
Hiroki Takahashi (Medical Mycology Research Center, Chiba University)

感染症を引き起こす病原体は、常に環境要因、宿主の免疫応答、そして治療介入（特に薬剤投与）という多様な選択圧に曝されており、それらに対して進化的に柔軟な適応を遂げている。これらの進化的変化は、突発的なパンデミックの発生から、慢性感染症の長期持続化、さらには多剤耐性菌や難治性真菌の出現に至るまで、臨床現場および社会全体に深刻な影響を与えている。近年のゲノム科学の急速な進展により、病原体の進化の過程や適応機構に関する詳細な情報が得られるようになりつつある。本シンポジウムでは、細菌・真菌の進化の駆動因子について、最新のゲノム解析技術・進化モデル・実験的アプローチをもとに議論を展開する。分子進化、生態系内の水平伝播、宿主応答との相互作用に焦点を当て、感染症制御への知見応用の可能性を探る。

S2-1

病原真菌 *Aspergillus fumigatus* の宿主内適応進化を介した感染戦略

○高橋 弘喜（千葉大・真菌）

Adaptive genome evolution during host infection in pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*

○Hiroki Takahashi (MMRC., Chiba Univ.)

The World Health Organization has raised concerns about the global rise in fungal infections, with pulmonary aspergillosis affecting more than one million people worldwide. *Aspergillus fumigatus* is the major causative agent of this disease. When infecting strains acquire resistance to azole antifungals, treatment becomes extremely challenging. To elucidate how *A. fumigatus* adapts within the host, we analyzed serial clinical isolates collected from individual patients over extended periods.

In the first case, seven isolates were obtained over 16 years. Azole resistance emerged during therapy through point mutation in *cyp51A*, a key gene in the ergosterol biosynthetic pathway. We also detected an approximately 20-kb genomic rearrangement. By generating the draft genome, we identified structural variations of Starship elements—large transposable elements.

The second case included 28 isolates collected over eight years. Azole resistance arose through mutations in *hmg1*, another gene involved in the ergosterol pathway. While early and late isolates showed similar growth characteristics in vitro, a murine infection model revealed marked differences in host-related responses in vivo.

Together, these findings demonstrate that *A. fumigatus* undergoes dynamic genomic alterations, enabling adaptation and persistence under host-induced stress within the lung.

S2-2

Rapid and Integrated Bacterial Evolution Analysis が拓く *Klebsiella pneumoniae* の臨床リスク評価

○佐藤 豊孝^{1,2,3}（¹北海道大・院獣医学・獣医衛生学、²北海道大・院・国際感染症学院、³北海道大・One Healthリサーチセンター）

Rapid and Integrated Bacterial Evolution Analysis unveils clinical risk of *Klebsiella pneumoniae*

○Toyotaka Sato^{1,2,3}（¹Lab. Vet. Hygiene., Sch. Vet. Med., Hokkaido Univ., ²Grad. Sch. Infect. Dis., Hokkaido Univ., ³One Health Research Center, Hokkaido Univ.）

Pathogen evolution during infection links genomic diversity, host adaptation, and antimicrobial resistance (AMR), yet real-time identification of causal mutations remains challenging. We developed Rapid and Integrated Bacterial Evolution Analysis (RIBE) to observe short-term evolution of non-hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*. RIBE combines hypermutable-strain serial passaging under human serum or key antibiotics, whole-genome sequencing, TraDIS, and *in vivo* validation. Using a *mutS*-deleted ST45 clinical isolate, we boosted mutation frequency ~800-fold and captured rapid acquisition of serum resistance and AMR. Integrating mutations with TraDIS fitness signatures prioritized serum- and drug-adaptation genes and highlighted determinants such as *ramA* and metabolic regulators. In immunosuppressed mouse pneumonia models, hypermutable and evolved clones showed enhanced lung-to-blood invasion and reduced ciprofloxacin efficacy, indicating that mutation-accelerated adaptation can worsen outcomes. RIBE applied to an international high-risk ST258 background similarly predicted rapid serum-resistance evolution and increased virulence. These findings demonstrate that RIBE links within-host genomic variation to site-specific host pressures and drug exposure, enabling recognition of clinically high-risk evolutionary trajectories in *K. pneumoniae* and potentially other pathogens.

S2-3

ワンヘルスの交差点に立つプラスミド：薬剤耐性を追跡するためのゲノム解析基盤

○鈴木 仁人（国立健康危機管理研究機構国立感染症研究所薬剤耐性研究センター）

Plasmids at the Crossroads of One Health: A Genomic Framework for Tracking Antimicrobial Resistance

○Masato Suzuki (AMR Res. Ctr., Nat. Inst. Infect. Dis., JIHS)

Bacterial infections caused by AMR pathogens, particularly ESKAPEE pathogens (*E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp., and *E. coli*), have become a serious global public health threat. AMR bacteria are rapidly spreading not only within human communities but also throughout natural environments. Therefore, a One Health approach based on international collaboration is essential to combat AMR. However, genomic research based mainly on bacterial isolation and identification has inherent limitations in capturing the complex dynamics of AMR dissemination. Clinically important AMR genes are frequently transferred among bacterial communities via mobile genetic elements, particularly plasmids. Although plasmid identification and typing methods based on replicon sequences have been established for plasmids in Enterobacterales as well as in some Gram-positive bacteria, comparable frameworks remain underdeveloped for plasmids in *Pseudomonas* spp., including *P. aeruginosa*, and many other pathogenic and environmental bacteria due to limited information. Here, we constructed a novel plasmid replicon sequence library covering more than 60% of known bacterial plasmids, including those harbored by ESKAPEE pathogens, and conducted comprehensive single-cell metagenomic analyses focusing on AMR-associated plasmids in wastewater samples worldwide.

S2-4

疾患におけるブドウ球菌クオラムセンシング：制御から病態形成

○松岡 悠美（阪大・免フロ・皮膚アレルギー生体防御）

Staphylococcal Quorum Sensing in Disease: From Regulation to Pathogenesis

○Yumi Matsuoka (Cutaneous Allergy & Host Defense, IFRcC, U of Osaka)

アトピー性皮膚炎（Atopic dermatitis, AD）では、*Staphylococcus aureus* 増加を伴う皮膚細菌叢ディスバイオーシスが古くから知られる一方、病原性が炎症の結果か原因かという因果が未解決であった。近年、次世代シーケンサーにより AD と皮膚細菌叢の関係が再注目され、乳幼児期 AD（アレルギーマーチの起点）の予防は喫緊の課題となっている。我々は、*S. aureus* の Agr クオラムセンシング（Quorum sensing, QS）が皮膚での毒素発現を介して病態を駆動することを示し、乳児皮膚の経時分離株の全ゲノム解析から、AD 発症児では Agr-QS 機能が保持される一方、健常児では Agr 領域に機能喪失変異が生じ菌が排除されることを見出した。これは、宿主環境における選択圧が、病原性発現の ON/OFF を分ける進化的分岐となりうることを示唆する。さらに新生児集中治療室アウトブレイク株の解析により、ゲノム配列がほぼ同一でも Agr-QS 発現様式が異なる“適応型”が院内環境で成立しうること、そしてその基盤として全ゲノムメチル化を含むエピゲノム変化が関与する可能性を示した。すなわち、病原体は必ずしも新たな変異を獲得して進化するだけではない。ゲノムがほぼ同一でも、メチル化などのエピゲノム状態の変化を介して発現様式が遷移し、その結果として適応的な表現型が成立する。本講演では、皮膚と全身という異なる環境圧の下で QS を軸に病原体がその機能を可塑的に変化させる「病原体進化のダイナミクス」を、宿主・微生物生態の観点と治療ターゲットとしての可能性も含めて議論する。

S3

モデル細菌研究が切り拓く微生物学の未来
～細菌の増殖・生存戦略機構の最前線～

コンピーナー：塩見 大輔（立教大学）
柿澤 茂行（産業技術総合研究所）

Model Bacteria at the Forefront of Microbiology—The Cutting Edge of Bacterial Growth and Survival Mechanisms—

Conveners: Daisuke Shiomi (Rikkyo University)
Shigeyuki Kakizawa (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology)

大腸菌や枯草菌などの従来のモデル細菌は、細胞増殖、ゲノム複製と維持、遺伝子の発現制御、抗菌薬を含むストレス応答といった多様な生命現象の基盤的理解に多大な貢献を果たしてきた。これらの研究は、遺伝学、生化学、細胞生物学、構造生物学など各分野の進展と相乗的に発展し、今後も微生物学の深化と新たな展開を牽引する重要な柱であり続けると考えられる。一方、近年は、例えば、マイコプラズマ由来の新たなモデル細菌の確立が進み、従来の知見を補完するとともに、合成生物学など新たな研究領域の展開を加速させている。本シンポジウムでは、従来および新規モデル細菌を基盤とした最先端の細菌増殖や生存戦略に関する研究成果を紹介し、これらのモデル細菌研究が切り拓く微生物学の未来像を展望する。

S3-1

モデル細菌大腸菌における遺伝子の必須性・非必須性の解析

○塩見 大輔（立教大・理・生命理）

Analysis of gene Essentiality and non-essentiality in the model bacterium *Escherichia coli*

○Daisuke Shiomi (Dept. Life Sci., Coll. Sci., Rikkyo Univ.)

Of the approximately 4,300 genes in *Escherichia coli*, about 300 are essential and 4,000 are non-essential, depending on whether gene deletion is tolerated under given growth conditions. Even in the model organism *E. coli*, the set of essential genes varies across environments. For instance, the actin homolog MreB required for cell elongation is essential in nutrient-rich media but becomes dispensable in nutrient-poor conditions, whereas the tubulin homolog FtsZ required for cell division remains essential. When *E. coli* is treated with cell-wall synthesis inhibitors such as penicillin, most cells lyse, but under high-osmolarity conditions some survive and proliferate without a cell wall. Bacteria in this state are referred to as L-forms. These L-forms divide independently of FtsZ and therefore alter the essential gene set. L-forms can regenerate their cell wall when inhibitors are removed, and their isolation from infected patients suggests relevance to infectious diseases and antibiotic tolerance. To clarify gene essentiality and function in L-forms, we are employing the *E. coli* gene knockout collection (Keio library) and repression systems based on dCas9 and dCas13. In this symposium, we will present part of our ongoing analyses.

S3-2

1 細胞観察により明らかになった大腸菌の予期せぬ挙動

○加藤 節 (広島大院・統合生命)

Unexpected cellular behavior in *Escherichia coli* revealed by single-cell observation

○Setsu Kato (Grad. Sch. Integr. Sci. Life, Hiroshima Univ.)

Under nutrient-rich conditions, *Escherichia coli* proliferates exponentially, while nutrient depletion drives the population into stationary phase and ultimately to death. This description, which is found in microbiology textbooks, is valid when considered at the population level. Yet an open question remains: what actually occurs at the single-cell level? It is well known that phenotypic heterogeneity exists among genetically identical cells. By observing cellular behavior at the single-cell level, we found that a very small fraction of cells spontaneously cease growth during balanced exponential conditions, and similarly rare cells exhibit abnormal morphologies. Likewise, during the death phase, cells do not die simultaneously. Non-synchronous cell death is also observed when antibiotics or toxic compounds are applied. In this presentation, I will introduce previously unrecognized cellular behaviors that we have discovered through single-cell observation of *E. coli*. These include the presence of rare cells that display abnormal morphologies, and a butanol toxicity mechanism that became apparent only through single-cell observation. Such observations demonstrate how single-cell approaches provide a powerful framework for understanding survival, adaptation, and death in bacterial populations.

S3-3

カウロバクターにおける DciA 依存的ヘリカーゼ装着機構の解析から紐解く染色体複製原理の保存性と多様性

○尾崎 省吾, 佐藤 翔平, 渡邊 桂都, 井谷 直登, 王 登宇, 清原 菜々杜, 片山 勉 (九州大・薬・分子生物)

Deciphering fundamentals via analysis of DciA-mediated helicase loading in *Caulobacter crescentus*

○Shogo Ozaki, Shohei Sato, Keito Watanabe, Naoto Itani, Dengyu Wang, Nanato Kiyohara, Tsutomu Katayama (Dept. Mol. Biol., Grad. Sch. Pharm. Sci., Kyushu Univ.)

In growing bacteria, genetic information is duplicated through semi-conservative DNA replication. Template single-strands are generated by a ring-shaped replicative helicase, which is loaded onto chromosomal DNA to unwind the duplex. In *E. coli*, loading of the DnaB helicase requires conformational activation mediated by the AAA+ ATPase loader DnaC. Despite the high conservation of DnaB homologs, most species lack DnaC homologs and instead employ DciA, a distinct helicase loader belonging to the domain of unknown function (DUF) 721-containing protein family. In the model alphaproteobacterium *Caulobacter crescentus*, DciA is essential for chromosome replication and directly interacts with its cognate DnaB helicase. However, the molecular basis of DnaB-DciA interaction and helicase loading onto single-stranded DNA has remained unclear. Here, we demonstrate that the C-terminal extension of DUF721 provides a specific binding site for DnaB, while DUF721 and its N-terminal extension exhibit single-stranded DNA binding activity. Both features are indispensable for efficient helicase loading in a reconstituted system and for the viability of *C. crescentus* cells. These findings reveal the mechanistic basis of DciA-mediated helicase loading, providing important insight into how two structurally distinct loaders, DnaC and DciA, converge on the same essential function.

S3-4

Quantal secretion を介した細菌の物質輸送

○豊福 雅典^{1,2,3} (¹筑波大・生命環境系, ²筑波大・高等研, ³筑波大・MiCS)

Bacterial cargo delivery via quantal secretion

○Masanori Toyofuku^{1,2,3} (¹Inst. Lif. Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ²TIAR, Univ. Tsukuba, ³MiCS, Univ. Tsukuba)

Many bacteria release membrane vesicles (MVs) with diverse biological functions. However, the mechanisms underlying their formation, as well as the full range of their functions, have remained largely unresolved. Because MV-encapsulated biomolecules remain concentrated after release, this phenomenon is referred to as quantal secretion. In Gram-negative bacteria, MV biogenesis has generally been attributed to blebbing of the outer membrane. In contrast, we have demonstrated a distinct MV formation process in *Pseudomonas aeruginosa*, in which a subset of cells lyse and the fragmented membranes generate MVs, which we termed explosive cell lysis (ECL). Further analysis revealed that ECL is triggered by endolysins. We investigated whether a similar mechanism contributes to MV formation in a Gram-positive bacteria *Bacillus subtilis*. Our analyses showed that endolysins also participate in MV biogenesis in *B. subtilis*, which process was named bubbling cell death. More recently, endolysin-dependent MV formation has also been observed in a model mycolic acid-containing bacterium, *Corynebacterium glutamicum*. Together, these findings demonstrate that organisms with distinct cellular architectures share a common factor in MV biogenesis associated with cell death. We are also currently analyzing how these MVs are received in bacteria.

S3-5

腸炎ビブリオにおける感染成立のための転写制御戦略

○石井 英治 (阪大・微研・細菌感染)

Transcriptional control for infection establishment in *Vibrio parahaemolyticus*

○Eiji Ishii (Dept. Bact. Infect., RIMD, UOsaka)

三型分泌装置(T3SS)は、グラム陰性病原細菌が宿主細胞にエフェクタータンパク質を直接注入する分子注射器様の装置であり、細菌の病原性発現において中心的な役割を果たす。T3SSの構造や機能、その発現制御機構は多くの病原細菌で研究されており、細菌病原性の普遍的な理解に貢献してきた。腸炎ビブリオ(*Vibrio parahaemolyticus*)もT3SSを保有する代表的なモデル病原細菌の一つであり、海洋環境に生息し、汚染された魚介類の摂取により胃腸炎や下痢を引き起こす主要な食中毒起因菌である。

本菌が保有するT3SS2は腸管病原性の中心を担い、その遺伝子群は第二染色体上の約80 kbの病原性遺伝子アイランドにコードされている。T3SS2の発現は転写制御因子VtrBによって統括されており、近年の我々の研究により、VtrBにおける自己活性化機構が従来知られていない独自の転写制御メカニズムによって成立することが明らかとなった。この自己活性化機構は堅牢な発現制御を実現し、環境変動下においても確実に病原因子を発現させる巧妙な戦略として機能していると考えられる。本講演では、VtrBを中心としたT3SS2の転写制御ネットワークを紹介し、腸炎ビブリオが示す病原性発現戦略の分子基盤について議論する。モデル病原細菌としての腸炎ビブリオ研究から、細菌の生存戦略における転写制御の普遍的な理解へと繋げたい。

S3-6**マイコプラズマ：最小ゲノムを持つモデル細菌**

○柿澤 茂行（産総研・モレキュラーバイオ）

Mycoplasma: a model bacterium with a minimal genome

○Shigeyuki Kakizawa (MolBis, AIST)

Mycoplasmas are pathogenic bacteria that infect humans and animals. Because most mycoplasmas depend on their hosts for essential metabolites, they have lost many biosynthetic pathways, including those for amino acids, nucleotides, lipids, the TCA cycle, and electron transport systems. As a result of this reductive evolution, their genomes have become extremely small. Despite their reduced genomes, many Mycoplasma species remain culturable and thus became widely used in early genomics and molecular biology research. Consequently, they have been considered as one of model organisms with small genomes. Recently, a mycoplasma strain with a fully chemically synthesized genome was constructed, and a minimal cell containing only genes essential for growth was also constructed. The minimal cell has been widely used as a model organism with the smallest genome. In this symposium, I will introduce these historical milestones and highlight our recent molecular studies using the minimal cell.

S4**進化・環境変化により最適化される生体膜**

コンピーナー：塩田 拓也（宮崎大学）
田代 陽介（静岡大学）

Membrane Optimization: Evolutionary and Environmental Adaptations across Domains

Conveners: Takuya Shiota (Miyazaki University)
Yosuke Tashiro (Shizuoka University)

生命を定義するのは自己と非自己を分ける境界線である膜である。この膜は環境の変化に応じて、形状、組成を変化させながら維持に努める。さらに、その変化が最適であり固定化された場合それは進化となる。本セッションでは、進化として共通祖先 LUCA から現在の細菌・古細菌さらには細菌共生によって生じたオルガネラまで視野を広げ、その膜組成の進化、膜の生合成に関わる分子システムの進化を議論する。また、環境適応のための膜の変化として、細菌の膜小胞の放出、形態変化といった変化についても議論する。

S4-1**変形メバロン酸経路による古細菌膜脂質の生合成**

○邊見 久（名大院・生命農）

Biosynthesis of archaeal membrane lipids through modified mevalonate pathways

○Hisashi Hemmi (Grad. Sch. Bioagr. Sci., Nagoya Univ.)

The structures of archaeal membrane lipids are unique and distinct from those of bacterial and eukaryotic membrane lipids. While bacterial/eukaryotic glycerophospholipids have fatty acid chains, archaeal lipids have isoprenoid hydrocarbon chains connected to the glycerol moiety. Both bacteria and eukaryotes also possess isoprenoid lipids such as sterols and hopanoids. Interestingly, however, the upstream biosynthetic routes of the isoprenoid lipids differ between archaea and bacteria, suggesting that they have evolved independently. Archaea utilize the mevalonate pathway to produce the biosynthetic precursors for isoprenoid, whereas most bacteria use the methylerythritol phosphate pathway. The presence of modified mevalonate pathways, which involve intermediates partially different from those of the canonical eukaryotic mevalonate pathway, particularly in archaea is well known. We recently discovered a new modified mevalonate pathway, which was designated as the archaeal mevalonate pathway because of its widespread conservation in the domain Archaea. The characterization of the novel enzymes involved in the archaeal mevalonate pathway enabled us to speculate how the mevalonate pathways have evolved.

S4-2

多環式テルペノイドがもたらす細胞膜の多様化

○星野 洋輔^{1,2} (1名大・環境, 2名大・高等研究院)

Membrane diversification induced by polycyclic terpenoids

○Yosuke Hoshino^{1,2} (1Sch. Environ. Studies, Nagoya Univ., 2Inst. Adv. Res., Nagoya Univ.)

Terpenoids, also known as isoprenoids, are an ancient group of biomolecules that emerged likely before the era of Last Universal Common Ancestor. Terpenoids are the largest class of natural compounds, encompassing ~100,000 compounds, and play pivotal roles mainly in membrane-associated cellular processes, including respiration, phototrophy, signal transduction and membrane organization, in all three domains of life – Bacteria, Archaea and Eukarya. In particular, polycyclic terpenoids, such as hopanoids and steroids, are important membrane modulators and are presumably indispensable for the establishment of the eukaryotic-specific dynamic membrane. However, the evolutionary origin of polycyclic terpenoid remain enigmatic. Recent phylogenomic analyses of hopanoid/steroid synthases suggest the presence of uncharacterized proteins that are potentially ancestral to hopanoid and steroid synthases. Further, these unknown enzymes possibly utilize molecular oxygen, implying the rise of atmospheric oxygen on Earth well before the evolution of eukaryotes and the majority of bacteria that broadly rely on steroids and hopanoids. In this talk, the stepwise molecular evolution of polycyclic terpenoid synthase is addressed to assess the dependency of synthase on oxygen and the potential link between the environmental change and membrane diversification.

S4-3

グラム陰性菌からミトコンドリアへの進化に適応した膜タンパク質輸送システム

○塩田 拓也¹, 塩見 大輔², 丸野 友希², 阿蒜 侑佳², シェン シンファイ³ (1宮大・フロンティア, 2立教大・理・生命理学, 3宮大・農工, 4モナッシュ大・物質工学)

Membrane protein assembly system adapted to the evolution from bacteria to mitochondria

○Takuya Shiota¹, Daisuke Shiomi², Yuki Maruno², Yuka Abiru², Hsin Hui Shen³ (1Front. Sci. Res. Cent., Univ. Miyazaki, 2Dept. Sci, Rikkyo Univ., 3Int. Grad. Sch. Agri. and Engin., Univ. Miyazaki, 4Dept. Materi. Sci. and Engin., Monash Univ.)

The mitochondrion is an organelle acquired through endosymbiosis with a Gram-negative bacterium. Both feature two biological membranes (inner and outer), but the cell wall is permanently lost in mitochondria. A common feature is the presence of β -barrel outer membrane proteins (OMPs) in the outer membrane. The correct insertion of OMPs into the membrane is mediated by the highly conserved Omp85 superfamily molecular machinery, found from Gram-negative bacteria to humans. The transported OMPs contain a highly conserved recognition sequence called the β -signal. Despite the conservation of the Omp85 superfamily, the supporting subunits are not conserved, and the reason for this divergence is not well understood. Our research analyzes OMP biogenesis using *Escherichia coli* (Gram-negative bacterium) and *Saccharomyces cerevisiae* (mitochondria). We examined the L-form of *E. coli*, a state where cell wall synthesis is inhibited, allowing for high cellular flexibility similar to mitochondria. In the L-form, the Omp85 superfamily supporting subunit BamC, normally non-essential in rod-shaped cells, became highly required for growth. Crucially, the topology of this BamC subunit is unique in its commonality with the mitochondrial essential supporting subunit, Sam35. We are investigating the hypothesis that this shared feature is due to convergent evolution.

S4-4

バクテリアの脂質生物学：生体膜の脂肪酸組成の調節

○小川 拓哉 (京大・化研)

Lipid biology in bacteria: Modulation of the fatty acid compositions of biological membranes

○Takuya Ogawa (Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.)

The major component of bacterial biological membranes is glycerophospholipids. The fatty acyl groups that are bound to the *sn*-1 and *sn*-2 positions of the lipid molecules constitute the hydrophobic part of the membranes and serve as the wall that separates the inside of the cell from the outside. The membranes comprise various acyl groups that are diverse in the carbon chain-length, number and position of a C=C bond, methyl-branching, and ring formation. As this heterogeneity partially determines the physicochemical properties of the membranes, *e.g.* fluidity and thickness, and membrane protein folding and activity, bacteria have developed the genetic and metabolic systems that control the fatty acid compositions and adapt them to the environmental changes. In this talk, the introduction of a specific functionality into the acyl chain of glycerophospholipids and its relevance to bacterial cell physiology will be presented with a particular emphasis on the roles of lysophosphatidic acid acyltransferases, which acylate the *sn*-2 position during *de novo* glycerophospholipid biosynthesis.

S4-5

可動領域由来因子による細菌膜ダイナミクスの制御

○田代 陽介 (静岡大・工・化学バイオ)

A mobile region derived factor that controls bacterial membrane dynamics

○Yosuke Tashiro (Div. Appl. Chem. Biochem. Eng., Col. Eng., Shizuoka Univ.)

Biological membranes define the boundaries of living systems, and their inherent plasticity underlies both rapid adaptation to environmental challenges and long-term evolutionary diversification. Bacteria employ a wide range of membrane-dynamic processes, including membrane vesicle (MV) release to coordinate stress responses and intercellular communication. We revealed that a specific gene within the genome of the enterobacterial species *Buttiauxella agrestis* markedly enhances MV production, and its protein product has been designated the Enterobacterial membrane vesicle-promoting factor, EmvA. This presentation highlights previously unrecognized membrane-dynamic phenomena driven by EmvA. The gene resides in a mobile genomic region, implying acquisition through horizontal evolutionary processes. Its expression triggers highly polarized MV release from a defined site on the cell surface, followed by the fusion of released vesicles to form unusually large, composite vesicular structures. These observations suggest that factors originating from mobile genomic regions can modulate membrane dynamics in ways that expand bacterial membrane plasticity and adaptive capacity. Such findings provide a conceptual framework for re-examining the continuity between membrane plasticity, mobile genetic elements, and evolutionary innovation through the lens of cell-level membrane behavior.

S5

アジア諸国を中心とした諸国における薬剤耐性菌の現状と対策

コンビーナー：鹿山 鎮男（国立健康危機管理研究機構）
松尾 美樹（広島大学）

Current status and countermeasures for antibiotic-resistant bacteria in Asian countries

Conveners: Shizuo Kayama (Japan Institute for Health Security)
Miki Kawada-Matsuo (Hiroshima University)

S5-2

Profile of *Escherichia coli* producing Extended-spectrum beta lactamase (ESBL-Ec) from clinical specimen: Surveillance of Indonesian Network on Antimicrobial Resistance 2022-2024

○Eustachius Hagni Wardoyo^{1,2} (¹Microbiology Dept., Fac. Medicine and Health Sciences, Univ. Mataram, ²Surveillance of Indonesian Network on Antimicrobial Resistance (SINAR), Indoensian Association of Clinical Microbiologist (PAMKI))

Background: *Escherichia coli* producing Extended-spectrum beta lactamase (ESBL-Ec) is one of the bacterial pathogen priority listed as Critical Group by WHO. The profile of ESBL-Ec was recorded by Surveillance of Indonesian Network on Antimicrobial Resistance (SINAR) PAMKI was described between 2022-2024.

Methods: National-wide surveillance of Antimicrobial Resistance was done by SINAR PAMKI working group was extracted. The cumulative data was input manually from different culture machines. All kind of clinical specimens contain *E. coli* was included and summarize as ESBL-Ec profile.

Results: A total of 39,116 *E. coli* isolates from 2022-2024 from clinical isolates, with 18,372 (46.96%) was producing ESBL. The highest percentage of ESBL-Ec was lower respiratory specimen 58.88% (5,605/9,519), followed by pleura 54.68% (140/256), blood 49.83% (3254/6529), urine 41.26% (9,337/22,626), ascites 29.17% (28/96) and cerebrospinal fluid 9.52% (8/84). The hospital and the prefecture involved were 70; 15 (2023), 75; 15 (2024) and 139; 24 (2025). Antimicrobial susceptibility that is valued more than 70%: doripenem (94.67%), amikacin (94.55%), ertapenem (93.37%) tigecycline (92.08%), meropenem (91.76%), nitrofurantoin (88%), imipenem (85.56%), fosfomycin (81.59), cefoperazone sulbactam (80.17%), piperacillin tazobactam (78.16%), ceftazidime/avibactam (75.13%), chloramphenicol (73.66%) and colistin (71.55%).

Conclusion: Prevalence of ESBL-Ec 2022-2024 was 46.96%, with lower respiratory specimen was the highest and cerebrospinal fluid as the lowest. The manual input is exhausted and needed for automatic input in the future.

S5-1

Antimicrobial Resistance (AMR) in Malaysia: Current Situation and One Health Evidence, with Insights from the Tricycle Project

○Zuraifa Asrah Mohamad¹, SK Bakon¹, M Hassan¹, R Hashim¹, H Khalifa², W Hayashi², L Yu², S Kayama², M Sugai² (¹Environmental Health Research Centre, Inst. Medical Research, National Inst. Health, Ministry of Malasia, ²Japan Institute for Health Security)

Antimicrobial Resistance (AMR) from hospitals, agriculture, and industry circulates in the environment, creating resistance reservoirs. One Health research helps identify AMR sources and link clinical and environmental findings. Studies on river water, wastewater, and drinking water further support source identification to guide public health actions. This tricycle project aims to provide a baseline data of extended-spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* (ESBL-Ec) and carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE) in across humans, animal, and environment in urban areas in a selected city in the Northern Region of Malaysia. The isolate-based metrics of ESBL-Ec and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) from blood samples of patients ranged from 14.29% to 48%, and 50% to 100%. Pregnant mothers (n=100) representing the community recorded 26% of ESBL Ec and 15% of CRE from their rectal swab samples. Up to 100% of the chicken purchased from the market (n=240) harbours ESBL-Ec and CRE in their caecum. ESBL Ec was detected from various sources of wastewater namely wet market run-off (3.25% to 50%), community sewage mixed with hospital effluent (1.32% to 24.69%), and community sewage with health clinic (0.24% to 20%). The upstream river recorded no ESBL- Ec, while the downstream river recorded 2.24% to 31.11%. Culturable CRE was obtained in all environmental samples. Data from the WHO Tricycle protocol on AMR provide evidence to inform and integrate with the Malaysia's future national wastewater and environmental surveillance (WES) program, and help strengthen the antibiotics stewardship to control AMR transmission.

S5-3

Comprehensive Antimicrobial Resistance Trends Across Healthcare Settings in South Korea

○Eun-Jeong Yoon (Div. Antimicrobial Resistance, Center for Infectious Disease Research, Korea, National Inst. Health)

Understanding long-term interactions between antimicrobial use (AMU) and antimicrobial resistance (AMR) is essential for informing national policies on antimicrobial resistance. South Korea operates multiple national surveillance platforms that enable an integrated assessment of resistance patterns across healthcare settings. We analyzed 10-year nationwide AMU and AMR data (2014–2023) using datasets generated through the national surveillance systems, KARMS and Kor-GLASS, and the HIRA claims database. Distinct AMR patterns emerged across healthcare levels. Long-term care hospitals consistently showed the highest and most rapidly increasing resistance across multiple drug classes, while tertiary hospitals maintained comparatively lower rates with gradual upward shifts in several agents. Among major pathogens, Gram-negative organisms demonstrated persistently high resistance or increasing trajectories, particularly after 2020. AMU patterns also shifted markedly: broad-spectrum cephalosporins and β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations rebounded post-pandemic, whereas penicillin use declined steadily. These AMU shifts paralleled rising resistance in several pathogen–drug combinations, suggesting renewed selective pressure. Nationally integrated AMU–AMR surveillance reveals divergent resistance trajectories by healthcare setting and highlights pandemic-related perturbations in antimicrobial consumption. Sustained, setting-specific stewardship efforts are required to mitigate further resistance escalation

S5-4

Unraveling AMR landscape in Thailand: Linking mechanistic insights, environmental drivers, and sustainable solution

○Nisanart Charoenlap^{1,2}, Suleeporn Poomchuchit¹, Parinya Tipanyo¹, Pitthawat Grittanaanun², Yaiprae Chatree², Paiboon Vattanaviboon^{1,2}, Skorn Mongkolsuk^{1,2} (¹Lab. Biotechnology, Chulabhorn Research Inst., ²Applied Biological Sciences: Environmental Health, Chulabhorn Grad. Inst.)

Antimicrobial resistance (AMR) is the greatest global threats to human health and known as silent pandemic. Although Thailand promptly adopt the WHO guidelines, the country still faces severe impacts from the AMR crisis. According to Thailand's national strategic plan, AMR surveillance is a core component and data have been collected since 2017, showing a significant increase in resistance to meropenem among CRE, CRAB, and CRPA, while the prevalence of VRE is also rising between 2017 and 2024. In contrast, oxacillin resistance in MRSA has decreased. The national strategic plan also focuses on antimicrobial consumption, leading to intensive implementation of AMR stewardship. However, AMR cases have not declined. Another dimension; AMR in the environment, has often been overlooked, as most efforts have focused on clinical settings. Recently, AMR and its drivers in the environments have gained attention, highlighted in the 2nd edition of the Global Action Plan on AMR (2026–2035). In line with this, we investigated AMR drivers and its resistance mechanisms. The results showed that both antimicrobials and pesticides can act as AMR drivers. Antibiotic pressure induces multiple mutations in bacterial genomes, affecting resistance genes and regulators, resulting in increased resistance. Building on this acknowledge, we applied nanotechnology to eliminate antibiotic residues in pharmaceutical wastewater in order to mitigate environmental AMR. However, to address this problem sustainably, coordinated multisectoral action is essential, involving not only academic institutions but also government and private sectors.

S5-5

Epidemiological Trends and National Countermeasures for Antimicrobial-Resistant Bacteria in Vietnam

○Nguyen Tra Mi Le¹, Quang Minh Ho² (¹Univ. Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, ²Hospital for Tropical Diseases, Ho Chi Minh City)

Antimicrobial resistance (AMR) has become a critical public-health challenge across Asia, where high population density, intensive agriculture, and widespread antibiotic availability accelerate the emergence of resistant pathogens. Vietnam reflects this regional trend, with increasing resistance observed in key organisms such as *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Key drivers include inappropriate antibiotic use clinically, self-medication enabled by over-the-counter access, and antimicrobial overuse in livestock and aquaculture.

Vietnam has recently enhanced its AMR response through a national action plan, expanded surveillance, stronger infection-control measures, and increased antimicrobial stewardship. However, major gaps persist, including limited diagnostics, uneven surveillance, weak agricultural regulation, and low public awareness, which continue to hinder effective AMR control.

Addressing AMR in Vietnam requires sustained One-Health collaboration, investment in laboratories, stricter prescription enforcement, optimization of antimicrobial use across sectors, and strengthened education for healthcare workers and communities.

This presentation will provide an updated overview of Vietnam's AMR situation, highlight ongoing countermeasures, and discuss future directions for effective AMR control in the region.

S6

細菌リボソーム研究の最前線：構造・翻訳制御・生命機能

コンピーナー：吉田 秀司（大阪医科薬科大学）
三好 智博（大分大学グローバル感染症研究センター）

Frontiers in Bacterial Ribosome Research: Structure, Translational Control, and Biological Functions

Conveners: Hideji Yoshida (Osaka Medical and Pharmaceutical University)
Tomohiro Miyoshi (Research Center for GLOBAL and LOCAL Infectious Diseases, Oita University)

細菌リボソームは、タンパク質合成の中核を担う複合体であり、その構造や機能は、翻訳制御や薬剤耐性のみならず、生命現象の多様な側面と深く関わっている。近年、構造生物学、プロテオミクス、RNA 修飾解析といった先端技術の進展により、リボソームの動態や制御機構の理解が大きく前進している。本セッションでは、リボソームの翻訳機構や制御の新展開に加え、生理機能との連関など、細菌リボソーム研究の多面的なアプローチを幅広く取り上げ、細菌リボソームの役割と可能性を再考し、今後の研究の方向性を議論することを目的とする。

S6-1

翻訳研究のためのショットガンプロテオミクス技術

○丹羽 達也（科学大・研究院・細胞センター）

Shotgun proteomics to elucidate translation dynamics

○Tatsuya Niwa (CBC, IIR, Science Tokyo)

翻訳の伸長反応は単調に進行すると思われがちであるが、実際は mRNA の構造や使われるコドンの種類などの様々な要素によって速度が増減したり、一時的な停滞（ストール/アレスト）が起きたりする。一見するとただの欠陥にもみえるこれらの現象を、生物はセンサーとして遺伝子発現の調節などに巧みに利用している。我々は翻訳伸長のダイナミクスの全体像を調べるために、質量分析計を用いたショットガンプロテオミクス技術に着目してきた。近年ショットガンプロテオミクス技術は大きな発展を遂げており、ここ 15 年程で測定深度が劇的に向上し、また種々のラベル法を用いることでタンパク質量の動的な変動を捉えることも可能となってきた。この技術を利用して、翻訳伸長の「中間体」といえる tRNA と新生ポリペプチド鎖が結合した状態であるペプチジル-tRNA を直接かつ網羅的にまとめて検出することを試みた。

ペプチジル-tRNA はポリペプチドと核酸の両方の性質を併せ持つため、まず酸性フェノール抽出によってタンパク質成分のみを取り出し、次に核酸精製用のカラムにかけることで分離をおこなった。その後ペプチドと核酸をアルカリ条件で加水分解し、ペプチド部分をトリプシンで消化して質量分析計で測定した。大腸菌をモデルとして検証に用いた結果、熱ショック時や抗生物質添加時における細胞内の翻訳の「スナップショット」の変化を捉えることができた。さらにこの技術を改良し、フェノール抽出時の RNA 画分を取り出すことでペプチド部分が短いペプチジル-tRNA の分析に応用することもできた。その他、翻訳研究のためのプロテオミクス解析の様々な実例についても併せて紹介したい。

S6-2

構造から捉える翻訳制御のあれやこれ

○丹澤 豪人 (阪大・蛋白研)

Structural details of ribosomal translation in bacteria

○Takehito Tanzawa (IPR, UOsaka)

タンパク質合成を司るリボソームは、抗生物質・抗菌薬の主要な標的である。これらはリボソームの活性中心やポリペプチド鎖の出口トンネルに結合し、リボソームの機能不全を引き起こすことで翻訳活性を阻害する。一方で、抗生剤 (医薬品) の乱用による薬剤耐性菌の増加は人類の健康に対して脅威的な壁となりつつある。こういった現状を考慮すると、リボソーム標的薬の改良とともに、翻訳開始・伸長・終結・リボソームリサイクリング、翻訳の異常停止によるリボソーム救出、リボソーム休眠といった様々な翻訳制御の分子機序を正確に理解し、それらを標的とする新規阻害薬を探索・創出することが感染症研究の最重要課題である。本発表では、リボソームを標的とする既存の抗生物質・抗菌薬の機能・役割と、近年明らかになってきた翻訳制御の構造基盤を紹介する。

S6-3

Selective modification of tRNA 3' ends by toxSAS toxins for translational self-inhibition

○倉田 竜明^{1,2}, Gemma Atkinson², Vasili Haurlyuk^{2,3,4} (1理研・PRI, ²Dept. Exp. Med. Sci., Lund Univ., Sweden, ³Inst. Tech., Univ. Tartu, Estonia, ⁴SciLife Lab, Sweden)

○Tatsuaki Kurata^{1,2}, Gemma Atkinson², Vasili Haurlyuk^{2,3,4} (1PRI, RIKEN, Japan, ²Dept. Exp. Med. Sci., Lund Univ., Sweden, ³Inst. Tech., Univ. Tartu, Estonia, ⁴SciLife Lab, Sweden)

Toxic Small Alarmone Synthetase (toxSAS) enzymes are a family of bacterial toxin-antitoxin (TA) effectors that are implicated in antiphage defence (1-3). Translation-targeting toxSAS such as FaRel2 and CapRel^{SJ46} act through pyrophosphorylation of the tRNA CCA end using ATP as the pyrophosphate donor, so that tRNA aminoacylation is interfered (1,4). This pyrophosphorylation activity is inhibited by the pseudo-Zn²⁺ finger domain (pZFD, equivalent to Panacea-Associated Domain 1, PAD1) of the cognate antitoxin, which blocks access of ATP to the pyrophosphate donor site, but not tRNA to the acceptor site, of the toxSAS (5). Here we establish the mechanism of tRNA substrate recognition. By sequencing the FaRel2-coimmunoprecipitated tRNA species, we demonstrate that FaRel2 is a tRNA^{Gly}- and tRNA^{Thr}-specific toxin. Guided by structural modelling and tRNA sequence conservation analysis, we use biochemistry to establish the selection determinants that guide the tRNA recognition by FaRel2. The determinants are located in the tRNA acceptor stem and are conserved amongst tRNA^{Gly} and tRNA^{Thr} isoacceptors. References (1) Zhang et al. (2022) Nature (2) Jimmy et al. (2020) PNAS (3) Kurata et al. (2022) PNAS (4) Kurata et al. (2021) Mol Cell (5) Dominguez-Molina et al. (2024) Nat Chem Biol

S6-4

タンパク質合成の品質管理と制御機構の構造機能研究

○伊東 孝祐 (新潟大・理 / 大学院・自然研)

Structural and Functional Studies on Quality Control and Regulatory Mechanisms of Protein Synthesis

○Kosuke Ito (Niigata Univ., Fac. Sci. / Grad. Sch. Sci. and Tech.)

Ribosomes often stall during translation, generating peptidyl-tRNAs with nascent peptides attached to tRNAs. Peptidyl-tRNA hydrolase (Pth) resolves stalled translation by hydrolyzing the peptide-tRNA ester bond and regenerating tRNA. Pth is found in all domains of life and classified into two types: Pth1 in bacteria and Pth2 in archaea and eukaryotes. Notably, because Pth1 is essential for bacterial viability, it has come into the spotlight as a potential antibiotic target. We are conducting structural and functional analyses of Pth1 and Pth2 to elucidate their substrate recognition and catalytic mechanisms. Here, we will report the X-ray crystal structures of their substrate-bound complexes and discuss the inferred reaction mechanisms. We also study ribosome hibernation. Under stress conditions, organisms inactivate ribosomes to suppress protein synthesis. Although the mechanisms of hibernation have been well studied in bacteria and eukaryotes, archaeal mechanisms remain poorly understood. Through a comprehensive analysis of archaeal ribosome-binding proteins, we identified a factor that induces 30S dimerization. Our cryo-electron microscopy analysis further revealed the structure of this factor bound to the 30S dimer. We will also compare archaeal ribosome hibernation mechanisms with those of bacteria and eukaryotes.

S6-5

リボソーム液滴を標的とする新規抗菌ペプチド

○戸田 浩史 (筑波大・国際統合睡眠医科学研究機構)

A novel antimicrobial peptide that targets ribosomal condensates

○Hirofumi Toda (IHS, U of Tsukuba)

従来の抗菌薬は、細菌因子の特定部位に結合して作用する、いわゆる「鍵と鍵穴」型の機序に依存している。しかし、このような抗菌薬は標的分子のわずかな変異によって容易に耐性が獲得されるという課題がある。一方、自然界の生物が備える抗菌ペプチドは、多様な標的や物理化学的作用を介して細菌を攻撃するため、耐性が生じにくいことが知られている。私たちのグループは、ショウジョウバエを用いた行動探索スクリーニングにより、強力な睡眠誘導作用を示す因子「Nemuri (Nur)」を同定した。Nurは抗菌ペプチド活性を併せ持ち、細菌感染時に睡眠を誘導するとともに、細菌を直接殺傷することで生体防御に寄与することが明らかとなっている。興味深いことに、Nurの抗菌作用は従来の抗菌薬とは異なる新たな作用原理に基づく可能性が示唆されている。本講演では、このNemuriがどのような分子メカニズムによって抗菌活性を発揮するのか、私たちが得てきた最新の知見を紹介する。

S6-6

細菌のリボソーム休眠による生存戦略

○吉田 秀司¹, 牧 泰史¹, 古池 晶¹, 上田 雅美², 和田 千恵子², 和田 明²
(¹大阪医薬大・物理, ²吉田生物研・生物情報)

Bacterial survival strategy via ribosomal hibernation

○Hideji Yoshida¹, Yasushi Maki¹, Shou Furuike¹, Masami Ueta², Chieko Wada², Akira Wada² (¹Dept. Phys., Osaka Med. Pharm. Univ., ²Biol. Inf. Res., Yoshida Biol. Lab.)

細菌が様々なストレスに曝されたとき、その情報を発信源とした遺伝子発現ネットワークが稼働し、リボソームや翻訳因子の生合成、そしてリボソームの活性や形態までもダイナミックに制御して生き延びる。特に、大腸菌に代表される一部の γ -proteobacteria では小さな塩基性蛋白質 **RMF** が発現し、これが 70S リボソームに結合してリボソームを二量体化することにより **100S リボソーム** へと変換して翻訳活性を抑制する。我々は、このようにリボソームの翻訳活性が抑制されている段階を **Hibernation stage** (休眠段階) と名付けてリボソームサイクルのなかに位置付けている。また、RMF 以外にも **HPF**, **RaiA (YfiA)**, **YqjD**, **ElaB**, **YgaM** などの翻訳抑制因子がリボソームに結合し、環境変化に応じてリボソームの活性や局在を制御していることを見出している。更に近年、 γ -proteobacteria 以外の細菌や古細菌、真核生物（微孢子虫）などでも様々な翻訳抑制因子が発見されており、多くの生物にとってリボソームの休眠が重要な生存戦略であることが明らかとなっている。本講演では、ストレス下における大腸菌の翻訳制御機構を概説し、様々な細菌のリボソーム休眠も紹介する。これらはバイオフィーム形成や抗生物質感受性などと関わっており、本研究は薬剤耐性菌に対抗するための貴重な情報を提供する。
参考文献 Tanzawa, T., Maki, Y., Ueta, M., Wada, C., Wada, A., Yoshida, H., in press. Ribosomal hibernation: a survival strategy of microbes, Chapter 10 in Microbial Stress Survival, Elsevier Inc., ISBN: 978-0-443-27622-4.

S7

細菌の機能発現をゲノムスケールで理解する

コンピーナー：森田 鉄兵 (杏林大学)
宮腰 昌利 (筑波大学)

Genome-wide insights into bacterial physiology and gene expression

Conveners: Teppei Morita (Kyorin University)
Masatoshi Miyakoshi (Tsukuba University)

細菌は環境からの刺激に応答して遺伝子の発現を変化させ、特定の条件下で病原性を顕在化させるなど、細胞機能を適時に引き出す高い反応能 (コンピテンス) を備えている。こうした遺伝子発現の変化は、個々の遺伝子にとどまらず、ゲノム DNA 上の複数の領域で同時的、あるいは階層的に生じ、遺伝子発現ネットワークを形成する。したがって、環境刺激による「誘導」から、ゲノムに備わる「コンピテンス」に至るまでを包括的に捉えることが、細菌の機能発現を理解する上で重要である。本セッションでは、細菌の「誘導」と「コンピテンス」を、ゲノムスケールの視点から捉えた研究を紹介する。細菌の病原性発現やファージ応答といった細胞レベルの現象から、ゲノム全体を鋳型とした *in vitro* 再構成系やコンピュータシミュレーションに至るまで、さまざまな階層での研究を取り上げ、細菌学研究の新たな展開の一助となる知見を提供したい。

S7-1

非哺乳動物感染モデルを使った細菌病原性へのアプローチ

○垣内 力, 本宮 絹華, 栗生 綾乃, 熱田 菜月, 石川 一也, 古田 和幸 (岡山大・院医歯薬・分子生物学分野)

Investigating Bacterial Pathogenesis Using Non-Mammalian Infection Models

○Chikara Kaito, Kinuka Hongu, Ayano Kuriu, Natsuki Atsuta, Kazuya Ishikawa, Kazuyuki Furuta (Div. Molecular Biology, Grad. Sch. Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences, Okayama Univ.)

細菌感染症の分子メカニズム解明には動物感染モデルが不可欠である。従来用いられてきたマウスなどの哺乳類モデルは、倫理面やコスト面の制約から多数の個体を用いた感染実験が難しく、細菌株のハイスループット評価には適さない。この課題を克服するため、私たちは昆虫のカイコと両生類のアフリカツメガエルを用いた感染モデルを構築し、細菌株の病原性評価を行っている。無菌動物として扱えるカイコは、感染個体からの細菌分離が容易である。実際に、感染死したカイコから細菌を分離・解析することで、病原性が増強した遺伝子欠損株や遺伝子大量発現株を同定することに成功した。大腸菌の遺伝子大量発現ライブラリーを用いた解析では、カイコ体内で細菌の生存優位性を付与する遺伝子として *yaiX* を見出した。*yaiX* 大量発現株はカイコに対して高い病原性を示すだけでなく、過酸化水素、界面活性剤、抗生物質など作用機序の異なる複数の抗菌物質に対する耐性も獲得していた。一方、カイコは抗体を保有しないため、獲得免疫と病原体との相互作用を評価するモデルとしては不十分である。この点を補うため、私たちは高度に発達した獲得免疫系を有するアフリカツメガエルを利用している。本種は黄色ブドウ球菌を含む複数のヒト病原性細菌に対して感受性を示すことを明らかにした。また、黄色ブドウ球菌の死菌や不活化毒素を投与した個体では、同菌に対する感染防御効果が確認された。本シンポジウムでは、カイコおよびアフリカツメガエルを用いた感染モデルの特徴と利点、さらにこれらを活用した細菌病原性解析の展開可能性について議論したい。

S7-2

RT 型ディフェンスを突破する tRNA-タンパク質協調モジュールの発見

○氣駕 恒太朗, Aa Haeruman Azam, 千原 康太郎 (国健機構・感染研・治療薬開発部)

tRNA-Protein Modules that Overcome RT-Based Bacterial Defense

○Kotaro Kiga, Aa Haeruman Azam, Kotaro Chihara (Dept. Drug Dev., Natl. Inst. Infect. Dis., Japan Inst. Health Secur.)

Bacteria activate reverse transcriptase (RT)-dependent defense systems upon phage infection, inhibiting infection through DNA synthesis mediated by RT. RT-based defenses, represented by Retron, DRT, and RT-Abi systems, employ the DNA produced—whether derived from an RNA template or generated through template-independent reactions—to detect infection and rapidly alter cellular functions, thereby suppressing phage propagation. Phages, in turn, have evolved multilayered counter-strategies. We found that, in addition to deletions of tRNA islands and tRNA-related genes, quantitative mechanisms such as genome amplification of tRNA clusters markedly weaken RT-dependent defense. These tRNAs also function cooperatively with specific protein factors, contributing substantially to the inhibition of bacterial defense. Thus, tRNAs act not only as translational components but also as infection-control modules that influence the balance between defense and counter-defense. These findings indicate that phage infection is shaped not by single genes but by broader changes in cellular functional networks. This presentation will provide an updated view of RT-based defense and tRNA-protein anti-defense modules and discuss their implications for understanding bacterial function and advancing phage research.

S7-3

大腸菌の細胞まるごとシミュレーション

○海津 一成^{1,2} (¹理研・BDR, ²NINS・ExCELLS)

Whole-cell modeling of *Escherichia coli* from genomic sequence

○Kazunari Kaizu^{1,2} (¹BDR, RIKEN, ²ExCELLS, NINS)

Although advanced technologies for measuring and engineering cells, such as multi-omics measurements, single-cell and single-molecule assays, and base-pair-level genome editing, have become feasible, the rational design and control of cells at the whole-genome scale remain difficult. This difficulty arises from dense, nonlinear pathway interactions that cannot be sufficiently captured by reductionist methods. Computational simulation approaches thus provide strong support for systems-level analysis of such complex cellular behaviors. Here, we present an automated modeling platform that reconstructs the genome-scale biochemical networks of *Escherichia coli* directly from its genomic sequence. By integrating diverse bioinformatic analyses and database resources, the platform generates a comprehensive model encompassing gene expression, genome replication, and metabolic processes. The simulations are quantitatively validated against experimental observations, and the discrepancies are anticipated to yield insights into new molecular mechanisms. This system provides a versatile environment for evaluating engineered genomes and exploring synthetic genome designs. Furthermore, this technology is expected to extend beyond *E. coli* to related Gammaproteobacteria and even to *Bacillus subtilis*, enabling broad applications across prokaryotic species.

S7-4

試験管内ゲノム転写法によるトランスクリプトーム形成原理の理解

○藤原 慶 (慶應義塾大・理工学部生命情報学科)

In vitro transcriptome formation assay as a tool for molecular biology

○Kei Fujiwara (Dept. Biosci. Info., Keio Univ.)

細菌はゲノム情報を転写翻訳によってトランスクリプトーム (転写総体) やプロテオームに変換することで環境適応や自己複製を行っている。転写総体がプロテオームに変換されることを考えると、生命の設計原理を理解するには転写総体の形成原理を理解することが必須である。しかし、細胞から得られる転写総体は状態を表すものに過ぎないため、その形成原理を理解するには、試験管内で定義された要素から創り、要素と状態の関係を解析することが求められる。これに関し、我々は試験管内でゲノムのほぼ全領域を転写可能な方法 (in vitro Genome transcription, iGetX) を立ち上げた。iGetX は添加する要素を変えることが変動するため、その転写総体を解析することで生命の設計原理に迫ることができる。当日は、転写開始因子 (シグマ因子)、終結因子群、低分子応答転写制御因子 (CRP)、核様体タンパク質群を添加した iGetX による転写総体の報告とともに、本手法によって生命そのものの理解についてどこまで迫れる可能性があるか、について紹介する。

S7-5

転写因子のゲノム制御ネットワークから理解する細菌の機能

○島田 友裕 (明治大・農・農芸化学)

Understanding Bacterial Function from Genome Regulatory Networks of Transcription Factors

○Tomohiro Shimada (Dept. Agri. Chem., Sch. Agri., Meiji Univ.)

転写因子は、リガンドとの結合や化学的修飾により DNA 結合能を変化させ、標的遺伝子の転写を制御する。つまり、転写因子のリガンドや標的遺伝子を同定することは、その転写因子を持つ生物が、何を感じてどの遺伝子 (群) を利用することで環境変化に適応しているか、といった生物の仕組みを理解することにつながる。そこで、転写因子のゲノム上の直接的な全結合領域を網羅的に同定するために、Genomic SELEX (gSELEX) 法を独自に開発した。この手法は in vitro の解析であるために、他因子による拮抗阻害がなく、細胞内での活性や発現の条件が不明な転写因子であっても解析が可能である。私たちは、モデル微生物である大腸菌の全転写因子を研究対象とし、1 つの生物のゲノム転写制御ネットワークを丸ごと理解することを目指している。gSELEX 法を用いて、これまでに機能未知推定転写因子約 20 個を含む 70 個以上の転写因子の新規機能を明らかにしてきた。これらの研究成果をベースに、大腸菌転写因子データベース TEC (Transcription Factor Profiling of *Escherichia coli*) を構築し、転写因子のゲノム制御ネットワーク情報を公開している (<https://shigen.nig.ac.jp/ecoli/tec/top/>)。本発表では、gSELEX 法の利点や成果、特に、転写制御ネットワーク上で遺伝子同士を結びつけ、さらに遺伝子機能を紐づけることにより、細菌機能のつながりの同定に成功した例を紹介したい。また、大腸菌ゲノムにおける転写制御のヒエラルキー構造や、大腸菌のゲノム制御ネットワークから病原性細菌や自然環境中の細菌の機能を理解する研究戦略について議論したい。

S7-6

細菌 RNA-RNA 相互作用のゲノムワイド解析

○神田 健^{1,2}, 宮腰 昌利³ (¹Dept. Microbiol., Biocenter, Wuerzburg Univ., Germany, ²HIRI, Helmholtz Ctr. Infect. Res., Germany, ³筑波大・医)

Genome-wide analysis of the bacterial RNA-RNA interactome

○Takeshi Kanda^{1,2}, Masatoshi Miyakoshi³ (¹Dept. Microbiol., Biocenter, Wuerzburg Univ., Germany, ²HIRI, Helmholtz Ctr. Infect. Res., Germany, ³Inst. Med., Univ. Tsukuba)

Bacterial gene expression is orchestrated by multiple regulatory factors acting at transcriptional and post-transcriptional levels. Among these, non-coding small RNAs (sRNAs) have emerged as key post-transcriptional regulators that typically repress translation of their target mRNAs by base-pairing near the ribosome-binding site and often promote subsequent mRNA degradation. Recent advances in RNA-seq-based technologies now enable genome-wide search of sRNAs and their cognate target mRNAs, allowing comprehensive analysis of RNA-RNA interactomes. In this talk, I will introduce our approach based on iRIL-seq (intracellular RNA interaction by ligation and sequencing) and present two case studies: the coupled expression of acid resistance and metabolic adaptation in *Salmonella* within macrophages, and a previously unrecognized link between the RNA-RNA interactomes under acidic and anaerobic conditions in *Escherichia coli*. I will discuss how these examples highlight the power of genome-scale RNA interaction profiling to elucidate bacterial gene regulatory networks.

S8

見えた！細菌の生命現象-細菌学研究を進展させるマクロからミクロの構造にまつわる技術

コンピーナー：河原 一樹 (大阪大学)
玉井 栄治 (松山大学)

Advancing Bacteriological Research through Macro- to Micro-Scale Structural Technologies

Conveners: Kazuki Kawahara (Osaka University)
Eiji Tamai (Matsuyama University)

近年、クライオ電子顕微鏡や人工知能を活用した構造予測など、構造解析技術がめざましく進展している。これにより、病原性の発現、感染、薬剤耐性といった現象を、タンパク質構造やその動態に基づいて解明する研究が加速している。本セッションでは、感染や発病に関わる細菌由来タンパク質に焦点を当て、構造機能解析や、それに基づく阻害剤設計などの最新の研究成果に基づき、構造解析・予測技術が細菌学に与えるインパクトを紹介したい。さらに、マイクロデバイスにヒトの臓器や組織機能を再現した Micro Physiological Systems (MPS) についても紹介する。構造生物学的知見と MPS を組み合わせることで、分子から個体までのトランスレーショナルな展開が可能となる。本講演を通して、ミクロ（分子・構造）からマクロ（臓器・システム）へと視野を広げ、今後の細菌学研究の展開（感染症の全体像の解明）とその社会的応用（創薬や薬剤評価）について、多角的に議論する予定である。

S8-1

X線構造解析を基軸とした微生物タンパク質の構造及び機能解析

○武部 克希¹, 宮川 柊兵², 小林 弘子³, 中田 匡宣⁴ (¹岡山大院・医歯薬・歯科薬理, ²阪大院薬, ³日大・薬・病原微生物, ⁴鹿大・医歯学・口腔微生物)

Structural and functional analysis of microbial proteins based on X-ray crystallography

○Katsuki Takebe¹, Shuhei Miyakawa², Hiroko Kobayashi³, Masanobu Nakata⁴ (¹Dept. Dent. Pharm., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayam Univ., ²Grad. Sch. Pharm. Sci., Univ. Osaka, ³Sch. Pharm., Nihon Univ., ⁴Dept. Oral Microbiol., Grad. Sch. Med. Dent., Kagoshima Univ.)

微生物の生理的特性や病原性の解明、さらには新規薬剤の創出や応用を考える上で、微生物が産生するタンパク質の機能や反応機構を分子レベルで理解することは極めて重要である。タンパク質の立体構造解析は、分子の形状を原子レベルで直接把握できる強力なアプローチであり、機能予測、相互作用解析、阻害剤デザインなど多岐にわたる研究に応用可能である。タンパク質の立体構造解析の主な手法として、X線構造解析、クライオ電子顕微鏡、核磁気共鳴法(NMR)法などが存在する。本講演では、これらの中でX線構造解析法に焦点を当て、実際の研究例を通して、結晶化の手法及び回折実験までの流れや、分子置換法を用いた構造解析を始めとして、多波長異常分散による構造決定や高分解能構造解析なども紹介する。X線構造解析で得られた立体構造に量子化学計算を組み合わせることで、複合体形成における相互作用解析や触媒残基の同定、さらには反応メカニズムへの考察を行った研究例についても述べる。本講演を通じて、X線構造解析がもたらす多面的な情報と、その解析手法の発展が微生物学・生化学研究に果たす役割について紹介したい。

S8-2

クライオ電子顕微鏡を用いた細菌線毛の高分解能構造解析

○河原 一樹^{1,2}, 沖 大也³, 松田 重輝³, 飯田 哲也^{2,3}, 中村 昇太^{2,3} (¹阪大院・薬, ²阪大・CiDER, ³阪大・微研)

High-resolution cryogenic electron microscopy analysis of bacterial pili

○Kazuki Kawahara^{1,2}, Hiroya Oki³, Shigeaki Matsuda³, Tetsuya Iida^{2,3}, Shota Nakamura^{2,3} (¹Grad. Sch. Pharm. Sci., Univ. Osaka, ²CiDER, Univ. Osaka, ³RIMD, Univ. Osaka)

グラム陰性およびグラム陽性菌の多くが菌体上に産生する線毛 (pili/fimbriae) は、繊維状の細胞外構造体であり、ピリン (pilin) と称されるタンパク質サブユニットが複数の膜タンパク質の働きによって連続的に会合することで形成される。線毛は、宿主細胞への付着、細菌同士の凝集 (マイクロコロニーやバイオフィーム形成)、twitching motility による運動性、ファージや DNA の取り込み、さらにはタンパク質の分泌など、多岐にわたる機能を担うことが知られている。そのため、病原性細菌における主要な病原因子として、ワクチン開発や感染阻害剤の創出に向けた有望な創薬標的として注目されている。一方で、その巨大かつ不溶性という性質から、線毛の構造生物学的解析は難しく、従来の構造情報の多くは X 線結晶構造解析や核磁気共鳴法によって得られるサブユニットレベルの情報に限られていた。しかしながら、近年のクライオ電子顕微鏡 (cryogenic electron microscopy: cryo-EM) 技術の急速な発展により、線毛を含む多様なタンパク質フィラメントの高分解能構造解析が次々と報告されるようになってきている。本講演では、腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *Escherichia coli*: ETEC) が産生する IV 型に分類される線毛を中心に、cryo-EM により明らかになった細菌線毛の近原子レベルでの構造と機能解析例について紹介する。

S8-3

細菌抗菌物質輸送システムの構造・機能解析から得られた知見

○稲葉 理美 (高エネ機構・物構研・構造生物)

Structural and functional insights into bacterial antimicrobial transport systems

○Satomi Inaba-Inoue (KEK, IMSS, SBRC)

Antimicrobial peptides play a key role in bacterial competition and survival. Understanding how these peptides hijack membrane transporters to infiltrate cells is critical for elucidating bacterial resistance mechanisms and developing novel antibiotics. While outer membrane transport is well-documented, the inner membrane translocation of peptides remains less understood. We focused on SbmA, a bacterial inner membrane transporter essential for the uptake of diverse peptide antibiotics. Using high-resolution cryo-EM single-particle analysis (SPA), we determined the structures of SbmA in multiple conformational states. The structures revealed a unique dimeric architecture that surprisingly resembles ATP-binding cassette (ABC) transporters, despite SbmA functioning as a secondary transporter. This discovery defines a novel family: SbmA-like peptide transporters (SLiPTs). Furthermore, functional assays and dynamics analysis confirmed that SbmA utilises the proton motive force for substrate translocation, offering key insights into the evolutionary link between primary and secondary transporters. Furthermore, we will discuss the transition from SPA to cryo-electron tomography (cryo-ET). Visualising transport systems in situ aims to bridge the gap between atomic structures and cellular phenomena, linking molecular mechanisms to macroscopic bacterial life.

S8-4

NMR による機能的ダイナミクスの解明

○上田 卓見 (阪大院・薬)

Functional dynamics revealed by NMR

○Takumi Ueda (Grad. Sch. Pharm. Sci. Univ. Osaka)

生体分子は、その立体構造を動的に変化させることによって生理機能を発現している。NMR 法は、生理的条件に対応する溶液中における、生体分子の動的構造平衡の存在比および交換速度を定量的に決定することを可能とする。さらに NMR では、複数の分子が複雑に相互作用する溶液で生じる生化学反応を非破壊的にリアルタイム観測することが可能である。したがって、NMR 法により、創薬標的分子の生理機能と直接結びつく時空間的な情報が得られる。本発表では、細菌の走化性・走温性を含む、生体機能の時空間的解明に関する我々の研究を紹介する。

S8-5

タンパク質構造予測と計算化学の最近の動向

○森脇 由隆 (東科大・総研・難研)

Recent trends in protein structure prediction and computational chemistry

○Yoshitaka Moriwaki (Med. Res. Lab., Ins. Integr. Res., Science Tokyo)

Artificial intelligence technologies, which have been undergoing rapid advancement in the 2020s, are fundamentally transforming established scientific fields such as life sciences, chemistry, and physics. AlphaFold2, released by Google DeepMind in 2021, stands out as one of the most significant applications to date and is currently being extensively utilized for biochemical research of proteins. This presentation will introduce large-scale protein-protein interaction search methods utilizing protein structure prediction techniques, protein function prediction approaches, and the integration of these methods with conventional computational chemistry to advance biochemistry. Furthermore, drawing on my specialized expertise in molecular dynamics simulations and quantum mechanics calculations, I will present methodologies for estimating protein functions and dynamics that are often difficult to verify experimentally.

S8-6

生体模倣システムが拓く細菌学の未来

○篠原 満利恵^{1,2} (¹東京大・生産技術研究所, ²東京大・工学系研究科バイオエンジニアリング専攻)

The Future of Bacteriology Pioneered by Microphysiological Systems

○Marie Shinohara^{1,2} (¹Inst. Industrial Science, The Univ. Tokyo, ²Dept. Bioeng., Sch. Eng., UTokyo)

生体模倣システムは、マイクロスケールで細胞培養を行うプラットフォームとして、細胞や組織の生理的な特徴を *in vitro* で再現することを目指すものであり、創薬や疾患メカニズムの解明において盛んに研究が進められている。なかでも、マイクロ流体デバイスを応用した培養システムでは、灌流や伸縮運動など機械的な刺激による影響を評価可能であるため、より複雑な生体環境の再現が期待される。例えば、腸管上皮細胞を培養チップ上で培養した腸管チップでは、腸管のバリア機能や物質透過性の評価、代謝能による薬物動態評価が可能である。肝実質細胞との共培養を行うことで、臓器間相互作用の評価系の構築も可能となる。近年、細菌の生体への影響が、身体状態だけではなく、気分や思考など精神的な作用にも及ぶことが報告され、その評価への注目がますます高まっている。先に示したような、生体機能を再現し得る培養システムは、今後、細菌学への応用が期待される。具体的には、対象となる臓器由来の細胞を培養した臓器チップに病原細菌を感染させ、炎症反応の評価や抗生物質の動態評価を行うことが可能であると考えられる。また、腸チップではバクテリアとの共培養を行うことで、腸内細菌叢の免疫や疾患への影響、薬物動態の評価などに貢献できると期待される。本発表では、生体模倣システムを用いた培養システムについて研究の潮流を概説するとともに、今後の細菌学への応用についての議論につなげたい。

S9

教育委員会（次世代教育・人材育成） 中・高校生研究発表セッション

コンピーナー：小川 道永（国立健康危機管理研究機構）
豊留 孝仁（国際医療福祉大学）

Research Presentations by Junior High School and High School Students

Conveners: Michinaga Ogawa (Japan Institute for Health Security)
Takahito Toyotome (International University of Health and Welfare)

S9-1

様々な化学物質による粘菌の行動の変化

○竹端 ひかり, 奥井 悠太, 川下 瑞暉, 関 陽向（七尾高）

Effects of Various Chemical Substances on the Behavior of Slime Molds

○Hikari Takahana, Yuta Okui, Mizuki Kawashita, Hinata Seki (Nanao High School)

粘菌とは、多細胞性の子実体を形成するアメーバ様単細胞生物の総称であり、狭義には変形菌（真正粘菌）を指す。本研究では、この変形菌を対象として実験をおこなった。粘菌は生態系内では、バクテリアやカビを食べることで、微生物の過剰繁殖を抑制し、微生物群集の多様性を保っていることが知られている。また、迷路を解くなど「知的」な行動を示すことから、情報処理のモデル生物としても注目されている。しかしながら、自然条件下での粘菌の採集には知識や経験が必要で、集めることは難しい。このような粘菌がどの化学物質を好むか調べることで、化学物質を使ったトラップなどで効率よく集めることができるようになるのではと考え、その嗜好性について調べた。初めに粘菌は匂いの強い物質に対して動きが変化すると仮説を立て、実験を行った。匂い物質としてオレンジの皮を用いた。作成した寒天培地の中央に粘菌を置き、オレンジの皮を培地の端に置いた。その後、23℃に保った暗所で培養し、24時間後に粘菌がどのように動いたかを記録した。11回の試行実験のうち、10回で粘菌はオレンジに近づいた。このことから、オレンジには粘菌の好む化学物質が含まれていると考えた。粘菌が好む成分を明らかにするため、オレンジに含まれるクエン酸と、ブドウ糖を用いて実験を行った。それぞれ6回の試行のうち、クエン酸からはすべて遠ざかった。また、ブドウ糖に対しては、遠ざかる場合と近づく場合、動かない場合がそれぞれ2回で、一定の傾向はみられなかった。このことから、粘菌はオレンジに含まれるこれら以外の物質を選好すると考えられる。今後、別の物質を使い、実験を継続する予定である。

S9-2

糖の種類が微生物燃料電池に与える影響

○中山 瑠璃花, 北口 知樹, 塩谷 美喜, 瀬口 将哉 (七尾高)

Effects of Sugar Types on Microbial Fuel Cells

○Rurika Nakayama, Tomoki Kitaguchi, Miki Shiotani, Masaya Seguchi (Nanao High School)

近年再生可能エネルギーの一つとして注目されている微生物燃料電池 (Microbial Fuel Cell, MFC) は, 生物の代謝活動を利用して, 電気を発生させる技術である. その発電効率は, 微生物が利用する有機物の種類に左右されることが知られている. 本研究では糖の種類と電流量との関係を明らかにすることを目的とした. 実験には, 市販の生物電気装置であるマッドワットを使用した. 装置に入れる土として, 高校の前を流れる御祓川の土を用いた. また, 添加する糖は, ブドウ糖, マルトース, セルロースを用いた. 土 300g に対し, それぞれの糖の 1% 水溶液 50g を混ぜ, 装置にセットした. その後 6 日間, 8:00, 13:00, 16:30 の三回電流を測定した. どの糖を加えた場合も, 電流量は増加したが, 持続する日数は糖の間で異なっていた. さらに採取した土中の細菌の DNA を解析したところ, 電流を発生する細菌として知られるジオバクター属とシュワネラ属が検出された. これらの細菌について環境 DNA の手法を用いて, 細菌の量と電流量との関係を次のように検討した. 前述の実験と同様, 各糖を混ぜた土で 6 日間電流を測定した. このとき毎日装置内の土を 5g 採取し, これを用いて細菌の量を, PCR と電気泳動により推定した. この結果についても報告する.

S9-3

マイクロプラスチックが大腸菌の増殖に与える影響

○佐竹 美洸, 押切 貴晴, 高田 蒼大, 山本 愛佳 (七尾高)

Effects of Microplastics on the Growth of Escherichia coli

○Mihiro Satake, Takaharu Oshikiri, Sota Takada, Manaka Yamamoto (Nanao High School)

マイクロプラスチックは土壌に散布することで, その土壌に生息するミミズの成長に影響を与えることが確認されている. 本研究ではより微細な生物に対してマイクロプラスチックが与える影響について明らかにするとともに, プラスチックの種類による影響の違いを調査することを目的とした. 微生物の中のモデル生物であり, マイクロプラスチックと微生物の関係の調査によく使用される大腸菌を材料とした. また, 発泡スチロールとポリウレタンを 1 mm 以下に削ったものをマイクロプラスチックとして使用した. 大腸菌とマイクロプラスチックを液体培地に加え, 振とう培養機を用いて 37°C・130 RPM の条件下で 4 時間培養した. この培地に対する波長 600 nm の透過率をワイヤレス分光センサ (島津理科) により測定し, 大腸菌の増殖をみた. その結果, マイクロプラスチックにより大腸菌の増殖が阻害されたことが示唆された. この阻害が, 物理的要因によるのか, 化学的要因によるのかを検討し報告する. 今後, 阻害のメカニズムを明らかにするために, マイクロプラスチックを長時間浸した培地を使う, マイクロプラスチック以外の微細な物体を液体培地に加えて培養をするなどの追加実験を検討中である.

S9-4

避難所で役立つ!? 身近な抗菌剤: ドクダミの効果を調べる

○寺本 莉菜, 岩根 由奈, 野中 遥 (熊本北高等学校)

Antibacterial Potential of Houttuynia cordata for Use in Evacuation Shelters

○Rina Teramoto, Yuna Iwane, Haruka Nonaka (Kumamoto Kita High School)

災害が発生した地域の避難所では「水が十分に使えず手が洗えないことがある」, 「ひとが密集することで病気が広がってしまう」という問題が起こるのが現時点での課題です. そこでわたしたちは, 災害時, 多くの学校が避難所として利用されていることに目を向け, 「身近な環境を活かして少しでも病気の発生を防ぐ方法はないか」, また「少しでも安全に避難生活を送られる手助けがしたい」と思い, 学校の敷地に生えている身近な薬草を使って抗菌剤を作ろうと研究に励んできました. 抗菌作用がふくまれている薬草にはしょうが, ドクダミ, ヨモギ, ミントなどがあります. 上記の植物の中で学校に生えている『ドクダミ』を実験対象として取り上げて研究を始めました. まず, 寒天培地 (コンソメ培地) に納豆菌を培養し, ドクダミと水で実験をした所, ドクダミに抗菌作用がある事がわかりました. また, 「特異性」があることを知り, ドクダミの抗菌作用は本当にあるのか, 菌の種類を増やしてビフィズス菌 (後にブルガリア菌, サーマフィラス菌に変更), イースト菌を培養して調べました. さらに, 抗菌作用があるとされている調味料 (わさび, 酢, タバスコなど) との比較も行いました. それぞれの試料でできた抗菌円の半径を測定し, ドクダミとの違いや特徴を明らかにしました. 最後に, 使用したドクダミ抽出液や調味料の pH を測定し, 抗菌作用と pH の関係についても検討しました. これらの研究結果から, ・ドクダミに抗菌作用は本当にあるのか・菌の種類によって作用がどのように変わるのか・ドクダミの抗菌作用はどれほどなのか (抗菌作用があるとされている調味料と比較して) について発表します.

S9-5

スマートフォン／タブレット画面に付着・生息する細菌：手指との比較

○五十嵐 優翔¹, 伊藤 菜々², 小田 直太郎³, 加藤 優希⁴, 涌井 杏奈^{4,5}, 佐藤 拓一⁴ (¹新潟市立・鳥屋野中学校・2年, ²新潟市立・寄居中学校・3年, ³新潟市立・五十嵐中学校・3年, ⁴新潟大・院保・臨床化学, ⁵新潟医福大・医療技術)

Bacteria on smartphone/tablet touchscreens: its comparison with fingers

○Yuto Ikarashi¹, Nana Ito², Naotaro Oda³, Yuki Kato⁴, Anna Wakui^{4,5}, Takuichi Sato⁴ (¹Toyano Junior High Sch., Niigata City, ²Yorii Junior High Sch., Niigata City, ³Ikarashi Junior High Sch., Niigata City, ⁴Div. Clin. Chem., Niigata Univ. Grad. Sch. Health Sci., ⁵Dept. Med. Tech., Niigata Univ. Health Welfare)

【背景・目的】スマホ画面に手指で接触することが多く, 画面を介した感染を心配し, 画面の消毒を勧める記事・報道も見かけます. 今回, スマホ用の UV 照射の前と後で, 画面に付着している細菌を培養し, 分子生物学的に解析してみました.

【方法】5 名のスマホやタブレット端末を対象としました. スマホ用の UV 照射器 (Unipromex, 太洋工業) で 5 分間照射する前と後で, 画面を滅菌綿棒で丁寧に擦過し, 生理食塩水 1 mL に懸濁し, 試料とし, 分散均一化後, CDC 血液寒天平板に接種し, 37°C で嫌気培養しました. DNA を抽出し, 16S rRNA PCR-RFLP 法により細菌種の同定を行いました.

【結果】画面の細菌量は, 中学生 (3.2×10²~7.0×10³), 大人 (6.0×10¹~1.3×10²) と, 中学生の方がやや多かった. 手指からは, 中学生 (1.2×10³~2.9×10⁴), 大人 (1.8×10³~7.7×10⁴) とほぼ同程度でした. 画面の細菌構成は, 中学生で *Staphylococcus* (57.8%), *Corynebacterium* (40.6%) で, 大人で *Cutibacterium* (56.0%), *Corynebacterium* (28.0%), *Actinomyces* (8.0%), *Staphylococcus* (8.0%) でした. 一方, 手指では, 中学生で *Staphylococcus* (52.9%), *Corynebacterium* (13.7%), *Cutibacterium* (5.9%), *Streptococcus* (5.9%), *Schaalia* (5.9%), *Actinomyces* (3.9%) など, 大人で *Cutibacterium* (65.7%), *Staphylococcus* (32.8%) でした. UV 照射では, (0~2.2×10²) の細菌検出量で, 残存細菌は主に *Cutibacterium* でした.

【考察】スマホ画面からは, 数十~数千個の, 指先 (皮膚) 由来とされる細菌が検出された. スマホ用の UV 照射はメーカーが推奨するほどには, 細菌量が減らないのかもしれませんが. (会員外共同研究者: 阿部峰士)

S9-6

顔の部位による皮膚常在菌数の違い

○石井 真妃（東京都立白鷗高等学校）

Differences of the number of resident skin bacteria in cheek areas

○Maki Ishii (Tokyo Metropolitan. Hakuo Jr.&Sr. High Sch.)

私は日頃、顔の中には乾燥しやすい部位があると感じている。皮膚常在菌は保湿成分を生成する働きをもつと知り、顔の部位によって菌数が違うのではないかと考えた。本研究では、乾燥の仕方に違いがある、頬の3か所の部位における菌数を調べた。また、皮膚の水分量と油分量も並行して調べることで、菌数との関係も比較した。顔の部位による菌数の違いを知ることで乾燥への対策を検討できると考える。延べ18名の被験者を対象に、鼻横、頬中央、頬端の3か所において左右それぞれから菌を採取した。菌液を培地にまき、37℃で24時間培養し、培地上のコロニー数を肉眼で数えた。各採取部位において菌数の違いがみられ、1cm²当たりの菌数の平均は、鼻横は15500個、頬中央は8780個、頬端は1490個であり、鼻横、頬中央、頬端の順に菌数が多かった。個人内では菌数と水分量に正の相関がみられたが、菌数と油分量には相関関係があまりみられなかった。さらに、被験者によって大きく菌数は異なった一方で、水分量には菌数の差ほど大きな差がみられなかった。これらの結果から、顔の中央から端にいくほど菌数が少ないと考察した。また、菌数が多い部位では、皮膚常在菌が生成するグリセリンの量が多くなることで水分量が多くなった可能性がある。菌数が比較的小さく、水分量も少ない頬中央・頬端では皮膚常在菌を増やすことで乾燥を改善できると考えられる。また、個人内では菌数と水分量の相関がみられた一方で個人間ではあまり相関がみられなかった。そのため、被験者によって水分量を保持するために必要な菌数は異なると考える。今後は、被験者ごとに適切な菌数についても着目したいと考える。

S9-7

ケラチン産生細菌による髪の毛の分解

○高橋 ののは（横浜市立横浜サイエンスフロンティア高校）

Hair degradation by keratin-producing bacteria

○Nanoha Takahashi (YSFH)

【背景・目的】現在、髪の毛の多くは可燃ごみとして廃棄されている。髪の毛は主にケラチンから構成され、ケラチナーゼ産生細菌である *Bacillus licheniformis* により分解可能である。髪の毛には炭素、硫黄、窒素が多く含まれるため、分解後の肥料利用が期待される。一方、髪の毛はジスルフィド結合を多く含み、表面がキューティクルに覆われているため、ケラチナーゼが作用しにくく、分解に時間を要する。本研究では、前処理により髪の毛分解を促進することを目的とした。【方法】頭皮から3～15mmの髪の毛を20本ずつ束ね、平均長および横幅を測定した。髪の毛を炭酸ナトリウム水溶液（0%、5%、10%）に9時間浸漬後、蒸留水で洗浄・乾燥し、滅菌処理を行った。無機塩液体培地に投入後、*B. licheniformis* を植菌し、30℃で振とう培養した。分解の評価は、髪の毛の平均長および電子顕微鏡による横幅測定により行った。【期待される結果】炭酸ナトリウム処理によりケラチナーゼの作用性が向上し、濃度が高い条件ほど髪の毛分解が促進されると予想される。

S9-8

緑膿菌バイオフィーム形成を抑制する植物エキスについて

○沼本 日菜子¹、平井 莉那¹、岩部 心美¹、片山 聡一郎¹、妹尾 颯真¹、高尾 明衣¹、瀬野浦 聖佳²、久保 美和³、村上 圭史²（¹就実高校、²川崎医福大・医技・臨床栄養、³徳島文理大・薬・薬品物理化学）

Plant extracts that inhibit *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation

○Hinako Numoto¹, Marina Hirai¹, Kokomi Iwabu¹, Soichiro Katayama¹, Soma Seno¹, Mei Takao¹, Satoka Senoura², Miwa Kubo³, Keiji Murakami² (¹Syujitu High Sch., ²Dept. Clin. Nutri. Fac. Health. Sci. Technol., Kawasaki Univ. Med. Welfare, ³Fac. Pharmaceutical Sci., Tokushima Bunri Univ.)

私たちはこれまでに、ヒトの常在菌であり、水回りや河川など広く環境中に生息し、バイオフィーム形成能が高いことから、しばしば慢性感染症の原因となる緑膿菌に着目し、緑膿菌に対するバイオフィーム形成を抑制する効果を植物エキスの探索を行った。その結果、192種類のエキスの中で13種類の候補となる植物エキスが見つかったもので、さらなる検討を行った。使用した菌株は、緑膿菌 PAO1 株と臨床由来の研究室保存株 TH50 株と TH126 株の3株を使用した。植物エキスは、徳島文理大学薬学部薬品物理化学講座で抽出されたエキスを使用した。培地は、Vogel-Bonner minimal medium (VBMM 培地)を使用した。バイオフィーム試験は、96 ウェル U 底プレートを使用し、500 µg/mL の植物エキスを含む培地に、前培養した菌液を加え、30℃で24時間培養を行いバイオフィームを形成させた。次に蒸留水で洗浄を行い、0.1%クリスタルバイオレット溶液を加え10分間バイオフィームを染色した。蒸留水で洗浄後、エタノールを加えクリスタルバイオレットを溶出し、吸光度 (570nm) を測定することにより、バイオフィーム量を定量した。植物エキスを加えていないコントロールのバイオフィーム量を100%として、相対的なバイオフィーム量を算出した。3株ともにバイオフィーム形成抑制効果が認められた植物エキスが4種類確認された。TH50 株と TH126 株は PAO1 株と比較し、バイオフィーム形性能が高く、この2株に対して、2種類の植物エキスは、強いバイオフィーム形成抑制効果が確認された。今後は、詳細なメカニズムについて検討する予定である。

WS1

鉄が結ぶ細菌の多様な生物間相互作用

コンピーナー：石川 一也（岡山大学）
都筑 正行（高知大学）

Iron at the center of diverse bacterial interactions

Conveners: Kazuya Ishikawa (Okayama University)
Masayuki Tsuzuki (Kochi University)

鉄は生物の生存に必須の栄養素であるが、環境中において不足しやすいことから、生物は鉄の獲得や利用システムを洗練・発達させている。細菌とその他の生物が出会った際には、こうした鉄の獲得・利用システムをトリガーとして多様な生物間相互作用が生じる。鉄が細菌の宿主動物に対する病原性に関与することは古くから知られているが、近年では宿主内での環境感知や、宿主植物、あるいは別種細菌との相互作用にも鉄が重要であることが明らかになりつつある。本セッションでは動物・植物・細菌に対する、鉄を介した細菌の相互作用に関連する最新の研究テーマを紹介する。特に、生物とのやり取りの中で細菌が鉄に向けて巡らせる多様な分子戦略を議論する。多様な宿主や細菌種を対象としたテーマが集合する本セッションは、生物間の分子相互作用における鉄の重要性・多様性・普遍性を理解する貴重な機会を共有することができる。

WS1-1

植物-植物病原細菌間にヘムを巡る分子競争は存在するのか？

○石川 一也¹、青木 梨紗²、山口 咲季¹、西村 太一²、古田 和幸¹、垣内 力¹（¹岡山大学・院医歯薬、²岡山大学・薬）

Heme acquisition system of plant pathogenic bacteria from host plants

○Kazuya Ishikawa¹, Risa Aoki², Saki Yamaguchi¹, Taichi Nishimura², Kazuyuki Furuta¹, Chikara Kaito¹ (¹Grad. Sch. Med. Dent. Pharm., Okayama Univ., ²Fac. Pharm., Okayama Univ.)

鉄は生物にとって不可欠かつ貴重な元素であり、生体内ではその多くがヘム鉄や鉄硫黄クラスターを形成したタンパク質に結合した状態で存在する。この貴重な鉄を巡って、動物病原細菌と宿主動物の間には分子競争が存在することが知られている。動物病原細菌は宿主からヘムを収奪するためのシステムを有し、宿主動物はヘムを病原細菌から隔離する防御応答を示す。ヘモグロビンなどの動物に特徴的なヘムタンパク質の存在から、ヘムを巡る分子競争は宿主動物と動物病原細菌との相互作用に特有なものとして考えられてきた。一方で、植物にもヘムは相当量存在するものの、植物病原細菌のヘム収奪能はほとんど研究されてこなかった。我々は一部の植物病原細菌のゲノム上にヘム収奪因子のホモログが存在していることに着目し、植物病原細菌も宿主植物からヘムを収奪していると考えた。植物病原細菌を鉄非含有培地で生育させた際に、ヘム添加によって多くの細菌種で生育が大きく向上したことから、植物病原細菌にヘム利用能があることが示された。また、宿主ヘムタンパク質からヘムを収奪するための細菌分泌タンパク質 HasA の植物病原細菌ホモログについて、大腸菌で発現させたところ、ヘム結合能が示された。これらのことから、植物病原細菌についても宿主植物からヘムを収奪する機能を有していることが示された。植物と植物病原細菌もヘムを巡る巧妙な分子競争システムを進化の過程で発達させてきた可能性があり、今後は動物におけるヘム分子競争との共通点と相違点に着目しながら研究を展開して行きたいと考えている。

WS1-2

青枯病菌における 2 つの Fur による病原力への寄与

○都筑 正行（高知大・農林海洋）

Contribution of two ferric uptake regulator to virulence in *Ralstonia pseudosolanacearum*

○Masayuki Tsuzuki (Fac. Agric. and Marine Sci., Kochi Univ.)

Bacterial wilt is a devastating crop disease caused by a soil-borne Gram-negative bacterium *Ralstonia solanacearum* species complex (RSSC). RSSC enters iron-rich roots from iron-deficient soil during an infection on tomato plants, it is estimated that RSSC has the mechanisms controlling gene expression in response to extracellular iron levels. In many bacterial species, ferric uptake regulator (Fur), a metal-binding transcriptional regulator, controls gene expression in response to iron levels. We identified RSSC strains characteristically possess two Fur-encoding genes, *fur1* and *fur2*, in their genomes. We then established *fur1* deletion, *fur2* deletion and *fur1/fur2* double deletion mutants by using strain OE1-1 to analyze the functions of Fur1 and Fur2 on gene regulation. Transcriptome analysis revealed that Fur1 and Fur2 cooperatively contribute to the repression of siderophore-related gene expressions. Extracellular Fe³⁺-chelating activity was regulated majorly by Fur1 and partially by Fur2, suggesting that Fur1 and Fur2 have a conserved function like Fur in other bacterial species. Virulence assay revealed that Fur1 and Fur2 cooperatively contribute to virulence of strain OE1-1 on tomato plants. We would discuss the relationship between the strategy of pathogenic bacteria and iron-dependent gene regulation.

WS1-3

植物の鉄栄養をめぐる根圏細菌と植物二次代謝産物の相互作用

○橋本 将典（静大・農）

Rhizobacteria-plant secondary metabolite interactions in plant iron nutrition

○Masayoshi Hashimoto (Fac. Agri., Shizuoka Univ.)

鉄は植物の生育にとって必須な栄養素であるが、土壌のアルカリ化によって不溶化し欠乏症状を生じる。これに対して、植物は土壌から鉄を吸収するための仕組みを持つ。他方で、鉄を吸収する最前線である植物の根圏には多様な根圏細菌が生息しており、鉄栄養をめぐる根圏細菌と植物がどのように相互作用するかはほとんど明らかになっていない。私たちは、アルカリ条件下で合成が促進される植物二次代謝産物であるクマリン類に着目し、根で合成されるクマリン類が根圏細菌叢の群集形成に関わることを見出した。クマリン類は、一部の根圏細菌株の増殖を抑える抗菌活性を持ち、この抗菌活性が根圏細菌叢の群集形成の原因の 1 つであると予想された。また、根圏細菌叢を人工的に再構築する合成コミュニティ法を用いて、根圏細菌叢がクマリン類の合成に依存して、植物の鉄吸収を促進することを明らかにした。これらの結果から、植物根から分泌されるクマリン類が根圏細菌叢の群集構造を変化させ、さらに鉄栄養をめぐる根圏細菌は宿主植物に対して競合的ではなく、むしろ協調的に働くという相互作用モデルを想定している。最近では、クマリン類による根圏細菌叢の群集形成が、植物の鉄吸収促進を含む根圏細菌叢が持つ機能とどのように繋がるのか、そのメカニズムの理解を目指している。多様な分類群からなる根圏細菌の培養コレクションを用いることで、クマリン類が個々の根圏細菌に及ぼす影響を調べ、群集になったときにどのような表現型として現れるかというボトムアップのアプローチを取っている。この研究を進めることで、根圏細菌叢の制御による持続的な食料生産への貢献を目指している。

WS1-4

大腸菌における細胞内硫化水素依存的な鉄取り込み活性化機構

○野々山 翔太, 増田 真二 (東京科学大・生命理工学院)

Mechanism of intracellular H₂S-dependent activation of iron uptake in *Escherichia coli*

○Shouta Nonoyama, Shinji Masuda (Dept. Life Sci. Tech., Inst. Science Tokyo)

硫化水素は一般的に毒ガスとして知られる一方、多くの生物では細胞内で一定量が生成され、NO・COに次ぐ第三のガス状シグナル分子として機能することが見出されてきた。細菌における硫化水素の機能に関する研究は、大腸菌を用いた研究が比較的進んでおり、3-メルカプトピルビン酸を基質として硫化水素を産生する *mstA* の欠失が、抗生物質耐性を低下させることなどが報告された。細胞内で合成された硫化水素が、二価鉄イオンと反応して硫化鉄を形成することでフェントン反応を抑制し、間接的に細胞を酸化ストレスから保護することで、抗生物質に対する耐性を高めていると考えられる。しかし、大腸菌内の硫化水素のその他の機能については未だ不明な点が多い。我々は、大腸菌における硫化水素のシグナル分子としての役割を解明するために、*mstA* を高発現し硫化水素を過剰産生する大腸菌株のトランスクリプトーム解析を実施した。その結果、細胞内の硫化水素の増加により鉄取り込み系の発現が活性化することを見出した。さらに、この活性化には硫化水素応答性転写因子 YgaV が関与することを明らかにした。これらの知見は、硫化水素によって引き起こされる鉄の枯渇を、細胞が硫化水素を介して認識していることを示唆している。本発表では、硫化水素による鉄取り込み活性化の分子機構に関する知見に加え、現在進行中の研究に関する最新のデータについても紹介する。

WS1-5

腸炎ビブリオにおける鉄制限ストレスに対する応答機構

○田邊 知孝, 舟橋 達也 (松山大・薬・衛生化学)

Response mechanisms to iron limitation in *Vibrio parahaemolyticus*

○Tomotaka Tanabe, Tatsuya Funahashi (Lab. Hyg. Chem., Col. Pharm. Sci., Matsuyama Univ.)

Iron is an essential element for most bacteria. Many bacteria possess the iron-responsive transcriptional repressor Fur. Under iron-limited conditions, such as in the natural environment or within the host, transcriptional repression of Fur target genes is deregulated. This leads to the expression of genes involved in the utilization of siderophores, ferric chelating molecules produced by microorganisms, which enable efficient uptake of insoluble and poorly bioavailable ferric iron in the environment. In response to iron-limited stress, the foodborne pathogen *Vibrio parahaemolyticus* induces the utilization of its own siderophore, vibrioferrin, as well as systems for acquiring exogenous siderophores derived from other bacterial species. The expression of these systems is primarily transcriptionally regulated by Fur, but is also influenced by other factors, including the small RNA RyhB. Furthermore, in several bacteria, the iron-limited response has been reported to go beyond simply increasing the expression of iron acquisition pathways and is also associated with the induction of virulence factor expression and host adaptation. In this presentation, we will discuss the environmental adaptation mechanisms mediated by the iron limitation response in *V. parahaemolyticus*, as well as the possible enhancement of virulence.

WS2

女性生殖器マイクロバイーム研究の最前線

コンピーナー：伊藤 雅洋 (北里大学)
金 倫基 (北里大学)

Frontiers in Female Reproductive Microbiome Research

Conveners: Masahiro Ito (Kitasato University)
Kim Yun-Gi (Kitasato University)

近年、次世代シーケンサーをはじめとする細菌叢解析手法や微生物代謝産物の解析技術等の進展に伴い、腸内と同様に女性生殖器においてもマイクロバイームおよび健康や疾患との関連が明らかにされている。しかしながら、検体採取の困難さからか、女性生殖器のマイクロバイームに関する研究は、腸管や、口腔、皮膚など他の部位と比較し遅れていると言わざるをえない。本セッションを通じて、女性生殖器細菌の健康・疾患との関連に関する最新の知見を紹介し女性生殖器へと視野を広げる場を提供するとともに、今後の研究の展開とその社会的応用について、多角的に議論することを目的としたい。

WS2-1

腔内マイクロバイームの特徴と健康・疾患との関連

○伊藤 雅洋 (北里大・薬・微生物)

Characteristics of the Vaginal Microbiome and Their Relationship to Health and Disease

○Masahiro Ito (Dept. Microbiol. Sch. Pha. Kitasato Univ.)

The diversity of vaginal microbiota is significantly lower than that of gut microbiota and varies between different racial groups and individuals. In healthy premenopausal women, the vagina is mainly colonized by lactobacilli, which play a vital role in female reproductive health. Recently, even when lactobacilli are the predominant bacteria, the rates of female reproductive tract diseases differ significantly across bacterial species. Additionally, various factors influencing the vaginal microbiome have been reported. This talk presents the latest research on the vaginal microbiome and its connection to health and disease.

WS2-2

子宮内膜症の病因論と細菌の関与

○村岡 彩子 (名古屋大・医学部附属病院)

The Etiology of Endometriosis and the Involvement of Bacteria

○Ayako Muraoka (Nagoya Univ. Hospital)

Endometriosis is caused by retrograde menstruation, a phenomenon exhibited by nearly all women during menstrual period. However, only 10% of women develop endometriosis, and the underlying mechanism behind these observations remains unclear. This study demonstrated a pathogenic role of *Fusobacterium* in the formation of ovarian endometriosis. In this study, *Fusobacterium* infiltration into the endometrium was detected in 64% of endometriosis patients. Immunohistochemical and biochemical analyses revealed that *Fusobacterium* infection of endometrial cells induces activated transforming growth factor- β (TGF- β) signaling, triggering the transition of quiescent fibroblasts into transgelin (TAGLN)-positive myofibroblasts. These cells acquire enhanced proliferation, migration, and adhesion capabilities to mesothelial cells. *Fusobacterium* inoculation into an endometriosis mouse model resulted in a marked increase in TAGLN-positive myofibroblasts and increased number and weight of endometriotic lesions. Furthermore, antibiotic treatment largely prevented the development of endometriosis in the mouse model and reduced the number and weight of established endometriotic lesions. Our data support a mechanism of endometriosis pathogenesis mediated by *Fusobacterium* infiltration.

WS2-3

ウレアプラズマ感染による絨毛膜羊膜炎と早産

○柳原 格 (大阪母子医療セ・研・免疫)

Chorioamnionitis with *Ureaplasma* in Preterm Delivery

○Itaru Yanagihara (Dept. Dev. Med., Res. Inst., Osaka Women's and Children's Hosp.)

According to WHO statistics, the leading cause of death among children under five worldwide is preterm birth. Many cases of preterm birth are associated with chorioamnionitis (CAM) in the placenta. We have demonstrated that *Ureaplasma*, a species of urogenital mycoplasma, is frequently isolated from CAM placenta. *Ureaplasma* produces urease. The proton gradient generated across the bacterial membrane by urease activity drives the FoF1 ATPase, which accounts for 95% of ATP production in *Ureaplasma*. The urease complex of *Ureaplasma* (UPU) comprises three trimers of UreA, UreB, and UreC. All-atom molecular dynamics simulations showed a mobile flap structure outside the active site. The flap mutants reduce the number of Ni²⁺ ions coordinated at the active site. NGS analysis of the vaginal microbiota in 21 Japanese volunteers revealed that 14 cases were dominated by *Lactobacillus*, including 3 by *Lactobacillus iners*, and the remaining 7 cases were dominated by bacterial vaginosis (BV)-associated bacteria. Why does *Ureaplasma* tend to cause intrauterine infection more than other BV-associated bacteria? *Ureaplasma* entered HeLa cells via a clathrin-dependent pathway. Furthermore, *Ureaplasma*-infected cells showed that apoptotic pathways of ER stress were blocked, indicating that these cells are less likely to be eliminated.

WS2-4

腔内細菌由来細胞外小胞性核酸センシングによる卵巣がん早期発生における卵管上皮細胞悪性進展機構

○稲見 恵理¹, 横井 暁¹, 吉田 康将¹, 長尾 有佳里¹, 北川 雅美¹, 安井 隆雄², 北嶋 俊輔³, 梶山 広明¹ (¹名大・院医・産婦人科, ²東科学大・生命理工, ³がん研・プレジジョン医療センター・免疫制御)

Sensing of extracellular vesicle nucleic acids from vaginal bacteria promotes ovarian cancer

○Eri Inami¹, Akira Yokoi¹, Kosuke Yoshida¹, Yukari Nagao¹, Masami Kitagawa¹, Takao Yasui², Shunsuke Kitajima³, Hiroaki Kajiyama¹ (¹Dept. OB/GYN, Grad. Sch. Med., Nagoya Univ., ²Sch. Life Sci. & Tech., Tokyo Inst. Sci., ³Cancer Immunotherapy Project, CPM Center, JFCR)

Recent understanding of ovarian high-grade serous carcinoma (HGSC) has revealed it arises from fallopian tube epithelial cells (FTE cells), but the detail mechanisms are unknown. Extracellular vesicles (EVs) play a crucial role in cell-cell communication, and bacteria in humans also secrete EVs (BEVs). This study aimed to elucidate how vaginal BEVs contribute to the progression of ovarian cancer malignancy. Compared to control residential vaginal BEVs, *Lactobacillus iners*-EVs (*L. iners*-EV) promoted cell motility, and anoikic ability of p53-activated FTE cells ($p < 0.05$). Treatment of BEVs in mouse vaginas resulted in efficient *L. iners*-EV uptakes in FTE cells. BEV on fallopian tubes were directly collected from fifteen ovarian tumor patients by using cellulose nanofiber-based EV sheets and small RNA-seq for *L. iners* references revealed different profiles of FT-EVs in HGSC. mRNA-seq of FTE cells treated with *L. iners*-EV showed activation of the type I interferon (IFN-I) pathway and enhanced the nucleic acid sensing pathway mediated by MAVS. In FTE cells with the sensing pathway knocked out by CRISPR-Cas9, nucleic acid stimulation induced TBK1 phosphorylation and IFN-I activation. These results provide the unknown mechanism for progression of ovarian cancer due to specific BEV exposure and identify target genes in FTE cells as new diagnostic and therapeutic targets.

WS2-5

母体微生物叢の把握による、周産期管理と児の健康への展望

○谷垣 伸治¹, 花輪 智子², 小栗 典明³, 三好 潤³, 小林 千絵¹, 小澤 悠里⁴, 木村 俊彦⁴, 成田 雅美⁴, 久松 理一³ (¹杏林大・医・産婦, ²杏林大・医・総合医療学, ³杏林大・医・消化器内科, ⁴杏林大・医・小児科)

Prospects for perinatal management and child health through understanding the maternal microbiome

○Shinji Tanigaki¹, Tomoko Hanawa², Noriaki Oguri³, Jun Miyoshi³, Chie Kobayashi¹, Yuri Ozawa⁴, Toshihiko Kimura⁴, Masami Narita⁴, Tadakazu Hisamatsu³ (¹Dept. Obstet. Gynecol., Kyorin Univ. Sch. Med., ²Dept. General Med., Kyorin Univ. Sch. Med., ³Dept. Gastroenterol Hepatol, Kyorin Univ. Sch. Med., ⁴Dept. Peds, Kyorin Univ. Sch. Med.)

【背景】母体微生物叢は、妊娠経過や児の細菌叢構築・免疫発達への関与が示唆されるも、その影響は十分に理解されておらず、胎児の生育環境たる子宮内微生物叢の解析にも課題が残されている。そこで周産期管理の向上を目的に母児の微生物叢を妊娠中から経時的に解析した。【方法】子宮内細菌叢の解析は、胎盤病理学的検査で絨毛膜羊膜炎 (CAM) と診断した 9 例の母体腔分泌物と羊水を採取した。次に母体 42 例とその出生児 45 例の解析では、母体の妊娠 12, 20, 30, 36 週及び分娩時の腔・直腸・皮膚検体および分娩後 1 か月の腔・直腸検体を、児の出生 0, 1, 4 日, 1 か月の直腸検体を採取した。抽出した DNA の 16S rRNA 解析を行い、臨床情報と併せ母体細菌叢の児への影響を評価した。【結果と考察】CAM の治療対象だが培養検査が行われない *Ureaplasma* 属が 16S rRNA 解析で検出された。また新生児感染徴候を示した例では羊水菌叢の α 多様性が低かった。母体の腔内微生物叢構成は妊娠期間を通し安定していたが、分娩後に顕著に変化した。また腸内微生物叢は妊娠後期から分娩時にかけて有意に変化した。妊娠初期の腔内で *Lactobacillus* 属が優勢な母体は妊娠 38 週以降まで有意に妊娠継続し、妊娠前 BMI は高値であった。一方、妊娠後期の同属の優勢は妊娠経過に有意に影響しなかった。児の腸内細菌叢構成は経時的に変化し、母体腔・腸内・皮膚細菌叢の影響は分娩様式で異なる経時的变化を示した。【結語】菌叢解析は CAM 推定起因菌の検出に加え、 α 多様性の評価は CAM の重症度から子宮内環境推測の可能性が示された。母体微生物叢の妊娠経過と出生児の腸内微生物叢への影響が示唆され、その把握は新しい周産期管理の可能性を秘めている。

微生物制御研究の最前線

コンピーナー：高橋 章（徳島大学）
桑原 知巳（香川大学）

Frontiers in Microbial Control Research

Conveners: Akira Takahashi (Tokushima University)
Tomomi Kuwahara (Kagawa University)

ゲノム解析技術の進展により、微生物叢が個々の生態系に果たす役割についての理解が飛躍的に進んでいる。感染症、地球環境変動など、将来の **well being** を達成するために解決する問題は山積しており、感染症や疾患のコントロール、産業界でのイノベーション創出のため、微生物制御手法の研究開発に大きな期待が寄せられている。本ワークショップでは、医工連携研究による新たな微生物制御技術の開発や感染毒素型感染症の治療を目的とした創薬研究について紹介いただき、異分野融合研究による細菌学研究の発展について考察したい。また、多剤耐性菌による感染症治療や微生物叢制御手法として期待が高まっているファージ療法の開発研究の最前線やデータ駆動型研究として新規バクテリオシンの探索と機能解析についての研究を紹介いただき、次世代の細菌学研究とそのポテンシャルについて議論する場としたい。

WS3-1

光照射による病原微生物制御の波長依存性

○馬渡 一論、石川 寧子、戸田 沙慧、松原 未奈、上番増 喬、高橋 章（徳島大院・医歯薬学・予防環境栄養学）

Wavelength Dependence of Pathogenic Microorganism Control by Light Irradiation

○Kazuaki Mawatari, Yasuko Ishikawa, Sae Toda, Mina Matsubara, Takashi Uebano, Akira Takahashi (Dept. Prevent. Environ. Nutr., Ins. Biomed. Sci., Tokushima Univ. Grad. Sch.)

本セッションでは、主に紫外線（UV）照射による殺菌・ウイルス不活化の波長依存性について、当研究グループの成果を中心に紹介する。UV は非加熱で微生物を不活化できるため、医療や食品衛生など幅広い分野で利用されている。現在は主に低圧水銀ランプが用いられているが、水銀の使用を規制する水俣条約の影響により、水銀フリーの紫外線光源の開発が求められている。

次世代光源として、UV-LED、エキシマランプ、プラズマ放電ランプなどが注目されている。紫外線は UVA（315–400 nm）、UVB（280–315 nm）、UVC（100–280 nm）に分類され、LED は UVA から 260 nm 付近の UVC までナローバンドで照射可能である。当研究グループは、UVA、UVB、UVC の各波長による照射が A 型インフルエンザウイルス（IAV）や 1 型単純ヘルペスウイルスを不活化できること、さらに波長によって傷害されるウイルス構成分子が異なることを明らかにした。また、IAV に対する不活化効果はわずかな波長差でも大きく変化し、異なる波長の組み合わせにより相乗効果が生じることも見出した。さらに近年注目される far-UVC については、当研究グループが開発したプラズマ放電ランプを用い、低圧水銀ランプとは異なる不活化特性を示すことを明らかにしている。

これらの成果を踏まえ、当研究グループは UVA から far-UVC までの波長を自由に制御可能な平行光照射デバイスを開発した。本セッションでは、この装置を用いて得られた最新の研究成果を紹介するとともに、次世代紫外線光源による殺菌・ウイルス不活化技術の将来展望について述べる。

WS3-2

毒素標的型合成高分子ナノ粒子を用いた腸管感染症治療の検討

○山本 武司¹、星野 友²、今大路 治之³、桑原 知巳³、小出 裕之⁴、三浦 佳子⁵、小椋 義俊¹（¹久留米大・医・感染医学、²九州大院・工・応用化学、³香川大・医・分子微生物、⁴静岡県立大・薬・医薬生命化学、⁵九州大院・工・化学工学）

Development of toxin-targeting synthetic polymer nanoparticles for enteric infections

○Takeshi Yamamoto¹, Yu Hoshino², Haruyuki Imaohji³, Tomomi Kuwahara³, Hiroyuki Koide⁴, Yoshiko Miura⁵, Yoshitoshi Ogura¹ (¹Dept. Infect. Med., Sch. Med., Kurume Univ., ²Dept. Chem. Biochem., Grad. Sch. Eng., Kyushu Univ., ³Dept. Mol. Microbiol., Kagawa Univ. Fac. Med., ⁴Lab. Med. Biochem., Sch. Pharm. Sci., Univ. Shizuoka, ⁵Dept. Chem. Eng., Grad. Sch. Eng., Kyushu Univ.)

腸管感染症は依然として重要な公衆衛生上の課題である。抗菌薬はその制御において中心的な役割を果たしているが、薬剤耐性菌の出現や腸内細菌叢への影響といった問題も看過できない。また、腸管出血性大腸菌（EHEC）のように、毒素産生の増加を招く恐れがあることから抗菌薬の使用に制限がある場合もある。そのため、病原体を選択的に制御し、宿主への負荷を最小限に抑える新規治療法の開発が求められている。近年、抗体医薬の有用性が注目されているが、天然抗体は高い特異性を有する一方で、化学的・物理的安定性に乏しく、経口投与が困難である点が実用化の障壁となっている。したがって、腸管内環境下でも安定かつ安全に機能する分子設計が必要である。

合成高分子ナノ粒子は、安価かつ容易に入手可能な低分子化合物から構成される粒子状ポリマーであり、高い安定性と腸管非吸収性を特徴とする。同分子には抗体様の中和活性の付与が可能であり、従来型の吸着剤とは異なる優れた結合特異性を示す。我々は本技術を応用し、EHEC の志賀毒素を標的とした合成高分子ナノ粒子を作製し、その有用性を検証した。

作製したナノ粒子は志賀毒素に対して優れた中和活性を示し、その細胞傷害活性を著しく低下させた。さらに無菌マウス感染モデルにおいて生存率を大幅に改善した。一方で有意な毒性は認められず、腸管からの吸収も限定的であり、高い安全性が確認された。

以上より、合成高分子ナノ粒子は EHEC 感染症に対する有効かつ安全な新規経口治療ツールとなる可能性が示された。本研究は、毒素中和を基盤とする感染症制御の新たな選択肢を提示するものである。

WS3-3

Editing or Eradicating? Phages as Bacterial Population Controllers

○安藤 弘樹（株式会社Arrowsmith）

○Hiroki Ando (Arrowsmith Inc.)

Phages can be used to edit bacterial populations as well as to eradicate them, depending on how they are designed and deployed. Phage-based eradication has a history of more than a century, during which wild-type phages were applied to eliminate pathogenic bacteria in the pre-antibiotic era. In this classical context, phage therapy primarily aimed at reducing or removing entire bacterial populations.

More recently, advances in synthetic biology have expanded the scope of phage-based interventions beyond eradication. By engineering phage host specificity and infection dynamics, it has become possible to achieve more precise control over bacterial populations, enabling selective killing or editing rather than uniform elimination. In parallel, the discovery and development of CRISPR–Cas systems have enabled sequence-specific bacterial killing, allowing phages to serve as carriers of programmable antimicrobial payloads targeting defined genetic elements.

Here, I will present examples of phage-based interventions that either eradicate targeted bacterial populations or selectively edit their composition and function, placing these approaches within global research efforts and the growing ecosystem of phage-based startups. Together, this talk highlights how phages have evolved into rationally designable population controllers supporting both editing and eradicating strategies.

WS3-4

薬剤耐性菌時代におけるバクテリオシンの可能性

○松尾 美樹¹, 西濱 早紀^{1,2}, 小松澤 均¹ (¹広島大・院・医系科学・細菌学教室, ²広島大・院・医系科学・歯髄生物学教室)

The Potential of Bacteriocins in the Era of Antimicrobial Resistance

○Miki Kawada-Matsuo¹, Saki Nishihama^{1,2}, Hitoshi Komatsuzawa¹ (¹Dept. Bacteriology, Grad. Sch. Biomed and Health Sci., Hiroshima Univ., ²Dept. Bio. Endodontics, Grad. Sch. Biomed and Health Sci., Hiroshima Univ.)

抗微生物薬の確立と発展は、細菌感染症をはじめとする多くの感染症による死亡率を劇的に低下させ、人類の健康と寿命の延伸に大きく貢献したという点で、20世紀における最も重要な医学的成果の一つであった。しかし近年、抗菌薬の不適切使用や長期使用を背景として薬剤耐性菌が世界的に拡大し、従来の抗菌薬治療の有効性が著しく低下している。この問題は **Antimicrobial Resistance (AMR)** として国際的課題となっており、21世紀における感染症制御に深刻な影響を及ぼしている。こうした背景のもと、AMR 対策の一環として新規作用機序を有する抗微生物薬の開発が強く求められており、バクテリオファージや抗菌性ペプチドなどの代替治療法が注目されている。バクテリオシンは細菌が産生する抗菌性ペプチドであり、すでに食品保存料として実用化されているものも存在することから、生体への安全性が高い点が特徴である。そのため、新規抗菌薬候補として高い可能性を有すると考えられている。私たちはこれまでにヒト常在細菌由来バクテリオシンの精製および機能解析を行ってきた。本稿では、バクテリオシンの基本的特性に加え、**MRSA** をはじめとする薬剤耐性菌に対する抗菌効果、臨床応用に向けた可能性、さらには実用化に際しての課題について、我々の研究成果を交えながら概説する。

WS5

代謝モデリングが織りなす「予測駆動型システム細菌学」の理論と実践

コンビーナー：尾鶴 亮（福岡大学）
広瀬 雄二郎（大阪大学）

Prediction-Driven Systems Bacteriology Through Metabolic Modeling: Theory and Practice

Conveners: Ryo Ozuru (Fukuoka University)
Yujiro Hirose (Osaka University)

ゲノム解読が一般化した現代において、膨大な配列情報と複雑な生命現象との間にある大きな隔たりをいかにして埋めるか？これは、次世代の細菌学における中心的な課題である。本企画では、この課題に挑む新たな学問分野として「予測駆動型システム細菌学」を提唱し、その基盤技術である「代謝モデリング」を紹介する。これはゲノム情報に基づき、細胞全体の代謝反応を網羅したネットワークモデルをコンピュータ上に再構築する技術である。細胞の増殖や代謝産物などを定量的に「予測」できる上、代謝系を合理的に「設計」することも可能になる。本企画では、代謝モデリングの基礎から、感染症や有用物質生産といった細菌学研究における最前線の応用例、さらにより動的な生命現象を扱う「代謝動力学モデル」を紹介する。本企画が、全ての参加者にとって分野を越えたパートナーシップを築き、予測駆動型の共同研究を創出する「協業のハブ」となることを目指す。

WS5-1

化膿レンサ球菌ゲノムスケール代謝モデル構築に至る経緯とその後の展開

○広瀬 雄二郎（阪大・院歯・微生物）

Developing a genome-scale metabolic model of *Streptococcus pyogenes* and its subsequent applications

○Yujiro Hirose (Dept. Microbiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent., UOsaka)

化膿レンサ球菌は、咽頭炎から劇症型感染症に至るまで多様な感染症を引き起こす病原菌である。およそ10年ほど前から、化膿レンサ球菌の代謝能力が感染局所における病原性発揮機構に寄与することが、複数の動物実験により示されてきた。しかし、その機序を包括的に説明する手段は乏しいと感じていた。そこで私は、研究留学の機会を活かし、米国カリフォルニア大学サンディエゴ校 Bernhard O. Palsson 教授との共同研究を開始するとともに、化膿レンサ球菌のゲノムスケール代謝モデルの構築に取り組んだ。本発表では、その開発に至る経緯、開発過程での苦労、ならびにその後の活用方法について紹介する。

WS5-2

代謝モデリングによる病原性レプトスピラと環境細菌との相互作用の解析

○吉村 芳修（福岡大・医・微生物免疫）

Metabolic Modeling Reveals Cross-Species Interactions Between *Leptospira* and Environmental Bacteria

○Michinobu Yoshimura (Dept. Microbiol. & Immunol., Fac. Med. Fukuoka Univ.)

病原性レプトスピラは人獣共通感染症の病原体であり、ヒトには発熱や黄疸、腎障害、肺出血といった多彩な症状を引き起こす。この病原体は通常、野生動物によって保菌されており、その尿などによって環境は汚染される。汚染された土壌中や水系には病原体が存在しており、経皮的にヒトを含めた動物に感染すると考えられている。海外では洪水などの自然災害に伴って多数の症例が発生している。本邦でも、川遊びなどのレジャーによる集団感染などが報告されている。しかし一方で、環境中の土壌や水系などからの病原体の分離はほとんど成功していない。また、土壌などの環境中でどのように他の微生物と共存しているのかについてはほとんど知見がない。そこで我々は、病原性レプトスピラと世界中に広く存在する土壌細菌である *Massilia* を用いてそれぞれの産生する代謝産物が、相互に及ぼす影響について、代謝モデリングによる予測と、培養実験による検証を行った。*Massilia* の産生する代謝産物の一部は病原性レプトスピラの増殖促進に寄与していた。また、同様に病原性レプトスピラが産生する代謝産物も *Massilia* の増殖を促進するとともに、運動性の変化にも寄与しており、両者が互いに影響しあって共存している可能性が見えてきた。

WS5-3

大腸菌における中心代謝経路のキネティックモデリング

○松岡 結（九工大・生命情報）

Kinetic modeling of central metabolic pathways in *Escherichia coli*

○Yu Matsuoka (Dept. Biosci. Bioinform., Kyutech)

バクテリア細胞は、炭素源を中心とした様々な栄養源を取り込んで、主に中心代謝経路（解糖系、TCA 回路、ペントースリン酸経路、および呼吸鎖）によって、ATP などのエネルギーを生成(catabolism)し、細胞構成成分を合成(anabolism)している。中心代謝経路は、ほとんどの生物に共通しているため、細胞の代謝を本質的に理解するには、この中心代謝経路のモデリングやシミュレーションが重要な役割を果たすと考えられる。代謝反応は、増殖環境の変化に応じて、アロステリック制御のような酵素レベル、および転写活性因子を介した遺伝子レベルにおいて、複雑に調節制御されている。そこで、これらの調節制御を組み込んだ代謝動力学モデルの開発が重要である。また、大腸菌は、増殖が速く、その特性がよく研究されているという利点から、細胞の設計や代謝解析などに適した最も有望なモデル微生物である。本研究では、大腸菌の中心代謝経路に着目し、グルコースなどの炭素源取り込みに関して、PTS (phosphotransferase system) のリン酸化/脱リン酸化のモデルを組み込み、カタボライト抑制制御(carbon catabolite regulation)に関するシミュレーションを行って、信号物質 cAMP（あるいは cAMP-Crp）の挙動を予測し、実験データとの比較検討を行った。これにより、細胞内の代謝特性を解析することや、有用物質生産への応用を検討できると考えられる。

WS6

事例に学ぶ細菌学

コンピーナー：山崎 伸二（大阪公立大学）
中村 寛海（大阪健康安全基盤研究所）

Bacteriology learnt from each case

Conveners: Shinji Yamasaki (Osaka Metropolitan University)
Hiromi Nakamura (Osaka Institute of Public Health)

食中毒や感染症の発生時には、患者のみならず食品や環境材料から分離された細菌を様々な方法で分類・型別することにより感染源や感染経路の推定が可能となり、事例の検証を行うことができる。本ワークショップでは、簡易水道水を原因としたカンピロバクター食中毒事例、食中毒事例から分離されたセレウス菌のゲノム解析、菌株ゲノム比較による結核分子疫学の変革、2025 年の百日咳菌の流行とマクロライド耐性百日咳菌の急拡大、侵襲性 A 群溶血性レンサ球菌感染症における M1UK 株急増の実態とその対応について、実際の食中毒や感染症事例に最前線に対応された 5 名の先生方に事例や流行菌株の特徴について紹介していただく。実際の事例紹介や流行菌株の特徴解析により、聴講者とともに食中毒や感染症の疫学についての理解を深めるとともに、問題点を見出し、課題解決に繋がる共同研究に発展すれば幸いである。

WS6-1

簡易水道水を原因としたカンピロバクター食中毒事例

○高橋 裕子，遠藤 るい，長谷川 駿，下田 貴博，塚越 博之，猿木 信裕（群馬衛研）

Campylobacter food poisoning cases caused by small-scale water supply system

○Hiroko Takahashi, Rui Endo, Shun Hasegawa, Takahiro Shimoda, Hiroyuki Tsukagoshi, Nobuhiro Saruki (Gunma Pref. Inst. Public Health and Environ. Sci.)

令和 7 年 4 月、群馬県において簡易水道水を原因とした *Campylobacter jejuni* による食中毒事例が発生した。水道水を摂取した者は 37 名中 14 名が腹痛、下痢、発熱等の症状を呈し、多くが未加熱のまま摂取していた。水道水および当該地区の配水池で水道法による水質基準逸脱が判明し、直ちに水道水の飲用停止指導がなされた。保健所立ち合いの現場調査で、配水池に農業用水が流入していたことが判明し、汚染原因として疑われた。

当所では患者便 6 検体と農業用水を対象に、分離培養、同定を行ったところ、患者便 5 検体および農業用水から *C. jejuni* を検出した。血清型はすべて Penner 型 O 群で、Multiplex PCR binary typing (mP-BIT) 法でも全株で同一スコアが算出されたことから、農業用水による水道水の汚染が強く示唆された。農業用水の貯水池は配水池に近接しており、両者の排水管が接続されていたうえ、事例当時は排水管に枯葉や土等で詰まりが生じ、逆流が発生していた。水道管理については、水道法第 20 条の規定において必要な毎日検査が末端給水栓で行われておらず、上流部の浄水場で残留塩素自動測定システムによって監視されるのみであった。さらに、前年秋頃から水道水の濁りの苦情があったにもかかわらず、十分な対応がなされなかったことが事件の発生につながったと考えられる。

本邦における水道施設は、老朽化や過疎化による点検不足の可能性もあり、今後も類似事例の発生が懸念される。設備の更新や点検の強化、異常を早期に検知できる体制の整備が必要であり、適切な水道水管理の重要性を再認識する事例となった。

WS6-2

食中毒事例から分離されたセレウス菌のゲノム解析

○久手堅 剛, 柿田 徹也, 平良 遥乃, 照屋 盛実, 大西 真 (沖縄衛研・感染症研究センター)

Genomic Analysis of *Bacillus cereus* group strains Isolated from Food Poisoning Cases

○Tsuyoshi Kudeken, Tetsuya Kakita, Haruno Taira, Morimi Teruya, Makoto Ohnishi (Res. Ctr. Infect. Dis., Okinawa Pref. Inst. Health and Env.)

セレウス菌は自然界に広く分布し、嘔吐や下痢などの症状を引き起こす食中毒起因菌として知られている。セレウス菌による食中毒の国内での発件数は、過去 10 年で毎年 1~9 件と比較的稀な食中毒である。沖縄県では 2021 年と 2022 年にセレウス菌による食中毒が発生した。事例 1 は、2021 年 10 月、県内高等学校から生徒らが嘔吐、腹痛等の症状を呈しているとの連絡が保健所にあり、調査が行われた。聞き取りの結果、有症者らは施設 A で製造された弁当を喫食していた。さらに、別の 2 つの学校からも施設 A で製造された弁当を同日喫食し、同様の症状を呈している生徒がいるとの連絡があった。異なる学校に通う有症者らに当該弁当以外の共通食や接点はなく、弁当を原因とする食中毒が疑われた。微生物検査の結果、有症者便、食品および施設 A の拭き取り検体からセレウス菌が検出された。事例 2 は、2022 年 11 月、県内医療機関から修学旅行に参加した小学生らが嘔吐、腹痛等の症状を呈しているとの連絡が保健所にあり、調査が行われた。聞き取りの結果、修学旅行は二日間の日程で行われていた。有症者らは、一日目の夕食と二日目の朝食を施設 B で喫食し、二日目の昼食として施設 C が製造した弁当を喫食していた。微生物検査の結果、有症者便からセレウス菌が検出され、さらに施設 C の拭き取り検体からもセレウス菌が検出された。2 つの事例から分離されたセレウス菌 31 株のゲノムデータを取得し、ANI による菌種同定および MLST 解析を実施した。その結果すべて *Bacillus paranthracis*, ST26 であった。さらに core genome SNP (cgSNP) 解析により菌株間の関連性を調べたので紹介したい。

WS6-3

菌株ゲノム比較の高解像度がもたらす結核分子疫学の変革

○和田 崇之^{1,2} (¹大阪公大院・生・微生物, ²大阪公大・大阪国際感染症研究センター)

Paradigm Shift in Molecular Epidemiology of TB Enabled by High Discriminatory Genome Analysis

○Takayuki Wada^{1,2} (¹Dept. Microbiol. Grad. Sch. Hum. Life Ecol., Osaka Metro. Univ., ²Osaka Intl. Res. Ctr. Infect. Dis., Osaka Metro. Univ.)

本邦における結核菌臨床分離株のゲノム解析は、現行型別法である JATA(12)-VNTR の全国実装と並行して、2012 年頃より本演者らを中心として実用性が検証されてきた。結核菌は極めてクローナルな集団構造を持ち、遺伝子組換えや水平伝播が稀なことから、変異検出が容易でゲノム解析に適した病原体である。また、保健所による患者聞き取り調査が精力的に実施されてきた背景もあり、患者情報と菌株情報の統合解析が進められてきた。COVID-19 パンデミックを契機として、次世代シーケンサー (NGS) が全国の地方衛生研究所 (地衛研) に広く導入され、ゲノム解析基盤が急速に整備された。これを受け、各地衛研では NGS の恒常的な運用に向け、対象とすべき病原体の選定や応用技術の模索が進められている。その中で、結核菌はその解析適性と公衆衛生上の意義から注目され、一部自治体では全株収集と NGS 解析の導入が検討・実施されつつある。本発表では、国内で最も結核罹患率が高い大阪市と、低罹患率ながら早期からゲノム解析を進めてきた山形県の事例を紹介し、実地疫学情報と菌株ゲノム情報の統合がもたらす有用性を示す。これにより、ポストコロナ時代の感染症対策における新たな展開として、患者情報 (実地疫学) と菌株情報 (ゲノム) を組み合わせることの重要性と可能性について考察したい。また、結核研究の一端として、ゲノム解析によって初めて詳細に捉えられる「体内での変異蓄積 (in-body mutation)」に着目し、分子疫学解析への影響について紹介する。こうした視点は、ゲノム解析精度の向上において重要であり、公衆衛生に向けたゲノムデータの活用における課題と展望として提示したい。

WS6-4

COVID-19 パンデミック後の百日咳流行とマクロライド耐性百日咳菌の急拡大

○大塚 菜緒 (国立感染研・細菌第二)

Pertussis upsurge and spreading of macrolide-resistant *Bordetella pertussis* in Japan

○Nao Otsuka (Dept. Bacil., Natl. Inst. Infect. Dis.)

百日咳は主に百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) によって引き起こされる急性呼吸器感染症である。感染症発生動向調査では、百日咳は感染症法五類の全数把握対象疾患となっているが、2020~2023 年の新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 流行期には患者届出数が激減していた。しかし、2024 年後期に患者届出数が増加に転じると、2025 年には過去最大規模の流行が発生した (2025 年第 49 週時点で 87,938 例の届出)。本流行の原因としては (1) COVID-19 流行対策による百日咳免疫の低下 (自然感染の機会減少)、(2) マクロライド耐性百日咳菌 (macrolide-resistant *Bordetella pertussis*, MRBP) の出現と拡大が考えられる。これまで、百日咳菌のマクロライド耐性機構としては 23S rRNA 遺伝子の A2047G 点変異のみが報告されており、遺伝子検査では臨床検体 DNA または分離菌株の当該遺伝子変異を同定することで感染株の薬剤耐性を推定することができる。百日咳菌の菌培養は時間がかかり、また特殊培地を必要とすることで検査体制として取り入れにくい面があるが、分離株が得られれば薬剤感受性試験のほかゲノム解析に供試できるなど菌株に関する情報量が圧倒的に増えるなど利点もある。2025 年 7~9 月の地方衛生研究所における検査状況を調査したところ、MRBP 検出率は全国平均で既に 79.5% となっていた (厚労科研・宮崎班, n=371)。本講演では COVID-19 流行前後での国内流行百日咳菌の分子疫学変化と現在の耐性検査における注意点について事例を交えて紹介したい。

WS6-5

侵襲性 A 群溶血性レンサ球菌感染症の一急増する M1UK 株の実態とその対応

○菊池 賢 (東京女子医科大・感染症科)

Strategy or invasive *Streptococcus pyogenes* infections, especially due to M1UK strains

○Ken Kikuchi (Dept. Infect. Dis., Tokyo Women's Med. Univ.)

With コロナ時代に入ると、2023 年あたりから、インフルエンザ、手足口病、RS ウイルス感染症、アデノウイルス感染症などの様々な感染症が急増している。中でも A 群溶血性レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) 感染症は一般的な小児咽頭炎も高止まりが続く上、劇症型溶血性レンサ球菌感染症もこれまでにない報告数に至っている。これは日本ばかりでなく、欧米等世界中でみられる現象になっている。その増加理由には新型コロナとの共存に踏み切り、感染対策が緩んだ事が一番大きい。コロナ下での厳格な人との接触回避でブースターがかからなかったことや、インバウンドの急増による新たな M1UK 株の世界的蔓延拡大がある。当院で分離される *emm1* 型の *S. pyogenes* は 2023 年以降、すべて M1UK 株に置き換わった。M1UK は SpeA を産生し、欧米では猩紅熱の再興につながっているとされるが、日本ではそのような動向はみられない。日本の M1UK には *speA* を保有しない株もみられることから、かならずしも起源は同じものではない可能性もある。本講演では従来から高病原性とされる *emm1* 型 A 群溶血性レンサ球菌感染症の現状、疫学動向、診断、治療についての変遷を解説すると同時に、劇症型溶血性レンサ球菌感染症の現状動向と今後の展望について、考えてみたい。

生化学で読み解く細菌の生命現象

コンピーナー：田口 厚志（大阪大学）
田辺 幹雄（高エネ機構・物構研・構造生物）

Decoding Bacterial Physiology: A Biochemical Perspective

Conveners: Atsushi Taguchi (The University of Osaka)
Mikio Tanabe (Struct. Biol. Res. Cen, Inst. Mat. Struct. Sci. KEK)

細菌の生命現象を分子レベルの根底から理解するためには、それらの機能を担うタンパク質の生化学的解析が必須です。近年 CRISPR, 次世代シーケンシング, AlphaFold, クライオ電顕等の技術と組み合わせることにより、病原因子の活性の解析、宿主細胞との分子相互作用、薬剤への耐性機構、環境ストレス応答等、様々な生命現象が解明されつつあります。本シンポジウムでは、ここで改めて今一度この現象を生化学の観点から立ち返り、生化学をベースにした多角的視点から細菌学研究を展開している研究者の皆さんにご登壇いただき、分子のレベルから細菌の生存戦略を読み解き、感染症制御や創薬、将来的な技術の応用を考えるセッションにしたいと考えています。

WS7-1

グラム陰性細菌が外界の鉄を感知する機構：タンパク質切断と分子モーターが駆動するシグナル伝達

○横山 達彦¹, 宮崎 亮次², 鈴木 健裕³, 堂前 直³, 永井 宏樹¹, 塚崎 智也², 久堀 智子¹, 秋山 芳展⁴ (¹岐阜大・医, ²奈良先端大・先端科学技術研究科, ³理研・CSRS, ⁴京大・医生研)

Mechanisms of Extracellular Iron Sensing in Gram-negative Bacteria

○Tatsuhiko Yokoyama¹, Ryoji Miyazaki², Takehiro Suzuki³, Naoshi Dohmae³, Hiroki Nagai¹, Tomoya Tsukazaki², Tomoko Kubori¹, Yoshinori Akiyama⁴ (¹Grad. Sch. Med., Gifu Univ., ²Grad. Sch. Sci. Tech., NAIST, ³CSRS, RIKEN, ⁴Inst. Life Med. Sci., Kyoto Univ.)

鉄はほぼ全ての生物にとって必須の元素だが、地球上の多くの環境において、生物が利用可能な状態の鉄イオンは極めて乏しい。細菌はこのような鉄枯渇環境に適応するために、外界の鉄を「感知」し、鉄取り込みを担う遺伝子群の発現を誘導する巧妙なシステムを有している。しかしながら、そのシグナル伝達機構の詳細は長年にわたって不明であった。グラム陰性細菌は外界の鉄を取り込む際に、Ton モーターと呼ばれる分子モーターが生み出す機械的な力を利用する。本研究では生化学的手法を駆使することにより、この機械的な力がシグナル伝達を担う膜タンパク質 FecR に伝わり、FecR の連続的な切断が引き起こされることを突き止めた。さらにその結果生じた FecR 断片が、鉄獲得に必要な遺伝子群の発現を誘導することを明らかにした。本研究は、タンパク質切断を介した新たなシグナル伝達メカニズムを解明し、生体機能制御の基盤となる仕組みの一端を明らかにしたものである。

WS7-2

Shiga toxin の各サブユニット機能部位を標的としたペプチド創薬

○高橋 美帆（同志社大・生命・医生命システム）

Peptide-based inhibitors targeting the functional sites of the A and B subunits of Shiga toxin

○Miho Takahashi (Dept. Med. Life Syst., Fac. Life Med. Sci., Doshisha Univ.)

Shiga toxin (Stx) is a bacterial toxin comprising two subfamilies, Stx1 and Stx2, both consisting of a catalytically active A subunit and a pentameric B subunit. The A subunit possesses N-glycosidase activity and inhibits protein synthesis by inactivating ribosomes. The pentameric B subunit binds to the cellular receptor globotriaosylceramide (Gb3), and its simultaneous recognition of multiple Gb3 molecules markedly enhances its affinity for target cells.

We developed a multivalent peptide library and identified MMA-tet, which contains four identical motifs targeting the Gb3-binding sites of the B subunit. We showed that MMA-tet potently inhibited the cytotoxicity of Stxs in vitro and in vivo. Interestingly, the monomeric form of the peptide containing the same functional motif does not bind the B subunit; instead, it binds to the catalytic pocket of the A subunit and markedly inhibits the cytotoxic activity of Stxs. X-ray crystallographic analysis of the Stx2-monomer complex revealed that the monomer inserts into the catalytic pocket from its C-terminal end, where the C-terminal carbonyl amide and consecutive arginine residues interact with the surrounding amino acids, thereby mediating the inhibitory mechanism. In this presentation, I will discuss the inhibitory mechanisms of the monomeric and tetrameric peptide forms against the A and B subunits of Stxs.

WS7-3

還元型リン化合物の輸送と酸化反応を司るタンパク質の生化学とその応用

○廣田 隆一（広島大院・統合生命）

Biochemistry and Applications of Proteins for Reduced Phosphorus Compound Metabolism

○Ryuichi Hirota (Grad. Sch. Integr. Sci. Life, Hiroshima Univ.)

Phosphorus is an essential element for life, and most organisms utilize phosphate (H_2PO_4^-) as their primary phosphorus source. However, several groups of bacteria can metabolize reduced phosphorus compounds such as phosphite (HPO_3^{2-}) and phosphonates (R-PO_3), and the proteins involved in their transport and oxidation have highly unique properties. In particular, the inorganic reduced phosphorus-specific transporter HtxBCDE and the enzymes PtxD and HtxA, which oxidize phosphite and hypophosphite (H_2PO_2^-), possess distinctive mechanisms underlying substrate specificity and catalytic reactions, making them intriguing targets in enzymology and metabolic engineering. Moreover, the oxidation of phosphite proceeds with highly favorable thermodynamics, enabling the use of this reaction to regenerate ATP and NAD(P)H. Reconstituting these transport and oxidation systems within bacterial cells allows their application as novel biocontainment strategies for genetically modified microorganisms, as well as energy-supplying modules and NAD(P)H-regenerating bioprocesses. In this talk, I will introduce our recent research of these proteins involved in reduced phosphorus compound metabolism, along with their synthetic biological applications and potential contributions to biocontainment technologies.

WS7-4

大腸菌必須膜タンパク質 MurJ を標的とするファージ由来溶菌ペプチドの阻害機構

甲賀 栄貴¹, 細田 凱斗¹, ラトゥリーダコン ナパティップ¹, 宮崎 亮次¹, 呉 思賢¹, 田中 宏幸¹, 高橋 祐太郎¹, 吉海江 国仁¹, 車 愈激², 重松 秀樹³, 森 貴治⁴, ○塚崎 智也¹ (¹奈良先端大, ²海洋研究開発機構, ³高輝度光科学研究センター・SPRING-8, ⁴東京理科大・理)

Structural Basis of *E. coli* MurJ Inhibition by Phage-Derived Lytic Peptides

Hidetaka Kohga¹, Kaito Hosoda¹, Napathip Lertpreedakorn¹, Ryoji Miyazaki¹, Sixian Wu¹, Hiroyuki Tanaka¹, Yutaro S. Takahashi¹, Kunihiro Yoshikaie¹, Yutetsu Kuruma², Hideki Shigematsu³, Takaharu Mori⁴, ○Tomoya Tsukazaki¹ (¹NAIST, ²JAMSTEC, ³SPRING-8, JASRI, ⁴Fac. Sci., Tokyo Univ. Sci.)

真正細菌の細胞壁の主成分であるペプチドグリカンの構築には, Lipid II が必須である. Lipid II は細胞質で合成されたのち, 膜外へ輸送される必要があり, この過程を担うのが Lipid II フリッパーゼ MurJ である. MurJ は必須膜タンパク質であることから, 抗菌薬開発の有望な標的である. ファージ *Levivirus* 由来の溶菌タンパク質 Lys^M (Sgl^M) は, MurJ に結合して溶菌を引き起こすことが知られているが, その作用機構は未解明であった. 本研究では, MurJ と Lys^M の複合体の精製に成功し, そのクライオ電子顕微鏡構造を 3.1 Å 分解能で決定した. Lys^M は MurJ の 2 番目の膜貫通領域 (TM2) と TM7 の隙間に「くさび」のように挿入し, MurJ を outward-facing 構造に固定することが判明した. また, 部位特異的変異解析および pull-down アッセイにより, Lys^M 作用に重要な残基を同定するだけでなく, MD シミュレーションにより Lys^M が outward-facing 状態を安定化することを確認した. さらに, 別のファージ由来溶菌タンパク質 Sgl^{PP7} と MurJ の複合体構造も 3.2 Å 分解能で決定し, Sgl^{PP7} もまた MurJ を outward-facing 構造に固定することを明らかにした. しかしながら, Sgl^{PP7} は Lys^M とは異なる相互作用様式で機能しており, これらの結果は MurJ 阻害において収斂進化が起こっていることを示唆する.

WS7-5

細胞表層合成を担う新規膜輸送体の分子機能解析

○田口 厚志 (感染症・阪大)

Molecular analysis of a novel prokaryotic transporter involved in cell surface synthesis

○Atsushi Taguchi (CiDER, UOsaka)

The bacterial cell surface consists of various sugar polymers that are essential for maintaining structural integrity and mediating interactions with the surrounding environment. These polymers include the peptidoglycan cell wall and capsular polysaccharides, which are important targets for antibiotic and vaccine development, and their biogenesis pathways have been extensively studied over the years. In contrast, the undecaprenyl phosphate lipid carrier involved in the translocation of polymer precursors across the membrane has received less attention, and many aspects of its synthesis and recycling remain to be characterized. In this talk, I will present our research on a novel membrane transporter responsible for translocating undecaprenyl phosphate to the cytoplasmic side of the membrane. This transporter is broadly conserved among streptococcal and enterococcal species, and deletion of the corresponding gene in the human pathogen *Streptococcus pneumoniae* increases susceptibility to undecaprenyl phosphate-targeting antibiotics. Structural studies reveal a specific binding site for the lipid carrier, providing mechanistic insight into how this transporter mediates its translocation. Our study establishes a basis for developing therapeutic strategies that perturb undecaprenyl phosphate trafficking as a means to compromise cell wall biogenesis.

WS8

選抜口頭発表 1: 病原性

コンピーナー: 八尋 錦之助 (京都薬科大学)
住友 倫子 (徳島大学)

Selected Oral Presentations 1
Pathogenicity

Conveners: Kinnosuke Yahiro (Kyoto Pharmaceutical University)
Tomoko Sumitomo (Tokushima University)

WS8-1/P1-116

新興性病原真菌 *Candida auris* の遺伝子破壊法の開発とそれを用いたヒト肝細胞に対する病原因子の特定

○橋本 和士, 和田 日菜子, Ni Anggareni, 陳 馨玥, 折原 芳波, 梶原 将 (東京科学大・生命理工・生命理工)

Construction of the gene knockout system for *Candida auris* and identification of the virulent factor

○Kazushi Hashimoto, Hinako Wada, Ni Anggareni, Xinyue Chen, Kanami Orihara, Susumu Kajiwara (Dept. Life Sci. & Tech., Sch. Life Sci. & Tech., Inst. Science Tokyo)

【目的】2009 年に同定された *Candida auris* は, 世界的な多剤耐性菌の出現や病院での集団感染が報告され対策が急務であるが, 基盤的研究は十分でない. そこで本菌種の生理的性質等の解明に向け, 簡易に遺伝子導入・破壊が可能な宿主・ベクター系を開発するとともに, 他のカンジダ菌種で病原因子とされる NADPH オキシダーゼ (NOX) 遺伝子の同定を試みた.

【方法】*C. auris* は薬剤耐性を有するため, 宿主・ベクター系のマーカーとして栄養要求性マーカーの *URA3* 遺伝子を用いた. エレクトロポレーション法で *C. auris* MYA5001 株の *URA3* ORF を除去し, *URA3* 欠失株 (*ura3* 株) を 5-フルオロオロチン酸で選出した. その後行った *URA3* DNA カセットを用いた *ura3* 株の遺伝子破壊の確認には, *LEU2* 遺伝子破壊によるロイシン要求性を利用した. 一方, *C. auris* のヒト肝細胞への感染実験には HC 細胞を用いた. その解析には, CM-H₂DCF₂を用いた ROS 産生量測定と qPCR 法による遺伝子発現量測定を行った.

【結果】相同性組み換えを利用して *C. auris* の *ura3* 株を作出した. *ura3* 株はウリジン添加の合成培地でのみ増殖することが分かった. 次に, *ura3* 株と *URA3* DNA カセットを用いて *LEU2* 遺伝子破壊株の作出に成功し, 栄養要求性を利用した宿主・ベクター系が構築できた. 続いて感染実験では, 感染 16 時間後において ROS 産生量の増大と 1 つの NOX 遺伝子 *CJI96_0003397* の発現上昇が確認された.

【結論】*C. auris* の遺伝子導入・破壊を行うための高効率な宿主・ベクター系を構築した. さらに HC 細胞への感染時に *CJI96_0003397* の顕著な発現増加を確認した. 現在, 構築した宿主・ベクター系を用い, *CJI96_0003397* 遺伝子欠失株の作製を試みている.

WS8-2/P1-119

インフラマソームを介した炎症応答による細菌感染の重症化機序

○原 英樹, 松田 泰幸, 山内 肇 (旭川医大・医・感染症)

Exacerbation mechanisms of bacterial infection through inflammasome-mediated inflammatory responses

○Hideki Hara, Yasuyuki Matsuda, Hajime Yamauchi (Dept. Microbiol. Immunochem., Asahikawa Med. Univ.)

Infections with pathogenic microorganisms such as *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Acinetobacter baumannii* activate inflammasomes, key signaling platforms of the innate immune response. Upon sensing microbial components via intracellular pattern-recognition receptors, including NOD-like receptors (NLRs) and AIM2-like receptors (ALRs), the inflammasome adaptor ASC and pro-caspase-1 are recruited to assemble a multiprotein complex termed the “Inflammasome,” leading to caspase-1 activation. Active caspase-1 drives the secretion of the proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-18 and induces GSDMD-mediated pyroptotic cell death. Although infection with these pathogens is known to activate inflammasomes, the molecular mechanisms involved have remained poorly understood. Here, we demonstrate that bacterial toxins promote inflammasome responses and thereby exacerbate infection pathogenesis. We also show that Gram-positive and Gram-negative bacteria activate the inflammasome through distinct mechanisms. Together, these findings indicate that inflammasome activation is a critical determinant of infectious disease severity and suggest that a bacterium’s ability to activate the inflammasome could serve as an indicator of its virulence.

WS8-3/P1-120

肺炎球菌が保有するプロテアーゼの宿主細胞内における新規機能に関する解析

○栗石 早矢佳, 小川 道永, 明田 幸宏 (JIHS・国立感染研・細菌第一部)

Function analysis of pneumococcal protease in intrinsic hierarchical autophagy

○Sayaka Shizukuishi, Michinaga Ogawa, Yukihiro Akeda (Bacteriol. I, Nat. Inst. Infect. Dis., JIHS)

肺炎球菌は主にヒトの鼻咽頭に常在しており、小児や免疫力が低下した高齢者に敗血症や髄膜炎といった侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)を引き起こす。IPD発症メカニズムの一つとして、肺炎球菌は鼻咽頭上皮細胞などの宿主細胞へ定着すると、宿主のエンドサイトーシス経路を利用して細胞内に侵入する。上皮細胞は自然免疫における一次バリアとして機能していることが知られているが、上皮細胞に侵入した肺炎球菌と宿主細胞との相互作用については不明な点が多く残されている。現在までに我々は、肺炎球菌を感染細胞において感染1時間後に一過性に非典型的な二重膜オートファジー(conjugation of Atg8s to single membranes (CASM))が誘導され、CASMが終息した後の感染2時間後からは殺菌性を有する典型的な二重膜からなる典型的なオートファジーであるゼノファジーが誘導され、菌は排除されることを報告している。今回、我々は肺炎球菌が保有するプロテアーゼが肺炎球菌特有の階層性オートファジー誘導の駆動に関与する可能性を検討し、興味深い知見を得たので報告する。

WS8-4/P1-134

Suppression of osteoclast differentiation by K. pneumoniae-derived extracellular vesicles (KpEVs)

○津川 仁^{1,2}, 豊元 悠弥¹, 椿 翔吾¹, 酒井 大輔³, 今井 仁^{2,4} (1東海大医・生体防御学・生物界間シグナル解析, 2東海大総医研・感染免疫機能部門, 3東海大医・整形外科学, 4東海大医・健康管理学)

○Hitoshi Tsugawa^{1,2}, Touya Toyomoto¹, Shogo Tsubaki¹, Daisuke Sakai³, Jin Imai^{2,4} (1TranSiR, Div. Host Defense Mech., Tokai Univ., Sch. Med., 2The Inst. Med. Sci., Tokai Univ., 3Dep. Ortho. Sur., Tokai Univ., Sch. Med., 4Dep. Clin. Heal. Sci., Tokai Univ., Sch. Med.)

【目的】腸内細菌の *Klebsiella pneumoniae* は高齢者の肺炎や肝臓瘍の原因菌として知られる。我々は、*K. pneumoniae* が産生する菌体外膜小胞 (KpEVs) が血中を介して消化管から脊椎へ移行・集積することを見出した。本研究では、脊椎に集積した KpEVs の破骨細胞への影響を解析した。【方法】KpEVs は培養上清より超遠心分離法とショ糖密度勾配法により精製した。破骨細胞はマウス骨髄細胞 (BM) より RANKL 添加により初代培養細胞として分化誘導した。【結果】KpEVs 添加により BM から破骨細胞への分化は顕著に抑制された。また、KpEVs 存在下では破骨細胞の骨吸収活性が阻害された。KpEVs は破骨細胞の骨吸収に関わる蛋白質 MMP-9 及び Cathepsin K の発現を阻害した。これら蛋白質発現は RANKL と RANK の結合により誘導されるが、KpEVs は破骨細胞の RANK の発現を顕著に抑制した。KpEVs による RANK 発現抑制は、RANK の転写因子 MITF の mRNA 発現阻害に由来することが明らかになった。つまり、KpEVs は MITF の mRNA 発現抑制を介して BM の破骨細胞への分化と破骨細胞の骨吸収活性を阻害している。骨粗しょう症モデルマウスへ KpEVs を尾静脈投与すると、大腿骨の骨密度減少が促進し、KpEVs が誘導する破骨細胞の機能破綻が脊椎骨代謝疾患の発症要因又は増悪因子になっている可能性が示唆された。

WS8-5/P1-108

Klebsiella 定着ノトバイオートマウスを用いた腸管定着機構の解明

○深町 はるか¹, 前野 慎太郎², 谷口 愛樹³, 後藤 恭宏⁴, 森崎 弘史¹, 岡橋 暢夫¹, 牧浦 知輝¹, 林 哲也³, 桑田 啓貴¹ (1昭和医大・歯・口腔微生物, 2山口大・大研, 3九大院・医・細菌学, 4国立遺伝学研究所・先端ゲノミクス推進センター)

Elucidation of the Mechanisms Underlying *Klebsiella* Intestinal Colonization in Mono-Colonized Mice

○Haruka Fukamachi¹, Shintaro Maeno², Itsuki Taniguchi³, Yasuhiro Gotoh⁴, Hirobumi Morisaki¹, Nobuo Okahashi¹, Tomoki Makiura¹, Tetsuya Hayashi³, Hirotaka Kuwata¹ (1Dept. Oral Microbiol. Immunol. Sch. Dent., Showa Med. Univ., 2Org. Res. Ini., Yamaguchi Univ., 3Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Sci., Kyushu Univ., 4Advanced Genomics Center. National Institute of Genetics)

Klebsiella 属細菌は口腔や腸管に広く常在し、腸内に定着した細菌がリザーバーとして感染症を引き起こすことが知られている。しかし、その定着に必要な細菌側因子については十分に解明されていない。本研究では、腸管定着に関する細菌側因子を明らかにするため、無菌マウスに *Klebsiella quasipneumoniae* ATCC 700603 を単一感染させたノトバイオートマウスを作製し、その腸管粘膜上の細菌の遺伝子発現プロファイルと、*in vitro* で嫌気培養した細菌の発現プロファイルを比較した。パスウェイ解析の結果、腸管内では Sulfur metabolism, Phenylalanine tyrosine and tryptophan biosynthesis などの遺伝子が発現上昇していた一方、Phosphotransferase system, Citrate cycle などの遺伝子発現が低下していた。これらの結果から、栄養制限のある腸管環境適応に関わる代謝経路の再編成が示唆された。さらに、*Klebsiella* 特異的な遺伝子の解析を行ったところ、線毛遺伝子の中で Ecp 線毛のみが腸管定着条件下で特異的に発現が上昇していた。ecp 線毛遺伝子は、腸管上皮細胞との共培養でも発現が上昇し、Ecp 線毛欠損株では、腸管上皮細胞への付着能が低下した。また、細菌の酸化ストレス応答における主要な制御因子である soxS 遺伝子も腸管において強く発現上昇していた。soxS 遺伝子欠損株と野生株をマウスに経口的に感染させ、腸管への定着能を比較した。その結果、野生株が経口的に優位となり、腸管定着能は soxS 遺伝子欠損株で有意に低下することが明らかになった。以上より、腸管環境への適応に関わる代謝経路の再編成と線毛発現・ストレス応答が *Klebsiella* 属細菌の持続的な腸管定着を規定する可能性が示唆された。

WS8-6/P1-146

パラチフス C 菌のマウスにおける慢性感染機構の探索

○高山 智史¹, 森田 昌知², T Hoan Pham¹, 児玉 年央¹, 日吉 大貴¹ (長崎大・熱研・細菌, ²感染研・細菌第1)

Gaining a mechanistic insight into chronic infection by *S. Paratyphi C* in mice

○Satoshi Takayama¹, Masatomo Morita², T Hoan Pham¹, Toshio Kodama¹, Hirofumi Hiyoshi¹ (¹Dept. Bacteriol., Ins. Trop. Med., Nagasaki Univ., ²Dept. Bacteriol. I, Natl. Inst. Infect. Dis.)

The strict human specificity of *Salmonella enterica* serovar (*S.*) Typhi has limited our understanding of the mechanisms underlying chronic infection in typhoid fever, largely due to the absence of appropriate pathogenicity analyses using a valid animal model. *S. Paratyphi C* ATCC13428 strain was found to demonstrate chronic infection in C57BL/6 mice, recapitulating key features of typhoid fever. Comparative analysis employing four *S. Paratyphi C* strains and one *S. Typhimurium* strain, the chronic infection accompanied by a gradual reduction in body weight followed by recovery was unique to *S. Paratyphi C* ATCC13428 strain. This strain triggered aberrant pyroptotic cell death in murine macrophage-like RAW264.7 cells in a type III secretion system 1-dependent manner and exhibited heightened sensitivity to hydrogen peroxide. Pangenome analysis identified a single missense mutation in RpoS, a stress-responsive sigma factor, in the ATCC13428 genome. Building on these observations and previous reports describing the frequent occurrence of RpoS mutations in clinical isolates of *S. Typhi*, the involvement of the RpoS status in establishing chronic infection will be discussed by phenotyping the *S. Paratyphi C* Δ rpoS.

WS8-7/P1-170

マウス肺炎球菌経鼻感染モデルにおける初期誤嚥動態の可視化と感染転帰の層別化

○齊藤 高志, 小林 桃子, 孫 正寛, 山口 雅也 (医薬健栄研)

Stratifying pneumococcal infection outcomes by initial aspiration dynamics in mice

○Takashi Saito, Momoko Kobayashi, Zhengkuan Sun, Masaya Yamaguchi (National Inst. Biomedical Innovation, Health and Nutrition (NIBN))

【背景と目的】マウス肺炎球菌経鼻感染モデルは結果にばらつきが生じやすく、その主因が「宿主免疫応答の個体差」と「細菌の体内動態の差」のいずれに起因するかは不明瞭であった。そこで本研究では、近赤外蛍光色素インドシアニンググリーン標識肺炎球菌 (ICG-SP) を用いて感染直後の細菌の体内動態を可視化・解析した。初期の細菌の局在に基づいて個体を層別化することで、宿主の病態形成メカニズムをより精緻に評価可能な実験系を確立することを目的とした。

【方法と結果】ICG-SP を、若齢 (8 週齢) および老齢 (18~19 か月齢) の C57BL/6J マウスに経鼻感染した。感染細菌量は若齢群に 1×10^7 CFU, 老齢群に 1×10^6 CFU とし、液量は共に 20 μ L とした。感染直後に *in vivo* イメージングシステム LuminousQuester NX を用いて、細菌の生体内分布をリアルタイムで観察した。その結果、菌液が鼻腔・口腔内に留まる「滞留群」と、咽頭を経て下気道方向へ深く吸入される「吸引群」に識別可能となった。予後を追跡したところ、吸引群は滞留群と比較して致死率が明らかに高い傾向を示した。

【考察】本検討により、経鼻投与時に生じるくしゃみ反射等に伴う急激な吸気によって、一部の個体では細菌が下気道へ吸引され、この初期イベントがその後の重症化リスクを決定づけている可能性が示された。従来のモデルでは、死亡等の転帰を迎えるまで重症化個体を特定できず、初期段階の解析が困難であった。しかし、本研究で示した層別化手法を用いることで、重症化が想定される個体を感染直後に特定し、発症前の早い段階における初期炎症反応を特異的に解析することが可能となった。

WS10

微生物と歩むキャリアのかたち

コンピーナー：山崎 栄樹 (国立医薬品食品衛生研究所)
中根 大介 (電気通信大学)

Shaping Careers with Microbes

Conveners: Eiki Yamasaki (National Institute of Health Sciences)
Daisuke Nakane (UEC)

少子高齢化が進む現代の日本社会においては、これまで以上に多様な人材が求められています。日本細菌学会に所属する多くの学生や若手研究者は、卒業後、大学や国公立の研究機関、企業など、さまざまなフィールドで力を発揮し、社会に貢献していくことになります。しかしながら、その先にどのような世界が広がっているのか、どのようなスキルが必要とされ、どのような日々を積み重ねてキャリアが形作られていくのかについては、学会員を含め、多くの人にとってまだまだ見えにくいのが現状です。本ワークショップでは、微生物研究の知見を活かして社会で活躍されている企業や研究機関、高校教員、そしてキャリア支援の分野で新たな挑戦を始めた方々をお招きします。それぞれの現場でのリアルな体験、直面している課題や将来への展望、さらには「今、こんな人と一緒に働きたい」という生の声を伺います。本企画を通じて、学生および若手研究者が今後のキャリア形成について具体的なイメージを持つとともに、大学関係者にとっても実社会におけるニーズを再確認する機会となることを目指します。

WS10-1

微生物学研究者が歩んだ製薬企業でのキャリア

○大西 元康 (塩野義製薬株式会社 創薬疾患研究所)

A microbiology researcher's career at a pharmaceutical company

○Motoyasu Onishi (Lab. Drug Discovery and Disease Research, Shionogi & Co., Ltd.)

微生物学を学んだ人のキャリア形成としては、大学卒業、あるいは大学院修了後、アカデミア、医療施設、公衆衛生機関、官公庁、製薬企業など多岐にわたるフィールドに展開される。いずれの分野においても、微生物学の専門性が軸となり、様々な形で、ヒトの健康や環境に影響をもたらす職務を担う。演者は学生時代に微生物学の中でも分子微生物学を学び、細菌の薬剤耐性機構の一つである多剤排出ポンプに着目した研究を行い、大学院修了後の 2008 年、塩野義製薬株式会社に入社した。入社後は、抗菌薬、抗ウイルス薬、ワクチンといった研究開発業務、医薬品開発のライセンシング業務に従事し、様々な形で感染症に関する研究開発を経験してきた。現在は、研究グループ長として、グローバル課題となっている AMR に対する課題解決に向けた新規抗菌薬の研究開発活動を推進している。本学会では、製薬企業の研究開発における微生物学的重要性や社会的な役割を紹介するとともに、演者の入社からこれまでのキャリアの歩みを紹介することで、将来のキャリア形成に役立てていただければ幸いです。

WS10-2

「人も地球も健康に」 一小さな力が世界を変えるー企業研究者が紡ぐ微生物学の未来

○奥村 剛一（ヤクルト中央研究所 微生物研究所）

'For people and the planet to be healthy' Corporate researchers envisioning microbiology's future

○Takekazu Okumura (Microbiol. Research Dept. Yakult Cent. Inst.)

本シンポジウムでは、企業における研究職の実際と、微生物学を専門とする学生の皆さんが企業研究者としてどのようにキャリアを形成できるかについてお話しします。まず、我々が進めている微生物研究ー新規微生物の探索、微生物の機能解析、発酵技術の開発ーの一部[1-5]をご紹介します、そこから見えてきた課題や技術応用の展望を共有します。また基礎と応用の接点、企業における研究開発のスピード感、そして常に最終目的を意識する重要性についても触れます。次に、企業が求める研究者像について、私の実務経験を踏まえてお話しします。専門性に加え、協働力、課題解決に向けた柔軟な行動力、そして企業理念との整合性を常に意識する姿勢が求められます。「社会に貢献する企業研究者として夢や目標に向かって研究開発に熱意をもって取り組んでいきたい方」など、企業が期待する人物像についてご紹介します。さらに、研究職としての成長に加え、ビジネスパーソンとしての成長を支援する多様な能力開発の取り組みなど、企業でのキャリア形成の仕組みもご紹介します。本講演を通じて、学生の皆さんが企業研究者として働くことへの魅力や可能性を具体的にイメージして頂き、未来を主体的に描くきっかけとなれば幸いです。

[1] Terai T, et al. *PLoS One*. 2015;10:e0128657. [2] Kubota H, et al. *Appl Environ Microbiol*. 2023;88:e02156-22. [3] Kato K, et al. *Int J Food Microbiol*. 2024;110811. [4] Kato K, et al. *Curr Res Microb Sci*. 2025;100430. [5] Tanaka S, et al. *Microbiology*. 2025;171:001624.

WS10-3

地方衛生研究所のお仕事ってどんな？～大安研編～

○中村 寛海（大安研・細菌）

Working at a local Public Health Institute -OIPH edition-

○Hiromi Nakamura (Bacteriol. Sec., OIPH)

地方衛生研究所（地衛研）は都道府県、政令指定都市および中核市等に設置されている公的試験研究機関です。地衛研では感染症や食品、医薬品、水道等の公衆衛生に関する法令に基づく試験検査およびこれらに関する調査研究や研修指導と、公衆衛生情報の収集・解析・提供等の業務を行っています。また、健康危機事象の発生時には、公衆衛生行政を科学的かつ技術的に支援する中核組織としてその役割を果たします。実際に COVID-19 流行当初の 2020 年には、全国の地衛研は国立感染症研究所*との連携のもと、速やかに検査実施体制を確立し、パンデミックの初期対応に大きく貢献しました。これを機に 2023 年に地衛研は法定化されています。微生物分野において目指すべき地衛研職員の人物像の例として、1) 病原体検査を効率的に実施でき、分離された病原体の比較ができる、2) 検査結果の説明ができる、3) 検査実施標準作業書や所内マニュアルが作成できる、4) 学会発表、論文発表ができる、5) 研修指導ができる、6) 健康危機管理に関わる新たな病原体の検査法・解析法の構築ができる、7) AMED**、厚生労働省科学研究費の研究班等において研究分担者、研究協力者としての任務を遂行できる、とされています（「地方衛生研究所の微生物分野における人材育成マニュアル作成のための要点」より抜粋）。これらは採用時に必要なスキルでなく、業務の中で実践しながら習得し伝承します。本発表では、公的研究機関で実施する調査研究やその環境について大安研の実際を例にご紹介させていただきます。

*現在は国立健康危機管理機構（JIHS）

**国立研究開発法人日本医療研究開発機構

WS10-4

高等学校教諭(理科)：探究と研究のあいだで生きるー今日も生徒の「へえ～」がほしい

○城戸 文（都立調布北高校）

High School Science Teacher Living Between Inquiry and Research, Still Wanting That Student Wow

○Fumi Kido (Tokyo Metropolitan Chofu Kita High School)

私は公立高校の理科の教員である。専門科目は生物。大学院修士課程を修了して教員になった。話が下手なので教員には向いていないと思うが、生徒の「へえ～」「面白い」が聞けるとモチベーションが上がる。「本物を見せること」にこだわり、実験や野外観察を積極的に取り入れている。また私は「総合的な探究の時間」も担当している。2022年度にいわゆる「探究」が高等学校で本格的にスタートした。最初は謎だった探究だが、今は研究成果より過程を重視するのが探究だと理解し、肩の力を抜いて、生徒のビュアな好奇心を大事にするよう意識している。○○はどうなっているのか、××を△△したらどうなるのか、やってみよう、やってみたら予想と違った。じゃあ次は・・・を、うまく引き出すのが教師の腕の見せ所だと思う。一方で探究もいろいろ研究も面白いよね、というわけで、都立調布北高校では、電気通信大学Ⅲ類化学生命工学プログラムとの高大連携事業「The Researchers of Next Generation」を通して、理工系人材の育成にも力を入れている。高校生が大学の研究室で1年間の研究に挑む取組みで、チャンスがあれば学会発表も行う。高校生にとっては探究活動を本格的な研究に昇華できる機会であるし、指導する学生にとっても実践的に指導力を磨ける場となっている。高校と大学がともに若い世代を育てるという共通理念があって、かれこれ8年間継続している取組みである。本発表では、研究にはセンスのなかった私が、研究経験をどのように授業や探究に生かしてきたのか、そして高大連携をどのように育ててきたのかをお話する。高等学校教諭という職業がみなさんのキャリアパスの参考になれば幸いです。

WS10-5

情弱から脱却するための研究開発市場入門

○熊谷 洋平（株式会社tayo）

An Introduction to the R&D Market for Breaking Free from Information Disadvantage

○Yohei Kumagai (tayo., inc.)

どこに住んでいても隣の芝は青いものです。日本人は海外を羨ましく思うし、アカデミア人は企業を羨ましがり、企業人はアカデミアに憧れを持ち、留学勢は日本食が恋しくて日々泣いています。私は研究者向けの人材企業の経営者として研究開発というものに関わる人材市場を日々学んでおりますが、結果として気付いたのは研究者の人たちマジでみんな情弱すぎてわけわかんない就職し過ぎということです。なんで情弱になってしまうかということというキャリアイベントでN=1の体験談を集めるぐらいしかやることなく、誰も「市場」を見ていないからなのではないかと思います。おそらく微生物学をバックグラウンドを持つビジネスパーソンとしては最も日本の研究開発ビジネスを俯瞰で見ている立場だと思うので、綺麗な話ではない研究者のキャリア情報を微生物学者の皆さんに向け、データに基づいてお話させていただきます。

WS11

ピロリ菌だけじゃなかった！
～*Helicobacter* 属細菌の研究の現状と未来～

コンピーナー：大崎 敬子（杏林大学）
林原 絵美子（国立健康危機管理研究機構）

From *Helicobacter pylori* to the Broader
Helicobacter World: Current Insights and
Future Directions

Conveners: Takako Osaki (Kyorin University)
Emiko Rimbara (Japan Institute for Health Security)

ヒトの胃にはピロリ菌だけでなく *H. suis* などの動物由来 *Helicobacter* 属細菌も感染する。本ワークショップでは、ヒト胃から分離培養された動物由来 *Helicobacter* 属細菌に関する最新のゲノム解析、病原性解析の成果をご紹介いただく。また、菌血症や感染性動脈瘤、動脈硬化の原因菌としても注目される *H. cinaedi* などの腸肝系 *Helicobacter* 属細菌に関する最新の知見についても紹介いただく。さらに実験動物に感染している *Helicobacter* 属細菌について、その知られざる現状についても取り上げます。ピロリ菌に関しては、最近明らかになった新たな発がんメカニズムに関する研究や感染成立に関わる新規因子に関する研究について紹介いただく。同一属細菌でありながら多様な病原性やゲノムの特徴を示す *Helicobacter* 属細菌について、本シンポジウムでの比較検討を通じて今後の研究の方向性を展望します。

WS11-1

Helicobacter cinaedi 感染症について分かってきたこと、そして
これからの課題

○荒岡 秀樹（虎の門病院・臨床感染症・中央検査）

Current Insights into *Helicobacter cinaedi* Infection and Future
Perspectives

○Hideki Araoka (Dept. Infect. Dis. and Clin. Lab., Toranomon Hosp.)

Helicobacter 属は胃在位菌種と腸肝在位菌種に大別され、*Helicobacter cinaedi* はヒトに感染を起こす腸肝在位 *Helicobacter* 属のなかで最も報告が多い菌種である。

H. cinaedi は、1984 年に Men who have sex with men における直腸炎の原因菌として初めて報告された。*H. cinaedi* による感染症の臨床像は、蜂窩織炎、腸炎、感染性動脈瘤、髄膜炎、化膿性脊椎炎など多彩な報告があるが、その多くは血液培養から本菌が検出される（菌血症）ことで認知される。

私の *H. cinaedi* 感染症との関わりは、繰り返す蜂窩織炎患者において血液培養から本菌を検出した症例から始まった。当時（20 年ほど前）は血液培養からの分離頻度が比較的高く、2009 年から 2013 年までの 4 年で血液培養陽性検体の 2.2%（126/5769）を *H. cinaedi* が占めていた。また、血液培養の観察期間を欧米の標準である 5 日とすると、本菌による感染症を半数程度見逃す可能性があることを明らかにした（JCM. 2014; 52: 1519-22.）。その後、*H. cinaedi* の診断（MALDI-TOF MS の有用性。DMID. 2020; 96: 114964.）、感染経路（腸管から血液中への bacterial translocation. *Helicobacter*. 2018; 23: e12458.）、臨床像（菌血症の 100 日累積再発率が 18.7%、そのリスク因子と対応。CID. 2018; 67: 573-8.）など一連の研究につながった。現在薬剤感受性とその臨床効果について検証中である。

H. cinaedi の研究を通じて、多くの方々（基礎と臨床の垣根を越えて）と知り合い、協力することの大切さを学んだ。本ワークショップでは、臨床医の視点から *H. cinaedi* 感染症について分かってきたこと、そしてこれからの課題をまとめた。

WS11-2

実験動物マウスから検出される腸肝型ヘリコバクター属菌が示す
生体への多様な影響

○山中 仁木（信州大・基盤研セ・動物実験）

Various Effects of Enterohepatic *Helicobacter* infection in
Laboratory Mice

○Hitoki Yamanaka (Div. Anim. Res., Res. Ctr. Adv. Sci. Technol., Shinshu Univ.)

ヘリコバクター属菌は鳥類や哺乳類の各動物の消化管から検出され、現在 50 種を超える菌種が分類されている。それらは生息部位によって胃内型 (gastric type) と腸肝型 (enterohepatic type) に分けられ、主に生息部位において病態を誘導する。その中の多くの菌種が人獣共通感染症菌とされ、ペットであるイヌやネコ、あるいは家畜のブタやヒツジとの接触あるいは食品を介したヒトへの感染が疑われている。しかし、各菌種における生体への影響に関する詳細な知見の蓄積は乏しい。実験動物マウスでは、遺伝子改変系統が数多く使用され、同属菌の感染により病態が顕性化する可能性が考えられる。そのため、病原性が明らかとされる *Helicobacter hepaticus* や *H. bilis* について、ほとんどの国内ブリーダーは非感染を保証して販売し、同菌を統御項目に含める研究機関の施設のみみられる。しかし、国内飼養の実験動物マウスからは、その他の同属菌が検出されている。我々は、同属菌の中で比較的高頻度に検出され腸管型である *H. japonicus* や *H. mastomyrinus* の 2 菌種に注目し、マウス生体における影響について調べてきた。強弱はあるものの、2 菌種ともに感染した免疫不全マウスの大腸粘膜で炎症病態を誘導する。また、*H. mastomyrinus* は免疫正常マウスでも明らかな炎症反応を誘導し、*H. hepaticus* と同等の病原性を示す可能性が考えられる。今回、実験動物マウスから検出される同属菌の生体への多様な影響について、我々が得た知見や他の研究報告の紹介を交えながら概説したい。

WS11-3

ヒト胃に感染する動物由来 *Helicobacter* 属菌

○林原 絵美子（JIHS感染研・細菌第二部）

Gastric *Helicobacter* species infection of animal origin

○Emiko Rimbara (Bacteriology II, NIID, JIHS)

ヒト胃に感染する Gastric *Helicobacter* として *Helicobacter pylori* が最もよく知られているが、*H. pylori* 以外のヘリコバクター属菌 (non-*Helicobacter pylori Helicobacter* species: NHPH) もヒト胃に感染し、胃 MALT リンパ腫や消化性潰瘍などの胃疾患の原因となることが明らかになってきた。近年我々は難培養菌である NHPH をヒト胃から分離培養する方法を確立し、感染実態調査、診断法開発、感染経路解析、病原因子探索等を進めている。日本の検診受診者 673 名を対象とした感染実態調査では、NHPH 感染率は 3% と決して稀ではなく、そのうち最も多いのは、*Helicobacter suis* であった。*H. suis* は豚や猿を自然宿主とするが、ヒト由来株は豚由来株と高い類似性を示し、ヒト由来株が豚を起源とすることが強く示唆される。実際、我々の調査でも豚における *H. suis* 感染率は 7-8 割と高く、感染経路解明のための情報を得るためにゲノム情報に基づいた分子疫学解析をすすめている。一方、検診受診者における NHPH 感染の 3 割は *H. suis* 以外の NHPH 感染であった。*H. suis* 以外の NHPH は犬や猫に感染する NHPH であると考えられることから、我々は伴侶動物である犬や猫の NHPH を調査したところ、3 つの新種の NHPH 菌種が分離され、日本ではこの 3 菌種が伴侶動物における主要な菌種である可能性が示唆された。また、*H. suis* などの NHPH 菌種は *H. pylori* の主要な病原因子である CagPAI や VacA をもたないが、細胞およびマウス感染実験により菌株あるいは菌種により病原性が異なることを見出ししている。本講演ではこれらのデータも含めて NHPH 感染に関して得られている最新の知見を広く紹介する。

WS11-4

ピロリ菌の塩基切り出し型制限酵素による胃癌ゲノム変異の誘発

○福世 真樹¹, 高橋 規子², 花田 克浩³, 石川 健⁴, 矢原 耕史⁵, 米澤 英雄^{2,6}, 長田 直樹⁷, 金田 篤志¹, 内山 郁夫⁸, 大崎 敬子², 小林 一三² (¹千葉大・医, ²杏林大・医, ³大分大・医, ⁴久留米大・分子生命研, ⁵感染研・薬剤耐性, ⁶東京歯大・微生物, ⁷北大・情報科学, ⁸基生研・ゲノム情報, ⁹法政大・マイクロナノ)

A base-excising restriction enzyme from *H. pylori* induces gastric cancer-associated mutations

○Masaki Fukuyo¹, Noriko Takahashi², Katsuhiko Hanada³, Ken Ishikawa⁴, Koji Yahara⁵, Hideo Yonezawa^{2,6}, Naoki Osada⁷, Atushi Kaneda¹, Ikuo Uchiyama⁸, Takako Osaki², Ichizo Kobayashi² (¹Dept. Mol. Oncol., Grad. Sch. Med., Chiba Univ., ²Dept. Infect. Dis., Sch. Med., Kyorin Univ., ³Clin. Eng. Res. Ctr., Fac. Med., Oita Univ., ⁴Dept. Cell Biol., Inst. Life Sci., Kurume Univ., ⁵Antimicrob. Resist. Res. Ctr., NIID, ⁶Dept. Microbiol., Tokyo Dent. Coll., ⁷Grad. Sch. Inf. Sci. Technol., Hokkaido Univ., ⁸Lab. Genome Inf., NIBB, ⁹Res. Inst. Micro-Nano Technol., Hosei Univ.)

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is the primary risk factor for gastric cancer (GC), yet the mechanisms of host genome damage remain unclear. We identified a novel base-excising restriction enzyme family, *HpPabI*, in *H. pylori* (Fukuyo et al. *NAR*, 2015; Zhang et al. *NAR*, 2017) and hypothesized its role in carcinogenesis. We present multifaceted evidence supporting this hypothesis (Fukuyo et al. *PNAS NEXUS*, 2025). First, analyzing >1,000 *H. pylori* genomes (*HpGP* and public), we found association between the origin of GC patient and the possession of an intact *HpPabI* gene. Second, 4-mer analysis revealed that mutations at the enzyme's base excision site (**A**) within its recognition sequence (GTAC) are frequent in human GC genomes, impacting known GC-associated genes. Third, *H. pylori* infection induced human chromosome double-stranded cleavage in cultured cells, as demonstrated by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Fourth, the enzyme increased mutagenesis in *E. coli*. These results strongly suggest that this *H. pylori* restriction enzyme causes GC by inducing host genomic instability. Our k-mer mutational signature analysis has also identified similar bacteria-enzyme pairs associated with carcinogenesis in other cancer types.

WS11-5

ヘリコバクター・ピロリの進化的適応と持続感染

○三室 仁美 (大分大・グローバル感研セ)

Evolutionary Adaptation and Persistent Infection of *Helicobacter pylori*

○Hitomi Mimuro (RCGLID, Oita Univ.)

Helicobacter pylori is a bacterial pathogen that is usually acquired in early childhood and can colonize the human stomach for several decades. This lifelong persistent infection leads to chronic gastritis and peptic ulcers, and can further cause gastric cancer.

One of the key features of *H. pylori* is its ability to generate genetic changes rapidly. This high level of genetic diversity enables the bacterium to adapt to the constantly changing environment inside the host, and is therefore thought to be essential for long-term survival in the stomach. However, most clinical studies are based on bacterial strains collected from patients after disease onset. These samples reveal the state of the bacteria at the terminal stage of infection, but the early processes of infection establishment remain poorly understood. To elucidate these early infection processes, we use animal models to observe the evolutionary processes of bacteria within the host.

In this presentation, I will discuss how *H. pylori* adapts to the host environment and maintains persistent colonization. Understanding these mechanisms is expected to contribute to the development of novel strategies for the prevention and treatment of *H. pylori*-related diseases.

WS12

選抜口頭発表 2：分類・疫学

コンピーナー：知花 博治 (千葉大学真菌センター)
野村 暢彦 (筑波大学)

Selected Oral Presentations 2 Taxonomy and epidemiology

Conveners: Hiroji Chibana (Medical Mycology Research Center, Chiba University)
Nobuhiko Nomura (Tsukuba University)

WS12-1/P1-018

ゲノム解析が示す腸管侵入性大腸菌の接合性病原プラスミドの拡散と新規系統の出現

○岡田 和久¹, Warawan Wongboot², Amonrattana Roobthaisong¹, 飯田 哲也³, 浜田 茂幸¹ (¹阪大・微研・RCC-ERI, ²Thai NIH, ³阪大・微研・細菌感染)

Genome analysis of EIEC reveals spreading conjugative virulence plasmids and emerging lineages

○Kazuhisa Okada¹, Warawan Wongboot², Amonrattana Roobthaisong¹, Tetsuya Iida³, Shigeyuki Hamada¹ (¹RCC-ERI, RIMD, Osaka Univ., ²Thai NIH, ³Dept. Bacterial. Infect., RIMD, Osaka Univ.)

Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) is a diarrheagenic pathotype that shares virulence traits with *Shigella*, including the invasion plasmid (pINV). National surveillance in Thailand identified two outbreaks caused by EIEC O96:H19 and O8:H19, each affecting over 150 patients. We also isolated a new serotype, OX18:H25, together with five classical EIEC serotypes and *Shigella* from stool samples across Thailand. Comparative genomics showed that isolates from both outbreaks and OX18:H25, classified as emerging, phylogenetically distinct lineages, harbored highly similar pINV plasmids with conserved invasion genes, complete conjugation elements, and many shared genes. Classical EIEC and *Shigella* retained only remnants of conjugation elements. The emerging lineages showed biochemical traits typical of commensal *E. coli* rather than classical EIEC/*Shigella*. Moreover, compared to *Shigella* and classical EIEC, they exhibited limited chromosomal reduction, such as retention of the *cad* operon for moderate acidic stress adaptation, and fewer acquired virulence genes, suggesting recent pINV acquisition. Phylogenomics further indicated that OX18:H25 is closely related to livestock-associated non-pathogenic *E. coli*, again supporting recent horizontal acquisition of pINV. These findings highlight the active spread of conjugative pINV and the emergence of evolving EIEC lineages with outbreak potential.

WS12-2/P1-020

インド・コルカタ地域でのコレラ菌 O1 との重複感染の調査

○岡本 敬の介^{1,2}, 高橋 栄造^{1,3}, 三好 伸一¹, 越智 定幸³, Dutta Shanta¹, Mukhopadhyay Asish¹, Kanungo Suman¹, 元岡 大祐⁴, 中村 昇太⁴, 飯田 哲也^{2,4} (¹岡山大学・インド感染症共同研究センター, ²大阪大・微研・細菌感染, ³横浜薬科大・感染予防, ⁴大阪大・微研・感染症メタゲノム)

Survey of co-infection with *Vibrio cholerae* O1 in Kolkata, India

○Keinosuke Okamoto^{1,2}, Eizo Takahashi^{1,3}, Shin-ichi Miyoshi¹, Sadayuki Ochi³, Dutta Shanta¹, Mukhopadhyay Asish¹, Kanungo Suman¹, Daisuke Motooka⁴, Shota Nakamura⁴, Tetsuya Iida^{2,4} (¹Colla. Res. Cen. Okayama Univ. Infect. Dis., Okayama Univ., ²Dept. Bact. Infect., Res. Ins. Micro. Dis., Osaka Univ., ³Fac. Pharm. Sci., Yokohama Univ. Pharm., ⁴Dept. Infect. Meta., Res. Ins. Micro. Dis., Osaka Univ.)

【目的・方法】

インド・コルカタ地域は、コレラ菌以外にも多種類の下痢原因微生物が棲息しており、それらが、重複感染することもあり得る。私たちは重複感染の実態を明らかにするため、47名のコレラ患者の下痢便をメタゲノム解析で分析し、生息する細菌、ウイルス、真菌、原虫・寄生虫を調査した。

【結果・考察】

1. 下痢便中の細菌の検索：患者下痢便中に、全菌の5%以上の割合で生息し、かつ健康者の便での検出割合は0.2%以下の菌の、糞便中での量的比率を調べた。その結果、下痢便中から、*Campylobacter jejuni*, *Plesiomonas shigelloides*, *Brachyspira pilosicoli* が、その患者の下痢の主原因であると思われる患者が見出された。また全菌の54%を *Streptococcus* が占める患者も見出し、この患者は真菌の解析から、腸管カンジダ症を起こしていると推察した。
2. 便中のウイルス由来の RNA が増加している患者が2名いた。解析の結果、この2名はそれぞれ *Enterovirus A* と *Parechovirus A* に感染していると思われた。
3. 原虫・寄生虫由来の遺伝子を検索した結果、3名において、*Giardia intestinalis* 由来の遺伝子の顕著な増加が見出された。コレラ症と診断された患者に、他の微生物の重複感染が生じていることが明らかになった。

WS12-3/P1-027

JARBS-GNR 2019–2020 由来 *Klebsiella oxytoca* complex のゲノム解析

○菅原 庸¹, 林 航¹, 林 幾江^{1,2}, Shaheem Elahi¹, 左井¹, 于連升¹, 近藤 恒平¹, 佐藤 優花里¹, 河原 菜摘³, 川上 小夜子¹, 矢原 耕史¹, 鹿山 鎮男¹, 菅井 基行¹ (¹JIHS・感染研・薬耐, ²広島大・医系科学研究科, ³浜の町病院)

Genomic analysis of *Klebsiella oxytoca* complex from the nationwide JARBS-GNR surveillance, 2019-20

○Yo Sugawara¹, Wataru Hayashi¹, Ikue Hayashi^{1,2}, Shaheem Elahi¹, Hui Zuo¹, Liansheng Yu¹, Kohei Kondo¹, Yukari Sato¹, Natsumi Kawahara³, Sayoko Kawakami¹, Koji Yahara¹, Shizuo Kayama¹, Motoyuki Sugai¹ (¹Antimicrob. Res. Ctr., Natl. Inst. Infect. Dis., Japan Inst. Health Security, ²Grad. Sch. Biomed. Health Sci., Hiroshima Univ., ³Hamanomachi Hosp.)

The *Klebsiella oxytoca* complex inhabits a broad environment including human gut, and often causes opportunistic infections in humans. This organism harbors intrinsic β -lactamase gene, *bla*_{OXY}, and shows resistance to ampicillins. It often becomes resistant to other antimicrobials, such as quinolones, cephalosporins, and carbapenems, by acquiring mobile antimicrobial resistance genes (ARGs) or by mutations on chromosome, which complicates clinical treatment. Moreover, a subset of *K. oxytoca* complex strains produces the pyrrolizidine alkaloid cytotoxins kleboxymycin and tilivalline, which can lead to antibiotic-associated hemorrhagic colitis. Epidemiological and genomic information of this species complex remains scarce particularly in Japan. In this study, we performed genomic and phenotypic characterization of 46 *K. oxytoca* complex isolates collected through a nationwide surveillance program focusing on third-generation cephalosporin-resistant and carbapenem-non-susceptible Enterobacterales clinical isolates in Japan. Genomic analysis, antimicrobial susceptibility testing, plasmid characterization, and cytotoxicity assays revealed the genetic basis of antimicrobial resistance and toxin production, as well as potential mechanisms of ARG acquisition. Our analysis highlighted the nationwide spread of a multidrug-resistant, toxin-producing lineage of sequence type 176.

WS12-4/P1-021

2025 年に大流行したマクロライド耐性百日咳菌のゲノム解析について

○平井 真太郎, 木村 千鶴子, 四宮 博人 (愛媛県立衛生環境研究所)

Genome analysis of macrolide-resistant *B. pertussis* that became highly prevalent in 2025 in Japan

○Shintaro Hirai, Chizuko Kimura, Hiroto Shinomiya (Ehime Prefectural Inst. Public Health and Environmental Science)

【背景】近年、中国など諸外国でマクロライド耐性百日咳菌(macrolide-resistant *B. pertussis*, MRBP)の出現と拡大が問題となっている。我が国でも2018年以降、MRBPの検出が報告されているが、不明な点も多い。臨床的にマクロライド系薬の効果(感受性)を判断するのは困難であり、MRBPのサーベイランスを実施した。【対象と方法】2025年7月3日～8月31日の期間に、抗原検査や遺伝子検査によって百日咳と診断された症例から検体を収集し、MRBPの遺伝子検査を実施した。また、分離株についてエリスロマイシン感受性試験をE-test法により行い、NGSによる全ゲノム解析を実施した。【結果と考察】88症例から検体が収集され、このうち66症例の検体が百日咳菌遺伝子陽性であった(陽性率75.0%)。陽性症例の年齢区分では、10～14歳が最も多く、5～9歳が次に多かった。百日咳菌陽性66例の検体の23S rRNA遺伝子を解析したところ、57例の検体に変異型(A2047G)で(86.4%)、9例の検体が野生型(A2047)であった(13.6%)。分離された変異株8株はエリスロマイシンに対して耐性を示した。百日咳菌の病原因子遺伝子やプロモーター領域には遺伝子多型が見られるが、分離株のゲノム解析したところ、変異株は同じ遺伝子アレル(*ptxP3/ptxA1/fhaB1*)を有し、SNP解析でも相互に極めて近縁であった(0-8 SNPs)。これらの結果から、2025年に県内で流行している百日咳菌の大部分がMRBP(86.4%)であることが明らかにされるとともに、県内に流入した共通の系統の株からSNPsを蓄積しながら流行が拡大した可能性が示唆された。

WS12-5/P1-028

ワンヘルスゲノムサーベイランスによる食品からヒトへ伝播した薬剤耐性病原性細菌の特定

○北村 徳一¹, 四宮 博人², 川西 路子³, 小西 典子⁴, 大屋 賢司⁵, 富田 治芳^{6,7}, 浅野 由紀子², 木村 千鶴子², 関口 秀人³, 小澤 真名緒³, 石原 加奈子⁹, 久留島 潤¹, 谷本 弘一⁶, 野村 隆浩⁷, 橋本 佑輔⁷, 地方衛生研究所食品由来AMR研究グループ, 浅井 鉄夫¹⁰, 渡邊 治雄⁸, 菅原 庸¹, 矢原 耕史¹, 菅井 基行¹ (¹JIHS・感染研・薬耐研セ, ²愛媛衛研, ³農水・動薬検・動物AMRセ, ⁴都健安研・微生物, ⁵国衛研・衛徴, ⁶群馬大・院医・薬耐実験施設, ⁷群馬大・院医・細菌, ⁸農水・動薬検・検査第一, ⁹農工大・共同獣医, ¹⁰岐阜大・院連合獣医)

Genomic surveillance identifies potential transfer of antimicrobial-resistant foodborne pathogens

○Norikazu Kitamura¹, Hiroto Shinomiya², Michiko Kawanishi³, Noriko Konishi⁴, Kenji Ohya⁵, Haruyoshi Tomita^{6,7}, Yukiko Asano², Chizuko Kimura², Hideto Sekiguchi³, Manao Ozawa⁸, Kanako Ishihara⁹, Jun Kurushima⁹, Koichi Tanimoto⁹, Takahiro Nomura⁷, Yusuke Hashimoto⁷, Foodborne AMR Research Group of Public Health Institutes, Tetsuo Asai¹⁰, Haruo Watanabe, Yo Sugawara¹, Koji Yahara¹, Motoyuki Sugai¹ (¹AMR Res. Ctr., NIID, JIHS, ²Ehime Pref. Inst. Pub. Health Env. Sci., ³Vet. AMR Ctr., Natl. Vet. Assay Lab., MAFF, ⁴Dept. Microbiol., Tokyo Met. Inst. Pub. Health, ⁵Div. Microbiol., Natl. Inst. Health Sci., ⁶Lab. Bact. Drug Resist., Grad. Sch. Med., Gunma Univ., ⁷Bacteriol., Grad. Sch. Med., Gunma Univ., ⁸Assay Div. I, Natl. Vet. Assay Lab., MAFF, ⁹Coop. Dept. Vet. Med, Tokyo Univ. Agri. Technol., ¹⁰United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.)

Foodborne pathogens and their resistance to antimicrobials are global health concerns. Genome surveillance systems for foodborne bacteria in the human, animal, and environmental sectors have been implemented in several countries. However, these systems rarely integrate data across sectors. We investigated the potential cross-sectoral transfer of antimicrobial-resistant isolates from food or animals to humans, by comparing whole-genome sequences of non-typhoidal *Salmonella* (n=1,613), *Campylobacter* (n=682), and *Enterococcus* (n=72) collected across sectors in Japan. For *Salmonella*, we identified such possible transmission in isolates of two serovars. One was human- and food-derived *Salmonella* Blockley isolates carrying *bla*_{CTX-M-15} that were closely related and differed by only 6–10 SNPs; the other was human- and food-derived *S. Agona* isolates carrying *fosA7.2* that were closely related (13–15 SNPs). For *Campylobacter*, the genomic differences between human- and food- or animal-derived isolates were not as small as those detected in *Salmonella*, differing by ≥ 23 SNPs. Food-derived *Enterococcus* and human-derived vancomycin-resistant enterococci (VRE) isolates shared no clonal complexes or sequence types, indicating that they are phylogenetically distinct. Our study provides a model for One-Health genomic surveillance at the national level. (Under review)

WS12-6/P2-009

ゲノム解析に基づく大淀川上流域における志賀毒素産生性大腸菌の時空間的汚染状況調査と潜在的病原性評価

○入口 俊介¹, 松山 龍太郎², 奥野 未来¹, 玉井 莊一郎³, 伊東 悠介⁴, 竹本 進⁴, 小椋 義俊¹, 鈴木 祥広^{2,3,5} (久留米大・医・感染医学, ²宮崎大・院・工学研究科, ³宮崎大・院・農学工学総合研究科, ⁴建設環境研究所, ⁵宮崎大・工)

Genomic analysis of STEC contamination and pathogenic potential in the upper Oyodo River

○Shunsuke Iriguchi¹, Ryutaro Matsuyama², Miki Okuno¹, Soichiro Tamai³, Yusuke Ito⁴, Susumu Takemoto⁴, Yoshitoshi Ogura¹, Yoshihiro Suzuki^{2,3,5} (¹Dept. Infectious Medicine, Sch. Med., Kurume Univ., ²Dept. Eng., Grad. Sch. Eng., Univ. Miyazaki, ³Dept. Env. Res. Sci., Agr. Eng. Grad. Sch., Univ. Miyazaki, ⁴KenKan Consultants Co., Ltd, ⁵Dept. Civ. Env. Eng., Fac. Eng., Univ. Miyazaki)

【目的】生活排水、畜産、野生動物等による糞便細菌の流入は、水系感染症のリスク要因であり、糞便汚染の指標として大腸菌数の調査が進められている。出血性腸炎や溶血性尿毒症候群などの重篤な症状を引き起こす志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) は公衆衛生上重要であるが、河川における存在頻度は低く、河川における STEC の分布や病原性については理解が進んでいない。本研究では、レジャーや農業用水として利用される流域を対象として、大腸菌のゲノム特性や時空間的分布の変動から汚染状況や汚染源の解明を試みた。さらに、河川水中の STEC を濃縮することで、河川における存在量とゲノム特性から感染リスクを評価することを目的とした。

【方法】2022 年 7 月から宮崎県大淀川上流域 (St.1~St.10) を対象に計 6 回の通年調査を実施した。重点地点 (St.1, 4, 5, 10) では、泡沫濃縮法を用いて STEC を検出した。さらに、重点地点で分離された大腸菌 232 株について全ゲノム解析を行い、薬剤耐性遺伝子や系統群などの疫学的マーカーを調査した。

【結果・考察】大腸菌数は、農用地から都市部に向かって増加傾向を示し、全室素および降雨量と強い正の相関が認められた。農用地における系統群 A, B1 の優占化と薬剤耐性パターンの変化が確認され、St.4 付近で主要な大腸菌汚染源が変化している可能性が示唆された。STEC は全ての重点地点で検出され、分離された 13 株のうち 3 株は臨床的に重要な血清型 (O111:H8 および O103:H2) であり、*stx1a* / *stx2a*, *eae* 陽性であった。調査期間を通じた流域全体の平均 STEC 存在量は 0.58 cells/100 mL であり、公衆衛生上のリスク要因となる可能性が示唆された。

WS12-7/P1-024

日本の環境水およびアライグマにおける *Escherichia albertii* の汚染実態および遺伝学的特徴解析

○日根野谷 淳¹, 田上 綾², Sharda Prasad Awasthi^{1,3,4}, 徐 炳婷¹, 畑中 律敏^{1,2,3,4}, 山崎 伸二^{1,2,3,4} (1)阪公大・獣医, (2)大府大・生命環境, (3)阪公大・アジア健康科学研究所, (4)阪公大・大阪国際感染症研究センター)

Occurrence and genomic features of *Escherichia albertii* in environmental water and raccoons in Japan

○Atsushi Hinenoya¹, Rin Tagami², Sharda Prasad Awasthi^{1,3,4}, Bingting Xu¹, Noritoshi Hatanaka^{1,2,3,4}, Shinji Yamasaki^{1,2,3,4} (1)Grad. Sch. Vet. Sci., Osaka Metrop. Univ., (2)Sch. Life Environ., Osaka Pref. Univ., (3)AHSRI, Osaka Metrop. Univ., (4)OIRCID, Osaka Metrop. Univ.)

Escherichia albertii is an emerging zoonotic foodborne pathogen. To better understand its environmental ecology and transmission dynamics, we conducted a comprehensive surveillance of environmental water and wild raccoons in Osaka, Japan. High prevalence of *E. albertii* was detected in river water (76.6%) and raccoons (57.7%) using species-specific PCR. Sequential water sampling at two river locations, performed thrice at 30-minute intervals, consistently yielded PCR-positive results, indicating the persistent presence of *E. albertii*. Isolates from the sequential samplings suggested continuous presence of certain *E. albertii* clones. WGS of 147 isolates from river water and raccoons revealed the substantial genomic diversity, overlapping phylogeny, and clonal relationships between strains from both sources. Notably, one raccoon and one environmental water strain, collected in the same city and period, differed by fewer than 20 SNPs and showed only a single-band difference in PFGE, suggesting potential inter-source transmission. Some environmental and raccoon strains demonstrated close genetic relationships with human clinical strains. These findings suggest that *E. albertii* is widely distributed in aquatic environments and wildlife in Japan and has a potential to cause human infections. This study provides new insights into the ecology and public health risks of *E. albertii*.

WS13

若手コロッセウム

コンピーナー：藤木 純平 (酪農学園大学)
木村 宇輝 (鳥取大学)

Wakate colosseum for bacteriology —Young bacteriological research for the future

Conveners: Jumpei Fujiki (Rakuno Gakuen University)
Uki Kimura (Tottori University)

WS13-1

二形性真菌 *Trichosporon asahii* の窒素制限条件におけるオートファジーと形態変換の解析

○中山 メイ, 松本 靖彦, 倉門 早苗, 杉田 隆 (明治薬大・微生物学)

Autophagy and morphological changes of *Trichosporon asahii* under a nitrogen-limited conditions

○Mei Nakayama, Yasuhiko Matsumoto, Sanae Kurakado, Takashi Sugita (Dept. Microbiol., Meiji Pharm. Univ.)

真菌は、細菌と同様に環境中に広く生息する微生物である。病原真菌である *Trichosporon asahii* は、環境のストレス条件や栄養条件によって酵母と菌糸・分節型分生子に形態を変える二形性真菌である。これまでに我々は、窒素制限条件で培養すると *T. asahii* が分節型分生子の形態になることを見出している。しかし、窒素制限に適應するための *T. asahii* における形態変換のメカニズムは不明である。我々は窒素制限によって誘導される細胞内分解経路であるオートファジーの中期に関与する Atg8 および Atg12 が *T. asahii* の形態変換に重要であることを見出し、前回の総会で報告した。本研究では、*T. asahii* の形態変換におけるオートファジーの役割を解明するために、オートファジー中期のオートファゴソームおよび後期のオートリソソームを検出する蛍光試薬である DAPRed を使用し、*T. asahii* におけるオートファジー評価系を確立した。*T. asahii* を細胞壁分解酵素である Zymolyase で処理すると細胞内に DAPRed の赤い蛍光が検出された。窒素制限条件で *T. asahii* の細胞内の DAPRed の蛍光が増加し、この赤い蛍光の増加はオートファジー阻害化合物の前処理により抑制された。また、*atg8* および *atg12* 遺伝子欠損株はどちらも親株より菌糸の割合が高く、またオートファジーが進行していなかった。この結果から、*T. asahii* における菌糸から分節型分生子への形態変換に関わる Atg8 および Atg12 がオートファジーに必要であることが示唆された。

WS13-2

薬剤耐性大腸菌に対する個別化治療のための既製ファージライブラリとオンデマンドファージ分離の比較評価

○泊 悠樹^{1,2}, 小島 新二郎¹, 常田 聡², 氣賀 恒太郎^{1,2} (¹感染研・治療薬・第四室, ²早大・先進理工・生命医科)

Prebuilt and On-Demand Phage Strategies for Personalized Treatment of Drug-Resistant *E. coli*

○Yuki Tomari^{1,2}, Shinjiro Ojima¹, Satoshi Tsuneda², Kotaro Kiga^{1,2} (¹Dept. Drug Dev., Natl. Inst. Infect. Dis., ²Dept. Life Sci. Med. Biosci., Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ.)

薬剤耐性菌感染症に対する治療法として個別ファージ療法の実用化が進みつつあるが、治療に用いるファージを「事前に構築したファージライブラリー」から選択すべきか、「患者由来の菌株からその場でファージを分離」すべきかについて、科学的根拠はほとんど存在しない。本研究では、これら二つの戦略の有効性を比較することで、個別ファージ療法に適したファージ準備法を明らかにすることを目的とした。まず、当研究室で事前に構築した 250 株の実験室株由来ファージライブラリーが、204 株の薬剤耐性大腸菌臨床分離株に対してどの程度有効であるかを評価した。その結果、109 株 (54%) は実験室由来ライブラリーでは宿主域が不足し、特に 39 株 (19%) は感染可能なファージが全く得られなかった。次に、感染率 0% であった 39 株に対し、患者由来株を宿主として環境中からファージを直接採取したところ、31 株 (79%) に対して感染可能なファージが新たに得られた。これらの結果より、事前構築型ライブラリーには明確な限界が存在し、一部の菌株に対しては患者由来株を用いたオンデマンド分離が極めて有効であることが示唆された。今後は、事前構築ライブラリーとオンデマンド分離で得たファージの治療効果をマウス感染モデルで比較し、個別ファージ療法における最適なファージ取得戦略を実証的に明らかにする予定である。

WS13-3

伴侶動物由来 MRSA の進化適応

○角井 真名美^{1,2}, 久恒 順三^{2,3,4}, 伊従 慶太⁵, 沓野 祥子², 黒木 香澄², 瀬川 孝耶², 岩尾 泰久², 矢原 耕史², 菅原 庸², 鐘ヶ江 祐美⁶, 菅井 基行² (¹慈恵医大・院医, ²JiHS・感染研・AMRRC, ³広島大・院医・薬剤耐性学, ⁴広島大・院内感染症プロジェクト研究センター, ⁵株式会社1sec・検査部, ⁶慈恵医大・総合医科学研究センター・基盤研)

Evolutionary Adaptation of Companion Animal-Derived MRSA

○Manami Tsunoi^{1,2}, Junzo Hisatsune^{2,3,4}, Keita Iyori⁵, Shoko Kutsuno², Kasumi Kuroki², Takaya Segawa², Yasuhisa Iwao², Koji Yahara², Yo Sugawara², Yumi Kanegae⁶, Motoyuki Sugai² (¹Grad. Sch. Med., Jikei Univ. Sch. Med., ²AMRRC, NIID, ³JiHS, ⁴Antimicrob. Resist., Grad. Sch. Biomed. Health Sci., Hiroshima Univ., ⁴Proj. Res. Center for Nosocomial Infect., Hiroshima Univ., ⁵1sec. Inc., Bacteriol. Testing Div., ⁶Core Res. Facil., Res. Cent. Med. Sci., Jikei Univ. Sch. Med.)

薬剤耐性対策では、ヒトと動物も含めたワンヘルスアプローチが推進されている。なかでも伴侶動物はヒトと密接に接触することから、薬剤耐性菌・遺伝子の双方向伝播の可能性が指摘されている。しかしながら、全ゲノムベースの疫学情報は依然として不足している上、我が国において伴侶動物-ヒト間での種間伝播を示す研究は少ない。そこで、本研究では伴侶動物とヒトの触れ合いによる伝播に着目し、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の分子疫学的な比較解析を行った。2017-2021 年に分離された伴侶動物由来 MRSA 212 株を解析した結果、その主要系統は 1990 年代にヒトで流行した ST5 New York/Japan (N/J) クローンであることが分かった。1990 年代および 2019-2020 年のヒト血液由来株との比較ゲノム解析から、伴侶動物由来 MRSA は 1990 年代ヒト分離株に似た高度多剤耐性傾向を示し、さらに伴侶動物医療で使用頻度の高い薬剤に対する耐性を獲得していることが明らかとなった。時系列系統解析により、伴侶動物由来株とヒト由来株の系統関係はモザイク状であり、1990 年代にヒトで流行した N/J クローンは伴侶動物に伝播した可能性が強く示唆された。本成果は、MRSA がヒトから伝播し、伴侶動物に保菌されることで高度多剤耐性化した N/J クローンとして拡大したことを示している。一方、近年のヒトで増加している ST764-SCCmecII や CA-MRSA/J といった侵襲性クローンは伴侶動物に現在進行形で伝播しており、N/J クローンやこれらのクローンが再度ヒトに伝播拡散して行くかどうか、動向を注視する必要がある。

WS13-4

短いか長いか、両極か単極か、べん毛が語る細菌の適応戦略

○長坂 もゆ¹, Eli Cohen², Morgan Beeby², 中根 大介¹ (¹電通大・情報理工・基盤理工, ²Dept. Life Sci., Imperial Coll. London)

Two poles are better than one: why short and bipolar flagella win in viscous worlds

○Moyu Nagasaka¹, Eli Cohen², Morgan Beeby², Daisuke Nakane¹ (¹Dept. Eng. Sci., Grad. Sch. Informatics & Eng., Univ. Electro-Communications, ²Dept. Life Sci., Imperial Coll. London)

Campylobacter jejuni, a major foodborne pathogen, possesses a pair of short bipolar flagella, which enable swimming in high-viscosity environments such as the host intestinal mucus. In contrast to the model bacterium *Escherichia coli*, *C. jejuni* has fewer and shorter flagella. However, the physiological significance of their flagellar morphology remains unclear. To understand how flagellar length and number contribute to the motility of *C. jejuni*, we developed a $\Delta flaG$ mutant which exhibits elongated flagellar filaments and $\Delta flil$ and $\Delta flaG\Delta flil$ mutants which alter flagellar number and analyzed their motility under high-viscosity conditions. High-speed fluorescence microscopy (200 frames/sec) revealed that in the $\Delta flaG$ mutant, the long bipolar flagella entangle with each other, impeding swimming for the first time. Moreover, monopolar $\Delta flil$ or $\Delta flaG\Delta flil$ mutants exhibited drastically reduced swimming speed compared with wild-type. These results demonstrate that in a viscous environment, short bipolar flagella confer functional advantages. This finding suggests that *C. jejuni* may have optimized its flagellar morphology to adapt to the viscous habitat, thereby evolving an efficient motility strategy. Our study discusses the relationship between bacterial living environment and flagellar length/number, revealing adaptive flagellar morphogenesis in pathogenic bacteria.

WS13-5

単細胞性シアノバクテリア *Synechocystis* sp. LKSZ1 は窒素固定を行う

○奥村 レオナルド研, 増田 真二 (科学大・生命理工・生命理工)

The unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. LKSZ1 performs nitrogen fixation

○Leonardo Ken Okumura, Shinji Masuda (Dept. LST., Sch. LST., Science Tokyo)

我々は昨年、キャンパス内の池より酸素発生型の光合成を行うシアノバクテリア *Synechocystis* sp. LKSZ1 株を単離した。この LKSZ1 株の全ゲノム配列を決定したところ、窒素固定酵素であるニトロゲナーゼをコードする *nifHDK* とその生合成に関与する *nifENB* を含む *nif* 遺伝子群を有していることが明らかになった。

窒素固定能を有する *Synechocystis* 属シアノバクテリアは 30 年以上前に報告されているが、その菌の *nif* 遺伝子群の存在は未知である。したがって LKSZ1 株は *nif* 遺伝子群を持つことが初めて確認された *Synechocystis* 属シアノバクテリアである。

Chen ら (2022) の報告に基づく系統解析の結果、LKSZ1 株の持つ NifHDKEN は、窒素固定能が確認されている一部の *Leptolyngbya* 属シアノバクテリアの有するものと近縁であった。LKSZ1 株とこれら *Leptolyngbya* 属シアノバクテリアの *nif* 遺伝子群を tblastx によって比較したところ、アミノ酸配列の類似性は 70% 以上であり、*nif* 遺伝子の順序も一致していた。これらの結果から LKSZ1 株の *nif* 遺伝子群は *Leptolyngbya* 属シアノバクテリアから水平伝播により伝わった可能性が示唆された。

窒素源を含まない培地での培養試験を行ったところ、非窒素固定シアノバクテリアである *Synechocystis* sp. PCC 6803-GT 株は窒素欠乏の表現型である黄変化を示したのに対して、LKSZ1 株は緑色を維持した。このことから LKSZ1 株は実際に窒素固定を行うと示唆される。

WS14

留学生セッション

コンピーナー：田村 あずみ（国立健康危機管理研究機構）
Aa Haeruman Azam（国立健康危機管理研究機構）

international students

Conveners: Azumi Tamura (Japan Institute for Health Security)
Aa Haeruman Azam (Japan Institute for Health Security)

WS14-1

環境シグナルが *Alcanivorax* における運動性-バイオフィーム形成を制御する

Environmental Cues Regulate the Motility and Biofilm Building in *Alcanivorax*

○Shufeng Zhao (Grad. Sch. Sci. Technol., Univ. Tsukuba)

Obligate hydrocarbonoclastic bacteria (OHCB) capable of utilizing hydrocarbon-related substrates (e.g., alkanes) play a key role in the natural attenuation of marine pollutants and are widely regarded as valuable models for studying microbe–interface interactions. Although these bacteria typically exist at low abundance, they can rapidly proliferate when suitable resources become locally enriched, often emerging as dominant community members. At alkane–water interfaces, they form biofilms that enable efficient access to alkanes. However, the mechanisms by which these bacteria locate favorable surfaces and establish colonization sites in the vast ocean remain poorly understood. Here, using a model OHCB, *Alcanivorax*, we show that broad environmental cues strongly influence bacterial motility and the transition toward biofilm development. These external cues regulate the shift between exploratory movement and community establishment through internal responses. Importantly, by artificially tuning substrate properties, we demonstrate that both bacterial behavior and biofilm spatial organization can be deliberately manipulated, enabling the formation of designed colonization patterns.

WS14-2

抗バイオフィーム製剤開発のためのバイオポリマー金属ナノ粒子の検討

○成 雪非¹, 宮崎 貴文², 上川 善昭³, 泉福 英信¹ (1日大松戸・歯・微生物免疫, ²(株)ピカッシュ, ³鹿児島大・歯)

Biopolymer-stabilized metal nanoparticles for oral antibiofilm

○Xuefei Cheng¹, Takafumi Miyazaki², Yoshiaki Kamikawa³, Hidenobu Senpuku¹ (1Dept. Microbiol. Immunol., Dent., Sch. St Matsudo, Nihon Univ., ²Pikasshu, ³Sch. Dent., Kagoshima Univ.)

Oral bacterial biofilms play a central role in the development of oral diseases including dental caries. The biofilm structure markedly enhances bacterial tolerance to antimicrobial agents, allowing pathogens to persist within the host environment. Metal ions possess broad-spectrum and multi-target antibacterial and antibiofilm properties; however, their application is limited by notable cytotoxicity and rapid inactivation due to interactions with components in the oral cavity. Previous studies have shown that converting metal ions into nanoparticles can partially overcome these limitations. In this study, we biosynthesized silver and copper nanoparticles from their corresponding antimicrobial metal ions and examined changes in their antibiofilm activities and cytocompatibility. Carrageenan (CRG), a biocompatible biopolymer, was used in our study as a stabilizer and macromolecular carrier for nanoparticle synthesis. Our findings demonstrated that the nanoparticles exhibited stronger antibiofilm activity to *Streptococcus mutans* at lower metal concentrations, than non-nanoparticles, suggesting reduced cytotoxicity to epithelial cells. Overall, this “nanoparticle–biopolymer” hybrid strategy offers improved efficacy and safety for metal-based nanomaterials in the oral cavity and provides a promising direction for developing novel oral moisturizers and antimicrobial formulations.

WS14-3

マラウイの肉用鶏の大腸菌におけるプラスミドによる *bla*_{CTX-M-55} の拡散

○Pilirani Chisembe¹, Duc Dao¹, Daraden Vang¹, 小林 洋平², 鈴木 仁人³, Njunga Gilson⁴, Nkhoma Joseph⁴, 木下 遼¹, 黒田 英介¹, 木村 幸司¹, 柴山 恵吾¹ (1名古屋大・医・細菌学, ²名古屋市衛研・微生物, ³国立感染研・薬剤耐性研究センター, ⁴Dept. Bacteriol., Cent. Vet. Lab., Malawi)

Plasmid-Mediated Dissemination of *bla*_{CTX-M-55} in Poultry-Associated *Escherichia coli*

○Pilirani Chisembe¹, Duc Dao¹, Daraden Vang¹, Yohei Kobayashi², Masato Suzuki³, Njunga Gilson⁴, Nkhoma Joseph⁴, Ryo Kinoshita-Daitoku¹, Eisuke Kuroda¹, Koji Kimura¹, Keigo Shibayama¹ (1Dept. Bacteriol. Grad. Sch. Med., Nagoya Univ., ²Dept. Microbiol., Nagoya City Pub. Health Res. Inst., ³AMR Res. Center, Natl. Inst., Infect. Dis., ⁴Dept. Bacteriol., Cent. Vet. Lab., Malawi)

Extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* are a major contributor to antimicrobial resistance, with *bla*_{CTX-M-55} increasingly reported in food-producing animals globally. However, data on the genomic context and transferability of *bla*_{CTX-M-55} in poultry-associated *E. coli* from sub-Saharan Africa remain limited. Here, we characterized 21 *bla*_{CTX-M-55}-positive *E. coli* isolates from Malawian broiler chickens using whole-genome sequencing and conjugation assays with an *E. coli* recipient. *bla*_{CTX-M-55} was predominantly plasmid-borne (81%) distributed across diverse incompatibility groups (IncF, IncX1, and IncHI2; sizes ranging between 46.8 to 331.3 kbp) and co-occurred with multiple resistance genes, including *fosA3*, *bla*_{TEM}, and *mph(A)*. Fifteen isolates successfully transferred *bla*_{CTX-M-55} with frequency rates ranging from 10⁻⁵ to 10⁻¹. Transconjugants exhibited high resistance to cefotaxime and other antimicrobials. Three distinct *bla*_{CTX-M-55} genetic environments were highly conserved across plasmid backbones: Type I, *ISEcp1*-*bla*_{CTX-M-55}-*wbuC-Tn3*; Type II, *IS26*-*bla*_{CTX-M-55}-*wbuC*-*bla*_{TEM}-*IS26*; Type III, *IS26*-*hp*-*bla*_{CTX-M-55}-*wbuC*-*bla*_{TEM}-*IS26*. These findings show that *bla*_{CTX-M-55} circulates on diverse and transmissible plasmids in poultry-associated *E. coli* in Malawi, underscoring plasmid-driven spread of ESBL genes across One Health interfaces.

WS14-4

カルパネマーゼを拡散させる環境由来細菌の ICE の解析

○Duc Dao¹, 鈴木 仁人^{2,3}, 小林 洋平^{1,4}, 平林 亜希², 春日 郁朗^{3,5,6}, Hoang Tran⁷, 竹村 太一郎³, 阿部 遙³, 長谷部 太³, 柴山 恵吾¹ (¹名古屋大・医・細菌学, ²国立感染症・薬剤耐性研究センター, ³長崎大・熱帯研・ベトナム拠点, ⁴名古屋市衛研・微生物部, ⁵東京大・先端科学技術, ⁶東京大・都市工学, ⁷Natl. Inst. Hygiene and Epidemiology)

ICEs Drive the Dissemination and Evolution of Carbapenemase Genes among Environmental Bacteria

○Duc Dao¹, Masato Suzuki^{2,3}, Yohei Kobayashi^{1,4}, Aki Hirabayashi², Ikuro Kasuga^{3,5,6}, Hoang Tran⁷, Taichiro Takemura³, Haruka Abe³, Futoshi Hasebe³, Keigo Shibayama¹ (¹Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Nagoya Univ., ²AMR Center, Natl. Inst. Infect. Dis., ³Vietnam Res. Sta., Cent. Infect. Dis. Res. Asia and Africa, Inst. Trop. Med., Nagasaki Univ., ⁴Dept. Microbiol., Nagoya City Pub. Health Inst., ⁵Res. Adv. Sci. Technol., Univ. Tokyo, ⁶Dep. Urban Eng. Univ. Tokyo, ⁷Natl. Inst. Hygiene and Epidemiology)

Environmental bacteria act as both a source and an evolutionary incubator driving the emergence of novel antimicrobial resistance genes. We identified *Pseudomonas guariconensis* KNHN1 isolated from wastewater in Vietnam, which harbors three functional integrative and conjugative elements (ICEs) encoding the carbapenemase genes *bla*_{NDM-1}, *bla*_{KPC-2}, and a novel *bla*_{AFM} variant, *bla*_{AFM-5}. Genomic and PCR analysis confirmed that all three ICEs excise from the chromosome. Notably, the *bla*_{NDM-1}- and *bla*_{KPC-2}-carrying elements, ICE_{p_gKNHN1_NDM} (108 kb) and ICE_{p_gKNHN1_KPC} (131 kb), belong to the ICE_{Ec} family and exhibited high conjugation frequencies even under nutrient-poor conditions. In contrast, ICE_{p_gKNHN1_AFM} (108 kb) belongs to a novel ICE family that co-harbors *bla*_{AFM-5} and the tigecycline resistance gene cluster *tmexCD2-toprJ2*. This element integrates downstream of *guaA* and encodes a MOB_{P1}-family relaxase gene, characterized by flexible cleavage motif recognition. These carbapenemase gene-carrying ICE lineages possess a broad host range and are frequently identified in clinical isolates, underscoring their medical significance. Collectively, our findings highlight how diverse ICE families in environmental reservoirs concurrently drive the dissemination of clinically relevant antimicrobial resistance and the evolution of novel variants with enhanced fitness.

WS14-5

Mycobacterium abscessus におけるアミカシン耐性進化経路の解明

○梁 露潔, 港 雄介 (藤田医大・感染症研究セ・感染症創薬研究)

Identification of evolutionary trajectory of amikacin resistance in Mycobacterium abscessus

○Lujie Liang, Yusuke Minato (Div. Anti-Infective Drug Discovery, Ctr. Infectious Disease Research, Fujita Health Univ.)

Mycobacterium abscessus (Mab), a multidrug-resistant nontuberculous mycobacteria (MDR-NTM) that intrinsically resistant to all classes of antibiotics, has become a “silent superbug crisis” worldwide. Hence, better understanding on the mechanism underlying antibiotic resistance evolution in Mab is urgently needed. The key determinant driving the rapid evolution of antibiotic resistance in Mab remains unknown. To investigate this, a high-throughput screening was conducted by pre-treating Mab with sub-lethal concentrations of antibiotics in different modes of action (MoA) and further exposing to antibiotics in lethal concentrations, 30 combinations were established in total. For each condition, 48 independent populations were analyzed to determine drug resistance rate. Surprisingly, pre-treatments with rifampicin, tigecycline or meropenem significantly increased the frequency of amikacin (AMK) resistant populations in Mab. We found that these pre-treatments markedly diminished proton motive force (PMF). AMK, a Mab therapeutic cornerstone, highly relies on active transport across bacterial membrane. Hence, the reduced PMF impeded the uptake of AMK and reduced drug susceptibility in Mab. Our study demonstrated that pre-treatments with antibiotics compromising PMF facilitated the rapid evolution of AMK resistance, indicating PMF as a novel “hallmark” for Mab therapeutic guidance.

WS14-6

パンデミック型 *E. coli* クローンにおけるコリスチン耐性の健康影響の *in vivo* 再評価

○トイティン-平石 ジラッチャ¹, 佐藤 豊孝^{1,2,3}, 山本 聡³, 遠山 茉奈¹, 臼井 優⁴, 小笠原 徳子³, 林 航^{5,6}, 長野 則之⁵, 中島 千絵^{7,8}, 鈴木 定彦^{7,8}, 堀内 基広¹, 高橋 聡⁹, 横田 伸一³, 田村 豊¹⁰ (¹北海道大・院獣医学・衛生学分野・獣医衛生学教室, ²北海道大・フンヘルスリサーチセンター, ³札幌医科大・医・微生物学講座, ⁴酪農学園大・獣医学群・食品衛生学教, ⁵信州大・院総合医理工学・医学系専攻, ⁶国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター, ⁷北海道大・人獣共通感染症国際共同研究所・バイオリソース部門, ⁸北海道大・ワクチン研究開発拠点, ⁹札幌医科大・医・感染制御・臨床検査医学講座, ¹⁰酪農学園大・獣医学群)

In vivo reassessment of the health impact of colistin resistance in a pandemic *E. coli* clone

○Jirachaya Toyting-Hiraishi¹, Toyotaka Sato^{1,2,3}, Soh Yamamoto³, Mana Tohyama¹, Masaru Usui⁴, Noriko Ogasawara³, Wataru Hayashi^{5,6}, Noriyuki Nagano⁵, Chie Nakajima^{7,8}, Yasuhiro Suzuki^{7,8}, Motohiro Horiuchi¹, Satoshi Takahashi⁹, Shinichi Yokota³, Yutaka Tamura¹⁰ (¹Lab. Vet. Hyg., Fac. Vet. Med., Hokkaido Univ., ²One Health Res. Ctr., Hokkaido Univ., ³Div. Microbiol., Dept. Infect. Dis., Sch. Med., Sapporo Med. Univ., ⁴Lab. Food Microbiol. & Food Safety, Dept. Health & Environ. Sci., Sch. Vet. Med., Rakuno Gakuen Univ., ⁵Dept. Med. Sci., Shinshu Univ. Grad. Sch. Med., Sci. & Tech., ⁶AMR Res. Ctr., Natl. Inst. Infect. Dis., Japan Inst. Health Security, ⁷Div. Bioresources, Int. Inst. Zoo. Con., Hokkaido Univ., ⁸Inst. Vaccine Res. & Dev. (HU-IVReD), ⁹Dept. Infect. Control & Lab. Med., Sch. Med., Sapporo Med. Univ., ¹⁰Sch. Vet. Med., Rakuno Gakuen Univ.)

Accurate assessment of antimicrobial resistance risks requires systematic *in vivo* evidence. For colistin, a last-resort antibiotic, concern has intensified with the global spread of plasmid-mediated *mcr* genes, yet assumptions of increased health risk rely on limited *in vivo* data. No previous study has jointly evaluated fitness and virulence while systematically comparing major naturally occurring *mcr* plasmids and chromosomal mutations in clinically relevant *Escherichia coli*. To address this gap, we investigated plasmid-mediated and chromosomal colistin resistance determinants in the pandemic ST131 clone using mouse infection models, assessing virulence via survival and organ bacterial loads. pIncI2-*mcr*-1, pIncP1-*mcr*-3, and *pmrA* mutants showed significantly reduced virulence and fitness, demonstrated by decreased mortality and lower bacterial loads in infected mice, whereas pIncX4-*mcr*-1, pIncFII-*mcr*-5, and *pmrB* mutations showed no detectable differences from the parental strain. Functional dissection of pIncI2-*mcr*-1 identified two virulence-attenuating factors, VafA and VafB, that reprogrammed the transcriptome and impaired nucleotide metabolism via a VafA/VafB-CyaA complex targeting inosine monophosphate synthesis. These findings demonstrate that colistin resistance does not uniformly enhance virulence and may attenuate it, emphasizing the need for rigorous *in vivo* evaluation.

WS14-7

抗菌薬耐性に関与する外膜透過性亢進型 *Pseudomonas aeruginosa* 変異株の分離

○邱 辰軒, 藤田 真理, 永野 恵司 (北医療大・歯・微生物)

Isolation of Outer Membrane-Permeable *Pseudomonas aeruginosa* Mutants Linked to Antibiotic Resistance

○Chen-Hsuan Chiu, Mari Fujita, Keiji Nagano (Div. Microbiol., Sch. Dent., Health Science Univ. Hokkaido)

Pseudomonas aeruginosa shows intrinsic antibiotic resistance due to low outer-membrane permeability, largely determined by the mainly closed conformation of the porin OprF. To identify genes regulating permeability, a PAO1 strain engineered to metabolize raffinose was subjected to transposon mutagenesis, and mutants were selected in chemostat cultures with raffinose as the sole carbon source. The mutants grew faster than the parent strain in raffinose medium and showed 2- to 4-fold increased susceptibility to ten antibiotics. All isolates carried insertions in *morA*, whose loss is associated with elevated c-di-GMP levels. OprF expression was unchanged, suggesting that increased permeability results from a higher fraction of open-state OprF. These findings indicate that *morA*-mediated c-di-GMP modulation enhances outer-membrane permeability and antibiotic susceptibility in *P. aeruginosa*.

WS14-8

***Enterococcus faecium* バクテリオファージの臨床分離株に対する阻害効果**

○ヒダヤテ リズカ¹, 西濱 早紀^{1,2}, 松尾 美樹¹, 柴 秀樹², 小松澤 均¹ (1)広島大・院医歯薬保健・細菌学分野, ²広島大・院医歯薬保健・生物学的菌内療法学分野)

The Potential of *Enterococcus faecium* Bacteriophage in Inhibit Clinical *E. faecium* Isolates

○Rizka Hidayati¹, Saki Nishihama^{1,2}, Miki Kawada-Matsuo¹, Hideki Shiba², Hitoshi Komatsuzawa¹ (1)Dept. Bacteriology Grad. Sch. Biomed. Health Sci. Hiroshima Univ. Japan, ²Dept. Biological Endodontics Grad. Sch. Biomed. Health Sci. Hiroshima Univ. Japan)

The treatment of antibiotic-resistant nosocomial pathogens is challenging, particularly in hospitals. Therefore, it is an urgent need for finding the alternative therapeutic, including the bacteriophage therapy with phage specificity and bactericidal potential. This study isolated temperate phage from 36 strains of *Enterococcus faecium*, a Gram-positive bacterium that is resistant to various antibiotics, collected at Hiroshima University Hospital. Genome analysis showed that all strains had phage genomes which were group into seven types. After inducing phage production using mitomycin C, the resulting phages were tested against 15 strains of *E. faecium* with different ST types, including vancomycin-resistant *E. faecium* VRE. Phage activity was confirmed in 11 strains. Quantification by qPCR revealed that phage particle numbers varied across samples. Overall, we conclude that *E. faecium* bacteriophages have the potential to inhibit clinical *E. faecium* isolates.

WS14-9

Enterococci を標的とした抗菌剤としてのバクテリオファージ

○宋 冰心^{1,2}, 松尾 美樹^{1,3}, 西濱 早紀^{1,2}, 藤木 純平⁴, 岩野 英知⁴, 柴 秀樹², 小松澤 均^{1,3} (1)広島大・医系科学・細菌学, ²広島大・医系科学・菌叢生物学, ³広島大・院内感染症プロジェクト研究センター, ⁴酪農学園大・獣医学類・獣医生化学ユニット)

Bacteriophage as antibacterial agents that target Enterococci

○Bingxin Song^{1,2}, Miki Kawada-Matsuo^{1,3}, Saki Nishihama^{1,2}, Jumpei Fujiki⁴, Hidetomo Iwano⁴, Hideki Shiba², Hitoshi Komatsuzawa^{1,3} (1)Dept. Bacteriology, Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, Hiroshima Univ., ²Dept. Biological Endodontics, Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, Hiroshima Univ., ³Project Research Center for Oral Infectious Diseases, Hiroshima Univ., ⁴Lab. Veterinary Biochemistry, Dept. Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen Univ.)

Enterococcus faecalis and *Enterococcus faecium* are major opportunistic pathogens, and the emergence of multidrug-resistant strains poses a serious clinical challenge. This indicates the urgent need for alternative antibacterial agents. This study aimed to isolate and characterize bacteriophages active against clinical *E. faecalis* and *E. faecium* strains. Bacteriophages were isolated from sewage and subsequently purified and amplified. Lytic activity was evaluated by soft agar overlay assays against 51 *E. faecalis* and 41 *E. faecium* clinical isolates, including vancomycin-resistant enterococci (VRE). Growth inhibition assays were conducted, and phage morphology was examined by transmission electron microscopy (TEM). We isolated 10 bacteriophages active against *E. faecalis* and *E. faecium* clinical strains from sewage. Several phages exhibited broad host ranges, including over-species activity, and showed efficacy against VRE strains. Growth inhibition assays demonstrated significant reductions in bacterial growth in phage-sensitive strains. TEM revealed three distinct phage morphotypes corresponding to different viral families. Ten highly lytic bacteriophages isolated from sewage showed strong antibacterial activity against *Enterococcus spp.*, particularly VRE, suggesting their potential as candidates for bacteriophage therapy.

WS14-10

CRISPR-Cas9 Platform for Rapid Engineering of Lytic-Enhanced Therapeutic Mycobacteriophages

○ゲーオブラサート オーラウイー, 渡邊 真弥, 島守 祐月, スルタナシャーミン, 齋藤 明美, ヴィーラナヤナン スリワニ, 宮永 一彦, 相羽 由詞, タンシンイー, 崔 龍洙 (自治医科大・医・感染・免疫講座・細菌学部門)

○Orawee Kaewprasert, Shinya Watanabe, Yuzuki Shimamori, Sharmin Sultana, Akemi Saito, Srivani Veerananarayanan, Kazuhiko Miyanaga, Yoshifumi Aiba, XinEe Tan, Longzhu Cui (Div. Bacteriol., Dept. Infect. Immun., Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

Temperate mycobacteriophages establish integrase-mediated lysogeny, which suppresses lytic activity and promotes the emergence of lysogen-derived resistant mutants, limiting therapeutic value. To overcome this, we developed a CRISPR-Cas9 genome editing platform enabling precise deletion of the integrase gene (Δ int) and elimination of lysogenic potential. Guide RNAs were designed from PAM motifs in the phage genome and cloned into the mycobacterial CRISPR plasmid pYC1640 expressing Cas9Sth. When combined with homologous recombination donors, the Cas9-sgRNA construct selectively cleaves wild-type genomes, enriching Δ int mutants that escape Cas9 targeting. Recombinant *Mycobacterium smegmatis* carrying the CRISPR system enabled inducible editing upon ATc addition, providing tight control of Cas9 activation. Successful integrase deletion was confirmed by whole-genome sequencing and by reduced phage titers under ATc induction compared with non-induced controls. Functional assays demonstrated that the Δ int mutant displayed enhanced killing of clinical *M. abscessus* relative to the wild type. Compared with conventional homologous-recombination-based methods, this CRISPR workflow is faster, more precise, and yields lytic-enhanced phages with high reliability. Overall, this platform establishes a robust strategy for rapid engineering of therapeutic mycobacteriophages.

WS15

選抜口頭発表 3: 生体防御

コンピーナー: 金城 雄樹 (東京慈恵会医科大学)
三室 仁美 (大分大学グローバル感染症研究センター)

Selected Oral Presentations 3
Biodefense

Conveners: Yuki Kinjo (Jikei University School of Medicine)
Hitomi Mimuro (Research Center for GLOBAL and LOCAL Infectious Diseases, Oita University)

WS15-1/P2-083

Borrelia miyamotoi に対する補体依存的殺菌機構の解明

○竹内 友陽¹, 川端 寛樹², 佐藤 梢², 高野 愛¹ (¹山口大・獣医・疫学, ²国健機構・感染研・細菌一)

Analysis of complement-dependent bactericidal mechanisms against *Borrelia miyamotoi*

○Tomohi Takeuchi¹, Hiroki Kawabata², Kozue Satoh², Ai Takano¹ (¹Dept. Epi., Grad. Sch. Vet. Med., Yamaguchi Univ., ²Dept. Bacteriol. I., Natl. Inst. Infect. Dis.)

Borrelia miyamotoi はマダニ媒介性回帰熱の起因菌であり、日本を含むアジア、ヨーロッパ、アメリカなどで患者が報告されている。本菌は補体制御因子結合タンパク質や表面抗原遺伝子の組換えにより宿主補体系および抗体応答から回避していることが知られているが、宿主が最終的にどのような機構で菌を排除しているかは不明である。そこで我々は、宿主による *B. miyamotoi* 殺菌メカニズムの解明を目的として検討を行った。C57BL/6J, BALB/c, BALB/c-nude, CB17SCID に *B. miyamotoi* を接種し、経時的に採取した血液からリアルタイム PCR により菌数を算出した。その結果、免疫正常マウスでは感染 10 日前後で菌が排除されたのに対し、免疫不全マウスでは菌の排除が遅延した。さらに感染 5 日および 10 日目の C57BL/6J と CB17SCID の血清を用いて *in vitro* で殺菌能力を比較したところ、C57BL/6J の感染 10 日目血清では菌がほぼ排除されたが、同血清を補体不活化あるいは古典経路特異的に不活化すると、菌の生存率は回復した。一方、CB17SCID 血清では殺菌活性は認められなかった。さらに感染 10 日目の C57BL/6J 血清では菌表面への C4b 沈着が有意に増加していた。以上より、宿主による *B. miyamotoi* 排除には補体系と抗体が関与しており、特に感染 10 日前後に認められた菌表面への C4b 沈着の増加から、古典経路の活性化が菌排除に重要な役割を果たしていることが示唆された。今後は *B. miyamotoi* が保有する古典経路阻害因子の作用を中和する抗体の有無について検討していきたい。

WS15-2/P2-092

多剤耐性アシネトバクター感染における LPS 修飾のインフラマソーム応答への影響

○松田 泰幸¹, 山内 肇¹, 鴨志田 剛², 白石 宗³, 横田 伸一³, 原 英樹¹ (¹旭川医大・医・感染症, ²明薬大・微生物感染制御, ³札幌医大・医・微生物)

Impact of LPS modifications on inflammasome activation in *Acinetobacter* infection

○Yasuyuki Matsuda¹, Hajime Yamauchi¹, Go Kamoshida², Tsukasa Shiraishi³, Shin-ichi Yokota³, Hideki Hara¹ (¹Dept. Infect. Dis., Div. Microbiol. Immunochem., Asahikawa Med. Univ., ²Dept. Infect. Cont. Sci., Meiji Pharm. Univ., ³Dept. Microbiol., Sch. Med., Sapporo Med. Univ.)

Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MDRA) represents a major public health threat, yet the mechanisms by which it induces host inflammatory responses remain poorly understood. LPS is a bacterial ligand recognized by caspase-11 that activate the non-canonical inflammasome. In this study, we investigated how the bacterium regulates LPS activity to induce inflammasome responses. Under stress conditions, *Acinetobacter* upregulates expression of pmrB, a membrane-associated kinase that activates LPS modification system. Structural analysis revealed that pmrB altered modifications at the lipid A phosphate groups in MDRA. To determine the influence of pmrB-mediated LPS modification on inflammasome responses, we generated recombinant MDRA strains harboring an activating mutation in *pmrB*. Macrophage infected with pmrB mutant secreted less IL-1 β and IL-18, inflammasome-dependent proinflammatory cytokines, compared with those infected with wild-type MDRA. Consistently, mice infected with the mutant strain exhibited improved survival and reduced bacterial burdens in the organ tested relative to those infected with wild-type MDRA. Together, these findings indicate that pmrB-mediated modification of LPS attenuates inflammasome responses that otherwise aggravate MDRA infection.

WS15-3/P2-098

Candida albicans 誘導性 α 1,2-fucosylation の誘導経路と炎症制御

○森 大地¹, 後藤 義幸^{1,2} (¹千葉大・真菌センター, ²千葉大・災害治療学研)

Induction Pathways and Inflammation Regulation of *Candida albicans*-Induced α 1,2-fucosylation

○Daichi Mori¹, Yoshiyuki Goto^{1,2} (¹Dept. Medical Mycology Research Center, Chiba Univ., ²Dept. Disaster Med, Chiba Univ.)

Candida albicans (CA) is a key intestinal microbe, known to induce T helper 17 cells and IL-22-dependent antimicrobial responses, contributing to mucosal homeostasis. However, the mechanisms regulating symbiosis between mucosal immunity and CA remain unclear. Here, we focused on epithelial α 1,2-fucosylation, a host-bacteria symbiotic factor, showed its induction pathway and relevance to disease. First, CA-induced α 1,2-fucosylation was absent in Rag2 deficient mice but was restored by transfer of CD4⁺T cells. Moreover, α 1,2-fucosylation was not induced in IL-22 deficient mice, showing that the CD4⁺T cells-IL-22 axis governs this induction. We next assessed its pathological significance in CA-associated diseases, including ulcerative colitis (UC) and alcoholic liver disease (ALD). Since α 1,2-fucosylation is mediated by Fut2, we compared disease susceptibility in wild-type and Fut2 deficient mice colonized with CA. Fut2 deficient mice showed increased susceptibility to both diseases, revealing that loss of α 1,2-fucosylation exacerbates CA-driven pathology. These findings identify CA-induced α 1,2-fucosylation as a downstream outcome of the CD4⁺T cells-IL-22 pathway and highlight this glycan modification as a key host-protective factor modulating the progression of CA-associated diseases.

WS15-4/P2-105

腸管粘膜近傍細菌 *Adlercreutzia* は胆汁酸脱抱合酵素によって大腸炎を緩和する

○場 佳約¹, 尾花 望^{2,3}, 中藤 学^{4,5}, 新聞 秀一⁶, 斉藤 裕美⁶, 向井 新⁷, 吉田 颯祐⁷, 澤田 和宏⁷, 木瀬 孔明⁷, 濡木 理⁷, 野村 暢彦³, 福田 真嗣¹ (¹慶大・先端生命研, ²筑波大・医学医療系・TMRC, ³筑波大・生命環境系, ⁴順大・院・医, ⁵神奈川産技総研, ⁶阪大・院・工, ⁷東大・院・理, ⁸株式会社メタジェン)

Intestinal mucosa-associated bacteria *Adlercreutzia attenuates colitis by bile salt hydrolase*

○Jiayue Yang¹, Nozomu Obana^{2,3}, Gaku Nakato^{4,5}, Shuichi Shimma⁶, Yumi Saito⁶, Shin Mukai⁷, Sousuke Yoshida⁷, Kazuhiro Sawada⁷, Yoshiaki Kise⁷, Osamu Nureki⁷, Nobuhiko Nomura³, Shinji Fukuda¹ (¹Inst. Adv. Biosci., Keio Univ., ²TMRC, Inst. Med., Univ. Tsukuba, ³Inst. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba, ⁴Grad. Sch. Med., Juntendo Univ., ⁵KISTEC, ⁶Grad. Sch. Eng., Univ. Osaka, ⁷Grad. Sch. Sci., Univ. Tokyo, ⁸Metagen. Inc.)

ヒト腸管内には多種多様な腸内細菌が生息しており、それらが産生する様々な代謝物質が人体に影響を与えることが報告されている。粘液層付近に局在する腸内細菌は特に宿主に影響を与える報告が多いため、その機能理解は重要である。これまでの腸管粘膜近傍細菌叢の解析では、腸管組織の採取といった侵襲的な手段が必要であった。そこで、本研究では非侵襲的な採取を実現するために便に着目した。細菌叢解析の結果から、便表面と大腸粘膜近傍の細菌叢は類似しており、便を用いることで大腸粘膜近傍の細菌叢を経時的に解析可能であることを明らかにした。本手法により大腸の炎症と逆相関する粘膜局在細菌属 *Adlercreutzia* を同定した。当該細菌属の基準株を定着させたノットバイオートマウスを作成し、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を用いて実験的に大腸炎を誘導したところ、同菌は大腸炎緩和作用を有することが明らかとなった。盲腸内容物のメタボローム解析および大腸の質量分析イメージング解析から腸内でタウリン量が増加していることが明らかとなった。タウリンを経口投与した無菌マウスは DSS 大腸炎の緩和作用を示したことから、同菌は腸管内でタウリン量を増加させることで、大腸炎を緩和することが示唆された。腸管内のタウリンは腸内細菌が有する胆汁酸脱抱合酵素(BSH)によって抱合型胆汁酸より遊離される。In vitro 試験により、同 BSH は既存酵素と比較してその活性が格段に高いことが明らかとなった。したがって同菌の高い胆汁酸脱抱合作用は大腸炎緩和に有用であると考えられる。加えて、クライオ電子顕微鏡で当該 BSH の構造を解析し、同酵素の活性と安定性に重要な部位を酵素変異体で特定した。

WS15-5/P2-085

Klebsiella pneumoniae 由来菌体外膜小胞による LPS 誘導性炎症応答の拮抗作用とその病理学的意義

○豊元 柊弥¹, 椿 翔吾¹, 松崎 潤太郎², 澤 智裕³, 津川 仁¹ (¹東海大・医・生体防御, ²慶應大・薬・創薬研究センター, ³熊本大・院生命科学・微生物)

K. pneumoniae-derived EVs antagonize LPS-induced inflammation and exhibit a pathologic involvement

○Touya Toyomoto¹, Shogo Tsubaki¹, Juntaro Matsuzaki², Tomohiro Sawa³, Hitoshi Tsugawa¹ (¹TransIR., Div. Host Def. Mech., Sch. Med., Tokai Univ., ²DiGNa., Res. Ctr. Drug Discov., Fac. Pharm., Keio Univ., ³Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med., Kumamoto Univ.)

Background: Our previous data show that *K. pneumoniae* translocates from the gastrointestinal tract to the liver by delivering its extracellular vesicles (KpEVs) to the liver and suppressing the nitric oxide (NO)-mediated inflammatory response of macrophages. The present study was designed to elucidate the mechanism underlying KpEV-induced inhibition of macrophage inflammatory responses.

Methods: Murine bone marrow-derived macrophages (BMDMs) were treated with KpEVs. Arg-1, TLR4, and STAT1 phosphorylation were detected by WB. Arginine concentration was measured by LC-MS/MS.

Results and Discussion: KpEVs induced the expression of the M2-phenotype marker Arg-1 in BMDMs and reduced intracellular arginine concentrations. Furthermore, KpEVs significantly inhibited LPS-induced NO production in macrophages. This inhibition of LPS-driven NO production was induced by promoting TLR4 degradation by KpEVs. In addition, KpEVs strongly suppressed IFN-β/γ-induced STAT1 phosphorylation and inhibited the iNOS expression. Collectively, the results show that KpEVs attenuate the inflammatory response of macrophages by enhancing Arg-1-dependent M2-phenotype and decreased LPS and IFN-β recognitions. Our findings highlight that immune disruption in distant organs, driven by KpEVs produced by gut commensal *K. pneumoniae*, may represent a critical initiating event in the pathogenesis of diverse diseases.

WS15-6/P2-096

Clostridioides difficile 由来メンブレンベシクルの産生機構と免疫原性による感染制御

○勇 陽太郎¹, 奥田 真由¹, 野村 暢彦^{2,3,5}, 尾花 望^{4,5} (¹筑波大院・理工情報生命・生命地球科学, ²筑波大・生命環境, ³筑波大・TIAR, ⁴筑波大・医学医療系・TMRC, ⁵筑波大・MiCS)

Biogenesis and immunogenicity of *C. difficile* membrane vesicles for controlling pathogenicity

○Yotaro Isamu¹, Mayu Okuda¹, Nobuhiko Nomura^{2,3,5}, Nozomu Obana^{4,5} (¹Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ²Fac. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ³TIAR, Univ. Tsukuba, ⁴TMRC, Fac. Med., Univ. Tsukuba, ⁵MiCS, Univ. Tsukuba)

細菌が放出するメンブレンベシクル (MVs) は、多様な菌体由来成分を積載し、高い免疫原性を有することから、ワクチンへの応用が期待されている。我々は、MVs を免疫調節因子として用い、宿主免疫を誘導することで、特定の腸内細菌の定着や病原性が制御可能になると考えた。ここでは、院内感染やその慢性化と再発が世界的に問題視されているディフィシル菌感染症 (CDI) の原因菌 *Clostridioides difficile* に着目した。本研究では、*C. difficile* 由来 MVs を用いた宿主免疫調節系の確立を目的とし、MVs の免疫を介した CDI に対する宿主保護効果を検証した。まず *C. difficile* の MVs 産生機構の解明を目的として、培地条件や既知の MVs 産生機構であるホリンエンドリシン (HE) 遺伝子の関与を評価した。その結果、*C. difficile* における MVs 産生に関与する複数の遺伝子群が同定され、中でも HE は発現誘導により *C. difficile* における MVs の産生を促進することが示された。さらに、HE 発現や特定の培地条件によって MVs の構成成分や粒径などの性状が変化することが明らかになった。次に、MVs 接種による宿主免疫誘導能を評価するため、各条件から精製した MVs をマウスに接種した。その結果、*C. difficile* 特異的な血清 IgG が増強された。特に HE 誘導条件の MVs では抗体価が強く誘導された。さらに、*C. difficile* を感染させたところ、MVs を免疫したことによって CDI 症状の顕著な抑制が観察された。以上より、*C. difficile* の MVs 産生機構の一端が明らかになるとともに、MVs の接種が CDI の重篤化を抑制する可能性が示された。MVs を利用した宿主免疫調節は、腸内細菌叢に対する新たな制御技術としての応用が期待される。

WS15-7/P2-099

黄色ブドウ球菌-アフリカツメガエル感染モデルを用いた獲得免疫の評価

○栗生 綾乃, 石川 一也, 古田 和幸, 垣内 力 (岡山山大・院医歯薬 (薬)・分子生物学)

Evaluation of acquired immunity using *S. aureus* - *Xenopus laevis* infection model

○Ayano Kuriu, Kazuya Ishikawa, Kazuyuki Furuta, Chikara Kaito (Lab. Mol. Biol., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm, Okayama Univ.)

細菌感染症の分子メカニズムを解明し治療薬を開発するには、動物感染モデルが不可欠である。従来用いられてきたマウス等の哺乳類モデルはヒトと類似した免疫機構を持つ利点がある一方、倫理的・コスト的制約から多数の個体を用いた探索研究には不向きである。代替モデルとして、カイコ、ゼブラフィッシュ等が利用されてきたが、獲得免疫機構が不在または不完全である。アフリカツメガエルは高度な獲得免疫機構を持ち、寿命が長いため、長期の感染実験による獲得免疫の評価に適している。本研究では、アフリカツメガエルを用いた黄色ブドウ球菌の感染モデルを構築し、獲得免疫の評価を試みた。黄色ブドウ球菌の腹腔内注射により、アフリカツメガエルの菌量依存的な死亡率の上昇が見られた。注射された黄色ブドウ球菌は、血液、肝臓、筋肉等の全身の臓器に拡散し、赤血球の数を減少させた。溶血毒素の病原性への関与が疑われたため、溶血毒素欠損株を接種したところ、アフリカツメガエルを殺傷する活性が減弱した。黄色ブドウ球菌の死菌を注射して 4 週間後に黄色ブドウ球菌の生菌を感染させると、長期免疫応答に関わる抗体価の上昇が見られ、黄色ブドウ球菌による感染死が抑制された。さらに、溶血活性を欠失させた変異型の β 溶血毒素を注射して 2 週間後に黄色ブドウ球菌の生菌を感染させると、黄色ブドウ球菌による感染死が抑制された。

以上の結果は、アフリカツメガエルが黄色ブドウ球菌およびその毒素に対して免疫記憶を形成することを示唆している。今後は、アフリカツメガエル感染モデルを用いて、ヒト病原性細菌のワクチン評価に取り組む予定である。

参考論文：Kuriu *et al.*, *Infect Immun* (2025)

WS16

可動性遺伝因子研究の今

コンピーナー：中村 佳司（九州大学）
久留島 潤（群馬大学）

Recent Advances in Mobile Genetic Elements

Conveners: Keiji Nakamura (Kyushu University)
Jun Kurushima (Gunma University)

プラスミド、ファージ、トランスポゾンなどの可動性遺伝因子は、病原遺伝子・薬剤耐性遺伝子といった病原細菌の形質にとって非常に重要な因子の運び手である。どのような菌種にもみられる可動性遺伝因子には、それ自身にも細菌同様の著しいバリエーションが存在し、独特の機能をもつものが多数存在する。本ワークショップでは、ユニークな機能を有する可動性遺伝因子に着目した研究成果を紹介するとともに、本分野の最近の研究状況に関する見解を提供する。

WS16-1

Enterococcus faecium のバンコマイシン耐性 pMG1 型プラスミドの新規伝達関連遺伝子

○大田 菜都子¹, 久留島 潤², 富田 治芳^{1,2} (¹群馬大・院医・細菌学, ²群馬大・院医・薬剤耐性菌実験施設)

Novel transfer-related genes in vancomycin-resistant pMG1-like plasmid of Enterococcus faecium

○Natsuko Ota¹, Jun Kurushima², Haruyoshi Tomita^{1,2} (¹Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Gunma Univ., ²Lab. Bacteriol. Drug Resist., Grad. Sch. Med., Gunma Univ.)

Vancomycin-resistant enterococci (VRE) pose a significant threat to healthcare and public health. In enterococci, horizontal gene transfer via conjugative plasmids is a major driver of antimicrobial resistance acquisition. In this study, we investigated pMG1-like plasmids, which demonstrate high conjugative transfer frequencies among *Enterococcus faecium* strains residing in the human gastrointestinal tract, with the objective of molecular mechanism for the regulation of its conjugative transfer. Molecular genetic analysis of the conjugation and aggregation gene region identified two novel genes, *traD* and *traF*, that contribute to the regulation of conjugation. A *traD*-deficient plasmid completely lost conjugation ability, whereas trans-complementation restored transfer frequencies to the wild-type levels, indicating that TraD functions as an essential positive regulator of conjugation. Conversely, TraF appears to act as a negative regulator by binding to the promoter region upstream of *traD* and suppressing the expression of *traD* and the downstream cluster of conjugation-related genes. Neither TraD nor TraF contains identifiable functional domains, and thus their molecular mechanisms of action remain unresolved. Collectively, these findings indicate that pMG1-like plasmids possess a unique and previously uncharacterized regulatory mechanism to control conjugative transfer.

WS16-2

効果的なファージ療法に向けた治療用ファージの選抜

○小島 新二郎¹, 泊 悠樹^{1,2}, 中田 賢^{1,3}, 氣賀 恒太郎¹ (¹感染研・治療薬・第四室, ²早稲田大・先進理工・生命医科, ³東邦大・理・生物分子)

Strategies for Selecting Therapeutic Phages for Effective Phage Therapy

○Shinjiro Ojima¹, Yuki Tomari^{1,2}, Ken Nakada^{1,3}, Kotaro Kiga¹ (¹Dept. Drug Dev., Natl. Inst. Infect. Dis., ²Dept. Life Sci. Med. Biosci., Fac. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., ³Dept. Biomol. Sci., Fac. Sci., Toho Univ.)

近年、抗生物質が効かない薬剤耐性菌が世界中で蔓延し、公衆衛生上の問題となっている。抗生物質に頼らない抗菌治療法として、ファージ療法が注目されている。米国、ヨーロッパ、中国などでは薬剤耐性菌感染症に対する臨床ファージ療法が進んでいる一方、我が国ではヒトに対する実施例がない。このため、国内でのファージ療法の実装を見据え、我々は治療用ファージの選抜や製剤化に向けた工程開発を進めている。発表者は、ファージ療法の臨床治験を行なっている米国ピッツバーグ大学医学部に短期研究滞在し、臨床現場でのファージ療法の運用を実地に学んだ。その経験から、治療を成立させる上での課題として、①治療効果を担保できるファージの選抜が困難な菌種・菌株が存在すること、②FDAにおける製剤化基準が未確立であったこと、の二点が明らかとなった。本発表では、とくに①の課題に焦点を当てる。in vitro では強い殺菌力を示しても、in vivo では十分な治療効果を発揮しないファージが存在し、その背景には細菌が保有するファージ抵抗性機構が関与している可能性がある。また、マウス致死感染モデルにおいて、治療効果を示すファージ種そのものにも差があることがわかってきた。これらは、治療に適したファージをどのように見極めて選抜するかという根本的課題を示している。これまでの研究から、ファージ療法に用いるファージは単に感染可能であればよいのではなく、実際の治療効果を発揮できる特性を備える必要があることが明らかになってきた。今後は、こうした「治療に適したファージの選抜」を核に、国内でのファージ療法の実装に向けた基盤づくりを進めたい。

WS16-3

市中感染型 MRSA/J：新規薬剤耐性トランスポゾン Tn552-II と重症度関連プラスミド p32kb

○Tsai-Wen Wan^{1,2,3}, Lee-Jene Teng², 山本 達男¹ (¹国際医学教育研究センター・疫学ゲノム進化解析部, ²国立台湾大・医, ³高雄医科大・医・微生物免疫)

Community-associated MRSAJ: Novel transposon Tn552-II and invasion severity-associated plasmid p32kb

○Tsai-Wen Wan^{1,2,3}, Lee-Jene Teng², Tatsuo Yamamoto¹ (¹Dept. Epidemiol. Genomics Evol., Intl. Med. Edu. Research Center, ²Dept. Clin. Lab. Sci. Med. Biotechnol., National Taiwan Univ., ³Dept. Microbiol. Immunol., Kaohsiung Medical Univ.)

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a leading multidrug-resistant pathogen causing mortality. We investigated community-associated MRSA ST8/SCCmecIV1 (CA-MRSA/J). Regarding drug resistance, the CA-MRSA/J chromosome had a 9,045-bp transposon (Tn552-II) carrying the *tnpABC*/target-gene-like(*tgI*)/*blaZ-R1-I* array. Of the three regions, *blaZ-R1-I* was the same as that of Tn552, while *tnpABC* and *tgI* were unique to Tn552-II. Tn552-II contained a 7-bp target site (*att*) on the left and an internal *i-att* on the right, apparently “brought-in” through a circular intermediate. The circular intermediate contained a 7-bp spacer, predominantly the *att* of the donor, but at a low frequency *i-att*, allowing the biased incorporation of *att* over *i-att* (“*att*-brought-in”). *tgI* may provide a rescue mechanism for the function of target genes disrupted by Tn552-II insertion. Regarding virulence, CA-MRSA/J invasive infections involved intramuscular and non-intramuscular cases. Plasmid p32kb, with a toxin gene cluster (*citABC*), was associated with the severity of invasions. For intramuscular infections, a fatal case involved p32kb with *citABC*, potentially enhancing intramuscular infection severity. However, non-intramuscular cases, necrotizing pneumonia and pediatric MRSA sepsis, involved *citA*⁺*citBC*⁻ p32kb variants, highlighting the potentially critical role of CitA (a superantigen).

WS16-4

挿入配列 IS26 が関与する動的な遺伝子増幅機構

○相原 正宗¹, 後藤 恭宏², 林 哲也³ (¹九州大・医・保健学, ²遺伝研・先端ゲノミクス推進センター, ³九州大・医・細菌学)

IS26-involving dynamic processes of gene amplification

○Masamune Aihara¹, Yasuhiro Gotoh², Tetsuya Hayashi³ (¹Dept. Health Sci., Sch. Med., Kyushu Univ., ²AGC, NIG, ³Dept. Bact., Sch. Med., Kyushu Univ.)

IS26 はグラム陰性桿菌で高頻度に認められる挿入配列の一つである。特に、薬剤耐性に関連する接合伝達性プラスミドにおいて複数の IS26 を認めることが多く、2つの順方向 IS26 に挟まれた構造: pseudo-compound transposon (PCTn) は in vitro 実験により転移ユニットとして機能することが報告されている。臨床分離株では、薬剤耐性遺伝子を搭載する多様な長さの PCTn のコピー数増加が報告されており、量依存的な耐性強化への寄与が示唆されるが、その増幅機構は明らかにされていなかった。私たちは、β-ラクタム系抗菌薬投与下の生体内で *bla*_{CTX-M-14} 陽性 *Klebsiella pneumoniae* に生じたゲノム変化を追跡し、その過程で *bla*_{CTX-M-14} をはじめ複数の薬剤耐性遺伝子を搭載する約 36 kb の PCTn が 10 コピー以上増幅していることを見出した。本研究ではこの分離株を対象にロングリードやパルスフィールドゲル電気泳動等を用いて PCTn の増幅機構を詳細に解析した。解析の結果、プラスミド上で発生する PCTn の直列重複が契機となり、その重複回数が亢進すると同時に、隣接する PCTn 間の RecA 依存的な相同組み換えが生じ、同配列がプラスミドから切り出され、独立した DNA 分子として多量体を形成し細胞内に蓄積することが明らかになった。プラスミド内外で起こる PCTn 増幅の動的サイクルは in vitro の抗菌薬選択圧下で誘導され、耐性強化との関係が示された。また、選択圧のない培養条件下でも世代を超えて長期間維持されることが確認された。本研究により PCTn はストレス応答性の動的かつ安定的に維持される増幅ユニットとして機能することが明らかになった。

WS16-5

最小の Tn554 ファミリー転移因子は IS ハンターだった

○矢野 大和 (JIHS・感染研・薬剤耐性研セ)

Mycobacterial minimal Tn554 family elements are insertion sequence hunters

○Hirokazu Yano (AMR-RC, NIID, JIHS)

The Tn554 family is a group of target-specific integrative elements identified so far in bacteria belonging to the phylum Bacillota. Members of the Tn554 family typically carry three conserved genes (*tnpA*, *tnpB*, and *tnpC*) along with cargo genes such as antibiotic resistance genes. *Mycobacterium avium* strain BA018 harbors a *tnpABC* cluster at a total of 10 locations within its genome. Here, I assess whether the repeated element containing the *tnpABC* cluster in BA018 represents a new type of IS element to be classified within the Tn554 family. Comparative genomic analysis revealed that the repeated element in BA018 comprises 3,919 bp, including 11-bp terminal inverted repeats, and that it transposes with a 6-bp flanking sequence. All copies of the 3.9 kb element were found integrated at a specific position within IS3 family transposase genes. PCR analysis of the genomic DNA indicated that recombination between the left and right ends of the 3.9 kb element occurs, similar to the original Tn554, incorporating six bases from either the left or right flank. A putative transpositional intermediate of the 3.9 kb element was detected by PCR in fractionated genomic DNA as a double-stranded supercoiled circle. Additionally, thirteen distinct 3.9 kb element-like sequences were identified in actinobacterial genomes, each inserted within IS elements belonging to several distinct IS families.

Educational Lecture

意図せぬ研究不正を防ぐために—研究データの記録・管理と研究実践の留意点—

Preventing Unintentional Research Misconduct: Record-Keeping and Data Management in Everyday Research Practice

EL

意図せぬ研究不正を防ぐために—研究データの記録・管理と研究実践の留意点—

○中村 征樹 (大阪大学 全学教育推進機構)

Preventing Unintentional Research Misconduct: Record-Keeping and Data Management in Everyday Research Practice

○Masaki Nakamura (Center for Education in Liberal Arts and Sciences, The University of Osaka)

近年、捏造・改ざんや盗用などの研究不正事例がしばしば発生し、研究活動に対する信頼を大きく揺るがす問題となっている。ここで重要なのは、これらの研究不正行為の少なからぬ事例が、かならずしも悪意ある研究者によって意図的に行われたものではないことである。むしろ、研究者本人の認識が甘く、そこまで深刻な問題だとは考えていなかった行為が、結果的に研究不正と認定された事例や、研究を進めるうえでの不注意や確認不足、研究データの記録・管理の不備などが積み重なり、その結果として研究不正に至ってしまった事例が少なくない。また、大学院生を含め、複数の研究者が共同して実施する研究では、研究グループ内での研究データの確認体制の不備が、結果として研究不正を誘発してしまった事例も少なからず報告されている。その場合、共著者、とりわけ責任著者の責任が問われることにも留意する必要がある。

研究不正が発生した背景として、研究者個人の倫理意識の欠如だけでなく、研究の進め方や研究データの取り扱い、研究成果を取りまとめる際の確認体制などが深く関係していることが指摘されている。とくに実験系分野では、日常的に大量の実験データや画像データを取り扱うことから、生データと解析結果、論文中の図表との対応関係が不明確になる場合があり、そのことが結果として研究不正に至ることがある。また、仮に不正行為が認定されなかったとしても、論文の重要な箇所の修正を余儀なくされるなど、研究成果の信頼性に疑念が寄せられるような事態を避けることも重要である。

そのような事態に遭遇することを防ぐため、本講演では、これまでに発生した研究不正事例をもとに、研究データの記録・管理体制や確認不足がどのように不正事例の発生につながってきたのかを中心に紹介する。

研究不正を防止するためには、個々の研究者が高い倫理観をもって研究を進めることが重要であることは言うまでもない。しかし同時に、日々の研究活動において、研究データの記録・管理や確認をはじめとして、どのような点に留意すべきかを理解しておくことが重要である。それは、とくに研究室主宰者にとっては、研究室内での研究データの管理・確認体制等をどう構築するかという問題でもある。本講演を通して、参加者が自身の研究活動の進め方や研究室内の運営方法を振り返るための視点を提供したい。

ICD

プライマリケアにおける感染症診療と感染対策

司会：大毛 宏喜（広島大学）

ICD-2

小児診療で注意すべき感染症

○土居 岳彦（広島大学病院小児科）

近年の小児感染症診療を取り巻く状況は、ワクチンで予防可能な疾患（vaccine-preventable diseases: VPD）の再興、呼吸器感染症の流行様式の変化、検査技術の普及に伴う診断・治療判断の複雑化など、検討を要する課題が多岐にわたる。感染対策の観点からは、疾患そのものの理解に加え、初期診療時の判断、隔離予防策、接触者対応、院内体制の整備を含めた対応が重要である。本講演では、一般的な疾患解説にとどまらず、日常診療で直面する小児特有の感染対策上の課題に焦点を当て、最近の動向を踏まえた考え方を提示することを目的とする。小児診療における感染対策が成人領域と大きく異なる点は、家庭、保育園、学校などの集団生活を介した伝播の速さ、乳児における重症化リスク、さらに付き添い者や同胞を含めた接触者管理が重要となる点にある。感染対策を立案する際には、患者本人の病態評価のみならず、家庭内・同胞間伝播の可能性や周囲の曝露状況を含めて把握し、診療と感染対策に反映させる視点が重要である。本講演では、麻疹・百日咳などの VPD、侵襲性 A 群溶血性レンサ球菌感染症（iGAS/STSS）、RS ウイルス感染症、マイコプラズマ感染症などを取り上げ、小児における最近の流行動向、検査・診療・予防体制の変化を踏まえつつ、小児診療における感染対策上の論点を整理する。各疾患について、重症化リスク、院内伝播に加えて家庭内・同胞間伝播、ならびに初期対応の観点から概説する。実践的な視点として、診療現場において「どのような場面で疑い、隔離予防策を適応していくのか」という初期対応の要点を共有する。また、成人領域でも問題となる感染症が小児診療ではどのような形で課題として現れるかを示し、各施設における感染対策体制の再点検に資する視点を提供したい。

ICD-1

感染症診療の考え方

○池田 晃太郎（広島大学病院総合診療科）

プライマリケアの現場における感染症診療の基本的な考え方についてお伝えします。「感染症診療の三角形」というフレーズは聞いたことがある方が多いかと思います。これは、「感染臓器」、「原因微生物」、「患者背景」を意識することにより適切な感染症診療を行うことを目的にした標語です。最近ではこれに「抗菌薬」、「臨床経過」の2つを加えた、「感染症診療の5原則」という紹介を見たことがある方もいるかもしれません。どのような診療セッティングにおいても、まずはこの「感染症診療の5原則」が重要であると考えます。以下、この5つの要素を中心にプライマリケアの現場における感染症診療の基本的な考え方を紹介します。診療所の外来診療では感染症疾患が19%と大きな割合を占めているとする報告があります（1）。同報告では最も多いのは上気道感染症（感染症受診の38.0%）であり、次いで中耳炎（15.1%）、下気道感染症（14.1%）とされます。年齢別では、0～4歳の小児で感染症受診割合が45%と高く、成人では15.9%程度と報告されています。「感染臓器」については、このようにセッティング毎に遭遇頻度の高い疾患を中心に知識を肉付けしていくのが効率がよいと考えられます。「原因微生物」は「感染臓器」に応じて既報を参考にします。特に髄膜炎などでは患者の年齢によって「原因微生物」の頻度が異なることがあり、また免疫正常者と免疫不全患者では「原因微生物」が異なることがあり、「患者背景」も重要になります。「抗菌薬」は一般的な感受性を基に初期治療を開始する場合もあり、アンチバイオグラムがある場合は参考に抗菌薬の選択を行うこともあります。また、「患者背景」によってはアレルギーや併用禁忌薬などで第一選択薬が使用できないこともあるため、注意が必要です。「臨床経過」や、提出可能であれば培養結果を参考に、治療を調整することが必要です。留意すべき点として、プライマリケアの現場では情報が不足した状態で初期治療を開始することが多いということがあります。また、初期治療と継続加療を別の医師が担うことも状況によってはありえます。このため、暫定診断でよいので「感染臓器」、「微生物」についてのアセスメントを診療録に明記し、なぜその「抗菌薬」を選択したか、また「臨床経過」の判断をいつ・どのように行う予定であるかについても診療録に明記して進めることが重要です。これにより自分以外の医師が診療する場合にも診療の継続性が担保され、また、復習し今後に活かすという点でも振り返りが可能な形の診療になります。このように「感染臓器」「原因微生物」「患者背景」「抗菌薬」「臨床経過」という5つの視点を意識し、診療録に反映させることがプライマリケアの現場で求められる感染症診療の基本であると考えます。

参考文献

(1) Armstrong GL, Pinner RW. Outpatient visits for infectious diseases in the United States, 1980 through 1996. Arch Intern Med. 1999 Nov 22;159(21):2531-6.

ICD-3

救急診療における感染対策の実践と課題

○妹尾 和憲（広島市民病院救急科/総合診療・感染症科）

救急外来は、高密度な患者集積、トリアージ前の情報不足、多様な病原体への曝露機会、処置室・検査室の高い回転率などといった特徴から、医療従事者と患者双方にとって極めて感染リスクの高い「最前線の入口」である。一方で、夜間・休日を含めた24時間診療の継続が求められるため、限られたマンパワーにも関わらず、必要十分な感染対策を維持することが課題となっている。とりわけ COVID-19 感染症の流行期においては、院内感染対策に加え、救急外来における感染対策の構築という点において、感染制御医師（ICD）が果たした役割は極めて重要かつ多大な負担を伴うものであった。本発表では、救急外来において想定される接触・飛沫・空気・血液曝露などの感染経路とアウトブレイク発生の共通要因を整理した上で、「診察室の前」「診察室の中」「診察室の後」という3つのフェーズに分けた感染対策バリアの実践的な構築方法を提示する。診療チーム内でのルール共有、さらに ICD と救急外来スタッフの協働によるシステムとしての感染対策の構築についても言及し、限られた情報と時間の中でも「落とさない感染対策」を実現するための方策について解説する。

FL1-01/P1-006

ミャンマー由来 ST9 型黄色ブドウ球菌の分子疫学的特徴と系統進化

○漆原 範子¹, Meiji Soe Aung¹, 川口谷 充代¹, 大橋 伸英^{1,2}, 小林 宣道¹
(¹札幌大・医・衛生, ²札幌大・医・口腔外科)

Genome characteristics and phylogenetic evolution of ST9 *Staphylococcus aureus* isolated in Myanmar

○Noriko Urushibara¹, Meiji Soe Aung¹, Mitsuyo Kawaguchiya¹, Nobuhide Ohashi^{1,2}, Nobumichi Kobayashi¹ (¹Div. Hygiene, Sch. Med., Sapporo Medical Univ., ²Dept. Oral Surgery, Sch. Med., Sapporo Medical Univ.)

OBJECTIVE: Sequence type 9 (ST9/CC9) is a dominant livestock-associated *Staphylococcus aureus*. This lineage is thought to have originated as a human-adapted MSSA, later spread to livestock and acquired methicillin resistance. Regional variation in SCCmec types has been reported. This study characterized the genomic features of two Myanmar ST9 strains and their phylogenetic relationships within the ST9/CC9 lineage. **METHODS:** Whole-genome sequencing and annotation were performed for two Myanmar clinical strains, S128 (MSSA) and S286 (MRSA). Core genome SNPs were identified from 189 CC9 strains, including the Myanmar strains and 187 NCBI genomes. **RESULTS and CONCLUSION:** S286 exhibited multidrug resistance, carried SCCmec IX, and possessed a SaPIbov4-like element associated with animal adaptation. S128 showed lower resistance and contained an immune evasion cluster (IEC) typical of human-adapted strains. Phylogenetic analysis placed S286 with Thai and Malaysian CC9-MRSA-IX strains, distinct from European CC9-MRSA-IV and Chinese CC9-MRSA-XII lineages. Southeast Asian strains demonstrate host heterogeneity and variable carriage of SaPIbov4-like elements. These findings indicate a previously uncharacterized CC9/ST9-MRSA-IX cluster in Southeast Asia and underscore the need for further genomic studies to clarify its evolution.

FL1-02/P1-008

塩基多様度の高い遺伝子による *Citrobacter* spp. のジェノタイピング法の確立

○屋宜 宣慶¹, 名城 凜², 平井 到² (¹琉球大・保健・生理, ²琉球大・保健・微生物)

Establishing the genotyping of *Citrobacter* spp. by high nucleotide diversity genes

○Nobuyoshi Yagi¹, Rin Nashiro², Itaru Hirai² (¹Dept. Clinical Physiol., Sch. Health Sci., Univ. Ryukyus, ²Dept. Microbiol., Sch. Health Sci., Univ. Ryukyus)

臨床検査の現場において *Citrobacter* 属菌は、生化学的性状による菌種鑑別が困難であり、多くの場合 *Citrobacter freundii* complex として報告されている。そのため、菌種ごとの薬剤耐性遺伝子の分布や疫学的特徴については、十分な解析が行われていない。既存の分類法の一つである MLST は 7 つのハウスキーピング遺伝子を用いるが、一部の菌株ではこれらの遺伝子が欠損しており、適用に制限がある。本研究では、全ゲノム解析に依存しない簡便な *Citrobacter* 属菌の分類手法の確立を目的とし、塩基多様度に着目した遺伝子タイピングの有用性を検証した。NCBI Genome データベースから収集した 453 件の *Citrobacter* 属菌ゲノムを用いてパンゲノム解析を行い、同定されたコア遺伝子 1,113 遺伝子すべてについて塩基多様度を算出した。その結果、塩基多様度は遺伝子間で大きく異なり、高多様度を示す 7 遺伝子が抽出された。これらの遺伝子を用いて 453 件の *Citrobacter* 属菌を分類し、コアゲノム解析による系統分類との関連性を検証した。その結果、特に group_3152 および nanK の 2 遺伝子によるタイピングで十分に分類可能であることが示唆された。さらに Adjusted Rand Index を用いた評価では、これら 2 遺伝子による分類結果は MLST と同程度の一致性を示した。本手法は、多数検体の効率的スクリーニングに有用であり、塩基多様度を指標とした分類法は他菌種への応用も期待される。

FL1-03/P1-039

ヒト皮膚炎由来の昆虫関連真菌の分離と菌学的解析

○伴 さやか, 伊藤 純子, 矢口 貴志 (千葉大・真菌)

Isolation and risk assessment of insect-philic fungi from human dermatitis

○Sayaka Ban, Junko Ito, Takashi Yaguchi (Med. Mycol. Res. Cent., Chiba Univ.)

Two filamentous fungi from human dermatitis were preliminarily identified by rDNA ITS sequencing as an undescribed species related to the human pathogen *Paronychia albium* and the invertebrate-pathogenic genus *Lecanicillium* (*Cordycipitaceae*). Species of the genus are widely distributed in soils but have not been considered human pathogens. Clinical cases prompted investigation of human infectivity, including multi-gene phylogenetic analysis, antifungal susceptibility, *in vitro* enzyme tests, and environmental sampling in urban settings. One isolate matched *L. coprophilum*, described from China, in phylogenetic position and morphology, whereas the other was more distant. Neither grew at 37°C, and antifungal susceptibility testing was feasible only at 25°C. Most related species showed low susceptibility to VRC, ITR, AMB, and TBF. Degradation of casein, gelatin, and keratin varied among strains, but all activities were below the quantitative detection limit. Environmental sampling (36 times, 2 years) recovered only three related strains among ~800 isolates, with none in indoor air. Except for a co-infection case involving *Ophiocordycipitaceae* in 2024, no subsequent clinical isolates were obtained. Taken together, these findings indicate these fungi lack the ability to directly infect human skin.

FL1-04/P1-040

食品製造環境由来 *Listeria monocytogenes* の消毒薬、重金属およびストレス条件に対する耐性

○土屋 響己¹, 平尾 瑞希², 岡田 由美子³, 森田 幸雄⁴, 下島 優香子^{1,2} (¹東洋大院・食環境, ²東洋大・食環境, ³国立衛研・食管, ⁴麻布大・獣医)

Resistance of *Listeria monocytogenes* to disinfectants, heavy metals, and stress conditions

○Hibiki Tsuchiya¹, Mizuki Hirao², Yumiko Okada³, Yukio Morita⁴, Yukako Shimajima^{1,2} (¹Grad. Sch. Food Nutr. Sci., Toyo Univ., ²F. Food Nutr. Sci., Toyo Univ., ³Div. Biomed. Food Res., Nat. Inst. Health Sci., ⁴Sch. Vet. Med., Azabu Univ.)

Listeria monocytogenes (Lm) の塩化ベンザルコニウム (BC) や重金属耐性が報告され、食品製造環境への定着を促進する可能性が指摘されている。また本菌は、酸性、低温、および高塩分濃度などのストレス条件への耐性でも知られる。今回、食品製造 7 施設の環境由来 LM 計 56 株を対象に、BC、カドミウム (CD)、ヒ素 (AS)、ストレス条件に対する耐性および耐性遺伝子の検出を行った。菌型は、1/2a: 16 株 (ST155: 11 株, ST101: 2 株, ST8, 11, 121: 各 1 株), 1/2b および 3b: 20 株 (ST87: 18 株, ST5, 310: 各 1 株), 1/2c: 4 株 (ST9: 3 株, ST3370: 1 株), 4b (4e): 15 株 (ST1: 4 株, ST2: 11 株), UT: 1 株 (ST87: 1 株) であった。BC 耐性は 22 株 (39%), CD 耐性は 33 株 (59%), AS 耐性は 17 株 (30%) であり、BC, CD および AS の 3 種類全て耐性は 5 株、全て感性は 20 株であった。耐性遺伝子は BC では bcrABC を 16 株, qaqH を 2 株, emrC を 1 株が、CD では cadA1 を 6 株, cadA2 を 12 株, cadA4 を 10 株, cadA5 を 4 株が、AS では arsA1 + arsA2 を 10 株が、arsA2 を 4 株が、arsA を 4 株が保有した。BC 耐性遺伝子はアメリカでは bcrABC、ヨーロッパでは qaqH が多くと報告されるが、日本は bcrABC が多かった。cadA4 保有 10 株は全て 4b (4e), ST2 であり、他の耐性遺伝子保有株よりも CD の MIC が低かった。また、病原遺伝子 prfA, inlA, 酸耐性に関連するとされる gadB, gadC, atpD, 塩や低温耐性に関連するとされる遺伝子 betL, oquCA, flaA, cysS, fbp のストレス条件耐性関連遺伝子計 10 遺伝子を PCR 法で検出した。その結果 53 株 (95%) が全 10 遺伝子を保有した。食品製造環境由来株はストレス条件耐性率が高い可能性が示唆され、今後表現型を検討する予定である。

FL1-05/P1-042

口腔由来 *Stenotrophomonas maltophilia* の運動能と病原性に関する特徴的性状の解析

○西濱 早紀¹, 松尾 美樹², Minh Ngoc Vo², 川柳 智暉¹, 菅原 庸³, 菅井 基行³, 柴 秀樹¹, 小松澤 均² (¹広島大・医系科学研究科・歯髄生物学, ²広島大・医系科学研究科・細菌学, ³国立健康危機管理研究機構)

Analysis of Distinctive Motility and Pathogenic Characteristics of Oral *Stenotrophomonas maltophilia*

○Saki Nishihama¹, Miki Kawada-Matsuo², Minh Ngoc Vo², Tomoki Kawayanagi¹, Yo Sugawara³, Motoyuki Sugai³, Hideki Shiba¹, Hitoshi Komatsuzawa² (¹Dept. Biol. Endod., Grad. Sch. Biomed. and Health Sci., Hiroshima Univ., ²Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Biomed. and Health Sci., Hiroshima Univ., ³Japan Inst Health Security)

【背景および目的】*Stenotrophomonas maltophilia* は、カルバペネム系抗菌薬に自然耐性を持ち、院内感染における菌血症や呼吸器感染症では死亡率が50%を超えることもある。本研究では、口腔由来 *S. maltophilia* の特徴的な性質の解明を目的とした。【方法】ヒト口腔由来 *S. maltophilia* 30株および対照群として血液由来株20株に関して、全ゲノム解析、バイオフィーム形成能、凝集能（自己凝集能、人工唾液凝集能、および口腔内細菌との共凝集能）、運動能(Swimming, Swarming)を検証した。さらに一部の株について、遺伝子発現解析および電子顕微鏡観察を行った。【結果】口腔由来株は血液由来株と比較して、唾液凝集能、*S. mutans* との共凝集能、および運動能がより強いことが明らかになった。凝集能と運動能には正の相関があり、バイオフィーム形成能が低い株ほど唾液凝集能が強い傾向が見られた。遺伝子発現解析の結果、鞭毛遺伝子 *flhC* が凝集能および運動性の双方に関与している可能性が示唆され、*flhC* 発現レベルの高い株では電子顕微鏡にて発達した鞭毛の存在が確認された。【結論】本研究は、口腔由来 *S. maltophilia* の多角的な性状解析を行った初めての報告である。口腔由来株が *flhC* 遺伝子に依存した鞭毛運動能が高い可能性が示唆された。口腔内 *S. maltophilia* は、誤嚥や血流を介して呼吸器や全身で感染症を引き起こす可能性があり、その特性についてさらなる検証が必要である。

FL1-06/P1-045

広範囲薬剤耐性および多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* ST208 のゲノム解析

○西田 智¹, 芹 康雄^{1,2}, 吉野 友祐¹ (¹帝京大・医・微生物, ²帝京平成大・健康メディカル)

Genomic analysis of extensively drug-resistant and multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ST208

○Satoshi Nishida¹, Yasuo Ono^{1,2}, Yusuke Yoshino¹ (¹Dept. Microbiol. Immunol., Sch. Med., Teikyo Univ., ²Fac. Health Med. Sci., Teikyo Heisei Univ.)

【背景】多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* (MDRA) の蔓延は世界規模で増加しており、重篤な院内感染との関連が指摘されている。

【方法】2009年および2010年のMDRAアウトブレイク時の入院患者から得られた臨床分離株を対象に、薬剤感受性試験を実施した。獲得性薬剤耐性遺伝子および遺伝子変異を同定するために全ゲノムシーケンシング(WGS)を実施した。

【結果】臨床分離された *A. baumannii* は、β-ラクタム系薬(β-ラクタマーゼ阻害薬配合ペニシリン系薬、広域スペクトルのセファロスポリン系薬およびカルバペネム)、アミノグリコシド系薬、クロラムフェニコール、ホスホマイシン、フルオロキノロン系薬、テトラサイクリン系薬、およびトリメトプリム・スルファメトキサゾールに耐性を示した。MDRA分離株は、*aac(6')-Ib-cr*, *abaF*, *armA*, *bla*_{ADC-30}, *bla*_{TEM-1}, および *bla*_{OXA-82}, または *bla*_{OXA-66} と *bla*_{OXA-23}, *catB8*, *mphE*, *msrE*, および *tet(B)* 遺伝子を有していた。 *bla*_{OXA-82} 遺伝子は組換えにより増幅していた。キノロン耐性は、*gyrA* S81L および *parC* S84L 変異とも関連していた。MDRA分離株は、オックスフォード配列型(ST)208およびパスツールST2に属していた。15分離株のうち3株は広範囲薬剤耐性(XDR)を示し、2株は *adeS* 変異を有していた。

【結論】3つのXDR分離株と1つのMDR分離株において薬剤耐性遺伝子を同定し、耐性とビレンスのゲノム情報、ならびに分離株の起源を推定した。これらの分離株は、アジアとオーストラリアで同定されているMDRAオックスフォードST208およびパスツールST2と近縁であった。MDRA分離株はアジア太平洋地域の病院および地域社会の両方における広がり懸念される。

FL1-07/P1-047

ICU患者の多剤耐性菌クローン共有と菌群均質化による感染伝播機構

○西濱 早紀¹, 安富 慶昌², 西 裕美³, 川柳 智暉¹, 朝川 美加李⁴, 松尾 美樹², 久恒 順三⁵, 菅原 庸⁵, 柴 秀樹¹, 河口 浩之³, 竹下 徹⁴, 菅井 基行⁵, 小松澤 均² (¹広島大・医系科学研究科・歯髄生物学, ²広島大・医系科学研究科・細菌学, ³広島大・口腔総合診療科, ⁴九大・院歯・口腔保健推進・口腔予防, ⁵国立健康危機管理研究機構)

Clonal sharing of drug-resistant bacteria and microbial homogenization in ICU patients

○Saki Nishihama¹, Yoshimasa Yasutomi², Hiromi Nishi³, Tomoki Kawayanagi¹, Mikari Asakawa⁴, Miki Kawada-Matsuo², Junzo Hisatsune⁵, Yo Sugawara⁵, Hideki Shiba¹, Hiroyuki Kawaguchi³, Toru Takeshita⁴, Motoyuki Sugai⁵, Hitoshi Komatsuzawa² (¹Dept. Biol. Endod., Grad. Sch. Biomed. and Health Sci., Hiroshima Univ., ²Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Biomed. and Health Sci., Hiroshima Univ., ³Dept. General Dentistry, Hiroshima Univ. Hosp., ⁴Sect. Prev. & Public Health Dent., Div. Oral Health Growth & Dev., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ., ⁵Japan Inst. Health Security)

【目的】本研究はICUに入院し気管挿管管理を受ける患者の口腔、鼻腔、下気道(気管内吸引液)から薬剤耐性グラム陰性菌(ESBL, CRE含む)およびMRSAを含む *S. aureus* を分離・解析し、これらの部位間での菌株分布や遺伝的関連性を明らかにすることを目的とした。【方法】2021年から2023年にかけて61名のICU患者から口腔、鼻腔、下気道から検体を採取し、選択培地を用いた分離培養、分離菌の全ゲノム解析および16S rRNA菌叢解析を実施した。薬剤耐性菌の遺伝的関連性はSNP解析で評価し、菌株間のクローンレベルの類似性を検討、さらに16S rRNA解析で微生物群集の類似性を比較した。患者の臨床情報と菌の分離状況の関連性も統計解析した。【結果】*S. aureus* は各部位で高頻度に検出され(39.3%-50.8%)、年齢と負の相関があった。MRSAは複数例で認められた。薬剤耐性グラム陰性菌は口腔、下気道で16.4%、鼻腔で6.6%分離され、残存菌数が少ない患者で有意に多かった。SNP解析により同一患者内の複数部位から分離された菌株はクローンレベルで高い遺伝的類似性を示し、部位間での菌の伝播が示唆された。16S rRNA解析では口腔、鼻腔、下気道の微生物群集は健康者に比べて類似性が高く、菌叢の均質化が認められた。【考察】本研究はICU患者において口腔、鼻腔、下気道での多剤耐性菌がクローンレベルで共有され、上気道が下気道感染の病原体の貯留庫となり得ることを示唆した。口腔・鼻腔のスクリーニングや口腔ケア強化を含む包括的な感染対策が下気道感染の予防に重要である可能性が示された。

FL1-08/P1-052

鼻腔・口腔における薬剤耐性菌の経年的保菌状況の検討

○上田 航輔^{1,2}, 川柳 智暉^{1,2}, 西濱 早紀^{1,2}, 松尾 美樹², 久恒 順三³, 菅原 庸³, 柴 秀樹¹, 菅井 基行³, 小松澤 均² (¹広島大・医系科学・歯髄生物学, ²広島大・医系科学・細菌学, ³国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター)

Longitudinal study of carriage of drug-resistant bacteria in the nasal and oral cavities

○Kosuke Ueda^{1,2}, Tomoki Kawayanagi^{1,2}, Saki Nishihama^{1,2}, Miki Matsuo², Junzo Hisatsune³, Yo Sugawara³, Hideki Shiba¹, Motoyuki Sugai³, Hitoshi Komatsuzawa² (¹Dept. Biol. Endo., Grad. Sch. Biomed. & Health Sci., Hiroshima Univ., ²Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Biomed. & Health Sci., Hiroshima Univ., ³Antimicrobial Research Ctr., National Inst. Infection Diseases)

【目的】薬剤耐性菌の世界的な蔓延は大きな問題であり、その対策は急務である。私たちはこれまでに口腔に種々の薬剤耐性菌が定着していることを報告し、感染対策の観点から口腔の重要性を提唱している。本研究の目的は、鼻腔・口腔を対象とした薬剤耐性菌の経年的な保菌状況の検討である。

【方法】2021年から2022年にかけて広島大学病院歯科外来患者514人を対象に、鼻腔・口腔より *Staphylococcus aureus* (Sa) および第三世代セファロスポリン/カルバペネム耐性グラム陰性菌の分離を行った。さらに、この中の50人を追跡対象として2023年から2024年にかけて同様に分離を行った。それぞれの分離菌株についてゲノム解析を行い、STタイプやSNP数を解析した。

【結果】追跡対象の50人において、1回目でSaが分離された人数は、鼻腔が19人、口腔が8人であった。このうち、2回目でも分離された人数は鼻腔が12人、口腔が7人であった。さらに、STタイプやSNP数などを分析した結果、同一のSaが定着していると考えられるのは鼻腔で47.4%(9/19)、口腔で37.5%(3/8)であった。この中の3人は、鼻腔・口腔共に同一のSaが定着していると考えられる結果となった。グラム陰性耐性菌において、1回目に分離された人数は、鼻腔が5人、口腔が14人であった。このうち、2回目でも分離された人数は鼻腔が0人、口腔が3人であった。さらに、菌種、STタイプ、SNP数などを分析した結果、同一のグラム陰性耐性菌が定着していると考えられるのは口腔で14.3%(2/14)であった。このように、Saはグラム陰性耐性菌よりも長期定着しやすく、特に鼻腔でその傾向が顕著であった。

FL1-09/P1-053

緑膿菌臨床分離株における臨床病態と病原遺伝子との関連性

○佐野 隆之, 山崎 浩平, 外崎 佑香, 柏本 孝茂 (北里大・獣医・獣医公衆衛生)

Correlation of Virulence Genetic Classification with Phenotypes in *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia

○Takayuki Sano, Kohei Yamazaki, Yuka Tonosaki, Takashige Kashimoto (Dept. Vet. Public Health., Sch. Vet. Med., Kitasato Univ.)

緑膿菌は医療関連感染症の代表的起炎菌であり、高度の薬剤耐性及び病原性を背景に、多様かつ重篤な感染症を引き起こす。本菌はコアゲノムの SNP 解析により 3 つの Group に分類され、それぞれ特徴的な病原遺伝子が存在することから、Group 分類は病態推定や治療選択に有用と考えられる。本研究の目的は、病原遺伝子の有無に基づいた緑膿菌の臨床的分類法を確立し、最適治療への応用可能性を模索することにある。NCBI データベースに登録されている緑膿菌の海外臨床分離株 262 株について、公開されているゲノム配列を用い、病原遺伝子 (*pscL*, *exoU*, *exlA*) を標的とした *in silico* PCR による Group 分類を行ったところ、SNP 解析の結果と 97.3%一致した。次に、国内の 3 大学病院で血液から分離された 357 株を対象に病原遺伝子を標的とした PCR を実施した結果、Group 1 が 86.3%、Group 2 が 13.7% を占め、海外の SNP 解析と同様の傾向を示した。一方、海外では約 3% を占める Group 3 は検出されず、国内由来緑膿菌株の特徴のひとつであることが示唆された。Group 2 に分類される緑膿菌株の感染症では感染巣が形成されにくく、診断後 34 日までの生存率が低い傾向を示したことから、Group 2 株は、より致死性の高いことが示唆された。本研究で確立した病原遺伝子による Group 分類法を実施することで、出血性肺炎を引き起こすとされる Group 3 の国内侵入のモニタリングが可能となると共に、緑膿菌感染患者の早期病態予測および適切な初期治療に貢献できると考えられた。

FL1-10/P1-058

アスペルギルス症診断法に向けた α -1,3-グルカン検出プローブの開発と評価

○鈴木 健斗, 山中大輔, 安達 禎之 (東京薬大・薬・免疫学)

Development and evaluation of an α -1,3-Glucan detection probe for Aspergillois diagnosis

○Kento Suzuki, Daisuke Yamanaka, Yoshiyuki Adachi (Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

【目的】病原性真菌アスペルギルスに特徴的な多糖としてガラクトマンナン (GM) および α -1,3-グルカン (13AG) がある。GM は血清診断に応用されるが、病態や薬物治療の影響で感度が低下する課題があり、新規診断法の開発が求められている。13AG には高感度検出法が存在せず、診断応用に至っていない。我々はこれまでに、 α -1,3-グルカナーゼ (13AGase) の変異体を新規 13AG 特異的結合プローブとして応用し、アスペルギルス菌糸体・分生子 13AG、さらに培養上清中 13AG を検出可能であることを示してきた。本研究では 13AGase 変異体と、市販の 13AG 抗体のアスペルギルス 13AG への反応性を比較し、両者の特徴と 13AG を標的とした診断法への応用可能性を検討した。【方法】13AGase 触媒領域の機能改変を試み、13AG 特異的結合タンパク質プローブを獲得した。プローブに発光タグを融合させ、ホモジニアス測定法およびサンドイッチ ELISA を構築した。これらの検出系を応用し、市販の 13AG 抗体と 13AGase 変異体のアスペルギルス 13AG に対する反応性を比較した。【結果・考察】13AG 抗体と 13AGase 変異体のいずれも、アスペルギルス培養上清に対して濃度依存的な反応を示した。13AGase 変異体は最も強い検出シグナルを示し、微量な 13AG の検出が可能であった。13AGase 変異体の開発によって、従来困難であった 13AG の高感度検出が可能となり、13AG を標的とした新規診断法への応用が期待される。

FL1-11/P1-060

クロストリジウム属菌試験法における国内公定法と ISO 法の同等性評価

○陳内 理生^{1,2}, 山崎 栄樹^{1,2}, 西野 由香里², 太田 知克², 澤田 千尋², 森 哲也², 門間 千枝², 下島 優香子², 小久保 彌太郎², 岡田 由美子^{1,2} (¹国衛研・食管, ²クロストリジア標準試験法作業部会)

Equivalence evaluation of Japanese and ISO methods for *Clostridium* testing

○Michio Jinnai^{1,2}, Eiki Yamasaki^{1,2}, Yukari Nishino², Tomokatsu Ota², Chihiro Sawada², Tetsuya Mori², Chie Monma², Yukako Shimojima², Yataro Kokubo², Yumiko Okada^{1,2} (¹Divi. Biomed. Food Res., Natl. Inst. Health Sci., ²Working Group on Standard Test Methods for Clostridia)

クロストリジウム属菌の試験法は、食肉製品に対する国内公定法（以下、公定法）ではクロストリジア測定用培地（以下、CCA）を用いたパウチ法であるが、ISO 15213-1:2023（以下、ISO 法）は Iron sulfite agar（以下、ISA）を用いたガスバック等による嫌気培養となっている。本研究では、試験法の国際調和を目的とし、公定法と ISO 法の同等性を評価した。標準株を中心に一部食品分離株を含む、*Clostridium perfringens* 4 株, *C. sardiniense* 1 株, *C. baratii* 1 株, *Paraclostridium bifermentans* 1 株, *C. sporogenes* 1 株および *Clostridioides mangenotii* 1 株を用いて、食品への添加回収試験を行った。その結果、公定法ではすべて発育したものの、ISO 法では *C. sporogenes* および *C. mangenotii* の発育が認められなかった。そこで、*C. sporogenes* についてさらに 3 株を加えた 4 株を用い、各培地および培養条件の検討を行った。各株について同一菌液を CCA および ISA に接種し、どちらもパウチ法とガスバック法で培養した。いずれの株も ISA-ガスバック法では発育が確認されなかったが、CCA-パウチ法、CCA-ガスバック法および ISA-パウチ法では同等の発育が認められた。ISO 法において複数の *C. sporogenes* が発育抑制されたことから、公定法と ISO 法は同等ではない可能性が示唆された。

FL1-12/P1-062

Ag85B 抗体価を用いた無症候者の感染状態評価と結核病態の層別化

○山崎 智也¹, Desak Nyoman Surya Suameitria Dewi², 石川 智史^{1,3}, 吉田 豊¹, Ni Made Mertaniasih⁴, 松本 壮吉¹ (¹新潟大・院医歯・細菌学, ²Dept. Microbiol., Sch. Med., Ciputra Univ., ³福山市立動物園, ⁴Dept. Med. Microbiol., Fac. Med., Univ. Airlangga)

Ag85B-specific antibody levels for infection assessment and disease stratification in tuberculosis

○Tomoya Yamazaki¹, Desak Nyoman Surya Suameitria Dewi², Satoshi Ishikawa^{1,3}, Yutaka Yoshida¹, Ni Made Mertaniasih⁴, Sohkiichi Matsumoto¹ (¹Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med. Dent. Sci., Niigata Univ., ²Dept. Microbiol., Sch. Med., Ciputra Univ., ³Fukuyama Zoo, ⁴Dept. Med. Microbiol., Fac. Med., Univ. Airlangga)

結核診断では迅速かつ低侵襲で得られる血液ベースの指標が依然不足しており、近年は抗体応答の多様性を利用した病態層別化が注目されている。特に潜在性結核感染 (LTBI) である者は世界人口の約 4 分の 1 を占め、その中から発症へ移行する症例を早期に把握することは感染制御上極めて重要である。しかし、既存の血液検査では病態ごとの層別化や発症リスクの検出は困難であり、抗体診断も成績のばらつきから WHO は推奨していない。一方で、Ag85B 抗体はヒトや動物で無症候感染から発症への移行を示唆する報告があり、その免疫指標としての可能性が注目されている。本研究では、インドネシア集団を対象とし、無症候者と活動性結核における Ag85B 抗体価の変動を解析した。無症候者を Interferon- γ release assay (IGRA) の結果により非感染相当 (IGRA 陰性)、LTBI (IGRA 陽性) の 2 群に分類し、ELISA で抗体価を測定した。結核患者群は無症候の 2 群と比べ有意に高値を示した一方、IGRA 陰性と陽性の間には差を認めなかった。非感染相当 + LTBI と活動性結核の二群で診断能を評価すると、感度 40.5%、特異度 98.5% を示した。患者群でも抗体応答の多様性が確認され、約 6 割は抗体価の上昇を示さず低応答であった。また、LTBI の一部に中程度の抗体価を示す例が存在し、発症移行を反映している可能性が考えられた。これらより、Ag85B 抗体価は単なる感染指標ではなく、活動性結核に特異的に上昇する免疫学的特徴を捉えていることが示唆された。今後、LTBI コホートにおいて抗体価の上昇時期を縦断的に解析し、発症リスク評価指標としての可能性を検討する予定である。

FL1-13/P1-066

***Chlamydia trachomatis* がミトコンドリアとシグナルの相互作用を利用して発育**

○辰宮 大翼, 大久保 寅彦, 山口 博之 (北大・院・保健科学)

***Chlamydia trachomatis* Leverages Mitochondrial Signaling Interplay to Promote Intracellular growth**

○Tsubasa Tatsumiya, Torahiko Okubo, Hiroyuki Yamaguchi (Fac. Health Sci., Hokkaido Univ.)

性器クラミジア *Chlamydia trachomatis* (Ct) は偏性細胞内寄生性細菌であり、感染細胞内の封入体で増殖する。先行研究では、Ct (L2/434/Bu 株) が通常酸素環境 (21%O₂) より低酸素環境 (2%O₂) で増殖が亢進すること、また通常酸素下では p38MAPK 阻害剤により増殖が抑制されることを示してきた。さらに低酸素下では感染 24hpi に AKT リン酸化が促進され、ミトコンドリア (Mt) が p38MAPK と相互作用して AKT 経路の調節に関与することも明らかとなっている。本研究では、Ct の細胞内適応機構の解明を目的に、Mt を介したシグナル調節の役割を検討した。まず、Mt 機能不全 HEP-2 細胞 (Mtd 細胞: COX-2 および D-loop 欠損, NADH/NADPH 増加と Mt 形態異常を呈する) と正常細胞に Ct を感染させ Ct 数(IFU)を比較したところ、通常酸素下では Mtd 細胞で Ct 数が減少したが、低酸素下では正常細胞と同程度であった。AKT/p38MAPK の WB 解析では、Mtd 細胞では酸素濃度に依存せず感染早期にリン酸化 AKT の強発現がみられ、p38MAPK には変化は認められなかった。さらに、正常・Mtd 細胞における Ct 感染の有無および酸素条件を変化させて RNA-seq 解析を行った結果、k-means クラスタ解析および PCA により、代謝系、炎症応答、Mt ストレス応答に関わる遺伝子群が細胞種・感染条件に依存して大きく変動していた。特に Mt 遺伝子発現や AKT/MAPK シグナル関連遺伝子に顕著な変化が認められた。現在、CRISPR-Cas9 で樹立した p38MAPK 欠損 HeLa 細胞を用い、p38MAPK 欠失が Ct 発育へ与える影響を検証している。本研究は、Ct が Mt を介して細胞内環境へ適応し、その発育を維持している可能性を示唆する。

FL1-14/P1-071

変異体及び生化学的手法を用いた海洋性ビブリオ菌の側ぺん毛固定子複合体の解析

○小嶋 誠司¹, 横山 和輝¹, 本間 道夫^{2,3}, Simon Brewer⁴, 竹川 宜宏⁵ (¹名古屋大・院理・生命理学, ²名古屋大・院工・生命分子工学, ³名古屋大・院理・物理, ⁴名古屋大・理・生命理学, ⁵大阪大・院理・高分子科学)

Mutational and biochemical analyses of lateral flagellar stator complex in *Vibrio alginolyticus*

○Seiji Kojima¹, Kazuki Yokoyama¹, Michio Homma^{2,3}, Simon Brewer⁴, Norihiro Takekawa⁵ (¹Dept. Biol. Sci., Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ., ²Dept. Biomol. Eng., Grad. Sch. Eng., Nagoya Univ., ³Dept. Phys., Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ., ⁴Dept. Biol. Sci., Sch. Sci., Nagoya Univ., ⁵Dept. Macromol. Sci., Grad. Sch. Sci., Univ. Osaka)

Vibrio alginolyticus induce numerous H⁺-driven lateral flagella on the cell body and swarm on surfaces. At the flagellar base, there is a rotary motor, composed of a rotor and multiple stator units, that drives the flagellar rotation. Membrane proteins MotA and MotB form a lateral flagellar stator complex, and cryo-EM structures of their orthologs in other species have been reported. However, in *Vibrio* species, MotA/MotB stators are poorly characterized. A characteristic feature of lateral flagellar motility is the requirement for the single transmembrane protein FliL during swarming on agar surfaces. Previous structural studies suggest that FliL surrounds the stator and stabilizes its activated state to support torque generation. To investigate FliL-dependent stator function, we isolated motility suppressors that could swarm without FliL. Some mutations were found on the MotA cytoplasmic region, suggesting that cytoplasmic loops are involved in MotA/B stabilization in the motor. We also characterized the C-terminal extended tail of the MotB, which is longer than PomB, the Na⁺-driven polar flagellar stator counterpart. Swapping of this short sequence with PomB abolished MotB function in lateral flagella. Furthermore we tried to purify MotA/MotB complex from *Vibrio* cultured on agar surface, or by recombinant overexpression in *E. coli*. Results will be discussed in the meeting.

FL1-15/P1-072

ヘリコバクター属細菌が示す粘性依存的な狭小空間侵入

横濱 さらら¹, 〇上村 直輝¹, 島田 佳季², 見理 剛³, 林原 絵美子³, 菅 哲朗², 中根 大介¹ (¹電通大・基盤理工, ²電通大・機械知能, ³感染研・細菌第二部)

Viscosity-Dependent penetration of Confined Spaces by *Helicobacter* Species

Sarara Yokohama¹, 〇Naoki A Uemura¹, Yoshiki Shimada², Tsuyoshi Kenri³, Emiko Rimbara³, Testsuo Kan², Daisuke Nakane¹ (¹Dept. Eng. Sci., UEC, ²Dept. Mech. & Intell. Syst., UEC, ³Dept. Bact. II, NIID)

Bacterial motility plays a crucial role in colonization and infection. However, the strategies employed in confined and viscous environments remain poorly understood. We investigated the motility of *Helicobacter pylori* and three non-*H. pylori* *Helicobacter* (NHPH) species. Using microfluidic devices that mimic host tissue constraints, *H. pylori* penetrated narrow passages under low-viscosity conditions. In contrast, NHPH species did so under high-viscosity conditions. To uncover the mechanisms behind this viscosity-dependent penetration, we visualized a distinctive motility mode called flagellar wrapping. In this mode, bacteria wrap their flagellar filaments around the cell body under high-viscosity conditions. Unipolar-flagellated *H. pylori* used flagellar wrapping in confined spaces to reorient via clockwise (CW) rotation. High viscosity thus facilitates reorientation, whereas low viscosity promotes unidirectional penetration. Bipolar-flagellated NHPH species wrapped their leading pole and unwrapped their lagging pole in high-viscosity environments. This behavior indicates that flagellar wrapping is specialized for efficient propulsion in NHPH. Together, these findings show that *H. pylori* and NHPH species have evolved distinct and complementary strategies for motility within confined environments of differing viscosity.

FL1-16/P1-075

***Chlamydia trachomatis* 感染細胞のリン酸化 Akt は封入体膜の Microdomain に集積する**

○出口 大揮, 黒岩 青空, 根城 美祐, 中村 眞二, 大久保 寅彦, 山口 博之 (北大・院・保健科学)

Phospho-Akt accumulates at inclusion membrane microdomains in *Chlamydia trachomatis* infected cells

○Taiki Deguchi, Sora Kuroiwa, Miyu Neshiro, Shinji Nakamura, Torahiko Okubo, Hiroyuki Yamaguchi (Fac. Health Sci., Hokkaido Univ.)

偏性細胞内寄生性細菌である *Chlamydia trachomatis*(Ct)は、低酸素環境である粘膜下に感染し、宿主細胞内に形成する封入体と呼ばれる小胞内で増殖する。Ct はⅢ型分泌装置からエフェクターを細胞質へ輸送し、細胞内を増殖に適した環境に改変する。これらの一部は封入体膜に集積し、microdomain と呼ばれる脂質ラフト様構造を形成し、Src 等の宿主シグナルを改変するハブとして機能することが示唆されている。Ct 感染により活性化される PI3K/Akt シグナル経路は、宿主の生存応答を促進し、同菌の低酸素環境での増殖に寄与する。中でも感染時に増加する Akt のリン酸化体 (pAkt, S473) は、Ct がこれらの機能を制御する際に重要であると考えられるものの、同菌による Akt 修飾機構の全容は未解明である。我々は前回の総会にて、Ct 感染細胞内の pAkt が封入体膜に集積する現象を見出した。そこで本研究では、同現象の定量化および生じるタイミングについて解析するとともに、microdomain との関連性について評価した。画像解析により定量化した pAkt シグナル面積・数の再解析の結果、pAkt 面積は Ct 感染により有意に増加し、この増加は低酸素条件下でより顕著であった。免疫蛍光染色による経時解析により、pAkt の集積は感染中期以降より生じることが判明した。Microdomain に集積する pSrc(Y419)と pAkt との多重染色の結果、封入体集積する両分子は共局在していた。これらの結果より、Ct が封入体膜の microdomain を足場に pAkt を集積させ、低酸素環境への適応や細胞生存応答の制御に利用する可能性が示唆された。現在、microdomain に集積する Akt の欠失が Ct の増殖に与える影響について、Akt KO 細胞への感染実験により検証中である。

FL1-17/P1-078

Streptococcus mutans が放出する膜小胞 (MV) が歯科矯正力をかけた際の骨吸収に与える影響について

○松浦 孝将¹, 泉福 英信², 根岸 慎一¹ (1日本大松戸・歯・歯科矯正, ²日本大松戸・歯・感染免疫)

Effects of membrane vesicles released by *S. mutans* on bone resorption during orthodontic force

○Kosuke Matsuura¹, Hidenobu Senpuku², Shinichi Negishi¹ (1Dept. Orthodontics., Sch. Dent., Nihon Univ. Matsudo, ²Dept. Microbiol. Immunol., Sch. Dent., Nihon Univ Matsudo)

口腔内には 700 種類を超える細菌が存在するため、矯正歯科治療を行う際に口腔細菌の影響を受ける可能性が高い。中でも *Streptococcus mutans* は歯表面にバイオフィルムを形成し矯正歯科治療中に齲蝕を発生させ、治療の障害になることがある。膜小胞(MV)は抗原性が高くナノサイズであることから歯根膜へ侵入し免疫原性を発揮する可能性がある。そこで本研究では歯科矯正力による骨及び歯頸部セメント質吸収に関して *S. mutans* の MV がどのように影響を与えるか明らかにするために、骨吸収関連サイトカインである IL-6 の増加が *S. mutans* の MV の添加によってどのように変化するか検討を行った。荷重実験：歯根膜細胞を 100 mm dish で 10%FBSaMEM により培養後、荷重をかけない群 (NC), 直径 80 mm MICRO COVER GLASS を乗せる群 (PC), ガラスの上に至適矯正力として分銅 60 g (1.0g/cm²) を荷重する群、過剰矯正力として 200g (4.0g/cm²) を荷重する 4 群に分けた。さらにそれぞれの群を二つに分け、片方の dish には MV を 0.2μg/ml 加えた。20 時間培養後、培養上清を採取した。これらの試料における IL-6 の分泌量を、Western blotting と ELISA を行い測定した。対照群として *S. sanguinis*, *S. mutans* UA159 Gtf BC の MV を加えて同一の実験を行った。60g 荷重単体に比べて、*S. mutans* UA159 の MV を加えた群は IL-6 の濃度が有意に高かった。200g 荷重では MV 添加の有無で IL-6 の濃度に変化はなかった。また、*S. sanguinis*, *S. mutans* UA159 Gtf BC の MV でも IL-6 の濃度に変化はなかった。これらのことから、至適矯正力をかけた際 *S. mutans* の MV の影響で骨及び歯頸部セメント質吸収が増強される可能性があると考えられた。

FL1-18/P1-079

グリコーゲン分解酵素 *SpuA* 欠失肺炎球菌における菌体外多糖様物質の解析

○安川 真由¹, 大野 誠之^{2,3}, 當眞 葵², 水野 若葉², 五十川 泰雄¹, 東 孝太郎⁴, 広瀬 雄二郎², 山口 雅也⁵, 岡本 成史¹, 川端 重忠^{2,6} (1阪大・院医・生体病態情報科学, ²阪大・院歯・微生物, ³阪大・院歯・バイオインフォ, ⁴阪大・院歯・義歯高齢, ⁵医薬健康研, ⁶阪大・CiDER)

Characterization of extracellular polysaccharide-like matrix in a pneumococcal *spuA* knockout mutant

○Mayu Yasukawa¹, Masayuki Ono^{2,3}, Aoi Toma², Wakaba Mizuno², Yasuo Ikagawa¹, Kotaro Higashi⁴, Yujiro Hirose², Masaya Yamaguchi⁵, Shigefumi Okamoto¹, Shigetada Kawabata^{2,6} (1Dept. Clin. Lab. Biomed. Sci., Grad. Sch. Med., UOsaka, ²Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ³Bioinf. Res. Unit, Grad. Sch. Dent., UOsaka, ⁴Dept. Removable Prosthodont. Gerodont., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ⁵NIBN, ⁶CiDER, UOsaka)

肺炎球菌の細胞壁には、宿主や環境由来の多糖を加水分解する酵素が多数存在し、栄養獲得や組織定着に関与している。*SpuA* はグリコーゲンにおける α-1,6 グリコシド結合を切断し、3~8 糖単位に分解する活性を有する肺炎球菌の細胞壁アンカー型酵素であり、気道粘液中に存在する宿主由来グリコーゲンを利用した菌の増殖に寄与する病原因子とされている。しかし、*SpuA* と細胞外マトリックス産生との関連はこれまで明らかではなかった。本研究では、肺炎球菌 TIGR4 株を親株として *SpuA* 欠失株を作製し、表現型を解析した。培養した菌体を PBS で懸濁したのち孔径 0.45 μm の PTFE 製メンブレンフィルターで濾過したところ、*SpuA* 欠失株では野生株の培養液と比べて濾過時間が有意に短縮した。そこで、細胞外マトリックスの性状変化を疑い、走査型電子顕微鏡による観察を行った。その結果、*SpuA* 欠失株周囲には明瞭な細胞外マトリックス様物質が存在し、菌塊がフィルターの表面に捕捉されていた。一方で、野生株には細胞外マトリックス様物質は観察されず、フィルター内腔まで菌体の存在が確認されたことから、分散した菌が内腔を閉塞し濾液の流出を阻害していると考えられた。さらに、グルコースまたはマンノースを染色するレクチンである Concanavalin-A にて肺炎球菌を染色して共焦点顕微鏡により観察したところ、*SpuA* 欠失株周囲では野生株に比べて有意に広い領域が染色された。以上より肺炎球菌は、*SpuA* 非存在下ではグルコースまたはマンノースからなる菌体外多糖様物質を保持すると示唆された。

FL1-19/P1-085

β-グルカン合成阻害剤が誘発する *Cryptococcus neoformans* の表層多糖リモデリング

○榎本 伶朗, 山中 大輔, 安達 禎之 (東京薬大・薬・免疫学)

β-Glucan synthase inhibitors induce surface polysaccharide remodeling in *Cryptococcus neoformans*

○Leo Enomoto, Daisuke Yamanaka, Yoshiyuki Adachi (Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

【目的】病原性真菌 *Cryptococcus neoformans* の細胞壁には β-1,3-グルカン (13BG) および β-1,6-グルカン (16BG) などの多糖類が含まれる。通常 13BG は Dectin-1 のリガンドとして免疫応答に関与するが、Dectin-1 欠損マウスを用いた解析では、本真菌の感染防御への Dectin-1 の寄与は非常に低い。本研究では BG 合成阻害剤で *C. neoformans* を処理した際の細胞壁多糖組成変化を解析し、さらに菌体増殖や Dectin-1 依存的応答への影響を明らかにすることで、新たな治療法の可能性を探索した。【方法】*C. neoformans* H99 株を Micafungin (13BG 合成阻害剤), Jervine (16BG 合成阻害剤) または DMSO を添加したポテトデキストロース培地で培養した。菌体濃度を揃え、独自に開発の多糖結合タンパク質を用いた多糖プロファイリング法により、表層多糖組成を解析した。また、hDectin-1A および NF-κB-NanoLuc レポーター遺伝子を導入したヒト単球様細胞 (THP-1) を用いて、Dectin-1 依存的な細胞活性化レベルを評価した。【結果】Micafungin 添加群では表層の 13BG および 16BG に顕著な変化はなかったが、Jervine 添加群では 16BG が減少し 13BG およびキチン量が増加した。Jervine 添加培地では、37°C 条件下において顕著な増殖抑制作用が認められた。また、Jervine 処理菌体は Dectin-1 依存的な NF-κB の活性化レベルを著しく上昇させることが明らかとなった。【考察】16BG 合成阻害剤は細胞壁多糖構造および増殖に影響し、表層 13BG の増加が Dectin-1 を介した免疫応答を亢進させる可能性が示唆された。本結果は 16BG 合成阻害薬がクリプトコックス症を含む真菌感染症治療への応用展開に寄与する可能性を示している。

FL1-20/P1-086

糖質加水分解酵素の機能改変体を用いた真菌細胞壁多糖の蛍光観察法構築

○山中 大輔, 鈴木 健斗, 安達 禎之 (東京薬大・薬・免疫学)

Fluorescent imaging method for fungal polysaccharides using function-modified glycoside hydrolase

○Daisuke Yamanaka, Kento Suzuki, Yoshiyuki Adachi (Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

【目的】我々は大腸菌で産生可能な糖質加水分解酵素の変異体を設計・探索することで、真菌細胞壁に存在する β1,3-グルカン (13BG), β1,6-グルカン (16BG), キチン, α1,3-グルカン (13AG) などに結合するタンパク質プローブを獲得してきた。本研究ではこれらのタンパク質と Green Fluorescent Protein (GFP) の融合体を作製し、機能評価および細胞壁染色への応用可能性を検討した。【方法】機能改変型糖質加水分解酵素 (多糖結合タンパク質) に GFP を融合発現させ、カラム精製後、GFP 由来の蛍光シグナルを評価し、さらに多糖結合活性を ELISA 法で評価した。代表的な病原性真菌の菌体表層に露出する各多糖を、GFP 融合多糖結合タンパク質を用いて染色し、蛍光顕微鏡下で解析した。一部の真菌は多糖合成阻害剤で処理し、細胞壁多糖組成の変化を顕微鏡下で観察した。【結果】GFP 融合多糖結合タンパク質は、GFP に由来する蛍光能を保持し、さらに ELISA プレートに固定した各基質 (多糖) と結合した。また、13BG プローブは *Aspergillus fumigatus* 及び *Candida albicans*, 16BG プローブは *C. albicans* 及び *Cryptococcus neoformans*, 13AG プローブは *A. fumigatus* 及び *C. neoformans*, キチンプローブは *A. fumigatus* 及び *Rhizopus oryzae* をそれぞれ染色した。一方、BG 合成阻害剤で処理した *C. albicans*, *A. fumigatus* の BG に由来する蛍光シグナルは減少した。【考察】調整した各種 GFP 融合多糖結合タンパク質は、対応する多糖への結合能と GFP の蛍光能の両方を保持しており、真菌細胞壁多糖の構造特異的な蛍光染色に利用出来ることが示された。

FL1-21/P1-087

アスペルギルス細胞壁 β -グルカンの合成阻害がもたらす表層多糖の組成変化

○近 武慶, 鈴木 健斗, 山中 大輔, 安達 禎之 (東京薬大・薬・免疫学)

Inhibition of β -glucan synthesis in *Aspergillus* and changes in polysaccharide composition

○Takenori Chika, Kento Suzuki, Daisuke Yamanaka, Yoshiyuki Adachi (Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

【目的】*Aspergillus fumigatus* の細胞壁多糖には β -1,3-グルカン (13BG) 及び α -1,3-グルカン (13AG) が存在する。本研究では独自に構築した多糖結合タンパク質を用いた多糖プロファイリング法を用いて, BG 合成阻害剤による *A. fumigatus* の表層多糖組成の変化と 13BG 受容体 Dectin-1 依存的な免疫応答を解析し, BG 合成阻害薬が真菌の免疫原性に与える影響を評価した。【方法】*A. fumigatus* NBRC33022 株を 13BG 合成阻害薬 (Micafungin), β -1,6-glucan (16BG) 合成阻害薬 (Jervine) または DMSO (コントロール) を添加したポテトデキストロース培地で 24 時間培養した。菌体濃度を調整し, 多糖プロファイリング法を用いて細胞壁の多糖組成を解析した。BG 合成阻害による *A. fumigatus* の自然免疫応答への影響を評価するためにヒト単球様細胞 (THP-1) に hDectin-1A 及び NF- κ B-NanoLuc レポーター遺伝子を導入したレポーター細胞を用い, 菌体による NF- κ B 活性化レベルを評価した。【結果】16BG 合成阻害薬添加群では *A. fumigatus* の多糖組成に大きな変化は見られなかった。一方, 13BG 合成阻害薬添加群では 13BG が減少し, 代わりに β -1,3/ β -1,4-グルカン (MLG) の増加を認めた。レポーター細胞を用いたアッセイでは, 13BG 合成阻害薬添加培地で培養した菌体は, Dectin-1 依存的な NF- κ B の活性化レベルを減少させた。【考察】13BG 合成阻害薬が細胞壁多糖に影響を与えたことによって宿主免疫応答を低下させる可能性が示唆された。表層 13BG が減少したことによる外層構造の不安定性を補うために MLG が増加したと考えられる。

FL1-22/P1-098

リボソームを介した大腸菌の亜鉛感受性調節メカニズム

○白川 璃子, 石川 一也, 古田 和幸, 垣内 力 (岡山大学・医歯薬学・分子生物学)

Ribosome-mediated regulation of zinc susceptibility in *Escherichia coli*

○Riko Shirakawa, Kazuya Ishikawa, Kazuyuki Furuta, Chikara Kaito (Lab. Mol. Biol., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm., Okayama Univ.)

亜鉛は細菌にとって必要であると同時に過剰量では毒性を示す。そのため, 細菌は取り込みや排出によって細胞内亜鉛濃度を調節している。これまでに我々は, 大腸菌リボソームタンパク質 rpmJ 欠損株において亜鉛排出トランスポーター発現増加による新規の亜鉛耐性化現象を見出している。RpmJ にはパラログ YkgO が存在し, ykgO の発現は亜鉛取り込みトランスポーターの転写抑制因子 zur によって抑制される。本研究では, rpmJ 欠損による亜鉛耐性化にパラログ ykgO が関連するか検討した。rpmJ/zur 二重欠損株では rpmJ 欠損株の亜鉛耐性が失われ, 野生株と同等の亜鉛感受性を示した。このことから, zur 欠損により発現した YkgO が, リボソームの RpmJ 結合位置に代わり結合していると考えられた。次に, zur 欠損による亜鉛耐性の喪失が ykgO 発現によるものかを確かめるために, rpmJ/zur/ykgO 三重欠損株の亜鉛耐性を評価した。その結果, rpmJ/zur/ykgO 三重欠損株では亜鉛耐性が回復し, rpmJ 欠損株と同等となった。このことから, RpmJ/YkgO の結合部位が空位となったリボソームの存在が亜鉛耐性化を導くことが考えられた。亜鉛排出トランスポーター発現量を測定すると, 亜鉛耐性と一致して, rpmJ/zur 二重欠損株では rpmJ 欠損株に比べて低下し, rpmJ/zur/ykgO 三重欠損株では rpmJ 欠損株と同等までに回復した。以上より, RpmJ/YkgO の結合部位が空位となったリボソームが起因となり, 亜鉛排出経路を活性化することによって亜鉛耐性化が導かれることが示唆された。今後は, リボソームの構造変化と亜鉛排出トランスポーターの発現増加を繋ぐ分子メカニズム, 及びその生理的意義を解析していく。

FL1-23/P1-100

緑膿菌における細胞壁欠損細胞の出現

○杉山 夏月¹, 原田 潤¹, 兼松 周作¹, 野村 暢彦^{2,3,4}, 豊福 雅典^{2,3} (¹筑波大院・生命農学, ²筑波大・生命環境系, ³筑波大・MICS/TIAR, ⁴筑波大・TARA)

Cell wall-deficient cells formed in *Pseudomonas aeruginosa*

○Natsuki Sugiyama¹, Jun Harada¹, Shusaku Kanematsu¹, Nobuhiko Nomura^{2,3,4}, Masanori Toyofuku^{2,3} (¹Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ²Fac. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ³MICS/TIAR, Univ. Tsukuba, ⁴TARA, Univ. Tsukuba)

細胞壁は, ほぼすべての細菌が有しており, 浸透圧ストレスなどの環境ストレスから保護する役割を担い, 細胞の形態を特徴づける重要な構造である。しかしながら, 当研究室の先行研究において, 緑膿菌集団内において, 細胞壁を失っても生存可能な R-cell が出現することが明らかとなった。R-cell は, ファージ由来の遺伝子であるホリンーエンドリシンが発現し細胞壁を欠損することで形成されることが明らかとなっているが, R-cell についての知見はほとんどない。そこで, 本研究では集団細胞中の一部で出現する R-cell の出現条件や特性に関する知見を獲得し, その存在意義を理解することを目的とする。細胞壁は β -ラクタム系薬剤などの抗生物質のターゲットとなるため, 感染症治療においても重要である。R-cell は細胞壁をもたないため, 細胞壁をターゲットとする抗生物質に耐性があると予想される。そこで, 抗生物質処理を行った結果, 桿菌では溶菌するのに対し, R-cell は生存することが示された。また, 桿菌と R-cell を比較した RNA-seq の結果, R-cell では解糖系に関わる遺伝子の発現量が桿菌に比べて上昇していた。解糖系の促進は活性酸素種(ROS)の蓄積につながるということが報告されているため, 解析したところ, R-cell において ROS が蓄積していることが示された。ROS は細胞毒性を発揮することが知られており, ROS の蓄積によって, 細胞分裂が阻害されている可能性がある。さらに, 細胞壁を欠損するのに必要な遺伝子は嫌気環境によって発現が誘導されることが示されており, 嫌気培養により R-cell が出現することを明らかにした。今後は R-cell が細胞集団内における役割を解明し, 細菌の新規生存戦略を明らかにしたい。

FL1-24/P1-101

Characterization of a novel inward proton pump rhodopsin, GhXeR, from *Guptibacillus hwajinpoensis*

○錦野 達朗^{1,2}, 服部 七奈子¹, 伊藤 侑真¹, 古谷 祐詞^{1,2}, 神取 秀樹^{1,2} (¹名工大・院工・工, ²名工大・オプトバイオ)

○Tatsuro Nishikino^{1,2}, Nanako Hattori¹, Yuma Ito¹, Yuji Furutani^{1,2}, Hideki Kandori^{1,2} (¹Grd. Sch. Eng., Nagoya Inst. Tech., ²OptoBio Tech. Res. Cent., Nagoya Inst. Tech.)

Microbial rhodopsins exhibit various functions, such as ion transport and sensor for signal transduction, through structural changes for its function induced by retinal photoisomerization. Xenorhodopsins (XeR), a class of microbial rhodopsins, function as light-driven inward proton pumps, with a translocation direction opposite to that of bacteriorhodopsin (BR), the prototypical outward proton pump. The three-residue motif in the third helix plays a critical role in determining functions of microbial rhodopsins. BR possesses an Asp-Thr-Asp (DTD) motif. In contrast, NsXeR and PoXeR, two inward proton-pumping xenorhodopsins (XeRs), contain the Asp-Ser-Ala (DSA) and Asp-Thr-Leu (DTL) motifs, respectively. We newly found a XeR (GhXeR) from a marine bacterium *Guptibacillus hwajinpoensis*, which features the Asp-Ser-Ser (DSS) motif. To clarify how differences in the motif affect photoreaction and proton transport activity, we measured the ion transport activity in *E. coli* cells, recorded transient absorption, and analyzed structural dynamic using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. We would like to discuss photo isomerization and proton transport mechanism in the GhXeR.

FL1-25/P1-102

溶液中における T4 DNA Ligase の ATP 依存的コンフォメーション変化の可視化

○兼原 伸輝, 松本 崇 ((株)リガク)

Visualization of ATP-Dependent Conformational Dynamics of T4 DNA Ligase in Solution

○Nobuki Kuwabara, Takashi Matsumoto (Rigaku Corporation)

DNA ligases are essential enzymes conserved across viruses, prokaryotes, and eukaryotes, playing critical roles in DNA repair and replication. T4 DNA Ligase consists of three domains and serves as a representative model of ATP-dependent DNA ligases. While structures of the AMP intermediate and DNA-bound complexes have been reported, the conformational behavior of T4 DNA Ligase in the pre-adenylation state remains insufficiently understood. In this study, we applied Electron Density Topography (EDT), a solution-based structural visualization method currently under development, to investigate the ATP-dependent conformational states and dynamics of T4 DNA Ligase in solution. EDT enables direct reconstruction of electron density. EDT analysis revealed that, in the presence of ATP, T4 DNA Ligase adopts a closed and compact conformation. In contrast, in the absence of ATP, pronounced mobility was observed, and multiple conformational states, including an open configuration, appeared to coexist. This work demonstrates the capability of EDT to visualize the dynamic conformational landscape of T4 DNA Ligase in solution and provides new insights into its ATP-dependent structural diversity. EDT offers a promising new approach for elucidating the mechanisms of biomolecules that exhibit significant conformational flexibility.

FL1-26/P1-104

ヒト腸内常在細菌 *Mediterraneibacter gnavus* における *kdp* 遺伝子群による腸管定着制御機構の解明

○声名 琉¹, 野村 暢彦^{2,3}, 尾花 望^{3,4}, 福田 真嗣^{3,4,5,6,7} (¹筑波大院・理工情報生命・生命地球科学, ²筑波大・生命環境, ³筑波大・MiCS, ⁴筑波大・医・TMRC, ⁵慶応大・先端生命研, ⁶神奈川県産技総研, ⁷順天堂大・医)

Functional analysis of the *kdp* gene cluster in gut colonization by *Mediterraneibacter gnavus*

○Ryu Ashina¹, Nobuhiko Nomura^{2,3}, Nozomu Obana^{3,4}, Shinji Fukuda^{3,4,5,6,7} (¹Deg. Prog. In Life & Earth Sci., Grad. Sch. Sci. & Technol., Univ. Tsukuba, ²Fac. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ³MiCS, Univ. Tsukuba, ⁴TMRC, Inst. Med., Univ. Tsukuba, ⁵Inst. Adv. Biosci., Keio Univ., ⁶KISTEC, ⁷Inst. Med., Univ. Juntendo)

ヒト腸内常在細菌 *Mediterraneibacter gnavus* は炎症性腸疾患など様々な疾患と関連し, その菌量と炎症が正に相関することが報告されている。一方で, 本菌の腸管定着機構については不明な点が多い。本研究では, *M. gnavus* の腸管定着に関連する遺伝子を同定するため, 無菌マウス腸管に定着 (*in vivo*) および *in vitro* 培養時の *M. gnavus* のトランスクリプトームを比較した。その結果, *in vivo* では K⁺輸送体 KdpFABC と二成分制御系のセンサーキナーゼ KdpD1 をコードする *kdpFABCD1* オペロン, および近傍の *kdpD2-E* オペロンの発現が 10 倍以上高かった。本菌では KdpD が KdpD1 と KdpD2 に分断され, *kdpD2* がレスポンスレギュレーター *kdpE* とオペロンを形成する。多くの細菌種で *kdp* 発現は低 K⁺条件で誘導されるが, マウス便中の K⁺濃度は十分に高く, *in vivo* における *kdp* 発現誘導は, K⁺以外の腸管特有の環境因子に起因することが示唆された。また, 腸管定着時の *kdp* 制御因子を解析するために, *kdpD1* および *kdpD2* 破壊株の遺伝子発現を比較した。その結果, 両破壊株で *kdp* 発現が低下しており, 腸管では KdpD1 と KdpD2 の両センサーが協調して環境因子を認識する可能性が考えられた。さらに, 各破壊株の *in vivo* 環境試験の結果, *kdpD1*, *kdpD2*, *kdpE* の破壊株は競合定着能が著しく低下したが, *kdpA*, *kdpB* 破壊株は野生株と同程度の定着能を示した。このことより, 本菌の腸管定着には, KdpFABC 輸送体ではなく, KdpD1/D2/E による下流遺伝子の制御が重要であると考えられた。*kdpD1* および *kdpD2* 破壊株の *in vivo* トランスクリプトーム解析により, 共通して発現が低下する遺伝子群が同定され, これらが *M. gnavus* の腸管定着に寄与することが示唆された。

FL1-27/P1-118

Salmonella Pathogenicity Island 1 発現抑制におけるリン酸アセチル転移酵素の寄与

○藤本 彩¹, 江口 佳奈², 高屋 明子^{2,3} (¹千葉大・薬・感染制御, ²千葉大・院薬・感染制御, ³千葉大・真菌セ)

Phosphotransacetylase in Environment-Dependent SPI1 Regulation

○Aya Fujimoto¹, Kana Eguchi², Akiko Takaya^{2,3} (¹Dep. Infect. Cont. Sci., Fac. Pharm. Sci., Chiba Univ., ²Dep. Infect. Cont. Sci., Grad. Sch. Pharm. Sci., Chiba Univ., ³MMRC, Chiba Univ.)

リジンアセチル化などの翻訳後修飾は, 細菌の遺伝子発現制御に重要である。サルモネラのリジンアセチル化経路には, リン酸アセチル転移酵素 Pta およびアセテートキナーゼ AckA が調節するアセチルリン酸による非酵素的経路と, アセチル基転移酵素 Pat が触媒する酵素的経路がある。しかし, これらのリジンアセチル化経路がサルモネラの病原因子発現を制御する詳細な機構は明らかにされていない。本研究は, サルモネラの病原性遺伝子群である *Salmonella* Pathogenicity Island 1 (SPI1) の発現制御におけるリジンアセチル化の寄与を明らかにするため, *Salmonella* Typhimurium χ 3306 の Pta または Pat をコードする遺伝子欠損株を構築し, SPI1 量を野生株と比較した。培養には, SPI1 低発現条件と SPI1 高発現条件を用いた。その結果, SPI1 低発現条件において, Pta 欠損株の SPI1 産生および分泌量が野生株に比べて増加した。Pta 欠損株では, SPI1 発現制御の最上流に位置する転写活性化因子 HilD の産生量が顕著に増加したことから, HilD 下流の SPI1 遺伝子全体の発現が活性化されたことが示唆された。Pta と AckA を同時に欠損させた株では, Pta 欠損株と同程度の HilD 産生量を示したため, SPI1 の発現制御には Pta が寄与することが示唆された。また, Pat 欠損株における HilD 産生量は野生株と同等であった。一方, SPI1 高発現条件では, Pta 欠損株における HilD 産生量は野生株よりも減少していた。以上より, SPI1 低発現条件において, サルモネラは Pta によりアセチルリン酸量を制御し, HilD 量を負に調節することで SPI1 全体の発現を低下させることが示唆された。

FL1-28/P1-121

線虫を用いた毒素原性大腸菌の病原因子と宿主応答解析

○山村 千夏¹, 松田 晏理¹, 谷本 佳彦^{1,2,3}, 野本 竜平⁴, 和田 崇之^{1,5}, 中台 枝里子^{1,2,3} (¹大公大院・生・食栄養・微生物, ²京大院・生命, ³京大・医生研, ⁴神戸市・健科研, ⁵大阪公大・国際感染症研究センター)

Pathogenic factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* and host responses in *Caenorhabditis elegans*

○Chinatsu Yamamura¹, Anri Matsuda¹, Yoshihiko Tanimoto^{1,2,3}, Ryohei Nomoto⁴, Takayuki Wada^{1,5}, Eriko Nakadai^{1,2,3} (¹Dept. Microbiol. Grad. Sch. Hum. Life Ecol., Osaka Metro. Univ., ²Grad. Sch. Biostudies, Kyoto Univ., ³LiMe, Kyoto Univ., ⁴Kobe Inst. Heal., ⁵Osaka Intl. Res. Ctr. Infect. Dis., Osaka Metro. Univ.)

腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *Escherichia coli*: ETEC) は, 先進国では海外旅行者下痢症, 発展途上国では乳幼児下痢症の主な原因菌である。我々はこれまでに ETEC がモデル生物である線虫 *Caenorhabditis elegans* の生存期間を短縮することを報告してきた。本研究では, ETEC の臨床分離株である ETEC1 株を用いて, 線虫に対する病原性に関わる分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。ETEC1 の保有する毒素遺伝子 *eltAB*, *estA*, *astA* の病原性への寄与を明らかにするため, 各々の遺伝子破壊株 (ETEC1 Δ eltAB, ETEC1 Δ estA, ETEC1 Δ astA) を作製し, 線虫に与えた際の生存期間を評価した。ETEC1 野生型給餌群と比較して, ETEC1 Δ eltAB 給餌群では生存期間が延長したが, ETEC1 Δ estA, ETEC1 Δ astA 給餌群では有意な差は見られなかった。この結果から, ETEC1 の線虫に対する病原性に, *eltAB* のコードする毒素 LT1 の関与が示唆された。ETEC の LT 産生がプロバイオティクスである *Lactocaseibacillus rhamnosus* (LR) との共培養によって抑制されることが報告されている。線虫に ETEC1+LR 混合給餌をしたところ生存期間は ETEC1 単独給餌群よりも延長し, 標準餌である OP50 株給餌群と同等となった。この結果より, LR は ETEC1 の線虫に対する病原性を抑えることが示唆された。

FL1-29/P1-122

腸内放線菌代謝産物の同定と *Clostridioides difficile* 感染マウスにおける抑制効果

○松本 可南子¹, 島村 佳歩¹, 武 晃², 後藤 和義³, 木下 理恵³, 友信 奈保子³, 山本 健一³, 竹原 正也⁴, 塩見 慎也¹, 久保 美和¹, 和久田 光毅⁵, 阪口 政清³, 加藤 はる⁶, 大宮 直木⁵, 阪口 義彦¹ (1徳島文理大・薬, 2山梨大・生命環境, 3岡山大院, 4順天堂大・薬, 5藤田医科大・先端光学, 6感染研・薬剤耐性セ)

Identification of intestinal actinomycete metabolites and suppressive effects on CDI mouse model

○Kanakanamoto¹, Kaho Shimamura¹, Akira Take Take², Kazuyoshi Gotoh³, Rie Kinoshita³, Nahoko Tomonobu³, Kenichi Yamamoto³, Masaya Takehara⁴, Shinya Shiomi¹, Miwa Kubo¹, Mitsutaka Wakuda⁵, Masakiyo Sakaguchi³, Haru Kato⁶, Naoki Ohmiya⁵, Yoshihiko Sakaguchi¹ (1Fac. Pharm. Sci., Tokushima Bunri Univ., 2Facul. Lif. Environ. Sci., Univ. Yamanashi, 3Grad. Sch., Okayama Univ., 4Fac. Pharm., Juntendo Univ., 5Adv. Endo., Fujita Heal. Univ. Sch. Med., 6Antimicro. Resist. Res. Cent., Nat. Instit. Infect. Dis.)

【背景と目的】我々は、再発性 *Clostridioides difficile* 感染症 (CDI) に対する治療法として糞便微生物移植療法 (FMT) を行い、その寛解に腸内放線菌が関与している可能性を見出した。本研究では、ヒト糞便から放線菌を分離し、その分離株の *C. difficile* に対する抗菌活性を評価した。また、活性代謝産物の同定および *in vivo* での評価を目的として、CDI モデルマウスの作製を行った。【方法】健康者糞便由来の腸内放線菌が生産する代謝産物について、ペーパーディスク法により病原菌 (*C. difficile* など) に対する抗菌活性を評価した。活性を示した抽出画分については、高速液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC/MS) により代謝産物を解析した。次に、C57BL/n 雄マウスに抗菌薬投与後、*C. difficile* を経口投与した。24 時間後糞便中の *C. difficile* および毒素 (トキシン A, トキシン B) 遺伝子を PCR で検出し、腸組織の病理組織学的評価を行うことで、CDI 発症モデルマウスが作製できたことを確認した。【結果と考察】健康人糞便から 20 株の腸内放線菌を分離し、その中には *C. difficile* に対する抗菌活性を示す菌株が含まれていた。次に、*C. difficile* を経口投与したマウスにでは、糞便中に *C. difficile* および毒素遺伝子を確認した。また、腸組織の病理学的検査では、結腸上皮直下の結合組織における好中球浸潤およびアポトーシスが認められた。現在、作製した CDI 発症モデルマウスを用い、放線菌代謝産物の CDI に及ぼす影響について検討を進めている。

FL1-30/P1-126

腸炎ビブリオの病原性に関する生体内ポリアミンの機能解明

○石田 快¹, 下畑 隆明², 高橋 章³, 中屋 隆明¹ (1京府医・医・感染病態, 2福井県立大・海洋生物資源, 3徳大院・医歯薬学・予防環境栄養)

Functional Analysis of Biogenic Polyamines in the Pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus*

○Kai Ishida¹, Takaaki Shimohata², Akira Takahashi³, Takaaki Nakaya¹ (1Dept. Infectious Diseases, Sch. Med, Kyoto Prefectural Univ. Med., 2Marine-Bio, Fukui Prefectural Univ., 3Dept. Prev Environ Nutr., Inst. Biomed Sci., Tokushima Univ.)

Vibrio parahaemolyticus is a seafood-borne pathogen that grows in high-salt environments. Previous studies suggested that *V. parahaemolyticus* senses environmental factors and modulates virulence. Polyamines, ubiquitous bioactive molecules present in natural and host settings, are potential regulators of pathogenicity, yet their roles in *Vibrio* species remain unclear. This study aimed to clarify polyamine-related mechanisms by examining how polyamine supplementation affects bacterial growth and host-cell cytotoxicity. RIMD2210633 was used as the wild type of *V. parahaemolyticus*. Putrescine, spermidine, spermine, or the putrescine synthesis inhibitor DFMO was added to HeLa supernatants at 0.01–1 mM for 24 h before a 4-h infection. Cytotoxicity was measured by LDH release, and virulence-gene expression was analyzed by RT-qPCR. Growth was assessed by adding 1 mM polyamines to LB or M9 medium and monitoring optical density every 2 h. Spermine (1 mM) significantly reduced host-cell cytotoxicity, and DFMO produced a similar effect. Polyamines altered expression of several virulence-associated genes. While polyamines did not change growth, DFMO increased turbidity in minimal medium. These results suggest that specific polyamines modulate host cytotoxicity during infection. Future work will focus on spermine to clarify polyamine-dependent mechanisms of virulence regulation.

FL1-31/P1-132

緑膿菌由来細胞外小胞のマーカー分子を指標とした分離方法の構築

○岡 真優子^{1,2}, 末永 琢観², 堀口 安彦³ (1京都府大院・生命環境科学・食環境安全性学, 2京都府大・生命環境・食環境安全性学, 3大阪大・微研・分子細菌学)

Development of a marker-based isolation method for *P. aeruginosa* extracellular vesicles

○Mayuko Oka^{1,2}, Takumi Suenaga², Yasuhiko Horiguchi³ (1Food Hyg. and Environ. Health, Life and Env. Sci., Kyoto Pref. Univ., 2Food Hyg. and Environ. Fac. Life and Env. Sci. Kyoto Pref. Univ., 3Dept. Mol. Bacteriol., RIMD, Osaka Univ.)

我々は、マクロファージのケモカインを増大させる *Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌) の病原因子が細菌から放出される細胞外小胞 (EVs) であることを明らかにした (第 97 回日本細菌学会総会)。細菌の培養上清に含まれる EVs は、イオン交換クロマトグラフィー (IC) 法により分画された。この EVs を質量分析解析し、PhoA (アルカリフォスファターゼ; ALP) が EVs のマーカー分子として利用できる可能性を見いだした。細菌の EVs は、一般に 100,000 x g の沈殿物 (超遠心 EVs) として精製される。そこで、我々の精製した IC-EVs と超遠心 EVs の特徴を比較し、ALP 活性を利用した細菌 EVs の同定と新たな精製方法の確立を目指した。IC により分画した全 34 フラクシオンのうち、フラクション 23 および 24 はケモカイン (CCL2) 遺伝子を誘導したが、他のフラクションには誘導作用はなかった。また、p-ニトロフェニルリン酸を基質に用いた ALP 活性は、フラクション 22-25 に認められた。以上の結果から、IC-EVs はフラクション 22-25 に溶出されたと考えた。次に、超遠心 EVs を IC 法で分画し、IC 法による EVs の分画を検証した。超遠心 EVs のクロマトグラムは、フラクション 22-25 とフラクション 32-33 の二つの異なる EVs に分画された。超遠心 EVs のフラクション 22-25 は、ケモカイン遺伝子の誘導作用と高い ALP 活性を示したが、フラクション 32-33 はタンパク質ではなく核酸を含む画分であった。以上の結果から、IC 法により ALP 活性を持つ EVs と核酸を含む EVs に分離でき、IC 法は超遠心法では分離できなかった 2 つの EVs を分画できることが示唆された。

FL1-32/P1-136

無毒化ボツリヌス毒素による細胞内抗体送達を介した新規毒素中和戦略

○宮下 慎一郎, 長竹 穂香, 大野 倫太郎, 小島 英恵, 相根 義昌 (東京農大・生物産業・食香粧化学)

Mechanism of toxin neutralization by intracellular antibody delivery using detoxified BoNT

○Shin-Ichiro Miyashita, Honoka Nagatake, Rintaro Ohno, Hanae Kojima, Yoshimasa Sagane (Dept. Food, Aroma Cosmetic Chem., Fac. Bioindustry, Tokyo NODAI)

Clostridium botulinum が産生するボツリヌス神経毒素 (BoNT, A-G 型) は弛緩性筋肉麻痺を特徴とするボツリヌス中毒を引き起こす。本中毒の神経麻痺は数週間から数ヶ月間持続することが特徴である。抗毒素抗体による治療は、体内を循環している BoNT を標的としており、神経細胞に侵入した BoNT を中和することができない。我々は近年、無毒化ボツリヌス毒素 (catalytically inactive BoNT; ^cBoNT) を基盤とした細胞内抗体送達プラットフォームを開発した。A および B 型 BoNT によるボツリヌス中毒を発症したモデルマウスに、抗毒素抗体を連結した ^cBoNT を投与すると、神経麻痺持続期間が劇的に短縮された。本研究では、ヒトボツリヌス中毒を発症する E 型 BoNT に対する本プラットフォームの中和活性を検証することを目的とした。E 型 BoNT の酵素活性ドメインに対するラクダ科重鎖抗体 (VHH) を ^cBoNT の N 末端に連結した大腸菌組換えタンパク質 (VHH-^cBoNT) として設計した。E 型 BoNT をマウスの後肢筋肉に注射し局所麻痺を引き起こし、同じ筋肉に VHH-^cBoNT を投与することで中和活性を評価した。VHH-^cBoNT 投与群のマウスにおいて、神経麻痺期間の若干の短縮が確認された。しかし、マウスにおける E 型 BoNT の半減期が A 型 BoNT に比べて短いことから、中和活性の評価が困難であった。現在、ラットモデルを用いた VHH-^cBoNT の中和活性の評価および細胞内 BoNT 中和メカニズムの解明に取り組んでいる。

FL1-33/P1-141

ボツリヌス C および D 型に見られた HA-33 の経口毒性強化型変異に関する解析

○小島 英恵, 宮下 慎一郎, 大野 倫太郎, 佐藤 美咲, 相根 義昌 (東京農大・生物産業・食香粧化学)

Characterization of Oral Toxicity-Enhancing HA-33 Variants in Botulinum Toxin Serotypes C and D

○Hanae Kojima, Shin-Ichiro Miyashita, Rintaro Ohno, Misaki Sato, Yoshimasa Sagane (Dept. Food Aroma Cosmetic Chem., Fac. Bioindustry, Tokyo NODAI)

ボツリヌス神経毒素は単独では消化管内で不安定であるが、自然界では無毒タンパク質群と会合して毒素複合体 (progenitor toxin complex; PTC) を形成することで安定化し、腸管からの吸収効率が高まることが知られている。PTC を構成するタンパク質の一つである HA-33 は、腸管上皮表面の糖鎖を認識し、複合体の経口毒性を規定する重要な因子と考えられている。我々は、C 型および D 型ボツリヌス菌の HA-33 に、従来株とは異なるアミノ酸変異を有する系統が存在することを見出し、その代表例である C 型菌 Yoichi 株 (C-Yoichi) について解析を進めてきた。本株由来の HA-33 はアシアロ糖鎖を認識する非典型的な糖結合特性を示し、形成される PTC の経口毒性は従来株と比較して約 90 倍に達する。一方、C-Yoichi 由来 HA-33 は、アミノ酸配列から推定される分子量と比べて SDS-PAGE 上での移動度が低いことが報告されており、翻訳後修飾によるアミノ酸欠失の可能性が示唆されていた。本研究では、C-Yoichi HA-33 を組換えタンパク質として調製し、その分子量特性を詳細に解析した。その結果、組換え体 HA-33 は Native タンパク質と同様に SDS-PAGE 上で移動度の低下を示したが、MALDI-TOF/MS による分子量解析から、翻訳後修飾に伴うアミノ酸欠失は生じていないことが明らかとなった。本研究では、さらに同様の変異が見られた D 型菌由来 PTC についても解析中である。

FL1-34/P1-142

Botulinolysin 2 の毒性発現メカニズムの解明

○大野 倫太郎, 宮下 慎一郎, 小島 英恵, 相根 義昌 (東京農大・生物産業・食香粧化学)

Elucidation of the cytotoxic mechanism of Botulinolysin 2

○Rintaro Ohno, Shin-Ichiro Miyashita, Hanae Kojima, Yoshimasa Sagane (Dept. Food Aroma Cosmetic Chem., Fac. Bioindustry, Tokyo NODAI)

コレステロール依存性細胞溶解毒素 (CDC) は、赤血球や培養細胞の膜に孔を形成して毒性を示す。ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) の一部は、CDC に属する Botulinolysin (BLY) を産生する。当研究室では C および D 型菌さらにその近縁種にのみ 2 種類の遺伝子 *bly1* と *bly2* が存在することを報告した。2 つの BLY の毒性を検証してところ、BLY1 が高い細胞溶解活性を示したのに対し、BLY2 は培養細胞に対して活性を示さなかった。本研究では、BLY2 がなぜ、培養細胞に対して毒性を示さないのかについて検証することを目的とした。ヒト子宮頸癌由来 HeLa 細胞を用い、LDH 試験により細胞傷害性を定量的に評価した。溶媒として、細胞培養液 (10% ウシ胎児血清および抗生物質を含む DMEM) と、血清やタンパク質を含まないハンクス平衡塩溶液 (HBSS) を用いた。HeLa 細胞に組換え BLY2 タンパク質を暴露したところ、BLY2 は細胞培養液中では活性を示さなかったが、HBSS 中においては濃度依存的に細胞溶解活性を示した。このことから、BLY2 は失活しているのではなく、培地中の成分によって活性が阻害されていることが明らかとなった。本研究により、BLY2 は周囲の環境に応じて活性が制御される CDC であることが示唆された。今後は、阻害要因を特定するとともに、ボツリヌス菌が 2 種類の BLY を産生しているのか検証したい。

FL1-35/P1-145

Campylobacter jejuni 病原性へのコハク酸代謝の影響

○牧本 真奈^{1,2}, 下畑 隆明^{1,2}, 福島 志帆¹, 山中 咲季¹, 上番増 喬¹, 馬渡 一諭¹, 高橋 章¹ (¹徳島大院・医師薬学研究部・予防環境栄養学分野, ²福井県立大・海洋生物資源学部)

The effect of succinate metabolism on *Campylobacter jejuni* virulence

○Mana Makimoto^{1,2}, Takaaki Shimohata^{1,2}, Shiho Fukushima¹, Saki Yamanaka¹, Takashi Uebanso¹, Kazuaki Mawatari¹, Akira Takahashi¹ (¹Dept. Prevent. Environ. Nutr., Inst. Biomed. Sci., Tokushima Univ. Grad. Sch., ²Marine Bio., Fukui Prefect Univ.)

Background: *Campylobacter jejuni* Cj is a cause of gastrointestinal foodborne disease in humans. Cj has a unique metabolism, suggesting that the composition of intestinal nutrients is closely associated with Cj virulence. However, the relationship between Cj metabolism and virulence is unclear. To reveal this relationship during Cj infection, we identified critical metabolites and investigated their contribution to Cj virulence in an in vitro model. **Method:** The Cj culture supernatant was analyzed by Capillary electrophoresis mass spectrometry (CE-MS). The effect of the metabolite on the Cj infection was estimated by a capillary assay and a gentamycin protection assay. **Results & Discussion:** CE-MS analysis revealed a reduction in amino acids and an increase in succinate in the culture supernatant of Cj. Succinate secretion in the culture medium depended on aspartate and glutamate utilization. During infection, Cj succinate metabolism was upregulated, and the host provided succinate. Cj exhibited stronger chemotaxis toward succinate than toward amino acids. Furthermore, succinate stimulation increased the number of bacteria that adhered to and invaded host cells, as well as the expression of virulence genes. Our results suggest that Cj produces succinate and modulates its own virulence by utilizing amino acids.

FL1-36/P1-149

Rgg2/3 クオラムセンシング系による GAS 細胞内感染動態の制御

○Min Wu, 野澤 孝志, 中川 一路 (京大・院医・微生物感染症)

The Rgg2/3 Quorum-Sensing System Regulates GAS Intracellular Infection Dynamics

○Min Wu, Takashi Nozawa, Ichiro Nakagawa (Dept. Microbiol, Grad Sch Med., Kyoto Univ.)

Quorum sensing enables bacteria to coordinate population-wide behaviors in response to cell density. The Rgg2/3 system in Group A Streptococcus (GAS) is a peptide-based quorum-sensing system that regulates virulence. While transcriptional regulation by Rgg2/3 is well-characterized, its role in intracellular infection remains unclear. Using systematic knockout analysis, we examined Rgg2/3 function during host cell infection. Individual gene deletions produced opposing effects on invasion, with Δ rgg2 reducing invasion while Δ rgg3 enhanced it, consistent with their functions as transcriptional activator and repressor, respectively. In contrast, the double knockout exhibited reduced adhesion, impaired invasion, and minimal intracellular survival. Notably, mutant bacteria displayed dispersed morphology without aggregates. Although expression of streptolysin O (SLO), a secreted toxin critical for invasion, was normal in culture, intracellular SLO signals were markedly reduced, suggesting impaired secretion or delivery. Furthermore, recruitment of the autophagy markers LC3 and LAMP1 to bacteria was reduced, indicating altered host-pathogen interactions. Together, these results establish Rgg2/3 as a key regulator of intracellular infection, controlling bacterial aggregation, virulence factor secretion, and host autophagy responses.

FL1-37/P1-150

野兎病菌感染における宿主 DNAJC14 の役割

仲村 岳真¹, ○清水 隆², 渡邊 健太³, 宇田 晶彦⁴, 度会 雅久³ (1東京大・工・応用化学, ²山口大・獣・One Welfare研究センター, ³山口大・獣・公衆衛生, ⁴感染研・獣医科学)

The role of host DNAJC14 in Francisella tularensis infection

Takemasa Nakamura¹, ○Takashi Shimizu², Kenta Watanabe³, Akihiko Uda⁴, Masahisa Watarai³ (1Dept. Appl. Chem., Grad. Sch. Engr., Univ. Tokyo, ²Ctr. One Welf., Jnt. Fac. Vet. Med., Yamaguchi Univ., ³Lab. Vet. Pub. Hlth., Jnt. Fac. Vet. Med., Yamaguchi Univ., ⁴Dept. Vet. Sci., NIID)

Francisella tularensis is the causative agent of tularemia. Although the virulence factors of *F. tularensis* have been well studied, the host factors involved in the infection remain largely unknown. In this study, we focused on the host factor DNAJC14 and investigated its role in the pathogenicity of *Francisella* using the surrogate bacterium *F. novicida*. During *F. novicida* infection, DNAJC14 knock down (KD) cells exhibited enhanced cytotoxicity and increased intracellular bacteria. RNA-seq analysis revealed the activation of pathways related to the proteasome and interferons in *F. novicida* infected DNAJC14 KD cells, suggesting the relationship between DNAJC14 and endoplasmic reticulum (ER) stress. Since DNAJC14 is an ER-resident HSP40 family member and could potentially interact with HSP70 family proteins, GRP78, an ER stress-related HSP 70 chaperon was investigated. DNAJC14 KD cells showed a constitutive decrease in GRP78 expression. Moreover, *F. novicida* infection decreased GRP78 expression in a T6SS-dependent manner. The reduction of GRP78 expression was reversed by treatment with a ubiquitin-proteasome inhibitor MG132. These results suggest that DNAJC14 is a crucial host factor that controls the intracellular proliferation of *F. novicida* by suppressing the ubiquitin-proteasome-mediated degradation of GRP78, thereby inhibiting the induction of ER stress during infection.

FL1-38/P1-156

YaiX の大量発現は大腸菌の病原性を増強し、多剤耐性をもたらす

○本宮 絹華¹, 石川 一也¹, 小崎 智己¹, 三好 伸^{2,3}, 古田 和幸¹, 垣内 力¹ (1岡山大学・院医歯薬・分子生物, ²岡山大学・院医歯薬・環境生物薬学, ³岡山大学・腸健康科学研究センター)

YaiX overexpression increases Escherichia coli virulence and promotes multidrug resistance

○Kinuka Hongu¹, Kazuya Ishikawa¹, Tomoki Kosaki¹, Shin-Ichi Miyoshi^{2,3}, Kazuyuki Furuta¹, Chikara Kaito¹ (1Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., ²Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Sch. Pharm. Sci., Okayama Univ., ³Res. Cent. Intest. Health Sci., Okayama Univ.)

【目的】薬剤耐性と高病原性を併せ持つ細菌が世界各地で増加しており、薬剤耐性と病原性の分子基盤の理解が求められている。本研究では、カイコ感染モデルを用いて、大量発現によりカイコ内で大腸菌の生存優位性をもたらす遺伝子を探索し、病原性と抗菌物質耐性への影響を解析した。【方法】大腸菌 W3110 株の全 ORF 大量発現株ライブラリー (ASKA ライブラリー) を 1 プレート (約 96 株) ごとに培養・混合し、カイコに注射した。感染死したカイコの体液から大腸菌株を分離し、カイコ体内での生存・増殖能の高い株を同定した。【結果】空ベクター導入株 (EV 株) に比べて、カイコ体内での高い生存・増殖能を示す株として、機能未知タンパク質 YaiX の大量発現株を見出した。YaiX 大量発現株は、EV 株に比べて、カイコ殺傷活性が上昇した。また、YaiX 大量発現株は、過酸化水素、陽イオン性界面活性剤、β-ラクタム系抗生物質、アミノグリコシド系抗生物質など、多種類の抗菌物質に対して耐性を示した。RNAseq により、YaiX 大量発現株において、ポリンや抗転写終結に関連する遺伝子の発現変動が見出された。GFP 融合型 YaiX を発現させて細胞内局在を解析した結果、YaiX は細菌細胞の極に凝集体様の集積として観察された。【考察】大腸菌において YaiX の大量発現が様々な遺伝子の発現変化を引き起こし、多剤耐性と病原性増強を導くことが示唆された。今後は、YaiX の凝集体形成に着目し、遺伝子発現や表現型との関連性について解析を進めていきたい。

FL1-39/P1-160

Salmonella Typhimurium は単球細胞内で生存し宿主免疫や抗生物質を回避する

○木村 宇輝¹, 鹿嶋 聖¹, 佐伯 華蓮¹, 高橋 弘喜², 高屋 明子^{2,3}, 常世田 好司¹ (1鳥取大院・医科・免疫, ²千葉大・真菌医学研究センター, ³千葉大院・薬・感染制御)

Salmonella Typhimurium survives in monocytes for evading from host immunity and antibiotics

○Uki Kimura¹, Sei Kashima¹, Karen Saiki¹, Hiroki Takahashi², Akiko Takaya^{2,3}, Koji Tokoyoda¹ (1Div. Immunol., Tottori Univ., ²Med. Mycol. Res. Ctr., Chiba Univ., ³Dept. Infect. Control Sci., Chiba Univ.)

Salmonella Typhimurium survives in host phagocytes during the persistent infection. However, which phagocytes harbors *Salmonella* is still unclear. We here show that most *Salmonella* survives in monocytes rather than macrophages, dendritic cells and neutrophils for at least 20 days after infection. We utilized a mouse model for persistent infection with acid-tolerant green fluorescent protein-introduced attenuated *Salmonella*. In the mice, *Salmonella* preferentially survived in monocytes of the spleen, liver and mesenteric lymph nodes. Intriguingly, these monocytes highly expressed Ly-6G proteins, known as a cell-surface marker of neutrophils. However, most *Salmonella*-harboring cells were mononuclear cells indicating no neutrophils. Moreover, antibiotics did not affect that most *Salmonella* survives in monocytes. We further exhibited how intracellular *Salmonella* evades from bactericidal activities mediated by host IFNγ cytokine in monocytes. We discuss the reason of monocyte tropism for *Salmonella*, and immune-evasion strategies of intracellular bacteria during persistent infection and antibiotic treatment.

FL1-40/P1-167

カイコ感染モデルを用いた病原微生物の生体内におけるバイオフィーム形成の評価

○松本 靖彦, 中山 メイ, 清水 優太, 倉門 早苗, 杉田 隆 (明葉大・薬・微生物)

Evaluating *in vivo* biofilm formation by pathogenic microorganisms using a silkworm infection model

○Yasuhiko Matsumoto, Mei Nakayama, Yuta Shimizu, Sanae Kurakado, Takashi Sugita (Dept. Microbiol., Meiji Pharm. Univ.)

バイオフィームは、微生物とその微生物が産生する細胞外マトリックスによる構造体であり、栄養などの外的な要因がバイオフィーム形成に影響する。血流感染症の原因となるいくつかの病原微生物はカテーテルなどの医療器具の表面にバイオフィームを形成すると抗微生物薬に対して抵抗性を示し、慢性的な感染症を引き起こす。血管内のカテーテル表面における病原微生物のバイオフィーム形成には、宿主由来の細胞やタンパク質など様々な宿主要因が関与する。よって、血管内のカテーテル表面における病原微生物のバイオフィーム形成機構を理解するためには、動物を用いた生体内のバイオフィームの評価が必要になる。本研究で、カイコ感染モデルを用いて病原微生物の生体内におけるバイオフィーム形成を定量するための新たな *in vivo* 評価系を構築した。カテーテルの基材の一つであるポリウレタンの繊維を留置したカイコ感染モデルを用いて、病原真菌である *Candida albicans* や *Trichosporon asahii* の生体内におけるバイオフィーム形成を定量した。また、*T. asahii* において、カイコ体内でのバイオフィーム形成に必要な分子として *Hog1* を同定した。*hog1* 遺伝子欠損株は親株よりカイコ体内におけるバイオフィームの量が少なかった。以上の結果から、カテーテル挿入カイコ感染モデルを用いて生体内における病原微生物のバイオフィーム形成に関わる分子を同定できることが示唆された。

FL1-41/P1-169

非貫通性筋組織外傷は血行性の化膿レンサ球菌の定着を促進する

○大野 誠^{1,2}, 広瀬 雄二郎¹, 川端 重忠^{1,3} (¹阪大・院歯・微生物, ²阪大・院歯・バイオインフォ, ³阪大・CIDER)

Non-penetrating Muscle Injury Facilitates Hematogenous Colonization of *Streptococcus pyogenes*

○Masayuki Ono^{1,2}, Yujiro Hirose¹, Shigetada Kawabata^{1,3} (¹Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ²Bioinf. Res. Unit, Grad. Sch. Dent., UOsaka, ³CIDER, UOsaka)

化膿レンサ球菌は、筋組織の急速な壊死融解を特徴とする壊死性筋膜炎を惹き起こす。急速な進行のため四肢切断が必要な場合もあり、詳細な発症機序の解明が求められている。壊死性筋膜炎の臨床症例の約半数では皮膚の貫通性外傷に代表される明らかな感染経路が存在しない。そこで本研究では、遠隔臓器から血中に侵入した菌が筋組織へ移行し、壊死性筋膜炎を生じると仮説を立て、非貫通性外傷モデルを開発した。

分銅を落下させて先端径 5 mm の物体でマウス大腿二頭筋部に衝撃を与え、皮膚潰瘍を伴わない内出血を作製した。片側の大腿二頭筋に外傷を作製して 2 日後に化膿レンサ球菌を尾静脈より静脈内投与し、感染 1 日後の両側大腿二頭筋における菌数を比較した。

その結果、同一個体内において受傷側筋組織では健側と比べ有意に高い菌数が検出された。さらに、受傷側では壊死性筋膜炎の存在が病理組織学的に確認された。また、健側においても非貫通性外傷を作製していない個体の筋組織と比較して有意に高い菌数が検出された。受傷 2 日後の筋組織のトランスクリプトーム解析の結果、サイトカインレセプター相互作用、リソソーム、C 型レクチン受容体シグナル、および NF-κB シグナルなど、自然免疫関連経路の活性化が認められた。一方、化膿レンサ球菌の定着への寄与が報告されているビメンチンおよび CD44 も発現上昇していた。

以上より、非貫通性外傷の存在により、筋組織では自然免疫応答が亢進する一方、化膿レンサ球菌の定着に寄与する分子が増加することで、菌が血行性に筋組織へ移行し、壊死性筋膜炎の病態形成における基盤が形成される可能性が示された。

FL1-42/P1-176

組織透明化 3 次元イメージング CUBIC を用いた肺結核・非結核性抗酸菌症の三次元解析

○Orlanath Phendinay¹, 袴田 真理子^{1,2}, 尾関 百合子², 西山 晃史², 大橋 璃子^{3,4}, 田井中 一貴⁵, 菊地 利明¹, 松本 壮吉² (¹新潟大・医・呼吸器・感染症内科, ²新潟大・医・細菌学, ³新潟大・医・病理標本センター, ⁴新潟大・医・分子・診断病理学, ⁵新潟大・脳研究所・システム脳病態学)

Three-dimensional analysis of mycobacterial infections based on tissue-clearing technology CUBIC

○Orlanath Phendinay¹, Mariko Hakamata^{1,2}, Yuriko Ozeki², Akihito Nishiyama², Riuko Ohashi^{3,4}, Kazuki Tainaka⁵, Toshiaki Kikuchi¹, Sohkiichi Matsumoto² (¹Dept. Respiratory Medicine and Infectious Diseases., Sch. Med., Niigata Univ., ²Dept. Bacteriol., Sch. Med., Niigata Univ., ³Histopathology Core Facility., Sch. Med., Niigata Univ., ⁴Dept. Molecular and Diagnostic Pathology., Sch. Med., Niigata Univ., ⁵Dept. System Pathology for Neurological Disorders., Brain Research Inst., Niigata Univ.)

Tuberculosis is the leading cause of death among infections caused by a single pathogen, and the prevalence of hard-to-treat non-tuberculous mycobacteria is rapidly increasing. Although zebrafish and *Mycobacterium marinum* models have provided valuable insight into host-mycobacterial interactions, the spatial dynamics of infection in mammalian lungs remain unclear. Here, we used CUBIC tissue clearing together with fluorescent protein-expressing *Mycobacterium bovis* BCG, *M. avium*, and *M. tuberculosis* H37Rv to perform three-dimensional analyses of mycobacterial infection in mouse lungs. This approach enabled single-cell visualization of bacteria and revealed distinct species-specific in vivo dynamics after infection. Moreover, analysis of three *M. avium* clinical isolates with different clinical phenotypes uncovered strain-specific inflammatory responses and lymphangiogenic reactions. These results demonstrate that CUBIC enables quantitative evaluation of infection and host responses in the mouse lung, revealing species- and strain-dependent patterns of bacterial localization and lymphatic involvement. This 3D platform provides a powerful tool for studying mycobacterial pathogenesis and for assessing antibiotic efficacy and novel therapeutic strategies.

FL2-01/P2-004

細胞融合法を用いた新規ファージ群の獲得

○金子 知義^{1,2}, 常田 聡^{1,2} (¹早大・先進理工学・生命医科, ²早大・ファージセラピー研)

Bacterial cell fusion enables isolation of novel phages

○Tomoyoshi Kaneko^{1,2}, Satoshi Tsuneda^{1,2} (¹Dept. Life Sci. Med. Biosci., Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., ²Phage Therapy Inst., Waseda Univ.)

【背景・目的】バクテリオファージは地球上に 1031 存在すると言われているが、単離されていない未知のファージが多数ある。我々は、細菌を融合させることで宿主の性質を変え、新たなファージ獲得を試みた。

【方法】大腸菌 JM109 と 4 種の細菌（マウス糞便由来大腸菌 TK001, *Citrobacter amalonaticus*, *Escherichia fergusonii*, *Atlantibacter hermannii*）をプロトプラスト融合法により融合し、複数の融合株を作製した。各融合株および両親株を用いて、2 種類の都市下水および養豚排水からファージスクリーニングを行い、40 株の臨床分離株パネルに対する感染スペクトラムを評価した。

【結果】親株から 92 株、融合株から 359 株のファージを獲得した。*C. amalonaticus* 融合株由来 80 株のうち 15 株 (18.8%) は両親株に全く感染せず、融合株特異的に獲得されたと考えられる (Type C)。さらに、融合株由来ファージの感染パターンの 95% (37/39 パターン) は親株由来ファージでは観察されない完全にユニークなものであった。Type C ファージは 40 株の臨床分離株に対して平均 1.5 株にのみ感染する極めて狭域スペクトラムを示し、特定の ESB� 産生大腸菌臨床分離株や *Salmonella enterica* 血清型 Enteritidis に特異的なファージが含まれ、標的細菌特異的な制御への応用が期待される。

【結論】細胞融合法により、従来法では検出不可能な新規ファージ群の単離が可能であることが示された。さらに、4 種の細菌ペア全てで融合株特異的なファージの獲得が確認されており、手法の一般性が示唆された。本手法はファージライブラリーの多様性向上を通じてファージの基礎研究や応用展開に貢献することが期待される。

FL2-02/P2-006

多様な根圏細菌に対する植物由来二次代謝産物クマリン化合物の影響

○平島 昇羽, 後藤 茉祐, 崔 宰熏, 河岸 洋和, 橋本 将典 (静大・農)

Effects of plant-derived secondary metabolite coumarin compounds on diverse rhizobacteria

○Sho Hirashima, Mayu Goto, Jae-Hoon Choi, Hirokazu Kawagishi, Masayoshi Hashimoto (Fac. Agr., Shizuoka Univ.)

根圏微生物叢は、植物の根の周辺領域である根圏に生息する微生物群集であり、植物の養分吸収を促進したり、病原体から保護したりする役割を持つ。モデル植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の根から分泌されるクマリン化合物は、鉄欠乏土壌における根圏細菌叢の群集形成に関与する。本研究では、クマリン化合物による細菌叢制御メカニズムを、化合物の構造活性相関および細菌側の代謝応答の両面から解明することを目的とした。はじめに、主要なクマリン化合物であるスコボレチンとフラキセチンを、多様な分類群に属する 39 株の根圏細菌の培養液に添加し、増殖を測定した。その結果、フラキセチンはおよそ半数の 19 菌株の増殖を阻害した。続いて、抗菌活性に基づきクマリン化合物及び類似化合物の構造活性相関を調べたところ、フラキセチンと共通してカテコール基を有するクマリンであるエスクレチンやダフネチンは、同程度の抗菌活性を示した。一方、カテコール基を欠く誘導体はフラキセチンやエスクレチンよりも抗菌活性が弱かった。これにより、根圏細菌に対する抗菌活性には、クマリン基本骨格とカテコール基の共存が必須であることが明らかになった。さらに、クマリン化合物に対する耐性あるいは代謝能を持つ根圏細菌を探索するため、エスクレチン含有固形培地に各根圏細菌をスポットした。スクリーニングの結果、5 つの耐性菌を見出し、そのうち 2 菌株はエスクレチンを代謝することが示唆された。これらの結果に基づき、カテコールクマリン化合物の根圏細菌に対する抗菌作用のメカニズムと根圏細菌による代謝の可能性について考察する。

FL2-03/P2-015

乾燥面の人肌加温は表面の細菌数の低減に貢献するか：多検体同時評価法の構築と有効域

○六渡 萌¹, 大久保 彦彰¹, 佐藤 豊孝², 山口 博之¹ (¹北大・院・保健科学, ²北大・院・獣医)

Body-Temperature Warming Efficacy on Bacterial Survivability via Multi-Sample Analysis

○Moe Rokuto¹, Torahiko Okubo¹, Toyotaka Sato², Hiroyuki Yamaguchi¹ (¹Fac. Health Sci., Hokkaido Univ., ²Fac. Vet. Med. Hokkaido Univ.)

高頻度接触面には多くの細菌が附着し接触感染の原因になる。私達は接触面の細菌数を恒常的に低減させる方策を検証してきた。先行研究にて人肌 (37°C) 程度に加温したデバイス上ではヒト病原細菌 (*E. coli* や *S. aureus*) の乾燥後生菌率が無加温時と比較し有意に減弱した (Konno et al., PLoS ONE 2023)。一方、この実験系では菌回収操作が煩雑で同時に多検体を処理できない。そこで同時に多検体を正確・簡便に評価できる方法を構築し、人肌加温による生菌数低減効果がどの種類の菌種・菌株に有効かを検討した。被検菌を懸濁し 96-well plate に既知濃度で接種。乾燥直後または温度 37°C 湿度 55% で 24 時間静置後に SCD 液体培地を添加、恒温比濁計で培養し濁度 (OD600) を経時的に測定した。濁度が閾値を超えるまでの所要時間を元に相対的な乾燥後生菌率を算出した。人体定着菌 (*E. coli*, *S. aureus* 等 n=25), 日和見感染菌 (*Acinetobacter* 等 n=5), 環境由来の低病原性菌・芽胞菌 (*Bacillus* 等 n=22) を用いた結果, *E. coli* や *S. aureus* 等の病原性細菌 (n=30) について測定した菌株のうち 9 割以上の菌株で有意に人肌加温による細菌数低減効果が見られた。環境細菌 (n=22) については *Bacillus* 属を中心に人肌加温の効果が乏しい菌株が多く見られた。双方とも同菌種でも菌株によって乾燥後生菌率に差が見られ、細菌の乾燥抵抗性は菌株レベルでも差異があることが示唆された。構築した実験系は細菌の乾燥後生菌率を多検体同時に評価することができ、菌種・菌株での比較を通して細菌の乾燥抵抗性を検証するのに貢献すると考えられた。現在 *E. coli* のバンデミッククローンを集めて人肌加温の有無で生菌率比較を検討中である。

FL2-04/P2-016

使用済みハードコンタクトレンズケース内部の衛生環境～バイオフィーム定量とマイクロバイオーム解析～

○後藤 紗也香, 河原 由衣, 田中 利枝, 木村 優那, 田原 宏輔, 上杉 晃司, 角出 泰造 ((株) メニコン)

Biofilm and microbiome assessment of hygienic status in used hard contact lens cases

○Sayaka Goto, Yui Kahara, Rie Tanaka, Yuna Kimura, Kosuke Tahara, Koji Uesugi, Taizo Sumide (Menicon Co., Ltd.)

コンタクトレンズ (CL) ケースに存在する微生物は CL を介して眼に持ち込まれ、眼感染症のリスクを高める可能性があることから、ケース内部の衛生環境に着目してきた。先行研究により、ハード CL ケースの衛生環境に問題があることが示唆されている。本研究では、ハード CL ケースの使用期間とバイオフィーム量の関係を詳細に分析するとともに、レンズケース内部のマイクロバイオーム解析を実施した。1. バイオフィーム定量：108 個の使用済みレンズケースをクリスタルバイオレットで染色し、吸光度を測定した。使用期間について、3 カ月、6 カ月、12 カ月を基準として設定し、基準値以上の群と基準値未満の群の 2 群間比較をそれぞれ実施した。その結果、いずれの比較においても使用期間が長い群の吸光度が有意に高かった (Welch's t test, $p < 0.01$)。特に、使用期間が 6 カ月を超えると吸光度が顕著に増加する傾向が見られ、バイオフィームの蓄積が顕著になることが示唆された。2. マイクロバイオーム解析：未使用 (n=5) 及び使用済み (n=23) レンズケースを対象に 16S rRNA シーケンシングを実施した。菌構成比解析の結果、未使用レンズケースでは環境由来細菌が多く検出されたのに対し、使用済みレンズケースでは *Corynebacterium* 属等の皮膚常在菌も検出された。 α 多様性解析の結果、使用済みレンズケースでは *chao1* 指数が有意に高く (Kruskal-Wallis test, $p < 0.05$)、未使用レンズケースと比較してレンズケース内部の細菌叢がより多様化することが示唆された。これらの結果より、レンズケース内部の衛生環境を適切に維持するためには、定期的なレンズケースの交換が重要だと考えられた。

FL2-05/P2-017

トリスによる崩壊処理技術を用いた角栓菌叢の網羅的解析

○矢野 剛久¹, 古川 紅², 梅原 香織², 生垣 信一² (¹花王株式会社安全性科学研究所, ²花王株式会社スキンケア研究所)

Comprehensive analysis of microbiota in keratotic plugs following disintegration with Tris

○Takehisa Yano¹, Kurenai Furukawa², Kaori Umehara², Shinichi Ikegaki² (¹Safety Science Lab, Kao Corporation, ²Skincare Lab, Kao Corporation)

Introduction: Human skin harbors diverse microbiota, each influencing skin conditions. Microbes, due to distinct physiological traits, localize differently across skin sites. Keratotic plugs within pores provide a unique environment—oxygen in poor and rich in sebum—favoring specific microbial populations. Yet, there has been no comprehensive and efficient techniques for analyzing plug microbiota. We developed a novel sampling technique that efficiently collects plugs and extracts resident microbes for localization analysis. **Methods:** Microbes were obtained from plugs by ejecting Tris (tris(hydroxymethyl)aminomethane) solution at high speed through a fine nozzle, enhancing Tris's disintegration ability. Skin-surface microbes were collected by swabbing. DNA was extracted and analyzed via 16S rRNA sequencing and single-locus sequence typing for *Cutibacterium acnes*. **Results and discussion:** Microbial diversity (Chao1 index) was higher in plugs, and community structure differed markedly from skin surfaces. Anaerobes, including specific *C. acnes* genotypes (e.g., 1A1, 1A2), were enriched in plugs. These findings indicate plugs harbor distinct, diverse communities. The prevalence of certain *C. acnes* genotypes suggests a link to acne, and targeting these genotypes within plugs may offer new strategies for managing *C. acnes*-associated inflammation.

FL2-06/P2-019

大腸炎抑制活性を有する腸内芽胞菌の同定と単離

○沖 梨咲子¹, 田中 一己^{2,3,4}, 野村 暢彦^{5,6,7}, 尾花 望^{7,8}, 福田 真嗣^{2,3,4,8,9} (¹筑波大・理工情報生命, ²慶大・先端生命研, ³神奈川産技総研, ⁴順天堂大・医, ⁵筑波大・生命環境系, ⁶筑波大・TIAR, ⁷筑波大・MICS, ⁸筑波大・医学医療・TMRC, ⁹(株)メタジェン)

Isolation and identification of colitis-suppressing sporulating gut bacteria

○Risako Oki¹, Kazuki Tanaka^{2,3,4}, Nobuhiko Nomura^{5,6,7}, Nozomu Obana^{7,8}, Shinji Fukuda^{2,3,4,8,9} (¹Life Ear. Sci, Univ. Tsukuba, ²Inst. Adv. Biosci., Keio Univ., ³KISTEC, ⁴Inst. Med., Univ. Juntendo, ⁵Fac. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ⁶TIAR, Univ. Tsukuba, ⁷MICS, Univ. Tsukuba, ⁸TMRC, Inst. Med., Univ. Tsukuba, ⁹Metagen, Inc.)

腸内細菌叢は炎症性腸疾患などの宿主の病態形成に密接に関わることが知られている。また、腸内では難消化性炭水化物である MACs (Microbiota Accessible Carbohydrates) によって腸内細菌叢が変化することや、腸内細菌による MACs の質化により有益な代謝産物が生産される。我々は MACs の一つとして大腸炎抑制効果を持つ米ぬかに着目した。先行研究により米ぬかを摂取したマウスの腸内芽胞菌が大腸炎抑制活性を有することが明らかになった。本研究では、米ぬか摂取マウスの腸内細菌叢より大腸炎抑制活性を有する芽胞菌を単離および同定することを目的とした。米ぬか摂取マウス由来の腸内芽胞菌を様々な培地で培養し、出現したコロニーを回収した。各培地から回収した細菌を定着させたノトパイオートマウスに Dextran Sodium Sulfate (DSS) を投与し、大腸炎を誘発させ、各細菌群の大腸炎抑制活性を評価した。その結果、単独の培地から回収した細菌群では大腸炎は抑制されなかった。一方で、複数の培地から回収した細菌群を混合し、これを定着させたノトパイオートマウスでは、大腸炎症状が抑制される傾向が観察された。以上の結果より、大腸炎抑制活性には多様な腸内芽胞菌種から構成される集団が必要であることが示唆された。今後は、様々な培地から芽胞菌を個別に単離し、様々な組み合わせで活性を試験することにより、大腸炎抑制に必須な最少の細菌の組み合わせを決定することを目指す。本研究の成果はプロバイオティクスを利用した新たな大腸炎治療法の開発に繋がることが期待される。

FL2-07/P2-021

世界 62 カ国 4 万 4 千サンプルの大規模比較メタゲノム解析によるアフリカ人腸内細菌叢の地域特異性の解明

○村井 皓太郎¹, 鈴木 穰², 西嶋 傑² (1東京大・理・生物情報科学, 2東京大・新領域)

Global metagenomics of 44,000 samples from 62 countries reveals African gut microbiome signatures

○Kotaro Murai¹, Yutaka Suzuki², Suguru Nishijima² (1Dept. Bioinform. Syst. Biol., Fac. Sci., Univ. Tokyo, 2LiSDac, Front. Sci., Univ. Tokyo)

Background: While the gut microbiome of industrialized countries has been well-characterized, the diversity, function and structure of that in developing regions, particularly in Africa, remain poorly understood. This study aimed to characterize the African gut microbiome using a global-scale metagenomic dataset.

Methods: We collected a large-scale shotgun metagenomic dataset comprising ~44,000 samples from 62 countries. Linear mixed models accounting for country were used to identify microbial species that distinguish African populations from non-African populations.

Results: We identified numerous gut microbial species significantly enriched or depleted in African populations. Particularly, non-photosynthetic cyanobacteria (class *Vampirovibrionia*, order *Gastranaerophilales*) were specifically enriched in African samples. Comparative genome analysis revealed that genomes of these clades were highly enriched in genes related to flagellar assembly and chitobiose transporters.

Discussion: Our global-scale analysis identified distinct signatures of the African gut microbiome compared to those of other populations. The enrichment of unique genes in *Gastranaerophilales* suggests their potential adaptations to specific niches within the human gut. This study highlights previously underappreciated diversity of the human gut microbiome, particularly in African populations.

FL2-08/P2-032

生体内を模した持続的低酸素実験系の構築とその中での *Chlamydia trachomatis* の細胞内動態

○結城 妃彩良, 出口 大揮, 辰宮 大翼, 大久保 寅彦, 山口 博之 (北大・院・保健科学)

Establishment of a Sustained hypoxia system and intracellular dynamics of *Chlamydia trachomatis*

○Kisara Yuki, Taiki Deguchi, Tsubasa Tatsumiya, Torahiko Okubo, Hiroyuki Yamaguchi (Fac. Health Sci., Hokkaido Univ.)

偏性細胞内寄生性細菌 *Chlamydia trachomatis*(Ct)は性感染症の主要な起因菌であり、子宮頸癌の危険因子にもなりうる。故に Ct の病態解明の鍵となる細胞内動態の理解は極めて重要である。一方、陰頸管粘膜面が低酸素に維持されていることから、ガス置換型低酸素チャンバーを用いて酸素分圧を 2%に調整した環境での Ct(L2/434/Bu 株)の細胞内増殖の様式を観察したところ通常酸素環境下(21%O₂)と比較して 10~100 倍程度菌数が増加することを発見した(Thapa et al, Microbs Infect, 2020)。しかし宿主細胞の維持や Ct の感染は生体内を模した低酸素環境で行われていなかった。そこで細胞培養低酸素ワークステーション InvivoO₂を導入し、持続的低酸素環境実験系を構築し、低酸素暴露条件を変えて Ct の感染細胞(HEp-2)とその細胞内での増殖の差異を調べた。実験に際し、従来の CO₂ 培養器は「通常酸素環境」、ガス置換型チャンバーを「部分的低酸素環境」、InvivoO₂を「全工程低酸素環境」と便宜的に定義した。また実験を行うまで通常酸素で継代維持した細胞を「低酸素非順化細胞」とし、一ヶ月以上 InvivoO₂内で維持した細胞を「低酸素順化細胞」とした。予備的な検討結果だが全行程低酸素環境で維持した細胞は部分的低酸素に比べ増殖速度が遅くなった。また Ct は全行程低酸素環境で培養した細胞内において部分的低酸素環境に比べ増殖菌数が低下した。これらの結果は、Ct の増殖スピードが通常酸素暴露時間に依存して変化する可能性を示唆している。現在、再現性も含め低酸素応答に関わる主要分子 (HIF-1α など)の動態について検討を加えている。

FL2-09/P2-034

バクテリオファージ NiC89 に耐性化した大腸菌における環境依存性トレードオフ

○小林 日夏¹, 藤本 純平¹, 佐藤 豊孝², 天野 有里加¹, 中村 暢宏³, 岩野 英知^{1,4} (1酪農大・獣医・生化学, 2北大・獣医・獣医衛生, 3カリフォルニア大・サンディエゴ校・医, 4早稲田大・総合研究機構・ファージセラピー研究所)

Environment-Dependent Trade-Offs in *E. coli* Resistant to Bacteriophage NiC89

○Hinatsu Kobayashi¹, Jumpei Fujiki¹, Toyotaka Sato², Yurika Amano¹, Tomohiro Nakamura³, Hidetomo Iwano^{1,4} (1Dept. Vet. Biochem., Vet. Med., Rakuno Gakuen Univ., 2Dept. Vet. Hygiene, Vet. Med., Hokkaido Univ., 3Dept. Med., California Univ., San Diego., 4Phage Therapy Institute, Waseda Univ.)

【背景】近年、薬剤耐性菌の拡大が世界的な公衆衛生上の課題となっている。このような背景のもと、細菌に感染して殺菌効果をもたらす“バクテリオファージ”を用いたファージ療法が再び注目されている。特に大腸菌 ST131 といったキノロン耐性大腸菌は、世界的な抗菌薬耐性感染症の原因である。そこで本研究では、薬剤耐性大腸菌に対するファージ療法の有用性を検討すべく、ST131 から分離されたファージについて検証した。【方法】複数のキノロン耐性大腸菌に感染する φNiC89 と大腸菌 BW25113 を用いてファージ耐性菌を取得し、変異部位の解析を行った。また、嫌気環境下での CFU 測定を行った。加えて、核酸合成経路に影響する薬剤を添加し、増殖抑制効果を評価した。【結果】BW25113 で取得したファージ耐性菌ではヌクレオシド特異的チャネル形成蛋白質前駆体をコードする遺伝子 *tsx* に変異が生じていたことから、φNiC89 の吸着部位は *Tsx* であると示唆された。また、好気環境では増殖に差がなかったが、特に嫌気環境では親株と比較して CFU が有意に減少していた。さらに核酸新規合成を阻害するヒドロキシウレアにより、好気環境においても増殖の抑制がみられた。【考察】*Tsx* はヌクレオシド取り込みに必要であることから、変異によりチャネル機能が喪失し、核酸の合成効率が低下した結果、嫌気条件下で増殖抑制が生じたと考えられる。本結果は、大腸菌に起因する子宮内膜炎や尿路感染症に対し、ファージ耐性化を予期した先回り戦略として、*Tsx* 認識能を有するファージを利用することがファージ療法の奏功性向上に有望であることを示唆する。今後は臨床株での検証と細胞障害毒性の評価を行う予定である。

FL2-10/P2-035

無菌マウス消化管内および消化管内容物内における *Helicobacter pylori* の生態と形態について

○北条 史¹, 大崎 敬子² (1杏林大・医・実験動物施設, 2杏林大・医・予防医学)

Ecology and Morphology of *Helicobacter pylori* in the Intestinal Tract and Contents of Germ-Free Mice

○Fuhito Hojo¹, Takako Osaki² (1Inst. Lab. Animals, Grad. Sch. Med., Kyorin Univ., 2Dept. Prevent. Med., Kyorin Univ., Sch. Med.)

Helicobacter pylori は世界人口の半数が保菌していると考えられ、胃・十二指腸潰瘍の原因菌である他、胃がんとの関連性も指摘されている細菌である。その感染経路については本菌の感染経路は、先進国での保菌率が低く発展途上国での保菌率が高いことから、衛生状態などに関連する水系-糞口感染が主な感染経路と推定されているものの、河川などの水系環境やヒトを含む感染動物の糞便からは培養に成功しておらず、全容は明らかになっていない。本菌は通常らせん状の構造を取るが、環境条件によって球状化することがあり、この形態は VBNC (Viable But Not Culturable: 生きているが培養できない) 状態であると考えられている。仮に本菌がこの VBNC 状態として糞便中に排出されるならば、「保菌動物の糞便から培養できないこと」、「衛生環境の悪い地域での高い陽性率」に説明をつけることができる。そこで本研究では球状化・VBNC 化した本菌が環境への分布に関与している可能性に着目し、無菌マウスへの感染実験を行い、生体内での *H. pylori* の生態と形態の変化について解析を行なった。PMA は *H. pylori* PMSS1 死菌の PCR 反応を阻害し、生菌の PCR 反応は阻害しなかった。動物実験では培養法、PMA-qPCR でも胃のサンプルからのみ本菌を検出した。透過型ならびに走査型電子顕微鏡観察の結果、胃の組織及び内容物のサンプルからは螺旋状および球状の菌が観察された。*H. pylori* は胃に定着しながら形態や生態を変えるものの、腸管内にはほとんど定着せずに排出されることが示唆された。

FL2-11/P2-047

マクロライド耐性遺伝子 *ermC* は枯草菌の表現型を多面的に変化させる

○采女 美生¹, 石川 一也¹, 三好 裕介¹, 古田 和幸¹, 三好 伸一², 垣内 力¹ (1岡山大学・院医歯薬 (薬), 2岡山大学・腸健康科学研究センター)

Macrolide resistance gene *ermC* induces pleiotropic phenotypic changes in *Bacillus subtilis*

○Mio Uneme¹, Kazuya Ishikawa¹, Yusuke Miyoshi¹, Kazuyuki Furuta¹, Shin-ichi Miyoshi², Chikara Kaito¹ (1Grad. Sch. Med. Dent. Pharm., Okayama Univ., 2Res. Cent. Intest. Health Sci., Okayama Univ.)

薬剤耐性遺伝子は、医療・畜産での抗生物質使用や排水を通じて多様な細菌に拡散し、微生物生態系に影響を与える。そのため、環境中の様々な細菌における薬剤耐性遺伝子の影響を明らかにすることは、公衆衛生と微生物生態学の両面で重要である。*ermC* は、グラム陽性細菌に頻繁に見出される薬剤耐性遺伝子であり、細菌の 23S rRNA A2085 をジメチル化することでマクロライド系抗生物質に対する耐性を導く。我々は、*ermC* が薬剤選択マーカーとして利用されている枯草菌遺伝子欠損株の表現型を解析する過程で、*ermC* が枯草菌のマクロライド耐性以外の表現型に影響することを発見した。本研究では、*ermC* が枯草菌の表現型に与える影響とその分子機構を解明することを試みた。枯草菌 *ermC* 発現株では、DNA 合成阻害剤であるシプロフロキシサシンや細胞壁合成阻害剤であるセフトジジムなどリボソームを標的とししない抗菌薬に対する耐性が上昇し、さらにバイオフィーム形成能が低下した。一方でジメチル化活性を失った変異型の *ermC* は、これらの表現型変化を引き起こさなかった。RNA-seq 解析により *ermC* 発現株における遺伝子発現を解析した結果、カタボライト制御を受ける遺伝子群など、複数の遺伝子の発現変化が見られた。以上の結果から、*ermC* による 23S rRNA のジメチル化は、遺伝子発現の変化などを介してマクロライド耐性に加え、多面的に細菌の表現型を変化させることを示唆している。本研究の結果は、薬剤耐性遺伝子が標的薬剤への耐性付与以外に影響を与えることを示しており、細菌の多剤耐性化への理解や実験における選択マーカーとしての薬剤耐性遺伝子の利用に対して重要な知見を提供する。

FL2-12/P2-057

腸炎ビブリオ感染オルガノイドモデルの構築と遺伝子発現解析の応用

○山下 舞花¹, Mohamad Al Kadi¹, 松田 重輝², 石井 英治², 坂口 大起³, 石川 昌和¹, 飯田 哲也², 榊原 修平¹, 児玉 年央⁴, 奥崎 大介¹ (1阪大・iFReC, 2阪大・微研・細菌感染, 3阪大・医・免疫制御学, 4長崎大・熱研・細菌)

Development of *Vibrio parahaemolyticus* Infected Organoid Models by Gene Expression Analysis

○Maika Yamashita¹, Mohamad Al Kadi¹, Shigeaki Matsuda², Eiji Ishii², Taiki Sakaguchi³, Masakazu Ishikawa¹, Tetsuya Iida², Shuhei Sakakibara¹, Toshiro Kodama⁴, Daisuke Okuzaki¹ (iFReC, Osaka Univ., 2Dept. Bact. Infect., RIMD, Osaka Univ., 3Dept. Microbiol. & Immunol., Sch. Med., Osaka Univ., 4Dept. Bacteriol., Inst. Trop. Med., Nagasaki Univ.)

腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) は海水や汽水域に生息し、汚染された海産魚介類の摂取によりヒトに食中毒を引き起こす。本菌は 2 種類の 3 型分泌装置 (T3SS1 および T3SS2) を保有する。従来、培養細胞株を用いた感染モデルでは T3SS1 による細胞死誘導が報告されている一方、T3SS2 は下痢患者由来株に特異的に存在し、感染動物モデルにおいて液体貯留の主因となることが示されている。このように、実験モデル間で病原性評価に差異がみられ、さらに動物モデルは宿主依存性の影響を受けるという制約がある。したがって、腸管病原性を詳細に解析するためには、*in vitro* と *in vivo* のギャップを埋める新たな実験系の確立が求められる。本研究では、ヒト正常細胞から作製可能で、複数の細胞種が自己組織化して形成される腸管オルガノイドに着目し、新規感染モデルの構築を行った。小腸上皮陰窩に含まれる幹細胞から腸管オルガノイドを樹立し、感染実験への応用を目的としてオルガノイド由来二次元単層培養系を作製した。病原性評価には、T3SS1 または T3SS2 の単独変異株、T3SS1 と T3SS2 の二重変異株、および野生型株を用い、経時的に感染させた後にバルク RNA-seq およびシングルセル RNA-seq 解析を行った。その結果、感染に伴う炎症応答関連パスウェイの有意なエンリッチメントが認められた。さらに、Caco-2 細胞モデルとの比較解析により、細胞種特異的な遺伝子発現変化や感染細胞の指向性が明らかとなった。現在、これらの結果をもとに、T3SS の種類による宿主応答の差異を評価し、腸管オルガノイドモデルの有用性を検討している。

FL2-13/P2-060

Actinomyces への *Mycobacterium* 由来プラスミド導入の試み

○大原 早紀子^{1,2}, 盛 宜娟¹, 西谷 悠希^{1,3}, 土佐 郁恵^{1,4}, 武部 克希⁵, 有村 友紀³, 目瀬 浩², 大原 直子⁶, 大原 直也^{1,4,7} (1岡山大院・医歯薬・口腔微生物, 2福山市民病院・口腔外科, 3岡山大院・医歯薬・顎口腔再建外科, 4岡山大・歯・先端領域研究セ, 5岡山大院・医歯薬・歯科薬理, 6岡山大院・医歯薬・歯科保存, 7岡山大・腸健康科学研究セ)

Introduction of *Mycobacterium*-derived plasmids into *Actinomyces*

○Sakiko Ohara^{1,2}, Yijuan Sheng¹, Yuki Nishiya^{1,3}, Ikue Tosa^{1,4}, Katsuki Takebe⁵, Yuki Arimura³, Hiroshi Mese², Naoko Ohara⁶, Naoya Ohara^{1,4,7} (1Dept. Oral Microbiol., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., 2Dept. Dent. Oral Surg., Fukuyama City Hospital, 3Dept. Oral Maxillofac. Reconst. Surg., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., 4ARCOCS, Dent. Schl., Okayama Univ., 5Dept. Dent. Pharm., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayam Univ., 6Dept. Operative Dent., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayam Univ., 7Res. Cent. Intest. Health Sci., Okayama Univ.)

Object: Genetic manipulation tools are essential to elucidate the pathogenic mechanisms of microorganisms. Several species of *Actinomyces*, including *Actinomyces israelii*, are present in the oral cavity and are causative agents of actinomycosis. However, efficient gene-editing tools have not yet been developed for these species, especially *A. israelii*. This study aimed to evaluate the introduction of foreign genes into *Actinomyces* using plasmids derived from *Mycobacterium*.

Methods: The *A. israelii* strain JCM12964 was cultured in BHI-Yeast extract-0.5% Tween 80 under anaerobic conditions. A *Mycobacterium-Escherichia coli* shuttle vector, pYT923S, which contains the replication origin of the *Mycobacterium scrofulaceum* plasmid pMSC262 and *E. coli* plasmid p15A, was constructed and introduced into *A. israelii* by electrotransformation.

Results and discussion: pYT923S was successfully introduced into *A. israelii* with the transformation efficiency approximately 7–66 CFU/μg of DNA. The average retention rate was 96.7%, with a standard deviation of 2.9%. Therefore, the pYT923S represents a useful genetic tool for *Actinomyces* and is expected to facilitate future studies on *Actinomyces* biology and pathogenicity.

FL2-14/P2-061

放線菌に対する膜透過性ペプチドを用いた新規導入技術開発の可能性

モリ テツシ, ○本多 涼音, 高 なつみ, Saruul Erdenebat, 岡崎 達 (農工大工・生命)

Exploring the Potential of Cell-Penetrating Peptides for Biomolecule Delivery into Streptomyces

Tetsushi Mori, ○Suzune Honda, Natsumi Taka, Saruul Erdenebat, Tatsuru Okazaki (Dept. Life Sci. and Biotech., TUAT)

放線菌が産生する二次代謝産物およびその誘導体は、抗生物質、抗寄生虫剤、その他の生理活性分子として医学・産業など幅広い分野で利用されている。そのため、既知二次代謝産物の収量向上や新規二次代謝産物の探索において、放線菌の遺伝子工学技術は極めて重要な位置を占めている。しかし、従来技術では菌株ごとの最適化が必要であるなど、依然として多くの課題が残っている。本研究では、放線菌へのより簡便かつ幅広い適用が可能な、膜透過性ペプチド (CPP) を用いた翻訳制御技術の確立を目指している。まず、モデル細菌として *Streptomyces avermitilis* を用い、CPP の導入およびその効率を検証した。蛍光顕微鏡による観察の結果、同株への CPP の導入が確認されている。次に、CPP が確実に細胞内部へ導入されていることを示すため、ハウスキーピング遺伝子に特異的に結合する膜透過性ペプチド-ペプチド核酸 (CPP-PNA) を用いて生育阻害実験を行った。その結果、*S. avermitilis* において明確な生育阻害が認められ、CPP-PNA が機能的に細胞内へ導入されていることが示された。また、CPP 単独、PNA 単独、非特異的 CPP-PNA プローブでは生育阻害が見られず、CPP-PNA による非特異的毒性は認められていない。以上の結果より、放線菌に対する CPP-PNA による特異的翻訳制御が可能であることが示唆され、CPP-PNA を用いた新たな生体分子導入システムとしての有用性と発展可能性が示された。

FL2-15/P2-062

グラム陽性菌に向けた有効な膜透過性ペプチドの探索

モリ テツシ, ○土井 双葉, Jaeyoung Yu, 岡崎 達 (農工大工・生命)

Discovery of Effective Cell-Penetrating Peptides for Molecular Delivery into Gram-Positive Bacteria

Tetsushi Mori, ○Futaba Doi, Jaeyoung Yu, Tatsuru Okazaki (Dept. Life Sci. and Biotech., TUAT)

膜透過性ペプチド (CPP) は、陽イオン性および両親媒性残基を多く含む短鎖ペプチドであり、さまざまな分子を細胞内へ送達する能力をもつ。細菌への応用も試みられてきたものの、特に厚いペプチドグリカン層を有するグラム陽性菌では、その導入効率が低く、依然として課題が残っている。本研究では、複数のグラム陽性菌に対して、効率的かつ低毒性で細胞内部への分子送達を可能にする CPP の同定を目的とした。まず、当研究室が保有するアミノ酸組成および鎖長の異なる合成ペプチドライブラリを利用し、複数のグラム陽性のモデル細菌に対してスクリーニングを行った。その結果、非天然アミノ酸である 2,4-ジアミノブタン酸 (Dab) から構成される 12 残基のカチオン性ペプチド Dab₁₂ が、最も高い導入効率を示す CPP であることが明らかとなった。さらに、同スクリーニングにより、オルニチン (Orn) 8 量体である Orn₈ も効果を示すことが確認された。Orn₈ は芽胞形成菌において、芽胞状態であるときに選択的な透過性を示し、非芽胞状態ではほとんど透過しないという特異的な性質をもつ。この特徴から、Orn₈ は芽胞状態の細菌の特異的標識や細胞内送達ツールとしての応用が期待される。一方、Dab₁₂ は幅広いグラム陽性菌に対して高い導入能を示しており、その細胞透過性と分子送達能力を活かして、細菌の生理機能解析、遺伝子制御技術への応用、さらには新規抗菌剤開発など、多様な研究分野に展開できる可能性が示された。

FL2-16/P2-063

ペプチド核酸を利用した細菌代謝経路の解析手法の開発

モリ テツシ¹, ○喜久山 優花¹, 川洲 佑悟¹, 小林 俊一¹, 周防 玲², 糸井 史朗², 浅野 竜太郎¹ (¹農工大工・生命, ²日大院・生物資源)

Development of a PNA-Based Method for Analyzing Bacterial Metabolic Pathways

Tetsushi Mori¹, ○Yuka Kikuyama¹, Yugo Kawabuchi¹, Shunichi Kobayashi¹, Rei Suo², Shiro Itoi², Ryutaro Asano¹ (¹Dept. Life Sci. and Biotech., TUAT, ²Grad. Sch. Biores. Sci., Nihon Univ.)

細菌において目的物質の高生産株を獲得するためには、変異株の作製による安定生産系の構築が必要である。しかし、従来の化合物生成に関わる酵素や代謝経路を特定する方法は遺伝子ノックアウトに依存しており、時間と労力を要する点が課題である。そこで本研究では、酵素機能および関連代謝経路を迅速かつ簡易に評価可能な手法として、膜透過性ペプチド-ペプチド核酸 (CPP-PNA) の利用を検討した。まず、モデル生物としてシアノバクテリア *Synechocystis sp.* PCC6803 を用い、ハウスキーピング遺伝子を標的とした CPP-PNA による生育阻害評価を行い、細胞内取り込みおよび翻訳阻害効果を確認した。次に、標的酵素としてビルビン酸代謝に関与する D-乳酸デヒドロゲナーゼ (Ddh) を選択し、その mRNA を標的とする CPP-PNA を合成して細胞に導入した。Ddh タンパク質量およびビルビン酸・D-乳酸などの代謝産物量を、ウエスタンブロッティングおよび LC-MS により定量した。その結果、ハウスキーピング遺伝子を標的とした CPP-PNA は、24-48 時間以内に濃度依存的な生育阻害を示し、細胞内で翻訳阻害が生じていることが確認された。また、Ddh 標的 CPP-PNA の導入により Ddh タンパク質量の減少傾向が認められ、モデル細菌において標的タンパク質の翻訳阻害能を示した。導入 24 時間以内にビルビン酸が有意に蓄積し、遺伝子欠損株と類似する挙動が観察された。導入 48 時間後には細胞内 D-乳酸量の増加がみられ、メチルグリオキサール解毒を介した代替合成経路の関与が示唆された。以上より、CPP-PNA は *Synechocystis sp.* PCC6803 において、高生産株の作製に向けた迅速な物質生産経路解明の有用な技術となり得ることが示された。

FL2-17/P2-064

Engineered Phage Capsids Targeting *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm

○Esakiraj Palanichamy, 渡邊 真弥, 川口 智史, Peterkins Kumwenda Geofrey, 崔 龍洙 (Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

○Esakiraj Palanichamy, Shinya Watanabe, Tomofumi Kawaguchi, Peterkins Kumwenda Geofrey, Longzhu Cui (Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

Pseudomonas aeruginosa is a Gram-negative opportunistic pathogen causing pneumonia and cystic fibrosis-associated lung disease, particularly in immunocompromised patients. Biofilm formation is a key virulence factor of *P. aeruginosa*, which is composed of extracellular polysaccharides, proteins, lipids and nucleic acids. This complex matrix enables them to attach to tissues, helps disease progression, and tolerance to antibiotics. This study aims to disrupt *P. aeruginosa* biofilms by targeting the major polysaccharides using engineered phage capsids carrying antibiofilm proteins, such as quorum sensing inhibition factor (QSIF) and a glycoside hydrolase (GH) enzyme. The corresponding genes were amplified from *P. aeruginosa* PAO1, cloned under the control of rhamnose-inducible promoter, and expressed in PAO1 strain. Following confirmation of the biofilm dispersal activity under rhamnose induction, phage capsids encapsulating these genes were constructed and purified. Both QSIF and GH loaded phage capsids inhibited biofilm formation of PAO1 strain and a clinical strain and achieved approximately 40-65% biofilm reduction. Notably, the GH-loaded capsid can hydrolyze and disrupt mature PAO1 biofilms. This study highlights the potential of engineered phage capsids as a versatile platform for delivering antibiofilm proteins for targeting the recalcitrant *P. aeruginosa* infections.

FL2-18/P2-068

2004~2023 年に北海道で分離された牛由来 *Salmonella* Dublin の解析

○山田 真喜子¹, 山本 彩乃², 新井 暢夫³, 増子 朋美⁴, 小林 亜由美⁵ (¹北海道・檜山家保, ²北海道・十勝家保, ³農研機構・動衛研, ⁴北海道・上川家保, ⁵北海道・網走家保)

Analysis of *Salmonella* Dublin isolated from cattle in Hokkaido from 2004 to 2023

○Makiko Yamada¹, Ayano Yamamoto², Nobuo Arai³, Tomomi Masuko⁴, Ayumi Kobayashi⁵ (¹Hiyama Live. Hygi. Serv. Cent. Hokkaido Pref., ²Tokachi Live. Hygi. Serv. Cent. Hokkaido Pref., ³Natl. Inst. Anim. Health, NARO, ⁴Kamikawa Live. Hygi. Serv. Cent. Hokkaido Pref., ⁵Abashiri Live. Hygi. Serv. Cent. Hokkaido Pref.)

【はじめに】近年北海道で *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin (SD) による牛サルモネラ症の発生が増加している。道内の SD 分離株の性状を明らかにするため、2004~2023 年の分離株の解析を実施した。【材料及び方法】道内分離株 88 株の全ゲノムを解析し、コアゲノム-塩基多型による系統解析、薬剤耐性遺伝子及びプラスミドの検索を実施した。併せて 23 薬剤を用い、薬剤感受性試験を実施した。【結果及び考察】分離株は 3 つのクレード (C) に区分された。C1 は 19 株で 2004~2020 年に道東, C2 は 18 株で 2019~2023 年に道東, C3 は 51 株で 2015~2022 年に全道で分離された株で構成され、C2, C3 は遺伝的に近縁だった。薬剤耐性遺伝子は、C1 は *aph(3')-IIa*, *aph(6)-Ic* の保有率, *gyrA*(D87Y) 変異検出率が 100%, C2, C3 は *aph(3')-Ib*, *aph(6)-Id*, *bla_{CMY-2}*, *floR*, *sul2*, *tet(A)* の保有率が 94~100%, さらに C3 は *gyrA* (D87N) の変異検出率が 100% だった。プラスミド検索の結果、C1 は 16%, C2, C3 は 98% 以上の株が IncC プラスミドを保有していた。薬剤感受性試験では、C1 は 3 剤, C2, C3 は 7~9 剤に耐性で、保有する耐性遺伝子に関連する薬剤に一致して耐性傾向を示した。また、第三世代セファロスポリン耐性株が C2, C3 で確認された。分離株は C1, C3, C2 と変遷し、2014 年以前は分離場所が道東に限局していたが、2015 年以降 C3 が全道に浸潤した。C3 以降の多剤耐性化は薬剤耐性遺伝子を搭載した IncC プラスミドの獲得が要因と推察された。また、キノロン耐性決定領域の変異も確認され、さらなる耐性化が危惧される。有効薬剤の選択と抗菌薬の慎重使用が重要である。

FL2-19/P2-069

遺伝型・表現型特性は乳牛農場環境における大腸菌の持続性を促進する

○Ida Munfarida¹, Akiko Nakashima², Jant Cres Caigoy¹, Christian Xedzro¹, Naoki Suzuki³, Toshi Shimamoto¹, Tadashi Shimamoto¹ (¹広島大院・統合生命科学研究所, ²広島大・先端生物科学研究科, ³広島大・酪農エコシステム技術開発センター)

Genotypic - phenotypic traits promote *Escherichia coli* persistence in dairy farm environments

○Ida Munfarida¹, Akiko Nakashima², Jant Cres Caigoy¹, Christian Xedzro¹, Naoki Suzuki³, Toshi Shimamoto¹, Tadashi Shimamoto¹ (¹Grad. Sch. Integrated Sci. Life, Hiroshima Univ., ²Sch. Applied Biol. Sci., Hiroshima Univ., ³Dairy Eco-Sys. R&D Ctr., Hiroshima Univ.)

Escherichia coli poses global health risks and persists across human, animal and environmental system. To investigate its environmental adaptation, we analyzed 954 isolates recovered from dairy farm environments at Hiroshima University. Isolates were screened for virulence, resistance, phylogroup, siderophore, and serotype using multiplex PCR. Biofilm formation and motility were assessed phenotypically. Virulence genes were detected in 6.6% of isolates, predominantly *astA* (44%) and *eaeA* (21%). Phylogroups B1 (60%) dominated. Antimicrobial resistance genes occurred in 36.5% of isolates, most frequently the combination *bla*_{TEM}+*tet*(A)+ *tet*(B) (43%). Siderophore genes were widespread (67%); all isolates carried (*entABCDEF*) and *tonB*, while *fecA* was most prevalent (33%). Two virulent isolates were serotype O26. Half of isolates formed biofilms, and 98% were motile. Only *eaeA*-positive isolates exhibited enhanced biofilm formation, while motility did not differ among virulence profiles. Biofilm and motility were not correlated; several resistance and siderophore genes showed weak negative associations with biofilm. Principal component analysis (PCA) indicated *fecA* clustered with motility. Overall, genotypic and phenotypic traits promote the persistence of *E. coli* in dairy farm environments.

FL2-20/P2-076

Streptococcus 属の口腔常在菌が眼表面に及ぼす影響について

○木村 優那, 佐々木 理衣, 水野 佳穂, 角出 泰造 (株式会社メニコン)

The impact of oral resident bacteria in the genus *Streptococcus* on the ocular surface

○Yuna Kimura, Rie Sasaki, Kaho Mizuno, Taizo Sumide (Menicon Co.,Ltd)

オルソケラトロジー (OK) は特殊形状のハードコンタクトレンズを就寝時に装用し、角膜前面を平坦化することで近視を一時的に矯正する治療法である。レンズケースは洗面台で乾燥・保管されることが多く、先行研究では実使用 OK レンズケースから複数の *Streptococcus* 属の口腔常在菌が検出されており、これらの口腔常在菌が共存することによる他細菌のバイオフィーム形成能の上昇やアカントアメーバの増殖促進が確認されている。さらに、近年では口腔常在菌の全身疾患への関与が報告されており、眼組織は口腔常在菌の影響を受ける可能性が考えられる。したがって、眼感染症予防の観点から、口腔常在菌と眼組織の最表面である角膜の相互作用を解明することは重要である。

本研究では、レンズケースに混入する恐れのある *Streptococcus* 属の口腔常在菌が眼表面に及ぼす影響を明らかにするため、*Streptococcus* 属 (*S. salivarius*, *S. parasanguinis*, *S. mutans*, *S. oralis*) と眼感染症原因菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) の培養上清をヒト角膜上皮細胞に曝露し、細胞生存率と炎症性関連因子 (IL-6, IL-8, MMP-9) を測定した。

各細菌の培養上清を 100%, 50%, 25%, 12.5% に希釈し、ヒト角膜上皮細胞に 3, 5, 24 時間曝露したところ、50% 希釈で全時間 80% 以上の生存率が維持されたため、この条件で炎症性関連因子を評価した。*S. salivarius*, *S. mutans*, *S. oralis* はコントロールと同程度であったが、*S. parasanguinis* では IL-6, IL-8, MMP-9 が *S. aureus* と同程度まで増加した。

以上より、*Streptococcus* 属の口腔常在菌が眼表面において炎症応答を誘導する可能性が示唆された。

FL2-21/P2-082

乳酸菌由来可溶性ペプチドグリカンの細胞増殖活性

○野口 翔¹, 中山 ももこ², 江口 正浩², 尾之上 さくら¹, 香西 博明¹, 川原一芳¹ (¹関東学院大・理工, ²農研機構・動衛研)

Cell proliferation activity of solubilized peptidoglycan derived from lactic acid bacteria

○Sho Noguchi¹, Momoko Nakayama², Masahiro Eguchi², Sakura Onoue¹, Hiroaki Kouzai¹, Kazuyoshi Kawahara¹ (¹Col., Sci., Eng., Kanto Gakuin Univ., ²National Inst. Animal Health, NARO)

【目的】細菌細胞壁に存在するペプチドグリカン (PG) の部分構造であるムラミルジペプチド (MDP) や γ -D-グルタミル-meso-ジアミノピメリン酸 (iE-DAP) は、それぞれ細胞内受容体 NOD2 と NOD1 に認識され、免疫系の全般的な活性化へ繋がることから、PG はワクチンアジュバントとして有用であると考えられている。我々はこれまでに、PG に MDP のみを持つ *Levilactobacillus brevis* および MDP に加え iE-DAP を持つ *Lactiplantibacillus plantarum* から可溶性 PG を調製した。さらに、可溶性 PG の糖部分を過ヨウ素酸酸化により破壊し MDP の活性を減弱させた過ヨウ素酸酸化 PG を調製した。本研究では、これらの PG について RAW264.7 細胞およびマウス脾細胞を用いて細胞増殖活性を測定した。【方法と結果】マウスマクロファージ様細胞である RAW264.7 細胞および BALB/c マウス (週齢 14 週, メス) から調製した脾細胞に各 PG 画分を添加し、24 h, 48 h 培養後の生細胞数を Cell Counting Kit-8 を用いて測定した。その結果、RAW264.7 細胞ではいずれの PG 画分にも細胞増殖活性が認められ、培養 24 h 後では *L. plantarum* 過ヨウ素酸酸化 PG 添加による生細胞数が最も高い値を示し、培養 48 h 後では *L. plantarum* 可溶性 PG が最も高い値を示した。この結果から、MDP と iE-DAP の活性は経時的に異なることが示唆された。マウス脾細胞については、いずれの PG 画分添加においても、培養 48 h 後に生細胞数が約 1.08 から 1.13 倍に増加することが認められた。従って、これらの PG 画分は脾細胞に対するマイトジェン活性を有すると考えられた。

FL2-22/P2-090

免疫受容体と細菌性リガンド双方の遺伝的多様性が示唆する、宿主-病原体の攻防

○長谷川 玄¹, 平安 恒幸¹, 竹本 訓彦², 荒瀬 尚^{3,4,5}, 山口 雅也^{6,7}, 川端 重忠^{5,7}, 華山 力成¹ (¹金沢大・eSRC, ²JiHS・国立国際医療研究・感染症制御, ³阪大・微研・免化, ⁴阪大・免フロ・免化, ⁵阪大・CiDER, ⁶医薬基盤・健康・栄養研, ⁷阪大・院歯・微生物)

Genetic diversity in immune receptors and bacterial ligands suggests coevolutionary dynamics

○Gen Hasegawa¹, Kouyuki Hirayasu¹, Norihiko Takemoto², Hisashi Arase^{3,4,5}, Masaya Yamaguchi^{6,7}, Shigetada Kawabata^{5,7}, Rikinar Hanayama¹ (¹eSRC., Kanazawa Univ., ²Dept. Infect. Dis., NIGHM, JiHS., ³Dept. Immunochem., RIMD, Osaka Univ., ⁴Lab. Immunochem., IFREC, Osaka Univ., ⁵CiDER, Osaka Univ., ⁶NIBN, ⁷Dept. Microbiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)

Paired receptors consist of activating and inhibitory forms with homologous extracellular domains that recognize shared ligands yet transmit opposing signals. Differences in expression or structure modulate cellular activation thresholds. Leukocyte immunoglobulin-like receptors (LILRs) represent one such family, with inhibitory LILRBs and activating LILRAs. Within this family, LILRB3 and LILRA6 exhibit high extracellular sequence homology, making them indistinguishable by antibodies. These receptors show extensive allelic and copy number variations, suggesting that polymorphic configurations fine-tune the balance between inhibitory and activating signals. We hypothesized that pathogenic microorganisms exerted selective pressure driving this diversification. Through systematic screening, we identified a cell wall-associated bacterial protein as a ligand for LILRB3/LILRA6. Ligand binding affinities varied among LILR alleles, suggesting an important role in interindividual susceptibility. A pilot study showed associations between infection history and *LILRB3/LILRA6* polymorphisms. The bacterial ligand also exhibits allelic diversity and dynamic expression switching mediated by repetitive elements, influencing biofilm formation in vitro. This reciprocal diversity suggests a host-pathogen arms race, reflecting continuous coevolution shaping immune recognition and bacterial virulence.

FL2-23/P2-093

抗菌ペプチド LL-37 は老化細胞に作用して細胞死と SASP 因子の放出を誘導する

三田 一樹¹, 鈴木 香², 熊谷 由美², 射場 敏明¹, 〇長岡 功¹ (¹順天堂大・医療科学, ²順天堂大・医・生化・生体システム医科)

Antimicrobial peptide LL-37 induces cell death and release of SASP factors in senescent cells

Kazuki Santa¹, Kaori Suzuki², Yumi Kumagai², Toshiaki Iba¹, 〇Isao Nagaoka¹ (¹Far. Med. Sci. Juntendo Univ., ²Dept. Biochem. Syst. Biomed., Juntendo Univ. Grad. Sch. Med.)

抗菌ペプチド LL-37 は細菌など微生物に対して殺菌作用を発揮する分子として発見された。しかし、近年の研究によって、免疫担当細胞に作用して細胞死やサイトカイン生成を誘導することが明らかにされ、多機能性の生体防御分子として注目されている。一方、老化に伴う炎症反応の増強に、老化細胞から放出される炎症性サイトカインなどの SASP 因子 (senescence-associated secretory phenotype) が関与すること、そして老化細胞に細胞死を誘導して老化細胞を除去すると炎症反応が減弱することが報告されている。そこで本研究では、LL-37 の老化細胞に対する作用を、細胞死の誘導と SASP 因子の放出に注目して検討した。

A549 肺上皮細胞をエトポシドで処理すると、細胞老化マーカーである β -ガラクトシダーゼ染色と p21 の発現が増加したことから、細胞老化の誘導が確認された。そこで、老化 A549 細胞に LL-37 を作用させたところ、アポトーシスが誘導される一方で、炎症性サイトカインである IL-6 が生成されることがわかった。そして、阻害剤を用いた実験によって、LL-37 は、caspases シグナルと NK-kB シグナルを介して、アポトーシスと IL-6 の生成をそれぞれ誘導することがわかった。さらに、免疫染色によってアポトーシスの誘導と IL-6 生成が同じ細胞でおきていることが確認された。なお、老化させたヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) においても同様の結果が得られた。

今回の結果は、LL-37 が老化細胞に作用して、アポトーシスを誘導することによって細胞機能を低下させ、さらに SASP 因子を放出することによって炎症反応を増強させる可能性を示し、LL-37 が宿主に防御的に働くという従来の考え方に一石を投じるものである。

FL2-24/P2-095

黄色ブドウ球菌は Aurora kinase A 活性化を介した ASC リン酸化によりインフラマソーム活性化を促進する

〇山内 肇, 松田 泰幸, 原 英樹 (旭川医大・医・感染症学微生物学)

Staphylococcus aureus induces ASC phosphorylation by activating Aurora A for inflammasome activation

〇Hajime Yamauchi, Yasuyuki Matsuda, Hideki Hara (Dept. Infect. Dis., Div. Microbiol. Immunochem., Asahikawa Med. Univ.)

Staphylococcus aureus causes various diseases, and the spread of antibiotic-resistant strains such as methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) necessitates the development of novel therapeutic strategies. Inflammasomes converge on the adaptor ASC, which nucleates caspase-1 activation, promoting maturation of IL-1 β and IL-18. Excessive inflammasome activation can exacerbate disease pathology during *S. aureus* infection. While tyrosine phosphorylation of ASC is important for inflammasome activation, the contribution of serine/threonine kinases to this process remains unclear. Immunoprecipitation analysis showed that *S. aureus* infection induced serine phosphorylation of ASC, which was reduced by treatment with the Aurora A inhibitor Alisertib. We generated ASC mutants with alanine substitutions at candidate serine residues and reconstituted them in *Pycard*-deficient macrophages. Macrophages expressing ASC S100A or S105A mutants showed reduced IL-1 β production, whereas cells expressing S16A or S92A mutants produced similar amounts of IL-1 β . Furthermore, Aurora kinase inhibitors reduced IL-1 β production in a dose-dependent manner. These results indicate that Aurora A promotes inflammasome activation through phosphorylation of ASC at S100 and S105, suggesting that Aurora kinase inhibitors may prove useful in treating MRSA infection as a promising host-directed therapeutic strategy.

FL2-25/P2-102

枯草菌由来膜小胞を利用した Plug-and-Display 型ワクチン作製方法の確立

〇若林 丈人¹, 安部 公博², 川端 寛樹², 佐藤 梢², 中尾 龍馬², 山口 雄大², 佐藤 勉¹, 明田 幸宏² (¹法政大・院理工・生命機能, ²国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所・細菌第一部)

Establishment of a Plug-and-Display type vaccine using *Bacillus subtilis* derived membrane vesicle

〇Takehito Wakabayashi¹, Kimihiro Abe², Hiroki Kawabata², Kozue Sato², Ryoma Nakao², Takehiro Yamaguchi², Tsutomu Sato¹, Yukihiro Akeda² (¹Grad. Sch. Sci. Eng., Hosei Univ., ²Dept. Bacteriol. I, NIID, JIHS.)

【背景】多くの細菌は、直径 20~400 nm の膜小胞 (Membrane Vesicles: MVs) を外部環境に放出する。先行研究から、非病原性グラム陽性菌である枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 由来の MVs が、強力なアジュバント活性を示すことが明らかとなった。そこで我々は、枯草菌由来 MVs を用いた、安全性の高いワクチンプラットフォームの創出を目指し、研究開発を行っている。

【方法】組換え抗原タンパク質を枯草菌由来の MVs 表層に結合させた Plug-and-Display 型ワクチンを作製した。まず、抗原の足場となるタンパク質である DogTag を MVs に結合させ、次いで抗原タンパク質と DogCatcher の融合タンパク質を、DogTag/DogCatcher 間のイソペプチド結合形成により共有結合させた。得られた MV ワクチンをマウスに 2 週間おきに 3 回経鼻投与し、血清および唾液を回収した。投与抗原特異的な抗体の産生を ELISA で評価した。

【結果・考察】モデル抗原 mScarlet-I を MVs 表層に結合させたワクチンの経鼻投与により、mScarlet-I に対する IgG および SIgA の産生が促進された。一方で、MV ワクチンの骨格に対する免疫原性は、抗原部分に比べて著しく低かった。さらに、ペスト菌 (*Yersinia pestis*) の莢膜タンパク質抗原 mCaf1 を結合させた MV ワクチン (MV-P) でも同様の結果が得られた。現在、MV-P ワクチンのペスト菌に対する感染防御能を動物実験により検証している。

FL2-26/P2-103

ウシ型結核菌弱毒株 BCG 由来の菌体外膜小胞を用いた結核ワクチン開発に向けた接種プロトコル最適化

〇吉川 唯衣^{1,2}, 山口 雄大¹, 富永 龍之介^{1,2}, 中村 知世^{2,3}, 西野 智彦^{2,3}, 安部 公博¹, 中尾 龍馬¹, 明田 幸宏¹ (¹感染研・細菌¹, ²工科大・応生・応用微生物, ³工科大・バイオニクス)

Optimization of immunization protocols for a BCG-derived membrane vesicle-based tuberculosis vaccine

〇Yui Yoshikawa^{1,2}, Takehiro Yamaguchi¹, Ryunosuke Tominaga^{1,2}, Tomoyo Nakamura^{2,3}, Tomohiko Nishino^{2,3}, Kimihiro Abe¹, Ryoma Nakao¹, Yukihiro Akeda¹ (¹Dept. Bacteriol. I, Natl. Inst. Infect. Dis., ²Sch. Biosci. Biotechnol., Tokyo Univ. Technol., ³Grad. Sch. Bionics, Tokyo Univ. Techno)

ウシ型結核菌弱毒株 BCG のワクチン接種は有効性が確立された唯一の結核予防法であるが、結核免疫の経時的減衰、BCG 感染症の副作用など、克服すべき課題が多い。我々は BCG 由来の菌体外膜小胞 (BCG-MVs) の結核ワクチンへの応用可能性を報告してきたが、その接種プロトコルは最適化されていない。本研究では接種経路ごとに最適な免疫回数を検討し、無細胞性で、感染症合併症のリスクが無い MVs を用いて安全で有効性の高い新規ワクチンの開発を目指す。抗原に BCG-MVs を、アジュバントにプロバイオティクス大腸菌 Nissle 1917 由来変異株から得た MVs を用いたワクチンを検討に用いた。それぞれの MVs は超遠心法で分離し、電界放出型走査電子顕微鏡でそれぞれの形態、SDS-PAGE でタンパク質発現プロファイルを確認した。6 週齢雌性 BALB/c マウスに、3 週間毎に経鼻接種 (IN)、皮下接種 (SC) または筋肉内接種 (IM) により免疫し、最終免疫から 2 週間後に血清、唾液、肺洗浄液、鼻腔洗浄液を得た。それぞれの検体を用いた酵素免疫測定法により抗 BCG 抗体の産生誘導を評価した。SC および IM では液性免疫が、IN では粘膜免疫が強く誘導されていた。また、IN および SC では 2 回よりも 3 回の免疫で、より強い抗体産生誘導が認められた。一方、IM は、2 回接種で SC よりも強く抗体産生を誘導しており、SC に対する IM の優位性が明らかとなった。今後、抗酸菌 (BCG および病原性結核菌) 感染実験によりその有効性を明らかにしていく。

FL2-27/P2-107

***Streptococcus mutans* temperate phage ΦKSM96 と相同性を有するファージの比較解析**

○山内 悠実^{1,2}, 西濱 早紀^{1,2}, 松尾 美樹^{2,3}, 久恒 順三⁴, 菅原 庸⁴, 柴 秀樹¹, 菅井 基行⁴, 小松澤 均^{2,3} (¹広島大・医系科学・歯髄生物学, ²広島大・医系科学・細菌学, ³広島大・院内感染症プロジェクト研究センター, ⁴国立健康危機管理機構・国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター)

Comparative analysis of bacteriophages homologous to *Streptococcus mutans* temperate phage ΦKSM96

○Yumi Yamauchi^{1,2}, Saki Nishihama^{1,2}, Miki Kawada-Matsuo^{2,3}, Junzo Hisatsune⁴, Yo Sugawara⁴, Hideki Shiba¹, Motoyuki Sugai⁴, Hitoshi Komatsuzawa^{2,3} (¹Dept. Biol. Endo., Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomed. HS, ²Dept. Bact., Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomed. HS, ³Pjt. Res. Ctr. for Nosocomial Infectious Dis., Hiroshima Univ., ⁴Japan Inst. Hlth. Secur. AMR Res. Ctr., Natl. Inst. Infectious Dis.)

【目的】*Streptococcus mutans* (*Sm*)はう蝕原性細菌であり、近年全身疾患との関連性が報告されている。う蝕の予防法としては物理的なブラーク除去や洗口剤等による化学的な除去、治療法は切削・拔牙が一般的である。しかし、口腔細菌叢を破壊しない *Sm* の選択的な除去方法は確立されていない。私たちは以前、*Sm* 臨床分離株 125 株から *Sm* 選択的殺菌活性を持つ temperate phage (T-phage) φKSM96 を分離し報告した。本研究では、*Sm* の T-phage の特性を検証することを目的として、新たに分離した臨床分離株からの T-Phage の探索と分離、ゲノム解析、および感受性の検証を行った。【方法】広島大学病院外来患者の口腔から、通法に従い新たに *Sm*94 株を分離した。全ゲノム解析後、Web サーバー“PHASTEST”にて T-phage を探索した。ファージ粒子の分離は、マイトマイシン C 処理した *Sm* 培養上清に PEG6000 を添加・遠心分離により行った。ファージ粒子数の測定は定量性 PCR を用い、ファージ活性は Soft agar-overlay assay で *Sm* 菌株に対する阻止円の形成で評価した。【結果】臨床分離 94 株から、φKSM96 ゲノムと高い相同性を有するファージゲノムを持つ *Sm*7 株を同定した。ファージゲノムを比較した結果、菌株間で遺伝子の部分欠失、点変異等が認められた。同じ条件で分離したファージの粒子数は株ごとに異なり、臨床分離 *Sm*12 株に対する各ファージの溶菌活性も多様性を示し、一部のファージでは活性を認めなかった。【結論】本研究では、φKSM96 様の完全長のプロファージにおいて、保有する株によりファージ遺伝子領域やファージ活性が異なることを明らかにし、プロファージ領域に変異等が生じることで多型性を示すことが考えられた。

FL2-28/P2-110

細菌ドメインに散在するスフィンゴイド塩基合成遺伝子ホモログによる大腸菌生育阻害

○川口 潤¹, 内山 拓樹², 岩井 伯隆², 豊福 雅典^{1,3,4}, 野村 暢彦^{1,3,4,5}, 和地 正明² (¹筑波大・生命環境, ²東京科学大・生命理工, ³筑波大・MiCS, ⁴筑波大・TIAR, ⁵筑波大・TARA)

Growth inhibition of *Escherichia coli* by sphingoid base synthesis genes scattered across bacteria

○Jun Kawaguchi¹, Hiroki Uchiyama², Noritaka Iwai², Masanori Toyofuku^{1,3,4}, Nobuhiko Nomura^{1,3,4,5}, Masaaki Wachi² (¹Fac. Life Envir. Sci., Univ. Tsukuba, ²Dept. Life Sci. Technol., Science Tokyo, ³MIICS, Univ. Tsukuba, ⁴TIAR, Univ. Tsukuba, ⁵TARA, Univ. Tsukuba)

スフィンゴ脂質は動物の細胞膜を構成する脂質の一種であり、スフィンゴイド塩基はその生合成中間体や代謝産物である長鎖脂肪酸アミンの総称である。一部のスフィンゴイド塩基は抗菌活性を持つことが知られており、近年では新規の抗菌薬候補として再注目されている。スフィンゴイド塩基は真核生物に広くみられる一方、細菌では非常に稀な分子であることから、これまで細菌が生産するものについてはほとんど研究されてこなかった。近年、これまでスフィンゴイド塩基を生産しないとされてきた細菌でも、その生合成遺伝子ホモログを持つことが報告された。本研究ではこれらの細菌が、抗生物質としてスフィンゴイド塩基を生産している可能性について調べた。より抗菌活性の高いスフィンゴイド塩基の発見や、スフィンゴイド塩基の作用機序への理解が深まることが期待される。データベース探索と系統解析の結果から、ガンマプロテオバクテリア綱に属する一部の細菌株がスフィンゴイド塩基合成遺伝子ホモログを保持していることを見出した。それらの遺伝子は大腸菌へ異種発現させると、大腸菌の生育を阻害することが確認された。また、発現を誘導した大腸菌細胞内には、Nile Red で染色されるスフィンゴイド塩基由来と思われる疎水性顆粒が蓄積することが確認された。これらの結果は、細菌ドメインに散在するスフィンゴイド塩基合成遺伝子ホモログが潜在的にスフィンゴイド塩基を生産し得ることや、それらが抗菌的に働く可能性を示唆している。

FL2-29/P2-115

黄色ブドウ球菌の脂肪酸感受性の多様性と抗菌薬との相乗効果に関する検討

○麻田 恭之^{1,2}, 大段 慶十朗^{1,3}, 鈴木 優仁¹, 松尾 美樹¹, 相川 友直³, 柳本 惣市², 小松澤 均¹ (¹広島大・医系科学研究科細菌学, ²広島大・医系科学研究科口腔腫瘍制御学, ³広島大・医系科学研究科口腔外科学)

A Study on the Diversity of Fatty Acid Sensitivity in *Staphylococcus aureus*

○Yasuyuki Asada^{1,2}, Keijuro Ohdan^{1,3}, Yujin Suzuki¹, Miki Kawada-Matsuo¹, Tomonao Aikawa³, Souiti Yanamoto², Hitoshi Komatsuzawa¹ (¹Dept. Bacteriology, Grad. Sch. Biomedical Sciences, Hiroshima Univ., ²Dept. Oral Oncology, Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, Hiroshima Univ., ³Dept. Oral and Maxillofacial Surgery, Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences Hiroshima Univ.)

【背景】黄色ブドウ球菌 (*S. aureus* : *Sa*) は鼻腔・口腔に広く定着し、多様な脂肪酸に晒されている。特にリノール酸 (LA) やパルミトオレイン酸 (POA) は生体由来脂肪酸として抗菌活性を有するが、*Sa* の脂肪酸感受性の多様性や抗菌薬との相乗効果については十分に検討されていない。本研究は、臨床分離 *Sa* を用いて LA・POA 感受性を比較し、さらにオキサリリン (MPIPC) およびゲンタマイシン (GM) との相乗効果を評価することを目的とした。【方法】鼻腔・口腔から分離した *Sa* 238 株 (広島大学倫理承認 E-2525) を対象とした。*Sa* 数株を用いて 6 種脂肪酸の最小発育阻止濃度 (MIC) およびディスク拡散法により検証した。LA と POA については *Sa*238 株の脂肪酸感受性を検討した。さらにチェッカーボード法による FIC index を用いて抗菌薬との相乗効果を判定した。また、種々の濃度の脂肪酸の増殖に及ぼす影響について検討した。【結果】LA は菌株間で多様な MIC (37.5～1200μM) を示したが、POA の MIC はほぼ同程度 (37.5～150μM) であった。鼻腔由来株は口腔由来株より LA に対する感受性が低い傾向を示した。MPIPC および GM とともに LA との併用で FIC index < 0.5 を呈し、相乗効果を認めた。sub-MIC 濃度の LA/POA 添加により、増殖抑制が認められた。【考察】*Sa* の脂肪酸感受性は脂肪酸の種類や菌株により多様であり、LA・POA は抗菌薬との相乗効果を示した。脂肪酸と抗菌薬の併用は、*Sa* 感染制御における新たな治療的意義を持つ可能性が示唆された。

FL2-30/P2-126

フィトスフィンゴシンを用いた歯周病予防の検討

○栗飯原 睦美¹, 佐藤 尚哉¹, 谷口 美羽¹, 湯本 浩通², 白井 昭博¹, 田中 保¹ (¹徳島大院・社会産業理工学研究部, ²徳島大院・医歯薬学研究部)

A Study on the Prevention of Periodontal Disease by Phytosphingosine

○Mutsumi Aihara¹, Naoya Sato¹, Miu Taniguchi¹, Hiromichi Yumoto², Akihiro Shirai¹, Tamotsu Tanaka¹ (¹Grad. Sch. Tech. Indust. & Social Sci., Tokushima Univ., ²Grad. Sch. Inst. Biomed. Sci., Tokushima Univ.)

Periodontal disease affecting one in two Japanese people, causes tooth loss and is known to be associated with various systemic diseases, such as Alzheimer's disease, diabetes mellitus, coronary artery disease, pneumonia, and preterm birth. Preventing periodontal disease requires brushing and regular plaque removal, making a convenient and effective preventive method highly desirable. *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*), one of major pathogenic bacterium, is frequently isolated from periodontal pockets in diseased sites. Effective methods to inactivate *P.g.* are essential for the prevention and treatment of periodontal disease. This study focused on phytosphingosine (PSph), known for its antimicrobial properties, to verify its bactericidal effect against *P.g.* and analyzed its mechanism. *P.g.* ATCC 33277 anaerobically cultured was adjusted under specified CFU and treated with various concentrations of PSph to determine the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration. This study demonstrated that PSph exerts bacterial growth inhibitory and bactericidal effects at a concentration dependent manner. The mechanism was investigated using cell membrane permeability assessment and zeta potential measurement. These findings indicate that PSph has strong bactericidal activity against *P. g.* and potentially contributing to the prevention of periodontal disease.

FL2-31/P2-129

細菌のべん毛運動を抑制する漢方大黃由来ラタンニンの作用機序解析

○坂本 桃菜¹, 木村 宇輝¹, 常世田 好司¹, 楳田 みのり², 大崎 久美子², 石原 亨², 柴田 敏史^{3,4} (1鳥取大・医・生命, 2鳥取大・農・生命環境農学, 3鳥取大・医・感染制御・細菌, 4鳥取大・鳥センター)

Analysis of Flagellar Motility Inhibition Mechanisms by Rhatannin

○Momona Sakamoto¹, Uki Kimura¹, Koji Tokoyoda¹, Minoru Umeda², Kumiko Osaki², Atsushi Ishihara², Satoshi Shibata^{3,4} (1Sch. Life Sci., Fac. Med., Tottori Univ., 2Dept. Agric., Life & Environ. Sci., Fac. Agric., Tottori Univ., 3Div. Bacteriol., Dpt. Microbiol & Immunol., Fac. Med. Tottori Univ., 4AIDGH, Tottori Univ)

薬剤耐性菌の拡大は世界的な脅威であり、新たな抗菌手段の創出が求められている。我々は細菌のべん毛運動を抗菌標的として、その抑制剤の開発を目指している。本研究では便秘薬として処方される漢方大黃に含まれるポリフェノールの一種 Rhatannin (ラタンニン) がヒト・動物・植物へ感染する様々な病原性細菌のべん毛運動を抑制することを明らかにした。ラタンニンを 1mg/ml 添加した LB 培地でサルモネラを 6 時間培養したところ菌の増殖には影響しなかったが、運動率は対称群の 95%に対して処理群は 1% まで低下していた。この時、べん毛構築関連遺伝子 *flhC*, *flhA*, *flhC* の発現は有意に抑制されており、1 菌株当たりのべん毛数も 4.3 本から 0.1 本まで減少していた。ラタンニンはフェノール基を多く含む、菌体外膜に作用していると考えられる。現在、膜障害の評価と膜障害ストレス応答関連遺伝子の発現変動解析を行ない、ラタンニンがどのようにべん毛運動を抑制するのか、作用機序の解明を進めている。また、動物、植物感染モデルを用いて感染抑制効果を調べている。べん毛運動は細菌の感染に重要であり運動性が低下した細菌の病原性は低下することが知られている。さらに、運動性が低下した細菌は自然淘汰や免疫によって排除されやすくなると考えられる。直接的な殺菌作用を持たないラタンニンは選択圧が低く耐性菌を生み出しにくい新規抗菌薬候補としての応用が期待される。また静菌的なべん毛運動抑制機構が明らかになれば、新規べん毛運動抑制剤の開発へとつながることが期待される。

FL2-32/P2-130

Antibiotic potentiator としてのマグノロールの作用機序

○山本 凌也¹, 山中 夏樹¹, 根本 哲宏², 高屋 明子^{1,3} (1千葉大・院薬・感染制御, 2千葉大・院薬・薬化学, 3千葉大・真菌セ)

Molecular Mechanism of the Antibiotic Potentiator, Magnolol, in Combination with Antibiotics

○Ryoya Yamamoto¹, Natsuki Yamanaka¹, Tetsuhiro Nemoto², Akiko Takaya^{1,3} (1Dep. Infect. Cont. Sci., Grad. Sch. Pharm. Sci., Chiba Univ., 2Dep. Pharm Chem., Grad. Sch. Pharm. Sci., Chiba Univ., 3MMRC, Chiba Univ.)

近年、単独ではほとんど抗菌活性を示さないものの、抗菌薬と併用することで抗菌薬の抗菌効果を高める化合物 Antibiotic potentiator が、新たな耐性菌対策となる可能性が示唆されている。本研究では、当研究室独自の天然化合物約 1400 種から、Antibiotic potentiator を探索した。まず、サルモネラ外膜タンパク質 TolC 欠損株の増殖抑制活性を指標に 15 種の化合物を選別した。15 種のいずれも、野生株の増殖は抑制しなかった。このうち 8 種を、抗菌薬シプロフロキサシン (CPFX) と併用し野生株の生存率を調べたところ、ホノキ由来天然物マグノロール (MAG) を併用したときのみ、CPFX 単独と比較して生存率が顕著に低下した。また、MAG の構造をわずかに変化させたところ、TolC 欠損株の増殖抑制活性は増大したが、CPFX 併用時における野生株の生存率を低下させなかった。これらの結果から、MAG の抗菌効果非依存的に CPFX の抗菌効果を高める可能性が示唆された。CPFX 抗菌効果は細菌代謝の低下に伴い減弱するが、ATP 量を指標に代謝を比較したところ、MAG 併用時は CPFX 単独よりも活性化していることが示唆された。一方、MAG 単独時の ATP 量は変化しなかった。また、MAG と相互作用することが示唆された代謝調節酵素を欠損させた株では、CPFX と MAG の併用でも生存率の低下と ATP 量の増加が見られなかった。以上より、マグノロールは抗菌薬併用時に細菌代謝を活性化することで、抗菌薬の抗菌効果を高める Antibiotic potentiator であることが示唆された。

FL2-33/P2-132

Enterococcus 属菌株における不飽和脂肪酸感受性の多様性および抗菌薬との相乗効果

○大段 慶十郎¹, 麻田 恭之^{2,3}, 西濱 早紀^{2,4}, 松尾 美樹², 柴 秀樹⁴, 柳本 惣市³, 相川 友直¹, 小松澤 均² (1広島大院・医系科学研究科口腔外科学, 2広島大院・医系科学研究科細菌学, 3広島大院・医系科学研究科口腔腫瘍制御学, 4広島大院・医系科学研究科歯髄生物学)

Susceptibility to unsaturated fatty acids and antibiotic synergy in Enterococcus strains

○Keijuro Ohdan¹, Yasuyuki Asada^{2,3}, Saki Nishihama^{2,4}, Miki Kawada-Matsuo², Hideki Shiba⁴, Souichi Yanamoto³, Tomonao Aikawa¹, Hitoshi Komatsuzawa² (1Dept. Oral and Maxillofacial Surgery, Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, 2Dept. Bacteriology, Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, 3Dept. Oral Oncology, Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, 4Dept. Biological Endodontics, Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences)

腸球菌は腸管や口腔に常在する一方、尿路感染症や菌血症などの日和見感染症の起因菌となる。特に Enterococcus faecalis および Enterococcus faecium は多剤耐性を示す菌株が増加している。特に、グリコペプチド系抗菌薬に耐性を示すバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の出現は臨床に深刻な問題となっている。既存抗菌薬の効果が低下する中、新たな治療戦略の確立が求められている。本研究では、全ゲノム配列を同定した腸球菌臨床分離株 126 株 (5 菌種) を対象に、不飽和脂肪酸である linoleic acid (LA) および palmitoleic acid (POA) の抗菌活性、ゲノム型別との関連性、ならびに抗菌薬との併用効果を包括的に検討した。LA および POA は全腸球菌株に抗菌活性を示し、POA は菌種間で安定した MIC を示した。一方、LA では株間差が大きく、特に E. faecium で感受性低下が認められた。両脂肪酸は 1MIC 以上で殺菌作用を示し、低濃度でも増殖抑制効果が確認された。脂肪酸感受性とゲノム型や薬剤耐性遺伝子との明確な関連は認められなかった。抗菌薬との併用試験では、LA と β-ラクタム薬、ゲンタマイシンなど複数の抗菌薬との間で相乗または相加効果が確認され、VRE 株において vancomycin 感受性が上昇する株も認められた。POA は顕著な併用効果は認められなかった。以上より、LA および POA は腸球菌感染症に対する有望な治療補助戦略となる可能性が示唆された。

FL2-34/P2-133

下水由来腸内細菌目細菌におけるアミノグリコシド耐性機構の解析

○南川 絢政, 法月 千尋, 和知野 純一 (藤医大・医療・微生物)

Analysis of Aminoglycoside Resistance Mechanisms in Enterobacterales from Sewage

○Kensei Minamigawa, Chihiro Norizuki, Jun-ichi Wachino (Dept. Clin. Microbiol., Sch. Med Sci., Fujita Health Univ.)

【目的】アミノグリコシド (AG) 系抗菌薬は腸内細菌目細菌を含むグラム陰性菌感染症に有効である一方、長年の使用に伴い耐性菌の出現と拡大が大きな課題となっている。主な耐性機構としては、AG 修飾酵素と 16S rRNA methyltransferase の 2 種類が知られている。近年、下水中に多様な薬剤耐性菌が集積していることが報告されている一方で、AG 耐性菌の分布や多様性については十分に解明されていない。下水はヒト・動物・環境など由来の異なる細菌が混在する場であり、地域における耐性菌動態を反映する重要なサーベイランス資源と位置づけられる。そこで本研究では、下水由来腸内細菌目細菌を対象に AG 耐性機構について解析を行った。

【方法】医療施設および農業集落の排水を試料とし、アミカシン (AMK) およびアブラマイシン (APM) 含有培地で AG 耐性菌を分離した。分離株から DNA を抽出し、既報プライマー (*armA*, *rmtA-rmtH*, *npmA*, *aac(3)-iv*) を用いて PCR を実施した。さらに寒天平板希釈法により薬剤感受性試験を行い、一部の株についてはショートリードを用いた全ゲノム解析 (WGS) を実施した。

【結果・考察】AMK 耐性 12 株および APM 耐性 37 株を解析した結果、AMK 耐性株からは *rmtB*, APM 耐性株からは *aac(3)-iv* が検出された。多くの株はホスホマイシンやセフトジジムなどにも耐性を示した。WGS 解析により、これらの株が多様な薬剤耐性遺伝子を併せ持つことが明らかとなった。下水中では *rmtB* および *aac(3)-iv* 保有株が高頻度に存在しており、これらの耐性遺伝子が環境中で安定的に維持され、伝播している可能性が示唆された。特に *rmtB* は高度な AMK 耐性を付与するため、そのさらなる拡散と臨床分離株への移行が懸念される。

FL2-35/P2-136

PMA,RT-PCR,ナノポアシーケンスを用いた臨床検体中の薬剤耐性菌の迅速かつ正確な生存性検出ワークフロー

○Rajalakshmi Balasubramanian¹, 鈴木 優², 浅井 さとみ³, 良原 栄策³, 宮澤 美紀³, 今西 規¹ (1東海大・医・分子生命, 2東海大院・医学研究科, 3東海大・医・臨床検査)

Rapid Detection of Drug-Resistant Bacteria Using a PMART-PCR-Nanopore sequencing

○Rajalakshmi Balasubramanian¹, Yu Suzuki², Satomi Asai³, Eisaku Yoshihara³, Miki Miyazawa³, Tadashi Imanishi¹ (1Dept. Mol. Life Sci., Sch. Med., Tokai Univ., 2Grad. Sch. Med., Tokai Univ., 3Dept. Clin. Lab. Med., Sch. Med., Tokai Univ.)

Drug-resistant bacteria are a growing concern in hospitals, where quick and accurate detection is essential for selecting the right treatment. Culture-based methods often take several days to identify pathogens and evaluate antibiotic resistance, delaying clinical decisions. To address this, we developed a rapid workflow combining propidium monoazide (PMA) treatment, RT-PCR, and Nanopore sequencing to directly detect viable drug-resistant bacteria in clinical samples. We validated the method using resistant strains such as *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, and ESBL-producing *E. coli*, mixed with drug-sensitive wild-type *E. coli* and *S. aureus* and exposed to seven antibiotics. PMA enabled detection of only live cells. RT-PCR showed low Ct values for resistant strains and high values for sensitive *E. coli*. Nanopore sequencing confirmed these results, with resistant strains maintaining high read counts. Testing sputum and urine samples from Tokai University Hospital further demonstrated that the workflow could identify viable drug-resistant pathogens, including MDR *Pseudomonas aeruginosa* and ESBL *E. coli*, within one day and detect resistance to four of seven antibiotics. Overall, this approach greatly shortens diagnostic time and supports faster, more informed treatment decisions.

FL2-36/P2-140

タイの小児口腔における薬剤耐性遺伝子の分布と口腔衛生状態との関連性

○小林 桃子^{1,2}, Lapidattanakul Jinhana³, 大野 誠之¹, 元岡 大祐^{4,5}, Tansiratanawong Kallapat⁶, Tantivitayakul Pornpen³, Smutkeeree Apiwan⁷, 川端 重忠^{1,8}, 山口 雅也² (1阪大・院歯・微生物, 2医薬基盤・健康・栄養研, 3Dept. Oral Microbiol., Mahidol Univ., 4阪大・OUBIC, 5阪大・IFReC, 6Dept. Oral Med. Periodontol., Mahidol Univ., 7Dept. Pediatr. Dent., Mahidol Univ., 8阪大・CiDER)

Oral Hygiene Status and Antimicrobial Resistance Genes in the Oral Microbiome among Thai Children

○Momoko Kobayashi^{1,2}, Lapidattanakul Jinhana³, Masayuki Ono¹, Daisuke Motooka^{4,5}, Tansiratanawong Kallapat⁶, Tantivitayakul Pornpen³, Smutkeeree Apiwan⁷, Shigetada Kawabata^{1,8}, Masaya Yamaguchi² (1Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., 2NIBN, 3Dept. Oral Microbiol., Mahidol Univ., 4OUBIC, 5IFReC, 6Dept. Oral Med. Periodontol., Mahidol Univ., 7Dept. Pediatr. Dent., Mahidol Univ., 8CiDER, Osaka Univ.)

薬剤耐性菌による感染症は世界的に公衆衛生上の深刻な問題である。その拡大を抑制するためには病原細菌だけでなく、健康者に共存する常在細菌叢における薬剤耐性遺伝子の分布も把握する必要がある。特に口腔内には多様な細菌が共存する環境であり、その中には薬剤耐性遺伝子の貯蔵庫および伝達源として機能する細菌が報告されている。本研究では、抗菌薬の消費量が多いタイに着目し、小児口腔細菌叢における薬剤耐性遺伝子の分布と口腔衛生状態の関連を明らかにすることを目的とした。タイの全身状態が健康な3~4歳の小児94名に歯科健診を実施し、plaque indexに基づく口腔衛生状態を評価した。その後、唾液および歯面プラークを採取し、16S rRNA 遺伝子 V1-V2 領域のアンプリコン解析とショットリードのショットガンメタゲノム解析を行った。アンプリコン解析では Qiime2 を用いて菌叢の構造および多様性を評価した。Plaque index が1未満を Low 群、1以上を High 群として分類し比較した結果、唾液とプラークの両検体でβ多様性が有意に増加した。α多様性については、Shannon および observed feature の指標が唾液の High 群でのみ有意に増加し、evenness 指標はプラークの High 群のみ有意に増加した。次にショットガン解析で得られたシーケンス配列をアセンブルした contig 配列に対して薬剤耐性遺伝子検出解析を行った。その結果、主要クラスに属する薬剤耐性遺伝子が 303 種類検出され、そのうち 39 種類は全ての小児から検出された。さらに、High 群では薬剤耐性遺伝子の richness が有意に高く、Low 群との差は唾液でより大きかった。以上の結果から、口腔衛生状態の悪化と耐性遺伝子の拡大が関連することが示された。

FL2-37/P2-144

腸管内からの薬剤耐性大腸菌 ST131 除去に向けたファージデキャリア戦略の検討

○遠山 茉奈¹, 佐藤 豊孝^{1,2}, 藤木 純平³, Jirachaya Toyting-Hiraishi¹, 鈴木 章夫^{1,2}, 岩野 英知³, 堀内 基広^{1,2} (1北海道大・獣医・獣医衛生, 2北海道大・OneHealthリサーチセンター, 3酪農学園大・獣医・獣医生化学)

Development of a phage de-carrier to prevent the pandemic spread of antimicrobial-resistant bacteria

○Mana Tohyama¹, Toyotaka Sato^{1,2}, Jumpei Fujiki³, Jirachaya Toyting-Hiraishi¹, Akio Suzuki^{1,2}, Hidetomo Iwano³, Motohiro Horiuchi^{1,2} (1Dept. Veterinary Hygiene, Sch. Vet., Hokkaido Univ., 2One Health Research Center, Hokkaido Univ., 3Dept. Veterinary Biochemistry, Sch. Vet Rakuno Gakuen Univ.)

【背景】薬剤耐性菌 (AMR) は世界的な課題であり、日本でも対策が進められているが、腸管内に保菌された耐性菌への具体的な対応は十分に検討されていない。薬剤耐性菌の中でも深刻な問題であるフルオロキノロン耐性大腸菌バンデミッククロンである Sequence type (ST) 131 に着目し、バクテリオファージを用いた腸管内からの ST131 除去 (ファージデキャリア) の確立を試みた。【方法】大腸菌特異的ファージの溶菌活性を OD600nm で評価した。さらに、抗菌薬を投与した BALB/c マウスに ST131 を経口投与し定着を確認後、ファージを経直腸投与し、経時的に新鮮便中の ST131 の生菌数およびファージ感受性を評価した。【結果】in vitro では使用したファージは強い溶菌活性を示した。一方、マウスモデルでは3個体中2個体で菌数が著減したが、1個体でファージ耐性化が認められた。この個体から回収された ST131 株はファージ耐性を獲得しており、NGS 解析により ssuA 遺伝子および yqjG 遺伝子の変異が同定された。これら遺伝子のノックアウト株を用いた解析では、ssuA ノックアウト株でファージ感染効率の低下が確認された。さらに糞便抽出液下での ST131 とファージの共培養でも、生じた耐性菌ではマウスで検出されたものと同一箇所 (ssuA 遺伝子) の変異が確認された。【考察】ファージ投与により腸管内の ST131 除去効果が見られ、ファージデキャリアは AMR 対策の新たな戦略となり得る可能性が示唆された。今後は得られた知見を基に、投与条件や投与量の最適化やファージ耐性化への検討を行い、ファージデキャリアの実用化研究を進める。

FL2-38/P2-153

薬剤耐性菌対策における食品上のファージ殺菌効果

川野 光興, ○前田 紗也加, 小口 萌, 藤川 瑞歩, 山道 祐奈, 中村 美月, 山中 杏実 (中村学園大・栄養科学)

Phage Disinfection Effect on Food Surfaces in Antimicrobial-Resistant Bacteria

Mitsuoki Kawano, ○Sayaka Maeda, Moe Koguchi, Mizuho Fujikawa, Yuuna Yamamichi, Mizuki Nakamura, Anmi Yamanaka (Dept. Nutr. Sci., Nakamura Gakuen Univ.)

Objective: Antimicrobial-resistant bacteria (AMR) continue to increase, particularly in retail chicken meat. This study isolated phages from sewage that infect ESBL-producing bacteria from chicken meat and evaluated their bactericidal effects on various food surfaces under controlled conditions.

Methods: ESBL-producing strains (#15-1, #17-1) and their phages (φ15-1, φ17-1) were tested on cabbage, chicken skin, sliced cheese, ham, eggshells, tomato skin, and nonwoven masks. For chicken skin, MOI values from 0.01 to 100 were examined, and sterilization rates were calculated from residual bacterial counts after treatment.

Results: On chicken skin, sterilization increased with higher MOI. #15-1 achieved 95.7~99.8% at MOI 1:10~100, and #17-1 also showed high reductions, while both strains remained around 40% at 1:0.01. Among foods, nonwoven masks, cheese, and ham showed high reductions, whereas tomato skin showed lower values. No notable differences were observed between strains or chicken-skin samples, suggesting consistent phage performance.

Discussion: φ15-1 and φ17-1 showed consistent bactericidal activity across diverse food surfaces, with stronger effects at higher MOI. Further testing of reproducibility and optimization of conditions suited to each food will support future practical application.

FL2-39/P2-154

市販鶏肉およびドリッブ液における ESBL 産生菌の発生状況と薬剤耐性

○中島 瑠南¹, 木内 蒼唯¹, 清 ゆい¹, 桑野 玲奈¹, 近藤 百香¹, 松尾 朋香¹, 前田 紗也加¹, 近藤 恒平², 川野 光興¹ (¹中村学園大・栄養科学, ²国立感染症研・薬剤耐性センター)

Occurrence and resistance of ESBL-producing bacteria in retail chicken meat and drip fluid

○Runa Nakashima¹, Aoi Kiuchi¹, Yui Sei¹, Reina Kuwano¹, Momoka Kondo¹, Tomoka Matsuo¹, Sayaka Maeda¹, Kohei Kondo², Mitsuki Kawano¹ (¹Dept. Nutr. Sci., Nakamura Gakuen Univ., ²AMR Center, NIID)

This study investigated antimicrobial-resistant bacteria in retail chicken meat purchased in Fukuoka City during 2023–2024 and in the drip fluid from the packaging to clarify their distribution and characteristics. Chicken meat (10 g) and drip-absorbing pads were enriched in buffered peptone water to isolate resistant bacteria, and cultures were plated on CTX-containing CHROMagar to select two isolates per sample.

DNA was extracted to detect ESBL genes by PCR, and plasmid replicon types were identified. Antimicrobial susceptibility testing for 12 drugs and whole-genome sequencing were performed on selected ESBL-producing isolates to further characterize resistance profiles.

ESBL genes were detected in 47% of isolates from chicken meat and 40% from drip fluid across samples. Most isolates were *Escherichia coli*, with smaller numbers of *Klebsiella pneumoniae* and other species. IncFII was the predominant plasmid type, followed by IncFIB, and the major ESBL genotype was blaCTX-M-1. In total, 90.9% of ESBL-producing isolates were resistant to three or more antimicrobial classes.

These results demonstrate that both chicken meat and drip fluid frequently harbor ESBL-producing bacteria and suggest that drip fluid may serve as an important dissemination route in kitchen environments. These findings emphasize the need for proper hygiene during household food handling.

FL2-40/P2-155

酪農場から分離したエンテロコッカス属菌の表現型および病原性形質：比較研究

○Christian Xedzro¹, Kazumi Yokoo¹, Naoki Suzuki², 島本 敏¹, 島本 整¹ (¹Lab. Food Microbiol., Sch. App. Biol. Sci., Univ., ²Dairy Eco. Res. Develop. Ctr., Hiroshima Univ.)

Phenotypic and virulence traits of Enterococcus spp. isolated from a dairy farm: a comparative study

○Christian Xedzro¹, Kazumi Yokoo¹, Naoki Suzuki², Toshi Shimamoto¹, Tadashi Shimamoto¹ (¹Lab. Food Microbiol., Sch. App. Biol. Sci., Hiroshima Univ., ²Dairy Eco. Res. Develop. Ctr., Hiroshima Univ.)

Enterococcus spp. are Gram-positive bacteria that cause animal diseases, including bovine mastitis. This study aimed to compare the incidence and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from a dairy farm in 2023 and 2025. Conventional microbiological assays and susceptibility tests were used to identify and determine the resistance patterns of enterococci. In 2023, 101 enterococcal strains were collected, while 60 strains were retrieved in 2025. The comparative detection rates between 2023 and 2025 were as follows: *Enterococcus faecalis* (13.0 vs 11.2%), *E. faecium* (22.4 vs 11.8%), *E. gallinarum* (16.1 vs 11.2%), *E. casseliflavus* (9.3 vs 3.1%), and *E. pseudoavium* (1.9 vs 0.0%), with no significant difference in the distribution of enterococci between 2023 and 2025 ($p>0.05$). Overall, 65.2% of the isolates (76 in 2023 and 29 in 2025) carried antibiotic resistance genes, including *tet*(M), *tet*(L), *ermB*, *ant*(6)-Ia, *vanC1*, and *vanC2*. Resistance to kanamycin and tetracycline was notably high (>50%) among the 2023 isolates. Additionally, 34.8 and 22.4% of enterococci from 2023 and 2025, respectively, harbored at least one toxin gene, such as *gelE*, *acm*, *ace*, or *efa* ($p>0.05$). The detection of enterococci in dairy environments indicates a potential spread of antibiotic and virulence factors, underscoring the importance of increased surveillance of bacteria in dairy settings.

FL2-41/P2-161

Serratia marcescens における 2 成分制御系 SarRS を介した消毒薬耐性機構の解析

○百留 孝士郎¹, 谷重 萌², 安岡 里帆², 近藤 有馬¹, 森田 大地¹, 小川 和加野³, 熊谷 孝則¹, 黒田 照夫¹ (¹広島大院・医系科学・微生物医薬品, ²広島大・薬, ³就実大・薬)

Analysis of disinfectant resistance mechanism via two-component system SarRS in *Serratia marcescens*

○Koshiro Hyakutome¹, Moyu Tanishige², Riho Yasuoka², Yuma Kondo¹, Daichi Morita¹, Wakano Ogawa³, Takanori Kumagai¹, Teruo Kuroda¹ (¹Dept. Microbiol. Med., Sch. Med. Sci., Hiroshima Univ., ²Sch. Pharm., Hiroshima Univ., ³Sch. Pharm., Shujitsu Univ.)

Serratia marcescens は院内感染の原因菌の一つであり、近年では消毒薬に耐性化し、院内感染を引き起こした例も報告されている。しかし、*S. marcescens* の消毒薬耐性機構については不明な点も多い。私たちはこれまでに、継代培養により分離した消毒薬 Chlorhexidine (CHX) 高度耐性株において RND 型多剤排出ポンプ SdePQ-OmsA の発現が上昇し、全ゲノムシークエンスの結果から 5 つの遺伝子が CHX 耐性に関与していることを明らかにした。このうち、新規 2 成分制御系の sensor kinase である SarS の変異が、response regulator である SarR を介してこの発現上昇に深く寄与することも見出した。また、SarR が *sdePQ-omsA* の上流領域に特異的に結合することも突きとめている。今回は *sarS* 変異株における RNA-seq の解析結果について報告する。RNA-seq は *S. marcescens* KS24Δ*sdeXYΔsarS* に変異型 *sarS* を相補した株、野生型 *sarS* を相補した株を用いて、比較解析を行った。変異型 *sarS* 相補株では 38 個の遺伝子が有意に発現変化しており、その内 11 個の遺伝子が発現上昇、27 個の遺伝子が発現低下していた。発現上昇した遺伝子には多剤排出ポンプ *sdePQ-omsA* のほか、膜ストレス対応遺伝子 *spy* が含まれていた。変異型 *sarS* 相補株では自身が外的ストレス状況下にあると誤認識することで *spy* の発現を上昇させている可能性が考えられる。一方、浸透圧維持に関わる *kdpAB* の発現が低下していたことから、浸透圧ストレスを SarS が感知している可能性も考えられる。現在 ChIP-seq を行うことで、SarR ゲノム結合部位の網羅的な解析を進めており、今回の結果と合わせて、*S. marcescens* における 2 成分制御系 SarRS による遺伝子制御機構の全貌を明らかにする予定である。

FL2-42/P2-166

ESKAPE 病原体のホットスポットとしての病院排水：肺炎桿菌に焦点を当てる

○Bakon Sophia Karen¹, Sholehah Zakaria Nur Fatimah¹, Hashim Hazimah², Jamilan Mohd Azerulazree³, Mohamad Zuraifah Asrah¹ (¹Health Risk Assessment Unit, Environmental Health Research Centre, Inst. Medical Research, National Inst. Health, ²Pharmacy Practice and Development Division, Ministry of Health Malaysia, ³Nutrition Unit, Nutrition, Metabolic and Cardiovascular Research Centre, Inst. Medical Research, National Inst. Health)

Hospital Wastewater as hotspot of ESKAPE Pathogens: Focus on *Klebsiella pneumoniae*

○Bakon Sophia Karen¹, Sholehah Zakaria Nur Fatimah¹, Hashim Hazimah², Jamilan Mohd Azerulazree³, Mohamad Zuraifah Asrah¹ (¹Health Risk Assessment Unit, Environmental Health Research Centre, Inst. Medical Research, National Inst. Health, ²Pharmacy Practice and Development Division, Ministry of Health Malaysia, ³Nutrition Unit, Nutrition, Metabolic and Cardiovascular Research Centre, Inst. Medical Research, National Inst. Health)

Hospital wastewater is increasingly recognised as a critical interface for antimicrobial resistance (AMR) transmission within a One Health framework. This study assessed antibiotic residues and antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater in Kuala Lumpur, Malaysia, focusing on *Klebsiella pneumoniae*, a key ESKAPE pathogen. Effluent samples were collected from hospital discharge points. Antibiotic residues were quantified by LC–MS, while bacterial isolates were recovered using culture-based and molecular methods. *K. pneumoniae* accounted for 25.77% of ESKAPE-associated isolates. Common clinical antibiotics, including ciprofloxacin ($0.627 \pm 0.003 \mu\text{g/L}$) and vancomycin ($0.193 \pm 0.273 \mu\text{g/L}$), were detected, indicating incomplete removal during wastewater handling. The co-occurrence of residual antibiotics and resistant *K. pneumoniae* suggests a selective environment that may promote AMR persistence and dissemination beyond hospital boundaries. These findings highlight hospital effluent as a significant hotspot of ESKAPE pathogens and underscore the need for improved wastewater management and integrated AMR surveillance to reduce environmental exposure and limit the spread of resistance.

FL2-43/P2-175

尿路病原性 ESB� 産生大腸菌の K5 莢膜遺伝子とファージ感受性の関連

○Debora Satie Nagano¹, 田中 真由子¹, 西村 順子¹, 丹治 保典², 花輪 智子¹, 松田 剛明^{1,2} (¹杏林大・医・総合医療, ²杏林大・医・救急医学)

Phage susceptibility linked to K5 capsule genes in ESB�-producing uropathogenic *Escherichia coli*

○Debora Satie Nagano¹, Mayuko Tanaka¹, Junko Nishimura¹, Yasunori Tanji², Tomoko Hanawa¹, Takeaki Matsuda^{1,2} (¹Dept. Gen. Med., Sch. Med., Kyorin Univ., ²Dept. Traum. Crit. Care Med., Kyorin Univ. Sch. Med)

Background and Objective: Extended-spectrum β -lactamase-producing uropathogenic *E. coli* (ESBL-UPEC) limits treatment options for urinary tract infections. Bacteriophage (phage) therapy is a promising alternative, but selecting effective phages remains challenging. We investigated genomic indicators of phage susceptibility in ESB�-UPEC. Methods: Fifty-one ESB�-UPEC strains were clustered based on susceptibility to 42 phages using k-means. Genome-wide association study was used to scan whole genomes of 30 strains for genes related to susceptibility. The capsular polysaccharide (CPS) fractions were prepared and analyzed as previously described (Lin et al., 2017). **Results and Discussion:** K5 capsule genes were identified as associated with phage susceptibility. Thirteen sequenced strains (43%) carried intact K5 genes and were susceptible to specific phages. Since capsules surround the bacterial cells, phages may attach to them for infection. In a variant with reduced phage susceptibility and spontaneous phage-resistant mutants, insertion, deletion, or amino acid substitution mutations were identified in capsule synthesis loci. The CPS fraction prepared from a strain with intact K5 genes was highly concentrated and inhibited phage infection, whilst that from the variant did not. Our results suggest the possibility of K5 capsule genes as useful indicators for selecting phages.

FL2-44/P2-179

国産品ウマ抗毒素製剤(ガスえそ, ジフテリア, ボツリヌス)の使用実態調査報告

○上田 謙二¹, 高橋 元秀², 一二三 亨³, 阿戸 学⁴ (¹KMバイオロジクス株式会社・阿蘇工場, ²熊本保健科学大・生物毒素・抗毒素共同研究講座, ³杏林大・医学部付属病院・救急総合診療科, ⁴国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所・ハンセン病研究センター)

Report on National Stockpile Utilization of Equine Antitoxins (Gas Gangrene, Diphtheria, Botulism)

○Kenji Ueda¹, Motohide Takahashi², Toru Hifumi³, Manabu Ato⁴ (¹KM Biologics Co., Ltd. Aso Plant, ²Kumamoto Health Sciences Univ. Toxin and Biologicals Research Laboratory, ³Kyorin Univ. Hospital Emergency and General Medicine, ⁴NIID Leprosy Research Center)

国産抗毒素製剤(ガスえそ, ジフテリア, ボツリヌス)は製剤投与後の効果や副作用発生等の報告義務は無い。そこで過去 20 年間の使用実態を調査した。ガスえそは 4 症例で 14 本使用し全例に投与されていた。C. perfringens による内因性ガス壊疽症例の 2 例に投与されたが 2 例とも死亡であった。他は疑い投与であったが血液培養で菌陰性, 残る 1 例は古典的なガス壊疽症例の創傷性ガス壊疽に投与されていた。C. perfringens による内因性ガス壊疽症(α 毒素に起因)に対する効果は, 今後も継続して症例データ蓄積が必要である。現在は C. perfringens に対する抗 α 単独抗毒素(中和抗体治療薬)は存在せず 3 価(Novy, VS)製剤である。ジフテリアは 2 症例で 24 本使用であったが, うち 10 本が廃棄であった。ボツ単価は 1 症例で 1 本およびボツ多価は 13 症例で 20 本の使用であった。ボツリヌス抗毒素は他製剤と比較し使用本数が多かった。ボツリヌス症は数年間隔で継続発生例があり, ボツリヌス症疑いへの抗毒素療法が医療現場で周知されており, 鑑別診断の一環として投与していることが推定された。なお, 家族内発症の 4 症例にもボツ多価(ABEF)抗毒素が投与されたが後の詳細解析により, これらの症例は抗毒素対象外の C 型毒素であった。今後, 抗毒素治療を早期に判断するために迅速かつ正確な実験室診断法の開発・確立が急務である。また, 多本数廃棄も課題であり米国 CDC で導入されている製剤返却制度などの運用の改善策の検討が必要である。(AMED 抗毒素製剤に関する総合的な対策に資する研究(阿戸班))

FL2-45/P2-181

非ヒロリ菌ヘリコバクター感染症診断製品の開発と普及

○松井 英則^{1,3}, 鈴木 仁人², 青木 沙恵¹, 柴山 恵吾³, 見理 剛¹, 徳永 健吾⁴, 林原 絵美子¹ (¹国立健康危機管理研究機構・感染症研・細菌2, ²国立健康危機管理研究機構・感染症研・薬剤耐性, ³名古屋大・医・細菌, ⁴杏林大・医・予防医学)

Development and Dissemination of Diagnostic Products for NHPH Infections

○Hidenori Matsui^{1,3}, Masato Suzuki², Sae Aoki¹, Keigo Shibayama³, Tsuyoshi Kennri¹, Kengo Tokunaga⁴, Emiko Rimbara¹ (¹Dept. Bacteriol. II, JIHS, NIID, ²AMR Res. Cent., JIHS, NIID, ³Dept. Bacteriol., Sch. Med., Nagoya Univ., ⁴Dept. PM., Sch. Med., Kyorin Univ.)

Purpose: The goal of this study is to develop highly sensitive diagnostic products for infections caused by gastric non-*H. pylori* *Helicobacter* (NHPH) species.

Background: Japan has entered an era of nationwide eradication of *H. pylori*, resulting in a significant decline in infection rates. However, the proportion of gastric diseases attributed to infections by NHPH species has increased. Currently, PCR testing using DNA from gastric biopsy specimens is the only available diagnostic method for these infections.

Materials and Methods: Serum and gastric fluid samples were collected from participants. The serum samples were analyzed using ELISA, while gastric fluid samples underwent PCR testing with NHPH-common primers.

Results and Conclusion: Between April 2022 and February 2023, the detection rates of *H. pylori*, *H. suis*, and other NHPH species among healthy Japanese individuals (n = 673) were 3.1%, 2.1%, and 0.9%, respectively. In contrast, among 101 patients with gastric diseases, the infection rates of *H. pylori* and *H. suis* were 16.8% and 19.8%, respectively. Meanwhile, 43.6% of the patients were uninfected, and no other NHPH species were detected. In collaboration with industry, government, and academic partners, we have successfully developed clinically applicable diagnostic products for gastric NHPH infections and anticipate releasing research-use-only products in 2026.

P1-001

国内で分離されたヒト・鶏・食品由来 *Salmonella* Oranienburg のゲノム疫学解析

○川瀬 達¹, 野村 亮二¹, 安藤 直史², 野本 良平³, 池田 徹也⁴, 重村 洋明⁵, 福留 智子⁶, 平塚 貴大⁷, 河合 央博⁸, 横山 栄二⁹ (1)島根保健研・細菌, 2)千葉衛研・細菌, 3)神戸健科研・第2衛研, 4)北海道衛研・感染症, 5)福岡保健研・細菌, 6)宮崎衛研・微生物, 7)広島総技研保健セ・保健研究, 8)岡山環保セ・細菌, 9)国立健危管研・感染研・検診技研2)

Genomic Epidemiology of *Salmonella* Oranienburg Isolates from Humans, Chickens, and Food in Japan

○Jun Kawase¹, Ryoji Nomura¹, Naoshi Ando², Ryohei Nomoto³, Tetsuya Ikeda⁴, Hiroaki Shigemura⁵, Tomoko Fukudome⁶, Takahiro Hiratsuka⁷, Hisahiro Kawai⁸, Eiji Yokoyama⁹ (1)Dept. Bact., Shimane Inst. Pub. Heal. Environ. Sci., 2)Div. Bact., Chiba Inst. Pub. Heal., 3)Heal. Res. Dept. 2, Kobe Inst. Heal., 4)Dept. Infec. Dis., Hokkaido Inst. Pub. Heal., 5)Div. Patho. Microb., Fukuoka Inst. Heal. Environ. Sci., 6)Dept. Microb., Miyazaki Inst. Pub. Heal. Environ., 7)Div. Bact. Virol. Chem. Res., Hiroshima Tech. Res. Inst., 8)Dept. Pub. Heal., Okayama Inst. Environ. Pub. Heal., 9)Jap. Inst. Heal. Sec., Nat. Inst. Infec. Dis., Dept. Diag. Test. Tech. Res. Sec2)

【背景】*Salmonella* Oranienburg (SO) は26年前に発生した大規模食中毒起因菌として知られている。SOはサルモネラ感染症の血清型として主要なものではないが、いくつかのヒト感染事例で菌血症などの侵襲性の症状を伴うことが報告されている。本研究では、国内で十分な研究がなされていないSOについて、ゲノム解析によってその特性を調査した。【方法】1983～2022年に国内で分離されたSO 60株(ヒト42, 鶏6, 食品5, 爬虫類5, 環境1, 不明1株)を収集し、PFGE解析と全ゲノム解析を行った。得られたショートリードデータは、MLST, SNP解析, 病原性遺伝子の解析に使用した。【結果】SOはPFGEの画像解析からクラスター1と2に分かれ、集団事例関連株はすべてクラスター1に属した。MLSTの結果、クラスター1はST2279, 23, 10114で構成され、クラスター2はすべてST2304であった。病原性遺伝子については、クラスター1はチフス毒素関連遺伝子(*cdtB*, *pltA*, *pltB*)や*tcpC*など免疫回避に関連する遺伝子を保有し、クラスター2は保有していなかった。SNP解析によって、クラスター1はさらに4つのサブクラスターに分類され、そのうちの1つは2016年以降のヒト由来株で構成されていた。一部のヒトと鶏由来株間で3～5 SNP差を示すものが確認された。【考察】集団事例関連株はクラスター1に偏り、これらの株の広がり、公衆衛生上の懸念事項である。クラスター間で病原性に違いがある可能性があり、追加の検証が必要である。一部のヒトと鶏由来株は、遺伝的に非常に近縁であり、鶏が感染源のひとつである可能性がある。

P1-002

食中毒由来カンピロバクターにおけるキノロン耐性かつGBS関連遺伝子保有 ST-4526 の検出

○古山 裕樹¹, 吉田 理沙¹, 荒島 麻実², 原田 友弘¹, 小川 玲菜¹, 千葉 雄介¹, 土井 りえ¹, 成澤 一美¹ (1)埼玉衛研・食品微生物, 2)川口市保健所・衛生検査)

ST-4526 in Foodborne *Campylobacter jejuni*: Quinolone Resistance and GBS-Associated Genes Carriage

○Yuki Koyama¹, Risa Yoshida¹, Asami Arashima², Tomohiro Harada¹, Reina Ogawa¹, Yusuke Chiba¹, Rie Doi¹, Kazumi Narisawa¹ (1)Dept. Food Microbiol., Saitama Inst. Pub. Health, 2)Lab. Sect., Kawaguchi City Pub. Health Cent.)

Campylobacter jejuni is a major cause of foodborne illness worldwide. Antimicrobial resistance (AMR) in *C. jejuni* and Guillain-Barré syndrome (GBS), a severe post-infectious complication of *C. jejuni* infection, are serious public health concerns. In this study, we analyzed the AMR of 148 *C. jejuni* isolates obtained from stool specimens of patients with foodborne illness in Saitama between 2010 and 2022. Additionally, we performed multilocus sequence typing (MLST) on a subset of 40 isolates. High resistance rates to quinolones (46.6%, 69/148) and tetracycline (26.4%, 39/148) were observed, whereas all *C. jejuni* remained susceptible to erythromycin. MLST revealed that clonal complex (CC) 21 was predominant among the *C. jejuni* isolates (32.5%, 13/40). Of the 13 CC21 isolates, the most common sequence type (ST) was ST-4526 (61.5%, 8/13). All ST-4526 isolates were quinolone resistant and carried the GBS-associated genes *cst-II*, *cgtA*, and *cgtB*. The ST distribution of all tested *C. jejuni* isolates was similar to that of chicken-derived strains, suggesting that poultry is a major source of infection. These findings provide insights into the AMR and molecular characteristics of *C. jejuni* in Japan and highlight the need for ongoing surveillance, control measures, and public education on safe poultry handling.

P1-003

国内由来 *Salmonella* Schwarzengrund の遺伝的特徴および病原性評価

○池内 圭佑^{1,2}, 日向 貴輝², 北原 陸翔², 井上 真紀², 岡田 由美子¹, 林谷 秀樹², 上間 匡¹ (1)国立衛研・食管, 2)農工大院・農)

Genomic characterization and pathogenicity assessment of *Salmonella* Schwarzengrund isolated in Japan

○Shunsuke Ikeuchi^{1,2}, Takaki Hinata², Rikuto Kitahara², Maki Inoue², Yumiko Okada¹, Hideki Hayashidani², Masashi Uema¹ (1)Div. Biomed. Food Res., Natl. Inst. Health Sci., 2)Grad. Sch. Agric., Tokyo Univ. Agric. Tech.)

【目的】*Salmonella* は、感染型食中毒ならびに人獣共通感染症の代表的な原因菌として知られている。近年、我が国では*S.Schwarzengrund* による感染患者が増加していることから、その疫学的解析が急務となっている。一方、国外の*S.Infantis* においては、薬剤耐性遺伝子や鉄獲得系遺伝子群を含むメガプラスミド(pESI)の拡散が報告されており、pESI保有株の拡散とヒト感染事例の増加との関連性が指摘されている。本研究では、国内由来*S.Schwarzengrund*を対象に、pESIの保有状況と全ゲノム配列(WGS)情報に基づく遺伝的特徴を解析し、あわせて病原性について評価した。

【材料と方法】供試菌株として、1995年から2023年にかけて分離された鶏肉由来を含む99菌株を用いた。WGS解析には、pESIの保有状況から選定した菌株を用い、薬剤耐性や病原性に関連する遺伝子など保有する遺伝子についても解析するとともに、一塩基多型(SNP)解析を実施した。菌株の病原性は、ハチノスツブリガ幼虫への感染実験により評価を行った。

【結果と考察】PCR法により、pESIは供試菌株99株中90株(90.9%)から検出された。pESI保有株はすべて、近年(2019–2023年)に分離された菌株であった。SNP解析により、WGS解析対象の4株は、2つの異なる系統群に分類された。10⁴ CFUの菌を接種した幼虫(n=15)において、72時間後の致死率は、pESI保有株接種群で73.3–86.7%であったが、非保有株接種群では6.7–13.3%であった(p<0.01)。本研究により、我が国で近年に分離された株は、1995年分離株とは遺伝的に異なる系統に属し、高率でpESIを保有していた。pESIの獲得が、同血清型菌の環境適応能および病原性の増強に寄与し、近年の急速な拡散の要因となっている可能性が示唆された。

P1-004

鹿児島県の牛から分離された腸管外病原性大腸菌の細菌学的解析

○三角 和華子¹, 猜都 勇介², 岡田 大輔³, 楠本 正博⁴ (1)鹿児島大・共同獣医・動物疾病共同研究講座, 2)鹿児島中央家保, 3)鹿児島県・家畜防疫対策課, 4)農研機構・動衛研)

Bacteriological analysis of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from cattle

○Wakako Misumi¹, Yusuke Abeto², Daisuke Okada³, Masahiro Kusumoto⁴ (1)Collab. Res. Div. Anim. Dis., JFVM, Kagoshima Univ., 2)Kagoshima Central Livest. Hyg. Serv. Cent., 3)Livest. Disease Contr. and Prev. Div., Kagoshima Pref., 4)Natl. Inst. Anim. Health, NARO)

鹿児島県内の牛から分離された腸管外病原性大腸菌(ExPEC)23株について、O群血清型別、Multilocus Sequence Typing (MLST)解析、系統発生群の分類、病原性関連遺伝子検索、薬剤感受性試験を実施した。O群血清型別では、23株のうちOUTの5株を除く18株がO8, O15, O19, O45, O55, O73, O78, O88, O91, O109, O119, O140及びO145に分類され、MLST解析では、ST10, ST23, ST32, ST33, ST58, ST69, ST88, ST101, ST106, ST117, ST118, ST156, ST162, ST167, ST744, ST2628, ST5086, ST7812及びST8137に型別され、系統発生群は、B1(10株), C(6株), D(3株), E(2株)及びF(2株)に分類された。病原性関連遺伝子の検索では、付着因子のFimH(95.7%)、鉄捕捉因子のIucD(95.7%)及びIutA(95.7%)、血清抵抗性因子のTraT(91.3%)の遺伝子の検出率が高かった。また、薬剤感受性試験では、3株がbla_{CTX-M-14}, bla_{CTX-M-15}及びbla_{CTX-M-55}を保有する基質特異性拡張型βラクタマーゼ産生株であり、6株はフルオロキノロン耐性株であった。本研究により、牛から分離されるExPECは非常に多様であることが明らかとなった。また、鶏病原性大腸菌のIutA及びIucD保有株は病原性が高いことが知られていることから、IutA及びIucDは牛のExPEC感染症の発症にも重要な役割をしている可能性が考えられた。

P1-005

Salmonella enterica serovar Abortusequi 国内分離株の疫学的解析

○岡村 雅史¹, 大屋 賢司², Hassane Diallo¹, Rahman Nahid¹, Sameera Premaratne¹, 佐々木 貴正¹, 相川 知宏¹ (¹帯広畜産大・獣医, ²国衛研・衛生微生物)

Epidemiological analyses of Domestic Isolates of *Salmonella enterica* serovar Abortusequi

○Masashi Okamura¹, Kenji Ohya², Hassane Diallo¹, Rahman Nahid¹, Sameera Premaratne¹, Yoshimasa Sasaki¹, Chihiro Aikawa¹ (¹Dept. Vet. Med., Obihiro Univ. Agri. Vet. Med., ²Div. Microbiol., NIHS)

Equine paratyphoid, caused by *Salmonella enterica* serovar Abortusequi, continues to occur sporadically in Japan, including consecutive outbreaks among heavy draft horses in Tokachi, Hokkaido in 2021–2022. Although transmission via carrier horses, humans, or wild animals has been suspected, invasion routes and genetic relatedness remain unclear. To support more effective control measures, we characterized 19 domestic isolates through biochemical testing, antimicrobial susceptibility testing, and whole-genome analysis. Biochemical traits characteristic of serovar Abortusequi were consistently observed, including negative citrate utilization, negative H₂S production, and uniformly negative reactions for arginine dihydrolase, α-galactosidase, rhamnose fermentation, and sorbitol fermentation, differing from *S. Typhimurium* SL1344. Antimicrobial testing showed resistance only to streptomycin among 12 agents tested. cgMLST analysis placed isolates into cgST289371 and cgST232055, distinct from the reference strain ATCC9842, with all isolates carrying plasmids of identical size. SNP analysis of five circularized genomes revealed fewer than 20 SNPs despite a 40-year range in isolation years, indicating notable genomic stability of this serovar. Further analyses will assess associations with isolation year, region, and virulence-related factors.

P1-006/FL1-01

ミャンマー由来 ST9 型黄色ブドウ球菌の分子疫学的特徴と系統進化

○漆原 範子¹, Meiji Soe Aung¹, 川口谷 充代¹, 大橋 伸英^{1,2}, 小林 宣道¹ (¹札幌大・医・衛生, ²札幌大・医・口腔外科)

Genome characteristics and phylogenetic evolution of ST9 *Staphylococcus aureus* isolated in Myanmar

○Noriko Urushibara¹, Meiji Soe Aung¹, Mitsuyo Kawaguchiya¹, Nobuhide Ohashi^{1,2}, Nobumichi Kobayashi¹ (¹Div. Hygiene, Sch. Med., Sapporo Medical Univ., ²Dept. Oral Surgery, Sch. Med., Sapporo Medical Univ.)

OBJECTIVE: Sequence type 9 (ST9/CC9) is a dominant livestock-associated *Staphylococcus aureus*. This lineage is thought to have originated as a human-adapted MSSA, later spread to livestock and acquired methicillin resistance. Regional variation in SCCmec types has been reported. This study characterized the genomic features of two Myanmar ST9 strains and their phylogenetic relationships within the ST9/CC9 lineage. **METHODS:** Whole-genome sequencing and annotation were performed for two Myanmar clinical strains, S128 (MSSA) and S286 (MRSA). Core genome SNPs were identified from 189 CC9 strains, including the Myanmar strains and 187 NCBI genomes. **RESULTS and CONCLUSION:** S286 exhibited multidrug resistance, carried SCCmec IX, and possessed a SaPIbov4-like element associated with animal adaptation. S128 showed lower resistance and contained an immune evasion cluster (IEC) typical of human-adapted strains. Phylogenetic analysis placed S286 with Thai and Malaysian CC9-MRSA-IX strains, distinct from European CC9-MRSA-IV and Chinese CC9-MRSA-XII lineages. Southeast Asian strains demonstrate host heterogeneity and variable carriage of SaPIbov4-like elements. These findings indicate a previously uncharacterized CC9/ST9-MRSA-IX cluster in Southeast Asia and underscore the need for further genomic studies to clarify its evolution.

P1-007

ST1 MRSA の経時的なゲノム多様性解析とクローンシフト

○鈴木 匡弘¹, 長南 正佳², 三澤 成毅³, 上原 由紀⁴ (¹藤田医大・医・微生物, ²順天堂大病院・臨床検査部, ³順天堂大・医療科学・臨床検査, ⁴順天堂大・医・感染症)

Longitudinal Genomic Diversity of ST1 MRSA and Its Implication for Clone Shift

○Masahiro Suzuki¹, Masayoshi Chonan², Shigeki Misawa³, Yuki Uehara⁴ (¹Dept. Microbiol., Sch. Med., Fujita Health Univ., ²Dept. Clin. Lab., Juntendo Hospital, ³Dept. Clin. Lab. Tech, Fac. Med. Sci., Juntendo Univ., ⁴Infect. Dis., Sch. Med., Juntendo Univ.)

Specific clonal lineages dominate among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), and temporal clone shifts have been reported in Japan, from ST5 SCCmec type II to ST8 SCCmec type IV, and more recently to ST1 SCCmec type IV. However, the mechanisms underlying these shifts remain unclear. This study aimed to investigate clone shift by analyzing genomic changes in MRSA isolates collected over seven years.

A total of 89 MRSA strains isolated between 2013 and 2019 at Juntendo University Hospital were analyzed. All strains were obtained from different patients and showed genotype 106-183-37 by the Cica Geneus Staph POT kit, indicating ST1 or related variants. Whole-genome sequencing was performed, and SNP analysis was conducted using SNIPPY. Strains were classified into clades based on conserved SNPs, and genetic diversity was assessed by pairwise SNP counts over time. In addition, diversity of ORFs in lysogenized phages was examined.

The strains were classified into three clades (A–C), with clade A being the most prevalent (n = 57). Pairwise SNP counts increased over time. Eleven strains showed distinct phage ORF profiles, nine of which belonged to clade A.

These findings suggest that increasing diversity of lysogenized phages may influence clonal persistence and contribute to MRSA clone shifts.

P1-008/FL1-02

塩基多様度の高い遺伝子による *Citrobacter* spp. のジェノタイプング法の確立

○屋宜 宣慶¹, 名城 凜², 平井 到² (¹琉球大・保健・生理, ²琉球大・保健・微生物)

Establishing the genotyping of *Citrobacter* spp. by high nucleotide diversity genes

○Nobuyoshi Yagi¹, Rin Nashiro², Itaru Hirai² (¹Dept. Clinical Physiol., Sch. Health Sci., Univ. Ryukyus, ²Dept. Microbiol., Sch. Health Sci., Univ. Ryukyus)

臨床検査の現場において *Citrobacter* 属菌は、生化学的性状による菌種鑑別が困難であり、多くの場合 *Citrobacter freundii* complex として報告されている。そのため、菌種ごとの薬剤耐性遺伝子の分布や疫学的特徴については、十分な解析が行われていない。既存の分類法の一つである MLST は7つのハウスキーピング遺伝子を用いるが、一部の菌株ではこれらの遺伝子が欠損しており、適用に制限がある。本研究では、全ゲノム解析に依存しない簡便な *Citrobacter* 属菌の分類手法の確立を目的とし、塩基多様度に着目した遺伝子タイピングの有用性を検証した。NCBI Genome データベースから収集した 453 件の *Citrobacter* 属菌ゲノムを用いてパンゲノム解析を行い、同定されたコア遺伝子 1,113 遺伝子すべてについて塩基多様度を算出した。その結果、塩基多様度は遺伝子間で大きく異なり、高多様度を示す7遺伝子が抽出された。これらの遺伝子を用いて 453 件の *Citrobacter* 属菌を分類し、コアゲノム解析による系統分類との関連性を検証した。その結果、特に group_3152 および *nanK* の2遺伝子によるタイピングで十分に分類可能であることが示唆された。さらに Adjusted Rand Index を用いた評価では、これら2遺伝子による分類結果は MLST と同程度の一致性を示した。本手法は、多数検体の効率的スクリーニングに有用であり、塩基多様度を指標とした分類法は他菌種への応用も期待される。

P1-009

C. novyi と *C. haemolyticum* における菌種再分類の提案

○馬田 貴史, 高松 大輔 (農研機構・動衛研・動物感染症)

Proposal for Reclassification of *Clostridium novyi* and *Clostridium haemolyticum*

○Takashi Mada, Daisuke Takamatsu (Div. Anim. Infect. Dis. Res., Natl. Inst. Anim. Hlth. (NIAH), Natl. Agric. Food Res. Org. (NARO))

Background: *Clostridium novyi* (CN) and *Clostridium haemolyticum* (CH) cause malignant edema and Red Water Disease in livestock, respectively. CN is classified into types A-C (CNA-CNC) based on toxin-gene profiles, and CH was formerly regarded as CN type D. We encountered livestock cases from which these species were isolated, and the previously reported *fliC*-targeted PCR (*fliC*-PCR) for identifying these species could not distinguish between them. Therefore, this study aimed to clarify the phylogenetic relationship between CN and CH using the genomic analyses. **Methods:** NGS data were obtained from 28 strains identified as CN/CH by *fliC*-PCR. A total of 46 genomes, including 18 from GenBank, were compared using ANI to determine species classification. Phylogenetic analysis and searches for reported toxin genes were also conducted. **Results and Conclusion:** CNB and CH strains were phylogenetically clustered within the same clade, distinct from the clade of CNA strains. The ANI value was 81% between CNA and CNB, but exceeded 96% between CNB and CH. The deduced amino acid sequences of alpha toxin differed markedly between CNA and CNB. Our results indicate that CNA and CNB should be considered separate species, whereas CNB and CH as the same species. Therefore, we propose a reclassification in which CNB is transferred from CN to CH, designating CNB as CH type B and CH as CH type D.

P1-010

日本からの密輸出で押収されたリュウキュウヤマガメに寄生していたマダニからの *Borrelia* 属細菌の分離○Yongjin Qiu¹, 本田 直也², Makenzie L. Kwak¹, Samuel Kelava¹, 大杉 祐生¹, 金子 ちひろ¹, 室谷 晴彦¹, 野中 成晃¹, 中尾 亮¹ (¹北大・獣医, ²野生動物生息域外保全センター)Isolation of *Borrelia* spp. from Ticks on Confiscated Ryukyu Black-breasted Leaf Turtles in Japan○Yongjin Qiu¹, Naoya Honda², Makenzie L. Kwak¹, Samuel Kelava¹, Yuki Ohsugi¹, Chihiro Kaneko¹, Haruhiko Murotani¹, Nariaki Nonaka¹, Ryo Nakao¹ (¹Fac. Vet. Med., Hokkaido Univ., ²Wildl. Ex-situ Conserv. Center)

We isolated and characterized reptile-associated (REP) *Borrelia* from ticks infesting the endangered Ryukyu Black-breasted leaf turtle, *Geoemyda japonica*, in Japan. A total of 77 *Amblyomma kappia* nymphs were collected from six *G. japonica* individuals confiscated during an attempted illegal export at a Japanese international airport. Ticks were surface-sterilized and inoculated into BSK-M medium, and spirochetes were isolated from 24 of 77 ticks (31.2%). All isolates were subjected to PCR and sequencing of 16S rRNA and *flaB*, and eight representatives were further analyzed for *glpQ*, *groEL*, and *gyrB*. BLASTn analysis showed 97.3–100% identity to previously reported REP *Borrelia*. Phylogenetic analysis of *flaB* revealed that all isolates clustered within the REP *Borrelia* group, together with *Borrelia* detected in *A. geoemydae* sensu lato parasitizing *Cuora flavomarginata evelynae* on Iriomote Island and in *A. geoemydae* sensu stricto from Thailand. However, they formed a distinct sister clade to *Borrelia turcica*. A tree based on concatenated *groEL* and *gyrB* sequences showed a consistent topology, supporting a genetically distinct REP *Borrelia* lineage circulating in the tick–turtle systems in the Ryukyu Archipelago. Our findings indicate that illegal trade of protected reptiles may facilitate the transboundary movement of endemic tick–*Borrelia* assemblages.

P1-011

Vibrio paracholerae と *Vibrio cholerae* を迅速に判別する PCR 法○巖石 あや¹, Rajalakshmi Balasubramanian², 今西 規² (¹東海大院・医学研究科, ²東海大・医・分子生命)A rapid PCR-based discrimination of *Vibrio paracholerae* and *Vibrio cholerae*○Aya Takeishi¹, Rajalakshmi Balasubramanian², Tadashi Imanishi² (¹Grad. Sch. Med., Tokai Univ., ²Dept. Mol. Life Sci., Sch. Med., Tokai Univ.)

Vibrio paracholerae is a new species closely related to *Vibrio cholerae*. However, the 16S rRNA sequences of both species are highly similar, making accurate identification difficult using conventional methods. Therefore, in this study, we developed a novel PCR method capable of rapid and sensitive identification of the two species. We designed six primer sets targeting two *Vibrio paracholerae*-specific genes (HAD-IB and amyM) and four *Vibrio cholerae*-specific genes (*ctx*, *rfbO1*, *rfbO139*, and *atpA*) and performed multiplex PCR. As a result, species-specific amplification was confirmed in 10 *Vibrio* strains. Furthermore, Sanger sequencing revealed the high specificity of two primer sets for *Vibrio paracholerae*. This method is capable of rapidly distinguishing between *Vibrio paracholerae* and *Vibrio cholerae* and is expected to be a useful tool in epidemiological surveys and environmental monitoring.

P1-012

Prototheca bovis 国内株の全ゲノム塩基配列と新規遺伝子型別法の開発○秋庭 正人¹, 翁長 みのり¹, 関塚 剛史², 安富 一郎³, 内田 郁夫¹ (¹酪農大・獣医・細菌学, ²関塚産業, ³ゆべつ牛群管理サービス)Draft genome sequence of domestic *Prototheca bovis* isolates and development of a genotyping method○Masato Akiba¹, Minoru Onaga¹, Tsuyoshi Sekizuka², Ichiro Yasutomi³, Ikuo Uchida¹ (¹Dept. Pathobiol., Sch. Vet. Med., Rakuno Gakuen Univ., ²Sekizuka Sangyo Ltd., ³Yubetsu Gyugun Kanri Service)

【目的】藻類である *Prototheca bovis* (Pb) による牛乳房炎は難治性であり、現時点では有効な治療法が確立されていない。本研究では、Pb による牛乳房炎の防除技術の確立を最終目標とし、その基盤整備を行うことを目的とした。【方法】2024年に北海道の牛から採取した乳汁より分離した Pb P18 株の全ゲノム塩基配列を PacBio Revio で解析し、デノボアセンブリを実施した。得られた配列を基準株である Pb SAG2021 株及び *P. cijferrii* (Pc) の全ゲノム塩基配列と比較した。また、P18 株と SAG2021 株の比較解析で認められた一塩基変異 (SNV) をもとに、国内野外分離株から一塩基多型 (SNP) を抽出し、それらを連結した疑似塩基配列を用いた遺伝子型別を試みた。【結果と考察】P18 株の染色体は 27 本のコンティグで構成され、総サイズは 27 Mb であった。ミトコンドリアおよびプラスチドについては完全長塩基配列が得られ、それぞれ 39 kb, 29 kb であった。Pb P18 株は、Pb SAG2021 株との平均ヌクレオチド同一性 (ANI) が 99%以上であるのに対し、Pc 株との ANI は約 88%であった。農場環境から分離されるが牛の乳汁からは分離されない Pc のゲノムを Pb のそれと比較したところ、種特異的遺伝子の中にアミノ酸や炭水化物の輸送と代謝に関わる遺伝子が多いことが示された。さらに、P18 株と SAG2021 株のミトコンドリアおよびプラスチド配列を整列比較した結果、ミトコンドリアで 19 個、プラスチドで 4 個の SNV が認められた。これらの SNV を含む国内野外分離株の PCR 増幅断片から SNP を抽出したところ、32 個の SNP を見出した。これらの SNP を連結した疑似塩基配列を比較した結果、国内の異なる農場由来の 8 株を概ね識別可能であった。

P1-013

比較ゲノムと in vivo 感染モデルによる *Aeromonas enteropelogenes* の病原性解析

○山崎 浩平¹, 外崎 佑果¹, Klara Kursanbaeva^{1,2}, 辻 桃奈¹, 森田 昌知³, 荒川 英二³, 泉谷 秀昌³, 明田 幸宏^{3,4,5}, 柏本 孝茂¹ (北里大・獣医・獣医公衆衛生, ²Kyrgyz RIVS (A. Duisheev), ³国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所・細菌第一部, ⁴大阪大・微生物病研究所, ⁵大阪大院・医学系研究科)

Comparative Genomics and an Infection Model Reveal Virulence Traits of *Aeromonas enteropelogenes*

○Kohei Yamazaki¹, Yuka Tonosaki¹, Klara Kursanbaeva^{1,2}, Momona Tsuji¹, Masatomo Morita³, Eiji Arakawa³, Hidemasa Izumiya³, Yukihiro Akeda^{3,4,5}, Takashige Kashimoto¹ (Vet. Public Health, Sch. Vet., Kitasato Univ., ²Kyrgyz RIVS (A. Duisheev), ³Dept. Bacteriology I, NIID, JIHS, Japan, ⁴RIMD, Osaka Univ., ⁵Grad. Sch. Med., Osaka Univ.)

Aeromonas enteropelogenes has been historically underrecognized due to its low antimicrobial resistance and limited documentation in human infections. However, reports of isolation and infection have recently increased, particularly across Asian countries. We analyzed all publicly available *A. enteropelogenes* genomes (58 strains) together with our isolate 13-04 and conducted pathogenicity assays using an in vivo infection model to characterize its genomic attributes and evaluate its virulence. Comparative genomic screening revealed a set of virulence-associated loci conserved across strains, including multiple toxins and extracellular proteases, and genes related to the type II secretion pathway. Notably, *A. enteropelogenes* represents a rare Aerolysin-producing species outside the pathogenic lineages *A. dhakensis* and *A. hydrophila*, and displays a toxin gene repertoire distinct from these species, indicating a species-specific toxin profile. Functional assays demonstrated strong hemolytic activity in strain 13-04, consistent with the expression of conserved toxin genes. In the mouse soft-tissue infection model, the strain produced pronounced tissue lesions. Given that *Aeromonas* species are globally important zoonotic pathogens, the emerging evidence for *A. enteropelogenes* underscores the need to recognize this overlooked species as a relevant public health concern.

P1-014

日本国内の肉用鶏から分離された *Enterococcus cecorum* 株のゲノム解析

○松原 幸芽¹, 大倉 正稔¹, 熊谷 真彦², 矢崎 裕規², 馬田 貴史¹, 高松 大輔¹ (農研機構・動衛研, ²農研機構・分析研)

Genomic analysis of *Enterococcus cecorum* strains isolated from broilers in Japan

○Koume Matsubara¹, Masatoshi Okura¹, Masahiko Kumagai², Euki Yazaki², Takashi Mada¹, Daisuke Takamatsu¹ (National Inst. Animal Health, NARO, ²Research Center for Advanced Analysis, NARO)

【背景】*Enterococcus cecorum* (EC) は、鶏の腸内常在菌の一つであるが、2002 年以降、欧米で本菌による肉用鶏の敗血症・運動障害が複数報告され、病原性株の出現と伝播が示唆されてきた。現在 EC 感染症は世界的に問題となっており、日本国内でも発生報告が増加している。海外株についてはゲノム解析研究が行われているが、国内分離株のゲノム性状は未だ明らかになっていない。そこで本研究では、国内分離株について全ゲノム解析を実施した。【材料・方法】国内の EC 感染症発症肉用鶏および採卵鶏や他の家畜から分離された株計 124 株から NGS データを取得して、コンブリートゲノムあるいはドラフトゲノムを構築した。構築ゲノムについて、海外株との分子系統解析、薬剤耐性遺伝子および既報で病鶏由来株に多く認められた 5 遺伝子(病鶏関連遺伝子)の検出を行った。国内株については 16 薬剤に対する感受性試験も実施した。【結果】国内病鶏由来株の大部分は、既報の病鶏由来株の多くが属するクレードに分類され、欧州株と近縁であった。これらは薬剤耐性遺伝子の保有数が少なく、5 つの病鶏関連遺伝子を全て保有する傾向にあった。一方で国内分離株の一部は、それらと系統的に離れた複数のクレードに分類された。これらは多剤耐性株が多い傾向にあり、病鶏関連遺伝子の保有パターンは多様であった。【考察】国内の肉用鶏における EC 感染症の多くは、欧州の病鶏由来株に近縁な株の伝播により起こったと考えられる。一方で、一部は薬剤感受性や病原性の異なる複数の系統由来である可能性がある。今後、病原性に関わる遺伝子の探索と、系統による病原性や薬剤感受性の違いについて更なる解析が必要である。

P1-015

大阪沿岸海水から分離された *Cysteiniphilum* sp. GTC20157 のゲノム配列解析

○中 雄志², 林 将大¹, 待田 裕美², 宮田 雅典², 武藤 吉徳¹, 田中 香お里¹ (岐阜大, ²(株) MIZUKEN)

Genome sequence of *Cysteiniphilum* sp. GTC20157 isolated from coastal seawater in Osaka, Japan

○Yushi Naka², Masahiro Hayashi¹, Hiromi Machida², Masanori Miyata², Yoshinori Muto¹, Kaori Tanaka¹ (Gifu Univ., ²MIZUKEN Co., Ltd.)

【背景・目的】*Cysteiniphilum* 属は主に海洋・沿岸環境から分離されるグラム陰性細菌であり、これまでに 3 菌種が報告されているが、わが国での分離報告はない。さらに、生理学および遺伝学的情報は限られており、特に完全長ゲノム配列に基づく知見は乏しい。本研究では、大阪府沿岸海水から分離された *Cysteiniphilum* sp. GTC20157 株について完全長ゲノム配列を決定し、その遺伝的特徴を明らかにすることを目的とした。【方法】GTC20157 株について、37℃、好気条件下で 48 時間 BCYE 寒天培地上で培養し、ゲノム DNA は NucleoBond HMW DNA キットを用いて抽出した。PromethION 2i による長鎖リードおよび DNBSEQ による短鎖リードを用いてハイブリッドアセンブリを行い、完全環状化後に遺伝子予測およびアノテーションを実施した。【結果】GTC20157 株のゲノムは、2.5 Mbp の環状染色体と 149 kbp の環状プラスミドから構成されており、2,376 個のコード配列、12 個の rRNA、46 個の tRNA、および 1 個の CRISPR 配列が同定された。16S rRNA 遺伝子配列に基づく系統解析の結果、比較した *Cysteiniphilum marinum*, *Cysteiniphilum halobium* および *Cysteiniphilum littorale* の基準株とはそれぞれ 98.5%, 96.6%, 98.2% の相同性を示した。ゲノム配列の平均ヌクレオチド相同性に基づく菌種同定を試みたが、既存菌種において同定には至らなかった。【結論】*Cysteiniphilum* GTC20157 株の完全ゲノム配列を明らかにした。One Health の観点からも環境細菌の実体を捉えたゲノム解析は重要であり、本ゲノム情報は、同属菌の生物としての分類学的・遺伝的特徴の理解を進める上で有用である。

P1-016

レジオネラ症患者の感染源調査のための全ゲノム SNP 解析

○金谷 潤一¹, 前西 絵美², 木全 恵子¹, 齋藤 和輝¹, 池田 佳歩¹, 大島 萌愛¹, 清水 ひな¹, 大石 和徳¹ (富山衛研・細菌, ²富山衛研・研究企画)

Whole-genome SNP analysis for source investigation of legionellosis patients

○Jun-ichi Kanatani¹, Emi Maenishi², Keiko Kimata¹, Kazuki Saito¹, Kaho Ikeda¹, Moe Oshima¹, Hina Shimizu¹, Kazunori Oishi¹ (Dept. Bacteriol., Toyama Inst. Health, ²Dept. Res. Plann., Toyama Inst. Health)

【目的】レジオネラ症に関しては、感染事例における全ゲノム解析でどの程度 SNP が検出されるのかについての知見が乏しい。そこで本研究では、患者および当該患者が利用した入浴施設から分離された菌株について全ゲノム SNP 解析を実施し、実際の事例で分離された菌株の遺伝的な近縁度・多様性を明らかにする。

【方法】患者および感染源と疑われる入浴施設由来株の ST が一致した 11 事例(疑い含む)において、SNPcaster によりコアゲノム SNP を抽出し、組み換え領域を除去後、各事例内の SNP 数を明らかにした。また、同一検体から分離された ST が同じ 6-8 株についても同様に解析し、同一検体内における SNP の蓄積を評価した。

【結果及び考察】11 事例について解析した結果、各事例内における患者株と環境株間で検出された SNP 数は 0-24 であった。一方、組み換え領域を除去しなかった場合、3 事例において患者株と一部の環境株間で 100 SNPs 以上(最大 443 SNPs)が検出された。したがって、入浴施設の水環境中では、レジオネラ・ニューモフィラが遺伝子組み換えを起こしている可能性が示唆された。レジオネラ症患者の感染源調査において全ゲノム SNP 解析を実施する場合は、組み換え領域は除去したほうが良いと考えられる。また、同一検体から分離した菌株では、臨床検体の 10/12 検体で SNP は検出されなかった一方で、環境検体の 11/13 検体で SNP が検出された。したがって感染源調査の際は、とりわけ環境株については遺伝子組み換えを起こした株を検査に供する可能性も考慮し、複数株について解析することが望ましいと考えられた。

P1-017

我が国の家畜・家きんにおける *Salmonella* Schwarzengrund の浸潤状況と遺伝的関係性

○新井 暢夫¹, 玉村 雪乃¹, 若林 友騎², 古屋 裕崇¹, 桃木 杏奈¹, 渡部 綾子¹, 岩田 剛敏¹, 楠本 正博^{1,3} (¹農研機構・動衛研, ²大安研・微生物, ³大阪公立大院・獣医)

The prevalence and phylogenetic relationships of *Salmonella* Schwarzengrund among food animals

○Nobuo Arai¹, Yukino Tamamura-Andoh¹, Yuki Wakabayashi², Hiroataka Furuya¹, Anna Momoki¹, Ayako Watanabe-Yanai¹, Taketoshi Iwata¹, Masahiro Kusumoto^{1,3} (¹Natl. Inst. Anim. Health, NARO, ²Div. Microbiol., Osaka Inst. Pub. Health, ³Grad. Sch. Vet. Sci., Osaka Metro. Univ.)

【背景】*Salmonella* Schwarzengrund (SS) は家きんでの分離頻度が上昇するとともに、サルモネラ食中毒における割合も高まっている。また、近年では牛における SS 感染事例が報告されるなど、他の動物種への拡散が懸念されている。本研究では新規 SS 同定法を構築し、我が国の家畜・家きんにおける本菌の浸潤状況と遺伝的関係性を明らかにすることを目的とした。

【方法】サルモネラの主要 20 血清型 24 株の全ゲノム情報から見出した SS 同定可能な 3 遺伝子を検出するマルチプレックス PCR 系を構築した。本法を SS 81 株、非 SS サルモネラ属菌 90 株に適用し、感度と特異度を評価した。健康家畜・家きん糞便由来 DNA 合計 4,266 検体（鶏 837, 豚 1,839, 牛 1,590）を用いて、本法によるスクリーニング、及び糞便培養液からの菌分離を実施した。健康動物由来 SS 及びその他の国内分離株を加えた SS 96 株（鶏 85, 牛 1, 野生動物 2, ヒト 8）について Illumina NovaSeq により全ゲノム情報を取得した。海外データベース SS 計 370 株とともにコアゲノム SNP による系統解析を実施した。

【結果・考察】新規 SS 同定 PCR により SS 及び非 SS サルモネラ属菌を感度及び特異度 100% で識別できることが確認された。糞便 4,266 検体における PCR 陽性率は、鶏 12.5%, 豚 0.1%, 牛 0% であり、豚及び牛における家畜衛生上のリスクは低いと推測された。系統解析及び multilocus sequence typing の結果、SS は 2 つの系統群に区分された。1990 年代の国内分離株は sequence type (ST) 96 系統、2016 年以降の分離株は動物種に関わらず ST241 系統に集約されたことから、我が国の動物及びヒトに遺伝的背景の類似した SS が浸潤していることが示唆された。

P1-018/WS12-1

ゲノム解析が示す腸管侵入性大腸菌の接合性病原プラスミドの拡散と新規系統の出現

○岡田 和久¹, Warawan Wongboot², Amonrattana Roobthaisong¹, 飯田 哲也³, 浜田 茂幸¹ (¹阪大・微研・RCC-ERI, ²Thai NIH, ³阪大・微研・細菌感染)

Genome analysis of EIEC reveals spreading conjugative virulence plasmids and emerging lineages

○Kazuhisa Okada¹, Warawan Wongboot², Amonrattana Roobthaisong¹, Tetsuya Iida³, Shigeyuki Hamada¹ (¹RCC-ERI, RIMD, Osaka Univ., ²Thai NIH, ³Dept. Bacterial. Infect., RIMD, Osaka Univ.)

Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) is a diarrheagenic pathotype that shares virulence traits with *Shigella*, including the invasion plasmid (pINV). National surveillance in Thailand identified two outbreaks caused by EIEC O96:H19 and O8:H19, each affecting over 150 patients. We also isolated a new serotype, OX18:H25, together with five classical EIEC serotypes and *Shigella* from stool samples across Thailand. Comparative genomics showed that isolates from both outbreaks and OX18:H25, classified as emerging, phylogenetically distinct lineages, harbored highly similar pINV plasmids with conserved invasion genes, complete conjugation elements, and many shared genes. Classical EIEC and *Shigella* retained only remnants of conjugation elements. The emerging lineages showed biochemical traits typical of commensal *E. coli* rather than classical EIEC/*Shigella*. Moreover, compared to *Shigella* and classical EIEC, they exhibited limited chromosomal reduction, such as retention of the *cad* operon for moderate acidic stress adaptation, and fewer acquired virulence genes, suggesting recent pINV acquisition. Phylogenomics further indicated that OX18:H25 is closely related to livestock-associated non-pathogenic *E. coli*, again supporting recent horizontal acquisition of pINV. These findings highlight the active spread of conjugative pINV and the emergence of evolving EIEC lineages with outbreak potential.

P1-019

岐阜県内の環境水における *Escherichia albertii* の検出と分離菌株の詳細解析

○水野 卓也, 松本 清, 佐合 ゆかり, 竹ノ内 遥, 亀山 芳彦 (岐阜県保健環境研究所)

Prevalence and characterization of *Escherichia albertii* in environmental waters of Gifu prefecture

○Takuya Mizuno, Kiyoshi Matsumoto, Yukari Sago, Haruka Takenouchi, Yoshihiko Kameyama (Gifu Prefectural Research Inst. Health and Environmental Sciences)

日本国内で *Escherichia albertii* による食中毒事例が報告されているが、保菌動物からヒトへの感染経路は未解明である。我々は、過去の事例で湧水や井戸水が原因と推定されたこと、環境水からの検出報告があることに着目し、岐阜県内の河川水における *E. albertii* の検出状況と分離株の性状を調査した。

2024 年 9 月から 2025 年 8 月に県内河川 20 地点から 192 検体を採取し、100 mL をフィルター濃縮後、NCT-mTSB 培地で増菌培養した。増菌液から DNA を抽出し遺伝子スクリーニングを実施し、陽性検体について XR-MAC 培地で分離培養した。疑集落について、PCR で同定した。同一検体由来株は RAPD 法で比較し、同一パターンを示す株を同一由来と判定し、生化学性状、主要病原因子、O 遺伝子型を解析した。

その結果、11 地点 15 検体から *E. albertii* を検出し、うち 2 地点は複数回検出された。これらは野鳥の餌場に近く、鳥類の関与が示唆された。季節別では夏季（6～8 月）に 9 検体検出と多く、季節性が認められた。分離株は国内で主要な生物型 3 が 14 株、稀な生物型 1 が 1 株で、ウレアーゼ陽性の非定型株も確認された。病原因子として、*eae* はすべての株が保有していたが、*stx2f* の保有は認められなかった。O 遺伝子型は 6 種類で EAOg12, EAOg18 が主要型であり、ヒト由来株で多い型が含まれていた。河川水由来株は多様で、一部はヒト由来株と同様の性状を有しており、両者の関連性が示唆された。

P1-020/WS12-2

インド・コルカタ地域でのコレラ菌 O1 との重複感染の調査

○岡本 敬の介^{1,2}, 高橋 栄造^{1,3}, 三好 伸一¹, 越智 定幸³, Dutta Shanta¹, Mukhopadhyay Asish¹, Kanungo Suman¹, 元岡 大祐⁴, 中村 昇太⁴, 飯田 哲也^{2,4} (¹岡山大学・インド感染症共同研究センター, ²大阪大・微研・細菌感染, ³横浜薬科大・感染予防, ⁴大阪大・微研・感染症メタゲノム)

Survey of co-infection with *Vibrio cholerae* O1 in Kolkata, India

○Keinosuke Okamoto^{1,2}, Eizo Takahashi^{1,3}, Shin-ichi Miyoshi¹, Sadayuki Ochi³, Dutta Shanta¹, Mukhopadhyay Asish¹, Kanungo Suman¹, Daisuke Motooka⁴, Shota Nakamura⁴, Tetsuya Iida^{2,4} (¹Colla. Res. Cen. Okayama Univ. Infect. Dis., Okayama Univ., ²Dept. Bact. Infect., Res. Ins. Micro. Dis., Osaka Univ., ³Fac. Pharm. Sci., Yokohama Univ. Pharm., ⁴Dept. Infect. Meta., Res. Ins. Micro. Dis., Osaka Univ.)

【目的・方法】

インド・コルカタ地域は、コレラ菌以外にも多種類の下痢原因微生物が棲息しており、それらが、重複感染することもあり得る。私たちは重複感染の実態を明らかにするため、47 名のコレラ患者の下痢便をメタゲノム解析で分析し、生息する細菌、ウイルス、真菌、原虫・寄生虫を調査した。

【結果・考察】

1. 下痢便中の細菌の検索：患者下痢便中に、全菌の 5% 以上の割合で生息し、かつ健常者の便での検出割合は 0.2% 以下の菌の、糞便中での量的比率を調べた。その結果、下痢便中から、*Campylobacter jejuni*, *Plesiomonas shigelloides*, *Brachyspira pilosicoli* が、その患者の下痢の主原因であると思われる患者が見出された。また全菌の 54% を *Streptococcus* が占める患者も見出し、この患者は真菌の解析から、腸管カンジダ症を起こしていると推察した。

2. 便中のウイルス由来の RNA が増加している患者が 2 名いた。解析の結果、この 2 名はそれぞれ *Enterovirus A* と *Parechovirus A* に感染していると思われた。

3. 原虫・寄生虫由来の遺伝子を検索した結果、3 名において、*Giardia intestinalis* 由来の遺伝子の顕著な増加が見出された。コレラ症と診断された患者に、他の微生物の重複感染が生じていることが明らかになった。

P1-021/WS12-4

2025 年に大流行したマクロライド耐性百日咳菌のゲノム解析について

○平井 真太郎, 木村 千鶴子, 四宮 博人 (愛媛県立衛生環境研究所)

Genome analysis of macrolide-resistant *B. pertussis* that became highly prevalent in 2025 in Japan

○Shintaro Hirai, Chizuko Kimura, Hiroto Shinomiya (Ehime Prefectural Inst. Public Health and Environmental Science)

【背景】近年、中国など諸外国でマクロライド耐性百日咳菌(macrolide-resistant *B. pertussis*, MRBP)の出現と拡大が問題となっている。我が国でも 2018 年以降、MRBP の検出が報告されているが、不明な点も多い。臨床的にマクロライド系薬の効果(感受性)を判断するのは困難であり、MRBP のサーベイランスを実施した。【対象と方法】2025 年 7 月 3 日～8 月 31 日の期間に、抗原検査や遺伝子検査によって百日咳と診断された症例から検体を収集し、MRBP の遺伝子検査を実施した。また、分離株についてエリスロマイシン感受性試験を E-test 法により行い、NGS による全ゲノム解析を実施した。【結果と考察】88 症例から検体が収集され、このうち 66 症例の検体が百日咳菌遺伝子陽性であった(陽性率 75.0%)。陽性症例の年齢区分では、10～14 歳が最も多く、5～9 歳が次に多かった。百日咳菌陽性 66 例の検体の 23S rRNA 遺伝子を解析したところ、57 例の検体に変異型(A2047G)で(86.4%)、9 例の検体が野生型(A2047)であった(13.6%)。分離された変異株 8 株はエリスロマイシンに対して耐性を示した。百日咳菌の病原因子遺伝子やプロモーター領域には遺伝子多型が見られるが、分離株のゲノム解析したところ、変異株は同じ遺伝子アレル(*ptxP3/ptxA1/jhaB1*)を有し、SNP 解析でも相互に極めて近縁であった(0-8 SNPs)。これらの結果から、2025 年に県内で流行している百日咳菌の大部分が MRBP(86.4%)であることが明らかにされるとともに、県内に流入した共通の系統の株から SNPs を蓄積しながら流行が拡大した可能性が示唆された。

P1-022

腸管出血性大腸菌の大規模集団事例解析にもとづく SNP 解析条件の最適化

○李 謙一, 伊豫田 淳, 泉谷 秀昌, 明田 幸宏 (国立感染症研究所・細菌第一部)

Optimization of SNP analysis parameters based on large-scale outbreak investigations

○Ken-ichi Lee, Sunao Iyoda, Hidemasa Izumiya, Yukihiro Akeda (Dept Bacteriol. I, Natl. Inst. Infect. Dis.)

【背景と目的】全ゲノム配列にもとづく単一塩基多型 (SNP) 解析は、菌株間の関連性を高精度に評価できるため、集団感染調査や系統解析に広く用いられている。一方、SNP 解析は相同組換え等の大規模な変異の影響を受けるため、可動性領域の除外や組換え検出ツールの利用など、さまざまな補正方法が提案されている。しかし、これらの条件を体系的に評価した研究は限られている。そこで本研究では、腸管出血性大腸菌 O111 の集団感染事例株を対象に、SNP 解析における最適条件を明らかにすることを目的とした。【方法】2006–2014 年に国内で分離された集団感染由来 EHEC O111 (76 事例, 543 株)について、ショートリード配列から SNPcaster (<https://github.com/leech-rr/SNPcaster>)を用いて SNP を抽出した。事例内 SNP 数の分布を主な指標とし、Gubbins による組換え領域除去や、プロファージ等の問題領域が解析に及ぼす影響を比較した。また、複数の参照配列を用いた際に、事例間での SNP 数がどう変化するか併せて検討した。【結果および考察】解析の結果、Gubbins による組換え除去は事例内 SNP 数に影響を与えなかった。一方で、100 bp 以内に複数の SNP が集中するクラスター SNP、リピート、およびプロファージ領域は SNP 密度が高く、解析の安定性を損なう可能性が示された。全体の 99.5% のデータが 10 SNP 以内に収まるという近縁性の指標は、これら領域の扱いによって大きく変動しなかった。参照配列の検討では、事例内の株を用いた際に SNP 数は最大となったものの、同一血清型の代表株を用いた場合と大きな差異は認められなかった。現在は、組換え頻度の高い淋菌やレジオネラ等を対象に同様の検証を進めている。

P1-023

ベトナム南部における非臨床環境由来のメチシリン耐性ブドウ球菌の分布と特性

○牛島 由理¹, Le Thuy Thi Nguyen², Annisa Krama¹, 松岡 桃子³, 山崎 健汰⁴, 宮田 照美⁵, 東出 正人⁵, Nghi Bao Nguyen^{3,6}, Mais Maree¹, 森川 一也¹ (¹筑波大・医系, ²Biotechnology Center of Ho Chi Minh City, Vietnam, ³筑波大・人間総合科学学術院, ⁴筑波大・医療, ⁵江東微生物研究所, ⁶Univ. Medicine and Pharmacy at HCMC, Viet)

Characteristics of methicillin-resistant staphylococci from non-clinical settings in Vietnam

○Yuri Ushijima¹, Le Thuy Thi Nguyen², Annisa Krama¹, Momoko Matsuoka³, Kenta Yamazaki⁴, Terumi Miyata⁵, Masato Higashide⁵, Nghi Bao Nguyen^{3,6}, Mais Maree¹, Kazuya Morikawa¹ (¹Inst. Med., Univ. Tsukuba, ²Biot. Cent. HCMC, Viet, ³Grad. Sch. Comprehensive Human Sciences, Univ. Tsukuba, ⁴Sch. Medicine and Health Sciences, Univ. Tsukuba, ⁵Kotobiken Med. Lab, Inc., ⁶Univ. Medicine and Pharmacy at HCMC, Viet)

Background: Acquisition of methicillin-resistant genes enables staphylococci to evade β -lactam antibiotics, facilitating their spread beyond hospitals to the wider environment. Methicillin-resistant staphylococci (MRS) are considered potential reservoirs of *mec* genes. However, information on MRS in non-clinical settings remains limited. **Methods:** This study conducted a survey on MRS in Vietnam between 2022 and 2024, targeting five categories: meats, livestock, animal-feces, environments, and pets. The presence of resistance genes (*mecA-D*) and SCC*mec* types were confirmed by PCR. Species were identified by TOF-MS. Methicillin resistance phenotypes were determined by disk diffusion tests using oxacillin (MPI) and cefoxitin (CFX). **Results:** A total of 167 MRS isolates comprised 19 species and 7 SCC*mec* types. The detection rate (89.3–31.6%) was highest in meats, followed by livestock, animal feces, environments, and pets. In disk diffusion tests, inhibition zone diameters for MPI and CFX were correlated among the MRS carrying hospital-acquired SCC*mec* types (I–III). Heterogeneous resistance was observed in 11 species with the highest frequency in *Staphylococcus sciuri*. **Conclusions:** The high detection rate indicates the widespread dissemination of diverse MRS. A correlation between MPI and CFX inhibitory zone diameters was observed only among isolates carrying certain SCC*mec* types.

P1-024/WS12-7

日本の環境水およびアライグマにおける *Escherichia albertii* の汚染実態および遺伝学的特徴解析

○日根野谷 淳¹, 田上 綾², Sharda Prasad Awasthi^{1,3,4}, 徐 炳婷¹, 畑中 律敏^{1,2,3,4}, 山崎 伸二^{1,2,3,4} (¹阪公大・獣医, ²大府大・生命環境, ³阪公大・アジア健康科学研究所, ⁴阪公大・大阪国際感染症研究センター)

Occurrence and genomic features of *Escherichia albertii* in environmental water and raccoons in Japan

○Atsushi Hinenoya¹, Rin Tagami², Sharda Prasad Awasthi^{1,3,4}, Bingting Xu¹, Noritoshi Hatanaka^{1,2,3,4}, Shinji Yamasaki^{1,2,3,4} (¹Grad. Sch. Vet. Sci., Osaka Metrop. Univ., ²Sch. Life Environ., Osaka Pref. Univ., ³AHSRI, Osaka Metrop. Univ., ⁴OIRCID, Osaka Metrop. Univ.)

Escherichia albertii is an emerging zoonotic foodborne pathogen. To better understand its environmental ecology and transmission dynamics, we conducted a comprehensive surveillance of environmental water and wild raccoons in Osaka, Japan. High prevalence of *E. albertii* was detected in river water (76.6%) and raccoons (57.7%) using species-specific PCR. Sequential water sampling at two river locations, performed thrice at 30-minute intervals, consistently yielded PCR-positive results, indicating the persistent presence of *E. albertii*. Isolates from the sequential samplings suggested continuous presence of certain *E. albertii* clones. WGS of 147 isolates from river water and raccoons revealed the substantial genomic diversity, overlapping phylogeny, and clonal relationships between strains from both sources. Notably, one raccoon and one environmental water strain, collected in the same city and period, differed by fewer than 20 SNPs and showed only a single-band difference in PFGE, suggesting potential inter-source transmission. Some environmental and raccoon strains demonstrated close genetic relationships with human clinical strains. These findings suggest that *E. albertii* is widely distributed in aquatic environments and wildlife in Japan and has a potential to cause human infections. This study provides new insights into the ecology and public health risks of *E. albertii*.

P1-025

肉用牛農場における志賀毒素産生性大腸菌の季節による発生動向に関する研究

○吉永 陽菜乃, 長谷 篤, 西堀 奈穂子, 中山 達哉 (広島大・統合生命科学・食品衛生)

Seasonal occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle farms

○Hinano Yoshinaga, Atsushi Hase, Nahoko Nishibori, Tatsuya Nakayama (Dept. Food Hyg., Grad. Int. Sci. Life., Hiroshima Univ.)

志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: STEC) は志賀毒素を産生する大腸菌の総称で、ヒトや動物に対して病原性を示す。牛は STEC の主要な保菌宿主であり、牛肉などを介した食中毒事例も多い。複数の先行研究では、牛における STEC 保菌率は夏季に上昇するとの報告があり、その背景には環境条件や飼養管理など複数の要因が関与していると想定されるが、明確ではない。そこで本研究では、広島県内の 2 農場において肉用牛の糞便および施設環境から検体を採取し、STEC の出現状況を明らかにすることを目的とした。2025 年 5~11 月に農場 A から 129 検体、農場 B から 155 検体を採取し、ノボビオンを含む mEC 培地 (極東製薬工業) で培養後、CHROMagar STEC (関東化学) に塗抹し、定型コロニーを釣菌した。STEC 検出率は、農場 A では春 32.5%、夏 9.5%、秋 14.9%と夏季に明瞭な低下がみられたのに対し、農場 B では春 27.5%、夏 29.4%、秋 32.1%と大きな季節差は認められなかった。O 血清型別の結果、農場 A では年間を通じて Og163 が 30 株中 27 株を占め、特定血清型の定着が示唆された。一方、農場 B では春に Og116、夏に Og157 が多く検出されるなど季節により主要血清型が変化し、多様な菌株が存在していた。農場 A は飼養頭数が少ないため、特定株が持続的に維持され、その排菌量が季節的要因に左右されやすいと考えられた。対照的に農場 B は牛群の出入りが多く開放的であり、外部環境からの菌流入により季節的要因による影響が少ない可能性が高い。これにより、STEC の季節変動は農場の飼養環境や菌叢構造に強く依存し、一般に報告される「夏季の増加」が必ずしも一般的ではないことが考えられる。

P1-026

農村地域における STSS 発生追跡のための環境サーベイランス

○Dhammika Leshan Wannigama^{1,2}, 浜本 洋¹, 下平 義隆¹, 阿部 修一² (1)山形大・医・感染症学講座, (2)山形県立中央病院・感染症内科・感染対策部)

Environmental Surveillance to Track Emerging Streptococcal Toxic Shock Syndrome in Rural Japan

○Dhammika Leshan Wannigama^{1,2}, Hiroshi Hamamoto¹, Yoshitaka Shimotai¹, Shuichi Abe² (1)Dept. Infectious Diseases Yamagata Univ. Fac. Medicine, (2)Dept. Infectious Diseases and Infection Control, Yamagata Prefectural Central Hospital)

Japan has seen a marked increase in streptococcal toxic shock syndrome (STSS), mainly linked to *Streptococcus pyogenes*. The cause of this rise is unclear, especially in rural areas with many older adults. This study assessed the presence of Group A *Streptococcus* (GAS) on public environmental surfaces to clarify possible transmission risks. From June 2022 to May 2024, we collected 6,714 swabs from public facilities in 35 cities in Yamagata Prefecture. Samples were tested for speB and spy1258 genes using RT-qPCR, and positive samples underwent emm typing and M1UK sublineage analysis. Two clinical STSS isolates were sequenced for comparison. GAS genes were detected in 87.7% of samples, with higher levels in autumn and winter. The emm1 genotype increased over time, with rapid expansion of the M1UK sublineage. Environmental sequences clustered with clinical isolates. csrS mutations associated with enhanced virulence were identified in several emm types. This study provides the first large-scale environmental GAS surveillance data in Japan. The widespread detection of GAS and genomic similarity to clinical STSS cases indicate that environmental monitoring can support early detection and help guide prevention efforts in rural, aging communities.

P1-027/WS12-3

JARBS-GNR 2019–2020 由来 *Klebsiella oxytoca* complex のゲノム解析

○菅原 庸¹, 林 航¹, 林 幾江^{1,2}, Shaheem Elahi¹, 左 弁¹, 于 連升¹, 近藤 恒平¹, 佐藤 優花里¹, 河原 菜摘³, 川上 小夜子¹, 矢原 耕史¹, 鹿山 鎮男¹, 菅井 基行¹ (1)JHS・感染研・薬耐, (2)広島大・医系科学研究科, (3)浜の町病院)

Genomic analysis of *Klebsiella oxytoca* complex from the nationwide JARBS-GNR surveillance, 2019-20

○Yo Sugawara¹, Wataru Hayashi¹, Ikue Hayashi^{1,2}, Shaheem Elahi¹, Hui Zuo¹, Liansheng Yu¹, Kohei Kondo¹, Yukari Sato¹, Natsumi Kawahara³, Sayoko Kawakami¹, Koji Yahara¹, Shizuo Kayama¹, Motoyuki Sugai¹ (1)Antimicrob. Res. Ctr., Natl. Inst. Infect. Dis., Japan Inst. Health Security, (2)Grad. Sch. Biomed. Health Sci., Hiroshima Univ., (3)Hamanomachi Hosp.)

The *Klebsiella oxytoca* complex inhabits a broad environment including human gut, and often causes opportunistic infections in humans. This organism harbors intrinsic β -lactamase gene, bla_{OXY}, and shows resistance to ampicillins. It often becomes resistant to other antimicrobials, such as quinolones, cephalosporins, and carbapenems, by acquiring mobile antimicrobial resistance genes (ARGs) or by mutations on chromosome, which complicates clinical treatment. Moreover, a subset of *K. oxytoca* complex strains produces the pyrrolizidine alkaloid cytotoxins kleboxymycin and tilivalline, which can lead to antibiotic-associated hemorrhagic colitis. Epidemiological and genomic information of this species complex remains scarce particularly in Japan. In this study, we performed genomic and phenotypic characterization of 46 *K. oxytoca* complex isolates collected through a nationwide surveillance program focusing on third-generation cephalosporin-resistant and carbapenem-non-susceptible Enterobacterales clinical isolates in Japan. Genomic analysis, antimicrobial susceptibility testing, plasmid characterization, and cytotoxicity assays revealed the genetic basis of antimicrobial resistance and toxin production, as well as potential mechanisms of ARG acquisition. Our analysis highlighted the nationwide spread of a multidrug-resistant, toxin-producing lineage of sequence type 176.

P1-028/WS12-5

ワンヘルスゲノムサーベイランスによる食品からヒトへ伝播した薬剤耐性病原性細菌の特定

○北村 徳一¹, 四宮 博人², 川西 路子³, 小西 典子⁴, 大屋 賢司⁵, 富田 治芳^{6,7}, 浅野 由紀子², 木村 千鶴子², 関口 秀人³, 小澤 真名緒⁸, 石原 加奈子⁹, 久留島 潤⁹, 谷本 弘一⁶, 野村 隆浩⁷, 橋本 佑輔⁷, 地方衛生研究所食品由来AMR研究グループ, 浅井 鉄夫¹⁰, 渡邊 治雄, 菅原 庸¹, 矢原 耕史¹, 菅井 基行¹ (1)JHS・感染研・薬耐研セ, (2)愛媛衛研, (3)農水・動薬検・動物AMRセ, (4)都健安研・微生物, (5)国衛研・衛徴, (6)群馬大・院医・薬耐実験施設, (7)群馬大・院医・細菌, (8)農水・動薬検・検査第一, (9)農工大・共同獣医, (10)岐阜大・院連合獣医)

Genomic surveillance identifies potential transfer of antimicrobial-resistant foodborne pathogens

○Norikazu Kitamura¹, Hiroto Shinomiya², Michiko Kawanishi³, Noriko Konishi⁴, Kenji Ohya⁵, Haruyoshi Tomita^{6,7}, Yukiko Asano⁸, Chizuko Kimura², Hideto Sekiguchi³, Manao Ozawa⁹, Kanako Ishihara⁹, Jun Kurushima⁹, Koichi Tanimoto⁹, Takahiro Nomura⁷, Yusuke Hashimoto⁷, Foodborne AMR Research Group of Public Health Institutes, Tetsuo Asai¹⁰, Haruo Watanabe, Yo Sugawara¹, Koji Yahara¹, Motoyuki Sugai¹ (1)AMR Res. Ctr., NIID, JHS, (2)Ehime Pref. Inst. Pub. Health Env. Sci., (3)Vet. AMR Ctr., Natl. Vet. Assay Lab., MAFF, (4)Dept. Microbiol., Tokyo Met. Inst. Pub. Health, (5)Div. Microbiol., Natl. Inst. Health Sci., (6)Lab. Bact. Drug Resist., Grad. Sch. Med., Gunma Univ., (7)Bacteriol., Grad. Sch. Med., Gunma Univ., (8)Assay Div. I, Natl. Vet. Assay Lab., MAFF, (9)Coop. Dept. Vet. Med, Tokyo Univ. Agri. Technol., (10)United Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.)

Foodborne pathogens and their resistance to antimicrobials are global health concerns. Genome surveillance systems for foodborne bacteria in the human, animal, and environmental sectors have been implemented in several countries. However, these systems rarely integrate data across sectors. We investigated the potential cross-sectoral transfer of antimicrobial-resistant isolates from food or animals to humans, by comparing whole-genome sequences of non-typhoidal *Salmonella* (n=1,613), *Campylobacter* (n=682), and *Enterococcus* (n=72) collected across sectors in Japan. For *Salmonella*, we identified such possible transmission in isolates of two serovars. One was human- and food-derived *Salmonella* Blockley isolates carrying bla_{CTX-M-15} that were closely related and differed by only 6–10 SNPs; the other was human- and food-derived *S. Agona* isolates carrying fcsA7.2 that were closely related (13–15 SNPs). For *Campylobacter*, the genomic differences between human- and food- or animal-derived isolates were not as small as those detected in *Salmonella*, differing by ≥ 23 SNPs. Food-derived *Enterococcus* and human-derived vancomycin-resistant enterococci (VRE) isolates shared no clonal complexes or sequence types, indicating that they are phylogenetically distinct. Our study provides a model for One-Health genomic surveillance at the national level. (Under review)

P1-029

食品取扱従事者が保有する食中毒菌 *Campylobacter* の分子疫学解析

○宮路 海里¹, 大畑 奈月², 野田 衛³, 八田 守貴³, 中山 達哉¹ (¹広島大・総合生命科学・食品衛生, ²神戸市健康科学研究所, ³株式会社町田予防衛生衛生研究所)

Molecular Epidemiological Analysis of *Campylobacter* Isolates from Food Handlers

○Kairi Miyaji¹, Natsuki Ohata², Mamoru Noda³, Moritaka Hatta³, Tatsuya Nakayama¹ (¹Dept. Food Hyg., Grad. Int. Sci. Life. Hiroshima Univ., ²Kobe Inst. Health, ³Machida Hygienic Control Laboratory)

Campylobacter は主に食品を介して世界的に主要な食中毒を引き起こす細菌性病原体である。食品取扱従事者は食品汚染の潜在的な原因となるため、従事者が保菌している病原菌の実態解明は重要であるが、*Campylobacter* に関しては十分な研究が実施されていない。そこで本研究の目的は、分子疫学解析を用いて、食品取扱従事者由来 *Campylobacter* の薬剤耐性の実態を明らかにすることである。(株)町田予防衛生研究所において食品取扱従事者から分離した *Campylobacter* 全 107 株を用い、16S rRNA に基づいた菌株同定及び薬剤感受性試験を実施した。一部の菌株では、分子疫学解析として Multi Locus Sequencing Typing 解析、全ゲノムシーケンスを実施した。Multiplex PCR による菌株判別の結果、86%が *C. jejuni*, 14%が *C. coli* であった。薬剤感受性試験による耐性率は、ampicillin 19%, quinolone 67%, erythromycin 3%, tetracycline 41% であった。MLST 解析の結果、*C. jejuni* における最も一般的な Sequence Type (ST) は 4526, Clonal Complex (CC) は 21 であった。また、*C. coli* は全て CC28 に分類された。全ゲノム解析から、quinolone 耐性株は GyrA (T861) 変異が、tetracycline 耐性株、ampicillin 耐性株はそれぞれ *tet(O)* 遺伝子、*bla_{OXA}* 遺伝子が、erythromycin 耐性株は 23S rRNA (A2075G) 変異が関与することが明らかとなった。本研究から、家禽に投与される quinolone, tetracycline の高い耐性率に加え、ヒトに対する治療薬である erythromycin の耐性が明らかになった。以前より報告されていた日本特有の ST のほか、2021 年以降多様な ST が存在していたことから、日本国内において ST の多様化が進んでいると考えられる。

P1-030

神奈川県および東京都の環境水における *Escherichia albertii* 汚染状況と分離株の特徴

○石井 弘祐¹, 岡谷 友三アレシヤンドレ², 佐藤 祐介¹, 林 航³, 于 連升³, 鹿山 鎮男³, 菅井 基行³, 川本 恵子¹, 岡本 まり子¹, 森田 幸雄² (¹麻布大・獣・感染免疫, ²麻布大・獣・公衆衛生第2, ³感染研・薬剤耐性)

Distribution and traits of *Escherichia albertii* from environmental water in Kanagawa and Tokyo

○Koyu Ishii¹, Tomomitsu Alexandre Okatani², Yusuke Sato^o¹, Wataru Hayashi³, Liansheng Yu³, Shizuo Kayama³, Motoyuki Sugai³, Keiko Kawamoto¹, Mariko Okamoto¹, Yukio Morita² (¹Dept. Infect. Immunol., Sch. Vet. Med., Azabu Univ., ²Dept. Public Health 2., Sch. Vet. Med., Azabu Univ., ³Antimicro. Resist. Res., NIID, JIHS)

【背景・目的】*Escherichia albertii* (以下、本菌) は 2003 年に新たな食中毒原因菌として報告され、従来は *E. coli* と誤同定されてきた。レゼンボアとして野生動物や環境水が示唆されているが、汚染状況の把握やリスク評価は不十分である。本研究では神奈川県および東京都における環境水中の本菌の分布を調査し、分離株の性状解析と食中毒リスク評価を目的とした。

【方法】2023 年 8 月、神奈川県および東京都の河川、湖沼、水田から採取した環境水 20 検体を TSB および CFIX・XLT4 選択サプリメント添加 Todd Hewitt Broth で増菌後、Arai らの本菌特異的 PCR でスクリーニングした。陽性検体を Xylose-Rhamnose-Melibiose-MacConkey Agar に塗抹、白色コロニーを *lysP*, *mdh*, *clpX* 標的の PCR で同定した。生化学的性状、薬剤感受性 (30 薬剤)、病原遺伝子 (*eae*, *cdtB*, *stx*) を確認し、衛生指標菌数 (一般生菌等) との関連を検討した。

【結果・考察】検出率は 5% (1/20) であった。分離株は既報株と同様の生化学的特徴を示し、*eae*・*cdtB* 陽性、*stx* 陰性、薬剤感受性は ABPC 感性、CEZ・CTX・CFX 耐性、CMZ 中間、CAZ 感性、CTX 耐性、CFPM・CFDC 感性であった。スクリーニング陽性・陰性地点における衛生指標菌数との有意な相関は認められなかった。本菌は低頻度ながら環境水中に存在し、分離株はヒト感染可能性を有する他、各種薬剤耐性は治療への影響が懸念される。衛生指標菌数との関連性はなく、野生動物等による一過性の環境汚染が示唆された。環境水による食中毒リスクが存在し、監視体制強化と啓発が求められる。なお、分離株においてペニシリン系非分解の class C β -lactamase の獲得が示唆されたため詳細解析中である。

P1-031

食肉由来 VanN 型バンコマイシン耐性 *Enterococcus faecium* の分子疫学解析および耐性プラスミドの特性解析

○橋本 佑輔¹, 野村 隆浩¹, 北村 徳一², 菅原 庸², 矢原 耕史², 久留島 潤³, 平川 秀忠¹, 菅井 基行², 富田 治芳^{1,3} (¹群馬大・院医・細菌学, ²国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター, ³群馬大・院医・薬剤耐性菌実験施設)

Molecular epidemiology and plasmid analysis of meat-derived VanN-type *Enterococcus faecium*

○Yusuke Hashimoto¹, Takahiro Nomura¹, Norikazu Kitamura², Yo Sugawara², Koji Yahara², Jun Kurushima³, Hidetada Hirakawa¹, Motoyuki Sugai², Haruyoshi Tomita^{1,3} (¹Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Gunma Univ., ²Antimicrobial Resistance Research Center, National Inst. Infectious Diseases, ³Lab. Bacteriol. Drug Resist., Grad. Sch. Med., Gunma Univ.)

バンコマイシン耐性腸球菌 (Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*; VREfm) は、臨床現場において重要な薬剤耐性菌である。*E. faecium* には遺伝学的に異なる 2 つの系統が知られており、そのうち Clade A と呼称されるヒト感染症起因系統が VREfm の多数を占めている。他方、共生細菌系統である Clade B に関しては、バンコマイシン耐性は極めて稀である。VanN 型バンコマイシン耐性遺伝子群は、2007 年にフランスで初めて報告された希少な耐性型である。我々は 2012 年に、食肉由来多剤耐性菌サーベイランスにおいて VanN 型 VREfm を発見・報告したが、その後も現在に至るまで、国内食肉検体から継続的に VanN 型 VREfm が検出されている。本研究では、国産鶏肉由来 VanN 型 VREfm の分子疫学および耐性プラスミドの特性を評価した。コアゲノム解析の結果、解析した全ての VanN 型 VREfm は Clade B に属すと同時に、大きく 2 つの系統 (GU121 系統, AA22 系統) に分かれた。VanN 型バンコマイシン耐性遺伝子群は、それぞれ異なる接合伝達性プラスミド上に存在しており、各系統の代表プラスミド (pAA80, pAA22) に関して接合伝達実験を行うと、いずれも実験株へ接合伝達可能であった。プラスミド安定性を継代培養実験にて確認すると、優勢系統の代表プラスミド pAA80 は選択圧がない条件下でも安定的に保持され続けた。トランスクリプトーム解析からも、pAA80 は宿主遺伝子転写プロファイルへの影響が小さく、pAA80 上の各遺伝子の転写レベルも低いことが判明した。以上の結果から、国産鶏肉において VanN 型 VREfm が持続的に検出される背景には、宿主への適応コストが低く、安定的に保持されるプラスミドの存在が寄与していることが示唆された。

P1-032

北海道における成人から分離された侵襲性肺炎球菌の遺伝子型と薬剤耐性

○川口谷 充代¹, Meiji Soe Aung¹, 漆原 範子¹, 大橋 伸英¹, 小林 延行², 工藤 兼司³, 伊藤 政彦³, 小林 宣道¹ (¹札幌大・医・社会医学・衛生学, ²旭医大・医・臨床検査, ³札幌臨床検査センター)

Genotypes and antimicrobial resistance of invasive *S. pneumoniae* isolates from adults in Hokkaido

○Mitsuyo Kawaguchiya¹, Meiji Soe Aung¹, Noriko Urushibara¹, Nobuhide Ohashi¹, Nobuyuki Kobayashi², Kenji Kudo³, Masahiko Ito³, Nobumichi Kobayashi¹ (¹Div. Hygiene, Dept. Social Med., Sapporo Med. Univ., ²Med. Lab. and Blood Center, Asahikawa Med. Univ. Hospital, ³Sapporo Clinical Laboratory Inc.)

Background: In Japan, the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine (PPSV23) for adults was incorporated into the national immunization program in 2014. The present study aimed to investigate the molecular characteristics and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates from adults with invasive pneumococcal disease (IPD). **Methods:** From September 2017 to December 2023, a total of 45 isolates from patients with IPD were collected throughout Hokkaido. All isolates were serotyped by multiplex PCR and direct sequencing, and characterized by MLST. MIC to 11 drugs was examined by broth microdilution test. **Results:** Among the 45 isolates, serotype 3-ST180 (24.4%) was the most prevalent, followed by 23A-ST338/ST5242, 23F-ST242/ST1437/ST3543, and 6D-ST282, 15A-ST63, 35B-ST558, and 34-ST1439/ST7388, collectively accounted for 73.4% of all isolates. Overall, the proportion of the PPSV23 serotypes was 44.5%. The rate of non-susceptibility to penicillin was 24.4%, and most of them were also non-susceptible to erythromycin and tetracycline. Among the non-PPSV23 serotypes, 23A, 6D, 15A, 35B, and 6E showed multiple drug resistance, along with non-susceptibility to penicillin. **Conclusions:** The present study revealed the high prevalence of non-PPSV23 serotypes among isolates from IPD in adults, associated with high rates of non-susceptibility to antimicrobial agents.

P1-033

タイ Roi Et で分離されたカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌のゲノム解析

○坂本 典子¹, 菅原 庸^{1,2}, 明田 幸宏^{2,3,4}, Anusak Kerdsin⁵, 竹内 壇², 濱口 重人⁶, 山本 倫久⁷, 左 弁¹, 阿部 隆一郎², 飯田 哲也², 菅井 基行¹, 浜田 茂幸² (1)感染研・薬剤耐性研究センター, (2)大阪大・微研, (3)感染研・細菌1, (4)大阪大・院医, (5)Fac. Public Health, Kasetsart Univ., (6)大阪健康安全研究所, (7)感染研・予防接種研究部)

Genomic analysis of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* isolated from Roi Et in Thailand

○Noriko Sakamoto¹, Yo Sugawara^{1,2}, Yukihiro Akeda^{2,3,4}, Anusak Kerdsin⁵, Dan Takeuchi², Shigeto Hamaguchi⁶, Norihisa Yamamoto⁷, Zuo Hui¹, Ryuichiro Abe², Tetsuya Iida², Motoyuki Sugai¹, Shigeyuki Hamada² (1)Antimicrob. Resist. Res. Center, Nat. Inst. Infect. Dis., (2)Res. Inst. for Microb. Dis., Osaka Univ., (3)Dept. Bacteriol. I, Nat. Inst. Infect. Dis., (4)Osaka Univ. Grad. Sch. Med., (5)Fac. Public Health, Kasetsart Univ., (6)Osaka Inst. Public Health, (7)Vaccine Res. Dept., Nat. Inst. Infect. Dis)

カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE) の蔓延は世界各地の医療現場で深刻な問題となっている。我々は、2012 年から 2017 年にかけてタイにおいて CPE を対象とした全国サーベイランスを実施し、NDM 型及び OXA-48-like 型カルバペネマーゼ遺伝子を保有する大腸菌及び *Klebsiella pneumoniae* が各地の医療施設で分離されることを報告した。本研究では、全国サーベイランス対象外であったタイ東北部 Roi Et 県の一施設を対象として、COVID-19 パンデミック期間を含む 6 年間にわたり CPE の疫学調査を行った。2017 年から 2023 年に Roi Et の中核病院から得られた CPE 臨床分離株計 1022 株を全ゲノムシーケンスに供し、薬剤耐性遺伝子の検索、MLST 型の分類を行い、その年次推移を解析した。MLST 型について、Roi Et の *K. pneumoniae* 及び大腸菌はいずれも全国サーベイランス結果とは異なる傾向を示していた。特に大腸菌は 2020 年以降 ST361 が急増しており、主要な MLST 型の比率に顕著な経年変化のない *K. pneumoniae* とは対照的であった。大腸菌 ST361 の系統解析の結果、Roi Et の ST361 は複数のクラスターに分かれており、施設内における複数のクローンの蔓延が考えられた。また、ST361 の保有する優勢なカルバペネマーゼ型は 2021 年から 2023 年にかけて NDM-5 保有から NDM-5 と OXA-48-like 型のひとつである OXA-181 を併せ持つタイプへと推移していた。さらに、ST361 は *K. pneumoniae* が保有するタイプの荚膜産生遺伝子群を有し血清耐性を示すことが明らかとなり、生体内及び環境での生存率上昇が示唆された。ST361 系統の分離は我々の全国サーベイランスではタイ東北部に限られていたが、今後の他地域での拡散に注意を要する。

P1-034

日本国内のリステリア症患者由来株のゲノム比較解析

○岡田 由美子¹, 池内 隼佑¹, 陳内 理生¹, 西田 智子¹, 都丸 亜希子¹, 泉谷 秀昌² (1)国立衛研・食管, (2)JIHS感染研・細菌第一)

Comparative genomic analysis of *Listeria monocytogenes* isolates from patients in Japan

○Yumiko Okada¹, Shunsuke Ikeuchi¹, Michio Jinnai¹, Tomoko Nishida¹, Akiko Tomaru¹, Hidemasa Izumiya² (1)Div. Biomed. Food Res., Nat. Inst. Health Sci., (2)Dept. Bacteriol. I, Nat. Inst. Infect. Dis., JIHS)

Listeria monocytogenes (リステリア) を原因とする食品媒介感染症であるリステリア症は、欧米では菌株の全ゲノム塩基配列 (WGS) 解析によって集団事例の検出及び原因食品の同定が行われているが、国内での発生状況はほとんど明らかになっていない。今回我々は、研究室保有のリステリア患者菌株について WGS データを取得し、MLST 解析及び一塩基多型 (SNPs) 解析等を実施した。患者由来株は 1974 年から 2019 年に分離された 91 菌株を用いた。WGS により得られた配列を用い、パスツール研究所のリステリアゲノム解析サイトにて Clonal Complex(CC)及び Sequence Type(ST)の同定及び cgMLST 解析を行った。また、Snippy ver. 4.6.0 を用いて SNPs 解析を実施した。その結果、分離株のうち 69 株は Lineage I, 21 株が Lineage II, 1 株が Lineage III に属していた。91 菌株中 CC1 に属していたのは 24 株、CC2 が 16 株、CC3 が 6 株、CC6 が 5 株、CC87 が 6 株、CC155 が 8 株、その他の CC が 26 株であった。CC1 株は 9 種、CC2 株は 6 種の cgST に近縁であった。1992 年以前の分離株は同一 CC 内での ST の種類が多く、それ以降の分離株では単一の ST に分類される株が多く見られた。関連性が明確でない菌株間で SNPs 解析において 10 塩基以内であったものは 6 組見られたことから、表面化していないリステリア症の集団事例が発生している可能性が考えられた。

P1-035

岩木健康増進プロジェクトにおける健康成人鼻腔および皮膚からの黄色ブドウ球菌の分離と遺伝子解析

○岡田 明瑠¹, 小野 久弥¹, 友利 瑠偉¹, 鈴木 康規², 胡 東良¹ (1)北里大・獣医・人獣共通感染症学, (2)東京農工大・農・獣医衛生学)

Isolation and genomic characterization of *Staphylococcus aureus* from healthy adults in Iwaki Study

○Akari Okada¹, Hisaya Ono¹, Rui Tomori¹, Yasunori Suzuki², Dong-Liang Hu¹ (1)Lab. Zoonoses, Sch. Vet. Med., Kitasato Univ., (2)Lab. Vet. Hygiene., Tokyo Univ. Agric. Tech.)

黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)はヒト、家畜および家禽の常在菌である一方、重要な病原菌であり、多様な病態を引き起こす。また医療関連感染の原因となるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の治療は困難な場合が多く、新規治療法の開発が求められている。本研究では、*S. aureus* が宿主へ定着し病態形成に至るまでの治療ターゲットの探索と菌の分子進化を解明するための端緒として、岩木健康増進プロジェクトにおいて *S. aureus* 健康ヒト由来株の収集と解析を試みた。岩木健康増進プロジェクトは弘前大学が中心となって 20 年以上に渡り行っている大規模合同健康診断であり、3000 以上の項目を解析する健康ビッグデータプロジェクトである。プロジェクト参加者における健康成人 1288 名の鼻腔および皮膚スワブを採取し BHI/7.5% NaCl で増菌培養を行った後、選択培地に滴下し、*S. aureus* の分離を行った。分離した *S. aureus* は Multiplex PCR によりスーパー抗原毒素 (SAg) 遺伝子の保有状況を解析した。プロジェクト参加者における *S. aureus* 保有率は鼻腔で 26.8%(346/1288)、皮膚で 1.8%(24/1288)であり、鼻腔および皮膚ともに *S. aureus* を保菌していた参加者は 15 名 (1.1%) であった。SAg 遺伝子は egc 関連 SE (*seg*, *sei*, *sem*, *sen*, *seo*) が全体の 25~40% と多く見られ、ついで *sea* (21.6%), *tsst-1* (20.8%), *sec* (14.3%), *sep* (13.5%), *seh* (10.8%), *seq* (10.8%), *sey* (7.8%)が見られた。また、全体の 24.6% が SAg 遺伝子非保有株であった。現在、皮膚由来株全てと鼻腔由来株の一部について全ゲノム解析を行っており、感染部位による *S. aureus* 遺伝子の特徴があるか評価を進めている。

P1-036

飲食店グループの関連が疑われる EHEC(O185:H16)感染事例について

○長谷川 駿, 高橋 裕子, 下田 貴博, 遠藤 るい, 塚越 博之, 猿木 信裕 (群馬衛研)

Cases of EHEC(O185:H16) infection suspected to be associated with a restaurant group

○Shun Hasegawa, Hiroko Takahashi, Takahiro Shimoda, Rui Endo, Hiroyuki Tukagoshi, Nobuhiro Saruki (Gunma Pref. Inst Public Health and Environ. Sci.)

2024 年 12 月から 2025 年 1 月にかけて群馬県内で腸管出血性大腸菌 (EHEC)無症状病原体保有者(O185:H16)の届出が 8 件あり、そのうち 7 名が同一飲食店グループを利用していたことが確認された。このことから、当該飲食店グループでの喫食が感染源である可能性が疑われた。

当所において分離された 8 株について生化学的性状および薬剤感受性試験を行ったところ、いずれも結果が一致した。また、PFGE では 8 株のバンドパターンが一致した。さらに NGS を用いた WGS 解析の結果、8 株全てが MLST 型で ST2280 に分類された。病原性遺伝子検索では全ての株が *cvaB*, *cvaC*, *ehxA*, *espP*, *espX1*, *fdeC*, *iha*, *iss*, *lpfA-O113*, *stxA2*, *stxB2* を有し、2 株はこれらに加え *saa* を保有していた。検査結果から高い相同性が確認されたため、これらの菌株は同一起源に由来する可能性が高いと考えられた。一方で飲食店グループを利用していない保菌者からも同一起源に由来すると考えられる株が分離されたことから、二次感染の可能性や飲食店を介さない共通の食品供給源からの感染など、別の感染経路の存在も考えられた。本事例では、全員が無症状病原体保有者であったため、聞き取り調査には限界があり、感染時期の推定は困難であった。しかし、保菌者の共通喫食歴が飲食店グループのみであった点、および分離菌株において PFGE と WGS 解析の双方で高い関連性が確認されたことから、感染源は主に飲食店グループでの喫食であったと推定される。

今後も PFGE だけでは解析しきれない事例もあると考えられ、NGS は PFGE よりも高解像度での解析が可能であることから、原因究明が困難である事例にも応用していきたいと考えている。

P1-037

富山県におけるマクロライド耐性百日咳菌の地域的流行

○清水 ひな¹, 金谷 潤一¹, 木全 恵子¹, 齋藤 和輝¹, 池田 佳歩¹, 大島 萌愛¹, 田村 恒介², 前西 絵美², 笹島 仁², 一色 亮佑³, 草開 祥平⁴, 八木 信一⁵, 大石 和徳¹ (¹富山衛研・細菌, ²富山衛研・研究企画, ³厚生連高岡病院, ⁴くれはキッズクリニック, ⁵八木小児科医院)

Regional Spread of Macrolide-Resistant *Bordetella pertussis* in Toyama Prefecture

○Hina Shimizu¹, Jun-ichi Kanatani¹, Keiko Kimata¹, Kazuki Saito¹, Kaho Ikeda¹, Moe Oshima¹, Kosuke Tamura², Emi Maenishi², Hitoshi Sasajima², Ryosuke Isshiki³, Shohei Kusabiraki⁴, Shin-ichi Yagi⁵, Kazunori Oishi¹ (¹Dept. Bacteriol., Toyama Inst. Health, ²Dept. Res. Plann., Toyama Inst. Health, ³Kouseiren Takaoka Hospital, ⁴Kureha Kids Clinic, ⁵Yagi Pediatric Clinic)

【目的】近年、百日咳の第一選択薬であるマクロライド系抗菌薬に耐性を示す百日咳菌 (MRBP) の出現が問題となっている。富山県における百日咳の流行状況と MRBP の侵いん状況を把握するため、小児科医療機関の協力を得て百日咳菌の分離・細菌学的解析を行った。

【方法】2025 年に感染症発生動向調査で報告されたデータを評価した。県内 3 か所の医療機関から百日咳陽性 94 例の鼻咽頭ぬぐい液を対象に、百日咳菌の分離培養およびマクロライド耐性遺伝子変異 A2047G (変異型 A2047G) 検出を実施した。分離株については、変異型 A2047G 検出および MLVA による遺伝子型別を実施した。また、一部の株 (N=15) については、NGS によるハプロタイプネットワーク解析を行った。

【結果及び考察】富山県では 2025 年第 43 週までに 636 例が報告され、前年を大幅に上回った。患者の多くは 5~14 歳の小児であった。94 検体の解析では、56% (53 検体) から百日咳菌が分離され、その 96% (51/53 株) が変異型 A2047G であった。分離陰性例を含めると、全体の 84% (79/94 症例) で耐性変異が検出された。MLVA 解析では MRBP-MT28 が 94% (50/53 株) を占め、全国的に増加している流行株と一致していた。加えて、国内未報告の MRBP-MT60 (1 株) や海外由来と考えられる MSBP-MT158 (1 株) も検出され、国外流行株の流入が示唆された。ハプロタイプネットワーク解析の結果、3 医療機関から同一 SNV の MRBP-MT28 株が検出され、県内全域に近縁な株が流行していることが判明した。

P1-038

R 相 H 抗原を発現する *Salmonella* Senftenberg の特徴

○加藤 千絵子¹, 落合 崇浩², 大野 祐太², 内田 郁夫³, 新井 暢夫⁴, 泉谷 秀昌⁵, 池田 徹也², 楠本 正博^{4,6}, 秋庭 正人³ (¹北海道釧路家保, ²北海道衛研, ³酪農大・獣医, ⁴農研機構・動衛研, ⁵感染研・細菌1, ⁶大阪公立大 院・獣医)

Characteristics of *Salmonella* Senftenberg expressing the R-phase H antigen

○Chieko Kato¹, Takahiro Ochiai², Yuta Ohno², Ikuo Uchida³, Nobuo Arai⁴, Hidemasa Izumiya⁵, Tetsuya Ikeda², Masahiro Kusumoto^{4,6}, Masato Akiba³ (¹Hokkaido Kushiro Livest. Hyg. Serv. Ctr., ²Hokkaido Inst. Pub. Health, ³Sch. Vet. Med., Rakuno Gakuen Univ., ⁴Natl. Inst. Anim. Health, NARO, ⁵Natl. Inst. Infect. Dis., JIHS, ⁶Grad. Sch. Vet Sci., Osaka Metrop. Univ.)

【背景・目的】サルモネラのべん毛 (H) 抗原には 1 相と 2 相のあることが知られており、これらの正常な H 抗原を S 相、原則として自然界のサルモネラにはみられない H 抗原を R 相という。我々は牛由来 *Salmonella* Senftenberg (SS) の中に S 相 H 抗原 g,s,t ではなく、R 相 H 抗原 z₂₇ を発現する株を見出した (非定型 SS)。本研究では SS と非定型 SS の系統関係及び非定型 SS における R 相 H 抗原発現の遺伝的背景を明らかにすることを目的とした。【材料・方法】1981~2022 年に国内の牛、鶏、人、環境等から分離された SS 及び非定型 SS、18 株の全ゲノム塩基配列を解析し、MLST による遺伝子型を決定するとともに、コアゲノムの一塩基多型に基づく系統解析を実施した。一部の株については完全長ゲノム塩基配列を決定した。また、非定型 SS の 1 株を親株として、べん毛遺伝子の欠失変異株を作出し、その表現型を H 抗原型別とウエスタンブロット解析により確認した。【結果・考察】解析した 18 株のうち、11 株が ST14、6 株が ST185、1 株が ST210 と型別された。ST14 と ST185 は系統的に遠いことが示された。非定型 SS、4 株は全て ST185 に属していた。SS 及び非定型 SS には g,s,t 抗原を規定する *fljC* 遺伝子が保存されていた。また、非定型 SS は水平伝播により獲得したと思われる *fljAB-hin* 様遺伝子領域を保有していた。この領域の欠失変異株は運動性を保持しており、H 抗原は g,s,t と判定され、ウエスタンブロット解析では z₂₇ 抗原のシグナルを認めなかった。非定型 SS が保有する *fljB* 様遺伝子が z₂₇ 抗原を規定していることが示唆された。

P1-039/FL1-03

ヒト皮膚炎由来の昆虫関連真菌の分離と菌学的解析

○伴 さやか, 伊藤 純子, 矢口 貴志 (千葉大・真菌)

Isolation and risk assessment of insect-philic fungi from human dermatitis

○Sayaka Ban, Junko Ito, Takashi Yaguchi (Med. Mycol. Res. Cent., Chiba Univ.)

Two filamentous fungi from human dermatitis were preliminarily identified by rDNA ITS sequencing as an undescribed species related to the human pathogen *Parengyodontium album* and the invertebrate-pathogenic genus *Lecanicillium* (*Cordycipitaceae*). Species of the genus are widely distributed in soils but have not been considered human pathogens. Clinical cases prompted investigation of human infectivity, including multi-gene phylogenetic analysis, antifungal susceptibility, *in vitro* enzyme tests, and environmental sampling in urban settings. One isolate matched *L. coprophilum*, described from China, in phylogenetic position and morphology, whereas the other was more distant. Neither grew at 37°C, and antifungal susceptibility testing was feasible only at 25°C. Most related species showed low susceptibility to VRC, ITR, AMB, and TBF. Degradation of casein, gelatin, and keratin varied among strains, but all activities were below the quantitative detection limit. Environmental sampling (36 times, 2 years) recovered only three related strains among ~800 isolates, with none in indoor air. Except for a co-infection case involving *Ophiocordycipitaceae* in 2024, no subsequent clinical isolates were obtained. Taken together, these findings indicate these fungi lack the ability to directly infect human skin.

P1-040/FL1-04

食品製造環境由来 *Listeria monocytogenes* の消毒薬、重金属およびストレス条件に対する耐性

○土屋 響己¹, 平尾 瑞希², 岡田 由美子³, 森田 幸雄⁴, 下島 優香子^{1,2} (¹東洋大院・食環境, ²東洋大・食環境, ³国立衛研・食管, ⁴麻布大・獣医)

Resistance of *Listeria monocytogenes* to disinfectants, heavy metals, and stress conditions

○Hibiki Tsuchiya¹, Mizuki Hira², Yumiko Okada³, Yukio Morita⁴, Yukako Shimojima^{1,2} (¹Grad. Sch. Food Nutr. Sci., Toyo Univ., ²F. Food Nutr. Sci., Toyo Univ., ³Div. Biomed. Food Res., Nat. Inst. Health Sci., ⁴Sch. Vet. Med., Azabu Univ.)

Listeria monocytogenes (Lm) の塩化ベンザルコニウム (BC) や重金属耐性が報告され、食品製造環境への定着を促進する可能性が指摘されている。また本菌は、酸性、低温、および高塩分濃度などのストレス条件への耐性でも知られる。今回、食品製造 7 施設的环境由来 LM 計 56 株を対象に、BC、カドミウム (CD)、ヒ素 (AS)、ストレス条件に対する耐性および耐性遺伝子の検出を行った。菌型は、1/2a: 16 株 (ST155: 11 株, ST101: 2 株, ST8, 11, 121: 各 1 株), 1/2b および 3b: 20 株 (ST87: 18 株, ST5, 310: 各 1 株), 1/2c: 4 株 (ST9: 3 株, ST3370: 1 株), 4b (4e): 15 株 (ST1: 4 株, ST2: 11 株), UT: 1 株 (ST87: 1 株) であった。BC 耐性は 22 株 (39%), CD 耐性は 33 株 (59%), AS 耐性は 17 株 (30%) であり、BC, CD および AS の 3 種類全て耐性は 5 株、全て感性は 20 株であった。耐性遺伝子は BC では *bcrABC* を 16 株, *qaqH* を 2 株, *emrC* を 1 株が、CD では *cadA1* を 6 株, *cadA2* を 12 株, *cadA4* を 10 株, *cadA5* を 4 株が、AS では *arsA1* + *arsA2* を 10 株が、*arsA2* を 4 株が、*arsA* を 4 株が保有した。BC 耐性遺伝子はアメリカでは *bcrABC*, ヨーロッパでは *qaqH* が多いと報告されるが、日本は *bcrABC* が多かった。*cadA4* 保有 10 株は全て 4b (4e), ST2 であり、他の耐性遺伝子保有株よりも CD の MIC が低かった。また、病原遺伝子 *prfA*, *inlA*, 酸耐性に関連するとされる *gadB*, *gadC*, *atpD*, 塩や低温耐性に関連するとされる遺伝子 *betL*, *oquCA*, *flaA*, *cysS*, *fbp* のストレス条件耐性関連遺伝子計 10 遺伝子を PCR 法で検出した。その結果 53 株 (95%) が全 10 遺伝子を保有した。食品製造環境由来株はストレス条件耐性率が高い可能性が示唆され、今後表現型を検討する予定である。

P1-041

北マケドニア医療機関のトイレ貯留水から分離されたカルバペネム耐性 *Citrobacter braakii* の遺伝学的性状

宮里 宙来¹, 屋宜 宣慶², ○平井 到³ (¹琉球大院・保健・保健微生物, ²琉球大・医・保健・生機機能, ³琉球大・医・保健・病原体検査)

Genetic characterization of carbapenem-resistant *Citrobacter braakii* isolated from North Macedonia

Sora Miyazato¹, Nobuyoshi Yagi², ○Iharu Hirai³ (¹Lab. Microbiol., Dept. Health Sci., Grad Sch. Health Sci., Univ. Ryukyus, ²Lab. Clin. Physiol., Dept. Health Sci., Univ. Ryukyus, ³Lab. Microbiol., Dept. Health Sci., Univ. Ryukyus)

近年, *Citrobacter* 属菌もカルバペネム耐性菌として認識されるようになってきた。その多くは, *Citrobacter* 属の代表的な菌種である *C. freundii* であり, その他の *Citrobacter* 属菌種でのカルバペネム耐性菌はそれほど多く報告されていない。本研究では, 北マケドニアの医療機関からカルバペネム耐性 *C. braakii* 株を分離した。そこで, 本研究は当該株の全ゲノム解析を行い, 遺伝学的性状を明らかにすることを目的とした。北マケドニアの医療機関内トイレ貯留水をシードスワブキットを用いて採取し, 2mg/ml のセフトキシム含有マッコンキー寒天培地で塗布した。24時間培養後, 発育が見られたコロニーを培養し 1mg/ml メロペネム含油培地でメロペネム耐性を確認したのち, Nanopore シーケンサーによって全ゲノム解析を行った。その結果, 5189681 bp の染色体及び, 383735 bp (プラスミド#1), 177260 bp (プラスミド#2) および 64168 bp (プラスミド#3) の3つのプラスミドが確認された。染色体に *bla*_{CTX-M} が確認されたほか, プラスミド#2 及びプラスミド#3 に *bla*_{NDM-1} が確認された。BLAST をもちいてこれら *bla*_{NDM-1} 陽性プラスミドと構造の類似しているプラスミドを検索したところ, *Escherichia coli* や *Klebsiella pneumoniae* など他の多くの腸内細菌目細菌が保持している *bla*_{NDM-1} 陽性プラスミドと非常に高い遺伝学的相同性を示した。このことから, 安定に保持されるプラスミドの菌種間伝播が幅広い菌種にカルバペネム耐性を付与していることが示唆された。

P1-042/FL1-05

口腔由来 *Stenotrophomonas maltophilia* の運動能と病原性に関する特徴的性状の解析

○西濱 早紀¹, 松尾 美樹², Minh Ngoc Vo², 川柳 智暉¹, 菅原 庸³, 菅井 基行³, 柴 秀樹¹, 小松澤 均² (¹広島大・医系科学研究科・歯髄生物学, ²広島大・医系科学研究科・細菌学, ³国立健康危機管理研究機構)

Analysis of Distinctive Motility and Pathogenic Characteristics of Oral *Stenotrophomonas maltophilia*

○Saki Nishihama¹, Miki Kawada-Matsuo², Minh Ngoc Vo², Tomoki Kawayanagi¹, Yo Sugawara³, Motoyuki Sugai³, Hideki Shiba¹, Hitoshi Komatsuzawa² (¹Dept. Biol Endod., Grad. Sch. Biomed. and Health Sci., Hiroshima Univ., ²Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Biomed. and Health Sci., Hiroshima Univ., ³Japan Inst Health Security)

【背景および目的】*Stenotrophomonas maltophilia* は, カルバペネム系抗菌薬に自然耐性を持ち, 院内感染における菌血症や呼吸器感染症では死亡率が 50% を超えることもある。本研究では, 口腔由来 *S. maltophilia* の特徴的な性質の解明を目的とした。【方法】ヒト口腔由来 *S. maltophilia* 30 株および対照群として血液由来株 20 株に関して, 全ゲノム解析, バイオフィーム形成能, 凝集能 (自己凝集能, 人工唾液凝集能, および口腔内細菌との共凝集能), 運動能 (Swimming, Swarming) を検証した。さらに一部の株について, 遺伝子発現解析および電子顕微鏡観察を行った。【結果】口腔由来株は血液由来株と比較して, 唾液凝集能, *S. mutans* との共凝集能, および運動能がより強いことが明らかになった。凝集能と運動能には正の相関があり, バイオフィーム形成能が低い株ほど唾液凝集能が強い傾向が見られた。遺伝子発現解析の結果, 鞭毛遺伝子 *fliC* が凝集能および運動性の双方に関与している可能性が示唆され, *fliC* 発現レベルの高い株では電子顕微鏡にて発達した鞭毛の存在が確認された。【結論】本研究は, 口腔由来 *S. maltophilia* の多角的な性状解析を行った初めての報告である。口腔由来株が *fliC* 遺伝子に依存した鞭毛運動能が高い可能性が示唆された。口腔内 *S. maltophilia* は, 誤嚥や血流を介して呼吸器や全身で感染症を引き起こす可能性があり, その特性についてさらなる検証が必要である。

P1-043

口唇上の細菌バイオフィームのプロファイリング：ワセリンリップ塗布の影響

関口 未来¹, 今井 真奈美¹, 岡部 璃佳¹, 涌井 杏奈^{1,2}, 加藤 優希¹, 佐藤 遥菜¹, ○佐藤 拓一¹ (¹新潟大・院保健学研究科・臨床化学研究室, ²新潟医療福祉大・医療技術学部)

Profiling of bacterial biofilms on human lips: effects of Vaseline lip application

Mirai Sekiguchi¹, Manami Imai¹, Rika Okabe¹, Anna Wakui^{1,2}, Yuki Kato¹, Haruna Sato¹, ○Takuichi Sato¹ (¹Div. Clinical Chemistry, Niigata Univ. Grad. Sch. Health Sciences, ²Dept. Med. Tech., Niigata Univ. Health Welfare)

【目的】コロナ禍を経て, マスク着用による顔面皮膚の健康への弊害が懸念・注目されている。本研究では, 口唇表面上の細菌バイオフィームに焦点を絞り, 日中, 複数回, ワセリンリップを塗布した場合の影響について検討した。

【方法】インフォームドコンセントを得た, 研究室の学生 7 名を被験者とした。朝 9 時の段階で口唇全体を滅菌綿棒で丹念に擦過し, 生理食塩水に懸濁し, 試料とした。直後にワセリンリップ (健栄製薬) を通常使用するように塗布し, お昼 12 時および午後 3 時に再度塗布し, 午後 6 時に試料採取した。試料を CDC 血液寒天平板上で嫌気培養し, 16S rRNA genes PCR-RFLP およびシーケンシング解析により細菌種を同定した。ワセリンリップ容器や塗布しなかった口唇についても同様に解析した。

【結果】朝 9 時の口唇からは $(4.2 \pm 3.4) \times 10^4$ CFU/mL の細菌が検出され, 午後 6 時 (1 日に 3 回ワセリンリップを塗布後) の口唇からは $(2.1 \pm 1.6) \times 10^5$ CFU/mL と, 約 5 倍に増加したが, ワセリンを塗布しなかった午後 6 時の口唇 $[(1.3 \pm 1.5) \times 10^5]$ と同程度であった。ワセリンリップ容器では $(1.3 \pm 1.2) \times 10^3$ と少なかった。細菌構成は何れも *Cutibacterium*, *Staphylococcus* が優勢で, 加えて *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Schaalia*, *Veillonella* といった口腔細菌種が検出された。

【考察】口唇表面上には $10^4 \sim 10^5$ 台の細菌が生息しており, その構成細菌が皮膚および口腔の両方の由来であること, ワセリンリップを 1 日の内で数回塗布しても, 容器にはさほど遷移しないことが判明した。現在, ワセリンリップを 1 週間単位で塗布 (使用) した場合についても解析を進めている。

P1-044

スマートフォン画面から検出される細菌のプロファイリング：UV 照射の有効性について

○加藤 優希¹, 涌井 杏奈^{1,2}, 関口 未来¹, 佐藤 遥菜¹, 佐藤 拓一¹ (¹新潟大・院保健学研究科・臨床化学研究室, ²新潟医療福祉大・医療技術学部)

Profiling of microbiota isolated from smartphone screens: effectiveness of UV irradiation

○Yuki Kato¹, Anna Wakui^{1,2}, Mirai Sekiguchi¹, Haruna Sato¹, Takuichi Sato¹ (¹Div. Clinical Chemistry, Niigata Univ. Grad. Sch. Health Sciences, ²Dept. Med. Technol., Niigata Univ. Health Welfare)

【目的】スマートフォン画面に付着する細菌を分子生物学的に解析し, 市販のスマートフォン用の UV 照射器の有効性についても検討した。

【方法】インフォームドコンセントを得た, 学生 12 名を被験者とした。スマートフォン画面を滅菌綿棒で擦過し, 生食に懸濁し試料とした。また利き手の 5 本の指先からも試料を採取した。分散均一化後, CDC 血液寒天平板に接種し, 37°C で嫌気および好気培養を行った。次いで, 得られた各コロニーを純培養し, Genomic DNA を抽出し, 16S rRNA 遺伝子の PCR-RFLP およびシーケンシング解析により細菌種の同定を行った。スマートフォン用の UV 照射器 (Unipromex, 太陽工業) で規定の 5 分間照射した後の試料についても同様に解析を行った。

【結果】画面からは嫌気培養で $(1.5 \pm 2.5) \times 10^3$ CFU/mL の細菌が検出され, 好気培養では $(8.3 \pm 8.4) \times 10^2$ とやや少なかった。細菌構成 (嫌気培養) は *Cutibacterium* (65.5%), *Streptococcus* (13.3%), *Staphylococcus* (8.9%), *Corynebacterium* (7.4%) が優勢であった。指先の細菌量は嫌気培養で $(3.3 \pm 4.7) \times 10^3$ に対して, 好気培養では $(6.5 \pm 9.5) \times 10^2$ とやはり少なかった。細菌構成は *Cutibacterium* (74.1%), *Staphylococcus* (22.8%) が優勢であった。UV 照射後 (n=4) では嫌気培養で $(1.1 \pm 1.2) \times 10^2$, 好気培養で $(1.0 \pm 1.3) \times 10^2$ の細菌が検出された。

【考察】画面は指先の細菌量より少なく, 堅い物体表面は細菌の生息にはあまり適していないことが窺えた。画面からは手指由来の細菌の他, 口腔 (唾液) 由来と推定される *Streptococcus* 菌種が検出された。スマートフォン用の UV 照射器の効果は 9 割程度で, 現在, 他のメーカー機種について検討を進めている。

P1-045/FL1-06

広範囲薬剤耐性および多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* ST208 のゲノム解析

○西田 智¹, 斧 康雄^{1,2}, 吉野 友祐¹ (¹帝京大・医・微生物, ²帝京平成大・健康メディカル)

Genomic analysis of extensively drug-resistant and multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ST208

○Satoshi Nishida¹, Yasuo Ono^{1,2}, Yusuke Yoshino¹ (¹Dept. Microbiol. Immunol., Sch. Med., Teikyo Univ., ²Fac. Health Med. Sci., Teikyo Heisei Univ.)

【背景】多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* (MDRA) の蔓延は世界規模で増加しており、重篤な院内感染との関連が指摘されている。
【方法】2009 年および 2010 年の MDRA アウトブレイク時の入院患者から得られた臨床分離株を対象に、薬剤感受性試験を実施した。獲得性薬剤耐性遺伝子および遺伝子変異を同定するために全ゲノムシーケンシング (WGS) を実施した。
【結果】臨床分離された *A. baumannii* は、β-ラクタム系薬 (β-ラクタマーゼ阻害薬配合ペニシリン系薬、広域スペクトルのセファロスポリン系薬およびカルバペネム)、アミノグリコシド系薬、クロラムフェニコール、ホスホマイシン、フルオロキノロン系薬、テトラサイクリン系薬、およびトリメトプリム・スルファメトキサゾールに耐性を示した。MDRA 分離株は、*aac(6')-Ib-cr*, *abaF*, *armA*, *bla*_{ADC-30}, *bla*_{TEM-1}, および *bla*_{OXA-82}, または *bla*_{OXA-66} と *bla*_{OXA-23}, *catB8*, *mphE*, *msrE*, および *tet(B)* 遺伝子を有していた。*bla*_{OXA-82} 遺伝子は組換えにより増幅していた。キノロン耐性は、*gyrA* S81L および *parC* S84L 変異とも関連していた。MDRA 分離株は、オックスフォード配列型 (ST) 208 およびバスターール ST2 に属していた。15 分離株のうち 3 株は広範囲薬剤耐性 (XDR) を示し、2 株は *adeS* 変異を有していた。
【結論】3 つの XDR 分離株と 1 つの MDR 分離株において薬剤耐性遺伝子を同定し、耐性とビルレンスのゲノム情報、ならびに分離株の起源を推定した。これらの分離株は、アジアとオーストラリアで同定されている MDRA オックスフォード ST208 およびバスターール ST2 と近縁であった。MDRA 分離株はアジア太平洋地域の病院および地域社会の両方における広がり懸念される。

P1-046

ざ瘡患者由来アクネ菌の薬剤耐性と抗菌薬使用歴の解析

吉原 昂洋, 瀬山 翔史, 望月 さち, ○中南 秀将 (東京薬大・薬・臨床微生物)

Antimicrobial Resistance in *Cutibacterium acnes* from Acne Patients and Antibiotic Use History

Koyo Yoshihara, Shoji Seyama, Sachi Mochizuki, ○Hidemasa Nakaminami (Depart. Clin. Microbiol., Sch. Pharm., Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

Object: *Cutibacterium acnes* is a commensal bacterium that inhabits the skin but can exacerbate acne vulgaris. Recently, the increased prevalence of antimicrobial-resistant *C. acnes* has become problematic because it complicates the treatment of acne. This study analyzed the antimicrobial susceptibility of *C. acnes* isolates from patients with acne. Additionally, the relationship between antimicrobial resistance and antibiotic use history was examined.
Methods: *C. acnes* from acne patients, including hospital outpatients and clinic patients, were used. Antimicrobial susceptibility was evaluated by the MIC determination. Genotypes were determined by single-locus sequence typing, and resistance factors were analyzed by PCR and DNA sequencing. Antibiotic use history was compiled from a questionnaire survey.
Results and Discussion: *C. acnes* from hospitals showed significantly higher resistance rates to macrolides and clindamycin than strains from clinics. Hospital strains exhibited higher rates of *erm*(X) and *erm*(50) carriage. Hospital patients had a greater history of antimicrobial use than clinic patients, and those with a history of antimicrobial use had a significantly higher isolation rate of antimicrobial-resistant strains. This study strongly suggests that the use of antimicrobials plays a significant role in the development of antimicrobial resistance in *C. acnes*.

P1-047/FL1-07

ICU 患者の多剤耐性菌クローン共有と菌群均質化による感染伝播機構

○西濱 早紀¹, 安富 慶昌², 西 裕美³, 川柳 智暉¹, 朝川 美加李⁴, 松尾 美樹², 久恒 順三⁵, 菅原 庸⁵, 柴 秀樹¹, 河口 浩之³, 竹下 徹⁴, 菅井 基行⁵, 小松澤 均² (¹広島大・医系科学研究科・歯髄生物学, ²広島大・医系科学研究科・細菌学, ³広島大・口腔総合診療科, ⁴九大・院歯・口腔保健推進・口腔予防, ⁵国立健康危機管理研究機構)

Clonal sharing of drug-resistant bacteria and microbial homogenization in ICU patients

○Saki Nishihama¹, Yoshimasa Yasutomi², Hiromi Nishi³, Tomoki Kawayanagi¹, Mikari Asakawa⁴, Miki Kawada-Matsuo², Junzo Hisatsune⁵, Yo Sugawara⁵, Hideki Shiba¹, Hiroyuki Kawaguchi³, Toru Takeshita⁴, Motoyuki Sugai⁵, Hitoshi Komatsuzawa² (¹Dept. Biol. Endod., Grad. Sch. Biomed. and Health Sci., Hiroshima Univ., ²Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Biomed. and Health Sci., Hiroshima Univ., ³Dept. General Dentistry, Hiroshima Univ. Hosp., ⁴Sect. Prev. & Public Health Dent., Div. Oral Health Growth & Dev., Fac. Dent. Sci., Kyushu Univ., ⁵Japan Inst. Health Security)

【目的】本研究は ICU に入院し気管挿管管理を受ける患者の口腔、鼻腔、下気道 (気管内吸引液) から薬剤耐性グラム陰性菌 (ESBL, CRE 含む) および MRSA を含む *S. aureus* を分離・解析し、これらの部位間での菌株分布や遺伝的関連性を明らかにすることを目的とした。【方法】2021 年から 2023 年にかけて 61 名の ICU 患者から口腔、鼻腔、下気道から検体を採取し、選択培地を用いた分離培養、分離菌の全ゲノム解析および 16S rRNA 菌叢解析を実施した。薬剤耐性菌の遺伝的関連性は SNP 解析で評価し、菌株間のクローンレベルの類似性を検討し、さらに 16S rRNA 解析で微生物群集の類似性を比較した。患者の臨床情報と菌の分離状況の関連性も統計解析した。【結果】*S. aureus* は各部位で高頻度に出検され (39.3%-50.8%), 年齢と負の相関があった。MRSA は複数例で認められた。薬剤耐性グラム陰性菌は口腔、下気道で 16.4%, 鼻腔で 6.6% 分離され、残存歯数が少ない患者で有意に多かった。SNP 解析により同一患者内の複数部位から分離された菌株はクローンレベルで高い遺伝的類似性を示し、部位間での菌の伝播が示唆された。16S rRNA 解析では口腔、鼻腔、下気道の微生物群集は健康者に比べて類似性が高く、菌叢の均質化が認められた。【考察】本研究は ICU 患者において口腔、鼻腔、下気道での多剤耐性菌がクローンレベルで共有され、上気道が下気道感染の病原体の貯留庫となり得ることを示唆した。口腔・鼻腔のスクリーニングや口腔ケア強化を含む包括的な感染対策が下気道感染の予防に重要である可能性が示された。

P1-048

豚体表からのブドウ球菌ファージの分離と性状

○友利 瑠偉¹, 小野 久弥¹, 岡田 明瑠¹, 小島 新二郎², 今中 マシュー², 氣 駕 恒太郎², 胡 東良¹ (¹北里大・獣医・人獣共通感染症学, ²感染研・治療薬開発研究部・第四室)

Isolation and Characterization of Staphylococcal Phages from the Skin Surface of Pigs

○Rui Tomori¹, Hisaya Ono¹, Akari Okada¹, Shinjiro Ojima², Matthew Imanaka², Kotaro Kiga², Dong-Liang Hu¹ (¹Lab. Zoonoses, Sch. Vet. Med. Kitasato Univ., ²Therapeutic Drugs Dev. Res. Center, NIID)

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は、ヒトおよび家畜の常在菌である一方、化膿性疾患、深部臓器膿瘍、敗血症など多様な病態を引き起こす重要な病原菌である。特に、多剤耐性を示すメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、ヒトおよび動物において深刻な脅威である。近年、多剤耐性菌に対する治療法としてファージセラピーが注目されており、その実用化には新規ファージの分離が不可欠である。しかし、黄色ブドウ球菌に感染するファージは分離が困難であることが知られている。本研究では、MRSA を含む幅広い *S. aureus* 株に対して溶菌活性を示すブドウ球菌ファージの分離および性状解析を目的とした。マイクロミニピッグ (MMP) 100 頭から皮膚スワブサンプルを採取し、*S. aureus* が検出された培養液を用いてファージの分離を行った。分離したファージについては、複数菌株を用いたスポットテストおよび溶菌曲線の作成により評価した。さらに、分離ファージのゲノム解析を実施した。その結果、MMP 由来スワブサンプル 22 検体から *S. aureus* が分離された。このうち 7 検体から、*S. aureus* SA003 株に対して溶菌活性を示すファージが得られ、また MRSA 株 (USA300, 834) に対しても溶菌作用を示した。溶菌曲線解析では、一部のファージが MOI 0.1, 1, 10 のいずれの条件においても培養後 1~2 時間で強力な溶菌効果を示した。ゲノム解析の結果、これらのファージは *Kayvirus* 属に分類された。本研究により、豚体表に高い溶菌活性を有するブドウ球菌ファージが存在することが明らかとなった。今後、溶菌スペクトルやレセプター解析を進め、ファージセラピーへの応用に向けた知見をさらに深める必要がある。

P1-049

牛趾皮膚炎からの *Treponema medium* 分離と全ゲノム解析

○福田 昭¹, 村上 高志², 阿部 紀次³, 鈴木 定彦⁴, 中島 千絵⁵, 臼井 優¹
(¹酪農大・獣医・食品衛生学, ²酪農大・獣医・生産外科学, ³トータルハードマネージメント, ⁴北大・ワクチン研究開発拠点研究支援, ⁵北大・人獣共通・バイオリソース)

Isolation of *Treponema medium* from Bovine Digital Dermatitis and completed the genome sequence

○Akira Fukuda¹, Takashi Murakami², Noritsugu Abe³, Yasuhiko Suzuki⁴, Chie Nakajima⁵, Masaru Usui¹ (¹Dept. Food Microbiol. Food Safety., Vet Med., Rakuno Univ., ²Dept. Farm Anim. Surg., Vet Med., Rakuno Univ., ³Total Herd Management Service, ⁴Div. Res. Support., Vac. Res. and Devel., Hokkaido Univ., ⁵Int. Collabo.Unit., Inter. Insti. Zoonosis Control, Hokkaido Univ.)

感染性の蹄疾患である牛趾皮膚炎(Bovine Digital Dermatitis (BDD))は痛みを伴い乳牛では乳量の減少や繁殖活動に影響を及ぼし生産性の低下を引き起こす。病原性 *Treponema* 属菌(*T. medium*, *T. phagedenis*, *T. pedis*, and *T. denticola*)が主な病原体とされている一方で, *Treponema* 属菌は実験室下での培養が困難であり, 性状や遺伝学的知見は限定的である。本研究では, 分離方法の検討とゲノム情報整理のため, BDD 罹患牛からの *Treponema* 属菌の分離と全ゲノム解析を実施した。BDD 罹患牛(ステージ M2: 2cm 以上の病変形成)の趾皮膚炎患部から滅菌綿棒を用いてふき取り, 嫌気ポーターを用いて輸送し, pDDp broth で 4℃, 3 日嫌気培養した。培養液は fastidious anaerobe agar (10%ウシ胎児血清, 5%羊脱纖血液と 5mg/L リファンピシン, エンロフロフロキサシン添加) 上の 0.45μm フィルターに添加し 6 時間後, フィルターを除去し, 37℃, 14 日嫌気培養した。得られたコロニーは mNOS 培地で増菌培養後, 次世代シーケンサー(MiSeq, MiON)による全ゲノム解析を実施した。*T. medium* T1 株 (ANI score: ≥95% *T. medium* ATCC799293) が分離され, 3.1Mbp の完全長染色体ゲノムをコンプリートした。全ゲノムが登録されていたヒト, 牛由来の 2 株とのコアゲノム SNPs 解析では牛由来株と近縁であった。また, これら 2 株でみられない遺伝子領域が存在した。BDD の病態解明と制御のため, 疾病に関連する病原体の性状・遺伝学的知見の更なる収集が今後, 必要である。

P1-050

志賀毒素 2e 産生性大腸菌 O26 の表現型およびゲノム解析

○若林 友騎, 原田 哲也, 河合 高生 (大安研・微生物)

Phenotypic and genomic characterization of Shiga toxin subtype 2e-producing *Escherichia coli* O26

○Yuki Wakabayashi, Tetsuya Harada, Takao Kawai (Div. Microbiol., Osaka Inst. Pub. Health)

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) is a diarrheagenic pathogen that causes bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome in humans. As a part of the National Surveillance of Infectious Disease in Japan, we examine the serotypes and genotypes of STEC isolates in Osaka. During the routine surveillance, we identified an uncommon STEC O26 isolate, 2025P052. In this study, we report the results of biochemical tests as well as the whole genome sequencing (WGS) of the isolate. 2025P052 utilized rhamnose and formed red-colored colonies on rhamnose-MacConkey agar (RMAC), while typical STEC O26 was unable to ferment rhamnose, resulting in colorless colonies on RMAC. 2025P052 was incapable of fermenting lactose and sucrose and was negative for the lysine decarboxylase test, as was *Shigella* spp. The *stx* subtype was identified as *stx2e* both by PCR and WGS. Although WGS identified a partial *fliC* sequence similar to that of serotype H11, a transposon was inserted and disrupted *fliC*, making it untypable by H-genotyping PCR. *In silico* multi-locus sequence typing resulted in sequence type (ST) 48, which differed from the STs of typical STEC O26 (ST21 and ST29). None of the genomes downloaded from the public database whose ST was ST48 harbored the *Stx* gene, implying the recent acquisition of a *stx*-converting phage in the 2025P052 genome.

P1-051

バンコマイシン耐性 *Enterococcus faecium* 臨床分離株のバイオフィーム形成における DNase の影響

○浜潟 祐奈, 柳原 正志, 岡本 成史 (阪大院・医保・生体病態情報科学)

Effect of DNase on biofilm formation in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* clinical isolates

○Yuna Hamagata, Masashi Yanagihara, Shigefumi Okamoto (Dept. Clin. Lab. Biomed. Sci., Grad. Sch. Med., The Univ. Osaka)

【背景】Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VRE)は多剤耐性の院内感染原因菌で, 入院患者の保菌による outbreak が国内で増加し, 問題となっている。VRE のバイオフィームは多糖類, タンパク質, 細胞外 DNA などの細胞外 matrix によって形成される一方, DNase による VRE のバイオフィーム形成阻害が報告されているが, その詳細は不明である。

【目的】VRE 国内臨床分離株バイオフィーム形成における DNase の影響を評価する。

【方法】*E. faecium* ATCC19434 と VRE 国内臨床分離株 88 株を用いた。96 穴プレートを用いて 1% glucose 添加 TSB に DNase I を加え, 37℃にて 24 時間培養し, 底面に形成されたバイオフィームを染色, OD570 にて測定した。バイオフィーム測定値から形成能を 3 段階で評価した。また, DNase 添加の有無でのバイオフィーム増減率を求めた。

【結果】バイオフィーム形成能は, 88 株中 17 株(19.3%)が(-), 68 株(77.3%)が(+), 3 株(3.4%)が(++)に分類され, 測定値は順に, 0.186±0.066, 0.652±0.140, 1.401±0.448 であった。各群から 2 株用いて DNase 濃度を 0~0.5 mg/mL で検討した結果, (++)群では DNase 濃度依存的なバイオフィーム形成阻害を, (+)群では 0.1 mg/mL で最も強い阻害を示したため, これを至適濃度とした。バイオフィームを形成した 71 株を用いて DNase 0.1 mg/mL 添加による影響を検討した結果, 71 株中 54 株(76.1%)でバイオフィーム測定値が減少し, その減少率は 21.3±11.0%であった。

【考察】VRE 臨床分離株は DNase によるバイオフィーム形成阻害を示さない株と示す株が存在し, 完全阻害を示さなかった。このことから, 細胞外 DNA は VRE 臨床分離株のバイオフィーム形成を補強することが示唆された。

P1-052/FL1-08

鼻腔・口腔における薬剤耐性菌の経年的保菌状況の検討

○上田 航輔^{1,2}, 川柳 智暉^{1,2}, 西濱 早紀^{1,2}, 松尾 美樹², 久恒 順三³, 菅原 庸³, 柴 秀樹¹, 菅井 基行³, 小松澤 均² (¹広島大・医系科学・菌髄生物学, ²広島大・医系科学・細菌学, ³国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター)

Longitudinal study of carriage of drug-resistant bacteria in the nasal and oral cavities

○Kosuke Ueda^{1,2}, Tomoki Kawayanagi^{1,2}, Saki Nishihama^{1,2}, Miki Matsuo², Junzo Hisatsune³, Yo Sugawara³, Hideki Shiba¹, Motoyuki Sugai³, Hitoshi Komatsuzawa² (¹Dept. Biol. Endo., Grad. Sch. Biomed. & Health Sci., Hiroshima Univ., ²Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Biomed. & Health Sci., Hiroshima Univ., ³Antimicrobial Research Ctr., National Inst. Infection Diseases)

【目的】薬剤耐性菌の世界的な蔓延は大きな問題であり, その対策は急務である。私たちはこれまでに口腔に種々の薬剤耐性菌が定着していることを報告し, 感染対策の観点から口腔の重要性を提唱している。本研究の目的は, 鼻腔・口腔を対象とした薬剤耐性菌の経年的な保菌状況の検討である。

【方法】2021 年から 2022 年にかけて広島大学病院歯科外来患者 514 人を対象に, 鼻腔・口腔より *Staphylococcus aureus* (Sa)および第三世代セファロスポリン/カルバペネム耐性グラム陰性菌の分離を行った。さらに, この中の 50 人を追跡対象として 2023 年から 2024 年にかけて同様に分離を行った。それぞれの分離菌株についてゲノム解析を行い, ST タイプや SNP 数を解析した。

【結果】追跡対象の 50 人において, 1 回目で Sa が分離された人数は, 鼻腔が 19 人, 口腔が 8 人であった。このうち, 2 回目でも分離された人数は鼻腔が 12 人, 口腔が 7 人であった。さらに, ST タイプや SNP 数などを分析した結果, 同一の Sa が定着していると考えられるのは鼻腔で 47.4%(9/19), 口腔で 37.5%(3/8)であった。この中の 3 人は, 鼻腔・口腔共に同一の Sa が定着していると考えられる結果となった。グラム陰性耐性菌において, 1 回目に分離された人数は, 鼻腔が 5 人, 口腔が 14 人であった。このうち, 2 回目でも分離された人数は鼻腔が 0 人, 口腔が 3 人であった。さらに, 菌種, ST タイプ, SNP 数などを分析した結果, 同一のグラム陰性耐性菌が定着していると考えられるのは口腔で 14.3%(2/14)であった。このように, Sa はグラム陰性耐性菌よりも長期定着しやすく, 特に鼻腔でその傾向が顕著であった。

P1-053/FL1-09

緑膿菌臨床分離株における臨床病態と病原遺伝子との関連性

○佐野 隆之, 山崎 浩平, 外崎 佑香, 柏本 孝茂 (北里大・獣医・獣医公衆衛生)

Correlation of Virulence Genetic Classification with Phenotypes in *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia

○Takayuki Sano, Kohei Yamazaki, Yuka Tonosaki, Takashige Kashimoto (Dept. Vet. Public Health., Sch. Vet. Med., Kitasato Univ.)

緑膿菌は医療関連感染症の代表的起炎菌であり、高度の薬剤耐性及び病原性を背景に、多様かつ重篤な感染症を引き起こす。本菌はコアゲノムの SNP 解析により 3 つの Group に分類され、それぞれ特徴的な病原遺伝子が存在することから、Group 分類は病態推定や治療選択に有用と考えられる。本研究の目的は、病原遺伝子の有無に基づいた緑膿菌の臨床的分類法を確立し、最適治療への応用可能性を模索することにある。NCBI データベースに登録されている緑膿菌の海外臨床分離株 262 株について、公開されているゲノム配列を用い、病原遺伝子 (*psrL*, *exoU*, *exlA*) を標的とした *in silico* PCR による Group 分類を行ったところ、SNP 解析の結果と 97.3%一致した。次に、国内の 3 大学病院で血液から分離された 357 株を対象に病原遺伝子を標的とした PCR を実施した結果、Group 1 が 86.3%、Group 2 が 13.7%を占め、海外の SNP 解析と同様の傾向を示した。一方、海外では約 3%を占める Group 3 は検出されず、国内由来緑膿菌株の特徴のひとつであることが示唆された。Group 2 に分類される緑膿菌株の感染症では感染巣が形成されにくく、診断後 34 日までの生存率が低い傾向を示したことから、Group 2 株は、より致死性の高いことが示唆された。本研究で確立した病原遺伝子による Group 分類法を実施することで、出血性肺炎を引き起こすことされる Group 3 の国内侵入のモニタリングが可能となると共に、緑膿菌感染患者の早期病態予測および適切な初期治療に貢献できると考えられた。

P1-054

メタゲノム解析を端緒に判明した莢膜を欠く肺炎球菌による結膜炎患者集積事例の解析

○大島 萌愛¹, 金谷 潤一¹, 齋藤 和輝¹, 吉田 琴羽², 矢澤 俊輔², 谷 英樹², 田村 恒介³, 前西 絵美³, 笹島 仁³, 橋野 正紀⁴, 堀場 千尋⁴, 常 彬⁵, 明田 幸宏⁵, 森田 恒史⁶, 大石 和徳¹ (¹富山衛研・細菌, ²富山衛研・ウイルス, ³富山衛研・研究企画, ⁴感染研・ゲノム, ⁵感染研・細菌1, ⁶森田眼科医院)

Cluster analysis of conjunctivitis by non-encapsulated *Streptococcus pneumoniae* via metagenomics

○Moe Oshima¹, Jun-ichi Kanatani¹, Kazuki Saito¹, Kotoha Yoshida², Shunsuke Yazawa², Hideki Tani², Kosuke Tamura³, Emi Maenishi³, Hitoshi Sasajima³, Masanori Hashino⁴, Kazuhiro Horiba⁴, Bin Chang⁵, Yukihiro Akeida⁵, Koji Morita⁶, Kazunori Oishi¹ (¹Dept. Bacteriol., Toyama Inst. Health, ²Dept. Virol., Toyama Inst. Health, ³Dept. Res. Plann., Toyama Inst. Health, ⁴Lab. Microbial Genomics, Pathogen Genomics Center, NIID, JIHS, ⁵Dept. Bacteriol. I, NIID, JIHS, ⁶Morita Eye Clinic)

【目的】2025 年の 1~8 月に、富山県内の眼科定点医療機関で 106 例の結膜炎患者が報告され、従来のウイルス検査で病因が特定できなかった事例について、病因物質を明らかにすることを目的とした。【方法】検体採取の協力を得られた 33 名から眼粘膜拭い液を採取し、エンテロウイルス、コクサッキーウイルスおよびアデノウイルスに対するリアルタイム PCR 検査を実施した。その内の 5 検体については、臨床検体から次世代シーケンサーによるメタゲノム解析を実施し、網羅的な病原体探索を行った。肺炎球菌の細菌学的検査は、培養および *lytA* 遺伝子のリアルタイム PCR を行った。分離した肺炎球菌株については、血清型別、遺伝子型別 (MLST)、NGS 解析を実施した。【結果および考察】従来、結膜炎の集団感染は主にウイルス種に起因するとされてきたが、本事例では対象となるウイルスは検出されなかった。しかしながら、臨床検体のメタゲノム解析を実施することにより病因物質が肺炎球菌である可能性が浮上し、培養検査の結果、10 検体から肺炎球菌が分離された。*lytA* 遺伝子のリアルタイム PCR では 14 検体が陽性となった。分離された肺炎球菌株はすべての抗血清と反応せず、墨汁染色で莢膜はみられない無莢膜型株であった。MLST 解析では、3 株は ST14236、1 株が ST14236 と 1 塩基のみ異なる新規の ST であった。NGS による全ゲノム SNP 解析の結果、10 株内で 0~28 SNPs 検出された。*cps* 領域について解析した結果、*pspK* 遺伝子は保有していなかったが、*aliC*, *aliD* 遺伝子は保有しており、null capsule clade 2 に属する株であった。本調査により、報告された結膜炎の集積は同一の無莢膜型肺炎球菌による感染症である可能性が示唆された。

P1-055

牛肺疫菌検出 PCR のプライマーの改良

○岡本 真理子¹, 橘 紅李¹, 岡脇 良奈², 秦 英司^{1,3}, 高松 大輔¹ (¹農研機構・動衛研・動物感染症, ²徳島県・西部家保, ³農研機構・動衛研・疾病対策部)

Improvement of PCR Primers for Detection of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*

○Mariko Okamoto¹, Akari Tachibana¹, Rana Okawaki², Eiji Hata^{1,3}, Daisuke Takamatsu¹ (¹Div. Infectious Animal Disease Research, NIAH, NARO, ²Seibu Livestock Hygiene Service Center, Tokushima, ³Dept. Animal Disease Control and Prevention, NIAH, NARO)

Contagious bovine pleuropneumonia is a severe respiratory disease of cattle caused by *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (Mmm). Although the disease has been eradicated from Japan, establishing an appropriate diagnostic system remains necessary due to the potential future introduction of Mmm. Japan's official diagnostic guidelines introduce a method combining PCR and restriction enzyme analysis (PCR-REA) to detect Mmm and differentiate it from the closely related species *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (Mmc). However, in the PCR step, amplification of the target region was not observed from the attenuated Mmm strain V and the Mmc strain Y-goat. To identify the cause of PCR failure, whole-genome sequencing of the V and Y-goat strains was conducted. Sequence analysis revealed mismatches between the PCR-REA primers and the target genomic regions. Based on the correct target sequences, new primers were designed and evaluated by PCR-REA. The new primers successfully amplified a 574-bp fragment from both strains without nonspecific reactions to other *Mycoplasma/Acholeplasma* species. REA patterns clearly distinguished between both strains. These results demonstrate that the new primers enable accurate detection and identification of Mmm and Mmc. This method enhances diagnostic preparedness for future outbreaks and contributes to improving veterinary diagnostic systems in Japan.

P1-056

Salmonella Typhimurium における H 抗原相変異率の遺伝学的解析手法の確立

○中山 ももこ¹, 新井 暢夫¹, 小川 洋介¹, 橘 紅李¹, 西川 明芳¹, 楠本 正博^{1,2}, 江口 正浩¹ (¹農研機構・動衛研, ²大阪公立大院・獣医)

A genetic method to analyze flagellin phase variation frequency in *Salmonella* Typhimurium

○Momoko Nakayama¹, Nobuo Arai¹, Yohsuke Ogawa¹, Akari Tachibana¹, Sayaka Nishikawa¹, Masahiro Kusumoto^{1,2}, Masahiro Eguchi¹ (¹Natl. Inst. Anim. Health, NARO, ²Grad. Sch. Vet. Sci., Osaka Metro. Univ.)

Salmonella Typhimurium (*S. Typhimurium*) の鞭毛 H 抗原には、1 相及び 2 相の抗原相が存在し、両者の間では相変異と呼ばれる可逆的な転換が起こる。1 相及び 2 相のいずれが発現するかは、*hin* 遺伝子の向きにより制御される。本研究では、この制御機構に着目し、相変異が起こる頻度 (相変異率) を解析するための遺伝学的手法を確立した。相変異率の算出に先立ち、*hin* 遺伝子の方向特異的なプライマーセットを設計し、菌集団中の 1 相発現菌及び 2 相発現菌の菌数を定量できるリアルタイム PCR 系を構築した。次に、1 相あるいは 2 相に偏らせた菌を LB 培地で複数回継代後に出現した相変異菌体数を当該リアルタイム PCR 系により定量することで、相変異率を算出した。その結果、従来の血清学的解析手法と比較して、約 10 倍の感度を持つ解析手法が確立された。加えて、本解析手法を用いて、様々な遺伝的背景を有する家畜由来 *S. Typhimurium* 野外分離株の相変異率を網羅的に調査した。この結果から、どの株においても 1 相から 2 相への転換頻度に比べて、2 相から 1 相への転換頻度が 2~10 倍大きいことが明らかとなった。畜産現場では、分離・同定時に *S. Typhimurium* 野外分離株の多くが 1 相 H 抗原を発現することが知られており、本結果はこうした知見と一致していた。一方で、株間の相変異率の比較においては有意差が認められた。株間の相変異率の違いが、菌集団中の H 抗原の発現状態にどのように影響するかを明らかにするために、現在、異なる培養条件下での解析を進めている。

P1-057

新規トキシイド固相化 ELISA/IC による破傷風防御抗体評価と応用

○坂本 智代美^{1,2}, 久米田 幸介³, 中道 真理子³, 志多田 千恵^{1,2}, 山折 晋³, 高橋 元秀^{1,2} (¹熊本保健科学大・生物毒素・抗毒素共同研究講座, ²化学及血清療法研究所, ³KMバイオロジクス株式会社)

Tetanus Protective Antibody Assessment by Novel Tetanus Toxoid-Coated ELISA/IC

○Chiyomi Sakamoto^{1,2}, Kohsuke Kumeda³, Mariko Nakamichi³, Chie Shitada^{1,2}, Susumu Yamaori³, Motohide Takahashi^{1,2} (¹Toxin and Biologicals Research Lab., Kumamoto Health Science Univ., ²The Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute (KAKETSUKEN), ³KM Biologics Co., Ltd.)

【目的】破傷風毒素中和抗体価の測定は、破傷風患者の診断・治療戦略、血清疫学、さらにワクチンの品質評価において不可欠である。しかし、現状での中和抗体測定法は、動物を用いた毒素攻撃法や中和試験 (Toxin Neutralization Test : TNT) に依存しており、in vitro 法での中和抗体測定への代替は国際的にも喫緊の課題である。本研究では、破傷風トキシイドを固相化した新規 ELISA およびイムノクロマトグラフィー (IC) を開発し、ヒト、マウス、ウサギ血清における適用性と、機能的評価法との相関を検証した。

【方法・結果】新規 ELISA の分析法バリデーションはヒト、マウス、ウサギのいずれにおいても良好で、抗体価の定量が可能であった。特に献血由来のヒト プール血漿では、ELISA 値と TNT の結果が極めて良好に相関し、ELISA から中和抗体価を高精度に外挿できる可能性が示された。さらに、マウスを用いたトキシイド力価試験において、ELISA に基づく力価は従来の毒素攻撃法と統計学的な差を認めず、動物試験の代替法としての有用性を確認した。

【結論】新規 ELISA は動物種に応じた標準品の設定により、各種動物の抗破傷風抗体価測定に有用であり、中和抗体価への類推が期待できる。また、ワクチン既往歴の評価、TIG 投与後の治療効果判定、血清疫学調査、さらにはワクチン効力試験における in vivo アッセイ代替としても適用可能であり、3R 原則の推進にも貢献する、汎用性の高い画期的な評価ツールとなり得る。

P1-058/FL1-10

アスペルギルス症診断法に向けた α -1,3-グルカン検出プローブの開発と評価

○鈴木 健斗, 山中大輔, 安達 禎之 (東京薬大・薬・免疫学)

Development and evaluation of an α -1,3-Glucan detection probe for Aspergillus diagnosis

○Kento Suzuki, Daisuke Yamanaka, Yoshiyuki Adachi (Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

【目的】病原性真菌アスペルギルスに特徴的な多糖としてガラクトマンナン (GM) および α -1,3-グルカン (13AG) がある。GM は血清診断に応用されるが、病態や薬物治療の影響で感度が低下する課題があり、新規診断法の開発が求められている。13AG には高感度検出法が存在せず、診断応用に至っていない。我々はこれまでに、 α -1,3-グルカナーゼ (13AGase) の変異体を新規 13AG 特異的結合プローブとして応用し、アスペルギルス菌糸体・分生子 13AG、さらに培養上清中 13AG を検出可能であることを示してきた。本研究では 13AGase 変異体と、市販の 13AG 抗体のアスペルギルス 13AG への反応性を比較し、両者の特徴と 13AG を標的とした診断法への応用可能性を検討した。【方法】13AGase 触媒領域の機能改変を試み、13AG 特異的結合タンパク質プローブを獲得した。プローブに発光タグを融合させ、ホモジニアス測定法およびサンドイッチ ELISA を構築した。これらの検出系を応用し、市販の 13AG 抗体と 13AGase 変異体のアスペルギルス 13AG に対する反応性を比較した。【結果・考察】13AG 抗体と 13AGase 変異体のいずれも、アスペルギルス培養上清に対して濃度依存的な反応を示した。13AGase 変異体は最も強い検出シグナルを示し、微量な 13AG の検出が可能であった。13AGase 変異体の開発によって、従来困難であった 13AG の高感度検出が可能となり、13AG を標的とした新規診断法への応用が期待される。

P1-059

CRISPR-Cas13a 搭載ファージカプシドを用いた黄色ブドウ球菌の分子診断ツールの開発

○Anujin Batbold^{1,2,3}, Xin Ee Tan¹, Tergel Nayanjin¹, 渡邊 真弥¹, 相羽 由詞¹, 宮永 一彦¹, 笹原 鉄平¹, Srivani Veerananarayanan¹, 島守 祐月¹, 西川 裕太郎³, 氣賀 恒太郎¹, 崔 龍洙¹ (¹Div. Bacteriol., Dept. Infect. Immun., Sch. Med., Jichi Med. Univ., ²Res. Ctr. Drug Vaccine Dev., Natl. Inst. Infect. Dis., ³Eiken chemical Co., Ltd)

Gene Detection Kit for *S. aureus* Using CRISPR-Cas13a-Loaded Phage Capsids and Colorimetric Readout

○Anujin Batbold^{1,2,3}, Xin Ee Tan¹, Tergel Nayanjin¹, Shinya Watanabe¹, Yoshifumi Aiba¹, Kazuhiko Miyanaga¹, Teppei Sasahara¹, Srivani Veerananarayanan¹, Yuzuki Shimamori¹, Yutaro Nishikawa³, Kotaro Kiga¹, Longzhu Cui¹ (¹Div. Bacteriol., Dept. Infect. Immun., Sch. Med., Jichi Med. Univ., ²Res. Ctr. Drug Vaccine Dev., Natl. Inst. Infect. Dis., ³Eiken chemical Co., Ltd)

Bacterial molecular diagnostics are key tools for guiding antibiotic use, enabling outbreak detection, and better patient care. However, both traditional and molecular-based innovations often face limitations related to costs, accessibility, and laboratory settings, making them difficult to be implemented in low-resource settings. Here, we developed a high-throughput, simple, and low-cost gene detection kit for *S. aureus* using CRISPR-Cas13a-loaded bacteriophages (AB-capsids). Sixty-four staphylococcal genes (SCCmec, AMR, toxin *coa*, *int*, and *agr* typing genes) were selected as targets. Libraries of AB-capsids carrying distinct CRISPR systems were engineered specifically inhibited growth of bacteria carrying target genes, while non-targeted strains remained unaffected, enabling accurate molecular discrimination. A colorimetric readout using PrestoBlue in a 96-well format was established: target-gene-positive cells remained blue, whereas non-targeted cells turned pink. Preliminary results showed successful naked-eye detection of *mecA* and *agrD1-D4*. In a small panel of clinical isolates, sensitivity and specificity for AMR gene detection reached 90% and 92%, respectively. This approach offers a rapid, cost-effective, DNA-amplification-free, and user-friendly method suitable for MRSA detection and broader bacterial genotyping, particularly in PCR-limited or low-resource environments.

P1-060/FL1-11

クロストリジウム属菌試験法における国内公定法と ISO 法の同等性評価

○陳内 理生^{1,2}, 山崎 栄樹^{1,2}, 西野 由香里², 太田 知克², 澤田 千尋², 森 哲也², 門間 千枝², 下島 優香子², 小久保 彌太郎², 岡田 由美子^{1,2} (¹国衛研・食管, ²クロストリジア標準試験法作業部会)

Equivalence evaluation of Japanese and ISO methods for *Clostridium* testing

○Michio Jinnai^{1,2}, Eiki Yamasaki^{1,2}, Yukari Nishino², Tomokatsu Ota², Chihiro Sawada², Tetsuya Mori², Chie Monma², Yukako Shimojima², Yataro Kokubo², Yumiko Okada^{1,2} (¹Div. Biomed. Food Res., Natl. Inst. Health Sci., ²Working Group on Standard Test Methods for Clostridia)

クロストリジウム属菌の試験法は、食肉製品に対する国内公定法 (以下、公定法) ではクロストリジア測定用培地 (以下、CCA) を用いたパウチ法であるが、ISO 15213-1:2023 (以下、ISO 法) は Iron sulfite agar (以下、ISA) を用いたガスパック等による嫌気培養となっている。本研究では、試験法の国際調和を目的とし、公定法と ISO 法の同等性を評価した。標準株を中心に一部食品分離株を含む、*Clostridium perfringens* 4 株、*C. sardiniense* 1 株、*C. baratii* 1 株、*Paraclostridium bifermentans* 1 株、*C. sporogenes* 1 株および *Clostridioides manganotii* 1 株を用いて、食品への添加回収試験を行った。その結果、公定法ではすべて発育したもの、ISO 法では *C. sporogenes* および *C. manganotii* の発育が認められなかった。そこで、*C. sporogenes* についてさらに 3 株を加えた 4 株を用い、各培地および培養条件の検討を行った。各株について同一菌液を CCA および ISA に接種し、どちらもパウチ法とガスパック法で培養した。いずれの株も ISA-ガスパック法では発育が確認されなかったが、CCA-パウチ法、CCA-ガスパック法および ISA-パウチ法では同等の発育が認められた。ISO 法において複数の *C. sporogenes* が発育抑制されたことから、公定法と ISO 法は同等ではない可能性が示唆された。

P1-061

タブレット型培地を用いた唾液からの口腔内細菌の遺伝子検出

○長嶺 憲太郎¹, 北川 雅恵² (¹広島大・健康科学・医療栄養, ²きたがわ歯科クリニック)

Detection of oral bacteria genes from saliva using tablet medium

○Kentaro Nagamine¹, Masae Kitagawa² (¹Dept. Clin. Nutr., Hiroshima International Univ., ²Kitagawa Dental Clinic)

う蝕や歯周病の原因菌が歯科疾患だけでなく全身疾患に関係することが報告されている。例えば、虫歯の原因菌であるミュータンス菌のうち、**cnm** 遺伝子を発現している菌は脳内微小出血や認知症に罹患するリスクが高まることが知られている。また、歯周病原細菌の1つとされるジンジバリス菌のうち、タイプ IV 型の **fimA** 遺伝子を発現している菌は生活習慣病（非アルコール性脂肪肝炎）の発症リスクが高まると言われている。全身疾患と関連する口腔内細菌の検査が簡単に行えるようになれば、早期の歯科治療を促すことで疾病の予防や健康の増進に貢献できると考え、口腔内細菌の簡易検出法の開発を目指した。従来、口腔内細菌を検出するためには、唾液を検出した細菌専用寒天プレートに塗布した後、脱酸素剤を用いた嫌気的条件下での培養が必要であった。今回、採取した唾液をタブレット型培地を1本のチューブに入れ、脱酸素剤を用いずに増殖させたい細菌の至適温度で静置(培養)するだけで複数の細菌を一度に増殖できることが確認できた。さらに、培養した唾液をそのまま遺伝子増幅反応液 (LAMP 反応液) に入れるだけで細菌の有無を確認できた。本法は、医療分野において遺伝子診断・遺伝子検査に活用可能と考えられる。特に、健康診断や保健所等で多数の検体を扱う病原菌検査、唾液を入れたチューブを検査機関に郵送する郵送検査への活用が進めば、大きな市場になることが期待される。また、生活習慣病に関わる口腔内細菌を早期に見出すことができれば歯科医師指導による口腔ケアができるので疾病発症の予防が期待でき、医療費の削減に繋がる他、QOLの向上に寄与できると考えられる。

P1-062/FL1-12

Ag85B 抗体価を用いた無症候者の感染状態評価と結核病態の層別化

○山崎 智也¹, Desak Nyoman Surya Suameitria Dewi², 石川 智史^{1,3}, 吉田 豊¹, Ni Made Mertaniasih⁴, 松本 壮吉¹ (¹新潟大・院医歯・細菌学, ²Dept. Microbiol., Sch. Med., Ciputra Univ., ³福山市立動物園, ⁴Dept. Med. Microbiol., Fac. Med., Univ. Airlangga)

Ag85B-specific antibody levels for infection assessment and disease stratification in tuberculosis

○Tomoya Yamazaki¹, Desak Nyoman Surya Suameitria Dewi², Satoshi Ishikawa^{1,3}, Yutaka Yoshida¹, Ni Made Mertaniasih⁴, Sohkiichi Matsumoto¹ (¹Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med. Dent. Sci., Niigata Univ., ²Dept. Microbiol., Sch. Med., Ciputra Univ., ³Fukuyama Zoo, ⁴Dept. Med. Microbiol., Fac. Med., Univ. Airlangga)

結核診断では迅速かつ低侵襲で得られる血液ベースの指標が依然不足しており、近年は抗体応答の多様性を利用した病態層別化が注目されている。特に潜在性結核感染 (LTBI) である者は世界人口の約4分の1を占め、その中から発症へ移行する症例を早期に把握することは感染制御上極めて重要である。しかし、既存の血液検査では病態ごとの層別化や発症リスクの検出は困難であり、抗体診断も成績のばらつきから WHO は推奨していない。一方で、Ag85B 抗体はヒトや動物で無症候感染から発症への移行を示唆する報告があり、その免疫指標としての可能性が注目されている。本研究では、インドネシア集団を対象とし、無症候者と活動性結核における Ag85B 抗体価の変動を解析した。無症候者を Interferon- γ release assay (IGRA) の結果により非感染相当 (IGRA 陰性)、LTBI (IGRA 陽性) の2群に分類し、ELISA で抗体価を測定した。結核患者群は無症候の2群と比べ有意に高値を示した一方、IGRA 陰性と陽性の間には差を認めなかった。非感染相当 + LTBI と活動性結核の二群で診断能を評価すると、感度 40.5%、特異度 98.5%を示した。患者群でも抗体応答の多様性が確認され、約6割は抗体価の上昇を示さず低応答であった。また、LTBI の一部に中程度の抗体価を示す例が存在し、発症移行を反映している可能性が考えられた。これらより、Ag85B 抗体価は単なる感染指標ではなく、活動性結核に特異的に上昇する免疫学的特徴を捉えていることが示唆された。今後、LTBI コホートにおいて抗体価の上昇時期を縦断的に解析し、発症リスク評価指標としての可能性を検討する予定である。

P1-063

呼吸および空間オミックスによる無侵襲な新興再興感染症検知システムの開発

○松永 哲郎^{1,2,3}, 井田 智章³, 緒方 星陵⁴, 張 田力^{1,2}, 守田 匡伸⁴, 本橋 ぼづみ⁵, 赤池 孝章³ (¹秋田大・院医・感染制御, ²秋田大・重点研究, ³東北大・院医・レドックス分子医学, ⁴東北大・院医・環境医学, ⁵東北大・加齢医学・遺伝子発現制御)

Atmospheric spatial omics enables non-invasive surveillance of airborne respiratory infection

○Tetsuro Matsunaga^{1,2,3}, Tomoaki Ida³, Seiryu Ogata⁴, Tianli Zhang^{1,2}, Masanobu Morita⁴, Hozumi Motohashi⁵, Takaaki Akaike³ (¹Comp. Center Infect. Dis. Control, Grad. Sch. Med., Akita Univ., ²Key Res. Lab., Akita Univ., ³Dept. Redox Mol. Med., Tohoku Univ. Grad. Sch. Med., ⁴Dept. Environ. Med. Mol. Toxicol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Med., ⁵Dept. Gene Exp. Regulation, IDAC, Tohoku Univ.)

【目的】呼吸器感染症は飛沫・エアロゾルを介して伝播するが、空間中の病原微生物を非侵襲的かつ高感度に検知する手法は未だ十分に確立されていない。我々はこれまで、自然に吐く息(呼吸)を用いた無侵襲な検査法である呼吸オミックスの開発に取り組んできた。本研究では、呼吸オミックスを空間オミックスへと応用展開し、人を取り巻く空間エアロゾルを対象として、様々な新興再興感染症を無侵襲かつ高感度に捕捉・検知するシステムを開発する。

【方法・結果】COVID-19 感染者の呼吸エアロゾル中のウイルス動態を解析したところ、通常呼吸検体と比較して、発声検体から高率に本ウイルスが検出され、唾液 PCR 偽陰性患者およびスーパースプレッダーの検出に有用であることが示された。加えて、プロテオーム解析により、患者呼吸からウイルス構成タンパク質も高感度で検出された。加えて、超硫黄メタボローム解析により、健康者の呼吸と比較して COVID-19 患者の呼吸中に、複数の無機超硫黄代謝物が有意に増加することを見出した。さらに、本ウイルスに感受性を示すハムスターを用いて in vivo 感染実験を行った結果、感染ハムスター呼吸を含む「空間エアロゾル」から、ウイルス RNA やウイルス構成タンパク質が検出され、さらにヒトの呼吸で認められる変化と類似した超硫黄代謝物の増加も認められた。これら超硫黄分子が直接、抗ウイルス効果を発揮することも見出した。

【考察】本システムは、呼吸オミックスによる様々な疾患の非接触・無侵襲的な新規診断法の確立のみならず、呼吸医療や地域医療・遠隔医療への応用など、幅広い分野への波及効果が期待される非常にポテンシャルの高い最新精密技術である。

P1-064

歯科診療用ユニット水における細菌汚染の実態評価

○菅井 克仁¹, 小松澤 均², 松尾 美樹², 松尾 福太郎^{1,2}, 谷本 幸太郎² (¹広島大・医・矯正, ²広島大・医・微生物)

Evaluation of Bacterial Contamination in Dental Unit Water

○Katsuhito Sugai¹, Hitoshi Komatsuzawa², Miki Matsuo², Fukutaro Matsuo^{1,2}, Kotaro Tanimoto² (¹Dept. Orthodontics., Sch. Med., Hiroshima Univ., ²Dept. Microbiol., Sch. Med., Hiroshima Univ.)

歯科診療時に歯の切削や洗浄、含嗽に用いられる水は、夜間・休日の未使用状態では給水管路 (Dental Unit Water lines: DUWL) に水が停滞、残留塩素濃度低下により混入した細菌の増殖が進み、易感染性患者に対して日和見感染症を発症する可能性がある。そのため、院内感染対策において DUWL における細菌汚染状況を把握し、水質の安全性を確保することは病院全体の安全管理に對し重要な課題である。本研究は、広島大学病院の歯科診療科に設置されている DUWL の細菌汚染の状況の把握を目的とし、含嗽水及びフラッシング前後の滞留水を採取し、細菌検査を行った。採取は、休診日である日曜日の午前中に行った。測定は再現性を確保するため、同一条件下で計3回実施した。細菌数の測定は採取した各含嗽水、滞留水を 100 μ L ずつ PGY 寒天培地に塗布し、5%CO₂ を含有した 37°C インキュベーターにて3日間培養し、細菌数 CFU/mL を算出した。ユニットの年式および除菌機能の有無による含嗽水及びフラッシング前後の細菌数を比較した結果、細菌数はユニットにより様々であるが滞留水は含嗽水より増加傾向が認められた。またユニットの年式が古いユニットは新しいユニットと比べ細菌数の増加が認められ、フラッシングすることで減少が認められた。結果より含嗽水は水道元栓から近く、フラッシングの滞留水は水道元栓から遠いため細菌数に差が生じたと考えた。また年式が古いユニットについて新しいユニットと比較し、滞留水の細菌数が有意に多く、含嗽水の細菌数に差がないことから給水チューブ内のバイオフィーム形成等による影響の可能性が示唆された。

P1-065

乳酸-フルクトースの Co-Feeding による口腔 *Veillonella* の代謝応答

○眞島 いづみ¹, 中澤 太², 村田 清志³ (¹奥羽大・歯・口腔病態解析制御,
²インドネシア大・歯・口腔生物, ³奥羽大・薬・天然資源)

Metabolic Responses of oral *Veillonella* to Lactate-Fructose Co-Feeding

○Izumi Mashima¹, Futoshi Nakazawa², Kiyoshi Murata³ (¹Dept. Oral Med. Sci., Sch. Dent., Ohu Univ., ²Dept. Oral Biol., Fac. Dent., Univ. Indonesia, ³Dept. Pharmacog. Nat. Resourc. Sci., Sch. Pharm. Sci., Ohu Univ.)

Purpose: Our recent studies revealed that oral *Veillonella* could utilize the fructose as energy sources besides short chain organic acids, such as lactate. Therefore, this study investigated the metabolic changes in oral *Veillonella* due to different energy sources.

Methods: The type strain of *Veillonella atypica* was cultivated in TYH medium with fructose (F) or/and lactate (L) substrates under the anaerobic conditions. Metabolome analysis of bacterial cells in cultures was conducted by CE-TOFMS. The analysis of metabolic changes was performed by PCoA plots and heatmap analysis.

Results: PCoA showed that the TYHL group was most distant from the control, but in contrast, the TYHF group remained near the control. The TYHFL group showed broader shifts in the heatmap but occupied an intermediate position in PCoA.

Discussions: It was indicating that lactate exerts the strongest impact on the overall metabolic profile. These results support a model in which lactate functions as the primary substrate, while fructose exerts supplementary modulation of metabolic flux. These metabolic changes, as substrate-dependent flexibility, may enhance the ecological role of *V. atypica* within oral biofilms and provide new insights into fructose–lactate cross-feeding interactions.

P1-066/FL1-13

Chlamydia trachomatis がミトコンドリアとシグナルの相互作用を利用して発育

○辰宮 大翼, 大久保 寅彦, 山口 博之 (北大・院・保健科学)

Chlamydia trachomatis Leverages Mitochondrial Signaling Interplay to Promote Intracellular growth

○Tsubasa Tatsumiya, Torahiko Okubo, Hiroyuki Yamaguchi (Fac. Health Sci., Hokkaido Univ.)

性器クラミジア *Chlamydia trachomatis* (Ct) は偏性細胞内寄生性細菌であり、感染細胞内の封入体で増殖する。先行研究では、Ct (L2/434/Bu 株) が通常酸素環境 (21%O₂) より低酸素環境 (2%O₂) で増殖が亢進すること、また通常酸素下では p38MAPK 阻害剤により増殖が抑制されることを示してきた。さらに低酸素下では感染 24hpi に AKT リン酸化が促進され、ミトコンドリア (Mt) が p38MAPK と相互作用して AKT 経路の調節に関与することも明らかとなっている。本研究では、Ct の細胞内適応機構の解明を目的に、Mt を介したシグナル調節の役割を検討した。まず、Mt 機能不全 HEp-2 細胞 (Mtd 細胞: COX-2 および D-loop 欠損, NADH/NADPH 増加と Mt 形態異常を呈する) と正常細胞に Ct を感染させ Ct 数 (IFU) を比較したところ、通常酸素下では Mtd 細胞で Ct 数が減少したが、低酸素下では正常細胞と同程度であった。AKT/p38MAPK の WB 解析では、Mtd 細胞では酸素濃度に依存せず感染早期にリン酸化 AKT の強発現がみられ、p38MAPK に変化は認められなかった。さらに、正常・Mtd 細胞における Ct 感染の有無および酸素条件を変化させて RNA-seq 解析を行った結果、k-means クラスター解析および PCA により、代謝系、炎症応答、Mt ストレス応答に関わる遺伝子群が細胞種・感染条件に依存して大きく変動していた。特に Mt 遺伝子発現や AKT/MAPK シグナル関連遺伝子に顕著な変化が認められた。現在、CRISPR-Cas9 で樹立した p38MAPK 欠損 HeLa 細胞を用い、p38MAPK 欠失が Ct 発育へ与える影響を検証している。本研究は、Ct が Mt を介して細胞内環境へ適応し、その発育を維持している可能性を示唆する。

P1-067

タンパク質合成を阻害する黄色ブドウ球菌 TA システム TsdA/TsdT の機能解析

○加藤 文紀¹, 井上 正順² (¹広島大院・医, ²CABM-Rutgers Univ.)

Characterization of TsdA/TsdT, a novel *Staphylococcus aureus* Toxin-Antitoxin system

○Fuminori Kato¹, Masayori Inouye² (¹Grad. Sch. Biomed. Heal. Sci., Hiroshima Univ., ²CABM-Rutgers Univ.)

多くの生物においてゲノム配列は解読されているが、特に 100 アミノ酸以下の小さなタンパク質の機能解明は進んでいない。我々は黄色ブドウ球菌のゲノム配列上に存在する小さなタンパク質群に注目し、その機能解明を試みている。トキシン・アンチトキシン (TA) システムは、自己の細胞機能に必須な DNA, RNA, タンパク質, ATP 合成等を阻害するトキシンと、トキシン活性を中和するアンチトキシンから成る。本研究では、黄色ブドウ球菌の新規な TA システムの 1 種である TsdA/TsdT の機能を明らかにすることを目的とした。TsdT トキシンは、69 アミノ酸からなり、銅イオン排出タンパク質 (CopZ) と高い構造類似性を示す一方で、活性中心である銅イオン結合部位を欠いている。TsdT トキシンの作用機序を解析するため、大腸菌を宿主として用いた発現系にて DNA/RNA/タンパク質合成阻害解析、細胞死解析を行なった。さらに、無細胞タンパク質合成系による阻害活性評価、ブルダウン法による標的タンパク質探索、アミノ酸置換体を用いた活性残基の同定を行なった。DNA/RNA/タンパク質合成阻害解析の結果、トキシンはタンパク質合成を特異的に阻害することが明らかとなった。さらに、無細胞タンパク質合成系を用いた解析により、タンパク質合成を阻害することが確認された。ブルダウン解析からは翻訳伸長因子である TufA が標的候補として示唆された。さらに、CopZ における銅イオン結合部位に対応する Thr および Gln 残基を Ala に置換するとトキシン活性が失われた。これらの結果は、TsdT トキシンがタンパク質合成を直接的に阻害し、黄色ブドウ球菌の細胞増殖を制御する新規 TA システムであることを示唆する。

P1-068

D-マンノースが *Streptococcus gordonii* の短時間における生存と増殖に与える影響

○林田 尚斗¹, 金淵 英莉² (¹日本歯科大・衛生, ²日本歯科大・微生物)

Effect of D-mannose on the short-term survival and growth of *Streptococcus gordonii*

○Naoto Hayashida¹, Eri Kanabuchi² (¹Dept. Hyg., Nippon Dent. Univ., ²Dept. Microbiol., Nippon Dent. Univ.)

Streptococcus gordonii is an early oral biofilm colonizer implicated in dental caries and periodontal disease, but evidence on D-mannose is limited. This study examined how mannose and brain-heart infusion (BHI) concentrations affect growth and short-term survival of *S. gordonii*. BHI and D-mannose were mixed at defined ratios (total 180 uL; 10 conditions) and optical density (OD) was measured at 0–6 h and 24 h (n=3). For survival, six conditions (BHI 100%; BHI 45% with/without mannose; BHI 33.3% with/without mannose; mannose 100%) were evaluated by viable counts at 0 and 2 h, expressed as 2 h/0 h. BHI 100% showed the fastest OD increase and the highest 24-h OD, whereas BHI 60% or less delayed growth and reduced 24-h OD. The 2 h/0 h ratio was highest in BHI 100% and decreased stepwise in BHI 45% and 33.3%; at the same BHI, mannose lowered the ratio by about 30%. Mannose 100% kept the ratio near 1. In conclusion, mannose and nutrient level jointly modulate *S. gordonii*, suggesting growth inhibition by mannose under high-BHI conditions. Future work should define the inhibitory dose, test effects on acidogenesis, pH tolerance and biofilm formation under sucrose/saliva-like conditions, and clarify mechanisms in multi-species biofilms.

P1-069

Photokinesis を示すコレラ菌の光応答機構

○許 駿¹, 中村 修², 友寄 鈴菜¹, 島袋 玲華¹, 富岡 倫太郎³, 山城 哲¹
(¹琉球大院・医・細菌学, ²東北大院・工・応用物理, ³東大院・工・バイオエンジニアリング)

Light-activated cAMP signaling controls sodium-driven motility in *Vibrio cholerae*

○Jun Xu¹, Shuichi Nakamura², Suzuna Tomoyose¹, Reika Shimabuku¹, Rintaro Tomioka³, Tetsu Yamashiro¹ (¹Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Univ. Ryukyus, ²Dept. Appl. Phys., Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., ³Dept. Bioeng., Grad. Sch. Eng., Univ. Tokyo)

Light is one of the most pervasive physical cues in aquatic environments, yet its impact on non-phototrophic pathogens has remained unexplored. Here we show that the cholera bacterium *Vibrio cholerae* directly links illumination to motility through cyclic AMP (cAMP) signaling. Exposure to visible light rapidly elevates intracellular cAMP and increases swimming speed, whereas deletion of the single adenyl cyclase gene (*cyaA*) abolishes both responses. Expression of *V. cholerae* CyaA in an *E. coli* $\Delta cyaA \Delta cpdA$ background reconstitutes light-activated cAMP synthesis, demonstrating that the enzyme confers photoreactivity. Purified CyaA exhibits a reversible light-dependent spectral shift characteristic of BLUF/LOV-type photochemistry, identifying it as a light-responsive cyclase. Illumination triggers rapid membrane hyperpolarization and sodium efflux, strengthening the sodium motive force that powers the flagellar motor. The effect persists under nutrient-limited conditions and, according to a simple physical model, a 30% speed increase could yield up to 70% higher encounter rates and 40% shorter traversal times. This light $\rightarrow$ cAMP $\rightarrow$ sodium motive coupling defines a new sensory axis in *V. cholerae*, suggesting that ambient light may influence bacterial dispersal and host transmission in sunlit environments.

P1-070

血清抵抗性と運動性におけるレプトスピラ多糖の役割

○高部 響介¹, 鈴木 丈真¹, 中村 修², 小泉 信夫¹ (¹感染研・細菌1, ²東北大・院工・応物)

Role of Lipopolysaccharide in Serum Resistance and Motility in *Leptospira*

○Kyosuke Takabe¹, Takuma Suzuki¹, Shuichi Nakamura², Nobuo Kozumi¹ (¹Dept. Bacteriol. 1, NIID, JIHS, ²Dept. Appl. Phys., Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ.)

Leptospira, a pathogenic spirochete, is the causative agent of leptospirosis, a globally prevalent zoonotic disease. This organism exhibits two distinct modes of motility—swimming in liquid and crawling on cell surfaces. Crawling is believed to play an important role in infection, yet its mechanisms remain unclear. Lipopolysaccharide (LPS) has been implicated in crawling and immune evasion, but its precise contribution to pathogenesis has not been fully defined. To clarify the role of LPS in leptospiral lifecycle, we conducted a comparative analysis of two strains isolated from the same brown rat: one with intact LPS and the other lacking antigenic polysaccharide (AP) component of LPS. Genomic and functional analyses revealed that a mutation in *lic12144* within the *rfb* cluster disrupts the synthesis of complete LPS. Serum susceptibility assays demonstrated that the AP-deficient strain was rapidly killed, highlighting LPS as a critical barrier against complement-mediated killing. Moreover, the AP-deficient strain displayed markedly reduced crawling motility on cultured NRK cells, indicating that LPS contributes to efficient crawling motility and thus may facilitate movement and exploration within host tissues. Our findings underscore the multifunctional role of LPS in *Leptospira*, reinforcing its importance in immune evasion, motility, and dissemination during infection.

P1-071/FL1-14

変異体及び生化学的手法を用いた海洋性ビブリオ菌の側べん毛固定子複合体の解析

○小嶋 誠司¹, 横山 和輝¹, 本間 道夫^{2,3}, Simon Brewer⁴, 竹川 宜宏⁵ (¹名古屋大・院理・生命理学, ²名古屋大・院工・生命分子工学, ³名古屋大・院理・物理, ⁴名古屋大・理・生命理学, ⁵大阪大・院理・高分子科学)

Mutational and biochemical analyses of lateral flagellar stator complex in *Vibrio alginolyticus*

○Seiji Kojima¹, Kazuki Yokoyama¹, Michio Homma^{2,3}, Simon Brewer⁴, Norihiro Takekawa⁵ (¹Dept. Biol. Sci., Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ., ²Dept. Biomol. Eng., Grad. Sch. Eng., Nagoya Univ., ³Dept. Phys., Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ., ⁴Dept. Biol. Sci., Sch. Sci., Nagoya Univ., ⁵Dept. Macromol. Sci., Grad. Sch. Sci., Univ. Osaka)

Vibrio alginolyticus induce numerous H⁺-driven lateral flagella on the cell body and swarm on surfaces. At the flagellar base, there is a rotary motor, composed of a rotor and multiple stator units, that drives the flagellar rotation. Membrane proteins MotA and MotB form a lateral flagellar stator complex, and cryo-EM structures of their orthologs in other species have been reported. However, in *Vibrio* species, MotA/MotB stators are poorly characterized. A characteristic feature of lateral flagellar motility is the requirement for the single transmembrane protein FliL during swarming on agar surfaces. Previous structural studies suggest that FliL surrounds the stator and stabilizes its activated state to support torque generation. To investigate FliL-dependent stator function, we isolated motility suppressors that could swarm without FliL. Some mutations were found on the MotA cytoplasmic region, suggesting that cytoplasmic loops are involved in MotA/B stabilization in the motor. We also characterized the C-terminal extended tail of the MotB, which is longer than PomB, the Na⁺-driven polar flagellar stator counterpart. Swapping of this short sequence with PomB abolished MotB function in lateral flagella. Furthermore we tried to purify MotA/MotB complex from *Vibrio* cultured on agar surface, or by recombinant overexpression in *E. coli*. Results will be discussed in the meeting.

P1-072/FL1-15

ヘリコバクター属細菌が示す粘性依存的な狭小空間侵入

横濱 さらら¹, ○上村 直輝¹, 島田 佳季², 見理 剛³, 林原 絵美子³, 菅 哲朗², 中根 大介¹ (¹電通大・基盤理工, ²電通大・機械知能, ³感染研・細菌第二部)

Viscosity-Dependent penetration of Confined Spaces by *Helicobacter* Species

Sarara Yokohama¹, ○Naoki A Uemura¹, Yoshiki Shimada², Tsuyoshi Kenri³, Emiko Rimbara³, Testsuo Kan², Daisuke Nakane¹ (¹Dept. Eng. Sci., UEC, ²Dept. Mech. & Intell. Syst., UEC, ³Dept. Bact. II, NIID)

Bacterial motility plays a crucial role in colonization and infection. However, the strategies employed in confined and viscous environments remain poorly understood. We investigated the motility of *Helicobacter pylori* and three non-*H. pylori* *Helicobacter* (NHPH) species. Using microfluidic devices that mimic host tissue constraints, *H. pylori* penetrated narrow passages under low-viscosity conditions. In contrast, NHPH species did so under high-viscosity conditions. To uncover the mechanisms behind this viscosity-dependent penetration, we visualized a distinctive motility mode called flagellar wrapping. In this mode, bacteria wrap their flagellar filaments around the cell body under high-viscosity conditions. Unipolar-flagellated *H. pylori* used flagellar wrapping in confined spaces to reorient via clockwise (CW) rotation. High viscosity thus facilitates reorientation, whereas low viscosity promotes unidirectional penetration. Bipolar-flagellated NHPH species wrapped their leading pole and unwrapped their lagging pole in high-viscosity environments. This behavior indicates that flagellar wrapping is specialized for efficient propulsion in NHPH. Together, these findings show that *H. pylori* and NHPH species have evolved distinct and complementary strategies for motility within confined environments of differing viscosity.

P1-073

腸炎ビブリオの走化性受容体を全て欠損させた変異株を用いた走化性応答の解析

○寺島 浩行¹, 田島 寛隆^{2,3}, 川岸 郁朗^{2,3,4}, 児玉 年央⁵ (1金城学院大・薬, 2法政大・生命科学・生命機能, 3法政大・ナノテクセンター, 4法政大・院理工・生命機能, 5長崎大・熱研)

Analysis of the chemotactic response using a *V. parahaemolyticus* mutant lacking all chemoreceptors

○Hiroyuki Terashima¹, Hirotaka Tajima^{2,3}, Ikuro Kawagishi^{2,3,4}, Toshio Kodama⁵ (1Col. Pharm., Kinjo Gakuin Univ., 2Dept. Frontier Biosci., Hosei Univ., 3Res. Cen. Micro-Nano Tech., Hosei Univ., 4Grad. Sch. Sci. Eng., Hosei Univ., 5Inst. Trop. Med. (NEKKEN), Nagasaki Univ.)

腸炎ビブリオ感染症は、汚染された海産魚介類に起因する食中毒である。本菌の病原性には、耐熱性溶血毒 TDH と III 型分泌装置が重要な働きをする。III 型分泌装置は、宿主細胞内に直接エフェクターを注入することから、宿主細胞表面に接近することが病原性に重要なステップであると考えられる。腸炎ビブリオは走化性によって制御されたべん毛運動によって運動するため、宿主細胞への接近に走化性と運動性が寄与するかもしれない。そこで、腸炎ビブリオが、腸管内に存在するどのような物質を感知し、どのような走化性を示すのかを解明することを目指した。これまでの実験から、腸炎ビブリオが乳酸・ビルビン酸に対して誘引応答を示すことを明らかにした。乳酸・ビルビン酸を感知する走化性受容体を探索した結果、走化性受容体 Mcp1, Mcp28 が乳酸・ビルビン酸に対する走化性受容体であることを示した。それに加え、Mcp1, Mcp28 以外にも乳酸・ビルビン酸応答を媒介する走化性受容体が存在することが示唆された。そこで、三十種類存在する腸炎ビブリオの走化性受容体遺伝子をすべて欠失させ、走化性応答を示さない変異体を作成した。この変異体に、走化性受容体遺伝子を一種類ずつ相補させ、乳酸に対する走化性応答を解析した。その結果、Mcp1, Mcp28 に加え、複数の走化性受容体が乳酸に対する誘引応答を示した。また、この変異体を用いて、コレラ菌の走化性受容体の走化性応答を検出できるかどうかを解析した結果、コレラ菌 Mlp37 のセリン応答・タウリン応答を検出することに成功した。

P1-074

Association between MreB and the VacA nanotransportation system in *Helicobacter pylori*

○呉 紅¹, 藤岡 良彦¹, 岩井 伯隆², 坂口 翔一¹, 鈴木 陽一¹, 中野 隆史¹ (1大阪医薬大・医・微生物学・感染制御学, 2東科学大・生命理工学院・生命理工学系)

○Hong Wu¹, Yoshihiko Fujioka¹, Noritaka Iwai², Shoichi Sakaguchi¹, Youichi Suzuki¹, Takashi Nakano¹ (1Dept. Microbiol. & Infect. Cont., Fac. Med., Osaka Med. & Pharm. Univ., 2Dept. Life Science and Technology, Science Tokyo)

Helicobacter pylori possesses an intrabacterial nanotransportation system (ibNoTS) responsible for transporting VacA, CagA, and urease within the bacterial cytoplasm. This system is regulated by the extrabacterial environment. Although the transport routes of the system for VacA have not been extensively studied, our immunoelectron microscopy demonstrated that VacA closely localizes with MreB in the bacterium. However, in *H. pylori* treated with the MreB polymerization inhibitor A22, VacA did not localize closely to MreB compared with non-A22-treated *H. pylori*. Furthermore, A22 obstructs the transport of VacA by ibNoTS. Using the freezing and thawing method, we found that VacA closely localizes with the MreB filament by immunoelectron microscopy. These findings suggest a close association between the route of ibNoTS for VacA and the MreB filament. Additionally, it was confirmed that VacA does not closely associate with the bacterial filament FtsZ, which is involved in the transport of the virulence factor urease, as previously suggested. Furthermore, the close relationship between MreB and VacA in ibNoTS was demonstrated by EIA, which confirmed a significant colocalization of MreB with VacA but not with urease. We propose that the route of ibNoTS for VacA is associated with the MreB filament in *H. pylori*.

P1-075/FL1-16

Chlamydia trachomatis 感染細胞のリン酸化 Akt は封入体膜の Microdomain に集積する

○出口 大揮, 黒岩 青空, 根城 美祐, 中村 眞二, 大久保 寅彦, 山口 博之 (北大・院・保健科学)

Phospho-Akt accumulates at inclusion membrane microdomains in *Chlamydia trachomatis* infected cells

○Taiki Deguchi, Sora Kuroiwa, Miyu Neshiro, Shinji Nakamura, Torahiko Okubo, Hiroyuki Yamaguchi (Fac. Health Sci., Hokkaido Univ.)

偏性細胞内寄生性細菌である *Chlamydia trachomatis*(Ct)は、低酸素環境である粘膜下に感染し、宿主細胞内に形成する封入体と呼ばれる小胞内で増殖する。Ct はIII型分泌装置からエフェクターを細胞質へ輸送し、細胞内を増殖に適した環境に改変する。これらの一部は封入体膜に集積し、microdomain と呼ばれる脂質ラフト様構造を形成し、Src 等の宿主シグナルを改変するハブとして機能することが示唆されている。Ct 感染により活性化される PI3K/Akt シグナル経路は、宿主の生存応答を促進し、同菌の低酸素環境での増殖に寄与する。中でも感染時に増加する Akt のリン酸化体 (pAkt, S473) は、Ct がこれらの機能を制御する際に重要であると考えられるものの、同菌による Akt 修飾機構の全容は未解明である。我々は前回の総会にて、Ct 感染細胞内の pAkt が封入体膜に集積する現象を見出した。そこで本研究では、同現象の定量化および生じるタイミングについて解析するとともに、microdomain との関連性について評価した。画像解析により定量化した pAkt シグナル面積・数の再解析の結果、pAkt 面積は Ct 感染により有意に増加し、この増加は低酸素条件下でより顕著であった。免疫蛍光染色による経時解析により、pAkt の集積は感染中期以降より生じることが判明した。Microdomain に集積する pSrc(Y419)と pAkt との多重染色の結果、封入体に集積する両分子は共局在していた。これらの結果より、Ct が封入体膜の microdomain を足場に pAkt を集積させ、低酸素環境への適応や細胞生存応答の制御に利用する可能性が示唆された。現在、microdomain に集積する Akt の欠失が Ct の増殖に与える影響について、Akt KO 細胞への感染実験により検証中である。

P1-076

長鎖 *Streptococcus* 属菌 SN-1^T の齧蝕原性バイオフィーム形成抑制

○齋藤 真規¹, 桑原 紀子², 瀧澤 智美¹, 泉福 英信¹ (1日大・松戸歯・感染免疫, 2日大・松戸歯・生化学・分子生物)

Long-chain *Streptococcus* strain SN-1^T inhibits cariogenic biofilm formation

○Masanori Saito¹, Noriko Kuwahara², Tomomi Takizawa¹, Hidenobu Senpuku¹ (1Dept. Microbiol. Immunol., Sch. Dent. Matsudo, Nihon Univ., 2Dept. Biochem., Mol. Biol., Sch. Dent. Matsudo, Nihon Univ.)

We isolated a novel *Streptococcus*, strain SN-1^T, from the human oral cavity. This strain forms extremely long chains in liquid culture. In previous studies, co-culture experiments showed that strain SN-1^T markedly inhibited *S. mutans* biofilm formation under sucrose-containing conditions, accompanied by an increase in dead cells within the biofilm. To explore the underlying mechanisms, we performed whole-genome analysis using BAGEL4 and predicted a putative pneumolancidin-like lantibiotic gene cluster, suggesting the production of bacteriocin-like peptides. Culture supernatants of strain SN-1^T significantly suppressed the in vitro growth of *S. mutans*. This observation indicated that secreted factors with bactericidal or growth-inhibitory activity were present in the culture supernatant. The pneumolancidin-like activity appeared to be the predominant factor contributing to biofilm inhibition. These findings suggest that strain SN-1^T inhibits *S. mutans* biofilm formation primarily through bacteriocin-like activity during co-culture of strain SN-1^T and *S. mutans*. This study provides insights into interspecies interactions within oral biofilms and highlights strain SN-1^T as a potential anti-cariogenic species.

P1-077

Leptospira interrogansの外膜リポ蛋白質が作る新規ペリプラズム層は菌体剛性に関わる

○中村 修一¹, 阿部 圭吾¹, 高崎 寛子², 廣瀬 未果², 高部 響介³, 加藤 貴之², 小泉 信夫³ (¹東北大・院工, ²阪大・蛋白研, ³JHS・感染研・細菌工)

Novel periplasmic layer formed by an outer membrane lipoprotein governs *L. interrogans* stiffness

○Shuichi Nakamura¹, Keigo Abe¹, Hiroko Takazaki², Mika Hirose², Kyosuke Takabe³, Takayuki Kato², Nobuo Koizumi³ (¹Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., ²IPR, Osaka Univ., ³Dept. Bacteriol. I, NIID, JIHS)

Leptospira interrogans is the major pathogen of the worldwide zoonosis leptospirosis and exhibits motility driven by two flagella residing within the periplasmic space of a spiral cell body. *Leptospira* spp. possess many kinds of outer membrane proteins. The roles of some outer membrane proteins have been investigated, suggesting responsibilities for binding to host cell components and immune evasion, but most have not been unveiled. Here, we focused on a prominently abundant pathogen-specific outer membrane lipoprotein, LipL32, and examined its deficit effect on *L. interrogans*. Cryo-electron microscopy revealed that LipL32 forms an unappreciated thin layer in the periplasmic space, immediately underneath the outer membrane. We also found that the deletion of *lipL32* (Δ lipL32) destabilizes the peptidoglycan structure. Optical tweezers demonstrated that the vanishment of the LipL32 layer and the destabilized peptidoglycan reduced the whole-cell stiffness. Consistent with this mechanical impairment, the Δ lipL32 mutant displayed impaired penetration into a heterogeneous agar mesh model that mimics the host's extracellular matrix. These findings define LipL32 as a critical mechanical stabilizer in the *L. interrogans* membrane, revealing a novel mechanism of cell wall integrity in spirochetes essential for their pathogenic invasiveness.

P1-078/FL1-17

Streptococcus mutansが放出する膜小胞(MV)が歯科矯正力のかけた際の骨吸収に与える影響について

○松浦 孝将¹, 泉福 英信², 根岸 慎一¹ (¹日本大松戸・歯・歯科矯正, ²日本大松戸・歯・感染免疫)

Effects of membrane vesicles released by *S. mutans* on bone resorption during orthodontic force

○Kosuke Matsuura¹, Hidenobu Senpuku², Shinichi Negishi¹ (¹Dept. Orthodontics., Sch. Dent., Nihon Univ. Matsudo, ²Dept. Microbiol. Immunol., Sch. Dent., Nihon Univ Matsudo)

口腔内には700種類を超える細菌が存在するため、矯正歯科治療を行う際に口腔細菌の影響を受ける可能性が高い。中でもStreptococcus mutansは歯表面にバイオフィルムを形成し矯正歯科治療中に齲蝕を発生させ、治療の障害になることがある。膜小胞(MV)は抗原性が高くナノサイズであることから歯根膜へ侵入し免疫原性を発揮する可能性がある。そこで本研究では歯科矯正力による骨及び歯頸部セメント質吸収に関してS. mutansのMVがどのように影響を与えるか明らかにするために、骨吸収関連サイトカインであるIL-6の増加がS. mutansのMVの添加によってどのように変化するか検討を行った。荷重実験：歯根膜細胞を100 mm dishで10%FBSαMEMにより培養後、荷重をかけない群(NC)、直径80 mm MICRO COVER GLASSを乗せる群(PC)、ガラスの上至適矯正力として分銅60 g (1.0g/cm²)を荷重する群、過剰矯正力として200g (4.0g/cm²)を荷重する4群に分けた。さらにそれぞれの群を二つに分け、片方のdishにはMVを0.2μg/ml加えた。20時間培養後、培養上清を採取した。これらの試料におけるIL-6の分泌量を、Western blottingとELISAを行い測定した。対照群としてS. sanguinis, S. mutans UA159 Gtf BCのMVを加えて同一の実験を行った。60g荷重単体に比べて、S. mutans UA159のMVを加えた群はIL-6の濃度が有意に高かった。200g荷重ではMV添加の有無でIL-6の濃度に変化はなかった。また、S. sanguinis, S. mutans UA159 Gtf BCのMVでもIL-6の濃度に変化はなかった。これらのことから、至適矯正力のかけた際S. mutansのMVの影響で骨及び歯頸部セメント質吸収が増強される可能性があると考えられた。

P1-079/FL1-18

グリコーゲン分解酵素 SpuA 欠失肺炎球菌における菌体外多糖様物質の解析

○安川 真由¹, 大野 誠之^{2,3}, 當眞 葵², 水野 若葉², 五十川 泰雄¹, 東 孝太郎⁴, 広瀬 雄二郎², 山口 雅也⁵, 岡本 成史¹, 川端 重忠^{2,6} (¹阪大・院医・生体病態情報科学, ²阪大・院歯・微生物, ³阪大・院歯・バイオインフォ, ⁴阪大・院歯・義歯高齢, ⁵医薬健栄研, ⁶阪大・CiDER)

Characterization of extracellular polysaccharide-like matrix in a pneumococcal *spuA* knockout mutant

○Mayu Yasukawa¹, Masayuki Ono^{2,3}, Aoi Toma², Wakaba Mizuno², Yasuo Ikagawa¹, Kotaro Higashi⁴, Yujiro Hirose², Masaya Yamaguchi⁵, Shigefumi Okamoto¹, Shigetada Kawabata^{2,6} (¹Dept. Clin. Lab. Biomed. Sci., Grad. Sch. Med., UOsaka, ²Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ³Bioinf. Res. Unit, Grad. Sch. Dent., UOsaka, ⁴Dept. Removable Prosthodont. Gerodont., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ⁵NIBN, ⁶CiDER, UOsaka)

肺炎球菌の細胞壁には、宿主や環境由来の多糖を加水分解する酵素が多数存在し、栄養獲得や組織定着に関与している。SpuAはグリコーゲンにおけるα-1,6グリコシド結合を切断し、3〜8糖単位に分解する活性を有する肺炎球菌の細胞壁アンカー型酵素であり、気道粘液中に存在する宿主由来グリコーゲンを利用した菌の増殖に寄与する病原因子とされている。しかし、SpuAと細胞外マトリックス産生との関連はこれまで明らかではなかった。本研究では、肺炎球菌TIGR4株を親株としてSpuA欠失株を作製し、表現型を解析した。培養した菌体をPBSで懸濁したのち孔径0.45 μmのPTFE製メンブレンフィルターで濾過したところ、SpuA欠失株では野生株の培養液と比べて濾過時間が有意に短縮した。そこで、細胞外マトリックスの性状変化を疑い、走査型電子顕微鏡による観察を行った。その結果、SpuA欠失株周囲には明瞭な細胞外マトリックス様物質が存在し、菌塊がフィルターの表面に捕捉されていた。一方で、野生株には細胞外マトリックス様物質は観察されず、フィルター内腔まで菌体の存在が確認されたことから、分散した菌が内腔を閉塞し濾液の流出を阻害していると考えられた。さらに、グルコースまたはマンノースを染色するレクチンであるConcanavalin-Aにて肺炎球菌を染色して共焦点顕微鏡により観察したところ、SpuA欠失株周囲では野生株に比べて有意に広い領域が染色された。以上より肺炎球菌は、SpuA非存在下ではグルコースまたはマンノースからなる菌体外多糖様物質を保持すると示唆された。

P1-080

BamB mutant L-forms reveal genetically linked pathways & systems

○Nicholas Maczuga, 塩田 拓也 (宮崎大・フロンティア科学総合研究センター)

○Nicholas Maczuga, Takuya Shiota (Frontier Science Research Center, Dept. Biological Science, Div. RI Research Kiyotake, Univ. Miyazaki)

The cell wall (CW) is a defining characteristic of prokaryotes comprising of cellular membranes and peptidoglycan. Despite being deemed essential, cells have the capacity to transiently forgo their sacculus and persist & proliferate in a state referred to as L-form in which cells become immune to CW targeting antibiotics and exhibit high membrane fluidity. Intriguingly as L-forms, cells are capable of cellular processes including the folding and insertion of outer membrane proteins (OMPs) by the BAM complex. Comprising of essential and non-essential units, BamAD & BamBCE respectively, the BAM complex is a multi-protein machine which folds and inserts OMPs into the outer membrane (OM) of Gram-negatives. Among the non-essential subunits, BamB is the subunit which is most important for L-form conversion and growth. To identify subunits that genetically interact with BamB under L-form conditions, we used a plasmid library. Genes identified to permit L-form conversion in ΔbamB included those pertaining to carbon metabolism, OM biosynthesis, and amino acid biosynthesis. Upon investigation, the BamB-deficient strain showed significant effects on O-antigen restoration and altered Lipid-A molecular weight. BamB may play an important role in the transportation of OMPs required for their biosynthesis and membrane insertion.

P1-081

複雑な細菌芽胞構造を解析するためのサフラニン O の二色性蛍光と蛍光プローブの併用

○桑名 利津子, 伊藤 潔, 高松 宏治 (摂南大・薬)

Combination of APBT and safranin O was useful for analysis of spore structure in Bacillales species

○Ritsuko Kuwana, Kiyoshi Ito, Hiromu Takamatsu (Fac. Pharm. Sci. Setsunan Univ.)

Safranin O は細菌のグラム染色や植物組織の蛍光染色に広く用いられるが、芽胞に対する蛍光特性は十分に解析されていない。本研究では、Safranin O と 2-(4-aminophenyl) benzothiazole (APBT) を組み合わせて、6 種の Bacillales 目 (*Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *Niallia circulans*, *Brevibacillus brevis*, *Lysinibacillus sphaericus*, *Paenibacillus polymyxa*) の芽胞を蛍光顕微鏡で観察し、芽胞構造の可視化を行った。さらに、Auramine O, Rhodamine B, Thioflavin T, Congo red による染色、ならびに *B. subtilis* の GFP 融合株および芽胞形成欠損変異株を用いて比較解析した。その結果、Safranin O は芽胞内部で緑色と赤色の二つの蛍光ピークを示し、種を超えて構造差を可視化した。GFP マーカーによる芽胞構造解析では、Safranin O の赤色蛍光は inner coat 付近で Congo red, Thioflavin T と類似し、緑色蛍光は APBT, Auramine O, Rhodamine B と近かった。また欠損株では染色パターンが変化し、構造異常を反映していた。以上より、Safranin O は芽胞内で特徴的な二重蛍光を示し、他の蛍光プローブと併用することで芽胞構造を高精度に解析できる。本手法は環境、食品安全、バイオセキュリティに加え、発酵産業での芽胞形成菌の検出などに応用可能である。

P1-082

糖応答性に基づく枯草菌株の細胞形態と芽胞形成の多様性

桑名 利津子¹, 忽那 圭子², 今泉 啓一郎², 三好 孝則², ○高松 宏治¹ (摂南大・薬, ²アサヒ目黒研)

Sugar-Dependent Variation in Morphogenesis and Sporulation in *Bacillus subtilis* Strains

Ritsuko Kuwana¹, Keiko Kotsuna², Keiichiro Imaizumi², Takanori Miyoshi², ○Hiromu Takamatsu¹ (¹Fac. Pharm. Sci., Setsunan Univ., ²Asahi Meguro Inst., Ltd.)

枯草菌は芽胞形成やバイオフィーム形成などを含む多様な形態形成能を有している。枯草菌の表現型は栄養条件、特に炭素源によって大きく左右されるが、糖応答性の株間差異については十分に理解されていない。プロバイオティクス株や納豆菌株などの糖代謝機構について、発酵特性や芽胞形成などとの関連性を解明することは産業上重要である。本研究では、0.1%ペプトンに0.5%の各種糖（グルコース、マルトース、マルトデキストリン、フルクトース、スクロース）を添加した寒天培地を用いて、枯草菌株（168, ATCC6051, BEST195, BN, JCM20105, OK1）を37℃で24時培養後、細胞形態と芽胞形成を比較し、糖応答性に基づく多様性の解明を試みた。なお、BN, BEST195, JCM20105, OK1 は納豆由来株であり、BN はプロバイオティクス株として使用されている。どの菌株も使用した糖に対する分解能を示した。168, JCM20105, BEST195, OK1 の芽胞形成率は糖の種類による差が少なく、特に BEST195 と OK1 は高い芽胞形成率を示した。BN はマルトース及びマルトデキストリン存在下で良好な芽胞形成を示したが、グルコース、フルクトース、スクロース存在下で芽胞形成が抑制された。ATCC6051 はいずれの糖の存在下でも芽胞形成率が低く、楕円型に膨らんだ異常形態の細胞が観察された。これらの結果から、枯草菌における糖代謝関連遺伝子群の多様性が、細胞形態や芽胞形成に影響することが示唆された。本研究の成果は発酵食品やプロバイオティクスの生産に貢献すると期待される。

P1-083

M. intracellulare ku11 株由来新規 glycopeptidolipid (GPL) のアセチル基修飾と宿主認識機構

○藤原 永年¹, 中屋 慎², 星野 仁彦², 前田 伸司³ (¹帝塚山大・現代生活学部, ²国立感染症研究所・ハンセン病研究センター, ³北海道科学大・薬学部)

Acetyl modification and host recognition of a novel glycopeptidolipid from *M. intracellulare* ku11

○Nagatoshi Fujiwara¹, Makoto Nakaya², Yoshihiko Hoshino², Shinji Maeda³ (¹Fac. Contemp. Hum. Life Sci., Tezukayama Univ., ²Leprosy Res. Cent., Nat. Instit. Infect. Dis., ³Facult. Pharm., Hokkaido Univ. Sci.)

MAC (*Mycobacterium avium-intracellulare* complex) is one of the major non-tuberculous mycobacteria and is classified into 28 serotypes based on serotype-specific glycopeptidolipids (GPLs). Serotype-specific GPLs influence their virulence and pathogenicity. In this study, we characterized a novel ku11-GPL produced in the clinical isolate *M. intracellulare* ku11 strain. The oligosaccharide was identified as α -Rha-(1→3)-2-O-Me- α -Rha-(1→3)- α -Rha-(1→3)- α -Rha-(1→3)- α -Rha-(1→2)-6-d- α -Tal. Generally, the structure of serotype-specific GPL is determined by the alkali-stable GPL. The native (intact) GPL exhibited non-specific acetylation at several positions on the oligosaccharide. We demonstrated ladder spots of intact ku11-GPL on thin-layer chromatography (TLC) and purified each spot. MALDI-TOF/MS/MS revealed the positions of acetyl groups on each sugar. Mild-alkaline hydrolysis removed all acetyl groups from serotype-specific ku11-GPL, causing it to resolve into a single spot on TLC. Host recognition was examined using Toll-like receptors (TLRs). TLR2 recognized only intact ku11-GPL, not the alkali-stable ku11-GPL. The presence and position of the acetyl group play a crucial role in this host recognition. We discuss the structural and functional diversity of GPLs.

P1-084

ヌクレオチド交換因子 GrpE は細胞分裂関連タンパク質の局在化に必須である

○石川 津津¹, 重盛 林太郎^{1,2,3}, 原 慧一郎^{1,2,3}, 金城 雄樹^{1,2}, 杉本 真也^{1,2,3} (¹慈恵医大・医・細菌学, ²慈恵医大・先端医学・バイオフィーム研究センター, ³慈恵医大・プロジェクト研究部・アミロイド制御研究室)

The nucleotide exchange factor GrpE is essential for the localization of cell division proteins

○Liz Ishikawa¹, Rintaro Shigemori^{1,2,3}, Keiichiro Hara^{1,2,3}, Yuki Kinjo^{1,2}, Shinya Sugimoto^{1,2,3} (¹Dept. Bacteriol., Jikei Univ. Sch. Med., ²Cent. Biofilm Sci. Technol., Jikei Univ. Sch. Med., ³Lab. Amyloid Regulation, Jikei Univ. Sch. Med.)

GrpE は分子シャペロン DnaK のヌクレオチド交換因子であり、幅広い細菌や真核生物のミトコンドリアに保存されている。興味深いことに、DnaK は大腸菌の生存に必須ではないが、GrpE は必須である。しかし、なぜ GrpE が大腸菌の生育に必須なのかは長らく謎であった。本研究では、ATP 依存性プロテアーゼ ClpXP が C 末端 SsrA タグ標識タンパク質を特異的に分解する系とライブセルイメージング技術を融合させた Aimed Proteolysis and Live cell Imaging Coupled Technology (APLICoT) 法を確立し、GrpE の必須機能の解明を目指した。

まず、細胞分裂に必須な FtsZ を用いて APLICoT 法の妥当性を検証した。SsrA-tag 遺伝子を大腸菌 Δ clpP 株の *ftsZ* の 3' 末端に挿入し、アラビノース誘導型プラスミドで ClpXP を相補した FtsZ ノックダウン株を作製した。この株をアラビノース添加培地で培養すると、10 分以内に細胞内 FtsZ が顕著に分解された。その後、ライブセルイメージングで観察したところ、細胞分裂の阻害による菌体のフィラメント化と、それに続く細胞膜の破綻（溶菌）が観察された。同様の手法を用いて GrpE ノックダウン株を構築し観察した結果、FtsZ ノックダウン株と同様に細胞がフィラメント化し、細胞膜が破綻して溶菌する様子が確認された。また、GrpE ノックダウン株に DnaK と相互作用できない変異型 GrpE を発現させると、正常に分裂・増殖した。さらに、GrpE ノックダウン株では一部の細胞分裂関連タンパク質 (FtsA, FtsX, FtsQ, Pal) の分裂面への局在化が阻害された。以上より、GrpE は大腸菌の細胞分裂関連タンパク質の適切な局在化において必須の機能を有することが明らかとなった。

P1-085/FL1-19

β-グルカン合成阻害剤が誘発する *Cryptococcus neoformans* の表層多糖リモデリング

○榎本 伶朗, 山中 大輔, 安達 禎之 (東京薬大・薬・免疫学)

β-Glucan synthase inhibitors induce surface polysaccharide remodeling in *Cryptococcus neoformans*

○Leo Enomoto, Daisuke Yamanaka, Yoshiyuki Adachi (Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

【目的】病原性真菌 *Cryptococcus neoformans* の細胞壁には β-1,3-グルカン (13BG) および β-1,6-グルカン (16BG) などの多糖類が含まれる。通常 13BG は Dectin-1 のリガンドとして免疫応答に関与するが、Dectin-1 欠損マウスを用いた解析では、本真菌の感染防御への Dectin-1 の寄与は非常に低い。本研究では BG 合成阻害剤で *C. neoformans* を処理した際の細胞壁多糖組成変化を解析し、さらに菌体増殖や Dectin-1 依存的応答への影響を明らかにすることで、新たな治療法の可能性を探索した。【方法】*C. neoformans* H99 株を Micafungin (13BG 合成阻害剤), Jervine (16BG 合成阻害剤) または DMSO を添加したポテトデキストロース培地で培養した。菌体濃度を揃え、独自に開発の多糖結合タンパク質を用いた多糖プロファイリング法により、表層多糖組成を解析した。また、hDectin-1A および NF-κB-NanoLuc レポーター遺伝子を導入したヒト単球様細胞 (THP-1) を用いて、Dectin-1 依存的な細胞活性化レベルを評価した。【結果】Micafungin 添加群では表層の 13BG および 16BG に顕著な変化はなかったが、Jervine 添加群では 16BG が減少し 13BG およびキチン量が増加した。Jervine 添加培地では、37℃条件下において顕著な増殖抑制作用が認められた。また、Jervine 処理菌体は Dectin-1 依存的な NF-κB の活性化レベルを著しく上昇させることが明らかとなった。【考察】16BG 合成阻害剤は細胞壁多糖構造および増殖に影響し、表層 13BG の増加が Dectin-1 を介した免疫応答を亢進させる可能性が示唆された。本結果は 16BG 合成阻害剤がクリプトコックス症を含む真菌感染症治療への応用展開に寄与する可能性を示している。

P1-086/FL1-20

糖質加水分解酵素の機能改変体を用いた真菌細胞壁多糖の蛍光観察法構築

○山中 大輔, 鈴木 健斗, 安達 禎之 (東京薬大・薬・免疫学)

Fluorescent imaging method for fungal polysaccharides using function-modified glycoside hydrolase

○Daisuke Yamanaka, Kento Suzuki, Yoshiyuki Adachi (Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

【目的】我々は大腸菌で産生可能な糖質加水分解酵素の変異体を設計・探索することで、真菌細胞壁に存在する β1,3-グルカン (13BG), β1,6-グルカン (16BG), キチン, α1,3-グルカン (13AG) などに結合するタンパク質プローブを獲得してきた。本研究ではこれらのタンパク質と Green Fluorescent Protein (GFP) の融合体を作製し、機能評価および細胞壁染色への応用可能性を検討した。【方法】機能改変型糖質加水分解酵素 (多糖結合タンパク質) に GFP を融合発現させ、カラム精製後、GFP 由来の蛍光シグナルを評価し、さらに多糖結合活性を ELISA 法で評価した。代表的な病原性真菌の菌体表層に露出する各多糖を、GFP 融合多糖結合タンパク質を用いて染色し、蛍光顕微鏡下で解析した。一部の真菌は多糖合成阻害剤で処理し、細胞壁多糖組成の変化を顕微鏡下で観察した。【結果】GFP 融合多糖結合タンパク質は、GFP に由来する蛍光能を保持し、さらに ELISA プレートに固定した各基質 (多糖) と結合した。また、13BG プローブは *Aspergillus fumigatus* 及び *Candida albicans*, 16BG プローブは *C. albicans* 及び *Cryptococcus neoformans*, 13AG プローブは *A. fumigatus* 及び *C. neoformans*, キチンプローブは *A. fumigatus* 及び *Rhizopus oryzae* をそれぞれ染色した。一方、BG 合成阻害剤で処理した *C. albicans*, *A. fumigatus* の BG に由来する蛍光シグナルは減少した。【考察】調整した各種 GFP 融合多糖結合タンパク質は、対応する多糖への結合能と GFP の蛍光能の両方を保持しており、真菌細胞壁多糖の構造特異的な蛍光染色に利用出来ることが示された。

P1-087/FL1-21

アスペルギルス細胞壁 β-グルカンの合成阻害がもたらす表層多糖の組成変化

○近 武慶, 鈴木 健斗, 山中 大輔, 安達 禎之 (東京薬大・薬・免疫学)

Inhibition of β-glucan synthesis in *Aspergillus* and changes in polysaccharide composition

○Takenori Chika, Kento Suzuki, Daisuke Yamanaka, Yoshiyuki Adachi (Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

【目的】*Aspergillus fumigatus* の細胞壁多糖には β-1,3-グルカン (13BG) 及び α-1,3-グルカン (13AG) が存在する。本研究では独自に構築した多糖結合タンパク質を用いた多糖プロファイリング法を用いて、BG 合成阻害剤による *A. fumigatus* の表層多糖組成の変化と 13BG 受容体 Dectin-1 依存的な免疫応答を解析し、BG 合成阻害剤が真菌の免疫原性に与える影響を評価した。【方法】*A. fumigatus* NBRC33022 株を 13BG 合成阻害剤 (Micafungin), β-1,6-glucan (16BG) 合成阻害剤 (Jervine) または DMSO (コントロール) を添加したポテトデキストロース培地で 24 時間培養した。菌体濃度を調整し、多糖プロファイリング法を用いて細胞壁の多糖組成を解析した。BG 合成阻害による *A. fumigatus* の自然免疫応答への影響を評価するためにヒト単球様細胞 (THP-1) に hDectin-1A 及び NF-κB-NanoLuc レポーター遺伝子を導入したレポーター細胞を用い、菌体による NF-κB 活性化レベルを評価した。【結果】16BG 合成阻害剤添加群では *A. fumigatus* の多糖組成に大きな変化は見られなかった。一方、13BG 合成阻害剤添加群では 13BG が減少し、代わりに β-1,3/β-1,4-グルカン (MLG) の増加を認めた。レポーター細胞を用いたアッセイでは、13BG 合成阻害剤添加培地で培養した菌体は、Dectin-1 依存的な NF-κB の活性化レベルを減少させた。【考察】13BG 合成阻害剤が細胞壁多糖に影響を与えたことによって宿主免疫応答を低下させる可能性が示唆された。表層 13BG が減少したことによる外層構造の不安定性を補うために MLG が増加したと考えられる。

P1-088

急速凍結レプリカ法を用いた大腸菌ペプチドグリカンの抗生物質による構造変化の可視化

○田原 悠平^{1,2}, 宮田 真人² (¹大公大・工, ²大公大・理)

Visualization of antibiotic-induced structural changes in *Escherichia coli* peptidoglycan

○O. Yuhei Tahara^{1,2}, Makoto Miyata² (¹Grad. Sch. Eng., Osaka Metropolitan Univ., ²Grad. Sch. Sci., Osaka Metropolitan Univ.)

Quick-freeze deep-etch replica electron microscopy (QFDE) is a transmission electron microscopy technique that enables high-resolution visualization of sample surfaces. This technique excels at capturing flexible or low-contrast structures, such as cell membranes and organelles. Recently, its application has been extended to the study of bacterial cell walls. In this study, we applied QFDE to visualize and quantify structural damage to the *Escherichia coli* peptidoglycan (PG) layer. We observed whole cells and purified PG sacculi treated by ampicillin or glycine. Ampicillin treatment induced protrusions and cracks on the cell membrane surface. Quantitative analysis of the PG meshwork revealed that a 30-minute treatment resulted in minimal structural changes, maintaining a pore area ratio of approximately 7.8%. However, a 3-hour treatment significantly coarsened the entire meshwork, increasing the pore area ratio to 18%. In contrast, while glycine treatment produced similar morphological deformities at the cellular level, the purified PG meshwork showed no significant degradation even after 3 hours. These results reveal that different inhibitory mechanisms lead to distinct patterns of structural failure.

P1-089

セリンがウェルシュ菌の芽胞形成に与える影響

○安木 真世^{1,2}, 片岡 花音¹, 太田 了仁¹, 高野 恵子¹, 三宅 眞実^{1,2} (1)阪公大院・獣医, (2)阪国際感染研)

Serine affects engulfment during the sporulation process in *Clostridium perfringens* strain SM101

○Mayo Yasugi^{1,2}, Kanon Kataoka¹, Akinobu Ohta¹, Keiko Takano¹, Masami Miyake^{1,2} (1)Grad. Sch. Vet. Sci., Osaka Metro. Univ., (2)Osaka Int. Res. Cent. Infect. Dis.)

C. perfringens sporulation is a key event in the pathogenesis of the food-borne illness; however, the molecules and underlying mechanisms responsible for regulating sporulation remain incompletely understood. In this study, we aimed to identify amino acids that affect sporulation in *C. perfringens* strain SM101 cultured in a chemically defined medium. The amino acids Arg, Cys, Gly, His, Ile, Leu, Met, Phe, Thr, Trp, Tyr, and Val were important for sporulation, and furthermore, Ser reduced sporulation. The mechanism underlying Ser-induced prevention of sporulation was assessed morphologically. The numbers of bacterial cells in sporulation stage II were significantly higher in the presence of Ser than its absence. In the presence of Ser, almost all cells were in stage II-III, characterized by polar septation and early engulfment, and did not proceed to late engulfment. Peptidoglycan exhibited greater resistance to lysozyme in the presence of Ser. These results suggest that Ser accelerates the early stages of sporulation in *C. perfringens* strain SM101, but disrupts the engulfment process, resulting in reduction of sporulation efficiently. Alternation in peptidoglycan may contribute to this disruption.

P1-090

真菌の細胞壁多糖構造に影響を及ぼす薬剤の探索基盤構築

○小峯 菜緒, 山中 大輔, 安達 禎之 (東京薬大・薬・免疫学)

Development of a drug discovery platform targeting fungal cell wall polysaccharide structures

○Shion Komine, Daisuke Yamanaka, Yoshiyuki Adachi (Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

【目的】免疫機能が低下した患者は、深在性真菌症の発症リスクが上昇する。既存の抗真菌薬では薬剤耐性真菌が出現した際には治療が困難になる。真菌は細胞壁を有するため、細胞壁多糖の合成系は抗真菌薬の有望な標的となる。本研究では、抗真菌症薬候補の獲得を効率化するため、細胞壁多糖に影響を与える分子を直接探索するシステムの構築を目標とした。【方法】評価系検証のために香辛料（18種類）をDMSOに懸濁し、超音波抽出して用いた。出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）または分裂酵母（*Schizosaccharomyces pombe*）を含むPD培地と、香辛料抽出液またはDMSO（コントロール）を96 well plateに添加し、30℃で24時間培養した。細胞濃度統一後、細胞壁多糖組成を、独自に開発した多糖結合タンパク質を用いた細胞壁多糖プロファイリング法により解析した。【結果】*S. cerevisiae* 群ではクロープまたはターメリック、*S. pombe* 群ではターメリック抽出液添加により増殖が阻害された。増殖した菌体の細胞壁多糖構造を解析した結果、*S. cerevisiae* 群ではローズマリーがβ-1,3-グルカン由来シグナルを減少させ、セージによりβ-1,6-グルカンシグナルが減弱した。一方、*S. pombe* 群ではシナモン処理によりβ-1,3-グルカンおよびα-1,3-グルカン由来シグナルが減少した。【考察】本研究では細胞壁多糖組成に影響を及ぼす因子の探索基盤を構築するため、2種類の酵母と市販の香辛料を用いた。検討の結果、いくつかの香辛料抽出液が細胞壁多糖組成に影響を及ぼす可能性を見出し、新たな抗真菌症薬候補の探索に本手法が有効であることが示された。

P1-091

Porphyromonas gingivalis における PGN_0298 および PGN_0301 の必須性の検討

○小野 晋太郎¹, 武部 克希², 土佐 郁恵^{3,4}, 西谷 悠希⁵, 中山 真彰³, 高柴 正悟¹, 大原 直也^{3,4,6} (1)岡山大院・医歯薬・歯周病態, (2)岡山大院・医歯薬・歯科薬理, (3)岡山大院・医歯薬・口腔微生物, (4)岡山大・歯・ARCOCS, (5)岡山大院・医歯薬・顎口腔再建外科, (6)岡山大・腸健康科学研究センター)

Investigation of the essentiality of PGN_0298 and PGN_0301 in *Porphyromonas gingivalis*

○Shintaro Ono¹, Katsuki Takebe², Ikue Tosa^{3,4}, Yuki Nishiya⁵, Masaaki Nakayama³, Syogo Takashiba¹, Naoya Ohara^{3,4,6} (1)Dept. Pathophysiol. Periodontal Sci., Fac. Med., Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., (2)Dept. Dent. Pharmacol., Fac. Med., Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., (3)Dept. Oral Microbiol., Fac. Med., Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., (4)Adv. Res. Ctr. Oral Craniofac. Sci., Okayama Univ., (5)Dept. Oral Maxillofac. Reconstructive Surg., Grad. Sch. Med., Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., (6)Res. Ctr. Intest. Health Sci., Okayama Univ.)

【背景】歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*) は、9型分泌装置 (T9SS) を通じてジンジパインなどの病原因子を細胞外に分泌する。我々は T9SS に関与する遺伝子を含む Aim オペロン (PGN_0296~PGN_0301) を見出し、その中の各遺伝子の機能を解明してきた。本研究では PGN_0298 と PGN_0301 の機能を明らかにすることを目的とした。【方法】*P. g.* ATCC33277 を親株に、ゲノム上の PGN_0298 と PGN_0301 の欠失を試みた。また、シャトルベクター pTIO-1T をもって PGN_0298 と PGN_0301 の発現プラスミドの構築を行った。【結果と考察】親株では、PGN_0298 と PGN_0301 の欠失株を得られなかった。PGN_0298 あるいは PGN_0301 発現プラスミドを導入した株では、ゲノム上の各遺伝子を欠失することができた。親株では導入した発現プラスミド保持率が急速に低下したのに対し、各遺伝子破壊株では、先に導入した発現プラスミドは脱落しなかった。このことから両遺伝子は必須遺伝子と推察された。PGN_0301 は PGN_0300 とともにシャペロンタンパク質 Skp をコードしていると推察される。しかし、PGN_0300 はこれまでの研究で必須遺伝子でないことが示されており、PGN_0300 と PGN_0301 は異なる役割を持つことが推察された。また、PGN_0298 はその配列から Undecaprenyl Pyrophosphate Synthase をコードし、細胞壁の合成に必須であることが推察された。

P1-092

多剤耐性菌研究における新規マーカー遺伝子の作出

○中神 茉莉, 阿部 章夫 (北里大院・感染制御科学)

Development of Novel Marker Genes for Multidrug-Resistant Bacteria Research

○Mari Nakagami, Akio Abe (Grad. Sch. Infect. Contr. Sci., Kitasato Univ.)

一般的なクローニングでは、抗生物質およびその耐性遺伝子を選択マーカーとして用い、遺伝子導入細胞を選択する手法が広く利用されている。しかし、多くの抗生物質に耐性を示す多剤耐性菌では、選択精度の低下が問題となっている。そこで、抗生物質非依存的な新規選択マーカーとして、アジ化ナトリウム (Az) とその耐性遺伝子である *secA* に着目した。*SecA* は分泌タンパク質および膜タンパク質の膜透過に関与する ATPase であり、Az はその阻害剤として知られている。一方、*SecA* に F598L 変異が生じることで、大腸菌は Az 耐性を獲得することが報告されている。本研究では、*secA* (F598L) のマーカー遺伝子としての有用性向上を目的とした。*secA* (F598L) ならびに *lacq* および *trc* プロモーターを PCR により増幅し、pACYC184 を改変したベクター p28T0mini に挿入することで、プラスミド p28Trc-Az を構築した。本プラスミドを導入した大腸菌において Az 耐性を評価したが、選択マーカーとしては不十分であった。そこで選択圧を与えた結果、*SecA* に G516C 変異を新たに獲得した株を得た。Az 100 μg/mL 条件下において、G516C 変異導入により p28Trc-Az 導入株の増殖能が向上し、Az 耐性の増強が認められた。さらに、*secA* (F598L, G516C) に対して PCR による変異導入を行い、Az 存在下に適応可能な株を取得した。Sequence 解析の結果、F598L および G516C 変異に加えて新たに 5 つの変異が確認され、これらの変異が Az 耐性の向上に関与している可能性が示唆された。

P1-093

***Clostridium perfringens* 由来 Acp の隔壁局在に必要な細胞壁結合リピート数**

○青野 りよ^{1,2}, 松永 望², 白神 望夢³, 成谷 宏文⁴, 関谷 洋志⁵, 玉井 栄治⁵, 片山 誠一² (¹香川県立保健医療大・臨床検査, ²岡山理科大・生命科学・医療技術, ³岡山理科大院・理工学・自然科学, ⁴十文字学園女子大・人間生活・食品開発, ⁵松山大・薬・感染症学)

Number of cell wall-binding repeats required for the localization of Acp in *Clostridium perfringens*

○Riyo Aono^{1,2}, Nozomu Matsunaga², Miyu Shiraga³, Hirofumi Nariya⁴, Hiroshi Sekiya⁵, Eiji Tamai⁵, Seiichi Katayama² (¹Dept. Med. Tech., Kagawa Pref. Univ. Health Sci., ²Dept. Med. Technol., Fac. Life Sci., ³Dept. Natural Sci., Grad. Sch. Science and Engineering, Okayama Univ. Sci., ⁴Dept. Food Sci., Fac. Human Life, Jumonji Univ., ⁵Dept. Infectious Diseases, Col. Pharm. Sci., Matsuyama Univ.)

Growth and division in bacteria rely on autolysins, enzymes that remodel the cell wall. *Clostridium perfringens* autolysin (Acp) appears as a major *N*-acetylglucosaminidase implicated in both vegetative growth and stress-induced autolysis. Acp is a 120-kDa polypeptide composed of an N-terminal cell wall-binding domain containing ten SH3b motifs, cell wall-binding repeats (CWBRs) and a C-terminal catalytic domain (CD). In this study we attempted to determine the number of CWBRs required for the localization of Acp to the septum. When each CWBR variant of Acp was expressed in *C. perfringens* HN13 Δ acp, only Acps with three (rAcpCWBR8-10 + CD) or more CWBRs were localized to the septum. We Gram-stained these Acp mutants and then measured the total length of these bacterial cells. We found that strains harboring Acp with two (rAcpCWBR9-10 + CD) or one CWBR (rAcpCWBR10 + CD) exhibited elongated cells. In addition, it was shown that three or more GFP-labeled synthetic CWBRs without CD localized to the septum. These results suggested that at least three CWBRs of Acp are necessary for the localization of Acp to the septum and normal division of *C. perfringens* cells.

P1-094

外膜チャネル TolC を標的とした人工タンパク質による薬剤排出阻害

○田辺 幹雄¹, 小杉 貴洋², 守屋 俊夫¹ (¹高エネ機構・物構研・構造生物, ²自然科学研究機構・分子研・協奏分子システム)

Structure-Based Design of Protein Inhibitors Targeting the TolC Drug Efflux Channel

○Mikio Tanabe¹, Takahiro Kosugi², Toshio Moriya¹ (¹Struct. Biol. Res. Center. IMSS, KEK, ²ExCells, Inst. Mol. Sci, Natl. Inst. Nat. Sci.)

細菌膜上には多くの薬剤排出複合体が存在する。細菌はこれらを利用して、抗菌薬等細菌自身にとって有害な物質を菌体外に排出することで自らを薬剤に対して耐性化させる。グラム陰性細菌の薬剤排出複合体は内膜タンパク質 (IMP), アダプタータンパク質 (AP), 外膜チャネル (OMP) の各コンポーネントから構成され、その機能と構造学的知見により 3 種類 [(Resistance-Nodulation-Cell Division(RND) 型, Major Facilitator Superfamily(MFS)型, ATP-binding Cassette(ABC) 型)]に分類される。もしこれらの薬剤排出複合体の機能を効果的に阻害できれば、薬剤耐性に対抗する大きな足掛かりとなる。そこで我々は薬剤排出システムの一部として、それらの薬剤排出複合体の排出口としての役割を担う外膜チャネル TolC に着目し、この機能を阻害することで薬剤排出活性を抑えることを試みる。TolC はペリプラズム領域に広がる α -ヘリックスドメインと外膜に埋め込まれた β -バレルドメインから構成されており、抗菌薬が通過する長いトンネル構造を形成する。TolC が薬剤排出の経路だけでなく、様々なタンパク質との複合体を形成する能力も持つことに着目し、それらを模したタンパク質を用いて TolC の機能を妨害することで薬物排出を阻害することを試みる。まず最初のステップとして、クライオ電子顕微鏡を用いて天然型および阻害剤結合型の構造をそれぞれ 2.0Å, 2.4Å の分解能で決定した。この構造情報に基づいて TolC を通るトキシンとの構造解析にも成功した。薬物通過経路を解析し人工的にデザインしたタンパク質を用いて、これらの経路を阻害することを試みている。本発表ではその進捗を含め報告する。

P1-095

抗酸菌ヒストン様天然変性蛋白質-核酸相分離の性状解析

○西山 晃史¹, 古寺 哲幸², 塩谷 美夏¹, Mahin Reza¹, 吉田 豊¹, 尾関 百合子¹, Amina K. Shaban¹, 竹石 惇樹¹, 松本 壮吉¹ (¹新潟大院・医歯学総合・細菌学, ²金沢大・ナノ生命科学研)

Characterization of mycobacterial intrinsically disordered histone-like protein/DNA phase separation

○Akihito Nishiyama¹, Noriyuki Kodera², Mika Shioya¹, Mahin Reza¹, Yutaka Yoshida¹, Yuriko Ozeki¹, Amina K. Shaban¹, Atsuki Takeishi¹, Sohkichi Matsumoto¹ (¹Dept. Bacteriol., Niigata Univ. Sch. Med., ²NanoLSI, Kanazawa Univ.)

Mycobacteria are the major human pathogens that are prone to become dormant persistors. Latent infection with dormant *Mycobacterium tuberculosis* is a major source of active tuberculosis. Mycobacterial DNA-binding protein 1 (MDP1, alternatively known as HupB), highly expressed in dormant mycobacteria, is a unique histone-like protein whose C-terminal half is a histone tail-like intrinsically disordered region (IDR). We have reported the dynamic DNA cross-linking mechanism by MDP1 in which IDR of MDP1 cross-links DNA duplexes like "double-sided tape", resulting in side-by-side DNA bundle formation. IDR-mediated reversible DNA cross-linking is a reasonable model for suppression of the genomic function in the resuscitable non-replicating dormant mycobacteria. Currently, we have also found that this MDP1 activity further induces phase separation with DNA. In this study, we further characterized MDP1/DNA phase separation. We compared fluidity of MDP1-induced condensates with various DNA strands, DNA condensation processes, and DNA/MDP1 complex structures by fluorescence microscopy and time-lapse imaging using HS-AFM technique. The relationship of condensate fluidity and MDP1 structures including post-translational modification was also examined. Here, we summarize our current update of MDP1/DNA condensation mechanisms.

P1-096

百日咳菌のトキシン・アンチトキシンシステムの機能解析

○後藤 雅貴, 大塚 菜緒, 見理 剛 (感染研・細菌第二部)

Functional analysis of toxin-antitoxin systems in *Bordetella pertussis*

○Masataka Goto, Nao Otsuka, Tsuyoshi Kenri (Dept. Bacteriol. II, NIID)

Bacterial toxin-antitoxin (TA) systems comprise a toxin that inhibits bacterial cellular functions and an antitoxin that neutralizes toxin activity. These systems play a crucial role in bacterial survival under various environmental stresses. Bioinformatics analysis has revealed three sets of gene pairs (*bp1522-bp1523*, *bp1663-bp1662*, and *bp2622-bp2623*) functioning as potential TA systems in *Bordetella pertussis*, the primary causative agent of pertussis. In this study, we investigated the functions of these putative TA system genes under stress. The Tohama I strain was cultured under glutamate starvation and acid stress conditions, and transcription levels of *bp1522*, *bp1663*, and *bp2622*, predicted toxin genes in TA systems, were measured by qRT-PCR. Notably, transcriptional levels of *bp2622* were increased two-fold under glutamate starvation conditions ($p < 0.05$; two-tailed unpaired *t*-test). Subsequently, the Tohama I strain and *bp2622*-deleted mutant (Δ *bp2622*) were cultured under glutamate starvation conditions, and colony-forming units were measured. Colony-forming units of Δ *bp2622*, but not of the Tohama I strain, were decreased under these conditions. Overall, our results suggest that *bp2622* is required for *B. pertussis* survival under glutamate starvation conditions.

P1-097

In vitro 再構築系による梅毒トレポネーマの外膜タンパク質のアセンブリー再構築と抗原探索

○岩切 祐也¹, 塩田 拓也², 丸野 友希³ (¹宮崎大・農, ²宮大・フロンティア, ³宮崎大院・農工)

Identification of antigen region of *T. pallidum* OMPs using an in vitro reconstitution system

○Yuya Iwakiri¹, Takuya Shiota², Yuki Maruno³ (¹Sch. Agri., Univ. Miyazaki, ²Front. Sci. Res. Cent., Univ. Miyazaki, ³Interdisc. Grad. Sch. Agri. Eng., Univ. Miyazaki)

細菌による性感染症の一つである梅毒はペニシリンでの完治が可能であるにも関わらず、近年その感染者数は急増している。感染拡大を防ぐ方法の一つとして梅毒ワクチンの開発が求められているが、原因菌の *Treponema pallidum* は単離培養ができないため、不活化ワクチンや生ワクチンは開発されていない。残る方法として、細胞表層露出分子による成分ワクチンの開発がある。*T. pallidum* はグラム陰性菌に属し、表層露出分子として外膜タンパク質(Outer Membrane Proteins: OMPs)を持つ。OMPsは、膜貫通領域がβバレル型であり、βストランド間のループ部分は細胞外に露出する。構造予測によりループ部分は予測できるが、*T. pallidum* は難培養性細菌であるため、細胞外露出部分の実験での決定は難しい。本研究では、*T. pallidum* の OMPs の細胞外露出部分を実験的に決定するために、in vitro 再構築実験系への適応を試みた。具体的には、大腸菌から単離した膜画分(*E. coli* Microsomal Membrane: EMM)と、in vitro 翻訳系で合成した *T. pallidum* の OMPs をインキュベートし、EMM への正しい立体構造形成を伴った膜挿入を in vitro で再構成した。今回はモデル基質として TprD を使用したところ、EMM への膜挿入とオリゴマー形成を確認した。また、TprD の構造予測において最も大きい細胞外露出部分であるループ 6 に対する抗体は、EMM に挿入された TprD を正しく認識していることを確認した。すなわち、大腸菌膜画分を用いた再構築実験系により実験的に細胞外露出部分を探索する方法が確立できた。

P1-098/FL1-22

リボソームを介した大腸菌の亜鉛感受性調節メカニズム

○白川 璃子, 石川 一也, 古田 和幸, 垣内 力 (岡山大学・医歯薬・分子生物学)

Ribosome-mediated regulation of zinc susceptibility in *Escherichia coli*

○Riko Shirakawa, Kazuya Ishikawa, Kazuyuki Furuta, Chikara Kaito (Lab. Mol. Biol., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm., Okayama Univ.)

亜鉛は細菌にとって必要であると同時に過剰量では毒性を示す。そのため、細菌は取り込みや排出によって細胞内亜鉛濃度を調節している。これまでに我々は、大腸菌リボソームタンパク質 rpmJ 欠損株において亜鉛排出トランスポーター発現増加による新規の亜鉛耐性化現象を見出している。RpmJ にはパラログ YkgO が存在し、ykgO の発現は亜鉛取り込みトランスポーターの転写抑制因子 zur によって抑制される。本研究では、rpmJ 欠損による亜鉛耐性化にパラログ ykgO が関連するか検討した。rpmJ/zur 二重欠損株では rpmJ 欠損株の亜鉛耐性が失われ、野生株と同等の亜鉛感受性を示した。このことから、zur 欠損により発現した YkgO が、リボソームの RpmJ 結合位置に代わりに結合していると考えられた。次に、zur 欠損による亜鉛耐性の喪失が ykgO 発現によるものかを確認するために、rpmJ/zur/ykgO 三重欠損株の亜鉛耐性を評価した。その結果、rpmJ/zur/ykgO 三重欠損株では亜鉛耐性が回復し、rpmJ 欠損株と同等となった。このことから、RpmJ/YkgO の結合部位が空位となったリボソームの存在が亜鉛耐性化を導くことが考えられた。亜鉛排出トランスポーター発現量を測定すると、亜鉛耐性と一致して、rpmJ/zur 二重欠損株では rpmJ 欠損株に比べて低下し、rpmJ/zur/ykgO 三重欠損株では rpmJ 欠損株と同等までに回復した。以上より、RpmJ/YkgO の結合部位が空位となったリボソームが起因となり、亜鉛排出経路を活性化することによって亜鉛耐性化が導かれることが示唆された。今後は、リボソームの構造変化と亜鉛排出トランスポーターの発現増加を繋ぐ分子メカニズム、及びその生理的意義を解析していく。

P1-099

アミロイドはどこから来るのか：哺乳類と細菌を結ぶ共通モチーフ

Cross-species amyloid motifs link mammalian and bacterial proteins

○Weichen Gong (Lab. Animal Food Function, Grad. Sch. Agricultural Science, Tohoku Univ.)

Background: Functional amyloids are well characterized in bacteria, with *Escherichia coli* CsgA serving as a canonical model. However, sequence-based homology searches using CsgA identify only a few related proteins, suggesting that many bacterial amyloids lack recognizable sequence similarity to this prototype. **Methods:** To overcome this limitation, we applied a cross-species, motif-based strategy. Conserved amyloidogenic motifs derived from mammalian serum amyloid A (SAA) proteins were used to screen bacterial proteomes for potential amyloid candidates. **Results:** Bioinformatic analysis revealed SAA-like motifs in several Gram-positive Firmicutes, notably within multiple protein families of *Clostridioides difficile*. Experimental evaluation using Congo Red–agar assays demonstrated dye binding after 48 hours of growth in both clinical and laboratory *C. difficile* strains, consistent with the formation of amyloid-like structures. Although Congo Red binding is not exclusively specific to amyloids, these results provide initial experimental evidence supporting the presence of SAA-analogous motifs in bacterial proteins. **Conclusions:** This study establishes a cross-species, motif-based framework for identifying previously unrecognized bacterial amyloids, offering new insights into conserved amyloidogenic mechanisms that may influence biofilm formation and host–pathogen interactions.

P1-100/FL1-23

緑膿菌における細胞壁欠損細胞の出現

○杉山 夏月¹, 原田 潤¹, 兼松 周作¹, 野村 暢彦^{2,3,4}, 豊福 雅典^{2,3} (¹筑波大院・生命農学, ²筑波大・生命環境系, ³筑波大・MiCS/TIAR, ⁴筑波大・TARA)

Cell wall-deficient cells formed in *Pseudomonas aeruginosa*

○Natsuki Sugiyama¹, Jun Harada¹, Shusaku Kanematsu¹, Nobuhiko Nomura^{2,3,4}, Masanori Toyofuku^{2,3} (¹Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ²Fac. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ³MiCS/TIAR, Univ. Tsukuba, ⁴TARA, Univ. Tsukuba)

細胞壁は、ほぼすべての細菌が有しており、浸透圧ストレスなどの環境ストレスから保護する役割を担い、細胞の形態を特徴づける重要な構造である。しかしながら、当研究室の先行研究において、緑膿菌集団内において、細胞壁を失っても生存可能な R-cell が出現することが明らかとなった。R-cell は、ファージ由来の遺伝子であるホリン–エンドリシンが発現し細胞壁を欠損することで形成されることが明らかとなっているが、R-cell についての知見はほとんどない。そこで、本研究では集団細胞中の一部で出現する R-cell の出現条件や特性に關する知見を獲得し、その存在意義を理解することを目的とする。細胞壁はβ-ラクタム系薬剤などの抗生物質のターゲットとなるため、感染症治療においても重要である。R-cell は細胞壁をもたないため、細胞壁をターゲットとする抗生物質に耐性があると予想される。そこで、抗生物質処理を行った結果、桿菌では溶菌するのに対し、R-cell は生存することが示された。また、桿菌と R-cell を比較した RNA-seq の結果、R-cell では解糖系に関わる遺伝子の発現量が桿菌に比べて上昇していた。解糖系の促進は活性酸素種(ROS)の蓄積につながることを報告されているため、解析したところ、R-cell において ROS が蓄積していることが示された。ROS は細胞毒性を発揮することが知られており、ROS の蓄積によって、細胞分裂が阻害されている可能性がある。さらに、細胞壁を欠損するのに必要な遺伝子は嫌気環境によって発現が誘導されることが示されており、嫌気培養により R-cell が出現することを明らかにした。今後は R-cell が細胞集団内における役割を解明し、細菌の新規生存戦略を明らかにしたい。

P1-101/FL1-24

Characterization of a novel inward proton pump rhodopsin, GhXeR, from *Guptibacillus hwajinpoensis*

○錦野 達郎^{1,2}, 服部 七奈子¹, 伊藤 侑真¹, 古谷 祐詞^{1,2}, 神取 秀樹^{1,2} (1名工大・院工・工, 2名工大・オプトバイオ)

○Tatsuro Nishikino^{1,2}, Nanako Hattori¹, Yuma Ito¹, Yuji Furutani^{1,2}, Hideki Kandori^{1,2} (1Grd. Sch. Eng., Nagoya Inst. Tech., 2OptoBio Tech. Res. Cent., Nagoya Inst. Tech.)

Microbial rhodopsins exhibit various functions, such as ion transport and sensor for signal transduction, through structural changes for its function induced by retinal photoisomerization. Xenorhodopsins (XeR), a class of microbial rhodopsins, function as light-driven inward proton pumps, with a translocation direction opposite to that of bacteriorhodopsin (BR), the prototypical outward proton pump. The three-residue motif in the third helix plays a critical role in determining functions of microbial rhodopsins. BR possesses an Asp-Thr-Asp (DTD) motif. In contrast, NsXeR and PoXeR, two inward proton-pumping xenorhodopsins (XeRs), contain the Asp-Ser-Ala (DSA) and Asp-Thr-Leu (DTL) motifs, respectively. We newly found a XeR (GhXeR) from a marine bacterium *Guptibacillus hwajinpoensis*, which features the Asp-Ser-Ser (DSS) motif. To clarify how differences in the motif affect photoreaction and proton transport activity, we measured the ion transport activity in *E. coli* cells, recorded transient absorption, and analyzed structural dynamic using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. We would like to discuss photo isomerization and proton transport mechanism in the GhXeR.

P1-102/FL1-25

溶液中における T4 DNA Ligase の ATP 依存的コンフォメーション変化の可視化

○泉原 伸輝, 松本 崇 ((株)リガク)

Visualization of ATP-Dependent Conformational Dynamics of T4 DNA Ligase in Solution

○Nobuki Kuwabara, Takashi Matsumoto (Rigaku Corporation)

DNA ligases are essential enzymes conserved across viruses, prokaryotes, and eukaryotes, playing critical roles in DNA repair and replication. T4 DNA Ligase consists of three domains and serves as a representative model of ATP-dependent DNA ligases. While structures of the AMP intermediate and DNA-bound complexes have been reported, the conformational behavior of T4 DNA Ligase in the pre-adenylation state remains insufficiently understood. In this study, we applied Electron Density Topography (EDT), a solution-based structural visualization method currently under development, to investigate the ATP-dependent conformational states and dynamics of T4 DNA Ligase in solution. EDT enables direct reconstruction of electron density. EDT analysis revealed that, in the presence of ATP, T4 DNA Ligase adopts a closed and compact conformation. In contrast, in the absence of ATP, pronounced mobility was observed, and multiple conformational states, including an open configuration, appeared to coexist. This work demonstrates the capability of EDT to visualize the dynamic conformational landscape of T4 DNA Ligase in solution and provides new insights into its ATP-dependent structural diversity. EDT offers a promising new approach for elucidating the mechanisms of biomolecules that exhibit significant conformational flexibility.

P1-103

シアリダーゼ処理赤血球に特異的な *Streptococcus gordonii* 新規アドヘジンの同定

○内川 真由美¹, 才木 桂太郎², 石川 結子³, 田代 有美子¹, 山中 幸¹, 高橋 幸裕¹, 金淵 英莉¹, 林田 尚斗⁴ (1日歯大・生命歯・微生物, 2日歯大・生命歯・生化学, 3日歯大病院・総診, 4日歯大・生命歯・衛生学)

Identification of *Streptococcus gordonii* novel adhesins specific to sialidase-treated erythrocytes

○Mayumi Uchikawa¹, Keitaro Saiki², Yuiko Ishikawa³, Yumiko Tashiro¹, Yuki Yamanaka¹, Yukihiko Takahashi¹, Eri Kanabuchi¹, Naoto Hayashida⁴ (1Dept. Microbiol., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo, 2Dept. Biochemi., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo, 3Gen. Dent., Nippon Dent. Univ. Hosp., 4Dept. Hygiene., Nippon Dent. Univ. Sch. Life Dent. at Tokyo)

Streptococcus gordonii, an early oral biofilm colonizer, expresses adhesin Hsa/GspB, anchored to peptidoglycan via its LPXTG motif and showing sialic acid-dependent hemagglutinating (HA) activity. Hsa is the only HA factor of *S. gordonii* strain DL1 for human erythrocytes, whereas our clinical isolate *S. gordonii* strain NDU1118 shows not only GspB mediated but sialic acid-independent HA activities. This study aimed to identify the sialic acid-independent adhesins in NDU1118. We sequenced the entire genome of NDU1118, annotated the protein-coding sequences, selected LPXTG-containing proteins unique to NDU1118, and identified NDA_1151 and NDA_2061 as the candidates absent in DL1. RT-PCR confirmed their expression in NDU1118. Candidate genes were deleted individually, and HA activity against neuraminidase(sialidase)-treated erythrocytes was evaluated. Deletion of either gene abolished HA activity against neuraminidase-treated erythrocytes. These results indicate that the *NDA_1151* and *NDA_2061* genes encode novel sialic acid-independent adhesins and we designated them *ash1* and *ash2*, respectively.

P1-104/FL1-26

ヒト腸内常在細菌 *Mediterraneibacter gnavus* における *kdp* 遺伝子群による腸管定着制御機構の解明

○芦名 琉¹, 野村 暢彦^{2,3}, 尾花 望^{3,4}, 福田 真嗣^{3,4,5,6,7} (1筑波大院・理工情報生命・生命地球科学, 2筑波大・生命環境, 3筑波大・MICS, 4筑波大・医・TMRC, 5慶応大・先端生命研, 6神奈川県産技総研, 7順天堂大・医)

Functional analysis of the *kdp* gene cluster in gut colonization by *Mediterraneibacter gnavus*

○Ryu Ashina¹, Nobuhiko Nomura^{2,3}, Nozomu Obana^{3,4}, Shinji Fukuda^{3,4,5,6,7} (1Deg. Prog. In Life & Earth Sci., Grad. Sch. Sci. & Technol., Univ. Tsukuba, 2Fac. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, 3MICS, Univ. Tsukuba, 4TMRC, Inst. Med., Univ. Tsukuba, 5Inst. Adv. Biosci., Keio Univ., 6KISTEC, 7Inst. Med., Univ. Juntendo)

ヒト腸内常在細菌 *Mediterraneibacter gnavus* は炎症性腸疾患など様々な疾患と関連し、その菌量と炎症が正に相関することが報告されている。一方で、本菌の腸管定着機構については不明な点が多い。本研究では、*M. gnavus* の腸管定着に関連する遺伝子を同定するため、無菌マウス腸管に定着 (*in vivo*) および *in vitro* 培養時の *M. gnavus* のトランスクリプトームを比較した。その結果、*in vivo* では K⁺輸送体 KdpFABC と二成分制御系のセンサーキナーゼ KdpD1 をコードする *kdpFABCD1* オペロン、および近傍の *kdpD2-E* オペロンの発現が 10 倍以上高かった。本菌では KdpD が KdpD1 と KdpD2 に分断され、*kdpD2* がレスポンスレギュレーター *kdpE* とオペロンを形成する。多くの細菌種で *kdp* 発現は低 K⁺条件で誘導されるが、マウス便中の K⁺濃度は十分に高く、*in vivo* における *kdp* 発現誘導は、K⁺以外の腸管特有の環境因子に起因することが示唆された。また、腸管定着時の *kdp* 制御因子を解析するために、*kdpD1* および *kdpD2* 破壊株の遺伝子発現を比較した。その結果、両破壊株で *kdp* 発現が低下しており、腸管では KdpD1 と KdpD2 の両センサーが協調して環境因子を認識する可能性が考えられた。さらに、各破壊株の *in vivo* 競合試験の結果、*kdpD1*、*kdpD2*、*kdpE* の破壊株は競合定着能が著しく低下したが、*kdpA*、*kdpB* 破壊株は野生株と同程度の定着能を示した。このことより、本菌の腸管定着には、KdpFABC 輸送体ではなく、KdpD1/D2/E による下流遺伝子の制御が重要であると考えられた。*kdpD1* および *kdpD2* 破壊株の *in vivo* トランスクリプトーム解析により、共通して発現が低下する遺伝子群が同定され、これらが *M. gnavus* の腸管定着に寄与することが示唆された。

P1-105

腸内常在菌 *Mediterraneibacter gnavus* の遺伝子改変技術基盤の構築と莢膜多糖による腸管定着制御

○尾花 望^{1,2}, 中藤 学^{3,4}, 野村 暢彦^{2,5,6}, 福田 真嗣^{1,2,3,4,7} (¹筑波大・医, ²筑波大・MICS, ³順天堂大院・医・Gut-Link Lab, ⁴KISTEC, ⁵筑波大・生命環境, ⁶筑波大・高等研, ⁷慶應大・先端生命研)

Genetic toolkit reveals capsular polysaccharides as a colonization factor in *M. gnavus*

○Nozomu Obana^{1,2}, Gaku Nakato^{3,4}, Nobuhiko Nomura^{2,5,6}, Shinji Fukuda^{1,2,3,4,7} (¹Inst. Med., Univ. Tsukuba, ²MICS, Univ. Tsukuba, ³Gut-Link Lab, Grad. Sch. Med., Juntendo Univ, ⁴KISTEC, ⁵Inst. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ⁶TIAR, Univ. Tsukuba, ⁷Inst. Adv. Biosci., Keio Univ.)

Mediterraneibacter gnavus (旧称 *Ruminococcus gnavus*) はヒト腸内に共生する嫌気性菌であり、炎症性腸疾患 (IBD) を含む多様な疾患と関連し、活動期 IBD 患者では腸内での相対存在量が増加することが報告されている。しかし、本菌の腸管定着や炎症誘導に関わる因子の詳細は、遺伝子改変手法が確立されていないため、十分に解明されていない。そこで本研究では、シャトルベクター、誘導性プロモーター、蛍光タンパク質発現系、遺伝子破壊・欠失系を含む複数の遺伝子改変ツールを開発し、*M. gnavus* の腸管定着因子の同定を試みた。これらのツールを用いて、8 種のソルターゼ遺伝子のうち 6 種の変異株を作製し、莢膜多糖 (capsular polysaccharide, CPS) やスーパー抗原様タンパク質の細胞表層局在に関与するソルターゼを同定した。さらに、このソルターゼ遺伝子近傍に位置する新規 CPS 合成クラスターを明らかにし、CPS 産生が無菌マウス腸管での競合的定着に必須であること、また *M. gnavus* の炎症誘導活性と負に相関することを示した。加えて、CPS クラスター保有株は健康由来株で多く、IBD (クローン病) 患者由来株で少ない傾向が認められ、CPS 産生が炎症惹起性および病原因子として働く可能性が示唆された。本研究は、非モデル腸内細菌に対する遺伝子改変系の確立が、その定着機構や病原性の解明に有効であることを示している。

P1-106

ウシ腸管 C 型レクチンに結合するヨーネ菌の表面タンパク質の同定

○永田 礼子¹, 川治 聡子¹, 鈴木 定彦^{2,3}, 中島 千絵^{2,3} (¹農研機構・動物衛生研究部門, ²北大・ワクチン研究開発拠点, ³北大・人獣共通感染症国際共同研究所)

Identification of a MAP cell-surface protein that binds to bovine intestinal C-type lectin

○Reiko Nagata¹, Satoko Kawaji¹, Yasuhiko Suzuki^{2,3}, Chie Nakajima^{2,3} (¹NIAH, Naro, ²IVReD, Hokkaido Univ., ³IIZC, Hokkaido Univ.)

The intestinal C-type lectin, Reg3γ family is known as antimicrobial proteins that recognize carbohydrate patterns on pathogen surfaces and play an important role in innate immunity. Interestingly, recombinant bovine Reg3γ protein showed strong binding to mycobacteria, including *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), and significantly promoted bacterial growth when supplemented in mycobacterial cultures. These findings suggest that C-type lectins may contribute not only to host defense but also in promoting infection during mycobacterial infections. To elucidate the role of Reg3γ, we attempted to identify MAP surface proteins of that interact with bovine Reg3γ. An affinity-based pull-down assay was employed to isolate MAP surface proteins bound to recombinant Reg3γ, followed by LC-MS/MS analysis. As a result, Apa (alanine- and proline-rich antigenic) glycoprotein /ModD was identified as a candidate protein. Furthermore, we confirmed the interaction between recombinant Apa from MAP and Reg3γ. Additionally, polyclonal antibodies against Apa inhibited the binding of Apa to bovine Reg3γ in a concentration-dependent manner. In conclusion, bovine intestinal C-type lectin Reg3γ was shown to bind to the MAP surface protein Apa. Further studies are required to determine how this interaction influences the growth-promoting effect of Reg3γ on mycobacteria.

P1-107

腸管出血性大腸菌の腸管病原性における TusDCB の役割と機能解析

佐藤 百美佳, 富田 治芳, ○平川 秀忠 (群馬大・医・細菌)

Role and Analysis of TusDCB in the Enteropathogenicity of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*

Yumika Sato, Haruyoshi Tomita, ○Hidetada Hirakawa (Dept. Bacteriol., Sch. Med., Gunma Univ.)

tRNA の硫黄修飾は、正確なコドン認識と翻訳量の最適化に寄与しており、真核細胞においては、これらの修飾が細胞内恒常性や生理機能の維持に重要な役割を果たすことが示されている。一方で、病原性細菌を含む原核細胞における生理的役割については理解が進んでいない。大腸菌に保存される TusDCB は、特定の tRNA の硫黄修飾に関与している。私たちはこれまでに、尿路病原性大腸菌 (UPEC) において TusDCB が尿路感染時における UPEC のバイオフィーム形成や生存に必須であることを報告した。今回、本蛋白質が腸管感染時での病原性に関与するかを検証するため、腸管出血性大腸菌 (EHEC) における TusDCB の役割について解析を行った。親株と tusDCB 欠損株を比較したところ、3 型分泌装置 (T3SS) 構成遺伝子群の転写が低下し、T3SS 蛋白質 EspB の分泌量も減少した。これに伴い、T3SS 依存の溶血活性は低下した。Citrobacter rodentium を用いたマウス腸管感染モデルでは、親株感染群が高度の腸炎と致死性を示したのに対し、tusDCB 欠損株感染群では症状が著しく軽減し、全てのマウスが生存した。また欠損株は過酸化水素に高い感受性を示し、腸管内の環境ストレスへの抵抗性が低下していた。プロテオーム解析の結果、EspB に加え、インドール産生酵素 TnaA など複数の蛋白質の発現が低下していた。欠損株ではインドール産生能がほぼ消失し、インドールが関与するホスホマイシン耐性も低下した。以上より、TusDCB は T3SS 発現制御、ストレス耐性、インドールシグナル制御を通じて腸管での病原性と適応に重要な役割を果たすことが明らかとなった。TusDCB は UPEC と EHEC に共通する新規治療標的となる可能性が示唆された。

P1-108/WS8-5

Klebsiella 定着ノトバイオートマウスを用いた腸管定着機構の解明

○深町 はるか¹, 前野 慎太郎², 谷口 愛樹³, 後藤 恭宏⁴, 森崎 弘史¹, 岡橋 暢夫¹, 牧浦 知輝¹, 林 哲也³, 桑田 啓貴¹ (¹昭和医大・歯・口腔微生物, ²山口大・大研, ³九大院・医・細菌学, ⁴国立遺伝学研究所・先端ゲノミクス推進センター)

Elucidation of the Mechanisms Underlying *Klebsiella* Intestinal Colonization in Mono-Colonized Mice

○Haruka Fukamachi¹, Shintaro Maeno², Itsuki Taniguchi³, Yasuhiro Gotoh⁴, Hirobumi Morisaki¹, Nobuo Okahashi¹, Tomoki Makiura¹, Tetsuya Hayashi³, Hirotaka Kuwata¹ (¹Dept. Oral Microbiol. Immunol. Sch. Dent., Showa Med. Univ., ²Org. Res. Ini., Yamaguchi Univ., ³Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Sci., Kyushu Univ., ⁴Advanced Genomics Center. National Institute of Genetics)

Klebsiella 属細菌は口腔や腸管に広く常在し、腸内に定着した細菌がリザーバーとして感染症を引き起こすことが知られている。しかし、その定着に必要な細菌側因子については十分に解明されていない。本研究では、腸管定着に関する細菌側因子を明らかにするため、無菌マウスに *Klebsiella quasipneumoniae* ATCC 700603 を単一感染させたノトバイオートマウスを作製し、その腸管粘膜上の細菌の遺伝子発現プロファイルと、in vitro で嫌気培養した細菌の発現プロファイルを比較した。パスウェイ解析の結果、腸管内では Sulfur metabolism, Phenylalanine tyrosine and tryptophan biosynthesis などの遺伝子が発現上昇していた一方、Phosphotransferase system, Citrate cycle などの遺伝子発現が低下していた。これらの結果から、栄養制限のある腸管環境適応に関わる代謝経路の再編成が示唆された。さらに、*Klebsiella* 特異的な遺伝子の解析を行ったところ、線毛遺伝子の中で Ecp 線毛のみが腸管定着条件下で特異的に発現が上昇していた。ecp 線毛遺伝子は、腸管上皮細胞との共培養でも発現が上昇し、Ecp 線毛欠損株では、腸管上皮細胞への付着能が低下した。また、細菌の酸化ストレス応答における主要な制御因子である soxS 遺伝子も腸管において強く発現上昇していた。soxS 遺伝子欠損株と野生株をマウスに経口的に感染させ、腸管への定着能を比較した。その結果、野生株が経口的に優位となり、腸管定着能は soxS 遺伝子欠損株で有意に低下することが明らかになった。以上より、腸管環境への適応に関わる代謝経路の再編成と線毛発現・ストレス応答が *Klebsiella* 属細菌の持続的な腸管定着を規定する可能性が示唆された。

P1-109

ArcAB two-component system orchestrates pathogenicity in *Vibrio cholerae*

○Jant Cres Caigoy¹, 宏文 成谷², 島本 敏¹, やん 智群^{3,4}, 島本 整¹ (¹広島大・院・統合生命科学研究科, ²十文字学園女子大・人間生活学部食品開発学科, ³広島大院・生物圏科学研究科, ⁴丸善製薬株式会社)

○Jant Cres Caigoy¹, Nariya Hirofumi², Toshi Shimamoto¹, Zhiquan Yan^{3,4}, Tadashi Shimamoto¹ (¹Grad. Sch. Int. Sci. Life, Hiroshima Univ., ²Grad. Sch. Human Life Sci. Jumonji Univ., ³Grad. Sch. Biosph. Sci. Hiroshima Univ., ⁴Res. Cent. Maruzen Pharm. Co. Ltd)

Vibrio cholerae infection is a coordinated regulation of virulence factors, from mucus penetration, colonization, to cholera toxin production. These events occur across distinct oxygen conditions in our gut. Through isogenic *arcA* and *arcB* deletions, in vitro phenotypic assays, EMSA, and gene expression analyses, this study revealed that the ArcAB system orchestrates virulence expression in response to the gut's oxygen gradient. The ArcAB system supports *V. cholerae* aerobic growth and motility in mucin environment through positive regulation of the pyruvate dehydrogenase complex, which enables the conversion of pyruvate to acetyl-CoA to provide energy for motility. Upon reaching the epithelium, this system positively regulates biofilm formation by repressing the transcription of *hapR*, which encodes the HCD quorum-sensing regulator and repressor of biofilm formation. After successful colonization, ArcAB system also regulates cholera toxin production. The higher survival of mutant-infected silkworms in in vitro infection assays confirms the significant role of ArcAB in the pathogenicity of *V. cholerae*. This study establishes ArcAB system as global regulator that links oxygen availability to the sequential activation of *V. cholerae* virulence factors through enhancing motility, biofilm formation, and toxin production, thus highlighting its critical role in successful infection.

P1-110

魚類エドワジエラ症原因細菌の病原因子に対する培地中の NaCl 濃度の影響

○末澤 千草^{1,2}, 西岡 凌², 中川 準也², 佐々木 のはら², 比江島 欣慎³, 河東 康彦⁴, 奥田 潤^{1,2} (¹香川県立保健医療大・臨床検査, ²香川県立保健医療大院・臨床検査, ³香川県立保健医療大・看護, ⁴水産研究・教育機構・水産技術研)

Influence of the NaCl concentration in culture media on virulence factors of *E. piscicida*

○Chigusa Suezawa^{1,2}, Ryo Nishioka², Junya Nakagawa², Nohara Sasaki², Yoshimitsu Hiejima³, Yasuhiko Kawato⁴, Jun Okuda^{1,2} (¹Dept. Med. Tech., Kagawa Pref. Univ. Health Sci., ²Dept. Clin. Exam., Grad. Sch. Kagawa Pref. Univ. Health Sci., ³Dept. Nurs., Kagawa Pref. Univ. Health Sci., ⁴FRA FTI)

魚類病原細菌 *Edwardsiella piscicida* は腸内細菌科に属するグラム陰性桿菌であり、魚類エドワジエラ症の原因細菌である。本菌は主な病原因子として III 型分泌機構 (TTSS) を有し、本菌の TTSS については食菌抵抗性、上皮細胞内への侵入性、ゼブラフィッシュに対する病原性およびヒラメに対する病原性への関与が報告されている。また、TTSS 関連タンパク質の分泌に培地の pH や培養温度が影響を与えることが報告されている。一方、病原因子の付着性については、ヒト喉頭癌由来細胞 (HEp-2 細胞) への付着性や付着線毛の発現に培地の塩濃度が影響を与えることが報告されている。本研究では、*E. piscicida* の TTSS 関連タンパク質の分泌に対する培地の NaCl 濃度の影響、およびヒラメ上皮様細胞を用いた本菌の細胞付着性に対する培地の NaCl 濃度の影響についての検討をこれまでに行ってきた。TTSS 関連タンパク質の分泌および本菌の細胞付着性に培地の NaCl 濃度が影響を与えることが示唆されている。今回、HEp-2 細胞および各 NaCl 濃度 (0.5%, 1.0%, 2.0%, 3.0%) の培地を用い、本菌の細胞付着性への培地の NaCl 濃度の影響について検討を行った結果、既報と同様に HEp-2 細胞への付着性に培地の NaCl 濃度が影響を与える可能性が示唆された。

P1-111

LEE を保有しない腸管出血性大腸菌において鎖状接着表現型は新規の表面定着戦略となり得る

○小高 優人^{1,2}, 上村 直輝³, 岩瀬 忠行⁴, 李 謙一², 石嶋 希², 中根 大介³, 明田 幸宏², 伊豫田 淳² (¹都立大・理, ²感染研・細菌1, ³電通大・基盤理工, ⁴慈恵医大・総医セ)

Chain-like adhesion diversify surface colonization strategies in Shiga toxin-producing *E.coli*

○Yuto Kotaka^{1,2}, Naoki Uemura³, Tadayuki Iwase⁴, Ken-ichi Lee², Nozomi Ishijima², Daisuke Nakane³, Yukihiko Akeda², Sunao Iyoda² (¹Dept. Biol. Sci., Tokyo Metropolitan Univ., ²Dept. Bacteriol. 1, Natl. Inst. Infect. Dis., ³Dept. Eng. Sci., Univ. Electro-Commun., ⁴Res. Cent. Med. Sci., Jikei Univ.)

近年、国際的に LEE 遺伝子群を欠いた腸管出血性大腸菌 (EHEC) の分離が急増している。中でも、O91:H14 は最も分離の多い LEE 非保有 EHEC の血清型の 1 つであり、多くの分離株が菌体が鎖状に多細胞化しながら培養細胞に接着する表現型 (chain-like adherence pattern; CLAP) を示す。しかし、CLAP の形成過程やその分子メカニズムについては十分に解明されていない。本研究では、タイムラプス観察により 1 本の多細胞鎖は 1 細胞に由来することを明らかにし、多細胞鎖がガラス表面への接着性を高めることを明らかにした。マイクロ流路を用いて多細胞鎖に強い流れをかけると細胞同士の結合部位から剪断応力によって断片化し、下流へとクローンを拡散させることを見出した。次に、感染研の保有する EHEC ゲノムデータベースから EibG 様タンパク質を探索した。高い配列多様性が見出され、免疫グロブリン結合活性を欠く一方、CLAP 活性は保持している新規接着因子「chain-like adhesin (Cla)」を見出した。比較ゲノム解析や構造予測により Cla が Eib ファミリーとは進化的に分岐した系統であることが支持された。さらに、EibG の部位特異的変異導入による変異体の解析からは、鎖形成と IgG 結合活性が同一タンパク質上の異なる部位によって担われていることが示された。興味深いことに、マウスの感染モデルでは eibG 欠失によって致死性が低下することが示されている。以上から、CLAP は LEE 陰性 EHEC の新規定着戦略であり、多様な EibG 様因子はその病原性やリスク評価に重要であることが示唆される。

P1-112

自然免疫回避を担う *Porphyromonas gingivalis* Mfa 線毛ピリン Mfa1 と Mfa53 の構造的特徴

○柴田 敏史^{1,2}, 松波 秀行³, Matthias Wolf³, 竹川 宣宏⁴, 今田 勝巳⁴, 谷口 友梨⁵, 應原 一久⁵ (¹鳥取大・医・感染制御・細菌, ²鳥取大・鳥センター, ³Mol. Cryo-EM Unit, OIST, ⁴阪大・院理学・高分子, ⁵広島大・院医系・菌周病態学)

Distinct Motifs in Mfa1 and Mfa53 Pilins Underlie the Immune Evasion Strategy of *P. gingivalis*

○Satoshi Shibata^{1,2}, Hideyuki Matsunami³, Matthias Wolf³, Norihiro Takekawa⁴, Katsumi Imada⁴, Yuri Taniguchi⁵, Kazuhisa Ouhara⁵ (¹Div. Bacteriol., Dept. Microbiol. & Immunol., Fac. Med. Tottori Univ., ²AIDGH, Tottori Univ., ³Mol. Cryo-EM Unit, OIST, ⁴Dept. Macromol. Sci., Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., ⁵Dept. Periodontal Medicine, Grad. Sch. Biomed. & Health Sci., Hiroshima Univ.)

P. gingivalis, a major oral pathogen, possesses multiple type V pili, including Fim and Mfa pili. These pili function as virulence factors involved in adhesion to host tissue, biofilm formation, and modulation of host inflammatory responses. In this study, recombinant Mfa pilus stalk pilin Mfa1 or its subtype pilin Mfa53 was polymerized in vitro by treatment with RgpB protease purified from *P. gingivalis*. The structures of the polymerized pili were then determined by cryo-EM, and the monomeric structure of Mfa53 was solved by X-ray crystallography. Both Mfa1 and Mfa53 polymerize through a protease-mediated strand-exchange mechanism conserved in type V pili. We found that Mfa1 pili contain Ca²⁺ ions, whereas Mfa53 lacks a metal-binding motif and contains a β -turn- β motif. Mutation analyses showed that although these motifs are not essential for polymerization, mutant pili induced higher IL-6 production in cultured cells than wild-type pili, suggesting enhanced activation of host innate immunity. Because the Ca²⁺-binding region of Mfa1 overlaps with the Toll-like receptor recognition site, these characteristic motifs in Mfa1 and Mfa53 are likely adaptations enabling Mfa pili to evade host immune recognition. Elucidating the structure of functionally polymerized pili provides a valuable framework for developing therapeutics targeting pili assembly or adhesion.

P1-113

***F. nucleatum* 表層タンパク Fap2 及び CmpA は *A. actinomycetemcomitans* との共培養バイオフィーム形成を促進する**

○大貝 悠一, 松本 愛理, 中田 匡宣 (鹿児島大・医歯学総合・口腔微生物学)

Fap2 and CmpA enhance coculture biofilm formation between *F. nucleatum* and *A. actinomycetemcomitans*

○Yuichi Oogai, Airi Matsumoto, Masanobu Nakata (Dept. Oral Microbiol., Sch. Med. and Dent., Kagoshima Univ.)

Fusobacterium nucleatum (Fn) is a periodontal pathogen and is well known as a bridging organism in dental plaque due to its strong coaggregation properties. Previously, we demonstrated that Fn coaggregates with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) serotype b and d strains through interactions between autotransporter proteins of Fn and lipopolysaccharides of Aa. In this study, we investigated biofilm formation by Fn ATCC 23726 and its isogenic mutants lacking autotransporter proteins when cocultured with Aa.

In monoculture biofilm assays, Fn ATCC 23726 and Aa HK1651 (serotype b) did not form detectable biofilms on polystyrene plates after 24 h, whereas Aa IDH781 (serotype d) formed robust biofilms. In coculture biofilm assays, cocultures of Fn with either HK1651 or IDH781 produced significantly greater biofilm biomass compared with the respective monocultures. Notably, biofilm formation was significantly reduced when the *fap2* mutant was cocultured with HK1651 or when the *cmpA* mutant was cocultured with IDH781, compared with cocultures involving the wild-type strain.

These results suggest that autotransporter proteins Fap2 and CmpA of Fn play distinct roles in coculture biofilm development with Aa serotypes b and d.

(non-member corroborator: Yumika Tanaka)

P1-114

温度と栄養条件による黄色ブドウ球菌の病原性プロファイルの変動解析

○胡 祚, 坂本 悠理, 長島 史桜, 小野 久弥, 胡 東良 (北里大・獣医・人獣共通感染症)

Effects of Temperature and Nutritional Conditions on the Pathogenicity of *Staphylococcus aureus*

○Zuo Hu, Yuri Sakamoto, Mio Nagashima, Hisaya Ono, Dong-Liang Hu (Kitasato Univ. School. Vet. Med.)

黄色ブドウ球菌はヒトでは皮膚感染症, 心内膜炎, 院内感染など多様な感染症を引き起こし, 家畜では伝染性乳房炎, 浮腫性皮膚炎, 関節炎などの重要な病原細菌である。また, 本菌が食品中でエンテロトキシン (SE) を産生することで食中毒を引き起こすことも知られている。しかし, なぜ本菌がこれほど多様な宿主や環境で病原性を発揮できるのか, 生体内外の異なる温度や栄養環境における増殖動態や病原因子発現には未解明な点が多い。本研究では, BHI および NaCl, Glucose, Tryptone 添加環境において, 温度 (25°C と 37°C) が黄色ブドウ球菌の増殖, バイオフィーム形成, SEA・SEB 産生, 溶血活性に及ぼす影響を比較解析した。増殖は多くの条件で 37°C が優位であったが, Glucose 条件では培養 48 時間後に逆転し 25°C の方が高かった。バイオフィーム形成は BHI と Glucose 条件で 37°C が高く, NaCl と Tryptone 条件では温度間の有意差はなかった。SEA 産生は NaCl と Tryptone 条件で 37°C が高かったが, Glucose 条件では 25°C が上回った。SEB は全条件で 37°C が高産生であった。溶血活性も 37°C が強かった。これらの結果は, 本菌の病原性が温度と栄養環境により大きく制御され, 室温の食品環境と 37°C の宿主体内で異なる病原性プロファイルを示すことを示唆する。特に Glucose 条件での「室温下での増殖逆転」および「SEA の室温高産生」は食品保存時のリスク評価に重要であり, 37°C 体温で強まる溶血活性や SEB 高産生は生体内感染の病態形成に寄与すると考えられる。以上から, 本菌は環境変化に応じ病原性を巧みに調節し, 多彩な感染症と食中毒を引き起こすことが示唆された。

P1-115

***Candida albicans* による歯周病原細菌由来病原因子の発現増強と血清依存的放出機構**

○武井 啓^{1,2}, 安部 雅世¹, 天野 滋³, 坂上 宏³, 山本 信治², 猪俣 恵¹ (1明海大・歯・微生物, 2明海大・歯・口腔外科, 3明海大・歯・M-RIO)

Serum-Dependent Release of Periodontal Pathogen Virulence Factors Enhanced by *Candida albicans*

○Hiraku Takei^{1,2}, Masayo Abe¹, Amano Shigeru³, Hitoshi Sakagami³, Nobuharu Yamamoto², Megumi Inomata¹ (1Div. Microbiol. Immunol., Sch. Dent., Meikai Univ., 2Div. Oral Surg., Sch. Dent., Meikai Univ., 3Res. Inst. Odontol., Sch. Dent., Meikai Univ.)

我々は, ヒト血清存在下において, 菌糸形を呈した *Candida albicans* (*C.a.*) の培養上清が, 歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) のタンパク質分解酵素であるジンジパインの発現を, 菌体内で増加させるとともに菌体外への放出を促進することを明らかにしてきた。本研究では, ヒト血清非存在下においても同様の現象が生じるかを検討した。*C.a.* の上清は *P.g.* 菌体内のジンジパイン発現を増加させたが, 培養上清中にはジンジパインの増加は認められなかった。一方, *C.a.* 上清を作用させた *P.g.* 菌体にヒト血清を添加し, さらに培養すると, 培養上清中のジンジパイン発現が増加した。同様の傾向はウシ血清や非働化血清でも認められたため, イオン交換クロマトグラフィーにより血清成分の同定を進めた。以上の結果から, *C.a.* による *P.g.* ジンジパインの発現増加は血清非存在下でも生じるが, その細胞外放出には特定の血清成分の存在が重要であることが示唆された。

P1-116/WS8-1

新興性病原真菌 *Candida auris* の遺伝子破壊法の開発とそれを用いたヒト肝細胞に対する病原因子の特定

○橋本 和士, 和田 日菜子, Ni Anggareni, 陳 馨玥, 折原 芳波, 梶原 将 (東京科学大・生命理工・生命理工)

Construction of the gene knockout system for *Candida auris* and identification of the virulent factor

○Kazushi Hashimoto, Hinako Wada, Ni Anggareni, Xinyue Chen, Kanami Orihara, Susumu Kajiwara (Dept. Life Sci. & Tech., Sch. Life Sci. & Tech., Inst. Science Tokyo)

【目的】2009 年に同定された *Candida auris* は, 世界的な多剤耐性菌の出現や病院での集団感染が報告され対策が急務であるが, 基盤的研究は十分でない。そこで本菌種の生理的性質等の解明に向け, 簡易に遺伝子導入・破壊が可能な宿主・ベクター系を開発するとともに, 他のカンジダ菌種で病原因子とされる NADPH オキシダーゼ (NOX) 遺伝子の同定を試みた。

【方法】*C. auris* は薬剤耐性を有するため, 宿主・ベクター系のマーカーとして栄養要求性マーカーの *URA3* 遺伝子を用いた。エレクトロポレーション法で *C. auris* MYA5001 株の *URA3* ORF を除去し, *URA3* 欠失株 (*ura3* 株) を 5-フルオロオロチン酸で選出した。その後行った *URA3* DNA カセットを用いた *ura3* 株の遺伝子破壊の確認には, *LEU2* 遺伝子破壊によるロイシン要求性を利用した。一方, *C. auris* のヒト肝細胞への感染実験には HC 細胞を用いた。その解析には, CM-H₂DCF₂DP₂を用いた ROS 産生量測定と qPCR 法による遺伝子発現量測定を行った。

【結果】相同性組み換えを利用して *C. auris* の *ura3* 株を作出した。*ura3* 株はウリジン添加の合成培地でのみ増殖することが分かった。次に, *ura3* 株と *URA3* DNA カセットを用いて *LEU2* 遺伝子破壊株の作出に成功し, 栄養要求性を利用した宿主・ベクター系が構築できた。続いて感染実験では, 感染 16 時間後において ROS 産生量の増大と 1 つの NOX 遺伝子 *CJI96_0003397* の発現上昇が確認された。

【結論】*C. auris* の遺伝子導入・破壊を行うための高効率な宿主・ベクター系を構築した。さらに HC 細胞への感染時に *CJI96_0003397* の顕著な発現増加を確認した。現在, 構築した宿主・ベクター系を用い, *CJI96_0003397* 遺伝子欠失株の作製を試みている。

P1-117

レジオネラは複数の病原因子を用いて宿主因子 **Rab32** を操作し、直接ミトコンドリアと接触する

○生出 紘夢¹, 久堀 智子², 新崎 恒平¹ (¹東薬大・生命・感染制御, ²岐阜大・医・病原体制御)

***Legionella pneumophila* utilizes Rab32 to facilitate the association of vacuole with mitochondria**

○Hiromu Oide¹, Tomoko Kubori², Kohei Arasaki¹ (¹Sch. Life Sci., Tokyo Univ. Pharm and Life Sci., ²Dept. Microbiol., Sch. Med., Gifu Univ.)

Legionella pneumophila (*L. p.*) is an intracellular pathogen and causes severe pneumonia. After internalization into the host, *L. p.* creates *Legionella*-containing vacuole (LCV) and secretes bacterial proteins through its type IV secretion apparatus to modulate host functions such as membrane trafficking or organelle communications. Although it is known that LCV contacts with host mitochondria (mito), molecular machinery or physiological function of it has been obscured. Here, we show that host GTPase Rab32 which is localized in the endoplasmic reticulum (ER)-mito contact site and regulates mitochondrial morphology is recruited to the LCV. We also show that LCV-mito contact is abolished upon silencing of Rab32. In addition, silencing of Rab32 significantly impacts intracellular growth of *L.p.* Importantly, we demonstrated that bacterial proteins SdcA/SidC-mediated ubiquitination of Rab32 is required for recruitment of Rab32 to the LCV. Furthermore, we revealed that another bacterial protein RavR preferentially interacts with ubiquitinated Rab32 and its recruitment to the LCV is significantly reduced in the vacuole harboring *L.p.* strain lacking RavR, suggesting that *L.p.* modulates localization of Rab32 in a multi-bacterial proteins-linked manner. Currently, we are conducting detailed analysis of its molecular mechanisms.

P1-118/FL1-27

Salmonella Pathogenicity Island 1 発現抑制におけるリン酸アセチル転移酵素の寄与

○藤本 彩¹, 江口 佳奈², 高屋 明子^{2,3} (¹千葉大・薬・感染制御, ²千葉大・院薬・感染制御, ³千葉大・真菌セ)

Phosphotransacetylase in Environment-Dependent SPI1 Regulation

○Aya Fujimoto¹, Kana Eguchi², Akiko Takaya^{2,3} (¹Dep. Infect. Cont. Sci., Fac. Pharm. Sci., Chiba Univ., ²Dep. Infect. Cont. Sci., Grad. Sch. Pharm. Sci., Chiba Univ., ³MMRC, Chiba Univ.)

リジンアセチル化などの翻訳後修飾は、細菌の遺伝子発現制御に重要である。サルモネラのリジンアセチル化経路には、リン酸アセチル転移酵素 Pta およびアセチルキナーゼ AckA が調節するアセチルリン酸による非酵素的経路と、アセチル基転移酵素 Pat が触媒する酵素的経路がある。しかし、これらのリジンアセチル化経路がサルモネラの病原因子発現を制御する詳細な機構は明らかにされていない。本研究は、サルモネラの病原性遺伝子群である *Salmonella* Pathogenicity Island 1 (SPI1) の発現制御におけるリジンアセチル化の寄与を明らかにするため、*Salmonella* Typhimurium χ 3306 の Pta または Pat をコードする遺伝子欠損株を構築し、SPI1 量を野生株と比較した。培養には、SPI1 低発現条件と SPI1 高発現条件を用いた。その結果、SPI1 低発現条件において、Pta 欠損株の SPI1 産生および分泌量が野生株に比べて増加した。Pta 欠損株では、SPI1 発現制御の最上流に位置する転写活性化因子 HilD の産生量が顕著に増加したことから、HilD 下流の SPI1 遺伝子全体の発現が活性化されたことが示唆された。Pta と AckA を同時に欠損させた株では、Pta 欠損株と同程度の HilD 産生量を示したため、SPI1 の発現制御には Pta が寄与することが示唆された。また、Pat 欠損株における HilD 産生量は野生株と同等であった。一方、SPI1 高発現条件では、Pta 欠損株における HilD 産生量は野生株よりも減少していた。以上より、SPI1 低発現条件において、サルモネラは Pta によりアセチルリン酸量を制御し、HilD 量を負に調節することで SPI1 全体の発現を低下させることが示唆された。

P1-119/WS8-2

インフラマソームを介した炎症応答による細菌感染の重症化機序

○原 英樹, 松田 泰幸, 山内 肇 (旭川医大・医・感染症)

Exacerbation mechanisms of bacterial infection through inflammasome-mediated inflammatory responses

○Hideki Hara, Yasuyuki Matsuda, Hajime Yamauchi (Dept. Microbiol. Immunochem., Asahikawa Med. Univ.)

Infections with pathogenic microorganisms such as *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Acinetobacter baumannii* activate inflammasomes, key signaling platforms of the innate immune response. Upon sensing microbial components via intracellular pattern-recognition receptors, including NOD-like receptors (NLRs) and AIM2-like receptors (ALRs), the inflammasome adaptor ASC and pro-caspase-1 are recruited to assemble a multiprotein complex termed the “Inflammasome,” leading to caspase-1 activation. Active caspase-1 drives the secretion of the proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-18 and induces GSDMD-mediated pyroptotic cell death. Although infection with these pathogens is known to activate inflammasomes, the molecular mechanisms involved have remained poorly understood. Here, we demonstrate that bacterial toxins promote inflammasome responses and thereby exacerbate infection pathogenesis. We also show that Gram-positive and Gram-negative bacteria activate the inflammasome through distinct mechanisms. Together, these findings indicate that inflammasome activation is a critical determinant of infectious disease severity and suggest that a bacterium’s ability to activate the inflammasome could serve as an indicator of its virulence.

P1-120/WS8-3

肺炎球菌が保有するプロテアーゼの宿主細胞内における新規機能に関する解析

○栗石 早矢佳, 小川 道永, 明田 幸宏 (JIHS・国立感染研・細菌第一部)

Function analysis of pneumococcal protease in intrinsic hierarchical autophagy

○Sayaka Shizukuishi, Michinaga Ogawa, Yukihiro Akeda (Bacteriol. I, Nat. Inst. Infect. Dis., JIHS)

肺炎球菌は主にヒトの鼻咽頭に常在しており、小児や免疫力が低下した高齢者に敗血症や髄膜炎といった侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)を引き起こす。IPD 発症メカニズムの一つとして、肺炎球菌は鼻咽頭上皮細胞などの宿主細胞へ定着すると、宿主のエンドサイトーシス経路を利用して細胞内に侵入する。上皮細胞は自然免疫における一次バリアとして機能していることが知られているが、上皮細胞に侵入した肺炎球菌と宿主細胞との相互作用については不明な点が多く残されている。現在までに我々は、肺炎球菌を感染細胞において感染 1 時間後に一過性に非典型的な一重膜オートファジー(conjugation of Atg8s to single membranes (CASM))が誘導され、CASM が終息した後の感染 2 時間後からは殺菌性を有する典型的な二重膜からなる典型的なオートファジーであるゼノファジーが誘導され、菌は排除されることを報告している。今回、我々は肺炎球菌が保有するプロテアーゼが肺炎球菌特有の階層性オートファジー誘導の駆動に関与する可能性を検討し、興味深い知見を得たので報告する。

P1-121/FL1-28

線虫を用いた毒素原性大腸菌の病原因子と宿主応答解析

○山村 千夏¹, 松田 晏理¹, 谷本 佳彦^{1,2,3}, 野本 竜平⁴, 和田 崇之^{1,5}, 中台 枝里子^{1,2,3} (¹大公大院・生・食栄養・微生物, ²京大院・生命, ³京大・医 生研, ⁴神戸市・健科研, ⁵大阪公大・国際感染症研究センター)

Pathogenic factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* and host responses in *Caenorhabditis elegans*

○Chinatsu Yamamura¹, Anri Matsuda¹, Yoshihiko Tanimoto^{1,2,3}, Ryohei Nomoto⁴, Takayuki Wada^{1,5}, Eriko Nakadai^{1,2,3} (¹Dept. Microbiol. Grad. Sch. Hum. Life Ecol., Osaka Metro. Univ., ²Grad. Sch. Biostudies, Kyoto Univ., ³LiMe, Kyoto Univ., ⁴Kobe Inst. Heal., ⁵Osaka Intl. Res. Ctr. Infect. Dis., Osaka Metro. Univ.)

腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *Escherichia coli*: ETEC) は、先進国では海外旅行者下痢症、発展途上国では乳幼児下痢症の主な原因菌である。我々はこれまでに ETEC がモデル生物である線虫 *Caenorhabditis elegans* の生存期間を短縮することを報告してきた。本研究では、ETEC の臨床分離株である ETEC1 株を用いて、線虫に対する病原性に関わる分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。ETEC1 の保有する毒素遺伝子 *eltAB*, *estA*, *astA* の病原性への寄与を明らかにするため、各々の遺伝子破壊株 (ETEC1Δ*eltAB*, ETEC1Δ*estA*, ETEC1Δ*astA*) を作製し、線虫に与えた際の生存期間を評価した。ETEC1 野生型給餌群と比較して、ETEC1Δ*eltAB* 給餌群では生存期間が延長したが、ETEC1Δ*estA*, ETEC1Δ*astA* 給餌群では有意な差は見られなかった。この結果から、ETEC1 の線虫に対する病原性に、*eltAB* のコードする毒素 LT1 の関与が示唆された。ETEC の LT 産生がプロバイオティクスである *Lactacaseibacillus rhamnosus* (LR) との共培養によって抑制されることが報告されている。線虫に ETEC1+LR 混合給餌をしたところ生存期間は ETEC1 単独給餌群よりも延長し、標準餌である OP50 株給餌群と同等となった。この結果より、LR は ETEC1 の線虫に対する病原性を抑えることが示唆された。

P1-122/FL1-29

腸内放線菌代謝産物の同定と *Clostridioides difficile* 感染マウスにおける抑制効果

○松本 可南子¹, 島村 佳歩¹, 武見², 後藤 和義³, 木下 理恵³, 友信 奈保子³, 山本 健一³, 竹原 正也⁴, 塩見 慎也¹, 久保 美和¹, 和久田 光毅⁵, 阪口 政清³, 加藤 はる⁶, 大宮 直木⁵, 阪口 義彦¹ (¹徳島文理大・薬, ²山梨大・生命環境, ³岡山大院, ⁴順天堂大・薬, ⁵藤田医科大・先端光学, ⁶感染研・薬剤耐性セ)

Identification of intestinal actinomycete metabolites and suppressive effects on CDI mouse model

○Kanako Matsumoto¹, Kaho Shimamura¹, Akira Take Take², Kazuyoshi Gotoh³, Rie Kinoshita³, Nahoko Tomonobu³, Kenichi Yamamoto³, Masaya Takehara⁴, Shinya Shiomi¹, Miwa Kubo¹, Mitsutaka Wakuda⁵, Masakiyo Sakaguchi³, Haru Kato⁶, Naoki Ohmiya⁵, Yoshihiko Sakaguchi¹ (¹Fac. Pharm. Sci., Tokushima Bunri Univ., ²Facul. Lif. Environ. Sci., Univ. Yamanaishi, ³Grad. Sch., Okayama Univ., ⁴Fac. Pharm., Juntendo Univ., ⁵Adv. Endo., Fujita Heal. Univ. Sch. Med., ⁶Antimicro. Resist. Res. Cent., Nat. Instit. Infect. Dis.)

【背景と目的】我々は、再発性 *Clostridioides difficile* 感染症 (CDI) に対する治療法として糞便微生物移植療法 (FMT) を行い、その寛解に腸内放線菌が関与している可能性を見出した。本研究では、ヒト糞便から放線菌を分離し、その分離株の *C. difficile* に対する抗菌活性を評価した。また、活性代謝産物の同定および *in vivo* での評価を目的として、CDI モデルマウスの作製を行った。【方法】健康者糞便由来の腸内放線菌が生産する代謝産物について、ペーパーディスク法により病原菌 (*C. difficile* など) に対する抗菌活性を評価した。活性を示した抽出画分については、高速液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC/MS) により代謝産物を解析した。次に、C57BL/6 雄マウスに抗菌薬投与後、*C. difficile* を経口投与した。24 時間後に糞便中の *C. difficile* および毒素 (トキシン A, トキシン B) 遺伝子を PCR で検出し、腸組織の病理組織学的評価を行うことで、CDI 発症モデルマウスが作製できたことを確認した。【結果と考察】健康人糞便から 20 株の腸内放線菌を分離し、その中には *C. difficile* に対する抗菌活性を示す菌株が含まれていた。次に、*C. difficile* を経口投与したマウスには、糞便中に *C. difficile* および毒素遺伝子を確認した。また、腸組織の病理学的検査では、結腸上皮直下の結合組織における好中球浸潤およびアポトーシスが認められた。現在、作製した CDI 発症モデルマウスを用い、放線菌代謝産物の CDI に及ぼす影響について検討を進めている。

P1-123

黄色ブドウ球菌が産生する新型毒素 SE01 の解析

○佐藤 祐介¹, 久恒 順三², 小野 久弥³, 中根 明夫^{4,5}, 胡 東良³, 菅井 基行² (¹麻布大・獣・感染免疫, ²感染研・薬剤耐性研究センター, ³北里大・獣・人獣共通, ⁴弘医福大・保健・看護, ⁵弘大院・医・生体高分子健康科学)

Characterization of novel enterotoxin, SE01 produced by CA-MRSA

○Yusuke Sato^{o1}, Junzo Hisatsune², K. Hisaya Ono³, Akio Nakane^{4,5}, Dong-Liang Hu³, Motoyuki Sugai² (¹Infect. Cont. and Immun., Fac. Vet. Med., Azabu Univ., ²Antimicrob. Resist. Res. Cent, Nat. Inst. Infect. Dis., ³Zoonoses, Vet., Kitasato Univ., ⁴Dept. Nursing, Sch. Health Sci., Hirosaki Univ. Health & Welfare, ⁵Dept. Biomol. Hlth. Sci., Grad. Sch. Med., Hirosaki Univ.)

【背景】ブドウ球菌が産生する Staphylococcus enterotoxins (SEs) はスーパー抗原活性と嘔吐活性を併せ持つ毒素である。SEs および SE 様毒素はこれまで 30 種以上が報告されている多様性のある毒素である。これまでの研究で CA-MRSA 感染症により死亡した患者より分離された黄色ブドウ球菌より、新型の SE である SE01 を見出した。この研究では本新型毒素の性状解析を行った。【方法】大腸菌を用いて、SE01 を大量発現し、精製を行なった。このリコンビナント毒素について、物性として消化酵素に対する耐分解性、熱耐性を評価した。生物学的活性としてスーパー抗原活性を IL-2 産生と Mitogen 活性、嘔吐活性をジャコウネズミおよびコンモナーモセットを用いて評価した。【結果・考察】シグナル配列を除いた 23.3 kDa のリコンビナントタンパクを精製した。この毒素は代表的な SEs である SEA と同様の耐熱性および耐消化性を示し、処理 3 時間後でも残存していた。加えて、毒素濃度依存的な Mitogen 活性および IL-2 産生を示した。さらに 2 種の動物両方において、嘔吐活性を示した。以上のことから、SE01 は典型的な SEs の性状を示す毒素であることが明らかになった。

P1-124

抗うつ薬存在下での ADP-リボシル化毒素 Cholix 肝細胞死亢進におけるオートファジー制御機構の関与

○永原 妃業¹, 藤田 優生乃¹, 尾崎 和矢², 大谷 健人¹, 小川 道永³, 伊豫田 淳³, 八尋 錦之助¹ (¹京都薬科大・薬・微生物感染制御, ²大阪大・産業科学研, ³感染研・細菌第一)

Investigation of Autophagy-Related Pathways in Antidepressant-Enhanced Cell Death Induced by Cholix

○Hiyo Nagahara¹, Yukino Fujita¹, Kazuya Ozaki², Kento Ohtani¹, Michinaga Ogawa³, Sunao Iyoda³, Kinnosuke Yahiro¹ (¹Dept. Microbiol. Infection Control, Sch. Pharm., Kyoto Pharmaceutical Univ., ²Dept. SANKEN, Osaka Univ., ³Dept. Bacteriol. I, National Institution of Infectious Diseases)

【目的】コレラ菌が産生する ADP リボシル化毒素 Cholix は、宿主のタンパク質合成を阻害することで肝細胞に対して JNK 依存的細胞死を誘導する。抗うつ剤である Desipramine (DP) 存在下において Cholix の細胞致死活性が劇的に亢進することを見出した。そこで、Cholix/DP による細胞致死亢進メカニズム解明のため、細胞内代謝機構であるオートファジーなどが与える影響の解析を目的とした。【方法】DP 以外の抗うつ剤を共添加時の Cholix による細胞死亢進を評価した。さらに、オートファジー阻害剤 (Bafilomycin A1, LY294002, E64D/Pepstatin A) やオートファジー関連因子 Atg5 の欠損細胞を用いてウェスタンブロット法によりオートファジーマーカー (LC3B), アポトーシスマーカー (cPARP) を検出した。細胞生存率は、CCK-8 で測定し、オートファジー阻害条件下での JNK 関連遺伝子発現量を RT-qPCR によって評価した。【結果及び考察】いくつかの抗うつ薬は Cholix の細胞致死活性を著しく増強させた。抗うつ薬単独ではオートファジーを誘導が認められたが、Cholix 共存下では減少傾向を示した。今回検討したオートファジー阻害実験では、LY294002 共存下と Atg5 欠損細胞において Cholix/DP による細胞致死活性亢進が抑制されたことから、PI3-kinase を介した経路及び Atg5 が関与していることが示唆された。現在、JNK 依存性経路と Atg5 依存性経路がどのように細胞死に寄与するのか、その分子機構の解析を進めている。

P1-125

Vibrio vulnificus M2799 株の致死性毒素 MARTX 毒素の N 末端リピート領域の解析

○田崎 稜真¹, 森 ゆきな¹, 土屋 孝弘^{1,2}, 駒野 淳¹, 辻坊 裕¹, 田邊 知孝³, 舟橋 達也³, 宮本 勝城¹ (¹大阪医薬大・薬・感染制御, ²大阪医薬大・薬・薬学教育推進センター, ³松山大・薬・衛生化学)

The analysis of N-terminal repeat domain of MARTX toxin in *Vibrio vulnificus* M2799

○Ryoma Tasaki¹, Yukina Mori¹, Takahiro Tsuchiya^{1,2}, Jun Komano¹, Hiroshi Tsujibo¹, Tomotaka Tanabe³, Tatsuya Funahashi³, Katsushiro Miyamoto¹ (¹Dept. Microbiol. Infect. Cont., Osaka Med. Pharm. Univ., ²Ctr. Advance. Pharm. Educ., Osaka Med. Pharm. Univ., ³Dept. Hyg. Chem., Col. Pharm. Sci., Matsuyama Univ.)

【目的】*Vibrio vulnificus* は、汚染された魚介類の摂食や海水の創傷部曝露等を介して感染するグラム陰性桿菌である。基礎疾患を有するヒトが感染すると、数日のうちに敗血症に陥り死亡する。我々は本菌の臨床分離株が実験動物においても重篤な全身症状を示して死に至らしめることを明らかにした。ビブリオ属細菌の Multifunctional autoprocessing repeats-in-toxin (MARTX) 毒素は複数のドメインを有しており、本毒素が細胞内に侵入した後にシステインプロテアーゼドメインが各ドメインを自己切断して生じた機能的ドメインが細胞傷害に働いていると考えられているが、それらドメインの機能や本毒素の細胞内への侵入経路は明らかとなっていない。今回、N 末端リピート領域以外の構造遺伝子欠失株を作製し、細胞傷害活性試験を行った。【方法】臨床分離株 M2799 株を用いて MARTX 毒素の N 末端リピート領域以外の構造遺伝子欠失株を作製するために、欠失部位の上流域と下流域の塩基配列を pDM4 に挿入して組換えプラスミドを作製し、大腸菌 SM10λpir 株を形質転換した。得られた形質転換株を用いて M2799 株に接合伝達し、2 回相同組換えを行うことにより構造遺伝子欠失株を作製した。

【結果と考察】本菌の MARTX 毒素機能的ドメインを欠失させた株を作製した。得られた構造遺伝子欠失株の DNA 配列を解析し、インフレーションで目的構造遺伝子が欠失していることが確認された。現在、野生株と本欠失株との J774A (マウス単球株) 細胞に対する細胞傷害活性について比較検討している。

P1-126/FL1-30

腸炎ビブリオの病原性に関与する生体内ポリアミンの機能解明

○石田 快¹, 下畑 隆明², 高橋 章³, 中屋 隆明¹ (¹京府医・医・感染病態, ²福井県立大・海洋生物資源, ³徳大院・医歯薬学・予防環境栄養)

Functional Analysis of Biogenic Polyamines in the Pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus*

○Kai Ishida¹, Takaaki Shimohata², Akira Takahashi³, Takaaki Nakaya¹ (¹Dept. Infectious Diseases, Sch. Med, Kyoto Prefectural Univ. Med., ²Marine-Bio, Fukui Prefectural Univ., ³Dept. Prev Environ Nutr., Inst. Biomed Sci., Tokushima Univ.)

Vibrio parahaemolyticus is a seafood-borne pathogen that grows in high-salt environments. Previous studies suggested that *V. parahaemolyticus* senses environmental factors and modulates virulence. Polyamines, ubiquitous bioactive molecules present in natural and host settings, are potential regulators of pathogenicity, yet their roles in *Vibrio* species remain unclear. This study aimed to clarify polyamine-related mechanisms by examining how polyamine supplementation affects bacterial growth and host-cell cytotoxicity. RIMD2210633 was used as the wild type of *V. parahaemolyticus*. Putrescine, spermidine, spermine, or the putrescine synthesis inhibitor DFMO was added to HeLa supernatants at 0.01–1 mM for 24 h before a 4-h infection. Cytotoxicity was measured by LDH release, and virulence-gene expression was analyzed by RT-qPCR. Growth was assessed by adding 1 mM polyamines to LB or M9 medium and monitoring optical density every 2 h. Spermine (1 mM) significantly reduced host-cell cytotoxicity, and DFMO produced a similar effect. Polyamines altered expression of several virulence-associated genes. While polyamines did not change growth, DFMO increased turbidity in minimal medium. These results suggest that specific polyamines modulate host cytotoxicity during infection. Future work will focus on spermine to clarify polyamine-dependent mechanisms of virulence regulation.

P1-127

Vibrio vulnificus M2799 株の致死性毒素 MARTX 毒素の解析

○森 ゆきな¹, 田崎 稜真¹, 土屋 孝弘^{1,2}, 駒野 淳¹, 辻坊 裕¹, 田邊 知孝³, 舟橋 達也³, 宮本 勝城¹ (¹大阪医薬大・薬・感染制御, ²大阪医薬大・薬・薬学教育推進センター, ³松山大・薬・衛生化学)

The analysis of MARTX toxin in *Vibrio vulnificus* M2799

○Yukina Mori¹, Ryoma Tasaki¹, Takahiro Tsuchiya^{1,2}, Jun Komano¹, Hiroshi Tsujibo¹, Tomotaka Tanabe³, Tatsuya Funahashi³, Katsushiro Miyamoto¹ (¹Dept. Microbiol. Infect. Cont., Osaka Med. Pharm. Univ., ²Ctr. Advance. Pharm. Educ., Osaka Med. Pharm. Univ., ³Dept. Hyg. Chem., Col. Pharm. Sci., Matsuyama Univ.)

【目的】*Vibrio vulnificus* は、汚染された魚介類の摂食や海水の創傷部曝露等を介して感染するグラム陰性桿菌である。基礎疾患を有するヒトが感染すると、数日のうちに敗血症に陥り死亡する。我々は本菌の臨床分離株が実験動物においても重篤な全身症状を示して死に至らしめることを明らかにした。ビブリオ属細菌の Multifunctional autoprocessing repeats-in-toxin (MARTX) 毒素は複数のドメインを有しており、本毒素が細胞内に侵入した後にシステインプロテアーゼドメインが各ドメインを自己切断して生じた機能的ドメインが細胞傷害に働いていると考えられているが、それらドメインの機能や本毒素の細胞内への侵入経路は明らかとなっていない。今回、MARTX 毒素の遺伝子欠失株を作製し、細胞傷害活性試験を行った。

【方法】臨床分離株 M2799 株を用いて MARTX 毒素の遺伝子欠失株を作製するために、欠失部位の上流域と下流域の塩基配列を pDM4 に挿入して組換えプラスミドを作製し、大腸菌 SM10λpir 株を形質転換した。得られた形質転換株を用いて M2799 株に接合伝達し、2 回相同組換えを行うことにより遺伝子欠失株を作製した。

【結果と考察】本菌の MARTX 毒素の遺伝子欠失株を作製した。得られた構造遺伝子欠失株の DNA 配列を解析し、目的構造遺伝子が欠失していることが確認された。現在、野生株と本欠失株との J774A (マウス単球株) 細胞に対する細胞傷害活性について検討している。

P1-128

ヒト抗ボツリヌス F 型神経毒素中和抗体の開発

○幸田 知子, 宮崎 亜祐羽, 垂水 誠二, 片平 じゅん (大公大・獣)

Development of novel human monoclonal antibodies against botulinum neurotoxin type F

○Tomoko Kohda, Ayuha Miyazaki, Seiji Tarumizu, Jun Katahira (Grad. Sch. Vet. Sci., Osaka Metropolitan Univ.)

Clostridium botulinum neurotoxins (BoNTs), produced by *C. botulinum* and several related clostridial species, are among the most potent toxins known and cause botulism in humans and other vertebrates. BoNTs share a common domain architecture and comprise seven antigenically distinct serotypes (A-G), each further divided into subtypes (e.g., BoNT/A1 and /A2). Among the four serotypes associated with human botulism (A, B, E, and F), type F cases are relatively rare worldwide. Recently, the first human case of type F botulism in Japan, caused by a *Clostridium baratii* strain producing BoNT/F7, was identified. This case underscores the clinical relevance of BoNT/F, which has been relatively understudied, and highlights the need for improved countermeasures. Because the type F component of the equine-derived heptavalent botulism antitoxin is BoNT/F1, we sought to generate human monoclonal antibodies (mAbs) targeting this subtype using a genetically engineered human antibody-producing TC-mAb mouse. Three mAbs, designated 126, 134, and 146, specifically recognized the light chain of BoNT/F1. Although neutralization results were not fully reproducible, some assays showed delayed time to death or limited survival, indicating weak or partial neutralizing activity. These mAbs therefore represent promising leads for further optimization to improve their neutralizing potency against BoNT/F1.

P1-129

タイプ III エフェクターを介した緑膿菌による細胞障害機構

奥田 潤^{1,2}, 岡田 燦², 西岡 凌², 中川 準也², 比江島 欣慎³, 末澤 千草^{1,2}
(¹香川県立保健医療大・臨床検査, ²香川県立保健医療大院・臨床検査, ³香川県立保健医療大・看護)

The mechanism underlying the cytotoxicity of a type III effector in *P. aeruginosa* toward host cells

Jun Okuda^{1,2}, 〇Taiyo Okada², Ryo Nishioka², Junya Nakagawa², Yoshimitsu Hiejima³, Chigusa Suezawa^{1,2} (¹Dept. Med. Tech., Kagawa Pref. Univ. Health Sci., ²Dept. Clin. Exam., Grad. Sch. Kagawa Pref. Univ. Health Sci., ³Dept. Nurs., Kagawa Pref. Univ. Health Sci.)

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) は日和見感染症起因菌であり、感染力の低下した宿主において腸管経由内因性血液感染により、菌血症などを引き起こすことが知られている。緑膿菌は腸管上皮細胞層に付着した後、腸管上皮細胞層を透過する能力を有しており、この能力が本菌の腸管経由内因性血液感染を引き起こす要因の一つと考えられる。この緑膿菌による腸管経由内因性血液感染を防ぐことを目的に、これまでに本菌の腸管上皮細胞層透過活性に関与すると考えられる重要な病原因子の特定を進めてきた。宿主細胞内に注入されたタイプ III エフェクターは複雑な経路で細胞障害活性を示すが、その細胞障害活性が本菌の腸管上皮細胞層透過活性にどのくらい寄与しているのかについては未だ不明な点が多い。そこで先ず、タイプ III エフェクターを介した複雑な細胞障害メカニズムの未知の部分について解明することを目的に解析を行った。緑膿菌野生株から種々のタイプ III 分泌装置及びタイプ III エフェクター関連遺伝子変異株を作製し、それらを用いた宿主細胞への感染実験を行い、感染宿主細胞における細胞障害活性を指標に変異株間での比較解析を行った。その結果、これまでに報告されていないタイプ III エフェクターを介した細胞障害メカニズムの存在を示唆する実験結果が得られた。現在、得られた実験結果に着目し、この報告されていないタイプ III エフェクターを介した細胞障害メカニズムの解明に向けて解析を進めているところである。

P1-130

M. intracellulare 由来 D アミノ酸によるマクロファージおよび線維芽細胞の遺伝子発現の変化についての検討

〇多田 納豊¹, 宗像 達夫¹, 澤井 円香¹, 八木 秀樹², 佐野 千晶³, 富岡 治明⁴ (¹国際医療福祉大・福岡薬・薬, ²国際医療福祉大・薬・薬, ³島根大・医・地域医療支援, ⁴島根大・医)

Effects of *M. intracellulare* D-Amino Acids on Gene Expression in Macrophages and Lung Fibroblasts

〇Yutaka Tatano¹, Tatsuo Munakata¹, Madoka Sawai¹, Hideaki Yagi², Chiaki Sano³, Haruaki Tomioka⁴ (¹Dept. Pharm. Sci., Sch. Pharm. Fukuoka, IUHW, ²Dept. Pharm. Sci., Sch. Pharm., IUHW, ³Dept. Community. Med. Mgt., Fac. Med., Shimane Univ., ⁴Fac. Med., Shimane Univ.)

【目的】非結核性抗酸菌 (NTM) 感染症の予防および治療効果を上げるためには、NTM と宿主との相互作用についての解明が重要となる。しかしながら、病原菌が産生する D-アミノ酸 (D-AA) と宿主における感染防御機構との関連性は不明であるため、*Mycobacterium avium* complex (MAC) が産生する D-AA がマクロファージ (Mφ) の遺伝子発現にどのような影響を及ぼすのか明らかにすることを目的として種々の検討を行った。

【方法】*M. intracellulare* N260 株を供試した。各種 D-AA について 100 μM 存在下で 4 日間培養した RAW264.7 細胞および MRC-5 ヒト肺線維芽細胞から精製した RNA を用いて、定量的 PCR 法により遺伝子発現解析を行った。

【結果・考察】MAC での産生が認められた 5 種類の D-AA を添加し 4 日間培養した Mφ (RAW264.7 細胞) から RNA を抽出し qPCR 解析を行った。調べた炎症性サイトカインの発現には大きな変化は見られなかった。他方、M1 型 Mφ マーカーの iNOS は D-アミノ酸の添加により発現の増強が認められた。ただし、比較検討として L-アミノ酸を添加した場合にも同様に発現の増強が認められたため、D-AA に特異的な反応ではないと考えられた。一方、M2 型マーカーの CD206 においては D-AA の添加により僅かに発現が抑制される傾向が認められた。これらの結果から、Mφ は *M. intracellulare* 由来の D-AA の刺激により、僅かながら M1 型へ傾き得る可能性が示唆された。また、D-AA は肺線維芽細胞におけるコラーゲン遺伝子の発現を抑制する傾向が認められた。D-AA は MAC 感染時の肺における免疫応答の環境に部分的な影響を及ぼしている可能性が示唆された。

P1-131

Streptococcus didelphis の β 溶血毒素に依存的な病原性の検討

〇田村 昂大¹, 友安 俊文^{1,2}, 長宗 秀明¹, 田端 厚之^{1,2} (¹徳島大・生物資源産業・生物資源産業, ²徳島大・院社会産業理工学・生物資源産業)

Investigation for β-hemolysin-dependent pathogenicity of *Streptococcus didelphis*

〇Kota Tamura¹, Toshifumi Tomoyasu^{1,2}, Hideaki Nagamune¹, Atsushi Tabata^{1,2} (¹Dept. Biosci. & Bioindust., Fac. Biosci. & Bioindust., Tokushima Univ., ²Div. Biosci. & Bioindust., Grad. Sch. Tech., Indust. & Soc. Sci., Tokushima Univ.)

【目的】*Streptococcus didelphis* は、化膿性皮膚炎や肝線維症を伴うオボッサムから単離された β 溶血性のグラム陽性レンサ球菌で、化膿レンサ球菌群に属する。本菌のゲノム配列情報より、タンパク質性細胞溶解毒素であるコレステロール依存性細胞溶解毒素と、ペプチド性溶血毒素であるストレプトリジン S のコード遺伝子の保有が確認されている。しかしながら、これらの毒素に依存的な本菌の病原性については不明である。そこで本研究では、本菌が産生する溶血毒素に依存的な病原性を明らかにすることを目的として検討を行った。

【方法】*S. didelphis* の染色体上にコードされる 2 種の毒素遺伝子の欠失株を作製するために、温度感受性の大腸菌-レンサ球菌シャトルベクターを用いた。目的の形質転換用プラスミドを大腸菌で作製して精製後、エレクトロポレーションで *S. didelphis* に導入し、染色体上での相同組換えにより毒素コード遺伝子の欠失株を作製した。その後、溶血活性測定および細胞傷害性の検討を行い、溶血毒素に依存的な病原性について確認した。

【結果・考察】*S. didelphis* の培養上清は、ヒト赤血球に対して溶血性を示すと共に、ラット肝由来細胞株およびヒト肝芽腫由来細胞株に対する細胞傷害性も確認された。この溶血性や細胞傷害性は両毒素遺伝子欠失株では確認されず、いずれかの毒素のみを産生する毒素遺伝子単独欠失株での比較実験の結果より、本菌の溶血性や細胞傷害性にはコレステロール依存性細胞溶解毒素が大きく寄与している可能性が示唆された。

P1-132/FL1-31

緑膿菌由来細胞外小胞のマーカー分子を指標とした分離方法の構築

〇岡 真優子^{1,2}, 末永 琢環², 堀口 安彦³ (¹京都府大院・生命環境科学・食環境安全性学, ²京都府大・生命環境・食環境安全性学, ³大阪大・微研・分子細菌学)

Development of a marker-based isolation method for *P. aeruginosa* extracellular vesicles

〇Mayuko Oka^{1,2}, Takumi Suenaga², Yasuhiko Horiguchi³ (¹Food Hyg. and Environ. Health, Life and Env. Sci., Kyoto Pref. Univ., ²Food Hyg. and Environ. Fac. Life and Env. Sci. Kyoto Pref. Univ., ³Dept. Mol. Bacteriol., RIMD, Osaka Univ.)

我々は、マクロファージのケモカインを増大させる *Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌) の病原因子が細菌から放出される細胞外小胞 (EVs) であることを明らかにした (第 97 回日本細菌学会総会)。細菌の培養上清に含まれる EVs は、イオン交換クロマトグラフィー (IC) 法により分画された。この EVs を質量分析解析し、PhoA (アルカリフォスファターゼ; ALP) が EVs のマーカー分子として利用できる可能性を見いだした。細菌の EVs は、一般に 100,000 x g の沈殿物 (超遠心 EVs) として精製される。そこで、我々の精製した IC-EVs と超遠心 EVs の特徴を比較し、ALP 活性を利用した細菌 EVs の同定と新たな精製方法の確立を目指した。IC により分画した全 34 フラクシオンのうち、フラクシオン 23 および 24 はケモカイン (CCL2) 遺伝子を誘導したが、他のフラクシオンには誘導作用はなかった。また、p-ニトロフェニルリン酸を基質に用いた ALP 活性は、フラクシオン 22-25 に認められた。以上の結果から、IC-EVs はフラクシオン 22-25 に溶出されたと考えた。次に、超遠心 EVs を IC 法で分画し、IC 法による EVs の分画を検証した。超遠心 EVs のクロマトグラムは、フラクシオン 22-25 とフラクシオン 32-33 の二つの異なる EVs に分画された。超遠心 EVs のフラクシオン 22-25 は、ケモカイン遺伝子の誘導作用と高い ALP 活性を示したが、フラクシオン 32-33 はタンパク質ではなく核酸を含む画分であった。以上の結果から、IC 法により ALP 活性を持つ EVs と核酸を含む EVs に分離でき、IC 法は超遠心法では分離できなかった 2 つの EVs を分画できることが示唆された。

P1-133

Mechanistic Elucidation of Vacuolation Induced by Escherichia coli Derived Outer Membrane Vesicles

○Teresia Kimeu, 村瀬 一典, 野澤 敦子, 野澤 孝志, 中川 一路 (京大・医・微生物感染症)

○Teresia Kimeu, Kazunori Murase, Atsuko Minowa-Nozawa, Takashi Nozawa, Ichiro Nakagawa (Dept. Microbiol. Sch. Med., Kyoto Univ.)

Bacterial extracellular vesicles (BEVs) are nano-sized, membranous blebs released by bacteria. In Gram-negative bacteria, most BEVs form from the outer membrane, hence are termed outer membrane vesicles (OMVs). OMVs are known to deliver bacterial components into host cells and modulate diverse cellular processes. We previously showed that *E. coli*-derived OMVs (eOMVs) induce marked cytoplasmic vacuolation in HeLa cells. Vacuoles appear about 8 hours after exposure and progressively enlarge over 24 hours. eOMVs have been shown to inhibit autophagic flux by blocking autophagosome-lysosome fusion, but the mechanisms behind eOMV-induced vacuolation remain unclear. Our study investigated the origin and maturation of eOMV-induced vacuoles. Immunofluorescence revealed that the vacuoles were positive for early endosome marker EEA1 and late endosome/lysosome marker LAMP1, indicating endolysosomal involvement. The trans-Golgi network (TGN) marker TGN46 was recruited to the vacuoles, followed by a marked TGN dispersion without cis-Golgi disruption. Immunoblotting also showed aberrant lysosomal enzyme processing in eOMV-treated cells. Together, our findings suggest that eOMVs perturb endolysosomal trafficking and Golgi organization, causing defective lysosomal maturation and progressive vacuolation. They reveal a novel pathogenic strategy whereby OMVs subvert host intracellular trafficking.

P1-134/WS8-4

Suppression of osteoclast differentiation by K. pneumoniae-derived extracellular vesicles (KpEVs)

○津川 仁^{1,2}, 豊元 柊弥¹, 椿 翔吾¹, 酒井 大輔³, 今井 仁^{2,4} (¹東海大医・生体防御学・生物界間シグナル解析, ²東海大総医研・感染免疫機能部門, ³東海大医・整形外科学, ⁴東海大医・健康管理学)

○Hitoshi Tsugawa^{1,2}, Touya Toyomoto¹, Shogo Tsubaki¹, Daisuke Sakai³, Jin Imai^{2,4} (¹TranSiR, Div. Host Defense Mech., Tokai Univ., Sch. Med., ²The Inst. Med. Sci., Tokai Univ., ³Dep. Ortho. Sur., Tokai Univ., Sch. Med., ⁴Dep. Clin. Heal. Sci., Tokai Univ., Sch. Med.)

【目的】腸内細菌の *Klebsiella pneumoniae* は高齢者の肺炎や肝膿瘍の原因菌として知られる。我々は、*K. pneumoniae* が産生する菌体外膜小胞 (KpEVs) が血中を介して消化管から脊椎へ移行・集積することを見出した。本研究では、脊椎に集積した KpEVs の破骨細胞への影響を解析した。【方法】KpEVs は培養上清より超遠心分離法とショ糖密度勾配法により精製した。破骨細胞はマウス骨髓細胞 (BM) より RANKL 添加により初代培養細胞として分化誘導した。【結果】KpEVs 添加により BM から破骨細胞への分化は顕著に抑制された。また、KpEVs 存在下では破骨細胞の骨吸収活性が阻害された。KpEVs は破骨細胞の骨吸収に関わる蛋白質 MMP-9 及び Cathepsin K の発現を阻害した。これら蛋白質発現は RANKL と RANK の結合により誘導されるが、KpEVs は破骨細胞の RANK の発現を顕著に抑制した。KpEVs による RANK 発現抑制は、RANK の転写因子 MITF の mRNA 発現阻害に由来することが明らかになった。つまり、KpEVs は MITF の mRNA 発現抑制を介して BM の破骨細胞への分化と破骨細胞の骨吸収活性を阻害している。骨粗しょう症モデルマウスへ KpEVs を尾静脈投与すると、大腿骨の骨密度減少が促進し、KpEVs が誘導する破骨細胞の機能破綻が脊椎骨代謝疾患の発症要因又は増悪因子になっている可能性が示唆された。

P1-135

Streptococcus anginosus が産生する Streptolysin S による細胞内カルシウム流入依存的な炎症誘導メカニズム

○山森 優護¹, 友安 俊文², 長宗 秀明², 田端 厚之² (¹徳島大・院創成科学・創成科学, ²徳島大・院社会産業理工学・生物資源産業)

Intracellular Ca²⁺ influx-dependent inflammatory responses induced by SLS produced from *S. anginosus*

○Yugo Yamamori¹, Toshifumi Tomoyasu², Hideaki Nagamune², Atsushi Tabata² (¹Div. Sci. & Tech. for Innov., Grad. Sch. Sci. & Tech. for Innov., Tokushima Univ., ²Div. Biosci. & Bioindust., Grad. Sch. Tech., Indust. & Soc. Sci., Tokushima Univ.)

【背景】*Streptococcus anginosus* (SA) は、ヒト口腔内に常在する一方で、膿瘍形成や感染性心内膜炎などを日和見的に引き起こすことが知られている。SA には、A 群レンサ球菌の重要な病原因子である溶血毒素 Streptolysin S (SLS) を産生して β 溶血性を示す株が多数存在する。これまでに我々は、ヒト口腔上皮細胞において、SLS が細胞傷害性を示すとともに、細胞内への Ca²⁺ 流入を介して転写因子 Early Growth Response genes (EGRs) や炎症関連因子の発現を誘導することを明らかにした。本研究では、ヒト口腔上皮細胞株 HSC-2 を用いて、SA 由来 SLS による炎症誘導メカニズムを検討した。

【方法】*S. anginosus* NCTC 10713^T (基準株) と基準株由来 SLS コード遺伝子欠失株を被検菌とし、SLS の活性を保護するヒト血清アルブミンの存在下で培養した菌液から培養上清を調製した。調製した各培養上清を HSC-2 に作用させ、細胞応答を解析した。

【結果・考察】HSC-2 に被検菌培養上清を作用させた結果、SLS 依存的に ERK および p38 を含む MAPK のリン酸化が亢進した。炎症応答における Ca²⁺ と MAPK の関与を検討するため、経路特異的阻害剤を用いて解析したところ、EGRs や炎症性サイトカインの発現誘導にはカルモジュリンおよび MAPK が関与することが示唆された。また、キレート剤により細胞内 Ca²⁺ 流入を阻害すると、SLS 依存的な MAPK の活性化が抑制された。さらに、ERK 経路下流に位置する EGR1 をノックダウンすると、炎症性サイトカインの発現誘導が抑制された。以上の結果から、HSC-2 における SLS 依存的な炎症応答は、SLS による細胞膜傷害に伴う Ca²⁺ 流入を起点として、カルモジュリンや MAPK 経路を介して誘導されることが示された。

P1-136/FL1-32

無毒化ボツリヌス毒素による細胞内抗体送達を介した新規毒素中和戦略

○宮下 慎一郎, 長竹 穂香, 大野 倫太郎, 小島 英恵, 相根 義昌 (東京農大・生物産業・食香粧化学)

Mechanism of toxin neutralization by intracellular antibody delivery using detoxified BoNT

○Shin-Ichiro Miyashita, Honoka Nagatake, Rintaro Ohno, Hanae Kojima, Yoshimasa Sagane (Dept. Food, Aroma Cosmetic Chem., Fac. Bioindustry, Tokyo NODAI)

Clostridium botulinum が産生するボツリヌス神経毒素 (BoNT, A-G 型) は弛緩性筋肉麻痺を特徴とするボツリヌス中毒を引き起こす。本中毒の神経麻痺は数週間から数ヶ月間持続することが特徴である。抗毒素抗体による治療は、体内を循環している BoNT を標的としており、神経細胞に侵入した BoNT を中和することができない。我々は近年、無毒化ボツリヌス毒素 (catalytically inactive BoNT; ^cBoNT) を基盤とした細胞内抗体送達プラットフォームを開発した。A および B 型 BoNT によるボツリヌス中毒を発症したモデルマウスに、抗毒素抗体を連結した ^cBoNT を投与すると、神経麻痺持続期間が劇的に短縮された。本研究では、ヒトボツリヌス中毒を発症する E 型 BoNT に対する本プラットフォームの中和活性を検証することを目的とした。E 型 BoNT の酵素活性ドメインに対するラクダ科重鎖抗体 (VHH) を ^cBoNT の N 末端に連結した大腸菌組換えタンパク質 (VHH-^cBoNT) として設計した。E 型 BoNT をマウスの後肢筋肉に注射し局所麻痺を引き起こし、同じ筋肉に VHH-^cBoNT を投与することで中和活性を評価した。VHH-^cBoNT 投与群のマウスにおいて、神経麻痺期間の若干の短縮が確認された。しかし、マウスにおける E 型 BoNT の半減期が A 型 BoNT に比べて短いことから、中和活性の評価が困難であった。現在、ラットモデルを用いた VHH-^cBoNT の中和活性の評価および細胞内 BoNT 中和メカニズムの解明に取り組んでいる。

P1-137

Aeromonas hydrophila のメタロプロテアーゼ C 末端ドメインの機能解析

○高橋 栄造¹, 越智 定幸¹, 小島 康輝¹, 内布 涼也¹, 中村 龍威¹, 戸川 慶希¹, 小林 秀文², 清家 総史², 山中 浩泰², 岡本 敬の介³ (¹横浜薬大・薬,²広島国際大・薬, ³岡山大学・インド感染症共同研究センター)

Analysis of carboxy-terminal domain of metalloprotease produced by *Aeromonas hydrophila*

○Eizo Takahashi¹, Sadayuki Ochi¹, Koki Kojima¹, Ryoya Uchinuno¹, Tatsuyoshi Nakamura¹, Yoshiki Togawa¹, Hidetomo Kobayashi², Soshi Seike², Hiroyasu Yamanaka², Keinosuke Okamoto³ (¹Fac. Pharm. Sci., Yokohama Univ. Pharm., ²Fac. Pharm. Sci., Hiroshima Int. Univ., ³Colla. Res. Cent. Infect. Dis. Ind., Okayama Univ.)

エロモナス属細菌は様々な水環境に生息するグラム陰性桿菌である。*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria* は菌体外にセリンプロテアーゼ (ASP) とメタロプロテアーゼ (AMP) を産生する。AMP は 50kDa 体が菌体外に産生された後、C 末端ドメインが切除されて、安定な 33kDa 体に変換される。この切断される C 末端ドメインの機能は分かっていない。

そこで本研究では、C 末端ドメインの有無が AMP の産生や活性に影響を与えるのかどうかを明らかにするため、切断を受ける C 末端ドメインの N 末端アミノ酸残基にナンセンス変異を導入した変異遺伝子を作製し、それをゲノム中の野生型遺伝子と置換した変異導入株を作製した。*A. hydrophila* 453 株で作製した AMP C 末端ドメイン欠損株 (Δ C100) では、菌体外に 50kDa 体は認められないが、33kDa 体は産生された。その培養上清は、親株の培養上清と同程度のアゾカゼイン分解活性を示したのに対して、エラスチン分解性は低下する傾向が示された。この結果から、C 末端ドメインは AMP の産生やアゾカゼインに対する分解活性には関与していないが、不溶性、難分解性のエラスチンに対する分解活性には関与していると考えられた。次に、C 末端ドメイン中の異なるアミノ酸残基にナンセンス変異を導入した、C 末端ドメインを部分的に欠損した株を順次作製した。その結果、 Δ C30 株、 Δ C5 株、 Δ C1 株では、いずれも培養上清中に 33kDa 体は産生されていたが、C 末端ドメインの一部を残した分子サイズの AMP は検出されなかった。

P1-138

Prevotella intermedia の DNase はバイオフィームと NET 形成を阻害する

○哲翁 ふみ, 佐々木 祐子, 雪竹 英治, 内藤 真理子 (長崎大・院医歯薬・口腔病原微生物学)

DNase Activity of *Prevotella intermedia* Impairs Biofilm Development and NETs Formation

○Fumi Seto-Tetsuo, Yuko Sasaki, Hideharu Yukitake, Mariko Naito (Dept. Microbiol. Oral Infection, Infection Res, Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ.)

Chronic periodontitis is driven by biofilm formation. *Prevotella intermedia*, a gram-negative obligate anaerobe in periodontal pockets, participates in biofilm development and secretes strong DNA-degrading activity. Because extracellular DNA is a key structural component of biofilms, DNase activity may affect *P. intermedia* biofilm formation. Neutrophil extracellular traps (NETs), composed of DNA, histones, and antibacterial proteins, are important for host defense, but DNases of *P. intermedia* may disrupt them. Genetic studies of these DNases have been limited due to the lack of a manipulation system; however, we recently established one. In this study, we constructed mutants lacking two highly conserved DNase candidate genes, *nucA* (PIOMA14_I_0621) and *nucD* (PIOMA14_IL_0624). We analyzed their DNase activities, effects on biofilm formation, and interactions with NETs. Both proteins exhibited DNase activity, accounting for nearly all DNase activity of the bacterium. Mutant analyses showed that NucA and NucD cooperatively degrade biofilms and NETs. Neither gene alone was fully responsible; rather, their contributions varied depending on conditions. In conclusion, *nucA* and *nucD* encode DNases that act together to regulate biofilm formation and enable NET evasion in *P. intermedia*.

P1-139

標準化した感染モデルで評価した NHPH の菌種・株特異的病理性

○青木 沙恵, 松井 英則, 見理 剛, 林原 絵美子 (国立健康危機管理研究機構・感染研・細2)

Pathogenicity in Non-*H. pylori* *Helicobacter* Assessed Through Standardized Infection Models

○Sae Aoki, Hidenori Matsui, Tsuyoshi Kenri, Emiko Rimbara (Dept. Bacteriol. II, NIID, JIHS)

Among Gastric *Helicobacter* species, non-*H. pylori* *Helicobacter* (NHPH) species, such as *Helicobacter suis*, whose natural host is pigs, and *Helicobacter ailurogastricus*, whose natural host is cats, have been reported to infect the human stomach and cause diseases such as gastritis. However, because these bacteria are difficult to culture, no established method exists for evaluating differences in pathogenicity among species. In this study, to standardize infection conditions, viable cell numbers were estimated based on bacterial ATP levels, and infection experiments were conducted to compare pathogenicity among *Helicobacter* species. Bacterial ATP production was used as an indicator of viability and growth, and the condition was identified as optimal for infection assays. For *in vitro* pathogenicity assessment, AGS cells were infected and cytotoxicity was evaluated by LDH release. The results demonstrated species- and strain-specific differences in cytotoxicity, with some NHPH showing injury levels comparable to *H. pylori*. We are currently assessing the role of γ -glutamyl transpeptidase in pathogenicity by comparing wild-type *H. suis* with knockout strain. This study demonstrated that the pathogenicity of NHPH varies among species and strains, and that certain NHPH can exhibit levels of pathogenicity comparable to those of *H. pylori*.

P1-140

動物実験の代替として ELISA ベースの破傷風毒素評価システム

○志多田 千恵¹, 坂本 智代美^{1,3}, 久米田 幸介², 山折 晋², 高橋 元秀^{1,3} (¹熊本県立大・保健科学・生物毒素抗毒素, ²KMバイオロジクス (株), ³化血研)

ELISA-Based Tetanus Toxin Evaluation System as Alternative to Animal Testing

○Chie Shitada¹, Chiyomi Sakamoto^{1,3}, Kohsuke Kumeda², Susumu Yamaori², Motohide Takahashi^{1,3} (¹Toxin & Biol. Lab., Kumamoto Health Sci. Univ., ²KM Biologics Co., Ltd., ³KAKETSUKEN)

【背景・目的】破傷風毒素の評価は従来マウス LD₅₀ 試験に依存しており、多数の実験動物と長時間を要する。本研究では動物実験代替法として、環境・臨床分離 *Clostridium tetani* 10 株を用いてサンドイッチ ELISA 法およびイムノクロマト法を開発・検証した。【方法】破傷風トキシノイド免疫ウサギ血清から精製した抗体を捕捉抗体とし、HRP 標識マウスモノクローナル抗体を検出抗体として用いたサンドイッチ ELISA を構築した。バリデーションおよびクロストリジウム属他菌種毒素による交差反応性を評価した。同一抗体ペアを用いたイムノクロマト法を開発し、迅速スクリーニングへの適用性を検討した。【結果・考察】ELISA は定量下限 2.3 ng/mL (73.2 LD₅₀/mL 相当)、直線性 ($R^2=0.999$)、精度 (CV<10%)、特異性 (交差反応性<5%) を達成した。全 10 分離株の ELISA 相対力価と最小致死量 (MLD) 観察値の相関解析では、強い正の相関 ($r=0.981$, $p<0.01$, $R^2=0.963$) を認め、免疫学的測定による生物活性予測の有効性が実証された。代表 3 株の ELISA 測定により約 500 倍濃度範囲の毒素産生能の多様性を確認した。4PL 法・平行線定量法間で優れた一致性 ($r=0.998$) を示した。イムノクロマト法は 15 分以内に全分離株を検出し、測定範囲 2.3-45.6 ng/mL で多様な毒素産生能の評価が可能となった。本測定系は動物実験の信頼性ある代替法として、臨床診断と環境評価への対応を可能とし、3R 原則の実践に貢献する。現在、臨床株 8 株を追加した検証試験を実施予定しており、臨床応用に向けたさらなるデータ蓄積を進めている。

P1-141/FL1-33

ボツリヌス C および D 型に見られた HA-33 の経口毒性強化型変異に関する解析

○小島 英恵, 宮下 慎一郎, 大野 倫太郎, 佐藤 美咲, 相根 義昌 (東京農大・生物産業・食香粧化学)

Characterization of Oral Toxicity-Enhancing HA-33 Variants in Botulinum Toxin Serotypes C and D

○Hanae Kojima, Shin-Ichiro Miyashita, Rintaro Ohno, Misaki Sato, Yoshimasa Sagane (Dept. Food Aroma Cosmetic Chem., Fac. Bioindustry, Tokyo NODAI)

ボツリヌス神経毒素は単独では消化管内で不安定であるが、自然界では無毒タンパク質群と会合して毒素複合体 (progenitor toxin complex; PTC) を形成することで安定化し、腸管からの吸収効率が高まることが知られている。PTC を構成するタンパク質の一つである HA-33 は、腸管上皮表面の糖鎖を認識し、複合体の経口毒性を規定する重要な因子と考えられている。我々は、C 型および D 型ボツリヌス菌の HA-33 に、従来株とは異なるアミノ酸変異を有する系統が存在することを見出し、その代表例である C 型菌 Yoichi 株 (C-Yoichi) について解析を進めてきた。本株由来の HA-33 はアシアロ糖鎖を認識する非典型的な糖結合特性を示し、形成される PTC の経口毒性は従来株と比較して約 90 倍に達する。一方、C-Yoichi 由来 HA-33 は、アミノ酸配列から推定される分子量と比べて SDS-PAGE 上での移動度が低いことが報告されており、翻訳後修飾によるアミノ酸欠失の可能性が示唆されていた。本研究では、C-Yoichi HA-33 を組換えタンパク質として調製し、その分子量特性を詳細に解析した。その結果、組換え体 HA-33 は Native タンパク質と同様に SDS-PAGE 上で移動度の低下を示したが、MALDI-TOF/MS による分子量解析から、翻訳後修飾に伴うアミノ酸欠失は生じていないことが明らかとなった。本研究では、さらに同様の変異が見られた D 型菌由来 PTC についても解析中である。

P1-142/FL1-34

Botulinolysin 2 の毒性発現メカニズムの解明

○大野 倫太郎, 宮下 慎一郎, 小島 英恵, 相根 義昌 (東京農大・生物産業・食香粧化学)

Elucidation of the cytotoxic mechanism of Botulinolysin 2

○Rintaro Ohno, Shin-Ichiro Miyashita, Hanae Kojima, Yoshimasa Sagane (Dept. Food Aroma Cosmetic Chem., Fac. Bioindustry, Tokyo NODAI)

コレステロール依存性細胞溶解毒素 (CDC) は、赤血球や培養細胞の膜に孔を形成して毒性を示す。ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) の一部は、CDC に属する Botulinolysin (BLY) を産生する。当研究室では C および D 型菌さらにその近縁種にのみ 2 種類の遺伝子 *bly1* と *bly2* が存在することを報告した。2 つの BLY の毒性を検証したところ、BLY1 が高い細胞溶解活性を示したのに対し、BLY2 は培養細胞に対して活性を示さなかった。本研究では、BLY2 がなぜ、培養細胞に対して毒性を示さないのかについて検証することを目的とした。ヒト子宮頸癌由来 HeLa 細胞を用い、LDH 試験により細胞傷害性を定量的に評価した。溶媒として、細胞培養液 (10% ウシ胎児血清および抗生物質を含む DMEM) と、血清やタンパク質を含まないハンクス平衡塩溶液 (HBSS) を用いた。HeLa 細胞に組換え BLY2 タンパク質を暴露したところ、BLY2 は細胞培養液中では活性を示さなかったが、HBSS 中においては濃度依存的に細胞溶解活性を示した。このことから、BLY2 は失活しているのではなく、培地中の成分によって活性が阻害されていることが明らかとなった。本研究により、BLY2 は周囲の環境に応じて活性が制御される CDC であることが示唆された。今後は、阻害要因を特定するとともに、ボツリヌス菌が 2 種類の BLY を産生しているのか検証したい。

P1-143

志賀毒素産生性大腸菌毒素 SubAB の宿主因子を介した病原性の分子基盤

○津々木 博康¹, 張 田力², 八尋 錦之助³, 赤池 孝章⁴, 澤 智裕⁵ (¹熊大・院生命科学・微生物検査, ²秋田大・感染統括制御・疫学・分子病態研究センター, ³京都薬科大・微生物・感染制御, ⁴東北大・院医・レドックス分子医学, ⁵熊大・院生命科学・微生物)

Molecular basis of host factor-mediated pathogenicity of SubAB from Shiga toxin-producing *E. coli*

○Hiroyasu Tsutsuki¹, Tianli Zhang², Kinnosuke Yahiro³, Takaaki Akaike⁴, Tomohiro Sawa⁵ (¹Dept. Clin. Microbiol., Grad. Sch. Med. Sci., Kumamoto Univ., ²Cent. Integr. Cont. Epidemiol. Mol. Pathophysiol. Infect. Dis., Akita Univ., ³Dept. Microbiol. Infect. Cont. Sci, Kyoto Pharm. Univ., ⁴Dept. Redox Mol. Med., Tohoku Univ. Grad. Sch. Med., ⁵Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med. Sci.)

【目的】志賀毒素産生性大腸菌由来毒素 Subtilase cytotoxin (SubAB) は、宿主の小胞体 (ER) タンパク質 BiP を切断し、ER ストレスを誘導する。我々はこれまで、SubAB による ER ストレスを介した細胞毒性や自然免疫抑制作用について解析し、その知見を報告してきた。細菌毒素が宿主因子を介して病原性を発現するという報告はあるが、SubAB におけるその詳細は不明であった。本研究では、宿主タンパク質および酸化窒素 (NO) を介したレドックス調節が SubAB の病原性に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。【方法】HeLa 細胞に NO ドナー存在下で SubAB を処理し、SubAB の病原性の指標として BiP の切断を評価した。さらに、SubAB の病原性に関与する宿主タンパク質、特に NO の標的候補となる分子を探索し、そのノックアウト (KO) 細胞および組換え酵素を作製した。【結果】NO は SubAB の病原性を抑制した。NO の標的として宿主タンパク質 Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) を見出した。GSTP1 KO 細胞や組換え酵素を用いた結果、野生型細胞では NO により SubAB の病原性が抑制されたのに対し、GSTP1 KO 細胞では NO による阻害が消失した。さらに NO は野生型 GSTP1 組換え酵素の活性を阻害したが、48 番目のシステインをセリンに置換した変異体では、NO による阻害が減弱した。【結論】SubAB は宿主タンパク質 GSTP1 を介して病原性を発現することが示された。また、NO が GSTP1 の活性阻害を介して SubAB の病原性を抑制することが示唆された。さらに、GSTP1 の 48 番目のシステイン残基が NO の主要な標的であることが分かった。現在、SubAB の病原性発現に関与する宿主因子およびレドックス調節機構について、さらに詳細な解析を進めている。

P1-144

結核菌 Sulfide: quinone oxidoreductase の機能解析

○松尾 祐一¹, 志波 智生², 岸川 淳一², 伊豫田 健次², 中井 宇響², 太田 明晃², 澤 智裕³, 豊元 格弥⁴, 北 潔⁵, 福岡 健 (ダニエル^{5,6,7} (¹大分大・医・環境予防医学, ²京都工芸繊維大・工学科学・応用生物, ³熊本大・医・微生物, ⁴東海大・医・生体防御, ⁵長崎大院・熱帯医学グローバルヘルス研究科, ⁶長崎大・熱帯医学研究所・シオノギグローバル感染症連携部門・分子感染ダイナミックス分野, ⁷長崎大・熱帯医研究所・感染生化学分野)

Functional analysis of sulfide: quinone oxidoreductase in *Mycobacterium tuberculosis*

○Yuichi Matsuo¹, Tomoo Shiba², Jun-ichi Kishikawa², Kenji Iyota², Uta Nakai², Akina Ota², Tomohiro Sawa³, Touya Toyomoto⁴, Kiyoshi Kita⁵, Daniel Ken Inaoka^{5,6,7} (¹Dept. Environmental and Preventive Medicine, Fac. Med., Oita Univ., ²Dept. Applied Biol., Grad. Sch. Sci. Tec., Kyoto Inst. Technology, ³Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med., Kumamoto Univ., ⁴Dept. Host Def., Sch. Med., Tokai Univ., ⁵Sch. Tropical Med. and Global Health, Nagasaki Univ., ⁶Dept. Molecular Infection Dynamics, Inst. Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki Univ., ⁷Dept. Host-Defense Biochem., Inst. Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki Univ.)

近年、結核菌の硫黄代謝と宿主適応との関連性について注目されている。硫化水素を基質とする酵素として sulfide: quinone oxidoreductase (SQOR) が知られる。SQOR は補欠分子属である flavin adenine dinucleotide (FAD) を介して、硫化水素の還元力をキノンへと渡すとともに、0 価の硫黄原子であるサルフェン硫黄を硫黄受容体へと伝達する。つまり、SQOR は硫化水素の除去と、エネルギー代謝における電子伝達の役割を果たしている。*Mycobacterium* 属の中で、SQOR 遺伝子は結核菌とウシ型結核菌に保存されており、その他の環境中に分布する *Mycobacterium* 属の細菌には保存されていない。そして、結核菌 SQOR は低栄養環境、酸性 pH 環境により誘導されることから、SQOR は宿主適応に必要な遺伝子と考えられる。我々は、結核菌 SQOR を発現した *Mycobacterium smegmatis* は、酸化ストレス耐性となることを見出し、この耐性機構を明らかにするために結核菌 SQOR の機能解析に取り組んだ。本研究では、2.0 オングストロームの分解能で組換え結核菌 SQOR の結晶構造を決定した。結核菌 SQOR の活性中心にある FAD の近傍に 160 番目と 338 番目の 2 つのシステインが位置していた。そして、結核菌 SQOR と基質である硫化水素および Ubiquinone-1 との複合体結晶では、160 番目と 338 番目のシステインが複数の硫黄原子により結合していた。また、質量分析による硫黄生成物の解析では、SQOR は抗酸化作用をもつ超硫黄分子である H₂S₂ および H₂S₃ を硫黄生成物として産生することが分かった。現在、SQOR 欠損株の性状解析を進めており、結核菌 SQOR の酵素反応機構と生理的役割について考察する。

P1-145/FL1-35

Campylobacter jejuni 病原性へのコハク酸代謝の影響

○牧本 真奈^{1,2}, 下畑 隆明^{1,2}, 福島 志帆¹, 山中 咲季¹, 上増 喬¹, 馬渡 一論¹, 高橋 章¹ (1徳島大院・医師薬学研究部・予防環境栄養学分野, 2福井県立大・海洋生物資源学部)

The effect of succinate metabolism on *Campylobacter jejuni* virulence

○Mana Makimoto^{1,2}, Takaaki Shimohata^{1,2}, Shiho Fukushima¹, Saki Yamanaka¹, Takashi Uebanso¹, Kazuaki Mawatari¹, Akira Takahashi¹ (1Dept. Prevent. Environ. Nutr., Inst. Biomed. Sci., Tokushima Univ. Grad. Sch., 2Marine Bio., Fukui Prefect Univ.)

Background: *Campylobacter jejuni* Cj is a cause of gastrointestinal foodborne disease in humans. Cj has a unique metabolism, suggesting that the composition of intestinal nutrients is closely associated with Cj virulence. However, the relationship between Cj metabolism and virulence is unclear. To reveal this relationship during Cj infection, we identified critical metabolites and investigated their contribution to Cj virulence in an in vitro model. **Method:** The Cj culture supernatant was analyzed by Capillary electrophoresis mass spectrometry (CE-MS). The effect of the metabolite on the Cj infection was estimated by a capillary assay and a gentamycin protection assay. **Results & Discussion:** CE-MS analysis revealed a reduction in amino acids and an increase in succinate in the culture supernatant of Cj. Succinate secretion in the culture medium depended on aspartate and glutamate utilization. During infection, Cj succinate metabolism was upregulated, and the host provided succinate. Cj exhibited stronger chemotaxis toward succinate than toward amino acids. Furthermore, succinate stimulation increased the number of bacteria that adhered to and invaded host cells, as well as the expression of virulence genes. Our results suggest that Cj produces succinate and modulates its own virulence by utilizing amino acids.

P1-146/WS8-6

パラチフス C 菌のマウスにおける慢性感染機構の探索

○高山 智史¹, 森田 昌知², T Hoan Pham¹, 児玉 年央¹, 日吉 大貴¹ (1長崎大・熱研・細菌, 2感染研・細菌第1)

Gaining a mechanistic insight into chronic infection by *S. Paratyphi C* in mice

○Satoshi Takayama¹, Masatomo Morita², T Hoan Pham¹, Toshio Kodama¹, Hirotaka Hiyoshi¹ (1Dept. Bacteriol., Ins. Trop. Med., Nagasaki Univ., 2Dept. Bacteriol. I, Natl. Inst. Infect. Dis.)

The strict human specificity of *Salmonella enterica* serovar (S.) Typhi has limited our understanding of the mechanisms underlying chronic infection in typhoid fever, largely due to the absence of appropriate pathogenicity analyses using a valid animal model. *S. Paratyphi C* ATCC13428 strain was found to demonstrate chronic infection in C57BL/6 mice, recapitulating key features of typhoid fever. Comparative analysis employing four *S. Paratyphi C* strains and one *S. Typhimurium* strain, the chronic infection accompanied by a gradual reduction in body weight followed by recovery was unique to *S. Paratyphi C* ATCC13428 strain. This strain triggered aberrant pyroptotic cell death in murine macrophage-like RAW264.7 cells in a type III secretion system 1-dependent manner and exhibited heightened sensitivity to hydrogen peroxide. Pangenome analysis identified a single missense mutation in RpoS, a stress-responsive sigma factor, in the ATCC13428 genome. Building on these observations and previous reports describing the frequent occurrence of RpoS mutations in clinical isolates of *S. Typhi*, the involvement of the RpoS status in establishing chronic infection will be discussed by phenotyping the *S. Paratyphi C* Δ rpoS.

P1-147

Campylobacter jejuni の病原性におけるシデロフォアを介した鉄獲得の役割

○白石 志帆, 河合 高生 (大安研・細菌課)

Role of Siderophore-Mediated Iron Acquisition in the Pathogenesis of *Campylobacter jejuni*

○Shiho Shiraishi, Takao Kawai (Div. Microbiol., Bacteriol. Sect., OIPH)

Background: *Campylobacter jejuni* (Cj) is a resident intestinal flora of chickens but causes food-borne outbreaks. The modulation of pathogenicity between different hosts is caused by changes in the environment surrounding bacteria. In this study, we evaluated the effects of siderophores, which are iron chelators secreted by microorganisms, as one of the environmental factors that may affect the pathogenicity of Cj.

Methods: NCTC11168 (WT) and Δ cfrA lacking siderophores uptake gene were used to evaluate the effect of siderophores on the Cj infection processes in a human intestinal cell line, Caco-2 cells. In addition, Cj and human commensal microbiome cocktail (HCMC) were inoculated to mice in order to evaluate the effect of commensal bacteria on Cj infection.

Results & Discussion: Pre-exposure to siderophores significantly increased the number of intracellular viable bacteria in WT compared with Δ cfrA in Caco-2 cells. Furthermore, administration of Cj to mice receiving a HCMC significantly increased the number of colonizing bacteria in the colon and cecal contents in WT than in Δ cfrA. The elevation of mRNA expression of pro-inflammatory cytokine *mCCL-2* was observed in spleen and colon samples. These results suggest that iron acquisition via siderophores might be involved in the pathogenesis of Cj.

P1-148

Salmonella Gallinarum の鶏腸粘膜上皮からの侵入機序の解析

○相川 知宏, 篠崎 七海, 山田 学, 鈴木 正太郎, ナヒッド ラーマン, 岡村 雅史 (帯広畜産大・獣医)

Analysis of the invasion mechanism of *Salmonella Gallinarum* in chicken intestinal epithelium

○Chihiro Aikawa, Nanami Shinozaki, Manabu Yamada, Shotaro Suzuki, Rahman Nahid, Masashi Okamura (Dept. Vet. Med., Obihiro Univ. Agri. Vet. Med.)

【背景と目的】*Salmonella enterica* serovar Gallinarum biovar Gallinarum (SG)は、鶏の致死的な全身性感染症である家禽チフスの原因菌である。サルモネラは一般的に、腸粘膜上皮から宿主体内に侵入することが知られるが、感染鶏におけるSGの詳細な侵入経路は明らかでない。本研究では、SG感染鶏の回腸と盲腸を超微形態学的ならびに免疫組織学的に解析し、SGの腸粘膜からの侵入機序を明らかにした。【材料と方法】SG 287/91株を14日齢のボリスブラウン10羽に 10^8 CFU/羽で経口接種し、接種2、5日後に各5羽から回腸および盲腸を採材した。腸管組織を4%パラホルムアルデヒドで固定後、HE染色、サルモネラO9抗原を用いた免疫染色、超微形態学的検索を実施した。【結果】免疫染色の結果、O9抗原陽性菌は盲腸扁桃の粘膜固有層で顕著に観察され、回腸では通常絨毛よりパイエル板の絨毛の粘膜固有層で顕著だった。超微形態学的解析により、盲腸扁桃において多数のSGが太く不規則な微絨毛を持つM細胞を傷害し、粘膜固有層に直接侵入する様子が確認された。また、周囲の粘膜上皮細胞は傷害を受けていないが、M細胞のみに傷害がみられる様子や、その他粘膜上皮細胞においてはSGが微絨毛に傷害を与えて付着する様子、さらには細胞質内の拡張した空胞内に存在する様子も観察された。腸粘膜に侵入したSGの一部はマクロファージに取り込まれていたが、SGによりマクロファージが傷害される様子もみられた。【考察】SGは感染鶏の回腸パイエル板や盲腸扁桃に分布し、M細胞および腸上皮を直接傷害することで粘膜に侵入するほか、粘膜上皮細胞の細胞質内に取り込まれるなど、複数の侵入経路を有することが確認された。

P1-149/FL1-36

Rgg2/3 クォーラムセンシング系による GAS 細胞内感染動態の制御

○Min Wu, 野澤 孝志, 中川 一路 (京大・院医・微生物感染症)

The Rgg2/3 Quorum-Sensing System Regulates GAS Intracellular Infection Dynamics

○Min Wu, Takashi Nozawa, Ichiro Nakagawa (Dept. Microbiol, Grad Sch Med., Kyoto Univ.)

Quorum sensing enables bacteria to coordinate population-wide behaviors in response to cell density. The Rgg2/3 system in Group A Streptococcus (GAS) is a peptide-based quorum-sensing system that regulates virulence. While transcriptional regulation by Rgg2/3 is well-characterized, its role in intracellular infection remains unclear. Using systematic knockout analysis, we examined Rgg2/3 function during host cell infection. Individual gene deletions produced opposing effects on invasion, with Δ rgg2 reducing invasion while Δ rgg3 enhanced it, consistent with their functions as transcriptional activator and repressor, respectively. In contrast, the double knockout exhibited reduced adhesion, impaired invasion, and minimal intracellular survival. Notably, mutant bacteria displayed dispersed morphology without aggregates. Although expression of streptolysin O (SLO), a secreted toxin critical for invasion, was normal in culture, intracellular SLO signals were markedly reduced, suggesting impaired secretion or delivery. Furthermore, recruitment of the autophagy markers LC3 and LAMP1 to bacteria was reduced, indicating altered host-pathogen interactions. Together, these results establish Rgg2/3 as a key regulator of intracellular infection, controlling bacterial aggregation, virulence factor secretion, and host autophagy responses.

P1-150/FL1-37

野兎病菌感染における宿主 DNAJC14 の役割

仲村 岳真¹, 〇清水 隆², 渡邊 健太³, 宇田 晶彦⁴, 度会 雅久³ (¹東京大・工・応用化学, ²山口大・獣・One Welfare研究センター, ³山口大・獣・公衆衛生, ⁴感染研・獣医科学)

The role of host DNAJC14 in Francisella tularensis infection

Takemasa Nakamura¹, 〇Takashi Shimizu², Kenta Watanabe³, Akihiko Uda⁴, Masahisa Watarai³ (¹Dept. Appl. Chem., Grad. Sch. Engr., Univ. Tokyo, ²Ctr. One Welf., Jnt. Fac. Vet. Med., Yamaguchi Univ., ³Lab. Vet. Pub. Hlth., Jnt. Fac. Vet. Med., Yamaguchi Univ., ⁴Dept. Vet. Sci., NIID)

Francisella tularensis is the causative agent of tularemia. Although the virulence factors of *F. tularensis* have been well studied, the host factors involved in the infection remain largely unknown. In this study, we focused on the host factor DNAJC14 and investigated its role in the pathogenicity of *Francisella* using the surrogate bacterium *F. novicida*. During *F. novicida* infection, DNAJC14 knock down (KD) cells exhibited enhanced cytotoxicity and increased intracellular bacteria. RNA-seq analysis revealed the activation of pathways related to the proteasome and interferons in *F. novicida* infected DNAJC14 KD cells, suggesting the relationship between DNAJC14 and endoplasmic reticulum (ER) stress. Since DNAJC14 is an ER-resident HSP40 family member and could potentially interact with HSP70 family proteins, GRP78, an ER stress-related HSP 70 chaperon was investigated. DNAJC14 KD cells showed a constitutive decrease in GRP78 expression. Moreover, *F. novicida* infection decreased GRP78 expression in a T6SS-dependent manner. The reduction of GRP78 expression was reversed by treatment with a ubiquitin-proteasome inhibitor MG132. These results suggest that DNAJC14 is a crucial host factor that controls the intracellular proliferation of *F. novicida* by suppressing the ubiquitin-proteasome-mediated degradation of GRP78, thereby inhibiting the induction of ER stress during infection.

P1-151

牛腸管外病原性大腸菌における in vitro 血清抵抗性評価法の確立

○古屋 裕崇¹, 桃木 杏奈¹, 新井 暢夫¹, 玉村 雪乃¹, 岩田 剛敏¹, 楠本 正博^{1,2} (¹農研機構・動衛研, ²大阪公立大院・獣医)

Development of an in vitro method for evaluating serum resistance of ExPEC isolated from cattle

○Hirotaka Furuya¹, Anna Momoki¹, Nobuo Arai¹, Yukino Tamamura¹, Taketoshi Iwata¹, Masahiro Kusumoto^{1,2} (¹Natl. Inst. Anim. Health, NARO, ²Grad. Sch. Vet. Sci., Osaka Metro. Univ.)

【背景と目的】腸管外病原性大腸菌 (ExPEC) は、新生子牛で発生する敗血症や髄膜炎の主要な起因菌である。牛 ExPEC 症例では、全身諸臓器から ExPEC が分離されることから、本菌が血液侵入後に菌血症を経て全身に拡散し、敗血症を呈すると考えられる。一方、血中では血清中の補体による殺菌作用が知られており、敗血症起因菌は血清補体に対する抵抗性を有すると推測される。そこで本研究では、牛において血清抵抗性 ExPEC を迅速に同定するため、in vitro 血清抵抗性評価法の確立を目的とした。【材料と方法】野外症例由来の ExPEC 株を用い、牛血清中での増殖能を評価した。培養菌液を牛血清中で3時間培養後、寒天培地に塗抹し、生菌数 (CFU/mL) を測定した。補体の関与を確認するため、非働化血清でも同様の試験を実施した。血清抵抗性の定量評価として、培養開始時の生菌数に対する培養後の生菌数の比率を算出し、血清抵抗性指数 (Serum Resistance Index : SRI) とした。血清抵抗性の経時変化を観察するため、SRI は培養1時間および3時間の時点で算出した。【結果と考察】確立した評価法により、未処理血清中で増殖する株 (SRI > 1) と減少する株 (SRI < 1) が確認された。未処理血清中で減少した株も非働化血清中では増殖したことから、これらの株は血清補体による殺菌を受けたと考えられる。また、一部の株では血清抵抗性が経時的に変化し、1時間時点で SRI < 1 かつ3時間時点で SRI > 1 であった。本評価法は、in vitro における血清抵抗性 ExPEC の同定に有用であると考えられる。

P1-152

休眠誘導タンパク質 MDP1 と結合タンパク質の共発現組換え抗酸菌の増殖解析

中村 可琳¹, 阿部 透², 西山 晃史¹, Amina Shaban¹, 尾関 百合子¹, 吉田 豊¹, 〇松本 壮吉¹ (¹新潟大・医・細菌学, ²山形大・農・バイオサイエンス)

Growth of recombinant mycobacteria co-expressing MDP1 and an MDP1-binding protein

Karin Nakamura¹, Tohru Abe², Akihito Nishiyama¹, Amina Shaban¹, Yuriko Ozeki¹, Yutaka Yoshida¹, 〇Sohkichi Matsumoto¹ (¹Dept. Bacteriology, Sch. Med., Niigata Univ., ²Bio-Science Course, Fac. Agric., Yamagata Univ.)

Tuberculosis (TB) remains a major infectious disease, and about one quarter of the world's population is estimated to carry asymptomatic infection. Mycobacterium tuberculosis reversibly shifts between an active, replicating state and a dormant, non-replicating state; this plasticity contributes to prolonged therapy. In dormancy (latent infection), drug tolerance increases, further extending treatment. MDP1 (Mycobacterial DNA-binding Protein 1) is implicated in mycobacterial dormancy. It is highly expressed from stationary to dormant phases, binds and compacts chromosomal DNA, represses transcription, suppresses growth, and promotes entry into dormancy. MDP1 also binds proteins. We analyzed binding affinity between MDP1 and M. tuberculosis proteins, identified MDP1-binding proteins, and found that protein X binds MDP1 more strongly than DNA. We therefore tested whether co-expressing MDP1 and an MDP1-binding protein alters mycobacterial growth. Using the mycobacteria-E. coli shuttle vector pSOami (acetamide-inducible), we constructed plasmids to overexpress MDP1 and an MDP1-binding protein from a single promoter. We prepared three plasmids: empty vector, MDP1 alone, and MDP1 plus binding protein. Growth was assessed by OD600 and CFU. Co-expression enhanced growth inhibition compared with MDP1 alone.

P1-153

9 型分泌装置は *Prevotella intermedia* の生存率を増加させる

○米澤 伊織, 岡野 徳壽, 鈴木 敏彦 (科学大・院医歯・細菌感染)

The type IX secretion system increases the survival rate of *Prevotella intermedia*

○Iori Yonezawa, Tokuju Okano, Toshihiko Suzuki (Dept. Bacterial Infection, Sch. Med and Dent., IST)

Periodontitis is a chronic inflammatory disease affecting the oral tissue, caused by subgingival bacterial biofilms; *Prevotella intermedia* (*P. i*). It is also recognized as a risk factor or trigger for autoimmune diseases. The type IX secretion system (T9SS) has recently been discovered as a protein secretion mechanism unique to the Bacteroidetes phylum. This system has been suggested to be involved in the transport of diverse virulence factors across the outer membrane in some periodontopathogens. However, the physiological function of the T9SS of *P. i* against immune cells is poorly understood. In this study, we investigated the role of T9SS in the survival of mouse bone marrow-derived macrophages and found that T9SS deletion mutants had lower survival rates than the wild-type strain under the same conditions. This data suggests that the T9SS of *P. i* functions to help the bacteria escape immune cell degradation. We investigated whether *P. i* suppresses the activation of inflammatory cytokines, and the addition of a protease inhibitor or deletion of T9SS restores inflammatory cytokine activation. We also showed that red complex species, *Porphyromonas gingivalis* (*P. g*), exhibit increased survival rates due to proteases produced by *P. i*. Therefore, we demonstrated that *P. i* can suppress inflammatory cytokines, not *P. g*, but *P. i*, and that *P. i* further enhances the survival rate.

P1-154

TraDIS 解析による *Edwardsiella tarda* の生体内栄養獲得機構の解明山崎 浩平¹, 山口 拓也¹, 横山 雄一¹, 外崎 佑果¹, Klara Kursanbaeva^{1,2}, 元岡 大祐³, 明田 幸宏⁴, ○柏本 孝茂¹ (¹北里大・獣医公衆衛生学, ²キルギス獣医学研究所, ³大阪大・微生物病研究所・感染症メタゲノム研究分野, ⁴国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所・細菌第一部)Nutrient Acquisition Drives *Edwardsiella tarda* Pathogenesis in Necrotizing Soft Tissue InfectionKohei Yamazaki¹, Takuya Yamaguchi¹, Yuichi Yokoyama¹, Yuka Tonosaki¹, Klara Kursanbaeva^{1,2}, Daisuke Motooka³, Yukihiko Akeda⁴, ○Takashi Kashimoto¹ (¹Lab. Veterinary Public Health, Kitasato Univ., ²Kyrgyz Res. Inst. Vet. Sci. named after A. Duisheev, ³Dept. Infect. Metagenomics, RIMD, Osaka Univ., ⁴Dept. Bact., NIID, Japan Inst. Health Security)

壊死性軟部組織感染症 (NSTI) は多様な細菌によって引き起こされる急性かつ致死的な疾患である。これまで毒素や分泌系といった古典的な病原因子の研究が進められてきた一方で、宿主体内の栄養制限環境における細菌の代謝的適応が病原性に果たす役割は十分に解明されていない。本研究では、NSTI の原因菌の一つである *Edwardsiella tarda* をモデルに、マウス皮下感染モデルとトランスポゾン挿入部位解析 (TraDIS) 法を用いて、生体内での生存に必須な遺伝子を網羅的に同定した。その結果、鉄・亜鉛の獲得 (fetB, zupT), ビタミン B6 および B12 の生合成 (pdxK, cobA), ポリアミン代謝 (speB) など、計 41 の遺伝子が感染中に著しく減少していた。最少培地を用いた機能解析では、ビタミン B6 やプトレシンの添加により増殖促進が認められ、これらの栄養素が栄養制限下における菌の生存能に寄与することが確認された。本研究は、*E. tarda* の病原性が古典的な病原因子のみならず、栄養獲得や代謝適応によって支えられていることを示し、栄養獲得機構を標的とした新たな感染制御戦略の基盤となる知見を提供する。

P1-155

Rop 依存的な RpoS 産生抑制は腸管出血性大腸菌の一酸化窒素耐性を増強する

○清水 健¹, 鈴木 真¹, 濱端 崇² (¹千葉大・医・病原細菌, ²国立国際医療研究センター研・感染症制御・細菌感染)

Rop-mediated suppression of RpoS production increases resistance to NO in EHEC

○Takeshi Shimizu¹, Shin Suzuki¹, Takeshi Hamabata² (¹Dept. Mol. Infect., Sch. Med, Chiba Univ., ²Dept. Infect. Dise., NCGM)

We identified the RNA-binding protein Rop, encoded on the pOSAK1 plasmid of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), as a novel factor that enhances resistance to nitric oxide (NO), although it has previously been characterized as a regulator of plasmid copy number. The Rop-induced increase in NO resistance was markedly reduced in several small non-coding RNA (sRNA)-deficient EHEC mutants. Among these sRNAs, DsrA, ArcZ, and RprA directly regulate the translation of *rpoS*, suggesting that Rop modulates *rpoS* expression through sRNA-mediated pathways. To investigate this mechanism, we constructed sRNA-deficient mutants carrying an additional deletion of the 5' untranslated region (5' UTR) of *rpoS*, which is required for sRNA-dependent translational regulation. In this double mutant, the Rop-dependent increase in NO resistance was restored, indicating that this phenotype is mediated through interactions between sRNAs and the *rpoS* 5' UTR. Furthermore, Rop repressed *rpoS* translation and promoted *rpoS* mRNA degradation, effects that likely reduce RpoS levels and thereby enhance NO resistance. Finally, an *hfq*-deficient EHEC mutant showed no Rop-dependent increase in NO resistance, demonstrating that Hfq is essential for Rop-mediated NO resistance.

P1-156/FL1-38

YaiX の大量発現は大腸菌の病原性を増強し、多剤耐性をもたらす

○本宮 絹華¹, 石川 一也¹, 小崎 智己¹, 三好 伸一^{2,3}, 古田 和幸¹, 垣内 力¹ (¹岡山大・院医歯薬・分子生物, ²岡山大・院医歯薬・環境生物薬学, ³岡山大・腸健康科学研究センター)YaiX overexpression increases *Escherichia coli* virulence and promotes multidrug resistance○Kinuka Hongu¹, Kazuya Ishikawa¹, Tomoki Kosaki¹, Shin-Ichi Miyoshi^{2,3}, Kazuyuki Furuta¹, Chikara Kaito¹ (¹Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., ²Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Sch. Pharm. Sci., Okayama Univ., ³Res. Cent. Intest. Health Sci., Okayama Univ.)

【目的】薬剤耐性と高病原性を併せ持つ細菌が世界各地で増加しており、薬剤耐性と病原性の分子基盤の理解が求められている。本研究では、カイコ感染モデルを用いて、大量発現によりカイコ内で大腸菌の生存優位性をもたらす遺伝子を探索し、病原性と抗菌物質耐性への影響を解析した。【方法】大腸菌 W3110 株の全 ORF 大量発現株ライブラリー (ASKA ライブラリー) を 1 プレート (約 96 株) ごとに培養・混合し、カイコに注射した。感染死したカイコの体液から大腸菌株を分離し、カイコ体内での生存・増殖能の高い株を同定した。【結果】空ベクター導入株 (EV 株) に比べて、カイコ体内での高い生存・増殖能を示す株として、機能未知タンパク質 YaiX の大量発現株を見出した。YaiX 大量発現株は、EV 株に比べて、カイコ殺傷活性が上昇した。また、YaiX 大量発現株は、過酸化水素、陽イオン性界面活性剤、β-ラクタム系抗生物質、アミノグリコシド系抗生物質など、多種類の抗菌物質に対して耐性を示した。RNAseq により、YaiX 大量発現株において、ポリンや抗転写終結に関連する遺伝子の発現変動が見出された。GFP 融合型 YaiX を発現させて細胞内局在を解析した結果、YaiX は細菌細胞の極に凝集体様の集積として観察された。【考察】大腸菌において YaiX の大量発現が様々な遺伝子の発現変化を引き起こし、多剤耐性と病原性増強を導くことが示唆された。今後は、YaiX の凝集体形成に着目し、遺伝子発現や表現型との関連性について解析を進めていきたい。

P1-157

Helicobacter cinaedi の動脈硬化症促進における CAIP のマクロファージ感染時に果たす役割の検証

○三宅 正紀^{1,2}, 青島 桜子², 三宅 天地人², 遠藤 優花¹, 松本 将武¹ (¹奥羽大・薬・微生物, ²静岡県大・薬・免疫微生物)

Study of the role of the *H. cinaedi* CAIP during macrophage infection in promoting atherosclerosis

○Masaki Miyake^{1,2}, Sakurako Aoshima², Amon Miyake², Yuka Endo¹, Shobu Matsumoto¹ (¹Dept. Microbiol., Sch. Pharm. Sci., Ohu Univ., ²Lab. Microbiol. Immunol., Sch. Pharm. Sci., Univ. Shizuoka)

Helicobacter cinaedi (*Hc*) は、菌血症や蜂窩織炎などを引き起こす一方、マクロファージ (Mφ) に感染し、泡沫化を誘導することで、アテローム性動脈硬化症の促進因子となることが知られている。その原因菌体因子候補とされている CAIP (Cinaedi Atherosclerosis Inflammatory Protein) を Mφ に作用させると、ATP-binding cassette transporters G1 (ABCG1) 発現低下、LDL 受容体発現増加の他、炎症性サイトカイン産生を誘導することが報告されている。本研究では、*Hc* の *caip* 変異株を作製し、当該変異による菌の Mφ 感染への影響を調べた。*caip* 変異株における CAIP 発現の欠損はウェスタンブロッティングにて確認した。*Hc* 野生株及び *caip* 変異株をヒト Mφ 様細胞 U937 に感染させ、*Hc* の Mφ 内生残性を評価したところ、*Hc* 野生株及び *caip* 変異株ともに、経時的な細胞内菌数の減少は見られるものの、感染 72 時間後まで細胞内に *Hc* が残存していた。この結果より、*Hc* は長期間 Mφ 内に生残すること、また、CAIP がその生残性に影響しないことが示された。さらに、マウス腹腔 Mφ に *Hc* 野生株及び *caip* 変異株を感染させ、total RNA を抽出し RT-qPCR によりサイトカイン遺伝子等の発現を調べた。その結果、IL-1β、IL-6 は、*Hc* 野生株よりも *caip* 変異株においてやや増加し、ABCG1、LDL 受容体は株間で大きな差がない傾向が見られた。従って、*caip* 変異株の Mφ 感染性は *Hc* 野生株と大差なく、同程度に炎症応答を引き起こすことが示された。これは、これまでの CAIP の生化学的な性状報告とは異なり、実際の菌の感染においては大きな影響を与えていない可能性を示唆した。今後は *caip* 変異株のマウス感染における動脈硬化症の誘因性について調べる。

P1-158

転写因子 MafB を介した結核菌の新たな免疫回避メカニズム

○財賀 大行¹, 上野 正樹², 田村 敏生¹, 辻村 祐佑¹, 浅賀 正充¹, 塚本 裕美子¹, 向井 徹¹, 濱田 理人³, 高橋 智³, 田中 貴志⁴, 改正 恒康², 高橋 宜聖⁶, 星野 克明⁷, 阿戸 学¹ (¹国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所ハンセン病研究センター, ²香川大・医・炎症病理学, ³筑波大・医学医療系解剖学・発生学, ⁴理化学研究所生命医科学研究センター, ⁵和歌山県立医科大・産官学連携推進本部, ⁶国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所ワクチン開発研究センター, ⁷香川大・医学部免疫学)

A Novel Mechanism of Host Immune Evasion by *Mycobacterium tuberculosis* via Transcription Factor MafB

○Hiroyuki Saiga¹, Masaki Ueno², Toshiaki Tamura¹, Yusuke Tsujimura¹, Masamitsu Asaka¹, Yumiko Tsukamoto¹, Tetsu Mukai¹, Michito Hamada³, Satoru Takahashi³, Takashi Tanaka⁴, Tsuneyasu Kaisho⁵, Yoshimasa Takahashi⁶, Katsuaki Hoshino⁷, Manabu Ato¹ (¹Leprosy Research Center, National Inst. Infectious Diseases, Japan Inst. Health Security, ²Dept. Pathology and Host Defense, Fac. Medicine, Kagawa Univ., ³Dept. Anatomy and Embryology, Inst. Medicine, Univ. Tsukuba, ⁴Lab. Developmental Genetics, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences (IMS), ⁵Industry-Government-Academia Collaboration Promotion Headquarters, Wakayama Medical Univ., ⁶Research Center for Vaccine Development, National Inst. Infectious Diseases, Japan Inst. Health Security, ⁷Dept. Immunology, Fac. Medicine, Kagawa Univ.)

The host factors determining the differences in susceptibility to tuberculosis (TB) between active and latent TB remain unknown. Genome-wide association studies and other clinical epidemiological research have identified the transcription factor MAFB as a candidate gene for TB susceptibility common across races. However, the role of transcription factor MAFB in *Mycobacterium tuberculosis* infection remains poorly understood. We proceeded with three main analyses: (1) molecular biological and biochemical analyses using the HEK293T cell line, (2) *in vitro* analyses using macrophages, and (3) *in vivo* analyses using MafB-conditional knockout mice to clarify the role of transcription factor MafB in *Mycobacterium tuberculosis* infection. The results revealed that the transcription factor MafB interacts with IRF-5 and PU.1, thereby regulating the expression of TNF-α and IL12p40, which are crucial for defense against *Mycobacterium tuberculosis* infection. This presentation will outline how *Mycobacterium tuberculosis* manipulates the host immune response to create a hospitable environment for itself.

P1-159

サルモネラ感染で誘導されるユニークな好中球サブセットの単一細胞トランスクリプトームによる解析

Mohamad Al Kadi¹, 山下 舞花¹, 児玉 年央², Andreas Baumler³, 奥崎 大介¹, 〇日吉大貴² (¹阪大・免フロ・ヒト免疫, ²長大・熱研・細菌学, ³MMI, California Univ., Davis)

Comprehensive transcriptomics identify unique neutrophil subsets as a niche of *Salmonella* infection

Mohamad Al Kadi¹, Maika Yamashita¹, Toshio Kodama², Andreas Baumler³, Daisuke Okuzaki¹, 〇Hirofumi Hiyoshi² (¹Hum. Immunol., iFRE, Osaka Univ., ²Dept. Bacteriol., NEKKEN, Nagasaki Univ., ³MMI, California Univ., Davis)

Salmonella enterica serovar (S.) Typhimurium is a model pathogen, but capturing the complexity of its host interactions *in vivo* remains challenging. Here we present a comprehensive and unbiased analysis of murine splenic cells during the acute phase of *S. Typhimurium* infection by integrating single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) and spatial transcriptomics. We used custom probes targeting *S. Typhimurium* 16S rRNA to develop a spatial scRNA-seq pipeline that distinguishes between infected and bystander cells. This approach revealed that macrophages harboring a high bacterial burden featured a M2-like polarization. Our spatial scRNA-seq pipeline identified neutrophil-rich granulomas near the marginal zone as the initial sites where the immune system restrains pathogen dissemination. Pathogen dissemination throughout the red pulp was associated with the presence of immature neutrophils expressing *Il10* and *Cxcl2* (IL-10+ CXCL2+ Ly-6Gint neutrophils), which engulfed infected macrophages via efferocytosis and carried a high bacterial burden. We conclude that spatial transcriptomics of infected and uninfected cells provides a detailed view of the dynamic changes phagocyte populations undergo during *S. Typhimurium* infection and identifies the phagocyte subpopulations that serve as intracellular niches for pathogen replication.

P1-160/FL1-39

Salmonella Typhimurium は単球細胞内で生存し宿主免疫や抗生物質を回避する

○木村 宇輝¹, 鹿嶋 聖¹, 佐伯 華蓮¹, 高橋 弘喜², 高屋 明子^{2,3}, 常世田 好司¹ (¹鳥取大院・医科・免疫, ²千葉大・真菌医学研究センター, ³千葉大院・薬・感染制御)

Salmonella Typhimurium survives in monocytes for evading from host immunity and antibiotics

○Uki Kimura¹, Sei Kashima¹, Karen Saiki¹, Hiroki Takahashi², Akiko Takaya^{2,3}, Koji Tokoyoda¹ (¹Div. Immunol., Tottori Univ., ²Med. Mycol. Res. Ctr., Chiba Univ., ³Dept. Infect. Control Sci., Chiba Univ.)

Salmonella Typhimurium survives in host phagocytes during the persistent infection. However, which phagocytes harbors *Salmonella* is still unclear. We here show that most *Salmonella* survives in monocytes rather than macrophages, dendritic cells and neutrophils for at least 20 days after infection. We utilized a mouse model for persistent infection with acid-tolerant green fluorescent protein-introduced attenuated *Salmonella*. In the mice, *Salmonella* preferentially survived in monocytes of the spleen, liver and mesenteric lymph nodes. Intriguingly, these monocytes highly expressed Ly-6G proteins, known as a cell-surface marker of neutrophils. However, most *Salmonella*-harboring cells were mononuclear cells indicating no neutrophils. Moreover, antibiotics did not affect that most *Salmonella* survives in monocytes. We further exhibited how intracellular *Salmonella* evades from bactericidal activities mediated by host IFNγ cytokine in monocytes. We discuss the reason of monocyte tropism for *Salmonella*, and immune-evasion strategies of intracellular bacteria during persistent infection and antibiotic treatment.

P1-161

硬ダニ媒介性回帰熱群ボレリア菌の表面抗原変換メカニズムの解明

○椎葉 麻未¹, 竹内 友陽¹, 佐藤 梢², 川端 寛樹², 高野 愛¹ (¹山口大・獣医, ²感染研・細菌-I)

Mechanism of surface antigen conversion in hard tick-born relapsing fever group *Borrelia* spp.

○Mami Shiiba¹, Tomohi Takeuchi¹, Kozue Sato², Hiroki Kawabata², Ai Takano¹ (¹Dept. Vet. Med., Yamaguchi Univ., ²Dept. Bacteriol-I, JIHS)

回帰熱は、ボレリア菌が引き起こす再発性の発熱を特徴とした急性の感染症であり、軟ダニであるヒメダニが媒介する古典的回帰熱の他、硬ダニであるマダニによって媒介される新興回帰熱が近年報告されている。*Borrelia miyamotoi* は1995年に北海道で最初に分離され、2011年に新興回帰熱の起因菌としてロシアで報告された後、日本を含むアジア、ヨーロッパ、アメリカ等で患者が報告されている。古典的回帰熱の病原体は、菌の表層抗原遺伝子 *vlp/vsp* が組換えを起こすことで抗体を介した免疫応答を回避することが知られている。我々のこれまでの解析により、*B. miyamotoi* でも *vlp/vsp* が発現しており、組換えが生じていることがマウスを用いた感染実験で明らかとなった。本研究では、この組換えがマウス体内で抗体産生が始まる5日前後よりも早い感染後3日目の段階で起こっていることを明らかにした。また *in vitro* で、*B. miyamotoi* に対する抗体を持たないヒト血清を5日間続けて菌に加えて培養した結果、*vlp/vsp* の組換えが生じることが明らかとなった。なお、血清を非動化した場合にはこの組換えは起こらなかった。以前の実験において、抗体産生が見られないSCIDマウスでも感染後10日以降で遺伝子組換えが起こっていたことから、*B. miyamotoi* で見られる表層抗原遺伝子 *vlp/vsp* の組換え頻度の上昇は、これまで古典的回帰熱で報告されてきた抗原抗体反応に起因する組換えとは異なり、補体因子など加熱により変性される物質が関与していることが示唆された。今後、どの因子が作用しているのかを検討し、組換えメカニズムの解明を目指す。

P1-162

カイコを用いたVBNC結核菌の *in vivo* 再活性化実験系の構築

○森重 雄太¹, 渡辺 史也², 村瀬 良朗¹, 御手洗 聡^{1,3} (¹結研・抗酸菌部, ²明治薬大・薬・薬物動態学, ³長崎大院・医歯薬・基礎抗酸菌症学)

Establishment of *in vivo* reactivation model of VBNC *Mycobacterium tuberculosis* using silkworm

○Yuta Morishige¹, Fumiya Watanabe², Yoshiro Murase¹, Satoshi Mitarai^{1,3} (¹Dept. Mycobac. Ref. Res., RIT, JATA, ²Dept. Pharmacometr. Pharmacokinet., Meiji Pharm. Univ., ³Dept. Basic Mycobacteriol., Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ.)

VBNC(viable but non-culturable)を含む細菌の休眠状態は、環境中における重要な生存戦略の一つと考えられているが、その詳細な分子機構は特に結核菌では未だ不明な点が多い。我々は、ウシ血清アルブミンがVBNC結核菌の再活性化刺激因子であることを見出し、その分子機構として結核菌 Ser/Thr キナーゼ Pkn を介した分裂・増殖の再活性化を報告している(Morishige *et al.*, under review)。本研究では、宿主-病原体相互作用の解析に有用なカイコを用いた簡便な結核菌感染モデル、およびVBNC結核菌の *in vivo* 再活性化実験系の構築を試みたので、報告する。

まず、カイコに対する結核菌の病原性を解析した。Middlebrook 7H9 培地(10%ADC)で培養した結核菌 H37Rv 株をPBS-Tに懸濁し、その菌液 50μL をカイコ終齢幼虫の血リンパ液中へ接種し、37°Cで一定期間飼育して生死を観察した。VBNC結核菌はNADH oxidase 阻害薬 diphenyleneiodonium (DPI)を用いた方法(Yeware *et al.*, 2019)で誘導し、上記と同様の方法でカイコへ接種した。

その結果、結核菌はカイコに対して病原性を示し、LD₅₀は2.2 x 10⁷ CFU/larvaと算出された。興味深いことに、VBNC結核菌をカイコへ接種すると、intactな結核菌の接種群より24時間遅れて死滅した。この結果は、VBNC結核菌がカイコ生体内で増殖能および病原性が再活性化している可能性を示唆する。

現在、本モデルをVBNC結核菌の簡便な *in vivo* 再活性化モデルとして確立すべく、カイコ生体内における結核菌の挙動(局在および増殖能、遺伝子発現等)の可視化を進めている。

P1-163

マウス壊死性筋膜炎モデルにおけるミオグロビンにより誘発される腎尿細管細胞死の分子機構の解析

○塩田 涼平¹, 広瀬 雄二郎¹, 小林 優大¹, 西村 祐真^{1,2}, 森 あり沙^{1,2}, 坂東 絢子¹, 池田 恵莉¹, 大野 誠之^{1,3}, 川端 重忠¹ (阪大・院歯・微生物, ²阪大・院歯・顎口腔腫瘍外科, ³阪大・院歯・バイオインフォ)

Mechanisms of myoglobin-induced renal tubular cell death in a mouse model of necrotizing fasciitis

○Ryohei Shiota¹, Yujiro Hirose¹, Yudai Kobayashi¹, Yuma Nishimura^{1,2}, Arisa Mori^{1,2}, Ayako Bando¹, Eri Ikeda¹, Masayuki Ono^{1,3}, Shigetada Kawabata¹ (¹Dept. Microbiol., Grad. School. Dent., UOsaka, ²Dept. Oral & Maxillofacial Oncol. and Surg., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ³Bioinform. Res. Unit, Grad. Sch. Dent., UOsaka)

劇症型溶血性連鎖球菌感染症は主に *Streptococcus pyogenes* によって引き起こされる感染症であり、しばしば壊死性筋膜炎を伴う。壊死性筋膜炎で併発することがある急性腎障害(AKI)は患者の予後を大きく左右する重要な疾患である。しかし、その発症機序の詳細については不明な点が多い。我々は先行研究で、マウス壊死性筋膜炎モデルにおいて血中ミオグロビンによる腎尿細管傷害が、*S. pyogenes* が産生する溶血毒素であるストレプトリジン S (SLS) 依存的に検出されることを捉えている。一方で、SLS 依存的な腎尿細管傷害の分子機構が不明であった。そこで本研究では、壊死性筋膜炎モデルの腎臓組織切片において空間トランスクリプトーム解析を応用することで、AKI 発症の分子機構を探索した。

S. pyogenes 5448 株の野生株、*S. pyogenes* の溶血毒素であるストレプトリジン O (SLO) 欠失株、SLS 欠失株、および両毒素欠失株を大腿部に感染させマウスに壊死性筋膜炎を誘発し、感染24時間後の腎臓組織切片を用いた。その結果、近位尿管障害が疑われる細胞群を含むクラスターにおける細胞数が、野生株感染モデルおよびSLO欠失株感染モデルで増加していた。さらに近位尿管上皮細胞において、活性酸素種(ROS)関連遺伝子とアポトーシスに関連する遺伝子の発現上昇が認められ、酸化ストレスによるアポトーシスの誘導が示唆された。以上から、マウス壊死性筋膜炎モデルにおけるAKIの一因として、溶血毒素SLS依存的な近位尿管上皮細胞へのROSおよびアポトーシスの誘導が示唆された。

P1-164

壊死性筋膜炎病変部における *Streptococcus pyogenes* の空間的遺伝子発現解析

○田淵 敏生¹, 広瀬 雄二郎¹, 中下 皓晴¹, 小林 優大¹, 塩田 涼平¹, 西村 祐真^{1,2}, 森 あり紗^{1,2}, 坂東 絢子¹, 池田 恵莉¹, 大野 誠之^{1,3}, 川端 重忠¹ (阪大・院歯・微生物, ²阪大・院歯・顎口腔腫瘍外科, ³阪大・院歯・バイオインフォ)

Spatial gene expression analysis of *Streptococcus pyogenes* in necrotizing fasciitis lesions

○Toshiki Tabuchi¹, Yujiro Hirose¹, Kohsei Nakashita¹, Yudai Kobayashi¹, Ryohei Shiota¹, Yuma Nishimura^{1,2}, Arisa Mori^{1,2}, Ayako Bando¹, Eri Ikeda¹, Masayuki Ono^{1,3}, Shigetada Kawabata¹ (¹Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ²Dept. Oral & Maxillofacial Oncol. and Surg., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ³Bioinform. Res. Unit, Grad. Sch. Dent., UOsaka)

壊死性筋膜炎は *Streptococcus pyogenes* により引き起こされることのある重篤な感染症である。壊死性筋膜炎の急速な組織破壊には、*S. pyogenes* が産生するStreptolysin S (SLS) が関与し、その産生を担う *sag* オペロンが病態形成において重要とされる。しかし *sag* オペロン、特にSLS産生に不可欠な *sagA* および *sagB* が感染組織内でのような空間的発現を示すかは明らかでない。そこで本研究では、壊死性筋膜炎組織における *S. pyogenes* の空間的な遺伝子発現を調べ、*sagA* と *sagB* の発現を比較した。

S. pyogenes 5448 株をマウス大腿部に感染させ、壊死性筋膜炎を誘発する感染モデルを使用した。感染24時間後に採取した大腿部の組織切片に対し、Xenium による *in situ* 空間トランスクリプトーム解析を実施した。細菌の遺伝子発現を可視化し、感染による組織破壊程度を基準に関心領域を分け、遺伝子発現量を数値化して統計的解析を行った。その結果、*sagB* は組織破壊が進行している最前線と有意に高発現していたが、*sagA* はその逆を示し、組織破壊が進行している最前線から離れた位置で発現が上昇していた。また、栄養獲得 (*udp*, *malX*, *ptsB*) や環境ストレス応答 (*pfl*, *arca*) に関与する複数の細菌遺伝子も *sagB* と類似した空間的発現勾配を示し、組織破壊が進行している最前線で協調的に活性化されていた。

以上より *S. pyogenes* は感染前縁部において *sagB* を選択的に高発現し、SLS 依存的組織侵襲と細菌の生存環境の最適化を同時に進めている可能性が示唆された。

P1-165

空間トランスクリプトーム解析が示す壊死性筋膜炎マウスモデルの感染局所における免疫応答の空間的推移

○中下 皓晴¹, 広瀬 雄二郎¹, 田淵 敏生¹, 塩田 涼平¹, 小林 優大¹, 西村 祐真^{1,2}, 森 あり沙^{1,2}, 坂東 絢子¹, 池田 恵莉¹, 大野 誠之^{1,3}, 川端 重忠¹ (大阪大・院歯・微生物, ²大阪大・院歯・顎口腔腫瘍外科, ³大阪大・院歯・バイオインフォ)

Spatial transcriptomic dynamics of immune responses in a mouse model of necrotizing fasciitis

○Kohsei Nakashita¹, Yujiro Hirose¹, Toshiki Tabuchi¹, Ryohei Shiota¹, Yudai Kobayashi¹, Yuma Nishimura^{1,2}, Arisa Mori^{1,2}, Ayako Bando¹, Eri Ikeda¹, Masayuki Ono^{1,3}, Shigetada Kawabata¹ (¹Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ²Dept. Oral & Maxillofacial Oncol. and Surg., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ³Bioinform. Res. Unit, Grad. Sch. Dent., UOsaka)

Streptococcal toxic shock syndrome (STSS, 溶連菌性毒素性ショック症候群)は、主に *Streptococcus pyogenes* により引き起こされる致死率の高い侵襲性感染症であり、しばしば壊死性筋膜炎を呈する。STSSでは細菌感染局所で激しい炎症反応と広範な組織破壊が生じる。しかし、細菌感染部位から近接部位・周辺部位にかけて宿主免疫応答が空間的にどのように変化するのには十分に解明されていない。そこで、本研究では感染部位周囲における宿主免疫応答を空間的視点から解析した。*S. pyogenes* 5448株を大腿部に感染させ、壊死性筋膜炎を誘発したマウスモデルの感染24時間後の大腿部組織切片に対して、Xeniumによる *in situ* 空間トランスクリプトーム解析を実施した。その結果、感染部で細菌に接している顆粒球系の免疫細胞では *Ccl3* を含む炎症関連遺伝子が高発現していた。また、細菌には多くは接していないが感染部位より少し離れた、多くの細胞が細菌に接していない位置では、*Cxcl5* を含む好中球関連遺伝子が発現上昇を示した。一方、感染部位から離れた領域では組織修復の際に発現することが知られている *Aldoa* などの代謝関連遺伝子の発現増加が認められた。これらの結果は、*S. pyogenes* 感染に対する宿主の遺伝子発現が空間的に異なるパターンを呈し、細菌感染部位からの距離に応じて炎症反応・好中球関連応答・代謝および修復機構が段階的に変化することを示唆している。

P1-166

空間トランスクリプトームを応用した壊死性筋膜炎マウスモデルにおけるサイトカイン分泌細胞の探索

○小林 優大¹, 広瀬 雄二郎¹, 塩田 涼平¹, 西村 祐真^{1,2}, 森 あり沙^{1,2}, 坂東 絢子¹, 池田 恵莉¹, 大野 誠之^{1,3}, 川端 重忠¹ (大阪大・院歯・微生物, ²大阪大・院歯・顎口腔腫瘍外科, ³大阪大・院歯・バイオインフォ)

Mapping cytokine-secreting cells in a necrotizing fasciitis mouse model by spatial transcriptomics

○Yudai Kobayashi¹, Yujiro Hirose¹, Ryohei Shiota¹, Yuma Nishimura^{1,2}, Arisa Mori^{1,2}, Ayako Bando¹, Eri Ikeda¹, Masayuki Ono^{1,3}, Shigetada Kawabata¹ (¹Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ²Dept. Oral Maxillofacial Oncol. and Surg., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ³Bioinform. Res. Unit, Grad. Sch. Dent., UOsaka)

Streptococcus pyogenes を主たる起因菌とする劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、致死率の高い感染症でありしばしば壊死性筋膜炎を伴う。本感染症ではサイトカインストームが観察されるが、その基盤となるメカニズムについて不明な点が多い。我々は先行研究で、マウス壊死性筋膜炎モデルにおける血液中のサイトカインストームは *S. pyogenes* が産生する溶血毒素であるストレプトリジン S (SLS) とストレプトリジン O (SLO) 依存的に誘導されることを示していた。しかし一方で、溶血毒素 SLS と SLO は感染局所において免疫細胞の減少に寄与していた。そこで本研究では、壊死性筋膜炎マウスモデルにおけるサイトカイン分泌細胞を探索した。*S. pyogenes* 5448株の野生株、SLO欠失株、SLS欠失株、および両毒素欠失株を大腿部に感染させマウスに壊死性筋膜炎を誘発し、感染24時間後の大腿部組織切片において空間トランスクリプトーム解析を応用した。その結果、マクロファージや好中球などの骨髄系細胞を含むと考えられるクラスターに属する細胞の数が溶血毒素依存的に減少していた。この溶血毒素依存的な免疫細胞の減少は、CCL3やCCL4の血液中の濃度の減少と相関していた。一方で、IL-6の血中濃度は野生株感染マウスまたはSLO欠失株感染マウスで上昇していた。これらのマウスの大腿部において、IL-6のmRNAを発現した細胞は、線維芽様細胞・M2マクロファージ様細胞・血管内皮様細胞であった。以上から、壊死性筋膜炎におけるサイトカインストームには主要な自然免疫細胞以外の組織構成細胞が寄与していることが示唆された。

P1-167/FL1-40

カイコ感染モデルを用いた病原微生物の生体内におけるバイオフィーム形成の評価

○松本 靖彦, 中山 メイ, 清水 優太, 倉門 早苗, 杉田 隆 (明薬大・薬・微生物)

Evaluating *in vivo* biofilm formation by pathogenic microorganisms using a silkworm infection model

○Yasuhiko Matsumoto, Mei Nakayama, Yuta Shimizu, Sanae Kurakado, Takashi Sugita (Dept. Microbiol., Meiji Pharm. Univ.)

バイオフィームは、微生物とその微生物が産生する細胞外マトリックスによる構造体であり、栄養などの外的な要因がバイオフィーム形成に影響する。血流感染症の原因となるいくつかの病原微生物はカテーテルなどの医療器具の表面にバイオフィームを形成すると抗微生物薬に対して抵抗性を示し、慢性的な感染症を引き起こす。血管内のカテーテル表面における病原微生物のバイオフィーム形成には、宿主由来の細胞やタンパク質など様々な宿主要因が関与する。よって、血管内のカテーテル表面における病原微生物のバイオフィーム形成機構を理解するためには、動物を用いた生体内のバイオフィームの評価が必要になる。本研究で、カイコ感染モデルを用いて病原微生物の生体内におけるバイオフィーム形成を定量するための新たな *in vivo* 評価系を構築した。カテーテルの基材の一つであるポリウレタンの繊維を留置したカイコ感染モデルを用いて、病原真菌である *Candida albicans* や *Trichosporon asahii* の生体内におけるバイオフィーム形成を定量した。また、*T. asahii* において、カイコ体内でのバイオフィーム形成に必要な分子として *Hog1* を同定した。*hog1* 遺伝子欠損株は親株よりカイコ体内におけるバイオフィームの量が少なかった。以上の結果から、カテーテル挿入カイコ感染モデルを用いて生体内における病原微生物のバイオフィーム形成に関わる分子を同定できることが示唆された。

P1-168

病原真菌 *Trichosporon asahii* の病原性に関与する Zinc finger domain を有する転写因子の同定

○清水 優太, 松本 靖彦, 杉田 隆 (明治薬大・薬・微生物学)

Virulence-related proteins contained zinc finger domain in the pathogenic fungus *Trichosporon asahii*

○Yuta Shimizu, Yasuhiko Matsumoto, Takashi Sugita (Dept. Microbiol. Meiji., Pharm., Univ.)

Trichosporon asahii は、好中球が減少した免疫不全患者に対し致死率が約80%の深在性真菌症を引き起こす病原真菌である。*T. asahii* と同様に担子菌門に属する *Cryptococcus neoformans* において、DNA結合ドメインの一種である Zinc finger domain を有する転写因子である Crz1 がその病原性に関わる。しかし、Zinc finger domain を有する転写因子が *T. asahii* の病原性の調節に関わるか明らかになっていない。本研究では、*T. asahii* のゲノム中において Zinc finger domain を含む既知の転写因子 Crz1 とその他の ZF 1~11 と命名した11個のタンパク質をコードする遺伝子の欠損株を作製し、カイコ感染モデルを用いて病原性を比較した。ターゲティング DNA フラグメントを用いた相同組換え法により *T. asahii* の *crz1* 遺伝子欠損株および *zf1~11* 遺伝子欠損株を樹立した。ZF5 と命名したタンパク質をコードする遺伝子である *zf5* 遺伝子欠損株は、親株やその他の遺伝子欠損株と比較してカイコに対する病原性が最も低下していた。*zf5* 遺伝子欠損株に、*zf5* 遺伝子を再導入した *zf5* 遺伝子復帰株は、病原性が親株と同等であった。以上の結果から、Zinc finger domain を有する転写因子の中で ZF5 が *T. asahii* の病原性に大きく関与する因子であることが示唆された。

P1-169/FL1-41

非貫通性筋組織外傷は血行性の化膿レンサ球菌の定着を促進する

○大野 誠之^{1,2}, 広瀬 雄二郎¹, 川端 重忠^{1,3} (¹阪大・院歯・微生物, ²阪大・院歯・バイオインフォ, ³阪大・CIDER)

Non-penetrating Muscle Injury Facilitates Hematogenous Colonization of *Streptococcus pyogenes*

○Masayuki Ono^{1,2}, Yujiro Hirose¹, Shigetada Kawabata^{1,3} (¹Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ²Bioinf. Res. Unit, Grad. Sch. Dent., UOsaka, ³CiDER, UOsaka)

化膿レンサ球菌は、筋組織の急速な壊死融解を特徴とする壊死性筋膜炎を惹き起こす。急速な進行のため四肢切断が必要な場合もあり、詳細な発症機序の解明が求められている。壊死性筋膜炎の臨床症例の約半数では皮膚の貫通性外傷に代表される明らかな感染経路が存在しない。そこで本研究では、遠隔臓器から血中に侵入した菌が筋組織へ移行し、壊死性筋膜炎を生じると仮説を立て、非貫通性外傷モデルを開発した。

分銅を落下させて先端径 5 mm の物体でマウス大腿二頭筋部に衝撃を与え、皮膚潰瘍を伴わない内出血を作製した。片側の大腿二頭筋に外傷を作製して 2 日後に化膿レンサ球菌を尾静脈より静脈内投与し、感染 1 日後の両側大腿二頭筋における菌数を比較した。

その結果、同一個体内において受傷側筋組織では健側と比べ有意に高い菌数が検出された。さらに、受傷側では壊死性筋膜炎の存在が病理組織学的に確認された。また、健側においても非貫通性外傷を作製していない個体の筋組織と比較して有意に高い菌数が検出された。受傷 2 日後の筋組織のトランスクリプトーム解析の結果、サイトカインレセプター相互作用、リソソーム、C 型レクチン受容体シグナル、および NF-κB シグナルなど、自然免疫関連経路の活性化が認められた。一方、化膿レンサ球菌の定着への寄与が報告されているビメンチンおよび CD44 も発現上昇していた。

以上より、非貫通性外傷の存在により、筋組織では自然免疫応答が亢進する一方、化膿レンサ球菌の定着に寄与する分子が増加することで、菌が血行性に筋組織へ移行し、壊死性筋膜炎の病態形成における基盤が形成される可能性が示された。

P1-170/WS8-7

マウス肺炎球菌経鼻感染モデルにおける初期誤嚥動態の可視化と感染転帰の層別化

○齊藤 高志, 小林 桃子, 孫 正寛, 山口 雅也 (医薬健栄研)

Stratifying pneumococcal infection outcomes by initial aspiration dynamics in mice

○Takashi Saito, Momoko Kobayashi, Zhengkuan Sun, Masaya Yamaguchi (National Inst. Biomedical Innovation, Health and Nutrition (NIBN))

【背景と目的】マウス肺炎球菌経鼻感染モデルは結果にばらつきが生じやすく、その主因が「宿主免疫応答の個体差」と「細菌の体内動態の差」のいずれに起因するかは不明瞭であった。そこで本研究では、近赤外蛍光色素インドシアニンググリーン標識肺炎球菌 (ICG-SP) を用いて感染直後の細菌の体内動態を可視化・解析した。初期の細菌の局在に基づいて個体を層別化することで、宿主の病態形成メカニズムをより精緻に評価可能な実験系を確立することを目的とした。

【方法と結果】ICG-SP を、若齢 (8 週齢) および老齢 (18~19 か月齢) の C57BL/6J マウスに経鼻感染した。感染細菌量は若齢群に 1×10^7 CFU、老齢群に 1×10^6 CFU とし、液量は共に 20 μ L とした。感染直後に *in vivo* イメージングシステム LuminousQuester NX を用いて、細菌の生体内分布をリアルタイムで観察した。その結果、菌液が鼻腔・口腔内に留まる「滞留群」と、咽頭を経て下気道方向へ深く吸入される「吸引群」に識別可能となった。予後を追跡したところ、吸引群は滞留群と比較して致死率が明らかに高い傾向を示した。

【考察】本検討により、経鼻投与時に生じるくしゃみ反射等に伴う急激な吸気によって、一部の個体では細菌が下気道へ吸引され、この初期イベントがその後の重症化リスクを決定づけている可能性が示された。従来のモデルでは、死亡等の転帰を迎えるまで重症化個体を特定できず、初期段階の解析が困難であった。しかし、本研究で示した層別化手法を用いることで、重症化が想定される個体を感染直後に特定し、発症前の早い段階における初期炎症反応を特異的に解析することが可能となった。

P1-171

多様な免疫背景をもつマウスにおける *Candida* 属による PD-L1/PD-1 産生調節

○玉井 利代子, 清浦 有祐 (奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

Modulation of PD-L1 and PD-1 Production by *Candida* species across diverse immune backgrounds in mice

○Riyoko Tamai, Yusuke Kiyoura (Dept. Oral Med. Sci., Sch. Dent., Ohu Univ.)

Background and Aim: *Candida albicans* contributes to carcinogenesis through immune modulation and oncogenic pathway activation. PD-L1, highly expressed on cancer cells, interacts with fungal ribosomal proteins and promotes IL-10 secretion, reducing inflammation. This study examined whether *Candida* spp. or *Nakaseomyces glabratus* induce PD-L1 or PD-1 production in mice with different immune conditions.

Methods: ICR mice, type 2 diabetic BKS.Cg-Dock^{7m}+/+Lepr^{db}/Jcl mice, and immunodeficient CB17/IcrJcl-Prkdc^{scid} mice were intraperitoneally infected with *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, or *N. glabratus*. Spleens were collected 24 h post-infection, fragmented, and analyzed for PD-L1 and PD-1 production by ELISA.

Results and Discussion: *C. albicans* significantly upregulated PD-L1 production in ICR and diabetic mice and PD-1 production only in diabetic mice. *C. tropicalis* augmented PD-L1 production in immunodeficient and diabetic mice, whereas the fungus reduced PD-1 production in diabetic and ICR mice. *C. parapsilosis* upregulated PD-L1 production in diabetic mice, with no change in immunodeficient mice; PD-1 production decreased significantly in immunodeficient mice. *N. glabratus* augmented PD-L1 production in all mouse strains. These findings suggest that *Candida* spp. differentially modulate the production of PD-L1 or PD-1 depending on host immune status.

P1-172

Investigating the pathogenesis of typhoid fever using a *Salmonella* Paratyphi C mouse model

○Thi Hoan Pham¹, 森田 昌知², 山崎 浩平³, 遠藤 俊裕⁴, 高山 智史¹, 日吉 あずさ¹, 羽田 健⁵, Renee M. Tsolis⁶, Andreas Baumler⁶, 児玉 年央¹, 日吉 大貴¹ (¹Dept. Bacteriol., Inst. Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki Univ., ²Dept. Bacteriol. I., Natl. Inst. Infect. Dis., ³Lab. Vet. Public Health., Sch. Vet. Med., Kitasato Univ., ⁴Phenovance LLC, Chiba, ⁵Dept. Microbiol., Sch. Pharm., Kitasato Univ., ⁶Dept. Med. Microbiol. Immunol., Univ. California at Davis)

○Thi Hoan Pham¹, Masatomo Morita², Kohei Yamazaki³, Toshihiro Endo⁴, Satoshi Takayama¹, Azusa Hiyoshi¹, Takeshi Haneda⁵, Renee M. Tsolis⁶, Andreas Baumler⁶, Toshio Kodama¹, Hirotsuka Hiyoshi¹ (¹Dept. Bacteriol., Inst. Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki Univ., ²Dept. Bacteriol. I., Natl. Inst. Infect. Dis., ³Lab. Vet. Public Health., Sch. Vet. Med., Kitasato Univ., ⁴Phenovance LLC, Chiba, ⁵Dept. Microbiol., Sch. Pharm., Kitasato Univ., ⁶Dept. Med. Microbiol. Immunol., Univ. California at Davis)

Salmonella enterica serovar (S.) Typhi, the causative agent of typhoid fever, is exclusively human-adapted, making it difficult to study in animal models. To address this, *S. Typhimurium* is often used in animal models, but it lacks the Vi capsular polysaccharide (Vi antigen), a crucial virulence factor of *S. Typhi*. We therefore assessed whether *S. Paratyphi* C, a typhoidal *Salmonella* serovar that expresses the Vi antigen, could serve as a more suitable surrogate. Unlike *S. Typhimurium*, which rapidly causes severe disease in C57BL/6 mice, *S. Paratyphi* C established a persistent infection in systemic organs for up to 28 days. The Vi antigen played an important role during the early phase of infection, whereas the SPI-2 type III secretion system became critical in later stages. Biotelemetry monitoring showed that *S. Paratyphi* C induced fever after a 3-day incubation period, reflecting a feature of human typhoid fever. Additionally, vaccination with purified Vi antigen reduced bacterial spread. In summary, *S. Paratyphi* C provides a useful mouse model for studying typhoid fever and evaluating vaccines. As numerous Vi antigen variants have recently been identified and linked to the infectivity and virulence of *S. Typhi*, generating strains resembling *S. Typhi* and applying this model may help reduce the burden of typhoid fever and support development of improved vaccines and treatments.

P1-173

腸管ボツリヌス症マウスモデルの開発および形態形成機構の解析

○松村 拓大, 小林 伸英, 阿松 翔, 山口 アキ, 岩田 佳音, 藤永 由佳子 (金沢大・医・細菌)

Development of intestinal botulism mouse model and analysis of pathological mechanisms

○Takuhiro Matsumura, Nobuhide Kobayashi, Sho Amatsu, Aki Yamaguchi, Kanon Iwata, Yukako Fujinaga (Dept. Bacteriol. Grad. Sch. Med. Sci., Kanazawa Univ.)

Botulism is a fatal disease characterized by flaccid paralysis and is caused by botulinum neurotoxin (BoNT) produced by *Clostridium botulinum* (*Cb*). Intestinal botulism, including infant botulism and adult intestinal toxemia botulism, is one of the major forms of botulism. In the case of this disease, orally ingested botulinum spores germinate, colonize and produce BoNT at intestinal tract, and is thought that immature intestinal flora or dysbiosis are involved in the onset. Meanwhile, detailed pathological mechanisms of this disease remains unclear. Here, we developed the mouse model of intestinal botulism using antibiotics and analyzed the *Cb* infection and pathological condition. The intestinal botulism occurred in antibiotic treated mice after oral administration of strain 62A spores, whereas the normal adult mice showed no symptoms. The toxin production was confirmed after *Cb* proliferation in fecal samples from antibiotics treated mice and correlated with progression of botulism symptoms. *Cb* growth and toxin production occurred mainly in cecum and large intestine, not in small intestine. Furthermore, this mouse model was applicable for the analysis of intestinal botulism caused by other strains (Okra, 7103 and Osaka05). Taken together, our finding provides the basis for the elucidation of the mechanism and development of novel therapeutics of intestinal botulism.

P1-174

腸内細菌叢によるボツリヌス菌定着促進機構の解析

小林 伸英, 山口 アキ, 岩田 佳音, 松村 拓大, ○藤永 由佳子 (金沢大・医・細菌学)

Research on the promotion of *Clostridium botulinum* colonization by intestinal microbiota

Nobuhide Kobayashi, Aki Yamaguchi, Kanon Iwata, Takuhiro Matsumura, ○Yukako Fujinaga (Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Kanazawa)

乳児ボツリヌス症は、生後およそ1歳未満の乳児において経口摂取されたボツリヌス菌(*Clostridium botulinum*)芽胞が腸管に定着、毒素を産生することによって発症し、致死的な神経麻痺症状を呈する。一方で、健康成人が本菌に感染することはほとんどない。抗菌薬を大量投与された成人では本菌が感染する事例があること(成人腸管ボツリヌス症)、無菌マウスや抗菌薬処理マウスは成獣においても本菌に感染感受性であるという過去の研究から、ボツリヌス菌の感染感受性には腸内細菌叢が関与すると考えられている。乳児ボツリヌス症の感受性期は生後12ヶ月未満とされるが、世界規模の疫学データでは、症例の95%以上は生後6ヶ月未満、その中央値は12週齢であり、偏りが存在する。また、乳児ボツリヌス菌患児の腸内細菌叢ではボツリヌス菌陰性の乳児と比較し腸内細菌科や腸内球菌科の割合が高い。また、成人腸管ボツリヌス症患者で腸内球菌科の割合が極めて大きい症例が報告されている。以上から、乳児においてボツリヌス菌が特に感染しやすい時期が存在し、感染を助長する腸内細菌が存在すると推測される。我々はこれまでに、特定のヒト乳児糞便を移植したマウスにおいて、無菌マウスと比較し顕著にボツリヌス菌の定着が促進される現象を見出している。そこで本研究では、ボツリヌス菌の定着を促進する腸内細菌の同定とそのメカニズムの解明を目的とした。本総会では、ヒト乳児糞便移植マウス、および菌株移植マウスを駆使した解析の結果について報告する。

P1-175

非複製性広宿主域カプシド治療薬による致死性腹腔内大腸菌感染症の単回静脈内救済

○Karthik Maruthan¹, Maniruzzaman¹, 日高 侑也¹, 小島 新二郎², 氣賀 恒太朗^{1,2}, 宮永 一彦¹, 相羽 由詞¹, XinEe Tan¹, 渡邊 真弥¹, 崔 龍洙¹ (¹Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ., ²Dept. Drug Development, NIID, JIHS)

Single-Dose IV Rescue of Lethal IP E. coli Infection by a Non-Replicative Broad-Range Capsid Therapy

○Karthik Maruthan¹, Maniruzzaman¹, Yuya Hidaka¹, Shinjiro Ojima², Kotaro Kiga^{1,2}, Kazuhiko Miyana¹, Yoshifumi Aiba¹, XinEe Tan¹, Shinya Watanabe¹, Longzhu Cui¹ (¹Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ., ²Dept. Drug Development, NIID, JIHS)

Phage-based therapeutics are attracting interest as alternatives to antibiotics, yet their clinical use remains limited by safety concerns. To address this, we developed a replication-deficient, bio-contained capsid therapeutic based on phage SM-S9 with the broad-range (see Maniruzzaman et al., this meeting). Here, we established a clinically relevant IP lethal infection model and evaluated therapeutic efficacy via systemic IV dose of SM-S9_B-CAP_ColE1. Screening of clinical E. coli strains identified U6, S7-35, and ATCC 25922 as highly virulent strains causing ~90% mortality. U6 (AmpC β -lactamase-producing) was selected as the model because of reproducibility and its virulence. IP challenge of 1×10^4 CFU/mice reliably produced a lethal. Initial treatment 30 min after IP infection was optimal, consistent with our observation that bacteremia reached lethal levels within this window. A single IV dose of SM-S9_B-CAP_ColE1 (2.2×10^5 PFU/mice) provided 100% survival. Comparative treatment with ampicillin, imipenem, wild-type SM-S9 phage, or non-replicative particles confirmed its superior effectiveness. This work demonstrates that a broad-range, non-replicative capsid therapeutic can achieve full rescue in an IP infection-IV treatment model, overcoming major biosafety challenges with conventional phage therapy and supporting its development as a next-generation antimicrobial.

P1-176/FL1-42

組織透明化3次元イメージングCUBICを用いた肺結核・非結核性抗酸菌症の三次元解析

○Orlanath Phendinay¹, 袴田 真理子^{1,2}, 尾関 百合子², 西山 晃史², 大橋 璃子^{3,4}, 田井中 一貴⁵, 菊地 利明¹, 松本 壮吉² (¹新潟大・医・呼吸器・感染症内科, ²新潟大・医・細菌学, ³新潟大・医・病理標本センター, ⁴新潟大・医・分子・診断病理学, ⁵新潟大・脳研究所・システム脳病態学)

Three-dimensional analysis of mycobacterial infections based on tissue-clearing technology CUBIC

○Orlanath Phendinay¹, Mariko Hakamata^{1,2}, Yuriko Ozeki², Akihito Nishiyama², Riuko Ohashi^{3,4}, Kazuki Tainaka⁵, Toshiaki Kikuchi¹, Sohkiichi Matsumoto² (¹Dept. Respiratory Medicine and Infectious Diseases., Sch. Med., Niigata Univ., ²Dept. Bacteriol., Sch. Med., Niigata Univ., ³Histopathology Core Facility., Sch. Med., Niigata Univ., ⁴Dept. Molecular and Diagnostic Pathology., Sch. Med., Niigata Univ., ⁵Dept. System Pathology for Neurological Disorders., Brain Research Inst., Niigata Univ.)

Tuberculosis is the leading cause of death among infections caused by a single pathogen, and the prevalence of hard-to-treat non-tuberculous mycobacteria is rapidly increasing. Although zebrafish and *Mycobacterium marinum* models have provided valuable insight into host-mycobacterial interactions, the spatial dynamics of infection in mammalian lungs remain unclear. Here, we used CUBIC tissue clearing together with fluorescent protein-expressing *Mycobacterium bovis* BCG, *M. avium*, and *M. tuberculosis* H37Rv to perform three-dimensional analyses of mycobacterial infection in mouse lungs. This approach enabled single-cell visualization of bacteria and revealed distinct species-specific in vivo dynamics after infection. Moreover, analysis of three *M. avium* clinical isolates with different clinical phenotypes uncovered strain-specific inflammatory responses and lymphangiogenic reactions. These results demonstrate that CUBIC enables quantitative evaluation of infection and host responses in the mouse lung, revealing species- and strain-dependent patterns of bacterial localization and lymphatic involvement. This 3D platform provides a powerful tool for studying mycobacterial pathogenesis and for assessing antibiotic efficacy and novel therapeutic strategies.

P1-177

発光システムを用いた腸管出血性大腸菌 O157 マウス感染症モデルの経時的可視化

○寺島 拓未¹, 大島 侑奈¹, 山口 大貴², 石川 実穂¹, 坂本 雅¹, 佐藤 里咲¹, 伊豫田 淳³, 後藤 義幸⁴, 八尋 錦之助¹ (¹京都薬科大・薬・微生物感染制御, ²明治薬科大・薬・感染制御, ³国立健康危機管理研究機構・感染研・細菌第一, ⁴千葉大・真菌医研・感染免疫)

Longitudinal imaging of O157 infection in a mouse model using a bioluminescence system

○Takumi Terashima¹, Yuna Oshima¹, Daiki Yamaguchi², Miho Ishikawa¹, Miyabi Sakamoto¹, Risa Sato¹, Sunao Iyoda³, Yoshiyuki Goto⁴, Kinnosuke Yahiro¹ (¹Dept. Microbiol. Infect. Control., Sch. Pharm., Kyoto Pharm Univ., ²Dept. Infect. Control., Sch. Pharm., Meiji Pharm Univ., ³Dept. Bacteriol. 1., Natl. Inst. Infect. Dis., Japan Inst. Health Security, ⁴Dept. Infect. Immunol., Med. Mycol. Res. Ctr., Chiba Univ.)

腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157 による感染性腸炎は、少ない菌量で感染が成立し、主な症状としては激しい下痢や腹痛を呈する。重篤化すれば、腸管出血や溶血性尿毒症症候群 (HUS)、脳症へ進展し、その原因は、主要病原因子であるベロ毒素であると考えられているが、発現機序や発現部位など詳細は解明されていないことも多い。また、国内では第三類感染症に指定され、WHO・CDC からも重点監視病原体として扱われているが、コンセンサスを伴う根本的治療法は一般的ではなく、対症療法が基本である。新規治療法解明にはヒト病態を適切に反映した感染モデルが不可欠であるものの、従来モデルでは潜伏期間や毒素に起因する腎障害・腸管出血の再現性が不十分であった。そこで我々は、ヒト病態をより忠実に再現する新規 O157 経口感染マウスモデルを独自に確立している。我々は、本モデルを用いて *in vivo* イメージングによる O157 体内動態の可視化モデル構築を行うことで、菌の定着部位や菌量の推移の経時的可視化に挑戦した。まず、細菌由来の常時発光型ルシフェリン-ルシフェラーゼ系である luxCDABE をコードしたプラスミドを作製し、O157 に導入した。次に、この発光する O157 をマウスへ経口投与し、*in vivo* イメージングにより腸管内の菌分布と菌量変化を連続的に評価した。その結果、感染成立から致死までの同一個体内での、菌の体内動態をリアルタイムで可視化することに成功した。今後は、本モデルを応用し、抗菌薬治療による菌量変化や、ベロ毒素の発現時期・部位を解析し、O157 感染症に対する新規治療法の創出を目指す。

P1-178

Bartonella henselae が誘導する血管新生の *in vitro* 微小生体模倣モデル

○Hongyuan Jia¹, 近藤 誠², 松永 行子², 塚本 健太郎¹ (¹阪大・微研・人獣共通細菌, ²東大生研)

An *In Vitro* Microphysiological Model of *Bartonella henselae*-Induced Angiogenesis

○Hongyuan Jia¹, Makoto Kondo², Yukiko Matsunaga², Kentaro Tsukamoto¹ (¹Dept. Bact. Zoonoses, RIMD, UOsaka, ²UTokyo-IIS)

Bartonella henselae, causing cat scratch disease, induces pathological angiogenesis. However, bacterial mechanisms of endothelial remodeling remain poorly understood. Here, we used microvessel chips (MV chips), a controlled three-dimensional vascular platform, to investigate *B. henselae*-induced angiogenesis, providing insight into bacterial-vascular interactions.

B. henselae infection stimulated microvessel sprouting and endothelial proliferation, while non-infected control showed minimal activity. Cell proliferation assays revealed bacterial factor contributions. The wild-type strain enhanced cell growth, while the $\Delta bafA$ mutant, lacking *Bartonella* angiogenic factor A (BafA), showed negligible activity. The $\Delta bdaA$ and $\Delta virB4$ mutants showed intermediate effects. BafA emerged as the primary driver of *B. henselae*-induced endothelial proliferation, with BafA and VirB4 as contributors. *B. henselae* in collagen matrix induced angiogenic sprouting, suggesting secreted factors' involvement over direct bacterial contact. The Houston-1 strain showed strong angiogenic capacity, while 5762A did not. Angiogenic activity was specific to human endothelial cells, with minimal responses in mouse or porcine models. This study establishes MV chips as a platform for examining bacteria-induced vascular disorders and reveals *B. henselae*-specific mechanisms in human microvasculature remodeling.

P1-179

肺炎球菌性肺上皮障害に対するインフルエンザ菌の保護作用の検討

○田中 愛海, 輪島 丈明, 打矢 恵一 (名城大・薬・微生物学)

Protective role of *Haemophilus influenzae* against pneumococcal-induced epithelial injury

○Emi Tanaka, Takeaki Wajima, Kei-ichi Uchiya (Dept. Microbiol., Fac. Pharm., Meijo Univ.)

Background: *Streptococcus pneumoniae* is a major respiratory pathogen. Although various bacteria inhabit the human airway, their impact on *S. pneumoniae* pathogenicity remains unclear. We previously established a human lung infection model that reproduces epithelial injury by *S. pneumoniae*. In this study, we investigated its interaction with commensal airway bacteria.

Methods: The human lung tissue model was constructed with a collagen-fibroblast interstitial layer and a stratified epithelial layer. Clinical isolated *S. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *H. haemolyticus*, and *H. parainfluenzae* were used for infection experiments. The infected model was assessed by histology, cytokine production by ELISA, and gene expression by RNA-seq with differential expression analysis.

Results: Co-infection with *H. influenzae* suppressed pneumococcal-induced epithelial injury without killing *S. pneumoniae*. Interleukin-1 β production was significantly decreased, and immunofluorescence stain revealed that *S. pneumoniae* remained on the epithelial surface during co-infection. This protective effect was specific to *H. influenzae*, with several host factors significantly upregulated.

Conclusions: Our findings suggest that *H. influenzae* have protective effects against epithelial injury caused by *S. pneumoniae* and would be mediated by host factor modulation.

P2-001

培地組成の見直しによる新規微生物単離の試み

○山本 英明¹, 蔵下 はづき², 阿野 貴司^{1,2}, 岡南 政宏^{1,2} (¹近畿大院・生物理工, ²近畿大・生物理工)

Isolation of microorganisms by revision of culture medium composition

○Hideaki Yamamoto¹, Haduki Kurasita², Takashi Ano^{1,2}, Masahiro Okanami^{1,2} (¹Grad. Sch. Biology-Oriented Science Technology, Kindai Univ., ²Fac. Biology-Oriented Science Technology, Kindai Univ.)

地球上の微生物のうち単離・同定されているものは1%未満とされ、多くの微生物は未だ培養に成功していない。そこで、微生物の増殖に影響を与える環境要因の一つである培地組成を見直すことが既存の単離法では得られていない新規微生物の単離に繋がると考えた。従来、環境微生物の単離には主要栄養源としてグルコースが頻用されてきたが、逆にグルコースが毒性を示し増殖できない微生物が存在する可能性がある。また、環境中には他の微生物由来の物質に依存する微生物や、0.1~0.3 μm の大きさの超微小微生物が存在することも知られている。本研究では、グルコースを主たる増殖基質としない新規微生物の単離、および、*Bacillus* 属細菌の培養上清を利用した新規超微小微生物の単離の2点を目的とした。まず、フルクトースを主炭素源とする培地では増殖するが、0.2% グルコースを主炭素源にした培地では増殖できないFR3株を単離した。しかし、グルコース濃度を0.2%より低くした条件では増殖した。したがって、高濃度のグルコースはFR3株に対して毒性を示す可能性が示唆された。次に、他の微生物由来の物質に依存する超微小微生物の探索では、環境試料を0.2 μm フィルターで濾過して大きな微生物を除去した後、*Bacillus* 培養上清を添加した培地に塗布し、増殖する微生物を探索した。その結果、培養上清存在下でのみ増殖できるPS11株を単離した。これらの結果は、培地組成の見直しが従来の単離法では得られなかった微生物の発見につながる可能性を示した。

P2-002

Paramecium nephridiatum の共生細菌の分類とゲノム機能解析

○橋 理人¹, 前野 慎太郎¹, 道羅 英夫², 橋野 正紀³, 染野 里紗³, 渡邊 健太⁴, 清水 隆⁴, 度会 雅久⁴ (1山口大・大研, 2静岡大・静共セ, 3感染研, 4山口大・共獣)

Identification and functional genome analysis of the symbiotic bacteria of *Paramecium nephridiatum*

○Masato Tachibana¹, Shintaro Maeno¹, Hideo Dora², Masanori Hashino³, Risa Someno³, Kenta Watanabe⁴, Takashi Shimizu⁴, Masahisa Watarai⁴ (1Org. Res. Ini., Yamaguchi Univ., 2Shizuoka Ins. Ana. Cen., Shizuoka Univ., 3NIID, 4Joi. Fac. Vet. Med., Yamaguchi Univ.)

ゾウリムシ属 (*Paramecium* 属) は、真核生物のモデル生物として食食や寄生・共生 (*Holosporea* の核内寄生, 病原性細菌の環境中宿主, ミドリゾウリムシとクロレラの共生など) を含む様々な研究に多く用いられている。一方で、現在においてもゲノム情報は十分に整備されていない。そこで我々は、ゲノム配列が登録されていない *Paramecium nephridiatum* (Rw-1 株) を対象として、ロングリードシーケンシングを用いた全ゲノム解析を実施した。その結果、既報を上回る高クオリティな塩基配列情報を得ることが出来ただけでなく、*P. nephridiatum* から環状の細菌ゲノムを見出した。本研究では、得られた塩基配列情報をもとに、菌種の同定、機能解析および近縁種との比較を行った。

OrthoANIu tool を用いた Average Nucleotide Identity (ANI) 解析解析を行ったところ、この細菌ゲノムは“*Candidatus Megaera venefica*”に由来するものであることが示唆された (99.9%)。また、eggNOG-mapper v2 および KEGG Mapper – Reconstruct を用いて、この細菌の持つ遺伝子の機能分類・機能解析を行った結果、クエン酸回路の一部は保有しておらず、解糖系もほとんど保有していないことが明らかとなった。

これらのことから *P. nephridiatum* に *Candidatus Megaera venefica* が寄生または共生しており、またこの細菌は代謝の多くの部分を宿主に依存していることが示唆された。

P2-003

グルコースを増殖基質としない新規 *Acidovorax* 属細菌 FG27 株の糖代謝経路の予測

○横田 龍二郎, 阿野 貴司, 岡南 政宏 (近畿大院・生物理工)

Prediction of sugar metabolic pathways of a novel non-glucose utilizing strain, *Acidovorax* sp. FG27

○Ryujiro Yokota, Takashi Ano, Masahiro Okanami (Grad. Sch. Biology-Oriented Science and Technology, Kindai Univ.)

グルコースは多くの微生物にとって主要な栄養源の一つである。そのことから、環境微生物の単離過程においても栄養源として主にグルコースが用いられ、今日までに多くの微生物が単離されている。しかし、環境微生物における糖類の選択利用性は多岐に渡り、グルコース以外の糖類を主要な栄養源とする環境微生物も存在すると考えられる。そこで我々は、グルコースを主たる増殖基質としない新規微生物の探索を試みた。その結果、グルコースを糖源とした培地では増殖しないが、解糖系にも関与するフルクトースを糖源とした培地では増殖する細菌株 FG27 株が単離された。FG27 株は 16S rRNA 遺伝子の配列解析から、*Acidovorax* 属に属する細菌と考えられたが、近縁種との配列相同性は 98.4% を示し、系統的新規性が示唆された。このことは脂肪酸組成解析からも裏付けられた。糖類の資化能試験から、グルコースを含む多くの糖類に対して資化能が見られなかったが、フルクトースに対して最も高い資化能が見られた。ゲノム情報を用いた KEGG pathway 解析から、グルコースをはじめとする多くの糖類の輸送に関与するトランスポーターが見出されなかったが、フルクトース特異的な PTS トランスポーター (FruA) は見出された。これが、グルコースを含む多くの糖類に対して資化能が見られず、フルクトースに対して資化能が見られる要因の一つと考えられた。現在、FG27 株の代謝機構を詳細に解析しており、これらについて報告する予定である。

P2-004/FL2-01

細胞融合法を用いた新規ファージ群の獲得

○金子 知義^{1,2}, 常田 聡^{1,2} (1早大・先進理工学・生命医科, 2早大・ファージセラピー研)

Bacterial cell fusion enables isolation of novel phages

○Tomoyoshi Kaneko^{1,2}, Satoshi Tsuneda^{1,2} (1Dept. Life Sci. Med. Biosci., Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., 2Phage Therapy Inst., Waseda Univ.)

【背景・目的】バクテリオファージは地球上に 1031 存在すると言われているが、単離されていない未知のファージが多数ある。我々は、細菌を融合させることで宿主の性質を変え、新たなファージ獲得を試みた。

【方法】大腸菌 JM109 と 4 種の細菌 (マウス糞便由来大腸菌 TK001, *Citrobacter amalonaticus*, *Escherichia fergusonii*, *Atlantibacter hermannii*) をプロトプラスト融合法により融合し、複数の融合株を作製した。各融合株および両親株を用いて、2 種類の都市下水および養豚排水からファージスクリーニングを行い、40 株の臨床分離株パネルに対する感染スペクトラムを評価した。

【結果】親株から 92 株、融合株から 359 株のファージを獲得した。*C. amalonaticus* 融合株由来 80 株のうち 15 株 (18.8%) は両親株に全く感染せず、融合株特異的に獲得されたと考えられる (Type C)。さらに、融合株由来ファージの感染パターンの 95% (37/39 パターン) は親株由来ファージでは観察されない完全にユニークなものであった。Type C ファージは 40 株の臨床分離株に対して平均 1.5 株にのみ感染する極めて狭域スペクトラムを示し、特定の ESB 産生大腸菌臨床分離株や *Salmonella enterica* 血清型 Enteritidis に特異的なファージが含まれ、標的細菌特異的な制御への応用が期待される。

【結論】細胞融合法により、従来法では検出不可能な新規ファージ群の単離が可能であることが示された。さらに、4 種の細菌ペア全てで融合株特異的なファージの獲得が確認されており、手法の一般性が示唆された。本手法はファージライブラリーの多様性向上を通じてファージの基礎研究や応用展開に貢献することが期待される。

P2-005

Acanthamoeba polyphaga を利用した *Campylobacter jejuni* の生存戦略

北出 真子, 山崎 伶馬, ○下畑 隆明 (福井県立大・海洋生物)

Survival Strategies of *Campylobacter jejuni* Using *Acanthamoeba polyphaga*

Mako Kitade, Reima Yamazaki, ○Takaaki Shimohata (Marine-Bio, Fukui Prefectural Univ.)

Background: *Campylobacter jejuni* causes food borne disease in the world. *C. jejuni*-infections are also associated with contaminated water. A several studies have enlightened the role of unicellular eukaryote, particularly free-living amoebae (FLA), are used for survival and dissemination of many waters borne pathogenic bacteria. Previously, we reported that *C. jejuni* was engulfed by *Acanthamoeba polyphaga*, model of FLA, and it facilitated the bacterial survival. However, mechanism of bacterial survival is not clear. In this study, we estimated the survival rate of *C. jejuni* in *A. polyphaga* in some type of amoeba cells with the several medium which facilitated bacterial survival. This study evaluated potent of *A. polyphaga* for the environmental reservoir in *C. jejuni*. **Method:** *A. polyphaga* were co-cultured with *C. jejuni* (NCTC11168, 81-176, and 81116 strains). The bacterial internalization and intracellular survival were estimated by gentamycin protection assay. **Results & Discussion:** *C. jejuni* was engulfed by in *A. polyphaga*, and its internalization was higher in nutrition deficiency medium rather than nutrient rich medium. Also, internalized bacterial cells were abolished in trophozoite amoeba. However, bacterial cells were conserved in flowing amoeba cells. Those data suggested that *C. jejuni* survive in undernutrition condition by internalization in the *A. polyphaga*.

P2-006/FL2-02

多様な根圏細菌に対する植物由来二次代謝産物クマリン化合物の影響

○平島 昇羽, 後藤 茉祐, 崔 宰燾, 河岸 洋和, 橋本 将典 (静大・農)

Effects of plant-derived secondary metabolite coumarin compounds on diverse rhizobacteria

○Sho Hirashima, Mayu Goto, Jae-Hoon Choi, Hirokazu Kawagishi, Masayoshi Hashimoto (Fac. Agr., Shizuoka Univ.)

根圏微生物叢は、植物の根の周辺領域である根圏に生息する微生物群集であり、植物の養分吸収を促進したり、病原体から保護したりする役割を持つ。モデル植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の根から分泌されるクマリン化合物は、鉄欠乏土壌における根圏細菌叢の群集形成に関与する。本研究では、クマリン化合物による細菌叢制御メカニズムを、化合物の構造活性相関および細菌側の代謝応答の両面から解明することを目的とした。はじめに、主要なクマリン化合物であるスコボレチンとフラキセチンを、多様な分類群に属する 39 株の根圏細菌の培養液に添加し、増殖を測定した。その結果、フラキセチンはおおよそ半数の 19 菌株の増殖を阻害した。続いて、抗菌活性に基づきクマリン化合物及び類似化合物の構造活性相関を調べたところ、フラキセチンと共通してカテコール基を有するクマリンであるエスクレチンやダフネチンは、同程度の抗菌活性を示した。一方、カテコール基を欠く誘導体はフラキセチンやエスクレチンよりも抗菌活性が弱かった。これにより、根圏細菌に対する抗菌活性には、クマリン基本骨格とカテコール基の共存が必須であることが明らかになった。さらに、クマリン化合物に対する耐性あるいは代謝能を持つ根圏細菌を探索するため、エスクレチン含有固形培地に各根圏細菌をスポットした。スクリーニングの結果、5 つの耐性菌を見出し、そのうち 2 菌株はエスクレチンを代謝することが示唆された。これらの結果に基づき、カテコールクマリン化合物の根圏細菌に対する抗菌作用のメカニズムと根圏細菌による代謝の可能性について考察する。

P2-007

Antimicrobial properties of a commensal bacterium against *Staphylococcus aureus*

○田馬 亜紀子^{1,2}, 金城 雄樹^{1,2} (¹慈恵医大・医・細菌, ²バイオフィルム研究センター)

○Akiko Tajima^{1,2}, Yuki Kinjo^{1,2} (¹Dept. Bacteriol., The Jikei Univ. Sch. Med., ²Jikei Ctr. Biofilm Sci. & Tech.)

Microbial metabolites have important roles in ecological interactions between microbe-microbe and host-microbe. We found that commensal *Corynebacterium* sp. inhibited growth of *S. aureus* including MRSA in the presence of subinhibitory concentration of unsaturated fatty acids (UFAs). We identified biosynthetic gene cluster (BGC) which was due to antimicrobial activity and consisted of genes encoding a putative bacteriocin. The bioinformatic and mutant-based analysis showed that core operon of the BGC contains genes involved in post-translational modification, transport, immunity, and two precursor peptides. The expression of both putative bacteriocin peptide genes was required for antimicrobial activity, but the UFA did not influence the expression of those genes. The effects of culture conditions were assessed for the antibacterial activity and active supernatant was prepared. The addition of UFA did not affect bacteriocin production, but it was required for antibacterial activity with unknown mechanism. The size fractionation experiment using ultrafiltration membranes indicated that antibacterial activity required both fractions >30 kDa and <3 kDa MWCO, and the latter can be substituted by the fraction prepared from BGC mutant. These results indicated that multiple factors including bacteriocin encoded by identified BGC were involved in antibacterial activity.

P2-008

植物エキ斯塔培地上に分離された土壌細菌の真菌感染治療活性評価

○田淵 史晃¹, 三上 雄大², 石井 雅樹³, 宮内 将暢¹, 宮下 惇嗣¹ (¹帝京大・医真菌・抗真菌免疫生物, ²帝京大院・医療技術・臨床検査, ³武蔵野大・薬・分子細胞生物)

In Vivo Antifungal Therapeutic Activity of Soil Bacteria Isolated on Plant Extract-Based Agar

○Fumiaki Tabuchi¹, Kazuhiro Mikami², Masaki Ishii³, Masanobu Miyauchi¹, Atsushi Miyashita¹ (¹Lab. Antifungal Immunobiol., Inst. Med. Mycol., Teikyo Univ., ²Dept. Med. Tech., Grad. Sch. Clinical Lab. Sci., Teikyo Univ., ³Lab. Mol. Cell Biol., Sch. Pharm., Musashino Univ.)

これまでに人類は、土壌中の有用微生物を分離・培養することで抗生物質などの医薬を開発してきた。しかしながら、従来の栄養寒天培地では *Bacillus* 属細菌が優占的に生育するため、土壌微生物多様性が過小評価されるという課題があった。本研究では、植物由来エキ斯塔抽出物を添加した新規寒天培地を開発し、通常の栄養培地である YME 寒天培地と比較することで、微生物分離における有用性を検討した。16S rRNA 遺伝子解析の結果、YME 培地では *Bacillus* 属細菌が多数を占めた一方、植物エキ斯塔培地では *Streptomyces* 属を含む多様な放線菌が優位的に分離された。また、*Bacillus* 属細菌が少ない土壌からも、植物エキ斯塔培地では多様な細菌が分離された。さらに、植物エキ斯塔培地由来菌株の中には既知種と極めて低い 16S rRNA 相同性を示す未記載種候補や、通常の栄養培地では増殖しない特異な栄養要求性を示す菌株が含まれていた。加えて、植物エキ斯塔培地から得られた 569 株の土壌細菌培養液抽出サンプルをカイコ真菌感染モデルで評価した結果、*Rhizopus arrhizus*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* に対して感染カイコの生存時間を延長させる効果を示すサンプルが得られ、全体のヒット率は 6.2% であった。以上の結果は、植物エキ斯塔培地が、従来分離が困難だった希少・未培養細菌の分離を可能にする有用な培地であり、微生物ライブラリーの構築や新規抗真菌薬の探索に有望なツールであることを示唆する。

P2-009/WS12-6

ゲノム解析に基づく大淀川上流域における志賀毒素産生性大腸菌の時空間的汚染状況調査と潜在的病原性評価

○入口 俊介¹, 松山 龍太郎², 奥野 未来¹, 玉井 莊一郎³, 伊東 悠介⁴, 竹本 進⁴, 小椋 義俊¹, 鈴木 祥広^{2,3,5} (¹久留米大・医・感染医学, ²宮崎大・院・工学研究科, ³宮崎大・院・農学工学総合研究科, ⁴建設環境研究所, ⁵宮崎大・工)

Genomic analysis of STEC contamination and pathogenic potential in the upper Oyodo River

○Shunsuke Iriguchi¹, Ryutaro Matsuyama², Miki Okuno¹, Soichiro Tamai³, Yusuke Ito⁴, Susumu Takemoto⁴, Yoshitoshi Ogura¹, Yoshihiro Suzuki^{2,3,5} (¹Dept. Infectious Medicine, Sch. Med., Kurume Univ., ²Dept. Eng., Grad. Sch. Eng., Univ. Miyazaki, ³Dept. Env. Res. Sci., Agr. Eng. Grad. Sch., Univ. Miyazaki, ⁴KenKan Consultants Co., Ltd, ⁵Dept. Civ. Env. Eng., Fac. Eng., Univ. Miyazaki)

【目的】生活排水、畜産、野生動物等による糞便細菌の流入は、水系感染症のリスク要因であり、糞便汚染の指標として大腸菌数の調査が進められている。出血性腸炎や溶血性尿毒症症候群などの重篤な症状を引き起こす志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) は公衆衛生上重要であるが、河川における存在頻度は低く、河川における STEC の分布や病原性については理解が進んでいない。本研究では、レジャーや農業用水として利用される流域を対象として、大腸菌のゲノム特性や時空間的分布の変動から汚染状況や汚染源の解明を試みた。さらに、河川水中の STEC を濃縮することで、河川における存在量とゲノム特性から感染リスクを評価することを目的とした。【方法】2022 年 7 月から宮崎県大淀川上流域 (St.1~St.10) を対象に計 6 回の通年調査を実施した。重点地点 (St.1, 4, 5, 10) では、泡沫濃縮法を用いて STEC を検出した。さらに、重点地点で分離された大腸菌 232 株について全ゲノム解析を行い、薬剤耐性遺伝子や系統群などの疫学的マーカーを調査した。【結果・考察】大腸菌数は、農用地から都市部に向かって増加傾向を示し、全室素および降雨量と強い正の相関が認められた。農用地における系統群 A, B1 の優占化と薬剤耐性パターンの変化が確認され、St.4 付近で主要な大腸菌汚染源が変化している可能性が示唆された。STEC は全ての重点地点で検出され、分離された 13 株のうち 3 株は臨床的に重要な血清型 (O111:H8 および O103:H2) であり、*stx1a* / *stx2a*, *eae* 陽性であった。調査期間を通じた流域全体の平均 STEC 存在量は 0.58 cells/100 mL であり、公衆衛生上のリスク要因となる可能性が示唆された。

P2-010

共生細菌 *Neochlamydia* S13 が宿主アメーバのシスト形成及び脱シストに与える影響と外部細菌の取り込み能評価

○竹田 流碧, 竜田 あかね, 大久保 寅彦, 山口 博之 (北大・院・保健科学)

Impact of Endosymbiont *Neochlamydia* on Cyst Biology in host amoebae and Evaluation of *E. coli* Uptake

○Ruo Takeda, Akane Tatsuta, Torahiko Okubo, Hiroyuki Yamaguchi (Fac. Health Sci., Hokkaido Univ.)

私達は、*Acanthamoeba* とその細胞内でしか生きられない難培養細菌との共生関係について、宿主と病原体との相互作用を紐解く一つのモデルとして研究を進めてきた。このモデルは環境クラミジアの一種 *Neochlamydia* S13 が共生するアメーバ (札幌の土壌から独自に株化) の共生体である。この宿主は共生細菌によって増殖が抑制されるという明確なリスクを負いながら、天敵である *Legionella* に対する抵抗性を獲得しているが、他にも既に宿主側にもたらされている恩恵があるかは定かではない。またアメーバは、外的刺激や過酷な環境を耐え抜くために「シスト」という休眠状態になる適応機構を有することから、その際に食糧源になる細菌をシスト内に取り込むという考察が成された。そこで本研究では、共生細菌が宿主のシスト形成と脱シスト及び外部細菌の取り込み能に与える影響を調査した。①シスト形成時に外来細菌を取り込むかを S13WT (*Neochlamydia* 共生株), S13RFP (除菌株), C3 (ATCC 株) を用いて *E. coli* と共にシスト化 buffer 内で共培養して評価したが、共生細菌の有無に依らず定量・顕微鏡観察ともに取り込みは確認できなかった。②Trypan Blue 染色を用いたシスト化割合の測定では S13WT で最も高く、S13RFP では有意に低下し、S13HS-T3 (*Protochlamydia* 再導入株、共生細菌有無の影響を考慮して使用) は回復傾向を示した。③脱シストは逆に S13WT で抑制される一方で S13RFP では促進し、S13HS-T3 はその中間程度であった。以上より、共生細菌がシスト形成および復帰過程を制御する可能性があり、元来シスト化の機能に欠損があるアメーバがそれを補うためにコストを払ってでも共生するようになった可能性が示された。

P2-011

バンコマイシン耐性 *Enterococcus faecium* 臨床分離株と *Fusobacterium nucleatum* との共凝集性の検討

○西本 朱歩, 柳原 正志, 岡本 成史 (阪大院・医保・生体病態情報科学)

Analysis of coaggregation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Fusobacterium nucleatum*

○Ayaho Nishimoto, Masashi Yanagihara, Shigefumi Okamoto (Dept. Clin. Lab. Biomed. Sci., Grad. Sch. Med., UOsaka)

【背景】Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VRE)は、多剤耐性の日和見病原体である。近年、腸管保菌による院内アウトブレイクが国内で多発し、問題となっている。VREは口から摂取して腸管で保菌に至るが、口腔の衛生状態との関連は不明である。*Fusobacterium nucleatum* は、橋渡し菌として口腔細菌間の共凝集を介してバイオフィーム形成を促進し、歯周病の発症に関与する。歯周病治療によって便中の *F. nucleatum* の減少が報告されている。VREは口腔や腸管で *F. nucleatum* と接触する可能性があるものの、その相互作用は不明である。【目的】VRE アウトブレイク関連株を用いて *F. nucleatum* との共凝集性を検討し、共凝集メカニズムを明らかにする。【方法】単一医療機関アウトブレイク関連 VRE 臨床分離株 68 株、*F. nucleatum* ATCC 25586 を用い、定量的分光光度凝集アッセイで共凝集性を評価した。【結果・考察】VRE と *F. nucleatum* の共凝集性は High/Low の 2 群に分かれ、VRE 68 株中 14 株 (20.6%) で High 群となった。High 群の内、13 株をメカニズムの検討に用いた。加熱実験では、*F. nucleatum* を加熱処理した場合でのみ共凝集が完全阻害に至ったことから、*F. nucleatum* の易熱性タンパク質が付着素と考えられた。Galactose, Mannose, Glucose, Arginine, Lysine, Glutamic acid, Serine の添加による共凝集阻害実験では、Serine を除いて有意な阻害を示し、特に、Arginine では 13 株全てで完全阻害に至った。以上より、VRE は Arginine 阻害性付着素を介して *F. nucleatum* と共凝集することが明らかになった。VRE の腸管保菌のリスク因子として、口腔衛生状態の関与の可能性が考えられる。

P2-012

共生細菌 *Neochlamydia* 保有アメーバにおける細菌サイズ認識に基づいた防御戦略

○大久保 寅彦, 竹田 流碧, 山口 博之 (北大・院・保健科学)

Defense Strategy Based on Bacterial Size Recognition in *Neochlamydia*-Harboring *Acanthamoeba*

○Torahiko Okubo, Ruo Takeda, Hiroyuki Yamaguchi (Fac. Health Sci., Hokkaido Univ.)

共生細菌 (*Neochlamydia*) を内部に保持するアメーバ (*Acanthamoeba* S13WT) は、固体培地上で *Escherichia coli* を貪食することなく細胞表面に“背負ったまま” (backpack) 生かし、比較的小型の *Legionella pneumophila* の感染から自身を防御することが知られている。この現象は共生細菌に依存しており、未知の防御メカニズムの存在を示唆する。本研究ではこの防御メカニズムを解き明かす手がかりとして“背負われる細菌”における菌体長や表面構造などの物理的特徴に着目し、固体培地で backpack されなくなる菌株 (トランスポゾン挿入変異株) の検出を行なった。その結果、 Na^+/H^+ 逆輸送体をコードする *nhaA* 遺伝子が破壊された変異株を見いだした。*nhaA* 欠損株 (平均菌体長 6.42 μm) は元株 (同 2.02 μm) に比べて細長く伸長しており、アメーバに徐々に捕食されることが判明した。同様に、*nhaA* 欠損株では backpack 現象が消失していた。一方、*nhaA* を補完すると細菌の形態は通常サイズに回復し、backpack 現象も再出現した。また、マイトマイシン C 処理で人工的に伸長させた *E. coli* を用いた場合も、backpack は形成されず、これらの大型化した細菌はアメーバに捕食された。以上の結果から、共生細菌保有アメーバ S13WT は内在する共生細菌 *Neochlamydia* に依存して、「小型の細菌をあえて取り込まない」という戦略により外来微生物 (特にレジオネラ [平均菌体長 3.04 μm]) から自身を守っていると結論した。本研究は、細菌捕食性微生物の生存戦略として、共生関係に基づく“細菌サイズの認識”という新たな防御メカニズムを提案する。

P2-013

Aeromonas veronii 外膜小胞 (OMVs) によるバイオフィーム形成促進は c-di-GMP 増加を伴う

○清家 総史¹, 小林 秀丈¹, 高橋 栄造², 岡本 敬介³, 山中 浩泰¹ (¹広島国際大・薬・分子微生物科学, ²横浜薬科大・薬・感染予防学, ³岡山大院・医歯薬学総合研究科)

Enhancement of biofilm formation by *Aeromonas veronii* OMVs accompanied by increased c-di-GMP

○Soshi Seike¹, Hidetomo Kobayashi¹, Eizo Takahashi², Keinosuke Okamoto³, Hiroyasu Yamanaka¹ (¹Lab. Mol. Microbiol. Sci., Fac. Pharm. Sci., Hiroshima International Univ., ²Lab. Med. Microbiol., Dept. Health Pharm., Yokohama Univ. Pharm., ³Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ.)

【目的】*Aeromonas* は河川や汽水域等に棲息するグラム陰性桿菌で食中毒起因菌として知られている。本菌は、医療機器に biofilm を形成後、人へ感染する経路も報告されている。これまでの研究で、本菌が biofilm 内で遊離する外膜小胞 (outer membrane vesicles: bOMVs) が biofilm 形成を促進することを明らかにしているが、その詳細な作用メカニズムは判っていない。bOMVs による biofilm 形成メカニズムを検討するため、biofilm を制御していることで知られている細菌のセカンドメッセンジャーである c-di-GMP に注目し、種々の解析を行った。

【結果と考察】Biofilm 形成能を有する *Aeromonas veronii* biotype sobria 104 株に、biofilm 形成能の異なる菌株 (102, 104, 106 株) 由来 bOMVs を処理し菌体内 c-di-GMP 量を測定したところ、いずれの bOMVs でも c-di-GMP 濃度が上昇した。この上昇は bOMVs の c-di-GMP が取り込まれた結果ではなく、bOMVs と菌体の相互作用による何かしらの機構で c-di-GMP 合成促進の可能性が示唆された。次に、bOMVs と菌体の相互作用を阻害するため、104 bOMVs、超音波で膜破壊した sonicated-104 bOMVs、膜破壊作用を有す抗菌ペプチド LL-37 処理 104 bOMVs を 104 株に作用させたところ、いずれも biofilm 形成能と c-di-GMP 濃度が上昇した。

以上より、膜破壊後の bOMVs でも c-di-GMP 増加と biofilm 形成促進が誘発されることがわかった。c-di-GMP 増加の直接的な要因や biofilm 形成促進の詳細なメカニズムは現時点では不明であるが、bOMVs による biofilm 形成促進は LL-37 などによる生体防御反応の影響を受けにくい可能性や、c-di-GMP の増加が biofilm 形成に関与している可能性が示唆された。

P2-014

Pseudomonas 属細菌 Y132 株の植物生長促進作用に関与する遺伝子の同定

○岡南 政宏^{1,2}, 金井 莉音¹, 佐竹 洸人², 蔵下 はづき², 阿野 貴司^{1,2} (1)近畿大院・生物理工, (2)近畿大・生物理工)

Identification of genes involved in plant growth promotion by *Pseudomonas* sp. strain Y132

○Masahiro Okanami^{1,2}, Rinon Kanai¹, Hiroto Satake², Hazuki Kurashita², Takashi Ano^{1,2} (1)Grad. Sch. Biol.-Ordt Sci. Technol., Kindai Univ., (2)Fac. Biol.-Ordt Sci. Technol., Kindai Univ.)

環境中には植物と相互作用し植物の生長を促進する細菌が存在する。そのような細菌は植物生長促進細菌(PGPB)とよばれ、植物ホルモン様物質の産生や鉄化合物やリン化合物の可溶化を通じて、植物の生長を直接的に促進するものや、抗生物質の産生などにより植物病原菌の増殖を抑制し、植物の生長を間接的に促進するものもある。しかし、PGPBによる植物生長促進(PGP)作用に関与する遺伝子やその分子メカニズムについては、未だ十分に解明されていない。我々が土壌から単離した *Pseudomonas* 属細菌 Y132 株は、共培養した場合にウキクサ(*Lemna japonica*)の個体数を2倍以上に増加させる PGPB である。また、*Colletotrichum orbiculare* をはじめとする複数の植物病原菌の増殖を抑制することも確認されている。

本研究では、*Pseudomonas* 属細菌 Y132 株の PGP 作用に関与する遺伝子の同定を試みた。まず、接合とトランスポゾンを利用して薬剤耐性遺伝子を Y132 株ゲノムにランダムに挿入し、遺伝子破壊株ライブラリーを作製した。遺伝子破壊株とウキクサを共培養したところ、PGP 作用を失った Y132 変異株が複数得られた。これらの Y132 変異株について破壊された遺伝子を調べたところ、膜貫通型センサータンパク質や転写因子などシグナル伝達や転写制御に関与すると考えられるタンパク質をコードする遺伝子が同定された。本総会では、これらの Y132 変異株の解析結果を報告し、Y132 株による PGP 作用の分子メカニズムを提案する。

P2-015/FL2-03

乾燥面の人肌加温は表面の細菌数の低減に貢献するか：多検体同時評価法の構築と有効域

○六渡 萌¹, 大久保 彦彦¹, 佐藤 豊孝², 山口 博之¹ (1)北大・院・保健科学, (2)北大・院・獣医)

Body-Temperature Warming Efficacy on Bacterial Survivability via Multi-Sample Analysis

○Moe Rokuto¹, Torahiko Okubo¹, Toyotaka Sato², Hiroyuki Yamaguchi¹ (1)Fac. Health Sci., Hokkaido Univ., (2)Fac. Vet. Med. Hokkaido Univ.)

高頻度接触面には多くの細菌が付着し接触感染の原因になる。私達は接触面の細菌数を恒常的に低減させる方策を検証してきた。先行研究にて人肌 (37°C) 程度に加温したデバイス上ではヒト病原細菌 (*E. coli* や *S. aureus*) の乾燥後生菌率が無加温時と比較し有意に減弱した (Konno et al., PLoS ONE 2023)。一方、この実験系では菌回収操作が煩雑で同時に多検体を処理できない。そこで同時に多検体を正確・簡便に評価できる方法を構築し、人肌加温による生菌数低減効果がどの種類の菌種・菌株に有効かを検討した。被検菌を懸濁し 96-well plate に既知濃度で接種。乾燥直後または温度 37°C 湿度 55% で 24 時間静置後に SCD 液体培地を添加、恒温比濁計で培養し濁度(OD600)を経時的に測定した。濁度が閾値を超えるまでの所要時間を元に相対的な乾燥後生菌率を算出した。人体定着菌(*E. coli*, *S. aureus* 等 n=25)、日和見感染菌(*Acinetobacter* 等 n=5)、環境由来の低病原性菌・芽胞菌(*Bacillus* 等 n=22)を用いた結果、*E. coli* や *S. aureus* 等の病原性細菌(n=30)について測定した菌株のうち9割以上の菌株で有意に人肌加温による細菌数低減効果が見られた。環境細菌(n=22)については *Bacillus* 属を中心に人肌加温の効果が乏しい菌株が多く見られた。双方とも同菌種でも菌株によって乾燥後生菌率に差が見られ、細菌の乾燥抵抗性は菌株レベルでも差異があることが示唆された。構築した実験系は細菌の乾燥後生菌率を多検体同時に評価することができ、菌種・菌株での比較を通して細菌の乾燥抵抗性を検証するのに貢献すると考えられた。現在 *E. coli* のパンデミッククローンを集めて人肌加温の有無で生菌率比較を検討中である。

P2-016/FL2-04

使用済みハードコンタクトレンズケース内部の衛生環境～バイオフィーム定量とマイクロバイーム解析～

○後藤 紗也香, 河原 由衣, 田中 利枝, 木村 優那, 田原 宏輔, 上杉 晃司, 角出 泰造 (株) メニコン)

Biofilm and microbiome assessment of hygienic status in used hard contact lens cases

○Sayaka Goto, Yui Kahara, Rie Tanaka, Yuna Kimura, Kosuke Tahara, Koji Uesugi, Taizo Sumide (Menicon Co., Ltd.)

コンタクトレンズ (CL) ケースに存在する微生物は CL を介して眼に持ち込まれ、眼感染症のリスクを高める可能性があることから、ケース内部の衛生環境に着目してきた。先行研究により、ハード CL ケースの衛生環境に問題があることが示唆されている。本研究では、ハード CL ケースの使用期間とバイオフィーム量の関係を詳細に分析するとともに、レンズケース内部のマイクロバイーム解析を実施した。1. バイオフィーム定量：108 個の使用済みレンズケースをクリスタルバイオレットで染色し、吸光度を測定した。使用期間について、3 カ月、6 カ月、12 カ月を基準として設定し、基準値以上の群と基準値未満の群の2群間比較をそれぞれ実施した。その結果、いずれの比較においても使用期間が長い群の吸光度が有意に高かった (Welch's t test, $p < 0.01$)。特に、使用期間が6カ月を超えると吸光度が顕著に増加する傾向が見られ、バイオフィームの蓄積が顕著になることが示唆された。2. マイクロバイーム解析：未使用 (n=5) 及び使用済み (n=23) レンズケースを対象に 16S rRNA シーケンシングを実施した。菌構成比解析の結果、未使用レンズケースでは環境由来細菌が多く検出されたのに対し、使用済みレンズケースでは *Corynebacterium* 属等の皮膚常在菌も検出された。α 多様性解析の結果、使用済みレンズケースでは chao1 指数が有意に高く (Kruskal-Wallis test, $p < 0.05$)、未使用レンズケースと比較してレンズケース内部の細菌叢がより多様化することが示唆された。これらの結果より、レンズケース内部の衛生環境を適切に維持するためには、定期的なレンズケースの交換が重要だと考えられた。

P2-017/FL2-05

トリスによる崩壊処理技術を用いた角栓菌叢の網羅的解析

○矢野 剛久¹, 古川 紅², 梅原 香織², 生垣 信一² (1)花王株式会社安全性科学研究所, (2)花王株式会社スキンケア研究所)

Comprehensive analysis of microbiota in keratotic plugs following disintegration with Tris

○Takehisa Yano¹, Kurenai Furukawa², Kaori Umehara², Shinichi Ikegaki² (1)Safety Science Lab, Kao Corporation, (2)Skincare Lab, Kao Corporation)

Introduction: Human skin harbors diverse microbiota, each influencing skin conditions. Microbes, due to distinct physiological traits, localize differently across skin sites. Keratotic plugs within pores provide a unique environment—oxygen in poor and rich in sebum—favoring specific microbial populations. Yet, there has been no comprehensive and efficient techniques for analyzing plug microbiota. We developed a novel sampling technique that efficiently collects plugs and extracts resident microbes for localization analysis. **Methods:** Microbes were obtained from plugs by ejecting Tris (tris(hydroxymethyl)aminomethane) solution at high speed through a fine nozzle, enhancing Tris's disintegration ability. Skin-surface microbes were collected by swabbing. DNA was extracted and analyzed via 16S rRNA sequencing and single-locus sequence typing for *Cutibacterium acnes*. **Results and discussion:** Microbial diversity (Chao1 index) was higher in plugs, and community structure differed markedly from skin surfaces. Anaerobes, including specific *C. acnes* genotypes (e.g., 1A1, 1A2), were enriched in plugs. These findings indicate plugs harbor distinct, diverse communities. The prevalence of certain *C. acnes* genotypes suggests a link to acne, and targeting these genotypes within plugs may offer new strategies for managing *C. acnes*-associated inflammation.

P2-018

フソバクテリウムとフィーカリバクテリウムの相互作用と腸内細菌コミュニティ形成

○細見 晃司^{1,2}, 丸山 聡子^{2,3}, 松岡 翼^{2,3}, 川島 和², 小林 敏樹^{2,3}, 國澤 純²
(¹大阪公立大・獣医, ²医薬基盤・健康・栄養研究所, ³株式会社はくばく)

Interactions between *Fusobacterium* and *Faecalibacterium* in shaping the gut microbial community

○Koji Hosomi^{1,2}, Satoko Maruyama^{2,3}, Tsubasa Matsuoka^{2,3}, Hitoshi Kawashima², Toshiaki Kobayashi^{2,3}, Jun Kunisawa² (¹Grad. Sch. Vet. Sci., Osaka Metropolitan Univ., ²National Inst. Biomedical Innovation, Health and Nutrition (NIBN), ³Hakubaku Co., Ltd.)

Background: The human gut harbors a dense and diverse community of microorganisms collectively known as the gut microbiota. Understanding how microbial communities are assembled and maintained is essential for advancing gut health and developing microbiota-targeted interventions. **Methods:** We conducted an observational study of 236 Japanese participants and analyzed their gut microbiome using next-generation sequencing. An in vitro co-culture system of *Fusobacterium varium* and *Faecalibacterium prausnitzii* was established to characterize their interactions. **Results:** We identified a unique interaction between the pathobiont *F. varium* and the symbiont *F. prausnitzii*. In human samples, *Fusobacterium* and *Faecalibacterium* genera showed a negative correlation, and multiple *Fusobacterium* species including *F. varium* were negatively associated with *F. prausnitzii* at the species level. In co-culture with reduced pH and increased β -hydroxybutyrate, *F. varium* exhibited abnormal amino acid metabolism and its growth was suppressed. Conversely, the presence of *F. varium* altered the transcriptomic profile of *F. prausnitzii* and promoted its growth, likely through direct physical contact between the two bacteria. **Conclusion:** Our findings provide new insights into gut microbial ecology and potential approaches for supporting gut health.

P2-019/FL2-06

大腸炎抑制活性を有する腸内芽胞菌の同定と単離

○沖 梨咲子¹, 田中 一己^{2,3,4}, 野村 暢彦^{5,6,7}, 尾花 望^{7,8}, 福田 真嗣^{2,3,4,8,9}
(¹筑波大・理工情報生命, ²慶大・先端生命研, ³神奈川産技総研, ⁴順天堂大・医, ⁵筑波大・生命環境系, ⁶筑波大・TIAR, ⁷筑波大・MICS, ⁸筑波大・医学医療・TMRC, ⁹(株)メタジェン)

Isolation and identification of colitis-suppressing sporulating gut bacteria

○Risako Oki¹, Kazuki Tanaka^{2,3,4}, Nobuhiko Nomura^{5,6,7}, Nozomu Obana^{7,8}, Shinji Fukuda^{2,3,4,8,9} (¹Life Ear. Sci, Univ. Tsukuba, ²Inst. Adv. Biosci., Keio Univ., ³KISTEC, ⁴Inst. Med., Univ. Juntendo, ⁵Fac. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ⁶TIAR, Univ. Tsukuba, ⁷MICS, Univ. Tsukuba, ⁸TMRC, Inst. Med., Univ. Tsukuba, ⁹Metagen, Inc.)

腸内細菌叢は炎症性腸疾患などの宿主の病態形成に密接に関わることが知られている。また、腸内では難消化性炭水化物である MACs (Microbiota Accessible Carbohydrates) によって腸内細菌叢が変化することや、腸内細菌による MACs の質化により有益な代謝産物が生産される。我々は MACs の一つとして大腸炎抑制効果を持つ米ぬかに着目した。先行研究により米ぬかを摂取したマウスの腸内芽胞菌が大腸炎抑制活性を有することが明らかになった。本研究では、米ぬか摂取マウスの腸内細菌叢より大腸炎抑制活性を有する芽胞菌を単離および同定することを目的とした。米ぬか摂取マウス由来の腸内芽胞菌を様々な培地で培養し、出現したコロニーを回収した。各培地から回収した細菌を定着させたノトバイオートマウスに Dextran Sodium Sulfate (DSS) を投与し、大腸炎を誘発させ、各細菌群の大腸炎抑制活性を評価した。その結果、単独の培地から回収した細菌群では大腸炎は抑制されなかった。一方で、複数の培地から回収した細菌群を混合し、これを定着させたノトバイオートマウスでは、大腸炎症状が抑制される傾向が観察された。以上の結果より、大腸炎抑制活性には多様な腸内芽胞菌種から構成される集団が必要であることが示唆された。今後は、様々な培地から芽胞菌を個別に単離し、様々な組み合わせで活性を試験することにより、大腸炎抑制に必須な最少の細菌の組み合わせを決定することを目指す。本研究の成果はプロバイオティクスを利用した新たな大腸炎治療法の開発に繋がることが期待される。

P2-020

大規模マイクロバイオームから学習した AI モデルによる糞便微生物負荷量の推定

○西嶋 傑 (東京大・新領域)

An AI-based model for predicting fecal microbial load from relative microbiome profiles

○Suguru Nishijima (LiSDac, Front. Sci., Univ. Tokyo)

腸内マイクロバイオームは、宿主の代謝、免疫、感染防御など多くの生理機能に影響し、様々な疾患とも深く関与することが知られている。しかし、メタゲノム解析から得られる情報は相対的な菌の割合であり、糞便中に実際にどれだけの細菌が存在するのか(微生物負荷量)に関する情報は得ることができない。本研究ではこの制約を克服するため、絶対的な微生物負荷量が実測された数千件の腸内マイクロバイオームデータを用いて、相対的な分類群プロファイルから糞便微生物負荷量 (cells per gram) を推定する AI モデル(機械学習モデル)を開発した。本モデルを 34,539 件の大規模公的メタゲノムデータに適用したところ、糞便微生物負荷量は腸内マイクロバイオームの変動を説明する主要な要因であることが明らかになった。負荷量は年齢、地理的背景、食事、生活習慣、薬剤使用など多様な宿主因子と強く関連しており、興味深いことに、複数の疾患においては、疾患そのものよりも微生物負荷量の違いのほうがマイクロバイオームの変動を強く説明した。さらに、負荷量を補正すると疾患関連菌と報告されていた多くの分類群の有意性が減弱した。これらの結果は、糞便中の総細菌量は腸内マイクロバイオーム研究において不可欠でありながら、これまでほとんど考慮されてこなかった重要パラメータであり、本モデルを用いることで、より正確な生物学的解釈が可能になることを示唆する。

P2-021/FL2-07

世界 62 カ国 4 万 4 千サンプルの大規模比較メタゲノム解析によるアフリカ人腸内細菌叢の地域特異性の解明

○村井 皓太郎¹, 鈴木 穰², 西嶋 傑² (¹東京大・理・生物情報科学, ²東京大・新領域)

Global metagenomics of 44,000 samples from 62 countries reveals African gut microbiome signatures

○Kotaro Murai¹, Yutaka Suzuki², Suguru Nishijima² (¹Dept. Bioinform. Syst. Biol., Fac. Sci., Univ. Tokyo, ²LiSDac, Front. Sci., Univ. Tokyo)

Background: While the gut microbiome of industrialized countries has been well-characterized, the diversity, function and structure of that in developing regions, particularly in Africa, remain poorly understood. This study aimed to characterize the African gut microbiome using a global-scale metagenomic dataset.

Methods: We collected a large-scale shotgun metagenomic dataset comprising ~44,000 samples from 62 countries. Linear mixed models accounting for country were used to identify microbial species that distinguish African populations from non-African populations.

Results: We identified numerous gut microbial species significantly enriched or depleted in African populations. Particularly, non-photosynthetic cyanobacteria (class *Vampirovibrionia*, order *Gastranaerophilales*) were specifically enriched in African samples. Comparative genome analysis revealed that genomes of these clades were highly enriched in genes related to flagellar assembly and chitobiose transporters.

Discussion: Our global-scale analysis identified distinct signatures of the African gut microbiome compared to those of other populations. The enrichment of unique genes in *Gastranaerophilales* suggests their potential adaptations to specific niches within the human gut. This study highlights previously underappreciated diversity of the human gut microbiome, particularly in African populations.

P2-022

Phage-Mediated Modulation of *Thomasclavelia ramosa* While Preserving Gut Microbial Diversity

○MD Razib Hossain, Priyanka Baranwal, 佐々木 一雅, Xin-Ee Tan, Srivani Veerananarayanan, Yoshifumi Aiba, Kazuhiko Miyana, Shinya Watanabe, Longzhu Cui (Div. Bacteriology, Sch. Medicine, Jichi Medical Univ.)

○MD Razib Hossain, Priyanka Baranwal, Kazumasa Sasaki, Xin-Ee Tan, Srivani Veerananarayanan, Yoshifumi Aiba, Kazuhiko Miyana, Shinya Watanabe, Longzhu Cui (Div. Bacteriology, Sch. Medicine, Jichi Medical Univ.)

Obesity is a growing global health concern, currently affects 43% of adults as overweight and 16% as obese (WHO, 2024) and accumulating evidence links gut microbiota dysbiosis to its development. *Thomasclavelia ramosa* has been identified as an obesogenic bacterium; however, current microbiota-targeting interventions, including antibiotics and fecal microbiota transplantation, often lack specificity and may disrupt microbial homeostasis. Safer and more precise therapeutic strategies are therefore urgently needed.

This study explores bacteriophages as targeted tools to selectively control *T. ramosa* while preserving gut microbial diversity. Ten *T. ramosa*-specific phages (phiTR001–phiTR010) were isolated and characterized for host range and antibacterial activity. Among them, phiTR001 and phiTR004 showed the highest infectivity, with phiTR004 infecting phiTR001-resistant mutants. In vitro experiments demonstrated effective suppression of *T. ramosa*. In vivo studies in mice revealed that a single oral administration of a phiTR001–phiTR004 phage cocktail significantly reduced *T. ramosa* abundance without disturbing overall microbiota diversity. Compared with antibiotic treatment, phage therapy showed superior specificity and microbiota preservation.

P2-023

腸内細菌叢由来の代謝が血圧調節の関与に寄与する可能性

○五十川 泰雄¹, 唐島 成宙², 谷口 昂生³, 溝口 蓮⁴, 小倉 康平⁵, 柳原 正志¹, 辻口 博聖⁶, 原 章規⁶, 中村 裕之⁶, 細道 一善⁷, 岡本 成史¹ (¹阪大・院医・生体病態情報科学, ²金沢大・国際基幹教育院, ³金沢大・保健・病態検査学, ⁴金沢大・医・未来健康増進医学, ⁵京大・院農・食品生物科学, ⁶金沢大・医・衛生学, ⁷東京薬大・院生命科学・ゲノム情報医科学)

Gut microbiota-derived metabolism may contribute to blood pressure regulation

○Yasuo Ikagawa¹, Shigehiro Karashima², Kouki Taniguchi³, Ren Mizoguchi⁴, Kohei Ogura⁵, Masashi Yanagihara¹, Hiromasa Tsujiguchi⁶, Akinori Hara⁶, Hiroyuki Nakamura⁶, Kazuyoshi Hosomichi⁷, Shigefumi Okamoto¹ (¹Dept. Clin. Lab. Biomed. Sci., Grad. Sch. Med., UOsaka, ²Inst. Liberal Arts & Sci., Kanazawa Univ., ³Dept. Clin. Lab. Sci., Fac. Health Sci., Kanazawa Univ., ⁴Dept. Health Promotion & Future Med., Med. Sci., Kanazawa Univ., ⁵Div. Food Sci. Biotech., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ., ⁶Dept. Public Health, Grad. Sch. Adv. Prev. Med. Sci., Kanazawa Univ., ⁷Lab. Comp. Genomics, Sch. Life Sci., Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)

【背景と目的】高血圧は生活習慣病として広く見られ、その発症の最も重要な要因として食塩の過剰摂取が挙げられる。一方で、食塩の適正ないし過少な摂取でも高血圧を発症する人が少なからず存在する。近年、高血圧発症の要因として腸内細菌叢 (GM) の可能性が考えられているが、GM 構成の違いが食塩摂取量 (この量は食塩排泄量と比例する) と血圧との関係ならびに血圧調節に関与する代謝機構の変化に関わるか否かは不明である。本研究では、一般住民の GM 構成と血圧ならびに食塩摂取量との関連性ならびにその関連に寄与する GM 由来の代謝について検討した。【方法】石川県志賀町の 40 歳以上の住民 60 名を、推定食塩排泄量 (g/日) と平均血圧 (mmHg) により、食塩低排泄血圧正常群、食塩低排泄血圧高値群、食塩高排泄血圧正常群、食塩高排泄血圧高値群の 4 群 (各群 15 名) に分け、各群の GM 構成ならびに GM 由来の代謝関連遺伝子発現の詳細についてショットガンメタゲノム解析により検討した。【結果と考察】食塩高排泄血圧高値群と食塩低排泄血圧高値群の間で GM の α 多様性に有意差が認められた。一方、抗高血圧作用があるポリアミンの 1 種であるスベルミジンの合成酵素をコードする遺伝子 (EC 2.5.1.16) の量は食塩排泄量と関係なく正常血圧群で有意に高いことを見出した。さらに、EC 2.5.1.16 を含むポリアミン代謝酵素をコードする遺伝子を有する細菌種の存在比率もまた、食塩排泄量に関係なく血圧値正常と相関する傾向にあることを明らかにした。以上より、GM 由来のポリアミン代謝が血圧調節に寄与する可能性が考えられた。

P2-024

舌真菌量が増加した高齢者における舌苔付着状態と真菌構成および細菌構成との関連

○朝川 美加李¹, 我那覇 正純¹, 古田 美智子¹, 影山 伸哉¹, 馬 佳奈¹, 板津 李奈^{1,2}, 名本 瑛理¹, 竹下 徹¹ (¹九州大・院歯・口腔予防, ²九州大・院歯・矯正)

Association between tongue coating types and tongue microbiota in oral mycoses among the elderly

○Mikari Asakawa¹, Seijun Ganaha¹, Michiko Furuta¹, Shinya Kageyama¹, Jiale Ma¹, Rina Itazu^{1,2}, Eri Namoto¹, Toru Takeshita¹ (¹Sect. Prevent. Dent. Public Health., Grad. Sch. Dent., Kyushu Univ., ²Sect. Ortho. Dento. Orthope., Grad. Sch. Dent., Kyushu Univ.)

【目的】舌における細菌量は舌苔付着量と相関することが知られている。一方で舌における真菌量の増加は白苔を伴う偽膜型、肥厚型もあれば、白苔を伴わない紅斑型、萎縮型もあり、見た目が必ずしも舌真菌量を反映しない。本研究は舌真菌量が増加した高齢者における舌苔付着状態の違いと舌真菌構成および細菌構成の特徴について探索した。

【方法】対象は熊本県在住で通所リハビリテーションを受けた高齢者 145 名とした。舌苔付着状態は Winkel tongue coating index で評価した。舌苔検体は舌背中央部より採取し、DNA を抽出後、定量 PCR 法を用いて単位面積あたりの総真菌量および総細菌量を算出した。また真菌および細菌共通配列であるプライマーを用いて真菌 ITS2 領域および細菌 16S rRNA 遺伝子 (V1-V2 領域) を網羅的に増幅後、増幅断片の塩基配列を次世代シーケンサー Ion GeneStudio S5 を用いて解読し、各検体の真菌および細菌構成を明らかにした。

【結果】対象者のうち、74 名 (51.0%) で舌真菌量の増加が認められた。このうち、舌苔付着の少ない対象者は舌苔付着の多い対象者と比較し、舌総細菌量が有意に高かったが、舌総真菌量および真菌構成に有意な違いは認められなかった。一方、両者の細菌構成は有意に異なっており、舌苔付着の少ない対象者で *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus gasseri*, *Streptococcus mutans* などが特徴的に多く、未処置う蝕歯数も有意に多かった。

【結論】以上より、舌真菌量が増加した高齢者における舌苔付着状態の違いは、細菌構成の違いが関与しており、特に白苔を伴わない舌真菌量の増加は高う蝕リスクと関連する可能性が示された。

P2-025

16S rRNA 遺伝子全長解析による口腔と肺のマイクロバイオーム連関の検証

○影山 伸哉¹, 神尾 敬子², 緒方 大聡³, 朝川 美加李¹, 竹下 徹¹ (¹九州大・歯・口腔予防医学, ²東京女子医科大・医・呼吸器内科学, ³九州大・医・呼吸器内科学)

Microbial association between oral and lung microbiota

○Shinya Kageyama¹, Keiko Kan-o², Hiroaki Ogata³, Mikari Asakawa¹, Toru Takeshita¹ (¹Sect. Prevent. Dent. Public Health, Grad. Sch. Dent., Kyushu Univ., ²Dept. Resp. Med., Tokyo Wom. Med. Univ., ³Dept. Resp. Med., Sch. Med., Kyushu Univ.)

口腔マイクロバイオーム (MB) がう蝕や歯周病などの歯科疾患に関わることはこれまで数多くの研究によって示されてきたが、近年では唾液や血液を介した全身への微生物供給源としても注目を集めている。本研究では、呼吸機能が正常な患者 44 名より唾液と気管支鏡下で気管支被覆液を採取し、口腔と肺の MB 連関を検証した。得られた 88 検体から DNA を抽出したのち、16S rRNA 遺伝子の全長を網羅的に増幅し、PacBio ロングリードシーケンスを用いて各検体の細菌構成を明らかにした。肺 MB と唾液 MB において 16S rRNA 遺伝子の塩基配列が完全に一致した細菌を口腔由来細菌とみなした。加えて、定量 PCR 法を用いて各検体の総細菌量と *Porphyrromonas gingivalis* 量を算出した。唾液 MB と肺 MB の細菌構成は有意に異なっていたが、肺 MB の 64.8% (中央値) を口腔由来細菌が占めており、肺 MB と唾液 MB に含まれる総細菌量は有意な正相関を示した。肺 MB では *Porphyrromonas endodontalis* や *Prevotella salivae*, *Alloprevotella tannerae*, *Prevotella oris*, *Fusobacterium nucleatum*, *P. gingivalis* などの偏性嫌気性細菌が、唾液 MB 中よりも有意に高い割合を占めていた。また、肺 MB と唾液 MB に含まれる *P. gingivalis* 量も有意な正相関を示し、*P. gingivalis* が唾液 MB で検出された者では検出されなかった者より肺 MB 中の *P. gingivalis* 量が有意に高かった。以上より、口腔 MB は肺 MB の形成に寄与しており、口腔由来の偏性嫌気性細菌が肺 MB において優勢となることが示唆された。

P2-026

高血圧に関連する腸内細菌叢の特徴解析：志賀町研究の結果

○溝上 凛^{1,2}, 濱田 真凛^{1,2}, 小林 桃子², 五十川 泰雄¹, 柳原 正志¹, 山口 雅也², 岡本 成史¹ (¹阪大院・医保・生体病態情報科学, ²医薬健康研)

Characterization of gut microbiome associated with hypertension: Shika study results

○Rin Mizogami^{1,2}, Marin Hamada^{1,2}, Momoko Kobayashi², Yasuo Ikagawa¹, Masashi Yanagihara¹, Masaya Yamaguchi², Shigefumi Okamoto¹ (¹Dept. Clin. Lab. Biomed. Sci., Grad. Sch. Med., Osaka Univ., ²NIBN)

高血圧は、世界中で心血管疾患および早期死亡の主要な危険因子となっている。高血圧には腸内細菌叢が関連していることが、近年明らかになってきている。しかし、日本人を対象として高血圧と腸内細菌叢の関連性を調査した報告はほとんどない。我々は、2018年と2020年に石川県志賀町で実施された横断研究のデータを用いて、高血圧に関連する日本人の腸内細菌叢の特徴を解析した。解析の対象は血圧測定と糞便採取が行われた者であり、収縮期血圧が140 mmHg以上もしくは拡張期血圧が90 mmHg以上だった者または降圧薬を服用していた者を高血圧群 (n=150) に、それらに該当しなかった者を非高血圧群 (n=191) に分類した。糞便からシーケンスされた16S rRNA遺伝子のV3-V4領域を解析した。最初に、QIIME2を用いて腸内細菌叢の分類学的構成を調査した。細菌の属レベルの存在量をLEfSeによって群間で比較した結果、高血圧群では *Lachnospira* などの9の細菌属が、非高血圧群では *Blautia* などの2の細菌属が、有意に多く存在していた。次に、PICRUST2を用いて腸内細菌叢の機能を予測した。機能 (KEGG ortholog: KO) の存在量をDESeq2によって群間で比較すると、高血圧群では20のKOが、非高血圧群では19のKOが、有意に多く存在していた。Enteropathwayでエンリッチメント分析を行った結果、高血圧群ではPhenylacetate degradationなどの6の代謝経路に、非高血圧群ではPropionate biosynthesisなどの6の代謝経路に、存在量の異なる機能が有意にエンリッチされていた。これらの結果から、日本人の腸内細菌叢において、特定の細菌属と代謝経路が高血圧に関連している可能性が示された。

P2-027

海洋細菌生物膜における剪断駆動型境界不安定性と流れ応答性挙動

○Hongtao Zhang¹, 趙 書峰¹, Andrew S Utada² (¹筑波大・理工情報生命科学術院・生命地球科学研究群, ²筑波大・生命環境系・サステナ微生研・TIA先端研究拠点)

Shear-driven boundary instability and flow-responsive behavior in marine bacterial biofilms

○Hongtao Zhang¹, Shufeng Zhao¹, Andrew S Utada² (¹Life & Environ. Sci., Fac. Life & Environ., Tsukuba Univ., ²Inst. Life & Environ. Sci., Microbial Res. Ctr. for Sustainability, TIAR, Tsukuba Univ.)

Hydrocarbonoclastic bacteria inhabit marine environments and form cohesive biofilms at oil-water interfaces, where they can utilize hydrocarbons as their sole carbon source. Using a microfluidic device to capture individual oil droplets, we observed the dynamic evolution of biofilm boundaries under varying flow conditions. The biofilm exhibited wave-like fluctuations, anisotropic elongation, and shear-induced deformation, as well as fragmentation and reassembly-like behaviors, suggesting a fluid-responsive character. Time-resolved analysis indicated that elevated interfacial shear enhances boundary instability and promotes a transition from active spreading to viscoelastic deformation. These findings highlight the importance of physical forces in shaping the development of marine biofilms at interfaces and provide new perspectives for controlling biofilm morphology in environmental and engineered systems.

P2-028

A. oryzae 発酵米中の α -amylase はヒト共生菌 *Faecalibacterium* の増殖を促進する

○今大路 治之, 多田 彩乃, Emmanuel Munyeshyaka, 桑原 知巳 (香大・医・微生物)

α -Amylase in *A. oryzae*-fermented rice promotes the growth of human symbiotic *Faecalibacterium*

○Haruyuki Imaohji, Ayano Tada, Emmanuel Munyeshyaka, Tomomi Kuwahara (Dept. Microbiol., Sch. Med., Kagawa Univ.)

Diet is one of the critical factors that govern the human gut microbiome. Fermented foods provide beneficial effects for human health by supplying diverse nutrients and digestive enzymes. We aimed to investigate the effect of fermented rice extract prepared with *Aspergillus oryzae* on the growth of human symbiotic *Faecalibacterium prausnitzii*. After steamed rice was fermented by *A. oryzae*, a water-soluble fraction was prepared by centrifugation and used as rice-koji extract. The growth of *F. prausnitzii* in the media supplemented with 1% rice-koji extract was enhanced compared to that in a control medium. Fractionation of the rice-koji extract with an anion-exchange column and mass spectrometry analysis were conducted to identify the growth-promoting factors for *F. prausnitzii*. LC-MS/MS analysis revealed that the fractions showing a growth-promoting effect were rich in α -amylase from *A. oryzae*. The addition of purified *A. oryzae*-derived α -amylase and starch to the culture media increased the growth and butyrate production from *F. prausnitzii*. These findings suggest that *A. oryzae*-derived enzymes in fermented rice-koji possess a growth-promoting effect, enabling *F. prausnitzii* to efficiently uptake and utilize starch degradation products.

P2-029

口腔バイオフィーム形成における *Fusobacterium nucleatum* と *Porphyromonas gingivalis* の相互作用

○多田 彩乃, 今大路 治之, 桑原 知巳 (香川大・医・分子微生物)

Mutual interactions between *F. nucleatum* and *P. gingivalis* during oral biofilm formation

○Ayano Tada, Haruyuki Imaohji, Tomomi Kuwahara (Dept. Microbiol., Med., Kagawa Univ.)

【目的】*Fusobacterium nucleatum* (FN)は歯周病関連細菌であり、口腔バイオフィーム形成において共凝集の核となる。また、*Porphyromonas gingivalis* (PG)は歯周病原細菌であり、線毛を介して宿主組織への付着やバイオフィーム形成に関与する。本研究では、これら主要な歯周病関連細菌が互いの代謝産物を介してバイオフィーム形成にどのような影響を及ぼすのかについて検討した。【方法】FN ATCC25586 株およびPG ATCC33277 株を使用した。相互の培養上清を添加したBHIS培地にて菌液を調整し、24ウェルプレートまたはプラスチックディスクに播種した。24時間嫌気培養後、クリスタルバイオレット染色による定量および走査型電子顕微鏡観察を行った。【結果および考察】PG培養上清の添加はFNのバイオフィーム形成量を濃度依存的に増加させた。また、FN培養上清はPGの増殖を促進し、線毛の発現にも影響を与えた。これらの結果から、FNとPGは分泌因子を介して互いに付着能や増殖能を変化させ、共生環境を構築していると考えられる。現在、RNA-Seq解析による網羅的遺伝子発現解析を進め、本現象の分子メカニズムの解明を試みている。

P2-030

Mycobacterium intracellulare における遺伝学的多様性と低酸素下での増殖との関係

○立石 善隆^{1,2}, 松本 壮吉² (¹福島医大・医・微生物, ²新潟大・医・細菌学)

Relationship between phylogenetic lineage and hypoxic growth pattern in *Mycobacterium intracellulare*

○Yoshitaka Tateishi^{1,2}, Sohkichi Matsumoto² (¹Dept. Microbiol., Sch. Med., Fukushima Med Univ., ²Dept. Bacteriol., Sch. Med., Niigata Univ.)

Mycobacterium avium-intracellular complex (MAC) is a major etiological agent of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease. Compared to *M. tuberculosis*, MAC is phylogenetically diverse, which makes it difficult to find the determinants of phenotypic differences. In this study, we investigated the relationship between phylogenetic lineage and hypoxic growth pattern in 10 clinical *M. intracellulare* isolates and the type strain ATCC13950. On growth kinetics, most of the phylogenetically distant MAC-PD strains from ATCC13950 entered log phase earlier than ATCC13950 under 5% oxygen. The growth rate at midpoint was significantly reduced under hypoxic conditions in a total of 5 MAC-PD strains from ATCC13950 compared to aerobic conditions. The growth rate at midpoint under hypoxic conditions was significantly lower in these 5 MAC-PD strains than in ATCC13950. The two phylogenetically neighbor strains with ATCC13950 showed different growth pattern under hypoxia; one reached midpoint later than ATCC13950, by contrast the other reached midpoint three-quarters earlier than ATCC13950. These data suggest that genotypes seem to have some impact on bacterial growth pattern under hypoxia; however, bacterial growth pattern under hypoxia seems to be determined by multiple factors other than genotypes such as strain-specific profiles of genetic requirements and unproven regulatory systems.

P2-031

個体・集団としての大腸菌の細胞内 Ca^{2+} 濃度恒常性評価

○仲村 岳真¹, 野地 博行^{1,2}, 田端 和仁^{1,2} (¹東京大・院工・応用化学, ²東京大・プラネタリーヘルス研究機構)

Single-cell and population-level evaluation of intracellular Ca^{2+} homeostasis in *E. coli*

○Takemasa Nakamura¹, Hiroyuki Noji^{1,2}, Kazuhito Tabata^{1,2} (¹Dept. Applied. Chem., Sch. Eng., UTokyo., ²RIPH, UTokyo)

Escherichia coli is thought to possess a robust mechanism for maintaining intracellular Ca^{2+} homeostasis. Bulk measurements conducted in the early 2000s suggested that *E. coli* maintains intracellular Ca^{2+} concentrations in the micromolar range, even when exposed to external environments with millimolar levels of Ca^{2+} . In this study, we constructed an *E. coli* strain expressing the fluorescent Ca^{2+} sensor protein NEMOer-c, which can detect Ca^{2+} concentration changes in the millimolar range, and re-examined intracellular Ca^{2+} concentrations at the single-cell level. We developed a new in vivo method for intracellular Ca^{2+} calibration using the antimicrobial peptide cecropin A in Gram-negative bacteria, which show low Ca^{2+} equilibration activity when treated with ionomycin. Our results revealed two key findings: (1) within *E. coli* populations, there exist individual cells in which intracellular Ca^{2+} concentrations can rise to the 10 mM range, and (2) some cells exhibit Ca^{2+} oscillations in the range of minutes. Although Ca^{2+} transport systems have been suggested in *E. coli*, neither the responsible genes nor the underlying mechanisms have been clearly identified. This study provides updated insights into intracellular Ca^{2+} homeostasis in *E. coli* and highlights the potential of this experimental system for further elucidating bacterial Ca^{2+} transport mechanisms.

P2-032/FL2-08

生体内を模した持続的低酸素実験系の構築とその中での *Chlamydia trachomatis* の細胞内動態

○結城 妃彩良, 出口 大揮, 辰宮 大翼, 大久保 寅彦, 山口 博之 (北大・院・保健科学)

Establishment of a Sustained hypoxia system and intracellular dynamics of *Chlamydia trachomatis*

○Kisara Yuki, Taiki Deguchi, Tsubasa Tatsumiya, Torahiko Okubo, Hiroyuki Yamaguchi (Fac. Health Sci., Hokkaido Univ.)

偏性細胞内寄生性細菌 *Chlamydia trachomatis* (Ct) は性感染症の主要な起因菌であり、子宮頸癌の危険因子にもなりうる。故に Ct の病態解明の鍵となる細胞内動態の理解は極めて重要である。一方、膣頸管粘膜面が低酸素に維持されていることから、ガス置換型低酸素チャンパーを用いて酸素分圧を 2% に調整した環境での Ct (L2/434/Bu 株) の細胞内増殖の様式を観察したところ通常酸素環境下 (21% O₂) と比較して 10~100 倍程度菌数が増加することを発見した (Thapa et al, Microbs Infect, 2020)。しかし宿主細胞の維持や Ct の感染は生体内を模した低酸素環境で行われていなかった。そこで細胞培養低酸素ワークステーション InvivoO2 を導入し、持続的低酸素環境実験系を構築し、低酸素暴露条件を変えて Ct の感染細胞 (HEp-2) とその細胞内での増殖の差異を調べた。実験に際し、従来の CO₂ 培養器は「通常酸素環境」、ガス置換型チャンパーを「部分的低酸素環境」、InvivoO2 を「全工程低酸素環境」と便宜的に定義した。また実験を行うまで通常酸素で継代維持した細胞を「低酸素非順化細胞」とし、一ヶ月以上 InvivoO2 内で維持した細胞を「低酸素順化細胞」とした。予備的な検討結果だが全行程低酸素環境で維持した細胞は部分的低酸素に比べ増殖速度が遅くなった。また Ct は全行程低酸素環境で培養した細胞内において部分的低酸素環境に比べ増殖菌数が低下した。これらの結果は、Ct の増殖スピードが通常酸素暴露時間に依存して変化する可能性を示唆している。現在、再現性も含め低酸素応答に関わる主要分子 (HIF-1α など) の動態について検討を加えている。

P2-033

Viable but non-culturable *Campylobacter jejuni* fails to resuscitate in the chicken infection model

○MD Jannat Hossain^{1,2}, 猪島 康雄^{1,3,4}, 岡田 彩加^{1,3,4} (¹岐阜大院・獣医, ²Dept. Microbiol. Pub. Heal., Khulna Agri. Univ., ³岐阜大・獣医, ⁴岐阜大・GeFAH)

○MD Jannat Hossain^{1,2}, Yasuo Inoshima^{1,3,4}, Ayaka Okada^{1,3,4} (Joint Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ., ²Dept. Microbiol. Pub. Heal., Khulna Agri. Univ., ³Joint Dept. Vet. Med., Gifu Univ., ⁴GeFAH, Gifu Univ.)

Campylobacter jejuni is a major foodborne pathogen and can enter a viable but non-culturable (VBNC) state, which is undetectable on standard media. Although VBNC *C. jejuni* is metabolically active, its pathogenicity in humans and resuscitation in chickens have not yet been demonstrated. To understand the infection cycle in poultry farms, it is essential to determine whether VBNC *C. jejuni* can resuscitate and colonize in the chicken intestinal tract. Therefore, this study aimed to evaluate VBNC resuscitation in a chicken model for improved risk assessment. Twelve *C. jejuni*-free layer chicks were divided into four groups: a negative control and three infection groups receiving orally 10³, 10⁵, or 10⁷ VBNC cells of *C. jejuni* NCTC 11168 at 18 days old. Feces and cloacal swabs were collected twice a week for up to three weeks, while intestinal samples were collected after euthanizing chickens. All samples were examined by culturing on mCCDA and Preston broth, qPCR, and digital PCR. All fecal, cloacal, and intestinal segment samples tested negative. These results indicate that VBNC *C. jejuni* did not resuscitate in the chicken intestinal tract under the experimental conditions. Future studies will include experimental infections in young and adult chickens, combined with microbiome inoculation, to assess VBNC *C. jejuni* resuscitation.

P2-034/FL2-09

バクテリオファージ NiC89 に耐性化した大腸菌における環境依存性トレードオフ

○小林 日夏¹, 藤木 純平¹, 佐藤 豊孝², 天野 有里加¹, 中村 暢宏³, 岩野 英知^{1,4} (¹酪農大・獣医・生化学, ²北大・獣医・獣医衛生, ³カリフォルニア大・サンディエゴ校・医, ⁴早稲田大・総合研究機構・ファージセラピー研究所)

Environment-Dependent Trade-Offs in *E. coli* Resistant to Bacteriophage NiC89

○Hinatsu Kobayashi¹, Jumpei Fujiki¹, Toyotaka Sato², Yurika Amano¹, Tomohiro Nakamura³, Hidetomo Iwano^{1,4} (¹Dept. Vet. Biochem., Vet. Med., Rakuno Gakuen Univ., ²Dept. Vet. Hygiene., Vet. Med., Hokkaido Univ., ³Dept. Med., California Univ., San Diego., ⁴Phage Therapy Institute, Waseda Univ.)

【背景】近年、薬剤耐性菌の拡大が世界的な公衆衛生上の課題となっている。このような背景のもと、細菌に感染して殺菌効果をもたらす“バクテリオファージ”を用いたファージ療法が再び注目されている。特に大腸菌 ST131 といったキノロン耐性大腸菌は、世界的な抗菌薬耐性感染症の原因である。そこで本研究では、薬剤耐性大腸菌に対するファージ療法の有用性を検討すべく、ST131 から分離されたファージについて検証した。【方法】複数のキノロン耐性大腸菌に感染する ϕ NiC89 と大腸菌 BW25113 を用いてファージ耐性菌を取得し、変異部位の解析を行った。また、嫌気環境下での CFU 測定を行った。加えて、核酸合成経路に影響する薬剤を添加し、増殖抑制効果を評価した。【結果】BW25113 で取得したファージ耐性菌ではスクレオシド特異的チャネル形成蛋白質前駆体をコードする遺伝子 *tsx* に変異が生じていたことから、 ϕ NiC89 の吸着部位は *Tsx* であるとし唆された。また、好気環境では増殖に差がなかったが、特に嫌気環境では親株と比較して CFU が有意に減少していた。さらに核酸新規合成を阻害するヒドロキシウレアにより、好気環境においても増殖の抑制がみられた。【考察】*Tsx* はスクレオシド取り込みに必要であることから、変異によりチャネル機能が喪失し、核酸の合成効率が低下した結果、嫌気条件下で増殖抑制が生じたと考えられる。本結果は、大腸菌に起因する子宮内膜炎や尿路感染症に対し、ファージ耐性化を予期した先回り戦略として、*Tsx* 認識能を有するファージを利用することがファージ療法の奏功性向上に有望であることを示唆する。今後は臨床株での検証と細胞障害毒性の評価を行う予定である。

P2-035/FL2-10

無菌マウス消化管内および消化管内容物内における *Helicobacter pylori* の生態と形態について

○北条 史¹, 大崎 敬子² (¹杏林大・医・実験動物施設, ²杏林大・医・予防医学)

Ecology and Morphology of *Helicobacter pylori* in the Intestinal Tract and Contents of Germ-Free Mice

○Fuhito Hojo¹, Takako Osaki² (¹Inst. Lab. Animals, Grad. Sch. Med., Kyorin Univ., ²Dept. Prevent. Med., Kyorin Univ., Sch. Med.)

Helicobacter pylori は世界人口の半数が保菌しているとされ、胃・十二指腸潰瘍の原因菌である他、胃がんと関連性も指摘されている細菌である。その感染経路については本菌の感染経路は、先進国での保菌率が低く発展途上国での保菌率が高いことから、衛生状態などに関連する水系・糞口感染が主な感染経路と推定されているものの、河川などの水系環境やヒトを含む感染動物の糞便からは培養に成功しておらず、全容は明らかになっていない。本菌は通常らせん状の構造を取るが、環境条件によって球状化することがあり、この形態は VBNC (Viable But Not Culturable: 生きているが培養できない) 状態であると考えられている。仮に本菌がこの VBNC 状態として糞便中に排出されるならば、「保菌動物の糞便から培養できないこと」、「衛生環境の悪い地域での高い陽性率」に説明をつけることができる。そこで本研究では球状化・VBNC 化した本菌が環境への分布に関与している可能性に着目し、無菌マウスへの感染実験を行い、生体内での *H. pylori* の生態と形態の変化について解析を行なった。PMA は *H. pylori* PMSS1 死菌の PCR 反応を阻害し、生菌の PCR 反応は阻害しなかった。動物実験では培養法、PMA-qPCR でも胃のサンプルからのみ本菌を検出した。透過型ならびに走査型電子顕微鏡観察の結果、胃の組織及び内容物のサンプルからは螺旋状および球状の菌が観察された。*H. pylori* は胃に定着しながら形態や生態を変えるものの、腸管内にはほとんど定着せずに排出されることが示唆された。

P2-036

ヒト腸内細菌叢のメタゲノムアセンブルドゲノム構築と GTDB-Tk ベース系統分類による新種候補の発見

○山口 雅也¹, 小林 桃子¹, 川島 和¹, 孫 正寛¹, 齊藤 高志¹, 細見 晃司², 宮地 元彦³, 國澤 純¹ (¹医薬健康研, ²大公文・獣医・獣医感染症, ³早稲田大・スポーツ科学)

GTDB-Tk-based analysis of human gut MAGs reveals candidate novel species

○Masaya Yamaguchi¹, Momoko Kobayashi¹, Hitoshi Kawashima¹, Zhengkuan Sun¹, Takashi Saito¹, Koji Hosomi², Motohiko Miyachi³, Jun Kunisawa¹ (¹NIBN, ²Dept. Vet. Sci., Grad. Sch. Vet. Sci., Osaka Metropolitan Univ., ³Fac. Sport Sci., Waseda Univ.)

【背景】ヒト腸内細菌叢は多様な未培養細菌を含んでおり、細菌ゲノム情報を網羅的に取得することは腸内細菌叢の機能理解や創薬資源としての活用に重要である。本研究では、ヒト糞便由来メタゲノムショットガンデータからメタゲノムアセンブルゲノム (MAG) を構築し、評価を行った。

【方法】山口県周南市において収集されたヒト糞便サンプル 163 検体についてメタゲノムショットガンシーケンスを実施した。アセンブルは原則 SPAdes v.4.1.0 の --meta オプションにて行い、4 時間以内に計算が終了しない検体について MEGAHIT v.1.2.9 にてアセンブルを実行した。得られた contig に対し、MetaBAT1 および MetaBAT2 v.2.17, MaxBin2 v.2.2.7 を用いてビンニングを行い、DAS_Tool v1.1.7 により統合し MAG 候補を作成した。MAG の品質評価は CheckM2 v.1.1.0 にて実施し、完全性 90% 以上かつ汚染率 5% 以下を高品質、完全性 50% 以上かつ汚染率 10% 以下を中品質、それら以外を低品質に分類した。MAG の分類学的同定には GTDB-Tk v2.4.1 を用い、GTDB Release R226 を参照としてデフォルト設定で実行した。

【結果】合計 4,669 個の MAG が得られ、そのうち CheckM2 による品質判定で高品質が 2,719、中品質が 1,415、低品質が 535 であった。GTDB-Tk による分類の結果、90 の MAG が新種候補と判定され、そのうち 67 が中品質以上だった。

【結論】ヒト糞便 163 検体のメタゲノム解析から、数千規模の高品質 MAG と多数の新種候補を得た。本研究で構築した MAG カタログは、ヒト腸内細菌叢における系統多様性および機能解析のための基盤リソースとなり、今後の腸内細菌叢研究や新規機能遺伝子・創薬標的の探索に有用であると考えられる。

P2-037

カルボキシペプチダーゼ活性を持つウェルシュ菌タンパク質 (CPE0625) の構造に基づく機能的同定

○松永 望¹, 三好 杏梨², 榎本 泰雄², 片山 誠一¹ (¹岡山理大・生命科学・医療技術, ²岡山理大・理工学研究科)

Structure-based functional prediction of a hypothetical *Clostridium perfringens* carboxypeptidase

○Nozomu Matsunaga¹, Anri Miyoshi², Yasuo Hitsumoto², Seiichi Katayama¹ (¹Dept. Med. Tech., Fac. Life Sci., Okayama Univ. Sci., ²Dept. Life Sci., Grad. Sch. Sci. Tech., Okayama Univ. Sci.)

Clostridium perfringens, a strictly anaerobic spore-forming bacterium, is a pathogenic bacterium that causes gas gangrene and food poisoning in humans. We found that human fibronectin (Fn), one of such extracellular matrix proteins, binds to *C. perfringens* cells, and exhibits several fibronectin-binding proteins (Fbps) [FbpA (CPE0737), FbpB (CPE0847), FbpC (CPE0625), and FbpD (CPE0630)] in *C. perfringens*. These Fbps are all hypothetical proteins. In this study, we focused on FbpC (CPE0625). FbpC were predicted physicochemical characterization and functional using several servers. Analyses using ExPASy and GO term predictions via D-I-TASSER suggest that FbpC is one of a cell-wall binding protein. The results of these prediction supported our previous reports. FbpC was identified as a potential carboxypeptidase through feature-based annotation (NCBI-CD, Prosite, and InterPro), similarity-based annotation (BLASTp), and structure-similarity-based annotation (DALI and Foldseek). Moreover, it was revealed that FbpC possessed carboxypeptidase activity. In conclusion, FbpC is carboxypeptidase associated with cell wall.

P2-038

侵襲性感染症に関わる *Aeromonas* 属細菌の遺伝的背景の探索

○奥野 未来¹, 山本 武司¹, 立山 直², 小椋 義俊¹ (1久留米大・医・感染医学, ²南部病院)

Genetic Background of *Aeromonas* Species Associated with Invasive Infections

○Miki Okuno¹, Takeshi Yamamoto¹, Sunao Tateyama², Yoshitoshi Ogura¹ (1Dept. Inf. Med., Kurume Univ. Sch. Med., ²Nanbu Hospital)

Aeromonas 属は、淡水域およびその周囲の土壌や魚介類などに広く分布する水環境菌で、約 30 種に分類されている。ヒトに対して腸管感染症のほか、稀に侵襲性感染症を引き起こすことが知られているものの、その発症に関わる因子の詳細は十分に明らかになっていない。我々は現在、大規模比較ゲノム解析により、これらの発症に関わる因子の特定に取り組んでいる。

本研究では、本研究室が保存している、本邦の *Aeromonas* 侵襲性感染症患者から分離された 57 株を含む 142 株の全ゲノムシーケンスを行い、ドラフトゲノムを構築した。さらに、NCBI に登録された *Aeromonas* 属ゲノムを取得し、BioSample に記載された情報に基づいてヒト臨床由来株と非ヒト臨床由来株（環境・生物由来）に大別し、約 2,900 株のゲノム情報と分離源に関するデータを整理した。

ヒト臨床由来株（約 1,200 株）を ANI により種分類したところ、*A. caviae*, *A. veronii*, *A. hydrophila*, *A. dhakensis* の 4 種で 90% 以上を占めていた。また、臨床由来株を侵襲性感染症と非侵襲性感染症に分類して比較したところ、*A. hydrophila* と *A. dhakensis* は非侵襲性感染症由来株では 12.8% であったのに対し、侵襲性感染症由来株では 54.8% を占めていた。これにより、これら 2 種が侵襲性感染症との関連性が高いことがゲノム情報に紐づいたメタデータからも示唆された。

現在、侵襲性感染症患者からの分離頻度が高かった *A. hydrophila* および *A. dhakensis* を対象に、ヒト臨床由来株と非ヒト臨床由来株との比較による系統解析およびコアゲノム解析を進めており、本発表ではその結果についても報告する。

P2-039

抗酸菌が保有する MFS 型輸送体の立体構造予測に基づく機能推定

○井上 陽晴¹, 和田 崇之^{1,2} (1大阪公大院・生・食栄養・微生物, ²大阪公大・大阪国際感染症研究センター)

Functional Estimation of Mycobacterial MFS Transporters Based on Protein structure prediction

○Hiharu Inoue¹, Takayuki Wada^{1,2} (1Dept. Microbiol. Grad. Sch. Hum. Life Ecol., Osaka Metro. Univ., ²Osaka Intl. Res. Ctr. Infect. Dis., Osaka Metro. Univ.)

【背景・目的】抗酸菌属における既存抗菌薬に対する耐性拡大は深刻な問題であり、特に自然耐性株では薬剤排出ポンプとして機能する輸送体の関与が指摘されている。細菌の輸送体は 5 つのスーパーファミリーに分類され、その中でも MFS (Major Facilitator Superfamily) 型輸送体は、細菌からヒトに至るまで広く保存された最大の遺伝子ファミリーである。本研究では、抗酸菌属における MFS 型輸送体の保有状況を網羅的に解析し、その多様性と分布特性を明らかにするとともに、立体構造予測に基づく機能的特徴の解明を目的とした。【方法】公共ゲノムデータベース BV-BRC より取得した抗酸菌属 3,813 株およびヒト結核菌 298 株の完全長ゲノムを対象に、MFS 型輸送体をコードする遺伝子候補を検出した。得られた配列について、配列相同性および立体構造予測に基づくクラスタリングを実施した。さらに、膜輸送体データベース (TCDB) に登録された既知の MFS 輸送体配列 (820 本) と比較し、新規性および属特異性を評価したうえで、ポケット解析を行った。【結果】MFS 型輸送体遺伝子の保有数は種によって大きく異なり、1 株あたり約 30~100 遺伝子が確認された。これらのうち、既知の MFS 輸送体と相同性を示さない遺伝子群が属特異的に検出され、近縁の放線菌門にも対応する相同遺伝子が存在しないことが示された。さらに、立体構造予測に基づく構造クラスタリングにおいても、これらは既知配列群とは異なるクラスターを形成し、配列相同性に基づく特異性を支持する結果が得られた。

P2-040

適応的なアミノ酸変異の大量検出

○小林 一三^{1,2}, 坂本 貴洋³, 西出 浩世¹, 福世 真樹⁴, 森 航大⁵, 内山 郁夫¹, 印南 秀樹³, Camargo M. Constanaza⁶, Rabkin Charles⁶, 長田 直樹⁵ (1基礎生物研・ゲノム情報, ²法政大・マイクロナノ, ³総研大, ⁴千葉大・医・分子腫瘍, ⁵北大・情報, ⁶National Cancer Institute, USA)

Extensive detection of adaptive amino-acid variants

○Ichizo Kobayashi^{1,2}, Takahiro Sakamoto³, Hiroyo Nishide¹, Masaki Fukuyo⁴, Kodai Mori⁵, Ikuo Uchiyama¹, Hideki Innan³, Camargo M. Constanaza⁶, Rabkin Charles⁶, Naoki Osada⁵ (1Nat. Inst. Basic Biol., ²HOSEI Univ., ³Grad. Univ. Advanced Studies, ⁴Dept. Mol. Oncol., Sch. Med., Chiba Univ., ⁵Information Sci. Tech., Hokkaido Univ., ⁶National Cancer Institute, USA)

タンパク質研究は保存された少数のアミノ酸残基に注目するが、アミノ酸変異の中にはその適応進化を反映したものもあるに違いない。そのような適応的変異を検出することは極めて困難である。なぜなら、ほとんど全ての変異は中立/弱有害であるから、この困難を乗り越えるために適した生物がピロリ菌である。なぜなら、(1)ゲノム間の相同組換えが細かく頻繁なために、有利な変異が、たまたまその近くにあるだけの変異から切り離されて選択される。(2)にもかかわらず、感染が稀で近隣内家族内に限られるために、ヒト集団に対応した分集団構造を取る。そこで、多数のピロリ菌の全ゲノムを小さな集団に分け、各集団に高度に特異的な変異を探せば、その集団の適応分化に関わった変異が得られるだろう。ピロリ菌ゲノムプロジェクト HpGP からの全ゲノムに公開全ゲノムを合わせた数千ゲノムを、配列類似性で小集団に分割したところ、集団特異性が高いアミノ酸変異約 2000 に強い選択の証拠を得た。それらの変異アミノ酸を実測/予測立体構造 (AlphaFold) に位置付けると、結合サイト近く、ヒンジ、サブユニット結合サイト、巨大複合体の出入り口など、機能・構造に肝心な所の近くにあった。ホモログでの変異導入実験結果とヒトホモログにマップする遺伝病の形質は、それらの適応的役割を支持した。多くがホスト相互作用に関するタンパク質にあり、ホストへの適応による病態成立を示唆した。予備知識も仮説も無しに、多数株を集めてゲノムを読むだけで、多くの適応分化変異を検出できる。この突破口から、タンパクのマイクロ適応進化と構造機能の理解が深まるだろう。細菌のホスト作用を含めて。

P2-041

大腸菌 ST73 株における耐性プラスミド獲得阻害因子の探索

○林 謙吾¹, 鈴木 匡弘¹, 土井 洋平^{1,2,3,4} (1藤田医科大・医・微生物, ²藤田医科大・医・感染症, ³ピッツバーグ大・医・感染症, ⁴藤田医科大・感染症研究センター)

Identification of factors inhibiting resistance plasmids acquisition in *Escherichia coli* ST73

○Kengo Hayashi¹, Masahiro Suzuki¹, Yohei Doi^{1,2,3,4} (1Dept. Microbiol., Sch. Med., Fujita Health Univ., ²Dept. Infect. Dis., Sch. Med., Fujita Health Univ., ³Div. Infect. Dis., Sch. Med., Pittsburgh Univ., ⁴Ctr. Infect. Dis. Res., Fujita Health Univ.)

プラスミドなどの外来遺伝子の獲得は、細菌にとって有益となる場合もある。維持コスト増加による不利益に繋がる場合もある。薬剤耐性遺伝子を保有するプラスミド (耐性プラスミド) は、抗菌薬に暴露される環境では生存に有利に働く獲得遺伝子となる一方で、通常環境では維持・発現にかかるコストが大きく、獲得すること自体が不利益になることもある。

近年、大腸菌臨床分離株では基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生株が一般的に分離されるようになっている。その一方で、大腸菌には耐性プラスミドの保有が非常に稀な遺伝子型 (ST: Sequence type) も存在する。昨年我々は、そのような遺伝子型の大腸菌の中に接合による耐性プラスミド獲得が起こりにくい株があることを見出した。今回、薬剤感受性株が多い遺伝子型 ST73 に注目し、接合により耐性プラスミドを獲得しにくい菌株と獲得可能な菌株の差異を探索した。

大腸菌 ST73 薬剤感受性株を対象に全ゲノムを用いた ORF 解析を実施し、接合能が確認できた株とできなかった株との間で保有する ORF の差を比較した。また、接合時に菌体同士の接着の安定性に関する膜タンパク質の差も解析した。その結果、接合能が確認できない大腸菌 ST73 株と接合能がある株の間で明確に保有の有無が異なる ORF は認められなかったが、保有率に差がある ORF は 21 個見つかった。これらの中には制限修飾系も含まれていた。また、接合安定性に関連するタンパク質では OmpW にアミノ酸配列の違いが認められた。今後はこれらの候補因子が接合能に与える影響を解析していく。

P2-042

カンピロバクターにおける薬剤耐性遺伝子のゲノム解析

○山本 章治¹, Pakorn Aiewsakun², Prasit Palittapongarnpim², 泉谷 秀昌¹, 明田 幸宏¹ (¹感染研・細菌第一, ²Mahidol Univ., Dept. Microbiol.)

Genomic analysis of antibiotic resistance genes in *Campylobacter jejuni*

○Shouji Yamamoto¹, Pakorn Aiewsakun², Prasit Palittapongarnpim², Hidemasa Izumiya¹, Yukihiro Akeda¹ (¹Dept. Bacteriol. I, NIID, ²Mahidol Univ., Dept. Microbiol.)

近年アジア太平洋地域で分離されたカンピロバクター (*Campylobacter jejuni*) の薬剤耐性と遺伝学的特性を把握するため、2017~2021 年に 6 カ国 (オーストラリア, ニュージーランド, 中国, 台湾, 韓国, 日本) で分離された菌株のうち、公共データベース登録 2,692 株 (ヒト, 鶏, 食品, 環境由来) のゲノムを対象にして *in silico* 解析を行った。全体の約 95% で薬剤耐性関連遺伝子または変異が検出され、β-ラクタム耐性が最も高頻度 (約 92%) であった。次いでキノロン耐性 (約 24%), テトラサイクリン耐性 (約 22%), アミノグリコシド耐性 (約 11%) が示唆されたが、治療第一選択薬であるマクロライド耐性は極めて低頻度 (約 0.19%) であった。ゲノム SNP に基づく系統解析では、耐性因子の有無が特定系統に偏らず分散しており、耐性獲得・脱落が複数回生じた可能性が示唆された。特にキノロン耐性とテトラサイクリン耐性は共存傾向を示し、両因子の同時獲得・脱落が予測された。さらに、自然形質転換を介したキノロン耐性とテトラサイクリン耐性の共導入が高い効率で起こることを実験的に確認した。

P2-043

可動性遺伝因子が媒介する抗ファージ防御システム回避の新規機構

○千原 康太郎, Aa Haeruman Azam, 氣賀 恒太郎 (JIHS・感染研・治療薬)

Mobile Genetic Element-Mediated Evasion of Anti-Phage Defenses

○Kotaro Chihara, Aa Haeruman Azam, Kotaro Kiga (Dept. Drug Dev., Natl. Inst. Infect. Dis., Japan Inst. Health Sec.)

細菌とファージの間では、制限修飾系や CRISPR-Cas など多様な抗ファージ防御システムと、それを回避するファージ側の戦略がせめぎ合う進化的軍拡競争が続いている。近年、150 種類超の新規防御システムが相次いで報告される中、ファージがどのようにして多様な防御網を克服しているのか、その分子基盤の理解は十分に進んでいない。抗ファージ防御の一部には、感染時に宿主 tRNA を標的として翻訳系の破綻を引き起こす仕組みが知られており、翻訳停止は感染阻止に直結する。これに対しファージは、自身がコードする tRNA を感染過程で供給することで、翻訳阻害を補完的に回避することが複数の系で報告されている。

本研究では、一部のファージが可動性遺伝因子であるホーミングエンドヌクレアーゼ (HE) を利用し、tRNA 遺伝子を含む局所ゲノム領域を増幅するという新規の回避戦略を明らかにした。HE は特定の DNA 配列を切断し、その修復過程を利用して自身をゲノム内で複製させる特性を持つ。さらに、この増幅作用は tRNA を含む局所領域に限定されず、ゲノム上の離れた位置にある複数の抗防御遺伝子についてもコピー数を増加させることが分かった。これによりファージは、tRNA 発現量を補完するだけでなく、複数の防御システムに対する抵抗性を獲得することができる。すなわち HE は単なる自己増殖因子として振る舞うだけでなく、ファージにとって有利なゲノム構造への変化を誘導する因子として働くことが示唆された。

本知見は、可動性遺伝因子の一つである HE の保持がファージの適応戦略と密接に連動していることを示し、可動性遺伝因子の持つ機能性とその進化的背景を理解する上での新たな視点を提供するものである。

P2-044

高ムコイド型 A 群レンサ球菌の遺伝的变化の解析

○Chang Ma, 村瀬 一典, 野澤 孝志, 中川 一路 (京大・院医・微生物)

Genetic variants of hyper-mucoid Group A streptococcus emerged in vitro

○Chang Ma, Kazunori Murase, Takashi Nozawa, Ichiro Nakagawa (Dept. Microbiol. Sch. Med. Kyoto Univ.)

Group A *streptococcus* (GAS) is one of major human pathogenic bacteria and causes a variety of clinical manifestations. A few clinical isolates from patients with invasive infection exhibit mucoid colonies on agar plates. The mucoid colony morphology is caused by the abundant production of capsular polysaccharides composed of hyaluronic acid (HA), which is indicative of pathogenic capability. This overproduction of HA can be caused by the mutations in the *covRS* genes, but little is known about other causes. While infection of cultured cells with non-mucoid clinical strains (56 strains) and incubation of them on agar medium, we observed the emergence of mucoid-colony variants (MCV) among a wild-type (WT) like normal-colony variant (NCV) morphotype in 5 strains (M1, 1 strain; M6, 4 strains). To investigate the genetic basis for the emergence of MCV phenotype, we sequenced the genomes. Mutations in *covRS* genes were found in 77.1% (27/35) of MCV, but not in NCV. Notably, chromosome of one MCV contained 1.7-Mb inversion, caused by recombination based on two distant IS genes, and this inversion altered the promoter region of *hasABC* operon, responsible genes for HA biosynthesis. Inversions were also detected in the genome of MCV generated under low-temperature conditions. Therefore, we found that genetic variants in GAS cause HA overproduction and thereby acquire pathogenic capability.

P2-045

歯周病細菌 *P. gingivalis* における遺伝子水平伝達

○安部 公博¹, 矢原 寛子², 若林 丈人³, 山本 章治¹, 窪村 亜希子¹, 中尾 龍馬¹, 山口 雄大¹, 佐藤 勉³, 明田 幸宏¹ (¹国立健康危機管理研究機構・感染研・細菌I, ²国立健康危機管理研究機構・国際医療センター・ゲノム医科学, ³法政大・院理工・生命機能)

Horizontal gene transfer in *Porphyromonas gingivalis*

○Kimihito Abe¹, Hiroko Yahara², Takehito Wakabayashi³, Shouji Yamamoto¹, Akiko Kubomura¹, Ryoma Nakao¹, Takehiro Yamaguchi¹, Tsutomu Sato³, Yukihiro Akeda¹ (¹Dept. Bacteriol. I, NIID, JIHS, ²Genome med., NCGM, JIHS, ³Grad. Sch. Sci. Eng., Hosei Univ.)

Porphyromonas gingivalis はグラム陰性の病原細菌であり、歯周病の主な原因菌として知られている。同菌は、ヒト口腔内で他の細菌と複合バイオフィーム (プラーク) を形成して歯周ポケットに定着する。近年、発表者らは、*P. gingivalis* が自然形質転換能を有し、これを利用することにより効率的に同菌へ外来遺伝子を導入できることを報告した (Abe *et al.*, 2024)。本手法の中核は、同菌を外来 DNA と混合し、寒天培地上でコロニーバイオフィームを形成させると、自然形質転換能が誘導されることにある。このことから、*P. gingivalis* は口腔バイオフィーム内で自然形質転換を介して、周囲の細菌との遺伝子交換を行っていることが示唆されるが、そのメカニズムについては未解明である。そこで我々は、*P. gingivalis* における遺伝子水平伝達の分子メカニズム解明の足掛かりとして、同菌における自然形質転換に必要な遺伝子群の同定を中心に研究を進めている。相同性検索により、自然形質転換に関与する遺伝子候補が複数発見された。この内、ペリプラズムにおける DNA 輸送を担う ComEA (PGN_0421) と、ペリプラズムから細胞質に DNA を取り込むトランスポーターである ComEC (PGN_0519) の遺伝子欠損は自然形質転換能を完全に消失させた。また、興味深いことに *P. gingivalis* に特徴的なタンパク質分泌システムである 9 型分泌装置を構成する各遺伝子の欠損株でも、形質転換能の著しい低下がみられたことから、9 型分泌機構が本菌の自然形質転換能の発現に密接に関与していることが明らかとなった。現在は、相同性検索では発見できなかった自然形質転換に関わる新規因子の発見を目指し、Tn-Seq による網羅的解析を行っている。

P2-046

長期持続排菌患者における結核菌のゲノム動態解析

○大薄 麻未^{1,2}, 児玉 達哉², 吉山 崇^{2,3}, 御手洗 聡¹ (¹結核研・抗酸菌部, ²複十字病院・呼吸内科, ³結核研)

Genomic dynamics of *Mycobacterium tuberculosis* population in long-term chronic infection

○Asami Osugi^{1,2}, Tatsuya Kodama², Takashi Yoshiyama^{2,3}, Satoshi Mitarai¹ (¹Dept. Mycobacterium Ref. Res., Res. Inst. TB, ²Resp. Dis. Ctr., Fukuji Hosp., ³Res. Inst. TB)

結核は、結核菌による感染症である。2023年の世界の推定結核死亡者数はCOVID-19感染症より多く、結核は再び感染症死亡原因のトップとなった。ゲノム変異による薬剤耐性結核菌の出現が結核の治療を困難にしており、宿主内における結核菌のゲノム動態を理解する重要性が認識されている。宿主内における結核菌集団には異なるゲノム配列をもつ個体が混在し、遺伝的多様性があると考えられている。結核菌集団の遺伝的多様性は、異なる遺伝型の菌株に対する混合感染のほか、菌株が変異を蓄積しながら増殖することで起こる。先行研究より、結核菌が宿主内で形成する複数の感染巣には、それぞれ異なる変異を蓄積したサブクローンが存在することが示されている。しかし、これらは動物実験や外科手術検体を使用した研究が多く、長期間結核菌を持続排菌している患者における動態はほとんど明らかとなっていない。本研究では、2.2~11.7年間の長期間に渡って結核菌を排菌した6患者の喀痰から採取された10~80検体の結核菌ゲノムを経時解析した。検出された変異の変動より、サブクローンを推定した。全6患者において複数のサブクローンが出現・消失を繰り返したことから、持続結核患者の喀痰に含まれる結核菌は異なる病巣由来のものが含まれると推測された。従って、結核菌採取で最もよく用いられる喀痰検体は、宿主内の遺伝的に多様な結核菌集団の一部のみを含むと考えられた。いくつかの患者においては、正の選択圧による主要なサブクローンの変化や、再発時のボトルネック効果による主要なサブクローンの変化が観察された。本発表では、治療歴などの臨床情報がゲノム動態に与える影響を考察する。

P2-047/FL2-11

マクロライド耐性遺伝子 *ermC* は枯草菌の表現型を多面的に変化させる

○采女 美生¹, 石川 一也¹, 三好 裕介¹, 古田 和幸¹, 三好 伸一², 垣内 力¹ (¹岡山大学・院医歯薬(薬), ²岡山大学・腸健康科学研究センター)

Macrolide resistance gene *ermC* induces pleiotropic phenotypic changes in *Bacillus subtilis*

○Mio Uneme¹, Kazuya Ishikawa¹, Yusuke Miyoshi¹, Kazuyuki Furuta¹, Shin-Ichi Miyoshi², Chikara Kaito¹ (¹Grad. Sch. Med. Dent. Pharm., Okayama Univ., ²Res. Cent. Intest. Health Sci., Okayama Univ.)

薬剤耐性遺伝子は、医療・畜産での抗生物質使用や排水を通じて多様な細菌に拡散し、微生物生態系に影響を与える。そのため、環境中の様々な細菌における薬剤耐性遺伝子の影響を明らかにすることは、公衆衛生と微生物生態学の両面で重要である。*ermC*は、グラム陽性細菌に頻繁に見出される薬剤耐性遺伝子であり、細菌の23S rRNA A2085をジメチル化することでマクロライド系抗生物質に対する耐性を導く。我々は、*ermC*が薬剤選択マーカーとして利用されている枯草菌遺伝子欠損株の表現型を解析する過程で、*ermC*が枯草菌のマクロライド耐性以外の表現型に影響することを発見した。本研究では、*ermC*が枯草菌の表現型に与える影響とその分子機構を解明することを試みた。枯草菌*ermC*発現株では、DNA合成阻害剤であるシプロフロキサシンや細胞壁合成阻害剤であるセフタジジムなどリボソームを標的とする抗菌薬に対する耐性が上昇し、さらにバイオフィーム形成能が低下した。一方でジメチル化活性を失った変異型の*ermC*は、これらの表現型変化を引き起こさなかった。RNA-seq解析により*ermC*発現株における遺伝子発現を解析した結果、カタボライト制御を受ける遺伝子群など、複数の遺伝子の発現変化が見られた。以上の結果から、*ermC*による23S rRNAのジメチル化は、遺伝子発現の変化などを介してマクロライド耐性に加え、多面的に細菌の表現型を変化させることを示唆している。本研究の結果は、薬剤耐性遺伝子が標的薬剤への耐性付与以外に影響を与えることを示しており、細菌の多剤耐性化への理解や実験における選択マーカーとしての薬剤耐性遺伝子の利用に対して重要な知見を提供する。

P2-048

病原性カビ *Aspergillus* 属における Starship エLEMENTの機能的解析

○Nan Wang¹, 柴田 紗帆², 内田 百岳², Guido Puccetti², 高橋 弘喜^{2,3} (¹千葉大・医・薬, ²千葉大・真菌医学研究センター, ³千葉大・理学部)

Functional characterization of Starship elements in pathogenic fungus *Aspergillus*

○Nan Wang¹, Saho Shibata², Momotaka Uchida², Guido Puccetti², Hiroki Takahashi^{2,3} (¹Grad. Sch. Med. Pharm. Sci., Chiba Univ., ²MMRC, Chiba Univ., ³Sch. Sci., Chiba Univ.)

Aspergillus fumigatus is a major airborne fungal pathogen and the primary cause of invasive aspergillosis, affecting 1,000,000 people annually with mortality over 50% in high-risk groups. The WHO classified it as a "critical priority" pathogen, underscoring the need for deeper biological insight.

Starship elements are recently recognized giant mobile elements that reshape genomes by mobilizing cargo genes. Although their distribution and functions have been reported in fungi, it remains unclear whether Starship-mediated genomic variation leads to physiological or adaptive evolution in *A. fumigatus*. This study aims to explore whether Starships contribute to environmental stress as a key determinant of fungal survival and pathogenic potential.

We analyzed Starships across multiple *A. fumigatus* strains isolated from a single patient. We identified 5 elements, 4 of which were gained or lost during infection. To link mobility to adaptation, we conducted stress tests including metal, osmotic, hypoxic, and pH stresses, but observed no clear phenotypic differences among the isolates.

We will validate candidate these genes and explore how Starship-mediated genetic differences influence fungal behavior or resilience under challenging conditions. These functional studies will clarify the biological significance of Starships beyond their genomic signatures.

P2-049

Streptococcus 属近縁種における多層的ゲノム可塑性と系統分岐の進化動態

○村瀬 一典, 久米 伸太郎, 野澤 敦子, 野澤 孝志, 中川 一路 (京都大・医・微生物)

Multilayered genomic plasticity and phylogenetic diversification in related *Streptococcus* species

○Kazunori Murase, Shintaro Kume, Atsuko Minowa-Nozawa, Takashi Nozawa, Ichiro Nakagawa (Dept. Microbiol., Grad. Sc. Med., Kyoto Univ.)

Streptococcus pyogenes and *Streptococcus dysgalactiae* are closely related human pathogens that share extensive genomic similarity and overlapping ecological niches. Large-scale population genomic studies have revealed pervasive inter-species gene flow between these taxa and shared mobile genetic elements, challenging traditional species boundaries. However, despite this extensive genetic exchange, these species maintain distinct phylogenetic lineages and epidemiological characteristics. Here, we investigate how multilayered genomic plasticity - encompassing IS, CRISPR-Cas systems, homologous recombination, and gene content variation - contributes to phylogenetic diversification between these streptococci. Comparative genomic and phylogenetic analyses show that certain lineages of *S. pyogenes* exhibit expansion of specific IS and defective CRISPR systems, while *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* shows similar IS expansion together with relaxed selection on DNA repair and recombination-associated genes. These lineages may share a genomic background characterized by elevated genomic plasticity, potentially predisposing them to inter-species recombination. Our findings suggest that genomic plasticity does not simply blur species boundaries, but instead provides a substrate upon which selective and structural constraints drive diversification.

P2-050

イネ苗立枯れ病原菌 *Burkholderia plantarii* が生産する植物毒素トロポロン生産に関与する遺伝子群の解析

○仲宗根 薫¹, 内海 龍太郎² (¹近畿大・工・化生工, ²大阪大・産研)

Molecular mechanisms of phytotoxin tropolone in rice-seedling blight, *Burkholderia plantarii*

○Kaoru Nakasone¹, Ryutaro Utsumi² (¹Fac. Engin., Kindai Univ., ²Inst. Sci. Ind. Res. (ISIR), Osaka Univ.)

Burkholderia plantarii はイネ苗立枯病を引き起こす植物病原菌であり、本菌が生産した植物毒素トロポロンによりイネ苗の生育に必要な鉄分が奪われ枯死すると考えられている。本菌株のトロポロン生産制御ネットワークの詳細を定量的に解析し、この植物毒素生産を停止させる阻害薬剤の探索法が確立できれば、微生物を死滅させず耐性菌の出現を防ぐことが可能となる。我々は、本菌株の全ゲノムを決定し、そのアノテーションデータ及びトランスポゾンを用いる変異導入法解析結果から、この制御には、二成分制御システム (TCS) が関与 (*troR1-troK-troR2* 遺伝子群) することを明らかにした (1)。具体的には TroK (ヒスチジンキナーゼ), TroR1 (レスポンスレギュレータ 1), TroR2 (レスポンスレギュレータ 2) という三成分系ともいえる制御系の存在が判明した。次にこれらの遺伝子を欠損させた解析を行ったところ、トロポロン生合成が観察されないというデータが得られた。本発表では、これら遺伝子群が関与するトロポロン生産の分子機構の議論に加え、他に関与する因子群のネットワークに関する議論を行う。【参考文献】1) Miwa et al., Identification of the Three Genes Involved in Controlling Production of a Phytotoxin Tropolone in *Burkholderia plantarii*, J. Bacteriol., Vo.198, p1604-1609 (2016)

P2-051

マイコバクテリアにおける hupB サイレンシングに関連するトランスクリプトームの変化

○Amina K. Shaban¹, Geberetsadik Geberemichael¹, 袴田 真理子², 瀧原 速仁³, 井内 絵梨奈¹, 西山 晃史¹, 尾関 百合子¹, 立石 善隆^{1,8}, 山口 雄大⁴, 西内 由紀子⁵, 大原 直也⁶, 奥田 修二郎³, 松本 壮吉¹ (¹新潟大・医・細菌学, ²新潟大・医・呼吸器医学と感染, ³新潟大・医・バイオインフォマティクス, ⁴大阪市立大・刀根山結核研究所, ⁵大阪首都大・薬理学, ⁶岡山大・口腔微生物学, ⁷アイラング大学・熱帯病研究所・結核研究所・インドネシア, ⁸福島医科大学・微生物学)

Transcriptomic changes associated with hupB silencing in mycobacteria

○Amina K. Shaban¹, Geberetsadik Geberemichael¹, Mariko Hakamata², Hayato Takihara³, Erina Inouchi¹, Akihito Nishiyama¹, Yuriko Ozeki¹, Yoshitaka Tateishi^{1,8}, Takehiro Yamaguchi⁴, Yukiko Nishiuchi⁵, Naoya Ohara⁶, Shujiro Okuda³, Sohkiichi Matsumoto¹ (¹Dept. Bact. Sch. Med. Niigata Univ., ²Dept. Resp. Med. Sch. Med. Niigata Univ., ³Dept. Bioinfo. Sch. Med. Niigata Univ., ⁴Toneyama Tuberculosis Research Inst. Osaka City Univ., ⁵Dept. Pharm. Osaka Met. Univ., ⁶Dep. Oral Microbiol. Okayama Univ., ⁷Lab. Tuberculosis. Inst. Tropical Disease, Airlangga Univ. Indonesia, ⁸Dept. Microbiol. Fukushima Med. Univ.)

Tuberculosis is still a global health concern. hupB (also hlp) gene codes for Mycobacterial DNA binding protein 1(MDP1) – a histone-like nucleoid associated protein conserved among all tested mycobacterial species. It is considered essential in pathogenic mycobacteria like Mycobacterium tuberculosis (Mtb) and BCG, and dispensable in non-pathogenic M. smegmatis. MDP1 is associated with mycobacterial dormancy phenotypes including chromosome compaction, growth suppression and drug tolerance. To investigate how MDP1 influences gene regulation and resulting phenotypes, we compared the transcriptome of ΔMDP1 M. smegmatis and MDP1 cKD BCG. Here, we demonstrate that suppression of MDP1 results in significantly low BCG growth in vitro growth, while M. smegmatis ΔMDP1 growth was only affected in stationary phase. Transcriptome profiling revealed that MDP1 is a global gene repressor in both mycobacteria. Notable was the differential expression of genes involved in stress response e.g sigI and groEL. Pathway analysis showed similar suppression of biosynthetic pathways like protein export. Interestingly, suppression of the ribosome pathway was consistent in BCG MDP1 cKD, but only at stationary phase in M. smegmatis ΔMDP1 which coincided with its low growth. Thus, we illustrate MDP1-dependent gene regulation as a potential root of its role in mycobacterial growth and stress adaptation.

P2-052

志賀毒素産生性が変動する腸管出血性大腸菌変異株の病原性解析

○須藤 直樹¹, 北条 史², 三戸部 治郎¹ (¹杏林大・医・感染症学, ²杏林大・医・動物実験施設)

Pathogenicity Analysis of Enterohemorrhagic *E. coli* Mutants with Altered Shiga Toxin Production

○Naoki Sudo¹, Fuhito Hojo², Jiro Mitobe¹ (¹Dept. Infect. Dis., Sch. Med., Kyorin Univ., ²Inst. Lab. Animals, Grad. Sch. Med., Kyorin Univ.)

腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症における溶血性尿毒症症候群などの重症化の主因は志賀毒素 (Stx) である。EHEC の中には重症化しやすい菌株が存在し、それらの Stx の産生量や発現様態が重症化と関連すると考えられるが、その詳細は未解明である。本研究では Stx 産生が変動する変異株を取得し、その変異遺伝子の機能から Stx 産生制御因子および重症化因子の同定を目指した。また変異株の病原性評価のためマウスへの感染実験を行った。

EHEC O157:H7 Sakai 株 (Sakai 株) を野生株として用いた。Sakai 株がもつ *stx2* にレポーター遺伝子を組換えさせた株にトランスポゾンを用いて挿入変異を導入し、レポーターの活性から Stx 産生が変動する株を取得した。Stx 産生が減少する変異株の多くは、*stx2* がコードされるプロファージ領域 (Sakai prophage 5 : Sp5) のファージ活性化を制御する遺伝子に変異が生じていた。一方、Stx 産生が上昇する変異株では上述の Sp5 にコードされる制御遺伝子への変異に加え、SOS 応答を惹起する遺伝子変異を保持していた。SOS 応答は Stx 産生を促進する主要な発現制御であり、これら変異株では SOS 応答が恒常的に惹起されることで Stx 産生が上昇していることがわかった。

これら Stx 産生が恒常化した変異株を Specific pathogen-free の BALB/c マウスへ経口接種した結果、野生株では致死性は見られない一方、変異株の中には接種後 6 日前後での致死性を示すものがあった。これらの結果から、SOS 応答あるいはファージ活性化が恒常的に亢進した EHEC は、少なくともマウスにおいて高い病原性を示すことが明らかになった。現在、同様の機序で Stx 産生が上昇する臨床分離株の同定を進めている。

P2-053

腸炎ピブリオの TsrA は H-NS の共調節因子として T3SS2 の発現を調節する

○Tan Paramita Wibowo Sutanto, Andre Pratama, 石井 英治, 飯田 哲也, 松田 重輝 (大阪大・微生物病研究所細菌感染分野)

TsrA modulates T3SS2 expression as a co-regulator of H-NS in *Vibrio parahaemolyticus*

○Tan Paramita Wibowo Sutanto, Andre Pratama, Eiji Ishii, Tetsuya Iida, Shigeaki Matsuda (Dept. Bacterial Infect, RIMD, UOsaka)

Nucleoid-associated proteins (NAPs) play key roles in not only chromosome organization but also in the regulation of virulence genes in bacteria. The best-studied NAP is H-NS, which often functions with co-regulators to fine-tune the gene expression. We previously showed that H-NS regulates virulence gene expression in *Vibrio parahaemolyticus*, a major cause of seafood-borne gastroenteritis. TsrA, a small protein lacking a DNA-binding motif conserved among *Vibrio* species, has been suggested to be functionally related to H-NS in *V. cholerae*, although its molecular mechanism remains unknown. Here, we demonstrate that TsrA negatively regulates the expression of type III secretion system 2 (T3SS2), a major virulence determinant of *V. parahaemolyticus*. This regulation is achieved by modulating the early phase of the two-step transcriptional activation of *vtrB*, which encodes the essential activator for T3SS2 gene expression, thereby controlling T3SS2 expression and T3SS2-dependent pathogenicity. We further provide experimental evidence that TsrA physically interacts with H-NS via its C-terminal region, which correlates with its regulatory activity on *vtrB* expression. Thus, our findings reveal a direct molecular link between TsrA and H-NS, providing mechanistic insights into NAP- and TsrA-mediated regulation of virulence in *Vibrio*.

P2-054

腸炎ビブリオの病原性関連形質に関わる二成分制御系の網羅的解析

Systematic functional profiling of TCSs in virulence-associated traits of *Vibrio parahaemolyticus*

○Annisa Aulia Maghfirani Sudarmadi¹, Eiji Ishii¹, Andre Pratama¹, Toshihide Okajima², Tetsuya Iida¹, Shigeaki Matsuda¹ (¹Dept. Bacterial Infect, RIMD, UOsaka, ²Sanken, UOsaka)

Two-component systems (TCSs) are among the most prevalent signaling mechanisms in bacteria, coupling a wide variety of environmental stimuli to adaptive cellular responses. A typical TCS consists of a histidine kinase (HK), a membrane-bound sensor, paired with a response regulator (RR), a cytoplasmic transcription factor, through which the phosphotransfer from HK to RR initiates transcriptional responses. *Vibrio parahaemolyticus* is a major cause of seafood-borne gastroenteritis in humans. This pathogen possesses a large set of TCSs, yet their regulatory roles in its physiology remain poorly understood. In this study, we aimed to investigate the contribution of TCSs to virulence-associated traits. To this end, we constructed a deletion library targeting 56 putative response regulators (RRs) from the reference strain RIMD2210633. Using this library, we systematically characterized virulence-associated phenotypes, including the type III secretion systems, motility, and biofilm formation. These assays identified several RRs involved in these phenotypes, thus advancing our understanding of the roles of two-component systems in the cellular processes of *V. parahaemolyticus*.

P2-055

Campylobacter jejuni のアデニン特異的 DNA methylase *ctsM* 破壊による遺伝子発現変化

○森田 大地¹, 野口 愛美², 檜山 洋子¹, 熊谷 孝則¹, 黒田 照夫¹ (¹広島大・院・医系科学, ²広島大・薬)

Gene Expression Changes by Adenine-Specific DNA Methylase *ctsM* Knockout in *Campylobacter jejuni*

○Daichi Morita¹, Aimi Noguchi², Youko Hiyama¹, Takanori Kumagai¹, Teruo Kuroda¹ (¹Grad. Sch. Bio. Heal. Sci., Hiroshima Univ., ²Sch. Pharm. Sci., Hiroshima Univ.)

Campylobacter は種内での選択的な遺伝子交換を行う目印として、アデニン特異的 DNA methylase *ctsM* によってゲノムが高度にメチル化されている。*ctsM* によるメチル化が外来 DNA の認識配列 (RAm6ATTY) であることは判明している一方で、エビジェネティックな発現制御への関連は不明である。そこで本研究では *C. jejuni* NCTC11161 と *ctsM* 破壊株について RNAseq によって遺伝子発現への影響を解析した。*ctsM* 破壊によって有意に 2 倍以上変動した遺伝子は 102 遺伝子 (上昇: 36 遺伝子, 低下: 66 遺伝子) であった。*chuABCD*, *cfrA*, *ceuBCE*, *cfbpABC*, *TonB-ExbB/ExbD* などの鉄取込みを担う遺伝子の全体的な低下が確認された。一方で細胞内の鉄イオンの恒常性維持を担う regulator の *fur* の発現に変化はなかった。また複数の flagella 関連遺伝子の発現上昇が確認された。変動遺伝子上流での motif 解析の結果, flagella 関連遺伝子で共通の motif (GGAACR-N4-WTGCTT) が確認された。これは flagella 関連遺伝子の中期の発現を制御する *rpoN* の認識 motif と一致していた。その他の遺伝子については motif が確認できず, *rpoN* 以外の特定の regulator の影響は示唆されなかった。本研究によって DNA メチル化と遺伝子発現制御をつなぐ機構は不明であるが, *ctsM* による DNA メチル化が遺伝子発現にエビジェネティックな影響を与えること, また変動遺伝子に一定の方向性が存在することが強く示唆された。

P2-056

大腸菌における BasS/BasR-CsgD シグナル伝達カスケードによる Curli 形成と運動した鉄獲得機構の発現制御

○松吉 志^{1,2}, 小笠原 寛^{2,3,4,5} (¹信州大院・総医理工, ²信州大・基盤研究セ, ³信州大・総合人間科学, ⁴信州大・RCAM, ⁵信州大・IFES)

Iron uptake linked to Curli formation via the BasS/BasR-CsgD signaling pathway in *Escherichia coli*

○Nozomi Matsuyoshi^{1,2}, Hiroshi Ogasawara^{2,3,4,5} (¹Grad. Sch. Med., Sci. Tech., Shinshu Univ., ²Res. Ctr. Adv. Sci. Tech., Shinshu Univ., ³Acad. Assy. Sch. Hum. SoSci. Inst. Hum., Shinshu Univ., ⁴RCAM, Shinshu Univ., ⁵IFES, Shinshu Univ.)

Curli, amyloid fibers produced by *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*, constitute a major component of biofilms and serve as virulence factors. The *csg* operons, essential for curli biogenesis, are regulated by CsgD. The *fepDGC* operon encodes a transporter responsible for importing Fe³⁺-enterobactin complexes. In this study, we identified a CsgD-binding sequence within the *fepD* promoter and examined the regulatory role of CsgD on *fepDGC* expression. Using a *fepD* promoter-*lacZ* fusion construct, we quantified promoter activity in wild-type *E. coli* BW25113 and a *csgD*-deficient strain. The mutant exhibited reduced *fepD* promoter activity compared to the wild type. Similar reductions were observed in *basS*- and *basR*-deficient strains, suggesting that the BasS/BasR system contributes to *fepDGC* activation through CsgD regulation. Consistently, curli and biofilm formation were impaired in *basS*, *basR*, and *fepD* mutants; notably, curli formation was restored when *fepD* was complemented from a plasmid. Furthermore, *sodB*, encoding an iron-dependent superoxide dismutase, is positively regulated by CsgD. These findings indicate coordinated regulation of *fepDGC* and *sodB* to mitigate oxidative stress associated with the Fenton reaction. We are currently examining whether the BasS/BasR-CsgD cascade also regulates *sodB* expression and whether CsgD directly binds the *sodB* promoter.

P2-057/FL2-12

腸炎ビブリオ感染オルガノイドモデルの構築と遺伝子発現解析の応用

○山下 舞花¹, Mohamad Al Kadi¹, 松田 重輝², 石井 英治², 坂口 大起³, 石川 昌和¹, 飯田 哲也², 榑原 修平¹, 児玉 年央⁴, 奥崎 大介¹ (¹阪大・iFReC, ²阪大・微研・細菌感染, ³阪大・医・免疫制御学, ⁴長崎大・熱研・細菌)

Development of *Vibrio parahaemolyticus* Infected Organoid Models by Gene Expression Analysis

○Maika Yamashita¹, Mohamad Al Kadi¹, Shigeaki Matsuda², Eiji Ishii², Taiki Sakaguchi³, Masakazu Ishikawa¹, Tetsuya Iida², Shuhei Sakakibara¹, Toshio Kodama⁴, Daisuke Okuzaki¹ (¹iFReC, Osaka Univ., ²Dept. Bact. Infect., RIMD, Osaka Univ., ³Dept. Microbiol. & Immunol., Sch. Med., Osaka Univ., ⁴Dept. Bacteriol., Inst. Trop. Med., Nagasaki Univ.)

腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) は海水や汽水域に生息し、汚染された海産魚介類の摂取によりヒトに食中毒を引き起こす。本菌は 2 種類の 3 型分泌装置 (T3SS1 および T3SS2) を保有する。従来、培養細胞株を用いた感染モデルでは T3SS1 による細胞死誘導が報告されている一方、T3SS2 は下痢患者由来株に特異的に存在し、感染動物モデルにおいて液体貯留の主因となることが示されている。このように、実験モデル間で病原性評価に差異がみられ、さらに動物モデルは宿主依存性の影響を受けるという制約がある。したがって、腸管病原性を詳細に解析するためには、*in vitro* と *in vivo* のギャップを埋める新たな実験系の確立が求められる。本研究では、ヒト正常細胞から作製可能で、複数の細胞種が自己組織化して形成される腸管オルガノイドに着目し、新規感染モデルの構築を行った。小腸上皮陰窩に含まれる幹細胞から腸管オルガノイドを樹立し、感染実験への応用を目的としてオルガノイド由来二次元単層培養系を作製した。病原性評価には、T3SS1 または T3SS2 の単独変異株、T3SS1 と T3SS2 の二重変異株、および野生型株を用い、経時的に感染させた後にバルク RNA-seq およびシングルセル RNA-seq 解析を行った。その結果、感染に伴う炎症応答関連パスウェイの有意なエンリッチメントが認められた。さらに、Caco-2 細胞モデルとの比較解析により、細胞種特異的な遺伝子発現変化や感染細胞の指向性が明らかとなった。現在、これらの結果をもとに、T3SS の種類による宿主応答の差異を評価し、腸管オルガノイドモデルの有用性を検討している。

P2-058

Clostridium sporogenes の腸管定着機構の解明に向けた遺伝子改変株の作製

○山口 アキ¹, 小林 伸英¹, 松村 拓大¹, 西山 宗一郎², 藤永 由佳子¹ (金沢大・医・細菌学, ²新潟薬科大・応用生命・食品安全学)

Generation of mutant *Clostridium sporogenes* strains to investigate mechanisms of gut colonization

○Aki Yamaguchi¹, Nobuhide Kobayashi¹, Takuhiro Matsumura¹, So-ichiro Nishiyama², Yukako Fujinaga¹ (¹Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Kanazawa Univ., ²Fac. App. Life Sci., Niigata Univ. Pharm. Med. Life Sci.)

腸内細菌は腸管内で固有のニッチを獲得することで定着すると考えられる。栄養要求性の一致に基づく細菌間の競合は *in vitro* において古くから知られており、個々の細菌種の栄養要求性等についての知見は多く蓄積している。しかしながら、常に食事由来の栄養が供給される腸管でどのように競合が生じ、ニッチを獲得するかについては不明な点が多い。先行研究において、*Citrobacter rodentium* や一部の *Bifidobacterium* 属細菌は特徴的な腸管局在を示し、食事由来の栄養が不均一な状態で供給される腸管においては栄養的ニッチに加えて空間的ニッチの獲得が重要であると考えられる。

Clostridium 属細菌は正常な腸内細菌叢を構成する一方で、ボツリヌス菌やウエルシュ菌等の病原性細菌を含む重要な細菌群であるが、その定着機構は不明な点が多い。ボツリヌス菌と近縁の共生細菌である *Clostridium sporogenes* はアミノ酸要求性が極めて高いことが報告されており、我々の先行研究により特定のアミノ酸に対し走化性を示すことを見出している。走化性は栄養的ニッチと空間的ニッチを繋ぐ機構であると考えられるが、*Clostridium* 属の腸管定着における走化性の意義は明らかとなっていない。*C. sporogenes* は他の *Clostridium* 属と比較し遺伝子改変が容易であり、走化性や栄養代謝に関する遺伝子改変株の解析が可能である。そこで本研究では、これまで別個に研究されることの多かった栄養競合、空間的ニッチ、走化性の統合的な理解に向けて、種々の *C. sporogenes* 遺伝子改変株を作製・解析した結果について報告する。

P2-059

CRISPR-Cas9 システムを用いた大腸菌の遺伝子組換え系の構築

○奥田 光紀, 山田 倫暉, 飯塚 莉奈, 八尋 錦之助 (京都薬科大・薬・微生物感染症制御学)

Construction of a CRISPR-Cas9 Mediated Gene Recombination System in *Escherichia coli*

○Mitsuki Okuda, Noriteru Yamada, Rina Izuka, Kinnosuke Yahiro (Dept. Microbiol. Infect. Control., Sch. Pharm., Kyoto Pharm. Univ.)

CRISPR-Cas9 システムは、標的配列特異的なガイド RNA とエンドヌクレアーゼ Cas9 を用いた革新的なゲノム編集技術であり、細菌から真核生物まで幅広い生物種で利用されている。本システムを用いた細菌ゲノム編集技術である HoSeI 法は、選択マーカー不要な編集を可能とする一方で、Cas9 発現制御の不十分さと、プラスミド除去の煩雑さという課題を抱えていた。本研究では、IPTG 誘導性の Cas9 発現システムとスクロース感受性による選択的プラスミド除去機構を組み合わせた新規ゲノム編集ツールを開発した。具体的には、Cas9 の発現を IPTG により厳密に制御可能な pCasv1.2 プラスミドと、スクロース感受性を付与した psgRNAv3 プラスミドを新たに構築した。pCasv1.2 では、Cas9 の発現を厳密に制御可能とした。また、psgRNAv3 では、スクロース含有培地を用いた簡便なプラスミド除去を実現した。lacZ 遺伝子を標的としたゲノム編集実験により、本システムの有効性を検証した結果、従来法と比較して高い編集効率を得られた。また、蛍光タンパク質遺伝子である mClover の挿入実験を通じて、本システムが遺伝子導入にも効果的であることを実証した。蛍光観察により、導入した遺伝子が正しく発現していることを確認した。さらに、温度感受性複製開始点とスクロース感受性を利用した二段階の選択マーカーシステムにより、プラスミドの効率的な除去が可能となった。本研究で開発したシステムは、細菌のゲノム編集技術の発展に貢献し、基礎研究から産業応用まで幅広い分野での活用が期待される。

P2-060/FL2-13

Actinomyces への *Mycobacterium* 由来プラスミド導入の試み

○大原 早紀子^{1,2}, 盛 宜娟¹, 西谷 悠希^{1,3}, 土佐 郁恵^{1,4}, 武部 克希⁵, 有村 友紀³, 目瀬 浩², 大原 直子⁶, 大原 直也^{1,4,7} (¹岡山大院・医歯薬・口腔微生物, ²福山市民病院・口腔外科, ³岡山大院・医歯薬・顎口腔再建外科, ⁴岡山大・歯・先端領域研究セ, ⁵岡山大院・医歯薬・歯科薬理, ⁶岡山大院・医歯薬・歯科保存, ⁷岡山大・腸健康科学研セ)

Introduction of *Mycobacterium*-derived plasmids into *Actinomyces*

○Sakiko Ohara^{1,2}, Yijuan Sheng¹, Yuki Nishiya^{1,3}, Ikue Tosa^{1,4}, Katsuki Takebe⁵, Yuki Arimura³, Hiroshi Mese², Naoko Ohara⁶, Naoya Ohara^{1,4,7} (¹Dept. Oral Microbiol., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., ²Dept. Dent. Oral Surg., Fukuyama City Hospital, ³Dept. Oral Maxillofac. Reconst. Surg., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayama Univ., ⁴ARCOCS, Dent. Schl., Okayama Univ., ⁵Dept. Dent. Pharm., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayam Univ., ⁶Dept. Operative Dent., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., Okayam Univ., ⁷Res. Cent. Intest. Health Sci., Okayama Univ.)

Object: Genetic manipulation tools are essential to elucidate the pathogenic mechanisms of microorganisms. Several species of *Actinomyces*, including *Actinomyces israelii*, are present in the oral cavity and are causative agents of actinomycosis. However, efficient gene-editing tools have not yet been developed for these species, especially *A. israelii*. This study aimed to evaluate the introduction of foreign genes into *Actinomyces* using plasmids derived from *Mycobacterium*.

Methods: The *A. israelii* strain JCM12964 was cultured in BHI-Yeast extract-0.5% Tween 80 under anaerobic conditions. A *Mycobacterium-Escherichia coli* shuttle vector, pYT923S, which contains the replication origin of the *Mycobacterium scrofulaceum* plasmid pMSC262 and *E. coli* plasmid p15A, was constructed and introduced into *A. israelii* by electrotransformation.

Results and discussion: pYT923S was successfully introduced into *A. israelii* with the transformation efficiency approximately 7–66 CFU/μg of DNA. The average retention rate was 96.7%, with a standard deviation of 2.9%. Therefore, the pYT923S represents a useful genetic tool for *Actinomyces* and is expected to facilitate future studies on *Actinomyces* biology and pathogenicity.

P2-061/FL2-14

放線菌に対する膜透過性ペプチドを用いた新規導入技術開発の可能性

モリ テツシ, ○本多 涼音, 高 なつみ, Saruul Erdenebat, 岡崎 達 (農工大工・生命)

Exploring the Potential of Cell-Penetrating Peptides for Biomolecule Delivery into *Streptomyces*

Tetsushi Mori, ○Suzune Honda, Natsumi Taka, Saruul Erdenebat, Tatsuru Okazaki (Dept. Life Sci. and Biotech., TUAT)

放線菌が産生する二次代謝産物およびその誘導体は、抗生物質、抗寄生虫剤、その他の生理活性分子として医学・産業など幅広い分野で利用されている。そのため、既知二次代謝産物の収量向上や新規二次代謝産物の探索において、放線菌の遺伝子工学技術は極めて重要な位置を占めている。しかし、従来技術では菌株ごとの最適化が必要であるなど、依然として多くの課題が残っている。本研究では、放線菌へのより簡便かつ幅広い適用が可能な、膜透過性ペプチド (CPP) を用いた翻訳制御技術の確立を目指している。まず、モデル細菌として *Streptomyces avermitilis* を用い、CPP の導入およびその効率を検証した。蛍光顕微鏡による観察の結果、同株への CPP の導入が確認されている。次に、CPP が確実に細胞内部へ導入されていることを示すため、ハウスキーピング遺伝子に特異的に結合する膜透過性ペプチド-ペプチド核酸 (CPP-PNA) を用いて生育阻害実験を行った。その結果、*S. avermitilis* において明確な生育阻害が認められ、CPP-PNA が機能的に細胞内へ導入されていることが示された。また、CPP 単独、PNA 単独、非特異的 CPP-PNA ブローブでは生育阻害が見られず、CPP-PNA による非特異的毒性は認められていない。以上の結果より、放線菌に対する CPP-PNA による特異的翻訳制御が可能であることが示唆され、CPP-PNA を用いた新たな生体分子導入システムとしての有用性と発展可能性が示された。

P2-062/FL2-15

グラム陽性菌に向けた有効な膜透過性ペプチドの探索

モリ テツシ, ○土井 双葉, Jaeyoung Yu, 岡崎 達 (農工大工・生命)

Discovery of Effective Cell-Penetrating Peptides for Molecular Delivery into Gram-Positive Bacteria

Tetsushi Mori, ○Futaba Doi, Jaeyoung Yu, Tatsuru Okazaki (Dept. Life Sci. and Biotech., TUAT)

膜透過性ペプチド (CPP) は、陽イオン性および両親媒性残基を多く含む短鎖ペプチドであり、さまざまな分子を細胞内へ送達する能力をもつ。細菌への応用も試みられてきたものの、特に厚いペプチドグリカン層を有するグラム陽性菌では、その導入効率が低く、依然として課題が残っている。本研究では、複数のグラム陽性菌に対して、効率的かつ低毒性で細胞内部への分子送達を可能にする CPP の同定を目的とした。まず、当研究室が保有するアミノ酸組成および鎖長の異なる合成ペプチドライブラリを利用し、複数のグラム陽性のモデル細菌に対してスクリーニングを行った。その結果、非天然アミノ酸である 2,4-ジアミノブタン酸 (Dab) から構成される 12 残基のカチオン性ペプチド Dab₁₂ が、最も高い導入効率を示す CPP であることが明らかとなった。さらに、同スクリーニングにより、オルニチン (Orn) 8 量体である Orn₈ も効果を示すことが確認された。Orn₈ は芽胞形成菌において、芽胞状態であるときに選択的な透過性を示し、非芽胞状態ではほとんど透過しないという特異的な性質をもつ。この特徴から、Orn₈ は芽胞状態の細菌の特異的標識や細胞内送達ツールとしての応用が期待される。一方、Dab₁₂ は幅広いグラム陽性菌に対して高い導入能を示しており、その細胞透過性と分子送達能力を活かして、細菌の生理機能解析、遺伝子制御技術への応用、さらには新規抗菌剤開発など、多様な研究分野に展開できる可能性が示された。

P2-063/FL2-16

ペプチド核酸を利用した細菌代謝経路の解析手法の開発

モリ テツシ¹, ○喜久山 優花¹, 川刈 佑悟¹, 小林 俊一¹, 周防 玲², 糸井 史朗², 浅野 竜太郎¹ (¹農工大工・生命, ²大院・生物資源)

Development of a PNA-Based Method for Analyzing Bacterial Metabolic Pathways

Tetsushi Mori¹, ○Yuka Kikuyama¹, Yugo Kawabuchi¹, Shunichi Kobayashi¹, Rei Suo², Shiro Itoi², Ryutaro Asano¹ (¹Dept. Life Sci. and Biotech., TUAT, ²Grad. Sch. Biores. Sci., Nihon Univ.)

細菌において目的物質の高生産株を獲得するためには、変異株の作製による安定生産系の構築が必要である。しかし、従来の化合物生成に関わる酵素や代謝経路を特定する方法は遺伝子ノックアウトに依存しており、時間と労力を要する点が課題である。そこで本研究では、酵素機能および関連代謝経路を迅速かつ簡易に評価可能な手法として、膜透過性ペプチド-ペプチド核酸 (CPP-PNA) の利用を検討した。まず、モデル生物としてシアノバクテリア *Synechocystis sp.* PCC6803 を用い、ハウスキーピング遺伝子を標的とした CPP-PNA による生育阻害評価を行い、細胞内取り込みおよび翻訳阻害効果を確認した。次に、標的酵素としてビルビン酸代謝に関与する D-乳酸デヒドロゲナーゼ (Ddh) を選択し、その mRNA を標的とする CPP-PNA を合成して細胞に導入した。Ddh タンパク質量およびビルビン酸・D-乳酸などの代謝産物量を、ウエスタンブロッティングおよび LC-MS により定量した。その結果、ハウスキーピング遺伝子を標的とした CPP-PNA は、24-48 時間以内に濃度依存的な生育阻害を示し、細胞内で翻訳阻害が生じていることが確認された。また、Ddh 標的 CPP-PNA の導入により Ddh タンパク質量の減少傾向が認められ、モデル細菌において標的タンパク質の翻訳阻害能を示した。導入 24 時間以内にビルビン酸が有意に蓄積し、遺伝子欠損株と類似する挙動が観察された。導入 48 時間後には細胞内 D-乳酸量の増加がみられ、メチルグリオキサール解毒を介した代替合成経路の関与が示唆された。以上より、CPP-PNA は *Synechocystis sp.* PCC6803 において、高生産株の作製に向けた迅速な物質生産経路解明の有用な技術となり得ることが示された。

P2-064/FL2-17

Engineered Phage Capsids Targeting *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm

○Esakiraj Palanichamy, 渡邊 真弥, 川口 智史, Peterkins Kumwenda Geofrey, 崔 龍洙 (Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

○Esakiraj Palanichamy, Shinya Watanabe, Tomofumi Kawaguchi, Peterkins Kumwenda Geofrey, Longzhu Cui (Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

Pseudomonas aeruginosa is a Gram-negative opportunistic pathogen causing pneumonia and cystic fibrosis-associated lung disease, particularly in immunocompromised patients. Biofilm formation is a key virulence factor of *P. aeruginosa*, which is composed of extracellular polysaccharides, proteins, lipids and nucleic acids. This complex matrix enables them to attach to tissues, helps disease progression, and tolerance to antibiotics. This study aims to disrupt *P. aeruginosa* biofilms by targeting the major polysaccharides using engineered phage capsids carrying antibiofilm proteins, such as quorum sensing inhibition factor (QSIF) and a glycoside hydrolase (GH) enzyme. The corresponding genes were amplified from *P. aeruginosa* PAO1, cloned under the control of rhamnose-inducible promoter, and expressed in PAO1 strain. Following confirmation of the biofilm dispersal activity under rhamnose induction, phage capsids encapsulating these genes were constructed and purified. Both QSIF and GH loaded phage capsids inhibited biofilm formation of PAO1 strain and a clinical strain and achieved approximately 40-65% biofilm reduction. Notably, the GH-loaded capsid can hydrolyze and disrupt mature PAO1 biofilms. This study highlights the potential of engineered phage capsids as a versatile platform for delivering antibiofilm proteins for targeting the recalcitrant *P. aeruginosa* infections.

P2-065

End-design-free な末端冗長型緑膿菌ファージの人工合成

○横山 大悟, 藤木 純平, 木村 夏菜, 山本 晴香, 坂田 良明, 肥谷 るい, 岩野 英知 (酪農学園大・獣医・生化学)

End-design-free rebooting of terminally redundant *Pseudomonas virus* φR26

○Daigo Yokoyama, Jumpei Fujiki, Nana Kimura, Haruka Yamamoto, Yoshiaki Sakata, Rui Hiya, Hidetomo Iwano (Dept. Vet. Biochem., Sch. Vet. Med., Rakuno Gakuen Univ.)

Bacteriophage genomes exhibit diverse terminal architectures, including direct terminal repeats (DTRs), cohesive (cos) ends, and circularly permuted forms with terminal redundancy. Whereas DTR- and cos-type phages require precise reconstruction of their native terminal structures, circularly permuted phages generated by headful packaging lack fixed physical ends, resulting in fewer constraints on the terminal positions when designing synthetic genomes. In this study, considering this characteristic, we divided the 65-kb genome of *Pseudomonas virus* φR26 into ten ~7-kb fragments, added 60-bp overlaps to each fragment, and reassembled them into a linear DNA molecule using seamless assembly. The synthetic linear DNA was electroporated into the clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolate Pa12, from which infectious phage particles were recovered. Owing to circular permutation, the assembly start point could be placed at any position that did not disrupt coding sequences. The rebooted phage showed lytic activity and host range comparable to the parental strain, and whole-genome sequencing revealed complete identity. These results demonstrate that φR26 can be reconstructed from a synthetic linear genome and suggest potential applications of this protocol in reverse-genetics approaches, including functional analysis of uncharacterized phage genes.

P2-066

ORBIT 法による *Mycobacterium abscessus* の遺伝子破壊株作製法の確立

○伊藤 菜央¹, 港 雄介², 美間 健彦¹ (¹愛媛県立医療技術大・保健科学・臨床検査・微生物検査, ²藤田医大・感染症研究セ・感染症創薬研究)

Establishment of a gene disruption method for *Mycobacterium abscessus* using the ORBIT system

○Nao Ito¹, Yusuke Minato², Takehiko Mima¹ (¹Microbiol., Dept. Med. Technol., Fac. Health Sci., Ehime Pref. Univ. Health Sci., ²Div. Anti-Infect. Drug Discov., Ctr. Infect. Dis. Res., Fujita Health Univ.)

肺非結核性抗酸菌症（肺 NTM 症）の患者が増加しており、その対策が急務となっている。肺 NTM 症の原因菌の一つである *Mycobacterium abscessus* は、多くの抗菌薬に自然耐性を示すことなどから、使用できる遺伝学的手法が限定されている。本研究では、ORBIT 法を用いた *M. abscessus* の遺伝子破壊株作製法の確立を試みた。ORBIT 法は、annealase による標的遺伝子の *attP* 配列への置換と、それに続く integrase による *attP* 配列と *attB* 配列の間での組換えを利用した遺伝子破壊株作製法である。annealase と integrase の発現を acetamidase promoter で制御するプラスミド pEPU196 を構築し、基準株 ATCC 19977 へ導入した。形質転換株を acetamide を含む培地で培養して両酵素の発現を誘導してコンピテントセルを作製し、*whiB7* 遺伝子に対する targeting oligo および zeocin 耐性遺伝子をもつ payload plasmid を electroporation 法により導入した。zeocin 加 7H9 寒天培地上に得られた形質転換株中の *whiB7* の破壊を PCR により確認した。*whiB7* 破壊株の薬剤感受性を調べたところ、amikacin および erythromycin に感受性を示した。以上より、*M. abscessus* における ORBIT 法を用いた遺伝子破壊株作製法の確立が確認できた。本法は、標的遺伝子に対して設計した targeting oligo を導入することで、遺伝子破壊株を効率よく作製することが可能である。

P2-067

Phage-Triggered Defense by RT-NIID14: An ncRNA-Independent RT and a Putative Ancestor of DRT9

○Aa Haeruman Azam, 今中 マシュー, ニエ ウェンハン, 千原 康太郎, 氣賀 恒太郎 (国立感染症研究所・治)

○Aa Haeruman Azam, Matthew Imanaka, Wenhan Nie, Kotaro Chihara, Kotaro Kiga (Dept. Ther Drug Dev., Japan Inst. Health Secur.)

Reverse transcriptase (RT)-associated defense systems, including retrons and defense-associated RTs (DRTs), play key roles in anti-phage defense. DRT2 relies on an ncRNA template to produce concatemeric cDNAs encoding a toxic effector (Neo) (Wilkinson et al., Science 2024), whereas DRT9 uses an ncRNA-guided RT complex to generate long polyA single-stranded DNA (ssDNA) (Tang et al., Nature 2025). Here, we describe RT-NIID14, a UG14-type RT that functions without an ncRNA template. RT-NIID14 synthesizes polyA ssDNA in vitro and is toxic in *E. coli* lacking ssDNA exonuclease (Sse), indicating that Sse prevents toxic ssDNA accumulation. In vitro assays showed that Sse cleaves the polyA ssDNA product of RT-NIID14, while phage single-stranded DNA-binding protein (SSB) protects it from degradation. Moreover, phage escaper mutants resistant to RT-NIID14 carry mutations in SSB, suggesting that SSB-mediated protection of ssDNA acts as a trigger for defense activation. Phylogenetic analysis places RT-NIID14 within the UG RT cluster, closely related to DRT9. These findings identify RT-NIID14 as a template-independent defense RT, mechanistically similar to DRT9 but simpler, representing a potential evolutionary bridge between ncRNA-independent and ncRNA-guided RT-based defense systems.

P2-068/FL2-18

2004～2023 年に北海道で分離された牛由来 *Salmonella* Dublin の解析

○山田 真喜子¹, 山本 彩乃², 新井 暢夫³, 増子 朋美⁴, 小林 亜由美⁵ (¹北海道・檜山家保, ²北海道・十勝家保, ³農研機構・動衛研, ⁴北海道・上川家保, ⁵北海道・網走家保)

Analysis of *Salmonella* Dublin isolated from cattle in Hokkaido from 2004 to 2023

○Makiko Yamada¹, Ayano Yamamoto², Nobuo Arai³, Tomomi Masuko⁴, Ayumi Kobayashi⁵ (¹Hiyama Live. Hygi. Serv. Cent. Hokkaido Pref., ²Tokachi Live. Hygi. Serv. Cent. Hokkaido Pref., ³Natl. Inst. Anim. Health, NARO, ⁴Kamikawa Live. Hygi. Serv. Cent. Hokkaido Pref., ⁵Abashiri Live. Hygi. Serv. Cent. Hokkaido Pref.)

【はじめに】近年北海道で *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin (SD) による牛サルモネラ症の発生が増加している。道内の SD 分離株の性状を明らかにするため、2004～2023 年の分離株の解析を実施した。【材料及び方法】道内分離株 88 株の全ゲノムを解析し、コアゲノム塩基多型による系統解析、薬剤耐性遺伝子及びプラスミドの検索を実施した。併せて 23 薬剤を用い、薬剤感受性試験を実施した。【結果及び考察】分離株は 3 つのクレード (C) に区分された。C1 は 19 株で 2004～2020 年に道東, C2 は 18 株で 2019～2023 年に道東, C3 は 51 株で 2015～2022 年に全道で分離された株で構成され、C2, C3 は遺伝的に近縁だった。薬剤耐性遺伝子は、C1 は *aph(3'')-IIa*, *aph(6)-Ic* の保有率, *gyrA*(D87Y)変異検出率が 100%, C2, C3 は *aph(3'')-Ib*, *aph(6)-Id*, *bla_{CMY-2}*, *floR*, *sul2*, *tet(A)* の保有率が 94～100%, さらに C3 は *gyrA* (D87N)の変異検出率が 100% だった。プラスミド検索の結果、C1 は 16%, C2, C3 は 98%以上の株が IncC プラスミドを保有していた。薬剤感受性試験では、C1 は 3 剤, C2, C3 は 7～9 剤に耐性で、保有する耐性遺伝子に関連する薬剤に一致して耐性傾向を示した。また、第三世代セファロスポリン耐性株が C2, C3 で確認された。分離株は C1, C3, C2 と変遷し、2014 年以前は分離場所が道東に限局していたが、2015 年以降 C3 が全道に浸潤した。C3 以降の多剤耐性化は薬剤耐性遺伝子を搭載した IncC プラスミドの獲得が要因と推察された。また、キノロン耐性決定領域の変異も確認され、さらなる耐性化が危惧される。有効薬剤の選択と抗菌薬の慎重使用が重要である。

P2-069/FL2-19

遺伝型・表現型特性は乳牛農場環境における大腸菌の持続性を促進する

○Olda Munfarida¹, Akiko Nakashima², Jant Cres Caigoy¹, Christian Xedzro¹, Naoki Suzuki³, Toshi Shimamoto¹, Tadashi Shimamoto¹ (¹広島大院・統合生命科学研究科, ²広島大・先端生物科学研究科, ³広島大・酪農エコシステム技術開発センター)

Genotypic - phenotypic traits promote *Escherichia coli* persistence in dairy farm environments

○Olda Munfarida¹, Akiko Nakashima², Jant Cres Caigoy¹, Christian Xedzro¹, Naoki Suzuki³, Toshi Shimamoto¹, Tadashi Shimamoto¹ (¹Grad. Sch. Integrated Sci. Life, Hiroshima Univ., ²Sch. Applied Biol. Sci., Hiroshima Univ., ³Dairy Eco-Sys. R&D Ctr., Hiroshima Univ.)

Escherichia coli poses global health risks and persists across human, animal and environmental system. To investigate its environmental adaptation, we analyzed 954 isolates recovered from dairy farm environments at Hiroshima University. Isolates were screened for virulence, resistance, phylogroup, siderophore, and serotype using multiplex PCR. Biofilm formation and motility were assessed phenotypically. Virulence genes were detected in 6.6% of isolates, predominantly *astA* (44%) and *eaeA* (21%). Phylogroups B1 (60%) dominated. Antimicrobial resistance genes occurred in 36.5% of isolates, most frequently the combination *bla_{TEM}*+*tet(A)*+*tet(B)* (43%). Siderophore genes were widespread (67%); all isolates carried (*entABCDEF*) and *tonB*, while *fecA* was most prevalent (33%). Two virulent isolates were serotype O26. Half of isolates formed biofilms, and 98% were motile. Only *eaeA*-positive isolates exhibited enhanced biofilm formation, while motility did not differ among virulence profiles. Biofilm and motility were not correlated; several resistance and siderophore genes showed weak negative associations with biofilm. Principal component analysis (PCA) indicated *fecA* clustered with motility. Overall, genotypic and phenotypic traits promote the persistence of *E. coli* in dairy farm environments.

P2-070

感染部位依存的に発現する肺炎球菌タンパク質の特徴および宿主因子との相互作用解析

○平山 悟¹, 磯野 俊仁¹, 土門 久哲^{1,2}, 寺尾 豊^{1,2} (¹新潟大・院医歯・微生物, ²新潟大・院医歯・高口研セ)

Infection site-dependent expression profiling and host interactions of pneumococcal proteins

○Satoru Hirayama¹, Toshihito Isono¹, Hisanori Domon^{1,2}, Yutaka Terao^{1,2} (¹Div. Microbiol. Infect. Dis., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci., ²Cent. for Adv. Oral Sci., Niigata Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci.)

肺炎球菌はヒト鼻咽頭に定着し常在細菌叢を構成することがある一方、肺炎や敗血症を引き起こす。このことから、肺炎球菌は宿主環境に応じてタンパク質の発現プロファイルを変化させるとの仮説を立てた。本研究では、肺炎球菌をマウスの鼻腔・肺・血中にそれぞれ接種後、鼻腔洗浄液・肺胞洗浄液 (BALF)・血漿を採取し、Tandem Mass Tag を用いた相対定量プロテオーム解析を行った。そして、各 *in vivo* サンプルから検出したタンパク質のプロファイルを比較するとともに、それらタンパク質の機能について解析を進めた。

相対定量プロテオーム解析により、各サンプルから計 10 種の肺炎球菌タンパク質を同定した。BALF や血漿では共通して *Eno* と *LacG* が高い割合で検出されたが、BALF 中では *Eno* 検出量が顕著に多い等、感染部位ごとに特徴的な発現パターンも観察された。次いで、同定した肺炎球菌タンパク質について組換え体を作製し、種々の宿主タンパク質との相互作用を *far-western blotting* により解析した。その結果、フィブロネクチンやサイトカイン等に結合する肺炎球菌タンパク質を複数見出した。一方、組換え肺炎球菌タンパク質と宿主タンパク質の混合実験では、供試したいずれの宿主タンパク質も分解されず、プロテアーゼ活性は検出されなかった。

本研究では、肺炎球菌が感染部位ごとに特徴的なタンパク質発現プロファイルを示すこと、また同菌が宿主環境に適応しながら感染を成立させることが示唆された。今後は、フィブロネクチンに結合性が示された肺炎球菌の *Pcp* と *PfkA* について、各種の宿主細胞への付着・侵入に及ぼす影響を解析し、感染部位別に発現する病原性の差違について研究を進める計画である。

P2-071

ルシフェラーゼ標識ミティス群レンサ球菌を用いた血管内皮細胞内への取り込みの検討

○瀧澤 智美, 齋藤 真規, 泉福 英信 (日大・松歯・感染免疫)

Uptake of luciferase-tagged *Streptococcus mitis* group bacteria by vascular endothelial cells

○Tomomi Hashizume-Takizawa, Masanori Saito, Hidenobu Senpuku (Dept. Microbiol. Immunol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)

Streptococcus sanguinis, a member of the mitis group streptococci, promotes atherosclerosis in hyperlipidemic mice. Atherosclerotic plaque formation begins with vascular endothelial dysfunction, which may be triggered by bacterial internalization. In this study, we constructed luciferase-tagged mitis group streptococci, including *S. sanguinis* and *Streptococcus gordonii*, and analyzed their internalization into human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) by detecting bioluminescence from intracellularly localized bacteria. The luciferase-tagged strains were generated using a four-piece overlap-extension PCR-ligation strategy. The *ldh* gene, *Renilla reniformis* green luciferase gene, erythromycin resistance gene in pUC19, and downstream *ldh* homologous fragment were amplified with the same primer set for both strains and ligated to assemble a series of amplicons. Transformants were selected on MS agar with erythromycin. HUVEC were treated with the two recombinant strains for 20 h. Bioluminescence from HUVEC treated with *S. sanguinis* was significantly stronger than that with *S. gordonii*, and colony recovery also showed a significantly higher number of *S. sanguinis*. These findings suggest that internalization of *S. sanguinis* into endothelial cells may contribute to endothelial dysfunction.

P2-072

植物病原細菌 *Pantoea ananatis* のリボ多糖合成遺伝子は完全な病原性に必要である

○磯邊 優太¹, 金津 瑠奈¹, 植田 健史¹, 福井 啓太², 原 吉彦², 瀧川 雄一³, 大島 研郎¹ (¹法政大・植物医科, ²味の素 (株), ³静岡大)

Lipopolysaccharide biosynthesis genes are required for full virulence in *Pantoea ananatis*

○Yuta Isobe¹, Luna Kanatsu¹, Kenji Ueda¹, Keita Fukui², Yoshihiko Hara², Yuichi Takikawa³, Kenro Oshima¹ (¹Hosei CPS, ²AJINOMOTO, ³Shizuoka Univ.)

Pantoea ananatis はタマネギに壊死症状を引き起こす病原細菌であり、その病原因子として植物毒素パンタフォスの合成が知られている。しかし、パンタフォス以外にも複数の因子が病原性に関与している可能性がある。そこで、*P. ananatis* の病原性関連遺伝子を同定するため、*P. ananatis* のトランスポゾン変異体をタマネギに接種し、病原性が低下した変異体を選抜した。その結果、リボ多糖合成に関与する *gla* 遺伝子にトランスポゾンが挿入された変異体では病原性が低下した。*P. ananatis* の病原性におけるリボ多糖の役割を調査するため、リボ多糖合成遺伝子 *galU*, *ugd*, *gla*, *waaC*, *waaG* および *waaL* の欠失変異体を構築した。*GalU*, *Ugd* および *Gla* はリボ多糖の構成因子である糖ヌクレオチドの合成に関与する。*WaaC* および *WaaG* はリボ多糖のコア多糖の組み立てに関与し、*WaaL* はリボ多糖の O 抗原の組み立てに関与する。これらの遺伝子の欠失によっても *P. ananatis* の病原性は低下した。この結果は、これらの遺伝子合成遺伝子が *P. ananatis* の病原性に関与していることを示唆する。リボ多糖合成遺伝子の欠失が病原性を低下させた要因を調査するため、欠失変異体の表現型を解析した。これらの遺伝子の欠失はリボ多糖合成を阻害し、薬剤耐性を低下させた。また、これらの遺伝子の欠失はべん毛形成を抑制し、運動性を低下させた。さらに、*galU* および *waaC* の欠損は、病原性決定因子パンタフォスの合成を部分的に抑制した。これらの結果は、リボ多糖合成遺伝子の欠失がリボ多糖合成、薬剤耐性、運動性、およびパンタフォス合成に影響を及ぼし、それによって *P. ananatis* の病原性を低下させたことを示唆する。

P2-073

Gemella morbillorum による大腸がん細胞の遊走促進

○森 亮太¹, 原 敏文², 久綱 僚¹, 富田 純子¹, 武内 智春², 河村 好章¹ (¹愛知学院大・薬・微生物学, ²愛知学院大・薬・生化学)

Gemella morbillorum promotes colorectal cancer cell migration

○Ryota Mori¹, Toshifumi Hara², Ryo Kutsuna¹, Junko Tomida¹, Tomoharu Takeuchi², Yoshiaki Kawamura¹ (¹Dept. Microbiol., Sch. Pharm., Aichi Gakuin Univ., ²Dept. Biochemistry, Sch. Pharm., Aichi Gakuin Univ.)

近年、大腸がんは日本人の患者数が増加しており、罹患年齢の若年化が指摘されている。その背景として、食文化の欧米化とそれに伴う腸内細菌叢の変化が関与すると考えられている。また、メタゲノム解析により腸内細菌叢の変化が様々な疾患の発症・進展と相関することが明らかとなっており、がんの発生および悪性化に関与する要因の一つとして注目されている。これまで大腸がん組織では正常組織に比べ特定の細菌が多く検出されることが報告されているものの、その発がん・悪性化機構は十分には解明されていない。そこで本研究では、大腸がん悪性化への関与が疑われる *Gemella morbillorum* (Gm) に注目し、*in vitro* での表現型解析を行った。まず Gm を大腸がん細胞株に感染させ、細胞増殖能および細胞遊走能を測定した。比較対象として、大腸がん細胞に対して増殖能および遊走能を促進することが報告されている *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum* (Fnn) を用いた。その結果、Gm は細胞増殖能には影響を与えなかった一方で、細胞遊走能は Fnn よりも促進した。これは Gm が大腸がん細胞の転移能亢進に関与する可能性を示唆する結果であった。そこで Gm のフルゲノム配列を取得し、他の *Gemella* 属菌との比較ゲノム解析により Gm 特異的遺伝子を抽出した。今後、これらの特異的遺伝子を対象として細胞遊走能促進に関わる分子メカニズムの解明を進める予定である。

P2-074

Airway fibrosis drives the pathogenesis of pneumococcal pneumonia

石本 由祐^{1,2}, ○橋本 梨央^{1,2}, 住友 倫子¹ (¹徳島大・歯・口腔微生物, ²徳島大・歯・顎顔面矯正)

Yusuke Ishimoto^{1,2}, ○Rio Hashimoto^{1,2}, Tomoko Sumitomo¹ (¹Dept. Oral Microbiol., Grad. Sch. Biomed. Sc., Tokushima Univ., ²Dept. Orthod. Dentofac. Orthop., Grad. Sch. Biomed. Sc., Tokushima Univ.)

Bacterial pneumonia remains a major cause of morbidity and mortality among elderly and chronically ill individuals. We previously demonstrated that ectopic expression of the endoplasmic reticulum chaperone GP96 on the airway surface acts as a critical exacerbation factor in bacterial pneumonia, and its spatial expression and associated inflammation are highly heterogeneous. Here, we examined bronchiolar epithelial regions of interest by applying spatial transcriptomics to autopsy-derived lung tissues from patients with bronchopneumonia. Areas with high GP96 expression and immune cell infiltration showed upregulated inflammatory pathways but reduced expression of chemokines required for bacterial clearance, such as CXCL1 and CXCL2. These regions also exhibited activation of wound-healing programs, including fibroblast proliferation and collagen deposition, consistent with inflammaging. We validated these observations in a bleomycin-induced pulmonary fibrosis mouse model infected nasally with *Streptococcus pneumoniae*. Fibrotic mice exhibited higher bacterial burdens, greater immune cell infiltration, and more severe lung injury, while cytokine and chemokine leakage into bronchoalveolar lavage fluid was diminished. Together, these findings suggest that fibrosis-associated immune impairment contributes to the development of severe bacterial pneumonia.

P2-075

反復性膀胱炎由来大腸菌の病原因子について

○瀬野浦 聖佳¹, 瀬部 真由¹, 光畑 律子², 石井 亜矢乃², 狩山 玲子³, 村上 圭史¹ (¹川福大・医技・臨床栄養, ²岡大・院・医歯薬総合・泌尿器病態, ³岡山学院大・デジタル生活・フードマネジメント)

Virulence factors of *E. coli* from recurrent urinary tract infection

○Satoka Senoura¹, Mayu Sebe¹, Ritsuko Mitsuhashi², Ayano Ishii², Reiko Kariyama³, Keiji Murakami¹ (¹Dept. Clin Nutr., Fac. Health Sci. Technol., Kawasaki Univ. Med. Welfare., ²Dept. Urol., Okayama Univ. Graduate Sch. Med. Dent. Pharm. Sci., ³Dept. Food Management., Fac. Digital Life., Okayama Gakuin Univ.)

【目的】反復性膀胱炎は6ヶ月に2回以上、または1年に3回以上の再発がある膀胱炎で、主な起因菌は大腸菌であるが、反復性膀胱炎に関わる病原因子には不明な点も多い。本研究では、反復性膀胱炎、非反復性膀胱炎、膀胱炎患者及び河川より分離された大腸菌について、抗菌薬抵抗性に着目し解析を行った。【材料と方法】岡山大学病院泌尿器科で分離された反復性膀胱炎由来23株、非反復性膀胱炎由来11株、非膀胱炎由来10株、及び河川由来16株の合計60株を使用した。抗菌薬はセフォキシチンを使用した。浮遊菌は微量液体希釈法により、最小発育阻止濃度(MIC)と最小殺菌濃度(MBC)を測定した。付着菌は、96ウェル平底プレート底部に遠心操作により菌を付着させ、最小発育阻止濃度(MIC^{AD})と最小殺菌濃度(MBC^{AD})を測定した。バイオフィーム形成能は、mAUM培地で30℃で24時間培養後、クリスタルバイオレット法で定量した。マクロコロニー性状はCY培地で、37℃で1日培養した。【結果と考察】浮遊菌のMICは、約90%の菌株で4または8μg/mLであり、抗菌薬抵抗性(MBC/MIC)は、全て2以下であった。付着菌のMIC^{AD}は浮遊菌と同じ傾向を示したが、抗菌薬抵抗性(MBC^{AD}/MIC^{AD})が、8以上の高い抵抗性は反復性膀胱炎由来株の約65%で確認され、他の由来群では確認されなかった。バイオフィーム形成能は、由来間に差は認めなかった。マクロコロニー性状は、反復性膀胱炎由来株ではSmooth型が大半を占めた。以上より、抗菌薬抵抗性は反復性膀胱炎に関与する可能性が示されたが、抗菌薬抵抗性とバイオフィーム形成能、マクロコロニー性状との間に明らかな相関は認めず、異なるメカニズムで制御されていることが示唆された。

P2-076/FL2-20

Streptococcus 属の口腔常在菌が眼表面に及ぼす影響について

○木村 優那, 佐々木 理衣, 水野 佳穂, 角出 泰造 (株式会社メニコン)

The impact of oral resident bacteria in the genus *Streptococcus* on the ocular surface

○Yuna Kimura, Rie Sasaki, Kaho Mizuno, Taizo Sumide (Menicon Co., Ltd)

オルソケラトロジー (OK) は特殊形状のハードコンタクトレンズを就寝時に装着し、角膜前面を平坦化することで近視を一時的に矯正する治療法である。レンズケースは洗面台で乾燥・保管されることが多く、先行研究では実使用 OK レンズケースから複数の *Streptococcus* 属の口腔常在菌が検出されており、これらの口腔常在菌が共存することによる他細菌のバイオフィーム形成能の上昇やアカントアメーバの増殖促進が確認されている。さらに、近年では口腔常在菌の全身疾患への関与が報告されており、眼組織は口腔常在菌の影響を受ける可能性が考えられる。したがって、眼感染症予防の観点から、口腔常在菌と眼組織の最表面である角膜の相互作用を解明することは重要である。本研究では、レンズケースに混入する恐れのある *Streptococcus* 属の口腔常在菌が眼表面に及ぼす影響を明らかにするため、*Streptococcus* 属 (*S. salivarius*, *S. parasanguinis*, *S. mutans*, *S. oralis*) と眼感染症原因菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) の培養上清をヒト角膜上皮細胞に曝露し、細胞生存率と炎症性関連因子 (IL-6, IL-8, MMP-9) を測定した。各細菌の培養上清を 100%, 50%, 25%, 12.5% に希釈し、ヒト角膜上皮細胞に 3, 5, 24 時間曝露したところ、50%希釈で全時間 80%以上の生存率が維持されたため、この条件で炎症性関連因子を評価した。*S. salivarius*, *S. mutans*, *S. oralis* はコントロールと同程度であったが、*S. parasanguinis* では IL-6, IL-8, MMP-9 が *S. aureus* と同程度まで増加した。以上より、*Streptococcus* 属の口腔常在菌が眼表面において炎症応答を誘導する可能性が示唆された。

P2-077

クロゴケグモ毒 α-ラトロトキシンの in vitro 検出法の開発

○金 玄, 見理 剛, 妹尾 允敏 (感染研・細菌第二部)

A cell-based assay for α-Latrotoxin detection utilizing neurexin1α expressing HEK293T cells

○Hyun Kim, Tsuyoshi Kenri, Mitsutoshi Senoh (Dept. BacteriologyII., NIID)

クロゴケグモ (*Latrodectus* 属) は日本国内においても分布拡大が報告されており、咬傷によって神経症状を呈し、場合によっては重篤化することが知られている。その主要毒素である α-ラトロトキシン (α-LTX) は、シナプス前終末に発現する受容体 Neurexin1α (Nrxn1α) に特異的に結合し、細胞外からの Ca²⁺流入を誘導することで神経伝達物質放出を促した後、再流入を阻止することで神経末端の神経伝達物質を枯渇させる。本研究では、この分子機構に着目し、Nrxn1α を HEK293T 細胞に発現させ、α-LTX 作用に伴う細胞内 Ca²⁺濃度変化を指標とすることにより、迅速かつ定量的な毒素検出を可能とする細胞ベースバイオアッセイ系の構築を目的とした。まず、Nrxn1α をコードする遺伝子を発現ベクター pcDNA5/FRT/TO に導入し、比較対照として Nrxn1α の LNS1~LNS6 各領域をそれぞれクローニングした発現ベクターを作製した。これらのベクターを HEK293T 細胞にトランスフェクションし、Nrxn1α の発現を Western blot 法により確認した。現在、Hygromycin を含む選択培地を用い、発現が安定したクローンの選抜を進めている。今後は、選抜した Nrxn1α 安定発現細胞株を用いて、Ca²⁺蛍光指示薬 Fura-2 による蛍光測定を行い、α-LTX 添加時の細胞内 Ca²⁺濃度変化を解析する予定である。さらに、α-LTX 標準品を段階希釈して測定を行い、濃度依存性および EC₅₀ の算出を行う。本研究で確立するアッセイ系は、α-LTX の迅速診断法としての応用に加え、ワクチンなどの生物学的製剤における品質管理試験への展開も期待される。

P2-078

Leptospiral disruption of mechanosensors induces aberrant collective cell migration

Hunter Barbee, Isabel Sebastian, Romina Tokumon, 王 雅如, ○山城 哲, Claudia Toma (琉大・医院・細菌)

Hunter Barbee, Isabel Sebastian, Romina Tokumon, Yaru Wang, ○Tetsu Yamashiro, Claudia Toma (Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med. Univ. Ryukyus)

Leptospira interrogans infection causes renal injury that can lead to severe renal damage. The kidney intrinsically possesses the ability to self-repair after acute injury through collective cell migration, which involves the movement of cells as a cohesive unit. The mechanical forces transmitted between cells through mechanosensors are important during this migration. However, *L. interrogans* induces the displacement of mechanosensors from adherens junctions and F-actin disorganization of renal proximal tubule epithelial cells (RPTECs), and the impact on epithelial repair responses have not been investigated yet.

We performed a proteome-wide analysis of protein ubiquitination and identified a small GTPase involved in microtubule dynamics, ARL2, as a protein with increased ubiquitination during leptospiral infection. Immunofluorescence analysis showed a disruption of the cytoskeletal network, and a wound healing assay showed aberrant collective cell migration in *L. interrogans*-infected RPTECs. Proteasomal inhibitors added during leptospiral RPTEC infection maintained proper mechanosensor localization to drive collective cell migration. Our data suggested that *L. interrogans* alters ARL2 and microtubule dynamics to disrupt a circuit integrating cell-cell adhesion and the supracellular F-actin/microtubule cytoskeleton network, which impairs epithelial repair responses.

P2-079

Salmonella enterica serovar Typhimurium 野外分離株における過酸化水素耐性と病原性

○橘 紅李¹, 中山 ももこ¹, 新井 暢夫¹, 西川 明芳¹, 楠本 正博^{1,2}, 江口 正浩¹ (農研機構・動物衛生研究部門, ²大阪公立大院・獣医)

Hydrogen peroxide resistance and virulence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium field isolates

○Akari Tachibana¹, Momoko Nakayama¹, Nobuo Arai¹, Sayaka Nishikawa¹, Masahiro Kusumoto^{1,2}, Masahiro Eguchi¹ (¹Div. Infectious Animal Disease Research, NIAH, NARO, ²Grad. Sch. Veterinary Science, Osaka Metropolitan Univ.)

Salmonella is a Gram-negative bacterium with more than 2,600 serovars and can cause diseases such as septicemia and chronic diarrhea in humans and animals. *Salmonella* can survive and grow inside macrophages, where it experiences strong oxidative stress, including exposure to hydrogen peroxide. This stress may affect how well the bacteria can cause infection and how virulent they are. In this study, we used field strains of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) from livestock and compared their resistance to hydrogen peroxide. We also examined the relationship between resistance and virulence for each strain. We measured bacterial growth in the presence of hydrogen peroxide and compared resistance among strains. We orally infected BALB/c mice to determine LD₅₀ values and assess virulence. In addition, we analyzed secreted bacterial proteins from spleens after infection using shotgun proteomics to identify proteins related to hydrogen peroxide resistance. The strains showed clear differences in hydrogen peroxide resistance, and strains with higher resistance caused higher mortality in mice. Proteomics results showed that several types of catalases were secreted at different levels among the strains. These findings suggest that variation in hydrogen peroxide resistance among field *S. Typhimurium* strains may contribute to differences in virulence.

P2-080

Fusobacterium nucleatum による口腔癌細胞の増殖能および遊走能への影響

○西村 祐真^{1,2}, 広瀬 雄二郎¹, 森田 祥弘², 亀山 裕泰², 森 あり沙^{1,2}, 坂東 絢子¹, 北平 有紀子², 小笠 瑛美子², 池田 恵莉¹, 大野 誠之^{1,3}, 川端 重忠¹, 鵜澤 成一² (大阪・院歯・微生物, ²阪大・院歯・顎口腔腫瘍外科, ³阪大・院歯・バイオインフォ)

Effects of *Fusobacterium nucleatum* on proliferation and migration of oral cancer cells

○Yuma Nishimura^{1,2}, Yujiro Hirose¹, Yoshihiro Morita², Hiroyasu Kameyama², Arisa Mori^{1,2}, Ayako Bando¹, Yukiko Kitahira², Emiko Ogasa², Eri Ikeda¹, Masayuki Ono^{1,3}, Shigetada Kawabata¹, Narikazu Uzawa² (¹Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ²Dept. Oral & Maxillofacial Oncol. and Surg., Grad. Sch. Dent., UOsaka, ³Bioinform. Res. Unit, Grad. Sch. Dent., UOsaka)

近年、多くのがん種において腫瘍細菌叢が存在することが明らかとなり、がんの進展に関与する可能性が注目されている。特に大腸癌の腫瘍細菌叢において、歯周病の患部から高頻度に分離される *Fusobacterium nucleatum* の検出頻度が高いことが報告されている。以降、*F. nucleatum* が大腸癌の増殖、リンパ節転移、免疫回避、化学療法抵抗性といった病態形成に関与することが報告されてきた。一方で細菌が多く常在する口腔に生じる口腔癌も細菌叢の影響を受けることが考えられ、これまで細菌叢解析により腫瘍部に *F. nucleatum* が豊富に存在することが報告されている。しかし、*F. nucleatum* が口腔癌細胞に与える影響については不明な点が多い。そこで本研究では *F. nucleatum* が口腔癌細胞の増殖能および遊走能に与える影響を *in vitro* にて評価した。

ヒト口腔扁平上皮癌由来の細胞株である V-SAS と *F. nucleatum* 株 (JCM8532) を共培養し、CCK-8 assay で V-SAS の増殖能を、wound healing assay で V-SAS の遊走能を評価した。その結果、*F. nucleatum* との共培養により V-SAS の増殖能が促進された。さらに、*F. nucleatum* と 24 時間共培養した口腔癌細胞では共培養しなかった群と比較して遊走能が促進された。

以上から *F. nucleatum* の存在が口腔癌細胞の増殖能および遊走能を促進することが示唆された。

P2-081

UC 関連腸内細菌における菌体内セレン貯蔵能の多様性

○久綱 僚, 富田 純子, 河村 好章 (愛知学院大・薬・微生物)

Variation in Intracellular Selenium Storage Capacities of Ulcerative Colitis Associated Bacteria

○Ryo Kutsuna, Junko Tomida, Yoshiaki Kawamura (Dept. Microbiol., Sch. Pharm., Aichi Gakuin Univ.)

Paraclostridium bifermentans subsp. *muricolitidis* sp. nov. PAGU 1678 は、単独で潰瘍性大腸炎 (UC) モデルマウスの病態を増悪させる菌株である。本株の全ゲノム解析により有機セレン化合物代謝関連遺伝子が見出され、セレン利用との関連が示唆された。セレンは免疫調節、抗酸化および抗炎症機構に必須の微量元素であり、セレンシステインやセレンメチオニンなどの有機セレン化合物を介して合成されるセレンプロテインは、UC を含む様々な疾患との関連が注目されている。本研究では UC 関連細菌におけるセレン代謝特性を明らかにすることを目的とし、PAGU 1678 株および比較菌株 2 株について各菌株の菌体内セレン貯蔵能を評価した。各菌株をセレン酸ナトリウムまたは亜セレン酸ナトリウムを添加した培地で培養後、菌体内セレン濃度を原子吸光度計により測定した。その結果、*Lactobacillus plantarum* PAGU 1415 株は亜セレン酸を高率に取り込み、添加濃度に応じて貯蔵量が増加した。一方、PAGU 1678 株はセレン酸を優先的に取り込み、その量は一定値で飽和する傾向を示した。*Clostridium butyricum* PAGU 1417 株ではいずれのセレン化学種においても有意な取り込みは認められなかった。以上の結果より、UC 病態増悪能を有する PAGU 1678 株は、セレン酸を特異的に貯蔵する性質を有し、この代謝特性が宿主のセレン利用と競合することで炎症増悪に寄与する可能性が示唆された。今後、菌体内セレン化学種の詳細解析や関連遺伝子の機能解明、宿主側セレンプロテイン動態の解析を進めることで、細菌による宿主ミネラル代謝攪乱という新規病態機序の理解が期待される。

P2-082/FL2-21

乳酸菌由来可溶性ペプチドグリカンの細胞増殖活性

○野口 翔¹, 中山 ももこ², 江口 正浩², 尾之上 さくら¹, 香西 博明¹, 川原 一芳¹ (1)関東学院大・理工, (2)農研機構・動衛研)

Cell proliferation activity of solubilized peptidoglycan derived from lactic acid bacteria

○Sho Noguchi¹, Momoko Nakayama², Masahiro Eguchi², Sakura Onoue¹, Hiroaki Kouzai¹, Kazuyoshi Kawahara¹ (1)Col., Sci., Eng., Kanto Gakuin Univ., (2)National Inst. Animal Health, NARO)

【目的】細菌細胞壁に存在するペプチドグリカン (PG) の部分構造であるムラミジペプチド (MDP) や γ -D-グルタミル-meso-ジアミノピメルン酸 (iE-DAP) は、それぞれ細胞内受容体 NOD2 と NOD1 に認識され、免疫系の全般的な活性化へ繋がることから、PG はワクチンアジュバントとして有用であると考えられている。我々はこれまでに、PG に MDP のみを持つ *Levilactobacillus brevis* および MDP に加えて iE-DAP を持つ *Lactiplantibacillus plantarum* から可溶性 PG を調製した。さらに、可溶性 PG の糖部分を過ヨウ素酸酸化により破壊し MDP の活性を減弱させた過ヨウ素酸酸化 PG を調製した。本研究では、これらの PG について RAW264.7 細胞およびマウス脾細胞を用いて細胞増殖活性を測定した。【方法と結果】マウスマクロファージ様細胞である RAW264.7 細胞および BALB/c マウス (週齢 14 週, メス) から調製した脾細胞に各 PG 画分を添加し、24 h, 48 h 培養後の生細胞数を Cell Counting Kit-8 を用いて測定した。その結果、RAW264.7 細胞ではいずれの PG 画分にも細胞増殖活性が認められ、培養 24 h 後では *L. plantarum* 過ヨウ素酸酸化 PG 添加による生細胞数が最も高い値を示し、培養 48 h 後では *L. plantarum* 可溶性 PG が最も高い値を示した。この結果から、MDP と iE-DAP の活性は経時的に異なることが示唆された。マウス脾細胞については、いずれの PG 画分添加においても、培養 48 h 後に生細胞数が約 1.08 から 1.13 倍に増加することが認められた。従って、これらの PG 画分は脾細胞に対するマイトジェン活性を有すると考えられた。

P2-083/WS15-1

Borrelia miyamotoi に対する補体依存的殺菌機構の解明

○竹内 友陽¹, 川端 寛樹², 佐藤 梢², 高野 愛¹ (1)山口大・獣医・疫学, (2)国健機構・感染研・細菌一)

Analysis of complement-dependent bactericidal mechanisms against Borrelia miyamotoi

○Tomohi Takeuchi¹, Hiroki Kawabata², Kozue Satoh², Ai Takano¹ (1)Dept. Epi., Grad. Sch. Vet. Med., Yamaguchi Univ., (2)Dept. Bacteriol. I., Natl. Inst. Infect. Dis.)

Borrelia miyamotoi はマダニ媒介性回帰熱の起因菌であり、日本を含むアジア、ヨーロッパ、アメリカなどで患者が報告されている。本菌は補体制御因子結合タンパク質や表面抗原遺伝子の組換えにより宿主補体系および抗体応答から回避していることが知られているが、宿主が最終的にどのような機構で菌を排除しているかは不明である。そこで我々は、宿主による *B. miyamotoi* 殺菌メカニズムの解明を目的として検討を行った。C57BL/6J, BALB/c, BALB/c-nude, CB17SCID に *B. miyamotoi* を接種し、経時的に採取した血液からリアルタイム PCR により菌数を算出した。その結果、免疫正常マウスでは感染 10 日前後で菌が排除されたのに対し、免疫不全マウスでは菌の排除が遅延した。さらに感染 5 日および 10 日目の C57BL/6J と CB17SCID の血清を用いて *in vitro* で殺菌能力を比較したところ、C57BL/6J の感染 10 日目血清では菌がほぼ排除されたが、同血清を補体不活化あるいは古典経路特異的に不活化すると、菌の生存率は回復した。一方、CB17SCID 血清では殺菌活性は認められなかった。さらに感染 10 日目の C57BL/6J 血清では菌表面への C4b 沈着が有意に増加していた。以上より、宿主による *B. miyamotoi* 排除には補体系と抗体が関与しており、特に感染 10 日前後に認められた菌表面への C4b 沈着の増加から、古典経路の活性化が菌排除に重要な役割を果たしていることが示唆された。今後は *B. miyamotoi* が保有する古典経路阻害因子の作用を中和する抗体の有無について検討していきたい。

P2-084

マクロファージにおける Rab32-LRO による殺菌機構の解析

○ル ショオリン, Yong-An Shi, Yangji Li, 野田 健司 (阪大・歯学研究科・口腔科学フロンティアセンター・口腔細胞生物学講座)

Study the antibiotic mechanism of Rab32-LRO in macrophages

○Shiou-Ling Lu, Yong-An Shi, Yangji Li, Takeshi Noda (Dept. Oral Cellular Biology, Center for Frontier Oral Science, Grad. Sch. Dentistry, UOsaka)

Group A Streptococcus (GAS) infections have become a serious problem worldwide. Recent studies have evaluated GAS for the deletion of components associated with severe GAS disease, such as the capsule. Macrophages are well recognized as professional immune cells against GAS. We recently identified the existence of a special lysosome called “lysosome-related organelle (LRO)” positive with Rab32, a member of small GTPase proteins (JBC 2023). We characterized the role of Rab32-LRO in macrophages in response to the uptake of damaged mitochondria, demonstrating that it is more efficient than the conventional intracellular degradation pathway, macroautophagy (Nature Comm 2025). This research aims to evaluate whether Rab32-LRO responds to defense against intracellular GAS. As a result, we found that Rab32 recruits to GAS/Bead-containing phagosomes and is required for LC3 recruitment to those phagosomes and for acidification, implying that Rab32 may promote LAP (LC3-associated phagocytosis) formation. We also found that LAP may be induced by the GAS capsule, as hyaluronic acid-deleted GAS suppressed the LC3 recruitment to phagosomes. Knockdown of CD44, a cell surface receptor of hyaluronic acid, increases intracellular GAS survival, as well as the knockout of Rab32. These results indicate that the GAS capsule might induce Rab32-LRO/LAP formation during phagocytosis.

P2-085/WS15-5

Klebsiella pneumoniae 由来菌体外膜小胞による LPS 誘導性炎症応答の拮抗作用とその病理学的意義

○豊元 悠弥¹, 椿 翔吾¹, 松崎 潤太郎², 澤 智裕³, 津川 仁¹ (1)東海大・医・生体防御, (2)慶應大・薬・創薬研究センター, (3)熊本大・院生命科学・微生物)

K. pneumoniae-derived EVs antagonize LPS-induced inflammation and exhibit a pathologic involvement

○Touya Toyomoto¹, Shogo Tsubaki¹, Juntaro Matsuzaki², Tomohiro Sawa³, Hitoshi Tsugawa¹ (1)TransIR, Div. Host Def. Mech., Sch. Med., Tokai Univ., (2)DiGNa, Res. Ctr. Drug Discov., Fac. Pharm., Keio Univ., (3)Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med., Kumamoto Univ.)

Background: Our previous data show that *K. pneumoniae* translocates from the gastrointestinal tract to the liver by delivering its extracellular vesicles (KpEVs) to the liver and suppressing the nitric oxide (NO)-mediated inflammatory response of macrophages. The present study was designed to elucidate the mechanism underlying KpEV-induced inhibition of macrophage inflammatory responses.

Methods: Murine bone marrow-derived macrophages (BMDMs) were treated with KpEVs. Arg-1, TLR4, and STAT1 phosphorylation were detected by WB. Arginine concentration was measured by LC-MS/MS.

Results and Discussion: KpEVs induced the expression of the M2-phenotype marker Arg-1 in BMDMs and reduced intracellular arginine concentrations. Furthermore, KpEVs significantly inhibited LPS-induced NO production in macrophages. This inhibition of LPS-driven NO production was induced by promoting TLR4 degradation by KpEVs. In addition, KpEVs strongly suppressed IFN- β / γ -induced STAT1 phosphorylation and inhibited the iNOS expression. Collectively, the results show that KpEVs attenuate the inflammatory response of macrophages by enhancing Arg-1-dependent M2-phenotype and decreased LPS and IFN- β recognitions. Our findings highlight that immune disruption in distant organs, driven by KpEVs produced by gut commensal *K. pneumoniae*, may represent a critical initiating event in the pathogenesis of diverse diseases.

P2-086

ストレス顆粒は A 群レンサ球菌感染細胞のアポトーシスを制御する
○野澤 孝志, 野澤 敦子, 村瀬 一典, 中川 一路 (京大・院医・微生物)

Stress Granules modulate apoptotic cell death in response to Group A *Streptococcus* infection

○Takashi Nozawa, Atsuko Nozawa, Kazunori Murase, Ichiro Nakagawa (Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med., Kyoto Univ.)

Stress granules (SGs) are cytoplasmic liquid–liquid phase-separated structures formed in response to cellular stress. Here, we show that infection with Group A *Streptococcus* (GAS) induces SG formation in host cells through the combined actions of the pore-forming toxin streptolysin O (SLO) and the NADase toxin. GAS-induced SG assembly is partially mediated by activation of the integrated stress response and is further enhanced by energy stress associated with AMPK activation. Inhibition of SG formation increased apoptotic cell death at early stages of infection but reduced it at later stages, indicating a functional shift of SGs from pro-survival to pro-death. Proteomic analysis revealed enrichment of TDP-43 in infection-induced SGs, and functional studies demonstrated that TDP-43 is required for SG-mediated cell death during late infection. AMPK activation promoted TDP-43 condensation into SGs, enhancing its cytotoxic activity. Moreover, CK1-dependent phosphorylation of TDP-43 within SGs regulated their conversion into cell-death-inducing granules. Together, these findings indicate that SGs initially protect host cells during early infection but switch to a pro-death state once cellular stress exceeds a critical threshold, thereby contributing to the elimination of severely damaged or infected cells as a dynamic innate defense mechanism.

P2-087

THP1 細胞における TLR2 リガンド誘導性 NLRP3 インフラマソーム活性化への亜致死性 disulfidptosis の関与

○土屋 晃介, 細島 祥子, 智 升暉, 須田 貴司 (金沢大・がん・免疫炎症)

Sublethal disulfidptosis contributes to TLR2-mediated pyroptosis induction in THP1 cells

○Kohsuke Tsuchiya, Shoko Hosojima, Shenghui Zhi, Takashi Suda (Div. Immunol., Cancer Res. Inst., Kanazawa Univ.)

Pyroptosis is an inflammatory form of regulated necrosis mediated by gasdermin (GSDM) family proteins and contributes to antibacterial host defense by promoting inflammatory responses. Inflammasomes activate caspase-1, which cleaves GSDMD into its active form and induces pyroptosis. Here, we show that bacterial lipopeptides (BLPs), ligands for TLR2, trigger GSDMD-dependent pyroptosis in THP-1 cells and clarify the underlying mechanism. Knockout of NLRP3, ASC, or caspase-1 abolished both GSDMD cleavage and pyroptosis, demonstrating an essential role of the NLRP3 inflammasome. Supplementation of KCl markedly suppressed BLP-induced pyroptosis, indicating that K⁺ efflux is required. We hypothesized that this K⁺ efflux results from sublethal membrane damage caused by another form of cell death. Among inhibitors tested, DTT, an inhibitor of disulfidptosis, which is necrotic cell death driven by excessive disulfide bonding in the actin cytoskeleton, significantly reduced BLP-induced pyroptosis. Consistently, BLP stimulation caused NADPH depletion and increased β -actin disulfide bonding, both hallmarks of disulfidptosis. These findings suggest that disulfidptosis contributes to NLRP3 inflammasome activation and subsequent pyroptosis in response to BLPs in THP-1 cells.

P2-088

リステリア感染マクロファージにおける Fas 依存的な炎症性サイトカイン産生のメカニズム

○内山 良介^{1,2}, 梶谷 紗矢¹, 川口 美優¹, 松岡 桃奈¹, 林 麻利亜¹, 野坂 和人¹ (1武庫川女子大・薬・病原微生物, 2兵庫医大・医・病原微生物)

Fas-mediated inflammatory cytokine production in macrophages during pathogenic *Listeria* infection

○Ryosuke Uchiyama^{1,2}, Saya Kajitani¹, Miyu Kawaguchi¹, Momona Matsuoka¹, Maria Hayashi¹, Kazuto Nosaka¹ (1Dept. Microbiol., Sch. Pharm., Mukogawa-W. Univ., 2Dept. Microbiol., Sch. Med., Hyogo Med. Univ.)

Inflammatory cytokines produced by macrophages and dendritic cells in response to invading pathogens are crucial for inducing protective host immunity. In our previous study, we demonstrated that the Fas signaling pathway, which is essential for inducing cellular apoptosis, is involved in the production of IL-1 β by macrophages. However, the precise mechanism by which the Fas signaling pathway regulates cytokine production, particularly in relation to the bacterial virulence, remains unclear. This study aimed to investigate how the pathogenicity of infectious bacteria affect Fas-mediated cytokine production. To address this, macrophages were infected in vitro with *Listeria* species of varying pathogenicity (*Listeria monocytogenes* and *L. ivanovii*). Subsequently, the Fas receptor on the infected cells was stimulated using FasL-expressing T cells. Stimulation of Fas signaling on *L. monocytogenes*-infected macrophages resulted in higher IL-1 β production compared to that of *L. ivanovii*-infected cells. These results suggest that differences in the pathogenicity of *Listeria* species modulate Fas signaling pathway-mediated cytokine production.

P2-089

細菌感染における NLRP3 超硫黄化の意義

○張 田力^{1,2}, 西村 明幸³, 松永 哲郎^{1,2}, 西田 基宏^{3,4}, 赤池 孝章⁵, 澤 智裕⁶ (1秋田大・医・感染制御総合センター, 2秋田大・重点研究ラボ, 3生理学研究所・心循環シグナル, 4九州大・薬・生理学, 5東北大・医・レドックス分子医学, 6熊本大・生命科学・微生物学)

The role of NLRP3 supersulfidation in bacteria infection

○Tianli Zhang^{1,2}, Akiyuki Nishimura³, Tetsuro Matsunaga^{1,2}, Motohiro Nishida^{3,4}, Takaaki Akaike⁵, Tomohiro Sawa⁶ (1Comp. Cent. Infect. Dis. Cont., Akita Univ. Grad. Sch. Med., 2Key. Res. Lab. Akita Univ., 3Div. Card. Signal., Natl. Inst. Physiol. Sci., 4Dept. Physiol., Grad. Sch. Pharm. Sci., Kyushu Univ., 5Dept. Redox. Mol. Med., Tohoku Univ. Grad. Sch. Med., 6Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med Sci., Kumamoto Univ.)

Background and aim: Supersulfides, such as cysteine persulfide (CysSSH), are molecular species characterized by catenated sulfur moieties and are abundantly present across organisms. Previous study has suggested that these species are play important role in Toll-like receptors-mediated innate immune and inflammatory responses. Here we examined the effect of supersulfides on NLRP3 inflammasome in response to lipopolysaccharide (LPS).

Materials and methods: To activate the NLRP3 inflammasome, macrophages were primed with LPS, followed by challenging with activators for inflammasome (e.g. ATP, nigericin). The protein supersulfidation was analyzed by modified biotin switch assay.

Results: We demonstrated that supersulfidation, a reversible modification of protein cysteine residues to persulfides or polysulfides, occurs endogenously to modulate NLRP3 inflammasome activation throughout whole processes. More importantly, NLRP3 supersulfidation was also detected in vivo in response to LPS administration.

Conclusion: Our findings provide new insights into the NLRP3 supersulfidation may play a critical role in bacterial infection.

P2-090/FL2-22

免疫受容体と細菌性リガンド双方の遺伝的多様性が示唆する、宿主-病原体の攻防

○長谷川 玄¹, 平安 恒幸¹, 竹本 訓彦², 荒瀬 尚^{3,4,5}, 山口 雅也^{6,7}, 川端 重忠^{5,7}, 華山 力成¹ (¹金沢大・eSRC, ²JHIS・国立国際医療研・感染症制御, ³阪大・微研・免疫, ⁴阪大・免フロ・免疫, ⁵阪大・CiDER, ⁶医薬基盤・健康・栄養研, ⁷阪大・院歯・微生物)

Genetic diversity in immune receptors and bacterial ligands suggests coevolutionary dynamics

○Gen Hasegawa¹, Kouyuki Hirayasu¹, Norihiko Takemoto², Hisashi Arase^{3,4,5}, Masaya Yamaguchi^{6,7}, Shigetada Kawabata^{5,7}, Rikinari Hanayama¹ (¹eSRC, Kanazawa Univ., ²Dept. Infect. Dis., NIGHM, JHIS, ³Dept. Immunochem., RIMD, Osaka Univ., ⁴Lab. Immunochem., IFRcC, Osaka Univ., ⁵CiDER, Osaka Univ., ⁶NIBN, ⁷Dept. Microbiol., Osaka Univ. Grad. Sch. Dent.)

Paired receptors consist of activating and inhibitory forms with homologous extracellular domains that recognize shared ligands yet transmit opposing signals. Differences in expression or structure modulate cellular activation thresholds. Leukocyte immunoglobulin-like receptors (LILRs) represent one such family, with inhibitory LILRBs and activating LILRAs. Within this family, LILRB3 and LILRA6 exhibit high extracellular sequence homology, making them indistinguishable by antibodies. These receptors show extensive allelic and copy number variations, suggesting that polymorphic configurations fine-tune the balance between inhibitory and activating signals. We hypothesized that pathogenic microorganisms exerted selective pressure driving this diversification. Through systematic screening, we identified a cell wall-associated bacterial protein as a ligand for LILRB3/LILRA6. Ligand binding affinities varied among LILR alleles, suggesting an important role in interindividual susceptibility. A pilot study showed associations between infection history and *LILRB3/LILRA6* polymorphisms. The bacterial ligand also exhibits allelic diversity and dynamic expression switching mediated by repetitive elements, influencing biofilm formation in vitro. This reciprocal diversity suggests a host-pathogen arms race, reflecting continuous coevolution shaping immune recognition and bacterial virulence.

P2-091

N-アセチルキトヘキサオースはカイコにおいて緑膿菌感染に対する免疫プライミングを誘導する

○三上 雄大¹, 中島 弘人², 石井 雅樹³, 田淵 史晃², 横村 浩一³, 宮下 惇嗣³ (¹帝京大院・医療技術・臨床検査, ²帝京大・医真菌, ³武蔵野大・薬・分子細胞生物)

N-acetylchitohexaose induces immune priming against *Pseudomonas aeruginosa* infection in the silkworm

○Kazuhiro Mikami¹, Hiroto Nakajima², Masaki Ishii³, Fumiaki Tabuchi², Koichi Makimura³, Atsushi Miyashita³ (¹Dept. Med. Tech., Grad. Sch. Clinical Lab Sci., Teikyo Univ., ²Inst. Med. Mycol., Teikyo Univ., ³Lab. Mol. Cell. Biol., Sch. Pharm., Musashino Univ.)

昆虫は獲得免疫を欠く一方で、病原体への初回曝露後に感染抵抗性が増強される **immune priming** を示すことが知られている。しかし、その分子基盤は十分に解明されていない。特に、キチンオリゴ糖などの糖鎖由来分子による免疫賦活化については、植物や哺乳類では LysM/LYSMD3 受容体を介した免疫活性化が報告されているものの、昆虫におけるその存在は不明である。本研究では、カイコ (*Bombyx mori*) ゲノムから LYSMD3 ホモログを同定し、構造予測解析により LysM ドメイン領域がヒト LYSMD3 と高い構造保存性を示すことを明らかにした。そこで、LYSMD3 の既知リガンドであるキチン由来オリゴ糖 *N*-acetylchitohexaose (GN6) をカイコに投与し、自然免疫応答への影響を解析した。血球細胞を用いた RNA-seq 解析の結果、GN6 投与後に抗菌ペプチドを含む自然免疫関連遺伝子群の転写活性化が認められた。また、血球において *cecropin A/B* 遺伝子が発現誘導され、*Cecropin B* (*CecB*) タンパク質は体液中で検出された。個体レベルの感染実験では、GN6 を前投与したカイコは緑膿菌感染に対して抵抗性を示した一方で、GN6 と *CecB* ペプチドを共に前投与した場合には当該効果は見られなかった。また、この免疫賦活作用は、六糖以上の構造を有するキチンオリゴ糖において選択的に観察された。以上の結果は、カイコは哺乳類との保存性を有する LYSMD3 経路を有し、GN6 がカイコの自然免疫の活性化により緑膿菌に対する感染抵抗性を付与することを示唆している。また、GN6 によって誘導される *CecB* が GN6 の効果を阻害したことは、GN6 により作動する自然免疫経路のフィードバック制御因子としての *CecB* の役割を支持している。

P2-092/WS15-2

多剤耐性アシネトバクター感染における LPS 修飾のインフラマソーム応答への影響

○松田 泰幸¹, 山内 肇¹, 鴨志田 剛², 白石 宗³, 横田 伸一³, 原 英樹¹ (¹旭川医大・医・感染症, ²明薬大・微生物感染制御, ³札幌医大・医・微生物)

Impact of LPS modifications on inflammasome activation in *Acinetobacter* infection

○Yasuyuki Matsuda¹, Hajime Yamauchi¹, Go Kamoshida², Tsukasa Shiraishi³, Shin-ichi Yokota³, Hideki Hara¹ (¹Dept. Infect. Dis., Div. Microbiol. Immunochem., Asahikawa Med. Univ., ²Dept. Infect. Cont. Sci., Meiji Pharm. Univ., ³Dept. Microbiol., Sch. Med., Sapporo Med. Univ.)

Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MDRA) represents a major public health threat, yet the mechanisms by which it induces host inflammatory responses remain poorly understood. LPS is a bacterial ligand recognized by caspase-11 that activate the non-canonical inflammasome. In this study, we investigated how the bacterium regulates LPS activity to induce inflammasome responses. Under stress conditions, *Acinetobacter* upregulates expression of *pmrB*, a membrane-associated kinase that activates LPS modification system. Structural analysis revealed that *pmrB* altered modifications at the lipid A phosphate groups in MDRA. To determine the influence of *pmrB*-mediated LPS modification on inflammasome responses, we generated recombinant MDRA strains harboring an activating mutation in *pmrB*. Macrophage infected with *pmrB* mutant secreted less IL-1 β and IL-18, inflammasome-dependent proinflammatory cytokines, compared with those infected with wild-type MDRA. Consistently, mice infected with the mutant strain exhibited improved survival and reduced bacterial burdens in the organ tested relative to those infected with wild-type MDRA. Together, these findings indicate that *pmrB*-mediated modification of LPS attenuates inflammasome responses that otherwise aggravate MDRA infection.

P2-093/FL2-23

抗菌ペプチド LL-37 は老化細胞に作用して細胞死と SASP 因子の放出を誘導する

三田 一樹¹, 鈴木 香², 熊谷 由美², 射場 敏明¹, 〇長岡 功¹ (¹順天堂大・医療科学, ²順天堂大・医・生化学・生体システム医科)

Antimicrobial peptide LL-37 induces cell death and release of SASP factors in senescent cells

Kazuki Santa¹, Kaori Suzuki², Yumi Kumagai², Toshiaki Iba¹, Olsao Nagaoka¹ (¹Far. Med. Sci. Juntendo Univ., ²Dept. Biochem. Syst. Biomed., Juntendo Univ. Grad. Sch. Med.)

抗菌ペプチド LL-37 は細菌など微生物に対して殺菌作用を発揮する分子として発見された。しかし、近年の研究によって、免疫担当細胞に作用して細胞死やサイトカイン生成を誘導することが明らかにされ、多機能性の生体防御分子として注目されている。一方、老化にともなう炎症反応の増強に、老化細胞から放出される炎症性サイトカインなどの SASP 因子 (senescence-associated secretory phenotype) が関与すること、そして老化細胞に細胞死を誘導して老化細胞を除去すると炎症反応が減弱することが報告されている。そこで本研究では、LL-37 の老化細胞に対する作用を、細胞死の誘導と SASP 因子の放出に注目して検討した。

A549 肺胞上皮細胞をエトポシドで処理すると、細胞老化マーカーである β -ガラクトシダーゼ染色と p21 の発現が増加したことから、細胞老化の誘導が確認された。そこで、老化 A549 細胞に LL-37 を作用させたところ、アポトーシスが誘導される一方で、炎症性サイトカインである IL-6 が生成されることがわかった。そして、阻害剤を用いた実験によって、LL-37 は、caspases シグナルと NK-kB シグナルを介して、アポトーシスと IL-6 の生成をそれぞれ誘導することがわかった。さらに、免疫染色によってアポトーシスの誘導と IL-6 生成が同じ細胞でおきていることが確認された。なお、老化させたヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) においても同様の結果が得られた。

今回の結果は、LL-37 が老化細胞に作用して、アポトーシスを誘導することによって細胞機能を低下させ、さらに SASP 因子を放出することによって炎症反応を増強させる可能性を示し、LL-37 が宿主に防御的に働くという従来の考え方に一石を投じるものである。

P2-094

細菌特異的修飾ヌクレオシドによる免疫応答メカニズムの解明

○島村 美帆, 永芳 友, 西口 栞世, 金子 瞳, 山村 遼介, 中條 岳志, 富澤一仁 (熊本大・医・分子生理)

The molecular mechanism of innate immune response by bacteria-specific modified nucleosides

○Miho Shimamura, Yu Nagayoshi, Kayo Nishiguchi, Hitomi Kaneko, Ryosuke Yamamura, Takeshi Chujo, Kazuhito Tomizawa (Dept. Mol. Physiol., Fac. Life Sci., Kumamoto Univ.)

RNA carries various chemical modifications that affect translational efficiency and structural stability, and these modifications differ among species. Bacterial DNA and RNA are known to activate host immune responses upon infection, and single nucleosides can also stimulate immunity through Toll-like receptors (TLRs). However, unmodified nucleosides are abundant inside and outside cells. Therefore, we hypothesized that bacteria-specific modified nucleosides trigger immune responses.

We extracted nucleosides from *E. coli* and HeLa cells and administered them to THP-1 cells to compare IL-6 expression. *E. coli* nucleosides significantly increased IL-6 expression, whereas HeLa nucleosides did not. This result suggests that the immune reaction is stimulated by nucleosides with bacteria-specific chemical modifications. We then tested nucleosides from other bacterial species, and four species showed IL-6 induction. LC-MS/MS analysis identified two modified nucleosides enriched only in the RNA of these four bacterial species. When these modified nucleosides were administered to THP-1 cells, IL-6 expression was again significantly elevated.

These results suggest that certain bacteria-specific modified nucleosides stimulate immune responses.

P2-095/FL2-24

黄色ブドウ球菌は Aurora kinase A 活性化を介した ASC リン酸化によりインフラマソーム活性化を促進する

○山内 肇, 松田 泰幸, 原 英樹 (旭川医大・医・感染症学微生物学)

Staphylococcus aureus induces ASC phosphorylation by activating Aurora A for inflammasome activation

○Hajime Yamauchi, Yasuyuki Matsuda, Hideki Hara (Dept. Infect. Dis., Div. Microbiol. Immunochem., Asahikawa Med. Univ.)

Staphylococcus aureus causes various diseases, and the spread of antibiotic-resistant strains such as methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) necessitates the development of novel therapeutic strategies. Inflammasomes converge on the adaptor ASC, which nucleates caspase-1 activation, promoting maturation of IL-1 β and IL-18. Excessive inflammasome activation can exacerbate disease pathology during *S. aureus* infection. While tyrosine phosphorylation of ASC is important for inflammasome activation, the contribution of serine/threonine kinases to this process remains unclear. Immunoprecipitation analysis showed that *S. aureus* infection induced serine phosphorylation of ASC, which was reduced by treatment with the Aurora A inhibitor Alisertib. We generated ASC mutants with alanine substitutions at candidate serine residues and reconstituted them in *Pycard*-deficient macrophages. Macrophages expressing ASC S100A or S105A mutants showed reduced IL-1 β production, whereas cells expressing S16A or S92A mutants produced similar amounts of IL-1 β . Furthermore, Aurora kinase inhibitors reduced IL-1 β production in a dose-dependent manner. These results indicate that Aurora A promotes inflammasome activation through phosphorylation of ASC at S100 and S105, suggesting that Aurora kinase inhibitors may prove useful in treating MRSA infection as a promising host-directed therapeutic strategy.

P2-096/WS15-6

Clostridioides difficile 由来メンブレンベシクルの産生機構と免疫原性による感染制御

○勇 陽太郎¹, 奥田 真由¹, 野村 暢彦^{2,3,5}, 尾花 望^{4,5} (¹筑波大院・理工情報生命・生命地球科学, ²筑波大・生命環境, ³筑波大・TIAR, ⁴筑波大・医学医療系・TMRC, ⁵筑波大・MiCS)

Biogenesis and immunogenicity of *C. difficile* membrane vesicles for controlling pathogenicity

○Yotaro Isamu¹, Mayu Okuda¹, Nobuhiko Nomura^{2,3,5}, Nozomu Obana^{4,5} (¹Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ²Fac. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ³TIAR, Univ. Tsukuba, ⁴TMRC, Fac. Med., Univ. Tsukuba, ⁵MiCS, Univ. Tsukuba)

細菌が放出するメンブレンベシクル (MV) は、多様な菌体由来成分を積載し、高い免疫原性を有することから、ワクチンへの応用が期待されている。我々は、MVを免疫調節因子として用い、宿主免疫を誘導することで、特定の腸内細菌の定着や病原性が制御可能になると考えた。ここでは、院内感染やその慢性化と再発が世界的に問題視されているディフィシル菌感染症 (CDI) の原因菌 *Clostridioides difficile* に着目した。本研究では、*C. difficile* 由来 MVを用いた宿主免疫調節系の確立を目的とし、MVの免疫を介した CDI に対する宿主保護効果を検証した。まず *C. difficile* の MV 産生機構の解明を目的として、培地条件や既知の MV 産生機構であるホリンエンドリシン (HE) 遺伝子の関与を評価した。その結果、*C. difficile* における MV 産生に関与する複数の遺伝子群が同定され、中でも HE は発現誘導により *C. difficile* における MV の産生を促進することが示された。さらに、HE 発現や特定の培地条件によって MV の構成成分や粒径などの性状が変化することが明らかになった。次に、MV 接種による宿主免疫誘導能を評価するため、各条件から精製した MV をマウスに接種した。その結果、*C. difficile* 特異的な血清 IgG が増強された。特に HE 誘導条件の MV では抗体価が強く誘導された。さらに、*C. difficile* を感染させたところ、MV を免疫したことによって CDI 症状の顕著な抑制が観察された。以上より、*C. difficile* の MV 産生機構の一端が明らかになるとともに、MV の接種が CDI の重篤化を抑制する可能性が示された。MV を利用した宿主免疫調節は、腸内細菌叢に対する新たな制御技術としての応用が期待される。

P2-097

腸内細菌叢による疾患重症度の差異に免疫細胞が与える影響

○池田 恵莉, 川端 重忠 (大阪大・歯・微生物)

Role of Immune Cells in Modulating Disease Severity by the Gut Microbiota

○Eri Ikeda, Shigetada Kawabata (Dept. Microbiol. Sch. Dent., Osaka Univ.)

ヒトの口腔や腸管などには、多様な微生物が常在しており、これらの常在細菌は宿主免疫の成熟や機能維持に重要な役割を果たしている。細菌叢の構成異常 (ディスバイオーシス) は、宿主の免疫バリア機能の低下と関連しており、炎症性腸疾患や歯周病など、多くの炎症性疾患の発症に関与していると考えられている。しかし、その詳細な機序については未解明の部分が多い。我々は、以前の研究で腸炎に対して自然耐性を示す野生型マウス亜系統を同定しており、この腸炎抵抗性マウスを用いて、腸内細菌叢およびその代謝物が宿主防御機構に及ぼす影響を検討した。実験には、腸管炎症および腸内細菌叢のディスバイオーシスを誘導するデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) モデルを用いた。DSS 処理後、抵抗性マウスでは大腸における Foxp3 陽性制御性 T 細胞 (Treg) が有意に増加していた一方で、ヘルパー T1 および T17 細胞の数に差は見られなかった。コハウス実験から Treg の増加は抵抗性マウス由来の腸内細菌叢によって誘導されることが示され、正常な腸内細菌叢を持つマウスでは酢酸、酪酸、プロピオン酸の 3 種類の短鎖脂肪酸 (SCFA) が高濃度で維持されていた。さらにプロテオミクス解析により、鉄結合および鉄代謝に関与するタンパク質の発現が疾患抵抗性に関連して抑制されることが明らかになった。特に、鉄は SCFA 産生菌にとって重要な役割を果たすことが知られている。これらの結果から、正常な腸内細菌叢と SCFA の組み合わせが Treg の誘導に寄与し、大腸炎の進行制御に関与することが示された。

P2-098/WS15-3

Candida albicans 誘導性 α 1,2-fucosylation の誘導経路と炎症制御

○森 大地¹, 後藤 義幸^{1,2} (¹千葉大・真菌センター, ²千葉大・災害治療学研)

Induction Pathways and Inflammation Regulation of Candida albicans-Induced α 1,2-fucosylation

○Daichi Mori¹, Yoshiyuki Goto^{1,2} (¹Dept. Medical Mycology Research Center, Chiba Univ., ²Dept. Disaster Med, Chiba Univ.)

Candida albicans (CA) is a key intestinal microbe, known to induce T helper 17 cells and IL-22-dependent antimicrobial responses, contributing to mucosal homeostasis. However, the mechanisms regulating symbiosis between mucosal immunity and CA remain unclear. Here, we focused on epithelial α 1,2-fucosylation, a host-bacteria symbiotic factor, showed its induction pathway and relevance to disease. First, CA-induced α 1,2-fucosylation was absent in Rag2 deficient mice but was restored by transfer of CD4⁺T cells. Moreover, α 1,2-fucosylation was not induced in IL-22 deficient mice, showing that the CD4⁺T cells-IL-22 axis governs this induction. We next assessed its pathological significance in CA-associated diseases, including ulcerative colitis (UC) and alcoholic liver disease (ALD). Since α 1,2-fucosylation is mediated by Fut2, we compared disease susceptibility in wild-type and Fut2 deficient mice colonized with CA. Fut2 deficient mice showed increased susceptibility to both diseases, revealing that loss of α 1,2-fucosylation exacerbates CA-driven pathology. These findings identify CA-induced α 1,2-fucosylation as a downstream outcome of the CD4⁺T cells-IL-22 pathway and highlight this glycan modification as a key host-protective factor modulating the progression of CA-associated diseases.

P2-099/WS15-7

黄色ブドウ球菌-アフリカツメガエル感染モデルを用いた獲得免疫の評価

○栗生 綾乃, 石川 一也, 古田 和幸, 垣内 力 (岡山大・院医歯薬 (薬)・分子生物学)

Evaluation of acquired immunity using *S. aureus* - *Xenopus laevis* infection model

○Ayano Kuriu, Kazuya Ishikawa, Kazuyuki Furuta, Chikara Kaito (Lab. Mol. Biol., Grad. Sch. Med. Dent. Pharm, Okayama Univ.)

細菌感染症の分子メカニズムを解明し治療薬を開発するには、動物感染モデルが不可欠である。従来用いられてきたマウス等の哺乳類モデルはヒトと類似した免疫機構を持つ利点がある一方、倫理的・コスト的制約から多数の個体を用いた探索研究には不向きである。代替モデルとして、カイコ、ゼブラフィッシュ等が利用されてきたが、獲得免疫機構が不在または不完全である。アフリカツメガエルは高度な獲得免疫機構を持ち、寿命が長い、長期の感染実験による獲得免疫の評価に適している。本研究では、アフリカツメガエルを用いた黄色ブドウ球菌の感染モデルを構築し、獲得免疫の評価を試みた。

黄色ブドウ球菌の腹腔内注射により、アフリカツメガエルの菌量依存的な死亡率の上昇が見られた。注射された黄色ブドウ球菌は、血液、肝臓、筋肉等の全身の臓器に拡散し、赤血球の数を減少させた。溶血毒素の病原性への関与が疑われたため、溶血毒素欠損株を接種したところ、アフリカツメガエルを殺傷する活性が減弱した。黄色ブドウ球菌の死菌を注射して4週間後に黄色ブドウ球菌の生菌を感染させると、長期免疫応答に関わる抗体価の上昇が見られ、黄色ブドウ球菌による感染死が抑制された。さらに、溶血活性を欠失させた変異型の β 溶血毒素を注射して2週間後に黄色ブドウ球菌の生菌を感染させると、黄色ブドウ球菌による感染死が抑制された。

以上の結果は、アフリカツメガエルが黄色ブドウ球菌およびその毒素に対して免疫記憶を形成することを示唆している。今後は、アフリカツメガエル感染モデルを用いて、ヒト病原性細菌のワクチン評価に取り組む予定である。

参考論文: Kuriu et al., *Infect Immun* (2025)

P2-100

結核菌抗原と DNA アジュバントからなる新規成人肺結核ワクチン

○前山 順一^{1,2}, 塚本 裕美子², 伊保 澄子³, 尾関 百合子¹, 松本 壮吉¹, 山本 三郎² (¹新潟大・院・医歯, ²JIHS・感染研・ハンセン, ³ルイ・パスツール医学研究センター)

A novel adult pulmonary tuberculosis vaccine consisting of *Mtb* antigen and DNA adjuvant

○Jun-ichi Maeyama^{1,2}, Yumiko Tsukamoto², Sumiko Iho³, Yuriko Ozeki¹, Sohkiichi Matsumoto¹, Saburo Yamamoto² (¹Grad. Sch. Med. Dent., Niigata Univ., ²JIHS, NIID, Leprosy, ³Louis Pasteur Cnt. Med.)

【背景と目的】結核は世界人口の約3分の1が感染する重要な細菌感染症である。BCGは小児結核性髄膜炎および粟粒結核に対する唯一のワクチンであるが、成人肺結核に対する予防効果は十分ではなく、その免疫が低下する成人期以降での発症が問題となっている。しかしながら、現在もBCGを凌駕する新ワクチンは実用化していない。ゆえに我々は、幼少期におけるBCG接種を前提として、マイコバクテリアの主要抗原 Mycobacterial DNA-binding protein 1 (MDP1)と天然型のTLR9アゴニスト G9.1の混合物を追加接種することにより、成人期以降も結核免疫を維持し得るワクチンの開発に取り組んでいる。これまでに、免疫賦活性の弱いBCG亜株を投与したカンクイザル及びモルモットを成人の結核免疫の低下を模倣するモデルとし、MDP1 + G9.1の結核防御効果を示してきた。今回は、現行のBCGを投与したマウスを用いて成人モデルを作成し、MDP1 + G9.1の有効性を検討した。

【方法と結果】BCG接種後長期経過したマウスについて結核免疫の低下を確認した。また、開発を加速するためマウスに特化したG9.1サロゲート (mG9.1) を作成した。次に、mG9.1/G9.1とMDP1の混合物をBCG接種後長期経過したマウスに2週間間隔で3回皮内投与し、最終投与から2週間後に結核菌 H37Rv を噴霧感染させ、残存菌数を計測した。その結果、追加接種により残存菌数が減少することが示された。

【結論】BCG投与マウスにおいてMDP1 + G9.1混合物の有効性が示された。

【考察】カンクイザルやモルモットと異なるモデルにおいても有効性が示されたことから開発を加速しヒトへの応用に繋ぎたい。

P2-101

Development of Bacteriophage-based Platform for DNA Vaccine Delivery

○劉 怡, Vivekanandan Palaninathan, Myat Thu, Srivan Veerananarayanan, 相羽 由詞, Xin-Ee Tan, 宮永 一彦, 渡邊 真弥, 崔 龍洙 (自治医大・医・細菌学)

○Yi Liu, Vivekanandan Palaninathan, Myat Thu, Srivan Veerananarayanan, Yoshifumi Aiba, Xin-Ee Tan, Kazuhiko Miyana, Shinya Watanabe, Longzhu Cui (Div. Bacteriology, Sch. Med., Jichi Med Univ.)

DNA vaccines represent a promising immunization strategy, eliciting robust and durable immunities and offer advantages such as high stability, low cost, and ease of transportation and storage. However, their clinical application is limited due to the rapid degradation of naked DNA in mammalian cells. To address this issue, we developed a bacteriophage-based DNA vaccine delivery platform. Bacteriophages are inherently safe for mammalian systems, possess adjuvant properties, and can protect DNA cargo. A *Staphylococcus aureus* phage was engineered as a DNA vaccine carrier using ovalbumin (OVA) as a model antigen. For biosafety, the integrase-encoding gene was deleted to prevent genomic integration. To enhance delivery to immune cells, immune cell targeting peptides were displayed on the phage capsid, generating wild-type, macrophage-targeting, and dendritic cell-targeting vaccine candidates. Although cellular uptake was lower than anticipated, we hypothesize that the negatively charged phage surface limits internalization. Ongoing studies focus on charge-neutralizing polymer and/or peptide functionalization onto phage surface to enhance cellular uptake and vaccine efficacy. Overall, this study establishes a bacteriophage-based platform for DNA vaccine delivery and provides a foundation for further optimization aimed at improving delivery efficiency and immunogenicity.

P2-102/FL2-25

枯草菌由来膜小胞を利用した **Plug-and-Display** 型ワクチン作製方法の確立

○若林 丈人¹, 安部 公博², 川端 寛樹², 佐藤 梢², 中尾 龍馬², 山口 雄大², 佐藤 勉¹, 明田 幸宏² (¹法政大・院理工・生命機能, ²国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所・細菌第一部)

Establishment of a Plug-and-Display type vaccine using *Bacillus subtilis* derived membrane vesicle

○Takehito Wakabayashi¹, Kimihiro Abe², Hiroki Kawabata², Kozue Sato², Ryoma Nakao², Takehiro Yamaguchi², Tsutomu Sato¹, Yukihiko Akeda² (¹Grad. Sch. Sci. Eng., Hosei Univ., ²Dept. Bacteriol. I, NIID, JIHS.)

【背景】多くの細菌は、直径 20～400 nm の膜小胞(Membrane Vesicles: MVs)を外部環境に放出する。先行研究から、非病原性グラム陽性菌である枯草菌(*Bacillus subtilis*)由来の MVs が、強力なアジュバント活性を示すことが明らかとなった。そこで我々は、枯草菌由来 MVs を用いた、安全性の高いワクチンプラットフォームの創出を目指し、研究開発を行っている。

【方法】組換え抗原タンパク質を枯草菌由来の MVs 表層に結合させた Plug-and-Display 型ワクチンを作製した。まず、抗原の足場となるタンパク質である DogTag を MVs に結合させ、次いで抗原タンパク質と DogCatcher の融合タンパク質を、DogTag/DogCatcher 間のイソペプチド結合形成により共有結合させた。得られた MV ワクチンをマウスに 2 週間おきに 3 回経鼻投与し、血清および唾液を回収した。投与抗原特異的な抗体の産生を ELISA で評価した。

【結果・考察】モデル抗原 mScarlet-I を MVs 表層に結合させたワクチンの経鼻投与により、mScarlet-I に対する IgG および SIgA の産生が促進された。一方で、MV ワクチンの骨格に対する免疫原性は、抗原部分に比べて著しく低かった。さらに、ペスト菌(*Yersinia pestis*)の英膜タンパク質抗原 mCafI を結合させた MV ワクチン(MV-P)でも同様の結果が得られた。現在、MV-P ワクチンのペスト菌に対する感染防御能を動物実験により検証している。

P2-103/FL2-26

ウシ型結核菌弱毒株 BCG 由来の菌体外膜小胞を用いた結核ワクチン開発に向けた接種プロトコル最適化

○吉川 唯衣^{1,2}, 山口 雄大¹, 富永 龍之介^{1,2}, 中村 知世^{2,3}, 西野 智彦^{2,3}, 安部 公博¹, 中尾 龍馬¹, 明田 幸宏¹ (¹感染研・細菌 I, ²工科大・応生・応用微生物, ³工科大・バイオニクス)

Optimization of immunization protocols for a BCG-derived membrane vesicle-based tuberculosis vaccine

○Yui Yoshikawa^{1,2}, Takehiro Yamaguchi¹, Ryunosuke Tominaga^{1,2}, Tomoyo Nakamura^{2,3}, Tomohiko Nishino^{2,3}, Kimihiro Abe¹, Ryoma Nakao¹, Yukihiko Akeda¹ (¹Dept. Bacteriol. I, Natl. Inst. Infect. Dis., ²Sch. Biosci. Biotechnol., Tokyo Univ. Technol., ³Grad. Sch. Bionics, Tokyo Univ. Techno)

ウシ型結核菌弱毒株 BCG のワクチン接種は有効性が確立された唯一の結核予防法であるが、結核免疫の経時的減衰、BCG 感染症の副作用など、克服すべき課題が多い。我々は BCG 由来の菌体外膜小胞(BCG-MVs) の結核ワクチンへの応用可能性を報告してきたが、その接種プロトコルは最適化されていない。本研究では接種経路ごとに最適な免疫回数を検討し、無細胞性で、感染症合併症のリスクが無い MVs を用いて安全で有効性の高い新規ワクチンの開発を目指す。抗原に BCG-MVs を、アジュバントにプロバイオティクス大腸菌 Nissle 1917 由来変異株から得た MVs を用いたワクチンを検討に用いた。それぞれの MVs は超遠心法で分離し、電界放出型走査電子顕微鏡でそれぞれの形態、SDS-PAGE でタンパク質発現プロファイルを確認した。6 週齢雌性 BALB/c マウスに、3 週間毎に経鼻接種 (IN)、皮下接種 (SC) または筋肉内接種 (IM) により免疫し、最終免疫から 2 週間後に血清、唾液、肺洗浄液、鼻腔洗浄液を得た。それぞれの検体を用いた酵素免疫測定法により抗 BCG 抗体の産生誘導を評価した。SC および IM では液性免疫が、IN では粘膜免疫が強く誘導されていた。また、IN および SC では 2 回よりも 3 回の免疫で、より強い抗体産生誘導が認められた。一方、IM は、2 回接種で SC よりも強く抗体産生を誘導しており、SC に対する IM の優位性が明らかとなった。今後、抗酸菌 (BCG および病原性結核菌) 感染実験によりその有効性を明らかにしていく。

P2-104

中年期および高齢期における唾液中 s-IgA 濃度の経時変化

○名本 瑛理¹, 朝川 美加李¹, 影山 伸哉¹, 古田 美智子¹, 二宮 利治², 竹下 徹¹ (¹九州大・院歯・口腔予防, ²九州大・院医・衛生・公衆衛生学)

Temporal shift of s-IgA concentration in saliva of middle-aged and elderly adults

○Eri Namoto¹, Mikari Asakawa¹, Shinya Kageyama¹, Michiko Furuta¹, Toshiharu Ninomiya², Toru Takeshita¹ (¹Sect. Prevent. Dent. Public Health., Grad. Sch. Dent., Kyushu Univ., ²Dept. Epidemiol. Public Health., Grad. Sch. Med., Kyushu Univ.)

唾液に含まれる分泌型 IgA (s-IgA) は口腔粘膜免疫に関わる成分として常在微生物叢の制御において重要な役割を果たしていると考えられている。本研究では中年期および高齢期における唾液中 s-IgA 濃度の 6 年間の変化を分析した。福岡県糟屋郡久山町で 2017 年度に実施された生活習慣病予防住民健診にて歯科健診を受診した 40 歳 (中年期, 34 名) および 74, 75 歳 (高齢期, 58 名) の地域住民で、2023 年度の健診にも参加した 92 名を対象とした。受診時に 2 分間のガム咀嚼を依頼し吐出された刺激唾液を取得した。唾液中の s-IgA 濃度は Human s-IgA (Saliva) ELISA Kit (株式会社矢内原研究所) を用いて測定した。中年期の者ではベースライン時と 6 年後の唾液中 s-IgA 濃度は高い相関を示し、統計的に有意な変動を認めなかった。一方で高齢期の者では 6 年後の唾液中 s-IgA 濃度はベースライン時と比べ有意な増加を認めた。唾液分泌量を乗じて算出した 2 分間の s-IgA 分泌量についても同様の結果であった。以上の結果から唾液中 s-IgA 濃度は高齢期に増加することが示され、口腔常在微生物叢の加齢変化との関連の可能性が示された。

P2-105/WS15-4

腸管粘膜近傍細菌 *Adlercreutzia* は胆汁酸脱抱合酵素によって大腸炎を緩和する

○楊 佳約¹, 澤花 望^{2,3}, 中藤 学^{4,5}, 新聞 秀一⁶, 齊藤 裕美⁶, 向井 新⁷, 吉田 颯祐⁷, 尾田 和宏⁷, 木瀬 孔明⁷, 濡木 理⁷, 野村 暢彦³, 福田 真嗣¹ (¹慶大・先端生命研, ²筑波大・医学医療系・TMRC, ³筑波大・生命環境系, ⁴順大・院・医, ⁵神奈川産技総研, ⁶阪大・院・工, ⁷東大・院・理, ⁸株式会社メタジェン)

Intestinal mucosa-associated bacteria *Adlercreutzia* attenuates colitis by bile salt hydrolase

○Jiayue Yang¹, Nozomu Obana^{2,3}, Gaku Nakato^{4,5}, Shuichi Shimma⁶, Yumi Saito⁶, Shin Mukai⁷, Sousuke Yoshida⁷, Kazuhiro Sawada⁷, Yoshiaki Kise⁷, Osamu Nureki⁷, Nobuhiko Nomura³, Shinji Fukuda¹ (¹Inst. Adv. Biosci., Keio Univ., ²TMRC, Inst. Med., Univ. Tsukuba, ³Inst. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba, ⁴Grad. Sch. Med., Juntendo Univ., ⁵KISTEC, ⁶Grad. Sch. Eng., Univ. Osaka, ⁷Grad. Sch. Sci., Univ. Tokyo, ⁸Metagen. Inc.)

ヒト腸管内には多種多様な腸内細菌が生息しており、それらが産生する様々な代謝物質が人体に影響を与えることが報告されている。粘液層付近に局在する腸内細菌は特に宿主に影響を与える報告が多いため、その機能理解は重要である。これまでの腸管粘膜近傍細菌叢の解析では、腸管組織の採取といった侵襲的な手段が必要であった。そこで、本研究では非侵襲的な採取を実現するために便に着目した。細菌叢解析の結果から、便表面と大腸粘膜近傍の細菌叢は類似しており、便を用いることで大腸粘膜近傍の細菌叢を経時的に解析可能であることを明らかにした。本手法により大腸の炎症と逆相関する粘膜局在細菌属 *Adlercreutzia* を同定した。当該細菌属の基準株を定着させたノトバイオートマウスを作成し、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を用いて実験的に大腸炎を誘導したところ、同菌は大腸炎緩和作用を有することが明らかとなった。盲腸内容物のメタボローム解析および大腸の質量分析イメージング解析から腸内でタウリン量が増加していることが明らかとなった。タウリンを経口投与した無菌マウスは DSS 大腸炎の緩和作用を示したことから、同菌は腸管内でタウリン量を増加させることで、大腸炎を緩和することが示唆された。腸管内のタウリンは腸内細菌が有する胆汁酸脱抱合酵素(BSH)によって抱合型胆汁酸より遊離される。In vitro 試験により、同 BSH は既存酵素と比較してその活性が格段に高いことが明らかとなった。したがって同菌の高い胆汁酸脱抱合作用は大腸炎緩和に有用であると考えられる。加えて、クライオ電子顕微鏡で当該 BSH の構造を解析し、同酵素の活性と安定性に重要な部位を酵素変異体で特定した。

P2-106

肺結核における IL-17F の空間的に異なる役割

○梅村 正幸^{1,2,3}, 金野 俊洋^{1,4} (¹琉球大・熱生研・感染防御, ²琉球大・院・医・生体防御, ³琉球大・院・先端医学・動物実験, ⁴琉球大・農・動物機能)

Spatially distinct roles of IL-17F in pulmonary tuberculosis

○Masayuki Umemura^{1,2,3}, Toshihiro Konno^{1,4} (¹Mol. Microbiol., Trop. Biosphere Res. Ctr., Univ. Ryukyus, ²Dept. Host Defense, Grad. Sch. Med., Univ. Ryukyus, ³Exp. Anim. Res., Adv. Med. Res. Cent., Fac. Med., Univ. Ryukyus, ⁴Animal Func. Sci., Fac. Agr., Univ. Ryukyus)

Interleukin (IL)-17F, a cytokine highly homologous to IL-17A, is implicated in mucosal immunity, yet its function in pulmonary *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) infection remains unclear. Here, we examined the spatiotemporal role of IL-17F during Mtb infection. Similar to IL-17F-deficient mice, IL-17F signaling was required for early protection, whereas its relevance in chronic infection was limited. Cellular profiling revealed that, unlike IL-17A - mainly produced by TcR $\gamma\delta$ T cells - IL-17F was undetectable in lymphocytes. Instead, type II alveolar epithelial cells (AECII) constitutively expressed IL-17F even in the absence of infection. Spatial analysis showed minimal IL-17F within granulomas, but IL-17F-expressing cells accumulated at the granuloma periphery, with AECII as the dominant source. Although IL-17A and IL-17F share receptors and IL-17A induced adhesion molecules regardless of IL-17F deficiency, IL-17F minimally affected adhesion induction during early infection. These findings suggest that AECII-derived IL-17F contributes to early granuloma maturation and bacterial control. During chronic infection, granuloma expansion may spatially separate infected macrophages from AECII, reducing IL-17F-mediated regulation. Thus, IL-17A and IL-17F exert distinct immune functions defined by cellular origin and anatomical localization.

P2-107/FL2-27

Streptococcus mutans temperate phage Φ KSM96 と相同性を有するファージの比較解析

○山内 悠実^{1,2}, 西濱 早紀^{1,2}, 松尾 美樹^{2,3}, 久恒 順三⁴, 菅原 庸⁴, 柴 秀樹¹, 菅井 基行⁴, 小松澤 均^{2,3} (¹広島大・医系科学・歯髄生物学, ²広島大・医系科学・細菌学, ³広島大・院内感染症プロジェクト研究センター, ⁴国立健康危機管理機構・国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター)

Comparative analysis of bacteriophages homologous to *Streptococcus mutans* temperate phage Φ KSM96

○Yumi Yamauchi^{1,2}, Saki Nishihama^{1,2}, Miki Kawada-Matsuo^{2,3}, Junzo Hisatsune⁴, Yo Sugawara⁴, Hideki Shiba¹, Motoyuki Sugai⁴, Hitoshi Komatsuzawa^{2,3} (¹Dept. Biol. Endo., Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomed. HS, ²Dept. Bact., Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomed. HS, ³Pjt. Res. Ctr. for Nosocomial Infectious Dis., Hiroshima Univ., ⁴Japan Inst. Hlth. Secur. AMR Res. Ctr., Natl. Inst. Infectious Dis.)

【目的】*Streptococcus mutans* (Sm)はう蝕原性細菌であり、近年全身疾患との関連性が報告されている。う蝕の予防法としては物理的なブラーク除去や洗口剤等による化学的な除去、治療は切削・拔牙が一般的である。しかし、口腔細菌叢を破壊しないSmの選択的な除去方法は確立されていない。私たちは以前、Sm臨床分離株125株からSm選択的殺菌活性を持つtemperate phage (T-phage) ϕ KSM96を分離し報告した。本研究では、SmのT-phageの特性を検証することを目的として、新たに分離した臨床分離株からのT-Phageの探索と分離、ゲノム解析、および感受性の検証を行った。【方法】広島大学病院外来患者の口腔から、通法に従い新たにSm94株を分離した。全ゲノム解析後、Webサーバー“PHASTEST”にてT-phageを探索した。ファージ粒子の分離は、マイトマイシンC処理したSm培養上清にPEG6000を添加・遠心分離により行った。ファージ粒子数の測定は定量性PCRを用い、ファージ活性はSoft agar-overlay assayでSm菌株に対する阻止円の形成で評価した。【結果】臨床分離94株から、 ϕ KSM96ゲノムと高い相同性を有するファージゲノムを持つSm7株を同定した。ファージゲノムを比較した結果、菌株間で遺伝子の部分欠失、点変異等が認められた。同じ条件で分離したファージの粒子数は株ごとに異なり、臨床分離Sm12株に対する各ファージの溶菌活性も多様性を示し、一部のファージでは活性を認めなかった。【結論】本研究では、 ϕ KSM96様の完全長のプロファージにおいて、保有する株によりファージ遺伝子領域やファージ活性が異なることを明らかにし、プロファージ領域に変異等が生じることで多型性を示すことが考えられた。

P2-108

抗結核化合物 OCT313 の作用点解析：リン酸アセチルトランスフェラーゼは抗結核薬の潜在的な薬剤標的である

○瀧井 猛将^{1,2,3}, 長谷川 倫宏², 伊藤 佐生智⁴, 前田 伸司⁵, 和田 崇之⁶, 堀田 康弘⁷, 西山 晃史⁸, 松本 壮吉^{8,9}, 大原 直也¹⁰, 君嶋 葵³, 浅見 行弘³, 肥田 重明², 小野 菊夫² (¹公財) 結核予防・結研・抗酸菌, ²名市大・院薬・衛生化学, ³北里大・大村研, ⁴愛院大・薬・衛生化学, ⁵北科大・薬, ⁶大工大・院生・微生物, ⁷名市大・院医・臨薬, ⁸新潟大・院医・細菌, ⁹大工大・院医・細菌, ¹⁰岡山大・院医歯薬・口腔細菌)

Analysis of the drug target of the anti-TB compound OCT313: PTA is a potential drug target

○Takemasa Takii^{1,2,3}, Tomohiro Hasegawa², Saotomo Itoh⁴, Shinji Maeda⁵, Takayuki Wada⁶, Yasuhiro Horita⁷, Akihito Nishiyama⁸, Sohkiichi Matsumoto^{8,9}, Naoya Ohara¹⁰, Aoi Kimisima³, Yuhikuro Asami³, Shigeaki Hida², Kikuo Onozaki² (¹Dept. Mycobacterium Ref. and Res., the Res. Inst. Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Associ., ²Dept. Hygi. Chem., Grad. Sch. Pharm. Sci., Nagoya City Univ., ³Omura Satoshi Memori. Inst., Kitasato Univ., ⁴Lab. Hygi. Chem., Sch. Pharm., Aichi Gakuin Univ., ⁵Grad. Sch. Pharm. Sci., Hokkaido Univ. Sci., ⁶Dept. Microbiol., Grad. Sch. Hum. Life and Eco., Osaka Metro. Univ., ⁷Dept. Clin. Pharm., Grad. Sch. Med. Sci., Nagoya City Univ., ⁸Dept. Bacteriol., Niigata Univ. Sch. Med., ⁹Dept. Bacteriol., Osaka Metro. Univ. Grad. Sch. Med., ¹⁰Dept. Oral Microbiol., Grad. Sch. Med., Denti. Pharm. Sci., Okayama Univ.)

Tuberculosis (TB) is one of the most common infectious diseases caused by bacteria worldwide. The increasing prevalence of multidrug-resistant TB (MDR-TB) and latent tuberculosis infection (LTBI) has intensified the global TB burden. Therefore, the development of new drugs for MDR-TB and LTBI is urgently required. We have reported that the sugar derivative, 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl N,N-dimethylthiocarbamate (OCT313), exhibits anti-mycobacterial activity against MDR-TB. Here, we identified the target of OCT313. In experimentally generated OCT313-resistant bacteria, adenine at position 1,092 in the metabolic enzyme phosphotransacetylase (PTA) gene was replaced with cytosine. This mutation is a nonsynonymous mutation that converts methionine to leucine at position 365 in the PTA protein. OCT313 inhibited the enzymatic activity of wild-type PTA, but not of the mutant PTA (M365L). PTA is an enzyme that produces acetyl-coenzyme A (acetyl-CoA) from acetyl phosphate and CoA and is involved in metabolic pathways; therefore, it was expected to also be active against dormant MTB bacilli. OCT313 exhibits antibacterial activity in the Wayne model of dormancy using BCG bacilli, and overexpression of PTA in OCT313-resistant bacilli restored sensitivity to OCT313. Collectively, the target of OCT313 is PTA and OCT313 is a promising antimicrobial candidate of MDR-TB and LTBI.

P2-109

Mycobacterium abscessus のリファマイシン系抗菌薬に対する耐性機構の解明

○澤井 宏太郎¹, 平川 秀忠², 森重 雄太³, 美間 健彦⁴, 港 雄介¹ (¹藤田医大・感染症研究セ・感染症創薬研究, ²群馬大・院・細菌, ³結研・抗酸菌, ⁴愛媛県立医療技術大・保健科学・臨床検査・微生物検査)

Uncovering the Intrinsic Mechanisms Driving Rifamycin Resistance in *Mycobacterium abscessus*

○Kotaro Sawai¹, Hidetada Hirakawa², Yuta Morishige³, Takehiko Mima⁴, Yusuke Minato¹ (¹Div. Anti-Infect. Drug Discov., Ctr. Infect. Dis. Res., Fujita Health Univ., ²Dept. Microbiol., Sch. Med., Gunma Univ., ³Dept. Mycobacteriology, RIT, ⁴Microbiol., Dept. Med. Technol., Fac. Health Sci., Ehime Pref. Univ. Health Sci.)

【目的】*Mycobacterium abscessus* (Mab)は、肺NTM症の主要原因菌であり、多くの抗菌薬に自然耐性を示すため治療が困難である。本研究は、抗結核薬のRifamycin (リファンピシン (RFP)・リファブチン (RBT))に対するMabの内因性耐性機構を明らかにすることを目的とした。【方法】Mab ATCC19977株のトランスポゾン (Tn) 変異株ライブラリーをRFP (5, 0.5 μ g/ml), RBT (0.5 μ g/ml) 存在下で培養し、TnSeqにより耐性関連遺伝子を同定した。候補遺伝子破壊株の薬剤感受性は、微量液体希釈法によって評価した。また、RFPと細胞壁合成阻害剤との併用効果をCheckerboard法で評価した。さらに、RFP感作後のUDP-GlcNAc量をLC-MS/MSで測定した。【結果】候補遺伝子として既知のarr, helRに加え、薬剤排出ポンプ、細胞壁合成酵素ldtMab2が同定された。また、RFP感作により細胞壁合成経路上の代謝物であるUDP-GlcNAcが大きく増加した。Checkerboard法では、RFPはImipenemおよびCefditorenと相乗効果を示し、 Δ ldtMab2株ではこのうちImipenemのみで相乗効果が消失した。【考察】MabのRifamycinに対する耐性は酵素的不活化や薬剤排出に加え、ldtMab2を中心とした細胞壁応答が関与していることが示唆された。この応答は特定の β ラクタム系との相乗効果を生み、Rifamycinの治療効果を増強する新規戦略となることが示唆された。

P2-110/FL2-28

細菌ドメインに散在するスフィンゴイド塩基合成遺伝子ホモログによる大腸菌生育阻害

○川口 潤¹, 内山 拓樹², 岩井 伯隆², 豊福 雅典^{1,3,4}, 野村 暢彦^{1,3,4,5}, 和地 正明² (¹筑波大・生命環境, ²東京科学大・生命理工, ³筑波大・MiCS, ⁴筑波大・TIAR, ⁵筑波大・TARA)

Growth inhibition of *Escherichia coli* by sphingoid base synthesis genes scattered across bacteria

○Jun Kawaguchi¹, Hiroki Uchiyama², Noritaka Iwai², Masanori Toyofuku^{1,3,4}, Nobuhiko Nomura^{1,3,4,5}, Masaaki Wachi² (¹Fac. Life Envir. Sci., Univ. Tsukuba, ²Dept. Life Sci. Technol., Science Tokyo, ³MiCS, Univ. Tsukuba, ⁴TIAR, Univ. Tsukuba, ⁵TARA, Univ. Tsukuba)

スフィンゴ脂質は動物の細胞膜を構成する脂質の一種であり、スフィンゴイド塩基はその生合成中間体や代謝産物である長鎖脂肪酸アミンの総称である。一部のスフィンゴイド塩基は抗菌活性を持つことが知られており、近年では新規の抗菌薬候補として再注目されている。スフィンゴイド塩基は真核生物に広くみられる一方、細菌では非常に稀な分子であることから、これまで細菌が生産するものについてはほとんど研究されてこなかった。近年、これまでスフィンゴイド塩基を生産しないとされてきた細菌でも、その生合成遺伝子ホモログを持つことが報告された。本研究ではこれらの細菌が、抗生物質としてスフィンゴイド塩基を生産している可能性について調べた。より抗菌活性の高いスフィンゴイド塩基の発見や、スフィンゴイド塩基の作用機序への理解が深まることが期待される。データベース探索と系統解析の結果から、ガンマプロテオバクテリア綱に属する一部の細菌株がスフィンゴイド塩基合成遺伝子ホモログを保持していることを見出した。これらの遺伝子を大腸菌へ異種発現させると、大腸菌の生育を阻害することが確認された。また、発現を誘導した大腸菌細胞内には、Nile Redで染色されるスフィンゴイド塩基由来と思われる疎水性顆粒が蓄積することが確認された。これらの結果は、細菌ドメインに散在するスフィンゴイド塩基合成遺伝子ホモログが潜在的にスフィンゴイド塩基を生産し得ることや、それらが抗菌的に働く可能性を示唆している。

P2-111

生物学的に安全な抗菌剤としての非複製性広宿主域ファージカプシドの合成

○Maniruzzaman¹, Maruthan Karthik¹, 日高 侑也¹, 小島 新二郎², 氣駕 恒太郎^{1,2}, 宮永一彦¹, 相羽 由詞¹, XinEe Tan¹, 渡邊 真弥¹, 崔 龍洙¹ (¹Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ., ²Dept. Drug Development, NIID, JIHS)

Synthetic Rebooting of Non-Replicative Broad-Range Phage Capsids as a Biosafe Antimicrobial

○Maniruzzaman¹, Maruthan Karthik¹, Yuya Hidaka¹, Shinjiro Ojima², Kotaro Kiga^{1,2}, Kazuhiko Miyanaga¹, Yoshifumi Aiba¹, XinEe Tan¹, Shinya Watanabe¹, Longzhu Cui¹ (¹Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ., ²Dept. Drug Development, NIID, JIHS)

The spread of multidrug-resistant *E. coli* underscores the urgent need for safe antimicrobial alternatives to conventional antibiotics. Although bacteriophage therapy offers pathogen-specific killing, its application is hindered by biosafety concerns such as uncontrolled replication and horizontal gene transfer. To overcome these, we developed a non-replicative, Bacteria-targeting Capsid Particle (B-CAP) platform designed for stringent biocontainment. The synthetic genome was assembled and rebooted using a helper BAC (Bacterial Artificial Chromosome) system that supplies the missing structural components in trans. The ColE1 bacteriocin operon comprising the colicin E1 toxin, its immunity protein, and a lysis-associated release factor was inserted to endow strong bactericidal activity. The parental SM-S9 phage exhibited wide infectivity, lysing 135/205 clinical *E. coli* isolates (65.8%), supporting as a chassis for broad-range B-CAP development. In vitro assays confirmed that the rebooted SM-S9_B-CAP_ColE1 efficiently eliminated drug-resistant strains including AmpC producers, while maintaining strict non-replication. Importantly, in vivo evaluation using a murine intraperitoneal infection model (reported by Karthik et al., this meeting) demonstrated that a single IV administration 30 min post-infection achieved 100% survival, surpassing wild-type phage and non-toxin controls.

P2-112

光熱および光力学的バイオフィルム除去のためのファージ光増感剤およびナノロッド複合体

○Saied Hussein, Jayathilake Sarangi, 川口 智史, Srivani Veerananarayanan, Razib Hossain, Vivekanandan Palaninathan, 渡邊 真弥, 崔 龍洙 (自治医科大・医・感染・免疫学講座・細菌学部門)

Phage Photosensitizer and Nanorod Conjugates for Photothermal and Photodynamic Biofilm Eradication

○Saied Hussein, Jayathilake Sarangi, Tomofumi Kawaguchi, Srivani Veerananarayanan, Razib Hossain, Vivekanandan Palaninathan, Shinya Watanabe, Longzhu Cui (Div. Bacteriology, Dept. Infection and Immunity, Sch. Medicine, Jichi Medical Univ.)

Bacterial biofilms exhibit a high tolerance to conventional antimicrobials, underscoring the necessity for alternative approaches for effective eradication. Here, we developed antibiofilm strategies using bacteriophage-photosensitizer and bacteriophage-nanomaterial conjugates that integrate the specificity of phages with photodynamic (PD) and photothermal (PT) mechanisms. The performance of these platforms was assessed against biofilms formed by *S. aureus* and *P. aeruginosa*. For *S. aureus*, 80μL bacteriophages were conjugated with indocyanine green (ICG), conferring both PD and PT capabilities causing marked in vitro biofilm disruption but limited effectiveness in a skin infection model, underscoring its potential and the need for further optimization. For *P. aeruginosa*, phage-gold nanorod (AuNR) conjugates were produced through phage display of a gold-binding peptide, enabling AuNR attachment to the phage capsid. Successful conjugation was verified by TEM and good biocompatibility was confirmed by a metabolic activity assay. Upon near-infrared irradiation, complete elimination of mature biofilms was achieved in vitro. Collectively, these results highlight the strong potential of phage-based PD and PT strategies as antibiofilm therapies and support the need for additional optimization and in vivo investigation.

P2-113

黄色ブドウ球菌 149 株におけるバクテリオシン感受性の分布とメカニズムの解析

○小田原 愛里^{1,2}, 鈴木 優仁¹, 松尾 美樹^{1,3}, 柳本 惣市², 小松澤 均^{1,3} (¹広島大・医系科学研究科・細菌学研究室, ²広島大・医系科学研究科・口腔腫瘍制御学研究室, ³広島大・院内感染症プロジェクト研究センター)

Distribution and mechanism analysis of bacteriocin susceptibility in *Staphylococcus aureus* strains

○Airi Odawara^{1,2}, Yujin Suzuki¹, Miki Matsuo^{1,3}, Souichi Yanamoto², Hitoshi Komatsuzawa^{1,3} (¹Dept. Bacteriology, Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, ²Dept. Oral Oncology, Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, ³Project Research Centre for Nosocomial Infectious Diseases, Hiroshima Univ.)

【目的】メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は、主要な薬剤耐性菌であり、MRSA に対する新規の抗菌薬が求められている。細菌由来の抗菌ペプチドであるバクテリオシンは有望な候補だが、臨床分離株を広く対象とした感受性に関する研究は乏しい。本研究では、*Staphylococcus aureus* に活性を示す 4 種のバクテリオシン (nisin A, epidermin, Pep5, nukacin ISK-1) について、臨床分離株における感受性の多様性とメカニズムの解明を目的とした。【方法】健康者鼻腔および血流感染由来の *S. aureus* 149 株を用い、Direct 法により 4 種バクテリオシンの感受性を測定した。バクテリオシン耐性に関与する二成分制御系 (TCS) BraRS・GraRS の機能は、エフェクター遺伝子の発現性を qRT-PCR により評価した。さらに全ゲノム解析で *braRS*, *graRS*, *vraSR* および関連遺伝子の変異を検出し、バクテリオシン感受性に関連する菌体表層荷電は Cytochrome C 結合アッセイで評価した。【結果と考察】nisin A, nukacin ISK-1, Pep5 には多くの株で阻止円が形成された。epidermin は非感受性株が多かったが、一部の高感受性株は nisin A 存在下で BraRS のエフェクターである *vraD* 発現誘導が消失し、*braR* や *braAB* にフレームシフトなどが認められるものもあった。また、*graR* や *vraFG* にフレームシフトがある株も存在し、nisin A, nukacin ISK-1, Pep5 に対する感受性が上昇した。さらに、TCS 変異株を除外し、遺伝的系統 (Clonal Complex) ごとに比較すると、CC45 は nisin A, nukacin ISK-1, Pep5 に共通して高感受性を示した。Cytochrome C 結合率では CC 間差は見られず、菌体表層荷電は要因ではないと考えられた。他の要因については現在検証中である。

P2-114

MRSA の抗菌薬感受性に対する β -Caryophyllene の影響 - II

○野村 陽恵¹, 佐久間 克也², 一色 恭徳¹ (¹城西大・薬・病原微生物, ²小川香料 (株))

Effects of β -Caryophyllene on antimicrobial susceptibility of MRSA - II

○Harue Nomura¹, Katsuya Sakuma², Yasunori Isshiki¹ (¹Dept. Microbiol., Sch. Pharm., Josai Univ., ²Ogawa & Co.)

【背景】医療関連感染症の原因菌である MRSA は、治療薬は僅か 6 剤のみであり、新規治療薬の開発が必要である。そこで、MRSA が既に耐性を獲得した抗菌薬を再利用することを目的として、MRSA の抗菌薬感受性を増強する β -Caryophyllene の作用解析を行った。【材料】試験菌は、*Staphylococcus aureus* ATCC43300 を使用した。 β -Caryophyllene は、小川香料株式会社より分与された。遺伝子とタンパク質の発現量は RT-PCR と Western blotting を用いて解析し、細胞壁への影響は菌体を WAG488 で染色した後に蛍光顕微鏡を用いて観察した。【結果・考察】クローブやホップに含まれる香気成分である β -Caryophyllene は、 β -lactam 系抗菌薬との併用により強い感受性増強効果を示した。解析の結果、 β -Caryophyllene 存在下において *mecA* 遺伝子、PBP2a 共に発現量が大幅に減少した。さらに、菌体膜への影響を評価した結果、細胞質膜内部の流動性を上昇させた。そこで、細胞膜上に存在する PBPs の局在への影響を考慮し、蛍光試薬を用い細胞壁を観察した結果、 β -Caryophyllene 存在下では細胞壁の観察像にムラがあり、実際に細胞壁合成に影響することが示された。これらのことから、 β -Caryophyllene は菌体膜の流動性を変化させることで、PBP2a 発現を阻害するだけでなく、菌体膜上の PBPs の局在にも影響することで、MRSA の β -lactam 系抗菌薬に対する感受性を増強することが示唆された。

P2-115/FL2-29

黄色ブドウ球菌の脂肪酸感受性の多様性と抗菌薬との相乗効果に関する検討

○麻田 恭之^{1,2}, 大段 慶十郎^{1,3}, 鈴木 優仁¹, 松尾 美樹¹, 相川 友直³, 柳本 惣市², 小松澤 均¹ (¹広島大・医系科学研究科細菌学, ²広島大・医系科学研究科口腔腫瘍制御学, ³広島大・医系科学研究科口腔外科学)

A Study on the Diversity of Fatty Acid Sensitivity in *Staphylococcus aureus*

○Yasuyuki Asada^{1,2}, Keijuro Ohdan^{1,3}, Yujin Suzuki¹, Miki Kawada-Matsuo¹, Tomonao Aikawa³, Souiti Yanamoto², Hitoshi Komatsuzawa¹ (¹Dept. Bacteriology, Grad. Sch. Biomedical Sciences, Hiroshima Univ., ²Dept. Oral Oncology, Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, Hiroshima Univ., ³Dept. Oral and Maxillofacial Surgery, Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences Hiroshima Univ.)

【背景】黄色ブドウ球菌 (*S. aureus* : Sa) は鼻腔・口腔に広く定着し、多様な脂肪酸に晒されている。特にリノール酸 (LA) やパルミトオレイン酸 (POA) は生体由来脂肪酸として抗菌活性を有するが、Sa の脂肪酸感受性の多様性や抗菌薬との相乗効果については十分に検討されていない。本研究は、臨床分離 Sa を用いて LA・POA 感受性を比較し、さらにオキシサシリン (MPIPC) およびゲンタマイシン (GM) との相乗効果を評価することを目的とした。【方法】鼻腔・口腔から分離した Sa 238 株 (広島大学倫理承認 E-2525) を対象とした。Sa 数株を用いて 6 種脂肪酸の最小発育阻止濃度 (MIC) およびディスク拡散法により検証した。LA と POA については Sa238 株の脂肪酸感受性を検討した。さらにチェッカーボード法による FIC index を用いて抗菌薬との相乗効果を判定した。また、種々の濃度の脂肪酸の増殖に及ぼす影響について検討した。【結果】LA は菌株間で多様な MIC (37.5~1200 μ M) を示したが、POA の MIC はほぼ同程度 (37.5~150 μ M) であった。鼻腔由来株は口腔由来株より LA に対する感受性が低い傾向を示した。MPIPC および GM とともに LA との併用で FIC index < 0.5 を呈し、相乗効果を認めた。sub-MIC 濃度の LA/POA 添加により、増殖抑制が認められた。【考察】Sa の脂肪酸感受性は脂肪酸の種類や菌株により多様であり、LA・POA は抗菌薬との相乗効果を示した。脂肪酸と抗菌薬の併用は、Sa 感染制御における新たな治療的意義を持つ可能性が示唆された。

P2-116

結核菌における休眠誘導タンパク質の治療標的としての妥当性評価

Zakiyathun Nuha, Amina Shaban, 竹石 惇樹, Shafiul Islam, 伊藤 祐子, 尾関 百合子, 吉田 豊, 西山 晃史, ○松本 壮吉 (新潟大・医・細菌学)

Validating a Dormancy-Inducing Protein as a Therapeutic Target in *Mycobacterium tuberculosis*

Zakiyathun Nuha, Amina Shaban, Atsuki Takeishi, Shafiul Islam, Yuko Ito, Yuriko Ozeki, Yutaka Yoshida, Akihito Nishiyama, ○Sohkichi Matsumoto (Dept. Bacteriol., Sch. Med., Niigata Univ.)

Tuberculosis (TB) remains a major global health challenge, largely due to the ability of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) to enter a dormant state that enables long-term survival under hostile conditions. Dormancy-inducing proteins (DIPs) are key regulators of this adaptive process, particularly under environmental stresses such as low pH encountered within macrophage phagolysosomes and necrotic lung lesions. These proteins play central roles not only in establishing and maintaining dormancy but also in sustaining bacterial viability during latent infection. As such, DIPs represent promising targets for the development of novel anti-TB agents. This study aims to evaluate the efficacy of drugs targeting DIPs and elucidate their mechanisms of action to clarify the essential role of these proteins in MTB survival and persistence. The findings are expected to contribute to the identification and validation of new therapeutic strategies against TB.

P2-117

ポリミキシン B の潜在的抗菌活性を引出すセリン・プロリンジペプチド

○下村 裕史¹, 鰐淵清史², 露口 実祝², 庄司 満², 林 俊治¹ (¹北里大・医・微生物, ²横浜薬大)

Serine-proline dipeptide that elicits the potential antibacterial activity of polymyxin B

○Hirofumi Shimomura¹, Kiyofumi Wanibuchi², Minoru Tsuyuguchi², Mitsuru Shoji², Shunji Hayashi¹ (¹Dept. Microbiol. Sch. Med. Kitasato Univ., ²Yokohama Univ. Pharm.)

Despite of a strong cationic polypeptide, there is little information as to anionic compounds that have influence on the antibacterial activity of polymyxin B. In this study we demonstrated that serine-proline dipeptide (Ser-Pro) elicits the potential antibacterial activity of polymyxin B to Enterobacteriaceae bacteria. In addition, Ser-Pro turned out to exhibit the antibacterial activity selective to Enterobacteriaceae bacteria. Ser-Pro targeted the polypeptide of the peptidoglycan, induced the destabilization of the bacterial frame construction and ultimately lysed the bacterial cells. Meanwhile, proline-serine dipeptide (Pro-Ser) inhibited the antibacterial activity of polymyxin B to Gram-negative bacteria. In the molecular dynamics calculation, Ser-Pro molecules integrated around a polymyxin B molecule and retained the flat conformation of the polymyxin B molecule. Meanwhile, a Pro-Ser molecule interacted with a certain moiety of the polymyxin B molecule and retained the folded conformation of the polymyxin B molecule. In sum, an active and inactive forms of polymyxin B were suggested to take the flattened and folded conformations, respectively. The dynamic complex of polymyxin B and serine-proline dipeptides seemed to allow polymyxin B to permeate across the outer membrane, to bind to the polypeptide chains of peptidoglycan and to collapse the peptidoglycan construction.

P2-118

緑膿菌における *wzy* および *wbpX* の段階的変異による LPS 糖鎖長調節と PB1 様ファージ感染性の規定

○藤木 純平¹, 中村 圭佑¹, 中村 暢宏^{1,2}, Moritz Ertelt³, Peter Braun³, 横山大悟¹, 肥谷 るい¹, 木村 夏菜¹, 岩野 英知¹ (¹酪農大・獣医・獣医衛生, ²Sch. Med., Univ. Calif. San Diego (UCSD), ³Immunol. Infect. Pand. Res., Fraunhofer Inst. Transl. Med. Pharmacol.)

Stepwise *wzy/wbpX* mutations define phage infectivity via LPS length modulation in *P. aeruginosa*

○Junpei Fujiki¹, Keisuke Nakamura¹, Tomohiro Nakamura^{1,2}, Moritz Ertelt³, Peter Braun³, Daigo Yokoyama¹, Rui Hiya¹, Nana Kimura¹, Hidetomo Iwano¹ (¹Dept. Vet. Med., Rakuno Gakuen Univ., ²Sch. Med., Univ. Calif. San Diego (UCSD), ³Immunol. Infect. Pand. Res., Fraunhofer Inst. Transl. Med. Pharmacol.)

Bacteriophage resistance in *Pseudomonas aeruginosa* poses a major barrier to phage therapy. We thus investigated resistance mechanisms in the clinical isolate Pa12 against the PB1-like phage ΦS12-3. Initial resistance involved *wzy* mutations, causing O-specific antigen (OSA) loss. Experimentally evolved phages accumulated multiple mutations; however, mutations in the tail fiber gene were common and restored infectivity against *wzy* mutants. Subsequently, secondary resistance emerged via *wbpX* mutations, disrupting the common polysaccharide antigen (CPA). This indicates a stepwise resistance mechanism via sequential Lipopolysaccharide (LPS) remodeling. To pinpoint the specific determinant of re-infectivity, we are currently applying reverse genetics to synthesize phages with single amino acid substitutions in the long tail fiber. Notably, cocktailing these LPS-targeting phages with pili- or flagella-targeting phages significantly delayed resistance emergence. Our study highlights the evolutionary arms race in phage-host interactions and suggests that integrating adaptive evolution with rational cocktail design is crucial for enhancing therapeutic robustness.

P2-119

広域抗菌スペクトルを実現するバクテリオシン搭載非増殖性ファージカプシドカクテルの開発

○植松 秀宇¹, Zaman Maniru¹, 佐々木 一雅¹, 川口 智史¹, XinEe Tan¹, 相羽 詞¹, 渡邊 真弥¹, 宮永 一彦¹, 氣賀 恒太郎^{1,2}, 崔 龍洙¹ (¹自治医大・医・細菌学, ²国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所・治療薬開発研究部)

Development of Non-Replicating Bacteriocin-loaded Phage Capsid Cocktail with Broad-Spectrum

○Hidetaka Uematsu¹, Zaman Maniru¹, Kazumasa Sasaki¹, Tomofumi Kawaguchi¹, XinEe Tan¹, Yoshifumi Aiba¹, Shinya Watanabe¹, Kazuhiko Miyanaga¹, Kotaro Kiga^{1,2}, Longzhu Cui¹ (¹Div. Bacteriol, Sch. Med., Jichi Med. Univ., ²Dept., Drug Development, NIID, JIHS)

薬剤耐性菌による感染症は世界的な重大医療課題であり、WHO は 2050 年に薬剤耐性菌による死者数が 1000 万人を超えることを予測している。この問題に対する新たな解決策として、東欧諸国で発展してきたファージ療法が注目されている。我々はこれまでに、ビリオン構成遺伝子を完全に除去した非増殖性 T7 ファージベースの人工カプシド粒子 (Bacteria-Targeting Capsid Particle : B-CAP) を構築し、殺菌性バクテリオシンであるコリシン E1 遺伝子群 (ColE1) を搭載した B-CAP_ColE1 を開発した (Kiga *et al*)。本製剤は薬剤耐性大腸菌 (CRE 等) に対して強力な殺菌活性を示し、腹膜炎致死モデルマウスにおいても治療効果が確認された。しかし、臨床分離株の中にはコリシン E1 に非感受性を示す株が一定数存在する。そこで本研究では、コリシン E1 とは異なる殺菌スペクトルを有するバクテリオシンやエンドリシン遺伝子群を探索し、それらを B-CAP に搭載する技術を確立し、より広域な殺菌スペクトルを持つ非増殖性粒子の構築を目指している。将来的には、複数種の殺菌遺伝子を組み合わせたバクテリオシン・カクテル型 B-CAP を創製し、多様な薬剤耐性菌に適応可能な次世代抗菌ツールの開発を構想している。本発表では、再構築した B-CAP の製造過程、ColE1 発現条件の最適化、大腸菌臨床株に対する宿主域評価の結果を報告する。また、新規コリシンおよびエンドリシン候補の探索と評価の進捗についても紹介する。

P2-120

無印良品の茶葉 10 種のう蝕原性細菌に対する抑制作用の比較

○江口 真愛^{1,2}, 山崎 亮太², 吉岡 香絵², 有吉 渉² (¹九歯大・歯・口腔保健, ²九歯大・歯・感染分子, ³九歯大・歯・感染分子, ⁴九歯大・歯・感染分子)

Comparative analysis of the inhibitory effects of tan MUJI tea varieties on cariogenic bacteria

○Manami Eguchi^{1,2}, Ryota Yamasaki², Yoshie Yoshioka², Wataru Ariyoshi² (¹Sch. Oral Health Sciences, Kyushu Dental Univ., ²Dept. Advanced Pathophysiological Science, Kyushu Dental Univ., ³Dept. Advanced Pathophysiological Science, Kyushu Dental Univ., ⁴Dept. Advanced Pathophysiological Science, Kyushu Dental Univ.)

近年、口腔の健康が全身の健康に影響することが明らかとなり、う蝕予防の重要性が高まっている。う蝕は、う蝕原性細菌によるバイオフィーム形成および酸産生が主因であり、これらの抑制は有効な予防手段と考えられる。本研究では、日常的に摂取される飲料であるお茶に着目し、無印良品の茶葉 10 種 (小豆, ウーロン, 黒豆, 黒豆ルイボス, ジャスミン, そば, とうもろこし, ほうじ, 抹茶入り緑茶, 有機ルイボス) のう蝕原性細菌に対する抑制作用を比較検討した。*Streptococcus mutans* UA159 を用い、増殖量、バイオフィーム形成量、乳酸産生量を評価した。その結果、いずれの茶抽出液においても有意な増殖抑制は認められなかったが、ウーロン, ジャスミン, そば, とうもろこし, 抹茶入り緑茶ではバイオフィーム形成が有意に抑制され、特にジャスミン茶は約 90% と最も高い抑制効果を示した。HPLC 分析により、これらの茶には共通して EGCG が含まれていたが、EGCG 濃度が最も高い抹茶入り緑茶よりもジャスミン茶が強い抑制効果を示した。さらに、ジャスミン茶は乳酸産生を有意に抑制した。一方、飲用前後での唾液中 *S. mutans* 数に明確な変化は認められなかった。これらの結果から、ジャスミン茶は殺菌作用ではなく、細菌の病原性発現を抑制することでう蝕リスクを低減する可能性が示された。本研究は、日常的に摂取可能な飲料によるう蝕予防の新たな可能性を示す基礎的知見である。今後は芳香成分の同定や作用機序の解析を行い、より実用的な予防法への応用が期待される。

P2-121

ローヤルゼリーによる口腔病原細菌バイオフィーム形成制御機構の解析

○竹杉 香葉子^{1,2}, 若松 信博², 吉岡 香絵², 有吉 渉², 山崎 亮太² (¹九歯大・歯・歯学, ²九歯大・歯・感染分子)

Royal jelly inhibits the biofilm formation in oral pathogenic bacteria

○Kanako Takesugi^{1,2}, Nobuhiro Wakamatsu², Yoshie Yoshioka², Wataru Ariyoshi², Ryota Yamasaki² (¹Sch. Dentistry, Kyushu Dental Univ., ²Dept. Advanced Pathophysiological Science, Kyushu Dental Univ.)

ローヤルゼリーはミツバチ由来の天然物質であり、抗菌作用や抗炎症作用など多様な生理活性を有することが知られているが、口腔細菌に対する基礎的検討は十分ではない。本研究では、歯周病原細菌 (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) およびう蝕関連レンサ球菌 (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguinis*) を対象に、ローヤルゼリーの増殖およびバイオフィーム形成に及ぼす影響を評価した。

ローヤルゼリーを最大 40 mg/mL まで添加し、最小発育阻止濃度 (MIC) およびバイオフィーム形成抑制効果を測定した。その結果、すべての菌種において増殖抑制が認められ、一部の菌種では、MIC 未満の濃度においても顕著なバイオフィーム形成抑制効果が確認された。さらに、バイオフィーム形成抑制機構を検討するため、RT-qPCR により *gtfB-D*, *gbpA-D*, *luxS*, *recA* の発現量を解析したところ、バイオフィーム形成およびクオラムセンシングに関与する遺伝子の発現低下が認められた。これらの結果から、ローヤルゼリーは細菌の増殖を強く抑制することなく、クオラムセンシング阻害を介してバイオフィーム形成を抑制している可能性が示唆された。本研究は、ローヤルゼリーが口腔内微生物叢への影響を最小限に抑えつつ、バイオフィーム制御を可能とする新たなオーラルケア素材となり得ることを示すものである。

P2-122

スピクリスボール酸誘導体の *Streptococcus mutans* に対する抗う蝕作用の評価

○Chutipa Sirithienthong, 山崎 亮太, 吉岡 香絵, 有吉 渉 (Div. Infection and Molecular Biology, Kyushu Dental Univ.)

Spiculisporic Acid Derivatives as Potential Anti-Caries Agents Against *Streptococcus mutans*

○Chutipa Sirithienthong, Ryota Yamasaki, Yoshie Yoshioka, Wataru Ariyoshi (Div. Infection and Molecular Biology, Kyushu Dental Univ.)

This study evaluated the antibacterial and antibiofilm activities of spiculisporic acid (SA) and its derivatives (DA, D1Na, O3Na, U3Na) against *Streptococcus mutans*. MIC₉₀ and MBIC₉₀ were determined by broth microdilution. Metabolic activity was assessed using MTT and lactate assays. Bactericidal activity was evaluated by live/dead staining and time-kill assays. Results showed SA and D1Na had the lowest MIC₉₀ (2.5 mg/mL), followed by DA and U3Na (5 mg/mL), while O3Na required 20 mg/mL. For biofilm inhibition, D1Na showed the strongest activity (MBIC₉₀: 1.25 mg/mL), followed by U3Na (2.5 mg/mL) and SA/DA (5 mg/mL). SA significantly reduced lactate production by 49.7% and metabolic activity by 74.4% (p<0.05). Live/dead staining revealed SA caused substantial membrane damage within 10 min. Time-kill assays demonstrated SA achieved a 5.60-log reduction at 6 h, with SA, DA, and D1Na meeting the bactericidal criterion (≥3-log reduction) within 1 h. O3Na and U3Na showed minimal bactericidal effect. In conclusion, SA and D1Na exhibited potent antibacterial and antibiofilm activities against *S. mutans*, suggesting their potential as anti-caries agents.

P2-123

化膿レンサ球菌の細胞外 NADase 活性を増加させない抗生物質の同定

○立野 一郎, 井坂 雅徳, 長谷川 忠男 (名市大・医・細菌)

Antibiotics that do not increase the extracellular NADase activity of *Streptococcus pyogenes*

○Ichiro Tatsuno, Masanori Isaka, Tadao Hasegawa (Dept. Bacteriol., Sch. Med., Nagoya-City Univ.)

High-dose administration of clindamycin (CLI) and penicillin is recommended for the treatment of streptococcal toxic shock syndrome (STSS). However, CLI treatment often increases the activity of the extracellular NAD-glycohydrolase (NADase) exotoxin produced by *Streptococcus pyogenes*. Therefore, this study tested alternative antibiotics. Among the protein synthesis inhibitors that bind to the bacterial ribosome, all of those tested (chloramphenicol, spectinomycin, tetracycline, gentamicin, kanamycin, and streptomycin) increased NADase activity in at least half of the examined strains. Another type of protein synthesis inhibitor, rifampicin, which binds to bacterial RNA polymerase, also increased NADase activity in strain 10-85. Conversely, the cell wall synthesis inhibitors (ampicillin, cefditoren, and ceftriaxone) did not increase the NADase activity. Of the three fluoroquinolones tested, only ciprofloxacin and sitafloxacin, but not moxifloxacin, increased NADase activity. Therefore, NADase induction is not a specific phenotype for CLI. Additionally, all of the antibiotics used in this study required higher concentrations than CLI to inhibit bacterial growth, except for the three cell wall synthesis inhibitors. These results suggest that CLI remains the better choice to use with penicillin.

P2-124

Surfactin による *Streptococcus sobrinus* の代謝活性および乳酸産生抑制効果の解析

○若松 信博^{1,2}, 山崎 亮太², 吉岡 香絵², 土生 学¹, 有吉 渉² (¹九歯大・口腔顎顔面病態制御学, ²九歯大・病態制御科学)

Modulatory Effects of the Biosurfactant Surfactin on Acidogenic Activity of *Streptococcus sobrinus*

○Nobuhiro Wakamatsu^{1,2}, Ryota Yamasaki², Yoshie Yoshioka², Manabu Habu¹, Wataru Ariyoshi² (¹Dept. Oral and Maxillofacial Disease Control, Kyushu Dental Univ., ²Dept. Advanced Pathophysiological Science, Kyushu Dental Univ.)

Background : う蝕予防としてフッ素化合物配合歯磨剤や洗口剤が使用されているが、より生体安全性の高い天然成分由来の探索が進められている。バイオサーファクタントである Surfactin は抗菌性や付着抑制が報告されているが、う蝕原性細菌である *Streptococcus sobrinus* への酸産生能や代謝活性に及ぼす影響については十分に検討されてない。本研究では Surfactin が *S. sobrinus* の代謝活性、酸産生、増殖およびバイオフィーム形成に及ぼす影響を解析した。

Methods : Surfactin を 1000 µg/mL に調製し *S. sobrinus* に 1 時間処理後、乳酸濃度測定、*ldh* 遺伝子発現量の RT-qPCR 解析および代謝活性評価を行った。さらに、最大 6250 µg/mL まで調製し、21 時間後の増殖およびバイオフィーム形成、24 時間での増殖曲線および pH 変化を測定した。

Results : Surfactin は 1000 µg/mL で乳酸産生および代謝活性抑制効果、増殖および pH 低下に遅延効果を示した。一方で、LDH 活性、*ldh* 発現量、バイオフィーム形成に影響は認められなかった。

Conclusion : Surfactin は *S. sobrinus* の代謝活性を一過性に抑制することで乳酸産生を低下させ、病原性を軽減する可能性が示唆された。

P2-125

メディカルハーブ抽出液が口腔病原細菌の病原性発現に及ぼす影響

○鴨川 薫^{1,2}, 押坂 真衣³, 江口 真愛³, 吉岡 香絵², 土生 学¹, 有吉 渉², 山崎 亮太² (¹九歯大・口腔顎顔面病態制御学, ²九歯大・病態制御科学, ³九歯大・口腔保健学科)

Effects of various medical herb extracts on virulence-related phenotypes of oral pathogenic bacteria

○Yukino Kamogawa^{1,2}, Mai Osaka³, Manami Eguchi³, Yoshie Yoshioka², Manabu Habu¹, Wataru Ariyoshi², Ryota Yamasaki² (¹Dept. Oral and Maxillofacial Disease Control, Kyushu Dental Univ., ²Dept. Advanced Pathophysiological Science, Kyushu Dental Univ., ³Dept. Sch. Oral Health Sciences Fac. Dentistry, Kyushu Dental Univ.)

近年、高齢化の進行と残存歯数の増加に伴い、「歯を残す」だけでなく「残した歯を健康に維持する」ための新たな口腔ケア手段が求められている。特別な器具や高度な技術を必要とせず、日常生活の中で継続可能な方法として、植物由来成分を含むメディカルハーブに注目が集まっている。本研究では、複数種のメディカルハーブ抽出液が口腔内細菌に及ぼす影響を検討した。対象菌種として、歯周病関連菌である *Streptococcus anginosus*, う蝕原性細菌 *Streptococcus mutans*, および歯周病原性細菌 *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* を用いた。各ハーブ 1 g を熱湯で抽出し、滅菌ろ過後に細菌培養系へ添加した。細菌増殖は 620 nm の吸光度測定により評価し、バイオフィーム形成量はクリスタルバイオレット染色法を用いて 540 nm で定量した。その結果、*S. anginosus* に対しては明確な増殖抑制効果は認められなかったものの、一部ハーブにおいてバイオフィーム形成量の低下が観察された。一方、*S. mutans* では増殖抑制を示さない条件下においても、イブニングプリムローズ抽出液がバイオフィーム形成を有意に抑制した。また、マテ抽出液は *F. nucleatum* および *P. gingivalis* の増殖を有意に抑制した。これらの結果から、メディカルハーブは細菌の増殖そのものを強く阻害するのではなく、付着やバイオフィーム形成といった病原性発現過程を選択的に制御する可能性が示唆された。日常的に摂取可能な飲用型口腔ケアとして、メディカルハーブは口腔内微生物叢を大きく乱すことなく、口腔の健康維持に寄与する新たな選択肢となり得ると考えられる。

P2-126/FL2-30

フィトスフィンゴシンを用いた歯周病予防の検討

○栗飯原 睦美¹, 佐藤 尚哉¹, 谷口 美羽¹, 湯本 浩通², 白井 昭博¹, 田中 保¹ (¹徳島大院・社会産業理工学研究部, ²徳島大院・医歯薬学研究部)

A Study on the Prevention of Periodontal Disease by Phytosphingosine

○Mutsumi Aihara¹, Naoya Sato¹, Miu Taniguchi¹, Hiromichi Yumoto², Akihiro Shirai¹, Tamotsu Tanaka¹ (¹Grad. Sch. Tech. Indust. & Social Sci., Tokushima Univ., ²Grad. Sch. Inst. Biomed Sci., Tokushima Univ.)

Periodontal disease affecting one in two Japanese people, causes tooth loss and is known to be associated with various systemic diseases, such as Alzheimer's disease, diabetes mellitus, coronary artery disease, pneumonia, and preterm birth. Preventing periodontal disease requires brushing and regular plaque removal, making a convenient and effective preventive method highly desirable. *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*), one of major pathogenic bacterium, is frequently isolated from periodontal pockets in diseased sites. Effective methods to inactivate *P.g.* are essential for the prevention and treatment of periodontal disease. This study focused on phytosphingosine (PSph), known for its antimicrobial properties, to verify its bactericidal effect against *P.g.* and analyzed its mechanism. *P.g.* ATCC 33277 anaerobically cultured was adjusted under specified CFU and treated with various concentrations of PSph to determine the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration. This study demonstrated that PSph exerts bacterial growth inhibitory and bactericidal effects at a concentration dependent manner. The mechanism was investigated using cell membrane permeability assessment and zeta potential measurement. These findings indicate that PSph has strong bactericidal activity against *P. g.* and potentially contributing to the prevention of periodontal disease.

P2-127

白癬菌 Rbd-SrbA 経路の阻害によるアゾール系抗真菌薬の作用増強

○石井 雅樹¹, 市川 裕菜¹, 津坂 剛史¹, 山田 剛^{2,3}, 大畑 慎也¹ (¹武蔵野大・薬・薬研, ²帝京大・医真菌センター, ³帝京大・感染症制御研)

Potential of Azole Antifungal Drugs by Inhibition of the Rbd-SrbA Pathway in Dermatophytes

○Masaki Ishii¹, Hirona Ichikawa¹, Takeshi Tsusaka¹, Tsuyoshi Yamada^{2,3}, Shinya Oohata¹ (¹Res. Inst. Pharm. Sci., Facu. Pharm., Musashino Univ., ²Teikyo Univ. Inst. Med. Mycol., ³Asia Inter. Inst. Infect. Dis. Cont.)

病原性真菌のステロール枯渇応答は、薬剤抵抗性を促進し、アゾール系抗真菌薬（アゾール系薬）などによる化学療法への抵抗性の一因となる。白癬菌では、アゾール系薬暴露によるステロール枯渇に、哺乳類のステロール枯渇応答を担う転写因子 SREBP の白癬菌ホモログ SrbA が応答し、アゾール系薬の標的であるステロール脱メチル化酵素 Cyp51A の転写が誘導されることで、アゾール系薬抵抗性が生じる。本研究では、アゾール系薬暴露に応答し、白癬菌 SrbA を活性化する分子の実体と、その分子が制御する下流の遺伝子群の解明を目指した。哺乳類 SREBP が膜プロテアーゼにより切断・活性化されることから、いくつかの膜プロテアーゼ阻害剤を白癬菌に処理した。その結果、ロンボイドプロテアーゼ阻害剤が SrbA の核局在及び cyp51A 誘導を阻害することを見出した。白癬菌のロンボイドプロテアーゼ遺伝子 rbd の欠損株では cyp51A 誘導能が失われ、遺伝子発現プロファイルも srbA 欠損株と強く相関したことから、Rbd が SrbA 活性化を担うことが示唆された。また、rbd 欠損株はアゾール系薬に感受性を示したことから、その阻害剤とアゾール系薬の併用効果を評価した結果、両剤は白癬菌に対し相乗的な抗真菌作用を示した。一方で、rbd を欠損すると、この相乗効果は失われた。Rbd-SrbA 経路は、他の医薬品作用標的 Erg1, Erg2, Erg24 を含む多くのステロール合成酵素群の転写発現を制御していたことから、本戦略は多様な抗真菌薬に展開可能であると期待される。以上の結果は、白癬菌 Rbd-SrbA 経路がステロール合成酵素群の発現誘導で中心的役割を担っており、本経路の阻害が抗真菌薬の作用を増強する新たな治療戦略となることを示唆している。

P2-128

Stenotrophomonas maltophilia を標的としたバクテリオファージの分離

○永井 大凱¹, 宋 冰心^{1,2}, 西濱 早紀^{1,2}, 松尾 美樹^{1,3}, 小松澤 均^{1,3} (¹広島大・医系科学・細菌学, ²広島大・医系科学・菌叢生物学, ³広島大・院内感染症プロジェクト研究センター)

Isolation of Bacteriophages Targeting Stenotrophomonas maltophilia

○Taiga Nagai¹, Bingxin Song^{1,2}, Saki Nishihama^{1,2}, Miki Kawada-Matsuo^{1,3}, Hitoshi Komatsuzawa^{1,3} (¹Dept. Bact., Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomed. HS, ²Dept. Biol. Endo., Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomed. HS, ³Pjt. Res. Ctr. for Nosocomial Infectious Dis., Hiroshima Univ.)

Stenotrophomonas maltophilia is an environmental bacterium that causes various opportunistic infections and shows intrinsic resistance to multiple antibiotics. In recent years, increasing resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole, the first-line treatment, has become a serious concern, highlighting the need for alternative antibacterial strategies. This study aimed to evaluate the efficacy of bacteriophages as novel antibacterial agents against *S. maltophilia*. Bacteriophages were isolated from sewage samples, purified, and amplified. Lytic activity was evaluated using the soft agar overlay assay. Based on these results, a heatmap was constructed and compared with a phylogenetic tree generated from bacterial genome sequences. Growth inhibition curves were generated to evaluate effective phage concentrations. A total of 18 bacteriophages targeting *S. maltophilia* were isolated. Sixteen phages exhibited lytic activity across multiple bacterial strains. Growth inhibition curve analysis demonstrated a significant reduction in optical density following phage addition and revealed the effective phage concentrations required for bacterial lysis. This study clarified strain-specific susceptibility of *S. maltophilia* to bacteriophages and identified effective phage concentrations, supporting the potential application of phage therapy against *S. maltophilia* infections.

P2-129/FL2-31

細菌のべん毛運動を抑制する漢方大黃由来ラタンニンの作用機序解析

○坂本 桃菜¹, 木村 宇輝¹, 常世田 好司¹, 榎田 みのり², 大崎 久美子², 石原 亨², 柴田 敏史^{3,4} (¹鳥取大・医・生命, ²鳥取大・農・生命環境農学, ³鳥取大・医・感染制御・細菌, ⁴鳥取大・鳥センター)

Analysis of Flagellar Motility Inhibition Mechanisms by Rhatannin

○Momona Sakamoto¹, Uki Kimura¹, Koji Tokoyoda¹, Minoru Umeda², Kumiko Osaki², Atsushi Ishihara², Satoshi Shibata^{3,4} (¹Sch. Life Sci., Fac. Med., Tottori Univ., ²Dept. Agric., Life & Environ. Sci., Fac. Agric., Tottori Univ., ³Div. Bacteriol., Dpt. Microbiol. & Immunol., Fac. Med. Tottori Univ., ⁴AIDGH, Tottori Univ.)

薬剤耐性菌の拡大は世界的な脅威であり、新たな抗菌手段の創出が求められている。我々は細菌のべん毛運動を抗菌標的として、その抑制剤の開発を目指している。本研究では便秘薬として処方される漢方大黃に含まれるポリフェノールの一種 Rhatannin (ラタンニン) がヒト・動物・植物へ感染する様々な病原性細菌のべん毛運動を抑制することを明らかにした。ラタンニンを 1mg/ml 添加した LB 培地でサルモネラを 6 時間培養したところ菌の増殖には影響なかったが、運動率は対称群の 95% に対して処理群は 1% まで低下していた。この時、べん毛構築関連遺伝子 *flhC*, *flhA*, *fliC* の発現は有意に抑制されており、1 菌体当たりのべん毛数も 4.3 本から 0.1 本まで減少していた。ラタンニンはフェノール基を多く含み、菌体外膜に作用していると考えられる。現在、膜障害の評価と膜障害ストレス応答関連遺伝子の発現変動解析を行ない、ラタンニンがどのようにべん毛運動を抑制するのか、作用機序の解明を進めている。また、動物、植物感染モデルを用いて感染抑制効果を調べている。べん毛運動は細菌の感染に重要であり運動性が低下した細菌の病原性は低下することが知られている。さらに、運動性が低下した細菌は自然淘汰や免疫によって排除されやすくなると考えられる。直接的な殺菌作用を持たないラタンニンは選択圧が低く耐性菌を生み出しにくい新規抗菌薬候補としての応用が期待される。また静菌的なべん毛運動抑制機構が明らかになれば、新規べん毛運動抑制剤の開発へとつながることが期待される。

P2-130/FL2-32

Antibiotic potentiator としてのマグノロールの作用機序

○山本 凌也¹, 山中 夏樹¹, 根本 哲宏², 高屋 明子^{1,3} (¹千葉大・院薬・感染制御, ²千葉大・院薬・薬化学, ³千葉大・真菌セ)

Molecular Mechanism of the Antibiotic Potentiator, Magnolol, in Combination with Antibiotics

○Ryoya Yamamoto¹, Natsuki Yamanaka¹, Tetsuhiro Nemoto², Akiko Takaya^{1,3} (¹Dep. Infect. Cont. Sci., Grad. Sch. Pharm. Sci., Chiba Univ., ²Dep. Pharm Chem., Grad. Sch. Pharm. Sci., Chiba Univ., ³MMRC, Chiba Univ.)

近年、単独ではほとんど抗菌活性を示さないものの、抗菌薬と併用することで抗菌薬の抗菌効果を高める化合物 Antibiotic potentiator が、新たな耐性菌対策となる可能性が示唆されている。本研究では、当研究室独自の天然化合物約 1400 種から、Antibiotic potentiator を探索した。まず、サルモネラ外膜タンパク質 TolC 欠損株の増殖抑制活性を指標に 15 種の化合物を選別した。15 種のいずれも、野生株の増殖は抑制しなかった。このうち 8 種を、抗菌薬シプロフロキサシン (CPFX) と併用し野生株の生存率を調べたところ、ホオノキ由来天然物マグノロール (MAG) を併用したときのみ、CPFX 単独と比較して生存率が顕著に低下した。また、MAG の構造をわずかに変化させたところ、TolC 欠損株の増殖抑制活性は増大したが、CPFX 併用時における野生株の生存率を低下させなかった。これらの結果から、MAG の抗菌効果非依存的に CPFX の抗菌効果を高める可能性が示唆された。CPFX 抗菌効果は細菌代謝の低下に伴い減弱するが、ATP 量を指標に代謝を比較したところ、MAG 併用時は CPFX 単独よりも活性化していることが示唆された。一方、MAG 単独時の ATP 量は変化しなかった。また、MAG と相互作用することが示唆された代謝調節酵素を欠損させた株では、CPFX と MAG の併用でも生存率の低下と ATP 量の増加が見られなかった。以上より、マグノロールは抗菌薬併用時に細菌代謝を活性化することで、抗菌薬の抗菌効果を高める Antibiotic potentiator であることが示唆された。

P2-131

長鎖脂肪酸の *Streptococcus mutans* 臨床分離株に対する抗菌活性の評価

○松尾 福太郎^{1,2}, 松尾 美樹², 谷本 幸太郎¹, 小松澤 均² (¹広島大院・医系科学研究科・歯科矯正学, ²広島大院・医系科学研究科・細菌学教室)

Evaluation of the antibacterial activity of long-chain fatty acids against *Streptococcus mutans*

○Fukutaro Matsuo^{1,2}, Miki Matsuo², Kotaro Tanimoto¹, Hitoshi Komatsuzawa² (¹Dept. Orthodontics and Craniofacial Development Biology, Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, Hiroshima Univ., ²Dept. Bacteriology, Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, Hiroshima Univ.)

【目的】口腔常在菌である *Streptococcus mutans* は高いバイオフィルム形成能および酸産生能を有することから、う蝕の原因細菌として知られている。う蝕治療は主に病巣を除去する侵襲的治療が用いられているが、消毒剤を含有する含嗽剤や歯磨剤なども予防的観点から補助的に用いる場合もある。近年、安全性の面を考慮し、天然の抗菌物質の応用が着目されている。本研究では食物等にも含まれる天然由来の抗菌物質として脂肪酸に着目した。【方法・結果】炭素鎖長 C16～C18 の長鎖脂肪酸の *S. mutans* UA159 株に対する抗菌力を微量液体希釈法による MIC 値を判定し検証した結果、4 種の不飽和脂肪酸 (リノール酸、パルミトオレイン酸、オレイン酸、 γ -リノレン酸) が強い活性を示した。そこで、これらの脂肪酸を用いて *S. mutans* 臨床分離株 98 株に対して MIC 値を測定した。各脂肪酸の MIC 値は 4.7～37.5 μ M であり、4 種の脂肪酸の中では、リノール酸の MIC 値の平均値が最も低かった。臨床分離株 98 株において、リノール酸、パルミトオレイン酸およびオレイン酸間において MIC 値に相関を認めた。【考察】*S. mutans* に対して 4 種の不飽和脂肪酸が、いずれも低い濃度で抗菌活性を示すことが示され、天然抗菌性因子の一つとして、臨床応用の可能性が示唆された。今後は各脂肪酸の増殖能およびバイオフィルム形成能に対する効果について検証中である。

P2-132/FL2-33

Enterococcus 属菌株における不飽和脂肪酸感受性の多様性および抗菌薬との相乗効果

○大段 慶十朗¹, 麻田 恭之^{2,3}, 西濱 早紀^{2,4}, 松尾 美樹², 柴 秀樹⁴, 柳本 惣市³, 相川 友直¹, 小松澤 均² (¹広島大院・医系科学研究科口腔外科学, ²広島大院・医系科学研究科細菌学, ³広島大院・医系科学研究科口腔腫瘍制御学, ⁴広島大院・医系科学研究科歯髓生物学)

Susceptibility to unsaturated fatty acids and antibiotic synergy in *Enterococcus* strains

○Keijuro Ohdan¹, Yasuyuki Asada^{2,3}, Saki Nishihama^{2,4}, Miki Kawada-Matsuo², Hideki Shiba⁴, Souichi Yanamoto³, Tomonao Aikawa¹, Hitoshi Komatsuzawa² (¹Dept. Oral and Maxillofacial Surgery, Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, ²Dept. Bacteriology, Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, ³Dept. Oral Oncology, Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, ⁴Dept. Biological Endodontics, Hiroshima Univ. Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences)

腸球菌は腸管や口腔に常在する一方、尿路感染症や菌血症などの日和見感染症の起因菌となる。特に *Enterococcus faecalis* および *Enterococcus faecium* は多剤耐性を示す菌株が増加している。特に、グリコペプチド系抗菌薬に耐性を示すバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の出現は臨床に深刻な問題となっている。既存抗菌薬の効果が低下する中、新たな治療戦略の確立が求められている。本研究では、全ゲノム配列を同定した腸球菌臨床分離株 126 株 (5 菌種) を対象に、不飽和脂肪酸である linoleic acid (LA) および palmitoleic acid (POA) の抗菌活性、ゲノム型別との関連性、ならびに抗菌薬との併用効果を包括的に検討した。LA および POA は全腸球菌株に抗菌活性を示し、POA は菌種間で安定した MIC を示した。一方、LA では株間差が大きく、特に *E. faecium* で感受性低下が認められた。両脂肪酸は 1MIC 以上で殺菌作用を示し、低濃度でも増殖抑制効果が確認された。脂肪酸感受性とゲノム型や薬剤耐性遺伝子との明確な関連は認められなかった。抗菌薬との併用試験では、LA と β -ラクタム薬、ゲンタマイシンなど複数の抗菌薬との間で相乗または相加効果が確認され、VRE 株において vancomycin 感受性が上昇する株も認められた。POA は顕著な併用効果は認められなかった。以上より、LA および POA は腸球菌感染症に対する有望な治療補助戦略となる可能性が示唆された。

P2-133/FL2-34

下水由来腸内細菌目細菌におけるアミノグリコシド耐性機構の解析

○南川 絢政, 法月 千尋, 和知野 純一 (藤医大・医療・微生物)

Analysis of Aminoglycoside Resistance Mechanisms in Enterobacterales from Sewage

○Kensei Minamigawa, Chihiro Norizuki, Jun-ichi Wachino (Dept. Clin. Microbiol., Sch. Med Sci., Fujita Health Univ.)

【目的】アミノグリコシド (AG) 系抗菌薬は腸内細菌目細菌を含むグラム陰性菌感染症に有効である一方、長年の使用に伴い耐性菌の出現と拡大が大きな課題となっている。主な耐性機構としては、AG 修飾酵素と 16S rRNA methyltransferase の 2 種類が知られている。近年、下水中に多様な薬剤耐性菌が集積していることが報告されている一方で、AG 耐性菌の分布や多様性については十分に解明されていない。下水はヒト・動物・環境など由来の異なる細菌が混在する場であり、地域における耐性菌動態を反映する重要なサーベイランス資源と位置づけられる。そこで本研究では、下水由来腸内細菌目細菌を対象に AG 耐性機構について解析を行った。

【方法】医療施設および農業集落の排水を試料とし、アミカシン (AMK) およびアブラマイシン (APM) 含有培地で AG 耐性菌を分離した。分離株から DNA を抽出し、既報プライマー (*armA*, *rmtA-rmtH*, *npmA*, *aac(3)-iv*) を用いて PCR を実施した。さらに寒天平板希釈法により薬剤感受性試験を行い、一部の株についてはショートリードを用いた全ゲノム解析 (WGS) を実施した。

【結果・考察】AMK 耐性 12 株および APM 耐性 37 株を解析した結果、AMK 耐性株からは *rmtB*、APM 耐性株からは *aac(3)-iv* が検出された。多くの株はホスホマイシンやセフトジジムなどにも耐性を示した。WGS 解析により、これらの株が多様な薬剤耐性遺伝子を併せ持つことが明らかとなった。下水中では *rmtB* および *aac(3)-iv* 保有株が高頻度に存在しており、これらの耐性遺伝子が環境中で安定的に維持され、伝播している可能性が示唆された。特に *rmtB* は高度な AMK 耐性を付与するため、そのさらなる拡散と臨床分離株への移行が懸念される。

P2-134

愛知県の農業集落排水から検出された ESBL 産生菌の遺伝子解析

○法月 千尋¹, 中根 邦彦², 和知野 純⁻¹ (1藤田医科大・医療科学・感染制御学, 2岡崎市保健所・生活衛生・感染症対策)

Molecular epidemiology of ESBL-producing Gram-negative bacteria in agricultural community drainage

○Chihiro Norizuki¹, Kunihiro Nakane², Jun-ichi Wachino¹ (1Dept. Clin. Microbiol., Fac. Med. Sci., Fujita Health Univ., 2Okazaki City Public Health Center)

【はじめに】基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌は、第3世代セフェロsporin系抗菌薬耐性の主要因として、感染対策上重要視されている。近年では健康人や生活環境からの検出も報告され、地域社会への拡がり指摘されている。農業集落排水は生活由来の汚水と自然環境が交差する場であり、薬剤耐性菌の動態を把握する上で重要な対象である。本研究では、農業集落排水から分離される ESBL 産生菌について、細菌学的特徴および分子疫学的背景を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】愛知県内の中核市における 10 箇所の農業集落排水処理施設から水を採取し、セフトキシム含有マッコンキー培地で培養した。培地上に発育した菌株について ESBL 確認試験および PCR による関連遺伝子の検出を行い、NextSeq を用いた全ゲノム解析を実施した。

【結果と考察】採水した 10 施設すべてから、重複を除く 28 株の ESBL 産生大腸菌が検出された。ESBL 遺伝子型は CTX-M-gp1 が 19 株、CTX-M-gp9 が 9 株であった。また、臨床分離株で知られる国際的流行クローンである ST131 (Phylogroup B2) も 5 施設から 7 株検出され、CTX-M-14, -15, -27, -55, -164 と多様な型を有していた。これらの結果は、臨床領域と環境中に共通する薬剤耐性大腸菌の存在を示唆している。このことから、農業集落排水は、地域における ESBL 産生大腸菌の拡散状況を把握するための有用な環境指標となり得る。

P2-135

東南アジア産輸入食品から分離された *Bacillus cereus* の分子疫学及び薬剤耐性に関する研究

○坂口 和歩, 渡辺 風沙, 中山 達哉 (広島大・統合生命科学・食品衛生)

Molecular Epidemiology and Drug Resistance of *Bacillus cereus* from Southeast Asian Imported Foods

○Kazuho Sakaguchi, Nagisa Watanabe, Tatuya Nakayama (Dept. Food Hyg., Grad. Int. Sci. Life., Hiroshima Univ.)

セレウス菌は芽胞形成能を持つ食中毒菌であり、輸入食品を介して高リスク株が拡散する恐れがある。本研究では、東南アジア産輸入食品から分離した 33 株において毒素遺伝子検出、薬剤耐性試験及び MLST を行い、得られた結果を統合的に解析し、分離源や遺伝子型との関連性を評価した。カンボジア、フィリピン、ベトナム、タイに由来する果実、でん粉質食品、香辛料、米加工品など複数種類の食品から、NIHSJ 法に準拠して TSB 増菌後、選択寒天培地を用いて分離し、生化学試験を行なった。毒素遺伝子は PCR により検出し、薬剤耐性は CLSI, EUCAST に準拠したディスク拡散法または MIC 法で評価した。MLST は 7 遺伝子アレル配列から構成し、MEGA により Neighbor-Joining 法で系統樹を作成した後 iTOL を用いて国、食品カテゴリ、毒素遺伝子、薬剤耐性の情報を重ねて可視化した。解析の結果、系統樹は大きく 3 つのクラスターに分岐し、分離国および食品カテゴリと一定の関連が認められた。フィリピン由来株は主に一つのクラスターに集中し、ベトナム由来株は二つの異なるクラスターに広く分布した。また果実由来株は複数クラスターに分散した一方、米・米加工品由来株は特定クラスターに偏る傾向がみられた。毒素遺伝子では、嘔吐毒素遺伝子 *ces* が特定クラスターで高頻度に検出され、系統学的背景との関連性が示唆された。薬剤耐性ではテトラサイクリン耐性が一部クラスターで優勢となり、イミペネム感受性は別クラスターで高い傾向が確認された。以上より、本菌の系統群は毒素遺伝子・薬剤耐性・食品種および分離国と部分的に対応し、食品衛生上のリスク評価において分離源と系統構造を統合的に捉える重要性が示唆された。

P2-136/FL2-35

PMA, RT-PCR, ナノポアシーケンスを用いた臨床検体中の薬剤耐性菌の迅速かつ正確な生存性検出ワークフロー

○Rajalakshmi Balasubramanian¹, 鈴木 優², 浅井 さとみ³, 良原 栄策³, 宮澤 美紀³, 今西 規¹ (1東海大・医・分子生命, 2東海大院・医学研究科, 3東海大・医・臨床検査)

Rapid Detection of Drug-Resistant Bacteria Using a PMART-PCR-Nanopore sequencing

○Rajalakshmi Balasubramanian¹, Yu Suzuki², Satomi Asai³, Eisaku Yoshihara³, Miki Miyazawa³, Tadashi Imanishi¹ (1Dept. Mol. Life Sci., Sch. Med., Tokai Univ., 2Grad. Sch. Med., Tokai Univ., 3Dept. Clin. Lab. Med., Sch. Med., Tokai Univ.)

Drug-resistant bacteria are a growing concern in hospitals, where quick and accurate detection is essential for selecting the right treatment. Culture-based methods often take several days to identify pathogens and evaluate antibiotic resistance, delaying clinical decisions. To address this, we developed a rapid workflow combining propidium monoazide (PMA) treatment, RT-PCR, and Nanopore sequencing to directly detect viable drug-resistant bacteria in clinical samples. We validated the method using resistant strains such as *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, and ESBL-producing *E. coli*, mixed with drug-sensitive wild-type *E. coli* and *S. aureus* and exposed to seven antibiotics. PMA enabled detection of only live cells. RT-PCR showed low Ct values for resistant strains and high values for sensitive *E. coli*. Nanopore sequencing confirmed these results, with resistant strains maintaining high read counts. Testing sputum and urine samples from Tokai University Hospital further demonstrated that the workflow could identify viable drug-resistant pathogens, including MDR *Pseudomonas aeruginosa* and ESBL *E. coli*, within one day and detect resistance to four of seven antibiotics. Overall, this approach greatly shortens diagnostic time and supports faster, more informed treatment decisions.

P2-137

大学附属農場で分離した乳房炎原因大腸菌の薬剤耐性化機構の解析

○中島 亜季子¹, 鈴木 直樹², 島本 敏³, 島本 整³ (1広島大・生物生産学部・食品衛生学, 2広島大・酪農エコシステム技術開発センター, 3広島大・院統合生命科学研究科・食品衛生微生物学)

The antimicrobial resistance in mastitis-causing *Escherichia coli* isolated from the university farm

○Akiko Nakashima¹, Naoki Suzuki², Toshi Shimamoto³, Tadashi Shimamoto³ (1Lab. Food Microbiol. Hygiene, Sch. Appl. Biol. Sci., Hiroshima Univ., 2Dairy Ecosystem Res. Develop. Ctr., Hiroshima Univ., 3Dept. Microbiol. Food Safety, Grad. Sch. Integrated Sci. Life, Hiroshima Univ.)

【目的】乳房炎は酪農産業に甚大な経済的損失をもたらす、特に大腸菌群による乳房炎は重篤化しやすい。本研究は乳牛および農場環境から抗菌薬耐性菌を分離・解析することで、耐性メカニズム、伝播経路を解明し、乳房炎の発症に関わる環境要因を特定し、効果的な制御戦略を提言することを目的とした。【方法】大学附属農場内の牛舎、糞便、水路など 17 カ所から、2 か月に一度、計 6 回のサンプリングを行い 838 株の大腸菌を分離した。また、乳房炎罹患牛より 5 株の乳房炎原因大腸菌も分離した。これらの分離株について、抗菌薬耐性遺伝子解析およびディスク拡散法による薬剤感受性試験を実施した。さらに乳房炎に関連するとされるクエン酸鉄取込系の *fecA* 遺伝子を PCR にて検出した。そして、選抜した 100 株について全ゲノムシーケンス (WGS) 解析を行った。【結果】解析の結果、子牛牛舎が耐性菌の主要な貯蔵庫として機能していることが明らかになった。また、乳房炎原因菌株と広範囲の環境スポットから分離された菌株が、WGS 解析により同じ系統群に属し、同一の耐性遺伝子を保持していることが判明した。この事実は、環境貯蔵庫からの再感染サイクルが農場内で維持され、乳房炎の発症に深く関与していることを示唆している。【謝辞】本研究は、公益財団法人 全国競馬・畜産振興会 畜産振興事業の助成を受けた。

P2-138

大学附属農場で分離したグラム陽性乳房炎原因菌の病原性遺伝子と薬剤耐性化機構の解析

○山本 悠太¹, 鈴木 直樹², Xedzro Christian¹, 島本 敏¹, 島本 整¹ (¹広島大・院統合生命科学研究所・食品衛生微生物学, ²広島大・酪農エコシステム技術開発センター)

Analysis of virulence genes and antimicrobial resistance of Gram-positive mastitis-causing bacteria

○Yuta Yamamoto¹, Naoki Suzuki², Xedzro Christian¹, Toshi Shimamoto¹, Tadashi Shimamoto¹ (¹Dept. Microbiol. Food Safety, Grad. Sch. Integrated Sci. Life, Hiroshima Univ., ²Dairy Ecosystem Res. Develop. Ctr., Hiroshima Univ.)

【目的】乳房炎は、乳牛の疾病の中で最も多く発生し、酪農業に甚大な被害を与えている。本研究では、乳牛や農場の周辺環境から薬剤耐性菌を分離し、病原性遺伝子や薬剤耐性遺伝子の解析を行うことによって、耐性菌の薬剤耐性化機構と耐性遺伝子の伝播のメカニズムを明らかにすることを目的とした。【方法】大学附属農場で、乳牛の糞便、牛床、餌、飲水などを研究材料とし、2カ月ごとに計6回の採取を行った。それぞれ採取したサンプルによりグラム陽性乳房炎原因菌を分離し、multiplex PCR法によって菌種の同定、病原性遺伝子および薬剤耐性遺伝子を検出した。また、耐性遺伝子を保有していた株については、ディスク拡散法による薬剤感受性試験を行った。【結果・考察】*Staphylococcus* 属や *Mammaliococcus* 属では、 β -ラクタム系抗菌薬の耐性遺伝子である *bla_Z*, *mecA*, *mecC* を保有する菌やテトラサイクリン耐性遺伝子である *tet* (K) を保有する菌などが主に分離された。この結果から、農場での抗生物質使用歴が影響している可能性が示唆された。病原性遺伝子については、食中毒の原因となるエンテロトキシンを保持している *S. aureus* が分離された。さらに、ヒトの白血球を破壊する強力な毒素であるパントン・バレンタイン・ロイコシジンをコードする遺伝子 *luk-PV* を保持した *S. aureus* が分離された。これらの遺伝子は乳房炎との関連が示唆されており、農場内では *S. aureus* による感染リスクが高い可能性が考えられた。なお、市中感染の株でよく *luk-PV* が検出されていることから、農場内で分離された *S. aureus* はヒト由来である可能性も示唆された。

P2-139

酪農場で分離された ESBL 産生 *Klebsiella pneumoniae* のゲノム解析および乳房炎と薬剤耐性との関係

島本 敏¹, Christian Xedzro¹, 鈴木 直樹², ○島本 整¹ (¹広島大・院・統合生命科学・食品衛生微生物学, ²広島大・酪農エコシステム技術開発センター)

Genomic analysis of *K. pneumoniae* and its relationship to mastitis and antimicrobial resistance

Toshi Shimamoto¹, Christian Xedzro¹, Naoki Suzuki², ○Tadashi Shimamoto¹ (¹Dept. Microbiol. Food Safety, Grad. Sch. Integrated Sci. Life, Hiroshima Univ., ²Dairy Ecosystem Res. Develop. Ctr., Hiroshima Univ.)

【目的】乳房炎は乳牛の疾病の中で最も多く発生し、酪農業に多大な経済的損失をもたらしている。特に *Klebsiella pneumoniae* を含む大腸菌群を原因菌とする環境性乳房炎は他の細菌による乳房炎と比較して重症化しやすい。本研究では、酪農場の環境と乳房炎乳より基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生 *K. pneumoniae* を分離し、薬剤耐性と乳房病原性との関係および農場内動態の解析を行った。【方法】広島県内の戻し堆肥フリーバーン牛舎の酪農場において 2023 年～2025 年にかけて 9 回のサンプリングを行い、344 株の *K. pneumoniae* を分離した。そして、分離菌株について薬剤耐性遺伝子および乳房病原性との関連が指摘されているクエン酸鉄レセプター遺伝子 (*fecA*) の検出を行い、薬剤感受性試験を行った。また、乳房炎乳分離株を含む 7 株については完全長のゲノム解析を行った。【結果と考察】ESBL 遺伝子である *bla_{CTX-M}* を保有する 153 株の *K. pneumoniae* の中で 145 株が *fecA* 遺伝子を保有しており、薬剤耐性と乳房病原性との関連性が示唆された。また、ゲノム解析の結果、*fec* オペロンの両側にラクトースオペロンが存在し、乳中での増殖に有利となるクエン酸鉄の取込系とラクトース利用系が共存していることが明らかとなった。以上の結果より、乳房炎の予防や治療に用いられる抗菌薬による選択圧によって選択増殖した耐性菌が乳房炎のリスクとなることが示唆された。本研究の結果から、酪農場における抗菌薬の適正使用が提唱される。【謝辞】本研究は、公益財団法人 全国競馬・畜産振興会 畜産振興事業の助成を受けた。

P2-140/FL2-36

タイの小児口腔における薬剤耐性遺伝子の分布と口腔衛生状態との関連性

○小林 桃子^{1,2}, Lapirattanakul Jinhana³, 大野 誠之¹, 元岡 大祐^{4,5}, Tansiratanawong Kallapat⁶, Tantivitayakul Pornpen³, Smutkeeree Apiwan⁷, 川端 重忠^{1,8}, 山口 雅也² (¹阪大・院歯・微生物, ²医薬基盤・健康・栄養研, ³Dept. Oral Microbiol., Mahidol Univ., ⁴阪大・OUBIC, ⁵阪大・IFReC, ⁶Dept. Oral Med. Periodontol., Mahidol Univ., ⁷Dept. Pediatr. Dent., Mahidol Univ., ⁸阪大・CiDER)

Oral Hygiene Status and Antimicrobial Resistance Genes in the Oral Microbiome among Thai Children

○Momoko Kobayashi^{1,2}, Lapirattanakul Jinhana³, Masayuki Ono¹, Daisuke Motooka^{4,5}, Tansiratanawong Kallapat⁶, Tantivitayakul Pornpen³, Smutkeeree Apiwan⁷, Shigetada Kawabata^{1,8}, Masaya Yamaguchi² (¹Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ., ²NIBN, ³Dept. Oral Microbiol., Mahidol Univ., ⁴OUBIC, ⁵IFReC, ⁶Dept. Oral Med. Periodontol., Mahidol Univ., ⁷Dept. Pediatr. Dent., Mahidol Univ., ⁸CiDER, Osaka Univ.)

薬剤耐性菌による感染症は世界的に公衆衛生上の深刻な問題である。その拡大を抑制するためには病原細菌だけでなく、健康者に共存する常在細菌叢における薬剤耐性遺伝子の分布も把握する必要がある。特に口腔内は多様な細菌が共存する環境であり、その中には薬剤耐性遺伝子の貯蔵庫および伝達源として機能しうる細菌が報告されている。本研究では、抗菌薬の消費量が多いタイに着目し、小児口腔細菌叢における薬剤耐性遺伝子の分布と口腔衛生状態の関連を明らかにすることを目的とした。タイの全身状態が健康な 3～4 歳の小児 94 名に歯科健診を実施し、plaque index に基づく口腔衛生状態を評価した。その後、唾液および歯面ブラークを採取し、16S rRNA 遺伝子 V1-V2 領域のアンプリコン解析とショートリードのショットガンメタゲノム解析を行った。アンプリコン解析では Qiime2 を用いて菌叢の構造および多様性を評価した。Plaque index が 1 未満を Low 群、1 以上を High 群として分類し比較した結果、唾液とブラークの両検体で β 多様性が有意に増加した。 α 多様性については、Shannon および observed feature の指標が唾液の High 群でのみ有意に増加し、evenness 指標はブラークの High 群のみ有意に増加した。次にショットガン解析で得られたシーケンス配列をアセンブルした contig 配列に対して薬剤耐性遺伝子検出解析を行った。その結果、主要クラスに属する薬剤耐性遺伝子が 303 種類検出され、そのうち 39 種類は全ての小児から検出された。さらに、High 群では薬剤耐性遺伝子の richness が有意に高く、Low 群との差は唾液でより大きかった。以上の結果から、口腔衛生状態の悪化と耐性遺伝子の拡大が関連することが示された。

P2-141

Metabolic Remodeling by RNA Polymerase Mutations Mediates Reduced β -Lactam Susceptibility in OS-MRSA

○渡邊 真弥, Chijioke Nsofor, Xin-Ee Tan, 相羽 由詞, 宮永 一彦, Srivani Veerananarayanan, 島守 祐月, 崔 龍洙 (自治医科大・医・感染・免疫学講座細菌学部門)

○Shinya Watanabe, Chijioke Nsofor, Xin-Ee Tan, Yoshifumi Aiba, Kazuhiko Miyanaga, Srivani Veerananarayanan, Yuzuki Shimamori, Longzhu Cui (Div. Bacteriology, Dept. Infectious Diseases, Jichi Medical Univ.)

The emergence of oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) has imposed further challenges to the clinical management of MRSA infections. Upon exposure to β -lactam antibiotics, these strains readily acquire reduced susceptibility through chromosomal mutations, including those in RNA polymerase (RNAP) genes such as *rpoBC*, potentially leading to treatment failure. However, the mechanisms underlying this phenotype remain unclear. This study investigated the cellular physiology and metabolism of six missense mutants with reduced oxacillin susceptibility, each carrying respective mutations on RpoB^{H929P}, RpoB^{Q645H}, RpoC^{G950R}, RpoC^{G498D}, RpiA^{A64E}, and FruB^{A211E}, CE-MS-based metabolomics. Our results showed that *rpoBC* mutations caused RNAP transcription dysfunction, leading to an intracellular accumulation of ribonucleotides. These mutations also led to the accumulation of UDP-Glc/Gal and UDP-GlcNAc, which are precursors of UTP-associated peptidoglycan and wall teichoic acid. The excess precursors contributed to cell wall thickening observed by TEM and resulted in decreased β -lactam susceptibility in OS-MRSA. These findings provide insights into the mechanisms of antibiotic resistance in OS-MRSA and highlight the importance of continued research in developing effective treatments to combat antibiotic resistance.

P2-142

呉市医療施設におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学的特性と二成分制御系による毒素産生調節機構

○小林 秀丈¹, 清家 総史¹, 能美 伸太郎², 佐々木 彩^{2,3}, 濱田 優成², 堀田 尚克³, 山田 啓太³, 末貞 静香³, 木村 幸司⁴, 山中 浩泰¹ (1)広島国際大・薬・分子微生物科学, (2)呉共済病院・検査部, (3)呉共済病院・感染対策室, (4)広島国際大・薬学部・医療薬学研究センター)

Molecular Epidemiology and Two-Component System-Mediated Toxin Regulation of MRSA in Kure City

○Hidetomo Kobayashi¹, Soshi Seike¹, Shintaro Noumi², Aya Sasaki^{2,3}, Yusei Hamada², Naokatsu Horita³, Keita Yamada³, Sizuka Suesada³, Kouji Kimura⁴, Hiroyasu Yamanaka¹ (1)Labo. Mol. Microbiol. Sci., Fac. Pharm. Sci., Hiroshima Int. Univ., (2)Dept. Clinical Lab., Kure Kyosai Hospital, (3)Infection Control Room, Kure Kyosai Hospital, (4)Res. Ctr. for Pharm. Health Care and Sci., Fac. Pharm. Sci., Hiroshima Int. Univ.)

高齢化が進行する広島県呉市では医療関連感染対策の重要性が高まっている。市内医療施設でメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) が最も多く分離される耐性菌であることから、本研究では呉共済病院と協力し 2023 年から 2025 年までに患者から分離された MRSA の SCCmec タイプと Multilocus sequence typing (MLST) により推定される Clonal complex (CC) を決定した。その結果、3 年間を通じて SCCmec タイプ IV を有する CC1 と CC8 が 70%以上を占めることが明らかになった。溶血毒素産生は CC5 で 90%以上と高く、クローンにより異なることが推察された。興味深いことに同一患者由来株であっても溶血活性に差が認められた。パルスフィールドゲル電気泳動解析で類似度 100%と判定された 210 株と 216 株を比較したところ、210 株は溶血活性を示さず 216 株は強い溶血活性を示した。両株の *agrA* と RNAPIII の発現量を比較した結果、溶血毒素を産生しない 210 株では有意に低かった。これらの結果から、同一患者由来株 210 株と 216 株は *agrA* クオラムセンシングシステムを制御することで毒素産生を調節していることが示された。今回、同一クローンであっても異なる病原遺伝子の発現制御機構を有することが明らかになり、MRSA 院内感染対策には分子疫学的特性の把握に加えて病原遺伝子発現パターンを統合したデータベースを構築することが、より効果的な感染対策および治療戦略に役立つものと考えられる。

P2-143

病原性酵母 *Candida glabrata* におけるミトコンドリア GTPase Gem1 のアゾール耐性への関与

○佐藤 美智代, 中野 恵子, 笹本 要, 高橋 梓, 山口 正視, 知花 博治 (千葉大・真菌・病原機能)

Mitochondrial GTPase Gem1 affects azole susceptibility in the pathogenic yeast *Candida glabrata*

○Michiyo Sato-Okamoto, Keiko Nakano, Kaname Sasamoto, Azusa Takahashi-Nakaguchi, Masashi Yamaguchi, Hiroji Chibana (Med. Mycol, Ctr., Chiba. Univ.)

病原性カンジダ種は免疫不全患者において血流感染を引き起こし、重篤化する。なかでも *Candida glabrata* は、主要な抗真菌薬であるアゾール系抗真菌薬 (エルゴステロール生合成阻害剤) に低感受性であり、近年臨床分離例が増加し問題となっている。*C. glabrata* におけるアゾール耐性化の一因として、ミトコンドリア機能不全の関与が示唆されているが、その分子機構は不明である。本研究では、*C. glabrata* において小胞体とミトコンドリアの接触部位を構成する ERMES (ER-mitochondrial encounter structure) 複合体の構成因子に着目し、その構成因子がアゾール耐性に及ぼす影響を解析した。その結果、ERMES 構成因子の一つである GTPase Gem1 の欠損によりアゾール耐性が付与されることが明らかとなった。さらに、この耐性表現型に一致して、*gem1* 破壊株ではミトコンドリアの形態異常および機能不全が観察され、加えてミトコンドリア由来活性酸素種 (mtROS) レベルの上昇および薬剤排出ポンプ遺伝子 *CDR1* の発現増加が認められた。以上の結果から、Gem1 欠失に伴うミトコンドリア機能変化は、mtROS の増加と転写因子 Pdr1 を介した *CDR1* 発現亢進と相関しており、ERMES 複合体を介したミトコンドリア機能制御が *C. glabrata* のアゾール耐性獲得に関与することが示唆される。

P2-144/FL2-37

腸管内からの薬剤耐性大腸菌 ST131 除去に向けたファージデキャリア戦略の検討

○遠山 茉奈¹, 佐藤 豊孝^{1,2}, 藤本 純平³, Jirachaya Toyting-Hiraishi¹, 鈴木 章夫^{1,2}, 岩野 英知³, 堀内 基広^{1,2} (1)北海道・獣医・獣医衛生, (2)北海道大・OneHealthリサーチセンター, (3)酪農学園大・獣医・獣医衛生化学)

Development of a phage de-carrier to prevent the pandemic spread of antimicrobial-resistant bacteria

○Mana Tohyama¹, Toyotaka Sato^{1,2}, Jumpei Fujiki³, Jirachaya Toyting-Hiraishi¹, Akio Suzuki^{1,2}, Hidetomo Iwano³, Motohiro Horiuchi^{1,2} (1)Dept. Veterinary Hygiene, Sch. Vet., Hokkaido Univ., (2)One Health Research Center, Hokkaido Univ., (3)Dept. Veterinary Biochemistry, Sch. Vet Rakuno Gakuen Univ.)

【背景】薬剤耐性菌 (AMR) は世界的な課題であり、日本でも対策が進められているが、腸管内に保菌された耐性菌への具体的な対応は十分に検討されていない。薬剤耐性菌の中でも深刻な問題であるフルオロキノロン耐性大腸菌バンデミッククロンである Sequence type (ST) 131 に着目し、バクテリオファージを用いた腸管内からの ST131 除去 (ファージデキャリア) の確立を試みた。【方法】大腸菌特異的ファージの溶菌活性を OD600nm で評価した。さらに、抗菌薬を投与した BALB/c マウスに ST131 を経口投与し定着を確認後、ファージを経直腸投与し、経時的に新鮮便中の ST131 の生菌数およびファージ感受性を評価した。【結果】*in vitro* では使用したファージは強い溶菌活性を示した。一方、マウスモデルでは 3 個体中 2 個体で菌数が著減したが、1 個体でファージ耐性化が認められた。この個体から回収された ST131 株はファージ耐性を獲得しており、NGS 解析により *ssuA* 遺伝子および *yqjG* 遺伝子の変異が同定された。これら遺伝子のノックアウト株を用いた解析では、*ssuA* ノックアウト株でファージ感染効率の低下が確認された。さらに糞便抽出液下での ST131 とファージの共培養でも、生じた耐性菌ではマウスで検出されたものと同一箇所 (*ssuA* 遺伝子) の変異が確認された。【考察】ファージ投与により腸管内の ST131 除去効果が示され、ファージデキャリアは AMR 対策の新たな戦略となり得る可能性が示唆された。今後は得られた知見を基に、投与条件や投与量の最適化やファージ耐性化への検討を行い、ファージデキャリアの実用化研究を進める。

P2-145

マクロライド耐性 *Rhodococcus equi* 株の国内分布調査と新規 Erythromycin ribosome methylase 遺伝子の同定

○鈴木 康規¹, 藤本 稔², 高井 伸二², 角田 勤² (1)東京農工大院・農学研究院・獣医衛生学, (2)北里大・獣医学部・獣医衛生学)

Survey of macrolide-resistant *Rhodococcus equi* in Japan and identification of a novel Erm gene

○Yasunori Suzuki¹, Minoru Fujimoto², Shinji Takai², Tsutomu Kakuda² (1)Lab. Veterinary Hygiene, Inst. Agriculture, Tokyo Univ. Agriculture and Technology, (2)Lab. Animal Hygiene, Kitasato Univ. Sch. Veterinary Medicine)

Rhodococcus equi causes pyogenic pneumonia in foals. Macrolides are used in treatment, however, *R. equi* harboring the Macrolide-resistance gene (Erm) was reported in the early 2000s. Erm reduces the binding affinity of macrolide antibiotics to ribosomes via methylation and it is believed to be transmitted horizontally between strains via plasmids. This study investigated the epidemiological surveillance of the resistant strains in Japan, identified novel Erm-like genes, and examined their enzymatic activities. A total of 235 soil samples were collected from 23 horse farms. Resistant strains are isolated from farms across Japan. Genome analysis of the Hokkaido isolates confirmed the presence of novel Erm-like sequences (N1 and N2). Strains transformed with each Erm-like gene into *R. equi* JID03-27 exhibited an MIC increase of more than 12-fold compared to the wild-type strain. Furthermore, both rErmN1 and rErmN2 exhibited m⁶A methyltransferase activity comparable to that of the reported rErm(46). Co-culture experiments showed that plasmids harbored by ErmN1+/pVAPA⁺ strain and Erm(46)+/pVAPA⁺ strains were transferred to all recipients by conjugation. Notably, the resistant plasmid was shown to be transmitted simultaneously with the virulence plasmid. Given the slowing pace of developing applicable antibiotics for this disease, the appropriate antibiotic use is imperative.

P2-146

Killing of *Staphylococcus aureus* via AB-capsid delivery of Cas13a targeting abundant transcripts

○Pedro Fernandes, Sarah Hossain, Taufik Hakim, Anujin Batbold, XinEe Tan, 羽羽 由詞, 宮永 一彦, 渡邊 真弥, 崔 龍洙 (自治医大・医・細菌学)

○Pedro Fernandes, Sarah Hossain, Taufik Hakim, Anujin Batbold, XinEe Tan, Yoshifumi Aiba, Kazuhiko Miyanaga, Shinya Watanabe, Longzhu Cui (Div. Bacteriology, Dept. Infection and Immunity, Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

This study aims to develop a highly efficient phagemid-based AB capsid delivery system for CRISPR-Cas13a targeting *Staphylococcus aureus*. Building on our established AB capsid platform, we sought to deliver Cas13a programmed to recognize highly expressed bacterial transcripts. Targeting abundantly expressed RNAs is expected to ensure sufficient Cas13a activation, inducing robust collateral RNA cleavage and bacterial cell death. As a proof-of-concept, we focused on Gene A, which exhibits strong constitutive expression in *S. aureus*. Five Cas13a spacers targeting conserved regions of Gene A were designed and preliminarily evaluated in *E. coli* DC10B and *S. aureus* RN4220. Among the five spacers tested, three showed strong Cas13a-mediated growth inhibition. Spacer 1 achieved ~98% growth inhibition in both *E. coli* and *S. aureus*, while spacers 4 and 5 resulted in up to 99% inhibition. Based on these results, validated spacers were selected for incorporation into Cas13a-expressing phagemids for packaging into AB capsids. We anticipate that these optimized AB capsid-phagemid constructs will exhibit enhanced bactericidal activity against *S. aureus*. Overall, this work demonstrates the feasibility of AB capsid-mediated Cas13a delivery targeting highly expressed transcripts, providing a foundation for next-generation antimicrobial strategies.

P2-147

Development of a potent CRISPR-Cas13a-based antibacterial agent through crRNA sequence optimization

○Sarah Hossain, Xin-Ee Tan, Pedro Fernandes, Taufik Hakim, Anujin Batbold, 羽羽 由詞, 渡邊 真弥, 宮永 一彦, 崔 龍洙 (自治医大・医・細菌学)

○Sarah Hossain, Xin-Ee Tan, Pedro Fernandes, Taufik Hakim, Anujin Batbold, Yoshifumi Aiba, Shinya Watanabe, Kazuhiko Miyanaga, Longzhu Cui (Div. Bacteriol., Dept. Infect. Immunity, Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

In this study, we aimed to improve the efficiency of antibacterial (AB) capsid-mediated delivery of CRISPR-Cas13a for the selective elimination of *S. aureus*. Using our previously established AB capsid system, we explored whether directing Cas13a toward highly expressed transcripts could enhance antibacterial activity. We hypothesized that abundant target RNAs would promote sustained Cas13a activation, resulting in extensive collateral RNA cleavage and rapid bacterial cell death. To test this concept, we selected gene X, which is stably and highly expressed in *S. aureus*. A library of thirty-five Cas13a spacer sequences targeting conserved regions of this gene was designed and functionally screened in *E. coli* and *S. aureus*. From this screening, two spacers, Sp10 and Sp35, demonstrated superior growth-inhibitory effects, achieving approximately 99.99% killing in *E. coli* and complete killing in *S. aureus*. Based on these results, the validated spacers were selected for incorporation into Cas13a-expressing phagemids, followed by packaging into AB capsids. Collectively, these findings indicate that rational crRNA target selection based on transcript abundance represents an effective strategy for enhancing Cas13a-based antibacterial systems against *S. aureus*.

P2-148

比較ゲノム解析による *Morganella morganii* のキノロン耐性化機構の解明

○道津 葵¹, 奥野 未来², 山本 武司², 小椋 義俊² (¹久留米大・医, ²久留米大・医・感染医学)

Elucidation of quinolone resistance mechanisms in *Morganella morganii* by genomic analysis

○Aoi Dotsu¹, Miki Okuno², Takeshi Yamamoto², Yoshitoshi Ogura² (¹Kurume Univ. Sch. Med., ²Dept. Infectious Med., Kurume Univ. Sch. Med.)

Morganella morganii は腸内細菌目細菌に属するグラム陰性桿菌であり、ヒトや動物の腸管や環境中に常在する。臨床現場では、創傷感染症や尿路感染症を引き起こす日和見病原体として知られる。近年、本菌において薬剤耐性株の増加が臨床上の課題となる一方、キノロン耐性化の分子機構については未解明の部分が多い。本研究では、*M. morganii* のシプロフロキサシン (CPFX) 耐性化に関与する要因を明らかにすることを目的とした。CPFX の MIC が確認できた 92 株のゲノム配列を NCBI から取得し、*qnr* 遺伝子の有無および *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE* の QRDR 変異を比較した。CPFX 耐性株は 39 株 (42.4%)、感性株は 48 株 (52.1%)、中間が 5 株 (5.4%) であった。*qnr* 遺伝子に関しては、*qnr-A1*, *qnr-S1*, *qnr-D* がそれぞれ 1 株、3 株、17 株から検出された。次に、QRDR 変異は耐性株で高頻度に認められ、特に *gyrA* S83I (43 株, 46.7%)、S83R (9 株, 9.8%) および *parC* S84I (50 株, 54.3%) が主要変異として同定された。これらは大腸菌において主要変異として報告されている箇所と同一であった。さらに、*gyrA* 83 番および *parC* 84 番に同時に変異を持つ株が 52 株見つかり、これらの株には強い選択圧が働いてきたことが示唆された。また、先行研究では、*M. morganii* において *gyrB* (S463A, S464Y) および *parC* (S84I) 変異がフルオロキノロンの耐性に関わっていると報告されていたが、本研究では *gyrB* S463A は耐性株・感性株間で変異が認められず、耐性への寄与が低い可能性が示唆された。現在、多変量線形回帰分析による各変異の MIC への寄与を評価しており、本発表ではその結果についても合わせて報告する。

P2-149

コリスチンヘテロ耐性 *Acinetobacter baumannii* における LPS 発現変化を可視化する解析系の確立

○北村 光, 鴨志田 剛, 犬飼 彩夏, 増田 佳子, 浅見 賢音, 熊倉 和希, 加屋 優希, 山口 大貴, 森田 雄二 (明治薬大・薬・感染制御)

Monitoring LPS Expression Dynamics in Colistin-Heteroresistant *Acinetobacter baumannii*

○Hikaru Kitamura, Go Kamoshida, Ayaka Inukai, Kako Masuta, Takato Asami, Kazuki Kumakura, Yuki Kaya, Daiki Yamaguchi, Yuji Morita (Dept. Infect. Cont. Sci., Meiji Pharm. Univ.)

薬剤耐性 *Acinetobacter baumannii* は世界中の医療現場で、人工呼吸器関連性肺炎や敗血症など重篤な感染症を引き起こし、深刻な問題となっている。特に多剤耐性株の増加により治療選択肢は著しく制限され、治療困難を招いている。多剤耐性 *A. baumannii* に対して、グラム陰性菌の最後の砦であるコリスチン (CL) の使用が有力とされている。しかし、LPS の修飾や欠損による CL 耐性株の出現が報告されるようになった。その中でも CL ヘテロ耐性は、同一集団内に感受性株と耐性株が共存し通常の薬剤感受性試験では検出困難で、治療失敗や再燃の原因となる。しかし、このような集団構造が抗菌薬曝露下でどのように変化していくのか未解明な点が多い。我々は、実験的に樹立した LPS 欠損による CL 耐性株の中に、CL 曝露下では LPS 欠損状態のまま耐性を維持し、曝露を中止すると野生型へ戻るヘテロ耐性株を見出した。本研究では、この可逆的表現型変化をリアルタイムに評価可能な解析系の構築を目的とした。はじめに、RNA-seq により、LPS が変化することで発現が大きく変動する遺伝子を同定した。その遺伝子の upstream に *luxCDABE* を組み込んだレポーターアッセイ系を構築した。プラスミド性で評価すると、プラスミドの抜け落ちや CL 以外の薬剤の影響があることがわかり、染色体に組み込むことで安定化させた。その結果、CL 曝露中止で、LPS 欠損集団から徐々に野生型へ戻る現象を定量的に評価することに成功した。今後、本系を用いて LPS の変化をより詳細に定量解析し、ヘテロ耐性の成立機序と臨床的意義の解明を進める。

P2-150

コリスチン依存株は *Acinetobacter baumannii* のヘテロ耐性を駆動する一過的な適応形態である

○浅見 賢音, 鴨志田 剛, 伊藤 匠凜, 北村 光, 沖 啓太, 熊倉 和希, 佐藤 伶華, 石野 楓賀, 加屋 優希, 山口 大貴 (明治薬大・薬・感染制御)

Colistin-Dependent Phenotypes as a Transient Driver of Heteroresistance in *Acinetobacter baumannii*

○Takato Asami, Go Kamoshida, Takuri Ito, Hikaru Kitamura, Keita Oki, Kazuki Kumakura, Ryoga Sato, Fuga Ishino, Yuki Kaya, Daiki Yamaguchi (Dept. Infect. Cont. Sci., Meiji Pharm. Univ.)

近年, 薬剤耐性 *Acinetobacter baumannii* の出現が世界的に問題となっており, WHO をはじめとする各国の保健機関が警鐘を鳴らしている. さらに, 抗菌薬に対するヘテロ耐性の出現が問題を深刻化させている. ヘテロ耐性とは, 抗菌薬に対して感受性の高い集団内に一部の耐性亜集団が存在する状態で, この耐性集団の存在が治療失敗につながると指摘されている. *A. baumannii* では, 最後の砦であるコリスチン (CL) に対するヘテロ耐性が報告されている. 本菌は標的であるリポ多糖 (LPS) の修飾または欠損によって CL 耐性を獲得するが, LPS 欠損が可能な株と不可能な株が存在するなど, 複雑な耐性機構が示唆されている. 我々は, *A. baumannii* の CL 耐性株の出現頻度と耐性メカニズムを解析した. その結果, 菌株ごとに CL 耐性株の出現頻度と耐性機構が大きく異なることが示された. さらに興味深い現象として, CL 含有培地では増殖できるが非含有培地では増殖できない, ヘテロ耐性様の CL 依存 (CD: Colistin Dependent) 株を見出した. この CD 形質を獲得出来るか否かが, 耐性株の出現頻度に大きく影響していた. また CD 株の一部は継代培養を重ねることで CL 非依存 (non-CD) 性の耐性株に変化することが明らかとなった. このことから, CD 株は初期の CL ストレス環境への一時的な適応であり, ヘテロ耐性に寄与する可能性が考えられた. 今後, 多くの臨床分離株を解析し, コリスチン耐性化機構や CD 株の出現メカニズムを解明したい. さらに CD 株と non-CD 株の比較解析により, CD のメカニズムと生物学的意義を明らかにしたい.

P2-151

東南アジア産輸入食品を汚染するセフトキシム及びメロペネム耐性菌の実態解析

○鹿住 悠貴¹, 斉藤 真知香¹, 大畑 奈月², 中山 達哉¹ (¹広島大・統合生命科学・食品衛生, ²神戸市健康科学研究所)

Analysis of Cefotaxime and Meropenem Resistant Bacteria in Imported Food from Southeast Asia

○Yuki Kasumi¹, Machika Saito¹, Natsuki Ohata², Tatsuya Nakayama¹ (¹Dept. Food Hyg., Grad. Int. Sch. Sci. Life, Hiroshima Univ., ²Kobe Inst. Health)

【目的】薬剤耐性は公衆衛生上の脅威であり, 薬剤耐性遺伝子を含むプラスミドの水平伝播が懸念されている. 本研究は東南アジアから日本に輸入された乾燥食品における, セフトキシム (CTX) およびメロペネム (MEM) 耐性菌による汚染の実態解析を目的とした.

【方法】輸入乾燥食品 68 検体を緩衝ペプトン水で増菌培養後, CTX, MEM を含む CHROMagar ECC に塗抹した. 培養後, コロニーはディスクによる薬剤感受性試験と 16S rRNA による菌種の同定を実施した. 基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) および AmpC β -ラクタマーゼ酵素をコードする遺伝子は PCR にて検出し, ESBL 産生株はナノポアシーケンサーを用いて全ゲノム配列を明らかにした. また, プラスミドによる水平伝播を検証するために, ヒト由来薬剤感受性大腸菌を用いて ESBL 関連遺伝子の接合伝達試験を行った.

【結果・考察】CTX 耐性株は 68 検体中 6 検体から, MEM 耐性株は 3 検体から分離された. CTX, MEM 耐性株には共に *Enterobacter* spp. および *Stenotrophomonas* spp. が含まれていた. 加えて CTX 耐性株は *Atlantibacter hermannii* および *Pseudomonas luteora* であった. *A. hermannii* VT10-S は唯一 ESBL 産生株として同定され, *bla*_{CTX-M-27} をコードする IncFIB プラスミドを保持していた. 接合伝達試験により, ESBL 産生 *A. hermannii* VT10-S のプラスミドは, ヒトから分離された大腸菌に伝達できることが示された. これらの結果は, 東南アジアから輸入された食品を摂取することで, ヒトが ESBL 産生大腸菌を保有する可能性があることを示唆している.

P2-152

老化したバイオフィルムの非典型的な抗菌薬感性化現象

○原 慧一郎¹, 杉本 真也^{1,2,3}, 金城 雄樹^{1,2} (¹慈恵医大・医・細菌, ²慈恵医大・バイオフィルム研究センター, ³慈恵医大・アミロイド制御研究室)

Atypical susceptibilization of aging biofilm cells to antibiotics

○Keiichiro Hara¹, Shinya Sugimoto^{1,2,3}, Yuki Kinjo^{1,2} (¹Dept. Bacteriol., Jikei Univ. Sch. Med., ²Jikei Center for Biofilm Sci. Technol., Jikei Univ. Sch. Med., ³Lab. Amyloid Reg., Jikei Univ. Sch. Med.)

従来, バイオフィルムは時間経過と共に成熟し, その内部の菌は抗菌薬に対して抵抗性を増すと考えられてきた. しかし我々は, 黄色ブドウ球菌 Xen36 株で作製したバイオフィルムを培地交換なしに長時間培養すると, バイオフィルム内部の細菌がゲンタマイシンに対して感性化する現象を見出した. 今回, この現象の一般性およびメカニズムを解析したので報告する.

Xen36 株以外の複数の菌種・菌株を用い, 培養期間の異なるバイオフィルムへ最小生育阻止濃度の 100 倍のゲンタマイシンを 24 時間作用させ, 回収した菌のコロニー形成能を評価した. その結果, 培養期間を延長してもその内部の菌の生存率 (コロニー形成数) は変化しないが, ゲンタマイシン添加後のコロニー形成数は著しく低下することが黄色ブドウ球菌, 表皮ブドウ球菌, 腸球菌, 肺炎桿菌において確認された. この培養期間の延長に伴う抗菌薬感性化は, 抗菌薬の濃度や種類, バイオフィルムの培養期間や培地を変更しても確認された. 一方, 24 時間ごとに新鮮な培地に置換した場合には感性化現象が見られなかったことから, バイオフィルム内細菌の老化と抗菌薬感性化現象の関連が示唆された. さらに感性化しやすい菌株と感性化しにくい菌株を同定し, それらの菌株を用いて培養時間の異なるバイオフィルム間での経時的トランスクリプトーム解析を行った. その結果, 感性化現象は菌株ごとに異なる機序が関与する可能性を見出した. 現在, 蛍光標識ゲンタマイシンと Live cell imaging を組み合わせた新規手法を駆使し, 培養時間に応じたゲンタマイシン取り込み動態の解析を進めている.

P2-153/FL2-38

薬剤耐性菌対策における食品上のファージ殺菌効果

川野 光興, ○前田 紗也加, 小口 萌, 藤川 瑞歩, 山道 祐奈, 中村 美月, 山中 杏実 (中村学園大・栄養科学)

Phage Disinfection Effect on Food Surfaces in Antimicrobial-Resistant Bacteria

Mitsuoki Kawano, ○Sayaka Maeda, Moe Koguchi, Mizuho Fujikawa, Yuuna Yamamichi, Mizuki Nakamura, Anmi Yamanaka (Dept. Nutr. Sci., Nakamura Gakuen Univ.)

Objective: Antimicrobial-resistant bacteria (AMR) continue to increase, particularly in retail chicken meat. This study isolated phages from sewage that infect ESBL-producing bacteria from chicken meat and evaluated their bactericidal effects on various food surfaces under controlled conditions.

Methods: ESBL-producing strains (#15-1, #17-1) and their phages (φ15-1, φ17-1) were tested on cabbage, chicken skin, sliced cheese, ham, eggshells, tomato skin, and nonwoven masks. For chicken skin, MOI values from 0.01 to 100 were examined, and sterilization rates were calculated from residual bacterial counts after treatment.

Results: On chicken skin, sterilization increased with higher MOI. #15-1 achieved 95.7~99.8% at MOI 1:10~100, and #17-1 also showed high reductions, while both strains remained around 40% at 1:0.01. Among foods, nonwoven masks, cheese, and ham showed high reductions, whereas tomato skin showed lower values. No notable differences were observed between strains or chicken-skin samples, suggesting consistent phage performance.

Discussion: φ15-1 and φ17-1 showed consistent bactericidal activity across diverse food surfaces, with stronger effects at higher MOI. Further testing of reproducibility and optimization of conditions suited to each food will support future practical application.

P2-154/FL2-39

市販鶏肉およびドリップ液における ESBL 産生菌の発生状況と薬剤耐性

○中島 瑠南¹, 木内 蒼唯¹, 清 ゆい¹, 桑野 玲奈¹, 近藤 百香¹, 松尾 朋香¹, 前田 紗也加¹, 近藤 恒平², 川野 光興¹ (¹中村学園大・栄養科学, ²国立感染症研・薬剤耐性センター)

Occurrence and resistance of ESBL-producing bacteria in retail chicken meat and drip fluid

○Runa Nakashima¹, Aoi Kiuchi¹, Yui Sei¹, Reina Kuwano¹, Momoka Kondo¹, Tomoka Matsuo¹, Sayaka Maeda¹, Kohei Kondo², Mitsuki Kawano¹ (¹Dept. Nutr. Sci., Nakamura Gakuen Univ., ²AMR Center, NIID)

This study investigated antimicrobial-resistant bacteria in retail chicken meat purchased in Fukuoka City during 2023–2024 and in the drip fluid from the packaging to clarify their distribution and characteristics. Chicken meat (10 g) and drip-absorbing pads were enriched in buffered peptone water to isolate resistant bacteria, and cultures were plated on CTX-containing CHROMagar to select two isolates per sample.

DNA was extracted to detect ESBL genes by PCR, and plasmid replicon types were identified. Antimicrobial susceptibility testing for 12 drugs and whole-genome sequencing were performed on selected ESBL-producing isolates to further characterize resistance profiles.

ESBL genes were detected in 47% of isolates from chicken meat and 40% from drip fluid across samples. Most isolates were *Escherichia coli*, with smaller numbers of *Klebsiella pneumoniae* and other species. IncFII was the predominant plasmid type, followed by IncFIB, and the major ESBL genotype was *bla*CTX-M-1. In total, 90.9% of ESBL-producing isolates were resistant to three or more antimicrobial classes.

These results demonstrate that both chicken meat and drip fluid frequently harbor ESBL-producing bacteria and suggest that drip fluid may serve as an important dissemination route in kitchen environments. These findings emphasize the need for proper hygiene during household food handling.

P2-155/FL2-40

酪農場から分離したエンテロコッカス属菌の表現型および病原性形質：比較研究

○Christian Xedzro¹, Kazumi Yokoo¹, Naoki Suzuki², 島本 敏¹, 島本 整¹ (¹Lab. Food Microbiol., Sch. App. Biol. Sci., Univ., ²Dairy Eco. Res. Develop. Ctr., Hiroshima Univ.)

Phenotypic and virulence traits of Enterococcus spp. isolated from a dairy farm: a comparative study

○Christian Xedzro¹, Kazumi Yokoo¹, Naoki Suzuki², Toshi Shimamoto¹, Tadashi Shimamoto¹ (¹Lab. Food Microbiol., Sch. App. Biol. Sci., Hiroshima Univ., ²Dairy Eco. Res. Develop. Ctr., Hiroshima Univ.)

Enterococcus spp. are Gram-positive bacteria that cause animal diseases, including bovine mastitis. This study aimed to compare the incidence and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from a dairy farm in 2023 and 2025. Conventional microbiological assays and susceptibility tests were used to identify and determine the resistance patterns of enterococci. In 2023, 101 enterococcal strains were collected, while 60 strains were retrieved in 2025. The comparative detection rates between 2023 and 2025 were as follows: *Enterococcus faecalis* (13.0 vs 11.2%), *E. faecium* (22.4 vs 11.8%), *E. gallinarum* (16.1 vs 11.2%), *E. casseliflavus* (9.3 vs 3.1%), and *E. pseudoavium* (1.9 vs 0.0%), with no significant difference in the distribution of enterococci between 2023 and 2025 ($p>0.05$). Overall, 65.2% of the isolates (76 in 2023 and 29 in 2025) carried antibiotic resistance genes, including *tet*(M), *tet*(L), *ermB*, *ant*(6)-Ia, *vanC1*, and *vanC2*. Resistance to kanamycin and tetracycline was notably high (>50%) among the 2023 isolates. Additionally, 34.8 and 22.4% of enterococci from 2023 and 2025, respectively, harbored at least one toxin gene, such as *gelE*, *acm*, *ace*, or *efa* ($p>0.05$). The detection of enterococci in dairy environments indicates a potential spread of antibiotic and virulence factors, underscoring the importance of increased surveillance of bacteria in dairy settings.

P2-156

カンボジアの河川から分離されたカルバペネム耐性大腸菌とアシネトバクター属菌

○Daraden Vang^{1,2}, Pilirani Chisembe¹, Virak Mot², Leap Heng², Sokong Ke², Ann Vuth², Darapheak Chau², 鈴木 仁人³, 木下 遼¹, 黒田 英介¹, 木村 幸司¹, 小林 洋平⁴, 柴山 恵吾¹ (¹名古屋大・医・細菌学, ²Natl. Inst. Pub. Health, ³国立感染症研・薬剤耐性研究センター, ⁴名古屋市衛研・微生物)

Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* and *Acinetobacter* spp. from Cambodia's Environment

○Daraden Vang^{1,2}, Pilirani Chisembe¹, Virak Mot², Leap Heng², Sokong Ke², Ann Vuth², Darapheak Chau², Masato Suzuki³, Ryo Kinoshita-Daitoku¹, Eisuke Kuroda¹, Kouji Kimura¹, Yohei Kobayashi⁴, Keigo Shibayama¹ (¹Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Nagoya Univ., ²Natl. Inst. Pub. Health, ³AMR Center, Natl. Inst. Infect. Dis., ⁴Dept. Microbiol., Nagoya City Pub Health Res. Inst.)

Antimicrobial resistance (AMR) is a global health issue impacting humans, animals, and the environment. Resistant bacteria can be found in environmental reservoirs like rivers and sewage, where wastewater treatment is inadequate. This study examines AMR genes, mechanisms, and transmission pathways.

Samples were collected from two rivers and two sewages in Cambodia between 2023 and 2024. Bacterial isolates were obtained for genomic analysis.

104 isolates analyzed: 73 *Escherichia coli*, 31 *Acinetobacter* spp. Among *E. coli*, 70 (95.9%) carried *bla*_{NDM-5}. Six phylogroups were identified; D was predominant (54.8%). Five *fimH* alleles; *fimH27* was most common (58.9%). Serotyping showed -H6 as most common (45.2%). MLST identified 12 types; ST405 was predominant (52.1%). Among *Acinetobacter* isolates, 58.1% were *Acinetobacter baumannii* and 41.9% were *Acinetobacter pittii*, *bla*_{OXA-72} gene (64.5%). MLST identified 18 types, including 11 novel, with ST3558 being most common at 19.4%.

This study reveals increasing carbapenem resistance in *E. coli* and *Acinetobacter* spp., as well as the spread of high-risk lineages and novel resistant strains. *E. coli* mainly involved ST405 with *bla*_{NDM-5}, while *Acinetobacter* had diverse lineages, including 11 new STs with *bla*_{OXA-72} gene. This underscores the importance of genomic surveillance in curbing multidrug-resistant bacteria.

P2-157

高い遺伝子水平伝播能をもつインフルエンザ菌の薬剤耐性化能

○輪島 文明, 田中 愛海, 打矢 恵一 (名城大・薬・微生物学)

Potential for Antimicrobial Resistance in *H. influenzae* with High Horizontal Gene Transfer Ability

○Takeaki Wajima, Emi Tanaka, Kei-ichi Uchiya (Dept. Microbiol., Fac. Pharm., Meijo Univ.)

Background: Horizontal gene transfer (HGT) via transformation is a natural mechanism of genetic exchange in *H. influenzae*. We previously reported the acquisition of quinolone resistance in *H. influenzae* through HGT. This study investigates the relationship between HGT efficiency and antimicrobial resistance and identifies factors associated with high HGT capacity.

Methods: Fifty quinolone-susceptible clinical isolates and the Rd laboratory strain were analyzed. Resistance-associated mutations were identified by Sanger sequencing. HGT capacity was assessed by introducing DNA fragments carrying quinolone resistance mutations and counting resistant colonies. RNA-seq was performed on two strains with contrasting HGT capacities.

Results & Discussion: HGT capacity among 50 clinical isolates varied widely, ranging from 10² to 10⁶ CFU. High-HGT strains exhibited a significantly greater number of mutations in the *ftsI* gene, suggesting a potential link between enhanced HGT capacity and β -lactam resistance acquisition. RNA-seq analysis comparing high- and low-HGT strains revealed that high-HGT strains showed significantly elevated transcription of the *com* operon, which mediates extracellular DNA uptake. These findings indicate that strains with high HGT capacity possess an increased ability to acquire DNA, thereby exhibiting a higher potential to develop antimicrobial resistance.

P2-158

国内の健康肉用鶏から分離されたフルオロキノロン耐性大腸菌の特徴

○岩田 剛敏¹, 玉村 雪乃¹, 桃木 杏奈¹, 古屋 裕崇¹, 新井 暢夫¹, 渡部 綾子¹, 楠本 正博^{1,2} (¹農研機構・動衛研, ²大阪公立大院・獣医)

Characterization of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* from healthy meat chickens in Japan

○Taketoshi Iwata¹, Yukino Tamamura-Andoh¹, Anna Momoki¹, Hirotaka Furuya¹, Nobuo Arai¹, Ayako Watanabe-Yanai¹, Masahiro Kusumoto^{1,2} (¹Natl. Inst. Anim. Health, NARO, ²Grad. Sch. Vet. Sci., Osaka Metro. Univ.)

【背景】薬剤耐性アクションプラン (2022-2027) では、鶏由来大腸菌のフルオロキノロン (FQ) 耐性率の目標値が 15% と設定されているが、国内の健康鶏に由来する FQ 耐性大腸菌の性状については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、国内の健康肉用鶏に由来する FQ 耐性大腸菌の特徴を明らかにすることを目的として、以下の調査を実施した。【方法】2021~2022 年に、11 道県 273 農場の健康肉用鶏から収集された糞便 543 検体より分離した大腸菌 1,603 株を対象として、シプロフロキサシン (CIP) の MIC を微量液体希釈法で測定し、CLSI の定めたブレイクポイントに従って FQ 耐性株を選抜した。FQ 耐性株を対象として、multilocus sequence typing (MLST) による遺伝子型別を実施し、代表株を選択して次世代シーケンサー (Illumina Novaseq X Plus) による全ゲノム塩基配列解析を行った。【結果・考察】1,603 株中 222 株 (13.8%) が FQ 耐性株と判定された。FQ 耐性株における sequence type (ST) は上位から順に ST162, ST5869, ST354, ST189, ST155 であり、5 つの ST で全体の約 70% であった。CIP の MIC は、ST5869 および ST354 の全株が 64μg/ml 以上であり、当該 MIC を示す株の 80% 以上を占めていた。また全ゲノム塩基配列解析の結果、それらの ST でそれぞれ特徴的なキノロン耐性決定領域 (QRDR) の変異パターンが認められ、CIP の MIC と QRDR 変異数には相関が確認された。以上のことから、国内の肉用鶏農場には、特定の ST に型別される FQ 耐性大腸菌系統が、ST162 をはじめとして広く浸潤していることが明らかとなった。ST5869 や ST354 といった FQ 耐性系統の一部は、QRDR の変異の蓄積により FQ に高度耐性を示す遺伝系統である可能性が示唆された。

P2-159

屠畜検査のために搬入された牛および豚の係留場から分離した大腸菌における薬剤耐性

服部 吟時^{1,2}, 宮崎 拓², 小林 美穂², 宮島 雄也², 永峰 朋佳², 天川 駿³, 今村 倫也¹, 古賀 由希恵², 奥村 昌美², 竹谷 香南², ○染谷 梓¹ (¹京産大・生命・産業生命, ²京産大・総合生命・動物生命, ³京産大・生命・先端生命)

Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated from Slaughterhouses

Ginji Hattori^{1,2}, Taku Miyazaki², Miho Kobayashi², Yuuya Miyajima², Tomoka Nagamine², Suguru Amakawa³, Tomoya Imamura¹, Yukie Koga², Masami Okumura², Kana Taketani², ○Azusa Someya¹ (¹Dept. Ind. Life Sci., Fac. Life Sci., Kyoto Sangyo Univ., ²Dept. Anim. Med. Sci., Fac. Life Sci., Kyoto Sangyo Univ., ³Dept. Front. Life Sci., Fac. Life Sci., Kyoto Sangyo Univ.)

Antimicrobial-resistant bacteria are a major public health concern that must be addressed through a One Health approach. In this study, *Escherichia coli* was isolated using culture media without antibiotics from lairage areas where cattle and pigs were held and from cattle transported from various regions for slaughter inspection. Their antimicrobial susceptibility was then investigated. A total of 886 *E. coli* strains isolated in 2013, 2014, 2015, 2019, and 2024 were tested for susceptibility to nine antimicrobial agents using the disk diffusion method. Additionally, serotypes and MLST types were examined for some isolates. None of the nine antimicrobial agents exhibited resistance rates exceeding 30%. The resistance rates for ampicillin and tetracycline were around 20% each. Strains isolated from pig lairage areas tended to have higher resistance rates. No significant fluctuations in resistance rates were observed across the years of isolation. No strains resistant to ciprofloxacin were detected, and resistance to cefotaxime was less than 1%. Multidrug-resistant strains that were resistant to five or more agents were also identified. Further genetic analysis of the isolates is required to clarify the distribution of resistant bacteria in environments such as slaughterhouses, where animals from various regions are gathered.

P2-160

腸球菌の高頻度接合伝達性プラスミド pZB18 類似プラスミド上に発見した新規 β-ラクタム系薬剤耐性遺伝子の解析

○渡部 弾¹, 橋本 佑輔¹, 鈴木 仁人², 春日 郁朗^{3,4}, 野村 隆浩¹, 大田 菜都子¹, 久留島 潤⁵, 平川 秀志¹, 郑 波⁶, 富田 治芳^{1,5} (¹群馬大・院医・細菌学, ²国立健康危機管理研究機構国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター, ³東京大・先端科学技術研究センター, ⁴東京大院・工学系研究科・都市工学専攻, ⁵群馬大・院医・薬剤耐性菌実験施設, ⁶北京大学医学部附属第一病院)

Analysis of a novel penicillin-binding protein gene on a pZB18-like plasmid in *Enterococcus faecium*

○Dan Watanabe¹, Yusuke Hashimoto¹, Masato Suzuki², Ikuro Kasuga^{3,4}, Takahiro Nomura¹, Natsuko Ota¹, Jun Kurushima⁵, Hidetada Hirakawa¹, Bo Zheng⁶, Haruyoshi Tomita^{1,5} (¹Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Gunma Univ., ²Antimicrobial Resistance Research Center, National Inst. Infectious Diseases, ³Research Center for Advanced Science and Technology, The Univ. Tokyo, ⁴Dept. Urban Engineering, The Univ. Tokyo, ⁵Lab. Bacteriol. Drug Resist., Grad. Sch. Med., Gunma Univ., ⁶Peking Univ. First Hospital)

薬剤耐性 (AMR) は現代医療における脅威であり、院内感染症の主要な原因菌である腸球菌 (*Enterococcus faecium*) は、その多剤耐性化傾向から WHO によって対応が急務とされている薬剤耐性菌である。腸球菌における薬剤耐性遺伝子の拡散と伝播には、接合伝達性プラスミドが重要な役割を果たしている。*E. faecium* において、液体培地中でも伝達可能な、いわゆる "高頻度" 接合伝達性プラスミドには環状構造の pMG1 型プラスミドと線状構造の pELF 型プラスミドがある。また pMG1 型プラスミドの亜型として pZB18 が存在している (未発表データ)。本研究室で行っている多剤耐性菌の下水サーベイランスにおいて、新規 penicillin-binding protein (PBP) 遺伝子がコードされた pZB18 類似プラスミドを保有する多剤耐性 *E. faecium* 株が分離された。PBP は細胞壁合成酵素であると同時に、β-ラクタム系抗菌薬の標的蛋白であり、臨床系統 *E. faecium* (clade A1) においては、β-ラクタム系抗菌薬との結合能が低下した変異型 PBP5 がアンビシリン耐性に関与することが知られている。この新規 PBP 遺伝子の周辺構造を確認すると、2 つの *ISI216E* に挟まれていた。*ISI216E* は腸球菌において広く存在しており、各種薬剤耐性遺伝子の転移や可動性に関与していることが知られている。BLAST 検索の結果から、新規 PBP 遺伝子の由来は腸球菌とは異なる細菌属と推定され、水平伝播によって持ち込まれた可能性が示唆された。本発表では、pZB18 類似プラスミド上に存在する新規 PBP 遺伝子の分子疫学および機能解析結果について報告する。

P2-161/FL2-41

Serratia marcescens における 2 成分制御系 SarRS を介した消毒薬耐性機構の解析

○百留 孝士郎¹, 谷重 萌², 安岡 里帆², 近藤 有馬¹, 森田 大地¹, 小川 和加野³, 熊谷 孝則¹, 黒田 照夫¹ (¹広島大院・医科学・微生物医薬品, ²広島大・薬, ³就実大・薬)

Analysis of disinfectant resistance mechanism via two-component system SarRS in *Serratia marcescens*

○Koshiro Hyakutome¹, Moyu Tanishige², Riho Yasuoka², Yuma Kondo¹, Daichi Morita¹, Wakano Ogawa³, Takanori Kumagai¹, Teruo Kuroda¹ (¹Dept. Microbiol. Med., Sch. Med. Sci., Hiroshima Univ., ²Sch. Pharm., Hiroshima Univ., ³Sch. Pharm., Shujitsu Univ.)

Serratia marcescens は院内感染の原因菌の一つであり、近年では消毒薬に耐性化し、院内感染を引き起こした例も報告されている。しかし、*S. marcescens* の消毒薬耐性機構については不明な点も多い。私たちはこれまでに、継代培養により分離した消毒薬 Chlorhexidine (CHX) 高度耐性株において RND 型多剤排出ポンプ SdePQ-OmsA の発現が上昇し、全ゲノムシーケンスの結果から 5 つの遺伝子が CHX 耐性に関与していることを明らかにした。このうち、新規 2 成分制御系の sensor kinase である SarS の変異が、response regulator である SarR を介してこの発現上昇に深く寄与することも見出した。また、SarR が sdePQ-omsA の上流領域に特異的に結合することも突きとめている。今回は sarS 変異株における RNA-seq の解析結果について報告する。RNA-seq は *S. marcescens* KS24ΔsdeXYΔsarS に変異型 sarS を相補した株、野生型 sarS を相補した株を用いて、比較解析を行った。変異型 sarS 相補株では 38 個の遺伝子が有意に発現変化しており、その内 11 個の遺伝子が発現上昇、27 個の遺伝子が発現低下していた。発現上昇した遺伝子には多剤排出ポンプ sdePQ-omsA のほか、膜ストレス対応遺伝子 spy が含まれていた。変異型 sarS 相補株では自身が外的ストレス状況下にあると誤認識することで spy の発現を上昇させている可能性が考えられる。一方、浸透圧維持に関わる kdpAB の発現が低下していたことから、浸透圧ストレスを SarS が感知している可能性も考えられる。現在 ChIP-seq を行うことで、SarR ゲノム結合部位の網羅的な解析を進めており、今回の結果と合わせて、*S. marcescens* における 2 成分制御系 SarRS による遺伝子制御機構の全貌を明らかにする予定である。

P2-162

SCCmecが自然形質転換で伝達されるために重要な「生菌混合バイオフィーム」培養条件の検討

○松岡 桃子¹, Mais Maree^{2,3}, 牛島 由理², 尾花 望², 森川 一也² (1筑波大・人間総合科学学術院, 2筑波大・医系, 3The Royal Veterinary College, Univ. London)

Factors affecting SCCmec transfer in mixed-biofilm natural transformation assay

○Momoko Matsuoka¹, Mais Maree^{2,3}, Yuri Ushijima², Nozomu Obana², Kazuya Morikawa² (1Grad. Sch. Comprehensive Human Sciences, Univ. Tsukuba, 2Inst. Med., Univ. Tsukuba, 3The Royal Veterinary College, Univ. London)

メチシリン耐性遺伝子 *mecA* はカセット染色体 SCC に載っており SCCmec と呼ばれる。所属研究室では、生菌混合バイオフィーム中で、MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌) から MSSA (メチシリン感受性黄色ブドウ球菌) に SCCmec を自然形質転換で伝達させる実験系を構築した。SCCmec の伝達には生きたドナーが必要であり、その何らかの機能、あるいはレシピエントとの相互作用が重要であることが推察されるがその実体は今でもわからない。本研究では最適な伝達効率に必要な温度、培養時間、ドナーとレシピエントの量などの基礎的な知見を明らかにすることを目的とした。

ドナーとして COLw/oq (MRSA COL 株からファージを除いたもの)、レシピエントとして Nef (Pre-MRSA の SCCmec と及びファージを除いたもの) を用いた。自然形質転換を誘導出来る完全合成培地 CS2 中で 37°C で混合静置培養をしてバイオフィームを形成させた。

本研究では、SCCmec の伝達効率は温度・培養時間・菌量に依存することが示された。特に 37°C, 48 時間の条件で最も効率が高く、レシピエント菌が一定量以上増加することでドナー菌量に依存せず伝達が成立することが分かった。伝達効率はドナー菌量による影響はあるものの、SCCmec の伝達は主に受け手側の状態によって制約されることが考えられる。

参考文献

Maree, Mais *et al.* (2022). Natural transformation allows transfer of SCCmec-mediated methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Nature communications*, 13(1), 2477.

Maree, Mais *et al.* (2024). SCCmec transformation requires living donor cells in mixed biofilms. *Biofilm*, 7, 100184.

P2-163

肺炎桿菌多剤耐性変異株におけるトランスクリプトーム解析

○小川 和加野¹, 森田 大地², 廣村 信³, 山田 陽一¹, 黒田 照夫² (1就実大・薬・微生物制御学, 2広島大・院・医系科学, 3第一薬科大)

Transcriptomic profiling of multidrug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*

○Wakano Ogawa¹, Daichi Morita², Makoto Hiromura³, Yoichi Yamada¹, Teruo Kuroda² (1Dept. Microbiol., Sch. Pharm., Shujitsu Univ., 2Grad. Sch. Bio. Heal. Sci., Hiroshima Univ., 3Sch. Pharm., Daiichi Univ. Pharm.)

【背景】肺炎桿菌 ATCC10031 株をノボビオシンに晒し、多剤耐性変異株を 2 株分離した。複数の抗菌物質に対する耐性が上昇したことから、多剤排出ポンプによる耐性化が推定され、2 株のうち 1 株は RND 型多剤排出ポンプ KexF の発現上昇株であることが明らかとなった。しかし、1 株については耐性上昇の原因遺伝子を同定することができなかった。そこで、次世代シーケンサーによる発現解析を実施し、原因遺伝子の同定を目指した。

【方法】多剤耐性肺炎桿菌 Nov1-8 株とその親株である ATCC10031 から RNA を調製し、Illumina Miseq により、RNA 発現量解析を行った。また、両耐性株について全ゲノムシーケンスを実施し、ATCC10031 を参照配列として breseq によって変異部位を同定した。

【結果】親株である肺炎桿菌 ATCC10031 と比較し、変異株 Nov1-8 で発現量が 4 倍以上変化した遺伝子を選択した。その結果、99 遺伝子の発現上昇、62 遺伝子の発現低下が検出された。発現上昇した主な遺伝子には RND 型多剤排出ポンプ遺伝子 *eefABC* および *kexVWX*, また *kexVWX* とオペロンを形成していると推定される *mdtD-baeSR*, 推定の細胞内コンパートメントタンパク質遺伝子 *pdu* オペロンの一部、コバリン合成経路遺伝子群 *cbi* が含まれていた。ゲノム変異解析では、RND 型多剤排出ポンプ KexF の発現上昇株である Nov2-2 株で、以前より検出されていた *envR-kexE* 領域の欠損に加え、*dnaA* に点変異が生じていることが明らかになった。この変異により 309 番目のロイシンがグルタミンに置換されていると推定された。また、Nov1-8 株では推定の NAD(P)-dependent oxidoreductase 遺伝子と二成分転写制御系の histidine kinase 遺伝子に点変異があることが明らかになった。

P2-164

東南アジア産輸入食品における colistin 耐性腸内細菌目細菌の多様性と薬剤耐性に関する研究

○斉藤 真知香, 鹿住 悠寛, 中山 達哉 (広島大・統合生命科学・食品衛生)

Colistin-Resistant Enterobacterales in Southeast Asian Imported Foods: Diversity and Resistance

○Machika Saito, Yuki Kasumi, Tatsuya Nakayama (Dept. Food Hyg., Grad. Int. Sci. Life., Hiroshima Univ.)

近年、薬剤耐性菌による死亡者数は増加傾向にあり、特に最後の切り札とされる colistin に対する耐性菌の出現は重大な問題である。本研究の目的は、東南アジア産輸入食品における colistin 耐性菌の分離・解析を行い、汚染実態を明らかにすることとした。東南アジア産輸入食品(n=67)を対象に、BPW を用いて 37°C で 24h 増菌培養し、colistin 添加 MacConkey 寒天培地に摂取することで colistin 耐性腸内細菌目細菌を分離した。得られた分離株について、最小発育阻止濃度 (MIC) 測定を実施した。また、耐性株について煮沸法による DNA 抽出後、PCR 法によって *mcr* 遺伝子を検出した。さらに、*mcr* 遺伝子陽性株に対してディスク拡散法による薬剤感受性試験および 16S rRNA 遺伝子解析による菌種を同定した。加えて *mcr* 遺伝子が検出された株について全ゲノム解析を行った。colistin 耐性腸内細菌目細菌は 13.4%(9/67)の検体から分離され、内訳はベトナム産が 5 検体、タイ産が 4 検体であった。主要な菌種として *Enterobacter* 属菌が 5 株、*Klebsiella* 属菌が 3 株であった。また、ベトナム産ライスヌードルから *mcr-10* を保有する *Enterobacter roggenskampi* が分離され、他の薬剤に関しては cefoxitin にのみ耐性を示した。一方で、MIC 値では耐性を示すものの *mcr* 遺伝子が陰性の株が複数認められた。また、全ゲノム解析の結果から *mcr-10* 付近に挿入配列である IS5 と IS26 が存在しており、これらによって伝播が起こっている可能性が示唆される。さらに、*mcr* 遺伝子の検出が 1 検体からのみであったことから、新規の耐性遺伝子の存在や排出ポンプの過剰発現等、他の耐性機序によって耐性を持つことが考えられる。

P2-165

大阪の下水から分離された IMI-2 カルバペネマーゼ産生大腸菌の遺伝学的解析

○原 直寛¹, 安達 史恵², 左近 直美², 松本 悠希³, 元岡 大佑³, 菅原 庸⁴, 菅井 基行⁴, 河原 隆二² (1大阪大・医・麻酔集中治療, 2大安研, 3大阪大・微研・感染症メタゲノム研究分野, 4国立感染研・薬剤耐性研究センター)

Genetic Analysis of IMI-2 Carbapenemase-producing *Escherichia coli* Isolated from Sewage in Osaka

○Naohiro Hara¹, Fumie Adachi², Naomi Sakon², Yuki Matsumoto³, Daisuke Motooka³, Yo Sugawara⁴, Motoyuki Sugai⁴, Ryuji Kawahara² (1Dept. Anesth. & ICM., Osaka Univ., 2OIPH, 3Dept. Infect. Metagenomics., RIMD, Osaka Univ., 4AMR-RC, NIID, JIHS)

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE) は世界的に問題となっている。我々は大阪の下水について CRE のモニタリングを実施しており、分離した国内では稀な *bla*_{IMI-2} 搭載環状プラスミドを持つ大腸菌 (230823Tb3) について遺伝学的解析を実施したので報告する。230823Tb3 株について、接合伝達試験、S1-PFGE とハイブリダイゼーション、ゲノム解析を行った。また、抗菌薬を加えない条件で継代培養し、カルバペネムの最小発育阻止濃度 (MIC) の変動を評価した。230823Tb3 と C600 接合伝達株の S1-PFGE 解析では、約 90 kbp に加え、約 60kbp と約 70kbp の *bla*_{IMI-2} 搭載プラスミドが確認された。一方、ゲノム解析ではいずれの株からも約 60kbp の *bla*_{IMI-2} 搭載プラスミドが形成され、S1-PFGE の結果と乖離した。リードデータのマッピングを実施したところ、*bla*_{IMI-2} を含む約 8kbp の領域のカバレッジが高く、同領域が反復配列化していることが示唆された。また、抗菌薬不含培地での継代を行ったところ、メロペネムの MIC 値が低下した株が得られた。S1-PFGE 解析で *bla*_{IMI-2} 搭載プラスミドのサイズの低下とともに、マッピング解析で反復配列のカバレッジ比が減少しており、耐性低下と関連していると考えられた。

本菌株の耐性プラスミドは耐性遺伝子を含んだ領域が反復配列化し耐性度を変化させることから、抗菌薬投与により高度耐性化する“ステルス型 CRE”の一つの機序となりうる。同様の現象は他の CRE でも報告されており、細菌が持つ薬剤高度耐性化の機序の一つであることが示唆された。

P2-166/FL2-42

ESKAPE 病原体のホットスポットとしての病院排水：肺炎桿菌に焦点を当てる

○Bakon Sophia Karen¹, Sholehah Zakaria Nur Fatimah¹, Hashim Hazimah², Jamilan Mohd Azerulazree³, Mohamad Zuraifah Asrah¹ (¹Health Risk Assessment Unit, Environmental Health Research Centre, Inst. Medical Research, National Inst. Health, ²Pharmacy Practice and Development Division, Ministry of Health Malaysia, ³Nutrition Unit, Nutrition, Metabolic and Cardiovascular Research Centre, Inst. Medical Research, National Inst. Health)

Hospital Wastewater as hotspot of ESKAPE Pathogens: Focus on *Klebsiella pneumoniae*

○Bakon Sophia Karen¹, Sholehah Zakaria Nur Fatimah¹, Hashim Hazimah², Jamilan Mohd Azerulazree³, Mohamad Zuraifah Asrah¹ (¹Health Risk Assessment Unit, Environmental Health Research Centre, Inst. Medical Research, National Inst. Health, ²Pharmacy Practice and Development Division, Ministry of Health Malaysia, ³Nutrition Unit, Nutrition, Metabolic and Cardiovascular Research Centre, Inst. Medical Research, National Inst. Health)

Hospital wastewater is increasingly recognised as a critical interface for antimicrobial resistance (AMR) transmission within a One Health framework. This study assessed antibiotic residues and antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater in Kuala Lumpur, Malaysia, focusing on *Klebsiella pneumoniae*, a key ESKAPE pathogen. Effluent samples were collected from hospital discharge points. Antibiotic residues were quantified by LC-MS, while bacterial isolates were recovered using culture-based and molecular methods. *K. pneumoniae* accounted for 25.77% of ESKAPE-associated isolates. Common clinical antibiotics, including ciprofloxacin ($0.627 \pm 0.003 \mu\text{g/L}$) and vancomycin ($0.193 \pm 0.273 \mu\text{g/L}$), were detected, indicating incomplete removal during wastewater handling. The co-occurrence of residual antibiotics and resistant *K. pneumoniae* suggests a selective environment that may promote AMR persistence and dissemination beyond hospital boundaries. These findings highlight hospital effluent as a significant hotspot of ESKAPE pathogens and underscore the need for improved wastewater management and integrated AMR surveillance to reduce environmental exposure and limit the spread of resistance.

P2-167

大腸菌 ST131 の外膜タンパク質に着目した戦略的なファージライブラリーの構築

○波部 賢人¹, 中塚 哉太^{1,2}, 金子 知義^{1,2}, 常田 聡^{1,2} (¹早大・先進理工学・生命医科, ²早大・ファージセラピー研)

Strategic Construction of A Phage Library Targeting Outer Membrane Proteins of *E. coli* ST131

○Kento Habe¹, Kanata Nakatsuka^{1,2}, Tomoyoshi Kaneko^{1,2}, Satoshi Tsuneda^{1,2} (¹Dept. Life Sci. Med. Biosci., Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., ²Phage Therapy Inst., Waseda Univ.)

世界的な多剤耐性クローンである大腸菌 ST131 は、尿路感染症や菌血症の主要な起炎菌として臨床上的脅威となっている。薬剤耐性菌への代替治療として期待されるファージ療法は、ファージの狭い宿主特異性と細菌の耐性化の克服が課題である。本研究では、ST131 株間で高度に保存された外膜タンパク質 (OMP) を標的とし、広範な ST131 臨床分離株に有効なファージライブラリーの構築を志向した。

まず、大腸菌が有する 12 種類の主要なファージ受容体 OMP のアミノ酸配列解析を行い、ST131 株間での高い配列保存性を確認した。これに基づき、ST131 型の OmpA, OmpC, Tsx を個別に標的として認識するファージを都市下水からスクリーニングし、ST131 臨床分離株に対して一定の溶菌活性を示すファージを集めたライブラリーを構築した。

さらに、本ライブラリーの有効性を検証するため、以下の *in vitro* 試験を行った。第一に、標的の異なる OMP を認識するファージを組み合わせてカクテル化試験を行い、単独使用と比較して ST131 株の増殖抑制が強まるかを評価した。相乗的に作用する組み合わせと、そうでない組み合わせを比較検討し、その傾向や背景因子を検証した。第二に、各 OMP 標的ファージに対する耐性株に対し、別の OMP を標的とするファージを供試するクロス試験を行い、溶菌活性が維持されるかどうかを検証した。

本発表では、現在進めている検証も含め、保存された OMP を標的とする戦略が、広い宿主域の確保と耐性化への堅牢性を両立するライブラリー構築に有効であることを議論する。本成果は、大腸菌 ST131 に対する実践的なファージ療法設計の基盤となると考える。

P2-168

大腸菌 OmpC の複数の Loop 領域における多型がファージ感受性を協調的に制御する

○中塚 哉太^{1,2}, 金子 知義^{1,2}, 大塚 裕一³, 相羽 由詞⁴, 崔 龍洙⁴, 宮永一彦^{2,4}, 丹治 保典², 常田 聡^{1,2} (¹早大・先進理工学・生医, ²早大・ファージセラピー研, ³埼玉大・院・理工, ⁴自治医大・医・細菌学)

Polymorphisms in Multiple Loop Regions of *E. coli* OmpC Coordinately Regulate Phage Susceptibility

○Kanata Nakatsuka^{1,2}, Tomoyoshi Kaneko^{1,2}, Yuichi Otsuka³, Yoshifumi Aiba⁴, Longzhu Cui⁴, Kazuhiko Miyanaga^{2,4}, Yasunori Tanji², Satoshi Tsuneda^{1,2} (¹Dept. Life Sci. Med. Biosci., Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., ²Phage Therapy Inst., Waseda Univ., ³Grad. Sch. Science and Engineering, Saitama Univ., ⁴Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

グラム陰性細菌の外膜分子はファージ感染の主要な受容体であり、その構造多様性がファージ感受性・耐性に大きく関与する。大腸菌の主要な外膜タンパク質である OmpC は外膜表層での発現が高度に保存されながらも、アミノ酸配列に多型を示す。この多型がファージ感受性に与える要因を解明することは、感染制御機構の理解に重要である。

国内外の臨床分離株を含む大腸菌 180 株の OmpC アミノ酸配列を解析した結果、18 パターンに分類された。各配列パターンをコードする *ompC* を K-12 株の *ompC* 欠損株に導入して OmpC 多型ライブラリーを構築し、都市下水から単離した 3,060 株のファージから 29 株の OmpC 標的ファージを選別した。多型ライブラリーに対する感染試験により 29 株のファージの宿主域は 7 タイプに分かれ、ファージのゲノムサイズおよび系統分類と関連していた。

OmpC の立体構造において細胞外に突出する Loop4 領域に T4 ファージが吸着することを踏まえ、K-12 株 OmpC の Loop4 を他の配列パターンに置換して感染試験を行った。その結果 7 タイプ中 5 タイプのファージが感染できるようになり、K-12 株 OmpC に感染可能な 1 タイプのファージにおいても感染効率が上昇したことから、Loop4 がファージの主要認識部位であることが示された。さらに Loop4 置換株で Loop5 を他の配列パターンに変更するとファージの感染能の欠失や感染効率の低下が生じ、Loop5 の配列長や立体構造が Loop4 を介した効率的な感染に影響を及ぼすことが示された。

以上から外膜タンパク質の複数の Loop 領域が協調的に作用してファージ感受性を制御することが明らかとなった。本知見は外膜受容体における Loop 領域の協調的制御という新たな分子機構の理解に貢献する。

P2-169

ファージ低感受性黄色ブドウ球菌株に対するファージ-抗菌薬併用療法の検証

○水谷 拓聖¹, 金子 知義^{1,2}, Azam Aa³, 氣駕 恒太郎^{1,2,3,4}, 常田 聡^{1,2} (¹早大・先進理工学・生命医科, ²早大・ファージセラピー研, ³JIHS・感染研・治療薬, ⁴自治医科大・医・細菌学)

Efficacy Evaluation of Phage-Antibiotics Combination Against Phage-Unsusceptible *S. aureus* Strains

○Hiromasa Mizutani¹, Tomoyoshi Kaneko^{1,2}, Azam Aa³, Kotaro Kiga^{1,2,3,4}, Satoshi Tsuneda^{1,2} (¹Dept. Life Sci. Med. Biosci., Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., ²Phage Therapy Inst., Waseda Univ., ³Dept. Drug Dev., NIID, JIHS, ⁴Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

黄色ブドウ球菌は敗血症などの重篤な感染症の原因となり、薬剤耐性の増加により抗菌薬のみでは治療が困難な症例も存在する。この課題に対し、抗菌薬とは異なる作用機序を持つファージとの併用療法が有望視されている。併用候補となるファージを網羅的に評価するため、環境由来試料から 30 株以上の黄色ブドウ球菌ファージを分離してライブラリーを構築した。

これらファージの黄色ブドウ球菌臨床分離株に対する感染域を調べたところ、平均 70% 程度の株に溶菌活性を示した一方で、ファージ低感受性株も存在した。そこで、これら低感受性株に対し様々な作用機序を持つ抗菌薬とファージの併用効果を濁度測定により網羅的に調査したところ、ファージ単独および抗菌薬単独では効果が乏しい株においても、特定の併用条件で増殖抑制効果の回復が認められた。この結果は、薬剤耐性により失われた抗菌薬の有効性をファージ併用により復活させられることを示唆しており、ファージ低感受性株に対する新たな治療選択肢として期待される。

この相乗効果は壁タイコ酸 (WTA) 阻害剤と β ラクタム系抗菌薬で報告される既知の相乗作用と類似しており、本研究の結果からファージ併用でも同様の現象が生じる可能性が示された。さらに、 β ラクタム系以外の作用機序を持つ抗菌薬との組み合わせにおいても相乗効果が確認されており、複数の抗菌薬クラスにわたる併用療法の可能性が示唆された。現在、この相乗効果が生じる機序の解明に向け、併用条件下で得られた耐性株のゲノム解析を進めている。加えて、抗菌薬とファージを併用したチェックボード法による MIC 測定を実施し、併用効果の定量的評価を行っている。

P2-170

大腸菌の LPS を標的受容体とするファージの収集と溶菌活性評価

○千葉 あかり¹, 中塚 哉太^{1,2}, 金子 知義^{1,2}, 宮永 一彦^{2,3}, 常田 聡^{1,2} (1早大・先進理工学・生命医科, 2早大・ファージセラピー研, 3自治医科大・医・細菌学部門)

Collection and Evaluation of Lytic Activity of Bacteriophages Targeting LPS in *E. coli*

○Akari Chiba¹, Kanata Nakatsuka^{1,2}, Tomoyoshi Kaneko^{1,2}, Kazuhiko Miyanaga^{2,3}, Satoshi Tsuneda^{1,2} (1Dept. Life Sci. Med. Biosci., Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., 2Phage Therapy Inst. Waseda Univ., 3Div. Bacteriol., Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

【背景】細菌感染症の新たな治療法として注目されているファージ療法の実用化において、ファージの感染宿主域の狭さは課題の一つである。この課題に対する有効な解決策として、標的受容体の異なるファージ同士を組み合わせたファージカクテルの利用が検討されている。ファージの標的受容体としては外膜タンパク質やリポ多糖 (Lipopolysaccharide: LPS) などが知られているが、LPS はグラム陰性菌の主要な構成要素として比較的保存性の高い構造を持っていることから、LPS を標的受容体とするファージは広い感染宿主域を示す可能性がある。そこで本研究では、大腸菌の LPS を標的受容体とするファージの収集および溶菌活性の評価を目的とした。

【方法】大腸菌 K-12 株由来の各 *waa* 欠損株 (Keio collection) を利用して LPS の特定糖鎖構造を標的とするファージを取得した。これらの欠損株は LPS コア糖鎖生成の各段階で糖鎖が欠失しており、段階的に異なる糖鎖構造をもつ株である。取得した LPS コア糖鎖標的ファージを用いて、各欠損株に対する感染効率から標的 LPS コア糖鎖部位を推定し、大腸菌臨床分離株に対する溶菌活性および宿主域を評価した。

【結果・考察】本研究で取得したファージは、異なる LPS 構造の臨床分離株 (28 株) に対し平均 38.0% の感染率を示した。これは外膜タンパク質を標的とするファージの感染率の平均値 5.4% (Kaneko et al. *J. Virol.*, 2025) と比較して顕著に高く、保存された LPS コア糖鎖を標的とすることで広い感染宿主域が実現されていると考えられる。以上より、LPS コア糖鎖を標的とするファージは治療用カクテルの主要構成ファージとして様々な大腸菌に有効であることが示唆された。

P2-171

黄色ブドウ球菌とファージの共進化におけるトレードオフ

○Guangli Han¹, 金子 知義^{1,2}, 水谷 拓聖¹, 常田 聡^{1,2} (1早大・先進理工学・生命医科, 2早大・ファージセラピー研)

Trades off Between *Staphylococcus aureus* and Phage Coevolution

○Guangli Han¹, Tomoyoshi Kaneko^{1,2}, Hiromasa Mizutani¹, Satoshi Tsuneda^{1,2} (1Dept. Life Sci. Med. Biosci., Grad. Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., 2Phage Therapy Inst., Waseda Univ.)

Background: Phage therapy is emerging as a strategy for treating antimicrobial-resistant (AMR) bacterial infections. Currently, the evolved phage is trending due to its more vigorous bactericidal activity. Understanding bacteria-phage coevolution helps select advantageous evolved phages precisely. Here, we aim to investigate the coevolution of *S. aureus* and its phages to pave the way for further applications. **Materials and Methods:** Clinical MRSA isolates exhibiting various wall teichoic acid genetic profiles (with or without *tarM* gene) and phages with varying tail morphologies were used in this study. In brief, the coculture experiments were conducted continuously for 8 days with a 1:100 transfer every 2 days, and samples were collected on the 8th day. **Results:** All evolved MRSA strains showed reduced oxacillin resistance and increased vancomycin susceptibility, regardless of phage morphology. Antagonistic coevolution was observed between the SUTL4 strain (lacking the *tarM* gene) and ΦWsa30 (myovirus): the strain exhibited delayed growth while the phage lost partial infectivity. Whole-genome sequencing revealed mutations in the minor tail protein of the podovirus and in the virion structural protein and ribonucleotide reductase of the myovirus. In conclusion, the fitness costs associated with coevolution appeared to follow distinct patterns across coculture combinations.

P2-172

グラム陰性菌由来 LPS の除去を目的としたファージ精製手法の比較検討

○田畑 由奈¹, 金子 知義^{1,2}, 常田 聡^{1,2} (1早大・先進理工学・生命医科, 2早大・ファージセラピー研)

Comparative Evaluation of Phage Purification Methods for Removal of Gram Negative Bacterial LPS

○Yuna Tabata¹, Tomoyoshi Kaneko^{1,2}, Satoshi Tsuneda^{1,2} (1Dept. Life Sci. Med. Biosci., Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., 2Phage Therapy Inst., Waseda Univ.)

近年の薬剤耐性菌の増加に対しファージ療法が注目される一方、宿主細菌由来のリポ多糖 (Lipopolysaccharide; LPS) の混入は安全性評価上の重要課題である。特に大腸菌などグラム陰性菌で増殖したファージでは、細菌外膜に由来する LPS の混入が不可避であり、強いエンドトキシン活性を持つことから製剤化の制限因子となる。本研究では臨床分離株 144 株の 78.5% に感染可能であることが示された広域溶菌域を持つ大腸菌ファージ ΦWec277 (Kaneko et al., 2025) を対象とし、比較検討した。1 つはオクタノール抽出による LPS 除去を特徴とする Phage on Tap (PoT) 法であり、粗上清を直接処理できるため工程が簡便で、オクタノールが外膜脂質に選択的に作用することで rough 型 LPS を油相へ効率的に移行させる。もう 1 つは CsCl 密度勾配遠心法に EndoTrap を組み合わせた精製法 (CsCl + EndoTrap) であり、粒子純度の高い画分を得た上で LPS に特異的なアフィニティ精製を行うため、理論上は最も低いエンドトキシン値を達成し得る。LPS の構造差による影響を最小限に留め効果的に精製手法の比較をするため、O 抗原を欠く単純な構造である rough 型 LPS を保有する大腸菌実験室株 JM109 ファージの増殖宿主として用いた。各精製法について、操作性、作業負荷、ファージ回収率および残存エンドトキシン量の観点から評価を行った。現在 PFU に基づくファージ回収率および EndoLISA による残存エンドトキシン量の評価を進めており、処理速度と回収率に優れた PoT、最終純度に優れた CsCl + EndoTrap 法の特徴を踏まえ、広域溶菌ファージの臨床応用を見据えた精製工程の選択指針を示すことが期待される。

P2-173

広域感染性 *Escherichia coli* ファージの臨床分離株に対する溶菌活性評価

○保田 椋太郎¹, 金子 知義^{1,2}, 中塚 哉太^{1,2}, 常田 聡^{1,2} (1早大・先進理工学・生命医科, 2早大・ファージセラピー研)

Lytic Activity of Broad-Host-Range *Escherichia coli* Phage Against Clinical Isolates

○Ryotaro Yasuda¹, Tomoyoshi Kaneko^{1,2}, Kanata Nakatsuka^{1,2}, Satoshi Tsuneda^{1,2} (1Dept. Life Sci. Med. Biosci., Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., 2Phage Therapy Inst., Waseda Univ.)

薬剤耐性菌問題の解決策として注目されているファージセラピーでは、バクテリオファージの宿主域が株レベルで限定されていることが実用化の課題である。大腸菌に感染するファージの宿主域は株レベルで平均 20% 程度であるが、我々が単離したファージ ΦWec277 は大腸菌臨床分離株 144 株に対して約 78% と非常に高い溶菌率を示した (Kaneko et al., Phage, 2025)。この ΦWec277 は T6 および我々が下水から単離した ΦWec276 に系統学的に近い新種である。本研究では広域感染性ファージ ΦWec277 と近縁な T6 と ΦWec276 を対象に、由来の異なる新たな大腸菌臨床分離株パネル 29 株に対して固体培養と液体培養の双方において感染性評価を行った。固体培養において T6 は 29 株中 8 株 (約 27.6%)、ΦWec276 は 29 株中 7 株 (約 24.1%) に対してシングルブランクを形成した一方で、ΦWec277 は 29 株中 19 株 (約 65.5%) に対してシングルブランクを形成し、広域感染性が再確認された。また液体培養においては、増殖阻害の度合いを評価するために我々が考案した Susceptibility Index (SusI) を用いて評価した。SusI はファージを共存させた場合とさせない場合での大腸菌の増殖曲線の違いから耐性菌出現までの増殖抑制持続性を定量的に評価する指標である。結果として ΦWec277 では 29 株中 18 株 (約 62.1%) で SusI が正の値を示し、T6 と ΦWec276 の値を上回った。以上から、ΦWec277 は近縁なファージと比較して臨床分離株に対する広域かつ持続的な溶菌活性を持つことが明らかとなった。また固体培養と液体培養で溶菌活性の評価結果に差異が認められたことから、ファージの治療効果を正確に予測するには液体培養による定量的評価が重要であることも示唆された。

P2-174

ディフィシル菌由来アミダーゼ CD10360 の触媒ドメインの変異体解析

○関谷 洋志¹, 村上 祭¹, 二神 結衣¹, 河野 優¹, 山本 諒¹, 野中 康宏², 神鳥 成弘³, 玉井 栄治¹ (1松山大・薬・感染症学, 2香川大・医・薬理学, 3香川大・医・研究基盤センター)

Mutant analysis of the catalytic domain of *Clostridioides difficile* amidase CD10360

○Hiroshi Sekiya¹, Matsuri Murakami¹, Yui Futagami¹, Suguru Kouno¹, Ryo Yamamoto¹, Yasuhiro Nonaka², Shigehiro Kamitori³, Eiji Tamai¹ (1Dept. Infect. Dis., Pharm., Matsuyama Univ., 2Dept. Pharma., Sch. Med., Kagawa Univ., 3Res. Infra. Cent., Sch. Med., Kagawa Univ.)

【目的】溶菌酵素は細菌の細胞壁のペプチドグリカン (PG) を加水分解し、作用部位によりグルコサミニダーゼ, ムラミダーゼ, アミダーゼ, エンドペプチダーゼに分類される。本研究は、ディフィシル菌のアミダーゼ CD10360 の生化学的性質と触媒ドメインにおける重要なアミノ酸残基を明らかにすることを目指した。

【方法】SP を除去した CD10360 及びその触媒ドメイン (CD10360_CD) をディフィシル菌 630 株の DNA を鋳型に PCR クローニングし、発現ベクター pColdII に組み込んだ。その後、大腸菌 BL21-CodonPlus-RIL に導入し M9 培地で培養、IPTG (1 mM) を添加、15°C で 24 時間、タンパク質の発現を誘導し精製した。溶菌活性は濁度低下法で評価し、pH, NaCl 濃度、熱処理の影響を調べた。また、菌との結合をブルダウン法で評価し、ディフィシル菌以外の菌に対する特異性を調べた。さらに、触媒ドメインの変異体の溶菌活性を調べた。【結果・考察】CD10360_CD は CD10360 と比べて強い溶菌活性を示し、N 末端にある細胞壁結合ドメインが触媒ドメインの基質結合溝と PG との相互作用を阻害していると予想された。また、CD10360_CD の活性は pH7.0 で最も強く、NaCl 添加により低下した一方、熱に安定で、凍結乾燥後も活性が保持された。菌種特異性解析では、ディフィシル菌に高い特異性を示した。CD10360_CD は、触媒残基 Glu635 や亜鉛結合残基 His492 及び His559 の置換により活性が消失した。さらに、基質結合溝近傍の Gly562 の Phe 置換は活性を顕著に低下させたことから、この空間が活性部位へのペプチド鎖のアプローチに重要であると考えられた。また、CD10360 はディフィシル菌との反応によりタンパク質の切断が生じていることが観察された。

P2-175/FL2-43

尿路病原性 ESBL 産生大腸菌の K5 莢膜遺伝子とファージ感受性の関連

○Debra Satie Nagano¹, 田中 真由子¹, 西村 順子¹, 丹治 保典², 花輪 智子¹, 松田 剛明^{1,2} (1杏林大・医・総合医療, 2杏林大・医・救急医学)

Phage susceptibility linked to K5 capsule genes in ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli*

○Debra Satie Nagano¹, Mayuko Tanaka¹, Junko Nishimura¹, Yasunori Tanji², Tomoko Hanawa¹, Takeaki Matsuda^{1,2} (1Dept. Gen. Med., Sch. Med., Kyorin Univ., 2Dept. Traum. Crit. Care Med., Kyorin Univ. Sch. Med)

Background and Objective: Extended-spectrum β -lactamase-producing uropathogenic *E. coli* (ESBL-UPEC) limits treatment options for urinary tract infections. Bacteriophage (phage) therapy is a promising alternative, but selecting effective phages remains challenging. We investigated genomic indicators of phage susceptibility in ESBL-UPEC. **Methods:** Fifty-one ESBL-UPEC strains were clustered based on susceptibility to 42 phages using k-means. Genome-wide association study was used to scan whole genomes of 30 strains for genes related to susceptibility. The capsular polysaccharide (CPS) fractions were prepared and analyzed as previously described (Lin et al., 2017). **Results and Discussion:** K5 capsule genes were identified as associated with phage susceptibility. Thirteen sequenced strains (43%) carried intact K5 genes and were susceptible to specific phages. Since capsules surround the bacterial cells, phages may attach to them for infection. In a variant with reduced phage susceptibility and spontaneous phage-resistant mutants, insertion, deletion, or amino acid substitution mutations were identified in capsule synthesis loci. The CPS fraction prepared from a strain with intact K5 genes was highly concentrated and inhibited phage infection, whilst that from the variant did not. Our results suggest the possibility of K5 capsule genes as useful indicators for selecting phages.

P2-176

近赤外線フェムト秒レーザー照射による大腸菌の抗菌薬感受性変化

○南 正明¹, 高瀬 弘嗣² (1名市大・医・細菌, 2名市大・医・共同研)

Changes in antibiotic susceptibility of *E. coli* irradiated with near-infrared femtosecond laser

○Masaaki Minami¹, Hiroshi Takase² (1Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Med., Nagoya City Univ., 2Core Lab., Grad. Sch. Med., Nagoya City Univ.)

【目的】近年、超短パルスレーザーが医療分野で応用されつつあり、特にその非熱的な作用機序が注目されている。本研究では、近赤外線波長域のフェムト秒レーザーを細菌に照射し、その後の生理活性に与える影響について評価することを目的とした。【方法】実験には大腸菌 (ATCC25922 株) を使用し、特定波長の近赤外線フェムト秒レーザーを照射した。レーザー照射後の大腸菌について、以下の評価を行った。レーザー照射直後および培養後の生菌数を測定し、殺菌効果および増殖抑制効果を評価した。薬剤感受性試験：ディスク拡散法を用いて、抗菌薬 (アンピシリン, カナマイシン, クロラムフェニコール, テトラサイクリン) に対する薬剤感受性を測定した。更に有意差のある抗菌薬については、レーザーの波長, 出力, 照射時間などのパラメータを系統的に変化させ、阻止円径の変化を検討した。【結果】レーザー照射直後の生菌数に有意な変化は認められず、レーザー単独では殺菌効果がなかった。また、照射後の培養においても、増殖曲線に未照射群との差は認められなかった。しかし薬剤感受性試験では、テトラサイクリンにおいてレーザー照射された大腸菌で、未照射群と比較して阻止円径の有意な増大が認められた。この抗菌増強効果は、レーザーの波長, 出力, および照射時間に依存して発現し、波長特異的かつエネルギー依存的な現象であった。【結論】本研究により、近赤外線フェムト秒レーザーは、単独では大腸菌の殺菌効果や増殖抑制効果を示さないものの、テトラサイクリンの抗菌作用を増強する効果があることが示唆された。

P2-177

Akaluc 生物発光によるマイコバクテリア薬効のリアルタイム解析

Md Shafiul Islam¹, 竹石 惇樹¹, 立石 善隆², 西山 晃史¹, Amina Shaban¹, 尾関 百合子¹, 吉田 豊¹, 松本 壮吉¹ (1新潟大・医・細菌学, 2福島県医・微生物学)

Real-time drug efficacy monitoring in mycobacteria using Akaluc bioluminescence

Md Shafiul Islam¹, Atsuki Takeishi¹, Yoshitaka Tateishi², Akihito Nishiyama¹, Amina Shaban¹, Yuriko Ozeki¹, Yutaka Yoshida¹, Sohkiichi Matsumoto¹ (1Dept. Bacteriol., Sch. Med., Niigata Univ., 2Dept. Microbiol. Fukushima Medical Univ.)

Tuberculosis (TB) still threatens human life despite the availability of childhood vaccination and modern treatment regimens due to the emergence of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. The mouse active TB model remains the gold standard for evaluating anti-TB drugs and vaccines. However, in vivo experiments raise ethical concerns and are time-consuming. We established an Akaluc-based bioluminescence platform to enable rapid drug screening in culture media and THP-1 cells. Codon-optimized Akaluc was successfully expressed in mycobacteria using a combination of vectors and promoters. Bioluminescence kinetics were evaluated in culture media and THP-1 cells with or without drug treatment, and optimized by adjusting time points and substrate concentrations. TokeOni at a concentration of 10 nM/100 μ L produced the highest bioluminescence compared to other tested concentrations and substrates. Among the tested promoter-plasmid constructs, Ag85B promoter in pMV261 generated the strongest bioluminescence in *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium bovis*. Bioluminescence fluctuated with bacterial growth, peaking during the log phase and gradually declining during the stationary phase. A positive correlation was observed between bioluminescence and CFU reduction in vitro upon treatment with sensitive drugs.

P2-178

アリルイソチオシアネートが *Candida albicans* に及ぼす影響

○田村 宗明^{1,2}, 西浦 英龜^{3,4}, 今井 健一^{1,2} (1)日大・歯・感発, (2)日大・総歯研・生体防御, (3)日大・大・歯・応用口腔科学分野, (4)日大・歯・補綴1)

Effect of allyl isothiocyanate on *Candida albicans*

○Muneaki Tamura^{1,2}, Hideki Nishiura^{3,4}, Kenichi Imai^{1,2} (1)Dept. Microbiol. Immunol., Nihon Univ. Sch. Dent., (2)Div. Immunol. Pathobiol., Dent. Res. Cent., Nihon Univ. Sch. Dent., (3)Div. Appl. Oral Sci., Nihon Univ. Sch. Dent. Grad. Sch. Dent., (4)Dept. Complete Denture Prosthodontics, Nihon Univ. Sch. Dent.)

【目的】近年、8020 運動の効果から高齢者の残存歯数は増加したが、同時に高齢者の免疫機能の減弱や口腔清掃状態の劣化によりう蝕や歯周病罹患率の上昇などから高齢者の口腔ケアによる口腔環境の改善およびその維持が重要である。*Candida albicans* は口腔内で最も優勢な真菌で日和見感染症や菌交代症の起因菌で加齢に伴い口腔内での検出率が上昇することから、新たな抗真菌作用を有する歯科材料の開発が急務となる。今回演者らはワサビ成分のアリルイソチオシアネート(AITC)が *C. albicans* に及ぼす影響とその作用機序について検討した。【方法】被験菌は *C. albicans* ATCC18804 株と NUD202 株を供試した。被験菌の AITC による発育、義歯床用レジンへの付着能、バイオフィーム形成能、菌糸形変換能および分泌型アスパラギン酸プロテアーゼ (SAP) とリパーゼ活性への影響を培養法、flow cytometry 分析や比色定量法で確認するとともに、これら病原因子に関連する mRNA の発現量を real-time PCR 法で確認した。一方、AITC の作用による *C. albicans* 細胞内の酸化ストレス状態も測定した。【結果と考察】AITC は濃度依存的に発育と病原因子を抑制した。同時に付着、菌糸形変換と SAP 産生に関連する mRNA の発現量は減少した。一方、AITC は細胞内に酸化ストレスを惹起していることが確認され、これらの結果から AITC は *C. albicans* が関与する疾患の発症予防に有用と考えられる。(学会会員外協力者 日本大学歯学部歯科補綴学第1講座 飯沼利光)

P2-179/FL2-44

国有品ウマ抗毒素製剤(ガスえそ、ジフテリア、ボツリヌス)の使用実態調査報告

○上田 謙二¹, 高橋 元秀², 一二三 亨³, 阿戸 学⁴ (1)KMバイオロジクス株式会社・阿蘇工場, (2)熊本保健科学大・生物毒素・抗毒素共同研究講座, (3)杏林大・医学部付属病院・救急総合診療科, (4)国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所・ハンセン病研究センター)

Report on National Stockpile Utilization of Equine Antitoxins (Gas Gangrene, Diphtheria, Botulism)

○Kenji Ueda¹, Motohide Takahashi², Toru Hifumi³, Manabu Ato⁴ (1)KM Biologics Co., Ltd. Aso Plant, (2)Kumamoto Health Sciences Univ. Toxin and Biologicals Research Laboratory, (3)Kyorin Univ. Hospital Emergency and General Medicine, (4)NIID Leprosy Research Center)

国有抗毒素製剤(ガスえそ、ジフテリア、ボツリヌス)は製剤投与後の効果や副作用発生等の報告義務は無い。そこで過去 20 年間の使用実態を調査した。ガスえそは 4 症例で 14 本使用し全例に投与されていた。*C. perfringens* による内因性ガス壊疽症例の 2 例に投与されたが 2 例とも死亡であった。他は疑い投与であったが血液培養で菌陰性、残る 1 例は古典的なガス壊疽症例の創傷性ガス壊疽に投与されていた。*C. perfringens* による内因性ガス壊疽症(α毒素に起因)に対する効果は、今後も継続して症例データ蓄積が必要である。現在は *C. perfringens* に対する抗 α 単独抗毒素(中和抗体治療薬)は存在せず 3 価(Novy, VS)製剤である。ジフテリアは 2 症例で 24 本使用であったが、うち 10 本が廃棄であった。ボツ単価は 1 症例で 1 本およびボツ多価は 13 症例で 20 本の使用であった。ボツリヌス抗毒素は他製剤と比較し使用本数が多かった。ボツリヌス症は数年間隔で継続発生例があり、ボツリヌス症疑いへの抗毒素療法が医療現場で周知されており、鑑別診断の一環として投与していることが推定された。なお、家族内発症の 4 症例にもボツ多価(ABEF)抗毒素が投与されたが後の詳細解析により、これらの症例は抗毒素対象外の C 型毒素であった。今後、抗毒素治療を早期に判断するために迅速かつ正確な実験室診断法の開発・確立が急務である。また、多本数廃棄も課題であり米国 CDC で導入されている製剤返却制度などの運用の改善策の検討が必要である。(AMED 抗毒素製剤に関する総合的な対策に資する研究(阿戸班))

P2-180

ナノメートルサイズの微小突起が *Candida albicans* の付着およびバイオフィーム形成に及ぼす影響

○小林 博和^{1,2}, 笠井 満知子², 赤坂 司³, 吉田 靖弘³, 長谷部 晃² (1)北大・院歯・口腔診断内科学, (2)北大・院歯・微生物学, (3)北大・院歯・生体材料工学)

The effect of nano-pillars on the adhesion and biofilm formation of *Candida albicans*

○Hirokazu Kobayashi^{1,2}, Machiko Kasai², Tsukasa Akasaka³, Yasuhiro Yoshida³, Akira Hasebe² (1)Dept. Oral Diag. and Med., Grad. Sch. Dental Med., Hokkaido Univ., (2)Dept. Microbiol., Grad. Sch. Dental Med., Hokkaido Univ., (3)Dept. Biomat. and Bioeng., Grad. Sch. Dental Med., Hokkaido Univ.)

【諸言】材料表面に付与されたナノメートルサイズの微小突起が、接触した微生物に対して機械的な抗菌作用を示すことが知られている。演者らは、表面に 100 nm サイズの微小突起を有するモスマイト型反射防止フィルムモスマイト™(三菱ケミカル株式会社)を使用して、微小突起が *C. albicans* の付着およびバイオフィーム形成に及ぼす影響に関する検討を行ったので、ここに報告する。

【材料と方法】*C. albicans* IFM40009 株を、10% FBS 添加 RPMI Medium 1640 中 1.0×10^6 CFU/mL で、モスマイト™および同一素材で製造された平滑コントロールフィルム上で好気培養した。一定の経過時間毎に菌体を LIVE/DEAD™ Yeast Viability Kit により染色し、iCBiofilm-H2 によりバイオフィームを透明化して、共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った。同様の経過時間ごとに、クリスタルバイオレット染色法により波長 595 nm における吸光度を測定することで、バイオフィーム形成量を定量的に評価した。

【結果】*C. albicans* IFM40009 株をモスマイト™上で培養した場合、すべての時間において、平滑コントロール上で培養した場合と比較して表面に付着した菌体が少ない傾向を示したが、生存率に明らかな差は認めなかった。また、モスマイト™上におけるバイオフィーム形成量は一貫して平滑コントロール上よりも少ない値を示した。

【考察】モスマイト™フィルム表面に存在する微小突起は、*C. albicans* IFM40009 に対する殺菌作用は示さなかったものの、付着およびバイオフィーム形成に対しては抑制的に働くことが示唆された。*C. albicans* 細胞に対し、付着や増殖を阻害する何らかの刺激を与えている可能性があると考えられた。

P2-181/FL2-45

非ピロリ菌ヘリコバクター感染症診断製品の開発と普及

○松井 英則^{1,3}, 鈴木 仁人², 青木 沙恵¹, 柴山 恵吾³, 見理 剛¹, 徳永 健吾⁴, 林原 絵美子¹ (1)国立健康危機管理研究機構・感染症研・細菌2, (2)国立健康危機管理研究機構・感染症研・薬剤耐性, (3)名古屋大・医・細菌, (4)杏林大・医・予防医学)

Development and Dissemination of Diagnostic Products for NHPH Infections

○Hidenori Matsui^{1,3}, Masato Suzuki², Sae Aoki¹, Keigo Shibayama³, Tsuyoshi Kennri¹, Kengo Tokunaga⁴, Emiko Rimbara¹ (1)Dept. Bacteriol. II, JIHS, NIID, (2)AMR Res. Cent., JIHS, NIID, (3)Dept. Bacteriol., Sch. Med., Nagoya Univ., (4)Dept. PM., Sch. Med., Kyorin Univ.)

Purpose: The goal of this study is to develop highly sensitive diagnostic products for infections caused by gastric non-*H. pylori* *Helicobacter* (NHPH) species.

Background: Japan has entered an era of nationwide eradication of *H. pylori*, resulting in a significant decline in infection rates. However, the proportion of gastric diseases attributed to infections by NHPH species has increased. Currently, PCR testing using DNA from gastric biopsy specimens is the only available diagnostic method for these infections.

Materials and Methods: Serum and gastric fluid samples were collected from participants. The serum samples were analyzed using ELISA, while gastric fluid samples underwent PCR testing with NHPH-common primers.

Results and Conclusion: Between April 2022 and February 2023, the detection rates of *H. pylori*, *H. suis*, and other NHPH species among healthy Japanese individuals (n = 673) were 3.1%, 2.1%, and 0.9%, respectively. In contrast, among 101 patients with gastric diseases, the infection rates of *H. pylori* and *H. suis* were 16.8% and 19.8%, respectively. Meanwhile, 43.6% of the patients were uninfected, and no other NHPH species were detected. In collaboration with industry, government, and academic partners, we have successfully developed clinically applicable diagnostic products for gastric NHPH infections and anticipate releasing research-use-only products in 2026.

P2-182

アルカリ性の環境下における *P. gingivalis* のトランスクリプトーム解析

○桑原 紀子¹, 齋藤 真規², 竹内 麗理¹, 田口 千恵子³, 田中 陽子⁴, 矢口 学⁴, 野村 宇稔⁵, 網野 雄太⁶, 平塚 浩一¹ (¹日大・松戸歯・生化学・分子生物学, ²日大・松戸歯・感染免疫学, ³日大・松戸歯・衛生学, ⁴日大・松戸歯・有病者歯科臨床検査医学, ⁵日大・松戸歯・障害者歯科学, ⁶日大・松戸歯・口腔インプラント学)

Transcriptomic analysis of *P. gingivalis* in response to alkaline conditions

○Noriko Shinozaki-Kuwahara¹, Masanori Saito², Reiri Takeuchi¹, Chieko Taguchi³, Yoko Tanaka⁴, Manabu Yaguchi⁴, Takatoshi Nomura⁵, Yuta Amino⁶, Koichi Hiratsuka¹ (¹Dept. Biochem. Mol. Biol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo, ²Dept. Microbiol. Immunol., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo., ³Dept. Community Oral Health, Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo, ⁴Dept. Lab. Med. Dent. Compromised Patient, Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo, ⁵Dept. Special Needs Dent., Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo, ⁶Dept. Oral Implantology, Nihon Univ. Sch. Dent. at Matsudo)

Changes in the gingival sulcus are closely associated with alterations in the host oral environment. The purpose of this study is to investigate the effects of alkaline conditions on the transcripts of *Porphyromonas gingivalis*, considered one of causative agents of periodontitis. **Methods:** *P. gingivalis* strain W83 was cultured, cells were suspended in pH 7.5 and pH 9.5 buffers, respectively. Total RNA was extracted after 30 min at 37°C, and mRNA was purified. Gene expression levels were examined using custom arrays based on the complete genome sequence of the W83. Gene expression levels changed more than two-fold compared to the control were analyzed. **Results and discussion:** The 1,097 genes showed more than two-fold in expression at pH 9.5, with 581 genes increasing and 516 genes decreasing. The major virulence factors of *P. gingivalis* were no change in the gene expression levels. Among the genes with decreased expression, CRISPR-Cas system associated transcripts were included, and this result differed from that observed in acidic conditions. The CRISPR-Cas system in *P. gingivalis* has been reported to regulate the diversification of genetic information, as well as an adaptive immune system in bacteria. When the environment becomes alkaline, the function of the CRISPR-Cas system in *P. gingivalis* may decrease, potentially leading to excessive uptake of foreign genes.

P2-183

bEV-金ナノ粒子複合体による Cold tumor の“Hot 化”と光熱併用治療効果

○徐 薇¹, 村上 尚輝¹, 藤原 章雄², 新留 琢郎¹ (¹熊大・先端研, ²熊大・病理)

Photothermal-Immune Conversion of Cold Tumors into Hot Tumors Using bEV-Gold Nanoparticle Complexes

○Wei Xu¹, Naoki Murakami¹, Yukio Fujiwara², Takuro Niidome¹ (¹FAST, Kumamoto Univ., ²Pathology, Kumamoto Univ.)

Cold tumor は、免疫細胞の浸潤や活性化が乏しく、既存の免疫療法に抵抗性を示す難治性腫瘍として知られている。本研究では、免疫応答を誘導する細菌由来小胞 (bacterial extracellular vesicles, bEVs) と、高効率な光熱変換能を有する金ナノ粒子を組み合わせて、光熱-免疫併用治療による Cold tumor 制御を目指した。まず、大腸菌および細胞内寄生菌であるサルモネラ菌由来の bEVs を超遠心法により回収し、超音波処理を用いてカチオン性金ナノ粒子表面に修飾した。ポリアクリルアミド電気泳動により、bEVs 由来タンパク質の検出が確認され、修飾に成功した。作製した bEVs 修飾金ナノ粒子を Cold tumor として知られるマウス膀胱がん由来細胞 MB49 およびマウスマクロファージに添加したところ、bEVs 修飾金ナノ粒子はより高い細胞内取り込みを示し、マクロファージから炎症性サイトカインの放出も誘導した。さらに、bEVs 修飾 CD169 陽性マクロファージおよび CXCL10 発現の増加が認められ、抗腫瘍免疫の活性化が示唆された。近赤外光 (909 nm) 照射では約 20°C の温度上昇が観察され、優れた光熱効果を発揮した。これらの結果より、bEVs 修飾金ナノ粒子は光熱作用と免疫誘導を統合した次世代がん治療戦略として有望である。

LS1

口腔病原体から脳を守る：特異物性セラミック粉末によるジンジパインの選択的阻害

○ベッツォッティ ジュセッペ¹, ○櫻木 卓也² (¹関西医科大学医工学センター, ²YKK株式会社テクノロジー・イノベーションセンター)

From Oral Pathogens to Brain Protection: Gingipain Inhibition by a Ceramic Powder with Unique Physicochemical Properties

○Giuseppe Pezzotti¹, ○Takuya Sakuragi² (¹Biomedical Engineering Center, Kansai Medical University, ²Technology and Innovation Center, YKK Corporation)

世界的な平均寿命の増加に伴い、慢性炎症性神経変性疾患をいかに予防するかは、微生物学と医学における重要課題となっている。近年、口腔病原体、特にポルフィロモナス・ジンジバリスがジンジパインを含む外膜小胞 (OMVs) を放出し、全身性および神経系疾患に関与することが明らかになってきた。これらのシステインプロテアーゼは加齢脳からも検出され、口腔内ディスバイオシスとアルツハイマー病を結びつける分子として認識されつつある。しかし、既存のジンジパイン阻害剤 (合成・天然由来を問わず) には、標的外の宿主プロテアーゼへの阻害や毒性、長期予防使用に課題がある。そこで本研究では、口腔環境で安全に使用可能な新規バイオセラミック系ジンジパイン阻害剤として特異物性セラミック粉末を提案する。本材料は水系環境での加水分解に伴う表面反応により、制御された量のアンモニアとホウ酸を放出し、口腔上皮細胞の生存性や代謝を損なわず相乗的かつ不可逆的にジンジパインを不安定化させる。さらに *in situ* Raman 分光法により、ジンジパインを含む OMVs 内のホスホグリセロールヒドロセラミドのアンモニア依存的破壊や神経毒性をもつ酸化硫黄化合物の無害な硫黄構造への崩壊を確認した。重要なことは、宿主細胞膜の恒常性を維持しつつ細菌の病原性メカニズムを選択的に標的とする点である。本研究は、病原性口腔タンパク質分解を無毒化し神経変性に関わる口腔-全身シグナル伝達を遮断する非抗生物質的予防戦略として有望である。高齢化社会において、このような予防的かつ局所的に作用する微生物学的な介入は長期的な神経疾患リスク低減の実践的アプローチとなり得る。

LS2

口腔マイクロバイーム：口腔および全身の健康への影響とオーラルケアの重要性

○竹下 徹 (九州大学大学院歯学研究院口腔保健推進学講座口腔予防医学分野)

Oral Microbiome: Impact on Oral and Systemic Health and Importance of Oral Care

○Toru Takeshita (Section of Preventive and Public Health Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University)

口腔は多様かつ膨大な数の常在微生物が生息する複雑ながら安定な微生物生態系である。歯の喪失の二大原因はう蝕 (むし歯) と歯周病であるが両者の病原菌として知られるミュータンスレンサ球菌や red complex bacteria もこの生態系の一員であり、取り巻く様々な微生物から影響を受けている。加えて、微生物 DNA を分析する網羅的細菌群集解析により上記菌種と同等に両疾患への関与が疑われる菌種が多数示されたことから、近年微生物叢全体 (マイクロバイーム) としての病原性という視点から病因論の再考が進められている。さらに、我々が常時飲み込んでいる口腔微生物は下流の臓器にこれまで考えられてきた以上に到達していることも明らかとなり、不良な口腔微生物叢の全身の健康に及ぼす影響にも注目が集まっている。こうしたことから口腔常在微生物叢のシステムとしての理解、そしてその制御手法の確立は歯科医学研究において急務であると言える。我々の研究室では口腔常在微生物叢の正常像と動態の理解を目指し、歯科および内科の臨床や歯科健診を伴う調査にて取得したヒト口腔微生物叢検体を大規模に解析する分子疫学的調査を積み重ねてきた。このなかで口腔常在微生物叢全体の構成バランスの差異と歯科疾患、さらに全身の健康状態とのあいだにさまざまな関連を見出し、これを新たな健康増進アプローチの開発に繋げるべく研究を進めている。本セミナーでは我々のこれまでの調査で得られた知見をもとに口腔常在微生物叢というシステムの捉え方とその管理方法および重要性について概説する。

LS3

歯科からのイノベーション ～L8020 乳酸菌と Etak のお話～

○二川 浩樹 (広島大学大学院医系科学研究科口腔生物工学研究室)

Innovation from the Dental Field: The Case of Lacticaseibacillus rhamnosus L8020 and Etak

○Hiroki Nikawa (Department of Oral Biology & Engineering, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University)

う蝕や歯周病などの原因であるプラークは、歯の表面に形成されるバイオフィームであり、その形成には、①口腔内の微生物同士の相互作用、②修復物などの成分や表面の性質、③生体の反応や浸出液などの生体成分の3者の相互作用がかかわっています。最近、逆にこれらを利用してバイオフィームの抑制を行うことを考え、色々な取り組みの中で、う蝕や歯周病あるいは感染症などのリスクを下げるのできるいくつかの製品の研究・開発についてご紹介いたします。①菌の利用「L8020 乳酸菌とオーラルケア」口腔内にはオーラルフローラ (お口のお花畑) と呼ばれる微生物叢があり、腸内細菌叢と同様に、その中に乳酸菌を含んでいるため、乳酸菌を利用することでむし歯になりにくくする研究を行ってきました。特に、高い抗むし歯菌作用と抗歯周病菌作用そして抗カンジダ作用 (カンジダはお口にすんでいるカビの1種です) をもった乳酸菌ラクトバチルス・ラムノーザス (L8020 乳酸菌) を用いた研究についてお話しします。②材料の利用「固定化抗菌・抗ウイルス剤 Etak の活用について」歯の表面やインプラントなどに抗菌性を付加できるようにするため、手指などの消毒に用いられる消毒薬とシラン系の固定化部分を持つ固定化ができる抗菌剤 (Etak イータック) を合成した。この Etak を吹き付けたり、Etak の液にものや衣類をつけると、今まで抗菌性を持っていなかったものを簡単に抗菌加工できるというものです。この Etak には抗ウイルス効果もあり、色々な用途で使用できます。