

S02

日本細菌学会が目指す産官学連携の戦略

コンピーナー：菊池 賢（東京女子医科大学）
田村 弘志（日本バイオベンチャー推進協会/LPS
コンサルティング事務所）

Strategies in Industry-Academia-Government
Collaboration for Japanese Society for
Bacteriology

Conveners: Ken Kikuchi (Tokyo Women's Medical Univ.)
Hiroshi Tamura (Japan Bio-venture Development
Association/LPS Consulting Office)

日本再興戦略 2016 年において、文部科学省と経済産業省は、産学官連携による共同研究強化のためのガイドラインを策定し、産学官のイノベーション促進に向けた取り組みが進められている。しかしながら、必ずしも満足のいく成果につながらず、産学連携によるイノベーション創出の実態と課題も指摘されている。本シンポジウムでは、産・学・官のセクターが果たすべき役割、細菌学領域における大学発新産業創出の試みと最新動向、さらには先駆的な研究開発が革新的なイノベーションへと結びついた国内事例を紹介しつつ産学官連携によるイノベーションエコシステムの構築や将来展望について議論する。

S02-1

産学連携によるイノベーション創出の課題と今後の取り組み

○白井 達郎（株式会社 産学共同システム研究所）

Present Situation and Future Prospects of Liaison between
Industries, Academies and Governments

○Tatsuro Shirai (Industries-Academies Liaison System Research Institute)

1990 年後半からの産学連携の動きは、大学の自律のために、大学にある研究シーズとしての研究成果を、積極的産業界で活用し、研究コストに見合う取入を大学が回収し、その収入源から次なる若手研究者の育成のための資金に充てるというエコ（生態系）システムを構築することを目指したはずである。現実には、ほんの少数の大学で一部成功事例があるに過ぎない。経営組織体として当然の、大学教職員に対する多面的評価やそれに伴う人事権の一元化を、10 年単位の長期にわたり実践することが全くなかった。1980 年代までの右肩上がりの日本経済時代の運営方法に、国も大学もメスを入れてこなかった。日本の少子高齢化・財政の厳しさ、これに対応した大学の自律をいち早く認識し、新たな産学連携の体制を早期に確立することは国のみならず大学にとって大きな課題である。日本細菌学会が目指す産学連携によるイノベーション創出と課題と今後の取り組みについて提言したい。

S02-2

新規抗菌薬の開発を進める上での課題と産官学連携の必要性

○山野 佳則（塩野義製薬 医薬研究本部）

Industry-government-academia collaboration to overcome the
issues for the R&D of new antibacterials

○Yoshinori Yamano (Pharmaceutical Research Division, Shionogi & Co., Ltd.)

近年は、世界的な規模で、多剤耐性菌の増加、特に、カルバペネム系抗菌薬を含む多剤に耐性を示すグラム陰性菌の世界規模での増加が大きな課題と認識される中、新規抗菌薬の枯渇は依然大きな課題となっている。そのような状況の中で、新規抗菌薬の創製・開発が進まない要因の一つとして、多くの製薬会社が感染症領域から撤退し、世界規模で企業活動自体が他の疾患領域に比べ相対的に低下していることが挙げられる。新規抗菌薬の創薬を継続的に進める上での産業界側の課題として、新薬の創薬標的等に対する魅力あるシーズ化合物の創出の困難さ、多剤耐性菌による感染症治療薬の臨床開発試験を進める上での困難さ、に加えて、ビジネス上の優先度が低くなっている（耐性菌を対象にした感染症治療薬は投薬期間も短く、製造コストも高騰化しているため、利益を出しにくい）ということが挙げられる。日本を含む世界中でこれらの課題解決を目指して各国政府によって策定された薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプランに則って諸々の活動が進んでいるものの、十分とは言えない状況である。本講演においては、ビジネス面での改善を目指して議論されているインセンティブの必要性も含めた新規抗菌薬の研究開発を進める上での課題、および課題解決のために国際的なレベルでの産学官の連携が必要であることを示したい。

S02-3

バクテリアの新しいはかり方

○椎木 弘（阪府大・院工・応用化学）

A new method for detecting and measuring bacteria

○Hiroshi Shiigi (Dept. Applied Chem. Sch. Eng., Osaka Pref. Univ.)

To understand the biological functions of microorganism is required to reduce their threats and increase their usefulness. In order to understand the biological function of the target bacteria, it is necessary to confirm their presence in the sample, and to isolate and recover them from the sample. Moreover, an importance of real-time evaluation of bacterial activity increase for various purposes such as hygiene management, development of antibacterial agents, and effective utilization of bacterial resources. This necessitates a quantitative assessment of metabolic processes, including growth and respiration. Here we would like to introduce the development of optical and electrochemical methods for detecting the target cell and assessing bacterial activity.

S02-4

科学と技術『だけじゃない』イノベーション

○原 泰史 (一橋大・経)

An Innovation which is NOT ONLY come from science and technology

○Yasushi Hara (Dept. Econ., Hitotsubashi Univ.)

新たな組み合わせを生み出すことで、経済的あるいは社会的な効果を生み出すことをイノベーションと呼びます。Innovation という言葉が紹介された際、「技術革新」と訳されたせいも、日本ではしばしば、優れた科学技術を研究開発し具体的なモノへと昇華することこそがイノベーションと捉えられてきました。本講演では、「科学と技術『だけじゃない』イノベーション」と題し、イノベーションの内実について、具体的な事例およびデータ解析の結果を発表します。前半では、クラビット・アクテムラなど日本の革新的ブロックバスター医薬品の研究開発過程に関する事例調査分析の結果について紹介します。これらのケースでは、対象疾患の市場価値が不確かであり、かつ科学的な評価も不確かな状況で、大学および企業がリスクを取り先駆的な研究開発を行うことで、医薬品の上市を実現しています。また後半では、再生医療をはじめとする新たな産業領域に関して、競争的資金の状況、論文および特許の出願・公刊状況について概括することで、産官学がどのように連携してエコシステム（産業・経済圏）を作り出そうとしているか解説します。ヘンリー・チェスブロウが2003年に提唱して以降、オープンイノベーションという言葉が、日本では産官学連携の文脈で広く用いられるようになりました。しかしオープンイノベーションは、単に産業セクターが学術シーズを受け取ることで、あるいは、そうした取組みを公共セクターが支援することに留まらず、これらのステークホルダー間の有機的な結びつきこそが重要であることを主張するものです。細菌学会の皆様とともに、産官学連携の在り方について議論を深められればと考えています。

S03

「感染と免疫の分子機構」 —日本微生物学連盟共催・四学会合同企画—

コンピーナー：寺尾 豊 (新潟大学・日本細菌学会)
竹田 誠 (国立感染症研究所・日本ウイルス学会)
川上 和義 (東北大学・日本感染症学会・日本生体防御学会)

Molecular Mechanism of Infection and Immunity

Conveners: Yutaka Terao (Niigata Univ.)
Makoto Takeda (NIID)
Kazuyoshi Kawakami (Tohoku Univ.)

日本微生物学連盟は、「我国の微生物学関連学術団体の連携強化と微生物学分野全般に関する研究・教育の推進を通じて微生物学の発展を図り、微生物学分野における国際交流の促進を行うことにより、社会に貢献することを目的」として2007年に設立された。現在の微生物学研究は、病原微生物学・応用微生物学・微生物生態学・食品微生物学・微生物ゲノム遺伝学など多岐にわたり且つ拡がりをみせている。本連盟は22の学術団体が加盟するに至り、各学術団体は微生物学研究の発展を個々に支え発展してきた。そこで、各学術団体間の相互交流を進め、新たな融合研究の萌芽となることを期し、本連盟に所属する4学会—日本細菌学会、日本ウイルス学会、日本感染症学会、および日本生体防御学会—のそれぞれで活躍する気鋭の中堅研究者による合同シンポジウムを企画した。「感染と免疫の分子機構」のキーワードの下、学会横断的に先端研究の講演と相互討論を展開する。

共催：日本微生物学連盟、日本ウイルス学会、
日本感染症学会、日本生体防御学会

Co-hosts: The Federation Microbiological Society of Japan, The Japanese Society for Virology, The Japanese Association for Infectious Diseases, Japanese Society for Host Defence Research

S03-1

Xenophagy induction mechanism during Group A Streptococcus infection

○野澤 孝志, 中川 一路 (京大・院医・微生物)

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

Xenophagy is one of intracellular antimicrobial membrane trafficking pathway. Xenophagy is induced in response to bacterial invasion into host cytosol and selectively eliminates intracellular bacteria through lysosomal degradation. During Group A Streptococcus (GAS), a major human pathogen, infection in epithelial cells, various host danger sensors recognize the cytosolic bacteria and TBK1 directs xenophagy induction. We previously reported that endosome-resident RAB35 is critical for xenophagy induction by recruiting autophagy receptor NDP52 and this RAB35-NDP52 axis is activated by TBK1 kinase (Minowa-Nozawa et al., 2017). Our recent advances revealed that Ca^{2+} levels elevated by bacterial infection activate TBK1 for xenophagy in a process mediated by the Ca^{2+} -binding Rab regulator protein TBC1D9. We observed TBC1D9 recruitment to ubiquitin-positive bacteria via its ubiquitin-binding region and Ca^{2+} -binding motif, and that TBC1D9 knockout suppressed TBK1 activation and subsequent recruitment of ULK1 complex for xenophagy. Additionally, treatment with a Ca^{2+} chelator impaired TBC1D9-ubiquitin interactions and TBK1 activation during xenophagy. These results indicated that TBC1D9 controls TBK1 activation during xenophagy through a Ca^{2+} -dependent ubiquitin-recognition mechanism.

S03-2**MxA functions as an inflammation sensor against influenza virus infection in respiratory epithelium**

○川口 敦史 (筑波大・医・感染生物学)

○Atsushi Kawaguchi (Dept. Inf. Biol., Fac. Med, Univ. Tsukuba)

Respiratory epithelium is required for the physical segregation of hosts from a vast array of antigens and pollutions. The respiratory epithelial cells also function as a sensor of infectious agents to initiate innate immune responses mediated by pro-inflammatory cytokines such as IL-1beta. The pro-inflammatory response stimulates innate immune cells such as neutrophils and macrophages to eliminate infectious agents. Thus, the pro-inflammatory response of the respiratory epithelium is crucial for understanding the pathogenesis of respiratory infectious diseases including influenza A virus. Here we focus on the IL-1beta secretion mediated by cytoplasmic multiprotein complexes called inflammasome, which consists of ASC adaptor protein, caspase-1, and a pathogen sensor protein such as NLRP3. By using a proteomics approach and a high-content screening (HCS) system with shRNA-encoding lentivirus library, we identified that MxA large GTPase functions as a novel inflammasome sensor protein in respiratory epithelium. The detail molecular mechanism of MxA inflammasome will be discussed in this presentation.

S03-3**増加する肺非結核性抗酸菌症の臨床研究から得られた最近の知見**

○石井 誠 (慶應義塾大学医学部呼吸器内科)

New insights for pathogenesis of pulmonary NTM disease obtained from clinical studies

○Makoto Ishii (Div. of Pulm. Med., Dept. Med., Keio Univ. Sch. Med.)

肺非結核性抗酸菌 (nontuberculous mycobacteria:NTM) 症は、主に中高年以降の女性に好発する難治性の慢性進行性呼吸器感染症である。近年世界的にその患者数の増加が指摘されており、本邦でも2014年に肺NTM症の罹患率は7年間で約2.6倍と急激に増加し、肺結核の罹患率を超えたことが報告された。肺NTM症では、治療は抗菌薬多剤併用療法を行うが、肺結核症とは異なり一部を除き長期治療が必要であり、治療が困難な疾患といえる。この肺NTM症の発症や難治化する機序に関しては、菌側及び宿主側因子のが報告されつつあるが未だ不明な点が多い。本シンポジウムでは、演者が携わってきた肺NTM症の臨床研究、例えば難治例に対するアミカシン吸入療法や、肺NTM症の中でも約8~9割を占めるとされる肺MAC症の疾患感受性遺伝子の検討結果などから得られた最近の知見に関して紹介したい。

S03-4**腸管好酸球サブセットの同定と機能**○笠松 純^{1,2}, 城下 智⁴, 佐藤 光¹, 川上 和義^{1,3}, Marco Colonna² (1東北大・医・感染制御インテリジェンスネットワーク, 2Dept. Pathol. Immunol., Sch. Med., Washington Univ., 3東北大・医・感染分子, 4信州大・医・第二内科)**Characterization and function of intestinal eosinophil subsets**○Jun Kasamatsu^{1,2}, Satoru Joshita⁴, Ko Sato¹, Kazuyoshi Kawakami^{1,3}, Marco Colonna² (1Dept. Intell. Netw. Infect. Control., Sch. Med., Tohoku Univ., 2Dept. Pathol. Immunol., Sch. Med., Washington Univ., 3Dept. Med. Microbiol. Mycol. Immunol., Sch. Med., Tohoku Univ., 4Dept. Gastroenterol. Nephrol. Hematol., Sch. Med., Shinshu Univ.)

好酸球は抗寄生虫免疫応答やアレルギー反応などの2型免疫応答に重要な免疫細胞である。形態学的な特徴として、好酸球は分葉核を持ち、その細胞質内には多数の好酸性顆粒が認められる。これら好酸性顆粒には Major basic protein, Eosinophil peroxidase や各種炎症性サイトカインが含まれており、細胞障害活性や炎症応答を誘起する。粘膜組織や皮膚など、感染の現場となる非免疫組織にはユニークな機能を持つ組織常在性免疫細胞が存在しており、その探索や機能解析は近代免疫学のホットトピックとなっている。ごく最近、腸管に存在する好酸球が Th1 や Th17 の分化を抑制する事や、脂肪組織に存在する好酸球が M2 マクロファージの活性化を介してインスリンに対する感受性を調節する事が明らかになった。これらの報告は組織ごとに好酸球の役割が多様化していることを示唆する。我々は樹状細胞マーカーである抑制性C型レクチン受容体 Clec4a4 ノックインマウスの解析から、小腸には Clec4a4+好酸球と Clec4a4-好酸球が存在している事を発見した。これらサブセットは異なるマーカー分子を発現しており、両サブセットは協調して抗寄生虫免疫応答を促進する。本シンポジウムでは、我々が同定した腸管好酸球サブセットの特徴や機能について紹介する。

Beyond antibiotics—感染症制御に向けた生物学

コンピーナー：飯田 哲也（大阪大学）
藤永 由佳子（金沢大学）

Beyond antibiotics—Biology toward the control of infectious diseases

Conveners: Tetsuya Iida (Osaka Univ.)
Yukako Fujinaga (Kanazawa Univ.)

抗菌薬はこれまで様々な感染症から多くの人命を救ってきた。しかしながら現在、耐性菌の出現が世界的に深刻な社会問題となっている。人類は抗菌薬に加え、感染症への新たな対処法を必要としている。本シンポジウムでは、感染症制御につながる、抗菌薬以外の新たな生物学的アプローチに挑んでいる研究者に発表していただく。本シンポジウムでは、具体的な制御法の開発がテーマではなく、制御法につながる（かもしれない）「生物学」がテーマと考えている。このシンポジウムから、感染症制御に向けての斬新な発想が生まれてくることを期待したい。

S04-1

志賀毒素のバイオロジーから見た EHEC 感染症に対する創薬展開

○西川 喜代孝（同志社大学・生命医科学部）

Development of therapeutic agents against EHEC infections based on the biology of Shiga toxin

○Kiyotaka Nishikawa (Facul. Life Med. Sci., Doshisha Univ.)

O157:H7に代表される腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症は、世界的に蔓延するいまだに制御できていない感染症である。本感染症の重篤な合併症である溶血性尿毒症症候群（HUS）の発症と抗生物質の使用との関連については一定の結論が得られておらず、新たな治療薬の開発が望まれている。志賀毒素（Stx）は、EHECが産生する主要な病原因子であり、創薬標的として重要な位置を占めている。本研究では、我々がこれまで行ってきたStx阻害薬に関する取り組みを紹介するとともに、最近Stxに関して見出した生物学的な知見に基づく新たな阻害薬開発戦略、並びに将来への展望について概説する。StxはStx1とStx2の2つのファミリーから構成されており、各々には複数のサブタイプが存在する。最近我々は、同じファミリーに属していてもその受容体認識特性が潜在的に大きく異なる場合があることを見出した。このことはStxの受容体結合を担うBサブユニットを標的とすることにより、各サブタイプに最適化した阻害薬開発が可能であることを示している。その一方で、リボゾームを不活化するAサブユニットの触媒部位はファミリーを超えて高度に保存されていることから、ユニバーサルな阻害薬標的となりうる。これまでに我々はAサブユニットの触媒部位に結合し、Stx1ならびに2の細胞毒性を阻害するペプチドを同定している。今回、Aサブユニットと本ペプチド複合体のX線結晶構造解析から新たなファーマコフォアを同定するとともに、阻害活性に必要な最小構造を同定した。本知見に基づいたパーチャルスクリーニングにより、Aサブユニットの触媒部位を標的とする低分子阻害薬を同定したので合わせて報告する。

S04-2

腸管付着阻害剤の開発に向けた細菌定着の構造基盤

○中村 昇太（阪大微研）

Structural basis for bacterial colonization towards the development of an anti-adhesion agent

○Shota Nakamura (Res. Inst. for Microb. Dis., Osaka Univ.)

腸管系病原菌は、多くが線毛と呼ばれる巨大な繊維状タンパク質合体である定着因子の働きにより腸上皮細胞に付着すると、バイオフィームやマイクロコロニー等を形成して定着し、毒素を産生する。この病原菌の感染経路において、腸上皮への付着は、最も初期かつ重要な過程であり、薬剤等によりこの過程を阻害することができれば、病原菌に過度な選択圧をかけることなく感染阻害が可能であるため、抗生物質に代わる新規治療法として期待されている（Spaulding et al. Nature 2017）。我々は、腸管毒素原性大腸菌が保有するIV型線毛の構造生物学的研究から、これまで宿主腸管に存在する糖鎖を認識すると考えられていた線毛が、自身が菌体外に産生する分泌タンパク質と相互作用することで定着能を発揮することを近年明らかにした（Oki et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2018）。構築したIV型線毛-分泌タンパク質複合体モデルと各種変異体及び細胞アッセイの結果から、分泌タンパク質は、線毛と宿主腸管上皮の“橋渡し”の役割を担うことが明らかになった。本発表では、これまでに得られた情報に基づき、腸管系病原菌感染におけるIV型線毛と分泌タンパク質との相互作用の詳細と、その付着過程阻害による感染治療の可能性について考察する。

S04-3

細菌の病原性制御システム

○北尾 公英、久堀 智子、永井 宏樹（岐阜大・医・病原体制御）

Virulence regulatory systems in pathogenic bacteria

○Tomoe Kitao, Tomoko Kubori, Hiroki Nagai (Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med., Gifu Univ.)

Antibiotics target essential bacterial cellular functions, thereby applying selective pressure for antibiotic resistance. Therefore, different ways such as anti-virulence approaches, which attenuate bacterial virulence without perturbing their viability, are ideal alternatives to overcome issues raised by antibiotic resistance. Here, we focus on two bacterial systems that regulate their virulence; one is a quorum sensing system as a successful model target for anti-virulence strategy, and another is a bacterial secretion system that delivers virulence factors into host cells. In the former case, we will introduce the function of a transcriptional regulation system widely controlling *Pseudomonas aeruginosa* virulence, and will explain why it could be a great target to develop anti-virulence compounds, which can disrupt *P. aeruginosa* virulence. In the latter case, we will introduce the *Legionella pneumophila* type IV secretion system (T4SS) as a potential target to control Legionellosis by inhibiting delivery of virulence factors. We will discuss why this approach can be useful as well as challenging. Through the topics regarding two different bacterial systems to regulate virulence, we would like to discuss the importance of basic research on bacterial pathogenicity in consideration of anti-virulence therapeutics.

S04-4**ボツリヌス菌の腸内感染を抑制する腸内因子の解析**

○藤永 由佳子 (金沢大・医・細菌)

Investigation of the protector(s) in gut against intestinal infection of *Clostridium botulinum*

○Yukako Fujinaga (Dept. Bacteriology, Grad. Sch. Med., Kanazawa Univ.)

ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) などのボツリヌス神経毒素産生性クロストリジウム属菌は、本毒素を産生することにより重篤な弛緩性麻痺を主徴とするボツリヌス症を引き起こす。毒素の侵入様式により、主に食餌性ボツリヌス症と腸管ボツリヌス症の二つの病型がある。腸管で本菌芽胞が発芽・増殖して起こる腸管ボツリヌス症は、蜂蜜などから本菌芽胞を経口摂取する機会が少なくないと考えられるにもかかわらず、健康成人ではほとんどみられない。一方、乳児期では発症することがある(乳児ボツリヌス症)。乳児期に発症しやすい理由として、乳児期では腸内細菌叢が未熟であるためであることが報告されているが、本菌の腸管感染を抑制する菌種(群)及びその抑制メカニズムといった詳細は不明である。我々は、感染に耐性を示す成人期(感染耐性期)の腸内細菌叢中で本菌芽胞の発芽・増殖を抑制する腸内細菌(群)とその抑制メカニズムについて明らかにすることを旨とし、*in vitro* 系および *in vivo* マウス感染実験系を用いて解析を進めている。本研究により、今まで未知であった乳児(腸管)ボツリヌス症の発症機序の解明および治療・予防に繋がることを期待している。

S04-5**腸内細菌叢による消化管感染症防御機構**○竹田 潔^{1,2} (1)阪大・免フロ, (2)阪大・医・免疫制御)**Resistance to bacterial infection induced by microbiota**○Kiyoshi Takeda^{1,2} (1)IFReC, Osaka Univ., (2)Dept. Microbiol. Immunol., Grad. Sch. Med., Osaka Univ.)

近年、腸内細菌叢が宿主に様々な作用を及ぼすことが明らかになっている。しかし、宿主免疫系にとって異物(非自己)である腸内細菌は、直接宿主細胞と接触することなく、腸管腔という体外に生息している。そのため、この腸内細菌叢が宿主に作用する分子機構として、腸内細菌依存性に腸管腔内で産生される代謝物に注目が集まっている。我々は、腸管上皮の直下に局在し、樹状突起を腸管腔内に伸長させ、腸管腔内の抗原を直接取り込み、エフェクターT細胞応答を惹起するミエロイド細胞(CX3CR1陽性細胞)に着目し、この細胞の樹状突起伸長を司る腸管腔内代謝物の同定を試みた。SPFマウスの小腸管腔内容物を抽出し、CX3CR1陽性細胞を刺激すると樹状突起の伸長を誘導した。また、Gpr31欠損マウスのCX3CR1陽性細胞は、小腸管腔内容物依存性の樹状突起伸長が認められなかった。そこで、Gpr31を活性化させる小腸管腔内容物を様々なクロマトグラフィーを用いて精製した結果、乳酸とピルビン酸がGpr31を活性化することが明らかになった。小腸管腔内容物内の乳酸、ピルビン酸の濃度は、SPFマウスに比べて、完全無菌マウスでは激減していた。さらに、乳酸、ピルビン酸は、CX3CR1陽性細胞の樹状突起伸長を誘導した。また、Gpr31依存性のCX3CR1陽性細胞の樹状突起伸長は、病原性サルモネラ菌に対する抵抗性強化に極めて重要であることも明らかになった。以上、腸内細菌叢による消化管病原細菌感染症に対する抵抗性強化に、腸内細菌依存性の代謝物が重要であることが明らかになった。

S05**非結核性抗酸菌 (NTM) と、増加著しい難治性の NTM 症**コンピーナー: 阿戸 学 (国立感染症研究所)
立石 善隆 (新潟大学)**Nontuberculous mycobacteria and remarkable increase of refractory NTM diseases**Conveners: Manabu Ato (NIID)
Yoshitaka Tateishi (Niigata Univ.)

わが国の非結核性抗酸菌症の罹患率は2014年に人口10万対14人と判明したのちも、年々増加し、公衆衛生上重要な感染症となってきた。起因菌種も *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacteroides abscessus* をはじめ70菌種あまりと、多種多様である。しかしながら、結核と異なり、NTMの生態は未解明な点が多く、臨床的にも薬剤不能性と再燃により長期化する症例が多い。本シンポジウムでは、NTMの菌側要因(ゲノム多様性、機能的ゲノミクス)ならびに宿主側要因(自己抗体産生)、疫学、臨床を含めた多方面からの研究を取り上げ、細菌学的観点からのNTMの問題点と今後の展望について考えていきたい。

S05-1**非結核性抗酸菌症の疫学と臨床像**

○長谷川 直樹 (慶應大・医・感染症)

Epidemiology and Clinical Features of Nontuberculous Mycobacteriosis

○Naoki Hasegawa (Dept. Infect., Dis., Sch. Med., Keio Univ.)

Nontuberculous mycobacteria (NTM) are ubiquitous environmental organisms with broad virulence spectrum to human. While infection between human beings is rare in ordinary settings they could cause a variety of infectious diseases. It is reported primary and secondary immunodeficiency including Mendelian susceptibility and HIV infection could cause disseminated infections. On the other hands the increase of pulmonary NTM disease (NTM-PD) among immunocompetent individuals has been reported. Recent domestic examinations has revealed the incident rate is 14.7/10⁶, more than culture-confirmed tuberculosis. While various factors such as advance of diagnostic measures and aging of population are considered for these trends, it remains to be known. Approximately 90% of NTM-PD patients are due to *M. avium* complex (MAC). Clinical managements of NTM-PD have several difficult aspects including the lacks of effective medicine and hence appropriate criteria for treatment indication and its duration. In addition, culture conversion rate of currently recommended standard regimen for NTM-PD by MAC, combination of macrolide, ethambutol, and rifampin, and aminoglycoside for refractory case, is not satisfactory. Better understanding about clinical features of the NTM-PD drive us to keenly feel an urgent and absolute needs for developing effective biomarker and new therapeutic strategies.

S05-2

抗 Interferon- γ 自己抗体がもたらす非結核性抗酸菌症

○坂上 拓郎 (熊本大・医・呼吸器内科)

Nontuberculous Mycobacterial Disease Caused by Anti-Interferon- γ Autoantibody

○Takuro Sakagami (Dept. Resp. Med., Fac. Life Sci., Kumamoto Univ.)

非結核性抗酸菌 (NTM) 症は、肺だけでなく全身に病巣をきたしうるが、その宿主要因は明確ではない。全身性に病巣をきたす播種性 NTM (dNTM) 症は HIV 感染症や薬物治療による免疫不全を背景に持つことが多い。抗 IFN- γ 自己抗体 (IFN γ -Ab) は、既知の免疫不全を持たず従来健常であった dNTM 症例より見出され、宿主の感受性に関わる因子または後天性免疫不全の部分症として注目を集めている。我々は本邦におけるその実際を明らかにするためにヒト検体からの検出法を構築し症例集積を行ってきた。総計で 331 例の抗酸菌感染症例の解析を行い、背景に免疫不全の明らかでない 37 例の dNTM 症例から 30 例の IFN γ -Ab 陽性例 (陽性率 80.1%) を見出した。初期症状に特異的なものはなく、当初より NTM 症が疑われる症例はほぼなく、診断までに平均で 4 か月を要していた。検出菌のうち 70% が MAC であり、迅速発育菌が 20% であった。病変は肺 (66.7%)、骨 (63.0%)、リンパ節 (48.1%) をはじめ全身に分布した。全例に抗菌化学療法が、2 例に追加治療として抗 CD20 モノクローナル抗体の投与が行われた。6 例が平均 2.25 年の期間を経て治療を終了したが全例で再燃を認めた。観察期間中央値での死亡率は 3.2% であった。こうした検討結果が示唆するように本抗体を保持する症例は日常臨床で遭遇する NTM 症とは異なる臨床表現型を持つ。それに加え、本疾患では自己抗体産生という自己免疫機序と重症 NTM 症の発症の間に重要な関連が示唆され、“自己免疫性非結核性抗酸菌症”という新たな概念で認識すべき疾患と考えられる。

S05-3

Genome-wide identification of essential genes in nontuberculous mycobacteria

○立石 善隆, 松本 壮吉 (新潟大・医・細菌)

○Yoshitaka Tateishi, Sohkiichi Matsumoto (Dept. Bacteriol. Sch. Med., Niigata Univ.)

The incidence of the human nontuberculous mycobacteria (NTM) disease is rapidly and globally increasing. However, the knowledge of gene essentiality under optimal growth conditions and conditions relevant to the natural ecology of NTM, such as hypoxia, is lacking. In this study, we utilized transposon sequencing (TnSeq) to comprehensively identify genes essential for growth in *M. intracellulare*. About 9.9% of genes were identified as essential genes. These essential genes shared with *M. tuberculosis* and *M. marinum* contained target genes of existing antituberculous drugs including SQ109. From the list of genes showing decreased fitness as conditionally essential under hypoxia, preferential carbohydrate metabolism including gluconeogenesis, glyoxylate cycle and succinate production was suggested under hypoxia. Virulence-associated genes including proteasome system and mycothiol redox system were also identified as conditionally essential under hypoxia, which was further supported by the higher effective suppression of bacterial growth under hypoxia compared to in aerobic conditions in the presence of these inhibitors. This study has comprehensively identified functions essential for growth of *M. intracellulare* under conditions relevant to the host environment. These findings provide critical functional genomic information for drug discovery.

S05-4

Development of gene manipulating tools for Non-Tuberculous Mycobacteria

○阿戸 学 (国立感染症研・ハンセン研・感染制御)

○Manabu Ato (Dept. Mycobacteriol, Lepr. Res. Cntr. Nat. Inst. Infect. Dis.)

Non-tuberculous mycobacteria (NTM) is defined as mycobacteria species other than tuberculosis groups and *Mycobacterium leprae*, in which more than 150 species of Mycobacteria are involved. The prevalence of diseases due to NTM has been increasing in the world wide, especially in East Asia including Japan. Incidence of pulmonary diseases due to NTM is higher than that of pulmonary TB in Japan since 2014 at latest. However, in contrast to *Mycobacterium tuberculosis*, molecular biological tools for exploring gene function of NTM is utterly limited. Therefore, to establish genetic and molecular biological tools for NTM is desperately needed for bacteriological understanding of them. In contrast to tools developed for homologous recombination for *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium smegmatis*, those tools are not always working for NTM to allow the study of NTM virulence, escape mechanisms from the host immunity, and adaptation to the environment. We will discuss on development of molecular tools which enable to install gene modification to NTM strains through our studies to explore NTM gene functions.

S05-5

肺 MAC 症原因菌 *Mycobacterium avium* の地域多様化

○矢野 大和¹, 丸山 史人², 西内 由紀子³, 岩本 朋忠⁴ (¹東北大・院生命, ²広大・学術・社会連携, ³大阪市大・院医, ⁴神戸市・環境保健研)

Local diversification of MAC lung disease agent *Mycobacterium avium*

○Hirokazu Yano¹, Fumito Maruyama², Yukiko Nishiuchi³, Tomotada Iwamoto⁴ (¹Grad. Sch. Life Sci., Tohoku Univ., ²Microb. Genom. Ecol., Hiroshima Univ., ³Grad. Sch. Med., Osaka City Univ., ⁴Kobe Inst. Health, Kobe City)

Mycobacterium avium subsp. *hominissuis* (MAH) is a causative agent of MAC lung disease. Currently, its infection source and the mechanisms behind its persistent infection are unclear. Therefore, it is of utmost importance to build a foundation of population genomics study of MAH. As a first step toward understanding the MAH-associated disease, we aim to identify unique genomic feature of MAH clinical population in Japan. We found that global MAH population consists of six lineages and two of them (EA1 and EA2) cause lung infection in Japan. EA2 strains have relatively few imported chromosomal segments while EA1 strains have many. This suggest that EA2 spread over Asia via clonal expansion while EA1 spread undergoing sexual reproduction events in the history. Gene content analysis revealed that East Asia-specific alleles are present in a trehalose synthesis operon and in a MCE operon (Yano et al., Genome Biol. Evol. 2017). As recombination takes place chromosome-wide, lineage inference of clinical/environmental MAH isolates is no easy task. We found that allelic variation of one locus in a recombination-cold region can be used to discriminate five major lineages (Yano et al., BMC Genomics 2019). Currently, we are determining complete genome sequences using long-read sequencing technology to identify the units of extrachromosomal DNA and epigenetic marks in the EA1/EA2 lineages.

S06

感染・共生のゆらぎ—細菌は感染と共生のゆらぎの中でどのように運命を決めるのか？

コンピーナー：三室 仁美 (大阪大学)
曳地 康史 (高知大学)

The fluctuation of infection and symbiosis—How bacteria determine their destiny in the wavering between infection and symbiosis?

Conveners: Hitomi Mimuro (Osaka Univ.)
Yasufumi Hikichi (Kochi Univ.)

生体をとりにく細菌は、常に外界（宿主生物や環境因子）と相互作用を行なっている。その結果、外界に適応するために内界（菌体内）の微調整を行い、生体へ『感染』するか、もしくは『共生』するかをゆらぎながら選択して、生体に適応していると考えられる。本シンポジウムでは、宿主や環境と細菌との相互作用で形作られる細菌の運命決定に関わる現象やメカニズムに関する研究者に、最近の知見を発表していただき、共生と感染のゆらぎについての理解を深める場としたい。

S06-1

ヘリコバクターピロリ慢性感染の持続戦略

○三室 仁美 (阪大・微研・感染微生物)

Persistence strategies of chronic *Helicobacter pylori* infection

○Hitomi Mimuro (Dept. Infect. Microbiol., RIMD, Osaka Univ.)

胃炎や胃がんの原因となる *Helicobacter pylori* (ピロリ菌) は、幼少期に食物や飲水とともに生体内に取り込まれると、胃上皮に付着感染し、何十年もの持続感染のうちに胃疾患を誘発する。宿主は、生体内に侵入した外来微生物の排除を試みるはずであるが、持続感染を成立させるピロリ菌は、あたかも宿主に共生するかのように病原性をマスクしつつ、感染を成立させている。本発表では、ピロリ菌がいかに感染と共生のはざまを揺らぎながら持続感染を可能としているかについて、最近の知見も含め紹介する。

S06-2

自然宿主との多様な関係性に着目したレジオネラ研究

○渡邊 健太¹, 橋 理人², 清水 隆¹, 度会 雅久¹ (¹山口大・共同獣医, ²岡山大院・医歯薬)

A study of *Legionella* focused on the diversity in relationship with natural hosts

○Kenta Watanabe¹, Masato Tachibana², Takashi Shimizu¹, Masahisa Watarai¹ (¹Joint Faculty of Vet Med., Yamaguchi Univ., ²Grad. Sch., Med, Dent, Pharmaceut, Sci., Okayama Univ.)

レジオネラは環境中において原生生物を宿主とした寄生・共生関係を構築することが、多くの研究により示されている。しかし、環境中には未知種を含め多種多様な原生生物が存在しており、現在得られている研究結果はその一端に過ぎない。特に、こうした宿主との関係が、地域性やヒトへの病原性にどの程度まで関与しているのかについては不明な部分が多く残されている。レジオネラがヒトに対して示す病原性は、多種多様な原生生物宿主に幅広く適応するためのメカニズムの一部が偶発的に機能している結果とも考えられる。

こうした発想に基づき、我々はこれまでに一般的な原生生物であるゾウリムシを宿主モデルとして用いた解析を行ってきた。ゾウリムシは、国内に存在するバイオリソース (NBRP) より数百の性状が異なる株を入手して使用することが可能であり、我々の研究を遂行する上で最適ツールとなっている。これまでの解析により、ゾウリムシはレジオネラを細胞内に共生させる自然宿主になり得るが、レジオネラ株とゾウリムシ株の組合せ、あるいは感染時の条件に依存して、その共生関係を解除するなど多様で柔軟な関係性を示すことが明らかになってきた。また、そうした現象に関与する菌側因子についてもいくつか同定し、その機能解析を行っている。レジオネラが示すこのような自然宿主への多様性・適応性からアプローチすることで、ヒトでの病原性に関する新しい知見や、あるいは感染制御に繋がる新しい手法が得られるのではないかと考え、現在研究を進めている。

S06-3

結核；潜伏維持か発症か？—病勢を左右する菌と宿主の因子についての最近の知見—

○松本 壮吉 (新潟大・院・医・細菌)

The current knowledges about molecules that are involved in outcome of *M. tuberculosis* infection

○Sohkichi Matsumoto (Dept. Bacteriol. Niigata Univ. Med.)

人類の1/3に及ぶ潜伏感染が、結核の発症母体であり、2017年には160万人が死亡したように、結核菌は、現在単独で最も人命を奪っている寄生病原体である。1999年に発生した集団感染に端を発し、10年の間に、長短、様々な潜伏感染期間を経た複数患者由来の結核菌北京株のゲノムを解析した。結核菌ゲノムの可塑性は低く、やはり一般細菌に比べて突然変異率は低いが、早期発症群で高く、酸化的ストレス障害に起因する突然変異が、長期潜伏後発症群に多いことが分かった¹。結核菌の主要な感染細胞であるマクロファージに関する知見を二つ紹介する。一つは、アフリカでの調査において、血中のHDLコレステロール値が、無症候の結核菌感染者で高いことをみだし、試験管内での検討から、それが結核の防御に必須でマクロファージを活性化させるサイトカインの産生を抑制することを明かにした。高値のHDLは成人病の予防に有効とされるが、感染症に対しては負の側面がある²。HIF1は、本年のノーベル医学生理学賞を三氏に与えた分子で、低酸素応答を担うが、結核菌感染に対する防御にも必須であった。そのからくりは、細胞性免疫を活性化のみでは結核防御には不十分で、マクロファージの代謝をHIF1によって解糖系にシフトさせ、ピルビン酸濃度を下げなければ結核菌は増殖してしまい、「お手上げ」だったということであった³。

【文献】1. Hakamata, T, Takihara, Iwamoto, Tamaru et al 投稿中。

2. Inoue et al. Sci Rep 2018

3. Osada-Oka et al. Int Immunol 2019

S06-4

共生細菌であるということ

○菊池 義智 (産総研・生物プロセス)

Being a mutualistic symbiont

○Yoshitomo Kikuchi (BPRI, AIST)

共生細菌はどのような能力によって共生細菌たり得るのだろうか？共生細菌は難消化性の餌を分解し、餌に不足する栄養素を補償し、抗菌物質を合成して宿主を病原菌から守る。一般的にはこのような宿主側の利益（適応度効果）を基準として共生細菌の能力は語られることが多い。しかし共生は複雑な現象であり、共生細菌は宿主体内環境へ適応し、免疫系と相互作用を行い、また宿主体内における定着場所を巡って他の細菌と競合することもある。共生細菌の進化を考えた場合、これら様々な能力の総体として共生細菌は共生細菌たり得ると考えられる。宿主への適応度効果が共生細菌の進化において重要な役割を果たしてきたことは間違いないが、宿主への感染能力や体内環境への適応能力などが、共生細菌の進化においてどの程度のインパクトを持っていたのか、実は意外なほど研究例は少ない。我々はこれまで昆虫の共生細菌について研究を行い、ダイズの害虫と知られるホソヘリカメムシが土壌から特定系統の *Burkholderia* 属細菌を取り込み、消化管に保持することを明らかにしてきた。最近、その共生特異性を確かめるために様々な系統の *Burkholderia* をカメムシに接種したところ、いくつかの細菌が消化管に定着し、さらにカメムシの生存・成長に大きく寄与することが明らかとなっていった。一方で、これら“共生できる非共生細菌”は腸内における競合力が弱く、カメムシ共生細菌と共感染させた場合にはことごとく負けて排除されてしまうことが明らかとなった。これらの結果は、少なくとも昆虫の腸内共生細菌の進化において腸内競合力が極めて重要な役割を果たしてきたことを表している。

S06-5

マメ科植物との共生を司る根粒菌の III 型分泌エフェクター

○岡崎 伸 (東京農工大・農)

Rhizobial type III effector controls leguminous symbiosis signaling

○Shin Okazaki (Tokyo Univ. Agr. Tech.)

Rhizobia is a group of soil bacteria that induce the formation of nitrogen-fixing nodules on the roots of legumes. Key components for the establishment of symbiosis are rhizobium-derived Nod factors (NFs) and their leguminous receptors (NFRs) that initiate nodule development and bacterial entry. Previously, we demonstrated that soybean rhizobium *Bradyrhizobium elkanii* uses the type III secretion system (T3SS), which functions in virulence-protein (effector) delivery by pathogenic bacteria, to hijack leguminous nodulation signaling in the absence of NFs/NFRs. Recently, we discovered that *B. elkanii* effector Bel2-5 triggers nodule formation in the absence of NFs/NFRs. Wild-type *B. elkanii*, but not a Bel2-5-deficient mutant, formed nitrogen-fixing nodules on soybean nfr mutant. Bel2-5 resembles XopD effector of the plant pathogen *Xanthomonas campestris* and possesses a nuclear-localisation signal and a ubiquitin-like protease (ULP)-like domain and Bel2-5 is secreted by the T3SS and targeted to plant-cell nuclei. ULP1-domain deletion in Bel2-5 resulted in the loss of nodulation in En1282, which suggests that ULP1 activity is critical for triggering nodulation. These revealed a common molecular mechanism underlying both plant-pathogen and plant-symbiont interactions and suggest that rhizobia have evolved a pathogenic effector for activating leguminous symbiosis signaling.

S06-6

クオラムセンシングは、植物病原細菌 *Ralstonia solanacearum* の病原力を精巧に制御する

○曳地 康史¹, 甲斐 建次², 瀬沼 和香奈¹, 竹村 知夏¹, 木場 章範¹, 大西 浩平¹ (¹高知大・農林海洋・植物工学, ²阪府大院・生命環境)

The quorum sensing elaborately regulates virulence of *Ralstonia solanacearum*

○Yasufumi Hikichi¹, Kenji Kai², Wakana Senuma¹, Chika Takemura¹, Akinori Kiba¹, Kouhei Ohnishi¹ (¹Fac. Agric. and Marine Sci., Kochi Univ., ²Sch. Life and Environmental Sci., Osaka Pref. Univ.)

250 種以上の植物種に感染し、通水能を低下させ感染植物に萎凋症状をもたらす土壌伝播性のグラム陰性 Proteobacteria である *Ralstonia solanacearum* は、傷などの開口部から根の皮層の細胞間隙に侵入し植物細胞表面に固着後、III 型分泌装置を介してエフェクターを植物細胞内に分泌し、葉緑体膜におけるリン脂質情報伝達系をハイジャックして植物の自然免疫 (Microbe-Associated Molecular Pattern-Triggered Immunity) を回避する。 *R. solanacearum* は植物細胞表面で増殖してクオラムセンシング (QS) を起動する。その結果、 *R. solanacearum* は植物細胞表面にマッシュルーム型バイオフィームを形成する。マッシュルーム型バイオフィーム形成時に、 *R. solanacearum* は、QS シグナルと QS により産生が誘導される 2 次代謝産物を介して細胞間情報伝達を行い、病原力に関わる機能的分化を行う。そして、マッシュルーム型バイオフィームから放出された高病原力 *R. solanacearum* 細胞が導管へ侵入し、植物に萎凋症状をもたらすと考えられる。すなわち、QS は、 *R. solanacearum* の集団細胞構造物であるマッシュルーム型バイオフィーム形成とともに、 *R. solanacearum* の病原力に関わる機能的分化にとって不可欠な細胞内・細胞間シグナル伝達系である。本講演では、 *R. solanacearum* の巧妙な QS における細胞内・細胞間シグナル伝達系とともに、QS による病原力、とくにマッシュルーム型バイオフィーム形成の制御メカニズムについて紹介する。

S07

本邦における高病原性微生物研究

コンピーナー：松村 拓大 (金沢大学)
野田 岳志 (京都大学)

Research on highly pathogenic microbes in Japan

Conveners: Takuhiro Matsumura (Kanazawa Univ.)
Takeshi Noda (Kyoto Univ.)

近年の交通網の発達により、ヒトやモノの行き交う速度・地域が世界規模で飛躍的に拡大している。それに伴いこれまで特定の地域でのみ確認されていた感染症および新興感染症が急速に流行域を拡大する事例が見られるようになってきた。これらの原因となる病原体には感染率・致死率の高い高病原性の細菌やウイルスが含まれ、これらはバイオテロの手段としての利用も懸念されており、世界規模での危機管理が求められている。高病原性微生物の基礎研究はその病原体を原因とした疾患の診断・治療・予防法の開発に必須であり、国としての安全保障においても重要であるが、我が国においては病原体を扱える施設（特にBSL-4）の問題も含め充分とはいえず、それを担う研究者の養成も滞っていると云わざるを得ない。本シンポジウムでは高病原性微生物を対象とした最新の研究や問題点を紹介してもらい、その研究の重要性・必要性について議論したい。

S07-1

自然宿主と野兎病菌の共生関係

○度会 雅久 (山口大・共同獣医・獣医公衆衛生)

Symbiotic relationships with *Francisella tularensis* in natural reservoir host

○Masahisa Watarai (Lab. Vet. Pub. Heal., Joint Fac. Vet. Med., Yamaguchi Univ.)

Francisella tularensis, the causative agent of tularemia, is a facultative intracellular pathogen found in a wide range of animals, including arthropods. It is thought that interactions between *F. tularensis* and arthropods play major roles in the ecology of this bacterium and its maintenance in the environment, but the lifestyle of *F. tularensis* in natural reservoirs remains largely unknown. We established a novel natural host model for *F. tularensis* using the silkworms. Silkworms were infected with *F. tularensis*, *Escherichia coli*, or *Staphylococcus aureus* via injection into the hemocoel. *F. tularensis* established a symbiosis with silkworms, and bacteria were observed in the hemolymph. By contrast, *E. coli* was immediately removed. *S. aureus* exhibited slight growth in silkworms and host mortality within 3 days. Melanization and nodulation known as typical cellular immunity were significantly suppressed in silkworm infected with *F. tularensis*. Pre-inoculation of silkworms with *F. tularensis* enhanced the expression of antimicrobial peptides and resistance to infection by pathogenic bacteria. *F. tularensis* pre-inoculated silkworms exhibited extension of survival period after *S. aureus* infection. Silkworms may acquire host resistance via their symbiosis with *F. tularensis*, meanwhile *F. tularensis* may obtain proper habitat to establish stable life cycle in environment.

S07-2

劇症型 A 群溶血性レンサ球菌感染症由来株の細菌学的特徴

○池辺 忠義 (感染研・細菌1)

Bacteriological study of strains isolated from patients with streptococcal toxic shock syndrome

○Tadayoshi Ikebe (Dept. Bacteriol. I, Natl Inst Infect Dis.)

A 群レンサ球菌は、咽頭炎や扁桃炎のような局所感染から劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (STSS) のような全身性感染を引き起こす。STSS の病状の進行は非常に急激かつ劇的で、発病後数十時間以内には軟部組織壊死、急性腎不全、ARDS、DIC、多臓器不全を引き起こし、ショック状態から死に至る。日本における最初の典型的な症例は 1992 年に報告されており、毎年数百人の患者が確認されている。そして、このうち約 30% が死亡しており、きわめて致死率の高い感染症である。A 群レンサ球菌の表層には T 蛋白質が存在し、抗原性の違いにより 20 種類以上の血清型に分類される。A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者分離株の場合、T1, T4, T12 型が多く分離されている。2010 年以降は、TB3264 型の分離比率の増加がみられる。STSS 患者分離株の場合、T1 型が最も分離されており、T4, T12 型の分離比率は低い。A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者分離株同様、2011 年以降 TB3264 型の増加がみられる。また、T1 型と TB3264 型は、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者分離株と STSS 患者分離株の分離比率がパラレルに増減している。

咽頭炎患者から分離された株と STSS 患者から分離された株を比較した研究において、STSS 患者から分離された株は、毒素遺伝子の発現を制御するレギュレーターに変異があり、この変異により毒素遺伝子の発現量が増大していた。この変異は、STSS 患者分離株において高頻度に変異がみられたことから、本因子が劇症型症に關与している可能性が示唆された。

S07-3

炭疽の現状と予防対策

○東 秀明 (北大・人獣センター)

Control of anthrax in human and animals

○Hideaki Higashi (Res. Ctr. Zoonosis Ctrl., Hokkaido Univ.)

炭疽はグラム陽性芽胞形成桿菌である炭疽菌の感染により発症する。ヒトでは呼吸器および消化器における炭疽を放置した場合、致死率は 90% を超える。国内では公衆衛生の向上により、2000 年の牛感染例を最後に感染例が報告されていない。しかしながら、アフリカ諸国や東南アジアにおいては野生動物、家畜及びヒトへの感染が未だ頻発しており、年間 2 万人と 100 万頭以上の家畜が炭疽を発症している。また先進国においても、2001 年にアメリカで発生したバイオテロリズムのような人為的な炭疽の発生事例が危惧されている。北海道大学人獣共通感染症リサーチセンターは、ザンビア共和国に BSL3 施設を伴った研究拠点を有し、政府機関と連携し炭疽疫学調査を進めている。これまでに、不審死した野生動物及びその周辺土壌より、炭疽菌遺伝子の検出並びに菌体を単離することで、ザンビアの炭疽菌感染の状況を明らかにし、人への感染拡大の防止に協力してきた。このような炭疽菌感染への対応として、炭疽を発症した動物を適確に検出・淘汰することが重要であるが、感染対象となる全ての動物で実行することは困難である。そのため炭疽に対する先回り戦略として、家畜や感染リスクを伴った人へのワクチン接種が挙げられる。現行のヒト抗炭疽ワクチンは、一定の効果を示す反面、重篤な副作用を示し一般多数のヒトを対象とした予防処置に用いることはできない。そのため新規ワクチンの開発が待たれており、炭疽毒素ならびに宿主受容体のタンパク質立体構造情報に基づいた新規ヒト抗炭疽ワクチンの開発を現在進めている。今回、ザンビアにおける炭疽疫学調査の様子を含め、ヒト炭疽ワクチン開発へのアプローチを紹介したい。

S07-4

ラッサウイルスの侵入阻害薬の探索

○野田 岳志 (京都大・ウイルス再生研・微細構造ウイルス学)

Investigation of potential Lassa virus entry inhibitors

○Takeshi Noda (Lab. Ultrastruct. Virol., INFRONT, Kyoto Univ.)

Lassa virus (LASV), a member of the Arenaviridae family, causes Lassa hemorrhagic fever in humans. There are more than 300,000 human infections and about 5,000 deaths reported per year in West Africa. However, there are no FDA-approved LASV-specific vaccines or antivirals available. Accordingly, LASV is classified as a Category A agent which must be handled in biosafety level 4 (BSL-4) laboratories. To overcome these restrictions, we employed replication-competent pseudotyped vesicular stomatitis virus harboring LASV glycoprotein (GP), which can be handled in BSL-3 laboratories. By using this modified vesicular stomatitis virus, we investigated small compounds which block the LASV GP-mediated entry and identified a potential LASV entry inhibitor. I will discuss our recent work on the LASV inhibitor.

S07-5

新興感染症—インフルエンザならびにエボラ出血熱—

○河岡 義裕 (東大医科研)

Working with deadly viruses: battling Ebola and influenza

○Yoshihiro Kawaoka (IMST)

インフルエンザウイルスは、毎年、冬に流行し乳幼児や高齢者において死亡の原因となるとともに、数十年に一度新たなウイルスが出現し世界的な大流行 (パンデミック) を起こします。私達は、インフルエンザウイルスを人工合成する遺伝子操作系 (リバース・ジェネティクス) を開発しました。この技術は、高病原性 H5N1 ワクチンの作製に使われています。この技術を用いてパンデミックウイルス出現のメカニズムについて研究を行っています。インフルエンザのコントロールにはワクチンと抗インフルエンザ薬が用いられます。しかし、ワクチンの有効性には限界があり、インフルエンザ薬も効果は高いものの、耐性ウイルスの出現が懸念されます。そこで私達は、新規抗インフルエンザ薬ならびにワクチンの開発を目指して研究を行っています。一方、2013年の暮れに、西アフリカにおいてエボラウイルスの流行が始まりました。これまでに3万人以上の感染が報告されています。私達の研究グループでは、これまでエボラウイルスの基礎研究ならびにワクチンの開発を行ってきました。また、シエラレオネで研究活動も続けています。本講演では、現在私達の研究グループで行っているインフルエンザ並びにエボラウイルスの研究について御紹介させていただきます。

S08

バクテリアの表層構造の構築と機能

コンピーナー：小嶋 誠司 (名古屋大学)
塩見 大輔 (立教大学)

The structure of bacterial cell surfaces: its assembly and functional mechanism

Conveners: Seiji Kojima (Nagoya Univ.)
Daisuke Shiomi (Rikkyo Univ.)

バクテリアの表層は、生育環境の変化に応答し自身を守る構造としての役割を備えているだけでなく、宿主への付着や、病原因子を送り込むために必要な装置を発現するなど、病原性との関連も深い。実際、表層構造やその構築経路に関与する因子をターゲットとして、様々な抗菌薬の開発が行われており、表層は病原細菌の感染防御を考える上でも重要な研究対象といえる。こうした観点から、バクテリアの表層がどのように構築・維持され、機能を実現しているのかという基礎的な機構の知見は、バクテリアの生理の理解を深めるだけでなく、感染に関与する様々な反応を理解する上で必須であり、医学的にも重要な意義を持つと考えられる。そこで本シンポジウムでは、バクテリア表層の構築・維持・制御に焦点を当てた研究を進めている気鋭の研究者に話題を提供していただき、明らかになってきた表層構造や機能の最新像を紹介するとともに議論を深めたい。

S08-1

極に1本だけべん毛を形成する：FlhFとFlhGによる海洋性ビブリオの極べん毛合成制御機構

○小嶋 誠司 (名古屋大・院理・生命理学)

Only one flagellum at the cell pole: regulation of the flagellar biogenesis in *Vibrio alginolyticus*

○Seiji Kojima (Div. Biol. Sci., Grad. Sch. Sci., Nagoya Univ.)

Vibrio alginolyticus has a single polar flagellum to swim in marine environment. Two regulators, FlhF and FlhG, function antagonistically to generate only one flagellum at the old cell pole. FlhF, the SRP-type GTPase, works as the positive regulator for flagellar biogenesis and determine the location of flagellar assembly at the pole, and FlhG, the MinD-type ATPase, works as the negative regulator that inhibits the flagellar biogenesis. FlhF intrinsically localizes at the cell pole and its GTP binding is critical for the polar localization. FlhG also can weakly localize at the cell pole via the polar landmark protein HubP and this localization depends on the ATP binding to FlhG. Both the polar localization and the ATPase activity of FlhG are important for its function. However, how the biochemical properties of FlhG is related to its function is unknown. Recently we found that purified FlhG aggregated after exposure to low NaCl conditions, and its aggregation was suppressed in the presence of ADP or ATP. This finding allows us to perform size exclusion chromatography of purified FlhG or *Vibrio* cell lysates, and revealed that FlhG exists as a monomer and ATP did not induce FlhG dimerization. We propose that *Vibrio* FlhG can work as a monomer, whose active conformation aggregates easily. The updated model will be discussed in the conference.

S08-2**細菌磁気オルガネラの細胞内配置の分子機構**○岡田 東^{1,2} (¹金沢大・理工・生命理工, ²金沢大・ナノ生命)**Molecular machinery for subcellular positioning of bacterial magnetic organelle**○Azuma Taoka^{1,2} (¹Fac. of Biol. Sci. and Tech., Inst. of Sci. and Eng., Kanazawa Univ., ²WPI-NanoLSI, Kanazawa Univ.)

Magnetosome is a membrane invaginated bacterial organelle used for magnetic navigation of bacterial cell. Magnetosomes associate with inner surface of cytoplasmic membrane and are arranged into a chain-like configuration running along the length of cell. Here, I introduce progresses in studies on mechanism for magnetosome positioning using microscopic techniques, including high-speed atomic force microscopy (AFM) and live-cell fluorescence imaging. We observed dynamic localization of magnetosomes in growing cells and found that actin-like MamK cytoskeleton anchors magnetosomes to prevent physical disturbance of magnetosomes and tethers the magnetosomes into a static chain-like arrangement which generates a magnetic dipole. Next, we addressed *in vitro* dynamic property of MamK cytoskeletal filament. High-speed AFM observation showed that monomeric MamK proteins polymerized dynamically into double helical filaments. MamK filament had polarity similar with eukaryotic actin. We propose that MamK filaments dynamics driven by its polarity is essential for positioning of magnetosomes. Finally, I will introduce a live-cell imaging technique for bacterial cell surface using high-speed AFM. High-speed AFM can image structural dynamics of molecules in living bacterial surface and is meaningful to understand biological processes occurring outer surface of bacterial cell.

S08-3**大腸菌内膜で働く膜内切断プロテアーゼ RseP の新規切断基質探索：パーシスター化制御への関与**

○檜作 洋平, 横山 達彦, 秋山 芳展 (京大・ウイルス・再生研)

Screening for novel substrates of an *Escherichia coli* intramembrane protease RseP

○Yohei Hizukuri, Tatsuhiko Yokoyama, Yoshinori Akiyama (Inst. Front. Life Med. Sci., Kyoto Univ.)

細胞を包む生体膜は、呼吸や物質輸送といった生命に必須の様々な生体反応が行われる重要な反応場である。「膜内切断プロテアーゼ」は、切断基質である膜貫通タンパク質を脂質二重層内部で加水分解するというユニークな特徴を持ち、コレステロール代謝やアポトーシス、微生物の病原性発現など、ヒトから細菌に至るまで多様な生体プロセスに関与する。大腸菌膜内切断プロテアーゼである RseP は、細菌の表層構造を支える内膜に位置し、基質切断を介して細菌の生存戦略を担う表層ストレス応答の活性化に関与する。また分泌タンパク質の成熟過程で内膜に取り残されるシグナルペプチドを切断、除去することで膜の品質管理にも寄与する多機能プロテアーゼである。最近、我々は低分子膜タンパク質 SMP (small membrane protein) を対象とした RseP の新規切断基質スクリーニングを行い、複数の SMP が RseP によって切断されることを見出した。そこで RseP が SMP を切断することの生理的意義を検証した。

基質候補に含まれる Hok タンパク質は、Toxin-Antitoxin system を構成する Toxin であり、膜中で多量体化してポアを形成することで ATP などの細胞外流出を引き起こし、細胞の休眠化を促す。近年、Hok の発現により休眠状態となった細胞が抗生物質抵抗性となる「パーシスター化」を示すことが報告されている。そこで RseP による Hok の切断がその機能制御に関与するかを検証したところ、Hok の過剰発現によって引き起こされる細胞の生育遅延や ATP の細胞外流出が、RseP の共発現により抑制されることが示された。これらの結果は RseP の新たな役割として、Hok タンパク質が誘導する細胞のパーシスター化に抑制的に働く可能性を示唆する。

S08-4**バクテリア外膜タンパク質アセンブリ解析の新技术「EMM アセンブリ assay」**

○塩田 拓也, Edward Germany (宮大・テニュアトラック推進機構)

New tool to analyze the bacterial outer membrane protein assembly "EMM assembly assay"

○Takuya Shiota, Edward Germany (OPPT, Univ. of Miyazaki)

In Gram-negative bacteria, β barrel membrane proteins are involved in a nutrition transport, toxin-export, and host-pathogen interaction. The β barrel assembly machinery (BAM) complex is responsible for the assembly of β barrel membrane proteins into the outer membrane. This highly sophisticated nanomachine integrates and assembles proteins into the outer membrane and is composed of five subunits: the integral membrane protein BamA, and four lipoproteins called BamB, BamC, BamD and BamE. Recently, X-ray crystal and cryoEM structures of the BAM complex were reported. While these structural snapshots provide crucial clues as to how the BAM complex functions, the exact functions of each subunit remains unclear. In order to further understand these individual roles, we developed a new procedure termed the *E.coli* microsome membrane (EMM) assembly assay that is reminiscent of the mitochondrial protein import assay. EMM assembly assay can analyze the assembly efficiency of OMPs into the bacterial outer membrane via the BAM complex at the high-time resolution. Moreover, this method can be adapted to inhibitor screening. We are going to report the function of each subunit of the BAM complex and the inhibitor of assembly of β barrel membrane proteins.

S08-5**シアノバクテリアから葉緑体への変貌過程における表層膜構造の進化の解明と応用**

○児島 征司 (パナソニック (株)・テクノロジーイノベーション本部)

Evolution of cell surface during cyanobacterium-chloroplast conversion and its application

○Seiji Kojima (Technology Innovation Division, Panasonic Corporation)

葉緑体の起源は原始真核細胞内に共生したシアノバクテリア (藍藻) である。私は、反芻動物第一胃内の細菌群のみに存在すると思われた外膜安定化因子「細胞壁ペプチドグリカン (PG) 結合型ポリアミン」が[1], 原始的植物である灰色藻の葉緑体にも存在する事実を見出したことを契機に、藍藻が葉緑体へと変貌する過程における表層膜構造・機能の進化を探ってきた。大腸菌で確立された外膜解析手法を導入し、藍藻び葉緑体の表層膜を調べたところ、(1) 藍藻外膜は有機物透過性が大腸菌外膜と比較し約 20 分の 1 程度と極めて低いのにに対し、灰色藻葉緑体では外膜チャンネル CppS/F が大量に存在することで有機物透過性が飛躍的に高まっていること、(2) CppS/F は Planctomycetes 門系統の細菌の外膜蛋白質と類似していること、(3) PG 結合型ポリアミンは藍藻には存在しないが、灰色藻において葉緑体表層構造の維持に必須であることを明らかにした[2,3]。これらの成果は、「原始的葉緑体表層の機能・構造は系統的に全く異なる細菌由来の分子機構が共存して成り立っている」という予想外の事実を示している。自然環境中で棲息する藍藻を葉緑体へと変換して利用する過程には、未だ人類が知り得ない自然の叡智が詰め込まれているようである。藍藻を「光合成工場」として利用することにおいて植物は史上最も成功した生物の一つであり、本講演では藍藻から葉緑体への進化機構を応用した取り組みについても紹介する。

[1]Kojima et al., 2011, J. Bacteriol. 193:2347

[2]Kowata et al., 2017, J. Bacteriol. 199:e00371-17

[3]Kojima et al., 2016, J. Bio. Chem. 291:20198

S08-6

Outer membrane is required for proliferation of *Escherichia coli* L-form.

○塩見 大輔¹, 近田 大基¹, 大島 拓² (1立教大・理・生命理, 2富山県立大・工・生物工)

○Daisuke Shiomi¹, Taiki Chikada¹, Taku Oshima² (1Dept. Life Science, Col. Science, Rikkyo Univ., 2Dept. Biotech., Appl. Bioinfo., Toyama Pref. Univ.)

Peptidoglycan (PG) and outer membrane (OM) in Gram-negative bacteria are important for their viability. If cells are treated with antibiotics such as penicillin G (PenG) and fosfomycin (Fos) that inhibit peptidoglycan synthesis, cells are eventually lysed. Although the cell surface structure is important for the viability, many bacterial cells are known to be able to survive in the presence of PenG or Fos in hypertonic medium by switching into a cell wall deficient state, called L-form. However, mechanism underlying transition to L-form state is still largely unknown. Most of studies to uncover the mechanism have been done in Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. We have been investigating the mechanism in Gram-negative bacterium *E. coli*. We first set up the experiment to observe the transition process and could successfully observe it. We found that magnesium required for integrity of OM is required for proliferation of L-form and that Polymyxin B nonapeptide which breaks up OM inhibits growth of L-form. We isolated transposon insertion mutants which promote L-form transition and the mutations were mapped in factors involved in biogenesis of OM. These results suggest that biogenesis and maintenance of OM are required for proliferation of L-form.

S09

細菌感染とメンブレン

コンピーナー：久堀 智子 (岐阜大学)
新崎 恒平 (東京薬科大学)

Bacterial infections and membranes

Conveners: Tomoko Kubori (Gifu Univ.)
Kohei Arasaki (Tokyo Univ. Pharmacy and Life Sciences)

病原細菌による宿主細胞への感染には様々な局面でメンブレンが関与する。細胞内寄生性の細菌においては、まず宿主細胞膜というバリアを乗り越えて細胞内へ侵入することが必要である。その後ファゴソームからの脱出、あるいは宿主の膜輸送経路を乗っ取って、増殖のニッチとなる特殊なオルガネラを構築する。一方で、宿主細胞が細菌の排除に働く仕組みにおいて、選択的オートファジーはオートファゴソームという膜構造体によって実現される分解系であり、その認識には細菌内包膜の破綻が関与する場合もある。細菌毒素は宿主細胞膜を特異的に認識することでその機能を果たし、エフェクター分子は細菌及び宿主の持つ多重な膜構造を貫通して分泌されることで機能を実現する。本テーマではメンブレンが関与する幅広い研究を取り上げ、細菌感染という現象について、「細菌及び宿主細胞によるメンブレンの操作」という切り口で議論を深めることを目指す。

S09-1

Vacuole manipulation by *Legionella* deubiquitinases

○久堀 智子, 北尾 公英, 永井 宏樹 (岐阜大・医・病原体制御)

○Tomoko Kubori, Tomoe Kitao, Hiroki Nagai (Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med., Gifu Univ.)

The intracellular bacterial pathogen *Legionella pneumophila* hijacks the early secretory pathway to establish its replicative niche, known as the *Legionella*-containing vacuole (LCV). Many effector proteins delivered via the bacterial type IV secretion system (T4SS) are expected to be involved in biogenesis and regulation of the LCV that is highly decorated with ubiquitin. By carrying out a genome analysis, we identify two *L. pneumophila* proteins resembling eukaryotic ovarian tumor (OTU) superfamily of cysteine proteases. We designate these proteins LotA and LotB. LotA exhibits a dual ability to cleave ubiquitin chains and removes ubiquitin from the LCV. We show that the deubiquitinase (DUB) activity of LotA contributes to intracellular bacterial growth through functional interaction with another bacterial ubiquitin ligases. LotB reveals a DUB activity specific to K63-linked ubiquitin chains. We show that LotB targets Sec22b, the ER v-SNARE, which is known to localize on the LCV and plays a crucial role in membrane fusion by forming a non-canonical pairing with plasma membrane-derived t-SNAREs. The DUB activity of LotB against Sec22b results in dissociation of a t-SNARE syntaxin 3 from the LCV by disrupting the non-canonical SNARE pairing. Our results highlight bacterial strategies to manipulate the process of the vacuole maturation by utilizing DUBs.

S09-2**糖鎖結合性細菌毒素を用いたゲノムワイド CRISPR スクリーニング**

○山地 俊之 (感染研・細胞化学部)

A genome-wide CRISPR screen for bacterial glycan-binding toxins

○Toshiyuki Yamaji (Dept. Biochem. Cell Biol., NIID)

志賀毒素は腸管出血性大腸菌の病原性因子であり、細胞表面のスフィンゴ糖脂質 Gb3 に結合して取り込まれた後、細胞質へと逆輸送され、リボソームを不活化することで細胞死をもたらす。一方同じく腸管出血性大腸菌が産生する Subtilase cytotoxin (SubAB) も、シアロ糖鎖に結合後小胞体へと逆輸送され、小胞体シャペロンの Bip を切断することで細胞死を引き起こす。これらの毒素に対する耐性を指標に CRISPR KO スクリーニングを行ったところ、遺伝子破壊で耐性を示す宿主因子がそれぞれ網羅的に同定された。本シンポジウムでは、以下に示すように受容体である糖脂質やシアロ糖鎖の生合成に影響を及ぼす新規因子の解析を中心にお話したい。

(1) 志賀毒素を用いたスクリーニング

Gb3 の生合成酵素群の他、細胞内輸送に関する遺伝子が濃縮された。機能が未解明である LAPTM4A 及び TM9SF2 に関してさらに解析を行ったところ、両タンパクとも Gb3 生合成に影響を及ぼしていた。ただし作用機序は異なり、LAPTM4A は Gb3 生合成活性に影響を及ぼすのに対し、TM9SF2 は Gb3 合成酵素の細胞内動態に影響を及ぼすことが示唆された。

(2) SubAB を用いたスクリーニング (千葉大・八尋先生との共同研究)

糖鎖生合成酵素 KO 細胞の解析より、N 型糖鎖のみならず O 型糖鎖も SubAB の受容体として寄与することが示唆された。また酵素以外の遺伝子として、(1) と共通する遺伝子の他、KDEL 受容体、JTB、及び SLC39A9 が同定された。そのうち SLC39A9 は N 型、O 型の両糖タンパク糖鎖の生合成に影響していることが明らかとなった。

S09-3**肺炎球菌感染における hierarchical なオートファジー誘導**

○小川 道永, 大西 真 (国立感染研・細菌1)

Hierarchical autophagy induction during pneumococcal infection

○Michinaga Ogawa, Makoto Ohnishi (Bacteriol. I, Nat. Inst. Infect. Dis.)

肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) は鼻咽頭に常在する日和見細菌であるが、小児や高齢者ではしばしば肺炎や、菌血症・髄膜炎といった侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) の起原菌となる。IPD における菌の侵入門戸は小児では鼻咽頭上皮、高齢者では肺胞上皮であると考えられている。これらの上皮細胞層は物理的な一次バリアとして機能しているが、細胞内に侵入した肺炎球菌の動態については不明な点が多い。現在までに我々は、細菌を選択的に認識するオートファジー (ゼノファジー) に着目し、肺炎球菌感染 2 時間後の細胞では FIP200, Atg14L, p62, K63 型ポリユビキチン鎖に依存したカノニカルなオートファジーが誘導されることを報告している。一方で、最新の研究から、LAP (LC3-associated phagocytosis) をはじめとする FIP200 非依存的なノンカノニカルなオートファジーが病原体の感染により誘導されることが明らかになってきている。そこで本研究では、肺炎球菌感染細胞で誘導されるカノニカルなオートファジーと FIP200 非依存的なノンカノニカルなオートファジーを比較しながら、徐々に明らかになりつつある細胞内での肺炎球菌のふるまいについて紹介する。

S09-4**レジオネラエフェクターの生化学ツールとしての応用**

○新崎 恒平 (東京薬大・生命)

Application of Legionella effector for biochemical tools

○Kohei Arasaki (Sch. Life Sci, Tokyo Univ. Pharm. and Life Sci.)

細胞内発症型細菌であるレジオネラは、宿主細胞内に『レジオネラエフェクター』と呼ばれる多くのタンパク質を放出し、細胞内生理機能をハイジャックすることが知られている。レジオネラがハイジャックする生理機能は細胞内膜輸送や膜融合、オートファジー、アポトーシス、小胞体ストレス応答など多岐に及び、各々の生理機能をハイジャックするレジオネラエフェクターが同定されつつある。これらレジオネラエフェクターが多様な宿主生理機能をハイジャックできる理由として、各々のレジオネラエフェクターの特異的な細胞内局在が挙げられる。興味深いことに、いくつかの膜局在型レジオネラエフェクターはカルボキシ末端に脂質結合ドメインを有しており、脂質との特異的結合を介して特定の“膜”に局在しその機能を発揮する。DrrA は LCV 上において Rab1 を活性化するレジオネラエフェクターであり、自身の LCV への局在化に C 末端に存在する PI4P 結合ドメイン (P4M ドメイン) を利用している。最近になり、DrrA の P4M ドメインが脂質プローブとして利用され始め、NIH の Balla 博士 (J Cell Biol. 2015) や Yale 大学の De Camilli 博士 (Cell. 2016) らが DrrA-P4M を PI4P の脂質プローブとして利用している。本シンポジウムではオートファゴソーム形成をブロックするレジオネラエフェクターである RavZ や小胞体—ミトコンドリア接触場に局在する syntaxin 17 を分解する Lpg1137 の膜局在化機構を利用した脂質プローブとしての可能性を紹介する。

S09-5**Analysis of mycobacterial protein PE_PGRS62 and PE_PGRS30**○松村 和典¹, 祝 弘樹², 切替 照雄³ (¹国立国際医療研究セ・疾患制御, ²国立国際医療研究セ・感染症制御, ³順天堂大・医・微生物学)○Kazunori Matsumura¹, Hiroki Iwai², Teruo Kirikae³ (¹Dept. Disease Cont., Inst., NCGM, ²Dept. Infect. Dis., Inst., NCGM, ³Dept. Microbiol., Sch. Med., Juntendo Univ.)

Mycobacterium tuberculosis have functions to escape from host defenses. Proline-glutamic acid polymorphic GC-rich repetitive sequence (PE_PGRS) proteins, a major protein family of PE proteins consisting almost 10% of the *M. tuberculosis* genome, have unknown functions. We have been analyzed the functions of PE_PGRS62 and PE_PGRS30, those are homologs of MAG 24, a virulence factor of *M. marinum*. PE_PGRS62 gene-deletion strain had less virulence in mice, compared to wild-type strain Erdman, although the complement strain had almost the same virulence as wild-type strain. PE_PGRS62 protein localized cell surface of mycobacterium. Autophagy is an intracellular recycling system of cells. Lipidation of LC3 in PE_PGRS62-expressing macrophages slower than those in GFP-expressing macrophages. Atg5-knockdown J774 cells revealed that PE_PGRS62 inhibits autophagy via ATG5. On the other hand, PE_PGRS30 induces apoptosis in murine macrophage-like RAW264.7 cells via interacting prohibitin (PHB) 2, a host protein having multiple functions including the maintenance of mitochondrial morphogenesis. Ectopic expression of PE_PGRS30 induced apoptosis in RAW264.7 cells. A pull down assay, immunoprecipitations, in vitro binding assays revealed that the PGRS domain of PE_PGRS30 interacted with PHB2 via a region including a putative mitochondria localization signal.

S09-6

A 群レンサ球菌感染に対するゼノファジーの制御

○中川 一路 (京大・医・微生物感染症)

Regulation of xenophagy in group A *Streptococcus* infection

○Ichiro Nakagawa (Dept. Microbiol., Sch. Med., Kyoto Univ.)

病原性細菌の多くは、病原因子を感染細胞内に分泌することで宿主側の感染防御機構を攪乱し病原性を発揮する。A 群レンサ球菌は、宿主細胞内に侵入した後に、オートファジーの特殊な形態であるゼノファジーによって細胞内より排除されることが知られている。しかし、A 群レンサ球菌感染細胞において、ゼノファジー以外の菌-宿主間相互作用についてはほとんど明らかにされていない。A 群レンサ球菌の感染によって誘導されるゼノファジーでは、飢餓状態で誘導されるオートファジーとは異なる点も多い。通常のオートファゴソームには基質の選択性がないため、細菌を特異的に分解するためには、細菌とオートファゴソームをつなぐアダプタータンパク質が必要となり、これまでに、p62/SQSTM1, NDP52 などがアダプタータンパク質として報告されているが、それぞれの役割の違いや細菌種に応じた使い分け、加えて制御メカニズムについても不明である。そこで我々は、細胞内の膜輸送の調節因子である Rab タンパク質と、その制御因子である RabGAP, RabGEF が GcAV 形成との関連に注目して解析を進めてきた。飢餓誘導時に必須な Rab タンパク質以外に、GcAV の形成時のみに起動する多数の Rab タンパク質や、その制御系も明らかとなってきた。すなわち、ゼノファジーでは生理的なオートファジーと共通するものの、その後の菌体の排除には特有のメカニズムによって制御されていることが明らかとなってきた。このシンポジウムでは A 群レンサ球菌感染におけるゼノファジーにおけるユニークな調節メカニズムについて最新のデータを元に議論を進めていきたい。

S10

環境に対応する微生物の生存戦略

コンピーナー：中田 匡宣 (大阪大学)

高松 大輔 (農業・食品産業技術総合研究機構)

Microbial strategies for survival in response to environmental factors

Conveners: Masanobu Nakata (Osaka Univ.)

Daisuke Takamatsu (National Agriculture and Food Research Organization)

病原微生物は様々な細胞外環境に適応し、遺伝子転写や翻訳を調節する。近年、調節機構の研究においては、網羅的解析に端を発するものが主流になっている。しかし、大量のデータにより得られる遺伝子と制御パターンのカタログから更に踏み込み、各因子に局限する旧来の解析が求められている。調節機構に関する詳細の解明により、微生物の生態や感染・病態発症過程における微生物因子の機能等についての更なる理解や様々な応用に繋がる。さらには、感染過程における微生物因子の発現時期の予測ならびに治療標的とワクチン抗原を選択する際の指標となり得る。本セッションでは、転写翻訳調節機構に関する新展開と数理モデル化を用いた研究を紹介し、新たな視点で宿主と病原体の相互作用の理解を目指す。また、細菌における抗菌薬耐性因子の進化と構造や遺伝子転写・翻訳が抗菌薬耐性に及ぼす影響についても議論する場とした。

S10-1

mRNA サーモセンサーにより制御される化膿レンサ球菌の温度感受性線毛産生

○中田 匡宣 (阪大院・歯・口腔細菌)

Thermosensitive pilus production by *Streptococcus pyogenes* via mRNA thermosensor

○Masanobu Nakata (Dept. Oral and Mol. Microbiol., Grad. Sch. Dent., Osaka Univ.)

Bacteria utilize intricate mechanisms for prompt responses to changes in environmental conditions. Environmental temperature shifts sensed by pathogenic bacteria result in modulation of transcriptional and translational efficiency. Such thermosensing capability arises from the structural lability of a wide variety of molecules, including RNA. *Streptococcus pyogenes* is a mesophilic human pathogen associated with diverse clinical manifestations. The bacterium produces a wide variety of pili in a serotype-dependent manner, with their remarkable genetic and antigenic variability emphasized by the fact that the main subunit is responsible for T serotyping antigenicity. Pilus expression analysis of clinical isolates revealed thermosensitive pilus production only in strains possessing the transcriptional regulator Ralp2 and that production by this distinct subset of strains was shown to be dependent on post-transcriptional regulation of *ralp2*, as a putative stem loop structure within the coding region of *ralp2* mRNA was found to function as a thermosensor to modulate its translational efficiency via potential interactions with the translation initiation complex. This novel thermoregulation of adhesin production via an mRNA thermosensor highlights the underlying mechanism used by this pathogen to establish infection and colonization in human tissues.

S10-2

コレラ菌走化性における環境情報感知機構

○川岸 郁朗¹, 西山 宗一郎², 田島 寛隆¹ (1法政大・生命・生命機能, ²新潟薬科大・生命)

Environmental sensing in chemotaxis of *Vibrio cholerae*

○Ikuro Kawagishi¹, So-ichiro Nishiyama², Hiroataka Tajima¹ (1Dept. Frontier Biosci., Hosei Univ., ²Dept. Appl. Life Sci., Niigata Univ. Pharm. Appl. Life Sci.)

Vibrio cholerae, the etiological agent of cholera, swims in aqueous environments with a single polar flagellum. In a spatial gradient of amino acids or other chemicals, the bacterium migrates in "favorable" directions. This property termed chemotaxis is not only critical for survival of *V. cholerae* in various environments and but also is implicated in its pathogenicity. One remarkable feature of the chemotaxis of *V. cholerae* is that it has three sets of chemotaxis-related signaling systems, among which only System II is directly involved in chemotaxis, and more than 40 receptor-like proteins termed MLPs, most of which have not been characterized for their physiological roles. In this talk, we will discuss on chemoreceptors for amino acids and taurine that have PAS-like sensor domains in the periplasmic region, with the emphasis on their structure-function relations as well as the regulation of their expression.

S10-3

ミツバチの病原体ヨーロッパ腐蝕病菌の蜂群内での生存戦略

○高松 大輔^{1,2} (1農研機構・動衛研, ²岐阜大院・連合獣医)

Survival strategies of a honey bee pathogen, *Melissococcus plutonius*, in bee colonies

○Daisuke Takamatsu^{1,2} (1Natl. Inst. Anim. Hlth., NARO, ²Utd. Grad. Sch. Vet. Sci., Gifu Univ.)

ミツバチは1匹の女王蜂を中心に数千から数万匹のハチで構成される群(コロニー)を形成する社会性昆虫である。ハチ達は人が直接は利用できない花蜜や花粉を集め、ハチミツなどの付加価値の高い生産物に変えてくれる。また、採餌の過程で植物の受粉を助け、農作物の生産にも貢献するため、家畜としても飼育されている。健康なミツバチを維持するためには、飼育する人が健全な飼育環境を準備する必要があるが、ミツバチ達自身も感染症などの脅威から身を守るため、巣の中に抗病的な環境を築いている。例えば、ミツバチの餌であるハチミツやローヤルゼリー(RJ)はそれ自体が強い抗菌活性を持っている。特にpHが低く、抗菌ペプチドや脂肪酸を含むRJ内では芽胞以外の菌は簡単に殺菌されてしまう。ところが、ミツバチの法定伝染病の原因菌であるヨーロッパ腐蝕病菌(*Melissococcus plutonius*)は、芽胞を作れないにもかかわらず餌の中で長期間生き残り、幼虫に経口感染することができる。このことは、*M. plutonius*が、他の菌にはないハチ由来抗菌物質耐性性能を持つことを示唆しているが、実際に演者らは、*M. plutonius*がRJの抗菌活性に強い抵抗性を示すことを証明し、この能力発揮に転写調節因子がかかっていることを発見した。また、*M. plutonius*は、使われていなかった偽遺伝子の機能を復活させて抗菌物質や環境の変化に適応することがあることもわかってきた。これら*M. plutonius*の環境適応能については解析が始まったばかりであり、そのメカニズムはまだ不明な点が多いが、本シンポジウムでは、これまでにわかってきた知見を紹介し、*M. plutonius*の蜂群内での生存戦略について考察したい。

S10-4

転写のゆらぎと自己ゲノム編集による抗生物質耐性遺伝子の発現

○間世田 英明 (産総研・バイオメディカル・先端ゲノム)

Expression of antibiotic resistance genes by self-genome editing and fluctuation

○Hideaki Maseda (Dept. Life Sci. & Biotech., Adv. Indust. Sci. & Tec.)

環境常在菌は、常に様々な環境変化に晒され、巧みに遺伝子の発現をコントロールしながら、その環境変化に対応し生存している。その中でも環境常在性の感染症の原因菌などでは、さらに多くの応答システムをゲノムに有し、特に生き死にに関わるような細菌にとっては最も大きな環境変化である抗生物質に対しては、多くの遺伝子をそれぞれの抗生物質に合わせて複雑にかつ繊細に発現させ、様々な戦力をもってその変化に巧みに対応している。抗生物質に対応するシステムでよく知られているものの一つに抗生物質を細胞外に排出するRND型のefflux systemがある。環境常在性の感染症の原因菌である緑膿菌はそのようなefflux systemを通常12セットゲノムに有していることが知られているが、常に利用しているものは、MexAB-OprMの1セットのみである。それ以外は、何らかの外界からの刺激に反応して、必要時に発現を誘導している。誘導型のefflux systemの一つであるMexEF-OprNもまた、外界からの刺激により発現が誘導される。最もシンプルな応答は、抑制遺伝子*mexS*遺伝子の変異による*mexEF-oprN*遺伝子の誘導であるが、それ以外にも、遺伝子の発現のゆらぎやゲノムの自己編集による遺伝子再生を伴った発現など様々な戦略でMexEF-OprNを発現させ抗生物質に対応する。本演題では、演者が明らかにしてきたいくつかのMexEF-OprNの発現システムについて紹介したい。

S10-5

Phylogenetic analysis and environmental adaption of multidrug efflux pumps

○Martijn Zwama¹, Akihito Yamaguchi², Kunihiko Nishino¹ (1Dept. Biomolecular Science and Regulation, Inst. Scientific and Industrial Res., Osaka Univ., ²Lab. Cell Membrane Biology, Inst. Scientific and Industrial Res., Osaka Univ.)

Multidrug-resistant (MDR) pathogens have become a major threat to global health. One of the main reasons for MDR is the over-expression of RND-type multidrug efflux pumps. Besides being drug efflux pumps able to expel a wide range of antibiotics, these pumps have a physiological function for cell survival. We were interested in the evolutionary relationship between these RND-type efflux pumps and functionally characterized an ancient and an evolved efflux pump, and checked for intrinsic differences and similarities. We found that the ancient efflux AcrB from *Haemophilus influenzae* (AcrB-Hi) expels the same antibiotics as its evolved colleague from *Escherichia coli* (AcrB-Ec). However, we also found that AcrB-Hi was unable to expel bile salts, which are substrates of AcrB-Ec. It makes sense for AcrB-Ec to expel bile salts, as the natural environment for *E. coli* is the gut. AcrB-Hi was also not inhibited by an efflux pump inhibitor (EPI) which inhibits AcrB-Ec. AcrB-Ec and other evolved pumps have a Phe-rich pit, which binds the EPI. We hypothesize that the pit is acquired by evolution. The inhibition by EPIs might be an unwanted evolutionary result for these pumps. We also hypothesize that RND efflux pumps have adapted to fit their environmental needs, however, multidrug recognition may not be an evolutionarily acquired ability, but has been present since ancient transporters.

S10-6

病原真菌 *Aspergillus fumigatus* の環境応答能の数理モデル化による理解の試み

○高橋 弘喜^{1,2,3} (1千葉大・真菌, 2千葉大・キラリティー, 3千葉大・植物科学)

Mathematical modelling for understanding the environmental stress response in *Aspergillus fumigatus*

○Hiroki Takahashi^{1,2,3} (1Med. Mycol. Res. Cent., Chiba Univ., 2Mol. Chiral. Res. Cent., Chiba Univ., 3Plant. Mol. Sci. Cent., Chiba Univ.)

我が国を始めとする先進国では、医療技術の進歩により、致死率の高い真菌症の増加が重大な問題となっている。環境菌である *Aspergillus fumigatus* を主な原因菌とする肺アスペルギルス症は極めて難治であることから、効果的な治療薬の開発が求められている。主として用いられるアゾール系薬に対しても、耐性菌株が出現していることから、その治療は益々困難となっている。我々は、*A. fumigatus* の感染機構が、その頑強な環境応答能と密接に関係していることに着目して、環境適応能を定量的に理解して新たな治療戦略の確立に繋げることを目指している。これまでに、臨床分離株の性状解析と NGS による全ゲノム解析を統合した手法で、感染中にゲノムの変化や表現形質が変化することを明らかにしてきた。また、我々が計測した表現形質間で有意な相関はなく、菌株ごとに多様な形質を示すことが見えてきた。そこで現在は、数理モデル化を取り入れて、環境応答能の更なる理解に繋げることを試みている。本発表では、我々が進めてきた解析結果について紹介したい。

S11

人的交流増加による新たな病原菌対応への
日本細菌学会のミッション

コンピーナー：菊池 賢（東京女子医科大学）

**Mission of Japanese Society for Microbiology
to control emergent pathogenic
microorganisms due to expansion of
international exchange**

Convener: Ken Kikuchi (Tokyo Women's Medical Univ.)

2019年4月に改正入管法が施行され、新たな外国人労働者の急激な増加が見込まれている。初年度は5万人弱、5年間で34.5万人の受け入れが予定されている。また、2020年のオリンピック・パラリンピック開催により、訪日旅行者は4000万人に達すると予想されている。一方、改正入管法には感染症の既往記載、結核の有無や過去のワクチン接種歴などによる入国管理規制項目は設定されていない。このため、人的交流が増加すれば、必然的に様々な感染症病原菌が持ち込まれる、あるいは日本から持ち帰られることが起きる。我々はこれまで直面したことのない病原菌への対応を迫られることになる。本シンポジウムでは今後、日本が直面する様々な感染症病原菌の変化に、日本細菌学会としてどのような行動を取るべきか、考えてみたい。

S11-1

細菌性下痢症と東京都における感染症対策

○小西 典子, 河村 真保（東京都健康安全研究センター 微生物部）

Bacterial diarrhea and infectious diseases control in Tokyo

○Noriko Konishi, Maho Kawamura (Tokyo Met. Inst. of Pub HLTH., Dept. Microbiol.)

東京都は人口約1,390万人の大都市であることに加え、外国人旅行者も2012年以来急増しており、2017年には約1,377万人に達した国際都市である。また2020年7月には東京でオリンピック・パラリンピックが開催されることから、感染症が海外から持ち込まれ、感染が拡大するリスクの高まりが懸念されている。このような輸入感染症に迅速に対応するためには、サーベイランス体制の強化による早期探知、予防対策の徹底、防疫体制の強化等を確実に行うことが重要である。海外から持ち込まれる下痢症起因菌として重要なものは、主に三類感染症起因菌である。このうち腸管出血性大腸菌は最も届出数が多く、毎年全国各地で食中毒事例も報告されているが、輸入感染症事例はあまり報告されていない。一方、赤痢菌、コレラ菌、チフス菌、パラチフスA菌のわが国における報告数は数事例～数百事例とそれほど多くないが、報告総数の60%以上が輸入感染事例であることから、海外旅行者や訪日客を通じて日本に持ち込まれ、感染が広がる可能性が高い菌である。

2014年には食品衛生法改正（1999年）以来初めてのチフス菌による食中毒が東京都内で発生し、無症状病原体保有者である調理従事者が食材を汚染させたことが原因と推定された。食中毒や集団感染を未然に防ぎ感染拡大防止に向けて地方衛生研究所が担う役割は、迅速な情報の収集と解析、菌株の収集と分子疫学解析、それらの結果の迅速な還元である。

今回、東京都で実施している感染症対策について概要を紹介すると共に、三類感染症や食品媒介感染症を中心とした下痢症起因菌の分離状況や分離菌株の分子疫学解析成績について紹介する。

S11-2

インバウンド増加に伴う腸管出血性大腸菌等予防強化に向けた考察

○佐藤 寿夫 (株式会社 日本微生物研究所 精度管理室長)

Consideration for strengthening prevention of Enterohemorrhagic Escherichia coli related to the increment of Inbound

○Toshio Sato (Manager of Quality Control Department, JAPAN BIOSCIENCES CO., LTD.)

政府は経済成長の重要な柱としてインバウンドを更に増加させる方針です。又、東京オリンピック・パラリンピック開催により訪日外国人が増え、更に法律改正により外国人労働者の大幅な流入も予想されます。2016年5月の報告のごとくアジアの方々の訪日は、新興・再興感染症に対する十分な知識と対策を行う時期に来ていることを告げています。

今回、食品衛生法や学校保健法等による検便検査から得られた健康保菌者由来の腸管出血性大腸菌検出結果から市中感染の現状と予防を考察致しました。

日本の腸管出血性大腸菌による発症者数は、ヨーロッパ全体の報告数に匹敵しており先進国では際立って高い状況です。都市部における発症者の多さから公衆衛生レベルの高い日本の現状を検便検査や食品検査・ふき取り検査などの結果から考察すると健康保菌者由来のヒト-ヒト感染が発症に大きく関与していることが読み取れます。しかも健康保菌者由来の検出率は年々増加しており温暖化との関連等も危惧されます。

検便検査における腸管出血性大腸菌の検査は、大多数の無害な大腸菌から検出しなければならないため非常に難しい検査です。更に発症に大きく関与している付着因子 (インチミン) の存在にも注目しております。食中毒の発生防止には、健康保菌者の状況を正確に把握して予防のための適切な対応が求められます。

又、厚生労働省やWHOなどが問題視している多剤耐性菌についても、検便検査を通して市中の一般的なヒトの腸管常在菌の耐性化状況把握に弊社のデータが重要であると考え、今後ともこのことに深く関わっていきたいと考えております。

S11-3**Immigrants; Impact on tuberculosis, especially in multidrug-resistance**

○御手洗 聡 (結核予防会結核研究所抗酸菌部)

○Satoshi Mitarai (Dept. Mycobacterium Reference and Research, the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis association)

The incidence of tuberculosis (TB) in Japan keeps clear decreasing in recent decades, while its composition is changing from domestic transmissions to afferent infections. In fact, the majority, approximately 2/3 of TB is composed of elderly population. The TB cases in 80s and 90s started decreasing in Japan, while the increasing number of foreign born TB patients is reaching to approximately 11% of the total incidence in Japan. The statistics of TB in Japan 2019 actually reports >70% of TB patients in 20s are foreign born already. In this regard, the proportion of modern Beijing is increasing in metropolitan area though the others keep ancient lineage. In addition, though the statistics also reports the proportion of multidrug-resistant TB (MDR-TB) is relatively stable in Japan in these seven years, the actual number of foreign born MDR-TB cases are increasing while the Japanese cases are decreasing. Actually, the proportion of anti-TB drug resistances in foreign born TB patients are higher than those of Japanese patients. The overall phenomena occurring in Japan in these years suggest this country is heading to the similar situation observed in many industrialised countries; relatively low incidence of TB and high drug resistances in specific population. If the control of MDR-TB in neighbouring countries fails, it will affect the resurgence of drug resistant TB in Japan.

S11-4

訪日外国人客の増加と細菌感染症の発生動向

○大西 真 (国立感染症研究所)

Increasing number of inbound tourists and trends in bacterial infections

○Makoto Ohnishi (National Institute of Infectious Diseases)

観光を日本の基幹産業へと成長させ「観光先進国」を目指した改革が進んでいる。2013年に訪日外国人客は1,000万人を超え、2015年には約2,000万人となった。さらに、政府は『明日の日本を支える観光ビジョン構想会議』(2016年)において、新たな観光ビジョンを策定した。数値目標として2020年には、4000万人、2030年には6000万人の外国人観光客を受け入れることを掲げている。感染症の広がり観点からは、訪日外国人の増加は単なる「感染症の輸入」機会を増やすことだけではなく、国内の人の移動が増加し、感染伝播の機会を増やすことにも繋がることと予想される。日本政府観光局による資料によると、2018年の訪日外国人旅行者数の推計値は約3,119万人(法務省資料に基づき、外国人正規入国者のうちから日本に永続的に居住する外国人を除き、一時上陸客数を加えた集計)となった。この数は出国日本人数1,895万人(法務省出入国管理統計、出入(帰)国者数)の約1.7倍となる。発生動向調査からは、訪日外国人旅行者数の増加が細菌感染症の増加や多様性増大などに影響している様子を認めることはない。しかしながら、2019年のラグビーワールドカップ観戦のために訪日した外国人の侵襲性髄膜炎菌感染症事例(国内発症)が発生した。発生動向調査に基づいたきめ細かな対応が必要であろう。日本細菌学会としても、国内の発生動向が従前とは異なってくる可能性も否定できないため、より一層海外の感染症動向を注視しておく必要がある。国内では発生報告がなかった、あるいはあったとしても稀であった細菌感染症に対しても科学的知見を提供する社会的な使命があることを再認識する必要がある。

本邦から世界に発信している薬剤耐性研究、創薬研究

コンピーナー：木村 幸司（名古屋大学）
和知野 純一（名古屋大学）

AMR research and antibiotics research from Japan

Conveners: Kouji Kimura (Nagoya Univ.)
Jun-ichi Wachino (Nagoya Univ.)

薬剤耐性微生物（AMR, Antimicrobial resistance）は、本邦でもアクションプランが策定されるなど、社会的関心が高い問題である。薬剤耐性菌は、ヒト、モノなどを介して世界中に伝播しうるが、地理的に異なる分布を示すことも明らかになっている。本企画では、世界中で特に本邦で耐性化が進んでいる薬剤耐性菌について研究され、日本から世界に情報を発信している先生方、日本発の創薬研究を行なってこられた先生方に演者をお願いしている。これらの先生方は、世界の後追いでではなく、独自性の高い研究を展開され、日本から世界に発信していることから、多くの学会員の刺激になると考えられる。

S12-1

Antimicrobial resistance in *Helicobacter cinaedi*

○林原 絵美子¹, 森 茂太郎¹, 金 玄¹, 鈴木 仁人², 柴山 恵吾¹ (¹国立感染症研究所・細菌第二部, ²国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター)

○Emiko Rimbara¹, Shigetaru Mori¹, Hyun Kim¹, Masato Suzuki², Keigo Shibayama¹ (¹Dept. Bacteriology II, Nat. Inst. Infect. Dis., ²AMR Centr., Nat. Inst. Infect. Dis.)

Helicobacter cinaedi, the most prevalent enterohepatic *Helicobacter* in humans, inhabits the intestine and causes bacteremia and cellulitis mainly in immunocompromised patients. *H. cinaedi* infections frequently relapse, requiring long-term treatment. The prevalence of antimicrobial resistance in *H. cinaedi* markedly differs from that of *H. pylori*. Most *H. cinaedi* isolated in Japan are resistant to clarithromycin (CAM) and levofloxacin (LVFX), although 30-40% of *H. pylori* are resistant to CAM and LVFX. In addition, the MICs of β -lactams for *H. cinaedi* are much higher than those for *H. pylori*. Here, we investigated the mechanism underlying *H. cinaedi* antimicrobial resistance. CAM and LVFX resistance were mainly caused by mutations in the 23S rRNA and DNA gyrase genes, respectively. β -Lactam resistance was found to be caused by mutations in penicillin-binding proteins, particularly PBPA. Knockout of *cmeB* and *cmeD* genes encoding RND-type efflux pump components in *H. cinaedi* decreased the amoxicillin MIC by 8- and 64-fold, respectively, similar to that in *H. pylori* isolates. Differences in β -lactam susceptibility of *H. cinaedi* and *H. pylori* could be associated with efflux pump activity.

S12-2

β -ラクタム系薬低感受性 B 群レンサ球菌(GBS-RBS)

○木村 幸司¹, 長野 則之², 荒川 宜親¹ (¹名大・医・分子病原細菌学, ²信州大・医・検査技術科学)

Group B Streptococcus with reduced β -lactam susceptibility (GBS-RBS)

○Kouji Kimura¹, Noriyuki Nagano², Yoshichika Arakawa¹ (¹Det. Bacteriol., Nagoya Univ. Grad. Sch. Med., ²Dept. Health and Med. Sci., Shinshu Univ. Grad. Sch. Med.)

Streptococcus agalactiae (Group B *Streptococcus*, GBS) は、新生児の敗血症、髄膜炎の筆頭原因菌であり、また、高齢者、糖尿病患者などに侵襲的な感染症を引き起こすことが知られている。臨床分離される GBS は、これまですべてペニシリンを含む β -ラクタム系薬に感受性であったため、GBS 感染症の予防、治療の第一選択薬は、ペニシリンを含む β -ラクタム系薬である。そのような中、我々は、ペニシリンの最小発育阻止濃度 (MIC) が上昇したペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌 (Group B streptococci with reduced penicillin susceptibility, PRGBS) の存在を報告した。PRGBS は、Penicillin-binding protein (PBP) にアミノ酸置換を有し、ペニシリン系薬、一部のセファロスポリン系薬に低感受性となっている。また、同時にマクロライド系薬、フルオロキノロン系薬に耐性であることが多く、多剤耐性傾向が認められる。また、ペニシリン系薬に感受性ではあるが、PBP にアミノ酸置換を有し、セファロスポリン低感受性の株が出現してきており、PRGBS を含め、これらの株も β -ラクタム系薬低感受性 B 群レンサ球菌 (GBS-RBS) と呼んでいる。これまで、PRGBS は、非妊婦の成人の呼吸器系検体から分離されることが多かったが、メザンビークより新生児侵襲的 GBS 感染症由来の PRGBS の分離が報告された。また、国内では、PBP にアミノ酸置換が認められた妊婦産由来の GBS-RBS が 5 株分離されている。本講演では、GBS-RBS について概説する。

S12-3

セフトリアキソン耐性淋菌の世界的な拡散

○大西 真 (国立感染症研究所・細菌第一部)

International spreading of ceftriaxone resistant *Neisseria gonorrhoeae*

○Makoto Ohnishi (Dept. Bacteriol., National Institute of Infectious Diseases)

淋菌感染症治療には抗菌薬治療が必要不可欠である。淋菌の耐性化が急速に進み、現在ではセフトリアキソン (CRO) は数少ない治療薬の一つであるため、その耐性株の出現と拡散が危惧されている。2009 年以降に 5 種の CRO 耐性株の分離報告がなされている。そのうち 4 種は CRO の標的酵素である PBP 2 をコードする *penA* 遺伝子の 3' 側約半分が淋菌以外のナイセリア属由来であるキメラ遺伝子が形成されることによって耐性化したものであった。相互には異なる *penA* 遺伝子であり、独立して形成されたと考えられている。残りの一つは、セフィキシム耐性を示すキメラ遺伝子の 1' アミノ酸置換を伴う点変異により CRO 耐性を示す株であった。京都 (2009)、オーストラリア (2013)、名古屋 (2014) で分離された 3 種類はいずれも最初の分離報告事例のみで散発例であった。フランスで 2010 年に分離された株はスペインでも分離されたが、その後の拡散は認められなかった。2015 年に大阪で分離された FC428 は *penA*-60.001 と呼ばれるキメラ型耐性遺伝子をもち、2017 年まで国内では計 8 株が分離されている。加えて、2016 年以降ヨーロッパ、北米、アジア各国で *penA*-60.001 をもつ株の分離報告が相次いでなされ世界的に拡散していることが示されている (2019 年 10 月現在で 9 カ国 16 症例)。興味深いことに *penA*-60.001 が淋菌のアジスロマイシン高度耐性株に伝播し、アジスロマイシンおよび CRO 二剤耐性株がイギリスおよびオーストラリアで分離された。本シンポジウムでは *penA*-60.001 の CRO 耐性を担う 3' 末端領域の起源、*penA*-60.001 をもつ CRO 耐性淋菌のゲノム比較解析および二剤耐性株の出現機構を中心に紹介したい。

S12-4

ゲノミクスを用いた環境中の薬剤耐性菌問題への取り組み

○関塚 剛史, 谷津 弘仁, 糸川 健太郎, 橋野 正紀, 黒田 誠 (感染研・ゲノムセンター)

Measures against antimicrobial resistance bacteria in environment using genomics

○Tsuyoshi Sekizuka, Koji Yatsu, Kentaro Itokawa, Masanori Hashino, Makoto Kuroda (Pathogen Genomics Center, Nat. Inst. Infect. Dis.)

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) の出現, CTX-M 型基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌の医療および獣医分野からの検出, 家畜関連型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の出現等により, 薬剤耐性菌問題は, ヒト, 動物, 環境を含めたワンヘルス・アプローチに沿った対策が急務となっている。環境に排出される下水処理水は, 大腸菌群数が日間平均 3000 個/ml と規定されているが, 薬剤耐性菌の存在有無までは不明である。我々は, 国内の下水処理排水から CRE の分離を試み, 比較ゲノム解析によりその特徴を明らかにしてきた。これまで, 下水処理排水から分離された *bla*_{KPC-2} 保有肺炎桿菌及び *Aeromonas* 属細菌の報告を行ってきたが, 新たに *bla*_{NDM-5} 及び *bla*_{CTX-M-55} 保有大腸菌が, 下水処理排水より分離された。完全長ゲノム配列決定および比較ゲノム解析の結果, *bla*_{NDM-5} は, *IncX3* プラスミド上に存在し, 東アジアの大腸菌と *Klebsiella* 属細菌の臨床分離株が保有するプラスミドに関連することが明らかとなった。また, *bla*_{CTX-M-55} は, *floR*, *fosA3* 及び *qnrS2* と共に *IncX1* プラスミドに存在していた。CTX-M-55 産生大腸菌, フロルフェニコール耐性大腸菌及び肺炎桿菌は, 中国において, 臨床及び動物からの検出が増加しており, カルバペネマーゼ及び ESBL 両者を保有する CRE の臨床及び獣医領域を介した, 世界的な拡大が危惧される。更に, 東京都の下水処理排水の比較メタゲノム解析および resistome 解析も実施し, 季節性に相関を示すことが明らかとなった。下水処理排水の定期モニタリングにより, 各地域における薬剤耐性菌の汚染状況の実態, 更に, 今後の動向を把握できると期待される。

S12-5

ゲノムカバー率 99.9% *Candida glabrata* の組換え体コレクションを用いた抗真菌薬の開発

○知花 博治 (千葉大・真菌・病原機能)

Development of antifungals using a mutant collection covering 99.9% of genes in *Candida glabrata*

○Hiroji Chibana (Med. Mycol. Res. Ctr. Chiba Univ.)

深在性真菌症治療薬には 4 系統しか存在せず, 耐性菌の増加が病原真菌でも世界的な問題となっており, 新しい機序を持つ抗真菌薬の開発が急務となっている。当研究室では, 病原性酵母 *Candida glabrata* のゲノム (5,200 遺伝子) を 99.9% カバーする組換え体コレクションを構築し, 本コレクションを用いて *in vitro* および *in vivo* での増殖必須遺伝子が約 1,000 遺伝子存在する知見が得られた。これに真菌におけるシークエンスレベルでの特異性と広域性を加味することにより標的分子適正ランキングを作製している。さらに本コレクションを用いて真菌に対する生育阻害活性を持つ化合物の標的分子迅速同定技術を開発しており, これらの知見と手法を基に新規抗真菌薬開発をめざしている。

S12-6

薬剤耐性機構とその制御に資する創薬研究

○和知野 純一, 荒川 宜親 (名大院・医・細菌学)

Mechanisms of antibiotic resistance and development of agents for controlling antibiotic resistance

○Jun-ichi Wachino, Yoshichika Arakawa (Dept. Bacteriol., Nagoya Univ., Grad. Sch. Med.)

20 世紀, 次々と抗菌薬が開発された裏側で様々な薬剤耐性菌が登場した。21 世紀に入っても, 抗菌薬開発の勢いが衰える一方で, 依然として新しい薬剤耐性遺伝子を獲得したグラム陰性菌が出現し続けている。本邦の医療機関で分離された薬剤耐性菌からも, カルバペネム耐性を付与するメタロ- β -ラクタマーゼ遺伝子やアミノグリコシド高度耐性を付与する 16S rRNA methyltransferase 遺伝子など, 様々な新しい薬剤耐性遺伝子が発見されている。このような薬剤耐性菌は, 高度な抗菌薬耐性を示す上, プラスミドを介し薬剤耐性遺伝子を拡散させる性質から, 医療の現場でも特に警戒されている。本シンポジウムでは, 発表者らが国内医療機関で分離された薬剤耐性グラム陰性菌から発見した薬剤耐性機構を中心に紹介する。

また, 発表者が所属する研究グループでは, 薬剤耐性菌問題を克服すべく, 上述した薬剤耐性機構を制御するための阻害剤開発に取り組んでいる。このような阻害剤を既存の抗菌薬と併用することで, 薬剤耐性機構を抑えつつ, 抗菌薬を無傷のまま標的部位に届けることが可能となると考えられる。本シンポジウムでは, 創薬研究に対する研究グループの取り組みとその成果等についても併せて紹介したい。

S12-7

シデロフォアセファロsporin系薬 cefiderocol の研究開発

○山野 佳則 (塩野義製薬・医薬研究本部)

Discovery and development of cefiderocol, a novel siderophore cephalosporin antibiotic

○Yoshinori Yamano (Pharmaceutical Research Division, Shionogi & Co., Ltd.)

WHO は, カルバペネム耐性の 3 菌種, Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* を, 新規抗菌薬が喫緊に必要な耐性菌として警鐘を鳴らしている。欧米を中心にこれらの耐性グラム陰性菌を指向した抗菌薬の開発は進んでいるものの, 上記カルバペネム耐性菌の一部にのみ有効性を示すにとどまっており, カルバペネム耐性グラム陰性菌に対する治療薬に対するニーズは依然として満たされていない状況である。カルバペネム耐性獲得機序としては, 多様なカルバペネマーゼの産生, 排出ポンプの産生や porin の欠損による外膜透過性の低下が良く知られている。シデロフォアセファロsporin系薬である cefiderocol は, 鉄とキレート体を形成することによって, 能動的に働く鉄取り込み系を介して細菌内に効率よく取り込まれること, セリン型のみならずメタロ型のカルバペネマーゼに対して高い安定性を有することによって, これらのカルバペネム耐性機序を克服して, グラム陰性細菌全般に対して強い抗菌力を発揮できることが, 種々の非臨床試験で明らかとなっている。欧米のガイドラインに基づき, 複雑性尿路感染症を対象とした二重盲検比較試験 (AREKS-cUTI), 院内肺炎・人工呼吸器関連肺炎・医療ケア関連肺炎患者を対象とした二重盲検比較試験 (AREKS-NP), カルバペネム耐性菌感染症を対象とした open-label 臨床試験 (CREDIBLE-CR) が実施された。本シンポジウムでは, カルバペネム耐性グラム陰性菌に対する新規治療薬としてグローバルに開発を進めている cefiderocol の性状と研究開発の現状について紹介したい。

感染症に対する新規創薬は可能か？ —低分子創薬とバイオ医薬品の可能性—

コンピーナー：中川 一路（京都大学）
澤 智裕（熊本大学）

Is new drug discovery possible for infectious diseases? Application of small compounds and biopharmaceuticals

Conveners: Ichiro Nakagawa (Kyoto Univ.)
Tomohiro Sawa (Kumamoto Univ.)

感染症に対する創薬は、その重要性が指摘されているものの、新たな観点からの創薬については、進んでいないのが現状である。細菌感染症についても抗菌剤に変わる効果的な薬剤の開発は進んでいない。細菌感染症についてはワクチンによる予防や、ファージ療法などを中心に進められているが、多剤耐性菌の蔓延が世界中で問題になる中、その限界点についても指摘されてきている。その中で、本シンポジウムでは、低分子創薬や抗体を中心としたバイオ医薬品開発といった新たな観点の創薬をどのような糸口で進めていけばいいのか、その実際は？などについて、現在研究を進めている演者を招き、その現状と将来についての議論の場とすることを目的とする。

S13-1

バクテリアの III 型分泌装置を阻害する低分子物質の開発

○阿部 章夫（北里大・生命研・細菌感染制御）

Development of a small-molecule inhibitor of the bacterial type III secretion system

○Akio Abe (Lab. Bact. Infect., Kitasato Insti. LiSci., Kitasato Univ.)

The type III secretion system (T3SS) is highly conserved in many Gram-negative pathogenic bacteria and functions as an injector of bacterial proteins (effectors) into host cells. T3SSs are involved in establishing disease processes, but this machinery is not essential for bacterial growth or homeostasis. Thus, T3SS is expected to be a candidate therapeutic target, and inhibitors of T3SSs could potentially reduce virulence without causing bacterial death, thereby avoiding any subsequent development of resistance. We identified a linear polyketide compound, aurodox, as a specific T3SS inhibitor from the culture broth of *Streptomyces* sp. using a screening system for the T3SS-mediated hemolysis of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). Aurodox strongly inhibited T3SS-mediated hemolysis with an IC50 value of 1.5 µg/ml without affecting bacterial growth in liquid media. We also demonstrated that aurodox specifically inhibits the secretion of type III-secreted proteins such as EspB, EspF and Map. Furthermore, an in vivo infection study using mice clearly indicated that the administration of aurodox allowed the mice to survive a lethal dose of *Citrobacter rodentium*, a model bacterium for human pathogens such as EPEC. Thus, our in vivo study directly demonstrated for the first time that this putative T3SS inhibitor can be applied as a novel class of anti-infective agents.

S13-2

新規抗結核薬創薬標的の同定の新戦略

○港 雄介（藤田医大・医・微生物）

Novel strategies to find new targets for anti-tubercular drugs.

○Yusuke Minato (Dept. Microbiol., Sch. Med., Fujita Health Univ.)

結核は世界三大感染症の一つであり、世界では依然として年間 160 万人が結核により命を奪われている。結核の治療は非常に困難であり、世界的な薬剤耐性菌の拡大により更なる難治化が進んでいる。このことから、新規作用機序をもつより有効性の高い治療薬の開発が求められている。結核菌には潜在的な創薬標的として数百の生存必須遺伝子が存在するにも関わらず、ごく限られた遺伝子しか既存の抗菌薬の標的として利用されていない。我々は結核菌生存必須遺伝子の機能を詳細に解析することで、より有望な創薬標的を絞り込んでいく事を目的とし研究を行っている。これまでに、機能ゲノム学的手法であるトランスポンソロジー法を駆使して、結核菌生存必須遺伝子の網羅的機能解析をおこなった。さらに、遺伝学および分子生物学的手法を用いて必須遺伝子の個別機能解析をおこない、創薬標的として有望な遺伝子を複数同定した。本発表では、我々の最新の研究結果を紹介させて頂くと共に、より効率的に有望な創薬標的を絞り込み創薬へとつなげていく戦略について議論したい。

S13-3

細菌のシステイン合成酵素阻害剤の探索とその抗菌作用

○澤 智裕（熊本大・院生命・微生物）

Bacterial cysteine synthase inhibitors and their antibacterial actions

○Tomohiro Sawa (Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med. Sci., Kumamoto Univ.)

システインはタンパク質合成をはじめとする生体の維持に必要な不可欠なアミノ酸であるとともに、重要な抗酸化機能を担っているグルタチオンの合成原料である。病原細菌のほとんどは、システインを、セリンを出発原料として 2 段階の酵素反応から合成している。1 段階目を CysE が、2 段階目を CysK あるいは CysM が触媒する。このような細菌のシステイン合成経路は哺乳動物のそれと大きく異なっている。そのため、細菌のシステイン合成経路を標的とした新しい抗菌剤の探索が目ざされている。本研究では、細菌のシステイン枯渇の誘導と、それによる酸化ストレス亢進に基づく新しい抗菌戦略の開発を目指している。組換え CysE 酵素を用いた阻害物質のハイスループット解析から、没食子酸構造を持つ化合物が CysE の強力な阻害活性を有することが明らかとなった。没食子酸誘導体は、大腸菌に対して増殖阻害作用を示すと同時に、菌体内のシステイン、グルタチオン、硫化水素の含量を CysE 欠損株のそれと同程度まで減少させた。Cefoperazone（第 3 代セフェム系）、streptomycin（アミノグリコシド系）、minomycin（テトラサイクリン系）に対して耐性を獲得した臨床分離株大腸菌に対して、没食子酸誘導体は野生型大腸菌とほぼ同程度の増殖阻害作用を示した。没食子酸と CysE の共結晶構造解析から、没食子酸は CysE の C 末端ドメインに結合し、基質の一つであるアセチル CoA の活性部位へのアクセスを阻害している可能性が示唆された。以上の結果から、細菌のシステイン枯渇が耐性菌治療の新しい標的となりうることが示唆された。

S13-4

物理化学的アプローチによる低分子阻害剤の探索および抗体阻害剤の開発

○中木戸 誠^{1,2}, 相川 知宏³, 長門石 暁⁴, 妹尾 暁暢², 竹内 美結¹, 星野 将人¹, 下村 拓矢², Jose M. M. Caaveiro⁵, 中川 一路³, 津本 浩平^{1,2,4} (1東大院・工・バイオエンジニア, 2東大院・工・化生, 3京大院・医, 4東大・医科研, 5九大・薬・グローバルヘルスケア)

Strategy to develop small molecule and antibody-based inhibitors relying on biophysical techniques

○Makoto Nakakido^{1,2}, Chihiro Aikawa³, Satoru Nagatoishi⁴, Akinobu Senoo², Miyu Takeuchi¹, Masato Hoshino¹, Takuya Shimomura², Jose M. M. Caaveiro⁵, Ichiro Nakagawa³, Kouhei Tsumoto^{1,2,4} (1Dept. Bioeng., Sch. Eng., Univ. of Tokyo, 2Dept. Chem. Biotech., Sch. Eng., Univ. of Tokyo, 3Sch. Med., Univ. of Kyoto, 4Inst. of Med. Sci., Univ. of Tokyo, 5Dept. Global Healthcare, Faculty of Pharm. Sci., Kyusyu Univ.)

化膿レンサ球菌は常在菌である一方でヒトに対する多様な病原因子を有しており、しばしば疾患を引き起こす。さらに高い薬剤耐性獲得能を有しているため、抗生物質に変わる新たな治療手法の開発が求められている。そこで、本研究では感染に関与していると考えられる、宿主からの鉄取り込みに関連する一連のタンパク質群に着目した。鉄輸送系タンパク質群について、物理化学的手法による解析を行うことによって宿主からの鉄取り込みの分子機構について詳細な知見を得るとともに、その阻害に基づく新規抗菌剤の開発を目指す。化膿レンサ球菌は (i) ヘモグロビンからのヘムの奪取, (ii) シデロフォアを介した鉄取り込み, (iii) 遊離鉄の取り込み, の3つの経路を介して宿主から鉄を獲得している。本発表では、それぞれの経路について、取り込みを担う細菌由来タンパク質とその基質間の相互作用解析ならびにそれに基づく阻害剤探索について紹介する。これまでに物理化学的手法を基盤としたスクリーニングにより低分子化合物を、ファージディスプレイを活用した抗体選択により低分子抗体をそれぞれ相互作用阻害剤として取得することに成功しており、これらのスクリーニングおよび相互作用阻害実験、更には抗菌活性評価について発表する。

S13-5

構造情報を活用したウイルス細胞侵入阻害機構の解明と創薬研究

○橋口 隆生 (九州大学・大学院医学研究院・ウイルス学)

Inhibitory mechanisms of virus cellular entry: structure-guided drug development

○Takao Hashiguchi (Dept. Virology, Fac. Medicine, Kyushu Univ.)

麻疹 (はしか) を引き起こす麻疹ウイルス (MeV) や流行性耳下腺炎 (おたふくかぜ) を引き起こすムンプスウイルス (MuV) は、ワクチン接種や自然感染で身近に体験する機会が多いウイルスである。2019年 は国内外を問わず、世界的に MeV の流行が社会問題となった。この2つのウイルス感染症においては、低頻度に重篤な症状を示すことがある。MeV は約1万人に1人の割合ながら、極めて予後不良の亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) を引き起こすことがある。MuV は神経指向性が強く、低頻度に髄膜炎やムンプス脳炎、ムンプス難聴といった重篤な合併症を引き起こすことがある。こうした特殊な感染・発症機構はほとんどわかっていないが、非典型的な細胞侵入機構に関して説明可能な分子機構が一部分かりつつある。また、これらのウイルス感染症には承認された特異的治療薬が存在しないため、治療法の実現が求められている。

こうした背景のもと、我々は、構造生物学的手法とウイルス学的手法を組み合わせて、ウイルスの細胞侵入機構および侵入阻害機構の全容解明を目指して研究を進めている。特に、感染の最初のステップである細胞侵入を担うウイルスのエンベロープ糖蛋白質に注目をして、その詳細なメカニズムの解析と阻害方法の開発を進めている。本発表では麻疹・ムンプスウイルスを中心に化合物・ペプチド・糖鎖・抗体による細胞侵入阻害機構と創薬研究に関する最新の知見を我々の研究成果を中心に発表させていただく。

S14

真菌の環境適応術を紐解く

コンピーナー: 中村 茂樹 (東京医科大学)
中山 浩伸 (鈴鹿医療科学大学)

Progress of current studies to unravel fungal strategies for adapting to environmental stress

Conveners: Shigeki Nakamura (Tokyo Medical Univ.)
Hironobu Nakayama (Suzuka Univ. Medical Science)

生物は、自分のおかれた環境に適応するため、必要な機構をつぎつぎに作動させつつ生命維持をはかっている。この環境適応術は、微生物の特性 (有用性や病原性) に強く関与する。そのため、それらの機構解明からの応用研究は、感染症の新規治療法開発において重要な位置付けにある。新規薬剤の登場が待ち望まれている抗真菌薬の開発においても、真菌の環境応答は国内外を問わず盛んに行われているが、環境応答因子が標的因子となる薬剤の開発には至っていない。本シンポジウムでは、ヒトや動物のみならず植物への感染も含めた真菌の環境適応 (栄養の奪い合い、バイオフィーム・形態変化、薬剤抵抗性) について、新進気鋭の先生を中心に成果を紹介していただき、多面的な発想から、停滞する抗真菌薬の開発の研究のブレークスルーを議論したい。

共催: 日本医真菌学会
Co-host: The Japanese Society for Medical Mycology

S14-1

Aspergillus fumigatus の血清存在下での増殖機構

○犬飼 達也, 梅山 隆, 山越 智, 宮崎 義継 (国立感染症研究所・真菌部)

The growth of *Aspergillus fumigatus* in the presence of serum

○Tatsuya Inukai, Takashi Umeyama, Satoshi Yamagoe, Yoshitsugu Miyazaki (Dept. Chemotherapy and Mycoses, NIID.)

Aspergillus fumigatus は、アスペルギルス属が引き起こす感染症であるアスペルギルス症の主要な原因菌として高頻度に分離され、臨床上重要な真菌である。アスペルギルス属の中でも *A. fumigatus* が、血清存在下での増殖能が優れていることに着目し、ヒト体内での増殖に関するメカニズムを解明し、アスペルギルス症の治療・制御に繋げることを目的としている。

いくつかの分泌タンパク質をコードする遺伝子の破壊株を、血清存在の有無の条件下で培養した。B11b 遺伝子破壊株では、血清存在下での増殖能の著しい低下が観察され、本菌の血清存在下での生育に B11b 遺伝子が深く関与することが示唆された。DNA マイクロアレイによる発現解析により、親株と B11b 遺伝子破壊株との間で遺伝子発現の変化を比較し、血清存在下での増殖に関与する遺伝子を探索した。親株において血清添加による発現量の増加が確認された遺伝子 543 個のうち、遺伝子破壊株において発現量の増加が観察されなかった 111 個の遺伝子について、遺伝子破壊株の表現型解析を行い、血清存在下での増殖に関与すると予想される遺伝子を 3 個特定した。特定した 3 遺伝子それぞれの破壊株を用いて、マウス感染実験を行った結果、全ての破壊株感染マウス群において、親株感染マウス群と比べて、顕著な生存率の上昇が確認された。以上より、特定した 3 つの遺伝子が血清存在下での菌糸生育を可能にし、感染宿主における増殖機構に関与することが示唆された。今後、これまでに特定した血清存在下の生育に必要な因子間の相互関係を明らかにし、血清存在下の増殖機構の解明を目指す。

S14-2

宿主因子や病原細菌と *Aspergillus fumigatus* バイオフィルムの相互作用

○豊留 孝仁^{1,2} (1帯畜大・獣医, 2千葉大・真菌セ・臨床感染症)

Interaction of *Aspergillus fumigatus* biofilm with host factors or pathogenic bacteria

○Takahito Toyotome^{1,2} (1Dept. Vet. Med., Obihiro Univ. Agric. Vet. Med., 2Div. Clin. Res., MMRC, Chiba Univ.)

アスペルギルス症の主な原因菌 *Aspergillus fumigatus* がバイオフィルムを形成することが広く認識され、関連する研究が増えてきている。*A. fumigatus* は宿主内という環境で血清成分などを利用してバイオフィルムを形成する。血清成分の中でも糖タンパク質 Fetuin A が *A. fumigatus* との相互作用し、バイオフィルム形成を促していることが明らかとなってきている。しかしながら、Fetuin A がどのようにしてバイオフィルム形成を促しているか、についてはまだ明らかではない。Fetuin A やそのほかの宿主因子の関与について紹介する。また、最近になり、*A. fumigatus* の菌体外多糖ガラクトサミノガラクトンと緑膿菌の菌体外多糖との類似性が明らかとなってきた。宿主内環境中で出会うと考えられる *A. fumigatus* と細菌の相互作用を含めて、*A. fumigatus* バイオフィルム研究のトレンドについても紹介したい。

S14-3

Mechanisms of biofilm formation and screening for anti-biofilm agents in *Candida albicans*

○倉門 早苗, 杉田 隆 (明治薬大・微生物)

○Sanae Kurakado, Takashi Sugita (Dept. Microbiol., Meiji Pharm. Univ.)

Biofilms are high-dimensional structures composed of microbes. The pathogenic fungus *Candida albicans* is one of the most common causative agents of catheter-related bloodstream infections due to its ability to form biofilms. It is a dimorphic fungus, with yeast and hyphal forms. *C. albicans* biofilms have a complex structure including both yeast and hyphal cells embedded in a matrix of extracellular polymeric substances. To better understand *C. albicans* biofilms, we identified biofilm-related genes and conducted a functional analysis of these genes using deletion mutants; screened for inhibitors of hyphal formation, which is an essential ability for biofilm formation; and screened for anti-biofilm agents by drug repurposing. We extracted *PRA1* and *ZRT1*, which were overexpressed under biofilm conditions. Both genes are associated with zinc transport. Deletion mutants showed decreased biofilm formation compared to wild type. In the next part of the experiment we found that 17 β -estradiol had an inhibitory effect on hyphal formation. This effect was mediated by estrogen-binding protein, which represents a new yeast-to-hyphae transition pathway. Finally, we found that minocycline had the ability to inhibit biofilm formation. Minocycline inhibited hyphal formation, adherence, and matrix production. These findings may contribute to the treatment of biofilm infection by *C. albicans*.

S14-4

ウリ類炭疽病菌の植物シグナル認識と感染器官の形態形成

○小玉 紗代, 久保 康之 (京府大院・生環)

Plant-derived signal sensing for infection-related morphogenesis of *Colletotrichum orbiculare*.

○Sayo Kodama, Yasuyuki Kubo (Grad. Sch. Life & Env. Sci., Kyoto Pref. Univ.)

Many phytopathogenic fungi including *Colletotrichum* species form a specialized infection structure, called an appressorium to breach the intact cuticles of their host plants. Appressorium differentiation relies on fungal sensing and transduction of physical and biochemical signals at the plant surface. In cucumber anthracnose fungus *C. orbiculare*, we demonstrated that the morphogenesis-related NDR (nuclear Dbf2-related) kinase pathway (MOR) regulates the plant-derived signal transduction involved in appressorium development. The cutin monomer *n*-octadecanal released from cucumber leaves by conidial esterases has a role in the NDR kinase CoCbk1 activation. Genome-wide transcriptional profiling during appressorium development revealed that MOR is responsible for the expression of a subset of the plant-signal-induced genes including fungal transcription factors and secreted proteins that potentially facilitate infection. We also focused on identifying transcriptional regulators downstream of MOR. Based on whole genome transcript profiling, we identified the transcription factor CoMtf4 that is regulated downstream of MOR to mediate appressorium development in response to plant signals. Conclusively, *C. orbiculare* utilizes the widely conserved MOR and its downstream factor CoMtf4 to translate plant surface signals for infection-related morphogenesis and pathogenesis.

S14-5

薬剤耐性アスペルギルスの現状と今後

○田代 将人^{1,2} (1長崎大大学院・医・臨床感染症学, 2長崎大学病院・感染制御教育センター)

Current status and future of drug-resistant *Aspergillus*

○Masato Tashiro^{1,2} (1Dept. Infect. Dis., Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomedical Sci., 2Nagasaki Univ. Hosp. Infect. Cont. and Edu. Cent.)

アスペルギルス症は死亡率が高く重要な深在性真菌症である。しかし治療の主体となる抗真菌薬の選択肢はポリエン系、アゾール系、カンディン系系の3系統に限られ、中でも経口抗真菌薬はアゾール系のみである。すなわち薬剤耐性の出現は臨床的インパクトが極めて大きい。アスペルギルスを含む糸状真菌に対する薬剤感受性試験法は長らく定まっていなかったが、2008年にCLSIとEUCASTが標準法を確立し、それから薬剤感受性の疫学データ集積が可能となった。我々は慢性肺アスペルギルス症患者へのアゾール系抗真菌薬による長期治療が、ヒト体内において薬剤耐性アスペルギルスの出現を誘導すること証明しているが、それだけでは説明のつかない薬剤耐性アスペルギルスが世界的に増加している。ヨーロッパでは環境中から特殊な遺伝子変異を有する薬剤耐性アスペルギルスが発見され、それらは農薬として使用されているアゾール系抗真菌薬により環境中で出現したことが明らかとされた。この環境由来の特殊な薬剤耐性アスペルギルスは、この10年の間に世界中に拡散しており、遂に日本においても臨床検体から見出されている。我々は最近、特殊な遺伝子変異を有する薬剤耐性アスペルギルスが一部の輸入農産物に付着して日本に流入している事実を発見した。これらの耐性株は野生株と遜色のない増殖能を有しており、すでに日本国内で潜在的に拡散していることが推測される。今後、臨床現場において薬剤耐性アスペルギルスの頻度が増加する危険性が予測されるため、早急な監視体制の構築と、拡散を防止する手段を検討する必要がある。

S15

常在菌叢, 無症候性保菌の新たな展開

コンピーナー: 菊池 賢 (東京女子医科大学)
秋山 徹 (国立国際医療研究センター)

Development of research for normal microflora and asymptomatic carriage

Conveners: Ken Kikuchi (Tokyo Women's Medical Univ.)
Toru Miyoshi-Akiyama (NCGM)

黄色ブドウ球菌, 肺炎球菌などのように病原性微生物には常在菌叢の構成要因になっているものも少なくない。また, 腸管出血性大腸菌, サルモネラ, リステリアのように無症候性保菌者が存在し, 感染源となるものも知られている。しかし, 病原菌が何故, 常在菌ないし無症候性保菌として病原性を発揮せずにその部位に安定して定着しているのか, ある時に病原菌として変貌するには, 病原菌から非病原性菌, 保菌へと復帰するには, どのような機序が存在するのか, など細菌学の根本的な疑問がここには数多く含まれている。近年はメタゲノム解析の手法が導入され, 常在菌叢や無症候性保菌の研究に新たな展開もみられる。本シンポジウムでは細菌学の原点に立ち返り, 「病原性発揮」の持つ意味を常在菌叢, 無症候性保菌という点から議論してみたい。

S15-1

鼻腔における肺炎球菌の伝播・保菌・感染

○保富 宗城 (和歌山県立医科大学・耳鼻咽喉科・頭頸部外科)

Nasopharyngeal pneumococcal transmission, colonization, and infection

○Muneki Hotomi (Dept. Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Wakayama Medical Univ.)

薬剤耐性菌の増加に対して国際的な警鐘がなされており, 抗菌薬の適正使用が推進されるとともに, 効果的な感染予防が望まれている。肺炎球菌は, ヒト鼻腔に無症候性に細菌叢を形成するのみでなく, 急性中耳炎や急性鼻副鼻腔炎などの局所感染症や肺炎, 菌血症, 髄膜炎などの侵襲性感染症を起こす。ワクチンにより侵襲性肺炎球菌感染症の減少が認められたが, 鼻腔における肺炎球菌保菌に対する効果は限定的である。また, 新生児マウスでは, 肺炎球菌の鼻腔定着後に抗体誘導を行った場合では, 十分な除菌効果が得られない。そのため, 鼻腔における肺炎球菌の伝播と保菌の解明と抑制が新たな課題と考える。

鼻腔には多様性に富んだ正常細菌叢が存在し, 一部の細菌が宿主の免疫能の低下に応じて無菌的部位に侵入し感染症を引き起こす。急性感染症の初期には, 感染局所からは単一菌が検出されることが多く, 正常細菌叢に存在する常在菌が急性感染症を引き起こす過程には, 遺伝的多様性を持つ細菌集団から環境変化に適した特定の菌株が選択される「ボトルネック効果」が存在する。

肺炎球菌は病原因子を有し, 宿主に炎症性変化を引き起こす。一方, 宿主における重篤な炎症は時に宿主を死に至らしめ, このことは細菌にとっての重要な宿主を失うこととなる。この二律背反する現象から, 鼻腔においては特定の菌株が選択され伝播し, 病原因子により局所に限局した炎症性の組織破壊を引き起こし, 宿主の免疫応答との相互作用のバランスがとれた状態で保菌が形成されたのちに感染が成立すると考える。

本シンポジウムでは, 鼻腔における肺炎球菌の定着と保菌, さらに伝播について述べる。

S15-2

腸管感染症病原体の無症候性保菌と食中毒について考える

○貞升 健志 (東京健安研セ・微生物部)

Considering asymptomatic carriers of enteropathogenic pathogens and food poisoning

○Kenji Sadamasu (Dept. Microbiol., Tokyo Metr. Inst. Pub. Health)

地方衛生研究所における腸管感染症疾患の検査や疫学情報の把握は, 食中毒調査, 感染症発生動向調査事業等で行われている。それらの事業を通じ, 主に発症者を対象に得られた病原体を解析し, 地域における流行状況を把握している。腸管出血性大腸菌感染症は全数把握疾患 (3類感染症) であり, 東京都においては年間 400 例, ノロウイルスを含む感染性胃腸炎は小児科定点医療機関の届出疾患であり, 年間 80,000 例程度の報告がある。どちらも数十個程度の病原体の摂取により経口感染する食中毒の病因物質であり, 2018 年の東京都における食中毒事件数 (患者数) は, 腸管出血性大腸菌の 6 件 (270 例) に対し, ノロウイルスでは 28 件 (920 例) であった。

2017 年に改訂された大量調理施設衛生管理マニュアルでは, 食中毒防止対策の一環として, 調理従事者等は定期的な健康診断及び月に 1 回以上の腸管出血性大腸菌やノロウイルス等を指標とした糞便検査を実施することとしている。腸管出血性大腸菌感染症においては, 無症状病原体保有者と診断した場合でも法の規定による届出を直ちに行わなければならないが, ノロウイルスの無症状病原体保有が判明した調理従事者等では法規定はなく, 検便検査でノロウイルスを保有していないことが確認されるまで, 食品に直接触れる調理作業を控えるなど適切な措置をとることが望ましいとしている。

細菌とウイルスの違いはあるが, どちらの病原体も数多くの血清型もしくは遺伝子型に分類され, 病原性による顕性感染と不顕性感染の明確な境界線は定かではない。東京都内で起きた食中毒事例から, これら腸管感染症病原体の無症候性保菌と食中毒事例について考えてみたい。

S15-3

Streptococcus pyogenes と *Streptococcus dysgalactiae* の病原性発揮のメカニズム

○秋山 徹 (国立国際医療研・研究所・感染症制御)

Mechanism of pathogenicity of *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus dysgalactiae*

○Toru Miyoshi-Akiyama (Dept. Infect. Dis., Med. Nat. Cent. Glob. Health. Med.)

A 群レンサ球菌 (GAS) は非常に重篤な症状を示す劇症型レンサ球菌感染症 (STSS) から比較的良性的な咽頭炎まで非常に多彩な感染症の原因となる細菌である。国内での STSS 発生数は数年前までは 200 例程度で推移していたが, その後, 年々増加しており, 昨年は 600 例を越えていて, 大きく報道されている。近年では *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE) による STSS の症例が増加している。SDSE の全ゲノム解析の結果では, SDSE は GAS と最も近縁であり, GAS が保有する病原因子の大部分を保有している。その一方で, プロテアーゼである SPEB, ヒアルロン酸荚膜合成酵素の遺伝子が欠落しており, またヒトに作用するスーパー抗原も欠損しているという違いも明らかになった。GAS は生体内に侵入すると, 自身の病原因子の発現を負に制御している CovRS という 2 成分制御系因子を自ら破壊することで高病原性化する。この事象は臨床分離株, そしてマウスモデルで確認されているが, 破壊を行う責任分子は完全には同定されていない。一方 SDSE に関してはこのような破壊が行われるかどうかの情報は少ない。我々はマウスモデルを用いて, GAS と SDSE の病原性機構の解明を進めている。そのゲノムの類似性から, GAS と SDSE は類似の機構で STSS の病態を発生させているのではないかと想像していたが, 実際に両者を比較してみると例えばマウス投与時のサイトカインの動態や病原性発揮までの時間に差があることが分かってきた。本発表では, GAS と SDSE の病原性機構について我々の知見を紹介したい。

S15-4

ブタの感染性心内膜炎から分離した *Streptococcus suis* の性状
○関崎 勉 (東大院・農・食の安全セ)

Characterization of *Streptococcus suis* isolated from porcine infectious endocarditis

○Tsutomu Sekizaki (Res. Center for Food Safety, Grad. Sch. Agr. Life Sci., Univ. of Tokyo)

Streptococcus suis is carried in saliva of 100% healthy pigs and occasionally causes infectious endocarditis. This bacterium has capsule (cap) which confers an ability to resist phagocytosis in the course of infection. Therefore, cap-negative cells are believed to be avirulent. However, we have found that both cap-positive and -negative *S. suis* isolates were found in porcine endocarditis. The cap-negative isolates showed a high degree of ability to adhere to porcine and human platelets. As adherence to platelets is one of the key factors to evoke endocarditis, the cap-negative cells were thought to play an important role in developing endocarditis. We compared genome sequences of cap-positive and -negative isolates from each endocarditis. Cap-positive and -negative isolates from the same pig were the closest compared with those from other pigs. Some of the cap-negative isolates from the same pig showed different mutations in capsular polysaccharide synthesis (*cps*) genes, suggesting that cap-negative isolates arose in pig bodies after the infection. Different mutations in whole genomes were also found among the isolates whose mutations in *cps* genes were identical, indicating that the mutations in *cps* genes and whole genomes occurred independently. These results suggest that the endocarditis lesions are the niches to preserve mutants that generally be eliminated by phagocytosis.

S15-5

変異が及ぼす無症候性保菌から重症感染症への黄色ブドウ球菌病原性変化

○菊池 賢 (東京女子医大・感染)

Change of virulence by mutation in *S. aureus* from asymptomatic carriage to severe infection

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

色ブドウ球菌はヒト常在菌叢から 30%程度の頻度で分離される。一方、本菌による周術期感染症では、常在菌叢がその由来である内因性感染であるとされているが、常在部位に安定して定着し、病原性を発揮していない株が、どのように重症感染症を起こす病原性を発揮するようになるのか、そのメカニズムは明らかになっていない。手術前のスクリーニングで鼻腔・咽頭の黄色ブドウ球菌保菌者で、同じ感受性を示す黄色ブドウ球菌による周術期感染を起こした 13 名から得られた、常在菌株と感染巣株のペアについて、両者の遺伝的背景比較を行った。13 例のうち、MRSA, MSSA が同時に検出された 1 例があり、14 ペアについて、その遺伝背景を調べた。13 症例の内訳は MSSA 単独感染が 8 例、MRSA 単独感染が 4 例、MSSA, MRSA の混合感染が 1 例で、このうち、MSSA の 1 例と MRSA の 1 例は全く違うクローンであった。遺伝子背景が同じと考えられた 12 ペアのうちの、少なくとも 5 ペア (42%; MSSA 4 ペア, MRSA 1 ペア) で *spa*, *clfB*, *sdrD*, *sdrE* の繰り返し配列に変化が起っていた。このことは、常在部位に定着している非病原性株が創部に到達した時にその病原因子を変化させることで、感染症を発症しうる病原性株に変貌を遂げている可能性を示唆された。これまでに、創部感染を起こした同一患者の黄色ブドウ球菌について、常在株と病原株の病原性の比較をした報告はなく、非病原性株から病原性株へと黄色ブドウ球菌が変化する可能性とそのメカニズムについて、その端緒を示すものと考えている。

S16

薬剤耐性菌問題の切り札！ ファージセラピーの実現に向けた最新の研究

コンピーナー：常田 聡 (早稲田大学)
川野 光興 (中国学園大学)

The latest research for realization of phage therapy in the postantibiotic era

Conveners: Satoshi Tsuneda (Waseda Univ.)
Mitsuoki Kawano (Chugokugakuen Univ.)

ペニシリンの発見から現在まで様々な抗菌薬が開発されてきたが、抗菌薬の濫用により、薬剤耐性菌が世界中で増えて問題となっている。一方、ペニシリンの発見以前から溶菌作用を持つファージの存在が知られており、1920年代から現在まで東欧諸国でバクテリオファージを用いた感染症治療の研究が続けられている。安全性や品質保証の観点から、西側諸国ではファージセラピーの臨床応用について消極的であったが、近年、薬剤耐性菌対策の一つとして再び注目を浴びるようになった。特に米国では、ファージセラピーの成功例であるバターソン症例をきっかけにファージセラピーへの期待が一気に高まり、既にファージセラピーのベンチャー企業も設立されている。本シンポジウムでは、ファージセラピーに関連する研究を精力的に行っている国内研究者を一堂に集め、最新の研究成果を共有するとともに、ファージセラピーの臨床応用の実現性や課題について議論する。

S16-1

ファージセラピーを応用していくために何が必要か？

○岩野 英知 (酪農大・獣医・獣生化学)

What is necessary to apply bacteriophage therapy?

○Hidetomo Iwano (Lab. Vet. Biochem. Dept. Vet. Med., Rakuno Gakuen Univ.)

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、細菌感染症の征圧が容易ではないことが浮き彫りとなってきた。近年、細菌感染症に対抗する手段の有効な候補として、ファージセラピーが世界的に注目されてきた。このファージは、ペニシリンの発見より前の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、それらの国では現在でも実際にヒトに応用している。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、ファージセラピーを日本においてどのように実用化していくべきか、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バターソン症例(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。

S16-2

黄色ブドウ球菌ファージの特性解析とファージセラピーへの応用

○丹治 保典, Azam Aa Haeruman, Chanthol Peng, 宮永 一彦 (東工大・生命)

Characterization of *Staphylococcus aureus* phages and their possible application in phage therapy

○Yasunori Tanji, Azam Aa Haeruman, Chanthol Peng, Kazuhiko Miyanaga (Sch. Life Science and Technol., Tokyo Inst. of Technol.)

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a major human pathogen and multi-drug resistant bacterium widely found in healthcare and community settings worldwide. The World Health Organization has declared the accelerated development of antibiotic-resistant bacteria as one of the top ten threats to public health (WHO 2019). Healthcare-associated (HA) MRSA often infects patients in intensive care units or patients who have stayed for long periods in hospitals. The number of community-associated (CA) MRSA clones is increasing and the ratio of these clones is more than 50%. The widespread use of antibiotics has generated selective pressures that have driven the emergence of resistant strains, and has consequently limited treatment options for MRSA infections. Therefore, the use of bacteriophages (phages) has been suggested as an alternative therapy. In this study, we describe the isolation of phage, which has a broad host range against clinical MRSA. The whole genome of phage was determined by next-generation sequencing. The host receptor was identified using an adsorption assay. In silico analysis was conducted to identify the putative receptor binding proteins (RBPs) of the host cell. Moreover, the synergistic effects of phage with antibiotics were investigated.

S16-3

ファージセラピーの実用化に向けた取り組み

○安藤 弘樹 (岐阜大・医・病原体制御)

Toward practical application of bacteriophage therapy

○Hiroyuki Ando (Dept. Microbiol., Grad. Sch. Med., Gifu Univ.)

ファージに関する基礎研究・応用研究が盛り上がりを見せている。薬剤耐性細菌感染症に対する世界的な取り組み (National Action Plan 等) では、ファージやファージ溶菌酵素を用いた治療法開発が推奨され、細菌叢研究におけるファージの注目度は日増しに高まっている。特にファージセラピー研究は盛んで、実用化に向けた動きが加速している。ファージセラピーのアプローチは三つに大別できる。一つ目は、ファージを自然環境からスクリーニングし、ファージそのものを利用するというもの。二つ目は、ファージが持つ溶菌酵素を精製して利用するというもの。三つ目は比較的新しいアプローチで、遺伝子組換えファージや、合成生物学的手法によって創出された人工ファージを利用するというものである。各アプローチにおいて、海外スタートアップが中心となって前臨床試験・臨床試験が精力的に進められている。一方、試験結果が蓄積されていく中で、課題も浮き彫りになっている。グラム陰性菌由来のファージ溶液におけるエンドトキシンレベルをどのように低減するか、ファージ耐性菌にどう対処するか、投与後のファージ中和抗体にどう対処するかなどである。直近の事例として、PhagoBurn プロジェクトにおけるファージカクテル調製時のカウンターバランスの問題は喫緊の課題だと考えられる。こうした課題を克服するために遺伝子組換えファージや人工ファージの利用が提案されているわけだが、これらに対してはそもそも使用が認められるのか、法規制の問題も立ちはだかっている。本演題ではファージセラピーの真の実用化のためにこれらの課題をどう乗り越えていくのか、私たちの取り組みも合わせてご紹介したい。

S16-4

遺伝子標的型ファージ製剤の開発

○氣駕 恒太郎, 崔 龍洙 (自治医大・医・細菌学)

Development of a novel gene-targeted bactericidal technology using bacteriophage

○Kotaro Kiga, Longzhu Cui (Div. Bacteriol, Sch. Med., Jichi Med. Univ.)

【概要】狙った細菌を選択的に殺菌する技術の開発は、抗菌治療を始め、畜産業や農業、環境保全、食品製造などのさまざまな細菌制御領域に革新的な発展をもたらす。我々は、CRISPR-Cas13 とバクテリオファージ(ファージ)を組み合わせた遺伝子標的型の殺菌キメラファージを開発している。CRISPR-Cas13 は一度標的 RNA 配列を認識すると、非特異的 RNA 分解酵素となり、宿主細菌の RNA を分解して自死を誘導する。この殺菌力を利用して作製したキメラファージは、狙った遺伝子を保有する菌のみを選択的に殺菌する。本発表では、これまでに得られた関連研究の成果と今後の展望について報告する。

【方法】カルバペネムやコリスチン耐性遺伝子を標的とする CRISPR-Cas13 を設計し、大腸菌ファージに搭載した。

【結果】作製したキメラファージは、標的の耐性遺伝子を有する大腸菌を選択的に殺菌した。この殺菌は、標的遺伝子がプラスミドか染色体のどちらか一方にあれば機能した。さらに、大腸菌の細菌叢から標的耐性遺伝子を有する菌を選択的に除去することに成功した。この技術は、薬剤耐性菌を含む特定の遺伝子型細菌の殺菌、その殺菌機構を利用した細菌遺伝子の検査、細菌叢の編集など、細菌制御に関わる分野に幅広く応用できると考えられる。

S16-5

ファージ療法の実現に向けた治療効果の基礎的検討—ヒト臨床試験の検証から—

○花輪 智子¹, 松田 剛明² (¹杏林大・医・感染症, ²杏林大・医・救急)

Path of phage therapy from experimental animal model to clinical study

○Tomoko Hanawa¹, Takeaki Matsuda² (¹Dept. Infect. Dis., Kyorin Univ. Sch. Med., ²Dept. TCC, Kyorin Univ. Sch. Med.)

ロシアでは市中の薬局でファージを購入することが可能であり、ジョージアにある Eliva Phage Therapy Center で行われている細菌感染症に対するファージ療法は長い歴史をもつ。これまでファージの治療効果に関する研究はロシアや東欧諸国で盛んに行われ、ヒトへの臨床試験も実施されたが、治療効果を裏付けるエビデンスが乏しくファージ療法そのものに対して懐疑的な見方の意見も出される様になり、ファージ研究自体も低調となっていた。しかし、多剤耐性菌感染症に対する新たな治療法が開発が喫緊の課題となっている現状から、近年欧米ではファージ療法が改めて着目されている。中でも多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* の感染症治成功例に続き、*Mycobacterium abscessus* 感染症など、これまでの治療法が無効であった症例における成功例が、ファージ療法確立に向けた研究を再燃させる重要な端緒となっている。

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は主要な多剤耐性菌であり、WHO が 2017 年に発表した 12 の「脅威となる耐性菌」のうちの 1 つに含まれている。MRSA は、更なる耐性化の問題に加え高病原性株の増加も問題となっている。我々はこの MRSA 感染症をターゲットとし、マウスを用いた創傷感染モデルを用いてファージ効果の解析を行っており、*in vivo* においてもファージの高い効果を確認している。感染部位におけるファージの効果解析することは治療の根拠を提示する上で重要であり、ファージ療法が治療の選択肢として広く普及することに寄与すると予想される。本講演では、これまで海外で行われた臨床試験を検証し、今後ファージ療法のエビデンスを構築するために行うべき基礎研究の方向性について議論したい。

S16-6

組換え型と天然ファージを用いたファージ療法の開発及びファージバンクの設立に向けて

○川野 光興 (中国学園大・現代生活・人間栄養)

Development of phage therapy using recombinant and natural phages and establishment of Phagebank

○Mitsuoki Kawano (Dept. Human Nutrition, Fac. Contemp. Life Sci., Chugokugakuen Univ.)

抗菌薬濫用による薬剤耐性菌の増加により、新しい作用機序をもつ抗菌薬の開発が急務になっている。私は、細菌に感染するウイルスであるバクテリオファージの宿主特異的な感染作用を用いて薬剤耐性菌を制御する「ファージ療法」に向けた基盤技術開発を行っている。最近、生育必須遺伝子を標的とするアンチセンス RNA を用いて細菌の増殖を抑制する方法を確立した。そして、このシステムを導入した組換え型ファージの感染作用を用いて、カルバペネム耐性大腸菌に対する新規抗菌薬の開発を行った。また昨年、国立感染症研究所薬剤耐性研究センターと連携して、国内で臨床分離された薬剤耐性肺炎桿菌に感染し、溶菌することのできる天然ファージの探索を行っている。現在までに各種薬剤耐性肺炎桿菌株に感染できる約 30 種類のファージを単離し、各ファージの感染特異性を調べた。これら複数のファージを混合した「ファージカクテル」を用いることにより、国内の薬剤耐性肺炎桿菌に対して比較的高い感染域のファージ療法を開発を行うことができ、ファージ感染耐性菌の出現をかなり低減することができる。今後は、将来の感染症治療に役立てることのできるファージを前もって解析・保管しておく「ファージバンク」を感染研薬剤耐性研究センターに設立し、これから益々注目される薬剤耐性菌問題の解決に向けて貢献していきたい。さらに、腸内の悪玉菌や保有薬剤耐性菌にのみ感染できるファージを選別し、経口摂取により腸内環境を整えることで感染症やアレルギーにも対応できる健康食品や飲料を食品メーカーと共同で開発していきたいと考えている。本総会では最新の研究成果と今後の展望についても報告する。

S17

電子顕微鏡を用いた細菌の微細構造解析

コンピーナー：本間 道夫 (名古屋大学)
宮田 真人 (大阪市立大学)

Structural analysis by electron microscopy for bacteria

Conveners: Michio Homma (Nagoya Univ.)
Makoto Miyata (Osaka City Univ.)

近年、電子顕微鏡による構造解析により、蛋白質の原子構造やウイルスの原子構造などが結晶解析によることなしに可能になってきている。本シンポジウムでは、最新の技術を駆使した電子顕微鏡による構造解析の実例について、細菌学分野を中心に紹介することで、今後の細菌学でのこの技術の応用と発展性を考えたい。

S17-1

モリクテス綱細菌の運動超分子マシナリー

○宮田 真人^{1,2}、豊永 拓真¹、笹嶋 雄也¹、加藤 貴之^{3,5}、川本 晃大^{3,5}、宮田 知子³、難波 啓一^{3,4,6} (1)大市大・院理, (2)大市大・複合先端研, (3)阪大・生命機能, (4)理研・QBIC, (5)阪大・蛋白研, (6)日本電子 YOKOGUSHI 協働研究所)

Supramolecular motility machineries of class *Mollicute* bacteria

○Makoto Miyata^{1,2}, Takuma Toyonaga¹, Yuya Sasajima¹, Takayuki Kato^{3,5}, Akihiro Kawamoto^{3,5}, Tomoko Miyata³, Keiichi Namba^{3,4,6} (1)Grad. Sch. Sci. Osaka City Univ., (2)OCARINA Osaka City Univ., (3)Grad. Sch. Frontier Biosciences, Osaka Univ., (4)Riken QBIC, (5)Inst. Prot. Res. Osaka Univ., (6)JOEL Yokogushi Res. Alliance. Lab. Osaka Univ.)

Class *Mollicutes*, known as *Mycoplasma* and *Spiroplasma*, is a small group that evolved through the parasitic of phylum *Firmicutes* bacteria on animals and plants. Interestingly, the class *Mollicutes* bacteria have acquired three unique motility mechanisms. To date, we have shown that the gliding motility of *Mycoplasma mobile* has evolved from a combination of ATP synthase and an adhesin, and that the swimming motility of *Spiroplasma* has evolved from a combination of bacterial actin proteins MreB and Fibril. This time, we will discuss the structure and mechanism of supramolecular machinery for force generation in these two mechanisms, based on the latest analysis by electron cryomicroscopy.

S17-2**Cryo-EM Structure of polymerized Type V pilus of *P. gingivalis* reveals assembly mechanism**

○柴田 敏史¹, 庄子 幹郎², 松波 秀行¹, Melissa Matthews¹, 今田 勝己³, 中山 浩次², Matthias Wolf¹ (1)沖縄科学技術大学院大・Mol. Cryo-EM unit, (2)長崎大・院医歯薬・口腔病原微生物学講座, (3)大阪大・院理)

○Satoshi Shibata¹, Mikio Shoji², Hideyuki Matsunami¹, Melissa Matthews¹, Katsumi Imada³, Koji Nakayama², Matthias Wolf¹ (1)Mol. Cryo-EM Unit, OIST, (2)Div. Oral Infect., Dept. Mol. Microbiol. Immunol., Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ., (3)Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)

Adhesive pili are important for bacterial colonization, biofilm formation, and virulence. The periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*, which belong to the class Bacteroidia, has a newly discovered type V pili. However, the native polymerized pilus structure and its molecular mechanism of assembly are unknown. Using cryo-electron microscopy and single-particle image processing, we have generated a 3.6 Å resolution structure of polymerized FimA stalk pilin. The atomic model of assembled FimA shows that the C-terminal strand of a donor subunit is released from the C-terminal domain and inserted into a groove in the β-sheet of an acceptor subunit after N-terminal cleavage by the protease, RgpB. Our results reveal the mechanism of polymerization of type V pili involving protease-mediated strand exchange and provide the distribution of functional surfaces related to the pathogenic properties of polymerized FimA. We will discuss the detailed assembly mechanism of Type V pili.

S17-3**クライオ電子顕微鏡によるべん毛モーターの構造解析**

○加藤 貴之¹, 牧野 文信², 宮田 知子³, 川本 晃大¹, 山口 智子^{3,4}, Peter Horvath³, 難波 啓一^{3,4,5} (1)阪大・蛋白, (2)日本電子, (3)阪大・生命機能, (4)理研・生命機能, (5)日本電子YOKOGUSHI協働研究所)

Structural analysis of the flagellar motor by CryoEM

○Takayuki Kato¹, Fumiaki Makino², Tomoko Miyata³, Akihiro Kawamoto¹, Tomoko Yamaguchi^{3,4}, Peter Horvath³, Keiichi Namba^{3,4,5} (1)IPR, Osaka Univ., (2)JEOL, (3)Grad. Front. Biosci., Osaka Univ., (4)BDR, RIKEN, (5)JEOL YOKOGUSHI RAL, Osaka Univ.)

Bacteria swim in viscous liquid environments by using the flagellum. The flagellum is composed of about 30 different proteins and can be roughly divided into three parts: the basal body acts as a rotary motor, the hook acts as a universal joint and the filament acts as a helical propeller. Additionally, flagella basal body composed of LP-ring, MS-ring and C-ring and rod, which have the function of the bushing, a torque generation and switching the rotation direction and a driving shaft, respectively. This complex structure achieves a high-performance motor function with energy conversion efficiency close to 100% despite the high-speed rotation as 300 rpm. To know the function of the flagella motor, we solved the structure of the flagella motor. Finally, we solved the structure of a complex of MS-ring and C-ring, a complex of MS-ring and rod, MS-ring, LP-ring, coiled hook and filament at the resolution of 7.3Å, 4.8Å, 3.8Å, 3.8Å, 3.6Å and 4.2 Å, respectively. All atomic models were built from the EM map except the complex of MS-ring and C-ring. Since the complex of Ms-ring and C-ring was not enough high resolution to build the atomic model, the atomic model was built by fitting the FliM, FliN and FliG solved by X-ray crystallography. In this symposium, we will discuss the structure and mechanism of flagellar motor, based on the latest analysis by cryoEM.

S17-4**アクチン線維とアクチンホモログ ParM 線維の共通点と相違点**

○成田 哲博 (名古屋大・理)

Structural and functional comparison between actin filament and ParM filaments

○Akihiro Narita (Dept. Sci, Nagoya Univ.)

アクチンは真核生物において様々な役割を果たしており、極めて保存性の高い蛋白質である。バクテリアにもアクチンホモログが存在する。その中で大きなグループを形成しているのが ParM である。ParM とアクチンは多くの共通点がある。1:馬蹄形の分子構造を持ち、溝の部分にヌクレオチドを結合すること。2:馬蹄形が縦に繋がる形でストランドを形成し、このストランドの2本以上の集合が線維となること。3:線維状態になるとヌクレオチド加水分解活性が上昇することなどである。ParM 線維はプラスミドの分配に関係する。プラスミド上のシーケンス parC に結合する ParR に ParM 線維が結合し、ParM 線維が伸長することによってプラスミドを引き離す。私達は主にクライオ電子顕微鏡を用いてアクチン線維を長年研究しており、岡山大学の Robinson 研究室と共同で ParM 線維の構造解析も長年行ってきた。その中で、アクチンと ParM にかかる進化上の淘汰圧が本質的に異なることを実感している。ParM, ParR は対応するプラスミド上にコードされていて、生物種ではなくプラスミドに固有である。複数種類の ParM 依存のプラスミドが細胞内に存在している場合、分配機構が正常に働くためには異なるプラスミドの ParM 同士が勝手に多重合してはまずい。そのため、ParM 線維は、その機能を果たせる範囲内でその構造を発散させる方向に淘汰圧が働く。1 残基の変化も難しいアクチンとはまったく逆であり、ParM 線維は蛋白質線維の進化の実験場と呼んで良い。本講演においては、私達がこれまで明らかにしてきたアクチン線維、ParM 線維の性質と構造を比べることで、ヌクレオチド加水分解型の蛋白質線維の共通点と進化の可能性について議論したい。

S17-5**クライオ電顕アクセスするには？**

○千田 俊哉 (高エネ機構・物構研・構造生物)

Cryo-EM network in Japan. How to access cryo-EM.

○Toshiya Senda (SBRC, IMSS, KEK)

Cryo-EM has opened a new era in structural biology. Because of innovative improvements of direct detection cameras, biochemical methods, and software for single particle analysis, cryo-EM has become one of the main tools for the 3D structural determination of biological macromolecules (and their complexes) at (near) atomic resolution. Although many high-end cryo-EMs have been installed in US, China, and Europa, Japan has only a limited numbers of high-end machines. While we have gradually increased cryo-EM, it is not enough to push the field forward. To use the cryo-EMs in an effective manner and to achieve an easy access to the cryo-EMs, we established the cryo-EM network by the support of the BINDS project of AMED. We have organized cryo-EMs in Japan and categorized them into two types, E1/F1 and E2. E1/F1 machines are not suitable for high resolution structure analysis, but they can be used for grid screening. Users who want to use high-end cryo-EMs need to find an optimal condition to prepare a grid of their sample using E1/F1 machines. After obtaining a good grid, the users need to submit their 2D class average to the web site of the cryo-EM network to obtain machine-time for high-end machines. While this is a system in the BINDS project, any researchers can use this system. In the symposium, I will introduce some examples of cryo-EM uses.

RNA で細菌を制御する

コンピーナー：森田 鉄兵（鈴鹿医療科学大学）
宮腰 昌利（筑波大学）

Regulating with RNA in Bacteria

Conveners: Teppei Morita (Suzuka Univ. Medical Science)
Masatoshi Miyakoshi (Univ. Tsukuba)

シーケンシング技術の発展により、ゲノムの全 DNA 配列だけでなく、細胞内の全 RNA とその性状を比較的手軽に解析することが可能になった。このような状況下において、細菌感染のような生理機能の理解には、ゲノムの機能発現に必要な制御機構、すなわち DNA 一次配列の上に成り立つ制御因子のダイナミクスに関する知見が益々重要になる。近年、mRNA の上で起こる転写後制御が様々な細菌生理機能に関わるという報告が為されており、中でも、小分子 RNA (small RNA) が制御因子として機能する転写後制御は、感染症やバイオフィーム形成との関連性が報告されている。本シンポジウムでは、small RNA 制御に代表される転写後での遺伝子発現制御の最近の研究動向や実験手法を紹介し、細菌の感染、生理、生態を制御する RNA (転写後制御) 応用技術の可能性について議論を深めたい。

S18-1

The role of transcription termination in sRNA biogenesis

○森田 鉄兵（鈴鹿医療科学大・薬）

○Teppei Morita (Fac. Pharm. Sci., Suzuka Univ. Med. Sci.)

Regulation at post-transcriptional steps allows new pathways to cross-regulate genes independently of the transcriptional signals for those genes. The regulatory small RNAs (sRNAs) are well-studied molecules acting on mRNAs under specific stress conditions. The sRNAs interact mRNAs by base pairing, resulting in changes in the stability and translation of the target mRNAs. The base pairing is facilitated by the RNA chaperon Hfq. A polyU tail of seven or more, resulting from Rho-independent termination, is necessary for the binding of sRNAs to Hfq. The 3'-extended transcripts resulting from read-through at the terminator are inactive as sRNAs. Read-through at sRNA terminators occurs less frequently under stress conditions, suggesting that the readthrough is modulated under stress conditions in order to produce efficiently sRNAs. We have performed a genetic screen to identify factors that affect transcription readthrough at an sRNA terminator. Several genes were isolated as multi-copy attenuators of the Rho-independent terminator for SgrS, which is one of the well-characterized sRNAs. Cellular sRNAs including SgrS were decreased when the factors were overexpressed. Discussion will be focused on new insight into the termination regulation in bacteria.

S18-2

翻訳伸長複合体による細胞内 Mg²⁺濃度感知と恒常性維持機構

○茶谷 悠平¹, 丹羽 達也¹, 和泉 貴士¹, 菅田 信幸¹, 長尾 翌手可², 鈴木 勉², 千葉 志信³, 伊藤 維昭³, 田口 英樹¹ (¹東工大・研究院, ²東大・工学系研究科, ³京産大・総合生命科学部)

Intrinsic Ribosome Destabilization Underlies Translation and Provides a Strategy of Mg²⁺ Sensing

○Yuhei Chadani¹, Tatsuya Niwa¹, Takashi Izumi¹, Nobuyuki Sugata¹, Asutaka Nagao², Tsutomu Suzuki², Shinobu Chiba³, Koreaki Ito³, Hideki Taguchi¹ (¹Inst. of Innovative Res., Tokyo Inst. of Tech., ²Grad. Sch. Eng., The Univ. of Tokyo, ³Fac. of Life Sci., Kyoto Sangyo Univ.)

DNA にコードされる遺伝情報は mRNA へと転写された後、細胞内装置リボソームによってポリペプチド鎖へと翻訳され、機能を有するタンパク質へとフォールディングすることで、その発現は完遂する。翻訳途上にある新生ポリペプチド鎖(新生鎖)はリボソーム大サブユニット中のトンネルを通過しつつ合成される。その際新生鎖はトンネルと相互作用することで、リボソームの機能を様々に制御し、遺伝子発現を様々に調節することが明らかになりつつある。こうした「物言う product」としての新生鎖の新たな一側面として最近我々は、負電荷アミノ酸クラスターの翻訳によって伸長途上のリボソーム複合体の安定性が破綻し、翻訳が途上終結する IRD (Intrinsic Ribosome Destabilization) 現象を見出した。一見リボソームの欠陥にも見える IRD 現象だが、生物はこれを巧みに活用し、細胞内 Mg²⁺濃度恒常性維持に利用していることも明らかとなった。上記の制御は近縁種の腸内細菌に広く保存されているほか、別の Mg²⁺輸送関連遺伝子においても同様に IRD による発現制御が働いていることも明らかとなった。以上の結果から、新生鎖とリボソームの協奏による遺伝子発現制御は細菌の恒常性維持、さらには病原性発現などに寄与する重要な生命現象と考えられる。

S18-3

リボソームストロークタンパク質の構造・機能研究

○伊東 孝祐^{1,2}, 丸山 圭², 今井 大達², 内海 利男^{1,2} (¹新潟大・理・生物, ²新潟大・院・自然研)

Structural and functional studies of the ribosomal stalk protein

○Kosuke Ito^{1,2}, Kei Maruyama², Hirotsugu Imai², Uchiyama Toshio^{1,2} (¹Dept. Biol., Fac. Sci, Niigata Univ., ²Grad. Sch. Sci. Technol., Niigata Univ.)

遺伝情報翻訳は、開始、伸長、終結、リサイクリングの4段階からなる複雑な反応であり、それぞれの段階で働く翻訳因子がリボソームと機能的に相互作用することで進行する。ストロークタンパク質は、全ての生物種のリボソーム大サブユニットに複数コピー存在するリボソームタンパク質であり、リボソームと各種翻訳因子との相互作用において重要な役割を果たしている。ストロークタンパク質は、アミノ酸配列や立体構造から真核生物/古細菌型と細菌型の2種に分類されるが、機能的には相同であり、独立に収斂進化したものと考えられている。我々はこれまで、真核生物/古細菌型ストロークタンパク質を材料として研究を行ってきた。その結果、ストロークタンパク質は、(1) そのC末端を介して一連のGTPase翻訳因子(開始因子IF5B、伸長因子EF2とEF1A、終結因子RF3)およびATPaseリボソームリサイクル因子ABCE1と直接結合すること、そして、(2) それら翻訳因子をリボソームにリクルートすること、さらに、(3) 各種翻訳因子の機能発現にも必須であることを示してきた。また我々は、ストロークタンパク質と各種翻訳因子の機能的相互作用の構造基盤の解明を目指し、それら複合体のX線結晶構造解析にも取り組んできた。その結果、ストロークタンパク質は、相互作用する翻訳因子の形状に合わせて多彩に構造を変化させる天然変性タンパク質であることが明らかになった。本総会では、ストロークタンパク質のこの柔軟な構造変化と翻訳因子の機能発現との関連について、我々の最新の結果であるEF1Aの例を中心に紹介したい。また、真核生物/古細菌型と細菌型ストロークタンパク質の共通点や相違点等についても議論したい。

S18-4

細菌の mRNA に隠された遺伝子発現制御機能

○宮腰 昌利 (筑波大・医・感染生物学)

Regulatory functions hidden in bacterial mRNAs

○Masatoshi Miyakoshi (Dept. Infect. Biol., Sch. Med., Univ. Tsukuba)

遺伝子発現のメカニズムは真核生物と原核生物で大きく異なる。細菌では転写と翻訳が共役しているため、転写後調節因子である non-coding small RNA (sRNA) は主に mRNA の 5'UTR や CDS と塩基対を形成して、翻訳の開始もしくは mRNA の安定性を制御する。一般的に sRNA には Hfq や ProQ などの RNA シャペロンが結合し、標的 mRNA との塩基対形成が促進されると考えられている。一方で、細菌では mRNA の 3'UTR が sRNA の標的になることは稀であるが、逆に mRNA の 3'UTR の一部が Hfq や ProQ に結合して、sRNA と同様の転写後調節因子として機能することが近年報告されてきている。本発表では、これまでに解析されてきた mRNA の 3'UTR の生理学的機能を紹介する。

The mechanism of gene expression differs between eukaryotes and prokaryotes. In bacteria where transcription and translation are coupled, non-coding small RNAs (sRNAs) base-pairs with the 5'UTR or CDS of mRNAs to post-transcriptionally regulate translation initiation and/or mRNA stability. This class of sRNAs bind with RNA chaperones such as Hfq and ProQ, which facilitate RNA-RNA base pairing. Since the properties of conventional sRNAs are applicable to the 3'UTR of mRNAs, it was anticipated that the 3'UTR of mRNAs could function as post-transcriptional regulators. Here, I will introduce some examples which have been characterized so far.

S18-5

sRNA regulates pathogenicity during persistent infection of *Helicobacter*

○木下 遼^{1,2}, 氣賀 恒太郎¹, 大坪 亮太², 小椋 義俊³, 眞田 貴人^{1,2}, 岡野 徳壽⁴, 鈴木 敏彦⁴, 山岡 吉生⁵, 林 哲也³, 三室 仁美^{1,2} (1大阪大学微生物病研究所・感染微生物分野, 2東京大学医科学研究所・感染症国際研究センター・感染制御系・細菌学分野, 3九州大学・医学部・細菌学分野, 4東京医科歯科大学・歯学総合研究科・細菌感染制御学分野, 5大分大学・医学部・環境・予防医学講座)

○Ryo Kinoshita-Daitoku^{1,2}, Kotaro Kiga¹, Ryota Otsubo², Yoshitoshi Ogura³, Takahito Sanada^{1,2}, Tokuju Okano⁴, Toshihiko Suzuki⁴, Yoshio Yamaoka⁵, Tetsuya Hayashi³, Hitomi Mimuro^{1,2} (1Dept. Infect. Microbiol., RIMD, Osaka Univ., 2Div. Bacteriol., Int. Res. Ctr. Infct. Dis., Inst. Med. Sci., Univ. Tokyo, 3Dept. Bacteriol., Sch. Med. Sci., Kyushu Univ., 4Dept. Bact. Pathogen., Infect. Host Resp. Sch. Med. Dent., TMDU, 5Dept. Environmental Prevent. Med., Oita Univ.)

ピロリ菌は、幼少期に経口の侵入し、胃粘膜上皮に何十年にもわたる持続感染を成立させ、胃炎や胃がんを引き起こす。その間、ピロリ菌は高頻度に遺伝子変異を起こすことで、ダイナミックに環境が変動する胃粘膜ニッチに適応していることが知られている。しかし、ピロリ菌が持続感染を成立させるメカニズムの詳細は明らかになっていない。そこで本研究では、ピロリ菌の持続感染成立機構を明らかにするために、ピロリ菌が持続感染の過程で獲得する遺伝子変異について、齧歯類感染モデル動物を用いて網羅的に解析した。

感染 2 ヶ月後にピロリ菌感染スナネズミおよびマウス胃内から分離した株の全ゲノム配列を解析した。感染により獲得された点変異を網羅的に抽出し、高頻度で変異が挿入される遺伝子群を複数同定した。興味深いことに、変異獲得率が高く、発現変化量が大きい遺伝子として、小さな RNA (small RNA; sRNA) である HPnc4160 が同定された。HPnc4160 欠損変異株のトランスクリプトーム解析とプロテオーム解析により、HPnc4160 が病原性遺伝子である *cagA* や膜タンパク質を一斉に制御していることが明らかになった。さらに我々は、HPnc4160 がこれらの遺伝子群の翻訳抑制を直接制御していることを明らかにした。また、胃がん患者から採取されたピロリ菌の臨床分離株を調べると、病態の進行に応じて HPnc4160 の発現が有意に変化していた。これらの結果から、ピロリ菌は HPnc4160 に点変異を挿入することで病原性遺伝子の発現を変化させ、菌の定着を有利に進めていることが明らかになった。

S18-6

MS2 タグを用いた RNA 精製による細胞内複合体解析と腸管出血性大腸菌の病原性発現における転写後制御

○須藤 直樹 (北里大・薬・微生物学)

MS2 affinity purification revealed the post-transcriptional regulation of EHEC virulence genes

○Naoki Sudo (Lab. Microbiol. Sch. Pharm. Kitasato Univ.)

RNA による遺伝子発現制御は幅広い生物種に保存された普遍的な制御系であり、そのほとんどは制御 RNA と RNA 結合タンパク質の複合体形成を介した機構により作動する。small RNA (sRNA) は、大腸菌やサルモネラなど腸内細菌科の細菌において機能する代表的な制御 RNA である。sRNA は、RNA シャペロンタンパク質である Hfq と複合体を形成し協働することで、標的 mRNA と塩基対を形成し、標的 mRNA の発現を制御する。

私たちは、MS2 タグによる RNA 精製により、腸管出血性大腸菌の Esr41 sRNA と病原性遺伝子群のマスターレギュレーターをコードする *ler* mRNA の標的関係を明らかにした。MS2 タグによる RNA 精製法は、バクテリオファージ MS2 由来の MS2 コートタンパク質と、それと特異的に結合する RNA 配列 (MS2 タグ) の相互作用を利用した実験手法である。MS2 タグを付加した Esr41 を細菌から精製し、共精製産物を解析したところ、RNA 画分には MS2-Esr41 と共に *ler* mRNA が特異的に検出され、タンパク質画分には Hfq が検出された。この結果は、MS2 タグによる RNA 精製法が、タンパク質のアフィニティ精製と同様に、RNA-タンパク質複合体解析に有用な手法であることを示す。また、sRNA 制御においては、sRNA/標的 mRNA 間に形成される塩基対により標的関係が決定されるため、Hfq ではなく sRNA をベイトとして精製できる点は大きな利点である。本シンポジウムでは、腸管出血性大腸菌における sRNA と Hfq による病原性発現制御を調べるために行った MS2 タグによる RNA 精製法とその結果を紹介するとともに、MS2 タグによる RNA 精製と次世代シーケンシングを組み合わせた MAPS (MS2 affinity purification coupled with RNA sequencing) の実例も紹介する。

S18-7

RNA 結合タンパク質ターゲットの包括的理解

○千原 康太郎, 常田 聡 (早大・先進理工学・生命医科)

Global characterization of RNA-binding protein targetome

○Kotaro Chihara, Satoshi Tsuneda (Dept. Life Sci. Med. Biosci., Grad. Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ.)

RNA 結合タンパク質 (RNA-binding proteins; RBPs) は RNA の二次構造認識や安定性の維持、RNA 同士の塩基対形成補助など多岐にわたるメカニズムを有する。それぞれの RBPs は制御対象となる RNA の配列や構造モチーフを認識することで結合し、タンパク質をコードしない small non-coding RNAs (sRNAs) と共同で働くことで、細菌の遺伝子発現を転写後の制御している。ゆえに、細菌の転写後制御メカニズムを把握するためには、各種 RBPs のターゲットを包括的に同定することが肝要である。これまでに我々は、院内感染などで問題視される *Pseudomonas aeruginosa* の代表的な RBPs の 1 つである Hfq に着目し、それに結合する RNA を *in vivo* UV crosslinking immunoprecipitation followed by high-throughput sequencing (CLIP-seq) により網羅的に同定した。その結果、バイオフィーム環境では鉄の利用を制御する sRNAs PrrF1/2 が Hfq に多く結合し、各種ターゲット RNAs の安定性および翻訳活性を制御していることを明らかにした。さらに CLIP-seq の結果と RNA-RNA 相互作用の *in silico* 予測結果との比較により PrrF1 の新規制御ターゲットを同定した。本講演では免疫沈降と RNA-seq を融合した CLIP-seq に加えて、グリセロール勾配分画法や RNA Ligation などと RNA-seq を融合した新規アプローチも紹介したい。

細菌を取り巻く機能性ペプチドの up to date

コンピーナー：田端 厚之（徳島大学）
長岡 功（順天堂大学）

Up-to-date of the functional peptides around the bacterial world

Conveners: Atsushi Tabata (Tokushima Univ.)
Isao Nagaoka (Juntendo Univ.)

本シンポジウムでは、細菌を取り巻く“機能性ペプチド”をキーワードとし、この“機能性ペプチド”について様々な研究分野から最新の話提供を行うことを目的とする。細菌は、あらゆる環境に対応する生存戦略の手段として、自身が産生するペプチド分子を細菌間コミュニケーションや外来性遺伝子の獲得促進のためのツールとして使用している。また、宿主内での棲息部位を確保するために、宿主細胞に対する障害性ペプチドや、他の細菌の増殖を抑制するバクテリオシンなども産生している。一方で、宿主側では細菌の感染から自身を防御する重要なツールとして、様々な抗菌ペプチドを産生して対抗している。本シンポジウムでは、このような細菌と細菌あるいは細菌と宿主の攻防に関連した様々な“機能性ペプチド”の基礎研究の最新の成果に加え、その研究成果の社会への還元に向けた応用研究や、新たな抗菌ペプチドの開発などの最新情報を提供する場とした。

S19-1

ペプチドを利用した菌の生残システムの検討

○泉福 英信（国立感染研・細菌部）

Study of survival system using peptide in bacteria

○Hidenobu Senpuku (Dept. Microbiol. I, Nat. Inst. Infect. Dis.)

Streptococcus mutans は、バイオフィーム形成過程でオートインデューサーである Competence stimulating peptide (CSP) を菌体外に放出し、その CSP の濃度を菌表面にある ComD が認識してクオラムセンシングを起こす。この QS を利用して、抗菌物質のオートライシン（自菌を破壊）とバクテリオシン（他菌を破壊）を放出する。オートライシンとバクテリオシンが放出されると、菌が破壊され DNA や RNA が放出される。これら DNA や RNA は、遺伝情報として利用されるのではなく、菌体を物理的に表面に付着させる方向へ働いている。このように細菌はその環境で生き残るためにバイオフィーム形成過程で様々な生物活性が起こる。*S. mutans* の CSP 関連遺伝子は完全に明らかになっていない。そこで、口腔から分離した臨床分離株を利用して、CSP 関連遺伝子を見つける研究を行った。臨床分離株の方が実験室株よりも口腔環境下に反映された CSP 関連遺伝子を持っている可能性が高い。臨床分離株を用いた様々な検討の結果、CSP により発現する関連遺伝子 (*SMU482*, *SMU833*, *SMU834*, *SMU940*, *SMU1035*, 他) を明らかにした。それらの変異株を作製すると、いずれの変異株も親株より凝集性が高まることを明らかになった。よって、バイオフィーム形成において、CSP により一定量の凝集性を抑えることがむしろ物質表面で生き残る手段になりうると思った。それは凝集が進み過ぎて、むしろ剥がれやすくなるのを防ぐためである。菌量が増えることをクオラムセンシングを利用して感知し、凝集抑制を起こし、凝集と非凝集のバランスを取り、バイオフィームを維持しているのではないかと考えられた。

S19-2

アンギノサス群レンサ球菌が産生するペプチド溶血毒素 Streptolysin S の特徴と細胞障害性

○田端 厚之（徳島大院・社会産業理工学）

Characteristics of Streptolysin S secreted from Anginosus group streptococci and their cytotoxicity

○Atsushi Tabata (Grad. Sch. Tech., Indust. & Soc. Sci., Tokushima Univ.)

ヒト口腔内常在性の日和見病原菌であるアンギノサス群レンサ球菌には、溶血因子を産生することによって明瞭な β 溶血性を示す株が存在する。我々は、その β 溶血性の責任因子の探索を行い、化膿性レンサ球菌群が産生するペプチド性の溶血毒素である Streptolysin S (SLS) のホモログであることを明らかにした。この SLS の産生に関わる遺伝子群 (*sag operon*) は、 β 溶血性のアンギノサス群レンサ球菌株では種および亜種間で広く保存されていることから、日和見病原菌として認識されているが故に病原性の詳細が明らかになっていないアンギノサス群レンサ球菌の重要な病原因子の一つであると考えられている。SLS を β 溶血因子として産生するアンギノサス群レンサ球菌の中でも *Streptococcus anginosus* subsp. *anginosus* の β 溶血株 (β -SAA) は特徴的であり、*sag operon* 内に SLS のコード遺伝子である *sagA* を 2 分子タンデムで保有し、それらの転写翻訳産物がそれぞれ溶血因子として機能している。我々は、化膿性レンサ球菌が産生する典型的な SLS とは異なる β -SAA の非典型的な SLS に特に注目して検討を進めており、 β -SAA が産生する SLS も β 溶血因子としてのみならず、細胞障害因子としても作用していることを *in vitro* で確認した。本演題では、 β -SAA 由来の SLS の特徴や細胞障害性のメカニズムの解明に向けた様々なアプローチによる最新の情報を提供したい。

S19-3

生体防御ペプチド LL-37 の敗血症モデルに対する保護効果

○長岡 功¹、熊谷 由美¹、細田 浩司²、村上 泰介¹、鈴木 香¹（¹順天堂大・医・生化学・生体防御学、²東京農業大・生命科学・分子微生物学）

Protective action of host defense peptide LL-37 on a murine sepsis model

○Isao Nagaoka¹, Yumi Kumagai¹, Hiroshi Hosoda², Taisuke Murakami¹, Kaori Suzuki¹ (¹Dept. Host Defense & Biochem. Res., Sch. Med., Juntendo Univ., ²Dept. Mol. Microbiol., Fac. Life Sci., Tokyo Univ. Agri.)

LL-37 is a member of cathelicidin family of antimicrobial peptides in humans. In addition to its broad spectrum of antimicrobial activity, LL-37 can modulate various inflammatory reactions. We previously revealed that LL-37 improves the survival of a murine cecal ligation and puncture (CLP) sepsis model by reducing bacterial burden and inflammatory cytokine production. In the present study, we elucidated the mechanism for the protective action of LL-37 on a CLP model, by focusing on the effect of LL-37 on macrophage pyroptosis and release of neutrophil extracellular traps (NETs) and neutrophil ectosomes. First, LL-37 suppresses the macrophage pyroptosis that releases proinflammatory cytokines and augments inflammatory reactions in sepsis. Second, LL-37 induces the release of NETs with potent antibacterial activity. Third, LL-37 stimulates neutrophils to release antibacterial ectosomes. Together these observations suggest that LL-37 protects CLP septic mice by not only suppressing proinflammatory macrophage pyroptosis but also releasing antibacterial NETs and ectosomes from neutrophils. Thus, LL-37 can be a promising therapeutic candidate for sepsis, because of its multiple functions, including antibacterial activity, modulation of proinflammatory cytokine production, suppression of macrophage pyroptosis, and release of antibacterial NETs and ectosomes from neutrophils.

S19-4**Skillful survival strategies with TCSs of commensal bacteria against antimicrobial peptides**

○松尾 (川田) 美樹¹, 小松澤 均² (1鹿児島大・院医歯・口腔微生物学, 2広島大・院医系・細菌)

○Miki Kawada-Matsuo¹, Hitoshi Komatsuzawa² (1Dept. Oral. Microbiol., Grad. Sch. Med. and Dent., Kagoshima Univ., 2Dept. Bacteriol., Grad. Sch. Biomed. and Health. Sci., Hiroshima Univ.)

Antimicrobial peptides are important immune factors which prevent the bacterial infection. Commensal bacteria needs to adapt these peptides. We focus on two-component systems as adaptive system against antimicrobial peptides. Two-component systems (TCSs) are bacterial-specific signal transduction systems and are known to play an important role in adapting to the environmental factors. Individual bacteria has multiple TCSs depending on the species or strains. Recently, some TCSs have been reported to involve in pathogenicity. However, the function of many TCSs remains unknown. In our previous studies, we have verified the role of individual TCS of commensal bacteria against antimicrobial agents derived from human as defensins and bacteria as bacteriocins. However, these TCS-mediated resistant system is only functioning against low concentration of these peptides. Since antimicrobial peptides in the host is considered to be low concentration, we conclude that the adaptation to antimicrobial peptides is a key factor when bacteria become resident in humans. In this symposium, I would like to present the resistant mechanism against antimicrobial agents by TCSs in human-commensal Gram-positive bacteria including multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and to announce the possibility of TCSs to play an important role in coexisting with other commensal bacteria.

S19-5**Bacteriocin: Potential use for clinic and its cautions**

○小松澤 均 (広島大院・医系科学・細菌学)

○Hitoshi Komatsuzawa (Dept. Bacteriology, Grad. Sch. Biomedical and Health Sciences, Hiroshima Univ.)

It is well known that antimicrobial peptides (AMP) are found in animals including human, plant and microbe. Bacterial AMPs called as bacteriocins are mainly produced by Gram-positive bacteria. Several bacteriocins are already applied for antibacterial agents and food preservatives. Recently, due to the spreading of drug resistant bacteria, countermeasures to antimicrobial resistant (AMR) are tackled in the world. In Japan, national action plan on AMR promotes antimicrobial stewardship, the development of new agents and so on. Therefore, the clinical use for new bacteriocins are expected. Generally, bacteriocins are effective against closely-related bacterial species. Therefore, it is an advantage for the clinical use not to affect the composition of bacterial flora strongly. However, the use of new antibacterial agents promotes the emergence of the resistance. In this symposium, I would like to introduce the potential use for clinic and also its cautions.

S19-6**ライソシン E の構造に基づく新規人工抗菌ペプチド群の網羅的創出**

○井上 将行 (東大院・薬)

Development of a high-throughput strategy for discovery of potent analogues of antibiotic lysocin E

○Masayuki Inoue (Grad. Sch. Pharm. Sci., U. Tokyo)

Lysocin E, a 37-membered natural depsipeptide, induces rapid bacteriolysis in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* via a unique menaquinone-dependent mechanism, presenting a promising therapeutic lead. Despite the great medical importance, exploring the potential utility of its derivatives as new platform structures for antibiotic development has remained a significant challenge. Here we report a high-throughput strategy that enabled the preparation of thousands of analogues of lysocin E and large-scale structure-activity relationship analyses. We integrated 26-step total synthesis of 2401 cyclic peptides, tandem mass spectrometry-sequencing, and two microscale activity assays to identify 23 candidate compounds. Re-synthesis of these candidates lead to disclose that 11 of them (A1-A11) exhibit antimicrobial activity superior or comparable to that of lysocin E, and that lysocin E and A1-A11 share L-Leu-6 and L-Ile-11. Therefore, the present strategy allows us to efficiently decipher biologically crucial residues and identify potentially useful agents for the treatment of infectious diseases.