

9. 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2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。

第三室は、真菌の分泌蛋白質の診断応用、クリプトコックス属や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と、その制御に基づく難治性感染症の病態研究や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。

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

真菌部

ATG32 の転写調節機構の解明

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* の遺伝子破壊株では、*ATG32* 以外のオートファジー関連因子の発現も鉄欠乏の有無に関わらず亢進していることが明らかになった。また、ミトコンドリア分解活性に関しても、野生株と比較して *XRN1* 遺伝子破壊株では鉄欠乏の有無に関わらず活性化していることを明らかにした。

[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。今後は1対1対応での評価を行うべく、無菌マウスを用いた実験を予定している。

[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) *Candida auris* の国内分離株・海外分離株の病原性に関する解析

Candida auris は本邦で初めて耳漏より分離され、その後、世界中で報告されるようになった新規の菌種であるが、国内での分離が耳漏からに限られる一方、世界的には血流感染症患者からの分離が多く、その病原性には違いがあることが示唆される。本研究では、国内分離株・海外分離株を用い、マウスモデルを用いてその病原性を解析した。抗菌薬を投与して腸内細菌叢を変化させたマウスに、*C. auris* を胃内接種し、腸管内への定着を生じさせた。また、胃内接種の前日・当日・翌日の3日間に酢酸コルチゾンを皮下注射し、免疫抑制を生じさせ、接種7日・14日後の臓器への播種を検証した。結果として、国内分離株・海外分離株ともに腸管内への定着は確認されたが、便中真菌量は海外分離株で有意に多い結果であった。また、臓器への播種も海外分離株で有意に多く、biofilm 形成能も海外分離株で高い結果であった。しかしながら、腸管からの播種実験の系では、*C. auris* の病原性は *C. albicans* よりも低いことが示され、以上の結果を海外雑誌に論文発表し、公表した。

[阿部雅広、名木稔、東祥嗣、菊池賢(東京女子医科大学)、片野晴隆・長谷川秀樹(感染病理部)、宮崎義継]

(4) *C. glabrata* が行うマイトファジーの宿主貪食細胞内生存における役割

C. glabrata におけるマイトファジーは、鉄欠乏条件によって活性化し、鉄欠乏条件におけるミトコンドリアの機能維持と長期生存に関与している。また、マイトファジーに必須な *ATG32* の破壊株では病原性が顕著に低下することが明らかにされたが、マイトファジーがどのように病原性に関与しているかは不明である。*C.*

真菌部

glabrata は、マイトファジーによって機能低下ミトコンドリアを分解することで、鉄欠乏環境である貪食細胞内において生存し、病原性を発揮しているという仮説を立て、この仮説を検証することを目的に研究を行った。

ヒト血液から調整した好中球と *C. glabrata* 野生株またはマイトファジー欠損株 (*ATG32* 遺伝子破壊株) を混合し、貪食効率および貪食後の生存率の測定を行った。野生株とマイトファジー欠損株における被貪食効率に有意な差はなかったが、貪食後の生存率においては、野生株が欠損株と比べて有意に高い事が明らかとなった。貪食細胞内における鉄欠乏ストレスや酸化ストレスが *ATG32* 破壊株の生存率を低めているとの仮説のもと、貪食前に鉄添加条件または Myeloperoxidase (MPO) inhibitor 添加条件で incubate した好中球を用い、上記実験と同様の実験を行った。鉄処理好中球を用いた場合では、鉄非添加好中球と同様に *ATG32* 破壊株の生存率は野生株と比べて有意に低かったが、MPO inhibitor 処理好中球の場合は *ATG32* 破壊株の生存率が高まり、野生株と同程度であった。野生株と *ATG32* 破壊株の好中球内生存率の差には MPO が関与していることがわかった。[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]

(5) 膣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膣への定着し、カンジダ膣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、カンジダ膣炎(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、カンジダ膣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* の膣内定着量が多く、膣内の炎症細胞集積が少ない結果を認めた。また、C型レクチン

受容性に属する Dectin-1、Dectin-2 の各々の欠損マウスでも評価を行ったところ、Dectin-2 欠損マウスにおいて野生型マウスに比して *C. tropicalis*、*C. auris* の膣内定着量が多い結果を認めた。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、膣上皮の過角化・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。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]

(6) 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膣、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。

[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]

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

真菌部

られている。現在、アスペルギルス症の血清学的検査では血清中のガラクトマンナンを検出する診断法が用いられているが、検出感度・特異度の面でも十分な検出系とは言えず、より抗原への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。本研究期間はこれまでに確立した *A. fumigatus* Y1 抗原および B11b 抗原タンパク質のサンドイッチ 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試みた。その結果、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一定のレベルで抗原を検出できた。またこの結果をもとに ROC 曲線を描いて統計学的な解析を行ったところ、抗原の検出感度とその特異性は高値を示し、侵襲性アスペルギルス症が疑われる検体に対し、ある程度の信頼性を持って血清中に存在する抗原を検出することができた。

[高塚翔吾、福島深雪、壇辻百合香、山越智、橋本ゆき、犬飼達也(東京医科大学)、梅山隆、宮崎義継]

(2) *A. fumigatus* の分泌小胞に関する研究

これまでに液体培養からの分泌小胞調製法を確立していたので、膜タンパク質を検出する系の構築を試みた。すでに 2 報分泌小胞中に含まれるタンパク質の網羅的解析の報告がされたので、その中から分子量と発現量を考慮し両論文で共通する 3 つの膜タンパク質を選択し、ポリクローナル抗体の作成を行った。それぞれのタンパク質のアミノ酸配列から抗原性の高いと思われるペプチド鎖を合成、ウサギに免疫し、血清中の抗体価の上昇を確認後、血清を調製した。さらに抗原ペプチド鎖を用いて特異的抗体をアフィニティ精製した。分泌小胞のタンパク質を SDS-PAGE にて分離後、精製した抗体を用いてウエスタンブロットを行った。その結果、3 つのタンパク質に対する抗体のなかで 1 つの抗体は分泌小胞のタンパク質を検出できた。現在、同タンパク質が分泌小胞膜上に存在するか否か調べている。

[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 α -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 (Δ *ags1* Δ *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)]

3. 地域流行型真菌症の研究

(1) 自然免疫回避機構における *Cryptococcus gattii* の 莢膜多糖の生理作用

樹状細胞(DCs)は、本菌の野生株を貪食できないが莢膜欠損株は効率よく貪食する。DCsによる莢膜欠損株の認識機構や莢膜多糖の認識回避機構は不明であった。2020年度は、莢膜多糖が菌体の抗原を被覆しDCsによるCD11b依存的な菌体認識を回避するモデルを報告した。CD11bは、YPD培地で培養した莢膜欠損株には結合したが、合成グルコース培地で培養した菌体には結合しなかった。また、YPD培地で培養した菌体を事前にProteinase Kで処理すると、CD11bは結合しなかった。 β グルカン分解酵素で処理した場合は、CD11bの結合性に影響しなかった。この結果は、CD11bリガンドがある特定の環境で菌体表面に発現するタンパク質である可能性を示唆している。

[上野圭吾、永森晶子、福島深雪、清水公徳(東京理科大学)、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

真菌部

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。2020 年度は、経鼻ワクチン投与群で活性化する感染後の炎症応答について調べた。その結果、経鼻ワクチン投与群では、アジュバントの種類によらずに感染 7 日目に CD4 陽性 T 細胞や顆粒球の増加を認め、感染 14 日目には多核巨細胞を伴う肉芽腫形成を認めた。この感染後の炎症応答は FTY720 投与条件下で観察されることから、経鼻ワクチンで誘導された肺常在性記憶型 T 細胞が、感染に反応して感染防御に必要な炎症応答を惹起していると考えられた。[上野圭吾、永森晶子、福島深雪、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

近年インフルエンザ感染後に、重度のアスペルギルス症を発症する二次性の真菌感染症が問題となっている。そ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、二次感染後の肺内でアスペルギルスのクリアランスが進まず、生存率も有意に低下していた。また二次感染後の肺内のアスペルギルスのクリアランスが進まないことが炎症応答の亢進に繋がり予後を悪くしてしまうことがわかった。今回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、犬飼達也(東京医科大学)、上野圭吾、阿部雅広、山越智、梅山隆、星野泰隆、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) 放線菌ゲノム解析による二次代謝産物生合成遺伝子の発見

環境から分離した 6 種の *Streptomyces* 属菌株のゲノム中に存在する二次代謝産物生合成遺伝子を見出すために、次世代シーケンサーによるドラフトゲノム配列の決定、遺伝子予測、2ndFind 等によるゲノム解析を行った。

[石川淳、高橋俊二(理化学研究所)]

(2) 生物活性物質生合成遺伝子探索ツールの開発

感染症治療薬のリードとなる生物活性物質の生合成に与るタンパクに頻繁に見出されるドメインを指標として、放線菌ゲノムに含まれる生物活性物質生合成遺伝子クラスターを効率的に見出すためのウェブツール(2ndFind, <http://biosyn.nih.gov/2ndfind/>)を前年度に引き続き運用した。年度内に国内外から 64,555 回の利用があり、前年度より 35%増加し、これまでで最高の利用回数となった。

[石川淳]

(3) 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 は、主にグラム陽性菌に対して抗菌活性を有している。そこで、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て誘導体を生産させ、その粗抽出液を用いて非定型抗酸菌等に対する活性等の検討を行った結果、いくつかの変異体で活性が認められた。これらの活性のあった誘導体に関して、精製を進めた。

[星野泰隆、星野仁彦(ハンセン病研究センター)、酒井香奈江(神戸大学)]

(4) 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

真菌ではいくつかの RIPPS の生産の報告があり、またマイコトキシンである Ustiloxin の生合成経路も明らかになってきている。そこで、ゲノム情報が明らかになっている病原真菌を対象として、Ustiloxin の生合成遺伝子を指

真菌部

標とした探索を行った結果、*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た。これらの領域の遺伝子の発現解析を行った結果、いくつかの培養条件で発現していることが明らかとなり、RIPPS を生産している可能性が示された。

[星野泰隆、梅山隆、山越智、宮崎義継、石川淳]

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 fumigatus* アゾール耐性変異の検証

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 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 269 番目のセリン残基は、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 の 269 番目のセリン(S)をフェニルアラニン(F)に置換したところ、複数のアゾール薬に対して低感受性が観察された。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。臨床分離株や他の遺伝子についても応用でき、今後、アスペルギルスの薬剤耐性メカニズムを解明するのに有用である。

[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)]

(2) セシウム耐性放線菌のゲノム解析

ある種の放線菌では、原子力発電所事故により環境に放出されたセシウムを蓄積することが知られているが、その機構を明らかにするために、モデル放線菌株のひとつである *Streptomyces lividans* TK24 からセシウム耐性変異株を分離し、そのゲノム解析を行った結果、転写因子、トランスポーターなどを含む約 40 遺伝子に変異を見出した。

[石川淳、安齋洋次郎・福本敦(東邦大学)]

(3) カンジダ薬剤耐性メカニズムとしてのステロール合成・代謝に関連する研究

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。73246 株が好気条件でもステロールを取り込むようになった原因を突き止めるため、L999 株と 73246 株の次世代シーケンス解析を行った。73246 株の複数のエルゴステロール生合成遺伝子 ORF 内に変異が生じており、それら生合成遺伝子の破壊株を作製することで、ステロール取り込みに与える影響を評価する予定である。

真菌部

[名木稔、田辺公一(龍谷大学)、阿部雅広、山越智、梅山隆、石川淳、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2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63件(菌株数:35件、臨床検体数:47件、環境検体数:0件、核酸検体数:0件、パラフィン検体数:16件、抗真菌薬感受性試験依頼数:24件、行政検査3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1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1件であった。

[阿部雅広、中山靖子、名木稔、星野泰隆、山越智、橋本ゆき、壇辻百合香、福島深雪、梅山隆、宮澤拳、高塚翔吾、上野圭吾、石川淳、宮崎義継]

品質管理に関する業務

令和2年度の医薬品等一斉監視指導・収去検査(後発医薬品品質確保対策)においては、抗生物質医薬品4ロット(注射用セフェピム塩酸塩)について力価試験を担当し、日本薬局方の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を測定した。その結果、いずれの収去品も含有量は規格範囲内にあり、すべて「適合」と判定された。

[石川淳、星野泰隆、福山まり、小川伸子、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。それらの分離菌を用い、菌種同定およびMLST解析を行った。また、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。

[名木稔、宮崎義継]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) [Masahiro Abe](#), Harutaka Katano, [Minoru Nagi](#), [Yoshitsugu Higashi](#), Yuko Sato, Ken Kikuchi, Hideki Hasegawa, [Yoshitsugu Miyazaki](#). Potency of gastrointestinal colonization and virulence of *Candida auris* in a murine endogenous candidiasis. PLoS ONE. Dec 2;15(12) e0243223, 2020
- 2) Sadamoto S, Shinozaki M, [Nagi M](#), Nihonyanagi Y, Ejima K, Mitsuda A, Wakayama M, Tochigi N, Murakami Y, Hishima T, Nemoto T, Nakamura S, [Miyazaki Y](#), Shibuya K. Histopathological study on the prevalence of trichosporonosis in formalin-fixed and paraffin-embedded tissue autopsy sections by in situ hybridization with peptide nucleic acid probe. Med Mycol. 2020 Jun 1;58(4):460-468. doi:10.1093/mmy/myz096. PMID: 31535126; PMCID: PMC7261608.
- 3) Yamashita C, Takesue Y, Matsumoto K, Ikegame K, Enoki Y, Uchino M, Miyazaki T, Izumikawa K, Takada T, Okinaka K, Ueda T, [Miyazaki Y](#), Mayumi T. Echinocandins versus non-echinocandins for empirical antifungal therapy in patients with hematological disease with febrile neutropenia: A systematic review and meta-analysis. J Infect Chemother. 2020 Jun;26(6):596-603. doi:10.1016/j.jiac.2020.01.015. Epub 2020 Mar 11. PMID: 32171659.
- 4) Hamada Y, Ueda T, [Miyazaki Y](#), Nakajima K, Fukunaga K, Miyazaki T, Nakada-Motokawa N, Nagao M, Kawamura H, Shigemi A, Ebihara F, Kimura T, Ikegame K, Uchino M, Ikeuchi H, Takesue Y. Effects of antifungal stewardship using therapeutic drug monitoring in voriconazole therapy on the prevention and control of hepatotoxicity and visual symptoms: A multicentre

- study conducted in Japan. *Mycoses*. 2020 Aug;63(8):779-786. doi: 10.1111/myc.13129. Epub 2020 Jun 25. PMID: 32510723; PMCID: PMC7496238.
- 5) Yoshida I, Saito AM, Tanaka S, Choi I, Hidaka M, Miyata Y, Inoue Y, Yamasaki S, Kagoo T, Iida H, Niimi H, Komeno T, Yoshida C, Tajima F, Yamamoto H, Takase K, Ueno H, Shimomura T, Sakai T, Nakashima Y, Yoshida C, Kubonishi S, Sunami K, Yoshida S, Sakurai A, Kaneko Y, Miyazaki Y, Nagai H. Intravenous itraconazole compared with liposomal amphotericin B as empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *Mycoses*. 2020 Aug;63(8):794-801. doi: 10.1111/myc.13100. Epub 2020 May 28. PMID: 32391919; PMCID: PMC7497187.
 - 6) Tashiro S, Osa S, Igarashi Y, Watabe Y, Liu X, Enoki Y, Taguchi K, Mayumi T, Miyazaki Y, Takesue Y, Matsumoto K. Echinocandins versus non-echinocandins for the treatment of invasive candidiasis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Infect Chemother*. 2020 Nov;26(11):1164-1176. doi: 10.1016/j.jiac.2020.06.008. Epub 2020 Jun 30. PMID: 32620421.
 - 7) Miyazaki H, Shibuya R, Chang B, Inukai T, Miyazaki Y, Ubukata K, Nakamura S, Matsumoto T. Genetic characteristics of piliated *Streptococcus pneumoniae* serotype 35B, increased after introduction of pneumococcal vaccines in Japan. *J Infect Chemother*. 2020 Nov;26(11):1198-1204. doi:10.1016/j.jiac.2020.06.016. Epub 2020 Jul 15. PMID: 32682683.
 - 8) Panthee, S., Kito, N., Hayashi, T., Shimizu, T., Ishikawa, J., Hamamoto, H., Osada, H. and Takahashi, S. β -carboline chemical signals induce reveromycin production through a LuxR family regulator in *Streptomyces* sp. SN-593. *Sci Rep*. 2020 Jun 23;10(1):10230. doi: 10.1038/s41598-020-66974-y.
 - 9) Tomohiko Tamura, Satomi Saito, Moriyuki Hamada, Yingqian Kang, Yasutaka Hoshino, Tohru Gonoi, Yuzuru Mikami, Takashi Yaguchi. *Gordonia crocea* sp. nov. and *Gordonia spumicola* sp. nov. isolated from sludge of a wastewater treatment plant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Jun;70(6):3718-3723, 2020.
 - 10) Shibata W, Niki M, Sato K, Fujimoto H, Yamada K, Watanabe T, Miyazaki Y, Asai K, Obata Y, Tachibana T, Kawaguchi T, Kaneko Y, Kakeya H. Detection of *Rhizopus*-specific antigen in human and murine serum and bronchoalveolar lavage. *Med Mycol*. 2020 Oct 1;58(7):958-964. doi: 10.1093/mmy/myaa001. PMID: 32060526.
 - 11) Osa S, Tashiro S, Igarashi Y, Watabe Y, Liu X, Enoki Y, Taguchi K, Mayumi T, Miyazaki Y, Takesue Y, Matsumoto K. Azoles versus conventional amphotericin B for the treatment of candidemia: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Infect Chemother*. 2020 Nov;26(11):1232-1236. doi:10.1016/j.jiac.2020.07.019. Epub 2020 Aug 20. PMID: 32828679.
 - 12) Yamamoto K, Mawatari M, Fujiya Y, Kutsuna S, Takeshita N, Hayakawa K, Nakamura M, Takanaabe Y, Maruoka Y, Inoue M, Hara T, Nagasaka S, Tayama N, Miyazaki Y, Umeyama T, Ohmagari N. Survival case of rhinocerebral and pulmonary mucormycosis due to *Cunninghamella bertholletiae* during chemotherapy for acute myeloid leukemia: a case report. *Infection*. 2021 Feb;49(1):165-170. doi:10.1007/s15010-020-01491-8. Epub 2020 Jul 27. PMID: 32720129.
 - 13) Izumikawa K, Kakeya H, Sakai F, Shibuya K, Sugita T, Takazono T, Takata T, Tashiro M, Teruya K, Nakamura S, Noguchi H, Hiruma M, Makimura K, Miyazaki T, Miyazaki Y, Yamagishi Y, Yoshida K, Watanabe A. Executive Summary of JSMM Clinical Practice Guidelines for Diagnosis and Treatment of Cryptococcosis 2019. *Med Mycol J*. 2020;61(4):61-89. doi: 10.3314/mmj.20.001. PMID: 33250505.
 - 14) Ishida T, Seki M, Oishi K, Tateda K, Fujita J, Kadota JI, Kawana A, Izumikawa K, Kikuchi T, Ohmagari N, Yamada M, Maruyama T, Takazono T, Miki M, Miyazaki Y, Yamazaki Y, Kakeya H, Ogawa K, Nagai H, Watanabe A. Clinical manifestations of adult patients requiring influenza-associated hospitalization: A prospective multicenter cohort study in Japan via internet surveillance. *J Infect Chemother*. 2021 Mar;27(3):480-485. doi: 10.1016/j.jiac.2020.10.021. Epub 2020 Nov 12. PMID: 33189538.

- 15) Fujii, I., Hashimoto, M., Konishi, K., Unezawa, A., Sakuraba, H., Suzuki, K., Tsushima, H., Iwasaki, M., Yoshida, S., Kudo, A., Fujita, R., Hichiwa, A., Saito, K., Asano, T., Ishikawa, J., Wakana, D., Goda, Y., Watanabe, A., Watanabe, M., Masumoto, Y., Kanazawa, J., Sato, H., and Uchiyama, M. Shimalactone Biosynthesis Involves Spontaneous Double Bicyclo - Ring Formation with $8\pi - 6\pi$ Electrocyclization. *Angewandte Chemie International Edition* 59:8464-8470, 2020. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2020 May 25;59(22):8464-8470. doi: 10.1002/anie.202001024.
- 16) Sakai, K., Hara, Y., Ishibashi, M., Sakai, M., Kawahara, S., Imanishi, S., Harada, K., Hoshino, Y., Komaki, H., Mukai, A., and Gono, T.: Characterization of nocardithiocin derivatives produced by amino acid substitution of precursor peptide notG. *Int. J. Pept. Res. Ther.* 26:281-290, 2020.
- 17) Machida M, Itaru Nakamura I, Sato A, Nakamura S., Miyazaki Y., Watanabe H. Hypertrophic pachymeningitis caused by *Schizophyllum* sp.: a novel case report. *Infection.* 2020 Nov 6. doi: 10.1007/s15010-020-01544-y
- 18) Takata N, Ishii KA, Takayama H, Nagashimada M, Kamoshita K, Tanaka T, Kikuchi A, Takeshita Y, Matsumoto Y, Ota T, Yamamoto Y, Yamagoe S. Seki A, Sakai Y, Kaneko S, Takamura T. LECT2 as a hepatokine links liver steatosis to inflammation via activating tissue macrophages in NASH. *Sci Rep.* 2021 Jan 12;11(1):555.
- 19) Futatsuya T., Anzawa K., Mochizuki T., Shoji A., Hoshino Y., Abe M.: Disseminated cutaneous cryptococcosis in an immunocompetent elderly long-term pigeon fancier. *J Dermatol.* 47(5):551-553. 2020

2. 和文発表

- 1) 名木稔. カンジダに対する抗真菌薬の作用機序と耐性機構. *臨床検査.* 64(7) 786-790, 2020年.
- 2) 東祥嗣、宮崎義継. 肺アスペルギルス症. 呼吸器疾患最新の治療 2021-2022. 227-229, 2021年.
- 3) 石川淳. 第5章 遺伝. 第7版 薬科微生物学. 63-82, 2021年.

II. 学会発表

1. 国際学会

2. 国内学会等

- 1) 梅山隆、名木稔、阿部雅広、犬飼達也、東祥嗣、壇辻百合香、中山靖子、山越智、上野圭吾、高塚翔吾、橋本ゆき、星野泰隆、福山まり、小川伸子、宮崎義継. 糸状真菌症診断のピットフォールと新たな展開「培養法における工夫と注意点」. 第94回日本感染症学会総会・学術講演会, 2020年8月20日, 東京.
- 2) 阿部雅広. 基礎研究・臨床研究の融合による、臨床の疑問に立脚した研究推進・論文執筆. 第94回日本感染症学会総会・学術講演会, 2020年8月20日, 東京.
- 3) 阿部雅広、名木稔、東祥嗣、宮崎義継. 腸管からの *Candida auris* 播種と腸内細菌叢の関連に関するステロイド投与下マウスモデルによる解析. 第94回日本感染症学会総会・学術講演会. 2020年8月20日, 東京.
- 4) 上野圭吾、山越智、宮崎義継. 肺常在性記憶型T細胞による高病原性クリプトコックス症の制御. 第94回日本感染症学会総会・学術講演会. 2020年8月20日, 東京.
- 5) 林崎浩史、高塚翔吾、川久保俊、竹山春子、川上和義、大石和徳、宮崎義継、金城雄樹. 新規肺炎球菌ワクチンの免疫学的作用機序の解析. 第31回日本生体防御学会学術総会. 2020年9月10日, 熊本.
- 6) 梅山隆、宮澤拳、舘野円花、山越智、高塚翔吾、星野泰隆、犬飼達也、石野敬子、宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* Cyp51A アゾール耐性変異の検証 -CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術の応用-. 第64回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020年10月10日, 東京.
- 7) 新居鉄平、梅山隆、犬飼達也、渡辺哲、宮崎義継、亀井克彦. *Aspergillus fumigatus* で見つかった Cyp51A と Hmg1 の変異によるマルチアゾール耐性株. 第64回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020年10月10日, 東京.

真菌部

- 8) 高塚翔吾、壇辻百合香、犬飼達也、阿部雅広、上野圭吾、梅山隆、星野泰隆、山越智、宮崎義継. インフルエンザ続発性肺アスペルギルス症モデルの確立と宿主応答メカニズムに関する研究. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 44114, 2020 年, 東京.
- 9) 梅山隆、宮澤拳、舘野円花、山越智、高塚翔吾、星野泰隆、犬飼達也、石野敬子、宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* Cyp51A アブール耐性変異の検証 -CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術の応用-. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020 年 10 月 10 日, 東京.
- 10) 名木稔、東祥嗣、鈴木健裕、知花博治、田辺成一、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 の転写調節機構の解明. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020 年 10 月 10 日, 東京.
- 11) 阿部雅広、名木稔、東祥嗣、金城雄樹、宮崎義継. Vulvovaginal candidiasis における NKT 細胞の役割解析. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020 年 10 月 10 日, 東京.
- 12) 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ワクチン開発とその生体防御機構について. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020 年 10 月 10 日, 東京.
- 13) 阿部雅広、黒田誠、宮崎義継. マウスモデルを用いた腸管からの *Candida glabrata* 播種に関する腸内細菌叢の解析. 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 67 回日本化学療法学会東日本支部総会. 2020 年 10 月 21 日, 東京.
- 14) 阿部雅広、大塚喜人、渡智久、小倉翔、木村宗芳、高木伸介、谷口修一、荒岡秀樹. 同種造血幹細胞移植患者におけるコリネバクテリウム菌血症の臨床・微生物学的特徴に関する後方視的解析. 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 67 回日本化学療法学会東日本支部総会. 2020 年 10 月 21 日, 東京.
- 15) 蒲池悠佳、宮澤拳、吉見啓、日高將文、中島佑、阿部敬悦. *Aspergillus nidulans* の α -1,3-グルカン合成酵素による産生多糖の分子量制御機構の解析. 糸状菌分子生物学研究会若手の会第 8 回ワークショップ. 2020 年 11 月 13 日, Web.
- 16) 田代裕登、宮澤拳、山形洋平、吉見啓、阿部敬悦. In vitro α -1,3-グルカン (AG) 合成系の確立に向けた GFP 融合 AG 合成酵素発現株の作製. 糸状菌分子生物学研究会若手の会第 8 回ワークショップ. 2020 年 11 月 13 日, Web.
- 17) 竹内歩、宮澤拳、吉見啓、阿部敬悦. 麹菌 *Aspergillus oryzae* における細胞内 α -アミラーゼ遺伝子 amyG 及び amyH の機能解析. 糸状菌分子生物学研究会若手の会第 8 回ワークショップ. 2020 年 11 月 13 日, Web.
- 18) 阿部雅広、名木稔、金城雄樹、宮崎義継. マウスモデルを用いた vulvovaginal candidiasis に対する免疫学的応答の解析. 真菌症フォーラム 2020 学術集会. 2020 年 11 月 29 日, Web.
- 19) 星野泰隆、壇辻百合香、阿部雅広、名木稔、上野圭吾、中山靖子、小川伸子、福山まり、橋本ゆき、福島深雪、越川拓郎、岡本圭祐、宮澤拳、高塚翔吾、梅山隆、山越智、石川淳、宮崎義継. 病原真菌の培養検査における現状. 真菌症フォーラム 2020 学術集会. 2020 年 11 月 29 日, Web.
- 20) 名木稔. *Candida auris* と抗真菌薬耐性. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会. 2021 年 1 月 29 日—3 月 31 日, Web.
- 21) 壇辻百合香、星野泰隆、阿部雅広、名木稔、上野圭吾、中山靖子、福島深雪、越川拓郎、橋本ゆき、宮澤拳、高塚翔吾、梅山隆、山越智、石川淳、宮崎義継. 病原真菌の培養検査における培養条件に関する検討. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会. 2021 年 1 月 29 日—3 月 31 日, Web.

真菌部

- 22) 小泉亜未、尾形慎、矢野成和、宮澤拳、吉見啓、佐野元昭、日高將文、仁平高則、中井博之、木村聡、岩田忠久、阿部敬悦. 麹菌の細胞壁 α -1,3-グルカン生合成に関する α -アミラーゼ AgtA の特性解析. 日本農芸化学会 2021 年度大会. 2021 年 3 月 18 日-21 日, Web.
 - 23) 市川暉、加藤好一、宮澤拳、田畑風華、古明地敬介、吉見啓、阿部敬悦. 麹菌の菌糸接着因子制御株を用いた酵素生産向上と培養液流動性の改善. 日本農芸化学会 2021 年度大会. 2021 年 3 月 18 日-21 日, Web.
 - 24) 高塚翔吾、壇辻百合香、宮澤拳、犬飼達也、阿部雅広、上野圭吾、山越智、梅山隆、星野泰隆、. インフルエンザ続発性肺アスペルギルス症の宿主応答メカニズムに関する研究. 第 94 回日本細菌学会総会. 2021 年 3 月 23 日-25 日, Web.
- III. その他
- 1) 宮崎義継. 感染研の COVID-19 に対する検査等の活動. 感染症に強い国づくりに向けた感染症研究プラットフォームの構築に関する提言 107-110. 2020 年.