

ANNUAL REPORT OF
MEDICAL MYCOLOGY
RESEARCH CENTER (MMRC)

CHIBA UNIVERSITY 2011

15

千葉大学
真菌医学研究センター報告

平成23年

目 次

はじめに	
病原機能分野 川本 PI (分子細胞シグナリング解析) プロジェクト	3
病原機能分野 知花 PI (カンジダフェノーム) プロジェクト	12
感染免疫分野 米山 PI (ウイルス感染応答) プロジェクト	16
感染免疫分野 西城 PI (サイトカイン) プロジェクト	19
臨床感染症分野 亀井 PI (臨床感染症) プロジェクト	23
微生物資源分野 五ノ井 PI (真菌・放線菌と宿主の相互作用研究) プロジェクト	35
微生物資源分野 横山 PI (形態変換・細胞質遺伝解析) プロジェクト	40
微生物資源分野 バイオリソース管理室	43
文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」	49
地球規模課題対応国際科学技術協力事業 (JST & JICA)	51
長崎大学熱帯医学研究拠点特定領域共同研究	52
アスペルギルス症を中心とした新興真菌症制圧プロジェクト (概算要求)	53
平成 23 年度共同利用・共同研究一覧	54
平成 22 年度共同利用研究報告	55
第 25 回千葉大学真菌医学研究センター講習会	75
2011 年真菌医学研究センター全体セミナー	76
真菌医学研究センター 2011 年若手ベスト論文賞	77

はじめに

千葉大学真菌医学研究センターは、昭和 21 年千葉医科大学附属腐敗研究所に端を発する伝統ある附置研究センターであり、文部科学省の認定を受け全国共同利用・共同研究拠点として活動しており、また、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）の微生物に関する中核機関としても活動しております。現在、17,000 株にのぼる真菌株の保存・維持・分与を行っており、世界最高峰の真菌および病原性放線菌のバイオリソースセンターとして、国内外に貢献しています。当研究センターは、研究の面でも更なる活性化を図るため、改組を伴う改革を行ってきました。

改組の内容は、センター全体を 1 部門（真菌症研究部門）とし、プロジェクト制をしいて、研究レベルの向上をはかること、センターに 4 分野（病原機能分野、感染免疫分野、臨床感染症分野、微生物資源分野）を置き、各分野の協力により全国共同利用・共同研究拠点としての役割を果たすことである。前者のために、PI（principal investigator）を選び、さらに後者、すなわち全国共同利用・共同研究拠点、バイオリソースセンターとしての機能強化のために、バイオリソース管理室を設置し、これを微生物資源分野に連携させることにしました。

以上の改組計画は、前センター長 三上 襄先生が平成 20 年度に作成され、新しい真菌医学研究センター構想として文部科学省に申請したものです。私は、その後任として、平成 21 年 4 月にセンター長に就任いたしました。三上先生の計画を引き継いだ私の使命は、当研究センターの新組織・体制を確立し、真菌研究をさらに活性化することにあります。私が就任して間もなく、真菌医学研究センターは、首尾良く、文部科学省の全国共同利用・共同研究拠点として認定されました。現在は、7 人の PI を選出し、さらに分野長およびバイオリソース管理室長を指名し、プロジェクト制と全国共同利用・共同研究拠点の考え方の両立を目指して努力を続けております。

平成 21 年 4 月に始まったセンターの改組の成果の一端を、評価していただくために、各 PI のプロジェクトに関する外部評価会を平成 24 年 1 月に開催し、センターのこれまでの努力を評価していただきました。この結果は、今後のセンターの運営に生かして行きたいと思っております。

世界の感染症としては、豚由来の新型インフルエンザウイルス（H1N1）の広がり、2003 年の SARS コロナウイルスの登場、近年の鳥インフルエンザウイルス（H5N1）のヒトへの感染、超多剤耐性バクテリアの登場、被災地でのコレラの蔓延などが報告されており、毎年世界の問題に上がるようになり、このため感染症研究は追い風となっております。真菌は大変重要な感染症研究の対象であり、特に、我が国のように社会の高齢化が進行すると、真菌感染症対策はますますその重要性を増すと思われまます。私は、世界の感染症研究が進展するためにも、千葉大学真菌医学研究センターの今後の活躍に大きな期待を持ち、当研究センターの全教職員と一丸となって研究を進展させたいと願っております。

当研究センター教員定員については、退任した教員は基本的に定員削減の対象とされており、厳しい状態ですが、学長をはじめ大学本部にご理解いただき、支援を受けながら、現在の体制を維持しております。今後は、外部の競争的研究資金をさらに獲得し、また、ポスドクを雇用して研究を推進していく体制を検討していかねばならないところでありますが、外部資金獲得等では解決がつかない問題もあり極めて厳しい状況にあります。

最後に人事面として、平成 23 年 3 月には、佐野文子准教授が退職（琉球大学農学部教授に昇任）。同時に、滝澤香代子技術専門員が定年退職し、4 月から感染免疫分野に再雇用、感染免疫分野には尾野本浩司助教も採用となりました。同時に平野秀行係長が附属病院へ異動し、大木邦男係長が就任しました。

平成 24 年 1 月

千葉大学真菌医学研究センター長

野 本 明 男

病原機能分野 川本 PI (分子細胞シグナリング解析) プロジェクト

(Division of Molecular Biology, Kawamoto PI Project [Project for Molecular Signaling Analysis])

教授: 川本 進

- 学内委員 大学院医学系運営委員会委員, 大学院融合科学研究科教授会委員, 学内評価委員会専門部会(社会的・国際的貢献等)委員, 分析センター連絡協議会委員, バイオメディカル研究センター教員会議委員(～2011. 3), 遺伝子組換え実験安全委員会委員, 遺伝子組換え実験安全主任者, 亥鼻地区留学生担当室部局担当教員, 病原機能分野危害防止主任者, 病原機能分野作業主任者, 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, チェコ共和国パラツキー大学医学歯学部)千葉大学環境 ISO ユニット環境責任者, 組織的な若手研究者等海外派遣プログラム(日本学術振興会)「慢性疾患の革新的包括マネジメント実現へ向けた国際的医薬看研究者育成プログラム」運営委員, 真菌医学研究センター長推薦委員会委員
- センター内委員 運営協議会委員, 教員会議委員, 分野長会議委員, 改組実行委員会委員, 広報委員会委員長(～2011. 3), 共用備品委員会委員長(2011. 4～), 倫理審査委員会委員長, 病原体等安全管理委員会委員, 自己点検・評価委員会委員, 安全衛生管理者, 固定資産監守, テニユアトラック教員(特任准教授)選考委員会委員, 次世代シークエンサー仕様策定委員, 実験動物 WG 委員
- 学協会への貢献 日本医真菌学会・編集委員会委員, 日本細菌学会・本部評議員・関東支部会計監査委員・*Microbiology and Immunology* 誌編集委員, 日本生化学会・本部評議員・本部代議員・関東支部幹事・関東支部運営委員・関東支部副読本作成委員会委員, 日本神経化学会評議員, 酵母細胞研究会運営委員, 関東医真菌懇話会幹事, 酵母合同シンポジウム拡大運営委員, 日本医学会総会展示担当委員(日本医学会総会ネット展示監修), IUMS(国際微生物連合) National Science Committees(プログラム委員), *Microbiology and Immunology* (Associate Editor), *Medical Mycology Journal* (Editorial Board, Section Editor (Basic Mycology))
- 所属学会 日本細菌学会, 日本医真菌学会, 日本生

化学会, 日本分子生物学会, 日本プロテオーム学会, 日本神経化学会, 酵母細胞研究会, American Society for Biochemistry and Molecular Biology (ASBMB), American Society of Microbiology (ASM), International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM), New York Academy of Sciences

- 受賞 第55回日本医真菌学会学術集会ポスター賞(分担): 山口正視, 上野圭吾, 大楠美佐子, 清水公德, 川本 進, 知花博治: カンジダ・グラブラタの野生株およびキチンシンターゼ変異株のプロトプラスト再生に関する電子顕微鏡的研究. 2011年10月22日
- その他 横浜市立大学医学部 客員教授

准教授: 山口正視

- 学内委員 真菌医学研究センター教員系過半数代表者, 個人情報保護担当者, 両立支援室室長
- センター内委員 教員会議委員, 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 長), 放射性同位元素委員会委員, 自己点検・評価委員会委員, 光熱水料削減プロジェクト WG 委員, 図書 WG 委員, 国際規制物質(酢酸ウラニル)管理者
- 学協会への貢献 日本顕微鏡学会・役員候補者推薦委員会委員(～2011. 5)・*Journal of Electron Microscopy* 編集委員・技術認定試験委員会委員・微生物研究会幹事・本部評議員・関東支部支部長(～2011. 3)・関東支部評議員, 日本医真菌学会評議員, 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
- 受賞
 - 1) 千葉大学真菌医学研究センター 2010年度ベスト論文賞 2011年2月11日
 - 2) 第55回日本医真菌学会学術集会ポスター賞(代表): 山口正視, 上野圭吾, 大楠美佐子, 清水公德, 川本 進, 知花博治: カンジダ・グラブラタの野生株およびキチンシンターゼ変異株のプロトプラスト再生に

関する電子顕微鏡的研究. 2011年10月22日

○その他 認定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

助教: 清水公德

○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 日本菌学会評議員・Mycoscience編集幹事(～2011.3)・会計担当幹事(2011.4～)・選挙管理委員会委員(2011.4～)・会則検討委員会委員(2011.4～), 日本医真菌学会評議員

○所属学会 日本菌学会, 日本医真菌学会, 日本マイコトキシン学会, 日本細菌学会, 糸状菌分子生物学研究会, Fungal Genetics Conference

○受賞

- 1) 日本きのこ学会第15回大会優秀ポスター賞(分担): Pham HND, Yamada A, Hoang TC, Shimizu K, Suzuki A: Applicability of tropical bolete *Phlebopus spongiosus*: the ectomycorrhizal association with *Citrus* spp. and the effect on cancer cells of its cultured exudates, 2011年9月2日
- 2) 第55回日本医真菌学会学術集会ポスター賞(分担): 山口正視, 上野圭吾, 大楠美佐子, 清水公德, 川本進, 知花博治: カンジダ・グラブラタの野生株およびキチンシンターゼ変異株のプロトプラスト再生に関する電子顕微鏡的研究. 2011年10月22日

技術職員: 大楠美佐子

特任助教: 萩原大祐 (2011.4～)

客員教授: 東江昭夫 (東京大学名誉教授)

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) (～2011.3)

非常勤講師: 園田智子 (横浜市立大学医学部微生物学教室非常勤講師)

非常勤講師: Eric V. Virtudazo (2011.4～)

非常勤講師: 満山順一 (富士化学工業株式会社・理事 / 富士フィルム株式会社・医薬事業部技術担当部長) (2011.4～)

大学院医学薬学府修士課程医科学専攻: 増田恵美 (～2011.3)

大学院融合科学研究科博士前期課程: 並木侑一 (～2011.3)

大学院医学薬学府修士課程医科学専攻: 太田裕子

大学院医学薬学府修士課程医科学専攻: 佐藤隆文 (2011.4～)

千葉大学園芸学部: 佐藤隆文 (～2011.3)

研究概要 (共同研究を含む)

1. *Cryptococcus neoformans* の細胞周期制御機構解析 - サイクリン依存性キナーゼ・サイクリン両タンパク質間の構造機能相関解析

我々はこれまでに, *C. neoformans* は, 同じ出芽酵母であるもののモデル酵母 *Saccharomyces cerevisiae* とは大きく異なり, 特異な細胞周期制御機構が存在し, 本酵母の病原性にも深く関わっていることを示唆し, また, その細胞周期制御に中心的な役割を果たしているタンパク質複合体, いわゆる“細胞周期エンジン”を構成している2つの鍵タンパク質分子, CDC28/cdc2 ホモログ, サイクリン依存性キナーゼ (CnCdk1) とその制御因子 G1 サイクリン (CnCln1) の分子クローニング, 分子細胞機能解析を進めてきた. 今回, CnCln1 と CnCdk1 との両タンパク質間相互作用を, in vitro 及び in silico 解析によって構造機能相関をバイオインフォマティクス解析も含めて考察するなどして, 本菌の特異な細胞周期制御機構の分子解析および考察を進めた. *C. neoformans* CnCln1 遺伝子を *Saccharomyces cerevisiae* において発現させ, *S. cerevisiae* の G1 サイクリン ScCln1, ScCln2, ScCln3 との分子構造・機能の比較, また, *S. cerevisiae* のサイクリン依存性キナーゼ ScCDK1 と CnCln1 との間の結合を, CnCDK1 と CnCln1 との間の結合と比較するなどし, 更に分子間結合相関の生理的な意義を考察した.

2. *Cryptococcus neoformans* の低酸素環境応答機構解析

C. neoformans は肺で感染後, 脳髄膜へ移行して病原性を発揮して行く際, 高酸素環境から低酸素環境への酸素欠乏ストレス条件に打ち勝ってはじめて増殖して行く. *C. neoformans* の低酸素環境応答現象を解析するべく, *Agrobacterium* を用いた, ゲノムランダム挿入遺伝子変異体ライブラリーを構築してスクリーニングし, 低酸素応答遺伝子のひとつとして「転写因子 A」(同定済み, 但し本稿では非公開)を得た. 現在, 更にスクリーニングを進めるとともに, 「転写因子 A」の生理機能解析等を進めている. 本菌の病原性との関連を考察し, *C.*

neoformans の低酸素ストレスに対する環境応答シグナリング機構の解明を目指している。

3. カイコを用いた *Cryptococcus neoformans* 感染モデル系の確立と抗真菌剤評価法の構築

カイコを用いて、細菌などの病原微生物の感染モデル系が確立されているが、病原酵母 *C. neoformans* 感染モデル系の構築を行い確立した。その「カイコ-*C. neoformans* 感染モデル系」を用いて、抗真菌剤の評価法を構築し、主要な抗真菌剤について、その評価を行い、本感染モデル系が有効な方法であることを確認した。今後、「カイコ-*C. neoformans* 感染モデル系」は、*C. neoformans* に対する抗真菌剤のスクリーニングに実用的に利用されることが期待される。

4. 深海微生物の微細形態と進化に関する研究

現在地上には、核膜に包まれた核を持つ真核生物と、これを持たない原核生物の2つの種類の生物しか生存していない。真核生物は原核生物から進化したという説が定説になっているが、その直接的証拠はない。本研究は、隔離された深海という環境で、原核生物から真核生物への進化の途上にある生物を、電子顕微鏡を用いて形態学的に探索し、進化の直接的証拠を得ようとするものである。本年は、船上でグルタルアルデヒド固定した試料を研究室でさらに小さく細切し、これを急速凍結・凍結置換することによって、微生物の自然な形態を高解像で電子顕微鏡観察する手法を、新たに開発した。この手法は、生きた試料を直接、急速凍結できない場合でも、アーティファクトのない電子顕微鏡像が得られるすぐれた方法であり、他の微生物試料に広く応用できる。

5. *Aspergillus fumigatus* の環境応答シグナル伝達系の分子遺伝学的解析

真菌の MAP キナーゼカスケードは、浸透圧ストレスや cell wall integrity の応答に関与しており、特に Hog1-type の MAP キナーゼカスケードは、His-Asp リン酸リレー情報伝達系（二成分制御系）の下流で、浸透圧ストレス応答に関わっている。*A. fumigatus* におけるこれらの情報伝達系の分子機構を明らかにするため、主要な因子の遺伝子破壊株を作製して機能解析を進めた。その結果、His-Asp リン酸リレー系のセンサータンパク質である NikA、レギュレータの SskA、さらに SakA MAP キ

ナーゼが浸透圧ストレス応答に関与していることが示された。特に、NikA 遺伝子破壊株では浸透圧ストレスに著しい生育阻害を受けており、SskA-SakA とは異なる経路で関与していることが示唆された。

6. クリプトコックスの挿入遺伝子変異株ライブラリーの構築および栄養要求性変異株の遺伝子解析

植物感染性細菌アグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens*) を用いてクリプトコックス (*Cryptococcus neoformans*) を効率的に形質転換するための諸条件を検討するとともに、T-DNA 挿入変異体のライブラリーを作製し、栄養要求性株をスクリーニングした。これらの株のうちの一つがアデノシンキナーゼ相同遺伝子 *CnADOI* に挿入変異をもつことを突き止め、遺伝子機能解析を行った。

研究成果の発表

1. 著書

- 1) 日本顕微鏡学会，電子顕微鏡技術認定委員会編（勝又修，山口正視，他編著）：電顕入門ガイドブック，改訂版，A5 版，220 頁，国際文献印刷社，東京，2011。

2. 原著論文

◎印は [PI プロジェクト関連の論文](#) を示す。

(英文)

- 1) ◎ Virtudazo EV, Suganami A, Tamura Y, Kawamoto S: Towards understanding cell cycle control in *Cryptococcus neoformans*: Structure-function relationship of G1 and G1/S cyclins homologue CnClm1. *Biochem Biophys Res Commun* 416: 217-221, 2011. (査読有)
- 2) ◎ Matsumoto Y, Miyazaki S, Fukunaga D-H, Shimizu K, Kawamoto S, Sekimizu K: Quantitative evaluation of cryptococcal pathogenesis and antifungal drugs using a silkworm infection model with *Cryptococcus neoformans*. *J Appl Microbiol* 112: 138-146, 2011. (査読有)
- 3) ◎ Namiki Y, Ueno K, Mitani H, Virtudazo EV, Ohkusu M, Shimizu K, Kawamoto S, Chibana H, Yamaguchi M: Scanning and negative-staining electron microscopy of protoplast regeneration of a wild-type

- and two chitin synthase mutants in the pathogenic yeast *Candida glabrata*. J Electron Microsc 60: 157-165, 2011. (査読有)
- 4) © Yamaguchi M, Namiki Y, Okada H, Mori Y, Furukawa H, Wang J, Ohkusu M, Kawamoto S: Structome of *Saccharomyces cerevisiae* determined by freeze-substitution and serial ultrathin-sectioning electron microscopy. J Electron Microsc 60: 337-351, 2011. (査読有)
 - 5) Rout JK, Suzuki A, Fukihara T, Shimizu K, Kawamoto S, Tanaka C: *Coprinopsis neophlyctidospora* sp. nov., a new ammonia fungus from boreal forest in Canada. Mycotaxon 115: 227-238, 2011. (査読有)
 - 6) Ueno K, Namiki Y, Mitani H, Yamaguchi M, Chibana H: Differential cell wall remodeling of two chitin synthase deletants Δ chs3A and Δ chs3B in the pathogenic yeast *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res 11: 398-407, 2011. (査読有)
 - 7) Kopecká M, Yamaguchi M: Ultrastructural disorder of actin mutant suggests uncoupling of actin-dependent pathway from microtubule-dependent pathway in budding yeast. J Electron Microsc 60: 379-391, 2011. (査読有)
 - 8) Kuriyama N, Kobayashi Y, Yamaguchi M, Shibata Y: Usefulness of rotational atherectomy preventing polymer damage of everolimus-eluting stent in calcified coronary artery. JACC: Cardiovascular Interventions 4: 588-589, 2011. (査読有)
 - 9) Hagiwara D, Mizuno T, Abe K: Characterization of the conserved phosphorylation site in the *Aspergillus nidulans* response regulator SrrA. Curr Genet 57: 103-114, 2011. (査読有)
 - 10) Uesono Y, Toh-E A, Kikuchi Y, Terashima I: Structural analysis of compounds with actions similar to local anesthetics and antipsychotic phenothiazines in yeast. Yeast 28: 391-404, 2011. (査読有)
 - 11) Nishizawa M, Tanigawa M, Hayashi M, Maeda T, Yazaki Y, Saeki Y, Toh-e A: Pho85 kinase, a cyclin-dependent kinase, regulates nuclear accumulation of the Rim101 transcription factor in the stress response of *Saccharomyces cerevisiae*. Eukaryot Cell 9: 943-51, 2010. (査読有) (記載漏れのため追記)
 - 12) Fukunaga K, Kudo T, Toh-e A, Tanaka K, Saeki Y: Dissection of the assembly pathway of the proteasome lid in *Saccharomyces cerevisiae*. Biochem Biophys Res Commun 396: 1048-1053, 2010. (査読有) (記載漏れのため追記)
 - 13) Saeki Y, Toh-e A, Kudo T, Kawamura H, Tanaka K: Multiple proteasome-interacting proteins assist the assembly of the yeast 19S regulatory particle. Cell 137: 900-913, 2009. (査読有) (記載漏れのため追記)
 - 14) Saeki Y, Kudo T, Sone T, Kikuchi Y, Yokosawa H, Toh-e A, Tanaka K: Lysine 63-linked polyubiquitin chain may serve as a targeting signal for the 26S proteasome. EMBO J 28: 359-371, 2009. (査読有) (記載漏れのため追記)
- ### 3. 総説, 解説, その他
- 1) 東江昭夫, 清水公德, Li HM, 西沢正文, 川本 進: クリプトコックスのリン酸代謝制御系. Med Mycol J 52: 19-23, 2011.
 - 2) 山口正視: Med. Mycol. J. vol. 52, no. 1 表紙写真, 2011.
 - 3) 山口正視: Photo Quiz: Basic mycology. Med Mycol J 52: 5-6, 2011.
 - 4) 山口正視: Photo Quiz: Basic mycology. Med Mycol J 52: 75-76, 2011.
 - 5) 山口正視: Photo Quiz: Basic mycology. Med Mycol J 52: 175-176, 2011.
 - 6) 山口正視: 永山先生に感謝. 永山國昭教授退職記念誌. p.73, 2011.
 - 7) 山口正視, 岡田 仁, 並木侑一: 凍結置換法と連続切片法による酵母のストラクチャー解析. 顕微鏡 45: 212-217, 2010. (記載漏れのため追記)
 - 8) 山口正視, Radostin Danev, 永山國昭: 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解析. 自然科学研究機構 生理学研究所年報 31: 171, 2010. (記載漏れのため追記)
 - 9) 大楠美佐子, 大楠清文: “殺人カビ” *Cryptococcus gattii* がすでに日本にも上陸?! Medical Technology, 39: 1341-1346, 2011.
 - 10) 萩原大祐: カビの胞子, 長生きの秘訣. 日本生物工学会誌 89: 208, 2011.
 - 11) 萩原大祐, 古川健太郎, 阿部敬悦: *Aspergillus* 属の分

生子におけるストレス耐性能と制御機構. 日本醸造協会誌 106: 638-644, 2011.

4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

- 1) Kawamoto S: Towards understanding of cell cycle control in pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. The 2nd Symposium on Microbial Engineering between Kyoto University – Kyungpook National University, Daegu, Korea, June 21, 2011.
- 2) Kawamoto S: Towards understanding cell cycle regulation in medically-important pathogenic yeast, *Cryptococcus neoformans*. 2011 International Symposium & Annual Meeting of the Korean Society for Microbiology and Biotechnology “Translational Research in Microbiology and Biotechnology”, Gyeongju, Korea, June 22-24, 2011.
- 3) 大楠美佐子, 竹川啓史, 大楠清文, 川本 進: 国内感染患者から分離された *Cryptococcus gattii* の MLST による遺伝子型解析, 第 32 回関東医真菌懇話会シンポジウム「難治性真菌症の病態解明と制御法」, 東京, 5月21日, 2011.
- 4) 東江昭夫, 西沢正文, 清水公德, 大楠美佐子, 川本 進: クリプトコックスにおけるリン酸代謝系. 第 55 回日本医真菌学会学術集会・基礎・臨床シンポジウム: 「クリプトコックスとクリプトコックス症」, 東京, 10月21～22日, 2011.
- 5) 川本 進: 病原性出芽酵母 *Cryptococcus neoformans* 細胞周期制御機構の解明に向けて. Basic Science Joint Meeting, 千葉大学医学研究院, 千葉, 12月2日, 2011.
- 6) 川本 進: 病原性出芽酵母 *Cryptococcus neoformans* “細胞周期エンジン”の分子機能解析, 第 181 回酵母細胞研究会, 横浜, 12月2日, 2011.
- 7) 山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 森 裕子, 古河弘光, 大楠美佐子, 川本 進: 凍結置換法と連続切片法を用いたサッカロミセスのストラクチャー解析. 日本顕微鏡学会第 67 回講演会. 顕微鏡 46, Supplement 1 (発表要旨集): 134, 福岡, 5月16～18日, 2011.
- 8) 植松勝之, 多米晃裕, 布浦拓郎, 吉田ゆかり, 渡部裕美, 豊福高志, 藤原義弘, 丸山 正, 北里 洋, 山口正視: 海洋生物の試料作製のノウハウ. 日本顕微

鏡学会第 67 回講演会. 顕微鏡 46, Supplement 1 (発表要旨集): 74, 福岡, 5月16～18日, 2011.

- 9) 山口正視: 深海微生物の微細形態から進化を考える. 日本顕微鏡学会第 55 回シンポジウム. 顕微鏡 46, Supplement 1 (発表要旨集): 81-84, 高松, 9月30日～10月1日, 2011.

5. 一般発表

国際学会

- 1) Kawamoto S, Virtudazo EV, Ohkusu M, Tamura Y, Shimizu K, Yamaguchi M, Takeo K: Characterization of Cell Cycle Control Genes in *Cryptococcus neoformans*. 8th International Conference on Cryptococcus and Cryptococcosis (ICCC8), May 1-5, 2011, Charleston, South Carolina, USA Charleston, South Carolina, USA, May 1-5, 2011.
- 2) Ohkusu M, Virtudazo EV, Sato T, Shimizu K, Toe A, Yamaguchi M, Kawamoto S: *Cryptococcus neoformans* Wee1 kinase has an important role in controlling G2-M checkpoint. IUMS 2011 Sapporo Congress, 日本細菌学雑誌, 66 (2-3): 408, 札幌, 9月6～10日, 2011.
- 3) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, Gomi K: Azole drug species-dependent responses of the transcription factor AtrR in *Aspergilli*. 26th Fungal Genetics Conference, Asilomar, USA, March 15-20, 2011.
- 4) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, Gomi K: Azole drug species-dependent responses of the transcription factor AtrR in *Aspergilli*. 8th International Aspergillus meeting (Asperfest8), Asilomar, USA, March 14-15, 2011.
- 5) HoBao QT, Truong NB, Shimizu K, Fukihara T, Suzuki A: *Hebeloma aff. vnosophyllum* (Basidiomycota, Strophariaceae), a new record of ammonia fungi from Vietnam. Asian Mycological Congress 2011 & the 12th International Marine and Freshwater Mycology Symposium, Incheon, Korea, Aug 7-10, 2011.
- 6) Pham HND, Yamada A, Shimizu K, Suzuki A: Ectomycorrhization between tropical Bolete *Phlebopus spongiosus* and *Citrus* spp. Asian Mycological Congress 2011 & the 12th International Marine and Freshwater Mycology Symposium, Incheon, Korea, Aug 7-10,

2011.

- 7) Pham HND, Takahashi H, Fukiharu T, Shimizu K, Dung LB, Suzuki A: A new *Phlebotopus* species (Boletales, Boletinellaceae) with a sponge-like tissue. Asian Mycological Congress 2011 & the 12th International Marine and Freshwater Mycology Symposium, Incheon, Korea, Aug 7-10, 2011.

国内学会

- 1) Kawamoto S, Virtudazo EV, Ohkusu M, Tamura Y, Moretti ML, Takeo K: Molecular and Functional Characterization of Two Key Players (Cyclin and Cyclin-dependent kinase 1) of Cell Cycle Control Genes in Pathogenic Yeast, *Cryptococcus neoformans*. 第84回日本生化学会大会, 京都, 2011年9月21~24日.
- 2) 並木侑一, 山口正視: 凍結置換電顕法によるサッカロミセスのストラクチャー解析. 日本顕微鏡学会関東支部第35回講演会. 予稿集: 65, 東京, 3月5日, 2011.
- 3) 植松勝之, 多米晃裕, 布浦拓郎, 吉田ゆかり, 渡部裕美, 豊福高志, 藤原義弘, 丸山 正, 北里 洋, 山口正視: 海洋生物の試料作製のノウハウ. 日本顕微鏡学会関東支部第35回講演会. 予稿集: 57, 東京, 3月5日, 2011.
- 4) 山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 植松勝之, 多米晃裕, 丸山 正, 小塚芳道: 深海微生物の微細形態と進化. ブルーアース '11 要旨集: 176, 東京, 3月7日, 2011.
- 5) 井上広滋, 吉田尊雄, 山口正視, 他21名: 初島沖・明神海丘航海概要: 化学合成生態系構成生物の環境適応機構・共生機構・微細構造の解明をめざして. ブルーアース '11 要旨集: 185, 東京, 3月7日, 2011.
- 6) 植松勝之, 多米晃裕, 山口正視, 小塚芳道, 吉田尊雄, 丸山 正: シマイシロウリガイ共生細菌の立体構造解析. ブルーアース '11 要旨集: 188, 東京, 3月7日, 2011.
- 7) 山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 植松勝之, 多米晃裕, 丸山 正, 小塚芳道: 深海微生物の微細形態と進化. 日本顕微鏡学会第67回講演会. 顕微鏡 46, Supplement 1 (発表要旨集): 197, 福岡, 5月16~18日, 2011.
- 8) 山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 植松勝之, 多米晃裕, 丸山 正, 小塚芳道: 深海で発見! カモメの3兄弟 (写真コンクール). 日本顕微鏡学会第67回講演会. 顕微鏡 46, Supplement 1 (発表要旨集): 270, 福岡, 5月16~18日, 2011.
- 9) 植松勝之, 多米晃裕, 山口正視, 小塚芳道, 吉田尊雄, 丸山 正: シマイシロウリガイ共生細菌の立体構造解析. 日本顕微鏡学会第67回講演会. 顕微鏡 46, Supplement 1 (発表要旨集): 135, 福岡, 5月16~18日, 2011.
- 10) 山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 森 裕子, 古河弘光, 大楠美佐子, 川本 進: 凍結置換電顕法を用いたサッカロミセスのストラクチャー解析. 第43回日本臨床分子形態学会総会・学術集会. 講演プログラム・要旨集 p.49, 大阪, 9月9~10日, 2011.
- 11) 豊留孝仁, 山口正視, 渡辺 哲, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* バイオフィーム形成を促進する血清中因子の同定. 第94回日本細菌学会関東支部総会, プログラム・抄録集, p.22, 東京, 10月6~7日, 2011.
- 12) 山口正視, 上野圭吾, 大楠美佐子, 清水公德, 川本進, 知花博治: カンジダ・グラブラタの野生株およびキチンシンターゼ変異株のプロトプラスト再生に関する電子顕微鏡的研究. 第55回日本医真菌学会総会, Med Mycol J 52 (増刊1号): 97, 東京, 10月21~22日, 2011.
- 13) 大岩嵩裕, 谷岡拓弥, 河野勇弥, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 山口正視, 水野貴之: 線虫を宿主とした真菌感染症解析系の構築. 第9回感染症沖縄フォーラム, 2月, 2011.
- 14) 大岩嵩裕, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 山口正視, 水野貴之: 病原微生物 *C. glabrata*: 医学的解析と産業的利用. 第44回酵母遺伝学フォーラム, 9月, 2011.
- 15) 大岩嵩裕, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 山口正視, 水野貴之: 線虫を宿主とした真菌感染症解析系の構築 ~病原性酵母は敵か味方か? 第7回真菌分子細胞研究会, 要旨集 p.4, さぬき市, 11月12~13日, 2011.
- 16) 大楠美佐子, 竹川啓史, 大楠清文: 渡航歴のない患者から分離された *Cryptococcus gattii* 菌株の病原性および臨床疫学的な検討. 第22回日本臨床微生物学会総会. 日本臨床微生物学雑誌 20 (4): 92, 岡山, 1

- 月 8～9 日, 2011.
- 17) 大楠美佐子: *Cryptococcus neoformans* の各細胞周期におけるタンパク質発現の網羅的解析. 第 22 回日本臨床微生物学会総会. 日本臨床微生物学雑誌 20 (4): 91, 岡山, 1 月 8～9 日, 2011.
 - 18) 大楠美佐子, 竹川啓史, 大楠清文, 川本 進: 渡航歴のない患者から分離された *Cryptococcus gattii* の遺伝子型解析. 第 55 回日本医真菌学会総会, Med Mycol J 52 (増刊 1 号): 104, 東京, 10 月 21～22 日, 2011.
 - 19) 萩原大祐, 五ノ井 透, 川本 進: 病原真菌 *Aspergillus fumigatus* における浸透圧応答経路の機能解析. 第 11 回糸状菌分子生物学コンファレンス, プログラム・要旨集 p.50, 東京都, 11 月 16～17 日, 2011.
 - 20) 緑川裕良, 萩原大祐, 吉見 啓, 阿部敬悦: *Aspergillus nidulans* における *ypdA* 遺伝子発現制御株の解析. 第 11 回糸状菌分子生物学コンファレンス, プログラム・要旨集 p.49, 東京都, 11 月 16～17 日, 2001.
 - 21) 萩原大祐: 病原真菌 *Aspergillus fumigatus* の浸透圧応答経路の分子遺伝学的解析. インターラボセミナー. プログラム・要旨集 p.17, 東京都, 12 月 10 日, 2011.
 - 22) Nishizawa M, Toh-e A: Pho85-Pho4 system functions in the regulation of cell cycle progression when yeast cells are exposed to alkaline stress. 第 34 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月 13～16 日, 2011.
 - 23) 東江昭夫: *C. neoformans* のトランスポゾン. 第 7 回真菌分子細胞研究会, 要旨集 p.17, 徳島, 11 月 12～13 日, 2011.
 - 24) Pham HND, Yamada A, Hoang TC, Shimizu K, Suzuki A: Application of tropical boletus *Phlebopus spongiosus*: the ectomycorrhizal association with *Citrus* spp. and the effect on cancer cells of its cultured exudates. 日本きのこ学会 15 回大会, 長野, 9 月 1～2 日, 2011.
 - 25) HoBao QT, Tanaka C, Fukiharu T, Shimizu K, Buchanan PK, Bougher NL, Truong NB, Suzuki A: Phylogenetic relationship among ectomycorrhizal ammonia fungi *Hebeloma vinosophyllum* and *Hebeloma aminophilum* (subgenus *Porphyrospora*). 日本きのこ学会 15 回大会, 長野, 9 月 1～2 日, 2011.
 - 26) 吹春俊光, 清水公德, 李若瑜, Raut JK, 山越沙織, 堀江義一, 金城典子: 中国北京市郊外土壌から分離されたハラタケ目アンモニア菌の未知 1 種. 日本菌学会第 55 回大会, 札幌, 9 月 8～11 日, 2011.
 - 27) 吹春俊光, 小山内行雄, 原田 浩, 清水公德, 中森泰三, 金城典子: 日本新産 *Multiclavoula corynoides*. 日本きのこ学会 15 回大会, 長野, 9 月 1～2 日, 2011.

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 川本 進, Eric Virtudazuo, 大楠美佐子, 萩原大祐, 佐藤隆文: *Cryptococcus neoformans* の低酸素環境への応答機構解析, Vladislav Raclavsky 博士, チェコ共和国, パラツキー大学医学歯学部微生物学教室.
- 2) 川本 進, Eric Virtudazuo, 大楠美佐子: G1 Cdk1-cyclin ホモログ遺伝子の分子機能解析, Matthias Sipiczki 教授, Ida Miklos 准教授, ハンガリー共和国, デブレツェン大学遺伝学教室.
- 3) 清水公德 (派遣若手研究者), 川本 進 (派遣担当研究者): 病原真菌クリプトコックスの担子胞子と宿主自然免疫細胞の相互作用解析, Christina Hull 准教授, アメリカ合衆国, ウィスコンシン大学マディソン校医学部 (日本学術振興会・組織的な若手研究者等海外派遣プログラム「慢性疾患の革新的包括マネジメント実現へ向けた国際的医薬看研究者育成プログラム」).
- 4) 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 教授, チェコ共和国, マサリク大学医学部.
- 5) 川本 進, 大楠美佐子: AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における新規診断法による真菌症対策プロジェクト (JST/JICA), Maria Luiza Moretti 教授, ブラジル, キンピーナス大学感染症科.
- 6) 五ノ井 透, 矢口貴志, 横山浩治, 松澤哲宏, 山口正視, 川本 進, 野本明男: Molecular characterization and detection of mycotoxin producing genes in mycotoxigenic fungi from Kenyan cereals, ケニア, ナイロビ大学, Kenya Medical Research Institute, 長崎大学熱帯医学研究所.
- 7) 五ノ井 透, 矢口貴志, 横山浩治, 松澤哲宏, 山口正視, 川本 進, 野本明男: Phenotypic, molecular characterization and drug susceptibility of *Cryptococcus*

and *Candida* spp. from provincial hospitals in Kenya, ケニア, ナイロビ大学, Kenya Medical Research Institute, 長崎大学熱帯医学研究所.

2. 共同利用・共同研究以外の国内共同研究

- 1) 川本 進, 大楠美佐子: *Cryptococcus neoformans* のプロテオミクス解析, 平野久教授, 横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科.
- 2) 山口正視: 冠動脈石灰化病変におけるサイファース Tent ポリマーの損傷についての研究, 小林欣夫教授, 千葉大学附属病院.

国際交流

1. 海外渡航

- 1) 川本 進: University of California-San Diego (UCSD), Palmer Taylor 教授との共同研究打ち合わせ, 4月23日～4月29日, 2011. (運営費交付金)
- 2) 川本 進: 8th International Conference on Cryptococcus and Cryptococcosis (ICCC8), Charleston, South Carolina, USA, April 30 - May 5, 2011. 出席・発表, 4月30日～5月5日, 2011. (運営費交付金)
- 3) 川本 進: The 2nd Symposium on Microbial Engineering between Kyoto University - Kyungpook National University, Daegu, Korea, June 21, 2011. 出席・発表, 4月30日～5月5日, 2011. (先方負担)
- 4) 川本 進: 2011 International Symposium & Annual Meeting of the Korean Society for Microbiology and Biotechnology "Translational Research in Microbiology and Biotechnology" Gyeongju, Korea, June 22-24, 2011. 出席・発表, 4月30日～5月5日, 2011. (先方負担)
- 5) 清水公德: アメリカ合衆国, ウィスコンシン大学マディソン校医学部, Christina Hull 准教授, 共同研究・共同討議, 10月21日～12月22日, 2011. (日本学術振興会・組織的な若手研究者等海外派遣プログラム)
- 6) 清水公德: 26th Fungal Genetics Conference, Asilomar, USA, March 15-20, 2011. 出席・発表, 3月15～20日. (学長裁量経費)

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 川本 進: 第28回日本医学会総会ネット展示「病気のメカニズム/感染症/真菌」監修 (日本医学会総会展示担当委員).
- 2) 川本 進: 第32回関東医真菌懇話会シンポジウム「難治性真菌症の病態解明と制御法」(2011年5月21日, 東京), オーガナイザー・座長.
- 3) 川本 進: International Union of Microbiological Societies (IUM, 国際微生物連合) 2011 Congress, National Science Committees (プログラム委員) (2011年9月6～10日, 札幌).
- 4) 川本 進: 第55回日本医真菌学会学術集会・基礎・臨床シンポジウム: 「クリプトコッカスとクリプトコッカス症」(2011年10月21～22日, 東京), オーガナイザー・座長.

教育活動

学位指導

- 1) 増田恵美: 千葉大学大学院医学薬学府修士課程修了・学位取得 (医科学修士) (3月), 「病原真菌 *Cryptococcus neoformans* の DNA 修復系と病原性に関する分子遺伝学的解析」(研究指導: 清水公德, 川本 進).
- 2) 並木侑一: 千葉大学大学院自然科学研究科博士前期課程修了 (3月), 凍結置換電顕法を用いたサッカロミセスのストラクチャー解析 (研究指導: 山口正視).

インターンシップ生 (実習生) の受け入れ

- 1) 清水公德 (指導担当者), 川本 進 (指導責任者): 日本大学生産工学部生産実習生 (山口洋平).
- 2) 萩原大祐 (指導担当者), 川本 進 (指導責任者): 日本大学生産工学部生産実習生 (森 康).

講義

- 1) 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), 千葉大学大学院融合科学研究科博士前期課程 (真菌分子細胞生物学)・博士後期課程 (真菌分子細胞生物学), 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, ポストゲノム時代の真菌・真菌感染症研究), 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).

- 2) 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).
- 3) 清水公徳: 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, 真菌による食品への被害), 千葉大学園芸学部 (授業科目: 応用細胞工学, 真菌の二次代謝産物).

社会活動

テレビ

- 1) 川本 進: 日本テレビ「世界一受けたい授業」(平成 23 年 5 月 21 日放映) 製作協力.

センター講習会

- 1) 川本 進: 第 23 回病原真菌講習会講師「法律から見た真菌の取扱い (感染症新法・危険度分類)」(2011. 7. 1).
- 2) 山口正視: 第 25 回病原真菌講習会講師「真菌細胞概論」(2011. 7. 1).

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 東江昭夫 (代表): 文部科学省科学研究費補助金 (挑戦的萌芽研究)「抗真菌剤のターゲットとしてのアミノ酸合成経路」平成 23 ~ 24 年度 (平成 23 年度, 直接経費 150 万円, 間接経費 45 万円).

その他の外部資金

- 1) 川本 進 (分担): 科学技術振興機構 (JST) 国際協力機構 (JICA) 連携事業・地球規模課題対応国際科学技術協力事業・開発途上国のニーズを踏まえた感染症対策研究「AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における新規診断法による真菌症対策」平成 21 ~ 24 年度 (代表: 亀井克彦).
- 2) 川本 進 (分担): 長崎大学熱帯医学研究所・熱帯医学研究拠点特定領域共同研究「熱帯地域, 特にアフリカおよびベトナムで発生している真菌症・放線菌症の原因菌の収集と形態学的, 生理学的, 分子生物学的解析」平成 22 ~ 24 年度 (代表: 野本明男).
- 3) 川本 進 (派遣担当研究者), 清水公徳 (派遣若手研究者): 日本学術振興会「組織的な若手研究者等派遣プログラム: 慢性疾患の革新的包括マネジメント実現へ向けた国際的医薬看研究者育成プログラム」平成 21 ~ 24 年度 (代表: 横手幸太郎).
- 4) 清水公徳 (代表): 平成 23 年度旭松食品株式会社奨学寄付金, 栽培キノコ株の分子同定 (2 万円).
- 5) 清水公徳 (代表): ホクト生物科学振興財団平成 23 年度研究奨励金, 病原真菌クリプトコックスの交配型偏在に関する分子機構の解明 (100 万円).
- 6) 萩原大祐 (代表): 平成 23 年度千葉大学研究支援プログラム (科学研究費補助金への申請支援)「病原真菌アスペルギルスフミガタスの環境応答シグナル伝達系の分子遺伝学的解析」(80 万円).

学長裁量経費

- 1) 川本 進 (代表): 平成 23 年度千葉大学学長裁量経費研究支援プログラム「病原酵母クリプトコックスの低酸素環境応答シグナリングの分子細胞解析」(40 万円).

センター長裁量経費

- 1) Eric V Virtudazo: 10 万円.

病原機能分野 知花 PI (カンジダフェノーム) プロジェクト

(Division of Molecular Biology, Chibana PI Project [Project for *Candida* phenome poroject])

准教授: 知花博治

○センター内委員 教員会議委員, 改組実行委員会委員, 共同利用・共同研究委員会委員, 共用備品委員会委員, 広報委員会 (全体セミナー担当), 自己点検・評価委員会委員

○学協会への貢献 日本医真菌学会評議員

○所属学会 日本微生物ゲノム学会, 日本分子生物学会, 日本細菌学会, 日本医真菌学会, 酵母細胞研究会, 酵母遺伝学フォーラム, ASM

○受賞

1) 第 55 回日本医真菌学会学術集会ポスター賞 (代表): 知花博治, 上野圭吾, 青山俊弘, 中山浩伸, 宇野潤: 病原因子のデータベース構築をめざした *Candida glabrata* の体系的遺伝子組換え体ライブラリーの作製. 2011 年 10 月 22 日

2) 第 55 回日本医真菌学会学術集会ポスター賞 (分担): 山口正視, 上野圭吾, 大楠美佐子, 清水公德, 川本進, 知花博治: カンジダ・グラブラタの野生株およびキチンシンターゼ変異株のプロトプラスト再生に関する電子顕微鏡的研究. 2011 年 10 月 22 日

○その他 琉球大学医学部非常勤講師

准教授: 佐野文子 (～ 2011. 3)

○センター内委員 教員会議委員

○学協会への貢献 日本医真菌学会評議員, 日本菌学会評議員, 日本菌学会編集委員, 獣医史学会評議員

○国および地方公共団体への貢献 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, 獣医史学会, ISHAM, ASM

特任教員: 宇野潤 (～ 2011. 3)

○学協会への貢献 日本医真菌学会評議員・標準化委員会委員

特任教員: 大野道代 (～ 2011. 3)

非常勤講師: 宇野潤 (2011. 4～)

非常勤講師: 塚原正俊 (2011. 4～)

非常勤講師: 高橋容子 (きさらづ皮膚科クリニック) (～ 2011. 3)

非常勤講師: 新見昌一

JSPS外国人博士研究員: Woods A. Matthew (～ 2011. 4)

受託研究員: 笹本要 (～ 2011. 3)

研究支援員: 笹本要 (2011. 4～)

研究支援員: 木下妻智子

研究支援員: 島田五月

技術補佐員: 大岩真理

技術補佐員: 村田倫子 (～ 2011. 3)

園芸学部: 三浦貴子 (～ 2011. 3)

研究概要 (共同研究を含む)

1. *Candida glabrata* フェノームプロジェクト (知花 PI プロジェクト)

本プロジェクトでは、病原真菌の中で実験的な取扱いが最も簡便な *C. glabrata* の全遺伝子について組換え株を構築し、その機能解析を行い、本菌の特殊性ならびに病原性 *Candida* 属、延いては病原真菌の普遍的な病原性の解明を目標にしている。本プロジェクトは以下の分割したサブプロジェクトにより推進している。2011 年の各サブプロジェクトの進捗状況を以下に記す。

1) 第 1 章 全遺伝子 (5,300) の組換え株構築: 本年は *C. glabrata* の 945 遺伝子について組換え株を作製した (木下, 大野, 笹本, 大岩, 島田)。

2) 第 2 章 抗真菌薬の耐性化と新規標的探索: アゾール耐性化に関与するステロール代謝機構の研究を進め論文発表を行った (名木, 田辺, 中山)。エキノキャンディン系抗真菌薬耐性化に関与する細胞構成関連遺伝子群の機能解析, 論文発表を行った (上野, 並木, 山口, Woods)。

3) 第 3 章 病原性・常在性の研究: 松本 (東大・関水研) との共同研究によりカイコ幼虫に対する毒性の

低下が見出された遺伝子欠損株に注目し、腸管定着因子 (CYB2) を特定するに至った (上野). その他, *C. glabrata* の約 50 の組換え株を用いてカイコ感染実験を進めた (宇野).

2. 人獣共通真菌症に関する研究 (佐野文子)

ペット, 動物園水族館・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・治療法の開発などを行っている.

1) *Arthroderma vanbreuseghemii* の分子疫学

本菌種による感染は我が国でも人獣共通感染症として散見される. ヒト, ドブネズミ, ネコ由来株で共通の遺伝子型を検索中である.

2) ニワトリ類が保有する皮膚糸状菌症原因菌および関連菌種の調査

我が国も熱帯・亜熱帯を流行地とし, ニワトリ類を宿主とする *Micosporum gallinae* の流行地である. 千葉県, 茨城県, 東京都, 静岡県などで飼育されているニワトリ類を調査中である.

3) 動物園・水族館飼育動物の真菌症対策

陸上および水棲ほ乳類, 鳥類などの真菌症における早期診断方法のための基礎データを収集中である.

研究成果の発表

◎印は PI プロジェクト関連の論文 を示す.

1. 原著論文

英文

- ◎ Nagi M, Nakayama H, Tanabe K, Bard M, Aoyama T, Okano M, Higashi S, Ueno K, Chibana H, Niimi M, Yamagoe S, Umeyama T, Kajiwaru S, Ohno H, Miyazaki Y: Transcription factors *CgUPC2A* and *CgUPC2B* regulate ergosterol biosynthetic genes in *Candida glabrata*. *Genes Cells*. 16: 80-9. 2011. (査読有)
- Namiki Y, Ueno K, Mitani H, Virtudazo EV, Ohkusu M, Shimizu K, Kawamoto S, Chibana H, Yamaguchi M: Scanning and negative-staining electron microscopy of protoplast regeneration of a wild-type and two chitin synthase mutants in the pathogenic yeast *Candida glabrata*. *J Electron Microsc (Tokyo)*. 60: 157-65.

2011. (査読有)

- ◎ Nakayama H, Ueno K, Uno J, Nagi M, Tanabe K, Aoyama T, Chibana H, Bard M: Growth defects resulting from inhibiting *ERG20* and *RAM2* in *Candida glabrata*. *FEMS Microbiol Lett*. 317: 27-33. 2011. (査読有)
- ◎ Ueno K, Namiki Y, Mitani H, Yamaguchi M, Chibana H: Differential cell wall remodeling of two chitin synthase deletants Δ chs3A and Δ chs3B in the pathogenic yeast *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res*. 11: 398-407. 2011. (査読有)
- ◎ Ueno K, Matsumoto Y, Uno J, Sasamoto K, Sekimizu K, Kinjo Y, Chibana H: Intestinal resident yeast *Candida glabrata* requires Cyb2p-mediated lactate assimilation to adapt in mouse intestine. *PLoS One*. 6: e24759. 2011. (査読有) センター若手ベスト論文賞受賞
- Miyasato H, Yamaguchi S, Taira K, Hosokawa A, Kayo S, Sano A, Uezato H, Takahashi K: Tinea corporis caused by *Micosporum gallinae*: The first clinical case in Japan. *The Journal of Dermatology*. 38: 1-6, 2011. (査読有)
- Massuda TY, Nagashima LA, Leonello PC, Kaminami MS, Mantovani MS, Sano A, Uno J, Venancio EJ, Camargo ZP, Itano EN: Cyclosporin A treatment and decreased fungal load: Antigenemia in experimental murine paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia*. 171: 161-9, 2011. (査読有)

和文

- 佐野文子, 高橋英雄, 村田佳輝, 唐仁原景昭: 我が国のヒストプラズマ症と仮性皮疽. *獣医歴史学雑誌*. 48: 1-21, 2011.
- 学会・シンポジウム・研究集会での招待講
 - 知花博治, 笹本 要, 上野圭吾, 三谷宏樹, 青山俊弘, 大野道代, 中山浩伸, 宇野 潤: *Candida glabrata* の網羅的遺伝子破壊により得られた知見. 第 32 回関東医真菌懇話会 ランチョンセミナー. 東京. 5 月 21 日, 2011.
 - 知花博治: *Candida glabrata* における体系的遺伝子組換え体ライブラリーを用いた抗真菌薬標的探索. 第 55 回日本医真菌学会総会「基礎・臨床シンポジウ

ム 7], Med Mycol J 52 (増刊 1 号): p. 68, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2011.

- 3) 知花博治: *Candida glabrata* の新規抗真菌薬標的探索. 第 29 回 Yeast Work Shop 「真菌への誘い」, p. 101, 香川, 10 月 12 日, 2011.

3. 一般発表

国際学会

- 1) Noda E, Oura T, Ueno K, Chibana H, Kajiwar S: The characterization of a *CYB2* disruptant of *Candida albicans*, IUMS 2011, Sapporo, Sep 6-10, 2011.
- 2) Nakayama H, Tanabe K, Nagi M, Chibana H, Bard M: Characterization of genes that regulate sterol uptake and transport in *Candida glabrata*. The 10 th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji Sep 7-10, 2010.

国内学会

- 1) 高橋静香, 柴田信之, 三浦貴子, 知花博治, 大川喜男: 病原性真菌 *Candida glabrata* 糖鎖合成酵素欠損株の性質および細胞壁の構造. 第 131 回日本薬学会. 静岡市, 2011. 3.
- 2) 名木 稔, 田辺公一, 中山浩伸, 知花博治, 山越智, 梅山 隆, 大浦隆宏, 梶原 将, 大野秀明, 宮崎義継: 病原真菌 *Candida glabrata* の細胞外ステロール獲得機構の解明. 第 84 回日本生化学会大会, 京都, 9 月 21 ~ 24 日, 2011.
- 3) 知花博治, 上野圭吾, 青山俊弘, 中山浩伸, 宇野 潤: 病原因子のデータベース構築をめざした *Candida glabrata* の体系的遺伝子組換え体ライブラリーの作製. 第 55 回日本医真菌学会総会「セレクトッドオーラル」, Med Mycol J 52 (増刊 1 号): p. 101, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2011.
- 4) 柴田信之, 高橋静香, 関由理恵, 伊藤文恵, 田中大, 三浦貴子, 知花博治, 大川喜男. *Candida glabrata* 糖鎖合成酵素欠損株の性質および細胞壁の構造. 第 55 回日本医真菌学会総会「セレクトッドオーラル」, Med Mycol J 52 (増刊 1 号): p. 102, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2011.
- 5) 山口正視, 上野圭吾, 大楠美佐子, 清水公德, 川本進, 知花博治: カンジダ・グラブラタの野生株およびキチンシンターゼ変異株のプロトプラスト再生に関する電子顕微鏡的研究. Med Mycol J 52 (増刊 1

号): p. 97, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2011.

- 6) 大岩崇裕, 前田厚史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 山口正視, 水野貴之: 線虫を宿主とした真菌感染症解析系の構築, 第 7 回真菌分子細胞研究会, 要旨集 p. 4, さぬき市, 11 月 12 ~ 13 日, 2011.
- 7) 大野道代, 青山俊弘, 中山浩伸, 照屋盛実, 塚原正俊, 知花博治: 次世代シーケンサー SOLiD を用いたゲノム解析, 第 7 回真菌分子細胞研究会 要旨集 p. 7, さぬき市, 11 月 13 ~ 14 日, 2011.
- 8) 田辺公一, 大野秀明, 梅山 隆, 山越 智, 知花博治, 宮崎義継: *Candida glabrata* 臨床分離株におけるキャンディン感受性と *FKSI* 遺伝子の解析, 第 7 回真菌分子細胞研究会 要旨集 p. 9, さぬき市, 11 月 13 ~ 14 日, 2011.
- 9) 名木 稔, 田辺公一, 中山浩伸, 知花博治, 梶原将, 大野秀明, 宮崎義継: 病原真菌 *Candida glabrata* の鉄欠乏性ストレス応答, 第 7 回真菌分子細胞研究会 要旨集 p. 14, さぬき市, 11 月 13 ~ 14 日, 2011.
- 10) 中山浩伸, 青山俊弘, 上野圭吾, 知花博治: *Candida glabrata* 遺伝子の転写開始点の解析, 第 7 回真菌分子細胞研究会 要旨集 p. 17, さぬき市, 11 月 13 ~ 14 日, 2011.
- 11) 谷岡拓弥, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 山口正視, 知花博治, 水野貴之: 線虫を用いた *Candida glabrata* の感染機構の解析~スクリーニング系の構築. 第 28 回イーストワークショップ, 香川, 10 月 12 日, 2011.
- 12) 山本 茂, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 水野貴之: 42℃ で生育不能となる *Candida glabrata* 温度感受性変異株の取得と解析. 第 28 回イーストワークショップ, 香川, 10 月 12 日, 2011.
- 13) 河野勇弥, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 山口正視, 知花博治, 水野貴之: 生物農薬を目指した線虫内物質生産系の構築. 第 28 回イーストワークショップ, 香川, 10 月 12 日, 2011.
- 14) 百地史郎, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 水野貴之: 相同性組み換えを用いた *Candida glabrata* 染色体分断ライブラリーの作成. 第 28 回イーストワークショップ, 香川, 10 月 12 日, 2011.

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 知花博治: *Candida* の分子生物学的の研究, Richard Cannon 教授, ニュージーランド, ダニエデン, オタゴ大学.

2. 共同利用・共同研究以外の国内共同研究

- 1) 知花博治: *Candida* の薬剤耐性機構に関する研究, 田辺公一, 宮崎義継, 国立感染症研究所.

国際交流

海外研究者受け入れ

- 1) マシュー アラン ウッズ (ニュージーランド, オタゴ大学博士研究員) 2011 年 4 月まで.

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 第 55 回日本医真菌学会 セレクトッドオーラル座長の配置等.
- 2) 第 7 回真菌分子細胞研究会 座長.

教育活動

- 1) 三浦貴子: 千葉大学園芸学部 卒業研究終了, (研究指導: 知花博治).
- 2) Wittawan Watanasrisin: 東京工業大学博士課程 インターンシップ 2011. 1 ~ 3.

講義

- 1) 知花博治: 千葉大学普遍教育 真菌とくらし (真菌のゲノムと応用), 千葉大学大学院融合科学研究科 博士前期課程 (真菌分子細胞生物学)・博士後期課程, 琉球大学医学部講義 微生物学 (真菌と真菌症).

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 知花博治 (代表), 宇野 潤 (分担): 科学研究費補助金 (基盤研究 C) カンジダ感染における留置カテーテルの影響に関する遺伝子機能解析, 平成 23 ~ 25 年度 (平成 23 年度は 170 万円, 間接経費 51 万円).

その他の外部資金

- 1) 知花博治 (代表): 受託研究, (株) Biomaterial in Tokyo, 平成 21 ~ 23 年度 (平成 23 年度は 380 万円).

感染免疫分野 米山 PI (ウイルス感染応答) プロジェクト

(Division of Molecular Immunology, Yoneyama PI Project [Project for Anti-viral Immune response])

教授: 米山光俊

- 学内委員 大学院医学系運営委員会委員, 放射線同位元素委員会委員, アイソトープ実験施設連絡行儀委員会委員, 動物実験委員会委員, 遺伝子組換え実験安全委員会委員, バイオメディカル研究センター教員会議委員, 医学部附属動物実験運営委員会委員, 感染免疫分野作業主任者, 千葉大学環境 ISO ユニット環境責任者
- センター内委員 運営協議会委員, 教員会議委員, 分野長会議委員, 改組実行委員会委員, 広報委員会委員長, 共同備品委員会委員, 共同利用委員会委員長, 病原体等安全管理委員会委員, 有害廃棄物委員会委員, 広報委員会委員長, 放射性同位元素委員会委員長, 自己点検・評価委員会委員, 倫理審査委員会委員, テニユアトラック教員 (微生物資源分野・准教授) 選考委員会委員, フローサイトメーター選定委員, 実験動物 WG 委員長
- 学協会への貢献 日本インターフェロン・サイトカイン学会幹事
- 所属学会 日本分子生物学会, 日本免疫学会, 日本インターフェロン・サイトカイン学会, 日本ウイルス学会, 日本 RNA 学会

助教: 尾野本浩司

- センター内委員 防災対策委員会委員, 図書 WG 委員, 光熱水料節減プロジェクト WG 委員
- 所属学会 日本インターフェロン・サイトカイン学会
- 技術系職員 (再雇用): 滝澤香代子
- 技術補佐員: 平井玲子
- 事務補佐員: 上田由美子
- 京都大学大学院生命科学研究科 博士課程: 常喜儒彦
- 千葉大学園芸学部: 小山綾葉

研究概要 (共同研究を含む)

1. ウイルス RNA センサー RIG-I-like receptor (RLR) によるウイルス RNA 認識の分子機構の解析
抗 RIG-I 抗体などを用いた解析から, ウイルス感染に
応答して RLR がその細胞内局在を大きく変化させ, ス
トレス顆粒様の凝集体 (anti-viral stress granule: avSG)
に局在することを見いだした. さらに, ウイルス RNA
もこの svSG に共局在していることが観察されたことか
ら, avSG の形成が RLR によるウイルス RNA 検知に関
与することが予想された. モデル系として, インフルエ
ンザウイルス感染に応答した avSG 形成と抗ウイルスシ
グナル伝達の検討を行ったところ, siRNA を用いた遺伝
子発現抑制実験などから, avSG 形成に関与する分子お
よびその上流で機能する二本鎖 RNA 依存性プロテイン
キナーゼ (PKR) が, avSG 形成を介した抗ウイルスシ
グナル誘導に重要な役割を担っていることが明らかにな
った.
2. RLR によるウイルスリボ核タンパク質複合体
(RNP) 認識の分子機構の解析
RLR はウイルス RNP にアクセスし, そこに含まれる
核酸構造を認識する必要がある, そこには何らかの共通
した分子機構が存在することが予想される. それを解明
するために, *in vitro* での RIG-I シグナル活性化の再構
成実験系を立ち上げ, RLR による RNP 認識の分子メカ
ニズムの検討を行った.
3. RLR を介したシグナル伝達の生理機能の解析
RLR は自己と非自己の RNA を識別してその生理機能
を發揮すると考えられているが, 自己の内在性 RNA と
の関係は全く不明であることから, 内在性 RNA と RLR
との関係を解析した. その結果, 試験管内で RIG-I の基
質として機能し得る内在性 RNA が存在することが明らか
になった. 現在, どのような局面でこのような RLR
と自己 RNA との会合が起こり得るのか, 網羅的な RNA

シーケンス解析などの手法を用いた解析を開始している。

研究成果の発表

1. 原著論文

◎印は PI プロジェクト関連の論文を示す。

英文

- 1) Onomoto K, Morimoto S, Kawaguchi T, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Uno K, Kumada T, Matsuda F, Shimotohno K, Fujita T, Murakami Y: Impairment of interferon system is associated with poor response of pegylated interferon and ribavirin therapy in chronic hepatitis C. PLoS ONE, 6: e19799, 2011. (査読有)
 - 2) Ouda R, Onomoto K, Takahasi K, Edwards MR, Kato H, Yoneyama M, Fujita T: Retinoic Acid-inducible Gene I-inducible miR-23b Inhibits Infections by Minor Group Rhinoviruses through Down-regulation of the Very Low Density Lipoprotein Receptor. J Biol Chem, 286: 26210-26219, 2011. (査読有)
 - 3) ◎ Kageyama M, Takahasi K, Narita R, Hirai R, Yoneyama M, Kato H, Fujita T: 55 amino acid linker between helicase and carboxyl terminal domains of RIG-I functions as a critical repression domain and determines inter-domain conformation. Biochem. Biophys Res Commun, 415: 75-81, 2011. (査読有)
- ### 2. 総説, 解説, その他
- 1) Onoguchi K, Yoneyama M, Fujita T: Retinoic Acid-inducible gene-I-like receptors. J Interferon Cytokine Res, 31: 27-31, 2011. (査読無)
- ### 3. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演
- 1) Yoneyama M, Onomoto K, Jogi M, Fujita T: Detection of viral non-self RNA by RIG-I-like receptors in cytoplasmic granule-like structure. 第 63 回日本細胞生物学会大会 Symposium “Nuclear and cytoplasmic bodies: their association with RNA metabolism”, 要旨集 p.82, 札幌, 6月 27 日～29 日, 2011.
 - 2) 米山光俊: 細胞内ウイルスセンサーによる非自己 RNA の認識とその生理機能, 22nd Forum in DOJIN 「RNA の識別と管理－自己, 異常な自己, そして非自己－」, 熊本, 11 月 4 日, 2011.
- ### 4. 一般発表
- #### 国際学会
- 1) Yoneyama M: Molecular machinery underlying recognition of non-self viral RNA by RIG-I-like receptors (RLRs). NTU-JST Joint Meeting on RNA & Biofunctions-Asia Studies, Taipei, Taiwan, Nov. 10-12, 2011.
 - 2) Yoneyama M: Molecular machinery for detection of viral RNA in innate immune responses. Singapore-Japan Joint Forum Emerging Concepts in Microbiology, Singapore, Nov. 15-16, 2011.
 - 3) Yoneyama M: Viral non-self RNA in detected by RIG-I-like receptors in cytoplasmic granules. 第 40 回日本免疫学会学術集会 Symposium “Molecular mechanisms leashing pathogen sensors”, 学術集会記録 第 40 巻 p.2, 千葉, 11 月 27 日～29 日, 2011.
 - 4) 米山光俊: ウイルス RNA センサーによる感染検知の分子機構, 北海道大学遺伝子病制御研究所共同研究集会「感染・免疫・炎症・発癌」, 札幌, 12 月 5 日～6 日, 2011.
- 1) Onomoto K, Yoneyama M, Fujita T: Analysis of intracellular localization of viral RNA sensor. Experimental Biology 2011 (Joint Meeting of AAA, AOS, ASBMB, ASIP, ASN and ASPET), Washington DC, USA, Apr. 9-13, 2011.
 - 2) Yoneyama M, Onomoto K, Jogi M, Fujita T: Formation of granule-like structure in detection of viral non-self RNA by RIG-I-like receptors. The 16th Annual Meeting of the RNA Society and The 13th Annual meeting of the RNA Society of Japan, Kyoto, Jun. 14-18, 2011.
 - 3) Jogi M, Onomoto K, Fujita T, Yoneyama M: Granular-like accumulation of RIG-I-like receptors in virus-infected cells. XV International Congress of Virology, The United World of Microbes, Sapporo, Sep. 11-16, 2011.
 - 4) Yoneyama M, Onomoto K, Jogi M, Fujita T: Subcellular localization of RIG-I-like receptors in virus-infected cells, 9th Joint Meeting of International Cytokine Society and International Society for Interferon and Cytokine Research, Florence, Italy, Oct. 9-12, 2011.

共同研究

1. 共同利用・共同研究以外の国内共同研究

- 1) 米山光俊: ウイルス RNA センサーによる RNA 識別と細胞機能制御, 藤田尚志教授, 京都大学ウイルス研究所.

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) Yoneyama M: Joint International Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research and the Japanese Society for Macrophage Molecular and Cell Biology, Chair. Osaka, May, 25, 2011.
- 2) 米山光俊: 第 1 回感染免疫応答セミナー (COE スタートアッププログラム) 演者: 竹内 理先生 (大阪大学) コンビナー・座長, 千葉, 8 月 25 日, 2011.
- 3) 米山光俊: 第 2 回感染免疫応答セミナー (COE スタートアッププログラム) 演者: Prof. Glen Barber (University of Miami, School of Medicine) コンビナー・座長, 千葉, 9 月 16 日, 2011.
- 4) 米山光俊: 第 1 回感染免疫応答ワークショップ (千葉大学 COE スタートアッププログラム) コンビナー・座長, 千葉, 10 月 28 日, 2011.
- 5) 米山光俊: 第 40 回日本免疫学会学術集会 Symposium “Molecular mechanisms leashing pathogen sensors” コンビナー・座長, 幕張, 11 月 27 日, 2011.

教育活動

講義

- 1) 米山光俊: 千葉大学薬学部 (化学療法学), 千葉大学園芸学部 (応用細胞工学).

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 米山光俊 (代表): 文部科学省科学研究費補助金 (新学術領域: RNA 制御学) 「ウイルス RNA センサーによる RNA 識別と細胞機能制御」平成 20 ~ 24 年度 (平成 23 年度, 直接経費 1,200 万円, 間接経費 360 万円).
- 2) 米山光俊 (代表): 文部科学省科学研究費補助金 (基盤 B) 「感染センサーによるウイルスリボ核タンパク質複合体 (RNP) 認識機構の解析」平成 23 ~ 25 年 (平成 23 年度, 直接経費 660 万円, 間接経費 198 万円).
- 3) 尾野本浩司 (代表): 文部科学賞科学研究費補助金 (研究活動スタート支援) 「ウイルス感染検知に関与する細胞質内顆粒の機能解析」平成 23 ~ 24 年 (平成 23 年度, 直接経費 130 万円, 間接経費 39 万円).

その他の外部資金

- 1) 米山光俊: 上原記念生命科学財団研究助成金「細胞内ウイルスセンサーによる核酸認識機構」平成 22 年度 (500 万円).
- 2) 米山光俊: 武田報彰医学研究助成「ウイルスセンサーによるパターン認識の分子機構の解析」2011 年度 (3,000 万円).
- 3) 米山光俊: 内藤記念科学奨励金「自然免疫誘導における感染パターン認識の分子機構と生理機能解析」2011 年度 (300 万円).

学長裁量経費

- 1) 平成 23 年度千葉大学 COE スタートアップ「病原体感染と免疫応答の統合的解析拠点」(プログラムリーダー) (300 万円).

感染免疫分野 西城 PI (サイトカイン) プロジェクト

(Division of Molecular Immunology, Saijo PI Project [Project for Cytokine Research])

特任准教授: 西城 忍

○学協会への貢献 日本免疫学会アウトリーチ活動「免疫ふしぎ未来」実行委員, 日本インターフェロン・サイトカイン学会幹事

○所属学会 日本免疫学会, 日本実験動物学会, 日本リウマチ学会, 日本インターフェロン・サイトカイン学会, International Society for Interferon and Cytokine Research

○受賞 平成 23 年度三浦記念リウマチ学術研究賞

技術補佐員: 森本雅子 (2011. 6 ~)

技術補佐員: 鈴木智明

千葉大学園芸学部: 佐藤ひとみ (2011. 10 ~)

研究概要 (共同研究を含む)

1. C 型レクチンの機能に関する研究

C 型レクチンは膜タンパク質で, 細胞外の CRD と呼ばれる領域で糖鎖を認識する. C 型レクチンファミリーに分類される分子は非常に多数あるが, そのうち樹状細胞 (DC) やマクロファージに発現する遺伝子は, マウスでは 6 番染色体のテロメア側にクラスター状に存在し, 相同性も高い. 私達は, 先にこのクラスター上に存在する Dectin-1 (gene symbol: *Clec7a*) および Dectin-2 (gene symbol: *Clec4n*) のノックアウト (KO) マウスを作製し, これらの C 型レクチンが真菌細胞壁糖鎖を認識し, 強力にサイトカイン産生を誘導することを報告した. 一方, 細胞内に抑制性シグナル伝達モチーフである Immuno-receptor tyrosine inhibitory motif (ITIM) を有する DCIR (gene symbol: *Clec4a2*) の KO マウスは加齢に伴い強直性脊椎炎に良く似た付着部炎やシェーグレン症候群に良く似た唾液腺炎など発症する. KO マウスの骨髄細胞を顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) 存在下で培養し骨髄由来 DC (BMDC) の分化誘導を行ったところ, DCIR KO マウス由来細胞では GM-CSF 受容体の下流分子である STAT5 のリン酸化が亢進し, 野生型マウスと比較して効率的に DC に分

化した. この結果は, DCIR は DC の増殖を制御することにより免疫系恒常性の維持に重要な役割を果たしていることを示唆する. この様に, C 型レクチンは多様な機能を有しており, 生体恒常性維持における寄与は極めて大きなものであると予想されるが, 未だリガンドや機能が不明な分子が存在し, 包括的な解析が待たれる. そこで本年度は, 新規 C 型レクチン KO マウスの作製を開始した.

2. 自己免疫疾患の発症機構に関する研究

Th17 細胞は最近見出された T 細胞サブセットで, 細胞外寄生菌に対する防御反応に重要な役割を担っている一方で, 自己免疫疾患などの炎症性疾患の発症にも関与する. その分化には, TGF- β と IL-6 が必須であることが知られているが, 私達は IL-6 KO マウスでも Th17 が正常に分化し, 自己免疫性関節炎を発症することを見出した. その機構を解析したところ, IL-6 非存在下では IL-21 により naïve T 細胞に IL-1 レセプターの発現が誘導され, IL-1 と協調的に働くことで完全な Th17 分化が誘導できることを明らかにした. また, 自己免疫疾患の発症には Th17 細胞だけではなく, $\gamma\delta$ T 細胞から分泌される IL-17 も重要な役割を担っていることを見出した.

研究成果の発表

1. 著書

1) 西城 忍: 疾患モデルの作製と利用 - 免疫疾患, p. 493-496, 株式会社エル・アイ・シー, 東京, 2011.

2. 原著論文

◎印はプロジェクト関連の論文を示す.

英文

1) ◎ Saijo S, Iwakura Y. Dectin-1 Dectin-2 in innate immunity against fungi. *Int Immunol* 23: 467-472, 2011. (査読有)

- 2) © Qi C, Cai Y, Gunn L, Ding C, Li B, Kloecker G, Qian K, Vasilakos J, Saijo S, Iwakura Y, Yannelli JR, Yan J. Differential pathways regulation innate and adaptive antitumor immune responses by particulate and soluble yeast-derived β -glucans. *Blood* 117: 6825-6836, 2011. (査読有)
- 3) © Fei M, Bhatia S, Oriss TB, Yarlalagadda M, Khare A, Akira S, Saijo S, Iwakura Y, Fallert Junecko BA, Reinhart TA, Foreman O, Ray P, Kolls J, Ray A. TNF- α from inflammatory dendritic cells (DCs) regulates lung IL-17A/IL-5 levels and neutrophilia versus eosinophilia during persistent fungal infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 5360-5365, 2011. (査読有)
- 4) © Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Nakae S. Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity* 34: 149-162, 2011. (査読有)
- 5) © Drummond RA, Saijo S, Iwakura Y, Brown GD. The role of Syk/CARD9 coupled C-type lectins in antifungal immunity. *Eur J Immunol* 41: 276-281, 2011. (査読有)
- 6) © Bhatia S, Fei M, Yarlalagadda M, Qi A, Akira S, Saijo S, Iwakura Y, van Rooijen N, Gibson GA, St. Croix CM, Ray A, Ray P. Rapid host defense against *Aspergillus fumigatus* involves alveolar macrophages with a predominance of alternatively activated phenotype. *PLoS One* 6: e15943, 2011. (査読有)
- 7) © Rivera A, Hohl TM, Colins N, Leiner I, Gallegos A, Saijo S, Coward JW, Iwakura Y, Pamer EG. Dectin-1 diversifies *Aspergillus fumigatus*-specific T cell responses by inhibiting T helper type 1 CD4 T cell differentiation. *J Exp Med* 208: 369-381, 2011. (査読有)

3. 総説, 解説, その他

- 1) 西城 忍: Dectin-2 誘導 Th17 細胞によるカンジダ感染防御. 感染・炎症・免疫 医薬の門社. 東京, 41: 75-77, 2011.
- 2) 西城 忍: 真菌による自然免疫活性化機構. 炎症と免疫 20: 16-20, 先端医学社. 東京, 2011.
- 3) 角田 茂, 西城 忍: 真菌免疫応答における C 型レクチン受容体の役割. 化学療法の領域 28: 59 ~

66, 医薬ジャーナル社. 東京, 2011.

4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

- 1) Saijo S. C-type lectins: Their roles in innate and acquired immunity. JSICR-MMCB, Osaka Japan, May 25-27, 2011.
- 2) 西城 忍: C 型レクチンによる真菌感染防御機構の解明, 第 22 回日本生体防御学会学術総会, 講演抄録集 p.18, 沖縄, 6 月 29 日 ~ 7 月 1 日, 2011.
- 3) Saijo S. C-type lectins: their roles in the host defense against fungal infection. RCAI 10th Anniversary Seminar Series, Yokohama Japan, October 19, 2011.
- 4) 西城 忍: C 型レクチンによる真菌感染防御機構, 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 講演抄録集 p.66, 東京, 10 月 21 日 ~ 10 月 22 日, 2011.
- 5) Saijo S. C-type lectins and fungal infection. 6th Chiba University Global COE Symposium. Chiba Japan, November 30, 2011.

5. 一般発表

国際学会

- 1) Akitsu A, Ishigame H, Kakuta S, Saijo S, Iwakura Y. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells are important for the development of arthritis in a rheumatoid arthritis model. JSICR-MMCB, Osaka Japan, May 25-27, 2011.
- 2) Akitsu A, Ishigame H, Kakuta S, Saijo S, Iwakura Y. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells are important for the development of arthritis in a rheumatoid arthritis model. 9th Joint Meeting of the ICS/ISICR, Florence Italy, October, 9-12, 2011.
- 3) Saijo S, Iwakura Y. The roles of Dectin-1/2 in the host defense against fungal infection. 9th Joint Meeting of the ICS/ISICR, Florence Italy, October, 9-12, 2011.

国内学会

- 1) 中村優里, 山本秀輝, 高橋友里恵, 阿部 譲, 石井恵子, 西城 忍, 岩倉洋一郎, 原 博満, 山崎 晶, 川上和義: クリプトコックス感染防御における Dectin-2 及び Card9 の役割, 第 22 回日本生体防御学会学術総会, 講演抄録集 p.37, 沖縄, 6 月 29 日 ~ 7 月 1 日, 2011.
- 2) 赤堀ゆきこ, 青柳哲史, 八田益充, 石井恵子, 西城 忍, 岩倉洋一郎, 山崎 晶, 賀来満夫, 川上和義:

肺炎球菌の認識と感染防御における Dectin-2 の役割, 第 22 回日本生体防御学会学術総会, 講演抄録集 p.60, 沖縄, 6月29日～7月1日, 2011.

- 3) Ikeda S, Saijo S, Iwakura Y: IL-1Ra IL-6 二重欠損マウスにおける IL-6 非依存的関節炎と Th17 細胞分化, 日本免疫学会総会・学術集会記録 第 40 巻 p. 37, 千葉, 11月27～29日, 2011.
- 4) 石川哲章, 西城 忍, 豊永憲司, 斉藤 隆, 岩倉洋一郎, 山崎 晶: 複数の C 型レクチンによるマラセチア真菌の異なる認識機構, 日本免疫学会総会・学術集会記録 第 40 巻 p.44, 千葉, 11月27～29日, 2011.
- 5) Nakamura Y, Yamamoto H, Takahashi Y, Ishii K, Adachi Y, Ohno N, Saijo S, Iwakura Y, Hara H, Yamasaki S, Kawakami K: Limited role of Dectin-2 in the host defense to infection with *Cryptococcus neoformans*, 日本免疫学会総会・学術集会記録 第 40 巻 p.115, 千葉, 11月27～29日, 2011.
- 6) Akahori Y, Aoyagi T, Ishii K, Saijo S, Iwakura Y, Yamasaki S, Kawakami K: Role of Dectin-2 in the host defense to infection with *Streptococcus pneumoniae*, 日本免疫学会総会・学術集会記録 第 40 巻 p.122, 千葉, 11月27～29日, 2011.
- 7) Akitsu A, Ishigame H, Kakuta S, Saijo S, Iwakura Y: IL-17 産生性 $\gamma\delta$ T 細胞はリウマチ様関節炎発症に重要である, 日本免疫学会総会・学術集会記録 第 40 巻 p.124, 千葉, 11月27～29日, 2011.
- 8) Kusaka T, Shimizu K, Park S, Fujokado N, Kubo S, Saijo S, Iwakura Y: 関節炎自然発症モデルマウスを用いて探索された関節炎感受性候補遺伝子の生理機能解析, 日本免疫学会総会・学術集会記録 第 40 巻 p.124, 千葉, 11月27～29日, 2011.
- 9) Miyasaka T, Miyamura N, Saijo S, Iwakura Y, Kawakami K: A critical role for Dectin-2 in the production of serotype-specific antibody caused by pneumococcal polysaccharide vaccine, 日本免疫学会総会・学術集会記録 第 40 巻 p.146, 千葉, 11月27～29日, 2011.

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 第 40 回日本免疫学会 ワークショップ 32 「真菌」に対する宿主免疫応答 座長.

教育活動

講義

- 1) 西城 忍: 千葉大学園芸学部 (授業科目: 応用細胞工学, 免疫ふしぎ未来), 東京工業大学非常勤講師 (授業科目: 生命理工学特別講義第三, 免疫ふしぎ未来).

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 西城 忍 (代表): 文部科学省科学研究費補助金 (基盤研究 (B)) 「C 型レクチンによる真菌感染防御機構の解明」平成 23～25 年度 (平成 23 年度, 直接経費 400 万円, 間接経費 120 万円).

その他の外部資金

- 1) 西城 忍 (代表): 戦略的創造研究推進事業 さきがけ「炎症の慢性化機構の解明と制御」 「C 型レクチンによる炎症反応制御機構の解明」平成 22 年度～平成 25 年度 (平成 23 年度, 直接経費 2,110 万円, 間接経費 633 万円).
- 2) 西城 忍 (分担): 戦略的創造研究推進事業 CREST 「IL-17 ファミリー分子, C 型レクチンを標的とした自己免疫・アレルギー疾患の発症機構の解明と治療薬の開発 (代表: 岩倉洋一郎) 平成 20～25 年度 (配分なし).
- 3) 西城 忍 (代表): 日本リウマチ財団 平成 23 年度三浦記念リウマチ学術研究賞 「C 型レクチンによる自己免疫疾患発症機構の解明」平成 23 年度 (直接経費 100 万円).
- 4) 西城 忍 (代表): (財) ヤクルト・バイオサイエンス研究財団 平成 23 年度研究助成金 「C 型レクチンによる腸管免疫制御機構の解明」平成 23 年度 (直接経費 100 万円).
- 5) 西城 忍 (代表): ノバルティス科学振興財団 ノバルティス研究奨励金 「C 型レクチンによる免疫系制御機構の解明」平成 22 年度 (直接経費 100 万円).

学長裁量経費

1) 西城 忍 (分担): COE スタートアッププログラ

ム「病原体感染と免疫応答の統合的解析拠点」平成
23年度～平成24年度.

臨床感染症分野 亀井 PI (臨床感染症) プロジェクト

(Division of Clinical Research, Kamei PI Project [Project to Link Basic Sciences and Clinical Medicine])

教授: 亀井克彦

- 学内委員 目標・策定委員会委員, 学内評価委員会専門部会(研究活動等)委員, 海洋バイオシステム研究センター連絡協議会委員, 国際教育開発センター連絡協議会委員, 病原体等安全管理委員会委員, 医学研究院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(安全管理者), 千葉大学附属病院 ICT, 真菌医学研究センター安全衛生管理者・作業主任者, 病原真菌研究部門の実験室等運営責任者, キャンパスマスタープラン検討WG委員, 個人情報保護管理者
- センター内委員 病原体等安全管理委員会委員長, 自己点検・評価委員会委員, 倫理審査委員会委員, 改組実行委員会委員, 分野長委員会委員, 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
- 学協会への貢献 日本医真菌学会評議員・理事・編集委員会委員長・論文賞選考委員会委員長・疫学調査委員会委員, 日本感染症学会評議員, 日本感染症学会東日本地方会理事, 日本化学療法学会抗真菌薬臨床評価委員, 日本臨床微生物学会編集・ホームページ委員会委員, 日本呼吸器学会代議員, 真菌症フォーラム世話人, 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, 千葉県真菌症研究会代表世話人, 千葉真菌症カンファレンス世話人, 深在性真菌症ガイドライン作成委員会世話人, 関東呼吸器真菌症研究会世話人, キャンディン研究会世話人, Advances Against Aspergillosis (国際アスペルギルス症学会) Scientific Committee & Faculty, ISRN Pulmonology editorial board
- 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, 室内環境学会, International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM), American Society for Microbiology (ASM), Infectious Diseases Society of America (IDSA)

- 受賞 日本細菌学会関東支部会 2011年インターラボセミナー, ベストプレゼンテーション賞2位 豊留孝仁, 渡辺 哲, 亀井克彦(分担): 宿主血清タンパク質 fetuin A が *Aspergillus fumigatus* に及ぼす影響, 東京, 2011年12月10日
- その他 東京医科大学兼任教授, 福島県立医科大学非常勤講師, 長崎大学非常勤講師, 萬有製薬株式会社独立安全性評価委員(3月まで), 大学共同利用機関法人情報・システム研究機構国立遺伝学研究所ナショナルバイオリソース(NBRP)運営委員会委員長会議委員・ナショナルバイオリソース(NBRP)情報運営委員会委員・ナショナルバイオリソース(NBRP)原核生物運営委員会委員・遺伝資源に関する大腸菌小委員会委員, 独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンターリソース検討委員会委員・生物遺伝資源委員会委員(3月まで)

助教: 田口英昭

- 学内委員 亥鼻地区職員駐車場区域利用委員会委員, 亥鼻地区環境 ISO 実行委員会委員, 亥鼻地区安全衛生委員会委員, 光熱水料削減プロジェクト部局リーダー
- センター内委員 共用備品委員会委員, 共同利用委員, 広報委員会委員, 放射性同位元素委員会委員, 防災対策委員会委員, 実験動物WG委員, 光熱水料削減プロジェクトWG
- 学協会への貢献 日本医真菌学会評議員
- 所属学会 日本医真菌学会, 日本感染症学会, 日本防菌防黴学会, 日本臨床微生物学会, 日本内分泌攪乱化学物質学会
- その他 千葉市環境影響評価審査会

助教(兼任): 渡辺 哲

- 学内委員 附属病院実務者会議構成員(10月まで), 附属病院新外来棟・新中央診療棟専門部会構成員(10月まで), 附属病院リスクマネージャー(10月まで), 附属病院 ICT 委員, 附属病院病院薬事委員, 附属病院保険委員, 附属病院ベッドマネージャーチーム会議構成員, 附属病院がん化学療法委員(10月まで), 附属

病院放射線同位元素委員, 附属病院手術部検討委員会
小委員, 附属病院検査部実務者委員, 附属病院診療情
報管理委員会ワーキンググループ構成員, 附属病院災
害予防対策ワーキンググループ構成員, 附属病院電子
カルテプロジェクトチームメンバー

○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, 日本化学療
法学会, 日本結核病学会, 日本臨床微生物学会, 日本
環境感染学会

○学協会への貢献 日本医真菌学会評議員, 日本感染症
学会評議員・編集委員会委員, 日本結核病学会評議
員, 千葉県真菌症研究会世話人, 千葉真菌症カンファ
レンス世話人, 東関東耐性菌研究会研究主幹, Journal
of Infection and Chemotherapy associate editor

○その他 千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部助
教

技術専門員: 滝澤香代子 (2010. 4 ~ 2011. 3)

技術職員: 鎗田響子

非常勤講師 (東邦大学医学部病院病理学教授): 渋谷和
俊 (2010. 4 ~)

非常勤講師 (北里大学医学部病理学非常勤講師・日本医
科大学皮膚科学客員教授): 久米 光 (2010. 4 ~)

特任講師: 豊留孝仁 (2010. 4 ~)

特任助教: 村長保憲 (2010. 5 ~)

技術補佐員: 佐藤綾香 (2003. 5 ~)

技術補佐員: 八尋真希 (2009. 4 ~)

技術補佐員: 井上京子 (2006. 4 ~)

技術補佐員: 今中京子 (2010. 5 ~)

大学院医学薬学府 博士課程: 王 丹霓 (2009. 10 ~)

大学院融合科学研究科 博士課程: ウリントヤ (2010.
4 ~)

大学院医学薬学府 修士課程: 工藤奈都 (2010. 4 ~)

大学院医学薬学府 特別研究学生 (東京大学医学部附属
病院呼吸器内科大学院生): 田宮浩之 (2010. 4 ~)

園芸学部応用生命化学科: 加治洋美 (2011. 10 ~)

研究概要 (共同研究を含む)

1. *Aspergillus fumigatus* バイオフィームに関する研究

侵襲性肺アスペルギルス症では肺の血管内に *A. fumigatus* が侵入している像が認められ, より重篤な播種性アスペルギルス症では血行性に多臓器へと菌が播

種する。また, 感染局所では出血を伴うことも多く, *A. fumigatus* と血液は感染過程において多くの接点を有している。我々はこれまでにウシ胎児血清もしくはヒト血清を含有した培地において *A. fumigatus* 成長が著しく亢進しバイオフィーム様の構造を構築することを報告してきた。血清成分の中ではウシ血清アルブミンが *A. fumigatus* の生育を促進することが報告されているが, 我々の検討ではウシ血清アルブミン単独添加では血清のような十分な生育促進効果が認められなかった。そこで血清中に含まれるウシ血清アルブミン以外の *A. fumigatus* の生育を促進する因子について解析を行った。小麦胚凝集素レクチンカラムに結合する血清中の糖タンパク質を分離し, 培地に添加したところ, *A. fumigatus* の生育が促進され, 分離した糖タンパク質画分中に生育促進因子が含まれることが明らかとなった。これまでに質量分析により, 血清中に含まれる糖タンパク質フェツイン A がバイオフィーム形成に寄与することが強く示唆された。フェツイン A 単独で添加した場合にも菌糸伸長が促進されることが確認され, さらにこの因子が菌糸の分枝を増大させる事が観察されている。現在, *A. fumigatus* に及ぼす影響について分子レベルでの検討を行っている。

2. ヒストプラズマ症における新規抗原物質の探索と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 *Histoplasma capsulatum* 抗原は H 及び 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した新たな抗ヒストプラズマ抗体検出法の研究を進めている。これまでに生体内寄生形態である酵母形の *H. capsulatum* を材料とし, 界面活性剤を用いた表層タンパク質抽出法による新規抗原の探索を行ってきた。その結果, 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不溶性ながら抗原タンパク質の大量発現と精製に成功しており, ヒストプラズマ症迅速診断の開発・改良に向けた有用な抗原候補として, ELISA 等への応用を試みている。複数の新規抗原においては患者群の抗体価が健常人群に比べ, 有意に高いことが観察された。現在, エピトープの絞り込み等の更に詳細な検討を続けている。

3. リアルタイム PCR 法を用いたヒストプラズマ症の迅速診断法の開発

通常、深在性真菌症の診断は、顕微鏡検査、培養検査、血清学的検査等を用いて行われるが、感染力・病原性が強いヒストプラズマ症では、培養検査は極めて危険であり、検査室内感染を防ぐためにも専門機関以外で行うことは推奨されていない。近年、培養検査に代わる補助診断法として迅速かつ検出感度の高い遺伝子診断法の開発が盛んに行われている。我々は高感度に標的遺伝子を検出可能なリアルタイム PCR 法の一つであるサイクリングプローブ法を本症の診断法に応用し、*Histoplasma capsulatum* の遺伝子を特異的に検出可能なサイクリングプローブ (Hist1-Probe1, Hist1-probe2, Hist1-probe3) とプライマー (hcN2F, hcN1R) を設計した。そして、これらの特異性を *H. capsulatum* 19 株と *H. capsulatum* 以外の真菌 14 株を用いて検討した。その結果、Hist1-Probe1 は *H. capsulatum* 14/19 株を検出したが、5/19 株は検出しなかった。Hist1-Probe2 はすべての *H. capsulatum* 株を検出できなかった。Hist1-Probe3 はすべての *H. capsulatum* 株を検出した。*H. capsulatum* 以外の真菌においては、3 プローブ共に 14 株のすべてが検出されなかった。以上の結果から、最も特異性が高かった Hist1-Probe3 について、現在、検出感度等の検討を進めている。

4. *Fusarium* 属菌及び *Fusarium solani* species complex (FSSC) を検出・同定するリアルタイム PCR 法の開発

Fusarium 属菌の多くは土壌または植物に生息する菌であるが、いくつかの菌種はヒトや動物に病原性を示し、角膜真菌症、爪真菌症といった表在性真菌症に加えて、時に重篤な深在性真菌症を引き起こす。特に造血幹細胞移植後の免疫抑制状態の患者では死亡率が高く問題となる。フザリウム症の原因菌として *Fusarium solani* species complex (FSSC) が最も多く分離される。本研究ではサイクリングプローブ法によるリアルタイム PCR を用い、血液検体から *Fusarium* 属菌及び FSSC を検出するための基礎実験を行った。*Fusarium* 属菌に特異的なプライマー・プローブ及び FSSC に特異的なプローブを 28s rRNA 遺伝子から設計し、それらの特異性と検出限界を検討した。その結果、*Fusarium* 属菌検出系は *Fusarium* 属菌のみを検出し、非 *Fusarium* 属菌は検出しなかった。また、FSSC 検出系はすべての FSSC 菌を検出したが、非

FSSC 菌である *Fusarium lunatum* CBS 632.76 も検出した。検出限界の検討では *Fusarium* 属菌検出系、FSSC 検出系ともに 1-10 copy の標的遺伝子を検出可能であった。また、ヒト DNA および λ DNA は両検出系に影響を与えなかった。今後さらに本検出系の臨床応用を目指し、血液検体からの DNA 抽出方法等の検討を進めている。

5. ガリウムイオンの抗真菌効果の検討

深在性真菌症は抗真菌薬治療を行ったとしてもいまだ致死率の高い疾患であり、新たな抗真菌薬の創出が課題となっている。我々は現在ガリウムの抗真菌活性について検討を進めている。ガリウムイオンは通常三価であり、生体内で三価の鉄イオンと同様に振る舞う。しかしながら、ガリウムイオンは鉄イオンと異なって二価とならないため、鉄イオンの代わりにガリウムイオンを取り込んだ生体分子は機能不全に陥ると考えられる。このような背景から、これまで一部の病原微生物ではガリウムの抗微生物活性についての検討がなされてきたが、病原真菌に対する抗真菌活性を検討した報告はほとんどない。これまでに *Candida* 属菌、*Cryptococcus neoformans*、*Aspergillus* 属菌、接合菌について感受性を測定した、その結果、種によって感受性の程度は異なるがほぼ全ての菌種で抗真菌活性が確認され、*Aspergillus* 属菌、*Candida glabrata* は比較的高い感受性を示したが、接合菌はいずれも感受性が低かった。ガリウムイオンは既存薬とは異なるメカニズムで抗真菌活性を発現していると考えられる。現在、ガリウムイオンの抗真菌活性に関して詳細な検討を進めている。

6. *Aspergillus fumigatus* のグリオトキシシン感受性に関する研究

グリオトキシシンは *Aspergillus fumigatus* の重要な病原因子の一つである。我々の分野ではこれまでもグリオトキシシン産生とそれによる細胞傷害活性について研究を進めてきた。一方でいくつかの真菌種に対して抗真菌活性を示す事も報告され、我々も一部検討を進めている。しかし、*A. fumigatus* 自身はグリオトキシシンに対して抵抗性を持っている。最近、我々は新たにグリオトキシシン生合成遺伝子の一つがグリオトキシシン抵抗性に関与することを見いだした。このタンパク質を阻害することによって自身が産生したグリオトキシシンにより、菌が自殺する可能性があり、将来的には新たな抗真菌薬の創出につながる

ると期待している。現在、詳細なメカニズムを明らかにするために検討を進めている。

7. 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* の LSUrDNA の配列解析とイントロンの2次構造学的同定－疫学検証の応用へ

本菌の LSU の塩基配列はデータベースに無い為、5株で塩基配列解析を試みた。LSU の全配列と、3か所に挿入されたイントロンは上流から group 1; IC1, IC1, IE の順に subgroup が同定できた。近縁菌を含め日本、中国、南米等から分離された株を調べた結果、subgroup を指標とした intron type から地域との相関性が認められ、疫学検証への可能性が示唆された。

8. 敗血症患者から分離された中国初の放線菌 *Nocardia concava* の同定

放線菌 *N. concava* は1991年本邦にて初分離され、2005年に新種として報告された菌種である。以後報告はなく、中国の第1例目として再発性多発性軟骨炎患者から分離され、生理生化学的性状、16S rRNA の塩基配列と2次構造解析、*GyrB* 等の配列により同定を行った。薬剤感受性試験の結果はハイリスク患者への感染に注意を喚起した。

研究成果の発表

1. 著書

- 1) 亀井克彦, 渡辺 哲, ほか: 「輸入真菌症の診断・治療指針」亀井克彦, 渋谷和俊, 宮崎義継編, 協和企画, 2011. 3. 31 発行.
- 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5版」pp. 349-354, pp. 354-357, pp. 359-363, 南江堂, 2011. 4. 10 発行.
- 3) 渡辺 哲, 亀井克彦: 薬剤耐性真菌. 感染対策に役立つ臨床微生物 らくらく完全図解マニュアル インфекションコントロール 2011 年春季増刊, 編集: 大塚喜人, pp.240-242, 2011. 5. 5 発行.
- 4) 亀井克彦, ほか: 「感染症専門医テキスト 第I部 解説編」, 社団法人日本感染症学会編, 南江堂, 2011. 5. 5 発行.
- 5) 亀井克彦, ほか: 「感染症専門医テキスト 第II部 ケーススタディ編」, 社団法人日本感染症学会編, 南江堂, 2011. 6. 15 発行.
- 6) 亀井克彦: 5章 真菌. 「はじめの一步のイラスト感染症・微生物学」, pp.9-102, 本田武司編, 2011. 7. 20 発行.
- 7) 亀井克彦, 渡辺 哲: IV. 真菌感染症 2. その他の真菌感染症 その他の真菌感染症 (基調総説), 「症例とエビデンスに学ぶ造血細胞移植と感染症」, pp. 245-255, 医薬ジャーナル社, 豊嶋崇徳編, 2011. 8. 15 発行.

2. 原著論文

◎印は PI プロジェクト関連の論文を示す。

英文

- 1) Hasejima N, Kamei K, Matsubayashi M, Kawabe R, Shimura C, Hijikata N, Oda T, Matsushima H: The first case of bloodstream infection by *Candida intermedia* in Japan: the importance of molecular identification. J Infect Chemother 17: 555-558, 2011. (査読有)
- 2) ◎ Park BJ, Taguchi H, Kamei K, Matsuzawa T, Hyon SH, Park JC: In Vitro Antifungal Activity of Epigallocatechin 3-O-Gallate against Clinical Isolates of Dermatophytes. Yonsei Med J 52: 535-538, 2011. (査読有)
- 3) Nagayoshi M, Tada Y, West J, Ochiai E, Watanabe A, Toyotome T, Tanabe N, Takiguchi Y, Shigeta A, Yasuda T, Shibuya K, Kamei K, Tatsumi K: Inhalation of *Stachybotrys chartarum* Evokes Pulmonary Arterial Remodeling in Mice, Attenuated by Rho-Kinase Inhibitor. Mycopathologia 172: 5-15, 2011. (査読有)
- 4) Mori T, Nakamura Y, Kato J, Sugita K, Murata M, Kamei K, Okamoto S: Fungemia due to *Rhodotorula mucilaginosa* after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Transpl Infect Dis, 2011 Apr 28 [Epub ahead of print]. (査読有)
- 5) Biancalana FS, Lyra L, Moretti ML, Kamei K, Schreiber AZ: Standardization of Hyphal Growth Inhibition Rate as a Means of Evaluating *Microsporium* spp. in vitro Susceptibility to Terbinafine, Griseofulvin, and Ciclopiroxolamine. Mycopathologia 172: 279-285, 2011. (査読有)

- 6) Takizawa K, Hashizume T, Kamei K: Occurrence and characteristics of group 1 introns found at three different positions within the 28S ribosomal RNA gene of the dematiaceous *Phialophora verrucosa*: phylogenetic and secondary structural implications. BMC Microbiol, 2011 May 8; 11: 94. (査読有)
- 7) Hu YX, Zheng DH, Takizawa K, Mikami Y, Dai L, Yazawa K, Fukushima K, Lu CM, Xi LY: Systemic nocardiosis caused by *Nocardia concava* in China. Medical Mycology 49: 662-666, August 2011. (査読有)
- 8) Nakamura Y, Utsumi Y, Suzuki N, Nakajima Y, Murata O, Sasaki N, Nitani H, Nagashima H, Miyamoto S, Yaegashi J, Hatakeyama T, Shibano Y, Yarita K, Kamei K, Nakadate T, Endo S, Terayama Y, Yamauchi K: Multiple *Scedosporium apiospermum* abscesses in a woman survivor of a tsunami in northeastern Japan: a case report. J Med Case Reports 5: 526, 2011. (査読有)
- 9) Lee JH, Kim HL, Lee MH, Taguchi H, Hyon SH, Park JC: Antimicrobial effect of medical adhesive composed of aldehyded dextran and ϵ -Poly (L-lysine). J Microbiol Biotechnol 21: 1199-1202, 2011. (査読有)
- 10) Anzawa K, Mochizuki T, Nishibu A, Ishizaki H, Kamei K, Takahashi Y, Fujihira M, Shinoda H: Molecular Epidemiology of *Trichophyton tonsurans* Strains Isolated in Japan between 2006 and 2010 and Their Susceptibility to Oral Antimycotics. Jpn J Infect Dis 64: 458-462, 2011.

和文

- 1) 緒方 良, 萩原恵里, 椎原 淳, 小倉高志, 高橋宏, 亀井克彦: ポリコナゾール血中濃度測定が有用であった肺スケドスポリウム症の1例. 日呼吸会誌 49(5): 388-392, 2011.
 - 2) 石黒 卓, 高柳 昇, 齋藤明美, 秋山一男, 若山恵, 澁谷和俊, 清水禎彦, 杉田 裕, 亀井克彦: スエヒロタケとアスペルギルスによるアレルギー性気管支肺真菌症の1例. 日呼吸会誌 49(8): 612-618, 2011.
 - 3) 杉山由華, 鈴木陽子, 菅谷圭子, 戸倉新樹, 矢口貴志, 亀井克彦, 西村和子: *Fonsecaea monophora* によるクロモブラストミコーシス. Med Mycol J 52(3): 255-260, 2011.
 - 4) 滝澤香代子: 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* の LSU rDNA の塩基配列, 存在したイントロンの同定, 疫学検証の為にイントロン分布. 平成 22 年度熊本大学総合技術研究会報告集 (CD) 07-P-114, 2011.
- ### 3. 総説・解説・その他
- 1) 亀井克彦 (分担), 豊留孝仁 (研究協力者): 輸入真菌症の国内発生状況調査とヒストプラズマ症の迅速診断改良・開発へ向けた基礎的研究. 厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「真菌感染症の病態解明に基づく検査・治療法の確立と国内診断・治療ネットワークの構築に関する研究」平成 22 年度総括・分担研究報告書 pp.55-60, 2011.
 - 2) 渋谷和俊 (分担), 亀井克彦 (研究協力者), 下平佳代子, 大久保陽一郎, 笹井大督, 篠崎 稔: 糸状菌誘発肺高血圧症モデルにおける遺伝子発現解析. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「特性疾患の微生物的原因究明に関する研究」平成 22 年度 総括・分担報告書 pp.41-44, 2011.
 - 3) 亀井克彦 (分担), 豊留孝仁 (研究協力者): 慢性壊死性肺糸状菌感染症における微生物側の病原因子に関する検証. 厚生労働科学研究費補助金 (新興・再興感染症研究事業)「COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究」平成 22 年度 総括・分担研究報告書 pp.62-65, 2011.
 - 4) 亀井克彦: 真菌検査法カラーアトラス コクシジオイデス症の検査と診断法. 深在性真菌症～SFI Forum～7(1): 27-29, 2011.
 - 5) 亀井克彦, 渡辺 哲: 輸入真菌症の現状と問題. 日本医事新報 4542: 69-72, 2011.
 - 6) 亀井克彦, 渡辺 哲: 高病原性のカビ, クリプトコックス・ガッティ感染症-F ガッティ型クリプトコックス症-. 感染・炎症・免疫 41(2): 140-142, 2011.
 - 7) 亀井克彦: 輸入真菌症としてみられる二形性真菌. 臨床と微生物 38(増): 601-606, 2011.
 - 8) 渡辺 哲, 亀井克彦: 深在性真菌感染症. 小児科臨床 64(12): 2568-2574, 2011.
 - 9) 亀井克彦: 目で見る真菌と真菌症～連載開始にあたって～. 化学療法の領域, 27(12): 2620, 2011.
- ### 4. 学会・シンポジウム・研究会での招待講演
- 1) 渡辺 哲, 豊留孝仁, 亀井克彦: アスペルギルス症の成立メカニズム解明とその応用. 第 85 回日本感

染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85: (臨時増刊号): p.105, 東京, 4月21日, 2011.

- 2) 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越智, 杉田 隆, 畠山修司, 亀井克彦, 宮崎義継: シンポジウムⅢ「国立感染症研究所における地域流行型真菌症への対応と現状」第32回関東医真菌懇話会, プログラム/抄録集 p.34, 東京, 5月21日, 2011.
- 3) 渡辺 哲, 亀井克彦: シンポジウムⅢ「接合菌症について」第32回関東医真菌懇話会, プログラム/抄録集 p.35, 東京, 5月21日, 2011.
- 4) 亀井克彦: 感染症病原体としての真菌の tactics. 第19回肺リモデリング研究会 テーマ: 感染症～host defense からリモデリングを考える～, プログラム・抄録 p.5, 東京, 10月15日, 2011.
- 5) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 亀井克彦: 基礎・臨床シンポジウム4「真菌と感染防御」*Aspergillus fumigatus* にとっての宿主因子との正の相互作用, 負の相互作用. 第55回日本医真菌学会総会, 抄録集 52 (増刊1): 63, 東京, 10月21～22日, 2011.
- 6) 渡辺 哲: ランチョンセミナー2「アスペルギルス症: 最近の進歩」アスペルギルス症の成立と進展メカニズムの解明を目指して. 第55回日本医真菌学会総会, 抄録集 52 (増刊1): 63, 東京, 10月21～22日, 2011.
- 7) 渡辺 哲, 亀井克彦: ワークショップ3 真菌深在真菌症の新たな展開 重症例, 難治症例の病態と治療 輸入真菌症に対する診断と治療 難治症例を通じて. 第60回日本感染症学会日本地方会学術集会 第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, プログラム・抄録集 p.96, 山形, 10月26～28日, 2011.
- 8) 亀井克彦: 小林宏行先生メモリアルセミナー 真菌症における biofilm 研究とその現状. 第60回日本感染症学会日本地方会学術集会 第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, プログラム・抄録集 p.49, 山形, 10月26～28日, 2011.
- 9) 渡辺 哲, 亀井克彦: シンポジウム2 造血器腫瘍および固形がん治療と感染症 がん化学療法における真菌感染症 その対策と治療の問題点. 第60回日本感染症学会日本地方会学術集会 第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, プログラム・

抄録集 p.68, 山形, 10月26～28日, 2011.

5. 一般発表

国際学会

- 1) Kamei K, Watanabe A, Kakeya H, Miyazaki Y, Shibuya K: Epidemiologic study on zygomycosis in Japan based on questionnaire to medical facilities. Abstract p. 231, IUMS2011, Sapporo, Japan, Sep 6～10, 2011.
- 2) Wakayama M, Okubo Y, Shinozaki M, Tochigi N, Ono H, Miyazaki Y, Nakatani Y, Kamei K, Yamagata Murayama S, Nemoto T, Shibuya K: Histopathological diagnosis of human histoplasmosis using in situ hybridization technique. Abstract p. 233, IUMS2011, Sapporo, Japan, Sep 6～10, 2011.
- 3) Muraosa Y, Trabasso P, Moretti ML, Kameil K: Development of a real-time PCR system to detect *Fusarium* species and identify *Fusarium solani* species complex (FSSC) from clinical samples. Abstract p. 233, IUMS2011, Sapporo, Japan, Sep 6～10, 2011.

国内学会

- 1) 田口英昭, 渡辺 哲, 佐藤綾香, Moretti Maria Luiza, Park Jongchul, 亀井克彦: 接合菌に対する Epigallocatechin-3-O-gallate と各種抗真菌薬の協調作用に関する基礎的検討. 第22回日本臨床微生物学会総会, 日臨微誌 2 (4): 93, 岡山, 1月8～9日, 2011.
- 2) 菊池和代, 伊藤純子, 田口英昭, 渡辺 哲, 矢口貴志, 亀井克彦: 千葉大学真菌医学研究センターに保存されている臨床由来の *Aspergillus fumigatus* および関連種薬剤感受性. 第22回日本臨床微生物学会総会, 日臨微誌 2 (4): 93, 岡山, 1月8～9日, 2011.
- 3) 野口直子, 船橋秀光, 江渡秀紀, 新島眞文, 渡辺哲, 矢口貴志, 亀井克彦: *Pseudallescheria boydii* によるアレルギー性気管支真菌症 (ABPM) の1例. 第1221回千葉医学会第10回呼吸器内科例会 (第24回呼吸器内科同門会), 千葉医学雑誌 p.79, 千葉, 1月8日, 2011.
- 4) 渡辺 哲, 猪狩英俊, 矢口貴志, 亀井克彦: 肺スケトスポリウム症の3例. 真菌症フォーラム第12回学術集会 プログラム/抄録集 p.81, 東京, 2月5日, 2011.
- 5) 細萱直希, 行徳 宏, 田代将人, 高園貴弘, 森永芳

- 智, 宮崎泰可, 関 雅文, 泉川公一, 掛屋 弘, 山本善裕, 矢口貴志, 大野秀明, 宮崎義継, 神田哲郎, 亀井克彦, 河野 茂: *Aspergillus udagawae* による気管支肺アスペルギルス症の1例報告と基礎的研究. 真菌症フォーラム第12回学術集会 プログラム/抄録集 p.78, 東京, 2月5日, 2011.
- 6) 在間未佳, 一色琢磨, 若林義賢, 細木敬祐, 鈴木智史, 河野千代子, 山田嘉仁, 山口哲生, 亀井克彦: *Schizophyllum commune* (スエヒロタケ) によるアレルギー性気管支肺真菌症 (ABPM) の1例. 第159回日本結核病学会関東支部会第193回日本呼吸器学会関東地方会合同学会, プログラム・抄録 p.6, 府中, 2月19日, 2011.
- 7) 滝澤香代子: 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* の LSU rDNA の塩基配列, 存在したイントロンの同定, 疫学検証の為にイントロン分布. 平成22年度熊本大学総合技術研究会, 抄録集 p.97, 熊本大学, 3月17~18日, 2011.
- 8) 渡辺 哲, 豊留孝仁, 亀井克彦: アスペルギルス症の成立メカニズム解明とその応用. 第85回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85: (臨時増刊号): p.105, 東京, 4月21日, 2011.
- 9) 渡辺 哲, 猪狩英俊, 矢口貴志, 亀井克彦: *Scedosporium* 症5例の検討. 第85回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85: (臨時増刊号): p.166, 東京, 4月21~22日, 2011.
- 10) 亀井克彦, 渡辺 哲, 掛屋 弘, 宮崎義継, 渋谷和俊: わが国における接合菌症の現状-アンケート調査から-. 第85回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85: (臨時増刊号): p.167, 東京, 4月21~22日, 2011.
- 11) 田宮浩之, 落合恵理, 菊池和代, 豊留孝仁, 渡辺哲, 矢口貴志, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* 及び *A. lentulus*, *A. udagawae* の薬剤感受性ならびに二次代謝産物解析に関する検討. 第85回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85: (臨時増刊号): p.290, 東京, 4月21~22日, 2011.
- 12) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 亀井克彦: *Histoplasma capsulatum* 抗原タンパク質の主要なエピトープ部位の検討. 第85回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85: (臨時増刊号): p.338, 東京, 4月21~22日, 2011.
- 13) 徳山承明, 真木二葉, 竹村 弘, 高木妙子, 田辺公一, 大野秀明, 宮崎義継, 亀井克彦, 長谷川泰弘: 日本人 AIDS 患者に発症したマルネツフェイ型ペニシリウム症の一例. 第32回関東医真菌懇話会, プログラム/抄録集 p.31, 東京, 5月21日, 2011.
- 14) 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越智, 杉田 隆, 畠山修司, 亀井克彦, 宮崎義継: シンポジウム国立感染症研究所における地域流行型真菌症への対応と現状. 第32回関東医真菌懇話会, プログラム/抄録集 p.34, 東京, 5月21日, 2011.
- 15) 渡辺 哲, 亀井克彦: シンポジウム接合菌症について. 第32回関東医真菌懇話会, プログラム/抄録集 p.35, 東京, 5月21日, 2011.
- 16) 工藤奈都, 豊留孝仁, 亀井克彦: ガリウムの抗真菌活性に関する検討. 第59回日本化学療法学会総会. プログラム・抄録集 p.139, 札幌, 6月23~25日, 2011.
- 17) 渡辺 哲, 猪狩英俊, 村田正太, 渡辺正治, 佐藤武幸, 亀井克彦: 千葉大学医学部附属病院における *Nocardia* spp. 検出症例のレトロスペクティブ調査. 第59回日本化学療法学会総会. 特集号 p.196, 札幌, 6月23~25日, 2011.
- 18) 大野秀明, 田辺公一, 杉田 隆, 畠山修司, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 亀井克彦, 宮崎義継: 国内で初めて分離された VGIIa 型 *Cryptococcus gattii* 株の薬剤感受性と病原性についての検討. 第59回日本化学療法学会総会. 特集号 p.178, 札幌, 6月23~25日, 2011.
- 19) 川上秀昭, 堀 暢英, 犬塚裕子, 望月清文, 武藤敏弘, 大楠清文, 渡辺 哲, 亀井克彦: *Fusarium* に対する各種薬剤の発育阻止効果. 第115回日本眼科学会総会. 日眼会誌 115 (臨増): 236, 東京, 5月12~15日, 2011.
- 20) 戸村正樹, 野口直子, 船橋秀光, 江渡秀紀, 新島眞文, 杉浦信之, 渡辺 哲, 矢口貴志, 亀井克彦: イトラコナゾールが有効であった *Pseudallescheria boydii* によるアレルギー性気管支肺真菌症 (ABPM) の1例. 578回日本内科学会関東地方会, 抄録集 p.28, 東京, 2011. 2. 12.
- 21) 亀井克彦: 感染症病原体としての真菌の tactics. 第19回肺リモデリング研究会 テーマ: 感染症~host defense からリモデリングを考える~, プログラム・

- 抄録 p.5, 東京, 10月15日, 2011.
- 22) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 亀井克彦: 基礎・臨床シンポジウム4「真菌と感染防御」*Aspergillus fumigatus* にとっての宿主因子との正の相互作用, 負の相互作用. 第55回日本医真菌学会総会, 抄録集 52 (増刊1): 63, 東京, 10月21～22日, 2011.
 - 23) 工藤奈都, 豊留孝仁, 亀井克彦: ガリウムの抗真菌活性に関する研究. 第55回日本医真菌学会総会, 抄録集 52 (増刊1): 104, 東京, 10月21～22日, 2011.
 - 24) 大野秀明, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越智, 杉田 隆, 畠山修司, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮崎義継: 本邦初の北米流行型 *Cryptococcus gattii* 臨床分離株の実験的病原性解析. 第55回日本医真菌学会総会, 抄録集 52 (増刊1): 105, 東京, 10月21～22日, 2011.
 - 25) 王 丹霓, 豊留孝仁, 亀井克彦: Gliotoxin 産生に関わる遺伝子による gliotoxin 感受性の検討. 第55回日本医真菌学会総会, 抄録集 52 (増刊1): 110, 東京, 10月21～22日, 2011.
 - 26) 鳥仁凶雅, 豊留孝仁, 亀井克彦: バイオフィルムを形成した *Aspergillus fumigatus* が抗真菌薬に対して示す感受性に関する研究. 第55回日本医真菌学会総会, 抄録集 52 (増刊1): 110, 東京, 10月21～22日, 2011.
 - 27) 田宮浩之, 落合恵理, 豊留孝仁, 渡辺 哲, 矢口貴志, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* 及びその関連菌の二次代謝産物解析ならびに薬剤感受性に関する検討. 第55回日本医真菌学会総会, 抄録集 52 (増刊1): 108, 東京, 10月21～22日, 2011.
 - 28) 村長保憲, Trabasso P, Schreiber AZ, Moretti ML, 亀井克彦: *Fusarium* 属菌及び *Fusarium solani* species complex (FSSC) を検出・同定するリアルタイムPCR法の開発研究. 第55回日本医真菌学会総会, 抄録集 52 (増刊1): 113, 東京, 10月21～22日, 2011.
 - 29) 渡辺 哲, 亀井克彦: ワークショップ3 真菌深在真菌症の新たな展開 重症例, 難治症例の病態と治療 輸入真菌症に対する診断と治療 難治症例を通じて. 第60回日本感染症学会日本地方会学術集会第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, プログラム・抄録集 p.96, 山形, 10月26～28日, 2011.
 - 30) 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越智, 金城雄樹, 杉田 隆, 畠山修司, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮崎義継: *Cryptococcus gattii* 国内分離株の病原因子解析. 第60回日本感染症学会日本地方会学術集会第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, プログラム・抄録集 p.183, 山形, 10月26～28日, 2011.
 - 31) 稲石 淳, 中谷 綾, 寺島 毅, 亀井克彦: 当院で発生した接合菌によるアウトブレイク. 第60回日本感染症学会日本地方会学術集会第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, プログラム・抄録集 p.217, 山形, 10月26～28日, 2011.
 - 32) 亀井克彦: 小林宏行先生メモリアルセミナー 真菌症における biofilm 研究とその現状. 第60回日本感染症学会日本地方会学術集会第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, プログラム・抄録集 p.49, 山形, 10月26～28日, 2011.
 - 33) 渡辺 哲, 亀井克彦: シンポジウム2 造血器腫瘍および固形がん治療と感染症 がん化学療法における真菌感染症 その対策と治療の問題点. 第60回日本感染症学会日本地方会学術集会第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, プログラム・抄録集 p.68, 山形, 10月26～28日, 2011.
 - 34) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 亀井克彦: 宿主血清タンパク質 fetuin A が *Aspergillus fumigatus* に及ぼす影響. 日本細菌学会関東支部会 2011年インターラボセミナー, 東京, 12月10日, 2011.
 - 35) 亀井克彦, 矢口貴志, 江崎孝行, 飯田哲也, 平山謙二: NBRP「病原微生物」. 第34回日本分子生物学会年会 特別企画「ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP)」, 横浜, 12月13～16日, 2011.
 - 36) 田宮浩之, 落合恵理, 菊池和代, 豊留孝仁, 渡辺哲, 矢口貴志, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* 及び *A. lentulus*, *A. udagawae* の薬剤感受性ならびに二次代謝産物解析に関する検討. 第85回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85: (臨時増刊号): p.290, 東京, 4月21～22日, 2011.
 - 37) 田宮浩之, 落合恵理, 豊留孝仁, 渡辺 哲, 矢口貴志, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* 及びその関連菌の二次代謝産物解析ならびに薬剤感受性に関する検討. 第55回日本医真菌学会総会, 抄録集 52 (増刊

1): 108, 東京, 10月21～22日, 2011.

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 滝澤香代子 (代表): 病原性放線菌の同定に関する研究, 席 麗艶 教授 (中山大学孙逸仙紀念医院皮膚科).
- 2) 亀井克彦 (代表): AIDS 患者およびその他の免疫不全患者における新規診断法による真菌症対策, Maria Luiza Moretti 教授 (ブラジルカンピーナス大学医学部).
- 3) 田口英昭 (代表): シード化合物の抗真菌効果, 朴鍾喆 教授 (韓国延世大学医学部).
- 4) 豊留孝仁: 分子生物学的手法を用いたアスペルギルス症発症機構解明へのアプローチ, Nancy P. Keller 教授, アメリカ合衆国, ウィスコンシン大学マディソン校医学公衆衛生学部 (日本学術振興会・組織的な若手研究者等海外派遣プログラム「慢性疾患の革新的包括マネジメント実現へ向けた国際的医薬看研究者育成プログラム」).

2. 共同利用・共同研究以外の国内共同研究

- 1) 渡辺 哲 (研究主幹), 亀井克彦: 深在性酵母感染症の原因菌種と薬剤耐性状況の多施設調査: 東関東耐性菌研究会.

国際交流

1. 海外渡航

- 1) 豊留孝仁: アメリカ合衆国, ウィスコンシン大学マディソン校医学公衆衛生学部, Nancy P. Keller 教授, 共同研究・研修, 1月30日～3月31日, 2011. (日本学術振興会・組織的な若手研究者等海外派遣プログラム)
- 2) 田口英昭: サンパウロ, ブラジル連邦共和国, JST-JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力事業. 3月8日～27日, 2011.
- 3) 豊留孝仁: アメリカ合衆国, ウィスコンシン大学マディソン校医学公衆衛生学部, Nancy P. Keller 教授, 共同研究・研修, 4月7日～6月9日, 2011. (日本学術振興会・組織的な若手研究者等海外派遣プロ

ラム)

- 4) 村長保憲: サンパウロ, ブラジル連邦共和国, JST-JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力事業. 7月3日～8月5日, 2011.
- 5) 村長保憲: サンパウロ, ブラジル連邦共和国, JST-JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力事業. 11月2日～12月17日, 2011.
- 6) 田口英昭: サンパウロ, ブラジル連邦共和国, JST-JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力事業. 11月14日～12月17日, 2011.
- 7) 亀井克彦: サンパウロ, ブラジル連邦共和国, JST-JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力事業. 11月20日～28日, 2011.

2. 海外研究者受け入れ

- 1) Maria Luiza Moretti 教授 (ブラジル連邦共和国): JST-JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力事業. 2月3日～2月28日, 2011.
- 2) Sandra Bonon 研究員 (ブラジル連邦共和国): JST-JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力事業. 2月3日～2月28日, 2011.
- 3) Angelica Zaninelle Schreiber 助教 (ブラジル連邦共和国): JST-JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力事業. 5月22日～6月23日, 2011.
- 4) Plinio Trabasso 准教授 (ブラジル連邦共和国): JST-JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力事業. 10月3日～11月2日, 2011.

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 亀井克彦: 真菌 2 座長. 第 22 回臨床微生物学会総会, 岡山, 1月8日, 2011.
- 2) 亀井克彦: 指導・助言. ムーコル真菌による感染症再発防止会議, 市川, 2月10日, 2011.
- 3) 小川賢二, 亀井克彦, 森 雅亮: ジェネラルセッション 真菌症の画像診断ーコツとピットフォールー座長/オーガナイザー 第 9 回キャンディン研究会, 東京, 3月5日, 2011.
- 4) 亀井克彦: ランチョンセミナー 10 司会. 第 85 回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85 (臨増), 東京, 4月22日, 2011.
- 5) 渡邊邦友, 亀井克彦: シンポジウム 3 基礎と臨床

の融合司会。第 85 回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85 (臨増): p.101, 東京, 4 月 22 日, 2011.

- 6) Kamei K: Convener: Evening Seminar: Diagnostics for Fungal Infection IUMS 2011, Sapporo, Japan, Sep 5 ~ 11, 2011.
- 7) Kamei K: Convener: Epidemiology, UMS 2011, Sapporo, Japan, Sep 5 ~ 11, 2011.
- 8) 亀井克彦: 教育セミナー (ランチョンセミナー) 座長. 第 32 回関東医真菌懇話会, 東京, 5 月 21 日, 2011.
- 9) 渡辺 哲: ポスター L 適正使用 (8) 座長. 第 59 回日本化学療法学会総会, 札幌, 6 月 24 日, 2011.
- 10) 亀井克彦: 一般講演 1 座長. 第 1 回千葉県真菌症研究会学術講演会, 千葉, 7 月 16 日, 2011.
- 11) 渡辺 哲: 特別講演座長. 第 1 回千葉県真菌症研究会学術講演会, 千葉, 7 月 16 日, 2011.
- 12) 亀井克彦, 磯沼 弘: 基礎・臨床セミナー 4「接合菌と接合菌症」座長. 第 55 回日本医真菌学会総会, 東京, 10 月 22 日, 2011.
- 13) 二木芳人, 亀井克彦: ランチョンセミナー 2「アスペルギルス症: 最近の進歩」座長. 第 55 回日本医真菌学会総会, 東京, 10 月 22 日, 2011.
- 14) 木村正友, 渡辺 哲: アスペルギルスの基礎と臨床 (2) 座長. 第 55 回日本医真菌学会総会, 東京, 10 月 22 日, 2011.
- 15) 渡辺 哲: 代表世話人. 第 9 回千葉県真菌症カンファランス, 千葉, 11 月 18 日, 2011.

教育活動

講義

- 1) 亀井克彦: 1) 千葉大学医学部 (細菌学), 2) 千葉大学医学部 (感染症ユニット), 3) 千葉大学看護学部 (病態学 II 微生物学・免疫学), 4) 千葉大学大学院医学薬学府博士課程 (特別講義「医学研究序説・生命倫理学特論」), 5) 千葉大学大学院医学薬学府博士課程 (真菌感染症学), 6) 千葉大学大学院医学薬学府修士課程 (基礎医科学), 7) 東京医科大学 (微生物学), 8) 福島県立医科大学 (微生物学), 9) 長崎大学熱帯医学研究所熱帯医学研修課程 (熱帯医学特論), 10) 長崎大学大学院医歯薬学総合研

究科熱帯医学専攻修士課程 (真菌症), 11) 金沢医科大学大学院医学研究科平成 23 年度医学研究セミナー (環境皮膚科学).

- 2) 田口英昭: 普遍教育【教養展開科目 (コア F 関連)】真菌 (かび) と人との関わり合い第 14 回「真菌症と抗真菌薬」.
- 3) 渡辺 哲: 1) 千葉大学医学部 (感染症ユニット), 2) 千葉大学医学部 (検査部実習), 3) 千葉大学医学部 (臨床入門).

社会的活動

- 1) 亀井克彦: テレビ: テレビ朝日『やじうまテレビ!』きのこと感染症. 2011 年 11 月 3 日放送.
- 2) 亀井克彦: ラジオ: CBC ラジオ 多田しげおの気分爽快〜朝から P. O. N「情報サプリメント」 「クリプトコッカス症とは!?」. 2011 年 12 月 13 日放送.
- 3) 亀井克彦: 医学新聞: (株) メディカルトリビューン 急増する輸入真菌症 (コクシジオイデス症, ヒストプラズマ症) について, (時事通信を通じて以下の地方紙に配信).

掲載地方紙

- 1) 「症状出たら受診を 感染力強い輸入真菌症 帰国後にせきや発熱など」. 十勝毎日新聞 19 面, 2011 年 8 月 22 日発行.
- 2) 「感染力強く, 命の危険も 輸入真菌症 帰国後症状出たら受診を」. 琉球新報 12 面, 2011 年 8 月 23 日発行.
- 3) 「帰国後の症状に注意 感染力強い輸入真菌症 せきや熱高齢者は再発も」. 陸奥新報 9 面, 2011 年 8 月 25 日発行.
- 4) 「帰国後に症状出たら受診を 感染力強い輸入真菌症 せきや熱など」. 苫小牧民報 7 面, 2011 年 8 月 31 日発行.
- 5) 「感染力強い輸入真菌症 せきや熱帰国後に症状出たら受診を」. 釧路新聞 8 面, 2011 年 9 月 3 日発行.
- 6) 「輸入真菌症 国内菌より強い感染力」. 茨城新聞 11 面, 2011 年 9 月 22 日発行.

センター講習会

- 1) 亀井克彦: 第 25 回病原真菌講習会講師「真菌感染症概論」(講義), 「バイオハザード」(講義), 「補助診断法」(講義), 6 月 28 ~ 7 月 1 日, 2011.

- 2) 田口英昭: 第 25 回病原真菌講習会講師「補助診断法」(講義), 6月28～7月1日, 2011.
- 3) 渡辺 哲: 第 25 回病原真菌講習会講師「臨床材料の取り扱い」(講義), 「薬剤感受性試験法」(実習), 「測定と解析」(実習), 6月28～7月1日, 2011.
- 4) 鎗田響子: 第 25 回病原真菌講習会講師「薬剤感受性試験法」(実習), 「測定と解析」(実習), 6月28～7月1日, 2011.

講演など

- 1) 渡辺 哲: 病院改築時のアウトブレイクを防ぐには?～留意すべき感染症とその対策～. 感染症治療学術講演会, 静岡, 1月19日, 2011.
- 2) 亀井克彦: 今日の肺真菌症とその行方. 第 26 回静岡呼吸器感染症談話会, 浜松, 2月5日, 2011.
- 3) 亀井克彦: 抗真菌薬と耐性状況. 平成 22 年度東関東耐性菌研究会総会, 千葉, 4月2日, 2011.
- 4) 亀井克彦: 真菌症診療の基礎と pitfalls. 信濃町感染症研究会, 東京, 4月27日, 2011.
- 5) 渡辺 哲: 血液内科領域における感染対策～薬剤耐性と臨床的な意義も含めて～. Antifungal Therapy Master Class Program, 東京, 5月14日, 5月28日, 6月11日, 2011.
- 6) 渡辺 哲: 抗菌薬をつかうとき, つかわないとき. 中央千葉感染症カンファレンス, 千葉, 6月30日, 2011.
- 7) 亀井克彦: 真菌症そのピットフォールとトピックス. 岡山院内感染対策セミナー, 岡山, 9月22日, 2011.
- 8) 渡辺 哲: 血液内科領域における感染対策～薬剤耐性と臨床的な意義も含めて～. Antifungal Therapy Master Class Program, 大阪, 9月24日, 2011.
- 9) 渡辺 哲: 内科領域における深在性真菌症に対する総合戦略～血液内科, 呼吸器内科を中心に～. 真菌感染症フォーラム in 旭, 千葉, 10月3日, 2011.
- 10) 渡辺 哲: 血液内科領域における深在性真菌症とその対策について. 第 6 回血液疾患セミナー, 名古屋, 11月10日, 2011.
- 11) 亀井克彦: もっと知りたくなる真菌感染症へのアプローチ. 第 17 回東北院内感染対策研究会, 仙台, 11月5日, 2011.
- 12) 渡辺 哲: 市中肺炎ガイドラインとキノロン系抗真菌薬. 感染症セミナー「市中肺炎の診断・治療につい

て」, 千葉, 11月11日, 2011.

- 13) 渡辺 哲: 深在性糸状菌感染症の診断と治療～非アスペルギルス属菌も含めて～. ブイフェンド Web シンポジウム, 千葉, 11月15日, 2011.
- 14) 渡辺 哲: 臨床現場におけるキュービシンの位置付け～MRSA 感染症の現状を踏まえて～. 千葉県キュービシンシンポジウム, 千葉, 11月21日, 2011.
- 15) 渡辺 哲: 血液内科における糸状菌感染症の現状とその対策について. 真菌感染症フォーラム in 成田赤十字病院, 成田, 11月30日, 2011.

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 亀井克彦 (分担): 厚生労働科学研究費補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「真菌感染症の病態解明に基づく検査・治療法の確立と国内診断・治療ネットワークの構築に関する研究」(平成 22～24 年度), 平成 23 年度は 170 万円 (間接経費 0 円).
- 2) 豊留孝仁 (代表): 科学研究費補助金 (若手研究 B) 「*Aspergillus fumigatus* 各形態を認識する宿主因子の探索」(平成 20～22 年度), 平成 23 年度は 100 万円 (間接経費 30 万円).

その他の外部資金

- 1) 亀井克彦 (代表): 独立行政法人科学技術振興機構地球規模課題対応国際科学技術協力事業・感染症「AIDS 患者およびその他の免疫不全患者における新規診断法による真菌症対策」(平成 21～24 年度), JST 予算平成 23 年度は 18,423 千円 (間接経費 5,526.9 千円), JICA 予算平成 22 年度～23 年度上期は 55,445,158 円, 平成 23 年度下期～24 年度は 38,308,391 円.
- 2) 亀井克彦 (分担): 独立行政法人科学技術振興機構研究成果展開事業 研究成果展開支援プログラム A-STEP フィージビリティスタディ【FS】ステージ 探索タイプ「培養法によらない真菌同定検査キットの開発」(平成 23 年度), 平成 23 年度は 538,462 円 (間接経費 161,538 円).
- 3) 亀井克彦: 奨学寄附金「真菌症の発生病序及び治療法の研究」および、「真菌症の診断及び治療法の研究」, 5 社から総額 650 万円.

- 4) 渡辺 哲: 奨学寄附金「病院内深在性真菌症の発症要因に関する研究」, 1社から40万円.
- 5) 豊留孝仁: 日本学術振興会「組織的な若手研究者等

派遣プログラム: 慢性疾患の革新的包括マネジメント実現へ向けた国際的医薬看研究育成プログラム」.

微生物資源分野 五ノ井 PI

(Division of Bio-resources, Gono PI Project [Project to Carbohydrate - Receptor Interaction in Fungal Infection])

教授：五ノ井 透

- 学内委員 大学院医学薬学府（医学系運営）委員会委員，大学院融合科学研究科教授会委員，光熱水料削減プロジェクト部局リーダー，情報化推進企画室図書館専門部会亥鼻分館分科会委員，亥鼻地区危険物専門部会委員長，平成 24 年度千葉大学科学研究費補助金申請に係る支援教員
- センター内委員 運営協議会委員，教員会議委員，図書 WG 長，クリスマス部局システムマネージャー，自己点検・評価委員会委員，倫理審査委員会委員
- 学協会への貢献 日本放線菌学会理事，日本細菌学会関東支部会評議委員
- 国および地方公共団体への貢献 「JICA/JST 地球規模課題対応国際科学技術協力事業」専門家
- 所属学会 日本医真菌学会，日本微生物資源学会，日本細菌学会，日本放線菌学会，日本分子生物学会，日本ゲノム微生物学会

助教：大荒田素子

- センター内委員 放射線同位元素委員，実験動物委員
- 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，日本過酸化脂質・抗酸化物質学会
- 学協会への貢献 日本過酸化脂質・抗酸化物質学会幹事

技術職員（医学薬学府博士課程）：松澤哲宏

特任教員：酒井香奈江（2010. 4～）

特任教員：高橋（中口）梓（2011. 2～）

非常勤講師：鈴木健一郎（独立行政法人製品評価技術基盤機構）

実験補助員：土屋由紀子

大学院融合科学研究科博士課程：芝崎あずさ（～2011. 3）

大学院医学薬学府博士課程：Yordan Khaedir

大学院医学薬学府博士課程：清宮康子

大学院医学薬学府修士課程：三浦あゆみ

園芸学部学生 4 年：野中恵里香

研究概要（共同研究を含む）

1. 病原真菌 *Aspergillus fumigatus* の病原性発現機構の解明

アスペルギルス属菌の病原性発現機構を解明する目的で，宿主側の糖鎖と菌側のレクチン等糖鎖受容体の相互作用について分子レベルで解析し，それらの感染発症と播種における役割について検討を行っている．現在までに，アスペルギルス・フミガタスにおいて，糖鎖認識モチーフを持つ複数の遺伝子を破壊し，破壊株をマウスに接種することで，病原性発現における各遺伝子産物の関与について検討を行ってきた．その結果，特に Afu2gl2180 遺伝子の破壊によって，マウスの致死性が著しく上昇することを見出した．現在，当遺伝子の破壊により菌に起こる変化について生理学・形態学・生化学的な解析を行い，また宿主に起こる病態変化について，組織化学的・免疫学的な解析を進め，病原性発現・昂進機構の解明を進めている．

2. 栄養と病原真菌感染防御能に関する研究

栄養が宿主の生理機能の変調を介して，感染防御能に及ぼす影響について明らかにする．本年度は，現代人にありがちな不規則な食生活とタンパク質の過剰摂取が，肝臓に及ぼす影響について検討した．実験モデルとして，軽度に絶食したマウスを高タンパク質食で復食させると，急性肝細胞障害が生じた．障害の程度は，餌のタンパク質含量に比例した．一方，高炭水化物食による復食では，急性肝細胞障害は確認されなかった．この結果から，乱れた食生活が肝細胞障害を引き起こし，肝臓を標的臓器とする病原菌の抗菌活性能に影響を及ぼすことが示唆された．

3. 真菌 DNA を ADP リボシル化する酵素に注目した用いた新規抗真菌薬の開発研究

ピエリシンは，当初モンシロチョウから見つかった哺乳類細胞の DNA を ADP リボシル化する酵素であるが，

我々は本酵素の活性類似物が病原放線菌ノカルジアのゲノム上にも存在し、また真菌に対しても抗菌活性を持つことを発見した。アスペルギルスなどの真菌に特異的に感染するウイルスをベクターとして用い、本酵素を遺伝子組み換え株に導入して、新しい抗真菌剤が開発できないか検討し、実験を行なっている。

4. 次世代シーケンサーを用いたアスペルギルス・フミガタスの病原性発現解析

次世代シーケンサーを用い、性質の異なる患者や環境に由来するアスペルギルス・フミガタス菌株のゲノム解析および遺伝子発現解析を表現型との比較において研究している。

5. 真菌細胞表面糖鎖の解析

真菌細胞表面の糖鎖は、真菌を外部の物理的な圧力から守り、バイオフィルムの形成に関わるなど様々な環境中での棲息を可能にする。しかし今日まで、自然界に生息する多くの真菌表面糖鎖について、系統学を考慮した広範な解析はほとんど行われて来なかった。我々は、糖鎖結合特異性の異なるレクチン 43 種をスライドガラスに貼り付けたレクチン・マイクロアレイを用いて、病原性酵母を中心とした細胞表面糖鎖の種類を真菌の門、亜門、属、種を横断的に解析した。その結果これまでに、門・亜門に共通である、また種間でも異なるなど、真菌表面糖鎖の相似性と多様性についての新しい知見を得、論文として発表した。

6. DNA マイクロアレイを用いた真菌同定システムの開発

真菌に感染した場合、その原因菌に対する適切な治療を早く開始することが重要である。しかし、現状では感染菌の同定には時間のかかる菌の培養や特別な機器を必要とする PCR・シーケンスなどが主に行われている。そこで可視化 DNA マイクロアレイを用い、短時間で簡便に病原真菌等の酵母・カビを同定できるシステムの開発を目指している。

7. 病原放線菌のゲノム解析（二次代謝産物生合成遺伝子、病原因子の解析）

本センターで患者から単離同定した *Nocardia brasiliensis*, *Nocardia otitidiscaviarum*, *Nocardia terpenica* その他の菌株に

ついて次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を行い、二次代謝産物生合成遺伝子クラスターの解析や病原因子の探索を進めている。これらの研究は、新規化合物の探索やその生合成経路の解明、放線菌の仲間による感染症の予防や治療に役立つと期待され、また本センターの保存菌株の資源価値を高めるものである。

研究成果の発表

1. 原著論文

◎印は PI プロジェクト関連の論文を示す。

英文

- 1) ◎ Shibazaki A, Tateno H, Ando A, Hirabayashi J, Gono T: Profiling the cell surface glycome of live fungi using lectin microarray. *J Carbohydrate Chemistry* 30: 147-164, 2011. (査読有)
- 2) ◎ Oarada M, Tsuzuki T, Nikawa T, Kohno S, Katsuya Hirasaka K, Gono T: Refeeding with a high-protein diet after a 48 h fast causes acute hepatocellular injury in mice. *Brit J Nutr* 2011 Sep9: 1-10. [Epub ahead of print] (査読有)
- 3) ◎ Tateno H, Yabe R, Sato T, Shibasaki A, Shikanai T, Gono T, Narimatsu H, Hirabayashi J: Human ZG16p recognizes pathogenic fungi through non-self polyvalent mannose in the digestive system. *Glycobiology* 2011 Sep5. [Epub ahead of print] (査読有)
- 4) Imai K, Koibuchi T, Kikuchi T, Koga M, Nakamura H, Miura T, Gono T, Yazawa K, Iwamoto A, Fujii T: Pulmonary nocardiosis caused by *Nocardia exalbida* complicating *Pneumocystis pneumonia* in an HIV-infected patient. *J Infect Chemother* 17: 547-51, 2011. (査読有)
- 5) Takahashi Y, Kubota T, Shibasaki A, Gono T, Fromont J, Kobayashi J: Nakijinamines C-E, new heteroaromatic alkaloids from the sponge *Suberites* species. *Org Lett* 13: 3016-9, 2011. (査読有)
- 6) Tanaka N, Mamemura T, Shibasaki A, Gono T, Kobayashi J: Yojironins E-I, prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum yojiroanum*. *Bioorg Med Chem Lett* 21 5393-7, 2011. (査読有)
- 7) Shibasaki A, Omoto Y, Kudo T, Yaguchi T, Saito A, Ando A, Mikami Y, Gono T: *Streptomyces*

coacervatus sp. nov. isolated from the intestinal tract of *Armadillidium vulgare*. Int J Syst Evol Microbiol 61: 1073-1077, 2011. (査読有)

- 8) Kohno S, Ueji T, Abe T, Nakao R, Hirasaka K, Oarada M, Harada-Sukeno A, Ohno A, Higashibata A, Mukai R, Terao J, Okumura Y, Nikawa T: Rantes secreted from macrophages disturbs skeletal muscle regeneration after cardiotoxin injection in Cbl-b-deficient mice. Muscle Nerve 43: 223-229, 2011. (査読有)

2. 学会シンポジウム・研究集会での招待講演

- 1) Matsuzawa T. Taxonomy of pathogenic *Aspergillus fumigatus* and relatives, and *Emericella* species.

3. 一般発表

国際学会

- 1) Nonaka E, Sakai K, Gonoï T: Screening and partial characterization of lectins from *Aspergillus fumigatus*. International Union of Microbiology Symposium, Sapporo. September 6-16, 2011.
 - 2) Komaki H, Ichikawa N, Hosoyama, A, Sekine M, Tamura T, Yamazaki S, Takahashi A, Matsuzawa T, Gonoï T, Suzuki K, Fujita. Intrageneric diversity of type-I polyketide synthase genes in the genus *Nocardia*. International Union of Microbiology Symposium, Sapporo. September 6-16, 2011.
 - 3) Sakai K, Oarada M, Miura A, Gonoï T: Functional analysis of lectins in *Aspergillus fumigatus*. International Union of Microbiology Symposium, Sapporo. September 6-16, 2011.
 - 4) Kang Y, Kumar, G, Menon T, Prabu D, Sugita T, Mikami Y, Gonoï T: *Cryptococcus cassiae* sp. nov., a basidiomycetous yeast isolated from bark debris of a cinnamon tree in India. International Union of Microbiology Symposium, Sapporo. September 6-16, 2011.
 - 5) Komaki H, Ichikawa N, Hosoyama A, Takahashi A, Matsuzawa T, Suzuki K, Fujita N, Gonoï T. A genome-wide analysis of type-I polyketide synthase and nonribosomal peptide synthetase gene clusters in the genus *Nocardia*. 16th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, Puerto Vallarta, Mexico Dec. 11-15, 2011.
- ### 国内学会
- 1) 岡 千寿, 五ノ井 透, 前田 浩: DNA マイクロアレイ関連技術の開発. 産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会, つくば市. 2月11日, 2011.
 - 2) 松澤哲宏, 矢口貴志, 堀江義一, 五ノ井 透, Paride Abliz, Galba Takaki: ヘテロタリック *Neosartorya* の1新種とその子のう胞子から発芽生育した集落のアナモルフの多様性. 日本菌学会第55回大会, 札幌市. 9月10~11日, 2011.
 - 3) 松澤哲宏, 堀江義一, 五ノ井 透, Abliz Paride, Takaki Galba, 矢口貴志: アスペルギルス症原因菌 *Aspergillus lentulus* のテレオモルフの遺伝的性質と薬剤感受性. 第55回日本医真菌学会総会, 東京都. 10月21~22日, 2011.
 - 4) 沼田茂樹, 早皮 敏, 五ノ井 透, 沼田時男, 松永佳世子: ヨウ化カリウムが著効した *Nocardia brasiliensis* による皮膚ノカルジア症の1例. 日本皮膚科学会東海地方会, 岡崎市. 9月4日, 2011.
 - 5) 杉山賢明, 五ノ井 透, 安田一行, 鈴木志穂, 時沢亜佐子, 渡辺 丞, 澤田 徹, 金城俊一, 福本泰三, 石垣昌伸: *Nocardia cyriacigeorgica* の検出された急性呼吸促進症候群 (ARDS) の一例. 239 会 日本内科学会九州地方会例会, 長崎. 5月28日, 2011.
 - 6) 萩原大祐, 五ノ井 透, 川本 進: 病原真菌 *Aspergillus fumigatus* における浸透圧応答経路の機能解析. 糸状菌分子生物コンファレンス, 東京都. 11月16~17日, 2011.
 - 7) 堀江義一, 松澤哲宏, 五ノ井 透, Abliz Paride, Galba Takaki, 矢口貴志: アスペルギルス症原因菌 *Aspergillus lentulus* のテレオモルフの発見とそのアナモルフの多様性. 第55回日本医真菌学会総会, 東京都. 10月21~22日, 2011.
 - 8) 鈴木智香子, 篠田大介, 下田陽也, 早稲田のぞみ, 清佳浩, 松澤哲宏, 五ノ井 透 (2011, Oct 21-22). 臀部に生じた原発性皮膚ノカルジア症の1例. 第55回日本医真菌学会総会, 東京都. 10月21~22日, 2011.
 - 9) 高橋 梓, 五ノ井 透: 病態の異なる患者から分離された *Aspergillus fumigatus* 株の表現型の比較. 日本細菌学会関東支部会 インターラボ・セミナー 東京都・国立感染症研究所 12月10日, 2011.

- 10) 酒井香奈江: *A. fumigatus* におけるレクチン様タンパク質の機能解析. 日本細菌学会関東支部会 インターラボ・セミナー 東京都・国立感染症研究所 12月10日, 2011.

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 五ノ井 透: インドネシアにおける真菌症について (文部科学省科学研究費補助金), Khaedir Y, Tanaka R, Tarini A, Retno Wahyuningsih 教授, Dra Ridhawati 研究員, インドネシア大学ほか.
- 2) 五ノ井 透, 酒井香奈江, 松澤哲宏: AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における新規診断法による真菌症対策プロジェクト (JICA/JST 科学技術振興機構補助金), Plínio Trabasso 准教授, Maria Luiza Moretii 教授,カンピーナス大学, ブラジル.
- 3) 五ノ井 透, 矢口貴志, 横山浩治, 松澤哲宏, 山口正視, 川本 進, 野本明男: Molecular characterization and detection of mycotoxin producing genes in mycotoxigenic fungi from Kenyan cereals (長崎大学共同研究補助金), ケニア国ナイロビ大学, Kenya Medical Research Institute, 長崎大学熱帯医学研究所.
- 4) 五ノ井 透, 矢口貴志, 横山浩治, 松澤哲宏, 山口正視, 川本 進, 野本明男: Phenotypic, molecular characterization and drug susceptibility of *Cryptococcus* and *Candida* spp. from provincial hospitals in Kenya. ケニア国ナイロビ大学, Kenya Medical Research Institute, 長崎大学熱帯医学研究所.

2. 共同利用・共同研究以外の国内共同研究

- 1) 高橋 梓, 五ノ井 透: 抗菌活性をもつ新規化合物の探索. 北海道大学大学院薬学研究科.
- 2) 高橋 梓, 五ノ井 透: 抗真菌活性を持つ化合物の探索. 国立がんセンター腫瘍生化学研究室.

国際交流

1. 海外渡航

- 1) 五ノ井 透: ケニア 2011年2月7~12日 長崎大学熱帯医学研究所ケニア拠点, ナイロビ大学, Kenya Medical Research Institute.

- 2) 五ノ井 透: ブラジル, カンピーナス市, AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における新規診断法による真菌症対策プロジェクト 2010年4月26~5月2日 (JICA/JST 科学技術振興機構補助金).
- 3) 五ノ井 透, ブラジル, カンピーナス市, AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における新規診断法による真菌症対策プロジェクト 2011年7月3~24日 (JICA/JST 科学技術振興機構補助金).
- 4) 松澤哲宏, 酒井香奈江, ブラジル, カンピーナス市, AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における新規診断法による真菌症対策プロジェクト 2011年7月3~8月5日 (JICA/JST 科学技術振興機構補助金).

2. 海外研究者受け入れ

- 1) Yordan Khaedir (インドネシア, インドネシア大学医学部) 2008年10月~ (文部科学省) 国費留学生 (五ノ井 透).
- 2) Plinio Talabasso 准教授 (ブラジル, カンピーナス大学) 2011年10月15~11月3日 (松澤哲宏, 五ノ井 透).

教育活動

学位指導

- 1) 大学院融合科学研究科博士課程: 芝崎あずさ.

講義

- 1) 五ノ井 透: 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).
- 2) 五ノ井 透: 千葉大学大学院融合科学研究科授業「微生物資源応用学」.
- 3) 五ノ井 透: 千葉大学園芸学部授業「病原放線菌」.
- 4) 五ノ井 透: 千葉大学薬学部授業「病原放線菌」.
- 5) 五ノ井 透, 大荒田素子: 千葉大学普遍教育 (真菌 (カビ) と人との関わり合い).

社会活動

センター講習会

- 1) 五ノ井 透: 第24回病原真菌講習会講師「病原性放線菌」(講義), 7月30~8月3日, 2010.

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 五ノ井 透 (代表): 基盤研究 B 21406003 海外学術調査 エイズ高度汚染地域における病原真菌・放線菌の採集・調査とその資源化, 平成 21 ~ 23 年度. (平成 23 度, 直接経費 300 万円, 間接経費 90 万円).
- 2) 大荒田素子 (代表): 科学研究費補助金 (基盤研究 C) 「免疫 (感染防御) システムに有利なタンパク質摂取法の解明」平成 21 ~ 23 年度 (平成 23 年度, 直接経費 120 万円, 間接経費 36 万円).

その他の外部資金

- 1) 五ノ井 透 (分担): 長崎大学共同利用研究「熱帯地域, 特にアフリカおよびベトナムで発生している真菌症・放射菌症の原因菌の収集と形態的, 生理学的, 分子生物学的解析」平成 22 ~ 24 年度.
- 2) 五ノ井 透 (分担): 地球規模課題対応国際科学技術協力事業 AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における新規診断法による真菌症対策プロジェクト, 平成 22 ~ 24 年度.
- 3) 五ノ井 透 (分担): 平成 23 年度概算要求『基盤的設備等』アスペルギルス症を中心とした新興真菌症制圧プロジェクト」(H23 ~ H28, 文部科学省).
- 4) タンパク質発現解析研究補助金.
- 5) 感染症診断研究補助金.

微生物資源分野 横山PI (形態変換・細胞質遺伝解析) プロジェクト

(Department of Mycosis Research, Division of Bio-resources [Morphogenesis, Cytoplasmic Inheritance Project])

准教授: 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, 亥鼻地区ネットワーク連絡会議委員, 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, 日本マイコトキシン研究会幹事
- センター内委員 教員会議委員, 改組実行委員会委員, 総務委員会委員, 共用備品委員会委員, 共同利用・共同研究委員会委員, 微生物, 保存管理施設委員会委員, 広報委員会委員, 自己点検・評価委員会委員, 地域連携委員会委員, 個人評価WG委員, 光熱水量削減プロジェクトWG委員, 次世代型シーケンサー機評価委員, ISOユニット長
- 学協会への貢献 日本医真菌学会評議員, 日本マイコトキシン学会幹事
- 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, 日本マイコトキシン学会, International Society of Human and Animal Mycology

非常勤講師: 村山琮明 (日本大学薬学部 准教授)

非常勤講師: 高橋治男 (国立医薬品衛生研究所・協力研究員)

大学院生: 医学研究科博士課程 劉 瑩

研究概要 (共同研究を含む)

1. 病原真菌, マイコトキシン産生菌及び関連菌の疫学的, 生態学的研究

中国との共同研究において収集した病原真菌, マイコトキシン産生菌のチトクローム *b* 遺伝子を主に解析し, 地域特性, 疫学的研究を進めている. 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」(平成18年度~平成20年度)で収集した菌株の解析により, 病原真菌の疫学的, 地域的特性をチトクロ-

ム *b* 遺伝子解析とより詳細な解析の為に全ミトコンドリア遺伝子解析を計画している. 解析には学長裁量経費により設置された次世代型 DNA シーケンサーを用いて行っている. マイコトキシン産生菌の生態に関しては, 中国及び国内マイコトキシン研究者との共同で土壌及び作物から分離した菌のチトクローム *b* 遺伝子解析を進めている. (横山耕治, 高橋治男, 王 麗)

2. *Aspergillus section Nigri* のチトクローム *b* 遺伝子解析

病原菌でもあり, 醸造, 工業微生物, 環境菌, さらに, マイコトキシン産生菌を含む *Aspergillus section Nigri* の菌属を中心に解析を行った. 本属菌は多くの種を含み形態的な特徴も乏しいため DNA 塩基配列による分類解析が重要である. 健康に関連している環境菌やマイコトキシン産生菌の DNA 型解析を進めている.

a. 中国, 国内土壌及び環境, 作物より分離した *Aspergillus section Nigri* の遺伝子解析

吉林大学・白求恩医学部との共同研究, マイコトキシン研究者との共同研究により, 中国各地の土壌からの分離菌, 国内ぶどう園の土壌, 浮遊菌より, *Aspergillus section Nigri* を分離し遺伝子解析を行った. 土壌と作物から分離される菌種の違い, 遺伝子型の違いなど幾つかの特徴が見いだされた.

b. 醸造用黒麹株の遺伝子解析

沖縄のトロピカルテクノセンターとの共同研究により, 沖縄の泡盛製造工場の協力を得て, 泡盛製造に用いられる *Aspergillus section Nigri* の遺伝子解析を行った. 現在使用されている醸造用の黒麹とマイコトキシン産生菌との遺伝子的な違いが見出され, マイコトキシンを産生する遺伝子型であっても, マイコトキシンを産生していないなど二次代謝産物であるマイコトキシンの産生に関わる遺伝子の解析など多くの問題が見出された. (横山耕治, 王 麗, 高橋治男)

3. 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-

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。生物におけるミトコンドリア遺伝子と核遺伝子の組み合わせでより精度の高い分類が出来ると共に遺伝子の進化と進化における生物の形態の保存性の関係を明らかにして、真菌の進化の謎を解明する。(横山耕治, 高橋治男, 王麗, Biswas KS)

4. 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, 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。このため形態変換能を示す *Candida tropicalis* や二形性を示す病原真菌との遺伝子, 遺伝子発現の研究に関して新たな解析方法を検討して形態形成機構と真菌の病原性を明らかにする必要がある。真菌における形態形成は, 細胞壁合成に依存しているので壁合成制御のメカニズム解明が要になると考えている。この細胞壁合成の鍵となっている微細繊維の重合, 脱重合の制御と細胞内イオンの動向を明らかにする。(横山耕治, 岩口伸一, 村山琮明)

5. *Aspergillus niger* の病原性について

病原性が弱く極まれにしか感染を起こさない *A. niger* の病原性について, 動物実験から調べ, 日和見感染の仕組みや, 感染のメカニズムを病原性の弱い本菌から明らかに出来るのではないかと考えた。本菌のマイコトキシン産生性を調べ, 産生株と非産生株の病原性比較を行っている。(横山耕治, 岩口伸一)

研究成果の発表

1. 一般発表

国際学会

- 1) Yokoyama K, Liu Y, Wang L, Kumeda Y, Hashimoto R, Takahashi H: DNA typing and SEM observation of conidial wall of black-koji molds *Aspergillus* section

Nigri. International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2011 Congress, September 9, 2011, Sapporo (Poster Presentation).

- 2) Takahashi H, Hashimoto R, Onji Y, Asano K, Takino M, Tabata S, Yokoyama K: Mycotoxin production and DNA typing of *Aspergillus niger* and related species including black-koji molds. International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2011 Congress, September 9, 2011, Sapporo (Poster Presentation).
- 3) Kaneko S, Tanaka H, Kimura T, Takeuchi T, Kiuchi M, Iwaguchi S, Yokoyama K, Suzuki T: Physiological activity of microbial volatile organic compounds (MVOCS) as a growth regulator in the soil-derived fungal organisms. International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2011 Congress, September 9, 2011, Sapporo (Poster Presentation).
- 4) Wang L, He D, Zhang Y, Yokoyama K, Li G, Gao L: An improved *Agrobacterium*-mediated transformation system of the pathogenic fungus *Sporothrix schenckii*. International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2011 Congress, September 9, 2011, Sapporo (Poster Presentation).

国内学会

一般講演

- 1) 陰地義樹, 橋本ルイコ, 浅野勝佳, 滝埜昌彦, 各務清美, 田端節子, 久米田裕子, 横山耕治, 高橋治男: *Aspergillus niger* および亜あその近接種のフモニシン産生. 日本マイコトキシン学会第 69 回学術講演会, 2011 年, 1 月 7 日, タワーホール船堀.
- 2) 橋本真帆, 岩口伸一, 横山耕治, 村山そう明, 鈴木孝仁: 病原真菌 *Candida albicans* の核相変換関連遺伝子. *Med Mycol J* Vol. 52, p. 97. Supplement 1, 2011.

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 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).
- 2) 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 モレハウス医科大学).
- 3) 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).

- 4) 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).
- 5) 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, 席麗艶 教授 (中国広州 中山大学).
- 6) 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).

国際交流

1. 海外渡航

- 1) 横山耕治: ケニア共和国, ナイロビ, ビッタ, ブシア, 長崎熱帯医学研究センターとの共同研究 平成23年2月7日~12日.
- 2) 横山耕治: ベトナム社会主義共和国, ホーチミン, カントー, バンメトート, コーヒー農園視察, コーヒー製造所の視察および資料採取, 共同研究打ち

合わせ (飯島記念財団研究助成) 平成23年10月8日~14日.

2. 海外研究者の受け入れ

横山耕治

- 1) 王麗 教授 (中国吉林大学), 2011年9月4日~9月11日, 共同研究.

教育活動

講義

- 1) 横山耕治: 医学部4年次医学生命科学特論.
- 2) 横山耕治: 大学院医学薬学府修士課程 生体防御医学特論.
- 3) 横山耕治: 普遍教育 カビと人との関わり.

外部資金

- 1) 飯島記念財団研究助成金 (共同研究: 代表400万円).

微生物資源分野 バイオリソース管理室

(Division of Bio-resources, Management unit)

准教授：矢口貴志

- 学内委員 生涯学習推進委員会委員
- センター内委員 教員会議委員，共同備品委員会委員，共同利用研究委員，病原体等安全管理委員会委員，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，防災委員会委員，改組実行委員会委員，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 日本菌学会理事・編集委員長
- 所属学会 日本菌学会，日本医真菌学会，日本微生物資源学会，日本食品微生物学会，日本臨床微生物学会，日本感染症学会，日本顕微鏡学会，マイコトキシン学会，Mycological Society of America

助教：田中玲子

- 学内委員 放射性同位元素委員会委員，放射性同位元素委員会専門委員会委員（2011年3月まで），ハラスメント相談員
- センター内委員 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，有害廃棄物委員会委員，病原体等安全管理委員会委員
- 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，日本臨床微生物学会，American Society for Microbiology

技術職員：伊藤純子，長村由美（2011年3月まで）

非常勤講師：堀江義一

非常勤講師：高橋容子

非常勤講師：稲福和宏

技術補佐員：大楠悦子

技術補佐員：菊池和代（2011年3月まで），長村由美（2011年4月から）

技術補佐員：清水由巳

技術補佐員：矢沢勝清

研究概要（共同研究を含む）

1. 病原真菌・病原放線菌の基準株及び臨床分離株の収集・保存・提供

国内外の研究機関との共同研究，医療機関などから要望に基づく同定サービス，標準株の購入などの活動により，合計で真菌は 1,113 株，放線菌は 61 株を収集し，保存した．提供数は真菌：40 件（724 株），放線菌：15 件（92 株）であった．なお，同定依頼数は真菌：109 株，放線菌：39 株であった．また，昨年度より分譲株に課金するシステムを導入し，通常 1 株 20,000 円（公的機関の場合 10,000 円）を分譲依頼者に負担いただくことにした．

2. 臨床由来の *Aspergillus fumigatus* および関連種の薬剤感受性

A. fumigatus の関連種 *A. lentulus*，*A. udagawae*，*A. viridinutans* は，形態的には分生子の形，表面構造，分子系統的には β -tubulin 遺伝子などの塩基配列で *A. fumigatus* と区別できる．当センターで収集・保存した臨床由来のこれら 4 菌種について，各種抗真菌薬に対する薬剤感受性（MIC）を測定した．*A. fumigatus* では保存年度別，分離源別の明らかな傾向は認められずほぼ一定であった．一方，関連 3 菌種は，アゾール系薬剤，特にボリコナゾールに対して高い MIC 値を示し，アンフォテリシン B に対しても低感受性である傾向を示した．近年，欧米では *A. fumigatus* においてアゾール系薬剤を中心に耐性株が増加しているという報告があり，臨床問題視されている．本検討から *A. fumigatus* ではアゾール耐性株の明らかな増加傾向は認められないことから勘案すると，欧米での報告では，*A. fumigatus* と同定された臨床株の中に関連種が含まれており，それらが高い MIC 値を示した可能性も考えられる．したがって，正確な菌種の同定の重要性が改めて認識されたとともに，関連種を含めた *A. fumigatus* の MIC 値の動向に今後も注意する必要がある．

3. 食品危害カビの迅速同定識別法の開発

食品でのカビの汚染事故発生時においては、迅速かつ正確に原因究明及び対策を講じることが必要であるため、耐熱性カビの迅速で簡便な識別同定法の確立が求められている。これまでに *Penicillium* 属の耐熱性菌種については報告済みであるが、本年度は耐熱性の *Neosartorya* 属菌種について検討した。*Neosartorya* 属には、耐熱性は示さないが、環境中に広く分布するために混入の可能性が高い *A. fumigatus* が分子系統的に含まれるため、*A. fumigatus* と耐熱性の *Neosartorya* 属菌種を明確に識別する必要があった。そこで、 β -tubulin 遺伝子配列において、*Neosartorya* 属全体あるいは *A. fumigatus* のみを増幅できるプライマーを設計した。この2種の特異的プライマーを用いて PCR 反応を行うことにより、耐熱性 *Neosartorya* 属のみを識別する方法を確立した。また、耐熱性ならびに過酢酸耐性を有する *Chaetomium* 属についても同様に特異プライマーの作成に成功した。

4. *Candida albicans* の交配能に関わる現象の再検討

C. albicans の有性世代についての研究は、1999 年に sexual cycle 制御因子である Mating type-like (MTL) 遺伝子座が発見され、MTL 遺伝子の破壊株を用いれば接合が起こることが発表された。その後、接合型と White-Opaque (W/O) コロニー変換の関与が発見されたが、臨床株での Opaque 型コロニーの出現頻度 (W/O 変換頻度) は 4×10^{-6} と非常に低頻度であり臨床株での交配行動はかなり稀であると言われていた。しかしながら、我々は中国からの臨床株 93 株を用いて、Mating type (MAT) 型と Opaque 型 (Phloxine B でコロニーが赤く染色される) を調べると、ホモの MAT 型を持つ菌株は全体の約 7% で、Opaque 型のコロニーを確認できた菌株数は全体の約 20% となり、W/O 変換頻度がこれまでの報告に比べて非常に高いことが判明した。さらにこれらの株では、MLT α 1 および MLT α 1 の塩基配列で point mutation が見つかった。これらの中で特に 3 株は、MLT 型が α/α であるにもかかわらず顕著な Opaque 型を示し、このような変異が Opaque 型の出現に関与している可能性があることを示唆された。また、これら菌株を用いて交配試験を行ったところ、高頻度で交配が進行しつつあると思われる形態が観察された。これらの結果は、MTL 遺伝子の破壊株以外の臨床株においても「交配による遺伝子リフレッシュ」が行われる可能性を示唆した。

研究成果の発表

1. 著書

- 1) 矢口貴志: カビ胞子の形態・分類. 微生物胞子 - 制御と対策 - (渡部一仁, 土戸哲明, 坂上吉一編) (株)サイエンスフォーラム. 東京. pp.142-146. 2011.
- 2) 矢口貴志: 深在性皮膚真菌症を起こす真菌. 診る・わかる・治す 皮膚科臨床アセット 4 皮膚真菌症を究める (古江増隆, 望月 隆編) (株)中山書店. 東京. pp.62-67. 2011.

2. 原著論文

英文

- 1) Furuya M, Yoneyama T, Miyagi E, Tanaka R, Nagahama K, Miyagi Y, Nagashima Y, Hirahara F, Inayama Y, Aoki I: Differential expression patterns of CXCR3 variants and corresponding CXC chemokines in clear cell ovarian cancers and endometriosis. *Gynecol Oncol* 122: 648-655, 2011. (査読有)
- 2) Shimizu K, Hattori H, Adachi H, Oshima R, Horii T, Tanaka R, Yaguchi T, Tomita Y, Akiyama M, Kawamoto F, Kanbe T: Microsatellite-based genotyping of *Candida albicans* isolated from patients with superficial candidiasis. *Med Mycol J* 52: 129-138, 2011. (査読有)
- 3) Takagi Y, Hattori H, Adachi H, Takakura S, Horii T, Chindamporn A, Kitai H, Tanaka R, Yaguchi T, Fukano H, Kawamoto F, Shimozaoto K, Kanbe T: Genotypes of *Candida albicans* involved in development of candidiasis and their distribution in oral cavity of non-candidiasis individuals. *Med Mycol J* 52: 315-324, 2011. (査読有)
- 4) Hosoe T, Mori N, Kamano K, Itabashi T, Yaguchi T, Kawai K: A new antifungal yellow pigment from *Aspergillus nishimurae*. *J Antibiot* 64: 211-212, 2011. (査読有)
- 5) Iwasawa MT, Togawa Y, Kamada N, Kambe N, Matsue H, Yazawa K, Yaguchi T, Mikami Y: Lymphocutaneous type of nocardiosis caused by *Nocardia vinacea* in a patient with polymyositis. *Mycopathologia* 172: 47-53, 2011. (査読有)

- 6) Nakadate S, Nozawa K, Horie H, Fujii Y, Yaguchi T: New type indole diterpene, eujindoles, from *Eupenicillium javanicum*. *Heterocycles* 82: 351-356, 2011. (査読有)
- 7) Nakadate S, Nozawa K, Yaguchi T: Two new eujindoles from *Eupenicillium javanicum*. *Heterocycles* 83: 1867-1871, 2011. (査読有)
- 8) Nakadate S, Nozawa K, Yaguchi T: An antifungal substance isolated from *Eupenicillium javanicum* IFM 58214. *Mycotoxins* 61: 41-46, 2011. (査読有)

邦文

- 1) 坂入祐一, 吉野一郎, 岡本龍郎, 星野英久, 吉田成利, 田中玲子, 古賀俊輔, 高橋葉子, 中谷行雄: Birt-Hogg-Dube 症候群の気胸肺 2 手術例および発生機序の仮説に関する報告. *日気囊疾会誌* 11: 25-28, 2011. (査読有)
- 2) 松澤哲宏, 堀江義一, 矢口貴志, 坂本裕美子, 吹春俊光: シクラメン鉢中でのコガネキヌカラカサタケの菌核発生と被害. *日菌報* 52: 38-42, 2011. (査読有)
- 3) 佐藤之恵, 筋野和代, 鈴木亜紀子, 深澤奈都子, 大内 結, 矢口貴志, 佐藤友隆: 神経ブロック注射部位に生じた原発性皮膚 *Aspergillus calidoustus* 感染症の 1 例. *Med Mycol J* 52: 239-244, 2011. (査読有)
- 4) 杉山由華, 鈴木陽子, 菅谷圭子, 戸倉新樹, 矢口貴志, 亀井克彦, 西村和子: *Fonsecaea monophora* によるクロモプラストミコーシス. *Med Mycol J* 52: 255-260, 2011. (査読有)

3. 総説, 解説, その他

- 1) 矢口貴志: *Aspergillus* 属. *Med Mycol J* 52: 193-197, 2011.
- 2) 矢口貴志: 真菌同定の実際 *Aspergillus*. *臨床と微生物* 38 (増刊): 537-546, 2011.
- 3) 矢口貴志: アスペルギルス症とその原因菌. *カビと生活* 4: 120-125, 2011.
- 4) 矢口貴志: 真菌の新分類. *化学療法の領域. 化学療法の領域* 27): 2621-2626, 2011.

4. 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: Molecular phylogenetics of strains of

Fonsecaea from clinical specimens in Japan. 4th Meeting of the ISHAM working group on Black Yeast and Chromoblastomycosis. Curitiba, Brazil, Dec. 1 - 4, 2011.

国内学会

- 1) 矢口貴志: 医学領域における真菌症原因菌の分類・同定. 平成 23 年度日本植物病理学会大会, プログラム・講演要旨予稿集 p.233, 大会成立, 2011.
- 2) 矢口貴志: *Aspergillus fumigatus* および関連菌種の分類と薬剤感受性. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, *Med Mycol J* 52 (増刊 1 号): 60, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2011.

5. 一般発表

国際学会

- 1) Li HM, Imanishi Y, Tanaka R, Li RY, Yaguchi T: Genetic and phenotypic heterogeneity in clinical *Candida albicans* isoletes from Beijing, China. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Sep. 6 - 10, 2011.
- 2) Itabashi T, Hosoe T, Takizawa K, Yaguchi T, Kawai K: Hyaluronidase and elastase inhibitor isolated from *Neosartorya* sp. A159. 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS11), Tokyo, Nov. 29 - Dec. 2, 2011.

国内学会

- 1) 菊池和代, 伊藤純子, 田口英昭, 渡辺 哲, 矢口貴志, 亀井克彦: 千葉大学真菌医学研究センターに保存されている臨床由来の *Aspergillus fumigatus* および関連種薬剤感受性. 第 22 回日本臨床微生物学会総会, *日臨微誌* 2 (4): 93, 岡山, 1 月 8 ~ 9 日, 2011.
- 2) 野口直子, 船橋秀光, 江渡秀紀, 新島眞文, 渡辺哲, 矢口貴志, 亀井克彦: *Pseudallescheria boydii* によるアレルギー性気管支真菌症 (ABPM) の 1 例. 第 1221 回千葉医学会第 10 回呼吸器内科例会 (第 24 回呼吸器内科同門会), *千葉医学雑誌* p. 79, 千葉, 1 月 8 日, 2011.
- 3) 渡辺 哲, 猪狩英俊, 矢口貴志, 亀井克彦: 肺スケトスポリウム症の 3 例. 真菌症フォーラム第 12 回学術集会 プログラム/抄録集 p. 81, 東京, 2 月 5 日, 2011.
- 4) 細萱直希, 行徳 宏, 田代将人, 高園貴弘, 森永芳

- 智, 宮崎泰可, 関 雅文, 泉川公一, 掛屋 弘, 山本善裕, 矢口貴志, 大野秀明, 宮崎義継, 神田哲郎, 亀井克彦, 河野 茂: *Aspergillus udagawae* による気管支肺アスペルギルス症の1例報告と基礎的研究. 真菌症フォーラム第12回学術集会 プログラム/抄録集 p.78, 東京, 2月5日, 2011.
- 5) 渡辺 哲, 猪狩英俊, 矢口貴志, 亀井克彦: *Scedosporium* 症5例の検討. 第85回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85: (臨時増刊号): p.166, 東京, 4月21~22日, 2011.
- 6) 田宮浩之, 落合恵理, 菊池和代, 豊留孝仁, 渡辺哲, 矢口貴志, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* 及び *A. lentulus*, *A. udagawae* の薬剤感受性ならびに二次代謝産物解析に関する検討. 第85回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 85: (臨時増刊号): p.290, 東京, 4月21~22日, 2011.
- 7) 戸村正樹, 野口直子, 船橋秀光, 江渡秀紀, 新島眞文, 杉浦信之, 渡辺 哲, 矢口貴志, 亀井克彦: イトラコナゾールが有効であった *Pseudallescheria boydii* によるアレルギー性気管支肺真菌症 (ABPM) の1例. 578回日本内科学会関東地方会, 抄録集 p.28, 東京, 2011. 2. 12.
- 8) 板橋武史, 細江智夫, 滝澤香代子, 矢口貴志, 河合賢一: *Neosartorya* sp. A159 株の産生する新規 meroterpene および benzodizepine 誘導体. 薬学会第131年会, 講演要旨集 p.251, 大会成立, 2011.
- 9) 森本重輝, 齊藤哲也, 石川和樹, 板橋武史, 細江智夫, 滝澤香代子, 矢口貴志, 河合賢一: *Beauveria bassiana* IFM 59745 株の成分探索. 薬学会第131年会, 講演要旨集 p.234, 大会成立, 2011.
- 10) 齊藤哲也, 板橋武史, 細江智夫, 河合賢一, 滝澤香代子, 矢口貴志, 福島和貴: *Emericella* sp. IFM 57991 より得られた新規 farnesylisobenzofuranone 誘導体. 薬学会第131年会, 講演要旨集 p.239, 大会成立, 2011.
- 11) 石川和樹, 板橋武史, 細江智夫, 滝澤香代子, 矢口貴志, 福島和貴, 河合賢一: *Aspergillus novofumigatus* CBS 117520 から単離された新規環状テトラペプチドおよびメロテルペノイド. 薬学会第131年会, 講演要旨集 p.258, 大会成立, 2011.
- 12) 森 展郎, 鎌野久美, 板橋武史, 細江智夫, 河合賢一, 滝澤香代子, 矢口貴志: *Aspergillus nishimurae* IFM 58441 株から分離した新規抗真菌活性物質. 日本生薬学会第58回年会, 講演要旨集 p.190, 東京, 2011.
- 13) 藤野真弥, 古崎茉美, 板橋武史, 細江智夫, 河合賢一, 滝澤香代子, 矢口貴志: *Emericella* sp. No.73 株の産生する新規 emestrin および secoemestrin 誘導体. 日本生薬学会第58回年会, 講演要旨集 p.191, 東京, 2011.
- 14) 海藤桃子, 板橋武史, 細江智夫, 河合賢一, 滝澤香代子, 矢口貴志: *Penicillium* sp. IFM 59746 株から分離した新規 funicone 誘導体の構造. 日本生薬学会第58回年会, 講演要旨集 p.192, 東京, 2011.
- 15) 二宮早也夏, 細江智夫, 輪千浩史, 河合賢一, 矢口貴志: Zebrafish を利用した真菌由来メラニン生成抑制物質の探索. 第55回日本薬学会関東支部大会, 講演要旨集 p.23, 千葉, 2011.
- 16) 原田あき, 春山絵美, 板橋武史, 細江智夫, 河合賢一, 滝澤香代子, 矢口貴志: ブラジル土壌分離真菌 *Eupenicillium javanicum* 7-3 株の成分検索. 第55回日本薬学会関東支部大会, 講演要旨集 p.98, 千葉, 2011.
- 17) 平野祐輔, 比留間政太郎, 池田志孝, 菊池 賢, 佐野文子, 矢口貴志: 易感染性宿主に発見されたケタマカビ (*Chaetomium* 属) 感染症. 第55回日本医真菌学会学術集会, Med Mycol J 52 (増刊1号): 95, 東京, 10月21~22日, 2011.
- 18) 高木雄基, 深野英夫, 田中玲子, 矢口貴志, 神戸俊夫: Microsatellite 解析に基づいたカンジダ症と *Candida albicans* genotype の関係. 第55回日本医真菌学会学術集会, Med Mycol J 52 (増刊1号): 96, 東京, 10月21~22日, 2011.
- 19) 今西由巳, 李 厚敏, 田中玲子, 李 若瑜, 矢口貴志: *Candida albicans* 交配能に関わる現象の再検討. 第55回日本医真菌学会学術集会, Med Mycol J 52 (増刊1号): 97, 東京, 10月21~22日, 2011.
- 20) 田宮浩之, 落合恵理, 豊留孝仁, 渡辺 哲, 矢口貴志, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* 及びその関連菌の二次代謝産物解析ならびに薬剤感受性に関する検討. 第55回日本医真菌学会学術集会, Med Mycol J 52 (増刊1号): 108, 東京, 10月21~22日, 2011.
- 21) 堀江義一, 松澤哲宏, 五ノ井 透, Abriz Paride, Galba Takaki, 矢口貴志: アスペルギルス症原因菌

Aspergillus lentulus のテレオモルフの発見とそのアナモルフの多様性. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, Med Mycol J 52 (増刊 1 号): 109, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2011.

- 22) 松澤哲宏, 堀江義一, 松澤哲宏, 五ノ井 透, Abriz Paride, Galba Takaki, 矢口貴志: アスペルギルス症原因菌 *Aspergillus lentulus* のテレオモルフの遺伝的性質と薬剤感受性. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, Med Mycol J 52 (増刊 1 号): 109, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2011.
- 23) 藤原恵利子, 三川 隆, 遠藤成朗, 鈴木真言, 池田文昭, 矢口貴志: 臨床材料より分離された *Conidiobolus* 属菌 (ハエカビ目) の系統分類学的位置. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, Med Mycol J 52 (増刊 1 号): 113, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2011.
- 24) 松澤哲宏, 矢口貴志, 五ノ井 透, Abliz P, Takaki G: ヘテロタリック *Neosartorya* の 1 新種とその子のう胞子から発芽生育した集落のアナモルフの多様性. 日本菌学会第 55 回大会, 講演要旨集 p. 56, 札幌, 9 月 8 ~ 11 日, 2011.
- 25) 亀井克彦, 矢口貴志, 江崎孝行, 飯田哲也, 平山謙二: NBRP「病原微生物」. 第 34 回日本分子生物学会年会 特別企画「ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP)」, 横浜, 12 月 13 ~ 16 日, 2011.

共同研究

1. 国際共同研究

- 1) 田中玲子, 矢口貴志: 中央アジアにおける文化人類学的観点から見たヒト常在菌の遺伝子型調査 (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) 矢口貴志: Manoch Leka 准教授. Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Thailand.
- 3) 矢口貴志, 堀江義一: GMC Takaki 教授. Catholic University of Pernambuco, Brazil.

2. 共同利用・共同研究以外の国内共同研究

- 1) 田中玲子: Birt-Hogg-Dube 症候群の確定診断のための分子生物学的検討, 古屋充子准教授, 横浜市立大学医学部.
- 2) 田中玲子: 発癌における炎症性微小環境を調整する

新規ケモカイン受容体バリエーションの解析, 古屋充子准教授, 横浜市立大学医学部.

- 3) 矢口貴志, 田中玲子: 室内浮遊微生物を除菌するヨード樹脂系建材の開発, 鈴木一夫代表取締役, 新日本改修建設株式会社.
- 4) 矢口貴志: 食品危害カビの迅速同定識別法確立に関する研究, 中山素一主任研究員, 花王 (株) 安全性評価研究所.
- 5) 矢口貴志, 田中玲子: *Candida albicans* の分子疫学的研究. 神戸俊夫講師, 名古屋大学大学院.

国際交流

1. 海外渡航

- 1) 矢口貴志: ケニア, ナイロビ, 長崎大学熱帯医学研究所ケニア拠点, 2 月 6 ~ 13 日, 2011. (長崎大学熱帯医学研究所共同利用研究)
- 2) 矢口貴志: オランダ, アムステルダム, CBS Symposium 1 Fungus 1 Name 参加, 4 月 14 ~ 22 日, 2011. (共同研究費)
- 3) 矢口貴志: 中華人民共和国, 新疆ウイグル自治区ウルムチ, 新疆医科大学, Yan Hui 教授, Paride Abliz 助教授との共同研究, 8 月 8 ~ 16 日, 2011. (科学研究費)
- 4) 田中玲子: 中華人民共和国, 新疆ウイグル自治区ウルムチ, 新疆医科大学, Yan Hui 教授, Paride Abliz 助教授との共同研究, 8 月 14 ~ 21 日, 2011. (科学研究費)
- 5) 矢口貴志: ブラジル, レシフェ, Prof. GMC Takaki (Catholic University of Pernambuco) との共同研究, 9 月 25 日 ~ 10 月 10 日, 2011. (奨学寄附金)
- 6) 矢口貴志: ブラジル, クリチバ, 4th Meeting of the ISHAM working group on Black Yeast and Chromoblastomycosis, 座長・講演, 11 月 29 日 ~ 12 月 7 日, 2011. (招待)

2. 海外研究者の受け入れ

- 1) Li Hou-Min 医師 (中華人民共和国, 北京大学人民病院皮膚科), 1 月 1 日 ~ 7 月 15 日, 2011, (醗酵研助成金) (矢口貴志).
- 2) Manoch Leka 准教授, Onuma Piasai 講師 (Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Thailand), 9 月 4 ~

17日, 2011, (奨学寄附金) (矢口貴志).

学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) Yaguchi T: International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, 9月6～10, 2011, コンビナー・座長.
- 2) Yaguchi T: 4th Meeting of the ISHAM working group on Black Yeast and Chromoblastomycosis, 12月1～4日, 2011, 座長.
- 3) 矢口貴志: 第55回日本医真菌学会学術集会, 東京, 10月21～22日, 2011, 座長.

教育活動

講義

- 1) 矢口貴志: 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), 千葉大学医学部 (授業科目: 微生物学実習).
- 2) 田中玲子: 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, 自然環境における真菌の役割), 千葉大学医学部 (授業科目: 微生物学実習).

社会活動

テレビ

- 1) 矢口貴志: 出演, 製作協力. 日本テレビ, 世界一受けたい授業「梅雨に忍び寄る恐怖! 見えない菌に負けない生活術」5月21日, 2011, 放送.
- 2) 矢口貴志: 出演, 製作協力. 日本テレビ, News every「関東甲信越梅雨入り」5月27日, 2011, 放送.
- 3) 矢口貴志: 出演, 製作協力. 名古屋テレビ, ドデスカ! 特集コーナー「なっ得」6月8日, 2011, 放送.
- 4) 矢口貴志: 出演, 製作協力. 読売テレビ, 「朝生ワイド す・またん!」6月23日, 2011, 放送.

センター講習会

- 1) 矢口貴志: 第25回病原真菌講習会事務局, 講師「アスペルギルス」「皮膚科領域」「接合菌・新興真菌」6月28日～7月1日, 2011.
- 2) 田中玲子: 第25回病原真菌講習会講師「基本手技」「病原酵母」「結果の解析」6月28日～7月1日, 2011.

特許

- 1) 矢口貴志, 松澤哲宏: 過酢酸耐性菌類の検出方法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2011-046547), 2011.
- 2) 矢口貴志: ネオサルトリヤ属真菌の検出方法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2011-174677), 2011.
- 3) 矢口貴志: タラロマイセス属真菌の検出方法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2011-243496), 2011.

外部資金

科学研究費補助金

- 1) 田中玲子 (代表), 矢口貴志 (分担): 文部科学省科学研究費補助金 (基盤研究 B) (海外学術調査)「中央アジアにおける文化人類学的観点から見たヒト常在菌の遺伝子型調査」平成 21～25 年度 (平成 23 年度, 直接経費 350 万円, 間接経費 105 万円).
- 2) 田中玲子 (分担): 文部科学省科学研究費補助金 (基盤研究 C)「発癌における炎症性微小環境を調整する新規ケモカイン受容体バリエーションの解析」平成 23～25 年度 (平成 23 年度, 直接経費 5 万円).

その他の外部資金

- 1) 矢口貴志, 田中玲子 (分担): 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 19～23 年度.

共同研究

- 1) 矢口貴志 (代表): 花王 (株) 平成 23 年度 食品危害カビの迅速同定識別法確立に関する研究, 181 万円 (間接経費 19 万円).
- 2) 矢口貴志 (代表): パナソニック電工 (株) 平成 23 年度 静電霧化微粒子水 (ナノイ) による病原真菌の不活化効果検証, 91 万円 (間接経費 9 万円).

奨学寄附金

- 1) 矢口貴志 (代表): アステラス (株) 100 万円.
- 2) 矢口貴志 (代表): 吉崎技術士事務所 200 万円.
- 3) 矢口貴志 (代表): ダイキン工業 (株) 180 万円.
- 4) 矢口貴志 (代表): ファインテック (株) 60 万円.
- 5) 矢口貴志 (代表): 高橋容子 (きさらづ皮膚科クリニック) 50 万円.
- 6) 矢口貴志 (代表): 富永貿易 (株) 40 万円.
- 7) 矢口貴志 (代表): (株) エクセラ 100 万円.

文部科学省 ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」

(Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology National BioResource Project "Pathogenic Microorganisms")

代表機関：国立大学法人 千葉大学

申請者：齋藤 康

課題管理者：亀井克彦

分担機関：国立大学法人 大阪大学, 国立大学法人 岐阜大学, 国立大学法人 長崎大学

分担課題管理者名：堀井俊宏 (大阪大学), 江崎孝行 (岐阜大学), 平山謙二 (長崎大学)

背景

各種抗菌薬の開発により感染症は一時減少傾向にあったが、先端医療の発展、加齢、エイズ、さらには臓器移植などによって抵抗力の弱まった患者に発生する日和見感染症の増加、また、新興（および再興）感染症、輸入感染症、人獣共通感染症などが深刻な問題となっている。1993年以降、生物多様性条約が多くの国々で批准された結果、病原菌においてもそれぞれの国の国家戦略の中に組み込まれ、持ち出しが制限されている。一方、2001年の炭疽菌によるバイオテロを契機に、病原微生物の使用と管理において感染症法が改定された。その結果、病原菌においては、国内外での移動が制限され、病原菌の国外からの取得は難しく、また菌株保存機関からの分譲にも制限が設けられるなど、それらを使用している研究や教育に支障が生じている。このような状況において本事業は、他のリソースとは異なり独自の体制の整備が求められている。

文部科学省の事業であるナショナルバイオリソースプロジェクトは、平成14年に第一期がスタートし、平成19年に第二期が今年度末で終了する。「病原微生物」においてもこれまでの成果を総括し、第三期の申請準備中である。

目的

細菌・真菌（含む放線菌）・原虫のいずれにおいても、(i) 基準株の充実と、(ii) 危険度分類2及び3の病原菌、さらに、(iii) これまで感染例の報告のある全ての菌種を収集することを目的として、今後いかなる感染症が起

ても、それに対応できる病原微生物株コレクションを目指している。本計画では菌株の質的向上を図るために、(iv) 重要な菌株の遺伝子情報（細菌は16S rDNA、真菌ではITS、D1/D2領域の塩基配列、原虫では必須遺伝子等）を整備し、菌株の付加価値を高める。

実施体制

中核機関として千葉大学（真菌・放線菌）が、分担機関として大阪大学微生物病研究所及び岐阜大学大学院医学系研究科（細菌）と長崎大学熱帯医学研究所（原虫）が病原菌株の収集、保存、提供を行う事業である。また、広報は国立遺伝学研究所情報センターにおいてナショナルバイオリソースプロジェクトとして一括して管理し、web上で公開している。

リソースの特徴

日和見感染症、新興および再興感染症に対しての優れた診断法開発や新しい薬剤の開発は、対象となる病原菌株が不可欠である。そのために、病原性やその他の培養性状、分類学的な位置付が確認された感染症原因菌株を収集・保存する。今後いかなる感染症が発生してもそれに適切に対応するため、感染症の動向を監視し、検出法や診断法の確立のため、情報の明らかな新鮮な臨床由来株、それぞれの感染症の基準となる原因菌株は継続的に収集する必要がある。

高度病原微生物の取り扱いには、バイオセーフティレベル3の設備を持つ施設でないと取り扱いが出来ないこと、また、感染症法が改定されて、さらに移動や取り扱いの制限が厳しくなることから、通常の菌株保存機関での取り扱いは出来ない。従って、病原微生物は、他のバイオリソースと異なり施設が整備され、かつ専門家が在る機関での収集・保存・提供が必須となる。

運営委員会

北 潔先生（東大大学院医学研究科教授）を委員長とし、年2回、関連分野の専門家から構成される運営員

会を開催し、事業の進捗状況を確認するとともに研究コミュニティからの意見、要望などを収集している。

横山 耕治 病原真菌の系統解析
 田中 玲子 病原真菌・放線菌の保存、分譲、データ管理

千葉大での実施体制

課題管理者:

亀井 克彦 事業の総括

実務担当者:

伊藤 純子, 長村 由美

分担研究者:

矢口 貴志 事業の管理・運営, 病原真菌の収集, 同定

五ノ井 透 病原放線菌の収集, 同定

予算:

10,304,000 円

(バックアップ体制整備のための追加配分を含む)

真菌・放線菌の保存・提供実績

保存 (株数)

	H20 年度	H21 年度	H22 年度	H23 年度 上期	累計
真 菌	14,131	1,594	742	885	17,553
放線菌	113	188	141	66	2,093

提供 (件数 (株数))

	H20 年度	H21 年度	H22 年度	H23 年度 上期
真 菌	40 (681)	45 (828)	159 (1,669)	67 (1,144)
放線菌	18 (166)	7 (55)	10 (69)	15 (98)

地球規模課題対応国際科学技術協力事業 (JST & JICA) 「AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における 新規診断法による真菌症対策」プロジェクト

地球規模課題対応国際科学技術協力 (Satreps: Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development) は地球規模課題解決のために日本と開発途上国の研究者が共同で研究を行う研究プログラムであり、JICA 及び JST が共同で実施している。当センターでは「AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における新規診断法による真菌症対策」として平成 22 年度から 3 年計画で事業を展開している。パートナーはブラジル国サンパウロ州立カンピーナス大学 (UNICAMP) 医学部感染症科であり、免疫不全状態にある患者を中心として見られる真菌症について、診断・治療法の研究および実用化の研究を行なうとともに、その成果をブラジルやわが国に還元しようというものである。本年度は開始 2 年目となり、ちょうど事業期間の折り返し点を過ぎた。東日本大震災による影響で、多少の開発の遅延やブラジル側研究者の来日の延期などの影響が見られたものの、当センターで開発した DNA microarray の実用化の目処がつき、real time PCR 法、LAMP 法などによる真菌の同定法や診断法についても研究開発と現地での実用化が進むなど、日伯双方の協力によりほぼ順調に経過している。

主な研究テーマは以下のとおりである。

- 1) DNA microarray を用いた真菌症の同定・診断法の開発
- 2) (1→3)- β -D-グルカンによる真菌症の血清診断法の検定
- 3) real time PCR 法を用いた真菌の同定法・診断法の開発
- 4) LAMP 法を用いた真菌の同定法・診断法の開発
- 5) カンジダ症の疫学的研究
- 6) フザリウム症の疫学的研究
- 7) クリプトコッカス症の分子疫学的研究

プロジェクトメンバー

亀井克彦, 三上 襄, 五ノ井 透, 川本 進, 田口英昭, 村長保憲, 酒井香奈江, 松澤哲弘

予 算

(平成 21 ~ 24 年度), JST 予算平成 23 年度は 18,423 千円 (間接経費 5,526.9 千円), JICA 予算平成 22 年度 ~ 23 年度上期は 55,445,158 円, 平成 23 年度下期 ~ 24 年度は 38,308,391 円。

2011 年の主な研究成果 (原著論文のみ)

- 1) Biancalana FS, Lyra L, Moretti ML, Kamei K, Schreiber AZ: Standardization of hyphal growth inhibition rate as a means of evaluating *Microsporium* spp. In vitro susceptibility to terbinafine, griseofulvin, and ciclopiroxolamine. *Mycopathologia*; 172 (4): 279-285, 2011.

長崎大学熱帯医学研究拠点特定領域共同研究

本センターは、『熱帯地域，特にアフリカおよびベトナムで発生している真菌症・放線菌症の原因菌の収集と形態的，生理学的，分子生物学的解析』をテーマに平成22年度より長崎大学熱帯医学研究所との共同研究を展開しています。本研究では，ケニアなどサハラ以南のアフリカ地域，ベトナム，タイなどを中心とする東南アジア地域において主として患者より採取される菌を単離・培養・保存して，真菌・放線菌症の地域特異性を明らかにし，疫学的研究を進めるとともに，菌の形態学，細胞生理学，分子生物学的解析を行うことにより，簡便な診断・同定法の開発や適切な薬剤の選択・開発により，現地の医療に貢献し，人々のQOLの向上を図ることを目的としています。さらに単離された菌は，可能な範囲で日本に持ち帰り，将来の真菌症・感染症研究の研究開発資源とすること，これらの研究を通じて，現地および日本国内の真菌症研究者の育成を図ることをも目指しています。

平成23年度には，首都にあるナイロビ大学の真菌研究チーム（代表：Christiane Bii 博士）との共同研究“Molecular characterization and detection of mycotoxin producing genes in mycotoxigenic fungi from Kenyan cereals”が，Kenya Medical Research Institute (KEMRI) によって認可され，トウモロコシなど同国の主たる食料を汚

染するカビ毒とその生産菌に関する研究を開始しました。また，“Phenotypic, molecular characterization and drug susceptibility of *Cryptococcus* and *Candida* spp. from provincial hospitals in Kenya”の表題の下，同国のヒト真菌症の研究も立ち上げる計画です。日本から遠く離れ，文化も違う土地で，何かと思うに任せないことも多々生じますが，長崎大学熱帯研究所ケニア拠点（一瀬休生拠点長）の互助力も得て，是非，これらの共同研究を進めたいと考えております。

皆様の一層のご支援をお願いいたします。

プロジェクトメンバー

（研究代表者）野本明男

（研究分担者）亀井克彦，川本 進，五ノ井 透，横山耕治，矢口貴志

長崎大学熱帯医学研究所対応教員

一瀬休生

Kenya Medical Research Institute 側研究代表者

Christiane Bii

予 算

20,000 千円

アスペルギルス症を中心とした 新興真菌症制圧プロジェクト（概算要求）

アスペルギルス症を中心とした新興真菌症制圧プロジェクト（略称：アスペルギルスプロジェクト）は特別経費（プロジェクト分）-大学の特性を生かした多様な学術研究機能の充実-として平成23年度より開始された。その概要は致死的なアスペルギルス症を制圧するため、新しい診断、治療法の開発研究を推進することであり、診断、治療法につながる seeds の開発を目的としている。具体的には種々の病態を示す患者から採取されたアスペルギルス株を次世代シーケンサーを用いて解析し、比較ゲノム法等から病原性発現に関与する候補遺伝子を追求して、診断、治療法開発の seeds としようというものである。平成23年度にはゲノム解析の体制の完備と解析を開始し、平成24年度以降は解析の継続と候補遺伝子の探索、同遺伝子の組み換え株の作成、およびこれらの結果を実証するための動物モデルの開発とこれらを用いた病原性の確認を行う予定である。これらの遺伝子およびコードされたタンパク質等から、新たな治療・診断ターゲットの開発へと研究が進むことが期待されている。

開始時点の主要メンバー及び役割は

1) ゲノムグループ: 責任者 五ノ井 透

- ・次世代シーケンサーを用いて *Aspergillus fumigatus* 株のゲノム解析を行い、比較ゲノム法により、病原性などの感染症にかかわる重要な候補遺伝子を提示

- ・上記遺伝子の組み換え株作成
- ・メンバー: 川本 進, 高橋 梓, 萩原大祐, 松澤哲宏ほか大学院学生, 研究生

2) 動物モデルグループ: 責任者 亀井克彦

- ・候補となる *Aspergillus fumigatus* 株の選定・提供
- ・検証用の動物モデルの作製（動物用 CT も利用）
- ・上記破壊株を用いた動物による検証
- ・メンバー: 豊留孝仁, 渡辺 哲, 大荒田素子, 八尋真希, 佐藤綾香ほか大学院学生, 研究生

であり、全体を亀井がまとめている。

これまでの今年度の成果としては、ゲノムグループでは菌球型から慢性壊死性へと病態が変化したアスペルギルス症患者の例において、病態変遷の過程で菌の系統が入れ替わったことを遺伝子解析により明らかにした。また動物モデルグループでは慢性肺疾患を作成し、それを基礎として慢性アスペルギルス症の作成を進めている。世界中で挑戦が続いているもののいまだ未解決のテーマであり困難な要素が多いが、さまざまな努力を重ね研究を進めている。

なお、平成23年度アスペルギルスプロジェクト予算は、47,340,000円である。

平成 23 年度共同利用・共同研究一覧

共同利用・共同研究

研究課題 '11-1

病原真菌の環境応答シグナル伝達機構の解析：クリプトコックスの低酸素ストレス応答機構を中心として
川本 進，清水公德，大楠美佐子（千葉大学真菌医学研究センター）

Raclavsky, Vladislav（チェコ・パラツキー大学）

Sipiczki, Matthias（ハンガリー・デブレツェン大学）

関水 和久，松本靖彦（東京大学大学院薬学系研究科）

田村 裕（千葉大学大学院医学研究院）

三浦 恵，園田智子（横浜市立大学大学院医学研究科）

畑 邦彦（鹿児島大学大学院農学研究科）

五味勝也（東北大学大学院農学研究科）

研究課題 '11-2

カンジダ・グラブラータ遺伝子組換えライブラリーと次世代シーケンサーを用いた病原因子のスクリーニング
知花博治（千葉大学真菌医学研究センター）

青山俊弘（鈴鹿工業高等専門学校）

長 環，永尾潤一（福岡歯科大学）

研究課題 '11-3

カンジダ属のキャデイン系抗真菌薬耐性化機構の研究

田辺公一（国立感染症研究所）

知花博治（千葉大学真菌医学研究センター）

研究課題 '11-4

真菌感染防御における IL-17 産生機構に関する研究

岩倉洋一郎，Chung Soohyon（東京大学医科学研究所）

西城 忍（千葉大学真菌医学研究センター）

研究課題 '11-5

真菌性肺炎の発症機序の解明

中江 進（東京大学医科学研究所）

新江 賢（杏林大学保健学部）

西城 忍（千葉大学真菌医学研究センター）

研究課題 '11-6

接合菌症の簡易診断法開発に向けた抗原検索の研究

宮崎義継，大野秀明，山越 智（国立感染症研究所）

掛屋 弘（長崎大学大学院）

亀井克彦，豊留孝仁（千葉大学真菌医学研究センター）

研究課題 '11-7

新規レクチンによる抗病原真菌機能の解明と抗真菌剤の開発

館野浩章（（独）産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センター）

五ノ井 透，大荒田素子，酒井香奈江（千葉大学真菌医学研究センター）

研究課題 '11-8

病原性放線菌 *Nocardia* 属細菌のゲノム解析による遺伝子情報の整備

藤田信之，山崎秀司，山福敦司，細山 哲，黄地祥子，小牧久幸，田村朋彦，浜田盛之（（独）製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部）

五ノ井 透（千葉大学真菌医学研究センター）

研究課題 '11-9

病原性担子菌酵母の細胞表層糖鎖の構造解析

大橋貴生，藤山和仁（大阪大学生物工学国際交流センター）

五ノ井 透（千葉大学真菌医学研究センター）

研究課題 '11-10

日和見真菌症原因菌 *Aspergillus section Nigri* の感染性とマイコトキシン産生性

横山耕治（千葉大学真菌医学研究センター）

久米田裕子，坂田淳子（大阪府立公衆衛生研究所）

浅野勝佳，陰地義樹（奈良県保健環境研究センター）

田端節子，千葉隆司（東京都健康安全研究センター）

川上裕司，橋本一浩（（株）エフシージー総合研究所）

中川博之（農研機構食品総合研究所）

渡辺麻衣子，高橋治男（国立医薬品食品衛生研究所）

橋本ルイコ（千葉県衛生研究所）

平成 22 年度 共同利用研究報告

研究課題 '10－重点01

Candida glabrata カイコ感染症モデルを用いたパラサイト戦略の分子基盤

中山浩伸 (鈴鹿医療科学大学薬学部薬学科)

田辺公一・宮崎義継

(国立感染症研究所・生物活性物質部)

長 環 (福岡歯科大学)

関水久・松本靖彦

(東京大学大学院・薬学系研究科)

青山俊弘 (鈴鹿工業高等専門学校・電子情報工学科)

知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

in vitro (試験管内) と *in vivo* (宿主体内) では、生育に対する必須性が異なる遺伝子も存在し、代謝経路なども大きく異なることから、ゲノムレベルでの *in vivo* 解析は、真菌のパラサイト戦略の詳細を明らかにしたり、真菌感染症の診断や治療法を確立したりするのに不可欠なものとなる。我々は、マウス感染モデルに加え、多数を低コストで飼育できるカイコを用いた真菌感染モデルを用いてのゲノムレベルでの *in vivo* 解析を行っている。また、線虫感染モデルについても系の確立を試みている。本研究期間では、脂質合成・代謝に関与する遺伝子群について、合計 23 遺伝子について変異株を作成し (*in vitro* で必須とないものは欠失株を作成し、必須と考えられるものは発現制御株: TET 株を作成した) 感染時における遺伝子の必須性についての評価を行い、下記の成果を得た。

脂質の合成・代謝に関与する遺伝子のうち、ステロール合成に関与する遺伝子群について 20 遺伝子を試したところ、カイコの感染モデルでしか評価できていないものの *ERG24* が生育に必須である可能性が示唆された。また、タンパク質への脂質 (プレニル基) 修飾酵素である *RAM2* が感染に必須な遺伝子であるが、イソプレノイド合成酵素 (*ERG20*) は必須ではないことが明らか

となった。

研究業績

論文

- 1) Nagi M, Nakayama H, Tanabe K, Bard M, Aoyama T, Okano M, Higashi S, Ueno K, Chibana H, Niimi M, Yamagoe S, Umeyama T, Kajiwara S, Ohno H, Miyazaki Y: Transcription factors *CgUPC2A* and *CgUPC2B* regulate ergosterol biosynthetic genes in *Candida glabrata*. *Genes Cells*. 16 (1): 80-9. 2011.
- 2) Nakayama H, Ueno K, Uno J, Nagi M, Tanabe K, Aoyama T, Chibana H, Bard M: Growth defects resulting from inhibiting *ERG20* and *RAM2* in *Candida glabrata*. *FEMS Microbiol Lett.*: 317 (1): 27-33. 2011.

課題番号 '10－重点02

Candida albicans における新規病原性関与遺伝子の特定

梶原 将・大浦隆宏

(東京工業大学・大学院生命理工学研究科)

知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

Candida 属で共通する病原性関与遺伝子の候補として、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* では致死遺伝子として知られている *MCD4* 遺伝子と、致死遺伝子ではない *CYB2* 遺伝子を取り上げ、それらの遺伝子欠損株を作製して、その表現型や病原性などを解析した。*MCD4* タンパク質 (*MCD4p*) は、GPI アンカー合成経路の 1 つ Mannose phosphotransferase である。*CYB2* タンパク質 (*CYB2p*) は、乳酸資化のための酵素 Lactate dehydrogenase である。1 年間の研究結果として以下のような成果がえられた。

C. glabrata (一倍体) の *MCD4* knock down (ドキシサイクリン (Dox) によって発現が抑制) 株を作製し、Dox で *MCD4* 発現を抑制したところ、その株の増殖が完全に止まることが確認できた。*C. albicans* (二倍体) では、1つの *MCD4* 遺伝子を *ARG4* (アミノ酸合成酵素遺伝子) で破壊し、もう一方の *MCD4* 遺伝子の上流にマルトースプロモーター (グルコースで発現が抑制) を挿入した。この株もグルコース存在下では増殖が完全に止まることがわかった。これより、*MCD4* 遺伝子は *C. albicans* と *C. glabrata* の双方で *in vitro* では致死となることが分かった。

C. albicans の *CYB2* knock out 株を、*SATI* フリップパーという遺伝子破壊カセットを用いて、双方の *CYB2* 遺伝子を破壊した。*SATI* フリップパーは目的遺伝子を破壊した後にその大部分の DNA 領域を取り除くことが可能であるため、同じカセットで何度も遺伝子を破壊することが可能である。得られた *CYB2* knock out 株も乳酸資化性が欠失していた。今後、マウス等での感染実験で、その腸管定着性等を解析する予定である。

研究業績

学会発表等

- 1) Noda E, Oura T, Ueno K, Chibana H, Kajiwara S:
The characterization of a *CYB2* disruptant of *Candida albicans*, IUMS 2011, Sapporo, Sep 6-10, 2011.

研究課題 '10-01

千葉大学医学部附属病院における深在性真菌症症例数の動向

猪狩英俊・渡辺 哲・渡辺正治・中村安孝
(千葉大学医学部附属病院)
亀井克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

昨年に引き続いて千葉大学医学部附属病院の深在性真菌症症例数の動向を調査し、我が国の本症の疫学に寄与することを目的とし、電子カルテを用いた後ろ向き調査を行った。同院では *Candida* 感染症の原因菌のなかでは *C. albicans* は最も多かったがその割合は低下傾向であり、いわゆる非 *albicans-Candida* によるもの全体よりも少な

くなった。診療科では外科系が多かったが、その要因として手術などの消化管への侵襲、中心静脈カテーテル留置などが挙げられた。*Aspergillus* 症は昨年と同様、内科系診療科に多く見られたが、要因としてはステロイドを含めた免疫抑制薬の使用、慢性肺疾患の存在などが挙げられた。なお、血液内科領域での *Aspergillus* 属菌の検出数がほとんど見られなかったが、薬剤使用の動向、他の血清学的検査値と併せ考察すると、決して血液内科領域において本症が少ないわけではなく、菌検出に至る前に先制攻撃的に治療が開始されているため、いわゆる確定診断例が少ないものと考えられた。

研究発表

学会発表

- 1) 渡辺 哲, 亀井克彦: シンポジウム 2 造血管腫瘍および固形がん治療と感染症 がん化学療法における真菌感染症 その対策と治療の問題点. 第 60 回日本感染症学会日本地方会学術集会第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, プログラム・抄録集 p.68, 山形, 10月26~28日, 2011.

研究課題 '10-02

真菌の産生するマイコトキシンの分析に関する研究

小西良子 (国立医薬品食品衛生研究所)
亀井克彦・落合恵理
(千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

Citrinin は、輸入穀物類や香辛料をしばしば汚染することが知られ、経口摂取による腎毒性を有することが実験動物的に確認されている。本マイコトキシンの主な産生菌は *Penicillium citrinum* である。本研究では、*P. citrinum* を用いて citrinin を大量精製するための citrinin 高産生培養条件について、検討を行った。

まず、citrinin 高産生株の選抜のための簡便なスクリーニング方法の構築を行った。環境または食品由来の *P. citrinum* 28 株を供試した。最初に一次スクリーニングとして、ツァベック酵母エキス寒天 (CYA) 平板培地で

生育したコロニーの UV 照射による蛍光観察を行った。CYA 平板培地に菌体を接種し 7 日間 30℃ で培養した。これに 365 nm の UV を照射し、目視によって蛍光強度を判定した。この結果、菌株を産生能無し・低産生性・高産生性の 3 ランクに分類可能であることが明らかとなった。供試した 28 菌株中 14 菌株が高産生性のランクに属した。次に、二次スクリーニングとして TLC による分析を行った。上記 14 菌株を酵母エキスクロース (YES) 液体培地に摂取し、14 日間 30℃ で静置培養した後、少量の培養液を分取し、培養上清を酢酸エチルで抽出した簡易抽出液を作製した。この抽出液を TLC にて分析した。この結果、最も citrinin 高産生であり夾雑物の少なかった 1 菌株を選抜することに成功した。

さらに、citrinin 産生に適した液体培地および培養期間の検討を行った。比較条件としては、CYA および YES 液体培地を用い、培養期間は 14・21・28 日とした。それぞれの液体培地に菌体を摂取し、決められた期間 30℃ で静置培養した後、上述の方法で酢酸エチル抽出液を作製した。これらの抽出液を TLC にて分析した。この結果、培地については CYA 液体培地を用いた場合により citrinin 産生量が多かったこと、14 日から 28 日の培養期間ではいずれも産生量に差は見られず、長期間の培養を行っても citrinin は減衰しておらず分解はなかったことが明らかとなった。以上の結果から、培養条件としては、CYA 液体培地を用いて 14 日間以上の培養を行うことが適しているということが明らかとなった。

今後は、本検討によって明らかとなった菌株スクリーニング方法および培養条件を用いて citrinin の大量精製を行い、分析方法の開発、および生化学的・病理学的な毒性試験を行う予定である。

研究課題 '10-03

ヒト遺体より分離された真菌相の解析と鑑識への応用の検討

徳留省悟 (獨協医科大学医学部法医学教室)

石井 清 (獨協医科大学国際教育研究施設医学基盤教育センター)

矢口貴志 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

ヒト遺体に真菌が生育する現象はしばしば見られるが、法医学の観点からどのようなサンプルにどの種類の真菌が生育するか、経過時間によって生育する真菌が変化するかなど、ほとんど研究されていない。そこで、ヒト遺体に生育する真菌のフローラおよび生活環の特徴の解明を試み、鑑識への応用について検討を行った。

白骨化したもしくはミイラ化した検体は、一部切り取り、70%エタノール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。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。

検体の水分量の減少に伴い、最初、*Penicillium* 属、*Aspergillus* 属、*Trichoderma* 属などの環境に多くみられるものが出現し、次に好塩性を示す *Aspergillus* 属の一部の菌種、*Scopulariopsis* 属などに移り、最後は好乾性を示す *Eurotium* 属などに変化していく。

今後は、検体数をさらに増やし、遺体の分解段階、水分量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。

研究課題 '10-04

病原糸状菌の薬剤排出系ABCトランスポーター遺伝子発現に関与する転写因子の機能解析

五味勝也（東北大学大学院農学研究科生物産業創成科学専攻）

川本 進・清水公徳

（千葉大学真菌医学研究センター）

研究成果

抗真菌剤として有用なアゾール系薬剤に対する耐性化機構の一つとして、薬剤排出に働く ABC トランスポーターの機能充進が挙げられる。薬剤排出に働く ABC トランスポーターは複数知られているが、糸状菌ではこれまでこれらの複数のトランスポーターの発現を制御する転写因子は未知であった。私たちは安全性が高く産業的に重要な糸状菌である麹菌においてその可能性を持つ転写因子を見出し、高発現株および遺伝子破壊株が薬剤にそれぞれ低感受性、超感受性を示すことを認めている。本研究では病原糸状菌の *Aspergillus fumigatus* に存在するこの転写因子オーソログを中心に各種転写因子の機能を解明することにより、ヒト感染菌における抗真菌剤に対する耐性機構の一端を明らかにし、効果的な抗真菌剤開発に資することを目的としている。

糸状菌においては、アゾール系薬剤排出に関与する ABC トランスポーター遺伝子の発現を制御する転写因子 AtrR を我々が見出している以外には薬剤耐性に直接関与する転写因子は報告されておらず、したがって転写因子の活性化に関する分子機構も明らかになっていない状況にある。ABC トランスポーター遺伝子の発現量が *atrR* 遺伝子高発現時よりも薬剤を添加した場合の方が高いことから、転写因子 AtrR が薬剤により何らかの活性化を受けている可能性について検討し、アゾール系薬剤の種類の違いによって ABC トランスポーター遺伝子の発現量に差があることを明らかにした。しかし、アゾール系薬剤の構造上の特徴（イミダゾール系・トリアゾール系）に依存した応答が存在することは認められず、今のところ AtrR のそれぞれの薬剤の種類に対する応答の分子機構は不明である。一方、出芽酵母では、同様の薬剤排出 ABC トランスポーター遺伝子の発現制御に関わる転写因子 PDR1/PDR3 の機能発現において、メ

ディエーター活性化補助因子 GAL11/MED15 サブユニットが重要な役割を果たしていることが明らかにされている。麹菌ゲノム上には GAL11 と相同性の高いタンパク質が見出されておらず、麹菌では出芽酵母と同じような転写制御機構が存在しない可能性がある。そこで、麹菌において ABC トランスポーター遺伝子の発現に関与する転写メディエーターの役割を担うタンパク質を明らかにするために、TAP タグを融合した AtrR を発現させ、薬剤を加えて活性化させた AtrR と相互作用するタンパク質を共免疫沈降法によって単離を試みた。共免疫沈降により回収したタンパク質を SDS-PAGE により分離し、薬剤添加菌体に特異的なタンパク質バンドが検出できる条件を設定できた。今後は単離したタンパク質をマスマクトロメトリー解析することにより、AtrR の補助因子を同定することを予定している。

研究発表

国際学会発表

- 1) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, Gomi K: Azole drug species-dependent responses of the transcription factor AtrR in *Aspergilli*, 8th International *Aspergillus* meeting (Asperfest8), Asilomar, CA, USA, March 14-15, 2011.
- 2) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, Gomi K: Azole drug species-dependent responses of the transcription factor AtrR in *Aspergilli*, 26th Fungal Genetics Conference, Asilomar, CA, USA, March 15-20, 2011.

研究課題 '10-05

放線菌・細菌由来のキトサン加水分解酵素の抗菌活性についての研究

安藤昭一（千葉大学大学院融合科学研究科）

齋藤明広（千葉大学大学院融合科学研究科，静岡理工科大学理工学部）

山口正視（千葉大学真菌医学研究センター）

研究成果

細菌 *Bacillus circulans* MH-K1 株に由来するキトサン加水分解酵素（キトサナーゼ；以下、MH-K1 キトサ

ナーゼ)は *Rhizopus* 属および *Mucor* 属 (いずれも接合菌) に対して抗菌活性を示す. 本年度は, MH-K1 キトサナーゼの抗菌活性におけるキトサン加水分解活性の重要性に関する考察を更に深めるため, MH-K1 キトサナーゼの活性中心残基の 1 つである 37 番のグルタミン酸 (E37) をグルタミンに置換した変異型キトサナーゼ (以下, E37Q) を作成し, 野生型酵素や, 昨年度作出した変異型酵素 D55N と比較した. その結果, 濁度による増殖阻害評価では, E37Q は, D55N と同様, 接合菌 *Mucor javanicus* の増殖をほとんど阻害しなかった. また, *M. javanicus* の菌糸を光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡によって観察したところ, 野生型酵素存在下では菌糸長が短く, 縮れていたのに対し, E37Q 存在下ではそのような著しい形態の異常はほとんどなく, 一部で菌糸の凝集が観察された. これらの形態異常や凝集の頻度は, D55N よりも低いように見受けられた. 以上の結果から, MH-K1 キトサナーゼの抗菌活性において, 2 つの活性中心残基が重要な役割を果たしていることが判明した. E37Q と D55N のキトサンオリゴ糖 (基質アナログ) に対する親和性は野生型酵素と同程度であること, また, E37Q のキトサン加水分解活性がほとんどないのに対し, D55N の活性は野生型の 0.2% 程度であること, の 2 点から, MH-K1 キトサナーゼのもつ抗菌活性は, 主に, キトサンの加水分解によるものであることが強く示唆された.

研究課題 '10-06

遺伝子塩基配列を指標とした *Fusarium* 属菌の同定方法に関する研究

小西良子・渡辺麻衣子

(国立医薬品食品衛生研究所)

亀井克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

形態学的同定が困難であることが知られる *Fusarium* 属菌について, 分子生物学的指標を導入することによる迅速・正確・簡便に同定できる遺伝子指標を特定することを目的として, 複数遺伝子塩基配列を解析し, それら遺伝子の *Fusarium* 属菌同定指標としての有用性を評価,

検討した.

Fusarium 属菌 22 菌種 47 菌株を用い, 18S rDNA 遺伝子 (rDNA), 5.8S rDNA, internal spacer region 1 (ITS1), 28S rDNA, β チューブリン遺伝子 (β -*tub*) およびアミノアジピン酸還元酵素遺伝子 (*lys2*) の塩基配列を決定した. 次いで供試した *Fusarium* 属菌の菌種間で, 遺伝子ごとに塩基配列相同率を算出した. さらに, 最尤法による系統解析を行い, 6 遺伝子間の塩基置換速度の比を推定した.

塩基配列相同率を比較したところ, 菌種間で塩基配列が 100% 一致するものが認められた遺伝子は 18S rDNA, 5.8S rDNA, ITS1 および 28S rDNA であり, *lys2* および β -*tub* では 100% 一致する菌種は認められなかった. 菌種間塩基配列相同率は *lys2* で 52.9 ~ 99.0%, β -*tub* で 85.5 ~ 99.2% であった. また, 塩基置換速度を比較したところ, *lys2* が最も早く, 次いで ITS1, β -*tub*, 28S rDNA, 5.8S rDNA であり, 18S rDNA は最も遅く, *lys2* と 18S rDNA の差は約 55 倍であることが明らかとなった. 未知の *Fusarium* 属菌株の遺伝子塩基配列をデータベース上の登録配列と照合することによって算出された塩基配列相同率を用いて同定を行う時には, *lys2* および β -*tub* 以外の 4 遺伝子では, 塩基配列が 100% 一致する種が複数挙げられて同定が不可能となる場合もあることが示唆された. しかし, *lys2* および β -*tub* では, 菌種間塩基配列相同率が 100% であった菌種はなかったことから, 1 つの種に同定ができる可能性が他の 4 遺伝子よりも高いことが示唆された. また, *lys2* は最も早い塩基置換速度を持つことから, 遺伝子塩基配列上に塩基置換を蓄積し易く, 塩基配列の菌種間での差異を認識し易い遺伝子であることが示された. 以上のことから, *Fusarium* 属菌の同定に適する指標として 6 遺伝子中で *lys2* が最も適しているということが明らかとなった.

研究課題 '10-07

皮膚科領域で分離される真菌の同定と分子疫学

高橋容子 (きさらづ皮膚科クリニック)

佐野文子・亀井克彦

(千葉大学真菌医学研究センター)

研究概要

Arthroderma vanbreuseghemii によるヒトとネコの集団感染例の背景には衛生動物のネズミ類が関与していることが文献的に示唆されている。そこで、千葉県を中心にドブネズミ、クマネズミ合計 100 頭を調べたところ、6 頭より無性型を *Trichophyton mentagrophytes*, 遺伝子型から有性型を *A. vanbreuseghemii* と同定された皮膚糸状菌が分離された。よって、皮膚糸状菌の感染にドブネズミの関与が強く示唆された。一方、これらの分離株の遺伝子型は均一であったが、ヒトとネコの集団感染例由来株とは遺伝子型が異なることから、ネズミからネコを通じてヒトへ感染すると推定されていた経路の証明には更なる調査が必要である。

研究成果

- 1) 佐野文子, 春成常仁, 鎗田響子, 花見有紀, 高山明子, 亀井克彦, 高橋容子, 谷川 力: 2010 年 3 月, 特集 人と動物の共通感染症最前線 7. ドブネズミより分離された *Arthroderma vanbreuseghemii*. 獣医畜産新報 63: 212-213.

研究課題 '10-08

海洋微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院)

五ノ井 透 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

沖縄で採取した *Pseudoceratina* 属, *Suberites* 属, ならびに *Rhabdastrella* 属の海綿よりそれぞれ単離した, プロモチロシンアルカロイド ceratinadin A および B, 複素芳香族アルカロイド nakijinamine C および E, ならびにトリ

テルペノイド Stelliferin L および N に抗菌および抗真菌活性が認められた。

また, オトギリソウ属植物ダイセツヒナオトギリ (*Hypericum yojiroanum*) ならびにナガサキオトギリ (*Hypericum pseudopetiolum* var. *kiusianum*) よりそれぞれ単離した, フロログルシノール誘導体 yojironin A および B ならびに petiolin J に抗菌および抗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) Tanaka N, Mamemura T, Shibazaki A, Gono T, Kobayashi J. Yojironins E-I, prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum yojiroanum* (2011) Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 21 (18), 5393-5397, 2011.
- 2) Tanaka N, Momose R, Shibazaki A, Gono T, Fromont J, Kobayashi J. Stelliferins J-N, isomalabaricane-type triterpenoids from Okinawan marine sponge *Rhabdastrella* cf. *globostellata* (2011) Tetrahedron, 67 (35), pp. 6689-6696.
- 3) Mamemura T, Tanaka N, Shibazaki A, Gono T, Kobayashi J. Yojironins A-D, meroterpenoids and prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum yojiroanum* (2011) Tetrahedron Letters, 52 (28), pp. 3575-3578.
- 4) Takahashi Y, Kubota T, Shibazaki A, Gono T, Fromont J, Kobayashi J. Nakijinamines C-E, new heteroaromatic alkaloids from the sponge *Suberites* species (2011) Organic Letters, 13 (12), pp. 3016-3019.
- 5) Tanaka N, Otani M, Kashiwada Y, Takaishi Y, Shibazaki A, Gono T, Shiro M, Kobayashi J. Petiolins J-M, prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum pseudopetiolum* var. *kiusianum* (2010) Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 20 (15), pp. 4451-4455.
- 6) Kon Y, Kubota T, Shibazaki A, Gono T, Kobayashi J. Ceratinadins A-C, new bromotyrosine alkaloids from an Okinawan marine sponge *Pseudoceratina* sp. (2010) Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 20 (15), pp. 4569-4572.

研究課題 '10-09

病原性真菌の病理学的検出・同定法の検討

村山琮明（北里大学大学院感染制御科学府 & 北里生命科学研究所）
横山耕治（千葉大学真菌医学研究センター）

研究成果

深在性真菌感染症は、今や 20 人に 1 人（剖検輯報等によれば）、移植の際には 10 人に 1 人の割合で起こる重篤な感染症である。特に、先進諸国では大きな課題の一つとなっている。

ところが深在性真菌症では培養が困難で確定診断の難しい症例が依然として少なくなく、あらゆる臨床検体について、非培養系診断あるいは制度の高い推定の手順が求められている。実際、深在性真菌症に関する非培養系診断法として遺伝子解析法を応用した知見は徐々に集積されつつある。臨床において常用されている病理診断材料に真菌を確認すれば確定診断としての意義は大きい。しかし、菌種の推定に関しては、標本内で観察される菌の形態のみでは限界があり、病理・細胞診断領域における新たな補助診断法の開発が必要と考えられる。*in situ* hybridization (ISH) 法を基幹とした病理診断材料における遺伝子病理組織学的診断法について方法などを検討した。

遺伝子情報が良好に保持された試料では、ISH より精度の高い診断の可能性が示唆された。また、本年は PNA とはペプチド核酸 (Peptide Nucleic Acids: PNA) プローブを用いた *Histoplasma* など新たな菌種同定をおこなった。

本法の普遍・均霑化は、有益な情報基盤の構築と臨床現場での抗真菌化学療法を選択に寄与する病理診断領域の迅速な検査法になり得ると考えている。

研究課題 '10-10

病原性真菌由来の揮発性分子を利用した感染および宿主応答の研究

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）

研究成果

真菌感染症は表在性と深在性の感染状態をとり、表在性真菌症では感染部位が限定され、診断・治療も比較的容易であり重篤に至ることも少ない。これに対し深在性真菌症では診断方法が限られている上に、早期に検出することは非常に困難であり、治療も難しい。特に、免疫力が著しく低下した患者において発症した場合には難治性となり、死亡率が高い疾患であるが、深在性真菌感染症を早期に診断できる有効な方法はほとんどないのが現状である。深在性真菌症の起因菌が宿主への感染過程、宿主応答に対して放出する微生物由来揮発性低分子化合物 (MVOCs: Microbial Volatile Organic Compounds) を特定し、真菌感染症の早期診断、感染のモニタリングなどの指標として MVOCs が有効であるかどうかについて、真菌感染動物の呼気に含まれる MVOCs の変化を捉える実験を計画した。

平成 22 年度は真菌感染時に放出される MVOCs の検出を動物感染実験モデル (マウス) を用いて行うための装置を作成した。装置からの VOC の放出を避けるために材質は主としてガラス、テフロンを使用した。マウスの呼気から MVOCs の採取は SPME を用いて行うが、感染実験および呼気の採取は千葉大学真菌医学研究センターで実施し、MVOCs の測定を奈良女子大学で行う。そのため、移動時における VOC の吸着等を極力避けるために SPME 部位を格納できるフィールドサンプラーを使用し、これを設置できるように装置を設計した。まず、装置の有効性を確かめるために、健康マウスを使用して呼気中に含まれる VOC が検出できるかについて実験を行い、呼気を SPME に吸着させる際、装置を 65°C に保温することにより効率的に VOC を検出できることを確認した。さらに、千葉大学真菌医学研究センターにおいて実験の打ち合わせを行い、飼育室のバックグラウンドの VOC について測定を実施した。

研究課題 '10-11

真菌症原因菌に対する新規生体接着剤の抗真菌効果の検討

玄 丞侏 (京都大学再生医科学研究所)
亀井克彦・田口英昭
(千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

臨床の場では手術による切開部位を短時間で接合、患部の止血、あるいは臓器移植部の固定のため等に生体接着剤が使われている。

我々は新たに開発された生体接着剤の抗真菌効果の検討を行なった。

試験菌株は *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* および *Candida albicans* について抗菌活性を評価した。

方法は 20mm 角で切り出した豚の皮膚肉片を γ -線 で殺菌し、肉片の周辺に試験菌各々を接種した。その後 aldehyded-dextran と ϵ -poly (L-lysine) の重量比が 80:20 のパウダー型と 20% の aldehyded-dextran と 10% の ϵ -poly (L-lysine) を混合した液体型の生体接着剤 2 種類について菌が接種された部位上に塗布して培養を行ない培養後、各肉片の周辺と生体接着剤を塗布していない肉片自体の阻止性、菌の発育を比較して確認した。

結果は aldehyded-dextran と ϵ -poly (L-lysine) を主成分とした生体接着剤は試験した全ての試験菌に対して一定の抗菌効果を示すことが確認された。

研究発表

論文発表

- 1) Lee JH, Kim HL, Lee MH, Taguchi H, Hyon SH, Park JC: Antimicrobial effect of medical adhesive composed of aldehyded dextran and ϵ -poly (l-lysine). J Microbiol Biotechnol 21 (11): 1202-1205, 2011.

研究課題 '10-12

真菌のストレス応答シグナル伝達の分子解析

三浦 恵・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)

研究成果

Cryptococcus neoformans は、日本に常在する真菌の中で最も病原性が強く、ヒトの肺、脳や髄膜などを侵し、エイズ患者の直接死因としても重要な病原酵母であり、野外、動物体内という極めて異なる環境下で生存する能力を有する。また、我々の研究からストレス条件下や、感染時、細胞は大型化し、細胞壁や夾膜は顕著に厚くなる等、特徴的な変化を示すことが明らかになっている。また、本菌の細胞周期制御は、同じ出芽酵母ではあるもののモデル酵母 *Saccharomyces cerevisiae* と大きく異なることが分かっている。これらの相違はストレス応答や感染時に重要な役割を果たし、病原性発現機構に関与することが考えられる。*S. cerevisiae* においても、細胞周期とストレス応答の密接的に関係していることが知られている。従って、このような複雑な制御機構の中心に位置する遺伝子とその関連遺伝子の網羅的同定および機能解析を行いつつある。これまでに、*C. neoformans* の細胞周期制御の中心に位置する Cdk1 ホモログ (サイクリン依存性キナーゼ 1) *CnCdk1* とそれに相互作用するサイクリンホモログ *CnCln1* をゲノムから見出しクローニングを行い、これらの遺伝子の構造解析を行って来た。*CnCln1* 破壊株の細胞は異常な形態を示したことから、*CnCln1* は幅広く細胞の形態形成や生理的機能に影響を及ぼし、本菌にとって極めて重要な遺伝子であることが示唆されている。*CnCln1* と関連する遺伝子を同定するため、*CnCln1* 破壊株の表現型が戻る変異を探索し *CnCln1* の機能を抑制する遺伝子の同定をするべく、本菌のストレス応答や病原性に関与する細胞制御機構の解明を進めている。

研究課題 '10-13

病原性真菌 *Candida glabrata* の常在化機構の解析と発症抑制

水野貴之 (徳島文理大学理工学部ナノ物質工学専攻)
知花博治
(千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

病原性真菌 *Candida glabrata* が発症前に、宿主に常在化している状態に着目し、常在あるいは発症に必要な機構の解析を行っているが、新しい解析用宿主として線虫を用いた実験系を開発した。また、このとき、*C. glabrata* に導入した GFP 遺伝子の発現によって線虫内で観察することを可能とした。線虫の至適増殖温度においては、健康状態を損ねることなく、*C. glabrata* が、常在化す可能であった。現在は、遺伝子破壊株による常在化不能となる株の同定、および抗生物質感受性株のスクリーニングの準備中である。

研究業績

学会発表

- 1) 谷岡拓弥, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 山口正視, 知花博治, 水野貴之: 線虫を用いた *Candida glabrata* の感染機構の解析～スクリーニング系の構築. 第 28 回イーストワークショップ 2010. 11.
- 2) 山本 茂, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 水野貴之: 42℃ で生育不能となる *Candida glabrata* 温度感受性変異株の取得と解析. 第 28 回イーストワークショップ 2010. 11.
- 3) 百地史郎, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 水野貴之: 相同性組み換えを用いた *Candida glabrata* 染色体分断ライブラリーの作成. 第 28 回イーストワークショップ 2010. 11.

研究課題 '10-14

Candida glabrata 表層多糖の宿主免疫応答に及ぼす影響

川上和義 (東北大学大学院医学系研究科保健学専攻
感染分子病態解析学分野)
知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

真菌感染症は易感染性宿主に日和見感染として発症するため、病原真菌に対する宿主免疫応答機構の解明がその病態の理解に重要となる。近年、真菌多糖体の認識機構として C-type lectin receptors (CLR) が注目されている。そこで本研究では、*Candida glabrata* に対する免疫応答機構を明らかにする目的で、*C. glabrata* の各種表層多糖変異株 8 株を用いて C57BL/6 マウスの骨髄由来樹状細胞 (BM-DC) を刺激し、その活性化指標として IL-12p40 産生について、変異株とその野生株の間で比較検討を実施した。その結果、11255 (KPOPGTB1) 株では、野生株と比較して IL-12p40 産生の顕著な低下が観察された。この変異株では BM-DC 活性化に関わる多糖構造が変異している可能性が予想されたため、in vivo でも同様な影響が観察されるか検討するために、11255 (KPOPGTB1) 株と野生株 2×10^6 を C57BL/6 マウスに経静脈接種し、3 日後に腎臓重量、腎臓内菌数、腎ホモジネート及び血清中の IL-12p40 濃度を測定したところ、両群間で明らかな差を見出せなかった。以上の結果から、11255 (KPOPGTB1) 株の表層多糖構造の変異により in vitro での樹状細胞活性化には影響がみられたものの、in vivo では免疫系のより複雑な真菌認識機構のために in vitro で観察された差がみられなかった可能性が示唆された。今後、さらに表層多糖構造の変異と樹状細胞による認識の関連性について詳細に解析する必要があると考えられる。

研究課題 '10-15

Candida glabrata のステロール取り込みの分子機構の解明

中山浩伸 (鈴鹿医療科学大学薬学部薬学科)
田辺公一 (国立感染症研究所・生物活性物質部)
青山俊弘 (鈴鹿工業高等専門学校・電子情報工学科)
知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

本研究期間で、ステロール取り込みに関わる転写因子 *UPC2A* および *UPC2B* の機能解析を行い、下記の成果を得た。

UPC2A および *UPC2B* は、Znフィンガーマチーフを持つ転写因子で、これらの欠損株では、血清添加培地においてステロールトランスポータ *AUS1* を介して起こるフルコナゾールの感受性の低下が見られない。RT-PCR による発現量解析から、野生株において、*UPC2A* は血清添加の刺激による発現変動はなかったものの、*UPC2B* は血清添加の刺激により発現の上昇が確認できた。*upc2A* の欠損の株では、血清を添加による *UPC2B* および *AUS1* の発現の上昇が見られなかった。一方、*upc2B* の欠損の株では、血清を添加による *AUS1* の発現の上昇が部分的に抑えられていた。このことから、*UPC2A* 自身が血清添加刺激によってどのように活性化されるかは不明であるが、*UPC2A* は、*UPC2B* の上流に位置し、*AUS1* の遺伝子発現を調節していることがわかった。さらに *upc2A* の欠損の株では、lovastatin によるステロール枯渇で起こるエルゴステロール合成遺伝子の *ERG2* および *ERG3* の発現上昇も観察されなかったことから、*UPC2A* は、ステロールの取り込みのみならず生合成の調節にも関わり、*Candida glabrata* のステロール恒常性維持に重要な働きを担っている因子であることが示唆された。

研究業績

学会発表

- 1) Nakayama H, Tanabe K, Nagi M, Chibana H, Bard M: Characterization of genes that regulate sterol uptake and transport in *Candida glabrata*. The 10 th Awaji International Forum on Infection and Immunity. 兵庫 県淡路市. 2010. 9. 7-10.

- 2) 名木 稔, 田辺公一, 中山浩伸, 知花博治, 梶原将, 大野秀明, 宮崎義継. 病原真菌 *Candida glabrata* の鉄欠乏ストレス応答. 第7回真菌分子細胞研究会. 香川県さぬき市. 2011. 11. 12-13.

研究課題 '10-16

真菌による肺血管構築改変機序に関する遺伝子病理学的解析

渋谷和俊・大久保陽一郎・篠崎 稔
(東邦大学医療センター大森病院)
亀井克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

一般的な環境から分離される黒色真菌である *Stachybotrys chartarum* のマウス気管内への反復接種によって、進行性で予後不良の疾患である肺動脈性肺高血圧症の病態に類似した肺動脈内膜・中膜の肥厚が形成され、肺動脈圧が上昇することが報告されている。われわれは、本モデルにおける病態形成に関連する因子を検索するため、肺組織を用いてマイクロアレイにて mRNA レベルでの遺伝子発現変動を検出し、GO 解析, Pathway 解析を行った。

使用したマイクロアレイは Affymetrix 社製 GeneChip® Mouse Genome 430 2.0 で、設定遺伝子数 45101 のうち有意に発現上昇していた遺伝子数は 303 で、これらの遺伝子には免疫応答に関する遺伝子が多く含まれていた。発現が低下していた遺伝子数は 436 で、これらの遺伝子からは PDGF, VEGF, Toll Like Receptor 4 (TLR4) に関連する pathway が検出された。肺高血圧症で TGF- β の I 型, II 型, III 型レセプターの SNIP や機能不全が報告されており、これらをコードする Aik-1, BMPR-2, Endoglin 遺伝子の発現は既知の因子介入によって表現される本モデルにおいても低下していた。一方、本モデルと特発性肺高血圧症で発現変動様式に乖離がみられた生物分子として上記以外の TGF- β , 血液凝固, Rock, エストロゲン, 転写因子である STAT3 に関連する因子などを検出した。これらの因子は、サブトラクション解析理論により IPA の病態形成に深く関与していると考えられ、今後更に解析を進めたい。

研究課題 '10-17

Aspergillus fumigatus が産生するバイオフィルムと fetuin の関連についての基礎的研究

渡邊 浩・秦 亮 (久留米大学医学部)
亀井克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

アスペルギルス症は我が国で最も発生頻度の高い深在性真菌症となってきた。本症の主な原因真菌は *Aspergillus fumigatus* であり、近年、本菌が形成するバイオフィルムについて注目が集まっている。バイオフィルム形成は特にアスペルギローマなどの関連性が指摘されており、慢性の病態形成に寄与していることが推測されている。これまでに千葉大学真菌医学研究センターのグループは血清存在下において *A. fumigatus* がバイオフィルムを形成することを明らかとしている。さらに血清糖タンパク質の一つ、fetuin が重要な役割を果たすことが明らかとなってきた。我々は fetuin がバイオフィルム形成に果たす役割についてクリスタルバイオレット法による検討を行った。

96 ウェルプレートにおいて各種条件において培養した *A. fumigatus* が形成したバイオフィルムをクリスタルバイオレットで染色して観察を行った結果、fetuin 添加群において非添加群に比べてバイオフィルム形成が促進されている様子が観察された。クリスタルバイオレットの定量からも有意にバイオフィルム形成が促進されたことが明らかとなった。さらにバイオフィルム形成に必要な fetuin 濃度を検討した結果、0.125 mg/ml の濃度であっても有意にバイオフィルム形成を促進する効果が認められた。

千葉大学真菌医学研究センターのグループも矛盾しない結果を得ており、fetuin がバイオフィルム形成に寄与していることが明らかとなった。バイオフィルム形成が抗真菌薬抵抗性を付与するとの報告も海外から出てきており、我々も抗真菌薬感受性に関する検討を今後進めていく予定である。これまでの結果については、千葉大学真菌医学研究センターと共同で学会発表を行う予定であり、また現在論文を国際誌に投稿中である。

学会発表 (予定)

- 1) 豊留孝仁, 秦 亮, 渡辺 哲, 渡邊 浩, 亀井克彦: 血清糖タンパク質 fetuin A が *Aspergillus fumigatus* 生育に及ぼす影響. 第 86 回日本感染症学会総会: 長崎, 4月25~26日, 2012.

研究課題 '10-18

特発性間質性肺炎患者における抗真菌抗体価測定

岡田信司 (みやぎ県南中核病院)
亀井克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

過敏性肺臓炎, 特に慢性過敏性肺臓炎と他の特発性間質性肺疾患群とを鑑別するのは非常に困難である。私達は *Cladosporium* による慢性過敏性肺臓炎の症例を経験し、報告した。この症例は、長年にわたって特発性間質性肺炎として経過観察されてきた。このことは、このような一般的な環境常在真菌による慢性過敏性肺臓炎と特発性間質性肺炎の鑑別が困難であることを顕著に示している。そこで、今回、各種間質性肺炎において、真菌性過敏性肺臓炎の可能性を示す抗真菌抗体価を調べることにより、その鑑別が可能であるかを検討した。

方法: 私達は、各種間質性肺炎患者血清を用い、*Cladosporium* に対する抗体価を間接蛍光抗体法で測定した。コントロールとして気管支喘息、正常健康人の血清を用いた。

結果: 抗 *Cladosporium* 抗体価が高い患者の割合は他の健康者や気管支喘息患者と比べて、間質性肺炎群が優位に高かった。この抗体価の上昇は過敏性肺臓炎だけでなく、特発性間質性肺炎群、膠原病関連間質性肺炎においても認められた。

結論: この検査の結果は、この方法が間質性肺炎の大きなグループから *Cladosporium*-関連過敏性肺臓炎の患者を鑑別するのに有効な方法である可能性と、間質性肺炎全般の発症に於ける真菌抗原の可能性を示している。

Table 1. Number of subjects with a high anti-*Cladosporium cladosporioides* antibody titer.

	Age	Sex (M:F)	High Ab titer / total (number of subjects)
ILDs	71.6 ± 13.3	20 : 14	12/34*
BA	58.1 ± 18.4	6 : 11	0/17
control	37.1 ± 8.2	21 : 0	0/21

*: p < 0.05

Table 2. Number of patients with a high anti-*Cladosporium cladosporioides* antibody titer in ILDs.

	Age	Sex (M:F)	High Ab titer / total (number of patients)
HP	60.4 ± 12.9	2 : 3	2 / 5
IIPs	73.0 ± 14.4	14 : 7	6/21
CVD-ILDs	74.9 ± 6.7	4 : 4	4 / 8

研究課題 '10-19

Trichophyton mentagrophytes の分子多型にもとづく疫学的研究

望月 隆・安澤数史・牛上 敢・川西絢子
(金沢医科大学)

高橋容子 (きさらづ皮膚科クリニック)

亀井克彦・佐野文子

(千葉大学真菌医学研究センター)

研究概要

2009 年初頭から 2010 年末までに金沢医科大学皮膚科もしくは同大皮膚真菌症研究部門に同定の依頼のあった *Trichophyton mentagrophytes* の臨床分離株 42 株について rDNA の ITS 領域の *MvaI*, *HinfI* を用いた RFLP 分析による分子同定、分子疫学的検討を行った。42 株の分離地域は東北 6 株、関東甲信越 10 株、中部 21 株、近畿 1 株、九州 4 株、遺伝子型は *Arthroderma vanbreuseghemii* 型 23 株、*Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* 型 17 株、*A. benhamiae* Americano-European race 型 2 株であった。*Arthroderma vanbreuseghemii* 型 23 株の由来は東北 6 株、関東甲信越 5 株、中部 7 株、近畿 1 株、九州 4 株、内訳ではヒト 21 株 (体部白癬 19 株、白癬菌性毛禿瘡 1 株、ケ

ルスス禿瘡 1 株)、ネコ 2 株である。なおヒトの中で動物と明らかな関係がみられたものはネコ飼育 2 例、イヌ飼育 1 例であった。*T. mentagrophytes* var. *interdigitale* 型 17 株は全例ヒト由来であり、つた。*A. benhamiae* 型は 2 株とも石川県の例でウサギとその飼い主 (体部白癬) からの分離株であった。

研究課題 '10-20

真菌感染による「痒み」のマウスモデルの作製と発生機序の解析

倉石 泰・安東嗣修

(富山大学大学院医学薬学研究部)

佐野文子 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究概要

皮膚への糸状菌感染により痒みが誘発する。しかしながら、その痒みの発生機序は不明である。そこで、ドブネズミより単離同定された糸状菌 *Arthroderma vanbreuseghemii* を用いて糸状菌による痒みの発生機序の解明を試みた。*Arthroderma vanbreuseghemii* の抽出物 (E-DEP と表記) をマウス吻側背部に皮内注射すると後肢による痒み関連反応である掻き動作が惹起されたが、熱処理した E-DEP では観察されなかった。E-DEP 誘発掻き動作は、セリンプロテアーゼ阻害薬と PAR2 拮抗薬で抑制されたが、H1 ヒスタミン受容体拮抗薬では抑制されなかった。また、マスト細胞欠損マウスとその対照マウスで E-DEP がほぼ同程度の掻き動作を誘発した。E-DEP に、セリンプロテアーゼ活性及び、PAR2 受容体 N 末ペプチドを切断する活性 (N 末ペプチド切断により PAR2 は活性化される) が認められた。以上の結果より、E-DEP 誘発掻痒反応には、セリンプロテアーゼ及び PAR2 受容体が関与することが明らかとなった。

研究成果

学会発表

- 1) Yamakoshi T, Andoh T, Takayama Y, Lee JB, Sano A, Shimizu T, Kuraishi Y: Involvement of protease and proteinase-activated receptor 2 in dermatophyte-associated itch. ESDR 41st Annual Meeting 2011, Sep

7-10, Barcelona, Spain.

- 2) 高山祐輔, 安東嗣修, 山腰高子, 清水忠道, 佐野文子, 倉石 泰. 皮膚糸状菌誘発搔痒反応へのプロテアーゼとプロテアーゼ活性化受容体 2 の関与. 日本薬学会北陸支部会平成 23 年度第 1 回総会及び第 123 回例会, 平成 23 年 11 月 27 日, 金沢, 石川.

研究課題 '10-21

17 種漢方配合生薬の抗菌作用の検討

西片奈保子 ((財)宮崎県産業支援財団結集型研究推進室)

佐野文子 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究概要

牛白癬治療効果が確認されている 17 種の生薬からなる生薬配合薬 (新中森獣医散) について, *Malassezia pachydermatis* 及び *Trichophyton verrucosum* に対する配合生薬及び各生薬抽出成分の抗真菌効果を, 微量液体希釈法により評価することができた. これにより, 本生薬の抗真菌効果について客観的な評価が得られた. また, これまで微量液体希釈法では評価が困難とされた 2 種の真菌について, 一定の条件下で最小生育阻止濃度を測定することが可能となった.

研究成果

学会発表

- 1) 西片奈保子, 中森健太郎, 高橋英雄, 佐野文子. 生薬配合薬のマイクロ液体希釈法での抗真菌活性評価. 第 54 回日本医真菌学会総会. 講演要旨集. p. 67. 平成 22 年 10 月 16 ~ 17 日. 大手町サンケイプラザ, 東京.
- 2) 西片奈保子, 阪本訓代, 中森敏雄, 中森健太郎, 清水正高, 由地裕之, 佐野文子. 「生薬配合薬エキス封入 Solid-in-Oil (S/O) 型油性外用製剤の牛白癬症治療効果」. 第 27 回日本 DDS 学会学術総会. プログラム予稿集. p. 320. 平成 23 年 6 月 9 ~ 10 日. 東京大学本郷キャンパス, 東京.

論文発表

- 1) 西片奈保子, 中森健太郎, 末吉益雄, 高橋英雄, 由

地裕之, 佐野文子. 生薬配合薬の微量液体希釈法による抗真菌活性評価. *Medical Mycology Journal*. Vol. 52, 213-221, 2011.

研究課題 '10-22

病原性真菌を含む真菌によるプラスチック複合材料のかび抵抗性評価法の検討

飯島直人・岡 千寿 (千葉県産業支援研究所)
矢口貴志・田中玲子・五ノ井 透
(千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

千葉県産業支援技術研究所では, 「持続可能な循環社会に向けたプラスチック複合素材の開発」という研究テーマでバイオマス資源を活用してプラスチック複合材料の開発を行っている. その 1 つとして千葉県特産の落花生の殻に着目し建材ボードの開発を行っている. その安全性試験の一環として, 抗カビ試験を共同で行った. まず, その評価法の検討を行い, 湿室内に試験検体を置き, それに病原真菌を接種し一定時間の経過後, 供試菌株の生育速度を対照と比較した. その条件はほぼ決定出来たので, 今後は菌種を増やして評価を実施する予定である.

研究課題 '10-23

希少な分離株からの新規生理活性化合物の探索研究

河合賢一・細江智夫・板橋武史
(星薬科大学薬学部, 薬化学教室)
矢口貴志 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

新たに分離した菌株を培養し, その培養抽出物の生物活性試験法を実施した. TLC, HPLC 等で成分の検索を行い, 活性成分を含めた新規化合物の単離を行なった. 化合物の構造については, NMR をはじめとする種々の

スペクトルデータの解析, 化学反応およびX線結晶解析等を併用して決定した. 得られた新規化合物について毒性試験をはじめとする各種活性試験を実施し, 医薬品のリード化合物としての可能性の検討を行う予定である. 本年は, *Aspergillus novofumigatus* から diketopiperazine の誘導体である novoamauromine と ent-cycloechinulin を, 新規 cyclic tripeptide である novofumigatamide を単離しその構造を確定した. これら 3 物質には *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* に対する抗真菌活性を有していた.

研究発表

原著論文

- 1) Ishikawa K, Hosoe T, Itabashi T, Wakana D, Takizawa K, Yaguchi T, Kawai K. Novoamauromine and ent-cycloechinulin: Two new diketopiperazine derivatives from *Aspergillus novofumigatus*. Chem Pharm Bull 58: 717-719, 2010.
- 2) Ishikawa K, Hosoe T, Itabashi T, Takizawa K, Yaguchi T, Kawai K. A novofumigatamide, new cyclic tripeptide from *Aspergillus novofumigatus*. Heterocycles 81: 2143-2148, 2010.

研究課題 '10-24

Aspergillus section *Nigri* の分子生物学的手法及び形態による類別とマイコトキシン産生性

久米田裕子・坂田淳子 (大阪府公衆衛生研究所)
横山耕治 (千葉大学真菌医学研究センター)
高橋治男・橋本ルイコ (千葉県衛生研究所)
陰地義樹・浅野勝佳 (奈良県衛生研究所)
田端節子・千葉隆司
(東京都健康安全研究センター)
川上祐司・橋本一浩
(株) エフシージー総合研究所)
中川博之 (農研機構食品総合研究所)

研究成果

- 1) 醸造に用いられている株, あるいは用いられた黒麹菌, 10 株, *Aspergillus awamori* のタイプ種を含む

NBRC 保存株, 7 株, さらには, 汚染食品から *A. niger*, 1 株の, 計 18 株について, チトクローム *b* および rDNA の D1D2 領域, さらには ITS 領域の遺伝子解析を行った.

その結果, チトクローム *b* の遺伝子解析では, 実用黒麹菌は D-9-1 型に集中し, 保存株は, D-9-1 型と D-5-1 型の両方に別れ, 食品分離株は, D-5-1 型であった. D1D2 の遺伝子解析では, チトクローム *b* の遺伝子型が, D-9-1 型で有る場合は, D1D2-8 型に, 同じく, D-5-1 型の場合は D1D2-6 型に別れた. また, ITS 領域の解析では, チトクローム *b* の遺伝子型が, D-9-1 型の場合は Ng6 型に, D-5-1 型の場合は Ng4 型となった.

- 2) 遺伝子型とマイコトキシン産生の関係

チトクローム *b* 遺伝子型が D-9-1 型の場合は, フモニシンもオクラトキシンの産生も認められなかった. すなわち, 実用麹菌では, マイコトキシン産生を有する株は 1 株も認められなかった. これに対して, マイコトキシン産生を有する株は, D-5-1 型に集中した.

以上の結果から, 今回の調査では, 実用麹菌は安全性に問題がないと見られたが, 親株とも見られる NBRC 保存株にマイコトキシン産生を有する考えられる遺伝子型を有する株が存在することから, 継続的な調査が必要であることを示唆した.

研究発表

学会発表

- 1) 橋本ルイコ, 各務清美, 横山耕治, 王麗, 川上裕司, 陰地義樹, 浅野勝佳, 久米田裕子, 高橋治男: 醸造用黒麹菌を含む *Aspergillus* section *Nigri* の類別及びオクラトキシン A 産生性. 日本微生物資源学会 (岐阜) 2010年.

研究課題 '10-25

カイコ幼虫の感染モデルを用いた *Cryptococcus neoformans* 転写因子 SII 遺伝子等の病原性の検証と機能解析

関水 和久・垣内 力

(東京大学大学院薬学系研究科)

川本 進・清水 公徳

(千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

本研究の目的は病原性真菌 *Cryptococcus neoformans* のカイコ幼虫を用いた病原性検定法を確立するとともに、本菌由来の遺伝子、特に、関水らが長年、その解析を進めて来た転写因子 SII 遺伝子の本菌病原性との関わりを、カイコ幼虫を用いて評価し解析することにある。関水らは、「カイコ幼虫による感染モデル」が、黄色ブドウ球菌、レンサ球菌など細菌類に対する病原性解析モデルとして適用できることを既に報告している。従来のマウス等の代替実験生物として、カイコ幼虫を真菌の病原性解析のための感染モデル生物として用い、「カイコ幼虫による真菌感染モデル」を真菌の新しい病原性解析法の開発を目指した。カイコ幼虫の感染モデルを用いた *Cryptococcus neoformans* の病原性の検証と機能解析を行う目的で、病原酵母 *C. neoformans* 感染モデル系の構築を行い確立した。その「カイコ・*C. neoformans* 感染モデル系」を用いて、抗真菌剤の評価法を構築し、主要な抗真菌剤 (Amphotericin B, Flucytosine, Fluconazole, Ketoconazole, Micafungin) について、その評価を行い、本感染モデル系が有効な方法であることを確認した。*C. neoformans* の血清型 A が血清型 D よりも病原性が強い点、病原性発揮に必要とされる遺伝子 *gpa1*, *pkal* and *cnal* 等の各遺伝子破壊株では親株に比較して病原性が減少する点など、哺乳類感染モデルですでに示されている、病原性に関するさまざまな性質について検証したところ、基本的にカイコ感染モデルにおいても同様であることなどが確認でき、今後、我々が構築、検証した「カイコ・*C. neoformans* 感染モデル系」は、*C. neoformans* に対する抗真菌剤のスクリーニングに実用的にも利用されることが期待される。

研究発表

原著論文

- 1) Matsumoto Y, Miyazaki S, Fukunaga D-H, Shimizu K, Kawamoto S, Sekimizu K: Quantitative evaluation of cryptococcal pathogenesis and antifungal drugs using a silkworm infection model with *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Applied Microbiology* 112 (1): 138-146 (2011).

研究課題 '10-26

ヒト病原菌を含む新規真菌類の探索源としての樹木寄生真菌および随伴・共生真菌の分子同定

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)

研究成果

樹木に寄生・共生する真菌類は膨大な数に上り、様々な観点から研究が行われているが、研究の進展の障害の一つとなっているのが同定の困難さである。とりわけいくつかの分類群でそれは顕著である。形態のみで判別の困難な酵母様真菌や黒色真菌は葉面などに生息する樹木の随伴真菌の主要な構成要素であるし、樹木の寄生真菌・共生真菌として重要な位置を占める分生子果不完全菌は同定に極めて専門的な熟練を必要とする。加えて、そもそも培地上で孢子形成を行わない真菌も少なからず存在する。そこで、本研究においては、それら難同定真菌の同定の手掛かりとして、分子生物学的な手法を検討した。

材料となる菌株は鹿児島県内の五箇所の林分より採取したクロマツ生葉および落葉より表面殺菌法を用いて分離した。今回は分離された菌株の中から孢子をほとんど作らず属レベルの同定すら困難だったクロサイワイタケ科の一種と、属レベルの同定は一応出来たものの既存の文献に該当する種の見当たらなかった黒色真菌 *Phialocephala* 属の一種を材料として用いた。両種の各菌株は、5.8S リボソーム RNA の ITS 領域の DNA 配列を決定し、DDBJ のデータと比較することによって分子同定を試みた。

その結果、クロサイワイタケ科の菌株の遺伝子配列はいくつかの *Xylaria* 属菌に近く、*Xylaria* 属の範囲に入る菌であることが明らかとなった。また、*Phialocephala* 属の菌株については、少なくとも *Phialocephala* 属に近縁の菌であることは明らかになったものの、遺伝子配列が完全に一致する同定された既知菌株は存在せず、形態的に一致する既知種も存在しないため、同属の未記載種である可能性が高いと考えられた。

以上のように、分子同定は同定困難な既知の菌のみならず、未知の菌を扱う場合も極めて有効なツールであることが改めて浮き彫りとなった。

研究課題 '10-27

真菌に生物種を越えて保存されているサイクリン依存性キナーゼとサイクリンの構造機能相関に関する研究

田村 裕 (千葉大学大学院医学研究院生命情報学)
川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

我々はこれまでに、*C. neoformans* は、同じ出芽酵母であるもののモデル酵母 *Saccharomyces cerevisiae* とは大きく異なり、特異な細胞周期制御機構が存在し、本酵母の病原性にも深く関わっていることを示唆し、また、その細胞周期制御に中心的な役割を果たしているタンパク質複合体、いわゆる“細胞周期エンジン”を構成している2つの鍵タンパク質分子、CDC28/cdc2 ホモログ、サイクリン依存性キナーゼ (CnCdk1) とその制御因子 G1 サイクリン (CnClN1) の分子クローニング、分子細胞機能解析を進めてきた。今回、CnClN1 と CnCdk1 との両タンパク質間相互作用を、*in vitro* 及び *in silico* 解析によって構造機能相関をバイオインフォマテクス解析も含めて考察するなどして、本菌の特異な細胞周期制御機構の分子解析および考察を進めた。本菌 CnClN1 遺伝子を *Saccharomyces cerevisiae* において発現させ、*S. cerevisiae* の G1 サイクリン ScClN1, ScClN2, ScClN3 との分子構造・機能の比較、また、*S. cerevisiae* のサイクリン依存性キナーゼ ScCDK1 と CnClN1 との間の結合を、CnCDK1 と CnClN1 との間の結合と比較するなどし、更に分子間

結合相関の生理的な意義を考察した。

研究発表

原著論文

- 1) Virtudazo EV, Suganami A, Tamura Y, Kawamoto S: Towards understanding cell cycle control in *Cryptococcus neoformans*: Structure-function relationship of G1 and G1/S cyclins homologue CnClN1. *Biochem. Biophys. Res. Commu.* 416 (1-2): 217-221, 2011.

国際学会発表

- 1) Kawamoto S, Virtudazo EV, Ohkusu M, Tamura Y, Shimizu K, Yamaguchi M, Takeo K: Characterization of Cell Cycle Control Genes in *Cryptococcus neoformans*. 8th International Conference on Cryptococcus and Cryptococcosis (ICCC8), Charleston, South Carolina, USA, May 1-5, 2011.

国内学会発表

- 1) Kawamoto S, Virtudazo EV, Ohkusu M, Tamura Y, Moretti ML, Takeo K: Molecular and Functional Characterization of Two Key Players (Cyclin and Cyclin-dependent kinase 1) of Cell Cycle Control Genes in Pathogenic Yeast, *Cryptococcus neoformans*. 第84回日本生化学会大会, 京都, 9月21~24日, 2011.

研究課題 '10-28

TOF-SIMS (飛行時間型二次イオン質量分析装置) による真菌細胞内脂質局在の解析

田辺公一 (国立感染研究所)
山口正視 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

病原真菌 *Candida glabrata* は、感染宿主体内でステロール輸送体遺伝子 *CgAUS1* を発現して、細胞外ステロールを取り込んでいると考えられ、ステロール取り込みが薬剤感受性や病原性に関係することが示唆されている。*C. glabrata* のステロール取り込みは、*in vitro* では血清添加によって再現できることを見出している。本研究では、*C. glabrata* に血清を添加した際に、菌体に取り込まれたコレステロールと菌がもともと持つエルゴステロールの

細胞内局在を TOF-SIMS による解析で明らかにし、新規の抗真菌薬耐性機序を解明することを目的とした。

予備実験として、合成培地で培養した *C. glabrata* を用いてステロールの検出を試みたが、酵母からは脂質を検出することは出来ず、細胞壁が解析の障壁になっていることが推測された。山口正視准教授より電子顕微鏡観察のための酵母超薄切片を提供していただき、細胞内部が露出した状態のサンプルで脂質の検出を試みた。しかしながら、試料表面の微量の樹脂成分が主に検出されてしまい、酵母細胞由来の脂質の検出には至らなかった。現在、試料調製と分析方法の双方の改良を行い、酵母細胞を破壊せずに脂質を検出する実験手法確立を目標に研究をすすめている。

研究課題 '10-29

真菌様深海微生物の微細形態と進化

丸山 正 (海洋研究開発機構)
小塚芳道 (東京医科大学)
植松勝之 (マリン・ワーク・ジャパン)
山口正視 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

現在地上には、核膜に包まれた核を持つ真核生物と、これを持たない原核生物の 2 つの種類のみしか生存していない。真核生物は原核生物から進化したという説が定説になっているが、その直接的証拠はない。本研究は、隔離された深海という環境で、原核生物から真核生物への進化の途上にある生物を、電子顕微鏡を用いて形態学的に探索し、進化の直接的証拠を得ようとするものである。

2010 年 5 月に、研究船「なつしま」に乗船し (NT10-08)、伊豆・小笠原諸島の明神海丘の海域および初島沖で、水深 800 ~ 1,200 メートルの海底からウロコムシやウミケムシなど多種類の小動物を採集した。試料は、船上で 1 mm 角に細切し、グルタルアルデヒドで固定した。固定した試料を研究室に持ち帰り、オスミウム後固定後エポキシ樹脂に包埋し、小動物に共生している微生物を超薄切片法で観察した。また、最初の観察で微生物が存在した試料については、サンドイッチ法による急速凍結

を行い、より自然な状態で観察した。

全部で 101 試料を観察したが、そのうちの約半数に微生物の存在を確認し、多くの細菌、古細菌、真核微生物を撮影した。微生物は非常に多様性に富み、この中には、未同定の新種が多数含まれると考えられる。また、深海微生物には、地上の微生物とは異なるユニークな形態をもつものが多く、1 枚の切片像からは生物の全体の形が想像できない。今後、連続切片法を用いて、コンピュータ上での三次元再構築により、個々の微生物の全体像をも解析していく予定である。

研究発表

原著論文

- 1) Yamaguchi M, Namiki Y, Okada H, Uematsu K, Tame A, Maruyama T, Kozuka Y: Improved preservation of fine structure of deep-sea microorganisms by freeze-substitution after glutaraldehyde fixation. J Electron Microsc 60: 283-287, 2011.

学会発表

- 1) 山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 植松勝之, 多米晃裕, 丸山 正, 小塚芳道: 深海微生物の微細形態と進化. ブルーアース '11 要旨集: 176, 東京, 3 月 7 日, 2011.
- 2) 井上広滋, 吉田尊雄, 山口正視, 他 21 名: 初島沖・明神海丘航海概要: 化学合成生態系構成生物の環境適応機構・共生機構・微細構造の解明をめざして. ブルーアース '11 要旨集: 185, 東京, 3 月 7 日, 2011.
- 3) 植松勝之, 多米晃裕, 山口正視, 小塚芳道, 吉田尊雄, 丸山 正: シマイシロウリガイ共生細菌の立体構造解析. ブルーアース '11 要旨集: 188, 東京, 3 月 7 日, 2011.
- 4) 植松勝之, 多米晃裕, 布浦拓郎, 吉田ゆかり, 渡部裕美, 豊福高志, 藤原義弘, 丸山 正, 北里 洋, 山口正視: 海洋生物の試料作製のノウハウ. 日本顕微鏡学会関東支部第 35 回講演会. 予稿集: 57, 東京, 3 月 5 日, 2011.
- 5) 山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 植松勝之, 多米晃裕, 丸山 正, 小塚芳道: 深海微生物の微細形態と進化. 日本顕微鏡学会第 67 回講演会. 顕微鏡 46, Supplement 1 (発表要旨集): 197, 福岡, 5 月 16 ~ 18 日, 2011.

- 6) 山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 植松勝之, 多米晃裕, 丸山 正, 小塚芳道: 深海で発見! カモメの3兄弟 (写真コンクール). 日本顕微鏡学会第 67 回講演会. 顕微鏡 46, Supplement 1 (発表要旨集): 270, 福岡, 5月16~18日, 2011.
- 7) 植松勝之, 多米晃裕, 山口正視, 小塚芳道, 吉田尊雄, 丸山 正: シマイシロウリガイ共生細菌の立体構造解析. 日本顕微鏡学会第 67 回講演会. 顕微鏡 46, Supplement 1 (発表要旨集): 135, 福岡, 5月16~18日, 2011.
- 8) 植松勝之, 多米晃裕, 布浦拓郎, 吉田ゆかり, 渡部裕美, 豊福高志, 藤原義弘, 丸山 正, 北里 洋, 山口正視: 海洋生物の試料作製のノウハウ. 日本顕微鏡学会第 67 回講演会. 顕微鏡 46, Supplement 1 (発表要旨集): 74, 福岡, 5月16~18日, 2011.

研究課題 '10-30

線虫を宿主とした時の病原性真菌 *C. glabrata* の局在と機能解析

水野貴之 (徳島文理大学 工学研究科ナノ物質工学専攻)

山口正視 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

C. glabrata が発症前に, 宿主に常在化している状態に着目し, 常在あるいは発症に必要な機構の解析を行っているが, 新しい解析用宿主として線虫を用いた実験系を開発した. 経口投与した線虫の体内で常在化すること, また, 線虫の生育温度によって, 20℃では菌数は一匹あたり 10 個程度で定常化するが, 25℃では, 100 倍以上に増加することが線虫を溶菌することによって明らかとなった. また, 線虫は表皮が透明なことから体内の観察が可能である. 線虫を溶菌することなく AO 染色法により可視化することも可能となった. 現在, 線虫体内での局在と増殖する様子について観察準備中である.

研究業績

学会発表

- 1) 谷岡拓弥, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 山口

正視, 知花博治, 水野貴之: 線虫を用いた *Candida glabrata* の感染機構の解析~スクリーニング系の構築. 第 28 回イーストワークショップ 2010. 11.

- 2) 河野勇弥, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 山口正視, 知花博治, 水野貴之: 生物農薬を目指した線虫内物質生産系の構築. 第 28 回イーストワークショップ 2010. 11.
- 3) 大岩嵩裕, 谷岡拓弥, 河野勇弥, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 山口正視, 水野貴之: 線虫を宿主とした真菌感染症解析系の構築. 第 9 回感染症沖縄フォーラム 2011. 2.
- 4) 大岩嵩裕, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 山口正視, 水野貴之: 病原微生物 *C. glabrata*: 医学的解析と産業的利用. 第 44 回酵母遺伝学フォーラム 2011. 9.
- 5) 大岩嵩裕, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 山口正視, 水野貴之: 線虫を宿主とした. 真菌感染症解析系の構築 ~病原性酵母は敵か味方か?. 第 7 回真菌分子細胞研究会 2011. 11.

研究課題 '10-31

Candida glabrata 遺伝子組換え株の細胞壁マンナンの構造への影響

大川喜男・柴田信之・小河朝子

(東北薬科大学感染生体防御学)

知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

Candida glabrata は *non-albicans Candida* による感染症の原因菌の 1 つとして, 近年 *Candida* 血症患者からの検出頻度が高まっている. *C. glabrata* の病原性は *C. albicans* と比較して低いにも関わらず, 臨床での抗真菌剤耐性菌の出現頻度の高いことが知られている. そこで本菌の細胞壁糖鎖部分の生合成に関与する各種の遺伝子欠損株について, 菌体の性質および細胞壁マンナン構造の変化を解析した.

C. glabrata の各種変異株を酵母エキス加サブロー培地で培養し, 多糖は菌体熱水抽出物より Cetavlon 法により分離した. マンナンタンパク質の構造はアセトリシ

ス分解, 部分酸加水分解, β -脱離反応, 600 MHz NMR スペクトル解析により行った. 菌体の性質は, 浸透圧ストレス (NaCl), 酸化ストレス (H_2O_2), 細胞壁ストレス (Calcofluor white, Congo red), 抗真菌剤 (Itraconazol, Micafungin) 感受性をスポットテストで評価した.

$\Delta mnn10$, $\Delta mnn11$, および $\Delta hoc1$ 株 (いずれも α -1,6-mannosyltransferase 欠損) のマンナンは野生株と比較して NMR スペクトルに変化はなかったが, 分子量の低下がみられた. $\Delta mnn2$ 株 (α -1,2-mannosyltransferase 欠損) のマンナンは側鎖の全く存在しない α -1,6-結合マンノースからなる直鎖構造に変化しており, 分子量はさらに低下していた. $\Delta alg6$ 株 (α -1,3-glucosyltransferase 欠損) および $\Delta gtb1$ 株 (α -1,3-glucosidase II β subunit 欠損) は, 小胞体における N-結合型糖鎖の初期の生合成過程で形成される Glc3Man9GlcNAc2 の代謝に関与する欠損株であるが, マンナンの構造に変化は見られなかった. しかし, $\Delta alg6$ ではいくつかの薬剤 (Calcofluor white, Congo red, SDS 等) に対する感受性が野生株と比較して大きく上昇していた. これはこの遺伝子変異が細胞壁の構築に影響を及ぼしているためと考えられる.

学会発表等

- 1) 高橋静香, 柴田信之, 三浦貴子, 知花博治, 大川喜男. 病原性真菌 *Candida glabrata* 細胞壁多糖合成酵素欠損株の性質. 第 49 回日本薬学会東北支部大会. 郡山市, 2010. 10.
- 2) 高橋静香, 柴田信之, 三浦貴子, 知花博治, 大川喜男. 病原性真菌 *Candida glabrata* 糖鎖合成酵素欠損株の性質および細胞壁の構造. 第 131 回日本薬学会. 静岡市, 2011. 3.
- 3) 柴田信之, 高橋静香, 関由理恵, 伊藤文恵, 田中大, 三浦貴子, 知花博治, 大川喜男. *Candida glabrata* 糖鎖合成酵素欠損株の性質および細胞壁の構造. 第 55 回日本医真菌学会, 東京, 2011. 10.

研究課題 '10-32

Candida glabrata ゲノムのリアノテーションと網羅的発現解析

青山俊弘 (鈴鹿工業高等専門学校・電子情報工学科)
知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

研究成果

近年, さまざまな生物種のゲノムの全塩基配列を解読が行われているが, 真菌ゲノムにおいては, 2008 年にその数が 100 を超えている. ところが, ゲノムアノテーションは, *in silico* で推定されたものであり, 実験的には証明されていない. そのためエキソンやイントロン, ならびに遺伝子開始点の誤同定, アンチセンス遺伝子, 300 bp 以下の短い遺伝子の見落としが指摘されており, 品質的に不十分である.

我々は, *Candida glabrata* ゲノムのより正確な情報の提供を目標に, 6 種類の培養条件下で採取した *C. glabrata* RNA から作製した cDNA ライブラリーについて, 次世代シーケンサーを用いて塩基配列を解析し, 転写開始点のデータベースを構築した. 参照配列にマッピングされた塩基配列タグのヒストグラムから転写開始点を推定し, 下流のスタートコドンとの関係を解析したところ, 95% の塩基配列タグがスタートコドンの -100 から -1bp に含まれており, 既知のアノテーションと一致している事が分かった. 次に, 既知のアノテーションと一致しなかった転写開始点候補について, 網羅的にスタートコドンから翻訳し, 未知遺伝子の同定を行った結果, 18 の *Saccharomyces cerevisiae* ホモログが得られた. また, アミノ酸が 50 残基以上の未知遺伝子候補も得ることが出来た.

研究業績

学会発表

- 1) 中山浩伸, 青山俊弘, 上野圭吾, 知花博治: 次世代シーケンサーを用いたゲノム再アノテーション - *Candida glabrata* を用いた研究 -, 第 54 回日本医真菌学会総会シンポジウム, 真菌誌 51 (増刊 1 号): p. 51, 東京, 2010. 10. 16-17.
- 2) 青山俊弘, 上野圭吾, 中山浩伸, 知花博治: *Candida glabrata* ゲノムの再アノテーション, 第 6 回真菌分子細胞研究会, 要旨集 p. 3. 千葉, 2010. 3.

2010年度 共同利用研究報告書 研究成果集計累計

発表年	2010年	2011年	2012年
原著論文	4	11	0
学会発表	12	23	1

第 25 回千葉大学真菌医学研究センター講習会

担当: 矢口貴志, 田中玲子

病原真菌講習会は、病原真菌・放線菌の基本的取り扱いの知識と技術を習得するために、本センターが実習を中心にして実施している講習会で、年 1 回定員 12 名で開催している。本年度は第 25 回目で、累積受講生は 300 名余になる。本年も定員を大きく超える応募があり、講習は好評の内に終了した。

期日: 平成 23 年 6 月 28 日 (火) ~ 7 月 1 日 (金)

会場: 千葉大学真菌医学研究センター講習会室

内容 (実習・講義): 病原性酵母 病原性アスペルギルス 皮膚科領域真菌症原因菌 病原性接合菌 輸入および新興真菌症原因菌 病原性放線菌 薬剤感受性試験法 菌株保存法

職種内訳: 臨床検査関係 (病院)	8 名
医師・薬剤師	2 名
研究者	2 名

地域別受講者: 東北	1 名
東京	3 名
関東	3 名
関西	1 名
九州	1 名
四国	3 名

プログラム:

(講師: 亀井克彦, 五ノ井 透, 川本 進, 山口正視, 横山耕治, 矢口貴志, 渡邊 哲, 田口英昭, 田中玲子, 鎗田響子, 伊藤純子, 矢澤勝清, 高橋容子)

6 月 28 日 (火) オリエンテーション (矢口)
真菌感染症概論, バイオハザード (亀井)

基本手技 (田中, 伊藤)
補助診断法 (亀井, 田口)
臨床材料の取り扱い (渡邊)
薬剤感受性試験法 (渡邊, 鎗田)

6 月 29 日 (水) 病原性酵母 (田中)
輸入真菌症原因菌 (横山)
菌株保存法 (横山)
病原性アスペルギルス (矢口)

6 月 30 日 (木) 皮膚科領域真菌症原因菌 (矢口, 高橋)
薬剤感受性試験の測定と判定 (渡邊, 鎗田)

病原性放線菌 (五ノ井, 矢澤)
7 月 1 日 (金) 病原性接合菌・新興真菌症原因菌 (矢口)
基本手技の結果の解析 (田中)
真菌細胞概論 (山口)
感染症法 (川本)

2011年真菌医学研究センター全体セミナー

会場: B棟1階 講堂

第1回 1月18日

センター長

・野本明男

第2回 3月17日 微生物資源分野

・大荒田素子

・矢口貴志

第3回 3月22日 病原機能分野

・佐野文子

第4回 4月21日 病原機能分野

・大楠美佐子

・萩原大祐

第5回 5月31日

微生物資源分野

・酒井香奈江

ブラジル SATREPS プロジェクト

・亀井克彦

・村長保憲

・五ノ井 透

第6回 6月21日 臨床感染症分野

・工藤奈都

・王 丹霓

・村長保憲

・田口英昭

第7回 7月29日 感染免疫分野

・尾野本浩司

・西城 忍

第8回 11月22日 病原機能分野, 微生物資源分野

・知花博治

・横山耕治

・山口正視

第9回 12月20日

長崎共同利用研究, 次世代シーケンサープロジェクト

・五ノ井 透

・萩原大祐

・高橋 梓

臨床感染症分野

・田宮浩之

・ウリントヤ

・豊留孝仁

真菌医学研究センター 2011 年若手ベスト論文賞

真菌医学研究センターは、研究活動の更なる活性化並びに発展を目指して、今回、新たに『若手ベスト論文賞』を創設しました。この賞は、以下の条件を満たす候補論文のなかから、最も優秀な研究論文の第一著者に与えられるものです。(1) センター内で行われた研究論文の第一著者、(2) センターの助教、ポスドク及び大学院生などとし、当該年末において年齢が 40 歳未満の者、(3) 当該年の千葉大学真菌医学研究センター報告に掲載される論文、(4) センターを卒業、離任するなどしてから、1 年以内に（電子的な発行も含め）発行された雑誌に掲載された論文。真菌センターでは、2007 年より、「ベスト論文賞」を設け、その年度に優れた論文を発表した研究者個人を顕彰し、表彰して来ましたが、今回、創設された「若手ベスト論文賞」は、その発展版とも言えます。

今回、野本明男センター長の指示により、川本 進、亀井克彦両教授が 2011 年に発表された論文についてその候補者選考に当たり、その推薦者について、センター長が検討し決定することにより行いました。そして、2012 年 2 月 13 日に受賞者を発表するとともに、2 月 21 日に「2011 年若手ベスト論文賞」の授与式を行いました。

受賞した上野圭吾博士らの論文は、腸管常在性・病原性真菌 *Candida glabrata* の腸管定着因子として乳酸脱水素酵素 Cyb2 を発見した研究です。病原性真菌 *C. glabrata* は、腸管などに常在する日和見感染菌ですが、本菌が腸管定着にどのような遺伝子を必要とするか、腸管内で何を炭素源としているかは不明でした。上野博士

らは、*C. glabrata* の遺伝子破壊株ライブラリーを、カイコ幼虫を使ってスクリーニングし、カイコ幼虫に対する毒性の低下が見出された遺伝子欠損株に注目し、マウスを用いた感染実験で腸管定着性が大幅に低下する *cyb2* 欠損株を見出しました。遺伝子配列の情報から *CYB2* は乳酸脱水素酵素をコードしており、乳酸をピルビン酸に変換する触媒反応を担うことが推定され、*cyb2* 欠損株の表現型を観察したところ、乳酸資化性がほとんど失われていましたが、好気生育や嫌気生育、各種病原因子の機能は野生株と同等でした。一方で、生物学的な近縁種である *Saccharomyces cerevisiae* では、同条件下における乳酸資化能がないことが明らかになりました。それらの結果から、低酸素条件化における乳酸資化性は、*C. glabrata* の腸管定着での適応の結果であることが示唆され、*C. glabrata* が腸管に定着するための栄養獲得戦略として乳酸資化が重要であるとする新しいモデルを提唱しました。

今後、若手研究者の益々の頑張りを一層、期待したいと思います。

受賞者: 上野圭吾

論文: Ueno K, Matsumoto Y, Uno J, Sasamoto K, Sekimizu K, Kinjo Y, Chibana H: Intestinal resident yeast *Candida glabrata* requires Cyb2p-mediated lactate assimilation to adapt in mouse intestine. PLoS ONE 6 (9): e24759, 2011. Epub 2011 Sep 9.

————— 編 集 委 員 会 —————

米 山 光 俊 (委員長)

山 口 正 視 (ワーキンググループ長)

知 花 博 治

西 城 忍

田 口 英 昭

矢 口 貴 志

横 山 耕 治

平成 24 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)

POST CARD

〒260-8673 千葉市中央区亥鼻1丁目8番1号

千葉大学真菌医学研究センター 御中

Medical Mycology Research Center (MMRC),
Chiba University

1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-8673
Japan

郵便はがき

2608673

No. _____

千葉大学真菌医学研究センター報告 第15巻 受領書
Annual Report of Medical Mycology Research Center (MMRC),
Chiba University, No. 15 (2011)

日付 Date: _____

機 関 名

Institution: _____

所 在 地 (〒 -)

Address : _____

1. この刊行物を今後も必要とします
Further issues of this publication are wanted.
2. この刊行物を必要としません
This publication is no more wanted.

署 名

Signature: _____



CHIBA UNIVERSITY
2011