

第85回
日本細菌学会北海道支部学術総会
プログラム・抄録集

会期：令和元年 8 月 23 日

会場：酪農学園大学 中央館 学生ホール

〒003-0833 江別市 文京台緑町 582番地

総会長：内田 郁夫（酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 獣医細菌学ユニット教授）

第 85 回 日本細菌学会北海道支部学術総会

総会長： 内田 郁夫（酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 獣医細菌学ユニット・教授）

開催概要

会期： 令和元年 8 月 23 日（金曜）

時間： 9：00 ～ 17：40（予定）

会場： 酪農学園大学 中央館 学生ホール

〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582 番地

特別講演

1. 耐性菌時代の新戦略 ―ファージ療法の基礎と応用―

丹治 保典 （東京工業大学 教授）

2. 獣医療におけるファージ療法の可能性

岩野 英知 （酪農学園大学 教授）

事務局： 〒番号 069-8501 北海道江別市文京台緑町 582 番地 酪農学園大学 獣医学群
獣医学類 獣医細菌学ユニット 村田 亮

Tel.(011)388-4899

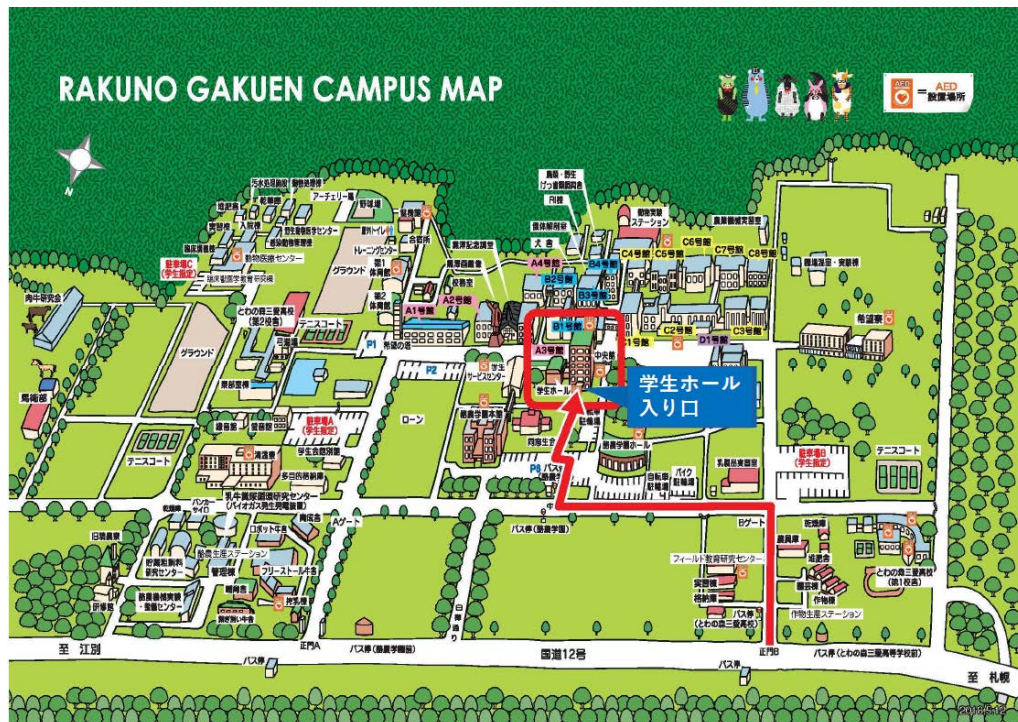
E-mail. hokkaido85bacteria#gmail.com (#→@に書き換えて送信して下さい)

情報交換会： 会費 4,000円

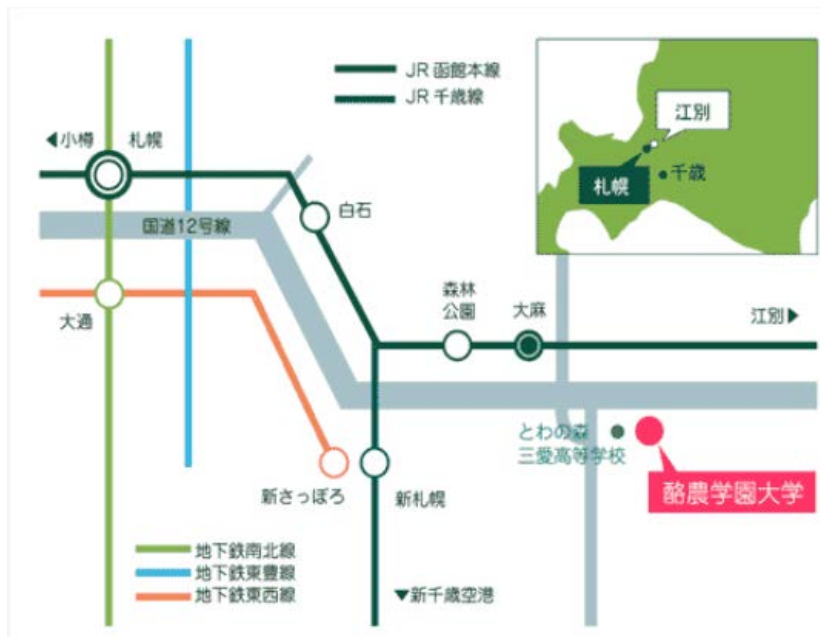
会場案内

酪農学園大学 学生ホール

〒番号 069-8501 北海道江別市文京台緑町 582 番地（大麻駅南口から徒歩 15 分）



アクセス



演題申込について

- 一般演題のみの申し込みとなります。
- 講演要旨受付は、令和元年6月10日から7月19日までとさせていただきます。
- 要旨原稿は、Eメール・添付書類にて事務局担当・村田まで送ってください。
- メールタイトルの「支部会抄録原稿」という文言を入れるようにしてください。
- メール受信後2～3日以内に、必ず「原稿受領確認のお知らせ」を返信いたします。「原稿受領確認のお知らせ」のメールが届かない場合は、何らかの異常により要旨原稿が届いていない可能性があるため、再度下記連絡先までメールを送るようにしてください。

Eメール送付先

E-mail. hokkaido85bacteria#gmail.com

(#→@に書き換えて送信して下さい)

- **発表者が学生、ポスドク、助教（外国人留学生も含む）**の場合は、要旨を送付する際にメール本文に日本細菌学会北海道支部会賞の選考対象者であると記入してください
- 情報交換会出席者の人数把握のため、情報交換会出欠についてメール本文に「情報交換会出席予定」「情報交換会欠席予定」などと記載してください。

情報交換会の参加費は4,000円を予定しております。

要旨原稿について

- 原稿は、Microsoft Word で、A4 版 1 枚に収まるように作成してください。
- 余白については、Microsoft Word で「白紙の文書」を新規作成したときの初期設定のままをお願いします（標準設定で、上は 35.01mm、下と左右はそれぞれ 30mm になっています）。
- タイトル、発表者および共同研究者の氏名、それぞれの所属を上から順に太字で記載し、フォントサイズはタイトルのみ 18 ポイント、それ以外は全て 12 ポイントにしてください。
- 発表者の氏名の前に○印をつけてください。
- 共同研究者の所属が異なる場合は、氏名の右上に番号をつけ、所属機関の左上にその番号を記載して下さい。
- 日本語のフォントは MS 明朝、英語のフォントは Times New Roman にしてください。
- 文書の体裁は、必要に応じて適宜改変させていただく可能性がありますが、ご了承ください。

参加申込について

事前参加登録は必要ありません。当日会場にお越しになり、参加費用等をお支払い下さい。

場所： 酪農学園大学学生ホール入り口

参加費： 無料（予定） *支部会のみ入会されている方などは下記参照

参加費用について

※ 支部会のみに入会されている方、または新たに支部会のみに入会される方は、当日支部会年会費 1,000 円を受付にて申し受けます

プログラム（講演要旨集）について

学会当日受付にて配布させていただきます。

昼食について

当日、酪農学園大学は生協も食堂も開いておりません。

大学から最も近いコンビニエンスストアは大塚駅前のセブンイレブンですが、往復徒歩で 30 分程度かかりますことをご了承ください。

発表について

- 発表時間は、発表 8 分、質疑 2 分（演者交代時間を含む）の予定です。
- 講演の発表はノートパソコンによるプレゼンテーションとし、演者の方は、ご自身のノートパソコンをご持参いただき、発表をするようお願い致します
- ご持参いただくノートパソコンは Windows、Macintosh のいずれでも結構ですが、会場の液晶プロジェクターとの接続は D-sub15 ピンとなりますので、コネクターが必要な場合はご持参ください。

時間	セッション (座長)	演題 番号	氏 名	所 属	支部会賞 選考対象
9:00	開会の挨拶				
9:10	セッション 1 (臼井優 先生)	1	向井 莞爾	酪農大 獣医・獣医衛生	対象
9:20		2	澤田 千鶴	酪農大 獣医・獣医衛生	対象
9:30		3	佐伯 歩	北大院 歯・口腔分子微生物	対象
9:40		4	田中 菜那	北大院 保科・病態解析	対象
9:50		5	橋本 拳人	北大院 保科・病態解析	対象
10:00		6	Jeewan Thapa	北大院 保科・病態解析	対象
休憩（１０分）					
10:20	セッション 2 (大久保寅彦 先生)	7	玉村 雪乃	農研機構 動衛研	対象
10:30		8	横尾 勇人	酪農大 獣医・食品衛生	
10:40		9	渡久川 兼誉	酪農大 獣医・細菌	
10:50		10	藤木 純平	酪農大 獣医・生化	
11:00		11	マンビ モンゴメリ	酪農大 獣医・生化	
11:30	評議会・監事会（６０分）：２階 談話室				
12:30	総会（３０分）：学生ホール				
13:00	特別講演 (田村豊 先生)	12	丹治 保典	東京工業大学	
休憩（１０分）					
13:50	セッション 3 (権平智 先生)	13	楠本 晃子	畜大 動物食品	対象
14:00		14	北名 純也	酪農大 獣医・生化	対象
14:10		15	中村 暢宏	酪農大 獣医・生化	対象
14:20		16	上嶋 沙綾	畜大 動物食品	対象
14:30		17	大久保 寅彦	北大院 保科・病態解析	
休憩（１０分）					
14:50	セッション 4 (佐藤豊孝 先生)	18	榎枝 秀朗	北大院 保科・病態解析	対象
15:00		19	岡村 真吾	酪農大 獣医・食品衛生	対象
15:10		20	長谷川 貴生	北大院 保科・病態解析	対象
15:20		21	川代 愛梨	北大院 保科・病態解析	対象
休憩（１０分）					
15:40	セッション 5 (藤木純平 先生)	22	鷲見 優斗	北大院 保科・病態解析	対象
15:50		23	宮嶋 祐哉	北大 人獣・感染免疫	対象
16:00		24	吉野 寛隆	北大院 保科・病態解析	対象
16:10		25	佐藤 豊孝	札医大 医・微生物	対象
休憩（１０分）					
16:30	特別講演 (田村豊 先生)	26	岩野 英知	酪農学園大学	
16:50 表彰式，閉会の挨拶（３０分）					

Mycoplasma bovis がウシ末梢血単核球（PBMC）の 免疫応答能に及ぼす影響

○向井莞爾，西航司，権平智，樋口豪紀

酪農学園大学・獣医学群・獣医学類 獣医衛生学ユニット

【背景および目的】

Mycoplasma bovis (*M. bovis*) は、ウシに重篤な呼吸器疾患を引き起こす病原体である。*M. bovis* が呼吸器に定着することによって他の細菌による二次感染が起こりやすくなり、*M. bovis* がウシ呼吸器疾患の病態を悪化させる原因の一つとして重要であると考えられている。しかしながらその詳細なメカニズムは未だ不明である。そこで本研究では、*M. bovis* 存在下における PBMC の *Pasteurella multocida* に対する免疫応答性を細胞死および炎症性サイトカインの発現量に着目し、評価した。

【材料および方法】

①供試動物：臨床的に健康な泌乳中期のホルスタイン種雌牛 5 頭を供した。②PBMC：頸静脈より採血し PBMC を分離後、*M. bovis* (PG45 株) を感染多重度 (MOI) 10 で添加し、培養した。その後、*P. multocida* (野外株) を MOI1、10 および 100 で添加し、6 時間培養した。③細胞死の解析：Muse® cell Analyzer を用いて解析した。④mRNA 発現量：IL-1 β の mRNA 発現量をリアルタイム PCR で定量した。

【結果および考察】

PBMC は *P. multocida* 単独刺激によって、ネクローシス様の細胞死が認められ、さらに IL-1 β の mRNA 発現量の増加が認められた。一方、*M. bovis* 存在下における *P. multocida* の刺激では、*P. multocida* 単独刺激と比較して細胞生存率は有意 ($p<0.05$) に増加し、IL-1 β の mRNA の発現量は低下傾向を示した。これらのことから *P. multocida* によって誘導される宿主の免疫応答は *M. bovis* によって抑制されることが示され、より重篤な病態を引き起こす要因になると考えられた。

Mycoplasma bovis のウシ滑膜細胞に対する

侵入メカニズムの解明

○澤田千鶴¹, 西航司¹, 藤木純平², 岩野英知², 権平智¹, 樋口豪紀¹

¹酪農学園大学・獣医学群・獣医学類・獣医衛生学ユニット,

²酪農学園大学・獣医学群・獣医学類・獣医生化学ユニット

【背景および目的】

Mycoplasma bovis (*M. bovis*) は、ウシに乳房炎、中耳炎および関節炎等を引き起こす病原体である。マイコプラズマ関節炎は難治性を示し、その要因として宿主細胞への侵入性が報告されている。しかしながら、その詳細なメカニズムについては十分に解明されていない。そこで本研究では、*M. bovis* のウシ滑膜細胞への侵入メカニズムの解明を試みた。

【材料および方法】

①滑膜細胞：手根関節から採取し培養。②エンドサイトーシス阻害剤：クラスリン依存性経路阻害剤、カベオラ依存性経路阻害剤、マクロピノサイトーシス経路阻害剤を使用。③蛍光免疫染色：各阻害剤で処理した滑膜細胞に Multiplicity of infection (MOI) MOI100 の *M. bovis* を添加し、蛍光顕微鏡下で観察。④リアルタイム PCR：滑膜細胞に *M. bovis* 生菌または死菌（熱およびホルマリン処理）を添加し培養後、*M. bovis* の DNA を抽出し定量。

【結果】

①蛍光免疫染色では、各阻害剤を添加した細胞群において細胞内に認められる *M. bovis* は対照群と比較して減少した。②qPCR では、生菌を添加した細胞群（平均 1.37×10^7 コピー数）と比較し、熱処理（平均 8.90×10^5 コピー数）およびホルマリン処理（平均 2.56×10^6 コピー数）では有意($p < 0.05$)に低値を示した。

【考察】

蛍光免疫染色の結果より、クラスリン、カベオラ依存性およびマクロピノサイトーシス経路阻害剤の存在下で *M. bovis* の侵入の減少が認められたため、複数の経路による侵入の可能性が考えられた。リアルタイム PCR の結果より、熱処理およびホルマリン処理の両方で、生菌と比較し DNA 量が減少したことから *M. bovis* の滑膜細胞への付着または侵入に熱感受性のタンパク質や膜構造の保持の関与が示唆された。

マイコプラズマ由来リポタンパク質／リポペプチドにより誘導されるマクロファージからの IL-1 β 細胞外分泌機構

○佐伯歩¹, 土屋晃介², 須田貴司², 引頭毅³, 長谷部晃¹, 鈴木敏彦⁴,
柴田健一郎¹

¹北大 院歯 口腔分子微生, ²金沢大 がん進展制御 免疫炎症制御,

³朝日大 歯 口腔微生物, ⁴医科歯科大 院医歯 細菌感染

IL-1 β は細胞内センサーであるインフラマソームにより活性化され、多くの場合、caspase-1 依存的なネクロシス様の細胞死である pyroptosis により細胞外へ放出される。我々はこれまで、*Mycoplasma salivarium* ならびに *M. pneumoniae* の NLRP3 インフラマソーム活性化物質の一つであるリポタンパク質 / リポペプチドがマウスマクロファージに pyroptosis を誘導せず、IL-1 β の細胞外分泌を誘導することを明らかにした。本研究では、これらのリポタンパク質 / リポペプチドがどのような機構で生きたマクロファージに IL-1 β 分泌を誘導するのかを明らかにすることを目的とした。近年、caspase-1 により活性化された gasdermin D の N 末端領域が細胞膜に小孔を形成し、pyroptosis が誘導されること、さらに、生細胞からも gasdermin D 小孔を介して IL-1 β が分泌されることが報告された。*M. salivarium* ならびに *M. pneumoniae* から調整したリポタンパク質ならびに *M. salivarium* 由来リポペプチド FSL-1 は C57BL/6 マウスの骨髄由来マクロファージに IL-1 β 分泌を誘導し、本活性は gasdermin D のノックアウトにより阻害されなかった。さらに本活性は、細胞膜透過性の阻害剤である punicalagin により有意に阻害された。以上のことより、マイコプラズマ由来リポタンパク質 / リポペプチドにより誘導される生きたマクロファージからの IL-1 β 細胞外分泌は、gasdermin D 小孔によるものではなく、細胞膜透過性が関与していることが示唆された。

ヒト病原細菌を共生細菌依存的に運ぶアメーバ： 運搬機構解明に向けた試み

○田中菜那¹, 前鼻咲樹¹, 大久保寅彦¹, 松尾淳司², 中村眞二³,

Jeewan Thapa¹, 山口博之¹

¹北大院・保健科学・病態解析, ²北海道医療大,

³順大院・医・研究基盤センター

本研究室では以前、土壌から環境クラミジア (*Neochlamydia* S13) が共生するアメーバ (S13 アメーバ) を分離・株化した (Matsuo *et al*, Environ Microbiol Rep, 2010)。この共生細菌の宿主アメーバへの感染率は 100%であるが、他のアメーバに再感染できない。また、*Neochlamydia* S13 の除去は、宿主アメーバの増殖を促進させることから、この共生細菌の存在はアメーバにとって少なからず負担となっている (Okude *et al*, Microbes Environ, 2012)。何故 S13 アメーバは、*Neochlamydia* S13 との共生を許容しているのだろうか。これまでに私達は、S13 アメーバが餌となるヒト病原性細菌 (大腸菌、サルモネラ、緑膿菌など) を固形培地上で共生細菌依存的にアメーバ表面に固着させ運搬することを見いだした (Okubo *et al*, Environ Microbiol Rep, 2018)。そこで本研究では、その運搬機構を解明する目的で、実際の環境土壌 (62 検体) とともに S13 アメーバを培養し運搬された細菌種を 16SrDNA の BLAST 解析で同定するとともに、EZ-Tn5TM TransposomeTM キット (ARB-LS) を用いて大腸菌 Tn 挿入変異株ライブラリー (243 株) を作成し S13 アメーバが運搬できなかった大腸菌変異株よりこのアメーバが大腸菌を運搬する際、認識する細菌側分子の探索を試みた。その結果、環境土壌の運搬実験では、運搬が認められた 9 株の株化に成功した。その内 4 株が 16SrDNA の配列解析により *Pseudomonas* sp. 2 株、*Pseudomonas fluorescens* 1 株、*Paenibacillus* sp. 1 株と同定された。Tn 変異株運搬実験では、1 株の変異株が運搬されなかった。この株の Tn 挿入部位を Arbitrarily paired PCR 法により特定したところ、*nhaA* 遺伝子領域であることがわかった。*nhaA* は Na⁺/H⁺アンチポーターをコードする遺伝子であり、細胞外への Na⁺の輸送に関与している。SEM で観察するとこの変異株は培地上でフィラメント状になって増殖した。これらの結果は、共生細菌依存的に起こる S13 アメーバのヒト病原細菌運搬現象が、アメーバと細菌表層分子との特異的な相互作用により起こっている可能性を示唆している。

低酸素環境での *Chlamydia trachomatis* L2 の

細胞内増殖は PI3K・AKT 経路を介して促進する

○橋本拳人, 菅原早織, 辻川諒哉, Thapa Jeewan, 大久保寅彦, 山口博之
北大院・保科・病態解析

Chlamydia trachomatis (Ct) は、細胞への感染に特化した基本小体 (EB) と細胞内で分裂する網様体 (RB) からなるユニークな二相性増殖環をもつ。Ct による生殖器感染症は、主要な性感染症である。女性における頸管感染を放置すると、上向性に感染は拡大し、繊維化を介して卵管障害や異所性妊娠、不妊症を引き起こす。Ct は、Trachoma 型 (トラコーマと非流行地で泌尿生殖器や新生児の眼に感染) と LGV 型 (性病性リンパ肉芽腫症) の 2 つの生物型に分類される。トラコーマ型に比べ LGV 型の Ct はより侵襲性が強い。一方、女性の泌尿生殖器における酸素濃度は生理学的に低く、炎症に伴いさらに減少し、組織の繊維化は低酸素状態でさらに促進されることが知られている。これらのことは、侵襲性が強くより組織深部に達する LGV 型 Ct がより低酸素下に適応している可能性を示唆している。そこで本研究では、低酸素条件下 (2%O₂) での CtD と CtL2 の HEP-2 細胞内での増殖について比較した。その結果、CtD とは対照的に CtL2 は通常酸素に比べ低酸素において IFU 値 (EB 数) と 16SrDNA 量が有意に増加した。低酸素状態での細胞応答の要である HIF- α の発現は CtL2 感染により安定化した。また HIF-1 α の安定化剤 CoCl₂ (DFO には効果なし) や PI3K 阻害剤 (LY294002) の存在下では、低酸素下での CtL2 の発育促進は阻害された。さらに低酸素での CtL2 感染細胞では pAKT (Ser473) のリン酸化が促進し、PI3K 阻害剤添加により減弱した。これらの結果より、低酸素環境下での CtL2 は、感染細胞の PI3K・AKT 経路の活性化を制御することで細胞内での増殖を担保していると考えられた。

***Chlamydia trachomatis* from cervicovaginal samples of Sapporo reveals influence of both global and local strains**

○Jeewan Thapa¹, Takanori Watanabe¹, Mana Isoba¹, Torahiko Okubo¹,
Hiroyuki Yamaguchi¹

¹Department of Medical Laboratory Science, Faculty of Health Sciences, Hokkaido University

Chlamydia trachomatis (CT) is one of the most common causes of sexually transmitted infections worldwide, including in Japan. Previous studies have shown that Sapporo may have relatively higher prevalence of CT (~10%) than the rest of Japan (~5%). Although, *ompA* genotypes of circulating CT strains in Japan are known, but the sequence types (STs) based on multi locus sequence typing (MLST) are still unknown. The purpose of the study was to diagnose CT, perform genetic characterization and identify MLST based STs first time in Japan to understand genetic dynamics of CT strains in Sapporo. In collaboration with Toho obstetrics and gynecology hospital of Sapporo, we collected cervical swab sample from 713 patients from June 2016 to March 2019. DNA was extracted from the clinical samples and analyzed for presence of bacterial 16S rDNA, CT plasmid DNA, *ompA* and MLST of 7 CT housekeeping genes (*glyA*, *mdhC*, *pdhA*, *yhbG*, *pykF*, *lysS*, *leuS*). From these 713 clinical samples, 681 (95.5%) were positive for 16S rDNA indicating presence of any bacteria in the samples. Further analysis of those 681 samples revealed 83 (11.6%) samples to be positive for CT plasmid DNA. We obtained *ompA* genotyping results from 61 samples with 8 different genotypes where genotypes F (40.9%), E (19.6%) and D (14.7%) were the majority types. The *ompA* was highly conserved for genotype E (24 of 25 without any mutation) and F (12 without any mutation). We found that genotype D had unique Sapporo specific mutation (8 of 9 samples with similar mutation 129C→T, 184G→A, 186T→G, 195C→T, 636A→T relative to reference sequence). From MLST, we obtained 13 different STs from 53 samples where globally dominant STs, ST39 (22.6%), ST19 (18.8%) and ST21 (15.9%) were the dominant ones. Our results indicate that some of the same samples may have difference in *ompA* genotype and STs as indicated by the genotypes F, E and D where they had 4, 3 and 3 different STs respectively. The discriminatory index from *ompA* typing (0.767) and MLST (0.881), a relatively low index (<0.95), suggest relatively lower ability of these typing methods but importantly infer the possibility of influence of some successful global and local strains. The bacterial and epidemiological factors favouring dominance of these strains should be further studied to understand disease dynamics and transmission of CT.

Salmonella 属菌における Art ファージの構造と

伝達性の解析

○玉村雪乃¹, 楠本正博¹, 岩田剛敏¹, 渡部綾子¹, 新井暢夫^{1,2}, 秋庭正人^{1,2},
三浦祥³, 村田亮³, 内田郁夫³

1 農研機構・動衛研, 2 大阪府大院・生命環境, 3 酪農学園大学

【目的】我々はこれまでに、*Salmonella* 属菌が百日咳毒素と類似した ADP-リボシル化毒素 ArtAB を産生し、本毒素がマウスに対して致死活性を示すことを明らかにしてきた。*artAB* は *Salmonella* Typhimurium (ST) DT104 (DT104) が共通に保有し、DT104 以外の ST の一部や、他血清型菌においても保有株が存在する。*artAB* は DT104 においてはプロファージ (Art プロファージ) 上に存在し、マイトマイシン C (MTC) 刺激により発現が誘導されるが、詳細な発現機構は不明である。本研究では *artAB* の発現機構の解明に向けて、Art ファージの構造を解析した。さらに、Art ファージを介した *artAB* の他菌株への伝達について解析した。【方法】次世代シーケンサーにより ST および他血清型の *artAB* 保有株の全塩基配列を決定し、DFAST (<https://dfast.nig.ac.jp/dfc/>) によりアノテーションを実施した。*artAB* の転写開始点は、MTC で刺激した DT104 U1 株の RNA を用いて、5'RACE 法により同定した。DT104 の Art ファージの伝達性の解析は、ハイグロマイシン耐性遺伝子を Art プロファージに挿入した組換え株のファージ粒子を受容菌に感染させ、選択培地を用いて Art ファージ伝達株を選択して実施した。受容菌には SNP 遺伝子型別により異なる遺伝子型に型別された ST を用いた。【結果および考察】*artAB* 保有株の Art ファージゲノム間の塩基配列を比較した結果、複数の種類の Art ファージが認められた。非 DT104 ST の Art ファージは DT104 の Art ファージと高い相同性を示し、これらの Art ファージは ST の病原性に関与するとされているプロファージ Gifsy-1 に類似していた。他血清型菌の Art ファージは DT104 のものとは異なる Integrase を保有していた。全ての Art ファージが λ ファージ様の構造をとり、*artAB* は後期アンチターミネーター Q 遺伝子の下流に存在していた。*artA* の転写開始点はアンチターミネーター Q 遺伝子の下流に同定され、さらに転写開始点の下流、*artA* の上流にターミネーター様の配列が認められた。これらの構造は志賀毒素転換ファージ上の志賀毒素遺伝子周辺の構造と類似しており、ArtAB が志賀毒素と同様の発現機構を持つ可能性が示唆された。また、DT104 の Art ファージは全ての遺伝子型の ST に伝達したことから、ST における *artAB* の拡散に本ファージが大きく関与することが示唆された。

SOS 応答の阻害剤としての

プロテアーゼ阻害剤の可能性

○横尾勇人¹, 臼井優¹, 中島千絵², 鈴木定彦², 内田郁夫³, 田村豊¹

¹酪農学園大学 獣医学類 食品衛生学ユニット,

²北海道大学 人獣共通感染症リサーチセンター バイオリソース部門,

³酪農学園大学 獣医学類 獣医細菌学ユニット

【背景と目的】近年、医療及び獣医療における薬剤耐性菌の拡散・伝播が大きな問題となっている。細菌の DNA 修復機構の一つである SOS 応答は、耐性獲得頻度及び耐性遺伝子の接合伝達頻度を上昇させることが明らかになっており、SOS 応答の制御が薬剤耐性菌を制御する上で課題となっている。また、SOS 応答により、志賀毒素産生性大腸菌の志賀毒素の産生やサルモネラの百日咳毒素様蛋白の産生を促進させる為、臨床的観点からも SOS 応答の制御は課題となっている。これまで、亜鉛などの SOS 応答阻害剤が報告されてきたが、毒性等の懸念があるため、新規 SOS 応答阻害剤が必要とされている。そこで今回、プロテアーゼ阻害剤であるアンチパインが SOS 応答を抑制するという過去の報告を元に、既に臨床応用されているプロテアーゼ阻害剤であるナファモスタットメシル酸塩 (Naf)、メシル酸ガベキサート (Mec) の SOS 応答阻害剤としての可能性を探った。

【材料と方法】大腸菌に対して SOS 応答の誘導剤としてオフロキサシン (OFL) を曝露し、SOS 応答の指標となる *recA* 遺伝子の発現について定量した。その際、Naf 及び Mec も同時に曝露し、OFL が誘導する SOS 応答への影響を調べた。次に、OFL 曝露後の大腸菌の耐性獲得頻度への Naf 及び Mec の影響を調べた。また、サルモネラに対して OFL で SOS 応答を誘導し、プロファージゲノム上の百日咳毒素様蛋白産生遺伝子 *artA* の発現を誘導し、その発現量への Naf 及び Mec の影響を調べた。

【結果と考察】Naf 及び Mec は、OFL により誘導される SOS 応答を用量依存性に抑制した。また、OFL により上昇した耐性獲得頻度や *artA* の発現量についても用量依存性に低下させた。以上より、Naf 及び Mec は SOS 応答の阻害剤そして薬剤耐性制御物質、細菌毒素の産生阻害剤として有効であることが示唆された。

***Salmonella* Typhimurium DT104 の ArtAB 遺伝子のマウスマクロファージ様細胞内における発現**

○渡久川兼誉¹, 諏訪いずみ¹, 三浦祥¹, 村田亮¹, 玉村雪乃², 楠本正博², 内田郁夫¹

¹酪農学園大学・獣医学群・獣医細菌学ユニット,

²農研機構・動物衛生研究部門・細菌・寄生虫研究領域

【目的】 *Salmonella* Typhimurium の疫学マーカーとしてファージ型が用いられるが、1992 年以降、*S. Typhimurium* definitive phage type 104 (DT104) による成牛のサルモネラ症の増加が報告されている。近年、DT104 のプロファージ上に、百日咳毒素遺伝子と相同性を示す遺伝子 (*artA/artB* (*artAB*)) が見出された。その遺伝子産物である ArtAB は、菌の SOS 応答を誘導するマイトマイシン C やキノロン系抗生物質などの刺激により培養上清中に分泌される。ArtAB はマウスに対して致死活性を示し、百日咳毒素と同様に GTP 結合蛋白質 (Gi 蛋白質) を ADP リボシル化する。DT104 は誘導物質の刺激により *in vitro* において ArtAB を産生するが、感染動物体内や細胞内での発現については不明である。そこで本研究では DT104 をマクロファージ様細胞 RAW264.7 細胞に貪食させ、細胞内での *artAB* の発現について解析した。

【方法】 RAW264.7 細胞を 10 %ウシ胎子血清(FBS)添加 DMEM 培地で 37 °C、5 % CO₂ 下で 72 時間培養した。培養後正常マウス血清でオプソニン化した DT104 を MOI 50:1 となるように加え 1 時間インキュベートした。その後ゲンタマイシン加 10 %FBS 添加 DMEM 培地で 4 時間培養し、続いて 0.1 %の Triton X-100 で細胞を溶解し、得られた細胞内の菌から total RNA を抽出した。当該 RNA とリアルタイム PCR を用いた定量 RT-PCR により *artA* の発現量を定量した。定量値は 16S rRNA 遺伝子発現量で補正した。細胞をあらかじめインターフェロン γ あるいは Phorbol 12-myristate 13 acetate (PMA)で活性化した場合の細胞内における DT104 の *artAB* の発現量を比較する実験も実施した。

【結果と考察】 RAW264.7 細胞内での *artA* の発現量は、DMEM 培地における *in vitro* での発現量と比較して 2.5 倍となり有意に増加し ($p < 0.01$)、*artAB* は RAW264.7 細胞内で誘導的に発現することが明らかとなった。また、細胞の H₂O₂ 産生等を活性化する PAM で処理した場合、さらに発現量が増加する結果が得られた。DT104 を H₂O₂ 処理することによっても *artAB* が誘導的に発現することが知られており、細胞内における発現はマクロファージ内における活性酸素等が誘導因子の一つとなっている可能性が考えられた。

ファージ耐性化の Fitness cost は *P. aeruginosa* の ファージ感受性にトレードオフを誘導する

○藤木純平¹, 古澤貴章¹, マンビ・モンゴメリ¹, 中村暢宏¹, 権平智²,
佐々木道仁³, 臼井優⁴, 樋口豪紀², 澤洋文³, 田村豊^{4,5}, 岩野英知¹

¹酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 獣医生化学ユニット,

²酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 獣医衛生学ユニット,

³北海道大学 人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門,

⁴酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 食品衛生学ユニット,

⁵酪農学園大学 動物薬教育研究センター

【要旨】

薬剤耐性（AMR）が顕在化した今日、AMR 対策を推進しない場合には 2050 年に全世界で 1 千万人が薬剤耐性菌によって命を落とすことが推定されている。特に *Pseudomonas aeruginosa* は、AMR を顕著に獲得している薬剤耐性菌の一つとして知られており、WHO は 2017 年に“The critical priority pathogens for developing new antibiotics”として *P. aeruginosa* をリストアップしている。これらの背景を受けて、新規（代替的）抗菌戦略の構築は喫緊の課題であり、細菌特異的に感染するウイルス、バクテリオファージを応用したファージ療法に対する期待は格段に高まっている。しかしながら、ファージ療法におけるファージ耐性菌の出現は、ファージ療法を成功に導くための障壁となることが指摘されている。一方で、進化生物学に基づく表現型の trade-off 機構、すなわち特定の選択圧に対する適応が異なる表現型を減弱させる適応コスト（Fitness cost）が知られており、ファージ（選択）による細菌のファージ耐性化（適応）は、ファージ耐性菌に Fitness cost を強めていることが示唆される。そこで本研究では、進化学的な trade-off 機構をファージ療法に応用することを目標として、*P. aeruginosa* を標的としたバクテリオファージの探索を試み、分離された 4 種のバクテリオファージ（ΦR12、ΦS12-3、ΦR26、ΦS50）の溶菌特性について解析を展開した。形態学的・系統学的解析の結果、4 種のバクテリオファージは Myoviridae 科に分類されることが示され、*Pseudomonas* ファージである PB1 と近縁であることから PB-1 like ファージであることが推定された。これら PB-1 like ファージのうち ΦR12 は、39 株の *P. aeruginosa* 臨床分離株に対して 4 種のバクテリオファージの中で最も広い宿主域（> 75%）を示した。続いて、*P. aeruginosa* のファージ耐性獲得による Fitness cost を解析するため、ΦS12-3 にファージ耐性を示す *P. aeruginosa* 変異株（Pa54 mt^{ΦS12-3}）を分離した。興味深いことに、得られた Pa54 mt^{ΦS12-3} は、Pa54 WT と比べて ΦR12、ΦR26、ΦS50 に高い感受性を示すことが観察された。また、ΦR12 と ΦS12-3 を組み合わせたファージカクテルは Pa54 に対して持続的な溶菌活性を示した。これらの結果から、ファージ感受性の進化学的 trade-off を応用することは、ファージカクテルの作用を最大化させるファージの組合せが存在することを示唆しており、ファージ療法の推進とファージ耐性菌対策において戦略的なファージカクテルの構築に貢献できる可能性を有している。今後、ファージ感受性の trade-off 機構における標的分子を genome-wide な解析を通して明らかにすることを計画している。

多剤耐性大腸菌におけるファージ耐性形質獲得に伴う進化学的トレードオフの Forward Genomics 解析

○マンビモンゴメリ¹, 藤木純平¹, 青木弘太郎², 石井良和², 舘田一博²,
川口千佳¹, 臼井優³, 田村豊³, 岩野英知¹

¹酪農学園大学獣医化学ユニット, ²東邦大学微生物・感染症学講座,

³酪農学園大学食品衛生学ユニット

【背景】ペニシリンの発見以来、抗生物質は細菌感染症治療の基盤となっているが、抗生物質に対する耐性を獲得した病原菌が顕在化し、薬剤耐性菌は世界的な問題となっている。近年、抗生物質に替わる新規抗菌戦略として、細菌に感染するウイルスである”バクテリオファージ”を用いた”ファージセラピー”に対する期待が格段に高まっている。一方で、ファージ耐性菌はファージセラピーの重要な課題の一つであると考えられているが、米国初のファージセラピーの成功例として知られるパターンソン症例では、ファージ耐性菌の出現を、新たにファージを環境中から分離することで治療を成功へと導いた。また、興味深いことに、ファージ耐性形質獲得に伴い、薬剤耐性や病原性の低下、増殖効率の低下などの進化学的トレードオフが報告されているが、ファージを用いた細菌の表現型トレードオフ機構をファージ耐性の対抗手段としてファージセラピーに応用する試みは未だ世界的にも実施されていない。

そこで本研究では、多剤耐性大腸菌 HUE1 のファージ耐性変異株を選択・分離し形質の変化とそれを裏付けるゲノムの変異を特定することを目的とした。

【方法】本研究では、北海道大学病院にて分離されたヒト由来臨床分離株で、フルオロキノロン系薬剤などに広く耐性を示す多剤耐性大腸菌 HUE1 を用いた。HUE1 を含む LB トッペアガーに、東京都下水より分離した L27 バクテリオファージを過剰量混合後、寒天培地に播種し、形成された大腸菌コロニー (L27 耐性変異株: HUE1 mt) を採取した。得られた HUE1mt について、コロニー性状の確認・増殖曲線の評価・薬剤感受性試験、および T 系ファージのスポットテストを実施し、HUE1 WT と結果を比較した。

【結果と総括】HUE1WT と mt のコロニー性状・増殖曲線・薬剤感受性に大きな変化は認められなかったが、L27 以外の T 系ファージに対する感受性の変化が観察された。今後 HUE1 WT と mt の比較ゲノム解析を実施し、確認されたファージ感受性トレードオフの分子生物学的機序を解明していく方針である。

耐性菌時代の新戦略ーファージ療法の基礎と応用ー

丹治 保典
東京工業大学 生命理工学院

はじめに

Frederic Twort は 1915 年、バクテリアを溶かしてしまうウイルス（バクテリオファージ）を偶然発見した。その後多くの科学者がファージを抗菌剤として用いようと試みた。いわゆるファージセラピー（Phage therapy）の始まりである。しかし Alexander Fleming がペニシリンを発見(1929 年)してから、その座は完全に抗生物質に奪われてしまった。多剤耐性菌の出現に代表される抗生物質の問題点がクローズアップされた昨今、再びファージセラピーが注目されている。講演では大腸菌 O157:H7 と黄色ブドウ球菌を例に、ファージセラピーの可能性と解決すべき問題点を紹介する。

1 下水流入水はファージの宝庫

日本人は一日平均約 300L の水道水を使用する。使用した水道水のほとんどが下水として処理場へ流入する。もちろん下水にはヒト糞便が含まれる。排泄する糞便の量が約 200(g/人・日)なら下水はヒト糞便の希釈液（1/1500）と捉えることができ、ファージを含むウイルス、病原細菌、薬剤耐性菌などの宝庫でもある。

都市下水処理場に流入する生下水を 1 年間に渡り採取し、病原性大腸菌 O157:H7 に関連する遺伝子を Multiplex PCR 法を用い検出しところすべての試料から O157 関連遺伝子が複数検出された。健康なヒト腸内細菌叢における O157 の存在は希ではないことを示唆する。宿主も存在すればファージも存在する。O157 ファージの検出を行ったところ、流入水には透明なプラークを形成するファージが数百 PFU(Plaque Forming Unit) /ml 存在した。O157 ファージに限らず、多くのヒト病原菌に感染性を示すファージを下水流入水から入手できる。ファージハンターにとって下水流入水は格好の狩猟場である。

2 ファージによる大腸菌 O157:H7 の制御

ある健康体の豚糞から約 4 千万 PFU/g もの溶菌性ファージが検出され、そのファージを PP01 と名付けた。PP01 は由来の異なる 5 種類の O157 には感染することができたが、他の表面抗原を持つ大腸菌や他の類縁細菌には感染しなかった。PP01 は O157 の外膜タンパク質 C (Omp-C)を目印(レセプター)に感染する。O157 に PP01 を添加すると濁度の減少を伴う溶菌が観察された。しかし、培養を続けると、宿主がファージに対し耐性化した。耐性菌の出現はファージセラ

ピーを実現するうえで最大の課題である。宿主のファージ耐性化を回避する手段としてファージカクテル（複数種のファージ混合液）の使用がある。レセプターの異なるファージを混合することが「うまいカクテル」を作るコツである。

3 ファージによる黄色ブドウ球菌の制御

動物感染症の治療/予防、および家畜の成長促進を目的とした飼料添加物として年間合計約 1,020 トンもの抗生物質が日本において使用されており(2011 年、IMS 医薬品販売量統計)、その量はヒト用の約 1.8 倍に相当する。家畜感染症の多くは人畜共通であり、家畜で生じた薬剤耐性菌は農業従事者、食肉を介しヒトに感染する可能性がある。牛乳房炎は乳頭から細菌が感染し生じ、酪農家にとってもっとも経済的損失の大きな牛の疾病である。牛乳房炎のファージセラピーを目指し、乳房炎罹患牛の乳汁から分離した黄色ブドウ球菌を用いファージのハンティングを行った。都市下水流入水から分離したファージ□SA012 の宿主域は非常に広く、北海道でスクリーニングされた牛乳房炎起因黄色ブドウ球菌数十種すべてに、またヒト由来 MRSA にも感染性を示した。

おわりに

ヒトを含む動物の腸内細菌叢には多くのファージが存在する。もしかすると細菌総数より多いかも知れない。生態系においてファージを含むウイルスは特定の種だけが異常増殖するのを防ぐ役割を担っている。もしファージが欠落しているならそれらを人為的に供給すれば良い。この発想はファージセラピーやファージによるプロバイオティクスに繋がる。ファージセラピーは自然の摂理に従った治療/予防法とも言える。

魚病細菌 *Tenacibaculum maritimum* に感染する 新規ファージの分離

○楠本晃子，秀島悠

帯広畜産大学 動物・食品検査診断センター

滑走細菌症は様々な海水魚で発生し、国内外の養殖場で問題となっている。日本では滑走細菌症のワクチンはなく、治療のための水産用医薬品は魚種やサイズが限られている。したがって、滑走細菌症がいったん発生すると終息まで長い期間を要し、経済被害が甚大になる傾向がある。近年、薬剤耐性菌の懸念や食の安全への関心の高まりから、医薬品に頼らない予防および治療法としてファージ療法が注目されている。そこで、本研究は滑走細菌症のファージ療法を目的として、滑走細菌症の原因菌 *Tenacibaculum maritimum* に感染するファージを分離した。

滑走細菌症の発生が見られる海域の海水からファージの分離を行った。近畿大学水産研究所の海上養殖生簀において、滑走細菌症の発生が見られた期間に海水を採取した。海水試料を用いて Enriched Anacker and Ordal 培地を調整し、*T. maritimum* R-2 株を接種し、培養することで海水中のファージを増幅した。培養液を遠心分離し、得られた上清と R-2 株を用いて二重寒天法を行い、培地上に生じたプラークを採取し、14 株のファージを得た。

電子顕微鏡観察の結果、すべての株が多角形の頭部と収縮性の尾部を持つミオウイルス科のファージであることを確認した。また、興味深いことに、ファージの頭部に数本の繊維状構造物が観察された。

ファージ株の感染宿主域をスポットテストにより調べた。全ての分離ファージ株は *T. maritimum* 近縁種、および、海洋性細菌を溶菌しなかった。この結果から、ファージは *T. maritimum* 特異的であることが分かった。次に、*T. maritimum* 臨床株 15 株に対する感染性を調べた。最も感染宿主域が広がったファージ 4-3 株は 15 株中 9 株を溶菌した。分離したファージ 14 株で、11 通りの感染スペクトルが見られたことから、多様なファージが分離されたことが分かった。

Staphylococcus aureus に対するバクテリオファージ ライブラリー構築に向けた溶菌活性評価法の検討

○北名純也¹, 高橋宏充¹, マンビ・モンゴメリ¹, 中村暢宏¹, 藤木純平¹,
樋口豪紀², 臼井優³, 田村豊⁴, 岩野英知¹

¹酪農大 獣医・獣医生化学, ²酪農大 獣医・獣医衛生,

³酪農大 獣医・食品衛生, ⁴酪農大 獣医・動物薬教育研究センター

【背景・目的】近年、薬剤耐性菌の顕在化を受けて、薬剤耐性対策が世界的に注目されており、抗菌戦略の担い手として“バクテリオファージ”を用いた“ファージ療法”に対する期待は格段に高まっている。薬剤耐性菌感染症の発生において、分離された原因菌に対して効果的なバクテリオファージをカクテル化して処方する「パーソナライズ・ファージ療法」が効果的であると考えられ、迅速なファージ・カクテルの調製には「ファージライブラリー」の構築が不可欠である。しかし、本邦におけるファージライブラリーの構築と運用は過去に例がなく、効果的なファージライブラリーの構築に向けたファージ選抜方法の確立は喫緊の課題である。そこで、本研究では溶菌活性を指標としたバクテリオファージの選抜と分類を試みた。また、本方法を用いてファージ由来溶菌酵素エンドライシンの溶菌活性も評価した。

【材料・方法】本研究が所有するバクテリオファージ (phiSA012) とバクテリオファージ由来溶菌酵素エンドライシン (Lys-phiSA012) が、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)を含む複数種の野外由来 *Staphylococcus aureus* に示す溶菌活性を、Kinetics 計測型プレートリーダーを用いて吸光値の変化を経時的に測定することにより評価した。また、得られた溶菌活性値を指標としてバクテリオファージの分類を実施した。

【結果・考察】phiSA012 は複数種の *Staphylococcus aureus* に対して MOI 依存的な溶菌活性を示すことが示唆された。溶菌活性値は、対象となる被験菌によって異なるパターンを示したことから、本方法を用いることで溶菌活性を指標とした多種類のバクテリオファージの選抜系を構築できる可能性が示された。ファージは単体で用いると、それに対して耐性菌が出現する。そのため、ファージを実際に用いるには異なる溶菌活性 (溶菌特異性) のものを混合した、ファージのカクテル化が必須となる。本方法により、適切なファージカクテル化剤を迅速に構築することが可能となると考えている。

黄色ブドウ球菌ファージ由来溶菌酵素

LysΦSA012 の機能解析

○中村暢宏¹, 藤木純平¹, 北名純也¹, 岩野英知¹

¹酪農学園大学 獣医学類 獣医生化学ユニット

【目的】

ペニシリンの発見に続く抗菌薬開発は、人類に細菌と戦う治療戦略をもたらしてきた。しかし、様々な菌種に対して広域スペクトルをもつ抗菌薬はその利便性ゆえに不適切な使用が繰り返され、その結果薬剤耐性菌の出現が世界中で問題となっている。近年、薬剤耐性菌問題に対する切り札として、バクテリオファージ（以下ファージ）を用いたファージ療法やファージが用いる溶菌酵素『エンドライシン』が新規抗菌性物質として期待され始めている。本研究では黄色ブドウ球菌に広く溶菌活性を持つファージ由来エンドライシン LysΦSA012 の臨床応用を見据えた機能解析を実施した。

【材料・方法】

LysΦSA012 を大腸菌タンパク質発現系を用いて発現・精製した。濁度測定法を用いて溶菌活性を評価し、様々な *Staphylococcus* 属菌に対する溶菌スペクトルを調査した。また、LysΦSA012 の機能解析を行うためにドメイン欠失体の構築、さらに立体構造モデリングを基にした 2 価イオンによる溶菌活性の修飾機構を精査した。

【結果】

精製した LysΦSA012 は多剤耐性臨床分離株を含む *Staphylococcus* 属菌に広く、且つ急速な溶菌活性を示した。また、ドメイン欠失体を用いることで、LysΦSA012 の活性には触媒ドメインの CHAP ドメインと細胞壁結合ドメインの SH3b が必須であることが分かった。さらに、立体構造モデリングから Ca^{2+} と Zn^{2+} の結合領域の存在を推定でき、それぞれ 1mM 以上の Ca^{2+} と 100μM の Zn^{2+} 存在下で溶菌活性が有意に増強されることを確認した。

【考察】

LysΦSA012 の溶菌活性は *Staphylococcus* 属菌特異的であり、同属菌内の菌種には広く溶菌活性を示すことから、正常細菌叢を保ちつつ病原菌のみを排除するという治療展開が期待される。また、エンドライシンは遺伝子工学的改変が容易であることからアミノ酸を置換した組換えエンドライシンを構築し、さらなる溶菌活性の向上を検討している。

十勝における犬猫から分離された

Staphylococcus pseudintermedius の薬剤感受性

○上畠沙綾¹、富張瑞樹¹、楠本晃子²

¹帯広畜産大学 動物医療センター、

²帯広畜産大学 動物・食品検査診断センター

【背景】*Staphylococcus pseudintermedius* はイヌ・ネコの表皮および粘膜の常在菌で、膿皮症の起因菌である。近年、多剤耐性 *S. pseudintermedius* が世界中で報告されている。そこで我々は十勝地区における *S. pseudintermedius* の薬剤耐性状況について調査した。

【方法】2019年2～6月に帯広畜産大学 動物医療センターに来院したイヌ・ネコから皮膚スワブをサンプリングした。スワブを7.5% NaCl 加 BHI 培地に接種し、37℃で18時間増菌した後、マンニット食塩寒天培地に接種し、37℃で48時間培養した。カタラーゼ試験、グラム染色、Multiplex PCR によって菌種同定を行った。分離株について、11種類の抗生物質（アンピシリン（ABPC）、オキシシリン（MPIPC）、セファレキシン（CEX）、イミペネム（IPM）、ゲンタマイシン（GM）、テトラサイクリン（TC）、クロラムフェニコール（CP）、エリスロマイシン（EM）、ホスホマイシン（FOM）、エンロフロキサシン（ERFX）、クリンダマイシン（CLDM））に対する薬剤感受性をディスク拡散法により調べた。MPIPC耐性はメチシリン耐性（MR）と判定した。

【結果】イヌ111頭から27株、ネコ33頭から1株の *S. pseudintermedius* を分離した。これらについて薬剤感受性試験を行ったところ、9剤耐性が5株（17.9%）、8剤耐性が7株（25.0%）、7剤耐性が4株（14.3%）であった。ABPC（27株、96.4%）、TC（22株、78.6%）、ERFX（21株、75.0%）、EM（20株、71.4%）に対する耐性率が高かった。一方、IPM（0株、0.0%）、FOM（1株、3.6%）に対する耐性率は低かった。MR株（16株、57.14%）および感受性（MS）株における、他の薬剤に対する耐性状況を比較した。MS株は0～7剤に耐性を示したが、MR株はMPIPCの他に5～8剤に耐性を示した。ABPC（MR株100.0%、MS株91.7%）、CEX（MR株68.75%、MS株0.0%）、GEM（MR株50.0%、MS株16.7%）、TC（MR株93.8%、MS株58.3%）、CP（MR株87.5%、MS株25.0%）、EM（MR株100.0%、MS株33.3%）、ERFX（MR株100.0%、MS株41.7%）、CLDM（MR株100.0%、MS株16.7%）に対する耐性率はMS株に比べMR株の方が高かった。

本研究から、十勝のイヌ・ネコにおいて多剤耐性 *S. pseudintermedius* を高率に保有することが明らかとなった。小動物臨床において、多剤耐性 *S. pseudintermedius* の存在を念頭に置いた治療が求められる。

イトトンボが保有する薬剤耐性菌の検出と 分離菌株の性状解析

○大久保寅彦¹, 山口裕々², 綿路昌史², 榎枝秀明¹, Jeewan Thapa¹, 山口博之¹

¹北大院・保科・病態解析, ²札幌旭丘高校

【背景】薬剤耐性菌の出現と拡散は世界中で問題となっており、抗菌薬による選択圧が存在しないはずの自然環境中にも拡散していることが報告されている。また、ハエや甲虫などの昆虫から薬剤耐性菌を検出した報告もあり、環境中に耐性菌を広める要因として昆虫が寄与している可能性も指摘されている。ショウジョウバエなど双翅目に属する小型の昆虫は、耐性菌を運ぶメカニカルベクターであり、耐性菌を家畜やヒト間で広める要因の一つと考えられている。一方、これまでの研究は薬剤耐性菌への曝露機会が多いと思われる糞食性昆虫が中心であり、そこから先の拡散については不明である。そこで本研究では、自然環境における耐性菌の拡散状況を明らかにするために、昆虫捕食性である野生のイトトンボが保有する薬剤耐性菌の検出と性状解析を実施した。

【材料および方法】札幌近郊の7地点（東屯田川、安春川、篠路川、篠路新川、トンネウス沼、大野池、五天山公園）においてイトトンボ（ $n=405$ ）を捕獲し、手指の細菌が混入しないよう三角紙に包んで2日間飼育している間に自然排便された糞便を回収した。捕獲地点の河川・湖沼の水も採取し、環境指標（pH、リン酸、アンモニア、COD、大腸菌群数等）を測定した。糞便懸濁液および水サンプルはSCD寒天培地・DHL寒天培地に接種して細菌数を算出するとともに、抗菌薬添加DHL培地に接種して薬剤耐性腸内細菌科細菌の分離を試みた。分離菌株については質量分析とAPI 20Eキットにて菌種を同定した。耐性菌のMICと採取場所の関連性についてクラスター解析を行った。

【結果・考察】CODやリン酸、アンモニア濃度は篠路新川（東区の水排水が流入）で高く、大腸菌群数は安春川（高度処理された下水を放流）で多かった。水の総菌数は 1.0×10^2 CFU/mL前後だったのに対し、糞便懸濁液では 1.0×10^8 CFU/mL前後となった。耐性菌としてはアンピシリン耐性株が全地点で、テトラサイクリン耐性株が6地点で、カナマイシン耐性株が2地点で分離された。アンピシリン耐性株の多くは *Serratia* 属や *Enterobacter* 属など自然抵抗性と思われる種類が中心だった。一方、テトラサイクリン耐性株には *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Stenotrophomonas maltophilia* などの菌種が含まれていた。クラスター解析の結果、篠路新川は他の採取場所に比べ耐性菌の検出頻度が高かった。イトトンボが耐性菌の環境汚染の指標となりうる可能性を示唆している。

大腸菌の乾燥抵抗性に関係する因子の探索

○榎枝秀朗、小倉良太、大久保寅彦、山口博之

北大院・保科・病態解析

【背景と目的】手すりやドアノブ、エレベーターのボタンをはじめとした、人が触れる頻度の高い場所は、病原細菌を含め多くの細菌が付着する場所であり、医療関連感染の原因となっている。これらの場所は通常乾燥しており、そこに付着している病原細菌は乾燥抵抗性を獲得していると考えられる。現在、グラム陰性菌の乾燥抵抗性に関わる因子ははっきりと分かっていない。そこで、グラム陰性菌の代表的な細菌である *Escherichia coli* を用いて、乾燥条件下での生存性を測定するとともに、乾燥抵抗性に関する因子を探索した。

【材料・方法】まず、実験開始時の菌数を一定とするため、McFarland 0.5 濁度計と同程度になるように、菌株を LB broth に懸濁した。この菌液を 1 スポットあたり 1.0×10^6 CFU となるよう、プラスチックシャーレ上にスポットして乾燥させた。一定時間後に生理食塩水でスポットから菌を回収し、LB 寒天培地で培養して生菌数を求めた。温度による生菌数の違いを検討するため、15℃、30℃、37℃でそれぞれ静置して生菌数を比較した。また、他の細菌が与える影響を検討するため、*E. coli* ATCC25922 と *Staphylococcus aureus* ATCC29212 を混合してスポットした。乾燥後、菌体形状を電子顕微鏡で観察した。さらに、乾燥抵抗性に関与する遺伝子の候補を探索するため、トランスポゾン (Tn) 挿入株ライブラリー (n=85) の乾燥下での生存性を元株と比較した。

【結果および考察】温度による生菌数の違いとして、スポット直後の *E. coli* 生菌数を 1 として 4 日静置した後の *E. coli* 生菌数を比較した結果、15℃と比べ、30℃および 37℃では生存率が 10^2 程度少なかった。そのため、温度が高い方が乾燥下における生存性が悪化することが分かった。30℃においては、*E. coli* を単独でスポットした場合と比較して、*E. coli* と *S. aureus* を混合してスポットした場合の方が、*E. coli* 生存率が 10^2 程度高いという結果が得られた。このことから、異種の細菌が同時に存在することで、乾燥抵抗性が上昇することが示唆された。電子顕微鏡では、乾燥後も菌体の形状が概ね維持されている様子が観察された。さらに、実験的な手すりのモデルを作成し、これを用いて *E. coli* の乾燥条件下における生存性を測定した結果、上記と同様の結果が得られた。Tn 挿入変異株を作出した結果、1 株の乾燥抵抗性減弱株が得られた。Tn 挿入部位の確認により、この菌株は *nhaA* 遺伝子 (Na^+/H^+ antiporter) が破壊されていることが分かった。この菌株はスポット直後の時点で元株と比べて生菌数が大幅に減少していたことから、*E. coli* の乾燥抵抗性においては *nhaA* 遺伝子が関与していることが示唆された。以上の結果より、医療施設内においては、付着表面の温度や異菌種の存在が、*E. coli* の乾燥抵抗性を高めている可能性が示されたとともに、乾燥抵抗性に関係する新たな遺伝子の候補を見つけることができた。

大腸菌での薬剤耐性遺伝子の接合伝達頻度に バイオフィルムや抗菌薬暴露が及ぼす影響

○岡村真吾, 白井優, 田村豊

酪農学園大学 獣医学群 食品衛生学

【背景と目的】

薬剤耐性菌の拡散は、公衆衛生上の重要な課題となっている。耐性菌の拡散は、耐性遺伝子の水平伝達が関与しており、中でも接合伝達は拡散のスピードが早いことから、特に対策が必要とされている。今回、臨床や自然環境での接合伝達の制御を目的として、接合伝達頻度に影響することが予想される条件（バイオフィルム状態や抗菌薬暴露時）における接合伝達試験を実施した。

【方法】

ドナー株として ESBL 産生 *E.coli* 野外株（2 株）、レシピエント株として K12 系統の *E.coli* 株（2 株）を用いて、MIC 濃度以下の複数の抗菌薬暴露・非暴露の条件下で液体培地とバイオフィルム中における接合伝達試験を行った。また、1/8MIC 濃度のオフロキサシン（OFLX）の暴露・非暴露の条件下で液体培地における SOS 反応関連遺伝子（*recA*）と接合伝達関連遺伝子（*tra*）の発現量を qPCR で測定した。

【結果】

接合伝達頻度は、抗菌薬非暴露時において、バイオフィルム中で有意に上昇する組み合わせが認められた。また、リファンピシン、セファゾリン、ゲンタマイシン及び OFLX 暴露時において、バイオフィルム中で接合伝達頻度の有意な上昇が維持される組み合わせが認められた。特に、1/8MIC 濃度の OFLX を暴露した際、この傾向は顕著に認められた。さらに、*recA* 遺伝子と *tra* 遺伝子群の発現量は、1/8MIC 濃度の OFLX 暴露時において、有意に上昇した。

【考察】

バイオフィルム状態と MIC 以下の OFLX 暴露は、大腸菌での接合伝達頻度を上昇させる因子であることが示唆された。これら二つの因子は、SOS 反応を誘導することから、SOS 反応と接合伝達頻度上昇の関連性が示唆される。より詳細なメカニズムを明らかにするため、SOS 関連遺伝子変異株を用いた接合伝達試験や、バイオフィルム中での *recA* と *tra* 遺伝子群の発現量測定を実施している。

絨毛虫によるヒト病原細菌と水系環境細菌間の 双方向的な薬剤耐性プラスミド伝達の促進

○長谷川貴生¹, 松下瑞江¹, 大久保寅彦¹, 中村眞二², 松尾淳司³,
Jeewan Thapa¹, 山口博之¹

¹北大院・保科・病態解析 ²順大院・医・形態解析イメージング,

³北海道医療大

薬剤耐性菌の拡散要因の一つは、細菌間でのプラスミドを介した薬剤耐性遺伝子の水平伝播にある。しかしながら環境中のホットスポットは未だ見つからない。一方、私達は、水系環境に広く生息する絨毛虫が大腸菌間のプラスミド伝達を促進させることを明らかにし、絨毛虫が病原細菌と環境細菌の間で薬剤耐性遺伝子の橋渡し役になっている可能性を指摘した(Matsuo ら RM 2010, Oguri ら JAC 2011, Okubo ら IJAA 2017)。そこで本研究では、絨毛虫 (*Tetrahymena* sp. および *T. thermophila*) の存在下で大腸菌 (TC170328 や J53) と環境細菌 (河川水由来のエロモナス) 間での双方向的な耐性遺伝子の伝播について検討した。*bla*_{IMP-1} 遺伝子 (カルバペネム耐性) を保有する臨床由来のプラスミドを用い、各種条件下で接合伝達試験を実施した。その結果、絨毛虫の存在は、*bla*_{IMP-1} 遺伝子の大腸菌とエロモナス間の伝達頻度を双方向共に非存在下と比べて有意に上昇させた (大腸菌>エロモナス: 100 倍; エロモナス>大腸菌: 10 倍)。また、絨毛虫との共培養時における大腸菌およびエロモナスの生菌数は絨毛虫非存在時と比べて有意な差は認められなかった。トランスウェルを用いて細菌と絨毛虫の直接的な接触を絶つと、接合伝達頻度の促進現象は起こらなかった。このように絨毛虫は、細菌に物理的に接触することで、大腸菌とエロモナスの間の双方向的な接合伝達を促進させることが明らかとなった。これらの結果は、環境中に薬剤耐性大腸菌が排出された場合、絨毛虫が環境細菌への耐性遺伝子伝播を促進し、環境細菌がそれら耐性遺伝子のリザーバーになる可能性を示唆している。この現象が実際の野外環境でも生じうるかを検証するために、下水道から分離した薬剤耐性大腸菌、エロモナス、絨毛虫を材料として同様の実験を行ったところ、接合伝達頻度は細菌のみの場合と同程度 (10^{-4} ~ 10^{-5}) であり、実験室株を用いた場合に見られたような伝達頻度の上昇は見られなかった。現在、温度の変更などにより、伝達頻度上昇をもたらす条件を検討中である。

【非会員共同研究者：早坂かすみ、秋沢宏次 (北大病院 検査・輸血部)】

野外水系環境由来の繊毛虫存在下における

Legionella pneumophila の生存性の検討

○川代愛梨¹, 大久保寅彦¹, 中村眞二², Jeewan Thapa¹, 山口博之¹

¹北大院 保科・病態解析, ²順天堂大院 医・形態解析イメージング

【背景・目的】レジオネラ属菌は河川や土壌に存在する細菌であるが、エアロゾルを発生させる人工環境（循環式浴槽、冷却塔等）を介して人に感染するとレジオネラ肺炎などを引き起こす。特に高齢者や新生児、免疫力が低下している人では感染のリスクが高い。以前の研究でレジオネラと原生動物との間に相互作用があることが分かっているが、主にアメーバとの相互作用についての報告であり、繊毛虫についてはあまり報告されていない。アメーバと同様に身の回りの生活用水中に存在する繊毛虫とレジオネラの相互作用について明らかにするため、本研究ではレジオネラと野外の水系環境から採取した繊毛虫2種および実験室株の繊毛虫とをそれぞれ共培養し、レジオネラの生存性を検討した。

【材料・方法】4型分泌装置の遺伝的背景が異なる2種の *Legionella pneumophila* JR32 および JR32 Δ dot/icm（静岡県立大 三宅博士より分与）と、マンホール下水から採取された *Anteglaucoma* sp. CS11A、排水管から採取された *Colpoda* sp. E6、実験室株の *Tetrahymena thermophila* 1B の3種の繊毛虫を用いた。事前実験として FITC ビーズを用いた貪食能の比較を行った。レジオネラ（ 10^7 CFU/ml）と繊毛虫（ 10^3 cell/ml）をそれぞれ Page's amoeba saline で懸濁後、室温で共培養した。蛍光顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡での観察、BCYE 寒天培地への接種、qPCR によりレジオネラ数の経時的推移を解析した。

【結果・考察】貪食試験の結果、*Anteglaucoma* は他の2種と比べ長時間ビーズを保持することが分かった。顕微鏡写真より *Tetrahymena* はレジオネラを丸い集塊として細胞内に保持することが観察された。*Anteglaucoma* もレジオネラを取り込んでいたが *Tetrahymena* のような集塊は形成しなかった。*Colpoda* においては明確な GFP シグナルを確認できなかった。レジオネラの GU (Genomic Unit) を、Day0 から Day25 まで測定した結果、Lp JR32、JR32 Δ dot/icm とともにレジオネラのみでの培養ではほぼ横ばい、*Colpoda* と *Tetrahymena* との共培養では Day 0 と比較して 10^{-2} ~ 10^{-3} まで減少した。*Anteglaucoma* との共培養で JR32 は 10^{-1} までの減少にとどまったのに対し、JR32 Δ dot/icm は *Colpoda* や *Tetrahymena* と同様に 10^{-3} 程度にまで減少した。このことから野外には4型分泌装置依存的にレジオネラを長期間維持できる繊毛虫が存在することが示唆された。

空气中浮遊細菌の捕獲とその性状解析

○鷲見優斗, 西尾七海, 吉川達哉, 大久保寅彦, Jeewan Thapa, 山口博之
北大院・保健科学・病態解析

公共空間の菌叢には、通行人の体表部や呼気から遊離する細菌が含まれており、そこに病原細菌が含まれていれば、通行人を介して感染症が拡散するリスクとなる。私達は、その制御法を探索することを最終目的として札幌地下歩行空間にて空気を採材し、温度、湿度、微粒子数、通行人数、生菌数と菌叢の変化について検討した (Okubo et al, PLoS ONE, 2017)。その結果、空間の菌叢 (OTU 数) と生菌数は、地下空間の温度、湿度、微粒子数、通行人数と密接に連動し、温度・湿度が上昇した際、その空間に浮遊する粒子数 ($0.1\text{-}0.5\mu\text{m}$ 径) が上昇し、それに伴い通行人数と菌叢変化さらに遊離する生菌数が関連性を示した。その一方、この調査の採材方法はフィルター法であり、回収粒子が乾燥してしまうため、乾燥に弱い細菌 (特にグラム陰性菌) を生きたまま回収するには不向きである。今回の研究では、空气中浮遊細菌を生きたまま捕獲することを目的に、インピンジャー (BioSampler (SKC, Inc, USA)) [捕集液 20mL を入れたガラス製容器の床面に噴流を衝突させ粒子を液中に捕捉する方法] を使用し、空气中の生菌を効率良く回収するために最適な捕集液を選びだし、実際の環境にて空気を採材 ($10.0\text{L}/\text{min}$ で 90 分間) し、浮遊細菌の分離培養 [SCD 培地 (一般細菌用)、R2A 培地 (環境細菌用)、7H11 培地 (抗酸菌用)] を行なった。 *E. coli* と *S. aureus* の捕集液中 [滅菌蒸留水 (dw)、50%グリセリン添加 dw、滅菌 PBS、Tween 20 添加 dw] での生存性を比較したところ、dw を捕集液として使用した際、最も効率良く生菌が回収された。実際の環境 (①北大構内、②札幌地下歩行空間、③牛舎前) で空気を採材したところ、浮遊細菌数は① $3.1 \times 10^3 \text{CFU}/\text{m}^3$ 、② $1.9 \times 10^3 \text{CFU}/\text{m}^3$ 、③ $1.2 \times 10^2 \text{CFU}/\text{m}^3$ 程度であった。16S rDNA の塩基配列に基づいて菌種同定を行なったところ、地下歩行空間では *Staphylococcus hominis* や *Micrococcus sp.* などヒト皮膚常在菌が分離されたのに対し、牛舎前では *Rhodococcus sp.* など環境菌が分離された。また本法で分離された約 50% 程度の菌株がグラム陰性菌だったので、乾燥に弱い細菌を含む浮遊細菌を効率良く回収できる可能性がある。その一方でインピンジャー法の採材効率は決して高くない。そこで現在、1 分間あたりの空気採材効率が 1,000L となるデバイスを自作し、それを用いて空气中浮遊微生物の検出を試みているので、その結果も合わせて紹介したい。

劇症型セレウス菌のゲノム比較解析

○宮嶋祐哉

北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター 感染・免疫部門

セレウス菌 (*Bacillus cereus*) は *Bacillus* 属に属するグラム陽性桿菌である。土壌や汚水など自然界に広く存在し、健康成人の 10% が腸管内にセレウス菌を保菌している。セレウス菌感染症の主な症状として、食中毒症状を伴った感染性胃腸炎が挙げられるが、近年、国内でセレウス菌感染が劇症化し感染者が死亡に至る症例が複数例報告されている。先行研究において、日本国内の劇症型セレウス菌による院内感染事例 (2006 年栃木、2013 年東京及び 2016 年鳥取) で単離されたセレウス菌 144 株に対して MLST 解析を行った。結果として、新たに見つかったシークエンスタイプ (ST1420) の 41 株が院内感染および菌血症と密接に関連する菌株であることがわかった。また、MLST 解析で得られた塩基配列を元に系統樹を作成したところ、セレウス菌 ST1420 はセレウス III 系統に位置しており、他のセレウス系統より炭疽系統に遺伝的に近縁であることが示された (Akamatsu *et al*, *Emerg Infect Dis*, 2019)。しかしながら、劇症型セレウス菌について病態発現機構及び本菌が産生する病原因子について明らかにされていない。

そこで本研究では、劇症型セレウス菌の病原因子を特定するため、上記の 144 株のうちセレウス菌 ST1420 を 41 株含む 104 株について Illumina Miseq を用いて全ゲノム解析を行った。104 株の全ゲノム情報と、データベース上に公開されているセレウス菌全ゲノム情報を比較した結果、セレウス菌 ST1420 に固有の遺伝子群が 33 個発見された。それらの遺伝子群を遺伝子産物の分子機能に基づいて分類したところ、15 個が未分類、18 個が線毛形成、膜タンパク質修飾、制限修飾、lasso ペプチド合成、薬剤耐性または毒素のいずれかのカテゴリーに分類された。これらに関連する分子のうち、Lasso ペプチドは抗菌作用を有する環状ペプチドであり、また、毒素は周辺に存在する微生物並びに宿主細胞の増殖に影響を与える toxin-antitoxin (TA) system を有している。これらのシステムは様々なストレス環境下や多様な微生物種が存在する環境において、自身が優占し生き残るために保持している可能性があると考えられる。今後、本解析で検出した遺伝子群と劇症化セレウス菌の病原性との関連について解析を進めていく予定である。

Carbapenem inactivation method (CIM) を応用した ESBL と AmpC β ラクタマーゼの同時検出法の開発

○吉野寛隆, 大久保寅彦, Thapa Jeewan, 山口博之

北大院・保科・病態解析

【目的】 β ラクタム系抗菌薬へ耐性をもつ細菌の多くは、 β ラクタマーゼを産生する。特に基質拡張型 β ラクタマーゼ (ESBL) や AmpC 型 β ラクタマーゼ (AmpC)、およびカルバペネマーゼを検出することは、抗菌薬治療や感染制御の観点から高い臨床的意義をもつ。既に確立されたカルバペネマーゼの検出法の一つに、Carbapenem inactivation method (CIM) がある。これは、特別な試薬・装置を使用せずに高感度にカルバペネマーゼを検出できる。現在では感度を改善した modified CIM (mCIM) が普及しており、手技を簡略化した simplified CIM (sCIM) も開発されている。そこで、本研究では、ESBL および AmpC を検出する新たな手法として、mCIM の原理を応用した β -lactam inactivation method (BIM)、および sCIM の原理を応用した simplified BIM (sBIM) の開発を行った。

【方法】2013 年度から 2019 年度に北海道大学病院細菌検査室で分離・保存された腸内細菌科細菌計 61 株を対象として以下の実験を行った。BIM、sBIM のいずれも ESBL の判定にはセフトキシム (CTX)、AmpC にはフロモキシム (FMOX) のディスクを用い、CTX 分解陽性の菌株を ESBL 陽性、FMOX 分解陽性の菌株を AmpC 陽性と判定した。1. BIM による β ラクタマーゼの検出：Trypticase Soy Broth に 1 μ L ループで被検菌のコロニーを懸濁し、対象の薬剤ディスクを懸濁液に浸して 35 $^{\circ}$ C、4 時間インキュベートした。その後、大腸菌標準菌株 (ATCC25922) を塗抹した Mueller-Hinton agar (MHA) に、取り出したディスクを置き、16~20 時間後に阻止円径を測定した。2. sBIM による β ラクタマーゼの検出：血液寒天培地で培養した被検菌のコロニーに直接、対象の薬剤ディスクを置き、そのまま 35 $^{\circ}$ C、4 時間インキュベートした。以後の手順は BIM と同様である。

【結果】BIM では、ESBL 産生株 42 株全てが ESBL 陽性と判定され、感度、特異度はいずれも 100% だった。AmpC 産生株も 23 株全てが AmpC 陽性となり、感度、特異度はいずれも 100% だった。sBIM では、ESBL 産生株 42 株中 41 株が ESBL 陽性となり、感度、特異度はそれぞれ 97.6%、100% だった。AmpC 産生株は 23 株全てが AmpC 陽性となり、感度、特異度はそれぞれ 100%、94.7% だった。ESBL と AmpC の同時産生株 4 株は、BIM と sBIM の両手法において、ESBL と AmpC のいずれも陽性と判定された。

【考察】今回の検討で、BIM および sBIM は ESBL、AmpC のいずれに対しても高い感度、特異度を示した。この結果から、BIM もしくは sBIM を用いることで、ESBL および AmpC の検出が可能になると考えられる。これらの手法は、特別な試薬・装置を用いずに ESBL と AmpC を同時に検出できる点から、ルーチン検査に有用だと考えられる。

<会員外協力者> 早坂かすみ、福元達也、岩崎澄央 (北海道大学病院 検査・輸血部)

生体内菌発育必須因子（*vivoEF*）に着目した 細菌性血流感染症特異的 *vivoEF* 阻害剤の特性と 作用メカニズムの解析

○佐藤豊孝¹，山本聡¹，白石宗¹，小笠原徳子¹，高橋聡^{2,3}，横田伸一¹
札幌医科大学医学部微生物学講座¹，
札幌医科大学医学部感染制御・臨床検査医学講座²，
札幌医科大学附属病院検査部³

細菌感染症治療において、薬剤耐性菌の問題は日本を含めた世界中で深刻な問題である。抗菌薬は細菌感染症治療に不可欠であるが、その使用により生ずる『選択圧』が耐性菌出現・増加の主な原因となる。一方、耐性菌問題の克服に不可欠な新規抗菌薬の開発は停滞しており、特に、多剤耐性菌にも有効な新たな細菌因子の同定や、それらを標的とした新系統の抗菌薬の開発は皆無に等しい。上記の課題を克服には、既存抗菌薬開発の概念にとらわれない新規抗菌性物質の検索・同定に資する研究が必要である。

我々は『一般的な培養法では菌の発育に影響を与えないが、感染部位などの特定の生体内で菌の発育・生存に必須となる細菌因子（*in vivo* bacterial Essential Factor; *vivoEF*）』に着目している。本研究では細菌性血流感染症を標的とした、血清存在下で特異的に菌の増殖を抑制する化合物（血液内における *vivoEF* 阻害剤）のスクリーニングを行った。その結果、約 21 万の化合物ライブラリーの中から複数の *vivoEF* 阻害剤を同定した。これらの *vivoEF* 阻害剤は、既存抗菌薬とは明らかに異なる特徴（生体内成分存在下でのみ抗菌活性を示す=選択圧がかかる部位が感染部位に限られる、新規の化学構造、標的部位が異なる、多剤耐性菌にも抗菌活性を示す）を有していた。一部の *vivoEF* 阻害剤は菌の莢膜合成関連遺伝子群を転写レベルで阻害することを明らかとした。

以上のことから、*vivoEF* 阻害剤は、これまでの抗菌薬開発における課題を克服しうる特性や作用メカニズムを持つことが判明し、*vivoEF* の活用は新たな抗菌薬開発スクリーニングの戦略の一つとして極めて有用であることが示された。

バクテリオファージの耐性菌感染症への応用

岩野 英知

酪農学園大学 獣医学群 獣医生化学ユニット

細菌感染症の治療は、1928年に世界最初の抗生物質であるペニシリンが発見され、その後1945年に臨床応用されて以降、長らく抗生物質に頼ってきた。しかし細菌は、この抗生物質に容易に耐性化し、それに対して人は新たな抗生物質を開発するというやり方で対応してきた。しかし、その‘いたちごっこ’の状態に人が勝利するゴールは見え、現在では、人類は新たな抗生物質を開発することに疲弊してしまっている。

近年、抗生物質に代わり細菌感染症に対抗する手段の有力な候補として、抗菌ペプチド、抗菌抗体、ワクチン、現在使われている抗生物質の補強物質、そして我々が注目するファージセラピーなど、多様な試みが検討されている。バクテリオファージ（ファージ）は、細菌を攻撃するが、人体に無害なウイルスである。自然界には多くの種類のファージが存在し、それぞれの細菌に特異的なファージが存在する。ファージは、宿主細菌膜上のレセプター分子を認識して自身の頭部に格納しているDNAを細菌内に送り込み、細菌の持つシステムを利用して娘ファージを大量に作り出し、細菌膜を壊して娘ファージが出てくることによって細菌は死滅する。このファージは、ペニシリンの発見より13年ほど前の1915年に発見され、それ以降当時のソ連や、東欧諸国では盛んに感染症治療への開発が行われ、現在でも実際にヒトにも応用している。

本講演では、我々が取り組んできた黄色ブドウ球菌ならびに緑膿菌に対するバクテリオファージ、またその溶菌酵素であるエンドライシンを利用したファージセラピーに関するデータを示しながら、その可能性についてディスカッションさせていただきたい。また、近年、アメリカで話題となっているパターンソン症例（多剤耐性アシネトバクターに対するファージセラピーにより瀕死の状態から完治した例）や、ヨーロッパでのPhagoburn（やけど治療に対するファージカクテル化剤）の情報も交え、ファージの応用についての取り組みを紹介し、今後の日本のファージセラピーをどのように推し進めていくかについて議論を深めたい。

[参考文献]

- 1) *Pharmaceuticals* (Basel). 2018 Feb 24;11(1). pii: E25. doi: 10.3390/ph11010025.
- 2) *Biology* (Basel). 2018 Jan 9;7(1). pii: E8. doi: 10.3390/biology7010008.
- 3) *Applied and Environmental Microbiology*. 82(17):5332-9. (2016).
- 4) *Genome Announcements*. 4(3) pii: e00041-16. (2016).
- 5) *J. Vet. Med. Sci.* 78(6):1035-8 (2016).