研究成果報告書

1．研究課題名：*Candida auris* の病原性に関与する仮性菌糸形成の誘導機構の解明

2．研究代表者氏名：老木 紗予子

3．研究発表（論文、著書、学会発表等があれば記載してください）

1. **老木 紗予子**, 阿部 雅広, 篠原 孝幸, 小泉 亜未, 大谷 天人, 梅山 隆, 宮﨑 義継. clade I に属する本邦耳漏由来 *Candida auris* の免疫抑制マウス感染モデルを用いた病原性評価. 第 74 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 72 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, 口頭発表 (2025)

2. **老木 紗予子**, 阿部 雅広, 篠原 孝幸, 小泉 亜未, 大谷 天人, 宮﨑 義継. 新興病原真菌 *Candida auris* の *in vivo* 発現解析による新規病原因子の探索. 第 69 回日本医真菌学会総会・学術集会, 口頭発表 (2025)

3. **Sayoko Oiki**, Masahiro Abe, Ai Hirasawa, Ami Koizumi, Amato Otani, Takayuki Shinohara, Yoshitsugu Miyazaki. *HAC1* contributes to stress adaptation and virulence in the emerging fungal pathogen *Candida auris*. Medical Mycology, 64(7), myag067 (2026)

4．研究実績（必要であれば図を用いても構いません）

研究の背景と目的

新興病原真菌 *Candida auris* は、2009 年に本邦で初めて分離されて以降、世界各地で急速に感染事例が拡大している。本菌は血流感染をはじめとする侵襲性感染症を引き起こし、複数の抗真菌薬に耐性を示す株が存在することに加え、医療環境中に長期間生存し、院内アウトブレイクを引き起こすという特徴を有する。このため、従来の病原性 *Candida* 属菌とは異なる生物学的特徴を有する新興病原真菌として、その病原性や宿主適応機構の解明が求められている。代表的な病原性酵母である *Candida albicans* では、酵母形態から菌糸・仮性菌糸形態への形態変化が組織侵入や宿主免疫応答などの病原性に深く関与する。一方、*C. auris* は従来、*C. albicans* と異なり糸状形態形成能に乏しいと考えられてきた。しかし近年、特定の培養条件や感染環境下において、*C. auris* も糸状あるいは仮性菌糸様の形態を形成することが明らかとなりつつある。我々も、*Galleria mellonella* 幼虫感染モデルにおいて、*C. auris* が仮性菌糸様の形態を示すことを見いだした。しかし、*C. auris* の形態変化を制御する分子機構については依然として不明な点が多い。そこで本研究では、感染環境における *C. auris* の形態制御機構を明らかにすることを目的とした。

感染時発現解析に基づく形態制御候補遺伝子の選択

C. auris が *G. mellonella* 幼虫感染モデルにおいて仮性菌糸様の形態を形成することから、感染時に発現が上昇する遺伝子の中に、宿主内における形態変化を制御する因子が含まれている可能性を考えた。そこで、*G. mellonella* 幼虫に *C. auris* を感染させ、感染幼虫から回収した菌体を用いて RNA-seq 解析を行った。本感染モデルでは感染 1 日後までに約半数の幼虫が死亡することから、感染当日（Day 0）および感染 1 日後（Day 1）の 2 時点を解析対象とし、Yeast Nitrogen Base（YNB）+ 2% glucose 培地で培養した菌体を対照として遺伝子発現を比較した。その結果、Day 0 および Day 1 の両時点において発現が上昇する複数の遺伝子が認められた。これらの中には、既知の機能情報から細胞周期、形態形成、ストレス応答などへの関与が予想される遺伝子が含まれていた。そこで、感染時の発現変動や他の酵母における既知の機能情報等を参考に、*C. auris* の形態制御への関与を探索するための候補遺伝子を選択した（表 1）。

候補遺伝子破壊株を用いた *in vivo* 形態スクリーニング

選択した候補遺伝子について CRISPR-Cas9 法を用いて遺伝子破壊株を作製した。各遺伝子破壊株を *G. mellonella* 幼虫に感染させ、病理学的解析により感染組織内における菌体形態を野生株と比較した（図 1）。病理学的解析の結果、候補遺伝子の破壊によって感染組織内での菌体形態に変化を示す株が認められた。中でも Gene D 破壊株では、野生株と比較して著しく伸長した菌体が多数観察され、極めて明瞭な形態変化を示した。この結果から、感染時に発現が上昇する遺伝子の中に、仮性菌糸様形態の形成を負に制御する因子が含まれる可能性が考えられた。

スクリーニングにより同定した Gene D の機能解析

Gene D はセリン／スレオニンキナーゼをコードし、他の酵母では細胞周期および形態制御に関与することが知られている一方、*C. auris* における機能は明らかになっていない。そこで、スクリーニングによって認められた形態変化についてさらに解析した。野生株と Gene D 破壊株を Yeast Peptone Dextrose（YPD）培地で培養して形態を比較したところ、野生株が酵母形態を示したのに対し、Gene D 破壊株は顕著な仮性菌糸様形態を示した（図 2）。さらに、DAPI 染色では伸長した菌体内に複数の核が認められ、Calcofluor white 染色では隔壁様構造および細胞間のくびれが確認された。これらの結果から、Gene D の欠損は *G. mellonella* 感染組織内だけでなく通常の培養条件においても顕著な細胞伸長を引き起こすことが明らかになり、Gene D が *C. auris* の仮性菌糸様形態の制御に関与することが示唆された。

Gene D 破壊株の宿主細胞への接着性の評価

形態制御因子の欠損が宿主細胞との相互作用に及ぼす影響を検討するため、ヒト皮膚上皮ケラチノサイト由来 HaCaT を用いた接着実験を実施した。野生株と Gene D 破壊株を HaCaT 細胞と共培養し、洗浄後に回収された菌体のコロニー形成単位（CFU）に基づいて接着率を評価した。その結果、Gene D 破壊株では野生株と比較して接着率の低下が認められた（図 3）。このことから、Gene D の欠損は菌体形態だけでなく、宿主細胞への接着に関連する表現型にも影響を及ぼす可能性が示唆された。

まとめ

本研究では、*G. mellonella* 幼虫感染モデルを用いた遺伝子発現解析と遺伝子破壊株の *in vivo* 形態スクリーニングにより、*C. auris* の形態制御因子を探索した。その結果、Gene D の欠損によって感染組織内および通常培養条件下で顕著な仮性菌糸様形態の形成が誘導されることを見いだし、Gene D が *C. auris* の形態制御に関与する因子であることが示唆された。さらに、宿主細胞への接着性の解析から、Gene D の欠損に伴う形態変化が宿主との相互作用にも影響を及ぼす可能性が示唆された。今後は、細胞周期制御機構との関連を中心に Gene D による形態制御の分子機構を解析するとともに、形態変化が環境適応や宿主との相互作用に及ぼす影響を詳細に検討し、*C. auris* の宿主適応および病原性における形態制御の意義を明らかにする。

表 1. *G. mellonella* 感染時に発現上昇した候補遺伝子リスト

Gene	Putative function	FPKM			Fold Change	
		YNB	Day 0	Day 1	Day 0 /YNB	Day 1 /YNB
Gene A	cAMP-dependent protein kinase regulatory subunit	60.90	188.33	207.22	3.09	3.40
Gene B	Hypothetical protein	4.91	1827.90	784.53	372.40	159.83
Gene C	Putative mannan polymerase	12.0955	224.464	106.414	18.56	8.80
Gene D	Ser/Thr protein kinase	17.53	85.66	69.65	4.89	3.97
Gene E	Hypothetical protein	3.23	724.73	286.38	224.31	88.64
Gene F	DNA replication checkpoint-related protein	4.06	38.36	67.79	9.44	16.68
Gene G	Cyclin-related protein/G1 cyclin-related protein	6.40	124.98	54.57	19.54	8.53
Gene H	Secreted aspartyl protease	10.97	232.31	120.22	21.17	10.95

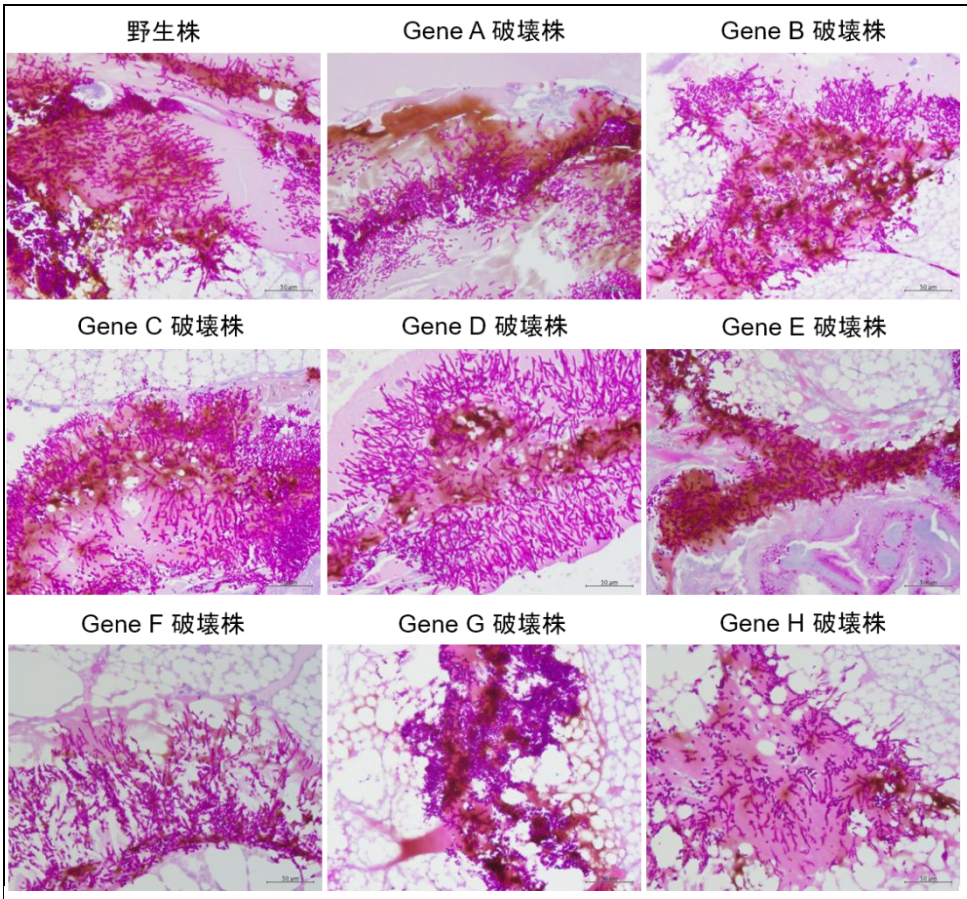


図 1. 病理学的解析による候補遺伝子破壊株の *G. mellonella* 感染組織内形態の比較

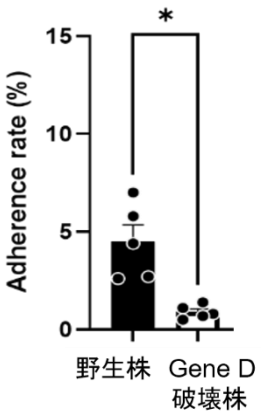


図 3. Gene D 破壊株の HaCaT 細胞への接着

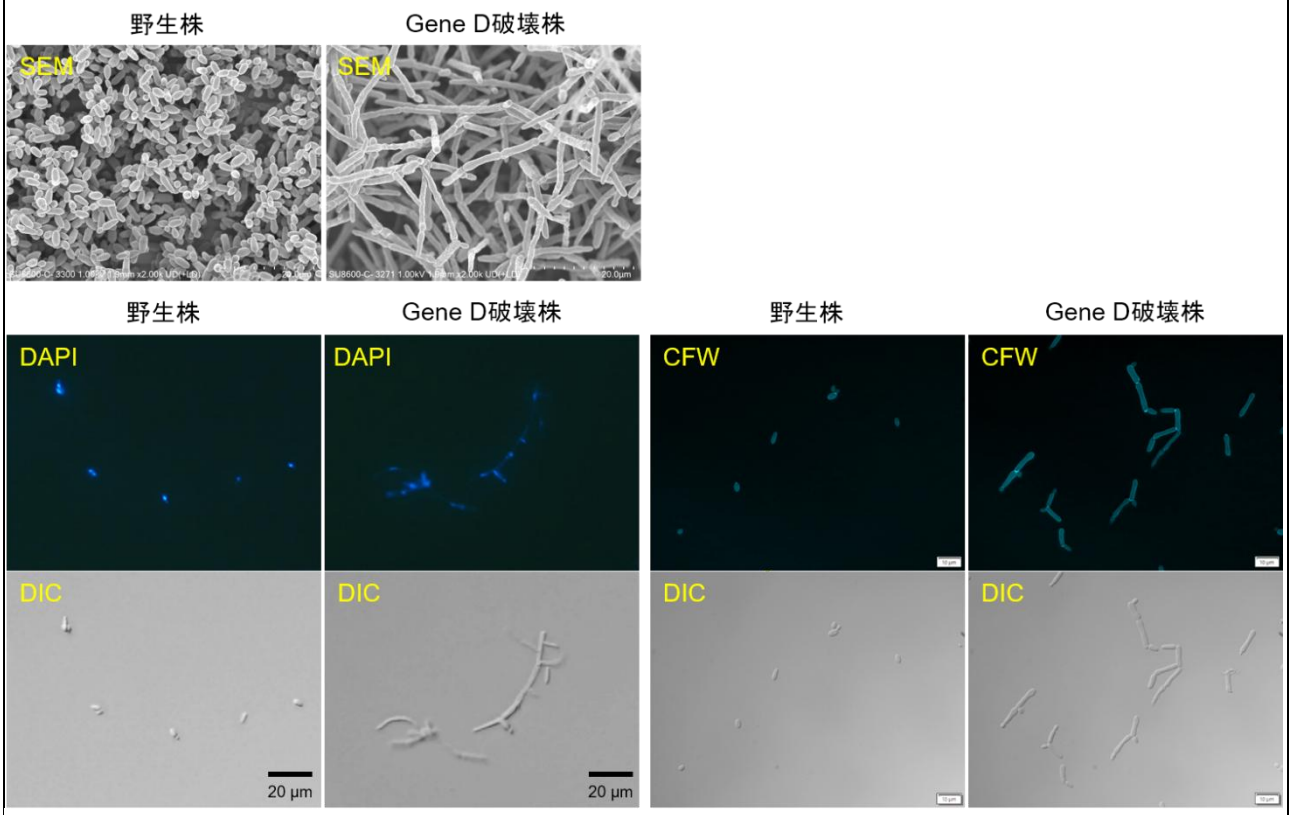


図 2. Gene D 破壊株の走査型顕微鏡観察および核・細胞壁染色による形態解析