

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：82603

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K15658

研究課題名(和文)豚レンサ球菌の発症機序と自然免疫回避に関する分子の解明

研究課題名(英文) Investigation of molecules involved in pathogenic mechanism and innate immune evasion of *Streptococcus suis*

研究代表者

黒木 香澄(石田香澄)(Ishida-Kuroki, Kasumi)

国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・主任研究官

研究者番号：80760272

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):豚レンサ球菌は人獣共通感染症の起因菌であるが、その発症機序については不明な点が多い。本研究では、豚レンサ球菌の強毒株は宿主のグリコサミノグリカンを分解する酵素、その分解産物を菌体内に取り込むPhosphotransferase system、分解産物を代謝するEntner Doudoroff経路の酵素をコードする遺伝子群を保有することを明らかにした。また、豚レンサ球菌の近縁種である*Streptococcus ruminantium*や、肺炎球菌、G群溶血性レンサ球菌等も、この遺伝子群を保有していたことから、本遺伝子群は豚レンサ球菌を含むレンサ球菌の病原性に関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではブタやヒトに髄膜炎や菌血症を引き起こす豚レンサ球菌の発症に関与する可能性がある遺伝子群を見出した。また、この遺伝子群は豚レンサ球菌だけでなく、ヒトに病原性を示す他のレンサ球菌でも認められ、レンサ球菌が共通して保有する病原因子である可能性が示唆された。今後、この遺伝子群について精査することで、レンサ球菌感染症の発症機序や病態の解明に繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文): *Streptococcus suis* is known to cause zoonotic diseases, such as meningitis and bacteremia. However, the specific virulence factors have remained unclear. This study revealed that virulent strains of *Streptococcus suis* harbored a gene cluster consisting of genes encoding hyaluronidase and heparinase that degrade host glycosaminoglycans, a phosphotransferase system for importing these degraded products into bacterial cells, and enzymes of the Entner-Doudoroff pathway for metabolizing these products. This gene cluster was also found in *Streptococcus ruminantium*, which is a close relative of *S. suis*, *Streptococcus pneumoniae*, and Group G streptococci, suggesting that the gene cluster associates with the pathogenicity of *Streptococcus suis* and other streptococci.

研究分野：細菌学

キーワード：豚レンサ球菌 *Streptococcus suis* 全ゲノム解析 ヒアルロニダーゼ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

豚レンサ球菌はブタやヒトに髄膜炎や心内膜炎、肺炎などを引き起こす人獣共通感染症の起因菌である。ブタの本菌感染症は世界中で報告されており、本邦の養豚場でも毎年30万頭以上が罹患し、経済的損失は100億円以上と推定されている。また、ヒトへの感染報告は養豚や食肉加工業の従事者に多いが、一般の主婦が家庭の台所で生のブタ内臓肉を調理したことで感染し、髄膜炎を発症した例が日本にもある。

これまでに応募者らは豚レンサ球菌がブタの口腔に常在することを明らかにすると同時に、本菌に感染したブタが必ずしも発症するわけではないことを示してきた (S. Arai et al., Am J Vet Res. 2018)。口腔内に常在する豚レンサ球菌が髄膜炎や心内膜炎などの全身性疾患を発症させるには、他の病原細菌の様に上皮細胞バリアを突破する必要があると考えられるが、その機序は十分に解明されていなかった。

2. 研究の目的

本研究は、ブタやヒトに感染する豚レンサ球菌の発症機序に関与する病原因子を見出すことを目的に実施した。

3. 研究の方法

(1) コンプリートゲノム配列の取得

豚レンサ球菌 69 株のコンプリートゲノム配列を NCBI アセンブリデータベース (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/>) から取得し、そのうち、ANI (Average Nucleotide Identity) 値が 95% を超える 61 株を研究に使用した。ANI 値は FastANI v1.32 (Jain et al. 2018) を使用して計算した。また、*S. parasuis* 4 株及び *S. ruminantium* 5 株のコンプリートゲノムをイルミナシーケンスとナノポアシーケンスにより決定した。さらに、その他 37 菌種のレンサ球菌について、代表株のコンプリートゲノムを NCBI から取得し、研究に使用した。

(2) パンゲノム解析

豚レンサ球菌 61 株、*S. parasuis* 4 株、*S. ruminantium* 5 株のコンプリートゲノムを Prokka v1.14.6 (Seemann 2014) によってアノテーション後、Roary v3.13.0 (Page et al. 2015) を使用して相同遺伝子を同定した。

(3) 遺伝子の機能アノテーション

Prokka でアノテーションされた遺伝子は、GhostKOALA vX (<https://www.kegg.jp/ghostkoala/>; Kanehisa et al. 2016) を使用して KEGG Orthology (KO) データベースに割り当てた。KO アノテーションの付いた遺伝子リストは、KEGG Mapper - Reconstruct Pathway (<https://www.kegg.jp/kegg/mapper/reconstruct.html>; Kanehisa et al. 2020) を使用し、機能分類した。

(4) Entner-Doudoroff (ED) 経路と glycosaminoglycan (GAG) lyase 遺伝子群の同定

ED 経路の保有は、KO データベースで K00874 (*kdgK* 遺伝子) および K01625 (*eda* 遺伝子) としてアノテーションされた主要遺伝子の有無により確認した。また、GAG lyase であるヒアルロニダーゼをコードする遺伝子は、KO データベースで K01727 としてアノテーションされた遺伝子の有無により確認した。さらに全ゲノム配列を用いて、ED 経路、phosphotransferase system (PTS)、及び GAG lyase から成る遺伝子群の存在を調べた。

4. 研究成果

パンゲノム解析により、豚レンサ球菌の中でも、ヒトやブタに感染症を引き起こす主要な系統 (CC1、CC7、CC25、CC27、CC28、CC29) が、ヒアルロン酸やヘパリンなどの GAG を分解するヒアルロニダーゼやヘパリナーゼ、GAG を取り込む PTS、取り込んだ GAG を代謝する ED 経路をコードする遺伝子群 (GAG lyase 遺伝子群) を保存していることが明らかとなった (図 1)。さらに、この遺伝子群は豚レンサ球菌の近縁種である *S. ruminantium* にも存在していた (図 1)。なお、同じく豚レンサ球菌の近縁種である *S. parasuis* は GAG lyase 遺伝子群を保有していなかった (図 1)。また、他のレンサ球菌の GAG lyase 遺伝子群の保有状況を調べた結果、*S. pneumoniae*、*S. dysgalactiae*、*S. intermedius*、*S. constellatus* でも保有が確認された (図 2)。以上の結果から GAG lyase 遺伝子群は、豚レンサ球菌のみならず、他のレンサ球菌の病原性にも関与する因子である可能性が示唆された。

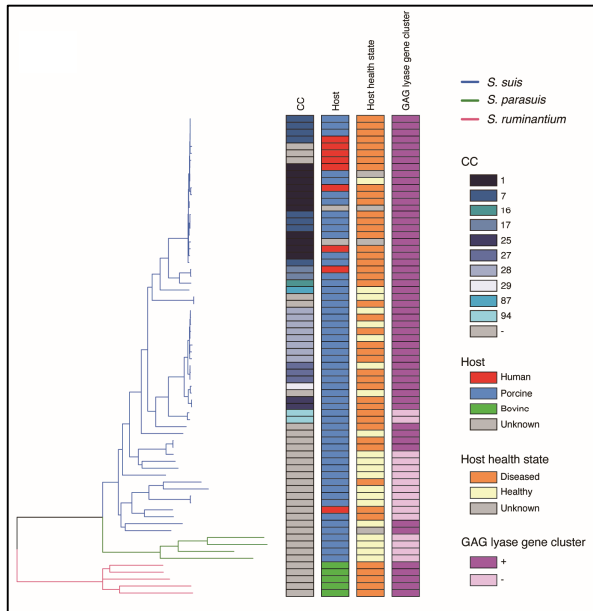


図 1、豚レンサ球菌、*S. parasuis* 及び *S. ruminantium* のコアゲノム SNPs による系統樹と GAG lyase 遺伝子群の保有状況

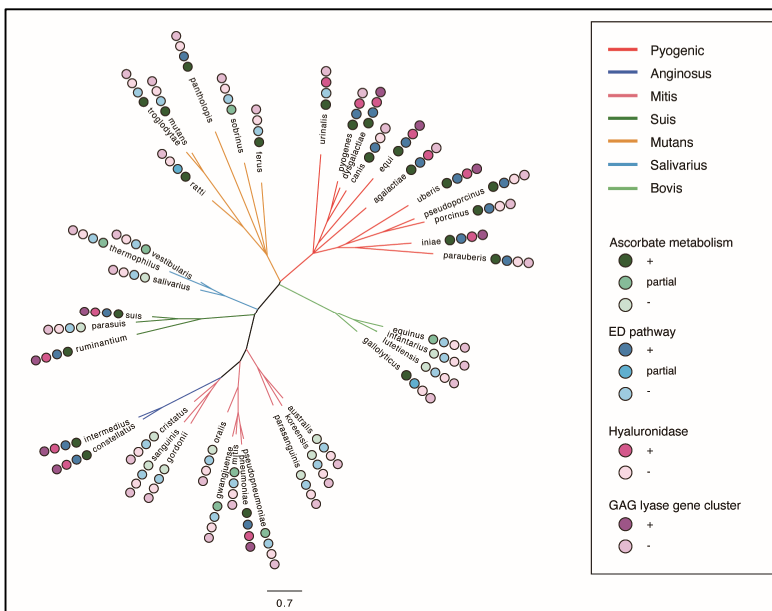


図 2、40 菌種のレンサ球菌の系統関係と GAG lyase 遺伝子群の保有状況

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 6件）

1. 著者名 Tohya Mari、Dozaki Shinichi、Ishida-Kuroki Kasumi、Watanabe Takayasu、Sekizaki Tsutomu	4. 巻 368
2. 論文標題 Basis of the persistence of capsule-negative <i>Streptococcus suis</i> in porcine endocarditis inferred from comparative genomics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEMS Microbiology Letters	6. 最初と最後の頁 fnab083
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/femsle/fnab083	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 Nomoto Ryohei、Ishida-Kuroki Kasumi、Nakagawa Ichiro、Sekizaki Tsutomu	4. 巻 11
2. 論文標題 Complete Genome Sequences of Four <i>Streptococcus parasuis</i> Strains Obtained from Saliva of Domestic Pigs in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e0124521
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/mra.01245-21	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 Nomoto Ryohei、Ishida-Kuroki Kasumi、Tohya Mari、Nakagawa Ichiro、Sekizaki Tsutomu	4. 巻 11
2. 論文標題 Complete Genome Sequences of Three <i>Streptococcus ruminantium</i> Strains Obtained from Endocarditis Lesions of Cattle in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e0124821
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/mra.01248-21	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 Ishida-Kuroki Kasumi、Takeshita Nachiko、Nitta Yoshihiro、Chuma Takehisa、Maeda Ken、Shimoda Hiroshi、Takano Ai、Sekizaki Tsutomu	4. 巻 9
2. 論文標題 16S rRNA Gene Amplicon Sequence Data from Feces of Wild Deer (<i>Cervus nippon</i>) in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00346-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.00346-20	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 Ishida-Kuroki Kasumi, Takeshita Nachiko, Nitta Yoshihiro, Chuma Takehisa, Maeda Ken, Shimoda Hiroshi, Takano Ai, Sekizaki Tsutomu	4. 巻 9
2. 論文標題 16S rRNA Gene Amplicon Sequence Data from Feces of Five Species of Wild Animals in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00368-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00368-20	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 Takeshita Nachiko, Watanabe Takayasu, Ishida-Kuroki Kasumi, Sekizaki Tsutomu	4. 巻 17
2. 論文標題 Transition of microbiota in chicken cecal droppings from commercial broiler farms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Veterinary Research	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12917-020-02688-7	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0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------