

## 8. 真菌部

部長 宮崎 義継

### 概要

真菌部は真菌感染症の調査研究を主な任務としており、病原真菌の病原因子や宿主免疫機構の解明、疫学研究、ならびに、実用化をめざした診断薬・治療薬・ワクチンの基盤研究を推進している。

令和3年度は、わが国の三大侵襲性真菌である、カンジダ症、アスペルギルス症、ならびにクリプトコックス症に加え、COVID-19パンデミックに伴いSARS-CoV-2を含めて調査研究を実施した。真菌症に関する研究では、各種病原真菌の病原因子解明と宿主反応に関する基盤研究、糸状菌感染症における治療法、病原体診断に関する研究を行った。宿主因子に関しては、病原体の認識分子や自然免疫機構の役割、ワクチン基盤に関する研究を実施した。感染症制御薬に関しては、新規薬剤シーズの抗真菌活性探索や薬剤耐性機構の研究、細胞内シグナル制御の解明と応用に基づく感染症制御、既存薬の新規薬効の応用等に関する研究を行った。

主たる研究項目は下記のとおりである。

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

真菌部各室が実施した主な業務は、それぞれ以下のとおりである。

第一室は、真菌症の疫学研究、真菌病原因子に関する研究と真菌検査業務、真菌レファレンス業務を担当した。侵襲性真菌症では国内最多の侵襲性真菌症であるカンジダ症を対象とし*C. glabrata*のマイトファジー、腸管からのカンジダ属の播種に関する因子、腔カンジダ

発症に関与する因子、酸素濃度がカンジダ属生育に与える影響、薬剤耐性機構、病原因子の解明に関する研究を実施した。

第二室は、免疫不全宿主にみられるアスペルギルス症やムーコル症等の糸状菌感染症に関して、ゲノム編集による*A. fumigatus*の抗真菌薬耐性や増殖因子に関する研究を行った。また、アスペルギルス属細胞壁に着目した増殖形態や病原性、検査応用に関する研究を行った。さらに、真菌の分泌蛋白質の診断応用、インフルエンザとアスペルギルス重複感染を対象として病原因子や免疫機構の解明、その制御に基づく難治性感染症の病態研究を行った。COVID-19関連臨床研究において検査を実施した。

第三室は、クリプトコックス属を対象とした病原因子や免疫機構の解明と、ワクチンに関する基盤研究を実施した。また、真菌検査業務のうち法的規制にかかる病原体の管理業務を担当した。また、COVID-19関連臨床研究の検査プロトコル作成を担当した。

第四室は、真菌や放線菌の二次代謝産物等の探索と代謝経路の解明、バイオインフォマティクス研究等を実施した。また、検査業務として、病原真菌検査の標準作業手順書の改訂、後発医薬品の収去検査を実施した。

真菌部は行政対応として、真菌に関する各種行政検査、新型コロナウイルス感染症の検査指針作成、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門審査等を実施した。国際交流では、ベトナムNIHEを中心に、カンジダ症、クリプトコックス症に関する調査研究を実施した。

### 業績

#### 調査・研究

- I. 病原真菌の病原性解明と新しい診断・治療法開発と

## 疫学研究

### 1. カンジダ症に関する研究

#### (1) *C. glabrata* におけるマイトファジー必須遺伝子 *ATG32* の発現調節機構の解明

*C. glabrata* は鉄欠乏下でミトコンドリア選択的オートファジー(マイトファジー)を活性化させるが、その活性調節機構は不明である。鉄欠乏下で発現量が増加し、マイトファジーに必須である *ATG32* に着目し、*ATG32* の発現調節機構を解明することを本研究の目的とした。*ATG32* の上流領域を用いたレポーターアッセイにより、*ATG32* の発現調節に関与する領域を同定し、発現調節領域を含むプローブに鉄依存的に結合するタンパク質を質量分析によって複数同定した。それらの発現調節因子候補タンパク質の遺伝子破壊株を作製し、*ATG32* 発現調節における役割を調べたところ、エキソリボヌクレアーゼ *XRN1* が *ATG32* の鉄依存的リプレッサー様の働きを持つことが示唆された。*XRN1* 遺伝子破壊株を用いた RNA-seq を行った結果、破壊株では野生株と比較してミトコンドリア関連遺伝子の発現が特に大きく(ミトコンドリア関連の 218 遺伝子が 4 倍以上に増加)増加していることが明らかになり、*XRN1* は *ATG32* だけではなく、複数遺伝子の発現調節に関与していることが明らかとなった。また、*XRN1* 遺伝子破壊株ではミトコンドリア局在タンパク質の量が増加しており、ミトコンドリア染色試薬を用いた顕微鏡観察の結果からもミトコンドリア量の増加が示唆された。一方で *XRN1* 破壊株ではマイトファジーによるミトコンドリア分解活性も野生株と比較して顕著に増加しており、分解が促進しているにも関わらずミトコンドリア量が増加しているためミトコンドリア新生が活性化していることが示唆された。

[名木稔、東祥嗣、阿部雅広、田辺公一(龍谷大学)、山越智、梅山隆、宮崎義継]

#### (2) カンジダ属と腸内細菌叢の相互作用に関する解析

カンジダ属は腸管を初めとする粘膜組織に定着し、特に腸管からは、免疫不全・腸管粘膜障害を契機として全身性に播種することが知られている。腸管内では定着したカンジダ属と腸内細菌叢の相互作用が存在

することが示唆されるが、この相互作用についての解析は少ない。本研究では、酢酸コルチゾンによる免疫抑制条件下での、カンジダ属と腸内細菌叢の関連について解析した。これまでの研究では、マウスの腸管内容物・便の次世代シーケンス解析により、*Candida glabrata* 播種が多い個体では、腸球菌や嫌気性菌が有意に多く、また、播種が少ない個体ではグラム陰性桿菌が有意に多いことが示された。その後、嫌気性菌(*Bacteroides* 属・*Parabacteroides* 属・*Faecalibaculum* 属など) および腸球菌をマウスの腸管内容物より分離した。分離した菌を元に、特に腸球菌に焦点を当て、*C. glabrata* との共感染実験を実施したところ、腸球菌、特に *Enterococcus faecalis* と共感染させた群において、臓器への播種が増加する結果を認めた。現在、無菌マウスを用いた実験を行い、*C. glabrata* と腸球菌の相互作用について、*in vivo* での解析を行なっている。

[阿部雅広、名木稔、永森晶子、関塚剛史・黒田誠(病原体ゲノム解析研究センター)、宮崎義継]

#### (3) 腔カンジダ発症に関与する因子の解析

カンジダ属は特に若年女性において、高エストロゲン状態や妊娠・糖尿病などの条件下で腔へ定着し、カンジダ腔炎を発症することが知られている。原因菌として *Candida albicans* が最多であると報告されているが、近年 *non-albicans Candida* によるものも増えていると報告されている。しかしながら、カンジダ腔炎(特に *non-albicans Candida* が原因菌の場合)における免疫学的機序については未解明な点も多い。本研究では、*Candida tropicalis*、*Candida auris* の 2 種類を用い、カンジダ腔炎マウスモデルを用いて研究を行い、カンジダ属に対する免疫応答を評価した。結果として野生型マウスに比して IL-17A 欠損マウスにおいて、*C. tropicalis*、*C. auris* の腔内定着量が多く、腔内の炎症細胞集積が少ない結果を認めた。また、病理学的解析では特に IL-17A 欠損マウスに *C. auris* を感染させた個体において、腔上皮の過角化・錯角化が強く、上皮に接着する形で真菌が定着している像が認められた。さらに、野生型マウス・IL-17A 欠損マウスの腔内に定着し

## 真菌部

た真菌から RNA を回収し、接種菌液由来の RNA と比較する形で RNA-seq を行った結果、複数の遺伝子が生体内で発現亢進している結果を得た。今後はこの定着に関与する因子および生体側の免疫応答機序についてさらに解析を進める。

[阿部雅広、永森晶子、名木稔、定本聡太、澁谷和俊（東邦大学）、宮崎義継]

### (4) カンジダ属の定着と環境中の酸素濃度の関連に関する解析

カンジダ属は腸管や腔、口腔などの粘膜組織に定着するほか、biofilm を形成してカテーテルや環境中でも長期間に渡って生存することが可能である。カンジダ属が定着する環境は様々であり、特に酸素濃度は好気～嫌気環境まで多岐にわたるが、酸素濃度とカンジダ属定着に関する解析はこれまでのところ寡少である。本研究では、嫌気・微好気ワークステーションを用い、酸素濃度を様々に変化させた時のカンジダ属の接着に焦点を当てて解析を行った。*Candida albicans*、*Candida tropicalis*、*Candida parapsilosis*、*Candida auris* を用いて好気、微好気（酸素濃度 5%）、嫌気の 3 条件で biofilm 形成実験を行い、crystal violet 法にて形成量を評価した。結果として *C. albicans*、*C. parapsilosis*、*C. auris* については酸素濃度が低下するにつれて酸素濃度が低下することが明らかになった一方、*C. tropicalis* は微好気条件で最も多い biofilm 形成が認められた。これらの結果を英文雑誌に投稿し、受理された。現在は *C. tropicalis* に焦点を当て、低酸素環境での *C. tropicalis* の挙動についてさらなる評価を実施中である。

[阿部雅広、名木稔、越川拓郎（聖マリアンナ医科大学）、宮崎義継]

### (5) カンジダ属の病原性に環境中の酸素濃度が与える影響に関する解析

カンジダ属は皮膚などの好気環境のほか、腸管や腔、口腔などの粘膜組織に定着し、免疫不全を契機として侵襲性の感染を引き起こす。カンジダ属が定着する環

境、特に酸素濃度は様々であり、病原性や定着能などに影響していることが示唆されるが、酸素濃度とカンジダ属病原性の関連についての報告は寡少である。本研究では、カンジダ属の病原性に酸素濃度が与える影響について、特に低酸素環境に焦点を当てて解析を行った。用いた菌種は *Candida albicans*、*Candida tropicalis*、*Candida auris* の 3 種とし、好気、微好気（酸素濃度 5% および 1%）、嫌気環境の 4 条件で前培養を行い、播種性カンジダ症マウスモデルで病原性の評価を行った。結果として *C. tropicalis*、*C. auris* については酸素濃度と病原性の明らかな関連性は認められなかったものの、*C. albicans* は特に微好気環境で前培養を行った際に病原性が亢進する結果を認めた。現在はこの病原性に関与する因子の解析および病理組織学的な評価を予定している。

[阿部雅広、定本聡太、篠原孝幸、永森晶子、名木稔、宮崎義継]

### (6) *Candida glabrata* の酸素依存性接着能の解析

カンジダ属は環境中で生育する常在菌である一方、免疫抑制患者を中心に感染をきたす病原菌として、しばしば致命的となる側面を持つ。カンジダ属の感染巣として腔、腹腔、眼、骨・関節、医療デバイスなどが挙げられるが、これらは共通して低酸素下にあることから、カンジダ属の表現型は酸素条件で変化している可能性を考える。感染成立において接着は最初の重要な段階であり、我々は嫌気下の腸管への接着、定着を想定し *C. glabrata* の接着能について酸素条件を変え評価した。

*C. glabrata* (CBS 138株と血流感染症由来臨床分離株4株)を使用し、好気・嫌気下でヒト結腸癌由来Caco-2細胞に対する接着能を比較すると、嫌気下で有意に亢進していた。RNA-seqで、嫌氣的接着において発現の亢進する接着遺伝子を検索すると、7つの遺伝子が抽出された。これら7つの遺伝子破壊株を作成し接着実験を行うとEPA6Δで最も接着能は低下した。マウスモデルの解析でも、親株と比較しEPA6Δで有意に腸管内定着量は低下した。

以上より *C. glabrata* の接着能は嫌気下で亢進し、その

## 真菌部

接着能亢進にはEPA6の関与していることが示唆された。今後はタンパク質レベルでの解析や、内因性感染を想定した免疫抑制マウスを用いた腸管からの播種実験を検討している。

[篠原孝幸、阿部雅広、名木稔、宮崎義継]

### 2. アスペルギルス症に関する研究

#### (1) *Aspergillus fumigatus* 菌体外タンパク質に対する新規抗アスペルギルス抗原抗体の作製

侵襲性アスペルギルス症は致死率が高く早期に適切な治療が必要とされることから、正確な早期診断が求められている。しかし従前の血清中のガラクトマンナンを検出する診断キットは特異度が低く、診断キットのみでは的確な診断が下せないことからアスペルギルス症が見過ごされてきた可能性も否定できない。よってより特異性が高い抗体を用いた新たな検出系の開発が求められている。これまで *A. fumigatus* Y1 抗原のサンドイッチ ELISA 系を用いて、実際の侵襲性アスペルギルス症患者の血清中の抗原の検出を評価したところ、健常者血清では検出限界以下のところ、患者血清においては統計学的にもある程度の信頼性を持って抗原を検出することができた。またこの結果をもとにさらなる検出感度と特異度の改良を進めるため、他の抗原候補に対する抗体を作製し、複数のモノクローナル抗体を用いた検出系を開発している。

[高塚翔吾、壇辻百合香、宮澤拳、山越智、梅山隆、宮崎義継]

#### (2) *A. fumigatus* の分泌小胞に関する研究

昨年度作製した膜タンパク質候補の抗体は、特定のエピトープに対するもので、感度も低いものであった。そこで本年度は、複数のエピトープに反応することを期待し、大腸菌で本タンパク質を作製し、ウサギにてポリクローナル抗体を作成した。ウェスタンブロットにて特異的反応を確認後、同抗体にて免疫沈降を試みた。分泌小胞に含まれる RNA を検出することで確認したところ、作製したポリクローナル抗体で特異的に免疫沈降されることが示唆され、同タンパク質が膜表面に存在する可能性が示された。さらに ELISA 用プレート上に同抗体を吸着させ、分

泌小胞画分を加え、一定時間後に PBS で洗浄し、分泌小胞中の RNA の検出を試みたところ、抗体依存的に RNA が検出され、過剰量のタンパク質の添加により阻害された。これらの結果から、作製したポリクローナル抗体は、分泌小胞膜上に存在するタンパク質を特異的に認識し濃縮できることが示唆された。現在、同抗体を用い電顕レベルで分泌小胞膜上の存在を検討している。

[山越智、梅山隆、宮澤拳、片野晴隆(感染病理部)、黒田誠(病原体ゲノム解析研究センター)、橋本ゆき、名木稔、高塚翔吾、上野圭吾、宮崎義継]

#### (3) *A. fumigatus* の濁度法による菌糸生育評価

液体振盪培養において菌糸が凝集塊を形成する性質は、単細胞生物で用いられる生育評価手法を糸状菌に適用できない要因であり、糸状菌の生育を正確に定量する手法が求められていた。*A. fumigatus* の細胞壁多糖  $\alpha$ -1,3-グルカンおよびガラクトサミノガラクトンの生合成遺伝子を破壊した株 ( $\Delta ags1 \Delta gtb3$  株)は、液体振盪培養において菌糸が分散状態になる。当該遺伝子破壊株の菌糸生長は、濁度により定量的に計測可能であることが明らかになった。また、当該遺伝子破壊株に対する抗真菌薬による濃度依存的な生育抑制が濁度により計測された。すなわち、菌糸分散状態を維持することで、単細胞生物と同様の生育測定手法が糸状菌に適用可能であることが示唆された。現在、遺伝子組み換えに依らない菌糸分散培養条件の検討を進めている。

[宮澤拳、梅山隆、星野泰隆、宮崎義継、阿部敬悦(東北大学)]

#### (4) *A. fumigatus* 臨床分離株の表現型と細胞壁成分に関する解析

真菌部では、治療に難渋した例や病原菌の鑑別が難しかった例の臨床分離株を多数保有している。これらの菌株の中には宿主体内で生き残った特徴的な形質を示す可能性が予想される。*A. fumigatus* の臨床分離株 44 の株のうち、著しい生育遅延を示した株(4株)、分生子形成能が顕著に低下した株(5株)、バイオフィーム形成能が低下した株(1株)など、実験室で汎用される菌株と

## 真菌部

は異なる形質を示す株が多数存在した。44 株のうち 22 株について細胞壁成分を解析したところ、細胞壁に占める  $\beta$ -1,3-グルカン含有量はいずれの株でもほとんど同一であったのに対し、 $\alpha$ -1,3-グルカンやキチンの含有量は菌株によって大きく異なっていた。これらの差が本菌の病原性とどのような関連があるかについて、解析を進めている。

[宮澤拳、梅山隆、村長保憲、星野泰隆、宮崎義継、阿部敬悦(東北大学)]

### (5) 真菌細胞壁キチンによるアレルギー性炎症の発症機序の解明

キチンは真菌細胞壁を構成する主要な多糖のひとつであり、古くからアレルギー反応に関与していると考えられてきた。近年、キチンによるアレルギー反応の発症機序は徐々に解明されつつあるが、その全容は未だ明らかにされていない。我々はこれまでに *Pichia pastoris* に発現させた *A. fumigatus* のキチン結合性細胞壁タンパク質 LdpA と小粒子キチンの複合体(LdpA/キチン複合体)をマウスに経鼻投与するとアレルギー性炎症が強く誘導されることを明らかにしてきた。また、LdpA は O-結合型糖鎖で修飾された糖タンパク質であり、マウスの骨髄由来樹状細胞(BMDCs)が LdpA の糖鎖を認識することにより LdpA/キチン複合体を貪食することを突き止めた。さらに Dectin-2-NFAT-GFP レポーター細胞を用いて LdpA が C-type レクチン受容体 Dectin-2 のリガンドであることを明らかにした。また、Dectin-2 ノックアウトマウス由来の BMDCs では LdpA/キチン複合体の貪食が低下しており、LdpA/キチン複合体による炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  の産生誘導も低下していることを明らかにした。

[村長保憲、亀井克彦(千葉大学)、宮崎義継]

### 3. クリプトコックス症に関する研究

#### (1) *Cryptococcus neoformans* の免疫原性制御機構

通常の生育条件では、*Cryptococcus neoformans* の細胞壁成分は露出せず、莢膜の有無に関わらず dectin-1 や dectin-2 等の自然免疫受容体には認識されない。*C. neoformans* の細胞壁合成の制御に関わる変異体のう

ち、野生型と同等の莢膜形成があるにも関わらず免疫原性が高い変異体が存在するかどうかを遺伝子破壊株ライブラリーから探索した。今回の探索では、条件に該当する遺伝子破壊株を3株見出した。そのうちの2株には、通常の生育条件でも dectin-1 が結合した。このことは、自然免疫の認識回避のために、当該遺伝子が莢膜合成非依存的に細胞壁の露出加減を調節していることを示唆している。

[上野圭吾、Kyung J Kwon-Chung・Yun Chang(米国 NIH)、宮崎義継]

## II. 宿主因子と免疫制御の解明による難治性感染症の制圧に関する研究

### 1. *Cryptococcus gattii* に対する新規経鼻ワクチンの開発とその生体防御機構

これまでに、*C. gattii* 感染症に対する樹状細胞ワクチンや経鼻ワクチンを開発し、これらワクチンが肺常在性記憶型 T 細胞を誘導することを示した。経鼻ワクチンが、C57BL/6 マウス以外の近交系マウスでも感染防御効果を発揮するかを検証した結果、Swiss 系マウスでも経鼻ワクチンによる同様に感染防御効果が観察されて、感染後の臓器内菌数が減少し、生存率も改善した。肺常在性記憶型 T 細胞の機能を調べる目的で、経鼻ワクチンが誘導した CD4<sup>+</sup> T 細胞を Rag-1 欠損マウスに移入し、CD4<sup>+</sup> T 細胞のみを再構築した場合に、感染後の臓器内菌数が対照移入群に比べて有意に減少した。これは、経鼻ワクチンが誘導する CD4<sup>+</sup> T 細胞は、B 細胞や CD8<sup>+</sup> T 細胞に依存せずに感染防御効果を発揮できることを示唆している。

[上野圭吾、Kyung J Kwon-Chung・Yun Chang(米国 NIH)、清水公德(東京理科大学)、宮崎義継]

### 2. インフルエンザ続発性肺アスペルギルス症における宿主応答メカニズムに関する研究

インフルエンザ感染後に、アスペルギルスの重複感染を伴うと重篤な症状を呈する。特に近年はウイルス感染後の真菌重複感染が問題となっており、治療戦略を考える上でも重症化メカニズムの解明が急務とされている。そ

## 真菌部

うした中で本研究ではマウスにおけるインフルエンザ続発性肺アスペルギルス症モデルを確立し、感染後の肺内菌数と生体内における宿主応答メカニズムの解析を行った。その結果、アスペルギルスの続発性感染において肺内での菌のクリアランスが進まず、菌の病原性成分が高く維持されることによって生存率が有意に低下した。また続発性感染時において肺内では抑制性の液性因子が高く発現し、菌のクリアランスが正常に進まず予後が悪くしてしまうメカニズムが明らかになった。本研究の結果はインフルエンザ続発性肺アスペルギルス症の重症化メカニズムの解明に貢献できるものと考えられる。

[高塚翔吾、壇辻百合香、宮澤拳、小川伸子、上野圭吾、阿部雅広、山越智、梅山隆、村長保憲、星野泰隆、澁谷和俊(東邦大学)、宮崎義継]

### 3. *A. fumigatus* の O-結合型糖タンパク質による真菌免疫応答の解析

タンパク質の糖鎖修飾は代表的な翻訳後修飾の一つであり、タンパク質の生理機能や局在化などにおいて重要な役割を担っている。また、糖鎖の構造は生物種によって大きく異なっており、哺乳類に存在しない構造の糖鎖は病原体関連分子パターンとして宿主のパターン認識受容体によって認識される。本研究では、O-マンノース型糖鎖生合成の開始酵素である O-マンノース転移酵素 Pmt4 の遺伝子破壊株  $\Delta pmt4$  および遺伝子相補株 ( $\Delta pmt4+pmt4$ ) をゲノム編集により作製し、それらの菌糸破砕物を用いてマウス骨髄由来樹状細胞 (BMDCs) に対する宿主免疫応答を解析した。 $\Delta pmt4$  は野生型株と比較して発育および胞子形成能が著しく低下していた。また、BMDCs に対する宿主免疫応答を解析した結果、 $\Delta pmt4$  は野生型株と比較して培養上清中の TNF- $\alpha$  が有意に低下していた。以上の結果から *A. fumigatus* の O-結合型糖タンパク質が宿主の炎症反応に関与している可能性が示唆された。

[村長保憲、宮澤拳、高塚翔吾、星野泰隆、梅山隆、亀井克彦(千葉大学真菌医学研究センター)、宮崎義継]

### 4. ムーコル症に関する研究

#### (1) ホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いた真菌同定手法の比較・検討

真菌部レファレンス業務でも、真菌同定の一手法として病理パラフィン包埋標本から真菌特異的なプライマーを用いたPCR法を行っており、原因真菌の同定に有用である。しかしながら、依頼検体においても病理で菌成分が十分確認されるにもかかわらず、PCR法にて陰性となってしまう場合がある。その際の代替手法として、免疫組織化学法、*in situ hybridization*法 (ISH法) などのアプローチが存在するが、研究レベルでは真菌同定に有用とする報告があるものの、検討は不十分であり、検査の標準化も図られていない。これらPCR法以外の代替手法に関して将来的な標準化を視野に各手法 (PCR法、免疫組織化学法、ISH法) を同一検体に対して行うことで、真菌同定として標準化が図られているPCR法と各検査法の有用性の比較・検討を行った。剖検例ムーコル症のパラフィン包埋標本を用いた検討において、PCR法で真菌陰性であった場合も、免疫組織化学法、ISH法での検出が可能な場合があった。また、ISH法のプローブを組み合わせることで、ムーコル目における原因菌種の推定につながる可能性が示された。

[定本聡太、阿部雅広、村山琮明、梅山隆、澁谷和俊(東邦大学)、宮崎義継]

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

#### 1. 感染症治療薬開発に関する研究

##### (1) Nocardithiocin の誘導体における抗菌活性

*Nocardia pseudobrasiliensis* の生産するリボソーム翻訳系翻訳後修飾ペプチドである Nocardithiocin の新たな活性、抗菌活性の増強および非定型抗酸菌に対する抗菌活性を有する誘導体の創製を目的として、Nocardithiocin の母骨格のアミノ酸をコードする遺伝子の改変を行った。遺伝子変異株を培養し誘導体を生産させ、その粗抽出液を用いた評価を行った結果、非定型抗酸菌等および真菌に対して活性が認められた。これらの活性のあった誘導体に関して、精製を進めている。

[星野泰隆、福山まり、星野仁彦(ハンセン病研究センタ

## 真菌部

一)、酒井香奈江(神戸大学)]

### (2) 真菌におけるリボソーム翻訳系翻訳後修飾ペプチド (RiPPs) の探索

真菌において、マイコキシンとしていくつかの RiPPs の生産が報告されている。これまでに、これらの生合成経路を指標としたゲノム情報からの探索を実施した結果、*Aspergillus fumigatus* のゲノム中にいくつかの生合成に関与すると予想される領域を見出している。これらの領域の遺伝子の発現解析および破壊株を用いた解析を現在進めている。

[星野泰隆、梅山隆、村長保憲、宮澤拳、高塚翔吾、山越智、宮崎義継、石川淳(品質保証・管理部、真菌部兼任)]

## 2. 薬剤耐性機構に関する研究

### (1) CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術による *Aspergillus lentulus* アゾール耐性機構の解明

*Aspergillus lentulus* は、*A. fumigatus* の隠蔽種として 2005 年に初報告され、アゾール系薬への耐性や致死率の高さが問題となっている。*A. lentulus* のアゾール系薬耐性には、14- $\alpha$  sterol demethylase (Cyp51) が関与していると報告されているが、具体的な耐性メカニズムは解明されていない。*A. lentulus* に *A. fumigatus cyp51A* を導入するプロトコルの確立と、組換え株の薬剤感受性の変化から *A. lentulus* アゾール系薬耐性と Cyp51A の関連について検討した。親株として臨床由来アゾール耐性 *A. lentulus* を使用し、CRISPR/Cas9 システムを用いた組換え株の作製条件を検討した。作製した組換え株に対し抗真菌薬感受性や増殖などの性質を解析した。*A. fumigatus* における CRISPR/Cas9 システムを基に、振盪培養時間の延長や分生子液濃度及び選択培地のハイグロマイシン濃度を変更することで、*A. fumigatus cyp51A* 遺伝子全長を *A. lentulus cyp51A* 遺伝子座に導入することに成功した。*A. fumigatus cyp51A* を保有する *A. lentulus* 株は、親株に比べてイトラコナゾール・ボリコナゾールの MIC が低下しており、*A. lentulus* のアゾール系薬耐

性に Cyp51A が関与していることが明らかになった。Cyp51A のアゾール系薬耐性メカニズムの解明や、新規抗真菌薬の開発に貢献することが期待される。また、CRISPR/Cas9 システムを *A. lentulus* に適用することに成功したことで、本菌種の他の遺伝子機能を調べる道が開かれたと考える。

[梅山隆、山越智、高塚翔吾、星野泰隆、村山琮明、宮崎義継、館野円花・石野敬子(昭和大学)、犬飼達也(東京医科大学)]

### (2) *Aspergillus fumigatus HMG1* 変異によるアゾール耐性の CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術を用いた検証

肺アスペルギルス症におけるアゾール薬耐性が近年問題となっている。アゾール耐性の原因は、主に標的酵素である Cyp51A の遺伝子変異やプロモータのタンデムリピート化による過剰発現に起因していると推測されている。一方、Cyp51A に変異が確認できない non-Cyp51A 型のアゾール耐性株が数多く分離されているが、それらの株の耐性機序は不明である場合がほとんどである。2018 年に新居らにより、慢性肺アスペルギルス症の患者から分離されたアゾール耐性株の全ゲノム比較解析から non-Cyp51A 型の変異 (*HMG1* 遺伝子の S269F, S305P, G307D 変異) が報告された。*Hmg1* はエルゴステロール生合成経路の1つの酵素であり、変異が確認された残基は、ステロール感知ドメインに位置し、このアミノ酸残基の変異がアゾール耐性に影響を与えている可能性が示唆されていた。この変異がアゾール耐性に関与するかを直接確認するために、CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術を用いて、感受性株である AfS35 株の *Hmg1* に S269F, S305P, G307D のアミノ酸置換を導入したところ、複数のアゾール薬に対して低感受性化が観察された。さらに、アゾール耐性臨床分離株の *Hmg1* の S269F, S305P, G307D を野生型のアミノ酸に戻したところアゾール感性を示すようになった。以上より、同一の患者から経時的に分離されたアゾール耐性臨床分離株のゲノム解析により発見された、Cyp51A 以外の新しいアゾール耐性変異が、アゾール感受性に寄与することを検証できた。特定の

## 真菌部

遺伝子の部位特異的変異導入は、これまで時間がかかる上に導入効率が極めて低く、本法により簡便・高効率で可能になった。

[梅山隆、宮崎義継、犬飼達也(東京医科大学)、新居鉄平・渡辺哲・亀井克彦(千葉大学)]

(3)ステロール取り込みが活性化した *C. glabrata* 株を用いたアゾールおよびアムホテリシン耐性機構の解明

*Candida glabrata* の細胞外ステロール取り込みは、嫌気条件や鉄欠乏条件などステロール生合成が阻害される条件において活性化するが、通常の好気条件では強く抑制されることが報告されている。好気条件ではステロールを取り込まない臨床分離株(L999株)と同一患者から経時的に分離された好気条件でもステロールを取り込む臨床分離株(73246株)を用い、薬剤耐性におけるステロール取り込みの役割を調べた。構造の異なる様々なステロール類を用いて検討したところ、アムホテリシンBの感受性は、取り込まれるステロール種、特にステロイド骨格の7位に二重結合を有するかどうかによって大きく異なることが明らかになった。ステロイド骨格の7位に二重結合を有するステロール種(真菌の主要ステロールであるエルゴステロールを含む)添加条件ではアムホテリシンB感受性は高く、二重結合の無いステロール種(哺乳類の主要ステロールであるコレステロールを含む)添加条件では低感受性を示した。ヒトの主要ステロールはコレステロールであることから、*C. glabrata* が宿主体内においてコレステロールを取り込み、利用した場合、アムホテリシンBの感受性が低下することが予想される。HPLCを用いた菌体ステロール分析により、取り込まれた様々なステロールは変換されずに細胞膜成分として利用されていることが示唆された。また、エルゴステロール生合成関連遺伝子の配列決定を行った結果、73246株では *ERG7* ORF にミスセンス変異が生じていることが明らかになった。この変異によりエルゴステロール生合成が停止し、結果としてステロール取り込みが活性化したものと考えられる。

[名木稔、田辺公一(龍谷大学)、阿部雅広、山越智、梅山隆、石川淳(品質保証・管理部、真菌部兼任)、宮崎義継]

## レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体、他省庁などからの要請にもとづき、真菌感染症の診断、真菌に関する調査、真菌症に関する相談業務などを行った。令和3年度は、真菌症疑いならびに診断困難例等の臨床検体からの真菌検出、血清診断、培養真菌の同定不能例における菌種同定依頼など計68件(菌株数:50件、臨床検体数:39件、環境検体数:0件、核酸検体数:0件、パラフィン検体数:17件、抗真菌薬感受性試験依頼数:38件、行政検査7件)の対応にあたった。これらの検査の結果、感染症法4類疾患の対象となるコクシジオイデス症の病原体 *Coccidioides immitis* は0件、感染症法5類全数把握疾患の対象となる播種性クリプトコックス症の病原体 *Cryptococcus neoformans* を検出したのは0件、*Cryptococcus gattii* を検出したのは0件であった。

[阿部雅広、中山靖子、名木稔、篠原孝幸、定本聡太、星野泰隆、村長保憲、山越智、橋本ゆき、壇辻百合香、梅山隆、宮澤拳、高塚翔吾、上野圭吾、村山琮明、石川淳(品質保証・管理部、真菌部兼任)、宮崎義継]

## 品質管理に関する業務

令和3年度の医薬品・医療機器等一斉監視指導・収去検査(後発医薬品品質確保対策事業)においては、抗生物質医薬品21ロット(シロップ用クラリスロマイシン、セフカペン ピボキシル塩酸塩細粒、セフカペン ピボキシル塩酸塩錠)について力価試験を担当し、日本薬局方の各条収載の定量法(液体クロマトグラフィー法)により実施した。

[星野泰隆、石川淳(品質保証・管理部、真菌部兼任)、篠原孝幸、村山琮明、福山まり、宮崎義継]

## 国際協力関係業務

ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)ならびに Vietnam Military Medical University(VMMU)とヒストプラズマ症、クリプトコックス症およびカンジダ症の診断法と疫学調査に関する共同研究を実施した。今年度は、NIHEを介して臨床サンプル(喀痰、VATS、BALF等)を収集し、クリプトコックス属菌およびカンジダ属菌の分離、

収集を行った。カンジダ属菌に関しては菌種同定を行った後、抗真菌薬感受性試験を行い、ベトナム国内におけるカンジダ属菌の菌種傾向および耐性発生状況の解明を試みた。NIHE 研究者および VMMU 研究者を日本に招聘し、真菌検査技術講習会開催を計画していたが、新型コロナウイルス感染症流行の影響から見送った。

[名木稔、宮崎義継]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Yuki Hanai, Yukihiko Hamada, Toshimi Kimura, Kazuaki Matsumoto, Yoshiko Takahashi, Satoshi Fujii, Kenji Nishizawa, Yoshitsugu Miyazaki, Yoshio Takesue. Favorable Effects of Voriconazole Trough Concentrations Exceeding 1 µg/mL on Treatment Success and All-Cause Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)* 7(4). doi: 10.3390/jof7040306.2021
- 2) Naoki Hosogaya, Taiga Miyazaki, Yuri Fukushige, Sachiko Takemori, Shinpei Morimoto, Hiroshi Yamamoto, Makoto Hori, Tomoya Kurokawa, Yohei Kawasaki, Michiko Hanawa, Yasuhisa Fujii, Hideki Hanaoka, Shingo Iwami, Koichi Watashi, Satoshi Yamagoe, Yoshitsugu Miyazaki, Takaji Wakita, Koichi Izumikawa, Katsunori Yanagihara, Hiroshi Mukae, Shigeru Kohno. Efficacy and safety of nelfinavir in asymptomatic and mild COVID-19 patients: a structured summary of a study protocol for a multicenter, randomized controlled trial. *Trials* 22(1) 309-309.2021
- 3) Teppei Arai, Takashi Umeyama, Hidetaka Majima, Tatsuya Inukai, Akira Watanabe, Yoshitsugu Miyazaki, Katsuhiko Kamei. Hmg1 mutations in *Aspergillus fumigatus* and their contribution to triazole susceptibility. *Medical Mycology*. 10.1093/mmy/myab026, 2021.
- 4) Shoya Iwanami, Keisuke Ejima, Kwang Su Kim, Koji Noshita, Yasuhisa Fujita, Taiga Miyazaki, Shigeru Kohno, Yoshitsugu Miyazaki, Shimpei Morimoto, Shinji Nakaoka, Yoshiki Koizumi, Yusuke Asai, Kazuyuki Aihara, Koichi Watashi, Robin N Thompson, Kenji Shibuya, Katsuhito Fujiu, Alan S Perelson, Shingo Iwami, Takaji Wakita. Detection of significant antiviral drug effects on COVID-19 with reasonable sample sizes in randomized controlled trials: A modeling study. *PLoS Medicine* 18(7) e1003660.2021
- 5) Keishin Sunagawa, Shigeki Nakamura, Yuko Sato, Shun Iida, Yoshitsugu Miyazaki, Tadaki Suzuki, Harutaka Katano. Morphological and genetic identification of fungal genus/species in formalin-fixed, paraffin-embedded specimens obtained from patients with histologically proven fungal infection. *Mycoses* 64(8) 851-859.2021
- 6) Takayuki Shinohara, Koh Okamoto, Saho Koyano, Amato Otani, Marie Yamashita, Yuji Wakimoto, Daisuke Jubishi, Hideki Hashimoto, Mahoko Ikeda, Sohei Harada, Shu Okugawa and Kyoji Moriya. *Plesiomonas shigelloides* Septic Shock Following Ingestion of Dojo Nabe. *Open Forum Infectious Diseases*. 8(8), 2021.
- 7) Akira Yoshimi, Daisuke Hagiwara, Miyako Ono, Yasuyuki Fukuma, Yura Midorikawa, Kentaro Furukawa, Tomonori Fujioka, Osamu Mizutani, Natsuko Sato, Ken Miyazawa, Jun-Ichi Maruyama, Junichiro Marui, Youhei Yamagata, Tasuku Nakajima, Chihiro Tanaka and Keietsu Abe. Downregulation of the *ypdA* gene encoding an intermediate of His-Asp phosphorelay signaling in *Aspergillus nidulans* induces the same cellular effects as the phenylpyrrole fungicide fludioxonil. *Frontiers in Fungal Biology*. (2)675459, 2021.
- 8) Masahiro Abe, Yuki Kinjo, Sota Sadamoto, Minoru Shinozaki, Minoru Nagi, Kazutoshi Shibuya, Yoshitsugu Miyazaki.  $\alpha$ -galactosylceramide-stimulated invariant natural killer T-cells play a protective role in murine vulvovaginal candidiasis by *Candida albicans*. *PLoS One* 16(11) e0259306. 2021.
- 9) Hazim O Khalifa, Vit Hubka, Akira Watanabe, Minoru Nagi, Yoshitsugu Miyazaki, Takashi Yaguchi, Katsuhiko Kamei. Prevalence of Antifungal Resistance, Genetic Basis of Acquired Azole and Echinocandin Resistance, and Genotyping of *Candida krusei* recovered from an International Collection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 66(2) e0185621. 2021.

- 10) Ken Miyazawa, Takaaki Yamashita, Ayumu Takeuchi, Yuka Kamachi, Akira Yoshimi, Yuto Tashiro, Ami Koizumi, Shigekazu Yano, Shin Kasahara, Motoaki Sano, Youhei Yamagata, Tasuku Nakajima and Keietsu Abe. A glycosylphosphatidylinositol-anchored  $\alpha$ -amylase encoded by *amyD* contributes to a decrease in the molecular mass of cell wall  $\alpha$ -1,3-glucan in *Aspergillus nidulans*. *Frontiers in Fungal Biology*. 2, 821946, 2022.
- 11) Hikaru Ichikawa, Ken Miyazawa, Keisuke Komeiji, Shunya Susukida, Silai Zhang, Kiyooki Muto, Ryutaro Orita, Ayumu Takeuchi, Yuka Kamachi, Masahiro Hitosugi, Akira Yoshimi, Takahiro Shintani, Yoshikazu Kato, and Keietsu Abe. Improved recombinant protein production in *Aspergillus oryzae* lacking both  $\alpha$ -1,3-glucan and galactosaminogalactan in batch culture with a lab-scale bioreactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 133(1) 39–45, 2022.
- 12) Ken Miyazawa, Takashi Umeyama, Yasutaka Hoshino, Keietsu Abe, Yoshitsugu Miyazaki. Quantitative monitoring of mycelial growth of *Aspergillus fumigatus* in liquid culture by optical density. *Microbiology Spectrum*. 10, e00063-21, 2022.
- 13) Ryosuke Yamamuro, Muneyoshi Kimura, Yuki Asano-Mori, Masahiro Abe, Shigeki Nakamura, Takashi Umeyama, Satoshi Yamagoe, Yoshitsugu Miyazaki, Sho Ogura, Takashi Sakoh, Takashi Mitsuki, Kyosuke Yamaguchi, Mitsuhiro Yuasa, Daisuke Kaji, Kosei Kageyama, Aya Nishida, Yuki Taya, Kazuya Ishiwata, Shinsuke Takagi, Hisashi Yamamoto, Go Yamamoto, Naoyuki Uchida, Atsushi Wake, Shuichi Taniguchi, Hideki Araoka. Clinical and microbiological characteristics of proven invasive aspergillosis due to rare/cryptic species in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Antimicrob Agents Chemother* 18;66(1):e0163021. doi: 10.1128/AAC.01630-21.2022.
- 14) Muneyoshi Kimura, Yuki Asano-Mori, Takashi Sakoh, Masahiro Abe, Keigo Ueno, Yasutaka Hoshino, Shigeki Nakamura, Takashi Umeyama, Satoshi Yamagoe, Yoshitsugu Miyazaki, Masaru Baba, Chikako Okada, Sho Ogura, Takashi Mitsuki, Kyosuke Yamaguchi, Mitsuhiro Yuasa, Daisuke Kaji, Kosei Kageyama, Aya Nishida, Yuki Taya, Kazuya Ishiwata, Shinsuke Takagi, Hisashi Yamamoto, Go Yamamoto, Naoyuki Uchida, Atsushi Wake, Shuichi Taniguchi, Hideki Araoka. Factors Associated with Breakthrough Fungemia Caused by *Candida*, *Trichosporon*, or *Fusarium* Species in Patients with Hematological Disorders. *Antimicrob Agents Chemother*. 15;66(3):e0208121. doi: 10.1128/AAC.2022.
- 15) Marie Yamashita, Mahoko Ikeda, Ito Kato, Yuki Ohama, Mizuo Ando, Masako Ikemura, Daisuke Jubishi, Yoshiaki Kanno, Koh Okamoto, Takashi Umeyama, Shigeki Nakamura, Yoshitsugu Miyazaki, Shu Okugawa and Kyoji Moriya. Protothecosis in the mucosa of the pharynx mimicking pharyngeal cancer in an immunocompetent individual: a case report. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 21(1) 5, 2022.
- 16) Madoka Tateno, Takashi Umeyama, Tatsuya Inukai, Shogo Takatsuka, Yasutaka Hoshino, Satoshi Yamagoe, Somay Yamagata Murayama, Keiko Ishino, Yoshitsugu Miyazaki. Examination of Cyp51A-Mediated Azole Resistance in *Aspergillus lentulus* Using CRISPR/Cas9 Genome Editing. *Med Mycol J.*, 2022.
- 17) Minoru Nagi, Koichi Tanabe, Kazuko Tanaka, Keigo Ueno, Hironobu Nakayama, Jun Ishikawa, Masahiro Abe, Satoshi Yamagoe, Takashi Umeyama, Shigeki Nakamura, Motoyuki Sugai, Kevin C Hazen, Yoshitsugu Miyazaki. Exhibition of antifungal resistance by sterol-auxotrophic strains of *Candida glabrata* with intact virulence. *JAC Antimicrob Resist*. 2022 Mar 7;4(1):dlac018. doi: 10.1093/jacamr/dlac018. eCollection. 2022.
- 18) Michiyo Okamoto, Azusa Takahashi-Nakaguchi, Kengo Tejima, Kaname Sasamoto, Masashi Yamaguchi, Toshihiro Aoyama, Minoru Nagi, Kohichi Tanabe, Yoshitsugu Miyazaki, Hironobu Nakayama, Chihiro Sasakawa, Susumu Kajiwara, Alistair J P Brown, Miguel C Teixeira, Hiroji Chibana. Erg25 Controls Host-Cholesterol Uptake Mediated by Aus1p-Associated Sterol-Rich Membrane Domains in *Candida glabrata*. *Front Cell Dev Biol*. 2022 Mar 24;10:820675. doi: 10.3389/fcell.2022.820675. eCollection 2022.
- 19) Sota Sadamoto, Yurika Mitsui, Yasuhiro Nihonyanagi, Kazuki Amemiya, Minoru Shinozaki, Somay Yamagata Murayama, Masahiro Abe, Takashi Umeyama, Naobumi Tochigi, Yoshitsugu

## 真菌部

Miyazaki and Kazutoshi Shibuya. Comparison Approach for Identifying Missed Invasive Fungal Infections in Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Autopsy Specimens. *Journal of Fungi*. 8(4) 337, 2022.

- 20) Masaki Machida, Itaru Nakamura, Akihiro Sato, Shigeki Nakamura, Yoshitsugu Miyazaki, Hidehiro Watanabe. Hypertrophic pachymeningitis caused by *Schizophyllum* sp.: a novel case report. *Infection*. 2021, 49, 775-779. doi: 10.1007/s15010-020-01544-y.

### 2. 和文発表

- 1) 阿部雅広. 肺アスペルギルス症. 臨床雑誌 内科 特集 内科疾患の診断基準 病型分類 重症度. 127(4) 542, 2021 年.
- 2) 阿部雅広. 日常診療の中で遭遇する真菌感染症へのアプローチ. 内科臨床誌 *medicina* 特集 その考えはもう古い! 最新・感染症診療. 58(5) 664-669, 2021 年.
- 3) 宮澤拳. シリーズ用語解説 (No.31) ガラクトサミノガラクタン (GAG). 日本医真菌学会雑誌. 62(3) 38, 2021 年.
- 4) 高塚翔吾. シリーズ用語解説 (No.31) インフルエンザ関連肺アスペルギルス症. 日本医真菌学会雑誌. 62(3) 38, 2021 年.
- 5) 篠原孝幸. 感染性心内膜炎を疑う不明熱. *Medical practice*. 38 (11) 1651-1656, 2021 年.
- 6) 宮崎義継/阿部雅広. 真菌性呼吸器疾患. 臨床と微生物. 49(1) 69-73, 2022 年.
- 7) 定本聡太、渋谷和俊. 肺真菌症の病理組織学的検査. 呼吸器内科. 41(3) 236-240, 2022 年.

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

### 2. 国内学会等

- 1) 梅山隆、宮澤拳、館野円花、星野泰隆、高塚翔吾、山越智、宮崎義継. シンポジウム 21「臨床家のための基礎研究 Up to Date」ゲノム解析とゲノム編集技術で紐解く病原真菌の薬剤耐性. 第 95 回日本感

染症学会学術講演会 第 69 回日本化学療法学会総会 合同学会. 5 月 7 日-9 日, 2021 年.

- 2) 山室亮介、木村宗芳、酒匂崇史、小倉翔、梅山隆、宮崎義継、谷口修一、荒岡秀樹. 稀な菌種、隠蔽種による侵襲性アスペルギルス症の 5 例. 第 95 回日本感染症学会学術講演会 第 69 回日本化学療法学会総会 合同学会. 5 月 7 日-9 日, 2021 年.
- 3) 小林慧悟、朝倉崇徳、川田一郎、藤島清太郎、岩田敏、梅山隆、片野晴隆、上養義典、宮崎義継、亀井克彦、長谷川直樹. ステロイドによりヒストプラスマ腫が再活性化し播種性ヒストプラスマ症を引き起こした日本人高齢男性の一例. 第 95 回日本感染症学会学術講演会 第 69 回日本化学療法学会総会 合同学会. 5 月 7 日-9 日, 2021 年.
- 4) 篠原孝幸、岡本耕、大谷天人、脇本優司、山下麻梨絵、十菱大介、橋本英樹、池田麻穂子、原田壮平、奥川周、森屋恭爾. 肺移植患者に生じたポリコナゾール誘発性骨膜炎の一例. 第 95 回日本感染症学会学術講演会 第 69 回日本化学療法学会総会 合同学会. 5 月 7 日-9 日, 2021 年.
- 5) 宮澤拳、阿部敬悦. 糸状菌(カビ)の細胞表層構造の解析と応用展開. 革新的食学拠点 第 2 回合同ミーティング. 2021 年, Web.
- 6) 村長保憲、亀井克彦、宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* の O-結合型糖鎖を有する細胞壁糖タンパク質による真菌免疫応答の解析. 第 14 回 アスペルギルス研究会. 44829, 2021 年.
- 7) 宮澤拳、梅山隆、星野泰隆、阿部敬悦、宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* 細胞表層改変株の濁度による菌糸生長測定を試み. 第 14 回 アスペルギルス研究会. 44829, 2021 年.
- 8) 名木稔. 病原酵母 *Candida glabrata* のマイトファジーの役割と ATG32 転写調節機構. 第 23 回酵母合同シンポジウム. 9 月 2 日-3 日, 2021 年.
- 9) 小泉亜未、尾形慎、矢野成和、宮澤拳、吉見啓、

## 真菌部

- 佐野元昭、日高将文、仁平高则、中井博之、木村聡、岩田忠久、阿部敬悦. 細胞壁  $\alpha$ -1,3-グルカン合成に寄与する麹菌の  $\alpha$ -アミラーゼ AgtA の特性解析. 日本応用糖質科学会 2021 年度大会 (第 70 回). 9 月 1 日-2 日, 2021 年.
- 10) 梅山隆、宮澤拳、高塚翔吾、舘野円花、星野泰隆、村長保憲、山越智、村山琮明、宮崎義継. ゲノム編集技術で何ができるか? ~ 医真菌研究への応用. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 11) 名木稔、東祥嗣、鈴木健裕、知花博治、田邊公一、阿部雅広、堂前直、山越智、宮崎義継. *Candida glabrata* におけるマイトファジー遺伝子 ATG32 の転写調節因子の探索. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 12) 阿部雅広、荒岡秀樹. 深在性真菌症診断における血清診断 — 現在の位置付けから今後の展望まで —. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 13) 越川拓郎、阿部雅広、名木稔、竹村弘、宮崎義継. 酸素濃度が *Candida spp.* のバイオフィルム形成能に与える影響の評価. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 14) 阿部雅広、定本聡太、篠崎稔、永森晶子、名木稔、澁谷和俊、宮崎義継. マウスモデルを用いた non-*albicans* *Candida* 膣感染における Interleukin-17A(IL-17A)の役割解析. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 15) 定本聡太、雨宮和紀、三好康仁、篠崎稔、若山恵、栃木直文、渋谷和俊. クリプトコックス症の肺病変におけるマクロファージの応答に関する病理組織学的検討. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 16) 星野泰隆、壇辻百合香、阿部雅広、名木稔、宮澤拳、越川拓郎、上野圭吾、高塚翔吾、梅山隆、山越智、宮崎義継. 血液疾患に伴う真菌症疑いのパラフィン包埋組織からの遺伝子検査の現状. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 17) 犬飼達也、星野泰隆、宮崎義継、中村茂樹. 血清中の核酸が *Aspergillus fumigatus* B11b 破壊株の増殖能に影響を及ぼす. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 18) 宮澤拳、梅山隆、星野泰隆、阿部敬悦、宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* 細胞表面層改変株を用いた濁度法による菌糸生育の測定. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 19) 上野圭吾、清水公德、山越智、宮崎義継. *Cryptococcus gattii* は荚膜による抗原被覆作用で CD11b による菌体認識を回避する. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 20) 上野圭吾、宮崎義継. クリプトコックス症に対するワクチンの基盤研究: 感染制御に寄与する獲得免疫の新知見. 第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会 / 真菌症フォーラム 2021. 10 月 29 日-30 日, 2021 年.
- 21) 宮澤拳、梅山隆、星野泰隆、阿部敬悦、宮崎義継. 糸状菌 *Aspergillus fumigatus* の定量的生育測定法の検討. 第 104 回細菌学会関東支部総会、2021 年インターラボセミナー. 44490, 2021 年.
- 22) 梅山隆、宮澤拳、高塚翔吾、舘野円花、星野泰隆、村長保憲、山越智、村山琮明、宮崎義継. 薬剤耐性アスペルギルス. 第 70 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 68 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会. 10 月 27 日-29 日, 2021 年.
- 23) 名木稔. カンジダ属における薬剤耐性の現状と

## 真菌部

- 新規薬剤耐性機構に関する研究. 第 70 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 68 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会. 10 月 27 日-29 日, 2021 年.
- 24) 上野圭吾、宮崎義継. クリプトコックス症ワクチンの基盤研究から見えてきた肺常在性記憶型 T 細胞の重要性. 第 70 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 68 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会. 10 月 27 日-29 日, 2021 年.
- 25) 薄田隼弥、武藤清明、市川暉、宮澤拳、古明地敬介、吉見啓、加藤好一、阿部敬悦. 麹菌の菌糸分散株における培養液粘度低下がもたらす生産性への影響. 第 73 回日本生物工学会大会. 10 月 27 日-29 日, 2021 年.
- 26) 蒲池悠佳、宮澤拳、吉見啓、日高將文、中島佑、阿部敬悦. モデル糸状菌 *Aspergillus nidulans* における  $\alpha$ -1,3-グルカン合成酵素の細胞外ドメインによる  $\alpha$ -1,3-グルカン分子量制御機構の解析. 日本農芸化学会東北支部 第 156 回大会. 44843, 2021 年.
- 27) 竹内歩、宮澤拳、吉見啓、阿部敬悦. 麹菌 *Aspergillus oryzae* における細胞内  $\alpha$ -アミラーゼ遺伝子 amyG 及び amyH の機能解析. 日本農芸化学会東北支部 第 156 回大会. 44843, 2021 年.
- 28) 薄田隼弥、武藤清明、市川暉、宮澤拳、古明地敬介、吉見啓、加藤好一、阿部敬悦. 麹菌 *Aspergillus oryzae* 菌糸分散株の培養液混合特性とその酵素生産性への寄与. 第 20 回糸状菌分子生物学コンファレンス. 11 月 11 日-12 日, 2021 年.
- 29) 壇辻百合香、星野泰隆、阿部雅広、名木稔、中山靖子、片野晴隆、上野圭吾、宮澤拳、越川拓郎、高塚翔吾、梅山隆、山越智、石川淳、宮崎義継. 2015-2020 年度の 6 年間におけるパラフィン包埋組織からの真菌検査依頼の現状. 第 33 回日本臨床微生物学会総会・学術集会. 1 月 28 日-30 日, 2022 年.
- 30) 宮崎義継. 侵襲性真菌症 up to date:ニーズの高い侵襲性真菌症検査を含め. 第 33 回日本臨床微生物学会総会・学術集会. 1 月 28 日-30 日, 2022 年.
- 31) 上野圭吾・宮崎義継. 高病原性クリプトコックス症に対する獲得免疫とワクチンの研究: 米国 NIH への留学を経験して. 第 95 回 日本細菌学会総会. 2022 年.