

9. 生物活性物質部

部長 宮崎 義継

概要

当部は、わが国における真菌感染症の制圧、ならびに、感染症制御薬の基盤強化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、アスペルギルス症の新規抗原探索に基づく効果的診断と治療法開発に関する研究と、カンジダ属の薬剤耐性機構解明や病原因子制御に関する研究を軸としているが、新たにヒストプラズマ症やクリプトコックス症など健常者に発症する真菌症の疫学や制御法の研究にも着手した。感染症制御薬に関する研究では、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用による感染症制御と活性評価系開発による創薬研究、及び、ゲノム情報を応用した天然物の生合成経路の解明とそれを利用した天然型新規薬剤の開発と産生効率化に関する研究を行っている。今年度の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・治療法開発のための研究

II. 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、ならびに、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用

III. 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

IV. 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

本年度の研究に対する受賞等は、梅山隆「第11回真菌症フォーラム奨励賞」、金子幸弘「第11回真菌症フォーラム優秀賞」、金城雄樹「第4回日本免疫学会研究奨励賞」であった。

各室が担う業務は、それぞれ以下のとおりである。

第1室は、真菌の病原因子に関する研究と真菌症レファレンス業務を遂行している。昨年度から開始した糸状菌感染症の制圧に関する研究に関しては、アスペルギルス症の病原因子同定とこれらを感染症制御に応用する研究を行っている。カンジダ属を対象とした研究ではエルゴステロール生合成系に着目した薬剤耐性機構と病原因子の解明を継続している。また、不明真菌の同定や診断困難例の確定診断を支援しており、行政検査等を実施した。

第2室は、宿主および病原真菌の細胞内シグナル伝達系の解明とそれを応用した疾病制御に関する研究、ならびに、新規の活性評価系構築による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た。また、検査業務のうち抗菌薬の収去検査を第4室と共同で担っている。

第3室は、6月に金城雄樹室長が着任し、宿主因子や免疫機構の制御に基づいた難治性感染症や難病の制圧をめざして基盤研究を開始した。真菌感染症のレファレンス業務のうち薬剤感受性試験を分担している。

第4室は、ゲノム情報を駆使した二次代謝産物をはじめとする天然物の同定や代謝経路解明、それらに立脚した新規感染症制御薬の創薬研究、及び、放線菌症の病態解明に関する基盤研究を行っている。また、品質管理業務を担当した。

平成19年度から開始した真菌症レファレンス業務の成果として、今年度はバイオセーフティーレベル3のヒストプラズマ属の培養や、エキノキャンディン系耐性カンジダ株の検出、病理標本からのニューモシスチスの遺伝子検出などを行った。同様に品質管理業務については、後発医薬品等の品質管理業務のうち、抗菌薬の力価試験を担当しており、検査実施と共に標準作業手順書の改訂を行った。

依頼された行政対応として、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等を務め、また、パンデミック

(H1N1) 2009に際して台湾在留邦人に対する現地説明を実施した。また、大野第1室長は、ベトナム国立衛生疫学研究所能力強化計画プロジェクトのうち、BSL3実験室における結核菌取扱手順書の作成や取扱技術の向上を目的に、現地での指導、助言を行なった。

国際交流では、米国疾病予防管理センター（CDC）の派遣事業により米CDC真菌疫学研究部門Dr. Tom Chillerを招聘し、「病原真菌の新規診断標的と検査法構築」に関するセミナーを実施し研究討議を行った。また、タイチェンマイ大学と共同で、ヒストプラズマやクリプトコックスの診断や分子疫学調査に関す

生物活性物質部

る研究を開始した。

業績

調査・研究

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

1. アスペルギルス属の新規抗原の探索と応用研究

(1) 病原真菌 *Aspergillus fumigatus* の細胞壁、細胞膜あるいは細胞外に存在する蛋白質の網羅的同定

前年度に引き続き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、さらには創薬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をもとに、10個の遺伝子産物について、マウスモノクローナル抗体の作製を試みた。その中で、Y-1, Y-58, B-68 と命名した遺伝子産物に対するモノクローナル抗体を、それぞれ数種類ずつ得ることができた。[山越 智、橋本ゆき、岡部智也 (ACTGen 社)、梅山 隆、田辺公一、大野秀明、宮崎義継]

(2) B-68 に対するサンドイッチ ELISA 系の構築

1次抗体としてモノクローナル抗体 6F8A3G10 を用い、2次抗体としてモノクローナル抗体 H2B9D10 を用いた、B-68 に対するサンドイッチ ELISA を構築したところ、数十 ng/ml 程度の感度が得られた。しかしながら、*Aspergillus fumigatus* 各種培養液中に、B-68 蛋白質は検出できなかった。[山越 智、橋本ゆき、岡部智也 (ACTGen 社)、梅山 隆、田辺公一、大野秀明、宮崎義継]

(3) カンジダ等の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と抗体作製

昨年度、病原真菌 *Candida albicans*、*Candida glabrata*、*Aspergillus niger*、*Aspergillus flavus*、*Cryptococcus neoformans*、*Rhizopus oryzae*、*Trichosporon asahii*、非病原真菌 *Aspergillus oryzae*、*Aspergillus versicolor*、*Penicillium expansum* について、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。*A. fumigatus* と同

様に、検出系の確立、さらには創薬を目的として、各種菌由来の遺伝子産物についてマウスモノクローナル抗体の作製を試みた。いくつかの遺伝子産物に対して、モノクローナル抗体を、それぞれ数種類ずつ得ることができた。

[山越 智、岡部智也 (ACTGen 社)、梅山 隆、田辺公一、大野秀明、宮崎義継]

(4) *Aspergillus fumigatus* の遺伝子破壊

Ku70 遺伝子欠損株 Afs35 を用い、シグナルシーケンストラップ法をもとに選んだ *A. fumigatus* の5つの遺伝子について遺伝子欠損株を作製した。

[山越 智、梅山 隆、橋本ゆき、田辺公一、大野秀明、宮崎義継]

(5) *Aspergillus fumigatus* の形態と病原性の研究

Ku70 遺伝子欠損株 Afs35 を用い pSK397 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 *A. fumigatus* のプロテインキナーゼをコードしている遺伝子8種類の遺伝子破壊株を作製した。

[梅山 隆、山越 智、大野秀明、田辺公一、宮崎義継]

2. カンジダ属の薬剤耐性機構と病原性因子の解析

(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

Candida glabrata の ABC 蛋白質 CgAus1p は細胞外から代替ステロールを取り込んで、アゾール系抗真菌薬によるエルゴステロール合成阻害を回避する。*CgAUS1* の発現を制御すると予想される転写因子である *UPC2A* 破壊株においては、fluconazole や lovastatin のようなステロール合成阻害剤に対する感受性が増加しており、血清によるアゾール非感受性化も認められなかった。また、複数のエルゴステロール合成関連遺伝子の発現調節にも *UPC2A* が関与する結果を得た。以上の結果から、*UPC2A* は *C. glabrata* のステロール合成を調節する主要な転写因子であると推測された。

[田辺公一、中山浩伸 (鈴鹿高専・生物応用化学科)、名木 稔、山越 智、梅山 隆、大野秀明、宮崎義継]

(2) ステロールトランスポーターの病原性との関与

Candida glabrata の ABC 蛋白質 CgAus1p は血清添加によって発現誘導されることから、生体内において何らかの機

生物活性物質部

能を発揮することが予想された。そこで、テトラサイクリンで *CgAUS1* 遺伝子の発現を抑制できる変異株を用いてマウス感染実験を行った。ドキシサイクリンで *CgAUS1* の発現を抑制すると、2週目の感染効率が低下することを明らかにした。以上の結果より、*CgAUS1p* はマウスでの持続的感染に何らかの役割を果たしていることが示唆された。

[田辺公一、中山浩伸(鈴鹿高専・生物応用化学科)、名木 稔、山越 智、梅山 隆、大野秀明、宮崎義継]

3. 真菌症病態解明と治療法開発のための臨床研究

(1) 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。

[大野秀明、宮崎義継、草地弘子、大川原明子、山越 智、吉田 稔(帝京大学)]

(2) 慢性肺アスペルギルス症に対するアムホテリシン B リポソーム製剤とポリコナゾールの比較試験

臨床的に治療に難渋する慢性肺アスペルギルス症に対する、アムホテリシン B リポソーム製剤とポリコナゾール注射薬の初期治療における有効性及安全性に関する非盲検無作為化比較試験において、分離真菌の遺伝学的同定と薬剤感受性を検討している。

[宮崎義継、大野秀明、草地弘子、倉島篤行(複十字病院)、小川賢二(東名古屋病院)、鈴木克洋(近畿中央胸部疾患センター)、沖本二郎(川崎医科大学)、掛屋 弘(長崎大学)、二木芳人(昭和大学)、河野 茂(長崎大学)]

4. ヒストプラズマ属の本邦ならびに東南アジアでの生息状況の調査

ヒストプラズマ症はわが国では輸入真菌症として扱われているが、海外渡航歴のない日本人にも発病が確認されている。また、東南アジアはヒストプラズマ属の生息地域と考えられているが、環境中における生息を確認した報告はない。このような状況を背景として、日本やタイでの自然環境中に生息

すると考えられるヒストプラズマ属を検出し、感染経路の解明や疫学、公衆衛生への寄与を目的とした調査・研究を行った。

[大野秀明、田辺公一、草地弘子、山越 智、梅山 隆、宮崎義継、*Trepradab Norkaew*、*Pojana Sriburee* (チェンマイ大学)]

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) 慢性肺糸状菌感染症の診断基準作成に関する研究

本邦と欧米における慢性肺糸状菌感染症に関して、慢性壊死性肺アスペルギルス症の臨床診断骨子案を作成した。それに基づくレトロスペクティブな臨床研究を行い、細菌性肺炎との比較において有意に高率に認められる患者背景と症状に関する項目を見いだした。

[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]

(2) 糸状菌感染症に対する新規診断系の構築

1次抗体としてモノクローナル抗体 1B4C あるいは 3G4 を用い、2次抗体としてウサギポリクローナル抗体を用いて、Y-1 に対するサンドイッチ ELISA を構築した。300ng/ml 程度の感度が得られ、*Aspergillus fumigatus* 各種培養液中に Y-1 蛋白質を検出できた。

[山越 智、橋本ゆき、岡部智也(ACTGen 社)、梅山 隆、田辺公一、大野秀明、宮崎義継]

6. 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

(1) *Candida albicans* 薬剤排出ポンプの基質認識機構解明

C. albicans 薬剤排出ポンプの基質認識機構の解明を目的として、ABC 蛋白質とその阻害剤である FK506 の相互作用に特異的なアミノ酸残基の同定を行った。

[大野秀明、田辺公一]

生物活性物質部

(2) *Cryptococcus neoformans* の潜伏感染診断系の検討

C. neoformans 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。また SST-REX 法を使用し、低酸素条件下で発現する膜・分泌蛋白を同定し、これらを標的とした潜伏感染診断系の構築について検討を進めている。

[大野秀明、山越 智、橋本ゆき、草地弘子、田辺公一、梅山隆、金子幸弘]

(3) *Cryptococcus neoformans* 感染に対する生体防御における LECT2 の役割の解析

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。*C. neoformans* を感染させ、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、炎症性サイトカインの発現を、野生型と比較検討した。その結果、LECT2 は感染初期に何らかの感染防御能を持つのではないかと推測された。現在更なる解析を行なっている。

[大野秀明、山越 智、奥村彰規、草地弘子、田辺公一、梅山隆、宮崎義継]

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研究、ならびに、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用

1. 新しい活性評価系による生物活性物質の研究

(1) プロテインキナーゼ阻害物質の研究

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、プロテインキナーゼ阻害の検定 (II) を担当した。NRK 細胞を血小板由来増殖因子

(platelet-derived growth factor, PDGF) で刺激し、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ウエスタンブロットにより検出する系を用い、検体の評価を行った。

[福山まり、矢守隆夫 (癌研)、深澤秀輔]

(2) 抗 HCV ウイルス薬の探索と作用機序に関する研究

HCV-JFH1 を Huh7.5.1. に感染させて阻害物質をスクリーニングするアッセイで、既知の化合物ライブラリーよりタモキシフェンが抗 HCV 活性を示すことを見いだした。そこで、これに関連する他の SERM (Selective Estrogen Receptor modulator) についても阻害活性があるかどうか調べた結果、エストロゲン受容体 α のアンタゴニストとされる化合物は阻害活性がありアゴニストにはなかった。これらの SERM は、レプリコン細胞でも HCV の複製を阻害したが、さらに HCV シュードウイルスの侵入も阻害した。水疱性口内炎ウイルスのシュードウイルスの侵入は阻害しなかったことから、HCV に特異的に侵入を阻害すると思われる。

[村上裕子、鈴木哲朗、脇田隆宇、深澤秀輔]

2. 細胞内シグナル伝達制御の解明と応用

(1) *Candida albicans* のバイオフィームとストレス応答についての検討

C. albicans のバイオフィームの治療抵抗性とストレス応答に関する検討を行った。抗真菌薬によってストレス応答が誘導されること、また、ストレス応答阻害剤がバイオフィームに対する抗真菌薬の効果を増強することを示した。今後は、ストレス応答を制御するための新たな手法を検討する。

[金子幸弘、深澤秀輔、宮崎義継]

(2) CAGE 法による *Candida albicans* バイオフィームにおけるトランスクリプトーム解析

CAGE 法により、網羅的な *C. albicans* バイオフィームのトランスクリプトーム解析を行った。抗真菌薬投与により変化する遺伝子に関して、さらにその詳細を検討している。

[金子幸弘、宮崎義継]

(3) 質量顕微鏡を応用した細胞内分子分布の解析による感染病態の解明

腎症モデルマウスの腎臓内分子分布を質量顕微鏡で検討した結果、質量電荷比 854.7、856.7、880.7、882.7 など複数のピークに、正常マウスと相違を確認し、これらのピークのいくつかを同定してきた。今後は、同定できていない分子の同定を進めるとともに、分子分布と病因との関連を検討する。

生物活性物質部

[金子幸弘、宮崎義継、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)]

野秀明、宮崎義継]

I I I. 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. *Candida albicans* 細胞壁表層のマンナン構造と炎症惹起性の関係の解析

(1) α 型マンノース転移酵素欠失株の解析

C. albicans 細胞壁の表層付近に存在する、 α -1,3 結合型マンノースの転移酵素の遺伝子と推定される遺伝子の破壊株を作製した。その菌株より精製したマンナン蛋白質刺激によるマウス樹状細胞の炎症性サイトカイン産生誘導について解析を行ったところ、破壊株では親株と比較して、IL-6 及び IL-12p40 の産生誘導の低下を認めた。また、病原性を解析するため、破壊株と親株をマウスに経静脈的に接種したところ、破壊株感染マウスでは、親株感染マウスと比較して、生存期間の延長および腎臓内菌数の減少を認めた。以上の結果より、細胞壁表層付近の α -1,3 結合型マンノースを欠損していると推定される *C. albicans* では、炎症惹起性及び病原性が低下すると考えられた。

[大川原明子、金城雄樹、樽本憲人、山越 智、梅山 隆、大野秀明、宮崎義継]

(2) β 型マンノース転移酵素欠失株の解析

定常状態において、*C. albicans* 細胞壁の表層部は β -1,2 結合型マンノースが存在すると考えられている。 β -1,2 結合型マンノースの転移酵素の遺伝子と推定される遺伝子の破壊株を作製した。その菌株より精製したマンナン蛋白質刺激によるマウスのマクロファージや樹状細胞、ヒトおよびマウスモノサイトの炎症性サイトカイン産生誘導について解析を行ったところ、破壊株では親株と比較して、IL-6 及び IL-12p40 の誘導能が亢進していた。また、破壊株または親株より精製したマンナン蛋白質をマウスに投与したところ、破壊株由来のマンナン蛋白質投与マウスでは、血管炎の発症率が高まった。以上の結果より、マンナンの構造と炎症惹起性、血管炎の発症に関係性があることが示唆された。

[大川原明子、金城雄樹、樽本憲人、山越 智、梅山 隆、大

2. *Candida albicans* の細胞壁蛋白抗体による *in vitro* 増殖抑制効果の検討

SST-REX (signal sequence trap by retrovirus-mediated expression screening) 法を用いて得られた *C. albicans* の細胞膜・分泌蛋白のうち、比較的多く発現している抗原を同定し、抗原に対する抗体産生 hybridoma を作製した。計 16 種類の hybridoma から得られた上清の抗真菌活性について *in vitro* での増殖抑制効果などスクリーニングを行った。

[樽本憲人、金城雄樹、山越 智、大川原明子、梶川益紀 (ACTGen 社)、大野秀明、宮崎義継]

3. *Cryptococcus neoformans* 糖脂質の解析と自然リンパ球刺激機序の解析

自然リンパ球の Natural killer T (NKT) 細胞は、*C. neoformans* 肺感染において感染後早期に肺に集積し、真菌の排除に重要な Th1 反応を増強する。*C. neoformans* による NKT 細胞刺激機序を明らかにするため、*C. neoformans* lysate をマウス樹状細胞にパルスし、NKT 細胞を含む肝臓の白血球と培養したところ、IFN γ 産生の誘導を認めた。また、その反応は CD1d 依存性であることより、NKT 細胞を介した反応であることが分かった。さらに、*C. neoformans* の脂質を解析したところ、単糖型の糖脂質が検出されたことから、*C. neoformans* が NKT 細胞の認識抗原を有する可能性が示唆された。

[金城雄樹、宮崎義継、阿部謙・仲川清隆・宮澤陽夫・川上和義 (東北大学)]

4. 播種性カンジダ症モデルマウスでの炎症反応における糖脂質投与の影響

播種性カンジダ症の炎症反応の誘導と制御機構を解析するため、*Candida albicans* 感染マウスに自然免疫を刺激する糖脂質抗原を投与し、マウスの生存率及び臓器内菌数への影響を調べた。糖脂質投与マウスでは、コントロールマウスと比較して、*C. albicans* 感染後の生存期間の短縮及び腎臓内菌数の増加を認めた。さらに、糖脂質投与マウスでは、腎臓及び血中における炎症性サイトカイン産生の増加を認めた。このことから、糖脂質投与による自然免疫の刺激により、*C. albicans* 感染後の炎症反応が増強し、真菌の

生物活性物質部

排除に影響を及ぼすことが考えられた。現在、その機序について解析を進めている。

[樽本憲人、金城雄樹、大川原明子、宮崎義継]

5. NKT 細胞が認識する肺炎球菌由来糖脂質抗原の同定

これまでに NKT 細胞が、肺炎球菌（市中肺炎やインフルエンザ感染後の二次性肺炎の主要な起炎菌である）感染において、感染防御に重要な役割を担うことを明らかにした。NKT 細胞の肺炎球菌への反応性の機序を解明するため、肺炎球菌より糖脂質を抽出し、NKT 細胞の刺激活性を調べた。肺炎球菌より精製した糖脂質は、NKT 細胞の T 細胞抗原受容体を特異的に刺激し、サイトカイン産生を誘導した。このことより、肺炎球菌感染において、NKT 細胞が菌由来の糖脂質を認識して、感染免疫応答を誘導することが示唆された。

[金城雄樹、Petr Illarionov（バーミンガム大学）、川上和義（東北大学）、Jose Luis Vela・Mitchell Kronenberg（ラホヤアレルギー免疫研究所）]

6. 感染病態や難治化に及ぼす LECT2 の機能解析に関する研究

(1) ガラクトサミン/LPS 肝障害モデルを用いた LECT2 の機能解析

リポポリサッカライドによるエンドトキシンショックモデルとして、ガラクトサミン/LPS 肝障害マウスモデルを用いて LECT2 の機能を解析した。LECT2-KO マウスにおいて IFN γ の発現レベルが有意に低いことを見いだした。さらに、ガラクトサミン/LPS 投与後のマウス肝臓からリンパ球画分を採取し、IFN γ の発現をフローサイトメーターにて解析した。その結果 IFN γ の産生レベルの差が見られた。

[山越 智、奥村彰規、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継]

(2) ウシ LECT2 結合蛋白質の同定

LECT2 は、肝実質細胞から分泌され血液中に存在する。そこで、血中蛋白質との相互作用を考え、抗ウシ LECT2 蛋白質抗体カラムでウシ FBS 中の LECT2 を吸着させ、SDS-PAGE で分離後、LC-MS-MS で 12 種類の特異的結合をすと考えられる血清蛋白質を同定した。

[奥村彰規、鈴木健裕（理研）、岡部智也（ACTgen 社）、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継、山越 智]

(3) マウス LECT2 レセプターの同定

昨年度に引き続き LECT2 のレセプターを同定するために、レトロウイルスベクターを用いマウス cDNA 発現ライブラリーを作製し、Ba/F3 細胞に感染後、マウス LECT2-Fc 融合蛋白質の結合を指標に、フローサイトメーターにて、レセプター遺伝子を発現する Ba/F3 細胞の濃縮を試みた。

[山越 智、岡部智也（ACTgen 社）、奥村彰規、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継]

(4) サイトカイン LECT2 のペプチダーゼ活性の検討

LECT2 の C 末端側は、Pfam データベースによると、peptidase family M23 に分類される。このファミリーの大半は、亜鉛イオン結合性のペプチダーゼである。そこで CHO 細胞で発現させた組換え LECT2 で亜鉛イオンの結合の有無を ESI-MS および XAFS で測定し、ペプチダーゼ活性の有無について検討した。その結果、LECT2 は亜鉛結合蛋白であるが、ペプチダーゼ活性を見出すことはできなかった。

[奥村彰規、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継、山越 智]

(5) サイトカイン LECT2 の軟骨細胞に対する作用機序解析

LECT2 は軟骨細胞の成長刺激因子としても同定されているが、その詳細なメカニズムは不明である。そこで、LECT2 ノックアウトマウスおよび LECT2 トランスジェニックマウスの成長板軟骨について野生型マウスとの差異を病理組織的に調べた。その結果、LECT2 の有無によって軟骨細胞の分化に違いが認められた。さらに、LECT2 が軟骨前駆細胞株の遺伝子発現に及ぼす影響を DNA マイクロアレイ法により解析すると、軟骨細胞分化に関与するいくつかの因子の発現に影響がみられた。

[奥村彰規、宇田晶彦（獣医科学部）、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継、山越 智]

IV. 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) ノコバクチン生合成遺伝子の改変による新規化合物の

生物活性物質部

創製

Nocardia farcinica IFM 10152 株のノコバクチンの生合成経路の改変株を用いて、新規化合物の取得を試みた。改変株を培養し、菌体のメタノール抽出物を野生株のものと HPLC により比較した結果、改変株で新たなピークが観察された。その化合物を精製し、質量分析により解析を行った結果、得られた化合物は、ノコバクチンの生合成過程の途中で停止した新規化合物であると予想された。これにより、生合成経路の改変により、新規化合物の取得が可能であることが示された。

[星野泰隆、石川 淳]

(2) Mutasynthesis を用いたノコバクチンアナログの創製

Nocardia farcinica IFM 10152 株のノコバクチン生合成の最初過程であるサリチル酸生合成をになう遺伝子の破壊株を用いて、mutasynthesis を行った。数種類のサリチル酸アナログを利用して培養を行い、サリチル酸アナログが取り込まれたノコバクチンを生産させ、精製を行った。得られた化合物の抗微生物活性を検討したところ、顕著な活性を示すものはなかった。今後、その他の生物活性に関して検討を行う。これらの結果より、mutasynthesis により、多くの新規化合物の創製が可能であることが示された。

[星野泰隆、石川 淳]

(3) 次世代シークエンサーを用いた放線菌からの生物活性物質生合成遺伝子の探索

次世代シークエンサーを用いた *Nocardia brasiliensis* IFM 0406 のゲノムスキニングを行い、ポリケチド合成酵素 (PKS) および関連遺伝子を含むコンティグのカセット PCR 法による連結を行った結果、50kb を超える領域に、複数の PKS 遺伝子がクラスターを形成していることが明らかとなった。さらに PKS のドメイン解析によって、この遺伝子群は brasilinolide の生合成遺伝子である可能性が示唆された。

[渋谷健太、石川 淳]

(4) 次世代シークエンサーを用いた糸状菌からの生物活性物質生合成遺伝子の探索

次世代シークエンサーを用いて、糸状菌の生産する生物活性物質の生合成遺伝子を見出すために、ゲノムスキニングを行った。その結果、生物活性物質生産に関与すると予想さ

れるポリケチド合成酵素、非リボゾーム型ペプチド合成酵素や酸化酵素等をコードする遺伝子が多数見いだされ、本法が糸状菌における有用遺伝子の探索に有効であることが示された。

[星野泰隆、石川 淳、関塚剛史、黒田 誠 (ゲノムセンター)]

(5) LtsA の *Nocardia farcinica* 病原性への関与

LtsA の病原性への関与を検討するため、マウスマクロファージ様細胞 J774A.1 細胞への感染実験を行なった結果、LtsA 遺伝子破壊株は、野生株に比べ、炎症性サイトカインの産生が上昇していることを見出した。LtsA はリゾチーム耐性に関与するなど、*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るため、現在、サイトカイン産生上昇と病原性との関連および LtsA 蛋白質の機能解析を行なっている。

[石野敬子、渋谷健太、石川 淳]

(6) lux operon 導入による *Nocardia farcinica* の細胞内検出系の開発

N. farcinica IFM 10152 株の宿主細胞内での挙動や生存率を検討するために、高 GC 細菌用にコドンを変更した *Photorhabdus luminescens* の lux operon を *N. farcinica* に導入した結果、tac プロモーターを用いることにより、検出可能な発光強度を得た。さらに lux 遺伝子上流に *Mycobacterium smegmatis* 由来の acetamidase regulon を導入した結果、acetamide 添加により tac プロモーターを用いた場合の 5 倍の発光強度を得た。

[関野山涼介、石野敬子]

2. 薬剤耐性機構に関する研究

(1) リファンピシンモノオキシゲナーゼによるリファマイシン SV の変換化合物の構造解析

Nocardia farcinica IFM 10152 株のリファンピシンモノオキシゲナーゼを大腸菌にて発現させ、リファマイシン SV の変換反応を行った。その変換後の化合物を精製し、NMR による構造解析を行った。¹H-、¹³C-NMR スペクトルの結果から、リファマイシン SV の変換後の化合物の芳香環に変化が認められた。今後詳細な解析により、本酵素のリファマイ

生物活性物質部

シン系化合物に対する反応機構の解明を進める。

[星野泰隆、深井俊夫 (横浜薬科大)、石川 淳]

(2) *Nocardia farcinica* のアミノグリコシド耐性遺伝子の同定

N. farcinica IFM 10152 株のゲノム解析により見出された 3 種のアミノグリコシドリン酸化酵素遺伝子の破壊実験を行った結果、*nfa31340* 遺伝子はトブラマイシン、ジベカシン、ゲンタマイシンおよびシソマイシン耐性、*nfa38480* 遺伝子はカナマイシン、ネオマイシン、パロモマイシンおよびリボスタマイシン耐性、*nfa38620* 遺伝子はストレプトマイシン耐性を支配することが明らかとなった。

[藤井匠子、石川 淳]

なお、上記研究に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。

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 22 件 45 検体、培養真菌の同定不能例における菌種同定業務など 12 件 117 株、感染症相談件数 2 件であった。また、大野と梅山は地方衛生研究所診断技術研修会で真菌症診断に関する講演を行った。

[大野秀明、草地弘子、梅山 隆、田辺公一、金子幸弘、大川原明子、山越 智、金城雄樹、宮崎義継]

品質管理業務

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 20 ロット (セフポドキシムプロキセチル錠剤 4 ロット、シロップ剤 2 ロット、および注射用セフトジジム 14 ロット) について、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、力価試験

を行った。収去品 19 ロットは規定の含有量を示し、「適合」と判定されたが、注射用セフトジジム 1 ロットについては規定の含有量を満たさず、「不適合」と判定した。

[村上裕子、石川 淳、金子幸弘、石野敬子、深澤秀輔、星野泰隆、宮崎義継]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Seki M, Kosai K, Hara A, Imamura Y, Nakamura S, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mukae H, Tashiro T, Kohno S. Expression and DNA microarray analysis of a platelet activating factor-related molecule in severe pneumonia in mice due to influenza virus and bacterial co-infection. *Jpn J Infect Dis.* 62:6-10, 2009.
- 2) Nakamura S, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Pulmonary cryptococcosis in late pregnancy and review of published literature. *Mycopathologia.* 167:125-131, 2009.
- 3) Cannon RD, Lamping E, Holmes AR, Niimi K, Baret PV, Keniya MV, Tanabe K, Niimi M, Goffeau A, Monk BC. Efflux-mediated antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Rev.* 22:291-321, 2009.
- 4) Nagi M, Tanabe K, Takano Y, Kikuchi K, Miyazaki Y, Niimi M. Serum or bile affects the in vitro azole susceptibilities of *Candida* spp. *Jpn J Infect Dis.* 62:306-308, 2009.
- 5) Okumura A., Suzuki T, Dohmae N, Okabe T, Hashimoto Y, Nakazato K, Ohno H, Miyazaki Y, Yamagoe S. Identification and assignment of three disulfide bonds in mammalian leukocyte cell-derived chemotaxin 2 by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Biosci Trends.* 3:139-143, 2009.
- 6) Li Z, Umeyama T, Wang CC. The Aurora kinase in *Trypanosoma brucei* plays distinctive roles in metaphase-anaphase transition and cytokinetic initiation. *PLoS*

生物活性物質部

- Pathog. 5:e1000575, 2009.
- 7) 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, 49:491-495, 2010.
- 8) Murakami Y, Noguchi K, Yamagoe S, Suzuki T, Wakita T, Fukazawa H. Identification of bisindolylmaleimides and indolocarbazoles as inhibitors of HCV replication by tube-capture-RT-PCR. Antiviral Res. 83:112-117, 2009.
- 9) Lee S, Hinz A, Bauerle E, Angermeyer A, Juhaszova K, Kaneko Y, Singh PK, Manoel C. Targeting a bacterial stress response to enhance antibiotic action. Proc Natl Acad Sci USA. 106:14570-14575, 2009.
- 10) Kaneko Y, Ohno H, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. The effects of an hsp90 inhibitor on the paradoxical effect. Jpn J Infect Dis. 62:392-393, 2009.
- 11) Teruya T, Sasaki H, Fukazawa H, Suenaga K, Bisebromoamide, a Potent Cytotoxic Peptide from the Marine Cyanobacterium *Lyngbya* sp.: Isolation, Stereostructure, and Biological Activity. Org Lett. 11: 5062-5065, 2009.
- 12) Fukazawa H, Ikeda Y, Fukuyama M, Suzuki T, Hori H, Okuda T, Uehara Y. The resorcyclic acid lactone hypothemycin selectively inhibits the mitogen-activated protein kinase kinase-extracellular signal-regulated kinase pathway in cells. Biol Pharm Bull. 33:168-173, 2010.
- 13) Kronenberg M, Kinjo Y. Innate-like recognition of microbes by invariant natural killer T cells. Curr Opin Immunol. 21:391-396, 2009.
- 14) 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. 62:613-619, 2009.
- 15) Hoshino Y, Fujii S, Shinonaga H, Arai K, Saito F, Fukai T, Satoh H, Miyazaki Y, Ishikawa J. Mono-oxygenation of rifampicin catalyzed by the *rox* gene product of *Nocardia farcinica*: structure elucidation, gene identification and role in drug resistance. J. Antibiot. 63:23-28, 2010.
- ## 2. 和文発表
- 1) 河野 茂、宮崎義継ほか：「一般医療従事者のための抗真菌薬使用ガイドライン」日本化学療法学会 2009
- 2) 河野 茂、二木芳人、網谷良一、小川賢二、倉島篤行、宮崎義継：肺アスペルギルス症に対する micafungin の臨床効果 日本化学療法学会誌 58, 128-139. 2010
- 3) 大野秀明、宮崎義継：微生物の種類別引こみた施設内感染制御 3) 真菌 アスペルギルス 医療福祉施設における感染制御と臨床検査 臨床検査 53 : 1381-1386, 2009 医学書院 東京
- 4) 露口一成、大野秀明、吉山 崇、土井教生、重藤えり子：日本における多剤耐性結核 結核 85: 125-137, 2010
- 5) 石川 淳：オーソログ比較による新規代謝経路の発見とゲノムマイニング ファルマシア 45:875-879, 2009 (社) 日本薬学会 東京
- ## II. 学会発表
- ### 1. 国際学会
- 1) Miyazaki Y. Management of Invasive fungal Infections focusing on Respiratory Tract Infections. International Symposium joined with 49th Congress of Japanese Respiratory Society. Jun 14, 2009, Tokyo.
- 2) Miyazaki Y. Antifungal Agent Update : Candins. 26th International Congress of Chemotherapy and Infection. June

生物活性物質部

- 19-21, 2009, Toronto, Canada.
- 3) Saito Y, Ogawa K, Kurashima A, Amitani R, Okimoto J, Niki Y, Miyazaki Y, Izumikawa K, Kakeya H, Kohono S. A First Randomized Trial Comparing Micafungin and Voriconazole for Chronic Necrotizing Pulmonary Aspergillosis in Japan. 49th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. September 12-15, 2009, San Francisco, USA.
 - 4) Li Z, Umeyama T, Wang C C. The Aurora-like kinase in *Trypanosoma brucei* plays critical roles of promoting metaphase- anaphase transition and initiating cytokinesis, Kinetoplastid. Molecular Cell Biology Meeting, April 26-29, 2009, Woods Hole, MA, USA.
 - 5) Tanabe K, Nagi M, Lamping E, Monk BC, Cannon RD, Miyazaki Y and Niimi M. Domain-shuffled chimeras of *Candida albicans* Cdr1p and Cdr2p reveal structural determinants affecting substrate and inhibitor specificities. 17th congress of the International Society for Human and Animal Mycology, May 25-29, 2009, Tokyo.
 - 6) Li Z, Umeyama T, Wang CC. Polo-like kinase is required for trans-localization of the chromosomal passenger complex in regulating cytokinesis in *Trypanosoma brucei*. 20th Annual Molecular Parasitology Meeting, September 13-17, 2009, Woods Hole, MA, USA.
 - 7) Kaneko Y, Ohno H, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. Hsp90 inhibitor preferentially attenuates postnadir resistance to micafungin and tolerance to voriconazole of *Candida albicans*. 109th General Meeting, American Society for Microbiology, May 16-21, 2009, Philadelphia, USA.
 - 8) Kaneko Y, Ohno H, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. Voriconazole attenuates the effect of micafungin against *Candida* biofilms in vitro possibly via stress responses. 109th General Meeting, American Society for Microbiology, May 16-21, 2009, Philadelphia, USA.
 - 9) Kaneko Y, Ohno H, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. Combination therapy of micafungin with voriconazole and amphotericin B against *Candida* biofilms. 17th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, May 25-29, 2009, Tokyo.
 - 10) Kaneko Y, Ohno H, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. Effects of Antifungal Combinations Against *Candida* Biofilms and Stress Responses. 49th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. September 12-15, 2009, San Francisco, USA.
 - 11) Ishida-Okawara A, Ohno H, Yamagoe S, Kaneko Y, Niimi M, Miyazaki Y. Evaluation of Mycological Character and Early Immune Response against Different Structures of Cell Surface Mannan of *Candida albicans*. 109th General meeting of American Society for Microbiology, May 16-21, 2009, Philadelphia, USA.
 - 12) Ishida-Okawara A, Ohno H, Yamagoe S, Kaneko Y, Niimi M, Miyazaki Y. Characterization of mycological features of putative α -type mannosyltransferase deleted *Candida albicans*. 17th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, May 25-29, 2009, Tokyo.
 - 13) Ishikawa J, Hoshino Y, Kuroda M Sekizuka T. Discovery of secondary metabolite biosynthetic genes in *Nocardia brasiliensis* by genome scanning with next generation sequencer. 15th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, August 20-25, 2009, Shanghai, China.
 - 14) Hoshino Y, Fujii S, Shinonaga H, Miyazaki Y, Ishikawa J. Identification of the rifampicin monooxygenase gene of *Nocardia farcinica*. The 15th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, August 20-25, 2009, Shanghai, China.
 - 15) Ishino K, Hoshino Y, Chiba K, Hirai A, Ishikawa J. Nocobactin production is required for virulence of *Nocardia farcinica*. 15th International Symposium on the Biology of Actinomycetes,

生物活性物質部

August 20-25, 2009, Shanghai, China.

2. 国内学会

- 1) 宮崎義継: わが国の深在性真菌症ガイドラインの特徴と課題. 第83回日本感染症学会総会学術講演会, 平成21年4月23-24日, 東京.
- 2) 宮崎義継: 真菌感染症のこれからの診断法. 第83回日本感染症学会総会学術講演会, 平成21年4月23-24日, 東京.
- 3) 宮崎義継: 教育講演 真菌感染症治療のパラダイム. 第57回日本化学療法学会総会, 平成21年6月3-5日, 東京.
- 4) 宮崎義継: シンポジウム 難治性呼吸器真菌感染症の現状と制御へのアプローチ. 第49回呼吸器学会学術講演会, 平成21年6月13日, 東京.
- 5) 宮崎義継: 特別講演 内臓真菌症に対する治療戦略. 第30回関東医真菌懇話会, 平成21年11月21日, 東京.
- 6) 宮崎義継: シンポジウム 未承認薬を考えるーポサコゾール. 第52回日本感染症学会中日本地方会学術総会・第57回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会, 平成21年11月27-28日, 名古屋.
- 7) 田辺公一: 病原真菌のアゾール系抗真菌薬耐性機構. 第177回酵母細胞研究会, 平成21年7月3日, 千葉.
- 8) 大野秀明: 真菌性髄膜炎に対する抗真菌薬療法. 第14回日本神経感染症学会総会, 平成21年10月17日, 宇都宮.
- 9) 木村敬朗, 鈴木亮介, 山越 智, 鈴木建裕, 堂前 直, 勝二郁夫, 松浦善治, 千葉 丈, 脇田隆字, 鈴木哲郎: Prohibitin2はC型肝炎ウイルス(HCV)NS5A 蛋白質と相互作用をしHCV複製調節に働く. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 平成21年10月25-27日, 東京.
- 10) 田辺公一, 名木 稔, 新見昌一, 山越 智, 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継: 血清による *Candida albicans* のazole系抗真菌薬感受性の変化の検討. 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, 平成21年10月30-31日, 東京.
- 11) 山越 智, 大野秀明, 宮崎義継: アスペルギルス属の表層蛋白質をターゲットとしたアスペルギルス症の新しい診断・治療法開発の試み. 第30回関東医真菌懇話会, 平成21年11月21日, 東京.
- 12) 大森深雪, 安藤一義, 上芝秀博, 有村 祐, 山越 智, 鈴木和男, 八木淳二: 敗血症におけるLECT2の役割. 第39回日本免疫学会総会学術集会, 平成21年12月2-4日, 大阪.
- 13) 大野秀明: シンポジウム 抗真菌薬その適応と限界を探る 新規抗真菌薬と新たな治療の可能性. 第11回真菌症フォーラム, 平成22年3月13日, 東京.
- 14) 若山 恵, 大久保陽一郎, 篠崎 稔, 笹井大督, 中山晴雄, 蜜田亜希, 安藤常浩, 大野秀明, 宮崎義継, 亀井克彦, 渋谷和俊: In situ hybridization を用いたヒトヒストプラズマ症の検討. 第11回真菌症フォーラム, 平成22年3月13日, 東京.
- 15) 中村竜也, 乾佐知子, 清水千裕, 奥田和之, 佐野 一, 中田千代, 藤本弘子, 大倉ひろ枝, 植村芳子, 高橋伯夫, 田辺公一, 大野秀明, 宮崎義継: *FKS2* 遺伝子上のアミノ酸欠損による micafungin 低感受性 *Candida glabrata* の検出. 第11回真菌症フォーラム, 平成22年3月13日, 東京.
- 16) 田辺公一, 名木 稔, 中山浩伸, 大野秀明, 宮崎義継: 真菌 AUS1 トランスポーターの比較解析. 日本農芸化学会2010年度大会, 平成22年3月27-30日, 東京.
- 17) 名木 稔, 田辺公一, 中山浩伸, 大野秀明, 宮崎義継: ステロールトランスポーター *CgAUS1* の機能解析. 日本

生物活性物質部

- 農芸化学会 2010 年度大会, 平成 22 年 3 月 27-30 日, 東京.
- 18) 梅山 隆、大野秀明、新見昌一、上原至雅、: *Candida albicans* のプロテインキナーゼ網羅的遺伝子破壊による新規治療ターゲットの探索. 真菌症フォーラム第 11 回学術集会, 平成 22 年 3 月 13 日, 東京.
- 19) 安田 愛、片山和浩、三橋純子、蓑島維文、板東俊和、杉山 弘、山越 智、杉本芳一、野口耕司: がんウイルス Epstein-Barr Virus 由来の EBNA1 を新規分子標的とする阻害薬の探索研究. 日本薬学会第 130 年会, 平成 22 年 3 月 28-30 日, 岡山.
- 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 micafungin と voriconazole、amphotericinB との併用効果. 第 83 回日本感染症学会総会学術講演会, 平成 21 年 4 月 23-24 日, 東京.
- 21) 金子幸弘、大野秀明、河野 茂、宮崎義継 : 難治性緑膿菌感染症に対するガリウム治療の効果および耐性機序に関する検討. 第 57 回日本化学療法学会総会, 平成 21 年 6 月 3-5 日, 東京.
- 22) 金子幸弘、大野秀明、宮崎義継 : 難治性緑膿菌呼吸器感染症に対するガリウム治療の呼吸機能等に与える影響. 第 49 回日本呼吸器学会学術講演会, 平成 21 年 6 月 12-14 日, 東京.
- 23) 深澤秀輔 : cis-enone resorcylic acid lactones によるチロシンキナーゼ阻害. 日本がん分子標的治療学会, 平成 21 年 6 月 24-26 日, 徳島.
- 24) 村上裕子、赤澤大輔、鈴木哲朗、脇田隆宇、深澤秀輔 : C 型肝炎ウイルス (HCV) に対する SERM (Selective Estrogen Receptor Modulator) の作用. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 平成 21 年 10 月 25-27 日, 東京.
- 25) 金子幸弘、大野秀明、宮崎義継、河野 茂 : 緑膿菌のガ
- リウム耐性機序とガリウム耐性の影響についての検討. 第 44 回緑膿菌感染症研究会, 平成 22 年 2 月 12-13 日, 東京.
- 26) 金子幸弘、大野秀明、今村圭文、河野 茂、宮崎義継 : ストレス応答阻害による *Candida albicans* の抗真菌薬耐性の制御. 真菌症フォーラム第 11 回学術集会, 平成 22 年 3 月 13 日, 東京.
- 27) 白砂圭崇、齋藤恭子、村上裕子、深澤秀輔、鈴木哲朗、脇田隆宇、花田賢太郎、西島正弘、深澤征義 : C 型肝炎ウイルス JFH1 株変異体におけるウイルス産生の上昇. 日本薬学会 第 130 年会, 平成 22 年 3 月 28 日~30 日, 岡山.
- 28) 大川原明子、山越 智、金子幸弘、大野秀明、宮崎義継 : *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. 第 83 回 日本感染症学会, 平成 21 年 4 月 23-24 日, 東京.
- 29) 奥村彰規、大川原明子、山越 智、(共同研究者: 齋藤武、大野秀明、宮崎義継) : ガラクトサミン/LPS 肝障害モデルを用いた LECT2 の機能解析. 第 39 回日本免疫学会総会学術集会, 平成 21 年 12 月 2-4 日, 大阪.
- 30) 金城雄樹、Illarionov P、Pei B、Vela JL、Li X、川上和義、Tsuji M、Kronenberg M. : グラム陽性菌由来 iNKT 細胞糖脂質抗原. 第 39 回日本免疫学会総会学術集会, 平成 21 年 12 月 2-4 日, 大阪.
- 31) 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クリーニングによる二次代謝産物合成遺伝子クラスターの探索. 第 24 回日本放線菌学会大会, 平成 21 年 7 月 16-17 日, 秋田.
- 32) 藤井匠子、星野泰隆、佐藤浩之、宮崎義継、石川 淳 : 病原性放線菌 *Nocardia farcinica* におけるリファンピシンモノオキシゲナーゼ遺伝子の同定. 第 24 回日本放線菌学会大会, 平成 21 年 7 月 16-17 日, 秋田.

生物活性物質部

- 33) 三浦広美、林 健二、加藤泰樹、池田治生、石川 淳、市川夏子、藤田信之、大村 智、高橋洋子：*Kitasatospora setae* KM-6054T の液体培養中での形態分化に伴うタンパク質発現パターンの変化。第 24 回日本放線菌学会大会、平成 21 年 7 月 16-17 日、秋田。
- 34) 石野敬子、星野泰隆、千葉和宏、平井明香、石川 淳：病原性放線菌ノカルジア病原性へのノコバクチンの関与。第 29 回 日本細菌学会関東支部総会、平成 21 年 11 月 5-6 日、東京。
- 35) 藤井匠子、石野敬子、千葉和宏、石川 淳：病原性放線菌 *Nocardia farcinica* のアミノグリコシド耐性機構の解明。第 83 回日本細菌学会総会、平成 22 年 3 月 27-29 日、横浜。
- 36) 石野敬子、渋谷健太、星野泰隆、石川 淳：*ItsA* 遺伝子のノカルジアの病原性への関与。第 83 回日本細菌学会総会、平成 22 年 3 月 27-29 日、横浜。
- 3.その他
- 1) 金子幸弘：Bacterial & Fungal Biofilms。東北大学臨床微生物解析治療学講座、平成 21 年 4 月 28 日、仙台。
- 2) 宮崎義継：新型インフルエンザ。(財)交流協会講演会、平成 21 年 5 月 12-13 日、台北、対中、高尾。
- 3) 宮崎義継：真菌症。大阪大学医学部感染症学講義、平成 21 年 6 月 8 日、大阪。
- 4) 金子幸弘：感染症総合管理 1a カビが起こす重篤な感染症。早稲田大学規範科学総合研究所、平成 21 年 6 月 16 日、東京。
- 5) 田辺公一：深在性真菌症治療の現状と展望。東京農工大学大学院 生物生産科学フロンティア II、平成 21 年 6 月 19 日、東京。
- 6) 宮崎義継：進歩する真菌症診療。岡山真菌症フォーラム、平成 21 年 6 月 24 日、岡山。
- 7) 宮崎義継：市民公開講座 カビが起こす肺の病気。第 57 回日本化学療法学会西日本支部総会、平成 21 年 11 月 28 日、名古屋。
- 8) 宮崎義継：講義 侵襲性真菌症について。医師卒後臨床研修、平成 21 年 12 月 15 日、東京。
- 9) 金城雄樹：細菌・真菌感染防御における NKT 細胞の役割：NKT 細胞による微生物由来糖質抗原認識。千葉大学 Global-COE(G-COE)セミナー、平成 21 年 12 月 18 日、千葉。
- 10) 宮崎義継：特別講演 最近の侵襲性真菌症のとりあつかい。第 3 回広島真菌症研究会、平成 22 年 1 月 28 日、広島。
- 11) 宮崎義継：特別講演 変貌する呼吸器領域の真菌症。第 16 回和歌山呼吸器真菌症懇話会、平成 22 年 2 月 13 日、和歌山。
- 12) 大野秀明：輸入真菌症概論。平成 21 年度希少感染症診断技術研修会、平成 22 年 2 月 26 日、東京。
- 13) 梅山 隆：輸入真菌症の診断法ーコクシジオイデス症とヒストプラスマ症ー。平成 21 年度希少感染症診断技術研修会、平成 22 年 2 月 25-26 日、東京。
- 14) 宮崎義継：特別講演 呼吸器内科における肺アスペルギルス症の取り扱い。第 3 回関東呼吸器真菌症研究会、平成 22 年 3 月 6 日、東京。