

## 9. 生物活性物質部

部長 宮崎 義継

### 概要

われわれは、わが国における真菌感染症の制御、ならびに、感染症制御薬の基盤強化と応用を目標とした調査研究を推進している。真菌症研究では、emerging fungal infectionとして注目されている*Cryptococcus gattii*感染症や四類感染症であるコキシジオイデス症をはじめとする地域流行型真菌症と、アスペルギルス症やカンジダ症など移植医療等に関連し免疫不全宿主に発症する深在性真菌症を主な研究対象としている。真菌の病原因子や分子疫学、免疫原性に関する基盤研究と共に、疫学や臨床介入研究・病原体診断に関して調査研究を行った。

感染症制御薬に関しては、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用、活性評価系開発による新しい薬効の探索、免疫制御分子の探索と応用による感染症制御、ゲノム情報を応用した生合成経路の解明に基づく天然型新規薬剤の探索・産生効率化に関する研究等を行った。

今年度の主たる研究項目は下記のとおりである。

- I. 病原真菌の病原性解明と新しい診断・治療法開発の研究、ならびに、疫学研究
- II. 宿主因子と免疫制御の解明による難治性感染症の制圧に関する研究
- III. 微生物の有用遺伝子探索による感染症治療薬開発と薬剤耐性機構に関する研究
- IV. 新しい薬物活性評価系の研究、ならびに、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用

各室の行った主な業務は、それぞれ以下のとおりである。

第1室は、真菌の病原因子に関する研究と真菌症レファレンス業務を担当している。免疫不全宿主にみられる糸状菌感染症で最も多いアスペルギルス症に関して、病原因子同定と治療への応用に関する研究を行った。深在性真菌症として最多のカンジダ属を対象とした研究ではエルゴステロール生合成系に着目した治療や薬剤耐性機構と病原因子の解明を継続した。また、不明真菌の同定や診断困難例の確定診断に関する共同研究や行政

検査等に対応した。

第2室は、宿主および病原微生物の細胞内シグナル伝達系の解明とそれを応用した疾病制御に関する研究や、新規の活性評価系を開発して新しい薬物活性や薬物相互作用の探索を行った。また、検査業務のうち抗菌薬の除去検査を第4室と共同で実施した。

第3室は、宿主因子や免疫機構の制御に基づいた難治性感染症や難病の制圧をめざした基盤研究を行った。真菌感染症に関する検査業務では、薬剤感受性試験を担当した。

第4室は、ゲノム情報を応用して、二次代謝産物等の天然物や代謝経路の解明や新規感染症制御薬の研究、新興感染症の分子疫学に関する研究を行った。検査業務として後発医薬品の除去検査について第2室を補佐した。

行政対応として、真菌に関する各種行政検査、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員、ベトナム国立衛生疫学研究所能力強化計画プロジェクトを実施した。

国際交流では、タイNIH、チェンマイ大学、ベトナムNIHEとヒストプラスマ症、クリプトコックス症に関する疫学研究や診断に関する研究を実施した。

### 業績

#### 調査・研究

I. 病原真菌の病原性解明と新しい診断・治療法開発のための研究、ならびに、疫学研究

#### 1. 地域流行型真菌症の研究

(1) 日本国内で分離されたクリプトコックス属の菌種同定と薬剤感受性調査

北米で新興感染症として認識されている遺伝子変異型 *Cryptococcus gattii* 株がわが国でも分離されたことを受けて、国内

で分離・保存されていたクリプトコックス属の菌種同定を行った。113株の解析を行い、変異型ではない*C. gattii*株 (VGI型) 1株、旧血清型分類ではA型とD型のハイブリッド株 (AD型) と推測される1株が同定されたが、それ以外のすべての株は旧血清型Aに属すると考えられる*C. neoformans*と同定し*C. gattii*の増加は確認されなかった。また特定の抗真菌薬に対する耐性化も認められなかった。

[大野秀明、梅山 隆、大川原明子、田辺公一、草地弘子、金子幸弘、山越 智、金城雄樹、宮崎義継]

## (2) 国内分離 *Cryptococcus gattii* 株の分子疫学研究

海外渡航歴の無い国内在住患者から分離され、かつ、北米で流行している遺伝子型VGIIと同定された*C. gattii*株について起源の推定や北米分離株との比較対象を目的に次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を行った。北米由来とは違う遺伝子変異が多数認められたため、日本国内で独自に変異を獲得した株である可能性について解析を継続している。

[宮崎義継、石川 淳、梅山 隆、田辺公一、金子幸弘、山越 智、大野秀明、杉田 隆 (明治薬大)、関塚剛史・黒田 誠 (病原体ゲノム解析研究センター) ]

## (3) *Cryptococcus gattii* 株の菌学的性質と実験的病原性解析

日本国内で分離された*C. gattii*株を中心に*in vitro*での菌学的性質と、マウス感染モデルを使用した病原性等について検討した。供試菌としてJP02株 (VGIIc型)、R265株 (VGIIa型: 北米分離株)、5815株 (VGI型: 日本分離株)、北大株 (VGI型: 日本分離株)とし、対照株として*C. neoformans* H99株を用いた。*in vitro*では37°C発育能、発育速度、莢膜の性状、色素産生能等について、またこれら菌株をC57BL/6マウスに経気管的に感染させ、死亡率や経時的な臓器内菌数、免疫学的検討、病理組織学的検討などを行った。結果として、JP02株については*C. gattii*株の中でも極めて強い病原性を持つことが示唆され、病理組織学的に*C. neoformans*と異なり肺での炎症性反応に乏しいこと、解剖学的肺構造の著しい破壊像が特徴的と考えられた。またこの病原性には37°Cにおける成長速度と莢膜が関与していると考えられる結果が得られた。

[大野秀明、田辺公一、草地弘子、梅山 隆、金子幸弘、上野圭吾、山越 智、杉田 隆 (明治薬大)、亀井克彦 (千葉大)、畠山修司 (東京大)、渋谷和俊 (東邦大)、金城雄樹、宮崎義継]

## (4) *Cryptococcus neoformans* の潜伏感染診断系の検討

*C. neoformans* の潜伏感染のメカニズムを解明するためのアプローチとして、低酸素条件下での培養で*C. neoformans* の遺伝子

発現について検討したところ、未同定の遺伝子が多く認められたと同時に糖代謝に関与する遺伝子の発現が多いことを確認した。またSST-REX法を使用し、低酸素条件下で発現する膜・分泌蛋白を同定し、このうちCnHip1を新規標的とした*in vitro* 検出系の検討を行っている。

[大野秀明、山越 智、梅山 隆、草地弘子、橋本ゆき、田辺公一、金子幸弘、宮崎義継]

## (5) 日本国内で分離された *Cryptococcus neoformans* (var. *grubii*) の分子疫学解析

全国の10医療施設から分離培養された*C. neoformans* (var. *grubii*) 44株に対し、それぞれの株の7つの遺伝子座の塩基配列を解析し、MLSTによる疫学的解析を行なった。分離された株の間で遺伝子型がほぼ一致しており、日本由来の*C. neoformans* はほぼ均一の遺伝子型集団から成ることが示唆された。

[梅山 隆、大野秀明、草地弘子、田辺公一、山越 智、宮崎義継]

## 2. アスペルギルス症に関する研究

### (1) Y1蛋白質の性状解析

データベースによると推定されるY1遺伝子の分子量は約30kDaであるが、細胞壁画分をSDS-PAGEで分離しウエスタンブロットにより60-70kDa付近にY1のバンドを検出した。糖鎖修飾の可能性があったのでtunicamycin存在下*Aspergillus fumigatus*を培養し、同様にY1について調べた。その結果、分子量の変化は観察されなかったが、濃度依存的な蛋白質の発現の上昇が見られた。

[山越 智、梅山 隆、梶川益紀 (ACTGen社)、田辺公一、大野秀明、橋本ゆき、宮崎義継]

### (2) B11に対するモノクローナル抗体の性状解析

B11は、3つのホモログからなる。それをB11a, B11b, B11cとして解析を行っている。昨年度、大腸菌でB11a蛋白質およびB11b蛋白質をマウスに免疫し、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマをB11aでは6種類、B11bでは9種類得たので、今年度はピアコアを用いて得られたモノクローナル抗体のアフィニティの強さ、エピトープの競合について調べた。

[山越 智、大西和夫 (免疫部)、梅山 隆、田辺公一、大野秀明、橋本ゆき、宮崎義継]

### (3) B11b蛋白質のサンドイッチELISA系の再構築

昨年度、1次抗体としてモノクローナル抗体と2次抗体としてウサギポリクローナル抗体を用いたB11bのサンドイッチELISA

の構築をした。ピアコアから得られた抗体の情報、および緩衝液、ブロッキング剤等の検討をもとにELISA系の再構築を行った。その結果数十pg/ml程度の感度が得られた。

[山越 智、大西和夫 (免疫部)、梅山 隆、田辺公一、大野秀明、橋本ゆき、宮崎義継]

(4) *Aspergillus fumigatus* のMps1プロテインキナーゼの研究

*Ku70* 遺伝子欠損株 Afs35 を用い、ハイグロマイシン耐性遺伝子を含む DNA 断片を選択マーカーとして使い *A. fumigatus* の Mps1プロテインキナーゼにアミノ酸置換を導入し、ATPアナログINM-PP1感受性となる変異株を作製した。INM-PP1を変異株培養中に添加すると、出芽および菌糸成長が阻害されたことから、Mps1のキナーゼ活性が生育に必須であることが示唆された。

[梅山 隆、山越 智、大野秀明、田辺公一、宮崎義継]

(5) アスペルギルス感染症における呼気揮発性ガスの測定に関する検討

アスペルギルス感染症の早期診断法の開発を目的として、肺感染マウスにおける呼気中の揮発性ガスを、ガスクロマトグラフィー質量分析装置を用いて測定した。

[金子幸弘、岩口伸一 (奈良女子大学)、横山耕治 (千葉大学)、宮崎義継]

### 3. カンジダ症に関する研究

(1) 薬剤耐性メカニズムとしてのステロール合成・代謝に関連する膜トランスポーター

*Candida glabrata* の ABC 蛋白質 CgAus1p は細胞外ステロールを取り込む。これまでに *C. glabrata* が感染時に細胞外ステロールを利用して増殖する可能性を示唆する結果が報告されてきた。*AUS1* 遺伝子を破壊したステロール取り込みができない *C. glabrata* を用いてマウス感染実験を行い、臓器定着率を調べた。*AUS1* 破壊株は野生型株と比較して、腎臓における臓器定着率に著しい低下が認められたことから、細胞外ステロール取り込みが *C. glabrata* の播種性感染において重要な役割を果たしていることが示唆された。

[田辺公一、中山浩伸 (鈴鹿高専・生物応用化学科)、名木 稔、山越 智、梅山 隆、大野秀明、宮崎義継]

(2) 鉄欠乏条件下における遺伝子発現解析

宿主体内は遊離鉄濃度が低いいため、*Candida glabrata* の感染が成立するためには鉄欠乏条件下で生存する必要があると推測さ

れる。鉄欠乏条件下で培養した *C. glabrata* から RNA を抽出し、DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。鉄欠乏条件下ではアミノ酸合成関連遺伝子の発現量が減少し、ステロール輸送関連遺伝子の発現量が増加することを見出した。ステロール輸送関連遺伝子の上位配列を用いたレポーター遺伝子アッセイにより、鉄欠乏による遺伝子の発現誘導に必要な領域を決定し、同様に鉄欠乏で発現量が上昇する遺伝子の上位領域に相同性の高い配列が存在することを見出した。

[田辺公一、中山浩伸 (鈴鹿高専・生物応用化学科)、名木 稔、山越 智、梅山 隆、大野秀明、宮崎義継]

(3) フローシステムを用いた *Candida albicans* のバイオフィルム形成能と抗真菌薬の効果に関する検討

カテーテル感染症に類似した *C. albicans* のバイオフィルムを、フローシステムを用いて再現した。バイオフィルムの形成過程及び抗真菌薬の効果を連続撮影にて解析しバイオフィルムは等速度で成長することを見出した。

[金子幸弘、宮川 進 (株式会社アイカム)、宮崎義継]

### 4. ヒストプラズマ症に関する国際共同研究

(1) ヒストプラズマ症各種診断法の有用性検討および技術移転

ヒストプラズマ症は世界的に広く認められる地域流行型真菌症であるが、臨床検体からの菌の培養成績は極めて低いことから、血清診断法や抗原検出法などが海外では広く応用されている。当部において *Histoplasma capsulatum* を特異的に検出するPCR法を作成し、ヒストプラズマ症の診断における遺伝子診断法の有用性について血清診断法や培養法との比較検討を行った。また海外共同研究の一つとして遺伝子診断法の移転を行い、補助的診断法としての活用を試みている。

[大野秀明、田辺公一、草地弘子、梅山 隆、山越 智、宮崎義継、Pojana Sriburee (チェンマイ大学)、Hoang Thi Thu Ha (ベトナム国立衛生疫学研究所)]

(2) ヒストプラズマ属の本邦ならびに東南アジアでの生息状況の調査

ヒストプラズマ症はわが国では輸入真菌症として扱われているが、海外渡航歴のない日本人にも発病が確認されている。また、東南アジアはヒストプラズマ症の流行地域でありヒストプラズマ属の侵淫地域と考えられているが、環境中における菌の存在を証明した例はない。このような状況を背景として、日本やタイ、ベトナムでの自然環境中に生息すると考えられるヒストプラズマ属を検出し、感染経路の解明や疫学、公衆衛生への

寄与を目的とした調査・研究を行なった。タイ・チェンマイにおける検討からヒストプラスマ属はクリプトコックス属と同様家禽類の糞に存在することが認められ、これが一般的な感染源となっている可能性が示唆された。さらに、タイ・バンコクでの調査から比較的広範囲にヒストプラスマ症の感染源となりうる土壌が存在することが推定された。

[田辺公一、大野秀明、草地弘子、山越 智、梅山 隆、宮崎義継、Trepradab Norkaew・Pojana Sriburee (チェンマイ大学)、Natteewan Poonwan (タイ NIH)、Hoang Thi Thu Ha (ベトナム国立衛生疫学研究所)]

#### 5. 侵襲性真菌症に関する多施設臨床研究

##### (1) 血液疾患に合併するアスペルギルス症の多施設コホート研究

日本成人白血病治療共同研究グループ、東京移植コンソーシアム、Febrile Neutropenia 研究会との合同で「日本人血液疾患患者におけるアスペルギルス属およびその他の糸状菌類による侵襲性真菌感染症についての疫学調査」のうち分離真菌の同定と薬剤感受性を行った。

[宮崎義継、大野秀明、大川原明子、金城雄樹、梅山 隆、山越智、金子幸弘、草地弘子、谷口修一・荒岡秀樹 (虎ノ門病院)、吉田 稔 (帝京大学) ほか]

##### (2) 慢性肺アスペルギルス症に対するアムホテリシン B リポソーム製剤とボリコナゾールの多施設無作為化臨床試験

慢性肺アスペルギルス症に対して、アムホテリシン B リポソーム製剤とボリコナゾール注射薬の初期治療に関する非盲検無作為化比較試験で、病原真菌の同定と薬剤感受性試験を実施した。

[大野秀明、大川原明子、金城雄樹、金子幸弘、草地弘子、倉島篤行 (複十字病院)、小川賢二 (東名古屋病院)、鈴木克洋 (近畿中央胸部疾患センター)、沖本二郎 (川崎医科大学)、掛屋 弘・河野 茂 (長崎大学)、藤内 智 (旭川医療センター)、宮崎義継ほか]

##### (3) 発熱性好中球減少症に対するイトラコナゾールとエキソキヤンデインの多施設無作為化臨床試験

本試験で病原真菌の同定と薬剤感受性試験を実施した。

[金子幸弘、大野秀明、大川原明子、金城雄樹、田辺公一、梅山 隆、山越 智、草地弘子、吉田 功 (四国がんセンター)、宮崎義継、ほか]

## II. 宿主因子と免疫制御の解明による難治性感染症の制圧に関する研究

### 1. *Candida albicans* の細胞壁抗原 $\beta$ -1,2-マンノシド

マンナンは、真菌における細胞壁の必須成分である一方で病原体関連分子パターン(Pathogen-Associated Molecular Patterns = PAMPs)の一つである。我々は、マンナンの中でも *Candida albicans* に特異的な  $\beta$ -1,2-マンノシドに着目し、その特異的構造パターンが樹状細胞のサイトカイン産生に与える影響を解析した。まず、 $\beta$ -1,2-マンノシドを合成できない遺伝子欠損株を作出し、 $\beta$ -1,2-マンノシドを含まないマンナンの精製をした。このマンナンを以降の解析に使用するために、 $\beta$ -1,2-マンノシドが含まれていないことを核磁気共鳴法 (NMR) などの種々の生化学的解析で証明した。次いで、マウス由来の樹状細胞を野生型マンナンまたは、 $\beta$ -1,2-マンノシドを含まないマンナンで刺激したところ、後者のマンナンで刺激した場合に、IL-6, IL-23, IL-12p40 などの炎症性サイトカインが強く誘導されることが明らかになった。これらの解析から、マンナンに含まれる  $\beta$ -1,2-マンノシドに、サイトカイン産生を減弱する新しい作用を見出した。

[大川原明子、金城雄樹、上野圭吾、山越 智、梅山 隆、樽本憲人、中 崇・土江松美・藤原永年 (大阪市立大学)、大野秀明、宮崎義継]

### 2. カンジダ菌血症の経過に及ぼす自然免疫活性化の影響

*Candida albicans* 感染マウスに糖脂質抗原を投与して自然免疫を刺激すると、カンジダ感染が増悪することを明らかにした。その病態には、IFN $\gamma$ とよばれる蛋白が関与して、好中球の減少を引き起こすことが重要であることが分かった。このことから、カンジダ感染の早期に自然免疫の強い活性化が起こると、真菌の排除に重要な免疫細胞に影響を及ぼすことが考えられた。

[樽本憲人、金城雄樹、大川原明子、上野圭吾、笹井大督・篠崎 稔・渋谷和俊 (東邦大学)、宮崎義継]

### 3. T細胞に認識される *Cryptococcus gattii* の蛋白質抗原

*Cryptococcus gattii* の蛋白質抗原はこれまでに報告がない。抗原を特定することは診断法やワクチンの開発に寄与することから重要性の高い研究として位置づけられている。本研究では、本菌の免疫において T細胞応答が重要であることに着目して、T細胞の分化を誘導する抗原を探索している。今年度は、蛋白質

の精製方法について検討を行った。その結果、TCA 沈殿法で不純物を効率良く除去できることが明らかになった。次に、TCA 沈殿で回収した培養上清蛋白質をワクチンとしてマウスに予防投与したところ、肺における菌体排除効果を有意に促進することが確認された。この培養上清蛋白質の中には、T 細胞に認識される抗原が含まれていると推定されるため、現在この蛋白質の分画を行い、各画分の活性評価を行っている。

[上野圭吾、大川原明子、金子幸弘、金城雄樹、宮崎義継]

#### 4. *Cryptococcus gattii* 感染症における免疫応答の検討

高病原性の *C. gattii* における免疫応答と病原性の関連を検討した。マウス呼吸器感染モデルを用いて、*C. neoformans* H99 株と *C. gattii* 高病原性株の免疫抑制状態における生存率の相違を比較した。その結果、免疫抑制状態において、*C. neoformans* の生存率が低下したが、*C. gattii* 高病原性株では生存率は変わらなかった。また、*in vitro* の検討において、*C. neoformans* と比較し、*C. gattii* 高病原性株は樹状細胞の免疫応答を誘導しにくいことが判明した。

[金子幸弘、大野秀明、金城雄樹、宮崎義継]

#### 5. 生体防御に関与するサイトカイン LECT2 の解析

##### (1) マウス LECT2 レセプターの同定

LECT2 のレセプターを同定することを試みた。昨年、レトロウイルスベクターを用いマウス cDNA 発現ライブラリーを作製し、Ba/F3 細胞に感染後、マウス LECT2-Fc 融合蛋白質の結合を指標にフローサイトメトリーにて、レセプター遺伝子を発現する Ba/F3 細胞を濃縮した。その Ba/F3 細胞からクローニングした独立した 9 株の細胞を用いてレトロベクターに保持されている cDNA を PCR にて解析したところ、すべて同じ遺伝子を持つことがわかりそれを X 蛋白質とした。X は、膜蛋白質であり LECT2 のレセプターである可能性が高いと考えられた。

[山越 智、梶川益紀 (ACTGen 社)、奥村彰規、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継]

##### (2) LECT2 の亜鉛の結合

LECT2 はホモロジーから M23 プロテアーゼファミリーに属している。そのファミリーは多くが亜鉛を結合することから、LECT2 も亜鉛結合蛋白質であることが予想された。そこで、Electrospray ionization mass spectrometry, X-ray absorption fine structure の解析を行った。その結果、亜鉛が非共有結合していることが明らかとなった。

[山越 智、奥村彰規、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継]

##### (3) LECT2 の多量体形成

LECT2 は 37°C で *in vitro* でインキュベーションすることで多量体形成をすることがわかった。この反応は、EDTA 等金属イオンのキレート剤により促進され、亜鉛の添加により抑制された。カルシウム、マグネシウムの 2 価金属イオンではその効果が見られなかった。また、dithiothreitol 等の還元剤処理によって反応は促進された。LECT2 は 3 個の disulfide 結合をもつことから、これが多量体形成に関与し、亜鉛の結合により分子が安定化し多量体形成が阻害されたと考えられた。

[山越 智、奥村彰規、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継]

#### 6. NKT 細胞による細菌糖脂質抗原の認識と感染防御における役割

肺炎は日本人の主要な死因である。肺炎球菌は、その起炎菌として最も頻度の高い細菌の一つである。自然免疫に関与する NKT 細胞が、肺炎球菌糖脂質を認識することを初めて明らかにした。NKT 細胞による糖脂質認識を阻害すると、肺炎球菌感染後早期において、NKT 細胞によるサイトカイン産生が低下し、肺内菌数の増加を認めた。また、NKT 細胞による肺炎球菌糖脂質抗原への反応性はマウスのみならず、ヒトでも保存されていた。さらに、B 群レンサ球菌も肺炎球菌とほぼ同じ糖脂質を持っており、NKT 細胞が B 群レンサ球菌の糖脂質も認識することを明らかにした。このことから、NKT 細胞は肺炎球菌や B 群レンサ球菌などの特定の細菌の糖脂質を認識して、感染防御に貢献することが示唆された。さらに、NKT 細胞が齧歯類から霊長類まで保存されているのは、特定の微生物に対する感染防御に重要な役割を担うためである可能性が示唆された。

[金城雄樹、大川原明子、金子幸弘、小川伸子、Petr Illarionov (バーミンガム大学)、川上和義 (東北大学)、Jose Luis Vela・Mitchell Kronenberg (ラホヤアレルギー免疫研究所)、宮崎義継]

#### 7. 肺炎球菌糖脂質抗原と NKT 細胞抗原受容体の結合様式の解析

X 線結晶構造解析により、肺炎球菌糖脂質抗原と抗原提示分子 CD1d 及び T 細胞抗原受容体との結合様式を分子レベルで解明した。また、T 細胞抗原受容体が抗原・抗原提示分子に結合した状態と結合していない状態を比較することにより、NKT 細胞の T 細胞抗原受容体が結合する際には、抗原と抗原

提示分子の位置がずれることが分かった。このことから、NKT細胞の T 細胞抗原受容体は、抗原と結合する際に、抗原の位置を少し移動させることで、抗原受容体の抗原認識に重要な部位に抗原を結合させて、認識していることが分かった。

[金城雄樹、樽本憲人、Petr Illarionov (バーミンガム大学)、Enrico Girardi・Dirk M. Zajonc・Mitchell Kronenberg (ラホヤアレルギー免疫研究所) ]

### 8. 糖脂質抗原による肺炎球菌ワクチン増強効果の解析

糖脂質抗原によるNKT細胞の活性化は免疫応答の増強をもたらす。糖脂質抗原を併用することで、新規の肺炎球菌蛋白抗原ワクチンの効果を増強させることができるか解析を行った。蛋白抗原ワクチンと糖脂質抗原の併用接種群では、蛋白抗原ワクチン単独接種群または無処置群と比較して、生存率が高く、肺内菌数も少ないという結果を得た。そのことから、糖脂質抗原の併用による NKT 細胞の活性化は、肺炎球菌蛋白抗原ワクチンの感染防御効果を増強することが示唆された。また、成人用肺炎球菌ワクチンを接種したヒトの血中抗体価の上昇と NKT 細胞の数を比較したところ、抗体価の上昇と NKT 細胞の一群の増加が相関することが分かった。このことより、ヒトにおいても NKT 細胞が B 細胞の抗体産生を増強する可能性が示唆された。

[金城雄樹、大川原明子、金子幸弘、小川伸子、朴 貞玉・大石和徳 (大阪大学微生物病研究所)、宮坂智充・青柳哲史・川上和義 (東北大学)、宮崎義継]

## III. 微生物の有用遺伝子探索による感染症薬開発と薬剤耐性機構に関する研究

### 1. 感染症治療薬開発に関する研究

#### (1) 次世代シーケンサーを用いた放線菌からの生物活性物質生合成遺伝子の探索

種々の放線菌が持つ生物活性物質生合成遺伝子を見出すために、次世代シーケンサーを用いて 6 株の放線菌のゲノムシーケンシングを行った。

[石川 淳、関塚剛史・黒田 誠 (病原体ゲノム解析センター) ]

#### (2) 生物活性物質生合成遺伝子探索ツールの開発

放線菌ゲノムに含まれる生物活性物質生合成遺伝子クラスターを効率的に見出すために、生物活性物質生合成に与るタンパクに頻繁に見出されるドメインを指標としたウェブベースの探

索ツール (2ndFind) を開発した。

[石川 淳]

#### (3) 次世代シーケンサーを用いた糸状菌からの生物活性物質生合成遺伝子の探索

糸状菌の生産する生物活性物質の生合成遺伝子 (ポリケチド合成酵素、非リボゾーム型ペプチド合成酵素や酸化還元酵素等をコードする遺伝子) をゲノムスキニングの手法を用いて見出し、さらに、これらの遺伝子の機能予測を行い、最終産物の部分構造を生合成している酵素を予測した。さらに、見出された遺伝子の破壊株を作製し、生物活性物質の生産性を LC-MS にて確認した結果、その化合物の生産性が消失することが判明した。これらにより、見出された遺伝子は、生物活性物質の生産に関与していることを明らかにした。

[星野泰隆、石川 淳、関塚剛史・黒田 誠 (病原体ゲノム解析研究センター)]

#### (4) 糸状菌の高効率な遺伝子操作系の開発

糸状菌の野生株では、相同組換えの頻度は著しく低いことから、相同組換え能の高い株の確立を行った。非相同組換えに関わるヘテロダイマータンパク質 (Ku70/80) や Lig4 ホモログを破壊することで糸状菌でも高い頻度で相同組換えが起こることが示されており、我々は、DNA ligase 4 をコードする遺伝子 (*ligD*) を破壊し非相同組み換え能を落すことにより、相同組み換えの効率を上げる事を行った。アグロバクテリウムを用いた形質転換系を利用し *ligD* の破壊株を作製した結果、その相同組換え能は、野生株の 10 倍程度に向上した。また、高効率株の生物活性物質の生産性は、野生株と変わらないことを LC-MS により確認した。

[星野泰隆、石川 淳]

### 2. 薬剤耐性機構に関する研究

#### (1) キャンディン系抗真菌化合物を生産する糸状菌の自己耐性因子の探索

キャンディン系抗真菌化合物を生産する菌株の自己耐性機構を解明するために、耐性因子の探索を行った。キャンディン系抗真菌薬への耐性は、ターゲットである  $\beta$ -1,3-glucan synthase (FKS1) のアミノ酸変異によることが報告されていることから、ゲノム解析の結果を用いて FKS1 のアミノ酸変異の有無を解析した。その結果、耐性を付与すると考えられる変異はなく、感受性型のままであった。このことから、生産菌の自己耐性機構は、薬剤のターゲットである FKS1 の変異ではなく、他の機構が

存在する可能性が示された。

[星野泰隆、石川 淳]

#### (2) リファンピシンモノオキシゲナーゼの構造解析

*Nocardia farcinica* IFM 10152 株のリファンピシン不活化酵素であるリファンピシンモノオキシゲナーゼ (Rox) に関して、結晶化による立体構造を明らかにすることにより、リファマイシン系化合物に対する反応機構の解明を進めた。本酵素を大腸菌で発現させるために、いくつかの発現ベクターを用いて発現等の条件検討を行い、単離精製後、結晶化を行った。今後、本酵素の立体構造からリファマイシン系化合物に対する反応機構の解明を進める。

[星野泰隆、額賀路嘉 (城西国際大)、石川 淳]

#### IV. 新しい薬物活性評価系の研究、ならびに、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用

##### 1. プロテインキナーゼ阻害物質の評価

文部科学省新学術領域研究「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」化学療法基盤支援活動において、プロテインキナーゼ阻害の検定 (II) を担当した。前年度に引き続き、NRK 細胞を PDGF で刺激し、活性化される PDGF レセプターチロシンキナーゼおよび主要な細胞内シグナル伝達経路に対する阻害効果をウエスタンブロットにより検出する系、293T 細胞にチロシンキナーゼを一過性に発現させて、cell-based ELISA により細胞内ホスホチロシンレベルを測定する系を用い、依頼サンプル、理研化療パイロットライブラリー、標準阻害剤キット等の化合物評価を行った。

[深澤秀輔、福山まり、矢守隆夫 (癌研) ]

##### 2. SERM (Selective Estrogen Receptor modulator) の C 型肝炎ウイルス(HCV)の侵入阻害作用

タモキシフェンや関連 SERM の抗 HCV 作用について調べた。阻害活性のあった SERM は、HCV シュードウイルスの侵入を阻害したので、侵入をウイルス粒子の細胞への接着、細胞内への侵入前期 (エンドサイトーシス)、侵入後期の 3 つのステップに分けて、どこに作用するかを調べた。その結果 SERM はこれらのステップをいずれも同等に阻害して特定できなかった。また SERM は感染細胞内の HCV RNA を細胞外の HCV RNA より強く阻害したことから複製後の過程 (粒子形成、放出等) も阻害していると考えられた。これまでの結果を総合すると SERM は接着、侵入、複製、複製後と HCV の生活環の多くの過程を阻害

すると思われた。

[村上裕子、鈴木哲朗 (浜松医大)、脇田隆字 (ウイルス 2 部)、深澤秀輔]

3. 核内受容体作用物質の C 型肝炎ウイルス(HCV)の阻害作用  
レチノイン酸受容体 (RAR)、レチノイド X 受容体 (RXR) の作用物質が HCV に阻害作用を示すことを見いだした。阻害作用はアゴニストのみならずアンタゴニストにもあったので、レチノイン酸依存のシグナル伝達には関連がないことが示唆された。HCV シュードウイルスの侵入はほとんど阻害されなかったことから侵入過程は阻害しないと思われた。さらに作用機序を調べている。

[村上裕子、鈴木哲朗 (浜松医大)、脇田隆字 (ウイルス 2 部)、深澤秀輔]

##### 4. *Candida albicans* に対する併用療法に関する検討

FDA approved drug 640 薬剤と FLCZ を併用し、相加相乗あるいは拮抗作用を検討した。シクロオキシゲナーゼ阻害剤の拮抗作用に関して、プロスタグランジン E2 との関連性を検討し、細胞膜の変化を薄層クロマトグラフィーにて比較した。

[金子幸弘、深澤秀輔、宮崎義継]

#### レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体などからの要請にもとづき、真菌感染症の診断、真菌に関する調査、真菌症に対する相談業務などを行った。平成 23 年度は、真菌症疑いならびに診断困難例等の臨床検体からの真菌検出、血清診断、培養真菌の同定不能例における菌種同定依頼など計 34 件 (菌株 30 株、臨床検体 20 検体)、ならびに行政検査 2 件の対応にあたった。また感染症法に関連する病原体として、三種病原体である *Coccidioides* 属 1 株が分離され医療機関側へ情報のフィードバックを行い、その他輸入真菌症として *Penicillium marnieffei* 1 株を分離した。

[大野秀明、草地弘子、梅山 隆、田辺公一、金子幸弘、大川原明子、山越 智、金城雄樹、宮崎義継]

#### 品質管理に関する業務

後発医薬品等の収去検査として、セフカペンピボキシル塩酸塩錠 16 製剤、ならびに、セフカペンピボキシル塩酸塩細粒 9 製剤、注射用セフォチアム塩酸塩 3 製剤について力価試験を実施した。

[村上裕子、石川 淳、金子幸弘、深澤秀輔、星野泰隆、宮崎義継]

## 国際協力関係業務

ベトナム国立衛生疫学研究所の高危険度病原体に係るバイオセーフティ並びに実験室診断能力の向上と連携強化プロジェクトのうち、ヒストプラズマ症診断能力、ヒストプラズマ属取扱技術の向上を目的に、JICA 短期派遣専門家として現地での指導、助言を行なった。

[大野秀明、田辺公一、宮崎義継]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Tomita H, Muroi E, Takenaka M, Nishimoto K, Kakeya H, Ohno H, Miyazaki Y, Utani A. *Rhizomucor variabilis* infection in human cutaneous mucormycosis. *Clin Exp Dermatol.* 36:312-314, 2011.
- 2) Nakayama H, Ueno K, Uno J, Nagi M, Tanabe K, Aoyama T, Chibana H, Bard M. Growth defects resulting from inhibiting ERG20 and RAM2 in *Candida glabrata*. *FEMS Microbiology letters.* 317:27-33, 2011.
- 3) Tsuda K, Nishiya N, Umeyama T, Uehara Y. Identification of LY83583 as a specific inhibitor of *Candida albicans* MPS1 protein kinase. *Biochem Biophys Res Commun.* 409:418-423, 2011.
- 4) Takahashi S, Toyoda A, Sekiyama Y, Takagi H, Nogawa T, Uramoto M, Suzuki R, Koshino H, Kumano T, Panthee S, Dairi T, Ishikawa J, Ikeda H, Sakaki Y, Osada H. Reveromycin A biosynthesis uses RevG and RevJ for stereospecific spiroacetal formation. *Nat Chem Biol.* 7:461-468, 2011.
- 5) Kinjo Y, Ueno K. iNKT cells in microbial immunity: recognition of microbial glycolipids. *Microbiol Immunol.* 55:472-482, 2011.
- 6) Miyazaki T, Izumikawa K, Yamauchi S, Inamine T, Nagayoshi Y, Saijo T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Yasuoka A, Kohno S. The glycosylphosphatidylinositol-linked aspartyl protease Yps1 is transcriptionally regulated by the calcineurin-Crz1 and Slt2 MAPK pathways in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res.* 11:449-456, 2011.
- 7) Kobayashi T, Kakeya H, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Ohno H, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S. Synergistic antifungal effect of lactoferrin with azole antifungals against *Candida albicans* and a proposal for a new treatment method for invasive candidiasis. *Jpn J Infect Dis.* 64:292-296, 2011.
- 8) Ueno K, Matsumoto Y, Uno J, Sasamoto K, Sekimizu K, Kinjo Y, Chibana H. Intestinal Resident Yeast *Candida glabrata* Requires Cyb2p-Mediated Lactate Assimilation to Adapt in Mouse Intestine. *PLoS One.* 6:e24759, 2011.
- 9) Kinjo Y, Illarionov PA, Vela JL, Pei B, Girardi E, Li X, Li Y, Imamura M, Kaneko Y, Okawara A, Miyazaki Y, Gomez-Velasco A, Rogers P, Daesh S, Uchiyama S, Khurana A, Kawahara K, Yashilkaya H, Andrew PA, Wong CH, Kawakami K, Nizet V, Besra GS, Tsuji M, Zajonc DM, Kronenberg M. Invariant natural killer T cells recognize glycolipids from pathogenic Gram-positive bacteria. *Nat Immunol.* 12:966-974, 2011.
- 10) Kohno S, Izumikawa K, Kakeya H, Miyazaki Y, Ogawa K, Amitani R, Niki Y, Kurashima A. Clinical efficacy and safety of micafungin in Japanese patients with chronic pulmonary aspergillosis: a prospective observational study. *Med Mycol.* 49:688-693, 2011.
- 11) Kaneko Y, Obata Y, Nishino T, Kakeya H, Miyazaki Y, Hayasaka T, Setou M, Furusu A, Kohno S. Imaging mass spectrometry analysis reveals an altered lipid distribution pattern in the tubular areas of hyper-IgA murine kidneys. *Exp Mol Pathol.* 91:614-621, 2011.
- 12) Tanabe K, Lamping E, Nagi M, Okawada A, Holmes AR, Miyazaki Y, Cannon RD, Monk BC, Niimi M. Chimeras of *Candida albicans* Cdr1p and Cdr2p reveal features of pleiotropic drug resistance transporter structure and function. *Mol Microbiol.* 82:416-433, 2011.
- 13) Girardi E, Yu ED, Li Y, Tarumoto N, Pei B, Wang J, Illarionov PA, Kinjo Y, Kronenberg M, Zajonc DM. Unique Interplay between Sugar and Lipid in Determining the Antigenic Potency of Bacterial Antigens for NKT Cells. *PLoS Biol.* 9:e1001189, 2011.
- 14) Miyazaki T, Izumikawa K, Nagayoshi Y, Saijo T, Yamauchi S, Morinaga Y, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Functional characterization of the regulators of calcineurin in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res.* 11:621-630, 2011.

2. 和文発表

- 1) 金子幸弘, 宮崎義継. 新版 感染症診療実践ガイド 有効な抗菌薬の使い方のすべて VI. 主な感染症に対する実地医科の抗菌薬使用の実際/A. 主要感染症から見た抗菌薬の選択と使用の実際 43. カンジダ症, アスペルギルス症, クリプトコックス症. M. P. Medical Practice 臨時増刊号. 28:483-490, 2011.
- 2) 宮崎義継, 金子幸弘. 新版 感染症診療実践ガイド 有効な抗菌薬の使い方のすべて II. 抗菌薬の特徴とそれに基づいた使い方のコツとポイント 11. 抗真菌薬. M. P. Medical Practice 臨時増刊号. 28:137-141, 2011.
- 3) 大野秀明. 新版 感染症診療実践ガイド 有効な抗菌薬の使い方のすべて VI. 主な感染症に対する実地医科の抗菌薬使用の実際/A. 主要感染症から見た抗菌薬の選択と使用の実際 19. 髄膜炎, 脳炎. M. P. Medical Practice 臨時増刊号. 28:352-358, 2011.
- 4) 大野秀明. 中枢神経系真菌感染症における最近の動向. 最新医学. 66:997-1004, 2011.
- 5) 宮崎義継. 各論 II. 各病原体別にみた病態, 診断, 治療 H. 真菌感染症 1. カンジダ症. 社団法人日本化学療法学会編. 感染症専門医テキスト 第I部 解説編. p1073-1076, 2011年, 南江堂, 東京.
- 6) 宮崎義継. 各論 II. 各病原体別にみた病態, 診断, 治療 H. 真菌感染症 2. クリプトコックス症. 社団法人日本化学療法学会編. 感染症専門医テキスト 第I部 解説編. p1077-1079, 2011年, 南江堂, 東京.
- 7) 宮崎義継. 第II章 中級編 20.腎炎治療中に肺異常陰影を呈した症例. 社団法人日本化学療法学会編. 感染症専門医テキスト 第II部 ケーススタディ編. p239-244, 2011年, 南江堂, 東京.
- 8) 金城雄樹. インバリアントナチュラルキラーT細胞による病原性のグラム陽性細菌のもつ糖脂質の認識. ライフサイエンス新着論文レビュー. 10月4日, 2011年.
- 9) 大野秀明. 多剤耐性結核感染症. 呼吸器内科. 20:507-513, 2011.
- 10) 金子幸弘, 宮崎義継. 特集・病原真菌と真菌症の新たな理解に向けて 臨床 4. 深在性真菌症診断の現状と今後の展望. 化学療法の領域. 28:89-97, 2012.
- 11) 金子幸弘, 宮崎義継. 4章 真菌感染症 4-3 コクシジオイデ

ス症. 感染症事典編集委員会編. 感染症事典. p251-254, 2012年, オーム社, 東京.

- 12) 金城雄樹. 特集 I /NKT細胞の多様性とその機能 「NKT細胞と感染免疫」. 炎症と免疫. 20:3-9, 2012.
- 13) 金子幸弘, 宮崎義継. 内科医にとって必ず知っておくべき感染症を診る IV. 緊急性の高い感染症を診る 2. 血液培養陰性でも敗血症(severe sepsis). 前崎繁文・大曲貴夫・山口敏行編. 臨床感染症ブックレット 5巻. p62-71, 2012年, 文光堂, 東京.
- 14) 宮崎義継. 2章 深在性真菌症における臨床的課題. 久米光, 渋谷和俊監修. 深在性真菌症 病理診断アップデートレビュー. p17-22, 2012年, 協和企画, 東京.
- 15) 堀内一宏, 山田萌美, 白井慎一, 高橋育子, 加納崇裕, 金子幸弘, 秋沢宏次, 梅山 隆, 宮崎義継, 矢部一郎, 佐々木秀直. 脳室内抗真菌薬投与が奏功した *Cryptococcus gattii* による脳および肺クリプトコックス症の一例. 臨床神経学. 52:166-171, 2012.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Kinjo Y, Illarionov PA, Vela JL, Pei B, Li XJ, Kaneko Y, Miyazaki Y, Nizet V, Kawakami K, Tsuji M, Kronenberg M. NKT cells recognize glycolipids from *Streptococcus pneumoniae* and GBS. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011). September 6-10, 2011, Sapporo.
- 2) Ishino K, Shibuya K, Hoshino Y, Ishikawa J. A role of LtsA in virulence of *Nocardia farcinica*. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011). September 6-10, 2011, Sapporo.
- 3) Ueki M, Koshiro N, Takahashi S, Oowada E, Ishikawa J, Toyoda A, Osada H. Biosynthetic pathway of new polyketides produced by *Streptomyces* sp. RK95-74. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011). September 6-10, 2011, Sapporo.
- 4) Kaneko Y, Ohno H, Miyazaki Y. Farnesol attenuates the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa*. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011). September 6-10, 2011, Sapporo.
- 5) Kinjo Y, Tarumoto N, Ueno K, Okawara A, Shinozaki M, Shibuya K, Miyazaki Y. *Candida* sepsis induced by iNKT cell

- activation. The 6th International Symposium on CD1 and NKT. September 23-27, 2011, Chicago, USA.
- 6) Li Y, Girardi E, Yu ED, Wang J, Tarumoto N, Pei B, Painter GF, Illarionov PA, Kinjo Y, Kronenberg M, Zajonc DM. Microbial glycolipid antigen recognition by invariant Natural killer T cells. The 6th International Symposium on CD1 and NKT. September 23-27, 2011, Chicago, USA.
- 7) Hoshino Y, Chiba K, Ishino K, Ishikawa J. Nocobactin NA Biosynthesis Gene Clusters in *Nocardia farcinica*. The 16th International Symposium on the Biology of Actinomycetes. December 11-15, 2011, Puerto Vallarta, Mexico.
- 8) Umeyama T, Yamagoe S, Tanabe K, Ohno H, Miyazaki Y. Mps1 kinase is essential for the growth in *Aspergillus fumigatus*. 5th Advances Against Aspergillosis. January 26-28, 2012, Istanbul, Turkey.
2. 国内学会
- 1) 金子幸弘, 大野秀明, 宮崎義継. *Candida albicans* の代償機構の解明とその制御による治療の可能性. 第 108 回日本内科学会. 4月 17-18 日, 2011 年, 東京.
- 2) 金子幸弘, 大野秀明, 宮崎義継. カンジダバイオフィームにおけるストレス応答とその阻害効果. 第 85 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4月 21-22 日, 2011 年, 東京.
- 3) 金城雄樹, 金子幸弘, 樽本憲人, 大川原明子, 川上和義, 宮崎義継. 自然リンパ球による肺炎球菌認識機構の解析. 第 85 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4月 21-22 日, 2011 年, 東京.
- 4) 大野秀明, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 宮崎義継. 遺伝子診断法を用いた土壤中に生息するヒストプラスマ属検出の試み. 第 85 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4月 21-22 日, 2011 年, 東京.
- 5) 梅山 隆, 大野秀明, 田辺公一, 山越 智, 渡邊 浩, 宮崎義継. 福岡県筑後地区周辺におけるクリプトコッカス症多発発生例からの分離株の MLST による疫学的検討. 第 85 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4月 21-22 日, 2011 年, 東京.
- 6) 筋野恵介, 樽本憲人, 山口敏行, 前崎繁文, 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継. *Rothia* 属菌により出血性脳梗塞を合併した感染性心内膜炎の 1 例. 第 85 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4月 21-22 日, 2011 年, 東京.
- 7) 宮崎義継, 田辺公一, 梅山 隆, 山越 智, 渋谷和俊, 大野秀明. 診断ワークショップ 5 深在性真菌症の病理 深在性真菌症における臨床的課題. 第 100 回日本病理学会総会. 4月 28-30 日, 2011 年, 横浜.
- 8) 金子幸弘, 大野秀明, 宮崎義継. *Candida* バイオフィームにおける抗真菌薬耐性関連遺伝子の発現調節. 第 32 回関東医真菌懇話会学術集会. 5月 21 日, 2011 年, 東京.
- 9) 徳山承明, 眞木二葉, 竹村 弘, 高木妙子, 田辺公一, 大野秀明, 宮崎義継, 亀井克彦, 長谷川泰弘. 日本人 AIDS 患者に発症したマルネッフェイ型ペニシリウム症の一例. 第 32 回関東医真菌懇話会学術集会. 5月 21 日, 2011 年, 東京.
- 10) 金城雄樹, 樽本憲人, 上野圭吾, 大川原明子, 篠崎 稔, 渋谷和俊, 宮崎義継. カンジダ敗血症マウスモデルにおける炎症反応の解析. 第 32 回関東医真菌懇話会学術集会. 5月 21 日, 2011 年, 東京.
- 11) 山越 智, 梅山 隆, 田辺公一, 金子幸弘, 橋本ゆき, 大野秀明, 宮崎義継. *Aspergillus* 属分泌蛋白質を標的としたサンドイッチ ELISA 法によるアスペルギルス症診断系構築の試み. 第 32 回関東医真菌懇話会学術集会. 5月 21 日, 2011 年, 東京.
- 12) 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄樹, 杉田 隆, 畠山修司, 亀井克彦, 宮崎義継. 国立感染症研究所における地域流行型真菌症への対応と現状. 第 32 回関東医真菌懇話会学術集会. 5月 21 日, 2011 年, 東京.
- 13) 田辺公一. 薬剤耐性真菌のメカニズムと今日的課題. 第 21 回感染研シンポジウム. 5月 20 日, 2011 年, 東京.
- 14) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* の Mps1 キナーゼの新たな抗真菌薬ターゲットとしての可能性の検討. 第 59 回日本化学療法学会総会. 6月 23-25 日, 2011 年, 札幌.
- 15) 金子幸弘, 大野秀明, 宮崎義継. *Candida albicans* の biofilm における抗真菌薬に対する代償性の遺伝子発現. 第 59 回日本化学療法学会総会. 6月 23-25 日, 2011 年, 札幌.
- 16) 大野秀明, 田辺公一, 杉田 隆, 畠山修司, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 亀井克彦, 宮崎義継. 国内で初めて分離された VGIIa 型 *Cryptococcus gattii* 株の薬剤感受性と病原性についての検討. 第 59 回日本化学療法学会総会. 6月 23-25 日, 2011 年, 札幌.
- 17) 大野秀明, 田辺公一, 梅山 隆, 金子幸弘, 山越 智, 宮崎義継. クリプトコッカス・ガッティ (*Cryptococcus gattii*) . 衛

## 生物活性物質部

- 生微生物技術協議会第32回研究会. 6月29-30日, 2011年, 東京.
- 18) 樽本憲人, 金城雄樹, 大川原明子, 上野圭吾, 篠崎 稔, 渋谷和俊, 宮崎義継. 糖脂質投与マウスの播種性カンジダ症増悪における免疫学的解析. 第22回日本生体防御学会. 6月29-7月1日, 2011年, 那覇.
- 19) 宮崎義継. わが国における地域流行型真菌症の現況. 第三回長崎メディカルシンポジウム. 7月9日, 2011年, 長崎.
- 20) 宮崎義継. 最近話題の真菌症—*Cryptococcus* 症など—. 臨床微生物研究会. 9月16日, 2011年, 岡山.
- 21) 宮崎義継. 教育講演「抗真菌薬耐性の基礎と臨床」. 第81回日本感染症学会西日本地方会学術集会. 10月6-8日, 2011年, 小倉.
- 22) 金子幸弘, 大野秀明, 宮崎義継. *Candida albicans* に対する既存薬と抗真菌薬との併用効果についての検討. 第55回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.
- 23) 金城雄樹, 樽本憲人, 大川原明子, 上野圭吾, 篠崎 稔, 渋谷和俊, 宮崎義継. 自然免疫の活性化による播種性カンジダ症マウスモデルの解析. 基礎・臨床シンポジウム4「真菌と感染防御」. 第55回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.
- 24) 梅山 隆, 山越 智, 宮崎義継. アスペルギルス属の病原性制御にむけたアプローチ. 第55回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.
- 25) 三原 智, 泉川公一, 井手昇太郎, 平野勝治, 峰松明日香, 細萱直希, 永吉洋介, 田代将人, 中村茂樹, 今村圭文, 宮崎泰可, 掛屋 弘, 山本善裕, 柳原克紀, 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継, 田代隆良, 河野 茂. 長崎大学における *Cryptococcus* の Multilocus Sequence Typing (MLST) を用いた分子疫学調査. 第55回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.
- 26) 梅山 隆, 大野秀明, 田辺公一, 山越 智, 宮崎義継. 標準化 MLST 解析法を用いたわが国のクリプトコックス属臨床分離株の分子疫学解析. 第55回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.
- 27) 大川原明子, 金城雄樹, 上野圭吾, 山越 智, 梅山 隆, 樽本憲人, 大野秀明, 新見昌一, 宮崎義継.  $\beta$  結合型マンノースを欠失したカンジダマンナンは樹状細胞の炎症性サイトカイン産生を増強する. 第55回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.
- 28) 村山琮明, 山田 剛, 榎村浩一, 星野泰隆. *Arthroderma vanbreuseghemii* の核型解析. 第55回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.
- 29) 山越 智, 梅山 隆, 田辺公一, 金子幸弘, 橋本ゆき, 大野秀明, 宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* の分泌蛋白質 B-11 およびそのホモログの検出系と病原性について. 第55回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.
- 30) 大野秀明, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 杉田隆, 畠山修司, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮崎義継. 本邦初の北米流行型 *Cryptococcus gattii* 臨床分離株の実験的病原性解析. 第55回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.
- 31) 田辺公一, 大野秀明, 梅山 隆, 山越 智, 宮崎義継. 日本とタイにおける遺伝子検出法を用いた環境生息ヒストプラスマ属の検出. 第55回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.
- 32) 大野秀明, 宮崎義継. 真菌症診断の現状と課題. 第128回ICD講習会. 10月22日, 2011年, 東京.
- 33) 大野秀明. 高病原性クリプトコックス症の現状とその病態. ワークショップ3 深在性真菌症の新たな展開—重症例、難治症例の病態と治療—. 第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同集会. 10月26-28日, 2011年, 山形.
- 34) 大野秀明, 大川原明子, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 泉川公一, 藤井 毅, 竹村 弘, 岸 一馬, 河野 茂, 宮崎義継. 日本国内で分離された *Cryptococcus* 属臨床分離株の血清型解析と抗真菌薬に対する感受性動向. 第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同集会. 10月26-28日, 2011年, 山形.
- 35) 金子幸弘, 大野秀明, 宮崎義継. フルコナゾール感受性調整物質の探索. 第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同集会. 10月26-28日, 2011年, 山形.
- 36) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* Mps1 キナーゼの化学的・遺伝学的アプローチによる解析. 第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同集会. 10月26-28日, 2011年, 山形.
- 37) 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄

## 生物活性物質部

- 樹, 杉田 隆, 畠山修司, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮崎義継. *Cryptococcus gattii* 国内分離株の病原因子解析. 第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同集会. 10月26-28日, 2011年, 山形.
- 38) 堀内一宏, 山田萌美, 加納崇裕, 金子幸弘, 秋本幸子, 秋沢宏次, 梅山 隆, 大野秀明, 矢部一郎, 宮崎義継, 佐々木秀直. *Cryptococcus gattii* によるクリプトコッカス症の1例. 第16回日本神経感染症学会学術集会. 11月4-5日, 2011年.
- 39) 田辺公一, 大野秀明, 梅山 隆, 山越 智, 知花博治, 宮崎義継. *Candida glabrata* 臨床分離株におけるキャンディン感受性と FKS 遺伝子の解析. 真菌分子細胞研究会. 11月12-13日, 2011年, 香川.
- 40) 名木 稔, 田辺公一, 中山浩伸, 知花博治, 梶原 将, 大野秀明, 宮崎義継. 病原真菌 *Candida glabrata* の細胞外ステロール獲得機構の解明. 真菌分子細胞研究会. 11月12-13日, 2011年, 香川.
- 41) 樽本憲人, 大川原明子, 上野圭吾, 金城雄樹. iNKT 細胞の活性化による真菌感染の致死的病態の解析. 第40回日本免疫学会学術総会. 11月27-29日, 2011年, 千葉.
- 42) 石川 淳. 放線菌ゲノム解析と二次代謝産物生合成遺伝子情報の効果的利用. 「生合成マシナリー: 生物活性物質構造多様性創出システムの解明と制御」第3回公開シンポジウム. 12月3日, 2011年, 東京.
- 43) 金子幸弘, 大野秀明, 宮崎義継. 抗真菌併用薬探索を目的とした既知化合物ライブラリースクリーニング. 2011年インターラボセミナー(日本細菌学会関東支部). 12月10日, 2011年, 東京.
- 44) 星野泰隆. *Nocardia farcinica* のゲノム情報から見出したシデロフォア. 2011年インターラボセミナー(日本細菌学会関東支部). 12月10日, 2011年, 東京.
- 45) 名木 稔, 大野秀明, 宮崎義継. 病原真菌 *Candida glabrata* の鉄欠乏ストレス応答. 2011年インターラボセミナー(日本細菌学会関東支部). 12月10日, 2011年, 東京.
- 46) 永松麻希, 高木妙子, 黒沢未希, 積田奈津希, 竹村 弘, 田辺公一, 大野秀明, 宮崎義継, 亀井克彦. 邦人 AIDS 患者より *Penicillium marneffii* が分離された1例. 第23回日本臨床微生物学会総会. 1月21-22日, 2012年, 横浜.
- 47) 金子幸弘, 大野秀明, 宮崎義継. 緑膿菌における quorum sensing 欠損株とホモセリンラクトナーゼ AiiM 誘導株の病原性比較. 第53回緑膿菌感染症研究会. 2月17-18日, 2012年, 東京.
- 48) 金子幸弘, 大野秀明, 宮崎義継. アゾール薬との併用薬の探索. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.
- 49) 田辺公一, 大野秀明, 梅山 隆, 山越 智, 知花博治, 宮崎義継. キャンディン耐性 *Candida glabrata* 株の遺伝子解析. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.
- 50) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* Mps1 キナーゼのケミカルジェネティクスによる解析. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.
- 51) 三原 智, 泉川公一, 井手昇太郎, 平野勝治, 岩永直樹, 峰松明日香, 細萱直希, 田中章貴, 永吉洋介, 田代将人, 中村茂樹, 今村圭文, 宮崎泰可, 掛屋 弘, 山本善裕, 柳原克紀, 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継, 田代隆良, 河野 茂. 長崎大学における *Cryptococcus* の Multilocus Sequence Typing (MLST) を用いた分子疫学調査. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.
- 52) 金城雄樹, 樽本憲人, 笹井大督, 篠崎 稔, 大川原明子, 上野圭吾, 前崎繁文, 渋谷和俊, 宮崎義継. 自然リンパ球の活性化を介した播種性カンジダ症マウスモデルの免疫学的解析. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.
- 53) 上野圭吾, 大川原明子, 山越 智, 中 崇, 梅山 隆, 樽本憲人, 大野秀明, 土江松美, 藤原永年, 金城雄樹, 宮崎義継. *Candida albicans* の細胞壁マンナンによる炎症性サイトカインの誘導-β細胞 1,2-マンノシドの抑制的関与について-. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.
- 54) 大野秀明, 田辺公一, 杉田 隆, 畠山修司, 大久保陽一郎, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄樹, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮崎義継. マウス感染モデルを用いたアウトブレイク型 *Cryptococcus gattii* 株の病原性ならびに病原因子の解析. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.
- 55) 大野秀明, 宮崎義継. シンポジウム「深在性真菌症、病像の背景を探る」、ミニレクチャー「注意したいクリプトコッカス症」. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.
- 56) 井口光孝, 杉浦奈々, 杉浦一充, 大野秀明, 宮崎義継, 八木

## 生物活性物質部

- 哲也. 院内発症の蜂窩織炎として顕在化した全身性クリプトコックス症の一例. 真菌症フォーラム第 13 回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.
- 57) 大久保陽一郎, 大野秀明, 篠崎 稔, 宮崎義継, 若山 恵, 笹井大督, 中山晴雄, 石渡誉郎, 職 玉珠, 田辺公一, 金子幸弘, 山越 智, 梅山 隆, 渋谷和俊. *Cryptococcus gattii* 感染症におけるマウス肺の病理組織学的解析. 真菌症フォーラム第 13 回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.
- 58) 大野秀明. 結核の現状と院内感染対策. 第 11 回感染対策カンファレンス. 2月24日, 2012年, 久留米.
- 59) 曹 志生, Yosi Nindita, 片岡憂祐, 荒川賢治, 田上道平, Alexander Lezhava, 志波 優, 吉川博文, 石川 淳, 木梨陽康. *Streptomyces rochei* 7434AN4 株の線状染色体の塩基配列解析. 日本農芸化学会 2012 年度大会. 3月22-26日, 2012年, 京都.
- 60) 槇村浩一, 山田 剛, 佐藤一朗, 村山琮明, 黒田 誠, 星野泰隆, 石川 淳. Draft genome analysis of tinea pathogen: *Trichophyton mentagrophytes*. 第85回日本細菌学会総会. 3月27-29日, 2012年, 長崎.
- 61) 村山琮明, 山田 剛, 槇村浩一, 星野泰隆, 石川 淳. Electrophoretic Karyotyping of *Trichophyton mentagrophytes sensu lato*. 第85回日本細菌学会総会. 3月27-29日, 2012年, 長崎.
- 62) 深澤秀輔, 益見厚子. クロマチン結合タンパク質 BET ファミリーによる細胞機能調節. 日本薬学会第 132 年会. 3月28-31日, 2012年, 札幌.