

平成 22 年 4 月 4 日現在

研究種目：特定領域研究
 研究期間：2005～2009
 課題番号：17019021
 研究課題名（和文） 細菌による致命的軟部組織感染症の発症機構の解明および予防・治療への応用
 研究課題名（英文） Analysis in pathogenesis of bacterial lethal soft-tissue infection and application to prevention and therapy.
 研究代表者
 清水 徹 (SHIMIZU TOHRU)
 金沢大学・医学系・教授
 研究者番号：80235655

研究成果の概要（和文）：ともに重篤な軟部組織感染症（ヒト喰いバクテリア）を引き起こすウェルシュ菌と A 群レンサ球菌について、ゲノム配列解析や DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析を精力的に進め、それぞれの菌における、non-coding RNA の病原性への関与などの共通性や、ゲノムの持つ特徴や病原遺伝子発現制御系の違いをなど明らかにした。これらの研究成果は外部からの遺伝子発現制御という新規戦略において重要なものであり、今後感染症を予防・治療する上でのターゲット分子の特定に役立つ知見が得られた。

研究成果の概要（英文）：In *Clostridium perfringens* and *Streptococcus pyogenes*, both of which causes severe soft-tissue infection (flesh-eating bacteria), we proceed comprehensive analyses by genome sequencing and DNA microarray experiments. We found that these bacteria share common mechanism using small non-coding RNA for the control of virulence expression and that both have different unique mechanism for genome maintenance and total regulatory system for virulence control. These research would be important for finding molecular targets for prevention and/or therapy, which will lead to the innovation of new bacterial infection control.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	21,000,000	0	21,000,000
2006 年度	21,100,000	0	21,100,000
2007 年度	20,900,000	0	20,900,000
2008 年度	20,500,000	0	20,500,000
2009 年度	20,500,000	0	20,500,000
総計	104,000,000	0	104,000,000

研究分野：病原細菌学

科研費の分科・細目：基礎医学・細菌学（含真菌学）

キーワード：細菌感染症、ゲノム解析、トランスクリプトーム、遺伝子発現制御、病原性

1. 研究開始当初の背景

近年、「人喰いバクテリア」と呼ばれるヒトの重症軟部組織炎が世界中で報告され、その急激な進行と筋肉や結合組織の広範な壊死により死に至る重篤な感染症が注目されてきている。その起因菌

としては A 群レンサ球菌、ウェルシュ菌および *Vibrio vulnificus*、*Aeromonas* などの多岐にわたる細菌が存在しているが、いまだその病態の詳細は不明の点が多い。これらの菌による軟部組織感染症は、近年増加している大地震や津波等の大災害では

多数みられ、自然環境から感染し生きた人間の中で増殖し、栄養を獲得する結果組織の壊死を引き起こすことが知られている。しかしながら、これらの菌がいかにして人体中で増殖し毒素を産生するかについては不明の点が多く残されているのが現状である。

2. 研究の目的

本研究ではこれらの軟部組織感染症を引き起こす細菌のゲノム情報をもとに、A群レンサ球菌、ウェルシュ菌が引き起こす軟部組織壊死に関与する病原遺伝子群を同定し、それらの発現が調節される機構の詳細を解明し、宿主因子の関与を含めた病原因子産生調節機構に関する解析結果をもとにして、この重篤な感染症の予防あるいは治療方法への応用を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

本計画を実行するにあたっては、ウェルシュ菌・A群レンサ球菌ともに軟部組織の破壊・壊死を特徴とすることから、重篤な軟部組織感染症を引き起こす普遍的および特異的な病原性発現メカニズムの双方が存在すると考えられ、菌種を超えた共通の発症メカニズムを探る方向で研究を進めていく。また、ウェルシュ菌 strain 13 と A 群レンサ球菌 SSI-1 株のゲノム情報をもとに世界に先駆けて作成した DNA マイクロアレイによる共通の方法論を用いることによって、軟部組織感染症の発症を支配する菌の病原性発現調節および環境や宿主側の要因の影響などについて多面的な解析をおこなっていく。

研究はウェルシュ菌・A群レンサ球菌について、ゲノムに存在する多数の二成分制御系による病原遺伝子発現調節機構を解析するために、ウェルシュ菌ゲノムに存在する 28 個の二成分制御系遺伝子および A 群レンサ球菌ゲノムに存在する 13 個の二成分制御系遺伝子の破壊株をそれぞれの菌で作製し、それぞれの二成分制御系遺伝子破壊が菌にとって致死的であるかどうかを確認した上で、DNA マイクロアレイによる全遺伝子発現プロファイリングを行ない、病原性遺伝子や代謝系遺伝子の発現に影響を与える制御ネットワークを明らかにする。これらの解析から得られたデータを、既知の病原性に強く関与する二成分制御系システム（ウェルシュ菌では VirR/VirS、A 群レンサ球菌では *mga* 等）の発現プロファイルと比較検討し、病原遺伝子の発現に影響を与えるネットワークを特定する。同時にそれぞれの菌において全二成分制御系のもとで既知の病原遺伝子と同じ発現パターンを示す遺伝子群を選別し、これ

らを新規な病原遺伝子としてリストアップすることも行い、ウェルシュ菌や A 群レンサ球菌の病原性に関与する病原遺伝子候補として以後の解析において注目していく。

次に、環境要因や宿主要因がこれらの制御ネットワークにどのような影響を与え、どのように病原遺伝子発現を修飾するかを検討していく。さまざまな環境（温度、pH、ストレス存在下など）のもとでの各変異株における遺伝子発現プロファイルの変化をマイクロアレイ上で明らかにし、環境因子や宿主因子による二成分制御系システムへの影響や病原遺伝子群に対する発現調節を解析する。特に血清や細胞などのヒトの生体成分によって病原遺伝子発現がどのように影響を受けるかについて詳細に解析し、それぞれの菌に対する宿主要因の作用や常在環境の影響についての知見を得る。ウェルシュ菌には複数の細胞外フェロモンによる病原性調節機構が存在することが明らかになっており、これらの細胞間コミュニケーションが病原性に及ぼす影響の解析やそれらのレセプターとなる二成分制御系の同定などをマイクロアレイにて行なう。A 群レンサ球菌の遺伝子発現は通常の培養で用いられる培地中と、培養細胞株に感染させた場合などでは異なることが報告されているため、細胞に感染させた A 群レンサ球菌での発現パターンに変化が認められる病原遺伝子をマイクロアレイにて同定していく。

4. 研究成果

ウェルシュ菌の二成分制御系レスポンスレギュレーターの一つである VirR タンパクの結合配列を持つゲノム上の新規遺伝子 3 つ (alpha-clostripain, CPE0845, CPE0920) を解析し、VirR タンパクがこれらの遺伝子のプロモーター部位にある VirR 結合配列に直接結合し転写を正に制御することや、これらのうち CPE0920 と CPE0845 遺伝子が毒素遺伝子群に対する転写調節 RNA として作用していることを明らかにした。これによりウェルシュ菌の VirR/VirS システムは、VR-RNA, theta-toxin, alpha-clostripain, CPE0845, CPE0920 の 5 つの遺伝子のみを直接制御し、他の毒素や酵素の遺伝子は VR-RNA を介して制御されることが推測された。

ウェルシュ菌のゲノム配列をもとにして、染色体全遺伝子 (2,660) をそれぞれに特異的 primer set を用いて PCR で DNA 断片を増幅し、それらをスライドガラス上に配置したカスタム DNA マイクロアレイを作製した。これらの DNA マイクロアレイを用いてウェルシ

ユ菌の病原性調節系である VirR/VirS-VR-RNA 制御系を解析したところ、300 以上の遺伝子が制御下にあると推測され、このうち RT-PCR によって制御を確認した結果、147 遺伝子が確実に制御されることが明らかになった。これらの遺伝子については、病原遺伝子のほかにエネルギー産生、アミノ酸代謝、糖代謝系などの多数の遺伝子群の発現が影響を受けていることが明らかになった。マイクロアレイのデータをもとに、ウェルシュ菌の myo-Inositol オペロンが VirR/VirS-VR-RNA システムによって正に調節されることを確認し、イノシトール代謝を代表とするウェルシュ菌のエネルギー産生系遺伝子群にも VirR/VirS システムが影響を与えることを明らかにした。また、ゲノム解析では機能未知であった遺伝子 (CPE1368) を解析したところ、VirR/VirS-VR-RNA によって負に転写調節される DNA 分解酵素 (DNase) をコードする遺伝子であることが判明し、また、この DNase は細胞壁にアンカーされている酵素であり、本菌の病原性および外部からの核酸獲得系に寄与していることが示唆された。

さらにウェルシュ菌については、菌自身が分泌し毒素を始めとする病原性因子の発現を集团的に制御する細胞間情報伝達物質 VAP (virulence activating pheromone) の解析と、菌の病原性発現を刺激する宿主側因子の解析を行い、28 の二成分制御系遺伝子破壊株を用いてこれら外的因子による遺伝子制御ネットワーク解析をも平行して行った。先に決定したウェルシュ菌ゲノム配列より、黄色ブドウ球菌のクオラムセンシング機構を担う *agrB* と相同な遺伝子が 2 個同定され、そのうちの 1 つ、CPE1561 の下流に ORF と定義されていなかった小さな ORF が存在し、これが黄色ブドウ球菌のクオラムセンシングに関与するペプチドをコードする *agrD* ホモログであることが判明した。*agrBD* 遺伝子の破壊株をウェルシュ菌で作製したところ、複数の毒素遺伝子の転写はまったくみられず、毒素タンパクの産生もないことから、ウェルシュ菌の病原性発現制御に深く関与する調節遺伝子であるものと思われた。さらに、*agrBD* の破壊株は細胞外シグナル物質 VAP を分泌せず、野生株の産生する VAP を受け取ると多数の毒素遺伝子の転写レベルでの発現が誘導された。この細胞間シグナル物質は、44 アミノ酸からなる AgrD が AgrB タンパクによるプロセッシングを受けてできる低分子ペプチド (8 アミノ酸) であることが考えられ、合成ペプチド等を用いて現在その性状を解

析中である。しかしながら黄色ブドウ球菌の AgrD ペプチドの例を考えると、VAP もシステインを介したチオラクトン環を形成している可能性が高く、今後環状構造を持つ VAP の人工合成を共同研究などにより試みる必要があると思われる。

さらに細胞外に分泌された VAP を感知するセンサータンパクの同定を試みた。*agrBD* 変異株と二成分制御系 *virR/virS* 遺伝子変異株とのマイクロアレイ発現解析の結果を比較すると、ほぼ共通の遺伝子群が両者によって制御されることが示唆された。よって VirR/VirS が VAP のレセプターとなり、細胞内にシグナルを送り、毒素などの遺伝子発現を調節することが考えられた。そこで、*agrBD* と *virR/virS* の二重欠変異株を作製したところ、野生株の VAP 刺激には反応 (毒素産生) が見られなくなり、完全な *virR/virS* 遺伝子を相補することにより、VAP への反応が劇的に回復した。これらのことより、分泌された VAP は細胞膜のセンサーである VirS を活性化し、続いて細胞内の VirR をリン酸化により活性化し、さまざまな遺伝子発現調節が行なわれるものと考えられ、ウェルシュ菌の細胞外・細胞内シグナル伝達機構の詳細が初めて明らかになった。

また、宿主側因子の解析では、感染宿主であるヒトの血液・血清を培養したウェルシュ菌に加えると、病原因子と考えられるシアリダーゼやシアル酸代謝系酵素群などを含む多数の遺伝子の発現が変化することがマイクロアレイ解析により明らかになってきた。この血清中の誘導因子は分子量 10 万以上でタンパク性のもので推測された。現在、ヒト血清をカラムなどを用いて分画し誘導因子の同定を試みている。さらに、すでに作製した 28 の二成分制御系遺伝子破壊株すべてに対して血清による刺激を行ったところ、4 種の二成分制御系欠損株においてシアリダーゼ遺伝子発現の誘導が減弱していたことから、これらの二成分制御系が血清中の誘導因子を感知するものと思われた。現在のところ、今まで知られていなかった二成分制御系 TCS12 と TCS16 の双方が共同して血清中の誘導因子を感知することが示唆され、宿主側らに詳しく解析を進めている。

本特定領域研究を通じて、これまでに様々な条件下にてウェルシュ菌の遺伝子転写制御に関するマイクロアレイ実験を行ってきた。用いた実験条件は、28 の二成分制御系遺伝子破壊株、VirR/VirS, VR-RNA, *virX* などの転写調節遺伝子破壊株、黄色ブドウ球菌、大腸菌、バクテロイデスなどの菌とウェルシ

菌を共存させた条件、ヒトヤウマ血清を添加した条件、など様々なものを試みた。これらのデータを各実験個別に解析するのが当初の目的であったが、全データを総合的に解析するため、それぞれの遺伝子の転写の増減とその他の遺伝子の増減のパターンについて、Pearson の相関係数を計算し、相関係数の高いもの（どの実験条件においても常に発現パターンが同じ）をピックアップし、それらの遺伝子のゲノムにおける位置などを考慮することにより、いわゆるオペロンを構成する遺伝子群とレギュロンを構成する電子群の候補が多数得られた。

実際にはこれまでに蓄積してきた 250 枚の DNA マイクロアレイ実験のデータから 100 数個の信頼できるデータセットを選び出し、それらを用いて遺伝子ごとの発現パターンの相関係数を解析した。その中で様々な実験条件においても常に同じ発現変化のパターンを示す遺伝子群（オペロンなど）を抽出したところ、約 350 のオペロンが推測され、遺伝子数にすると約 1,000 の遺伝子がこれらのオペロンを構成していることが推察された。同じ解析結果から、ゲノム上の位置は離れているものの常に同じ発現パターンを示す遺伝子群（レギュロン）がはっきりと推測された。その中には数個の遺伝子から構成されるものから、数百の遺伝子群からなるレギュロンが多数存在していた。それぞれのレギュロンと二成分制御系、既知の制御系遺伝子などとリンケージを取ることによって、どのレギュロンがどの制御系遺伝子と関連しているかについても解析し、ウェルシュ菌の遺伝子発現ネットワークをほぼ網羅していると思われる巨大なネットワーク群を構築することができた。

このうちの 1 つのレギュロンに含まれる遺伝子群を調べたところ、以前に我々が同定した毒素遺伝子に対する転写調節 RMA である *virX* (Ohtani, et.al., FEMS Microbiol. Lett., 209: 113-118, 2002) によって様々な遺伝子が調節されていることが示唆された。これら遺伝子群の発現に対する *virX* の影響をノザン解析により調べたところ、シアリダーゼ、3 種のヒアルロニダーゼ、プラスミド上の hypothetical 遺伝子群、さらに芽胞（孢子）形成に関与する遺伝子群(*spo0A*, *sigF*, *sigE*, *sigG*, sporulation proteins など)の発現を *virX* が転写レベルで強く抑制していることが明らかになった。このことは、従来主要な毒素遺伝子の転写を正に制御すると考えられていた *virX* がよりグローバルにさまざまな遺伝子の発現を負に調節していることを示し、特にこれ

まで不明であったウェルシュ菌の芽胞形成制御にも関与していることが強く示唆された。

A 群レンサ球菌については、まず本菌の細胞内への侵入メカニズムおよび細胞内での動態について解析を行った。A 群レンサ球菌は菌体表層のフィブロネクチン結合タンパクを介して、細胞表面の a5b1 インテグリンとの結合を介して細胞内へ侵入する。電子顕微鏡を用いた観察から侵入の初期過程においては細胞膜にくるまれた菌が観察されることからファゴサイトーシスあるいはエンドサイトーシスを介して細胞内に侵入することが考えられた。そこでエンドサイトーシス過程で細胞膜の融合に関わるダイナミンのドミナントネガティブ発現ベクターを細胞内に強発現させたところ、本菌の細胞内への侵入は著しく抑制された。また、初期エンドソームのマーカである p40PX ドメイン、あるいは PI3 キナーゼの FYVE ドメインの EGFP 融合タンパクを発現させると、これらの膜マーカーにくるまれた菌体が観察された。このような細胞内へのエンドサイトーシスを介した侵入はフィブロネクチン結合タンパクを欠失させた変異株では観察されないことから、本菌はエンドサイトーシス経路を介して細胞内に侵入することが推察された。さらに経時的な観察をおこなったところ、感染後 2 時間から 3 時間でエンドサイトーシス膜にくるまれた菌体は細胞内で観察されなくなったことから、細胞質内へ脱出あるいは後期エンドソーム内に移動していることが推察された。A 群レンサ球菌にはリステリア菌の食胞からの脱出に必須なリステリオリシン O のホモログであるストレプトリジン O (SLO) 遺伝子が存在している。この SLO 遺伝子の欠失株ではエンドソームからの脱出がみとめられなくなり、感染後 4 時間を経過してもエンドソーム内に留まっていることが明らかとなった。これらの結果から、A 群レンサ球菌はエンドソーム経路を介して細胞内に侵入した後に SLO により膜を破壊して細胞質内に脱出することが推察された。細胞質内への脱出は、いわゆる細胞内寄生性細菌が細胞内で増殖するための最初のステップであることから、A 群レンサ球菌は細胞内で増殖する能力をもっていることが推察された。

A 群レンサ球菌 SSI-1 株の全ゲノム配列を元に、全ゲノムタイリングアレイの設計・作製を行いその遺伝子発現を定量的に解析するシステムを開発した。プローブ長を 50-75bp の幅でかつ 30bp のオーバーラップとなるような設計を行い、プローブ全体として isothermal なプローブとなるように、プラス鎖、マイナス鎖双方に 378840 個のプローブで全ゲノムをカバーするような設計をおこなった。コントロールとして GC 含量が 38% となるようなランダム配列なプローブを同時に設計し、合計 389,325 個のプローブを 1 枚のアレイ上に作製した。また前年度の課題

であった高純度の RNA の抽出プロトコールを見直すと共に、RNA のラベル方法にも改良を加え、RNA を直接ラベルすることによりプラス鎖、マイナス鎖それぞれに発現している遺伝子の発現を高感度に検出する方法を開発した。SSI-1 株の各増殖期における遺伝子発現調べたところ、Early log 期においては、全遺伝子中の 91%での発現が認められたが、mid-log 期では 61%、late-log 期で 71%、stationary 期では 88%と発現している遺伝子数が増えていく傾向が認められた。これらの 77 遺伝子を抽出して real-time RT-PCR による遺伝子発現量を検定したところ、real-time RT-PCR で得られた結果とタイリングアレイで得られた結果が正の相関を示した。各フェーズでは、増殖初期から中期にかけては菌の分裂に必至な遺伝子群だけでなく、菌の初期付着に必要な M タンパクや細胞質内への菌の脱出に必須である SLO 遺伝子の発現が上昇していた。増殖後期には解糖系の酵素群や ABC トランスポーターや一部の二成分制御系の遺伝子が、また後期から定常期にかけてはファージにコードされる外毒素や non-coding RNA (ncRNA)の発現が、定常期にはファージにコードされるヘモリシンや DNA 修復系の酵素群、タンパク分解系の酵素群の発現が上昇しており、今まで不明であった A 群レンサ球菌の遺伝子発現の各増殖フェーズにおける遺伝子発現の絶対的な定量値による比較やオペロンの同定、non-coding RNA の発現などを明らかにすることが可能となった。特にタイリングアレイの解析により新たに 30 個以上の ncRNA の候補となる遺伝子領域が明らかとされたため、病原性との関わりについてさらに解析を加える予定である。

また実際の感染時における遺伝子発現の変化を調べるため、A 群レンサ球菌を種々の細胞に感染させ、マイクロアレイにより、オートファジーによる分解が起こる感染後 4 時間まで 1 時間おきに細胞内の A 群レンサ球菌の発現解析を行った。HeLa 細胞に感染した A 群レンサ球菌において、感染後、全ての時間で共通して高い発現を示した遺伝子数は 128 個、咽頭上皮由来の Kyse510 細胞に感染させた場合では 72 個であった。両方の細胞で共通かつ感染前の菌で発現が低かったのは、19 個の遺伝子で、転写制御因子や RNA 結合タンパク質がみられたが、60%程度が未知の遺伝子であった。また、オートファジー欠損細胞内での A 群レンサ球菌の遺伝子発現パターンと比較したところ、リボソームタンパク質 S13 のみが野生型の細胞に感染した

場合に高い発現を示しており、A 群レンサ球菌のオートファジー存在下での生存に関わっている可能性が考えられた。また、感染前の A 群レンサ球菌と比較して、感染後 1 時間目に発現を 1.5 倍以上変化させていた遺伝子は全 ORF の 43%に及び、オートファジーによる作用を受けていると考えられる 3, 4 時間目には 10%程度の遺伝子が発現を変化させていた。そして細胞のオートファジーの有無が、同じ感染時間の A 群レンサ球菌の遺伝子発現パターンの変化に大きく影響し、全 ORF の 8%の遺伝子発現に差が生じていた。また、オートファジー欠損型細胞と比較し、オートファジー存在下でのみ発現が上昇する遺伝子が 26 個見られた。このうちの 7 個の遺伝子は、オートファジー欠損型の宿主に感染した場合は発現が 1.5 倍以上減少していた。そのため、リボソームタンパク質を含む 8 個の遺伝子についてノックアウト株の作製を行い、機能解析を行う予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 25 件)

1. Ohtani, K., Hirakawa, H., Tashiro, K., Yoshizawa, S., Kuhara, S., and Shimizu, T., Identification of a two-component VirR/VirS regulon in *Clostridium perfringens*, Anaerobe, in press (2010) 査読有
2. Wang, R., Ohtani, K., Wang, Y., Yuan, Y., Hassan, S., and Shimizu, T., Genetic and biochemical analysis of a class C nonspecific acid phosphatase (NSAP) of *Clostridium perfringens*, Microbiol., 156, 167-173 (2010) 査読有
3. Vidal, J. E., Ohtani, K., Shimizu, T., and McClane, B. A., Contact with enterocyte-like Caco-2 cells induces rapid upregulation of toxin production by *Clostridium perfringens* type C isolates, Cell. Microbiol., 11, 1306-1328 (2009) 査読有
4. Ohtani, K., Yuan, Y., Hassan, S., Wang, R., Wang, Y., and Shimizu, T., Virulence gene regulation by the agr system in *Clostridium perfringens*, J. Bacteriol., 191, 3919-3927 (2009) 査読有
5. Maruyama, F., Kobata, M., Kurokawa, K., Nishida, K., Sakurai, A., Nakano, K., Nomura, R., Kawabata, S., Ooshima, T., Nakai, K., Hattori, M., Hamada, S., and Nakagawa, I., Comparative genomic analyses of *Streptococcus mutans* provide insights into chromosomal shuffling and species-specific content, BMC Genomics, 10, 358 (2009) 査読有
6. Maruyama, F., Nozawa, T., Aikawa, C., Sakurai, A., and Nakagawa, I., Cost-effective

DNA sequencing and template preparation from bacterial colony and plasmid, *J. Biosci. Bioeng.*, 107, 471-473 (2009) 査読有

7. Sakurai, A., Okahashi, N., Maruyama, F., Ooshima, T., Hamada, S., and Nakagawa, I., *Streptococcus pyogenes* degrades extracellular matrix in chondrocytes via MMP-13, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 373, 450-454 (2008) 査読有

8. Lapirottanakul, J., Nakano, K., Nomura R., Hamada, S., Nakagawa, I., and Ooshima, T., Demonstration of mother to child transmission of *Streptococcus mutans* using multilocus sequence typing, *Caries Res.*, 42, 466-474 (2008) 査読有

9. Okumura, K., Ohtani, K., Hayashi, H., and Shimizu, T., Characterization of Genes Regulated Directly by the VirR/VirS System in *Clostridium perfringens*, *J. Bacteriol.*, 190(23), 7719-7727 (2008) 査読有

10. Mendez, M., Huang, I.H., Ohtani, K., Grau, R., Shimizu, T., and Sarker, M.R., Carbon catabolite repression of type IV pilus-dependent gliding motility in the anaerobic pathogen *Clostridium perfringens*, *J. Bacteriol.*, 190, 48-60 (2008) 査読有

11. Nakano, K., Nakano, K., Lapirottanakul, J., Nomura, R., Nemoto, H., Alaluusua, S., Gronroos, L., Vaara, M., Hamada, S., Ooshima, T., and Nakagawa, I., *Streptococcus mutans* Exhibits Clonal Variation as Revealed by Multilocus Sequence Typing, *J. Clin. Microbiol.*, 45, 2616-2625 (2007) 査読有

12. Tamai, K., Tanaka, K., Nara, A., Yamamoto, A., Nakagawa, I., Yoshimori, T., Ueno, Y., Shimosegawa, T., and Sugamura K., Involvement of Hrs in Destruction of Group A *Streptococcus* (GAS): Regulation of Autophagosome Maturation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 360, 721-727 (2007) 査読有

13. Kato T, Kawai S, Nakano K, Inaba H, Kuboniwa M, Nakagawa I, Tsuda K, Omori H, Ooshima T, Yoshimori T, Amano A., Virulence of *Porphyromonas gingivalis* is altered by substitution of fimbria gene with different genotype, *Cell. Microbiol.*, 9, 753-765 (2007) 査読有

14. Amano A, Nakagawa I, Yoshimori T., Autophagy in innate immunity against intracellular bacteria., *J. Biochem. (Tokyo)*, 140, 161-166 (2006) 査読有

15. Nakano N, Lapirottanakul J, Nomura R, Nemoto H, Alaluusua S, Gronroos L., Vaara M, Hamada S, Ooshima T, Nakagawa I., *Streptococcus mutans* exhibits clonal variations as revealed by multilocus sequence typing, *J. Clin.*

Microbiol., J. Clin. Microbiol., 45, 2616-2625 (2007) 査読有

16. Nakano, K., Nomura, R., Nakagawa, I., Hamada, S., and Ooshima, T., Role of glucose side chains with serotype-specific polysaccharide in the cariogenicity of *Streptococcus mutans*, *Caries Res.*, 39:262-268 (2005) 査読有

17. Okumura, K., Kawsar, H.I., Shimizu, T., Ohta T., Hayashi H., and Shimizu, T., Identification and characterization of a cell-wall anchored DNase gene in *Clostridium perfringens*, *FEMS Microbiol. Lett.*, 242:281-285 (2005) 査読有

[学会発表] (計 35 件)

1. Shimizu, T., Complex regulatory networks for virulence in *Clostridium perfringens*, The 6th Clostridia: The Impact of Genomics on Disease Control, 2009.10.21, Istituto Superiore di Sanita Hall Pocchiari, Italy.

2. Ohtani, K. Biological signaling to gene expression in *Clostridium perfringens*, The 5th Clostpath 2006, 2006.6.24, Hugh Stewart Hall, Nottingham Univ., U.K.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水 徹 (SHIMIZU TOHRU)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：80235655

(2) 研究分担者

大谷 郁 (OHTANI KAORI)

金沢大学・医学系・講師

研究者番号：30377410

中川 一路 (NAKAGAWA ICHIRO)

東京医科歯科大学・医歯薬総合研究科・教授

研究者番号：70294113