

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：34104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08113

研究課題名(和文)連鎖球菌由来SLS関連因子の分子機能解析と感染制御への応用

研究課題名(英文)Functional analysis of streptolysin S involved factors

研究代表者

大倉 一人(Ohkura, Kazuto)

鈴鹿医療科学大学・薬学部・教授

研究者番号：00242850

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：連鎖球菌が産生する細胞溶解毒素、分子内環状構造形成毒素、N末端追加ドメイン含有毒素、のファミリーから膜コレステロール依存性、ヒト特異性、小児川崎病との関連性などに目を向けて機能解析を行った。細菌感染臓器における深部膿瘍形成因子であるコレステロール依存性細胞溶解毒素(CDC)やインターメディリシン(ILY)、小児川崎病発症因子の可能性が高いヒト血小板凝集因子(Sm-hPAF)、流産との関連が疑われるバジノリシン(VLY)、を題材として、細菌感染時に対症療法的に使用される非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)の連鎖球菌由来毒素の活性修飾についての解析を進めた。

研究成果の概要(英文)：Cholesterol dependent cytolysin (CDC), human specific cytolysin (ILY), intramolecular ring structure containing streptolysin S (SLS), extra N-terminus domain containing CDC (EX-CDC) were produced by Streptococci. These factors involved bacterial infection, and relation analysis between structure and function has been performed. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are used to treat inflammation and pain in bacterial infection. Hepatotoxicity is a known side effect of NSAIDs. Effects of N-phenylanthranilic acid (NPA) scaffold NSAIDs on rat liver mitochondria were examined. Mefenamic acid (MEF, 200microM) induced mitochondrial swelling. Mitochondrial swelling was also observed following the addition of 200microM flufenamic acid (FLU), meclofenamic acid (MCL), and tolfenamic acid (TOL). The addition of 50microM MEF, MCL, TOL, and FLU had uncoupling effects in mitochondrial inner membrane. These NSAIDs dose-dependently obstructed electron transport in the respiratory chain.

研究分野：薬剤学

キーワード：細菌感染症 細胞溶解毒素 生体膜

1. 研究開始当初の背景

ヒト口腔内の常在細菌であるアンギノサス群レンサ球菌 (AGS) には、血液寒天培地上で溶血性 (細胞溶解性) を示す株が存在する。グラム陽性菌に広く分布するコレステロール依存性細胞溶解毒素 (CDC) ファミリーは多様な動物種にわたる感染症の病原因子と考えられてきた。我々はヒト特異的に深部臓器 (脳や肝臓) に膿瘍を引き起こす連鎖球菌 *Streptococcus intermedius* から、コレステロールとは直接結合せず、ヒト細胞膜と結合して活性 (クラスター形成をともなう膜孔形成) を発現するヒト特異的細胞溶解毒素インターメディリシン (ILY) を見だし、ILY が溶血因子の本体であること (Ohkura K. et al. *Microbiol. Immunol.*, 48, 677-692, 2004)、および、ヒト細胞への感染に必須の因子であること (Ohkura K. et al. *Microbiol. Immunol.*, 49, 681-694, 2005) を明らかにした。さらに ILY をはじめとする CDC の構造機能解析を通して、これらの細胞溶解分子の細胞膜結合部位は柔軟に分子運動を行いながら、常に標的となる膜受容体を認識し相互作用しうる状態にあること (Ohkura K. et al. *Anticancer Res.*, 26, 4055-4062, 2006) を報告してきた。これまで ILY 以外の溶血性 AGS (-AGS) の溶血因子は不明であったが、最近我々は溶血性を示す *Streptococcus anginosus* (SA) subsp. *anginosus* の溶血因子がストレプトリジン S (SLS) ホモログであることを見だし遺伝子構造を決定した。なかでも *S. anginosus* NCTC10713 由来の SLS ホモログはタンデム型の *sagA* 遺伝子 (*sagA1*, *sagA2*) を有する非常に特徴的な構造であった (Ohkura K et al. *J. Bacteriol.*, 195, 1090-1099, 2013)。現在、他の -AGS についても溶血因子の探索を行っており、溶血因子の AGS 内での分布を明確にすることで AGS の感染病理の理解が深まると考えている。

S. anginosus の *sag* 遺伝子は A を先頭に、B ~ I と複数の遺伝子領域が繋がった状態で確認され、AGS 関連のデータベース探索から、*sagA* 領域は細胞溶解を担い、*sagB* ~ D 領域は *SagA* をはじめとする *sag* 遺伝子産物の構造制御を担い、*sagG* ~ I 領域は物質輸送を担うと考えられた。すなわち、*sagA* ~ I から産生される因子は互いの構造変化や活性発現に必要なツールを提供し合う包括的多機能分子グループだと考えられ、個々因子の動的構造機能解析と平行して協調的相互作用についての理解も重要だといえる。我々はこれまでに、一つの AGS 由来分子が多機能を有する例としてヒト血小板凝集因子 Sm-hPAF を報告している (Ohkura K et al. *APMIS*, 120, 56-71, 2011)。Sm-hPAF は小児川崎病の起因菌とされる口腔内ピリダグス群連鎖球菌 *S. mitis* に由来し、細胞溶解活性とともに血小板凝集活性を有しており重症症状として動脈 (冠状動脈) 血栓形成がある。驚いたことに、その遺伝子構造は CDC ファミリーに属し、

SLS とともに近隣に位置することが明らかとなった。また Sm-hPAF は細胞溶解を担う CDC 構造の他に N 末端側にレクチン様領域を有し、タンパク質レベルで 2 つの異なる分子が集合した構造をとっている。このことは細胞溶解能を共通の特徴に持つと考えられてきた CDC の中に血小板凝集という全く別の機能を有する毒素があることを示しており、*sag* 遺伝子が産生する分子が多機能性の分子集団を形成していても不思議ではない。

2. 研究の目的

本研究課題では主に以下に焦点をおいている。1) SLS ホモログ活性本体の解析: *S. pyogenes* 由来 SLS 様物質には細胞間タイトジャンクション拡張に起因する潰瘍誘発作用があり、*S. anginosus* で確認された SLS 分子についても β 溶血以外の活性、例えば動物組織での潰瘍誘発、潰瘍形成部位でのアポトーシス誘導 (ミトコンドリア内膜透過性遷移誘導) などが予想される。2) 感染病理の理解: *S. anginosus* を培養すると対数増殖期後半までは培養上清中へ SLS が盛んに分泌され、菌数が少なく自己生育環境が整っていない間の外敵からの自己防御を SLS が担っていると考えられる。また SLS 作用に動物種特異性はなく、多様な宿主に対する感染因子として機能している可能性がある。*sagA* ~ I 遺伝子を順次欠失させた変異株の増殖と SLS 分泌、溶血能などから *Streptococci* 感染の仕組みを理解する。3) SLS 受容体の特定: 個々の SLS 分子が非特異的に細胞膜に作用して膜破壊を引き起こすのか、基点となる受容体分子を足場として複数の SLS 分子がクラスターなどを形成し、膜崩壊へと続くのかを明らかにする。4) *sag* 遺伝子産物の動的構造理解: これまでに動的構造解析から *S. anginosus* 由来 *SagA1*, *SagA2* は分子内環状構造の形成によって自らを活性型に変換することを報告した (Ohkura K. et al. *Anticancer Res.*, 34, 4627-4631, 2014)。*SagB* ~ I 分子の動的構造機構解析を進めて、*sagB* ~ I 遺伝子が協調的に SLS 機能を制御する仕組みを紐解く。5) また我々は、ガラクトースによる ILY 活性の抑制、および、マンノースによる CDC 活性の抑制を検知しており、糖類 (食事内容) による細胞溶解毒素産生菌の生育、細胞溶解毒素の分泌・活性発現の制御について解析を進める。6) 上記のことを通じ、連鎖球菌由来の生理活性物質について、動的構造、機能、受容体、病態と治療法、を踏まえた考察を行う。

3. 研究の方法

アンギノサス群連鎖球菌 (AGS) の産生するペプチド、タンパク質の構造機能解析、および、臨床治療薬との相互作用解析について主に以下の研究を予定している。1) SLS の有する溶血以外の生物活性 (細胞間タイトジャンクション拡張による潰瘍誘発作用、

ミトコンドリア内膜への刺激によるアポトーシス誘導能など)の検証。2) SLS 産生菌の同定と感染病理の理解。SLS 産生菌の *sagA* ~ *sagI* 遺伝子を欠失させた際の、生育状況、SLS 産生能、溶血活性から、感染に必須な Sag 分子の組み合わせを検証し感染メカニズムを理解する。3) SLS の標的分子の解明。特異的な受容体タンパク質との相互作用、もしくは、非特異的なリン脂質との相互作用を介して細胞溶解が誘発されるかを解明する。4) *sag* 遺伝子産物 SagA ~ SagI の動的構造機能解析と協調制御の検証。5) 糖類による細胞溶解毒素 (SLS、ILY、CDC、Sm-hPAF 等) 産生菌の生育、細胞溶解毒素の分泌と活性制御の検証、ならびに、腸内常在菌による SLS 関連細胞溶解毒素の産生と潰瘍性大腸炎などの腸疾患との相関検証。

4. 研究成果

連鎖球菌が産生する細胞溶解毒素、分子内環状構造形成毒素、N 末端追加ドメイン含有毒素、のファミリーから膜コレステロール依存性、ヒト特異性、小児川崎病との関連性などに目を向けて機能解析を行った。細菌感染臓器における深部膿瘍形成因子であるコレステロール依存性細胞溶解毒素 (CDC)、ヒト細胞にのみ親和性を示し重篤な症状を引き起こすインターメディリシン (ILY)、小児川崎病発症因子の可能性が高いヒト血小板凝集因子 (Sm-hPAF)、流産との関連が疑われるバジノリシン (VLY)、を題材として考えるとき、細菌感染時に対症療法的に使用される消炎鎮痛薬の連鎖球菌由来毒素の活性修飾についての解析を進めた。現在、標的細胞認識機構を解析し、感染および症状発現の制御、ならびに、治療薬開発について模索している。

i) ヒト口腔常在アングノーサス群連鎖球菌 (AGS) は *Streptococcus anginosus* subsp. *anginosus* (SAA)、*S. anginosus* subsp. *whileyi* (SAW)、*S. constellatus* subsp. *constellatus* (SCC)、*S. constellatus* subsp. *pharyngis* (SCP)、*S. constellatus* subsp. *viborgensis* (SCV)、*S. intermedius* の 5 亜菌種を含む 3 菌種に分類される。SAA や SCC の 溶血性サブグループが産生する 溶血因子が *S. pyogenes* (SPy) の産生するペプチド性溶血因子ストレプトリジン S (SLS) のホモログである。SAW と SCV の 2 亜菌種は SAA や SCC と異なり全株が溶血性を示す。SAW の MAS624 株と SCV の SK1359T 株 2 亜菌種の *sag* オペロンは SPy が持つ典型的な *sag* オペロンと同様に 9 遺伝子から構成され、その配列は他の 溶血性 AGS の *sag* オペロンと高い相同性を示したが、SPy などの化膿性連鎖球菌の *sag* オペロンとは相同性が若干低かった。また SAW と SCV を含め 溶血性 AGS の *sag* オペロンホモログのゲノム配座を比較したところ、各亜菌種により異なることが確認された。さらに MAS624 株と SK1359T 株で *sagA* 遺伝子ホモログ欠失株

を作製した結果、各 *sagA* 欠失株は非溶血性となった。以上から SAW と SCV の 溶血因子も *sagA* ホモログの翻訳産物の SLS ホモログであることが示唆された。

ii) ミトコンドリア ADP/ATP 透過担体の阻害剤として知られるボンクレキック酸を基にして、誘導体 17 個の系列化合物を設計合成し、それらの ADP/ATP 透過担体への効果を検証した。作成したうち、KH-1、KH-7、KH-16、KH-17 がスクリーニングによって抽出され、なかでも、KH-7 は内膜の電子伝達系を阻害することなく、ADP/ATP 透過担体を特異的に阻害することが明らかになった。

iii) 2-hydroxyarylidene-4-cyclopentene-1,3-dione 骨格を持つ TX-1123 系化合物を設計合成し、Src tyrosine kinase (Src-K) への効果を検証した。TX-1123 の Src-K 抑制効果が $IC_{50} = 2.2 \mu M$ であり、tyrphostin AG17 では IC_{50} が $> 350 \mu M$ であることから、Src-K 阻害剤としての TX-1123 の有益性がうかがえた。TX-1123 と Src-K の相互作用解析から、TX-1123 は ATP と同様な部位へ取り込まれて Tyr416 との相互作用が観察され、その際の相互作用エネルギーは -115.8 kcal/mol であった。AG17 は、TX-1123 とは異なる部位に配位した。AG17 の Uncoupling 活性 $C_{max} = 0.02 \mu M$ 、ATP 合成阻害 $IC_{50} = 0.0035 \mu M$ に対して、TX-1123 では $C_{max} = 2 \mu M$ 、 $IC_{50} = 5 \mu M$ であり、TX-1123 の肝ミトコンドリアへの機能抑制効果が低く、正常細胞毒性が AG17 より低く安全だと考えられた。

iv) 非ステロイド抗炎症薬 (NSAIDs) のうち、メフェナム酸 (MEF)、メクロフェナム (MCL)、トルフェナム酸 (TOL)、フルフェナム酸 (FLU)、ジクロフェナク (DIC)、フェナム酸 (NPA)、ジフェニルアミン (DPA) につき、ミトコンドリア透過性遷移 (MPT) 誘導能を評価した。各化合物は特徴的かつ濃度依存的に MPT を誘導した。シクロスポリン A に対し DPA のみ非感受性であり、他の化合物とは異なる機構で MPT を誘導すると考えられた。DPA 以外の化合物がプロトノフォア活性を示したことから、内膜への直接的な作用が MPT 誘導機構に重要であることが示唆された。分子構造解析の結果、フェナム酸系 NSAIDs は立体構造をダイナミックに変化させ、ミトコンドリアとの反応性が最も高かった MCL はミトコンドリア内膜との反応に有利な疎水性の配座を多く持つことが伺えた。

v) COX-2 を選択的に阻害する分子の創製を目指して、2-Hydroxyarylidene-4-cyclopentene-1,3-Dione 骨格を有する系列化合物を設計合成し、COX 阻害能および COX との相互作用を検証した。TX-1123 は COX-1、COX-2 を阻害作用を示し IC_{50} は各々 $1.57 \times 10^{-5} M$ 、 1.16

$\times 10^{-6}$ Mであった。TX-1123のCOX-1/COX-2阻害比($R_{C1/C2}$)は12.5であり、COX-2選択薬セレコキシブの $R_{C1/C2}$ (30.8)と近値を示した。TX-1123のフェノール性水酸基をメトキシ化したTX-1925ではCOX-1($IC_{50} = 4.77 \times 10^{-5}$ M)、COX-2($IC_{50} = 1.03 \times 10^{-5}$ M)に対して阻害作用を示し $R_{C1/C2}$ は4.63であった。TX-1123から嵩高い2つのtert-ブチル基をメチル基に置換したTX-1918のCOX-1、COX-2に対する IC_{50} は各々 7.35×10^{-5} M、 6.56×10^{-4} MでありCOX-2選択性は低かった($R_{C1/C2} = 0.11$)。COX-2分子中には3カ所のリガンド結合ポケット(A ~ C)の存在が予測され、TX-1123はポケットBに結合し、4-cyclopentene-1,3-dione部位の2つの酸素原子が各々COX-2 Cys²⁶およびGln⁴⁴⁷との間で水素結合を形成することが示唆された。

vi) コレステロール依存性細胞溶解毒素(CDC)は、細菌が産生する膜孔形成毒素である。近年、コレステロールを受容体とする典型的なCDCにおいて、糖との相互作用が報告された。本研究では、*Streptococcus intermedius*が産生し、ヒト型CD59を受容体とする非典型的なCDCであるインターメディリシン(ILY)について、単糖との相互作用を検討した。その結果、ILYの溶血活性および細胞膜結合性はD-ガラクトースの存在下で抑制され、さらに*in silico*解析によってILYとD-ガラクトースの相互作用はILYの細胞膜との相互作用部位で予測された。よって、D-ガラクトースはILYの細胞膜への結合を阻害することによって溶血活性を抑制していることが示唆され、D-ガラクトース誘導体はILYを産生する*S. intermedius*による感染症の新規治療薬として期待される。

vii) *Streptococcus intermedius*感染時のintermedilysin(ILY)の細胞溶解に及ぼすNSAIDsの影響を検証した。His-ILYは0.1~10ng/mLで溶血活性を示し、0.5ng/mLで11.1%、3ng/mLで57.1%、10ng/mLで100%の溶血活性を示した。NSAIDs共存下では、His-ILY低濃度域(0.5ng/mL)では殆ど影響が見られなかったが、His-ILY高濃度域(3ng/mL)で薬物濃度依存的な溶血率増加が観察された。溶血率の増加は200 μ MのNSAIDs共存下で、ジクロフェナク(40.0%)、メクロフェナム酸(32.9%)、アセトアミノフェン(26.6%)、メフェナム酸(20.0%)、イブプロフェン(14.1%)、ロキソプロフェン(12.4%)、トルフェナム酸(12.4%)であった。THP-1細胞を用いた検証からNSAIDsのうち幾つかは細胞溶解毒素の活性に影響を及ぼすことが示唆され、対症療法的に利用する際には毒素の性質に注意を要する。

viii) 脂肪酸結合タンパク質(FABP)は脂肪酸などの疎水性小分子の細胞内輸送を担うサイトゾルタンパク質である。大腸菌で発現

させたFABPに結合する薬物の特性を解析した。1-anilino-8-naphthalene sulfonate(ANS)は疎水環境で発する。1 μ M FABP1と40 μ M ANSを混和し、ここへ種々薬物を添加してANS置換反応に伴う蛍光消失を観察した。アンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)やCaチャンネル阻害薬(CCB)がFABP1に結合することが示された。これら薬物のアナログについてFABP1に対する親和性を比較し、FABP1との相互作用を解析した。ARBの一つがFABP1に対しオレイン酸に匹敵する高い親和性を有することを見出し、FABP研究のリード化合物として有用であると期待された。

ix) 糖による*S. intermedius*の病原性制御機構

アンギノーサス群連鎖球菌である*Streptococcus intermedius*(SI)は口腔内常在菌だが、日和見的に深部臓器に重篤な膿瘍感染症を引き起こす。肺炎などの呼吸器感染症の原因菌である可能性も報告され、その臨床的重要性が高まっている。SIは主要病原因子としてヒト特異的細胞溶解毒素インターメディリシン(ILY)を分泌する。この毒素をコードするily遺伝子の発現は、lacオペロンのリプレッサーであるLacRの制御を受け、環境中にガラクトース(Gal)が存在するとその発現量が増加する。また、SIは多基質酵素MsgA(-ガラクトシダーゼや-N-アセチルグルコサミニダーゼ活性などを保有)やNanA(シアリダーゼ)などのグリコシダーゼを保有している。これらグリコシダーゼが糖タンパク質などの糖鎖を分解すると、遊離したGalやシアル酸がILYだけではなくMsgAとNanAの発現も活性化することで糖鎖分解を促進する結果、さらにそれらの発現が飛躍的に増加するという“ポジティブフィードバック様の機構”が働くことを発見した。しかしながら、ヒト血漿中にはILY、NanA、MsgAに対する中和抗体が存在し、その機構を抑制していることも明らかになった。また抗体による抑制だけではなく、ILY活性は糖によっても影響され、特にGalが強い抑制効果を示し、反応液中に9mMのGalが存在するとその活性が半分に低下することがわかった。なお、牛胎児血清にNanAとMsgAを作用させると2.8mMのGalが遊離するので、生体内で局所的にGal濃度が9mMを超える可能性は十分に考えられる。このように、グリコシダーゼにより遊離した糖はSIの病原性を正に制御するが、宿主側の免疫系と高濃度GalによるILY活性の抑制効果で、その病原性は調節を受け、SIは宿主との共生関係を保っていると考えられる。

x) TX-1877に β -glucose、 β -galactose、 α -mannose、N-acetyl- β -galactosamine、tetra-O-acetyl β -Glc、tetra-O-acetyl α -Man (α -Man(OAc)₄)、tri-O-acetyl β -GalNAcを付加し放射線増感能

と構造の関係を検討した。誘導体(1mM)添加時の EMT6/KU 細胞の放射線増感率(ER)は TX-1877 (1.75)、 β -glucose 体 TX-2141 (1.33)、 β -galactose 体 TX-2218 (1.40)、 α -mannose 体 TX-2217 (1.41) で増感能が低下した。tetra-*O*-acetyl 体は TX-2244 (2.30)、TX-2246 (1.88)に増感上昇がみられた。*N*-acetyl 体 TX-2068 (1.43)と *N*-,*O*-acetyl 体 TX-2243 (1.47) で増感能が低下した。TX-1877 誘導体への糖付加で反応性が増大し、dGW は配座エネルギー依存的に低下した。TX-1877 へ糖を付加することで分子特性を制御しうると考えられた。

xi) 非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) は、感染時の発熱や炎症に対症療法的に使用される。NSAIDs は *Streptococcus intermedius* 由来膜孔形成性細胞溶解毒素インターメディリシン (ILY) の活性を修飾し、なかでもセレコキシブ (Cel) は溶血活性を増強する。Cel による膜障害のメカニズムを検討した。Cel 共存下、リポソーム及びヒト赤血球の膜障害を観測した。Cel は濃度依存的にミトコンドリアを膨潤させ、内膜のプロトン透過性を亢進し、呼吸鎖タンパク質機能を阻害した。Western blot 解析では Cel によるミトコンドリアマトリックスからのタンパク質放出が確認された。以上の結果より、Cel をはじめとする NSAIDs を膜孔形成毒素産生細菌による感染症治療に使用する際には、生体内において赤血球膜や細胞膜の障害を亢進させる危険性に留意する必要があると感じた。

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8件)

1) Development of a Sortase A-mediated Peptide-labeled Liposome Applicable to Drug-delivery Systems. Atsushi Tabata, Yukimasa Ohkubo, Natsuki Anyoji, Keiko Hojo, Toshifumi Tomoyasu, Yohei Tatematsu, Kazuto Ohkura, Hideaki Nagamune. *Anticancer Research*, 35 (8), 4411-4417, 2015.

2) Cytolytic Activity and Molecular Feature of Cardiotoxin and Cardiotoxin-like Basic Protein: The Electrostatic Potential Field Is an Important Factor for Cell Lytic Activity. Yuki Kawaguchi, Yohei Tatematsu, Atsushi Tabata, Hideaki Nagamune, Kazuto Ohkura. *Anticancer Research*, 35 (8), 4515-4519, 2015.

3) Bongkreki Acid Analogue, Lacking One of the Carboxylic Groups of its Parent Compound, Shows Moderate but pH-insensitive Inhibitory Effects on the Mitochondrial ADP/ATP Carrier. Atsushi Yamamoto, Keisuke Hasui, Hiroshi Matsuo, Katsuhiko Okuda, Masato Abe, Kenji

Matsumoto, Kazuki Harada, Yuya Yoshimura, Takenori Yamamoto, Kazuto Ohkura, Mitsuru Shindo, Yasuo Shinohara. *Chem Biol Drug Des*, 86 (5), 1304-1322, 2015.

4) Immunoblotting with Peptide Antibodies: Differential Immunoreactivities Caused by Certain Amino Acid Substitutions in a Short Peptide and Possible Effects of Differential Refolding of the Peptide on a Nitrocellulose or PVDF Membrane. Takenori Yamamoto, Taisuke Matsuo, Atsushi Yamamoto, Ryohei Yamagoshi, Kazuto Ohkura, Masatoshi Kataoka, Yasuo Shinohara. *Methods Mol Biol.*, 1348, 303-310, 2-15.

5) Effect of N-phenylanthranilic acid scaffold nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the mitochondrial permeability transition. Yohei Tatematsu, Hiroki Hayashi, Ryo Taguchi, Haruhi Fujita, Atsushi Yamamoto, Kazuto Ohkura. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 39, 278-284, 2016.

6) An Antitumor 2-Hydroxyarylidene-4-cyclopentene-1,3-Dione as a Protein Tyrosine Kinase Inhibitor: Interaction Between TX-1123 Derivatives and Src Kinase. Kazuto Ohkura, Yuki Kawaguchi, Yohei Tatematsu, Yoshihiro Uto, Hitoshi Hori. *Anticancer Research*, 36 (7), 3646-3649, 2016.

7) Interactive Analysis of TX-1123 with Cyclo-oxygenase: Design of COX2 Selective TX Analogs. Kazuto Ohkura, Yohei Tatematsu, Yuki Kawaguchi, Yoshihiro Uto, Hitoshi Hori., *Anticancer Research*, 37 (7), 3849-3854, 2017.

8) Effects of the Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Celecoxib on Mitochondrial Function. Yohei Tatematsu, Haruhi Fujita, Hiroki Hayashi, Atsushi Yamamoto, Atsushi Tabata, Hideaki Nagamune, Kazuto Ohkura., *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 41, 319-325, 2018.

[学会発表](計12件)

1) *S. anginosus* subsp. *whileyi* および *S. constellatus* subsp. *viborgensis* が保有する β 溶血因子の特性解析. 眞屋健太朗、田端厚之、大倉一人、菊池賢、友安俊文、長宗秀明. 第88回日本細菌学会、岐阜、2015年3月26~28日.

2) Inhibitory effects of the bongkreki acid analogues on the mitochondrial ADP/ATP carrier. 山本篤司、奥田勝博、安部真人、松本健司、山本武範、大倉一人、寺田弘、新藤充、篠原康雄. 第43回構造関連シンポジウム、新潟、2015年9月27~29日.

3) 2-Hydroxyarylidene-4-cyclopentene-1,3-dione 誘導体の機能解析:Src-K との相互作用. 立松洋平、川口遊喜、宇都義浩、堀 均、大倉一人. 第 19 回バイオ治療法研究会、東京、2015 年 12 月 5 日

4) フェナム酸系非ステロイド性抗炎症薬のミトコンドリア透過性遷移誘導機構の解明. 立松洋平、林 大輝、田口 諒、藤田明日、山本篤司、大倉一人. 日本薬学会 136 年会、横浜、2016 年 3 月 26 ~ 29 日.

5) COX-2 阻 害 能 を 持 た せ た 2-Hydroxyarylidene-4-cyclopentene-1,3-dione 誘導体の分子設計:TX-1123 と COX-2 との相互作用解析. 立松洋平、川口遊喜、宇都義浩、佐藤利夫、堀均、大倉一人. 第 20 回バイオ治療法研究会、福岡、2016 年 12 月 10 日.

6) ヒト特異的な細胞障害性を示す細菌毒素に対する糖の阻害作用. 田端厚之、大倉一人、立松洋平、友安俊文、長宗秀明. 第 20 回バイオ治療法研究会、福岡、2016 年 12 月 10 日.

7) 非ステロイド性抗炎症薬の *Streptococcus intermedius* 由来細胞溶解毒素活性に及ぼす影響. 立松洋平、田端厚之、長宗秀明、大倉一人. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月 19 日 ~ 21 日.

8) 蛍光物質との競合反応を利用した肝型脂肪酸結合タンパク質に結合する薬物の探索とその特徴解析. 山本篤司、立松洋平、篠原康雄、大倉一人. 日本薬学会第 137 年会、仙台、2017 年 3 月 24 日 ~ 27 日.

9) 糖による *Streptococcus intermedius* の病原性制御機構. 友安俊文、田端厚之、千葉真也、山崎貴大、竹田 望、玉岡雅章、大倉一人、長宗秀明. 第 64 回トキシシンポジウム、兵庫、2017 年 7 月 10 日 ~ 12 日.

10) Positive and negative control mechanisms of pathogenicity expression in *Streptococcus intermedius*. Toshifumi Tomoyasu, Atsushi Tabata, Shinya Chiba, Takahiro Yamasaki, Shingo Kusaka, Nozomi Takeda, Masaaki Tamaoka, Kazuto Ohkura, Robert A Whiley, Hideaki Nagamune. Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases (LISSSD 2017), Denarau Island, Fiji. 2017 年 10 月 16 日 ~ 20 日.

11) 糖付加による TX-1877 系列化合物の機能制御: 放射線増感能との相関解析. 立松洋平、川口遊喜、田端厚之、宇都義浩、堀 均、大倉一人. 第 21 回バイオ治療法研究会、2017 年 12 月 2 日、博多.

12) 非ステロイド性抗炎症薬セレコキシブの

細胞膜障害メカニズムの解析. 立松洋平、田端厚之、長宗秀明、大倉一人. 第 91 回日本細菌学会総会、2018 年 3 月 26 日 ~ 29 日、博多.

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.suzuka-u.ac.jp/academics/graduate/ps>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大倉 一人 (OHKURA, Kazuto)
鈴鹿医療科学大学・薬学部・教授
研究者番号: 00242850

(2) 研究分担者

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