

令和元年6月11日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05225

研究課題名(和文) 膣菌叢とメタボローム：クラミジア卵管線維化機構とPID診断バイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Exploring critical factors responsible for regulating the survival of Chlamydia trachomatis into cervical mucosa

研究代表者

山口 博之 (Yamaguchi, Hiroyuki)

北海道大学・保健科学研究所・教授

研究者番号：40221650

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：クラミジア(*Chlamydia trachomatis*)は、主要な性感染症の原因菌であり、慢性化すると不妊の原因になる。そこでクラミジアの膣粘膜面での生存性を規定する要因を臨床材料(膣スワブ検体554検体)を用いて検討した。その結果、膣への腸管内容物の流入量(特にインドール：INF の効果を減弱させる)の増加が、クラミジアの感染リスクを助長することを発見した。また低酸素でクラミジア感染細胞を維持するための至適培養系を構築し、線維化に関わる遺伝子の発現が低下することを発見した。さらにクラミジア感染細胞のアポトーシス誘導を容易に可視化できるカスパーゼ3プロローブ導入細胞を利用した実験系も確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦における健康女性のクラミジア感染者の多くが無症候性であり(感染頻度は10%程度)、治療をせずに放置するとPID(骨盤内炎症性疾患)を介して不妊となる。一方、膣粘膜面においてクラミジア感染を規定する要因は不明であり、クラミジア感染症は十分にコントロールされていない。それ故に本研究で得られた研究成果から、クラミジアの感染リスクを予測することができるようになり、クラミジア感染症の予防が格段に促進されるものと確信している。さらにクラミジア感染が慢性化した際に起こるPIDや不妊の予防、少子化問題の解決にも寄与する社会的に見ても極めて意義深い研究成果である。

研究成果の概要(英文)：Chlamydia trachomatis is the leading cause of bacterial sexually transmitted infections, with an estimated 131 million new cases annually worldwide. Although INF- is a critical defense factor against C. trachomatis genital infection that acts by depleting host cellular tryptophan pool, the presence of indole, which is a precursor for tryptophan, can rescue genital chlamydiae despite depletion of tryptophan in INF- -exposed cells in vitro, presumably, the higher vaginal indole amount prolongs the survival of C. trachomatis in the vaginal tract. Here, using the 554 cervical swabs with the prevalence of C. trachomatis infection, we indicated that the flow of bacteria through the anogenital route along with gut indole, had a strong impact on the prevalence of C. trachomatis in the cervicogenital tract of women. We also established a standardized chlamydial culture method in hypoxia and the detection system of apoptosis with caspase-3 expressing HEp-2 cells into chlamydia-infected cells.

研究分野：病態検査学

キーワード：クラミジア 性感染症 膣粘膜面 菌叢解析 インドール アポトーシス 低酸素環境

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

クラミジア(*Chlamydia trachomatis*)は、国内外を問わず、主要な性感染症の原因菌である。エネルギーATPを感染細胞に依存するので偏性細胞内寄生性という特徴を持つ。この菌は、性行為を介して腔頸管細胞に感染するが、感染者の大部分は無症候性である(1)。さらに無治療(1年以上)の感染者の約半数は、感染が卵管へと上向性に拡大すると共にPIDを発症し、その20%程度は、線維化により卵管は閉塞し不妊となる(2)。国ごとに罹患率は異なるが、世界的に見るとクラミジア感染者数は、5%程度と推定される(3)。一方、国内の健康女性へのクラミジアの感染率は2.4%程度であるが、特に30歳以下の罹患率が、11.3%と極めて高い(公益財団法人性の健康医学財団、2015)。札幌市内の妊婦検診に訪れた280名(平均年齢28.3歳)を対象とした私達の研究でも、感染率は14.3%であった(4)。年間あたりの妊婦数は100万人程度なので(厚生労働省「出生に関する統計」、2010)、クラミジア感染率を10%とすると、本邦におけるクラミジア感染に伴うPID発症者数は、毎年5万人にも達する。一方、組織の修復に伴い起こる線維化に関する研究は、重篤な病態(動脈硬化、肝硬変、虚血性心疾患など)へと直結しているため、国内外を問わず大変活発に行われている。まず線維化には、炎症に伴う低酸素状態が必要とされる(5)。低酸素状態下では細胞内のグルコース濃度が増加すると共に、TGF β が産生され、その刺激は細胞内に活性酸素(ROS)を誘発する(6)。ROSはp53、ERK1/2、p38とJNK経路の活性化を介してプラスミノゲン活性化抑制因子(PAI-1)の発現安定化と産生増強を促す(7)。PAI-1の蓄積は、プラスミンの産生誘導を阻止するのでメタロプロテアーゼの活性化が阻害され、その結果として組織のターンオーバーが滞り、炎症の増大と細胞外マトリックスの安定化を介して組織の線維化は加速する(7)。またIL-1 β やカスパーゼは、線維化を加速させる炎症拡大のイニシエーターのみならずアポトーシス誘導において重要である(8)。その一方で、クラミジアの腔粘膜面での生存性を規定する要因は良く分かっていない。

2. 研究の目的

そこで本研究では腔粘膜面でのクラミジア感染を促進する因子を明らかにするために以下の研究計画を実施した。1. クラミジア感染者の腔内菌叢解析。2. クラミジア感染を助長する腔内因子の探索。3. 腔粘膜面にミミックな低酸素環境下でのクラミジアの培養系の確立。4. クラミジア感染細胞のアポトーシス誘導を容易にトレースするためのDEVD配列挿入環状ルシフェラーゼを恒常的に発現する細胞でのカスパーゼ3の活性化測定法の確立とクラミジア感染細胞でのカスパーゼ3の動態。

3. 研究の方法

クラミジア感染者の腔内菌叢解析: 札幌東豊病院に平成28年6月から10月に来院した妊婦あるいは患者の腔頸管部から、検査のために擦過スワブ計273検体を採取した。全てのスワブ検体は塗抹標本の観察を通してNugentスコアにて腔症の程度を数値化した。残余スワブを5mlのSPG溶液(0.2M sucrose、3.8mM KH₂PO₄、6.7mM Na₂HPO₄、5mM L-glutamic acid、pH7.4)に懸濁した全273検体を用いた。スワブ懸濁液をLaboPass™ Tissue Mini(北海道システム・サイエンス株式会社)を用いてDNA抽出をした。クラミジア感染の有無はプラスミド遺伝子を標的としたPCRにて判定した。PCRにてクラミジアが陽性の20検体と、無作為に選んだ陰性検体27検体を用いて次世代シーケンズによる菌叢解析を行った(北海道システム・サイエンス株式会社に委託)。

腔粘膜スワブ検体からのインドールの検出: 札幌東豊病院に平成28年6月から平成30年10月に来院した妊婦あるいは患者の腔頸管部からの擦過スワブ計554検体を用いた。インドールの検出はKovacs法にて実施した。臨床検体中のインドール濃度は、インドール溶液(0-300 μ M)の検量線から算出した。

低酸素環境でのクラミジア培養系の確立: 低酸素(2%O₂)環境下でのクラミジア感染細胞(HeLa細胞を用いた)の培養は、ガス置換型低酸素培養チャンパーMIC-101(Billups-Rothenberg Inc., CA, USA)を用いて行った。細胞内代謝活性をCell Counting Kit-8(DOJINDO Co., Ltd, Kumamoto, Japan)を用いて測定した。また低酸素応答はPCRアレイ[84個の線維化関連遺伝子について解析が可能なHuman Fibrosis PCR Array Kit(QIAGEN, Venlo, NLD)を用いた]にて検証した。

カスパーゼ3基質配列(DEVD)を挿入した環状ルシフェラーゼ(cFluc-DEVD)をゲノムに導入したHEp-2細胞の確立: cFluc-DEVD遺伝子をHEp2細胞ゲノムに導入しネオマイシンで選択して確立した。カスパーゼ3の活性化の程度はLuciferase Assay Systemを用いた化学発光にてトレースした。

4. 研究成果

(1) 腔症の程度と腔内菌叢変化(腸内細菌科細菌を除く)はクラミジアの感染頻度に影響を与えない: Nugentスコアによって分類した、腔炎なし(スコア0-3)、軽度な腔炎(スコア4-6)、強い腔炎(スコア7-10)の各群および、クラミジア陽性検体と陰性検体に分け、それぞれの群から無作為に検体を選出し、計47検体の菌叢解析を行った。解析の結果、クラミジアの感染の有無に関わらず、炎症度の増加に伴って乳酸菌のOTU数は減少した。またVeillonellaceae、Lachnospiraceae、Clostridiaceaeといった細菌の増加が確認された。しかしながらクラミジアの感染の有無について比較をすると、どの炎症度においても腔内の菌叢に違いはみられなかった。

その一方で Nugent スコアが低値(0-3)を示した腔検体では、クラミジア感染検体において腸内細菌科細菌 *Enterobacteriales*(科)由来の OTU 数が有意に増加した。しかしながら培養法にて腔粘膜検体からは大腸菌を始めとする腸内細菌科細菌を検出することはできないかった。このように腸管内容物の肛門経由での腔内への流入は、健康者のクラミジアの感染リスクを助長することを明らかにした。

(2) 腔粘膜面のインドール量の増加はクラミジアの感染リスクを助長する：クラミジアの感染は IFN γ はクラミジアの増殖を抑制する生体防御因子の一つである。その一方でインドールの存在下では IFN γ の効果は減弱する。そこで擦過スワブ計 554 検体中のインドール濃度をクラミジアの感染の有無(クラミジア陽性者 63 名、クラミジア陰性者 491 名)で比較した。その結果、それぞれのインドール濃度はクラミジア感染者で $3.63 \pm 1.45 \mu\text{M}$ 、クラミジア非感染者では $3.16 \pm 0.74 \mu\text{M}$ であり、インドール濃度がクラミジア感染者腔粘膜面で有意に高いことが明らかになった。インドールは腸管内に数モルと極めて高濃度に存在するので、腸管内容物中インドールの腔への流入量の増加が、腔粘膜面でのクラミジアの感染リスク因子であることを明らかにした。その一方で、私達は収集した腔粘膜スワブ検体のメタボローム解析も試みた(ミヤリサン製薬に委託)。しかしながら採取検体 SPG 溶液中には、クラミジアの保存性を高めるためにショ糖が大量に含まれていることが理由で、検体中主要物質の濃度を正確に決定することが困難であり解析を断念した。

(3) 低酸素環境でのクラミジアの至適培養条件を決定した：クラミジアを異なる細胞数濃度に調整した HeLa 細胞に感染させその増殖を低酸素と通常酸素環境で比較した。その結果、低酸素環境では宿主細胞数の増加に共い菌数の増加が鈍くなった。また培養液が RPMI1640 より DMEM の時にその鈍化は顕著であった。またグルコース、非必須アミノ酸、ビタミンなど(D-biotin、p-Amino Benzoic Acid、Vitamin B-12、Glutathione)を添加することで菌数は回復した。この結果は、低酸素環境ではクラミジアの発育は、通常酸素分圧に比べて感染細胞が栄養を十分に補給できる条件(特に細胞数)に強く依存し修飾されることを示唆している。また PCR アレイにて低酸素至適環境におけるクラミジア感染細胞の遺伝子発現変化の観察から、感染に伴い *CTGF*、*SERPINE1*、*JUN* の 3 つの遺伝子の発現が有意に低下することを発見した。

(4) クラミジアは感染後期にアポトーシス誘導を加速される：クラミジアは ATP を感染細胞から略奪するために、感染細胞のアポトーシス誘導を修飾するが、低酸素環境下での良くわかっていない。そこで容易にアポトーシス誘導を検出することができるカスパーゼ 3 基質配列を挿入したルシフェラーゼ遺伝子を HEp-2 細胞に導入し、クラミジア感染によりアポトーシス誘導がどのように修飾されるのか、化学発光にてトレースした。その結果、通常酸素環境だがクラミジア感染細胞では、カスパーゼ 3 が感染後期に活性化することを世界に先駆け発見した。

(引用文献)

1. Moodley D, Moodley P, Sebitloane M, Soowamber D, McNaughton-Reyes HL, Groves AK, Maman S. High prevalence and incidence of asymptomatic sexually transmitted infections during pregnancy and postdelivery in KwaZulu Natal, South Africa. *Sex Transm Dis*. 2015 Jan;42(1):43-7.
2. Haggerty CL, Gottlieb SL, Taylor BD, Low N, Xu F, Ness RB. Risk of sequelae after *Chlamydia trachomatis* genital infection in women. *J Infect Dis*. 2010 Jun 15;201 Suppl 2:S134-55.
3. Bébérac C, de Barbeyrac B. Genital *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Infect*. 2009 Jan;15(1):4-10.
4. Yamazaki T, Matsumoto M, Matsuo J, Abe K, Minami K, Yamaguchi H. Frequency of *Chlamydia trachomatis* in Ureaplasma-positive healthy women attending their first prenatal visit in a community hospital in Sapporo, Japan. *BMC Infect Dis*. 2012 Apr 2;12:82.
5. Beyer C1, Schett G, Gay S, Distler O, Distler JH. Hypoxia. Hypoxia in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(2):220.
6. Sui X, Wei H, Wang D. Novel mechanism of cardiac protection by valsartan: synergistic roles of TGF- β 1 and HIF-1 α in Ang II-mediated fibrosis after myocardial infarction. *J Cell Mol Med*. 2015 Aug;19(8):1773-82.
7. Samarakoon R, Dobberfuhl AD, Cooley C, Overstreet JM, Patel S, Goldschmeding R, Meldrum KK, Higgins PJ. Induction of renal fibrotic genes by TGF- β 1 requires EGFR activation, p53 and reactive oxygen species. *Cell Signal*. 2013 Nov;25(11):2198-209.
8. Okamoto K, Kiga N, Shinohara Y, Tojiyo I, Fujita S. Effect of interleukin-1beta and dehydroepiandrosterone on the expression of lumican and fibromodulin in fibroblast-like synovial cells of the human temporomandibular joint. *Eur J Histochem*. 2015 Feb 23;59(1):2440.

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 17 件)

1. Matsuo J, Sakai K, Okubo T, Yamaguchi H. *Chlamydia pneumoniae* enhances Interleukin 8 (IL-8) production with reduced azithromycin sensitivity under hypoxia. *APMIS*. 2019 Mar;127(3):131-138.
2. Matsuo J, Haga S, Hashimoto K, Okubo T, Ozawa T, Ozaki M, Yamaguchi H. Activation of caspase-3 during *Chlamydia trachomatis*-induced apoptosis at a late stage. *Can J Microbiol*. 2019 Feb;65(2):135-143.
3. Yano R, Okubo T, Shimoda T, Matsuo J, Yamaguchi H. A simple and short microbiology practical improves undergraduate nursing students' awareness of bacterial traits and ability to avoid spreading infections. *BMC Med Educ*. 2019 Feb 11;19(1):53.
4. Matsushita M, Okubo T, Hasegawa T, Matsuo J, Watanabe T, Iwasaki S, Fukumoto T, Hayasaka K, Akizawa K, Shimizu C, Yamaguchi H. *Tetrahymena* promotes interactive transfer of carbapenemase gene encoded in plasmid between fecal *Escherichia coli* and environmental *Aeromonas caviae*. *Microbiol Immunol*. 2018 Nov;62(11):720-728.
5. Yamaguchi Y, Okubo T, Matsushita M, Wataji M, Iwasaki S, Hayasaka K, Akizawa K, Matsuo J, Shimizu C, Yamaguchi H. Analysis of adult damselfly fecal material aids in the estimation of antibiotic-resistant *Enterobacteriales* contamination of the local environment. *PeerJ*. 2018 Oct 16;6:e5755. doi: 10.7717/peerj.5755.
6. Sakai K, Matsuo J, Watanabe T, Okubo T, Nakamura S, Yamaguchi H. Subtle changes in host cell density cause a serious error in monitoring of the intracellular growth of *Chlamydia trachomatis* in a low-oxygen environment: Proposal for a standardized culture method. *J Microbiol Methods*. 2018 Oct;153:84-91.
7. Taki K, Watanabe T, Matsuo J, Sakai K, Okubo T, Matsushita M, Abe K, Minami K, Yamaguchi H. Impact of bacterial traces belonging to the *Enterobacteriaceae* on the prevalence of *Chlamydia trachomatis* in women visiting a community hospital in Japan. *J Infect Chemother*. 2018 Oct;24(10):815-821.
8. Watanabe T, Yamazaki S, Maita C, Matsushita M, Matsuo J, Okubo T, Yamaguchi H. Lateral Gene Transfer Between

- Protozoa-Related Giant Viruses of Family *Mimiviridae* and *Chlamydiae*. *Evol Bioinform Online*. 2018 Jul 17;14:1176934318788337. doi: 10.1177/1176934318788337.
9. Okubo T, Matsushita M, Nakamura S, Matsuo J, Nagai H, Yamaguchi H. *Acanthamoeba* S13WT relies on its bacterial endosymbiont to backpack human pathogenic bacteria and resist *Legionella* infection on solid media. *Environ Microbiol Rep*. 2018 Jun;10(3):344-354.
 10. Maita C, Matsushita M, Miyoshi M, Okubo T, Nakamura S, Matsuo J, Takemura M, Miyake M, Nagai H, Yamaguchi H. Amoebal endosymbiont *Neochlamydia* protects host amoebae against *Legionella pneumophila* infection by preventing *Legionella* entry. *Microbes Infect*. 2018 Apr;20(4):236-244.
 11. Matsuo J, Nakamura S, Okubo T, Fukui M, Yamaguchi H. Long-term survival of *Naegleria polaris* from Antarctica after 10 years of storage at 4 °C. *Parasitol Res*. 2018 Mar;117(3):937-941.
 12. Yamakawa K, Matsuo J, Okubo T, Nakamura S, Yamaguchi H. Impact of capsaicin, an active component of chili pepper, on pathogenic chlamydial growth (*Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia pneumoniae*) in immortal human epithelial HeLa cells. *J Infect Chemother*. 2018 Feb;24(2):130-137.
 13. Okubo T, Osaki T, Nozaki E, Uemura A, Sakai K, Matsushita M, Matsuo J, Nakamura S, Kamiya S, Yamaguchi H. Walker occupancy has an impact on changing airborne bacterial communities in an underground pedestrian space, as small-dust particles increased with raising both temperature and humidity. *PLoS One*. 2017 Sep 18;12(9):e0184980.
 14. Yano R, Shimoda T, Watanabe R, Kuroki Y, Okubo T, Nakamura S, Matsuo J, Yoshimura S, Yamaguchi H. Diversity changes of microbial communities into hospital surface environments. *J Infect Chemother*. 2017 Jul;23(7):439-445.
 15. Okubo T, Matsushita M, Ohara Y, Matsuo J, Oguri S, Fukumoto T, Hayasaka K, Akizawa K, Shibuya H, Shimizu C, Yamaguchi H. Ciliates promote the transfer of a plasmid encoding *bla*(NDM-5) from *Escherichia coli*, isolated from a hospital in Japan, to other human pathogens. *Int J Antimicrob Agents*. 2017 Mar;49(3):387-388.
 16. Fukumoto T, Matsuo J, Okubo T, Nakamura S, Miyamoto K, Oka K, Takahashi M, Akizawa K, Shibuya H, Shimizu C, Yamaguchi H. *Acanthamoeba* containing endosymbiotic chlamydia isolated from hospital environments and its potential role in inflammatory exacerbation. *BMC Microbiol*. 2016 Dec 15;16(1):292.
 17. Maita C, Matsushita M, Okubo T, Matsuo J, Miyake M, Nagai H, Yamaguchi H. Draft Genome Sequences of *Legionella pneumophila* JR32 and Lp01 Laboratory Strains Domesticated in Japan. *Genome Announc*. 2016 Aug 4;4(4).

[学会発表](計 34 件)

1. T. Okubo, T. Shimoda, R. Yano, S. Nakamura, J. Matsuo, H. Yamaguchi: *Staphylococcus aureus* prompts *Escherichia coli* survival under dry conditions: A potential threat from the viewpoint of nosocomial infection. *ASM Microbe 2018*. Atlanta, USA, 2018.6.
2. M. Matsushita, T. Okubo, J. Matsuo, S. Nakamura, H. Yamaguchi: Ciliates promote the interactive transfer of plasmid encoding *bla*_{NDM-5} between human pathogenic *Escherichia coli* and environmental *Aeromonas caviae*. *ASM Microbe 2018*. Atlanta, USA, 2018.6.
3. K. Sakai, J. Matsuo, T. Okubo, S. Nakamura, H. Yamaguchi: Subtle change of host-cell density causes fatal error on monitoring the intracellular growth of *Chlamydia trachomatis* in a low-oxygen environment. *ASM Microbe 2018*. Atlanta, USA, 2018.6.
4. J. Matsuo, S. Haga, T. Okubo, S. Nakamura, T. Ozawa, M. Ozaki, H. Yamaguchi: Cyclic Luciferase Probe Reveals Caspase-3 Activation in *Chlamydia*-Infected Cells At Late Times During Infection. *ASM Microbe 2018*. Atlanta, USA, 2018.6.
5. 酒井昂平、松尾淳司、渡辺宜典、大久保寅彦、中村眞二、山口博之: 低酸素環境において *Chlamydia trachomatis* の感染動態を修飾する要因: 感染実験の成否を握る鍵は何か. 第 91 回日本細菌学会総会. 福岡, 2018.3.
6. 松下瑞江、松尾淳司、大久保寅彦、山口博之: 繊毛虫はヒト病原細菌と水系環境細菌を双方向的な薬剤耐性プラスミドの接合伝達の促進作用を介して結ぶ. 第 91 回日本細菌学会総会. 福岡, 2018.3.(ポスター発表優秀賞受賞)
7. 松尾淳司、大久保寅彦、中村眞二、山口博之: *Chlamydia trachomatis* は、感染後期に宿主細胞のカスパーゼ 3 を活性化する. 第 91 回日本細菌学会総会. 福岡, 2018.3.
8. 大久保寅彦、中村眞二、松尾淳司、山口博之: 病院で用いられる乾燥床材上における細菌間の闘ぎ合い: 残存生菌数と ATP 量のギャップから紐解く細菌の生存戦略. 第 91 回日本細菌学会総会. 福岡, 2018.3.
9. 渡辺宜典、大久保寅彦、大崎敬子、松尾淳司、神谷茂、山口博之: 札幌地下歩行空間における空气中浮遊細菌叢の解析: 通行人は浮遊菌叢に影響を与える. 第 91 回日本細菌学会総会. 福岡, 2018.3.
10. H. Yamaguchi: Interaction between protozoa and bacteria evokes a novel paradigm on understanding unseen life. the 2017 TMU Medical Laboratory Forum. 2017. 12.
11. 山口 博之: 闘ぎ合う原生生物と細菌から学ぶ. 学会企画・ランチョンシンポジウム「環境微生物の驚くべき世界」東京, 2017. 12.
12. 山口 博之、大久保寅彦、松尾淳司: 教育講演: 繊毛虫やアメーバと細菌(環境クラミジアを含む)との闘ぎ合いから紐解く微生物間相互作用. 第 35 回日本クラミジア研究会. 東京, 2017.9.
13. 山崎すみれ、松尾淳司、大久保寅彦、中村眞二、山口博之: 原生動物関連巨大ウイルス *Mimiviridae* 科が環境クラミジアの進化に与えた影響について: Update. 第 35 回日本クラミジア研究会. 東京, 2017.9.
14. 松尾淳司、大久保寅彦、中村眞二、山口博之: *Chlamydia* 感染とアポトーシス: DEVE 配列挿入環状ルシフェラーゼ発現細胞でのカスパーゼ 3 の活性化測定. 第 35 回日本クラミジア研究会. 東京, 2017.9.
15. 瀧 圭介、渡辺宜典、酒井昂平、松尾淳司、大久保寅彦、中村眞二、阿部清孝、南 邦弘、山口博之: 膣頸管スワブからの性器クラミジアの検出頻度と菌叢解析について. 第 35 回日本クラミジア研究会. 東京, 2017.9.
16. 酒井昂平、松尾淳司、渡辺宜典、大久保寅彦、中村眞二、山口博之: 低酸素条件下での *Chlamydia trachomatis* の感染動態について. 第 35 回日本クラミジア研究会. 東京, 2017.9.
17. J. Matsuo, K. Taki, T. Okubo, K. Abe, K. Minami, H. Yamaguchi: Degree of vaginal inflammation has minimal impact on the prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection on female genital tract. *ASM Microbe 2017*. NewOrend, USA, 2017.6.
18. M. Matsushita, C. Maita, T. Okubo, J. Matsuo, S. Nakamura, H. Nagai, H. Yamaguchi: Endosymbiotic bacterium *Neochlamydia* restricts host amoebal phagocytosis via actin stabilization, resulting in the defense of the host amoebae against *Legionella* infection. *ASM Microbe 2017*. NewOrend, USA, 2017.6.
19. K. Sakai, T. Okubo, J. Matsuo, S. Nakamura, H. Yamaguchi: Synergistic effect of walkers with other factors on changing airborne bacterial communities in a built environment, Sapporo underground pedestrian space. *ASM Microbe 2017*. NewOrend, USA, 2017.6.
20. H. Yamaguchi, S. Yamazaki, J. Matsuo, T. Okubo: Impact of Protozoa-related Giant Viruses on Environmental Chlamydial Evolution with Divergent in the Amoebal Niche. *ASM Microbe 2017*. NewOrend, USA, 2017.6.
21. 大久保寅彦、松下瑞江、松尾淳司、山口博之 (シンポジウム 07. マイクロブートランスファー: 動的な視点から紐解く微生物学の新たな展開): 北海道大学病院にて分離された NDM 産生大腸菌の性状解析と繊毛虫を介したによるプラスミド伝達の促進. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台, 2017.3.19-21.
22. 松尾淳司、中村眞二、大久保寅彦、山口博之 (シンポジウム 07. マイクロブートランスファー: 動的な視点から紐解く微生物学の新たな展開): ヒトの移動に伴い院内に持ち込まれるアメーバ共生細菌とヒトへのリスク. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台, 2017.3.19-21.
23. 山川和也、松尾淳司、大久保寅彦、中村眞二、山口博之: 唐辛子の辛味成分 Capsaicin による *Chlamydia trachomatis* の HeLa 細胞内増殖抑制効果とその機序について. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台, 2017.3.19-21.
24. 酒井昂平、松尾淳司、山川和也、大久保寅彦、中村眞二、山口博之: 低酸素環境における *Chlamydia trachomatis* 感染細胞の遺伝子発現解析. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台, 2017.3.19-21.
25. 瀧圭介、松尾淳司、大久保寅彦、山口博之: 生殖器スワブを用いた性器クラミジアを上向きに感染拡大させる要因探索: 炎症の程度とクラミジアの感染頻度. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台, 2017.3.19-21.
26. 山口博之、山崎すみれ、松尾淳司、大久保寅彦、巨大ウイルスの存在がクラミジアの適応進化に与えたインパクト. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台, 2017.3.19-21.
27. 米田千夏、松尾淳司、大久保寅彦、中村眞二、永井広樹、山口博之: アメーバ共生細菌 *Neochlamydia* S13 はアケチンの安定化を介して宿主アメーバの貪食能を制限している. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台, 2017.3.19-21.
28. 松下瑞江、松尾淳司、大久保寅彦、山口博之: 共生細菌に依存したアメーバによるヒト病原細菌の運搬現象について. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台, 2017.3.19-21.
29. 山口博之: (招聘講演): 原生動物と細菌との闘ぎ合いから紐解くパラダイム. 札幌微生物学系合同セミナー. 札幌,

- 2016.12.12.
30. 山口博之: (ミニシンポジウム);環境クラミジア Overview: 環境細菌それとも病原体? 第 34 回日本クラミジア研究会、東京、2016.9.24.
 31. C. Maita, T. Yamazaki, J. Matsuo, S. Nakamura, T. Okubo, H. Nagai, H. Yamaguchi. Impact of Amoebal Endosymbiont *Neochlamydia* on Host Defense against Harmful *Legionella* Infection and Its Defense Mechanism. アメリカ微生物学会、ボストン、2016.6.17-20.
 32. J. Matsuo, T. Fukumoto, T. Okubo, S. Nakamura, K. Akizawa, H. Shibuya, C. Shimizu, H. Yamaguchi. Amoebal endosymbiont, Protochlamydia isolated from a hospital can induce proinflammatory cytokine IL-8 responses in human immortal HEp-2 cells. アメリカ微生物学会、ボストン、2016.6.17-20.
 33. 大久保寅彦、松尾淳司、山口博之. 流通生鮮鶏肉表面上における食中毒菌と原生動物のせめぎ合いの検証. 第 90 回日本感染症学会総会、仙台国際センター、平成 28 年 4 月 15-16 日.
 34. 小栗聡、松尾淳司、大久保寅彦、秋沢宏次、渋谷 齊、清水 力、花輪智子、神谷 茂、山口博之. 繊毛虫に捕食された大腸菌は食胞内でクオラムセンシング分子 AI-2 を誘発する: 原生動物と病原細菌の相互作用モデル. 第 90 回日本感染症学会総会、仙台国際センター、2016.4.15-16.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.hs.hokudai.ac.jp/yamaguchi/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 中村 眞二

ローマ字氏名: Nakamura Shinji

所属研究機関名: 順天堂大学

部局名: 医学(系)研究科(研究院)

職名: 助教

研究者番号(8桁): 40207882

(2)研究分担者

研究分担者氏名: 松尾 淳司

ローマ字氏名: Matsuo Junji

所属研究機関名: 北海道医療大学

部局名: 医療技術学部

職名: 教授

研究者番号(8桁): 50359486

(3)研究分担者

研究分担者氏名: 大久保 寅彦

ローマ字氏名: Okubo Torahiko

所属研究機関名: 北海道大学

部局名: 保健科学研究所

職名: 講師

研究者番号(8桁): 90762196

(4)研究分担者

研究分担者氏名: 岩破 一博

ローマ字氏名: Iwasaku Kazuhiro

所属研究機関名: 京都府立医科大学

部局名: 医学部

職名: 教授

研究者番号(8桁): 30223390

*削除: 2017 年 5 月 12 日

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。