

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 4 月 19 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860285

研究課題名(和文) 感染ステージに応じて宿主生理機能を攪乱するA群レンサ球菌の新規分泌タンパクの同定

研究課題名(英文) Identification of novel effector-like secreted protein from Group A streptococcus

## 研究代表者

相川 知宏 (Aikawa, Chihiro)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70725499

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：A群レンサ球菌は病原性に寄与する分泌タンパク質を数多く有するが、感染ステージ(細胞への付着/侵入/細胞内生存)ごとのそれらの機能は不明な点が多い。本研究では、宿主細胞において本菌の病原性に関与する新規分泌タンパク質候補として42 kDa proteinを同定した。42 kDa proteinは本菌の細胞付着・侵入能を制御するだけでなく、オートファジーの誘導や細胞障害活性の制御することが示唆されたことから、異なる感染ステージごとの本菌の感染動態を明らかにする上で重要な手がかりとなると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Group A Streptococcus (GAS) possesses a number of secreted proteins, but their precise roles at different infection stages including host cell adhesion, invasion and intracellular survival are largely unknown. Here, we identified 42 kDa protein as a novel candidate secreted protein of GAS regulating bacterial cell adhesion/invasion, autophagy and cytotoxicity. Our results suggests that 42 kDa protein is an important clue in evaluating the infection status of GAS in host cells at different stages of infection.

研究分野：医歯薬学

キーワード：分泌タンパク質 42 kDa protein A群レンサ球菌

## 1. 研究開始当初の背景

A群レンサ球菌 (Group A streptococcus; GAS) は重要なヒト病原細菌の一つである。急性感染症として咽頭炎、扁桃炎、猩紅熱、劇症型 A 群レンサ球菌感染症、続発症として急性リウマチ熱、急性糸球体腎炎などを引き起こす。このような GAS 感染による多彩な病態の成立には、本菌の有する分泌タンパク質が関与していると考えられている。GAS の培養液中には少なくとも 16 種類のタンパク質が含まれていることが報告され、これまでの研究からその多くは機能が推定されている。例えば、ストレプトリジン S (SLS) は酸素存在化でも安定的な膜結合型の溶血毒で、主として接触依存性に宿主細胞を傷害する。ストレプトキナーゼは、血中のプラスミノーゲンと複合体を形成することで線維素溶解系を活性化し、血液凝固を阻止する。タンパク分解酵素としては、膜結合型システインプロテアーゼである SpeB、C5a や C3 等の補体を分解する C5a ペプチダーゼや C3 プロテアーゼ、好中球の感染局所への浸潤を誘導するインターロイキン-8 (IL-8) の分解酵素である ScpC が挙げられる。さらに、SpeA、SpeC、SpeG、SpeH、SpeI、SpeJ、SpeK、SpeL、SpeM、SSA といった一連のスーパー抗原は T 細胞活性化因子として知られている。しかし、これらの既知の分泌タンパクだけでは、本菌の有する多彩な病原性を説明することはできない。

グラム陰性菌の病原性細菌は III 型分泌装置あるいは IV 型分泌装置と呼ばれる分泌機構を有している。分泌装置先端からは宿主細胞膜に孔をあける孔形成因子が分泌され、開けられた孔を通して宿主細胞へと直接タンパク質を分泌する性質をもつ。宿主細胞に直接移行し、宿主の生理活性に影響を与えるタンパク質はエフェクターと呼ばれている。一方、グラム陽性菌である GAS はこれらの分泌機構を持たず、細胞膜から菌体表面にかけて局在するマイクロドメイン内の Sec 膜透過装置、あるいは ABC トランスポーターを用いてタンパク質を分泌していると考えられている。また、GAS は、III 型分泌装置の機能的なアナログとして、cytolysin-mediated translocation (CMT) と呼ばれる機構を介して宿主細胞内に分泌タンパク質を移行する。コレステロール結合性の分泌型溶血毒素であるストレプトリジン O (SLO) は、宿主細胞膜表面に孔を形成し、Nga を細胞質に到達させ細胞傷害活性を増大させることが報告されているが、その他の分泌タンパクが CMT を介するのかどうかについても明らかとされていない。

## 2. 研究の目的

これまで推定された本菌の分泌タンパク質の機能は、主にマクロファージや好中球等の食食系の免疫担当細胞に対するものである。一連の食食細胞による免疫系を回避する

ため、GAS は上皮細胞に侵入することが知られている。現在までに、上皮細胞感染後の各感染ステージ (宿主細胞への本菌の付着、侵入、細胞内での生存) において、本菌の分泌タンパク質がどのような役割を担っているのか、そして宿主に対してどのような影響を与えているのか、その詳細を記した知見は少ない。すなわち、既知分泌タンパク質の一過的な活性のみから、本菌の病原性 (多彩な臨床像) を説明することは困難といえる。そこで本研究では、既知の分泌タンパク質以外で GAS の感染動態を制御する新規エフェクター様分泌タンパク質の同定を試みた。

## 3. 研究の方法

### (1) 分泌候補タンパク質の推定

分泌タンパク質の多くは、N 末端に 20 塩基ほどのシグナル配列を有している。シグナル配列の認識によって小胞体へと移行された分泌タンパク質は、その後シグナル配列部位で切断され、シグナル配列下流の成熟部位が膜を透過して分泌される。GAS SSI-1 株および JRS4 株の全遺伝子配列から、SignalP を用いてシグナル配列を有するタンパク質を検索した。次に得られた候補タンパク質の局在場所を TargetP により予測した。局在が細胞外であることが予測されたタンパク質を遺伝子欠損の最終候補とした。

### (2) 遺伝子欠損株の作製

GAS JRS4 株ならびに遺伝子欠損株は、0.2% Yeast extract を含む Todd-Hewitt 培地 (THY) で培養した。GAS JRS4 のゲノム DNA より、欠損させる標的遺伝子の上流・下流 800 bp を PCR によって増幅した。Gibson Assembly (New England Biolabs) によって、これらを SmaI 処理済み pSET4s ベクターへ組み込み、遺伝子欠損用のベクターとした。エレクトロポレーション法によって遺伝子欠損ベクターを JRS4 株に形質転換した。pSET4s は温度感受性ベクターであるため、形質転換後の培養温度を変化させることで遺伝子欠損株を作製した。形質転換した菌を、100  $\mu$ g/ml スペクチノマイシンを含む THY 寒天培地において 28°C で培養した。出現したコロニーの培養温度を 28°C から 37°C に上昇させることで菌体染色体内にベクター全体が組み込まれたシングルクロスオーバーの変異体を得た。次に、28°C、抗生物質を含まない培地内で得られた変異体を数回継代した後、もう一度 37°C で培養することで、ゲノム DNA 上での相同組換えを誘導した。温度感受性ベクターの抜け落ちた (抗生物質への耐性は失う) ダブルクロスオーバーの変異体を遺伝子欠損株とした。

### (3) 菌の増殖速度、CFU の測定

一晩前培養した菌液から 1/100 量を THY 液体培地に植菌し、OD<sub>600</sub> の値を 30 分ごとに 8 時間測定した。OD<sub>600</sub> の値が 0.4、0.6、0.8、1.0

の時に適宜段階希釈した菌液を THY 寒天培地に塗抹し、得られたコロニーの数から Colony forming unit (CFU) を算出した。

#### (4) 細胞の培養と GAS の感染

HeLa 細胞は、10% fetal bovine serum (FBS) および 50  $\mu$ g/ml ゲンタマイシンを含む Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) で継代培養した。感染には対数増殖旗 (OD<sub>600</sub> が 0.6-0.8) の菌を用い、24 well あるいは 96 well プレート内で培養した HeLa 細胞に multiplicity of infection (MOI) 100 で GAS を加えた。感染 1 時間後、PBS で細胞を洗浄し、細胞外の菌を殺菌するため、100  $\mu$ g/ml ゲンタマイシン、100 unit/ml ペニシリンを含む DMEM 培地に交換した。

#### (5) 細胞侵入率の測定

24 well プレート内で 4 x10<sup>4</sup> cells/well となるように培養した HeLa 細胞に JRS4 株あるいは遺伝子欠損株を MOI 100 で感染させた。各感染時間で、細胞を滅菌超純水で回収し、浸透圧によって細胞を破壊し、これを PBS で適宜段階希釈後、THY 寒天培地に塗布した。37°C で 1 晩培養し、出現したコロニー数から生存菌数を算出した。感染 1 時間後に回収された菌数を感染量で割ったものを細胞付着率とした。また、2 時間後に回収された菌数、およびそれ以降で回収された菌数を 1 時間後に回収された菌数で割ったものを、それぞれ細胞内侵入率、細胞内生存率とした。

#### (6) 共焦点レーザー顕微鏡による観察

24 well プレート内のカバーガラス上で 4 x10<sup>4</sup> cells/well となるよう培養した HeLa 細胞に MOI100 で菌を感染させた。各感染時間で、カバーガラスを 4%パラホルムアルデヒド (PFA)-PBS で 30 分間固定した。その後 0.1% TritonX-100-PBS での膜透過処理を 10 分間、propidium iodide (PI) あるいは DAPI での菌と細胞核の染色を 40 分間行った。

#### (7) オートファゴソーム、オートリソソーム形成率

24 well プレート内のカバーガラス上で 4 x10<sup>4</sup> cells/well となるように培養した HeLa LC3-GFP 細胞に MOI100 で菌を感染させた。各感染時間で固定、膜の透過処理を行い、ブロッキング液 (2.5%ヤギ血清、2.5%ロバ血清、3%スキムミルク、0.1%ゼラチン、を含む PBS) を加えて室温で 1 時間インキュベートした。次に、ブロッキング液で 100 倍希釈した抗 LAMP-1 マウス抗体で、4°C一晩反応させた。翌日、ブロッキング液で 400 倍希釈した AlexaFluor 647 抗マウス抗体で、室温 2 時間反応させた。得られたサンプルを PI あるいは DAPI で染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。オートファゴソーム形成率は、『GAS 細胞における LC3 陽性 (オートファゴソーム形成) 細胞の割合』で表した。オート

リソソーム形成率は、『全オートファゴソーム形成細胞における LAMP1 (リソソーム) 陽性細胞の割合』で表した。オートファゴソームの面積は ImageJ によって測定した。

#### (8) 細胞傷害性試験

96 well プレート内で 0.5-1 x10<sup>4</sup> cells/well となるように培養した HeLa 細胞に MOI 100 で菌を感染させた。感染 2、4、6 時間後の培養上清中の乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) 量を LDH cytotoxicity detection Kit により測定した。1% TritonX-100 で処理により細胞が放出する LDH 量を最大 LDH 放出量 (細胞傷害性 100%)、培地のみで検出される LDH 量を最低 LDH 放出量 (細胞傷害性 0%、バックグラウンド) として細胞傷害性を求めた。

### 4. 研究成果

(1) GAS 分泌タンパク質の遺伝子欠損株作製 SignalP を用いて、GAS JRS4 株および SSI-1 株の全遺伝子配列から、シグナル配列を有するタンパク質候補を複数選定した。このうち、タンパク質の局在予測ツール TargetP おいて、細胞外での局在が予測される 15 つのタンパク質を選定した。この中から、特に signalP でのシグナル予測値が高い 6 つのタンパク質を選定し、これらの遺伝子欠損株を作製した (表 1)。また、分泌タンパク質の陽性コントロールとして、*nga* および *slo* の欠損株を作製した。

gene ID (JRS4)	geneID (SSI-1)	遺伝子名	タンパク質名
Spy0017	SPs0015	-	putative secreted protein
Spy0095	SPs0081	<i>comYC</i>	putative competence protein
Spy0146	SPs0130	<i>nga</i>	NAD-glycohydrolase
Spy0148	SPs0132	<i>slo</i>	streptolysinO
Spy0224	SPs0202	<i>prgA</i>	surface exclusion protein
Spy0232	SPs0210	-	hypothetical protein
Spy0384	SPs1526	-	putative 42kDa protein
Spy0544	SPs1389	<i>adcA</i>	putative adhesion protein
Spy0678	SPs1262	-	5-nucleotidase
Spy0775	SPs1183	-	hypothetical protein
Spy0836	SPs0861	<i>glnP</i>	hypothetical protein
Spy0842	SPs0867	-	extramembranal protein
Spy1015	SPs0973	-	acid phosphatase/ phosphotransferase
Spy1501	SPs305	<i>isp.2</i>	immunogenic secreted protein
Spy1626	SPs242	<i>lppC</i>	acid phosphatase
Spy1774	SPs1728	<i>isp</i>	immunogenic secreted protein
Spy1781	SPs1760	<i>pepDB</i>	putative dipeptidase

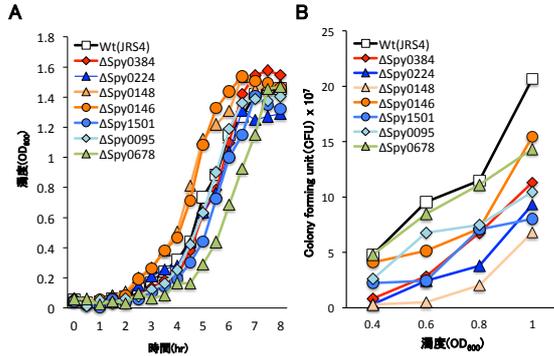
表 1. 分泌候補タンパク質と欠損株

SignalP、TargetP で選定した分泌タンパク質候補。赤字で示す遺伝子の欠損株を作製した。

#### (2) 遺伝子欠損株の培地中での増殖能

増殖速度 (時間経過に伴う培養液の濁度 [OD<sub>600</sub>] の増加) は遺伝子欠損株間で異なり (図 1A)、*nga* および *slo* 欠損株の増殖速度は親株である JRS4 株より速く、5-nucleotidase (遺伝子番号: Spy0678) 欠損株の増殖速度は親株より遅かった。*comYC* (Spy0095)、*prgA* (Spy0224)、および *isp.2* (Spy1501)、42 kDa protein (Spy0384) 欠損株の増殖速度は親株

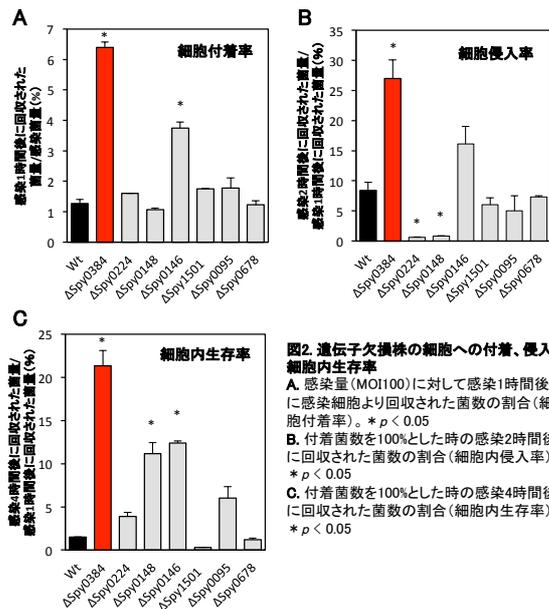
とほとんど変わらなかった)。一方で、ほとんどの遺伝子欠損株において、対数増殖期 ( $OD_{600}$ が0.6-1.0)のCFUが親株より減少した(図1B)。



**図1. 液体培地での遺伝子欠損株の生育**  
**A.** 各遺伝子欠損株の増殖曲線。培養時間(横軸)あたりの濁度(縦軸)を測定した。  
**B.** 濁度(横軸)とCFU(縦軸)の関係。 $OD_{600}$ が0.4, 0.6, 0.8, 1.0におけるCFU数を示した。

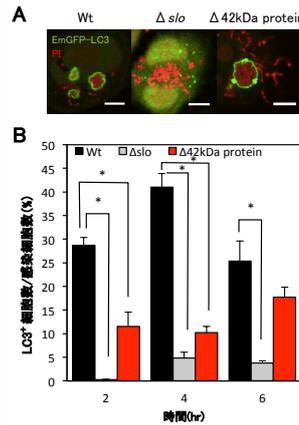
(3) 遺伝子欠損株の宿主細胞への付着、侵入率および細胞内生存率

本菌の感染プロセスである宿主細胞への付着、侵入、細胞内生存の各感染ステージにおいて分泌タンパク質候補の役割を調べるため、HeLa細胞において遺伝子欠損株の付着・侵入・生存率を測定した。6つの遺伝子欠損株のうち、5つの遺伝子欠損株の付着率、侵入率、細胞内生存率は親株であるJRS4株のものと同程度であった(図2)。一方で、42 kDa protein (Spy0384)欠損株の細胞付着率はJRS4株 ( $1.27 \pm 0.14\%$ )と比べ、 $6.40 \pm 0.17\%$ と増加した(図2A)。また、細胞侵入率( $26.99 \pm 3.07\%$ )および細胞内生存率( $21.35 \pm 1.79\%$ )もJRS4株のもの(侵入率 [ $8.42 \pm 1.36\%$ ]、生存率 [ $1.51 \pm 0.03\%$ ])と比べて増加した(図2B, C)。以上より、42 kDa proteinは本菌の過剰な細胞付着と侵入、およびこれに伴う細胞内での増殖を抑制していることが示唆された。

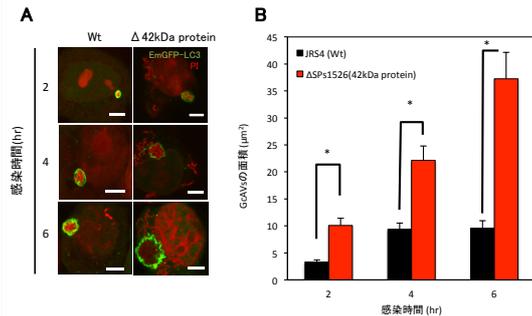


**図2. 遺伝子欠損株の細胞への付着、侵入、細胞内生存率**  
**A.** 感染量(MOI100)に対して感染1時間後に感染細胞より回収された菌数の割合(細胞付着率)。\* $p < 0.05$   
**B.** 付着菌数を100%とした時の感染2時間後に回収された菌数の割合(細胞内侵入率)。\* $p < 0.05$   
**C.** 付着菌数を100%とした時の感染4時間後に回収された菌数の割合(細胞内生存率)。\* $p < 0.05$

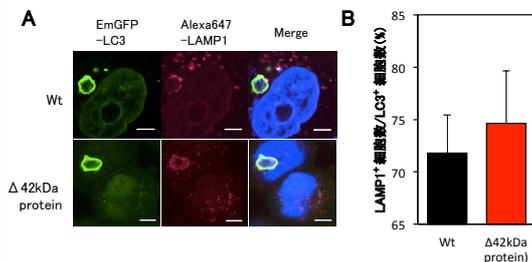
(4) 42 kDa protein 欠損株に対するオートファジー誘導能



**図3. 42 kDa protein欠損株に対するオートファゴソーム形成**  
EmGFP-LC3(緑)を恒常的に発現したHeLa-LC3細胞に親株(JRS4)、*slo*、あるいは42 kDa protein欠損株感染させた。感染2, 4, 6時後のLC3(オートファゴソーム)陽性細胞を観察した。  
**A.** 遺伝子欠損株感染4時間後のLC3陽性細胞の顕微鏡写真。核ならびに感染菌はPIで染色した。スケールバーは5  $\mu\text{m}$ 。  
**B.** 各感染時間における、感染細胞数に対するオートファゴソーム陽性細胞の割合。\* $p < 0.05$



**図4. kDa protein欠損株に対するGoAVsの大きさ**  
EmGFP-LC3(緑)を恒常的に発現したHeLa-LC3細胞に親株(JRS4)、42 kDa protein欠損株感染させた。感染2, 4, 6時後のLC3(オートファゴソーム)陽性細胞を観察した。  
**A.** 遺伝子欠損株感染2, 4, 6時間後のLC3陽性細胞の顕微鏡写真。核ならびに感染菌はPIで染色した。スケールバーは5  $\mu\text{m}$ 。  
**B.** 各感染時間における、感染細胞中のGoAVs(GAS containing autophagosome like vacuoles)面積。\* $p < 0.05$



**図5. 42 kDa protein欠損株に対するオートリソソームの形成**  
HeLa-LC3細胞に親株(JRS4)あるいは42 kDa protein欠損株感染させた。感染4時間後のオートファゴソームとリソソームの細胞内局在を観察した。  
**A.** 遺伝子欠損株感染4時間後のLC3(緑)とLAMP1(赤)の細胞内局在。リソソームはLAMP1抗体を用いて染色した。核ならびに感染菌はDAPI(青)で染色した。スケールバーは5  $\mu\text{m}$ 。  
**B.** 感染4時間後における、全オートファゴソーム陽性細胞におけるリソソーム陽性細胞の割合。

オートファジーは細胞内に侵入した細菌を分解・排除する免疫機構として機能する。エンドサイトーシスによって細胞内に侵入したGASは、SLOによってエンドソーム膜を破壊し細胞質へと移行するが、オートファゴソームと呼ばれる二重膜によって取り囲まれたのち、オートファゴソームとリソソームの融合によって生じたオートリソソームによって効率的に分解・排除される)。次に、細胞への付着、侵入率ならびに細胞内生存率の著しい増加の認められた42 kDa protein欠損株に対するオートファジーの誘導能を評価した。エンドソーム膜を破壊できず、その内部に貯留する*slo*欠損株の感染細胞では、オートファゴソームの形成はほぼ認められなかった(図3)。42 kDa protein欠損細胞に対するオートファゴソーム形成率( $24.97 \pm 0.87\%$ )は、親株であるJRS4のもの( $43.20 \pm 2.79\%$ )より顕著に減少した。

形成されるオートファゴソームの面積は、JRS4株と比較して感染4時間後で2倍、6時間後で4倍の大きさとなった。(図4)。一方で、オートリソソーム形成率(オートファゴソームとリソソームの共局在率)は、42 kDa protein 欠損株感染時には74.63±4.98%であり、JRS4株感染時(71.79±3.63%)と同様であった(図5)。これらの結果から、42 kDa protein は、オートファゴソームとリソソームの融合過程には関与せず、細胞質内の菌への効率的なオートファゴソームのリクルートに関連していることが示唆された。また、オートファゴソームの成熟にも何らかしらの影響を与えていることが考えられた。

#### (5) 42 kDa protein 欠損株の細胞障害性

42 kDa protein の細胞死に対する影響を評価するために、損傷した細胞から放出されるLDHの量を指標に宿主細胞の障害活性を測定した。JRS4株感染細胞では、感染2時間に比べて感染4時間後で3倍程度の細胞障害活性見られ、この活性は感染6時間後も継続的に観察された(図6A)。一方、42 kDa protein 欠損株においても感染時間に伴って細胞障害活性が見られたが、活性の強度はJRS4株の70%程度であった(図6A)。また、オートファジー形成不全細胞である *atg5<sup>-/-</sup>* HeLa細胞においては、JRS4株、42 kDa protein 欠損株、両株の感染による細胞障害活性は減弱したが、減弱の割合は両株間で変わらなかった(図6B)。過剰なオートファジー誘導はautophagic cell deathとよばれる細胞死を誘導することが報告されているが、42 kDa protein はこのオートファジー型細胞死の誘導には影響せず、宿主細胞においていわゆるアポトーシスの誘導に関連することが示唆された。

#### (6) 研究全体への考察と展望

本研究では、新規の分泌候補タンパク質として選定された42 kDa protein が、宿主細胞へのGASの過剰な付着、侵入を抑制するとともに、宿主細胞内でのオートファゴソームの形成および細胞死の誘導に関連していることを明らかとした。

42 kDa protein のような、欠損によって細胞への付着・侵入能の上昇が認められる菌体遺伝子としては *hasA* が挙げられる。*hasA* はヒアルロン酸莢膜合成オペロンの一員で、ヒアルロン酸合成酵素をコードしている。ヒアルロン酸莢膜は菌体表層分子をマスクすることで菌の細胞への付着・侵入を抑制することも報告されている。このため、*hasA* 欠損株では有意な細胞付着・侵入能の上昇が観察される。42 kDa protein はLysMドメインと呼ばれる細胞壁内のペプチドグリカンに結合するための特徴的な構造を有している<sup>(22)</sup>。LysMドメインは細菌の付着因子にも高頻度に存在する。このことから、42 kDa protein はLysMドメインを介して他の表層分子と相

互作用し、*hasA*で見られるのと同様に、これらの分子の機能を阻害することで、菌の細胞への付着・侵入を抑制していると考えられる。

42 kDa protein 欠損株の感染細胞ではオートファゴソームのリクルートが阻害された。GAS感染細胞におけるオートファジーの誘導には細胞質での菌体認識が重要であり、Nod like receptors (NLRs) に代表される細胞内レセプターがこの役割を担う。NLRsは菌体のペプチドグリカンの構成成分を認識することで機能する。このことから、42 kDa protein の欠損によってペプチドグリカンの構成が変化し、細胞内レセプターの菌体認識が一時的に阻害されたことで、オートファゴソームの形成が遅延したのではないかと考えられる。また、42 kDa protein 欠損株感染細胞内では親株感染時よりも大きなオートファゴソームが観察された。GASに対するオートファゴソームは互いにhomotypic fusion(同型融合)して大きくなることから、42 kDa protein はこの融合を阻害している可能性が示唆される。あるいは欠損株はオートファゴソーム内での増殖する能力を有していることも考えられる。加えて、42 kDa protein 欠損株の感染4時間後の細胞内生菌数が有意に高いことを考慮すると、42 kDa protein はオートファジーの誘導と成熟を制御することで菌の細胞内生存に関わっていることが推察される。

42 kDa protein 欠損株の感染細胞では細胞障害活性の減少が見られた。当初は、オートファジーの誘導阻害に伴って、オートファジー型細胞死 (autophagic cell death) が減少したためであると考えたが、オートファジー不全細胞では親株感染時と同様に42 kDa protein 欠損株感染時にも細胞障害活性は減少した。このことから、欠損株の感染では宿主細胞のいわゆるアポトーシスが抑制されていることが示唆される。GAS感染による細胞死は、本菌の細胞侵入が引き金となって誘導され、ミトコンドリアの機能異常と活性酸素種の増加が認められる。このため、今後は42 kDa protein 欠損株感染時のミトコンドリアの膜電位や活性酸素量を解析することで、本欠損株による細胞死抑制機構を明らかにする必要がある。

#### 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7件)

1. Golgi-Resident GTPase Rab30 Promotes the Biogenesis of Pathogen-Containing Autophagosomes. Oda S, Nozawa T, Nozawa-Minowa A, Tanaka M, Aikawa C, Harada H, Nakagawa I. PLoS One. (査読有り) 2016 Jan 15;11(1):e0147061. doi: 10.1371/journal.pone.0147061.

- eCollection 2016.
2. CRISPR/Cas システム：微生物における新規機能とゲノム編集適用例  
 ° \*相川 知宏、丸山 史人、中川 一路  
**日本乳酸菌学会誌** (査読有り) 2015 年 03 月号： Vol. 26, No.1 14-21
  3. Comparative genome analysis and identification of competitive and cooperative interactions in a polymicrobial disease.  
 ° Endo A, Watanabe T, Ogata N, Nozawa T, Aikawa C, Arakawa S, \*Maruyama F, Izumi Y, Nakagawa I. *ISME J.* (査読有り) 2015 Mar;9(3):629-42.
  4. Intraindividual variation in core microbiota in peri-implantitis and periodontitis.  
 ° Maruyama N, \*Maruyama F, Takeuchi Y, Aikawa C, Izumi Y, Nakagawa I. *Sci Rep.* (査読有り) 2014 Oct 13;4:6602.
  5. New insights from infection-specific gene expression network.  
 ° \*Abe H, Aikawa C, Nakabachi A, Miyakoshi M, \*Maruyama F.  
*Nihon Saikingaku Zasshi.* (査読有り) 2014;69(3):539-46.
  6. Rab17-mediated recycling endosomes contribute to autophagosome formation in response to Group A Streptococcus invasion.  
 ° Haobam B, ° \*Nozawa T, Minowa-Nozawa A, Tanaka M, Oda S, Watanabe T, Aikawa C, Maruyama F, Nakagawa I. *Cell Microbiol.* (査読有り) 2014 Dec;16(12):1806-21.
  7. The staphylococcal elastin-binding protein regulates zinc-dependent growth/biofilm formation.  
 ° Nakakido M, Aikawa C, \*Nakagawa I, \*Tsumoto K. *J Biochem.* (査読有り) 2014 Sep;156(3):155-62.

[学会発表] (計 4 件)

1. “NLRX1 regulates the GAS induced-autophagy in epithelial cells”  
 相川知宏、中島慎太郎、野澤孝志、丸山史人、中川一路  
 第 88 回日本細菌学会総会、大阪府、2015 年 3 月 23-25 日
2. “Beclin1 複合体形成と細菌感染特異的オートファジーにおける Bcl-xL の役割”  
 相川知宏、中島慎太郎、野澤孝志、丸山史人、中川一路  
 第 68 回日本細菌学会関西支部総会、京都府、2015 年 11 月 28 日
3. “細菌感染特異的オートファジーにおける Beclin1 の役割”  
 相川 知宏、野澤孝志、中島慎太郎、今

村拓郎、丸山史人、中川一路  
 第 88 回日本細菌学会総会、岐阜県、2015 年 3 月 26-28 日

4. “Streptococcus pyogenes の新規エフェクター型分泌タンパク質の探索、および機能推定”  
 今村拓郎、中島慎太郎、相川 知宏、野澤孝志、渡辺孝康、丸山史人、中川一路  
 第 88 回日本細菌学会総会、岐阜県、2015 年 3 月 26-28 日

[その他]

ホームページ等

<http://www.bac.med.kyoto-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

相川 知宏 (Aikawa Chihiro)  
 京都大学・医学研究科・助教  
 研究者番号：70725499

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：