

9. 生物活性物質部

部長 上原至雅

概要

生物活性物質部は、感染症の制圧をめざし安全かつ有効な予防・治療薬開発に関する基礎研究を行うことを目的としている。平成12年度から新たな業務として真菌症の研究とサーベイランスをスタートさせてから3年を経過したが、部員の協力と新興・再興感染症研究事業等の支援などもあり、真菌症に対して体制が整えられ、また成果も着実に得られつつある。当部が取り扱う主な生物活性物質は、真菌制御物質、情報伝達制御物質、生体防御調節物質および抗生物質耐性菌制御物質等であり、これらの物質に関連して、生化学的、遺伝学的、分子生物学的手法を用いた新しい活性評価系の開発、新規生物活性物質の探索、作用機序等の研究、ならびに病原真菌の病因の検索、診断・治療法の研究、細胞内情報伝達の制御、生体防御の制御機構、および薬剤耐性菌の機構・迅速検出・制御等の研究を行っている。平成14年度は以下の項目について研究が行われた。

- I. 新しい活性評価系とスクリーニングおよび生物活性物質の研究
- II. 真菌の薬剤耐性機構と病原性因子及び感染防御に関する研究
- III. 好中球機能解析およびその機能不全の解析
- IV. 骨髄系細胞の活性化
- V. サイトカイン LECT2 の解析
- VI. 抗生物質耐性と遺伝子、放線菌ゲノムに関する研究
- VII. 我が国における深在性真菌症のサーベイランス

研究費としては、基盤的研究費、特別研究費のほかに厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業、特定疾患対策研究事業、医薬安全総合研究事業)、創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業及び文部科学省科学研究費補助金等の支援を受けた。厚生科学研究事業の「新興・再興感染症研究」では輸入真菌症等深在性真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究を行い、「医薬安全総合研究」および「特定疾患対策研究」の2課題では感染症誘発の慢性疾患への対策研究を推進した。

新見室長らは、国際交流の一環として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」および「外国人研究者招へい事業」(新興・再興感染症研究事業プログラム、主任研究者:上原至雅)により、

ニュージーランド、オタゴ大学分子微生物学教室(主任 Dr RD Cannon)と「真菌の薬剤耐性を克服するための薬剤開発システムの確立」の共同研究を行うとともに、同大学の Dr BC Monk を招へいして研究打ち合わせを行った。また新興・再興感染症研究事業プログラムに関連してヒューマンサイエンス振興財団「外国人研究者招へい事業」によりワシントン大学 GS Kobayashi 教授を招へいして、深在性真菌症/輸入真菌症シンポジウム「輸入真菌症を中心とした深在性真菌症に対する我が国の現状と取り組み」を開催した。日本学術振興会「外国人招へい研究者(長期)」により、Dr E Lamping (ニュージーランド、オタゴ大学)を招へいし、「*Saccharomyces cerevisiae* に発現した種々の ABC 輸送体の機能解析」の共同研究を行った。

鈴木室長らは、「ヒューマンサイエンス振興財団、(財)公定書協会、(財)医療機器センターより、S. Klebanoff 教授(米国・ワシントン大)、K-H. Krause 教授(スイス・ジュネーブ大)、D. Jayne 顧問(教授)(英国・ケンブリッジ大学)、F. Maxfield 主任教授(米国・コーネル大・医)、R. Hoffman(米国・カリフォルニア大)を招へいし、研究交流を推進した。さらに、(財)公定書協会「外国の研究機関等への委託研究事業」(医薬安全研究事業支援事業、主任研究者:鈴木和男)により、英国ケンブリッジ大学・医学部(D. Jayne 博士)と「血管炎のガンマグロブリン治療不応例における日本と英国での相違に関する解析」の共同研究を行った。また、文部科学省から外国人特別研究員として A. Persad が派遣され共同研究を推進した。

その他特記事項として、高GC% DNAをもつ放線菌ゲノムの遺伝子(ORF)探索・同定のために石川主任研究官らが開発した解析ソフトであるFramePlot (Ishikawa J. & Hotta K. (1999) FEMS Microbiol. Lett. 174: 251-253)は、2種の放線菌の全ゲノム解析に大きく貢献したが、さらに、米国のゲノム研究所のTIGR (The Institute for Genomic Research)が新たな遺伝子解析ソフトとして発表した Third Position GC Skew Display (http://tigrblast.tigr.org/cmrbblast/GC_Skew.cgi)の作成の基になった。

以下に本年度の主な研究成果を記す。

研究業績

- I. 新しい活性評価系とスクリーニングおよび生物活性物質の研究

1. 酵母の薬剤排出ポンプ阻害剤の探索

アゾール剤耐性は主に排出ポンプの機能亢進が関与している。ポンプ阻害剤をアゾール剤と併用すれば、真菌細胞内で薬剤の有効濃度が保たれ、耐性菌の増殖を阻止することが期待される。16員環マクロライド構造を有する数種のミルペマイシンの排出ポンプ阻害作用を検討した。*Candida albicans*のポンプ遺伝子 *CDR1*、*CDR2* または *BEN*⁶を、7つの内在性輸送体が破壊されフルコナゾール高度感受性の *Saccharomyces cerevisiae*に導入・発現してフルコナゾール高度耐性株を作製し、排出ポンプ阻害活性を調べた。ミルペマイシン単独では菌の増殖を阻止しなかったが、フルコナゾールとの併用によって *CDR1* および *CDR2* 発現株は感受性化した。しかし *BEN*⁶発現株には無効であった。ミルペマイシンは Cdr1p および Cdr2p の ATPase 活性を阻害したが、細胞膜 [H⁺]ATPaseの活性は阻害しなかった。これらの結果から、ある種のミルペマイシンは特異的にABC輸送体を阻害してアゾール剤耐性株を感受性化することが分った。

[新見昌一、高野幸枝、上原至雅; K Niimi, BC Monk, RD Cannon (オタゴ大学)]

2. がん細胞のシグナル伝達の解析と制御物質の探索

(1) MEK 阻害剤によるヒト乳癌細胞の anoikis 感受性誘導機構

大腸癌、乳癌の中に MEK 阻害剤処理によって anoikis 感受性になる細胞があることを報告した。anoikis 感受性誘導を規定する因子を明らかにするため、apoptosis 関連蛋白質に対する影響を調べ、MEK 阻害剤処理により BH3-only protein である BimEL の蛋白質量が増加することを見いだした。電気泳動上の移動度の変化から、MEK 阻害剤処理により BimEL のリン酸化が低下することが予想された。in vitro で BimEL は ERK によりリン酸化されたので、そのリン酸化部位を決定した。この残基は実際に細胞内でも ERK によりリン酸化されることが示唆された。乳癌細胞株間で Bim 蛋白質量の比較をすると、MEK 阻害剤により anoikis 感受性となる2株は Bim の量が特に少なく、これらの細胞では BimEL のレベルが低く抑えられていることが、anoikis 回避に必須であると考えられる。細胞によっては ERK によるリン酸化が Bim 蛋白質の減少を引き起こし、anoikis 回避に重要な役割を果たしているものと思われる。

[深澤秀輔、野口耕司、村上裕子、上原至雅]

(2) polyHEMA 細胞培養法によるがん化シグナル抑制物質の探索

新規抗がん剤リードの発見を目指し、足場非依存性増殖阻害を指標に天然物の中に探索を行った。放線菌の生産する活性物質 TT-2149 の精製を行い、その一成分である TT-2149-C について構造を解析し、septacidin またはその立体異性体である spicamycin の新規類縁体であると推定した。真菌ライブラリーからは、F2422 株の産生する活性物質の単離精製を行った結果、hypothemycin 類と同定された。hypothemycin に Ras がんの正常化活性が報告されていたが、最近、関連構造の化合物に MEK 阻害活性が報告されたことより、誘導体化などによる開発の可能性を追求する。同じ真菌より見出した新規テルペノイド anicequol の作用機構は未だ不明な点が多いが、分子標的の解明が当面の

課題である。

[上原至雅、福田恵子、和田俊一、深澤秀輔; 五十嵐康宏、古米 保(富山県立大); 奥田 徹、石山忠之、沖 俊一(玉川大)]

(3) プロテインキナーゼ阻害物質の探索

文科省総合がん制がん剤スクリーニング委員会においてプロテインキナーゼ阻害剤の検定を担当しており、今年度は 158 検体(延べ 48 人)の評価を行った。その結果、有効と判定されたのは 23 検体であった。このうち、インドール、マレimid、イミダゾール環を有する新規骨格の1物質(JCI-12149)に Src と FIt-1 のチロシンキナーゼに強力かつ特異的な阻害活性が見いだされたので、血管新生阻害剤の HUVEC の高次検定を推薦した。本物質については関連の化合物が 10 検体ほど提供されており、その構造活性相関からさらに有効性の高い誘導体の創製を提供者に勧めることとした。

[上原至雅、近藤潤子、福山まり、深澤秀輔、村上裕子; 矢守隆夫(癌研)]

3. 細胞周期関連プロテインキナーゼの同定と機能解析

(1) 新規細胞周期関連プロテインキナーゼ Nek11 の同定と機能解析

真核細胞の細胞周期、特に G2/M 期の制御において、CDK、AURORA、PLK 等多くのキナーゼ群が機能することが知られているが、アスペルギルスでは、これらの他に NIMA キナーゼ(Never In Mitosis gene A)も G2/M 期の制御に関わることが知られている。現在、ヒトを含む多くの生物種において、S/G2 期で centrosome を制御する Nek2 (NIMA-related protein kinase 2) を代表とする NIMA に類似するキナーゼファミリーの存在が明らかになっているが、ヒトでは、G2/M 期に発現する NIMA 類似キナーゼの存在は不明であった。我々は、NIMA ファミリーに属する新規プロテインキナーゼ Nek11 の遺伝子を同定して発現状況を検討したところ、Nek11 の mRNA と蛋白質の発現は G2/M 期でピークを示し、Nek11 が G2/M 期で高発現する新規 NIMA ファミリーキナーゼであることが判明した。また特異的抗体を用いて解析したところ、内在性の Nek11 は interphase では核に、prometaphase では polar tubulin と類似した局在を示したが、G2/M 期以外でも DNA 複製阻害剤や抗癌剤処理などで活性が上昇することを見出した。

[野口耕司、深澤秀輔、上原至雅]

(2) カンジダにおける細胞周期関連プロテインキナーゼの同定と機能解析

カンジダアルビカンスにおける NIMA ファミリーキナーゼの機能を探索するため、CaNek の遺伝子を同定した。リコンビナント CaNek 蛋白質を作製、その生化学的解析を行い、スタウロスポリン系のキナーゼ阻害剤に感受性を示すことが明らかになった。同様に、幾つかの G2/M 期に関わると推測される Calp1、CaCdc5 の遺伝子をクローニングし、それらのリコンビナント蛋白質の解析も行った。現在、これらカンジダアルビカンスにおける細胞周期関連プロテインキナーゼの遺伝子破壊株の作製を進めており、これらの変異

株の解析が進めば、カンジダに対する新しい抗真菌分子標的薬剤の開発に貢献するものと期待される。

[野口耕司、能智祿弥、深澤秀輔、梅山隆、新見昌一、上原至雅]

4. ウイルス分子複合体の解析

(1) 様々な病因ウイルス蛋白質複合体検出の試み

ウイルスの病因を解明し創薬を目的とし、ウイルス蛋白質と宿主蛋白質の相互作用を解明するためにこれまで様々なヒトウイルス蛋白質に Flag などのタグをつけ、HeLa 細胞内で発現させ、アフィニティ精製後、相互作用をする宿主蛋白質の同定を試みてきた。HHV-8 の LANA, EBV の EBNA1, HIV-1 の nef, tat, HPV-16 の E1, E6, E7 を試みた。tat, E1, E6, E7 では、蛋白質の同定のために必要な発現量のクローンが取得できなかった。

[村上裕子、山越 智、上原至雅、深澤秀輔]

(2) HIV の病原因子 Nef に結合する宿主分子の解析

ヒト免疫不全ウイルス(HIV)の病原性を担う遺伝子 nef が細胞に働きかける作用メカニズムを解明することを目的として Nef 蛋白質の宿主細胞内結合分子を同定した。FLAGtag をつけた Nef を発現させるベクターをマクロファージ系の株化細胞 U937 に導入して安定発現させ、その細胞溶解液より FLAGtag の抗体を用いて Nef と共沈する結合蛋白質を溶出し、SDS-PAGE で分離したところ、約 38 kDa の蛋白質を見出した。この蛋白質をゲルより切り出してトリプシン分解、フラグメントペプチドをアミノ酸分解して配列を決め、データベースより検索したところ、アシル コエンザイム A チオエステラーゼであった。この蛋白質は Nef 結合蛋白質として既に報告されていて、CD4 のダウンレギュレーションに関与する機能をもつといわれているので、同じ方法を用い、別の結合蛋白質を探すことにした。

[村上裕子、近藤潤子、山越 智、上原至雅、深澤秀輔]

(3) カポジ肉腫ウイルスの遺伝子産物 LANA に結合する宿主分子の解析

ヒトヘルペスウイルス 8 型(HHV8)はカポジ肉腫の原因ウイルスであるが、このウイルス遺伝子産物LANAは癌原因子であると考えられている。タグをつけたLANAをHeLa 細胞に安定発現させて、タグの抗体で免疫沈降して得た約 120 kDaのLANA結合蛋白質を同定したところ、Daxxであった。GSTと融合したDaxxを大腸菌で生成し、³⁵SラベルしたLANAを用いてpull down実験をした結果、LANAはそのN末側 260-563 残基の領域でDaxxと結合し、DaxxはそのC末側 440-500 残基あたりがこの結合に重要であることがわかった。Daxx はFas結合蛋白質として見い出され、Fas依存のアポトーシスを促進する。293 細胞にFasとDaxxを発現させてアポトーシスを起こす系を作り、これにLANAも共発現させてその効果を見たところ、LANAはDaxxの有無に関わらず、Fas依存のアポトーシスを促進した。

[村上裕子、山越 智、近藤潤子、上原至雅、深澤秀輔]

(4) EBNA1 蛋白質複合体の解析

EBNA1 蛋白質のN末端にタグをつけその遺伝子を HeLa 細胞に

導入し安定発現株を得た。EBNA1 の Gly-Ala repeat の部分を除いた EB1NC1 にも N 末端にタグをつけて安定発現株を得た。両蛋白質を発現する株をそれぞれ 2 リッター培養し、M2-アガロースにより EBNA1 蛋白質複合体を精製した。その結果、両蛋白質ともほとんど同じ複数の蛋白質からなる複合体を形成することが判明した。検出されたおもな蛋白質は、130kDa, 76kDa, 38kDa, 42kDa の 4 種で他にも 7-8 種類のマイナーな量の蛋白質が検出された。

[山越 智、村上裕子、上原至雅、深澤秀輔]

5. DNA 損傷応答における ATM 活性の調節

DNA 損傷で活性化され DNA 修復等の調節に関与する ATM (ataxia telangiectasia mutated)と PARP-1 (poly(ADP-ribose) polymerase) が相互作用すると推測し、DNA 損傷を誘導するネオカルチンスタチン(NCS)で Parp-1 をノックアウトした細胞を処理し ATM 活性を検討し、さらに NCS 処理した HeLa 細胞のクロマチン画分への局在性を検討した。その結果、ノックアウト細胞における ATM 活性は NCS によって著しく亢進し、PARP-1 の局在性が既に報告されている ATM と同様に増加した。以上から、PARP-1 は ATM 活性を抑制的に制御する可能性が示された。

[渡邊文晶、深澤秀輔、上原至雅]

II. 真菌の薬剤耐性機構と病原因子及び感染防御に関する研究

1. 真菌の薬剤耐性機構に関する研究

(1) *Candida glabrata* の ABC 輸送体 Cdr1p および Pdh1p のリン酸化と機能発現

C. glabrata の ABC transporter である CgCdr1p および Pdh1p は本菌のアゾール剤耐性に寄与するものと考えられている。両ポンプ遺伝子を 7 種の排出ポンプを欠如した *S. cerevisiae* AD1-8u 株に発現させ、これらの薬剤排出機能とアゾール剤耐性機構についてしらべた。また、これらポンプのリン酸化の状態についても検討した。Cdr1p は Pdh1p に比べて基質特異性が広く薬剤排出活性も強いので、本菌種の多剤耐性獲得に対してより重要であるものと考えられた。両ポンプともにグルコース依存的にリン酸化された。Pdh1p についてはリン酸化の一部が、プロテインキナーゼ A によりリン酸化された基質モチーフを認識する抗体によって検出できた。またプロテインキナーゼ A の阻害剤で処理することにより、リン酸化の減少が見られた。Cdr1p についてはこの抗体によるリン酸化の検出はできなかった。Pdh1p の薬剤排出活性には、プロテインキナーゼ A によりリン酸化が必要であると思われる。Cdr1p については、担当するキナーゼは明らかでないが、そのリン酸化が NTP 加水分解活性を制御しているものと推測される。

[和田俊一、山崎亜希子、新見昌一、上原至雅]

(2) *S. cerevisiae* AD1-8u 株への *sec6-4* 変異の導入

Sec6p はパン酵母の分泌顆粒の構成成分で細胞増殖に必須である。細胞内で合成され機能的に完成した膜タンパクおよび分泌タンパクは分泌小胞を介して細胞膜に運ばれる。温度感受性 *sec6-4* 変異株は、37°C では分泌小胞が細胞膜と融合することが出来ず、細胞質内に多量の分泌小胞を蓄積して増殖を停

止する。精製した分泌小胞は目的のタンパクの機能解析に多大な威力を発揮する。我々は L633P の点変異によって *sec6-4* 変異が得られることを見出した。種々の薬剤排出ポンプの機能を比較解析するために、2 種類のベクター pSK-sec6-4-URA3 と pSK-sec6-4-HIS1 を構築し、これまでに作製した薬剤排出ポンプ発現株にこの変異を導入して分泌小胞上に膜タンパクを発現する手法を確立した。

[新見昌一、上原至雅; E Lamping, BC Monk, RD Cannon (オタゴ大学)]

2. 真菌の病原性因子の解析

(1) *Candida albicans* における形態形成に関するプロテインキナーゼ CaHSL1 の解析

深在性真菌症の中で最も頻発しているカンジダ症の主要原因菌である *Candida albicans* は酵母形および菌糸形の 2 つの形態を持つ二形性真菌である。我々は、出芽酵母において形態チェックポイントとして働いているプロテインキナーゼ *HSL1* の相同遺伝子 (*CaHSL1*) の遺伝子破壊株を作製し、機能解析を行った。遺伝子破壊株は通常の YPD 培地において細胞の異常伸長が観察された。血清による菌糸形誘導では、遺伝子破壊株は親株と同様の菌糸生育を行ったが、菌糸の伸長速度が親株よりも速かった。また、マウスの尾静脈より親株、遺伝子破壊株、プラスミド導入株をそれぞれ接種し致死率を比較観察したところ、親株、プラスミド導入株接種群よりも、遺伝子破壊株接種群の方が長く生存しており、臓器への定着率も低下していたことから、*CaHSL1* は *C. albicans* の病原性にも関与していることが明らかになった。

[梅山 隆、金子亜希、永井有紀、新見昌一、上原至雅]

(2) *Candida albicans* におけるサイクリン依存性プロテインキナーゼ CDC28 の発現抑制による形態変化への影響

カンジダ症の主要原因菌である *C. albicans* は酵母形および菌糸形の 2 つの形態を持つ二形性真菌であり、この形態変換が本菌の持つ病原性に深く関与していることが明らかにされている。我々は、細胞周期と形態変換との関連を調べるために、サイクリン依存性プロテインキナーゼ *CDC28* の発現抑制株を作製し、形態形成に与える影響について観察を行った。通常の YPD 液体培地において *CDC28* の発現を抑制すると、増殖は可能であったが極端な細胞の伸長および肥大が観察された。また、*CDC28* の発現を抑制すると、菌糸誘導をしない培地においても、菌糸特異的に発現する遺伝子の発現が確認された。さらに、菌糸形成を制御する転写因子の発現低下が確認され、細胞周期の中心的役割を果たしている *CDC28* は菌糸形成にも関与していることが示唆された。

[梅山 隆、鳥海佳美、新見昌一、上原至雅; 杉田 隆、西川朱實 (明治薬科大)]

(3) *Candida albicans* における蛋白質脱リン酸化酵素の解析

蛋白質脱リン酸化反応は様々な細胞内過程において複雑なシグナル経路上で重要な役割を果たす。我々はプロテインフォスファターゼをコードする遺伝子を *C. albicans* ゲノム情報から見い出

し、すべての遺伝子について遺伝子破壊を試み、*C. albicans* への影響を検討している。そのうち、PP2A をコードしている *SIT4* の遺伝子破壊株は親株と比較して成育の遅延が観察された。血清を用いた菌糸誘導では発芽管形成の遅延を示した。また、抗真菌剤等に対する感受性試験ではポリエン系およびアゾール系の抗真菌剤、高濃度の NaCl 等に対して感受性が増大した。マウスに対する感染実験では *SIT4* 遺伝子欠失株は野生株に比べて病原性が低下した。以上の結果から、*SIT4* 遺伝子欠失が成育、菌糸形成、病原性に影響を与えることが示された。

[花岡 希、梅山 隆、上原至雅、新見昌一]

(4) *Candida albicans* のための蛋白質発現・精製方法の開発

カンジダ症の主要原因菌である *C. albicans* は分子生物学を行う道具が少なく、本菌における蛋白の発現・精製を容易にするために、新たに発現ベクターを構築した。具体的には、発現された蛋白質の C 末端に 6xHis タグ、および FLAG タグが並列して付加されるようなベクターを構築し、発現した蛋白質を Ni イオンアフィニティー担体、および FLAG 抗体アガロースを用いた二段階精製を行うことにより、容易に目的の蛋白質および相互作用する蛋白質を精製することができる。実際に、bud neck に局在する septin ring の構成因子 Cdc11p をタンデムタグ付加蛋白質として発現させ、上記の方法で精製したところ、相互作用する蛋白質として、他の septin ring 構成因子である Cdc3p, Cdc10p, Cdc12p が TOF-MS 解析によって同定でき、この新しく開発した系は *C. albicans* の蛋白質相互作用解析において有用なツールになりうることを示唆された。

[金子亜希、梅山 隆、上原至雅、新見昌一]

3. 真菌感染防御に関する研究

(1) *Candida albicans* 感染に対する生体防御におけるミエロペルオキシダーゼと NADPH オキシダーゼの重要性の比較

MPO は NADPH オキシダーゼ経路で産生された過酸化水素を基質として次亜塩素酸を産生して、*C. albicans* や *A. fumigatus* の殺菌を営んでいると解釈できた。

[鈴木和男、赤川久義、高野幸枝; 倉 文明、渡辺治雄 (細菌部)、荒谷康昭、小山秀機 (横浜市大・木原研); Nobuyo Maeda (米国・ノースカロライナ大)、Mary C. Dinuer (米国・インディアナ大)]

(2) 病原性真菌 *Candida albicans* 培養上清由来の mannoprotein-glucan complex, CAWS による冠状動脈炎の発症と機序の解析
病原性真菌 *Candida albicans* 培養上清由来の mannoprotein-glucan complex, CAWS によって誘発される冠状動脈炎の発症機構を明らかにするために、血管炎誘発率の異なる系統のマウスを用い、細胞浸潤、リンパ球の活性化、サイトカイン産生を検討した。

[大川原明子、鈴木和男; 新郷裕子、三浦典子、安達禎之、大野尚仁 (東薬大・免疫); 大原関利章、高橋 啓、直江史郎 (東邦大・医・大橋病院)]

(3) *Candida albicans* 菌体外多糖 CAWS の血管炎誘発活性におけ

るマウス系統差とその病態形成への関与の検討

表記物質によって誘発される冠動脈炎の発症機構を明らかにするために、血管炎誘発率の異なる系統のマウスを用い、脾臓を中心にリンパ球のポピュレーション、活性化、サイトカイン産生などを比較検討した。

[大川原明子、鈴木和男;新郷裕子、三浦典子、安達禎之、大野尚仁(東薬大・免疫);大原関利章、高橋 啓、直江史郎(東邦大・医・大橋病院)]

(4) 真菌由来物質誘導の冠動脈炎発症における好中球の役割

血管炎の臨床マーカーのひとつであるMPO-ANCA (anti-neutrophil cytoplasmic antibody) はそのエピトープ解析から特定のモノクローナル抗体が病態の重症化と関連していることが示唆されている。真菌を完全合成培地で培養した培養上清より精製した *C. Albicans* Water Soluble fraction (CAWS) をマウスの腹腔に接種することによって冠動脈炎を誘発するモデルでは、CAWS接種後、早期において末梢好中球数は有意に増加し、刺激に対する反応性も増加する傾向を認めた。一方、単離した末梢好中球を用いた *in vitro* assayではCAWSによる好中球の直接的な活性化を認めるとともに、CAWS接種マウス血漿中に存在する可溶性成分にも同様の効果を認めた。血管炎発症における好中球活性化のメカニズム、役割についてさらに検討を行う。

[大川原明子、鈴木和男;大原関利章、高橋 啓、山田仁美、村田久雄、直江史郎(東邦大・医・大橋);三浦典子、大野尚仁(東薬大・免疫)]

(5) CBA/JN と C3H/HeN マウスの系統間較差を示す染色体マーカーの検索と川崎病類似マウス冠動脈炎モデルにおける血管炎抑制遺伝子の染色体マッピング

昨年ひきつづき、CBA/JN と C3H/HeN マウスの系統間較差を示す染色体マーカーの検索を行い、約200マーカーを選択した。また、これら系統内にも多型を示すマーカーが存在した。カンジダアルカリ抽出物誘発の川崎病類似冠動脈炎の冠動脈炎発症率は、C3H/HeN では高く、CBA/JN では低いことから、このマーカーを用いて、冠動脈炎抑制遺伝子の染色体マッピングを行った。

[鈴木和男、;亀岡洋祐(遺伝子資源);倉 文明(細菌);大原関 利章、高橋 啓、山田仁美、直江史郎(東邦大・医・大橋病院)]

(6) ミエロペルオキシダーゼ不完全欠損症例の遺伝子解析

昨年ひきつづき、真菌感染防御に重要な myeloperoxidase(MPO)の不完全欠損(Typell)の遺伝子の解析を行った。新たな、欠損が確認された。また、MPO 遺伝子エキソン9における遺伝子変異が確認された。

[Amanda Persad、鈴木和男;亀岡洋祐、橋本雄之(遺伝子資源)]

III. 好中球機能解析およびその機能不全の解析

(1) 腎炎発症における好中球の役割

MRL/lpr マウスは、ヒト SLE に類似した病態を示し、MPO-ANCA 関連腎炎を発症する。われわれは MPO-ANCA に着目し、その産生のメカニズム、腎炎発症への影響について明らかにするために、MRL/lpr を back ground とする MPO KO マウスを作成し、血球組成、自己抗体(MPO-ANCA、抗 DNA 抗体)産生、炎症性 cytokine 産生、腎臓組織について解析を行ったが、wild、KO マウス間に著しい違いは認めなかった。予想と異なり、MPO KO マウスでも aging に伴い wild マウスと同じように MPO-ANCA 産生が認められたが、おそらく MPO に構造的類似性を有する EPO (Eosinophil peroxidase) を抗原として産生されていると考えられる。現在、MRL/lpr マウスの好中球機能について検討中である。

[大川原明子、鈴木和男;猪原登志子、小野孝彦(京大・院医)、武曾恵理(大阪・北野病院・内科)]

(2) 免疫異常による腎臓血管傷害のイメージング

好中球をはじめ炎症細胞の活性化は血管炎を誘導し、状況によっては多臓器不全を誘発する。これには、自己免疫疾患などの免疫異常によって生じる好中球自己抗体が好中球と連動して進行することが *in vitro* 系で確認されているが、いまだ生体内では明らかにされていない。そこで、好中球活性化による血管傷害機構の解明を目的として、*in vivo* で解析するシステムを開発してきた。腎微小血管傷害の誘導とその血流動態を *In-vivo* Imaging によって観察することを可能にした。

[長尾朋和、鈴木和男;越尾 修(朝日生命糖尿病研);馬淵綾子(日本医大);大野尚仁(東京薬大)、高橋 啓(東邦大・医・大橋病院);南谷晴之(慶応大・理工)]

(3) ANCA 関連腎炎・血管炎に対するヒト免疫グロブリン (IVIg) 治療効果の検討

IVIg 治療は ANCA 関連血管炎症候群の有力な導入療法として期待される。MPO-ANCA 関連腎炎・血管炎患者に、導入期治療として IVIg 施行後ステロイドを含む免疫抑制療法を行った。IVIg 治療前後の臨床的治療効果判定を BVAS スコア、血清 CRP、Cre および血中サイトカインの変化を測定した。治療前と比較し、IVIg 治療後の BVAS、CRP、血中 TNF および IL-6 は有意に低下し、1/Cre の変化率は治療後有意に増加し腎機能の改善を認めた。重篤な副作用の発現は認めず、感染症による予後不良症例は皆無であった。MPO-ANCA 関連腎炎・血管炎において導入期治療として有効であると考えられた。

[鈴木和男;猪原登志子(京都大・院医)、野垣文昭(同)、小野孝彦(同);武曾恵理(北野病院)]

(4) 血管内皮細胞の Apoptosis 誘導における p38 MAPK と Caspase 8 の活性化に対する好中球および IL-1 の関与

血管内皮細胞傷害時の apoptosis signal 伝達と、insulin の作用をヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用いて検討し、TNF と cycloheximide とを同時に(TC 処理)24 時間処理したところ、MAPK

生物活性物質部

family の ERK 1/2, p38 および SAPK/JNK いずれも TC 処理 15 分後に Thr185/Tyr187 がリン酸化された。また、HUVEC を IL-1 刺激後、5 ~ 20 分後に p38 のリン酸化が誘導され、好中球自身は定常状態で p38 がリン酸化され、かつ Caspase 8 の 18kDa の活性化型 (c-Cas8) が生成された。24 時間後には insulin 依存性に脱リン酸化されるようになった。血管内皮細胞の TC 処理によって起きる apoptosis に対し、insulin は Akt をはじめ MAPK family などのリン酸化蛋白質を脱リン酸化して apoptosis を促進する可能性が示唆された。

[鈴木和男、石田-大川原明子、長尾朋和; 越尾 修(朝日生命糖尿病研); 馬淵綾子(日本医大)]

(5) 光化学反応による血小板血栓形成のイメージングを用いた CD69 機能の解析

光化学反応によって産生される活性酸素によって誘導される血小板血栓形成に CD69 が関与していることを明らかにした。

[長尾朋和、鈴木和男; 中山俊憲、村田 薫、稲見真倫(千葉大・院医)]

(6) 植物の Nox の機能と Ca^{2+} を介した活性調節機構

好中球活性酸素産生酵素 NADPH oxidase のホモログ NOX が発見され、好中球にかぎらず種々の組織、さらに、種を越えて植物にもその存在が確認された。本研究により、植物の NOX の発現系が O_2^- 産生を確認できた。このことは、NOX が植物の生体防御に関与すると推定される

[鈴木和男、山越 智; 小笠原よう子、朽津和幸(東京理科大・理工)]

IV. 骨髄系細胞の活性化

(1) HIV-1 Nef たんぱく質と食細胞 NADPH oxidase の活性化

HIV-1 Nef たんぱく質をマウスミクログリアに発現させ HIV-1 Nef たんぱく質の機能を解析した。その結果、HIV-1 Nef たんぱく質は、NADPH oxidase を活性化する機能に関与することを明らかにした。

[鈴木和男; 澤田 誠(藤田保健衛生大); Vilhardt F, Plastre O, Wiznerowicz M, Kiyokawa E, Trono D, Krause K-H(スイス・ジュネーブ大)]

(2) Nef 導入ミクログリアにおける O_2^- 産生と MPO 様活性の増大と神経障害作用の発現

Nef 導入ミクログリアの活性化を検討し、 O_2^- 産生が Nef 導入により増大し、神経障害作用の発現に関与することを認めた。

[鈴木和男; 澤田 誠、川上真紀子(藤田保健衛生大); Vilhardt F, Krause K-H(スイス・ジュネーブ大)]

(3) コンカナバリン A 惹起肝傷害に肝類洞内に出現する免疫応答抑制性細胞の同定と抑制因子 NO の産生動態

免疫応答抑制性細胞は肝非実質細胞画分に含まれる F4/80 陽性のマクロファージ様細胞であり、Con A 投与 24 時間後にもっとも強い抑制活性を示した。培養上清中の NO の増大と、NO

阻害剤 NG-monomethyl-L-arginine (NMMA) により抗原特異的 Th1 の増殖抑制活性が解除されたことから、この細胞による Th1 増殖反応の抑制は NO を介したものであることが明らかにされた。したがって、ConA により誘導される一過性免疫抑制は F4/80 陽性マクロファージによるものであり、NO がその主たるメデイエーターであると推測される。さらに、iNOS の発現は ConA によって誘導されることが明らかになった。

[鈴木和男、長尾朋和; 馬淵綾子(日本医大); 越尾 修(朝日生命糖尿病研)]

V. サイトカイン LECT2 の解析

(1) LECT2 ノックアウトマウスを用いた肝炎モデルでの解析 1

Concanavalin A (Con A) による肝炎モデルにおいて、LECT2 ノックアウトマウス(B6) では重篤化することが明らかとなっている。ノックアウトマウスでは Con A 誘導肝炎の発症に重要である肝臓 NKT 細胞の増加しており、そのことが重篤化の原因であることが示唆された。

[斉藤 武、奥村彰規、大川原明子、鈴木和男、山越 智; 渡部久美(琉球大遺伝子); 岩倉洋一郎(東大医科研)]

(2) LECT2 ノックアウトマウスを用いた肝炎モデルでの解析 2

ガラクトサミン/LPS 肝炎モデルでは、LECT2 ノックアウトマウスは低感受性を示した。様々な炎症性サイトカインの産生を調べたところ肝臓での IFN- γ の産生量の低下が観察され、そのことが原因の 1 つとして考えられた。

[斉藤 武、奥村彰規、大川原明子、鈴木和男、山越 智]

(3) LECT2 ノックアウトマウスを用いた関節炎モデルでの解析

抗コラーゲン抗体を用いてノックアウトマウス(BALB/c)に関節炎を誘導すると、野生型に比べて関節炎が重篤化した。関節炎発症時においてノックアウトマウスの関節局所では関節炎発症に重要な IL-1 β と IL-6 が有意に亢進していた。また、野生型では関節炎発症時には LECT2 の発現量が亢進していた。

[奥村彰規、斉藤 武、大川原明子、鈴木和男、山越 智; 大谷 功、金山喜一(日大獣医)]

(4) エンドキシンショックにおける LECT2 ノックアウトマウスの解析

致死量のリポ多糖(LPS)投与により致死率を測定したところ、ノックアウトマウス(BALB/c)では LPS に対して抵抗性が増していた。

[奥村彰規、斉藤 武、大川原明子、鈴木和男、山越 智]

(5) LECT2 トランスジェニックマウスの作成

ニワトリアクチンプロモーターを利用した LECT2 トランスジェニックマウス(B6)の作成を行った。マウス LECT2 遺伝子がそれぞれ 1 コピー、数コピー、数十コピー導入された 3 系統のマウスが樹立できたが、もっともコピー数の多いマウス(雌)については野生型マウスと掛け合わせたところ出産 3 日後に死亡した。また、仔においても出産直後死亡した。その原因に関しては不明である。 [奥村彰規、斉藤 武、鈴木和男、山越 智]

(6) マウス LECT2 の ELISA 系の作成

動物細胞由来、大腸菌由来組換え体マウス LECT2 蛋白質を使い、ウサギよりポリクローナル抗体、マウスよりモノクローナル抗体を得、サンドイッチ ELISA 法を確立した。数百 pg/ml の濃度の動物細胞由来体マウス LECT2 を検出できた。また、B6 マウスの血清中の濃度は 60-80ng/ml であった。

[山越 智、奥村彰規、斉藤 武、鈴木和男、小島和夫((株) MBL)]

(7) Kupffer cell 貪食能に対する LECT2 の関連についての検討

LECT2 の機能を解明するため、Indian ink, Microsphere を用いて wild type 及び knock out mouse における Kupffer cell の貪食能の差異を比較検討したところ LECT2 が Kupffer cell の貪食能を制御している可能性が示唆された。

[鈴木和男、山越 智、宮崎耕司、関塚永一、西田次郎、大塩力、織田正也、石井裕正(国立埼玉病院)]

(8) マウス脳における LECT2 の発現解析

ヒト脳には、LECT2 の発現が確認されているところから、マウス脳での LECT2 発現を in situ hybridization により、発現部位を調べ、海馬付近に強く発現しているのを確認した。

[山越 智、鈴木和男、古賀大輔、輿水洋平、大富美智子(東邦大・理)]

(9) サイトカイン LECT2 の X 線結晶構造解析

LECT2 の立体構造解析として X 線結晶構造解析を試みている。Crystal Screen I と II 他、様々な結晶化条件を試み、いくつかのバッファー条件を最適化したところ、40 μm 程度の太さの硬い棒状結晶が得られ、回折斑点も約 2 と高分解能まで得られた。

[山越 智、鈴木和男、山本健二(国立国際医療センター); 小田佳史、伊藤三恵、田之倉優(東京大学・院農)]

(10) 分子動態解析による LECT2 の多型における構造の安定性の変化

分子動態解析により、LECT2 の多型の分子構造解析から安定性の変化を解析し、その安定性と慢性関節リウマチ病態との関連を示唆する結果を得た。

[Dawson, Wayne、山越 智、鈴木和男、山本健二(国立国際医療センター); 伊藤三恵、田之倉優(東京大学・院農)]

VI. 抗生物質耐性と遺伝子、放線菌ゲノムに関する研究

1. アミノグリコシド抗生物質 (AG) 耐性に関する研究

(1) MRSA の AG 耐性、コアグラウゼ遺伝子型およびエンテロトキシンのデータベース構築

これまでに解析した 1980 年 ~ 2000 年の臨床分離 MRSA (約 440 株) の AG 耐性 [Kanamycin 系 4 種 (KM, DKB, AMK, ABK)、Gentamicin 系 4 種 (GM, SISO, NTL, ISP) および Streptomycin (SM)]、コア

グラウゼ遺伝子型 (3' 末端繰返し領域の PCR-AluI RFLP) およびエンテロトキシン (Enterotoxin A と C, および tsst) のデータベースを構築した。

[土崎尚史、石川 淳、堀田国元]

(2) 臨床分離 MRSA の AG 耐性の経年的変動

1980 ~ 2000 年に臨床分離された MRSA 約 440 株の AG 耐性 (KM 系 4 種、GM 系 4 種および SM) に対する耐性の経年的変動を調べた。その結果、KM、DKB および AMK には経年通じて MRSA の 90% 以上が耐性、ISP を除く GM 系には 80 年代初頭の 90% から 2000 年の 40% への耐性率の長期低落、ISP には 95 年以降 90% 以上の MRSA が耐性を示した。ABK には、耐性率 10% 以下で推移し、経年的に低下傾向が認められた。SM に関しては、80 年初頭の耐性率が高く、以後減少して 90 年代後半には耐性の消失が認められた。

[堀田国元、土崎尚史、斎藤文子、菊池 賢(東京女子医大)、大久保豊司(群馬大医)]

(3) GM 耐性 MRSA の長期低落傾向の要因

GM 耐性にとって、二機能 AG 修飾酵素 AAC(6')/APH(2'') が唯一の耐性因子で、その遺伝子の保持と完全相関が認められた。この遺伝子を高率 (80% 以上) に保持する MRSA 菌株 (コアグラウゼ遺伝子型で L22, L31, M22) が 80 年代に多く、90 年代の分離株ではもっとも低率 (42%) に保持する菌株 (コアグラウゼ遺伝子型 L21) の分布が支配的 (90% 以上) になっていることが決定的要因となっていると判断された。

[土崎尚史、石野敬子、堀田国元]

(4) SM 耐性 MRSA 消失の要因

SM 耐性は、アデニル化酵素 AAD(6) によってもたらされるが、その遺伝子はリン酸化酵素 APH(3') の遺伝子と共存 (プラスミド) することが認められた。これらの遺伝子を保持する MRSA は特定の Coagrase 遺伝子型 (L22) のものに限定されており、80 年代初頭に高率に認められたが 90 年代には臨床分離されなくなったことが SM 耐性 MRSA の消失の要因である。

[土崎尚史、堀田国元]

(5) MRSA と MSSA における二機能 AG 修飾酵素 AAC(6')/APH(2'') の分布

同一病院から得られた MRSA と MSSA (それぞれ入院患者と外来患者由来各 100 株) の GM 耐性、コアグラウゼ遺伝子型、二機能 AG 修飾酵素遺伝子 *aac(6')/aph(2'')* の分布を調べた結果、MRSA では入院、外来問わず Coagrase L21 型が支配的 (80% 以上) で、40% 前後の GM 耐性率と *aac(6')/aph(2'')* 保持率であった。MSSA では、L21 型は 10% 未満で、GM 耐性率と *aac(6')/aph(2'')* 保持率は 10-15% であった。以上のように、MRSA と MSSA において著しい相違が明らかとなった。

[堀田国元、土崎尚史、石野敬子、斎藤文子、朴 春成(東京女子医大)、菊池 賢(東京女子医大)]

(6) 同一患部由来 MRSA の ABK 耐性化

同一患者の同一患部から得られた MRSA の ABK 感受性株と耐性株の解析を行なった。AG 耐性遺伝子保持パターン、コアグラゼ RFLP および *Sma*I 消化 PFGE パターンの比較により遺伝的背景は同一であると考えられた。サザンプロットの結果、ABK 耐性株では二機能 AG 修飾酵素遺伝子が、感受性株と同じ位置ともう 1 つクロモソーム上の別の位置に存在していた。この結果から、ABK 耐性化は二機能 AG 修飾酵素遺伝子のコピー数増加によると考えられた。

[石野敬子、菊池 賢(東京女子医大)、堀田国元]

(7) ユニークなアミノグリコシド耐性パターンを示す MRSA の解析

ISP と NTL に特異な耐性を示す臨床分離 MRSA BG6010 株の耐性機構を検討した結果、二機能 AG 修飾酵素のアセチル化酵素領域に G35D のアミノ酸置換を伴う点変異が見出された。この変異型二機能酵素を RN4220 内に発現させ、AG 修飾活性を検討した結果、アセチル化活性の増加が認められた。また、この変異株の AG 耐性は、親株レベルまで上昇していた。以上、BG6010 株の耐性化は 1 アミノ酸変異による AG アセチル化活性亢進によることが示された。

[石野敬子、菊池 賢(東京女子医大)、堀田国元]

2. 酸性電解水に関する研究

(1) 酸性電解水の DNA に対する影響

酸性電解水(強酸性電解水と微酸性電解水; 有効塩素濃度 20ppm)で処理した細菌細胞中の DNA がどのような損傷を受けるかを PCR 法により比較検証した。その結果、強酸性電解水(pH3)の方が微酸性電解水(pH6)よりも DNA 分解能が高いことが明らかになった。両電解水の pH を同じに調整すると同じ分解能を示すことから、pH が DNA 分解能に重要な役割を果たすことがわかった。

[土崎尚史、宮木洋一、堀田国元]

(2) 酸性電解水の DNA に対する影響

酸性電解水(強酸性電解水と微酸性電解水)で処理したアミノ酸がどのような作用を受けるかを比較検証した。供試アミノ酸の多くは強酸性電解水によってニンヒドリン呈色が薄くなることが観察されたが、メチオニンやリジンでは異なる Rf 値のスポットが出現した。微酸性電解水も弱いながら同様の変化が認められ、強酸性電解水と同じ pH にすると強酸性電解水と同様の変化を与えた。メチオニンは 2 種の化合物に変化し、それらはメチオニンスルフォキシドおよびメチオニンスルホンと同じ Rf 値であった。

[宮木洋一、堀田国元]

3. 放線菌等のゲノムに関する研究

(1) *Nocardia farcinica* IFM 10152のゲノム解析

千葉大学真菌医学研究センターに保存されている国内の臨床分離株7株とタイプ株3株について、パルスフィールド電気泳動法によるゲノムサイズの決定、サザンハイブリダイゼーションによるリボソームRNA遺伝子のコピー数の決定を行い、*N. farcinica* IFM

10152株を解析対象菌株に決定した。ゲノムショットガンライブラリーを作成し、そこから得た約115,000本の塩基配列をアセンブルした結果、667個のコンティグ(ドラフト配列)を得た。ゲノムサイズは約6.0Mb、GC含量は70.8%であり、データベース検索の結果、病原性因子をはじめ、多数の有用遺伝子の存在が明らかとなった。

[石川 淳、三上 襄(千葉大)、柴 忠義(北里大)、山下敦士(北里生命科学研究所)、服部正平(北里生命科学研究所)]

VII. 我が国における深在性真菌症のサーベイランス

(1) 深在性真菌症の発生動向に関するアンケート調査 クリプトコックス症について

クリプトコックス症の発生動向および臨床現場で抱える問題点について調査した。全国の概ね 500 床以上の一般病院 508 施設にアンケートを依頼し、204 施設(40%)から回答があり、106 施設から 307 症例の報告があった。病型は髄膜炎、肺クリプトコックス症、全身性クリプトコックス症の順で、ステロイド投与、血液疾患などのリスクファクターが背景にあった。発症例の8%は HIV 感染患者であった。分離株 276 例のうち *Cryptococcus neoformans* が 80% 以上を占めたが、non-*neoformans* spp が 11%あり、*C. neoformans* 以外の菌種による新興感染症も無視できないことが示された。菌要素は髄液、血液、気道内分泌液などから検出され、*C. neoformans*の約半数は髄液から、non-*neoformans* spp. は主として血液から分離された。過去 6 年間でクリプトコックス症発症率に増加傾向がみられた。

[上原至雅、鈴木和男、新見昌一、亀井克彦(千葉大真菌医学研究センター)、菊池 賢(東京女子医大・感染対策科)、楨村浩一(帝京大医真菌研究センター)]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Umeyama, T., Nagai, Y., Niimi, M and Uehara, Y.: Construction of FLAG tagging vectors for *Candida albicans*. *Yeast*, 19, 611-618, 2002.
- 2) Niimi, M., Nagai, Y., Niimi, K., Wada, S., Cannon R.D., Uehara, Y. and Monk, B.C.: Identification of two proteins induced by exposure of the pathogenic fungus *Candida glabrata* to fluconazole. *J. Chromatography B* 782, 245-252, 2002.
- 3) Wada, S., Niimi, M., Niimi, K., Monk, B.C., Holmes, A.R., Cannon, R.D. and Uehara, Y.: *Candida glabrata* ATP-binding cassette transporters Cdr1p and Pdh1p expressed in a *Saccharomyces cerevisiae* strain deficient in membrane transporters show phosphorylation-dependent pumping properties. *J. Biol. Chem.* 277, 46809-46821, 2002.
- 4) Holmes, A.R., Niimi, M., Girgis, J.M.A., Boyd, D.H. and Cannon,

- R.D.: Antifungal drug susceptibilities of commensal *Candida* isolates. *New Zealand Dental Journal* 98, 36-39, 2002.
- 5) Umeyama, T., Lee, P. C. and Horinouchi, S.: Protein serine/threonine kinases in signal transduction for secondary metabolism and morphogenesis in *Streptomyces*. *Appl. Microbiol. Biotech.* 59, 419-425, 2002.
 - 6) Kojima, I., Kasuga, K., Kobayashi, M., Fukasawa, A., Mizuno, S., Arisawa, A. and Akagawa, H.: The rpoZ gene, encoding the RNA polymerase omega subunit, is required for antibiotic production and morphological differentiation in *Streptomyces kasugaensis*. *J. Bacteriol.* 184, 6417-6423, 2002.
 - 7) Kamei, K., Sano, A., Kikuchi, K., Makimura, K., Niimi, M., Suzuki, K., Uehara, Y., Okabe, N., Nishimura, K., Miyaji, M.: The trend of imported mycoses in Japan. *J. Infect. Chemotherapy* 9, 16-20, 2003.
 - 8) Hori, H., Kajiura, T., Igarashi, Y., Furumai, T., Higashi, K., Ishiyama, T., Uramoto, M., Uehara, Y. and Oki, T.: Biosynthesis of hibarimicins. I. ¹³C-Labeling Experiments. *J. Antibiotics* 55, 46-52, 2002.
 - 9) Kajiura, T., Furumai, T., Igarashi, Y., Hori, H., Higashi, K., Ishiyama, T., Uramoto, M., Uehara, Y. and Oki, T.: Biosynthesis of hibarimicins. II. Elucidation of biosynthetic pathway by cosynthesis using blocked mutants. *J. Antibiotics* 55, 53-60, 2002.
 - 10) Igarashi, Y., Kajiura, T., Furumai, T., Hori, H., Higashi, K., Ishiyama, T., Uramoto, M., Uehara, Y. and Oki, T.: Biosynthesis of hibarimicins. III. Structures of new hibarimicin-related metabolites produced by blocked mutants. *J. Antibiotics* 55, 61-70, 2002.
 - 11) Cho, S. I., Fukazawa, H., Honma, Y., Kajiura, T., Hori, H., Igarashi, Y., Furumai, T., Oki, T. and Uehara, Y.: Effects of hibarimicins and hibarimicin-related compounds produced by *Microbispora* on v-Src kinase activity and growth and differentiation of human myeloid leukemia HL-60 cells. *J. Antibiotics* 55, 270-278, 2002.
 - 12) Yamada, T., Iwamoto, C., Yamagaki, N., Yamanouchi, T., Minoura, K., Yamori, T., Uehara, Y., Andoh, T., Umemura, K. and Numata, A.: Leptosins M-N₁, cytotoxic metabolites from *Leptosphaeria* species separated from a marine alga. Structure determination and biological activities. *Tetrahedron* 58, 479-487, 2002.
 - 13) Fukazawa, H., Noguchi, K., Murakami, Y., and Uehara, Y.: MEK inhibitors restore anoikis sensitivity in human breast cancer cell lines with a constitutively activated ERK pathway. *Mol. Cancer Ther.* 1, 303-309, 2002.
 - 14) Igarashi, Y., Sekine, A., Fukazawa, H., Uehara, Y., Yamaguchi, K., Endo, Y., Furumai, T. and Oki, T.: Anicequol, a novel inhibitor for anchorage-independent growth of tumor cells from *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx TP-F0213. *J. Antibiotics*, 55, 371-376, 2002.
 - 15) Ishino, K., Fukazawa, H., Shikano, M., Ohba, M., Kuroki, T. and Uehara, Y.: Enhancement of anchorage-independent growth of human pancreatic carcinoma MIA PaCa-2 cells by signaling from PKC to MAP kinase. *Mol. Carcino.* 34, 180-186, 2002.
 - 16) Murakami, Y., Fukazawa, H., Kobatake, T., Yamagoe, S., Takebe, Y., Tobiume, M., Matsuda, M., Uehara, Y.: A mammalian two-hybrid screening system for inhibitors of interaction between HIV Nef and the cellular tyrosine kinase Hck. *Antiviral Res.* 55, 161-168, 2002
 - 17) Hashimoto, S., Xu, Y., Masuda, Y., Aiuchi, T., Nakajo, S., Uehara, Y., Shibuya, M., Yamori, T. and Nakaya, K.: -Hydroxyisovalerylshikonin is a novel and potent inhibitor of protein tyrosine kinases. *Jpn. J. Cancer Res.* 93, 944-951, 2002
 - 18) Noguchi, K., Fukazawa, H., Murakami, Y. and Uehara, Y.: Nek11, a new member of the NIMA family kinases, involved in DNA replication and genotoxic stress responses. *J. Biol. Chem.* 277, 39655-39665, 2002.
 - 19) Hori, H., Nagasawa, H., Ishibashi, M., Uto, Y., Hirata, A., Saijo, K., Ohkura, K., Kirk, K. L. and Uehara, Y.: TX-1123: An antitumor 2-hydroxyarylidene-4-cyclopentene-1, 3- dione as a protein tyrosine kinase inhibitor having low mitochondrial toxicity. *Bioorganic Med. Chem.* 10, 3257-3265, 2002.
 - 20) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M.C., Maeda, N., and Koyama, H.: Critical role of myeloperoxidase and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase in high-burden systemic infection of mice with *Candida albicans*. *J. Infect. Dis.* 185, 1833-1837, 2002.
 - 21) Vilhardt, F., Plastre, O., Sawada, M., Suzuki, K., Wiznerowicz, M., Kiyokawa, E., Trono, D. and Krause, KH.: The HIV-1 Nef protein and phagocyte NADPH oxidase activation. *J. Biol. Chem.* 277, 42136-43, 2002.
 - 22) Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinauer, M.C., Maeda, N. and Koyama, H.: Relative contributions of myeloperoxidase and NADPH-oxidase to the early host defense against pulmonary infections with *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *Med. Mycol.* 40, 1-7, 2002.
 - 23) Ito, M., Kato, Y., Nagata, K., Oda, Y., Yamagoe, S., Suzuki, K. and Tanokura, M.: Expression, oxidative refolding and characterization of six-histidine-tagged recombinant human LECT2, a 16-kDa chemotactic protein with three disulfide bonds. *Protein Express. Purif.* 27, 272-278, 2003.
 - 24) Suzuki, T., Noro, T., Kawamura, Y., Fukunaga, K., Watanabe, M., Ohta, M., Sugie, H., Sato, Y., Kohno, M. and Hotta, K.: Decontamination of aflatoxin-forming fungus and elimination of aflatoxin mutagenicity with electrolyzed NaCl anode solution. *J. Agricult. Food Chem.* 50, 633-641, 2002.
 - 25) Sasaki, Y., Ishikawa, J., Yamashita, A., Oshima, K., Kenri, T., Furuya, K., Yoshino, C., Horino, A., Shiba, T., Sasaki, T. and Hattori, M.: The complete genomic sequence of *Mycoplasma penetrans*, an intracellular bacterial pathogen in humans. *Nucl.*

Acids Res. 30, 5293-5300, 2002.

2. 和文発表

- 1) 新見昌一、上原至雅: 輸入真菌症ならびに深在性真菌症(真菌症研究班の活動). 病原微生物検出情報 23 巻 3 号 3-4, 2002.
- 2) 新見昌一: クリプトコックス症 動物由来感染症—その診断と対策. 真興交易 pp233-236, 2003.
- 3) 新見昌一: *C. albicans* の耐性遺伝子 *CDR1* -薬剤排出ポンプの発現制御と多様な基質特異性-. JAMA (日本語版) 6月号 pp77, 2002.
- 4) 新見昌一、新見京子: 抗真菌薬耐性の問題. 臨床医、中外医学社 29, 214-218, 2003.
- 5) 亀井克彦、楨村浩一、菊池 賢、鈴木和男、新見昌一、上原至雅: 輸入真菌症診断ハンドブック. pp 1-14, 2002.
- 6) 上原至雅、亀井克彦、菊池 賢、楨村浩一、鈴木和男、新見昌一、上 昌広、馬場基男、堀田国元、渋谷和俊、直江史郎: 深在性真菌症の発生動向に関するアンケート調査 -アスペルギルス症について-. Jpn. J. Antibiotics 55, 446-481, 2002.
- 7) 梅山 隆: *Candida albicans* の Ras は真菌症治療戦略のターゲットになるか? ファルマシア 38, 686-687, 2002.
- 8) 野口耕司: p53 遺伝子の変異を利用してがん細胞を殺すウイルス. ファルマシア 38, 342-343, 2002.
- 9) 猪原登志子、渡邊壽規、三宅あかり、小林いけい、野村啓子、草野 仁、野垣文昭、陶山勝郎、渡部仁美、小野孝彦、鈴木和男、武曾恵理: 経静脈的 グロブリン療法 (IVIg) が効果的であった ANCA 関連急速進行性腎炎の 1 症例. Pharma Medica (薬学医療) 20 (6), 118-120, 2002.
- 10) 堀田国元: 抗生物質の光と影. パムサ会誌 14(1), 2-3, 2002.
- 11) 堀田国元: 電解水の利用技術. 生命・フリーラジカル・環境研究会編「水と活性酸素」オーム社、pp.152-161, 2002.
- 12) 池田治生、石川 淳、大村 智: 放線菌の全ゲノム配列決定とその意義. 蛋白質核酸酵素 47, 1845-1850, 2002.
- 13) 堀田国元: 電解水による殺菌の基礎と応用. 食品加工技術 22, 115-119, 2002.
- 14) 土崎尚史、堀田国元: Colony direct-PCR による黄色ブドウ球菌の遺伝子プロファイル解析. TOYOBO UPLOAD No. 69 pp.9-10, 2002.
- 15) 石野敬子: VRE(バンコマイシン耐性腸球菌). 畜産技術 570(11), p43, 2002.
- 16) 堀田国元: 我が国における新抗生物質の探索と創製 -カナマイシンの発見とその系譜. パムサ会誌 14(3), 2-9, 2002.
- 17) 堀田国元: 日本機能水学会の設立と展望. 機能水研究 1(1), 3-6, 2002.
- 18) 堀田国元: 強酸性電解水と感染症. 輸血栄養 24(10),

579-584, 2002.

- 19) 土崎尚史、堀田国元: Colony direct-PCR による各種微生物遺伝子の簡便・迅速検出. TOYOBO UPLOAD No.70 pp.15-16, 2003.
- 20) 堀田国元: 抗生物質の光と影: 抗生物質耐性菌 - MRSA を中心に -. パムサ会誌 14(4), pp.2-9, 2003.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Wada, S., Niimi, M., Uehara, Y., Cannon, R.D., Monk, B.C. and Goffeau, A.: Functional expression of *Candida glabrata* drug efflux pumps CgCdr1p and Pdh1p in *Saccharomyces cerevisiae*. 1st JBC Biofrontier Symposium. Membrane Transporter: Structure and function relationship. Insights into ABC transporter. June 9-11, 2002, Yufuin, Japan.
- 2) Monk, B.C., Niimi, K., Lamping, E., Holmes, A.R. Cannon, R.D., Harding, D.R.K., Goffeau, A., Decottignies, A., Wada, S., Niimi, M., and Uehara, Y.: Functional hyper-expression of membrane proteins and discovery of chemosensitizers of fungal multidrug efflux. Symposium on "ABC proteins" and the 5th conference on ABC proteins and ion channels -From gene to disease-. January 24-26, 2003, Kyoto, Japan.
- 3) Noguchi, K., Fukazawa, H., Murakami, Y., and Uehara, Y.: Identification of Nek9 (Nek11), a new member of the mammalian NIMA family. Cold Spring Harbor Meeting on the Cell Cycle, May 15-19, 2002, New York, USA.
- 4) Fukazawa, H., Noguchi, K., Murakami, Y., and Uehara, Y.: Mechanism of induction of anoikis sensitivity in breast cancer cell lines by MEK inhibitors. Keystone Symposia "Molecular Targets for Cancer Therapy" March 19-24, 2003, Fairmont Banff Springs Hotel, Banff, Alberta, Canada
- 5) Ishida-Okawara, A., Ito-Ihara, T., Muso, T., Ono, T., Saiga, K., Nemoto, H. and Suzuki, K.: Role of Activated Neutrophils in Spontaneously Crescentic Glomerulonephritis Forming (SCG/Kj) Mice. 10th International Vasculitis and ANCA Workshop, April 25-28, 2002, Cleveland, USA.
- 6) Suzuki, K., Matsuoka, T., Hashimoto, Y., Ishida-Okawara, A., Matsuo, K., Iwasaki, T., Kajiwara, H., Arai, T. and Ozato, K.: Contribution of abnormal differentiation and function of neutrophils to MPO-ANCA production: Analysis of ICSBP-KO mice. 10th International Vasculitis and ANCA Workshop, April 25-28, 2002, Cleveland, USA.
- 7) Ito-Ihara, T., Nogaki, F., Ono, T., Suzuki, K. and Muso, E.: Intravenous immunoglobulin (IVIg) treatment of MPO-ANCA-related microscopic polyangiitis. 10th International Vasculitis and ANCA Workshop. April 25-28, 2002, Cleveland, USA.
- 8) Ito-Ihara, T., Nogaki, F., Ono, T., Suzuki, K. and Muso, E.:

生物活性物質部

- Intravenous immunoglobulin (IVIg) treatment on patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-related glomerulonephritis. 26th International Congress of Internal Medicine, May 26-30, 2002, Kyoto, Japan.
- 9) Dawson, W.K., Futamura, Y., Suzuki, K. and Yamamoto, K.: The role of entropy in domain size and evolution of RNA. Seventh Annual Meeting of the RNA society, May 28- June 2, 2002, Wisconsin, USA.
 - 10) Ito-Ihara, T., Ishida-Okawara, A., Muso, E., Ono, T., Saiga, K. and Suzuki, K.: Role of Activated Neutrophil in Spontaneously Crescentic Glomerulonephritis Forming (SCG/Kj) Mice. 35th Annual Meeting of American Society of Nephrology, November 1-4, 2002, Philadelphia, PA, USA.
 - 11) Suzuki, K.: Contribution of activated neutrophils in vasculitis development. Seminar in Department of Medicine, Addenbrooke's Hospital, November 27, 2002, Cambridge, UK.
 - 12) Suzuki, K.: Approach to mechanisms of vasculitis in kidney: Contribution of MPO-ANCA and neutrophils. International Progressive Renal Diseases Forum, February 8, 2003, Nagoya, Japan.
 - 13) Sasaki, Y., Ishikawa, J., Yamashita, A., Oshima, K., Kenri, T., Furuya, K., Yoshino, C., Horino, A., Shiba, T., Sasaki, T., and Hattori, M.: Determination of complete genome sequence of *Mycoplasma penetrans* HF-2 strain. International congress of the international organization for mycoplasmaology, July 8-12, 2002, Vienne, Austria.
 - 14) Hotta K, Tsuchizaki N, Ishino K, Saitoh F, Wada A and Arakawa Y: Arbekacin, a semisynthetic aminoglycoside, continues to be a good anti-MRSA drug in Japan? 42nd ICAAC (Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy), Sep. 27-30, 2002, San Diego, USA.
 - 15) Ishino K, Tsuchizaki N, Piao C, Kikuchi K, Totsuka K and Hotta K: Relationship between Aminoglycoside (AG) Resistance and AG Modifying Enzyme Gene Profiles in MRSA. 10th ISSI (International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infection). Oct. 17-19, 2002, Tsukuba, Japan
 - 16) Ikeda, H., Shiba, T., Hattori, M., Omura, S., Ishikawa, J., Kikuchi, H., and Sakaki, Y.: Complete genome sequence of 9-megabase linear chromosome of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*. 7th Conference on the Biotechnology of Microbial Products, Oct. 27-30, 2002, Honolulu, Hawaii.
- ### 2. 国内学会等
- 1) 和田俊一、新見昌一: *Candida glabrata* 薬剤排出ポンプ CgCdr1p と Pdh1p のパン酵母での発現. 第75回日本細菌学会総会、平成14年4月4-6日、横浜.
 - 2) 新見昌一、上原至雅: 意識調査からみた真菌症への対応. 第23回関東医真菌懇話会、平成14年6月1日、東京.
 - 3) 新見昌一: 病原真菌の薬剤耐性ととの戦い. 酵母合同シンポジウム、平成14年7月4, 5日、東京.
 - 4) 和田俊一、新見昌一、上原至雅: *Candida glabrata* 耐性遺伝子(CgCDR1, PDH1): *Saccharomyces cerevisiae* での機能発現. 第46日本医真菌学会総会、平成14年9月28, 29日、東京.
 - 5) 下川 修、新見昌一: *Candida albicans* ステロール14位脱メチル化欠損株における酢酸塩を介した増殖停止のシアンによる解除. 第46日本医真菌学会総会、平成14年9月28, 29日、東京.
 - 6) 上原至雅、亀井克彦、菊池 賢、榎村浩一、鈴木和男、新見昌一、渋谷和俊、上 昌広、馬場基男、堀田国元、直江史郎: 深在性真菌症の発生動向に関するアンケート調査-アスペルギルス症について. 第46日本医真菌学会総会、平成14年9月28, 29日、東京.
 - 7) E Lamping, AR Holmes, BC Monk, K Niimi, M Niimi, RD Cannon: An efficient system for the heterologous hyper-expression of membrane proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. 第46日本医真菌学会総会、平成14年9月28, 29日、東京.
 - 8) 新見昌一: 深在性真菌症に対する取り組みの現状 深在性真菌症 / 輸入真菌症シンポジウム、輸入真菌症を中心とした深在性真菌症に対する我が国の現状と取り組み. 平成14年9月30日、東京.
 - 9) 梅山 隆、新見昌一、上原至雅: *Candida albicans* における形態チェックポイントキナーゼ CaHSL1 の解析. 特定領域研究「感染の成立と宿主応答の分子基盤」第1回感染症若手研究者沖縄フォーラム、平成15年1月22-23日、沖縄.
 - 10) 上原至雅: プロテインキナーゼ阻害剤の探索から創薬へ. 第2回バイオフィUNCTIONALマテリアル研究会公開講演会、平成14年6月14日、岐阜.
 - 11) 野口耕司、深澤秀輔、上原至雅: 分子標的候補としての新規プロテインキナーゼ Nek9 の同定と細胞周期制御における機能解析. 平成14年6月27 28日、第6回がん分子標的治療研究会、札幌市.
 - 12) 野口耕司、深澤秀輔、上原至雅: 新規プロテインキナーゼ Nek9 の同定と機能解析. 第61回日本癌学会総会、平成14年10月1 3日、東京.
 - 13) 野口耕司、深澤秀輔、上原至雅: Genotoxic stress による新規プロテインキナーゼ Nek11 の活性化. 第25回日本分子生物学会年会、平成14年12月11 14日、横浜市.
 - 14) 上原至雅、深澤秀輔: がん細胞を anoikis 感受性にするシグナル伝達阻害剤の分子標的. 文部科学省特定領域研究がん公開合同シンポジウム、平成15年2月4日、東京.
 - 15) 大川原明子、猪原登志子、武曾恵理、小野孝彦、鈴木和男: 自然発症半月体形成腎炎 SCG/Kj マウスにおける活性化好中球の役割. 第32回京都腎臓免疫研究会、平成14年5月11日、京都.
 - 16) 猪原登志子、野垣文昭、小野孝彦、鈴木和男、武曾恵

生物活性物質部

- 理:抗好中球抗体 ANCA 関連顕腎炎患者における IVIG 治療. 第32回京都腎臓免疫研究会、平成14年5月11日、京都.
- 17) 猪原登志子、大川原明子、鈴木和男、小野孝彦、武曾恵理: SCG/Kj mice における腎組織学的病変と好中球機能との関係に関する検討. 第45回日本腎臓病学会総会、平成14年5月23 - 25日、大阪.
- 18) 鈴木和男: 血液成分の新展開: 血管炎治療用の人工グロブリン開発をめざして. 第9回日本血液代替物学会年次大会、平成14年9月4 - 5日、熊本.
- 19) 大原関利章、亀岡洋祐、倉 文明、直江史郎、高橋啓、鈴木和男: 川崎病類似マウス冠状動脈炎モデルにおける血管炎抑制遺伝子の染色体マッピング. 第22回日本川崎病研究会、平成14年9月27 - 28日、北九州.
- 20) 越尾 修、長尾朋和、馬淵綾子、鈴木和男: 血管内皮細胞傷害時の apoptosis における signal 伝達と Insulin 効果. 第75回 日本生化学会大会、平成14年10月15 - 18日、京都.
- 21) 大川原明子、大原関利章、高橋 啓、三浦典子、大野尚仁、荒谷康昭、小山 秀機、Nobuyo Maeda、直江史郎、鈴木和男: カンジダ菌体由来物質誘導の血管炎モデルマウスにおける好中球の役割. 第75回 日本生化学会大会、平成14年10月15 - 18日、京都.
- 22) 荒谷康昭、倉 文明、渡辺治雄、赤川久義、高野幸枝、鈴木和男、Nobuyo Maeda、Mary C. Dinauer、小山秀機: ミエロペルオキシダーゼ欠損マウスの生体防御能異常. 第75回 日本生化学会大会、平成14年10月15 - 18日、京都.
- 23) 荒谷康昭、倉 文明、渡辺治雄、赤川久義、高野幸枝、鈴木和男、Mary C. Dinauer、Nobuyo Maeda、小山秀機: MPO 欠損マウスと gp91phox 欠損マウスのカンジダ菌に対する感染防御能の比較. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 24) 澤田 誠、川上真紀子、鈴木和男、F. Vilhardt、K-H Krause: Nef 導入マイクログリアにおける O₂-産生と MPO 様活性の増大と神経障害作用の発現. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 25) 荒谷康昭、倉 文明、渡辺治雄、赤川久義、高野幸枝、鈴木和男、Mary C. Dinauer、Nobuyo Maeda、小山秀機: MPO 欠損マウスと gp91phox 欠損マウスのカンジダ菌に対する感染防御能の比較. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 26) 小笠原よう子、山越 智、鈴木和男、朽津和幸: 植物の Nox の機能と Ca²⁺を介した活性調節機構. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 27) 長尾朋和、越尾 修、馬淵綾子、大野尚仁、高橋 啓、南谷晴之、鈴木和男: . 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 28) 武曾恵理、猪原登志子、小野孝彦、北 徹、鈴木和男: ANCA 関連腎炎・血管炎に対するヒト免疫グロブリン (IVIg) 治療効果の検討. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 29) 越尾 修、長尾朋和、石田-大川原明子、馬淵綾子、鈴木和男: 血管内皮細胞の Apoptosis 誘導における p38 MAPK と Caspase 8 の活性化に対する好中球および IL-1 の関与. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 30) 大野尚仁、三浦典子、新郷裕子、安達禎之、大原関利章、高橋 啓、直江史郎、大川原明子、鈴木和男: 病原性真菌 *Candida albicans* 培養上清由来の mannoprotein-glucan complex, CAWS, による冠状動脈炎の発症と機序の解析. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 31) 大川原明子、大原関利章、高橋 啓、三浦典子、大野尚仁、荒谷康昭、小山秀機、Maeda Nobuyo、直江史郎、鈴木和男: 血管炎発症への活性化好中球の関与-カンジダ菌体由来物質 CAWS によって誘導される血管炎モデルマウスを用いた解析. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 32) 大原関利章、大野尚仁、大川原明子、直江史郎、鈴木和男、高橋 啓: *Candida albicans* 菌体抽出物を用いた川崎病類似マウス動脈炎モデル. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 33) Persad A、亀岡洋祐、鈴木和男: MPO 完全欠損患者で見つかった ARG499CYS 変異. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 34) 亀岡洋祐、Persad A、鈴木和男: MPO 遺伝子エキソン9における遺伝子変異. 第8回 MPO 研究会、平成14年10月18 - 19日、宮崎.
- 35) 長尾朋和、越尾 修、馬淵綾子、大野尚仁、高橋 啓、南谷晴之、鈴木和男: 免疫異常による腎臓血管傷害のイメージング. 第11回日本バイオイメージング学会、平成14年10月30 - 11月1日、名古屋.
- 36) 中山俊憲、長尾朋和、村田 薫、稲見真倫、鈴木和男: 光化学反応による血小板血栓形成のイメージングを用いた CD69 機能の解析. 第11回日本バイオイメージング学会、平成14年10月30 - 11月1日、名古屋.
- 37) 大原関利章、亀岡洋祐、横内 幸、若山 恵、鈴木和男、直江史郎、高橋 啓: カンジダ菌体抽出物誘導の川崎病類似マウス動脈炎モデルにおける冠状動脈炎関連遺伝子の染色体マッピング. 第43回日本脈管学会総会、平成14年11月7 - 9日、東京.
- 38) 古賀大輔、輿水洋平、山越 智、鈴木和男、大富美智子: マウス脳における LECT2 の発現解析. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.
- 39) 川上真紀子、澤田 誠、鈴木和男、F. Vilhardt、K-H. Krause: Nef 導入マイクログリアにおける O₂-産生の増大と神経障害作用の発現. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.

生物活性物質部

- 40) 奥村彰規、斉藤 武、大川原明子、大谷 功、金山喜一、浅野雅秀、岩倉洋一郎、鈴木和男、山越 智: 関節炎モデルを用いた LECT2 の役割解析. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.
- 41) 宮崎耕司、関塚永一、西田次郎、鈴木和男: Kupffer cell 貪食能に対する LECT2 の関連についての検討. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.
- 42) 小田佳史、伊藤三恵、山越 智、永田宏次、山本健二、鈴木和男、田之倉優: NMR および X 線による LECT2 の構造解析. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.
- 43) Dawson W、伊藤一石田美恵、山越 智、山本健二、田之倉優、鈴木和男: LECT2 の多型における MD シミュレーションによる構造変化の解析. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.
- 44) 越尾 修、長尾朋和、石田-大川原明子、馬淵綾子、鈴木和男: 血管内皮細胞の Apoptosis 誘導における p38 MAP kinase と Caspase 8 の活性化に対する好中球および Cytokine 類の関与. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.
- 45) 馬淵綾子、越尾 修、長尾朋和、Wheatley A、鈴木和男: Concanavalin A 静注により惹起されるマウス肝傷害の過程で肝類洞内に出現する F4/80high+ Mac-1high+ 細胞の免疫抑制活性. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.
- 46) 鈴木和男: 公開シンポジウム - 血管炎の発症機構解析とその治療: IVIG 治療をめぐって. 血管炎の発症機構の解析: ANCA 血管炎. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.
- 47) 長尾朋和: 公開シンポジウム - 血管炎の発症機構解析とその治療: IVIG 治療をめぐって. 血管炎の発症機構の解析: 腎臓血管傷害のイメージング. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.
- 48) 猪原登志子、小野孝彦、北 徹、鈴木和男、武曾恵理: 公開シンポジウム - 血管炎の発症機構解析とその治療: IVIG 治療をめぐって. 生体防御機能異常ワークショップ - 2002 / 第5回肝臓生物学研究会、平成14年11月8 - 9日、京都.
- 49) 斉藤 武、奥村彰規、渡部久実、浅野雅秀、大川原明子、安保 徹、岩倉洋一郎、鈴木和男、山越 智: 肝障害モデルを用いた LECT2 の機能解析. 第32回日本免疫学会総会、平成14年12月4 - 6日、東京.
- 50) 奥村彰規、斉藤 武、大谷 功、大川原明子、金山喜一、岩倉洋一郎、鈴木和男、山越 智: 関節炎モデルを用いた LECT2 の役割解析. 第32回日本免疫学会総会、平成14年12月4 - 6日、東京.
- 51) 新郷裕子、三浦典子、安達禎之、大野尚仁、大川原明子、鈴木和男、大原関利章、高橋 啓、直江史郎: *Candida albicans* 菌体外多糖 CAWS の血管炎誘発活性におけるマウス系統差とその病態形成への関与の検討. 第32回日本免疫学会総会、平成14年12月4 - 6日、東京.
- 52) 荒谷康昭、倉 文明、鈴木和男、小山秀機: *Candida albicans* 感染に対する生体防御におけるミエロペルオキシダーゼと NADPH オキシダーゼの重要性の比較. 第32回日本免疫学会総会、平成14年12月4 - 6日、東京.
- 53) 越尾 修、長尾朋和、石田-大川原明子、馬淵綾子、鈴木和男: 血管内皮細胞の Apoptosis 誘導における p38 MAPK と Caspase 8 の活性化に対する好中球および IL-1 の関与. 第22回日本分子生物学会、平成14年12月12 - 15日、横浜.
- 54) Dawson, Wayne、伊藤一石田美恵、山越 智、山本健二、田之倉優、鈴木和男: Polymorphism and changes in the structural stability of LECT2 as evidenced by molecular dynamics simulations. 第22回日本分子生物学会、平成14年12月12 - 15日、横浜.
- 55) Persad A, Kameoka Y, Kanda S, Suzuki K: Identification of a non-synonymous mutation in a patient with complete MPO deficiency. 第22回日本分子生物学会、平成14年12月12 - 15日、横浜.
- 56) 小田佳史、伊藤三恵、山越 智、山本健二、鈴木和男、田之倉優: サイトカイン LECT2 の X 線結晶構造解析. 第22回日本分子生物学会、平成14年12月12 - 15日、横浜.
- 57) 馬淵綾子、長尾朋和、越尾 修、鈴木和男: コンカナバリン A 惹起肝傷害に肝類洞内に出現する免疫応答抑制性細胞の同定と抑制因子 NO の産生動態. 第22回日本分子生物学会、平成14年12月12 - 15日、横浜.
- 58) 宮崎耕司、関塚永一、西田次郎、大塩 力、鈴木和男、織田正也、石井裕正: Kupffer cell 貪食能に対する LECT2 の関連についての検討. 第16回 肝類洞壁細胞研究会、平成14年12月14日、東京.
- 59) 三浦典子、新郷裕子、安達禎之、大川原明子、鈴木和男、大原関利章、高橋 啓、直江史郎、大野尚仁: *Candida albicans* 菌体外多糖 CAWS の血管炎誘発活性に関する検討. 日本薬学会第123年会、平成15年3月27 - 29日、長崎市.
- 60) 堀田国元、土崎尚史、和田昭仁、荒川宜親: MRSA のアミノグリコシド修飾酵素遺伝子プロフィールとアミノグリコシド耐性の相関性. 第75回日本細菌学会総会、平成14年4月4 - 6日、横浜市.
- 61) 土崎尚史、堀田国元: コロニーダイレクト PCR による MRSA アミノグリコシド耐性遺伝子プロフィールの迅速解析. 第75回日本細菌学会総会、平成14年4月4 - 6日、横浜市.

生物活性物質部

- 62) 堀田国元、土崎尚史、石野敬子、朴 春成、菊池 賢、戸塚恭一：黄色ブドウ球菌におけるアミノグリコシド修飾酵素遺伝子と耐性の相関性からみたアルベカシンの特異性。第50回日本化学療法学会総会、平成14年5月9～11日、神戸市。
- 63) 植木雅志、石川 淳、長田裕之、堀田国元：PCRを用いたランダム増幅による未知未利用遺伝子。2002年度日本放線菌学会大会、平成14年5月30～31日、つくば市。
- 64) 土崎尚史、石川 淳、堀田国元、宮道慎二：デジタル放線菌図鑑“Digital Atlas of Actinomycetes”の作成。2002年度日本放線菌学会大会、平成14年5月30～31日、つくば市。
- 65) 池田治生、石川 淳、菊池 久、柴 忠義、榊 佳之、服部正平、大村 智：放線菌 *S. avermitilis* のゲノム解析。日本放線菌学会大会、平成14年5月30～31日、筑波。
- 66) 堀田国元、斎藤文子、土崎尚史、宮木洋一：新食品添加物殺菌料 酸性電解水の殺菌活性とその機序。第6回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム。平成14年6月24～26日、東京。
- 67) 池田治生、石川 淳、菊池 久、柴 忠義、榊 佳之、服部正平、大村 智：放線菌の抗生物質生産能のゲノムからの理解。第75回日本生化学会大会、平成14年10月14～17日、京都。
- 68) 堀田国元：電解水をめぐる最近の動向。日本機能水学会平成14年度第1回講演会、平成14年11月16日、東京。
- 69) 佐々木裕子、石川 淳、山下敦士、大島健志朗、見理剛、古谷恵子、吉野智絵、堀野 敦、柴 忠義、佐々木次雄、服部正平：*Mycoplasma penetrans* 全ゲノム配列の決定。第25回日本分子生物学会年会、平成14年12月11～14日、横浜。
- 70) 堀田国元：機能水研究の歩みと日本機能水学会の役割。日本機能水学会第1回学術大会、平成14年12月19日～20日、東京。
- 71) 土崎尚史、宮木洋一、斎藤文子、堀田国元：酸性電解水処理による菌体内 DNA の損傷。日本機能水学会第1回学術大会、平成14年12月19日～20日、東京。
- 72) 土崎尚史、宮木洋一、堀田国元：各種電解水の菌体成分(DNA およびアミノ酸)に対する影響。日本機能水学会平成14年度第2回講演会、平成15年2月15日、東京。
- 73) 石川 淳、山下敦士、三上 襄、星野泰隆、大島健志朗、古谷恵子、吉野智絵、山下恭江、中澤麻子、柴忠義、服部正平：*Nocardia farcinica* のゲノム解析。文部省科学研究費補助金・特定領域研究「統合ゲノム」主催、第5回ワークショップ「微生物ゲノム研究のフロンティア」、平成15年3月1～2日、木更津。
- 74) 堀田国元：日本機能水学会の設立の経緯と最近の研究動向。第3回日本分析化学会関東支部懇話会、平成15年3月27日、東京。
- 75) 堀田国元、土崎尚史、石野敬子、石川 淳：新しい耐性菌モニタリングシステムの展望：迅速簡便なゲノム解析による耐性菌出現の予測。日本獣医学会第2回領域横断ワークショップ「日本の薬剤耐性菌モニタリング体制：その確立への課題」、平成15年3月30日、東京。