

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02166

研究課題名(和文)動物細胞外マトリックスを標的とする微生物叢の動態と定着機構の解明及びその応用展開

研究課題名(英文)Elucidation of dynamics and colonization mechanisms of microbiota targeting animal extracellular matrices and their application development

研究代表者

橋本 渉 (Hashimoto, Wataru)

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：30273519

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：動物宿主細胞に定着や侵入するために宿主細胞外マトリックス(グリコサミノグリカン：GAG)を標的とする微生物叢に関して、GAGの一種であるヒアルロン酸存在下での微生物叢の動態と分子応答を各種オーム解析により明らかにした。また、病原細菌(StreptobacillusとStreptococcus)と常在細菌[善玉菌(Lactobacillus)、悪玉菌(Clostridium)、日和見菌(Bacteroides)]を対象に、各細菌のGAGを標的とする分子機構を同定し、その立体構造をX線結晶構造解析により決定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

各組織(腸内等)に優占する細菌が動物宿主から分泌される粘液物質を栄養素として生育した。宿主の食事に依存せずに腸内に恒常的に存在する粘液物質に対する資化性は腸内に優占種として存在する要因の一つと考えられ、微生物叢の常在化(定着や増殖)を理解する上で重要である。また、病原細菌と常在細菌のグリコサミノグリカン標的分子機構の実体解明は、病原細菌の感染防御と善玉菌の優勢増殖を図ることに繋がり、疾患抑制と健康増進に資することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Regarding microbiota targeting animal extracellular matrices such as glycosaminoglycans for microbial infection and adhesion to host cells, dynamics of microbiota and its molecular systems in response to glycosaminoglycans were clarified through multiomics. GAG-targeting molecular systems were identified in pathogenic bacteria (Streptobacillus and Streptococcus) and indigenous bacteria (probiotic Lactobacillus, harmful Clostridium, and opportunistically pathogenic Bacteroides), and tertiary structures of some systems were determined by X-ray crystallography.

研究分野：応用微生物学

キーワード：微生物叢 グリコサミノグリカン 常在機構 感染機構 プロバイオティクス X線結晶構造解析

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

グリコサミノグリカン (GAG) は、主にウロン酸とアミノ糖から成る二糖の繰り返し配列をもつ酸性多糖であり、動物の細胞外マトリックスの主要な構成成分として、細胞間のシグナル伝達や物理的緩衝、細胞の分化と増殖、水分保持等多面的な機能を示す (①)。ウロン酸としてはグルクロン酸 (GlcA) 或いはイズロン酸 (IdoA) が存在し、アミノ糖として (アセチル化) グルコサミン或いはガラクトサミンが含まれる。その構成糖と糖結合様式や硫酸化レベルの相違により、GAG はヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸等に分類される。ヒアルロン酸とコンドロイチン硫酸ではウロン酸とアミノ糖が 1,3-結合で繋がっているのに対し、ヘパリンとヘパラン硫酸は 1,4-結合を示す。

グラム陽性の化膿性溶血型連鎖球菌 (*Streptococcus*) は、動物に重篤な疾患を誘発する (②)。肺炎の起病因菌である肺炎球菌はその典型であり、他にも敗血症や心内膜炎等を発症する連鎖球菌が存在する。病原性を示す数種の連鎖球菌は、ヒアルロン酸を細胞表面のヒアルロン酸リアーゼ (HysA) により二重結合をもつ不飽和二糖に断片化し、宿主細胞へ感染・侵入することが示唆されている (③)。他の病原細菌 (ブドウ球菌、ビブリオ菌等) も本酵素を産生し、その病原性への関与が指摘されている。そのため、宿主細胞外マトリックスを標的とする病原細菌の感染・侵入機構について、その全容解明と阻害剤開発が医薬分野を始めとして求められている。

一方、常在細菌に関して、腸管において優占種である *Bacteroides* 属細菌が、ヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸を分解することを本研究者らも含めた種々の研究者により示されている (④)。また、本研究者らは、ヒト糞便やタイプカルチャーを用いた研究により、腸球菌 (*Enterococcus*) や乳酸菌 (*Lactobacillus*) 等の常在善玉菌がヘパリンを分解することを初めて明らかにした (⑤)。したがって、常在細菌と病原細菌の中には、GAG を栄養源として分解することにより宿主に定着し、さらに宿主細胞に感染・侵入できる病原細菌により疾患が発症する微生物叢モデルが考えられる。これまでに、本研究者らを中心に、連鎖球菌を対象としたヒアルロン酸の断片化・分解・代謝機構が明らかにされているが (⑥)、GAG を標的とする多様な細菌における分子機構 (特に、GAG の認識と輸送系) については不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究者らは、断片化 GAG を単糖に分解する酵素 (不飽和グルクロニルヒドロラーゼ: UGL) の実体を初めて解明したことにより、多数の病原細菌 (連鎖桿菌、連鎖球菌等) と常在細菌 (ウェルシュ菌、乳酸菌等) のゲノムに GAG の断片化・輸送・分解・代謝に関わる GAG 遺伝子クラスターを独自に見出し、それらの分子機構の構造と機能を解析している (⑥)。また、ヒト糞便から GAG 分解菌が容易に分離されること、及びメタゲノム解析により UGL 遺伝子保持細菌が高頻度 (腸内細菌の約 10%以上) に検出されることを明らかにしている。つまり、腸管における GAG 分解微生物群の優占 (GAG 標的微生物叢の存在) が強く示唆される。さらに、GAG 遺伝子クラスターの多様性を見出し、最近、病原性連鎖桿菌 (*Streptobacillus*) に、断片化 GAG を細胞内に輸送する新たな ABC トランスポーターを分子同定した (⑦)。そこで、本研究では、GAG に作用する代表的なモデル細菌として、病原細菌 (*Streptobacillus* と *Streptococcus*) と常在細菌 [善玉菌 (*Lactobacillus*)、悪玉菌 (*Clostridium*)、日和見菌 (*Bacteroides*)] を対象に、GAG を標的とする分子機構 (特に、GAG の認識と輸送系) を、ゲノム生物学・分子生物学・構造生物学の観点から解明することを目的とした。また、ヒト組織 (腸管) における GAG 標的微生物叢の動態及びそれらの分子応答を各種オミクスにより解析し、各 GAG 標的細菌の宿主への定着機構を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) X線結晶構造解析

タンパク質の立体構造解析のため、多検体スクリーニングにより結晶化条件を確立した。京都大学農学研究科或いは放射光実験施設 (SPring-8) で X 線回折データを収集し、結晶学的性質 (格子定数、空間群、分解能等) を決定した。分子置換法により位相を決定し、初期モデルを構築後、構造を精密化した。基質結合型の構造決定では、基質との共結晶を用いた。酵素・タンパク質における各残基の役割を明らかにするため、部位特異的変異体を作製し、その機能を解析した。

(2) ホスホトランスフェラーゼ系 (PTS) の輸送活性

PTS による断片化ヒアルロン酸 (不飽和二糖) の取り込みを調べるため、連鎖球菌 *Streptococcus agalactiae* の細胞をトルエンで処理し、PTS による基質の取り込みに伴って、ホスホエノールピルビン酸から生じるピルビン酸を定量することにより、PTS 輸送活性を決定した。

(3) 遺伝子破壊株の育種

標的遺伝子の中央に薬剤耐性遺伝子を挿入した組換え DNA を野生株細胞にエレクトロポレーションにより導入し、相同組換えにより標的遺伝子を破壊した株を育種した。

(4) 細菌とヒト腸管細胞との接着

競合実験の観点から、ヘパリン非存在下或いは存在下で乳酸菌によるヒト腸管細胞への接着

実験を行った。具体的には、6穴培養プレートに形成させた GAG 産生ヒト腸管細胞培養株 Caco-2 の単一層に、ヘパリン非存在下または存在下で乳酸菌を添加し作用させた。その後、非特異的に相互作用していた乳酸菌を洗浄除去し、Caco-2 細胞に接着していた菌体数を計測することにより、ヘパリンを介した乳酸菌とヒト腸管細胞との相互作用を解析した。

(5) GAG 分解・代謝酵素の活性測定

イソメラーゼ KduI 活性は、逐次反応を触媒する補酵素 (NADH) 依存性脱水素酵素との共役反応により測定した。具体的には、波長 340 nm の光を吸収する NADH を定量することによりイソメラーゼ活性を決定した。ヒアルロン酸リアーゼの酵素活性は、反応により生じる不飽和糖を波長 235 nm の吸光度を計測することにより算出した。

(6) オミクス

網羅的な遺伝子発現は RNAseq 解析により、菌叢はアンプリコン解析により、それぞれ次世代シーケンサーを用いて決定した。

(7) 膜小胞の検出

細菌の培養菌体を固定し、走査型電子顕微鏡解析により膜小胞の産生を評価した。

4. 研究成果

(1) 病原細菌 (*Streptobacillus* と *Streptococcus*) のヒアルロン酸標的機構

齧歯類の口腔内に常在するグラム陰性連鎖桿菌 *Streptobacillus moniliformis* は、ヒトに対して鼠咬症等の疾患を引き起こす病原細菌である。これまでに本研究者は、*S. moniliformis* が 1,3-結合型のヒアルロン酸とコンドロイチン硫酸を分解し、ABC トランスポーターを介して不飽和 GAG 二糖を細胞内に取り込むことを明らかにしている (⑦)。本菌に見出した両 GAG を認識するタンパク質 (ABC トランスポーターと連携するペリプラズム局在性基質結合タンパク質 Smon0123) について、不飽和ヒアルロン酸二糖との複合体の立体構造を X 線結晶構造解析により分解能 2.3 Å で決定した (図 1A)。N-と C-ドメインから構成される Smon0123 は、分子中央のクレフトで不飽和ヒアルロン酸二糖と結合し、基質が結合していない状態と比較すると両ドメインを 47° 閉じた構造に変化させていた。既に立体構造を決定している Smon0123 と不飽和コンドロイチン二糖との複合体と構造比較した結果、Smon0123 はクレフト内のアミノ酸残基 (Glu90, Arg204, Lys210, Trp284, Arg322, Arg393, Gln398, Gln405, Glu410 等) で共通して両基質を認識することがわかった (図 1B, C)。一方、不飽和ヒアルロン酸二糖と不飽和コンドロイチン二糖では、アミノ糖の C4 位水酸基の配向性が異なるため、Smon0123 はその特異的な認識には水分子の位置を変化させていることが示された (図 1C)。Smon0123 は両基質と同程度の親和性で結合することから、結合するアミノ酸残基は共通で、水分子の配置を変化させることにより、その結合能を保持していることが考えられる。

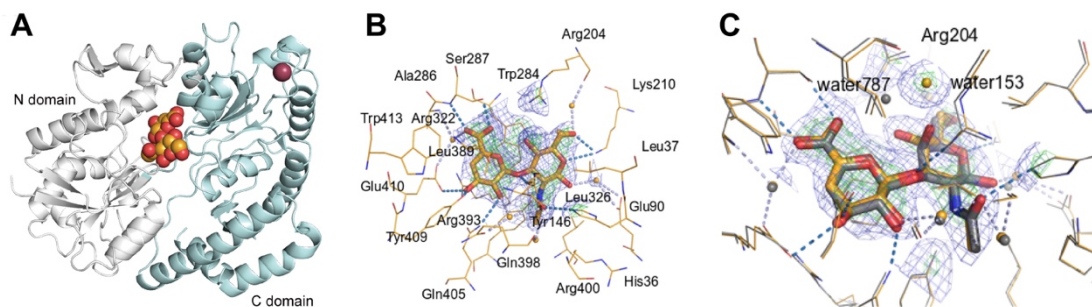


図 1. Smon0123 と不飽和ヒアルロン酸二糖との複合体の立体構造

(A) 全体構造 (赤/黄玉：不飽和ヒアルロン酸二糖、紫玉：カルシウム)、(B) 不飽和ヒアルロン酸二糖 (電子密度マップ/橙スティックモデル) の結合部位、(C) 基質結合部位での相互作用比較 (不飽和ヒアルロン酸二糖：橙スティックモデル、不飽和コンドロイチン二糖：灰スティックモデル)

グラム陽性連鎖球菌 *Streptococcus agalactiae* は、敗血症や髄膜炎等の重篤な疾患の起因菌であるが、ヒト腸内や膣内に常在する。本研究らを含む先行研究により、*S. agalactiae* がヒアルロン酸を細胞外で断片化し、PTS IIABCD 複合体 (図 2A) を介して断片化ヒアルロン酸を細胞内に取り込み資化することが示されている。一方、本菌のゲノム上にコードされる多数の PTS のうち、どの PTS が断片化ヒアルロン酸を輸送するかは不明である。また、PTS の基質である断片化ヒアルロン酸の重合度についても明らかにされていない。そこで、GAG 遺伝子クラスターにコードされる PTS に焦点をあて、カナマイシン耐性遺伝子を挿入することにより、*S. agalactiae* の PTS 遺伝子破壊株 (Δ PTS) を育種した。セロビオースは PTS により取り込まれることが知られているが、グルコサミン 6-リン酸は PTS の基質にはならない。野生株と変異株のトルエン処理細胞ではともに、セロビオース存在下で PTS 輸送活性が有意に上昇し、グルコサミン 6-リン酸では活性が認められない。また、野生株と破壊株はヒアルロン酸を分解したが、野生株は不飽和ヒアルロン酸二糖の存在下で PTS 輸送活性を顕著に増大させるのに対し、破壊株では不飽和

ヒアルロン酸二糖に対する PTS 輸送活性が検出されなかった (図 2B)。さらに、ヒアルロン酸最少培地での生育実験の結果、ヒアルロン酸資化性を示す野生株とは異なり、破壊株は生育を示さず、ヒアルロン酸を資化しなかった。したがって、GAG 遺伝子クラスターにコードされる PTS が不飽和ヒアルロン酸二糖を基質として細胞内に取り込む唯一の輸送体であることが明らかになった。なお、GAG 遺伝子クラスターの構成に多様性が見られる *S. agalactiae* NEM316 株と *S. agalactiae* JCM5671 株に関して、両株はともにヒアルロン酸を資化することから、*S. agalactiae* の普遍的なヒアルロン酸資化性が示唆された。

PTS による輸送機構の初発反応を構造生物学の観点から明らかにするため、PTS を構成する EIIA の立体構造を X 線結晶構造解析により決定した。本タンパク質は、中央の β -平行シートとその両側の α -ヘリックスからなる Rossmann-fold を基本骨格とする。大腸菌マンノース輸送 PTS の EIIA/EIIB 複合体との構造比較に基づいて、*S. agalactiae* では EIIA の His-9 残基が HPr からリン酸基を受容し、その後 EIIB にリン酸基を転移すると考えられた (図 2C)。

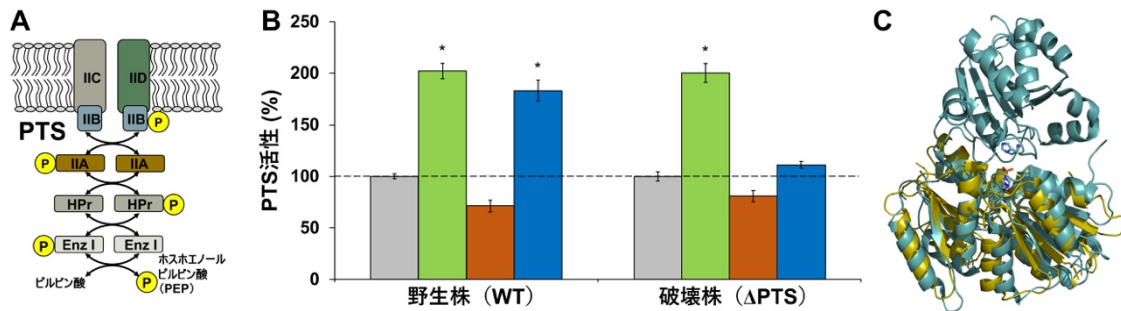


図 2. 不飽和ヒアルロン酸二糖を取り込む PTS

(A) PTS IIABCD 複合体の分子モデル (P: リン酸基)、(B) 野生株と破壊株の PTS 輸送活性 (灰: 基質なし、緑: セロビオース、橙: グルコサミン 6-リン酸、青: 不飽和ヒアルロン酸二糖) ($n = 3$, $*p < 0.05$)、(C) 連鎖球菌由来不飽和ヒアルロン酸二糖輸送 PTS EIIA (黄) と大腸菌由来マンノース輸送 PTS EIIA/EIIB 複合体 (シアン) との構造重ね合わせ

(2) 善玉菌 (*Lactobacillus*) によるヘパリンへの作用機構

プロバイオティクス効果が知られている乳酸菌として、善玉菌 *Lactobacillus rhamnosus* 及びヒト腸内から単離された *Enterococcus* 属細菌がヘパリンを分解することを見出した。また、ヘパリン添加により両乳酸菌によるヒト腸管細胞 (Caco-2) との接着が阻害されたことから、両菌がヘパリンを介して腸管細胞と相互作用している可能性が考えられた。

L. rhamnosus 由来イソメラーゼ KduI はヘパリン分解により生じた不飽和ウロン酸に作用する初発酵素である (図 3A)。実際には不飽和ウロン酸は非酵素的にピラノース環が開環し、直鎖状の α -ケト酸 (DHU) に変換される。KduI の立体構造を X 線結晶構造解析により決定した (図 3B)。この分子表面には、KduI ファミリーに高度に保存されている残基が集結するクレフトが存在する。そこで、クレフトを構成するアミノ酸残基について、部位特異的変異体の発現・精製系を構築し、それらのイソメラーゼ活性を測定した。その結果、野生型酵素と比較すると、Arg163 と His200 を Ala に置換した変異体では活性が顕著に低下した。

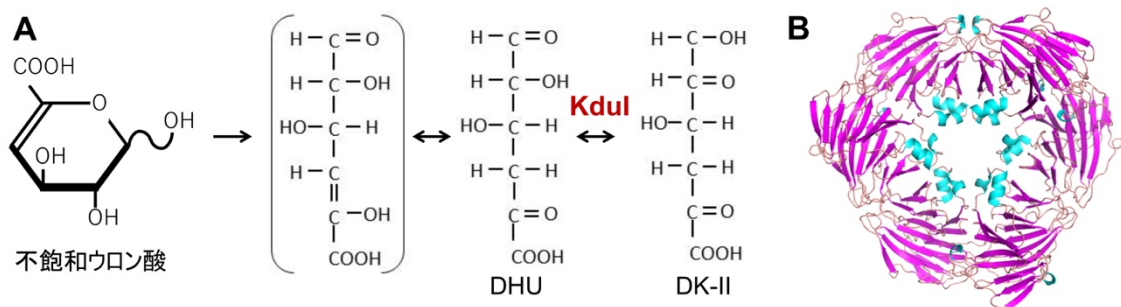


図 3. 不飽和ウロン酸の代謝と初発酵素 KduI

(A) 不飽和ウロン酸の代謝、(B) *L. rhamnosus* KduI の立体構造 (ホモ 6 量体)

(3) 悪玉菌 (*Clostridium perfringens*) のヒアルロン酸断片化酵素の実体

腸内細菌叢を構成するグラム陽性 *Clostridium perfringens* は、下痢や腹痛等を引き起こす悪玉菌であり、その病原性発現には、ヒアルロン酸分解酵素の候補として *N*-アセチルグルコサミニダーゼ (NagH や NagJ) が報告されている (8)。一方、本研究者らは、*C. perfringens* ATCC13124 株のゲノムにも GAG 遺伝子クラスターの存在を見出している。本菌株はヒアルロン酸最少様培地で良好に生育したことから、

ヒアルロン酸資化性も示すと考えられた。また、ヒアルロン酸有無による本菌株の遺伝子発現レベルを RNA-seq 解析により網羅的に調べた結果、本菌の GAG 遺伝子クラスターはヒアルロン酸存在下で顕著に (2-10 倍) 発現上昇していた。一方、ヒアルロン酸分解酵素の候補である NagH や NagJ 遺伝子の転写量はヒアルロン酸の有無にかかわらず少なかった。さらに、GAG 遺伝子クラスターにコードされるヒアルロン酸リアーゼ (HysA) に着目し、組換え大腸菌を用いて、そのヒアルロン酸分解性を評価した。その結果、HysA 発現大腸菌の細胞抽出液は、ヒアルロン酸を含む寒天培地上でヒアルロン酸分解性を示すハローを形成した。また、HysA はヒアルロン酸に直接作用し、脱離反応を触媒することが示唆された。

(4) 日和見菌 (*Bacteroides*) の GAG 分解と腸内優占性との相関

日和見菌である腸内優占 *Bacteroides* 属細菌について、多くの種が粘液層構成分子 (GAG とムチン) を炭素源のみならず窒素源としても資化することから、本細菌群の腸内優占性と粘液層分解・資化性との相関が示唆された。その分解・資化過程で、*Bacteroides thetaiotaomicron* がヒト必須アミノ酸や短鎖脂肪酸を分泌していた。また、*B. thetaiotaomicron* が菌体外に膜小胞を分泌し、膜小胞を介して GAG を分解することを明らかにした。

ヒアルロン酸存在下での腸内細菌叢バランスを調べた結果、*Bacteroides* 属細菌が著しく占有率を上昇させ、優占種となることを見出した。したがって、本細菌群の腸内優占性と粘液層分解・資化性との相関が強く示唆された。

【結論】

本研究により明らかになった病原細菌 *Streptobacillus* の GAG 標的機構に基づいて、ヒト口腔内に多く存在する *Fusobacterium* 属や *Leptotrichia* 属細菌であるフソバクテリアにも *S. moniliformis* の Smon0123 ホモログタンパク質が見出され、そのタンパク質にも Smon0123 の基質結合残基が保存されていることがわかった。このことから、これらのフソバクテリアにおける GAG 輸送と口腔内常在性との関連が示唆される。また、ヒアルロン酸への作用が *Streptococcus* の感染症の発症に重要であることが指摘されているため、断片化ヒアルロン酸を取り込む *Streptococcus* の PTS の実体解明は、本 PTS をターゲットとした治療法の開発に繋がることが期待される。

プロバイオティクス (善玉菌) である乳酸菌 (*Lactobacillus*) は、ヘパリンを豊富に含む小腸に常在することが知られている。乳酸菌によるヘパリン分解は、他の常在細菌の GAG 分解性と比較すると強くなく、むしろ、ヘパリンを腸管定着の足場として利用していることが考えられる。実際、本研究ではヘパリンを介して、乳酸菌とヒト腸管細胞との接着が示された。

悪玉菌 *C. perfringens* はヒアルロン酸存在下で GAG 遺伝子クラスターを誘導発現する。それに伴い、ヒアルロン酸分解の初発酵素としてヒアルロン酸リアーゼや輸送系及び代謝酵素が機能し、ヒアルロン酸を資化することが示唆された。また、病原因子として機能する酵素はヒアルロニダーゼ NagH や NagJ よりも、主にヒアルロン酸リアーゼ (HysA) であると考えられた。

多種の *Bacteroides* 属細菌が動物宿主から分泌される粘液物質を栄養素として生育することがわかった。宿主の食事に依存せずに腸内に恒常的に存在する粘液物質に対する資化性は腸内に優占種として存在する要因の一つと考えられる。このことは、多種の *Bacteroides* 属細菌のゲノムに GAG 断片化酵素 (多糖リアーゼ) 及び分解酵素 (UGL) がコードされていることから支持される。

以上の研究成果から、各常在細菌の GAG 標的機構に関して理解を深めることができた。その成果の一部を Scientific Reports 誌に発表したところ、top 100 papers in microbiology に認定され表彰された (5)。

<引用文献>

- ① Gandhi, N.S., and Mancera, R.L. The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins. *Chem. Biol. Drug Des.* 72, 455-482 (2008).
- ② Marion, C., Stewart, J.M., Tazi, M.F., Burnaugh, A.M., Linke, C.M., Woodiga, S.A., and King, S.J. *Streptococcus pneumoniae* can utilize multiple sources of hyaluronic acid for growth. *Infect. Immun.* 80, 1390-1398 (2012).
- ③ Li, S.L., Kelly, S.J., Lamani, E., Ferraroni, M., and Jedrzejas, M.J. Structural basis of hyaluronan degradation by *Streptococcus pneumoniae* hyaluronate lyase. *EMBO J.* 19, 1228-1240 (2000).
- ④ Salyers, A.A., and O'Brien, M. Cellular location of enzymes involved in chondroitin sulfate breakdown by *Bacteroides thetaiotaomicron*. *J. Bacteriol.* 143, 772-780 (1980).
- ⑤ Kawai, K., Kamochi, R., Oiki, S., Murata, K., and Hashimoto, W. Probiotics in human gut microbiota can degrade host glycosaminoglycans. *Sci. Rep.* 8, 10674 (2018).
- ⑥ 老木紗予子, 中道優介, 丸山如江, 村田幸作, 橋本 渉. 病原細菌による宿主細胞外グリコサミノグリカンの断片化・輸送・分解・代謝に関わる分子機構. *生化学* 89, 866-871 (2017).
- ⑦ Oiki, S., Mikami, B., Maruyama, Y., Murata, K., and Hashimoto, W. A bacterial ABC transporter enables import of mammalian host glycosaminoglycans. *Sci. Rep.* 7, 1069 (2017).
- ⑧ Canard, B., Garnier, T., Saint-Joanis, B., and Cole, S.T. Molecular genetic analysis of the *nagH* gene encoding a hyaluronidase of *Clostridium perfringens*. *Mol. Gen. Genet.* 243, 215-224 (1994).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Nguyen Van An, Ogura Kohei, Matsue Miki, Takemoto Norihiko, Mukai Kanae, Nakajima Yukari, Hoang Thuy Linh, Iwata Yasunori, Sakai Norihiko, Wada Takashi, Hashimoto Wataru, Okamoto Shigefumi, Ichimura Hiroshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Novel hyaluronate lyase involved in pathogenicity of <i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 552418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2020.552418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oiki Sayoko, Nakamichi Yusuke, Maruyama Yukie, Mikami Bunzo, Murata Kousaku, Hashimoto Wataru	4. 巻 14
2. 論文標題 Streptococcal phosphotransferase system imports unsaturated hyaluronan disaccharide derived from host extracellular matrices	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0224753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0224753	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oiki Sayoko, Sato Masahiro, Mikami Bunzo, Murata Kousaku, Hashimoto Wataru	4. 巻 83
2. 論文標題 Substrate recognition by bacterial solute-binding protein is responsible for import of extracellular hyaluronan and chondroitin sulfate from the animal host	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1946 ~ 1954
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1630250	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maruyama Yukie, Hashimoto Wataru, Murata Kousaku	4. 巻 83
2. 論文標題 Structural studies on bacterial system used in the recognition and uptake of the macromolecule alginate	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 794 ~ 802
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1578642	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawai Keigo, Kamochi Reiko, Oiki Sayoko, Murata Kousaku, Hashimoto Wataru	4. 巻 8
2. 論文標題 Probiotics in human gut microbiota can degrade host glycosaminoglycans	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-28886-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計25件(うち招待講演 6件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小倉 康平、橋本 渉
2. 発表標題 細胞外マトリックスを標的とするレンサ球菌の分子機構とその病原性
3. 学会等名 第94回日本細菌学会総会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Van An Nguyen, Kohei Ogura, Miki Matsue, Norihiko Takemoto, Wataru Hashimoto, Shigefumi Okamoto, and Hiroshi Ichimura
2. 発表標題 Novel hyaluronate lyase involved in pathogenicity of <i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>
3. 学会等名 第94回日本細菌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高瀬 隆一、幸田 有希渚、渡辺 大輔、橋本 渉
2. 発表標題 ヒト腸内優占Bacteroides属細菌による動物宿主グリコサミノグリカン由来不飽和ウロン酸の代謝
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 敷内 駿、高瀬 隆一、渡辺 大輔、橋本 渉
2. 発表標題 ヒアルロン酸サプリメントに应答するヒト口腔内細菌叢の動態と病原性優占菌の新規な遺伝子クラスター
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部第514回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮本 侑季、高瀬 隆一、渡辺 大輔、橋本 渉
2. 発表標題 ヒト腸内細菌叢による海藻多糖アルギン酸の分解と単離菌のゲノム構造
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部第514回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梶川 幹太、佐藤 賢宏、高瀬 隆一、渡辺 大輔、橋本 渉
2. 発表標題 食事非依存的環境における腸内細菌叢の動態シミュレーション
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部第513回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 雄大、高瀬 隆一、岩瀬 久夢、渡辺 大輔、三上 文三、橋本 渉
2. 発表標題 プロバイオティクス性乳酸菌由来不飽和ウロン酸代謝の初発酵素KduIのX線結晶構造解析
3. 学会等名 日本応用糖質科学会第46回近畿支部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 橋本 渉
2. 発表標題 宿主粘液物質を標的とするヒト常在細菌の分子機構とその多様性
3. 学会等名 日本DNA多型学会第29回学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 幸田 有希渚、高瀬 隆一、渡辺 大輔、野村 暢彦、橋本 渉
2. 発表標題 動物宿主由来多糖を資化する腸内優占菌の膜小胞形成
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 敷内 駿、高瀬 隆一、渡辺 大輔、橋本 渉
2. 発表標題 宿主細胞外多糖ヒアルロン酸の分解によるヒト口腔内常在細菌叢の形成
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部第512回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤 賢宏、老木 紗予子、高瀬 隆一、渡辺 大輔、橋本 渉
2. 発表標題 子宮内無菌仮説の例外としてのB群連鎖球菌による宿主細胞外多糖の資化
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部第512回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 雄大、佐藤 賢宏、高瀬 隆一、渡辺 大輔、橋本 渉
2. 発表標題 プロバイオティクス性Bacteroides属細菌による次世代発酵乳
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部第511回講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋本 渉
2. 発表標題 動物細胞外多糖を標的とする常在菌の分子機構
3. 学会等名 日本応用糖質科学会第45回近畿支部会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 梶川 幹太、佐藤 賢宏、高瀬 隆一、橋本 渉
2. 発表標題 動物細胞外粘性物質を窒素源として利用する腸内優占菌とそのプロバイオティクスへの応用
3. 学会等名 日本農芸化学会関西・中部支部2019年度合同大会（第510回記念講演会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 老木 紗予子、藪内 駿、三上 文三、高瀬 隆一、橋本 渉
2. 発表標題 フソバクテリアによる宿主動物由来細胞外グリコサミノグリカンの認識
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋本 渉
2. 発表標題 食品多糖類に作用する微生物の発酵力とその活用技術
3. 学会等名 日本調理食品研究会（第25回）年次大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮本 侑季、高瀬 隆一、橋本 渉
2. 発表標題 腸内細菌叢による食品添加物多糖の分解と分解菌の性状
3. 学会等名 日本生化学会66回近畿支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 賢宏、久門 知也、梶川 幹太、村田 幸作、橋本 渉
2. 発表標題 次世代プロバイオティクスBacteroides属細菌による動物宿主由来粘液物質の資化と腸内優占性
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋本 渉、河井 重幸、村田 幸作
2. 発表標題 SDGsにおける微生物の貢献～エネルギー・環境保全対策を中心に～
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久門 知也、老木 紗予子、村田 幸作、橋本 渉
2. 発表標題 腸内日和見菌Clostridium perfringensにおける網羅的な遺伝子発現解析と病原因子ヒアルロン酸分解酵素の分子同定
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部第507回講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 老木 紗予子、村田 幸作、橋本 渉
2. 発表標題 ヒト細胞外マトリックス由来断片化ヒアルロン酸を取り込む連鎖球菌ホストランスフェラーゼ系
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部大会（第505回講演会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 丸山 如江、村田 幸作、橋本 渉
2. 発表標題 多糖を取り込む細菌ABCトランスポーター
3. 学会等名 蛋白研セミナー & SPring-8 先端利用技術ワークショップ「第2回 SPring-8 における蛋白質構造生物学研究の現状と将来」（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>(1) 日本農芸化学会2019年度大会トピックス賞 佐藤賢宏、久門知也、梶川幹太、村田幸作、橋本 渉. 次世代プロバイオティクスBacteroides属細菌による動物宿主由来粘液物質の資化と腸内優占性.</p> <p>(2) Top 100 in Microbiology Keigo Kawai, Reiko Kamochi, Sayoko Oiki, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. Probiotics in human gut microbiota can degrade host glycosaminoglycans. Sci. Rep., 8, Article number: 10674 (2018).</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	三上 文三 (Mikami Bunzo) (40135611)	京都大学・生存圏研究所・研究員 (14301)	
研究分担者	高瀬 隆一 (Ryuichi Takase) (10842156)	京都大学・農学研究科・助教 (14301)	
研究分担者	丸山 如江 (Yukie Maruyama) (90397563)	摂南大学・理工学部・助教 (34428)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関