

研究報告書

研究課題名：
異物排出トランスポーターによる細胞機能制御の解明

(研究領域:「代謝と機能制御」)

研究者氏名: 西野 邦彦

(研究期間: 2006年10月1日～2010年3月31日)

研究報告書

1. 研究課題名

異物排出トランスポーターによる細胞機能制御の解明

2. 氏名

西野 邦彦

3. 研究のねらい

近年、多剤耐性細菌の出現が医療現場において大きな問題となっている。化学療法が困難な多剤耐性菌の出現により、人類は多くの感染症の脅威に曝されており、今日もなお感染症の克服は医学的重要課題の一つである。一方で、細菌ゲノム配列が次々と解読され、細菌染色体上には、異物排出トランスポーターをコードしている遺伝子が数多く潜在していることが明らかとなってきた。異物排出トランスポーターは抗菌薬や細胞障害性異物を菌体外に排出することにより、細菌を様々な化合物に対して耐性化させる。また、異物排出トランスポーターは異物排出のみならず、代謝産物の輸送、情報伝達物質の排出、および細菌病原性の発現に関与していることが明らかになってきた。本研究は、病原細菌の薬剤耐性化と病原性発現における異物排出トランスポーターの役割とその生理機能を解析し、トランスポーターによる細菌機能制御の仕組みを解明することを目的とする。研究を通して、生理的基質排出による細菌機能調節機構を理解すると同時に、多剤耐性細菌による感染症を克服するための情報基盤を構築する。

4. 研究成果

(1) 細菌ゲノムに潜む異物排出トランスポーターの同定と薬剤耐性化における役割

サルモネラ属菌は自然界に広く存在し、急性胃腸炎やチフス・パラチフスを引き起こす原因菌が含まれる。近年、サルモネラによる食中毒事例が増えており、その多くが多剤耐性を示すことが報告されている。この病原細菌に内在する多剤耐性因子を解明するため、ポストゲノム手法を用いた異物排出トランスポーターの網羅的解析を行った。その結果、サルモネラには少なくとも9個の異物排出トランスポーターが存在していることが判明した(図1)。内1個はサルモネラ特異的に存在するものであり、私達はこれを *mdsABC* (*mds* for *multidrug transporter for Salmonella*)と名付けた。これら異物排出トランスポーターが実際に薬剤耐性化に関与しているかどうかを調べるために、各トランスポーター遺伝子をクローニングし、発現株を構築した。これらトランスポーターの発現はいずれも、サルモネラを薬剤耐性化させることを明らかにした。また、トランスポーター欠損株を構築し、フェノタイプマイクロアレイを用いて約2000種類の異なる環境下における細菌の生育を観察したところ、欠損株は図2に示す抗菌薬・色素・界面活性剤といった様々な化合物に対して感受性化していることが分かった。これら9個のトランスポーターはサルモネラの自然耐性に深く関与していることが明らかになった。

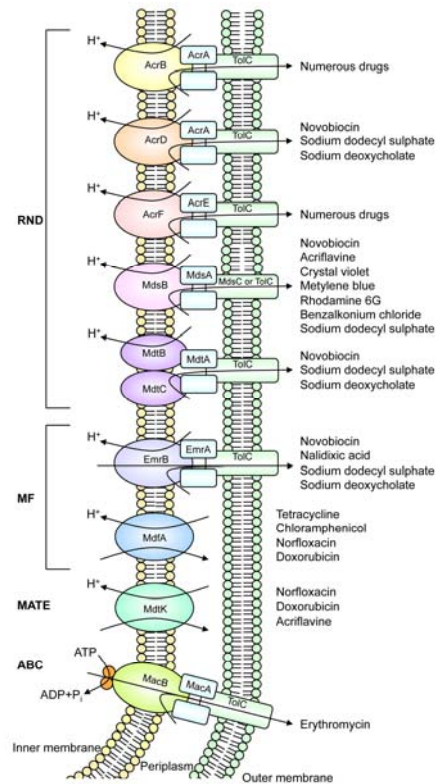


図1. サルモネラに存在する異物排出トランスポーター群

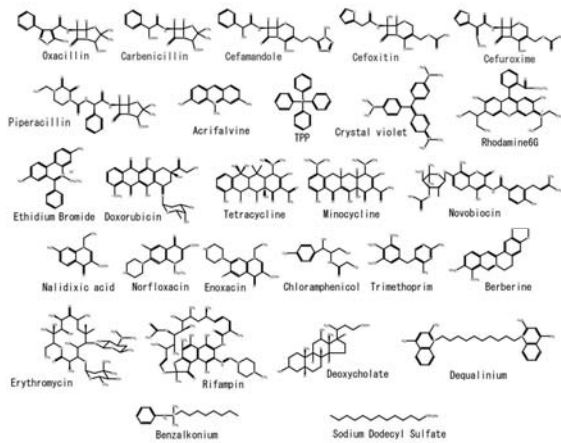


図2. 異物排出トランスポーターの基質

(2) 病原性における異物排出トランスポーターの役割

これまで、異物排出トランスポーターは、細菌の多剤耐性因子として注目されてきた。しかし、抗菌薬のほとんどが人工的に創られたものであり、細菌ゲノムにコードされている異物排出トランスポーターが抗菌薬耐性のためだけに用意されているとは考えにくい。これら異物排出トランスポーターは、薬剤耐性以外にも本来の生理機能を保有していると思われる。研究過程において、排出トランスポーター欠損株を用いた感染実験から、異物排出トランスポーターは細菌病原性発現に関与することが分かった。サルモネラ野生株をマウスに経口投与する

と、マウスは約 6~9 日で死に至る。一方で、9 個の薬剤排出システムを欠損させたサルモネラでは、マウス致死能が完全に消失している(図3)。最も病原性に関与しているものは ABC 型排出システムの MacAB システムであった。MacAB はこれまで、マクロライド抗菌薬を特異的に認識する排出システムであると考えられていたが、この結果から、細菌病原性や毒性に関わる何らかの生理的基質を輸送していることが考えられる。また、MacAB はサルモネラ病原性を調節する PhoPQ 二成分情報伝達系によって厳密に制御され、その発現がマクロファージ内で調節されていることが明らかとなった。

(3) 異物排出トランスポーター発現制御機構の解明

これまでに数多くの異物排出トランスポーターを同定したが、これら異物排出トランスポーターがどのようなシグナルによって発現誘導されるのかは、ほとんど知られていない。感染の場において、サルモネラは様々な宿主環境を経験する。サルモネラが感染時に定着する腸内には、腸内細菌が産生するインドールや、宿主が産生する胆汁酸等の環境シグナルが存在する。感染の場において、実際に細菌がどのような形で異物排

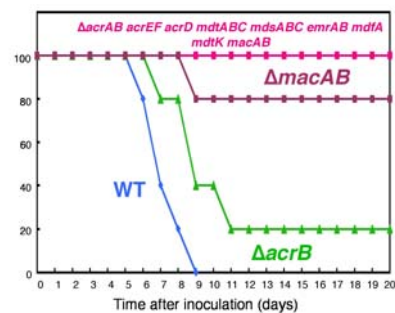


図3. サルモネラを感染させたマウスの生存率。異物排出トランスポーター遺伝子欠損株のマウス致死能力は野生株に比べ、顕著に低下している。

出トランスポーターを利用して、薬剤耐性化と病原性をコントロールしているのかを知ることは重要な課題である。そこで、宿主環境中に存在する代謝産物がサルモネラ異物排出トランスポーターの発現にどのような影響を及ぼすか検討した。その結果、インドールや胆汁酸といった化合物が、新規のレギュレーターRamA を介して、AcrAB 異物排出トランスポーターの発現を誘導していることを明らかにした。インドールは RamA の発現を上昇させることにより AcrAB を誘導するのに対して、胆汁酸は RamA に直接結合して活性化させることにより、AcrAB 誘導を行っていた。すなわち、RamA はインドールや胆汁酸といった異なるシグナルインプットに対して、「過剰発現型」と「活性型」という2つの制御モードにより AcrAB を誘導しているという、新規異物排出トランスポーター制御機構を発見した(図4)。現在、これら制御因子の構造解析にも取り組んでおり、その詳細が明らか

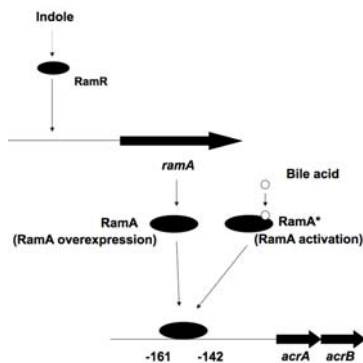


図4. RamA による AcrAB 発現調節モデル。インドールは RamR を介して RamA の発現を上昇させることにより AcrAB を誘導する。胆汁酸は RamA を活性化させることで AcrAB を誘導する。

になることで、出現が上昇傾向にある多剤耐性菌に対する阻害剤の開発や分子生物学的診断法の開発等に役に立つものと考えられる。

(4) 異物排出トランスポーター生理機能の解明

(4-A. 鉄代謝における異物排出トランスポーターの役割)

サルモネラの異物排出トランスポーターである AcrD と MdtABC は、 β -ラクタム剤をはじめとする抗菌薬を排出し、細菌を多剤耐性化させる。一方で、この 2 つの排出システム欠損株はマウスに対する病原性が減弱している。これら異物排出トランスポーターは、薬剤耐性以外にどのような生理機能を担っているのだろうか。AcrD と MdtABC は通常ほとんど発現していないが、鉄欠乏条件下において誘導される。この 2 つのトランスポーターは、Fur という鉄代謝に関わる調節因子によって制御されていることを発見した。また、鉄欠乏条件下において、これら排出トランスポーターが細菌の生育に必要であることが分かった。鉄は病原性細菌にとって必須の微量元素であり、細菌は効率的な鉄取り込み様式をもっている。細菌はシデロフォアとよばれる Fe^{3+} と特異的に結合する分子(キレーター)を分泌し、シデロフォア- Fe^{3+} 複合体を取り込むことにより鉄を吸収する。解析の結果、AcrD および MdtABC はシデロフォアであるエンテロバクチンを排出し、菌の鉄獲得に関与していることを発見した(図5)。病原性細菌は、宿主体内に多く存在するヘムタンパク質やトランスフェリン、ラクトフェリンなどの鉄輸送タンパク質から鉄を吸収する系など、生存のために多彩な方法で宿主から鉄を取り込む。病原細菌にとって鉄は病原性を成立させるために必須の元素であり、細菌が宿主から鉄を奪うのに対して、宿主側は細菌の鉄吸収を抑制することにより、その増殖を阻害する感染防御機構を保持している。異物排出トランスポーターによるシデロフォア排出は、宿主内において細菌が鉄を獲得するために必要であり、この機構が病原性成立に関与していることが強く示唆される。

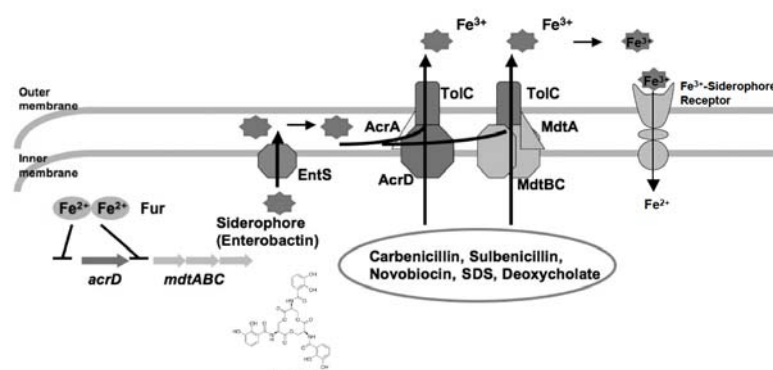


図5. 異物排出トランスポーターによる薬剤と鉄キレーター「エンテロバクチン」の排出. AcrD と MdtABC トランスポーターは、細菌の鉄ホメオスタシスに関与する Fur によって制御されている。鉄欠乏状態において、外環境に存在している鉄を獲得するための鉄キレーター「エンテロバクチン」を異物排出トランスポーターが排出しているという生理機能を発見した。

(4-B. 抗菌ペプチド耐性と LPS 構造維持における異物排出トランスポーターの役割)

抗菌ペプチドは自然免疫の重要な因子であり、両生類、昆虫、哺乳類など、様々な生物に保存されている感染防御システムである。ポリミキシン B はカチオン性抗菌ペプチドであり、細菌膜に対して傷害性がある。宿主内で、細菌が生存するためには、このような宿主からの攻撃因子に対して自身を防御しなくてはならない。サルモネラの全ての異物排出トランスポーターを欠損させた株は、野生株に比べ、ポリミキシン B への感受性が 100 倍以上高くなっていることを明らかにした(図6)。また、トランスポーター単独欠損株を用いた解析の結果、サルモネラ特異的な排出トランスポーターである MdsABC-TolC がポリミキシン B 耐性に関与していることが明らかになった。ポリミキシン B のターゲットである LPS の構造について MALDI-TOF を用いて解析した結果、サルモネラ野生株と MdsABC-TolC 欠損株との間で、LPS の lipidA 部分に構造的な違いがあることが判明した。MdsABC-TolC トランスポーターは、lipidA のリン酸基数を調整し、外膜の負電荷を軽減させ

ることにより、抗菌ペプチド耐性化に関与していることが考えられる。異物排出トランスポーターは、薬剤耐性化だけではなく、宿主の自然免疫から逃れるという生理機能を担っていることが示唆される。

(5) 異物排出活性測定デバイスの開発

これまで、異物排出活性を簡便かつ迅速に検出する手法は確立していなかった。大阪大学・産業科学研究所・野地研究室との共同研究にて、微細加工技術を駆使して異物排出活性を細菌1細胞レベルで高感度に検出する新手法を開発した。フェムトリッターチャンバーや、マイクロ流路を用いて、1細胞での高感度検出に適用することにより、10～15分で細菌の排出活性ならびに阻害剤の効果の両方を測定することに成功した。本手法を応用することで、短時間で多剤耐性菌を検出することのできる検査キットの開発や、新しい抗菌薬のスクリーニングデバイス開発につながるものと期待される。

(6) 異物排出トランスポーター阻害剤による新規治療法確立の試み

異物排出トランスポーターは多剤耐性化に関与し臨床的に問題となっていることから、その阻害剤検索は製薬企業も注目している。上記の研究から、異物排出トランスポーターは、薬剤耐性化に加えて、細菌の病原性発現にも関与していることが明らかになった。この事実から考えると、異物排出トランスポーターを阻害することにより、細菌の病原性および薬剤耐性化が軽減される可能性がある。臨床分離株を用いて調べた結果、異物排出トランスポーター阻害剤(PAβN)には、細菌の多剤耐性化を軽減させる効果があることが分かった。これまで効かないとされていた抗菌薬も阻害剤を併用することにより、感染症を治療することが可能になると思われる。すなわち、既存薬を有効に利用することが可能になる。さらに、異物排出トランスポーター阻害剤は単独で、サルモネラの細胞侵入性低下を引き起こし(大阪大学・歯学研究科・川端研究室との共同研究)、また、カイコへの致死性を減弱させる(東京大学・薬学系研究科・関水研究室との共同研究)といった、細菌病原性を軽減させる効果もあることが分かった(図7)。

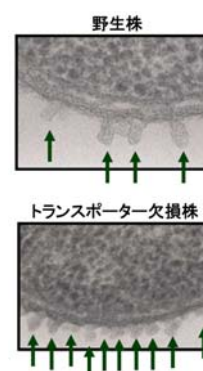


図6. 異物排出蛋トランスポーターが抗菌ペプチド耐性に与える影響. 排出トランスポーターを欠損したサルモネラは抗菌ペプチドに感受性を示す. 抗菌ペプチドで処理すると、野生株に比べて、より多くの突起状構造物(電子顕微鏡図)が外膜において観察される。

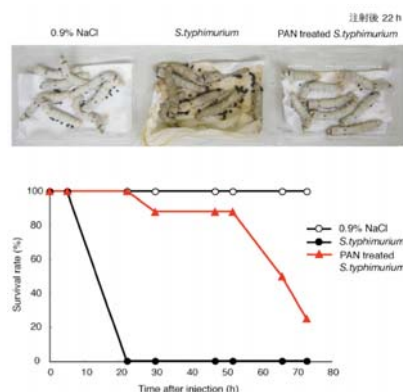


図7. 異物排出トランスポーター阻害剤(PAβN)は細菌病原性を軽減する。

5. 今後の展開

異物排出トランスポーターは、細菌の多剤耐性化と病原性発現という2つの重要な現象に関係していることから、感染症を克服するための新薬のターゲットとしても期待される。今後は、異物排出トランスポーターによる細菌機能制御に加え、宿主細胞にトランスポーターが与える影響も含めて研究を進めていきたいと考えている。細菌-宿主相互作用における異物排出トランスポーター機能をさらに明らかにすることで、感染現象を理解する上での新たな観点が生まれるものと考えている。また、本研究成果をもとに、新たな異物排出トランスポーター阻害剤探索を行うことで、薬剤耐性化と病原性を軽減させることのできる新しい感染症治療法開発に役立つものと期待される。

6. 研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Matsumoto Y, Nishino K, Biological evaluation of multidrug efflux inhibitors by femtoliter

- chamber, *Jpn. J. Chemother.*, vol. 55(A), 151 (2007)
2. Kunihiro Nishino, Physiological roles of bacterial orphan transporters, *Jpn. J. Chemother.* 55(A), 157 (2007)
 3. Kunihiro Nishino, Eiji Nikaido, Akihito Yamaguchi, Regulation of multidrug efflux systems involved in multidrug and metal resistance of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *J. Bacteriol.*, vol. 189, 9066–9075 (2007)
 4. Iino R, Nishino K, Nakata M, Nikaido E, Matsumoto Y, Sakakihara S, Takeuchi S, Yamaguchi A, Noji H, Rapid detection of drug efflux from single bacterial cell enclosed in femtoliter chamber array, *Micro Total Analysis Systems*, vol. 1, 757–759 (2007)
 5. Nikaido E, Nishino K, Yamaguchi A, Regulation mechanism of *Salmonella* AcrAB–TolC xenobiotic transport system in response to bacterial metabolites, *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, vol. 127, 27–28 (2007)
 6. Kunihiro Nishino, Yasuko Senda, Akihito Yamaguchi, The AraC–family regulator GadX enhances multidrug resistance of *Escherichia coli* by activating expression of the *mdtEF* multidrug efflux genes, *J. Infect. Chemother.*, vol. 14, 23–29 (2008)
 7. Kunihiro Nishino, Roles of drug efflux pumps in bacterial multidrug resistance and virulence–Analysis to identify novel drug targets and counteract multidrug resistance and virulence–, *The Japanese Journal of Antibiotics*, vol. 61, 105–113 (2008)
 8. Higashi K, Ishigure H, Demizu R, Uemura T, Nishino K, Yamaguchi A, Kashiwagi K, Igarashi K, Identification of a spermidine excretion protein complex (MdtJI) in *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, vol. 190, 872–878 (2008)
 9. Kunihiro Nishino, Yasuko Senda, Akihito Yamaguchi, CRP regulator modulates multidrug resistance of *Escherichia coli* by repressing expression of the *mdtEF* multidrug efflux genes, *J. Antibiot.*, vol. 61, 120–127 (2008)
 10. Kunihiro Nishino, Roles of multidrug efflux pumps in *Escherichia coli* and *Salmonella*, *Journal of Intestinal Microbiology*, vol. 22, 64 (2008)
 11. 松本佳巳, 西野邦彦, 飯野亮太, 榊原昇一, 山口明人, 野地博行, フェムトリッター (fL)–チャンバーを用いた薬剤排出活性測定法を用いたインヒビターの評価, *Jpn. J. Chemother.*, vol. 56 (A), 124 (2008)
 12. 西野邦彦, 松本佳巳, 二階堂英司, 山口明人, サルモネラ多剤排出トランスポーターの生理機能解明, *Jpn. J. Chemother.*, vol. 56, 387 (2008)
 13. Nishino K, Yamaguchi A, Physiological functions of drug efflux systems in Gram–negative bacteria: Their roles in bacterial drug resistance and virulence, *Jpn. J. Chemother.*, vol. 56, 443–452 (2008)
 14. Nishino K, Yamaguchi A, Virulence and drug resistance roles of multidrug efflux pumps in *Escherichia coli* and *Salmonella*, *Bioscience and Microflora*, vol. 27, 75–85 (2008)
 15. Hirakawa H, Takumi–Kobayashi A, Theisen U, Hirata T, Nishino K, Yamaguchi A, AcrS/EnvR represses the expression of the *acrAB* multidrug efflux genes in *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, vol. 190, 6276–6279 (2008)
 16. Nikaido E, Yamaguchi A, Nishino K, AcrAB multidrug efflux pump regulation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by RamA in response to environmental signals, *J. Biol. Chem.*, vol. 283, 24245–24253 (2008)
 17. Nishino K, Nikaido E, Sakata H, Nakano T, Tanaka M, Ueda T, Shirotsuka I, Nishino M, Yamaguchi A, Resistome analysis of bacterial transportsome, *J. Pharm. Soc. Jpn.*, vol.128, 73–74 (2008)
 18. Nishino K, Nikaido E, Yamaguchi A, Regulation and physiological function of multidrug efflux pumps in *Escherichia coli* and *Salmonella*, *BBA–Proteins and Proteomics*, vol. 1794, 834–843 (2009)
 19. Nishino K, Senda Y, Hayashi–Nishino M, Yamaguchi A, Role of the AraC/XylS family

- regulator YdeO in multidrug resistance of *Escherichia coli*, J. Antibiot. (Nature Publishing Group), vol. 62, 251–257 (2009)
20. Nishino K, Hayashi-Nishino M, Yamaguchi A, H-NS modulates multidrug resistance of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by repressing multidrug efflux genes *acrEF*, Antimicrob. Agents Chemother., vol. 19, 4687–4693 (2008)
 21. Yamada J, Yamasaki S, Hirakawa H, Hayashi-Nishino M, Yamaguchi A, Nishino K, Impact of the RNA chaperone Hfq on multidrug resistance in *Escherichia coli*, J. Antimicrob. Chemother., vol. 65, 853–858 (2010)
 22. Nishino K, Yamasaki S, Hayashi-Nishino M, Yamaguchi A, Effect of NlpE overproduction on multidrug resistance in *Escherichia coli*, Antimicrob. Agents Chemother., vol. 54, 2239–2243 (2010)

(2)特許出願

研究期間累積件数:2件

1. 発明者:飯野亮太、西野邦彦、仲田昌義、榊原昇一、山口明人、野地博行
 発明の名称:細胞検体の異物排出活性検出方法、及びその利用
 出願人:大阪大学
 出願日:2006年10月30日
2. 発明者:加藤修雄、平岡正光、大神田淳子、河野富一、山口明人、平田隆弘、西野邦彦、恵比須繁之、ポニー・エル・バスラー
 発明の名称:オートインデューサー—2受容体のモデュレーター
 出願人:大阪大学
 出願日:2007年3月6日

(3)その他の成果

(A)学会発表

1. 平田隆弘、千田靖子、正木猛、二階堂英司、西野邦彦、山口明人、大腸菌、サルモネラ菌の異物排出蛋白質の発現制御と多様な生理的役割、第3回21世紀大腸菌研究会(滋賀)(2006年10月3日)
2. 千田靖子、平川秀忠、西野邦彦、平田隆弘、山口明人、大腸菌異物排出蛋白質 MdtEF 発現誘導のカタボライト活性化機構、第3回21世紀大腸菌研究会(滋賀)(2006年10月3日)
3. 二階堂英司、西野邦彦、山口明人、細菌間情報伝達によるサルモネラ菌異物排出トランスポーター発現制御、21世紀 COE ナノバイオグループシンポジウム(大阪)(2006年10月13日)
4. 千田靖子、平田隆弘、西野邦彦、山口明人、カタボライト活性化による大腸菌異物排出蛋白質 MdtEF 発現誘導、21世紀 COE ナノバイオグループシンポジウム(大阪)(2006年10月13日)
5. 仲田昌義、飯野亮太、西野邦彦、榊原昇一、山口明人、野地博行、フェムトリットルチャンネルを用いたトランスポーター蛋白質輸送活性の1細胞測定、電気学会 バイオ・マイクロシステム研究会(大阪)(2006年10月31日)
6. 西野邦彦、異物排出トランスポーターによる細胞機能制御の解明、電気学会 バイオ・マイクロシステム研究会(大阪)(2006年10月31日)
7. 千田靖子、小林あすか、平川秀忠、稲角嘉彦、平田隆弘、西野邦彦、山口明人、GlcNAcによる大腸菌異物排出蛋白質 MdtEF の誘導機構の解析、第28回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(静岡)(2006年11月10日)
8. 千田靖子、平田隆弘、西野邦彦、山口明人、The induction of bacterial xenobiotic exporter, MdtEF, by N-acetyl-D-glucosamine is mediated via PTS system in *Escherichia coli*, 大阪大学産業科学研究所第62回学術講演会(大阪)(2006年11月24日)

9. 二階堂英司、西野邦彦、山口明人、大腸菌分泌物によるサルモネラ菌異物排出トランスポーター発現制御機構の解明、新産業創造物質基盤センター医療基盤研究 G3 グループ研究会(松島)(2006年12月1日)
10. Kunihiko Nishino, Biological functions of bacterial multidrug efflux pumps, 10th Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases, Fukuoka, Japan (2006/12/5)
11. 千田靖子、平川秀忠、平田隆弘、西野邦彦、山口明人、PTS system による大腸菌異物排出蛋白質 MdtEF 発現誘導機構、日本分子生物学会 2006 フォーラム(名古屋)(2006年12月6日)
12. 二階堂英司、西野邦彦、平田隆弘、山口明人、インドールによるサルモネラ菌異物排出トランスポーター発現制御機構、日本分子生物学会 2006 フォーラム(名古屋)(2006年12月7日)
13. 西野邦彦、細菌の病原性及び薬剤耐性制御機構の解析と創薬に関する研究、大阪大学産業科学研究所第62回学術講演会(大阪)(2006年11月24日)
14. 西野邦彦、異物排出トランスポーター生理機能の解明、新産業創造物質基盤センター医療基盤研究 G3 グループ研究会(松島)(2006年12月1日)
15. Nishino, T. Hirata, A. Yamaguchi, A biological function of multidrug transporters in iron homeostasis, 5th 21st Century COE "Towards Creating New Industries Based on Inter-Nanoscience" International Symposium, Awaji Island, Japan (2006/12/8)
16. R. Iino, M. Nakata, K. Nishino, S. Sakakihara, S. Takeuchi, A. Yamaguchi, H. Noji, Single cell measurement of drug efflux by RND family transporter in femtoliter chamber array, 5th 21st Century COE "Towards Creating New Industries Based on Inter-Nanoscience" International Symposium, Awaji Island, Japan (2006/12/8)
17. 仲田昌義、飯野亮太、西野邦彦、榊原昇一、竹内昌治、山口明人、野地博行、フェムトリットルチャンバーを用いた異物排出トランスポーター活性の1細胞測定、日本生体エネルギー研究会第32回討論会(東京)(2006年12月14日)
18. K. Nishino, Regulatory Networks of Multidrug Transporters Reveal Their Biological Functions in Cellular Physiology, Commemorative Workshop of Opening Sanken USA Branch in San Francisco -Towards Creating New Industries Based on Inter-Nanoscience-, San Francisco, USA (2006/12/16)
19. 西野邦彦、異物排出トランスポーターによる細胞機能制御の解明、新産業創造物質基盤技術研究センター(MSTeC)2006年度産業科学研究所研究成果発表会(大阪)(2007年1月31日)
20. 西野邦彦、平田隆弘、山口明人、大腸菌の薬剤耐性獲得に関する分子制御機構解明、人獣共通感染症の制圧のための技術開発研究推進評価会議(筑波)(2007年2月13-14日)
21. 西野邦彦、山口明人、細菌ゲノム生存戦略のレジストーム研究、第5回感染症沖縄フォーラム(沖縄)(2007年2月22-24日)
22. 飯野亮太、西野邦彦、マイクロ加工技術を駆使した異物排出遺伝子の網羅的スクリーニング、新産業創造指向インターナノサイエンス成果報告会(東京)(2007年3月2日)
23. 西野邦彦、異物排出トランスポーターの発現制御と生理的役割、新産業創造物質基盤技術研究センター平成18年度成果報告会(東京)(2007年3月8日)
24. Kunihiko Nishino, Virulence and drug resistance roles of multidrug efflux pumps, Workshop on Nano-Bioscience at Berkeley, University of California, Berkeley, USA (2007/3/21)
25. 西野邦彦、二階堂英司、山口明人、オーファン輸送体による細菌多剤耐性および病原性制御機構の解明、第80回日本細菌学会総会(大阪)(2007年3月26-27日)
26. 二階堂英司、西野邦彦、山口明人、異種細菌間センシングによるサルモネラ菌異物排出トランスポーター発現制御の解析、第80回日本細菌学会総会(大阪)(2007年3月

- 26-27 日)
27. 千田靖子、平田隆弘、西野邦彦、山口明人、PTS system による大腸菌異物排出蛋白質 MdtEF 発現誘導機構、第 80 回 日本細菌学会総会(大阪)(2007 年 3 月 27 日)
 28. 西野邦彦、二階堂英司、坂田博樹、山口明人、オーファントランスポーター生理機能解明、日本薬学会 第 127 年会(富山)(2007 年 3 月 30 日)
 29. 二階堂英司、西野邦彦、山口明人、異種細菌分泌物によるサルモネラ菌多剤排出トランスポーター発現制御機構の解析、日本薬学会 第 127 年会(富山)(2007 年 3 月 30 日)
 30. Nishino K, Iino R, Nakata M, Matsumoto Y, Nikaido E, Sakakihara S, Takeuchi S, Yamaguchi A, Noji H, Single cell measurement of bacterial drug efflux in femtoliter chamber array, American Society for Microbiology 107th General Meeting, Toronto, Canada (2007/5/21-25)
 31. Nikaido E, Nishino K, Yamaguchi A, Metabolites of *Escherichia coli* induce the expression of multidrug efflux pumps in *Salmonella enterica*, American Society for Microbiology 107th General Meeting, Toronto, Canada (2007/5/21-25)
 32. 松本佳巳、西野邦彦、飯野亮太、榊原昇一、仲田昌義、二階堂英司、山口明人、野地博行、竹内昌治、フェムトリッター(fL)チャンバーを用いた薬剤排出ポンプ阻害薬の評価法、第 55 回日本化学療法学会総会(仙台)(2007 年 6 月 1 - 2 日)
 33. 西野邦彦、山口明人、細菌オーファン輸送体の生理機能解明、第 55 回日本化学療法学会総会(仙台)(2007 年 6 月 1 - 2 日)
 34. 西野邦彦、多剤耐性感染症を克服する新規治療の確立、第 6 回産学官連携推進会議(京都)(2007 年 6 月 16 - 17 日)
 35. 平田隆弘、北村昭夫、西野邦彦、山口明人、大腸菌異物排出蛋白質 MacAB の極への局在、第 4 回 21 世紀大腸菌研究会(静岡)(2007 年 7 月 18 - 19 日)
 36. Nishino K, Nikaido E, Sakata H, Nakano T, Tanaka M, Yamaguchi A, Regulatory network of multidrug transporters reveals their physiological role in *Salmonella* virulence, The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, Japan (2007/9/1-5)
 37. Nikaido E, Nishino K, Yamaguchi A, Regulation mechanisms of the *acrAB* multidrug efflux pump in *Salmonella enterica* in response to bacterial metabolites, The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, Japan (2007/9/1-5)
 38. 二階堂英司、西野邦彦、坂田博樹、中濃知志、田中真奈美、山口明人、細菌代謝物によるサルモネラ菌異物排出トランスポーターAcrAB 発現誘導機構の解析、第 19 回微生物シンポジウム(東京)(2007 年 9 月 7 - 8 日)
 39. 松本佳巳、西野邦彦、飯野亮太、榊原秀一、仲田昌義、野地博行、山口明人、フェムトリッターチャンバーを用いた薬剤排出ポンプの研究、第 19 回微生物シンポジウム(東京)(2007 年 9 月 7 - 8 日)
 40. Matsumoto Y, Nishino K, Iino R, Sakakihara M, Nakata M, Noji H, Yamaguchi A, Visualization of *Escherichia coli* AcrAB-TolC efflux pump activity using ultra small chambers, 47th ICAAC, Chicago, USA (2007/9/18)
 41. Iino R, Nishino K, Nakata M, Nikaido E, Sakakihara S, Takeuchi S, Yamaguchi A, Noji H, Rapid detection of drug efflux from single bacterial cells enclosed in femtoliter chamber array, The 11th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, Paris, France (2007/10/7-11)
 42. 西野邦彦、松本佳巳、サルモネラ菌多剤排出トランスポーターの生理機能解明、第 55 回日本化学療法学会西日本支部総会(神戸)(2007 年 10 月 30 日)
 43. 松本佳巳、西野邦彦、フェムトリッターチャンバーを用いた薬剤排出ポンプの活性測定、第 55 回日本化学療法学会西日本支部総会(神戸)(2007 年 10 月 30 日)
 44. 西野邦彦、細菌多剤耐性化と病原性発現における薬剤排出ポンプの役割に関する研究-多剤耐性化と病原性を軽減させる新薬ターゲットの解析-、第 9 回日本抗生物質学術協議会奨励賞授賞式(東京)(2007 年 11 月 8 日)

45. 二階堂英司、西野邦彦、山口明人、細菌代謝物によるサルモネラ菌異物排出トランスポーターAcrAB-TolC システム発現制御機構の解析、第 29 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(仙台)(2007 年 11 月 26 日)
46. 東恭平、石樽博之、出水梨沙、植村武史、戸井田敏彦、柏木敬子、西野邦彦、山口明人、五十嵐一衛、大腸菌における新規ポリアミン排出蛋白質の同定、BMB2007(横浜)(2007 年 12 月 11 日)
47. 西野邦彦、細菌薬剤耐性化と病原性発現における薬剤排出トランスポーターの役割、BMB2007(横浜)(2007 年 12 月 13 日)
48. 二階堂英司、西野邦彦、山口明人、サルモネラ菌異物排出トランスポーターAcrAB 発現誘導機構の解析、BMB2007(横浜)(2007 年 12 月 14 日)
49. 坂田博樹、西野邦彦、山口明人、サルモネラ菌異物排出トランスポーターEmrAB の機能解析、BMB2007(横浜)(2007 年 12 月 14 日)
50. 王麗媛、平田隆弘、平川秀忠、西野邦彦、山口明人、大腸菌バイオフィルム形成機構に関与する新規遺伝子産物に関する研究、BMB2007(横浜)(2007 年 12 月 14 日)
51. 平川秀忠、Ulrike Theisen、小林あすか、平田隆弘、西野邦彦、山口明人、The regulatory mechanism of the AcrAB and AcrEF multidrug exporter system by AcrS, in *Escherichia coli*, BMB2007(横浜)(2007 年 12 月 14 日)
52. 仲田昌義、飯野亮太、西野邦彦、二階堂英司、松本佳巳、榊原昇一、竹内昌治、山口明人、野地博行、Single cell measurement of efflux activity of multidrug transporters enclosed in femtoliter chamber array、第 45 回生物物理学会年会(横浜)(2007 年 12 月 21 - 23 日)
53. Nikaido E, Nishino K, Yamaguchi A, Regulation mechanism of the AcrAB multidrug efflux pump in *Salmonella enterica* in response to bacterial metabolites and bile, 11th Sanken, 6th Nanotechnology Center and 1st MSTE International Symposium, Awaji Island (2008/2/4-5)
54. Kunihiro Nishino, Akihito Yamaguchi, Physiological functions of bacterial multidrug efflux pumps, The 3rd CNU-SANKEN Joint Symposium on Advanced Materials Science, Chungnam National University, Korea (2008/2/27)
55. Nishino K, Phenotypic analysis of multidrug efflux pumps - not just for multidrug resistance, Florence Conference on Phenotype MicroArray Analysis of Microorganisms, Florence, Italy (2008/3/19-21)
56. Nakano K, Nishino K, Yamaguchi A, Roles of multidrug efflux pumps in antimicrobial peptide resistance of *Salmonella enterica*, Florence Conference on Phenotype MicroArray Analysis of Microorganisms, Florence, Italy (2008/3/19-21)
57. Nikaido E, Nishino K, Yamaguchi A, Regulatory network of AcrAB multidrug efflux pump in *Salmonella* and its role in response to metabolites, Florence Conference on Phenotype MicroArray Analysis of Microorganisms, Florence, Italy (2008/3/19-21)
58. 西野邦彦、サルモネラ菌薬剤排出ポンプの生理機能 - 多剤耐性および病原性発現における役割について -、第 81 回日本細菌学会総会(京都)(2008 年 3 月 24 日)
59. 平川秀忠、西野邦彦、平田隆弘、山口明人、異物排出蛋白質発現抑制因子 AcrS の機能解明と AcrAB, AcrEF の発現制御、第 81 回日本細菌学会総会(京都)(2008 年 3 月 24 日)
60. 坂田博樹、西野邦彦、山口明人、サルモネラ異物排出トランスポーターEmrAB の機能解析、第 81 回日本細菌学会総会(京都)(2008 年 3 月 24 日)
61. 二階堂英司、西野邦彦、山口明人、サルモネラ異物排出トランスポーターAcrAB 生理的役割と発現誘導機構の解析、第 81 回日本細菌学会総会(京都)(2008 年 3 月 24 日)
62. 西野邦彦、二階堂英司、山口明人、金属耐性におけるサルモネラ菌多剤排出トランスポーターの役割、日本薬学会第 128 年会(横浜)(2008 年 3 月 28 日)
63. 坂田博樹、西野邦彦、山口明人、サルモネラ異物排出トランスポーターAcrAB 制御因

- 子の同定、日本薬学会第 128 年会(横浜)(2008 年 3 月 28 日)
64. 二階堂英司、西野邦彦、山口明人、サルモネラ異物排出トランスポーターAcrAB 制御因子の同定、日本薬学会第 128 年会(横浜)(2008 年 3 月 28 日)
 65. 平田隆弘、北村昭夫、西野邦彦、山口明人、大腸菌薬剤排出タンパク質の細胞内局在、日本薬学会第 128 年会(横浜)(2008 年 3 月 28 日)
 66. 西野邦彦、排出機構—多剤耐性化と病原因子のキー・プレイヤー、第 82 回日本感染症学会総会(島根)(2008 年 4 月 17 日)
 67. Nikaido E, Nishino K, Yamaguchi A, Regulation of the AcrAB multidrug efflux pump in *Salmonella enterica* by RamA in response to environmental signals, American Society for Microbiology 108th General Meeting, Boston (2008/6/1-5)
 68. Nishino K, Yamaguchi A, Regulatory network of multidrug transporters reveals their physiological role in *Salmonella* virulence, American Society for Microbiology 108th General Meeting, Boston (2008/6/1-5)
 69. 西野邦彦、大腸菌とサルモネラにおける薬剤排出ポンプ役割解明に関する研究(受賞講演)、第 12 回腸内細菌学会(東京)(2008 年 6 月 12 日)
 70. Nishino K, Yamaguchi A, Regulatory network of multidrug efflux pumps reveals their physiological role in *Salmonella* virulence, Gordon Research Conference, MA, USA (2008/7/6-11)
 71. 二階堂英司、西野邦彦、山口明人、サルモネラ異物排出トランスポーターAcrAB の発現制御と環境応答における RamA の役割、第 2 回細菌学・若手コロッセウム(湘南)(2008 年 8 月 3 日)
 72. 坂田博樹、西野邦彦、山口明人、膜傷害保護における異物排出トランスポーターの役割、第 30 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(札幌)(2008 年 8 月 7 日)
 73. 西野美都子、Eileen O' Toole, Shawn Ferguson, 西野邦彦、山口明人、Pietro De Camilli、電子線トモグラフィーを用いたダイナミン 1KO シナプスにおけるエンドサイトーシ中間体の解析、第 30 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(札幌)(2008 年 8 月 7 日)
 74. 西野邦彦、二階堂英司、坂田博樹、中濃知志、田中真奈美、西野美都子、上田珠美、城阪郁枝、山口明人、細菌トランスポートソームのレジストーム解析、第 30 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(札幌)(2008 年 8 月 8 日)
 75. Nishino K, Nikaido E, Yamaguchi A, AcrAB multidrug efflux pump regulation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by RamA in response to environmental signals, The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, Japan (2008/9/10)
 76. 小川美保、市村禎宏、霧島正治、西野邦彦、松本佳巳、山口明人、サルモネラの薬剤感受性における多剤排出ポンプの関与、第 37 回薬剤耐性菌研究会(群馬)(2008 年 9 月 12 日)
 77. 葉山治平、松本佳巳、飯野亮太、西野邦彦、野地博行、山口明人、能動的に取り込まれた Fluoresein-s-D-galactopyranoside(FDG)を排出する大腸菌の RND 排出ポンプ、第 37 回薬剤耐性菌研究会(群馬)(2008 年 9 月 12 日)
 78. 中濃知志、西野邦彦、山口明人、抗菌ペプチド耐性における多剤排出ポンプの役割、第 61 回日本細菌学会関西支部総会(京都)(2008 年 11 月 8 日)
 79. 松本佳巳、西野邦彦、飯野亮太、野地博行、山口明人、多剤耐性緑膿菌(MDRP)における *mexB*, *mexY* および *oprD* の発現量、第 56 回日本化学療法学会西日本支部総会(広島)(2008 年 12 月 7 日)
 80. 小川美保、市村禎宏、霧島正浩、西野邦彦、松本佳巳、山口明人、サルモネラ薬剤感受性に対する多剤排出ポンプインヒビターPhe-Arg β -naphthylamide (PAN)の影響、第 56 回日本化学療法学会西日本支部総会(広島)(2008 年 12 月 7 日)
 81. 二階堂英司、西野邦彦、城阪郁江、山口明人、RamA によるサルモネラ異物排出トランスポーターAcrAB 発現制御機構の解析、BMB2008 (神戸)(2008 年 12 月 11 日)
 82. Nishino K, Yamaguchi A, Regulatory network of multidrug transporters reveals their

- physiological role in *Salmonella* virulence, BMB2008 (神戸) (2008年12月11日)
83. 坂田博樹、西野邦彦、上田珠美、山口明人、膜傷害保護における異物排出トランスポーターの役割、BMB2008 (神戸) (2008年12月11日)
 84. 中濃知志、西野邦彦、山口明人、抗菌ペプチド耐性における多剤排出ポンプの役割、BMB2008 (神戸) (2008年12月11日)
 85. Shirosaka I, Nikaido E, Nishino K, Yamaguchi A, AcrAB multidrug efflux pump regulation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in response to indole, The 12th Sanken International Symposium, Osaka, Japan (2009/1/22)
 86. Nishino K, Roles of drug efflux pumps in bacterial multidrug resistance and virulence, 3rd Annual Japanese-French Frontiers of Science Symposium, Kanagawa, Japan (2009/1/24-26)
 87. 松本佳巳、葉山浩平、西野邦彦、飯野亮太、野地博行、山口明人、緑膿菌における *mexB*, *mexY* および *oprD* の発現量と薬剤感受性、第 43 回緑膿菌感染症研究会 (京都) (2009年2月6-7日)
 88. 西野邦彦、坂田博樹、二階堂英司、城阪郁江、西野美都子、松本佳巳、松本靖彦、垣内力、関水久、山口明人、宿主免疫回避におけるサルモネラ薬剤排出ポンプの生理的役割、第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋) (2009年3月12-14日)
 89. 二階堂英司、城阪郁江、山口明人、西野邦彦、サルモネラ異物排出トランスポーター AcrAB 発現制御機構の解析、第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋) (2009年3月12-14日)
 90. 城阪郁江、二階堂英司、山口明人、西野邦彦、インドールによるサルモネラ異物排出トランスポーター AcrAB 発現制御機構の解析、第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋) (2009年3月12-14日)
 91. 坂田博樹、西野邦彦、西野美都子、寺尾豊、川端重忠、山口明人、細胞侵入と細胞内増殖におけるサルモネラ異物排出トランスポーターの役割、第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋) (2009年3月12-14日)
 92. 松本佳巳、西野邦彦、山口明人、AcrAB-TolC exported energy-dependently permeated Fluorescein-di- β -D-galactopyranoside、第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋) (2009年3月12-14日)
 93. Nishino K, Physiological functions of multi-drug efflux systems in *S. enterica*, Gordon Research Conference on Multi-Drug Efflux Systems, Texas, USA (2009/3/23)
 94. Nikaido E, Yamaguchi A, Nishino K, Microarray analysis of *Salmonella enterica* during exposure to environmental signals reveals new targets of the RamA regulatory protein, American Society for Microbiology 109th General Meeting, Philadelphia, USA (2009/5/19)
 95. 城阪郁江、二階堂英司、中島良介、山口明人、西野邦彦、サルモネラ異物排出トランスポーター AcrAB 誘導に関する RamA および RamR の解析、第 9 回日本蛋白質科学会年会 (熊本) (2009年5月20-22日)
 96. Nishino K, Unexpected role of multidrug efflux pumps in *Salmonella* virulence, 3rd Symposium on Antimicrobial Resistance in Animals and the Environment, Tours, France (2009/6/2)
 97. 西野邦彦、新たな創薬ターゲットとしての薬剤排出ポンプ、第 57 回日本化学療法学会総会 (東京) (2009年6月4日)
 98. 松本佳巳、西野邦彦、飯野亮太、野地博行、山口明人、排出ポンプ阻害活性と膜傷害作用の分離評価、第 57 回日本化学療法学会総会 (東京) (2009年6月5日)
 99. 田中真奈美、川下理日人、高木達也、安永照雄、山口明人、西野邦彦、大腸菌 RND 型薬剤排出ポンプの進化、第 11 回日本進化学会大会 (札幌) (2009年9月3日)
 100. Nishino K, Yamaguchi A, Roles of xenobiotic transporters in bacterial drug resistance and virulence, The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Island, Japan

(2009/9/8-11)

101. Matsumoto Y, Hayama K, Iino R, Nishino K, Noji H, Yamaguchi A, Membrane-damaging activity of Phe-Arg-⁻-Naphthylamide in *Escherichia coli*, Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, USA (2009/9/12-15)
102. 西野邦彦、薬剤輸送と病原性発現に關与する膜蛋白質機能の解明、花王芸術・科学財団花王研究奨励賞受賞講演(東京)(2009年6月1日)
103. Nishino K, Function and regulation of multidrug efflux pumps in *E. coli* and *Salmonella*, School of Biological Sciences Seminar at the University of Hong Kong, Hong Kong (2009/8/28)
104. 西野邦彦、感染時における細菌および宿主防御システム動作原理の解明(病態代謝研究会最優秀理事長賞受賞講演)、病態代謝研究会第40回研究報告会(東京)(2009年10月17日)
105. 上田珠美、西野美都子、山口明人、西野邦彦、異物排出トランスポーターによる宿主免疫回避機構の解明、第82回日本生化学会大会(神戸)(2009年10月22日)
106. 城阪郁江、二階堂英司、山口明人、西野邦彦、Effects of lipoprotein overproduction on the induction of xenobiotic transporters involved in multidrug resistance in *Salmonella enterica*、第82回日本生化学会大会(神戸)(2009年10月22日)
107. 西野邦彦、山口明人、Roles of xenobiotic transporters in bacterial drug resistance and virulence、第82回日本生化学会大会(神戸)(2009年10月22日)
108. 二階堂英司、城阪郁江、中島良介、山口明人、西野邦彦、外部シグナルによる RamA を介したサルモネラ遺伝子発現制御機構の解析、第82回日本生化学会大会(神戸)(2009年10月24日)
109. 二階堂英司、城阪郁江、中島良介、山口明人、西野邦彦、外部シグナルによるサルモネラ異物排出トランスポーターAcrAB 発現制御メカニズム解析、第3回細菌学・若手コロッセウム(宮崎)(2009年10月26-28日)
110. 西野邦彦、二階堂英司、松本佳巳、山口明人、サルモネラ多剤排出トランスポーターの生理機能解明(日本化学療法学会西日本支部長賞受賞講演)、第57回日本化学療法学会西日本支部総会(名古屋)(2009年11月28日)
111. 西野邦彦、Virulence and drug resistance roles of bacterial multidrug efflux systems、第31回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(大阪)(2009年11月30日)
112. 二階堂英司、城阪郁江、中島良介、山口明人、西野邦彦、Regulation mechanism of *Salmonella* AcrAB multidrug efflux pump in response to extracellular signals、第31回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(大阪)(2009年11月30日)
113. Nishino K, Physiological functions of multidrug efflux pumps in *Salmonella*, Japan-Korea International Symposium on Microbiology, Yokohama, Japan (2010/3/26)
114. 二階堂英司、城阪郁江、中島良介、山口明人、西野邦彦、サルモネラ異物排出トランスポーターAcrAB の発現制御ネットワーク解析、第83回細菌学会総会(横浜)(2010年3月27日)
115. Nishino K, Virulence and drug resistance roles of multidrug efflux systems in *Salmonella enterica*, American Society for Microbiology 110th General Meeting, San Diego, USA (2010/5/23-27)

(B)受賞

1. 日本抗生物質学術協議会奨励賞(H19.11)
2. 日本化学療法学会西日本支部支部長賞(H20.1)
3. 文部科学大臣表彰若手科学者賞(H20.4)
4. 日本ビフィズス菌センター研究奨励賞(H20.6)
5. 日本化学療法学会上田泰記念感染症・化学療法研究奨励賞(H20.6)
6. 国立大学法人大阪大学教育・研究功労賞(H21.2)
7. 花王芸術・科学財団花王研究奨励賞(H21.6)

8. 病態代謝研究会最優秀理事長賞(H19.8)

(C) 著作物

1. Senda Y, Kobayashi A, Hirakawa H, Hirata T, Nishino K, Yamaguchi A, N-Acetyl-D-glucosamine induces the expression of multidrug exporter genes, *mdtEF*, in *Escherichia coli*; *Yakugaku Zasshi*, vol. 126, suppl. 4, 134-135 (2006)
2. 西野邦彦, 薬剤耐性と病原性発現における異物排出トランスポーターの役割, *日本臨床 新感染症学 上巻-新時代の基礎・臨床研究-65 巻 増刊号 2*, 407-414 (2007)
3. 西野邦彦, 期待の抗生物質研究, *科学新聞*, 2007年11月16日 第3170号(2)
4. Kunihiko Nishino, Roles of efflux pumps in bacterial virulence and multidrug resistance, *Antibiotics & Chemotherapy*, vol. 24, 354-362 (2008)
5. Kunihiko Nishino, Akihito Yamaguchi, Role of xenobiotic transporters in bacterial drug resistance and virulence, *IUBMB Life*, vol. 60, 569-574 (2008)
6. 二階堂英司, 城阪郁江, 山口明人, 西野邦彦, サルモネラ多剤耐性化に関与する多剤排出トランスポーターAcrAB誘導機構の解析, *臨床薬理の進歩*, vol. 30, 77-84 (2009)
7. 西野邦彦, 薬剤輸送と病原性発現に関与する膜蛋白質機能の解明, *表面*, vol. 47, 235-245 (2009)