

第83回日本細菌学会総会「優秀ポスター賞」

理事長 野田公俊
学術支援・評価委員会

第83回日本細菌学会総会において、学生会員によるポスター発表を審査し、下記の諸君に「優秀ポスター賞」を授与しました。今後の研究の発展を期待します。

3月27日受賞者

氏名	ポスター番号	所属
藤原正俊	P1-043	岩手大学農学部獣医学科 獣医微生物学研究室
吉田裕真	P1-079	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 口腔顎顔面外科学
北川 良	P1-089	千葉大学大学院薬学研究院 微生物薬品化学研究室
岡安優太	P1-105	千葉大学大学院薬学研究院 微生物薬品化学研究室
顔 宏哲	P1-140	大阪大学医学系研究科 感染防御学
河合泰宏	P1-157	川崎医科大学小児科
三沢友紀	P1-198	北里大学大学院医療系研究科
山口雅也	P1-206	大阪大学大学院歯学研究科 口腔細菌学教室
後藤義幸	P1-246	東京大学医科学研究所感染・免疫部門 炎症免疫学分野

3月29日受賞者

氏名	ポスター番号	所属
古田芳一	P2-001	東京大学新領域創成科学研究科 マイカルゲノム専攻 バイオ医療地財分野
Md Rakibul Islam	P2-033	宮崎大学医学部医学科感染症学講座 微生物学分野
山下 均	P2-078	群馬大学大学院医学系研究科 細菌学
野澤孝志	P2-104	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部門 細菌学分野
江副浩和	P2-122	大阪大学大学院医学系研究科微生物病研究所 臨床感染症学研究グループ
芝崎あずさ	P2-189	千葉大学真菌医学研究センター
酒井 俊祐	P2-239	京都大学大学院医学研究科 微生物感染症学

優秀ポスター賞：タイトル・抄録

ポスター番号:P1-043

水素イオン指数からみた*Proteus mirabilis*のin vitroにおける動態

The behavior of *Proteus mirabilis* at several hydrogen-ionactivities

○藤原 正俊^{1,2}, 原澤 亮^{1,2}(岩手大・獣医・獣医微生物¹, 岐阜大学大学院・連合獣医学研究科²)

○Masatoshi Fujihara^{1,2}, Ryo Harasawa^{1,2}(Dept. Veterinary Microbiology,Iwate Univ. 1, Doctoral Course of the United Graduate School of VeterinarySciences, Gifu Univ.2)

【目的】寒天平板培地上で周期的な集団移動(swarming)を呈する*Proteus mirabilis* はヒトにおいて尿路感染を起こすことが知られている。しかし、草食動物における本菌の尿路感染は極めて少ない。そこで、アルカリ尿を排泄する草食動物と酸性尿を排泄する肉食動物の尿路モデルとして、各種pHの培地を用いて、本菌のin vitro における動態をビルレンスとの関連で解析した。

【方法】pH5-9 の尿素添加および非添加のトリプトソイ液体培地における*P. mirabilis* の形態をDAPI 染色によって確認し、あわせてphenolhypochlorite法によるウレアーゼ活性およびアゾカゼイン分解能によるプロテアーゼ活性、ならびに尿路細胞系であるT24 細胞における細胞内侵入能を調べた。

【成績】尿素を添加した酸性培地中には伸展したswarmer 様の多核細胞が数%出現することが確認されたが、各種培地に発育した*P.mirabilis* のビルレンス因子の発現には大きな違いは認められなかった。細胞内侵入性に関してはこのswarmer 様細胞において高頻度で認められた。

【考察】*P. mirabilis* はおもにヒトの尿路病原菌であり他の動物、とくに草食動物における尿路感染は極めて希である。液体培地中で認められたswarmer様細胞における細胞内侵入性の成績から、尿pHの違いが宿主特異性の一因となることが示唆された。本菌は寒天培地との接触によりswarmer細胞へ分化するとされているが、我々は尿素を添加した酸性の液体培地中においても伸展した多核のswarmer 様細胞が出現することを明らかにした。

ポスター番号:P1-079

黄色ブドウ球菌の新規二成分制御系因子による薬剤排出機構の解明

Evaluation of drug-efflux mechanism via novel two-component system in *Staphylococcus aureus*

○吉田 裕真^{1,2}, 松尾 美樹², 中村 典史¹, 小松澤 均²(鹿児島大院・医歯学・口腔顎顔面外科学分野¹, 鹿児島大院・医歯学・口腔微生物学分野²)

○Yuma Yoshida^{1,2}, Miki Matsuo², Norifumi Nakamura¹, Hitoshi Komatsuzawa²(Dept. of Oral and Maxil. Surg., Grad. Sch. Med. and Dent.,Kagoshima Univ.1, Dept. of Oral Microbiol., Grad. Sch. Med. and Dent.,Kagoshima Univ.2)

【目的】生体内をはじめとする環境応答に重要な役割を持つ因子として、近年細菌特有の二

成分制御系(TCS)が注目されている。MRSAであるMW2株では、現在ゲノム上に16組のTCSが存在するが、我々はこれまでに必須のTCSを除くすべてのTCS遺伝子破壊株を作製し、薬剤感受性を網羅的に検討してきた。その結果、バシトラシン(BC)に対して感受性の増大に関与する未解析のTCS(TCS16)を見出した。そこで、TCSによるBC耐性メカニズムを解明する。

【方法】黄色ブドウ球菌MW2株のBC耐性メカニズムにおいて、TCS16の下流域に存在するABCトランスポーター(MW2株GeneID;MW2542-2543)と、本遺伝子と相同性の高いトランスポーター(MW2620-21)に注目した。MW2株での各々の遺伝子破壊株を温度感受性プラスミドを用いた一点組換え法を用いて作製し、BC感受性をMIC法及びポピュレーション解析にて検証した。さらにBC作用時のTCS16, MW2543, MW2620の発現性についても定量性PCRにて検証した。

【結果と考察】MW2543, MW2620の遺伝子破壊株において、TCS16破壊株同様BCに対する感受性の増加が認められた。さらにBC作用時、MW2株でMW2543, MW2620の発現誘導が認められたが、TCS16破壊株では変化がなかった。以上よりMW2株は、TCS16がBCを感知することで、MW2543,2620の2つのトランスポーターの発現上昇によりBCを効果的に菌体外に排出し、BC抵抗性を獲得していることが示唆された。

ポスター番号:P1-089

サルモネラのmembrane vesicle形成はPagC翻訳後制御によって行われる

Biogenesis of Salmonella membrane vesicles dependent on the post-translational control of PagC

○北川 良¹, 高屋 明子¹, 水之江 義充², 高出 明美², 吉田 真一², 山本 友子¹(千葉大・院薬・微生物薬品化学¹, 九大・院医・細菌学²)

○Ryo Kitagawa¹, Akiko Takaya¹, Yoshimitsu Mizunoe², Akemi Takade², Shin-ichi Yoshida², Tomoko Yamamoto¹ (Dept. of Microbiology and Mol. Genetics, Graduate Sch. of Pharm. Sci., Chiba Univ.¹, Dept. Bacteriol., Faculty of Med. Sci., Kyusyu Univ.²)

Gram-negative bacteria ubiquitously release membrane vesicles (MVs) into the extracellular milieu. Although MVs are products of growing bacteria, not of cell lysis or death, the regulatory mechanisms of MV formation remained unknown. We have found that MV-biogenesis is provoked by induction of the Salmonella specific protein, PagC, whose expression is activated by conditions that mimic acidified macrophage phagosomes. PagC is a major constituent of Salmonella MVs and increase in its expression strongly accelerates vesiculation. The cellular level of PagC is regulated post-translationally in an RpoS-dependent manner, i.e. the PagC precursor with its signal peptide has to be stabilized in the bacterial cytoplasm by an unidentified protein under the control of RpoS. Serial quantitative analysis shows that MV formation can accelerate when quantity of the MV constituents, OmpX as well as PagC, rises. Overproduction of PagC dramatically impacts the difference in the relative amount of vesiculation, but the corresponding overproduction of OmpX was less pronounced, suggesting

that specific protein sorting mechanisms operate when MVs are formed. The possible role of PagC-MV in host cells is discussed.

ポスター番号:P1-105

ClpXPによるべん毛レギュロン転写因子FlhDCの分解機構 (i) —SalmonellaにおけるFlhDCの細胞内量制御—Degradation mechanisms of FlhDC by ClpXP(i) —Regulation of cellular levels of FlhDC in Salmonella—

○岡安 優太, 佐藤 慶治, 高屋 明子, 山本 友子(千葉大・薬・微生物薬品化学)

○Yuta Okayasu, Yoshiharu Sato, Akiko Takaya, Tomoko Yamamoto (Dept. Microbiol. Mol. Genet., Grad. Sch. Pharm. Sci., Chiba Univ.)

FlhDC複合体はべん毛遺伝子群の発現を最上流で支配する転写因子である。これまでに我々は、サルモネラにおいてAAA+プロテアーゼであるClpXP が、FlhDC 複合体の細胞内量を負に調節し、べん毛レギュロンの制御を行っていることを報告した(J. Bacteriol. 184:645-653,2002)。本研究ではまず、in vitro の実験系を構築し、実際にClpXP がFlhDC を基質とした認識・分解を行っていることを確かめた。一方、FlhDCのサブユニットであるFlhDとFlhCをそれぞれ単独で発現させた場合はClpXP 依存的な細胞内量制御が見られなかったことから(Mol. Microbiol. 48:443-452, 2003), ClpXP はFlhDC 複合体を選択的に認識し、分解を行っていることが推測された。そこで、ClpXP によるFlhDC 分解におけるFlhDC 複合体形成の重要性を検証するために、FlhD上の複合体形成に重要な部位であるAsp31およびIle97に変異を導入したFlhDC をClpXP +株とClpXP -株で発現させ、細胞内量を比較した。その結果、これらの変異FlhDC は野生株と比べてClpXP+ 株での蓄積が観測されたことから、ClpXP による認識・分解にはやはり複合体形成が重要であることが示唆された。また、ClpXPの認識部位を同定する目的で、進化的に高度に保存され、かつタンパク質表面に露出しているサイトに変異を導入し同様の実験を行った。その結果、FlhDのSer85とFlhDのC末端の2領域に関して、ClpXPによるFlhDCの分解に差が見られたことから、これらの2 領域はClpXPの認識部位であることが示唆された。現在、FlhDC 複合体の分解様式に関してin vitro 分解実験による詳細な検証を行っており、その結果を報告する。

ポスター番号:P1-140

出血性大腸菌病原性遺伝子 NleC による免疫抑制機構の解析

NleC, an enterohemorrhagic Escherichia coli effector, downregulates host immune-responses

○顔 宏哲, 戸邊 亨, 杉本 央(阪大・医・感染防御)

○Hilo Yen, Toru Tobe, Nakaba Sugimoto (Div. Applied Microbiol., Sch. Med., Osaka Univ.)

[AIM] The infection of EPEC/EHEC disrupts the proper epithelial cell lining of colon and inflicts inflammation. However, various reports insofar have shown a brief moment of immune-suppression by the pathogen at the early stage of colonization, a Type 3 secretion system (T3SS) / effectors-dependent phenomenon. In this study, we employed a

reconstituted system to identify potential effector(s) and their mechanisms in modulation of host immune-responses.

[Materials and method] A E.coli K12 harboring T3SS and each individual effector was used for infection. Degree of immune-response was monitored by IL-8 and the NF- κ B-regulated reporter system.

[Result] In the screening, NleC harboring E.coli K12 caused a much lower secreted IL-8 compared to the parental strain in Hela cells. The effect of NleC was confirmed by the reporter system, showing a significantly decreased NF- κ B activation. Examining the relevant components involved in NF- κ B signaling pathway, we found that the total p65 protein level has substantially diminished, suggesting a direct or an indirect targeted degradation by NleC.

[Conclusion] NleC can influence NF- κ B signaling pathway by reducing p65 protein level in host cells.

ポスター番号:P1-157

酵母発現系を用いた肺炎クラミジアエフェクターのゲノムワイドスクリーニング

Genome-wide screening of pathogen effectors in *Chlamydomonas reinhardtii* in yeast

○河合 泰宏¹, 田淵 光昭², 梁取 いずみ², 安井 ゆみこ², 尾内 一信¹, 岸文雄²(川崎医大・医・小児科¹, 川崎医大・医・分子生物²(遺伝学)²)

○Yasuhiro Kawai¹, Mitsuaki Tabuchi², Izumi Yanatori², Yumiko Yasui², Kazunobu Ouchi¹, Fumio Kishi²(Department of Pediatrics., Sch. Med., Kawasaki Med.1, Department of Molecular Genetics., Sch. Med., KawasakiMed.2)

Chlamydomonas reinhardtii is an obligate intracellular bacterium causing respiratory infections. One of protein secretion mechanisms is the type III secretion system (TTSS), which allows direct transfer of effector proteins into the cytoplasm of the host cell. The expression of a functional TTSS in *Chlamydiae* has been reported and several effector proteins have been identified and characterized. However, a considerable number of effector proteins in *C. pneumoniae* may remain to be identified. We have developed the functional high-throughput screening system for pathogen effectors in yeast, which consists of GatewayTM-compatible Tet-Off inducible expression vector, and a yeast strain expressing a reporter, facilitating the identification of the effectors affecting host vesicular trafficking pathways. Using this system, we screened the 456 genes of unknown function from an obligate intracellular pathogen *C. pneumoniae* and isolated 69 effector candidates as conferring a growth inhibitory phenotype by their expression. We are currently developing the specific antisera against these effector candidates to investigate their subcellular localization in *C. pneumoniae*-infected cells and analyzing their function in yeast and mammalian cells to understand the pathogenesis of *C. pneumoniae* infection.

ポスター番号:P1-198

各種培養ヒト気道粘膜上皮細胞に対するらい菌Mce1A 蛋白と結核菌Mce1A 蛋白との侵入活性の比較検討

Entry activities of *M. leprae* and *M. tuberculosis* Mce1A proteins to various airway epithelial cells

○三沢 友紀, 佐藤 直哉, ラフマ シッティ ヌル, 藤村 響男, 勝岡 憲生(北里大・医・皮膚科)

○Yuki Misawa, Naoya Sato, Sitti Nur Rahmah, Takao Fujimura, Kensei Katsuoka (Dept. Dermatol. Kitasato Univ Sch. Med.)

Both *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium tuberculosis* are pathogenic, acid fast bacillus. The initial transmission routes of these mycobacteria, however, are different. *M. leprae* enters through the upper airway mucosa, and *M. tuberculosis* infects through the lower airway mucosa. Our previous studies revealed that the proteins coded in *mce1A* gene regions of *M. leprae* and *M. tuberculosis* are the key virulence factor associated with human epithelial cell entry of these mycobacteria. This study aims at further elucidating the role of Mce1A proteins in entry to the airway epithelial cells. To compare the Mce1A-mediated entries to the various airway epithelial cells, we performed colony-forming unit assay using the recombinant (*r-*) *Escherichia coli* expressed a part of each Mce1A region on the surface by the adhesin involved in diffuse adherence autotransporter translocator. As a result, *M. leprae*-Mce1A (*-*expressing *r-* *E. coli*) exhibited lower entry activity into the alveolar epithelial cells than *M. tuberculosis*-Mce1A. In contrast, *M. leprae*-Mce1A exhibited higher entry activity into the nasal epithelial cells than *M. tuberculosis*-Mce1A. *M. leprae* has been postulated to proliferate easily in the nasal mucosa, because it is a low temperature area in the body. This study suggests that *M. leprae* finds its way preferably into the nasal mucosa via Mce1A protein.

ポスター番号:P1-206

*Streptococcus pneumoniae*と赤血球の相互作用の解析

Molecular analysis of the interaction between *Streptococcus pneumoniae* and erythrocytes

○山口 雅也, 寺尾 豊, 川端 重忠(阪大院・歯・口腔細菌)

○Masaya Yamaguchi, Yutaka Terao, Shigetada Kawabata (Dept. of Oral and Mol. Microbiol., Osaka Univ. Grad. Sch. of Dent.)

【目的】*Streptococcus pneumoniae* による肺炎患者の血液培養検体では, *S. pneumoniae* と赤血球が結合した像が多数認められる。また, 赤血球輸血により*S. pneumoniae* による敗血症が引き起こされた症例も報告されている。本研究では, *S. pneumoniae* と赤血球の結合が, 感染の成立に及ぼす影響について調べた。

【方法】*S. pneumoniae* と赤血球を混和し, 走査型電子顕微鏡 (SEM)ならびに共焦点レーザー蛍光顕微鏡による観察を行った。次に, 赤血球に結合する *S. pneumoniae* のタンパクを, リガンドブロット法および質量分析装置を用いて同定した。得られた配列情報を基に作製した

組換え (r) タンパクを蛍光標識し、フローサイトメーターで赤血球との結合能を測定した。また、赤血球存在下における *S. pneumoniae* の増殖能の変化を調べた。さらに、マウスに *S. pneumoniae* を経気管感染させ、肺の組織像を顕鏡した。

【結果】赤血球添加により、*S. pneumoniae* の有意な増殖促進と、4 °Cでの28日以上生存延長が認められた。SEMならびに共焦点レーザー蛍光顕微鏡による観察から、*S.*

pneumoniae は赤血球に結合し侵入する

ことが示唆された。次に、リガンドブロット法および質量解析の結果から、赤血球と結合した *S. pneumoniae* の分子は、DnaK, FusA, Enolaseであることが明らかとなった。フローサイトメーターにより、rDnaK, rFusA, rEnolase は赤血球に結合することが確認された。さらに、*S. pneumoniae* を感染させたマウスの肺において、*S. pneumoniae* が赤血球に重なっている像が得られた。

【考察】*S. pneumoniae* は肺感染時に赤血球に侵入し、増殖促進と長期生存を果たす可能性が示唆された。

ポスター番号: P1-246

腸管粘膜固有層CD11c 陽性細胞はフコシル化上皮細胞を誘導し、腸内細菌との共生関係を構築する

Indigenous lamina propria CD11c+ cells establish a symbiosis with the gut microbiota

○後藤 義幸^{1,2}, 小幡 高士¹, 佐藤 慎太郎¹, 國澤 純¹, 植松 智³, 審良 静夫³, 笹川 千尋⁴, 梅崎 良則⁵, 辨野 義己², 清野 宏¹(東大・医科研・炎症免疫¹, 理研・バイオ・微生物², 阪大・微研・自然免疫³, 東大・医科研・細菌感染⁴, ヤクルト・中央研⁵)

○Yoshiyuki Goto^{1,2}, Takashi Obata¹, Shintaro Sato¹, Jun Kunisawa¹, Satoshi Uematsu³, Sizuo Akira³, Chihiro Sasakawa⁴, Yoshinori Umesaki⁵, Yoshimi Benno², Hiroshi Kiyono¹ (Div. Mucosal Immunol., IMSUT., Univ. Tokyo. ¹, Microbe Div. / JCM, RIKEN BioResource Center. ², Lab. of Host Defense, WPI IFREC, Osaka Univ. ³, Div. Bacterial infection., IMSUT., Univ. Tokyo. ⁴, Yakult Central Inst. for Microbiological Research. ⁵)

Indigenous gut microbiota peacefully co-inhabits in our gastrointestinal tract. Although symbiotic mechanisms between the host and microbiota are largely unknown, fucose containing glycan structures induced by microbiota at intestinal epithelial surface are one of the key molecules of host-microbe mutualism. Nevertheless, the underlying cellular and molecular mechanisms of epithelial fucosylation are not fully understood. MyD88 is an essential adaptor molecule in TLR signaling leading to the production of several inflammatory cytokines. When we analyzed MyD88-deficient mice, epithelial cells were defective in fucosylation and adoptive transfer experiments revealed that MyD88 in lamina propria (LP) CD11c+ cells was indispensable for the induction of epithelial fucosylation. We also searched what kind of inflammatory cytokines were expressed in LP CD11c+ cells and found TNF was highly and constitutively expressed in microflora- and MyD88- dependent manners. Consistent with this, TNF-deficient mice also showed defective epithelial fucosylation. These

findings may provide a new perspective on the role of lamina propria CD11c+ cells to not only initiate protective immunity against pathogenic bacteria but also constitute the symbiosis with gut microbiota.

ポスター番号: P2-001

ピロリ菌10株のゲノム比較によるゲノム再編の検出

Genome rearrangements detected by genome comparison of 10 strains of *Helicobacter pylori*
河合 幹彦¹, ○古田 芳一^{2,4}, 鶴 剛史^{3,4}, 半田 直史^{3,4}, 小林 一三^{2,4}(基生研・ゲノム情報¹, 東大・新領域・メディカルゲノム², 東大・理・生化³, 東大・医科研⁴)

Mikihiko Kawai¹, ○Yoshikazu Furuta^{2,4}, Takeshi Tsuru^{3,4}, Naofumi Handa^{3,4}, Ichizo Kobayashi^{2,4}(Genomic Info., National Inst. of Basic Biol.¹, Dpt. of Med. Gen. Sci., Grad. School of Frontier Sci., Univ. of Tokyo², Dpt. of Biophysics and Biochem., Grad. School of Sci., Univ. of Tokyo³, Inst. Of Med. Sci., Univ. of Tokyo⁴)

Helicobacter pylori は胃炎・潰瘍・胃がんの主原因であり、そのゲノムの可塑性が高いことが知られている。特に東アジア株は胃がんを起こす頻度が高いと推測されており、その原因の解析が盛んに行われている。我々は日本人患者由来のピロリ菌4株のゲノムを解読し、既にゲノム配列の公表されている他の6株とのゲノム比較解析を行った。ゲノム中のコア領域をRECOGにより取り出し、それを用いて得られた系統樹は、従来のMLSTを用いて描かれたものよりも正確なものとなり、同種多数株のゲノム解析の有用性を示した。大局的なゲノム再編を、逆位の組み合わせとしてMGRを用いて再構築を行った。その逆位の点には、長い逆向き繰り返し配列が見出されるものがあった他(80 – 1000 bp)、制限修飾系遺伝子も多く見られ、逆位形成との関連が示唆された。制限修飾系について解析した結果、アジア株固有、もしくは非アジア株固有のものが見つかった。また、異なる制限修飾系が同じ順向き繰り返し配列に挟まれているケースも見つかり、繰り返し配列を用いた相同組換えによる制限修飾系獲得のメカニズムが示唆された。他の可塑性領域や遺伝子についても報告する予定である。
会員外共同研究者: 矢原耕史(久留米大・院医), 高橋規子(東大・院 新領域・メディカルゲノム), 大嶋健志朗, 服部正平(東大・院情報生命), 吉田優, 東健(神戸大・院医), 内山郁夫(基生研)

ポスター番号: P2-033

Functional analyses of the late region genes of Stx2 phage from O157:H7 Sakai

○Md Rakibul Islam¹, 小椋 義俊^{1,2}, Md Asadulghani^{1,3}, 村瀬 一典¹, 大岡唯祐¹, 中山 恵介¹, 井口 純², 林 哲也^{1,2}(宮崎大・医・感染症学¹, 宮崎大・フロンティア², 宮崎大・農・獣医³)

○Md Rakibul Islam¹, Yoshitoshi Ogura^{1,2}, Md Asadulghani^{1,3}, Kazunori Murase¹, Tadasuke Ooka¹, Keisuke Nakayama¹, Atsushi Iguchi², Tetsuta Hayashi^{1,2}(Div. Microbiol., Dept. Infect. Dis., Facul. Med., Miyazaki Univ.¹, Div. Bioenv. Sci., Frontier Sci. Res. Center, Miyazaki Univ.²,

Dept. Vet. Sci., Fac. Agri., Miyazaki Univ.3)

Background: EHEC O157:H7 is an important food-borne pathogen, which is the leading cause of hemorrhagic colitis and hemolytic-uremic syndrome in humans worldwide. Their disease causing potentiality is deeply associated with the ability of Shiga toxin (Stx) production. The O157:H7 strain Sakai harbors two lambdoid prophages Sp15 and Sp5, encoding Stx1 and Stx2, respectively. The early genes of Sp5, involved in DNA replication and gene regulations, have high similarity with those of phage λ . In contrast, many of the late region genes that are presumably associated with virion formation, show no similarity to known phage genes, and thus their functions are largely unknown.

Methods: We first constructed an O157:H7 Sakai derivative, in which the stx2 gene on Sp5 was replaced with the cat gene, and transferred this cat - marked Sp5 to K-12. Subsequently, we constructed a series of Sp5 mutants, each containing in-frame deletion in the late genes, to analyze their functions.

Results and Discussion: We have constructed a total of 14 mutants covering 13 genes in the Sp5 late region. By analyzing their DNA packaging and phage-forming abilities, we have identified several genes required for or involved in the process of phage propagation. We are now constructing additional mutants to better understand the biology of Stx2- transducing phage.

ポスター番号: P2-078

臨床分離VRE *E. faecium* が生産する新しいバクテリオシンBac 51 の遺伝学的解析

Genetic Analyses of Bac 51, a Novel Bacteriocin among Clinical Isolates of VRE *E. faecium*

○山下 均, 富田 治芳, 井上 貴子, 池 康嘉(群馬大・院・医・細菌学)

○Hitoshi Yamashita, Haruyoshi Tomita, Takako Inoue, Yasuyoshi Ike (Dept. Bacteriol., Sch. Med., Gunma Univ.)

【はじめに】私達のこれまでの研究において、米国で分離された636株VREが生産するバクテリオシンの抗菌域を調べた結果、バクテリオシンは4種類に分類された。今回日本で分離されたVRE (VanA型*E. faecium*) 6株のバクテリオシン活性を調べた。これまで報告されているバクテリオシン活性とは異なるバクテリオシン生産株を見つけ、遺伝学的解析をした結果を報告する。

【方法・結果】6株のVREについて、接合伝達実験で得られたそれぞれの接合伝達株は*E. faecium*, *E. hirae*, *E. durans*に抗菌活性をもつバクテリオシンを生産した。この抗菌活性を持つ伝達株のプラスミドDNAの電気泳動の結果ではすべて共通の約6.0 kbのプラスミドを保持していた。このうちNRCH38株から単離されたプラスミドをpHYと名付け、全塩基配列を決定した。コンピュータ解析によりORFが9つ存在することが推定された。相同性の解析によりORF3, ORF4, ORF5はそれぞれmobC, mobA, mobBに相当した。ORF7, ORF8はrepA, repBに相当した。ORF1, ORF2は既報の遺伝子配列、アミノ酸配列ともに相同性がみられないためpHYは新規のバクテリオシンをコードするプラスミドの可能性が高いと考えられた。大腸菌のベクタープラスミドpMW119を用いpHY全体をクローン化し、これを*E. faecalis* OG1Sに

形質転換したものは、E. faecium, E. hirae, E. durans に対し抗菌活性をもつバクテリオシンを生産した。このクローンを用いたTn5 挿入変異株による解析から、ORF1 がバクテリオシン遺伝子をコードすることが解った。

ポスター番号:P2-104

Rab タンパク質によるA 群レンサ球菌感染誘導によるオートファジー制御機構

A small GTPase, Rab23, is required for autophagic degradation of intracellular bacteria

○野澤 孝志^{1,2}, 相川 知宏^{1,2}, 丸山 史人³, 中川 一路²(東大・新領域・生命分子解析¹, 東京医歯大・医歯総合・細菌感染制御², 東工大・情報生命工学³)

○Takashi Nozawa^{1,2}, Chihiro Aikawa^{1,2}, Fumito Maruyama³, Ichiro

Nakagawa²(Lab. Physic. Biochem., Grad. Sch. FrontSci., Tokyo Univ.¹, Sec. Bac. Pathog., Grad. Sch. Med and Dent. Sci., Tokyo Medical and Dental Univ.², Lab. Info. Biotech., Grad. Sch. Bioinfo. Eng., Tokyo Institute of Technology.³)

非貪食細胞に取り込まれたA群レンサ球菌は、オートファゴソームに取り込まれ、リソソームと融合して分解される。この細菌分解時のオートファゴソームサイズは一般的なものの数十倍以上にも達することなどから、細菌分解時特異的なオートファジー誘導メカニズムが存在すると考えられている。そこで、本研究では細胞内の小胞輸送制御を担うRab ファミリータンパク質の網羅的な解析により、A 群レンサ球菌感染により誘導されるオートファジーに重要な Rab タンパク質を同定し、その機能を明らかとすることを目的とした。

これまでにタンパク質分解機構としてのオートファゴソームに局在が報告されているRab5, 7, 24, 33B と、その他7 つのRab タンパク質(Rab4A, 8, 9A, 9B, 10, 13, 23)の細胞内局在を調べた結果、報告のある4 つのRab タンパク質のうちA 群レンサ球菌に対するオートファゴソームに局在していたものはRab7 だけであった。一方、オートファジーとの関連が報告されていない7つのRabタンパク質のうちRab9AとRab23がA群レンサ球菌に対するオートファゴソームに局在していた。このRab23 のノックダウン細胞およびドミナントネガティブ発現細胞では、オートファゴソーム形成率は減少し、A 群レンサ球菌の分解も抑制された。以上の結果から、Rab23 はA 群レンサ球菌に対するオートファゴソーム形成に重要な役割を担っていることが明らかになった。また、Rab23 は飢餓誘導時のオートファゴソームには局在しないが、Staphylococcus aureus など複数の細菌に対するオートファゴソームへは局在していたことから、細菌感染時特異的な制御因子であることが示唆された。_

ポスター番号:P2-122

インフルエンザウイルス感染後の二次性肺炎球菌性肺炎マウスモデルの構築とPspA肺炎球菌ワクチンの効果

A mouse model for secondary pneumococcal pneumonia and efficacy of PspA pneumococcal vaccine

○江副 浩和¹, 明田 幸宏¹, 朴 貞玉¹, 青枝 大貴², 小山 正平³, 谷本 武史⁴, 石井 健

2.5, 大石 和徳1(大阪大学 微生物病研究所 感染症国際研究センター1, 大阪大学 微生物病研究所 分子原虫学分野2, 東北大学 医学系研究科 呼吸器病態学分野3, 大阪大学 微生物病研究会 観音寺研究所4, 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 自然免疫学5)

○Hirokazu Ezoe1, Yukihiro Akeda1, Zhenyu Piao1, Taiki Aoshi2, Shohei Koyama3, Takeshi Tanimoto4, Ken Ishii2,5, Kazunori Oishi1 (International Research Center for Infectious Diseases, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University1, Department of Molecular Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University2, Department of Respiratory Medicine, Graduate School of Medicine, Tohoku University3, The Research Foundation for Microbial Diseases, Osaka University4, Laboratory of Host Defense, WPI Immunology Frontier Research Center, Osaka University5)

【目的】1918年に発生したスペイン風邪の犠牲者数は4,000万人以上と推定されており、主な死因は二次性細菌性肺炎だと考えられている。この二次性細菌性肺炎は重篤になることが多く、致命率も高い。二次性細菌性肺炎の主な原因菌は肺炎球菌であるが、肺炎球菌ワクチンがインフルエンザウイルス感染後の二次性肺炎球菌性肺炎を予防できるという報告はない。そこで我々はインフルエンザウイルスと肺炎球菌による二次感染マウスモデルを構築し、二次感染マウスモデルにおけるPspA (pneumococcal surface protein A) 肺炎球菌ワクチンの二次性肺炎球菌性肺炎に対する予防効果を検討した。

【方法】C57BL/6j マウスを精製PspA とアジュバントPoly(I:C)を用いて毎週1回(合計3回)経鼻免疫を行った。最終免疫から2週間後にインフルエンザウイルスA/New Caledonia 株(H1N1)を経鼻感染させ、さらにインフルエンザウイルス感染後5日目に肺炎球菌WU2株(serotype3)を経鼻感染させ、肺炎球菌感染後のマウスの生存率と体重変化を測定した。

【結論】インフルエンザウイルス感染後の二次性肺炎球菌感染によるマウスの生存率がコントロール群と比較して大幅に低下することが確かめられた。さらに、この二次感染マウスモデルにおいて肺炎球菌ワクチン投与群は、マウスの生存率が肺炎球菌ワクチン非投与群と比較して有意に高くなっており、体重変化も顕著に少なかった。従って肺炎球菌ワクチンはインフルエンザウイルス感染後の二次性肺炎球菌性肺炎に対して有効であることが示唆された。

ポスター番号: P2-189

レクチンマイクロアレイを用いた真菌細胞表面糖鎖解析の新しいアプローチ

A novel strategy for fungal cell-wall glycome profiling using lectin microarray

○芝崎 あずさ1, 館野 浩章2, 平林 淳2, 五ノ井 透1(千葉大・真菌セ1, 産総研・糖鎖医セ2)

○Azusa Shibasaki1, Hiroaki Tateno2, Jun Hirabayashi2, Tohru Gono1 (Med. Mycol. Res. Cent., Chiba Univ1, Res. Cent. Med. GlycoSci., AIST2)

真菌(カビ, 酵母)は生物界に幅広く分布する生物群であり、我々の生活に深い関わりのある真核微生物である。しかし一部の真菌はエイズ患者や免疫不全患者にカンジダ症, アスペル

ギルス症などの重篤な真菌症を引き起こす。これら病原真菌の細胞表面糖鎖の研究はこれまでに病原性真菌の血清型による同定法の開発や細胞壁成分をターゲットにした抗真菌剤の開発などで注目を集めてきた。また、免疫や生体防御の研究においても重要と考えられている。

しかしながら糖鎖構造解析の煩雑さから、一部の真菌以外を除いては、細胞表面糖鎖の研究がほとんどなされていないのが現状である。今回我々はレクチンマイクロアレイを用いて分類学上極めて幅広く分布する真菌について表面糖鎖を解析し、比較検討した。

更にレクチンマイクロアレイ解析における糖鎖-レクチンの特異性の整合性を確認する目的で、フローサイトメトリーや蛍光顕微鏡での観察を行った。

真菌株の分子系統樹上の位置と細胞壁表面の構成糖鎖の相関関係を比較したところ、モデル生物として知られる出芽酵母の属する半子囊菌綱ではマンノースに結合するレクチンにのみシグナルが見られた種が多く、比較的単純な糖鎖構造が予測されたのに対し、分裂酵母の属する古生子囊菌綱ではマンノースに加えガラクトースを持つ種が多く、さらにキノコなどを含むグループで知られる担子菌門に含まれる酵母ではガラクトースとフコースを有する種が多く確認され、担子菌門に含まれる酵母は複雑な糖鎖構造を持つ可能性が示唆された。このように真菌の分子系統的なグループとレクチンマイクロアレイによる糖鎖構造のプロファイルには相関性が見られた。

ポスター番号: P2-239

PD-1 inhibitory receptor prevents immunopathological responses in pulmonary tuberculosis
○酒井 俊祐¹, 河村 伊久雄¹, 土屋 晃介¹, 岡崎 拓², 本庶 佑³, 光山 正雄¹(京大院・医・微生物感染症学¹, Div. Immune Regulation, Inst. Genome Research, Univ. Tokushima², Dept. Immunology and Genomic Medicine, Kyoto Univ. Grad. Sch. Med.³)

○Shunsuke Sakai¹, Ikuo Kawamura¹, Kohsuke Tsuchiya¹, Taku Okazaki², Tasuku Honjo³, Masao Mitsuyama¹ (Dept. Microbiology, Kyoto Univ. Grad. Sch. Med.¹, Div. Immune Regulation, Inst. Genome Research, Univ. Tokushima², Dept. Immunology and Genomic Medicine, Kyoto Univ. Grad. Sch. Med.³)

Upon pulmonary infection with *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), the acquired cellular immune response is induced and causes a chronic inflammation by persistent antigenic stimulation. Although the inflammatory response is important for the bacterial clearance, paradoxically, it is also responsible for lung pathology. Recently, studies of the PD-1 inhibitory receptor, which is expressed on activated T cells, have provided novel insights regarding the inhibition of T cell-mediated immunopathology. However, whether PD-1 plays a similar role in chronic inflammations caused by infectious agents has not been well studied. To test the role of PD-1 in Mtb infection, we investigated the course of pulmonary infection with Mtb in PD-1^{-/-} mice. Interestingly, despite an increased production of IFN- γ in the lungs of infected PD-1^{-/-} mice, the animals were not able to control bacterial growth and succumbed to infection rapidly compared to wild-type mice. The histological analysis revealed severe lung damage in PD-1^{-/-} mice. In addition, there was a massive infiltration of macrophages and

neutrophils with a remarkable increase in the expression of chemokines, including osteopontin, MCP-1 and KC in the infected lungs. These data suggest that PD-1 prevents excess immune responses to Mtb, possibly leading to pathologic consequences.