

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：32607  
研究種目：基盤研究(B) (一般)  
研究期間：2014～2016  
課題番号：26292153  
研究課題名(和文)ロドコッカス・エクイ病原遺伝子群(Vap family)の網羅的探索

研究課題名(英文)Analysis of Vap family genes of Rhodococcus qui

## 研究代表者

高井 伸二 (Shinji, Takai)

北里大学・獣医学部・教授

研究者番号：80137900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,300,000円

研究成果の概要(和文)：ロドコッカス・エクイの病原性プラスミドの発見により、本菌の毒力に関する研究が始まり、現在、3つの毒力型が知られている。15-17kDaの毒力関連抗原を菌体表層に発現する強毒株は85-90kbの病原性プラスミドを保有し、20kDa抗原を発現する中等度毒力株は79-100kbの病原性プラスミドを保有する。これらは、GC含量の違いからPathogenicity islandと呼ばれ、毒力関連遺伝子群(Vap family)をコードしている。これらの遺伝子群の由来を、ミミズなど土壌生物から検索した。

研究成果の概要(英文)：The discovery of virulence plasmids has allowed the classification of *Rhodococcus equi* strains and molecular epidemiological studies of virulent *R. equi*. At least three virulence levels of *R. equi* have been identified: virulent, intermediate virulence, and avirulent. Virulent *R. equi* is characterized by the presence of virulence-associated 15- to 17-kDa antigens (VapA), a virulence plasmid of 85 to 90 kb. VapA-positive *R. equi* is widespread on horse-breeding farms, but not on farms of other domestic animals. *R. equi* strains of intermediate virulence are identified by a virulence-associated 20-kDa antigen (VapB) and a virulence plasmid of 79 to 100 kb. The presence of a pathogenicity island is characterised by a significantly lower G+C content and analysis of the pathogenicity island resulted in six vapA homologues (vapC,D,E,F,G,H) and four vapB homologues (vapI,J,K,L). The purpose of this study is focus to find out those genes in the isolates from earth worms.

研究分野：獣医衛生学

キーワード：病原性プラスミド 細菌感染症 病原遺伝子 馬

1. 研究開始当初の背景

土壌中の腐生細菌であるロドコッカス属の中に、病原菌が2菌種存在する。一つは子馬の病原菌であるロドコッカス・エクイ、もう一つは、植物に腫瘤を形成するロドコッカス・ファシアンズである。興味深いことに、この2種の動物と植物の病原菌は病原性プラスミドによって、その毒力が規定されている。これまでに私たちはロドコッカス・エクイの病原性プラスミドを発見し、2種類のプラスミドが強毒と中等度毒力という2つの毒力レベルを規定し(J.Infect.Dis.1995)、馬と豚にそれぞれの毒力株が棲み分けをしていることを明らかにした。さらに、病原性プラスミドの全塩基配列から、病原性プラスミドは、GC含量が異なる大きな遺伝子挿入部位 Pathogenicity island(病原性遺伝子群)を持つキメラ構造が明らかとなり(Infect.Immun.2000)、外部からの遺伝子群の挿入というダイナミックな遺伝子の水平伝播があることを明らかにした。

これまでの私たちの研究の流れを追いながら、今回の計画の特徴と独創性を概説する。平成16-18年基盤研究(B)(一般)「ロドコッカス・エクイ病原性プラスミドの Pathogenicity Island-病原体の進化と分子疫学-」では、病原性プラスミドの病原性関連遺伝子群の獲得と進化は、この病原体の宿主である馬ではなく、土壌中本菌が捕食者である原生動物(アメーバなど)からのサバイバル戦略として、本菌が長時間をかけて獲得していったものではないかと考え、自由生活性アメーバである *Acanthamoeba castellanii* と *A.polyphaga* を用いた食菌・殺菌試験を検討し、興味ある知見を得た。ロドコッカス・エクイはアメーバの種類に関係なく他種の菌よりも極めて速く、かつ極めて多くアメーバに食菌されることが明らかとなった。

平成21-23年基盤研究(B)(一般)ロドコッカス・エクイ病原性遺伝子群の水平伝播-病原細菌の適応戦略とその起源-(高井伸二)では、病原性プラスミドの分子疫学調査と多型性獲得の観点からその起源を探る研究を推し進めた。そこでは、強毒株と中等度毒力株の病原性プラスミドの構造と機能の比較から、どのようにして病原細菌として選択されたのかを探るものであった。興味深いことに、vap family 病原性遺伝子群を含む約20kbの塩基配列は、強毒株と中等度毒力株においては60-70%の相同性しかないが、それ以外のプラスミド領域は殆ど塩基配列が一致した。これが意味することは、本菌の潜在プラスミドに病原性遺伝子群が少なくとも2回水平伝播したということである。本研究では、外来遺伝子の供給源として、土壌中に生息し、土壌を耕し土壌を作るミミズの腸内細菌叢に注目し、網羅的解析を実施する。さらに、ミミズが馬と豚の感染源の増幅装置ではないかと仮

説を立て、これを検証する。

遺伝子の水平伝播の場として、私たちは土壌と、特に、そこに生息するアメーバを選択圧の場と想定して研究を進めている。一方、土壌の微生物群集構造解析は対象が広域で、また、土壌環境中に存在する微生物数、群集構造、多様性、土壌機能との関連性、微生物間や植物などの生物間相互作用など複雑系を呈している。アメーバとミミズ、更にはミミズとイノシシ(豚)は餌と捕食者の連鎖関係にあり、何れも腸内フローラの構成原生生物の共生・寄生的関係でもあり、感染源でもある。アメーバが土壌細菌を食べる場合は、土壌だけではなく、寧ろ、土壌中よりも圧倒的に菌数の多い環境であるミミズ腸管内或いは、ミミズの排泄物ではないかと考えるに至った。土壌はミミズによって作られ(ミミズと土:ダーウィン1881)、その腸内フローラの網羅的解析は土壌細菌のそれを反映するものである。本研究は、病原性プラスミドの Pathogenicity Island上の Vap family 遺伝子群(外来遺伝子)の水平伝播の供給源としてミミズの腸内細菌叢に着目し、病原性遺伝子の網羅的解析に繋げようとするチャレンジ性の高い研究である。病原細菌学の分野からミミズの腸内細菌叢をターゲットにするのは初めてでもあり、病原性関連遺伝子群のプロトタイプの検索が本研究の主ではあるが、副産物の側面としては、医療、環境において有用遺伝子や細菌種の発見に繋がる可能性を秘めており、ヒトの腸内フローラの研究も正にこの発想で実施されている。しかし、土壌中生物の腸内微生物叢の機能や構造を病原性と有用性の観点から解き明かす研究はない。また、土壌環境に直結するミミズの微生物叢を明らかにすることは土壌改良の観点からも重要な研究課題である。今回、我が国でもまだ殆ど研究が進んでいないミミズの腸内細菌叢の網羅的研究は、極めて斬新でチャレンジ性に富んだ研究であると考えている。

土壌の微生物群集構造解析は、土壌環境中に存在する微生物数、群集構造、多様性、土壌機能との関連性、微生物間や植物などの生物間相互作用などを明らかにするものである。環境DNAそのものを網羅的に解読するメタゲノムにより、ゲノム生物学の手法や考え方を取り入れた「環境コミュニティー研究」が展開しつつあり、本研究も、土壌生態学的な観点から、本菌の増幅動物であるミミズに着目した。これまで、ミミズとロドコッカス・エクイの関係を調べた報告は無い。従来培養法では検出できない難培養性の微生物が存在することから、地球上の微生物の約99%がいまだ調べられていないのが現状である。ミミズの腸内細菌叢は土壌細菌の細菌叢にも直結しているであろうとも予想され、大半の微生物が性質未知のものであるがゆえ、病原性関連

遺伝子群の検索が主たる目的であるが、医療、環境などの遺伝子資源として人類にとって大いに役立つものが発見される可能性は大きい。特に、ミミズの生態と土壌での役割を考えると、環境分野（バイオレメディエーションなど）の有用菌或いは有用遺伝子、抗菌剤などに応用可能な新たな微生物による2次代謝物の発見を期待している。

## 2. 研究の目的

生物の迅速な環境適応や機能進化には、様々な外来性遺伝子の水平伝播による遺伝子獲得が重要な役割を果たしている。家畜の病原細菌であるロドコッカス・エクイの病原性プラスミドは病原性を規定している。この病原性プラスミドには Pathogenicity Island(病原性関連遺伝子群)が存在し、ファージ等の水平伝播によって本菌の潜在プラスミドに侵入した結果、病原性を獲得したことが明らかとなった。水平伝播の場合は土壌中生物間相互作用と考えられているが、その遺伝子群の起源は不明である。近年、遺伝子交換の場として土壌生物の巨大ウイルスや腸内細菌叢が注目されている。本研究の目的は病原性関連遺伝子群 Vap family のプロトタイプを土壌生物とその腸内細菌叢に焦点を絞り、病原性遺伝子の起源とその機能獲得ダイナミズムを明らかにしたい。

## 3. 研究の方法

遺伝子の水平伝播は、細菌においてはゲノム多様性の源であり、新しい環境への適応を可能にしている。特にその病原性や薬剤耐性を獲得する上で極めて重要な出来事であるが、その詳細についてはよく知られていない。本研究の目的は、土壌細菌であるロドコッカス・エクイが、土壌中で他の細菌から Pathogenicity Island(PAI)領域を獲得し、土壌中で病原性関連遺伝子群の水平伝播を受け、更に、アメーバなどの原生生物=高等動物によって細胞内で寄生する能力の選択を受け、最終的に馬の病原細菌となっていく過程の一端を明らかにし、最終ゴールとして、この作業仮説を証明することにある。これまでの30年間に渡る本菌の基礎・疫学研究成果を礎に、プロトタイプとなる潜在性プラスミドの塩基配列を決定し、強毒株に存在する15種類の病原性プラスミド、中等度毒力株に存在する32種類の病原性プラスミドのPAI領域付近の塩基配列と比較検討し、どのようにPAIが挿入されたのかを明らかにする。遺伝子の水平伝播を模式図に示したが、土壌中の細菌DNAによる形質転換、プラスミドによる接合、ファージによる形質導入が考えられ、これら進化の痕跡をPAI領域付近に見いだすことにある。

(1) ミミズの腸管内容物並びに排泄糞からのロドコッカス・エクイの分離

馬および豚(イノシシ)の飼育・棲息環境からのミミズの採取とロドコッカス・エクイ

の分離(高井が主として担当)

馬の飼育環境(北海道日高地方・平成26年度調査旅費)と野生イノシシの生息環境(和歌山県田辺市)からミミズを採取し、ロドコッカス・エクイの菌数測定並びに病原性プラスミドのプラスミドプロファイルを実施する。同時に、周辺土壌についても対象として菌分離を実施する。ミミズの腸管内から分離された強毒株・中等度毒力株の頻度を比較検討する。これは、豚やイノシシの下顎リンパ節から中等度毒力株がある頻度で分離されることから、野生イノシシの餌でもあるミミズが感染源として重要な役割を果たしているのではと予想しており、この作業仮説を証明することである。馬の飼育環境においても、表土に多くの強毒株が存在し、そのメカニズムをミミズの腸管内での増幅にあるのか否かを検証する。

ミミズの腸内細菌叢の培養と構成細菌群の解明

の実験で採取したミミズの腸内容物から、好氣的並びに嫌氣的条件での細菌培養を試み、培養可能な細菌種について、体長、採取場所などの要因での比較検討を行う。動物の腸内フローラとの比較の点からもミミズからの菌分離を試み、比較検討する。

ミミズ腸内細菌叢からのDNA抽出並びに16srDNAのPCR-DGGE(変性剤濃度勾配ゲル電気泳動)プロファイルによる解析

DGGEは腸内細菌叢の主要菌種を同定する方法として確立されており、これを用いて、菌種の比較検討を行う。

(2) ミミズの腸内細菌叢のゲノムDNAライブラリーの構築と塩基配列決定

網羅的解析の基礎データとするために、ミミズ細菌叢ゲノムDNAをショットガンクローニングし、ライブラリーを構築する。ライブラリーを次世代シーケンサーで塩基配列を解析する。

(3) 腸内細菌叢のDNAにおける病原性関連遺伝子群の検索

ロドコッカス・エクイの病原性関連遺伝子群(Vap family 遺伝子群)のプロトタイプを検出する目的で、vap 遺伝子群の中でも保存されている領域をプライマーにしたPCRでの検索を試みる

平成26年度の研究計画

ミミズ腸内細菌叢の網羅的解析の準備

1) ミミズの腸管内容物並びに排泄糞からのロドコッカス・エクイの分離

馬および豚(イノシシ)の飼育・棲息環境からのミミズの採取とロドコッカス・エクイの分離

2) ミミズの腸内細菌叢のゲノムDNAライブラリーの構築

平成27年度の研究計画

1) ミミズの腸内細菌叢のゲノムDNAの網羅的ゲノム解析

平成26年度に作成したゲノムライブラリーを次世代DNAシーケンサーを用い(外注)

網羅的解析を実施する。

## 2) ミミズの腸内細菌叢のゲノム DAN ライブラリーの構築の継続実験

平成 26 年度における検体数が少なかった場合、平成 27 年度も継続実験を行う。

平成 28 年度の研究計画

### 1) 腸内細菌叢の網羅的ゲノム解析と *vapB* family 遺伝子群の類似遺伝子の解析

網羅的解析を行った塩基配列について、病原性関連遺伝子群の検索を遺伝子解析ソフトを用いて実施する。

## 4. 研究成果

### (1) ミミズの腸管内容物並びに排泄糞からのロドコッカス・エクイの分離

大学構内のミミズ腸管内容物から分離された 673 菌株のうち 1 菌株(0.15%)の中等度毒力株が得られた。本年度はこの再調査を実施した。土壌中の本菌数と比較し、ミミズ腸管内容物は約 30~57 倍高いという結果が得られた。また、昨年度に引き続き、これまでに中等度毒力株保菌イノシシの捕獲された和歌山県田辺市のイノシシ生息域でミミズ及びその周辺土壌を採取し、菌分離を行い、菌数と毒力株の保有率を比較したところ、8 地点のミミズ 228 検体の腸管内容物菌数は  $8.3\sim 232.5 \times 10^3/\text{g}$  で、全地点で土壌中菌数より約 1.2~348 倍高かった。また、分離された 2230 菌株は昨年と同様に全て無毒株だった。ところが、これまでの調査方法ではイノシシの広い生息域の中から採取するミミズの検体数には限界があると判断する結果となった為、ミミズの腸内容物は土壌とほぼ同様の形態であることから、土壌 DNA 抽出キットを用い、短時間に大量検体を調査可能とする方法の確立を試みた。その結果、菌数が  $10^4\text{CFU/g}$  まで PCR で陽性となった。更に検出感度を上げる為、ミミズ腸内容物を液体 NANAT 培地で 36 時間増菌培養し、遠心沈渣から DNA 抽出し、Nested PCR 法を行ったところ、 $10^1\text{CFU/g}$  まで感度が上がり、検査法が確立できた。この方法を用いて、大学構内の堆肥場及び演習林、青森県十和田湖町及び十和田市中央公園のミミズ等腸管内容物及び周辺土壌から *R. equi* の分離を試みた。大学構内堆肥場のミミズ 40 検体中 1 検体(2.5%)から *vapB* 遺伝子陽性が検出され、1 検体の 90 菌株中から 2 菌株(2.2%)が中等度毒力株 3 型と確認された。大学構内演習林のミミズ及びその他の土壌動物(ムカデ、カブトムシなど)合計 27 検体、十和田湖町のミミズ 20 検体からはすべて *vapB* 遺伝子陰性であった。十和田市中央公園のミミズ 61 検体及び周辺土壌 19 検体について、ミミズ 61 検体中 1 検体(1.6%)から *vapB* 遺伝子が検出され、1 検体の 384 菌株から 2 菌株(0.5%)が中等度毒力株 3 型と確認された。

### (2) 分離株の病原性プラスミド型別法の開発

20 種類の強毒株病原性プラスミド型について、2014 年度加藤の改良した PCR 型別法をベースに、一つの PCR 反応系に複数のプライマー対を同時使用する Multiplex PCR を応用し、より簡便で迅速な PCR 型別法を開発した。日本の強毒株に存在する 90kb 、 、 、 、 87 a~e 型を型別するために作成された 4 種のプライマー対を同時に使用した反応系では 6 種類の PCR 型が出現し、87kb c と d 型が 2 つの特異的 PCR 型を示し、残り 18 種類は 4 種類の PCR 型に大別された。欧米型である 85kb ~ 、 87kb 、 、 52kb 型と日本、韓国型の 90kb 、 型を型別するために作成された 6 種のプライマー対を同時に使用した反応系では 10 種類の PCR 型が出現し、85kb 、 、 90kb 、 、 52kb 型は 6 つの特異的 PCR 型を示し、残り 14 種類は 4 種類の PCR 型に大別された。20 種類中 8 種の病原性プラスミドは 1 回の Multiplex PCR により型別可能となった。この開発により、短時間で簡便な強毒株病原性プラスミド型別が可能となったが、大別された中には点変異のみでの相違を含むものがあり、PCR 型別は難しいため制限酵素 *EcoR* 等で型別する必要がある。今後、強毒株病原性プラスミドの遺伝子変異部の解析やプライマーの新規構築により本法の改良を進める必要がある。

### (3) 馬の飼育環境から分離された強毒株の新型プラスミド

2015 年の北海道日高地方 P 牧場の土壌 21 検体、2016 年の北海道日高地方 S 牧場の糞便 3 検体および気管洗浄液 1 検体について菌分離・プラスミド型別を行ったところ、P 牧場は 12 株が強毒株、S 牧場全て強毒株 87kb a 型であった。2016 年の岩手県馬牧場の土壌 10 検体、糞便 1 検体、病馬分離株 3 株についてプラスミド型別を行ったところ、2 つの強毒株のうち 1 株は 90kb 型、もう 1 株はこれまで見つけていた 21 種類のいずれにも属さない強毒株病原性プラスミドが検出されたため、制限酵素 *EcoR* 処理による切断像およびサザンハイブリダイゼーションによる解析を行った。岩手 4-6 株のプラスミドを制限酵素 *EcoR* で切断し 87kb a 型と比較すると、断片 8 本のうち上から 2 番目と 7 番目の断片が少し大きくなっており、上から 5 番目の断片が欠如していた。このことから他の断片に移行したと推測される 5 番目と 8 番目の断片を確認するためサザンハイブリダイゼーションを行った結果、4-6 株で 5 番目の断片が移行していたことを確認した。4-6 株は、この 87kb a 型に近縁である新亜型病原性プラスミドと考え、87kb f 型と命名した。これにより強毒株は 22 種類となった。

### (4) イノシシからの分離株における新型プラスミド pVAPN の検出

これまで研究室でイノシシから分離した *R. equi* を対象として、*vapB* および *vapA* が陰性であり無毒株と判断されていた菌株について、新型病原性プラスミド pVAPN とイノシ

シとの関連性の有無を調査した。また、本研究で使用した *R. equi* イノシシ分離株は和歌山県もしくは兵庫県から採取されたものであったことから、両県間での pVAPN 保有率を比較することにより、地域特異性が見られるかどうか研究の視野に入れた。本研究室のこれまでの研究で用いられた *R. equi* イノシシ分離株も研究対象とした計 658 菌株のうち、*vapA* および *vapB* 陽性株を除き、*R. equi* 特異性遺伝子 *cox* 陽性かつ *vapB* および *vapA* 陰性の 34 検体 272 菌株を選出し、*vapN* をコードする 638bp 領域のプライマーを使用して PCR を行ったところ、1 検体 2 菌株において *vapN* が検出されたが、残り 33 検体 270 菌株は *vapA*-, *vapB*-, *vapN*- の無毒株であった。これより、イノシシ由来 *R. equi* には病原性プラスミド pVAPN は殆ど分布していないことが明らかとなった。また、和歌山県および兵庫県での pVAPN 分布の比較も行ったが、地域特異的な差異を評価することはできなかった。本研究では検体数が少なかったことから、さらに検体数を増やし、イノシシと同じく *R. equi* 保菌野生動物であるシカについての調査も行う予定である

#### (5) 牛並びにヒトから分離株からの新型病原性プラスミド pVAPN の検出

2015 年に Y 市保健所食品衛生検査所に一般畜として搬入され、食肉検査後に保留された 19 ヶ月齢の雌牛に内臓検査にて多発性の腫瘍や肺門や肝門リンパ節の腫大、肝炎が観察され、腫大したリンパ節や肝臓及び腎臓の実質臓器から *R. equi* が分離された。これに加えてこれまで PCR で *vapA*, *vapB* 陰性であったことから無毒株と判断していたネコ由来 14 株、ヒト由来 23 株および牛由来 27 株(ブラジル 24 株、Y 市 3 株)について *vapN* の PCR を行ったところヒト由来 1 株(4.3%)、牛由来 13 株(ブラジル 10 株、Y 市 3 株)(48.1%)で陽性を示した。この 14 株を制限酵素で切断することなくパルスフィールド電気泳動で泳動すると染色体 DNA とは別に 14 株すべてに 100kb より少し大きい位置に DNA バンドを認めた。同様の方法で強毒株(85kb 型)、中等度毒力株(26 型)および無毒株の泳動を同時に行ったが 100kb 付近に DNA バンドは認められなかった。このためこの 100kb 付近のバンドは pVAPN のバンドであると考え、*vapN* プロンプによるサザンプロットにより pVAPN を確認中である。また、宿主により *vapN* の塩基配列に違いがあるかを調べるため、DNA シークエンスをヒト由来の *vapN* 陽性株 1 株と牛由来の *vapN* 陽性株 3 株(Y 市株)で行い配列を比較したが、由来による配列の違いはなかった。

#### 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 12 件)

Olivo G, Lucas TM, Borges AS, Silva RO, Lobato FC, Siqueira AK, da Silva Leite D, Brandão PE, Gregori F, de Oliveira-Filho JP, Takai S, Ribeiro MG. Enteric Pathogens and Coinfections in Foals with and without Diarrhea. *BioMed Res. Int.* 2016;1512690.2016. (査読有)

Witkowski L, Rzewuska M, Takai S, Kizerwetter-Świda M, Kita J. Molecular epidemiology of *Rhodococcus equi* in slaughtered swine, cattle and horses in Poland. *BMC Microbiol.* 16:98. 2016. (査読有) doi: 10.1186/s12866-016-0712-9.

Shimizu T, Okamoto C, Aoki H, Harada K, Kataoka Y, Ono F, Kadohira M, Takai S. Serological surveillance for antibodies against *Erysipelothrix* species in wild boar and deer in Japan. *Jpn J Vet Res.* 64(1):91-4.2016. (査読有)

Kalinowski M, Grądzki Z, Jarosz Ł, Kato K, Hieda Y, Kakuda T, Takai S. Plasmid Profiles of Virulent *Rhodococcus equi* Strains Isolated from Infected Foals in Poland. *PLoS One.* 2016 Apr 13;11(4):e0152887. (査読有) doi: 10.1371/journal.pone.0152887.

Nishiyama K, Nakazato A, Ueno S, Seto Y, Kakuda T, Takai S, Yamamoto Y, Mukai T. Cell surface-associated aggregation-promoting factor from *Lactobacillus gasseri* SBT2055 facilitates host colonization and competitive exclusion of *Campylobacter jejuni*. *Mol Microbiol.* 2015 Nov;98(4):712-26. (査読有) doi: 10.1111/mmi.13153.

Kakuda T, Miyazaki S, Hagiuda H, Takai S. Transcriptional regulation by VirR and VirS of members of the *Rhodococcus equi* virulence-associated protein multigene family. *Microbiol Immunol.* 2015 Jun 21. (査読有) doi: 10.1111/1348-0421.12277. [Epub ahead of print]

Lara GH, Takai S, Sasaki Y, Kakuda T, Listoni FJ, Riseti RM, de Moraes AB, Ribeiro MG. VapB type 8 plasmids in *Rhodococcus equi* isolated from the small intestine of pigs and comparison of selective culture media. *Lett Appl Microbiol.* 2015. (査読有) doi: 10.1111/lam.12458.

Kakuda T, Hirota T, Takeuchi T, Hagiuda H, Miyazaki S, Takai S. VirS, an

OmpR/PhoB subfamily response regulator, is required for activation of vapA gene expression in *Rhodococcus equi*. BMC Microbiol. 2014 Oct 3;14:243. (査読有)  
doi: 10.1186/s12866-014-0243-1.

Nishiyama K, Seto Y, Yoshioka K, Kakuda T, Takai S, Yamamoto Y, Mukai T. *Lactobacillus gasseri* SBT2055 reduces infection by and colonization of *Campylobacter jejuni*. PLoS One. 2014 Sep 29;9(9):e108827. (査読有)  
doi:10.1371/journal.pone.0108827.  
eCollection

Rzewuskaa, M., L. Witkowskib, A. A. Ciseka, I. Stefańskac, D. Chrobaka, E. Stefaniukd, M. Kizerwetter-Świdaa, S. Takai. Characterization of *Rhodococcus equi* isolates from submaxillary lymph nodes of wild boars (*Sus scrofa*), red deer (*Cervus elaphus*) and roe deer (*Capreolus capreolus*) Vet. Microbiol. 172(1-2):272-8. 2014.doi: 10.1016/j.vetmic. (査読有)

Tharavichitkul, P., K.Wongsawan, N. Takenami, S. Pruksakorn, A. Fongcom, M. Gottschalk, B. Kanthawa, V. Supajatura and S. Takai. Correlation between PFGE Groups and Mrp / Epf / Sly Genotypes of *Streptococcus suis* Serotype 2 in Northern Thailand, Journal of Pathogens. Article ID 350416, 5 pages, 2014. (査読有)  
doi:10.1155/2014/350416

Stoughton W, T Poole, K Kuskie, M Liu, K Bishop, A Morrissey, S Takai, N Cohen. Transfer of the Virulence Associated Protein A Bearing Plasmid between Field Strains of Virulent and Avirulent *Rhodococcus equi*. Journal of Veterinary Internal Medicine 27 (6), 1555-1562.2014. (査読有)

〔学会発表〕(計3件)

Sangkanjanavanich Nuttapone, 角田勤, 高井伸二. Identification of *Rhodococcus equi* fitness genes during infection by signature-tagged mutagenesis. 第90回日本細菌学会総会.2017年3月20日.仙台国際センター(宮城県仙台市)

Sangkanjanavanich Nuttapone, 角田勤, 高井伸二. *Rhodococcus equi* におけるシグネチャータグトランスポゾン変異導入法による病原因子の同定. 第159回日本獣医学会学術集会.2016年9月7日.日本大学生物資源科学部(神奈川県藤沢市)

Sangkanjanavanich Nuttapone, 角田勤, 高井伸二. *Rhodococcus equi* におけるシグネチャータグトランスポゾン変異導入法の確立. 第158回日本獣医学会学術集会.2015年9月8日.北里大学獣医学部(青森県十和田市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高井 伸二 (Takai Shinji)  
北里大学・獣医学部・教授  
研究者番号：80137900

### (2) 研究分担者

角田 勤 (Kakuda Tsutomu)  
北里大学・獣医学部・准教授  
研究者番号：80317057