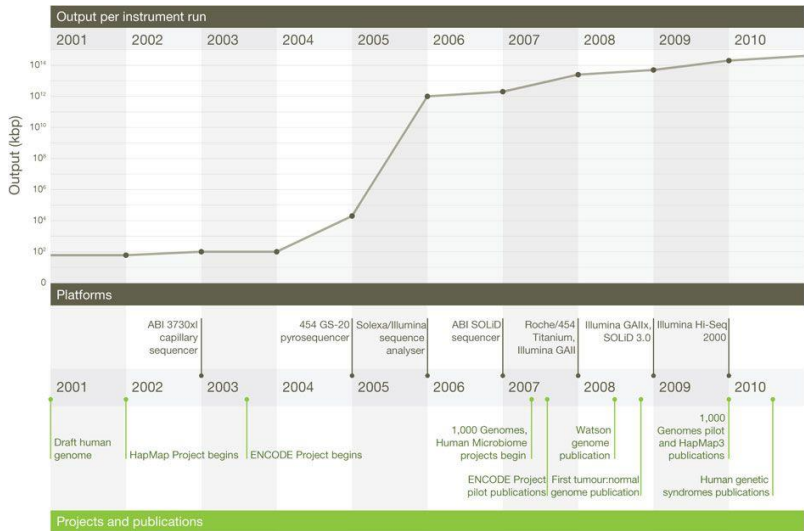


# 病原真菌アスペルギルスフミ ガタスの遺伝型解析

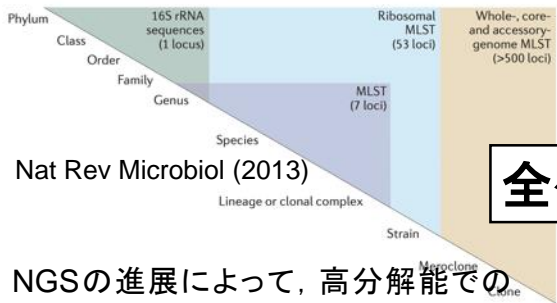
微生物資源分野

高橋 弘喜

# ゲノム情報の爆発



Nature (2011)

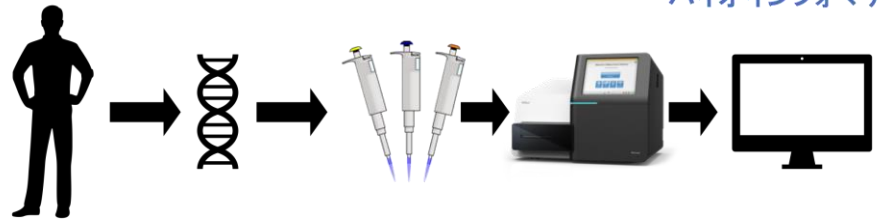


Nat Rev Microbiol (2013)

NGSの進展によって、高分解能での分類が可能となり、クローンレベルでも識別できる。

例えば、これまでタイピングで同じグループに分類されていた菌株でも、ゲノム構造が異なり、性状も異なっていることが分かってきた。

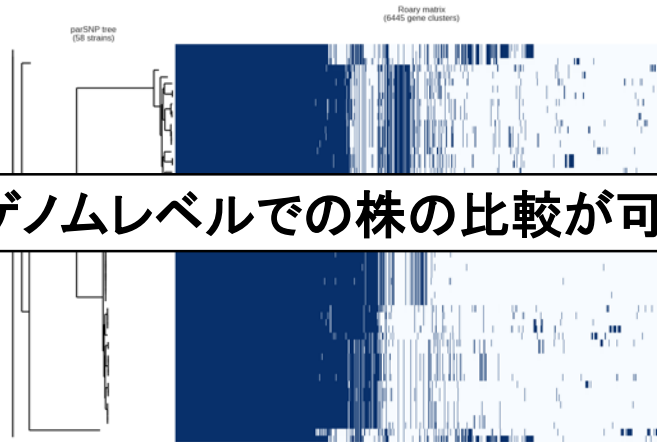
サンプリング → DNA抽出 → ライブラリー調整 → シーケンス → 情報解析  
バイオインフォマティクス



シーケンスまでのステップのキット化や自動化によって簡素化されてきた。

出てきたデータからどのような情報を引き出せるかの重要性が益々高まってきた。

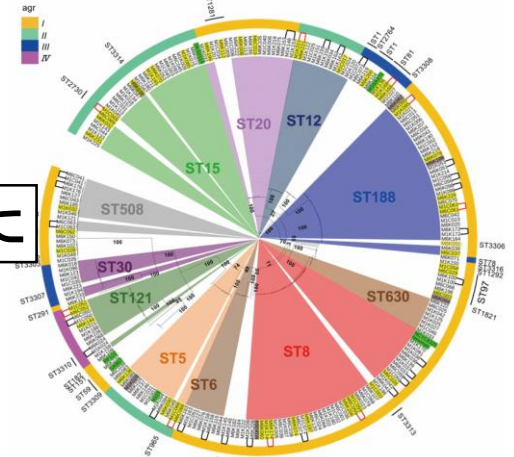
## 全ゲノムレベルでの株の比較が可能に



遺伝子の有無による分類

<https://sanger-pathogens.github.io/Roary/>

## 小児皮膚由来の黄色ブドウ球菌

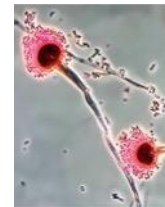


ゲノムレベルでの配列の違いによる分類

Nakamura et al., *Sci Transl Med* (2020)

# 研究の背景：肺アスペルギルス症

## アスペルギルス属真菌を原因菌とする肺感染症

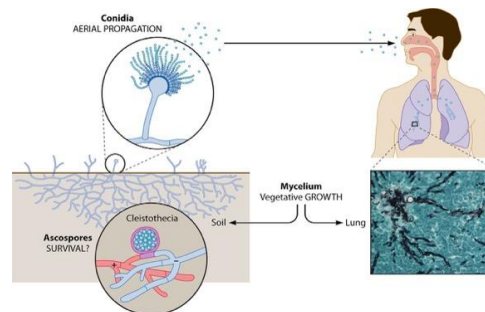


アスペルギルス  
フミガタス  
(*Aspergillus  
fumigatus*)

- 原因菌 (*Aspergillus fumigatus*) は環境中に普遍的に存在し、免疫低下時には身近な感染リスクとなる (世界中で400万人以上)

環境中に無数の孢子(分生子)が存在

→免疫系で排除



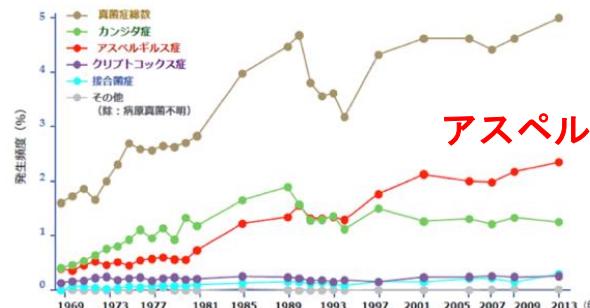
Clin Microbiol Rev (2019)

- 肺結核, インフルエンザウイルス肺炎, COVID-19などの他の肺感染症がリスクファクターとなる (COVID-19患者の10%がアスペルギルス症)

- 致死率が高く (5年生存率~46%), 我が国で最も重要な内臓真菌症の一つで増加傾向

本邦の病理剖検例における内臓真菌症の発生頻度  
(日本医大 久米ら)

Med Mycol J (2011)



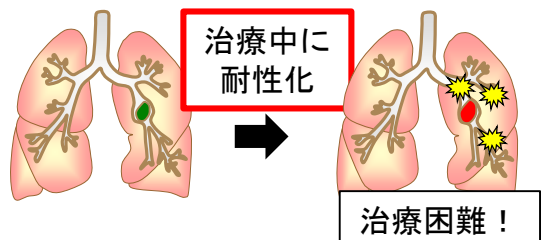
# 研究の背景：複雑な感染機構と抗真菌薬耐性

主な治療薬（アゾール薬）への耐性株の増加が深刻

耐性株感染により致死率は100%近くになる

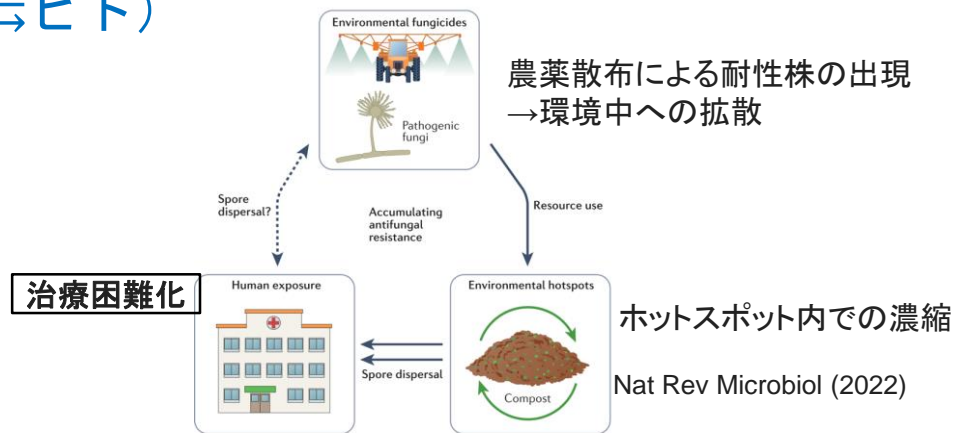
- 病原性因子は多数あり，長期に渡る感染中に薬剤耐性化を含め多数の変異を獲得する（肺環境へ適応進化）

## 宿主経路



- 治療中の耐性化に加え，農薬暴露による環境中のアゾール薬耐性株が世界中で増加（環境⇄ヒト）

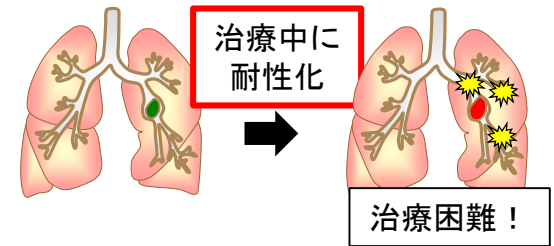
## 環境経路



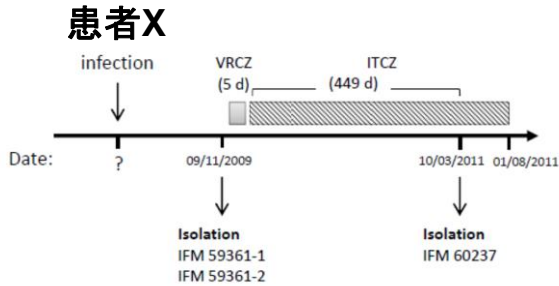
アゾール薬に代わる薬剤の開発が喫緊の課題

# 宿主経路

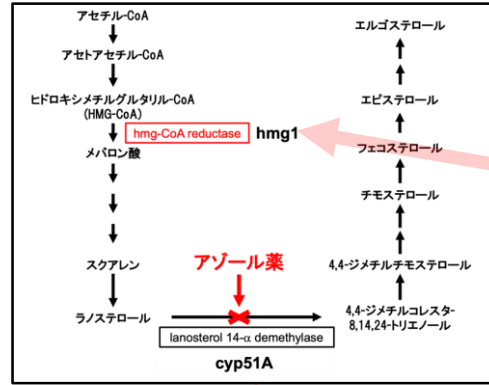
# 薬剤耐性化機構解明



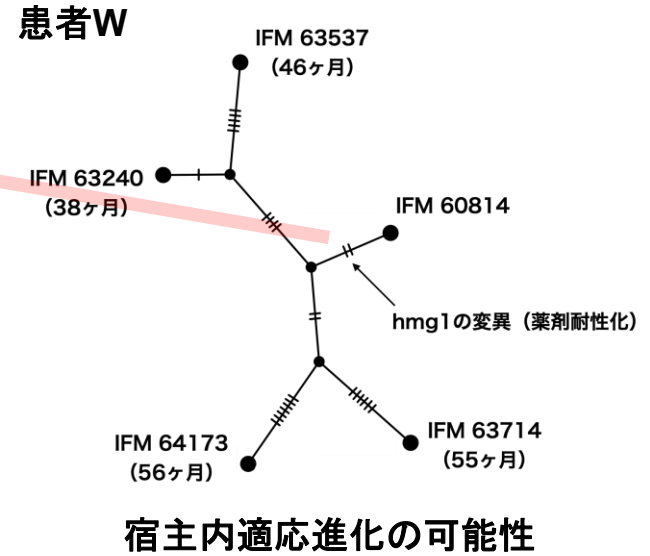
## 例1 原因遺伝子(cyp51A)の同定に成功



## エルゴステロール (細胞膜成分) 合成経路



## 例2 新たな耐性化遺伝子(hmg1)の発見



Gene	Amino acid length	Description	Amino acid substitution <sup>1</sup>		
			IFM 59361-1	IFM 59361-2	IFM 60237
Afu2g15890	772	RING finger protein, putative	-	-	Glu 478 Lys
Afu4g06890	515	14-alpha sterol demethylase ( <i>cyp51A</i> )	-	-	Pro 216 Leu
Afu6g09930	615	bZip family transcription factor ( <i>afyap1</i> )	-	-	Phe 487 Leu
Afu6g11430	559	Putative aldehyde dehydrogenase ( <i>aldA</i> )	-	-	Gly 357 Ser
Afu7g04400	1220	Hypothetical protein	-	-	Gln 1047 *
Afu7g05660	1065	Hypothetical protein	-	-	Thr 1018 Thr
Afu8g07080	634	Putative secreted metalloprotease	-	-	Thr 397 Asn

✓ Hagiwara et al., *Emerg Infect Dis* (2018)

- ✓ Hagiwara et al., *J Clin Microbiol* (2014)
- ✓ Takahashi-Nakaguchi et al., *Med Mycol* (2015)
- ✓ Hagiwara et al., *J Infect Chemother* (2016)
- ✓ Hagiwara et al., *Med Mycol J* (2018)
- ✓ Majima et al., *Mycoses* (2021)

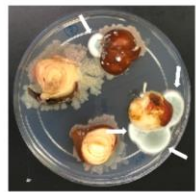
ゲノム解析によって、耐性化の原因遺伝子の同定に成功した

# 薬剤耐性株の本邦での実態

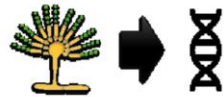
耐性株が確認された国 Current Fungal Infection Reports (2023)



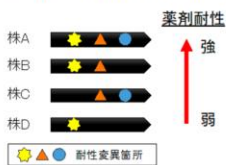
球根(オランダからの輸入品)



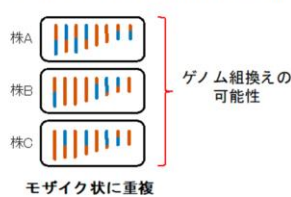
同一球根から分離した8株を対象に



① 薬剤標的遺伝子の多様性

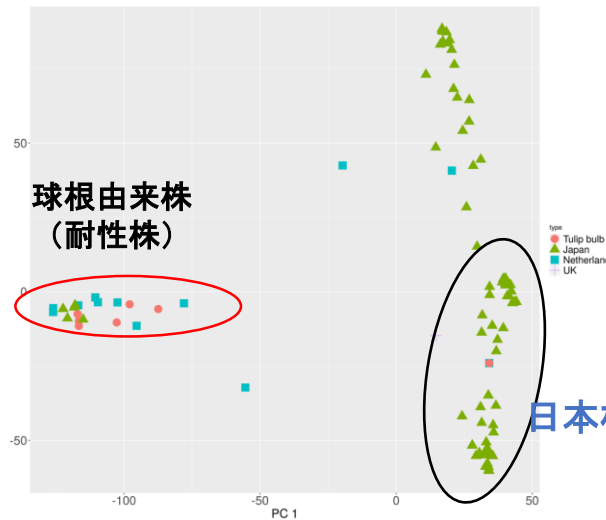


② 8株間でゲノムの部分的な重複



Takahashi et al., *Environ Microbiol* (2021)

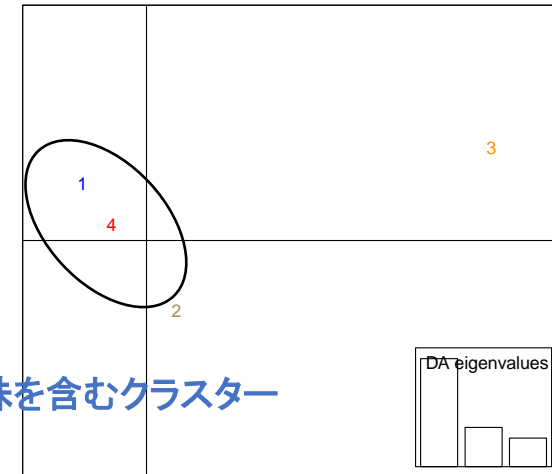
球根分離株の由来



球根由来株 (耐性株)

日本株を含むクラスター

本邦分離172株の系統解析



植物サンプルを通して、耐性株が本邦に持ち込まれている実態を明らかにした

# ゲノムデータの利活用例: 種分類の提案

微生物分類は、その形状、生理性状に基づいて、新種提唱が数多く行われてきた。

→ 種分類が複雑化

## *A. tubingensis*

- 1 *A. costaricensis*
- 4 *A. neoniger*
- 6 *A. tubingensis*

OTHER SYNONYMS:

- *A. Chiangmaiensis*
- *A. pseudopiperis*

*A. cinnamomeus*, *A. elatior*,  
*A. hennenbergii*, *A. pseudoniger*,  
*A. pulverulentus*, etc.  
(see section Taxonomy)

## *A. luchuensis*

- 3 *A. luchuensis*
- 5 *A. piperis*

OTHER SYNONYMS:

*A. acidus*, *A. awamori*, *A. inuii*,  
*A. kawachii*, *A. nakazawae*,  
*A. perniciosus*, etc.  
(see section Taxonomy)

## *A. niger*

- 8 *A. lacticoffeatus*
- 9 *A. niger*
- 10 *A. vinaceus*
- 11 *A. welwitschiae*

OTHER SYNONYMS:

*A. batatas*, *A. ficuum*, *A. citricus*,  
*A. foetidus*, *A. longobasidia*,  
*A. pseudocitricus*, *A. usamii*, etc.  
(see Taxonomy section)

0.01

クエン酸発酵に重要な *A. niger* を含む Section *Nigri* 内を見直した。

14種 → 6種に集約できた。

## *A. brasiliensis*

12



Bian et al., (2022) *Stud Mycol* 102:95-132.

***A. carbonarius***  
(outgroup; ser. *Carbonarii*)

# 今後の展望

- 本邦由来の *A. fumigatus* のゲノム的特徴の解明
  - 病原性・薬剤耐性高リスク系統の探索
- ゲノムデータ利活用による種分類の見直し
- 微生物資源としての価値の再定義
  - ゲノムマイニングによる新規物質探索
    - ✓ Takahashi et al., *Front Fungal Biol* (2021)
    - ✓ Hara et al., *Chem Pharm Bull (Tokyo)* (2018)

