

「固定組織シングルセル RNA-seq 技術を用いた サルモネラ病原因子による宿主免疫細胞再構成の網羅的解析」

長崎大学・熱帯医学研究所・細菌学分野 准教授

日吉 大貴

要旨

サルモネラは食中毒原因菌として研究されているが、一部血清型や菌株による全身感染の発症機構については全容が明らかではない。本研究では、全身感染マウスモデルにおいて、サルモネラがどのように宿主の免疫防御機構を回避するのか、固定組織シングルセル RNA-seq (Flex) と空間トランスクリプトーム (Visium HD) を用いた解析を行なった。まず解析に先立ち、それらのプローブによる mRNA 検出技術を応用し、サルモネラ感染細胞と傍観 (バイスタンダー) 細胞を分けてトランスクリプトーム解析ができる新規パイプラインを開発した。この解析法により、サルモネラが感染したマクロファージは細胞内菌数に依存して M2 型に分極誘導されること、感染マウス脾臓内では様々な免疫細胞にサルモネラが作用していることなどが見えてきた。さらに、サルモネラ感染によって脾臓内に IL-10 遺伝子を高発現した好中球 (IL10+好中球) が集積し、それが感染マクロファージをエフェロサイトーシスで取り込むなどして病態を増悪化している可能性を見出した。今後このような解析技術を駆使し、さらにサルモネラと宿主免疫細胞との詳細な相互作用が解明されることで、免疫防御機構を標的とした治療法の開発につながると考えられる。

背景・目的

サルモネラ (*Salmonella enterica* spp.) による全身 (侵襲) 感染症は、東・東南アジアやアフリカなどの途上国において多く認められ、年間の死者は 50 万人以上と推定される¹。さらに近年では、2016 年パキスタンでアウトブレイクを起こしたフルオロキノロン耐性の超多剤耐性チフス菌や、サハラ以南のアフリカ諸国で猛威を振るった ST313 多剤耐性ネズミチフス菌など、治療が難しい薬剤耐性サルモネラの増加が深刻である。このようなことから WHO は世界的な伝播を懸念し、2017 年から優先的に新規治療薬を開発すべき病原体に指定している。

薬剤耐性菌の増加に伴い、宿主標的療法 (Host-directed Therapy, HDTs) やバクテリオファージ療法など、抗生物質に代わる治療法が注目されてきている^{2,3}。特に HDTs は、ヒトに元来備わる免疫防御機構を標的とした治療法であることから耐性菌が出現しにくい。その開発には病原体と宿主免疫との相互作用を理解することが重要であるが、従来用いられてきた解析技術だけでは、感染時に起きるダイナミックで洗練された免疫反応のわずかなイベントしか観察できないというジレンマがあった。しかし近年、シングルセル RNA シークエンス (scRNA-seq) などの新しい解析技術の進歩により、感染時における免疫細胞のトランスクリプトームや heterogeneity 再構成など包括的な解析が可能になってきた。

汚染された食物などから腸内に入ったサルモネラは、パイエル盤上の M 細胞などから腸管外に侵入し、そこでマクロファージや樹状細胞にファゴサイトーシスされる。しかし細胞内寄生菌であるサルモネラは、取り込まれたマクロファージ内で増殖することができ、これが全身感染を発症するために重要な最初ステップであると考えられている⁴。このような理由から、scRNA-seq 技術は初めにサルモネラとマクロファージとの相互作用を解析するために用いられ、菌の増殖を支持する iNOS Macs (Itgam⁺Ccr2⁻Nos2⁺) サブセット⁵と、抑制する Classical monocytes (CMs; Itgam⁺Ccr2⁺)や Non-classical monocytes (NCMs; Itgam⁺Ccr2⁺Ace⁺) マクロファージサブセット⁶などが報告された。しかし、サルモネラは全身感染時に、好中球など他の免疫細胞内でも増殖することが報告されている⁷⁻⁹。さらに筆者らも、サルモネラは、自身が感染したマクロファージを好中球にエフェロサイトーシスで取り込ませることで、好中球の殺菌活性から回避できることを報告している¹⁰。しかし、どのような好中球サブセットがサルモネラ全身感染の助長に関わるのか明らかではない。

骨髄内で分化成熟した好中球は、体内に侵入してきた細菌を速やかにファゴサイトーシスし、活性酸素種 (ROS)、酵素や抗菌ペプチドなどを用いて速やかに殺菌する。また、他の免疫細胞と比較して短命で、RNA 分解酵素産生が多く、新鮮で純度の高い mRNA が保存された細胞を必要とした、初期の scRNA-seq 技術では解析が困難であった。そこで本研究では、好中球を含む免疫細胞が、サルモネラ感染とどのように対峙するのか理解するため、プローブで固定組織細胞内の mRNA を検出する scRNA-seq (Flex) と空間トランスクリプトーム (Visium HD) 技術を用いた網羅的な解析を行なった。

方法

- ・ 全身感染マウスモデル : C57BL/6J マウス野生型もしくは IL-10 KO に 10⁴ コロニー形成数 (CFU) のサルモネラ (ネズミチフス菌 14028 株) を腹腔内に接種し、感染後 2、4 日目に脾臓組織を回収した。回収した脾臓組織サンプルは、菌数測定、リアルタイム PCR による遺伝子発現解析、Flex 解析、Visium HD 解析、FACS 解析などに供試した。
- ・ RAW264.7 細胞感染試験 : 10⁷ のマウスマクロファージ様 RAW264.7 細胞に、緑色蛍光 (EGFP) を発現したサルモネラ菌を異なる MOI (感染多重度) で接種し、感染 21 時間後に固定した。回収した固定細胞は、セルソーター (SH800S, Sony) で EGFP の傾向強度に従い EGFP^{low} と EGFP^{hi} の二つのグループに分けて分取し、Flex 解析に供試した。
- ・ 固定組織シングルセル RNA-seq 解析 (Flex) ・ 空間トランスクリプトーム解析 (Visium HD) : 調整した固定細胞サンプルは、大阪大学ゲノム解析室に委託してシーエンスデータを得た。得られたデータは、共同研究者と確認しながら解析を行なった。
- ・ フローサイトメトリー (FACS) 解析 : 未感染および感染したマウス脾臓細胞から、EasySep Mouse Neutrophil Enrichment Kit (Stemcell) により好中球の単離し、FACS (MACSQuant, Miltenyi) および FlowJo (BD Biosciences) を用いた解析で Ly-6G 発現が確認できたものを好中球とした。また Ly-6G 発現量により Ly-6G^{hi} と Ly-6G^{int}に分けた。さらに好中球内の MARCO の検出によって、マクロファージをエフェロサイトーシスした好中球の割合を求めた。

結果

サルモネラは、感染したマクロファージを抗炎症性型 (M2) に誘導することで、感染組織内で効果的に拡散できると考えられている¹¹。そのため、サルモネラが感染した細胞とそれ以外のバイスタンダー細胞を区別できるトランスクリプトームが必要であると考え、まず初めにプローブで mRNA を検出する Flex の特性を利用した新規のパイプラインの開発を試みた。In vitro で、マウスマクロファージ様 RAW264.7 細胞に異なる感染多重度 (MOI) で緑色蛍光色素 (EGFP) を発現したサルモネラを感染し (図 1A)、セルソーターで EGFP 発現の強弱に基づき EGFP^{low} と EGFP^{hi} の感染菌数に分けて分取した (図 1B)。Flex 解析により、未感染サンプル (Mock) とサルモネラ感染サンプル (STm MOI=10) の細胞は、EGFP 強度に関わらず UMAP 上で大きな2つのクラスターに分かれた (図 1C)。Flex で感染細胞を特定するため、サルモネラの *16S rRNA* に対するカスタムプローブ設計して解析に加えたところ、感染サンプルで構成されるクラスターにおいて *16S rRNA* 陽性細胞が検出された (図 1D)。またその検出量は EGFP 高発現グループ (STm MOI=10 EGFP^{hi}) で最も多かった (図 1E)。トランスクリプトーム解析では、サルモネラ感染サンプルから回収した細胞のほとんどはインターフェロン刺激遺伝子 (ISG) である *Isg15* や *Irf7* を高発現していたが、炎症性サイトカインの *Il1b* などはバイスタンダー細胞より感染細胞で発現が増強していた (図 1F, G)。また M2 マクロファージに関連する *Il10* や *Il4ra* の発現は *16S rRNA* 量に伴い上昇しており、M2 分極誘導にはサルモネラのマクロファージ内での積極的な増殖が必要であることが示唆された (図 1F-H)。これらの結果より、開発した Flex のパイプラインは、サルモネラ感染細胞とバイスタンダー細胞を区別したトランスクリプトーム解析に有効な方法であることを確認できた。

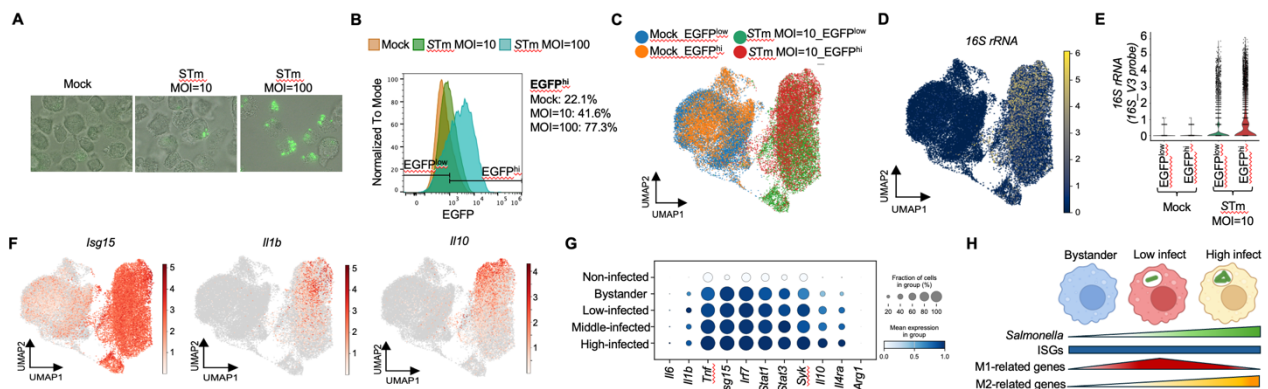


図 1 : サルモネラ感染細胞と傍観細胞を区別できる新規Flexパイプラインの開発

(A) マウスマクロファージ様RAW264.7細胞にEGFPを発現したサルモネラ (STm) を感染し、21時間後に回収した細胞の検鏡像。Mockは未感染サンプル、MOIは感染多重度を示す。(B) 回収した細胞をEGFPの強度に従いEGFP^{low}とEGFP^{hi}に分けた図。(C) Flex解析によりシングルセルをUMAP上にプロットした図。(D) サルモネラ *16S rRNA* の検出量をUMAP上にプロットした図。(E) 各感染グループごとの *16S rRNA* 量。(F) *Isg15* (Interferon stimulated gene), *Il1b* (M1-related gene), *Il10* (M2-related gene) の発現量をUMAP上にプロットした図。(G) 未感染サンプルは全て"Non-infected"、サルモネラ感染サンプル (STm MOI=10) を *16S rRNA* 量に従い"Bystander"から"High-infected"に分け、各遺伝子の発現量を示した。(H) サルモネラの感染量による遺伝子発現の違いを表す模式図。

次に、この Flex パイプラインを用いて、サルモネラが感染したマウス脾臓内について解析した (図 2A)。サルモネラ感染後、脾臓内菌数の増加に伴い (図 2B)、さまざまな炎症関連のサイトカインやケモカインの発現上昇がリアルタイム PCR で確認された (図 2C)。しかし脾臓組織内には多種多様な免疫細胞およびそのサブセットが存在するため、リアルタイム PCR だけでは実際にどの免疫細胞種がそのような遺伝子を発現しているのか特定が難しい。そこで同様の脾臓組織サンプルを用いて Flex により網羅的な解析を行なった。遺伝子発現プロファイリングにより免疫細胞種が特定され、感染日数が 2 日目、4 日目と進むことで、好中球の割合が増加する一方、T 細胞や樹状細胞の割合の減少が認められた (図 2D, E)。さらに開発したパイプラインで検出した *16S rRNA* 量から、全身感染時には様々な免疫細胞がサルモネラに感染していることが示された (図 2F)。また筆者らの報告⁷⁻¹⁰と一致して、本全身感染マウスモ

デルにおいて、好中球は最も多くの菌を取り込んでいる免疫細胞種であることが確認されたため(図2G)、次に好中球についてより詳細な解析を行なった。なお、マクロファージもサルモネラが増殖する主要な細胞種ではあるが、他に報告された scRNA-seq 解析結果^{5,6}と一致する点も多いことから本報告においては結果の詳細を割愛する。

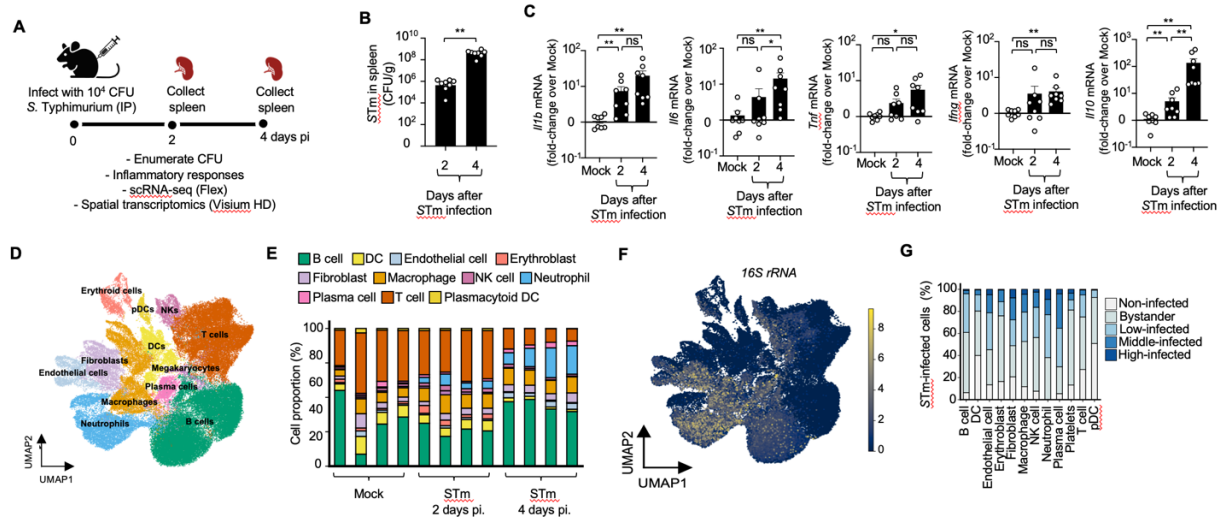


図2：サルモネラ感染マウス脾臓組織内における感染免疫細胞の特定
 (A) 本研究で用いたC57BL/6マウスを用いたサルモネラ全身感染モデルの模式図。(B) 感染後2および4日目に回収した脾臓組織内のサルモネラ菌数(CFU/g)。(C) 脾臓の*I/1b*、*I/6*、*Tnf*、*I/10*の発現量をリアルタイムPCRで定量した。(D) Flex解析により特定した脾臓内の免疫細胞をUMAP上にプロットした図。(E) それぞれの脾臓サンプルにおける免疫細胞種の割合。(F) 脾臓の免疫細胞内のサルモネラ16S rRNAの検出量をUMAP上に示した図。(G) 未感染(Mock)の脾臓から回収した細胞は全て"Non-infected"、感染したマウス脾臓の免疫細胞内の16S rRNA量は"Bystander"から"High-infected"に分けて割合を示したグラフ。ns, p>0.05; *, p<0.05; **, p<0.01。

サルモネラ感染前後のマウス脾臓内好中球は、Flexによるサブクラスタリングにより11のサブセット(Neut_0-10)に分けられ、感染が進むにつれてその種類が増加した(図3A-C)。感染2日目の好中球においては、菌感染で通常誘導されるISG発現が認められたが、感染4日目では明らかに減弱した(図3D)。その一方で、感染4日目に回収した好中球において*I/10*の発現の顕著な上昇が確認された(図3E)。*16S rRNA*量については、感染4日目の好中球の中でも大小と違いがみられたが、それは*I/10*の発現量と有意に正に相関していた(図3F,G)。好中球は本マウス全身感染モデルにおいて最も*I/10*を発現している免疫細胞種であるが(図3H)、IL-10 KO マウスはサルモネラの全身感染を有意に抑制した(図3I)。以上のことから、サルモネラ全身感染の急性期に誘導される*I/10*を発現している好中球(IL-10⁺好中球)は、本感染症を増悪化している可能性が示唆された。

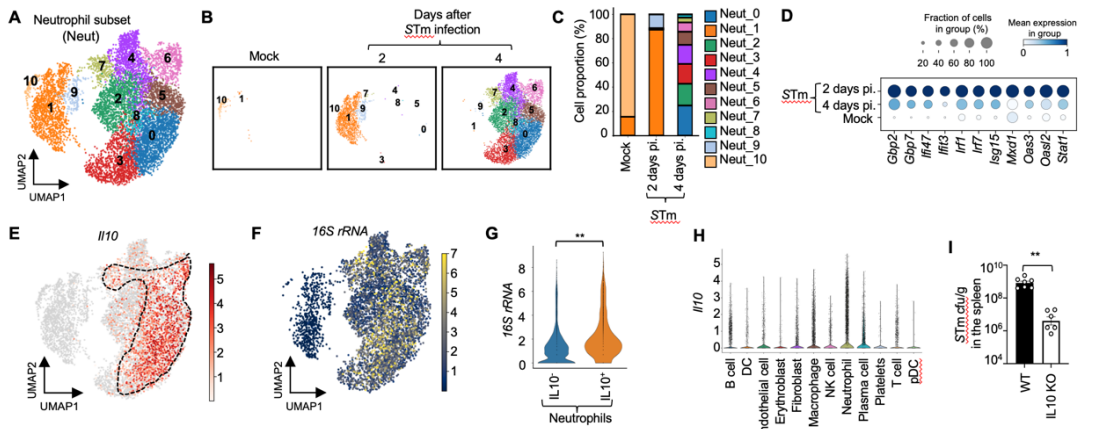


図3：サルモネラ感染により脾臓内にIL-10陽性好中球が集積する
 (A) 脾臓内の好中球サブセット(Neut)を示すUMAP。(B) 感染時間ごとの好中球サブセットの変遷をUMAP上に示した。(C) 感染時間ごとの好中球サブセットの割合。(D) インターフェロンで誘導されるISGsの発現量を示す。(E) 脾臓好中球内の*I/10*発現量をUMAP上に示した図。(F) 脾臓好中球内のサルモネラ16S rRNAの検出量をUMAP上にプロットした図。(G) *I/10*を発現しない好中球(IL-10⁻)と発現する好中球(IL-10⁺)における16S rRNA量を示すグラフ。(H) 脾臓内の免疫細胞における*I/10*発現量。(I) C57BL/6野生株(WT)とIL-10遺伝子欠損株(IL10 KO)にサルモネラに接種後、4日目の脾臓組織内の菌数(CFU/g)。**, p<0.01。

球)は、本感染症を増悪化している可能性が示唆された。

そこでさらにIL-10⁺好中球について解析を進めたところ、血流内で循環して

いる成熟好中球と比較して *Ly6g* の発現が低い傾向が見られた (図 4A, B)。さらに IL-10⁺ 好中球の内、Neut_8 サブセットにおいてマクロファージのマーカー遺伝子である *Marco*、*C1qa*、*Vcam1* の発現が認められた (図 4A)。通常これらの遺伝子発現は好中球では認められないことから、好中球が取り込んだ”Passenger Cell”の mRNA が検出された可能性が高い¹²。また Neut_8 の *16S rRNA* 量は他のサブセットと比較して多く (図 4A, C)、好中球の MACRO 陽性細胞の取り込みの増加は FACS 解析でも確認された (図 4D)。これらは、サルモネラは自身が感染したマクロファージごと好中球にエフェロサイトーシスされることで感染を有利にする、という以前の筆者の報告を裏付ける結果につながった¹⁰。

これまでの Flex 解析には、シングルセルの組織内における空間的な情報は含まれない。そこで、Visium HD に *16S rRNA* を検出できるカスタムプローブを導入することで、サルモネラが感染時に、どのような免疫細胞と相互作用して組織内に拡散していくのか視覚化できる空間トランスクリプトーム解析を行なった。まずは 8μm x 8μm 四方のピンに含まれる細胞 (0~数個) の mRNA 情報から、優占する免疫細胞種を特定し、組織切片上にマッピングした (図 5A, B)。そして *16S rRNA* プローブによって、組織上に存在するサルモネラが局在する場所を視覚的に示すことに成功した (図 5C)。さらにこの結果より、サルモネラは脾臓組織全体に拡散する感染後 4 日目以前に、好中球を主体とした免疫細胞から構成される肉芽種様の微小環境内で増殖していることが見えてきた (図 5C-E)。そして、サルモネラ感染時に認められる炎症反応は、主にその肉芽腫瘍の局所で発現していることが、この解析により明らかにすることができた (図 5F)。

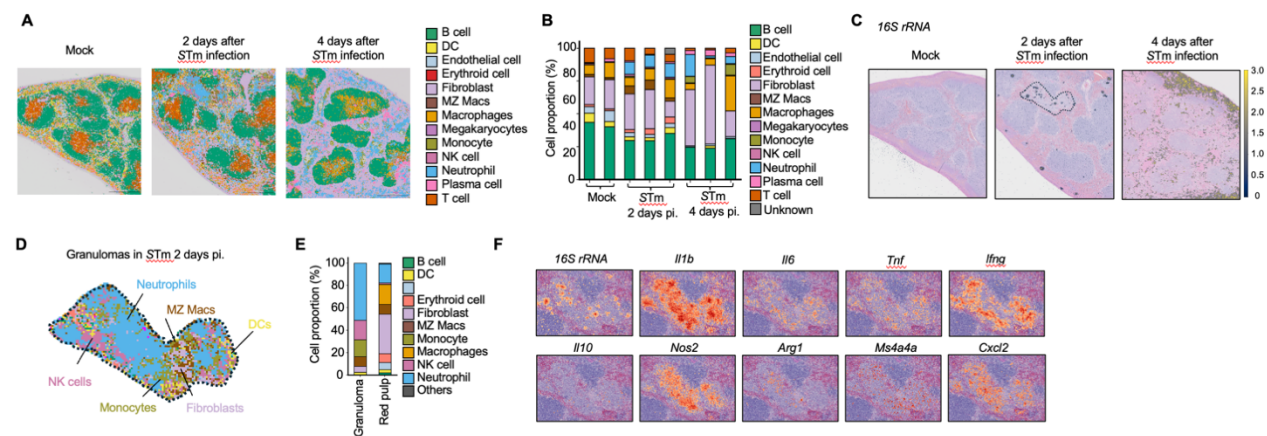


図4：好中球サブセットNeut_8はMARCO陽性マクロファージをエフェロサイトーシスで取り込んでいる

(A) 各好中球サブセットにおける遺伝子発現量。(B) 感染時間ごとの好中球表面のLy-6G産生量。(C) 未感染 (Mock) の脾臓内好中球は全て”Non-infected”、感染したマウス脾臓内好中球は *16S rRNA* 量に従い”Bystander”から”High-infected”に分けて割合を示した。(D) 感染時間ごとの細胞内MARCOが陽性の好中球の割合を示したグラフ。ns, p>0.05; *, p<0.05。

図5：サルモネラは感染初期に脾臓内の好中球を主体とした肉芽種様微小環境内で増殖する

(A) Visium HD解析により特定した免疫細胞を脾臓組織上にマッピングした図。(B) 各脾臓サンプルにおける免疫細胞種の割合。(C) 検出されたサルモネラ *16S rRNA* 量を脾臓組織上にマッピングした図。点線で囲まれた箇所は免疫細胞が集積した肉芽腫を示す。(D) (C) の肉芽腫内に集積した免疫細胞種を示した図。(E) 肉芽腫 (Granuloma) と赤髄 (Red pulp) における免疫細胞の割合。(F) 肉芽腫周辺の各遺伝子発現を示した図。

考察

病原体が全身感染を発症するには、宿主の様々な免疫防御機構を乗り越える必要がある。しかしその相互関係は非常に複雑であり全容解明までの道のりは困難を極める。本研究では、カスタムプローブを導入した Flex および Visium HD 技術を用いることで、サルモネラ感染細胞とバイスタンダー細胞を区別できる解析を可能にし、本菌が全身感染を成立するまで、宿主免疫細胞がどのように再構成されるのか網羅的かつ時空間的な解析を行なった。サルモネラは通性細胞内寄生菌ではあるが、マクロファージ内での増殖活性は全身感染を起こすために重要なステップであると考えられている³。その活性を担当する主要な病原因子として *Salmonella* Pathogenicity Island (SPI)-2 にコードされた 3 型分泌装置 (T3SS-2) が同定され、そこから分泌される 30 種類以上のエフェクター活性について解析されてきた¹³。その中でも、感染したマクロファージ内に分泌された SteE と呼ばれるエフェクターは、GSK3 によりリン酸化され、その結果 STAT3 経路を活性化することで M2 型に分極誘導することが報告された¹⁴。炎症性の M1 型と異なり、抗炎症性の M2 型のマクロファージは殺菌活性が低く、サルモネラが増殖しやすい環境であると考えられている¹¹。筆者の RAW264.7 を用いた Flex 解析においても、やはり M2 関連遺伝子を発現した細胞がより多くの菌を保有していたが、むしろこれはサルモネラが増殖した結果 M2 型の分極化が誘導されたとも考えられる。いずれにせよ、M2 型マクロファージは IL-10、IL-4、TGF- β など抗炎症性サイトカインの産生により、周辺をサルモネラが増殖しやすい環境に変える鍵になるサブセットであると考えられる。

サルモネラ全身感染マウスモデルにおける Flex 解析では、マクロファージだけでなく脾臓組織内の様々な免疫細胞種がサルモネラに感染していることを示した。特に好中球は多くのサルモネラを保菌しており、脾臓内において本菌は好中球で増殖しているという以前の報告を支持している⁷⁻¹⁰。また Flex で好中球をさらにサブセットに分けて解析を進めると、感染が進むにつれて IL-10 を高発現した好中球 (IL-10⁺ 好中球) の蓄積が認められた。さらに、それらは IL-10 を発現していない通常の好中球と比較して多くの菌を保菌していた。IL-10⁺ 好中球の性状については不明な点が多いが、エフェロサイトーシスで取り込んだと思われるマクロファージ (*Macro*, *C1qa*, *Vcam1*) や T 細胞 (*Cd3e*) などの遺伝子マーカーが検出されたことから、M2 マクロファージに類似した死細胞のスカベンジャー機能を持つことも想起される。また、Fridlender らは、腫瘍微小環境に浸潤する好中球には炎症性の N1 と抗炎症性の N2 に分けられると報告しているが¹⁵、N2 好中球は IL-10 を産生するなど、IL-10⁺ 好中球と類似点が認められる。最近の研究により、IL-10 は IRF1/5 で発現誘導される ISGs をエピジェネティックな経路で抑制することが報告されており¹⁶、感染 2 日目で認められた ISGs 発現が 4 日目で劇的に減少した理由にも関係するかもしれない。また現在解析中であるが、脾臓内の IL-10⁺ 好中球の蓄積における T3SS-2 の関与は明確であり、先に述べた SteE 以外にも、これに関わる重要なエフェクターをすでに特定している。今後このエフェクターの生化学的な解析が進めば、IL-10⁺ 好中球の発生条件、性状や感染における役割がより明らかになると考えている。

一般的に scRNA-seq は、シングルセルのトランスクリプトーム解析ができる点で優れた技術であるが、組織内における細胞間の空間的な情報については推測の域を出ない。そこで本研究では Flex で得られた解析データを Visium HD のデータにデコンボリューションすることで、お互いの欠点を打ち消した空間トランスクリプトーム解析を行った。さらに、カスタムプローブを導入したことで、脾臓組織上のどこでサルモネラが増殖しているか視覚化することにも成功した。これらを用いた解析の結果、感染初期

にサルモネラは、好中球を多く含む免疫細胞が集積した肉芽種様の微小環境内で増殖することが明らかになった。結核菌など一部の細胞内寄生菌は、マクロファージを主体とした肉芽種内で慢性感染することが知られているが、菌の再増殖時には好中球が多く浸潤する¹⁷。このことから、肉芽種への好中球の浸潤は、サルモネラや結核菌の増殖を助長するのかもしれない。一方で、詳細は割愛するがNK細胞を多く含む肉芽種ではサルモネラの検出量が少ないことも見出している。今後このような肉芽種を構成する免疫細胞の種類をコントロールすることができるような創薬開発により、それら病原細菌による全身感染症の重症化を抑えることが可能になるかもしれない。

共同研究者

- ・大阪大学免疫学フロンティア研究センター 奥崎大介 特任准教授
- ・大阪大学免疫学フロンティア研究センター Mohamad Al Kadi 特任研究員

引用論文

- [1] Hiyoshi H, Tiffany CR, Bronner DN, et al. Typhoidal Salmonella serovars: ecological opportunity and the evolution of a new pathovar. *FEMS Microbiol. Rev.* 2018. 42(4):527–541.
- [2] Kaufmann SHE, Dorhoi A, Hotchkiss RS, et al. Host-directed therapies for bacterial and viral infections. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2018. 17(1):35–56.
- [3] Strathdee SA, Hatfull GF, Mutalik VK, et al. Phage therapy: From biological mechanisms to future directions. *Cell.* 2023. 186(1):17–31.
- [4] Jantsch J, Chikkaballi D, Hensel M. Cellular aspects of immunity to intracellular *Salmonella enterica*. *Immunol. Rev.* 2011. 240(1):185-95.
- [5] Hoffman D, Tevet Y, Trzebanski S, et al. A non-classical monocyte-derived macrophage subset provides a splenic replication niche for intracellular *Salmonella*. *Immunity.* 2021. 54(12):2712–2723.
- [6] Pham THM, Xue Y, Bernstein KE, et al. Single-cell profiling identifies ACE(+) granuloma macrophages as a nonpermissive niche for intracellular bacteria during persistent *Salmonella* infection. *Sci. Adv.* 2023. 9(1):eadd4333.
- [7] Dunlap NE, Benjamin Jr WH, Berry AK, et al. A ‘safe-site’ for *Salmonella typhimurium* is within splenic polymorphonuclear cell. *Microb. Pathog.* 1992. 13(3):181-90.
- [8] Geddes K, Crus F, Heffron F. Analysis of targeted by *Salmonella* type III secretion in vivo. 2007. 3(12):e196.
- [9] Burford WB, Dilabazian H, Alto LT, et al. Single-cell analysis of genetically minimized *Salmonella* reveals effector gene cooperation in vivo. *Nat. Microbiol.* 2025. 10(10):2565-2578.
- [10] Hiyoshi H, English BC, Diaz-Ochoa VE, et al. Virulence factors perforate the pathogen-containing vacuole to signal efferocytosis. *Cell Host Microbe.* 2022. 30(2):163–170.
- [11] Pham THM, Brewer SM, Thurston T, et al. *Salmonella*-Driven Polarization of Granuloma Macrophages Antagonize TNF-Mediated Pathogen Restriction during Persistent infection. *Cell Host Microbe.* 2020. 27(1):54-67.
- [12] Lantz C, Radmanesh B, Liu E, et al. Single-cell RNA sequencing uncovers heterogenous transcriptional signatures in macrophages during efferocytosis. *Sci. Rep.* 2020. 10(1):14333.

- [13] Jennings E, Thurston TLM, Holden DW. Salmonella SPI-2 Type III Secretion System Effectors: Molecular Mechanisms And Physiological Consequences. *Cell Host Microbe*. 2017. 22(2):217-231.
- [14] Panagi I, Jennings E, Zeng J, et al. Salmonella Effector SteE Converts the Mammalian Serine/Threonine Kinase GSK3 into a Tyrosine Kinase to Direct Macrophage Polarization. *Cell Host Microbe*. 2020. 27(1):41-53.
- [15] Fridlender ZG, Sun J, Kim S, et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell*. 2009. 16(3):183-94.
- [16] Mishra B, Bachu M, Yuan R, et al. IL-10 targets IRF transcription factor to suppress IFN and inflammatory response genes by epigenetic mechanisms. *Nat. Immunol*. 2025. 25(5):748-759.
- [17] Ehlers S and Schaible UE. The granuloma in tuberculosis: dynamics of a host-pathogen collusion. *Front. Immunol*. 2013. 3:411.

助成研究に関連した発表論文

- [1] Pham HT, Morita M, Yamazaki K, et al. A new mouse model of typhoid fever using *Salmonella enterica* serovar Paratyphi C as a surrogate pathogen. *mBio*. 2026. 16:e0362225.
- [2] Stull-Lane AR, Camacho L, Van Hecke AER, et al. African *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ST313 isolates prevent reactive oxygen species production by human neutrophils via elevated PgtE expression *mBio*. 2025. 16:e0160925.