

## 国内で分離された侵襲性髄膜炎菌感染症の 起炎菌の血清学的及び分子疫学的解析

研究分担者：高橋 英之（国立感染症研究所細菌第一部 主任研究官）

**研究要旨** 日本における髄膜炎菌による感染症（侵襲性髄膜炎菌感染症）の実態に関しては不明な点が多い。本研究では10道県（北海道、宮城、山形、新潟、三重、奈良、高知、福岡、鹿児島、沖縄）のみならず全国における侵襲性髄膜炎菌感染症のサーベイランスネットワークの拡大を図り、侵襲性髄膜炎菌感染症の原因菌の積極的収集とその血清学的及び分子疫学的解析を試みた。

### A. 研究目的

侵襲性髄膜炎菌感染症は海外においてはヒト-ヒト感染による集団感染事例が多く報告され、常に公衆衛生的注視を余儀なくされている。一方で、日本においては年間40例程度の稀少感染症となっている。しかし、2011年5月に宮崎の高校生の寮で発生した侵襲性髄膜炎菌感染症の集団感染事例は日本においても侵襲性髄膜炎菌感染症は楽観視出来ないということを改めて認識させる事例となり、ワクチン導入の経験もない日本において何故侵襲性髄膜炎菌感染症の症例が少ないのか、そもそも健康保菌者の髄膜炎菌保菌率はどのようにしているのかを問われる事例となった。しかし、侵襲性髄膜炎菌感染症の実態はその稀少感染症の実態ゆえに不明な点が多く、そのサーベイランスシステムも構築されてこなかった。

そこで、本研究においては国立感染症研究所感染症疫学センターの神谷元博士と共同で、感染症法で5類の全数報告となっているNESIDに報告された侵襲性髄膜炎菌感染症の把握と、その原因株の収集、及びその血清学的及び分子疫学的解析を行い、侵襲性髄膜炎菌感染症の疫学情報及びその原因菌の情報を統合させた侵襲性髄膜炎菌感染症のサーベイランスシステムの構築を試みた。研究分担者は主に侵襲性髄膜炎菌感染症の把握と、その原因菌の収集、及びその血清学的及び分子疫学的解析を一昨年度及び昨年度に引き続き実施した。

### B. 研究方法

#### 1) 菌株の収集

各10道県に限定せず、全国の同県衛生研究所、保健所の協力を得て菌株を血液寒天培地・常温で国立感染症研究所の方へ輸送する手配を行った。

#### 2) 菌の生育方法

輸送された髄膜炎菌は直ちにGC寒天培地に塗布後、37℃、5% CO<sub>2</sub>条件下で一晩培養した。蘇生培養された菌は凍結保存し、一部を解析に用いた。

#### 3) 菌体の処理（DNA サンプルの調製）

プレート上の菌体1μl loop分を100μlのTEに懸濁した。そこからDNAの抽出はDNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用いて添付プロトコル通り行い、200μlのAEで溶出後、精製後A<sub>260</sub>にて濃度測定を行ない、実験に供した。

#### 4) 血清群型別

##### a) PCR 反応液の調製

以下の表に従って6本のPCR反応液を調製する。

|                   |        |             |
|-------------------|--------|-------------|
| 鋳型 DNA            | 0.25μl | } 表 1<br>参照 |
| 10 x ExTaq buffer | 2.5μl  |             |
| 2.5mM dNTPs       | 2μl    |             |
| primers-1 (100μM) | 0.25μl |             |
| primers-2 (100μM) | 0.25μl |             |
| ExTaq polymerase  | 0.25μl |             |
| H <sub>2</sub> O  | 19.5μl |             |

表1. 血清群型別用PCRプライマー

| 同定因子                        | プライマー名            | 塩基配列                               | 長さ    |
|-----------------------------|-------------------|------------------------------------|-------|
| <i>crgA</i> (髄膜炎菌の陽性コントロール) | <i>crgA</i> -1    | 5'-GCTGGCGCCGCTGGCAACAAAATTC-3'    | 25mer |
|                             | <i>crgA</i> -2    | 5'-CTTCTGCAGATTGCGGCGTGCCGT-3'     | 24mer |
| 血清群A                        | <i>orf2</i> (A)-1 | 5'-CGCAATAGGTGTATATATTCTTCC-3'     | 24mer |
|                             | <i>orf2</i> (A)-2 | 5'-CGTAATAGTTTCGTATGCCTTCTT-3'     | 24mer |
| 血清群B                        | <i>siaD</i> (B)-1 | 5'-GGATCATTTCAGTGTTTTCCACCA-3'     | 24mer |
|                             | <i>siaD</i> (B)-2 | 5'-GCATGCTGGAGGAATAAGCATTA-3'      | 24mer |
| 血清群C                        | <i>siaD</i> (C)-1 | 5'-TCAAATGAGTTTGCGAATAGAAGGT-3'    | 25mer |
|                             | <i>siaD</i> (C)-2 | 5'-CAATCACGATTTGCCCAATTGAC-3'      | 23mer |
| 血清群Y                        | <i>siaD</i> (Y)-1 | 5'-CTCAAAGCGAAGGCTTTGGTTA-3'       | 22mer |
|                             | <i>siaD</i> (Y)-2 | 5'-CTGAAGCGTTTTTCATTATAATTGCTAA-3' | 27mer |

b) PCR反応

PCR Thermal Cycler Dice TP600 (Takara Bio) を用いて以下のプロトコールに従ってPCR反応を行った。

|               |             |
|---------------|-------------|
| 94°C × 3min.  | } 2 cycles  |
| 55°C × 30sec. |             |
| 72°C × 20sec. |             |
| ↓             |             |
| 94°C × 40sec. | } 35 cycles |
| 55°C × 30sec. |             |
| 72°C × 20sec. |             |
| ↓             |             |
| 72°C × 10min. |             |

c) 結果の確認

10 μl の40% glycerol-dyeを加えた後、その反応液5 μl を2% アガロースゲル (~ 0.1 mg/ml のエチジウムブロマイドを含む) で100Vで30分電気泳動し、UV照射条件下で結果を確認した。

5) 髄膜炎菌の遺伝子型同定

検査方法

a) sequence 鋳型DNAの調製

1. 前項「髄膜炎菌の血清型同定-PCR法-鋳型DNAの調製」で調製した染色体DNAを鋳型DNAとして用いて以下の表に従って7本のPCR反応液を調製した。

|                    |         |            |
|--------------------|---------|------------|
| 鋳型DNA              | 0.25 μl | } 表2<br>参照 |
| 10 x ExTaq buffer  | 2.5 μl  |            |
| 2.5mM dNTPs        | 2 μl    |            |
| primers-1 (100 μM) | 0.25 μl |            |
| primers-2 (100 μM) | 0.25 μl |            |
| ExTaq polymerase   | 0.25 μl |            |
| H <sub>2</sub> O   | 19.5 μl |            |

表2. 遺伝子型別用の鋳型調製PCRプライマー

|             |                          |
|-------------|--------------------------|
| <i>abcZ</i> | P1-ATTCGTTTATGTACCGCAGG  |
|             | P2-GTTGATTTCTGCCTGTTTCGG |
| <i>adk</i>  | P1-ATGGCAGTTTTGTGCAGTTGG |
|             | P2-GATTTAAACAGCGATTGC    |
| <i>aroE</i> | P1-ACGCATTTGCGCCGACATC   |
|             | P2-ATCAGGGCTTTTTTCAGGTT  |
| <i>fumC</i> | P1-CACCGAACACGACACGATCG  |
|             | P2-ACGACCAGTTCGTCAAACCTC |
| <i>gdh</i>  | P1-ATCAATACCGATGTGGCGCGT |
|             | P2-GGTTTTTCATCTGCGTATAGA |
| <i>pdhC</i> | P1-GGTTTCCAACGTATCGGCGAC |
|             | P2-ATCGGCTTTGATGCCGTATTT |
| <i>pgm</i>  | P1-CTTCAAAGCCTACGACATCCG |
|             | P2-CGGATTGCTTTCGATGACGGC |

b) PCR反応

GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystem) を用いて以下のプロトコールに従ってPCR反応を行った。

ア) *abcZ*、*adk*、*fumC*、*gdh*

|            |          |
|------------|----------|
| 94°C × 4分  | } 5サイクル  |
| 94°C × 30秒 |          |
| 60°C × 1分  |          |
| 72°C × 1分  |          |
| 94°C × 30秒 | } 5サイクル  |
| 58°C × 1分  |          |
| 72°C × 1分  |          |
| 94°C × 30秒 | } 20サイクル |
| 56°C × 1分  |          |
| 72°C × 1分  |          |
| 4°C        |          |

*aroE*、*pdhE*、*pgm*

|           |         |
|-----------|---------|
| 94℃ × 4分  | 5 サイクル  |
| 94℃ × 30秒 |         |
| 70℃ × 1分  |         |
| 72℃ × 1分  | 5 サイクル  |
| 94℃ × 30秒 |         |
| 68℃ × 1分  |         |
| 72℃ × 1分  | 20 サイクル |
| 94℃ × 30秒 |         |
| 66℃ × 1分  |         |
| 72℃ × 1分  |         |
| 4℃        |         |

c) PCR産物の精製

Fast Gene Gel / PCR Extraction Kit (日本ジェネティクス) を用いて精製し、シーケンス用の鋳型DNA 25 μl を調製した。

d) Sequence reaction

以下の表に従って14本のPCR反応液を調製した。

|                  |      |
|------------------|------|
| 鋳型DNA            | 2 μl |
| primer (4 μM)    | 1 μl |
| (表3に示すプライマーに対応)  |      |
| BigDye v3.1      | 4 μl |
| H <sub>2</sub> O | 4 μl |

|           |         |
|-----------|---------|
| 94℃ × 4分  | 30 サイクル |
| 94℃ × 20秒 |         |
| 50℃ × 30秒 |         |
| 60℃ × 4分  |         |

反応物 (~ 10 μl) はSephadex G50によって精製し、10 μl のHi-Di (Applied Biosystem) を混和し、100℃で2分インキュベーション後、すぐに氷冷した。ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystem) に供して塩基配列を解読した。

e) Sequenceの解析

得られたDNAの塩基配列をDNA塩基配列ソフト、GENETYX-MAC (ゼネティクス) によって塩基配列を解析し、以下の入力配列領域を用いて最終確認した。

|             |        |
|-------------|--------|
| <i>abcZ</i> | 433 bp |
| <i>adk</i>  | 465 bp |
| <i>aroE</i> | 490 bp |
| <i>fumC</i> | 465 bp |
| <i>gdh</i>  | 501 bp |
| <i>pdhC</i> | 480 bp |
| <i>pgm</i>  | 450 bp |

さらには、Multi-locus sequence typing (MLST) を行うために英国オックスフォード大学のホームページに設置されるサイト、<http://mlst.zoo.ox.ac.uk/> にアクセスし、7つの遺伝子座についてそれぞれのalleleナンバーを同定後、別ページに再度アクセスし、それらのナンバーを入力して遺伝子型 (sequence Type: ST) を同定した。

表3. 遺伝子型別用のシーケンスPCRプライマー

|             |                           |
|-------------|---------------------------|
| <i>abcZ</i> | P1-ATTCGTTTATGTACCGCAGG   |
|             | S2-GAGAACGAGCCGGGATAGGA   |
| <i>adk</i>  | S1-AGGCTGGCAGCCCTTGG      |
|             | S2-CAATACTTCGGCTTTCACGG   |
| <i>aroE</i> | S1-GCGGTCAACTACGCTGATT    |
|             | S2-ATGATGTTGCCGTACACATA   |
| <i>fumC</i> | S1-TCCGGCTTGCCGTTTGTCAG   |
|             | S2-TTGTAGGCGGTTTTGGCGAC   |
| <i>gdh</i>  | S1-GTGGCGCGTTATTTCAAAGA   |
|             | S2-CTGCCTTCAAAAATATGGCT   |
| <i>pdhC</i> | S1-TCTACTACATCACCCCTGATG  |
|             | P2-ATCGGCTTTGATGCCGTATTT  |
| <i>pgm</i>  | S1-CGGCGATGCCGACCGCTTGG   |
|             | S2-GGTGATGATTTTCGGTTGCGCC |

C. 研究結果

H28年4月からH31年1月までに国内で発生した侵襲性髄膜炎菌感染症のうち、解析可能であった株は53株であり、それらの臨床分離株の血清学的及び分子疫学的解析を実施した (表4~6)。

まず血清学的解析からは侵襲性髄膜炎菌感染症の原因菌株53株のうち、Y: 34株 (64%)、B: 14株 (26%)、W: 3株 (6%)、C: 2株 (4%) であった (図1)。

分子疫学的解析からは血清群Yの株はST-1655 (ST-23 complex) が24株、ST-23 (ST-23 complex) が7株、あとはST-12416 (ST-23 complex)、ST-

13126 (ST-167 complex)、ST-13803 (ST-23 complex) が1株ずつ同定された(表4~6、図1)。血清群Bの株はST-2057が4株、ST-687 (ST-41/44 complex)、ST-3496 (ST-213 complex) が3株、ST-213 (ST-213 complex)、ST-154、ST-467、ST-12606 (ST-2057 complex)、ST-13100 (ST-2057 complex) が各1株ずつ同定された(表4~6、図1)。血清群Wに関しては全てST-11であり、血清群CはST-11とST-9087 (ST-11 complex) が各1株であった(表4~6、図1)。

#### D. 考察

髄膜炎菌に関しては2011年5月に発生した侵襲性髄膜炎菌感染症の集団感染事例を契機に日本の侵襲性髄膜炎菌感染症の実態が問われたがその詳細は不明な点が多く、その一因は侵襲性髄膜炎菌感染症の原因株の収集率が悪いために、侵襲性髄膜炎菌感染症の発生動向に対する詳細な細菌学的解析の欠如にあると考えられた。そのため、平成28年から30年度までの3年間、本研究班で疫学(及び臨床)情報の収集(国立感染症研究

所感染症疫学センターが担当)と同時に菌株収集も積極的に行い、侵襲性髄膜炎菌感染症の原因株の詳細を明らかにすることを試みた。

血清学的にはYが最も多く、続いてB、そしてW、Cが検出されるという結果が得られた。過去18年間の自主的解析結果からは過去にはB群が優勢であった傾向も認められたが(図2)、現時点においては日本国内ではY群がドミナントであることが示唆された。

さらに、分子疫学的解析からもST-23 complex(注: complexとは7つの遺伝子座の中で5つが一致し、お互いに相互関係があると考えられる集団)に包含されるST-1655、ST-23、ST-12416、ST-13803に分類される株が全体の64%程度を占めており(図1)、ST-23 complexに分類される株が日本国内のドミナント株であることが示唆された。

また、血清群Bの株に関しては過去15年間においてはST-687に分類される株が国内で主要な株と同定されてきた(結果未発表)が、本研究班における研究期間中にはST-154 complex、ST-213

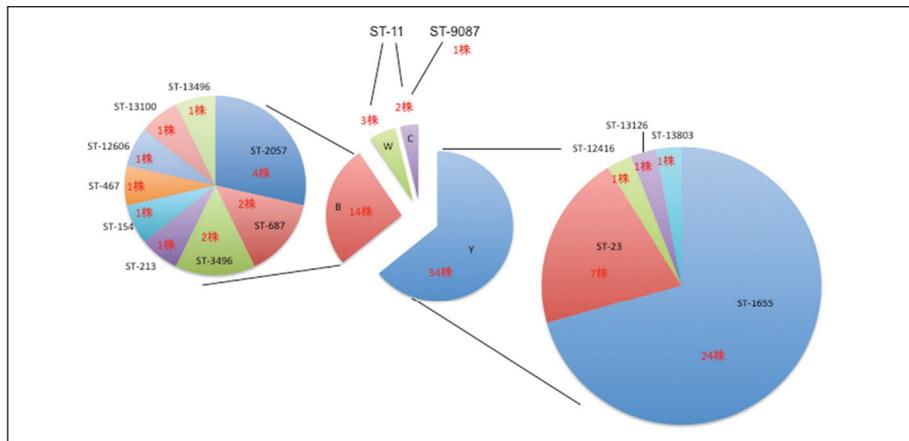


図1. H28~30年度に解析できた侵襲性髄膜炎菌感染症の国内臨床分離株内訳

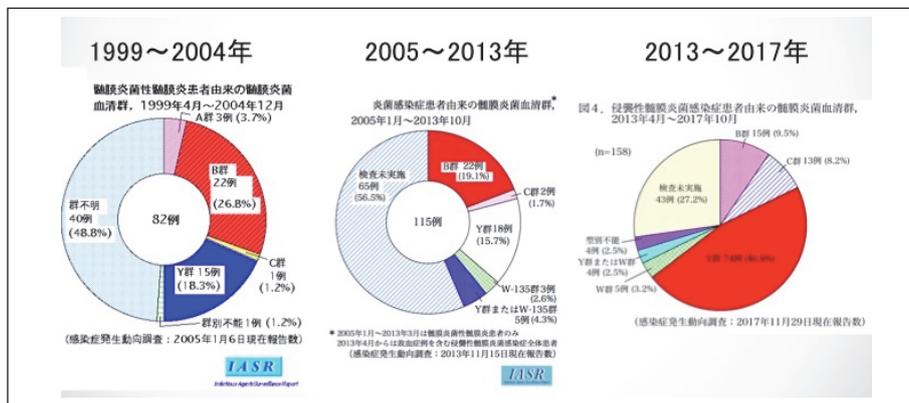


図2. 過去18年間の国内分離髄膜炎菌株の血清群の変遷

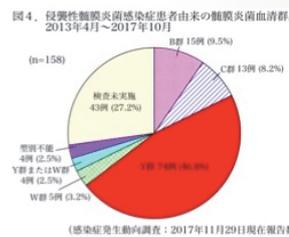


図4. 侵襲性髄膜炎菌感染症患者由来の髄膜炎菌血清群, 2013年4月~2017年10月

表 4. 平成28年度に解析できた侵襲性髄膜炎菌感染症の起炎菌の一覧

| No. | 年    | 月  | 地域  | 年齢(歳) | 性別 | 症状  | 検体    | 血清群 | MLST  |
|-----|------|----|-----|-------|----|-----|-------|-----|-------|
| 1   | 2016 | 4  | 神奈川 | 66    | 男  | 菌血症 | 血液    | Y   | 1655  |
| 2   | 2016 | 4  | 神奈川 | 78    | 女  | 菌血症 | 血液    | Y   | 1655  |
| 3   | 2016 | 5  | 福井  | 58    | 女  | 髄膜炎 | 血液・髄液 | Y   | 1655  |
| 4   | 2016 | 5  | 埼玉  | 25    | 女  | 菌血症 | 血液    | Y   | 1655  |
| 5   | 2016 | 7  | 東京  | 27    | 女  | 髄膜炎 | 血液・髄液 | B   | 687   |
| 6   | 2016 | 8  | 神奈川 | 78    | 女  | 菌血症 | 血液    | Y   | 1655  |
| 7   | 2016 | 9  | 京都  | 29    | 女  | 菌血症 | 血液    | Y   | 23    |
| 8   | 2016 | 9  | 北海道 | 69    | 男  | 菌血症 | 血液    | Y   | 23    |
| 9   | 2016 | 9  | 愛知  | 92    | 女  | 菌血症 | 血液    | Y   | 1655  |
| 10  | 2016 | 10 | 京都  | 22    | 男  | 髄膜炎 | 血液・髄液 | Y   | 12416 |
| 11  | 2016 | 10 | 兵庫  | 54    | 男  | 敗血症 | 血液    | B   | 2057  |
| 12  | 2016 | 11 | 大阪  | 65    | 女  | 菌血症 | 血液    | C   | 9087  |
| 13  | 2016 | 12 | 栃木  | 45    | 男  | 髄膜炎 | 血液・髄液 | Y   | 1655  |
| 14  | 2017 | 1  | 沖縄  | 5     | 男  | 菌血症 | 血液    | B   | 12606 |

表 5. 平成29年度に解析できた侵襲性髄膜炎菌感染症の起炎菌の一覧

| No. | 年    | 月  | 地域  | 年齢(歳) | 性別 | 症状  | 検体    | 血清群 | MLST  |
|-----|------|----|-----|-------|----|-----|-------|-----|-------|
| 15  | 2017 | 4  | 鹿児島 | 19    | 男  | 菌血症 | 血液    | Y   | 1655  |
| 16  | 2017 | 4  | 千葉  | 23    | 男  | 髄膜炎 | 血液・髄液 | Y   | 1655  |
| 17  | 2017 | 5  | 大阪  | 47    | 女  | 敗血症 | 血液    | Y   | 23    |
| 18  | 2017 | 6  | 東京  | 27    | 女  | 髄膜炎 | 血液・髄液 | W   | 11    |
| 19  | 2017 | 7  | 神奈川 | 60    | 女  | 髄膜炎 | 髄液    | B   | 2057  |
| 20  | 2017 | 6  | 和歌山 | 84    | 女  | 菌血症 | 血液    | Y   | 23    |
| 21  | 2017 | 7  | 大阪  | 28    | 女  | 髄膜炎 | 血液・髄液 | B   | 13100 |
| 22  | 2017 | 7  | 神奈川 | 19    | 男  | 敗血症 | 血液    | Y   | 23    |
| 23  | 2017 | 8  | 千葉  | 44    | 女  | 菌血症 | 血液    | Y   | 13126 |
| 24  | 2017 | 8  | 和歌山 | 59    | 女  | 菌血症 | 血液    | Y   | 23    |
| 25  | 2017 | 9  | 神奈川 | 52    | 男  | 菌血症 | 血液    | Y   | 1655  |
| 26  | 2017 | 9  | 埼玉  | 35    | 男  | 髄膜炎 | 血液・髄液 | B   | 467   |
| 27  | 2017 | 9  | 神奈川 | 35    | 男  | 髄膜炎 | 血液・髄液 | Y   | 1655  |
| 28  | 2017 | 10 | 東京  | 69    | 男  | 菌血症 | 血液    | Y   | 1655  |
| 29  | 2017 | 10 | 大阪  | 78    | 男  | 不明  | 血液    | Y   | 1655  |
| 30  | 2017 | 12 | 千葉  | 71    | 男  | 菌血症 | 血液    | B   | 3496  |
| 31  | 2018 | 1  | 京都  | 0     | 女  | 髄膜炎 | 血液・髄液 | B   | 3496  |
| 32  | 2018 | 2  | 京都  | 24    | 男  | 菌血症 | 血液    | B   | 2057  |
| 33  | 2018 | 1  | 千葉  | 52    | 女  | 菌血症 | 血液    | Y   | 1655  |

表 6. 平成30年度に解析できた侵襲性髄膜炎菌感染症の起炎菌の一覧

| No. | 年    | 月  | 地域  | 年齢(歳) | 性別 | 症状  | 検体 | 血清群 | MLST  |
|-----|------|----|-----|-------|----|-----|----|-----|-------|
| 34  | 2018 | 4  | 東京  | 48    | 男  | 菌血症 | 血液 | Y   | 1655  |
| 35  | 2018 | 4  | 山形  | 78    | 男  | 菌血症 | 血液 | B   | 687   |
| 36  | 2018 | 4  | 兵庫  | 28    | 女  | 菌血症 | 血液 | Y   | 1655  |
| 37  | 2018 | 5  | 愛知  | 69    | 女  | 菌血症 | 血液 | Y   | 1655  |
| 38  | 2018 | 6  | 埼玉  | 42    | 女  | 敗血症 | 血液 | C   | 11    |
| 39  | 2018 | 6  | 兵庫  | 53    | 男  | 敗血症 | 血液 | Y   | 1655  |
| 40  | 2018 | 6  | 兵庫  | 75    | 女  | 菌血症 | 血液 | Y   | 1655  |
| 41  | 2018 | 4  | 鹿児島 | 78    | 女  | 菌血症 | 血液 | Y   | 1655  |
| 42  | 2018 | 7  | 愛媛  | 49    | 男  | 菌血症 | 血液 | B   | 3496  |
| 43  | 2018 | 7  | 山梨  | 68    | 女  | 菌血症 | 血液 | Y   | 13803 |
| 44  | 2018 | 9  | 鹿児島 | 16    | 男  | 菌血症 | 血液 | Y   | 1655  |
| 45  | 2018 | 9  | 福岡  | 54    | 男  | 菌血症 | 血液 | W   | 11    |
| 46  | 2018 | 10 | 沖縄  | 53    | 女  | 敗血症 | 血液 | Y   | 1655  |
| 47  | 2018 | 11 | 北海道 | 72    | 女  | 菌血症 | 血液 | B   | 213   |
| 48  | 2018 | 11 | 兵庫  | 59    | 男  | 菌血症 | 血液 | Y   | 23    |
| 49  | 2018 | 12 | 兵庫  | 41    | 女  | 髄膜炎 | 髄液 | B   | 2057  |
| 50  | 2018 | 12 | 千葉  | 60    | 男  | 菌血症 | 血液 | Y   | 1655  |
| 51  | 2019 | 1  | 福岡  | 0     | 女  | 菌血症 | 血液 | W   | 11    |
| 52  | 2019 | 1  | 神奈川 | 75    | 男  | 髄膜炎 | 血液 | B   | 154   |
| 53  | 2019 | 1  | 広島  | 63    | 男  | 髄膜炎 | 髄液 | Y   | 1655  |

complexに分類される株が同定されてきている(表4~6、図1)。血清群Yの遺伝子型が大きく変化しておらず、また新しい遺伝子型(ST-12416、ST-13126、ST-13803、ST-12606、ST-13100)に分類される株も依然日本で検出され続けている

ことも考慮すると、海外からの輸入株が国内における髄膜炎菌分布に変化を与え始めている兆しを反映していると考えられるよりは日本国内での髄膜炎菌分離株の解析が不十分であり、今尚日本国内での髄膜炎菌の分布を把握しきれていない事

を反映している可能性が高い。しかし、一方で海外由来の可能性も完全に否定出来ないため、今後も引き続き国内の侵襲性髄膜炎菌感染症の分子疫学的見地からの動向を監視する必要性を示唆していると考えられた。

さらに、平成30年度においてはST-11に分離される血清群Cの1株と血清群Wの2株が分離された。血清群C/ST-11株は世界中でC群コンジュゲートワクチンが導入される前に流行した株で、導入後にcapsule switchingを起こした血清群W/ST-11株が世界中で伝播した経緯があり、日本でこの2種類の株が検出されることは日本でC群ワクチンが導入されていないためであると推測されると同時に、海外で発生した血清群W/ST-11株が国内で検出されるということは東京オリンピックを前に徐々に海外株が国内に入り込み始めている予兆が示唆された。

## E. 結論

侵襲性髄膜炎菌感染症の原因株53株の血清学的及分子疫学的解析を行ない、血清群はY、続いてB、少数のW、Cが検出され、遺伝子型はST-23 complexに分類される株が多く認められた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Fukusumi M, Kamiya H, [Takahashi H](#), Kanai M, Hachisu Y, Saitoh T, Ohnishi M, Oishi K, Sunagawa T. National surveillance for meningococcal disease in Japan, 1999-2014. *Vaccine* 2016 34 (34) : 4068-71
- 2) Lee DK, Kim EJ, Kilgore P, [Takahashi H](#), Ohnishi M, Tomono J, Miyamoto S, Omagari D, Kim DW and Seki M. A Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Serogroup Identification of *Neisseria meningitidis* in Cerebrospinal Fluid. *Frontiers in Microbiology* 2016 6: 1548.
- 3) Yanagisawa T, [Takahashi H](#), Suzuki T, Masuda A, Dohmae N, Yokoyama S. *Neisseria meningitidis* Translation Elongation Factor P and Its Active-Site Arginine Residue Are Essential for Cell Viability. *Plos One* 2016 11 (2) : e0147907.
- 4) [Takahashi H](#), Haga M, Sunagawa T, Saitoh T, Kitahara T, Matsumoto S, Ohnishi M. Meningococcal carriage rates in healthy individuals in Japan determined using Loop-Mediated Isothermal Amplification and oral throat wash specimens. *J Infect Chemother.* 2016. 22 (7) : 501-504.
- 5) Kanai M, Kamiya H, Smith-Palmer A, [Takahashi H](#), Hachisu Y, Fukusumi M, et al. Meningococcal disease outbreak related to the World Scout Jamboree in Japan, 2015. *Western pacific Surveillance and Response.* 2016. 7. 3. 007, 2017.
- 6) Kevin Ma, Magnus Unemo, Samo Jeverica, Bob Kirkcaldy, [Takahashi H](#), Ohnishi M, Yonatan Grad. Genomic characterization of urethritis-associated *Neisseria meningitidis* shows that a wide range of *N. meningitidis* strains can cause urethritis. *Journal of Clinical Microbiology* 55 (12) : 3374-3383, 2017.
- 7) Sengoku T, Suzuki T, Dohmae N, Watanabe C, Honma T, Hikida Y, Yamaguchi Y, [Takahashi H](#), Yokoyama S, and Yanagisawa T. Structural mechanism of protein arginine rhamnosylation by glycosyltransferase EarP. *Nature Chemical Biology* 14: 368-374, 2018.
- 8) Kawasaki Y, Matsubara K, [Takahashi H](#), Morita M, Ohnishi M, Hori M, Isome K, Iwata A, Nigami H, Yamamoto G, Ohkusu K. Invasive meningococcal disease due to ciprofloxacin-resistant *Neisseria meningitidis* sequence type 4821: the first case in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 24: 305-308, 2018.
- 9) Mori N, Hayashi T, Nakamura H, [Takahashi H](#). Meningococcal meningitis with neurological complications and meningococemia due to serogroup W sequence type 11 complex. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 24: 398-400, 2018.
- 10) Kurose S, Onozawa K, Yoshikawa H, Yaita K,

Takahashi H, Shimono N, and Nagasaki Y. Invasive Meningococcal Disease Due to a Non-Capsulated *Neisseria meningitidis* Strain in a Patient with IgG4-Related Disease. BMC Infectious Diseases 18: 146, 2018.

- 11) Takahashi H, Watanabe H, Kwang Sik Kim, Yokoyama S, Yanagisawa T. The meningococcal cysteine transport system plays a crucial role in *Neisseria meningitidis* survival in human brain microvascular endothelial cells. mBio 9: e02332-18, 2018.
- 12) Shinozuka J, Takahashi H, Masahiro M, Awaguni H, Imashuku S. Bacteremia and meningitis caused by a novel clone of *Neisseria meningitidis* serogroup B. Pediatrics International doi: 10.1111/ped.13718, 2018.

## 2. 学会発表

- 1) Takahashi H, Yanagisawa T, Kwang Sik Kim, Yokoyama S, Ohnishi M. Multiple functions of glutamate uptake via meningococcal GltT-GltM L-glutamate ABC transporter for *Neisseria meningitidis* internalization into human brain microvascular endothelial cells. 2016 International Pathogenic Neisseria Conference, Manchester UK, Sep 2016.

- 2) 高橋英之, 羽賀将衛, 砂川富正, 齋藤剛仁, 北原武尊, 松本壮吉, 大西 真: 咽頭うがい液を用いた髄膜炎菌の健康者保菌調査の実施, 第90回日本細菌学会総会, 仙台市, 2016年
- 3) 仙石 徹, 鈴木健裕, 堂前 直, 渡邊千鶴, 本間光貴, 疋田泰士, 山口芳樹, 高橋英之, 横山茂之, 柳沢達男: 髄膜炎菌由来の翻訳因子EF-Pのラムノース修飾による活性化の構造的基盤, ComBio2017, 神戸市, 2017年
- 4) 仙石 徹, 鈴木健裕, 堂前 直, 渡邊千鶴, 本間光貴, 疋田泰士, 山口芳樹, 高橋英之, 柳沢達男, 横山茂之: 反転型糖鎖転移酵素によるタンパク質アルギニン・ラムノシル化の構造基盤, ComBio2017, 神戸市, 2017年
- 5) 高橋英之, 横山茂之, 柳沢達男: 臨床分離株の宿主細胞への侵襲能と細胞外因子の発現量の相互比較による髄膜炎菌の病原性因子の探索及び解析, 第91回日本細菌学会総会, 福岡市, 2018年

## G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし