

第 89 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 7 年 8 月 30 日(土) 10:00 開会

(受付 9:30 開始)

会場: 旭川医科大学看護学科棟 1 階 大講義室

〒078-8510 旭川市緑ヶ丘東二条 1-1-1

事務局: 旭川医科大学医学部感染症学講座微生物学分野

2025 年 8 月 8 日改定版

学会会場（旭川医科大学）の場所案内



旭川駅からの旭川医科大学へのアクセス

- ・タクシー(約 15 分)
- ・旭川電気軌道バス

行き先 (降車バス停名)	バス系統	所要時間
医大病院前	71 番	約 40 分
緑が丘 3 条 4 丁目	80・81・84 番	約 30 分

- ・ふらのバス ラベンダー号(旭川医大病院前下車 約 20 分)

※時刻表などの詳細は、各交通機関のホームページをご覧ください。



学会会場: 旭川医科大学看護学科棟 1 階 大講義室(地図⑬)

旭川電気軌道バスでお越しの場合、病院正門前近く(バス停: 緑が丘 3 条 4 丁目)もしくは病院玄関前(バス停: 医大病院前)に到着します。

参加者の皆様へ

総会日時: 令和 7 年 8 月 30 日(土)9:30 受付開始、10:00 開会

受付場所: 旭川医科大学看護学科棟 1 階 大講義室入口前

参加費: 日本細菌学会会員は無料、その他は 1,000 円となります

発表者・座長の方へ

・一般演題について: 発表 12 分間、質疑応答 3 分間(ベルは 10 分で 1 回、12 分で 2 回、15 分で 3 回)

・特別講演について: 講演 40 分間、質疑応答 10 分間(ベルは 38 分で 1 回、40 分で 2 回、50 分で 3 回)

・ご自身のノートパソコンをご持参いただき、HDMI でプロジェクターと接続してください。HDMI がないノートパソコンの場合は接続アダプターもご持参し、万が一に備えて USB 等でバックアップデータをお持ちください。ノートパソコンの持参が無理な場合は、前日までに事務局にご連絡ください。

・時間厳守で進行をお願いいたします。

日本細菌学会北海道支部会賞の選考について

学生、ポスドク、助教による演題が対象となります。総会当日、参加者全員に 3 名を選考していただき、受付にて投票していただきます。総会中に日本細菌学会北海道支部会賞(最優秀賞 1 件、優秀賞 2 件)の表彰と授与を行いますので、対象者はご参加ください。

情報交換会について

学術総会終了後に、同会場の 3 階学生ラウンジにて情報交換会を行います。参加希望者は、参加費 3,000 円を当日受付にてお支払いください。当日の飛び入り参加も受け付けますので、皆様奮ってご参加ください!

幹事・評議員会について

令和7年8月30日(土)12:40から同会場の4階大会議室にて幹事・評議員会を開催します。出席者で昼食をご希望された方は、当日、4階大会議室前で昼食費をお支払いください。昼食は事前申請のあった分だけご用意しております。

昼食の場所について

昼食を持ち込まれる方は、会場内で飲食可能です。

また、構内地図②病院玄関の1階にスターバックス、地下1階にローソンがあります。

ただし週末は病院玄関が施錠されていますので、ご利用の際にはお近くのスタッフにお声掛けください。構内からの道案内をします。

その他、構内地図にある環状1号線を北東に進むとマクドナルド、トリトン、ほっともっと、COOPなどがあります。徒歩で片道10～15分くらいかかりますので、時間にご注意ください。

プログラム

- 10:00 ～ 10:05 開会の挨拶（総会長：原英樹）
- 10:05 ～ 11:05 支部会賞対象演題セッション1（演題番号1～4、座長：松田泰幸）
- 11:05 ～ 11:15 休憩
- 11:15 ～ 12:30 支部会賞対象演題セッション2（演題番号5～9、座長：大久保寅彦）
- 12:30 ～ 13:40 昼休憩（12:40～13:20 幹事・評議員会、場所：4階大会議室）
- 13:40 ～ 14:00 日本細菌学会北海道支部会 会務総会
- 14:00 ～ 14:50 特別講演（座長：原英樹）
- 14:50 ～ 15:00 休憩
- 15:00 ～ 16:15 支部会賞対象演題セッション3（演題番号10～14、座長：佐藤豊孝）
- 16:15 ～ 16:25 休憩（この時間までに受付で支部会賞の投票を済ませてください）
- 16:25 ～ 17:40 一般演題セッション（演題番号15～19、座長：福田昭）
- 17:40 ～ 17:50 休憩
- 17:50 ～ 18:00 表彰式
- 18:00 ～ 18:05 閉会の挨拶（支部会長：東秀明）
- 18:10 ～ 19:30 情報交換会（希望者のみ、当日参加可能、場所：3階学生ラウンジ）

旭川医大から旭川駅方面への最終バスのご案内

- 21:20 医大病院前 71番バス 旭川駅行き（旭川駅前下車）
- 21:31 緑が丘3条4丁目 81番バス 旭川駅方面行き（1条7丁目下車）

実験進化法を用いた *Acinetobacter baumannii* の 薬剤耐性化および高病原化解析

○鴨志田 剛¹

¹ 明治薬科大学 感染制御学研究室

近年、もともと低病原性であった微生物が、様々な環境ストレスに適応する過程で薬剤耐性化や高病原化により、感染症を発症・難治化し問題となっている。*Acinetobacter baumannii* は、典型的な日和見感染菌であり、院内感染の原因菌として、免疫力が低下した患者に多彩な感染症を引き起こす。また、世界中の医療機関で薬剤耐性菌が出現し、WHOをはじめとした各国保健機関が策定した Priority Pathogen List においても、新規抗菌薬開発が早急に必要な病原体として最も高い優先順位に位置付けられている。

A. baumannii は、環境適応能が非常に高く、過酷な環境ストレスに曝されても、その環境に適応して生存可能である。我々は、この高い環境適応能が、*A. baumannii* の薬剤耐性化や高病原化に関与しているのではないかと考えている。そこで我々は、*A. baumannii* の高い環境適応能力を実験的に利用することで、細菌の薬剤耐性化や高病原化のメカニズム解明を目指している。本講演では、実験進化法を用いて明らかとなった *A. baumannii* の薬剤耐性化と高病原化についての研究成果を紹介する。

まず、薬剤耐性グラム陰性菌の治療において最後の砦とされるコリスチンに曝すことで、*A. baumannii* の LPS 構造が劇的に変化し、耐性化が生じる。耐性株の出現には、遺伝子変異の発生頻度、耐性化に伴うフィットネスコスト、抗菌薬や宿主からの選択圧といった複数の要因が関与することが分かった。さらに、コリスチン耐性機序を応用することで、これまでにない新たなバイオ医薬品生産システムの開発にも成功しており、その成果についても紹介する。

次に、*A. baumannii* は医療器具に定着して医療関連感染症を引き起こすことが知られている。なかでも人工呼吸器関連性肺炎（VAP）の原因となりやすい。そこで、*A. baumannii* が医療器具に定着し、VAP を引き起こすメカニズムの解明を試みた。その結果、医療器具に定着・適応進化した株では、線毛構造の変化による高度な付着性の獲得、および代謝能亢進による高病原化メカニズムが確認された。これらの知見は、医療器具に定着した *A. baumannii* を感染源とする医療関連感染症の発症メカニズム解明に大きく貢献するものである。

今後も我々は、*A. baumannii* の高い環境適応能に着目し、薬剤耐性化および高病原化のメカニズム解明を通じて、本菌の感染制御・治療戦略の確立に寄与していきたい。

支部会賞対象演題抄録（演題番号1～14）

演題番号 1

Chlamydia trachomatis (L2/434/Bu)の 封入体膜に集積する pAkt(Ser473)の局在について： pAkt は封入体膜の microdomain に集積する

○出口大揮¹，黒岩青空¹，根代美裕¹，中村眞二²，大久保寅彦¹，山口博之¹

¹北海道大学大学院 保健科学研究所 病態解析学分野

²順天堂大学 医学研究科 研究基盤センター

Chlamydia trachomatis (以下 Ct)は偏性細胞内寄生性細菌であり、性器クラミジア感染症の原因菌である。Ctは宿主細胞内に封入体と呼ばれる小胞を形成し、III型分泌装置(T3SS)を介してエフェクター分子を封入体内から細胞質や封入体膜へと分泌することで、細胞内の環境を増殖に最適化する。また封入体膜には microdomain と呼ばれる領域が存在し、Ctはこの microdomain に T3SS エフェクターや pSrc (Y419) などの細胞内分子を集積させることで、脂質輸送の制御やシグナル伝達のハブとして利用していると考えられている。Ct が利用する宿主細胞の機能の一つに PI3K/Akt シグナル伝達経路があり、経路の中核である Akt のリン酸化(S473)は、細胞の生存応答促進および低酸素環境への適応に寄与する。Ct(L2/434/Bu)は低酸素環境で 10-100 倍増殖が促進され、Ct 感染細胞では Akt は過剰にリン酸化し、Akt リン酸化の阻害は Ct の増殖を抑制する。すなわち Ct はリン酸化 Akt(pAkt)を利用して菌体の増殖を促進していると考えられるが、Ct による Akt 修飾機構の全容は未解明である。そこで Ct による Akt 修飾機構の手がかりを探るため、免疫蛍光染色(IF)および共焦点顕微鏡により感染細胞内の pAkt の局在を確認した結果、酸素分圧によらず封入体膜へ pAkt が集積することを見出した。これは Ct が封入体膜を介して、宿主細胞の pAkt を修飾することを示唆している。さらに Difference of Gaussians(DoG)という画像解析手法を IF 画像に適応し、集積した pAkt シグナル面積・数の機械的な定量手法を確立した。pAkt 面積・数に対する Ct 感染および酸素分圧の影響を評価するために Two-way ANOVA を実施した結果、pAkt 面積は Ct 感染および低酸素環境で有意に増加し、さらに両因子間には相乗効果が認められた。これは Ct 感染による pAkt 集積が酸素分圧依存的に変化する可能性を示唆している。また pAkt の集積には封入体膜上の microdomain が関与すると考え、pSrc と pAkt との多重染色を行った結果、両分子は共局在して集積していた。以上より、pAkt は封入体膜上に形成された microdomain を足場に集積すると考えられ、microdomain は pAkt を介した Ct の低酸素環境への適応や細胞生存応答の促進に寄与する可能性が示唆された。

Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* Mutants with Increased Outer Membrane Permeability: A Strategy for Enhancing Antibiotic Susceptibility

○Chen-Hsuan Chiu¹, Mari Fujita¹, and Keiji Nagano¹

¹ Division of Microbiology, Department of Oral Biology
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Pseudomonas aeruginosa exhibits intrinsic resistance to many antibacterial agents, largely due to its low outer membrane permeability. This is attributed to its major porin, OprF, existing predominantly in a closed state, with only 5% in an open conformation that allows the permeation of large molecules like raffinose (a trisaccharide). Enhancing this permeability could improve antibiotic efficacy. This study aimed to identify genes involved in outer membrane permeability using random mutagenesis. A *P. aeruginosa* PAO1 strain, engineered to metabolize raffinose, was subjected to transposon-mediated mutagenesis.

Several mutants were selected in a chemostat culture using a minimal medium with raffinose as the sole carbon source. While the selected mutants showed growth rates comparable to the parent strain in glucose media, they grew significantly faster in raffinose media, indicating increased outer membrane permeability. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) assays revealed a two- to four-fold increase in sensitivity to ten different antibacterial agents, further supporting this conclusion. DNA sequencing identified mutations in the *morA* gene in all analyzed mutants. The MorA protein has both synthetic and degradative functions for cyclic dimeric GMP (c-di-GMP). However, *morA* deletion is known to increase intracellular c-di-GMP levels. No significant changes were observed in the expression levels of OprF protein, suggesting the enhanced permeability is due to an increased proportion of OprF in its open conformation.

In conclusion, this study suggests that modulating the c-di-GMP pathway can enhance the antimicrobial susceptibility of *P. aeruginosa* by promoting the open conformation of the OprF porin.

Chlamydia trachomatis (L2/434/Bu)の 酸素分圧依存的な感染細胞適応機構において: ミトコンドリアが果たす役割

○辰宮大翼、花井優斗、大久保寅彦、山口博之

北海道大学大学院 保健科学研究所 病態解析学分野

性感染症起因菌である性器クラミジア(*Chlamydia trachomatis*、以下 Ct)は、感染細胞内に形成する封入体の中で増殖する偏性細胞内寄生性細菌である。Ct はヒト上皮細胞株内では 48 時間程度で成熟する。これ迄の私達は、Ct(L2/434/Bu 株)が 21%通常酸素に比べ 2%低酸素環境の細胞内で 100 倍程度良く増殖することを発見した(Thapa et al, *Microbes Infect*, 2020)。また通常酸素での Ct の増殖が炎症応答の惹起に関わる p38MAPK 阻害剤(SB203580)の存在下で抑制され、低酸素環境での Ct 感染が細胞の生存性維持に関わる Akt のリン酸化(Ser473)を増殖中期(感染後 24 時間程度)に促進することに気づいた(Thapa et al, *Front Cell Infect Microbiol*, 2022)。また興味深いことに他のグループの研究にて p38MAPK とミトコンドリア(Mt)との相互作用が AKT 情報伝達系の調節に重要であることが明らかになった。(Hakan et al, *Tumor Bio*, 2017; Sarg et al, *Biochem Pharmacol*, 2024 など)。そこで本研究では既に確立した HEp-2 由来 Mt 機能不全(Mt^d)細胞を用いて、細胞内での Ct 増殖の様子を確認するとともに、Ct 感染時に起こる p38MAPK, Akt リン酸化に与える影響を正常細胞と比較検討した。感染実験には GFP 発現 Ct(L2/434/Bu)を用いた。Mt^d細胞は低濃度の臭化エチジウム存在下で HEp-2 細胞を 6 ヶ月培養することで確立した。低酸素環境(O₂分圧 2%)はガス置換型チャンバーで構築した。Mt^d細胞は Mt ゲノム上の Cox2 と D-loop が欠落し、NADPH/NADH 量が 10 倍程度増加していた。形態学的には Mt の円形縮退様変化が確認された。この Mt^d細胞に Ct を感染させると通常酸素環境ではその細胞内増殖が正常細胞に比べ 1/1000 程度に減少したが、低酸素環境では正常細胞と遜色なく増殖した。Mt^d細胞では酸素分圧にかかわらず感染早期(2hpi)に Akt がリン酸化されるが、p38MAPK については変化が見られなかった。以上より、Mt は Akt リン酸化のタイミングを規定し、これを損なうと特に通常酸素環境では Ct が増殖できないことが明らかとなった。現在 Mt^d細胞と正常細胞において、RNA-seq 解析により Ct 感染時および非感染時の遺伝子発現プロファイルの違いを網羅的に比較している。またゲノム編集にて確立した p38MAPK の KO 細胞を用いて Ct の細胞内適応における p38MAPK の役割についての検討も進めている。

動物および環境由来大腸菌におけるホスホマイシン

耐性菌と耐性遺伝子の分布および性状解析

○武田倫英¹，福田昭¹，前田愛子²，佐藤豊孝²，中島千絵³，鈴木定彦³，臼井優¹

¹酪農学園大学獣医学類 衛生・環境学分野 食品衛生学ユニット、²北海道大学 大学院 獣医学研究院・獣医学部獣医衛生学教室、³北海道大学 人獣共通感染症国際共同研究所 バイオリソース部門

fosfomycin (FOM) は、WHO が定める医療上極めて重要な抗菌薬に分類されており、その適正使用と耐性対策が世界的に求められている。FOM に対する主な耐性機構として、グルタチオン-S-転移酵素をコードする伝達性の *fos* 遺伝子が知られており、同遺伝子および FOM 耐性菌の拡散は国際的な懸念事項となっている。しかし、日本における One Health の視点から見た FOM 耐性菌および *fos* 遺伝子の分布状況は不明である。そこで本研究では、動物および環境由来大腸菌を対象に FOM 耐性菌の拡散状況を明らかにすることを目的とし、FOM 耐性菌および *fos* 遺伝子保有株の探索とその性状解析を行った。

供試菌は、2010 年から 2023 年にかけて日本およびタイで分離された動物(牛，豚，鶏，犬)および環境(ハエ，乳房炎由来乳汁，ペットフード，堆肥，土壌，作物)由来の大腸菌計 2,361 株を用いた。各株に対し FOM の薬剤感受性試験を行い、最小発育阻止濃度(MIC)が 16 μ g/mL 以上であった株に対し、PCR 法により *fos* 遺伝子の検出を行った。さらに、*fos* 遺伝子保有株に対し接合伝達試験、各種抗菌薬に対する薬剤感受性試験および全ゲノム解析を行った。

CLSI の breakpoint (>128 μ g/mL) を超える FOM 耐性株が 22 株 (0.9%)、EUCAST の breakpoint (>8 μ g/mL) を超える FOM 耐性株が 271 株 (11.5%) 認められた。このうち、日本で分離された MIC が >128 μ g/mL の大腸菌 3 株(牛由来 1 株，犬由来 2 株)から *fosA3* 遺伝子が検出され、いずれも伝達性が確認された。さらに、これらのうち 2 株は、ヒト・獣医療上重要なセファロsporin系抗菌薬を含む多剤に対して耐性を示し、*fosA3* およびセファロsporin耐性遺伝子を含む複数の耐性遺伝子が同一プラスミド上に位置していた。

FOM 耐性菌および伝達性 *fos* 遺伝子保有株が低率ながらも検出され、日本国内においてもその拡散の可能性が示唆された。今後、One health の観点からヒトと動物の健康を守るために、FOM 耐性菌と *fos* 遺伝子の拡散防止に向けた継続的な監視と対策が必要である。

リステリア感染による インフラマソーム活性化機序の解明

○ZHU LAN、松田泰幸、山内肇、原英樹

旭川医科大学医学部感染症学講座微生物学分野

Listeria monocytogenes (リステリア)は、代表的な細胞内寄生菌であり、マクロファージなどの食細胞に貪食されてもサイトリジンである listeriolysin O (LLO)を産生することで食胞膜を破り、細胞質で増殖する。リステリアが感染すると、細胞内に発現している受容体が細菌リガンドを認識することで自然免疫応答であるインフラマソームを活性化させる。これまでの研究から、リステリアは absent in melanoma 2 (AIM2)を含む複数の細胞内受容体を介してインフラマソーム応答を誘導することがわかってきており、その下流ではインフラマソームアダプタータンパク質である ASC とタンパク分解酵素であるカスパーゼ 1 がリクルートされ、炎症性サイトカインである IL-1 β や IL-18 の産生が誘導される。そこで、リステリア感染におけるインフラマソーム応答の意義とインフラマソームの共通アダプターとして機能する ASC がどのような分子メカニズムで制御されているのか検討を行ったので発表させていただく。

Potential Human Health Risk of Carbapenem Non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* from Companion Animals

○ Jirachaya Toyting-Hiraishi¹, Toyotaka Sato^{1,2,3}, Mana Tohyama^{1,2}, Taro Fujino¹, Kana Torii⁴, Akio Suzuki^{1,3}, Yuzo Tsuyuki^{4,5}, Motohiro Horiuchi^{1,2,3}

¹Laboratory of Veterinary Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Hokkaido University, ²Graduate School of Infectious Diseases, Hokkaido University, ³One Health Research Center, Hokkaido University, ⁴Division of Clinical Laboratory, Sanritsu Zelkova Veterinary Laboratory, ⁵Laboratory of Infectious Diseases, Graduate School of Infection Control Sciences and Ōmura Satoshi Memorial Institute, Kitasato University

The close relationship between companion animals and humans may facilitate the spread of antimicrobial-resistant bacteria. *Pseudomonas aeruginosa*, a shared opportunistic pathogen, poses a growing public health concern due to its antimicrobial resistance (AMR) and virulence. However, One Health-based comparative data remain limited. This study assessed the AMR status and molecular characteristics of *P. aeruginosa* from companion animals in Japan to evaluate potential human health risks. We analyzed 197 clinical isolates from dogs (n = 99) and cats (n = 98) collected across Japan in 2024. Antimicrobial susceptibility to human clinical antibiotics was evaluated. The multilocus sequence typing and detection of resistance genes and virulence factors were performed in carbapenem-non susceptible isolates. For the results, ciprofloxacin (20.3%) and piperacillin (10.7%) showed the highest resistance rates, with 5.6% of isolates being multidrug-resistant. Carbapenem resistance was 6.1% for imipenem and 1.0% for meropenem. Of the 27 sequence types identified in carbapenem non-susceptible isolates, 20 were previously reported in humans, including high-risk clones ST233 and ST298. These isolates carried efflux pump-related mutations and multiple virulence factors. One exhibited a close genetic relationship with a human isolate, suggesting possible interspecies transmission. These findings highlight the potential for cross-species spread of resistant *P. aeruginosa*. The identification of shared high-risk clones with multiple virulence factors underscores the need for sustained One Health vigilance and action.

大腸菌における染色体性 ESBL 産生遺伝子

*bla*_{CTX-M-14} の保有が環境中の発育に与える影響

○寺尾琴乃¹, 福田昭¹, 鈴木定彦^{2, 3}, 中島千絵^{2, 4}, 浅井鉄夫⁵, 臼井優¹

¹ 酪農学園大学獣医学群食品衛生学ユニット, ² 北海道大学 大学院国際感染症学院, ³ 北海道大学 ワクチン研究開発拠点 研究支援部門, ⁴ 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所 バイオリソース部門, ⁵ 岐阜大学大学院連合獣医学研究科動物感染症制御学

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌は、第三世代セファロスポリン系抗菌薬に対して耐性を示す重要な耐性菌である。ESBL 産生に関与する *bla*_{CTX-M} 遺伝子は、プラスミド性薬剤耐性遺伝子としての報告が多い一方、染色体上に *bla*_{CTX-M} 遺伝子を保有する環境由来株の報告が増えている。このことは、染色体に組み込まれた薬剤耐性遺伝子はプラスミド性のものと比較して、環境中において安定して維持されやすいことを示唆している。そのため、環境中の染色体性 *bla*_{CTX-M} 遺伝子保有株が、ヒトや動物への ESBL 産生菌の拡散源となっている可能性がある。そこで本研究では、染色体性 *bla*_{CTX-M} 遺伝子保有株が、環境中においてプラスミド性 *bla*_{CTX-M} 遺伝子保有株に比べて発育上の優位性を示すという仮説を立て、両者の増殖曲線に基づき増殖能を評価した。

日本の環境から分離された *bla*_{CTX-M-14} 保有大腸菌 ST38 を 3 株 (染色体性:2 株, プラスミド性:1 株) 用いた。成長曲線の測定には、4 種の培地 (Miller の LB, TSB, MHB, 2 倍希釈した TSB) を用いた。菌濃度を OD₆₀₀=0.1 に調整後、一般細菌の発育至適温度である 37°C および実験室内温度である 27°C で振盪培養し、経時的に吸光度を測定した。作成した増殖曲線から曲線下面積 (AUC) を計算し、発育性の評価を行った。

37°C 培養では MHB および 2 倍希釈 TSB において、染色体性株の AUC はプラスミド性株と比較し有意に高く、染色体性 *bla*_{CTX-M} 遺伝子保有株の発育上の優位性が認められた。一方、LB および TSB では有意差は見られなかった。27°C 培養では、LB、MHB、TSB において、染色体性株の AUC がプラスミド性株と比較し有意に高く、染色体性 *bla*_{CTX-M} 遺伝子保有株の発育上の優位性が認められた。

この結果から、染色体性 *bla*_{CTX-M-14} 遺伝子保有株は、プラスミド性保有株と比較して、環境に近い温度条件において高い発育性を示すことが明らかとなった。*bla*_{CTX-M-14} 遺伝子が染色体に組み込まれることによって、環境中での ESBL 産生菌の安定した発育や耐性遺伝子の維持に寄与している可能性がある。

リステリア菌によるインフラマソーム活性化と

宿主防御における Btk の役割

○山内 肇¹、松田 泰幸¹、原 英樹¹

¹旭川医科大学感染学講座微生物学分野

食中毒起因菌 *Listeria monocytogenes* は、妊婦や免疫不全患者において髄膜炎や敗血症などの重篤な侵襲性感染症を引き起こす病原細菌である。宿主細胞は *L. monocytogenes* の細胞内侵入をインフラマソームにより認識し、Caspase-1 の活性化を介して炎症性サイトカイン IL-1 β の産生やパイロトーシス細胞死を誘導する。*L. monocytogenes* が産生する細胞毒素リステリオリシン 0 (LL0) が、Lyn-Syk シグナル伝達経路を介してインフラマソーム活性化を促進することは知られているが、Syk 下流で機能するエフェクター分子は未解明であった。Bruton's tyrosine kinase (Btk) は Syk により活性制御されるチロシンキナーゼであることから、本研究では *L. monocytogenes* 感染時のインフラマソーム活性化における Btk の役割を検討した。

本研究ではまず、マウス骨髄由来マクロファージ (BMDM) に *L. monocytogenes* の野生株および LL0 変異株を感染させ、Btk の活性化を解析した。また、CRISPR-Cas9 システムを用いて Btk 欠損不死化マクロファージを作製し、同時に Btk ノックアウトマウスから BMDM を調製した。これらの Btk 欠損細胞を用いて *L. monocytogenes* 感染時のインフラマソーム活性化を評価し、野生型細胞との比較により Btk の機能を検証した。さらに、Btk ノックアウトマウスを用いた *in vivo* 感染実験により、リステリア菌感染に対する Btk の寄与を評価した。

L. monocytogenes 感染は BMDM における Btk の活性化を誘導し、その活性化は上流の Syk 阻害剤により抑制された。これらの結果は、*L. monocytogenes* が誘導するインフラマソーム活性化において、Btk が Lyn-Syk 経路の重要な下流分子として機能することを示唆する。これは、細菌感染時に Syk の下流で Btk が活性化し、IL-1 β 産生や細胞死といったインフラマソーム応答を媒介する新たな分子メカニズムを示すものである。Btk 欠損細胞を用いた詳細な解析は、リステリア感染症に対する宿主自然免疫における Btk の役割をさらに解明し、新たな感染症治療標的の同定に繋がる可能性がある。

神経細胞内の E 型ボツリヌス神経毒素を標的とした 抗体輸送システムの開発

○千野日光子, 宮下慎一郎, 相根義昌

東京農業大学 生物産業学部 食香粧化学科

背景

ボツリヌス中毒は、ボツリヌス神経毒素 (BoNT) によって引き起こされる。BoNT は軽鎖 (LC) と重鎖 (HC) からなり、ジスルフィド結合で連結されている。HC は神経細胞膜に結合し、LC を細胞内に送達する。細胞内に侵入した LC は神経伝達物質の放出を阻害し、弛緩性麻痺を引き起こす。現在、抗血清療法が治療に用いられているが、既に神経細胞内に取り込まれた BoNT は中和できない。この課題に対し、近年、無毒化 BoNT にラクダ科由来重鎖抗体 (VHH) を連結することで、抗体を神経細胞内へ送達するシステムが開発された。本研究では、ヒトボツリヌス中毒を引き起こす E 型 BoNT を標的とした、神経細胞内抗体送達システムを開発することを目的とした。

実験材料および方法

抗 LC/E VHH 抗体 (VHHv1) を先行研究から選定し、さらに、N および C 末端にペプチド配列を付加した改変 VHH (VHHv2) を設計した。無毒化ボツリヌス神経毒素 (ci BoNT/XA) の N および C 末端に、これら VHH および His タグをそれぞれ融合した。大腸菌組換え発現系により VHH- ci BoNT/XA を発現し、各種カラムクロマトグラフィーで精製した。また、His タグを付加した組換え LC/E を同様に精製した。LC/E の酵素活性および VHH-XA による阻害活性は、ラット脳抽出液 (BDE) を用いた *in vitro* 解析で評価した。BDE に LC/E および VHH-XA を混合し、37°C でインキュベート後、SNAP25 の切断を抗 SNAP25 抗体によるウエスタンブロットで解析した。

結果および考察

組換え LC/E は BDE 由来の SNAP25 を切断した。VHHv1- ci BoNT/XA は、この LC/E による SNAP-25 の切断に影響を与えなかった。一方で、VHHv2- ci BoNT/XA の添加によって、切断された SNAP-25 が減少した。これらの結果から、 ci BoNT/XA に連結された VHHv2 は LC/E のプロテアーゼ活性を阻害することが示唆された。現在、VHH- ci BoNT/XA の BoNT/E に対する中和活性をマウス *in vivo* 試験で評価している。

難培養細菌 *Neochlamydia* S13 が持続感染する 捕食性微生物 *Acanthamoeba* から紐解く 絶対的共生関係が起こる理由について

○竹田流碧, 竜田あかね, 大久保寅彦, 山口博之

北海道大学大学院 保健科学研究所 病態解析学分野

私達は、*Acanthamoeba* (以下アメーバ) とその細胞内でしか生きられない難培養性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。このモデルはクラミジアの一種 *Neochlamydia* 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。これ迄の研究で、この共生アメーバの共生細菌を除菌すると発育速度が増すことがわかっている。また共生細菌依存的に周囲の大腸菌を背負って運ぶことを発見した。さらに Na^+/H^+ トランスポーター *NhaA* 遺伝子の破壊に伴い菌体長が伸長した大腸菌では、運搬現象は減弱した。何故、細菌を生きたまま背負って運ぶのか。また何故、コストを払ってこのアメーバは共生関係を許容しているのか。そこで私達はこのモデルを用いて共生関係が起こる理由を明らかにするために、共生によって規定される現象を模索した。具体的には、以下の3点について検討した。1. 大腸菌の菌体長と菌濃度が運搬現象に与える影響。2. 培地 pH (6.0-8.5) が運搬現象に与える影響。3. 宿主アメーバのシスト形成に与える影響。菌体長が異なる大腸菌株は、KEIO コレクション (大腸菌遺伝子破壊株ライブラリー全 3909 株) から菌体長を踏まえ 32 株選別し運搬実験に供した。その結果、菌体長が長くなるほど運搬現象は減弱した (相関係数 $R=-0.73$)。また、添加する大腸菌量の減少に伴い本現象は不明瞭になった。さらに、土台となる寒天培地の pH 上昇に伴い運搬現象は喪失した。そして除菌アメーバではシスト形成が起こりにくくなった。これらの結果より、運搬現象は共生アメーバが周囲の栄養源の枯渇をいち早く察知して多くの細菌をアメーバの軌道上に備蓄するために起こしている可能性を示唆している。またアメーバは周囲の栄養源の枯渇を察知するとシストに形態を変化させることで生存性を担保しているが、このアメーバは元来その機能に欠損があり、それを補うためにコストを払い、難培養細菌を共生させるようになった可能性が暗示された。現在、RNA-seq にて網羅的な遺伝子発現変化の解析からその欠陥に関わる遺伝子の探索を進めている。これらの結果は、*Neochlamydia* S13 が持続感染しているアメーバが、共生関係の根本原理やその必然性を紐解き理解する上での極めて有用なモデルであることを示唆している。

スマートフォン画面およびエレベータボタンから 検出される細菌の解析について

○加藤優希¹, 涌井杏奈^{1,2}, 関口未来¹, 河内美帆¹, 佐藤遥菜¹,

成瀬悠香¹, 久保七海¹, 三角彩華¹, 佐藤拓一¹

¹新潟大学・大学院保健学研究科・臨床化学研究室

²新潟医療福祉大学・医療技術学部・臨床技術学科

手指の接触頻度が高いエレベータボタンに付着する微生物を分子生物学的に解析し、手指やスマートフォン画面の常在皮膚細菌叢との関連について解析を試みた。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。通常使用しているスマートフォン画面から滅菌綿棒で丁寧に擦過し、生食に懸濁し、試料とした。また利き腕の5本の指先からも試料を採取した。各試料を分散・均一化後、CDC血液寒天平板に接種し、37℃で嫌気および好気培養を行い、細菌量を算定した。次いで、得られた各コロニーを純培養・継代し、genomic DNAを抽出し、16S rRNA シークエンス解析により細菌種の同定を行った。研究室棟のエレベータボタンについても同様に試料採取・解析を行った。スマートフォン画面からは、嫌気培養で $(2.3 \pm 2.7) \times 10^2$ CFU/mL の細菌が検出され、好気培養では $(7.2 \pm 10.0) \times 10^1$ と少なかった。細菌構成は、Aerotolerant な嫌気性菌の *Cutibacterium acnes*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* 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 $(6.5 \pm 9.5) \times 10^2$ と少なかった。細菌構成は *C. acnes*, *Staphylococcus* が優勢であった。エレベータの開閉ボタンからは嫌気培養で $5.0 \times 10^1 \sim 5.5 \times 10^2$ の細菌が検出され、その細菌構成は *C. acnes*, *Staphylococcus* が優勢であった。スマートフォン画面は清拭などを施していないにもかかわらず、指先の十分の一程度と細菌量が少なかった。エレベータボタンについても同様に少なく、日常的に手指で触れていても、スマートフォン画面やエレベータボタンといった物体の表面は、さほど細菌が生息するには適していないことが推察された。

【参考】 1) Takahashi N, Wakui A, Kawachi M, Sekiguchi M, Sato T, *et al*: Profiling of the microbes on the surface of smartphone touchscreens. *J Oral Biosci* **67(1)**: Article 100607 (4 pages), 2025 March

2) スマートフォン画面や不織布マスクの細菌について, 日本経済新聞 (土曜朝刊 NIKKEI プラス 1) 2025. 5. 17

GAS 感染におけるインフラマソームの防御的役割と

新規活性化機構の解明

○永吉智紀、松田泰幸、山内肇、原英樹

旭川医科大学感染症学講座微生物学分野

A 群溶血性レンサ球菌 (Group A Streptococcus, GAS) は、劇症型敗血症を含む重篤な感染症の原因菌であり、その病原性には自然免疫応答との相互作用が深く関与する。なかでも、GAS が産生する streptolysin O (SLO) や streptolysin S (SLS) は、NLRP3 インフラマソームを活性化し、炎症性サイトカインである IL-1 β や IL-18 の産生を誘導することが報告されている。しかしながら、GAS 感染における NLRP3 インフラマソームの機能的意義やその活性化機序は不明な点が多い。そこで本研究では、GAS 感染症における NLRP3 インフラマソームの役割および新規活性化経路を *in vivo* および *in vitro* の両面から検討した。

GAS 敗血症モデルにおいて、IL-1 β 欠損マウスは野生型 (WT) マウスに比して臓器内生菌数が増加し、マウスの生存率が低下した。一方、IL-18 欠損マウスではそのような変化は認められなかった。また、ASC 欠損マウスでも生存率の低下が認められたことから、活性化している上流のパターン認識受容体を同定するために各受容体欠損マウスに感染したところ、NLRP3 欠損マウスでのみ感染抵抗性が低下した。これらの結果から、GAS 敗血症において IL-1 β は宿主防御的に作用し、その主たる供給源は NLRP3 インフラマソームであることが示された。

骨髄由来マクロファージを用いて、GAS 感染によるインフラマソーム活性化機序を調べたところ、ASC の 144 番目チロシンのリン酸化が重要であることを突き止めた。また、Lyn および Syk 阻害剤でマクロファージを処理したところ IL-1 β 産生が抑制されたことから、GAS による Lyn および Syk の活性化が ASC をリン酸化しインフラマソーム応答を亢進していることが示唆された。

以上の結果から、GAS 感染において NLRP3 インフラマソームを介して産生される IL-1 β は宿主防御に必須であり、ASC Y144 のリン酸化がその活性化機序の一端を担うことが示された。今後、GAS 感染における ASC リン酸化の詳細な分子機序を解明していく計画である。

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

○結城妃彩良, 黒岩青空, 森下桃, 児玉なずな, 大久保寅彦, 山口博之

北海道大学大学院 保健科学研究所 病態解析学分野

偏性細胞内寄生性細菌 *Chlamydia trachomatis* (Ct) は、世界人口の 1 割程度が感染していると推定される性感染症起因菌である。女性では感染すると子宮頸管炎が起きるが 8 割程度が無症状であり放置すると感染は上行性に拡大し、それに伴い卵管は繊維化により肥厚し不妊の原因となる。また近年 Ct 感染が子宮頸管癌の危険因子になりうる可能性も示唆されている。従って Ct の発癌を含む病態形成機構解明の鍵となる細胞内での動態をより生体内に近い環境を構築し正確に可視化する必要がある。それに関連して腔頸管粘膜面の酸素分圧は、炎症応答に伴い一時的に上下することもあると考えられるが 5~10%程度に維持されている。粘膜細胞内に至っては 2%程度と酸素分圧は極めて低い。これらのことを踏まえ私達は、ガス置換型 MIC-101 低酸素チャンバー (Billups-Rothenberg) を用いて酸素分圧を 2%に調整した環境で感染細胞内の Ct(L2/434/Bu 株)の増殖様式を観察したところ、21%通常酸素分圧下と比較して 10~100 倍程度菌数が増加することを見いだした(Thapa et al, *Microbs Infect*, 2020)。しかし宿主細胞の維持や感染時の酸素分圧は、実際の生体内を模した低酸素環境にはなっていない。そこで細胞培養低酸素ワークステーション InvivoO₂(Baker)を導入し、持続的低酸素環境実験系を構築し、低酸素暴露条件の差異が Ct の感染細胞とその細胞内増殖に与える影響について検討した。具体的には、CO₂ インキュベーター (通常酸素環境)、ガス置換型チャンバー (部分的低酸素環境)、InvivoO₂ (全工程低酸素環境) の三つの条件で比較した。Ct は L2/434/Bu 株を用いた。感染細胞は、HEp-2 細胞を用いたが、通常培養条件で継代維持したものと二ヶ月程度 InvivoO₂ 内で維持した細胞を低酸素順化細胞と称し使用した。まず InvivoO₂ 内の酸素分圧と湿度が低酸素チャンバーと同じ条件に設定できるのか検討した。デジタルモードで酸素分圧を 2%に設定し、ポータブル酸素分圧計で実測すると 0.5%と低酸素チャンバーに比べて低値を示した。湿度は 80%が最大であり 100%の湿潤環境には至らなかった。予備的な検討結果だが、InvivoO₂ 内で維持された細胞は、通常の CO₂ インキュベーターで継代維持した細胞に比べ増殖スピードが遅くなった。またその細胞内での Ct 増殖の程度は、これまでの低酸素チャンバーを用いた際に比べ劣った。現在、細胞内菌数の定量結果の再現性の確認作業を進めると共に感染宿主細胞の低酸素応答(HIF-1 α を中心に)の差異についても検討を加えている。

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^{1,2,3}, 藤木純平⁴, Jirachaya Toytong², 鈴木章夫^{2,3}, 岩野英知⁴,
堀内基広^{1,2,3}

¹北海道大学国際感染症学院 獣医衛生学教室、²北海道大学大学院獣医学研究院 獣医衛生学教室、³北海道大学 One Health リサーチセンター、⁴酪農学園大学 獣医学群 獣医
生化学教室

【背景】薬剤耐性菌（AMR）は世界的な公衆衛生上の課題である。日本においても、AMR 対策アクションプランが策定されているが、特に薬剤耐性菌の「保菌」に対する具体的な対策は十分に検討されておらず、新たなアプローチの確立が求められている。本研究では、薬剤耐性菌の中でも特に深刻な問題とされるフルオロキノロン耐性大腸菌のパンデミッククローンである ST131 に着目し、バクテリオファージを用いた腸管内からの ST131 除去を目的として「ファージデキャリア」の確立を試みた。

【方法】大腸菌に対して特異的に感染するバクテリオファージΦH28-2 を用い、ST131 に対する溶菌活性を濁度（OD_{600nm}）により評価した。さらに、バンコマイシン、オラペネム、メトロニダゾールを投与した BALB/c マウスに ST131 を経口投与し、腸管内への定着を確認した。ST131 の定着が確認された 3 匹のマウスに ΦH28-2 を経直腸投与し、30 分後、2 時間後、1 日後、3 日後に新鮮便を採取した。新鮮便中の ST131 の生菌数を測定し除菌効果を評価するとともに、回収した ST131 株の ΦH28-2 感受性についても評価した。

【結果】*in vitro* では、ΦH28-2 が ST131 に非常に強い溶菌活性を示し、16 時間の共培養後においても耐性菌の出現は認められなかった。マウスモデルでは、ΦH28-2 投与 1 日後に生菌数が投与前と比較して著しく減少し、1 個体では ST131 が検出されず、他の 2 個体でも約 100 倍の減少が確認された。一方、ΦH28-2 投与後に糞便から回収された ST131 株に対してファージ感受性試験を行った結果、ΦH28-2 に対する耐性が確認された。

【考察】ΦH28-2 投与により腸管内に定着する ST131 が著しく減少したことから、ファージデキャリアが AMR 対策における新戦略となり得ることが示唆された。一方で、ST131 の残存やファージ耐性菌の出現が認められたことから、今後は投与条件や投与量などを含めたファージデキャリアの最適化やファージ耐性化機構の解明が課題となる。本最適化を進め、ファージデキャリア技術の実用化に向けた検討を継続したい。

一般演題抄録（演題番号15～18）

演題番号 15

リステリア症を悪化させる インフラマソーム応答の活性化機序の解析

○谷下 優子、原 英樹

国立大学法人旭川医科大学医学部感染症学講座微生物学分野

病原微生物が侵入すると、私たちの体内では様々な受容体が微生物リガンドを認識することで炎症応答を惹起させる。多くの炎症応答は感染防御に働く一方で、近年の研究では、インフラマソームと呼ばれる炎症応答が活性化することで感染症が悪化することが明らかになってきた。インフラマソームは細胞内で異物を認識することから、病原性を示す微生物が感染したときに活性化するが、その詳細なメカニズムは不明であった。そこで本研究では、グラム陽性細胞内寄生菌である *Listeria monocytogenes* (リステリア) がインフラマソームを活性化する分子機序について解析を行った。

リステリアはマクロファージなどの貪食細胞に取り込まれても膜傷害毒素である listeriolysin O (LLO) を産生することで食胞膜を傷害し菌は細胞質へとエスケープする。このように、リステリアの細胞内寄生性に LLO は必須であり、LLO 欠損株では菌の病原性が消失することから、LLO とインフラマソーム応答の関連性について検討を行った。その結果、LLO 欠損株をマクロファージに感染させてもインフラマソーム依存的な IL-18 は産生されないことから、LLO はインフラマソーム応答にも必須であることが判明しました。そこでインフラマソーム応答における LLO の責任領域を絞り込んだところ、ドメイン 3 領域に含まれる 223 番目のスレオニンが重要であることが判明した。その分子機序を調べたところ、LLO T223A 変異株では非受容体型チロシンキナーゼである Lyn および Syk の活性化が減弱することでインフラマソーム応答が誘導できなくなっていることがわかった。これらのキナーゼを介したシグナル伝達はインフラマソームの構成因子である ASC をリン酸化することでインフラマソーム応答を制御していることから、LLO のドメイン 3 を介した炎症誘導活性がリステリアの病原機構に重要であることが明らかとなった。

Molecular epidemiological characteristics and trend of *Staphylococcus argenteus* clinical isolates in Hokkaido, northern Japan

○Meiji Soe Aung¹⁾ 漆原範子¹⁾ 川口谷充代¹⁾

大橋 伸英¹⁾ 伊藤 政彦²⁾ 小林宣道¹⁾

¹⁾ 札幌医大・医・衛生学 ²⁾ 札幌臨床検査センター

BACKGROUND : *Staphylococcus argenteus* is a novel staphylococcal species among *S. aureus* complex (SAC). Although it has been increasingly reported worldwide as a cause of various infectious diseases, its epidemiological features have not yet been well known in Japan. This study was conducted to determine the prevalence and genetic characteristics of *S. argenteus* in clinical isolates in Hokkaido, northern Japan recently for more than three year-period.

METHODS : Clinical isolates of *S. argenteus* were screened by MALDI-TOF, and genetically confirmed by PCR targeting NRPS gene, for a period from August 2020 to December 2023. Genotypes (ST, *coa*) and the presence of virulence factors/drug resistance genes were analyzed by PCR and Sanger sequencing. MICs to antimicrobials were examined by broth microdilution method. Clinical attributes of isolates were statistically analyzed among different STs.

RESULTS : During the study period, a total of 210 isolates were identified as *S. argenteus*. The ratio of *S. argenteus* to *S. aureus* clinical isolates was 0.0045, showing a slightly decreasing trend compared to that in our previous study in Hokkaido (0.0066, 2019.8-2020.7). Three genotypes, ST1223-*coa*-XV, ST2198-*coa*-XIV, and ST2250-*coa*-XI were identified, with ST2250 being dominant (49%) and exhibiting an increasing trend. *mecA* was detected in only one isolate of ST2250. None of the isolates harbored ACME-*arcA* or Pantone-Valentine leukocidin (PVL) genes. *S. argenteus* isolates were almost susceptible to antimicrobials examined, while ST2198 isolates showed higher resistance rates to ampicillin, macrolides, and aminoglycosides than other clones, harboring *blaZ*, *msrA*, and *aac(6')*-*Ie-aph(2')*-*Ia*. Only eight isolates (4 ST2250, 3 ST1223, and 1 ST2198) did not show haemolysis on blood agar plates. These isolates had intact haemolysin genes and promoter regions.

CONCLUSION : This study revealed the epidemiological trend of *S. argenteus* clones in northern Japan, and showed low incidence rate and less prevalence of antimicrobial resistance.

アシネトバクターLPSによるガスダーミンDを介した膜損傷 が感染病態に及ぼす影響

○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旭川医科大学医学部感染症学講座微生物学分野

²明治薬科大学感染制御学研究室

³札幌医科大学医学部感染学講座微生物学分野

アシネトバクター属菌は、特に多剤耐性アシネトバクター (MDRA: Multidrug-Resistant *Acinetobacter*) の増加により、世界的な公衆衛生上の深刻な脅威となっている。世界保健機関およびアメリカ疾病予防管理センターは、MDRA をそれぞれ「最優先で対策すべき病原体」「重大な脅威」に位置づけている。MDRA は肺炎、菌血症、尿路感染などの重篤な院内感染を引き起こし、治療困難例も少なくない。近年、MDRA 感染は単なる細菌増殖にとどまらず、宿主自然免疫との相互作用により強い炎症反応を誘導することが示唆されている。なかでも、インフラマソームの活性化は炎症応答や組織傷害に深く関与するが、MDRA 感染における分子機序や病態形成の詳細は未だ明らかでない。そこで本研究では、アシネトバクター感染における炎症誘導機構と病態との関連を解析した。

これまでの研究から、MDRA が自然炎症であるインフラマソーム応答を活性化することを我々は明らかにしている。そこで MDRA 感染におけるインフラマソーム応答の意義を調べるために、インフラマソーム不全マウスに MDRA を感染させた。その結果、興味深いことに、細胞内 LPS センサーとして知られるカスパーゼ-11 やインフラマソーム依存的膜傷害性分子ガスダーミンDを欠損したマウスにおいて、死亡率と臓器内菌数が低下し感染病態が改善することを見出した。そこで、LPS 欠損株や LPS 修飾関連分子の変異株を感染させたところ、野生型株に比べ、マクロファージでインフラマソーム応答の減弱が認められ、感染マウスでは死亡率と臓器内菌数が低下した。また、ガスダーミンD依存的に放出される分子として IFN- γ を同定した。そこで IFN- γ に対する中和抗体を MDRA 感染マウスに投与したところ生存率が改善した。

以上の結果から、アシネトバクターは LPS を介してカスパーゼ-11 を活性化しガスダーミンDによる膜傷害を亢進することで、IFN- γ 産生を誘発し病態を悪化させていることが明らかとなった。

ウイルス感染により誘導される気管 M 細胞は肺炎球菌 による二次性細菌性肺炎を増悪させる

○木村俊介^{1,2,3}、河合真悟¹、山田恭央¹、中村有孝¹、大谷裕貴¹、伊藤大悟¹、長谷耕二¹

¹慶應義塾大学薬学部 生化学講座

²北海道大学大学院薬学研究院 衛生化学研究室

³JST さきがけ

これまでに、ウイルス感染による免疫細胞の疲弊や上皮バリアの損傷が関与していると考えられてきたが、その正確なメカニズムは依然として不明である。

我々はマウスモデルを用いた研究により、インフルエンザ A ウイルス (PR8 株) 感染による体重減少から回復した後も、肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*, 莢膜 3 型) に対する感受性が持続することを明らかにした。シングルセル RNA シーケンシング (scRNA-seq) により、この時点の気道上皮における細胞構成の変化を解析したところ、定常状態ではほとんど認められない M 細胞が顕著に増加していた。

M 細胞は通常、腸管の粘膜関連リンパ組織に存在する特殊な上皮細胞であり、管腔内抗原をトランスサイトシスによって取り込み、粘膜免疫応答の誘導を担う。一方で、サルモネラなどの病原菌が M 細胞を通じて体内に侵入することも知られている。

本研究では、インフルエンザ感染時に Th17 細胞が産生する RANKL シグナルによって、分泌細胞であるクラブ細胞が M 細胞へと分化することを明らかにした。クラブ細胞における RANKL 受容体の条件的欠損は、M 細胞の誘導を抑制し、二次性細菌性肺炎に伴う死亡率を低下させた。さらに免疫組織化学解析により、肺炎球菌が M 細胞を介して組織内に侵入していることが確認され、インフルエンザ後に気道に出現する M 細胞が上皮バリア機能を破綻させる要因となる可能性が示唆された。

以上の結果から、インフルエンザ感染後に生じる上皮細胞構成の変化が、その後の呼吸器感染症に対する感受性の亢進に重要な役割を果たすことが示された。

乾燥面の人肌加温はその表面上の細菌数を普遍的に減滅できるのか：多検体同時評価法の構築と有効域

○大久保寅彦¹，六渡萌¹，栗城琴華^{1,2}，山口博之¹

¹北海道大学大学院 保健科学研究所 病態解析学分野，²北海道立衛生研究所

【背景・目的】手すりやドアノブ等の高頻度接触面には多くの細菌が付着しており、そこに含まれる病原細菌は接触感染の原因となっていると考えられる。本研究室では安全安心な公共環境の創出を目標に、化学薬品に頼らずに接触面の細菌数を恒常的に低減させる方策について検討を進めてきた。そしてその研究から、人肌加温を施したデバイス上では、大腸菌や黄色ブドウ球菌といったヒト病原細菌の生存性が無加温の場合と比較して有意に減弱することを発見した(Konno et al., PLoS ONE 2023)。その機序については現在検討を進めているが、乾燥面で NhaA（ナトリウムとプロトンの交換輸送体）の機能が損なわれることがその原因に関与している可能性を示唆するデータを得ている(Konno et al., PLoS ONE 2023)。その一方、これまでの実験系ではデバイスにセットした試験片からの菌回収操作が煩雑であり、また同時に多検体を処理してことができない。そこで煩雑な菌回収ステップがなくかつ多検体を同時に評価できる方法を構築するとともに人肌加温効果の有効域を評価した。

【方法】対象菌株: 人体に定着している細菌（大腸菌等）、主に環境に生息し日和見感染を起こす細菌（緑膿菌等）、環境由来の低病原性細菌（*Raoultella* 等、本研究室がエアサンプルから分離したもの）および芽胞菌(*Bacillus* 等)の計 58 株を供試した。実験系: バイブレーターと温度設定機能がついた 96well プレート培養機兼比濁計を用いた。具体的には被検菌は PBS に懸濁し 96-well 平底プレートに 10^7 CFU/well で接種し、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、そのまま培養機兼比濁計を 37°C で培養し濁度 (OD₆₀₀)を経時的に測定した。対照（乾燥させずに菌液を SCD 培地に加えたもの）と比較した値を相対的な生菌量として算出した。統計処理: Bonferroni/Dunn 検定。

【結果・考察】段階的に希釈した大腸菌菌液で検出感度を確認したところ、培養開始から一定時間、算定された菌数は高い直線性を示し(Pearson's correlation test, $R = -0.982$)、 10^2 CFU/well 程度から検出できた。この手法を用いて供試菌株を測定した結果では、同一の菌種（大腸菌）でも実験室株より臨床由来株で乾燥後の相対生菌量が高くなり、環境細菌 (*Pantoea*)および芽胞菌では乾燥後 24 時間の相対生菌量が対照とほぼ同水準（乾燥後の生菌率が高い）であった。これらの結果は、ヒト病原細菌の中には同一菌種でも乾燥抵抗性の程度の差異があり、また接触面の人肌程度の加温が環境由来の非病原菌には効果が乏しい可能性を示唆している。現在、乾燥抵抗性が強い菌株において NhaA の変異がないのかその阻害剤などを用いた実験を進めている。

第 89 回日本細菌学会北海道支部学術総会 事務局

総会長:原 英樹(旭川医科大学)

実行委員:旭川医科大学医学部感染症学講座微生物学分野 教室員一同

〒078-8510 旭川市緑ヶ丘東二条 1-1-1

電話番号:0166-68-2393

E-mail:hhara@asahikawa-med.ac.jp