

ANNUAL REPORT OF
RESEARCH CENTER FOR PATHOGENIC FUNGI
AND MICROBIAL TOXICOSES

CHIBA UNIVERSITY 2006

10

千葉大学
真菌医学研究センター報告

平成18年

目 次

はじめに	
病原真菌研究部門 真菌感染分野	3
病原真菌研究部門 系統・化学分野	14
病原真菌研究部門 真菌資源開発分野	21
病原真菌研究部門 生態分野	30
分子機能研究部門 機能形態分野	34
分子機能研究部門 高分子活性分野	43
分子機能研究部門 活性応答分野	53
病原真菌・放線菌管理室（微生物保存事業報告）	55
Review Article（生態分野）	
<i>Cryptococcus neoformans</i> and oxygen	64
Review Article（活性応答）	
キノロン系合成抗菌薬の探索・開発研究	69
平成 18 年度共同利用研究一覧	74
平成 17 年度 共同利用研究報告	77
平成 18 年度共同利用研究会	112
第 9 回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウム	114
四大学連携ワークショップ	116
第 20 回千葉大学真菌医学研究センター講習会	117
第 2 回千葉大学真菌医学研究センター公開市民講座	118
講演会（第 97 回～第 104 回）	119
2006 真菌医学研究センター報告会	120

はじめに

平成19年度の4月に真菌医学研究センター（真菌センター）が千葉大学の一員として独立法人化されてから、早いもので4年目を迎えます。国立大学法人千葉大学の中期目標・計画は6年を目処に立てられており、その成果は6年間の業務実績を評価することによって思われていたが、実際には4年間分の事業実績での評価、いわゆる暫定評価によって行われることになりました。従って、4年間の終了時の19年度末までの業績が評価の対象となり、その評価結果に基づいて、次の中期目標・計画における運営費交付金などが査定されることが考えられます。これらの評価は部局、研究所（センター）や研究科などの単位で行われることが予想され、研究水準の評価としては、組織を代表する優れた研究業績が判断基準の一つになるとされていることから、真菌センターもその対応が必要です。

千葉大学は、全国共同利用を含めた千葉大学の全ての研究センターの評価をすることを決定し、それを受けて、真菌センターも19年の4月までに外部評価を受けることが決まり、これから新年にかけてその準備を進めています。当真菌センターは、平成19年4月でその設立から10年目を迎えることから、独自に改組計画を策定し、新たな体制を求めて、概算要求をしてきました。この改組案作りは、将来計画委員会を中心に行われ、何度も修正を繰り返し、案を作成しています。改組の骨子は、真菌医学研究センターの名称はそのままとして、真菌感染症研究部門と真菌機能分子研究部門の二大部門のもとに、5研究分野と2客員分野に2つの連携分野、さらにセンター長直属の真菌・放線菌リソース情報開発室を設置し、それらの組織が有機的に機能して、それぞれのプロジェクト的な研究を進めることとなります。真菌センターの最終目標は真菌症の征圧ですが、以下の3本の柱を掲げて世界的な病原真菌の研究拠点となることを目指します：(1) 基礎から応用、(2) 地域から国際貢献へ、(3) 大学内マイコリサーチコア（Myco Research Core、微生物研究拠点）の確立。これらの改組計画は、外部評価や学内評価を受け、修正等を行って、新しいセンターとして、スタートすることになっています。これによりセンターの教員がそれぞれの能力を最大限に発揮できる体制の構築が可能となることが期待されます。

第7回感染症研究施設四大学連絡会議は千葉大学真菌医学研究センターが当番機関となり、平成18年の11月29日に当センターの講堂で開催されました。会議は、九州大学生体防御医学研究所（吉開泰信所長）、長崎大学熱帯医学研究所（青木克己所長）、琉球大学遺伝子実験センター（屋 宏典センター長）と千葉大学真菌医学研究センター（同センター長）の連絡会議のメンバーに文部科学省研究振興局ライフサイエンス課 坂下鈴鹿課長補佐の参加のもとで開催されました。この会議に先立ち、「感染症ワークショップ in 千葉」と題したワークショップを、当センター主催の共同利用研究会である第3回真菌分子細胞研究会と合同で開催しました。このワークショップには、琉球大遺伝子実験センターの梅村正幸博士「肺結核感染症におけるインターロイキン(IL)-17の生体防御機構」、長崎大熱帯医学研究所の都野展子博士「マラリア媒介蚊幼虫の生態とマラリアアウトブレイクとの関係」、九大生体防御研究所の錦見昭彦博士「DOCK2が好中球遊走において細胞運動および極性を制御する」、当真菌センターから渡辺 哲博士「病原真菌の virulence factors の探索」を招聘して、それぞれの機関を代表する最先端研究を発表していただきました。これらの発表に対しては、多くの意見交換があり、このワークショップを契機に当センターとの共同研究が活発に進められることが期待されます。

平成18年度の真菌センターの重要な成果として、本年度の科学技術振興調整費「アジア科学技術協力の戦略的推進」の公募において、中国の4地点を研究拠点とする「真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成」を2月に申請し、採択されたことが挙げられます。これは、横山助教授が中心となり案を作成し、真菌センターの研究推進チームリーダーである川本教授が取りまとめて、三上が代表となり申請した課題です。平成18年4月3日にヒアリングの対象に選ばれ、4月9日、JST東京本部でのヒアリングに横山助教授と臨みました。すでに科学技術振興調整費申請のヒアリングについては、平成13年に文部科学省科学技術振興調整費「病原真菌放線菌遺伝子資源の国際拠点形成のための基盤整備」に採択された際に、西村教授および福島教授と一緒にヒアリングに立ち会った経験があり前もって十分に準備をして臨んだ結果、多くの厳しい質問もありましたが、結果的に126件の申請で16件のヒアリング選考に選ばれ、最終的に4月27日に幸運にも採択の知らせを受けることができました。この成果は真菌センターの先達の精力的な共同研究による研究実績と成果があったこと、また真菌センターで学んだ中国の研究者が帰国後、すでに教授クラスで活躍しており、その方々の支援もありこの申請が採択されたものと思っています。競争的な資金の確保は、センターの活性化には極めて重要です。平成18年度の科学技術振興調整費は、千葉大学では1件の採択であり、本プロジェクトにおいてより優れた成果を上げるためには、大学全体の支援をいただく必要があり、研究担当の天野理事とも相談して、このプロジェクトに参加いただける教員を募集することになりました。その結果、応募いただいた先生の中から、薬学研究院の石川 勉教授、石橋正己教授、医学研究院の田村 裕特任助教授に積極的に研究に参加していた

だくことになっており、拠点形成プロジェクトも順調に発進しました。本研究の主体は、中国での拠点形成であり、平成18年度は、中国北京医科大学第一医院の李若瑜教授、中国中山大学附属第二医院の席麗艶教授、中国吉林大学白求恩医学院の王麗教授、中国貴陽医学院の王和教授を横山助教授とともに訪問して、共同研究の開始のための協定書に調印して、共同研究や情報交換を開始しました。

中国との共同研究は科学技術振興調整費での研究とは別に矢口助教授の科研費による海外の共同研究によっても開始されました。また二国間共同研究では、川本教授や清水助手が行っている米国とのクリプトコッカスによる研究も継続的に進んでいますが、平成18年度から新たに南アフリカとの二国間共同研究（代表者：三上）も開始されるなど、外国との共同研究も活発に進んでいます。

ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）は、平成18年で5年間の第一期が終了することから、NBRPの推進委員会のメンバーである森脇和郎主査、小幡裕一委員、小原雄治委員、林哲也委員、それに文部科学省の竹内佑介植物研究係、NBRP事務局の池田加代子事務担当による病原微生物の中核機関である真菌センターの訪問調査があり、これまでの事業の進捗状況と第二期に関する意見の交換を行いました。真菌センターにとって、国家プロジェクトであるNBRPを通して継続的に中核機関となることは、病原真菌研究の世界的拠点を目指して研究や事業を展開している点でも重要であり、第二期に向けて準備を開始しています。

全国の共同利用研究所・センターは、大学の独立法人化に伴い、極めて厳しい状況下におかれています。文部科学省は、それぞれの共同利用施設の現状を調査することを目的に、科学技術・学術審議会の研究環境基盤部会を通して調査を開始していますが、真菌センターの訪問調査は平成18年の10月16日に行われました。訪問委員としては、研究環境基盤部会委員の笹月健彦委員、伊井春樹委員、川合知二委員と、文部科学省研究振興局学術機関課の徳田次男課長補佐、飯島浩恭大学研究所研究予算総括係長、岡田章秀企画指導係委員と千葉大学本部の関係者の立ち会いのもとに、活発な質疑等が行われました。

真菌センターはこれまで地域貢献も含めて医療関係者を対象とした病原真菌と放線菌の取り扱いに関する高度講習会を毎年開催してきました。講習会は準備の都合上12人に限定していますが、国外からの開催の要望も強いことから、平成17年度から外国人を対象とした講習会も開催していますが、平成18年度はタイ国や台湾、中国の医療関係者を対象とした講習会を開催しました。

本センターの重点活動に位置づける国際交流の一環として、第9回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウムが、別項記載のプログラムのもと12月15日に開催されました。センターの矢口、横山両助教授を含めた国内外からの14名のシンポジストによる菌学研究の最前線について、ホットな講演、ならびに質疑討論が行われ、大変意義深いシンポジウムとなりました。また本シンポジウムではNBRP活動の広報を目的に、講演によるプロジェクトの概況説明および各リソースのポスター展示が併設され、参加者へのアピールを行いました。

人事面では、平成18年度で定年退職された西村教授の後任の選考が行われています。また福島教授の後任の選考も新たに開始されることとなります。これらの選考に際して、真菌センターの活性化を目的に任期制を検討していましたが、平成18年の12月に、大学当局から真菌センターの任期制に関する新しい規定が正式に認められ、今後新しく採用や昇進した真菌センターの教員は任期制が適用されることとなります。この任期制は千葉大学においても初めての本格的な導入でした。

事務方の人事としては、新たに東京海洋大学から4月1日付けで研究協力係長として、小栗 堅が着任しました。また10月1日付けで、専門職員の平野弘志が工学部に異動となりました。

真菌センターは、新年早々、改組に向っての外部評価委員会の開催など慌しい幕開けとなります。また人事の凍結など厳しい状態も続き、研究の活性化に最も重要な若い人材の登用が難しくなりつつありますが、ポストドクや研究生などの若い力を借りてこの難局を乗り切りたいと思っています。1月12日には、文部科学省からの研究評価に関する調査もあるなど、相変わらず評価々々の一年にもなりそうですが、これまで真菌センターは結束して何度も難関を突破してきました。研究センターにとって重要なことは、あくまで“オンリーワン”の優れた研究業績を上げることであり、それらを通して安全安心な社会の構築に貢献して行く必要があります。センターの個々人が自覚して、この難局に立ち向かえば必ず新しい道が開かれると確信していますので、ご協力をお願いします。

平成19年3月

千葉大学真菌医学研究センター長

三 上 襄

病原真菌研究部門 真菌感染分野

(Department of Pathogenic Fungi, Division of Fungal Infection)

教授: 亀井克彦

- 学内委員 国際教育開発センター連絡協議会委員, 研究用微生物安全管理委員会委員, 国際展開企画室国際交流連絡会委員, 医学薬学府大学院教育委員会委員, 亥鼻地区防災対策本部設置準備委員会委員, 亥鼻地区安全衛生委員会委員 (安全衛生管理者), 附属病院 ICT 委員会委員, 真菌医学研究センター安全衛生管理者・作業主任者
- 学協会への貢献 日本医真菌学会評議員・編集委員 (10月まで)・学術集会委員, 日本感染症学会編集委員・評議員, 日本化学療法学会抗真菌薬臨床評価委員 (呼吸器系)・深在性真菌症に対する抗真菌剤の適正使用等のガイドライン作成委員, 深在性真菌症ガイドライン作成委員会世話人, *Advances Against Aspergillosis* 組織委員, *Mycopathologia* 編集委員, *Journal of Infection and Chemotherapy* 編集委員, 真菌症フォーラム幹事, 関東深在性真菌症研究会世話人, 肺真菌症研究会幹事, 関東医真菌懇話会幹事, 千葉真菌症研究会世話人, 肺真菌症カンファレンス世話人, 千葉医学会編集委員
- センター内委員 総務委員会委員, 共同利用委員会委員長, 微生物・保存管理施設運営委員会委員長, 自己点検・評価委員会委員, 倫理審査委員会副委員長, 研究推進チームサブリーダー, 将来計画委員会委員長, 個人評価 WG 委員長, 市民相談等対応グループメンバー, 運営協議会委員, 教員会議委員, 微生物委員会委員長
- 所属学会 日本内科学会, 日本呼吸器学会, 日本医真菌学会, 日本感染症学会, 日本化学療法学会, 日本細菌学会, 日本臨床微生物学会, 日本環境感染学会, 日本防菌防黴学会, *International Society for Human and Animal Mycology*, *American Society for Microbiology*
- 受賞 1) 分担: 真菌症フォーラム第7回学術集会奨励賞: 落合恵理, 亀井克彦, 佐藤綾香, 渡辺 哲, 渋谷和俊「*Stachybotrys chartarum* の接種方法の相違がマウスの肺血管病変形成に与える影響について」, (2月18日,

2006). 分担: 平成18年度日本獣医師学会中部地区大会. 学会長賞: 杉山和寿, 佐野文子, 村上 賢, 西村和子, 亀井克彦, 小川 高, 三島浩享, 大竹啓之, 杉山俊一: 「若齢犬における *Chaetomium globosum* 感染症の一例」 (8月26日)

2) 分担: 第50回日本医真菌学会総会ポスター賞: 上原雅江, 井出京子, 永井啓子, 羽毛田牧夫, 佐野文子, 亀井克彦, 西村和子「タイ人 AIDS 患者の菌血症から分離された *Penicillium marneffeii*」, (10月22日, 2006). 分担: 平成18年度日本獣医師学会中部地区大会. 学会長賞: 杉山和寿, 佐野文子, 村上 賢, 西村和子, 亀井克彦, 小川 高, 三島浩享, 大竹啓之, 杉山俊一: 「若齢犬における *Chaetomium globosum* 感染症の一例」 (8月26日)

- その他 千葉大学ベンチャー株式会社ファーストラボラトリーズ顧問, 東京医科大学兼任教授, 福島県立医科大学非常勤講師, 岡山大学非常勤講師

助教授: 佐野文子

- 学内委員 医学部付属動物実験施設運営委員
- センター内委員 教員会議委員, 総務委員会委員, 共同利用委員会委員, 微生物・保存管理施設運営委員会委員, 広報委員会委員, 自己点検・評価委員会委員, 地域連携委員会委員, 将来計画委員会委員, 実験動物 WG 委員長, 市民相談等対応グループメンバー, 光熱水料節減プロジェクト WG 委員
- 学協会への貢献 日本医真菌学会評議員・同教育委員会副委員長 (2006年10月まで)
- 国および地方公共団体への貢献 内閣府食品安全委員会専門調査会専門委員, 千葉県獣医師会感染症研究委員会委員
- 所属学会 日本医真菌学会, 日本菌学会, 日本感染症学会, 日本熱帯医学会, 獣医疫学会, 人と動物の共通感染症研究会, 日本臨床微生物学会, 日本細菌学会, 狂犬病臨床研究会, *International Society for Human and Animal Mycology*
- 受賞 分担: 平成18年度日本獣医師学会中部地区大会.

学会賞: 杉山和寿, 佐野文子, 村上 賢, 西村和子, 亀井克彦, 小川 高, 三島浩享, 大竹啓之, 杉山俊一: 「若齢犬における *Chaetomium globosum* 感染症の一例」(8月26日). 分担: 第50回日本医真菌学会総会 ポスター賞: 上原雅江, 井出京子, 永井啓子, 羽毛田牧夫, 佐野文子, 亀井克彦, 西村和子 「タイ人 AIDS 患者の菌血症から分離された *Penicillium marneffei*」(10月2日, 2006)

○その他 千葉大学ベンチャー株式会社ファーストラボラトリーズ顧問 (12月31日まで)

助手: 栗田啓幸

○センター内委員 有害廃棄物委員

○学協会への貢献 日本医真菌学会評議員

○所属学会 日本医真菌学会, 日本農芸化学会

助手: 大荒田素子

○学内委員 セクシャルハラスメント防止委員会委員

○学外委員 生体パーオキシド研究会幹事

○センター内委員 共用備品委員, 防災対策委員, 放射線同位元素委員, 光熱水料節減プロジェクトWG委員

○所属学会 日本農芸化学会, 日本栄養・食糧学会, 日本食品免疫学会, 日本油化学会

助手(兼任): 渡辺 哲

○学内委員 千葉大学医学部附属病院 ICT 委員, 千葉大学医学部附属病院保険委員

○所属学会 日本内科学会, 日本呼吸器学会, 日本感染症学会, 日本医真菌学会, 日本細菌学会, 日本結核病学会, 日本呼吸器内視鏡学会, 日本肺癌学会

○受賞 分担: 真菌症フォーラム第7回学術集会奨励賞: 落合恵理, 亀井克彦, 佐藤綾香, 渡辺 哲, 渋谷和俊 「*Stachybotrys chartarum* の接種方法の相違がマウスの肺血管病変形成に与える影響について」(2月18日, 2006)

○学協会への貢献 千葉真菌症研究会世話人

○その他 千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部助手

技術職員: 鎗田響子

非常勤講師: 多部田弘士 (船橋市立医療センター)

非常勤講師: 高橋容子 (きさらび皮膚科クリニック)

研究機関研究員: 豊留孝仁 (2005. 6 ~)

リサーチレジデント: 落合恵理 (2006. 4 ~)

研究支援推進員: 佐藤綾香 (2003. 4 ~)

技術補佐員: 高山明子 (2005. 7 ~)

技術補佐員: 井上京子 (2006. 4 ~)

大学院医学薬学府 博士課程: 村田佳輝 (2005. 4 ~)

大学院医学薬学府 博士課程: 高橋英雄 (2005. 4 ~)

大学院医学薬学府 博士課程: 永吉 優 (2006. 4 ~)

大学院医学薬学府 修士課程: 鎗田響子 (2005. 4 ~)

千葉大学園芸学部: 河合利春 (2006. 4 ~)

研究概要 (共同研究を含む)

1. 黒色真菌 *Stachybotrys chartarum* の病原性に関する研究

これまでに我々はわが国の住居より分離された真菌 (*Stachybotrys chartarum*) の胞子をマウスの気管内に反復投与することによって肺動脈壁の内膜・中膜の肥厚および内腔の狭窄が惹起されることを明らかにした. 本年はこの病変によって右室圧の上昇が生じることを確認し, 本病変が肺高血圧症であることを確認した. 本病変はわが国以外の菌株によっても惹起された. また, *S. chartarum* のマウスへの投与量, 投与回数などの検討によって, 単回投与でも病変が形成され得ることを明らかにした. 現在, 異なる菌種や異なる系統のマウスにおいても同病変が形成されるかどうかを検討するとともに, 生体組織中から本菌 DNA を検出するためのプライマー作製および PCR 条件などを検討している.

2. *Aspergillus fumigatus* の産生する細胞傷害性物質の探索

気道に類似した酸素濃度, 通気性をもった環境下で培養した本菌から未知の細胞傷害性物質が産生されることを見出し, 現在その精製, 構造決定を行っている.

3. *Aspergillus fumigatus* 感染時の生体反応の研究

本菌肺感染モデルマウスを用い, 気管支肺胞洗浄液中の各種サイトカイン濃度, 病理組織学的検討を行っている. 感染成立早期での Th2 タイプの免疫反応へのシフト, 病理組織上菌糸周囲への好中球の浸潤の抑制の傾向が見られるなどの知見を得た.

4. *Cryptococcus neoformans* 感染進展のメカニズムの解明

本菌の経静脈的感染モデルと経気道的感染モデルとを用い, 感染進展様式, 特に中枢神経病変に大きな違いがあることを見出した.

5. ヒストプラズマ症における抗ヒストプラズマ抗体検出法の改良

現在市販されているヒストプラズマ症検査・診断薬では検出しているヒストプラズマ抗原はHおよびM抗原タンパク質のみである。我々は新たな抗原候補を探索し、得られた情報を元に抗ヒストプラズマ抗体検出法を改良したいと考えている。これまでに生体内寄生形態である酵母形ヒストプラズマを材料とし、界面活性剤を用いた表層タンパク質抽出法を検討してきた。この方法により得られた抽出物に患者血清によって認識される抗原タンパク質が複数含まれていることを確認し、さらにこれらタンパク質を質量分析法により同定を行った。これらタンパク質はヒストプラズマ症迅速診断の開発・改良に向けて有用な抗原と期待される。現在、これらのタンパク質を大腸菌内で大量産生させ、回収を試みている。

6. β -グルカン受容体 Dectin-1 による *Aspergillus fumigatus* 認識機構の解明

近年、感染初期の自然免疫応答が注目を浴びている。細菌やウイルスでは病原体を認識する受容体について盛んに研究が行われている。しかしながら、真菌についてはその研究は端緒についたばかりである。我々は樹状細胞株 DC 2.4 細胞に *A. fumigatus* を感染させると宿主側転写因子 AP-1 の活性化が惹起されることを見出した。この AP-1 活性化は *A. fumigatus* 膨化分生子において最も強く惹起された。膨化分生子表面に β -グルカンが露出されることを確認し、 β -グルカン受容体 Dectin-1 が AP-1 活性化に重要と推測した。種々の実験より、Dectin-1 が *A. fumigatus* 表面の β -グルカンと会合することによって AP-1 活性化が惹起されることを明らかとした。さらに Dectin-1 細胞質ドメインで会合する Syk チロシンキナーゼが AP-1 活性化に重要であることも確認できた。

7. 皮膚糸状菌症の研究

日本固有の *Trichophyton tonsurans* 感染症の治療、地域ネコを原因とした *Microsporum gypseum* の集団感染例の疫学、北欧産 *T. mentagrophytes* の遺伝子プロファイルの作成を行っている。

8. 高度病原真菌症原因菌に関する研究

センター保存の高度病原真菌 *Coccidioides* spp. の遺伝子情報を公開した。また *Paracoccidioides brasiliensis*,

Histoplasma capsulatum, *Penicillium marneffeii* については現在準備中である。

9. 新興真菌症原因菌に関する研究

Arthrograbis kalrae, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Scedosporium aurantiacum* および高度病原性真菌 *Penicillium marneffeii* などの国内初分離例を報告した。これらの一部は(株)ファーストラボラトリーズとの共同研究である。

10. 羽毛分解菌のケラチン代謝機構の解明とその高度利用に関する研究

Chrysosporium keratinophyllum と相同性の高い遺伝子の存在が高度病原真菌で確かめられた。

11. 人獣共通真菌症に関する研究

ペット、動物園・学校飼育動物、魚介類、野生動物、産業用動物等の真菌症の症例検討、疫学、診断法の開発の例として、イルカの真菌症対策、小動物臨床領域に置ける新興真菌症およびその原因菌の病原性、畜産領域に置ける日和見真菌症原因菌の生態などを手がけている。

12. 心的ストレス下における宿主の生体防御能と食餌性脂質との関連について

心的ストレス(マウスの隔絶飼育)による免疫機能の低下・ストレスホルモン応答の促進がオレイン酸を多く含むオリーブ油摂取により、*n*-6系不飽和脂肪酸を多く含む大豆油や *n*-3系高度不飽和脂肪酸を多く含む魚油摂取にくらべて増大することを明らかにした。

13. 感染防御機構に関する研究

パラコキシジオイデス症は *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb) の感染により発症する中南米諸国の主要な全身性真菌症で、我国にとっては輸入真菌症の一つである。ヒト多形核白血球(PMN)が本菌感染の初期において重要な防御的役割を担い得ることを明らかにし、次に末梢血の buffy coat 中の全白血球画分を用いて *in vitro* で抗菌効果を検討したところ、混合培養4時間以内に顕著な殺菌効果を発揮した。このことは、健常人は Pb に対し強い感染抵抗性を有することを示唆している。

さらに、ヒト末梢血の全白血球画分のみならず全血液(whole blood, 末梢血)を用いても *in vitro* において Pb に対し顕著な殺菌効果が得られ、白血球の抗菌性測定に

利用し得ることが示唆された。そこで、この whole blood を用いて Pb に対する抗菌活性を測定する実験系を考案し、本菌に対する抗菌活性に影響する因子の解析を続行中である。その一環として、混合培養時の温度の影響を検討したところ、37.0℃から41.0℃の範囲においては、温度が高くなるにしたがって Pb の発育抑制・殺菌の程度が大きくなること、また、白血球の殺菌効果も温度自体の抗菌効果と相まって、温度上昇に伴い顕著に増強することを認めた。このことは、白血球の機能が損なわれていなければ、発熱（あるいは体温上昇）により、Pb に対する宿主抵抗性は著しく増強することを示唆している。

研究成果の発表

1. 著書

- 1) 亀井克彦: 真菌感染症－現状とその問題点. 「臨床病理レビュー特集第134号 臨床検査 yearbook 2006 臨床微生物学(感染症学)に関する基礎知識－認定臨床微生物検査技師への道しるべ」, 臨床病理刊行会, pp.83-88, 2006.
- 2) 亀井克彦: 真菌学総論－真菌疾患と病原因子. 真菌学総論－真菌感染症の治療と予防. 真菌学各論－深在性真菌症(含輸入真菌症). 「シンプル微生物学改訂第4版」, 南江堂, pp.327-332, pp.332-335, pp.337-340, 2006.
- 3) 亀井克彦, 渡辺 哲: I 深在性真菌症の疫学 Q3 海外渡航者で気をつけるべき真菌症とその対策は? 「深在性真菌症 Q & A」, 河野 茂編, 医薬ジャーナル社, pp.15-18, 2006.
- 4) 亀井克彦(分担): コロニーの性状と培地, 鑑別のための検査－主な真菌(含む輸入真菌症起因菌). 「ベッドサイドで役立つ微生物検査ガイド－何の検査をするか・結果をどう評価するか」, 文光社, pp.497-503, 2006.
- 5) 佐野文子(分担): II 病原真菌の真菌学・免疫・薬剤感受性 Q9 人獣共通の真菌症があるか? 「深在性真菌症 Q & A」, 河野 茂編. 医薬ジャーナル社, pp.31-33, 2006.

2. 原著

英文

- 1) Ohori A, Endo S, Sano A, Yokoyama K, Yarita

K, Yamaguchi M, Yazawa K, Kamei K, Miyaji M, Nishimura K: Rapid identification of *Ochroconis gallopava* by a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method. *Vet Microbiol* 114: 359-365, 2006. (査読有)

- 2) Umeyama T, Sano A, Kamei K, Niimi M, Nishimura K, Uehara Y: Novel approach to designing primers for identification and distinction of the human pathogenic fungi *Coccidioides immitis* and *Coccidioides posadasii* by PCR amplification. *J Clin Microbiol* 44: 1859-1862, 2006. (査読有)
- 3) Sano A, Miyaji M, Kamei K, Mikami Y, Nishimura K: Reexamination of *Coccidioides* spp. reserved in the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University, based on a multiple gene analysis. *Jpn J Med Mycol* 47: 113-117, 2006. (査読有)
- 4) Nadja Rodrigues de Melo, Maria Marluce Santos Vilela, Jacks Jorge Junior, Kamei K, Miyaji M, Fukushima K, Nishimura K, Groeneveld P, Kelly SL, Taguchi: HIV-1 anti-retroviral drug effect on the *C. albicans* hyphal growth rate by a bio-cell tracer system. *Braz J Microbiol* 37: 223-227, 2006. (査読有)
- 5) Yaguchi T, Sano A, Yarita K, Suh MK, Nishimura K, Udagaw S. A new species of *Cephalotheca* isolated from a Korean patient. *Mycotaxon* 96: 309-22, 2006. (査読有)
- 6) Suzuki T, Yoshikawa Y, Ashida H, Iwai H, Toyotome T, Matsui H, Sasakawa C: High vaccine efficacy against shigellosis of recombinant noninvasive *Shigella* mutant that expresses *Yersinia* invasins. *J Immunol* 177: 4709-4717, 2006. (査読有)
- 7) Ogawa T, Furochi H, Maeoka M, Hirasaka K, Onishi Y, Suzue N, Oarada M, Akamatsu M, Akima H, Fukunaga T, Kishi k, Yasui N, Ishidoh K, Fukuoka H, Nikawa T: Ubiquitin ligase gene expression in healthy volunteers with 20-day bedrest. *Muscle Nerve* 34: 463-469, 2006. (査読有)
- 8) de Melo NR, Taguchi H, Culhari VVP, Sano A, Fukushima K, Miyaji M, Manning N, Kelly SL, Vilela MMS: *Candida dubliniensis* in a Brazilian family with an HIV 1-infected child: Identification, antifungal susceptibility, drug accumulation and sterol composition. *Bras J Microbiol* 37: 237-43, 2006. (査読有)

和文

- 1) 安保美乃里, 佐野文子, 前橋 賢, 柏崎直己, 押田敏雄, 木内明男, 林元展人, 金剛寺真弓, 宮城ゆい, 遠藤 伸, 吉田ひおり, 菱山信也, 有賀誠, 印牧信行, 二宮博義, 猪股智夫: イヌにおける血中バイオチン量の減少と皮膚炎およびいくつかの疾病発症との関連性について. 家畜衛生学雑誌 32: 17-21, 2006. (査読有)

3. 総説・解説・その他

- 1) 亀井克彦: 高病原性真菌感染症. カレントセラピー 24: 658-660, 2006 (招待).
- 2) 亀井克彦, 渡辺 哲: 輸入真菌症. 総合臨床 55: 2707-2709, 2006 (招待).
- 3) 河野茂 (司会), 井内敬二, 小川賢二, 亀井克彦: 座談会 肺真菌症の実際. 呼吸 25: 933-943, 2006 (招待).
- 4) 亀井克彦, 鐘野勝洋: -症例から学ぶ-問題編, 解答編. 深在性真菌症～SFI Forum～ 2: 27, 53, 2006 (招待).
- 5) 亀井克彦 (研究協力者): *Stachybotrys chartarum* 吸入と原発性肺高血圧症との関連について. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「特定疾患の微生物学的原因究明に関する研究」平成 17 年度総括・分担研究報告書, pp.71-74, 2006.
- 6) 亀井克彦 (分担): コクシジオイデス症およびヒストプラズマ症など輸入真菌症国内発生状況の把握およびヒストプラズマ症の血清診断法に関する研究. 平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究」研究報告書, pp.23-30, 2006.
- 7) 上原至雅, 梅山隆, 新見昌一, 西村和子, 亀井克彦 (分担), 佐野文子 (研究協力者): コクシジオイデス症病原体検出用プライマーの設計とコクシジオイデス症遺伝子診断法の開発. 平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究」研究報告書, pp.88-90, 2006.
- 8) 亀井克彦 (分担): バイオ技術を用いた総合的モニタリングシステムに関する研究 *Pseudallescheria boydii* 株の病原性に関する研究. 平成 17 年度環境省廃棄

物処理等科学研究「バイオ技術を中心とした不法投棄現場及び不適正最終処分場の修復・再生システムの開発」研究報告書, pp.115-118, 2006.

- 9) 佐野文子 (分担): ヒトおよび愛玩動物における真菌症の発生状況の調査と予防・診断法の開発に関する研究: 厚生科学研究費補助金 (振興・再興感染症研究事業)「愛玩動物の衛生管理の徹底に関する研究 (H15-新興-19)」平成 15-17 年度総合研究, 「ヒトおよび愛玩動物における真菌症の発生状況の調査と予防・診断法の開発に関する研究」, pp.54-74, 2006.
- 10) 佐野文子 (研究協力者): *Coccidioides* spp. の多量遺伝子配列に基づいた再同定. 平成 17 年度 厚生科学研究費補助金 (振興・再興感染症研究事業) 輸入真菌症など真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究: 協力研究報告書, pp.98-103, 2006.
- 11) 佐野文子: 真菌症を知ろう. JSAVA 46: 45-60, 2006 (招待).

4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演 国際学会

- 1) Mikami Y, Fukushima K, Kamei K: Pathogenic Microorganisms. 9th International Symposium of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses (RC-PFMT), Chiba University, Chiba, Japan, December 15, 2006.
- 2) Sano A: Emerging fungal infections in Animals in Japan (Symposium). 8th International Mycological Congress. Cairns Convention Centre, Queensland, Australia. Abstract: pp.142, Cairns, Australia, August 21-25, 2006.
- 3) Sano A, Yarita K, Murata Y, Takayama A, Yaguchi T, Takahashi Y, Kamei K, Nishimura K: Isolation of *Ochroconis gallopava* from hot springs in Japan and its pathogenicity (selected oral session). 8th International Mycological. Cairns Convention Centre, Queensland, Australia. Abstract: pp.258, Cairns, Australia, August 21-25, 2006.

国内学会

- 1) 村田佳輝, 森 俊士, 佐野文子, 鎗田響子, 高山明子, 西村和子, 亀井克彦: 猫免疫不全症候群 (FIV: 猫エイズ) にみられた *Colletotrichum gloeosporioides* の全身感染例. 第50回日本医真菌学会総会, 東京, 真菌誌 47 (増刊1号): 76, 10月21-22日, 2006.
- 2) 上原雅江, 井出京子, 永井啓子, 羽毛田牧夫, 佐野文子, 亀井克彦, 西村和子: タイ人 AIDS 患者の菌血症から分離された *Penicillium marneffei*. 第50回日本医真菌学会総会, 東京, 真菌誌 47 (増刊1号): 77, 10月21-22日, 2006.
- 3) 落合恵理, 亀井克彦, 佐藤綾香, 渡辺 哲, 永吉優, 豊留孝仁, 渋谷和俊: Trichothecene 産生能の異なる *Stachybotrys chartarum* 2株を用いたマウス肺高血圧症モデルの検討. 第50回日本医真菌学会総会, 東京, 真菌誌 47 (増刊1号): 78, 10月21-22日, 2006.
- 4) 梅山隆, 佐野文子, 亀井克彦, 新見昌一, 西村和子, 上原至雅: コクシジオイデス病原菌 *Coccidioides immitis* および *Coccidioides posadasii* の同定および分類: 新しいアプローチによる遺伝子診断用プライマーの開発. 第50回日本医真菌学会総会, 東京, 真菌誌 47 (増刊1号): 82, 10月21-22日, 2006.
- 5) 渡辺 哲: 病原真菌の virulence factors の探索. 第3回真菌分子細胞研究会・四大学連携感染症ワークショップ in 千葉ジョイント開催, プログラム要旨集 p.39, 千葉, 11月28-29日, 2006.

5. 一般発表

国際学会

- 1) Watanabe A, Hashimoto Y, Sekine T, Kamei K: Cytokines in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) from experimental pulmonary aspergillosis. 2nd Advances Against Aspergillosis Conference, Athens, Greece, February 22-25, 2006.
- 2) Ochiai E, Kamei K, Watanabe A, Sato A, Hiroshima K, Shibuya K: Inhalation of *Stachybotrys chartarum* causes pulmonary hypertension in mice - relation to human PPH, The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Paris, France, June 25-29, 2006.
- 3) Nishimura K, Kamei K, Sano A, Miyaji M: Mating

behavior of *Schizophyllum commune* isolated from patients with bronchopulmonary mycosis in Japan with epidemiological data. Le Palais des Congres de Paris, Paris, France, Abstract: P-0526, Paris, France, June 25-29, 2006.

- 4) Sano A, Yarita K, Murata Y, Takayama A, Yaguchi T, Takahashi Y, Kamei K, Nishimura K: *Ochroconis gallopava* isolates from hot springs in Japan. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Paris, France, June 25-29, 2006.
- 5) Murata Y, Sano A, Yarita K, Takayama A, Takahashi Y, Kamei K, Nishimura K: *Arthrographis katrae* isolated from the oral cavity of a canine in Japan. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Paris, France, June 25-29, 2006.
- 6) Itano E, Tristao F, Bejar V, Ono E, Camargo Z, Sano A: partial characterization of immunogenic components of *Histoplasma capsulatum* and circulating specific IgG and soluble antigens in experimental murine histoplasmosis. Le Palais des Congres de Paris, Paris, France, Abstract: P-0607, Paris, France, June 25-29, 2006.

国内学会

- 1) 落合恵理, 亀井克彦, 佐藤綾香, 渡辺 哲, 渋谷和俊: *Stachybotrys chartarum* の接種方法の相違がマウスの肺血管病変形成に与える影響について. 真菌症フォーラム第7回学術集会 プログラム/抄録集 p.30, 東京, 2月18日, 2006.
- 2) 田口英昭, 亀井克彦, 渡辺 哲, 佐藤綾香, 豊留孝仁, 福島和貴: BioCell Tracer を用いた PAFE によるヒト血清中 micafungin と itraconazole の *Aspergillus fumigatus* に対する併用効果の基礎的研究. 真菌症フォーラム第7回学術集会, 真菌症フォーラム第7回学術集会プログラム/抄録集 p.31, 東京, 2月18日, 2006.
- 3) 渡辺 哲, 橋本佳江, 佐藤綾香, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* 肺感染モデルの気管支肺胞洗浄液中のサイトカインについて. 真菌症フォーラム第7回学術集会, 真菌症フォーラム第7回学術集会プログラム/抄録集 p.43, 東京, 2月18日, 2006.
- 4) 田沼順子, 清水亜理沙, 立川夏夫, 岡 慎一, 木村哲, 亀井克彦, 安岡 彰: AIDS 関連悪性リンパ腫治療中に肺アスペルギルス症を発症し voriconazole

- にて治療成功した一例. 真菌症フォーラム第7回学術集会, 真菌症フォーラム第7回学術集会プログラム/抄録集 p.63, 東京, 2月18日, 2006.
- 5) 佐野文子, 村田佳輝, 西村和子, 亀井克彦, 石川利雄, 榮山信一, 高橋俊一, 猪股智夫, 畑井喜司雄: 愛玩動物に見られた深在性真菌症4例. 真菌症フォーラム第7回学術集会, 真菌症フォーラム第7回学術集会プログラム/抄録集 p.82, 東京, 2月18日, 2006.
 - 6) 佐野文子, 鎗田響子, 村田佳輝, 高橋容子, 矢口貴志, 高山明子, 亀井克彦, 西村和子: 温泉環境から分離された *Ochrocohis gallopava*. 平成17年度(第30回)千葉県獣医学会, 講演抄録: 32, ぱるるプラザ千葉, 3月5日, 2006.
 - 7) 佐野文子, 高橋英雄, 高橋広志, 高橋容子, 鎗田響子, 猪股智夫, 西村和子, 亀井克彦: 動物園で飼育されているカナダヤマアラシ一家より分離された *Arthroderma benhamiae* Americano-European race. 平成17年度日本獣医師会三学会年次大会(つくば), 講演要旨集: 211, つくば国際会議場(エポカルつくば), 3月18-20日, 2006.
 - 8) 佐野文子, 鎗田響子, 村田佳輝, 高橋容子, 矢口貴志, 高山明子, 亀井克彦, 西村和子: 温泉環境から分離された *Ochrocohis gallopava*. 平成17年度日本獣医師会三学会年次大会(つくば), 講演要旨集: 211, つくば国際会議場(エポカルつくば), 3月18-20日, 2006.
 - 9) 村田佳輝, 佐野文子, 猪股智夫, Poonwan Natteewan, 上田八千代, 亀井克彦, 三上 襄: 我が国におけるイヌのヒストプラズマ症の分子疫学的解析. 平成17年度日本獣医師会三学会年次大会(つくば), 講演要旨集: 210, つくば国際会議場(エポカルつくば), 3月18-20日, 2006.
 - 10) 清水公德, 渡辺 哲, 亀井克彦, 川本 進: 経静脈的および経気管的接種による *Cryptococcus neoformans* 感染マウスの病理学的検討. 第79回日本細菌学会総会, 日本細菌学雑誌 61: 125, 金沢, 3月29-31日, 2006.
 - 11) 榎村浩一, 金子孝昌, 小野崎正修, 横山耕治, 亀井克彦, 杉田 隆, 山口英世, 安部 茂: 輸入真菌症起因菌に対する分子生物学的検出同定系並びに検査検体の安全な培養・移送・検査系の開発. 第79回日本細菌学会総会, 日本細菌学雑誌 61: 125, 金沢, 3月29-31日, 2006.
 - 12) 具芳 明, 大曲貴夫, 佐藤智明, 川上公宏, 菊池賢, 亀井克彦: *Scedosporium prolificans* による敗血症の一例. 第80回日本感染症学会総会, 感染症誌 80(臨時増刊号): 313, 東京, 4月20-21日, 2006.
 - 13) 若新英史, 大矢佳寛, 古田俊介, 池田 啓, 渡邊紀彦, 加々美新一郎, 中島裕史, 中川典明, 亀井克彦, 齋藤 康: 治療経過中に急性肺コクシジオイデス症を発症した Wegener 肉芽腫症の一例. 第50回日本リウマチ学会総会・学術集会, 抄録集 p.340, 長崎, 4月23-26日, 2006.
 - 14) 井隼ミキ, 山下 厚, 田山善男, 溝本明子, 香本穎利, 吉田正明, 吉野慎太郎, 小島康裕, 佐野文子: 17種漢方生薬配合薬抗真菌活性と牛白癬症への治療応用. 千葉県農業共済組合連合会 紫葉会 研究発表会. 4月25日, 2006. 抄録集 1.
 - 15) 佐野文子, 鎗田響子, 村田佳輝, 高橋容子, 矢口貴志, 高山明子, 亀井克彦, 西村和子: 温泉環境より分離された *Ochroconis gallopava*. 日本菌学会50周年記念大会, 千葉, 6月3-4日, 2006.
 - 16) 滝澤香代子, 福島和貴, Paride Abliz, Cristina S Motta, Xi Liyan, 高橋容子, Valerio Vidotto, 佐野文子, 亀井克彦, 西村和子: *Trichophyton tonsurans* 皮膚糸状菌症の rDNA IGS 領域の variable internal repeat region に基づく分子疫学研究. 日本菌学会50周年記念大会, 千葉, 6月3-4日, 2006.
 - 17) 佐野文子, Itano Eiko Nakagawa, 高山明子, Ono Mario Augusto, 鎗田響子, 宮治 誠, 亀井克彦, 宇野 潤, 三上 襄, 西村和子: 多遺伝子解析でアウトグループに位置した *Paracoccidioides brasiliensis* IFM54648 株. 第47回日本熱帯医学会・第21回日本国際保健医療学会合同大会 プログラム抄録集 p.173, 長崎, 10月11-13日, 2006.
 - 18) 高山明子, Itano Eiko Nakagawa, 佐野文子, Ono Mario Augusto, 鎗田響子, 宮治 誠, 亀井克彦, 西村和子, 宇野 潤, 三上 襄: 多遺伝子解析でアウトグループに位置した *Paracoccidioides brasiliensis* IFM54648 株について. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47(増刊1号): 55, 東京, 10月21-22日, 2006.
 - 19) 伊藤淳二, 佐野文子, 亀井克彦, 西村和子, 宮

- 治 誠, 三上 襄: *Coccidioides* 属のトポイソメラーゼ II 遺伝子 (TOP2) 及び関連遺伝子 (TRF4) による同定法について. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 58, 東京, 10 月 21-22 日, 2006.
- 20) 高橋英雄, 植田啓一, 鎗田響子, 村田佳輝, Itano Eiko Nakagawa, 高山明子, 猪股智夫, 矢口貴志, 佐野文子, 西村和子, 亀井克彦: 沖縄美ら海水族館で飼育されているバンドウイルカより分離された *non-albicans Candida* spp.. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 59, 東京, 10 月 21-22 日, 2006.
- 21) 高橋容子, 佐野文子, 西村和子, 亀井克彦: 4 年間に 3 回再発したブラック・ドット型頭部白癬の経過観察と原因菌 *Trichophyton tonsurans* の薬剤感受性. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 71, 東京, 10 月 21-22 日, 2006.
- 22) 杉山和寿, 佐野文子, 西村和子, 亀井克彦: 若齢犬における *Chaetomium globosum* 感染症の 1 例. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 76, 東京, 10 月 21-22 日, 2006.
- 23) 村田佳輝, 佐野文子, 高山明子, 鎗田響子, 西村和子, 亀井克彦: ネコの難治性皮膚炎より分離された *Arthrographis kalrae*. 第 50 回日本医真菌学会総会, 東京, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 76, 10 月 21-22 日, 2006.
- 24) 渡辺 哲, 佐藤綾香, 豊留孝仁, 落合恵理, 永吉 優, 橋本佳江, 亀井克彦: マウス肺における *Aspergillus fumigatus* 感染初期の免疫反応. 第 50 回日本医真菌学会総会, 東京, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 76, 10 月 21-22 日, 2006.
- 25) 豊留孝仁, 落合恵理, 渡辺 哲, 田口英昭, 亀井克彦: 新規ヒストプラズマ抗原の探索. 第 50 回日本医真菌学会総会, 東京, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 82, 10 月 21-22 日, 2006.
- 26) 木村雅友, 佐野文子: アレルギー性真菌性副鼻腔炎の 1 例. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 104, 東京, 10 月 21-22 日, 2006.
- 27) 畑井喜司雄, 佐野文子, 西村和子: オクロコニス属の新種に原因する養殖ヤマメの大量死亡例について. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 33, 東京, 10 月 21-22 日, 2006.
- 28) 植田啓一, 宮原弘和, 佐野文子, 内田詮三: バンドウイルカの *non-albicans Candida* 感染症の治療について. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 112, 東京, 10 月 21-22 日, 2006.
- 29) 河合浩樹, 佐野文子, 岩堀裕之, 早川富博, 西村和子: 肺の菌球から分離された *Scedosporium aurantiacum* 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 31, 東京, 10 月 21-22 日, 2006.
- 30) 渡辺 哲, 豊留孝仁, 亀井克彦: *Cryptococcus neoformans* 経静脈的および経気管支的感染モデルマウスの気管支肺胞洗浄液中のサイトカインについての検討. 第 55 回日本感染症学会東日本地方会総会第 53 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, プログラム・抄録集 p.158, 東京, 10 月 26-27 日, 2006.
- 31) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 田口英昭, 亀井克彦: 新たに確立したヒストプラズマ抗原抽出法による抗原タンパク質の探索. 第 55 回日本感染症学会東日本地方会総会第 53 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会 プログラム・抄録集 p.154, 東京, 10 月 26-27 日, 2006.
- 32) 田口英昭, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 亀井克彦: ヒト血清中における *Aspergillus fumigatus* の菌糸成長に対する voriconazole の抑制効果 - BioCell Tracer を用いた検討. 第 55 回日本感染症学会東日本地方会総会第 53 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会 プログラム・抄録集 p.154, 東京, 10 月 26-27 日, 2006.
- 33) 兼島 孝, 佐野文子: ペットショップの不適切な対応により飼い主の重症皮膚疾患の原因となったネコの 1 例. 第 6 回 人と動物の共通感染症研究会学術集会 講演要旨集 p.8, JA ホール, 東京, 11 月 3 日, 2006.
- 34) 豊留孝仁, 落合恵理, 渡辺 哲, 田口英昭, 亀井克彦: 質量分析による *Histoplasma* 抗原タンパク質の同定. 第 3 回真菌分子細胞研究会・四大学連携感染症ワークショップ in 千葉ジョイント開催, プログラム要旨集 p.13, 千葉, 11 月 28-29 日, 2006.
- 35) 高山明子, Itano Eiko Nakagawa, 佐野文子, Ono Mario Augusto, 鎗田響子, 宮治 誠, 亀井克彦, 西村和子, 宇野 潤, 三上 襄: 病原性真菌 *Paracoccidioides brasiliensis* の主要抗原遺伝子 *gp43* の有用性. 第 3 回真菌分子細胞研究会・四大学連携感

染症ワークショップ in 千葉ジョイント開催, プログラム要旨集 p.11, 千葉, 11月28-29日, 2006.

- 36) 永吉 優, 渡辺 哲, 多田裕司, 板尾誠一郎, 黒須克志, 笠原靖紀, 猪狩英俊, 田辺信宏, 滝口裕一, 巽浩一郎, 佐藤武幸, 亀井克彦, 栗山喬之: Voriconazole が著効を示した慢性壊死生肺アスペルギルス症の1例. 第119回日本呼吸器内視鏡学会関東支部会 プログラム p.15, 東京, 12月2日, 2006.

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 佐野文子 (代表): パラコクシジオイデス症の迅速遺伝子診断法の検討, Eiko Nakagawa Itano 準教授 (ブラジル連邦共和国パラナ州立ロンドリーナ大学生物科学研究所)

2. 共同利用研究以外の国内共同研究

- 1) 佐野文子: 沖縄美ら海水族館で飼育されているイルカの真菌症対策, 植田啓一, 宮原弘和, 沖縄美ら海水族館海獣課.
- 2) 佐野文子: 畜産領域における日和見真菌症原因菌の生態, 田山善男 (NOSAI千葉), 高橋圭二 (千葉県畜産総合研究センター生産技術部 養豚養鶏研究室).

国際交流

1. 海外渡航

- 1) 豊留孝仁: ギリシャ, アテネ, 2nd Advances Against Aspergillosis (2nd AAA) 出席, 情報収集のため, 2月22-25日, 2006 (私費).
- 2) 渡辺 哲: ギリシャ, アテネ, 2nd Advances Against Aspergillosis (2nd AAA) 出席, 発表, 2月22-25日, 2006 (日本抗生物質学術協議会・ファイザー感染症研究助成平成17年度海外短期派遣助成).
- 3) 落合恵理: ギリシャ, アテネ, 2nd Advances Against Aspergillosis (2nd AAA) 出席, 情報収集のため, 2月22-25日, 2006 (私費).
- 4) 佐野文子: メルボルン, シドニー, オーストラリア, オーストラリアとの科学技術協力にかかる調査 (視察). 3月21-26日, 2006 (文部科学省).

- 5) 佐野文子: フランス, パリ, The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Paris, France, June 25-29, 2006. に出席, 発表, 情報収集のため, 6月25-30日, 2006 (厚生労働省科学研究費).
- 6) 落合恵理: フランス, パリ, The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Paris, France, June 25-29, 2006. に出席, 発表, 情報収集のため, 6月23日-7月1日, 2006 (私費).
- 7) 村田佳輝: フランス, パリ, The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Paris, France, June 25-29, 2006. に出席, 発表, 情報収集のため, 6月25-28日, 2006 (私費).
- 8) 佐野文子: 8th International Mycological Congress 21-25 August, 2006 Cairns Convention Centre, Queensland, Australia. Abstract: pp.258, Cairns, Australia, August 21-25, 2006. に出席, シンポジスト, 選抜口演, 情報収集のため, 8月20-26日, 2006 (厚生労働省科学研究費).

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 亀井克彦: 司会, 「The New Microbiologic Monsters: Opportunistic Fungi」, 真菌症フォーラム第7回学術集会, 東京, 2月18日, 2006.
- 2) 亀井克彦: 会長, 真菌症フォーラム第7回学術集会, 東京, 2月18日, 2006.
- 3) 亀井克彦: 「特別講演」座長, 第11回千葉真菌症研究会, 千葉, 6月10日, 2006.
- 4) 佐野文子: 8th International Mycological Congress 21-25 August, 2006 Cairns Convention Centre, Queensland, Australia. Abstract: pp.258, Cairns, Australia, August 21-25, 2006. ポスター賞選考委員.
- 5) 亀井克彦: セレクトッド (ポスター)・シンポジウム V. 深在性真菌症」座長, 第50回日本医真菌学会総会, 東京, 10月21-22日, 2006.
- 6) 亀井克彦: 座長, 臨床研究・真菌, 第55回日本感染症学会東日本地方会総会第53回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, 東京, 10月26-27日, 2006.
- 7) 亀井克彦: 座長, 四大学連携感染症ワークショップ

in 千葉, 第3回真菌分子細胞研究会, 千葉, 11月28-29日, 2006.

- 8) 亀井克彦: 当番幹事, 第11回千葉真菌症研究会, 千葉, 6月10日, 2006.
- 9) Kamei K: Chairperson, NBRP-pathogenic microorganisms, 9th International Symposium of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses (RC-PFMT), Chiba University, Chiba, Japan, December 15, 2006.

教育活動

学位指導

- 1) 日暮浩実: 千葉大学医学薬学府医学研究科博士課程修了並びに医学博士取得(取得年月日: 2006年3月25日), 「Gene expression profiling of polymorphonuclear leukocytes treated with the culture filtrate of *Aspergillus fumigatus* and gliotoxin」(研究指導: 亀井克彦)

講義

亀井克彦: 大学院医学薬学府4年博士課程(医学領域)(特別講義 研究方法論), 大学院医学薬学府修士課程医科学専攻(生体防御医学特論), 医学部医学科(真菌感染症学), 大学院自然科学研究科博士課程後期生物資源応用科学専攻(真菌感染機構論), 千葉大学看護学部(真菌症), 東京医科大学大学院医学研究科微生物学講座(真菌感染学), 福島県立医科大学医学部医学科微生物学講座(真菌感染学)

佐野文子: 千葉大学大学院医学薬学府(真菌感染症学分野), 千葉大学大学院自然科学研究科(真菌感染学), 普遍教育コア8生命科学(真菌感染に対する生体防御機構), コア科目(真菌(かび)と人とのかかわり合い)

渡辺 哲: 千葉大学医学部(臨床病態治療学感染ユニット)

社会的活動

テレビ・ラジオ

- 1) 亀井克彦, 矢口貴志: TBS テレビ取材, からだのキモチ, 5月28日, 2006.
- 2) 亀井克彦: 写真提供. 日本テレビ「午後は〇〇思っきりテレビ」「今日の特集」, タイトル「危険な

ハウスダスト最新予防法!」, 9月5日, 2006.

- 3) 村田佳輝: NHK FM 千葉「ひるどき千葉」ヒト動物の感染症1, 10月4日, 2006.
- 4) 高橋英雄: NHK FM 千葉「ひるどき千葉」ヒト動物の感染症2, 11月1日, 2006.
- 5) 佐野文子: 写真提供. フジテレビ「チンパンニュースチャンネル」「ペットと飼い主を脅かす～人獣感染症～」, 11月16日, 2006.

新聞など

- 1) 亀井克彦, 矢口貴志: 新聞掲載 軽視すると深刻な病気の引き金に. フジサンケイ ビジネスアイ ミセスぎ!? 主婦ゴコロ経済学 きょうのテーマは「いいカビと悪いカビ」11版18面, 5月26日, 2006.
- 2) 亀井克彦: 新聞掲載 怖いカビ感染症-せき止まらず, 肺破壊も-水回り予防や除去を. 岐阜新聞-くらし18面, 6月10日, 2006.
- 3) 亀井克彦: 新聞掲載 梅雨をぶっ飛ばせ-うっとうしい季節を乗り切るために-少しの免疫力低下でも真菌に感染する-健康そうでもヘビースモーカーはカビによる肺炎にかかりやすい. 東京スポーツ 20面, 6月27日, 2006.
- 4) 亀井克彦: 新聞掲載 梅雨をぶっ飛ばせ-うっとうしい季節を乗り切るために-強毒な真菌症は死を招く-最も感染力強い真菌は米国乾燥地帯に生息. マスク着用で予防, 東京スポーツ 14面, 東京スポーツ, 6月28日, 2006.
- 5) 亀井克彦: 新聞掲載 梅雨をぶっ飛ばせ-うっとうしい季節を乗り切るために-増えている輸入真菌症-日本のものに比べ毒性も感染力も強力…海外に行く際には注意, 東京スポーツ 20面, 6月29日, 2006.
- 6) 亀井克彦: 雑誌掲載 この夏, 「殺人真菌症」が日本を襲撃する!, 集英社「プレイボーイ」, 8月14日, 2006.
- 7) 豊留孝仁, 落合恵理, 渡辺 哲, 田口英昭, 亀井克彦: 新聞掲載 国内ニュース 第50回医真菌学会記事内「新規ヒストプラズマ抗原蛋白質の一次構造を決定」, メディカルトリビューン Vol. 39, No. 51, p.13, 12月21日, 2006.

センター講習会

亀井克彦: 第20回病原真菌講習会講師「輸入真菌症」(7月25日, 2006).

佐野文子: 第20回病原真菌講習会講師「皮膚糸状菌症・

病原性黒色真菌」(7月27日, 2006), 「新興病原真菌・輸入真菌症原因菌」(7月28日, 2006).

講演など

- 1) 亀井克彦: 深在性真菌症のトピックス. プイフェンドTVシンポジウム, ファイザー株式会社事業所, 6月8日, 2006.
- 2) 亀井克彦: 本当は怖いカビの病気. 千葉大学真菌医学研究センター公開市民講座, 千葉, 5月14日, 2006.
- 3) 亀井克彦: 輸入真菌症とその感染対策. 国立大学病院感染対策協議会平成18年度感染管理担当看護師ブロック別研修会(関東甲信越地区), 千葉, 6月30日, 2006.
- 4) 亀井克彦: 真菌症診療における最近の展開. 第5回多摩呼吸器セミナー, 立川, 7月18日, 2006.
- 5) 亀井克彦: 真菌症における最近の傾向とその対策～各種抗真菌薬の使い分け～. イトリゾール内用液1%発売記念講演会, 千葉, 10月14日, 2006.
- 6) 亀井克彦: 抗真菌剤の基礎. 深在性真菌症シンポジウム イトリゾール新剤形講演会, 東京, 10月28日, 2006.
- 7) 亀井克彦: 臨床(3)真菌症. 日本臨床検査専門学院第31期微生物学コース, 東京, 10月31日, 2006.
- 8) 亀井克彦: Laboratoryから見た呼吸器真菌症. 第6回埼玉呼吸器感染症研究会, 大宮, 11月16日, 2006.
- 9) 亀井克彦: Laboratoryからみた深在性真菌症. 第3回岐阜深在性真菌症フォーラム, 岐阜, 12月20日, 2006.
- 10) 佐野文子: 真菌症原因菌としては稀な菌種(人獣共通真菌症原因菌を中心に)(指定演題). 第27回関東医真菌懇話会. 抄録集: 20, 大手町サンケイプラザ, 5月27日, 2006.

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 大荒田素子(代表): 科学研究費補助金 基盤研究 C 18580112 心的ストレスによる生体防御能の低下:

脂質摂取による改善効果とその分子機構の解明 平成18～19年度(平成18年度は230万円).

その他の外部資金

- 1) 亀井克彦(分担): 平成16～18年度厚生労働科学研究費補助金「新興・再興感染症研究事業」, 「輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究」, 250万円.
- 2) 亀井克彦(分担): 平成16～18年度環境省廃棄物処理等科学研究費補助金, 「バイオ技術を中心とした不法投棄現場及び不適正最終処分場の修復・再生システムの開発」, 100万円.
- 3) 亀井克彦(研究協力者): 平成17～19年度厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服対策研究事業「特定疾患の微生物学的原因究明に関する研究」, (平成18年度は100万円).
- 4) 高原英也(茨城大学農学部・代表), 佐野文子(分担): 農林水産省平成17年度先端技術を活用した農林水産研究高度化事業委託事業: 「羽毛分解菌のケラチン代謝機構の解明とその高度利用」, 平成17～19年度(平成18年度は261万円).
- 5) 吉川泰弘(東京大学大学院・代表), 佐野文子(分担): 厚生労働省新興・再興感染症研究事業「動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究-伴侶動物等に由来する真菌症等の診断, 予防法に関する研究」, 平成18年度～20年度(平成18年度は500万円).
- 6) 佐野文子: 委任経理金「真菌感染分野分野奨学寄付金((株)ニッピ) *Cryosporium keratinophilum* の抗体作成」, 平成18年度(100万円).
- 7) 豊留孝仁(代表): 平成18年度千葉大学学長裁量経費(重点研究プロジェクト経費[若手研究者に対する助成]), 「ヒストプラズマ症迅速診断法開発・改良に関する研究-新規に同定した *Histoplasma* 抗原タンパク質の応用利用に向けた基礎的解析-」, 100万円.

センター長裁量経費

- 1) 佐野文子(代表): 「高度病原性, 高伝播性真菌 *Penicillium marneffei* および *Histoplasma capsulatum* の遺伝子データベースの作製」, 60万円.

病原真菌研究部門 系統・化学分野

(Department of Pathogenic Fungi, Division of Phylogenetics)

教授: 西村和子 (2006年3月まで)

- センター内委員 運営協議会委員, 教員会議委員, 総務委員会, 自己点検・評価委員会, 倫理審査委員会, 将来計画委員会
- 学協会への貢献 日本医真菌学会評議員・理事・編集委員長, 日本微生物資源学会理事
- 国および地方公共団体への貢献 理化学研究所微生物系統保存事業運営委員会委員, 中央博物館協議会議長, (独)製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー関係業務推進委員会委員, 文部省科学技術振興調整費審査会委員, 長崎大学熱帯医学研究所共同研究専門委員会委員, (独)理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料検討会委員
- 所属学会 日本医真菌学会, 日本微生物資源学会, 日本菌学会, 国際人獣医真菌学会, 日本細菌学会, 日本感染症学会, Mycological Society of America, American Society for Microbiology
- 受賞 分担: 真菌症フォーラム第7回学術集会奨励賞: 矢口貴志, 伊藤純子, 田中玲子, 松澤哲宏, 西村和子, 堀江義一: 「病原性 *Aspergillus section Fumigati* の分類と性状」(2006. 2. 18)
- その他 千葉大学発ベンチャー株式会社ファーストラボラトリー取締役

助教授: 矢口貴志

- 学内委員 生涯学習推進委員会委員, 承認 TLO 準備委員会委員
- センター内委員 教員会議委員, 総務委員会委員, 共同備品委員会委員, 共同利用研究委員, 微生物・保存管理施設運営委員会委員, 有害廃棄物委員会委員長, 広報委員会委員, 自己点検・評価委員会委員, 将来計画委員会委員, 図書 WG 委員, 実験動物 WG 委員, 市民相談等対応グループ, 光熱水量削減プロジェクト WG 委員, 機種選定委員
- 学協会への貢献 日本菌学会・評議員・将来計画構想委員会委員・関東支部幹事
- 所属学会 日本医真菌学会, 日本微生物資源学会, 日

本菌学会, 日本顕微鏡学会, マイコトキシン研究会, Mycological Society of America

○受賞

1. 真菌症フォーラム第7回学術集会奨励賞: 矢口貴志, 伊藤純子, 田中玲子, 松澤哲宏, 西村和子, 堀江義一: 「病原性 *Aspergillus section Fumigati* の分類と性状」(2006. 2. 18)
2. 第50回日本医真菌学会総会ポスター賞: 矢口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子: 「遺伝子解析による *Neosartorya* 属および *Aspergillus section Fumigati* の分類と種の評価および新分類」(2006. 10. 22)

講師: 五ノ井 透

- センター内委員 教員会議委員, 総務委員会委員, 共同利用委員会, 放射性同位元素委員会, 自己点検・評価委員会, 有害廃棄物委員会委員, 広報委員会委員, 地域連携委員会, 将来計画委員会委員, 図書 WG 委員, 機種選定委員
- 学協会への貢献 日本薬理学会評議員
- 所属学会 日本医真菌学会, 日本放線菌学会, 日本細菌学会, 日本薬理学会

助手: 田中玲子

- 学内委員 放射性同位元素委員会専門委員会委員
- センター内委員 総務委員会委員, 微生物・保存管理施設運営委員会委員, 放射性同位元素委員会委員, 放射性同位元素取扱主任者, 防災対策委員会委員, 研究推進チーム委員, 微生物管理保存 WG 委員
- 学協会への貢献 日本医真菌学会編集委員会幹事
- 所属学会 日本医真菌学会, 日本菌学会, 日本微生物資源学会, 日本分子生物学会, 日本臨床環境医学会, 日本感染症学会, American Society for Microbiology
- 受賞
 - 1) 分担: 真菌症フォーラム第7回学術集会奨励賞: 矢口貴志, 伊藤純子, 田中玲子, 松澤哲宏, 西村和子, 堀江義一: 「病原性 *Aspergillus section Fumigati* の分類と性状」(2006. 2. 18)
 - 2) 分担: 第50回日本医真菌学会総会ポスター賞: 矢

口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子:「遺伝子解析による *Neosartorya* 属および *Aspergillus* section *Fumigati* の分類と種の評価および新分類」(2006. 10. 22)

技術職員 (医学薬学府 博士課程): 松澤哲宏

非常勤講師: 堀江義一 (千葉県中央博物館分館海の博物館長)

非常勤講師: 安西弘行 (茨城大学遺伝子実験施設 助教授)

実験補助員: 土屋由紀子 (2006. 5 ~)

大学院医学薬学府 博士課程: 大堀 陽

研究概要 (共同研究を含む)

1. 病原性 *Aspergillus* および関連菌の分類学的研究

当センターに保存されている *Aspergillus fumigatus* を研究材料とし, ITS 領域, β -tubulin, hydrophobin, calmodulin 遺伝子による系統解析を実施した. *Fumigati* 節は5つのクラスターに分かれ, *A. fumigatus*, *A. lentulus*, *A. viridinutans* とは系統的に異なる菌群が見出され, *Neosartorya udagawae* と系統的に近縁であった. *A. fumigatus* 関連菌は分子系統と分生子の微細構造, 生育温度, マイコトキシン生産性との間には相関が見られたが, 薬剤耐性においては差が認められなかった.

Emericella および関連菌の分類学的研究では, β -tubulin, hydrophobin 遺伝子, ITS 領域による系統解析を実施し, 分子系統と子のう胞子の微細構造, マイコトキシン生産性との相関性を検討した. 分子系統と形態は一部相関が確認された. 今後これまで検討していない菌種におけるマイコトキシン生産性を検討する予定である.

2. 黒色真菌の分類研究

日本産の *Fonsecaea pedrosoi* において ITS 領域による系統解析を実施し, de Hoog *et al.* (2004) のデータを検証したところ, 日本産の *F. pedrosoi* は彼らの提唱する *F. monophora* と近縁のクラスターとして1つにまとまった. これまでの検討では, 日本産の *F. pedrosoi* は, *F. monophora* の種内における別系統の菌群と考えられる. さらに *F. monophora* の種の独立性についての検討を行う.

3. *Pseudallescheria boydii* および関連菌の多相分類と検出法の開発 (環境省プロジェクト分担)

難分解性有機化合物の分解能を有する *P. boydii* (北大株) と関連菌の系統解析および形態の詳細な検討を実施している. ITS 領域, β -tubulin 遺伝子における分子系統解析より, タイプ株を含む典型的な *P. boydii* と北大株は分子系統的に別系統であることが判明した.

そこで, 北大株を含むグループにのみに特異的である塩基配列を探索し, この部分の両端をプライマーとして PCR で増幅したところ, 北大株を含むグループのみにバンドが確認された. さらに PCR 条件を検討し, 検出感度, 特異性を高め, 胞子懸濁液と土壌に混合した系においては, 胞子 10^1 個/土壌 0.5 g レベルで検出が可能であった.

4. ヒト遺体より分離された真菌の分類・同定

獨協医科大学法医学教室と共同で, 本年新たに5検体の遺体から真菌の分離を実施した. 遺体の分解の程度, 水分量により分離されてくる真菌が異なったが, 同一遺体の各部位から分離される真菌には, 種差は見られなかった. 水分量が少なくなった検体からは *Eurotium* 属の他に好塩性を示す *Scopulariopsis* 属が分離された. 今後データも蓄積することにより, 遺体の状況解析に役立てたい.

5. 海鳥の巣穴および周辺環境の真菌フローラ調査

山階鳥類研究所と共同で, オオミズナギドリの生態研究の一環として, その生息地である御蔵島の巣穴および周辺環境の真菌フローラの調査を行っている. 海鳥の巣穴および周辺環境から採集した各試料から接合菌類4属, 子囊菌類1属, 不完全菌類13属の計18属の菌類が分離同定された. 巣穴の各試料から, 40°C 付近で良好な生育を示す真菌, ケラチン分解能を有する真菌が分離された. 今後, 土壌に汚染されていない羽毛, 岩場などで乾燥した糞を採取し, 病原真菌および関連菌の分離を試み, 周辺環境由来の真菌と比較する予定である.

6. 病原酵母の分子疫学

名古屋大学と共同で *Candida albicans* の多型解析 (ABC genotyping, ALTS typing) をセンター保存株を中心に行い, 疫学的検討を行った. 国別および分離源別の解析では, タイ国分離株が特徴的な結果を示し, AIDS との関連が示唆された. また, これらのデータを基に科警研, 鶴見大学歯学部と共同で「生体試料を用いた民族識別法

における指標の検討」を開始した。これは、*C. albicans* がカンジダ症を発症している患者のみならず一般健康人からも多く分離されることから、より詳細な多型解析情報が、「地域多型」延いては「民族識別」に応用できると期待される。

7. 病原真菌の簡便迅速識別のためのゲノムプロファイリング (GP)

埼玉大学、タイテック (株) との共同でゲノムプロファイリング (GP) 法の応用のためにセンター保存の *Trichosporon* 属菌について検討した。ゲノムプロファイリング (GP) 法では、ランダム PCR の産物を TGGE (温度勾配ゲル電気泳動) で分離展開することにより、簡便迅速に塩基配列情報を反映した泳動パターンが得られ、そのパターンをデータベース化することにより菌種の同定を可能になる。今回は *Trichosporon* 属において、シーケンスデータと突き合わせて検討したところ、ゲノムプロファイリング (GP) の有効性が示された。今後は更にその他の菌属についても検討の予定である。

8. 病原性放線菌 *Nocardia* 属菌が産生する siderophore の生合成に関する研究

鉄は総ての細胞性生物にとって必須の分子であり、病原性放線菌を含む多くの菌類は siderophore と呼ばれる鉄キレート分子を産生して、宿主生体内から菌内に鉄を奪っている。*Nocardia* 属菌 60 種が産生する siderophore 分子の生合成を化学的および分子生物学的手法を用いて研究した。その結果、ほぼ総ての菌種において siderophore が産生されることが示唆され、その多様性について解析中である。

9. *Aspergillus* 属菌の迅速同定法の開発

Aspergillus 属菌は通常、我々を取りまく環境中に多数存在している。同菌が健常者に感染症を引き起こすことは希であるが、免疫不全症の患者、免疫抑制剤を使用した患者には重篤な感染症を引き起こし、高い致死率を示す。本研究は、PCR 法やマイクロアレイ法を用いて、*Aspergillus* 属菌の感染を迅速に同定する方法を開発することを目指している。

10. 酵母 Ca^{2+} チャネルの機能発現

Ca^{2+} イオンは、細胞内外のシグナル伝達に用いられる

など、総ての細胞性生物にとって重要な役割を果している。酵母・カビは、ヒトとも相同性の高い Ca^{2+} イオン・チャネル分子 CCH1 を持つが、その生理学的機能はよく解析されていない。パン酵母および分裂酵母より同チャネル遺伝子をクローニングし、発現ベクターに組み込む機能の解析を行っている。

11. *Candida albicans* 菌の argonaute 遺伝子ノックアウト株の作成

SAT1-flipper cassette を利用して *Candida albicans* の遺伝子発現調節に関与すると予測される argonaute 遺伝子のノックアウト株の作製を試みている。

12. DNA マイクロアレイ法の改良

DNA マイクロアレイ法による遺伝子の発現解析に関し、当センターにおいてプローブの設計、スポットティング、cDNA の調整、ハイブリダイゼーション、解析など一連の操作ができるように手法・技術を確立し、それに関連した2つの特許を出願した。

研究成果の発表

1. 著書

- 1) 矢口貴志: 身のまわりにひそんでいるカビの秘密. わくわくからだ探検第2集, pp.33-35. (株) 健学社. 2006.
- 2) 矢口貴志: 子のう菌類 Ascomycetes (4). 微生物の世界 (宮道慎二ら編) pp.81-82. (株) 筑波出版会. 2006.

2. 原著

英文

- 1) Suh MK, Lim JW, Lee YH, Ha GY, Kim JR, Yaguchi T, Nishimura K: Subcutaneous hyalohyphomycosis due to *Cephalotheca foveolata* in an immunocompetent host. Br J Dermatol 154: 1184-1189, 2006. (査読有)
- 2) Wakamoto D, Hosoe T, Itabashi T, Nozawa K, Okada K, Takaki GC, Yaguchi T, Takizawa K, Fukushima K, Kawai K: Isolation of Isoterrein from *Neosartorya fisheri*. Mycotoxin 56: 3-6, 2006. (査読有)
- 3) Hosoe T, Wakamoto D, Itabashi T, Nozawa K, Okada K, Takaki GC, Takizawa K, Yaguchi T, Takizawa K,

Fukushima K, Kawai K: Antifungal substances isolation from *Aspergillus fumigatus* IFM 54246, obtained from Brazilian soil. *Mycotoxin* 56: 7-10, 2006. (査読有)

- 4) Ishii K, Hitosugi M, Kido M, Yaguchi T, Nishinura K, Hosoya T, Tokudome S: Analysis of fungi detected in human cadavers. *Legal Medicine* 8: 188-190, 2006. (査読有)
- 5) Yaguchi T, Sano A, Yarita K, Suh MK, Nishimura K, Udagawa S: A new species of *Cephalotheca* isolated from a Korean patient. *Mycotaxon* 96: 309-322, 2006. (査読有)
- 6) Hitosugi M, Ishii K, Yaguchi T, Chigusa Y, Kurosu A, Kido M, Nagai T, Tokudome S: Fungi can be a useful forensic tool. *Legal Medicine* 8: 240-242, 2006. (査読有)
- 7) Nakadate S, Nozawa K, Horie H, Fujii Y, Nagai M, Komai S, Hosoe T, Kawai K, Yaguchi T, Fukushima K: New dioxomorpholine derivatives, javanicunine A and B, from *Eupenicillium javanicum*. *Heterocycles* 68: 1969-1972, 2006. (査読有)
- 8) Hanafy A, Ito J, Iida S, Kang Y, Kogure T, Yazawa K, Yaguchi T, Mikami Y: Majority of *Actinomadura* clinical isolates from sputa or bronchoalveolar lavage fluid in Japan belongs to the cluster of *Actinomadura cremea* and *Actinomadura nitrigenes*, and the description of *Actinomadura chibaensis* sp. nov. *Mycopathologia* 162: 281-287, 2006. (査読有)
- 9) Wakana D, Hosoe T, Itabashi T, Okada K, Takaki GC, Yaguchi T, Fukushima K, Kawai K: New citrinin derivatives isolated from *Penicillium citrinum*. *J Nat Med* 60: 279-284, 2006. (査読有)
- 10) Komai S, Hosoe T, Itabashi T, Nozawa K, Yaguchi T, Fukushima K, Kawai K: New penicillide derivatives isolated from *Penicillium simplicissimum*. *J Nat Med* 60: 185-190, 2006. (査読有)

3. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

国際学会

- 1) Yaguchi T: Polyphasic classification on *Aspergillus* section *Fumigati*. 9th International Symposium of RC-PFMT Chiba University, Chiba, Japan, December 15, 2006.

4. 一般発表

国際学会

- 1) Sato T, Nagao K, Yoshizawa N, Hata Y, Sugiura M, Amagai M, Yaguchi T: A case of cutaneous *Pseudallescheria boydii* infection. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Paris, France, June 25-29, 2006.
- 2) Yaguchi T, Horie Y, Tanaka R, Matsuzawa T, Ito J, Nishimura K: Classification of pathogenic *Aspergillus* section *Fumigati*. 8th International Mycological Congress, Cairns, Australia, August 21-25, 2006.
- 3) Sano A, Yarita K, Murata Y, Takayama A, Yaguchi T, Takahashi Y, Kamei K, Nishimura K: Isolation of *Ochroconis gallopava* from hot spring in Japan and its pathogenicity. 8th International Mycological Congress, Cairns, Australia, August 21-25, 2006.

国内学会

- 1) 堀江義一, 矢口貴志, 松澤哲宏, 田中玲子, 西村和子: なぜ 0011 株だけが fumitremorgen A を生産したのか - fumitremorgen A 生産菌とその関連菌の分子系統解析と分類学的考察. 第 59 回マイコトキシン研究会学術講演会, 要旨集 p.9, つくば, 1 月 6 日, 2006.
- 2) 矢口貴志, 伊藤純子, 田中玲子, 松澤哲宏, 西村和子, 堀江義一: 病原性 *Aspergillus* section *Fumigati* の分類と性状. 真菌症フォーラム第 7 回学術集会, 抄録集 pp.40-41, 東京, 2 月 18 日, 2006.
- 3) 中楯 奨, 野沢幸平, 堀江 均, 藤井祐一, 永井正博, 細江智夫, 駒井信一郎, 河合賢一, 矢口貴志, 福島和貴: *Eupenicillium javanicum* の生産する抗真菌活性物質の研究. 第 126 回日本薬学会, 仙台, 3 月 27 ~ 30 日, 2006.
- 4) 松澤哲宏, 矢口貴志, 堀江義一, 西村和子: *Emericella* 属の分子系統解析と子のう胞子の形態について. 日本菌学会 50 周年記念大会, 講演要旨集 p.44, 千葉, 6 月 3 ~ 4 日, 2006.
- 5) 矢口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子, 西村和子: *Neosarorya* 属の新種について. 日本菌学会 50 周年記念大会, 講演要旨集 p.47, 千葉, 6 月 3 ~ 4 日, 2006.
- 6) 田中玲子, 矢口貴志, 西村和子, 宇田川俊一: 日本産 *Fonsecaea* 属の系統解析について. 日本菌学会 50

- 周年記念大会, 講演要旨集 p.60, 千葉, 6月3~4日, 2006.
- 7) 矢口貴志, 堀江義一, 伊藤純子, 田中玲子, 松澤哲宏, 西村和子: *Aspergillus* section *Fumigati* の分類について. 日本菌学会 50周年記念大会, 講演要旨集 p.62, 千葉, 6月3~4日, 2006.
- 8) 佐野文子, 鎗田響子, 村田佳輝, 高橋容子, 矢口貴志, 高山明子, 亀井克彦, 西村和子: 温泉環境より分離された *Ochroconis gallopava*. 日本菌学会 50周年記念大会, 講演要旨集 p.68, 千葉, 6月3~4日, 2006.
- 9) 矢口貴志, 伊藤純子, 堀江義一, 田中玲子, 松澤哲宏, 西村和子: 病原性 *Aspergillus* section *Fumigati* の分類と性状. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 55, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 10) 矢口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子: 遺伝子解析による *Neosarorya* 属および *Aspergillus* section *Fumigati* の分類と種の評価および新分類. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 55, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 11) 松澤哲宏, 矢口貴志, 堀江義一, 西村和子: *Emericella* 属の分子系統解析と子のう胞子の形態について. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 55, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 12) 田中玲子, 伊藤純子, 知花博治, 三上 襄, 西村和子, 矢口貴志: 病原性酵母 *Candida albicans* の分子疫学的研究. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 57, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 13) 高橋英雄, 植田啓一, 鎗田響子, 村田佳輝, Itano Eiko, 高山明子, 猪股智夫, 矢口貴志, 亀井克彦, 西村和子: 沖縄美ら海水族館で飼育されているバンドウイルカより分離された non-*albicans* *Candida* spp. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 59, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 14) 五ノ井 透, 武田健二郎, 向井 啓, 矢澤勝清, 矢口貴志, 三上 襄: 病原性放線菌を含む *Nocardia* 属の60菌種が産生する Siderophore (鉄キレート分子) の生合成に関する解析. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 61, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 15) 浜野圭一, 田中玲子, 西垣功一, 西村和子: ゲノムプロファイリング (GP) による *Trichosporon* 属菌の簡便迅速識別への応用. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 59, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 16) 矢口貴志, 松澤哲宏, 田中玲子, 伊藤純子, 堀江義一, 西村和子: *Aspergillus* section *Fumigati* の多相分類. 第3回真菌分子細胞研究会, 千葉, 11月28~29日, 2006.
- 17) 松本優子, 五ノ井 透, 武田健二郎, 矢沢勝清, 星野泰隆, 石川 淳, 三上 襄: *Nocardia* のシデロフォア生産性とその生産に関与する遺伝子. 2006年度日本放線菌学会, 講演要旨集 p.115, 木更津, 7月13~14日, 2006.
- 18) 五ノ井 透, 三上 襄, 岡 千寿, 前田 浩, 磯貝健次, 岡村 浩: DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析法の改良. 千葉大学オープンリサーチ, 千葉, 9月18日, 2006.
- 19) 岡 千寿, 前田 浩, 五ノ井 透, 三上 襄, 磯貝健次, 岡村 浩: DNA マイクロアレイ関連技術の開発. 産学交流展 2006, 東京, 10月19~20日, 2006.

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 矢口貴志: 中央アジアにおける真菌症原因菌および関連菌の生態研究 (文部科学省科学研究費補助金), 恵 艶教授, 中華人民共和国, 新疆医科大学附属第一病院皮膚科.

2. 共同利用研究以外の国内共同研究

- 1) 矢口貴志: 焼却灰中のダイオキシン類を対象とした微生物分解技術の開発に関する研究 (環境省廃棄物処理等科学研究費補助金), 古市 徹教授, 北海道大学大学院工学研究科.
- 2) 田中玲子: 生体試料を用いた民族識別法における指標の研究, 桜田宏一博士, 警視庁科学警察研究所, 佐藤慶太講師, 鶴見大学歯学部.
- 3) 田中玲子: ゲノムプロファイリング (GP) による病原真菌の簡便迅速識別への応用, 西垣功一教授, 埼玉大学工学部.

国際交流

1. 海外渡航

- 1) 矢口貴志, 田中玲子, 松澤哲宏: オーストラリア, ケアンズ, 8th International Mycological Congress に出席, 発表, 情報収集のため, 8月19~25日, 2006 (科学研究費補助金, 奨学寄付金).
- 2) 矢口貴志: 中華人民共和国, ウルムチ, 新疆医科大学附属第一病院皮膚科 惠 艶教授との共同研究の打ち合わせ, 討議, 研究サンプル収集のため, 9月7~25日, 2006 (科学研究費補助金).
- 3) 矢口貴志: マレーシア, クアラルンプール, 森林研究所 Chang Yu Shyun 主任研究員との共同研究の打ち合わせ, 情報収集のため, 11月18~22日, 2006 (奨学寄付金).

2. 海外研究者の受け入れ

- 1) 王 喜艶副病院長, 惠 艶教授, Abliz Paride 助教授 (中華人民共和国, 新疆医科大学附属第一病院), 12月13~18日, 2006 (科学研究費補助金), 共同研究 (矢口貴志).

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 矢口貴志: 日本菌学会 50周年記念大会実行委員 千葉, 6月3~4日, 2006.
- 2) 五ノ井 透: 第3回真菌分子細胞研究会 座長, 11月28~29日, 2006.

教育活動

講義

- 1) 矢口貴志: 千葉大学普遍教育 (真菌 (カビ) と人との関わり合い), 医学部基礎配属 1名受け入れ (2月1日~3月2日), 医学部微生物実習.

最終講義

- 1) 西村和子: 病原真菌分類の楽しさ - 黒色酵母様真菌を中心に -, 千葉, 3月24日, 2006.

インターンシップ生 (実習生) の受け入れ

- 五ノ井 透: 日本大学生産工学部応用化学科 3年 (志賀 祐介) を実習生として (平成 18年 8月 1日 - 9月 15日)

社会的活動

テレビ・ラジオ

- 1) 矢口貴志, 田中玲子: テレビ出演, 取材協力 タイトル からだのキモチ 「梅雨とカビ」, TBS テレビ, 5月28日, 2006.
- 2) 矢口貴志: 写真提供, タイトル スーパー J チャンネル 「お天気コーナー」, テレビ朝日, 6月21日, 2006.
- 3) 矢口貴志: テレビ出演, 取材協力 タイトル ニュースリアルタイム 「リアル目線 カビ」, 日本テレビ, 8月21日, 2006.

新聞など

- 1) 矢口貴志: フジサンケイビジネスアイ, 「いいカビと悪いカビ」, 5月26日, 2006.
- 2) 矢口貴志: 朝日新聞, be on Sunday 「今さら聞けないカビ」, 6月25日, 2006.

センター講習会

- 1) 矢口貴志, 田中玲子: 第20回病原真菌講習会講師 (2006. 7. 25~28)
- 2) 矢口貴志: 3rd Workshop on pathogenic fungi and actinomycetes in RCPF in 2006, August 8-11, 2006.

講演など

- 1) 矢口貴志: カビと人のいい関係. 真菌医学研究センター主催公開市民講座 カビ!? そろそろ気になりますね, 千葉, 5月14日, 2006.

特許

- 1) 五ノ井 透, 三上 襄, 岡 千寿, 前田 浩, 磯貝 健次, 岡村 浩
特許出願: 平成 18年 5月 8日出願, 出願番号: 特願 2006-117137 (出願者: 千葉大学, 千葉県産業技術支援研究所, 東洋鋼板 (株)).
ポリヌクレオチド試料の分析において感度を向上させる方法.
- 2) 五ノ井 透, 三上 襄, 岡 千寿, 前田 浩, 磯貝 健次, 岡村 浩
特許出願: 平成 18年 5月 8日出願, 出願番号: 特願 2006-120641 (出願者: 千葉大学, 千葉県産業技術支援研究所, 東洋鋼板 (株))
プローブポリヌクレオチド固定化担体の再生方法.

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 矢口貴志 (代表) 田中玲子 (分担): 科学研究費補助金 基盤研究 B 18405005 海外学術調査 中央アジアにおける真菌症原因菌および関連菌の生態研究, 平成 18 ~ 21 年度 (平成 18 年度は 455 万円).
- 2) 田中玲子 (代表), 矢口貴志 (分担): 科学研究費補助金 基盤研究 C 18510201 病原真菌の系統分類学および生態学的研究, 平成 18 ~ 20 年度 (平成 18 年度は 150 万円).
- 3) 五ノ井 透 (分担): 科学研究費補助金 基盤研究 C 心的ストレスによる生体防御能の低下: 脂質摂取による改善効果とその分子機構の解明, 代表者: 大荒田素子 (千葉大学) 平成 18 ~ 19 年 (平成 18 年度は 230 万円).

その他の外部資金

- 1) 矢口貴志 (分担): 環境省廃棄物処理等科学研究費

補助金: 焼却灰中のダイオキシン類を対象とした微生物分解技術の開発に関する研究, 平成 16 ~ 18 年度 (平成 18 年度は 100 万円).

- 2) 矢口貴志, 田中玲子 (分担): 科学技術振興調整費 アジア科学技術協力推進戦略・地域共通課題解決型国際共同研究: 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成, 平成 18 ~ 20 年度 (平成 18 年度は 120 万円).

センター長裁量経費

- 1) 矢口貴志 (代表), 田中玲子, 松澤哲宏, 伊藤純子: 「病原真菌とその関連菌の収集および分子系統的, 形態学的知見による多相分類」, 平成 18 年度 30 万円.
- 2) 五ノ井 透 (代表), 田中玲子, 矢口貴志, 渡辺 哲, 亀井克彦: 「アスペルギルス症迅速診断のための遺伝子検出法の開発」, 平成 18 年度 60 万円.

病原真菌研究部門 真菌資源開発分野

(Department of Pathogenic Fungi, Division of Fungal Resources and Development)

教授: 福島和貴

○学内委員 目標・策定委員会委員, 学内評価委員会専門部会委員 (研究活動等), 海洋バイオシステム研究センター連絡協議会委員, 有害廃棄物処理施設運営委員会委員, 有害廃棄物処理施設内運用委員会委員, 光熱水料削減プロジェクト部局リーダー, 亥鼻地区施設整備委員会亥鼻地区専門部会委員, 医学薬学府・薬学研究院総合研究棟建設検討委員会委員, 大学院医学研究科 (医学系) 委員会委員, 大学院自然科学研究科教授会委員, 病原真菌研究部門の危害防止主任者, インキュベーション施設に関するワーキンググループ会議委員

○センター内委員 運営協議会委員, 教員会議委員, 共同備品管理委員会委員長, 将来計画委員会委員, 総務委員会委員, 倫理審査委員会委員, 自己点検・評価委員会委員, 光熱水料削減プロジェクト部局リーダー

○学協会への貢献 日本医真菌学会評議員, 日本細菌学会評議員, 日本菌学会評議員, 日本医真菌学会評議員選挙管理委員会委員長, 日本医真菌学会規約検討委員会委員

○所属学会 日本医真菌学会, 日本薬学会, 日本細菌学会, 日本菌学会, 日本菌学会関東支部会, 日本化学療法学会, International Society for Human and Animal Mycology

助教授: 横山耕治

○学内委員 総合メディア基盤センター運用専門委員, 亥鼻地区職員駐車場地域利用委員, 部局情報管理者

○学外委員 日本医真菌学会評議員

○センター内委員 総務委員会委員, 共同備品委員会委員, 共同利用委員会委員, 微生物・保存管理施設委員会委員, 広報委員会委員, 放射性同位元素委員会委員長, 自己点検・評価委員会委員, 地域連携委員会委員, 研究推進チーム委員, 将来計画委員会委員, 個人評価WG委員, 光熱水量削減プロジェクトWG委員

○所属学会 日本医真菌学会, 日本細菌学会, 日本菌学会, 日本微生物資源学会, 日本農芸化学会, マイコ

トキシシン研究会, International Society for Human and Animal Mycology

非常勤講師: 高鳥浩介 (国立医薬品食品衛生研究所・部長)

技術補佐員: 神定明日香 (2006. 4 ~)

各務清美 (2006. 9 ~)

外国人研究員: 賀 丹 (2006. 9 ~)

大学院自然科学研究科 博士前期課程: 橋爪藤子 (~2006. 3)

研究概要

1. 病原性黒色真菌ならびに関連菌の分子同定・系統分類に関する研究

Phialophora 属菌の分子同定, 分類, 系統学的研究を行っている. 本属は, 黒色真菌症原因菌として医学上重要な *P. verrucosa* を基準種とし, カラレットを持つフィアライド形成を形態学的特徴とする菌群である. 前記の目的のもと, *P. verrucosa* (*P. americana*) の rDNA 解析を前年来行っているが, 多数の株でコード領域 (SSU, LSU) に group I intron の挿入を認めた. 本年, SSU に続き LSU の group I intro の解析を終えることが出来たことにより, rDNA のコード領域に挿入された group I intron の全貌が明らかとなった. その概要を以下にまとめる. group I intron の挿入は, SSU では 4 カ所 (S 516, S 943, S 1199, および S 1506), LSU では 3 カ所 (L 798, L1923 および L 2563), いずれも特定の部位に認められた. 全供試 *P. verrucosa*, *P. americana* 40 株のうち, 30 株 (75%) にイントロン挿入が認められ, それら挿入株ではすべてにおいて L798 (F) へのイントロン挿入が見られた. イントロン挿入パターンは SSU で 7 種類, LSU で 4 種類, 両サブユニットを通しては 9 種類となった.

各挿入部位のイントロンの塩基配列は種内で高く保存されていた. イントロン挿入パターンと分離地域との関連性の点では, 中国分離株, 南米諸国からの分離株に特

徴ある挿入パターンが見られるなど、挿入パターンと分離地域には相関性が認められる傾向が得られたが、明確な結論に言及するには更なるデータの蓄積が必要と考える。期待した病原性との関連については結論を見出されなかった。

P. verrucosa と *P. americana* の同種、異種説があるが、S1199, L798 に挿入された group I intron (IE) の塩基配列が両菌種で極めて類似することが示されるなど、両菌種を同一菌種とする新たな知見の一つとして提示する。本研究はヒト病原菌、また自然界の腐生菌でもある黒色真菌 *P. verrucosa* を対象に、rDNA 上のイントロンについて行われた最初の研究で、詳細で貴重なデータであり、今後色々な分野で活用されると思われる。イントロンの起源については前生説と後生説がある。そのいずれであるかを説明出来る決定的な証拠は未だ無いが、ここに得られた結果から、rDNA 上のイントロンは必要性の低いものから順次消失の方向にあると推論する。これらイントロンの有無が *P. verrucosa* (*P. americana*) の細胞構造、機能、形態などにどのように関与しているのか非常に興味深い問題である (福島和貴, 滝澤香代子, 橋爪藤子)。

2. 病原性黒色真菌 *P. verrucosa* と *P. americana* の同定および株識別法の開発研究

上記の group I intron の解析結果は両菌種を同種とする説を支持するものと考えた。そこで更に rDNA の Intergenic Spacer (IGS) 全領域の塩基配列解析を行い、Variable Internal Repeat (VIR) 領域の存在、更にそれらが 3 種存在することが明らかとなった。この結果には 2 つの重要な情報が含まれていた。VIR は *P. verrucosa* と *P. americana* で共通することが見出され、両菌種を同種とする新たなデータが追加された。また本領域は *P. verrucosa* (*P. americana*) の株識別に高精度の指標となることが示唆された (福島和貴, 滝澤香代子, 橋爪藤子)。

3. 真菌由来の新規生理活性二次代謝産物に関する研究

真菌に由来する抗真菌作用を有する二次代謝産物の研究を行っており、本年度もいくつかの新規物質を発見し、それら化学構造を明らかにし誌上に 7 編公表した。

9 員環構造を有する新規抗真菌性物質 dihydroveadride については、さらにその作用機序研究の一つとして、ラットミトコンドリアを用いた呼吸鎖への作用を検討した。その結果、天然物では極めて珍しい

Complex IV が作用点となることが明らかとなり、学会で発表した。

Eupenicillium shearii IFM 54447 からは、24 員環マクロライドで、非共役二重結合、コリンリンエステル結合を有する天然物では希有な新規抗真菌性化合物 eushearide を発見し、その化学構造を NMR, MS 等のスペクトル解析により明らかにした。Eushearide は *Candida albicans* 等の酵母類に対しても有効であるが、更に *Aspergillus fumigatus*, *Arthroderma benhamiae* など多くの糸状菌に対し、強い抗真菌活性を示した。ラットミトコンドリアでの作用を検討したところ、膜の膨潤化を惹起することが明らかとなった。

Penicillium citrinum IFM53298 からは 4 種の新規の citrinin 誘導体、penicitrinol A, penicitrinone A, B および decarboxydihydrocitrinin が得られ、それらの化学構造を明らかにし、公表した。

ブラジルの土壌から分離された *A. fumigatus* IFM 54246 からは天然からは最初の分離例となった 2, 4-dihydroxy-3-methylacetophenone が得られ、本化合物には *C. albicans* 等の病原性酵母類, *A. fumigatus* などの糸状菌に対し、発育阻害作用が認められ、誌上に公表した。*Neosartorya fischeri* からは新規代謝産物 isoterrein が単離され、その構造を誌上に公表した。

最強度病原真菌 *Coccidioides immitis* と形態学的に類似する *Malbranchea* 属菌の第二次代謝産物について研究を進めた。*M. filamentosa* IFM 41300 から新規配糖体 anthrasteroida glycoside を単離し、その構造を明らかにした。また、*M. multicolor* IFM 41297 からは、5 位 alkyl 置換 resorsinol 誘導体を単離し、その構造を明らかにした。

Eupenicillium javanicum IFM 54704 からは新規抗真菌化合物で乳酸 1 分子とアミノ酸 9 分子からなる環状ペプチドが発見され、その構造ならびに抗真菌活性を明らかにした (福島和貴, 滝澤香代子, 矢口貴志, 河合賢一, 細江智夫, 板橋武史, 野沢幸平, Campos-Takaki GM, Okada K, Vidotto V, 河合 清)。

4. 異なる国で AIDS 患者から分離された *Cryptococcus neoformans* の細胞外酵素活性に関する研究

ブラジル, イタリア, スペイン, タイ, トルコの AIDS 患者から分離された *Cryptococcus neoformans* を対象に、細胞外に分泌される酵素活性について、API-ZYM kit を用いて解析を行った。その結果、esterase (C4),

esterase lipase (C8), leucine amylase, acid phosphatase が 95% 以上の菌株に共通して高い活性が認められた. α -glucosidase, β -glucosidase も共通的に強い活性が認められ, これら酵素の活性は同定, 疫学研究, また serotype 等の決定に有用なファクターとなる可能性を示唆する結果が得られた (福島和貴, Valerio Vidotto).

5. 整形外科患者の膿分泌物からの黒色真菌の同定

上記検体から黒色真菌が分離され, 形態, 生理生化学的性状ならびに分子生物学的検討を行い, 本菌が *Pleurostomophora richardsiae* (*Phialophora richardsiae*) と同定された (福島和貴, 滝澤香代子).

6. 犬の骨髄液からの *Schizophyllum commune* の同定

上記検体から得られた真菌について, 同定を試み, 菌学的見地からのデータ集積が今少し要求されるが, 特に分子生物学的方法により *Schizophyllum commune* と同定した (福島和貴, 滝澤香代子).

7. 抗真菌作用物質の研究

a) ナノ銀粒子を静電吸着させたコラーゲン水解ペプチドの抗真菌活性

平均 5 - 10 nm のサイズの銀粒子をコラーゲン水解ペプチドに静電吸着させて得られた新たな検体について, 抗真菌活性を検討した. その結果, 供試したすべての酵母, 糸状菌に対し, amphotericin B とほぼ同等の強い抗真菌活性を有することが明らかになった. 広い応用面が期待される (福島和貴, 田口英昭, 滝澤香代子, 矢口貴志, 田中玲子).

b) 緑茶のポリフェノール性化合物 Epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) の抗真菌活性

EGCg について, *Candida albicans* を含む臨床由来の病原性 *Candida* 属 7 種を対象に, 市販の amphotericin B, micafungin など市販 6 種抗真菌剤とともに抗真菌活性として MIC を求めた. その結果, EGCg の抗真菌活性はこれら抗真菌剤に比べ, 若干劣るものの強い活性がみとめられ, 誌上に公表した (Park B, Park J, 田口英昭, 福島和貴, Hyon S, 高鳥浩介).

8. その他の研究成果

ブラジルの例で, HIV 感染児童の家族から分離された *Candida dubliniensis* の薬剤感受性, 抗真菌剤

fluconazole の滞留性, ergosterol レベルなどの性状を, リファレンス株を対象に検討し, 分離株の性状を明らかできたので公表した. 中国で分離された *Cryptococcus neoformans* 20 株について, カプセル形成能, RAPD による多型解析, urease 活性など 9 項目の生物学的性状を詳細に検討した結果について誌上に公表した.

9. 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成

文部科学省・振興調整費-アジア科学技術協力の戦略的推進・地域共通課題解決型国際共同研究-プロジェクトにおいて, 「研究課題: 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成」で, これまでの実績と取り組みが評価され, 研究調査が進められることになった. 今年は, 長春-吉林大学, 北京-北京大学, 広州-中山大学, 貴陽-貴陽医学院を訪問し, 今後の共同研究の進め方を話し合い, 共同研究の同意書を作成した. 各地域を訪問し, 土壌の採取を行い吉林大学で真菌の分離作業を行う予定にしている. 今後は, 各拠点での真菌症の実態調査および中国西部における真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成として, 新疆医科大学 惠 艶教授, Paride Abliz 助教授と共同研究の打ち合わせを行い, ウイグル自治区の真菌症の実態調査, 真菌生態調査を行う (横山耕治, 王 麗, 賀 丹, 各務清美).

10. 中国東北部における真菌感染症調査および拠点形成

日中医学協会奨学寄付金 (2006 年単年度) を獲得でき, 中国吉林省長春 吉林大学白求恩基礎医学院を訪問し, 真菌症の調査を行った. 東北部黒竜江省, 吉林省の土壌採取を行ったので土壌からの真菌の分離を吉林大学との共同研究で行っている (横山耕治, 王 麗, 賀丹, 各務清美).

11. チトクローム *b* 遺伝子解析に基づく真菌の進化系統解析

既に解析の済んでいる病原真菌と関連菌のチトクローム *b* 遺伝子からアミノ酸配列を推定し, 真核生物のチトクローム *b* のアミノ酸配列と比較し, 化石年代, 地質年代とを考慮して, 各真菌の進化系統を推定している. 化石年代から推定する場合に, 現存種の古代化石なのか絶滅種の化石なのかの判定は困難であるが, 誤差を考慮して推定している. 成長様式, 繁殖様式など生物種固有の様式を進化と関連して考慮すべきであることが考えられ

た (横山耕治, 王 麗, Biswas KS).

12. チトクローム *b* 遺伝子に基づく病原真菌の同定・系統解析および真菌症の迅速診断

チトクローム *b* 遺伝子の解析は、継続し行われている研究テーマで、すでに病原性の *Aspergillus* 属菌, *Candida* 属菌, *Cryptococcus* 属菌, *Rhodotorula* 属菌, *Exophiala* 属菌, *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, *Cry. gattii*, *Trichosporon* 属菌については、8年間で15報の論文を発表している。真菌症原因菌の迅速診断のためのプライマーセットなどの特許を千葉大学から申請し、迅速診断に係わる申請数は、5件となった。今年、希に真菌症を起こす *Aureobasidium*, *Geotrichum*, *Graphium*, *Beauveria* 菌群の解析を進めている。これらの菌群には既存のPCRプライマーでは増幅できない菌種や菌株を含むためプライマーの設計を行っている。解析できた菌において、子囊菌系のこれらの菌種が担子菌系に属する菌株を含んでおり、同定の間違いも示唆された。これらの菌群が同定しにくい菌群であることが明らかになった。輸入真菌症の原因菌を中心に、既存PCRプライマーの評価と新たにプライマーの設計を検討している。DNAマイクロアレーによる迅速同定化に関する検討も続けている。(横山耕治, 王 麗, Biswas KS, 賀 丹, 各務清美)

13. 病原性発現遺伝子, 形態形成関連遺伝子の解析

Candida albicans の二形性に関する研究を続けており、本菌の遺伝子をスライドガラスにプリントしてマイクロアレーの作成を試みている。DNAマイクロアレーは、遺伝子発現を調べるために有効な手法であるが、遺伝子の発現制御やリン酸化などによるシグナル伝達などの変化は解析しにくい。このため放射性同位元素を用いた解析を含めて今後検討する予定である。(横山耕治, 各務清美)

14. 真菌資源の長期安定保存法の開発

菌糸形細胞は、酵母形や分生子と異なり乾燥保存には耐えにくく、保存中に死滅する場合が多い。特に分生子を作らない株や作りにくい種においては、従来のL-乾燥保存には耐えられない。そこで、乾燥前の処理に工夫を凝らし、分散媒や乾燥保護剤を検討してL-乾燥で保存できる方法を開発中で、このテーマで(財)発酵研究所から研究助成を受けている。自作のコルクボーラー

を用いて、培地ごとL-乾燥させる方法を用いて、従来のL-乾燥法では保存できない菌株が保存可能となった。しかし、一部の株にはこの保存法が適用できなかったのので、更に検討する必要もある。(横山耕治, 伊藤純子)

研究成果の発表

1. 著書

- 1) Fukushima K (分担): Ultrastructural and cytochemical aspects of spores germination of *muco javanicus* Wehmer. In Modern Multidisciplinary Applied Microbiology, Wiley-VCH, pp.466-470, 2006.
- 2) 横山耕治 (分担): 深在性真菌症原因真菌の最新分類は?. p.28-30. 深在性真菌症 Q&A. 編者: 河野茂, 医薬ジャーナル社. 2006.

2. 原著

英文

- 1) Melo NR, Taguchi H, Culhari VVP, Sano A, Fukushima K, Miyaji M, Manning N, Kelly SL Vilela MMS: *Candida dubliniensis* in a Brazilian family with an HIV 1-infected child: Identification, antifungal susceptibility, drug accumulation and sterol composition. Brazil J Microbiol 37: 237-243, 2006. (査読有)
- 2) Komai S, Hosoe T, Itabashi T, Nozawa K, Yaguchi T, Fukushima K, Kawai K: New penicillide derivatives isolated from *Penicillium simplicissimum*. J Nat Med 60: 185-190, 2006. (査読有)
- 3) Melo NR, Vilela MMS, Junior JJ, Kamei K, Miyaji M, Fukushima K, Nishimura K, Groeneveld P, Kelly SL, Taguchi H: HIV-1 anti-retroviral drug effect on the *C. albicans* hyphal growth rates by a Bio-cell tracer system. Brazil J Microbiol 37: 225-229, 2006. (査読有)
- 4) Vidotto V, Ito-kuwa S, Nakamura K, Aoki S, Melhem M, Fukushima K, Bollo E: Extracellular enzymatic activities in *Cryptococcus neoformans* strains isolated from AIDS patients in different countries. Rev Iberoam Micol 23: 216-220, 2006. (査読有)
- 5) Park B, Park J, Taguchi H, Fukushima K, Hyon S, Takatori K: Antifungal susceptibility of epigallocatechin-3-Ogallate (EGCg) on clinical isolates of pathogenic yeasts. Biochem Biophys Res Commun 347: 401-405,

2006. (査読有)
- 6) Hosoe T, Fukushima K, Takizawa K, Itabashi T, Kawahara N, Vidotto V, Kawai K: A new antifungal macrolide, eushearilide, isolated from *Eupenicillium shearii*. J Antibiot 59: 597-600, 2006. (査読有)
 - 7) Nakadate S, Nozawa K, Horie H, Fujii Y, Nagai M, Komai S, Hosoe T, Kawai K, Yaguchi T, Fukushima K: New dioxomorpholine derivatives, javanicunine A and B, from *Eupenicillium javanicum*. Heterocycles 68: 1969-1972, 2006. (査読有)
 - 8) Wakana D, Hosoe T, Itabashi T, Okada K, Campos-Takaki GM, Yaguchi T, Fukushima K, Kawai K: New citrinin derivatives isolated from *Penicillium citrinum*. J Nat Med 60: 279-284, 2006. (査読有)
 - 9) Hosoe T, Fukushima K, Takizawa K, Itabashi T, Yoza K, Kawai K: A new pyrrolidone-2, 4-dione derivative, vermelhotin, isolated from unidentified fungus IFM 52642. Heterocycles 68: 1949-1953, 2006. (査読有)
 - 10) Xi L, Lu C, Fukushima K, Takizawa K, Nishimura K, Xie S: Evaluation on biological aspects of twenty clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. Chin J Zoonoses 22: 946-948, 2006. (査読有)
 - 11) Zeng J, Fukushima K, Zheng Y, Takizawa K, Nishimura K: Characterization of *Pseudallescheria boydii* and *Scedosporium apiospermum* by random amplification of polymorphic DNA assay. Chin J Dermatol 38: 485-487, 2005. (査読有)
 - 12) Wakana D, Hosoe T, Itabashi T, Nozawa K, Okada K, Campos-Takaki GM, Yaguchi T, Fukushima K, Kawai K: Isolation of isoterrein from *Neosartorya fischeri*. Mycotoxin 56: 3-6, 2006. (査読有)
 - 13) Hosoe T, Wakana D, Itabashi T, Nozawa K, Campos-Takaki GM, Takizawa K, Yaguchi T, Fukushima K, Kawai K: Antifungal substances isolated from *Aspergillus fumigatus* IFM 54246, obtained from a Brazilian soil. Mycotoxin 56: 7-10, 2006. (査読有)
 - 14) Yang Y, He D, Xu J, Zhahg Y, Zhang B, Yokoyama K, Wang L: Determination and clinical research of respiratory fungal infection in senile patients. Chin J Gerontol 26: 930-932. 2006.
 - 15) Yang Y, He D, Wang S, Guo L, Zhang Y, Yokoyama K, Wang L: Optimization of SSR-PCR reaction system in fungus by orthogonal design. J Jilin Univ (Medical Edition) 32: No6 Nov, 2006.
- ### 3. 総説・解説・その他
- 1) 横山 耕治: カビの分子系統的分類について. Mycotoxins 56: 71-76. 2006.
 - 2) 横山 耕治: カビの骨. 目で見るバイオーバイオインダストリー. 64 No.2 2006.
 - 3) 三上 襄, 福島和貴, 山口正視: 日経 BP ムック「変革する大学」シリーズ, 千葉大学 (2007-2008 年版), pp.24-26, 2006.
- ### 4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演
- #### 国際学会
- ##### 特別講演 (招待)
- 1) Fukushima K: Contribution of molecular biology to environmental microbiology. I Workshop "Meio ambiente, ciencias e tecnologia: de Mao dadas para o futuro". Recife, Brazil, August 15-18, 2006.
 - 2) Yokoyama K: Phylogenetic analysis of pathogenic fungi based on mitochondrial cytochrome *b* gene. 9th International Symposium of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Abstracts, p.18-19, Chiba, December 15, 2006.
- ### 5. 一般発表
- #### 国際学会
- 1) Park BJ, Jong-Chul Park, Taguchi H, Fukushima K, Hyon S and Takatori K: Antifungal activity of epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) on *Candida* species for biomedical materials and devices. 7th Asian symposium on Biomedical Materials, Jeju Island, Korea, August 20-23, 2006.
 - 2) Moretti A, Fukushima K, Takizawa K, Suzuki M, Vidotto V, Cannizo F, Boncio L: First report of *Debaryomyces nepalensis* isolated in dog. 16th Congress of the International Society of Human and Animal Mycology. Abstract p-0025, Paris, France, June 25-29, 2006.
 - 3) Fukushima K, Takizawa K, Abliz P, Souza Motta C, Xi L, Vidotto V: Epidemiological study of *Trichophyton tonsurans*, a causative agent of tinea capitis, based on

the variable internal repeat region within the intergenic spacer of rDNA locus. 16th Congress of the International Society of Human and Animal Mycology. Abstract p-0438, Paris, France, June 25-29, 2006.

- 4) Chikamori M, and Fukushima K: Molecular cloning and structural and functional characterization of new hexose transporter from *Cryptococcus neoformans*. 16th Congress of the International Society of Human and Animal Mycology. Abstract p-0639, Paris, France, June 25-29, 2006.
- 5) Fukushima K, Takizawa K, Hashizume T: Characteristic variable internal repeat region in the rDNA IGS of dematiaceous fungi, *Phialophora verrucosa* and *Phialophora americana*. 16th Congress of the International Society of Human and Animal Mycology. Abstract p-0747, Paris, France, June 25-29, 2006.
- 6) Zeng J, Fukushima K, Takizawa K, Zheng Y, Nishimura K, De Hoog G: Molecular identification and subspecific typing of *Pseudoallescheria boydii*. 16th Congress of the International Society of Human and Animal Mycology. Abstract p-0756, Paris, France, June 25-29, 2006.

国内学会

シンポジウム

- 1) 福島和貴: 病原真菌・放線菌研究におけるアジアでの研究拠点形成
千葉大学アジア総合工学機構発足記念シンポジウムーアジアとの共生を目指してー. 千葉大学工学部, 2006年9月27日, 2006
- 2) 横山耕治: 第59回学術講演会. マイコトキシン研究会. カビの分子系統的分類について. 筑波, 2006.

一般講演

- 1) 若菜大悟, 細江智夫, 板橋武史, 河合賢一, 矢口貴志, 福島和貴: *Malbranchea filamentosa* から得られるトリテルペン配糖体. 日本生薬学会第53回年会, 講演要旨集 p.153, 埼玉, 9月29日~30日, 2006.
- 2) 細江智夫, 福島和貴, Vidotto Valerio, 板橋武史, 滝澤香代子, 川原信夫, 河合賢一: *Eupenicillium shearii* から分離した新規抗真菌化合物 eushearilide の構造. 第125回日本薬学会, 講演要旨集 p.47, 仙台, 3月28日~3月30日, 2006.

- 3) 河合賢一, 細江智夫, 福島和貴, 滝澤香代子, 板橋武史, 与座健治: 未同定真菌 IFM 52672 株から分離した新規赤色素の構造. 第125回日本薬学会, 講演要旨集 p.86, 仙台, 3月28日~3月30日, 2006.
- 4) 中楯 奨, 野沢幸平, 堀江 均, 藤井祐一, 永井正博, 駒井信一郎, 細江智夫, 河合賢一, 矢口貴志, 福島和貴: *Eupenicillium javanicum* の生産する抗真菌活性物質の研究. 第125回日本薬学会, 講演要旨集 p.100, 仙台, 3月28日~3月30日, 2006.
- 5) 福島和貴, 橋爪藤子, 滝澤香代子: ヒト病原性黒色真菌 *Phialophora verrucosa* と *Phialophora americana* の rDNA IGS 領域の塩基配列解析からの分類学的研究. 日本菌学会 50 周年記念大会, 要旨集 p.45, 千葉, 6月3日~6月4日, 2006.
- 6) 橋爪藤子, 滝澤香代子, 福島和貴: 病原性黒色真菌 *Phialophora verrucosa* の rDNA 内の group I intron について. 日本菌学会 50 周年記念大会 要旨集 p.48, 千葉, 6月3日~6月4日, 2006.
- 7) 滝澤香代子, 福島和貴, Abliz Paride, Motta Cristina S, Xi Liyan, 高橋容子, Vidotto Valerio, 佐野文子, 亀井克彦, 西村和子: *Trichophyton tonsurans* 皮膚糸状菌症の rDNA IGS 領域の variable internal repeat region に基づく分子疫学研究. 日本菌学会 50 周年記念大会 要旨集 p.69, 千葉, 6月3日~6月4日, 2006.
- 8) 滝澤香代子, 福島和貴: 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* と *Phialophora americana* の rDNA イントロンに関する研究. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 56, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 9) 福島和貴, 滝澤香代子: 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* と *Phialophora americana* の rDNA IGS 領域による分類学および株識別に関する研究. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 56, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 10) 福島和貴, 笠原宏之, 滝澤香代子, 細江智夫, 河合 清, 河合賢一: 真菌由来の新規骨格を有する新抗真菌物質 eushearilide について. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 80, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 11) Park B, Park J, Taguchi H, Fukushima K, Hyon S, Takatori K: Antifungal activity of epigallocatechin 3-

- O-gallate (EGCg) against *Candida albicans* and non-*albicans Candida* spp. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 80, 東京, 10月21～22日, 2006.
- 12) 横山耕治, 王麗, Biswas SK: チトクローム *b* 遺伝子に基づく病原真菌の系統進化 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 56, 東京, 10月21～22日, 2006.
- 13) Wang L, Yang Y, He D, Guo L, Zhang Y, Zhang B, Yokoyama K: 真菌の SSR-PCR 条件の適正化に関する研究. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 58, 東京, 10月21～22日, 2006.
- 14) 三上 襄, 福島和貴: ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」パネル展示, 日本遺伝学会第78回大会, つくば市つくば国際会議場, 9月25日～27日, 2006.
- 15) 田口英昭, 亀井克彦, 渡辺 哲, 佐藤綾香, 豊留孝仁, 福島和貴: BioCell Tracer を用いた PAFE による血清中 Miconazole と Itraconazole の *Aspergillus fumigatus* に対する併用効果の基礎的研究. 第7回真菌症フォーラム, 要旨集 p.31, 東京, 2月18日, 2006.
- Okada 助教授 (ブラジル, ペルナンブコカソリック大学).
- 7) 福島和貴: 中国西部における真菌症の疫学研究, Paride Abliz 助教授 (中国, 新疆医科大学).
- 8) 福島和貴: スペインにおける病原酵母 *Cryptococcus neoformans* の疫学的研究, Maria Francisca Colom Valiente 助教授 (スペイン Miguel Hernandez 大学).
- 9) 福島和貴: *Pseudallescheria boydii* complex の多様性解析, 曾 敬思 講師 (中国 武漢医科大学).
- 10) 横山耕治: チトクローム *b* 遺伝子に基づく菌類の同定と系統解析. 王麗 教授 (中国 吉林大学).
- 11) 横山耕治: チトクローム *b* 遺伝子に基づく酵母類の同定と系統解析. Biswas SK 博士 (アメリカ合衆国 ペンシルバニア医科大学).
- 12) 横山耕治: 中国東北部における真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成 王麗 教授 (中国 吉林大学).
- 13) 横山耕治: 中国東中部における真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成 李若瑜 教授 (中国 北京大学).
- 14) 横山耕治: 中国東南部における真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成, 席麗艷 教授 (中国 広州 中山大学).
- 15) 横山耕治: 中国南西部における真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成, 王和 教授 (中国 貴陽医科大学).
- 16) 横山耕治: 中国西部における真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成, 惠 艷 教授, Paride Abliz 助教授 (中国 新疆医科大学).
- 2 共同利用研究以外の国内共同研究**
- 1) 真菌資源開発における学内共同研究
石橋正己: 薬学研究院・活性構造化学研究室 教授
石川 勉: 薬学研究院・薬品製造学研究室 教授
田村 裕: 医学研究院・生命情報科学 特任助教授

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 福島和貴: AIDS と真菌症に関する研究, Valerio Vidotto 教授 (イタリア, トリノ大学).
- 2) 福島和貴: 中国南西地域における真菌症の疫学研究, 席麗艷 教授 (中国, 中山大学附属第二医院).
- 3) 福島和貴: 接合菌の生化学, 酵素学的研究, Galba Maria de Campos-Takaki 教授 (ブラジル, ペルナンブコカソリック大学).
- 4) 福島和貴: 病原真菌の系統保存と疫学研究, Cristina Souza Motta 助教授 (ブラジル連邦立ペルナンブコ大学).
- 5) 福島和貴: Comparative genomics in search of origins of human pathogenicity in the fungal tree of life focusing on species with high morbidity and mortality in Chinese patients, G. S. de Hoog 教授 (オランダ, CBS).
- 6) 福島和貴: ブラジルにおける土壌中のカビ毒産生菌とヒトの病原真菌の生態, 分布と種多様性, Kaoru

国際交流

1. 海外渡航

- 1) 福島和貴: パリ, フランス, 第16回国際人獣真菌症会議で研究発表のため出席, 6月25日～29日, 2006 (奨学寄付金).

- 2) 福島和貴: 中国, 中山大学医学部第2附属病院, 「真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成」のための情報交換, 10月1日～4日, 2006 (科学技術振興調整費).
- 3) 福島和貴: ブラジル, ワークショップ 「Meio Ambiente, Ciencias e Tecnologia」での特別講演, 8月10日～26日, 2006 (招待).
- 4) 横山耕治: 中国東北部における真菌感染症調査および拠点形成 (日中医学協会奨学寄付金) 中国吉林省長春 吉林大学白求恩基礎医学院, 6月25日～7月1日, 2006.
- 5) 横山耕治: 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成 (文部科学省振興調整費) 中国吉林省長春 吉林大学白求恩基礎医学院, 北京大学第一医院, 8月20日～24日, 2006.
- 6) 横山耕治: 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成 (文部科学省振興調整費) 中国吉林省長春 吉林大学白求恩基礎医学院, 広州市中山大学第二医院, 貴陽市貴陽医学院, 11月5日～12日, 2006.

2. 海外研究者の受け入れ

福島和貴

- 1) Yvone Graeser 助教授 (ドイツ, フンボルト大学), 12月13日～16日, 2006. 第9回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウムのシンポジスト, 招待.
- 2) Randolph S Currah 教授 (カナダ, アルバータ大学), 12月13日～17日, 2006. 第9回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウムのシンポジスト, 招待.
- 3) Josep Guarro 教授 (スペイン, ロビラ・ベルギリ大学), 12月13日～17日, 2006. 第9回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウムのシンポジスト, 招待.
- 4) 席 麗艶 教授 (中国, 中山大学医学部第2附属病院), 12月13日～19日, 2006. 第9回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウムのシンポジスト, 招待.
- 5) Robert A Samson 教授 (オランダ, CBS), 12月13日～16日, 2006. 第9回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウムのシンポジスト, 招待.
- 6) Galba Maria de Campos-Takaki 教授 (ブラジル, ペ

ルナンブコカソリック大学), 12月11日～21日, 2006. 第9回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウムのシンポジスト, 招待.

横山耕治

- 1) 賀 丹 助手 (中国吉林大学), 8月1日～2007年1月31日, (財)発酵研究所助成金による外国人受け入れ, 招聘.
- 2) 王 麗 教授 (中国吉林大学) 10月15日～29日, (財)日中医学協会奨学金による受け入れ, 招聘.

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 福島和貴: 第50回日本医真菌学会総会ポスター賞選考委員.
- 2) 福島和貴: 日本菌学会各賞選考委員会委員.
- 3) 福島和貴: 日本菌学会50周年記念大会実行委員長・特別講演座長.
- 4) 福島和貴: 日本菌学会創立50周年記念事業委員会委員.
- 5) 福島和貴: 第9回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウム運営委員会委員長・実行委員会委員長.
- 6) 福島和貴: 日本微生物資源学会第13回大会, シンポジウム「病原リソースを探る」コンビナー, 座長.
- 7) 横山耕治: 日本菌学会50周年記念大会実行委員.
- 8) 横山耕治: 第9回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウム運営委員会事務局・実行委員会委員.

教育活動

学位指導

大学院自然科学研究科 博士前期課程: 橋爪藤子.

講義

- 1) 福島和貴: 千葉大学普遍教育「生命科学」, 医学部4年次医学生命科学特論・研究, 大学院自然科学「真菌系統論」, 大学院医学研究科修士課程.
- 2) 横山耕治: 医学部4年次医学生命科学特論・研究, 千葉大学普遍教育「生命科学」.

インターンシップ生 (実習生) の受け入れ

日本大学生産工学部応用化学科の3年生1名を実習生

として平成18年8月1日から9月15日まで受け入れた(福島, 田口).

外部資金

その他の外部資金

- 1) 福島和貴(分担): 三上 襄(代表)「ナショナルバイオリソースプロジェクト-病原微生物」.
- 2) 福島和貴(分担): 三上 襄(代表) 科学技術振興調整費「真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成」.
- 3) 福島和貴, 滝澤香代子: 三協製薬株式会社との間に, アイソトニックゼリーへの添加物の抗菌活性について検討, 25万円.
- 4) 福島和貴, 滝澤香代子: 日本工業技術研究所との共同研究: ナノ銀粒子担持体の抗真菌活性について, 25万円.

- 5) 福島和貴: 学長裁量経費「国際集会開催経費」, 70万円.
- 6) 横山耕治(代表): (財)発酵研究所: 菌糸形菌体の長期保存法の開発および保存株の品質評価, 平成18年度 300万円.
- 7) 横山耕治(代表): (財)日中医学協会: 中国東北部における真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成 平成18年度 80万円.
- 8) 横山耕治(分担): 文部科学省振興調整費. プログラム名: アジア科学技術協力の戦略的推進地域共通課題解決型国際共同研究. 課題名: 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成.

センター長裁量経費

- 1) 横山耕治(代表) リアルタイムPCRによる真菌症原因菌の迅速同定法の開発. 平成18年度, 60万円.
- 2) 横山耕治(代表) 希な真菌症原因菌および関連菌の標準化, 平成18年度, 30万円.

病原真菌研究部門 生態分野

(Department of Pathogenic Fungi, Division of Ecology)

外国人客員教授: Dr. Vladislav Raclavský

(Palacký University, Czech Republic)

助手: 田口英昭

○学内委員 光熱水量節減プロジェクト部局リーダー, 亥鼻 ISO 実行委員, 亥鼻地区職員駐車場区域利用委員会

○センター内委員 共用備品委員会, 微生物・保存管理施設運営委員会, 有害廃棄物委員会, 同位元素委員会, 防災対策委員会, 図書WG, 光熱水量節減プロジェクトWG

○学協会への貢献 日本医真菌学会評議員

○国および地方公共団体への貢献 千葉市環境影響評価委員

○所属学会 日本医真菌学会, 日本感染症学会, 日本内分泌攪乱化学物質学会, 日本サイトメトリー学会

技術専門官: 滝澤香代子

非常勤講師: 久米 光 (北里大学医学部・講師)



Kawamoto. In the latter field he has recently proposed a new approach to rapid and accurate identification of pathogenic yeasts termed McRAPD.

2. *Aspergillus fumigatus* の菌糸成長速度を指標とした各種抗真菌剤による治療効果の研究

トリアゾール系抗真菌薬である voriconazole (VRCZ) の血清中での抗真菌活性を評価するため, ヒト血清中で *Aspergillus fumigatus* を培養し, その菌糸に対する VRCZ の成長抑制効果を菌糸成長速度を指標として検討した. 侵襲性肺アスペルギルス症患者からの分離株を PDA slant で 35℃, 72 時間培養後, 分生子を集めた. ヒト血清は健康成人より採取した血液より分離し, 56℃, 30 分熱処理して用いた. 被験菌の MIC は酵母様真菌 DP “栄研” を用い, 菌接種後 48 時間で測定した. MIC は 0.25 ~ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ であったため, 血清に添加する VRCZ 濃度は 0.5, 0.25, 0.125 および 0.06 $\mu\text{g/ml}$ として検討した. 次に, VRCZ と micafungin (MCFG) の併用効果について検討した. 薬剤濃度は VRCZ 0.125 $\mu\text{g/ml}$ と MCFG 5.23 $\mu\text{g/ml}$ (50mg を単回投与した場合の血漿中 C_{max}) として 2 剤を同時に添加し各々単剤時の PAFE と比較した. その結果, 今回用いた VRCZ の薬剤濃度において濃度依存性が確認された. また, VRCZ と MCFG の併用効果の可能性を示唆するものであった (田口, 亀井, 渡辺, 豊留, 福島).

研究概要

1. Molecular-genetic approaches to pathogenic fungi detection, identification and typing for ecological and epidemiological studies

Vladislav Raclavský, MD, PhD belongs to the mycology research group at the Dept. of Microbiology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University in Olomouc, Czech Republic. His research activities have been recently focused on two principal issues—hypoxia response in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*, which is rather a topic of basic research, and study of epidemiology of fungal infections including development of molecular genetic approaches to the detection, identification and typing of pathogenic fungi, in particular yeasts. In the former field he has been involved thanks to the kind invitation of Prof. Kanji Takeo to his laboratory in the year 2000, and he closely cooperates with the same laboratory now led by Prof. Susumu

3. Green tea polyphenols の抗真菌効果の研究

緑茶から抽出された epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) の抗真菌活性を検討するために *Candida albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. guilliemondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* の7菌種21株を用いて上市されている抗真菌薬, AMPH, FLCZ, 5FC, ITCZ, MCFG, およびMCZ との比較検討を行った。供試した菌種中では, *C. glabrata* (MIC90, 1-2 µg/ml) が最も感受性を示し, AMPH (MIC90, 0.25 - 0.5 µg/ml), ITCZ (MIC90, 0.5 - 1 µg/ml) と抗菌活性を確認した。しかし, *C. guilliemondii* (MIC90, 2-4 µg/ml), *C. krusei* (MIC90, 4-8 µg/ml), *C. parapsilosis* (MIC90, 2-16 µg/ml), *C. tropicalis* (MIC90, ≥ 16 µg/ml) は *C. glabrata* と比較して EGCg に対する感受性は低かった。また, *Aspergillus fumigatus* についても検討したが低感受性を示した。EGCg は光で分解するために今後, 光に安定なカテキン誘導体を作成して抗真菌活性を検討する予定である (高鳥, 朴, 田口, 福島)。

4. 真菌資源開発分野の研究概要に記載されている 1, 2, 3, 5, 6, 7-a) の研究課題について, 共同研究を行った (福島和貴, 滝澤香代子)。

研究成果の発表

1. 原著

英文

- 1) Raclavský V, Trtková J, Rusková L, Buchta V, Bolehovská R, Vacková M, Hamal P: Primer R108 performs best in the RAPD strain typing of three *Aspergillus* species frequently isolated from patients. *Folia Microbiol.* 51: 136 - 140, 2006. (査読有)
- 2) Melo NR, Vilela MMS, Jorge J, Kamei K, Miyaji M, Fukushima K, Nishimura K, Groeneveld P, Kelly SL, Taguchi H: HIV-1 anti-retroviral drug effect on the *C. albicans* hyphal growth rate by a BioCell Tracer system. *Brazil J Microbiol* 37: 225-229, 2006. (査読有)
- 3) Melo NR, Taguchi H, Culhari VVP, Sano A, Fukushima K, Miyaji M, Manning N, Kelly SL, Vilela MMS: *Candida dubliniensis* in a Brazilian family with an HIV-1 infected child: Identification, antifungal susceptibility, drug accumulation and sterol

composition. *Brazil J Microbiol* 37: 237-243, 2006. (査読有)

- 4) Park BJ, Park JC, Taguchi H, Fukushima K, Hyon SH, Takatori K: Antifungal susceptibility of epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) on clinical isolates of pathogenic yeasts. *Biochem Biophys Res Com* 347: 401-405, 2006. (査読有)
- 5) Hosoe T, Fukushima K, Takizawa K, Itabashi T, Kawahara N, Vidotto V, Kawai K: A new antifungal macrolide, eushearilide, isolated from *Eupenicillium, shearii*. *J Antibiot* 59: 597-600, 2006. (査読有)
- 6) Hosoe T, Fukushima K, Takizawa K, Itabashi T, Yoza K, Kawai K: A new pyrrolidone-2,4-dione derivative, vermelhotin, isolated from unidentified fungus IFM 52642. *Heterocycles* 68: 1949-1953, 2006. (査読有)
- 7) Xi. L, Lu C, Fukushima K, Takizawa K, Nishimura K, Xie S: Evaluation on biological aspects of twenty clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. *Chin J Zoonoses* 22: 946-948, 2006. (査読有)
- 8) Zeng J, Fukushima K, Zheng Y, Takizawa K, Nishimura K: Characterization of *Pseudallescheria boydii* and *Scedosporium apiospermum* by random amplification of polymorphic DNA assay. *Chin J Dermatol* 38: 485-487, 2005. (査読有)
- 9) Hosoe T, Wakana D, Itabashi T, Nozawa K, Campos-Takaki GM, Takizawa K, Yaguchi T, Fukushima K, Kawai K: Antifungal substances isolated from *Aspergillus fumigatus* IFM 54246, obtained from a Brazilian soil. *Mycotoxin* 56: 7-10, 2006. (査読有)

2. 総説・解説・その他

- 1) Trtková J, Raclavský V: Molecular-genetic approaches to identification and typing of pathogenic *Candida* yeasts. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacký Olomouc Czech Repub* 150: 51-61, 2006.

3. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

国際学会

- 1) Vladislav Raclavský, Jitka Trtková: McRAPD as a new tool to pathogenic yeast identification and typing. The 9th International Symposium of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses (RC-

PFMT), Chiba Univ. December 22, 2006.

4. 一般発表

国際学会

- 1) Park BJ, Park JC, Taguchi H, Fukushima K, Hyon SH, Takatori K: Antifungal activity of epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) on *Candida* species for biomedical materials and devices. 7th Asian symposium on Biomedical Materials, Jeju Island, Korea, August 20-23, 2006.
- 2) Moretti A, Fukushima K, Takizawa K, Suzuki M, Vidotto V, Cannizo F, Boncio L: First report of *Debaryomyces nepalensis* isolated in dog. 16th Congress of the International Society of Human and Animal Mycology. Abstract p-0025, Paris, France, June 25-29, 2006.
- 3) Fukushima K, Takizawa K, Abliz P, Souza Motta C, Xi L, Vidotto V: Epidemiological study of *Trichophyton tonsurans*, a causative agent of tinea capitis, based on the variable internal repeat region within the intergenic spacer of rDNA locus. 16th Congress of the International Society of Human and Animal Mycology. Abstract p-0438, Paris, France, June 25-29, 2006.
- 4) Fukushima K, Takizawa K, Hashizume T: Characteristic variable internal repeat region in the rDNA IGS of dematiaceous fungi, *Phialophora verrucosa* and *Phialophora americana* 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. Abstract p-0747, Paris, France, June 25-29, 2006.
- 5) Zeng J, Fukushima K, Takizawa K, Zheng Y, Nishimura K, De Hoog G: Molecular identification and subspecific typing of *Pseudoallescheria boydii*. 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. Abstract p-0756, Paris, France, June 25-29, 2006.

国内学会

- 1) 田口英昭, 亀井克彦, 渡辺 哲, 佐藤綾香, 豊留孝仁, 福島和貴: BioCell Tracer を用いた PAFE による血清中 Miconazole と Itraconazole の *Aspergillus fumigatus* に対する併用効果の基礎的研究. 第 7 回真菌症フォーラム. 東京, 2月18日, 2006.
- 2) Park BJ, Park JC, Taguchi H, Fukushima K, Hyon SH, Takatori K: Antifungal activity of epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) against *Candida albicans* and non-*albicans Candida* spp. 第 50 回日本医真菌学会. 真菌誌 47 (増刊 1 号): 東京, 10月21~22日, 2006
- 3) 豊留孝仁, 落合恵理, 渡辺 哲, 田口英昭, 亀井克彦: 新規ヒストプラズマ抗原の探索. 第 50 回日本医真菌学会. 真菌誌 47 (増刊 1 号): 東京, 10月21~22日, 2006.
- 4) 田口英昭, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 亀井克彦: ヒト血清中における *Aspergillus fumigatus* の菌糸成長速度に対する voriconazole の抑制効果 - BioCell Tracer を用いた検討. 第 55 回日本感染症学会東日本地方会総会. 東京, 10月26~27日, 2006.
- 5) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 田口英昭, 亀井克彦: 新たに確立したヒストプラズマ抗原抽出法による抗原タンパク質の探索. 第 55 回日本感染症学会東日本地方会総会. 東京, 10月26~27日, 2006.
- 6) 細江智夫, 福島和貴, Vidotto Valerio, 板橋武史, 滝澤香代子, 川原信夫, 河合賢一: *Eupenicillium shearii* から分離した新規抗真菌化合物 eushearilide の構造. 第 125 回日本薬学会. 講演要旨集 p.47, 仙台, 3月28~30日, 2006.
- 7) 河合賢一, 細江智夫, 福島和貴, 滝澤香代子, 板橋武史, 与座健治: 未同定真菌 IFM 52672 株から分離した新規赤色素の構造. 第 125 回日本薬学会. 講演要旨集 p.86, 仙台, 3月28~30日, 2006.
- 8) 滝澤香代子, 福島和貴: 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* と *Phialophora americana* の rDNA イントロンに関する研究. 第 50 回日本医真菌学会総会. 真菌誌 47 (増刊 1 号): 56, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 9) 橋爪藤子, 滝澤香代子, 福島和貴: 病原性黒色真菌 *Phialophora verrucosa* の rDNA 内の group I intron について. 日本菌学会 50 周年記念大会. 要旨集 p.48, 千葉, 6月3~4日, 2006.
- 10) 滝澤香代子, 福島和貴, Abliz Paride, Motta Cristina S, Xi Liyan, 高橋容子, Vidotto Valerio, 佐野文子, 亀井克彦, 西村和子: *Trichophyton tonsurans* 皮膚糸状菌症の rDNA IGS 領域の variable internal repeat region に基づく分子疫学研究. 日本菌学会 50 周年記念大会. 要旨集 p.69, 千葉, 6月3~4日, 2006.
- 11) 福島和貴, 滝澤香代子: 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* と *Phialophora americana* の rDNA IGS 領域

による分類学および株識別に関する研究. 第 50 回日本医真菌学会総会. 真菌誌 47 (増刊 1 号): 56, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.

- 12) 福島和貴, 笠原宏之, 滝澤香代子, 細江智夫, 河合 清, 河合賢一: 真菌由来の新規骨格を有する新抗真菌物質 eushearilide について. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 80, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.

共同研究

1. 国際共同研究

田口英昭: 環境中化学物質の真菌に対する影響の検討, Park JC 準教授, 韓国, ヨンセイ大学.

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

田口英昭: 日本菌学会 50 周年記念大会実行委員. 千葉市, 6 月 2 ~ 4 日, 2006.

滝澤香代子: 日本菌学会 50 周年記念大会実行委員 千葉市, 6 月 2 ~ 4 日, 2006.

田口英昭: The 9th International Symposium of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba Univ. 実行委員. 千葉市, 12 月 15 日, 2006.

教育活動

講義

田口英昭: 普遍教育 (環境問題 B 分担) 環境保全化学と

環境分析化学.

インターンシップ生 (実習生) の受け入れ

日本大学生産工学部応用化学科の 3 年生 1 名を実習生として平成 18 年 8 月 1 日から 9 月 15 日まで受け入れた (田口, 福島).

その他

- 1) 千葉市・千葉大学共同研究プロジェクト: 千葉市水辺再生プロジェクト. (田口: 分担)

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 滝澤香代子 (代表): 平成 18 年度科学研究費補助金 (奨励研究) 18924012 新興・再興・人畜共通真菌症原因菌の疫学研究のための株識別マーカーの開発研究, 68 万円.

その他の外部資金

- 1) 滝澤香代子 (分担): 福島和貴 (代表) 三協製薬株式会社との間に, アイソトニックゼリーへの添加物の抗菌活性について検討, 30 万円.
2) 滝澤香代子 (分担): 福島和貴 (代表) 日本工業技術研究所との共同研究: ナノ銀粒子担持体の抗真菌活性について, 25 万円.

センター長裁量経費

横山耕治 (研究代表者), 滝澤香代子 (分担): 「希な真菌症原因菌および関連菌の標準化」, 平成 18 年度, 30 万円.

分子機能研究部門 機能形態分野

(Department of Molecular Function, Division of Ultrastructure and Function)

教授: 川本 進

○学内委員 大学院医学研究科(医学系運営)委員会委員, 大学院自然科学研究科教授会委員, 学内評価委員会委員, 分析センター連絡協議会委員, アイソトープ実験施設連絡協議会委員, バイオメディカル研究センター教員会議委員, 組換え DNA 実験安全委員会委員, 組換え DNA 実験安全主任者, 分子機能研究部門危害防止主任者, 機能形態分野作業主任者, 海外協定校コンタクトパーソン(ハンガリー共和国デブレツェン大学)

○センター内委員 運営協議会委員, 教員会議委員, 総務委員会委員, 広報委員会委員長, 地域連携委員会委員長, 倫理審査委員会委員長, 研究推進チームチームリーダー, 自己点検・評価委員会委員, 将来計画委員会委員, 研究部門連絡会委員, 卓上超遠心器機種選定委員

○学協会への貢献 日本細菌学会・本部評議員・関東支部評議員・関東支部活性化推進委員会委員, 日本生化学会評議員, 日本神経化学会評議員, ニューヨーク科学アカデミー会員

○所属学会 日本細菌学会, 日本医真菌学会, 日本菌学会, 日本生化学会, 日本分子生物学会, 日本神経化学会, 日本神経科学学会, 酵母細胞研究会, American Society of Microbiology, American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Society for Neuroscience, New York Academy of Sciences

○その他 横浜市立大学医学部 客員教授, NPO 法人・総合画像研究支援 正会員

助教授: 山口正視

○学内委員 附属図書館運営委員会委員, 附属図書館玄鼻分館・運営委員会委員・展示委員会委員, 真菌医学研究センター教員系過半数代表者, 国立大学法人千葉大学 APEC 公式国際シンポジウム実行委員会委員(～2006. 3)

○センター内委員 教員会議委員, 総務委員会委員, 共用備品委員会委員, 共同利用委員会委員, 広報委員会

委員(年報担当 WG 委員長), 自己点検・評価委員会委員, 地域連携委員会委員, 将来計画委員会委員, 図書 WG 委員長, 光熱水料削減プロジェクト WG 委員, 国際規制物質(酢酸ウラニル)管理者, 個人情報保護担当者(2006. 2～), 次期センター長選挙管理委員会委員長(2006. 12～)

○学協会への貢献 日本顕微鏡学会・技術認定試験委員会委員・微生物研究部会幹事・奨励賞選考委員会委員・本部評議員・関東支部幹事(～2006. 3)・関東支部常任幹事(庶務担当, 2006. 4～)・関東支部評議員, 日本医真菌学会評議員(2006. 10～), 日本メンデル協会評議員, Member of the American Biographical Institute's distinguished Research Board of Advisors, USA

○所属学会 日本顕微鏡学会, 日本医真菌学会, 日本菌学会, 日本植物形態学会

○その他 NPO 法人・総合画像研究支援 正会員・研究協力者, キトロギア会員(2006. 4～)

助手: 伊藤恵美子

○センター内委員 動物実験 WG 委員, 図書委員会委員, 有害廃棄物委員会委員, 放射性同位元素委員会委員

○学協会への貢献 Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 委員

○所属学会 International Society on Toxicology

助手: 清水公徳

○センター内委員 総務委員会委員, 微生物・保存管理施設運営委員会委員, 防災対策委員会委員, 研究推進チーム委員, 個人評価 WG 委員, 光熱水料削減プロジェクト WG 委員

○学協会への貢献 日本菌学会幹事

○所属学会 日本菌学会, 日本医真菌学会, 日本細菌学会, 糸状菌分子生物学研究会, 糸状菌遺伝子研究会, Fungal Genetics Conference

○受賞 1) 代表: 第 4 回感染症若手研究者沖縄フォーラム・ベストプレゼンテーション賞 清水公徳「異な

る接種法による *Cryptococcus neoformans* 感染マウスの病態観察」(2006. 2. 20)

2) 代表: 第 16 回日本菌学会奨励賞 清水公德「真菌の病原性およびマイコトキシン産生に關与するシグナル伝達系に関する分子遺伝学的研究」(2006. 6. 4)

○その他 独立行政法人産業技術総合研究所外来研究員
技官: 大楠美佐子

非常勤講師: 明石 敏 (大正製薬株式会社医薬研究所・
開発薬理研究室次席研究員・グループマネージャー)

非常勤講師: 園田智子 (横浜市立大学医学部)

研究機関研究員: Virtudazo, Eric V. (~ 2006. 3)

特任教員: Virtudazo, Eric V. (2006. 4 ~)

技術補佐員: 大畑(結城) 美穂子

実験補助員: 和田奈緒子

大学院医学薬学府 博士課程: 李 皓曼 (2006. 4 ~)

大学院自然科学研究科 修士課程: 高木大輔

大学院自然科学研究科 修士課程: 清水仁聡

大学院医学薬学府 修士課程: 石井知里

大学院医学薬学府 修士課程: 山口哲朗

東邦大学理学部: 清水 誠 (2006. 4 ~)

大学院医学薬学府 研究生: 李 皓曼 (~ 2006. 3)

大使館推薦国費外国人留学生 (研究留学生): Ochoa de
Eribe Casas, Jon Andre (2006. 4 ~)

研究概要 (共同研究を含む)

1. *Cryptococcus neoformans* のプロテオーム解析

C. neoformans 細胞破碎抽出液を用いて、二次元電気泳動、タンパク質スポットの解析、アミノ酸配列解析、質量分析、データベース解析などプロテオーム解析を進めつつある。*C. neoformans* を用いてプロテオーム解析実験を行うため、まず、細胞破碎法などをはじめ、種々の実験での最適条件を検討し、本菌に適したプロトコルを確立して来た。また、培養条件の異なった酵母プロテオームの変動を探索する目的で、細胞破碎抽出液の二次元電気泳動を行い、発現量の増減の顕著なスポットを検索して、その発現量が大幅に変わるタンパク質を質量分析計 (LC-MS/MS) にて網羅的に同定、解析、考察しつつある。また、酵母プロテオームの変動を探索する目的で、酵母破碎抽出液の、タンパク質発現ダイファレンシャル解析法 (DIGE) を行い、発現量の増減の顕著なスポットの検索、同定、解析を進めている。

2. *Cryptococcus neoformans* の細胞周期制御の分子機構解析

病原性酵母 *C. neoformans* には、特異な細胞周期制御現象が観察されることをこれまでに明らかにし、真核細胞の細胞周期制御機構の中心分子と考えられている、サイクリン依存性キナーゼ Cdk-1 (Cdc28) 遺伝子を、本菌より分子クローニングした。本遺伝子産物のタンパク質の構造生物学的解析などを進めている。更にその機能解析などを進めるとともに、Cdk-1 と相互作用して、細胞周期を制御するサイクリン類などの分子候補の遺伝子クローニングを行い、遺伝子構造、分子機能などについて詳細に解析しつつある。

3. *Cryptococcus neoformans* の薬剤耐性機構の分子解析

抗真菌剤に対する耐性獲得機構については、従来、*Candida albicans* については、その解析が進んでいるが、*C. neoformans* については、ほとんど進んでいない。本センターが国内外から収集、保存している *C. neoformans* 臨床分離株等について、それらの抗真菌剤に対する薬剤感受性を調べ、それらの薬剤耐性獲得の、分子機構解析を目指している。これまでに、病原性酵母 *C. neoformans* の薬剤感受性測定法に関する検討を行って来た。我々は病原性酵母 *C. neoformans* のフルシトシンおよびフルコナゾールに対する薬剤感受性測定法について、培地、接種菌量、培養時間、さらに比較的簡便に実施できる E-test 法の結果も合わせて基礎的な検討を行って来た。また、臨床分離株を用いて、アゾール系抗真菌剤フルコナゾールに対する薬剤耐性獲得の状況をスクリーニングし、フルコナゾール耐性株と感受性株の比較プロテオーム解析を行いつつある。

4. *Cryptococcus neoformans* の細胞周期の細胞学的研究

昨年まで本菌の、標準液体培養条件下における細胞周期の時間的側面を明らかにした。これまでの研究から、紡錘極体は G1 期の初期に複製がおけると推定されたので、本年は、本研究室で開発された同調培養の系を用いて、複製時期の細胞を連続切片法により多数観察した。現在、紡錘極体の電顕像を解析中である。

5. 酵母のストラクチャー解析

細胞の電子顕微鏡レベルのすべての定量的、三次元的情報を、structome と呼ぶことを、本年 9 月に開催され

た第16回国際顕微鏡学会において提唱した。Structomeとは、structureと-omeを組み合わせた造語であり、genome, proteomeと並ぶ重要な概念である。我々はすでに、酵母 *Exophiala* の structome について報告しており、この新しい分野を先導する立場にある。

6. *Schizosaccharomyces japonicus* の菌糸形成変異体に関する研究

ハンガリー共和国、デブレツェン大学の Matthias Sipiczki 教授との共同研究で、本菌の菌糸形成変異体を、凍結置換法により超薄切片を作製し、遺伝子変異と細胞微細構造との関係を解析している。

7. 真菌細菌の菌種間相互作用における超微細構造

明治薬科大学微生物学教室の池田玲子博士との共同研究で、*Cryptococcus neoformans* の感染成立における他菌種の影響に着目し、*Staphylococcus aureus* の共存下での *S. aureus* の *C. neoformans* への付着と *C. neoformans* の死滅誘導について、微細形態学的側面から解析を行っている。

8. 好熱性糸状菌 *Thermoascus aurantiacus* におけるカタラーゼとオキシダーゼの生産および細胞内微細構造に関する研究

耐熱・耐アルカリ性に優れたカタラーゼ (CAT) を多量分泌する好熱性糸状菌 *Thermoascus aurantiacus* について、共役するオキシダーゼの生産特性と、酵素生産と細胞内構造との関連を研究している。本菌は、アルコールオキシダーゼや尿酸オキシダーゼを有し、メタノールや、尿酸による酵素の誘導・抑制などの生産特性や、細胞内微細構造の変化についての関連も明らかにした。また、酵素の局在を調べた結果、*A. niger* やメタノール資化性酵母とは異なる局在を示すことが明らかになった。

9. ペクテノトキシン-2の毒性確認

下痢性貝毒として判定するにあたって利用できる動物実験は現在までに2報しかない。最初の報告では、ペクテノトキシン-2が有毒であることを、また新たに出された論文では無毒であると結論している。ペクテノトキシンによる貝の汚染濃度は高いので結論が必要である。いずれの結果を支持すべきか再実験を行った。今回の実験により、後者の実験に2つの問題が考えられた。すなわち、トキシンの溶解条件が適当でない可能性がある

こと、24時間後の観察で結論を出したのは適当でないということである。マウスに経口でペクテノトキシン-2を投与すると60～90分後に腸管内に過剰の水分が蓄積され、粘膜も障害されたが、24時間後には回復していた。オカダ酸との併用作用もあった。ラットでは両者の感受性はマウスに劣っていた。ペクテノトキシン-2はオカダ酸と作用を比較すると1/8程度の活性であったが、下痢原性は明らかであった。従って我々の結論は、有毒であるとする最初の報告を支持するものである。引き続きペクテノトキシン-6の毒性を解析していきたい。

10. クルペオトキシズム (パリトキシン中毒) の解明

パリトキシンの腹腔投与による毒性実験を過去に報告した(1996, 1997年)。しかし、矢毒原料であったこと、散發的に発生するカニによる死亡率の高い原因毒物であることが知られていたが、1999年になってこのトキシンのクルペオトキシズム (インド洋で古くから知られていたイワシ、ニシン、サバによる致命的な食中毒) の原因であることが明らかとなった。このため、食中毒としての見地から動物で経口による研究が必要になった。しかし、経口で論文報告がない理由は容易に推定できる。実際、過去に行った実験で、ip, ivの濃度レベルの60倍程度までの濃度では病理変化を得ることができなかった。今回さらに高濃度(200倍)で経口投与を行ったが、変化が得られなかった。また、同濃度により様々なクルド条件、あるいは胃潰瘍モデルへの投与など行ったが有効とならなかった。そこで、消化管粘膜以外の吸収ルートで検討することにした。気道経由のルートでは腹腔投与レベルで有効であった(循環器-肺胞破壊、消化器びらん)。また、口腔内塗布により致死濃度には届かなかったが、多臓器の病変が観察された(循環器、消化器、腎臓障害)。また口腔内塗布をくりかえすことで致死条件に達した(循環器障害)。類似化合物オストレオシンDについても同様の比較を行い、パリトキシンの1/4レベルの活性を確認した。実際、人の中毒の報告例では、口に含むだけで死亡した人もいるので、口腔内塗布がモデルとしては、適当か、または、人の中毒例に近いのかも知れない。高めの濃度が必要だったが、塗布条件を改善すればさらに有効濃度が下げられると思われる。しかし、人とマウスの感受性を同じと考える必要はないから、この結果が適当であるかもしれない。

11. *Cryptococcus neoformans* のシグナル伝達系に関する研究

病原真菌 *C. neoformans* の二成分シグナル伝達系タンパク質リン酸化酵素 (HHK) をコードする遺伝子の機能解析を試みた。このうちの一つ *CnNIK1* 遺伝子はフェニルピロール系薬剤感受性, HOG1-MAPK のリン酸化, マウスに対する病原性に関与していることを明らかにした。他の HHK 遺伝子 *CnHHK2*, *CnHHK3*, *CnHHK4*, *CnHHK5*, *CnHHK6*, *CnHHK7* の遺伝子破壊を試み, *CnHHK4* 以外の遺伝子欠失株作製に成功した。これらの遺伝子欠損株についての表現型を精査し, 遺伝子機能の解析を行っている。

12. *Cryptococcus neoformans* の感染実験

病原真菌 *C. neoformans* のマウスに対する感染様式について, 異なる接種法 (経静脈的接種および経気管的接種) を用いて比較したところ, 感染の主座, 免疫細胞の分布などが異なることが明らかとなった。

研究成果の発表

1. 著書

- 1) 川本 進. 病原真菌の真菌学・免疫・薬剤感受性: 病原真菌細胞生物学の臨床応用は? 深在性真菌症 Q&A (河野茂編), 医薬ジャーナル社 (大阪), pp. 34-36 (2006).
- 2) 山口正視, 近藤 勇: グラム陰性細菌 (3). p.7; 近藤 勇, 山口正視: グラム陰性細菌 (24). p.28; 山口正視, 竹尾漢治: 不完全菌類 (2). p.119; 山口正視, 田仲可昌: 偽菌類など. p.144; 山口正視, 菅原敬信, 溝上 寛: ウイルス (4). p.188; 山口正視, 廣川秀夫, 平野 正: ウイルス (17). p.201. 宮道慎二, 他編. 微生物の世界. 筑波出版会. つくば, 2006. (招待)
- 3) Ito E, Satake M, Ofuji K, McMahon T, Yasumoto T: Pathological study of azaspiracid poisoning in mice. In "Molluscan shellfish safety". pp. 402-406, 2006. Eds. Henshilwood K, Deegan B, McMahon T, Cusack C, Keaveney S, Silke J, O'Conneide M, Lyons D, Hess P. Ireland.
- 4) Ito E, Frederick MO, Koftis TV, Tang W, Petrovic G, Ling T, Nicolaou KC: Structure toxicity relationships

of synthetic azaspiracid-1 and analogs in mice. In "Isolation and purification of azaspiracid from naturally contaminated materials, and evaluation of their toxicological effects". pp.104-105, 2006. Marine Institute, Ireland.

2. 原著論文

英文

- 1) Sonoda T, Mochizuki M, Yamashita T, Watanabe-Kaneko K, Miyagi Y, Shigeri Y, Yazama F, Okuda K, Kawamoto S: Binding of glutamate receptor $\delta 2$ to its scaffold protein is regulated by PKA. *Biochem Biophys Res Commun* 348: 748-752, 2006. (査読有)
- 2) Ohori A, Endo S, Sano A, Yokoyama K, Yarita K, Yamaguchi M, Kamei K, Miyaji M, Nishimura K: Rapid identification of *Ochroconis gallopava* by a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method. *Vet Microbiol* 114: 359-365, 2006. (査読有)
- 3) Tochigi N, Kishimoto T, Suyama T, Nagai Y, Nikaido T, Akikusa B, Virtudazo E, Yamaguchi M, Ishikura H: Regulatory role of hepatocyte nuclear factor-4 α on gastric choriocarcinoma function. *Exp Mol Pathol* 80: 77-84, 2006. (査読有)
- 4) Gabriel M, Kopecka M, Yamaguchi M, Svoboda A, Takeo K, Yoshida S, Ohkusu M, Sugita T, Nakase T: The cytoskeleton in the unique cell reproduction by conidiogenesis of the long-neck yeast *Fellomyces (Sterigmatomyces) fuzhouensis*. *Protoplasma* 229: 33-44, 2006. (査読有)
- 5) Ito E, Frederick MO, Koftis TV, Tang W, Petrovic G, Ling T, Nicolaou KC: Structure toxicity relationships of synthetic azaspiracid-1 and analogs in mice. *Harmful Algae* 5: 586-591, 2006.
- 6) Keszthelyi A, Ohkusu M, Takeo K, Pfeiffer I, Litter J, Kucsera J: Characterisation of the anticryptococcal effect of the FC-1 toxin produced by *Filobasidium capsuligenum*. *Mycoses* 49: 176-83, 2006. (査読有)

3. 総説, 解説, その他

- 1) 川本 進. 分子医真菌学の新展開 - *Cryptococcus neoformans* 研究を中心にして - 感染症学雑誌 80: 19-26, 2006. (招待)

- 2) 川本 進: 真菌感染対策最前線・千葉大学真菌医学研究センター, 深在性真菌症 2: 55-58, 2006. (招待)
- 3) 竹尾漢治, Eric Virtudazo, 大楠美佐子, 川本 進, 久和彰江, 青木茂治: *Cryptococcus neoformans* の細胞周期とその遺伝子. 真菌誌 47: 257-262, 2006. (招待)
- 4) Sugawara K, Danev R, Yamaguchi M, Nishiyama K, Nagayama K: Technical note: Phase contrast transmission electron micrograph of rapidly frozen ice-embedded influenza A virus. Cytologia 71: top page, 2006. (招待)
- 5) Yamaguchi M: Structure of *Exophiala* yeast cells determined by freeze-substitution and serial ultrathin sectioning electron microscopy 2: 1-12, Current Trends in Microbiology, 2006. (招待)

4. 招待講演

(国内学会)

- 1) 川本 進: 病原性酵母 *Cryptococcus neoformans* におけるシグナル伝達の分子細胞生物学. 第17回酵母合同シンポジウム「原点としての酵母研究: 温故と知新, 病氣と戦う酵母研究」, 甲府, 6月1~2日, 2006.
- 2) 山口正視: 微生物の固定法. 日本顕微鏡学会関東支部第30回講演会. 予稿集 p.87. 東京, 3月4日, 2006.

シンポジウム

(国際学会)

- 1) Yamaguchi M: Structure of *Exophiala dermatitidis* yeast cells at G1 phase. The 16th International Microscopy Congress (IMC16), Proceedings of IMC16, pp. 438, Sapporo, Japan, September 3-8, 2006.

(国内学会)

- 1) 李 皓曼, 清水公德, 川本 進: *Cryptococcus neoformans* のもつ histidine kinase 遺伝子の構造・機能解析. 第50回日本医真菌学会総会. 真菌誌 47 (増刊1号): 70, 東京, 10月21~22日, 2006.

一般発表

(国際学会)

- 1) Kawamoto S, Virtudazo EV, Ohkusu M, Yamanaka Y, Hirano H, Takeo K: *Cryptococcus neoformans* cell

control and proteomic analysis. Experimental Biology 2006 (2006 Annual Meeting of American Society for Biochemistry and Molecular Biology), San Francisco (USA), April 1-5, 2006.

- 2) Kawamoto S, Virtudazo EV, Ohkusu M, Yamanaka Y, Watanabe K, Sonoda T, Okuda K, Hirano H, Takeo K. Cell control genes of pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. 106th General Meeting of American Society for Microbiology, Orlando (USA), May 21-25, 2006.
- 3) Kaneko-Watanabe K, Sonoda T, Yamashita T, Miyagi Y, Okuda K, Kawamoto S: Delphinin, postsynaptic scaffolding protein, interacts with monocarboxylate transporter 2 (MCT 2). 20th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology (20th IUBMB 2006 Kyoto) "Life: Molecular Integration & Biological Diversity, Kyoto (Japan), June 18-23, 2006.
- 4) Ikeda R, Saito F, Yamaguchi M, Kawamoto S: Fungus-bacteria interactions: killing of *Cryptococcus neoformans* by the adherence of *Staphylococcus aureus*. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Paris, France, June, 25-29, 2006.
- 5) Yamaguchi M, Biswas SK, Ohkusu M, Kawamoto S: Dynamics of the spindle pole body during the cell cycle in *Cryptococcus neoformans* examined by freeze-substitution and serial ultrathin sectioning. The 16th International Microscopy Congress (IMC16), Proceedings of IMC16, pp. 446, Sapporo, Japan, September 3-8, 2006.
- 6) Yamaguchi M, Shimizu M, Ohkusu M, Kawamoto S: Repeated use of uranyl acetate solution in section staining in transmission electron microscopy. The 16th International Microscopy Congress (IMC16), Proceedings of IMC16, pp. 447, Sapporo, Japan, September 3-8, 2006.
- 7) Ito E, Suzuki M, Yasumoto T: Verification of diarrhetic activities of PTX-2 and okadaic acid in vivo. 12th International conference on harmful algae. abstract pp. 198 Copenhagen, Denmark, September 4-8, 2006.
- 8) Li H-M, Shimizu K, Kawamoto S: Functional analysis of hybrid histidine kinase genes of *Cryptococcus neoformans*. The 8th International Mycological Congress (IMC8), Congress Handbook and Abstract Book 1,

pp. 124, Cairns, Australia, August 21-25, 2006.

一般発表

(国内学会)

- 1) 高木大輔, 大楠美佐子, 藤井貴明, 川本 進: *Cryptococcus neoformans* のタンパク質抽出法の検討. 第50回日本医真菌学会総会. 真菌誌 47(増刊1号): 81, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 2) 山口正視, 清水仁聡, 山口哲朗, 大楠美佐子, 川本 進: 超薄切片染色における酢酸ウラニル反復使用に関する検討. 日本顕微鏡学会関東支部第30回講演会. 予稿集 p.105. 東京, 3月4日, 2006.
- 3) 山口正視, 大楠美佐子, 川本 進: 酵母 *Exophiala dermatitidis* および *Cryptococcus neoformans* の紡錘極体の動態の電子顕微鏡による解析. 日本菌学会50周年記念大会. 講演要旨集 p.85. 千葉, 6月3~4日, 2006.
- 4) 山口正視, 大楠美佐子, 川本 進: *Exophiala* および *Cryptococcus* の紡錘極体の電子顕微鏡による解析: *Saccharomyces* との違い. 第50回日本医真菌学会総会. 真菌誌 47(増刊1号): 60, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 5) 池田玲子, 澤村果菜子, 山口正視, 川本 進: *Cryptococcus neoformans* と *Staphylococcus* の相互作用: 表面プラズモン共鳴法による *Cryptococcus* 菌体認識部位の検討. 第50回日本医真菌学会総会. 真菌誌 47(増刊1号): 70, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 6) 山口正視, 大楠美佐子, 川本 進: 病原酵母 *Exophiala* および *Cryptococcus* の紡錘極体の電子顕微鏡による動態の解析. 第3回真菌分子細胞研究会合同感染症四大学連携ワークショップ in 千葉. 講演要旨集 p.24. 千葉, 11月28~29日, 2006.
- 7) Virtudazo EV, Takeo K, Kawamoto S: Towards understanding cell cycle control in *Cryptococcus neoformans*: cloning and analysis of cell cycle gene homologues. The Joint Symposium of the IVR 50th anniversary Symposium and The 2nd International Symposium of the Institute Network. 30-31 May 2006, Kyoto, Japan.
- 8) Virtudazo EV, Ohkusu M, Kawamoto S, Aoki S, Takeo K: Cloning and characterization of cell cycle related cyclin homologues of *Cryptococcus neoformans*. 50th Anniversary of the Annual Meeting of the Mycological

Society of Japan. June 3-4, 2006. Chiba, Japan.

- 9) Virtudazo EV, Kawamoto, S: Analysis of cell cycle control genes in *Cryptococcus neoformans*. 第3回真菌分子細胞研究会. November 28-29, 2006. 千葉大学真菌研究センター.
- 10) 清水公德, 渡辺 哲, 亀井克彦, 川本 進: 異なる接種法による *Cryptococcus neoformans* 感染マウスの病態観察. 第4回感染症若手研究者沖縄フォーラム. 講演要旨集 p.18. 沖縄, 1月13~15日, 2006.
- 11) 清水公德, 渡辺 哲, 亀井克彦, 川本 進: 経静脈的および経気管的接種による *Cryptococcus neoformans* 感染マウスの病理学的検討. 第79回日本細菌学会総会. 日本細菌学会雑誌 61(1): p.167. 金沢, 3月29~31日, 2006.
- 12) 李 皓曼, 清水公德, 川本 進: *Cryptococcus neoformans* のハイブリッド型 histidine kinase に関する機能解析. 日本菌学会50周年記念大会. 講演要旨集 p.112. 千葉, 6月3~4日, 2006.
- 13) 李 皓曼, 清水公德, 川本 進: *Cryptococcus neoformans* のもつ histidine kinase 遺伝子の構造・機能解析. 第50回日本医真菌学会総会. 真菌誌 47(増刊1号): 70, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 14) Takeuchi T, Yoshida T, Ohtsuki G, Hirano T, Wainai T, Fukaya M, Watanabe M, Mori H, Sakimura K, Kawamoto S, Mishina M: Facilitated cerebellar LTD and OKR adaptation in mice lacking Delphilin. 第79回日本薬理学会年会, 横浜, 3月8~10日, 2006.
- 15) Takeuchi T, Ohtsuki G, Yoshida T, Fukaya M, Wainai T, Mori H, Sakimura K, Kawamoto S, Watanabe M, Hirano T, Mishina M: Threshold regulation of cerebellar LTD is critical for motor learning efficiency. 第29回日本神経科学大会, 京都, 7月19~21日, 2006.
- 16) 畑 邦彦, 大楠美佐子, 川本 進, 曾根晃一: 森林性二形性真菌の培養形態. 日本菌学会第50周年記念大会, 講演要旨集 p.83, 千葉, 6月3~4日, 2006.

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 川本 進, 山口正視, 清水公德: 分裂酵母の遺伝学的, 細胞生物学的研究 (ハンガリー・日本政府間科

- 学技術プロジェクト), Matthias Sipiczki 教授, ハンガリー共和国, デブレツェン大学遺伝学教室.
- 2) 川本 進, 清水公徳: クリプトコックスのゲノム情報に基づく国際標準規格マイクロアレイの作製 (日本学術振興会二国間交流事業「米国との共同研究」), Christina Hull 助教授, アメリカ合衆国, ウィスコンシン大学分子化学部門.
 - 3) 川本 進, 山口正視: *Cryptococcus neoformans* の細胞周期解析法に関する研究, Vladislav Raclavský 博士, チェコ共和国, パラツキー大学.
 - 4) 川本 進, 大楠美佐子: 病原真菌の分子遺伝学的検出・同定・タイピング手法の開発と生態学・疫学的研究, Vladislav Raclavský 博士, 千葉大学客員教授/チェコ共和国, パラツキー大学.
 - 5) 山口正視: 石油分解放線菌の微細形態学的研究, Gyorgy Vargha 準教授, George Barabas 教授, Andras Penyige 準教授, ハンガリー共和国, デブレツェン大学医学部.
 - 6) 山口正視: 真菌の細胞骨格に関する細胞生物学的研究, Marie Kopecka 準教授, Miroslav Gabriel 準教授, Augustin Svoboda 教授, チェコ共和国, マサリク大学医学部.
 - 7) 山口正視: インフルエンザウイルスの構造解析, R. Holland Cheng 教授, アメリカ合衆国, カリフォルニア大学デイビス校.

2. 共同利用研究以外の国内共同研究

- 1) 川本 進, 清水公徳: カイコガ幼虫の感染モデルを用いた *Cryptococcus neoformans* の病原性解析モデルの検討と病原性遺伝子の同定, 関水久教授, 東京大学大学院薬学研究科微生物薬品化学教室.
- 2) 川本 進, エリック・ヴィルトウダツ: サイクリン依存性キナーゼ Cdk-1 (Cdc28) タンパク質の構造生物学的解析, 田村裕特任助教授, 千葉大学大学院医学研究院生命情報科学.
- 3) 山口正視, 川本 進: *Candida albicans* 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子破壊株の形態学的解析, 村山琮明講師, 北里大学北里生命科学研究所.
- 4) 山口正視, 川本 進: *Candida glabrata* の増殖形態変化調節機構の解析, 渡部俊彦講師, 東北薬科大学微生物学教室.
- 5) 山口正視: 酵母細胞構造の三次元再構築に関する研

究, 馬場則男教授, 工学院大学.

- 6) 山口正視: T4 バクテリオファージの低温位相差電子顕微鏡による構造解析, 廣川秀夫名誉教授, 上智大学.
- 7) 山口正視: 低温位相差電子顕微鏡によるインフルエンザウイルスの構造観察, 西山清人上級研究員, 菅原敬信次長, 化学及び血清療法研究所, 永山國昭教授, 岡崎統合バイオサイエンスセンター.
- 8) 山口正視: 電顕観察における生物試料の電子染色に関する検討, 稲賀すみれ助手, 鳥取大学医学部.
- 9) 山口正視: 冠動脈石灰化病変におけるサイファーステントポリマーの損傷についての研究, 小室一成教授, 小林欣夫副部長, 千葉大学附属病院.

国際交流

1. 海外渡航

- 1) 川本 進: アメリカ合衆国, サンフランシスコ, Experimental Biology 2006 (2006 Annual Meeting of American Society for Biochemistry and Molecular Biology) に出席, 発表, 情報収集のため, 4月1～5日, 2006 (科学研究費補助金).
- 2) 川本 進: アメリカ合衆国, サンディエゴ, Palmer Taylor 教授 (University of California, San Diego) との共同研究のため, 4月6～11日, 2006 (科学研究費補助金).
- 3) 川本 進: アメリカ合衆国, マディソン, Christina Hull 助教授 (University of Wisconsin, Madison) との共同研究のため, 5月17～20日, 2006 (日本学術振興会二国間交流事業).
- 4) 川本 進: アメリカ合衆国, オーランド, 106th General Meeting of American Society for Microbiology に出席, 発表, 情報収集のため, 5月21～27日, 2006 (日本学術振興会二国間交流事業).
- 5) 川本 進: ハンガリー共和国, デブレツェン, デブレツェン大学遺伝学教室 Matthias Sipiczki 教授との共同研究の打ち合わせ, 討議, 情報収集のため, 11月15～25日, 2006 (ハンガリー共和国政府).
- 6) 山口正視: ハンガリー共和国, デブレツェン, デブレツェン大学, Matthias Sipiczki 教授, Gyorgy Vargha 準教授との共同研究, 9月13～28日, 2006 (ハンガリー共和国政府および千葉大学交流協定校

等との重点的交流促進支援プログラム).

- 7) 伊藤恵美子: アイルランド, ゴールウェイ. アイルランド Marine Institute. Azaspiracid standard and toxicology, 研究会のワークショップに出席, 発表. 10月31～11月1日. (アイルランド Marine Institute).
- 8) 清水公德: オーストラリア, ケアンズ, The 8th International Mycological Congress (IMC8) 出席, 発表, 情報交換のため, 8月19～26日, 2006 (日本学術振興会二国間交流事業).

2. 海外研究者の受け入れ

- 1) Matthias Sipiczki 教授 (ハンガリー共和国, デブレツェン大学) 6月28日～7月3日, 2006 (ハンガリー共和国政府), 共同研究 (川本 進).
- 2) Gyorgy Vargha 準教授 (ハンガリー共和国, デブレツェン大学医学部), 3月23日～4月2日, 2006 および10月12～20日, 2006 (ハンガリー共和国政府), 共同研究 (山口正視).

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 川本 進: 第79回日本細菌学会総会シンポジウム「真菌感染症の現状並びにその対策のための基礎的・応用的研究の動向」コンビナー及び座長, 金沢, 3月29～31日, 2006.
- 2) 川本 進: 日本菌学会50周年記念大会組織委員会委員, 千葉, 6月3～4日, 2006.
- 3) 川本 進: 第3回真菌分子細胞研究会, 招待講演: 東江昭夫「パン酵母のプロテアソーム研究」座長, 千葉, 11月28～29日, 2006.
- 4) 川本 進: 第3回千葉疾患プロテオミクス研究会, シンポジウム座長, 千葉, 11月26日, 2006.
- 5) 川本 進: 9th International Symposium of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University "Forefront of taxonomy, epidemiology and biodiversity of human pathogenic fungi and related taxa" (Chiba, December 15, 2006) 運営委員会委員・実行委員会副委員長.
- 6) 山口正視: The 16th International Microscopy Congress 組織委員会委員・Mycology and Parasitology セッションのオーガナイザーおよび座長・ポスター賞選

考委員, 札幌, 9月3～8日, 2006.

- 7) 山口正視: 9th International Symposium of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University "Forefront of taxonomy, epidemiology and biodiversity of human pathogenic fungi and related taxa" (Chiba, December 15, 2006) 実行委員.
- 8) 清水公德: 日本菌学会50周年記念大会実行委員会委員, 千葉, 6月3～4日, 2006.
- 9) 清水公德: 糸状菌遺伝子研究会実行委員会委員および麹菌ゲノムシンポジウム「国菌としての麹菌・その故きを温ねて新しきを知る」座長, 東京, 6月9日, 2006.
- 10) 清水公德: 第3回真菌分子細胞研究会, 招待講演: 五味勝也「麹菌のゲノム解析とその産業応用」座長, 千葉, 11月28～29日, 2006.
- 11) 清水公德: 9th International Symposium of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University "Forefront of taxonomy, epidemiology and biodiversity of human pathogenic fungi and related taxa" (Chiba, December 15, 2006) 実行委員.

教育活動

学位指導

山下哲司: 横浜市立大学大学院医学研究科博士課程修了並びに医学博士取得 (研究指導: 川本 進).

講義

川本 進: 千葉大学大学院医学薬学府医科学専攻修士課程 (先端生命科学), 博士課程 (真菌感染症学), 千葉大学大学院自然科学研究科博士前期課程 (微生物工学), 博士後期課程 (微生物資源化学), 千葉大学普遍教育: 生命科学 A3 (微生物の世界), 横浜市立大学大学院医学研究科 (分子生体防御学), 横浜市立大学医学部医学科 (微生物学), 医学部看護学科 (微生物学) 山口正視: 千葉大学大学院医学薬学府博士課程 (真菌細胞生物学, 超微形態学), 千葉大学大学院自然科学研究科博士後期課程 (生命機構学, 高次生体制御学, 形態応答学), 千葉大学普遍教育 (授業科目: 真菌 (カビ) と人との関わり合い, 真菌の形態, 2006. 10. 12, 10. 19).

社会的活動

センター講習会

山口正視: 第20回病原真菌講習会講師「電顕による真菌細胞観察」(2006. 7. 25).

山口正視: 第2回病原真菌外人講習会講師 Electron microscopy of fungal cells (2006. 8. 10).

その他

- 1) 川本 進 (地域連携委員会委員長): 真菌医学研究センター主催公開市民講座「カビ!? ~そろそろ気になりますね~」, 千葉, 5月14日, 2006.
- 2) 三上 襄, 福島和貴, 山口正視: 日経BPムック「変革する大学」シリーズ千葉大学 (2007-2008年版) pp.24-26, 2006.
- 3) 山口正視: 目で見える真菌症シリーズ「細胞内を電子顕微鏡で見る」千葉大学真菌センターニュース pp. 7-8, 2006.

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 川本 進 (代表): 科学研究費補助金 基盤研究C 17590386 病原真菌クリプトコッカスの細胞周期制御の分子機構解析, 平成17~18年度 (平成18年度は180万円).
- 2) 山口正視 (代表): 科学研究費補助金 基盤研究C 16570048 病原酵母クリプトコッカスの細胞周期における紡錘極体と微小管の動態に関する研究, 平成

16~18年度 (平成18年度は90万円).

- 3) 清水公德 (代表): 科学研究費補助金 若手研究B 18790302 クリプトコッカスの環境応答を制御するシグナル伝達系と病原性の関与, 平成18~19年度 (平成18年度は180万円).
- 4) 大楠美佐子 (代表): 科学研究費補助金 奨励研究 18924004 病原真菌クリプトコック・スネオフォルマンスの薬剤耐性株におけるタンパク質解析 (71万円).

その他の外部資金

- 1) 川本 進 (代表), 清水公德 (分担): 日本学術振興会2国間交流事業: アメリカ合衆国との共同研究, クリプトコッカスのゲノム情報に基づく国際標準規格マイクロアレイの作製, 平成17~18年度 (平成18年度は207.5万円).
- 2) 川本 進 (分担): 文部科学省科学技術振興調整費, アジア科学技術協力推進戦略・地域共通課題解決型国際共同研究 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成, 平成18~20年度 (平成18年度は60万円) (代表: 三上 襄).
- 3) 山口正視 (代表): 千葉大学交流協定校等との重点的交流促進支援プログラム 大学間交流協定校デブレツェン大学 (ハンガリー) との重点的交流促進, 20万円, 2006.

センター長裁量経費

- 1) 川本 進 (代表), 山口正視 (分担), 清水公德 (分担), 大楠美佐子 (分担): センター長裁量経費 病原真菌および関連菌の収集とその同定・分子系統解析, 30万円.

分子機能研究部門 高分子活性分野

(Department of Molecular Function, Division of Molecular Biology and Therapeutics)

教授: 三上 襄

- 学内委員 教育研究評議会委員, 部局長連絡会議委員, 大学法人化対応委員会, 自己点検・評価委員会, 施設整備委員会, 放射線同位元素委員会, セクシャルハラスメント防止委員会委員, 先端的科学技術共同研究推進会議, 部局情報システム管理責任者, 亥鼻地区埋蔵文化財調査委員会, 亥鼻地区安全衛生委員会, 大学院自然科学研究科教授会委, 医学研究科(医学系運営)委員会, 劇物毒物等管理責任者, 国立大学附置研究所・センター長会議委員
 - センター内委員 真菌医学研究センター長, 総務委員会委員, 運営協議会議長, 教員会議議長, 将来計画委員会委員, 倫理審査委員会委員, 防災対策委員会委員長, 自己点検・評価委員会委員長
 - 学協会への貢献 日本細菌学会評議員, 日本医真菌学会評議員, 日本医真菌学会理事・編集委員長, 日本放線菌学会理事, 日本放線菌学会編集委員, 日本微生物資源学会理事
 - 国および地方公共団体への貢献 千葉県薬剤師会検査センター評議員, 大学共同利用機関法人国立遺伝学研究所「大腸菌小委員会およびNBRP大腸菌運営委員会委員」, 知的基盤・利用促進研究開発事業「新規抗真菌剤(抗カビ剤)開発のための標的遺伝子知的基盤研究開発」研究計画評価委員会委員, 生物遺伝資源委員会委員
 - 所属学会 日本細菌学会, 日本医真菌学会, 日本放線菌学会, 日本微生物資源学会, 日本菌学会
 - 受賞 分担: 日本医真菌学会第50回医真菌学会総会ポスター賞: 知花博治, 上野圭吾, 中山浩伸, 宇野潤, 長環, 宮川洋三, 三上 襄(2006. 10. 8)
 - その他 ベンチャー企業「ファーストラボラトリー」顧問
- 助教授: 知花博治**
- 学内委員 遺伝子組換え実験安全委員会委員, スペース・コラボレーション・システム事業実施委員会委員
 - センター内委員 教員会議, 総務委員, 広報委員, 共

同利用委員, 自己点検・評価委員, 地域連携委員, 将来計画委員, 各個人評価WG, センター報告会WG長, 研究推進チーム

- 学協会への貢献 特定領域「感染症マトリックス」感染症沖縄フォーラム実行委員
- 所属学会 American Society for Microbiology, 日本細菌学会, 日本医真菌学, 日本分子生物学会, Genetic Society of America, 酵母細胞研究会, 酵母遺伝学フォーラム
- 受賞 代表: 日本医真菌学会第50回医真菌学会総会ポスター賞: 知花博治, 上野圭吾, 中山浩伸, 宇野潤, 長環, 宮川洋三, 三上 襄「*Candida glabrata*の全ゲノムから抽出した抗真菌薬標的候補遺伝子の機能解析」(2006. 10. 8)

助手: 宇野 潤

- 学内委員 医学部付属動物実験運営委員会
 - センター内委員 危険物保安監督者, 普通第一種圧力容器取扱い作業主任者, 防災対策委員会委員, 共用備品委員会委員, 微生物保存管理施設運営委員会委員, 有害廃棄物委員会, 図書WG, 実験動WG, 光熱水料節減プロジェクトWG, 安全衛生作業主任者
 - 学協会への貢献 日本医真菌学会評議会委員, 日本医真菌学会標準化委員会委員, 日本細菌学会評議会委員
 - 所属学会 日本医真菌学会, 日本細菌学会, 日本化学療法学会, 日本薬学会, 日本防菌防黴学会
 - 受賞 分担: 日本医真菌学会第50回医真菌学会総会ポスター賞: 知花博治, 上野圭吾, 中山浩伸, 宇野潤, 長環, 宮川洋三, 三上 襄(2006. 10. 8)
 - その他 東邦大学薬学部非常勤講師
- 衛生検査技師: 矢澤勝清**
- 非常勤講師: 石渡堅一郎**(医療社団法人六治会)
- 非常勤講師: 鈴木健一郎**(「独」製品評価技術基盤機構, NBRC)
- 研究機関研究員: 小暮高久**
- 研究支援推進員: 城 彩子**
- 研究支援員: 笹本 要**

研究支援員: 木下妻智子 (2006. 5 ~)
研究支援員: 島田五月
技術補佐員: 金網 星児
大学院医学薬学府 博士課程: 向井 啓
大学院医学薬学府 博士課程: Ahmed Hanafy
大学院医学薬学府 博士課程: 長谷川太一
大学院医学薬学府 博士課程: 上野圭吾
大学院医学薬学府 博士課程: 康 穎倩
大学院医学薬学府 修士課程: 武田健二郎
大学院自然科学研究科 博士前期課程: 松本優子
大学院自然科学研究科 博士前期課程: 山本撰也
大学院医学薬学府 修士課程: 伊藤淳二
大学院医学薬学府 修士課程: 島田玲緒奈
大学院自然科学研究科 博士前期課程: 芝崎あずさ
園芸学部学部長: 三谷宏樹 (4月より)
日大生産工学学部長: 住江祐介
民間等共同研究員: 秦 真人 (第一製薬株式会社)

研究概要

1. 医療機関の依頼に基づく病原性放線菌の同定

2006年度に同定した病原性放線菌は現在まで101株であり、その中で日本の医療機関から同定依頼を受け同定した病原性放線菌は82株であった。内訳は *Nocardia* が63株で、それぞれ、*N. abscessus* 4株、*N. asiatica* 1株、*N. aobensis* 3株、*N. exalbida* 1株、*N. cyriaciageorgica* 7株、*N. beijingensis* 4株、*N. brasiliensis* 4株、*N. concava* 1株、*N. farcinica* 22株、*N. nova* 6株、*N. otitidiscaviarum* 3株、*N. pseudobrasiliensis* 1株、*N. puris* 1株、*N. veterana* 1株であった。他に *Actinomyces* 1株、*Actinomadura* 1株、*Mycobacterium* 3株、*Gordonia* 4株、*Streptomyces* 2株、*Propionibacterium* 3株、*Corynebacterium* 3株、*Rothia* 2株が確認された。家畜保険衛生所から牛流産胎児より分離した *Nocardia* (*N. farcinica*) の同定依頼があった。外国からの同定依頼はメキシコの医療機関から16株 (*N. brasiliensis* 10株、*N. cyriaciageorgica* 3株、*Streptomyces* 3株)、台湾のCDCから1株 (*N. brasiliensis*) の同定依頼があった (矢沢勝清, 長谷川太一, 武田健二郎, 伊藤淳二, 三谷宏樹)。

2. *Nocardia* 属放線菌における薬剤耐性遺伝子の同定

米国の国立疾病センターとの共同研究として、抗生物

質アミカシンに高度耐性を有し、家畜の感染症の原因菌として問題となっている *N. farcinica* 株について、その耐性機構の解明研究を進めた。耐性菌では、アミノグリコシド (AG) 系抗生物質の標的である 16S rRNA の薬剤結合部位における塩基変異が起っており、これによる薬剤のリボソームへの親和性の低下により、アミカシン耐性がもたらされることを明らかにした (小暮高久, 島田玲緒奈, 矢沢勝清)。

3. *gyrB* 遺伝子情報を用いた *Nocardia* 属放線菌および関連菌の系統分類とその応用

すべての微生物に保存され、且つ 16S rDNA 遺伝子配列 (16S rDNA) よりも進化速度が早いとされる DNA ジャイレースの β サブユニットをコードする遺伝子 (*gyrB*) 配列を用いた同定・分類研究が報告されている。本研究では、この *gyrB* 遺伝子配列を *Nocardia* 属全種で決定し、その有用性を検討した。*Nocardia* 属放線菌の菌種間の *gyrB* の相同性は 82.417 - 99.917% と 16S rDNA の相同性と比べて広範囲であった。この結果から 16S rDNA よりも詳細な分類が可能になると考えられた (武田健二郎, 矢沢勝清)。

Gordonia 属の放線菌について、*gyrB* および *secA* 遺伝子の解析を行い、さらに 16S rRNA 遺伝子情報に基づく解析結果から作成した系統樹について検討した結果、*gyrB* 遺伝子データが系統解析に極めて有効であることを確認するデータが得られている (Yingqian Kang, 武田健二郎, 矢沢勝清)。

4. ジャイレース遺伝子を用いた *Nocardia farcinica* 特異的なプライマーの作製

N. farcinica は *Nocardia* 属の中でも感染者の脳に病巣を作る頻度が高いことが知られている。このような現状から *N. farcinica* の脳への移行を防ぐことは臨床の現場で有益である。ジャイレース遺伝子は菌種ごとの保存性の高さから、系統解析によく用いられる。そこで、ジャイレース遺伝子を用いた *N. farcinica* 特異的なプライマーの作製を行ない、分子生物学的手法による早期診断を試みた。*N. farcinica* の菌株ごとの遺伝子増幅に差があり、特異性にもやや問題があった。現在、新たなターゲット遺伝子の探索を通して、特異的プライマーの作製を継続的に行っている (長谷川太一, 武田健二郎, 矢沢勝清)。

5. *Nocardia* および関連放線菌属の新種報告

Nocardia IFM10360 および IFM10458 株 (2株とも日本人患者から分離) が 16S rRNA 遺伝子による解析および近縁種 (*N. asteroides* および *N. transvalensis*) との DNA-DNA hybridization の結果から新種として報告することになった。現在、論文作成中である (長谷川太一, 三谷宏樹)。

本邦における患者由来の *Actinomadura* 属放線菌の分類学的な研究を行い、本邦には、これまで世界的に病原性が報告されている *A. madurae* による感染例はないことを報告すると同時に、新しい *Actinomadura* 属の新菌種を報告した (Ahmed Hanafy, Yingqian Kang, 小暮高久, 矢沢勝清)。

6. *Coccidioides* 属のトポイソメラーゼ II 遺伝子 (TOP2) 及び関連遺伝子 (TRF4) による同定法について

コクシジオイデス症の原因菌の 2 菌種を TOP2 及び TRF4 の遺伝子情報を基に、種特異的なプライマーセットの設計を行った。このプライマーセットを用いることで、PCR 法による簡便で迅速な同定が可能となった。疫学研究にも寄与できると考えている (伊藤淳二, 長谷川太一, 小暮高久)。

7. *Cryptococcus neoformans* の系統分類

今年度は *C. neoformans* var. *grubii* について、新たに simple sequence repeats (SSRs) を区別できる 3 つの PCR 用のプライマーを作製することができた。これらのプライマーを用いて 48 株の分離株について、アクリルアミドゲルでの泳動パターンでの解析で、少なくとも 13 の遺伝子型に区別することが可能となった (Ahmed Hanafy, 小暮高久)。

8. 微生物よりの生物活性物質の探索

臨床材料より分離し、真菌センターで同定した *Nocardia* の一株が *Mycobacterium* などの抗酸菌に対して、強い活性を示す代謝産物を生産することがわかり、その抽出と精製を進めた結果、新規な構造を持つ化合物を単離することができ、現在その化合物の詳細な活性の評価を行っている。また、臨床材料由来の *Nocardia transvalensis* から抗微生物活性を示す新規化合物を発見した (向井 啓, 矢沢勝清, 松本優子)。

キリギリス一種 (*Tettigonia orientalis*) の体内から新種

と思われる乳酸菌を単離した。この菌株の培養液は各種被検菌に対して抗菌活性があることがわかった。今後活性化合物を抽出し、その構造解析を進めている (伊藤淳二, 向井 啓)。

放線菌の二次代謝産物より新規で有用な抗菌化合物を単離することを目的とし、*Streptomyces* sp. IFM 10709 の生産する抗菌化合物の単離・構造解析を行った。この菌株は抗 *Aspergillus* 活性などの抗真菌活性と抗 *Escherichia coli* および *Micrococcus luteus* 活性などの抗細菌活性の双方を示し、液液抽出やカラムクロマトグラフィーなど種々の方法によりこれら化合物の精製を進めた。その結果、抗真菌活性化合物はポリエーテル系の化合物であると判明し、現在は、赤色と無色の 2 種類の抗細菌活性化合物を単離し、構造解析を進めている (松本優子, 矢沢勝清)。

ダンゴムシ (学名 *Armadillidium vulgare*) の体内から新種と考えられる *Streptomyces* 属の放線菌を分離し、その形態観察、化学分析、遺伝子解析などの同定作業を行っている。今後はそれらが産出する抗生物質の精製などを予定している (芝崎あずさ)。

9. 薬剤耐性菌に関する研究

自然界に存在する様々な能力を持つ菌のスクリーニングの一環として、アゾール系薬剤を分解 (biodegradation) する菌の探索を目的に土壌からのスクリーニングを行っている。ミコナゾール入りの培地で生育が確認された菌の ITS を確認したところ *Fusarium oxysporum* に属する真菌であることが分かった。しかしペーパーディスクアッセイによる感受性は確認出来ず、引き続きスクリーニングを続けている (芝崎あずさ)。

10. 抗真菌薬の開発と病原性の解明を目指した *Candida glabrata* フェノムプロジェクト

Saccharomyces cerevisiae の全ゲノム 5,800 のうち *in vitro* 富栄養下での必須遺伝子は約 1,000 である。東大中井研究室との共同研究によって、それらの 1,000 遺伝子の中で、*C. albicans*, *A. fumigatus*, *Cr. neoformans* の 3 菌種に共通して存在し、人の遺伝子に相同性が低い 187 遺伝子を抽出した (釣谷, 中井)。しかし、3 菌種においてノックアウト等の手法によって 187 遺伝子の機能解析を実施することは、遺伝子操作の煩雑さのため実現は困難である。*C. glabrata* における遺伝子操作、機能解析は病原真菌の中で最も簡便であり、3 菌種に共通して存在する

187 遺伝子は *C. glabrata* にも高く保存されている。183 遺伝子については制御型プロモーターを導入した遺伝子組換え菌株を構築し、生育に与える影響を定量的に測定している (笹本)。また、新たに 200 遺伝子について遺伝子組換え菌株を構築した (住江, 木下, 上野, 笹本, 金網)。さらに、遺伝子組換え菌株を構築のハイスループット化のために、*YKU80* のノックダウンによる高頻度遺伝子ターゲティングを実現する宿主ベクター系を開発し、詳細な検討を行った (上野)。2 遺伝子についてマウスを用いた病原性解析を実施した (宇野, 渡辺, 笹本, 伊藤)。

11. *Candida albicans* におけるゲノムシーケンスの完成と機能解析

カナダ NBRC とミネソタ大学との連携によってゲノムシーケンスの完成を目指している。進捗状況その他は <http://candida.bri.nrc.ca/alignments/index.cfm> において公開している (知花)。

12. 真菌より抗アスペルギルス物質の探索

分野保存の強力な抗アスペルギルス作用物質を生産する糸状菌 1 株を選択し抗菌物質を探索した。本菌株は、遺伝子解析の結果 *Strobilurus* 属の菌種であることが明らかとなった。この菌株をポテトデキスロース培地で培養し、培養液と菌体抽出液からの抗菌活性成分 4 種を見出した。その中で最も強力な物質を各種クロマトグラフィで精製分離し、NMR および MS スペクトルの測定により構造解析をしたところメトキシアクリレート系の mucidin (strobilurin A) と同定された。この物質の抗真菌活性は、糸状菌と酵母に対して広く抗真菌作用を示し、さらにチェッカーボード法によるアゾールとの併用により糸状菌・酵母に対して、共に相乗作用が観察された (宇野 潤・山本撰也)。

研究成果の発表

1. 著書

1) 三上 襄, 矢沢勝清 (分担): コロニーの性状と培地, 鑑別のための検査—ノカルジア, アクチノミセス. pp.491-496, 河野 茂, 平潟洋一編, 「ベッドサイドで役立つ微生物検査ガイド」, 文光堂, 2006

2. 原著

英文

- 1) Myoken M, Kyo T, Sugata T, Murayama SY, Mikami Y: Breakthrough fungemia caused by fluconazole-resistant *Candida albicans* with decreased susceptibility to voriconazole in patients with hematological malignancies. *Haematologica* 91: 287-288, 2006. (査読有)
- 2) Iida S, Kageyama A, Yazawa K, Uchiyama N, Toyohara T, Chohnabayashi N, Suzuki S, Nomura F, Kroppenstedt RM, Mikami Y: *Nocardia exalbida* sp. nov., isolated from Japanese patients with nocardiosis. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 1193-1196, 2006. (査読有)
- 3) Iwata T, Hattori H, Chibana H, Mikami Y, Tomita Y, Kikuchi A, Kanbe T: Genotyping of *Candida albicans* on the basis of polymorphisms of ALT repeats in the repetitive sequence (RPS) . *J Dermatol Sci* 41: 43-54, 2006. (査読有)
- 4) Nakahara S, Kubo A, Mikami Y, Ito J: Synthesis of cribrastatin 6 and its related compounds. *Heterocycles* 68: 515-520, 2006. (査読有)
- 5) Watanabe K, Shibagawa M, Amishima M, Iida S, Yazawa K, Kageyama A, Ando A, Mikami Y: First clinical isolate of *Nocardia carneae*, *Nocardia elegans*, *Nocardia paucivorans*, *Nocardia puris* and *Nocardia takedensis* from patients in Japan. *Jap J Med Mycol* 47: 85-89, 2006. (査読有)
- 6) Girish CP, Hanafy AM, Katsu M, Mikami Y, Menon T: Molecular analysis and susceptibility profiling of *Candida albicans* isolates from immunocompromised patients in South India. *Mycopathol* 161: 153-159, 2006. (査読有)
- 7) Myoken Y, Sugata T, Fujita Y, Fujihara M, Iwato K, Murayama SY, Mikami Y: Early diagnosis and successful management of atypical invasive *Aspergillus* sinusitis in a hematopoietic cell transplant patient: a case report. *J Oral Maxillofac Surg* 64: 860-863, 2006. (査読有)
- 8) Kageyama A, Iida S, Yazawa K, Kudo T, Suzuki S, Koga T, Saito H, Inagawa H, Wada A, Kroppenstedt RM, Mikami Y: *Gordonia araii* sp. nov. and *Gordonia effusa* sp. nov. isolated from patients in Japan. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 1817-1821, 2006. (査読有)

- 9) Binelli CA, Moretti ML, Assis RS, Sauaia N, Menezes PR, Ribeiro E, Geiger DC, Mikami Y, Miyaji M, Oliveira MS, Barone AA, Levin AS: Investigation of the possible association between nosocomial candiduria and candidaemia. Clin Microbiol Infect 12: 538-543, 2006. (査読有)
- 10) Sano A, Miyaji M, Kamei K, Mikami Y, Nishimura K: Reexamination of *Coccidioides* spp. reserved in the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University, based on a multiple gene analysis. Jap J Med Mycol 47: 113-117, 2006. (査読有)
- 11) Mukai A, Fukai T, Matsumoto Y, Ishikawa J, Hoshino Y, Yazawa K, Harada K, Mikami Y: Transvalencin Z, a new antimicrobial compound with salicylic acid residue from *Nocardia transvalensis* IFM 10065. J Antibiot 59: 366-369, 2006. (査読有)
- 12) Hanafy A, Ito J, Iida S, Kang Y, Kogure T, Yazawa K, Takashi Yaguchi T, Mikami Y: Majority of *Actinomadura* clinical isolates from sputa or bronchoalveolar lavage fluid in Japan belongs to the cluster of *Actinomadura cremea* and *Actinomadura nitritigenes*, and the description of *Actinomadura chibensis* sp. nov. Mycopathol 164: 281-287, 2006. (査読有)
- 13) Ishiuchi K, Kubota T, Mikami Y, Obara Y, Nakahata N, Kobayashi J: Complandines C and D, new dimeric alkaloids from *Lycopodium complanatum*. Bioorg Med Chem [Epub ahead of print] 2006 Oct 11. (査読有)

邦文

- 1) 三原 弘, 石浦嘉久, 余川 茂, 中村政雄, 舟田久, 三上 襄: *Nocardia cyriacigeorgica* による半膜様筋膿瘍の1例. 内科 96: 1160-1163, 2005.
- 2) 渋谷理恵, 館田一博, 木村聡一郎, 石井良和, 村上日奈子, 島津玲子, 榎谷総子, 岩田守弘, 松本哲哉, 木村一博, 内田 耕, 中田紘一郎, 久保勢津子, 三上 襄, 山口恵三: ノカルジア属細菌の分子生物学的同定法と抗菌薬感受性に関する検討. 日本臨床微生物学雑誌 16: 81-88, 2006.

3. 総説・解説・その他学術刊行物

- 1) 三上 襄: 病原微生物 (特集/まるごと生き物大集合-バイオリソースプロジェクト-) 生物の科学

遺伝 60: 50-51, 2006.

- 2) 知花博治, 三上 襄: *Candida albicans* における MRS (Major repeated sequence) の構造と機能解析 - 遺伝子型解析への応用と全ゲノム解析の永い道のり -. 真菌誌 47: 129-134, 2006.
- 3) 宮川洋三, 知花博治, 宇野 潤, 三上 襄, 中山浩伸: *Candida* 属酵母に対する抗真菌剤標的候補としての必須遺伝群の探索. 真菌誌 47: 269-274, 2006.
- 4) 長 環, 豊田美香, 中山浩伸, 知花博治, 上西秀則: *Candida albicans* の Quorum-Sensing 機構. 真菌誌 47: 263-268, 2006.

4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

国際学会

招待講演

- 1) 三上 襄: 病原放線菌について. 吉林大学医学部, 長春, 中国, 2006.
- 2) 三上 襄: 生物資源としてのノカルジア. 吉林農業大学, 長春, 中国, 2006.

シンポジウム

- 1) Chibana H, Nakayama H, Ueno K, Sasamoto K, Aoyama T, Tsuritani K, Uno J, Miyakawa Y, Cho T, Nakai K and Mikami Y. The launch of *Candida glabrata* phenome project, The 8 th *Candida* and Candidiasis. Denver, March, 2006.

セミナー

- 1) Mikami Y: *Nocardia* as enemies and our friends (Seminar). Witwaters University, Johannesburg, South Africa, September 20, 2006.

国内学会

特別講演

- 1) 三上 襄: 病原性放線菌 *Nocardia* の生物学的研究 (21世紀 COE プログラム-第15回 北里研究所学会賞受賞者特別講演会). 東京, 1月27日, 2006.
- 2) 三上 襄: ゲノム解析情報に基づいた病原菌よりの新しい医薬の開発研究. なのはなコンペ受賞者研究成果発表会, 2006.

シンポジウム

- 1) 三上 襄: 病原放線菌の収集・保存・提供事業と開発事業. シンポジウム「病原リソースを探る」日本微生物資源学会第13回大会, 埼玉, 6月20日, 2006.

- 2) 三上 襄: NBRP における病原微生物のこれまでの保存事業と今後の展望『ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) シンポジウム』日本遺伝学会第 78 回大会』つくば, 9 月, 2006.
- 3) 知花博治, 病原真菌 *Candida glabrata* における抗真菌薬標的遺伝子の探索, 第 79 回細菌学会総会シンポジウム, 2006. 3.

大学院 GP

- 1) 上野圭吾: カンジダフェノミックスに基づく抗真菌薬標的遺伝子の探索, 文部科学省「魅力ある大学院教育」イニシアティブ (大学院 GP) 「情報集積型医療生薬を担う若手研究者の育成」第 1 回 講演発表会, 千葉, 1 月 30 日, 2006.

5. 一般発表

国際学会

- 1) Nakayama H, Aoyama T, Cho T, Toyoda M, Watanabe T, Chibana H: Functional analysis of GDP-mannose pyrophosphorylase (PSA1/SRB1/VIG9) gene and its paralogue in *Candida glabrata*, The 8th *Candida* and Candidiasis. Denver, March, 2006.
- 2) T. Rast, Hoog M van het, Martchenko M, Scherer S, Magee B, Grindle S1, Goodpaster M1, Dignard D2, Li Z2, Hogues H2, Berriman M4, Chibana H5, Whiteway M2, Magee P.T.1, Nantel A2: A final assembly of the *Candida albicans* genome, The 8th *Candida* and Candidiasis. Denver, March, 2006.
- 3) Chibana H, Nakayama H, Ueno K, Sasamoto K, Aoyama T, Tsuritani K, Nakai K and Mikami Y: The launching *Candida glabrata* phenome project for discovery of new anti-fungal drug targets, The 2nd International Symposium of the Institute Network of the Institute Network, Kyoto, May 30-31, 2006.
- 4) Nakayama H, Chibana H: In vitro and in vivo effect of farnesyl pyrophosphate synthase (*ERG20*) depletion in pathogenic yeast, *Candida glabrata*, The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, September 5-8, 2006.
- 5) Nakayama H, Aoyama T, Cho T, Ueno K, Chibana H: Functional analysis of the genes participated in GDP-mannose biosynthesis pathway in pathogenic yeast, *Candida glabrata*, The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, September 5-8, 2006.
- 6) Chibana H, Ueno K, Nakayama H, Aoyama T, Sasamoto K, Takagi H, Uno J, Miyakawa Y, Mikami Y: Pathogenic fungus *Candida glabrata* genome regulation project - Gene hunting for antifungal drug targets-The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, September 5-8, 2006.

国内学会

- 1) 三上 襄, 江崎孝行, 神原廣二, 笹川千尋, 菅原秀明, 辨野義己, 本田武司, 福島和貴: NBRP における病原微生物のこれまでの保存事業と今後の展望『ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) 日本遺伝学会第 78 回大会』つくば, 要旨集 p.15, 2006.
- 2) 三上 襄, 江崎孝行, 神原廣二, 笹川千尋, 菅原秀明, 辨野義己, 本田武司, 福島和貴: 病原微生物の遺伝資源化とバイオバイオセキュリティへの取り組み『ライフサイエンス合同シンポジウムポスターセッション, ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP)』東京国際フォーラム, 東京, 2006.
- 3) 三上 襄: ゲノム解析情報に基づいた病原菌よりの新しい医薬の開発研究. なのはなコンペ受賞者研究成果発表会, 2006.
- 4) 知花博治, 上野圭吾, 笹本 要, 釣谷克樹, 住江祐介, 中山浩伸, 青山俊弘, 宇野 潤, 中井謙太, 三上 襄: 病原真菌 *Candida glabrata* を用いた抗真菌薬標的遺伝子の探策, 第 4 回感染症若手研究者沖縄フォーラム, 1 月 13 ~ 15 日, 2006.
- 5) 青山俊弘, 中山浩伸, 長 環, 豊田美香, 知花博治: 病原性酵母 *Candida glabrata* における GDP-mannose pyrophosphorylase 遺伝子の調節因子解析, 第 4 回感染症若手研究者沖縄フォーラム, 沖縄佐敷町, 1 月 13 ~ 15 日, 2006.
- 6) 知花博治: 病原性真菌カンジダ属における誘導型プロモーターを用いた感染分子機構の網羅的研究, 特定領域研究「感染と宿主応答の分子基盤」班会議, 東京, 2 月 2 ~ 4 日, 2006.
- 7) 知花博治, 上野圭吾, 岡 奈緒, 中山浩伸, 三上 襄: 病原真菌 *Candida glabrata* 全ゲノム制御計画 (CGRP) における必須遺伝子の探索について, 第 8 回ワークショップ微生物ゲノム研究のフロンティ

- ア, 3月3～4日, 2006.
- 8) 中山浩伸, 田辺公一, 青山俊弘, 水野貴之, 知花博治: 病原性真菌 *Candida glabrata* のステロールの恒常性維持に関わる遺伝子群の機能解析, 第8回ワークショップ微生物ゲノム研究のフロンティア, 3月3～4日, 2006.
 - 9) 知花博治, 上野圭吾, 笹本 要, 釣谷克樹, 住江祐介, 中山浩伸, 青山俊弘, 宇野 潤, 中井謙太, 三上 襄: 病原性真菌 *Candida glabrata* を用いた抗真菌薬標的遺伝子の探策, 第4回感染症若手研究者沖縄フォーラム, 1月13～15日, 2006.
 - 10) 青山俊弘, 中山浩伸, 長 環, 豊田美香, 知花博治: 病原性酵母 *Candida glabrata* における GDP-mannose pyrophosphorylase 遺伝子の調節因子解析, 第4回感染症若手研究者沖縄フォーラム, 沖縄佐敷町, 1月13～15日, 2006.
 - 11) 知花博治: 病原性真菌カンジダ属における誘導型プロモーターを用いた感染分子機構の網羅的研究, 特定領域研究「感染と宿主応答の分子基盤」班会議, 東京, 2月2～4日, 2006.
 - 12) 知花博治, 上野圭吾 1, 岡 奈緒, 中山浩伸, 三上 襄: 病原性真菌 *Candida glabrata* 全ゲノム制御計画 (CGRP) における必須遺伝子の探索について, 第8回ワークショップ微生物ゲノム研究のフロンティア, 3月3～4日, 2006.
 - 13) 中山浩伸, 田辺公一, 青山俊弘, 水野貴之, 知花博治: 病原性真菌 *Candida glabrata* のステロールの恒常性維持に関わる遺伝子群の機能解析, 第8回ワークショップ微生物ゲノム研究のフロンティア, 3月3～4日, 2006.
 - 14) 神戸俊夫, 中川義之, 知花博治, 三上 襄: RPS 領域内の反復配列 ALT に基づいた *Candida albicans* の genotyping. 第79回日本細菌学会総会, 金沢, 3月29～31日, 2006.
 - 15) 知花博治, 中山浩伸, 上野圭吾, 宇野 潤, 長環, 宮川洋三, 三上 襄: 病原性真菌 *Candida glabrata* における抗真菌薬標的遺伝子の探索. 第79回日本細菌学会総会, 金沢, 3月29～31日, 2006.
 - 16) 上野圭吾, 知花博治, 中山浩伸, 三上 襄: 網羅的な遺伝子機能解析を可能にする *Candida glabrata* における形質転換対作製法の検討. 第79回日本細菌学会総会, 金沢, 3月29～31日, 2006.
 - 17) 中山浩伸, 長 環, 豊田美香, 宇野 潤, 三上 襄, 知花博治: 病原性真菌 *Candida glabrata* の合成遺伝子 *PSA1*, *PSA2* の機能解析. 第79回日本細菌学会総会, 金沢, 3月29～31日, 2006.
 - 18) 宮川洋三, 宇野 潤, 知花博治, 三上 襄, 中山浩伸: 病原性酵母 *Candida* におけるリン酸代謝負の制御因子 *PHO85* の役割: TET システムによる解析. 第79回日本細菌学会総会, 金沢, 3月29～31日, 2006.
 - 19) 長 環, 豊田美香, 中山浩伸, 知花博治, 上西秀則: *Candida albicans* クオラムセンシング機構-トランスクリプトーム-解析による膜蛋白質探索の試み-. 第79回日本細菌学会総会, 金沢, 3月29～31日, 2006.
 - 20) 知花博治: カンジダ酵母における病原性ゲノム機能学-網羅的遺伝子発現制御株の構築と応用-, 特定領域研究「ゲノム」4領域2005年合同班会議, 9月20-22日, 2006.
 - 21) 知花博治: カンジダ酵母における病原性ゲノム機能学-網羅的遺伝子発現制御株の構築と応用-, ゲノム特定・領域横断微生物研究会, 11月, 2006.
 - 22) 武田健二郎, KANG YINGQIAN, 飯田創治, 矢沢勝清, 三上 襄: *Nocardia* 属放線菌の *gyrB* 遺伝子情報に基づく系統解析. 第13回日本微生物資源学会, 埼玉, 6月19～21日, 2006.
 - 23) 矢沢勝清, 長谷川太一, 武田健二郎, Yingqian Kang, 伊藤淳二, 三谷宏樹, 三上 襄: 臨床材料から分離された *Nocardia* 属放線菌の分類学的な再検討. 2006年度日本放線菌学会大会, 千葉, 7月13～14日, 2006.
 - 24) 松本優子, 五ノ井 透, 武田健二郎, 矢沢勝清, 星野泰隆, 石川 淳, 三上 襄: *Nocardia* のシデロフォア生産性とその生産に関与する遺伝子. 2006年度日本放線菌学会大会, 千葉, 7月13～14日, 2006.
 - 25) 高山明子, Itano Eiko Nakagawa, 佐野文子, Ono Mario Augusto, 鎗田響子, 宮治 誠, 亀井克彦, 西村和子, 宇野 潤, 三上 襄: 多遺伝子解析でアウトグループに位置した *Paracoccidioides brasiliensis* IFM 54648 株について. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 55, 東京, 10月21～22日, 2006.

- 26) 田中玲子, 伊藤純子, 知花博治, 三上 襄, 西村和子, 矢口貴志: 病原性酵母 *Candida albicans* の分子疫学的研究. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 57, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 27) 伊藤淳二, 佐野文子, 亀井克彦, 西村和子, 宮治誠, 三上 襄: *Coccidioides* 属のトポイソメラーゼ II 遺伝子 (*TOP2*) 及び関連遺伝子 (*TRF4*) による同定法について. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 58, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 28) 武田健二郎, Yingqian Kang, 長谷川太一, 小暮高久, 矢沢勝清, 三上 襄: *gyrB* 遺伝子情報を用いた *Nocardia* 属放線菌の系統分類とその応用. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 61, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 29) 矢沢勝清, 飯田創治, 長谷川太一, 武田健二郎, 三上 襄: 臨床由来 *Nocardia asteroides sensu stricto* の存在について. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 61, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 30) 五ノ井 透, 武田健二郎, 向井 啓, 矢沢勝清, 矢口貴志, 三上 襄: 病原性放線菌を含む *Nocardia* 属の 60 菌種が産生する Siderophore (鉄キレート分子) の生合成に関する解析. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 61, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 31) 知花博治, 上野圭吾, 中山浩伸, 宇野 潤, 長 環, 宮川洋三, 三上 襄: *Candida glabrata* の全ゲノムから抽出した抗真菌薬標的候補遺伝子の機能解析. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 68, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 32) 原 貴彦, 宇野 潤, 知花博治, 三上 襄, 中山浩伸, 飯村 穰, 宮川洋三: *Candida* 属酵母に対する抗真菌剤の標的候補としての必須遺伝子群の探索. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 68, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 33) 長 環, 豊田美香, 中山浩伸, 上野圭吾, 知花博治, 上西秀則: *Candida albicans* におけるファルネゾール誘導膜蛋白想定遺伝子, 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 66, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 34) 中山浩伸, 田辺公一, 知花博治, 新見昌一: *Candida glabrata* のステロール取り込みに関わる遺伝子群の解析, 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 68, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 35) 知花博治, 笹本 要, 上野圭吾, 中山浩伸, 青山俊弘, 住江祐介, 木下妻智子, 宇野 潤, 三上 襄: *Candida glabrata* における網羅的発現制御株の構築と応用. 第 3 回真菌分子細胞研究会, 千葉 11 月 28 ~ 29 日, 2006.
- 36) 上野圭吾, 知花博治, 中山浩伸, 三上 襄: *Canida glabrata* の組換え体作製技術の改善と DNA 修復に関わる遺伝子機能解析. 第 3 回真菌分子細胞研究会, 千葉 11 月 28 ~ 29 日, 2006.
- 37) 青山俊弘, 中山浩伸, 知花博治, *Canida glabrata* データベース, 第 3 回真菌分子細胞研究会, 千葉 11 月 28 ~ 29 日, 2006.
- 38) 中山浩伸, 田辺公一, 竹森大樹, 青山俊弘, 知花博治, 新見昌一: *Canida glabrata* のステロールトランスポーター *AUS1* の薬剤感受性への関与: 第 3 回真菌分子細胞研究会, 千葉 11 月 28 ~ 29 日, 2006.
- 39) 竹森大樹, Bard Martin, 田辺公一, 新見昌一, Wu Sung, Hodgson Wesley, 青山俊弘, 知花博治, 中山浩伸: 病原性真菌 *Candida glabrata* のステロールトランスポーター *CgAUS1* の薬剤感受性への関与, 2006 分子生物学フォーラム, 12 月 6 ~ 8 日, 2006.
- 40) 明見能成, 菅田辰海, 三上 襄, 村山琮明: 血液疾患患者で発症した *Candida albicans* による真菌血症 - アゾール耐性菌症例と感受性菌症例での比較検討 -. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 78, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 41) 山本撰也, 宇野 潤, 深井俊夫, 三上 襄: 糸状菌から得られた Alkenylbenzene 誘導体の抗真菌活性の検討. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 80, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.
- 42) 武田健二郎, Yingqian Kang, 長谷川太一, 小暮高久, 矢沢勝清, 三上 襄: DNA ジャイレース β サブユニットをコードする遺伝子 (*gyrB*) 情報を用いた病原性 *Nocardia* の系統分類. 第 11 回千葉真菌症研究会学術講演会, 千葉, 6 月 10 日, 2006.
- 43) 高山明子, Itano Eiko Nakagawa, 佐野文子, Ono Mario Augusto, 鎗田響子, 宮治 誠, 亀井克彦, 西村和子, 宇野 潤, 三上 襄: 高度病原性真菌 *Paracoccidioides brasiliensis* の主要抗原遺伝子 *gp43* の

有用性. 第3回真菌分子細胞研究会, 要旨集 p.11,
千葉 11月28～29日, 2006.

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 三上 襄: 抗酸菌の薬剤不活化に関する研究: Eric R. Dabbs 教授, ウィットウォーターズ大学教授, 南アフリカ.
- 2) 三上 襄: 病原性放線菌および真菌の分子分類学的研究: N. Poonwan 博士, タイ国立衛生研究所, タイ.
- 3) 三上 襄: 病原性放線菌の系統学的研究: R. M. Kroppenstedt 教授, 微生物及び細胞株保存センター (DSMZ), ドイツ.
- 4) 三上 襄: 病原真菌 *Cryptococcus* の系統解析: W. Meyer 准教授, シドニー大学病院, オーストラリア.
- 5) 三上 襄: 病原真菌の疫学的研究: M. L. Moretti-Branchini 教授, カンピーナス大学医学部, ブラジル.
- 6) 知花博治: *Candida albicans* ゲノムシーケンスプロジェクト, Malcolm Whiteway 博士 カナダ, Paul T. Magee 博士, アメリカ合衆国.
- 7) 知花博治: *Candida glabrata* の遺伝子機能解析, Ken Haynes 博士, イギリス.

2. 共同利用研究以外の国内共同研究

1) 学内共同研究

石橋正己: 薬学研究院・活性構造化学研究室 教授
石川 勉: 薬学研究院・薬品製造学研究室 教授
田村 裕: 医学研究院・生命情報科学 特任助教授

国際交流

1. 海外渡航

- 1) 三上 襄: 文部科学省科学技術振興調整費: 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成, 中国吉林大学 (長春), 北京大学 (北京), 8月20日-24日.
- 2) 三上 襄: 文部科学省科学技術振興調整費: 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成, 中国吉林大学 (長春), 中山大学 (杭州), 貴陽医学院 (貴州), 11月5日～12日.
- 3) 三上 襄: 二国間共同実験 (学術振興会), 共同実

験の開始のため南アフリカウィットウォーターズ大学訪問, 9月16日～23日, 南アフリカ.

- 4) 知花博治: ASM conference 8th *Candida* and Candidiasis, Denver, 3月13～17日, 2006 (科研費).

2. 海外研究者の受け入れ

- 1) Shih-Yi Lee 研究員 (台湾疾病医学研究センター) 8月7～11日, 2006 (研究推進経費), 病原真菌講習会.
- 2) Lrodkaew Tussanee 研究員 (タイ国衛生研究所) 8月7～11日, 2006 (研究推進経費), 病原真菌講習会.
- 3) Shu-Ying Li 研究員 (台湾疾病医学研究センター) 10月13～28日, 2006 (台湾政府), 研究打合せと学会出席.
- 4) Luis Cortez 教授 (ブラジルカンピーナス大学) 10月23日, 2006, 研究者・大学院生の交流に関する意見交換.
- 5) Ademar Yamanaka 教授 (ブラジルカンピーナス大学) 10月23日, 2006, 研究者・大学院生の交流に関する意見交換.
- 6) Yotaro Shibayama (南アフリカウィットウォーターズ大学) 12月3日, 2006～1月31日, 2007 (二国間共同研究費), 共同研究.

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 三上 襄: 第49回日本医真菌学会総会特別講演「Cryptic speciation within the *Cryptococcus neoformans* species complex, Dr. W. Meyer」座長, 千葉, 10月6-7日, 2005.
- 2) 知花博治: 第79細菌学会総会, 真菌放線菌ワークショップ座長, コンビナー.
- 3) 知花博治: 第79細菌学会総会, 真菌放線菌シンポジウム1, コンビナー.
- 4) 知花博治: 第80細菌学会総会, 真菌放線菌ワークショップ, コンビナー.
- 5) 知花博治: 関東医真菌懇話会座長.
- 6) 知花博治: 第3回真菌分子細胞研究会幹事.

教育活動

学位指導

1. 博士課程

- 1) 飯田創治: 大学院医学薬学府 医学博士過程終了 (3月). 本邦に於いて臨床より分離された抗酸性の病原性放線菌の生理生化学的及び分子系統学的解析と, 新種としての確立に関する研究 (研究指導: 三上 襄).
- 2) 渡辺佳代: 大学院自然科学研究科 博士後期過程終了 (3月). 病原性真菌および放線菌の分子系統学的研究. (研究指導: 三上 襄).

2. 修士課程

上野圭吾: 大学院自然科学研究科博士前期課程終了 (3月). *Candida glabrata* における遺伝子組換え体作製法に関する研究. (研究指導: 知花博治, 三上 襄).

3. 医学部基礎配属

(4月-6月) 受け入れ 3名
磯崎哲郎, 岡本修一, 横山裕亮.

講義

三上 襄: 千葉大学大学院医学研究科 (真菌感染症学分野-高分子活性学), 千葉大学大学院自然科学研究科 博士後期課程 (分子生態機能学-真菌感染応答論I), 千葉大学大学院自然科学研究科博士前期課程 (分子生態機能学), 千葉大学大学院薬学研究科 (化学療法学)

知花博治: 薬学研究院講義 「病原真菌のゲノム解析とその応用」平成18年7月11日.

知花博治: 真菌 (かび) と人との関わり合い, 平成18年12月14日, 21日.

インターンシップ生 (実習生) の受け入れ

知花博治: 日本大学生産工学部応用化学科の3年生1名を実験の実習生として (平成18年8月1日-9月15日).

医学部基礎配属3名受け入れ (1月30日~2月27日).

社会的活動

センター講習会

三上 襄: 第20回病原真菌講習会講師「病原性放線菌」(2006. 7. 26)

講演など (一般視聴者対象)

知花博治: 公開講座実行委員.

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 三上 襄 (代表): 平成18年度科学研究費補助金 基盤C「病原放線菌 *Nocardia* のマイクロアレイ解析に基づく新しい分類基準」, 代表者 三上 襄 (160万円).
- 2) 三上 襄 (代表): 平成18年度文部科学省科学技術振興調整費「真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成」(2,857万円).
- 3) 三上 襄 (代表): ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」(平成18年度 2,110万円).
- 4) 知花博治 (代表), 宇野潤 (分担): 特定領域「応用ゲノム」カンジダ酵母における病原性ゲノム機能学-網羅的遺伝子発現制御株の構築と応用, 460万円.
- 5) 矢澤勝清 (代表): 平成18年度科学研究費補助金 奨励研究, 「*Nocardia asteroides sensu stricto* は存在するか?」, 2006年度, 570千円.

その他の外部資金

- 1) 三上 襄 (代表): 第一製薬株式会社「病原放線菌などが生産する抗真菌活性物質のスクリーニング, および活性物質の精製単離と構造解析」(600万円).
- 2) 知花博治 (代表): 株式会社大正製薬: カンジダ・グラブラータ遺伝子の機能に関する研究, 300万円.

分子機能研究部門 活性応答分野

(Department of Molecular Function, Division of Biological Specification)

本年度の客員教授に、昨年度に引き続いて第一製薬(株)創薬第一研究所 佐藤謙一所長が就任した。佐藤教授の18年度の社会的および研究活動は以下の通りである。

教授: 佐藤謙一 (客員)

学会および社会における活動等

1997年9月～2002年8月 感染症学会, 化学療法学会
共同英文誌編集委員

1998年4月～2001年3月 岡山大学薬学部非常勤講師

2002年4月～2003年3月 千葉大学薬学部非常勤講師

2003年4月～2004年3月 千葉大学共同推進センター
客員教授

現在: 日本化学療法学会評議員, 米国微生物学会会員,
(財)ヒューマンサイエンス振興財団, 創薬等ヒュー
マンサイエンス総合研究事業評価専門家委員, その
他: 細菌学会, 薬剤耐性菌研究会, ブドウ球菌研究会,
臨床微生物学会, 緑膿菌感染症研究会等会員

センターでの18年度の共同研究

微生物の二次代謝産物よりの新規化合物の探索

1. 好気性病原性の放線菌から, 数種の新規化合物を発見した。抗微生物活性を示す siderophore 系の化合物である transvalencin Z は, グラム陽性菌に活性を示す新規化合物であった。また, 同じく病原性の放線菌から精製した新規活性物質は, 抗酸性菌に強い活性を示す化合物であり, 現在詳しい抗菌活性スペクトラムを検討している。

2. 環境中には, 多くの嫌気性の微生物が棲息しているが, それらの微生物の代謝産物の研究を開始した。分離した細菌については, 予備的に活性物質の生産の有無をコロニーの段階で調べた。環境中から分離した嫌気性菌としては, 多くの病原性細菌が存在することが考えられることから, 分離し予備的に抗菌活性の産生が認め

られた嫌気性細菌については, **16S rRNA** 遺伝子の解析を行って, 菌種を確定した。菌種が確定した細菌については, 病原性の報告がない場合には, 活性物質の抽出用に小規模の液体培養を行った。その培養は新しく考案した液体培養方法で, 1週間程度培養し, 培養液をメタノールで殺菌後, 溶媒に抽出される物質を中心に抗菌活性を指標に探索した。その結果, これまで, 20種以上の細菌から, 3種の抗菌物質を精製してその構造を決定することができた。3化合物はいずれも低分子性のアルカロイド系化合物であり, 既知化合物であった。現在, さらに他の細菌の生産する活性物質の抽出精製を進めている。



学会発表

国際学会

1. Hoshino K, Okumura R, Inoue K, Murakami Y, Awaya H, Hirata T, Yamachika S, Otani R, Sato K: DC-159a, a new generation of respiratory quinolone: *in vitro* activities against clinical isolates and its mode of action against topoisomerases. 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, F1-478, 2006.

2. Murakami Y, Awaya H, Hoshino K, Otani T, Sato K: DC-159a, a new generation of respiratory quinolone: time killing study against quinolone-resistant *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* and *S. aureus*. 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, F1-485, 2006.

3. Kurosaka Y, Ogiso S, Uoyama S, Namba K, Otani T, Sato K: DC-159a, a new generation of respiratory quinolone: therapeutic efficacy against experimental murine pneumoniae due to multi-drug resistant *S. pneumoniae*. 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San

Francisco, CA, CA, F1-489, 2006.

4. Kurosaka Y, Ogiso S, Uoyama S, Namba K, Otani T, Sato K. DC-159a: a new generation of respiratory quinolone: *in vivo* pharmacodynamics and bactericidal activity in neutropenic murine thigh infections due to *S. pneumoniae*. 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, 2006.

国内学会

- 1) 樫本佳典, 黒坂勇一, 魚山里織, 小木曾すばる, 難波憲司, 大谷 剛, 佐藤謙一: マウスひ腹筋感染モデルを用いた sitafloxacin の PK/PD 解析. 第 55 回日本感染症学会東日本地方会総会, 第 53 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会 (東京, 京王プラザホテル) 抄録集, No.061, 2006.
- 2) 黒坂勇一, 小木曾すばる, 魚山里織, 難波憲司, 大谷 剛, 佐藤謙一: キノロン耐性 MRSA によるラット心内膜炎モデルにおける新規 Des-F (6) キノロン薬 DX-619 の治療効果. 第 55 回日本感染症学会東日本地方会総会, 第 53 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会 (東京, 京王プラザホテル) 抄録集, No.064, 2006.
- 3) 佐藤謙一: キノロン薬の新たな展開. シンポジウム 1. 耐性菌に対する新たな抗菌薬の開発. 第 54 回日本化学療法学会総会 (京都, 国立国際会館) 特集号, p.43, 2006.
- 4) 嵯峨知生, 高瀬浩之, 賀来満夫, 佐藤謙一: 臨床分離株におけるプラスミド性 AmpC β -lactamase の保有状況に関する検討. 第 54 回日本化学療法学会総会 (京都国立国際会館) 特集号, No.66, p.124, 2006.

病原真菌・放線菌管理室（微生物保存事業報告）

(Culture Collection of Pathogenic Fungi and Actinomycetes)

文部科学技術職員：伊藤純子（真菌担当，10月15日まで）

○センター内委員 微生物・保存・管理施設運営委員会
委員

文部科学技術職員：松澤哲宏（真菌担当，10月16日から）

文部科学技術職員：矢沢勝清（放線菌担当）

技術補佐員：松田千恵子

業務概要

同管理室は、真菌と放線菌の保存と維持管理を主な業務としている。本年の新規登録は真菌が518株、放線菌が142株であり、それらの台帳及びアンプルの作製を行っている。

国家プロジェクトであるナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）は、2006年にその第一期の最終年度である5年目を迎えた。中核機関である当センターが担当している病原真菌と放線菌においては、さらに多くの菌株が収集・保存されると共にそれぞれの菌株情報の整備も進み、分譲可能株としてインターネット上に掲載することができるようになった。また、バイオテロ等への対策の観点や、感染症法の改正に伴い病原菌の保存や移動の制限がより厳しくなることなどから、遺伝子での提供法も検討され、特に高度病原真菌等においては、遺伝子の提供体制が整備された。

センター保存株を利用した研究では、*Fonsecaea* 属菌における系統（ITS領域）と形態との関連、*Trichophyton mentagrophytes* の遺伝子多型と世界的分布、*Paracoccidioides brasiliensis* の変異株の存在、*Aureobasidium* 属菌関連菌のチトクローム *b* 遺伝子解析、黒色菌の *rRNA* 遺伝子に挿入されているイントロンの分類応用への研究等が活発に行われた。また病原放線菌では、特に *Nocardia* や *Gordonia* において、前年度に続き多くの新菌種が提案された。

論文

- 1) Hanafy A, Ito J, Iida S, Kang Y, Kogure T, Yazawa K, Yaguchi T, Mikami Y: Majority of *Actinomadura* clinical isolates from sputa or bronchoalveolar lavage fluid in Japan belongs to the cluster of *Actinomadura cremea* and *Actinomadura nitrigenes*, and the description of *Actinomadura chibaensis* sp. nov. *Mycopathologia* 162: 281-287, 2006

学会発表

国外

- 1) Yaguchi T, Horie Y, Tanaka R, Matsuzawa T, Ito J, Nishimura K: Classification of pathogenic *Aspergillus* section *Fumigati*. 8th International Mycological Congress, Cairns, Australia, August 21-25, 2006.

国内

- 1) 矢口貴志, 伊藤純子, 田中玲子, 松澤哲宏, 西村和子, 堀江義一: 病原性 *Aspergillus* section *Fumigati* の分類と性状. 真菌症フォーラム第7回学術集会, 抄録集 pp.40-41, 東京, 2月18日, 2006.
- 2) 矢口貴志, 堀江義一, 伊藤純子, 田中玲子, 松澤哲宏, 西村和子: *Aspergillus* section *Fumigati* の分類について. 日本菌学会50周年記念大会, 講演要旨集 p. 62, 千葉, 6月3~4日, 2006.
- 3) 武田健二郎, Kang Yingqian, 飯田創治, 矢沢勝清, 三上 襄: *Nocardia* 属放線菌の *gyrB* 遺伝子情報に基づく系統解析. 日本微生物資源学会第13回大会, 埼玉, 6月19~21日, 2006.
- 4) 矢沢勝清, 長谷川太一, 武田健二郎, Kang Yingqian, 伊藤淳二, 三谷宏樹, 三上 襄: 臨床から分離された *Nocardia* 属放線菌の分類学的な再検討. 2006年度日本放線菌学会大会, 講演要旨集 p.82, 千葉, 7月13~14日, 2006.
- 5) 松本優子, 五ノ井 透, 武田健二郎, 矢沢勝清, 星野泰隆, 石川 淳, 三上 襄: *Nocardia* のシデロフォア生産性とその生産に関与する遺伝子. 2006

年度日本放線菌学会大会, 講演要旨集 p.115, 千葉,
7月13～14日, 2006.

- 6) 矢口貴志, 伊藤純子, 堀江義一, 田中玲子, 松澤哲宏, 西村和子: 病原性 *Aspergillus section Fumigati* の分類と性状. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 55, 東京, 10月21～22日, 2006.
- 7) 田中玲子, 伊藤純子, 知花博治, 三上 襄, 西村和子, 矢口貴志: 病原性酵母 *Candida albicans* の分子疫学的研究. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 57, 東京, 10月21～22日, 2006.
- 8) 矢沢勝清, 飯田創治, 長谷川太一, 三谷宏樹, 三上 襄: 臨床由来 *Nocardia asteroides sensu stricto* の存在について. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 61, 東京, 10月21～22日, 2006.
- 9) 武田健二郎, Yingquan Kang, 長谷川太一, 小暮高久, 矢沢勝清, 三上 襄: *gyrB* 遺伝子を用いた *Nocardia* 属放線菌の系統分類とその応用. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 61, 東京, 10月21～22日, 2006.
- 10) 五ノ井 透, 武田健二郎, 向井 啓, 矢沢勝清, 矢口貴志, 三上 襄: 病原性線菌を含む *Nocardia* 属 60 菌種が生産する Siderophore (鉄キレート分子) の整合性に関する解析. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 61, 東京, 10月21～22日,

2006.

- 11) 矢口貴志, 松澤哲宏, 田中玲子, 伊藤純子, 堀江義一, 西村和子: *Aspergillus section Fumigati* の多相分類. 第3回真菌分子細胞研究会, 千葉, 11月28～29日, 2006.

受賞

- 1) 分担: 真菌症フォーラム第7回学術集会奨励賞: 矢口貴志, 伊藤純子, 田中玲子, 松澤哲宏, 西村和子, 堀江義一: 「病原性 *Aspergillus section Fumigati* の分類と性状」(2006. 2. 18).
- 2) 分担: 第50回日本医真菌学会総会ポスター賞: 矢口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子: 「遺伝子解析による *Neosartorya* 属および *Aspergillus section Fumigati* の分類と種の評価および新分類」(2006. 10. 22).

その他

科学研究費補助金

- 1) 伊藤純子 (代表): 平成18年度科学研究費補助金奨励研究, 病原性 *Aspergillus section Fumigati* 臨床株の分類と性状, 69万円.

2006年 分譲件数と分譲株数

件数 (株数)	国内		国外	合計
	真菌	放線菌		
	55 (1,220)	31 (226)	2 (8)	57 (1,228)
			5 (5)	36 (231)

患者検体から分離された菌株の同定と依頼機関

患者検体から分離された菌株の同定と依頼機関（起因菌の可能性の高いもののみ）を示す。

2006年

菌名	IFM 番号	依頼機関
真菌		
<i>Aspergillus flavus</i>	54639	倉敷総合病院細菌検査室
<i>Aspergillus flavus</i>	54689-54693	広島赤十字・原爆病院
<i>Aspergillus flavus</i>	55053	千葉大学医学部附属病院
<i>Aspergillus fumigatus</i>	54684-54688	広島赤十字・原爆病院
<i>Aspergillus fumigatus</i>	54729	千葉大学医学部附属病院
<i>Aspergillus fumigatus</i>	55043	横浜市立病院
<i>Aspergillus fumigatus</i>	55054	国立国際医療センター
<i>Aspergillus niger</i>	54606	千葉大学医学部附属病院
<i>Aspergillus niger</i>	54634	倉敷総合病院細菌検査室
<i>Aspergillus niger</i>	54640	倉敷総合病院細菌検査室
<i>Aspergillus niger</i>	54679-54683	広島赤十字・原爆病院
<i>Aspergillus terreus</i>	54636	倉敷総合病院細菌検査室
<i>Aspergillus terreus</i>	54694-54696	広島赤十字・原爆病院
<i>Bipolaris</i> sp.	54659	佐賀大学医学部附属病院
<i>Candida albicans</i>	54605	千葉大学医学部附属病院
<i>Candida albicans</i>	54966-54971	President Prudente Hospital, Brazil
<i>Candida albicans</i>	54985	Londrina, Brazil
<i>Candida albicans</i>	54991	Londrina, Brazil
<i>Candida famata</i>	54972	President Prudente Hospital, Brazil
<i>Candida glabrata</i>	54635	倉敷総合病院細菌検査室
<i>Candida glabrata</i>	54638	倉敷総合病院細菌検査室
<i>Candida glabrata</i>	54669-54673	広島赤十字・原爆病院
<i>Candida glabrata</i>	54897	沖縄美ら海水族館
<i>Candida guilliermondii</i>	54665-54668	広島赤十字・原爆病院
<i>Candida guilliermondii</i>	54976	President Prudente Hospital, Brazil
<i>Candida intermedia</i>	54982	Londrina, Brazil
<i>Candida intermedia</i>	55059	さいたま赤十字病院
<i>Candida krusei</i>	54660-54664	広島赤十字・原爆病院
<i>Candida krusei</i>	55058	千葉大学医学部附属病院
<i>Candida lusitaniae</i>	54977	Londrina, Brazil
<i>Candida parapsilosis</i>	54904-54905	沖縄美ら海水族館

<i>Candida parapsilosis</i>	54979-54980	Londrina, Brazil
<i>Candida parapsilosis</i>	54983	Londrina, Brazil
<i>Candida parapsilosis</i>	54988	Londrina, Brazil
<i>Candida parapsilosis</i>	54990	Londrina, Brazil
<i>Candida parapsilosis</i>	54996-54997	Londrina, Brazil
<i>Candida parapsilosis</i>	55019	あいち小児保健医療総合センター
<i>Candida pararugosa</i>	54974	President Prudente Hospital, Brazil
<i>Candida pararugosa</i>	54998	Londrina, Brazil
<i>Candida</i> sp.	54978	Londrina, Brazil
<i>Candida</i> sp.	54995	Londrina, Brazil
<i>Candida tropicalis</i>	54637	倉敷総合病院細菌検査室
<i>Candida tropicalis</i>	54674-54678	広島赤十字・原爆病院
<i>Candida tropicalis</i>	54890	沖縄美ら海水族館
<i>Candida tropicalis</i>	54892-54896	沖縄美ら海水族館
<i>Candida tropicalis</i>	54898-54901	沖縄美ら海水族館
<i>Candida tropicalis</i>	54903	沖縄美ら海水族館
<i>Candida tropicalis</i>	54906	沖縄美ら海水族館
<i>Candida tropicalis</i>	54989	Londrina, Brazil
<i>Candida tropicalis</i>	54992	Londrina, Brazil
<i>Candida tropicalis</i>	54994	Londrina, Brazil
<i>Candida tropicalis</i>	55010	Londrina, Brazil
<i>Candida tropicalis</i>	55047	日赤医療センター
<i>Candida tropicalis</i>	55048	千葉大学医学部附属病院
<i>Candida tropicalis</i>	55049	千葉大学医学部附属病院
<i>Candida zeylanoides</i>	54891	沖縄美ら海水族館
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	55041	自治医科大学附属病院
<i>Cryptococcus neoformans</i>	55014	Londrina, Brazil
<i>Cryptococcus neoformans</i>	55057	千葉大学医学部附属病
<i>Exophiala dermatitidis</i>	55022	天理よろづ相談所病院
<i>Exophiala dermatitidis</i>	55062	日本大学板橋病院検査部
<i>Fusarium falciforme</i>	54984	Londrina, Brazil
<i>Fusarium oxysporum</i>	54999-55001	Londrina, Brazil
<i>Fusarium oxysporum</i>	55003	Londrina, Brazil
<i>Fusarium solani</i>	55002	Londrina, Brazil
<i>Fusarium solani</i>	55004-55006	Londrina, Brazil
<i>Fusarium striatum</i>	55015	Londrina, Brazil
<i>Microsporium canis</i>	55008	President Prudente Hospital, Brazil
<i>Mucor circinelloides</i>	55051	旭川医科大学附属病院
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	55009	Londrina, Brazil
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	54889	沖縄美ら海水族館
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	54902	沖縄美ら海水族館
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	54975	President Prudente Hospital, Brazil
<i>Schizophyllum commune</i>	54722	東京都立荏原病院

<i>Schizophyllum commune</i>	55055	明石病院
<i>Scytalidium hyalinum</i>	55013	President Prudente Hospital, Brazil
<i>Trichisporon asteroides</i>	54993	Londrina, Brazil
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	55011	President Prudente Hospital, Brazil
<i>Trichophyton rubrum</i>	55012	President Prudente Hospital, Brazil
<i>Trichophyton tonsurans</i>	54728	竹内皮膚科医院
<i>Trichosporon asahii</i>	54973	President Prudente Hospital, Brazil
<i>Trichosporon asahii</i>	54981	Londrina, Brazil
<i>Trichosporon asahii</i>	54986-54987	Londrina, Brazil
<i>Trichosporon japonicum</i>	55007	Londrina, Brazil
放線菌		
<i>Actinomadura</i> sp.	10675	富良野協会病院
<i>Actinomyces</i> sp.	10702	千葉大学医学部附属病院
<i>Corynebacterium kroppenstedtii</i>	10770	ビー・エム・エル細菌検査科
<i>Corynebacterium</i> sp.	10769	ビー・エム・エル細菌検査科
<i>Corynebacterium</i> sp.	10771	ビー・エム・エル細菌検査科
<i>Eurobacterium nodata</i>	10776	高知県立安芸病院
<i>Gordonia</i> sp.	10703	千葉大学医学部附属病院
<i>Gordonia</i> sp.	10782	倉敷総合病院
<i>Gordonia sputi</i>	10737	名古屋大学附属病院
<i>Gordonia sputi</i>	10747	千葉大学医学部附属病院
<i>Microbacterium</i> sp.	10774	千葉市立青葉病院
<i>Mycobacterium abscessus</i>	10686	千葉県こども病院
<i>Mycobacterium</i> sp.	10685	関東中央病院
<i>Nocardia abscessus</i>	10763	国立病院機構・長崎神経医療センター
<i>Nocardia abscessus</i>	10765	千葉大学医学部附属病院
<i>Nocardia abscessus</i>	10775	船橋中央病院
<i>Nocardia abscessus</i>	10788	国立病院機構・札幌南病院
<i>Nocardia aobensis</i>	10784-10785	燕労災病院
<i>Nocardia aobensis</i>	10795	新潟港湾病院
<i>Nocardia asiatica</i>	10666	東京医科歯科大学医学部附属病院
<i>Nocardia asteroides</i>	10756	千葉大学医学部附属病院
<i>Nocardia beijingensis</i>	10674	魚沼市立ゆきぐに大和病院
<i>Nocardia beijingensis</i>	10691	天草地域医療センター
<i>Nocardia beijingensis</i>	10731	聖マリアンナ医科大学病院
<i>Nocardia beijingensis</i>	10739	昭和大学横浜市北部病院
<i>Nocardia beijingensis</i>	10772	広島赤十字・原爆病院検査部
<i>Nocardia brasiliensis</i>	10689	昭和大学病院
<i>Nocardia brasiliensis</i>	10697	山口大学医学部
<i>Nocardia brasiliensis</i>	10706	九州大学医学部
<i>Nocardia brasiliensis</i>	10716-10717	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico
<i>Nocardia brasiliensis</i>	10719-10720	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico

<i>Nocardia brasiliensis</i>	10723-10724	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico
<i>Nocardia brasiliensis</i>	10727	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico
<i>Nocardia brasiliensis</i>	10729-10730	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico
<i>Nocardia brasiliensis</i>	10745	千葉市立青葉病院
<i>Nocardia brasiliensis</i>	10748	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico
<i>Nocardia brasiliensis</i>	10781	CDC, 台湾
<i>Nocardia concava</i>	10684	佐賀大学医学部附属病院
<i>Nocardia cyriaciageorgica</i>	10704	長崎大学医学部附属病院
<i>Nocardia cyriaciageorgica</i>	10713	千葉市立青葉病院
<i>Nocardia cyriaciageorgica</i>	10721	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico
<i>Nocardia cyriaciageorgica</i>	10725	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico
<i>Nocardia cyriaciageorgica</i>	10744	シオノギバイオ
<i>Nocardia cyriaciageorgica</i>	10746	奈良県立医科大学
<i>Nocardia cyriaciageorgica</i>	10749	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico
<i>Nocardia cyriaciageorgica</i>	10752	千葉市立青葉病院
<i>Nocardia cyriaciageorgica</i>	10762	中国労災病院
<i>Nocardia cyriaciageorgica</i>	10778	三重県立総合医療センター
<i>Nocardia exalbida</i>	10701	順天堂大学浦安病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10664-10665	千葉大学医学部附属病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10670	長岡赤十字病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10672	千葉大学医学部附属病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10673	松江赤十字病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10682-10683	東京医科歯科大学医学部附属病院検査部細菌室
<i>Nocardia farcinica</i>	10688	東邦大学医療センター大橋病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10695	近畿大学医学部
<i>Nocardia farcinica</i>	10696	東海大医学部附属病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10698	名古屋大学医学部附属病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10705	長崎大学医学部附属病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10708	聖マリアンナ医科大学病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10711	中部労災病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10733	千葉大学医学部附属病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10736	名古屋大学附属病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10757	千葉大学医学部附属病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10759	久留米大学病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10764	国立病院機構・茨城東病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10773	広島赤十字・原爆病院検査部
<i>Nocardia farcinica</i>	10779	天理よろず相談病院
<i>Nocardia farcinica</i>	10792	宮崎県宮崎家畜保険衛生所
<i>Nocardia nova</i>	10690	宮崎大学医学部附属病院
<i>Nocardia nova</i>	10693	都立駒込病院
<i>Nocardia nova</i>	10707	聖マリアンナ医科大学病院
<i>Nocardia nova</i>	10712	福島県立医科大学附属病院
<i>Nocardia nova</i>	10714	千葉市立青葉病院

<i>Nocardia nova</i>	10768	千葉大学医学部附属病院
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	10671	昭和大学横浜市北部病院
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	10735	昭和大学横浜市北部病院
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	10786	国立病院機構・岡山医療センター
<i>Nocardia pseudobrasiliensis</i>	10700	今給黎総合病院
<i>Nocardia puris</i>	10692	千葉大学医学部附属病院
<i>Nocardia transvalensis</i>	10753	国立病院機構・大牟田病院研究検査科
<i>Nocardia transvalensis</i>	10760-10761	筑波大学臨床医学系
<i>Nocardia veterana</i>	10699	聖マリアンナ医科大学病院
<i>Nocardia vinacea</i>	10715	大垣市民病院
<i>Propionibacterium acnes</i>	10738	熊本大学医学部附属病院
<i>Propionibacterium propionica</i>	10732	寺田万寿病院
<i>Propionibacterium propionica</i>	10734	市立三次中央病院
<i>Rothia</i> sp.	10758	ビー・エム・エル細菌検査科
<i>Rothia</i> sp.	10783	福岡大学病院検査部
<i>Streptomyces aureoversillis</i>	10709	国立病院機構・大牟田病院
<i>Streptomyces</i> sp.	10718	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico
<i>Streptomyces</i> sp.	10726	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico
<i>Streptomyces</i> sp.	10728	Servicio Dermatocolgia, Hospital Universitario, Mexico

保存菌株の原産国別分類

North America	885
Bahamas	1
Canada	105
Costa Rica	244
Cuba	9
Dominican Republic	1
Gulf of Mexico	1
Honduras	5
Jamaica	3
Mexico	10
Nicaragua	2
Panama	4
Puerto Rico	8
USA	492
South America	1,929
Argentina	16
Brazil	1,692
Chile	15
Colombia	60
Ecuador	6
French Guiana	5
Guyana	3
Peru	4
Surinam	4
Uruguay	7
Venezuela	117
Africa	174
Argeria	1
Central African Republic	1
Congo	1
Egypt	27
Ethiopia	1
Gabon	1
Ghana	18
Guinea	1
Ivory Coast	5
Kenya	8
Madagascar	4

Malawi	3
Morocco	1
Mozambique	2
Namibia	1
Nigeria	11
Rwanda	2
Somalia	2
South Africa	66
Sudan	3
Togo	1
Uganda	3
Zaire	10
Zimbabwe	1
Asia	5,178
Bhutan	2
Ceylon	3
China	555
India	76
Indonesia	23
Iran	5
Iraq	1
Israel	1
Japan	3,967
Kazakhstan	1
Korea	39
Kuwait	4
Malaysia	4
Myanmar	1
Nepal	7
Pakistan	6
Saudi Arabia	1
Sri Lanka	15
Tadzikistan	1
Taiwan	54
Thailand	384
Turkey	4
Uzbekistan	3
Vietnam	21

Europe	1,522
Austria	35
Belgium	20
Bohemia	1
Bulgaria	3
Croatia	1
Czech Republic	331
Czechoslovakia	16
Denmark	15
Eritrea	1
Estonia	1
Finland	241
France	65
Germany	109
Greece	2
Hungary	45
Ireland	2
Irish Republic	1
Italy	110
Luxembourg	1
Netherlands	140
Norway	16
Poland	7
Portugal	13
Rumania	2
Russia	21

Slovakia	15
Spain	59
Sweden	35
Switzerland	26
UK	176
Ukraine	6
USSR	5
Yugoslavia	1
Oceania	175
Antarctic Ocean	14
Antarctica	19
Australia	65
Bougainville island	1
New Zealand	63
Papua New Guinea	2
Philippines	1
Samoa	1
Solomon Islands	6
Tahiti	2
Tonga	1
unknown	2,383
total	12,246

Cryptococcus neoformans and oxygen

Raclavský Vladislav

(Department of Pathogenic Fungi, Division of Ecology)

Foreign Guest Professor of the Research Center of Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University (2006). Present address: Dept. of Microbiology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Czech Republic

E-mail: rac@tunw.upol.cz

Summary

Oxygen is essential to life of all organisms except for obligate anaerobic species, because it is necessary for energy generation and also for some biosynthetic pathways. However, sensitivity to low oxygen levels can vary widely in different organisms and cell types. The pathogenic yeast species *Cryptococcus neoformans* is known to love oxygen. In response to the lack of oxygen (hypoxia), this yeast delays budding without resigning DNA replication, which eventually results in unique cell cycle arrest in the unbudded G₂-phase. Potential mechanisms of oxygen sensing and hypoxia signaling will be discussed, as well as the possible role of gradual adaptation to decreased oxygen supply during systemic cryptococcal infection in mammals.

Cryptococcus loves oxygen

Oxygen is essential to life of all organisms except for obligate anaerobic species, because it is necessary for energy generation and also for some biosynthetic pathways. Thus, all aerobic species have to develop a strategy how to cope with fluctuations in oxygen availability and how to possibly survive severe oxygen limitation. However, sensitivity to low oxygen levels can vary widely in different organisms and cell types. The pathogenic yeast species *Cryptococcus neoformans* is known to love oxygen. The first indices about the essential need of adequate oxygen supply for its proliferation came from Roberts *et al*¹⁾, who have shown that rates of isolation of yeasts from blood cultures were significantly enhanced by venting vacuum blood culture bottles in studies of both simulated and patients' blood cultures. Although they do not comment on this matter, their data clearly show that

the isolation rate of *C. neoformans* decreased more markedly in unvented blood culture bottles compared to other yeast species (66% recovery rate in simulated *C. neoformans* samples compared to 84-100% in *C. albicans*, *tropicalis* and *parapsilosis*). Later, Huahua *et al*²⁾ pointed at the key role of oxygen when they demonstrated that addition of hydrogen peroxide to blood culture bottles resulted both in increased pO₂ levels and increased CFU/ml yields of *Cryptococcus neoformans*. At last, Odds *et al*³⁾ demonstrated that oxygen should be the limiting nutrient for growth of *C. neoformans* in microtiter plates, because agitation or 100% oxygen environment both resulted in highest OD readings regardless of the glucose concentration. It is obvious that such sensitivity to oxygen levels must rely on a delicate oxygen sensing system which controls cell proliferation. However, the above-mentioned studies were targeted on resolving technical issues in microbiological diagnostics, and nobody has followed this line of research initially.

Clue comes from studies on ploidy

New incentive to the study of cryptococcal hypoxia response surprisingly came from the other side of the coin. Until the year 1995, our knowledge of cell cycle regulation in budding yeasts was based almost exclusively on the observations made in the model yeasts *Saccharomyces cerevisiae*. In this organism, initiation of budding and DNA-replication are coupled tightly, thus unbudded yeast cells are always G₁-cells harboring 1n DNA content in haploid strains. This paradigm was challenged and overcome by Takeo *et al*⁴⁾, who recognized that *Cryptococcus neoformans* is able to undergo DNA-replication without starting to bud, resulting in a

fraction of unbudded G₂-cells harboring 2n DNA content. This unique ability of *C. neoformans* to arrest in unbudded G₂-phase of the cell cycle has not been described in any other yeast species so far. Subsequently, the same group has shown that this arrest develops gradually during transition to stationary phase, when budding is delayed from S to G₂⁵⁾. At the end, Ohkusu *et al*⁶⁾ identified deficit in oxygen as the key cause for delayed budding resulting eventually in the unbudded G₂-arrest.

This discovery opened a completely new field for research, posing the questions on the oxygen sensor and on the signaling pathway from this sensor towards control of cell cycle progression. These questions appear to be important from the general perspective, because commitments to budding, replication and SPB duplication are all controlled by the Cdc28 downstream signaling and are inseparable in the model ascomycetous yeast *Saccharomyces cerevisiae*. This paradigm appears not to fit the cryptococcal cell cycle control at all points, although the cryptococcal Cdc28 homologue, CnCdk1, cannot be questioned as its master cell cycle regulator⁷⁾. However, as already noted by Ohkusu *et al*⁵⁾, a specific checkpoint control may exist in *C. neoformans* to control cell cycle progression. Its cells either have to pass an oxygen sensitive cell cycle checkpoint to start budding, regardless of how far DNA synthesis had proceeded, or, in other words, an unknown oxygen sensitive mechanism should be able to delay budding. Consequently, low oxygen supply could cause shorter or longer or even long-lasting delay in the onset of budding, resulting in G₂/M arrest through the well conserved morphogenetic checkpoint⁸⁾. The rapid onset of budding upon reoxygenation of G₂-arrested culture demonstrates that budding initiation and/or progress should be the only limiting steps when all other conditions to cell cycle progression are completed⁹⁾.

Established hypoxia signaling in mammals and *Saccharomyces* yeast provide little guidance

The easiest way to look for a clue to the control of cryptococcal cell cycle progression by oxygen availability should be to go through the knowledge gathered on the response to low oxygen levels in other eukaryotes. In mammals, HIF-1 (hypoxia-inducible factor) is the master player in

hypoxia response¹⁰⁾. HIF-1 is a heterodimeric transcription factor, one component of which is polyubiquitylated and subsequently degraded by the proteasome under normoxic conditions. Prolyl hydroxylases, which require dioxygen for their activity, serve as the oxygen sensors, which postrationally modify the HIF-1 α and thus mark it for degradation. Once the oxygen level is reduced, HIF is stabilized and transcription of genes needed to cope with hypoxia is upregulated. However, this type of response has developed during evolution of multicellular organisms only and there is no circumstantial evidence for its presence in unicellular eukaryotes. Also, when it comes to cell cycle arrest in response to hypoxia in mammalian cells, this is mediated through the PPI phosphatase action on pRb resulting in G₁ cell cycle arrest prior to DNA replication¹¹⁾.

When unicellular eukaryotes are considered as the source of knowledge about analogous signaling, the model yeast *Saccharomyces cerevisiae* should be the first choice. Two types of transcription factors are involved in activation and repression of genes under normoxic and hypoxic conditions in *Saccharomyces* yeast (for review see Kwast *et al*¹²⁾). However, in contrast to the strictly aerobic basidiomycetous yeast *Cryptococcus neoformans*, this ascomycetous yeast is facultative anaerobic and switches to a completely different metabolic behavior in response to oxygen limitation, which enables it to continue cell cycle progression. Thus, scarcely any useful hints can be learned from its Hap/Rox hypoxia response system for cryptococcal signaling.

In contrast, several interesting observations have been done in the aerobic yeast *Pichia stipitis*. Activation of its pyruvate decarboxylase was observed during aerobic cultivation in a cell number-correlated manner¹³⁾. Activation of this enzyme is also strongly triggered under hypoxic conditions, indicating that transient oxygen limitation due to accumulation of rapidly growing oxygen-demanding cells can be the reason for its cell number-correlated manner of activation in aerobic culture. Transient delay of budding was also observed in late log-phase of cryptococcal growth by us (unpublished data). Later it was shown that *Pichia stipitis* obviously responds to a decrease in dissolved oxygen tension while the culture is still aerobic, most probably to reduce oxygen consumption, to prevent a real limitation¹⁴⁾. This

type of response is very similar to the response of *Cryptococcus neoformans*, which also reduces its growth rate under limited aeration and eventually arrests without exploiting the glucose available in medium completely⁶. Based on yet unpublished observations made in *Pichia stipitis*, Klinner *et al*¹⁴ were the first to suggest possible role of nitric oxide synthase in hypoxia sensing of this yeast.

Can nitric oxide be the master?

Nitric oxide (NO) is known to be widely involved in signaling in multicellular eukaryotes including plants. Dioxygen and L-arginine serve as substrates for nitric oxide synthases (NOS), being converted into NO and citrulline. This reaction is dependent on the availability of several co-factors and co-substrates, including NADPH, FAD, and tetrahydrobiopterin (BH4). Activity of NOS was shown to be proportional to a wide range of dioxygen levels. Therefore, it is argued that the enzyme can serve as an oxygen sensor¹⁵. Recently, there is a growing body of evidence suggesting that the mechanisms by which cells adapt to hypoxia involve NOS activity¹⁶. In addition, presumable nitric oxide synthase (NOS) homologues have been detected in the model yeast *Saccharomyces cerevisiae*, although the evidence relies on the study of proteins, whereas the coding genes have not been described yet^{17,18}. Furthermore, Klinner *et al*¹⁴ reported that they have recently detected NOS activity in *P. stipitis* (submitted for publication). If the model on the role of NO in hypoxia signaling proposed in mammals would be applied to yeasts, then, increased dioxygen levels should result in increased NO production followed by downstream signaling.

However, another piece of puzzling evidence was added by Castello *et al*¹⁹ recently, who showed that yeast mitochondria produce NO at dissolved oxygen concentrations below 20 μ M. This NO production is nitrite (NO₂-) dependent, requires an electron donor, and is carried out by cytochrome *c* oxidase (COX) in a pH-dependent fashion. In such case, not increased, but decreased dioxygen levels should result in increased NO production followed by downstream signaling. Nonetheless, the above cited remark on NOS activity in *Pichia stipitis*¹⁴ and the observed mitochondrial NO production in *Saccharomyces cerevisiae*¹⁹ strongly suggest that NO production should play its part in hypoxia signaling in

Cryptococcus. Certainly, the accurate picture and significance of the role of NO in cryptococcal hypoxia response has to be established only. Due to the complexity of cellular systems, it is even conceivable, that both NOS and COX systems work in NO generation in yeast cells, being possibly activated differently at different dioxygen levels. Because the state of regulatory networks can also be different under different conditions, same levels of NO can even have converse effects. Also, the role of the two proposed systems may vary among aerobic a facultative anaerobic yeasts. Anyway, the possible role of NO in hypoxia signaling in yeasts represents an attractive hypothesis, because this molecule can also transmit signal to closely adjacent cells in culture, offering an intriguing explanation for the observed quorum sensing response in *Pichia stipitis*¹³.

Concluding remarks

It is noteworthy that hypoxia signaling and cell cycle regulation in *Cryptococcus neoformans* deserves to be studied not only because its general significance for understanding the biology of lower eukaryotes other than *Saccharomyces cerevisiae*. In addition, the role of cryptococcal adaptation to varying dioxygen levels during human infection highly deserves investigation and evaluation. As widely known, lung tissue is the typical port of entry of cryptococcal infectious propagules into the human body. From this primary site, it typically spreads into the CNS, causing meningoencephalitis. It is beyond reasonable doubt that inhalation of aerosol plays key role in its pathogenesis. There is also supportive evidence explaining cryptococcal predilection for the CNS because of its ability to utilize catecholamines for melanogenesis²⁰, although this has been questioned recently²¹.

However, lungs and brain tissue also share one character of possibly major importance for cryptococcal survival in human tissue, i.e. they show high levels of oxygenation. Although oxygen levels are lower in brain compared to lungs, they are kept still quite high and also within a rather narrow range because of the sensitivity of the brain tissue to damage by hypoxia. Thus, easier adaptation to gradually decreasing, but yet stable oxygen supply during invasion from environment to brain tissue through lungs may provide an intriguing explanation for the typical course of cryptococcal

infection, without questioning the other well known virulence factors further supporting its survival ability. In such case, adaptation to hypoxia may play significant role in pathogenesis of cryptococcal infection. Notably, in a murine model, cryptococcal cells which crossed the blood-brain barrier were always closely associated with the brain capillaries and were rarely found within the brain parenchyma as early as 3 hours postinjection. By 22h postinjection, they were found in the brain parenchyma, but still mainly near the capillaries. At 10 days postinjection, brains showed large cystic lesions throughout the brain parenchyma, where the largest numbers of yeast cells were again localized in perivascular cysts, i.e. close to the vessels providing them with oxygen (all Chang et al²²).

Thus, it can be concluded that the study of hypoxia signaling and cell cycle regulation in *Cryptococcus neoformans* represents a challenging and hot topic.

Acknowledgements

V. Raclavský is grateful to the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Ciba University (Japan). This work was also partly supported by the Czech Science Foundation (310/06/0645).

References

- 1) Roberts GD, Horstmeier C, Hall M, Washington JA: Recovery of yeast from vented blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 2: 18-20, 1975.
- 2) Huahua T, Rudy J, Kunin CM: Effect of hydrogen peroxide on growth of *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts in simulated blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 29: 328-332, 1991.
- 3) Odds FC, De Backer T, Dams G, Vranckx L, Woestenborghs F: Oxygen as limiting nutrient for growth of *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol* 33: 995-997, 1995.
- 4) Takeo K, Tanaka R, Miyaji M, Nishimura K: Unbudded G2 as well as G1 arrest in the stationary phase of the basidiomycetous yeast *Cryptococcus neoformans*. *FEMS Microbiol Lett* 129: 231-235, 1995.
- 5) Ohkusu M, Hata K, Takeo K: Bud emergence is gradually delayed from S to G2 with progression of growth phase in *Cryptococcus neoformans*. *FEMS Microbiol Lett* 194: 251-255, 2001.
- 6) Ohkusu M, Raclavský V, Takeo K: Deficit in oxygen causes G2 budding and unbudded G2 arrest in *Cryptococcus neoformans*. *FEMS Microbiol Lett* 204: 29-32, 2001.
- 7) Takeo K, Ogura Y, Virtudazo E, Raclavský V, Kawamoto S.: Isolation of a CDC28 homologue from *Cryptococcus neoformans* that is able to complement *cdc28* temperature-sensitive mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res* 4: 737-744, 2004.
- 8) Lew DJ: The morphogenesis checkpoint: how yeast cells watch their figures. *Curr Opin Cell Biol* 15: 648-653, 2003.
- 9) Ohkusu M, Raclavský V, Takeo K: Induced synchrony in *Cryptococcus neoformans* after release from G2-arrest. *Antonie Van Leeuwenhoek* 85: 37-44, 2004.
- 10) Semenza GL: Hypoxia-inducible factor 1: master regulator of O₂ homeostasis. *Curr Opin Genet Dev* 8: 588-594, 1998.
- 11) Krtolica A, Krucher NA, Ludlow, JW: Hypoxia-induced pRB hypophosphorylation results from downregulation of CDK and upregulation of PPI activities. *Oncogene* 17: 2295-2304, 1998.
- 12) Kwast KE, Burke PV, Poyton RO: Oxygen sensing and the transcriptional regulation of oxygen-responsive genes in yeast. *J Exp Biol* 201: 1177-1195, 1998.
- 13) Mergler M, Klinner U: Cell density-correlated induction of pyruvate decarboxylase under aerobic conditions in the yeast *Pichia stipitis*. *Acta Biol Hung* 52: 265-269, 2001.
- 14) Klinner U, Fluthgraf S, Freese S, Passoth V: Aerobic induction of respiro-fermentative growth by decreasing oxygen tensions in the respiratory yeast *Pichia stipitis*. *Appl Microbiol Biotechnol* 67: 247-253, 2005.
- 15) Stuehr DJ: Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta* 1411: 217-230, 1999.
- 16) Postovit LM, Sullivan R, Adams MA, Graham CH: Nitric oxide signalling and cellular adaptations to changes in oxygenation. *Toxicology* 208: 235-248, 2005.
- 17) Kanadia RN, Kuo WN, McNabb M, Botchway A.: Constitutive nitric oxide synthase in *Saccharomyces*

- cerevisiae*. *Biochem Mol Biol Int* 45: 1081-1087, 1998.
- 18) Domitrovic T, Palhano FL, Barja-Fidalgo C, DeFreitas M, Orlando MT, Fernandes PM: Role of nitric oxide in the response of *Saccharomyces cerevisiae* cells to heat shock and high hydrostatic pressure. *FEMS Yeast Res* 3: 341-346, 2003.
 - 19) Castello PR, David PS, McClure T, Crook Z, Poyton RO.: Mitochondrial cytochrome oxidase produces nitric oxide under hypoxic conditions: implications for oxygen sensing and hypoxic signaling in eukaryotes. *Cell Metab* 3: 277-287, 2006.
 - 20) Polacheck I, Platt Y, Aronovitch J: Catecholamines and virulence of *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun* 58: 2919-2922, 1990.
 - 21) Noverr MC, Williamson PR, Fajardo RS, Huffnagle GB: CNLAC1 is required for extrapulmonary dissemination of *Cryptococcus neoformans* but not pulmonary persistence. *Infect Immun* 72: 1693-1699, 2004.
 - 22) Chang YC, Stins MF, McCaffery MJ, Miller GF, Pare DR, Dam T, Paul-Satyaseela M, Kim KS, Kwon-Chung KJ: Cryptococcal yeast cells invade the central nervous system via transcellular penetration of the blood-brain barrier. *Infect Immun* 72: 4985-4995, 2004.

キノロン系合成抗菌薬の探索・開発研究

佐藤 謙 一

千葉大学真菌医学研究センター活性応答学分野客員教授
第一製薬(株)創薬第一研究所

1. はじめに

キノロン系抗菌薬(以下キノロン)は、シプロフロキサシン(CPFX)、レボフロキサシン(LVFX)を代表に、肺炎、尿路感染症を含む各種細菌感染症に対する治療薬として、広範に使用されている合成抗菌薬である。キノロンの特徴は、全合成化合物であり、多様な細菌に抗菌活性を示すブロードスペクトル、作用機作に基づく短時間殺菌力、および経口投与時における良好な血中、組織移行性が上げられる。一方、多数の感染症患者に使用されるため、その問題点も顕在化しつつある。一つは、キノロンの副作用がある。低頻度ではあるが、めまいなどの中枢作用、非ステロイド系抗炎症剤併用時における痙攣誘発、光過敏症、低血糖作用、等である。また、キノロン耐性菌の出現と増加傾向も問題になりつつある。これら臨床における問題点を改良するため、製薬企業における誘導体研究も、継続中である。

本総説では、キノロンの歴史、キノロンの作用機作および細菌の耐性機構、最近のキノロンの探索・開発研究、および今後のキノロンの可能性、特に抗真菌作用について紹介する。

2. キノロンの歴史

キノロンの歴史は、1962年にスターリング・ウインスロップ社で開発されたナジクス酸に始まる。ナジクス酸は、主にグラム陰性菌に活性を示し、グラム陽性菌への活性は微弱である。また、経口吸収性はいいものの体内でグルクロン抱合体を形成し、容易に對外へ排出される。しかし、サルファ剤に対する耐性菌に悩まされていた時代でもあり、臨床効果も良好なことから、主に尿路感染症、腸管感染症に使用された。その後、キノロン開発研究は、日本の製薬企業の独壇場となった。大日本製薬(現在、大日本住友製薬)からは、体内動態の改良、抗菌スペクトルの拡大を図ったピロミド酸(1967年)、

ピペミド酸(1973年)が開発され、さらに6位にフッ素を導入したノルフロキサシン(1984年、杏林製薬)へと発展した。ノルフロキサシンは、ニューキノロンと呼称される最初の薬剤で、グラム陽性菌と緑膿菌に対しても、良好な抗菌活性を示す。さらに組織移行性が良好で、体内に移行後、ほぼフリー体で存在する優れた特性を示す。ニューキノロンは、その後エノキサシン(1979年、大日本)、オフロキサシン(1981年、第一製薬)、シプロフロキサシン(1982年、バイエル)へと続く。その他、フレロキサシン(1993年、杏林)、ロメフロキサシン(1985年、富山化学)、トスフロキサシン(1987年、富山)、スパルフロキサシン(大日本)も続々と開発された。いわゆる第二世代キノロンである(図1)。

我々は、オフロキサシンの開発研究の経験を生かし、オフロキサシンのオキサジン上のメチル基の光学異性体、レボフロキサシン((S)-(-)体)の研究に着手した。興味あることに光学異性体の一方である(R)-(+体、DR-3354)の活性は弱い結果を示した。すなわちオフロキサシンの活性本体はレボフロキサシンであった¹⁾。さらに、レボフロキサシンは、その水溶性がラセミ体であるオフロキサシンより約10倍向上する特徴を示した。現在、レボフロキサシンは国内を含む100カ国以上で使用されている。

3. キノロンの作用機作

キノロンの強い殺菌作用は、細菌のDNA複製に関与する酵素であるII型トポイソメラーゼであるDNAジャイレース(Gyr)とトポイソメラーゼIV(TopoIV)阻害によるものと考えられる。Gyrは、サブユニットA(GyrA)とB(GyrB)のそれぞれ2分子(計4量体)からなり、2本鎖DNAに結合後、結合個所を切断し、再結合を繰り返す酵素である。その過程で、切断面よりtransit DNAを通過させ、2本鎖DNAに負の超螺旋構

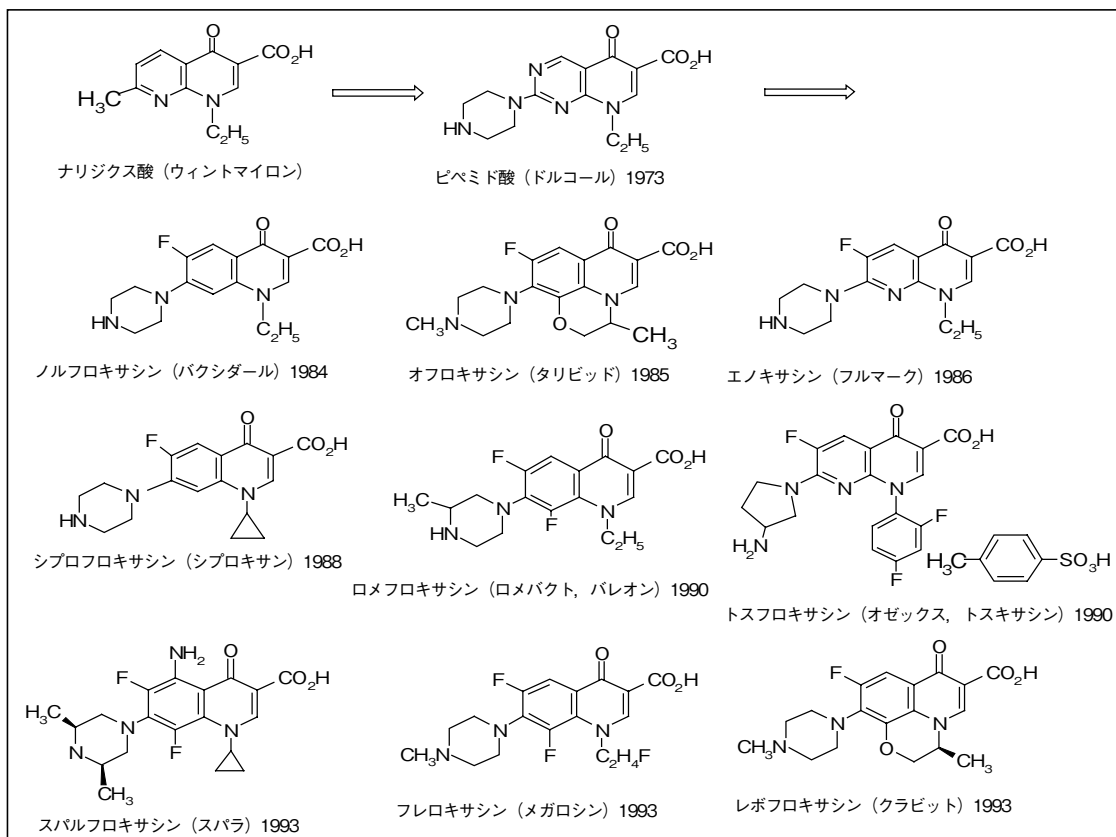


図1 主要キノロン系抗菌薬の構造

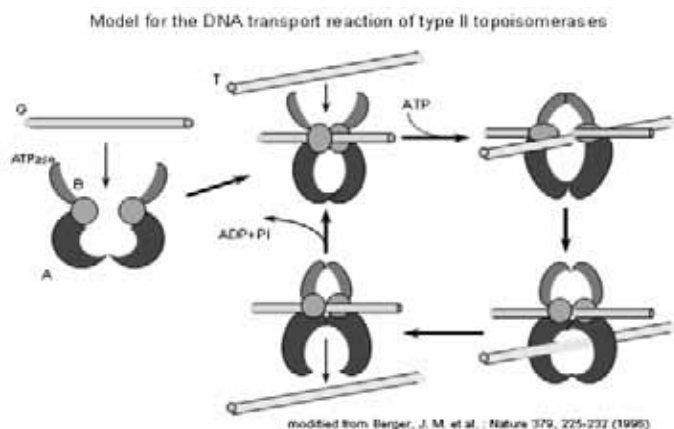


図2 DNA gyrase の機能モデル

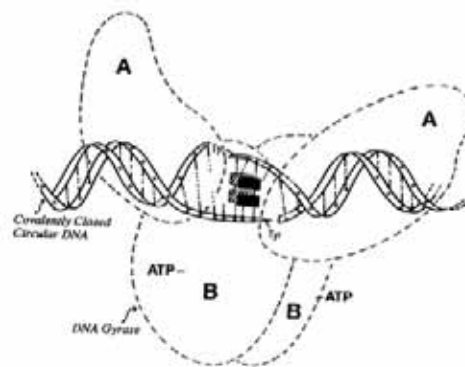


図3 キノロン作用モデル

造を構築していく²⁾(図2)。キノロンは、GyrAの作用時に出現する切断部のDNAループ構造にはまり込み、その後の再結合を阻害することで、DNA複製を阻害すると考えられる³⁾(図3)。GyrBは、ATPase活性を示し、加水分解の過程でGyrAの立体構造変換に参与する。Gyrと基本的には同一構造を示すTopoIVも、キノロン

の標的酵素である。すなわち、サブユニットA (ParA) およびB (ParB) 構造を示し、DNAに対する作用も類似しているが、Gyrと異なることは、デカテネーション、すなわちDNA複製後期の絡み合った2量体を分割する機能を有する。現在、我々はGyrおよびTopoIVとキノロンの分子レベルでの解析を実施している。特に高発現

系を用いて、大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌等から両酵素を精製し、キノロンの阻害作用を測定している。その結果、キノロン感受性グラム陰性菌の場合は、Gyr がより感受性（一次標的）であり、TopoIV が二次標的となるが、グラム陽性球菌になると、その一次、二次が逆転しTopoIV が一次標的となった。一方、一次標的が耐性変異（アミノ酸置換）を惹起した場合、キノロンの抗菌活性は二次標的阻害と良く相関した⁴⁾。すなわち、キノロンの作用は2つの標的の内、より感受性の酵素阻害によるものと考えられる。

4. キノロン耐性機構

キノロン耐性機構としては、1) 標的酵素である Gyr あるいは TopoIV のアミノ酸置換変異、2) 外膜透過性障害、3) 薬剤排出ポンプによる菌体内からの汲み出し、および 4) プラスミド性 *qnr* 遺伝子の獲得が知られている。

キノロンの耐性化に最も影響を与える因子は、標的酵素である Gyr あるいは TopoIV の特にサブユニット A である GyrA、ParC 上のアミノ酸変異で、特にキノロン耐性決定領域 (QRDA) に集約されている (図4)。この QRDR 領域はほとんどの菌種でよく保存され、特に酵素活性中心でもある。キノロン高度耐性菌では、GyrA および ParC 上 QRDR の 2~4 重変異を獲得した菌株が認められることがある⁵⁾。

グラム陰性菌は、外膜構造、特に膜脂溶性、ポリン欠損等によって薬剤の透過性に影響を及ぼすことが、さらに、キノロンを能動的に菌体内から排出するポンプの存

在と機能が明らかになりつつある。例えば緑膿菌では、少なくとも5種類の異なるポンプが知られ、その構造は細胞膜、ペリプラズマ、外膜に存在するタンパクによって形成されるマルチ構造をとる。しかも、これらポンプはキノロンだけでなくテトラサイクリン、クロラムフェニコール、マクロライド系抗菌剤の排出にも関与することが知られている⁶⁾。その他、プラスミド上にある *qnr* 遺伝子の存在が明らかになりつつある⁷⁾。この遺伝子は、本来 Gyr および TopoIV 阻害を示すある種のバクテリオシンに対抗するため、細菌が獲得した耐性機構と考えられるが、その詳細は明らかではない。しかし、伝達性の多剤耐性プラスミド上に存在し、そのコピー数に応じキノロン耐性度も異なることから、新種の耐性遺伝子である。

5. トポイソメラーゼ II に対する選択毒性

細菌の Gyr および TopoIV は、二本鎖 DNA の切断・再結合を担う酵素であるが、哺乳動物細胞中にも類似の酵素、トポイソメラーゼ II (TopoII) が存在する。そのため、キノロンの選択毒性について問題となった。我々は、その問題を解析するため、まずウシ胎児胸腺から TopoII を抽出・精製し、細菌標的酵素との阻害活性の比、すなわち選択毒性を検討してきた。現在は、ヒト胎児由来 TopoII が市販されるようになり、直接比較が容易となっている。例えば、レボフロキサシンは大腸菌標的酵素 50% 阻害濃度と、ヒトトポイソメラーゼ II 阻害濃度比は約 1/1000 以下であり、十分な選択毒性値を示す⁸⁾。

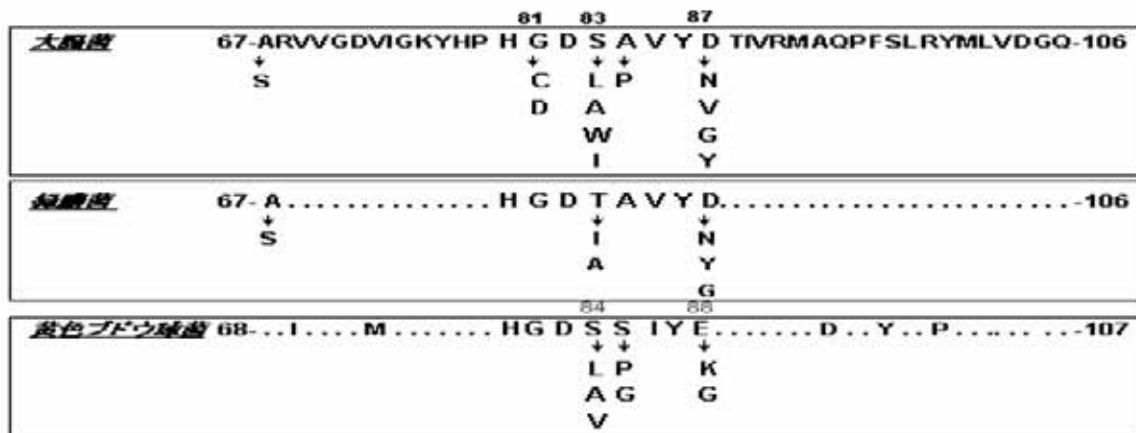


図4 GyrA の QRDR 変異

6. 今後のキノロン研究, 特に抗真菌活性について

現在, 我々は3つの可能性についてキノロン研究を推進中である. 1つは, 近年増加しつつあるキノロン耐性菌に活性を示す新規キノロンの可能性である. すでに, DU-6859a (DU)⁹⁾ および DX-619 (DX)¹⁰⁾ を見出し, 臨床試験を展開中である. DUは, 主にグラム陽性菌, 陰性菌に対し, バランス良く抗菌活性を増強させた化合物であり, DXは, 6位 des-F 体で, グラム陽性菌, とりわけ臨床で多剤耐性化が問題となっているメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に DU, バンコマイシン以上に高活性を示す化合物である. いずれの化合物も, 短時間殺菌性を示し, キノロン耐性菌にも特徴ある抗菌活性を示す.

次に, 現有キノロン以上に安全性に優れ, 良好な体内動態と広域抗菌活性を示すキノロンの創出である. いわゆる次世代レボフロキサシンタイプの探索である. 加えて, 従来にない新しいスペクトルの発見である. 例えば, 結核菌に対する活性増強, あるいは抗真菌活性である.

下図5に, *C. albicans* によるマウス全身感染モデルに対する DU-6859a とアンホテリシン B との併用効果を示した¹¹⁾. A: ▲は無処置群, ●はアンホテリシン B 投与群, それに DU 2mg/kg (△), 10mg/kg (□), 25mg/kg (○) を併用すると著明な延命効果が観察された. B

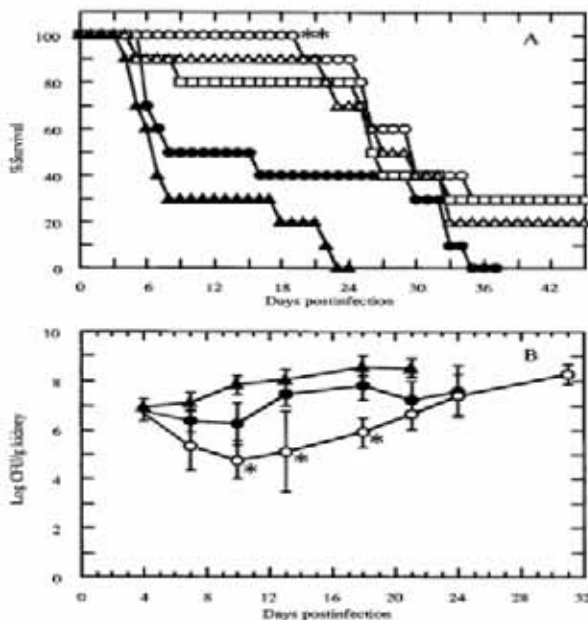


図5

は腎内菌数を示すが, 腎臓内菌数も併用効果が認められた. 興味あることに, in vitro FIC index も相乗効果を示すことから, これら現象は, DUの免疫系の活性化に基づくのではなく, 真菌細胞への直接作用に起因すると考えられる. 真菌トポイソメラーゼ II 阻害あるいは細胞壁への作用等, より詳細な研究が必要である. この併用効果は, さらにアゾール誘導体との組み合わせでも見られること, および *A. fumigatus* による肺感染モデルでも類似の併用効果が認められることを観察している. いずれも新しい抗真菌薬創製につながる興味ある知見である.

その他, キノロンの作用として抗原虫作用 (抗マラリア, 抗トキソプラズマ) も報告されているが, その機作は明らかではない.

7. おわりに

キノロンは, 肺炎, 尿路感染症, 性感染症および腸炎等の細菌感染症に対し, 世界中で幅広く使用されるようになった. それに伴いキノロン耐性菌の出現と拡大もまた問題になりつつある. そこで, キノロンを創出した研究所としても, 様々な角度から新規キノロンの研究を継続している. 詳細な作用機作解析, 耐性機構研究, 新用法・用途の発掘である. これらの研究成果が結実するためには, 10年に及ぶ歳月が必要である. 一方, レボフロキサシンは, まだまだ十分に臨床分離株に通用する抗菌活性を示している. 現有キノロンの寿命を延長させるためにも, 適正使用による耐性菌抑止が重要である.

8. 引用文献

- 1) Sato K, Hoshino K, Tanaka M, Hayakawa I, Osada Y, Nishino T, Mitsuhashi S: Antibacterial activity of new quinolones and their mode of action. *Progress in Drug Research* 38: 121-130, 1992.
- 2) Gellert M, O' Dea MH, Mizuuchi K, Nash H: DNA gyrase: an enzyme that introduces superhelical turns into DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 73: 3872-3876, 1976.
- 3) Morrissey I, Hoshino K, Sato K, Yoshida A, Hayakawa I, Bures MG, Shen LL: Mechanisms of different activities of ofloxacin enantiomers. *Antimicrob Agents Chemother* 40: 1775-1784, 1996.
- 4) Tanaka M, Onodera Y, Uchiyama Y, Sato K, Hayakawa I: Inhibitory activities of quinolones against DNA gyrase and topoisomerase IV purified from *Staphylococcus aureus*.

- Antimicrob Agents Chemother 41: 2362-2366, 1997.
- 5) Akasaka T, Tanaka M, Yamaguchi A, Sato K: Type II topoisomerase mutations in fluoroquinolone-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in 1998 and 1999. Antimicrob Agents Chemother 45: 2263-2268, 2001.
 - 6) Poole K, Tetro K, Zhao QX, Neshat S, Heinrichs DE, Neshat S: Multiple antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: evidence for involvement of an efflux operon. J Bacteriol 175: 7373-7372, 1993.
 - 7) Jacoby GA, Chow N, Waites KB: Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance. Antimicrob Agents Chemother 47: 559-562, 2003.
 - 8) Hoshino K, Kitamura A, Morrissey I, Sato K, Kato J, Ikeda H: Comparison of inhibition of *Escherichia coli* topoisomerase IV by quinolones with DNA gyrase inhibition. Antimicrob Agents Chemother 38: 2623-2627, 1994.
 - 9) Sato K, Hoshino K, Tanaka M, Hayakawa I, Osada Y: Antimicrobial activity of DU-6859a, a new potent fluoroquinolone against clinical isolates. Antimicrob. Agents Chemother 36: 1491-1498, 1992.
 - 10) Fujikawa K, Chiba M, Tanaka M, Sato K: *In vitro* antibacterial activity of DX-619, a novel des-fluoro (6) quinolone. Antimicrob Agents Chemother 49: 3040-3045, 2005.
 - 11) Nakajima R, Kitamura A, Someya K, Tanaka M, Sato K: *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of DU-6859a, a fluoroquinolone, in combination with amphotericin B and fluconazole against pathogenic fungi. Antimicrob Agents Chemother 39: 1517-1521, 1995.

平成 18 年度 共同利用研究一覧

研究課題 '06-01

Aspergillus fumigatus の病原性に関する研究

渡邊 哲 (千葉大学医学部附属病院)

関根 利一 (城西国際大学薬学部)

亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-02

真菌細菌の菌種間相互作用における超微細構造

池田 玲子 (明治薬科大学)

山口 正視, 川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-03

好熱性糸状菌 *Thermoascus aurantiacus* による酸化酵素類の
生産と細胞内微細構造の解析

藤井 貴明 (千葉大学園芸学部)

山口 正視, 大楠美佐子, 川本 進 (千葉大学真菌医学
研究センター)

研究課題 '06-04

病原性微生物が生産する二次代謝産物や酵素とその病原
性の関連に関する研究

原田 健一 (名城大学薬学部)

三上 襄, 矢澤 勝清 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-05

病原性放線菌由来の天然生理活性物質の探索研究

新家 一男 (東京大学分子細胞生物学研究所)

三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-06

人獣共通真菌症の迅速診断法の確立と病原因子の解析

加納 壘, 長谷川篤彦 (日本大学生物資源科学部)

佐野 文子, 亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-07

人獣共通真菌症の症例検討: ふれあい動物園, 学校飼育
動物などの真菌保有率の調査

猪股 智夫 (麻布大学獣医学部)

佐野 文子, 亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-08

ヒト遺体より分離された真菌の分類・同定

徳留 省吾, 石井 清, 一杉 正仁 (獨協医科大学)

矢口 貴志 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-09

日本列島のオオミズナギドリ繁殖地における微小真菌相
の解明

岡 奈理子 (山階鳥類研究所)

矢口 貴志 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-10

真菌症原因菌に対する抗酸化剤の影響評価

高鳥 浩介 (国立医薬品食品衛生研究所)

田口 英昭, 福島 和貴 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-11

病原酵母のプロテオーム解析

奥田 研爾, 園田 智子 (横浜市立大学大学院医学研究科)

川本 進, 大楠美佐子 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-12

元素状硫黄を代謝する真菌の超微細構造

高谷 直樹 (筑波大学大学院生命環境科学研究科)

山口 正視, 川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-13

Trichophyton tonsurans 感染状態の形態学的, 細胞生物学的
検討

比留間政太郎 (順天堂練馬病院皮膚・アレルギー科)

川本 進, 大楠美佐子 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-14

共生・寄生二形性真菌の形態と生態に関する研究
畑 邦彦 (鹿児島大学農学部)
川本 進, 大楠美佐子 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-15

真菌が生産する抗アスペルギルス物質の研究
深井 俊夫 (東邦大学薬学部)
宇野 潤, 三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-16

環境内真菌の吸入と非感染性ヒト疾患との関連に関する研究
渋谷 和俊 (東邦大学医学部)
亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-17

琉球大学医学部皮膚科で分離された真菌の形態学的, 生理学的, 分子生物学的同定
稲福 和宏 (琉球大学医学部附属病院)
佐野 文子, 亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-18

分子生物学的手法を用いた魚類病原真菌の同定に関する研究
畑井喜司雄 (日本獣医生命科学大学獣医学部)
佐野 文子, 横山 耕治, 亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-19

家畜・家禽等の真菌症の病原学および病因学的診断
木村久美子, 播谷 亮 (動物衛生研究所感染病研究部)
佐野 文子, 横山 耕治, 三上 襄, 亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-20

宿主の病原真菌感染防御能に対する DHA の影響・その分子機構の解明
二川 健 (徳島大学大学院ヘルスパイオサイエンス研究部)
大荒田素子, 栗田 啓幸, 五ノ井 透, 亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-21

Aspergillus 及び関連菌の分子系統解析と形態学的研究との比較研究
堀江 義一 (千葉県立中央博物館)
矢口 貴志 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-22

病原酵母の株識別法の検討
神戸 俊夫 (名古屋大学医学部附属神経疾患・腫瘍分子医学研究センター)
田中 玲子, 知花 博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-23

新規に単離した抗真菌性物質 F-604 の作用機序
河合 清 (中京女子大学大学院健康科学研究科)
福島 和貴 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-24

真菌からの新規生理活性リード化合物の探索
河合 賢一, 細江 智夫, 板橋 武史 (星薬科大学)
福島 和貴, 矢口 貴志 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-25

犬の耳道内 *M. pachydermatis* の耳道内環境に与える影響について
小守 忍 (岩手大学農学部)
福島 和貴, 田口 英昭 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-26

Candida albicans 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子破壊株のアレイ解析
村山 琮明 (北里大学北里生命科学研究所)
横山 耕治, 知花 博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-27

病原真菌 *Candida tropicalis* の二形性変換のゲノム・ネットワーク
鈴木 孝仁, 岩口 伸一 (奈良女子大学理学部)
横山 耕治 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-28

Aspergillus section Nigri の分子分類などによる類別とオクラトキシン産生

高橋 治男 (千葉県衛生研究所)

一戸 正勝 (東京家政大学家政学部)

浅尾 務, 久米田裕子 (大阪府立公衆衛生研究所)

田端 節子 (東京都健康安全研究センター)

陰地 義樹, 大橋 正孝 (奈良県保健環境研究センター)

横山 耕治 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-29

Cryptococcus neoformans 薬剤耐性のスクリーニングと分子機構解析

野村 文夫 (千葉大学大学院医学研究院)

川本 進, 大楠美佐子 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-30

真菌の窒素代謝と NO ストレス耐性機構の研究

祥雲 弘文 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

山口 正視, 川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-31

Candida albicans バイオフィルムの微細構造

杉田 隆 (明治薬科大学)

山口 正視, 川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-32

海洋生物を素材とした抗真菌物質の探索

小林 淳一 (北海道大学大学院薬学研究科)

三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-33

Nocardia 属細菌が持つイソプレノイド生合成遺伝子資源の探索

大利 徹 (富山県立大学工学部生物工学研究センター)

三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-34

高度病原真菌のトポイソメラーゼ遺伝子 (*top2*) による同定法の研究

安藤 昭一, 篠山 浩文 (千葉大学大学院自然科学研究科)

雨宮 良幹, 齋藤 明広 (千葉大学園芸学部)

三上 襄, 知花 博治, 矢澤 勝清 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-35

カンジダ酵母の遺伝子の組換え技術に基づく機能解析

長 環, 豊田 美香 (福岡歯科大学)

中山 浩伸, 青山 俊弘 (鈴鹿工業高等専門学校)

水野 貴之 (徳島文理大学)

宮川 洋三 (山梨大学)

知花 博治, 三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究課題 '06-36

糸状菌 *Aspergillus* 属のミトコンドリア・マトリックス局在タンパク質の機能解析

前田 浩, 岡 千寿 (千葉県産業支援技術研究所)

五ノ井 透, 三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター)

平成 17 年度 共同利用研究報告

研究課題 '05 - 01

魚介類の真菌症原因菌の分子生物学的研究

畑 井 喜司雄 (日本獣医畜産大学獣医学部魚病学講座)

西 村 和 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 系統・化学分野)

佐 野 文 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌感染分野)

研究成果

オクロコニス属の新種に原因する養殖ヤマメの大量死亡例について研究した。

養殖ヤマメに不完全菌類の *Ochroconis* 属菌に原因する慢性的に死亡する症例が発生した。罹病魚の外観は腹部膨満を呈する程度であったが、開腹すると腎臓が腫大し、部分的に白斑状を呈していた。腎臓内部には多数の淡褐色の菌糸が繁殖しており、病理組織学的に肉芽種を形成していた。患部からはサブロー寒天培地などで 1 種類の菌を培養することができた。分離・培養された菌は 3 隔壁を有する淡褐色の長楕円形の分生子を仮軸状に産生し、分生子の表面には細い棘状突起を有した。これらの特徴から本菌は、Doty and Slater (1946) によって米国のマスノスケから報告された *Ochroconis tshawytschae* に近似する種であると考えられた。

そこで基準株である ATCC 9915 とヤマメ株とを走査電顕で詳細に形態を比較検討した結果、ヤマメ株は疣状突起が 1 種類であるのに対して 9915 株は大小 2 種類の突起が存在した。また分生子の形状は、9915 株の方が、ヤマメ株よりも細長かった。また、集落の形状や色調も若干異なった。

さらにヤマメ株の D1/D2 LSU rRNA 遺伝子の配列は既知種の配列とは異なり、相同性は 80% であった。なお、他の病原性黒色菌の配列にヤマメ株の配列を加えてクラスター解析を行った結果、他の *Ochroconis* 属菌と同一のクラスターに位置した。以上のことからヤマメ株は *Ochroconis* 属の新種であると判断した。

これらの他に、イヌのリンパ節より分離された *Lecythophora hoffmannii* についての論文が *Medical Mycology* に受理された。

研究発表

原著

- 1) Sakaeyama S, Sano A, Murata Y, Kamei K, Nishimura K, Hatai K: *Lecythophora hoffmannii* isolated from a case of canine osteomyelitis in Japan. *Med Mycol* 45, 2007, in press.

学会発表

- 1) 畑井 喜司雄, 佐野文子, 西村 和子: オクロコニス属の新種に原因する養殖ヤマメの大量死亡例について. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 33, 東京, 10 月 21 - 22 日, 2006.

動物の真菌症・放線菌症の診断

播谷 亮 (動物衛生研究所感染症研究部)
木村 久美子 (動物衛生研究所感染症研究部)
西村 和子 (千葉大学真菌医学研究センター, 系統・化学分野)
三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)
佐野 文子 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌感染分野)
横山 耕治 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌資源開発分野)

研究概要

本研究は、家畜保健衛生所ならびに動物衛生研究所で分離培養が難しい真菌・放線菌の培養、遺伝子診断および病理組織学的な真菌症の鑑定を共同研究として行い、その成果を広く社会に還元し、人獣共通感染症研究に貢献することを目標とするものである。家畜の真菌症・放線菌症に対する理解は薄かったが、最近、人獣共通感染症としてにわかに関心が高まってきた。中でも接合菌による感染は、致命的経過をとるものが多く、生前診断が難しい。本研究の成果から、家畜の接合菌症に関しては遺伝子解析および免疫組織化学的解析を組み合わせることにより原因菌種の特定の可能性が示された。

通常の実験室では *Aspergillus* spp. と接合菌の鑑別は

難しい場合も多いが、免疫組織化学を用いることにより *Aspergillus* spp. による感染と接合菌症の鑑別が可能である。しかし、真菌感染症の免疫組織化学では各種抗体と既知の菌種との反応性を比較し、各種抗体の性質を熟知することが重要である。そのためこの研究を通じて、真菌レファレンスアレイの作製に着手している。

また、新興真菌症原因菌の診断にも着手し、センターで開発された *Ochroconis gallopava* 検出系も合わせて検討してみたが、まだ、確定診断にいたっていない。一方、*Scopulariopsis* sp. による症例では分離菌、病理組織像、臨床症状との総合的判断から、診断できた症例もある。今後、出来る限り培養を試み、培養菌体との整合性により、診断精度を向上させようと考えている。

白血球の抗真菌活性におよぼす食品成分の影響

近藤博信（金城学院大学生活環境学部食環境栄養学科，栄養学研究室）

栗田啓幸（千葉大学真菌医学研究センター，真菌感染分野）

大荒田素子（千葉大学真菌医学研究センター，真菌感染分野）

亀井克彦（千葉大学真菌医学研究センター，真菌感染分野）

研究成果

食生活の長期に亘る影響は健康状態に大きく影響をおよぼし，生活習慣病とも深く関わっている．本研究においては宿主の感染抵抗性に対する食生活の影響を解明するための基礎的段階の一つとして貪食細胞の *in vitro* における抗菌性に対する食品成分の影響を検討した．

ヒト末梢血の buffy coat 中の全白血球画分と *P. brasiliensis* 酵母細胞の混合培養の系において IFN- γ および GM-CSF は白血球抗菌作用の増強効果を，一方 IL-8 は減弱効果を示した．また，茶葉の成分でもある theophylline は 1 mM 濃度で白血球の本菌に対する抗菌活性を顕著に低下させた．しかし 10 μ M では影響が認められなかった．また，コーヒーやコーラあるいは風邪

薬に含まれている caffeine にも 1 mM 濃度で白血球抗菌活性に対する阻害効果が認められた．アルコール（エタノール）は 10 mM (0.046%，致死量の約十分の一) でも影響が認められなかった．さらに，エタノール（10 mM）は IFN- γ による白血球の活性化にも影響をおよぼさなかった．また，広く使用されている食品添加物であるエチレンジアミン四酢酸塩は 500 μ M で *P. brasiliensis* に対する細胞性免疫の発現を促進することを示唆する結果を得ている．別の研究ではマウスの感染モデルにおいて，食餌中の多価不飽和脂肪酸組成の相違により，*P. brasiliensis* に対する宿主抵抗性が変動することを明らかにした．現在，その他の食品成分あるいは添加物についても，白血球抗菌活性に対する影響を検討中である．

本邦で分離された *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* の 分子疫学的研究

望 月 隆 (金沢医科大学医学部)
石 崎 宏 (金沢医科大学医学部)
田 邊 洋 (金沢医科大学医学部)
川 崎 昌 子 (金沢医科大学医学部)
西 村 和 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 系統・化学分野)
福 島 和 貴 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌資源開発分野)
佐 野 文 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌感染分野)

研究概要

2001-2002年に日本国内で分離された *Arthroderma benhamiae* var. *erinacei* (ABVE) 7株は6株が交配型 (+) で1株が (-) であった。このうち IFM50998 (+株) と IFM51499 (-株) 及び *A. benhamiae* African race (ABAF) の RV30000 (+株) と RV30001 (-株) の4株を使用してそれぞれ交配を行い、その F1 progeny (F1) の 38-40株について交配型, ITS領域の遺伝子配列, 及びウレアーゼ遺伝子の一部につき遺伝子型を比較した。ABVE および ABAF 同士の交配により形成された裸子囊殻は対峙線上に並列し、大きさは均一で、内部は子囊胞子で充満していた。一方、ABVE と ABAF の交配による裸子囊殻はいずれも ABAF 側にのみ形成され、小型で子囊胞子の数は少なく、偽裸子囊殻も多かった。それぞれの組み合わせにおいて、子囊胞子を無作為に取り出し発芽させて得られた結果は ABAF 同士, ABVE 同士およびの ABVE (-) と ABAF (+) の F1 は交配型, ITS領域の遺伝子配列, ウレアーゼ遺伝子とも親と同じ

遺伝子型がほぼ 1:1 で出現した。一方、ABVE (+) と ABAF (-) の F1 は ITS 領域, 交配型, ウレアーゼ遺伝子ともに ABVE 型が優勢であった。調べた遺伝子配列にはいずれの交配の場合も交雑は認められなかった。ABVE (+) と ABAF (-) の交配の場合, F1 の交配型ならびに遺伝子発現アンバランスから、この交配には何らかの致死的要因が働いていると推測された。よって *Arthroderma benhamiae* var. *erinacei* は *A. benhamiae* 種のなかで独立変種として区別するのが妥当と考える。

研究発表

- 1) 高橋容子, 鎗田響子, 佐野文子, 望月 隆, 亀井克彦, 西村和子: *Arthroderma benhamiae* var. *erinacei* と *A. benhamiae* African race から作出された F1 progeny の遺伝子型について。第 49 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 46 (増刊 1 号): 72, 千葉, 10 月 6 日~7 日, 2005.

硝酸銀の抗真菌性の分子機序に関する生化学的研究

河 合 清 (中京女子大学)

福 島 和 貴 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌資源開発分野)

研究成果

銀イオンの抗微生物作用は古くから知られていたが、我々は硝酸銀が病原菌を含む多くの真菌類に対し、普遍的に強い抗真菌作用を示すことを最小生育阻止濃度を求めることにより見出した。さらにその作用機序の一つとしてミトコンドリアの呼吸系 (ATP 産生) において、脱共役作用、また cytochromes *bc1* 間の電子伝達の阻害作用を有することもラット肝ミトコンドリアを用いて見出した。金属イオンは極微量でも種々の生理活性作用を示すことから、今年度は硝酸銀に含まれる可能性のある他の金属イオンの作用を否定できる高純度硝酸銀により検証することとした。精製には特級硝酸銀をさらに再結晶を4回繰り返し行い、供試した。得られた高純度硝酸

銀で同様にラット肝ミトコンドリアによる検討を行ったところ、上記の結果が再現性良く検証でき、銀イオンの呼吸系での作用点と結論した。

同時に真菌類からのミトコンドリアを使用した検討のため、ミトコンドリアの調整法についても検討を加えた。被検菌として、*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* を選び、培養基、培養法 (静置法, 回転法), 培養時間などを指標に検討を行った。その結果、静置法で得られる *S. cerevisiae* の若い細胞が目的に適することが示されたが、ミトコンドリアの収量、取得までの所要時間、クオリティの面では明らかにラットからの標品に比べて未だ劣っており、作用機序を検討するには更なる改良が必要と考えられた。

In situ での分子生物学的手法による組織内真菌の検出・同定

村山 琮 明 (北里大学北里生命科学研究所 & 大学院感染制御科学府感染情報学研究室)

生方 公 子 (北里大学北里生命科学研究所 & 大学院感染制御科学府)

横山 耕 治 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌資源開発分野)

西村 和 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 系統・化学分野)

研究成果

各種真菌菌種でマウス感染実験を行った。昨年度作製が不具合であった菌種 *Scedosporium apiospermum*, *Mucor racemosus* について新たに感染臓器を得た。

昨年度までは検出用プローブとして, digoxigenin ラベルの 250 ~ 600 bp のプローブを用いた。 *A. flavus* 特異的の対象配列は Accession No.AF362957 で, *A. flavus* 由来レトロトランスポゾンの一部をクローニングしたプラスミド pAF28 は, Dr. McAlpin CE (National Center for Agricultural Utilization Research, IL, USA) より供与された (文献: McAlpin CE. Appl Environ Microbiol. 61: 1068-72, 1995, Okubara PA. Mycol Res. 107:841-6, 2003)。相同性解析プログラム Blast を用いて, 系の特異性を確認した。このプローブを用いた, 昨年度行った *in situ* hybridization では, *A. flavus* 感染マウス組織内の真菌

要素以外では, 陽性シグナルは得られなかった。

しかし, その後の検討で, 菌種によってわずかに反応するものがあり, 特異性を高めるため, より短いプローブの作製を行った。詳細は省略するが, PNA および LNA を用い, 特異性が出たのが今年度の最大の成果であった。

研究発表

学会発表

- 1) 村山琮明, 横山耕治, 遠藤成朗, 西村和子, 渋谷和俊, 生方公子. *In situ* hybridization (ISH) 法および real-time PCR 法による *Aspergillus flavus* の特異的検出. 第 78 回日本細菌学会総会 (2005. 4. 4 - 6, 東京).

真菌の有毒二次代謝産物と産生菌の分子分類

高橋 治 男 (千葉県衛生研究所)

横山 耕 治 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌資源開発分野)

久米田 裕 子 (大阪府公衆衛生研究所)

浅尾 務 (大阪府公衆衛生研究所)

陰地 義 樹 (奈良県衛生研究所)

田端 節 子 (都立衛生研究所)

和宇慶 朝 昭 (都立衛生研究所)

一戸 正 勝 (東京家政大)

研究成果

本研究課題の目的の一つであった、迅速かつ簡便なりボゾーム DNA の ITS 領域の PCR 産物を用いた heteroduplex panel analysis (HPA) 法による遺伝学的同定法を開発した。その結果、15 種のタイプカルチャーから 12 種類の標準パネルが得られた。 *N. botucatensis* と *N. spinosa*, *N. primulina* と *N. quadricincta*, *N. udagarwae* と *N. aureola* のパネルはそれぞれ全く同一であり、塩基配列も同一であることがわかった。この結果は、同じ株をチ

トクローム *b* で塩基配列を解析した結果とも一致している。さらにセンターなどで保存されている 57 種類の *Neosartorya* 属株を調べたところ、46 株が標準パネルと一致したが、残り 11 株は 4 種類の新しいパネルを形成した。 *Neosartorya* のアナモルフである。

Aspergillus fumigatus とその類縁菌を含めると全部で 23 種類の HPA パネルが得られた。食品からよく分離される *Neosartorya* 属カビ 7 種と *A. fumigatus* は HPA 法により容易に同定できた。

病原性酵母カンジダ・アルビカンスにおける 反復配列を介した染色体再配列の誘導と形質の変化

鈴木 孝 仁 (奈良女子大学理学部)

岩 口 伸 一 (奈良女子大学理学部)

西 村 和 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 系統・化学分野)

横 山 耕 治 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌資源開発分野)

研究成果

Candida albicans (*C. albicans*) は通常二倍体で存在しているが、いくつかの株では二倍体細胞集団中に高次倍数化した細胞を含むものがある。このような性質をもつ STN21 株では、倍数性変換抑制遺伝子 (*SPS2*) に変異が生じているため、二倍体を維持できなくなっていると考えられている。また、この株では染色体再配列が観察される。今年度、我々は真菌医学研究センターに導入されている DNA マイクロアレイシステムを利用して、この倍数性維持に関わる *SPS2* の候補遺伝子の探索を行った。Sps⁻である STN21 株と Sps⁺である STN22 株から

トータル RNA, mRNA に精製し、そして Cy3 と Cy5 で標識した cDNA を *C. albicans* の ORF がスポットされた DNA マイクロアレイにハイブリダイゼーションさせ、シグナルを検出した。遺伝子発現解析の結果、STN21 株で up⁻あるいは downregulation されている数種類の *SPS2* 候補遺伝子を選別することができた。現在、これらの遺伝子についてリアルタイム PCR システムを活用し、その遺伝子発現の変化の解析を行っている。今後は染色体再配列を生じたいくつかの株についてもこれら候補遺伝子発現量の変化を捉えることを計画している。

真菌とリーシュマニア原虫のステロール生合成系の共通性と阻害剤開発に関する研究

片 倉 賢 (北海道大学大学院獣医学研究科)

横 山 耕 治 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌資源開発分野)

研究成果

エスエス製薬が開発したトリアゾール系抗真菌薬である SS750 はラットやヒトの肝臓の P450 (lanosterol C-14 demethylase, CYP51) を阻害せず, カンジダ (*Candida albicans*) の CYP51 を阻害する. 今年度は, アマゾンリーシュマニア (*L. amazonensis*) の CYP51 遺伝子をクローニングし, 全塩基配列を決定した. その結果, ORF は 1440 塩基で 479 のアミノ酸をコードし, 他種リーシュマニアの *L. infantum* や *L. major* の CYP51 との相同性はそれぞれ, 97% と 95% であった. 出芽酵母 (530 ア

ミノ酸) およびカンジダ CYP51 (528 アミノ酸) とはそれぞれ 34% と 33% の相同性しか示さなかった. ところが, X線結晶構造が報告されている結核菌 CYP51 において推定されている 14 の活性部位のアミノ酸のうち, 10 のアミノ酸は *L. amazonensis* の CYP51 と同じであった. また, *L. amazonensis* CYP51 に存在する 14 の活性部位のアミノ酸のうち 9 つは出芽酵母およびカンジダのアミノ酸と同一であった. このことから, アマゾンリーシュマニアの CYP51 も生物界に広く保存されている分子種であることが裏付けられた.

魚類の抗酸菌症原因菌の同定および原因菌の分子生物学的研究

和 田 新 平 (日本獣医生命科学大学, 魚病学教室)

倉 田 修 (日本獣医生命科学大学, 魚病学教室)

三 上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)

矢 沢 勝 清 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)

研究成果

平成 17 年度には, 前年度に養殖ブリより分離され, 生化学的性状および千葉大学真菌医学研究センターにおいて研修した DNA の抽出および塩基配列 (DNA シークエンス) 検査によって, *Mycobacterium marinum* と同定された菌株を用いて, キンギョ, コイおよびブリに対する病原性を確認するための感染試験を実施した.

キンギョおよびコイに対する感染試験は, 日本獣医生命科学大学魚病学教室の飼育設備を利用して実施し

たが, 試験期間中に明瞭な抗酸菌性病変を再現させることはできなかった. 今後, 接種菌株, 接種菌量, 接種方法, 試験時の飼育水温および試験期間について検討を行い, 再度実施する予定である.

ブリに対する人為感染試験は, 鹿児島県水産技術開発センター安全食品部の協力を得て, 当該センター内の魚類飼育施設において実施した. 試験の結果, 供試魚に自然発生例と同様な抗酸菌性病変を再現させることに成功し, 供試菌株がブリに対して病原性を有することが判明した.

カンジダ酵母の遺伝子の組換え技術に基づく機能解析

長 環 (福岡歯科大学)
豊田美香 (福岡歯科大学)
中山浩伸 (国立鈴鹿工業高等専門学校)
青山俊弘 (国立鈴鹿工業高等専門学校)
水野貴之 (徳島文理大学)
宮川洋三 (山梨大学工学部)
知花博治 (千葉大学真菌医学センター, 高分子活性分野)
三上 襄 (千葉大学真菌医学センター, 高分子活性分野)

研究成果

カンジダにおけるクオラムセンシングに関する遺伝子, ステロール代謝に関する遺伝子, 細胞壁合成遺伝子に関する遺伝子, 解糖系, 呼吸系に関する遺伝子などについて遺伝子発現の効果的な誘導系が確立でき, 形態変換初期に関わる興味ある遺伝子群の発現動態を解析進行中である.

総説

- 1) 宮川洋三, 知花博治, 宇野 潤, 三上 襄, 中山浩伸: *Candida* 属酵母に対する抗真菌薬剤標的候補としての必須遺伝子群の探索 (総説). 日本医真菌学会誌 47: 273-78, 2006.
- 2) 長 環, 豊田美香, 中山浩伸, 知花博治, 上西秀則: *Candida albicans* の Quorum-Sensing 機構 (総説). 日本医真菌学会誌 47: 263-68, 2006.

学会発表

- 1) 青山俊弘, 中山浩伸, 長 環, 豊田美香, 知花博治: 病原性酵母 *Candida glabrata* における GDP-mannose pyrophosphorylase 遺伝子の調節因子解析, 第4回感染症若手研究者沖縄フォーラム, 沖縄佐敷町, 1月13~15日, 2006.
- 2) Nakayama H1, Aoyama T1, Cho T, Toyoda M, Watanabe T, Chibana H: Functional analysis of GDP-mannose pyrophosphorylase (*PSA1/SRBI/VIG9*) gene and its paralogue in *Candida glabrata*, The 8th *Candida*

and Candidiasis. Denver, 2006. 3.

- 3) 中山浩伸, 長 環, 豊田美香, 宇野 潤, 三上 襄, 知花博治: 病原真菌 *Candida glabrata* の合成遺伝子 *PSA1*, *PSA2* の機能解析. 第79回日本細菌学会総会, 金沢, 3月29~31日, 2006.
- 4) 宮川洋三, 宇野 潤, 知花博治, 三上 襄, 中山浩伸: 病原性酵母 *Candida* におけるリン酸代謝負の制御因子 *PHO85* の役割: TET システムによる解析. 第79回日本細菌学会総会, 金沢, 3月29~31日, 2006.
- 5) Nakayama H, Chibana H: *In vitro* and *in vivo* effect of farnesyl pyrophosphate synthase (*ERG20*) depletion in pathogenic yeast, *Candida glabrata*, The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, September 5-8, 2006.
- 6) Nakayama H, Aoyama T, Cho T, Ueno K, Chibana H: Functional analysis of the genes participated in GDP-mannose biosynthesis pathway in pathogenic yeast, *Candida glabrata*, The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, September 5-8, 2006.
- 7) 原 貴彦, 宇野 潤, 知花博治, 三上 襄, 中山浩伸, 飯村 穰, 宮川洋三: *Candida* 属酵母に対する抗真菌剤の標的候補としての必須遺伝子群の探索. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47(増刊1号): 68, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 8) 長 環, 豊田美香, 中山浩伸, 上野圭吾, 知花博治,

上西秀則: *Candida albicans* におけるファルネゾール誘導膜蛋白想定遺伝子, 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 68, 東京, 10月21~22日, 2006.

- 9) 中山浩伸, 田辺公一, 知花博治, 新見昌一: *Candida glabrata* のステロール取り込みに関わる遺伝子群の解析, 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 68, 東京, 10月21~22日, 2006.
- 10) 中山浩伸, 田辺公一, 竹森大樹, 青山俊弘, 知花博治, 新見昌一: *Candida glabrata* のにおけるステロー

ルトランスポーター *AUS1* の薬剤感受性への関与: 第3回真菌分子細胞研究会, 千葉 11月28-29日, 2006.

- 11) 竹森大樹, Bard, Martin, 田辺公一, 新見昌一, Wu Sung, Hodgson Wesley, 青山俊弘, 知花博治, 中山浩伸: 病原性真菌 *Candida glabrata* のステロールトランスポーター *CgAUS1* の薬剤感受性への関与, 2006分子生物学フォーラム, 12月6~8日, 2006.
- その他14件.

研究課題 '05 - 12

Aspergillus fumigatus の病原性に関する研究

関 根 利 一 (城西国際大学薬学部)

亀 井 克 彦 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌感染分野)

研究成果

アスペルギルス症は近年その症例数が著増しており, 特に血液悪性疾患領域では合併症としての感染症による死因の第一位を占めるに至っている. 本研究では本菌から産生される活性物質を特定し, その感染メカニズムの解明に寄与することを目的としている. ヒトの気道と同様な通気性の良好な環境下で本菌を液体培地内で培養し, 培養上清を作製し, そのクロロホルム抽出物をガスクロマトグラフィーを用いて分析した. 活性物質の単離はカラムクロマトグラフィーによる分画もしくは薄層クロマトグラフィーのかきとりで行った. 本菌代謝産物の中で生物活性の高いものとして gliotoxin があり, 多数の研究報告がある. 我々はこの化合物とは異なる生物活性物質の存在を確認しているが, 同定のためにサンプル量を増やしているところである. また gliotoxin 非産生遺伝子破壊株を作成するためのプロトプラスト作製条件の検討などを行っている. また, 本菌臨床分離株で gliotoxin をほとんど産生しない株を入手したのでこれを用いて同様の手法で培養上清の作製と分析, および本菌をマウス肺に接種し感染成立の有無をふくめ検討を行った. 培養

上清中には gliotoxin のほか複数の物質の産生の低下 (もしくは消失) が見られていた. マウスの白血球細胞を用いた細胞傷害活性の検定では培養上清の活性は著しく低下していた. 一方でマウス肺への接種では通常通り感染が成立した. しかし感染肺の病理像は gliotoxin 産生株とは異なっていた. このことから gliotoxin を含めたこれらの産生物質は感染成立には影響しないがその進展形式には何らかの影響を与えている可能性が示唆された.

研究発表

学会発表

- 1) 渡辺 哲, 橋本佳江, 関根利一, 落合恵理, 日暮浩実, 亀井克彦, 廣島健三: *Aspergillus fumigatus* 培養上清の経気管投与によるマウス肺組織への影響, 第45回日本呼吸器病学会学術講演会, ミニシンポジウム, 千葉, 2005.
- 2) 渡辺 哲, 亀井克彦: マウスを用いた *Aspergillus fumigatus* 経気道的感染モデルの病理組織学的検討, 日本感染症学会東日本地方会総会・日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, 東京, 2005.

マウスにおける人獣共通真菌症の研究

池 郁 生 (理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室)

小 島 怜 子 (理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室)

佐 野 文 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌感染分野)

研究概要

理研バイオリソースセンター (BRC) 実験動物開発室は、ナショナルバイオリソースプロジェクトのマウス中核機関として、各種マウス系統の開発・保存・提供を担当している。本事業を進めるには、寄託されたマウスの清浄化とその維持が必要であり、多数のマウスの微生物検査を定期的に行っている。今回、所内の様々な環境について調査した。30分解放したシャーレを用

いた落下菌検体および拭い検体、総計 2,988 検体を培養し、室温 14 日間培養後に真菌が発育してきた 70 検体から 89 株を分離した。これら分離菌株を 35°C で培養し、生育した菌株 20 株の同定を進めたところ、*Aspergillus flavus*, *Bjerkandera adusta*, *Eurotium amstelami*, *Paecilomyces lilacinus*, *Pichia guilliermondii*, *Rhodotorula* sp., *Trametes versicolor* などの環境菌が含まれていた。現在詳細な同定を進めている。

カンジダ・アルビカンスにおける抗真菌剤作用と 活性酸素産生の関連性

青木 茂 治 (日本歯科大学新潟歯学部先端研究センター)

福島 和 貴 (千葉大学真菌医学センター, 真菌資源開発分野)

山口 正 視 (千葉大学真菌医学センター, 機能形態分野)

久和 彰 江 (日本歯科大学新潟歯学部先端研究センター)

仲村 健二郎 (日本歯科大学新潟歯学部先端研究センター)

研究成果

Candida albicans のような好氣的生物においては, 呼吸で消費する酸素の 2 - 3% は反応性が高い活性酸素に変る. 活性酸素は DNA, たんぱく質あるいは脂質などに作用して細胞にいろいろな障害を引き起こすことが知られている. これまで *Candida* と活性酸素の関連は, 宿主防御との関連 (食菌) との観点から研究されてきたが, *Candida* 細胞自身の活性酸素産生などについては知られていなかった.

我々は一連の研究で, 次の成果を得た. ① *C. albicans* も呼吸に依存した活性酸素を産生する一方で, 2 種類の superoxide dismutase (SOD) が活性酸素 (スーパーオキシド) を分解・無毒化している. ② 化学発光法で *Candida* 細胞からのスーパーオキシドの産生の測定法を確立した. ③ 超高感度カメラを備えた微弱光測定装置で, カンジダからの活性酸素産生を画像として捉えた. ④ 酵母型より菌糸型細胞の方が活性酸素の産生が旺盛であり, 病原性発現との関連が示唆された.

これらの成果をもとにして, 活性酸素と抗真菌物質との関連性を調べた. 先ず Amphotericin B (AmB) を代表に選び, その活性発現における活性酸素の関与を調べ, 次の結果を得た. ① カンジダ細胞の AmB に対する感受性は, 活性酸素産生剤 (パラコート) により 10 近く高められた. ② この時カンジダ細胞の膜透過性は上昇していなかったため, 活性酸素の作用は膜損傷以外にあると推定された. ③ 活性酸素による AmB 作用の増強は, SOD やカタラーゼなどの活性酸素消去酵素で抑えられなかったため, *Candida* 細胞内部での反応による.

次に Azole 系物質について調べた. Azole 類は細胞膜に必要な ergosterol の合成阻害をする. Farnesol (FOH) はその合成途中から分かれて作られる物質で, カンジダの quorum sensing substance としても注目されてきている. もし Azole 系抗真菌剤で ergosterol の合成が抑制されれば, FOH が蓄積する可能性がある. そこでカンジダ細胞からの活性酸素に対して, FOH がどのような効果を持つかを化学発光プレート法で調べた. その結果, FOH はカンジダ細胞の活性酸素産生を促進していることが確かめられた. Azole 系抗真菌剤の作用において, 活性酸素は FOH を介して抗真菌剤に共通して関与している可能性があるかも知れない. 今後, この機作について個々の抗真菌剤について解析を進めたい.

研究発表

- 1) Vidotto V, Goglio A, Grisis A, Fukushima K, Aoki S, Cannizzo T, Fianchino B: *Candida albicans* phospholipase activity in different part of the body in immunodepressed patients and healthy subject. 2nd Trends in Medical Mycology. Oct. 23-26, 2005, Berlin, Germany. Mycoses 48 (Suppl. 2): 103, 2005.
- 2) Vidotto V, Ito-kuwa S, Nakamura K, Aoki S, Melhem M, Fukushima K and Bollo E: Extracellular enzymatic activities in *Cryptococcus neoformans* strains isolated from AIDS patients in different countries. Rev Iberoam Micol 23: 216-220, 2006.

真菌からの生理活性物質の探索

河合賢一 (星薬科大学)

細江智夫 (星薬科大学)

板橋武史 (星薬科大学)

福島和貴 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌資源開発分野)

研究成果

真菌医学研究センターで収集、保存されている真菌類について、それらの産生する抗真菌物質を中心とした新規生理活性物質について探索を行った。その結果 *Penicillium simplicissimum* から新規の vermistatin 関連化合物ならびに2種の meroterpenoids である penisimplicin A and B を見出し、その化学構造を明らかにした。また *Malbranchea filamentosa* IFM 41300 からは、vasodilator としての作用を有する新規物質 4-Benzyl-3-phenyl-5H-furan-2-on を発見し、化学構造を明らかにした。これらの成果については学会発表や誌上での公表を行った。

研究発表

原著論文

- 1) Komai S, Hosoe T, Itabashi T, Nozawa K, Okada K, Campos Takaki GM, Yaguchi T, Takizawa K, Fukushima K, Kawai K: Two new meroterpenoids, penisimplicin A and B, isolated from *Penicillium simplicissimum*. Chem Pharm Bull 53: 1114- 1117, 2005.
- 2) Hosoe T, Iizuka T, Komai S, Wakana D, Itabashi T, Nozawa K, Fukushima K, Kawai K: 4-Benzyl-3-phenyl-5H-furan-2-on, a vasodilator isolated from *Malbranchea filamentosa* IFM 41300. Phytochemistry 23: 2776-2779, 2005.
- 3) Komai S, Hosoe T, Itabashi T, Nozawa K, Yaguchi T, Fukushima K, Kawai K: New vermistatin derivatives isolated from *Penicillium simplicissimum*. Heterocycles 65: 2771-2776, 2005.

学会発表

- 1) 若菜大悟, 細江智夫, 板橋武史, 野沢幸平, 矢口貴志, 福島和貴, 河合賢一: ブラジル土壌から単離した *Penicillium citrinum* 53298 株の成分検索. 第125回日本薬学会, 講演要旨集 4 p.155, 有明・台場, 3月, 2005.
- 2) 駒井信一郎, 細江智夫, 板橋武史, 野沢幸平, 矢口貴志, 福島和貴, 河合賢一: *Penicillium simplicissimum* IFM 53375 株の代謝産物の研究. 第125回日本薬学会, 講演要旨集 4 p.162, 有明・台場, 3月, 2005.
- 3) 若菜大悟, 細江智夫, 板橋武史, 駒井信一郎, 河合賢一, 矢口貴志, 福島和貴: *Malbranchea filamentosa* IFM 41300 の成分研究. 日本生薬学会第52回年会, 講演要旨集 p.132, 金沢, 9月16日-17日, 2005.
- 4) 駒井信一郎, 細江智夫, 板橋武史, 野沢幸平, 河合賢一, 矢口貴志, 福島和貴: *Penicillium simplicissimum* から得られる penicilide 誘導体の構造. 日本生薬学会第52回年会, 講演要旨集 p.133, 金沢, 9月16日-17日, 2005.

病原性酵母 *Trichosporon asahii* のバイオフィルム形成阻害

杉 田 隆 (明治薬科大学微生物学教室)
山 口 正 視 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)
川 本 進 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)

研究成果

深在性トリコスポロン症は予後が極めて不良の真菌感染症である。本症は抗真菌薬の投与にもかかわらずブレークスルー感染症として発症することがある。キャンデイン系抗真菌薬には感受性を示さないことから今後は益々本症の増加が懸念される。本症の起因菌である *T. asahii* も菌糸形を呈することからバイオフィルム (BF) を形成すると考えられる。そこで、本年度は、電子顕

微鏡で微細構造をより安定的に観察するために *in vitro* での BF 形成至適条件を検討した。その結果、担体としてポリスチレンおよび形成培地として RPMI/MOPS の組み合わせが良好な BF 形成を示した。XTT assay により、BF 状態では planktonic 状態よりアムホテリシンおよびアゾール薬に 1,000 倍以上耐性になっていることが判明した。

Malassezia 属酵母の分子系統及び保存に関する研究

鈴 木 基 文 (理化学研究所)
山 口 正 視 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)
川 本 進 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)
福 島 和 貴 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌資源開発分野)

研究成果

Malassezia 属酵母において、種レベルの再分類および新種の発見に伴って、この酵母の保存法を確立することは急務である。そこで、簡単な組成の保護剤を用いた凍結保存法を検討した結果、10%グリセロール水溶液を用いた凍結保存が良好であることが判明した。凍結からの復元用培地としては、種々の脂質成分を含む mLNA 培

地が適していた。オリーブオイル含有 YM 平板培地を用いても復元が可能であるが、生育が悪い株があった。今後、より単純な脂質組成からなる復元用培地を検討する必要があると考えられる。スキムミルクを分散媒とした凍結乾燥によっても保存が可能であった。この場合も凍結保存と同様、復元用培地の改良が必要であると考えられる。

真菌細菌の菌種間相互作用における超微細構造

池田 玲子 (明治薬科大学微生物学教室)
山口 正視 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)
川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)

研究成果

Cryptococcus neoformans の感染成立における他菌種の影響に着目し, *Staphylococcus aureus* の共存下での *S. aureus* の *C. neoformans* への付着と *C. neoformans* の死滅誘導を報告してきた。本年度は, さらに両細胞の付着と細胞死の機序について検討した。 *C. neoformans* の莢膜多糖類によりこの付着が阻止されることから, *S. aureus* の認識部位は莢膜と考え莢膜多糖類の主成分グルクロノキシロマンナン (GXM) と GXM の構造を化学的に改変した多糖類およびオリゴ糖を用いて認識部位を検討した。その結果, *S. aureus* は GXM 主鎖マンナンのトリオース以上を認識していることが示唆された。一方, *C. neoformans* の死滅には DNA 断片化を伴うことが示されていたため, 透過電子顕微鏡によりアポトーシス様細胞死に特徴的なクロマチン凝集などの微細構造の観察を試みた。すなわち, *C. neoformans* と *S. aureus* を 37°C で前培養し, 2 菌種を混合培養後に電子顕微鏡用試料を作製し透過電子顕微鏡で観察した。 *S. aureus* の付着により *C. neoformans* の内部構造は明瞭に死細胞の特徴を示していたが, アポトーシス様細胞死を示す微細構造は現在のところ観察されていない。

細菌と病原真菌の付着とそれに続く *C. neoformans* 細胞死の機序を微細構造とともに解明することは, 真核細胞の細胞死に関する基礎研究および病原真菌に対する新規制御法の開発に寄与するものと考えられる。

研究発表

学会発表

- 1) Ikeda R, Saito F, Yamaguchi M, and Kawamoto S: Fungal-bacteria interaction: Killing of *Cryptococcus neoformans* by *Staphylococcus aureus* and the role of capsular polysaccharide. The sixth international conference on *Cryptococcus* & Cryptococcosis. Boston, USA, June 24-28, 2005.
- 2) 池田玲子, 齊藤史人, 山口正視, 川本 進: *Staphylococcus aureus* の付着に誘導される *Cryptococcus neoformans* の死滅 - 認識部位の解析 - . 第 49 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 46 (増刊 1 号): 48, 千葉, 10 月 6 ~ 7 日, 2005.
- 3) Ikeda R, Saito F, Yamaguchi M, and Kawamoto S: Fungus-bacteria interactions: killing of *Cryptococcus neoformans* by the adherence of *Staphylococcus aureus*. The 16th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. Paris, France, 2006.
- 4) 池田玲子, 澤村果菓子, 山口正視, 川本 進: *Cryptococcus neoformans* と *Staphylococcus* の相互作用: 表面プラズモン共鳴法による *Cryptococcus* 菌体認識部位の検討. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 47, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2006.

真菌の新規窒素代謝の研究

祥雲 弘文 (東京大学農学生命科学研究科)
山口 正視 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)
川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)

研究成果

窒素飢餓条件で巨大な構造体を作るカビは 18SrDNA の塩基配列の比較から, *Aspergillus* 属であることが判明した. この構造体の電顕観察を行った結果から, このものは巨大な胞子嚢であると考えられた. 類似の構造体が *A. fumigatus* で観察されているが, 窒素飢餓でこのような構造体を作る原因は不明であり, 今後の検討課題である.

真菌症病原菌として重要な *Candida albicans* が亜硝酸から亜酸化窒素 (N_2O) までの脱窒を行う活性を示すことが, 当研究室で見出されている. しかし *C. albicans* ゲノムには *Aspergillus oryzae* や *Fusarium* などに見出されて

いる亜硝酸還元酵素 (NirK) や P450nor の遺伝子が存在しない. また一酸化窒素還元酵素 (Nor) 活性は電子供与体の特異性が P450nor と異なっている. 従って *C. albicans* の脱窒系は新たな構成成分と生理的意義が期待される. 感染症に対抗する宿主 (ヒト) の手段として, マクロファージによる一酸化窒素 NO の生産は有用である. *C. albicans* の Nor 活性の生理的意義として, この NO の攻撃に対する防御機構が候補としてあげられる. また, この脱窒系がミトコンドリアに局在するかどうかも興味深い. 感染時の通気条件と思われる微好気条件で, ミトコンドリアがどのような形態をとるか, 観察予定である.

好熱性糸状菌 *Thermoascus aurantiacus* による酸化酵素類の生産と細胞内微細構造の解析

藤井 貴明 (千葉大学園芸学部)
山口 正視 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)
大楠 美佐子 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)
川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)

研究成果

【研究目的】

多くの真菌類が細胞内外に多量のカタラーゼ (CA) を生産するが, その生理化学的役割についての詳細は一部を除いて明らかにされていない. 例えば, CA-アル

コールオキシダーゼ (AOD) 系と細胞微細構造 (ペルオキシソーム) との関連についての知見は, メタノール資化性酵母に限られている. 堆肥等の植物組織の分解に関わるとされている好熱性糸状菌 *Thermoascus aurantiacus* は, 液体培養において高度耐熱性・耐アルカリ性のカタ

ラーゼを細胞内外に多量に分泌する。しかしながら、なぜ、本菌がCAを多量に生産するかについての生理的役割は明らかにできていない。我々は、すでに、本菌において、CAの基質となる、 H_2O_2 の生成には、AODが関わることを見出し、さらに本菌を炭素源にペクチンを用いた培地で培養するとAODが通常（デンプン培地）の10～20倍も生産されることを明らかにしている。本菌のAODは、調べたアルコールの中で、メタノールに最も強く作用する。これまでの結果より、本菌について、ペクチン→メタノール→AOD→ H_2O_2 →CAの代謝系とペルオキシソームの存在とが強くかかわりを持つてることが予測される。そこで、本研究課題においては、CAとAOD、さらに新たに見出した他の酸化酵素（尿酸オキシダーゼ）を加えて、これら酵素の細胞内局在性についてペルオキシソームを中心に観察し、生理的役割について検討を加えた。

【方法および結果】

*T. aurantiacus*にはグルコースオキシダーゼ（GOD）の活性は見出されておらず、アルコールオキシダーゼ（AOD）の存在が知られているが、新たに尿酸オキシダーゼ（UOD）の活性を見出した。炭素源にデンプンを用いた培養で、細胞に見出されるAODとUODの活性は、この培地にメタノールを添加した場合、AODの活性が著しく上昇し（10倍以上）、UODの活性はきわめて低いレベルに低下した。また、尿酸を添加した場合、これとは逆にAODが低下し、UODが上昇することを明らかにした。CATの活性はメタノール添加で上昇し、尿酸ではほとんど変動がないことを明らかにした。メタノール資化性酵母において、CAT-AOD共役系は、細胞小器官であるペルオキシソームに局在する

とされ、培養条件により種々の変化（数の増加や肥大化）が生じるとされている。本菌を各種の炭素源を用いて培養し、得られた細胞を電子顕微鏡により観察したところ、AOD活性の高い細胞（ペクチン培地やメタノール添加）で、ペルオキシソームとAODの強い関連が示唆された。また、UOD活性の高い細胞（デンプン培地や尿酸添加）との関連は確認できなかった。*Aspergillus niger*のCAT-GOD系は約90%が細胞壁に局在しているが、*T. aurantiacus*のCATとAODは、それぞれ細胞内に50%、70%、細胞壁には50%、30%程度局在しており、細胞壁に対する細胞内の局在割合が著しく高かった。その局在割合は培養時期よって変化し、培養後期に進むにつれ、細胞内の局在割合が低下したのに対し、CATは全培養時期にて、細胞壁に全体の50%が局在し、高い割合を示した。また、細胞小器官を単離し、アルコールオキシダーゼが細胞壁とペルオキシソームに局在することを示したが、カタラーゼは細胞壁やペルオキシソームだけではなく、サイトゾルにも存在していることが示唆された。さらに、カタラーゼやアルコールオキシダーゼに対する抗体を使用し免疫染色を行った細胞の電子顕微鏡による観察によって、カタラーゼは細胞全体に、アルコールオキシダーゼは細胞壁とペルオキシソームに局在していることを確認した。

研究発表

- 1) 清水仁聡, 山口正視, 川本 進, 天知誠吾, 篠山浩文, 藤井貴明: 好熱性糸状菌 *Thermoascus aurantiacus* におけるオキシダーゼの生産と細胞細構造. 2007年度日本農芸化学会大会. 東京, 3月24～27日, 2007.

病原性微生物が生産する第二次代謝産物や酵素と その病原性の関連に関する研究

原 田 健 一 (名城大学薬学部)

三 上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)

矢 沢 勝 清 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)

研究成果

N. transvalensis IFM 10065 株は, 末端にサリチル酸構造を持つシデロフォア関連化合物で, 抗真菌活性作用のある transvalencin A の生産菌である. その培養液は抗真菌活性以外に, *Corynebacterium xerosis* に対しても活性を有しており, シリカゲルクロマトグラフィーなどを用いて活性物質を精製した. 精製された活性化合物は各種 NMR スペクトルおよび MS により解析され, サリチル酸, セリンおよび *N*-ホルミルリシンより構成される化合物であり, transvalencin Z と命名した [1]. 本化合物はグラム陽性菌に対して強い活性を有していたが, グラム陰性菌および真菌に対しての活性は認められなかった. その構造は nocobactin や mycobactin などの部分構造であり, 病原性に関与していると考えられる. この研究結果は, *Nocardia* 属菌が全般にシデロフォア生合成遺伝子を有していることを強く示唆するものと考えられた.

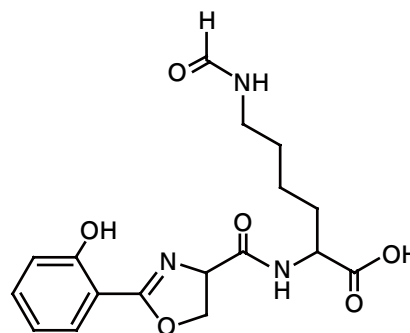


Fig.1 transvalencin Z の構造

研究発表

原著論文

- 1) Mukai A, Fukai T, Matsumoto Y, Ishikawa J, Hoshino Y, Yazawa K, Harada K, Mikami Y: Transvalencin Z, a new antimicrobial compound with salicylic acid residue from *Nocardia transvalensis* IFM 10065. J Antibiot 59: 366-369, 2006.

病原性放線菌由来の天然生理活性物質の探索研究

新 家 一 男 (東京大学分子細胞生物学研究所)

三 上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)

研究成果

放線菌は、多くの二次代謝産物を生産しており、これまで人類が考えつかなかった構造を有する物質が単離され、医薬品や農薬など多くの分野で応用されてきた。しかしながら、放線菌の中でも病原性を示す菌株については、ほとんどスクリーニング研究は行われていなかった。このような中、病原性放線菌が非病原性放線菌と異なる多くの二次代謝産物を生産していることが見出され、そのリソースとしての可能性が期待されている。本研究は、癌、中枢神経疾患治療薬のリード化合物を見出すことを目的に、病原性放線菌より有用な生理活性物質を単離することを目的とする。

スクリーニング系は、主に以下に示す2つのものを用いて行った。

1) GRP78 転写制御物質の探索

GRP78 はもともと分子シャペロンであるが、最近の研究により細胞の生存因子としても作用していることが判明している。特に固形癌では、中心部の低グルコース環境および抗癌剤への耐性を獲得するために重要な役割を担っている。また、GRP78 はアルツハイマー病など様々な中枢疾患の原因となる小胞体ストレスを抑制する働きを有する。したがって、GRP78 の発現を抑制する

物質は選択的な固形癌治療薬となり、GRP78 の発現を促進する物質はアルツハイマー病をはじめとする中枢疾患治療薬となる可能性が期待される。

スクリーニングは、GRP78 プロモーターである ERSE の下流に、ルシフェラーゼを繋いだプラスミドで形質転換した細胞を用いて、ルシフェラーゼの産生を指標に行った。本スクリーニング系を用いて、GRP78 制御物質のスクリーニングを行った結果、本年度分譲サンプル計 400 サンプルに関して活性サンプルは得られなかった。

2) ムスカリンレセプター制御物質の探索

ムスカリンレセプターは、GPCR (G-protein coupled receptor) の一つであり、このリガンドは向精神薬として有望な薬剤となりうる。GPCR ファミリーは、レセプターとリガンドが結合すると、 β -アレスチンと呼ばれる因子と結合し細胞内へ取り込まれ、細胞内顆粒を形成する。この現象を利用し、 β -アレスチン-GFP の細胞内顆粒形成を指標に、ムスカリンレセプターアゴニストの探索を行った。本スクリーニング系を用いて、分譲サンプル計 200 サンプルに関して活性サンプルは得られなかった。

Nocardia 属放線菌が持つメバロン酸経路遺伝子群周辺領域の解析

大 利 徹 (富山県立大学工学部)

三 上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)

研究成果

原核生物である放線菌の一部は、イソプレノイド化合物の共通出発原料である isopentenyl diphosphate の生合成経路として、殆どの微生物が持つ MEP 経路に加え、メバロン酸経路も併せ持っている。筆者はこれまでに、両経路を有する放線菌を用いた研究により、メバロン酸経路遺伝子群周辺には例外なく何らかのイソプレノイドの生合成遺伝子群が存在することを明らかにしている。

三上らが分離した *N. farcinica* 株は、ゲノム解析によりメバロン酸経路遺伝子群を持ち、それら上流に近接して

4つの遺伝子が存在することが明らかにされている。そこで、これら遺伝子群の解析を行った。最初に、ポリプレニル 2 リン酸生合成酵素と相同性を有する遺伝子を組換え酵素として発現させ、その産物の炭素鎖長を調べた結果、20であったことから、これら4つの遺伝子群は、何らかのジテルペン化合物の生合成遺伝子群であると推定された。そこでさらに、これら4つの遺伝子群を異種宿主である *Streptomyces lividans* に導入し、特異的代謝産物が生産されるか検討したが、特異的生産物は認められなかった。

海洋生物由来の抗真菌剤の探索

小林 淳一 (北海道大学大学院薬学研究院)

三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)

研究成果

海洋性真菌 *Penicillium citrinum* より単離した4環性アルカロイド Perinadine A に抗菌活性が、海洋性真菌 *Gliocladium* sp. より単離したポリケチド配糖体腫瘍細胞に対する細胞毒性が、放線菌 *Nocardia brasiliensis* より単離したペプチドに抗菌活性ならびに腫瘍細胞に対する細胞毒性が、海綿 *Dictyodendrilla* sp. より単離したインドールアルカロイドに抗菌ならびに真菌活性が認められた。今後は、特異性の高い抗真菌活性を示す化合物の探索を継続して行う予定である。

研究発表

原著論文

- 1) Komatsu K, Tsuda M, Tanaka Y, Mikami Y, Kobayashi J: SAR studies of brasilibactin A for immunosuppressive and cytotoxic activities. *Bioorg Med Chem* 13: 1507-1513, 2005.
- 2) Tsuda M, Sasaki M, Mugishima T, Komatsu K, Sone T, Tanaka M, Mikami Y, Kobayashi J: Scalusamides A ~ C, new pyrrolidine alkaloids from marine-derived fungus *Penicillium citrinum*. *J Nat Prod* 68: 273-276, 2005.
- 3) Tsuda M, Yamakawa M, Oka S, Tanaka Y, Hoshino Y, Mikami Y, Sato A, Fujiwara H, Ohizumi Y, Kobayashi J: Brasilibactin A, a new cytotoxic compound from actinomycete *Nocardia brasiliensis* *J Nat Prod* 68: 462-464, 2005.
- 4) Kasai Y, Komatsu K, Shigemori H, Tsuda M, Mikami Y, Kobayashi J: Cladionol A, new polyketide glycoside from marine-derived fungus *Gliocladium* species *J Nat Prod* 68: 777-779, 2005.
- 5) Tsuda M, Takahashi Y, Fromont J, Mikami Y, Kobayashi J: Dendridine A, new bis-indole alkaloid from marine sponge *Dictyodendrilla* species *J Nat Prod* 68: 1277-1278, 2005.
- 6) Sasaki M, Tsuda M, Sekiguchi M, Mikami Y, Kobayashi J: Perinadine A, a novel tetracyclic alkaloid from marine-derived fungus *Penicillium citrinum*. *Org Lett* 7: 4261-4264, 2005.

人獣共通真菌症の症例検討

長谷川 篤 彦 (日本大学生物資源科学部)

加 納 壘 (日本大学生物資源科学部)

西 村 和 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 系統・化学分野)

亀 井 克 彦 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌感染分野)

佐 野 文 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌感染分野)

研究概要

人獣共通真菌症は最近のペットブームによって増加しており, 早急の対応が必要である. 本症を防疫するにあたり, 従来の診断法では診断に時間がかかることから, 分子生物学的手法による迅速診断法の確立が必要であるため, 人獣共通真菌症の迅速診断法の確立と病原因子の解析を計画した. 診断に用いる病原真菌が特異的に保有する遺伝子は, 病原因子と密接に関係している遺伝子が多いことから, 迅速診断法の確立を検討するとともに,

病原因子の関わる遺伝子の同定およびその機能についても分子生物学的に解析することを目的としている. なかでも小動物臨床領域ではプロトテカ症がその診断, 同定の難しさから, 問題となっている. また GenBank に登録されている遺伝子情報も不十分である. 本年度はセンターより分譲された *Prototheca wickerhamii* の遺伝子解析に着手し, 種特異的遺伝子の検索による遺伝子同定法の開発を進めている.

人獣共通真菌症の症例検討: ふれあい動物園, 学校飼育動物等の真菌保有率の調査

猪 股 智 夫 (麻布大学獣医学部)

西 村 和 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 系統・化学分野)

佐 野 文 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌感染分野)

研究概要

日和見真菌症原因菌として *non-albicans Candida* spp. (以後 NAC と略す) は薬剤耐性菌が多いことからヒトおよび小動物臨床領域で問題となっている。一方, 水族館を含む動物園のふれあい動物コーナーにおけるこれら菌種の実態はほとんど調査されていない。今回, 水族館で飼育されている, 既往歴なし, または前胃真菌炎の既往歴をもつバンドウイルカ (*Trusiops truncatus*) 2 頭より NAC を 18 株分離した。経時的に呼吸孔より呼気, 胃液および直腸拭い液をクロモアガーカンジダで室温にて培養, 集落を釣菌し, ID32C および rRNA の D1/D2 領域の遺伝子配列で同定した。その結果 *C. tropicalis* 12 株, *C. parapsilosis* 2 株, *C. glabrata* 1 株, *C. zeylanoides* 1 株, *Rhodotorula mucilaginosa* 2 株を分離した。これらの菌株には NCCLS 法による薬剤感受性試験の結果, 耐性株が含まれていた。また, *C. zeylanoides* に関しては, 臨床検体としては人獣通じて本邦初分離で, クロモアガーカンジダ平板培地での集落の色の発色性は不安定のため *C. albicans* および *C. norvegensis* との鑑別が必要であった。イルカの呼気やジャンプ動作による飼育水の飛沫で, NAC がエアロゾルとして周囲に飛散することは避けられない。また, 胃液や排泄物も直接プールで拡散しているので, これら菌種のプール内での分布, 耐塩性等の調査は必須であり, 現在調査中である。さらにイルカ触れ合い体験時におけるハイリスク者とイルカの接触に

よる感染の危険性も考慮しなければならない。

研究発表

原著論文

- 1) 安保美乃里, 佐野文子, 前橋 賢, 柏崎直己, 押田敏雄, 木内明男, 林元展人, 金剛寺真弓, 宮城ゆい, 遠藤 伸, 吉田ひおり, 菱山信也, 有賀 誠, 印牧信行, 二宮博義, 猪股智夫: イヌにおける血中ビオチン量の減少と皮膚炎およびいくつかの疾病発症との関連性について。家畜衛生学雑誌 32: 17-21, 2006.
- 2) Murata Y, Sano A, Ueda Y, Inomata T, Takayama A, Poonwan N, Nanthawan M, Mikami Y, Miyaji M, Nishimura K, Kamei K: Molecular epidemiology of canine histoplasmosis in Japan. *Med Mycol* 45, 2007, in press.

学会発表

- 1) 高橋英雄, 植田啓一, 鎗田響子, 村田佳輝, Itano Eiko Nakagwa, 高山明子, 猪股智夫, 矢口貴志, 佐野文子, 西村和子, 亀井克彦: 沖縄美ら海水族館で飼育されているバンドウイルカより分離された *non-albicans Candida* spp. 第 50 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊 1 号): 59, 東京, 10 月 21-22 日, 2006.

ヒト遺体より分離された真菌の分類・同定

徳 留 省 悟 (獨協医科大学医学部法医学教室)

石 井 清 (獨協医科大学医学部生物学教室)

一 杉 正 仁 (獨協医科大学医学部法医学教室)

西 村 和 子 (千葉大学真菌医学研究センター, 系統・化学分野)

矢 口 貴 志 (千葉大学真菌医学研究センター, 系統・化学分野)

研究成果

白骨化したもしくは乾燥が進んだサンプルは、エタノール処理により表面に付着している雑菌を殺菌し、検体内部に侵入した真菌の分離を試みた。水分量の多いサンプルは、表面殺菌を行わず、検体表面（皮膚、筋肉など）を分解していると考えられる真菌の分離を試みた。その結果、前者では、*Eurotium* 属が、後者では、

Mucor, *Fusarium* 属が優先的に分離された。

サンプルの部位によって、分離される真菌に大きな差は見られなかった。同一遺体からのサンプルは、同じ速度で分解が進んでいると考えられる。

今後は、検体数を増やし遺体の分解段階と出現する真菌の相関から、遺体が遺棄されてからの時間経過の推測に繋げたい。

日本列島のオオミズナギドリ繁殖地における微小真菌相の解明

岡 奈 理 子（(財)山階鳥類研究所研究部）

西 村 和 子（千葉大学真菌医学研究センター，系統・化学分野）

矢 口 貴 志（千葉大学真菌医学研究センター，系統・化学分野）

研究成果

採集した各試料から接合菌類4属，子囊菌類1属，不完全菌類13属の計18属の菌類が分離同定された。このうち巣穴内の土壌，羽毛および糞の各試料から，40℃付近で良好な生育を示す菌が多数分離された。また，ケラチン分解菌である *Chrysosporium* 属菌が巣穴内の土壌と羽毛から複数分離された。しかし，対照区の土壌からは上述の菌の分離頻度は低かった。以上の結果は，巣穴が高温多湿な状態に保たれ，ケラチンを含む物質が豊富に供給されているオオミズナギドリのコロニーの菌類相を特徴づける結果であると考えられる。

今後は，土壌に汚染されていない羽毛，岩場などで乾燥した糞を採取し，病原真菌および関連菌の分離を試み

る予定である。

研究発表

学会発表

- 1) 糟谷大河，矢口貴志，大堀陽，西村和子，岡奈理子：御蔵島のオオミズナギドリの営巣環境における微小菌類相。平成17年度日本菌学会関東支部年次総会，東京，4月3日，2005.
- 2) 糟谷大河，矢口貴志，大堀陽，西村和子，岡奈理子：御蔵島のオオミズナギドリのコロニーには，どのような微小菌類が潜んでいるのか。平成17年度日本鳥類学会総会，松本，9月17-19日，2005.

真菌症起因菌に対する抗酸化剤の影響評価

高 鳥 浩 介 (国立医薬品食品衛生研究所)

田 口 英 昭 (千葉大学真菌医学研究センター, 生態分野)

福 島 和 貴 (千葉大学真菌医学研究センター, 真菌資源開発分野)

研究成果

緑茶より抽出されたEGCg ((-)-epigallo-catechin-3-O-gallate) の *Candida* 属7菌種 (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. dubliniensis*) 21株に対する抗真菌効果について上市されている抗真菌剤6種のMIC値と比較しながら評価した。その結果, EGCgは*C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*に対してfluconazoleと同等かそれ以上の抗真菌活性を示した。更に*C. glabrata*に対してはitraconazoleと同等のMIC値を示すことが明らかになった。今後, 他剤との併用効果についても検討する予定である。

研究発表

原著論文

1) Park BJ, Park JC, Taguchi H, Fukushima K, Hyon SH,

Takatori K: Antifungal susceptibility of epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) on clinical isolates of pathogenic yeasts. *Biochem Biophys Res Commun* 347: 401-405, 2006.

学会発表

- 1) Park BJ, Park JC, Taguchi H, Fukushima K, Hyon SH, Takatori K: Antifungal activity of epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) on *Candida* species for biomedical materials and devices. 7th Asian Symposium on Biomedical Materials, Jeju Island, Korea, August 20-23, 2006.
- 2) Park BJ, Park JC, Taguchi H, Fukushima K, Hyon SH, Takatori K: Antifungal activity of epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) against *Candida albicans* and non-*albicans Candida* spp. 第50回日本医真菌学会 真菌誌 47 (増刊1号): 80, 東京, 10月21~22日, 2006.

病原酵母のプロテオーム解析

奥 田 研 爾 (横浜市立大学大学院医学研究科分子生体防御学)
園 田 智 子 (横浜市立大学大学院医学研究科分子生体防御学)
川 本 進 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)
大 楠 美佐子 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)

研究概要

医学生物学の研究はゲノム解読の時代からポストゲノムの時代に入り、分子レベルの研究は「プロテオーム」解析にその中心が移りつつある。モデル生物 *Saccharomyces cerevisiae* のゲノム解読は、1996年、真核生物としては、他の生物種に先駆けて最も早く完了しており、近年、病原酵母 *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* などについても、それらのゲノム解読が完了している。我々は、このような状況を踏まえ、各病原真菌のプロテオーム解析を行って、分子レベルでの分類系統学的な検討、病原因子の作用機構の解析、また、「ゲノム・プロテオーム創薬」を目指して、抗真菌剤の開発及び作用機作の解析等に本手法を活用するため、まず、手始めに *C. neoformans* を用いて各種培養条件での比較プロテオーム解析などの検討を目的とする。

C. neoformans の細胞壁、莢膜は極めて厚くて強固なことが知られている。本菌の各培養条件によっては、細胞全体を破碎すること自体も、大変難かしく、通常の破碎条件では、細胞内タンパク質の回収率も極めて低いことが判明した。そこで、種々の破碎法、破碎条件について

検討し、本実験計画に最適なプロトコールを作成した。一方、*C. neoformans* 細胞破碎抽出液を用いて、二次元電気泳動、タンパク質スポットの解析、アミノ酸配列解析、質量分析、データベースでの検索、同定などの解析を進めている。今後、*C. neoformans* でのプロトコールを他病原真菌のプロテオーム解析にも応用して広げて行きたい。

研究発表

学会発表

- 1) Kawamoto S, Ohkusu M, Virtudazo E, Yamanaka Y, Watanabe K, Sonoda T, Hirano H, Okuda K, Takeo K: *Cryptococcus neoformans* proteome and cell regulation. 2nd Trends in Medical Mycology. Berlin (Germany), October 23-26, 2005.
- 2) Kawamoto S, Ohkusu M, Yamanaka Y, Watanabe K, Sonoda T, Hirano H, Okuda K, Takeo K: Molecular analysis of *Cryptococcus neoformans* cell regulation. 第78回日本生化学会大会発表, 神戸, 10月19 - 22日, 2005.

元素状硫黄を代謝する真菌の超微細構造

高 谷 直 樹 (筑波大学生命環境科学研究科)

山 口 正 視 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)

川 本 進 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)

研究成果

真菌が嫌気的環境に適応し、そのエネルギー代謝を切り替える現象は、近年、申請者らの研究グループによって解明が進められている。多くの内在性真菌は体内の低酸素環境下で生育することから、この現象の解明は、真菌治療や病徴の発現機構の解明に役立つ可能性が考えられる。本研究では、真菌の中でもっとも嫌気代謝の研究が進められている *Fusarium oxysporum* をモデルとしてその代謝と細胞形態の相関関係を解析している。特に、本菌の硫黄還元系の生化学的解析および菌糸内部の微細構造（特に、ミトコンドリアの形態）を検討した。

本共同利用研究によって、以下の研究成果が得られた。(1) 硫黄還元反応時の細胞内構造: 既に、我々は、*F. oxysporum* が嫌気条件下では元素状硫黄を硫化水素に変換し発酵・呼吸的にエネルギーを生産することを明らか

としている。本年度は、*F. oxysporum* がこの代謝を行うときの細胞内の超微細構造を透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いて観察した。その結果、この時のミトコンドリアは、クリステなどの膜構造は正常であり、本菌の嫌気的なアンモニア発酵時のミトコンドリアの基質密度が低いのは対照的であった。(2) 硫黄還元反応と重金属除去: 本菌の硫黄還元反応を利用して、培養系に添加した Ni^{2+} および Cd^{2+} を金属硫化物の沈殿として回収することに成功した。また、この反応の最適な反応時間、通気条件、電子供与体、その他の重金属イオンを検討した。TEMにより、 Ni^{2+} および Cd^{2+} の硫化物の沈殿は細胞表層あるいは細胞内に存在することが明らかとなった。本手法は、重金属資源のリサイクル技術の一つとして役立つ可能性が考えられた。

Trichophyton tonsurans 感染状態の形態学的，細胞生物学的検討

比留間 政太郎（順天堂大学練馬病院）

川 本 進（千葉大学真菌医学研究センター，機能形態分野）

大 楠 美佐子（千葉大学真菌医学研究センター，機能形態分野）

研究概要

Trichophyton tonsurans という白癬菌が，その2 - 3年前より外国から日本に持ち込まれた結果，2000年頃より，柔道を始めとする格闘技選手の間で体部白癬，頭部白癬になる人が急増している．この菌は感染力が強く，家族・友人に伝染し易く，一度感染すると治りにくいので嚴重な注意が必要である．特に頭に全く症状がないのに，多量の菌が寄生している保菌者（無症候性キャリアー）が多く，危険な感染源となっている．

しかるに，本菌の宿主への感染状態の基礎的な知見はいまだ乏しく，今回，頭部などへの感染時，本菌がどの

ような細胞状態で存在しているのかを，形態学的，細胞生物学的に検討することを目的として研究を行った．

患者頭部に感染している *Trichophyton tonsurans* 細胞を採取するために数人の患者に hairbrush を使用してもらった．このブラシを界面活性剤入り PBS で洗浄し，遠心分離によって集菌した．これをファンギフローラで処理した後，蛍光顕微鏡で観察したところ，細胞壁の厚い胞子が数個観察された．菌糸型の細胞は観察されなかった．感染時の形態，および細胞周期の解析を行うには，ある程度の数の細胞が必要である．現在，集菌方法など，解析法を検討中である．

共生・寄生性二形性真菌の形態と生態に関する研究

畑 邦彦 (鹿児島大学農学部)

川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)

大楠 美佐子 (千葉大学真菌医学研究センター, 機能形態分野)

研究成果

真菌類において二形性・多形性は様々な局面で見られるが、特に重要なのが菌糸・酵母という栄養増殖形態の二形性である。このような二形性真菌は様々な分類群・生態群中に存在しており、真菌類の形態形成を考察する上で重要な問題の一つとなっている。とりわけ医真菌学では良く知られた存在であり、環境中では菌糸、体内では酵母として生育する病原菌はヒトの病原菌の中でも重要な位置を占めている。その一方、森林においても二形性真菌は普遍的に存在しており、とりわけ植物と昆虫の寄生菌や共生菌ではしばしば見られるが、森林環境における二形性の意義は十分明らかになっていない。

筆者らは、当研究センターにおいて以前行っていた共同利用研究において、いわゆるアンブロシア菌と黒色真菌に着目して培養形態の観察を行ってきた。前者は養菌性キクイムシの外部共生菌、後者はヒトの病原菌であるだけでなく、森林環境では植物表面の常在菌として知られる菌群である。その観察結果より、基質の物理的な特性がこれら二形性真菌の形態形成に重要な意味を持つことが示された。また、その際、日本各地で重大な被害をもたらしているナラ類集団枯損の病原菌 *Raffaella quercivora* が酵母状の栄養増殖形態を有していることを

初めて明らかにした。

今回の共同利用研究においては、前回の成果を更に深めるべく、植物や昆虫に寄生または共生する森林性の真菌類を中心に事例を増やすことを試みている。05年度は、これまでのデータ整理を行って成果の発表のための準備を行うと共に、新たな供試菌の分離を試みた。ここまで5種8菌株における観察結果をまとめ、寒天培地では菌糸が、液体培地では酵母が出現しやすいという傾向を再確認した。こういった基質の違いに対する反応は昆虫共生菌では特に顕著であり、そういった菌群において二形性が昆虫との共進化の過程で獲得された可能性も考えられた。一方、新たな候補菌としては、昆虫病原菌 *Beauveria bassiana* を分離した。また、ヤシオオオサゾウムシの外部共生酵母を分離し、同定を試みている。

研究発表

学会発表

- 1) 畑 邦彦, 大楠美佐子, 川本 進, 曾根晃一: 森林性二形性真菌の培養形態. 日本菌学会第50周年記念大会, 講演要旨集 p.83, 千葉, 6月3~4日, 2006.

真菌が生産する抗アスペルギルス物質の研究

深井俊夫 (東邦大学薬学部)

宇野潤 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)

三上襄 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)

研究成果

本研究は、真菌医学研センター高分子活性分野に有用物質の探索のため保存されていた真菌の中から、特に強い抗真菌作用を示す菌株1種を選択し、抗アスペルギルス活性を有する物質の探索研究用試料とした。この菌株を形態学的検討と ribosomal RNA 遺伝子の ITS および D1/D2 領域の塩基配列より同定したところ *Strobilurus* 属に属する菌種であった。この菌株の培養液には抗菌活性成分は4種見出されているが、その中で最も強力な抗真菌力を示す物質をシリカゲルクロマトグラフィーおよび分取薄層クロマトグラフィーで精製分離し、NMR および MALDI-TOF-MS のスペクトル解析したところ、メトキシアクリレート系の mucidin (strobilurin A) と同定された。この物質の抗真菌活性は、アスペルギルス属と酵母状真菌共に強い抗真菌力を示した。本研究はまだ単離していない3種以上の抗真菌物質の精製分離継続している。

研究発表

学会発表

- 1) 日比崇弘, 宇野潤, 深井俊夫, エイコ・ナカガワ・イタノ, 三上襄: *Penicillium pseudocitrinum* が生産する抗真菌物質の検討. 第125年回日本薬学会, 講演要旨集, 東京, 3月28日~31日, 2005.
- 2) 山本撰也, 宇野潤, 日比崇弘, 深井俊夫, エイコ・ナカガワ・イタノ, 三上襄: *Penicillium pseudocitrinum* が生産する抗アスペルギルス活性物質の検討. 第49回日本医真菌学会総会, 真菌誌 46 (増刊1号): 90, 千葉, 10月6日~7日, 2005.
- 3) 山本撰也, 宇野潤, 深井俊夫, 三上襄: 糸状菌から得られた Alkenylbenzene 誘導体の抗真菌活性の検討. 第50回日本医真菌学会総会, 真菌誌 47 (増刊1号): 80, 東京, 10月21~22日, 2006.

高度病原真菌 *Coccidioides* 属のトポイソメラーゼ遺伝子 (*TOP2*) による同定法の研究

安藤 昭一 (千葉大学大学院自然科学研究科)
篠山 浩文 (千葉大学大学院自然科学研究科)
雨宮 良幹 (千葉大学園芸学部)
齋藤 明広 (千葉大学園芸学部)
三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)
知花 博治 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)
矢澤 勝清 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)

研究成果

わが国では輸入真菌症が問題となっており, その中でも最も重要な感染症としてコクシジオイデス症がある. 原因菌である *Coccidioides immitis* と *C. posadasii* は危険度レベルが3にランクされる病原菌で, 健康人でも死に至ることがある. 2菌種とも形態的な特徴に乏しく早期の同定が困難で, また検査室等での取り扱いが危険であることから遺伝子レベルで迅速な同定法の開発が望まれている. 本研究では機能遺伝子の *TOP2* 及び *TRF4* に着目し, *Coccidioides* 属真菌を特異的に検出する PCR プライマーを開発した.

千葉大学真菌医学研究センターに保存されている *C. immitis* 2株と *C. posadasii* 3株を対象に行った. *TOP2* について degenerate プライマーとして CDF28-CDR148 を用いて PCR 後, DNA シークエンスを基に種特異的プライマーセット Ptop2F-Itop2F-PItop2R の設計を行った. *TRF4* については *Candida* 属のデータを基に *Coccidioides*

の遺伝子増幅用の degenerate プライマー ctrfF-ctrfR を設計し, PCR 後, DNA シークエンスを基に種特異的プライマーセット Ptrf4F-Itrf4F-PItrf4R の設計を行った. この2つのプライマーセットを混ぜ合わせ Mix1 とし, 種特異的に作用することを確認した. また Mix1 に ITS プライマーを混ぜ Mix2 とし, *Coccidioides* 属の近縁 48 種 84 株との反応性を確認した.

2つの遺伝子を用いて菌種内の変異の解析を行った結果, この2遺伝子は同定に有効なツールとなることが明らかとなった. これらの遺伝子の塩基配列データを基に, それぞれの種に特異的なプライマーを設計し, 1回の PCR での増幅バンドの数とサイズで2菌種を分類することが可能となった. 本研究で開発したプライマーセットにより, 簡便かつ迅速な診断が臨床現場で可能となり, さらに疫学研究の手段としても利用出来ると考えられた (共同研究者: 佐野文子, 亀井克彦).

DNA マイクロアレイ関連技術の開発

前 田 浩 (千葉県産業支援技術研究所)
五ノ井 透 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)
三 上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター, 高分子活性分野)
岡 千 寿 (千葉県産業支援技術研究所)
清 水 三 弘 (千葉県産業支援技術研究所)

研究成果

【背景・目的】

これまでに様々な生物種においてゲノム情報の解析が全世界的に行われてきており、今やポストゲノム時代に移行している。ポストゲノム研究開発において、遺伝子機能を効率的に解析するための技術開発が進む中で、DNA マイクロアレイ技術は有力なモニタリングデバイスとして認知されつつある。DNA マイクロアレイはスライドガラス等の基板に多数の DNA 分子 (>10,000 遺伝子) を所定の領域毎に整列固定させた高密度のアレイであり、遺伝子の発現、変異、多型性などの同時解析に非常に有用である。しかしながら本技術はコスト面、操作面などにおいて問題点を抱えており、さらに学術の利用においても従来のノーザンハイブリダイゼーションと比較して、信用性に欠けるという認識がある。そこで本課題はマイクロアレイ技術の汎用化とそれに伴う普及性の構築というニーズに応えるために立案された。

DNA マイクロアレイを用いた分析においては、検出対象であるターゲットポリヌクレオチドが微量であるため、高感度な検出系が求められる。そのため、プローブポリヌクレオチドを高密度かつ強固に固定化する方法などが報告されている。本課題においてはプローブポリヌクレオチドとターゲットポリヌクレオチドのハイブリダイゼーション効率を向上させることにより、検出感度を上げることを目的とした。

【方法・結果】

プローブポリヌクレオチドは麹菌ゲノム遺伝子配列情報を基に、解糖系ならびに TCA-サイクルを構成する酵素タンパク質をコードする遺伝子について 60 塩基長のものを 31 種合成した。今回選択した遺伝

子群は麹菌 *Aspergillus oryzae* を富栄養液体培地にて培養した際に発現することが確認されている (Maeda *et al*; Transcriptional analysis of genes for energy catabolism and hydrolytic enzymes in the filamentous fungus *Aspergillus oryzae* using cDNA microarrays and expressed sequence tags (ESTs) Appl Microbiol Biotechnol 65: 74-83, 2004.)。これらプローブポリヌクレオチドを、東洋鋼鈑株式会社製ジーンズライドにスポットティングし固定化した。

ターゲットポリヌクレオチドは *A. oryzae* の富栄養液体培地にて培養した菌体より mRNA を調製し、逆転写反応により Cy-3 蛍光ラベル化 cDNA を合成した。調製したラベル化 cDNA を、コントロールとして 5x SSC, 0.5% SDS に溶解した。またターゲットポリヌクレオチドの見かけ上の Tm 値を低下させ、高次構造を解き、ハイブリダイゼーション時の立体障害を除去する目的で、コントロール反応系中に終濃度にして 1 M となるように Betaine (トリメチルグリシン) または 5% となるように DMSO (ジメチルスルホキシド) を添加したものに溶解させた。これら 3 種のターゲットポリヌクレオチド溶液を用いハイブリダイゼーションを行い、ハイブリダイゼーション効率を蛍光強度を測定することで比較した。

蛍光強度を比較した結果、従来の溶解系に Betaine, DMSO を添加することでコントロールに比べて相対的に 1.5 倍以上の蛍光強度が得られた。即ち、DNA マイクロアレイ技術において、ハイブリダイゼーション反応時に融解温度 (Tm 値) 調節剤を添加することで検出感度を向上させることが可能であることを示している。このことにより、従来まで検出が困難であった転写制御因子をコードする遺伝子などの発現様式をモニタリングすることも可能となると考えられ、今後、微量発現遺伝子

の解析などにおいて有効な手段として用いられることが期待される。

特許出願

1) 特願 2006-117137 「ポリヌクレオチド試料の分析

において感度を向上させる方法」前田 浩, 五ノ井透, 岡 千寿ら他4名

2) 特願 2006-120641 「プローブポリヌクレオチド固定化担体の再生方法」岡 千寿, 五ノ井 透, 前田浩ら他4名

2005 年度 共同利用研究報告書 研究成果集計累計

発 表 年	2005 年	2006 年	2007 年
原 著 論 文	9	3	2
学 会 発 表	16	34	1
総 説 な ど	0	2	0
特 許 出 願	0	2	0

平成 18 年度 共同利用研究会

1) 第 3 回真菌分子細胞研究会 ジョイント開催－感染症ワークショップ in 千葉

真菌分子細胞研究会は、過去 2 回開催された真菌若手研究会の趣旨を引き継ぎ、医真菌学の発展をめざし、近い将来共同利用研究を通じて医真菌分野を牽引するような若手研究者の育成、および世代を超えた研究者交流の場を提供する目的で開催された。ただし、「若手」の定義が、難しいことを考慮し、今回から「真菌分子細胞研究会」と改名した。

また、今回は琉球大学遺伝子実験センター、長崎大学熱帯医学研究所、九州大学生体防御医学研究所、千葉大学真菌医学研究センターで構成される感染症研究施設四大学連絡会議で主催する「感染症ワークショップ in 千葉」とジョイント開催となった。参加者は 57 名となり、活発な意見交換が行なわれ、大盛況であった。

日 時: 平成 18 年 11 月 28 日 10 時～29 日 12 時

場 所: 真菌医学研究センター A 棟 B1 講堂

代 表: 新見昌一 (国立感染研 生物活性物質)

事務局: 知花博治 (高分子活性)

座 長: 川本 進 (機能形態分野), 清水公德 (機能形態分野), 佐野文子 (真菌感染分野), 五ノ井 透 (系統・化学分野), 中山浩伸 (鈴鹿高専 生物応用化学), 田辺公一 (国立感染研 生物活性物質), 長 環 (福岡歯科大 機能生物化学), 村山琮明 (北里大 北里生命研), 横山耕治 (真菌資源分野)

招待講演

- ・東江昭夫 (東大名誉教授, 東京都臨床医学研究所): パン酵母のプロテアソーム研究
- ・五味勝也 (東北大 大学院 農学 生物産業創成科学): 麹菌のゲノム解析とその産業応用

一般演題

- 1) 上野圭吾 (千葉大 真菌センター 高分子活性分野): *Candida glabrata* における組換え体作製技術の改善と DNA 修復に関わる遺伝子の機能解析
- 2) 花岡 希 (国立感染研 生物活性物質): カイコガ幼虫感染実験モデルを用いた *Candida albicans* 病原性関連プロテインフォスファターゼの同定
- 3) 高山明子 (千葉大 真菌センター 真菌感染分野): 高度病原性真菌 *Paracoccidioides brasiliensis* の主要抗原遺伝子 *gp43* の有用性
- 4) 小暮高久 (千葉大 真菌センター 高分子活性分野): 病原性 *Nocardia* における薬剤耐性因子の解析
- 5) 豊留孝仁 (千葉大 真菌センター 真菌感染分野): 質量分析による *Histoplasma* 抗原タンパク質の同定
- 6) Virtudazo Eric (千葉大 真菌センター 機能形態分野): Analysis of cell cycle control genes in *Cryptococcus neoformans*
- 7) 梅山 隆 (国立感染研 生物活性物質): *Candida albicans* 形態チェックポイントキナーゼによる菌糸生育制御機構
- 8) Lamping Erwin (Otago University, NZ): Studying drug resistance mechanisms of pathogenic fungi
- 9) 田辺公一 (国立感染研 生物活性物質): 病原真菌 ABC タンパク質と基質の相互作用
- 10) 渡部俊彦 (東北薬大 微生物): 黒カビの増殖抑制ならびに胞子拡散防止方法の検討
- 11) 西條知見 (長崎大 医 第二内): 臨床プロテオミクスを用いた深在性真菌症の新規抗原診断法の開発
- 12) 水野貴之 (徳島文理大 工学): 産業利用を目指した病原性酵母菌 (*C. glabrata*) の改良～*S. cerevisiae* との機能比較と融合を視野に入れて
- 13) 青山俊弘 (鈴鹿高専 電子情報工学): *Candida glabrata* データベース
- 14) 中山浩伸 (鈴鹿高専 生物応用化学): *Candida glabrata* におけるステロールトランスポーター *AUS1* の薬剤感受性への関与
- 15) 知花博治 (千葉大 真菌センター 高分子活性分

- 野): *Candida glabrata* における網羅的発現制御株の構築と応用
- 16) 山口正視 (千葉大 真菌センター 機能形態分野): 病原酵母 *Exophiala* および *Cryptococcus* の紡錘極体の電子顕微鏡による動態の解析
- 17) 矢口貴志 (千葉大 真菌センター 系統・化学分野): *Aspergillus section Fumigati* の多相分類
- 18) 横山耕治 (千葉大 真菌センター 真菌資源分野): 病原真菌の進化
- 19) 村山琮明 (北里大 北里生命研): *Candida albicans* 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子 (*FAD2*) 破壊株の DNA アレイと real-time PCR 法による transcriptome 解析
- 20) 長 環 (福岡歯科大 機能生物化学): *Candida* 菌におけるクオラムセンシング分子: farnesol の菌糸形誘導阻害での役割
- 21) 新見昌一 (国立感染研 生物活性物質): 病原真菌 ABC トランスポーターの阻害剤の探索

2) 小動物真菌症症例検討会

(代表: 池田忠雄 - 日本大学医学部, 世話人: 佐野文子)

本症例検討会は, 千葉, 東京, 神奈川, 埼玉, 静岡から獣医師および動物医療関係者等 25 名により, 平成 18 年 9 月 2 日 (土) 15:00 - 17:00 に開催され, 小動物の真菌症 8 症例が発表された。

開会の言葉

池田忠生 (日本大学・医学部)

<プログラム>

座 長: 高橋英雄 (千葉大)

1. 「無症状ネコからの *Microsporum canis* 感染例」 兼島孝 (みずほ台動物病院)
 2. 「若齢犬における *Chaetomium globosum* 感染症の 1 例」 杉山和寿 (杉山獣医科)
 3. 「ヒストプラズマ症と誤診した Large Granular Lymphoma の猫一例」 石川利雄 (牛久動物病院)
 4. 「猫免疫不全症候群 (FIV: 猫エイズ) にみられた *Colletotrichum gloeosporioides* の全身感染例」 村田佳輝 (千葉大), 森 俊士 (森動物病院)
- 座 長: 佐野文子 (千葉大)
5. 「イヌのリンパ節より分離された *Lecythophora hoffmannii* について」 榮山信一 (秋川どうぶつ病院), 佐野文子 (千葉大)
 6. 「伴侶動物の真菌症: 犬と猫のクリプトコッカス感染症について」 金井孝夫, 大西直子, 中村 孝¹⁾, 青木和美¹⁾, 梅田昌樹²⁾
東京女子医大, 1) セルコバ検査センター, 2) ヴイペック
 7. 「医用動物の真菌症: 免疫不全マウス Rag2 の *Pneumocystis carinii* 肺炎について」 金井孝夫, 大西直子, 篠田元扶¹⁾, 今 弘枝¹⁾, 藤平篤志¹⁾, 小嶋英史¹⁾, 畑 英一²⁾
東京女子医大, 1) 獨協医科大学, 2) 群馬大学医学部
 8. 「猫の菌腫」 加納 壘 (日本大)

閉会の言葉

佐藤 克 (佐藤獣医科)

第9回千葉大学真菌医学研究センター国際シンポジウム

真菌医学研究センター主催による第9回国際シンポジウム「Forefront of taxonomy, epidemiology, and biodiversity of human pathogenic fungi and related taxa」(実行委員長, 福島和貴教授)が, 平成18年12月15日千葉県立中央博物館において開催された。

本シンポジウムでは, 上記タイトルを次の4つのセッション, 1) 皮膚糸状菌及び関連菌, 2) 稀な真菌症原因菌, 3) アスペルギルス, 4) 病原性酵母及び接合菌に区分し, 各分野で最先端の研究を行っている国外8名(ブラジル, カナダ, チェコ, ドイツ, オランダ, スペイン, 中国2名), 国内5名(日本大学, 産業技術総合研究所, 理化学研究所, 当センター2名)からのシンポジストによる講演がなされた。講演は分子形態, 基礎・臨床真菌医学さらにゲノム解析とその応用と展望など, いずれも参加者に強いインパクト与えるものであった。

当センターは, ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」の中核機関として, 事業の総括を行っており, 特に広報の視点から本事業の概要を紹介するセッションを設け, サブ機関(国立遺伝学研究所)の代表者による講演が行われた。さらに各病原微生物リソース(細菌, 放線菌, 真菌, 原虫)について, サブ機関によるポスター展示による発表が行われた。前夜開催したシンポジストを囲んだウエルカムレセプションには古在学長, ならびに天野理事にも出席を頂き, 広い交流が展開された。当日は, 生憎の肌寒い曇りがちの天候ではあったが, 120名を超える参加者があり, 英語で行われた講演, 質疑討論はいずれも熱気溢れるものとなり, シンポジストならびに参加者から高い次元で目的が達成されたことの評価を得て, シンポジウムを終えることができた。

なお, 当シンポジウムのプログラム, 組織委員会, 実行委員会は以下の通りである。

シンポジウムプログラム

9th International Symposium of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses (RC-PFMT), Chiba University

Title: Forefront of taxonomy, epidemiology and biodiversity of human pathogenic fungi and related taxa

Date: Friday, December 15, 2006

Location: Natural History Museum and Institute, Chiba 955-2 Aoba-cho, Chuo-ku. Chiba 260-8682, Japan

Chairman: Kazutaka Fukushima (RC-PFMT, Chiba Univ)
Admission Free

8: 50 ~ Opening address: Yuzuru Mikami (RC-PFMT, Chiba Univ)

8: 55 ~ 10: 55 Dermatophytes and related taxa

Chairpersons: Randolph S Currah & Yvone Graeser
Yvone Graeser (Humboldt Univ, Germany)

Epidemiological studies in selected dermatophyte species using microsatellite markers

Randolph S Currah (Univ Alberta, Canada)

The Onygenales: 20 years of flux and evolution in taxonomic concepts.

Paride Abliz (Xinjiang Med Univ, China)

Epidemiology and biodiversity of human pathogenic fungi in Xinjiang, China

Rui Kano (Nihon Univ, Japan)

Animal dermatomycoses

10: 55 ~ 11: 15 Coffee break

11: 15 ~ 11: 40 NBRP-pathogenic microorganisms

Chairperson: Katsuhiko Kamei (RC-PFMT, Chiba Univ)

Hideaki Sugawara (Nat'l Inst Genetics, Japan)

A union of pathogenic microorganisms collections moves ahead in the National BioResource Project in Japan

11: 40 ~ 12: 40 Lunch

12: 40 ~ 13: 00

Poster presentation by the National BioResource Project "Pathogenic Microorganisms"

Takeshi Honda & Yoh Myonsun (RIMD Osaka Univ)

Chihiro Sasakawa & Hitomi Mimuro (IMS Univ Tokyo)

Takayuki Ezaki (Gifu Univ)

Yoshimi Benno & Masako Takashima (BRC-JCM Riken)
Hiroji Kanbara & Tetsuo Yanagi (ITM Nagasaki Univ)
Yuzuru Mikami, Kazutaka Fukushima & Katsuhiko Kamei
(RC-PFMT, Chiba Univ)

13: 00 ~ 14: 25 New emerging pathogens

Chairpersons: Josep Guarro & Xi Liyan

Josep Guarro (Rovira i Virgili Univ, Spain)

Genetic and phenotypic diversity in *Pseudallescheria*

Xi Liyan (Sun Yat-Sen Univ, China)

The new emerging opportunistic pathogen in China

Koji Yokoyama (RC-PFMT, Chiba Univ)

Phylogenetic analysis of pathogenic fungi based on
mitochondrial cytochrome *b* gene.

14: 25 ~ 16: 00 *Aspergillus*

Chairpersons: Robert A Samson & Masayuki Machida

Robert A Samson (CBS, Netherlands)

Biodiversity of the genus *Aspergillus* in view of new
taxonomic concepts

Masayuki Machida (AIST, Japan)

Comparative analysis of *Aspergillus oryzae* genome with
those from *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus nidulans*

Takashi Yaguchi (RC-PFMT, Chiba Univ)

Polyphasic classification on *Aspergillus* section *Fumigati*

16: 00 ~ 16: 20 Coffee break

16: 20 ~ 17: 50 Pathogenic yeasts and Mucorales

Chairpersons: Galba M Campos-Takaki & Vladislav Raclavsky

Galba M Campos-Takaki (UNICAP, Brazil)

Factors influencing the chitin and chitosan production
by mucoralean fungi

Vladislav Raclavský (Palacký Univ, Czech)

McRAPD as a new tool to pathogenic yeast identification
and typing

Motofumi Suzuki (BRC-JCM Riken, Japan)

Molecular taxonomy of medically important
ascomycetous yeasts

17: 50 ~ Closing address Kazutaka Fukushima (RC-
PFMT, Chiba Univ)

Organizing Committee

Yoshimi BENNO (BRC-JCM, Riken)

Takayuki EZAKI (Gifu Univ)

Toshimitsu FUKIHARU (Natl Hist Mus Inst, Chiba)

Kazutaka FUKUSHIMA (RC-PFMT, Chiba Univ),
Chairman

Takeshi HONDA (Osaka Univ)

Yoshikazu HORIE (Natl Hist Mus Inst, Chiba)

Katsuhiko KAMEI (RC-PFMT, Chiba Univ)

Hiroji KANBARA (Nagasaki Univ)

Susumu KAWAMOTO (RC-PFMT, Chiba Univ)

Yuzuru MIKAMI (RC-PFMT, Chiba Univ)

Fumio NOMURA (Grad Sch Med, Chiba Univ)

Chihiro SASAKAWA (Univ Tokyo)

Hideaki SUGAWARA (Natl Inst Genetics)

Masaki TAKIGUCHI (Grad Sch Med, Chiba Univ)

Local Executive Committee of RC-PFMT, Chiba University

Hiroji CHIBANA

Kazutaka FUKUSHIMA, Chairman

Tohru GONOI

Emiko ITO

Katsuhiko KAMEI

Susumu KAWAMOTO, Vice-chairman

Nobuyuki KURITA

Yuzuru MIKAMI

Motoko OARADA

Ayako SANO

Kiminori SHIMIZU

Hideaki TAGUCHI

Reiko TANAKA

Jun UNO

Takashi YAGUCHI

Masashi YAMAGUCHI

Koji YOKOYAMA, Secretariat

Secretariat

Koji YOKOYAMA

四大学連携ワークショップ

第7回感染症研究施設四大学連絡会議は千葉大学真菌医学研究センターが当番機関となり、平成18年の11月29日に当センターの講堂で開催された。会議は、九州大学生体防御医学研究所（吉開泰信所長）、長崎大学熱帯医学研究所（青木克己所長）、琉球大学遺伝子実験センター（屋 宏典センター長）と千葉大学真菌医学研究センター（三上 襄センター長）の連絡会議のメンバーに文部科学省研究振興局ライフサイエンス課 坂下鈴鹿課長補佐の参加のもとで開催された。この会議に先立ち、“感染症ワークショップ in 千葉”と題したワークショップが、当センター主催の共同利用研究会である第3回真菌分子細胞研究会と合同で開催された。

感染症ワークショップ in 千葉

(11月29日(水) 13時～15時, 真菌センター A 棟 B1 講堂)

開会の挨拶: 三上 襄 (千葉大 真菌センター セン

ター長)

座 長: 亀井克彦 (千葉大 真菌センター 教授)

演題1 肺結核感染症におけるインターロイキン(IL)-17の生体防御機構

梅村正幸 (琉球大 遺伝子実験センター 分子感染防御)

演題2 マラリア媒介蚊幼虫の生態とマラリアアウトブレイクとの関係

都野展子 (長崎大 熱帯医学研, 生物環境)

演題3 DOCK2が好中球遊走において細胞運動および極性を制御する

錦見昭彦 (九大 生体防御研 免疫遺伝)

演題4 病原真菌のvirulence factorsの探索

渡辺 哲 (千葉大 真菌センター 真菌感染)

閉会の挨拶: 福島和貴 (千葉大 真菌センター 教授)

幹 事: 知花博治 (千葉大 真菌センター 助教授)

第 20 回千葉大学真菌医学研究センター講習会

担当：横山 耕治

本講習会は病原真菌講習会として、今年で第 20 回を迎え好評の内に終了することができた。病原真菌の同定、取り扱いについての講義と実習を行う講習会で毎回定員の 2 倍近い応募があり、場合によっては 2 年越しや 3 年越しに受講する受講生もいた。今年も受講生を 12 名に限定し、密度の高い講習会とすることができた。

期間：2006 年 7 月 25 日（火）～ 28 日（金）

場所：千葉大学真菌医学研究センター講習会室

職種別内訳：大学職員（臨床検査） 1 名
病 院（検査部） 8 名
企 業（研究員） 2 名
その他（水族館 海獣科） 1 名

地域別受講生：北海道 1 名
関東 5 名
東海 1 名
中部 1 名
関西 1 名
四国 1 名
九州 1 名
沖縄 1 名

プログラム：

（講師：西村和子，山口正視，亀井克彦，田中玲子，矢沢勝清，三上 襄，矢口貴志，佐野文子，伊藤純子，横山耕治）

7 月 25 日（火）

オリエンテーション (横山)
病原真菌概論 (西村)
電顕による真菌細胞観察 (山口)
輸入真菌症 (亀井)
基本手技 (田中)

7 月 26 日（水）

酵母の同定法 (田中)
(*Malassezia* 属, *Trichosporon* 属菌を含む)
病原性放線菌 (矢沢・三上)

7 月 27 日（木）

病原性アスペルギルス (矢口)
皮膚糸状菌・病原性黒色真菌 (西村・佐野・伊藤)
真菌の保存法，センター案内 (横山)

7 月 28 日（金）

新興病原真菌・輸入真菌症原因菌 (西村・佐野・伊藤)
病原性接合菌 (矢口・西村)
酵母結果判定 (田中)
修了式 (三上センター長)

第2回千葉大学真菌医学研究センター公開市民講座開催

2006年5月14日(日)、西千葉キャンパスけやき会館大ホールにて昨年に引き続き、真菌医学研究センター主催の公開市民講座を開催した。参加者は253名と予想を超え、大変盛況であった。

テーマ: 「カビ!? ～そろそろ気になりますね～」

演題: カビと人のいい関係

矢口貴志(真菌医学研究センター助教授)

本当は怖いカビの病気

亀井克彦(真菌医学研究センター教授)

くらしの中のカビ退治

佃 一訓(花王株式会社主任研究員)

講演内容:

カビは、私たちの身近な環境に存在し、食品、風呂、壁などあらゆるところに生え、そのイメージはとても悪い。しかし、味噌、醤油、チーズ、日本酒、焼酎などの発酵食品の製造に使用され、私たちの食生活にとって欠かすことの出来ないものである。また、ペニシリンな

ど医薬品の生産などにも有効利用されている。一方、自然界においては、カビはその仲間であるキノコとともに、死んだ動物や枯れた植物を分解し土にかえすことにより、地球上の物質を循環させる重要な役割を担っている。さらに、ある種のカビは、水虫をはじめとする皮膚症やアレルギーの原因になる。また、ガンやエイズなどにより免疫力が極端に低下した患者には、肺などの内臓に感染し重篤な疾患となり、死にいたることもある。近年では、従来日本ではみられなかった、海外のカビが原因となる疾患(輸入真菌症)も増加し、今後問題となることが予想される。

本講演会では、まず、本センター矢口が、カビと人との関わり特に有用面について、次に、本センター亀井が、カビが原因となる病気について解説した。最後に、花王株式会社佃主任研究員が、梅雨の時期に気になる家庭内でのカビについて、効果的な対策法とその注意点について解説した。

講演会（第97回～第104回）

- 第97回 平成18年2月15日
場所: センター講堂
河崎昌子講師（金沢医科大学）
皮膚糸状菌類の見直し
（担当: 矢口貴志）
- 第98回 平成18年2月27日
場所: センター講堂
R.M.Kroppenstedt 教授（Deutsche Sammlung
von Mikroorganismen und Zellkulturen）
The Actinomycetes—our Friends and Enemies
（担当: 三上 襄）
- 第99回 平成18年3月27日
場所: センター講堂
Maria Francisca Colom Valiente 客員教授（スペ
イン Miguel Hernandez 大学医学部助教授）
Molecular typing of pathogenic *Cryptococcus*
（担当: 福島和貴）
- 第100回 平成18年3月27日
場所: センター講堂
Gyorgy Vargha 准教授（ハンガリー共和国デ
ブレツェン大学医学部）
Degradation of mineral oil by selected bacteria of
Actinomycetales
（担当: 山口正視）
- 第101回 平成18年4月27日
場所: センター講堂
Takao Kasuga 博士（カリフォルニア大学）
Phase-specific gene expression underlying
morphological adaptations of the dimorphic
human pathogenic fungus, *Coccidioides posadasii*
（担当: 三上 襄）
- 第102回 平成18年6月30日
場所: センター講堂
Matthias Sipiczki 副学長・教授（ハンガリー
共和国デブレツェン大学）
General transcription regulators (Mediator and
SAGA) and fork-head transcription factors in
the regulation of *S. pombe* cytokinesis.
（担当: 川本 進）
- 第103回 平成18年10月18日
場所: センター講堂
Gyorgy Vargha 准教授（ハンガリー共和国デ
ブレツェン大学医学部）
ADP-ribosylation of Streptomycin, a recent type
of antibiotic resistance
（担当: 山口正視）
- 第104回 平成18年12月13日
場所: センター講堂
原田健一教授（名城大学薬学部）
湖沼生態系のケミカルバイオロジー
（担当: 三上 襄）

2006 真菌医学研究センター報告会

日時: 平成 18 年 12 月 22 日 12:40 ~ 17:30

三上 襄 センター長

高分子活性分野

三上 襄 教授
知花 博治 助教授
宇野 潤 助手
矢澤 勝清 技術職員

機能形態分野

川本 進 教授
山口 正視 助教授
清水 公德 助手
伊藤恵美子 助手
大楠美佐子 技術職員
Virtudazo Eric 特任教員

真菌資源, 生態分野

福島 和貴 教授
横山 耕治 助教授
田口 英昭 助手

系統・化学分野

矢口 貴志 助教授
五ノ井 透 講師
田中 玲子 助手
松澤 哲宏 技術職員

真菌感染分野

亀井 克彦 教授
佐野 文子 助教授
栗田 啓幸 助手
大荒田素子 助手
渡邊 哲 助手
豊留 孝仁 研究機関研究員
落合 恵理 リサーチレジデント

報告会ワーキンググループ

知花 博治
伊藤恵美子
滝澤香代子
松澤 哲宏
鎗田 響子

————— 編 集 委 員 会 —————

- 川 本 進 (分子機能研究部門 機能形態分野・委員長)
- 佐 野 文 子 (病原真菌研究部門 真菌感染分野)
- 五ノ井 透 (病原真菌研究部門 系統・化学分野)
- 横 山 耕 治 (病原真菌研究部門 真菌資源開発分野)
- 山 口 正 視 (分子機能研究部門 機能形態分野・ワーキンググループ長)
- 知 花 博 治 (分子機能研究部門 高分子活性分野)

平成 19 年 3 月発行

編集発行者

千葉大学真菌医学研究センター

〒260-8673

千葉市中央区亥鼻1丁目8番1号

電話 043 (222) 7171 (代)

印刷社 株式会社 正文社

〒260-0001

千葉市中央区都町1-10-6

電話 043 (233) 2235 (代)



CHIBA UNIVERSITY
2006