

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11012

研究課題名(和文)細胞溶解毒素遺伝子の伝搬とその発現による口腔連鎖球菌の病原性化機構

研究課題名(英文) Pathogenicity acquisition mechanism of oral streptococci via gene transfer and expression of cytolysin genes

研究代表者

長宗 秀明 (Nagamune, Hideaki)

徳島大学・大学院社会産業理工学研究部(生物資源産業学域)・教授

研究者番号：40189163

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では口腔連鎖球菌：ミチス群(MGS)やアンギノサス群(AGS)における、溶血性細胞溶解毒素(HL)の未知分子の探索、HL発現調節と病原性の関連性、また*S. mitis*(SM)においてHL遺伝子伝搬を介した病原性化機構を検討した。MGSの*S. infantis*ではHL遺伝子の菌種間伝搬を示唆する、SMの5ドメイン型HL(5D-CDC)と最も近縁で活性も類似したHLを見出した。また5D-CDC遺伝子直後にISを持つ5D-CDC保有SM株ゲノムと形質転換促進ペプチドの存在下にHL非保有株を培養すると5D-CDCが伝搬し、ISが関わるHL伝搬機構でSMは病原性化する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In oral streptococci such as mitis group streptococci (MGS) and anginosus group streptococci (AGS), we investigated the search and characterization of unknown molecule of hemolytic cytolysin (HL), the relation between the regulation of HL expression and the pathogenicity, and the mechanism of pathogenicity acquisition via HL gene transfer in *S. mitis* (SM).

In a *S. infantis* strain belonging to MGS, a HL that is most-closely related to 5 domain-type cholesterol-dependent HL (5D-CDC) of SM and shows quite similar property to 5D-CDC was discovered. This suggests the HL gene transfer among MGS species. Moreover, it was suggested that SM might obtain pathogenicity via HL gene transfer that IS participated in, because the 5D-CDC gene transfer was detected by cultivation of a SM strain with no HL gene in the presence of the genomic DNA from the strains with 5D-CDC gene and IS at the adjacent loci and a competence-stimulating peptide of SM.

研究分野：細菌学

キーワード：口腔連鎖球菌 細胞溶解毒素 溶血毒素

1. 研究開始当初の背景

口腔連鎖球菌 *Streptococcus mitis* (SM) は肺炎球菌 *S. pneumoniae* (SPn) と同じミチス群連鎖球菌 (MGS) に分類され、両者は非常に近縁だが、SM の病原性は極めて低いと考えられてきた。しかし近年は、海外でも我が国でも SM 劇症性感染症の感染例が報告されるなど、高病原性化 SM 株の出現が報告され始めており、その病原性に関する研究の必要性が高まってきている。また口腔連鎖球菌の別菌群、アンギノサス群連鎖球菌 (AGS) には、脳などの深部臓器に膿瘍疾患を生じる *Streptococcus intermedius* (SI)、軟部組織や呼吸器系等で感染を起こす *Streptococcus anginosus* の 2 亜菌種、*Streptococcus constellatus* の 3 亜菌種が含まれ、AGS による感染症についても分子的な基盤情報が必要となってきたが、AGS や MGS の分子論的な病原性の研究は少ないのが現状である。

我々は AGS や MGS の病原性を分子レベルで理解するため、これらに属する菌種の細胞障害性に着目し解析した結果、*Streptococcus pyogenes* (SPy) 等の病原性連鎖球菌が分泌するストレプトリジン O に代表されるコレステロール依存性細胞溶解毒素 (CDC) の一種のインターメディリシン (ILY) やペプチド性溶血毒素ストレプトリジン S (SLS) ホモログのような溶血性の細胞溶解毒素 (HL) が病原性を示す菌種で発現し、その発現量と病原性の間に正の相関性があることやその発現調節の破綻が高病原性化を招く可能性も見出した。また興味深いことに、近年病原性化が報告されるようになった SM において、SPn のニューモリシン (PLY) と近縁のミチリシン (MLY) だけでなく、通常の CDC とドメイン構成が異なる新規 CDC : *S. mitis* 由来ヒト血小板凝集因子 (Sm-hPAF) 及びそのホモログの新規 5 ドメイン型 CDC (5D-CDC) が見出された。さらに SM では CDC を複数持つ株も頻見されることが判明し、しかもそれらの CDC 保有株の多くはペニシリン結合タンパク質 (PBP) の変異でペニシリンに耐性化していた。またその耐性株の由来は、健常人に比べて感染症患者の場合が 7 倍にも登ることから、恐らくヒト体内での生存に有利な CDC を生産分泌するようになった株が、感染症治療時にペニシリン耐性を獲得してより病原性を高め、それが易感染性宿主に伝搬して感染症を引き起こす可能性が示唆された。

このような背景に加え、我々のこれまでのゲノム比較解析の結果も踏まえると、CDC 等の HL 遺伝子の伝搬とその発現は口腔連鎖球菌の病原性の進化に深く関与していることが考えられ、その病原性化の分子機構の解明は、AGS や MGS 感染症の成立機構の解明に繋がるものと期待されている。

2. 研究の目的

前項に述べた背景を踏まえ、本研究においては先ず、AGS と MGS 両菌群の菌種において未知の HL 遺伝子の検索を行い、見出された新規の HL についてはその活性を解析するとともに、その遺伝子の菌種間伝搬に伴う病原性の変化の可能性等について検討する。次いで、それら新規及び既知の HL について、可能な場合はその発現や活性制御を通じた病原性調節機構の解析を行う。さらにそれらを保有する菌種・菌株のゲノム情報の比較解析も進めて HL 遺伝子近傍の配座構造解析を精密化し、HL 遺伝子の伝搬機構についての検討を行うとともに、特に HL 遺伝子の伝搬が頻繁に起こった形跡のある MGS の代表菌種 *Streptococcus mitis* (SM) を例に取って、菌株間での HL 遺伝子の伝搬実験を行うことにより、HL 遺伝子伝搬にともなう口腔連鎖球菌の病原性化のメカニズムについても検討を行った。

3. 研究の方法

(1) AGS 及び MGS 株 : MGS 株の一部は、健常人口腔から Mitis-Salivarius 寒天培地を用いて分離した。その他の AGS 及び MGS の臨床分離株と基準株は、岐阜大学や ATCC 等の微生物保存機関、及び研究協力者から分与された。これら菌株は、5%ウマ脱繊維血含有 Brain-Heart-Infusion (BHI) 寒天及び BHI 液体培地で培養し使用した。

(2) 新規 HL 組換え体調製 : *S. infantis* (SIIn) と同定されたヒト口腔分離株 B23-2S のゲノム解析結果及び *S. oralis* subsp. *tigurinus* (SOT) のゲノムデータベースのから見出された新規 HL 遺伝子 (CDC 様遺伝子) について、His タグ化組換え体として大腸菌で発現し、His Trap カラムで精製した。

(3) 口腔連鎖球菌の各種遺伝子欠損変異株と相補株の作成 : *S. anginosus* subsp. *whitleyi* (SAW) 及び *S. constellatus* subsp. *viborgensis* (SCV) における SLS 遺伝子 (*sagA*) 欠損株及びその相補株は両亜菌種の基準株を用いて、また *S. intermedius* 歯垢分離株における各種グリコシダーゼや転写調節因子の欠損変異株とその相補株も、相同組換え法に基づき作製した。

(4) 溶血活性 : 健常人から得たアルセバ一保存血、及び購入した動物の保存血から赤血球懸濁液を調製し、これをリン酸緩衝化生理食塩水 (PBS) 中で菌株培養上清あるいは精製 HL と 37 °C で 1 時間反応後、遠心上清の OD₅₄₀ を測定して溶血率を算定した。溶血活性に及ぼすコレステロール、抗 CD59 抗体、ヒト血漿、ヒト IgG 等の影響は、それらを添加した PBS 中で HL と赤血球を反応させ、同様に測定を行った。

(5) 膜孔形成活性: ヒト赤血球から低張溶血で得た赤血球膜と HL 組換え体を PBS 中で 37 にて 1 時間反応後、遠心で上清と膜分画を分取し、それを SDS アガロースゲル電気泳動後に PVDF 膜に転写し、抗 His タグ抗体でイムノプロットにより、膜結合性と膜孔オリゴマーの形成能を解析した。

(6) HL 及び口腔連鎖球菌株の細胞毒性: ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-2 及びヒト肝癌細胞株 HepG2 を DMEM (+10%ウシ胎児血清) 培地で培養し、ここに各種 HL あるいは各種菌株を加えて 5%CO₂ 存在下にて 37 で一定時間反応・培養後、定法に準拠して細胞生存率を算定した。

(7) HL 遺伝子伝搬解析: 共培養による遺伝子伝搬の確認のため、SM の CDC/HL 遺伝子非保有株 3 株[クロラムフェニコール (CP) 耐性化株]及び CDC 遺伝子保有株 8 株[野生株あるいはスペクチノマイシン耐性化株]を様々な生理条件(対数期/定常期/死滅期)の組み合わせで、形質転換促進ペプチド(CSP: *comC* 遺伝子)にコードされるペプチドフェロモンで、SM 株間で多様性があり 3 種類を供試)の共存の有無において 5% CO₂ 存在下 37 にて一定期間の共培養を行い、ヒト血液寒天上で溶血斑を形成する CP 耐性コロニーのスクリーニングを行った。また、CDC 遺伝子保有株 6 株から得たゲノム DNA を遺伝子供与体とし、CSP 存在下で 37 にて 5% CO₂ 存在下で一定期間の培養を行い、得られた培養を CP 含有 BHI 寒天培地で培養後、2 回の継代を行ってから、熱処理菌体を鋳型に 5D-CDC 遺伝子特異的な PCR 反応を行った。またその培養を BHI 液体培地で希釈しヒト血液寒天培地に播種して溶血斑形成によるスクリーニングに付した。

(8) ゲノム解析と遺伝子系統解析: SM の 46 株と近縁菌種 SIn, SOT, *S. australis*, *S. gordonii* のドラフトゲノムにつき、「ゲノム支援(科研費新学術領域)」の協力を受け解析した。454 GS FLX (Roche) によるメイトペアシーケンス解析, MiSeq (Illumina) によるペアエンドシーケンス解析, さらに SM の 2 株は PacBio でロングリードシーケンス解析も行った。なお, Nm-65 株は, 454 GS FLX (Roche) でショットガンシーケンスとメイトペアシーケンス解析後, GAP クローニングも試みた(北海道システムサイエンス株式会社)。各 CDC 遺伝子の上流及び下流の各々 10kbp 周辺配列については, ORF finder と GENETYX で ORF を推定後, BLAST 検索結果を参考にアノテーションを行った。遺伝子系統解析は, 配列を CLUSTALW でアラインメントを行い, Molecular Evolutionary Genetics Analysis ver.6 (MEGA6) で近隣結合法を用いて系統樹を作成し, 枝分れの信頼性はブートストラップ法(ブートストラップ値: 1000)

で評価した。

4. 研究成果

(1) 新規 HL 遺伝子の同定と活性解析: ゲノム検索で, MGS の菌種では SIn と SOT で 2 種の CDC 様の新規 HL 候補遺伝子が見出された。AGS の大半の菌種に分布する SLS ホモログ遺伝子は MGS では見出せなかった。そこで SIn の B23-2S 株及び SOT の AZ_3a 株のゲノム情報に基づき, 新規に見出された HL 候補遺伝子産物のインファンティリシン (InLY) 及びチグリノリシン (TLY) を His タグ化組換え体として調製し, ヒト赤血球に対する溶血活性を調べた。その結果, InLY は典型的 CDC の SLY 等と比較すると低いものの溶血活性を示した。また, InLY はヒト扁平上皮癌細胞 HSC-2 へも細胞障害性を示した。しかし TLY は全く溶血活性を示さなかった。両者をヒト赤血球膜と反応させ, 膜孔形成に伴うオリゴマー形成の有無を確認した結果, InLY は細胞膜に強く結合し巨大なオリゴマーを形成したが, TLY はほとんど細胞膜に結合せず, またオリゴマーも全く形成していないことが判明した(図 1)。TLY では, CDC の細胞膜結合ドメイン(ドメイン 4)のコレステロールとの結合に重要な 3 つのループ中の 2 つでキーアミノ酸に点変異が見られ, これが原因で TLY は細胞膜親和性を失った可能性が示唆された。このように, 2 つの新規 HL 候補の中で InLY だけが毒素活性を持つことが明らかとなった。次に InLY の活性特性を解析した結果, SM において発見された 5 ドメイン型の CDC である Sm-hPAF や 5D-CDC と類似の性質【動物種依存性を示し, 特にヒト細胞に対して高親和性を示す; 受容体として, ヒト型 CD59 と細胞膜コレステロールの 2 つを認識し, 特に前者に対して高親和性を持つ】を示した。さらに CDC の分子系統解析の結果, InLY は通常の 4 ドメイン型 CDC であるものの, SM の持つ 5 ドメイン型の Sm-hPAF/LLY や 5D-CDC と最も近縁の CDC であることが分かった(図 2)。また InLY 遺伝子は, この遺伝子を持たない SIn 株のゲノム上の ORF3 と 4 の間に先ず 2 つの別遺伝子が挿入され, その追加された遺伝子の大部分が InLY 遺伝子と置換・挿入されたものであることが強く示唆された(図 3)。さらに, InLY 遺伝子を持つ B23-2S 株はヒト血液寒天培地上で β 溶血性を示すが, この遺伝子を持たない基準株等は溶血斑を形成しなかった。このように, InLY 遺伝子は SM の CDC (あるいはその近縁分子) が SIn に遺伝子伝搬して定着し, SIn の病原性を変化させた可能性が考えられた【論文投稿準備中】。

同様な検索を AGS でも試みたが, 現状では新規 HL 候補遺伝子は見出せなかった。

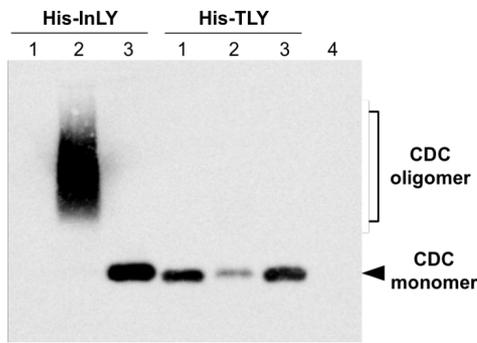


図1: InLY と TLY のヒト赤血球膜での膜孔形成 (抗 His タグイムノブロット像)

1. 未結合上清分画
2. 赤血球膜分画
3. 投入 CDC 総量
4. 赤血球膜のみ

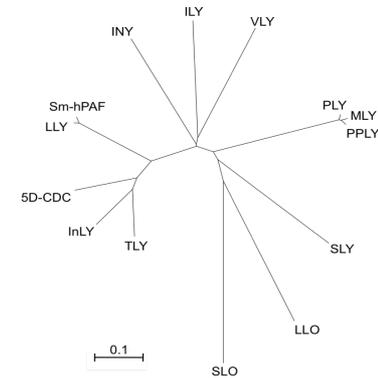


図2: CDC の分子系統樹

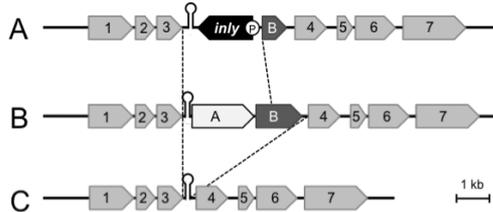


図3: SIn ゲノム上の *inly* 遺伝子の配座
A. B23-2S 株 B. 参照株 1 C. 参照株 2

(2) HL 遺伝子の発現と病原性: 我々は AGS を構成する 3 菌種の内, SI 以外の 2 菌種に属する 5 亜菌種 (さらに昨年 2 つゲノム亜種が提案されたが現状では未確定) では CDC は持たずに SLS ホモログを HL として保有することを既に報告している。しかしそれが各亜菌種の唯一の細胞障害性因子であるか否かは, 5 亜菌種の内 2 亜菌種, SAW と SCV においてまだ確認されていなかった。そこで, 両亜菌種株において SLS ホモログの毒素遺伝子 *sagA* 欠損変異株とその相補株を作成して確認を行った結果, 各々 *sagA* 欠損株では完全に溶血性やヒト扁平上皮癌細胞 HSC-2 への細胞障害性が失われ, 各相補株ではそれらが回復した。従ってこれら亜菌種の細胞障害性は SLS に依存し, その病原性を変化させることが示された。なお, これらの SLS ホモログオペロンには隣接, あるいは近傍に IS 配列が

見られ, この HL も AGS 間で伝搬することで各亜菌種の病原性を変化させていることが示唆されている(1)。これは後に述べる MGS の 5D-CDC に関する結果と考え合わせると興味深い。

AGS の SI は, CDC だがヒト型 CD59 に高い親和性を示してヒト特異的に溶血性や細胞障害性を示す ILY を分泌する。ILY の遺伝子発現は糖により制御されることを既に報告しているが, さらにその制御が血液成分で大きく影響を受けることが分かった。ILY 発現は CcpA を介してグルコースで抑制され, また LacR を介した強い抑制制御がガラクトースによって解除される。SI の歯垢分離株 PC574 (正常な抑制制御下) にあり, 通常培地では ILY 産生量は極僅か) をウシ胎児血清中で培養すると, ILY 産生の著しい亢進が確認された。これは SI のシアリダーゼと多基質グリコシダーゼ MsgA の発現によって, 血清中の糖タンパク質の糖鎖からシアリ酸, ガラクトース, N-アセチルグルコサミンが大量に切り出され, 遊離したガラクトースで ILY 産生の抑制制御が解除されることが主原因であることが分かった。また, 遊離シアリ酸は SI のシアリダーゼ産生を促進することも確認され, 低病原性の SI でも血中では ILY 産生が促進されて強い細胞障害性を示すようになるポジティブフィードバック様の ILY 発現制御が働くことが考えられた。しかし宿主のヒト血漿中では, ILY, シアリダーゼ, MsgA に対する抗体が誘導され蓄積しており, このような ILY の発現亢進や SI の高病原性化は大きく抑制されていることも判明した。従って, 逆にこれらの抗体価が低い宿主では SI の病原性の亢進が誘導され感染症に繋がることが予想される。このように, SI は ILY という CDC/HL の発現制御を介し, 宿主体内ではその病原性を大きく変化させることが確認された。なお MGS に分布する CDC/HL の発現制御については, この様な糖による顕著な制御は見られず, CDC/HL の発現制御と病原性の関連性については更なる解析調査が必要である。

(3) SM における HL 遺伝子伝搬: AGS と MGS の菌種の中で最も HL 遺伝子が多種類分布し(本菌種の場合は 3 種の CDC 遺伝子), HL 遺伝子が最も頻りに菌株間で伝搬した可能性が高い SM について, 各 CDC 遺伝子配座の近傍をさらに精度を高めて検討した結果, 興味深いことに MLY 保有株の場合で MLY 遺伝子の直後に IS を持つ株が 1 株, また 5D-CDC 保有株の場合に 5D-CDC 遺伝子の直後に ISL3 を持つ株が 4 株及び上流 13kbp 付近にそれを持つ株が 1 株確認された。さらに, 5D-CDC 遺伝子非保有株のゲノムにおける 5D-CDC 遺伝子挿入箇所該当するローカスには, 5D-CDC 遺伝子保有株の

ISL3 の上流配列と相同性を示す配列が見られた。このようなトランスポゾンの存在は示唆的であることから、SM を例にとり、本菌種に分布する3種のCDC 遺伝子を様々なパターン ($5d-cdc^+$, $mly^+/5d-cdc^+$, $mly^+/sm-hpaf^+$, 及び $mly^+/5d-cdc^+/sm-hpaf^+$) で保有する SM 株と、全く CDC/HL 遺伝子を持たない SM 株を、それぞれ異なる抗生物質耐性を持たせて共培養・スクリーニングすることで CDC 遺伝子伝搬が起こるか否かを検討した。CSP の有無に加え、遺伝子供与株と遺伝子受容株の生育状態を変化させた様々な組み合わせで検討したが、CDC 遺伝子の伝搬は現在までのところで確認できていない。そこで、解析した中で ISL3 遺伝子が隣接する確率が最も高かった 5D-CDC 遺伝子 (4 株が隣接/19 株中) に注目して、ISL3 を直後に持つ株と持たない株から各々ゲノム DNA を精製し、それを CSP 存在下において、全く CDC 遺伝子を持たない株に作用させて培養したところ、2 つの組み合わせにおいて 5D-CDC 遺伝子を持つポピュレーションが得られた (図4, レーン2 及び4)。この組み合わせに用いたゲノム DNA は、いずれも 5D-CDC 遺伝子の直後に ISL3 を持つ株に由来するものであった。現在、これらのポピュレーションから 5D-CDC 遺伝子伝搬株のクローニングを進めており、そのゲノム上への 5D-CDC 遺伝子挿入位置や翻訳産物の産生状況等の解析の進展が望まれる。さらに、そのポピュレーションにおけるペニシリン耐性化も並行して検討を進めることで、同様な機構による薬剤耐性伝搬の可能性も探ることができると考えられる。

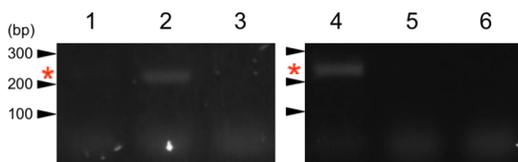


図4 : 5d-cdc 遺伝子保有株ゲノム存在下での培養時の CDC 非保有 SM 株 (B24-3S) に対する 5d-cdc 遺伝子の伝搬
1-4: ISL3 保有株 5 及び 6: ISL3 非保有株

(4) 総括: 溶血性の細胞溶解毒素 HL は多くの病原細菌の病原性に関与し、連鎖球菌においても SPy や SPn 等の CDC (SLO や PLY 等) 及び SLS は、それらを持つ菌の組織への侵入性や障害性に寄与している。他の口腔連鎖球菌、特に AGS では全菌種、MGS では一部の菌種でそれら HL は同定されており、HL とその保有菌種の病原性の間には強い相関があることも報告されている。またこれらの HL は、菌種間でも高い保存性が見られることから、HL 遺伝子は菌種間で授受された可能性が指摘されている。

今回先ず、この遺伝子伝搬の妥当性を検討するため、AGS と MGS における未知の HL を検索した結果、MGS の SIn と SOT で新規の CDC

候補、InLY と TLY を見出した。InLY と TLY はともに SM の 5 ドメイン型 CDC と非常に近縁であり、その機能を解析した結果、TLY は細胞膜結合ドメインの変異で毒素機能を失っていたが、InLY は SM の 5D-CDC や Sm-hPAF と極めて類似の膜孔形成活性を持ち、ヒト細胞への障害性も示した。この知見からも、CDC 遺伝子は MGS の菌種間で伝搬が起こり、それにより受容菌の病原性を変化させることが強く示唆された。それは AGS でも同様で、SI を除く 2 菌種に属する 5 亜菌種が持つ SLS ホモログは、それを発現する菌株にヒト細胞障害性を付与していることが確認され、SLS ホモログ遺伝子産物に依存した病原性の亢進が本菌群でも確認された。また SI の CDC、ILY については、その発現量が宿主体内の要因で大きく変動し、それに伴い SI の病原性が変化することが確認されたことから、HL 遺伝子の伝搬・発現に依存した口腔連鎖球菌の病原性化は、これらの菌による感染症成立のためのキーイベントであると考えられる。

そこで HL 遺伝子の伝搬が最も頻繁に起こったと考えられる SM において HL 遺伝子伝搬機構を解析するため、先ずは SM の 3 つの CDC 遺伝子の伝搬をその保有株と非保有株の共培養系で検証したが、試みた条件では CDC 遺伝子の伝搬は確認できなかった。そこで、ゲノム解析からトランスポゾンによる遺伝子伝搬の可能性が示唆される 5D-CDC 遺伝子に的を絞って、その保有株ゲノムを CDC/HL 遺伝子を持たない SM 株に作用させた結果、5D-CDC 遺伝子の伝搬した 2 つのポピュレーションを得ることができた。興味深いことに、その遺伝子供与体となったゲノムは 5D-CDC 遺伝子の直後に ISL3 を持つ株に由来するものであった。これらの結果を総合すると、SM の 5D-CDC 遺伝子は、5D-CDC (あるいはその近縁) 遺伝子の供与菌を含むバイオフィーム等の口腔内の密集生育環境において、自己溶菌で放出された 5D-CDC 遺伝子供与菌のゲノム DNA がクオラムセンシングにも関与する CSP 等の作用で SM に取り込まれ、その取り込まれたゲノムのトランスポゾン ISL3 に依存して伝搬が起こり、SM ゲノムに組み込まれた可能性が強く示唆された。SM の他の 2 つの CDC 遺伝子でのこのような遺伝子伝搬の痕跡は、トランスポゾンの種類は異なるが、MLY でも一株だけ見られた。Sm-hPAF ではまだ事例はないが、類似の機構が働いていた可能性は高いと考えられる。ところで CDC 遺伝子は SM 以外の MGS, SPn, *S. pseudopneumoniae*, SIn, SOT, さらには AGS の SI にも見られることから、この遺伝子は同一菌種内はもちろん、MGS の異なる菌種間でも、また菌群を越えても伝搬が起りやすいと考えられる。ただし、その起源となる遺伝子はどの菌種が持っていたかは、以前として不明である。一方、SLS 遺伝子

は MGS には伝搬が起こり難く, SPy 等の化膿性連鎖球菌群や AGS を中心に伝搬・保持され, 各 HL 遺伝子はそれを保有する連鎖球菌の病原性を高めるように機能することが推察された。また, 既に我々が提起しているように, SLS 遺伝子の場合も, IS 依存的に伝搬している可能性が考えられる(1)。

今後, 現在続行中のトランスポゾン依存性の HL 遺伝子伝搬による病原性化メカニズムの解析を進めることで, 口腔連鎖球菌の病原性化ネットワークの実態に関する情報が得られるものと考えられる。また, それを基盤としてこれら菌種による感染症成立の仕組みの理解が進み, これらの細菌による感染症の制御に向けた重要な情報が得られるものと考えられ, さらなる今後の進展が期待される。

[引用論文]

(1) Tabata, A. *et al.*, Microbiology, 160, 980-991, 2014.

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

Tabata, A., Deutsch, D., Otsuka, S., Verratti, K., Tomoyasu, T., Nagamune, H., Fischetti, V. A., A novel plasmid, pSAA0430-08, from *Streptococcus anginosus* subsp. *anginosus* strain 0430-08, Plasmid, Vol. 95, 16-27, doi: 10.1016/j.plasmid.2018.01.002, 2018. 査読有

Tomoyasu, T., Matoba, M., Takao, A., Tabata, A., Whiley, R. A., Maeda, N., Nagamune, H., Rapid screening method for detecting highly pathogenic *Streptococcus intermedius* strains carrying a mutation in the lacR gene, FEMS Microbiol. Lett., Vol. 365, 1-6(fnx258), doi: 10.1093/femsle/fnx258, 2017. 査読有

Tomoyasu, T., Yamasaki, T., Chiba, S., Kusaka, S., Tabata, A., Whiley, R. A., Nagamune, H., Positive- and negative-control pathways by blood components for intermedilysin production in *Streptococcus intermedius*, Infect. Immun., Vol. 85 (9), 1-17(e00379-17), doi: 10.1128/IAI.00379-17, 2017. 査読有

[学会発表](計22件)

日野はるか, 岡畑達也, 田端厚之, 高尾亜由子, 大國寿士, 小椋義俊, 友安俊文, 林哲也, 前田伸子, 長宗秀明, 「*S. mitis* におけるコレステロール依存性細胞溶解毒素の遺伝子分布パターンと細胞障害性の関連

性」, 第91回日本細菌学会総会, 2018年3月27日, 福岡国際会議場(福岡県, 福岡市)

Tomoyasu, T., Tabata, A., Chiba, S., Yamasaki, T., Kusaka, S., Takeda, N., Tamaoka, M., Ohkura K., Whiley, R.A., Nagamune, H., Positive and negative control mechanism of pathogenicity expression in *Streptococcus intermedius*, The 20th Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases, 16th Oct 2017, Sofitel Fiji Resort and Spa, Fiji (Nadi)

岡畑達也, 村上漱, 田端厚之, 小椋義俊, 林哲也, 高尾亜由子, 大國寿士, 友安俊文, 前田伸子, 長宗秀明, 「*Streptococcus mitis* が保有するコレステロール依存性細胞溶解毒素遺伝子周辺における遺伝子配座の多様性」, 第90回日本細菌学会総会, 2017年3月19日, 仙台国際センター展示棟(宮城県, 仙台市)

田端厚之, 眞屋健太郎, 友安俊文, 長宗秀明, 「アンギノサス群連鎖球菌の新亜菌種が産生するストレプトリジン S ホモログの細胞障害性」, 第69回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2016年10月15日, かがわ国際会議場(香川県, 高松市)

田村郁実, 田端厚之, 村上漱, 高尾亜由子, 大國寿士, 友安俊文, 前田伸子, 長宗秀明, 「*Streptococcus infantis* 由来新規コレステロール依存性細胞溶解毒素の細胞障害特性」, 第89回日本細菌学会総会, 2016年3月23日, 大阪国際交流センター(大阪府, 大阪市)

大谷浩美, 田端厚之, 友安俊文, 長宗秀明, 「β溶血性 *Streptococcus anginosus* subsp. *anginosus* の SLS ホモログ依存的な細胞障害性」, 第89回日本細菌学会総会, 2016年3月23日, 大阪国際交流センター(大阪府, 大阪市)

他16件

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長宗 秀明 (NAGAMUNE, Hideaki)
徳島大学・大学院社会産業理工学研究部
(生物資源産業学域)・教授
研究者番号: 40189163

(2) 研究分担者

友安 俊文 (TOMOYASU, Toshifumi)
徳島大学・大学院社会産業理工学研究部
(生物資源産業学域)・准教授
研究者番号: 20323404

田端 厚之 (TABATA, Atsushi)
徳島大学・大学院社会産業理工学研究部
(生物資源産業学域)・講師
研究者番号: 10432767