

課題番号	LS041
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	病原性細菌のゲノム情報を応用した細菌感染特異的オートファジー誘導による感染防御法の開発
研究機関・ 部局・職名	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授
氏名	中川 一路

1. 当該年度の研究目的

<ul style="list-style-type: none"> ● 宿主細胞内での遺伝子発現の網羅的解析 平成22年度にゲノム解析を行った結果を元に、各細菌のcDNAアレイ、タイリングアレイを作成して、各菌の細胞内での遺伝子発現を時空間的に解析を行う。また、平成22年度に候補となった病原遺伝子（群）については、遺伝子破壊株の作成、あるいはレギュロンの制御発現系を用いて、これらの遺伝子群のin vitroでの発現様式を解析する。 ● 病原遺伝子破壊株を用いたオートファジー誘導メカニズムの解明 細菌感染特異的に誘導されるオートファジーに関与する分子群の変異体やドメイン欠失体を用いて、生理的に誘導されるオートファジーとの分子メカニズムとの比較検討を行いながら、誘導に関わる細菌側の因子・細胞側の因子の同定を行う。また、細胞側の因子は、そのKOマウスの作成に着手する。

2. 研究の実施状況

<ul style="list-style-type: none"> ● 宿主細胞内での遺伝子発現の網羅的解析 A 群レンサ球菌は咽頭炎、扁桃炎、猩紅熱といった多様な疾患の起因菌である。本菌のゲノム内には、病原性遺伝子をコードする数多くのプロファージが存在しているが、保有するプロファージの数は菌株で異なっている。一方で、プロファージ領域以外の染色体上の病原性遺伝子は株間でほぼ共通している。このことから、本菌が示す多様な病原性は、ゲノム内のプロファージ領域の差異に起因していることが推察される。そこで本研究では、全53株のA群レンサ球菌株のプロファージ領域について比較解析を行うことで、本菌の病原性多様化機構の解明を試みた。 高速シーケンサーを用いて全ゲノム配列を取得し、株間でのプロファージ領域の比較解析を行った。さらに、ファージ内の遺伝子のSNP解析や全株に共通な遺伝子の系統樹を作成し、菌株やM型に対応した特異的なファージの獲得機構の一つを明らかとした。そのうち宿主細胞内への高い侵入効率を示すJRS4株および劇症化由来株SSI-1株についてゲノム配列を元に、全ゲノムタイリングアレイを作製して、増殖フェーズ特異的、よび感染時特異的に発現する遺伝子の解析を行った。その結果、それぞれの時期に特異的に発現する遺伝子（群）を明らかとした。 ● 病原遺伝子破壊株を用いたオートファジー誘導メカニズムの解明

様式19 別紙1

A群レンサ球菌に感染時に宿主細胞内で特異的に機能する分子として、細胞内メンブレントラフィックに重要な役割を果たしているRabタンパク質のうち、Rab9A, Rab23を同定した。これらの分子は、生体内での役割は明らかとなっていなかった分子のため、新たな感染防御因子として機能していることが明らかとなった。また、細胞内の菌体成分認識分子のうち、A群レンサ球菌感染時に特異的に機能している分子を見だし、現在その遺伝子破壊マウスの作製を行っている。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 7件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計7件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Nakano K, Hokamura K, Taniguchi N, Wada K, Kudo C, Nomura R, Kojima A, Naka S, Muranaka Y, Thura M, Nakajima A, Masuda K, Nakagawa I, Speziale P, Shimada N, Amano A, Kamisaki Y, Tanaka T, Umemura K, Ooshima T. The collagen-binding protein of <i>Streptococcus mutans</i> is involved in haemorrhagic stroke. Nat Commun. 27;2:485. (2011) 2. Nagahama M, Itohayashi Y, Hara H, Higashihara M, Fukatani Y, Takagishi T, Oda M, Kobayashi K, Nakagawa I, Sakurai J. Cellular vacuolation induced by <i>Clostridium perfringens</i> epsilon-toxin. FEBS J. 278(18):3395-407. (2011) 3. Watanabe T, Maruyama F, Nozawa T, Aoki A, Okano S, Shibata Y, Oshima K, Kurokawa K, Hattori M, Nakagawa I, Abiko Y. Complete genome sequence of the bacterium <i>Porphyromonas gingivalis</i> TDC60, which causes periodontal disease. J Bacteriol. 193(16):4259-60. (2011) 4. Yamato K, Egawa N, Endo S, Ui-Tei K, Yamada T, Saigo K, Hyodo I, Kiyono T, Nakagawa I. Enhanced specificity of HPV16 E6E7 siRNA by RNA-DNA chimera modification. Cancer Gene Ther. 18: 587-97 (2011) 5. Nozawa, T., Furukawa, N., Aikawa, C., Watanabe, T., Haobam, B., Kurokawa, K., Maruyama, F., Nakagawa, I., CRISPR inhibitor of prophage acquisition in <i>Streptococcus pyogenes</i>. PLoS One. 6:6(5): e19543. (2011) 6. T. Izumo, F. Izumi, I. Nakagawa, Y. Kitagawa, H. Shibata, S. Hamada, Y. Kiso. Influence of <i>Lactobacillus pentosus</i> S-PT84 ingestion on the mucosal immunity of healthy or <i>Salmonella</i> Typhimurium-infected mice. Biosci. Microflora. 30: 27-35, (2011) 7. S. Endo, K. Yamato, S. Hirai, T. Morikawa, K. Fukuda, H. Suzuki, M. Abei, I. Nakagawa, I. Hyodo. Potent in vitro and in vivo antitumor effects of MDM2 inhibitor nutlin-3 in gastric cancer cells. Cancer Sci. 102: 605-613 (2011) <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
--------------------	---

様式19 別紙1

<p>会議発表</p> <p>計 18 件</p>	<p>専門家向け 計 18 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Chihiro Aikawa, Takashi Nozawa, Takayasu Watanabe, Bijaya Haobam, Nayuta Furukawa, Fumito Maruyama and Ichiro Nakagawa. 2011. NLRX1 promotes the GAS induced-autophagy in epithelial cells. 111th General Meeting, American Society for Microbiology. 2011.5.21. New Orleans, Louisiana, USA 2. 郷田 瑛, 野澤 孝志, 相川 知宏, 渡辺 孝康, Bijaya Haobam, 古川 那由太, 丸山 史人, 中川 一路. 2011. A群レンサ球菌感染誘導オートファジーにおけるユビキチンシステムの機能解析. 第5回細菌学若手コロッセウム. 2011.8.8. 高知大学農学部キャンパス (高知県) 3. 相川 知宏, 野澤 孝志, 郷田 瑛, 渡辺 孝康, Bijaya Haobam, 古川 那由太, 丸山 史人, 中川 一路. 2011. A群レンサ球菌感染によるオートファジーと細胞死の生理機能解析. 第5回細菌学若手コロッセウム. 2011.8.8. 高知大学農学部キャンパス (高知県) 4. Nayuta Furukawa, Takashi Nozawa, Chihiro Aikawa, Takayasu Watanabe, Bijaya Haobam, Akiko Endo, Fumito Maruyama, Ichiro Nakagawa. 2011. Antisense RNA from prophage inhibits prokaryotic acquired immunity in group A streptococci. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. 2011.9.6. Sapporo, Japan. 5. Chihiro Aikawa, Takashi Nozawa, Takayasu Watanabe, Bijaya Haobam, Nayuta Furukawa, Fumito Maruyama and Ichiro Nakagawa. 2011. NLRX1 promotes the GAS induced-autophagy in epithelial cells. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. 2011.9.6. Sapporo, Japan. 6. Takayasu Watanabe, Nayuta Furukawa, Takashi Nozawa, Chihiro Aikawa, Bijaya Haobam, Akiko Endo, Fumito Maruyama, Ichiro Nakagawa. 2011. Elucidation of diversification mechanism of periodontogenic bacterium <i>Porphyromonas gingivalis</i> by analyzing genomic and diversity features. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. 2011.9.6. Sapporo, Japan. 7. 渡辺孝康、野澤孝志、相川知宏、遠藤亜希子、丸山史人、中川一路 “可動性因子が生み出す Porphyromonas gingivalis 種内多様性機構の解明” 日本ゲノム微生物学会若手の会研究会, 2011年9月27-28日, ろうきん研修所富士センター (静岡県) 8. 遠藤亜希子、渡辺孝康、細見晋吾、野澤孝志、相川知宏、荒川真一、梅田誠、丸山史人、和泉雄一、中川一路 “比較ゲノム解析とCRISPR解析から見えたTannerella forsythiaの生存戦略” 日本ゲノム微生物学会若手の会研究会, 2011年9月27-28日, ろうきん研修所富士センター (静岡県) 9. 細見晋吾、渡辺孝康、相川知宏、野澤孝志、丸山史人、中川一路 “フェージとその防御機構に着目したA群レンサ球菌ゲノムの多様化機構” 日本ゲノム微生物学会若手の会研究会, 2011年9月27-28日, ろうきん研修所富士センター (静岡県) 10. 細見晋吾. 2011. A群レンサ球菌ゲノムの種内多様性解析. 第5回日本ゲノム微生物学会若手の会研究会. 2011.9.29. ろうきん研究所富士センター (静岡県) 11. 相川 知宏, 野澤 孝志, 郷田 瑛, 渡辺 孝康, Bijaya Haobam, 古川 那由太, 丸山 史人, 中川 一路. 2011. A群レンサ球菌感染によるオートファジーと細胞死の生理機能解析. 第94回日本細菌学会関東支部会総会. 2011.10.6. 北里大学白金台キャンパス (東京) 12. 古川那由太, 野澤孝志, 相川知宏, 渡辺孝康, 郷田瑛, Bijaya Haobam, 遠藤亜希子, 丸山史人, 中川一路. 2011. プロフェージ由来 antisense RNA による細菌の獲得免疫機構の抑制に関する研究. 第94回日本細菌学会関東支部会総会. 2011.10.6. 北里大学白金台キャンパス (東京)
---------------------------	--

様式19 別紙1

	<p>13. 郷田 瑛, 野澤 孝志, 相川 知宏, 渡辺 孝康, Bijaya Haobam, 古川 那由太, 丸山 史人, 中川 一路. 2011. A群レンサ球菌感染誘導オートファジーにおけるユビキチンシステムの機能解析. 第94回日本細菌学会関東支部会総会. 2011.10.6. 北里大学白金台キャンパス (東京)</p> <p>14. 渡辺孝康, 古川那由太, 野澤孝志, 相川知宏, Bijaya Haobam, 遠藤亜希子, 丸山史人, 中川一路. 2011. <i>Porphyromonas gingivalis</i> 国内臨床分離株の比較ゲノム解析と発現解析. 第94回日本細菌学会関東支部会総会. 2011.10.6. 北里大学白金台キャンパス (東京)</p> <p>15. 野澤孝志 “バクテリオファージによる宿主細菌への獲得免疫の付与” 第85回日本細菌学会総会, 2012年3月27日-29日, 長崎ブリックホール・長崎新聞社(長崎県)</p> <p>16. 相川知宏, 野澤孝志, 郷田瑛, 渡辺孝康, Bijaya Haobam, Roobthaisong Amonrattana, 古川那由太, 細見晋吾, 丸山史人, 中川一路 “A群レンサ球菌感染によるオートファジー誘導と制御機構の解析” 第85回日本細菌学会総会, 2012年3月27日-29日, 長崎ブリックホール・長崎新聞社(長崎県)</p> <p>17. 渡辺孝康, 古川那由太, 野澤孝志, 相川知宏, Bijaya Haobam, 遠藤亜希子, 丸山史人, 中川一路 “非遺伝子領域および可動性因子に着目した <i>Porphyromonas gingivalis</i> の種内多様性解析” 第85回日本細菌学会総会, 2012年3月27日-29日, 長崎ブリックホール・長崎新聞社(長崎県)</p> <p>18. 細見晋吾, 相川知宏, 丸山史人, 中川一路 “ファージとその防御機構に着目した A群レンサ球菌ゲノムの種内多様性” 第6回日本ゲノム微生物学会年会, 2012年3月10日-12日, 立教大学池袋キャンパス(東京都)</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計1件</p>	<p>疾病の成り立ち及び回復過程の促進2 微生物学 (医歯薬出版) 2011年11月 ISBN978-4-563-42814-6</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.tmd.ac.jp/grad/bac/</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>1. 微生物ゲノム研究のフロンティア 5月20日 東京大学農学部 レンサ球菌属の比較ゲノム解析：外来性遺伝子の獲得とゲノム進化機構 学生・一般人</p> <p>2. システム生体防御 6月14日 東京大学医科学研究所 細菌感染のダイナミズム 学生</p> <p>3. 第4回感染病態研究会 8月6日 ホテル阪急エキスポパーク A群レンサ球菌感染におけるオートファジー制御機構 一般人</p> <p>4. ゲノム微生物学会ワークショップ 8月21日 東北大学さくらホール レンサ球菌属の比較ゲノム解析：外来性遺伝子の獲得とゲノム進化機構 学生・一般人</p> <p>5. COE セミナー 10月24日 東京医科歯科大学 比較ゲノム解析に基づくレンサ球菌属の外来性遺伝子獲得と進化機構の解析 学生</p> <p>6. 日本細菌学会ワークショップ「近縁多数ゲノム比較からの発見」 3月27日 長崎新聞文化ホール Evolutionary strategies of group A Streptococci from comparative genomic analysis 学生・一般人(200名)</p>

様式19 別紙1

新聞・一般雑 誌等掲載 計0件	なし
その他	なし

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	82,000,000	58,020,000	0	23,980,000	0
間接経費	24,600,000	17,406,000	0	7,194,000	0
合計	106,600,000	75,426,000	0	31,174,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	31,394,325	0	0	31,394,325	31,304,760	89,565	0
間接経費	13,412,194	0	0	13,412,194	13,373,299	38,895	0
合計	44,806,519	0	0	44,806,519	44,678,059	128,460	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	27,923,453	サーバー Power Edge T410他、実験試薬、窒素ガス等
旅費	2,187,328	国内旅費 仙台 8/20-21(ゲノム微生物学会ワーク ショップ)、外国旅費 ニューオrlins 5/21-28(asm2011)等
謝金・人件費等	89,266	人件費H24.2等
その他	1,104,713	オートクレーパブルニチペットEX 10μl 修理等
直接経費計	31,304,760	
間接経費計	13,373,299	
合計	44,678,059	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
サーバー	Power Edge T410	1	732,000	732,000	2011/8/22	東京医科歯科大 学
セルアナライザー		1	9,269,400	9,269,400	2011/11/8	東京医科歯科大 学
DELL カスタマイズ サーバー	PowerEdgeT410	1	999,900	999,900	2012/3/1	東京医科歯科大 学