2版

様　式　C－19、F－19－1、Z－19　（共通）

科研費 KAKENHI

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　４ 年　６ 月 ２３ 日現在

機関番号：１４３０１
研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）
研究期間：2018～2021
課題番号：１８ＫＫ０１９３
研究課題名（和文）薬剤耐性菌の出現抑制を目的とした豚レンサ球菌感染症の新規診断・治療法の基盤開発

研究課題名（英文）Development of a new diagnostic and therapeutic platform for swine Streptococcus infections to prevent the emergence of drug-resistant strains.

研究代表者
中川　一路（Nakagawa, Ichiro）

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：７０２９４１１３

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　13,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、これまで蓄積されたブタレンサ球菌のゲノム解析情報や病原性遺伝子情報を用いて、日本・タイ・ベトナムでの豚唾液中・血清中に誘導される抗体に着目し、抗体によって認識されるS. suisの抗原分子を同定し、得られた抗原分子に高い特異的な人工抗体をファージディスプレイライブラリーから選択する。この抗体を用いて、S. suis抗原への結合に最適な結合領域を設計し、各種抗原に対して結合能の高い抗体を短期間でかつ安価に得る創薬基盤を構築し、S. suis感染症の診断用抗体の均一化・標準化やIVIG用の治療用抗体の作成、さらには、最も効果的なワクチン抗原を同定することを目的とする。

研究成果の学術的意義や社会的意義
これまでブタレンサ球菌株での高病原性を示す菌株に特異的な抗原は明らかとされていなかったが、本研究によりS. suisの表層抗原のうち、高病原株に特異的な抗原を３種類同定することができた。また、これらの抗原に対する人工低分子化抗体の作製を試みたところ、その取得に成功し、これらの人工抗体は菌の付着を優位に減少させることが明らかとなった。この結果は、これまで未知であったS. suis感染に対する診断用抗体の作製や、診断用抗体として使用することが期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we will focus on antibodies induced in pig saliva and serum in Japan, Thailand, and Vietnam, using the genomic analysis information and pathogenic gene information to identify antigen molecules of S. suis recognized by the antibodies. Artificial fragment antibodies particular to the antigen obtained select artificial antibodies obtained from the phage display library. Using these antibodies, we will design optimal binding regions for binding to S. suis antigens and establish a drug discovery platform to obtain antibodies with a high binding capacity to various antigens. We also try to create therapeutic antibodies for IVIG and develop the most effective antibodies. This project aims to generate antibodies for diagnosing S. suis infection, standardization of antibodies for diagnosing S. suis infection, and identification of the most influential vaccine antigens.

研究分野：細菌学

キーワード：ブタレンサ球菌　抗体　人工抗体　抗原同定　タイ　ベトナム

※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。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景
細菌感染症の治療は，これまで様々な抗菌剤によって行われている。しかし，抗菌剤だけでは対象とする病原体のみを排除することは難しく，過剰な投与は対象となる細菌以外の様々な細菌の耐性化(Antimicrobial resistance)を助長し、近年では、複数の抗菌剤に対する多剤耐性菌の蔓延が懸念されている。そのため、ワクチンによる予防法も推奨されているが、抗原型が多い菌種では十分に奏功しない例が臨床上で問題になっている。そのため、対象となる細菌種を菌株レベルで病原性の違いや抗菌剤の耐性化を迅速に鑑別し、さらにその目的とする細菌種のみを効果的に排除する新規薬剤の開発や、効果的な予防法が望まれている。

豚レンサ球菌感染症は *Streptococcus suis* (*S. suis*)による人畜共通感染症であり、1963 年のオランダの報告に始まり、ヨーロッパ各国、北米・南米諸国、オセアニア諸国、アジア、中近東などでの発生が現在まで続いている。日本でも 1979 年に初めて島根県での発生が報告されて以来、ほぼ全国での発生が続いている。さらに、ヒトへの感染例も近年アジアを中心として増加傾向にあり、日本においても発生が続いている。感染経路としては、生豚肉製品や不十分な加熱処理を行った豚肉の摂食による経口感染と、豚との接触を機に皮膚創傷から感染する創傷感染が考えられている。本感染症のヒトでの主要な感染病態は敗血症と髄膜炎である。特に髄膜炎の発症率は比較的高く、特徴的な所見である半永久的な難聴が後遺症として問題となっている。本感染症が注目を集め始めたきっかけは、2005 年に中国の四川省で発生した大規模な集団感染事例であり、これまで知られていた髄膜炎症状だけでなく、劇症型感染症の原因として、約 20%の高い死亡率となっている。タイにおいても 1987 年に初めて症例報告がなされ、2007 年５月には北タイのパヤオ県にて 29 例の確定症例を含めた 100 人規模の集団感染事例が発生した。これ以降、症例報告件数がタイ・ベトナムを中心に年々増加していることから、今後日本においても、単なる散発事例ではなく、劇症型感染症の１つの原因になることが懸案されている。

豚レンサ球菌は表層の莢膜多糖の抗原性の相違により 33 の血清型に分けられており、病豚およびヒト患者から高頻度に分離されるのは血清型 2 型が多い。病豚からは 2 型以外にも様々な血清型の株が分離されるが、ヒト患者由来株の場合、ほとんどは 2 型で、近年、14 型株による事例がタイを中心に増加傾向にある。したがって、血清型 2 型および 14 型株の検出は公衆衛生の観点から非常に重要である。しかし、*S. suis* の型別用抗血清は、高価であること、交差反応がみられるため判定が難しい場合もあることなどから、簡便で高感度な新規診断法の開発が望まれている。血清型２型の菌は全ての生育期の豚で *S. suis* が検出されるが、離乳期での豚レンサ球菌感染症が最も頻度が高く、かつ死亡例も多い。これは、授乳期には母乳からの移行抗体によってかなりの感染が防御されているが、離乳期になると発症する可能性が高いことを示している。すなわち、豚レンサ球菌の予防には、離乳期における有効な防御法の構築が必要となるが、現在は、飼料に抗菌剤を混入する予防投与が一般的に行われており、耐性菌発生の温床となっている。また、2 型莢膜多糖がワクチン抗原として使用されているが、莢膜多糖抗原の合成系遺伝子（*cps* 領域）に変異が入ることで莢膜多糖抗原性が変化することも示されており、現行のワクチンによる効果は限定的であるといえる。

２．研究の目的
本研究では、これまで蓄積されたブタレンサ球菌のゲノム解析情報や病原性遺伝子情報を用いて、日本・タイ・ベトナムでの豚唾液中・血清中に誘導される抗体に着目し、抗体によって認識される *S. suis* の抗原分子を同定し、得られた抗原分子に高い特異的な人工抗体をファージディスプレイライブラリーから選択する。この抗体を用いて、*S. suis* 抗原への結合に最適な結合領域を設計し、各種抗原に対して結合能の高い抗体を短期間でかつ安価に得る創薬基盤を構築し、*S. suis* 感染症の診断用抗体の均一化・標準化や Intravenous Immunogloblin(IVIG)用の治療用抗体の作成、さらには、最も効果的なワクチン抗原を同定することを目的とする。

３．研究の方法
（１）日本・タイ・ベトナムの養豚場から各生育ステージ（授乳期、ほ乳期、生育期）の豚より口腔内唾液および血液を採取する。(東京大学・関崎勉、順天堂大学・遠矢真理)。ただし、日本の養豚場では、すでにワクチンの投与や飼料を用いた抗菌剤の投与が行われていることを考慮する。タイにおけるサンプリングは、研究協力者であるカセサート大学獣医学部、ベトナムではノンラム大学獣医学部の協力の元に行う（京都大学・中川一路、東京大学・関崎勉、京都大学・相川知宏、順天堂大学・遠矢真理)。唾液サンプルや血液サンプル（各ステージにつき 20 サンプル）について、唾液中に含まれる抗体(IgA)には Protein L カラムを、血清中の抗体(主に IgG)には Protein A カラムをそれぞれ用いて抗体を分離する。
（２）*S. suis* のゲノム情報を用いて、機能的に細菌の生育に必須である、あるいは病原性の発揮に重要と考えられる表層分子を選択する。対象とする菌株は、データベースに登録されている 35 株の完全長ゲノムや、これまでに *cps* 領域の解析に用いたドラフトゲノム情報を利用する（京都大学・相川知宏、順天堂大学・遠矢真理)。

（３）*S. suis* の代表的菌株である P1/７株（血清型２型)の表層分子を抽出し、臭化シアン活性化カラムに結合させる。I で採取した唾液・血清中抗体をこのカラムに吸着させ、唾液中・血清中に存在する *S. suis* に結合する抗体分子の分離・精製を行う（京都大学・中川一路)。
（４）上記で得られた唾液中や血清中抗体を用いて、*S. suis* の表層タンパク質抽出物、あるいは主要な表層・分泌抗原分子をターゲットにして、抗原となっている分子を同定する。サンプリングで得られた各抗体と結合する分子を、トリプシン消化断片を用いて LC-MS/MS 解析を行い、結合タンパクを同定する（京都大学・共同利用施設を利用する)。このタンパク情報を II の解析結果と合わせて、サンプル中で共通に認められる抗原分子を同定する（京都大学・相川知宏)。
（５）上記で得られた抗原情報を元に、リコンビナントタンパクを作成し、ファージディスプレイライブラリーを用いたアフィニティマチュレーションにより結合能の高い人工抗体を選択する。得られたクローンについて、組み換えタンパク質として調製し、表面プラズモン共鳴 (SPR) 解析や等温滴定型熱量測定（ITC）による物理化学的な手法によって相互作用の定量的な解析を行う。 (京都大学・中川一路、京都大学・相川知宏)。
（６）（５）で得られた人工抗体を用いて、ヒト化抗体については ELISA 法によって反応性を確認し、さらにヒト好中球を用いた opsonophagocytic assay を行い、その機能についての検討を行う（東京大学・関崎勉)。
最終的に特異的に高い結合能を示すクローンを用いて、各菌株や近縁種を用いた結合能の比較を行う。今回試供する菌は、上記の P1/7 株以外に日本とタイでの臨床分離株を用いる。また、菌種特異的に存在する分子に結合して増殖阻害活性を示すような抗体が得られれば、in vitro 活性だけでなく、各菌への増殖阻害能による菌体排除効果についても日本・タイ双方の臨床分離株を用いて評価し、新規薬剤としての可能性を検証する。（東京大学・関崎勉、京都大学・中川一路、順天堂大学・遠矢真理)

４．研究成果
（１）試料の収集と血清分離
平成 31 年度 4 月より、豚血清のサンプルの収集を開始した。また、平成 30 年度に事前集中行った東京大学農場の豚血清もサンプルとして用いた。

血清採取場所	サンプル数	分離年度
東大農場（茨城県）	8	2018
茨城県家畜保健衛生所	25	2018-2019
静岡県家畜保健衛生所	333	2019
新潟県家畜保健衛生所	12	2019
タイ・カセサート大学	12	2017-2019
ベトナム・ノンラム大学	26	2018
合計	390	

（結果）
➢ 目標とするサンプル数については、達成目標に達した。

（２） 有用抗原の同定
①抗体の精製と抗原の抽出

上記で得られた血清から抗体をプロテイン A カラムにて精製し、抗体サンプルとして用いた。
抗原とする表層抗原、菌体分泌タンパクを得るため、
S. suis P1/7 株（強毒株）
S. suis DAT299 株（弱毒株）
S. suis DAT300 株（弱毒株）
の３株を用いて、菌体表層タンパク質および分泌タンパク質の粗精製標本の抽出を行った。
菌体表層タンパク質については、菌体を Toryptic Soy 培地にて培養後、PBS にて洗浄を行った菌体を、8M 尿素を含む Tris 緩衝液を用いて撹拌し、表層タンパク質の抽出を行った。得られた粗精製物を透析にて尿素を除去し、濃縮にて表層タンパク質画分とした。 得られた表層タンパク質画分を SDS-PAGE

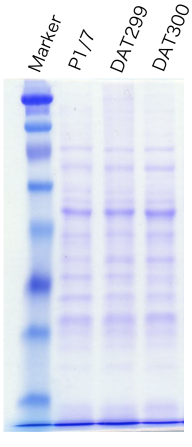

図１. *S. suis* 各菌株の表層タンパク質粗抽出物の CBB 染色

で展開し、クマシー染色で確認したところ、3菌株間での差異は認められなかった（図1)。

分泌タンパク質については、培養上清を80%硫安沈殿にて濃縮を行い、遠心して沈殿画分を回収後、透析にて硫安を除去したものを培養上清画分として使用した。

それぞれの菌体から得られた菌体表層画分、培養上清画分を 12% SDS-PAGE 上に展開し、PVDF 膜に転写後、豚精製抗体を 1:100~1:400 の希釈倍率で用いてウェスタンブロットを行った。いずれの抗体も、タンパク質定量では濃度は 500 μg/ml 程であり、差異は少なかった。精製した抗体のうち、240 抗体サンプルについてウェスタンブロットによる解析を行ったところ、病原性株である P1/7 に反応するバンドと弱毒株である DAT299 株、DAT300 株と明確に反応するバンドが異なるサンプルが 15 サンプル中で認められた（図 2)。

（結果）

- 強毒株、弱毒株で明確に反応性のかわる複数のバンドを確認することができた。
- この差異は、解析を行った 240 サンプル中で、異なる農場、国で 15 サンプルが同じパターンを示した。

（３）抗原のアミノ酸配列決定

上記で、強毒株、弱毒株で特異的に反応性が見られたバンドについて、その抗原決定を試みた。抗原としては、培養上清では明確な差異が認められなかったため、菌体表層タンパク質をターゲットとして抗原の分離を試みた。

当初の予定では、得られた抗体を CNBr 固定化カラムに固定してアフィニティカラムを作成し、抗原となるタンパク質を溶出されて同定する予定としていた。しかし、精製後の抗体量が少なく、カラムを作成するだけの量が確保できない可能性が高いため、免疫沈降を用いた抗原のキャプチャーと、LC-MS/MS による分析に変更して、その実験を以下に行った。

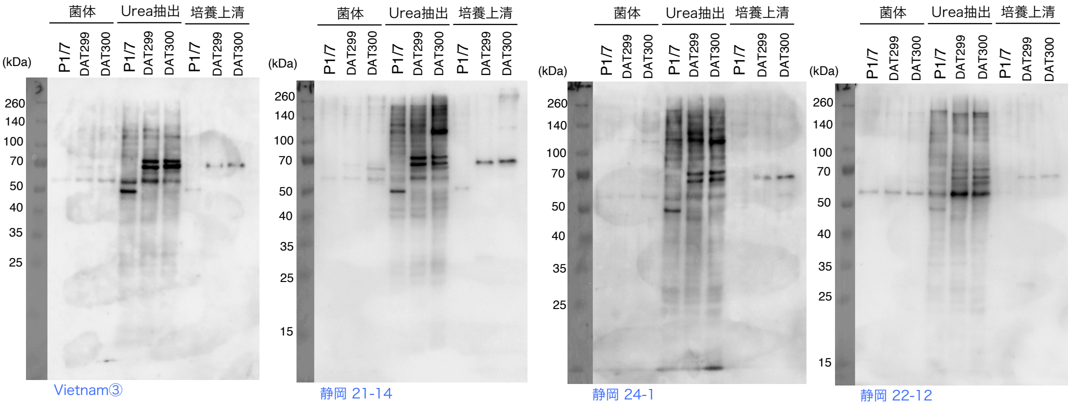

図 2 . *S. suis* 各菌株の表層タンパク質でのウェスタンブロットにて明確な差異があった解析像。

Viet-nam③、静岡 21-14, 静岡 24-1 等が同一のパターンを示す。

免疫沈降は、上記の抗体サンプルのうち、ネガティブコントロールとしてタイ・カセサート大ポジティブコントロールサンプルとして Vietnum③の抗体 10μg を用いて *S. suis* P1/7 の菌体表層タンパクから抗原のキャプチャーを行った。これをプロテイン A カラム樹脂によって免疫沈降した後に、溶出した画分を、島津テクノリサーチ（京都大学内での産学協同利用施設）によりアミノ酸配列同定を依頼した。用いたサンプル量は、100 μ グラムであった。サンプルに冷アセトン 100 μL を添加・混合し-30°C にて一晩静置した。20,000×g，4°C にて 10 分 間遠心後，上澄みを除去して沈殿を乾燥させた.沈殿に 50 mM ジチオスレイトール(DTT)，8 M 尿素溶液 20 μL を添加して室温にて 1 時間撹拌，550 mM ヨードアセトアミド溶液 5 μL を添加して遮光下にて 45 分間撹拌，続いて 250 mM DTT 溶液 1.5 μL を添加して室温にて 10 分間撹拌した。5 mM 塩化カルシウム含有 50 mM 炭酸水素アンモニウム溶液 167.5 μL を添加して混合後， 200 ng/μL トリプシン溶液 1 μL を添加して軽く混合し，37°C にて一晩酵素消化した。酵素消化後，20%トリフルオロ酢酸(TFA)溶液 10 μL を添加・混合し，GL-Tip SDB (GL サイエンス)にて脱塩精製した。溶出液を減圧乾固後，乾固物に 0.1%ギ酸溶液 15 μL を添加して完全に溶解し，Millex-GV, 0.22 μm, PVDF (Merck-Millipore)にてろ過した溶液を LC-MS/MS 試料とした。

得られたペプチド情報を、*S. suis* P1/7 株ゲノム情報と照合し、ネガティブコントロール、ポジティブコントロール画分から得られた抗原の同定を行った（Table 1, 2）。ネガティブコントロールでは、リボソマールタンパク質とのヒットが多く、また得られたタンパク質の情報 CAR46408.1,

b

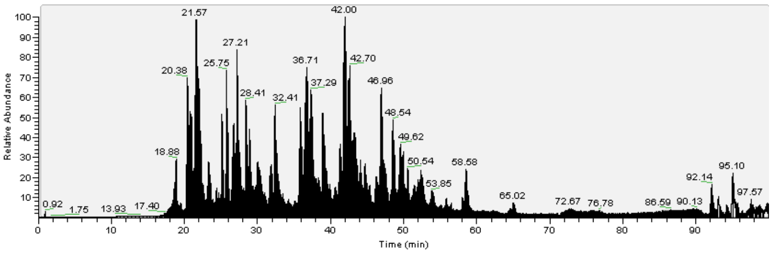

図３． Vietnam③豚 IgG のＴＩＣクロマトグラムから得られたペプチド画分のパターン

Figure 2. Vietnam③豚IgGのTICクロマトグラム(a 不純物画分, b ペプチド画分)

47563,1, 47507.1 については分泌シグナルが認められなかった。Vietnam③サンプルでは、Table2 に示したうち、CAR44118.1, 46363.1, 47313.1 の３つが明確な分泌シグナルを持つことから、この３つのタンパクについて、以下の抗体精製のための抗原候補として使用することとした。

（結果）

- 強毒株である P1/7 株と特異的に結合する３種の抗原候補を得ることができた。
- 候補となる３種類のタンパク質は､いずれも細胞分裂時の細胞壁のリモデリングにかかわる酵素であり､菌体の増殖が起きている場合に多量に産生されることが予測されることから､抗体の産生によって増殖が抑えられている可能性が高い。そのため、これらの抗原はワクチン候補となる可能性が高い。

Table 1. Control豚IgGに特異的に同定されたタンパク質

Accession	Protein Name	Score	Coverage	# Peptides
CAR46545.1	50S ribosomal protein L33 2	69.9	22.45%	1
CAR44641.1	50S ribosomal protein L33 1	66.5	32.65%	2
CAR46408.1	putative exported protein	55.8	28.57%	2
CAR47563.1	extracellular metal cation-binding protein	53.7	3.91%	1
CAR45003.1	putative ATP-dependent Clp protease ATP-binding	53.5	3.37%	2
CAR47465.1	30S ribosomal protein S2	44.6	3.10%	1
CAR44237.1	50S ribosomal protein L16	41.8	8.03%	1
CAR47386.1	30S ribosomal protein S9	39.4	7.69%	1
CAR47507.1	homocysteine S-methyltransferase	29.6	2.22%	1
CAR46122.1	ATP synthase epsilon chain	28.6	6.52%	1
CAR44223.1	50S ribosomal protein L3	28.2	5.77%	1
CAR46812.1	chorismate mutase type II protein	21.6	7.61%	1

Table 2. Vietnam③豚IgGに特異的に同定されたタンパク質

Accession	Protein Name	Score	Coverage	# Peptides
CAR44118.1	putative amidase	210.0	13.40%	5
CAR46363.1	putative N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase	92.9	6.76%	2
CAR44988.1	conserved hypothetical protein	40.2	5.35%	1
CAR44232.1	50S ribosomal protein L22	39.7	14.91%	2
CAR47325.1	30S ribosomal protein S18	34.0	10.13%	1
CAR47313.1	putative exported protein	29.6	0.80%	1
CAR44267.1	30S ribosomal protein S5	26.0	11.59%	1
CAR44400.1	30S ribosomal protein S7	23.4	8.97%	1
CAR46118.1	UDP-N-acetylglucosamine 1-carboxyvinyltransferase	22.2	2.34%	1
CAR46118.1	DNA-directed RNA polymerase beta' chain	20.7	0.82%	1

（４）ファージディスプレイを用いたパニング法による人工抗体の作成事業

①リコンビナント体作製

上記（３）で得られた候補の CAR44118.1, 46363.1, 47313.1 について、それぞれの遺伝子を P1/7 ゲノムより増幅し、発現確認用の GST 融合体、およびパニング抗原として用いるための His-Tag 融合体を作成するため、pGEX6P-1, pCold-I にクローニングを行った。それぞれ発現体の作成は終了した。HisTag 発現体は、大腸菌 BL21 に再クローニングした後に、15°C 20 時間培養によって大量発現を行った。破砕した菌体破砕物より Ni-NTA カラムを用いて精製後、さらにゲルろ過カラムを用いた精製を行うことで、パニング用抗原を得た。

②パニングによる人工抗体の単離と発現系の構築

得られた HisTag 体をイミュノチューブに 10 ug/ml の濃度で固定し、ヒト IgG の合成ライブラリーである Tomlinson I, Tomlinson-J ライブラリーを用いてパニングを行っている。これらのライブラリーは、ヒト IgG を基本骨格として、CDR1, 2,3 のそれぞれの領域の５３ヶ所にランダム変異を導入したライブラリーである。現在２回目のパニングが終了しているが、タイターの上昇が認められおり、３回目のパニングが終了した後に、シーケンスにてクローンの多様性を確認する。また、４月より選れれた抗原候補をウサギに免疫することで、ウサギ IgG ライブラリーも作成して、同様にパニングにてウサギ抗体ライブラリーからの選択も予定している。これは、ウサギ抗体は特異性が高く、より反応性の高い抗体がとれる可能性が高いからである。

（結果）

- 強毒株である P1/7 株に反応する抗原の同定に成功した。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計17件（うち査読付論文　17件／うち国際共著　1件／うちオープンアクセス　8件）

1．著者名 Nozawa Takashi、Iibushi Junpei、Toh Hirotaka、Minowa-Nozawa Atsuko、Murase Kazunori、Aikawa Chihiro、Nakagawa Ichiro	4．巻 12
2．論文標題 Intracellular Group A Streptococcus Induces Golgi Fragmentation To Impair Host Defenses through Streptolysin O and NAD-Glycohydrolase	5．発行年 2021年
3．雑誌名 mBio	6．最初と最後の頁 e01974-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/mBio.01974-20	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 Lin Ching-Yu、Nozawa Takashi、Minowa-Nozawa Atsuko、Toh Hirotaka、Hikichi Miyako、Iibushi Junpei、Nakagawa Ichiro	4．巻 10
2．論文標題 Autophagy Receptor Tollip Facilitates Bacterial Autophagy by Recruiting Galectin-7 in Response to Group A Streptococcus Infection	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	6．最初と最後の頁 583137
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcimb.2020.583137	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 Nozawa Takashi、Nakagawa Ichiro	4．巻 2136
2．論文標題 Identification of Group A Streptococcus-Containing Autophagosome-Like Vacuoles	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Group A Streptococcus	6．最初と最後の頁 223～231
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-1-0716-0467-0_16	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 Nozawa Takashi、Iibushi Junpei、Toh Hirotaka、Minowa-Nozawa Atsuko、Murase Kazunori、Aikawa Chihiro、Nakagawa Ichiro	4．巻 0
2．論文標題 Intracellular Group A Streptococcus induces Golgi fragmentation to impair host defenses through Streptolysin O and NAD-glycohydrolase	5．発行年 2020年
3．雑誌名 bioRxiv	6．最初と最後の頁 207897
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2020.07.16.207894	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 Murase Kazunori、Nozawa Takashi、Aikawa Chihiro、Nagao Miki、Ikebe Tadayoshi、Yoshida Akemi、Kikuchi Taisei、Nakagawa Ichiro	4．巻 9
2．論文標題 Complete Genome Sequences of Streptococcus pyogenes Serotype M3, M28, and M89 Strains Isolated from Human Patients in Japan, 1994 to 2009	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6．最初と最後の頁 e01047-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.01047-20	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 Minowa-Nozawa Atsuko、Nozawa Takashi、Takamatsu Daisuke、Yoshida Akemi、Murase Kazunori、Kikuchi Taisei、Ishida-Kuroki Kasumi、Nitta Yoshihiro、Sekizaki Tsutomu、Nakagawa Ichiro	4．巻 9
2．論文標題 Complete Genome Sequences of Two Streptococcus suis Strains Isolated from Asymptomatic Pigs	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6．最初と最後の頁 e01142-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.01142-20	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 Tanaka Mototsugu、Kinoshita-Daitoku Ryo、Kiga Kotaro、Sanada Takahito、Zhu Bo、Okano Tokuju、Aikawa Chihiro、Iida Tamako、Ogura Yoshitoshi、Hayashi Tetsuya、Okubo Koshu、Kurosawa Miho、Hirahashi Junichi、Suzuki Toshihiko、Nakagawa Ichiro、Nangaku Masaomi、Mimuro Hitomi	4．巻 10
2．論文標題 Group A Streptococcus establishes pharynx infection by degrading the deoxyribonucleic acid of neutrophil extracellular traps	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 3251
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-60306-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 －

1．著者名 Toh Hirotaka、Nozawa Takashi、Minowa-Nozawa Atsuko、Hikichi Miyako、Nakajima Shintaro、Aikawa Chihiro、Nakagawa Ichiro	4．巻 16
2．論文標題 Group A Streptococcus modulates RAB1- and PIK3C3 complex-dependent autophagy	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Autophagy	6．最初と最後の頁 334～346
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/15548627.2019.1628539	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 Nagaoka Kentaro、Konno Satoshi、Murase Kazunori、Kikuchi Taisei、Morinaga Yoshitomo、Yanagihara Katsunori、Nakagawa Ichiro	4．巻 8
2．論文標題 Complete Genome Sequences of Streptococcus pneumoniae Strains HU-OH (Serotype 3, Sequence Type 183 [ST183]), NU83127 (Serotype 4, ST246), and ATCC 49619 (Serotype 19F, ST1203)	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6．最初と最後の頁 e01501-18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.01504-18	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 Lin Ching‐Yu、Nozawa Takashi、Minowa‐Nozawa Atsuko、Toh Hirotaka、Aikawa Chihiro、Nakagawa Ichiro	4．巻 21
2．論文標題 LAMTOR2/LAMTOR1 complex is required for TAX1BP1‐mediated xenophagy	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Cellular Microbiology	6．最初と最後の頁 e12981～e12981
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cmi.12981	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 Toh Hirotaka、Lin Ching-Yu、Nakajima Shintaro、Aikawa Chihiro、Nozawa Takashi、Nakagawa Ichiro	4．巻 9
2．論文標題 Group A Streptococcus NAD-Glycohydrolase Inhibits Caveolin 1-Mediated Internalization Into Human Epithelial Cells	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	6．最初と最後の頁 398
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcimb.2019.00398	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 Takahashi Ichiro、Hosomi Koji、Nagatake Takahiro、Tobou Hirokazu、Yamamoto Daiki、Hayashi Ikue、Kurashima Yosuke、Sato Shintaro、Shibata Naoko、Goto Yoshiyuki、Maruyama Fumito、Nakagawa Ichiro、Kuwae Asaomi、Abe Akio、Kunisawa Jun、Kiyono Hiroshi	4．巻 32
2．論文標題 Persistent colonization of non-lymphoid tissue-resident macrophages by Stenotrophomonas maltophilia	5．発行年 2020年
3．雑誌名 International Immunology	6．最初と最後の頁 133-141
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxz071	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 Funahashi Kenta、Shiba Takahiko、Watanabe Takayasu、Muramoto Keiko、Takeuchi Yasuo、Ogawa Takuya、Izumi Yuichi、Sekizaki Tsutomu、Nakagawa Ichiro、Moriyama Keiji	4．巻 20
2．論文標題 Functional dysbiosis within dental plaque microbiota in cleft lip and palate patients	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Progress in Orthodontics	6．最初と最後の頁 11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40510-019-0265-1	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 Tanaka Mototsugu、Kinoshita-Daitoku Ryo、Kiga Kotaro、Sanada Takahito、Zhu Bo、Okano Tokuju、Aikawa Chihiro、Iida Tamako、Ogura Yoshitoshi、Hayashi Tetsuya、Okubo Koshu、Kurosawa Miho、Hirahashi Junichi、Suzuki Toshihiko、Nakagawa Ichiro、Nangaku Masaomi、Mimuro Hitomi	4．巻 10
2．論文標題 Group A Streptococcus establishes pharynx infection by degrading the deoxyribonucleic acid of neutrophil extracellular traps	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 3251
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-60306-w	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 Hikichi Miyako、Nagao Miki、Murase Kazunori、Aikawa Chihiro、Nozawa Takashi、Yoshida Akemi、Kikuchi Taisei、Nakagawa Ichiro	4．巻 8
2．論文標題 Complete Genome Sequences of Eight Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Strains Isolated from Patients in Japan	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6．最初と最後の頁 01212-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.01212-19	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 Nozawa Takashi、Sano Shunsuke、Minowa-Nozawa Atsuko、Toh Hirotaka、Nakajima Shintaro、Murase Kazunori、Aikawa Chihiro、Nakagawa Ichiro	4．巻 11
2．論文標題 TBC1D9 regulates TBK1 activation through Ca2+ signaling in selective autophagy	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Nature Communications	6．最初と最後の頁 770
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-020-14533-4	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 該当する

1．著者名 Nagaoka Kentaro、Konno Satoshi、Murase Kazunori、Kikuchi Taisei、Nakagawa Ichiro	4．巻 7
2．論文標題 Complete Genome Sequence of Streptococcus agalactiae Serotype III, Multilocus Sequence Type 335 Strain HU-GS5823, Isolated from a Human Patient in Japan with Severe Invasive Infection	5．発行年 2018年
3．雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6．最初と最後の頁 e01303

掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.01303-18	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19件（うち招待講演　7件／うち国際学会　0件）

1．発表者名 中川一路
2．発表標題 TBC1D9を介したカルシウムシグナリングはTBK1依存性ゼノファジーを制御する
3．学会等名 第32回日本生体防御学会（招待講演）
4．発表年 2020年～2021年

1．発表者名 中木戸 誠, 竹内 美結, 長門石 曉, 相川 知宏, 中川 一路, 津本 浩平
2．発表標題 化膿連鎖球菌由来金属獲得蛋白質 MtsA に対する機能阻害剤の探索
3．学会等名 第94回日本細菌学会総会（招待講演）
4．発表年 2020年～2021年

1．発表者名 相川 知宏, 長門石 曉, 中木戸 誠, 妹尾 暁暢, 星野 将人, 野澤 孝志, 村瀬 一典, 津本 浩平, 中川 一路
2．発表標題 A 群レンサ球菌の増殖に必要な鉄獲得機構に対する阻害剤の探索
3．学会等名 第94回日本細菌学会総会（招待講演）
4．発表年 2020年～2021年

１．発表者名 野澤 孝志，中川 一路
２．発表標題 ESCRT 機構による A 群レンサ球菌感染制御
３．学会等名 第94回日本細菌学会総会（招待講演）
４．発表年 2020年～2021年

１．発表者名 曳地 京，野澤 孝志，中川 一路
２．発表標題 GBP1はTBK1 のリン酸化を介してA 群レンサ球菌に対する選択的オートファジーを制御する
３．学会等名 第94回日本細菌学会総会
４．発表年 2020年～2021年

１．発表者名 飯伏 純平，藤 博貴，野澤 孝志，中川 一路
２．発表標題 オートファジー関連因子ATG9はA 群レンサ球菌の細胞内への侵入を制御する
３．学会等名 第94回日本細菌学会総会
４．発表年 2020年～2021年

１．発表者名 藤博貴、中島慎太郎、 相川知宏、 野澤敦子、 野澤孝志、 中川一路
２．発表標題 A群レンサ球菌の分泌毒素NAD-glycohydrolaseはATG14-PIK3C3複合体および RAB1依存的なオートファゴソーム形成を阻害する
３．学会等名 第51回レンサ球菌研究会
４．発表年 2019年～2020年

1．発表者名 A群レンサ球菌に対するゼノファジー誘導の分子機構
2．発表標題 曵地京、野澤孝志、中川一路
3．学会等名 第51回レンサ球菌研究会
4．発表年 2019年～2020年

1．発表者名 中川一路
2．発表標題 A群レンサ球菌感染に対するゼノファジーの制御
3．学会等名 第62回日本感染症学会中日本地方会学術集会（招待講演）
4．発表年 2019年～2020年

1．発表者名 中川一路
2．発表標題 分子間相互作用阻害に基づく 菌種特異的な増殖阻害剤の開発
3．学会等名 第92回日本生化学会（招待講演）
4．発表年 2019年～2020年

1．発表者名 中川一路
2．発表標題 Regulation of xenophagy in group A Streptococcus infection
3．学会等名 第18回淡路国際面系と感染フォーラム（招待講演）
4．発表年 2019年～2020年

１．発表者名
野澤 孝志，中川 一路

２．発表標題
Xenophagy induction mechanism during Group A Streptococcus infection

３．学会等名
第93回日本細菌学会総会

４．発表年
2019年～2020年

１．発表者名
中川一路

２．発表標題
A 群レンサ球菌感染に対するゼノファジーの制御

３．学会等名
第93回日本細菌学会総会

４．発表年
2019年～2020年

１．発表者名
中木戸誠 ， 相川知宏，長門石曉，妹尾暁暢，竹内美 結 ， 星野 将人 ， 下村 拓矢 ， Jose M. M. Caaveiro ， 中川 一路，津本浩平

２．発表標題
物理化学的アプローチによる低分子阻害剤の探索および抗体阻害 剤の開発

３．学会等名
第93回日本細菌学会総会

４．発表年
2019年～2020年

１．発表者名
飯伏 純平，藤 博貴，野澤 孝志，中川 一路

２．発表標題
A 群レンサ球菌は宿主細胞内膜輸送経路を破綻させることで上皮 バリアシステムの恒常性を低下させる

３．学会等名
第93回日本細菌学会総会

４．発表年
2019年～2020年

１．発表者名
下岸将博 ， 渡辺孝康 ， 柴崎真樹 ， 中野善夫 ， 春日井昇平 ， 中川 一路

２．発表標題
デンタルインプラントの口腔内露出後に生じる周囲細菌叢の経時変化

３．学会等名
第93回日本細菌学会総会

４．発表年
2019年～2020年

１．発表者名
藤 博貴 ， 野澤 孝志 ， 中川 一路

２．発表標題
A 群レンサ球菌の毒素 NAD-glycohydrolase は宿主リン脂質ホス ホイノシタイドへの結合能を有する

３．学会等名
第93回日本細菌学会総会

４．発表年
2019年～2020年

１．発表者名
戉地 京, 野澤 孝志, 中川 一路

２．発表標題
インターフェロン誘導性の抗病原体因子 GBP1 は TBK1 と複合体 を形成してゼノファジーを制御する

３．学会等名
第93回日本細菌学会総会

４．発表年
2019年～2020年

１．発表者名
相川知宏、星野将人、中木戸誠、長門石暁、村瀬一典、津本浩平、中川一路

２．発表標題
化合物 H1 の A 群レンサ球菌増殖抑制メカニズムおよび抗菌薬と の併用効果の検証

３．学会等名
第93回日本細菌学会総会

４．発表年
2019年～2020年

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

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

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	遠矢　真理 (Tohya Mari) (20804694)	順天堂大学・医学部・助教 (32620)	
研究分担者	関崎　勉 (Sekizaki Tsutomu) (70355163)	東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・教授 (12601)	
研究分担者	相川　知宏 (Aikawa Chihiro) (70725499)	京都大学・医学研究科・助教 (14301)	

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