

ANNUAL REPORT OF  
MEDICAL MYCOLOGY  
RESEARCH CENTER (MMRC)

CHIBA UNIVERSITY 2009・2010

13・14

千葉大学  
真菌医学研究センター報告

平成22年

# 目 次

はじめに

## 平成 21 (2009) 年 真菌医学研究センター報告

病原真菌研究部門 真菌感染分野 .....	3
病原真菌研究部門 系統・化学分野 .....	16
病原真菌研究部門 真菌資源開発分野 .....	23
病原真菌研究部門 生態分野 .....	27
分子機能研究部門 機能形態分野 .....	30
分子機能研究部門 高分子活性分野 .....	37
分子機能研究部門 活性応答分野 .....	42
病原真菌・放線菌管理室 (微生物保存事業報告) .....	44
平成 21 年度共同利用研究・共同利用研究会一覧 .....	45
平成 20 年度共同利用研究報告 .....	49
平成 21 年度共同利用研究会報告 .....	69
第 23 回千葉大学真菌医学研究センター講習会 .....	72
第 5 回千葉大学真菌医学研究センター外国人講習会 .....	73
第 5 回千葉大学真菌医学研究センター公開市民講座 .....	74
講演会 (第 119 回 ~ 第 120 回) .....	74
2009 年真菌医学研究センター全体セミナー .....	75
真菌医学研究センター 2009 年ベスト論文賞 .....	76

## 平成 22 (2010) 年 真菌医学研究センター報告

真菌症研究部門

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 .....	79
病原機能分野 知花 PI (カンジダフェノーム) プロジェクト .....	87
感染免疫分野 米山 PI (ウイルス感染応答) プロジェクト .....	93
感染免疫分野 西城 PI (サイトカイン) プロジェクト .....	96
臨床感染症分野 亀井 PI (臨床感染症) プロジェクト .....	100
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 .....	110
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 .....	115
微生物資源分野 バイオリソース管理室 .....	118
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」 .....	123
地球規模課題対応国際科学技術協力事業 (JST & JICA) .....	125
長崎大学熱帯医学研究拠点特定領域共同研究 .....	125
平成 22 年度共同利用研究・共同利用研究会一覧 .....	126
平成 21 年度共同利用研究報告 .....	130
平成 22 年度共同利用研究会報告 .....	151
第 24 回千葉大学真菌医学研究センター講習会 .....	152
第 6 回千葉大学真菌医学研究センター公開市民講座 .....	153
講演会 (第 121 回) .....	153
2010 年真菌医学研究センター全体セミナー .....	154
真菌医学研究センター 2010 年ベスト論文賞 .....	155

# 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）の中核機関としても活動しております。現在、16,000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、1) 2部門7分野制から1部門4分野制とすること。2) 4分野のうち1分野を感染免疫分野とし、感染研究と免疫研究を融合させること。3) PI (principal investigator) を選出し、プロジェクト制とすること。などであり、唯一の部門は真菌症研究部門として、研究センター全体を大部門制としました。4分野とは、病原機能分野、感染免疫分野、臨床感染症分野、微生物資源分野であり、さらに、バイオリソースセンターとしての機能強化のため、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としました。

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あり、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、新たな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、まず、センターの各種業務を見直し、統廃合を行い、共同利用センターとプロジェクト研究の両立を図りました。次に、5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、平成21年12月には、各PIが現在および今後展開する夢のあるプロジェクトの内容を具体的に語る会を持ち、その内容を踏まえて、助教や技術職員に自身の所属先を改めて選んでもらい発展的な組織としました。平成22年4月には、空席であった感染免疫分野の教授として、京都大学ウイルス研究所から米山光俊博士が就任し、さらに同年10月には、感染免疫分野のテニュアトラック准教授として、東京大学医科学研究所から西城 忍博士が就任しました。現在、同分野の助教の選考が行われています。この2人が加わり7人のPIからなる新しい研究体制のもと、真菌研究が大いに花開くことを期待しています。

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、我が国のように高齢化社会が進むと、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理解していただき、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獲得し、また、ポスドクを雇用して研究推進していく体制を検討していかなければならないところでありますが、外部資金等では解決がつかない点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22年3月には、3名の助教（栗田啓幸博士、伊藤恵美子博士、宇野 潤博士）が退任し、同時に小網政敏事務長も退任した。千葉大学の事務組織改革のため、後任事務長は置かず、新たに設置された亥鼻地区事務部の三田康人管理課長が当研究センターの事務責任者として就任しました。

平成22年12月

千葉大学真菌医学研究センター長

野 本 明 男



平成 21 年 千葉大学真菌医学研究センター報告

ANNUAL REPORT OF  
MEDICAL MYCOLOGY  
RESEARCH CENTER (MMRC)  
CHIBA UNIVERSITY 2009

13



# 病原真菌研究部門 真菌感染分野

(Department of Pathogenic Fungi, Division of Fungal Infection)

## 教授：亀井克彦

- 学内委員 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危害防止主任者
- 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長，自己点検・評価委員会委員，倫理審査委員会副委員長，研究推進チームメンバー，組織・機能改善委員会委員長，研究部門連絡会委員，微生物管理保存 WG 委員長，個人評価 WG 委員長，市民相談等対応グループメンバー，拠点申請検討会委員，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・学術集会委員（11月まで）・編集委員長（5月から）・論文賞選考委員会委員長（5月から）・疫学調査委員会委員（12月から），日本感染症学会編集委員（3月まで）・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（呼吸器系）・深在性真菌症に対する抗真菌剤の適正使用等のガイドライン作成委員，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，Journal of Infection and Chemotherapy 編集委員（3月まで），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・会長，肺真菌症研究会世話人，関東医真菌懇話会幹事・世話人，千葉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，Advances Against Aspergillosis（国際アスペルギルス症学会）Scientific Committee & Faculty
- 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)

- 受賞 分担：真菌症フォーラム第10回学術集会優秀賞受賞：豊留孝仁，渡辺 哲，落合恵理，亀井克彦「*Histoplasma capsulatum* H 抗原および M 抗原タンパク質の発現・精製およびこれらを用いたヒストプラズマ症患者血清中抗体検出法についての検討」。名古屋，（2009年2月21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，ヤンセンファーマ株式会社イトラコナゾール内用液臨床試験に係る効果安全性評価委員，ヤンセンファーマ株式会社製造販売後調査に係る医学専門家，萬有製薬株式会社独立安全性評価委員，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 遺伝資源に関する大腸菌小委員会委員（4月から），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（6月から），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 生物遺伝資源委員会委員（6月から），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プロジェクト情報運営委員会委員（6月から），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プロジェクト原核生物運営委員会委員（6月から），財団法人日本宇宙フォーラム 公募地上研究生命科学系分野「きぼう」利用重点課題研究平成21年度最終評価パネル委員（6月から），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プロジェクト運営委員会委員長会議委員（6月から）
- 准教授：佐野文子
- センター内委員 教員会議委員，総務委員会委員，共同利用委員会委員，広報委員会委員
- 学協会への貢献 日本医真菌学会評議員

○国および地方公共団体への貢献 千葉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 member, ASM member

助教: 栗田啓幸

○センター内委員 有害廃棄物委員

○学協会への貢献 日本医真菌学会評議員

○所属学会 日本医真菌学会, 日本農芸化学会

助教: 大荒田素子

○学内委員 実験動物委員会委員, セクシャルハラスメント防止委員会委員

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

○所属学会 日本農芸化学会, 日本栄養・食糧学会, 日本食品免疫学会, 日本油化学会学協会への貢献 生体パーオキシド研究会幹事

○受賞 代表: 真菌医学研究センターベスト論文賞 (2010年2月9日)

助教 (兼任): 渡辺 哲

○学内委員 附属病院 ICT 委員, 附属病院病院感染管理委員, 附属病院保険委員, 附属病院ベッドマネージャー委員, 附属病院手術部小委員

○所属学会 日本内科学会, 日本呼吸器学会, 日本感染症学会, 日本医真菌学会, 日本細菌学会, 日本結核病学会, 日本臨床微生物学会, 日本病理学会

○学協会への貢献 千葉真菌症研究会世話人, 千葉真菌症カンファレンス世話人, 日本感染症学会評議員, 同編集委員, 日本医真菌学会評議員

○その他 千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部助教

技術職員: 鎗田響子

非常勤講師: 高橋容子 (きさらづ皮膚科クリニック)

非常勤講師: 多部田弘士 (船橋市立医療センター呼吸器内科)

特任教員: 豊留孝仁 (2009.4~2010.3)

リサーチレジデント: 落合恵理 (2009.4~2010.3)

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: 高山明子 (2005.7~2009.3)

技術補佐員: 花見有紀 (2009.4~2010.3)

研究員: 北村一樹 (2009.2~3)

大学院医学薬学府 博士課程: 永吉 優 (2006.4~2010.3)

大学院医学薬学府 博士課程: 村田佳輝 (2005.4~2009.3)

大学院医学薬学府 博士課程: 高橋英雄 (2005.4~2009.3)

大学院医学薬学府 修士課程: 岩崎 彩 (2007.4~2009.3)

大学院医学薬学府 博士課程: 王 丹霓 (2009.10~)

## 研究概要 (共同研究を含む)

### 1. ヒストプラズマ症における抗ヒストプラズマ抗体検出法の改良

現在市販されているヒストプラズマ症検査・診断薬では検出している *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検索を行ってきた。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、エピソードの絞り込み等の更に詳細な検討を続けている。また、共同利用研究において可溶性抗原タンパク質の精製を行い、いくつかの抗原タンパク質を可溶化できた。これらの可溶性抗原タンパク質のさらなる応用が期待される。

## 2. $\beta$ -グルカン受容体 Dectin-1 を含む宿主側の *Aspergillus fumigatus* 認識受容体に関する研究

近年、感染初期の自然免疫応答が注目を浴びている。細菌やウイルスでは病原体を認識する受容体について盛んに研究が行われている。しかしながら、真菌についてはその研究は緒についたばかりである。

我々は樹状細胞株 DC2.4 細胞に *A. fumigatus* を感染させると宿主側転写因子 AP-1 の活性化が惹起されることを見出した。この AP-1 活性化は *A. fumigatus* 膨化分生子において最も強く惹起された。膨化分生子表面に  $\beta$ -グルカンが露出されることを確認し、 $\beta$ -グルカン受容体 Dectin-1 が AP-1 活性化に重要と推測した。種々の実験より、Dectin-1 が *A. fumigatus* 表面の  $\beta$ -グルカンと会合することによって AP-1 活性化が惹起されることを明らかとし、さらに Dectin-1 細胞質ドメインで会合する Syk チロシンキナーゼが AP-1 活性化に重要であることも確認した。また、宿主細胞からの TNF- $\alpha$  産生にも  $\beta$ -グルカン認識による Dectin-1/Syk/AP-1 のシグナルが重要であることを示した。現在、Syk チロシンキナーゼ下流で本シグナル伝達に関わっていると考えられる MAP キナーゼについても解析を進めている。同時に、Dectin-1 以外の *A. fumigatus* 認識受容体を探索する試みも行っている。

## 3. *Aspergillus fumigatus* 成長に血清成分が及ぼす影響

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、血清中に含まれる生育促進因子を同定し、この因子単独で菌糸伸長を促進することを確認した。更にこの因子が *A. fumigatus* に及ぼす影響について検討を行っている。

## 4. 真菌の吸入による肺高血圧症に関する研究

これまでに *Stachybotrys chartarum* の胞子を経気管的に反復投与したマウスで肺動脈壁中膜・内膜の肥厚および狭窄、右室圧の上昇が生じることを確認し、これらがヒトの肺高血圧症に非常に類似していることを確認してきた。本年は室内環境内に多く浮遊する菌種を用い、本病変形成の菌種間差および菌株間差について検討を進めた。その結果、*S. chartarum* と *Aspergillus fumigatus* では、各々複数の株で同様の肺動脈病変が形成されることを確認した。*Cladosporium cladosporioides* ではこれらの菌種よりも大量の胞子を投与した場合にのみ同様の病変形成を認めた。これらに対し、*Penicillium citrinum*, *P. chrysogenum* ではこの病変形成は認められず、菌種により本病変の形成能が異なる可能性が示された。更に菌種および菌株を増やして本病変形成の検討を行っている。

一方、*S. chartarum* および *A. fumigatus* のマイコトキシシン産生性を検討したところ、*S. chartarum* から trichothecene を検出するとともに、両菌種から gliotoxin を検出した。さらに *S. chartarum* の複数株について系統解析を行ったところ、*S. chartarum* とされていた菌株は *S. chartarum* と *S. chlorohalonata* の 2 種に大別された（系統・化学分野/矢口准教授との共同研究）。これら菌種の相違と本病変形成との関係については、今後更に検討を進めたい。

また、本病変の形成機序を検討するためにヒト肺動脈血管内皮細胞または血管平滑筋細胞を *S. chartarum* の胞子洗浄液に曝露したところ、前者の培地中において IL-8 産生の増加を認めた。また、*S. chartarum* 投与モデルに Rho-kinase inhibitor の長期経口投与を行ったところ、肺動脈 remodeling が有意に抑制されることが示された。今後、肺血管病変の形成における cytokine や RhoA/Rho-kinase 経路の関与についての検討を予定している。

## 5. 人獣共通真菌症に関する研究

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) ドブネズミより分離された *Arthroderma vanbreuseghemii* について

本菌種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。本菌種はげっ歯類（ドブネズミなど）が保菌し、ネコがネズミを捕獲することにより感染し、そのネコにヒトが接触して感染すると推測されている。今回、ドブネズミなど 33 頭の被毛を調べたところ、千葉県で捕獲されたドブネズミ 1 頭より本菌種が分離され、その遺伝子型は既知のヒト症例由来株と同一であったことから、本菌種の感染にドブネズミの関与が示唆された。

2) 千葉県で飼育されている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

2008 年夏、我が国で初めて *M. gallinae* のヒト症例が沖縄県で確認され、その後の調査では同県で飼育されているシャモから *Arthroderma simii* とその他数種の皮膚糸状菌症原因菌関連菌種が分離された。そこで、本州のニワトリ類の皮膚糸状菌症原因菌保有状況を知るため、千葉県のニワトリ類 53 羽を調べたところシャモ、烏骨鶏などから皮膚糸状菌症関連菌種が分離され、現在同定を進めている。

3) 水族館飼育イルカの呼気から分離される *Candida* 属菌種の通年変化

沖縄美ら海水族館で飼育されているイルカは、健康状態でも、噴気孔から病原性の *Candida* 属菌種を噴出することがわかっているが、一過性の増殖によるものか、個体特有の正常菌叢であるかは不明であった。そこで、2009 年 2 月から 12 月にかけて 2 ヶ月に 1 度、全個体の呼気から分離された *Candida* 属菌を調べたところ、個体特有の正常菌叢であることが示唆された。

4) 魚類、イルカなどから分離された新興真菌症原因菌 *Exophiala xenobiotica*

本菌種は 2006 年に新種として記載され、ヒトで皮下の褐色糸状を起こすことが知られているが、養殖シマアジ、飼育下死亡イルカの舌と胃からも分離された。食品を通じて、ヒトへの調理時、喫食時の感染は皆無とは言えない。

5) *Trichosphyton verrucosum* の 2 症例

本菌種は牛を宿主とする皮膚糸状菌症であるが、時にヒトに感染する。50 歳以下の年齢層に多い。高

知県で 2 症例を経験した。

6. 精神ストレスに伴う病原真菌感染抵抗性の変調に及ぼす食餌性脂質の影響

精神ストレスに伴う病原真菌感染抵抗性の変調に及ぼす食餌性脂質の影響について、病原真菌 *Paracoccidioides brasiliensis* 感染症をモデルに検討した。オリーブ油摂取マウスで、精神ストレス（3 週間の隔絶飼育）負荷により、肝臓の抗菌活性が低下した。大豆油摂取マウスでは、ストレスに伴う抗菌活性の低下は生じなかった。オリーブ油および大豆油摂取マウスとも感染に伴う肝臓での IFN- $\gamma$  産生の増加が、精神ストレス負荷により促進された。一方、大豆油摂取マウスで、感染に伴うミエロペルオキシダーゼ産生の増加が、精神ストレス負荷により遅延した。これらの結果は、病原真菌感染抵抗性に対する精神ストレスの影響が、大豆油と比べてオリーブ油の摂取により強まることを示している。

7. 河川から分離された *Ochroconis* 属新菌種に関する研究

箱根の温泉流入河川水より 2004 年に分離され、病原真菌 *Ochroconis gallopava* との比較の結果、新種と判明した 2 菌株について、種名 *Ochroconis calidifluminalis* として新種登録されることが決定した。発表は次年度となる予定である。

## 研究成果の発表

### 1. 著書

- 1) 亀井克彦（分担）、渡辺 哲（分担）：I 深在性真菌症の疫学・環境 Q4 海外渡航者で気をつけるべき真菌症とその対策は？「改訂 3 版 深在性真菌症 Q&A」、河野 茂編，pp. 22-26，医薬ジャーナル社，2009。
- 2) 亀井克彦（分担）：4. 真菌感染症 I. 輸入真菌症。「皮膚感染症のすべて－私の治療のコツ－」，渡辺晋一編集，pp. 212-217，南江堂，2009。
- 3) 亀井克彦（分担）、佐野文子（分担）、他 72 名：ヒストプラズマ症。「ズーノーシスハンドブック－医療関係者・獣医療関係者のための診断・治療ガイド－」，岸本寿男，山田章雄監修，pp. 182-184，メディカルサイエンス社，2009。

- 4) 亀井克彦 (分担編集), 他: 「一般医療従事者のための深在性真菌症に対する抗真菌薬使用ガイドライン」日本化学療法学会「一般医療従事者のための深在性真菌症に対する抗真菌薬使用ガイドライン作成委員会」編, 杏林社, 2009.
- 5) 亀井克彦 (分担), 他 92 名: アスペルギルス症. 「コンパクト内科学」, 井上修二, 上原誉志夫, 金澤真雄, 川口 実, 代田常道編集, pp. 423, 金芳堂, 2009.
- 6) 渡辺 哲, 亀井克彦 (分担): 米国留学後の健康診断で胸部異常陰影を指摘され精査のため来院した 28 歳男性. 「New 専門医を目指すケース・メソッド・アプローチ 11 感染症」, 山口恵三, 舘田一博編, 編集協力: 青木洋介, 石田 直, 岩田 敏, 大曲貴夫, 亀井克彦, 三嶋廣繁, pp. 513-519, 日本医事新報社, 2009.
- 7) 佐野文子 (分担), 他 44 名: 病原真菌の真菌学・免疫・薬剤感受性 Q8 人獣共通の真菌症があるか? 「改訂第 3 版 深在性真菌症 Q&A」, pp. 37-39, 河野 茂編. 医薬ジャーナル社, 大阪, 2009.

## 2. 原著

### 英文

- 1) Melo NR, Taguchi H, Culhari VP, Kamei K, Mikami Y, Smith SN, Vilela MS: Oral candidiasis of HIV-infected children undergoing sequential HIV therapies. *Med Mycol* 47(2): 149-156, 2009. (査読有)
- 2) Tatibana BT, Sano A, Uno J, Kamei K, Igarashi T, Mikami Y, Miyaji M, Nishimura K, Itano EN: Detection of *Paracoccidioides brasiliensis gp43* gene in sputa by loop-mediated isothermal amplification method. *J Clin Lab Anal* 23(2): 139-143, 2009. (査読有)
- 3) Oarada M, Kamei K, Gono T, Tsuzuki T, Toyotome T, Hirasaka K, Nikawa T, Sato A, Kurita N: Beneficial effects of a low-protein diet on host resistance to *Paracoccidioides brasiliensis* in mice. *Nutrition* 25(9): 954-963, 2009. (査読有)
- 4) Watanabe A, Hashimoto Y, Ochiai E, Sato A, Kamei K: A simple method for confirming correct endotracheal intubation in mice. *Lab Anim* 43(4): 399-401, 2009. (査読有)
- 5) Aoyama K, Kang Y, Yazawa K, Gono T, Kamei K, Mikami Y: Characterization of clinical isolates of *Gordonia* species in Japanese clinical samples during 1998-2008. *Mycopathologia* 168(4): 175-183, 2009. (査読有)
- 6) Munchan C, Kurata O, Wada S, Hatai K, Sano A, Kamei K, Nakaoka N: *Exophiala xenobiotica* infection in cultured striped jack, *Pseudocaranx dentex* (Bloch & Schneider), in Japan. *J Fish Dis* 32(10): 893-900, 2009. (査読有)
- 7) Naota M, Shimada A, Morita T, Kimura K, Ochiai K, Sano A: Granulomatous pericarditis associated with systemic mucormycosis in a finless porpoise (*Neophocaena phocaenoides*). *J Comp Pathol* 140(1): 64-66, 2009. (査読有)
- 8) Muraosa Y, Morimoto K, Sano A, Nishimura K, Hatai K: A new peronosporomycete, *Halioticida noduliformans* gen. et sp. nov., isolated from white nodules in the abalone *Haliotis* spp. from Japan. *Mycoscience* 50(2): 106-115, 2009. (査読有)
- 9) Arai M, Imazeki F, Yonemitsu Y, Kanda T, Fujiwara K, Fukai K, Watanabe A, Sato T, Oda S, Yokosuka O: Opportunistic infection in the patients with acute liver failure: a report of three cases with one fatality. *Clin J Gastroenterol* 2: 420-424, 2009. (査読有)
- 10) Oarada M, Igarashi M, Tsuzuki T, Kurita N, Gono T, Nikawa T, Hirasaka K, Miyazawa T, Nakagawa K, Kamei K: Effect of dietary oils on host resistance to fungal infection in psychologically stressed mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 73(9): 1994-1998, 2009. (査読有)

### 和文

- 1) 石黒 卓, 高柳 昇, 原澤慶次, 吉井 悠, 松下文, 米田絃一郎, 宮原庸介, 鍵山奈保, 徳永大道, 青木史暁, 斉藤大雄, 生方幹夫, 倉島一喜, 柳澤勉, 杉田 裕, 河端美則, 亀井克彦: イトラコナゾールの中止後に再発したスエヒロタケによる気管支粘液栓の 1 例. *日呼吸会誌* 47(4): 296-303, 2009. (査読有)

## 3. 総説・解説・その他

- 1) 亀井克彦: 帰ってきた真菌症 輸入真菌 - *Coccidioides immitis* と *Histoplasma capsulatum*. *臨床検査* 53(1):

- 4-8, 2009.
- 2) 亀井克彦: 真菌 *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*. 臨床と微生物 36(2): 163-5, 2009.
  - 3) 亀井克彦: 真菌 *Schizophyllum commune* (スエヒロタケ). 臨床と微生物 36(2): 165-7, 2009.
  - 4) 渋谷和俊 (分担), 亀井克彦 (研究協力者), 片野春隆, 中山晴雄, 篠崎 稔, 落合恵理 (研究協力者): 糸状菌吸入による肺高血圧および血管構築改変の機序に関する解析. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「特定疾患の微生物的原因究明に関する研究」平成 20 年度総括・分担報告書 pp. 6-53, 2009.
  - 5) 亀井克彦 (分担): 輸入真菌症の国内発生状況調査 2. 肺線維症症例に潜在するヒストプラズマ症のスクリーニングに関する研究 3. ヒストプラズマ症の血清診断法に関する基礎的研究. 厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「深在性真菌症と輸入真菌症に関する新しい検査法と抗真菌薬の開発, 並びに病原因子の解明に向けたポストゲノムの基盤的研究」平成 20 年度総括・分担研究報告書 pp. 27-24, 2009.
  - 6) 佐野文子 (分担), 亀井克彦 (研究協力者): 伴侶動物等に由来する真菌症等の診断, 予防法に関する研究. 平厚生労働科学研究費補助金 (新興・再興感染症研究事業)「動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究」平成 20 年度研究成果報告書 pp. 161-205, 2009.
  - 7) 亀井克彦 (分担), 豊留孝仁 (研究協力者): 慢性壊死性肺アスペルギルス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 20 年度研究成果報告書 pp. 42-5, 2009.
  - 8) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 岩崎 彩, 亀井克彦: 宿主からの攻撃に対抗する *Aspergillus fumigatus* の戦略 - 具有する飛び道具と鎧 -. 真菌誌 50(3): 139-145, 2009.
  - 9) 亀井克彦: 一般医療者への抗真菌薬ガイドライン. 呼吸器科 16(1): 38-44, 2009.
  - 10) 亀井克彦: 真菌と感染症. 空気清浄 47(3): 24-30, 2009.
  - 11) 亀井克彦 (座長), 宮崎義継: ランチョンセミナー 深在性真菌症の治療に必要な診断 (第 83 回日本感染症学会学術講演会収録). 深在性真菌症 ~ SFI Forum ~ 5(2): 42-6, 2009.
  - 12) 亀井克彦, 渡辺 哲: 施設内感染に関連する微生物真菌. 臨床検査 53(11): 1263-8, 2009.
  - 13) 亀井克彦: 微生物別の種類別にみた施設内感染制御 真菌 コクシジオイデス. 臨床検査 53(11): 1395-9, 2009.
  - 14) 亀井克彦: 帰ってきた真菌症 スエヒロタケ (*Schizophyllum commune*). 臨床検査 53(13): 1620-2, 2009.
  - 15) 佐野文子, 西村和子: 特集 皮膚真菌症診断ガイド - これだけは知っておきたい皮膚真菌症の知識 - 病原黒色真菌および類縁病原真菌の分離・同定について. MB Derma 148: 55-63, 2009.
  - 16) 佐野文子: 特集 子どもと動物 - 上手にふれあうためには - 8. 皮膚真菌症 小児科臨床 62: 739-49, 2009.
  - 17) 佐野文子: 話題の感染症 ヒストプラズマ症の最新の知見 - 家庭内飼育動物が罹患したら - モダンメディア 55: 36-45, 2009.
  - 18) 佐野文子: 珍しい真菌感染症. InfoVets 12(5): 18-24, 2009.
  - 19) 佐野文子, 高橋英雄, 村田佳輝, 亀井克彦: 特集 人と動物の共通感染症最前線 6. 小動物臨床獣医師を対象としたヒストプラズマ症に関する認識調査. 獣医畜産新報 62(6): 467-8, 2009.
  - 20) 芝原友幸, 小川秀治, 佐野文子, 門田耕一, 久保正法: 子牛の *Scopulariopsis brevicaulis* による全身性過角化症. 動物衛生研究成果情報 8: 45-6, 2009.
  - 21) 佐野文子: 翻訳: スイスにおける人獣共通皮膚糸状菌症の原因菌 *Trichophyton mentagrophytes* 複合菌種 (*Arthroderma vanbreuseghemii* と *Arthroderma benhamiae*) の感染源である愛玩動物. 原題: Pets as the main source of two zoonotic species of the *Trichophyton mentagrophytes* complex in Switzerland, *Arthroderma vanbreuseghemii* and *Arthroderma benhamiae*. 獣医皮膚科臨床 19: 61-8, 2009.
4. 学会・シンポジウム・研究会での招待講演
- 1) 亀井克彦: 特別講演 わが国における真菌症の現状. 第 42 回日本病理学会関東支部学術集会, 千葉,

3月21日, 2009.

- 2) 渡辺 哲, 豊留孝仁, 亀井克彦: シンポジウム「真菌症をめぐる最近の話題」アスペルギルス・フミガーツスの病原因子の探索～グリオトキシンを中心に～. 日本マイコトキシン学会第66回学術講演会, 講演要旨集 p.18, 千葉, 8月28日, 2009.
- 3) 亀井克彦: シンポジウム4 ～再興感染症と輸入感染症～ 脳ヒストプラズマ症. 第14回日本神経感染症学会総会, 栃木, 10月18日, 2009.
- 4) 亀井克彦: 特別講演 真菌症－わかってきたこと, わからなくなってきたこと. 第46回日本細菌学会中部支部総会, 名古屋, 10月23日, 2009.
- 5) 亀井克彦: 市民公開講座 もっと知ろう, かびの病気 輸入真菌症. 第58回日本感染症学会東日本地方会学術集会第56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.101, 東京, 10月30～31日, 2009.
- 6) 亀井克彦: 講演 真菌症とその後. 第22回関東甲信地区微生物検査研修会 テーマ「真菌へのアプローチ－病原性真菌と発酵微生物工学－」, プログラム p.9, 石和, 11月14～15日, 2009.
- 7) 亀井克彦: 市民講座 輸入真菌症. 第57回日本化学療法学会西日本支部会第52回日本感染症学会中日本地方回学術集会, 名古屋, 11月26～28日, 2009.

## 5. 一般発表

### 国際学会

- 1) Yoshida T, Furuhashi N, Tsuji H, Kawai M, Kamei K, Kawabata A, Ito Y: Cryptococcosis in an immunocompetent patient. SGIM 32nd Annual Meeting, Miami Beach, Florida, USA, May 13-16, 2009.
- 2) Sano A, Itano EN: An atypical isolate of *Paracoccidioides brasiliensis* found in our culture collection. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p.131, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 3) Watanabe A, Toyotome T, Sato A, Ochiai E, Nagayoshi M, Kamei K: Putative virulence factors of *Aspergillus fumigatus*. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p.146, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 4) Toyotome T, Watanabe A, Ochiai E, Kamei K: The activation of host transcription factor, AP-1, triggered by *Aspergillus fumigatus*. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p.170, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 5) Ochiai E, Kamei K: Pulmonary hypertension caused by inhalation of fungal spores a new mycotoxic disease. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p.237, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 6) Nagayoshi M, Ochiai E, Watanabe A, Sato A, Tada Y, Tatsumi K, Shibuya K, Kamei K: Rho-kinase inhibitor suppresses pulmonary artery remodeling induced in mice by repeated inhalation of *Stachybotrys chartarum*. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p.317, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 7) Ochiai E, Nagayoshi M, Sato A, Watanabe A, Toyotome T, Shibuya K, Kamei K: The effect of fungal species and murine strains on the development of pulmonary arterial hypertension. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p.321, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 8) Oarada M, Kurita N, Gono T, Kamei K: Effect of dietary oils on host resistance to *Paracoccidioides brasiliensis* infection in mice. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p.331, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 9) Itano EN, Nagashima LA, Sano A, Kamei K, Uno J, Nishimura K: Production and analysis of polyclonal antibodies to *Arthrographis kalrae* soluble antigens with hemolytic activity. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p.333, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 10) Itano EN, Marquez AS, Sano A, Vicentini AP, Kaminami MS, Ono MA, Camargo ZP: IgG-IgE

- and IgG-gp43 immune complexes in acute and chronic Paracoccidioidomycosis. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p. 334, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 11) Yarita K, Sano A, Kamei K, de Hoog S, Nishimura K: A new species of genus *Ochroconis* closely related to *O. gallopava* isolated from a hot spring effluent. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p. 381, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
  - 12) Mochizuki T, Kawasaki M, Tanabe H, Anzawa K, Ishizaki H, Kamei K, Takahashi Y, Fujihira M, Shinoda H: Molecular epidemiology of *Trichopyton tonsurans* isolated in Japan between 2006 to 2008. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p. 413, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
  - 13) Miyasato H, Hosokawa A, Sano A, Uezato H: First case of tinea corporis by *Microsporum Gallinae* in Japan. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p. 416, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
  - 14) Takahashi Y, Sano A, Yarita K, Kamei K, Nishimura K: An endemic cross-infection between humans and cats and a non-endemic human infection caused by *Arthroderma vanbreuseghemii* and molecular epidemiology. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p. 417, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
  - 15) Sano A, Takahashi H, Murata Y, Kamei K: A canine case of *histoplasmosis duboisii* in Japan. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p. 493, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
  - 16) Ueda K, Sano A, Miyahara H, Uchida S: Repeated isolations of *Scedosporium apiospermum* from skin of manatees (*Trichechus manatus*). The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p. 448, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
  - 17) Itano EN, Leonello PC, Tristao FSM, Vivna RHF, Uno J, Ono EYS, Cenancio EJ, Sano A: IgG to *Histoplasma capsulatum* high MM antigens (hMMAgs) and IgG-hMMAgs immunocomplex in experimental histoplasmosis in mice. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p. 482, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
  - 18) Toyotome T, Watanabe A, Ochiai E, Taguchi H, Kamei K: The utility of recombinant proteins of H and M antigens of *Histoplasma capsulatum* in the detection of specific antibodies in patients' serum. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p. 483, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
  - 19) Murata Y, Mori S, Sano A, Nishimura K, Kamei K: A case of systemic infection of *Colletotrichum gloeosporioides* in a cat with feline immunodeficiency virus infection. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM2009), Program and Abstract Book p. 493, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
  - 20) Oarada M, Tsuzuki T, Igarashi M, Miyazawa T, Nakagawa K, Gono T: Effects of dietary fish oil on lipid peroxidation and serum triglyceride levels in psychologically stressed mice. The 1st International Conference of Lipid Hydroperoxide Biology and Medicine, Sendai, November 4-6, 2009.

#### 国内学会

- 1) 滝埜昌彦, 落合恵理, 亀井克彦, 小西良子: LC/TOF-MS を用いた *Stachybotrys chartarum* 及び *Aspergillus fumigatus* のキャラクターゼーション. 日本マイコトキシン学会第 65 回学術講演会, 多摩, 1 月 9 日, 2009.
- 2) 永吉 優, 多田裕司, 笠原靖紀, 田辺信宏, 巽 浩一郎, 渋谷和俊, 渡辺 哲, 亀井克彦: 真菌感染症と肺高血圧症. 第 1181 回千葉医学会 第 8 回呼吸器内科例会 (第 22 回呼吸器内科同門会), 千葉, 1 月 10 日, 2009.
- 3) 豊留孝仁, 岩崎 彩, 渡辺 哲, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* 培養上清が宿主肺細胞に及ぼす影響. 第 7 回感染症沖縄フォーラム, 那覇, 2 月 12 ~ 14 日, 2009.

- 4) 亀井克彦, 佐藤綾香, 田口英昭, 豊留孝仁, 落合恵理, 渡辺 哲: イメージアナライザーを用いた抗真菌薬 MIC 測定の検討. 第 20 回日本臨床微生物学会総会, プログラム・抄録集 18(4): 134, 仙台, 1 月 31 ~ 2 月 1 日, 2009.
- 5) 榎本和美, 西山秀樹, 池上志乃富, 村上いつか, 白山秀夫, 松本公一, 加藤剛二, 亀井克彦: 急性リンパ性白血病 (ALL) 治療中に発症した播種性 *Fusarium* 症の 1 例. 第 20 回日本臨床微生物学会総会, プログラム・抄録集 18(4): 163, 仙台, 1 月 31 ~ 2 月 1 日, 2009.
- 6) 田口英昭, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 落合恵理, 佐藤綾香, 亀井克彦: ヒト血清中に含まれる micafungin と voriconazole の *Aspergillus fumigatus* の菌糸成長速度に対する単独及び併用時の抑制効果の検討. 第 20 回日本臨床微生物学会総会, プログラム・抄録集 18(4): 180, 仙台, 1 月 31 ~ 2 月 1 日, 2009.
- 7) 菊地勇治, 佐々木裕美, 古畑由紀江, 田澤庸子, 堀内 啓, 亀井克彦: 低形成性骨髄異形成症候群患者に発症した *Geotrichum capitatum* による敗血症の 1 例. 第 20 回日本臨床微生物学会総会, プログラム・抄録集 18(4): 162, 仙台, 1 月 31 ~ 2 月 1 日, 2009.
- 8) 渡辺 哲, 猪狩英俊, 渡辺正治, 中村安孝, 村田正太, 長谷川敦, 戸来依子, 佐藤武幸, 亀井克彦: 千葉大学附属病院における深在性真菌症症例数の年次推移. 真菌症フォーラム第 10 回学術集会, プログラム/抄録集 p.54, 名古屋, 2 月 21 日, 2009.
- 9) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 落合恵理, 亀井克彦: *Histoplasma capsulatum* H 抗原および M 抗原タンパク質の発現・精製およびこれらを用いたヒストプラズマ症患者血清中抗体検出法についての検討. 真菌症フォーラム第 10 回学術集会, プログラム/抄録集 p.110 名古屋, 2 月 21 日, 2009.
- 10) 落合恵理, 亀井克彦, 滝埜昌彦, 小西良子, 矢口貴志, 松澤哲宏, 佐藤綾香, 永吉 優, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 渋谷和俊: *Stachybotrys chartarum* によるマイコトキシン産生性についての検討. 真菌症フォーラム第 10 回学術集会, プログラム/抄録集 p.122, 名古屋, 2 月 21 日, 2009.
- 11) 岸野大蔵, 江田良輔, 前田忠士, 青江啓介, 村上一生, 近森研一, 片山英樹, 讓尾昌太, 尾形佳子, 榮勝美, 松田かおり, 上岡 博, 亀井克彦: スエヒロタケ (*Schizophyllum commune*) によるアレルギー性気管支肺真菌症 (ABPM) の 1 例. 第 17 回日本呼吸器内視鏡学会中国四国支部会, 気管支学 31(3): 181, 高松, 2 月 22 日, 2009.
- 12) 清水公德, 李 皓曼, 吉見 啓, 田中千尋, 阿部敬悦, 渡辺 哲, 亀井克彦, 山口正視, 川本 進: 病原性酵母 *Cryptococcus neoformans* の二成分シグナル伝達系に関する分子遺伝学的解析. 第 82 回日本細菌学会総会, 名古屋, 日細菌誌 64(1): 172, 3 月 12 ~ 14 日, 2009.
- 13) 大出貴士, 廣島健三, 板倉朋恵, 堀内文男, 谷澤徹, 和田啓伸, 渋谷 潔, 吉野一郎, 亀井克彦, 中谷行雄: 肺コクシジオイデス症の 1 例. 第 42 回日本病理学会関東支部学術集会, 千葉, 3 月 21 日, 2009.
- 14) 渡辺 哲, 猪狩英俊, 戸来依子, 佐藤武幸, 中村安孝, 松元加奈, 森田邦彦, 亀井克彦: 進行食道がん に合併した肺アスペルギルス症の一例 抗真菌薬 L-AMB の組織移行性. 第 83 回日本感染症学会総会・学術講演会, 感染症誌 83(臨増): 289, 東京, 4 月 23 ~ 24 日, 2009.
- 15) 村上日奈子, 吉澤定子, 館田一博, 岩田基秀, 渋谷和俊, 佐野文子, 亀井克彦, 山口恵三: 血液培養より *Histoplasma capsulatum* を分離した HIV 感染症の 1 例 細菌学的所見を中心に. 第 83 回日本感染症学会総会・学術講演会, 感染症誌 83(臨増): 314, 東京, 4 月 23 ~ 24 日, 2009.
- 16) 渡辺 哲, 猪狩英俊, 渡辺正治, 矢沢勝清, 戸来依子, 三上 襄, 亀井克彦: 千葉大学医学部附属病院における過去 8 年間のノカルジア症症例の検討. 日呼吸会誌 47(増): 319, 東京, 6 月 12 ~ 14 日, 2009.
- 17) 永吉 優, 落合恵理, 渡辺 哲, 佐藤綾香, 多田裕司, 笠原靖紀, 田邊信宏, 巽 浩一郎, 渋谷和俊, 亀井克彦: 真菌胞子の反復気管内投与により惹起される肺血管病変の検討. 日呼吸会誌 47(増): 148, 東京, 6 月 12 ~ 14 日, 2009.
- 18) 松元加奈, 渡辺 哲, 亀井克彦, 中村安孝, 吉野一郎, 吉田成利, 森田邦彦: アムホテリシン B リポソーム製剤の肺組織および感染病巣への移行性を検討し得た一症例. 第 26 回日本 TDM 学会・学術集

- 会, TDM研究 26(3): 206, 新潟, 6月13～14日, 2009.
- 19) 矢口貴志, 田中玲子, 亀井克彦, 三上 襄, 本田武司, 江崎孝行, 平山謙二: ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」. 日本微生物資源学会第16回大会, 講演要旨集., 大阪, 6月24～26日, 2009.
- 20) 落合恵理, 亀井克彦, 滝埜昌彦, 小西良子, 矢口貴志, 松澤哲宏, 佐藤綾香, 永吉 優, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 渋谷和俊: *Stachybotrys chartarum* の系統解析について. 日本微生物資源学会第16回大会, 講演要旨集., 大阪, 6月24～26日, 2009.
- 21) 豊留孝仁, 山口正視, 渡辺 哲, 落合恵理, 佐藤綾香, 田口英昭, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* が構築するバイオフィーム様構造の解析. 第14回千葉真菌症研究会学術講演会, 千葉, 6月27日, 2009.
- 22) 豊留孝仁, 山口正視, 渡辺 哲, 落合恵理, 佐藤綾香, 田口英昭, 亀井克彦: 血清存在下における *Aspergillus fumigatus* のバイオフィーム様構造構築に関する解析. Bacterial Adherence & Biofilm 第23回学術集会, プログラム/抄録集 p.28, 東京, 7月11日, 2009.
- 23) 田口英昭, 佐藤綾香, 亀井克彦, 朴 鍾喆, 朴 奉柱, 玄 丞然: カンジダ症原因菌に対する抗真菌薬と Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCg) の併用による抗真菌活性に関する研究. 日本防菌防黴学会第36回年次大会, 要旨集 p.197, 大阪, 9月14～15日, 2009.
- 24) 佐々木秀悟, 石川紗希, 稲垣里紗, 三角祐生, 檜田直也, 岡本浩明, 渡辺古志郎, 藤井知紀, 神谷一徳, 吉津 晃, 吉田幸子, 中谷行雄, 亀井克彦: 両側多発結節で発症し, VATS 生検で診断された肺ヒストプラズマ症の1例. 第130回日本呼吸器内視鏡学会関東支部会, 気管支学 31(6): 416, 東京, 10月3日, 2009.
- 25) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 落合恵理, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* 膨化分生子処理で誘導される TNF- $\alpha$  産生は MEK/ERK 経路に依存している. 第58回日本感染症学会東日本地方会学術集会第56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.125, 東京, 10月30～31日, 2009.
- 26) 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: ドブネズミより分離された *Arthroderma vanbreuseghemii*. 第9回人と動物の共通感染症研究会学術集会, 東京, 11月7日, 2009.
- 27) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 落合恵理, 亀井克彦: シンポジウム *Aspergillus fumigatus* 膨化分生子処理時の MAP キナーゼ ERK-1/2 活性化. 第30回関東医真菌懇話会, プログラム/抄録集 p.34, 東京, 11月21日, 2009.
- 28) 星野英久, 和田啓伸, 岡本龍郎, 吉田成利, 鈴木実, 渡辺 哲, 落合恵理, 亀井克彦, 中谷行雄, 吉野一郎: シンポジウム 当院で最近経験した肺コクシジオイデス症の2切除例. 第30回関東医真菌懇話会, プログラム/抄録集 p.36, 東京, 11月21日, 2009.
- 29) 杉山由華, 鈴木陽子, 菅谷圭子, 瀧川雅浩, 亀井克彦, 西村和子: *Fonsecaea monophora* による Chromoblastomycosis. 第30回関東医真菌懇話会, プログラム/抄録集 p.47, 東京, 11月21日, 2009.
- 30) 亀井克彦, 矢口貴志: NBRP「病原微生物」: ナショナルバイオリソースプロジェクト病原微生物. 第32回日本分子生物学会 実物つきパネル展示「バイオリソース勢ぞろい」, 横浜, 12月9日, 2009.

## 共同研究

### 1. 国際共同研究

- 1) 佐野文子 (代表): パラコクシジオイデス症の迅速遺伝子診断法の検討, Eiko Nakagawa Itano 準教授 (ブラジル連邦共和国パラナ州立ロンドリーナ大学生物科学研究所).
- 2) 鎗田響子 (代表): 河川から分離された *Ochroconis* 属新菌種に関する研究, Sybren de Hoog 博士 (オランダ Centraalbureau voor Schimmelcultures).

### 2. 共同利用研究以外の国内共同研究

- 1) 佐野文子: 沖縄美ら海水族館で飼育されているイルカ, マナティー, ウミガメの真菌症対策. 植田啓一, 宮原弘和, 内田詮三 (沖縄美ら海水族館).
- 2) 佐野文子: 病理組織からの遺伝子検出による真菌症診断. 木村久美子, 播谷 亮 (動衛研), 木村雅友 (近畿大医学部病理).

- 3) 佐野文子: 複合漢方薬のウシ白癬菌症に対する治療効果 西片奈保子 ((財)宮崎県産業支援財団).
- 4) 佐野文子: 鳥類由来と考えられる皮膚糸状菌症原因菌の生態調査. 細川 篤 (琉球大).
- 5) 佐野文子: 分子生物学的手法を用いた魚類病原真菌の同定に関する研究. 畑井喜司雄 (日獣大).

## 国際交流

### 1. 海外研究者受け入れ

- 1) 王 丹霓 (中国, 貴陽大学) 2009 年 6 月 ~ 9 月 私費留学生 (亀井克彦).
- 2) イタノ ナカガワ エイコ (ブラジル, パラナ州立ロンドリーナ大学) 2009 年 5 月 ~ 6 月 JICA 日系研修 (佐野文子).

## 学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 亀井克彦: 座長. 講演 I 基礎分野, Candin Forum in Chiba, 千葉, 2月14日, 2009.
- 2) 亀井克彦: 座長. 基礎領域, 真菌症フォーラム第10回学術集会, 名古屋, 2月21日, 2009.
- 3) 亀井克彦: 教育講演司会. 第2回関東呼吸器真菌症研究会-コメンテーターとともに考える. クリプトコッカス症, 東京, 3月7日, 2009.
- 4) 亀井克彦: 司会. 分科会: スペシフィックセッション 難治性真菌症, 第2回キャンディン研究会, 東京, 3月14日, 2009.
- 5) 亀井克彦: ランチョンセミナー12 司会. 第83回日本感染症学会総会・学術講演会, 東京, 4月24日, 2009.
- 6) Kamei K: chairman. Luncheon Seminars Recent advances in aspergillosis, ISHAM2009 Tokyo, Tokyo, 5月28日, 2009.
- 7) 亀井克彦: 総合司会. 特別講演 I, II, 深在性真菌感染症学術講演会-アムビゾーム発売3周年記念講演会-, 千葉, 5月29日, 2009.
- 8) 亀井克彦: 教育講演「真菌感染症治療のパラダイム」司会. 第57回日本化学療法学会総会学術講演会, 東京, 6月4日, 2009.
- 9) 亀井克彦: 肺アスペルギルス症 (ポスター展示) 座長. 第49回日本呼吸器学会学術講演会, 日呼吸会

誌 47(増): C-87, 東京, 6月12日, 2009.

- 10) 亀井克彦, 吉田 稔: シンポジウム6座長. 内蔵真菌症の基礎と臨床, 第30回関東医真菌懇話会, 東京, 11月21日, 2009.

## 教育活動

### 学位指導

- 1) 村田佳輝: 千葉大学大学院医学薬学府博士課程環境健康科学専攻医真菌学修了 (3月), 並びに学位取得: テーマ「Molecular epidemiology on causative agent for histoplasmosis: *Histoplasma capsulatum* originated from Japan and foreign countries」(研究指導: 亀井克彦).
- 2) 高橋英雄: 千葉大学大学院医学薬学府博士課程環境健康科学専攻医真菌学修了 (3月), 並びに学位取得: テーマ「Molecular epidemiological studies on mycotic zoonoses in a zoological garden and an aquarium」(研究指導: 亀井克彦).
- 3) 岩崎 彩: 千葉大学大学院医学薬学府修士課程医学専攻医真菌学修了 (3月), 並びに学位取得: テーマ「*Aspergillus fumigatus* 培養上清が宿主細胞に及ぼす影響」(研究指導: 亀井克彦).

### 講義

- 1) 亀井克彦: 千葉大学医学部 (細菌学), 千葉大学医学部 (感染症ユニット), 千葉大学薬学部 (微生物学・感染症学), 千葉大学看護学部 (病態学 II 微生物学・免疫学), 千葉大学大学院医学薬学府博士課程 (特別講義「研究方法論」), 千葉大学大学院医学薬学府博士課程 (真菌感染症学), 千葉大学大学院医学薬学府修士課程 (基礎医学), 融合科学研究科 (真菌感染機構論), 東京医科大学 (微生物学), 福島県立医科大学 (微生物学), 長崎大学熱帯医学研究所熱帯医学研修課程, 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 (特別講義).
- 2) 佐野文子: 千葉大学大学院医学薬学府 (真菌感染症学分野), 千葉大学大学院自然科学研究科 (真菌感染学), 普遍教育コア8生命科学 (真菌感染に対する生体防御機構), コア科目 (真菌 (かび) と人とのかかわり合い).
- 3) 大荒田素子: 普遍教育コア8生命科学 (真菌感染に対する生体防御機構), コア科目 (真菌 (かび) と

人とのかかわり合い)。

## 社会活動

### 新聞

- 1) 亀井克彦: 梅雨時のダニ・カビ対策. 日本経済新聞 14面. 5月3日, 2009.
- 2) 亀井克彦: 夏型過敏性肺臓炎. 信濃毎日新聞 12面. 6月10日, 2009.
- 3) 佐野文子: 共通「白せん菌」発見. 宮古新報第3面. 10月29日, 2009.

### テレビ

- 1) 亀井克彦: ゆうどきネットワーク・生活向上委員会～あなたは大丈夫?カビの恐怖と対策～. 総合テレビ (関西と宮崎県をのぞく全国放送), 6月3日, 16:50 - 18:00, 2009 放送.
- 2) 亀井克彦: 梅雨どきの洗濯” をテーマに「衣服とカビ」「浴室以外でのカビの存在」などの室内に潜むカビについて. TBS テレビ「はなまるマーケット」特集コーナー. 7月3日, 2009 放送.
- 3) 亀井克彦: インフルエンザ, 感染症・肺炎について. TBS テレビ「はなまるマーケット」特集コーナー. 11月16日, 2009 放送.

### ラジオ

- 1) 亀井克彦: かびが原因でおこる病気についての解説「気分爽快! 多田しげおの朝から P・O・N」. 中部日本放送, 5月27日, 7:40 - 50, 2009 放送.
- 2) 亀井克彦: アスペルギルス感染症の診断と治療～最近の話題について. 「アボット感染症アワー」ラジオ日経, 9月4日, 21:15, 2009 放送.

### センター講習会

- 1) 亀井克彦: 第23回病原真菌講習会講師「真菌感染症概論」(講義), 「真菌のバイオハザード」(講義), 6月30～7月3日, 2009.
- 2) 渡辺 哲: 第23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」(講義), 「測定と解析」, 6月30～7月3日, 2009.
- 3) 鎗田響子: 第23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」, 6月30～7月3日, 2009.
- 4) 大荒田素子: 第23回病原真菌講習会事務局, 6月30～7月3日, 2009.

## 講演など

- 1) 亀井克彦: アスペルギルス症の診断と治療について. 第4回南大阪肺感染症研究会, 堺, 1月23日, 2009.
- 2) 亀井克彦: 呼吸器真菌症をめぐる最近のトピックス. 第7回市民総合医療センター感染症フォーラム・市大病院学会, 横浜, 7月22日, 2009.
- 3) 亀井克彦: 特別講演 変貌する真菌症. 茨城県県北真菌症学術講演会～AmBisome 適応菌種追加記念～, 水戸, 11月17日, 2009.

## その他

### 特許

- 1) 佐野文子: 「酵母 *Cynicomyces guttulatus* の分離・同定方法およびそれに用いるキット」特許出願中. 特願 2009-191094 号.

## 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興・再興感染症研究事業「深在性真菌症と輸入真菌症に関する新しい検査法と抗真菌薬の開発, 並びに病原因子の解明に向けたポストゲノムの基盤的研究」平成19～21年度 (平成21年度, 直接経費 350万円, 間接経費 0円) (代表: 大野秀明).
- 2) 亀井克彦 (分担): 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20～22年度 (平成21年度, 190万円, 間接経費 0円) (代表: 宮崎義継).
- 3) 亀井克彦 (研究協力者): 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「特定疾患の微生物学的原因究明に関する研究」平成19～21年度 (平成21年度, 直接経費 150万円, 間接経費 0円) (代表: 宮崎義継).
- 4) 亀井克彦 (代表): 独立行政法人科学技術振興機構先端計測分析技術・機器開発事業「高性能バイオセンシングシステムの開発」平成20～22年度 (平成21年度, 直接経費 1,050万円, 間接経費 315万円).
- 5) 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・感染症開発途上国のニーズを踏まえた感染症対策研究「免

疫不全真菌感染症診断法の改良」平成 21 ～ 24 年度（平成 21 年度，直接経費 278 万円，間接経費 83.4 万円）。

- 6) 亀井克彦（代表）：文部科学省ナショナルリソースプロジェクト中核的拠点整備プログラム「病原微生物」平成 19 ～ 23 年度。
- 7) 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 21 年度，直接経費 130 万円，間接経費 39 万円）。
- 8) 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 21 年度，直接経費 70

万円，間接経費 21 万円）。

#### その他の外部資金

- 1) 亀井克彦：奨学寄附金「真菌症の発生機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」，3 社から総額 600 万円。
- 2) 亀井克彦：奨学寄附金「真菌症の診断及び治療法の研究」，高橋容子（きさらづ皮膚科クリニック），70 万円。
- 3) 佐野文子：海洋博覧会記念公園管理財団 調査研究・技術開発助成事業 587,380 円（最終寄付金額）。
- 4) 渡辺 哲：奨学寄附金「病院内における深在性真菌症の発症状況と抗真菌薬の使用動向の推移についての調査・研究」，1 社から 100 万円。

# 病原真菌研究部門 系統・化学分野

(Department of Pathogenic Fungi, Division of Phylogenetics)

## 教授：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
- センター内委員 運営協議会委員，教員会議委員，総務委員会委員，図書 WG 長，共用備品委員会委員長，ククリス部局システムマネージャー，共同利用委員長，自己点検・評価委員会委員，倫理審査委員会委員，研究部門連絡会委員
- 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

## 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，微生物・保存管理施設運営委員会委員，有害廃棄物委員会委員長，広報委員会委員，地域連携委員会委員，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
- 受賞 日本医真菌学会奨励賞，受賞題目「病原真菌における形態および分子系統などによる多相的分類研究」

## 助教：田中玲子

- 学内委員 放射性同位元素委員会専門委員会委員
- センター内委員 微生物・保存管理室施設運営委員会委員，放射性同位元素委員会委員，放射性同位元素取扱主任者，防災対策委員会委員，微生物管理保存 WG 委員，有害廃棄物委員会委員
- 学協会への貢献 日本医真菌学会編集委員会幹事
- 所属学会 日本医真菌学会，日本菌学会，日本微生物資源学会，日本分子生物学会，日本臨床環境医学会，日本感染症学会，日本臨床微生物学会，American Society for Microbiology

技術職員（医学薬学府博士課程）：松澤哲宏

非常勤講師：堀江義一（千葉県立中央博物館）

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）

研究機関研究員：松尾高稔

実験補助員：土屋由紀子，清水由巳（2009. 3～）

大学院融合科学研究科博士課程：芝崎あずさ

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（2009. 4～）

大学院融合科学研究科修士課程：迫あゆみ（2009. 4～）

大学院医学薬学府修士課程：志賀祐介

大学院医学薬学府修士課程：大本悠太（2009. 4～）

## 研究概要（共同研究を含む）

### 1. 病原性 *Aspergillus* および関連菌の分類学的研究

当センターに保存されている *Aspergillus fumigatus* を研究材料とし， $\beta$ -tubulin, hydrophobin, calmodulin, actin 遺伝子による系統解析を実施した。*A. fumigatus* とは系統的に異なる *A. lentulus*, *A. udagarwae* は，薬剤感受性の違いから臨床上問題となっている。これら 3 種を迅速に識別できる方法を PCR, LAMP 法で開発した。非典型的な *A. fumigatus* の分布調査を日本，中国などで行い，*N. udagarwae* との近縁菌の交配試験による菌学的位置付けを検討した。

*Emericella* および関連菌の分類学的研究では、 $\beta$ -tubulin, hydrophobin, *afIR* 遺伝子による系統解析を実施し、分子系統と子のう胞子の微細構造、最高生育温度との相関性を検討した。分子系統と形態は一部相関が確認された。分子系統的に既知種とは区別された菌種は、その他の性状を検討した結果、新種と考えられた。さらに、薬剤感受性の違いのある *E. nidulans*, *E. rugosa* の迅速識別法を検討した。

## 2. 耐熱性菌の多相分類および検出法の開発

食品の製造過程で事故原因菌として問題となる耐熱性菌 *Byssosclamyces*, *Talaromyces*, *Hamigera*, *Neosartorya* などの系統解析および形態の詳細な検討を実施し、菌学的な位置づけを明らかにした。耐熱性菌各属のみに特異的な塩基配列の探索により新たにプライマーを設計し、迅速に識別できる方法を PCR, LAMP 法で開発した。

## 3. AIDS 患者由来の *Candida albicans* における分子疫学的研究

中国新疆ウイグル自治区内の病院で分離された AIDS 患者由来の *C. albicans* について薬剤感受性試験を行ったところ、その他の分離源と比較してフルコナゾール耐性の株が高い頻度で見出された。同一病院での現象だったため、院内感染等が危惧されたが、ALTS/RFLP と  $\mu$ -TGGE の組み合わせによる解析の結果、全て由来が別系統である事が判明した。

## 4. 病原性放線菌の分子系統および同定法の確立

*Nocardia*, *Gordonia* などの病原性放線菌について遺伝子配列などを基にした分類・同定法を開発し、菌種間の分子系統学的な関連を明らかにしている。

## 5. 病原性放線菌の二次代謝産物生合成遺伝子の解析

二次代謝産物の生合成に用いられるポリプレニル 2 リン酸合成酵素などをプローブとして、様々なノカルジア菌株ゲノムのスクリーニングを行い、二次代謝産物合成遺伝子の探索を進めている。新規化合物の探索や化合物生合成経路の解明に役立つと期待される。

## 6. レクチン・マイクロアレイを用いた真菌細胞表面糖鎖の解析

各種のレクチン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真菌細胞表面糖鎖の種類、相対的な量を種・属横断的に解析している。菌の感染機構等の解明に役立つと期待される。

## 7. DNA マイクロアレイを用いた真菌同定システムの開発

DNA マイクロアレイを用い、短時間で簡便に病原真菌など酵母・カビを同定できるシステムを開発している。

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

*A. fumigatus* の病原性発現機構を分子生物学的手法などを用いて明らかにしようと試みている。

## 研究成果の発表

### 1. 著書

1) 矢口貴志: マイコトキシン. 微生物資源国際戦略ガイドブック (辨野義己, 渡邊 信, 三上 襄, 鈴木健一郎, 高島昌子編) (株)サイエンスフォーラム. 東京. pp.240-244, 2009.

### 2. 原著

#### 英文

- 1) Itabashi T, Hosoe T, Wakana D, Fukushima K, Takizawa K, Yaguchi T, Okada K, de Campos Takaki GM, Kawai K: A new indoloditerpene derivative, penijanthaline A, isolated from *Penicillium janthinellum*. J Nat Med 63: 96-99, 2009. (査読有)
- 2) Duc PM, Hatai K, Kurata O, Tensha K, Uchida Y, Yaguchi T, Udagawa S: Fungal infection of mantis shrimp (*Oratosquilla oratoria*) caused by two anamorphic fungi found in Japan. Mycopathologia 167: 229-247, 2009. (査読有)
- 3) Wakana D, Hosoe T, Wachi H, Itabashi T, Fukushima K, Yaguchi T, Kawai K: The cytotoxic and antifungal activities of two new sesquiterpenes, malfilanol A and

- B, derived from *Malbranchea filamentosa*. J Antibiot 62: 217-219, 2009. (査読有)
- 4) Koga S, Furuya M, Takahashi Y, Tanaka R, Yamaguchi A, Yasufuku K, Hiroshima K, Kurihara M, Yoshino I, Aoki I, Nakatani Y: Lung cysts in Birt-Hogg-Dubé syndrome: histopathological characteristics and aberrant sequence repeats. Pathol Int 59: 720-728, 2009. (査読有)
  - 5) Hattori H, Tanaka R, Chibana H, Kawamoto F, Adachi H, Shimizu K, Kanbe T: Improvement of the repetitive sequence (RPS) -based identification and genotyping of *Candida albicans* using ALT-specific primers. Jpn J Infect Dis 62: 215-219, 2009. (査読有)
  - 6) Adachi H, Shimizu K, Hattori H, Tanaka R, Chibana H, Takagi Y, Tomita Y, Kanbe T: Genotyping of *Candida albicans* by fragment analysis of microsatellites combined with 25S rDNA and RPS-based strategies. Jpn J Med Mycol 50: 167-174, 2009. (査読有)
  - 7) Zhu J, Kang Y, Uno J, Taguchi H, Liu Y, Ohata M, Tanaka R, Moretti ML, Mikami Y: Comparison of genotypes between environmental and clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* based on microsatellite patterns. Mycopathologia 169: 47-55, 2009. (査読有)
  - 8) Aoyama K, Kang Y, Yazawa K, Gonoï T, Kamei K, Mikami Y: Characterization of clinical isolates of *Gordonia* species in Japanese clinical samples during 1998-2008. Mycopathologia 168: 175-183, 2009. (査読有)
  - 9) Liu Y, Kang Y, Yokoyama K, Gonoï T, Mikami Y: Molecular differentiation and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolated from patients with respiratory infections in Guiyang Medical College Hospital, China. Jpn J Med Mycol 50: 175-178, 2009. (査読有)
  - 10) Oarada M, Igarashi M, Tsuzuki T, Kurita N, T. Gonoï T, Nikawa T, Hirasaka K, Miyazawa T, Nakagawa K, Kamei K: Effect of dietary oils on host resistance to fungal infection in psychologically stressed mice. Biosci Biotechnol Biochem 73: 1994-1998, 2009. (査読有)
  - 11) Oarada M, Kamei K, Gonoï T, Tsuzuki T, Toyotome T, Hirasaka K, Nikawa T, Sato A, Kurita N: Beneficial effects of a low-protein diet on host resistance to *Paracoccidioides brasiliensis* in mice. Nutrition 25: 954-963. 2009, (査読有)
- 邦文**
- 1) 上田成一, 川良 希, 矢口貴志, 宇田川俊一: 変敗果実加工食品から分離された耐熱性カビ *Neosartorya paulistensis* の生育性状と耐熱性. 日菌報 50: 104-113, 2009. (査読有)
- 2. 総説・解説・その他**
- 1) 矢口貴志: 病原性 *Aspergillus* 属. 臨床検査 53(2): 114-116, 2009.
  - 2) 矢口貴志: *Aspergillus* の有性型. 臨床検査 53(3): 256-257, 2009.
  - 3) 矢口貴志: *Paecilomyces-Penicillim*. 臨床検査 53(4): 394-396, 2009.
  - 4) 矢口貴志, 西村和子: 病原性接合菌. 臨床検査 53(5): 522-524, 2009.
  - 5) 矢口貴志, 西村和子: 新興真菌症原因菌. 臨床検査 53(6): 654-655, 2009.
  - 6) 矢口貴志, 西村和子: 表在性皮膚真菌症原因菌 1. 臨床検査 53(9): 968-970, 2009.
  - 7) 矢口貴志, 西村和子: 表在性皮膚真菌症原因菌 2. 臨床検査 53(10): 1112-1114, 2009.
  - 8) 矢口貴志: 深在性皮膚真菌症原因菌. 臨床検査 53(12): 1514-1516, 2009.
  - 9) 矢口貴志: 真菌の分類と同定. モダンメディア 55(8): 205-216, 2009.
  - 10) 矢口貴志: *Aspergillus* 属. 文化財の虫菌害 58(12): 17-21, 2009.
  - 11) 五ノ井 透, 三上 襄: ノカルジア症・放線菌症. Monthly Book Derma No. 148: 65-59, 2009.
  - 12) 田中玲子: 病原酵母の様々な細胞形態. 臨床検査 53(8): 858-860, 2009.
- 3. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演**
- 国際学会**
- 1) Yaguchi T, Hiro Y, Matsuzawa T, Tanaka R: Reassessment of the genus *Talaromyces* classification based on phylogeny and morphology. The 26th Annual Conference of the Microscopy Society of Thailand, Chiang Mai, Jan 28-30, 2009.
  - 2) Yaguchi T, Tanaka R, Matsuzawa T, Abliz P, Hui Y, Horie Y: Classification of the pathogenic *Aspergillus*

section *Fumigati* and *Neosartorya* based on phylogenetic analysis, and value based on the morphology. The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.

- 3) Matsuzawa T, Yaguchi T, Horie Y, Tanaka R, Gonoï T: Development of rapid and specific molecular discrimination method in the pathogenic *Emericella* species. The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.
- 4) Abliz P, Tanaka R, Yaguchi T, Chen Y, Hui Y: Genotyping study of *Trichophyton schoenleinii* and *Microsporum canis* isolated from tinea capitis in Xinjiang province, west China. The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.
- 5) Yaguchi T, Horie Y, Matsuzawa T, Tanaka R, Abliz P, Hui Y: Current developments on the identification of *Aspergillus fumigatus* and relative. ISHAM 2009 Satellite Symposia Beijing, China, May 29-31, 2009.
- 6) Abliz P, Tanaka R, Yaguchi T, Bulmer GS, Chen Y: Tinea capitis in Xinjiang, China and genotyping study of two etiologic agents. ISHAM 2009 Satellite Symposia Beijing, China, May 29-31, 2009.

#### 国内学会

- 1) 矢口貴志: PCR による食品有害カビの分類と同定. 日本食品微生物学会第 30 回学術総会. 東京, 10 月 19-21 日, 2009.

#### 4. 一般発表

#### 国際学会

- 1) Yaguchi T, Hiro Y, Matsuzawa T, Tanaka R, Hosoya K, Nakayama M, Tokuda H: Classification and distinction for pathogenic species of *Aspergillus* section *Fumigati*. The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.
- 2) Gonoï T, Hanafy A, Kaocharien S, Jover-Botella A, Meyer W, Mikami Y: Multilocus microsatellite analysis in *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* from 12 different countries. The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.
- 3) Matsuzawa T, Yaguchi T, Horie Y, Tanaka R, Gonoï T: Development of rapid and specific molecular discrimination method in the pathogenic *Emericella* species. The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May

25-29, 2009.

- 4) Oarada M, Kurita N, Gonoï T, Kamei K: Effect of dietary oils on host resistance to *Paracoccidioides brasiliensis* infection in mice. The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.

#### 国内学会

- 1) 矢口貴志, 田中玲子, 亀井克彦, 三上 襄, 本田武司, 江崎孝行, 平山謙二: ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原真菌」. 日本微生物資源学会第 16 回大会, 日本微生物資源学会誌 25: 55-56, 大阪, 6 月 24 ~ 25 日, 2009.
- 2) 矢口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子, Paride Abliz, Yan Hui: 瘰癧性カビ毒生産菌 *Neosartorya* の系統分類とヘテロタリック種の評価. 日本マイコトキシシン学会第 66 回学術講演会, 千葉, 8 月 28 日, 2009.
- 3) 上田成一, 川良 希, 松澤哲宏, 矢口貴志, 宇田川俊一: かんきつ加工品の変敗原因となった耐熱性カビ *Byssosclamyces* 属の新種について. 日本食品微生物学会第 30 回学術総会, 東京, 10 月 19 ~ 21 日, 2009.
- 4) 迫あゆみ, 弘 佑介, 今西由巳, 松澤哲宏, 細谷幸一, 中山素一, 徳田 一, 矢口貴志: 食品危害耐熱性カビの識別同定法. 日本食品微生物学会第 30 回学術総会, 東京, 10 月 19 ~ 21 日, 2009.
- 5) 岡 千寿, 五ノ井 透: DNA マイクロアレイ技術を用いた微生物の検出技術の確立. 千葉県産業支援技術研究所研究発表会, 千葉市, 7 月 23 日, 2009.
- 6) 芝崎あずさ, 齋藤明広, 五ノ井 透, 安藤昭一, 三上 襄: ダンゴムシ (*Armadillidium vulgare*) 体内より分離した新規放線菌の分類と同定, および代謝産物について. 日本微生物資源学会第 16 回大会, 大阪市, 6 月 24 ~ 26 日, 2009.
- 7) 大本悠太, Natteenwan Poonwan, 矢澤勝清, 五ノ井 透: タイ放線菌症患者から分離した病原性 *Streptomyces* 属菌の新種報告. 2009 年度日本放線菌学会, 秋田市, 7 月 15 ~ 16 日, 2009.
- 8) 志賀祐介, 松澤哲宏, 松尾高稔, 五ノ井 透: 病原性放線菌ノカルジア (*Nocardia*) 属菌の MultiLocus Sequence Typing (MLST) を用いた分類・同定法の確立. 2009 年度日本放線菌学会, 秋田市, 7 月 15 ~ 16 日, 2009.

- 9) 石川 淳, 星野泰隆, 黒田 誠, 関塚剛史, 五ノ井透, 三上 襄: 次世代シーケンサーを用いたゲノムスキニングによる二次代謝産物生合成遺伝子クラスターの探索. 2009 年度日本放線菌学会, 秋田市, 7月15～16日, 2009.
- 10) 芝崎あずさ, 館野浩章, 齋藤明広, 安藤昭一, 平林淳, 五ノ井 透: レクチンマイクロアレイを用いた真菌細胞表面糖鎖の解析. 第 29 回日本糖質学会年会, 高山市, 9月9～11日, 2009.
- 11) 赤津義文, 松澤哲宏, 志賀祐介, 矢澤勝清, 五ノ井透, 山本祐介: 肺ノカルジア症と侵襲性肺アスペルギルス症を異時性に合併した一例. 第 14 回 水戸呼吸器真菌症談話会, 水戸市, 9月3日, 2009.
- 12) 大本 悠太, Natteenwan Poonwan, 矢澤勝清, 五ノ井 透: タイ放線菌症患者から分離した新種の *Streptomyces* 属菌の報告. 日本細菌学会関東支部会, 東京都, 11月5～6日, 2009.
- 13) 芝崎あずさ, 館野浩章, 齋藤明広, 安藤昭一, 平林淳, 五ノ井 透: レクチンマイクロアレイを用いた真菌グライコム解析. 日本生化学会総会, 神戸市, 10月21～24日, 2009.
- 14) 大本悠太, 五ノ井 透: タイ易感染性患者から分離した新種の病原性 *Streptomyces* 属菌の報告. 関東医真菌懇話会, 東京都, 11月21日, 2009.
- 15) 岡 千寿, 前田 浩, 五ノ井 透, 三上 襄, 磯貝健次, 岡村 浩: DNA マイクロアレイ関連技術の開発. 千葉大学オープンリサーチ, 千葉市, 10月24日, 2009.
- 16) 倉橋知英, 澤井良之, 井倉 技, 今井康陽, 福田和人, 小来田幸世, 土本雄亮, 中松 大, 岩崎哲也, 松本康史, 中原征則, 厨子慎一郎, 黒川正典, 竹内真, 五ノ井 透: 肝生検組織の 16S rRNA シークエンス解析により, *Propionibacterium acnes* 感染による肝膿瘍が疑われた 1 例. 消化器病学会近畿地方会, 京都市, 9月12日, 2009.

## 共同研究

### 1. 国際共同研究

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

大学附属第一病院皮膚科.

- 2) 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.
- 3) 五ノ井 透, 矢口貴志, 田中玲子: 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, Tarini A, Retno Wahyuningsih 教授, Dra Ridhawati 研究員, インドネシア大学ほか.

### 2. 共同利用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: 腫瘍微小環境を調節する G 蛋白質共役受容体と 4 回膜貫通蛋白質とのクロストーク, 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.

## 国際交流

### 1. 海外渡航

- 1) 矢口貴志: タイ, チェンマイ市, MST26 にて講演, カセサート大学 Manoch 教授との共同研究の打ち合わせ, 2009 年 1 月 27 日～2月2日 (科学研究費補助金).
- 2) 矢口貴志, 田中玲子: 中華人民共和国, 北京市, ISHAM2009 (Satellite in Beijing) に出席および北京大学李 若瑜教授との共同研究の打ち合わせ, 討議のため, 2009 年 5 月 29 日～6月3日 (科学研究費補助金).
- 3) 五ノ井 透, 矢口貴志: インドネシア, ジャカルタ市, インドネシア大学との共同研究打ち合わせ, 討議のため, 2009 年 10 月 4～9 日 (科学研究費補助金).

### 2. 海外研究者の受け入れ

- 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).

## 学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

### コンビナー, 座長

- 1) Yaguchi T: Symposia, "Epidemiology, population genetics and evolution". The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.
- 2) Yaguchi T: Poster Forums, "Classification and identification". The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.

### 座長

- 1) 五ノ井 透: 第 31 回関東医真菌懇話会, 東京都, 7 月 3 日, 2009.
- 2) 五ノ井 透: 日本細菌学会関東支部会, 東京都, 10 月 21 ~ 22 日, 2009.

## 教育活動

### 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) 矢口貴志: 千葉大学大学院自然科学専攻修士課程 (融合科学 真菌分子細胞生物学).
- 3) 五ノ井 透, 矢口貴志: 千葉大学普遍教育 (真菌 (カビ) と人との関わり合い).
- 4) 矢口貴志, 田中玲子: 千葉大学医学部微生物実習.
- 5) 矢口貴志: 千葉大学園芸学部細胞工学.

## 社会的活動

### テレビ・ラジオ

- 1) 矢口貴志, たけしの本当は怖い家庭の医学「病を招くお掃除スペシャル」2009 年 6 月 16 日放送. 出演, 製作協力.

### 新聞など

#### センター講習会

- 1) 五ノ井 透, 矢口貴志, 田中玲子: 第 23 回病原真菌講習会講師 (2009 年 6 月 30 - 7 月 3 日).
- 2) 五ノ井 透, 矢口貴志, 田中玲子: 6th Workshop on Pathogenic Fungi and Actinomycetes in MMRC in 2009, July 7-10, 2009.

### 講演など

- 1) Gono T: Multilocus microsatellite analysis in

*Cryptococcus neoformans* var. *grubii* from 12 different countries. Guest lecture in "Cryptococcosis & Aspergillosis", University of Indonesia, Oct 5, 2009.

- 2) Yaguchi T: Classification and distinction of pathogenic *Aspergillus fumigatus* and relatives. Guest lecture in "Cryptococcosis & Aspergillosis", University of Indonesia, Oct 5, 2009.

### 特許

- 1) 矢口貴志, 弘 佑介: 耐熱性菌類の検出方法, 国際出願 (出願番号 PCT/JP2009/059818), 2009.
- 2) 矢口貴志, 弘 佑介: パエシロマイセス バリオテイの検出法, 国際出願 (出願番号 PCT/JP2009/059891), 2009.
- 3) 矢口貴志, 弘 佑介: 耐熱性菌類の検出方法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2009-129475), 2009.
- 4) 矢口貴志, 弘 佑介: ハミゲラ属に属する菌類およびクラドスポリウム属に属する菌類の検出法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2009-129476), 2009.
- 5) 矢口貴志, 弘 佑介: タラロミセス属に属する菌類の検出法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2009-129477), 2009.
- 6) 矢口貴志, 弘 佑介: ネオサルトリヤ属に属する菌類およびアスペルギルス フミガータス属に属する菌類の検出法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2009-129478), 2009.
- 7) 矢口貴志, 弘 佑介: ビソクラミス属に属する菌類の検出法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2009-129479), 2009.
- 8) 矢口貴志, 弘 佑介: パエシロマイセス バリオテイの検出法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2009-130744), 2009.

## 外部資金

### 科学研究費補助金

- 1) 矢口貴志 (代表) 田中玲子 (分担): 文部科学省科学研究費補助金 (基盤 B) (海外学術調査)「中央アジアにおける真菌症原因菌および関連菌の生態研究」平成 18 ~ 21 年度. (平成 21 年度, 直接経費 330 万円, 間接経費 105 万円).
- 2) 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 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 21 年度、直接経費 230 万円、間接経費 69 万円）。

- 3) 田中玲子（分担）：文部科学省科学研究費補助金（基盤 C）「腫瘍微小環境を調節する G 蛋白質共役受容体と 4 回膜貫通蛋白質とのクロストーク」平成 21 ～ 22 年度（平成 21 年度、直接経費 5 万円）。
- 4) 五ノ井 透（代表）：文部科学省科学研究費補助金（基盤 B）（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 21 年度、直接経費 480 万円、間接経費 144 万円）。

#### その他の外部資金

- 1) 矢口貴志（分担）：（財）発酵研究所第 1 回特定研究助成「我が国における微生物の多様性解析とインベントリーデータベースの構築－亜熱帯地域と冷温帯地域の比較から、平成 19 ～ 21 年度（平成 21 年度、100 万円）。

- 2) 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。

- 3) 五ノ井 透（代表）：なのはなコンペ 2009 「『目で見る』マイクロアレイを応用した感染症原因菌同定法の開発」、平成 21 年度（150 万円）。

#### 共同研究

- 1) 矢口貴志（代表）：花王（株）平成 21 年度 食品危害カビの迅速同定識別法確立に関する研究、154 万円（間接経費 46 万円）。
- 2) 矢口貴志（代表）、田中玲子（分担）：新日本改修建設（株）平成 21 年度 室内浮遊微生物を除菌するヨード樹脂系建材の開発、130 万円（間接経費 30 万円）。

#### 受託研究

#### 奨学寄附金

- 1) 矢口貴志（代表）明治製菓（株）200 万円。
- 2) 矢口貴志（代表）アステラス（株）100 万円。

# 病原真菌研究部門 真菌資源開発分野

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

## 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，共同備品委員会委員，共同利用  
委員会委員，微生物・保存管理施設委員会委員，広報  
委員会委員，放射性同位元素委員会委員長，自己点  
検・評価委員会委員，地域連携委員会委員，研究推進  
チーム委員，個人評価 WG 委員，光熱水量節減プロ  
ジェクト WG 委員，コロニーピッカー仕様策定委員，  
透過電子顕微鏡仕様策定委員
- 学協会への貢献 日本医真菌学会，日本マイコキシ  
ン学会学術講演会・開催世話人，シンポジウム座長  
(2009. 8. 28)
- 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  
イコキシソ学会，International Society of Human and  
Animal Mycology

非常勤講師：村山琮明（北里大学 北里生命科学研  
究所 & 大学院感染制御科学府）

技術補佐員：各務清美（2006. 9～）

技術補佐員：屋久玲子（2007. 6～2009. 3）

外国人研究員：王 麗（中国吉林大学）（2009. 5. 24～  
5. 31）

## 研究概要

### 1. 菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成

文部科学省・振興調整費－アジア科学技術協力の戦略  
的推進・地域共通課題解決型国際共同研究－プロジェク  
トにおいて、「研究課題：真菌症原因菌の疫学的研究と  
真菌症対策拠点形成」で，これまでの実績と取り組みが  
評価され，研究調査が進められることになった。今年は，

中国，広州・中山大学，吉林省長春・吉林大学白求恩医  
学院，北京・北京大学，中国科学院微生物研究所，吉林  
省檢驗檢疫科学技術研究所，吉林省出入境檢驗檢疫局檢  
驗檢疫技術センター内モンゴル民族大学，（平成 21 年 2  
月 8 日～2 月 15 日）。このプロジェクトは，平成 20 年  
度で終了する，今後も病原真菌の疫学，生態の研究を続  
ける。（横山耕治，王 麗，各務清美，屋久玲子）

### 2. 病原真菌の疫学的，生態学的研究

#### a. 中国東北部における真菌感染症調査および真菌症疫 学，生態研究

日中医学協会奨学寄付金（2006 年単年度）獲得をきっ  
かけに，中国吉林省長春 吉林大学白求恩医学院を訪問  
し，真菌症の調査を行っており，振興調整費の支援で，  
長春に於いてシンポジウムを開催した。今後も共同研究  
を進展させ真菌症の疫学と病原真菌の生態に関する研究  
を継続する。（横山耕治，王 麗，賀 丹，各務清美，屋  
久玲子）

### 3. 病原真菌の及び関連菌のチトクローム *b* 遺伝子解析

a. 病原真菌の同定・系統解析および真菌症の迅速診断  
チトクローム *b* 遺伝子の解析は，継続し行われている  
研究テーマで，すでに病原性の *Aspergillus* 属菌，*Candida*  
属菌，*Cryptococcus* 属菌，*Rhodotorula* 属菌，*Exophiala* 属  
菌，*Cryptococcus neoformans* ver. *neoformans*, var. *gattii*,  
*Trichosporon* 属菌については，8 年間で 15 報の論文を  
発表している。真菌症原因菌の迅速診断のためのプライ  
マーセットなどの特許を千葉大学から申請し，迅速診断  
に係わる申請数は，5 件となった。今年は，希に真菌症  
を起こす *Aureobasidium*, *Geotrichum*, *Graphium*, *Beauveria*  
属菌群の解析を進めた。これらの菌群には既存の PCR  
プライマーでは増幅できない菌種，株を含むためプライ  
マーの設計を行った。

#### b. 病原真菌関連菌と環境菌の遺伝子解析

環境菌の遺伝子解析は病原真菌同定のために必要であ  
り，迅速に同定するための鍵となっている。病原菌でも

ありごく一般的な環境菌でもある *Alternaria* 属菌を中心に解析を行った。本属菌は多くの種を含むが形態的な特徴も乏しく、DNA シーケンスによる DNA 型も種の数ほどないことが明らかになった。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、真菌同定の精度を高め、保存菌の品質確保に努める。(横山耕治, 王 麗, Biswas KS, 賀 丹, 各務清美)

#### c. 菌の進化系統解析

既に解析の済んでいる病原真菌と関連菌のチトクローム *b* 遺伝子からアミノ酸配列を推定し、真核生物のチトクローム *b* のアミノ酸配列と比較し、化石年代、地質年代とを考慮して、各真菌の進化系統を推定している。化石年代から推定する場合に、現存種の古代化石なのか絶滅種の化石なのかの判定は困難であるが、誤差を考慮して推定している。成長様式、繁殖様式など生物種固有の様式を進化と関連して考慮すべきであることが考えられた。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, 各務清美, 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。(横山耕治, 各務清美, 岩口伸一, 村山琮明)

#### 5. 真菌資源の長期安定保存法の開発

菌糸形細胞は、酵母形や分生子と異なり乾燥保存には耐えにくく、保存中に死滅する場合が多い、特に分生子を作らない株や作りにくい種においては、従来の L-乾燥保存には耐えられない、そこで、乾燥前の処理に工夫を凝らし、分散媒や乾燥保護剤を検討して L-乾燥で保存できる方法を開発した、このテーマで(財)発酵研究所から研究助成(平成 16 年 9 月～19 年 3 月)を受けた。自作のコルクボーラーを用いて、培地ごと L-乾燥させる方法を用いて、従来の L-乾燥法では保存できない菌

株が保存可能となった。保存の困難な菌について本方法を検討していく。(横山耕治, 伊藤純子)

## 研究成果の発表

### 1. 著書

- 1) 病原真菌の真菌学・免疫・薬剤感受性: 深在性真菌症原因真菌の最新の分類は? 「深在性真菌症 Q&A」(改訂 3 版)(河野 茂編), 医薬ジャーナル社(大阪), pp. 34-36, 2009.

### 2. 原著

#### 英文

- 1) Liu Y, Kang Y, Yokoyama K, Gono T, Mikami Y: Molecular Differentiation and Antifungal Susceptibility of *Candida albicans* Isolated from Patients with Respiratory Infections in Guiyang Medical College Hospital, China. *Japanese Journal of Medical Mycology* 50(3): 175-178, 2009. (査読有)

#### 外国語

- 1) Yan-qiu Y, Li W, Dan H, Yokoyama K: DNA extraction method of pathogenic fungi and the optimization of simple sequence repeat PCR system. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research* 13(50): 9924-9927, 2009. (中国語)(査読有)

#### 邦文

- 1) 奥 幸夫, 高橋尚道, 横山耕治: 皮膚糸状菌に対する liranaftate の殺菌活性. *Japanese Journal of Medical Mycology* 50(1): 9-13, 2009. (査読有)

### 3. 総説・解説・その他

- 1) 横山耕治(分担): 振興調整費成果報告書(2008 年度).

### 4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演 国際学会(シンポジウム)

- 1) Yokoyama K, Kagami K, Wang L, Takahashi H: Evolution of by Cyt *b* gene, rDNA and morphology on *Aspergillus* section *Nigri*. The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century:

Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 184, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009. (査読有)

- 2) Wang L, Kagami K, Yokoyama K: Strain identification of *Penicillium marneffei* by AFLP. The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century: Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 183, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009. (査読有)

## 5. 一般発表

### 国際学会

- 1) Wang L, He D, Yang Y, Liu JH, Yokoyama K: Rapid Identification and Diagnosis of *A. fumigatus* and Aspergillosis. The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century: Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 399, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009. (査読有)
- 2) Yokoyama K, Kagami K, Wang L, Takahashi H: Identification of *Aspergillus* section *Nigri* by Cyt *b* gene, rDNA and morphology. The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century: Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 399, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009. (査読有)
- 3) Iwaguchi S, Takeuchi T, Kiuchi M, Okubo M, Hosokawa Y, Matsutani T, Hashimoto Y, Yokoyama K, Suzuki T<sup>1)</sup>: Profile of microbial volatile organic compounds (MVOCs) in *Aspergillus fumigatus*. The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century: Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 147, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009. (査読有)
- 4) Tanaka K, Inaba S, Suzuki R, Yokoyama K and Nakagiri A: Phylogenetic position of human isolates of *Basidiobolus* analysed from rRNA gene sequences and from growth response to the elevated temperatures.

The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century: Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 312, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009. (査読有)

- 5) Murayama YS, Yokoyama K, Yamaguchi M, Ubukata K: Gene expression in *Candida albicans* fatty acid desaturase null mutant. The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century: Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 461, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009. (査読有)

## 共同研究

### 1. 国際共同研究

- 1) 横山耕治: チクトローム *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 ペンシルバニア医科大学).
- 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).
- 7) 横山耕治: 中国西部における真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成, 惠艶教授 (中国 新疆医科大学).
- 8) 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, Paride Abliz 助教授 (中国 新疆医科大学).

## 国際交流

### 1. 海外渡航

- 1) 横山耕治: 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成 (文部科学省振興調整費) 中国, 広州・中山大学, 吉林省長春・吉林大学白求恩医学院, 北京・北京大学, 中国科学院微生物研究所, 吉林省検疫検疫科学技術研究所, 吉林省出入境検疫検疫局検疫検疫技術センター内モンゴル民族大学, (平成 21 年 2 月 8 日 ~ 2 月 15 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), 2009 年 5 月 24 日 ~ 5 月 31 日, 共同研究.

### 学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 横山耕治: 日本マイコトキシシン学会学術講演会・開催世話人 (実行委員長), シンポジウム座長 (2009. 8. 28).

## 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: 医学研究科 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.
- 4) 横山耕治: 園芸学部 細胞工学.
- 5) 横山耕治: 淑徳大学看護学部 微生物の感染とその防御.

## 外部資金

### その他の外部資金

- 1) 横山耕治 (分担): 文部科学省振興調整費. プログラム名: アジア科学技術協力の戦略的推進地域共通課題解決型国際共同研究. 課題名: 真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成.

# 病原真菌研究部門 生態分野

(Department of Pathogenic Fungi, Division of Ecology)

## 外国人客員教授: Maria Aparecida Shikanai Yasuda

(サンパウロ州立サンパウロ大学医学部・教授)

Member of Editorial Board: Revista do Instituto de Medicina Tropical, Brazilian Journal of Infectious Diseases  
Scientific Journal Referee: Lancet Infectious Disease, Diagnosis Microbiology Infectious Diseases, Annals of Tropical Medicine Parasitology, PLoS Medicine, Brazilian Journal of Medical and Biological Research, The Brazilian Journal of Infectious Diseases, Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Revista Panamericana de Infectología, Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Revista de Medicina Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, University of São Paulo

## 助教: 田口英昭

○学内委員 亥鼻地区職員等駐車区域利用者委員会委員, 亥鼻地区 ISO 実行委員会委員, 光熱水料節減リーダ会議, 亥鼻地区光熱水料委員会委員

○センター内委員 共用備品委員会委員, 微生物・保存管理施設運営委員会委員, 有害廃棄物委員会委員, 放射性同位元素委員会委員, 防災対策委員会委員, 図書WG, 光熱水料節減プロジェクトWG, 微生物管理保存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, 亥鼻地区職員等駐車区域利用者委員会会計監査

## 技術専門員: 滝澤香代子

○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

○受賞 代表: "ISHAM 2009, Satellite Symposia Beijing, China" のポスター賞: Takizawa K, Tanaka H, Shinya K, Kosuge J, Fukushima K: "Identification of nonclamped *Schizophyllum commune* from the bone marrow of a dog with osteomyelitis" (May 29-31, 2009)



非常勤講師: 久米 光 (日本医科大学・客員教授)

## 研究概要 (共同研究を含む)

### 1. 抗真菌薬の投与方法の研究

Micafungin (MCFG) と voriconazole (VRCZ) の血清中での抗真菌活性を調べるため, ヒト血清中で培養した *Aspergillus fumigatus* の菌糸成長速度を指標として効果を検討した. また, 同時に MCFG と VRCZ の両薬剤併用による抑制効果を postantifungal effect (PAFE) を測定することにより検討した. (田口, 亀井, 渡辺)

### 2. 新規生体接着剤の抗菌効果の研究

Aldehyded  $\alpha$ -glucan と  $\epsilon$ -poly (L-lysine) を材料として新しく開発された組織用接着剤の抗菌効果を検討した. 試験菌株は *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* の細菌および *Candida albicans* を用いた. 組織用接着剤の抗菌効果を確認した結果, 実験で用いた全ての細菌で, 抗菌効果を示すことが明らかとなった. また, *C. albicans* についても抗菌効果が認められた. (田口, 亀井, 朴, 玄)

### 3. 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* のリボゾーム DNA 上の株識別領域の探索 - IGS 領域の解析

配列が知られていない IGS 領域 (intergenic spacer region) の全塩基配列の詳細解析から明らかにされた, 本菌種に特徴的なモチーフ様リピート構造 (VIR 領域

[variable internal repeat region]) について検討した。それらは本領域の PCR 増幅産物のアガロース電気泳動により、分離・解析が可能な 3 種のバンド、仮称 VIRI, VIRII, VIRIII として類別できた。日本、中国、南米のヒトおよび環境分離株（樹木、土等）について検証を試みた結果、例えば、ヒトに全タイプが、また環境株からは VIRIII が最も多く検出できた。更に、その分布には地域的な傾向が示され、本領域が高精度の指標となる事が示唆された。（滝澤香代子）

#### 4. 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* の 28S rDNA の塩基配列解析とイントロンの同定

DNA データベースに 28S rDNA の塩基配列は無いため *Phialophora verrucosa* 5 株の 28S rDNA の全塩基配列を解析した。これらのアライメントにより 3 か所にインサクションが検出され、BLAST 検索、Reverse Transcription-PCR, 系統樹解析等から全てのインサクションで group 1 イントロンが同定された。更に 2 次構造のモデリングを行い、28S の上流から IC1, IC1, IE の順に subgroup が同定できた。（滝澤香代子）

### 研究成果の発表

#### 1. 原著

##### 英文

- 1) Melo NR, Taguchi H, Melo NR, Taguchi H, Culhari VP, Kamei K, Mikami Y, Smith SN, Vilela MS.: Oral candidiasis of HIV-infected children undergoing sequential HIV therapies. *Med Mycol.* 2009 Mar; 47(2): 149-56, 2009. (査読有)
- 2) Itabashi T, Hosoe T, Wakana D, Fukushima K, Takizawa K, Yaguchi T, Okada K, Galba Campos-Takaki M, Kawai K. A new indoloditerpene derivative, penijanthine A, isolated from *Penicillium janthinellum*. *J Nat Med* 63: 96-99, 2009. (査読有)
- 3) Xi L, Sun J, Lu C, Liu H, Xie Z, Fukushima K, Takizawa K, Najafzadeh-Mohammad J, De Hoog GS. Molecular diversity of *Fonsecaea* (Chaetothyriales) causing chromoblastomycosis in southern China. *Medical Mycology* 47(1): 27-33, 2009. (査読有)
- 4) Zeng J, Motta-Souza CM, Fukushima K, Takizawa K, Magalhes-Correia OM, Neves-Pereira R, Nishimura K.

Identification of *Trichosporon* spp. strains by sequencing D1/D2 region and sub-typing by sequencing ribosomal intergenic spacer region of ribosomal DNA. *J Huazhong Univ Sci Technol [Med Sci]* 29(5): 655-658, 2009. (査読有)

- 5) Tanaka H, Takizawa K, Baba O, Maeda T, Fukushima K, Shinya K, Kosuge J. Basidiomycosis: *Schizophyllum commune* osteomyelitis in a dog. *J. Vet. Med. Sci.* 70(1): 1257-1259, 2008. (査読有) (漏れのため追記)

### 2. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

#### 国内学会

- 1) 田口英昭, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 落合恵理, 佐藤綾香, 亀井克彦: ミカファンギンの抗真菌効果への基礎的アプローチ. 第 1 回 Candin Forum in Chiba, 千葉, 2 月 14 日, 2009.

### 3. 一般発表

#### 国際学会

- 1) Toyotome T, Watanabe A, Ochiai E, Taguchi H, Kamei K: The utility of recombinant proteins of H and M antigens of *Histoplasma capsulatum* in the detection of specific antibodies in patients' sera. The 17<sup>th</sup> Congress of the ISHAM, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 2) Moretti ML, Mariangela R Resende, Arnaldo L Colombo, Angelica Z Schriber, Fukushima K, Takizawa K, Mikami Y: Molecular relatedness based on the analysis of the ribosomal RNA of *Candida albicans* isolated from patients hospitalized in eight medical centers in Brazil. A practical method to evaluate molecular epidemiology. The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century: Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 462, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 3) Takizawa K, Tanaka H, Shinya K, Kosuge J, Fukushima K: Identification of nonclamped *Schizophyllum commune* from the bone marrow of a dog with osteomyelitis. Congress of the International Society of Human and Animal Mycology 2009, Satellite Symposia Beijing. Program & Abstracts p. 172-173, Beijing, China, May

29-31, 2009.

#### 国内学会

- 1) 田口英昭, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 落合恵理, 佐藤綾香, 亀井克彦: 臨床微生物学会, 仙台, 1月30～2月1日, 2009.
- 2) 亀井克彦, 佐藤綾香, 田口英昭, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 落合恵理: 臨床微生物学会, 仙台, 1月30～2月1日, 2009.
- 3) 豊留孝仁, 山口正視, 渡辺 哲, 落合恵理, 佐藤綾香, 田口英昭, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* が構築するバイオフィルム様構造の解析. 第14回千葉真菌症研究会学術講演会, 抄録集, 千葉, 6月27日, 2009.
- 4) 豊留孝仁, 山口正視, 渡辺 哲, 落合恵理, 佐藤綾香, 田口英昭, 亀井克彦: 血清存在下における *Aspergillus fumigatus* のバイオフィルム様構造構築に関する解析. Bacterial Adherence & Biofilm 第23回学術集会, 第一三共会館, 7月11日, 2009.
- 5) 田口英昭, 佐藤綾香, 亀井克彦, 朴 奉柱, 朴 鍾喆, 玄 丞然: カンジダ症原因菌に対する抗真菌薬と Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCg) の併用による抗真菌活性に関する研究. 第36回防菌防黴, 大阪, 9月14～15日, 2009.
- 6) 朴 鍾喆, Kim HL, 姜 在慶, 朴 奉柱, 金正久, 玄 丞然, 田口英昭, 高鳥浩介: Aldehyded  $\alpha$ -glucan と  $\epsilon$ -poly (L-lysine) で作られた組織用接着剤の抗菌効果, 第36回防菌防黴学会, 大阪, 9月14～15日, 2009.

#### 共同研究

##### 1. 国際共同研究

- 1) 田口英昭: 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.
- 2) 滝澤香代子: 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).

#### 社会的活動

##### センター講習会

- 1) 田口英昭:  $\beta$ -グルカン測定操作法.

#### 外部資金

##### 科学研究費補助金

- 1) 滝澤香代子 (代表): 平成21年度 日本学術振興会科学研究費補助金 (奨励研究) 研究課題番号21930023 「黒色真菌フィアロホーラ・バルコーサの疫学検証法の開発と検証」(47万円).

##### その他の外部資金

- 1) 田口英昭 (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「免疫不全患者の真菌感染症診断法の改良」(平成21～24年度) (代表: 亀井克彦).

# 分子機能研究部門 機能形態分野

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

## 教授: 川本 進

- 学内委員 大学院医学系運営委員会委員, 大学院融合科学研究科教授会委員, 学内評価委員会委員, 分析センター連絡協議会委員, バイオメデイカル研究センター教員会議委員, 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教員, 分子機能研究部門危害防止主任者, 機能形態分野作業主任者, 海外協定校コンタクトパーソン (ハンガリー共和国デブレツェン大学, 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
- 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, 総務委員会委員, 広報委員会委員長, 地域連携委員会委員長, 倫理審査委員会委員長, 教員定期評価委員会委員長, 研究推進チームチームリーダー, 自己点検・評価委員会委員, 研究部門連絡会委員, 再審査制度検討委員会委員, 実験室内感染事故調査委員会委員, 安全衛生管理者, コロニーピッカー仕様策定委員, 透過電子顕微鏡技術審査職員, 固定資産監守者
- 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・優秀ポスター賞審査委員, 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・関東支部支部長選挙管理委員会副委員長, 日本神経化学会評議員, ニューヨーク科学アカデミー会員, 酵母細胞研究会運営委員, *Mycopathologia* (Associate Editor), *Microbiology and Immunology* (Associate Editor), *Japanese Journal of Medical Mycology* (Editorial Board, Section Editor)
- 所属学会 日本細菌学会, 日本医真菌学会, 日本菌学会, 日本生化学会, 日本分子生物学会, 日本プロテオーム学会, 日本神経化学会, 酵母細胞研究会, American Society for Biochemistry and Molecular Biology, American Society of Microbiology, International Society for Human and Animal Mycology, New York Academy of

## Sciences

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

## 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, 総務委員会委員, 共用備品委員会委員, 共同利用委員会委員, 広報委員会委員 (年報担当 WG 長), 自己点検・評価委員会委員, 地域連携委員会委員, 光熱水料削減プロジェクト WG 委員, 国際規制物質 (酢酸ウラニル) 管理者, 個人情報保護担当者, 透過電子顕微鏡仕様策定委員会委員長, コロニーピッカー技術審査職員
- 学協会への貢献 日本顕微鏡学会・本部監事 (～2009. 5)・*Journal of Electron Microscopy* 編集委員・技術認定試験委員会委員・微生物研究部会幹事・本部評議員・関東支部副支部長 (2009. 4～)・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, 日本菌学会, 日本植物形態学会
- 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, 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, 日本細菌学会, 糸状菌分子生物学研究会, Fungal Genetics Conference

## 技術職員: 大楠美佐子

- 非常勤講師: 明石 敏 (大正製薬株式会社医薬研究所・

開発薬理研究室次席研究員・グループマネージャー)  
非常勤講師：園田智子（横浜市立大学医学部）  
非常勤講師：東江昭夫（2009. 4～）  
特任教員：Eric V. Virtudazo  
日本学術振興会外国人特別研究員：Zuzana Moranova  
（～2009. 8）  
技術補佐員：相田直子（～2009. 3）  
技術補佐員：佐藤里美（2009. 6～）  
技術補佐員：岡田 仁  
大学院医学薬学府博士課程：李 皓曼  
大学院医学薬学府修士課程医科学専攻：増田恵美（2009.  
4～）  
大学院融合科学研究科博士前期課程：清水 誠（～  
2009. 3）  
大学院融合科学研究科博士前期課程：並木侑一（2009.  
4～）  
千葉大学園芸学部：並木侑一（～2009. 3）  
日本大学生産工学部：増田恵美（～2009. 3）  
日本大学生産工学部：太田裕子（2009. 4～）

## 研究概要（共同研究を含む）

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

*C. neoformans* には、他の酵母には見られない、特異な細胞周期制御現象が観察され、本酵母の病原性にも深く関わっていると思われる。我々はこれまでに、*C. neoformans* の細胞周期制御の中心に位置する Cdk1（サイクリン依存性キナーゼ1）とそれと相互作用する制御因子サイクリン類について分子クローニングを行い、解析を進めている。本年は、特に、G1 サイクリンである CnClm1 について、その分子細胞解析を進め、*C. neoformans* における生理機能を考察した。

### 2. *Cryptococcus neoformans* の低酸素環境応答遺伝子の同定、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増殖して行く。我々は、本菌ゲノムへのランダム挿入遺伝子変異体を構築し、変異体の低酸素状態への応答解析などを通して、本菌において低酸素ストレス応答に関与する遺伝子の同定

を目指し、数個の候補遺伝子を見出し、その分子細胞解析を進め、病原性との関連も検討している。

### 3. *Cryptococcus neoformans* の細胞死を誘導する細菌因子の局在解析

一般に細胞質に局在して解糖系酵素として機能していると言われるトリオースリン酸イソメラーゼが病原細菌・黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) では、細胞表層にも局在することを免疫電子顕微鏡解析法などを用いて実験的に確認した。*C. neoformans* に *S. aureus* が付着すると *C. neoformans* の死滅が誘導される現象において、*C. neoformans* の細胞死を誘導する細菌側因子として機能していると思われる。

### 4. 酵母のストラクチャー解析

ストラクチャーとは、細胞の電子顕微鏡レベルの定量的、三次元的な全構造情報を意味する (Yamaguchi M, 2006)。本年は、サッカロミセスの G1 期の 6 個の細胞を選んでストラクチャー解析を行ない、細胞あたりのオルガネラや細胞成分の数、長さや直径、体積、および膜の厚さを調べた。

### 5. *Cryptococcus neoformans* の非相同末端結合関連遺伝子の解析

*C. neoformans* の非相同末端結合に関与する遺伝子 (*CnLIGA*, *CKU70* および *CKU80*) を破壊し、外来 DNA 分子のランダムな組み込みを抑制した株 (高度相同組換え株) を作製した。また、これらの遺伝子のエピスタシス相互作用を解析し、本菌の KU タンパク質および DNA リガーゼ IV は単一の経路で機能していることを示した。現在、高度相同組換え株を用いて多くの遺伝子破壊実験を推進中である。

## 研究成果の発表

### 1. 著書

- 1) 川本 進：病原真菌の真菌学・免疫・薬剤感受性：病原真菌細胞生物学の臨床応用は？「深在性真菌症 Q&A」(改訂 3 版) (河野 茂編), 医薬ジャーナル社 (大阪), pp. 40-42, 2009.

## 2. 原著

### 英文

- 1) Raclavsky V, Husickova V, Moranova Z, Ohkusu M, Fischer O, Precek J, Trtkova J, Takeo K, Kawamoto S: Growth strategy of the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans* submerged culture under different cultivation formats. *Folia Microbiol* 54(4): 349-352, 2009. (査読有)
- 2) Raclavsky V, Pavlicek J, Novotny R, Moranova Z, Ohkusu M, Trtkova J, Takeo K, Kawamoto S: Peculiar clusters of daughter cells observed in *Cryptococcus neoformans* grown in sealed microtiter plates. *Folia Microbiol* 54(4): 369-371, 2009. (査読有)
- 3) Yamaguchi M, Biswas SK, Ohkusu M, Takeo K: Dynamics of the spindle pole body of the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans* examined by freeze-substitution electron microscopy. *FEMS Microbiol Lett* 296: 257-265, 2009. (査読有)
- 4) Yamaguchi M, Okada H, Namiki Y: Smart specimen preparation for freeze-substitution and serial ultrathin sectioning of yeast cells. *J Electron Microsc* 58: 261-266, 2009. (査読有)
- 5) Farkas V, Takeo K, Maceková D, Ohkusu M, Yoshida S, Sipiczki M: Secondary cell wall formation in *Cryptococcus neoformans* as a rescue mechanism against acid-induced autolysis. *FEMS Yeast Res.* 9(2): 311-20, 2009. (査読有)
- 6) Ozaki K, Ito E, Tanbe S, Natsume S, Tsuji K, Harada K: Electron microscopic study on lysis of a cyanobacterium microcystis. *J. Health. Science* 55: 578-585, 2009. (査読有)
- 7) Ito E, Yasumoto T: Toxicological studies on palytoxin and ostreocin-D administered to mice by three different routes. *Toxicon.* 54(3): 244-51, 2009. (査読有)

### 和文

- 1) 渡部俊彦, 倉内寿孝, 小笠原綾子, 三上 健, 山口正視, 松本達二: 亜硫酸ナトリウムの *Candida glabrata* 傷害作用. *東北薬科大学研究誌* 56: 41-46, 2009. (査読有)

## 3. 総説, 解説, その他

- 1) Moranova Z, Kawamoto S, Raclavsky V: Hypoxia

sensing in *Cryptococcus neoformans*: Biofilm-like adaptation for dormancy? *Biomedical Papers* 153(3): 189-193, 2009.

- 2) 山口正視: 電顕で見た真菌 - 透過電子顕微鏡でみた細胞内構造. *臨床検査* 53: 756-758, 2009.
- 3) 山口正視: 細胞・生物を構成する細胞の特徴. 大腸菌の電子顕微鏡像. クリプトコックスの電子顕微鏡像. ラット膀胱の電子顕微鏡像. (写真提供) 図解大人の科学 p.91. 永岡書店. 2009.
- 4) 山口正視: ミクロの探検隊 6 A型インフルエンザウイルス. *健創研会報*第25号(11月号) p.9. 2009.
- 5) 山口正視: ミクロの探検隊 7 B型肝炎ワクチン. *健創研会報*第26号(12月号) p.9. 2009.
- 6) Yamaguchi M, Okada H, Namiki Y: *J Electron Microsc* 58表紙写真, 2009.
- 7) 山口正視: A型インフルエンザウイルスの位相差電子顕微鏡観察. 文部科学省 先端研究施設共用イノベーション創出事業ナノテクノロジー・ネットワーク 平成20年度成果報告書 p.40-41. 自然科学研究機構分子科学研究所. 2009.
- 8) 田中千尋, 泉津弘佑, 吉見 啓, 清水公德, 木村真, 本山高幸: 病原糸状菌の浸透圧応答シグナル伝達経路. *化学と生物* 47: 644-650, 2009.

## 4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

- 1) 川本 進: 日本生化学会関東支部第8回教育シンポジウム「細胞内オルガネラとその病態 - 内海に浮かぶ個性豊かな島々とその反乱」, 講演「細胞内オルガネラについて - ミトコンドリア, ペルオキシソーム, 小胞体 -」東京, 2月28日, 2009.
- 2) 川本 進: 真菌医学研究センター主催公開市民講座「カビ!? ~そろそろ気になりますね~ Part 4」, 講演「酵母のふしぎ」千葉, 6月14日, 2009.
- 3) 山口正視, 岡田 仁, 並木侑一, 大楠美佐子, 川本 進: 凍結置換電顕法を用いた酵母細胞のストラクチャー解析. 日本顕微鏡学会第65回学術講演会, 発表要旨集 p.89, 仙台, 5月26~29日, 2009.
- 4) 山口正視: 微生物の試料作製法. 日本顕微鏡学会第65回学術講演会, 発表要旨集 p.107, 仙台, 5月26~29日, 2009.
- 5) 山口正視: 電子顕微鏡を用いた酵母細胞のストラクチャー解析. 日本マイコトキシン学会第66回学術

- 講演会, 講演要旨集 p.20, 千葉, 8月28日, 2009.
- 6) 山口正視, ダネフ・ラドスティン, 西山清人, 菅原敬信, 永山國昭: 氷包埋したインフルエンザウイルスの位相差電子顕微鏡観察, 第41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.131, 神戸, 9月4~5日, 2009.
  - 7) 清水公德: 病原真菌クリプトコックスの遺伝子ターゲットング効率向上への取り組み. 日本マイコトキシシン学会第66回学術講演会. 講演要旨集 p.19, 千葉, 8月28日, 2009.
  - 8) 清水公德: 病原真菌の遺伝子ノックアウト効率向上への取り組み. 日本遺伝学会第81回大会. プログラム・予稿集 p.84, 松本, 9月16~18日, 2009.
  - 9) 東江昭夫, 清水公德, 李 皓曼, 川本 進: 病原酵母 *Cryptococcus neoformans* におけるホスファターゼ遺伝子の発現制御, 第178回酵母細胞研究会例会, 横浜, 12月4日, 2009.

## 5. 一般発表

### 国際学会

- 1) Kawamoto S, Virtudazo EV, Ohkusu M, Máňová Z, Raclavský V, Takeo K: Molecular analysis of cell cycle regulation in *Cryptococcus neoformans*. 4th Trends in Medical Mycology. Athens, Greece, October 18-21, 2009.
- 2) Shimizu K, Shimizu M, Li H-M, Kawamoto S: Functional analysis of genes involved in drug resistance in *Cryptococcus neoformans*. The 17th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM 2009). Program and Abstract book p. 280. Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 3) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, Gomi K: The transcription activator AtrR is involved in azole drug resistance by regulating the expression of ABC transporter genes in *Aspergillus fumigatus*. ISHAM 2009. Program and Abstract p. 355. Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 4) Raut JK, Suzuki A, Tanaka C, Shimizu K, Fukiharu T, Takesihige S, Taniguchi K: Coprinopsis spp. collected from urea amended pine and aspen forest in Canada. Asian Mycological Congress (AMC2009). Abstract O-17. Taichung, Taiwan, Nov 15-19, 2009.
- 5) Virtudazo EV, Ohkusu M, Ohata M, Miklos I, Sipiczki M, Aoki S, Takeo K, Kawamoto S: Understanding cell control in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. ISHAM 2009. 25-29 May, 2009. Tokyo, Japan.
- 6) Virtudazo EV, Ohkusu M, Ohata M, Takeo K, Kawamoto S: Analysis of the role of the single G1 cyclin, CnClm1, in *Cryptococcus neoformans* cell cycle. ISHAM 2009. 25-29 May, 2009. Tokyo, Japan.
- 7) Moranova Z, Virtudazo EV, Ohkusu M, Kawamoto S, Pospisilova K, Raclavsky V: Study of hypoxia response in *Cryptococcus neoformans*. ISHAM 2009. 25-29 May, 2009. Tokyo, Japan.
- 8) Murayama SY, Yokoyama K, Yamaguchi M, Ubukata K: Gene expression in *Candida albicans* fatty acid desaturase null mutant, ISHAM 2009, Program and Abstract p. 461, Tokyo, May 25-29, 2009.

### 国内学会

- 1) 並木侑一, 岡田 仁, 三谷宏樹, 清水公德, 大楠美佐子, 知花博治, 川本 進, 山口正視: *Candida glabrata* のキチン合成酵素遺伝子欠損株に関する電子顕微鏡学的研究. 日本顕微鏡学会第33回関東支部講演会, 予稿集 p.113. 東京, 3月7日, 2009.
- 2) 山田博之, 近松絹代, 水野和重, 角 泰人, 御手洗聡, 山口正視: 急速凍結固定置換法(サンドイッチ法)による結核菌細胞壁の透過電子顕微鏡観察. 日本顕微鏡学会第33回関東支部講演会, 予稿集 p.113. 東京, 3月7日, 2009.
- 3) 渡部俊彦, 上野将明, 小笠原綾子, 三上 健, 山口正視, 知花博治, 松本達二: *Candida glabrata* の亜硫酸ナトリウム処理による細胞壁崩壊現象の解析. 第82回日本細菌学会総会, 名古屋, 3月12~14日, 2009.
- 4) 山田博之, 御手洗聡, 近松絹代, 水野和重, 山口正視: 急速凍結置換固定法(サンドイッチ法)による結核菌細胞壁の透過電子顕微鏡観察. 日本顕微鏡学会第65回学術講演会, 発表要旨集 p.207, 仙台, 5月26~29日, 2009.
- 5) 豊留孝仁, 山口正視, 渡辺 哲, 落合恵理, 佐藤綾香, 田口英昭, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* が構築するバイオフィルム様構造の解析. 第14回千葉真菌症研究会学術講演会, 抄録集, 千葉, 6月27日, 2009.

- 6) 豊留孝仁, 山口正視, 渡辺 哲, 落合恵理, 佐藤綾香, 田口英昭, 亀井克彦: 血清存在下における *Aspergillus fumigatus* のバイオフィルム様構造に関する解析. Bacterial Adherence & Biofilm 第 23 回学術集会, プログラム・抄録集 p. 28, 千葉, 7 月 11 日, 2009.
- 7) 山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 大楠美佐子, 川本進: 凍結置換法と連続超薄切片法による酵母のストラクチャー解析. 第 21 回日本植物形態学会, 山形, 9 月 17 日, 2009.
- 8) 吹春俊光, 清水公德, 田中千尋: 奄美大島とニュージーランドで見つかった *Coprinopsis* 属の未知アンモニア菌 2 種. 第 53 回日本菌学会大会, 講演要旨集 p. 42, 鳥取, 8 月 19-21 日
- 9) 清水公德, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 川本 進, 亀井克彦: 経静脈的および経気管支的感染によるマウス *Cryptococcus* 症の病態の相違についての検討. 第 7 回感染症沖縄フォーラム, 講演要旨集 p. 36, 宜野湾, 2009 年 2 月 12-14 日.
- 10) 吹春俊光, 清水公德: 粗面の担子胞子をもつ日本産ヒトヨタケ類 2 種の分類学的検討. 日本きのこ学会第 13 回大会, 講演要旨集 p. 103, 西宮, 2009 年 9 月 9-11 日.
- 11) 大楠美佐子, 清水公德, 川本 進: *Cryptococcus neoformans* の莢膜の厚さが性状および病原性に与える影響 (2). 第 82 回日本細菌学会総会, 要旨集 p. 172, 名古屋, 3 月 12 ~ 14 日, 2009.
- 12) 清水公德, 李 皓曼, 吉見 啓, 田中千尋, 阿部敬悦, 渡辺 哲, 亀井克彦, 山口正視, 川本 進: 病原性酵母 *Cryptococcus neoformans* の二成分シグナル伝達系に関する分子遺伝学的解析. 第 82 回日本細菌学会総会, 要旨集 p. 172, 名古屋, 3 月 12 ~ 14 日, 2009.

## 共同研究

### 1. 国際共同研究

- 1) 川本 進, 山口正視, 清水公德, 大楠美佐子: Regulators of cell cycle and transcription in yeasts as potential pathogenic factors. (Hungarian-Japanese Intergovernmental S&T Cooperation Programme), 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.

- 2) 川本 進, Eric Virtudazuo: G1 Cdk1-cyclin ホモログ遺伝子のクローニングと解析, 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) 川本 進, Zuzana Moranova, 大楠美佐子, Eric Virtudazuo: *Cryptococcus neoformans* の hypoxia への応答研究, 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.
- 4) 川本 進, 山口正視: *Cryptococcus neoformans* の細胞周期解析法に関する研究, Vladislav Raclavsky 博士, チェコ共和国, パラツキー大学.
- 5) 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 准教授, Augustin Svoboda 教授, チェコ共和国, マサリク大学医学部.

### 2. 共同利用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, 山中結子, 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: 低温位相差電子顕微鏡によるインフルエンザウイルスの構造観察, 永山國昭教授, 岡崎統合バイオサイエンスセンター, 西山清人上級研究員, 菅原敬信次長, 化学及血清療法研究所.
- 3) 山口正視: 冠動脈石灰化病変におけるサイファーステントポリマーの損傷についての研究, 小室一成教授, 小林欣夫副部長, 千葉大学付属病院.
- 4) 山口正視: 結核菌の急速凍結法による電子顕微鏡観察, 山田博之研究員, 財団法人結核予防会結核研究所.

## 国際交流

### 1. 海外渡航

- 1) 川本 進: ギリシャ, アテネ, 4th Trends in Medical Mycology に出席, 発表のため, 10 月 17 ~ 24 日, 2009 (科学研究費).

### 2. 海外研究者の受け入れ

- 1) Zuzana Moranova (チェコ共和国パラツキー大学医学歯学部, 2008 年 10 月 ~ 2009 年 8 月, 日本学術振興会外国人特別研究員 (欧米短期) 受け入れ, 共同

研究 (川本 進).

- 2) Matthias Sipiczki 教授 (ハンガリー, デブレツェン大学), セミナー開催と共同研究打ち合わせ, 2009年10月29日 (川本 進).

#### 学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 川本 進: The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology 2009 (ISHAM 2009) (May 25-29) (Tokyo, Japan), 組織委員会委員及びシンポジウム "Morphogenesis and Cell Cycle" コンビナー・座長.
- 2) 川本 進: 日本生化学会関東支部第8回教育シンポジウム「細胞内オルガネラとその病気-内海に浮かぶ個性豊かな島々とその反乱」(東京, 2月28日, 2009) コンビナー・座長・講演.
- 3) 川本 進: 酵母研究会研究第178回例会 (横浜, 12月4日, 2009), コンビナー・座長.
- 4) 川本 進: 第82回日本細菌学会総会, 優秀ポスター選考委員, 名古屋, 3月12-14日, 2009.
- 5) 川本 進: 第30回関東医真菌懇話会 (東京, 11月21日, 2009) シンポジウム「真菌症と細胞生物学の免疫学」座長.
- 6) 川本 進: 真菌医学研究センター・2009年度ベスト論文賞候補者選考.
- 7) 山口正視: 日本マイコトキシシン学会第66回学術講演会, 実行委員会委員, 千葉, 8月28日, 2009.
- 8) 山口正視: 日本顕微鏡学会第53回シンポジウム「顕微鏡学の多様化と可能性」. 実行委員会委員および座長. 東京, 10月30~31日, 2009.
- 9) 清水公德: 日本マイコトキシシン学会第66回学術講演会, 実行委員会委員, 千葉, 8月28日, 2009.

#### 教育活動

##### 学位指導

- 1) 清水 誠: 千葉大学大学院融合科学研究科博士前期課程修了 (3月), 病原性酵母 *Cryptococcus neoformans* の多剤耐性 (PDR) 遺伝子ホモログの機能解析 (研究指導: 清水公德, 川本 進).

#### 卒業研究学生, 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応用分子化学科より卒業研究 (増田恵美), 生産実習生 (インターンシップ生) (横溝美幸) 受け入れ.

#### 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), 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), 千葉大学園芸学部 (授業科目: 応用細胞工学, 細胞の構造と電子顕微鏡).
- 3) 清水公德: 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, 真菌の二次代謝物).

#### 社会的活動

##### 新聞

- 1) 山口正視: 「新型インフルエンザ 感染爆発に備えろ」電子顕微鏡写真提供 NHK 教育テレビ 1月9日, 19:00-19:30, 2009.
- 2) 山口正視: 「インフルエンザどう名付けるの?」電子顕微鏡写真提供 毎日新聞 1月27日, 2009.
- 3) 山口正視: 「耐性ウイルス流行なぜ インフルエンザ A ソ連型」電子顕微鏡写真提供 朝日新聞 2月13日, 2009.

##### 講演会

- 1) 清水公德: 東京学芸大学教育学部附属竹早中学校講演会「研究の進め方」.

## センター講習会

- 1) 川本 進: 病原真菌外国人講習会「Workshop on Medical Mycology」講師。「Proteome analysis and new techniques in molecular medical mycology」(2009. 7. 10).
- 2) 川本 進: 第 22 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)」(2009. 7. 1).
- 3) 山口正視: 第 23 回病原真菌講習会講師「真菌細胞概論」(2009. 6. 30).
- 4) 山口正視: 第 5 回病原真菌外国人講習会講師「Electron microscopy of fungal cells」(2009. 7. 9).

## 特許

- 1) Jon Ander Ochoa de Eribe Casas, 川本 進: 真菌の形質転換のためのプラスミドベクター, pCryptoRNAi 日本国内特許出願(出願番号 特願 2009-075678), 2009.

## その他

- 1) 川本 進(地域連携委員会委員長): 真菌医学研究センター主催第 5 回公開市民講座「カビ!?～そろそろ気になりますね～Part 4」, 千葉, 6月14日, 2009.

## 外部資金

### 科学研究費補助金

- 1) 川本 進(代表): 文部科学省科学研究費補助金(基盤 C)「病原真菌クリプトコックス細胞の生存と死の分子解析」平成 20～22 年度(平成 21 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) 川本 進(代表): 科学技術振興機構シーズ発掘試

験研究「真菌細菌相互作用の新規分子機構に基づく抗真菌薬のシード化合物の探索」(平成 21 年度, 直接経費 182 万円, 間接経費 18 万円).

- 2) 川本 進(代表): 日本学術振興会外国人特別研究員(欧米短期)事業「病原酵母クリプトコックスの細胞周期制御の分子解析: 低酸素状態応答遺伝子の同定」平成 20～21 年度(平成 21 年度事業経費, 100 万円).
- 3) 文部科学省ナショナルリソースプロジェクト中核的拠点整備プログラム「病原微生物」(代表: 亀井克彦), 川本に 21 年度は, 20 万円配分.
- 4) 川本 進(分担): 文部科学省研究推進経費「新興真菌症・放線菌症の対策に関する基礎研究」(代表: 亀井克彦).
- 5) 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「免疫不全真菌感染症診断法の改良」(平成 21～24 年度)(代表: 亀井克彦).
- 6) 川本 進(分担): 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研究者育成プログラム」(平成 21～24 年度)(代表: 横手幸太郎).
- 7) Virtudazo, E. V. (平成 21 年度千葉大学研究支援プログラム)若手研究者に対する助成(若手助成 B): クリプトコックス症原因菌のストレス応答や病原性に関与する細胞制御機構遺伝子のゲノムワイド同定と機能解析(72 万円).

# 分子機能研究部門 高分子活性分野

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

**教授 (3月定年退職): 三上 襄** (現 千葉大学名誉教授)

○学内委員 教育研究評議会委員, 部局長連絡会議委員, 大学法人化対応委員会, 自己点検・評価委員会委員, 施設整備委員会委員, 放射線同位元素委員会, セクシャルハラスメント防止委員会委員, 先端的科学技術共同研究推進会議委員, 部局情報システム管理責任者, 亥鼻地区埋蔵文化財調査委員会委員, 亥鼻地区安全衛生委員会委員, 大学院自然科学研究科教授会委員, 医学研究科 (医学系運営) 委員会委員, 劇物毒物等管理責任者, 真菌医学研究センター運営協議会議長, 国立大学附置研究所・センター長会議委員

○センター内委員 真菌医学研究センター長, 運営協議会議長, 教員会議議長, 総務委員会議長, 自己点検・評価委員長

○学協会への貢献 日本細菌学会評議員, 日本医真菌学会理事・編集委員長, 日本放線菌学会理事・編集委員長, 日本微生物資源学会理事, Microbiology and Immunology, associate editor

○国および地方公共団体への貢献 千葉県薬剤師会検査センター評議員, 大学共同利用機関法人国立遺伝学研究所「大腸菌小委員会および NBRP 大腸菌運営委員会委員, 知的基盤創世・利用促進研究開発事業「新規抗真菌剤 (抗カビ剤) 開発のための標的遺伝子知的基盤研究開発」研究計画評価委員会委員, 生物遺伝資源委員会委員, NBRP-情報運営委員会委員, 理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料検討委員会委員

○所属学会 日本細菌学会, 日本医真菌学会, 日本放線菌学会, 日本生物資源学会, 日本菌学会

○その他 ベンチャー企業「ファーストラボラトリー」顧問

**准教授: 知花博治**

○学内委員 遺伝子組換え実験安全委員会委員, スペース・コラボレーション・システム事業実施委員会委員

○センター内委員 教員会議委員, 総務委員会委員, 広報委員会委員, 共同利用委員会委員, 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, センター報告会 WG 長, 研究推進チーム委員, 組織機能改善委員委員, 将来計画委員会委員, 光熱水量削減プロジェクト WG 委員, 機種選定委員, 放射性同位元素委員会委員

○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, 酵母細胞研究会, 酵母遺伝学フォーラム, アメリカ微生物学会, アメリカ遺伝学会

○その他 琉球大学医学部非常勤講師

**助教: 宇野 潤**

○学内委員 動物実験委員会委員, 医学部付属動物実験運営委員会

○センター内委員 共用備品委員会委員, 微生物保存管理施設運営委員会委員, 有害廃棄物委員会, 防災対策委員会委員, 図書 WG 委員, 実験動物 WG 委員, 光熱水料節減プロジェクト WG 委員

○学協会への貢献 日本医真菌学会評議会委員・標準化委員会委員, 日本細菌学会評議会委員

○所属学会 日本医真菌学会, 日本細菌学会, 日本化学療法学会, 日本薬学会, 日本防菌防黴菌学会

○その他 東邦大学薬学部非常勤講師, 危険物保安監督者, 普通第一種圧力容器取扱い作業主任者, 安全衛生作業主任者

**非常勤講師: 石渡堅一郎** (～ 2009. 3) (医療社団法人六治会)

**非常勤講師: 佐藤謙一** (～ 2009. 3) (元第一製薬株式会社研究所・所長)

**非常勤講師: 鈴木健一郎** (～ 2009. 3) (独立行政法人製品評価技術基盤機構)

**非常勤講師: 福島和貴** (～ 2009. 3)

**非常勤講師: 新見昌一** (2009. 4～) オタゴ大学特別研究員

**研究支援推進員: 向後弘子** (～ 2009. 3)

**特任教員: 松浦 学** (～ 2009. 11)

**特任教員: 大野道代**

JSPS 特別研究員 PD: 上野圭吾

受託研究員: 笹本 要

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

大学院医学薬学府 博士課程: 康 穎倩 (~ 2009. 3)

大学院医学薬学府 修士課程: 青山一紀 (~ 2009. 3)

大学院医学薬学府 修士課程: 志保沢里奈 (~ 2009. 3)

大学院医学薬学府 修士課程: 田中博子 (~ 2009. 3)

大学院医学薬学府 修士課程: 三谷宏樹 (~ 2009. 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)

本プロジェクトでは、*C. glabrata* の全遺伝子について組換え株を構築し、機能解析を行うことにより、病原真菌の普遍性を見いだすことをめざしている。応用研究として①抗真菌薬の開発、②常在性と病原性の解明、③医学・工学的利用などの応用研究を進め、インターネットを介して情報を発信し、世界中の病原真菌の研究の発展のために貢献する事をめざしている。2009 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 166 遺伝子について組換え株の作製を構築した (木下, 笹本, 大岩, 島田)。また、組み換え機構の解析 (上野), 組み換えツールの開発 (上野, 松浦), 組み換え株の保存・分譲システム (大岩, 木下, 島田) を整理した。

2) 第2章 抗真菌薬の開発: 医学部田村 裕准教授と上野が、*in silico* の手法により、生育必須タンパクに対する抗真菌ペプチドの設計と合成ならびに評価などを進めた。本年は *in vitro* 解析によって見いだされた抗真菌薬の標的候補の Tet 株の感染実験を行った (宇野, 笹本, 上野)。有力候補タンパクに対して親和性が高いペプチドを設計ならびに合成し活性を確認した (上野)。

3) 第3章 病原性・常在性の研究: *Candida albicans* の腸管定着性と全身への播種の検討を行った。定着要因は、飼料、飲料水、接種菌数、抗菌剤の投与および免疫抑制剤の必要性等について糞内の菌数を指標に検討した。定着性に影響を及ぼす要因について検討を行った。全身への播種については更に検討を要した (宇野)。

4) 第4章 応用工学的研究: これまでに作製した組

換え株を用いて、エタノールなど有用産物の生産至適条件の解析を行い、さらに、プロモーター操作などの技術開発、高生産株スクリーニング系の開発などを進めた (笹本, 松浦, 大野)。

### 2. 抗真菌作用増強物質及び免疫賦活物質の探索 (宇野)

インド原産の植物樹皮から真菌に *in vivo* 実験で感染防御効果を示す 2 種の物質 (NJ8a と NJ8b) を見いだしているが、これら物質は、直接真菌との接触 (*in vitro*) では抗真菌作用を示さず、*in vivo* 実験により抗真菌活性を示す。物質のマウスへの投与は経口で行い、投与時期が効果に大きく影響した。投与時期時間を検討した結果、感染直前が最も効果を示した。これら物質は糖質であるが構造等は検討中である。作用としては自然免疫を賦活するものと考えられる。

## 研究成果の発表

### 1. 原著論文

#### 英文

- 1) Yamasaki S, Matsumoto M, Takeuchi O, Matsuzawa T, Ishikawa E, Sakuma M, Tateno H, Uno J, Hirabayashi J, Mikami Y, Takeda K, Akira S, and Saito T: C-type lectin Mincle is an activating receptor for pathogenic fungus, *Malassezia*: PNAS, 160(6), 1897-1902, 2009.
- 2) Adachi H, Shimizu K, Hattori H, Tanaka R, Chibana H, Takagi Y, Tomita Y, Kanbe T: Genotyping of *Candida albicans* by fragment analysis of microsatellites combined with 25S rDNA and RPS-based strategies: Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi, 50(3): 167-174, 2009.
- 3) Hattori H, Tanaka R, Chibana H, Kawamoto F, Adachi H, Shimizu K, Kanbe T: Improvement of the repetitive sequence-based identification and genotyping of *Candida albicans* using ALT-specific primers: Jpn J Infect Dis., 62(3): 215-9, 2009.
- 4) Liu Y, Kang Y, Yokoyama K, Gonoi T, Mikami Y: Molecular differentiation and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolated from patients with respiratory infections in Guiyang Medical College Hospital, China: Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi, 50(3): 175-178, 2009.
- 5) Delgado AC, de Jesus Pedro R, Aoki FH, Resende MR, Trabasso P, Colombo AL, de Oliveira MS,

- Mikami Y, Moretti ML: Clinical and microbiological assessment of patients with a long-term diagnosis of human immunodeficiency virus infection and *Candida* oral colonization: Clin Microbiol Infect, 15(4): 364-371, 2009.
- 6) Araki A, Kubota T, Aoyama K, Mikami Y, Fromont J, Kobayashi J: Nagelamides Q and R, novel dimeric bromopyrrole alkaloids from sponges *Agelas* sp: Org Lett., 16; 11(8): 1785-1788, 2009.
  - 7) Kang Y, Tanaka H, Moretti ML, Mikami Y: New ITS genotype of *Cryptococcus gattii* isolated from an AIDS patient in Brazil: Microbiol Immunol, 53(2): 112-116, 2009.
  - 8) Kantarcioğlu AS, Celkan T, Yücel A, Mikami Y, Kurugoglu S, Mitani H, Altas K. Fatal: *Trichoderma barzianum* infection in a leukemic pediatric patient: Med Mycol, 47(2): 207-215, 2009.
  - 9) Zaki SM, Ibrahim N, Aoyama K, Shetaia YM, Abdel-Ghany K, Mikami Y: Dermatophyte infections in Cairo, Egypt: Mycopathologia, 167(3): 133-137, 2009.
  - 10) Mukai A, Fukai T, Hoshino Y, Yazawa K, Harada K, Mikami Y: Nocardithiocin, a novel thiopeptide antibiotic, produced by pathogenic *Nocardia pseudobrasiliensis* IFM 0757: J Antibiot (Tokyo), 62(11): 613-9, 2009
  - 11) Aoyama K, Kang Y, Yazawa K, Gono T, Kamei K, Mikami Y: Characterization of clinical isolates of *Gordonia* species in Japanese clinical samples during 1998-2008: Mycopathologia, 168(4): 175-83, 2009.
  - 12) Melo NR, Taguchi H, Culhari VP, Kamei K, Mikami Y, Smith SN, Vilela MS: Oral candidiasis of HIV-infected children undergoing sequential HIV therapies: Med Mycol., 47(2): 149-56, 2009.
  - 13) Tatibana BT, Sano A, Uno J, Kamei K, Igarashi T, Mikami Y, Miyaji M, Nishimura K, Itano EN: Detection of *Paracoccidioides brasiliensis* gp43 gene in sputa by loop-mediated isothermal amplification method: J Clin Lab Anal, 23(2): 139-43, 2009.
  - 14) Yasuda T, Araki A, Kubota T, Ito J, Mikami Y, Fromont J, Kobayashi J: Bromopyrrole alkaloids from marine sponges of the genus *Agelas*: J. Nat. Prod., 72: 488-491, 2009.
  - 15) Ishiyama H, Kozawa S, Aoyama K, Mikami Y, Fromont J, Kobayashi J: Halichonadin F and the Cu (I) complex of halichonadin C from the sponge *Halichondria* sp.: J. Nat. Prod., 71: 1301-1303, 2009.
  - 16) Mukai H, Kubota T, Aoyama K, Mikami Y, Fromont J, Kobayashi J: Tyrokeradines A and B, new bromotyrosine alkaloids with an imidazolyl-quinolinone moiety from a Verongid sponge: Bioorg. Med. Chem. Lett., 19: 1337-1339, 2009.
  - 17) Tanaka N, Kubota T, Ishiyama H, Kashiwada Y, Takaishi Y, Ito J, Mikami Y, Shiro M, Kobayashi J: Petiolins D and E phloroglucinol derivatives from *Hypericum pseudopetiolum* var. *kiusianum*: Heterocycles, 79: 917-924, 2009.
- 和文**
- 1) 毛利 忍, 渡辺普一, 楠 俊雄, 渋谷和俊, 西山彌生, 阿部美智子, 宇野 潤, 小栗豊子, 前崎繁文, 池田玲子, 安部 茂: 爪白癬の治療について - 日本医真菌学会標準化委員会提案 2007 - : Jpn. J., 49(1): 1-3, 2009.
- 3. 総説・解説・他**
- 1) Chibana H, Magee, PT: The enigma of the major repeat sequence of *Candida albicans*: Future Microbiol., 4: 171-179, 2009.
- 4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演**
- 1) Chibana H, Ueno K, Sasamoto K, Mitani H, Aoyama T, Uno J, Nakayama H, Mikami Y: Integration of functional genomics in pathogenic fungus *Candida glabrata* and development of antifungal drug targets: ISHAM 2009, Abstract p. 175, May 25-29, 2009, Tokyo, Japan.
  - 2) Miyakawa Y, Chibana H, Uno J, Mikami Y, Nakayama H, Iimura Y: Essential genes identified in the pathogenic yeast *Candida* as the potential antifungal targets, ISHAM 2009, abstract p. 299, May 25-29, 2009, Tokyo, Japan.
  - 3) Nakayama H, Ueno K, Mitani H, Tanabe K, Aoyama T, Mizuno T, Niimi M, Chibana H: Genetic studies on sterol and mannoprotein biosynthesis in *Candida glabrata*. ISHAM 2009, abstract p. 138, May 25-29,

2009, Tokyo, Japan.

- 4) 知花博治, 中山浩伸: *Candida glabrata* フェノームプロジェクトとその応用研究. 日本農芸化学会東北支部シンポジウム, 仙台, 2009. 7.

## 5. 一般発表

### 国際学会

- 1) Ueno K, Tamura Y, Chibana H: Structure based de novo peptide design for development of antifungal drug. ISHAM 2009, abstract p. 298, May 25-29, 2009, Tokyo, Japan.
- 2) Miyakawa Y, Chibana H, Uno J, Mikami Y, Nakayama H, Iimura Y: Essential genes identified in the pathogenic yeast *Candida* as the potential antifungal targets. ISHAM 2009, abstract p. 299, May 25-29, 2009, Tokyo, Japan.
- 3) Niimi K, Woods MA, Maki K, Hatakenaka K, Nakayama H, Chibana H, Niimi M, Monk BC, Cannon RD: Mechanism of echinocandin resistance in *Candida glabrata*. ISHAM 2009, abstract p. 353, May 25-29, 2009, Tokyo, Japan.
- 4) Itano EN, Nagashima LA, Sano A, Kamai K, Uno J, Nishimura K: Production and analysis of polyclonal antibodies to *Arthrographis kalrae* soluble antigens with hemolytic activity, ISHAM 2009, abstract p. 333, May 25-29, 2009, Tokyo, Japan.
- 5) Nakayama H, Tanabe K, Okano M, Aoyama T, Chibana H, Miyazaki Y, Niimi M, Nagao J, Cho T: Isolation of *Candida glabrata* regulatory elements that affect the sterol transporter AUS1-regulated azole susceptibility of cells grown in serum-containing medium, ISHAM 2009. abstract p. 277, May 25-29, 2009, Tokyo, Japan.
- 6) Itano EN, Leonello PC, Tristan FSM, Vivian RHF, Uno J, Ono EYS, Venancio EJ, Sano A: IgG to *Histoplasma capsulatum* high MM antigens (hMMAgs) and IgG-hMMAgs immunocomplex in experimental histoplasmosis in mice, ISHAM 2009, abstract p. 482, May 25-29, 2009, Tokyo, Japan.
- 7) Aoyama T, Ueno K, Nakayama H, Chibana H: Re-annotation of the *Candida glabrata* genome, The 8th International Workshop on Advanced Genomics, Jun

16, 2009, Tokyo, Japan.

- 8) Myoken Y, Sugata T, Mikami Y, Murayama SY: Invasive oro-facial fungal infections in patients with hematological malignancies: Report of 27 cases due to *Aspergillus* and non-*Aspergillus* species, ISHAM 2009, abstract p. 456, May 25-29, 2009, Tokyo, Japan.
- 9) Moretti M, Resende MR, Colombo AL, Schrieber AZ, Fukushima K, Takizawa K, Mikami Y: Molecular relatedness based on the analysis of the ribosomal RNA of *Candida albicans* isolated from patients hospitalized in eight medical centers in Brazil. A practical method to evaluate molecular epidemiology, ISHAM 2009, abstract p. 462, May 25-29, 2009, Tokyo, Japan.

### 国内学会

- 1) 太田一良, 知花博治, 泉可也: 遺伝子組み換え *E. coli* 及び *C. glabrata* の共培養によるアルコール生産に関する研究, バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発 (先導, 要素) 成果報告会, 東京, 2月, 2009.
- 2) 中山浩伸, 田辺公一, 名木稔, 知花博治, 宮崎義継, 新見昌一: 病原真菌のステロールトランスポーターの発現機序, 第82回日本細菌学会総会, 名古屋, 3月12~14日, 2009.

### 共同研究

#### 1. 国際共同研究

- 1) 三上 襄: 抗酸菌の薬剤不活化に関する研究: Eric R. Dabbs 教授, ウィットウォーターズ大学教授, 南アフリカ.
- 2) 三上 襄: 病原性放線菌および真菌の分子分類学的研究: N. Poonwan 博士, タイ国立衛生研究所, タイ.
- 3) 三上 襄: 病原真菌 *Cryptococcus* の系統解析: W. Meyer 准教授, シドニー大学病院, オーストラリア.
- 4) 三上 襄: 病原真菌の疫学的研究: M. L. Moretti-Branchini 教授, カンピーナス大学医学部, ブラジル.
- 5) 知花博治: *Candida* の分子生物学的の研究, Judith Berman 教授, アメリカ合衆国, ミネアポリス, ミネソタ大学.
- 6) 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, ダニーデン, オタゴ大学.

## 2. 共同利用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, 新見昌一, 田辺公一・国立感染症研究所, 中山浩伸・鈴鹿高専.
- 2) 知花博治: 沖縄先端バイオプロジェクト, 照屋盛実, 喜久里育也, 塚原正俊, 平野 隆, 沖縄科学技術振興センター, 沖縄トロピカルテクノセンター, 産業技術総合研究所.

## 国際交流

### 海外渡航

- 1) 知花博治: アメリカ合衆国, ミネソタ大学 (ミネアポリス), 文部科学省「平成 20 年度大学教育の国際化加速プログラム」カンジダを用いた真菌病原因子の網羅的研究, 1月6～10日, 2009.

### 学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 知花博治: 第6回真菌分細胞研究会 事務局.

## 教育活動

### 学位指導

- 1) Yingqian Kang: 大学院医学薬学府 医学博士課程終了 (3月). (研究指導: 三上 襄).
- 2) 青山一紀: 大学院医学薬学府 修士課程終了 (3月). (研究指導: 三上 襄).
- 3) 志保澤里奈: 大学院医学薬学府 修士課程終了 (3月). (研究指導: 三上 襄).
- 4) 田中博子: 大学院医学薬学府 修士課程終了 (3月). (研究指導: 三上 襄).
- 5) 三谷宏樹: 大学院医学薬学府 修士課程終了 (3月). (研究指導: 知花博治, 三上 襄).

### 講義

- 1) 三上 襄: 千葉大学大学院医学研究科 (真菌感染症

学分野-高分子活性学), 千葉大学大学院自然科学研究科博士後期課程 (分子生態機能学-真菌感染応答論 I), 千葉大学大学院自然科学研究科博士前期課程 (分子生態機能学), 普遍講義 (真菌 (かび) と人との関わり合い).

- 2) 知花博治: 千葉大学普遍教育 真菌と暮らし, 真菌のゲノムと応用. 琉球大学医学部講義, 微生物学 (細菌学), 千葉大学園芸学部講義, 千葉大学大学院自然科学研究科特論, 真菌活性応答論, 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).
- 3) 宇野 潤: 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) 東邦大学薬 (薬物治療学-感染症), 真菌 (かび) と人との関わり合い.

## 社会的活動

- 1) 知花博治: 市民公開講座「カビ!」実行委員.
- 2) 宇野 潤: 市民公開講座「カビ!」実行委員.

## 外部資金

### 科学研究費補助金

- 1) 三上 襄 (代表): ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」(平成 21 年度は 910 万円, 間接経費 83 万円).
- 2) 知花博治 (代表), 宇野 潤 (分担): 特定領域「応用ゲノム」カンジダ酵母における病原性ゲノム機能学-網羅的遺伝子発現制御株の構築と応用, 平成 20～21 年度 (平成 21 年度は 580 万円).
- 3) 知花博治 (代表): 特定領域「感染マトリックス」カンジダフェノームプロジェクト第 3 章: 病原性改訂に向けた研究, 平成 21～22 年度 (平成 21 年度は 610 万円).

### その他の外部資金

- 1) 知花博治 (代表): 沖縄県「先端バイオ研究基盤高度化事業」平成 20～22 年度 (平成 21 年度は 475 万円).
- 2) 知花博治 (代表): (株) Biomaterial in Tokyo 受託研究: (平成 21 年度は 45 万円, 間接経費 9 万円).

# 分子機能研究部門 活性応答分野

(Department of Molecular Function, Division of Biological Specification)

本年度の客員教授は、東邦大学医学部病院病理部教授 渋谷和俊博士が就任した。渋谷教授の最近の業績は以下の通りである。

教授：渋谷和俊（客員）

## 学会および社会における活動等

- 1) 日本医真菌学会理事，評議員，用語委員，標準化委員，疫学調査委員，ウェブサイト運営委員，日本病理学会学術評議員，Pathology International 編集委員
- 2) 秋田大学大学院医学研究科非常勤講師，上海中医药大学（中国）客員教授，（千葉大学真菌医学研究センター客員教授）
- 3) 真菌症フォーラム世話人，関東医真菌懇話会世話人，肺真菌症研究会世話人
- 4) 厚生労働省科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「深在性真菌症と輸入真菌症に関する新しい検査法と抗真菌薬の開発，ならびに病原因子の解明に向けたポストゲノムの基盤的研究」分担研究者
- 5) 厚生労働省研究費補助金難治性疾患克服研究事業「特定疾患の微生物学的原因究明に関する研究」分担研究者

## センターでの 21 年度の共同研究

*Stachybotrys chartarum* 吸入と原発性肺高血圧症に関する病理学的検討

従来，当センターと共同で環境内に多く存在する *Stachybotrys chartarum* をマウスに経気管的に投与することによって肺高血圧症が惹起されることを明らかとし，このモデルの病態について検討を行ってきた。本年度の共同研究では，モデル動物の遺伝子発現変動について網羅的な解析を行い，ヒト原発性肺高血圧症との比較を行った。

現在までに肺動脈性肺高血圧症の主動遺伝子と考

られている腫瘍増殖因子に関連する Bmpr2 (bone morphogenetic protein receptor, type II) や Alk-1 (activin receptor-like kinase1), Eng (Endoglin) をコードする遺伝子発現は，本実験でもヒトと同様に有意に低下していた。この結果より，これらの遺伝子発現変動はマウスとヒトに共通であり，外的要因でも誘発される因子であると考えられた。肺高血圧症の細胞増殖に関わる因子のうち，ヒト特発性肺高血圧症で報告されている発現変動と本実験での変動様式に乖離のみられた因子は主に内皮細胞より産生され血管拡張に関わる NO (nitric oxide), PGI2 (prostaglandin I2), ET-1 (endothelin 1), 及び線維芽細胞より産生され血管新生に関わる VEGF (vascular endothelial growth factor) に関連する因子であった。これらの因子がヒト特発性肺高血圧症において，病態形成に深く関わっていることが示唆された。



## 研究成果の発表

### 原著

- 1) Sugino K, Kikuchi N, Muramatsu Y, Sano G, Kusano E, Isobe K, Sakamoto S, Takai Y, Hasegawa C, Shibuya K, Hatanaka K, Uekusa T, Homma S: Churg-Strauss Syndrome Presenting with Diffuse Alveolar Hemorrhage and Rapidly Progressive Glomerulonephritis. Intern Med 48: 1807-1811, 2009.
- 2) Isobe K, Hata Y, Takai Y, Shibuya K, Takagi K, Homma S: Usefulness of fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography for investigating unexplained rising carcinoembryonic antigen levels that occur during the postoperative surveillance of lung cancer patients. Int J Clin Oncol 14: 497-501, 2009.
- 3) Saito T, Shime N, Itoh K, Fujita N, Saito Y, Shinozaki M, Shibuya K, Makimura K, Hashimoto

- S: Disseminated Aspergillosis Following Resolution of *Pneumocystis* Pneumonia With Sustained Elevation of Beta-Glucan in an Intensive Care Unit: a Case Report. *Infection* 37(6): 547-50, 2009.
- 4) Takahashi H, Wada A, Yokoyama Y, Fukushi S, Sakurai T, Shibuya K, Suguro T: Ligamentum flavum haematoma: a report of two cases. *J Orthop Surg* 17: 212-5, 2009.
- 5) Sugino K, Gocho K, Ota H, Kobayashi M, Sano G, Isobe K, Takai Y, Izumi H, Kuraishi Y, Shibuya K, Homma S: Miliary Tuberculosis Associated with Chronic Neutrophilic Leukemia. *Intern Med* 48: 1283-7, 2009.
- 6) Shinozaki M, Okubo Y, Nakayama H, Mitsuda A, Ide T, Murayama S, Shibuya K: Application of *In Site* Hybridization to Tissue Sections for Identification of Molds Causing Invasive Fungal Infection. *Jpn J Med Mycol* 50: 75-83, 2009.
- 7) Sugino K, Kobayashi M, Iwata M, Gocho K, Kaburaki K, Muramatsu Y, Ishida F, Miyazaki T, Sato D, Sakaguchi S, Sano G, Kusano E, Isobe K, Sakamoto S, Takai Y, Shibuya K, Takagi K, Homma S: Successful Treatment with Pneumonectomy for Pulmonary *Mycobacterium Abscessus* Infection. *Intern Med* 48: 459-63, 2009.

# 病原真菌・放線菌管理室（微生物保存事業報告）

(Culture Collection of Pathogenic Fungi and Actinomycetes)

技術職員：伊藤純子  
研究支援推進員：大楠悦子  
研究支援推進員：菊池和代  
非常勤技術職員：矢澤勝清

## 業務概要

病原真菌・放線菌管理室は、真菌、放線菌の保存と維持管理を主な業務とし、新規登録株の受付（台帳管理およびアンプル作製）、すでに登録されている菌株のアンプルの補充や菌株情報の整備（データベースの更新）を

行っている。本年の新規登録は真菌が1,129株、放線菌が174株であった。また、研究ならびに教育用に保存株の分譲業務を担当し、その実績は以下の表に示すとおりである。

ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」においては、中核機関として千葉大学真菌医学研究センターが真菌・放線菌を、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研究院が細菌を、長崎大学熱帯医学研究所が原虫を担当し、病原菌株の収集、保存、提供を行っている。

## 2009年 分譲件数と分譲株数

		国内	国外	合計
件数(株数)	真菌	31 (577)	10 (216)	41 (793)
	放線菌	6 (52)	0 (0)	6 (52)

# 平成 21 年度共同利用研究・共同利用研究会一覽

## 共同利用研究

### 共同利用研究 A

#### 研究課題 '09-1

*Trichophyton tonsurans* の分子疫学的研究

望月 隆, 河崎昌子, 安澤教史 (金沢医科大学)

亀井克彦, 高橋容子, 佐野文子 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-2

真菌から得られる新規生理活性化合物の探索

河合賢一, 細江智夫, 板橋武史 (星薬科大学)

野沢幸平 (奥羽大学薬学部)

矢口貴志 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-3

DNA マイクロアレイ技術を用いた病原真菌検出技術の確立

岡 千寿 (千葉県産業支援技術研究所)

五ノ井 透 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-4

カイコ幼虫の感染モデルを用いた *Cryptococcus neoformans* の病原性遺伝子の同定

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)

#### 研究課題 '09-5

病原真菌 *Cryptococcus neoformans* サイクリン依存性キナーゼの構造機能相関

田村 裕 (千葉大学大学院医学研究院)

川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-6

千葉大学附属病院における深在性真菌症症例の動向

猪狩英俊, 渡辺 哲, 渡辺正治 (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)

#### 研究課題 '09-7

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 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-8

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, 石井 清 (獨協医科大学)

矢口貴志 (真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-9

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關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)

川本 進, 清水公徳 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-10

真菌と細菌の菌種間相互作用に關与する分子の免疫電子顕微鏡的解析

池田玲子 (明治薬科大学)

山口正視, 川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-11

ヤシオオオサゾウムシ外部共生酵母の特定と生態の解明

畑 邦彦 (鹿児島大学農学部)

川本 進, 大楠美佐子 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-12

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, 齋藤明広 (千葉大学大学院融合科学研究科・園芸学部)

西田芳弘 (千葉大学大学院園芸学研究科・園芸学部)

三上 襄, 山口正視 (千葉大学真菌医学研究センター)

**研究課題 '09-13**

大気中浮遊真菌の吸入と慢性肺疾患との関連について  
 渋谷和俊（東邦大学医学部）  
 亀井克彦（千葉大学真菌医学研究センター）

**研究課題 '09-14**

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）

**研究課題 '09-15**

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（きさらび皮膚科クリニック）  
 亀井克彦，佐野文子，鎗田響子（千葉大学真菌医学研究センター）

**研究課題 '09-16**

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）

**研究課題 '09-17**

分子系統解析による非 *Aspergillus fumigatus* の分類と生態・分布  
 堀江義一（千葉県立中央博物館）  
 矢口貴志（千葉大学真菌医学研究センター）

**研究課題 '09-18**

*Penicillium* 属 section *Penicillium* における類別とマイコトキシン産生  
 高橋治男（千葉県衛生研究所）  
 陰地義樹，浅野勝佳（奈良県保健環境研究センター）  
 久米田裕子（大阪府立公衆衛生研究所）  
 田端節子，千葉隆司（東京都健康安全研究センター）  
 川上裕司（(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）  
 横山耕治（千葉大学真菌医学研究センター）

**研究課題 '09-19**

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）

**研究課題 '09-20**

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）

**研究課題 '09-21**

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 丞然（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）

**研究課題 '09-22**

抗菌性加工木材の開発  
 渡部俊彦，松本達二，三上 健，小笠原綾子（東北薬科大学）  
 山口正視，川本 進（千葉大学真菌医学研究センター）

**研究課題 '09-23**

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）

**研究課題 '09-24**

*Candida* 属のステロール合成系異常を利用した farnesol 排出機構解析  
 長 環（福岡歯科大学）  
 知花博治（千葉大学真菌医学研究センター）

**研究課題 '09-25**

病原性真菌 *C. 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）  
 知花博治（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究課題 '09-26

*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)

知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-27

*Candida* 属酵母に対する抗真菌剤標的候補としての必須遺伝子の探索

宮川洋三 (山梨大学大学院医学工学総合研究部)

知花博治, 宇野 潤 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-28

カンジダ常在/感染と免疫の研究

荒川明子 (京都大学医学部附属病院)

知花博治, 宇野 潤 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-29

カンジダ・アルビカンス genotype の多様性と特異性

神戸俊夫 (名古屋大学大学院医学系研究科)

田中玲子, 矢口貴志 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '09-30

*C. glabrata* のステロール取り込みの分子機構の解明

中山浩伸, 青山俊弘 (鈴鹿工業高等専門学校)

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 '09-31

ヒストプラズマ抗原の可溶性蛋白質の発現技術の確立とその応用利用

瀧口正樹 (千葉大学大学院医学研究院)

高木広明, 草野賢一, 渡辺俊介 ((株) プロテイン・エクスプレス)

亀井克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 共同利用研究 B

##### 研究課題 '09-B1

ゲノムスキニングによる *Nocardia terpenica* の二次代謝産物生合成遺伝子の探索

石川 淳, 星野泰隆 (国立感染症研究所)

五ノ井 透, 松澤哲宏 (千葉大学真菌医学研究センター)

##### 研究課題 '09-B2

真菌表層糖鎖プロファイリング及び新規レクチンの抗真菌機構の解析

平林 淳, 館野浩章 (産業技術総合研究所糖鎖医工学研究センター)

五ノ井 透, 松澤哲宏 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究会

##### 研究会 1

名称: 真菌分子細胞研究会

課題: 真菌研究のための情報交換

新見昌一, 田辺公一 (国立感染症研究所)

中川善之, 神戸俊夫, 紅 朋浩 (名古屋大学)

鈴木孝仁, 岩口伸一 (奈良女子大学)

長 環, 永尾潤一 (福岡歯科大学)

中山浩伸, 青山俊弘 (鈴鹿工業高等専門学校)

水野貴之 (徳島文理大学)

安達禎之, 渡部俊彦, 小笠原綾子 (東北薬科大学)

川上和義, 五味勝也, 阿部敬悦 (東北大学)

梶原 将 (東京工業大学大学院生命理工学研究科)

山田 剛 (帝京大学)

荒川明子 (京都大学)

知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

## 研究会 2

名称: 第 3 回アスペルギルス研究会

課題: アスペルギルス症をはじめとした本菌に由来する  
疾患に関する研究の討議を行う

倉島篤行 (複十字病院)

安藤常浩 (日赤医療センター)

小川賢二 (国立病院機構東名古屋病院)

神田善伸 (自治医大おおみや医療センター)

木村雅友 (近畿大学医学部)

渋谷和俊 (東邦大学医学部)

蛇沢 晶 (国立病院機構東京病院)

宮崎義継 (国立感染症研究所)

泉川公一 (長崎大学医学部)

奥村欣由 (名城大学薬学部)

吉田耕一郎 (昭和大学医学部)

黄 文禧 (大阪赤十字病院)

井内敬二 (寺田万寿病院)

川上裕司 (エフシージー総合研究所)

池田直樹 (大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター)

渡辺 哲 (千葉大学医学部附属病院)

亀井克彦, 矢口貴志 (千葉大学真菌医学研究センター)

# 平成 20 年度 共同利用研究報告

## 研究課題 '08-01

### 環境内真菌の吸入と非感染性ヒト疾患との関連に関する研究

渋谷和俊 (東邦大学医学部)

亀井克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

現在、原因不明でかつ難治性の難病が数多く存在する。原発性肺高血圧症もその一つである。これは肺動脈圧の異常な上昇により致死的経過をとる疾患であるが、一部の家族発症例を除きその原因は分かっていない。我々はこの難病において、環境内に多数浮遊している真菌の吸入が影響しているのではないかという仮説のもとに研究を続けている。これまでの研究からわが国の居住環境内に広く生育している真菌である *Stachybotrys chartarum* をマウス (ddY) の気管内に反復投与することによって、肺動脈壁の中膜および内膜の肥厚など、ヒトの原発性肺高血圧症に類似した病変が形成されることを明らかにしてきた。そこで本病変の形成機序を解明する一助とするために、マウスの系統の相違による本病変の形成に関する検討を行った。

*S. chartarum* (IFM 53637) を potato dextrose agar (PDA) にて 25℃ で 3 週間培養後に胞子を採取し、RPMI 1640 にて懸濁液を作製した。マウスとしてはこれまで用いてきた ddY に加え、ICR, C57BL/6J, BALB/c マウス (いずれも 6 週齢, オス) を用いた。いずれも全身麻酔下でマウスの気管内にカテーテルを挿管し、1 回あたり  $1 \times 10^4$  spores/mouse の胞子懸濁液を 4 週間にわたって反復投与し (計 6 回)、反復投与終了後 7 日目に病理組織学的変化を検討した。その結果、肺動脈壁の肥厚が形成されたマウスは、ddY では 10 匹中 2 匹 (20%), ICR では 11 匹中 8 匹 (73%), C57BL/6J では 10 匹中 9 匹 (90%) であった。これらのマウスで見られた肺動脈病変の重症度 (程度) はいずれのマウスにおいても概ね同程度であり、マウス系統の相違による病変の程度には差が見られ

なかった。一方、BALB/c マウスでは肺動脈病変の形成は 1 匹も認められなかった (11 匹中 0 匹)。なお、いずれのマウスにおいても肺内で胞子の生育は見られなかった。この検討から、マウスの系統により肺高血圧病変の形成率に相違があるものの、これまで用いてきた ddY に見られたこの病変形成は決して例外的なものではなく、他の多くのマウス系統にも出現すること、また全く病変形成の見られない系統があることが明らかとなった。この知見に基づいて、本病変形成機序の解明を進めていきたい。

#### 研究発表

##### 原著論文

- 1) Ochiai E, Kamei K, Watanabe A, Nagayoshi M, Tada Y, Nagaoka T, Sato K, Sato A, Shibuya K: Inhalation of *Stachybotrys chartarum* causes pulmonary arterial hypertension in mice. International Journal of Experimental Pathology 89 (3): 201-208, 2008.

##### 学会発表

- 1) 落合恵理, 亀井克彦, 永吉 優, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 渋谷和俊: *Stachybotrys chartarum* による肺動脈病変形成におけるマウス系統差について. 第 82 回日本感染症学会総会, 感染症誌 82 (臨増): 241, 松江, 4 月 17 ~ 18 日, 2008.
- 2) 永吉 優, 渡辺 哲, 多田裕司, 長岡鉄太郎, 佐藤弘一, 笠原靖紀, 田辺信宏, 栗山喬之, 渋谷和俊, 亀井克彦: *Stachybotrys chartarum* による肺血管病変の形成に関与する因子の検討. 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 6 月 15 ~ 17 日, 2008.
- 3) 落合恵理, 亀井克彦, 佐藤綾香, 永吉 優, 渡辺哲, 豊留孝仁, 渋谷和俊: 真菌胞子の吸入と肺動脈壁肥厚の形成について. 第 52 回日本医真菌学会総会, 長崎, 9 月 10 ~ 11 日, 2008.
- 4) 落合恵理, 永吉 優, 佐藤綾香, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 渋谷和俊, 亀井克彦: 環境内真菌の吸入と難治性肺疾患の発症に関する検討. 平成 20 年度室内環境学会総会, 東京, 12 月 1 ~ 2 日, 2008.

## 研究課題 '08-02

### Aspergillus 及び関連菌の分子系統解析と形態学的研究との比較研究

堀江義一（千葉県立中央博物館）

矢口貴志（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究成果

*Aspergillus fumigatus* およびその関連テレオモルフである *Neosartorya* 属は、真菌症原因菌として重要である。当センターに保存されている *A. fumigatus* およびその関連菌を研究材料とし、 $\beta$ -tubulin, actin, calmodulin 遺伝子による系統解析を実施した。*Fumigati* 節は5つのクラスターに分かれ、*A. fumigatus*, *A. lentulus*, *A. viridinutans* とは系統的に異なる菌群が見出され、*Neosartorya udagawae* と系統的に近縁であった（有性世代が認められないため *A. udagawae* する）。*A. fumigatus* 関連菌は分子系統と分生子の微細構造、生育温度、マイコトキシン生産性との間には相関が見られた。さらに薬剤耐性において *A. lentulus*, *A. udagawae* は非典型的な *A. fumigatus* との間に差が認められ、正確な同定が臨床上重要である。そこで非典型的な *A. fumigatus* の分布調査を日本、中国などで行い、*A. udagawae* との近縁菌の交配試験による菌学的位置付けを検討している。

#### 研究発表

##### 学会発表

- 1) Yaguchi T, Horie Y, Matsuzawa T, Tanaka R, Abliz P, Hui Y: Polyphasic taxonomy of pathogenic *Aspergillus fumigatus* and related species in Japan and Xinjiang, China. China-Japan Pan Asia Pacific Mycology Forum Symposium, Proceedings p. 53, Changchun, China, 2008. 7. 28-8. 2.
- 2) Matsuzawa T, Yaguchi T, Tanaka R, Horie Y, Hui Y, Abliz P: Polyphasic analysis of the genus *Emericella* and new species. China-Japan Pan Asia Pacific Mycology Forum Symposium, Proceedings p. 198, Changchun, China, 2008. 7. 28-8. 2.
- 3) 松澤哲宏, 矢口貴志, 堀江義一, 田中玲子, 五ノ井透: *Emericella* 属の多相分類と新種について. 日本菌学会第52回大会, 講演要旨集 p. 63, 三重, 2008年5月30-6月1日.
- 4) 矢口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子, Abliz, Paride, Hui, Yan: *Aspergillus* section *Fumigati* に分類される非 *A. fumigatus* について. 日本菌学会第52回大会, 講演要旨集 p. 93, 三重, 2008年5月30-6月1日.
- 5) 矢口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子, Paride Abliz, Hui Yan: 病原性 *Aspergillus fumigatus* の系統解析と形態. 第52回日本医真菌学会総会, 真菌誌49(増刊1号): 81, 長崎, 2008年9月10-11日.
- 6) 松澤哲宏, 矢口貴志, 堀江義一, 田中玲子, 五ノ井透: 病原性 *Emericella* 属菌の特異的・迅速的な検出法の開発. 第52回日本医真菌学会総会, 真菌誌49(増刊1号): 82, 長崎, 2008年9月10-11日.

## 研究課題 '08-03

### カンジダ・アルビカンス genotype の多様性と特異性

神戸俊夫（名古屋大学大学院医学研究科）

矢口貴志・田中玲子

（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究成果

これまでに、RPS/ALT および microsatellite に基づいた *C. albicans* の genotype 解析を進め、同一患者内の感染部位と口腔（常在部位）から分離される *C. albicans* の genotype は同じである事を報告してきた。本研究では、カンジダ非感染者の口腔より分離した *C. albicans* の genotype について解析を行い、各個人に生息する *C. albicans* の genotype 数と genotype の分布をカンジダ血症患者の場合と比較した。カンジダ非感染者およびカンジダ血症患者より分離された *C. albicans* の genotype は、microsatellite (CDC3, CAI, CAIII) のフラグメント解析により調べた。3種類の marker を組み合わせた genotyping の結果、カンジダ非感染者口腔より分離した *C. albicans* で、個人当たり2種類以上の genotype が認められた例が60%にみられた。また、カンジダ血症患者とカンジダ非感染者に共通する genotype (11種類) に加え、65 genotype がカンジダ非感染者由来株に、75 genotype

がカンジダ血症由来株にみられた。

## 研究発表

### 学会発表

- 1) Hattori H, Tanaka R, Chibana H, Kawamoto F, Adachi H, Shimizu K, Kanbe T: Improvement of the repetitive sequence-based identification and genotyping of *Candida albicans* using ALT-specific primers. Jpn J Infect Dis 62: 215-219, 2009.
- 2) 高木雄基, 服部尚生, 足立秀禎, 田中玲子, 深野英夫, 神戸俊夫: ヒト口腔内常在性 *Candida albicans* の genotype 解析. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 75, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.

## 研究課題 '08-04

### *Candida albicans* 不飽和化酵素遺伝子破壊株のアレイ解析

村山琮明 (北里大学大学院感染制御科学府 & 北里生命科学研究所)

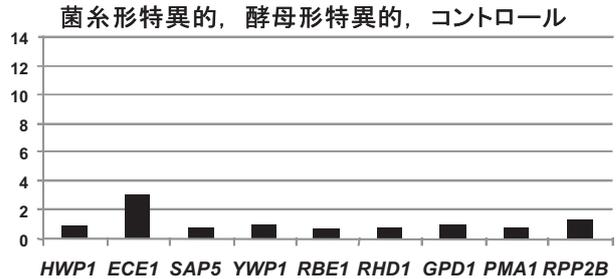
横山耕治・知花博治

(千葉大学真菌医学研究センター)

## 研究成果

古くから、膜リン脂質の脂肪酸組成がその生物の生育温度により変化し、膜の流動性が一定の範囲内に保たれるような適応反応が起こることが知られている。このような膜流動性の調節は、主に脂質分子種の再構成によって行われており、とくに脂質分子のアシル鎖の不飽和度が重要な役割を担っている。病原性酵母 *Candida albicans* では、低温暴露により下がった膜流動性を、生体膜中の不飽和脂肪酸の含量を上昇させることにより、高めることが知られている。

このような脂肪酸の不飽和化酵素遺伝子 (*CaFAD2*, *CaFAD3*) 破壊株の酵母形、菌糸形それぞれに特異的な遺伝子の転写レベルでの変化をアレイ解析および real-time PCR 法で確認した。 *GPD1*, *PMA1*, *RPP2B* 遺伝子を対照として、菌糸特異的な *HWP1*, *SAP5*, *ECE1* 遺伝子および酵母特異的な遺伝子 *YWPI*, *RBE1/PRY2*, *RHD1*



遺伝子の転写レベルの変化を *CaFAD2* あるいは *CaFAD3* 破壊株とも、菌糸形成に関わるとされる *ECE1* 遺伝子の発現が増加していた。

## 研究発表

### 学会発表

- 1) Murayama SY, Yokoyama K, Yamaguchi M, Ubukata K. Gene expression in *Candida albicans* fatty acid desaturase null mutant. ISHAM2009, Tokyo.

## 研究課題 '08-05

### 病原真菌 *Candida tropicalis* の二形性変換のゲノム・ネットワーク

鈴木孝仁・岩口伸一 (奈良女子大学理学部)

横山耕治 (千葉大学真菌医学研究センター)

## 研究成果

不完全真菌 *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) は、ヒトや動物の体内からも分離され、近縁種の *Candida albicans* と共に日和見真菌感染症の原因菌としても知られている。また、アゾール系抗真菌剤に対して、高度の耐性を示すために臨床において問題となっている。*C. tropicalis* は、グルコースを炭素源とする合成液体培地にエタノールを 2.5% 添加すると高率に菌糸 (偽菌糸) を誘導することが可能である。酵母型と菌糸型の間の二形性変換能力は、病原性に必要であることが示唆されている。*C. tropicalis* の近縁種である *C. albicans* では、ゲノムプロジェクトが完了、ポストゲノムシーケンシングプロジェクトが進行しており、その一環として DNA マイクロアレイによる遺伝子発現の網羅的な解析が可能となっている。現在千葉大学真菌医学研究センターでは、*C. albicans*

のマイクロアレイ解析システムが稼働している。

これまでに我々は、*C. albicans* の遺伝子発現解析を行い、サンプル調製やマイクロアレイシステムの操作方法について検討を行い、実験操作のマニュアルを完成させた。さらに、*C. tropicalis* における酵母型成長と菌糸型成長過程前期のサンプルから mRNA を調製し、遺伝子発現解析を行い、*C. albicans* の DNA マイクロアレイが *C. tropicalis* において利用可能であることを示した。

*C. tropicalis* と *C. albicans* の遺伝子の相同性は高く、我々が単離した *C. tropicalis* の MAP キナーゼ *CtEKI* も *C. albicans* の MAP キナーゼと非常に高い相同性を示した。そこで、*C. albicans* の DNA マイクロアレイ解析システムを用いて、*C. tropicalis* の菌糸形成過程において遺伝子発現レベルの変化する遺伝子について網羅的な調査を行うことを計画した。*C. tropicalis* は *C. albicans* とは異なり、経時的に菌糸形成過程を追跡できるため、各過程での遺伝子発現を解析することが可能である。本研究では野生株の対照培養、エタノール添加培養から mRNA を調製し、Cy3, Cy5 で標識した cDNA を *C. albicans* の DNA マイクロアレイへハイブリダイゼーションさせ、どのような遺伝子が発現しているかを調べた。培養初期、中期について、対照培養とエタノール添加培養の比較を行ったところ、異なる ORF が発現していることが明らかとなった。発現量に上昇あるいは低下の見られた ORF はいずれも既知の遺伝子と相同性の認められないものがほとんどであるため、リアルタイム PCR 法による遺伝子発現の変動を詳細に検討するための遺伝子全長のクローニングを進めている。

## 研究発表

- 1) Iwaguchi S, Suzuki T, Sakai N, Yokoyama K, Suzuki, T: The loss of parts of chromosome 7 followed by the insertion of URA cassette into RB2 on MRS in *Candida albicans* strain CAI-4. *Medical Mycology*, 46 (4), 655-663, 2008.
- 2) 岩口伸一 (2008) 「深在性真菌症 Q&A (カンジダの病原性 p. 51-52)」河野 茂編著, “カンジダの病原性”, 医薬ジャーナル社.
- 3) 「石油分解酵母 *Candida tropicalis* の菌糸形成には MAPK キナーゼのリン酸化は関与しない」岩口伸一・飛弾 光・鈴木孝仁, 日本植物学会 (高知), 2008 年 9 月 25 日 ~ 27 日, ポスター発表.

## 研究課題 '08-06

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

高橋治男 (千葉県衛生研究所)  
横山耕治 (千葉大学真菌医学研究センター)  
陰地義樹・大橋正孝 (奈良県衛生研究所)  
田端節子 (都立衛生研究所)  
久米田裕子 (大阪府公衆衛生研究所)  
川上祐司 ((株) エフシージー総合研究所)

## 研究成果

1. Section *Nigri* 分離株についてのオクラトキシン産生は、*A. carbonarius* ではほとんど認められ、国内産生干しブドウからも検出された。これに対して、Section *Nigri* ではほとんど認められなかった。
2. *A. carbonarius* のオクラトキシン産生は、最適温度は 20℃ で、培養期間は 7 日間が最適であった。
3. チトクローム *b* 遺伝子解析結果とリボゾーム DNA 解析結果による遺伝子解析結果は一致した。
4. 分生子表面の SEM による観察による同定結果と、チトクローム *b* およびリボゾーム DNA の遺伝子解析による類別結果は、ほぼ一致した。

## 研究発表

### 国際学会 ワークショップ

- 1) HE D, Yokoyama K, Takahashi H, Onji Y, Wang L: Clasification and mycotoxin production of aflatoxin-producing strain and section *Nigri* isolated from soil and agricultural product in China. Special Symposium: China-Japan Medical Mycology Project in Asia. China-Japan Pan Asia Pacific Mycology Forum, Changchun July 28 ~ August 5, 2008.

### 国内学会 シンポジウム

- 1) 横山耕治, 川上裕司, 陰地義樹, 久米田裕子, 高橋治男: ぶどう園における section *Nigri* の分布と分離株のオクラトキシン産生性. 日本マイコトキシン研究会, シンポジウム 東京 2008.

### 一般発表

- 1) 横山耕治, 各務清美, 賀 丹, 王 麗: 希な真菌症原因菌を含む *Aspergillus* section *Nigri* のチトクローム

ム b 遺伝子解析による生態学的研究. 第 52 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 49 (増刊 1 号) p.84, 長崎, 2008.

## 研究課題 '08-07

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

野村文夫

(千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学)

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* は免疫不全患者, 特に AIDS 患者に重篤な日和見感染を引き起こすことのある病原性酵母である. 近年, *C. neoformans* の薬剤耐性株が分離されクリプトコッカス症の治療効果に影響を及ぼしているが, その研究例は非常に少なく, 薬剤耐性獲得の分子機構解析は重要である. そこで本研究では抗真菌剤に対する薬剤耐性株と感受性株のプロテオーム解析を行い, その選別に有用なマーカー候補を見出すことを目的としている.

AIDS 患者などから分離された株 100 株を用いて, fluconazole (FLCZ) について Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) に準じた感受性試験を実施した. 更に, 感受性株・4 株, 耐性株・4 株を用いて, タンパク質発現解析を行う為の条件検討 (タンパク質抽出溶液, アセトン沈殿の有無, 二次元電気泳動に用いるゲルの濃度及びタンパク質量) を行い, 条件検討により得られた至適条件に基づき, それぞれの株をアガロース二次元電気泳動で比較し, 有意に違いのみられたスポットをインゲル消化後, 質量分析計 (LC-MS/MS) にて, 同定を進めた. 至適条件を用いて, 感受性株 4 株と耐性株 4 株の比較を行った結果, 感受性株で増加したスポット, 耐性株で増加したスポット, 各数個が認められ, 同定を進めた. 感受性株 3 株と耐性株 1 株の比較を行った結果, 感受性株で増加したスポット・3 個, 耐性株で増加したスポット・2 個が認められ, データ解析により選び出したスポット 5 個のうち 5 個 (100%) を同定す

ることができた. 感受性株で増加したスポット 3 個は, Malate synthase, Flavohemoglobin, Isocitrate dehydrogenase と同定された. 耐性株で増加したスポット 2 個は, Cystathione-beta-synthase, Nucleotide-sugar transporters と同定された. これらのタンパク質が耐性株と感受性株の選別に有用なマーカーとして臨床に応用でき, 実用的なマーカーとして発展することが期待される.

## 研究課題 '08-08

### 海洋生物を素材とした抗真菌物質の探索

小林淳一 (北海道大学大学院薬学研究院)

三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

海綿 *Agelas* sp. より単離したプロモピロールアルカロイド Nagelamide M および N, Mukanadine F に抗真菌活性が, Nagelamide O に抗菌活性ならびに抗真菌活性が認められた. 沖縄産海綿より単離したセスキテルペノイドキノン Nakijiquinone G-I, Verongida 科海綿より単離したプロモチロシナルカロイド Tyrokeradine A および B に抗菌活性ならびに抗真菌活性が認められた. 海綿 *Halichondria* sp. より単離したセスキテルペノイド Halichonadin F およびその Cu (I) 複合体に抗菌ならびに抗真菌活性が認められた. オトギリソウ科植物より単離したフロログルシノール誘導体 Petiolin D および E に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) Kubota T, Araki A, Ito J, Mikami Y, Fromont J, Kobayashi J: Nagelamides M and N new bromopyrrole alkaloids from sponge *Agelas* species. *Tetrahedron* 64: 10810-10813, 2008.
- 2) Takahashi Y, Kubota T, Ito J, Mikami Y, Kobayashi J: Nakijiquinones G-I, new sesquiterpenoid quinones from marine sponge. *Bioorg Med Chem* 16: 7561-7564, 2008.

- 3) Yasuda T, Araki A, Kubota T, Ito J, Mikami Y, Fromont J, Kobayashi J: Bromopyrrole alkaloids from marine sponges of the genus *Agelas*. *J Nat Prod* 72: 488-491, 2009.
- 4) Ishiyama H, Kozawa S, Aoyama K, Mikami Y, Fromont J, Kobayashi J: Halichonadin F and the Cu (I) complex of halichonadin C from the sponge *Halichondria* sp. *J Nat Prod* 71: 1301-1303, 2009.
- 5) Mukai H, Kubota T, Aoyama K, Mikami Y, Fromont J, Kobayashi J: Tyrokeradines A and B, new bromotyrosine alkaloids with an imidazolyl-quinolinone moiety from a Verongid sponge. *Bioorg Med Chem Lett* 19: 1337-1339, 2009.
- 6) Tanaka N, Kubota T, Ishiyama H, Kashiwada Y, Takaishi Y, Ito J, Mikami Y, Shiro M, Kobayashi J: Petiolins D and E phloroglucinol derivatives from *Hypericum pseudopetiotalatum* var. *kiusianum*. *Heterocycles* 79: 917-924, 2009.

## 研究課題 '08-09

### *Trichophyton tonsurans* の分子疫学的研究

望月 隆・安澤数史・河崎昌子  
 (金沢医科大学 皮膚科学部門, 同 総合医学研究所, 皮膚真菌学部門 (ノバルティス ファーマ))  
 亀井克彦・高橋容子・佐野文子  
 (千葉大学真菌医学研究センター)

### 研究成果

核 ribosomal RNA 遺伝子の NTS 領域の分子多型の検討により, 多くの真菌において種内変異の検出が試みられている. 近年格闘技競技者の間で集団感染の out break が知られている好人性皮膚糸状菌 *Trichophyton tonsurans* の本邦分離株においては, 菌より抽出した全細胞 DNA を鋳型とし, NTS 領域を PCR で増幅し, これを制限酵素 *Mva* I ならびに *Ava* I で消化したのち電気泳動のパターンを観察して型分けを行った. primer pair は L663 (5'-TTCTAGGCTCCCAACCAC) ならびに R 1145 (5'-ACAAGGGCGGAAGTATCAGAC) を用いた. この方法により本邦分離株にはすでに NTS I 型から VI 型の

6 型が認められることが報告されていた (Mochizuki T, et al, *Jpn J Infect Dis* 60: 188-, 2007) が, 今回の散発例 (診断時, 格闘技との関係が伺い知る事のできなかった例) の解析をあわせると, NTSI 型から VIII 型までの 8 型が認められた. この新しい型のうち 2 型は L663-R1145 産物の塩基配列を決定し, 個別の型であることが確認されている. 現在も格闘技から新たに分離, 集積された菌株について分子疫学的検討を継続中である.

### 研究発表

- 1) Mochizuki T, Kawasaki, M, Fujita J, Ushigami T, Takeda K, Sano A, Takahashi Y, Kamei K: Epidemiology of sporadic (non-epidemic) cases of *Trichophyton tonsurans* infection in Japan based on PCR-RFLP analysis of non-transcribed spacer region of ribosomal RNA gene. *Jpn J Infect Dis* 61: 219-222, 2008.

## 研究課題 '08-10

### 真菌から得られる新規生理活性化合物の探索

河合賢一・細江智夫・板橋武史  
 (星薬科大学, 薬化学教室)  
 野沢幸平 (奥羽大学薬学部, 薬化学分野)  
 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, *Eupenicillium javanicum* IFM 54704 株から新規抗真菌活性物質 eujavanicin A を単離しその構造を確定し, 抗真菌活性, 構造活性相関の検討を行なった.

## 研究発表

### 原著論文

- 1) Nakadate S, Nozawa K, Sato H, Horie H, Fujii Y, Nagai M, Hosoe T, Kawai K, Yaguchi T, Fukushima K: An antifungal cyclic depsipeptide, eujavanicin A, isolated from *Eupenicillium javanicum*. J Natural Products 71: 1640-1642, 2008.

### 学会発表

- 1) 若菜大悟, 細江智夫, 板橋武史, 河合賢一, 矢口貴志, 滝澤香代子, 福島和貴: *Malbranchea filamentosa* から得られる新規セスキテルペンの構造. 第 55 回日本生薬学会, 長崎, 7月19~20日, 2008.
- 2) 板橋武史, 細江智夫, 河合賢一, 矢口貴志: *Neosartorya* 属菌の“新種”とプロファイルされた A159 菌株の成分研究. 第 55 回日本生薬学会, 長崎, 7月19~20日, 2008.

## 研究課題 '08-11

### DNA マイクロアレイ技術を用いた病原真菌検出技術の確立

岡 千寿 (千葉県産業支援技術研究所)  
五ノ井 透 (千葉大学真菌医学研究センター)

### 研究成果

病原真菌検出用マイクロアレイのモデル系として *Candida* 属の系統分類を目的としたマイクロアレイ・チップを真菌センターのアレイ・スポットターを用いて試作し, 真菌センターの保有菌株を用いて *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* の 5 菌種について検討した.

ITS 遺伝子領域においては, 上記の菌種判別が DNA マイクロアレイで可能であった.

さらに, 真菌センターとの共同研究成果である DNA マイクロアレイ・チップの再利用技術 (特願 2006-120641 「プローブポリヌクレオチド固定化担体の再生方法」) についても検討し, この菌種判別アレイにおいては, 1 枚のアレイスライドで 5 回以上の再利用が可能であることを明らかにした.

なお, DNA マイクロアレイの試作において, アレ

イ・スポットターを, また, 蛍光の検出においては, マイクロアレイ・スキャナー等の真菌センターの機器を使用した.

また, アゾール系の抗真菌剤に対する耐性機構が報告されている *C. albicans* の *ERG11* 遺伝子の SNP 検出についても検出の実験条件を検討した.

## 研究発表

### 口頭発表

- 1) 岡 千寿, 前田 浩, 五ノ井 透, 三上 襄: DNA マイクロアレイ関連技術の開発. 千葉県産業支援技術研究所 研究成果発表会, 千葉市, 9月3日, 2008.

## 研究課題 '08-12

### 真菌症原因菌に対するカテキン誘導体の影響評価

玄 丞然 (京都再生医学研究所)  
高鳥浩介 (東京農業大学)  
朴 奉柱 (国立医薬品食品衛生研究所)  
田口英昭・亀井克彦  
(千葉大学真菌医学研究センター)

### 研究成果

我々は緑茶から抽出された EGCg の誘導体が一定の効果を示すことを確認したので今回, *Candida* 症の原因菌となりうる *Candida albicans* および non-*albicans Candida* として *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* に対し, 上市抗真菌薬と EGCg の併用効果の可能性について検討した.

患者分離株である *C. albicans* 5 株, *C. tropicalis* 5 株, *C. krusei* 5 株, *C. glabrata* 5 株, *C. parapsilosis* 5 株を用いた. いずれの菌株も PDA スラントにて 35°C, 24 時間培養した後, 調整して接種菌とした. 抗真菌活性の測定にはドライプレート栄研を用い, 必要に応じて FIC インデックスを算出した.

*C. albicans* は 2-8 µg/ml, *C. tropicalis* は 1-16 µg/ml, *C. glabrata* は 0.5-2 µg/ml, *C. tropicalis* は 1-16 µg/ml, *C. glabrata* は 0.5-2 µg/ml の濃度で発育を抑制した. いずれの菌種に対しても抗真菌剤である fluconazole と同等の

効果を認めた。

#### 学会発表

- 1) 田口英昭, 佐藤綾香, 亀井克彦, 朴 奉柱, 朴 鍾喆, 玄 丞然: カンジダ症原因菌に対する抗真菌薬と Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCg) の併用による抗真菌活性に関する研究. 第 36 回防菌防黴, 大阪, 9月14~15日, 2009.

#### 研究課題 '08-13

##### カイコ幼虫の感染モデルを用いた *Cryptococcus neoformans* の病原性遺伝子の同定

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

関水らの研究グループは、「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 (Mol Microbiol 56: 934-944, 2005 など). 本研究では、まず、野生型 *Cryptococcus neoformans* がカイコ幼虫を殺傷することを明らかにし、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しつつある. 細菌類と同様に真菌類についてもそれが可能であるという知見を得ており、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として開発しつつある.

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、本菌の病原性遺伝子を同定する点にある. 病原性遺伝子の網羅的解析により、この菌の病原性発現機構を分子レベルで明らかにできるであろう. また、同定された遺伝子の産物は、抗真菌治療薬の標的となり得ることが期待される.

カイコに *Cryptococcus neoformans* を感染させるとカイ

コが死亡したことから、*Cryptococcus neoformans* はカイコを用いて病原性の評価が可能であることがわかった. このカイコ感染モデルを用いて、様々な *Cryptococcus neoformans* の株を評価したところ、マウスに対して高病原性を示す株は、カイコに対しても高病原性を示すことがわかった.

#### 研究課題 '08-14

##### 病原性 *Cryptococcus neoformans* サイクリン依存性キナーゼの構造機能相関

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

病原真菌 *Cryptococcus neoformans* の細胞周期を制御している中心分子、サイクリン依存性キナーゼ Cdk1 の、制御因子サイクリンとの結合部位 PSTAIRE モチーフは、他の生物種に於いて極めて高い保存性を示しているにも関わらず、本菌では例外的に PSTAIRE に変異している. そこで、この変異による細胞周期制御の分子機構の特徴に関し、タンパク質立体構造の観点から理論的、実験的に解明、検証することを目的とし、構造生物学とバイオインフォマティクスによる理論的解析を生化学的・分子生物学の実験による解析・検証を行うことにより、検討を進める.

これまでに、病原真菌 *Cryptococcus neoformans* の細胞周期を制御しているサイクリン依存性キナーゼである CnCdK1 と G1 サイクリンである CnClN1 の立体構造を構築したのち、CnCdK1/CnClN1 に関する複合体構造を計算化学的に構築すると共にその際の結合力を算出した. また、本菌より分子クローニングした CnClN1 の遺伝子を *Saccharomyces cerevisiae* において発現させ、その機能が発揮されることを確認してきた.

本年度は、*Saccharomyces cerevisiae* のサイクリン依存性キナーゼである ScCDK1 の立体構造を構築すると共に、ScCdK1/CnClN1 に関する複合体構造を計算化学的に構築すると共にその際の結合力を算出した.

その結果、ScCdK1/CnClN1 の結合力は、CnCdK1/CnClN1 と比較すると、少々劣るものの、安定な複合体

を形成・維持するに十分なものであり、発現実験より得られた結果を補遺するものであった。

今後は、*Saccharomyces cerevisiae* の G1 サイクリンである ScCln1, ScCln2, ScCln3 との構造機能相関に関する検討を行うと共に、Cdk1 がサイクリンとの結合部位に有している PSTAIRE モチーフに生じている変異の意義解明にむけた検証を行う。

## 研究発表

### 学会発表

- 1) 川本 進, Virtudazo E, 大楠美佐子, 竹尾漢治, 田村裕, Moranova Z, Raclavsky V: 病原酵母クリプトコックスの細胞周期制御の分子的理解に向けて. 第2回真菌ワーブ研究会, 千葉, 8月21日, 2008.

## 研究課題 '08-15

### *Candida albicans* 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子破壊株の形態学的解析

村山琮明 (北里大学大学院感染制御科学府 & 北里生命科学研究所)

山口正視・川本 進

(千葉大学真菌医学研究センター)

### 研究成果

細胞膜脂質中の不飽和脂肪酸の割合は生体膜の流動性を決定する主要な因子であり、高等生物ではその異常が、がんや糖尿病など様々な疾病に関わっていることが指摘されている。一方、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* において細胞膜脂質中の不飽和脂肪酸の割合は、熱ショック応答や細胞分裂時におけるミトコンドリアの分配に大きな影響を与えることが示されている。出芽酵母の脂肪酸不飽和化酵素は *OLE1* 遺伝子にコードされており、その発現量がエタノール及び低温耐性に関与していることや、吟醸香の主成分である酢酸イソアミルの生合成を担う *ATF1* 遺伝子の発現に影響を与えること等から工学的に重要な遺伝子である。また、その発現は不飽和脂肪酸、酸素、温度といった様々な環境シグナルにより複雑に制御されている。本研究では、病原性酵母 *Candida albicans* の脂肪酸多価不飽和化酵素 *CaFAD2* ある

いは *CaFAD3* 遺伝子破壊株及び復帰株の 10℃ という低温での増殖速度、および透過型電子顕微鏡による観察を行った。10℃ 培養の対数増殖期において、増殖速度、透過型電子顕微鏡による観察で、破壊株と復帰株の間で差異は認められなかった。

## 研究発表

### 学会発表

- 1) Murayama SY, Yokoyama K, Yamaguchi M, Ubukata K. Gene expression in *Candida albicans* fatty acid desaturase null mutant. ISHAM 2009, Tokyo, May 25-29, 2009.

## 研究課題 '08-16

### 亜硝酸塩を代謝する真菌の超微細構造

高谷直樹 (筑波大学生命環境科学研究科)

山口正視・川本 進

(千葉大学真菌医学研究センター)

### 研究成果

*Aspergillus* 属などの真菌は、生育のための窒素源として硝酸塩や亜硝酸塩を利用可能である。また、嫌気条件下では、これらをアンモニアへと還元する。本研究では、*A. nidulans* をモデルとして真菌の嫌気条件下での亜硝酸塩と硝酸塩の代謝・応答に焦点を当て、その機構解明を目指している。

嫌気条件下で硝酸塩をアンモニアへと還元している菌糸では、小さい液胞の数が減少し大きく発達した液胞が増加していた。このとき、*A. nidulans* のオートファジー関連遺伝子 *ATG1 (ANI632)* および *ATG8 (AN5131)* の発現が上昇することを見出した。また、オートファゴソーム膜の構成タンパク質である *ATG8* に GFP を付加した融合タンパク質 GFP-ATG8 を *A. nidulans* 内で発現させたところ、好気条件下の細胞内に Pre-autophagosomal structure (PAS) 状の染色が観察された。これに対し、嫌気条件下の細胞内では、一般的なオートファジー誘導条件下と同様に、GFP-ATG8 が液胞に移送され液胞が蛍光染色されていた。オートファジーの誘導因子である *Atg1* 遺伝子の遺伝子破壊株を作製したところ、嫌気条件下では GFP-ATG8 は PAS に局在し液胞

の染色は見られなかった。また、透過電子顕微鏡を用いて、野生型株の細胞内超微細構造を観察したところ、嫌気条件下で培養した細胞の液胞内にオルガネラ様の構造が観察された。以上の結果から、*A. nidulans* が嫌氣的に硝酸塩を利用する際に、オートファジーを誘導することが明らかになった。

## 研究課題 '08-17

### *Candida glabrata* の増殖形態変化調節機構の解析

松本達二・三上 健・渡部俊彦・小笠原綾子  
(東北薬科大学, 微生物学教室)  
山口正視・川本 進  
(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

我々は、*C. glabrata* を亜硫酸ナトリウム存在下で培養すると、菌が肥大化する現象を見出した。この菌体の肥大化は、増殖速度の低下と細胞壁強度の低下を引き起こす可能性があり、これまで知られている抗真菌剤の作用とは異なる機構で菌に障害を与えている可能性が示唆された。本研究では、*C. glabrata* 肥大化現象の発生要因について解析を行った。その結果、亜硫酸ナトリウム処理された *C. glabrata* の増殖能は著しく低下し、肥大化した菌体では、その細胞強度も低下していた。肥大化した菌体の構造を、透過電子顕微鏡で解析したところ、液胞の肥大と、細胞壁構造の崩壊が確認された。これらの結果から、亜硫酸ナトリウム処理による *C. glabrata* の肥大化は、細胞内圧の上昇と細胞壁強度の低下が要因であると推察された。また、*C. glabrata* 細胞壁合成に関わる酵素の中で、グルカンとマンナン合成に関わる酵素 発現量が亜硫酸ナトリウム処理で低下していたことから、細胞壁成分の減少が細胞壁強度低下の要因であると考えられた。

#### 研究発表

##### 原著論文

- 1) 渡部俊彦, 倉内寿孝, 小笠原綾子, 三上 健, 山口正視, 松本達二: 亜硫酸ナトリウムの *Candida*

*glabrata* 傷害作用. 東北薬科大学研究誌 56: 41-46, 2009.

## 研究課題 '08-18

### 臨床材料より分離した放線菌の二次代謝産物に関する研究

原田健一 (名城大学薬学部)  
石川 勉 (千葉大学大学院薬学研究院)  
三上 襄・矢沢勝清  
(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

病原性である *Nocardia pseudobrasiliensis* IMF 0757 の培養液は、*Mycobacterium* や *Gordonia* などの抗酸菌に非常に強い活性を示す。本菌の培養液から単離された化合物は nocardithiocin と命名され、各種のスペクトルデータ、特に NMR スペクトルおよび改良 Marfey 法によりその構造が決定された。その構造は thiazole 環を 6 個および pyridine 環を 1 個有するチオペプチド類に属するものであった。特に、本化合物は rifampicin 感受性および耐性の *Mycobacterium tuberculosis* に極めて強い活性があることが明らかとなった。

胃がん患者の胃より単離された *Streptomyces* sp. IFM 10709 の培養液より HPLC で淡桃色結晶, M10709 を得た。本化合物は各種スペクトルデータによりすでに報告されている cyclomarin C に類似した環状ペプチドであると決定された。本化合物は *Micrococcus luteus* IFM 2006 に対して抗菌活性を有している。

#### 研究発表

##### 原著論文

- 1) Mukai A, Fukai T, Hoshino Y, Yazawa K, Harada K, Mikami Y: Nocardithiocin, a novel thiopeptide antibiotic, produced by pathogenic *Nocardia pseudobrasiliensis* IFM 0757, J. Antibiotics, 62, 613-619, 2009.
- 2) Kumamoto T, Koshino H, Watanabe D, Matsumoto Y, Aoyama K, Harada K, Ishikawa T, Mikami Y: M10709, a novel cyclic peptide antibiotic from clinically

isolated *Streptomyces* sp. *Heterocycles*, 80, 281-288, 2010.

#### 学会発表

- 1) 熊本卓哉, 越野広雪, 渡辺大輔, 松本優子, 青山一紀, 石川 勉, 原田健一, 三上 襄: 病原性微生物が産生する新規環状ペプチド M10709, 日本薬学会第 129 年会, 京都, 2009. 3.

## 研究課題 '08-19

### 千葉大学附属病院における深在性真菌症の動向

猪狩英俊・渡辺 哲・渡辺正治

(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)

#### 研究成果

深在性真菌症の世界的増加傾向が続いている。わが国でも同様の傾向が見られると推定されるが明確なデータはいまだ不足している。そこでわが国の当該疾患の疫学に寄与することを目的とし、千葉県の医療の中心的存在のひとつである千葉大学医学部附属病院における動向を電子カルテなどを用いて調査した。その結果、当病院では近年に至り *C. albicans* 感染患者の症例数といわゆる *non-albicans Candida* による感染症症例数とが拮抗しつつある傾向が明確となった。*Aspergillus* spp. を含めた糸状菌については、*A. niger* による感染例が増加している傾向が見られた。

#### 研究発表

- 1) 渡辺 哲, 猪狩英俊, 渡辺正治, 中村安孝, 村田正太, 長谷川敦, 戸来依子, 佐藤武幸, 亀井克彦: 当院における真菌分離状況と注射用抗真菌薬の使用動向. 第 82 回日本感染症学会総会 (ポスター発表).
- 2) 渡辺 哲: ICT の立場から見た院内真菌症の現状. 第 29 回関東医真菌懇話会 シンポジウム「環境内真菌と疾患」.

## 研究課題 '08-20

### 宿主による *Aspergillus fumigatus* 認識機構の解明

安達禎之 (東京薬科大学薬学部免疫学教室)

亀井克彦・豊留孝仁

(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

*Aspergillus* 属菌は環境中に普遍的に存在する糸状菌であり、ヒトは恒常的に分生子を吸入している。本菌の分生子は飛散性が高い上に、病原菌としてもっとも重要な *Aspergillus fumigatus* では径が 2-3  $\mu\text{m}$  と非常に小さいことから容易に肺胞内へと到達できる。ほとんどの健康人では菌体が速やかに生体防御機構により排除されるが、その認識・排除のメカニズムは十分には解明されていない。我々はこれまでに病原真菌 *A. fumigatus* の臨床分離株の一つ IFM 49896 株を用いて解析を行ってきた (Toyotome *et al.*, 2008)。真菌では菌株により、その性状が異なっている場合が少なからず知られている。そこで本共同利用研究ではゲノム解析にも用いられた Af293 株を含めて臨床分離株を中心とした複数の株を用いて膨化分生子および休止期分生子の解析を行い、比較・検討を行った。

用いた菌株はこれまでに豊留らが用いてきた IFM 49896 株、ゲノム解析に用いられた Af293 (IFM 54229) 株 (臨床分離株)、IFM 55195 株 (土壌分離株)、IFM 55198 株 (分離源不明)、IFM 48626 株 (臨床分離株)、IFM 50999 株 (臨床分離株)、IFM 41362 株 (臨床分離株)、IFM 51357 株 (臨床分離株) の合計 8 株を用いて、検討を行った。

まず、休止期分生子および膨化分生子のそれぞれ熱処理死菌を調製し、それぞれにより誘導される Dectin-1 を経由した宿主転写因子 AP-1 の活性化についてルシフェラーゼアッセイを用いて、検討を行った。その結果、各株の間での大きな相違は認められなかった。

次に抗  $\beta$ -グルカン抗体を用いて免疫蛍光染色を行い、真菌医学研究センター保有の共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った。いずれの株においても膨化分生子では強く  $\beta$ -グルカン抗体が結合しており、これまでと同様の結果が得られた。また、強く  $\beta$ -グルカン抗体が結合

するが、菌体ではない成分が膨化分生子と同時に観察された。一部は菌表層に付随していることから、Tronchinらが報告しているように膨化分生子の表層が剥がれる様子、そしてその剥がれた成分が染色されていると考えられる。この剥離成分が $\beta$ -グルカン抗体に強く染色されることから、膨化分生子で剥離する表層部分には表層のハイドロフォビタンパク質やマンナン部分のみならず $\beta$ -グルカン構造も含まれていることが示唆される。休止期分生子は IFM 49896 株ではほとんど染色が見られない。一方で、その他の多くの株において数は少ないもののドット状の染色が見られた。なぜ IFM 49896 では見られないのかは不明である。さらに、IFM 55198 株は今回用いた他の菌株に比べて休止期分生子はより強くドット状に染色されており、これも理由は不明であるが、菌株間でわずかながら表面への $\beta$ -グルカンの露出に違いがあるのかもしれない。これらの点については今後より詳細に検討を行う必要がある。

本研究の結果から、休止期分生子では菌株間でわずかながら差異が認められるものの、いずれの菌株においても膨化分生子が強く $\beta$ -グルカン構造を露出することが明らかとなった。

## 研究課題 '08-21

### 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

室内環境中から一般的に検出される代表的な真菌や疾患の原因として注目される真菌について、マイコトキシン産生性を確認するための抽出条件およびマイコトキシン産生性を検討した。対象マイコトキシンには大環状トリコテセン類（MTRs）であるサトラトキシン H, G, イソサトラトキシン F, ロリジン L2, ロリジン A, ベルカリン A および細胞毒性や遺伝毒性を持つことが知られるグリオトキシンをを用いた。

*Stachybotrys chartarum*, *Aspergillus fumigatus* の各真菌を固

体培地にて培養し、孢子や菌糸を採取してメタノールによる抽出液を作製した。これらの抽出液を LC/MS/MS, LC/TOF-MS などによって分析し、マイコトキシン産生の有無、種類および産生量などを検討したところ、供試した *S. chartarum* の複数株の孢子を用いた抽出液で 4 種類の MTRs が検出された。また、グリオトキシンについても複数株の孢子および菌糸を用いた抽出液で 30 ng/mL 以上検出され、その他全株でも微量検出された。一方、*A. fumigatus* に関してはグリオトキシンが微量検出されたが MTRs は検出されなかった。*S. chartarum* においてグリオトキシン産生が確認されたことは新しい知見であった。

今後はより多くの菌株について検討すると共に、室内浮遊真菌を中心とした他菌種についても解析を進める予定である。

### 研究発表

#### 学会発表

- 1) 滝埜昌彦, 亀井克彦, 落合恵理, 小西良子: LC/TOF-MS 及び LC-MS/MS を用いた真菌中の大環状トリコテセン類及びグリオトキシンの分析. 日本マイコトキシン学会第 64 回学術講演会, 名古屋市, 8 月 28, 29 日, 2008. 8.
- 2) 滝埜昌彦, 落合恵理, 亀井克彦, 小西良子: LC/TOF-MS を用いた *Stachybotrys chartarum* 及び *Aspergillus fumigatus* のキャラクターゼーション. 日本マイコトキシン学会第 65 回学術講演会, 東京都, 1 月 9 日, 2009.
- 3) 落合恵理, 亀井克彦, 滝埜昌彦, 小西良子, 矢口貴志, 松澤哲宏, 佐藤綾香, 永吉 優, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 渋谷和俊: *Stachybotrys chartarum* によるマイコトキシン産生性についての検討. 真菌症フォーラム第 10 回学術集会, 名古屋市, 2 月 21 日, 2009.
- 4) Takino M, Ochiai E, Kamei K, Sugita-Konishi Y: Characterization of metabolites in *Stachybotrys chartarum* by LC/TOF-MS. The 57th, ASMS Conference on Mass Spectrometry, Philadelphia, U.S.A. 5 月 31 日～6 月 4 日, 2009.

## 研究課題 '08-22

### 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

ヒト遺体に生育する真菌はしばしば発見される現象であるが、法医学の観点から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境の特徴の解明を試みた。

白骨化したもしくは乾燥が進んだサンプルは、エタノール処理により表面に付着している雑菌を殺菌し、検体内部に侵入した真菌の分離を試みた。水分量の多いサンプルは、表面殺菌を行わず、検体表面(皮膚、筋肉など)を分解していると考えられる真菌の分離を試みた。遺体の分解の程度、水分量により分離されてくる真菌が異なったが、同一遺体の各部位から分離される真菌には、種差は見られなかった。水分量が少なくなった検体からは *Eurotium* 属の他に好塩性を示す *Scopulariopsis* 属が分離された。

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

#### 研究発表

##### 学会発表

- 1) 石井 清, 一杉正仁, 矢口貴志, 千種雄一, 徳留省悟: 野外に放置されたヒト白骨死体の頭蓋骨内における生物相の一例. 第 60 回日本衛生動物東日本支部会, 任生, 2008.

## 研究課題 '08-23

### *Cryptococcus neoformans* の分子間相互作用解析

奥田研爾・園田智子  
(横浜市立大学大学院医学研究科分子生体防御学)  
川本 進・大楠美佐子  
(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

一般に真核細胞の細胞周期制御分子機構の中心はサイクリン依存性キナーゼ Cdk 分子であり, Cdk タンパク質分子内の数カ所のアミノ酸残基のリン酸化・脱リン酸化反応などにより, その立体構造と生物機能とを大きく変化させる結果, Cdk 分子が様々な分子, 特にサイクリン類と結合, 解離することにより, そのタンパク質リン酸化酵素としての基質特異性を変化させて細胞周期を制御していると考えられている. 本研究は, *Cryptococcus neoformans* の示す特異な細胞周期制御現象を, その制御の中心分子サイクリン依存性キナーゼ Cdk-1 が, サイクリン類, 脱リン酸化酵素 Cdc25 等, 他の細胞周期制御分子と相互作用して織り成す, いわゆる細胞内シグナル伝達過程として捉え, その分子間相互作用の解析を進めた。

種々の分子間相互作用解析法を試み, *Cryptococcus neoformans* 細胞周期制御機構関連分子間の相互結合の様子を探り, 考察しつつある. それらの結合性の違いが *Cryptococcus neoformans* の細胞周期制御機構の特異性と深く関連する可能性は大いに考えられ, また, それらの解析法が, 多くの分子情報を得られる極めて有効な解析手法であることが期待される。

#### 研究発表

##### 国際学会発表

- 1) Kawamoto S, Virtudazo E, Ohkusu M, Sonoda T, Miyagi Y, Okuda K, Takeo K: Structural and functional analysis of cell control genes in *Cryptococcus neoformans*. Experimental Biology 2008 (2008 Annual Meeting of American Society for Biochemistry and Molecular Biology), San Diego (USA), 2008.

## 研究課題 '08-24

### 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に、薬剤排出に働く ABC トランスポーターの機能亢進によることが挙げられるが、糸状菌ではこれまでこれらの複数の ABC 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た。そこで、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ス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する。本研究の成果は、*A. fumigatus* だけでなく白癬菌などのヒト感染菌やいもち病菌などの植物感染菌に対する抗真菌剤開発にも貢献することが期待される。

麹菌ゲノム解析データから見出した転写因子 AtrR のオースログと考えられる遺伝子を *A. fumigatus* のゲノムデータベースより探索し、その遺伝子破壊株を作製した。その結果、麹菌と同様アゾール系薬剤に超感受性を示し、特に野生株ではほとんど感受性を示さないフルコナゾールに対しても感受性となり、2 ppm という低い MIC 値を示した。しかし、アンホテリシンやフルシトシンなど他の抗真菌剤に対する感受性には大きな変化はなかったことから、糸状菌 AtrR は酵母の PDR1/PDR3 とは異なり、広汎な抗真菌剤に対する耐性を付与するのではなく、複数のアゾール系薬剤の排出トランスポーター特異的な転写因子として機能するものと思われる。また、麹菌 AtrR の制御下にある 3 種類の ABC トランスポーターに相同的なトランスポーターを含めた

7 種類について定量 RT-PCR により発現解析したところ、AtrA に相同性の高い 2 種類と AtrG に相同的な 1 種類のトランスポーター遺伝子の薬剤添加後の発現量が野生株に比べて *atrR* 破壊株で顕著に低下していた。一方、イトラコナゾール耐性に関与していると報告されている AtrF の発現量には影響が認められなかった。今後は *atrR* 破壊株を用いたアレイ解析を行うことにより制御下遺伝子を同定し遺伝子制御ネットワークを明らかにしたい。

### 研究成果

#### 国際学会発表

- 1) Miura D, Ohba A, Shintani T, Shimizu K, Nishimura M, and Gomi K: The novel transcription activator AtrR regulates gene expression of ABC transporters and contributes to azole resistance in filamentous fungi, 9th European Conference on Fungal Genetics (ECFG9), Edinburgh, April 5-8, 2008, and 5th International *Aspergillus* meeting, Edinburgh, April 4-5, 2008.
- 2) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, and Gomi K: The transcription activator AtrR is involved in azole drug resistance by regulation of ABC transporter genes in *Aspergillus fumigatus*, ISHAM2009, Tokyo, May 25-29, 2009.
- 3) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, and Gomi K: The transcription activator AtrR regulates gene expression of ABC transporters and contributes to azole drug resistance in *Aspergillus fumigatus*, 7th International *Aspergillus* meeting, Leeuwenhorst, The Netherlands, March 28-29, 2010.

## 研究課題 '08-25

### 真菌細菌の菌種間相互作用における超微細構造

池田玲子 (明治薬科大学微生物学教室)  
山口正視・川本 進  
(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

*Cryptococcus neoformans* 細胞には *Staphylococcus aureus* 細胞が接着し、*C. neoformans* の死滅が誘導される。各細胞表層物質の接着分子の同定を試みた結果、*C. neoformans* 側では莢膜多糖類の主成分グルクロノキシロマンナン (GXM) の主鎖  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-mannan の3残基以上を *S. aureus* が認識していることが示された。一方、*S. aureus* 側では、解糖系酵素のひとつであるトリオースリン酸イソメラーゼが接着因子として同定された。そこで、前年度より GXM の *S. aureus* 細胞への結合を免疫電子顕微鏡法により検討している。方法は、*S. aureus* 細胞と GXM、抗 GXM ウサギ抗体、金コロイド標識プロテイン A を順次反応させ走査電子顕微鏡で観察するもので、使用する各々の濃度、希釈倍数、反応時間等最適な条件を検討した。その結果、*S. aureus* 細胞表層への GXM の結合が定量的に計測できる可能性が示された。

#### 研究発表

##### 学会発表

- 1) 池田玲子, 斉藤史人, 澤村果菜子, 古屋博美, 松尾美記, 黒川健児, 関水久, 山口正視, 川本 進: *Staphylococcus aureus* の付着による病原真菌 *Cryptococcus neoformans* の死滅誘導 - 細菌と真菌の相互作用における細胞表層解糖系酵素および糖鎖の役割, 第 53 回日本ブドウ球菌研究会 2008.

## 研究課題 '08-26

### ヤシオオオサゾウムシ外部共生酵母の特定と生態の解明

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

ヤシオオオサゾウムシはカナリーヤシ (フェニックス) を加害し、枯死に至らしめる害虫であるが、近年九州を中心に急激に生息域を拡大しており、深刻な社会問題となっている。本種は元々熱帯産の昆虫であり、わが国において越冬が可能となったメカニズムを解明することが、本種の防除、ひいては熱帯からの侵入害虫対策において大きな意味を持つ。報告者らは本種の加害部位において発酵によると思われる発熱現象を観察し、また加害部位より酵母様真菌を分離している。そこで、本研究においては、ヤシオオオサゾウムシとこれら外部共生酵母の生態的な関係を明らかにするため、これら酵母様真菌の特定を行った。

酵母様真菌の分離には、カナリーヤシ被害部位およびヤシオオオサゾウムシ虫体を試料として用いた。被害ヤシについては木屑と被食組織、未食組織、虫体については成虫の体表および口器、蛹の体組織、幼虫の口器および脂肪組織から分離を行った。分離された酵母様真菌は、まず光学顕微鏡的観察から *Candida* 属菌の可能性が示唆された。そこで、二種類の酵母同定用キットとシーケンスにより、これら菌株の種レベルの同定を行った。

その結果、虫体から分離された菌株は *Candida tropicalis* を中心に *C. utilis* や *C. guilliermondii* といった *Candida* 属を主体とする酵母群、ヤシ被食部位から分離された菌株は *C. tropicalis* と *C. ethanolica* を主体とする酵母群、ヤシ未食部位から分離された菌株は *C. ethanolica* を中心に *C. tropicalis* を含む酵母群であることが確認された。

このように、今回分離された菌は主として *Candida* 属菌であり、とりわけ *C. tropicalis* と *C. ethanolica* が中心的な位置を占めていた。

今後、更に分離菌株を増やして同定を進めるとともにヤシの成分とこれら酵母の発酵性を確認し、これら外部

共生酵母とヤシオオサゾウムシの生態的な関係を明らかにしたい。

## 研究発表

### 原著論文

- 1) Abe F, Ohkusu M, Kubo T, Kawamoto S, Sone K, Hata K: Isolation of yeasts from palm tissues damaged by the red palm weevil and their possible effect on the weevil overwintering. *Mycoscience* 51: 215-223, 2010.

## 研究課題 '08-27

### 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・齋藤明広

(千葉大学大学院融合科学研究科)

西田芳弘 (千葉大学大学院園芸学研究科)

三上 襄・矢沢勝清・山口正視

(千葉大学真菌医学研究センター)

### 研究成果

放線菌 *Amycolatopsis* sp. CsO-2 株に由来するキトサン加水分解酵素 (キトサナーゼ; 以下, CsO-2 キトサナーゼ) は *Rhizopus* 属糸状菌に対して抗菌活性をもつ。本年度は, 細菌 *Bacillus circulans* MH-K1 株に由来するキトサナーゼ (以下, MH-K1 キトサナーゼ) が抗菌活性をもつか否かを調べた。その結果, CsO-2 キトサナーゼと同様に MH-K1 キトサナーゼも *Rhizopus* 属糸状菌に対して抗菌活性をもつことが判明した。次に, MH-K1 キトサナーゼの抗菌スペクトラムを液体培地で調べた。その結果, 細胞壁にキトサンを含有することが知られている接合菌 (*Rhizopus* 属および *Mucor* 属) に対して抗菌活性を示すが, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus awamori*, *Penicillium expansum* の増殖は阻害しなかった。

一方, 接合菌 *Mucor javanicus* の増殖に対する MH-K1 キトサナーゼの影響を光学顕微鏡によって観察した。その結果, MH-K1 キトサナーゼ存在下では菌糸長が短いこと, また, 菌糸が縮れることが観察された。さらに, これらの影響を走査型電子顕微鏡で観察したところ, 菌糸の短化と縮れが確認された。また, 菌糸の先端には,

キトサナーゼ非存在下で派観察されない付着物のようなものが観察された。

## 研究課題 '08-28

### 病原性のカビが持つテルペノイド生合成遺伝子群の解析

大利 徹 (富山県立大学工学部)

三上 襄 (千葉大学真菌医学研究センター)

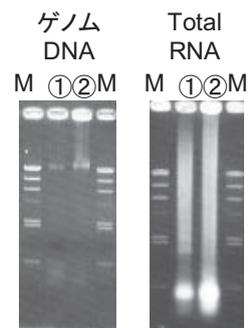
### 研究成果

最近, 糸状菌のゲノム配列が多く公開され, 2008 年時点で, 25 種類の菌について明らかにされている (化学と生物 2008 年 1 月号 Vol. 46 32-40)。今回, *Aspergillus fumigatus* AF293 および *Neosartorya fischeri* NRRL181 から cDNA を調製し, 環化酵素のクローニングを試みた。

方法 (No. 10, p. 135)

千葉大学真菌医学研究センターの三上襄先生の研究室で培養していただいた *Aspergillus fumigatus* AF293 および *Neosartorya fischeri* NRRL181 からゲノム DNA および Total RNA を調製した (図 1)。

調製した Total RNA を鋳型に, ReverTra Ace を用いて逆転写反応により SMART RACE cDNA Amplification kit に含まれている 3'-CDS, および oligo dT プライマー (AP, Invitrogen) を使用し cDNA を調製した (プライマーは図 2)。



① *Aspergillus fumigatus* AF293  
② *Neosartorya fischeri* NRRL181

図 1 調製したゲノム DNA および Total RNA

orf	プライマー	プライマー配列
AFUA_6G09770	AFUA_6G09770-5	GGGGATCCGACGCTGTGGGACCATCCCGACCTAT
	AFUA_6G09770-3	CCCAAGCTTTTAATTCTGCTTACACCTTAGCTTCT
AFUA_5G15060	AFUA_5G15060-5	GGGGATCCGATTCGCAATCCAGGAGCGTTACTTGT
	AFUA_5G15060-3	CGCGTGCAGTCACATCGCTGTGGTAGAGCCAAAAG
NFIA_041470	NFIA_041470-5	GGGGATCCGAGCGGACGACGCAAGATCTTACTTCCAG
	NFIA_041470-3	CCCAAGCTTTCAGACCTTCAATCTTTGCAACAAAA
NFIA_087800-5	NFIA_087800-5	GGGGATCCGCTCCGACTTTCCTAACCTTTCATACAG
	NFIA_087800-3	CGCGTGCAGCTATAGTTTCAACATGAGCATCAAC
NFIA_055500-5	NFIA_055500-5	GGGGATCCGAGGTTGGGAGCATTCCGACCTAT
	NFIA_055500-3	CGCGTGCAGTTAATTCTCCTTACACTCAGCTTCT

図2 使用したプライマー

## 結果と考察

*Aspergillus fumigatus* AF293 では2種類, *Neosartorya fischiri* NRRL181 では3種類の環化酵素についてPCRを行った。PCRはゲノムDNAではLA-Taq (TaKaRa), cDNAではAdvantage2 (Clontech)を使用し,一般的な条件にDMSOを添加した(図3)。

その結果, *Aspergillus fumigatus* AF293 の2種類と *Neosartorya fischiri* NRRL181 の1種類でcDNAを鋳型にしたときに2kb付近の断片の増幅を確認した(図4)。

増幅した断片を希釈して詳細に解析したところ, NFIA087800ではcDNAを鋳型に増幅させたときに2つのバンドを確認し(2.4kbと2.1kb), 2.1kb付近の断片はcDNA由来と考えられた。一方, AFUA\_6G09770とAFUA\_5G15060は増幅したものの,ゲノムDNAとcDNAで差がないことから, cDNAにゲノムがわずかに

[LA-Taq]		[Advantage2]		[LA-Taq] / [Advantage2]	
DIW	26.0	DIW	37.5		
10 x LA buffer	5	10 x buffer	5		
25mM MgCl <sub>2</sub>	5	10mM dNTPs	1		
2mM dNTPs	8	DMSO	2.5		
DMSO	2.5	100µM Primer F	1		
100µM Primer F	1	100µM Primer R	1	94°C 120sec	35 cycles
100µM Primer R	1	Template	1	94°C 30sec	
Template	1	Advantage2	1	55°C 30sec	
LA-Taq	0.5	Polymerase mixA	50	72°C 60sec/kb	
	50		50		

図3 PCR条件

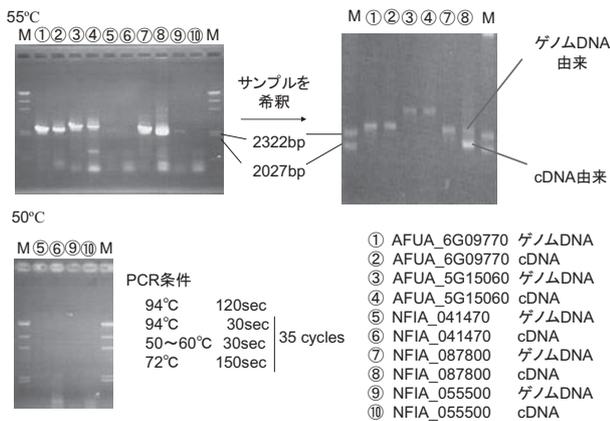


図4 PCRで増幅した断片

コンタミしていることが示唆された。NFIA\_041470では50°Cまでアニーリング温度を下げたときに,わずかに増幅を確認したが,再現性は認められなかった。今後これらの詳細について検討を行う予定である。

## 研究課題 '08-29

### 植物由来の抗真菌物質の探索

深井俊夫 (東邦大学薬学部)

宇野 潤・三上 襄・知花博治

(千葉大学真菌医学研究センター)

### 研究成果

インド等で古くから民間薬として使用されてきたニーム (Neem, インド・センダン *Melia azadirachta*) 樹皮から抗真菌物質を抽出・精製を行い二種の物質を単離した。これらの物質の in vitro 抗真菌力および in vivo の感染防御効果を検討した。

ニーム樹皮は,インド・グジャラータ州生育の樹木から樹皮部分を剥いだ物を輸入し,破砕機で破砕し使用した。有効成分の精製は,粉砕した樹皮をベンゼン続いてメタノールで抽出し,有機溶剤で溶解される物質を除去した。有機溶剤で抽出した後の残渣から有効成分を熱水で抽出した。抽出された抽出液を4分の一程度に濃縮し,濃縮液の二倍量のメタノールを加え静置し沈殿させた。沈殿物を遠心分離器により集め,沈殿物を凍結乾燥器で乾燥した。この乾燥物を少量の水に溶解し,ガラスカラム管に充填したセファデクス50を使用して水で溶出し,二種の物質を得た。二種の乾燥物は,被陰菌 *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* および *Cryptococcus neoformans* に対して256 mg/mlから最小発育阻止濃度を測定したが,直接被陰菌と接触させる方法での真菌作用は,観察されなかった。動物を用いた感染防御効果の測定は,4週齢,雄のICRマウスを使用し,感染は,尾静脈より接種した。物質の投与は経口投与とした。結果は,被陰菌 *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* および *Cryptococcus neoformans* に対して感染防御効果を示した。現在,物質の構造の解析を行っている。

## 研究課題 '08— B1

### *H. capsulatum* 抗原の可溶化タンパク質の発現技術の確立とその利用

瀧口正樹 (千葉大学大学院医学研究院遺伝子生化学)  
高木広明・草野賢一・渡邊俊介  
(株式会社プロテイン・エクスプレス)

#### 研究成果

ヒストプラズマ症は輸入真菌症の一つで、近年の流行地との往来増加などによりわが国での報告例が増加し、国内感染例を含め今後も更なる増加が予測されている。現在、迅速診断の一つとして、ヒストプラズマ H 抗原及び M 抗原特異抗体検出による血清診断が行われている。しかしながら、厚生労働省研究班は現在市販されている診断試薬では国内の症例に対して十分な感度が得られなかったことを報告しており、改良が望まれる。亀井ら (第 50 回日本医真菌学会総会 (2006)) は、*Histoplasma capsulatum* からヒト患者血清に反応する 8 種類の新規ヒストプラズマ抗原タンパク質を同定した。さらに「不溶性」状態ではあるが抗原タンパク質の発現・精製にも成功している。

これら抗原タンパク質を「可溶性」状態で供給できれば、ヒト生体内での免疫反応の状態をより反映すると考えられ、H 抗原及び M 抗原も含めこれら *H. capsulatum* 抗原タンパク質 10 種類の可溶化発現とその精製を試み、抗原タンパク質の絞込みを行なった。

大腸菌発現系での培養温度・発現誘導条件を検討することにより、3 種類が可溶性、6 種類が不溶性に発現し、残りの 1 種類については十分な発現量が確認できなかった。可溶性発現する 3 種類のうち 2 種類に関しては ELISA 解析に使用する充分量の精製タンパク質として得られた。

不溶性発現する 6 種類についてリフォールディング条件を検討した。不溶性タンパク質を 8M 尿素存在下で可溶化した後、段階的に透析する事により、6 種類全てを可溶化することに成功した。

そのうち 5 種類についてはタンパク量についても ELISA 解析に使用するのに充分得られる事を確認した。これらの結果、10 種類のうち 9 種類について発現ならびに精製法を確立し、そのうち 7 種類について充分量の

可溶性タンパク質として取得することができた。

そこで、今回得られた可溶性タンパク質のうち 5 種類を用いて、ELISA によりヒト患者血清との反応性を不溶性タンパク質と比較し検討を行った。しかしながら、可溶性で精製された抗原タンパク質を用いた場合には患者血清中抗体との反応が認められなかった。この理由として ELISA プレートにコーティングされたタンパク質が抗原部位を露出していないことが考えられる。不溶性抗原タンパク質では一度尿素により変性させており、このことが抗原部位の十分な露出につながっている可能性がある。

よって、患者血清に対する有効エピトープ部位の絞込みを行うことにより、抗体に対する感度を向上させることができると考え、無細胞タンパク質合成系での 2 種の抗原タンパク質の部分配列の合成条件の検討を行った。その結果、全長のタンパク質に比べ、部分配列の合成により発現効率や溶解性の上がる部位を 2 抗原でそれぞれ見出した。今後、部分抗原可溶性タンパク質についてもその有効性を検討する。さらに、絞り込んだ有用抗原タンパク質の部分抗原可溶性発現を試み、有用性を検討する。

## 研究課題 '08— B2

### *Candida glabrata* のステロール合成系異常を利用した farnesol トランスポーター解析

長 環 (福岡歯科大学)  
中山浩伸・青山俊弘 (国立鈴鹿工業高等専門学校)  
知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

病原真菌 *Candida albicans* のクオラムセンシング機構に関しては、次のような事項に関して主に解明されてきた。①主なクオラムセンシング分子 farnesol はメバロン酸/ステロール合成系の代謝中間体から酵素反応的に産生される。②クオラムセンシングシグナルは細胞内へヒスチジンカイネース Chk1 を介して伝達される。③クオラムセンシングシグナルが伝達されると本菌の菌糸形成は抑制される。

全ての真核生物に存在する farnesol は一般的には細

胞内で生化学的機能を果たす。しかし *C. albicans* では farnesol を細胞外へ排出し、オートインデューサー的にクオラムセンシング分子として再び *C. albicans* に作用する。この farnesol 排出機構に関してはまだ解明されていない。

本研究では farnesol の排出機構の解明を目的とし、farnesol の合成経路に関与した酵素に着目した実験系を構築した。実験系の特徴として二倍体の *C. albicans* より一倍体の *C. glabrata* が分子生物学的解析に利用しやすい点に注目し、*C. glabrata* を用いたエルゴステロール系異常の菌株の構築とこの変異株を用いたマイクロアレイ法による関連遺伝子の網羅的な解析を試みた。

### エルゴステロール系異常の菌株の構築

farnesol は、ステロール生合成系の代謝中間体 farnesyl pyrophosphate から farnesyl pyrophosphatase による酵素反応で導かれる代謝産物である。また farnesyl pyrophosphate はスクワレン合成酵素により最終産物エルゴステロール合成系へと代謝される。スクワレン合成酵素をコードする *ERG9* を欠損するとエルゴステロール合成系が阻害されるため、farnesyl pyrophosphate から farnesol が細胞内に蓄積することが期待される。そこで *ERG9* の欠損株構築を計画した。*ERG9* は増殖必須遺伝子であるため通常の破壊株を構築できないことから、テトラサイクリンで転写を制御する conditional mutant を作成した。

### *ERG9* 変異株を用いたマイクロアレイ法による関連遺伝子の網羅的な解析

*ERG9* 変異株と野生株を胆汁酸含有増殖培地で 37 °C 4 時間培養し、トータル RNA を抽出後、マイクロアレイ解析を行った。野生株に対し、2 倍以上の発現増加が認められる遺伝子を探した。

その結果、カルニチン アセチルトランスフェラーゼをコードする遺伝子 *CTN1* と *CTN3* が選出された。これらの酵素はミトコンドリア膜の外側に存在し、アセチルカルニチンからアセチル CoA を産生するのに機能する。Farnesol は細胞質に存在するアセチル CoA からメバロン酸合成系を経由し、エルゴステロール合成系へと代謝される途中で産生される。すなわち、マイクロアレイの結果は、スクワレンの合成が抑制されその前駆体である farnesyl pyrophosphate から酵素的に farnesol が産生、蓄積

される可能性を示唆していると考えられる。ただし、今回のアレイ解析の問題点とし、培養 4 時間目のみのワンポイント解析であるため、今後さらに条件を検討した解析が必要である。

## 研究発表

### 総説

- 1) 長 環, 青山俊弘, 豊田美香, 中山浩伸, 知花博治, 上西秀則 Richard A Caderon: *Candida albicans* の Quorum-Sensing 分子 farneso, 真菌誌 49: 281-86, 2008.

### 学会発表

- 1) Niimi K, Maki K, Hatakenaka K, Niimi M, Nakayama H, Chibana H, Monk BC, Cannon RD: Clinically significant micafungin resistance in *Candida glabrata* requires mutations in both *FKS1* and *FKS2*, Poster presentation in 9<sup>th</sup> *Candida* and Candidiasis, March 24th - 28<sup>th</sup>, 2008, NJ (USA).
- 2) Nakayama H, Tanabe K, Okano M, Aoyama T, Chibana H, Miyazaki Y, Niimi M: Characterization of sterol transporter *AUS1* in *Candida glabrata*. The 8h Awaji International Forum on Infection and Immunity. Sep 7-11, 2008, Awaji.
- 3) Chibana H, Ueno K, Sasamoto K, Mitani H, Tamura Y, Aoyama T, Kinoshita S, Kato N, Uno J, Nakayama H, Mikami Y: Target prioritization and lead generation for development of antifungal drug based on *Candida glabrata* phenome project, The 8h Awaji International Forum on Infection and Immunity Sep 7-11, 2008, Awaji.
- 4) 田辺公一, 中山浩伸, 宮崎義継, 知花博治, 新見昌一: 病原真菌 ABC タンパク質の抗真菌薬耐性との関わり, 第 81 回日本細菌学会総会, 京都, 2008.
- 5) 上野圭吾, 中山浩伸, 三上 襄, 知花博治: *Candida* フェノームプロジェクトによる標的の選定とコンピューターによる抗真菌剤の設計, 第 81 回日本細菌学会総会 京都, 2008.
- 6) 田辺公一, 中山浩伸, 山越 智, 知花博治, 新見昌一, 宮崎義継: *Candida glabrata* のステロールトランスポーターのアゾール剤耐性化における役割, 第 52 回日本医真菌学会総会, 2008.

## 2008年度 共同利用研究報告書 研究成果集計累計

発表年	2008年	2009年	2010年
原著論文	7	5	2
学会発表	29	9	3
総説	1	0	0

# 平成 21 年度 共同利用研究会報告

## 第 6 回真菌分子細胞研究会

日時: 3 月 18 日 - 19 日

場所: 真菌医学研究センター A 棟 B1 講堂

代表者: 国立感染症研究所 新見昌一  
(現 オタゴ大学 特別研究員)  
事務局: 高分子活性分野 知花博治

真菌分子細胞研究会は、情報交換、共同研究の推進、若手研究者の育成を目的に開催されており、6 回目を迎えた今回は、特別講演 2 演題、一般口頭発表 16 演題、ポスター発表 16 演題、合計 34 演題の発表があった。

真菌分子細胞研究会は、本会をもって無期休会となった。

### 特別講演 1

関水久 (東京大学大学院薬学系研究科)  
「カイコ幼虫感染症モデルを用いた感染症治療薬シーズの開発」

### 特別講演 2

「*Saccharomyces cerevisiae* の寿命制御の化学遺伝学」

松浦 彰<sup>1)</sup>, 向 蘭<sup>2)</sup>, 石原 聡<sup>1)</sup>, 石原 綾<sup>1)</sup>  
大井麻紗子<sup>1)</sup>, 松井愛子<sup>1)</sup>, 大澤俊彦<sup>3)</sup>

丸山和佳子<sup>2)</sup>

- 1) 千葉大学大学院融合科学研究科
- 2) 国立長寿医療センター研究所老年病研究部
- 3) 名古屋大学大学院生命農学研究科

### 一般発表 (口頭及びポスター発表)

1) 「*Candida albicans* に対するヒト dectin-2 の反応性と機能に関する解析」

桜庭大樹, ○安達禎之, 石橋健一, 三浦典子  
大野尚仁  
東京薬科大学 薬学部 免疫学教室

2) 「線虫を宿主とした *C. glabrata* 常在化機構の解析」  
○水野貴之, 村上裕太, 古田達也, 玉城裕也  
谷岡拓弥, 文谷政憲  
徳島文理大学理工学部

3) 「カイコを用いた病原真菌感染モデル」  
手塚正英<sup>1)</sup>, 大浦隆宏<sup>1)</sup>, 横山耕治<sup>2)</sup>, 梶原 将<sup>1)</sup>  
1) 東京工業大学生命理工学研究科  
2) 千葉大学真菌医学研究センター

4) 「病原因子同定に向けた病原性真菌 *Candida glabrata* による感染実験モデルの構築」  
○上野圭吾<sup>1)</sup>, 松本靖彦<sup>2)</sup>, 宇野 潤<sup>1)</sup>, 関水久<sup>2)</sup>  
知花博治<sup>1)</sup>  
1) 千葉大学 真菌医学研究センター高分子活性  
2) 東京大学大学院薬学系研究科

5) 「*Candida albicans* の新規 HSP 70 family タンパク質 Msi3p による病原性発現制御機構」  
○永尾潤一, 長 環  
福岡歯科大学 機能生物化学講座 感染生物学分野

6) 「血清添加により構築される *Aspergillus fumigatus* バイオフィルム」  
○豊留孝仁<sup>1)</sup>, 山口正視<sup>2)</sup>, 渡辺哲<sup>1),3)</sup>, 落合恵理<sup>1)</sup>  
佐藤綾香<sup>1)</sup>, 田口英昭<sup>4)</sup>, 亀井克彦<sup>1)</sup>  
1) 千葉大学真菌医学研究センター真菌感染分野  
2) 千葉大学真菌医学研究センター機能形態分野  
3) 千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部  
4) 千葉大学真菌医学研究センター生態分野

- 7) 「病原真菌 *Candida albicans* MCD4 タンパク質の機能解析」  
 ○長谷川聖<sup>1)</sup>, 岩波 昇<sup>1)</sup>, 中山浩伸<sup>2)</sup>, 大浦隆宏<sup>1)</sup>  
 梶原 将<sup>1)</sup>  
 1) 東京工業大学生命理工学研究科  
 2) 鈴鹿工業高等専門学校
- 8) 「病原真菌 *Candida albicans* のアシル CoA 合成酵素遺伝子の同定」  
 ○石合真徳<sup>1)</sup>, 大浦隆宏<sup>1)</sup>, 村山琮明<sup>2)</sup>, 梶原 将<sup>1)</sup>  
 1) 東京工業大学生命理工学研究科  
 2) 北里大学大学院感染制御科学府
- 9) 「*Candida glabrata* の血清刺激によるアゾール低感受性の機構の解析」  
 ○清水頌平, 中山浩伸  
 鈴鹿工業高等専門学校
- 10) 「*Candida glabrata* の *UPC2* ホモログの機能解析」  
 ○東 覚<sup>1)</sup>, 清水頌平<sup>1)</sup>, 岡野 誠<sup>1)</sup>, 名木 稔<sup>2)</sup>  
 田辺公一<sup>2)</sup>, 青山俊弘<sup>1)</sup>, 中山浩伸<sup>1)</sup>  
 1) 鈴鹿工業高等専門学校  
 2) 国立感染症研究所
- 11) 「*Candida albicans* のステロールトランスポーターの同定」  
 ○岡野 誠<sup>1)</sup>, 中山浩伸<sup>2)</sup>  
 1) 鈴鹿工業高等専門学校 応用物質工学  
 2) 鈴鹿工業高等専門学校
- 12) 「*Candida glabrata* におけるステロールの細胞内への取り込みと輸送に関わる因子の同定」  
 ○中山浩伸<sup>1)</sup>, 岡野 誠<sup>1)</sup>, 名木 稔<sup>2)</sup>, 奈良美里<sup>1)</sup>  
 清水頌平<sup>1)</sup>, 東 覚<sup>1)</sup>, 青山俊弘<sup>1)</sup>, 田辺公一<sup>2)</sup>  
 1) 鈴鹿工業高等専門学校応用物質工学  
 2) 国立感染症研究所生物活性部
- 13) 「病原真菌クリプトコックスの生態に関する一考察」  
 ○清水公德  
 千葉大学真菌医学研究センター
- 14) 「電子顕微鏡を用いた酵母のストラクチャー解析」  
 ○山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 大楠美佐子  
 川本 進  
 千葉大学・真菌医学研究センター・機能形態
- 15) 「*Candida glabrata* ゲノムの再アノテーション」  
 ○青山俊弘<sup>1)</sup>, 上野圭吾<sup>2)</sup>, 中山浩伸<sup>3)</sup>, 知花博治<sup>2)</sup>  
 1) 鈴鹿工業高等専門学校電子情報学  
 2) 千葉大学真菌センター高分子活性分野  
 3) 鈴鹿工業高等専門学校応用物質工学
- 16) 「次世代シーケンサ SOLiD を用いた *Candida glabrata* の温度感受性変異の探索」  
 ○大野道代<sup>1)</sup>, 青山俊弘<sup>2)</sup>, 大岩真理<sup>1)</sup>  
 喜久里育也<sup>3)</sup>, 塚原正俊<sup>3)</sup>, 知花博治<sup>1)</sup>  
 1) 千葉大学真菌センター高分子活性分野  
 2) 鈴鹿工業高等専門学校情報工学  
 3) OCGP 沖縄ラボ

### 第3回アスペルギルス研究会

平成21年9月26日、千葉大学医学部附属病院第三講堂にて第3回アスペルギルス研究会が行われた。本会のようなアスペルギルス研究に特化し臨床・基礎分野を問わず研究者が一堂に会し集中的に議論を行う研究会はわが国には他にない。参加者からも本研究会の意義についてきわめて高い評価をいただいております、会を重ねるごとに参加者および演題数は増加している。本年は本菌およびその感染症についての演題9題があつまり、全国より約40名以上の参加を得て、多面的かつ活発な討議が行われた。

日時：2009年9月26日（土）13:00-17:20

場所：千葉大学医学部附属病院第三講堂

代表：倉島篤行（複十字病院呼吸器内科）

発表演題は以下のとおりである。

開会の挨拶：複十字病院呼吸器内科 倉島篤行（代表）

- 1) 「*Aspergillus* 属カビと家屋害虫との関係」  
FCG 総合研究所  
○川上裕司
- 2) 「*Aspergillus fumigatus* の産生するエラスターゼインヒビター (AFUEI) について」
  - 1) 名城大学薬学部
  - 2) 国立病院機構東名古屋病院呼吸器内科
  - 3) 白鶴酒造株式会社○奥村欣由<sup>1)</sup>, 小川賢二<sup>2)</sup>, 二改俊章<sup>1)</sup>, 松井 健<sup>1)</sup>  
打矢恵一<sup>1)</sup>, 山下伸雄<sup>3)</sup>
- 3) 「アスペルギルス属の新規蛋白抗原を用いた診断・治療法開発の研究」  
国立感染症研究所 生物活性物質部 真菌症室  
○宮崎義継, 山越 智, 大野秀明

- 4) 「慢性肺アスペルギルス症マウスモデル作成の試み」  
長崎大学 第二内科  
○今村圭文, 高園貴弘, 三原 智, 泉川公一  
掛屋 弘, 山本善裕, 柳原克紀, 河野 茂
- 5) 「肺真菌症における L-AMB 吸入療法の有用性に関する検討」  
長崎大学 第二内科  
○高園貴弘, 今村圭文, 三原 智, 泉川公一  
掛屋 弘, 山本善裕, 柳原克紀, 河野 茂
- 6) 「病理からみた東邦大学における侵襲性糸状菌症の変遷」  
東邦大学医療センター大森病院 病院病理部  
下平佳代子, ○中山晴雄, 篠崎 稔, 大久保陽一郎  
職 珠玉, 若山 恵, 井手 忠, 渋谷和俊
- 7) 「慢性肺アスペルギルス症の予後因子に関する検討」  
国立病院機構道北病院 臨床研究部  
○藤内 智
- 8) 「原因不明の脳疾患でステロイド治療中に発症した重症複合肺真菌感染症の1例」  
国立病院機構東名古屋病院 呼吸器科  
○林 悠太, 中川 拓, 小川賢二
- 9) 「真菌性肉芽腫による肺動脈枝破壊が見られた菌球型肺アスペルギルス症の1例」  
近畿大学医学部 病理学教室  
○木村雅友

閉会の挨拶：千葉大学真菌医学研究センター 亀井克彦

懇親会

# 第 23 回千葉大学真菌医学研究センター講習会

担当: 大荒田素子

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 23 回目で、累積受講生は 280 名余になる。本年も定員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 21 年 6 月 30 日 (火) ~ 7 月 3 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 輸入および新興病原真菌 病原性接合菌 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・企業)	9 名
教育関係	1 名
行政関係	1 名
バイオ関連企業 (検査を除く)	1 名

地域別受講者: 東北	1 名
東京	3 名
中部	1 名
近畿	3 名
中四国	2 名
九州・沖縄	2 名

プログラム:

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

6 月 30 日 (火)	オリエンテーション (大荒田) 真菌感染症概論 (亀井) 真菌のバイオハザード (亀井) 真菌細胞概論 (山口) 基本手技 (矢口) 臨床材料の取り扱い (渡辺) 補助診断法 (亀井・田口) 薬剤感受性試験法 (渡辺・鎗田)
7 月 1 日 (水)	主な病原性酵母 (田中) 法律から見た真菌取扱い (川本) 菌株保存法 (横山) アスペルギルス (矢口)
7 月 2 日 (木)	皮膚科領域真菌症原因菌 (矢口・高橋) 輸入真菌症と原因菌 (横山) 病原性放線菌 (五ノ井・矢澤)
7 月 3 日 (金)	病原性接合菌 (矢口) 基本手技の結果の解析 (矢口) 薬剤感受性試験の測定と解析 (渡辺・鎗田)

# 第5回千葉大学真菌医学研究センター外国人講習会

担当: 伊藤恵美子

外国人講習会は5回目となり、インドネシア、タイから各1名、中国から4名の参加者を迎えて、病原真菌の同定と取り扱いについての講義と実習が行われた。

期間: 2009年7月7日(火)～11日(金)

場所: 千葉大学真菌医学研究センター 講習会室

参加者:

インドネシア:

Yordan Khaedir (インドネシア大学 医師)

タイ:

Phanu Hirunyapatai (タイ王立病院 検査技士)

中国:

劉 瑩 (貴陽医学院 医師)

王 丹霓 (貴陽医学院 医師)

趙 亮 (貴陽医学院 医師)

隨 志剛 (白求恩医学院 薬学博士)

プログラム:

(講師: 亀井克彦, 矢口貴志, 田中玲子, 横山耕治, 山口正視, 矢澤勝清, 五ノ井 透, 川本 進, Natteewan Poonwan)

6月30日(火) Lecture: Basic mycology (Dr. Yaguchi)  
Lecture: Laboratory diagnosis  
(Dr. Kamei)  
Practice: Laboratory techniques  
(Dr. Yaguchi)  
Practice: Lecture and observation of  
*Aspergillus* and related fungi  
(Dr. Yaguchi)

7月1日(水) Practice: Observation of pathogenic yeasts (Dr. Tanaka)

Lecture & Practice: Dermatophytes and dematiaceous fungi (Dr. Yaguchi)

Lecture & Practice: Emerging fungal pathogens (Dr. Yaguchi)

7月2日(木) Practice 1: Electron microscopic observation (Dr. Yamaguchi)

Practice 2: Scanning electron microscopic observation (Dr. Yaguchi)

Lecture and Practice: *Nocardia* identification by physiological and chemotaxonomic methods

(Dr. Poonwan N, Dr. Gono, Dr. Yazawa)

7月3日(金) Lecture & practice: Molecular identification of pathogenic fungi (Dr. Yokoyama)

Lecture: Proteomic analysis and new techniques in molecular medical mycology (Dr. Kawamoto)

Closing ceremony with Tea party: With Drs. Poonwan, Kawamoto, Yamaguchi, Yokoyama and Yaguchi

Visit the Central Clinical Laboratory in Chiba University Hospital

## 第5回千葉大学真菌医学研究センター公開市民講座開催

2009年6月14日(日), 千葉大学西千葉キャンパスけやき会館大ホールにて, 第5回目となる真菌医学研究センター主催の公開市民講座を開催した. 参加者は245名を数え, 大変好評であった.

テーマ: 「カビ!? ~そろそろ気になりますね~ Part 4」

演題: 1. 食べ物とカビ

高橋治男(千葉県衛生研究所上席研究員)

2. しょうゆを作るカビ・麹(こうじ)菌  
半谷吉識(キッコーマン(株)研究開発本部)

3. 酵母のふしぎ

川本 進

(千葉大学真菌医学研究センター教授)

講座内容:

カビは水回り, 湿気の多い壁や家具などにまで生えて, 私達を不愉快にします. 一方, カビは, 味噌・醤油や酒, チーズ造りなど, 古今東西にわたり, 私たちの食生活にも欠かせません. 土壌などの環境を整えるのにもカビは欠かせません. 更には, カビは, 私たちの皮膚や体の中にまで生えて来ることがあり, 水虫などの比較的軽い病気から, 時には命に関わる重い病気を引き起こす

こともあります. 一方, カビに近い生物である酵母にはパンやアルコールを作る種類もあれば, 病原性を持つ種類もあり, 近年では生物学などの実験材料としてもしばしば利用されています.

本講座では, まず, 高橋治男千葉県衛生研究所上席研究員より, カビが食品などを汚染して人間や家畜に有害な毒素をも作ることがあり, これらの毒性カビと我が国におけるカビ毒の規制の現状についての講演がありました. 次に, キッコーマン(株)研究開発本部・半谷吉識博士より麹(こうじ)菌は日本で欠かすことの出来ない醤油・味噌の元であり, 醤油醸造における麹菌の役割や優良な麹菌の育種などの話がありました. 最後に, 川本進真菌医学研究センター教授より, 生化学, 生物学, 遺伝学などの研究材料, 研究対象生物としてしばしば活用されている酵母について, (1) 酵母は細胞の構造, 機能のうえでは大腸菌よりもはるかにヒトに近い生物であり, (2) 酵母はカビのような形になることもあり, (3) 酵母は研究者にとって生きた試験管のような存在でもあり, また, (4) 酵母同士が会話しているってホントでしょうか? などの話題についてのわかり易い話題提供がありました.

## 講演会(第119回~第120回)

第119回 3月23日

場所: センター講堂

関水久教授

(東京大学大学院薬学系研究科・薬学部微生物薬品化学教室及び株式会社ゲノム創薬研究所)

カイコ幼虫を用いた医薬品, 健康食品の新しい評価方法

(担当: 川本 進)

第120回 10月29日

場所: センター講堂

Matthias Sipiczki教授

(Department of Genetics & Molecular Biology, University of Debrecen, Hungary)

General transcription regulators (Mediator and SAGA) and fork-head transcription factors in the regulation of *S. pombe* cytokinesis

(担当: 川本 進)

# 2009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

時間: 10:30~

第1回 7月14日 機能形態分野

- ・山口正視
- ・清水公徳

第2回 7月21日 系統・化学分野

- ・ヨルダン ハディール: インドネシアの真菌症研究について-カンジダ症の疫学的研究-
- ・五ノ井 透: センターの病原放線菌の研究について

第3回 10月15日 高分子活性分野

- ・大野道代
- ・上野圭吾
- ・松浦 学

第4回 11月5日 真菌資源分野

- ・横山耕治
- ・田口英昭

第5回 11月19日 機能形態分野

- ・李 皓曼

第6回 11月24日 系統・化学分野

- ・大本悠太
- ・迫あゆみ
- ・松尾高稔
- ・田中玲子

第7回 12月1日 高分子活性分野

- ・知花博治
- ・宇野 潤
- ・上野圭吾

第8回 12月8日 真菌感染分野

- ・渡辺 哲
- ・栗田啓幸
- ・鎗田響子
- ・永吉 優

第9回 12月22日 機能形態分野

- ・伊藤恵美子
- ・Eric Virtudazo
- ・大楠美佐子
- ・東江昭夫

PI プロジェクトキックオフセミナー

12月24日 13時~

- ・川本 進 教授
- ・知花博治 准教授
- ・亀井克彦 教授
- ・五ノ井透 教授
- ・横山耕治 准教授

## 真菌医学研究センター 2009年ベスト論文賞

真菌センターでは、教員、ポスドク、大学院生など研究者の研究意欲の向上を目指して、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、3年目となる2009年については、野本センター長よりの指示により、川本、亀井両教授が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、2010年2月9日に受賞者を発表するとともに、「2009年ベスト論文賞」の授与式を行いました。

その受賞者選考については、従来どおり、(A) 教員、(B) ポスドク、(C) 大学院生、それぞれについて、2009年に発表した論文について選考に当たった結果、今回は教員2名が選考されました。ポスドク、大学院生については、残念ながら、今回は、該当者は見当たりませんでした。

山口正視准教授の受賞理由となった1つ目の論文は、病原酵母 *Cryptococcus neoformans* の紡錘極体の細胞周期における動態を、凍結置換法というすぐれた方法で電子顕微鏡的に解明したものです。その結果、*Saccharomyces cerevisiae* の場合とは異なり、紡錘極体は、核膜上に局在し、その複製はG1期のはじめにおこることを明らかにしました。2つ目の論文は、ゲノム解析に用いられた *Saccharomyces cerevisiae* S288C 株を材料として、凍結置換固定した酵母の効率的な連続超薄切片作製法を開発したものです。この方法は、酵母だけではなく、広く微生物試料一般に適用が可能で、今後、山口准教授が提唱した「ストラクトーム」解析に有用な手段を提供することが期待されます。

大荒田素子助教の1つ目の論文は、病原真菌感染防御能に及ぼす食餌タンパク質の影響に関する論文であり、病原真菌感染防御能と宿主の栄養状態に関する研究の一環として、*Paracoccidioides brasiliensis* 感染症に及ぼす宿主のタンパク質摂取レベルの影響について検討しています。2つ目の論文は、精神ストレスに伴う病原真菌

感染抵抗性の変調に及ぼす食餌性脂質の影響に関する論文であり、精神ストレスに伴う病原真菌感染抵抗性の変調に及ぼす食餌性脂質の影響について、病原真菌 *Paracoccidioides brasiliensis* 感染症をモデルに検討しています。

今後、今回、受賞者が選考されなかった、ポスドク、大学院生も含め、特に、若手研究者の益々の頑張りを期待したいと思います。

(A) 教員:

1) 山口正視:

(論文1) Yamaguchi M, Biswas SK, Ohkusu M, Takeo K: Dynamics of the spindle pole body of the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans* examined by freeze-substitution electron microscopy. *FEMS Microbiol Lett* 296: 257-265, 2009.

(論文2) Yamaguchi M, Okada H, Namiki Y: Smart specimen preparation for freeze-substitution and serial ultrathin sectioning of yeast cells. *J Electron Microsc* 58: 261-266, 2009.

2) 大荒田素子:

(論文1) Oarada M, Kamei K, Gono T, Tsuzuki T, Toyotome T, Hirasaka K, Nikawa T, Sato A, Kurita N: Beneficial effects of a low-protein diet on host resistance to *Paracoccidioides brasiliensis* in mice. *Nutrition* 25(9): 954-63, 2009.

(論文2) Oarada M, Igarashi M, Tsuzuki T, Kurita N, Gono T, Nikawa T, Hirasaka K, Miyazawa T, Nakagawa K, Kamei K: Effect of dietary oils on host resistance to fungal infection in psychologically stressed mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 73(9): 1994-8, 2009.

(B) ポスドク: 該当なし

(C) 大学院生: 該当なし

平成 22 年 千葉大学真菌医学研究センター報告

ANNUAL REPORT OF  
MEDICAL MYCOLOGY  
RESEARCH CENTER (MMRC)  
CHIBA UNIVERSITY 2010

14



# 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, 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, 全国共同利用施設長(真菌医学研究センター長)候補者推薦委員会委員
- 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, 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, 教員(感染免疫分野教授)選考委員会委員, テニユアトラック採用にかかる選考委員会委員・テニユア教員(特任准教授)選考委員会委員, 教員(感染免疫分野助教)選考委員会委員, DNA断片化装置機種選定委員, 次世代型シークエンサー機種選定委員, 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・優秀ポスター賞審査委員・関東支部会計監査委員, 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・関東支部支部長選挙管理委員会副委員長, 日本神経化学会評議員, ニューヨーク科学アカデミー会員, 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実行委員, 日本医学会総会展示担当委員, *Mycopathologia* (Associate Editor), *Microbiology and*

*Immunology* (Associate Editor), *Japanese Journal of Medical Mycology* (Editorial Board, Section Editor)

- 所属学会 日本細菌学会, 日本医真菌学会, 日本菌学会, 日本生化学会, 日本分子生物学会, 日本プロテオーム学会, 日本神経化学会, 酵母細胞研究会, American Society for Biochemistry and Molecular Biology, American Society of Microbiology, International Society for Human and Animal Mycology, New York Academy of Sciences
- 受賞
  - 1) (分担) 第 54 回日本医真菌学会総会, 優秀ポスター賞, 山口正視, 池田玲子, 川本 進: 真菌細菌の菌種間相互作用における電子顕微鏡的アプローチ, 東京, 2010 年 10 月 17 日
- その他 横浜市立大学医学部 客員教授, 認定 NPO 法人・総合画像研究支援 正会員

## 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, DNA マイクロアレイスポットターの調達に関する仕様策定委員, 次世代 DNA シークエンサー技術審査職員
- 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(2010. 10 ~)・奨励賞選考委員(2010. 10 ~)・Journal of Electron Microscopy 編集委員・技術認定試験委員会委員・微生物研究部会幹事・本部評議員・関東支部副支部長(~2010. 3)・関東支部支部長(2010. 4 ~)・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 2009 年度ベスト論文賞 2010 年 2 月 9 日.
  - 2) 日本顕微鏡学会技術功労賞「電子顕微鏡試料作製技術の開発と普及」2010 年 5 月 25 日.
  - 3) (代表) 第 54 回日本医真菌学会総会, 優秀ポスター賞, 山口正視, 池田玲子, 川本 進: 真菌細菌の菌種間相互作用における電子顕微鏡のアプローチ, 東京, 2010 年 10 月 17 日
- その他 第 8 回ジャパン・サイエンス&エンジニアリング・チャレンジ/JSEC 2010 ~高校生“科学技術チャレンジ”~(主催 朝日新聞社) 本審査委員 (2010. 10 ~), 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: 清水公徳

- センター内委員 光熱水料削減プロジェクト WG 委員, DNA マイクロアレイスポットターの調達に関する仕様策定委員, 次世代 DNA シークエンサー技術審査職員
- 学協会への貢献 日本菌学会・評議員・授賞者及び受賞論文選考委員会委員・Mycoscience 編集幹事, 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, 日本細菌学会, 糸状菌分子生物学研究会, 酵母細胞研究会, Fungal Genetics Conference

## 技術職員: 大楠美佐子

客員教授: 東江昭夫 (2010. 4 ~)

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

非常勤講師: 園田智子 (横浜市立大学医学部)

非常勤講師: 東江昭夫 (~ 2010. 3)

特任助教: Eric V. Virtudazo (~ 2010. 11)

技術補佐員: 佐藤里美 (~ 2010. 12)

技術補佐員: 岡田 仁 (~ 2010. 3)

大学院医学薬学府博士課程: 李 皓曼 (~ 2010. 3)

大学院医学薬学府修士課程医科学専攻: 増田恵美

大学院融合科学研究科博士前期課程: 並木侑一

大学院医学薬学府修士課程医科学専攻: 太田裕子 (2010. 4 ~)

日本大学生産工学部: 太田裕子 (~ 2010. 3)

千葉大学園芸学部: 佐藤隆文 (2010. 1 ~)

## 研究概要 (共同研究を含む)

### 1. *Cryptococcus neoformans* の細胞周期制御の分子機構解析 - G1 サイクリン遺伝子 *CnCln1*

*C. neoformans* には, 他の酵母には見られない, 特異な細胞周期制御現象が観察され, 本酵母の病原性にも深く関わっていると思われ, 細胞周期制御の中心に位置する Cdk1 (サイクリン依存性キナーゼ 1) とそれと相互作用する制御因子サイクリン類について解析を進めている. *CnCln1* 分子は, 本菌では唯一の G1 サイクリン遺伝子であると思われたが, その遺伝子破壊株が得られたことより, 本菌の生存には必須ではないことが示された. *CnCln1* 遺伝子破壊株は「出芽時期が遅れ, 細胞は大型化する」等, 「in vitro 低酸素環境下」や「in vivo 感染時」と類似した極めて異常な形態・特徴的な変化を示し, *CnCln1* は, 細胞の大きさと形態, 出芽と細胞分裂のタイミング, DNA 合成開始のタイミング, 37 °C での生育遅滞など, 幅広く細胞の形態形成や生理的機能に大きな影響を及ぼす極めて重要な細胞機能制御遺伝子であることが示された.

### 2. *Cryptococcus neoformans* の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

*C. neoformans* の細胞周期を制御している中心分子である, サイクリン依存性キナーゼ CnCdk1 と G1 サイクリン *CnCln1* の結合について, その構造機能相関解析を行い, 生理的意義についても考察した. 本菌 *CnCln1* の遺伝子を *Saccharomyces cerevisiae* において発現させ, その機能を検証し, また, *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* との間の結合などについて, そのバイオインフォマテイクスの解析を行い, その結果を踏まえて, 分子間結合相関の生理的な意義を考察した.

### 3. *Cryptococcus neoformans* の低酸素環境応答機構における転写因子の解析

*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. 本菌ゲノムへのランダム挿入遺伝子変異体ライブラリーを構築し, 変異体の低酸素状態への応答解析などを通し

て、本菌において低酸素ストレス応答に関する遺伝子の同定を行った。そのうちのひとつとして、転写因子を同定し、その遺伝子破壊株、復帰株などを作成して、分子生物学的、生化学的、細胞学的解析を進め、本分子の低酸素環境ストレス応答機構における意義を考察するとともに、その遺伝子破壊株を用いたマウス病原性試験も実施するなどして、考察を進めた。

#### 4. 酵母のストラクトーム解析

ストラクトームとは、細胞の電子顕微鏡レベルの定量的、三次元的全構造情報を意味する (Yamaguchi M, 2006)。本年は、*Saccharomyces cerevisiae* の G1 期の細胞のストラクトーム解析を進め、細胞あたりリボソームは約 22 万個存在すること、ミトコンドリアは 1～3 個存在し、その中の一つは巨大ミトコンドリアであることがわかった。また、各細胞成分が占める割合は、平均で細胞質は 64%、細胞壁は 17%、核は 11%、液胞は 6%、ミトコンドリアは 1.7% であった。小胞、紡錘極体、多胞体、微小管、はあわせて約 0.3% を占めるにすぎなかった。

#### 5. 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、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 角に細切り、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、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ている。

#### 6. スーパー支持膜に関する研究

1992 年に開発した透過電子顕微鏡用プラズマ重合ナフタレン支持膜を「スーパー支持膜」と命名し、2010 年 3 月に日新 EM 株式会社より販売を開始した。

#### 7. アグロバクテリウム形質転換法を用いたクリプトコックス突然変異体ライブラリーの作製

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た。

#### 8. ミカファンギン不活化メカニズムの解明

クリプトコックスは抗真菌剤ミカファンギン (MDFG) に感受性を示さないが、本菌を MCFG 存在下で培養すると、培養濾液中の抗菌活性が消失することを見出した。そのメカニズムについて、現在検討している。

### 研究成果の発表

#### 1. 著書

- 1) 川本 進: 酵素を創る - 生物学的アプローチ - 細胞を用いたタンパク質合成: 昆虫培養細胞・バキュロウイルスベクター発現系を用いたタンパク質合成「酵素利用技術大系～基礎・解析から改変・高機能化・産業利用まで」(小宮山真監修), pp. 172-175, エヌ・ティー・エス (東京), 2010.
- 2) 山口正視: スーパー支持膜 (プラズマ重合膜) について教えてください。朝倉健太郎, 中村新一, 小倉一道編: 顕微鏡研究者のための「マクロ観察と新型顕微技法 Q&A」. pp. 35-37, アグネ承風社, 東京, 2010.

#### 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) ◎ Virutudazo EV, Kawamoto S, Ohkusu M, Aoki S, Sipiczki M, Takeo K: The single Cdk1-G1 cyclin of *Cryptococcus neoformans* is not essential for cell cycle progression but has important roles in the proper commitment to DNA synthesis and bud emergence in this yeast. FEMS Yeast Research 10(5): 605-618, 2010. (査読有)
- 2) ◎ Yamaguchi M, Ikeda R, Nishimura M, Kawamoto S: Localization by scanning immunoelectron microscopy of triosephosphate isomerase, the molecules responsible

- for contact-mediated killing of *Cryptococcus*, on the surface of *Staphylococcus*. *Microbiol Immunol* 54: 368-370, 2010. (査読有)
- 3) © Shimizu K, Li H-M, Virtudazo EV, Watanabe A, Kamei K, Yamaguchi M, Kawamoto S: Deletion of *CnLIG4* DNA ligase gene in the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* elevates homologous recombination efficiency. *Mycoscience* 51: 28-33, 2010. (査読有)
  - 4) © Li H-M, Virtudazo EV, Toh-e A, Yamaguchi M, Kawamoto S, Shimizu K: Non-homologous end joining pathway of the human pathogen *Cryptococcus neoformans* influences homologous integration efficiency but not virulence. *Mycoscience* 51: 272-280, 2010. (査読有)
  - 5) Abe F, Ohkusu M, Kubo T, Kawamoto S, Sone K, Hata K: Isolation of yeasts from palm tissues damaged by the red palm weevil and their possible effect on the weevil overwintering. *Mycoscience* 51: 215-223, 2010. (査読有)
  - 6) Yamaguchi M, Kopecká M: Ultrastructural disorder of the secretory pathway in temperature-sensitive actin mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Electron Microsc* 59: 141-152, 2010. (査読有)
  - 7) Yamaguchi M, Biswas SK, Kuwabara Y, Ohkusu M, Shimizu M, Takeo K: The spindle pole body of the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*: variation in morphology and positional relationship to the nucleolus and the bud in interphase cells. *J Electron Microsc* 59: 165-172, 2010. (査読有)
  - 8) Yamada H, Mitarai S, Chikamatsu K, Mizuno K, Yamaguchi M: Novel freeze-substitution electron microscopy provides new aspects of virulent *Mycobacterium tuberculosis* with visualization of the outer membrane and satisfying biosafety requirements. *J Microbiol Method* 80: 14-18, 2010. (査読有)
  - 9) Kopecká M, Ilkovic L, Ramikova V, Yamaguchi M: Effect of cytoskeleton inhibitors on conidiogenesis and capsule in the long neck yeast *Fellomyces* examined by scanning electron microscopy. *Chemotherapy* 56: 197-202, 2010. (査読有)
  - 10) Staudt MW, Kruzel EK, Shimizu K, Hull CM: Characterizing the role of the microtubule binding protein Bim1 in *Cryptococcus neoformans*. *Fungal Genetics and Biology* 47: 310-317, 2010. (査読有)
  - 11) Saitoh Y, Izumitsu K, Morita A, Shimizu K, Tanaka C: ChMCO1 of *Cochliobolus heterostrophus* is a new class of metallo-oxidase, playing an important role in DHN-melanization. *Mycoscience* 51: 327-336, 2010. (査読有)
- ### 3. 総説, 解説, その他
- 1) 川本 進: 書評「微生物資源国際戦略ガイドブック」日本医真菌学雑誌 51(1): 49-50, 2010.
  - 2) 山口正視: 電子顕微鏡を用いた酵母のストラクチャー解析. *マイコトキシン* 60: 43-51, 2010.
  - 3) 山口正視: 病原真菌の紡錘極体の電子顕微鏡的研究. *日本医真菌学雑誌* 51: 1-5, 2010.
  - 4) 山口正視: インフルエンザウイルスの電顕写真提供. 小学校教科書 たのしい保健 5・6年 p.28 大日本図書: 東京, 2010.
  - 5) 山口正視: インフルエンザウイルスの電顕写真提供. *Primary* 大学テキスト これだけはおさえない生命科学 身近な話題から学ぶ. p.122 実教出版株式会社. 東京, 2010.
  - 6) 山口正視: ミクロの探検隊 8 病原酵母クリプトコックス. *健創研会報*第 27号 (1月号) p.9. 2010.
  - 7) 山口正視: ミクロの探検隊 9 プロテウス菌. *健創研会報*第 28号 (2月号) p.9. 2010.
  - 8) 山口正視: ミクロの探検隊 10 病原真菌ヒストプラズマ. *健創研会報*第 29号 (3月号) p.9. 2010.
  - 9) 山口正視: ミクロの探検隊 11 大腸菌. *健創研会報*第 30号 (4月号) p.9. 2010.
  - 10) 山口正視: ミクロの探検隊 12 T4 バクテリオファージ. *健創研会員ホームページ*. 5月. 2010.
  - 11) 山口正視: ミクロの探検隊 13 酵母サッカロミセス. *健創研会員ホームページ*. 6月. 2010.
  - 12) 山口正視: ミクロの探検隊 14 ブドウ球菌. *健創研会員ホームページ*. 7月. 2010.
  - 13) 山口正視: ミクロの探検隊 15 放線菌. *健創研会員ホームページ*. 8月. 2010.
  - 14) 山口正視: ミクロの探検隊 16 トリコスポロン. *健創研会員ホームページ*. 9月. 2010.
  - 15) 山口正視: ミクロの探検隊 17 ヘリコバクター・ピロリ. *健創研会員ホームページ*. 10月. 2010.

#### 4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

- 1) Kawamoto S: Two key players of cell cycle regulation in *Cryptococcus neoformans*, Cyclin-dependent kinase (Cdk) and its regulator, Cyclin. University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin, USA, Nov 22, 2010.
- 2) Kopecka M, Svoboda A, Yamaguchi M: Yeast pathogens: the cytoskeleton and the cell wall as targets for antifungals. 38<sup>th</sup> Annual Conference on Yeasts. Abstracts: 33. Smolenice, Slovakia. 11-14 May 2010.
- 3) 山口正視, ダネフ・ラドスティン, 西山清人, 菅原敬信, 永山國昭: 氷包埋した A 型インフルエンザウイルスの位相差電子顕微鏡観察, 第 83 回日本細菌学会総会, 日本細菌学雑誌 65: 93, 224, 横浜, 3 月 27 ~ 29 日, 2010.
- 4) 山口正視: 微生物の試料作製法. 日本顕微鏡学会第 66 回学術講演会, 発表要旨集: 36. 名古屋, 5 月 23 ~ 26 日, 2010.
- 5) 並木侑一, 山口正視: 酵母のストラクチャー解析. 日本顕微鏡学会第 66 回学術講演会, 発表要旨集: 85. 名古屋, 5 月 23 ~ 26 日, 2010.
- 6) 並木侑一, 川本 進, 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. 第 42 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.71, 三島, 9 月 24 ~ 25 日, 2010.
- 7) 山口正視: 凍結置換法と連続超薄切片法による酵母のストラクチャー解析. 平成 22 年度生理研研究会, 発表要旨集: 岡崎, 10 月 5 ~ 6 日, 2010.
- 8) 東江昭夫, 清水公徳, 川本 進: 抗真菌剤のターゲットとしてのアミノ酸合成経路: *Cryptococcus neoformans* 実験系での試み, 第 31 回関東医真菌懇話会. プログラム/要旨集 p.9, 東京, 7 月 3 日, 2010.

#### 5. 一般発表

##### 国際学会

- 1) Kawamoto S, Virtudazo EV, Ohkusu M, Sonoda T, Miura S, Takeo K: The main cell cycle genes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. 10th European Conference on Fungal Genetics (ECFG10), Leeuwenhorst, The Netherlands, March 29-April 1, 2010.
- 2) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, Gomi

K: The transcription activator AtrR regulates gene expression of ABC transporters and contributes to azole drug resistance in *Aspergillus fumigatus*, 7th International *Aspergillus* Meeting (Asperfest 7), Leeuwenhorst, The Netherlands, March 28-29, 2010.

- 3) Kawamoto S, Virtudazo EV, Ohkusu M, Takeo K: Cell-cycle related genes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. 9th International Mycological Congress (IMC9): The Biology of Fungi, Edinburgh, UK, August 1-6, 2010.
- 4) Toyotome T, Yamaguchi M, Watanabe A, Ochiai E, Taguchi H, Kamei K: A Glycoprotein component from serum promotes the growth of *A. fumigatus* supporting the formation of thick fungal community. 4th Advances against Aspergillosis, Abstract book p.144, Rome, Italy, Feb. 4-6, 2010.

##### 国内学会

- 1) 山口正視, 並木侑一, 岡田 仁, 大楠美佐子, 川本進: 電子顕微鏡を用いた酵母のストラクチャー解析. 第 6 回真菌分子細胞研究会, プログラム・要旨集: 3, 千葉, 3 月 19 ~ 20 日, 2010.
- 2) 清水公徳: 病原真菌クリプトコックスの生態に関する一考察. 第 6 回真菌分子細胞研究会, プログラム・要旨集: 3, 千葉, 3 月 19 ~ 20 日, 2010.
- 3) 山口正視, 丸田節雄: スーパー支持膜の作製法とその特徴. 日本顕微鏡学会関東支部第 34 回講演会予稿集: 94, 東京, 3 月 20 日, 2010.
- 4) 山口正視, 丸田節雄: スーパー支持膜の作製法とその特徴. 日本顕微鏡学会第 66 回学術講演会, 発表要旨集: 223. 名古屋, 5 月 23 ~ 26 日, 2010.
- 5) 山口正視, 池田玲子, 川本 進: 真菌細菌の菌種間相互作用における電子顕微鏡的アプローチ. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 65, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.
- 6) 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 口頭・ポスター発表. 2010. 11.
- 7) 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

シヨップ 口頭・ポスター発表. 2010. 11.

- 8) 清水公德, 太田裕子, 増田恵美, Virtudazo E, 山口正視, 川本 進: アグロバクテリウム法による *Cryptococcus neoformans* 形質転換に関する条件検討. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 65, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.
- 9) Virtudazo EV, Ohkusu M, Shimizu K, Yamaguchi M, and Kawamoto S: *Cryptococcus neoformans* Wee1 kinase is not essential for growth but has a role in G2-M. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 77, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.
- 10) 竹川啓史, 大楠美佐子, 江藤正明, 大楠清文: *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* による髄膜炎の 1 例. 第 21 回日本臨床微生物学会総会, 日臨微誌 19(4): 166, 東京, 1 月 30 ~ 31 日, 2010.

## 共同研究

### 1. 国際共同研究

- 1) 川本 進, Eric Virtudazo, 大楠美佐子: *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 Virtudazo, 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) 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.
- 4) 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」).

### 2. 共同利用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, 山中結子, 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: 低温位相差電子顕微鏡によるインフルエンザウイルスの構造観察, 永山國昭教授, 岡崎統合バイオサイエンスセンター, 西山清人上級研究員, 菅原敬信次長, 化学及血清療法研究所.
- 3) 山口正視: 結核菌の急速凍結法による電子顕微鏡観察, 山田博之研究員, 財団法人結核予防会結核研究所.
- 4) 山口正視: 超高压電子顕微鏡による酵母の観察, 村田和義准教授, 生理学研究所, 脳機能計測支援センター, 形態情報解析室.
- 5) 山口正視: *Aspergillus nidulans* による  $\alpha$ -1,3 グルカン合成酵素遺伝子の機能解析, 阿部敬悦教授, 吉見 啓研究員, 東北大学未来科学技術共同研究センター.

## 国際交流

### 1. 海外渡航

- 1) 川本 進: 10th European Conference on Fungal Genetics (ECFG10), Leeuwenhorst, The Netherlands, March 29-April 1, 2010. 出席・発表, 3 月 28 日 ~ 4 月 1 日, 2010. (研究推進)
- 2) 川本 進: チェコ共和国, パラツキー大学医学歯学部, Vladislav Raclavsky 准教授, 共同研究・共同討議, 4 月 2 日 ~ 4 月 7 日, 2010. (研究推進)
- 3) 川本 進: 9th International Mycological Congress (IMC9): The Biology of Fungi, Edinburgh, UK, August 1-6, 2010. 出席・発表, 7 月 30 日 ~ 8 月 9 日, 2010. (科学研究費)
- 4) 川本 進: 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, 11 月 9 日 ~ 11 月 24 日, 2010. (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)
- 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, 6 月 29 日 ~ 8 月 30 日, 2010. (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)

## 学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 川本 進: 第 6 回真菌分子細胞研究会 (千葉, 3月 19 ~ 20日, 2010) 特別講演座長.
- 2) 川本 進: 第 19 回酵母合同シンポジウム 実行委員・コンビナー・座長.
- 3) 川本 進: 第 31 回関東医真菌懇話会 世話人・コンビナー・座長.
- 4) 川本 進: 真菌医学研究センター・2010 年度ベスト論文賞候補者選考.

## 教育活動

### 学位指導

- 1) 李 皓曼: 千葉大学大学院医学薬学府博士課程修了・学位取得 (医学博士) (3 月), Involvement of the DNA repair pathway in virulence of a pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans* (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: 川本 進, 清水公徳).

### 卒業研究学生の受け入れ

- 1) 清水公徳 (指導担当者), 川本 進 (指導責任者): 日本大学生産工学部応用分子化学科より卒業生 (太田裕子) 受け入れ.

### 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), 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), 千葉大学園芸学部 (授業科目: 応用細胞工学, 細胞の構造と電子顕微鏡).
- 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, 真菌による食品汚染), 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

### 新聞

#### テレビ

- 1) 山口正視: 電子顕微鏡写真を提供. テレビ朝日, 報道ステーション 2010. 9. 6.

### センター講習会

- 1) 川本 進: 第 22 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)」(2010. 7. 16).
- 2) 山口正視: 第 24 回病原真菌講習会講師「真菌細胞概論」(2010. 7. 13).

### その他

- 1) 川本 進 (地域連携委員会委員長): 真菌医学研究センター主催第 5 回公開市民講座「カビ!? ~そろそろ気になりますね~ Part 5」, 千葉, 5 月 16 日, 2010.

## 外部資金

### 科学研究費補助金

- 1) 川本 進 (代表): 文部科学省科学研究費補助金 (基盤 C)「病原真菌クリプトコックス細胞の生存と死の分子解析」平成 20 ~ 22 年度 (平成 22 年度, 直接経費 80 万円, 間接経費 24 万円).
- 2) 大楠美佐子 (代表): 文部科学省科学研究費補助金 (奨励)「病原真菌クリプトコックス・ネオフォルマンズのタンパク質分画法を用いた細胞周期解析」平成 22 年度 (直接経費 54 万円).

### その他の外部資金

- 1) 文部科学省ナショナルリソースプロジェクト中核的拠点整備プログラム「病原微生物」(代表: 亀井克彦), 川本に 22 年度, 11.9 万円配分.
- 2) 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 (SATREPS)・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), 川本に 22 年度, 76 万円配分.

- 3) 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 22～27 年度) (代表: 野本明男).
- 4) 川本 進 (派遣担当研究者): 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).

#### **学長裁量経費**

- 1) 清水公德 (代表): 平成 22 年度千葉大学学長裁量経費「研究支援プログラム (科学研究費補助金への申請支援)」病原真菌クリプトコッカスの感染播種メカニズムに関する分子遺伝学的検討 (直接経費 80 万円).

#### **センター長裁量経費**

- 1) 山口正視: 45 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

- 学内委員 遺伝子組換え実験安全委員会委員, スペース・コラボレーション・システム事業実施委員会委員
- センター内委員 教員会議委員, 総務委員会委員, 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, センター報告会 WG 長, 自己点検・評価委員会委員, 組織機能改善委員委員, 光熱水量削減プロジェクト WG 委員, 全体セミナー世話係, DNA 断片化装置機種選定委員, 次世代型シーケンサー機種選定委員, ISO ユニット長
- 学協会への貢献 日本医真菌学会評議員
- 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, 酵母細胞研究会, 酵母遺伝学フォーラム, アメリカ微生物学会, アメリカ遺伝学会
- その他 琉球大学医学部非常勤講師

## 准教授: 佐野文子

- センター内委員 教員会議委員, 総務委員会委員, 共同利用・共同研究委員会委員, 広報・地域連携委員会委員
- 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 member, ASM member

## 特任教員: 宇野 潤

- 学協会への貢献 日本医真菌学会評議会委員・標準化委員会委員, 日本細菌学会評議会委員

## 特任教員: 大野道代

非常勤講師: 高橋容子 (きさらづ皮膚科クリニック)

非常勤講師: 新見昌一 (オタゴ大学特別研究員)

機関研究員: 上野圭吾 (~ 2010. 10)

## JSPS外国人博士研究員: Woods A. Matthew

受託研究員: 笹本 要

研究補佐員: 木下妻智子

研究補佐員: 島田五月

技術補佐員: 大岩真理

技術補佐員: 村田倫子

園芸学部: 三浦貴子

## 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)

*C. glabrata* の全遺伝子について組換え株を構築し, 機能解析を行い, 病原性 *Candida* 属, 延いては病原真菌の普遍性探究を目標にしている. その過程において①抗真菌薬の開発, ②常在性と病原性の解明, ③医学・工学的利用などの研究を進め, データベースの構築, インターネットを介した情報発信を行い, 病原真菌研究者のコミュニティ発展への貢献に努める. 2010 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 1,030 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). コンピテントセル作製法の開発 (大野), 新規形質転換ベクターの開発 (笹本), GFP 融合株の作製 (Woods) 保存・分譲法の検討などを進めた (大岩, 木下, 島田). また, 次世代シーケンサーを用いて *C. glabrata* CBS 138 株のゲノムリシーケンスを行い, 56 塩基のリファレンスシーケンスのエラーを見出した (大野).

2) 第 2 章 抗真菌薬の耐性化と新規標的探索: 医学部 田村 裕准教授と上野が, *in silico* の手法により, 生育必須タンパクに対する抗真菌ペプチドの設計と合成, 活性測定などを進め論文発表を行った (上野). 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 (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, 上野が腸管定着因子を特定するに至った. その他, *C. glabrata* の約40の組換え株を用いてカイコ感染実験を進めた(宇野). 細胞最表層を形成するマンノプロテイン関連遺伝子群の欠損株の作製とカイコ感染実験を行った(三浦).
- 4) 第4章 応用工学的研究: *C. glabrata* プロモーター操作などの技術開発, エタノール高生産株, ストレス耐性株のスクリーニングを進めた(大野, 笹本). 次世代シーケンサーを用いて *C. glabrata* エタノール高生産株のゲノムシーケンスを行った(大野).

## 2. 人獣共通真菌症に関する研究(佐野, 村田)

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

### 1. 著書

- 1) Gherbawy Y, Voigt K (eds.): Sano A, Itano EN: Chapter 18, Applications of Loop-Mediated Isothermal Amplification Methods (LAMP) for Identification and Diagnosis of Mycotic Diseases: Paracoccidioidomycosis and *Ochroconis gallopava* infection. pp. 417-437. In:

Molecular identification of fungi. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin, Dordrecht, London, New York, 2010.

### 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) ◎ Ueno K, Tamura Y, Chibana H: Target validation and ligand development for a pathogenic fungal profilin, using a knock-down strain of pathogenic yeast *Candida glabrata* and structure-based ligand design. *Yeast* 27(7): 369-78, 2010. (査読有)
- 2) ◎ Nakayama H, Ueno K, Uno J, Nagi M, Tanabe K, Aoyama T, Chibana H, Bard M: Growth defects resulting from inhibiting *ERG20* and *RAM2* in *Candida glabrata*. *FEMS Microbiology Letters*. 317(1): 27-33, 2011. (査読有)
- 3) Mijiti J, Pu XM, Erfan A, Yaguchi T, Chibana H, Tanaka R: Genotyping of fluconazole-resistant *Candida albicans* isolated from Uighurian people in Xinjing (China) using ALTS/RFLP and micro-TGGE method. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 51(3): 165-8, 2010. (査読有)
- 4) Zhu J, Kang Y, Uno J, Taguchi H, Liu Y, Ohata M, Tanaka R, Moretti ML, Mikami Y: Comparison of genotypes between environmental and clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* based on microsatellite patterns. *Mycopathologia*. 169(1): 47-55, 2010. (査読有)
- 5) 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*. Epub, 2010. (査読有)
- 6) Takayama A, Itano EN, Sano A, Ono MA, Kamei K: An atypical *Paracoccidioides brasiliensis* clinical isolate based on multiple gene analysis. *Med Mycol*. 48: 64-72, 2010. (査読有)
- 7) Vivan RH, Leonello PC, Nagashima LA, Kaminami MS, Tristão FS, Sano A, Ono MA, Béjar CV, Itano EN: Soluble components of *Histoplasma capsulatum*

var. *capsulatum* have hemagglutinin activity and induce syngeneic hemophagocytosis in vitro. *Mycopathologia*, 169: 151-7, 2010. (査読有)

- 8) Yarita K, Sano A, Samerpitak K, Kamei K, de Hoog GS, Nishimura K: *Ochroconis calidifluminalis*, a sibling of the neurotropic pathogen *O. gallopava*, isolated from hot spring. *Mycopathologia*. 170: 21-30, 2010. (査読有)
- 9) Takuma D, Sano A, Wada S, Kurata O, Hatai K: A new species, *Aphanomyces salsuginosus* sp. nov., isolated from ice fish *Salangichthys microdon*. *Mycoscience*. 35: 432-444, 2010. (査読有)
- 10) Hatai K, Sano A, Nibe H, Hirae T: Pathogenicity of *Mycobacterium marinum* to Amberjack *Seriola dumerli*, Red Sea Bream *Pagrus major* and mouse. *Fish Pathology*. 45: 88-91, 2010. (査読有)
- 11) Fredrich AL, Nagashima LA, Pavanelli WR, Marquez Ade S, Kaminami MS, Carlos Nde J, Sano A, Ono MA, Itano EN: High molecular mass fraction in clinical isolates of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 43: 526-30, 2010. (査読有)
- 12) Takahashi H, Ueda K, Itano EN, Yanagisawa M, Murata Y, Murata M, Yaguchi T, Murakami M, Kamei K, Inomata T, Miyahara H, Sano A, Uchida S: *Candida albicans* and *C. tropicalis* isolates from the expired breathes of captive dolphins and their environments in an aquarium. *Veterinary Medicine International*. 22: 349364, 2010. (査読有)

#### 和文

- 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: 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, 2010.
- 2) 猿田隆夫, 佐野文子: *Trichophyton verrucosum* による体部白癬の2例. 高知市医師会医学雑誌. 15: 218-224, 2010.

#### 3. 総説, 解説, その他

- 1) 佐野文子: 真菌検査法カラーアトラス, 輸入真菌症原因菌 - 検査室で培養してはならない真菌 -, 深在性真菌症 - SDI Forum -, 6: 24-27, 2010.

#### 4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

- 1) 知花博治, 上野圭吾, 青山俊弘, 中山浩伸, 宇野潤: *Candida glabrata* を用いた *in vivo* 全遺伝子機能解析ツールの構築. 第54回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊1号): p.51, 東京, 10月16~17日, 2010.
- 2) 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, 真菌誌 51 (増刊1号): p.51, 東京, 10月16~17日, 2010.
- 3) 宮川洋三, 竹川大治, 知花博治, 宇野潤, 中山浩伸: 病原性酵母 *Candida* に対する抗真菌剤の標的としての必須遺伝子群の探索と同定, 第54回日本医真菌学会総会 (セレクトッドシンポジウム), 真菌誌 51 (増刊1号): p.66, 東京, 10月16~17日, 2010.

#### 5. 一般発表

##### 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* 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, 10月24日, 2010.
- 2) 大野道代, 青山俊弘, 大岩真理, 喜久里育也, 塚原正俊, 知花博治: 次世代シーケンサ SOLiD を用いた *Candida glabrata* の温度感受性変異の探索, 第6回真菌分子細胞研究会 要旨集 p.2. 千葉, 3月19-20日, 2010.
- 3) 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, 3月19-20日, 2010.
- 4) Nakayama H, Tanabe K, Nagi M, Chibana H, Bard M: Characterization of genes that regulate sterol uptake and transport in *Candida glabrata*. *Awaji forum*. Sep 7-10, 2010.
- 5) 上野圭吾, 松本靖彦, 宇野潤, 関水久, 知花博治: 病原因子同定に向けた病原性真菌 *Candida glabrata* による感染実験モデルの構築, 第6回真菌分子細胞研究会 要旨集 p.15. 千葉, 3月19-20日, 2010.

- 6) 上野圭吾, 松本靖彦, 宇野 潤, 笹本 要, 関水和水, 知花博治: 病原性真菌 *Candida glabrata* は, マウス腸管へ定着するために乳酸脱水素酵素 Cyt2 を必要とする, インターラボセミナー, 千葉, 12月, 2010.
- 7) 太田一良, 知花博治, 泉 可也: 遺伝子組み換え *E. coli* 及び *C. glabrata* の共培養によるアルコール生産に関する研究, バイオマスエネルギー等高効率転換技術開発(先導. 要素) 成果報告会, 東京, 2月, 2010. 2.
- 8) 佐野文子, 植田啓一, 柳沢牧央, 宮原弘和, 内田詮三: 水族館で飼育されている水棲ほ乳類に発症しうる日和見真菌症. 第149回日本獣医学会学術集会. 講演要旨集: p.97, 東京, 3月26-28日, 2010.
- 9) 佐野文子: 我が国のヒストプラズマ症と仮性皮膚. 第70回日本獣医歴史学会研究発表会, 東京, 4月24日, 2010.
- 10) 佐野文子, 春成常仁, 鏑田響子, 高橋容子, 谷川力: 都市型げっ歯類から分離された皮膚糸状菌症原因菌 *Arthroderma vanbreuseghemii*. 日本菌学会第54回大会. 講演要旨集: p.46, 東京, 5月29-30日, 2010.
- 11) 村田倫子, 佐野文子, 猪股智夫, 村上 賢: 千葉県内で飼育されているシャモ(軍鶏)から分離された *Microsporium gallinae*. 第150回日本獣医学会学術集会. 講演要旨集: p.256, 北海道, 9月16-18日, 2010.
- 12) 佐野文子, 春成常仁, 村田倫子, 谷川 力, 村田倫子, 高橋容子, 村上 賢, 猪股智夫: ドブネズミ由来の皮膚糸状菌症原因菌 *Arthroderma vanbreuseghemii* の遺伝子型. 第150回日本獣医学会学術集会. 講演要旨集: p.256, 北海道, 9月16-18日, 2010.
- 13) 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. プログラム・抄録集: p.67, 東京, 10月16-17日, 2010.
- 14) 太田美和, 木下洋和, 上條麻弥, 新美美希, 小川祐美, 比留間政太郎, 池田志孝, 佐野文子: 左手背に生じた *Exophiala xenobiotica* による phaeophycomycosis の1例. 第54回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p.70, 東京, 10月16-17日, 2010.
- 15) 宮城秀樹, 宮里仁奈, 山口紗弥加, 内海大介, 細川篤, 高橋健造, 上里 博, 佐野文子: *Fusarium* sp. による爪真菌症の1例. 第54回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集, 東京, 10月16-17日, 2010.
- 16) 岩本 怜, 横山利幸, 比留間政太郎, 佐野文子, 村上 晶: *Alternaria alternata* による角膜真菌症の1例. 第54回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p.74, 東京, 10月16-17日, 2010.
- 17) 高橋容子, 佐野文子, 村田倫子, 春成常仁, 西村和子: 千葉県内の皮膚科患者から分離された *Arthroderma vanbreuseghemii* の ITS 領域における種内多型: 第54回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p.86, 東京, 10月16-17日, 2010.
- 18) 村田佳輝, 高橋英雄, 佐野文子: *Malassezia pachydermatis* を原因菌としない動物の外耳道真菌症の5例. 第54回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p.86, 東京, 10月16-17日, 2010.
- 19) 村田倫子, 高橋沙菜, 高橋英雄, 村田佳輝, 村野多可子, 高橋容子, 宮里仁奈, 山口さやか, 細川 篤, 猪股智夫, 村上 賢, 佐野文子: シャモ(軍鶏)から分離された皮膚糸状菌症原因菌. 第54回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p.87, 東京, 10月16-17日, 2010.
- 20) 春成常仁, 佐野文子, 村田倫子, 高橋容子, 村上賢, 猪股智夫, 谷川 力: 都市型げっ歯類の皮膚糸状菌症原因菌 *Arthroderma vanbreuseghemii* の保有率. 第54回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p.87, 東京, 10月16-17日, 2010.
- 21) 佐野文子, 村田倫子, 高橋沙菜, 高橋英雄, 村田佳輝, 村野多可子, 高橋容子, 宮里仁奈, 山口さやか, 細川 篤, 大窪敬子, 須藤正巳, 猪股智夫, 村上 賢: 闘鶏用シャモから分離された皮膚糸状菌 *Microsporium gallinae*. 第51回日本熱帯医学会大会: p.04-01, 宮城, 12月3-4日, 2010.
- 22) 荒川明子, 田中壯一, 高倉俊二, 宇野 潤, 知花博治, 宮地良樹: 爪カンジダ症患者で常在カンジダが増加している, 静岡真菌アレルギー学会, 静岡, 7月, 2010.
- 23) 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 ポスター発表. 11月, 2010.

- 24) 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 口頭・ポスター発表. 11 月, 2010.
- 25) 山本 茂, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 水野貴之: 42 °C 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 ポスター発表. 11 月, 2010.
- 26) 大岩嵩裕, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 水野貴之: セルロースを糖源とした *Candida glabrata* によるエタノール生産, 第 28 回イーストワークショップ ポスター発表. 11 月, 2010.
- 27) 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 ポスター発表, 11 月, 2010.

## 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, Judith Berman 教授, アメリカ合衆国, ミネアポリス, ミネソタ大学.
- 2) 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, ダニーデン, オタゴ大学.
- 3) 佐野文子 (代表): パラコキシジオイデス症の迅速遺伝子診断法の検討, Eiko Nakagawa Itano 教授, ブラジル連邦共和国パラナ州立ロンドリーナ大学生物科学研究所.

### 2. 共同利用研究以外の国内共同研究

- 1) 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.
- 2) 知花博治: 沖縄先端バイオプロジェクト, 照屋盛実, 喜久里育也, 塚原正俊, 平野 隆, 沖縄科学技術振興センター, 沖縄トロピカルテクノセンター, 産業技術総合研究所.
- 3) 佐野文子: 鳥類由来と考えられる皮膚糸状菌症原因菌の生態調査. 細川 篤, 琉球大学 他.

- 4) 佐野文子: 沖縄美ら海水族館で飼育されているイロカ, マナティー, ウミガメの真菌症対策. 植田啓一, 宮原弘和, 内田詮三, 沖縄美ら海水族館.
- 5) 佐野文子: 獣医学領域における真菌症の分子疫学的研究, 村上 賢, 麻布大学.
- 6) 佐野文子: 疾病および病原体の疫学的特性解明による某所対策の高度化, 芝原友幸, 久保正法, 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所.
- 7) 佐野文子: ドブネズミより分離された *Artbroderma vanbreuseghemii* の分子疫学. 谷川 力, 春成常仁, (株) イカリ消毒技術研究所.

## 国際交流

### 1. 海外研究者受け入れ

- 1) マシユー アラン ウッズ (ニュージーランド, オタゴ大学博士研究員) 2010 年 6 月〜.
- 2) ベレニセ トモコ タチバナ (ブラジル, パラナ州ロンドリーナ市職員, 歯科医師) 2010 年 7 月 JICA 日系研修 (佐野文子).

## 教育活動

### 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. 琉球大学医学部講義, 微生物学 (細菌学), 千葉大学園芸学部講義, 千葉大学大学院自然科学研究科特論 真菌分子細胞学, 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: 真菌のゲノム), 明治薬科大学大学院講義.
- 2) 佐野文子: 融合千葉大学大学院科学研究科 (真菌感染機構論), 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: 真菌による病気), 千葉大学園芸学部講義.

## 外部資金

### 科学研究費補助金

- 1) 知花博治 (代表), 宇野 潤 (分担): 特定領域「感染マトリックス」カンジダフェノームプロジェクト 第 3 章: 病原性改訂に向けた研究, 平成 21 ~ 22 年

度（平成 22 年度は 610 万円）。

- 2) 知花博治（代表）、Woods Matthew（分担）：JSPS 特別奨励研究費：病原性真菌ガンジダグラブラータにおけるグルカン合成酵素の細胞内極性と機能解析，平成 22 年度（100 万円）。
- 3) 吉川泰弘（代表）、佐野文子（分担）：厚生労働省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「動物由来感染症のリスク分析手法等に基づくリスク管理のあり方に関する研究」－高病原性真菌等に由来する動物由来感染症に関する研究 210 万円（平成 22 年度）。

#### その他の外部資金

- 1) 知花博治（代表）：沖縄県「先端バイオ研究基盤高度化事業」平成 20 ～ 22 年度（平成 22 年度は 368 万円）。
- 2) 知花博治（代表）：（株）Biomaterial in Tokyo 受託研究：（平成 21 年度は 45 万円，間接経費 9 万円）。
- 3) 知花博治（代表）：（株）Biomaterial in Tokyo 共同研究，平成 21 ～ 22 年度（平成 22 年度は 100 万円）。
- 4) 佐野文子（代表）：国際協力機構日系人研修事業，医真菌学での国際共同研究の構築。平成 22 年度（22 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, 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, 共同備品委員会委員, 共同利用委員会委員, 病原体等安全管理委員会委員, 有害廃棄物委員会委員, 広報委員会委員, 放射性同位元素委員会委員長, 自己点検・評価委員会委員, 防災対策委員会委員, 倫理審査委員会委員, 教員定期評価委員会委員, 選考委員会委員, テニュアトラック教員 (感染免疫分野・准教授) 選考委員会委員, 教員 (感染免疫分野助教) 選考委員会委員, DNA 断片化装置機種選定委員, 次世代型シーケンサー機種選定委員, 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

## 技術職員: 上田由美子

## 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  
これまでに, ヒトゲノムに存在する 3 種の RLR のうち, RIG-I と MDA5 が異なる構造のウイルス由来 RNA を特異的に検知し, ATP 依存的な構造変化によって活性化に変化し, 下流へとシグナルを伝達することを明らかにしてきた (Yoneyama et al. 2004). 特に RIG-I による生化学的な解析からその C 末端領域が非自己 RNA 認識に必須であることを見だし (Takahasi et al. 2008), 本年度はそれによる RNA 認識による分子内活性化機構について分子生物学的・生化学的な手法で解析を行った。

## 2. RLR の細胞内局在変化とその生理機能の解析

抗 RIG-I 抗体を用いた解析から, ウイルス感染に応答して RIG-I がその細胞内局在を大きく変化させることを見いだした. その分子機構について検討を行った。

## 3. RLR と内在性 RNA との会合による細胞機能制御の解析

RLR は自己と非自己の RNA を識別してその生理機能を発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. 少なくとも複数の内在性 RNA が RIG-I の基質として機能し得ることが明らかになったことから, その生理的な意義についてさらに検討を行った。

## 4. RLR を介したシグナル伝達の分子機構の解析

活性化された RLR はミトコンドリア上に発現するアダプター分子 Interferon- $\beta$  promoter stimulator (IPS-1) を介してシグナルを伝達することが知られているが, ウイルス感染に応答して, IPS-1 がミトコンドリア上でダイナミックな局在変化を起こすことにより, シグナル伝達に関与していることを明らかにした。

## 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) ◎ Onoguchi K, Onomoto K, Takamatsu S, Jogi M, Takemura A, Morimoto S, Julkunen I, Namiki H, Yoneyama M, Fujita T: Virus-infection or 5'ppp-RNA activates antiviral signal through redistribution of IPS-1 mediated by MFN1. PLoS Pathg. 6 : e1001012, 2010. (査読有)
- 2) ◎ Takahasi K, Horiuchi M, Fujii K, Nakamura S, Noda NN, Yoneyama M, Fujita T, Inagaki F: Ser386

phosphorylation of transcription factor IRF-3 induces dimerization and association with CBP/p300 without overall conformational change. *Genes Cells* 15: 901-910, 2010. (査読有)

- 3) © Satoh T, Kato H, Kumagai Y, Yoneyama M, Sato S, Matsushita K, Tsujimura T, Fujita T, Akira S, Takeuchi O: LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 1512-1517, 2010. (査読有)

## 2. 総説, 解説, その他

- 1) Yoneyama M, Fujita T: Recognition of viral nucleic acids in innate immunity. *Rev Med Virol* 20: 4-22, 2010. (査読有)
- 2) 常喜儒彦, 米山光俊: 自然免疫に対抗するウイルスの阻害分子. *細胞工学*, 29(10): 988-993, 2010.
- 3) 米山光俊: ウイルス感染のセンサーとインターフェロン. *化学療法の領域*, 26(5): 743-750, 2010.

## 3. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

- 1) 米山光俊: ウイルス感染に応答した自然免疫誘導のメカニズム 千葉大学 G-COE セミナー 千葉, 7月15日, 2010.

## 4. 一般発表

### 国際学会

- 1) Onomoto K, Yoneyama M, Fujita K: Analysis of intracellular localization of viral RNA sensor, RIG-I. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology, Kobe, Japan, Aug 22-27, 2010.
- 2) Onoguchi K, Yoneyama M, Fujita T: The local condensation of IPS-1 mediated by mitochondrial dynamics. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology, Kobe, Japan, Aug 22-27, 2010.
- 3) Okazaki T, Higuchi M, Tkeda K, Miyagishi M, Kato A, Yoneyama M, Fujita T, Ichijo H, Gotoh Y: The ASK MAPKKK family mediates host defense responses against viral infection. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology, Kobe, Japan, Aug 22-27, 2010.

### 国内学会

- 1) 應田涼太, 尾野本浩司, 米山光俊, 藤田尚志: ウイルスセンサー RIG-I によって誘導される microRNA

の機能解析 第75回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 抄録集: p. 68, 小倉, 6月25~26日, 2010.

- 2) 尾野本浩司, 西川千紘, 米山光俊, 藤田尚志: 血球系細胞活性化時における RIG-I シグナルの機能解析 第75回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 抄録集 p. 69, 小倉, 6月25~26日, 2010.
- 3) 常喜儒彦, 尾野本浩司, 米山光俊, 藤田尚志: ウイルス感染時における RLRs の細胞内局在の解析 第75回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 抄録集 p. 70, 小倉, 6月25~26日, 2010.
- 4) Takahashi K, Horiuchi M, Fujii K, Nakamura S, Noda N, Yoneyama M, Fujita T, Inagaki F: Ser386 phosphorylation of transcription factor IRF-3 induces dimerization and association with CBP/p300 without overall conformational change. *BMB2010*, プログラム p. 177, 神戸, 12月7~10日, 2010.

## 共同研究

### 1. 共同利用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.

## 教育活動

### 講義

- 1) 米山光俊: 筑波大学大学院人間総合科学研究科 非常勤講師.

## 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 22 年度, 直接経費 1,590 万円, 間接経費 477 万円).
- 2) 米山光俊 (代表): 日本学術振興機構戦略的創造推進事業さきがけ (RNA と生体機能) 「細胞内ウイル

センサーによる非自己 RNA 認識様式の解明」平成 18 ～ 22 年（平成 22 年度，直接経費 1,050 万円，間接経費 315 万円）。

#### その他の外部資金

##### 学長裁量経費

- 1) 感染免疫分野および全体：平成 22 年度千葉大学学長裁量経費「学部等改革推進経費」真菌医学研究センターの改組に伴って新設された感染免疫分野の環境整備費および国際化を目指した体制刷新経費（直接経費 200 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「免疫不思議未来」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 22 年度日本インターフェロン・サイトカイン学会奨励賞

## 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 CDR 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*) のノックアウト (KO) マウスを作製し, Dectin-1 が真菌の細胞壁成分である  $\beta$  グルカン を認識し, サイトカインや活性酸素種 (ROS) の産生に関与していることを見出した. Dectin-1 KO マウスを用いて感染実験を行ったところ, 免疫抑制条件下で *Pneumocystis carinii* (*P. carinii*) の感染防御に重要な役割を担っていることが示された. 一方, 別の真菌である *C. albicans* に対する感染感受性は野生型マウス (WT) と比較し, 差が認められなかった. その理由として, 真菌細胞壁は  $\beta$  グルカン以外にもマンノプロテイン, キチンなどが主要な構成成分として知られるが, これらの  $\beta$  グルカン以外の成分を認識する宿主因子による補償機構が働いている可能性が考えられた. とここで, Dectin-1 の近傍にコードされる Dectin-2 (gene symbol: *Clec4n*) が高マンノース構造を認識することが報告されたが, この高マンノース構造は真菌細胞壁にも存

在する. そこで Dectin-2 KO マウスを作製し, *C. albicans* 感染防御への関与を検討した. その結果, 1) Dectin-2 は *C. albicans* の細胞壁の  $\alpha$  マンナンを認識し, 強力にサイトカイン産生を誘導すること, 2) Dectin-2 KO マウスは *C. albicans* に対し易感染性になり, WT マウスと比較し感染後の生存率が低下すること, 3) Dectin-2 を介するサイトカイン産生は naïve T 細胞を Th17 細胞に優先的に分化させること, の 3 点を明らかにした.

### 2. 自己免疫性関節炎の発症機構に関する研究

ケモカインやケモカインレセプターは関節リウマチの治療薬の標的分子として注目を集めている. そのなかでも, CXCR4 はヒトの関節リウマチ患者の T 細胞で発現が亢進していることなどから病態形成への関与が示唆されていた. しかし, CXCR4 KO マウスは胎生致死であることから, 関節炎発症における CXCR4 の役割は不明であった. 私達は, T 細胞特異的に CXCR4 を欠損するマウス (*Cxcr4<sup>flx/flx</sup>/Lck-Cre*) を作製し, コラーゲン誘導関節炎 (CIA) の誘導を行うことにより, T 細胞に発現する CXCR4 の病態形成における役割の検討を行った. その結果, *Cxcr4<sup>flx/flx</sup>/Lck-Cre* マウスではコントロールマウスと比較し, CIA の発症率が有意に低下することを見出した. また, コラーゲンで免疫後の活性化 T 細胞で CXCR4 の発現が亢進し, SDF-1 に対する遊走能が亢進することを明らかにした. *In vivo* では, 関節炎を発症したコントロールマウスの炎症局所で CXCR4 を発現する T 細胞の集積が観察されたが, *Cxcr4<sup>flx/flx</sup>/Lck-Cre* マウスでは, T 細胞の集積が有意に低下していた. これらの結果から, 関節炎発症時に CXCR4 依存的に T 細胞が炎症局所に集積することが病態形成に重要な役割を果たしている可能性が示された.

### 3. 乾癬様皮膚炎発症機構に関する研究

IL-1 は炎症性サイトカインの一種で, IL-1 $\alpha$  と IL-1 $\beta$  の 2 種類のアイソフォームが存在し, 同じ I 型 IL-1 レセプター (IL-1RI) に結合する. 一方, IL-1 レセプ

ター・アンタゴニスト (IL-1Ra) は同じ IL-1RI に結合するがシグナルを伝達せず, IL-1 の内在性抑制因子として機能する。私達は, IL-1Ra KO マウスが関節炎や血管炎等の自己免疫疾患を自然発症することを先に報告したが, このマウスは同時に乾癬様の皮膚炎を発症する。皮膚炎の発症機構を解明する目的で, IL-1Ra KO マウスと TNF KO, IL-6 KO および IL-17 KO マウスと交配したところ, 関節炎や血管炎などの自己免疫性疾患を同様に, 皮膚炎の発症も TNF の欠損により完全に抑制されたが, IL-6 の欠損は発症に全く影響を及ぼさなかった。ところが, 関節炎や血管炎の発症が IL-17 の欠損により完全に抑制されるのに対し, 皮膚炎は IL-17 欠損の影響を受けず, IL-17 KO マウスでも野生型 IL-1Ra KO マウスと同等に皮膚炎を発症した。さらに, IL-1Ra KO マウスの T 細胞を SCID マウスに移植しても皮膚炎は発症せず, T 細胞非依存的に病態が形成されている可能性が示された。そこで, ケラチノサイトを IL-1 で刺激したところ, TNF や CXCL1, CXCL10, CCL20 といったケモカインの発現が亢進することが明らかとなった。これらの結果から, IL-1 は直接ケラチノサイトに作用し, TNF やケモカインの発現を誘導することにより, T 細胞非依存的に乾癬様皮膚炎の発症に関与している可能性が示唆された。

## 研究成果の発表

### 1. 著書

- 1) 西城 忍:  $\beta$  グルカン受容体と自然免疫「 $\beta$  グルカンの基礎と応用」大野尚仁監修, pp. 119-126, シーエムシー出版, 東京, 2010.

### 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, Ikeda S, Yamabe K, Kakuta K, Ishigame H, Akitsu A, Fujikado N, Kusaka T, Kubo S, Chung SH, Komatsu R, Miura N, Adachi Y, Ohno N, Shibuya K, Yamamoto N, Kawakami K, Yamasaki S, Saito T, Akira S and Iwakura Y. Dectin-2 Recognition of  $\alpha$ -Mannans and Induction of Th17 Cell Differentiation is Essential for Host Defense against *Candida albicans*. *Immunity* 32(5): 681-691, 2010. (査読有)

- 2) ◎ Chung SH, Seki K, Choi BI, Kimura KB, Ito A, Fujikado N, Saijo S, and Iwakura Y. 2010. CXC chemokine receptor 4 expressed in T cells plays an important role in the development of collagen-induced arthritis. *Arthritis Res Ther* 12(5): R188, 2010. (査読有)
- 3) ◎ Nakajima A, Matsuki T, Komine M, Asahina A, Horai R, Nakae S, Ishigame H, Kakuta S, Saijo S, and Iwakura Y. TNF, but Not IL-6 and IL-17, Is Crucial for the Development of T Cell-Independent Psoriasis-Like Dermatitis in *Il1rn*<sup>-/-</sup> Mice. *J Immunol* 185(3): 1887-1893, 2010. (査読有)
- 4) ◎ Ritter M, Gross O, Kays S, Ruland J, Nimmerjahn F, Saijo S, Tschopp J, Layland LE, and Prazeres da Costa C. *Schistosoma mansoni* triggers Dectin-2, which activates the Nlrp3 inflammasome and alters adaptive immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 107(47): 20459-20464, 2010. (査読有)
- 5) ◎ Echeverry A, Saijo S, Schesser K and Adkins B. *Yersinia enterocolitica* Promotes Robust Mucosal Inflammatory T-Cell Immunity in Murine Neonates. *Infect Immun* 78(8): 3595-3608, 2010. (査読有)
- 6) ◎ Xiao G, A. Miyazato A, Y. Abe Y, T. Zhang T, K. Nakamura K, K. Inden K, M. Tanaka M, D. Tanno D, T. Miyasaka T, K. Ishii, K. K. Tkateda K, S. Akira S, S. Saijo S, Y. Iwakura Y, Y. Adachi Y, N. Ohno N, H. Kunishima H, Y. Hirakata Y, M. Kaku M, and K. Kawakami K. 2010. Activation of myeloid dendritic cells by deoxynucleic acids from *Cordyceps sinensis* via a Toll-like receptor 9-dependent pathway. *Cell Immunol* 263(2): 241-250, 2010. (査読有)

### 3. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

- 1) 西城 忍: 日本サイトカイン・インターフェロン学会奨励賞受賞講演, 第 75 回日本インターフェロン・サイトカイン学会, 小倉, 6 月 25 日, 2010.
- 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 31 回関東医真菌懇話会, 講演要旨集 p. 8, 東京, 7 月 3 日, 2010.

#### 4. 一般発表

##### 国際学会

- 1) Saijo S, and Iwakura Y. A C-type lectin that involved in the host defense against fungi plays an important role in the development of autoimmune arthritis. 7<sup>th</sup> International Congress on Autoimmunity, Ljubliana, Slovenia, May 5-9, 2010.
- 2) Saijo S, Ikeda S, Ohno N, Adachi Y, Miura N, and Iwakura Y. The roles of C-type lectins in the host defense against fungal infection. 14<sup>th</sup> international congress of immunology, Kobe Japan, August 22-27, 2010.
- 3) Chung S.-H., Kimura K, Ito A, Fujikado N, Saijo S, and Iwakura Y. CXCR4 expressed in T cells plays an important role in the development of autoimmune arthritis. 14<sup>th</sup> international congress of immunology, Kobe Japan, August 22-27, 2010.
- 4) Akitsu A, Ishigame H, Kakuta S, Saijo S, and Iwakura Y. IL-17-producing gamma-delta T cells is important for the development of arthritis in a rheumatoid arthritis model. 14<sup>th</sup> international congress of immunology, Kobe Japan, August 22-27, 2010.
- 5) Ikeda S, Saijo S, and Iwakura Y. Development of Th17-dependent arthritis in IL-6-deficient IL-1 receptor antagonist-deficient mice. 14<sup>th</sup> international congress of immunology, Kobe Japan, August 22-27, 2010.
- 6) Saijo S, Ikeda S, Miura N, Adachi Y, Ohno N, Kakuta S and Iwakura Y. The roles of C-type lectins in the host defense against fungal infection. The 10<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity, September 7-10, 2010.
- 7) Saijo S, Ikeda<sup>1</sup> S, Miura N, Adachi<sup>2</sup> Y, Ohno N, and Iwakura Y. The roles of C-type lectins in the host defense against fungal infection. 8<sup>th</sup> Joint Meeting of the International Cytokine Society (ICS) and the International Society for Interferon and Cytokine Research (ISICR), Chicago, Illinois, USA, October 3-7, 2010.
- 8) Ikeda S, Saijo S, and Iwakura Y. Development of TH17-dependent arthritis in IL-6-deficient IL-1 receptor antagonist-deficient mice. 8<sup>th</sup> Joint Meeting of the International Cytokine Society (ICS) and the

International Society for Interferon and Cytokine Research (ISICR), Chicago, Illinois, USA, October 3-7, 2010.

- 9) Chung S.-H., Seki K, Kimura KB, Ito A, Choi B.-I, Fujikado N, Saijo S, and Iwakura Y. CXCR4 expressed in T cells plays an important role in the development of autoimmune arthritis. 8<sup>th</sup> Joint Meeting of the International Cytokine Society (ICS) and the International Society for Interferon and Cytokine Research (ISICR), Chicago, Illinois, USA, October 3-7, 2010.
- 10) Akitsu A, Ishigame H, Kakuta S, Saijo S, and Iwakura Y. IL-17-producing  $\gamma\delta$  cells are important for the development of arthritis in a rheumatoid arthritis model. 8<sup>th</sup> Joint Meeting of the International Cytokine Society (ICS) and the International Society for Interferon and Cytokine Research (ISICR). Chicago, Illinois, USA, October 3-7, 2010.

##### 国内学会

- 1) 西城 忍, 池田聡史, 鄭 琇絢, 秋津 葵, 三浦典子, 安達禎之, 大野尚仁, 山崎 晶, 齊藤 隆, 岩倉洋一郎: C型レクチンによるサイトカイン産生と生体防御機構, 第75回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 抄録集 p.114, 小倉, 6月25~26日, 2010.
- 2) 秋津 葵, 石亀晴道, 角田 茂, 西城 忍, 岩倉洋一郎: IL-17産生性 $\gamma\delta$ T細胞は自己免疫性関節炎モデルにおける関節炎発症に重要である, 第75回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 抄録集 p.75, 小倉, 6月25~26日, 2010.
- 3) 西城 忍, 池田聡史, 山辺恵子, 秋津 葵, 藤門範行, 岩倉洋一郎: C型レクチン遺伝子ノックアウトライブラリーの作製, 第57回日本実験動物学会総会, 講演要旨集 p.87, 京都, 5月12~14日, 2010.
- 4) 秋津 葵, 石亀晴道, 角田 茂, 西城 忍, 岩倉洋一郎: IL-17産生性 $\gamma\delta$ T細胞は自己免疫性関節炎モデルにおける関節炎発症に重要である: 第57回日本実験動物学会総会, 講演要旨集 p.94, 京都, 5月12~14日, 2010.
- 5) 角田 茂, 西城 忍, 藤門範行, 久保幸子, 佐藤希, 渋谷亜矢子, 劉 陽, 風間恵美子, 岩倉洋一郎: 東京大学医科学研究所システム疾患モデル研究セ

ンターにおける遺伝子改変マウスの供給について:  
第 57 回日本実験動物学会総会, 講演要旨集 pp.138,  
京都, 5 月 12 ~ 14 日, 2010.

#### 学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録査読委員.

#### 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 (特定領域研究)「真菌感染防御における C 型レクチン

の役割」平成 21 ~ 22 年度 (平成 22 年度, 直接経費 380 万円).

- 2) 西城 忍 (分担): 文部科学省科学研究費補助金 (基盤研究 (S))「疾患のシステムの理解を目指した IL-1 関連遺伝子欠損マウスライブラリーの作製」(代表: 岩倉洋一郎) 平成 20 ~ 23 年度 (平成 22 年度 直接経費 30 万円, 間接経費 9 万円).

##### その他の外部資金

- 1) 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).

# 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 Researches])

## 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, 第84回日本感染症学会学術講演会プログラム委員, 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, Advances Against Aspergillosis (国際アスペルギルス症学会) Scientific Committee & Faculty, キャンディン研究会世話人
- 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)
- 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, 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, 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生物遺伝資源委員会委員

## 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
- 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
- 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, 日本内分泌擾乱化学物質学会
- その他 千葉市環境影響評価審査会, 亥鼻地区職員等駐車場区域利用者委員会会計監査

## 助教(兼任): 渡辺 哲

- 学内委員 附属病院 ICT 委員, 附属病院病院感染管理委員, 附属病院保険委員, 附属病院ベッドマネージャー委員, 附属病院がん化学療法委員
- 所属学会 日本内科学会, 日本呼吸器学会, 日本感染症学会, 日本医真菌学会, 日本細菌学会, 日本化学療法学会, 日本結核病学会, 日本臨床微生物学会, 日本病理学会
- 学協会への貢献 千葉真菌症研究会世話人, 千葉真菌症カンファレンス世話人, 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, 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

- センター内委員 図書委員

○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  
 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: 落合恵理 (2010. 4. 1 ~ 4. 31 まで)  
 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: 永吉 優 (2006. 4 ~ 2010. 3)  
 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 ~)

## 研究概要 (共同研究を含む)

### 1. 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、エピソードの絞り込み等の更に詳細な検討を続けている。また、共同利用研究において可溶性抗原タンパク質の精製を行い、いくつかの抗原タンパク質を可溶化できた。これらの可溶性抗原タンパク質のさらなる応用が期待される。

### 2. 宿主側の *Aspergillus fumigatus* 認識受容体に関する研究

近年、感染初期の自然免疫応答が注目を浴びている。細菌やウイルスでは病原体を認識する受容体について盛んに研究が行われている。しかしながら、真菌についてはその研究は緒についたばかりである。

我々は樹状細胞株 DC2.4 細胞に *A. fumigatus* を感染させると宿主側転写因子 AP-1 の活性化が惹起されることを見出した。この AP-1 活性化は *A. fumigatus* 膨化分生子において最も強く惹起された。膨化分生子表面に  $\beta$ -グルカンが露出されることを確認し、 $\beta$ -グルカン受容体 Dectin-1 が AP-1 活性化に重要と推測した。種々の実験より、Dectin-1 が *A. fumigatus* 表面の  $\beta$ -グルカンと会合することによって AP-1 活性化が惹起されることを明らかとし、さらに Dectin-1 細胞質ドメインで会合する Syk チロシンキナーゼが AP-1 活性化に重要であることも確認した。また、宿主細胞からの TNF- $\alpha$  産生にも  $\beta$ -グルカン認識による Dectin-1/Syk/AP-1 のシグナルが重要であることを示した。現在、Syk チロシンキナーゼ下流で本シグナル伝達に関わっていると考えられる MAP キナーゼについて解析を行い、主な MAP キナーゼ経路のうち、MEK/ERK 経路が AP-1 活性化および TNF- $\alpha$  産生に重要な役割を果たしていることを明らかとした。

並行して、Dectin-1 以外の *A. fumigatus* 認識受容体を探索する試みも行っている。

### 3. *Aspergillus fumigatus* 成長に血清成分が及ぼす影響

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、血清中に含まれる生育促進因子を同定し、この因子単独で菌糸伸長を促進することを確認した。さらに、この因子が菌糸の分枝を増大させる事が観察の結果、明らかとなった。更にこの因子が *A. fumigatus* に及ぼす影響および分子機構について検討を行っている。

#### 4. 真菌の吸入による肺高血圧症に関する研究

これまでに *Stachybotrys chartarum* の胞子を経気管的に反復投与したマウスで肺動脈壁中膜・内膜の肥厚および狭窄、右室圧の上昇が生じることを確認し、これらがヒトの肺高血圧症に非常に類似していることを確認してきた。本年は室内環境内に多く浮遊する菌種を用い、本病変形成の菌種間差および菌株間差について検討を進めた。その結果、*S. chartarum* と *Aspergillus fumigatus* では、各々複数の株で同様の肺動脈病変が形成されることを確認した。*Cladosporium cladosporioides* ではこれらの菌種よりも大量の胞子を投与した場合にのみ同様の病変形成を認めた。これらに対し、*Penicillium citrinum*, *P. chrysogenum* ではこの病変形成は認められず、菌種により本病変の形成能が異なる可能性が示された。更に菌種および菌株を増やして本病変形成の検討を行っている。

一方、*S. chartarum* および *A. fumigatus* のマイコトキシン産生性を検討したところ、*S. chartarum* から trichothecene を検出するとともに、両菌種から gliotoxin を検出した。さらに *S. chartarum* の複数株について系統解析を行ったところ、*S. chartarum* とされていた菌株は *S. chartarum* と *S. chlorohalonata* の 2 種に大別された (系統・化学分野/矢口准教授との共同研究)。これら菌種の相違と本病変形成との関係については、今後更に検討を進めたい。

また、本病変の形成機序を検討するためにヒト肺動脈血管内皮細胞または血管平滑筋細胞を *S. chartarum* の胞

子洗浄液に曝露したところ、前者の培地中において IL-8 産生の増加を認めた。また、*S. chartarum* 投与モデルに Rho-kinase inhibitor の長期経口投与を行ったところ、肺動脈 remodeling が有意に抑制されることが示された。今後、肺血管病変の形成における cytokine や RhoA/Rho-kinase 経路の関与についての検討を予定している。

#### 5. 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とプライマーを設計した。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、*H. capsulatum* 14/19 株は検出されたが、5/19 株は検出されなかった。*H. capsulatum* 以外の真菌においては 14 株のすべてが検出されなかった。以上の結果から、現在、更に特異性の高いサイクリングプローブとプライマーの設計を進めている。

#### 6. 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* の 28S rDNA の塩基配列解析とイントロンによるタイピング

継続している本菌のイントロンに関する研究では、本領域の 3 か所に検出された group 1 イントロンは、検出された挿入位置に特異的な subgroup が、28S の上流から IC1, IC1, IE の順で同定されている。これらを検出するために設計した primer sets で *P. verrucosa* および近縁菌 *Phialophora americana* の 28S におけるこれらイントロンの有無について、日本、中国、南米等の 5 カ国から分離された株で検討した結果、地域との相関性を示唆する結果が次の様に得られた。即ち、上記 3 種のイントロンの subgroup, 挿入位置に基づき 5 タイプが検出され、タイプ 'F' は全ての分離国で最も多く分離され、1 株を除く全ての中国株は本タイプであった。また IE に由来する 'イントロン H' は南米株にのみ検出され、タイプ

‘FH’ としてベネズエラ, コロンビア株に, ‘FGH’ としてブラジル株に検出されていた。

#### 7. ウシの皮膚糸状菌症原因菌 *Trichophyton verrucosum* のゲノムのタイピングと rDNA 上の株識別領域の探索について

*T. verrucosum* によるウシの皮膚糸状菌症および関連するヒトの体部白癬の原因菌の感染経路特定の為に, ゲノムの RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) によるタイピングを行った。反応に用いた primer によりその profile が全く同一であったり, 更に 3~7 タイプが検出できたり, 本手法の簡便性からも疫学調査に利用できる事が期待できた。続いて, element 単位の変異に由来するタイピングとして, rDNA の IGS 領域 (intergenic spacer region) に本菌に特異的な repeat 構造 (VIR 領域 [variable internal repeat region]) を見出し, それを指標として検討する事を目的とした。IGS は進化速度が速く, 生物間では全く異なる配列で, 本菌の塩基配列もデータベースには存在しない。従って先ず IGS の塩基配列解析を行った。その結果本菌の IGS は 3 株で 3000 bps 前後の配列が得られ, その特徴は 1200 bps 近辺に 170~200 bps の element が幾つか繰り返される VIR を持つ事が推測された。更に数株の塩基配列の詳細解析を行う事で, タイピング指標としての有用性が期待できた。

## 研究成果の発表

### 1. 著書

- 1) 渡辺 哲, 亀井克彦: 肺クリプトコックス症とその他の肺真菌症。「呼吸器疾患最新の治療 2010-2012」, 貫和敏博, 杉山幸比古, 門田淳一編集, pp. 260-263, 南光堂, 2010. 2. 15 発行。
- 2) 渡辺 哲, 亀井克彦 (分担): 各病原微生物・感染症のガイドライン 5. 真菌感染症 c) 二形性真菌 (いわゆる輸入真菌症)。「感染症診療ガイドライン 総まとめ」, 岩田健太郎 (神戸大学医学部感染症内科), pp. 54-57, 総合医学社, 2010. 3. 19 発行。
- 3) 亀井克彦 (分担): アレルギー性気管支肺アスペルギルス症。今日の診断指針 第 6 版, 総編集: 金沢一郎, 永井良三, pp. 946-948, 医学書院, 2010. 3 発行。
- 4) 亀井克彦 (分担): 抗真菌薬。「50 音順・商品名でわかる治療薬事典」, pp. 144-145, 監修: 黒川 清, 山内豊明, 総合医学社, 2010. 6. 30 発行。
- 5) 亀井克彦 (分担): アスペルギルス症の疫学。特殊状態におけるクリプトコックス感染症の治療戦略と *C. gattii* の治療 3) *Cryptococcus gattii* の治療。ガイドラインサポートハンドブック IDSA ガイドライン 真菌症治療の UP-TO-DATE. pp. 174-177, pp. 311-315, 河野 茂編, 医薬ジャーナル社, 2010. 9. 5 発行。
- 6) 渡辺 哲, 亀井克彦 (分担): 侵襲性肺アスペルギルス症/慢性肺アスペルギルス症/その他 8) 侵襲性肺アスペルギルス症の予防~その対象者と治療薬について~。ガイドラインサポートハンドブック IDSA ガイドライン 真菌症治療の UP-TO-DATE. pp. 230-235, 河野 茂編, 医薬ジャーナル社, 2010. 9. 5 発行。
- 7) 亀井克彦, 渡辺 哲 (分担): [4.5] 真菌感染症 カンジダ症, アスペルギルス症。図説 臨床看護医学 デジタル版 8: 感染症. pp. 1-2, 松本哲哉監修, エディターシップ, 2010. 5 発行。
- 8) 渡辺 哲, 亀井克彦 (分担): 真菌感染症。「看護学テキスト 疾病と治療 I 全身性/呼吸器系/循環器系/感染症/中毒/救急」 pp. 261-3, 総編集: 松田 暉, 荻原俊男, 難波光義, 鈴木久美, 林 直子, 南江堂, 2010. 12. 1 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) Takayama A, Itano EN, Sano A, Ono MA, Kamei K: An atypical *Paracoccidioides brasiliensis* clinical isolate based on multiple gene analysis. *Med Mycol* 48(1): 64-72, 2010. (査読有)
- 2) Vivan RH, Leonello PC, Nagashima LA, Kaminami MS, Tristão FS, Sano A, Ono MA, Béjar CV, Itano EN: Soluble Components of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* have hemagglutinin activity and induce syngeneic hemophagocytosis in vitro. *Mycopathologia* 169(3): 151-7, 2010. (査読有)
- 3) ◎ Watanabe A, Matsumoto K, Igari H, Uesato M, Yoshida S, Nakamura Y, Morita K, Shibuya K, Matsubara H, Yoshino I, Kamei K: Comparison between concentrations of amphotericin B in infected lung lesion and in uninfected lung tissue in a patient

- treated with liposomal amphotericin B (AmBisome). *Int J Infect Dis.* 14(3): e220-3, 2010. (査読有)
- 4) Kawabata Y, Watanabe A, Yamaguchi S, Aoshima M, Shiraki A, Hatamochi A, Kawamura T, Uchiyama T, Watanabe A, Fukuda Y: Pleuropulmonary pathology of vascular Ehlers-Danlos syndrome: spontaneous laceration, haematoma, and fibrous nodules. *Histopathology* 56(7): 944-50, 2010. (査読有)
  - 5) Shimizu K, Li HM, Virtudazo EV, Watanabe A, Kamei K, Yamaguchi M, Kawamoto S: Deletion of CnLIG4 DNA ligase gene in the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* elevates homologous recombination efficiency. *Mycoscience* 51(1): 28-33, 2010. (査読有)
  - 6) Yamazaki Y, Akashi R, Banno Y, Endo T, Ezura H, Fukami-Kobayashi K, Inaba K, Isa T, Kamei K, Kasai F, Kobayashi M, Kurata N, Kusaba M, Matuzawa T, Mitani S, Nakamura T, Nakamura Y, Nakatsuji N, Naruse K, Niki H, Nitasaka E, Obata Y, Okamoto H, Okuma M, Sato K, Serikawa T, Shiroishi T, Sugawara H, Urushibara H, Yamamoto M, Yaoita Y, Yoshiki A, Kohara Y: NBRP databases: databases of biological resources in Japan. *Nucleic Acids Res* 38 (Database issue): D26-32, 2010. (査読有)
  - 7) Oarada M, Igarashi M, Tsuzuki T, Kamei K, Hirasaka K, Nikawa T, Miyazawa T, Nakagawa K, Gono T: Effects of a high-protein diet on host resistance to *Paracoccidioides brasiliensis* in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 74(3): 620-6, 2010. (査読有)
  - 8) Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, Miyazaki Y: An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. *Intern Med* 49(5): 491-5, 2010. (査読有)
  - 9) Yarita K, Sano A, Samerpitak K, Kamei K, de Hoog GS, Nishimura K: *Ochroconis calidifluminalis*, a sibling of the neurotropic pathogen *O. gallopava*, isolated from hot spring. *Mycopathologia* 170(1): 21-30, 2010. (査読有)
  - 10) Ohji G, Kikuchi K, Inoue K, Imoto K, Yamamoto S, Hosokawa N, Kamei K, Iwata K: Progressive disseminated histoplasmosis in an immunocompetent patient as an underrecognized imported mycosis in Japan. *J Infect Chemother* 16(6): 443-445, 2010. (査読有)
  - 11) Igari H, Segawa S, Watanabe A, Suzuki A, Watanabe M, Sakurai T, Kuroda F, Watanabe M, Tatsumi K, Nakayama M, Nakayama T, Suzuki K, Sato T: Immunogenicity of a monovalent pandemic influenza A H1N1 vaccine in health-care workers of a university hospital in Japan. *Microbiol Immunol* 54(10): 618-624, 2010. (査読有)
  - 12) Nagai H, Odawara T, Ajisawa A, Tanuma J, Hagiwara S, Watanabe T, Uehira T, Uchiyama H, Yotsumoto M, Miyakawa T, Watanabe A, Kambe T, Konishi M, Saito S, Takahama S, Tateyama M, Okada S: Whole brain radiation alone produces favourable outcomes for AIDS-related primary central nervous system lymphoma in the HAART era. *Eur J Haematol* 84(6): 499-505, 2010. (査読有)
  - 13) 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(5): 717-719, 2010. (査読有)
  - 14) Zhu J, Kang Y, Uno J, Taguchi H, Liu Y, Ohata M, Tanaka R, Moretti ML, Mikami Y: Comparison of genotypes between environmental and clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* based on microsatellite patterns. *Mycopathologia.* 169(1): 47-55, 2010. (査読有)
  - 15) 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.
- 和文**
- 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: 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(3): 212-213, 2013.
- 3. 総説・解説・その他**
- 1) 亀井克彦: 深在性真菌症の血清診断. 検査と技術

38(2): 121-4, 2010.

- 2) 亀井克彦: 欧米で臨床使用されている抗真菌薬 ポサコナゾール. 化学療法の領域 26(4): 598-602, 2010.
- 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 21 年度研究成果報告書 pp.58-61, 2010.
- 4) 亀井克彦 (分担): 1 輸入真菌症の国内発生状況調査とヒストプラズマ症の血清診断法に関する基礎的研究. 厚生労働科学研究費補助金 (新興・再興感染症研究事業)「深在性真菌症と輸入真菌症に関する新しい検査法と抗真菌薬の開発, 並びに病原因子の解明に向けたポストゲノムの基盤的研究」平成 21 年度総括・分担研究報告書 pp.19-27, 2010.
- 5) 渡辺 哲, 亀井克彦: 気をつけるべき輸入真菌症. *Modern Physician* 30(5): 717-20, 2010.
- 6) 亀井克彦: 非ウイルス性感染症 コクシジオイデス症ならびにパラコクシジオイデス症. 日本臨床 68 (増刊号 6): 267-70, 2010.
- 7) 亀井克彦: 真菌感染症の免疫学的検査. 検査と技術 38(10): 890-2, 2010.
- 8) 亀井克彦: 増えている輸入真菌症. 日内会誌 99(11): 2689-95, 2010.

#### 4. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演

- 1) 亀井克彦: シンポジウム 4 海外渡航に伴う真菌症とその現状. 第 84 回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 (臨時増刊号): p.134, 京都, 4 月 5 ~ 6 日, 2010.
- 2) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 落合恵理, 亀井克彦: ワークショップ *Aspergillus fumigatus* 膨化分生子処理により誘導される MEK/ERK 経路活性化と AP-1 活性化. 第 84 回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 84 (臨時増刊号): p.271, 京都, 4 月 5 ~ 6 日, 2010.
- 3) 渡辺 哲, 亀井克彦: カンジタ症を中心とした酵母感染症の現況. 第 58 回日本化学療法学会総会, 総会特集号 p.148, 長崎, 6 月 2 ~ 4 日, 2010.
- 4) 亀井克彦: 特別講演 4 環境内真菌と肺疾患との

「親密な」関係 - 最近の知見から. 第 20 回国際喘息学会日本・北アジア部会, プログラム p.32, 東京, 7 月 3 日, 2010.

- 5) 渡辺 哲, 亀井克彦: ミニシンポジウム 深在性真菌症研究: その up-to-date と新展開: 呼吸器領域におけるアスペルギルス症. 第 31 回関東医真菌懇話会, 東京, 7 月 3 日, 2010.
- 6) 渡辺 哲, 豊留孝仁, 亀井克彦: SY2-2 *Aspergillus fumigatus* の感染進展に関与する因子. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増 1): 42, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.
- 7) 亀井克彦: パネルディスカッション: バイオセーフティ学会の明日を考える ~ バイオセーフティ学会に期待する役割 医真菌学の視点から. 第 10 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会, 横浜, 12 月 7 日, 2010.

#### 5. 一般発表

##### 国際学会

- 1) Toyotome T, Yamaguchi M, Watanabe A, Ochiai E, Taguchi H, Kamei K: Glycoprotein component from serum promotes the growth of *A. fumigatus* supporting the formation of thick fungal community. 4th Advances Against Aspergillosis, Abstract Book p. 144, Rome, Italy, February 4-6, 2010.
- 2) Ochiai E, Takino M, Sugita-Konishi Y, Ito J, Kikuchi K, Sato A, Watanabe A, Toyotome T, Yaguchi T, Kamei K: Antifungal susceptibility and mycotoxin production of *Aspergillus fumigatus* and its relative fungi. 4th Advances Against Aspergillosis, Abstract Book p. 238, Rome, Italy, February 4-6, 2010.

##### 国内学会

- 1) 滝埜昌彦, 落合恵理, 矢口貴志, 亀井克彦: LC/TOF-MS 及び LC/MS/MS を用いた *Aspergillus* 属中のマイコトキシンの分析. 日本マイコトキシン学会 第 67 回学術講演会, 東京, 1 月 8 日, 2010.
- 2) 田中健介, 山田嘉仁, 河野千代子, 山口哲生, 武村民子, 亀井克彦: ARDS を呈した肺アスペルギルス症の 2 例. 第 1200 回千葉医学会例会 第 9 回呼吸器内科例会 (第 23 回呼吸器内科同門会), 千葉, プログラム p.10, 1 月 9 日, 2010.
- 3) 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 *Aspergillus fumigatus* 臨床分離 150 株の MIC 測定結果. 第 21 回日本臨床微生物学会総会, プログラム・抄録集 p.208, 東京, 1月30~31日, 2010.
- 4) 永吉 優, 落合恵理, 多田佑司, 佐藤綾香, 渡辺哲, 渋谷和俊, 亀井克彦, 巽浩一郎: *Stachybotrys chartarum* 胞子反復気管内投与により惹起されるマウス肺動脈リモデリングについての検討. 真菌症フォーラム第 11 回学術集会, プログラム/抄録集 p.49, 東京, 3月13日, 2010.
- 5) 落合恵理, 滝埜昌彦, 小西良子, 伊藤純子, 菊池和代, 佐藤綾香, 矢口貴志, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* およびその関連菌である *A. lentulus*, *A. udagarvae* の薬剤感受性およびマイコトキシン産生能の比較検討. 真菌症フォーラム第 11 回学術集会, プログラム/抄録集 p.50, 東京, 3月13日, 2010.
- 6) 若山 恵, 大久保陽一郎, 篠崎 稔, 笹井大督, 中山晴雄, 密田亜希, 安藤常浩, 大野秀明, 宮崎義継, 亀井克彦, 渋谷和俊: in situ hybridization を用いたヒストプラズマ症の検討. 真菌症フォーラム第 11 回学術集会, プログラム/抄録集 p.56, 東京, 3月13日, 2010.
- 7) 加藤ちえ子, 石川 哲, 瀧口恭男, 山本恭平, 寺野隆, 渡辺 哲, 亀井克彦, 武村民子, 河端美則: 好中球活性酸素産生能異常を示した過敏性肺炎の 1 例. 第 570 回日本内科学会関東地方会, 抄録集 p.24, 東京, 3月13日, 2010.
- 8) 豊留孝仁, 山口正視, 渡辺 哲, 落合恵理, 佐藤綾香, 田口英昭, 亀井克彦: 血清添加により構築される *Aspergillus fumigatus* バイオフィーム. 第 6 回真菌分子細胞研究会, プログラム要旨集 p.11, 千葉, 3月19~20日, 2010.
- 9) Toyotome T, Watanabe A, Ochiai E, Kamei K: ERK-1/2 and AP-1 activation upon treatment with swollen conidia of *Aspergillus fumigatus*. 第 83 回日本細菌学会総会, 日本細菌学雑誌 65(1): 209, 横浜, 3月27~29日, 2010.
- 10) 渡辺 哲, 猪狩英俊, 渡辺正治, 中村安孝, 村田正太, 長谷川敦, 豊留孝仁, 亀井克彦, 佐藤武幸: 千葉大学医学部附属病院における深在性真菌症発症状況と抗真菌薬使用動向の検討. 第 84 回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 84 (臨時増刊号): p.276, 京都, 4月5~6日, 2010.
- 11) 西尾久明, 内海貴彦, 宮本憲一, 中村由紀子, 齊藤崇, 鈴木孝世, 亀井克彦, 笹田昌孝: 血液培養から *Scedosporium prolificans* を検出した骨髄異形性症候群の一症例. 第 84 回日本感染症学会総会学術講演会, 感染症学雑誌 84 (臨時増刊号): p.368, 京都, 4月5~6日, 2010.
- 12) 永吉 優, 多田佑司, 亀井克彦, 落合恵理, 渡辺哲, 田邊信宏, 瀧口裕一, 横田文子, 安田直史, 渋谷和俊, 巽浩一郎: 真菌胞子の反復気管内投与により惹起されるマウス肺動脈リモデリングの検討. 第 50 回日本呼吸器学会学術講演会, 日呼吸会誌 48 (増刊号): p.173, 京都, 4月23~25日, 2010.
- 13) 朴 鐘喆, 朴 奉柱, Kim HL, 金 学嬉, 玄 丞依, 田口英昭, 亀井克彦, 高鳥浩介: 組織用接着剤 (LYDEX) の抗菌効果に対する研究. 日本防菌防黴学会第 37 回年次大会, 要旨集 69: 防菌防黴 38(8): 15, 東京, 9月28~29日, 2010.
- 14) 豊留孝仁, 渡辺 哲, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* のバイオフィーム構築を促進する血清糖タンパク質の同定. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増 1): 78, 東京, 10月16~17日, 2010.
- 15) 滝澤香代子, 席 麗艶, 三上 襄, 矢澤勝清, 亀井克彦: 中国第一例となった再発性多発性軟骨炎患者から分離された *Nocardia concava* の同定. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増 1): 63, 東京, 10月16~17日, 2010.
- 16) 滝澤香代子: 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* の疫学検証法の検討 - リボゾーム DNA 上の株識別領域の探索 -. 平成 21 年度 機器・分析技術研究会, 実験・実習技術研究会 in 琉球 報告集 p.410-411, 琉球大学, 3月4-5日 2010.
- 17) 滝澤香代子, 橋爪藤子: 黒色真菌 *Phialophora verrucosa* の 28S rRNA 遺伝子に存在した intron について. 日本菌学会第 54 回大会, 講演要旨集 p.76, 東京, 5月29~30日, 2010.
- 18) 若山 恵, 大久保陽一郎, 篠崎 稔, 中山晴雄, 密田亜希, 大野秀明, 宮崎義継, 中谷行雄, 亀井克彦, 渋谷和俊: in situ hybridization 法を用いたヒストプラズマ症の組織診断の検討. 第 54 回日本医真

菌学会総会, 真菌誌 51 (増1): 68, 東京, 10月16～17日, 2010.

- 19) 高園貴弘, 泉川公一, 行徳 宏, 池田直樹, 神田哲郎, 宮崎泰可, 関 雅文, 掛屋 弘, 山本善裕, 柳原克紀, 大野秀明, 矢口貴志, 宮崎義継, 亀井克彦, 河野 茂: 軽症の糖尿病患者に発症した *Aspergillus udagawae* による気管支アスペルギルス症の1例. 第54回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増1): 82, 東京, 10月16～17日, 2010.
- 20) 渡辺 哲, 豊留孝仁, 猪狩英俊, 亀井克彦: 真菌によるアレルギーの関与が示唆された3症例の検討. 第59回日本感染症学会日本地方学会術集会第57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.140, 東京, 10月21～22日, 2010.
- 21) 矢口貴志, 亀井克彦, 飯田哲也, 江崎孝行, 平山謙二: NBRP「病原微生物」: ナショナルバイオリソースプロジェクト・病原微生物. BMB2010 特別企画ナショナルバイオリソースプロジェクト, 神戸, 12月7～10日, 2010.
- 22) 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* 及び関連菌 *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. インターラボセミナー. プログラム・抄録集 p.8, 千葉, 12月11日, 2010.
- 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. インターラボセミナー. プログラム・抄録集 p.14, 千葉, 12月11日, 2010.

## 共同研究

### 1. 国際共同研究

- 1) 鎗田響子 (代表): 河川から分離された *Ochroconis* 属新菌種に関する研究, Sybren de Hoog 博士 (オランダ Centraalbureau voor Schimmelcultures).
- 2) 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).
- 3) 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).

- 4) 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).

## 2. 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) 落合恵理, 豊留孝仁, 渡辺 哲, 亀井克彦: ローマ, イタリア, 4th Advances Against Aspergillosis に出席, 発表, 情報収集のため. 2月3日～10日, 2010.
- 2) 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. 10月24日～12月18日, 2010.
- 3) 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9日～18日, 2010.
- 4) 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22日～12月20日, 2010.

### 2. 海外研究者受け入れ

- 1) 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. 9月10日～10月2日, 2010.

## 学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) Kamei K: Moderator, Session 7: Lunch Seminar Top six papers in aspergillosis in 2009/10, 4th Advances Against Aspergillosis, Abstract Book p.30, Rome, Italy, Feb 4-6, 2010.
- 2) 亀井克彦: Session 1 病原因子・感受性・診断 座長. 真菌症フォーラム第11回学術集会 抗真菌薬 その適応と限界を探る, 東京, 3月13日, 2010.
- 3) 亀井克彦: 座長. 講演 II, Candin Forum in Chiba, 千葉, 2月19日, 2010.
- 4) 亀井克彦: 一般演題 (ポスター発表) 座長. 真菌症フォーラム第11回学術集会, 東京, 3月13日,

2010.

- 5) 亀井克彦, 西山利正 (関西医科大学公衆衛生学講座): シンポジウム4「我が国における渡航医学の現状と問題点」司会. 第84回日本感染症学会総会学術講演会, 京都, 4月5~6日, 2010.
- 6) 川上和義, 亀井克彦: シンポジウム13 司会「真菌感染症をめぐる最新の話題」, 第58回日本化学療法学会総会, 長崎, プログラム講演抄録号 p.147, 6月2~4日, 2010.
- 7) 亀井克彦: 主催「第15回千葉真菌症研究会学術講演会」, 千葉, 6月2日, 2010.
- 8) 亀井克彦: 特別講演座長. 千葉県真菌症セミナー, 千葉, 7月24日, 2010.
- 9) 亀井克彦: ランチョンセミナー2座長. 第54回日本医真菌学会総会, 東京, 10月16~17日, 2010.
- 10) 亀井克彦: ICD 講習会 座長. 第54回日本医真菌学会総会, 東京, 10月16~17日, 2010.
- 11) 亀井克彦: 真菌感染症(4)座長. 第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第57回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, 東京, 10月16~17日, 2010.
- 12) 亀井克彦: 第9回キャンディン研究会ジェネラルセッション運営会議, 東京, 12月3日, 2010.
- 13) 豊留孝仁: 主催「インターラボセミナー」, 千葉, 12月11日, 2010.

## 教育活動

### 学位指導

- 1) 永吉 優: 千葉大学大学院医学薬学府博士課程環境健康科学専攻医真菌学修了(3月), 並びに学位取得: テーマ「Inhalation of *Stachybotrys chartarum* evokes pulmonary arterial remodeling in mice attenuated by ROCK inhibitor」(研究指導: 亀井克彦).

### 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) 千葉大学薬学部(微生物学・感染症学), 4) 千葉大学看護学部(病態学II 微生物学・免疫学), 5) 千葉大学大学院医学薬学府博士課程(特別講義「研究方法論」), 6) 千葉大学大学院医学薬学府博士課程(真菌感染症学), 7) 千葉大学大学院医学薬学府修士課程(基

礎医学), 8) 融合科学研究科(真菌感染機構論), 9) 東京医科大学(微生物学), 10) 福島県立医科大学(微生物学), 11) 長崎大学熱帯医学研究所熱帯医学研修課程, 12) 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(特別講義).

- 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).

## 社会的活動

- 1) 亀井克彦: 新聞: 北米西海岸で毒カビ 米国の21症例, 死亡率25%. 朝日新聞夕刊第2社会面. 4月26日, 2010. 発行.
- 2) 渡辺 哲(亀井克彦: 取材協力): テレビ: 人類滅亡を引き起こす!? 3大バイオ危機を調査せよ! 抗生物質がまったく効かない!? スーパー耐性菌! さらに驚くべきウイルス, 細菌が世にはびこる! 殺人カビ! そしてバイオハザード果たして人類は生き残る事ができるのか!? 日本テレビ『不可思議探偵団』, 10月18日19:00~, 2010放送.
- 3) 渡辺 哲: 急増する深在性真菌症に新たな知見 バイオフィルム産生の抑制が新たな標的に, Medical Tribune pp.28, 12月9日, 2010. 発行.

## センター講習会

- 1) 亀井克彦: 第24回病原真菌講習会講師「真菌感染症概論」(講義), 「真菌のバイオハザード」(講義), 「補助診断法」(講義), 7月13~16日, 2010.
- 2) 田口英昭: 第24回病原真菌講習会講師「補助診断法」(講義), 7月13~16日, 2010.
- 3) 渡辺 哲: 第24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), 7月13~16日, 2010.
- 4) 鎗田響子: 第24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), 7月13~16日, 2010.

## 講演など

- 1) 亀井克彦: 真菌症の現状と将来. 第12回九州感染症・化療フォーラムプログラム, 福岡, 1月9~10日, 2010.

- 2) 亀井克彦: 特別講演 II 呼吸器真菌症とその新しい知見. アムビゾーム発売 3 周年記念講演会, 福岡, 2 月 26 日, 2010.
- 3) 亀井克彦: アスペルギルス属菌種同定の臨床的意義. ファイザー WEB シンポジウム 深在性真菌症の菌種同定の重要性と同定方法—アスペルギルスを中心とした糸状菌について—. 千葉, 3 月 3 日, 2010.
- 4) 亀井克彦: 真菌症をめぐる新しい展開. 第 2 回相模キャンディン研究会, 相模原, 6 月 15 日, 2010.
- 5) 亀井克彦: 最近の深在性真菌症とその動向. 第 17 回深在性真菌症岡山フォーラム, 岡山, 7 月 7 日, 2010.
- 6) 亀井克彦: 深在性真菌感染症. 抗菌化学療法・感染制御専門領域薬剤師研究会第 2 回アドバンスコース, 東京, 8 月 7 日, 2010.
- 7) 亀井克彦: 深在性真菌症—最近の傾向とその対策. 第 8 回愛媛深在性真菌症研究会, 松山, 9 月 10 日, 2010.
- 8) 亀井克彦: 真菌感染症の診断・治療—その基礎と最近の傾向. 第 2 回福島県北感染症診断・治療研究会, 福島, 9 月 17 日, 2010.
- 9) 亀井克彦: 変貌する肺真菌症. 第 4 回呼吸器真菌感染治療への展望, 神戸, 9 月 3 日, 2010.
- 10) 亀井克彦: 真菌の感受性検査. 社団法人日本衛生検査所協会, 東京, 10 月 29 日, 2010.
- 11) 亀井克彦: 最近の真菌症とその動向. 第 5 回 MD と MT の感染症研究会, 千葉, 11 月 5 日, 2010.
- 12) 渡辺 哲: 深在性真菌症に対する抗真菌治療の現状と問題点. 第 2 回千葉県感染症専門・認定薬剤師講習会, 千葉, 8 月 7 日, 2010.
- 13) 渡辺 哲: 結核・ノロウイルス・新型インフルエンザについて. 平成 22 年度市原市感染症研修会, 千葉, 7 月 30 日, 2010.
- 14) 渡辺 哲: 病院改築にともなう病院感染とアウトブレイク対策. 第 6 回静岡県病院感染対策フォーラム, 静岡, 7 月 10 日, 2010.
- 15) 渡辺 哲: 放線菌症について. 第 248 回臨床病理検討会, 東京, 12 月 9 日, 2010.

## 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 22 年度は 220 万円 (間接経費 0 円).

- 2) 亀井克彦 (分担): 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 20～22 年度), 平成 22 年度は 170 万円 (間接経費 0 円).
- 3) 亀井克彦 (研究協力者): 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「特定疾患の微生物学的原因究明に関する研究」(平成 20～22 年度), 平成 22 年度は 150 万円 (間接経費 0 円).
- 4) 亀井克彦 (代表): 独立行政法人科学技術振興機構先端計測分析技術・機器開発事業「高性能バイオセンシングシステムの開発」(平成 20～22 年度), 平成 22 年度は 11,085 千円 (間接経費 332.6 万円).
- 5) 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「開発途上国のニーズを踏まえた感染症対策研究」(平成 21～24 年度), JST 予算平成 22 年度は 21,393 千円 (間接経費 6,417.9 千円), JICA 予算平成 22 年度は 30,291,293 円.
- 6) 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 22 年度は 80 万円 (間接経費 24 万円).

### その他の外部資金

- 1) 亀井克彦: 奨学寄附金「真菌症の発生機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」, 3 社から総額 250 万円.
- 2) 亀井克彦: 奨学寄附金「侵襲性アスペルギルス症の早期診断と治療に関する研究」株式会社日企 3 万円.
- 3) 豊留孝仁: 日本細菌学会関東支部インターラボセミナー開催支援金, 10 万円.
- 4) 渡辺 哲: 奨学寄附金「病院内における深在性真菌症の発症状況と抗真菌薬の使用動向の推移についての調査・研究」, 「アスペルギルス属菌の病原因子の探索」, 2 社から 200 万円.

# 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

(Division of Bio-resources, Gono PI Project [Carbohydrates and their Receptors in Pathogenic Fungi])

## 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
- センター内委員 運営協議会委員, 教員会議委員, 総務委員会委員, 図書 WG 長, 共用備品委員会委員長, ククリス部局システムマネージャー, 共同利用委員長, 自己点検・評価委員会委員, 倫理審査委員会委員, 研究部門連絡会委員
- 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
- 受賞 第 83 回日本細菌学会総会ポスター賞

## 助教: 大荒田素子

- 学内委員 実験動物委員会委員
- 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
- 学協会への貢献 生体パーオキシド研究会幹事

技術職員 (医学薬学府博士課程): 松澤哲宏

特任助教: 酒井香奈江 (2010. 4~)

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

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

## 研究概要 (共同研究を含む)

### 1. 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るのみではなく, バイオフィルムの形成など菌に様々な環境中での棲息を可能にし, また病原真菌においては, 宿主の生体防御システムからの攻撃を回避する手段として用いられている. 一方, 宿主の側から見れば, 病原真菌の糖鎖など表面分子を異物として認識することは, 生体防御の最初の重要なステップとなっている. 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.

糖鎖結合タンパクは, レクチンと呼ばれるが, 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 (産総研糖鎖医工学センターが開発) 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た. この結果は目下, 論文として投稿中である.

現在は, さらに解析対象を糸状菌に広げ, 真菌表面糖鎖の相似性と多様性についてのシステムテックな理解を行っている. これらの研究は, 真菌分子系統学を補い補強する表現系解析として有用であるばかりでなく, 真菌の病原性発現機構の解析, 真菌に対する宿主の生体防御機構の解析に有効な情報を与え, 抗真菌剤開発, その他の開発研究基盤として有用であると期待される.

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

糖鎖結合活性を持つタンパク質“レクチン”が宿主側において真菌の認識に関わっていることが明らかにされてきているが, *A. fumigatus* のレクチンと病原性についての関連性は未だ明らかとなっていない. そ

ここで *A. fumigatus* の病原性発現機構解明の一端として *A. fumigatus* のレクチンについて研究を行っている。 *A. fumigatus* のゲノムデータベースからレクチンを検索したところ 9 つの遺伝子がレクチン候補としてヒットしてきた。そこで、この 9 つの遺伝子を破壊し病原性との関わりをマウスへの投与実験によって確認することにした。遺伝子破壊の結果、破壊株の取得ができない遺伝子があったことからそれらが必須遺伝子であることが示唆された。取得できた破壊株については形態に大きな変化のあるものはなかった。破壊株をマウスに投与したところ、野生型株と比較して生存率が顕著に落ちたものが見つかった。このことから、レクチンが病原性に関わっている可能性が示唆された。さらに詳しい解析によりレクチンと病原性についての機構が解明されることが期待される。

またレクチンとしての定義である糖鎖結合活性を確認するために大腸菌におけるタンパク発現も行っているところである。

### 3. 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。現在は、サーマルサイクラーを用いない DNA の増幅・ラベリングを行う系を検討しているところである。

### 4. 病原性放線菌の分子系統および同定法の確立

*Nocardia*, *Gordonia*, *Streptomyces* などの病原放線菌を対象に 5～7 個の独立した遺伝子配列の組み合わせ、および様々な生理生化学的性状に基づいた系統分類・系統樹を確立し、これを応用した病原菌の同定法開発を試みている。また、過去 20 年以上に渡り本センターに蓄えられ、様々な方法で解析された、患者由来の放線菌株について、本年度中のホームページでの公表を目標にデータベースを整理・作成している。

### 5. 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）

先に本センターと国立感染症研究所、北里研究所の共同でシーケンス解析を行った病原放線菌 *Nocardia farcinica* に続き、本センターで患者から単離同定した *Nocardia brasiliensis*, *Noacrdia otitidiscaviarum* についてゲノム解析を行い、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. 著書

- 1) 五ノ井 透 (分担): 「真菌感染症」, 遺伝子診療学 (第 2 版), pp. 546-549, 日本臨牀社, 2010.
- 2) 大荒田素子 (分担): 食品の機能化学. 五十嵐 修, 宮澤陽夫編, アイ・ケイコーポレーション, 2010.

### 2. 原著

◎印は PI プロジェクト関連の論文 を示す。

### 英文

- 1) Shibazaki 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. doi:10.1093/019091-0, 2010. (査読有)
- 2) Takeda K, Kang Y, Yazawa K, Gono T, Mikami Y: Phylogenetic studies of *Nocardia* species based on *gyrB* gene analyses. J Med Microbiol 59: 165-171, 2010. (査読有)
- 3) Kogure T, Shimada R, Ishikawa J, Yazawa K, Brown JM, Mikami Y, Gono T: Homozygous triplicate mutations in three 16S rRNA genes responsible for high-level aminoglycoside resistance in *Nocardia farcinica* clinical isolates from a Canada-wide bovine mastitis epizootic. Antimicrob Agents Chemother 54: 2385-2390, 2010. (査読有)
- 4) ◎ Oarada M, Igarashi M, Tsuzuki T, Kamei K, Hirasaka K, Nikawa T, Miyazawa T, Nakagawa K, Gono T: Effects of a high-protein diet on host

resistance to *Paracoccidioides brasiliensis* in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 74: 620-626, 2010. (査読有)

- 5) Matsuzawa, T, Tanaka R, Horie Y, Gonoï T, Yaguchi T: Development of rapid and specific molecular discrimination methods for pathogenic *Emericella* species. *Jpn J Med Mycol* 51: 109-116, 2010. (査読有)
- 6) Tanaka N, Otani M, Kashiwada Y, Takaishi Y, Shibasaki A, Gonoï T, Shiro M, Kobayashi J: Petiolins J-M, prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum pseudopetiolum* var. *kiusianum*. *Bioorg Med Chem Lett* 20: 4451-4455. 2010. (査読有)
- 7) Kon Y, Kubota T, Shibasaki A, Gonoï T, Kobayashi J: Ceratinadins A-C, new bromotyrosine alkaloids from an Okinawan marine sponge *Pseudoceratina* sp. *Bioorg Med Chem Lett* 20: 4569-4572, 2010. (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*. 2010. (査読有)

### 3. 一般発表

#### 国際学会

- 1) Khaedir Y, Tanaka R, Tarini A, Mijiti J, Gonoï T: Genotyping of *Candida albicans* spp. isolated from oral candidiasis of HIV/AIDS infected patients in Indonesia: a molecular epidemiological studies. IMC9 (9<sup>th</sup> International Mycology Congress) Edinburgh, UK, August 1-6, 2010.
- 2) Khaedir Y, Tanaka R, Tarini A, Mijiti J, Gonoï T. Genotyping of *Candida albicans* spp. isolated from oral candidiasis of HIV/AIDS infected patients in Indonesia: a molecular epidemiological studies. 6<sup>th</sup> Symposium of Indonesia Antimicrobial Resistance Watch (IARW), Jakarta, Indonesia, Jul 2-4, 2010.
- 3) Shibasaki A, Tatenno H, Hirabayashi J, Gonoï T: Profiling of fungal cell-surface carbohydrates using a lectin microarray technique. Annual Conference of the Society for Glycobiology. TradeWinds Island Grand Resort, FL. U. S. A. November 7-10, 2010.
- 4) Yaguchi T, Matsuzawa T, Imanishi Y, Tanaka R: Development of rapid and specific molecular discrimination methods in the pathogenic *Aspergillus fumigatus* and relatives. 4<sup>th</sup> Advances Against Aspergillosis, Rome, Italy. 2010. 2. 4-6.
- 5) Yaguchi T, Imanishi Y, Matsuzawa T, Tanaka R, Horie Y: Identification and discrimination of the pathogenic *Aspergillus fumigatus* and relative species. 9<sup>th</sup> International Mycological Congress IMC9: The Biology of Fungi, 2010. 8. 1-6.
- 6) Matsuzawa T, Yaguchi T, Tanaka R, Horie Y, Hui Y, Abliz P: Phylogenetic analysis of the genus *Emericella* and new species. 9<sup>th</sup> International Mycological Congress IMC9: The Biology of Fungi, 2010. 8. 1-6.

#### 国内学会

- 1) 芝崎あずさ: レクチンマイクロアレイを用いた真菌細胞表面糖鎖の解析. 第15回千葉真菌症研究会学術講演会, 千葉市, 6月12日, 2010.
- 2) 矢口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子, Abiz Parida, Hui Yan, 五ノ井 透: 新興 *Aspergillus* 症原因菌 *Neosartorya udagawae* (*Aspergillus udagawae*) の種の範囲と生態・分布. 第54回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51巻(増刊1号): p. 62, 10月16~17日, 2010.
- 3) 松澤哲宏, 矢口貴志, 堀江義一, 田中玲子, Paride Abliz, Hui Yan, 五ノ井 透: 新疆の土壤中から分離された *Emericella* 属の新種と病原性について. 第54回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51巻(増刊1号): p. 76, 10月16~17日, 2010.
- 4) 岡 千寿, 五ノ井 透: DNA マイクロアレイ技術を用いた微生物の検出技術の確立. 神奈川県ものづくり技術交流会, 海老名市, 10月13日, 2010.
- 5) 岡 千寿, 五ノ井 透: DNA マイクロアレイ技術を用いた微生物の検出技術の確立. 「Bio Japan 2010」千葉県バイオ・ライフサイエンス・ネットワーク会議. 横浜市, 9月29日~10月1日, 2010.
- 6) 芝崎あずさ, 大楠悦子, 矢澤勝清, 矢口貴志, Condas LAZ, Ribeiro MG, 五ノ井 透: ブラジルにおいて分離された病原性放線菌の分類学的研究. 2010年度日本放線菌学会大会, 講演要旨集 p. 93, 東京都, 9月2~3日, 2010.
- 7) 松澤哲宏, 大楠悦子, 矢澤勝清, 芝崎あずさ, 矢口貴志, Larissa Anuska Zeni Condas LAZ, Ribeiro MG,

五ノ井 透: ブラジルにおいて分離された病原性放線菌の分類学的研究. 第 93 回日本細菌学会関東支部会, プログラム・抄録集 p.46, 東京都, 10 月 21 ~ 22 日, 2010.

- 8) 五ノ井 透, 小暮高久, 矢澤勝清, 石川 淳, 三上 襄: カナダ全域に流行した乳房炎原因菌 *Nocardia farcinica* におけるアミノグリコシド耐性遺伝子の解明. 第 93 回日本細菌学会関東支部会, プログラム・抄録集 p.45, 東京都, 10 月 21 ~ 22 日, 2010.
- 9) 岡 千寿, 五ノ井 透: DNA マイクロアレイ関連技術の開発. 「産業交流展 2010」東京都, 11 月 10 ~ 12 日, 2010.
- 10) 酒井香奈江, 大荒田素子, 五ノ井 透: アスペルギルス症原因菌 *Aspergillus fumigatus* におけるレクチンの機能解析 - Functional analysis of lectins in oppatinistic pathogene, *Aspergillus fumigatus* - 糸状菌分子生物学カンファレンス, 講演要旨集 p.50, 広島市, 11 月 6 ~ 7 日, 2010.

## 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, Plínio Trabasso 准教授, Maria Luiza 教授, カンピーナス大学, ブラジル).

## 国際交流

### 1. 海外渡航

- 1) 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 10 月 24 ~ 11 月 6 日 (JICA/JST 科学技術振興機構補助金).
- 2) 五ノ井 透: CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures), オランダ, ユトレヒト市, 施設の視察と研究打ち合わせのため, 2010 年 12 月 11

~ 15 日 (学長裁量経費).

## 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) Retno Wahyuningsih 教授, Dra Ridhawati 研究員 (インドネシア, インドネシア大学医学部) 2010 年 5 月 11 日 ~ 6 月 3 日 (五ノ井 透).
- 3) Plinio Talabasso 准教授 (ブラジル, カンピーナス大学) 2010 年 9 月 20 ~ 10 月 10 日 (松澤哲宏, 五ノ井 透).

## 学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

### コンビナー, 座長

- 1) 五ノ井 透: 座長. 第 31 回関東医真菌懇話会, 東京, 7 月 3 日, 2010.
- 2) 五ノ井 透: 座長. 日本細菌学会関東支部会, 東京, 10 月 21 ~ 22 日, 2010.

## 教育活動

### 学位指導

- 1) 大学院医学薬学府修士課程: 志賀祐介 (2010. 3).
- 2) 大学院医学薬学府修士課程: 大本悠太 (2010. 3).

### 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, 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

### 新聞など

- 1) 五ノ井 透, 岡 千寿, 三上 襄 他: 「DNA 分析で特許」県と千葉大 精度高めコスト削減. 千葉日報. 平成 22 年 7 月 29 日.
- 2) 五ノ井 透, 岡 千寿, 三上 襄 他: 「DNA 検査, 割安に 県と千葉大, 精度も向上」. 日本産経新聞. 平成 22 年 7 月 30 日.

## 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.

## 特許

- 1) 五ノ井 透: 「ポリヌクレオチド試料の分析において感度を向上させる方法」2010年4月 承認 特願 2006-117137号.
- 2) 五ノ井 透: プローブポリヌクレオチド固定化担体の再生方法, 2010年4月 承認 特願 2006-120641号.
- 3) 矢口貴志, 松澤哲宏: パエシロマイセス サトゥラタス及びパエシロマイセス デイバリカタスの検出方法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2010-064252), 2010.
- 4) 矢口貴志, 松澤哲宏: ビソクラミス属に属する菌類の検出方法, 日本国特許出願 (出願番号 特願 2010-127649), 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 21 年度, 直接経費 300 万円, 間接経費 90 万円).
- 2) 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 (平成 22 年度, 総額 2,000 万円).
- 3) 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 (22 年度, 250 万円).
- 4) 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 22 年度, 直接経費 120 万円, 間接経費 36 万円).

# 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

(Division of Bio-resources, Yokoyama PI Project [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学会幹事
  - 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, 共同備品委員会委員, 共同利用委員会委員, 微生物, 保存管理施設委員会委員, 広報委員会委員, 放射性同位元素委員会委員長, 自己点検・評価委員会委員, 地域連携委員会委員, 研究推進チーム委員, 個人評価 WG 委員, 光熱水量節減プロジェクト WG 委員, DNA 断片化装置機種選定委員, 次世代型シーケンサー機種選定委員, 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 (北里大学 北里生命科学研究所 & 大学院感染制御科学府・講師)
- 非常勤講師: 高橋治男 (国立医薬食品衛生研究所・協力研究員)
- 技術補佐員: 各務清美 (2006. 9~)
- 外国人研究員: 王 麗 (中国吉林大学) (2010. 10. 15~10. 20)

## 研究概要 (共同研究を含む)

1. 病原真菌の疫学的, 生態学的研究  
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, 中国との共同研究を実施している. 今後も病原真菌の疫学, 生態の研究を続ける. (横山耕治, 王 麗, 各務清美)

2. 病原真菌の及び関連菌のチトクローム *b* 遺伝子解析
  - a. 病原真菌の同定・系統解析および真菌症の迅速診断  
チトクローム *b* 遺伝子の解析は, 継続し行われている研究テーマで, すでに病原性の *Aspergillus* 属菌, *Candida* 属菌, *Cryptococcus* 属菌, *Rhodotorula* 属菌, *Exophiala* 属菌, *Cryptococcus neoformans* ver. *neoformans*, var. *gattii*, *Trichosporon* 属菌については, 8 年間で 15 報の論文を発表している. 真菌症原因菌の迅速診断のためのプライマーセットなどの特許を千葉大学から申請し, 迅速診断に係わる申請数は, 5 件となった. 今年 9 月に, 平成 16 年 6 月 14 日出願: 新規ポリヌクレオチド, それを用いた深在性輸入真菌症原因菌ペニシリウム・マルネツフェイ (*Penicillium marneffei*) の検出用マーカー, プロンプ, プライマー, 検出方法およびキット 出願番号: 特願 2004-197446 (出願者: 千葉大学) が特許として認定された. 既存の PCR プライマーでは増幅できなかった *Coccidioides immitis* のプライマーを新規に設計し, 当研究保存のイントロン部分を含めた約 3600 bp の塩基配列を解析し, *C. immitis* と *C. posadasii* の関係をチトクローム *b* 遺伝子の観点から考察した.
  - b. 病原真菌関連菌と環境菌の遺伝子解析  
環境菌の遺伝子解析は病原真菌同定のために必要であり, 迅速に同定するための鍵となっている. 病原菌でもあり, 醸造, 工業微生物で, かつ一般的な環境菌を含む *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. (横山耕治, 王 麗, Biswas KS, 賀 丹, 各務清美, 高橋治男)
  - c. 真菌の進化系統解析  
既に解析の済んでいる病原真菌と関連菌のチトクローム

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, 各務清美, 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。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。(横山耕治, 各務清美, 岩口伸一, 村山琮明)

#### 5. 真菌資源の長期安定保存法の開発

菌糸形細胞は, 酵母形や分生子と異なり乾燥保存には耐えにくく, 保存中に死滅する場合が多い, 特に分生子を作らない株や作りにくい種においては, 従来の L-乾燥保存には耐えられない, そこで, 乾燥前の処理に工夫を凝らし, 分散媒や乾燥保護剤を検討して L-乾燥で保存できる方法を開発した, このテーマで (財) 発酵研究所から研究助成 (平成 16 年 9 月 ~ 19 年 3 月) を受けた。自作のコルクボーラーを用いて, 培地ごと L-乾燥させる方法を用いて, 従来の L-乾燥法では保存できない菌株が保存可能となった。保存の困難な菌について本方法を検討していく。(横山耕治)

## 研究成果の発表

### 1. 原著

#### 外国語

- 1) Han S, He D, Zhang X, Zhang Y, Xu L, Tian Z, Yokoyama K, Wang L: Pathogen detection and RAPD analysis of candidal vaginitis. Journal of Jilin University (Medicine Edition) 36. No. 3, p. 527-230, 2010. (Chinese) (査読有)

#### 邦文

- 1) 橋本一浩, 各務清美, 横山耕治, 福田安住, 川上裕司: 美術館から分離された *Aspergillus section Restrictus* の遺伝子解析および形態的観察による同定. Indoor Environment, Vol. 13, No. 2, pp. 131-139, 2010. (査読有)

### 2. 一般発表

#### 一般講演

- 1) 劉 莹 (Liu ying), 王 和, 各務清美, 横山耕治: 中国貴陽の患者より分離した *Candida albicans* の DNA タイプについて. 日本微生物資源学会 (岐阜) 2010 年.
- 2) 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.
- 3) 横山耕治, 大楠悦子, 各務清美, 劉 莹, 王 和, Biswas S. K., 王麗: 中国貴州省貴陽におけるハト糞より分離された *Cryptococcus neoformans* の遺伝子型について. 第 54 回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p. 63, 大手町サンケイプラザ, 10 月 16 - 17 日, 2010, 東京.
- 4) 劉 莹, 王 和, 各務清美, 王麗, 横山耕治: 中国貴州省貴陽の患者分離 *Candida albicans* の DNA 型, 交配型について. 第 54 回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p. 64, 大手町サンケイプラザ, 10 月 16 - 17 日, 2010, 東京.
- 5) 各務清美, 王麗, Biswas S. K., 横山耕治: 輸入真菌症原因菌 *Coccidioides immitis* および *C. posadasii* のチトクローム b 遺伝子解析. 第 54 回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p. 64, 大手町サンケ

イブラザ, 10月16-17日, 2010, 東京.

- 6) 梶原 将, 横山耕治, 大浦隆宏: カイコ感染モデルによる真菌病原性評価. 第54回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p.78, 大手町サンケイプラザ, 10月16-17日, 2010, 東京.
- 7) He D, Hao J, Zhang B, Yang Y, Song W, Zhang Y, Yokoyama K, and Wang L: Pathogenic Spectrum of Fungal Keratitis and Specific Identification of *Fusarium solani*. 第54回日本医真菌学会総会. プログラム・抄録集: p.77, 大手町サンケイプラザ, 10月16-17日, 2010, 東京.

## 共同研究

### 1. 国際共同研究

- 1) 横山耕治: チクトローム *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).
- 7) 横山耕治: 中国西部における真菌症原因菌の疫学的研究と真菌症対策拠点形成, 惠 艶 教授 (中国 新疆医科大学).
- 8) 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, Paride Abliz 助教授 (中国 新疆医科大学).

## 国際交流

### 1. 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), 2010年10月15日～10月20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: 医学研究科 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.
- 4) 横山耕治: 園芸学部 細胞工学.
- 5) 横山耕治: 淑徳大学看護学部 微生物の感染とその防御.

# 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，亥鼻地区災害対策構成員
- 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，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，日本臨床環境医学学会，日本感染症学会，日本臨床微生物学会，American Society for Microbiology
- 受賞 (分担) 第 54 回日本医真菌学会総会，優秀ポスター賞，高木雄基，服部尚生，足立秀禎，田中玲子，深野英夫，神戸俊夫：ヒト口腔内常在性 *Candida albicans* の genotype 解析，東京，2010 年 10 月 17 日。

技術職員：伊藤純子（長村由美）

非常勤講師：堀江義一

技術補佐員：大楠悦子

技術補佐員：菊池和代

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

本センターに保存されている臨床由来の *A. fumigatus* および関連種 *A. lentulus*, *A. udagawae*, *A. viridinutans* について MIC を CLSI M38-A2 に準じて測定した。関連 3 菌種は，形態的には分生子の形，表面構造，分子系統的には  $\beta$ -tubulin 遺伝子などの塩基配列で *A. fumigatus* (真正株) と区別できる。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 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。今回の検討より，正確な種同定の重要性が改めて認識された。

### 2. 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。まず，*Byssoschlamys* 属および関連菌種の分類・同定で一般的な  $\beta$ -tubulin 遺伝子を用いて系統関係を明らかにした。その結果を基に PCR 反応の標的領域を決定し，*B. fulva*, *B. nivea* 及び近縁の *Hamigera* 属，*Talaromyces* 属を特異的に識別できるプライマーの設計を試みた。目的とする菌種での保存性が高く，かつ他では保存性及び類似性が認められない部位を特異的に増幅する部位を選択した。この特異的プライマーを用いて PCR 反応を行い，PCR 増幅産物の有無および増幅産物のサイズを電気泳動にて確認し，本法の有効性を評価した。

### 3. 保存菌株の再評価

非病原菌として認識されていた *Candida intermedia* が臨床検体より分離されたとの報告を受けて，保存株について生育温度を中心とした生理学的性状の再検査を行った。また，同定の再確認として行った ITS のシーケンス

結果では、種の同定に問題は無かったが、2つのクラスターに分かれ、近縁種との関係を検討する必要があると思われた。本菌種のタイプ株は最高生育温度が30℃であり、通常はヒト感染症原因菌とはなり得なかった。しかしながら、保存株の大部分は35℃～37℃でも発育可能である事が判明し、本菌種ではタイプ株が必ずしも標準的な性状を示している訳ではなかった。今後は、このような状況を想定して他の菌種についても再評価を続けていく予定である。

## 研究成果の発表

### 1. 原著論文

#### 英文

- 1) Yaguchi T, Matsuzawa T, Tanaka R, Abliz P, Hui Y, Horie Y: Two new species of *Neosartorya* from soil in Xinjiang, China. *Mycoscience* 51: 253-262, 2010. (査読有)
- 2) Matsuzawa T, Tanaka R, Horie Y, Gono T, Yaguchi T: Development of rapid and specific molecular discrimination methods in the pathogenic *Emmericella* species. *Jpn J Med Mycol* 51: 109-116, 2010. (査読有)
- 3) Mijiti J, Pu XM, Erfan A, Yaguchi T, Chibana H, Tanaka R: Genotyping of fluconazole-resistant *Candida albicans* isolated from Uighurian living in Xinjiang (China), using ALTS/RFLP and  $\mu$ -TGGE method. *Jpn J Med Mycol* 51: 165-168, 2010. (査読有)
- 4) Nakayama M, Hosoya K, Matsuzawa T, Hiro Y, Sako A, Tokuda H, Yaguchi T: Rapid method for identifying *Byssosclamyces* and *Hamigera*. *Food Prot* 73: 1486-1492, 2010. (査読有)
- 5) 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.
- 6) 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. (査読有)

#### 邦文

- 1) 堀江義一, 矢口貴志, Abliz P, Okada K, Takaki GMC: コーヒーノキ樹上における果実にみられた ochratoxin 生産菌と ochratoxin A の自然汚染. *日菌報* 51: 3-14, 2010. (査読有)
- 2) 上田成一, 川良 希, 矢口貴志, 宇田川俊一: かんきつ加工食品の変敗原因となったカビ *Byssosclamyces lagunculariae* の同定と耐熱性. *日菌報* 51: 48-58, 2010. (査読有)

### 2. 総説, 解説, その他

- 1) 矢口貴志: 真菌の分類と検査. *日本食品微生物学会雑誌* 27(2): 47-55, 2010.
- 2) 矢口貴志: PCR による食品有害カビの分類と同定. *日本食品微生物学会雑誌* 27(3): 133-136, 2010.

### 3. 学会・シンポジウム・研究集会での招待講演 国際学会

- 1) Yaguchi T, Matsuzawa T, Imanishi Y, Tanaka R: Development of rapid and specific molecular discrimination methods in the pathogenic *Aspergillus fumigatus* and relatives. *The First Forum on Advances of Aspergillus and Aspergillosis*, Chengdu, China. *Proceedings* p. 113, July 16-18, 2010.
- 2) Yaguchi T, Matsuzawa T, Imanishi Y, Tanaka R: Identification and discrimination of the pathogenic *Aspergillus fumigatus* and relative species. *The 5th Thai Mycological Conference*, Bangkok, Thailand. *Abstracts Book* p. 9, December 7, 2010.

#### 国内学会

- 1) 矢口貴志, 松澤哲宏, 今西由巳, 田中玲子, 堀江義一: 病原性 *Aspergillus fumigatus* および関連菌種の分類と識別法の開発. 第31回関東医真菌懇話会, 東京, 7月3日, 2010.

### 4. 一般発表

#### 国際学会

- 1) Yaguchi T, Matsuzawa T, Imanishi Y, Tanaka R: Development of rapid and specific molecular discrimination methods in the pathogenic *Aspergillus fumigatus* and relatives. *4th Advances Against Aspergillosis*, *Abstract Book* p. 243. Rome, Italy.

February 4-6, 2010.

- 2) Ochiai E, Takino M, Sugita-Konishi Y, Ito J, Kikuchi K, Sato A, Watanabe A, Toyotome T, Yaguchi T, Kamei K: Antifungal susceptibility and mycotoxin production of *Aspergillus fumigatus* and its relative fungi. 4th Advances Against Aspergillosis, Abstract Book p. 238. Rome, Italy, February 4-6, 2010.
- 3) Yaguchi T, Imanishi Y, Matsuzawa T, Tanaka R, Horie Y: Identification and discrimination of the pathogenic *Aspergillus fumigatus* and relative species. 9th International Mycological Congress IMC9: The Biology of Fungi, August 1-6, 2010.
- 4) Matsuzawa T, Yaguchi T, Tanaka R, Horie Y, Hui Y, Abliz P: Phylogenetic analysis of the genus *Emericella* and new species. 9th International Mycological Congress IMC9: The Biology of Fungi, August 1-6, 2010.
- 5) Khaedir Y, Tanaka R, Tarini A, Mijiti J, Gono T: Genotyping of *Candida albicans* spp. isolated from oral candidiasis of HIV/AIDS infected patients in Indonesia: A molecular epidemiological studies. 9th International Mycological Congress IMC9: The Biology of Fungi, August 1-6, 2010.

#### 国内学会

- 1) 滝埜昌彦, 落合恵理, 矢口貴志, 亀井克彦: LC/TOF-MS 及び LC/MS/MS を用いた *Aspergillus* 属中のマイコトキシンの分析. 日本マイコトキシ学会第 67 回学術講演会, 東京, 1 月 8 日, 2010.
- 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 *Aspergillus fumigatus* 臨床株 150 株の MIC 測定結果. 第 21 回日本臨床微生物学会総会, 日本臨床微生物学雑誌 19: 208, 東京, 1 月 31 ~ 31 日, 2010.
- 3) 矢口貴志, 松澤哲宏, 今西由巳, 田中玲子: *Aspergillus fumigatus* および関連菌種の迅速同定法. 第 73 九州真菌懇話会, 那覇, 3 月 6 日, 2010.
- 4) 落合恵理, 滝埜昌彦, 小西良子, 伊藤純子, 菊池和代, 佐藤綾香, 矢口貴志, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 亀井克彦: *Aspergillus fumigatus* およびその関連菌である *A. lentulus*, *A. udagawae* の薬剤感受性およびマイコトキシシン産生能の比較検討. 真菌症フォーラム第 11 回学術集会, プログラム/抄録集 p. 50, 東京, 3 月 13 日, 2010.
- 5) 矢口貴志, 堀江義一, 田中玲子, 松澤哲宏, Paride Abliz, Yan Hui: ヘテロタリック *Neosartorya* の分子系統と種の評価. 日本菌学会第 54 回大会, 講演要旨集 p. 56, 東京, 5 月 29 ~ 30 日, 2010.
- 6) 松澤哲宏, 矢口貴志, 堀江義一, 田中玲子, 五ノ井透: 病原性 *Emericella* 属菌の特異的・迅速的な識別法の開発. 日本菌学会第 54 回大会, 講演要旨集 p. 80, 東京, 5 月 29 ~ 30 日, 2010.
- 7) 矢口貴志, 亀井克彦, 飯田哲也, 江崎孝行, 平山謙二: ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」. 日本微生物資源学会第 17 回大会, 日本微生物資源学会誌 26: 58, 岐阜, 6 月 16 ~ 18 日, 2010.
- 8) 松澤哲宏, 矢口貴志, 堀江義一, 田中玲子, Paride Abliz, Yan Hui, 五ノ井 透: 新疆の土壌から分離された *Emericella* 属の新種と病原性について. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 76, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.
- 9) 矢口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子, Abliz Paride, Hui Yan, 五ノ井 透: 新興 *Aspergillus* 症原因菌 *Neosartorya udagawae* (*Aspergillus udagawae*) の種の範囲と生態・分布. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 62, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.
- 10) 高木雄基, 服部尚生, 足立秀禎, 田中玲子, 深野英夫, 神戸俊夫: ヒト口腔内常在性 *Candida albicans* の genotype 解析. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 75, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.
- 11) 矢口貴志, 松澤哲宏, 今西由巳, 田中玲子, 菊池和代, 堀江義一: 病原性 *Aspergillus fumigatus* および関連菌種の分類と識別法. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 76, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.
- 12) 今西由巳, 田中玲子, 松澤哲宏, 矢口貴志: *Candida inetrmedia* が臨床検体から分離される事について. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 76, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.
- 13) 木村雅友, 矢口貴志: *Conidiobolus lamprauges* による播種性感染症. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 81, 東京, 10 月 16 ~ 17 日,

2010.

- 14) 高園貴弘, 泉川公一, 行徳 宏, 池田直樹, 神田哲郎, 宮崎泰可, 関 雅文, 掛屋 弘, 山本善裕, 柳原克紀, 大野秀明, 矢口貴志, 宮崎義継, 亀井克彦, 河野 茂: 軽症の糖尿病患者に発症した *Aspergillus udagawae* による気管支アスペルギルス症の 1 例. 第 54 回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊 1 号): 82, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.
- 15) 細谷幸一, 中山素一, 今西由巳, 松澤哲宏, 矢口貴志: 食品危害耐熱性カビ *Byssosclamyces* 属 4 種の迅速識別法. 第 31 回日本食品微生物学会学術総会, 講演要旨集 p.47, 大津, 11 月 11 ~ 12 日, 2010.
- 16) 矢口貴志, 亀井克彦, 飯田哲也, 江崎孝行, 平山謙二: ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」. BMB2010, 神戸, 12 月 7 ~ 10 日, 2010.
- 17) 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* 及び関連菌 *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. インターラボセミナー. プログラム・抄録集 p.8, 千葉, 12 月 11 日, 2010.

## 共同研究

### 1. 国際共同研究

- 1) 矢口貴志, 田中玲子: 中央アジアにおける真菌症原因菌および関連菌の生態研究 (文部科学省科学研究費補助金), 恵 艶教授, 中華人民共和国, 新疆医科大学附属第一医院皮膚科.
- 2) 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医院皮膚科.

### 2. 共同利用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: 腫瘍微小環境を調節する G 蛋白質共役受容体と 4 回膜貫通蛋白質とのクロストーク, 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

コ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, 花王 (株) 安全性評価研究所.

## 国際交流

### 1. 海外渡航

- 1) 矢口貴志: ローマ, イタリア, 4th Advances Against Aspergillosis に出席, 発表, 情報収集のため. 2 月 3 日 ~ 10 日, 2010. (共同研究費)
- 2) 矢口貴志, 田中玲子: 中華人民共和国, 北京大学医学部 Ruoyu Li 教授と共同研究討議, 1 月 14 日 ~ 17 日, 2010. (科学研究費)
- 3) 矢口貴志, 田中玲子: The First Forum on Advances of *Aspergillus* and Aspergillosis, Chengdu, China. 2010. 7. 16-18. 出席・発表, 四川大学医学部 Yeping Ran 教授と研究討議, 7 月 17 ~ 21 日, 2010. (科学研究費)
- 4) 矢口貴志: 9th International Mycological Congress (IMC9): The Biology of Fungi, Edinburgh, UK, August 1-6, 2010. 出席・発表, 7 月 30 日 ~ 8 月 9 日, 2010. (科学研究費)
- 5) 矢口貴志, 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 27 日 ~ 9 月 4 日, 2010. (科学研究費)
- 6) 矢口貴志: The 5th Thai Mycological Conference, Bangkok, Thailand. Abstracts Book p.9, 2010. 12. 7. 出席・発表, 12 月 3 ~ 9 日, 2010. (共同研究費)
- 7) 矢口貴志: Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) 訪問, Utrecht, The Netherland. 12 月 11 ~ 15 日, 2010. (学長裁量経費)

### 2. 海外研究者の受け入れ

- 1) Li Hou-Min (中華人民共和国, 北京大学人民病院皮膚科医師), 2010 年 10 月 1 日 ~ (醗酵研助成金) (矢口貴志).

## 学会等活動 (主催学会, 座長, コンビナーなど)

- 1) 矢口貴志: 第 54 回日本医真菌学会 セレクトッドシンポジウム, コンビナー・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. テレビ朝日, たけしの健康エンターテイメント「みんなの家庭の医学」2010. 6. 29 放送

### センター講習会

- 1) 矢口貴志: 第24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」(2010. 7. 13～16).
- 2) 田中玲子: 第24回病原真菌講習会講師「基本手技」「病原酵母」「結果の解析」(2010. 7. 13～16).

### 特許

- 1) 矢口貴志, 弘 佑介: ゲオスミチア (*Geosmithia*) 属に属する菌類の検出方法, 国際出願(国際公開番号 WO2010/055868 A1), 2010.
- 2) 矢口貴志, 松澤哲宏: パエシロマイセス サトゥラタス及びパエシロマイセス デイバリカタスの検出方法, 日本国特許出願(出願番号 特願 2010-064252), 2010.
- 3) 矢口貴志, 松澤哲宏: ビソクラミス属に属する菌類の検出方法, 日本国特許出願(出願番号 特願 2010-127649), 2010.

## その他

- 1) 矢口貴志(司会): 真菌医学研究センター主催第5回公開市民講座「カビ!?～そろそろ気になりますね～Part 5」, 千葉, 5月16日, 2010.

## 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 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 22 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 C)「腫瘍微小環境を調節する G 蛋白質共役受容体と 4 回膜貫通蛋白質とのクロストーク」平成 21～22 年度(平成 22 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.
- 2) 矢口貴志(代表): (財)発酵研究所平成 22 年度研究者招聘・留学助成金, 300 万円.

### 共同研究

- 1) 矢口貴志(代表): 花王(株)平成 22 年度 食品危害カビの迅速同定識別法確立に関する研究, 154 万円(間接経費 46 万円).
- 2) 矢口貴志(代表), 田中玲子(分担): 新日本改修建設(株)平成 22 年度 室内浮遊微生物を除菌するヨード樹脂系建材の開発, 120 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 60 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：飯田哲也（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は，病原微生物の使用と管理が極めてざさんであることを露呈する結果ともなり，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付けられたり，極めて高額な費用を要求されることなど，それらを使用しての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．

## 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, 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っても，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

高度病原微生物の取り扱い，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，かつ専門家がいる機関での収集・保存・提供が必須となる．

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なしでは不可能である．そのためには，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用いることが必須である．さらにバイオテロなどに対して，適切に対応するための検出法の確立，予防や診断法の確立は極めて重要な課題であり，その研究のためにも素性の明らかな菌株の供給は必要である．

## 運営委員会

年 2 回，以下のメンバーから構成される運営委員会を開催し，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．

**構成メンバー**

(中核機関及び分担機関の関係者を除く)

委員長:

北 潔 (東大大学院医学研究科教授, 寄生虫学)

委員:

篠田 純男 (元学会協議会員, 岡山理科大学教授, 細菌学)

宮崎 義継 (国立感染症研究所部長, 真菌感染症学)

鈴木健一郎 (独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部生物遺伝資源部門参事官, 菌株保存)

柿畷 眞 (筑波大学生命環境科学教授, 真菌学)

渡邊 信 (筑波大学生命環境科学教授, 藻類学)

吉田 眞一 (九州大学大学院医学研究院教授, 細菌学)

甲斐 明美 (東京都健康安全センター微生物部長, ウイルス学)

大熊 守也 (独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料開発室長, 菌株保存)

星子 繁 (明治製菓株式会社医薬総合研究所長, 産業界代表)

**千葉大での実施体制**

課題管理者:

亀井 克彦 事業の総括

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

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

実務担当者:

伊藤 純子 (長村 由美), 菊池 和代

**真菌・放線菌の保存・提供実績**

保存 (株数)

	H19 年度	H20 年度	H21 年度	H22 年度 上 期	累計
真 菌	835	1,483	1,129	461	16,504
放線菌	33	113	174	49	2,003

提供 (件数 (株数))

	H19 年度	H20 年度	H21 年度	H22 年度 上 期
真 菌	43 (772)	40 (681)	41 (793)	29 (458)
放線菌	20 (260)	18 (166)	6 ( 52)	10 ( 69)

# 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

JICA および JST の地球規模課題対応国際科学技術協力事業により、平成 22 年度から 3 年計画でブラジル国サンパウロ州立大学カンピーナス校医学部感染症科との間で「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」の協力事業を開始した。これは文字通り AIDS を始めとする真菌症の診断法・治療法の研究を行い、実用化に至った成果をブラジルに提供してブラジルお呼びわが国の医療の向上に役立てようというものである。主なテーマとして本センターで開発した DNA チップによる病原真菌の同定及び真菌症の

診断、 $\beta$ -グルカンによる真菌症の診断、リアルタイム PCR および LAMP 法による真菌症の診断・原因菌の同定、薬剤最適投与法の検討などが進められている。本事業の研究成果はブラジルのみならず周辺中南米諸国およびブラジルの影響下にあるポルトガル語圏アフリカ諸国の医療レベルにも影響を与える大規模なものであり、多方面から期待を寄せられている。専用 HP (<http://www.pf.chiba-u.ac.jp/jica/index.html>) に最新の活動状況が掲載されている。

## 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』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。

皆様の一層のご支援をお願いいたします。

# 平成22年度共同利用研究・共同利用研究会一覧

## 共同利用研究

### 共同利用研究（重点）一覧

#### 研究課題 '10-重点1

*Candida glabrata* カイコ感染モデルを利用したパラサイト戦略の研究

中山浩伸（鈴鹿医療科学大学）

宮崎義継，田辺公一（国立感染症研究所）

長 環（福岡歯科大学）

水野貴之（徳島文理大学）

関水和久，松本靖彦（東京大学）

青山俊弘（鈴鹿工業高等専門学校）

知花博治（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究課題 '10-重点2

*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）

知花博治（千葉大学真菌医学研究センター）

### 共同利用研究（一般）一覧

#### 研究課題 '10-1

千葉大学医学部附属病院における深在性真菌症症例の動向

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）

#### 研究課題 '10-2

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（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究課題 '10-3

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，石井 清，一杉正仁（獨協医科大学）

矢口貴志（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究課題 '10-4

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）

川本 進，清水公德（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究課題 '10-5

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，齋藤明広（千葉大学大学院融合科学研究科・園芸学部）

三上 襄，山口正視（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究課題 '10-6

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，亀井克彦（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究課題 '10-7

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（きさらび皮膚科クリニック）

佐野文子（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究課題 '10-8

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）

#### 研究課題 '10-9

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 丞休（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）

#### 研究課題 '10-13

病原性真菌 *C. 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）  
知花博治（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 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）  
知花博治（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 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）  
田辺公一（国立感染症研究所）  
青山俊弘（鈴鹿工業高等専門学校）  
知花博治（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 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，山田紀広，綿貫善太（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）

#### 研究課題 '10-19

*Trichophyton tonsurans* 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（きさらび皮膚科クリニック）  
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）

#### 研究課題 '10-21

17種漢方配合生薬の抗真菌作用の検討  
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  
飯嶋直人，岡 千寿（千葉県産業支援技術研究所）  
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）

#### 研究課題 '10-23

希少な分離菌株からの新規生理活性物質の探索研究  
河合賢一, 細江智夫, 板橋武史 (星薬科大学)  
矢口貴志 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '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 (大阪府立公衆衛生研究所)  
陰地義樹, 浅野勝佳 (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)  
中川博之 (農研機構食品総合研究所)  
坂田淳子 (大阪府立公衆衛生研究所)  
橋本ルイコ (千葉県衛生研究所)  
川上裕司, 橋本一浩 ((株) エフシージー総合研究所)  
横山耕治 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究課題 '10-25

カイコ幼虫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 and 久, 垣内 力 (東京大学大学院薬学系研究科)  
川本 進, 清水公德 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 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)  
川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 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 (国立感染症研究所)  
山口正視 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 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 ((株) 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 (徳島文理大学理工学部)  
山口正視 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 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)  
知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 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)  
知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

## 研究会

名称：第2回アスペルギルス研究会

課題：アスペルギルス症をはじめとした本菌に由来する  
疾患に関する研究の討議を行う

倉島篤行（結核予防会複十字病院）

安藤常浩（日赤医療センター）

小川賢二（国立病院機構東名古屋病院）

渋谷和俊（東邦大学医学部）

木村雅友（近畿大学医学部）

神田善伸（自治医大おおみや医療センター）

泉川公一（長崎大学医学部）

宮崎義継（国立感染症研究所）

奥村欣由（名城大学薬学部）

蛇沢 晶（国立病院機構東京病院）

黄 文禧（大阪赤十字病院）

吉田耕一郎（昭和大学医学部）

池田直樹（大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター）

掛屋 弘（長崎大学医学部）

川上裕司（エフシージー総合研究所）

井内啓二（寺田万寿病院）

林 悠太（国立病院機構東名古屋病院）

藤内 智（国立病院機構道北病院）

林 浩（国立病院機構近畿中央胸部疾患センター）

渡辺 哲（千葉大学医学部附属病院）

亀井克彦，矢口貴志，豊留孝仁（千葉大学真菌医学研究センター）

# 平成 21 年度 共同利用研究報告

## 研究課題 '09-01

### *Trichophyton tonsurans* の分子疫学的研究

望月 隆・安澤数史・河崎昌子  
(金沢医科大学 皮膚科学部門, 同 総合医学研究  
所, 皮膚真菌学部門 (ノバルティス ファーマ))  
亀井克彦・高橋容子・佐野文子  
(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

従来より核 ribosomal RNA 遺伝子の NTS 領域の分子多型の検討を行っていた好人性皮膚糸状菌 *Trichophyton tonsurans* の本邦分離株において、菌株の蒐集を進めるとともに、これら菌株について NTS の型別に抗菌スペクトルの差があるか検討を行った。対象菌株は柔道株のほとんどを占める NTS I 型 10 株、専らレスリング選手から分離される NTSII 型 10 株を用い、抗真菌剤はイトラコナゾール (ITCZ)、フルコナゾール (FCZ)、グリセオフルピン (GRF) を用い、微量液体希釈法を 96 穴マイクロプレート上で行った。その結果 NTS I 型では ITCZ, FCZ, GRF でそれぞれ、0.13-0.001, 16-0.5, 2-0.3  $\mu\text{g/ml}$ , NTS II 型では 0.03-0.002, 32-0.5, 2-0.5  $\mu\text{g/ml}$  であった。その結果、この 2 者では明らかな抗菌活性の差は検出されなかった。今後、他の薬剤並びに分子型の菌についても検討を行い、また形態学的検討も加えて論文化する予定である。

## 研究課題 '09-02

### 真菌から得られる新規生理活性化合物の探索

河合賢一・細江智夫・板橋武史  
(星薬科大学, 薬化学教室)  
野沢幸平 (奥羽大学薬学部, 薬化学分野)  
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、*Penicillium janthinellum* IFM 55557 から新規抗真菌活性物質 penijanthaline A を、*Malbranchea filamentosa* IFM 41300 から新規抗真菌活性物質 malfilanol A, B を、*Aspegillus novofumigatus* IFM 55215 から血小板凝集阻害活性物質 dihydroterrein, terrin を単離しその構造を確定し、抗真菌活性、構造活性相関などの検討を行なった。

#### 研究発表

##### 原著論文

- 1) Itabashi T, Hosoe T, Wakana D, Fukushima K, Takizawa K, Yaguchi T, Okada K, de Campos Takaki GM, Kawai K: A new indoloditerpene derivative, penijanthaline A, isolated from *Penicillium janthinellum*. J Nat Med 63: 96-99, 2009.
- 2) Wakana D, Hosoe T, Wachi H, Itabashi T, Fukushima K, Yaguchi T, Kawai K: The cytotoxic and antifungal activities of two new sesquiterpenes, malfilanol A and B, derived from *Malbranchea filamentosa*. J Antibiot 62: 217-219, 2009.

- 3) Hosoe T, Moriyama H, Wakana D, Itabashi T, Kawai K, Yaguchi T, Iizuka T, Hoshi K, Fukuyama Y, Kouda Y, Lau FC: Inhibitory effects of dihydroterrein and terrin isolated from *Aspegillus novofumigatus* on platelet aggregation. *Mycotoxins* 59: 75-82, 2009.

## 研究課題 '09-03

### DNA マイクロアレイ技術を用いた病原真菌検出技術の確立

岡 千寿 (千葉県産業支援技術研究所)  
五ノ井 透 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

DNA マイクロアレイは、転写産物の網羅的解析等に用いられており、全ての遺伝子の変化などをとらえることができる反面、1回の解析にしか使えないため、研究コストがかかる実験である。

我々は、蛍光ラベル化したサンプルをマイクロアレイとハイブリダイズした後、非蛍光性被膜を形成させるという新たな発想により、蛍光を検出した後、ハイブリダイズした蛍光ラベル化サンプルを除去することで、従来、不可能とされてきた DNA マイクロアレイの再利用を可能とする技術を開発し、権利することができた<sup>1)</sup>。また、この技術の具体的な応用例として、微生物 (*Candida* 属) の菌種判別アレイを試作し、最低でも 5 回のアレイ・スライドの再利用が可能であることを確認している。

今年度は、DNA マイクロアレイを用いた微生物の検出において、総合的な検出時間の短縮を目指して実験操作を見直した。1) ゲノム DNA の調製段階の時間短縮

DNeasy Plant Mini Kit を用いた場合、所要時間は約 65 分程度であるが、Simple Prep for DNA reagent は、簡便な操作でゲノム DNA の調製が可能であり、所要時間も約 25 分と良好な結果が得られることが判った。2) PCR による増幅段階の時間短縮 従来の PCR 装置での所要時間は約 105 分であるが、(株)トラス社製の超高速 PCR システムを用いることにより、約 11 分で標的遺伝子の増幅が可能であることを確認した。

これらのことから、DNA マイクロアレイ技術を用い

た微生物の検出においては、ゲノム DNA の調製から検出までをほぼ 1 日で検出できる可能性があることが判った。

#### 業績

##### 口頭発表

- 1) 岡 千寿, 五ノ井 透: DNA マイクロアレイ技術を用いた微生物の検出技術の確立. 平成 21 年度 千葉県産業支援技術研究所 研究成果発表会, 千葉市, 7 月 23 日, 2009.
- 2) 岡 千寿, 五ノ井 透: DNA マイクロアレイ技術を用いた微生物の検出技術の確立. 平成 22 年度 千葉県産業支援技術研究所 研究成果発表会, 千葉市, 7 月 29 日, 2010.
- 3) 岡 千寿, 五ノ井 透: DNA マイクロアレイ技術を用いた微生物の検出技術の確立. 平成 22 年度 神奈川県ものづくり技術交流会, 神奈川県海老名市 (神奈川県産業技術センター), 10 月 14 日, 2010.

##### 参考文献

- 1) 特許 第 4524392 号 プローブポリヌクレオチド固定化担体の再生方法.

## 研究課題 '09-04

### カイコ幼虫の感染モデルを用いた *Cryptococcus neoformans* の病原性遺伝子の同定

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

関水らの研究グループは、「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 (*Mol Microbiol* 56: 934-944, 2005 など)。本研究では、細菌類と同様に真菌類についてもそれが可能であるという知見を得ており、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として開発しつつある。カイコに *Cryptococcus neoformans* を感染させるとカイコが死亡することを確認し、*Cryptococcus neoformans* はカイコを用いて病原性の評価が可能であることがわかった。

このカイコ感染モデルを用いて、病原酵母 *Cryptococcus neoformans* のカイコ幼虫を用いた病原性検定法を更に検討し、本菌由来の遺伝子、特に、申請者が長年、その解析を進めて来た転写因子 SII 遺伝子について、その遺伝子破壊株を用いたカイコ幼虫での病原性試験などを行い、本菌の病原性との関わりを評価、解析しつつある。

## 研究課題 '09-05

### 病原真菌 *Cryptococcus neoformans* サイクリン依存性キナーゼの構造機能相関

田村 裕 (千葉大学大学院医学研究院情報生命科学)  
川本 進 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

病原真菌 *Cryptococcus neoformans* の細胞周期を制御している中心分子、サイクリン依存性キナーゼ Cdk1 の、制御因子サイクリンとの結合部位 PSTAIRE モチーフは、他の生物種に於いて極めて高い保存性を示しているにも関わらず、本菌では例外的に PSTAIRE に変異している。そこで、この変異による細胞周期制御の分子機構の特徴に関し、タンパク質立体構造の観点から理論的、実験的に解明、検証することを目的とし、構造生物学とバイオインフォマティクスによる理論的解析を生化学的・分子生物学的実験による解析・検証を行うことにより、検討を進める。

これまでに、病原真菌 *Cryptococcus neoformans* の細胞周期を制御しているサイクリン依存性キナーゼである CnCd1 と G1 サイクリンである CnCl1 の立体構造を構築したのち、CnCl1/CnCd1 に関する複合体構造を計算化学的に構築すると共にその際の結合力を算出した。また、本菌より分子クローニングした CnCl1 の遺伝子を *Saccharomyces cerevisiae* において発現させ、その機能が発揮されることを確認してきた。

本年度は、*Saccharomyces cerevisiae* のサイクリン依存

性キナーゼである ScCDK1 と G1 サイクリンである ScCl1, ScCl2, ScCl3 の立体構造を構築したのち、CnCl1/ScCDK1, ScCl1/ScCDK1, ScCl2/ScCDK1, ScCl3/ScCDK1 に関する複合体構造を計算化学的に構築すると共にその際の結合力を算出した。

その結果、複合体の結合力は、CnCl1/ScCDK1 > ScCl1/ScCDK1 ≈ ScCl2/ScCDK1 > ScCl3/ScCDK1 となり、発現実験より得られた結果を補遺するものであった。

今後は、*Cryptococcus neoformans* の G1 サイクリンである CnCl1 が、*Saccharomyces cerevisiae* の G1 サイクリンである ScCl1, ScCl2, ScCl3 と如何なる構造機能相関を有しているのかに関する検討を行うことにより、Cdk1 がサイクリンとの結合部位に有している PSTAIRE モチーフに生じている変異の意義解明にむけた検討を継続する。

## 研究課題 '09-06

### 千葉大学附属病院における深在性真菌症の動向

猪狩英俊・渡辺 哲・渡辺正治

(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)

#### 研究成果

昨年に引き続きここでわが国の深在性真菌症の疫学に寄与することを目的とし、千葉大学医学部附属病院における当該疾患の動向を電子カルテなどを用いてレトロスペクティブに調査した。さらに同病院で払い出された抗真菌薬の使用動向についても併せて調査を行った。同病院では *C. albicans* 感染患者の症例数といわゆる non-*albicans Candida* による感染症症例数とが拮抗しつつある傾向が昨年の調査で明確となったが、本年もその傾向がますます顕著になっている傾向が明らかになった。また、*Candida* 属菌を中心とした酵母感染症が外科系診療科において頻度が高く、*Aspergillus* 属菌を中心とした糸状菌感染症は内科系診療科において頻度が高い傾向が明らかとなった。糸状菌感染症については治療開始のタイミングが扱う疾患によって一定の傾向があることも明らかとなった。

## 学会発表

- 1) 渡辺 哲, 亀井克彦: 呼吸器領域におけるアスペルギルス症. 第 31 回関東医真菌懇話会, 東京, 7 月 3 日, 2010.
- 2) 渡辺 哲, 亀井克彦: カンジタ症を中心とした酵母感染症の現況. 第 58 回日本化学療法学会総会, 総会特集号 p.148, 長崎, 6 月 2 ~ 4 日, 2010.

## 研究課題 '09-07

### 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

室内環境中から一般的に検出される代表的な真菌や疾患の原因として注目される真菌として, アスペルギルス症起因菌となる *Aspergillus fumigatus*, *A. lentulus* および *A. udagarwae* について, マイコトキシン産生性を確認するための抽出条件および各菌種間でのマイコトキシン産生能を比較検討した. 臨床分離株および環境分離株を含む *A. fumigatus* 21 株, *A. lentulus* 8 株および *A. udagarwae* 9 株を実験に用いた. 各菌株を固体培地にて培養し, 胞子を採取してメタノールに浸漬し一晩静置後, 胞子を除去し, 乾固した後, メタノールに溶解した抽出液を作製した. また, 同様に培養して得た胞子を液体培地に懸濁して 24 時間振盪培養し, 菌体除去後, 培養上清をクロロホルムにて抽出した抽出液を作製した. これらの抽出液を LC/TOF-MS によって分析し, マイコトキシン産生の有無を比較検討した. その結果, グリオトキシンは *A. fumigatus* のみで検出され, 胞子からの抽出物に比べて液体培養した試料からの検出が顕著であった. *A. lentulus* および *A. udagarwae* ではいずれの方法でもグリオトキシンは検出されなかった.

今後は他のマイコトキシンについても検討する予定である.

## 研究発表

### 学会発表

- 1) 落合恵理, 滝埜昌彦, 小西良子, 伊藤純子, 菊池和代, 佐藤綾香, 矢口貴志, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 亀井克彦. *Aspergillus fumigatus* およびその関連菌である *A. lentulus*, *A. udagarwae* の薬剤感受性およびマイコトキシン産生能の比較検討. 真菌症フォーラム第 11 回学術集会, 東京都, 3 月 13 日, 2010.

## 研究課題 '09-08

### 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

ヒト遺体に生育する真菌はしばしば発見される現象であるが, 法医学の観点から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乾燥が進んだサンプルは, エタノール処理により表面に付着している雑菌を殺菌し, 検体内部に侵入した真菌の分離を試みた. 水分量の多いサンプルは, 表面殺菌を行わず, 検体表面 (皮膚, 筋肉など) を分解していると考えられる真菌の分離を試みた. 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.

分離される真菌の遷移は, 最初, *Penicillium* 属, *Aspergillus* 属, *Trichoderma* 属などの環境に多くみられるものから, 好塩性を示す *Aspergillus* 属, *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, 検体数を増やし遺体の分解段階と出現する真

菌の相関から、遺体が遺棄されてからの時間経過の推測に繋げたい。

## 研究課題 '09-09

### 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ス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た。本研究の成果は、*A. fumigatus* だけでなく白癬菌などのヒト感染菌やいもち病菌などの植物感染菌に対する抗真菌剤開発にも貢献することが期待される。

近年、出芽酵母および病原性カンジダ属酵母の PDR1 ファミリーに属する転写因子が、アゾール系薬剤と直接結合し、薬物排出トランスポーターの発現と多剤耐性の誘導を促進することが明らかになった。しかし、糸状菌に関しては、麹菌において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とそれらを同時に制御する転写因子 AtrR が同定されているのみで、転写因子の活性化に関する分子機構は明らかにされていない。そこで、麹菌において *atrR* 遺伝子高発現時よりも薬剤を添加した場合の方が制御下にあると考えられる ABC ト

ランスポーター遺伝子の発現量が高いことに着目し、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た。マルトース誘導により *atrR* を高発現させた状態でアゾール系薬剤を添加することで、*atrR* の発現量にはほとんど差が見られないにもかかわらず、その制御下の遺伝子の発現量は薬剤を添加せずに *atrR* を高発現させた場合と比較して 2 ~ 3 倍に増加していた。また、*atrR* 破壊株において *atrR* の制御下にある ABC トランスポーター遺伝子の発現量は薬剤の有無によって違いが見られなかったため、*atrR* 以外の転写因子の影響により *atrR* の発現が増加したとは考えにくく、AtrR がアゾール系薬剤により何らかの活性化を受けている可能性が高いと考えられる。

さらに、興味深いことに、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が認められた。薬剤処理した野生株を用いて定量 PCR 解析を行ったところ、クロトリマゾールではミコナゾールと同様に *atrR* と 3 種類のトランスポーター遺伝子の発現量の増加が見られたが、イトラコナゾールやフルコナゾールでは増加は観察されなかった。しかし、プレートアッセイにおいて *atrR* 破壊株はイトラコナゾールやフルコナゾールに対しても超感受性を示したことから、AtrR がアゾール系薬剤の種類により異なる遺伝子を制御している可能性が示唆された。今後はマイクロアレイ解析により異なるアゾール系薬剤で処理した場合の遺伝子発現プロファイルを調べて、転写因子 AtrR のアゾール系薬剤の種類による応答機構の違いを明らかにしたいと考えている。

### 国際学会発表

- 1) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, and Gomi K: The transcription activator AtrR is involved in azole drug resistance by regulation of ABC transporter genes in *Aspergillus fumigatus*, ISHAM2009, Tokyo, May 25-29, 2009.
- 2) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, and Gomi K: The transcription activator AtrR regulates gene expression of ABC transporters and contributes to azole drug resistance in *Aspergillus fumigatus*, 7th International *Aspergillus* meeting (Asperfest7), Leeuwenhorst, The Netherlands, March 28-29, 2010.
- 3) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, and

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.

- 4) Ohba A, Shimizu K, Shintani T, Kawamoto S, and 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.

triosephosphate isomerase, the molecules responsible for contact-mediated killing of *Cryptococcus*, on the surface of *Staphylococcus*. *Microbiol. Immunol.* 54, 368-370, 2010.

#### 学会発表

- 1) 山口正視, 池田玲子, 川本 進: 真菌細菌の菌種間相互作用における電子顕微鏡的アプローチ. 第54回日本医真菌学会総会, 真菌誌 51 (増刊1号): 65, 東京, 10月16~17日, 2010.

## 研究課題 '09-10

### 真菌と細菌の菌種間相互作用に関する分子の免疫電子顕微鏡的解析

池田玲子 (明治薬科大学微生物学教室)  
山口正視・川本 進  
(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

*Cryptococcus neoformans* 細胞への *Staphylococcus aureus* 細胞の接着は, *C. neoformans* の死滅を誘導することを報告してきた. 各細胞表層物質の接着分子として, *C. neoformans* 細胞では炭膜多糖類の主成分グルクロノキシロマンナン (GXM) の主鎖  $\alpha$ -(1→3)-mannan の3残基以上, *S. aureus* 細胞では解糖系酵素のひとつであるトリオースリン酸イソメラーゼを同定した. GXM で感作した *S. aureus* 細胞が, 抗 *C. neoformans* 抗体と反応することは定量的スライド凝集反応で示された. そこで, 前年度に引き続き GXM の *S. aureus* 細胞への結合を免疫電子顕微鏡法により検討した. *S. aureus* 細胞と GXM, 抗 GXM ウサギ抗体, 金コロイド標識プロテイン A を順次反応させ走査電子顕微鏡で観察した. 金粒子数を計測した結果, GXM を添加しない系と比較してその数は有意に多かった. 従って, *S. aureus* 細胞表層には GXM と反応する分子が存在することが明らかにされた.

#### 研究発表

##### 原著論文

- 1) Yamaguchi M, Ikeda R, Nishimura M, Kawamoto S: Localization by scanning immunoelectron microscopy of

## 研究課題 '09-11

### ヤシオオオサゾウムシ外部共生酵母の特定と生態の解明

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

ヤシオオオサゾウムシはカナリーヤシ (フェニックス) を加害し, 枯死に至らしめる害虫であるが, 近年九州を中心に急激に生息域を拡大している. 本種は元々熱帯産の昆虫であり, わが国における越冬メカニズムの解明は, 熱帯からの侵入害虫対策において大きな意味を持つ. 報告者らは本種の加害部位において発酵によると思われる発熱現象を観察し, また酵母様真菌を分離している. 前年度の研究により, これら酵母の種が同定出来たが, 本年度は, 本種とこれら外部共生酵母の生態的な関係を明らかにして越冬メカニズムを確定するために, 更なる菌の同定および補足的な調査を行った.

上述のように本種の加害を受けているカナリーヤシの組織では, 温度が冬季において外気温よりかなり高く, かつ発酵臭が認められたため, 発酵熱の関与が疑われた. そこで, 加害部位の温度の正確な計測を行ったところ, 時期に関わらず 30-40 °C であることが確認された. 次に, 本種の虫体およびカナリーヤシの組織からの菌の分離結果については, 分離された 36 酵母菌株の大半が *Candida tropicalis* と *Candida ethanolica* であることが確認された. 一方, カナリーヤシ組織の糖分組成を分析した結果, グルコース, スクロース, フルクトースの存在が

確認された。 *C. tropicalis* などはグルコースやスクロースを発酵に用いることができるため、温度上昇はこれらの酵母による発酵熱が有力な原因であろうと考えられた。

本種が発酵熱により越冬が可能となっており、酵母が本種の加害部位のみで温度上昇を伴うほどの活発な活動が可能となっているとすれば、本種と酵母は相利共生関係にあると考えられる。昆虫と酵母の熱を介した相利共生は知られておらず、本件は貴重な事例と考えられた。

## 研究発表

- 1) Abe F, Ohkusu M, Kubo T, Kawamoto S, Sone K, Hata K: Isolation of yeasts from palm tissues damaged by the red palm weevil and their possible effect on the weevil overwintering. *Mycoscience* 51 (2010) 215-223.

## 研究課題 '09-12

### 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・齋藤明広

(千葉大学大学院融合科学研究科)

西田芳弘 (千葉大学大学院園芸学研究科)

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を調べるため, MH-K1 キトサナーゼの活性中心残基の1つである 55 番のアスパラギン酸をアスパラギンに置換した変異型キトサナーゼ (以下, D55N) を作成し, 野生型酵素と比較した。その結果, D55N は, 野生型酵素と異なり, 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, D55N 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。以上の結果か

ら, MH-K1 キトサナーゼの抗菌活性において 55 番目のアスパラギン酸が重要な役割を果たしていることが判明した。変異型酵素 D55N は, キトサン加水分解活性が野生型の 0.2 % 程度であること, また, 基質アナログであるキトサンオリゴ糖に対する親和性は野生型酵素と同程度であることから, 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と考えられた。

## 研究課題 '09-13

### 環境内真菌の吸入と非感染性ヒト疾患との関連に関する研究

渋谷和俊 (東邦大学医学部)

亀井克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)

## 研究成果

これまで, わが国の居住環境内に広く生育している真菌である *Stachybotrys chartarum* をマウスの気管内に反復投与することによって, ヒトの原発性肺高血圧症に類似した病変が形成されることを明らかにしてきた。そこで, この病変形成の機序および病変形成に関わる因子の解明を目的として, 使用した真菌胞子に含まれるトリコテセン等の mycotoxin の分析を行った。

*S. chartarum* 12 株の胞子懸濁液を麻酔下の ddY マウス (6 週齢, オス) に 1 回あたり  $1 \times 10^4$  conidia を経気管的に 4 週間にわたって計 6 回反復投与した。反復投与終了後 7 日目に体重, 肝, 腎, 脾の重量を測定し, 心については RV/(LV + S) 重量比を算出した。さらに, これらの臓器および肺の病理組織学的変化を検討した。また, *S. chartarum* 37 株を potato dextrose agar (PDA) で 3 週間培養したのちにそれぞれの胞子を採取し, 各菌株の胞子のメタノール抽出液を LC-MS および LC/TOF-MS にて分析した。検出対象は, トリコテセン類 (satratoxin G, H, iso-satratoxin F, roridin L2, E, epi-roridin E, H, verrucarins A, B, trichoverrol A, trichoverrin A), atranone, dolabellane, stachybotrylactone, stachybotcin, spirodihydrobenzofuranlactam, trichodermin, trichodermol とした。その結果, 分析した *S. chartarum* 37 株のうち 9 株でトリコテセン類が検出された。残りの

株からは atranone や dolabellane が検出されたが、これらの物質はトリコテセン産生株からは検出されなかった。Stachybotrylactone, spirodihydrobenzofuran-lactam が全ての株から検出された。Stachyocin はトリコテセン産生性とは無関係に約半数の菌株から検出された。trichodermin および trichodermol はどの株からも検出されなかった。これらの mycotoxin profile と肺動脈病変形成においては trichothene 産生性との間に関連性が存在する可能性が疑われたが、明確とするには十分なデータが得られなかった。さらに対象を拡大して検討を進める必要があると考えられた。

## 研究発表 学会発表

- 1) 滝埜昌彦, 落合恵理, 亀井克彦, 小西良子: LC/TOF-MS 及び LC-MS/MS を用いた真菌中の大環状トリコテセン類及びグリオトキシンの分析. 日本マイコトキシシン学会第 64 回学術講演会, 名古屋, 8 月 29 日, 2008.
- 2) 滝埜昌彦, 落合恵理, 亀井克彦, 小西良子: LC/TOF-MS を用いた *Stachybotrys chartarum* 及び *Aspergillus fumigatus* のキャラクターゼーション. 日本マイコトキシシン学会第 65 回学術講演会, 東京, 1 月 9 日, 2009.
- 3) 落合恵理, 亀井克彦, 滝埜昌彦, 小西良子, 矢口貴志, 松澤哲宏, 佐藤綾香, 永吉 優, 渡辺 哲, 豊留孝仁, 渋谷和俊: *Stachybotrys chartarum* によるマイコトキシシン産生性についての検討. 真菌症フォーラム第 10 回学術集会, 名古屋, 2 月 21 日, 2009.

## 研究課題 '09-14

### 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 23 菌種 46 菌株を用い、18S rDNA, ITS1 領域, 5.8S rDNA, 26/28S rDNA D1/D2 領域および  $\beta$  チューブリン遺伝子の塩基配列を決定した。得られた塩基配列を用いて遺伝子ごとに近隣結合法による系統解析を行った。解析結果を比較したところ、18S rDNA または 5.8S rDNA 塩基配列を用いた場合、菌種間の塩基配列は差異に乏しく、同定は多くの場合で困難であることが示された。ITS1 領域塩基配列および 26/28S rDNA 遺伝子 D1/D2 領域を用いた場合、異種であっても塩基配列が 100% 一致する種も存在し、今回供試した菌種においては確実に一つの種として同定を行うには不向きであるということが示された。 $\beta$  チューブリン遺伝子塩基配列を用いた場合、異種間であった場合塩基配列が 100% 一致する種はないことが示され、今回供試した菌種においては精度の高いシーケンスを行い、登録配列と検査菌株の塩基配列が 100% 一致した場合は確実に種を同定できる可能性が考えられた。以上のことから、今回解析に用いた遺伝子のうちでは  $\beta$  チューブリン遺伝子が *Fusarium* 属菌の同定に最も適しているということが示された。しかし、 $\beta$  チューブリン遺伝子塩基配列が 100% 一致しなかった場合には、同種間での遺伝的距離が異種間での遺伝的距離を上回ることもあったということを経験すると、同定できないケースもあると考えられる。今後はアミノアジピン酸還元酵素遺伝子など新たな候補遺伝子を用い、*Fusarium* 属菌の同定に適した遺伝子についてさらに検討する予定である。

## 研究課題 '09-15

### 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・鎗田響子・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を分子疫学的に検討した。この事例は千葉県中部の農村地帯にある農協職員が、職場近くで子ネコを4頭拾って職場に持ちかえり、職場および関係者で飼いつづけたところ、接触した6名に白癬が発症したものである。分離株がネコから4株、ヒトから4株で、無性型を *Trichophyton mentagrophytes*, 遺伝子型から有性型を *A. vanbreuseghemii* と同定し、ITS 領域 rDNA の配列はすべて同一であった。ネコから分離される白癬菌は *Microsporum canis* が多いが、今後は本菌種も念頭に入れて同定を進める必要がある。この他にニワトリおよびドブネズミの皮膚糸状菌保有率調査などに着手した。

#### 研究成果

##### 学会発表

- 1) Takahashi Y, Sano A, Yarita K, Kamei K, Nishimura K: An endemic cross-infection between humans and cats and a non-endemic human infection caused by *Arthroderma vanbreuseghemii* and molecular epidemiology. Abstract: p. 417, 2009, May 26-30, Tokyo, Japan. PP-06-22.
- 2) 佐野文子, 山口さやか, 宮里仁奈, 兼島 孝, 川満武聡, 又吉栄一郎, 村田佳輝, 池田忠生, 鎗田響子, 高山明子, 花見有紀, 高橋容子, 亀井克彦, 細川 篤. 沖縄県で飼育されているシャモより分離された人獣共通皮膚糸状菌症原因菌 *Arthroderma simii*. 第50回日本熱帯医学会大会 プログラム抄録集, p. 76, 平成21年10月22-23日. 沖縄コンベンションセンター, 沖縄.
- 3) 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. ドブネズミより分離された *Arthroderma vanbreuseghemii*. 第9回人と動物の共通感染症研究会学術集会. 講演要旨集. p. 10. 平成21年11月7日. 文京シビックホール, 東京.

## 研究課題 '09-16

### 海洋生物を素材とした抗真菌物質の探索

小林淳一（北海道大学大学院薬学研究院）  
五ノ井 透（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究成果

沖縄産海綿 *Agelas* sp. より単離したプロモピロールアルカロイド Nagelamide Q, Nagelamide R, および Benzosceptrin C に、それぞれ抗菌活性ならびに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) Araki A, Kubota T, Aoyama K, Mikami Y, Fromont J, Kobayashi J: Nagelamides Q and R, novel dimeric bromopyrrole alkaloids from sponges *Agelas* sp. Org Lett 11: 1785-1788, 2009.
- 2) Kubota T, Araki A, Yasuda T, Tsuda M, Fromont J, Aoyama K, Mikami Y, Wälchli M. R, Kobayashi J: Benzosceptrin C, a new dimeric bromopyrrole alkaloid from sponge *Agelas* sp. Tetrahedron Lett 50: 7268-7270, 2009.

## 研究課題 '09-17

### 分子系統解析による非 *Aspergillus fumigatus* の分類と生態・分布

堀江義一（千葉県立中央博物館）  
矢口貴志（千葉大学真菌医学研究センター）

#### 研究成果

真菌症原因菌として重要である *Aspergillus fumigatus* およびその関連テレオモルフである *Neosartorya* 属において、当センターに保存されている *A. fumigatus* およびその関連菌を研究材料とし、分類研究を進めている。各種遺伝子による系統解析よりこれらの菌種は5つのク

ラスターに分かれ、*A. fumigatus* とは系統的に異なる菌種 *A. lentulus*, *A. udagawae*, *A. viridinutans* を非 *Aspergillus fumigatus* と呼称している。これらは *A. fumigatus* とは分子系統ばかりでなく分生子の微細構造、生育温度、マイコトキシン生産性に違いが見られた。さらに薬剤耐性においても *A. lentulus*, *A. udagawae* は非 *A. fumigatus* との間に差が認められ、正確な同定が臨床上重要である。そこで非 *A. fumigatus* の分布調査を日本、中国などで行い、菌学的位置付けの詳細を検討している。

## 研究発表 学会発表

- 1) Yaguchi T, Tanaka R, Matsuzawa T, Abliz P, Hui Y, Horie Y: Classification of the pathogenic *Aspergillus* section *Fumigati* and *Neosartorya* based on phylogenetic analysis, and value based on the morphology. The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.
- 2) Yaguchi T, Horie Y, Matsuzawa T, Tanaka R, Abliz P, Hui Y: Current developments on the identification of *Aspergillus fumigatus* and relative. ISHAM 2009 Satellite Symposia Beijing, China, May 29-31, 2009.
- 3) Yaguchi T, Hiro Y, Matsuzawa T, Tanaka R, Hosoya K, Nakayama M, Tokuda H: Classification and distinction for pathogenic species of *Aspergillus* section *Fumigati*. The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.
- 4) Matsuzawa T, Yaguchi T, Horie Y, Tanaka R, Gono T. Development of rapid and specific molecular discrimination method in the pathogenic *Emericella* species. The 17th Congress of ISHAM, Tokyo, May 25-29, 2009.
- 5) 矢口貴志, 堀江義一, 松澤哲宏, 田中玲子, Paride Abliz, Yan Hui: 瘰癧性カビ毒生産菌 *Neosartorya* の系統分類とヘテロタリック種の評価. 日本マイコトキシン学会第 66 回学術講演会, 千葉, 8 月 28 日, 2009.

## 研究課題 '09-18

### *Penicillium* 属 section *Penicillium* における類別とマイコトキシン産生

高橋治男 (千葉県衛生研究所)  
横山耕治 (千葉大学真菌医学研究センター)  
陰地義樹・浅野勝佳 (奈良県衛生研究所)  
久米田裕子 (大阪府公衆衛生研究所)  
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 ((株) エフシージー総合研究所)

## 研究成果

食品などからの分離株 10 株について、チトクローム *b* の遺伝子解析により、詳細な同定を行った。また、酵母エキス添加ツアベック (CYA) 平板培地と麦角アルカロイド産生用液体培地で培養した。平板培養は、寒天培地での Ehrlich 反応を観察し、インドール代謝産物を検索した。液体培地は有機溶媒で抽出後濃縮液を薄層クロマトグラフィー (TLC) で分離し、Ehrlich 反応を見た。更には、高速液体クロマトグラフィーでシクロピアゾン酸 (CPA) の産生を確認した。

## 【結果および考察】

1. CYA 平板培養でのインドール代謝産物、特に CPA の産生確認は、sect. *Penicillium* 同定の手段となると考えられた。しかしながら、sect. *Penicillium* の分離株は種々のインドール化合物を産生しており、TLC での CPA 産生の確認は注意が必要であった。
2. これまで、CPA 産生が確認されていない菌種でも産生が認められた。
3. 今後、菌株を増やして検討する必要がある。  
以上の結果から、1) CYA 平板培養での、CPA などインドール代謝産物の産生は、同定の手段の一つの手法となりうるが、判定には十分な注意が必要であった。2) sect. *Penicillium* は、形態的にも類似している上、CPA などのインドール化合物の産生も、菌種などにより、多種多様であり、その正確な同定には遺伝子解析など、他の方法を併用して確認する必要性があることを示唆した。

## 研究発表

### 学会発表

#### 国際学会 (シンポジウム)

- 1) Yokoyama K, Kagami K, Wang L, Takahashi H: Evolution of by Cyt b gene, rDNA and morphology on *Aspergillus* section *Nigri*. The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century: Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 184, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.
- 2) Wang L, Kagami K, Yokoyama K: Strain identification of *Penicillium marneffei* by AFLP. The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century: Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 183, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.

### 一般発表

#### 国際学会

- 1) Yokoyama K, Kagami K, Wang L, Takahashi H: Identification of *Aspergillus* section *Nigri* by Cyt b gene, rDNA and morphology. The 17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology "ISHAM2009" Medical Mycology in the 21<sup>st</sup> Century: Scientific Base and Anticipated Challenges. Program and Abstract Book p. 399, Tokyo, Japan, May 25-29, 2009.

## 研究課題 '09-19

### 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

病理・細胞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

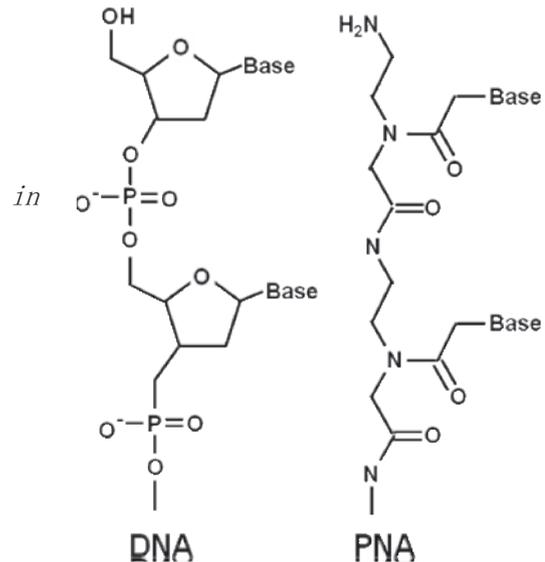


図1 DNAとPNAの構造

と考えられる。われわれは、病理学的組織の診断として、*in situ* hybridization (ISH) 法を開発してきたが、実用化には至っていない。今回感度、特異度をあげるために、プローブを含めた手法の検討を行った。

貴センター感染動物施設での、真菌を用いた感染動物組織を用いて基礎的検討を行った。また、より特異性を高めるために、蛍光標識のPNAプローブを用いた。

PNAプローブは右記図のような形状で、PNAとはペプチド核酸 (Peptide Nucleic Acids) の略で、DNAやRNAの主鎖は糖 (デオキシリボース、もしくはリボース) がリン酸ジエステル結合を介して繋がられているのに対し、PNAの主鎖は (N-(2-アミノエチル) グリシン) がペプチド結合で繋がれている。

PNAにはDNAやRNAに見られるリン酸基による陰電荷がないため、静電反発の減少により、PNAとDNAもしくはRNAで形成される2重鎖は、DNA/DNAもしくはDNA/RNAの2重鎖よりもきわめて強い。このためTm値が上がり、高感度に検出できる上に、プロテアーゼやヌクレアーゼに強く取扱いも容易である。

*Fusarium* 属などの一部の属に属特異的なプローブを作製することができた。

### 研究発表

#### 論文発表

- 1) Shinozaki S, Okubo Y, Nakayama H, Mitsuda A, Ide T, Murayama SY, Shibuya K. Application of *in situ*

hybridization to tissue sections for identification of molds causing invasive fungal infection. Jpn. J. Med. Mycol. 50 (2): 75-83, 2009.

#### 学会発表

- 1) Shinozaki M, Nakayama H, Okubo Y, Ide T, Miyake Y, Asaki K, Murayama SY, Shibuya K: Development and application of *in situ* hybridization with peptide nucleic acid probes on tissue sections for histological diagnosis of invasive fungal infections. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (2009. 5. 25-29) Tokyo.
- 2) Murayama SY, Koji Yokoyama, Masashi Yamaguchi, Ubukata K (selected oral poster forum): Gene expression in *Candida albicans* fatty acid desaturase null mutant. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (2009. 5. 25-29) Tokyo.
- 3) Myoken Y, Sugata T, Mikami Y, Murayama SY: Invasive or-facial fungal infections in patients with hematological malignancies: Report of 27 cases due to *Aspergillus* and non-*Aspergillus* species. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (2009. 5. 25-29) Tokyo.
- 4) 村山琮明, 生方公子: アレルギー性気管支肺真菌症患者の粘液栓子から検出された真菌要素のISH法による同定. 第92回日本細菌学会関東支部総会 (2009. 11. 5-6) 東京医科歯科大学.

#### 研究課題 '09-20

#### 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

病原真菌による感染現象の成立過程では、宿主応答に反応した形態的、生理的に変化に伴い微生物由来揮発性の低分子化合物 (MVOCs) が変化することが予想される。本申請課題ではその点について注目し、病原微生物

の感染成立過程を MVOCs の変化として捉えることを目的としている。

感染現象の成立過程での病原真菌の宿主応答への反応について理解を深めるために、宿主への感染過程、宿主応答に対して放出される MVOCs に注目して実験を行う。実験室培養条件下で放出される MVOCs と、感染と宿主応答時に放出される MVOCs は異なる事が十分に予測される。そこで、深在性真菌症の代表的菌種を用いて、各種培養条件下で、培養の段階ごとに経時的にサンプリングを実施し、培地や温度などの培養条件による MVOCs の違いを固相マイクロ抽出-ガスクロマトグラフィー質量分析 (SPME-GC/MS 法) 検出した。

平成 21 年度は、土壌由来の *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) 株と基準株 (Kuboyama 株) の発散する MVOCs を固相マイクロ抽出-ガスクロマトグラフィー質量分析 (SPME-GC/MS) 法を用いて検出し、*A. fumigatus* の特有の MVOCs を確認した。この研究から、培養の過程において異なる MVOCs の検出されること、培養条件により異なる MVOCs が検出される可能性が強く示唆された。

次年度は、動物感染実験モデルを使用し、感染成立過程での MVOCs 分子種を特定する。

#### 研究発表

- 1) Iwaguchi SI, Takeuchi T, Kiuchi M, Okubo M, Hosokawa Y, Matsutani T, Hashimoto Y, Yokoyama K and Suzuki T: Profile of microbial volatile organic compounds (MVOCs) in *Aspergillus fumigatus*. Symposium CB-08, ISHAM (Tokyo) 2009.
- 2) Okubo M, Hosokawa Y, Hashimoto Y, Matsutani T, Kiuchi M, Takeuchi T, Iwaguchi SI and Suzuki T: Development of the portable mold-derived odor detecting system based on IMS technique for preventing the deterioration of the cultural properties. 18th International Mass Spectrometry Conference (Berlin) 2009.

## 研究課題 '09-21

### 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 (京都再生医学研究所)  
田口英昭・亀井克彦  
(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

我々は aldehyded  $\alpha$ -glucan と  $\epsilon$ -poly (L-lysine) を材料とした新しく開発された組織用接着剤の抗菌効果を *in vitro* で検討した。

試験菌株は *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* の細菌および *Candida albicans* を用いた。組織用接着剤の抗菌効果を確認した結果、実験で用いた全ての細菌で、抗菌効果を持っているのが明らかとなった。また、*C. albicans* についても抗菌効果が認められた。

#### 研究発表

##### 学会発表

- 1) 朴 鐘喆, 朴 奉柱, Kim HL, 金 学嬉, 玄 丞侏, 田口英昭, 亀井克彦, 高鳥浩介: 組織用接着剤 (LYDEX) の抗菌効果に対する研究. 日本防菌防黴学会第 37 回年次大会, 要旨集 69: 東京, 9 月 28 ~ 29 日, 2010.

## 研究課題 '09-22

### 抗菌性加工木材の開発

松本達二・三上 健・渡部俊彦・小笠原綾子  
(東北薬科大学, 微生物学教室)  
山口正視・川本 進  
(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

*Cladosporium cladosporioides* は、黒カビの一種であるが、ヒトに対して病原性を示すことはなく、稀に、アレルギーを誘発する事が知られている真菌である。本菌は、

浴室や洗面所など湿気の多い所に発生し、黒く変色することから視覚的に認知されやすく洗浄の対象とされている。この除菌には、主に市販の塩素系洗剤が使用されるが、塩素系洗剤はヒトに対して毒性があり、環境に対しても有害な物質である。*C. cladosporioides* は自然界に広く分布し、胞子を飛散させて生息域を拡大していく性質があり、浴室などに発生した黒カビを除去しても、胞子が容易に屋内に侵入し、再び、壁などが汚染される。このような根絶が困難な微生物による汚染に対し、塩素系洗剤のような有害物質を恒常的に使用し続けることは、保健・環境衛生的に良いこととは言えない。そこで我々は、*C. cladosporioides* をはじめとする微生物が増殖し難い建築部材の開発を目標に実験を企画した。エステックウッド (株) が開発した加工木材 (エステックウッド) は、ヒノキなどの乾燥木材を ST 処理 (真空条件下で窒素ガスを挿入・加圧し、170℃ ~ 240℃, 1 ~ 3 日間処理) した製品で、カワラタケ (キノコ的一种) による腐敗に抵抗性を示すことが確認されていた。今回の検討で、エステックウッドを *C. cladosporioides* 懸濁液中で培養したところ、菌の増殖が著しく低下したことから、加熱処理などにより木材中に含まれる抗菌成分が変性し、強い抗菌活性を示す物質に変化した可能性が示唆された。また、エステックウッドは未処理の木材と比較して、含水率が低いことから加熱処理により導管の萎縮が起きている可能性が予想された。導管の閉塞は、微生物の木材深部への侵入を抑制し、木材の腐敗を防ぐ効果が期待される。エステックウッドが、*C. cladosporioides* の物理的侵入を阻害できるか状態にあるか電子顕微鏡により観察を行ったところ、エステックウッドの導管内径は、*C. cladosporioides* の菌体よりも大きく、物理的な侵入を阻害できる構造とはなっていないことが明らかになった。

以上の結果より、エステックウッドは *C. cladosporioides* の侵襲に対して抵抗性を示す木材であることが明らかになった。しかし、木材内部への侵襲阻害が、内在する成分に依存していることから、長期間の菌による暴露に対しては侵襲・増殖を防ぎきれないと考えられた。

## 研究課題 '09-23

### 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

一般に、真核細胞では、環境ストレス応答と細胞周期制御とは密接に関係していることが知られている。病原性酵母 *Cryptococcus neoformans* では、「自然環境」、及び「感染動物体内」という極めて異なる両環境下において適応、増殖して生存する能力を有する。そして、ストレス条件下、あるいは、生体に感染時、細胞は大型化し、細胞壁と莢膜は顕著に厚くなる等、特徴的な構造変化を示すと同時に、一方で、モデル出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* とは大きく異なる特異な細胞周期制御機構の存在を我々自身、本菌に見出している。本研究では、細胞周期制御機構を細胞内シグナル伝達カスケードとして捉え、ストレス応答によるその細胞周期制御に関わる分子の同定など、細胞周期制御機構を生化学的、分子生物学的手法を用いて明らかにすることを目的とする。*S. cerevisiae* でも、細胞周期とストレス応答は密接に関係していることが知られており、*Cryptococcus neoformans* における、このような複雑な制御機構の中心に位置する遺伝子サイクリン依存性タンパク質キナーゼ (Cdk-1) やサイクリン類とその関連遺伝子の網羅的同定と機能解析を行うことが本研究の最終的な目的である。本研究では、我々がすでに構築した *C. neoformans* の関連遺伝子破壊株などの比較プロテオーム解析などを試み、考察しつつある。

#### 研究発表

##### 国際学会発表

- 1) Kawamoto S, Virtudazo EV, Ohkusu M, Sonoda T, Miura S, Takeo K: The main cell cycle genes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. 10th European Conference on Fungal Genetics (ECFG10), Leeuwenhorst, The Netherlands, March 29-April 1, 2010.

## 研究課題 '09-24

### *Candida* 属のステロール合成系異常を利用した farnesol 排出機構解析

長 環 (福岡歯科大学)

知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

*C. albicans* ではクオラムセンシング分子 farnesol の細胞外排出機構はまだ解明されていない。本研究では一倍体の利点を生かして前年度構築した *C. glabrata* における *erg9* conditional mutant を用いて farnesol の細胞外排出の有無とこの mutant の細胞周期を Block and release 法で解析した。

*ERG9* 変異株による farnesol の排出の有無

*C. glabrata* 変異株と野生株、farnesol 排出のポジティブコントロールとして *C. albicans* を対数期中期まで増殖後、さらに minimum 培地で 37 °C、24 時間培養した上清を 3000 ml 集めた (*C. albicans* は 300 ml)。常温による酢酸エチル抽出、真空乾燥後、薄層クロマトグラフィー法にて farnesol を定性分析した。その結果、*C. albicans* の培養上清からは farnesol が検出できたが、*C. glabrata* からは野生株も変異株もいずれの培養上清からも検出できなかった。文献上ではアイソトープを用いた実験ではあるが、パン酵母のスクワレン合成酵素の欠損株から、わずかながら farnesol が細胞外へ排出されることが報告されている (Karst F & Lacroute F 1977 Molec gen Genet)。ポジティブコントロールでは検出できたことから、*C. albicans* 程度に排出されれば十分に解析可能であるが、今回はアイソトープを用いていないため、今後この方法での解析を進めるならば、抽出条件の検討が必要と思われる。

*ERG9* 変異株の細胞周期への影響

*ERG9* 変異による farnesol の細胞外への排出は明らかにはできなかったが、細胞内に蓄積される可能性は考えられる。そこで、farnesol の細胞内蓄積を想定し、細胞周期への影響を検討した。Block and release 法を用い、顕微鏡下での分芽胞子形成を経時的に観察した。その結果、変異株において第 2 周期目に 10 分程度の細胞周期遅延が観察された。

以上の結果から変異株では細胞内への farnesol の蓄積

は想定できるものの、細胞外への活発な排出は計測されなかった。

## 研究課題 '09-25

### 病原性真菌 *C. 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

*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。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、常在化することが可能であった。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。

#### 学会発表

- 1) 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 ポスター発表. 2010. 11.
- 2) 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 口頭・ポスター発表. 2010. 11.
- 3) 山本 茂, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 水野貴之: 42 °C 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 ポスター発表. 2010. 11.
- 4) 大岩嵩裕, 前田淳史, 文谷政憲, 中山浩伸, 知花博治, 水野貴之: セルロースを糖源とした *Candida glabrata* によるエタノール生産, 第 28 回イーストワークショップ ポスター発表. 2010.11

- 5) 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 ポスター発表, 2010. 11.

## 研究課題 '09-26

### *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、全 8 株の中で 11255 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 活性化に関わる表層多糖構造が変異している可能性が予想されたため、今後は、表層多糖構造の変異と樹状細胞による認識機構との関連性についてより詳細に解析する必要があると考えられた。

## 研究課題 '09-27

### 病原性酵母 *Candida* に対する抗真菌剤の標的候補としてのリン酸代謝負の制御因子の重要性について

宮川洋三 (山梨大学工学部生命工学科)  
知花博治 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

わが国は現在、高齢化社会を迎え、免疫能の低下した易感染性宿主における日和見感染症、特に、健康人に常在する病原性真菌、カンジダ属酵母によるカンジダ症が急増しつつあり、「より良い抗真菌剤の開発」が緊急の課題となっている。この課題に関する基礎研究分野では、カンジダ症の主要な原因菌である *Candida albicans* および一倍体ゲノムで遺伝子解析の比較的容易とされる *C. glabrata* においては、ゲノムの全塩基配列がすでに決定され、必須遺伝子の解析に有用な TET システムも中山らによって確立されている。

そこでわれわれはカンジダ症対策の一環として新規の抗真菌剤の開発を展望し、*C. albicans* 及び *C. glabrata* を主な材料に、その標的候補の一つとして、両菌種のリン酸代謝制御系における負の制御因子 *PHO85* につき、TET システムによる解析を行なった。その結果、*in vitro* 及び *in vivo* でともに本遺伝子の重要性が立証され、本遺伝子は今後の抗真菌剤開発における標的候補の一つとして重要な意義を持つことが示唆された。

#### 学会発表

- 1) 宮川洋三, 竹川大治, 知花博治, 宇野 潤, 中山浩伸: 病原性酵母 *Candida* に対する抗真菌剤の標的候補としての必須遺伝子群の探索と同定, 第 54 回日本医真菌学会総会 (セレクトッドシンポジウム), 真菌誌 51 (増刊 1 号): p.66, 東京, 10 月 16 ~ 17 日, 2010.

## 研究課題 '09-28

### カンジダ常在 / 感染と免疫の研究

荒川明子 (京都大学附属病院皮膚科)  
知花博治・宇野 潤  
(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

カンジダは皮膚や腸管に常在する常在真菌である。カンジダは、宿主の免疫系に認識されながら、質的、量的に静的に常在菌叢の一部を形成していると考えられる。宿主免疫系は、カンジダに対して寛容になっているが、一度カンジダが増殖し感染をおこすと免疫系はカンジダに対して反応し、好中球を中心とした免疫反応をおこす。カンジダ血症の診断の遅れは治療を困難にしており、早期診断や予防のためにも、カンジダ症の新たな指標があるのではないかと考えている。そこで、代表者らは常在するカンジダや宿主の状態とカンジダ症移行との間に何らかの因果関係を調べている。代表者らは、まずマウスにおけるカンジダ常任の感染モデル樹立を試みた。数種のマウス系統にカンジダの経口投与を行い、抗生剤投与または、糖分を多く含む配合飼料によって、マウスの腸管内に、長期間高力価のカンジダを常在させることに成功した。今後、この常在カンジダのモデルマウスを使い、カンジダと宿主の関わりをより包括的に明らかにできるものと期待している。

#### 学会発表

- 1) 荒川明子, 田中壯一, 高倉俊二, 宇野 潤, 知花博治, 宮地良樹: 爪カンジダ症患者で常在カンジダが増加している。静岡真菌アレルギー学会 2010 年 7 月。

## 研究課題 '09-29

### カンジダ・アルビカンス genotype の多様性と特異性

神戸俊夫 (名古屋大学大学院医学研究科)  
矢口貴志・田中玲子  
(千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

真菌センターに保存されている諸外国 (スリランカ, 新疆ウイグル自治区, チェコ) 産 *C. albicans* の genotype について, microsatellite (CDC3, CAI, CAIII) のフラグメント解析により調べた. 前年度に行った日本人でカンジダ非感染者の結果と合わせて検討したところ, 本方法が株識別や分子疫学的研究に非常に有効なツールであることが確認できた.

#### 研究発表

##### 論文発表

- 1) Adachi H, Shimizu K, Hattori H, Tanaka R, Chinbana H, Takagi Y, Tomita Y, Kanbe T: Genotyping of *Candida albicans* by fragment analysis of microsatellites combined with 25S rDNA and RPS-based strategies. *Jpn J Med Mycol* 50: 167-174, 2009.

## 研究課題 '09-30

### *C. glabrata* のステロール取り込みの分子機構の解明

中山浩伸 (鈴鹿工業高等専門学校・生物応用化学科  
／鈴鹿医療科学大学薬学部薬学科)  
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

本研究期間において, ステロール取り込みを制御する転写因子, アクセサリータンパク質の同定を行い, 以下の成果を得た. 近縁種である出芽酵母のステロールの取り込みについての知見および DNA マイクロアレイの結

果を元に転写因子や細胞壁マンノプロテインなどの候補遺伝子を選抜した. それらの遺伝子破壊株を構築し, フルコナゾールによるエルゴステロール合成阻害が血清の添加によって回避されるかどうかの検討を行った. 絞り込みを行った結果, 血清添加によって Zn フィンガーモチーフを持つ転写因子 *UPC2A* (CAGL0C01199g) とマンノプロテイン *TIR3* (CAGL0C03872g) をコードする遺伝子の感受性の低下が回避され, フルコナゾールの感受性の低下も見られなかった. また, 発現量解析から, 転写因子 *UPC2A* の欠損の株では, 血清の添加によって *CgAUS1* の発現上昇が回避された. これらのことから, *CgAus1p* の機能発現には, Zn フィンガーモチーフを持つ転写因子 *UPC2A* とマンノプロテイン *TIR3* が重要であること, そして, *UPC2A* は, 直接 *CgAUS1* の発現を調節していることが示唆できた.

#### 学会発表

- 1) Nakayama H, Ueno K, Mitani H, Tanabe K, Aoyama T, Mizuno T, Niimi M, Chibana H: Genetic studies on sterol and mannoprotein biosynthesis in *Candida glabrata*, Symposium in 17<sup>th</sup> ISHAM, Tokyo, May 25<sup>th</sup> - 29<sup>th</sup>, 2009.
- 2) Chibana H, Ueno K, Sasamoto K, Mitani H, Aoyama T, Uno J, Nakayama H, Mikami Y: Integration of functional genomics in pathogenic fungus *Candida glabrata* and development of antifungal drug targets. Symposium in 17<sup>th</sup> ISHAM, Tokyo, May 25<sup>th</sup> - 29<sup>th</sup>, 2009.
- 3) Nakayama H, Tanabe K, Okano M, Aoyama T, Chibana H, Miyazaki Y, Niimi M: Isolation of *Candida glabrata* regulatory elements that affect the sterol transporter *AUS1*-regulated azole susceptibility of cells grown in serum-containing medium. Poster presentation in 17<sup>th</sup> ISHAM, Tokyo, May 25<sup>th</sup> - 29<sup>th</sup>, 2009.
- 4) Aoyama T, Ueno K, Nakayama H, Chibana H: Re-annotation of the *Candida glabrata* genome. The 8<sup>th</sup> International Workshop on Advanced Genomics, Tokyo, June, 2009.
- 5) 中山浩伸, 岡野 誠, 青山俊弘, 田辺公一, 名木 稔, 知花博治, 宮崎義継, 新見昌一, 病原真菌 *Candida glabrata* のステロールトランスポーター *CgAUS1* の制御因子の同定, 口頭発表 第7回感染症沖縄フォーラム, 沖縄. 2月, 2009. 2.

- 6) 中山浩伸, 田辺公一, 名木 稔, 知花博治, 宮崎義継, 新見昌一, 病原真菌のステロールトランスポーターの発現機序, 口頭発表 第 82 回日本細菌学会総会. 3月, 2009.

## 研究課題 '09-31

### *H. capsulatum* 抗原の可溶化タンパク質の発現技術の確立とその利用

瀧口正樹 (千葉大学医学研究院遺伝子生化学)  
高木広明・草野賢一・渡邊俊介  
(株式会社プロテイン・エクスプレス)

#### 研究成果

ヒストプラズマ症は輸入真菌症の一つで, 近年の流行地との往来増加などによりわが国での報告例が増加し, 国内感染例を含め今後も更なる増加が予測されている. 現在, 迅速診断の一つとして, ヒストプラズマ H 抗原及び M 抗原特異抗体検出による血清診断が行われている. しかしながら, 厚生労働省研究班は現在市販されている診断試薬では国内の症例に対して十分な感度が得られなかったことを報告しており, 改良が望まれる. 亀井ら (第 50 回日本医真菌学会総会 (2006)) は, *Histoplasma capsulatum* からヒト患者血清に反応する 8 種類の新規ヒストプラズマ抗原タンパク質を同定した. さらに「不溶性」状態ではあるが抗原タンパク質の発現・精製にも成功している.

昨年度の共同利用研究では, これら抗原タンパク質を「可溶性」状態で供給できれば, ヒト生体内での免疫反応の状態をより反映すると考え, H 抗原及び M 抗原も含めこれら *H. capsulatum* 抗原タンパク質 10 種類の可溶化発現とその精製を試み, 抗原タンパク質の絞込みを行った.

大腸菌発現系での検討により, 3 種類が可溶性で発現し, 6 種類が不溶性で発現した. 可溶性で発現した 3 種類では 2 種類で ELISA 解析に使用する充分量の精製タンパク質が得られた. 不溶性で発現した 6 種類についてはリフォールディング条件を検討することにより全てで可溶化に成功し, そのうち 5 種類で ELISA 解析に使用するのに充分量の精製タンパク質が得られた.

これら精製タンパク質として得られた 7 種類のうち 5 種類を用いて, ELISA によりヒト患者血清との反応性を不溶性タンパク質と比較し検討を行ったが, 可溶性で精製された抗原タンパク質を用いた場合には患者血清中抗体との反応が認められなかった. この理由として ELISA プレートにコーティングされたタンパク質が抗原部位を露出していないことが考えられた. 不溶性抗原タンパク質では一度尿素により変性させており, このことが抗原部位の十分な露出につながっている可能性がある. よって, 患者血清に対する有効エピトープ部位の絞込みを行うことにより, 抗体に対する感度を向上させることができると考え, 無細胞タンパク質合成系での 2 種の抗原タンパク質の部分配列の合成条件の検討を行った. その結果, 全長のタンパク質に比べ, 部分配列の合成により発現効率や溶解性の上がる部位を 2 抗原でそれぞれ見出した.

今年度は, まず昨年度発現に唯一発現に成功しなかった抗原に関して, 大腸菌発現系を再構築し検討した結果, 可溶性タンパク質として発現し, 解析に充分量の精製タンパク質が得られた. また昨年度すでに得られている 7 種類の可溶性タンパク質の応用利用を目的に, そのうち 1 つを抗原としてウサギポリクローナル抗体を作製した. その結果, 使用した抗原タンパク質に対して十分な力価のウサギポリクローナル抗体が得られた. 今後, 今年度得られた抗原と抗血清も含めて, ヒストプラズマ診断法への応用を検討していく.

## 研究課題 '09-B1

### ゲノムスキニングによる *Nocardia terpenica* の二次代謝産物生合成遺伝子の探索

石川 淳・星野泰隆

(国立感染症研究所 生物活性物質部)

五ノ井 透 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

【目的】すでに 1,500 を超える生物のゲノム配列が明らかにされているが, そのうちアクチノミセス科 (*Actinomycetales*) のゲノムは 200 を数え, ゲノム科学の領域において, 放線菌がいかに重要視されているかが窺

える。これまで行われた放線菌のゲノム解析の成果のひとつは、我々が現在認知できている放線菌の二次代謝産物生産能力は、放線菌が本来持っている能力の1割ほどに過ぎないということであろう。従来の方法で残り9割の能力を引き出すことは困難と考えられるが、ゲノム配列からのアプローチがそれを可能にするかも知れない。

*Nocardia terpenica* IFM 0406 は、三上ら（真菌医学研究センター）によって、ブラジリカルジン、ブラジリノライド、エリスロマイシンE、ノカルディオラクトンなどの多様な二次代謝産物を生産することが明らかにされてきた病原性放線菌の一種である。ブラジリカルジンについては先ごろ生合成遺伝子がクローニングされたが、他については試みられておらず、その生合成過程は不明である。本研究では、次世代シーケンサーを用いて IFM 0406 株のゲノムスキニングを行い、残る3種の生合成過程や調節機構解明の足掛かりを得るとともに、新規な二次代謝産物遺伝子の探索を試みた。

【方法および結果】 IFM 0406 のゲノムを次世代シーケンサー（イルミナ社 GAI）でシーケンシングし、75 bp のリードを約 780 万本得た。これを velvet を用いて種々の条件でアセンブルした結果、75 bp のうち 35 bp を用いた場合が最も結果が良く、1 kb 以上のコンティグ 1,725 個を得た（表 1）。また、この時のコンティグ総延長は約 5 Mbp であり、PFGE から推定された IFM 0406 のゲノムサイズ（未発表）とほぼ一致した。

次に、1kb 以上のコンティグに対して、MetaGeneAnnotator により遺伝子予測を行い、アミノ酸配列に変換したのに対して、ポリケチド合成酵素（PKS）、非リボゾーム性ペプチド合成酵素（NRPS）ならびに二次代謝産物生合成遺伝子クラスターに特異的に見出される正の調節因子（SARP）のホモログを検索した結果、それらを含むと思われるコンティグがそれぞれ 30, 86 あるいは 5 個見出

表 1 アセンブル結果

リード長 (bp)		35
リード数		7,820,006
コンティグ数		27,255
分布	>1 kb	1,725
	>5 kb	206
	>10 kb	64
	>50 kb	1
	>100 kb	0
最長コンティグ (kb)		51.7

表 2 二次代謝生合成遺伝子を含むと予想されるコンティグ

	コンティグ数
Polyketide synthase (PKS)	30
Non-ribosomal peptide synthetase (NRPS)	86
SARP-family regulator (Streptomycete antibiotic regulatory protein)	5

された（表 2）。また、それらのいくつかのコンティグに対してカセット PCR 法（タカラバイオ）によるコンティグの連結を行ったところ、30 kb 以上の領域を明らかにすることも出来た。

コンティグ番号 20294 は、SARP を 2 個含む 17.6 kb のコンティグであり、2 個の SARP に挟まれて II 型 PKS と思われる遺伝子が存在していた。II 型 PKS はキノン系の物質の生合成に関わっていることが知られているが、これまでに IFM 0406 からそのような物質は分離されていないため、この II 型 PKS 遺伝子がこれらの SARP によって調節されているとすれば、SARP 遺伝子の活性化によって、新たな物質の発見につながると考えられた。そこで、2 個の SARP 遺伝子を pNV ベクターに組み込んで IFM 0406 で強制発現させたところ、2 個の SARP を発現させた株だけに新たな HPLC ピークが認められた（図 1）。生産物の構造ははまだわからないが、2 個の SARP 遺伝子に挟まれた領域に存在する遺伝子は、SARP 遺伝子を発現させた時のみに発現が見られたことから、これらの物質は、2 個の SARP 遺伝子に挟まれた領域に存在する遺伝子から生産されたものと考えられた。

【考察】本研究では、放線菌ゲノムに存在する多様な二次代謝産物生合成遺伝子を、次世代シーケンサーを用いて、迅速に発見することを試みた。研究はまだまだ半ばだが、カセット PCR によって明らかとなった 30 kb

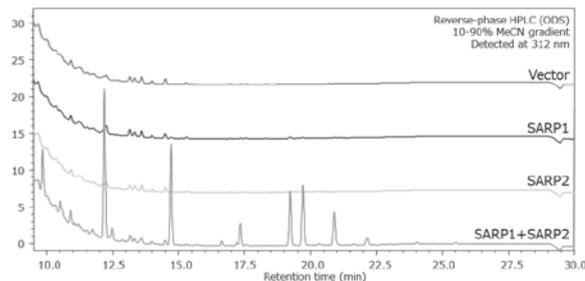


図 1 SARP 遺伝子の強制発現による物質生産。各菌株の培養液の 50% MeOH 抽出液を HPLC により分析した。

を超える領域は、主に PKS 遺伝子を含んでおり、そのサイズからブラジリノライドの生合成遺伝子である可能性が高く、今後遺伝子破壊などにより証明していく予定である。

一方、ゲノムシーケンスによって見出した SARP 遺伝子を強制発現することによって、それが支配する生合成遺伝子を活性化できることは、SARP 遺伝子を指標とした新規な二次代謝産物生合成遺伝子の発見につながると思われる。PKS や NRPS などの生合成酵素とのホモロジーに頼らない点で、既知の物質とは全く異なる二次代謝産物の発見につながる可能性がある。

## 研究課題 '09—B2

### 真菌表層糖鎖プロファイリング及び新規レクチンの抗真菌機構の解析

平林 淳・館野浩章

(産業技術総合研究所 糖鎖医工学研究センター)

五ノ井 透 (千葉大学真菌医学研究センター)

#### 研究成果

病原真菌の細胞表面糖鎖の研究はこれまでに病原性真菌の血清型による同定法の開発や細胞壁成分をターゲットにした抗真菌剤の開発などで注目を集めてきた。また、免疫や生体防御の研究においても重要と考えられている。しかし、糖鎖構造解析の煩雑さから、一部の真菌を除いては、細胞表面糖鎖の研究がほとんどなされていないのが現状である。今回我々はレクチンマイクロアレイを用いて分類学上極めて幅広く分布する真菌について表面糖鎖を解析し、比較検討した。レクチンマイクロアレイ解析で得られた結果はフローサイトメトリーや蛍光顕微鏡で検証した。真菌株の分子系統樹上の位置と細胞壁表面の構成糖鎖の相関関係を比較したところ、モデル

生物として知られる出芽酵母の属する半子囊菌綱ではマンノースに結合するレクチンにのみシグナルが見られた種が多く、比較的単純な糖鎖構造が予測されたのに対し、分裂酵母の属する古生子囊菌綱ではほとんどの株がマンノースに加えガラクトースを持っていた。さらにキノコなどを含むグループで知られる担子菌門に含まれる酵母ではマンノース、ガラクトース、フコースを有する種が多く確認され、担子菌門に含まれる酵母は複雑な糖鎖構造を持つ可能性が示唆された。このように真菌の分子系統的なグループとレクチンマイクロアレイによる糖鎖構造のプロファイルには相関性が見られた。

一方、これまでに当研究室においてバイオインフォマティクスを援用して新規ヒトレクチンの探索を行ったところ、高密度マンノースに結合特異性を示し、カンジダやマラセチアなど各種ヒト病原真菌に強く結合するレクチンを見出した。このレクチンの機能解析としてヒト小腸上皮細胞を用いて、カンジダの接着阻害実験を行ったところ、レクチンは有意にその接着阻害活性を有することが分かった。

#### 主な実績

- 1) 芝崎あずさ, 館野浩章, 平林 淳, 五ノ井 透: レクチンマイクロアレイを用いた真菌細胞表面糖鎖の解析, 第 29 回日本糖質学会年会, 2009.
- 2) 芝崎あずさ, 館野浩章, 平林 淳, 五ノ井 透: レクチンマイクロアレイを用いた真菌グリコーム解析, 第 82 回日本生化学会大会, 2009.
- 3) Shibasaki A, Tateno H, Hirabayashi J, Gono T: A novel strategy for fungal cell-wall glycome profiling using lectin microarray. 第 83 回日本細菌学会総会, 2010.
- 4) Shibasaki A, Tateno H, Hirabayashi J, Gono T: Profiling of fungal cell-surface carbohydrates using a lectin microarray technique. Annual Conference of the Society for Glycobiology, 2010.

## 2009年度 共同利用研究報告書 研究成果集計累計

発表年	2009年	2010年	2011年
原著論文	4	2	0
学会発表	24	17	2
総説	0	0	0

# 平成 22 年度 共同利用研究会報告

## 第 4 回アスペルギルス研究会

7 月 24 日, アスペルギルス研究会が千葉大学医学部附属病院第三講堂で行われた. 本研究会は *Aspergillus* 属菌とそれが引き起こす疾病に特化した研究発表の場を提供する国内唯一の研究会であり, 第 4 回を数える. 回を重ねるごとに参加者は増え, 今回も北海道から九州まで 50 人近くの研究者の参加を得ることができた. 当日は基礎・臨床の別なく 9 つの演題発表が行われ, 参加者から例年にも増して非常に活発な討論が行われた.

日時: 2010 年 7 月 24 日 (土) 13:00-17:00

場所: 千葉大学医学部附属病院第三講堂

代表: 倉島篤行 (複十字病院呼吸器内科)

発表演題は以下のとおりである.

開会の挨拶: 複十字病院呼吸器内科 倉島篤行 (代表)

1) 「当科におけるアスペルギルスの薬剤感受性について」

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学

○田代将人, 高園貴弘, 細萱直希, 泉川公一  
掛屋 弘, 河野 茂

2) 「糸状菌 (アスペルギルス) 培養検査の施設間比較問題点およびアスペルギルス沈降抗体と培養菌種との関係」

(独) 国立病院機構東名古屋病院 呼吸器科

○林 悠太, 篠田裕美, 中川 拓, 小川賢二

3) 「*Aspergillus udagawae* による気管支アスペルギルス症 (症例報告)」

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学

○細萱直希, 田代将人, 高園貴弘, 泉川公一  
掛屋 弘, 河野 茂

4) 「*Aspergillus fumigatus* のバイオフィーム形成促進因子の探索」

千葉大学真菌医学研究センター 臨床感染症分野

○豊留孝仁, 渡辺 哲, 亀井克彦

5) 「慢性肺アスペルギルス症マウスモデル作成の試み, 2010」

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学

○高園貴弘, 田代将人, 細萱直希, 泉川公一  
掛屋 弘, 河野 茂

6) 「慢性肺アスペルギルス症の予後因子の検討」

(独) 国立病院機構旭川医療センター 呼吸器科, 臨床研究部

○藤内 智, 山本泰司, 武田昭範, 西垣 豊  
藤田結花, 山崎泰宏, 藤兼俊明

7) 「病理診断材料における病原真菌の検出を目的とした新規遺伝子学的同定方法の検討」

<sup>1)</sup> 東邦大学医療センター大橋病院 脳神経外科

<sup>2)</sup> 同医学部病院 病理学講座

<sup>3)</sup> 同医療センター大森病院 病理部

<sup>4)</sup> 北里大学大学院 感染制御科学府, 病原微生物分子疫学研究室

○中山晴雄<sup>1,2)</sup>, 篠崎 稔<sup>3)</sup>, 大久保陽一郎<sup>2)</sup>

職 珠玉<sup>2)</sup>, 若山 恵<sup>2)</sup>, 井手 忠<sup>3)</sup>, 村山琮明<sup>4)</sup>  
渋谷和俊<sup>2)</sup>

8) 「室内空気中から採取した *Aspergillus ochraceus* と *Aspergillus fumigatus* の mycotoxin 産生能」

<sup>1)</sup> エフシージー総合研究所 環境科学研究室

<sup>2)</sup> 奈良県保健環境研究センター

○川上裕司<sup>1)</sup>, 橋本一浩<sup>1)</sup>, 陰地義樹<sup>2)</sup>, 浅野勝佳<sup>2)</sup>

9) 「*Aspergillus* 属が産生するエラスターゼインヒビターの精製とその性質」

<sup>1)</sup> 名城大学薬学部 微生物学研究室

<sup>2)</sup> (独) 国立病院機構東名古屋病院 呼吸器科

<sup>3)</sup> 白鶴酒造(株)

○奥村欣由<sup>1)</sup>, 鈴木 誠<sup>1)</sup>, 打矢恵一<sup>1)</sup>, 小川賢二<sup>2)</sup>

小森由美子<sup>1)</sup>, 山下伸雄<sup>3)</sup>, 二改俊章<sup>1)</sup>

閉会の挨拶: (独) 国立病院機構東名古屋病院  
臨床研究部 小川賢二

懇親会

## 第24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24回目で, 累積受講生は290名余になる. 本年も定員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22年7月13日(火)～7月16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) 5名  
医師・歯科医師 5名  
研究者 2名

地域別受講者: 東京 6名  
関東 2名  
中部 2名  
九州 1名  
海外 1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, 渡辺 哲, 田口英昭, 田中玲子, 鎗田響子, 菊池和代, 矢澤勝清, 高橋容子)

7月13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)  
真菌細胞概論(山口)  
基本手技(田中)  
補助診断法(亀井, 田口)  
臨床材料の取り扱い(渡辺)  
薬剤感受性試験法(渡辺・鎗田)

7月14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)

7月15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(渡辺・鎗田)  
病原性放線菌(五ノ井・矢澤)

7月16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)  
感染症法(川本)

## 第6回千葉大学真菌医学研究センター公開市民講座開催

2010年5月16日(日), 千葉大学西千葉キャンパスけやき会館大ホールにて, 第6回目となる真菌医学研究センター主催の公開市民講座を開催した. 参加者は140名を数え, 大変好評であった.

テーマ: 「カビ!? ～そろそろ気になりますね～ Part 5」

演題: 1. 身近な動物のカビの病気

高橋英雄

(千葉県獣医師会人獣共通感染症委員・エイ.ランドおゆみ野動物病院院長)

2. カビの進化

横山耕治

(千葉大学真菌医学研究センター准教授)

講座内容:

カビはモノを腐らせ, 私たちを不愉快にします. また, 我が国の食生活になくてはならない発酵食品はカビの力を利用して作られています. 更に, カビは私たちの皮膚や内臓にまで生えて水虫や死に至るような重い病気を引き起こすこともあります. 一方, カビに近い生物である

酵母にはパンやアルコールを作る種類もあれば, 病原性を持つ種類もあり, 近年では科学者にとって, 生物学・生化学・遺伝学などの重要な実験材料でもあります.

本講座では, まず, 高橋英雄 千葉県獣医師会人獣共通感染症委員・エイ.ランドおゆみ野動物病院院長より, イヌ・ネコなどペットとして人々が身近に飼っている動物たちや, 動物園・水族館・体験牧場などのいわゆる, ふれあいコーナーなどで子どもたちなどが身近に触れ合うことの多い動物たちについて, 動物たち自身のカビの病気, そして, それら動物たちからヒトに感染する可能性があることなど「身近な動物のカビの病気」についての, わかりやすい話がありました. ところで, 「生物は進化する」存在であることは, よく知られており, 特に, ダーウインの進化論などが有名ですが, カビももちろん生物であり, 進化します. カビの進化は, ヒトの進化や生物の進化と同じ時間の中で起こっています. 今回, 次のお話として, 横山耕治真菌医学研究センター准教授より, 地球上の生物の進化の中での, その「カビの進化」についての興味深い講演がありました.

## 講演会 (第121回)

第121回 2月25日

場所: センター講堂

松本靖彦博士

(東京大学大学院薬学系研究科微生物薬品化学教室)

カイコの糖尿病モデル

(担当: 川本 進)

# 2010年真菌医学研究センター全体セミナー

会場: A棟B1 講堂

時間: 11:00～

第1回 1月26日 病原機能分野

- ・山口正視
- ・並木侑一
- ・清水公德

第2回 2月16日 微生物資源・化学分野

- ・五ノ井 透

第3回 4月20日

- ・野本明男

第4回 5月18日 臨床感染症分野

- ・亀井克彦
- ・豊留孝仁

第5回 6月29日 微生物資源分野

- ・Jordan Khaedir
- ・五ノ井 透

第6回 7月26日 微生物資源分野

- ・横山耕治

第7回 平成22年9月21日

- ・西城 忍

第8回 10月19日 病原機能分野

- ・Eric Virtudazo
- ・東江昭夫

第9回 11月25日 臨床感染症分野

- ・工藤奈都
- ・田宮浩之
- ・滝澤香代子

PIプロジェクトセミナー

会場: A棟B1 講堂

時間: 12月22日 14時～17時30分

- ・川本 進 教授: 分子細胞シグナリング解析プロジェクト
- ・知花博治 准教授: カンジダフェノームプロジェクト
- ・米山光俊 教授: ウイルス感染応答プロジェクト
- ・西城 忍 准教授: サイトカインプロジェクト
- ・亀井克彦 教授: 臨床感染症プロジェクト
- ・五ノ井透 教授: 真菌糖鎖・受容体解析プロジェクト
- ・横山耕治 准教授: 形態変換・細胞質遺伝解析プロジェクト

## 真菌医学研究センター 2010年ベスト論文賞

真菌センターでは、教員、ポスドク、大学院生など研究者の研究意欲の向上を目指して、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。4年目となる2010年については、野本センター長よりの指示により、川本、亀井両教授が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、2011年1月28日に受賞者を発表するとともに、2月2日に「2010年ベスト論文賞」の授与式を行いました。その受賞者選考については、従来どおり、(A) 教員、(B) ポスドク、(C) 大学院生、それぞれについて、2010年に発表した論文について選考に当たった結果、今回は教員1名、ポスドク2名、大学院生1名が受賞しました。

昨年に引き続いて受賞した山口准教授の受賞理由となった1つ目の論文は、*Cryptococcus neoformans* が、黄色ブドウ球菌に接触することによって死滅する現象を解析したもので、黄色ブドウ球菌側の関連する分子であるトリオースフォスフェイト・イソメラーゼが表層に局在することを、免疫走査電顕法によって明らかにしました。2つ目の論文は、酵母 *Saccharomyces cerevisia* の温度感受性アクチン突然変異体を用いて、パーミッシブ (23度)、リストラクティブ (37度)、およびセミリストラクティブ (30度) のそれぞれの温度における形態変化を、凍結置換法と凍結レプリカ法により電子顕微鏡で解析しました。その結果、アクチンケーブルが、細胞の分泌経路の正常な機能に必須の役割を果たしていることを明らかにしました。3つ目の論文は、*Cryptococcus neoformans* のG1期の細胞において、個体間で紡錘極体の形態に大きな変異が存在すること、および、紡錘極体は核膜上に局在するが、核小体とは反対の位置に存在する傾向があることを明らかにしました。この研究は、紡錘極体の構造研究には、多数の細胞を三次元的に解析することの重要性を示しています。

ポスドク EricV Virtudazo 博士の論文は、*Cryptococcus neoformans* の細胞周期制御の分子機構解析、特に、G1サイクリン遺伝子 *CnClm1* についての研究です。C.

*neoformans* の細胞周期制御の中心に位置する Cdk1 (サイクリン依存性キナーゼ1) と相互作用する制御因子サイクリン *CnClm1* 分子は、本菌では唯一のG1サイクリン遺伝子であると思われましたが、その遺伝子破壊株が得られたことより、本菌の生存には必須ではないことが示されました。*CnClm1* 遺伝子破壊株は「出芽時期が遅れ、細胞は大型化する」等、「in vitro 低酸素環境下」や「in vivo 感染時」と類似した異常な形態・特徴的な変化を示し、*CnClm1* は、細胞の大きさと形態、出芽と細胞分裂のタイミング、DNA合成開始のタイミング、37℃での生育遅滞など、幅広く細胞の形態形成や生理的機能に大きな影響を及ぼす極めて重要な細胞機能制御遺伝子であることが示されました。

2008年に引き続いて受賞したポスドク上野圭吾博士の論文は真菌に対する創薬を目指した研究です。まず遺伝子レベルで真菌に共通し、人には類似度の低い遺伝子を *Candida glabrata* のゲノムの中から100遺伝子選出し、これらの遺伝子の組換え体を作製し、in vitro や in vivo (マウス感染実験) において、必須遺伝子であることが確認されたため抗真菌薬の標的候補としました。Pfy1はアクチンに重合し、アクチンポリマーの合成を促進するプロフィリンをコードする遺伝子であり、プロテインデータベースにタンパク結晶構造が登録されており、プロフィリン-アクチン重合を阻害するペプチドの設計・合成を試み、結合を阻害するペプチドを得ることに成功しました。ペプチドそのものは、薬剤動態の問題上、直接抗真菌薬として使用することは難しいですが、この知見は、今後より安定的な低分子化合物の設計や in silico スクリーニングを進める際に重要な情報になることが期待できます。

大学院生、芝崎さんの論文は、昆虫の腸管由来の微生物のスクリーニングを行い、ダンゴムシ (*Armadillidium vulgare*) の内容物から新種と考えられる放線菌を見出した研究です。16S rRNA 遺伝子を用いた簡易同定の結果や、形態観察、生理・生化学的性状、遺伝子解析、DNA-DNA 相同性試験等の詳細な分類学的研究により新種の *Streptomyces* 属菌であると同定し、*S. coacervatus* AS-0823

(T) (= IFM 11055 (T) = DSM 41983 (T)). と命名しました. また, *S. coacervatus* AS-0823 (T) 由来の, メタノール抽出液は *Aspergillus niger* や *Candida albicans* に対し強い抗真菌活性を示し, ペンタエン構造を持つ抗生物質であることを示しました.

今後, 特に, 若手研究者の益々の頑張りを期待したいと思います.

(A) 教員:

1) 山口正視:

(論文1) Yamaguchi M, Ikeda R, Nishimura M, Kawamoto S: Localization by scanning immunoelectron microscopy of triosephosphate isomerase, the molecules responsible for contact-mediated killing of *Cryptococcus*, on the surface of *Staphylococcus*. *Microbiol Immunol* 54: 368-370, 2010.

(論文2) Yamaguchi M, Kopecká M: Ultrastructural disorder of the secretory pathway in temperature-sensitive actin mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Electron Microsc* 59: 141-152, 2010.

(論文3) Yamaguchi M, Biswas SK, Kuwabara Y, Ohkusu M, Shimizu M, Takeo K: The spindle pole body of the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*: variation in morphology and positional relationship to the nucleolus and the bud in interphase cells. *J Electron Microsc* 59: 165-172, 2010.

(B) ポスドク:

1) Eric V Virtudazo 及び 上野圭吾:

Virtudazo EV, Kawamoto S, Ohkusu M, Aoki S, Sipiczki M, Takeo K: The single Cdk1-G1 cyclin of *Cryptococcus neoformans* is not essential for cell cycle progression but has important roles in the proper commitment to DNA synthesis and bud emergence in this yeast. *FEMS Yeast Research* 10(5): 605-618, 2010.

Ueno K, Tamura Y, Chibana H: Target validation and ligand development for a pathogenic fungal profilin, using a knock-down strain of pathogenic yeast *Candida glabrata* and structure-based ligand design. *Yeast* 27(7): 369-78, 2010.

(C) 大学院生:

1) 芝崎あずさ:

Shibazaki 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* doi:ijs.0.019091-0 2010.

————— 編 集 委 員 会 —————

川 本 進 (委員長)

山 口 正 視 (ワーキンググループ長)

佐 野 文 子

米 山 光 俊

田 口 英 昭

矢 口 貴 志

横 山 耕 治

西 城 忍

知 花 博 治

大荒田 素 子

平成 23 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

2  
6  
0  
8  
6  
7  
3

No. \_\_\_\_\_

千葉大学真菌医学研究センター報告 第13・14巻 受領書  
Annual Report of Medical Mycology Research Center (MMRC),  
Chiba University, No. 13・14 (2009・2010)

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**  
**2009 · 2010**