

## 9. 生物活性物質部

部長 宮崎 義継

### 概要

生物活性物質部では、難治性真菌感染症の制圧、ならびに、感染症制御薬の創薬と有効活用を目標として、研究を推進している。真菌症研究では、昨年度から開始したアスペルギルス症の新規診断と治療法開発に関する研究と、従来からおこなっているカンジダ属の薬剤耐性や病原因子制御に関する研究を中心に、二大深在性真菌症についての基礎研究と応用研究を行っている。創薬研究では、放線菌ゲノム情報を応用した生物活性物質の生合成経路の解明とそれを利用した新規薬剤の開発、及び、シグナル伝達制御による増殖抑制に着目した、抗微生物薬の開発研究を行っている。

第1室では、新見昌一室長の平成12年着任に始まった本研究所における真菌症研究を継続している。主にカンジダ属を対象として、主要抗真菌薬に対する薬剤耐性機構と病原因子の解明に関する研究を行ってきたが、さらに真菌症研究を発展させるべく、糸状菌感染症の制圧という新たな目標を加え、集約的に取り組んでいる。第2室では、病原真菌や宿主の細胞内シグナル伝達を応用した感染制御に関する研究、並びに、新規薬剤のスクリーニングと構造活性相関についての研究を行っている。第3室では、真菌感染症のレファレンス業務と併行して、難治性真菌症の診断系の開発研究、宿主因子の制御による難治性感染症や難病の治療に関する基礎研究を行っている。第4室では、放線菌ゲノム情報と二次代謝産物を応用した新規感染症制御薬の創薬研究、及び、ノカルジア症の病態解明に関する基盤研究を行っている。

平成20年度の主要な研究項目は以下の通りである。

I. 病原真菌の病原性解明と新しい診断・治療法開発のための基盤的研究と開発研究

I I. 真菌感染症における宿主因子の解明と感染制御に向け

た基盤的研究と応用研究

I I I. 新しい活性評価系とスクリーニング及び生物活性物質の基盤的研究

I V. 微生物の有用遺伝子探索による創薬と薬剤耐性機構に関する基盤的研究

研究費としては、厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業、難治性疾患対策事業）、ヒューマンサイエンス振興財団・政策創薬総合研究事業、文部科学省科学研究費補助金、経済産業省地域イノベーション創出研究開発事業の支援を受けた。

昨年度より、レファレンス業務を拡張し全国の病院、大学等の研究機関、報道機関からの真菌症および抗菌化学療法に関する問い合わせや検査依頼への随時対応を開始したところであるが、平成20年度から真菌症の行政検査にも対応している。同様に平成19年度から開始した品質管理業務については、平成20年度より後発医薬品等の品質管理業務を独自の体制を確立し稼働するに至っている。

宮崎は、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員などの任を務めた。

国際交流としては、米国疾病制御センター（CDC）の派遣事業により米CDC真菌疫学研究部門Dr. Benjamin Parkを招聘し「米国における侵襲性真菌症の疫学調査ストラテジー」に関する感染研セミナーを主宰し疫学研究のプロトコル作成に関する研究討議を行った。また、ヒューマンサイエンス振興財団「外国人研究者招聘事業」によりパスツール研究所真菌症および抗真菌薬レファレンスセンター分子真菌学部門長のDr. Françoise Dromerを招聘して

「*Cryptococcus neoformans* の血液脳関門への通過」に関する研究討議を行なった。新見室長は、ヒューマンサイエンス振興財団「外国の研究機関等への委託研究事業」（新興・再興感染症研究事業）

## 生物活性物質部

ログラム、主任研究者：新見昌一）により、ニュージーランド、オタゴ大学分子微生物学研究室（RD Cannon主任教授）と「構造に基づくドラッグデザイン」に関する共同研究を行った。

人事異動では、平成20年4月1日付で大野秀明が第3室長に着任した。新見昌一第1室長が平成21年3月末日に定年退官した。

以下に本年度の主な調査・研究、レファレンス業務、品質管理業務の業績を記す。

## 業績

### 調査・研究

#### I. 病原真菌の病原性解明と新しい診断・治療法開発のための基盤的研究と開発研究

##### 1. 病原真菌の新規分子の探索と応用研究

(1) 病原真菌 *Aspergillus fumigatus* の細胞膜あるいは細胞外に存在する蛋白質の網羅的同定と診断系の作成

特異的かつ感度の高いアスペルギルス属の検出系の確立を目的として研究を進めている。シグナルシーケンストラップ法により同定した真菌由来細胞外蛋白質をコードすると考えられる遺伝子113種類から、分泌発現すると予想される20個の候補遺伝子を選んだ。それらの遺伝子を *Saccharomyces cerevisiae* に発現させ、10個の遺伝子について培養上清中に分泌を確認できた。現在、それぞれの遺伝子に対応するマウスBa/F3細胞由来SSTクローンをマウスに免疫してモノクローナル抗体の作製をしている。そのなかでY-1と命名した遺伝子産物に対するモノクローナル抗体4種類得ることができ、サンドイッチELISAの構築を試みたが、これら抗体は同じエピトープを認識すると考えられたため構築できなかった。そこで、サンドイッチELISAの構築に向けて大腸菌で作製した組換え体を用いポリクローナル抗体の作製を行っている。

[山越 智、宮崎義継、岡部智也 (ACTGen社)、橋本ゆき、大川原明子、大野秀明]

(2) *Candida* 属など主要な病原真菌を用いたシグナルシーケンストラップ法による解析

哺乳類の細胞外蛋白質をコードする遺伝子を網羅的に同定するために確立されたシグナルシーケンストラップ法が真菌にも応用できることが明らかとなったので、他の病原真菌 *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Cryptococcus neoformans*, *Rhizopus oryzae*, *Trichosporon asashii*, コントロールとして *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium expansum* でも新規蛋白質の検索を行い真菌由来細胞外蛋白質をコードすると考えられる遺伝子を同定した。今後、これらの情報を用いて診断薬、治療薬への応用を検討する。

[山越 智、大野秀明、岡部智也 (ACTGen社)、増保安彦 (東京理科大学)、掛屋 弘 (長崎大学)、小西良子 (国立医薬品食品衛生研究所)、宮崎義継]

##### (3) *Candida albicans* の biofilm における hsp90 の役割

*Candida albicans* は、日和見感染症の重要な原因微生物であり、抗真菌薬無効の感染症として治療が困難である。また、近年 biofilm がその難治性と関連していることが知られるようになった。in vitro で、アゾール系抗真菌薬が biofilm に対して無効であること、また、micafungin の作用を弱めることが分かった。その機序として、hsp90 が関連していることが判明し、hsp90 関連因子が新たな治療ターゲットになる可能性を検討している。

[金子幸弘、宮崎義継]

##### (4) *Aspergillus fumigatus* の遺伝子破壊

Ku70 遺伝子欠損株 Afs35 を用い pCB1004 のハイグロマイシン耐性遺伝子を含む DNA 断片を選択マーカーとして使い *Aspergillus fumigatus* の 3 つのシデロフォアの合成に関わる SidA 遺伝子破壊株を作製した。

[山越 智、大野秀明、田辺公一、宮崎義継]

##### (5) バイオフィームにおける真菌の転写調節の解明

網羅的な *C. albicans* のトランスクリプトームおよびプロモーター活性の解析を開始した。バイオフィームを形成した状態で抗真菌薬を投与し、投与4時間後に *C. albicans* の全RNAを抽出し、CAGE法により mRNA の転写開始部位の転写量を測定した。抗真菌薬投与の有無で差を認めたため、詳細を検討中である。

[金子幸弘、宮崎義継]

## 2. 抗真菌薬耐性機構に関する研究

### (1) ステロールトランスポーターとアゾール系抗真菌薬非感受性化

ステロール合成阻害剤であるアゾール系抗真菌薬は、深在性真菌症治療薬として優れた薬効を持つが、耐性化を引き起こすことが知られている。アゾール耐性株の多くはATP-binding cassette (ABC) タンパク質による薬剤の細胞外排出能の亢進に起因する。一方で我々は、*Candida glabrata* のABC タンパク質 CgAus1p が細胞外から代替ステロールを取り込んで、アゾール剤によるエルゴステロール合成阻害を回避することを明らかにした。血清や胆汁存在下では *C. glabrata* はアゾール剤に低感受性になる。しかし、CgAUS1 が欠失すると真菌へのステロールの取り込みが低下し、アゾール系抗真菌薬に高感受性となった。当該年度は、CgAUS1 の発現を制御する転写因子を同定するために、候補となる転写因子を他のモデル生物とのゲノムDNAの比較から絞り込み、それらの転写因子をコードする遺伝子の破壊株を作製した。複数の候補遺伝子破壊株のうち、UPC2B 破壊株においては血清によるアゾール非感受性化が認められず、CgAUS1 遺伝子の発現上昇も認められなかった。以上の結果から、血清の添加はUPC2Bを活性化しCgAUS1 遺伝子の発現上昇を引き起こすというモデルを提唱した。

[田辺公一、中山浩伸(鈴鹿高専・生物応用化学科)、名木 稔、新見昌一]

### (2) 真菌の脂質成分分析法の確立

アゾール系抗真菌薬をはじめとして多くの抗真菌薬はエルゴステロール合成経路を標的としたものが多い。真菌の脂質分析手法を確立することを目的として実験を行った。ステロールの分析に関しては、HPLCと蒸発光散乱検出(Evaporative Light Scattering Detector; ELSD)によって同定・定量を試みた。その結果、cholesterol, ergosterol, lanosterol についてUV吸収では検出できない微量のステロールの同定、定量を可能にした。

[田辺公一、名木 稔、臺 由紀、宮崎義継、新見昌一]

### (3) 血清添加による *Candida* 属のアゾール系抗真菌薬非感受性化

*Candida albicans* は好気条件においては内在性のエルゴステロ

ール合成に依存して成育し、細胞外にステロールが存在しても取り込まないことが知られている。したがって、*C. glabrata* で観察されたような好気条件での血清添加によるアゾール系抗真菌薬非感受性化は起こらないと推測された。しかしながら、*Candida* 属 22 株 (臨床分離株 17 株および標準株 5 株) の血清存在下での薬剤感受性を調べたところ、*C. parapsilosis* 以外の全ての *Candida* 属において血清によるアゾール系抗真菌薬非感受性化が認められた。本結果は、血清によるアゾール系抗真菌薬非感受性化が一部の種を除いて *Candida* 属に広く存在することを示している。

[田辺公一、名木 稔、新見昌一]

### (4) *Candida albicans* の血清によるアゾール耐性化メカニズムの解明

*C. albicans* は合成培地中で血清によってアゾール高感受性化することが明らかにされていた。しかし、この現象は標準株である SC5314 でしか検証されておらず、SC5314 以外の *C. albicans* 株は全て血清によるアゾール非感受性化が認められた。そこで血清添加時のアゾール耐性関連遺伝子の発現解析とステロール分析を行った。アゾール耐性関連遺伝子の発現量は血清添加によってほとんど変化しておらず、また SC5314 株と他の臨床株との間でも顕著な差は認められなかった。また、細胞内ステロール含量についても各株間で顕著な差は認められなかった。よって、血清によるアゾール非感受性化が既知の薬剤耐性メカニズムとは異なる機構によるものであることが示唆された。

[田辺公一、名木 稔、臺 由紀、宮崎義継、新見昌一]

### (5) カイコ感染実験モデルを用いた *C. albicans* の病原性解析

カイコ感染実験モデルを用いて *C. albicans* プロテインフォスファターゼの病原性解析を行った。プロテインフォスファターゼをコードする 28 遺伝子のうち、21 遺伝子をそれぞれ破壊した欠損株を作製し、カイコ感染実験モデルを用いて親株と病原性を比較した。その結果、CaPTCI 破壊株が著しい病原性の低下を示し、マウスモデル感染実験においても再現された。CaPTCI 破壊株は寒天培地上で菌糸形成が阻害され、Protease 産生能の低下、マウス腎臓への定着率の低下などを示した。これらが複合して *C. albicans* の病原性の低下につながったと考えられる。さらに、マウスモデル感染実験において病原性の低下が報告されているいくつかのプロテインフォス

## 生物活性物質部

ファターゼ欠損株はカイク感染実験モデルにおいても病原性が低下しており、カイクを用いた *C. albicans* の病原性解析が有効であることが分かった。

[花岡 希、高野幸枝、上原至雅 (岩手医科大学薬学部・微生物薬品創薬学講座)、新見昌一、渋谷和俊 (東邦大学医学部病院病理)、普後 晋 (東京農工大院・連合農学・生物生産) ]

3. 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

(1) 輸入真菌症の疫学調査を行い、ヒストプラズマ症例数の持続的増加およびコクシジオイデス症のコンスタントな発生が認められた。肺線維症における抗ヒストプラズマ抗体測定による潜在的ヒストプラズマ症患者の検索では、明確なヒストプラズマ症は認められなかった。ヒストプラズマ症血清診断法の開発について、新規抗原候補タンパク質について可溶化を行ない、有用性の基礎的検討を行った。

(2) 深在性真菌症として頻度の高いカンジダ症の原因真菌のほとんどを占める *Candida* 主要菌種の CHROM agar *Candida* と血液寒天を組み合わせる簡便な同定方法を確立した。

(3) 新規カンジダ属酵母、新種酵母を記載し、迅速診断のための簡易遺伝子抽出系を考案した。

(4) ホルマリン固定パラフィン切片における *Fusarium* 属および *Histoplasma capsulatum* の検出を目的とした PNA プローブを用いた *In situ* hybridization 法を開発した。

(5) 新聞データベースを用い、真菌感染に関する情報がどの程度提供されているかを調査し、「かび」や「真菌」に関する情報が新聞誌上で扱われることは少ないことが分かった。

(6) 抗真菌薬シーズの開拓と新興感染症トリコスポロン症の分子疫学を行い、*Trichosporon asahii* の遺伝子型は日本、タイ、米国株はそれぞれ特徴があった。

(7) 臨床分離 *Candida tropicalis* にみられた micafungin の paradoxical effect について検討した。

[新見昌一、大野秀明、亀井克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)、菊池 賢 (順天堂大学医学部・感染制御科学)、榎村浩一 (帝京大学医真菌研究センター)、渋谷 和俊 (東邦大学医学部・病院病理学研究室)、上 昌広 (東京大学医科学研究所) 杉田 隆 (明治薬科大学・微生物学教室)、上原至雅 (岩

手医科大学薬学部・微生物薬品創薬学講座) ]

I I. 真菌感染症における宿主因子の解明と感染制御に向けた基盤的研究と応用研究

1. *C. albicans* 細胞壁表層のマンナン構造の違いによる初期免疫応答の解析

(1)  $\alpha$ 型マンノース転移酵素欠失株の解析

ゲノム上にコードされている糖付加酵素  $\alpha$ 型のマンノース転移酵素、すなわち $\alpha$ -1,2、 $\alpha$ -1,3、 $\alpha$ -1,6マンノース転移酵素の遺伝子をそれぞれ単独で欠失すると推定される破壊株を作製し、それらの真菌学的性質、病原性、精製したマンナンたんぱく質刺激によるモノサイト・マクロファージの炎症性サイトカイン産生誘導について解析を行った。親株TUA6と比較して 菌糸形成能が顕著に低下する株を見出したが、病原性については差を認めなかった。一方、初期感染防御に関与するヒトモノサイト、マウスマクロファージを親株、破壊株からそれぞれ精製したマンナンたんぱく質によって刺激してIL-6産生誘導について検討したところ、親株を含むすべての株で産生を誘導したが、それらの産生量に違いは認めなかった。以上の結果より、表層を構成するマンノースの構造が変化していると考えられる *C. albicans* では、コロニーの性質が変化するものがあつたが、生体による認識、病原性に直接反映されなかった。病原性について詳細を解析中である。[大川原明子、山越 智、臺 由紀、橋本ゆき、宮崎義継、大野秀明]

(2)  $\beta$ 型マンノース転移酵素欠失株での宿主反応の解析

*C. albicans* 細胞壁表層のマンナンの構造は温度、pHなどの培養条件、さまざまなストレスによって修飾を受け生物活性が変化することが報告されている。 $\beta$ -1,2マンノースが付加しない培養条件で培養した菌の培養上清から精製したマンノプロテイン $\beta$ -グルカン複合体をマウスに投与することによって、川崎病類似の冠動脈炎が発症することを報告してきた。ゲノム上にコードされている糖付加酵素  $\beta$ -1,2マンノース転移酵素の遺伝子を欠失すると推定される破壊株を作製し、真菌学的性質、病原性、精製したマンナンたんぱく質刺激によるモノサイト・マクロファージによる炎症性サイトカイン産生誘導について解析中である。

## 生物活性物質部

[大川原明子、山越 智、臺 由紀、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継]

### 2. *Cryptococcus neoformans* の潜伏感染機構の解析

*C. neoformans* はヒトに感染後、生体内で潜伏感染することが数々の報告で明らかとなっている。この潜伏感染のメカニズムを解明するためのアプローチとして、低酸素条件下での培養で *C. neoformans* の遺伝子発現について検討したところ、未同定の遺伝子が多く認められたと同時に糖代謝に関与する遺伝子の発現が多いことを確認した。現在これらの遺伝子の機能について解析をすすめている。

[大野秀明、山越 智、金子幸弘、宮崎義継]

### 3. *Cryptococcus neoformans* 感染に対する生体防御における LECT2 の役割

真菌感染における LECT2 の関与を調べるために LECT2 遺伝子欠損マウスを用い、*C. neoformans* 感染における感受性を調べた。尾静脈から *C. neoformans* を経静脈的に感染させ、野生型と生存率および脳、肺、肝臓、脾臓における経時的な菌量、病理組織像、各臓器における炎症性サイトカインの mRNA レベルでの比較検討を行った。その結果、LECT2 遺伝子欠損マウスにおいては *C. neoformans* 感染に感受性を持つことが示唆された。

[大野秀明、奥村彰規、宮崎義継、山越 智]

### 4. サイトカイン LECT2 の disulfide bond の解析

LECT2 は、151 個のアミノ酸残基からなり 6 個のシステイン残基を含む。CHO 細胞で分泌発現させた組換え体ヒト、マウス LECT2 を MALDI-TOF マスで解析し、すべてのシステインが結合に関わることがわかり、3 つの disulfide bond の位置を決定することができた。

[奥村彰規、鈴木健裕 (理研)、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継、山越 智]

### 5. COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究

(1) わが国の慢性壊死性肺アスペルギルス症は、欧米の慢性空洞性肺アスペルギルス症を包括する概念であることが明らかになった。

(2) 慢性壊死性肺アスペルギルス症の患者背景が明らかに

なり、肺結核後遺症、肺炎、非定型抗酸菌症、COPD などが呼吸器系の基礎疾患として頻度が高かった。疾患感受性の指標としてマンノース結合レクチン遺伝子の多型性は欧米の報告と異なる傾向が示唆された。

(3) 測定法の改良前後の  $\beta$ -グルカン値の比較で、一定の相関を認めたが、改良前 MK 法の測定値が高い数値になる傾向が認められた。

(4) 慢性壊死性肺アスペルギルス症で見られる特徴的な症状は咯血と血痰であることが示唆された。

(5) 病理組織と画像の対比では、いずれの症例も上肺肺尖部付近に、菌球を有する空洞を認めた。空洞壁は壊死、器質化、線維性肥厚よりなり、その辺縁部から離れた部位まで、種々の程度の器質化肺炎像が観察された。しかし、アスペルギルス菌糸の組織内への侵襲像は認められなかった。

(6) 真菌である *A. fumigatus* 遺伝子をマウス由来細胞に導入した場合でも、糸状菌由来蛋白質のシグナルペプチドによりマウス細胞表面に移送されることが明らかになった。また、TOF-MS を用いた解析から得られた情報を基に、ポリアクリルアミドゲルを用いた二次元電気泳動法、peptide mass fingerprint 法、アミノ酸シーケンスを行い、本タンパクがアスペルギルス由来のコビキチン様タンパクが重症患者の血清中に出現することを明らかにした。

(7) ウシ血清由来 fetuin を終濃度 2mg/ml となるように添加し、*A. fumigatus* 培養結果の解析から、BSA 添加時に比べると明らかに血清添加時に近似した生育形態をとっていることが観察され、血清中の fetuin が生育促進に重要な役割を果たしていることを示した。

(8) 変異株の血清型の変化、発育能の変化、コロニー形態の変化を確認した。産生されたバイオフィルムの厚さが野生株と比較して変異株では増加し、変異株において有意なバイオフィルム産生増加を認めた。

[宮崎義継、山越 智、河野茂 (長崎大学)、二木芳人 (昭和大学)、小川賢二 (国立病院機構東名古屋病院)、安藤常浩 (東京日赤医療センター)、泉川公一 (長崎大学)、亀井克彦 (千葉大学)、渡邊浩 (久留米大学)、大野秀明]

### 6. 血液疾患に合併する真菌症の調査・解析

日本成人白血病治療共同研究グループ、東京移植コンソーシアム、Febrile Neutropenia 研究会との合同で「日本人血液疾患患者におけるアスペルギルス属およびその他の糸状菌類に

## 生物活性物質部

よる侵襲性真菌感染症についての疫学調査」に Central laboratory として参加し、糸状菌類の同定、薬剤感受性など真菌学的な面から調査・解析を行っている。

[宮崎義継、大野秀明、大川原明子、山越 智、吉田 稔 (帝京大学) ]

### 7. 質量顕微鏡を応用した感染病態の解明

*C. albicans* のバイオフィルム内の分子分布の変化を解析する目的で、質量顕微鏡による解析を開始し、解析条件を検討中である。また、腎症モデルマウスの腎臓内分子分布の解析で、正常と HIGA マウスの腎組織を質量顕微鏡で検討した結果、質量電荷比 844.6、856.7、859.7、868.6 など複数のピークを認め、また、正常と HIGA マウス間で分布に差があることが確認された。今後、これらのピークを同定するとともに、病因との関連を検索する。

[金子幸弘、小畑陽子 (長崎大学)、早坂孝宏 (浜松医科大学)、瀬藤光利 (浜松医科大学)、河野茂 (長崎大学)、宮崎 義継]

## III. 新しい活性評価系とスクリーニング及び生物活性物質の研究

### 1. 宿主および病原微生物の細胞内シグナル伝達制御に関する研究

#### (1) プロテインキナーゼ阻害物質の検定

文部科学省がん特定領域研究・統合がん「化学療法基盤情報支援班」において、血小板由来増殖因子(platelet-derived growth factor, PDGF) 刺激により活性化される PDGF レセプターチロシンキナーゼおよび主要な細胞内シグナル伝達経路 (PI3 kinase-AKT pathway、classical MAP kinase pathway、PLC-PKC pathway) に対する阻害効果を評価する系を用いてプロテインキナーゼ阻害剤の評価を担当している。今年度は 243 検体の評価を行った。

[福山まり、矢守隆夫 (癌研) 、深澤秀輔]

### 2. 新規抗ウイルス薬の探索と作用機序に関する研究

#### (1) 新規天然物由来の化合物の C 型肝炎ウイルス(HCV)の阻害作用の解析

JFH1 細胞感染系で天然物関連物質からなる化合物ライブラリーより IC<sub>50</sub> が約 1.0 mg/ml 以下の HCV 阻害活性のある新規な物質を 7 個見いだした。これらをレプリコン細胞に作

用させたところ、5 化合物はレプリコン細胞の NS5A レベルを減少させなかった。さらにこのうち 2 物質は、JFH1 感染系においては感染細胞内の HCV コア蛋白質の発現を低下させ、JFH1 の侵入の前に添加すると強く阻害するのに侵入後に添加すると阻害作用が大きく減少していた。ウイルスの侵入過程を阻害すると考えられた。また、別の 2 物質は感染細胞内のコア蛋白質量をあまり減少させず、細胞内の HCV RNA も減少させずに細胞外の HCV RNA を減少させた。この 2 物質は主としてウイルス粒子放出過程が標的であると思われる。

[村上裕子、鈴木哲朗・脇田隆宇 (ウイルス第二部) 、深澤秀輔]

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

既知の化合物ライブラリーより抗 HCV 阻害活性を示すものもいくつか見いだしていたが、このうちタモキシフェンについては、HCV の複製過程の他、侵入過程も阻害していることを見いだしたので、タモキシフェンおよび SERM についてさらに解析を続けている。

[村上裕子、鈴木哲朗・脇田隆宇 (ウイルス第二部) 、深澤秀輔]

#### (3) 抗 EB ウイルス剤の探索

持続性感染に関わるウイルスに対する抗ウイルス薬をめざした研究

#### 抗 EB ウイルス剤の探索

昨年に引き続き構築した ELISA 系を用い *in vitro* で EBNA-1 の DNA への特異的な結合を阻害する化合物のスクリーニングを行った。AnalytiCon 社微生物代謝産物、植物代謝産物、化学合成物ライブラリーからいくつかの阻害剤の候補が見つかった。さらに EMSA 法により 2 次スクリーニングを行い阻害効果の高い 2 つの化合物の候補を得た。それらを用い EB ウイルスを保持する培養細胞 AKATA 細胞を用い *in vivo* での作用を検討したが、EBV ゲノムの維持への阻害効果は見ることができなかった。

[山越 智、橋本ゆき、村上裕子、深澤秀輔]

#### 4. *C. albicans* の 14 $\alpha$ -demethylase (14DM) の結晶化

チトクローム P450 酵素は重要なタンパク群で、真菌においてはアゾール系抗真菌薬の標的酵素であり、ヒトでは多くの

## 生物活性物質部

薬剤やプロドラッグの代謝に関与し、また様々な疾患を引き起こす因子にもなっている。14DM を結晶化し、構造に立脚したドラッグデザインの可能性を視野に入れ、出芽酵母細胞 AD1-8u-株に *C. albicans* の 14DM をクローニングして 14DM を過剰発現させた。菌を大量培養し、粗細胞膜を分画可溶化後、Ni-agarose 樹脂を用いてアフィニティー精製し、セファデックスカラムに通して Ca14DM タンパクを精製した。現在、精製 Ca14DM タンパクを種々の緩衝液と組み合わせて Ca14DM タンパクの結晶化に最適の条件を模索している。

[新見昌一、Erwin Lamping, Richard D. Cannon, Brian C. Monk (オタゴ大学) ]

I V. 微生物の有用遺伝子探索による創薬と薬剤耐性機構に関する研究

### 1. 創薬に関する研究

#### (1) 次世代シーケンサーを用いた有用遺伝子の探索

次世代シーケンサーを用いて *Nocardia brasiliensis* IFM 0406 のゲノムスキャニングを行った結果、生物活性物質の生合成遺伝子の一部と考えられるポリケチド合成酵素遺伝子、非リボゾーム性ペプチド合成酵素遺伝子、シトクロム P450 遺伝子などの断片が多数見出され、本法が有用遺伝子探索に有効であることが示された。

[石川 淳、黒田 誠、関塚剛史 (ゲノムセンター)]

#### (2) Mutasynthesis を用いた nocobactin アナログの生産

*Nocardia farcinica* IFM 10152 株の生産する nocobactin の生合成遺伝子クラスターのうち、スターターユニットであるサリチル酸生合成遺伝子の破壊株を用いて mutasynthesis を行った。サリチル酸アナログの化合物を添加して培養を行った結果、十数種類の非天然型化合物の生産が確認された。さらに、それらのうち 5 種類のアナログ化合物添加の培養液から非天然型化合物を精製した。今後得られた化合物の生物活性の検討を行う。

[星野泰隆、石川 淳]

#### (3) リファマイシン類のリファンピシンモノオキシゲナーゼによる変換

*N. farcinica* IFM 10152 株のリファンピシンモノオキシゲナーゼ (Rox) を大腸菌にて発現させ、リファマイシン類 (リファマイシン SV、リファブチンおよびリファペンチン) の変換反応を行い、HPLC により変換反応が進むことを確認した。リファマイシン SV においては、変換反応によって得られた化合物の質量分析の結果から、分子量が 16 増加しており、1 個の酸素原子が付加されていることが示唆され、新たな誘導体作製のためのリードとなる可能性が考えられた。

[星野泰隆、深井俊夫 (横浜薬科大)、石川 淳]

#### (4) リファンピシン (RIF) 変換物のヒト薬物代謝酵素シトクロム P450 の誘導能

RIF モノオキシゲナーゼ (Rox) によって変換された RIF 変換化合物の、ヒト薬物代謝酵素であるシトクロム P450 の誘導活性の検討を行った。ヒト肝癌由来の細胞株 FLCs (Functional Liver Cells) を用いて RT-PCR により検出を行った結果、RIF 変換化合物およびリファブチンで CYP3A4、CYP2C9 および CYP2C19 を誘導する活性が認められた。今後、mRNA の発現量の比較の検討を行う。

[星野泰隆、石川 淳]

#### (5) Nocobactin の病原性への関与

*N. farcinica* IFM 10152 の野生株は、J774A.1 細胞に対し細胞障害性を示すが、nocobactin 生合成遺伝子 (*nbt*) 破壊株は細胞障害性が低下することを見出した。そこで、nocobactin の病原性への関与を検討するため、マウス感染実験を行なった結果、*nbt* 破壊株は野生株で認められたマウス致死性を認めず、*nbt* 破壊株感染マウスには腎病変すら認められなかった。以上の結果は、nocobactin がノカルジアの病原性に関与することを示しており、nocobactin 生合成経路がノカルジア症治療のターゲットとなる可能性を示唆している。

[石野敬子、平井明香 (動物管理室)、石川 淳]

#### (6) *N. farcinica* におけるリゾチーム耐性の病原性への関与

*Nocardia* および近縁細菌はリゾチームに対し高度に耐性であるが、この形質の病原性への関与を解析するために、*N. farcinica* IFM 10152 株のリゾチーム感受性変異株を取得した。変異株は、リゾチームを多く生産することで知られるマウスマクロファージ様細胞 J774A.1 に対する細胞障害性が野生株より約 20% 減っていた。一方、低 pH や過酸化水素への感受性

## 生物活性物質部

は野生株と同等であった。したがって、変異株の細胞障害性の低下は、リゾチーム感受性化に伴うものと考えられ、リゾチーム耐性をもたらす経路は、*Nocardia* および近縁細菌による感染症の治療薬ターゲットとなる可能性が示唆された。

[渋谷健太、石野敬子、石川 淳]

### 2. 薬剤耐性機構に関する研究

(1) *N. farcinica* のアリルアミンアセチル化酵素のイソニアジド耐性への関与

*N. farcinica* IFM 10152 株のアリルアミンアセチル化酵素 (Nfa18420) はイソニアジド (INH) をアセチル化することから、本菌の INH 耐性への関与が示唆された。そこで、*nfa18420* 遺伝子の破壊を行ったが、野生株と破壊株の INH 耐性に差はなく、本菌の INH 耐性は Nfa18420 に依らないことが明らかになった。

[藤井匠子、石川 淳]

(2) *N. farcinica* のリファンピシン (RIF) モノオキシゲナーゼの RIF 耐性への関与

*N. farcinica* IFM 10152 株の RIF モノオキシゲナーゼ (Rox) は、RIF に酸素付加を行うことから、本菌の RIF 耐性への関与が示唆された。そこで、*rox* 遺伝子の破壊を行ったが、野生株と破壊株の耐性に差はなく、本菌株の RIF 耐性は主に RNA ポリメラーゼβサブユニット遺伝子のパラログである *rpob2* 遺伝子が担うものと考えられた。しかし、*rpob2* の破壊株に *rox* 遺伝子を過剰発現させると RIF 耐性を示したことから、*rox* 遺伝子も本菌の RIF 耐性の一翼を担っていることが示唆された。

[藤井匠子、星野泰隆、石川 淳]

(3) *N. farcinica* の薬剤耐性トランスポーター遺伝子の探索

*N. farcinica* IFM 10152 株の MFS 型トランスポーター遺伝子のうち、15 遺伝子を *E. coli* で発現させた結果、1 遺伝子がクロラムフェニコールおよびキノロン耐性を付与し、5 遺伝子がアクリフラビン耐性を付与することが明らかとなった。

[石川 淳、斉藤文子、今井 学]

### 真菌症レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体などからの要請にもとづき、真菌感染症の診断、真菌に関する調査、真菌症に対する相談業務などを行った。おもな内容として、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および血清診断が 18 件 38 検体、培養真菌の同定不能例における菌種同定業務など 37 件、環境真菌調査など行政検査 3 件、感染症相談件数 3 件であった。

[大野秀明、金子幸弘、大川原明子、山越 智、宮崎義継]

### 品質管理に関する業務

収去検査による抗生物質医薬品の力価試験

今年度は、抗生物質医薬品 2 品目 16 ロット (セフトラムピボキシル錠剤 2 ロット細粒 6 ロット、および注射用セフピロム硫酸塩 8 ロット) について力価試験を担当し、日局各条収載の液体クロマトグラフィー法に準拠した定量法により行った。収去品はすべて規定の含有量を示し「適合」と判定された。

[村上裕子、石野敬子、石川淳、星野泰隆、金子幸弘、深澤秀輔]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

1) Takeya H, Miyazaki Y, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yanagihara K, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S. Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in comparison with amphotericin B, liposomal amphotericin B, and micafungin against murine pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 1868-1870, 2008.

2) Takeya H, Miyazaki Y, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S. Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in a murine model of systemic cryptococcosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 1871-1872, 2008.

3) Izumikawa K, Zhao Y, Motoshima K, Takazono T, Saijo T, Kurihara S, Nakamura S, Miyazaki T, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Hayashi T, Kohno S. A



## 生物活性物質部

- case of pulmonary cryptococcosis followed by pleuritis in an apparently immunocompetent patient during fluconazole treatment. *Med Mycol.* 46: 595-599, 2008.
- 4) Hirakata Y, Yanagihara K, Kurihara S, Izumikawa K, Seki M, Miyazaki Y, Kohno S. Comparison of usefulness of plasma procalcitonin and C-reactive protein measurements for estimation of severity in adults with community-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 61: 170-174, 2008.
- 5) Ishimoto H, Yanagihara K, Araki N, Mukae H, Sakamoto N, Izumikawa K, Seki M, Miyazaki Y, Hirakata Y, Mizuta Y, Yasuda K, Kohno S. Single-cell observation of phagocytosis by human blood dendritic cells. *Jpn J Infect Dis.* 61: 294-297, 2008.
- 6) Saijo T, Izumikawa K, Takazono T, Kosai K, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Fukushima K, Kohno S. A case of *Legionella pneumophila* pneumonia followed by invasive aspergillosis. *Jpn J Infect Dis.* 61: 379-381, 2008.
- 7) Nakamura S, Higashiyama Y, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mizuta Y, Kohno S. The roles of the quorum-sensing system in the release of extracellular DNA, lipopolysaccharide, and membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa*. *Jpn J Infect Dis.* 61: 375-378, 2008.
- 8) Nakamura S, Yanagihara K, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Miyazaki Y, Suyama N, Kohno S. Severe pulmonary tuberculosis complicating ileocecal intussusception due to intestinal tuberculosis: a case report. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 7: 16, 2008.
- 9) Ohno H, Matsuo N, Suyama N, Nagayoshi Y, Kohara N, Kazumi Y, Miyazaki Y, Kohno S. The first surgical treatment case of pulmonary *Mycobacterium malmoense* infection in Japan. *Intern Med.* 47: 2187-2190, 2008.
- 10) Lamping E, Ranchod A, Nakamura K, Tyndall JD, Niimi K, Holmes AR, Niimi M, Cannon RD. Abc1p is a multidrug efflux transporter that tips the balance in favor of innate azole resistance in *Candida krusei*. *Antimicrob Agents Chemother.* 53: 354-369, 2009.
- 11) Holmes AR, Lin YH, Niimi K, Lamping E, Keniya M, Niimi M, Tanabe K, Monk BC, Cannon RD. ABC transporter Cdr1p contributes more than Cdr2p does to fluconazole efflux in fluconazole-resistant *Candida albicans* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 3851-3862, 2008.
- 12) Hanaoka N, Takano Y, Shibuya K, Fugo H, Uehara Y, Niimi M. Identification of the putative protein phosphatase gene PTC1 as a virulence-related gene using a silkworm model of *Candida albicans* infection. *Eukaryot Cell.* 7: 1640-1648, 2008.
- 13) Kikuchi K, Sugita T, Makimura K, Urata K, Someya T, Sasaki T, Kamei K, Niimi M, Hiramatsu K, Uehara Y. Is *Histoplasma capsulatum* a native inhabitant of Japan? *Microbiol Immunol.* 52: 455-459, 2008.
- 14) Li Z, Umeyama T, Wang CC. The chromosomal passenger complex and a mitotic kinesin interact with the Tousled-like kinase in trypanosomes to regulate mitosis and cytokinesis. *PLoS One.* 3: e3814, 2008.
- 15) Umeyama T, Wang CC. Polo-like kinase is expressed in S/G2/M phase and associated with the flagellum attachment zone in both procyclic and bloodstream forms of *Trypanosoma brucei*. *Eukaryot Cell.* 7: 1582-1590, 2008.
- 16) Urano E, Kariya Y, Futahashi Y, Ichikawa R, Hamatake M, Fukazawa H, Morikawa Y, Yoshida T, Koyanagi Y, Yamamoto N, Komano J. Identification of the P-TEFb complex-interacting domain of Brd4 as an inhibitor of HIV-1 replication by functional cDNA library screening in MT-4 cells. *FEBS Lett.* 582: 4053-4058, 2008.
- 17) Urano E, Shimizu S, Futahashi Y, Hamatake M, Morikawa Y, Takahashi N, Fukazawa H, Yamamoto N, Komano J. Cyclin K/CPR4 inhibits primate lentiviral replication by inactivating

## 生物活性物質部

- Tat/positive transcription elongation factor b-dependent long terminal repeat transcription. AIDS. 22: 1081-1083, 2008.
- 18) Ogasawara Y, Kaya H, Hiraoka G, Yumoto F, Kimura S, Kadota Y, Hishinuma H, Senzaki E, Yamagoe S, Nagata K, Nara M, Suzuki K, Tanokura M, Kuchitsu K. Synergistic activation of the Arabidopsis NADPH oxidase AtrbohD by Ca<sup>2+</sup> and phosphorylation. J Biol Chem. 283: 8885-8892, 2008.
- 19) Okumura A, Nagao R, Suzuki T, Yamagoe S, Iwai M, Nakazato K, Enami I. A novel protein in Photosystem II of a diatom *Chaetoceros gracilis* is one of the extrinsic proteins located on lumenal side and directly associates with PSII core components. Biochim Biophys Acta. 1777: 1545-1551, 2008.
- 20) Ramadan MM, Tachikawa H, Kodama M, Okawara A, Mitsuma W, Ito M, Kashimura T, Ikrar T, Hirono S, Okura Y, Suzuki K, Aizawa Y. A pilot-controlled study of myeloperoxidase-specific anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody (MPO-ANCA) in the coronary circulation. Int J Cardiol. 128: 114-116, 2008.
- 21) Ohnishi Y, Ishikawa J, Hara H, Suzuki H, Ikenoya M, Ikeda H, Yamashita A, Hattori M, Horinouchi S. Genome sequence of the streptomycin-producing microorganism *Streptomyces griseus* IFO 13350. J Bacteriol. 190: 4050-4060, 2008.
- 22) Hiratsuka T, Furihata K, Ishikawa J, Yamashita H, Itoh N, Seto H, Dairi T. An alternative menaquinone biosynthetic pathway operating in microorganisms. Science. 321: 1670-1673, 2008.
- 23) Ishikawa J. Genome analysis system for actinomycetes: development and application. Actinomycetologica. 22: 46-49, 2008.
- 24) Adachi, H., Kondo, K., Kojima, F., Umezawa, Y., Ishino, K., Hotta K., Nishimura, Y and Akamatsu, Y.: Structure-activity relationship study of 8-amino-2,8-dideoxy-β KDO, a potent CMP-KDO synthetase inhibitor. Lett. Drug. Des. Discov. 5:336-339, 2008.
2. 和文発表
- 1) 宮崎義継：総説「深在性真菌症治療と最近の動向」 医歯薬出版 Medical Technology 36(7): 691-694, 2008.
- 2) 宮崎義継、河野 茂：その他の感染症 1. 真菌症, 大関武彦、近藤直実 編, 小児科学第三版, 医学書院, 東京, p8015-817, 2008.
- 3) 宮崎義継：国立感染症研究所 生物活性物質部の紹介 深在性真菌症—SFI Forum 第4巻, メディカルビュー社, 東京, p49-50, 2008.
- 4) 宮崎義継：この症例に, この処方—各種抗菌薬の実際的な使いかた— 抗真菌薬 Medical Practice 25 巻, 文光堂, 東京, p877-880, 2008.
- 5) 宮崎義継：クリプトコッカス症, 山口恵三、戸塚恭一 編, KEY WORD 感染症 第2版, 先端医学社, 東京, p50-51, 2008.
- 6) 宮崎義継：感染症呼吸器疾患 真菌感染症 ニューモシスチス肺炎 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.8, 呼吸器症候群 (第2版) I —その他の呼吸器疾患を含めて— 日本臨床社, 東京, p162-164, 2008.
- 7) 大野秀明、宮崎義継：ヒストプラズマ症 呼吸器科 15: 57-63, 2009.
- 8) 田辺公一、新見京子、新見昌一：病原真菌の薬剤耐性に関する新しい分子機構 日本臨床 66, 2008-2012, 2008.
- 9) 奥村章規、山越 智：マウスコラーゲン関節炎における LECT2(leukocyte cell-derived chemotaxin 2)の役割の解析. リウマチ科, 41, 71-79, 2009.
- 10) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会 (高嶋哲也、御手洗聡、阿部千代治、大野秀明、桶谷典弘、鎌田有珠、竹山博泰、中島一光、樋口武史、小栗豊子、斎藤 肇、長沢光章、塩谷隆信)：抗酸菌検査の精度保証(6)—抗酸菌検査施設を対象とした結核菌薬剤感受性試験の外部精度評価—。結核 83: 799-801, 2008.
- 11) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会 (高嶋哲也、御手洗聡、阿部千代治、大野秀明、桶谷典弘、鎌田有珠、竹山博泰、中島一光、樋口武史、小栗豊子、斎藤 肇、長沢光章、塩谷隆信)：抗酸菌検査の精度保証(5)—抗酸菌検査施設を対象とした結核菌薬剤感受性試験の外部精度評価—。結核 83: 729-730, 2008.
- 12) 大野秀明：抗酸菌が陽性ならば、レジデントのための呼吸器診療マニュアル (河野 茂、早田 宏編) . 医学書院, p51-63, 東京, 2008.
- 13) 大野秀明：各種迅速検査法 抗酸菌感染症感染症迅速検査

アップデート. Medical Technology 36: 1371-1378, 2008.

菌症 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会 平成 20 年 6 月 15-17 日、神戸

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Miyazaki Y. Cryptococcosis in Japan. 7th International Conference on cryptococcus and Cryptococcosis. September 11-14, 2008, Nagasaki.
- 2) Miyazaki Y. Experiences of Voriconazole Treatment against Pulmonary Cryptococcosis. *Cryptococcus neoformans* AFR2 and MDR1 are ABC-type multidrug efflux transporters able to pump azoles and many other xenobiotics. 7th International Conference on cryptococcus and Cryptococcosis. September 11-14, 2008, Nagasaki.
- 3) Miyazaki Y. Overview of current invasive fungal infections focusing on aspergillosis, candidiasis, and Japanese situations. 9th Nagasaki-Singapore Medical Symposium on Infectious Diseases, October 10-11, 2008, Nagasaki.
- 4) Niimi M. Molecular basis of antifungal resistance in pathogenic fungi. 15th Academic Congress of Korean Society for Medical Mycology. June 21, 2008, Seoul, Korea (Invited speaker)
- 5) Lamping E, Nakamura K, Tanabe K, Niimi K, Holmes AR, Takano Y, Miyazaki Y, Cannon RD and Niimi M. *Cryptococcus neoformans* AFR2 and MDR1 are ABC-type multidrug efflux transporters able to pump azoles and many other xenobiotics. 7th International Conference on *Cryptococcus* and Cryptococcosis. September 11-14, 2008, Nagasaki.
- 6) Umeyama T and Wang CC: Spatial and temporal regulation of Polo-like kinase in both procyclic and bloodstream *Trypanosoma brucei* 19th Molecular Parasitology Meeting. September, 2008, MA, USA.
- 7) Hoshino Y., Chiba K., Fukai T., Igarashi Y., Ishino K and Ishikawa J. Identification of two gene clusters for nocobactin biosynthesis in *Nocardia farcinica*. UK-Japan Workshop on Genomics of Antibiotic-producing Actinomycetes: Implications and Applications. October 31-November 1, 2008, Tokyo.

### 2. 国内学会

- 1) 宮崎義継：深在性真菌症のエビデンス、その意義と限界 第 82 回日本感染症学会総会 平成 20 年 4 月 17-18 日、松江
- 2) 宮崎義継：日米ガイドラインからみた重症感染症戦略-真

- 3) 宮崎義継：Japanese Practical Guideline for deep-seated fungal infectious diseases-focusing on differences from EORTC/MSG & IDSA 第 52 回日本医真菌学会総会 平成 20 年 9 月 10-11 日、長崎
- 4) 宮崎義継：多様な深在性真菌感染症の現況 衛生微生物技術協議会 第 29 回研究会 平成 20 年 6 月 24-25 日、東京
- 5) 宮崎義継：新しい肺真菌症へのアプローチ 第 30 回呼吸器感染症京都セミナー 平成 20 年 9 月 20 日 京都
- 6) 宮崎義継：チーム医療で行う感染症学・化学療法学—あるアウトブレイクに対応する— 第 57 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第 55 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会ベーシックレクチャー 平成 20 年 10 月 23-24 日 大宮
- 7) 宮崎義継：薬で治せる肺炎と治せない肺炎—細菌と真菌に対する化学療法の進歩— 慶応義塾大学薬学部公開講座 平成 20 年 10 月 4 日 東京
- 8) 新見昌一：病原真菌の生物学 衛生微生物技術協議会第 29 回研究会 平成 20 年 6 月 24-25 日 東京田辺公一、名木 稔、中山浩伸、知花博治、宮崎義継、新見昌一 病原真菌ステロールトランスポーターの出芽酵母での発現解析 第 5 回真菌分子細胞研究会 平成 20 年 8 月 21-22 日 千葉
- 9) 名木 稔、田辺公一、臺由紀、高野幸枝、長沼芽衣、新見昌一、宮崎義継：血清添加による *Candida albicans* のアゾール剤非感受性化メカニズムの解明 第 5 回真菌分子細胞研究会 平成 20 年 8 月 21-22 日 千葉
- 10) 中山浩伸、田辺公一、新見昌一：*Candida glabrata* を用いた抗真菌薬の標的の選出 —真菌のステロール恒常性のメカニズムの解明からのアプローチ— 第 2 回真菌ワーブ研究会 平成 20 年 8 月 23 日、千葉
- 11) 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* 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 平成 20 年 9 月 10-11 日、長崎
- 12) 新見昌一、田辺公一、新見京子、Erwin Lamping, 高野幸枝, Ann R Holmes, Brian C Monk, Richard D Cannon：薬剤排出ポンプ阻害剤による真菌 ABC 輸送体の感受性化 第 91 回日本細菌学会関東支部総会 平成 20 年 10 月 23-24 日、千葉

## 生物活性物質部

- 13) 田辺公一、名木 稔、中山浩伸、山越 智、臺由紀、知花博治、新見昌一、宮崎義継：*Candida glabrata* ステロールトランスポーターによるアゾール剤耐性化 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 平成20年12月9-12日、神戸
- 14) 田辺公一、名木 稔、中山浩伸、知花博治、新見昌一、宮崎義継：病原真菌 *Candida albicans* における血清によるアゾール系抗真菌薬耐性化 第7回 感染症沖縄フォーラム 平成21年2月12-14日、沖縄
- 15) 田辺公一、名木 稔、中山浩伸、知花博治、宮崎義継、新見昌一：病原真菌におけるステロールの取り込みと薬剤耐性 第82回 細菌学会総会 平成21年3月12-14日、名古屋
- 16) 名木 稔、田辺公一、新見昌一、宮崎義継：*Candida albicans* の血清添加によるアゾール剤耐性化メカニズムの解明 第82回 細菌学会総会 平成21年3月12-14日、名古屋
- 17) 新見昌一：耐性カンジダの基礎：抗真菌薬耐性のメカニズム キャンディン研究会 平成21年3月14日、東京
- 18) 金子幸弘、柳原克紀、宮崎義継、河野茂、Singh PK：緑膿菌によるバイオフィルム感染症に対するガリウム治療の試み 第82回日本感染症学会総会 平成20年4月17-18日、松江
- 19) 金子幸弘、宮崎義継、柳原克紀、河野茂、Singh PK：難治性緑膿菌呼吸器感染症に対するガリウム治療の試み 第48回日本呼吸器学会学術講演会 平成20年6月15-17日、神戸
- 20) 金子幸弘、大野秀明、今村圭文、河野茂、宮崎義継：*Candida albicans* の biofilm に対するミカファンギンとポリコナゾール、アムホテリシンBとの併用効果 第52回医真菌学会 平成20年9月10-11日、長崎
- 21) 村上裕子、鈴木哲朗、脇田隆宇、深澤秀輔：細胞感染系を用いたスクリーニングにより見いだされた新規標的を持つ抗HCV物質の作用機構 第56回日本ウイルス学会学術集会 平成20年10月26-28日、岡山
- 22) 金子幸弘、柳原克紀、宮崎義継、河野茂、Singh PK：緑膿菌バイオフィルムに対するガリウム(Ga)の作用についての検討 第43回緑膿菌感染症研究会(第5回奨励賞みのるメモリアル受賞講演) 平成21年2月6-7日、京都
- 23) 池田好美、鈴木岳之、深澤秀輔：Resorcylic acid lactone は細胞内で選択的にMEK-ERK経路を阻害する 日本薬学会第129年会 平成21年3月26-28日、京都
- 24) 山越 智、橋本ゆき、大川原明子、田辺公一、新見昌一、大野秀明、宮崎義継：シグナルシークエンストラップ法を用いた *Aspergillus fumigatus* の細胞表層および分泌蛋白質の網羅的同定の試み 第52回日本医真菌学会総会 平成20年9月10-11日、長崎
- 25) 大川原明子、山越 智、橋本ゆき、大野秀明、新見昌一、宮崎義継：*C. albicans* 細胞壁表層のマナン構造の違いによる初期免疫応答の解析 第52回日本医真菌学会総会 平成20年9月10-11日、長崎
- 26) 山越 智、橋本ゆき、大川原明子、田辺公一、新見昌一、大野秀明、宮崎義継：SST-REX (signal sequence trap by retrovirus-mediated expression screening)法を用いた *Aspergillus fumigatus* の細胞表層および分泌蛋白質の網羅的同定 第8回糸状菌分子生物学コンファレンス 平成20年11月17-18日、金沢
- 27) 奥村彰規、大谷功、大川原明子、岩倉洋一郎、鈴木和男、山越 智：Suppressive Role of LECT2 in Mouse Anti-Type-II Collagen Antibody-Induced Arthritis 第38回日本免疫学会総会学術集会 平成20年12月1-3日、京都
- 28) 大野秀明：伝播に関連した真菌の基礎知識 第70回ICD講習会(第52回日本医真菌学会総会) 平成20年9月10-11日、長崎
- 29) 福島喜代康、江原尚美、掛屋 弘、大野秀明、迎 寛、齋藤 厚、河野 茂：QuantiFERON TB-2Gを用いた潜在性結核感染の診断と治療の経験 第83回日本結核病学会総会 平成20年4月24-25日、東京
- 30) 江原尚美、福島喜代康、掛屋 弘、大野秀明、迎 寛、齋藤 厚、河野 茂：肺結核における全血QuantiFERON TB-2Gと喀痰PCRの比較検討 第83回日本結核病学会総会 平成20年4月24-25日、東京
- 31) 河野仁寿、朝永七枝、北崎 健、神田哲郎、大野秀明、河野 茂：ショック症状をきたした結核性心内膜炎の一例 第83回日本結核病学会総会 平成20年4月24-25日、東京

## 生物活性物質部

- 32) 河野仁寿、大野秀明、河野 茂：当院におけるクオニティフェロン TB-2G とツベルクリン反応の比較検討 第83回日本結核病学会総会 平成20年4月24-25日、東京
- 33) 福島喜代康、江原尚美、掛屋 弘、田代将人、大野秀明、迎 寛、齋藤 厚、河野 茂：肺抗酸菌症における QuantiFERON TB-2G の臨床的検討 第82回日本感染症学会総会 平成20年4月17-18日、東京
- 34) 大野秀明：シンポジウムI 分離された真菌の菌種決定法、衛生微生物研究協議会 第29回研究会 平成20年6月24-25日、東京
- 35) 石川 淳：放線菌のゲノム解析基盤技術の開発とその応用 第23回日本放線菌学会大会 平成20年7月10-11日、山梨
- 36) 藤井匠子、千葉和宏、石野敬子、星野泰隆、佐藤浩之、石川 淳：病原性放線菌 *Nocardia farcinica* におけるアミノ配糖体リン酸化酵素遺伝子の同定 第23回日本放線菌学会大会 平成20年7月10-11日、山梨
- 37) 平塚知成、降旗一夫、石川 淳、山下治之、伊藤伸哉、瀬戸治男、大利 徹：微生物に見出されたメナキノン新規合成経路の解明 第23回日本放線菌学会大会 平成20年7月10-11日、山梨
- 38) 林 豊、松浦信康、戸嶋浩明、伊藤伸哉、石川 淳、三上 襄、大利 徹：Brasiliardin A 生合成遺伝子群の取得 第23回日本放線菌学会大会 平成20年7月10-11日、山梨
- 39) 高木 海、高橋俊二、浦本昌和、橋爪大輔、豊田 敦、石川 淳、榎 佳之、長田裕之：放線菌 *Streptomyces reveromyceticus* 代謝物の系統的解析 第23回日本放線菌学会大会 平成20年7月10-11日、山梨
- 40) 石川 淳：放線菌のゲノム解析基盤技術の開発とその応用 平成20年度北里研究所学会賞受賞者特別講演会 平成21年1月30日、東京
- 41) 石川 淳、黒田 誠、関塚剛史、星野泰隆、三上 襄：次世代シーケンサーによる *Nocardia terpenica* のゲノム解析の試み 第3回日本ゲノム微生物学会年会 平成21年3月5-7日、東京
- 42) 平塚知成、降旗一夫、石川 淳、山下治之、伊藤伸哉、瀬戸治男、大利 徹：微生物に見出されたメナキノン新規合成経路の解明 第3回日本ゲノム微生物学会年会 平成21年3月5-7日、東京
- 43) 渡邊ゆみ、市川夏子、中村早苗、片野葉子、來住絵美、小俣せいほ、五味純子、笹川真稚、藤浪 俊、川越 暁、小口 晃央、矢代 勲、安海明百、福井重広、橋本芳実、鎌田 幸、乙黒美彩、谷河 聡、池田治生、石川 淳、堀之内末治、大西康夫、早川正幸、仁平卓也、木谷 茂、葛山智久、有澤 章、野本史樹、三浦広美、高橋洋子、藤田信之：放線菌 *Kitasatospora setae* NBRC 14216<sup>T</sup> のゲノム解析 —系統的関係と二次代謝産物関連遺伝子— 第3回日本ゲノム微生物学会年会 平成21年3月5-7日、東京
- 44) 石野敬子、千葉和宏、星野泰隆、石川 淳：病原性放線菌ノカルジアのシデロフォア生合成遺伝子の細胞障害性への関与 第82回日本細菌学会総会 平成21年3月12-14日、名古屋
- 45) 平塚知成、石川 淳、瀬戸治男、大利 徹：微生物に見出されたメナキノン新規合成経路の解明 —遺伝子探索と破壊実験— 日本農芸化学会2009年度大会 平成21年3月27-29日、福岡