アングノーサス群連鎖球菌の病原因子

長 宗 秀 明¹

¹ 徳島大学大学院・ソシオテクノサイエンス研究部
ライフシステム部門・生命システム工学
〒770-8506 徳島市南常三島町 2-1

[受理: 2008 年 6 月]

連鎖球菌属を構成する 6 菌群の一つであるアングノーサス群連鎖球菌 (AGS) は、主に口腔内の常在細菌叢に存在する細菌である。AGS は日和見的に口腔内や深部臓器において化膿性疾患を引き起こすが、歯周病や上部消化器癌との関連性も疑われるなど、その臨床的な重要性が高まってきている。しかし AGS は菌種間での遺伝子伝搬が頻発する傾向があり分類に混乱があったことから、病原性の検討が遅れている菌群である。AGS も他の連鎖球菌と類似の宿主細胞への定着因子や免疫攪乱性物質などを生産することが知られており、特に近年になって、AGS の一種で中枢神経系に感染症を起こしやすい *S. intermedius* ではヒトに高い特異性を示すという特徴的な溶血毒素インターメディリシンが見いだされた。本稿では AGS 感染症に関与する可能性が高いこれらの主要な病原因子について紹介したい。

1. はじめに

アングノーサス群連鎖球菌 (AGS) はヒトの口腔内に常在し、口腔内細菌叢の一部を形成する菌群である。現在のところ、本菌群は *S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius* の 3 菌種 (内、*S. constellatus* は 2 亜菌種: *S. constellatus* subsp. *constellatus* と *S. constellatus* subsp. *pharyngis* を含む) に分類されている (58, 62, 63)。*S. anginosus* はランスフィールド群抗原 A, C, F, G, K, L を、*S. constellatus* は A, C, F を、*S. intermedius* は K 群抗原を持つ株が知られているが、全菌種において群別が不能な株が大半を占めており (60)、免疫学的な分類・同定法は本菌群の鑑別には向かない。基本的には弱毒性菌と考えられ、口腔内や女性生殖器などにおいて宿主との共存を果たしているが、他の口腔内連鎖球菌などと同様に宿主の抵抗性が低下したり何らかの原因で体内に侵入すると、日和見的に様々な感染症を起こすことが古くから知られている (8, 29, 44, 45)。また、本菌群による感染症は口腔内以外に、菌種毎に発生部位が特徴的に異なることが見いだされている (表 1) (60)。*S. anginosus* は泌

尿生殖器系での感染が頻見される事に加え、近年では上部消化器癌との関連性が提起されたり (34, 46), *S. intermedius* は脳や肝臓などの深部臓器における重篤な膿瘍感染症や難治性の歯周病との関連性が指摘されている (8, 11, 28, 56, 59, 60)。*S. constellatus* については口腔内や呼吸器を初め、比較的多数の組織で感染症を起こす傾向が見られる (60)。また興味深いことに、AGS はミュータンス群やミチス・サリバリウス群、また黄色ブドウ球菌などに比べ、ヒト好中球の遊走や動員を起こしにくいことや貪食された好中球内でのクリアランスが遅いことが知られており (57)、それが体内深部における感染の広がりにつながる原因である可能性も考えられている。AGS による感染症は、A/G/C 群溶血性連鎖球菌や肺炎球菌感染症ほど頻発はしないものの、その臨床的な重要性の認識は近年高まってきている。しかしながらミュータンス群やミチス・サリバリウス群連鎖球菌などと比べ、その研究は遅れているのが現状である。その大きな原因は、1906 年に Andrews と Horder (4) によって初めて本菌が *S. anginosus* と呼ばれて以来、その不均一性が災いして様々な名称変更があったり、アメリカとヨーロッパで使用名称が異なる時期などもあって、分類学的な混乱が近年まで続いたことにある (表 2)。AGS には他の連鎖球菌属にも存在する形質転換感受性遺伝子 *comCDE* システムが備わっている (18)。他の連鎖球菌においては、感受性を誘導するフェロモンペプチド (CSP) の配列が菌種はもちろ

Hideaki NAGAMUNE
Virulence factors of Anginosus group streptococci
Department of Biological Science and Technology, Life System, Institute of Technology and Science, The University of Tokushima Graduate School, 2-1 Minamijosanjima-cho, Tokushima 770-8506

表 1. アンギノース群連鎖球菌の感染部位別分離例
(文献 60 より)

感染症部位	菌 種		
	<i>S. anginosus</i>	<i>S. constellatus</i>	<i>S. intermedius</i>
頭部及び頸部			
口腔膿瘍	0	4	2
顎下腺膿瘍	0	3	0
口蓋膿瘍	3	0	0
歯根管	3	0	0
感染歯根部	0	1	0
咽頭	3	3	0
鼻腔	0	1	0
脳膿瘍	0	1	5
胸腔	2	2	0
腹部			
肝膿瘍	0	1	8
盲腸炎	4	4	1
貫通潰瘍	1	0	0
腹部膿瘍	1	1	1
泌尿生殖器	11	4	0
筋骨格	1	0	0
皮膚及び軟組織	8	1	4
血液	3	4	1

ん、菌株毎にも多様性を持つことが多いが、AGS においては菌種間でもそれが共通していることが知られており、これが菌種間の遺伝的交雑を容易にして菌種分類を混迷させた原因と考えられる (図 1) (22, 48)。現在では、菌種としての大枠はほぼ固まっているが、なお *S. anginosus* などでは亜菌種レベルでの分類変動の余地も指摘されている (61, 62)。

本稿ではこれら AGS による感染症に関与が示唆されている様々な病原因子の中で、主要なもの (表 3) について概観する。

2. 溶血毒素

本菌群の 2 菌種、*S. anginosus* と *S. constellatus* には通常の動物血液寒天培地で β 溶血性を示す株が 10–40% 程度認められるが、*S. intermedius* については β 溶血性を示す株は著

しく少ないことが知られていた (60)。しかしヒト肝膿瘍から分離された *S. intermedius* の UNS46 株において、ヒツジやウマの血液寒天培地では観察されない β 溶血性がヒト血液で作製した血液寒天培地では顕著に認められ、この現象はこの菌株が分泌する溶血毒素の特性によることが分かってきた。この毒素は分子量 55 kDa のタンパク毒素でインターメディリシン (intermedilysin: ILY) と呼ばれ、霊長類、中でもヒトにおいてはチンパンジーやカニクイザルなどの他の霊長類に比べて 100 倍強い溶血活性を示し、霊長類以外の動物ではほとんどその活性を示さないという、これまで例を見ない特徴を持っていた (30)。ILY は赤血球だけでなく、様々な臓器に由来するヒト細胞に作用し、細胞質の漏洩を引き起こして細胞を死滅させる。ILY を分泌する *S. intermedius* による感染症が頻繁に認められる脳や肝臓に由来する細胞は、ILY 感受性が非常に高いことも観察された。遺伝子解析の結果、ILY は本菌種株に普遍的に存在する毒素で、コレステロール依存性細胞溶解毒素 (CDC) 遺伝子ファミリーに属する毒素であることが判明した (31, 33)。基本構造はウエルシュ菌のパーフリンゴリシン O や肺炎球菌のニューモリシン (PLY)、A 群溶血性連鎖球菌のストレプトリシン O (SLO) と同じく、4 つのドメイン構造を持つことも分かった (図 2) (31, 42)。ILY は他の CDC と同様に膜孔を形成して細胞を死滅させる。しかし通常の CDC が細胞膜中のコレステロールを受容体とするのと異なり、ILY はヒト型の CD59 (huCD59) を認識・結合して作用を発揮することが明らかとなった (15)。huCD59 はプロテクチンの別名を持つ GPI アンカー型の細胞膜タンパク質であり、生体内では補体成分と結合することで膜侵襲複合体 (MAC) の形成を妨げて、過度の免疫応答から自らの細胞を保護する役割を持つ。ILY はその C8/C9 結合サイト (F67-E83) を認識して結合する (図 3)。この領域は立体構造上、 α -ヘリックス構造を形成しており、GPI アンカーに近い位置に存在する。またそのアミノ酸配列は、霊長類のヒヒやアフリカミドリザルの間では完全に保存されているにもかかわらず、これらヒト以外の霊長類とヒトとの相同性は 58.8 % と著しく低いことから、ILY の溶血活性がなぜヒトという種に高い特異性を示すかが伺える。また、ILY と SLO や

表 2. アンギノース群連鎖球菌の分類学的変遷

Andrewes & Horder (1906)	Guthof (1956)	Facklam (1977)	Colman & Williams (1972) Ball & Parker (1979)	Facklam (1984)	Coykendall et al. (1987)	Whiley & Hardie (1989)	Jacobs et al. (1996)	Whiley et al. (1999)
<i>S. anginosus</i>	<i>S. milleri</i>	<i>S. MG-intermedius</i> <i>S. anginosus</i> - <i>constellatus</i>	<i>S. milleri</i>	<i>S. anginosus</i> <i>S. constellatus</i> <i>S. intermedius</i>	<i>S. anginosus</i>	<i>S. anginosus</i> <i>S. constellatus</i> <i>S. intermedius</i>	<i>S. anginosus</i> <i>S. constellatus</i> <i>S. intermedius</i> S. CI	<i>S. anginosus</i> <i>S. constellatus</i> subsp. <i>constellatus</i> <i>S. constellatus</i> subsp. <i>pharyngis</i> <i>S. intermedius</i>
4	17	13	6, 10	14	12	63	22	62

最下段の数字は文献番号を示す。

CSP*	菌種・株名
EMRKPDGALFNLFRRR	<i>S. mitis</i> B6
EMRKSNNFFHFLRRI	<i>S. mitis</i> Hu8
ESRLPKIRDFIFPRKK	<i>S. mitis</i> B5
EIRQTHNIFNFFFKRR	<i>S. mitis</i> NCTC12261 ^T
EMRISRIILDFLFLRKK	<i>S. pneumoniae</i> A66
EMRLSKFFRDFILQRKK	<i>S. pneumoniae</i> Rx
DWRISETIRNLIFPRRK	<i>S. oralis</i> DSM20066
DKRLPYFFKHLFSNRTK	<i>S. oralis</i> NCTC11427 ^T
DRRDPRGIIGIGKKLFG	" <i>S. milleri</i> " NCTC10708
AGS DSRIRMGFDFSKLFGK	<i>S. constellatus</i> subsp. <i>constellatus</i> NCTC11325 ^T
DSRIRMGFDFSKLFGK	<i>S. intermedius</i> NCD02227 ^T
DSRIRMGFDFSKLFGK	<i>S. anginosus</i> NCTC10713 ^T
DLRGVNPWGWIFGR	<i>S. sanguinis</i> NCTC7863 ^T
DIRHRINNSIWRDIFLKRK	<i>S. gordonii</i> NCTC7865
DVRSNKIRLWWENIFFNKK	<i>S. gordonii</i> Challis
SQKGVYASQSFVPSWFRKIFRN	<i>S. gordonii</i> NCTC3165
DLRNIFLKIKFKKK	<i>S. cristatus</i> NCTC12479

*CSP, 形質転換感受性促進ペプチド

図 1. 口腔内連鎖球菌の形質転換感受性促進ペプチド (CSP) の構造比較 (文献 18 より)

表 3. アンギノサス群レンサ球菌の主要な病原因子

病原因子	由来菌種	分子特性／特定あるいは推定された機能	文献
毒素・酵素類：			
インターメディリシン	SI	55 kDa, pI9.82 のヒト特異的コレステロール依存性細胞溶解毒素タンパク質／組織傷害や細胞侵入を補助	30
ヒアルロニダーゼ	SCc/SCp/SI	117 kDa, pI8.94 (SI 型)・120 kDa, pI6.17 (SCc 型) の宿主 ECM (HA/CS) 加水分解酵素／栄養素の獲得, 組織浸潤, 感染拡大	54
シアリダーゼ	SI	98 kDa, pI9.27 の宿主糖タンパク質や糖脂質の脱シアル酸化酵素／栄養素の獲得	55
L- システインデスルヒドラーゼ	SA	45 kDa の L-Cys の脱 HS 化酵素／菌体増殖促進, 組織傷害	65
免疫活性調節物質：			
P90 (F3'EP-Si)	SI	90 kDa, pI4.25 の免疫抑制タンパク質／T細胞依存性免疫抑制やB細胞分裂抑制で宿主免疫の攪乱, 感染拡大	5
ヒストン様 DNA 結合タンパク質	SI	9.6 kDa, pI10.2 の DNA 結合性タンパク質／単球などの前炎症性サイトカイン誘導による免疫応答の攪乱や炎症誘導	25
定着性因子：			
フィブロネクチン結合タンパク質	SA	14 kDa の菌表層タンパク質／フィブロネクチンとの結合で宿主組織への定着	64
ラミニン結合タンパク質	SA	80 kDa の菌表層タンパク質／ラミニンとの結合で宿主組織への定着	1
AgI/II	SI	160 kDa 菌表層線毛タンパク質／ECM タンパク質との結合と定着, IL-8 分泌を調節させて宿主の免疫機能の攪乱	40
感受性促進ペプチド	SA/SCc/SI	1.9 kDa のペプチド (配列: DSRIRMGFDFSKLFGK)／2 成分制御系 ComD, E を刺激して DNA 取り込み誘導やクオラムセンシング機能	18
オートインデューサー 2	SI	フラノシルホウ酸ジエステル化合物／クオラムセンシングによる遺伝子発現調節で組織定着性や病原性を調節	37
ヒストン様 DNA 結合タンパク質	SI	9.6 kDa, pI10.2 の DNA 結合性タンパク質／Hep や CS などの ECM への結合性による宿主組織への定着	25
抗原性物質：			
<i>S. anginosus</i> 抗原	SA	43 kDa のタンパク質を含み, Rham/GlcNAc/Glc/Gal からなる糖成分／種々のサイトカインや iNOS による NO 生産を誘導し免疫変調を生じる	47

SA; *S. anginosus*, SCc; *S. constellatus* subsp. *constellatus*, SCp; *S. constellatus* subsp. *pharyngis*, SI; *S. intermedius*, ECM ; 細胞外マトリクス, HA ; ヒアルロン酸, CS; コンドロイチン硫酸, Hep; ヘパリン, Rham; ラムノース, Glc; グルコース, Gal; ガラクトース, GlcNAc; N-アセチルグルコサミン。

図4. インターメディリシンの反応機構仮説

図5. インターメディリシン分泌能と深部膿瘍感染症の相関性 (文献 33 より)

が脂質内に貫入し、内直径が約 20 nm の完全な孔 (ポア) を形成すると考えられている (図4)。しかしながら、まだその際にレセプターである huCD59 が ILY と結合したままで存在するのか、あるいは孔への変化時に解離するのかなど、不明な点が数多く残っている。

このような ILY の特徴的な高いヒト指向性から考えて、これが *S. intermedius* のヒトにおける感染症に関与することが疑われ、その分布の疫学的な検討が成された (33)。その結果、ヒトの深部臓器膿瘍からの分離株においては、正常生息部位の歯垢株に比べ、平均で 6-10 倍もの ILY を分泌しており、ILY と *S. intermedius* の深部臓器感染との間には強い正の相関性があることが明らかとなった (図5)。ILY の分泌量は、その遺伝子発現調節領域において正及び負の調節を受けている (長宗ら, 第 81 回細菌学会総会)。その調節の詳細な機構はまだ解析途上であるが、後述するように、LuxS によって駆動されるオートインデューサー2系が *ily* 遺伝子発現に関与するという報告も最近成されている (37)。

ところで通常、AGS の感染は宿主細胞外で起こるものと

考えられている。しかし ILY を大量に分泌する脳膿瘍分離株をヒト肝細胞 HepG2 とラット肝細胞 BRL3A に対して作用させた場合、ヒト細胞特異的に菌の細胞内への侵入が起こることが観察された。その後、菌が細胞質に逃避し増殖して宿主細胞の死を誘導した (図6) (52)。この事実は *S. intermedius* が深部臓器に膿瘍を形成しやすいという臨床所見と考え合わせると、非常に興味深い。またこの株で作製した *ily* 遺伝子ノックアウト株を用いて HepG2 への感染性を検討した結果、その細胞内への侵入には ILY が必要であった。またその際に菌体を ILY 中和抗体で処理すると細胞への侵入・増殖が抑制されることから、ILY を介した菌体と宿主細胞との相互作用が重要な役割を果たすことも示された (52)。さらにその感染現象には膜への単なる結合が重要なのか、あるいは膜孔形成能が重要なのかを検討するため、ILY のドメイン2と3に点変異を導入してジスルフィド結合を一箇所形成させ、細胞膜への結合能は残したままで立体構造の変化を拘束し、ドメイン3による膜孔形成を阻害した ILY (ss) 変異体の遺伝子で *ily* 遺伝子を置換して ILY (ss) 変異体分泌株を調製した。これを用いて検討を行ったところ、ジスルフィド結合が温存される非還元条件では菌の細胞内感染は進まず、ジチオスレイトールで結合を開裂させた条件では感染が野生型株と同様に進行した。このことから、ILY の膜孔形成過程が細胞内への感染現象に必要なことも明らかとなった (32)。またこの細胞内感染現象と似た現象として、ヒト好中球の *S. aureus* 菌体に対する貪食作用が ILY の共存 (恐らく菌表面に付着した ILY) によって促進することも観察されている (27)。これらのことから、1) *S. intermedius* が宿主体内に入った場合、体液中の好中球やマクロファージ系細胞のような貪食細胞に捕食されるが、2) ILY を大量に分泌する株の場合では貪食細胞の食胞内でのクリアランスを免れて生き残り、貪食された状態で細胞ごと深部臓器にまで血流に乗って到達する。さらには、

図 6. *S. intermedii* のインターメディリシン依存性ヒト細胞特異的感染現象

HepG2: HepG2 の食胞内に取り込まれた UNS38 (白矢頭) (上, 左)。抗 ILY 免疫電顕像: UNS38 が分泌した ILY は菌体表面や食胞膜上に多数見られる (白丸; 10 nm 金コロイド粒子) (上, 中)。UNS38 は感染 3 日後には細胞質に逃避し増殖した (白矢頭) (上, 右)。感染した HepG2 は最終的に死滅する。UNS38 B3 (*ily-K/O* 変異株) は HepG2 にほとんど感染しない (下, 左)。BRL3A: ILY の分泌の有無に関わらず, ラット細胞 BRL3A はこれらの株に感染しない (下, 中及び右)。(文献 52 より)

図 7. *S. intermedii* による深部臓器感染機構の作業仮説

3) 深部臓器において感染細胞は死滅し、外部に放出された菌が網内系細胞などに認識されて深部組織に取り付き、再び ILY の作用で細胞へ侵入することで重篤な深部臓器膿

瘍に至るといふ感染機構が考えられた (図 7)。このような ILY が引き金となるヒト細胞特異的な感染現象の分子機構について、ヒト好中球では ILY の作用によって細胞内カル

シウム濃度の上昇が確認されていることから (27), 細胞内のカルシウム依存性のシグナル伝達機構が動員されて進行する可能性が考えられる。また ILY 受容体である huCD59 に細胞内でリンクするとされる Lyn, Lck, Fyn などを経したシグナル伝達機構 (53) の関与も考えられ、現在その詳細は検討中である。

ところで *S. anginosus* 株や *S. constellatus* 株で見られる α 及び β 溶血反応は *S. intermedius* の ILY による溶血反応と異なり、ヒトへの特異性は観察されない。また *S. intermedius* 以外の AGS において、*ily* 遺伝子に高い相同性を示す毒素遺伝子も、その存在は否定的な状況であり (16, 33), 現在のところではこれら 2 菌種における溶血毒素は特定されていない。ところで近年、これらの 2 菌種では L-システイン/L-シスタチオニンから L-ホモセリンへのイオウ転位に関与する L-システインデスルヒドラーゼ (β C-S lyase) の高い活性が確認されている (66)。また、その生成物の硫化水素は α 溶血作用を発揮することから、これらの菌種が持つ溶血性因子の一つである可能性も考えられる (65)。本酵素を含め、これら 2 菌種が持つ強い溶血毒素が、それらが起こす感染症にどのような関連性を持つのかは非常に興味ある課題であり、今後の解析が待たれる。

3. 宿主成分分解酵素

AGS は様々な酵素を生産しており、それらを使って宿主細胞の構成タンパク質や細胞外マトリクス (ECM) を分解し、その分解物を栄養源として吸収することができる (19-21)。特に本菌群が生息する口腔内や生殖器内の宿主粘膜細胞においては豊富な ECM が存在しており、それはここに定着した細菌にとってまたとない栄養源となりうる。代表的な ECM として知られるムチン質にはヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸などがある。AGS の中でも、*S. constellatus* と *S. intermedius* はそれらを効率的に分解する酵素を分泌することが知られており、その産物を炭素源として増殖する能力を持つ (19)。遺伝子クローニングの結果、これら 2 菌種には大別して 2 タイプのヒアルロニダーゼ (HAase) が見いだされた (54)。一つは *S. constellatus* subsp. *constellatus* 型 (Scc 型) であり、もう一つは *S. intermedius* 型 (Si 型) である (図 8)。しかし意外なことに *S. constellatus* subsp. *pharyngis* は同一菌種型ではなく、Si 型の酵素を持っていた。この現象は系統遺伝学的な見地からは矛盾するように思える。しかし先にも述べたように、AGS においては遺伝子の

交雑が起こりやすい関係にあることや常在部位が同じであることから、これは CSP により誘導される *S. intermedius* と *S. constellatus* subsp. *pharyngis* の間でのクロストークによって相同遺伝子の組換えが生じ、それが遺伝的に固定化した結果である可能性が高い。2 タイプの大きな違いはその基質特異性である。Si 型はヒアルロン酸とコンドロイチン硫酸の両方を分解できるが、Scc 型はコンドロイチン硫酸を分解できない。これらの酵素は細菌への栄養供給に寄与するだけでなく、宿主細胞の破壊、組織への浸潤や感染にも働く因子であると考えられることから、その基質特異性はこれらを分泌する菌種/亜菌種の感染能力や感染部位の指向性などと関係する可能性も考えられる。最近、本酵素は *S. intermedius* によって形成されるバイオフィームからの離脱に関与することが報告されていることから (38), この酵素は菌の体内拡散や感染拡大に寄与するのかもしれない。このような可能性を考えると、HAase の生産量が細菌の置かれた環境によってどのように変化するのかも、AGS の感染症の成立機構を理解する上で非常に興味深い。

宿主細胞の表面に存在する糖タンパク質や糖脂質には負電荷を帯びたシアル酸が多く含まれており、これは細胞表面の親水性を高めると同時に感染に対するバリアの役割も担うと考えられている。従ってこれを除去することは病原体にとって有効な感染戦略であり、またそれは炭素源としても利用できるためにシアリダーゼを持つ微生物は多い。ヒトの口腔細菌叢を形成する連鎖球菌では *S. oralis* や *S. mitis* などに、また AGS では *S. intermedius* にのみシアリダーゼ活性が確認されている (7)。*S. intermedius* においては、肺炎球菌のシアリダーゼと高い相同性を示す酵素がクローニングされている (55)。この酵素は AGS における *S. intermedius* の生化学的同定のための非常に良いマーカー酵素となる。しかし *S. intermedius* 感染症との関連性についてはまだ不明な点が多く、今後遺伝子ノックアウト株などを用いた解析が必要である。

4. 免疫活性調節因子

古くから *S. intermedius* の培養液中には免疫抑制性因子が含まれることが報告されており (5), それは分子量が 90 kDa で等電点 4.25 の、P90 (以前は F3' EP-Si と呼ばれた) タンパク質とされる。残念ながらまだその遺伝子情報は得られていない。*in vitro* の実験では P90 の作用によって、ポリクローナルな B リンパ球の増殖が促進し、T リンパ球依存的

図 8. アンギノサス群連鎖球菌におけるヒアルロニダーゼの相同性

に特異抗原に対する B リンパ球の免疫応答が抑制される。また P90 で処理したマウス *in vivo* 実験では、免疫抑制がかかるため、未処理のマウスに比べて *S. intermedius* 感染に対する感受性が 50 倍も高まることが示されている (24)。このような特性から考えて、この因子も有力な病原因子であるが、この因子が *S. intermedius* に普遍的に存在するのかわかるいは特定の菌株に分布するのか、またそのタンパク質に既知の類縁タンパク質が存在するのかなどの点は全く不明であり、さらなる分子レベルの情報が待たれる。

また *S. anginosus* においては、まだ精製が完全ではないものの興味深い抗原物質が報告されている (47)。本菌株基準株の培養上清から陰イオン交換クロマト／ゲルろ過クロマトを経て、主成分がラムノース、GlcNAc、グルコース、ガラクトースからなる糖であり、それ以外に 43 kDa タンパク質などの少量のタンパク質とリン酸を含む分画が得られている。これはマウスの腹腔浸出細胞において TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 などの炎症性サイトカインや iNOS の転写促進を誘導した。特に iNOS 誘導活性は易熱性活性であり、含有されるタンパク質成分が活性を誘導する可能性が高い。また Rantz-Randall 抗原との比較から、サイトカイン誘導には糖鎖成分の寄与が示唆されている。各々の活性を誘導する抗原物質が結合する受容体は何なのか、またこのような抗原物質によって誘導される炎症反応が *S. anginosus* の感染に対してどのような影響を及ぼすのかは興味あることであり、精製した糖及びタンパク質抗原を用いた研究が望まれる。

5. 定着性因子

全ての微生物において、感染が成立するためには必ず宿主細胞あるいは組織の表面にその微生物が定着する過程が必要である。そのための分子が AGS においても検討されている。*S. anginosus* や *S. intermedius* は、ECM の成分であるフィブロネクチンとラミニンに対して *S. mitis* や *S. mutans* と同レベルの結合性を示す一方、フィブリノーゲンやコラーゲン I 及び IV 型には結合性が弱いことが知られている (2)。この性質はミュータンス群やミチス・サリバリウス群と共通して引き起こしやすい心内膜炎との関連性で興味を持たれている。

フィブロネクチンは ECM に存在し、繊維状のネットワークを形成して他の ECM 成分のコラーゲンやフィブリン、また宿主細胞のインテグリンと連結することで細胞—細胞間の接着に関与する分子である。*S. anginosus* においては、このフィブロネクチンに結合する分子量 14 kDa の菌体表層結合型のタンパク質が報告されている (64)。またこのタンパク質の存在下においては *S. anginosus* の好中球への結合は促進されるものの、殺菌が助長されることはないという。従ってこのタンパク質が *S. anginosus* の宿主細胞への定着に関与することは十分考えられるが、本菌による膿瘍感染時において、好中球などの食食細胞による捕食にどのような影響を与えて本菌の感染性に影響するのかわかるはまだ詳細が

不明であり、さらに検討が必要と考えられる。

S. anginosus ではラミニンに対する結合タンパク質も報告されている (1)。このタンパク質は分子量が 80 kDa であり、その部分ペプチド解析結果からグラム陽性菌の持つ ABC 輸送系の基質結合タンパク質群と高い相同性が認められた (35)。他のグラム陽性菌でもコラーゲンなどの ECM と結合する同一ファミリータンパク質が確認されており (43)、またそれらはペプチドフェロモンや感受性促進ペプチドを介したシグナリングにも関与することから (3, 35)、このラミニン結合タンパク質も宿主への定着因子としてだけでなく、AGS の菌体—菌体間相互作用の受容体としても今後検討が必要であると考えられる。

AglI/II は *S. mutans* において良く解析が成された線毛タンパク質である。*S. intermedius* の AglI/II は分子量が約 160 kDa で、その遺伝子ノックアウト変異株を併用した解析の結果から、AglI/II は *S. intermedius* のフィブロネクチンやラミニン、特にフィブロネクチンに対する結合性に大きく寄与すること、また単球系細胞からの IL-8 の分泌にも影響することが示されている (40)。また *S. intermedius* の AglI/II は唾液の有無で若干影響を受けるものの、菌体集合体であるバイオフィルムの形成に深く関与することも知られており、菌体—菌体間の相互作用を介した感染巣への定着性の向上にも寄与する可能性が高い (36)。

核様体中存在し、DNA や mRNA に結合することで菌体の増殖に重要な役割を果たしているヒストン様 DNA 結合タンパク質 (HLP) が、いくつかの連鎖球菌において心筋や腎臓への結合性タンパク質として報告されている (50, 51)。HLP は負電荷を持つ ECM のヘパリンやコンドロイチン硫酸などに親和性を持っている (9)。*S. pyogenes* においては、HLP は分泌型及び菌体結合型として存在し (23, 49)、*S. mitis* の HLP はマウス腹腔内マクロファージに作用すると様々なサイトカインの放出を誘導することが知られている (67)。従って HLP は定着性因子としてだけでなく、免疫活性調節因子としても重要な機能を持つと考えられる。AGS においても、*S. intermedius* の HLP がクローニングされ、その分布と単球系細胞 THP-1 への影響が調べられた (25)。その結果、本菌株においても HLP は菌の内外に存在しており、その作用によって THP-1 の IL-1 β 、IL-8、TNF- α 等の前炎症性サイトカインの合成が著しく高まり、その作用は MEK-ERK1/2 及び SAPK/JNK 経路のシグナル伝達経路を経ていることが分かった。また興味深いことに、HLP は既知の単球系細胞の活性化物質であるムラミルジペプチドと相乗的に、リボテイコ酸では相加的に作用してそれらのサイトカインの産生を高めた。このような作用は、*S. intermedius* の感染局所における炎症誘導や、そこに集まった好中球やマクロファージの免疫応答性の変調を通じ、本菌による膿瘍や心内膜炎などの感染症成立及び重症化に寄与している可能性が高い。

クオラムセンシング機構は様々な細菌において報告されている細胞—細胞間情報ネットワークであり (26)、AGS に

図9. アンギノサス群連鎖球菌の宿主への感染・共生戦略

においてもその役割は重要である。既に *S. anginosus* においては、LuxS を介したオートインデューサー 2 (AI-2) のシグナル伝達がこれらの菌のバイオフィルム形成を制御していることが報告されている (39)。バイオフィルムの形成は宿主細胞組織への菌の定着を助けることから、AI-2 シグナルを誘導あるいは阻害する因子は AGS の病原性の発現に関与すると考えられる。また *S. intermedius* において AI-2 シグナルが遮断されると、先に述べた AgI/II の発現や分泌型ヒアルロニダーゼ活性は影響されないものの、宿主細胞を直接破壊する ILY の合成分泌量が低下するという知見があり (37)、このシステムは *S. intermedius* において特定の病原因子の発現調節を介して病原性を調節している可能性は大きいと考えられる。また形質転換感受性遺伝子により発現するフェロモンペプチドの共存によって *S. mutans* と同様に *S. intermedius* でもバイオフィルム形成が促進することが知られている (41)。このペプチドもクオラムセンシング機構の一部を成すと考えられることから、今後 AGS の病原性や感染症の臨床所見を理解していく上では、菌体が置かれている環境を今まで以上に考慮に入れた検討が必要になるであろう。

6. おわりに

AGS は日和見感染菌であること、またその分類的な混乱期が長かったことから AGS が関与する感染症の実態の把握とそれに伴う病原性の解析が遅れてきた。しかし現在では一部菌種での僅かな不均一性を除いて、遺伝子鑑別法や酵素パターン解析が開発されて迅速簡便に菌種同定が可能となっている。その結果、ここ 10 年程で他の連鎖球菌と同

様に分子レベルでの研究が進展し始めている (図 9)。しかし本稿でも述べたように、*S. intermedius* では主要な病原因子としてヒト特異性を示す毒素が発見されたり、AGS はそれが存在する環境によって大きく性状を変化させることも分かってきている。従ってヒトにおける AGS の病原性を正しく理解するためには、これまでの動物細胞や実験動物を用いた一般的な解析方法に加えて、ヒト細胞やヒト型 CD59 トランスジェニック動物での解析系を併用するなどの配慮をして検討を進めていく必要があると考えられる。

謝 辞

本稿執筆の機会を与えてくださいました日本細菌学雑誌編集委員の方々へ深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Allen, B.L., Höök, M. (2002): Isolation of a putative laminin binding protein from *Streptococcus anginosus*. Microb. Pathog. **33**, 23-31.
- 2) Allen, B.L., Katz, B., Höök, M. (2002): *Streptococcus anginosus* adheres to vascular endothelium basement membrane and purified extracellular matrix proteins. Microb. Pathog. **32**, 191-204.
- 3) Alloing, G., de Philip, P., Claverys, J.P. (1994): Three highly homologous membrane-bound lipoproteins participate in oligopeptide transport by the Ami system of the gram-positive *Streptococcus pneumoniae*. J. Mol. Biol. **241**, 44-58.
- 4) Andrews, F.W., Horder, T.J. (1906): A study of the streptococci pathogenic for man. Lancet **ii**, 708-713, 775-782, 852-855.
- 5) Arala-Chaves, M.P., Porto, M.T., Arnaud, P., Saraiva, M.J., Geada, H., Patrick, C.C., Fudenberg, H.H. (1981): Fractionation and characterization of the immunosuppressive substance

- in crude extracellular products released by *Streptococcus intermedius*. J. Clin. Invest. **68**, 294–302.
- 6) Ball, L.C., Parker, M.T. (1979): The cultural and biochemical characters of *Streptococcus milleri* strains isolated from human sources. J. Hyg. **82**, 63–78.
 - 7) Beighton, D., Whaley, R.A. (1990): Sialidase activity of the “*Streptococcus milleri* group” and other viridans group streptococci. J. Clin. Microbiol. **28**, 1431–1433.
 - 8) Brook, I., Frazier, E.H. (1994): Microaerophilic streptococci as a significant pathogen: A twelve-year review. J. Med. **25**, 129–144.
 - 9) Choi, S.H., Stinson, M.W. (1991): Binding of a *Streptococcus mutans* cationic protein to kidney in vitro. Infect. Immun. **59**, 537–543.
 - 10) Colman, G., Williams, R.E.O. (1972): Taxonomy of some human viridans streptococci, pp. 281–299. In Wannamaker, L.W., Matsen, J.M., (eds.), Streptococci and streptococcal diseases; recognition, understanding, and management, New York, Academic Press.
 - 11) Colombo, A.V., Silva, C.M., Haffajee, A., Colombo, A.P.V. (2006): Identification of oral bacteria associated with crevicular epithelial cells from chronic periodontitis lesions. J. Med. Microbiol. **55**, 609–615.
 - 12) Coykendall, A.L., Wesbecher, P.M., Gustafson, K.B. (1987): “*Streptococcus milleri*”, *Streptococcus constellatus* and *Streptococcus intermedius* are later synonyms of *Streptococcus anginosus*. Int. J. Syst. Bacteriol. **37**, 222–228.
 - 13) Facklam, R.R. (1977): Physiological differentiation of viridans streptococci. J. Clin. Microbiol. **5**, 184–201.
 - 14) Facklam, R.R. (1984): The major differences in the American and British *Streptococcus* taxonomy schemes with special reference to *Streptococcus milleri*. Eur. J. Clin. Microbiol. **3**, 91–93.
 - 15) Gidding, K.S., Zhao, J., Sims, P.J., Tweten, R.K. (2004): Human CD59 is a receptor for the cholesterol-dependent cytolysin intermedilysin. Nat. Struct. Mol. Biol. **11**, 1173–1178.
 - 16) Goto, T., Nagamune, H., Miyazaki, A., Kawamura, Y., Ohnishi, O., Hattori, K., Ohkura, K., Miyamoto, K., Akimoto, S., Ezaki, T., Hirota, K., Miyake, Y., Maeda, T., Kourai, H. (2002): Rapid identification of *Streptococcus intermedius* by PCR with the *ily* gene as a species marker gene. J. Med. Microbiol. **51**, 178–186.
 - 17) Guthof, O. (1956): Ueber pathogene “vergrünende Streptokokken.” Streptokokken-Befunde bei dentogenen Abszessen und Infiltraten im Bereich der Mundhöhle. Zentralbl. Bacteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I. Orig. **166**, 153–176.
 - 18) Håvarstein, L.S., Hakenbeck, R., Gaustad, P. (1997): Natural competence in the genus *Streptococcus*: Evidence that streptococci can change pherotype by interspecies recombinational exchanges. J. Bacteriol. **179**, 6589–6594.
 - 19) Homer, K.A., Grootveld, M.C., Hawkes, J., Naughton, D.P., Beighton, D. (1994): Degradation of hyaluronate by *Streptococcus intermedius* strain UNS35. J. Med. Microbiol. **41**, 414–422.
 - 20) Homer, K.A., Whaley, R.A., Beighton, D. (1990): Proteolytic activities of oral streptococci. FEMS Microbiol. Lett. **55**, 257–260.
 - 21) Homer, K.A., Whaley, R.A., Beighton, D. (1994): Production of specific glycosidase activities by *Streptococcus intermedius* strain UNS35 grown in the presence of mucin. J. Med. Microbiol. **41**, 184–190.
 - 22) Jacobs, J.A., Schot, C.S., Bunschoten, A.E., Schouls, L.M. (1996): Rapid species identification of “*Streptococcus milleri*” strains by line blot hybridization: Identification of a distinct 16S rRNA population closely related to *Streptococcus constellatus*. J. Clin. Microbiol. **34**, 1717–1721.
 - 23) Lei, B., Mackie, S., Lukomski, S., Musser, J.M. (2000): Identification and immunogenicity of group A *Streptococcus* culture supernatant proteins. Infect. Immun. **68**, 6807–6818.
 - 24) Lima, M., Bandeira, A., Portnoi, D., Ribeiro, A., Chaves, M.A. (1992): Protective effect of a T-cell-dependent immunosuppressive, B-cell-mitogenic protein (F3’EP-Si, or P90) produced by *Streptococcus intermedius*. Infect. Immun. **60**, 3571–3578.
 - 25) Liu, D., Yumoto, H., Hirota, K., Murakami, K., Takahashi, K., Hirao, K., Matsuo, T., Ohkura, K., Nagamune, H., Miyake, Y. (2008): Histone-like DNA binding protein of *Streptococcus intermedius* induces the expression of pro-inflammatory cytokines in human monocytes via activation of ERK1/2 and JNK pathways. Cell. Microbiol. **10**, 262–276.
 - 26) Lönn-Stensrud, J., Petersen, F.C., Benneche, T., Scheie, A.A. (2007): Synthetic bromated furanone inhibits autoinducer-2-mediated communication and biofilm formation in oral streptococci. Oral Microbiol. Immunol. **22**, 340–346.
 - 27) Macey, M.G., Whaley, R.A., Miller, L., Nagamune, H. (2001): Effect on polymorphonuclear cell function of a human-specific cytotoxin, intermedilysin, expressed by *Streptococcus intermedius*. Infect. Immun. **69**, 6102–6109.
 - 28) Magnusson, I., Walker, C.B. (1996): Refractory periodontitis or recurrence of disease. J. Clin. Periodontol. **23**, 289–292.
 - 29) Murray, H.W., Gross, K.C., Masur, H., Roberts, R.B. (1978): Serious infections caused by *Streptococcus milleri*. Amer. J. Med. **64**, 759–764.
 - 30) Nagamune, H., Ohnishi, C., Katsuura, A., Fushitani, K., Whaley, R.A., Tsuji, A., Matsuda, Y. (1996): Intermedilysin, a novel cytotoxin specific for human cells, secreted by *Streptococcus intermedius* UNS46 isolated from a human liver abscess. Infect. Immun. **64**, 3093–3100.
 - 31) Nagamune, H., Ohkura, K., Sukeno, A., Cowan, G., Mitchell, T.J., Ito, W., Ohnishi, O., Hattori, K., Yamato, M., Hirota, K., Miyake, Y., Maeda, T., Kourai, H. (2004): The human-specific action of intermedilysin, a homolog of streptolysin O, is dictated by domain 4 of the protein. Microbiol. Immunol. **48**, 677–692.
 - 32) Nagamune, H., Sukeno, A., Whaley, R.A., Jafar, S.I., Aduse-Opoku, J., Ohkura, K., Hirota, K., Miyake, Y., Maeda, T., Kourai, H. (2006): Intermedilysin plays a key role in the invasion of human cells by *Streptococcus intermedius*, p. 262–266, In Sriprakash, K.S. (ed), Streptococci New Insights into an Old Enemy, Amsterdam, Elsevier B.V.
 - 33) Nagamune, H., Whaley, R.A., Goto, T., Inai, Y., Maeda, T., Hardie, J.M., Kourai, H. (2000): Distribution of the intermedilysin gene among the anginosus group streptococci and correlation between intermedilysin production and deep-seated infection with *Streptococcus intermedius*. J. Clin. Microbiol. **38**, 220–226.
 - 34) Narikiyo, M., Tanabe, C., Yamada, Y., Igaki, H., Tachimori, Y., Kato, H., Muto, M., Montesano, R., Sakamoto, H., Nakajima, Y., Sasaki, H. (2004): Frequent and preferential infection of *Treponema denticola*, *Streptococcus mitis*, and *Streptococcus anginosus* in esophageal cancers. Cancer Sci. **95**, 569–574.
 - 35) Pearce, B.J., Naughton, A.M., Masure, H.R. (1994): Peptide permeases modulate transformation in *Streptococcus pneumoniae*. Mol. Microbiol. **12**, 881–892.
 - 36) Pecharki, D., Petersen, F.C., Assev, S., Scheie, A.A. (2005): Involvement of antigen I/II surface proteins in *Streptococcus mutans* and *Streptococcus intermedius* biofilm formation. Oral Microbiol. Immunol. **20**, 366–371.
 - 37) Pecharki, D., Petersen, F.C., S., Scheie, A.A. (2008): LuxS and

- expressin of virulence factors in *Streptococcus intermedius*. Oral Microbiol. Immunol. **23**, 79–83.
- 38) Pecharki, D., Petersen, F.C., S., Scheie, A.A. (2008): Role of hyaluronidase in *Streptococcus intermedius* biofilm. Microbiol. **154**, 932–938.
 - 39) Petersen, F.C., Armed, N.A.A.M., Naemi, A., Scheie, A.A. (2006): LuxS-mediated signaling in *Streptococcus anginosus* and its role in biofilm formation. Antonie Van Leeuwenhoek. **90**, 109–121.
 - 40) Petersen, F.C., Pasco, S., Ogier, J., Klein, J.P., Assev, S., Scheie, A.A. (2001): Expression and functional properties of the *Streptococcus intermedius* surface protein antigen I/II. Infect. Immun. **69**, 4647–4653.
 - 41) Petersen, F.C., Pecharki, D., Scheie, A.A. (2004): Biofilm mode of growth of *Streptococcus intermedius* favored by a competence-stimulating signaling peptide. J. Bacteriol. **186**, 6327–6331.
 - 42) Polekhina, G., Giddings, K.S., Tweten, R.K., Parker, M.W. (2005): Insights into the action of the superfamily of cholesterol-dependent cytolysins from studies of intermedilysin. Pro. Natl. Acad. Sci. USA **102**, 600–605.
 - 43) Roos, S., Aleljung, P., Robert, N., Lee, B., Wadström, T., Lindberg, M., Jonsson, H. (1996): A collagen binding protein from *Lactobacillus reuteri* is part of an ABC transporter system? FEMS Microbiol. Lett. **144**, 33–38.
 - 44) Ruoff, K.L. (1988): *Streptococcus anginosus* (“*Streptococcus milleri*”): The unrecognized pathogen. Clin. Microbiol. Rev. **1**, 102–108.
 - 45) Ruoff, K.L. (1988): *Streptococcus anginosus* (“*Streptococcus milleri*”). Clin. Microbiol. Newslett. **10**, 65–68.
 - 46) Sasaki, H., Ishizuka, T., Muto, M., Nezu, M., Nakanishi, Y., Inagaki, Y., Watanabe, H., Watanabe, H., Terada, M. (1998): Presence of *Streptococcus anginosus* DNA in esophageal cancer, dysplasia of esophagus, and gastric cancer. Cancer Res. **58**, 2991–2995.
 - 47) Sasaki, M., Ohara-Nemoto, Y., Tajika, S., Kobayashi, M., Yamaura, C., Kimura, S. (2001): Antigenic characterization of a novel *Streptococcus anginosus* antigen that induces nitric oxide synthesis by murine peritoneal exudate cells. J. Med. Microbiol. **50**, 952–958.
 - 48) Schouls, L.M., Schot, C.S., Jacobs, J.A. (2003): Horizontal transfer of segments of the 16S rRNA genes between species of the *Streptococcus anginosus* group. J. Bacteriol. **185**, 7241–7246.
 - 49) Severin, A., Nickbarg, E., Wooters, J., Quazi, S.A., Matsuka, Y.V., Murphy, E., Moutsatsos, I.K., Zagursky, R.J., Olmsted, S.B. (2007): Proteomic analysis and identification of *Streptococcus pyogenes* surface-associated proteins. J. Bacteriol. **189**, 1514–1522.
 - 50) Stinson, M.W., Barua, P.K., Bergery, E.J., Nisengard, R.J., Neiders, M.E., Albin, B. (1984): Binding of *Streptococcus mutans* antigens to heart and kidney basement membranes. Infect. Immun. **46**, 145–151.
 - 51) Stinson, M.W., Bergery, E.J. (1982): Isolation of heart- and kidney-binding protein from group A streptococci. Infect. Immun. **35**, 335–342.
 - 52) Sukeno, A., Nagamune, H., Whiley, R.A., Jafar, S.I., Aduse-Opoku, J., Ohkura, K., Maeda, T., Hirota, K., Miyake, Y., Kourai, H. (2005): Intermedilysin is essential for the invasion of hepatoma HepG2 cells by *Streptococcus intermedius*. Microbiol. Immunol. **49**, 681–694.
 - 53) Suzuki, K.G., Fujiwara, T.K., Sanematsu, F., Iino, R., Edidin, M., Kusumi, A. (2007): GPI-anchored receptor clusters transiently recruit Lyn and G alpha for temporary cluster immobilization and Lyn activation: single-molecule tracking study 1. J. Cell Biol. **177**, 717–730.
 - 54) Takao, A. (2003): Cloning and expression of hyaluronate lyase genes of *Streptococcus intermedius* and *Streptococcus constellatus* subsp. *constellatus*. FEMS Microbiol. Lett. **219**, 143–150.
 - 55) Takao, A., Nagamune, H., Maeda, N. (2006): Hyaluronate lyase and sialidase in the anginosus streptococci: As the putative virulence factors. p. 231–234, In Sriprakash, K.S. (ed), Streptococci New Insights into an Old Enemy, Amsterdam, Elsevier B.V.
 - 56) Tanner, A., Maiden, M.F., Lee, K., Shulman, L.B., Weber, H.P. (1997): Dental implant infections. Clin. Infect. Dis. **25**(suppl 2), S213–217.
 - 57) Wanahita, A., Goldsmith, E.A., Musher, D.M., Clarridge, J.E.III, Rubio, J., Krishnan, B., Trial, J. (2002): Interaction between human polymorphonuclear leukocytes and *Streptococcus milleri* group bacteria. J. Infect. Dis. **185**, 85–90.
 - 58) Whiley, R.A., Beighton, D. (1991): Emended descriptions and recognition of *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*, and *Streptococcus anginosus* as distinct species. Int. J. Syst. Bacteriol. **41**, 1–5.
 - 59) Whiley, R.A., Beighton, D., Winstanley, T.G., Fraser, H.Y., Hardie, J.M. (1992): *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* (the *Streptococcus milleri* group): Association with different body sites and clinical infections. J. Clin. Microbiol. **30**, 243–244.
 - 60) Whiley, R.A., Fraser, H., Hardie, J.M., Beighton, D. (1990): Phenotypic differentiation of *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* strains within the “*Streptococcus milleri* group”. J. Clin. Microbiol. **28**, 1497–1501.
 - 61) Whiley, R.A., Hall, L.M.C., Hardie, J.M., Beighton, D. (1997): Genotype and phenotypic diversity within *Streptococcus anginosus*. Int. J. Syst. Bacteriol. **47**, 645–650.
 - 62) Whiley, R.A., Hall, L.M.C., Hardie, J.M., Beighton, D. (1999): A study of small-colony, β -hemolytic, Lancefield group C streptococci within the anginosus group: description of *Streptococcus constellatus* subsp. *pharyngis*. nov., associated with the human throat and pharyngitis. Int. J. Syst. Bacteriol. **49**, 1443–1449.
 - 63) Whiley, R.A., Hardie, J.M. (1989): DNA-DNA hybridization studies and phenotypic characteristics of strains within the ‘*Streptococcus milleri* group’. J. Gen. Microbiol. **135**, 2623–2633.
 - 64) Willcox, M.D.P., Loo, C.Y., Harty, D.W.S., Knox, K.W. (1995): Fibronectin binding by *Streptococcus milleri* group strains and partial characterization of the fibronectin receptor of *Streptococcus anginosus* F4. Microb. Pathog. **19**, 129–137.
 - 65) Yoshida, Y., Nakano, Y., Amano, A., Yoshimura, M., Fukamachi, H., Oho, T., Koga, T. (2002): *lcd* from *Streptococcus anginosus* encodes a C-S lyase with α , β -elimination activity that degrades L-cysteine. Microbiol. **148**, 3961–3970.
 - 66) Yoshida, Y., Negishi, M., Amano, A., Oho, T., Nakano, Y. (2003): Differences in the β C-S lyase activities of viridans group streptococci. Biochem. Biophys. Res. Commun. **300**, 55–60.
 - 67) Zhang, L., Ignatowski, T.A., Spengler, R.N., Noble, B., Stinson, M.W. (1999): Streptococcal histone induces murine macrophages to produce interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha. Infect. Immun. **67**, 6473–6477.

(担当編集委員 菊池 賢)