

平成12年度

厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)

輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と  
発生動向調査に関する研究

研 究 報 告 書

平成13年4月

主任研究者 上原 至雅

(国立感染症研究所生物活性物質部長)

目 次

|  |     |
|--|-----|
| 総括研究報告書：輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究           |     |
| 上原 至雅（国立感染症研究所）                                    | 1   |
| 分担研究報告書：新しい抗真菌剤の探索                                 |     |
| 上原 至雅、新見 昌一（国立感染症研究所）                              | 33  |
| 分担研究報告書：輸入真菌症の発生動向調査                               |     |
| 亀井 克彦（千葉大学真菌医学研究センター）                              | 36  |
| 分担研究報告書：日和見真菌および新興真菌による真菌症の分子疫学的調査と予防・治療法の開発に関する研究 |     |
| 菊池 賢（東京女子医科大学）                                     | 45  |
| 分担研究報告書：輸入真菌症および日和見真菌症の迅速診断法の開発                    |     |
| 榎村 浩一（帝京大学医真菌研究センター）                               | 48  |
| 分担研究報告書：真菌感染成立に関与する Myeloperoxidase                |     |
| 鈴木 和男（国立感染症研究所）                                    | 64  |
| 分担研究報告書：抗真菌剤耐性機構の解明と排出ポンプ阻害剤の探索                    |     |
| 新見 昌一（国立感染症研究所）                                    | 69  |
| 《研究協力者による研究報告書》                                    |     |
| 輸入真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究                       |     |
| 岡部 信彦（国立感染症研究所感染症情報センター）                           | 75  |
| 微生物資源としての菌類  |     |
| 奥田 徹、沖 俊一（玉川大学学術研究所）                               | 78  |
| 後天性免疫不全症候群(AIDS)における真菌症に関する病理学的研究                  |     |
| 渋谷 和俊（東邦大学医学部大橋病院）                                 | 81  |
| 住環境にみる真菌とその生態                                      |     |
| 高鳥 浩介（国立医薬品食品衛生研究所）                                | 88  |
| 剖検からみた深在性真菌症の発生状況に関する観察                            |     |
| 直江 史郎（東邦大学医学部大橋病院）                                 | 92  |
| 放線菌の特定菌種に特異な遺伝子の迅速検出に関する研究                         |     |
| 堀田 国元（国立感染症研究所）                                    | 96  |
| 石川 淳、土崎 尚史（共同研究者）                                  |     |
| 本邦における <i>Nocardia</i> 症の原因菌の分類同定に関する研究            |     |
| 三上 襄（千葉大学真菌医学研究センター）                               | 102 |
| エイズ患者の口腔内における <i>Candida flora</i> の変遷             |     |
| 宮治 誠（千葉大学真菌医学研究センター）                               | 107 |
| 国内の抗真菌薬の現状と新規抗真菌薬の開発状況                             |     |
| 八木澤 守正（財団法人日本抗生物質学術協議会）                            | 112 |
| わが国における抗真菌薬の現状と将来に関する資料文献収集及び分析                    |     |
| 山口 英世（帝京大学医真菌研究センター）                               | 122 |

平成12年度 厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)  
「輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究」班員名簿

| 区 分    | 氏 名    | 所 属                      | 職 名   |
|--------|--------|--------------------------|-------|
| 主任研究者  | 上原 至雅  | 国立感染症研究所・生物活性物質部         | 部長    |
| 分担研究者  | 亀井 克彦  | 千葉大学真菌医学研究センター           | 助教授   |
| 分担研究者  | 菊池 賢   | 東京女子医科大学医学部・中央検査部・感染対策室  | 講師    |
| 分担研究者  | 楨村 浩一  | 帝京大学医真菌研究センター            | 講師    |
| 分担研究者  | 鈴木 和男  | 国立感染症研究所・生物活性物質部・生体防御物質室 | 室長    |
| 分担研究者  | 新見 昌一  | 国立感染症研究所・生物活性物質部・抗生物質室   | 室長    |
| 研究協力者  | 大川原 明子 | 国立感染症研究所・生物活性物質部・生体防御物質室 | 研究員   |
| 研究協力者  | 岡部 信彦  | 国立感染症研究所・感染症情報センター       | センター長 |
| 研究協力者  | 沖 俊一   | 玉川大学学術研究所・応用生命科学研究施設     | 客員教授  |
| 研究協力者  | 奥田 徹   | 玉川大学学術研究所・応用生命科学研究施設     | 教授    |
| 研究協力者  | 渋谷 和俊  | 東邦大学医学部附属大橋病院・病理学講座      | 助教授   |
| 研究協力者  | 高鳥 浩介  | 国立医薬品食品衛生研究所・衛生微生物部      | 室長    |
| 研究協力者  | 直江 史郎  | 東邦大学医学部附属大橋病院・病理学講座      | 教授    |
| 研究協力者  | 深澤 秀輔  | 国立感染症研究所・生物活性物質部・増殖制御物質室 | 室長    |
| 研究協力者  | 堀田 国元  | 国立感染症研究所・生物活性物質部・遺伝生化学室  | 室長    |
| 研究協力者  | 三上 襄   | 千葉大学真菌医学研究センター           | 教授    |
| 研究協力者  | 宮治 誠   | 千葉大学真菌医学研究センター           | 教授    |
| 研究協力者  | 八木澤 守正 | 日本抗生物質学術協議会              | 常務理事  |
| 研究協力者  | 山口 英世  | 帝京大学医真菌研究センター            | 所長    |
| オブザーバー | 奥平 雅彦  | 北里大学                     | 名誉教授  |

平成12年度厚生科学研究費補助金  
新興・再興感染症研究事業

総括研究報告書

|  |    |
|--|----|
| ・ 輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に<br>関する研究 | 1  |
| ・ 深在性真菌症の発生動向に関するアンケート調査               | 9  |
| 深在性真菌症に対する一般的事項（アンケートA）                | 11 |
| 真菌血症の発生状況と分離真菌の動向（アンケートB）              | 23 |
| アンケート協力施設一覧                            | 30 |

主任研究者

上原至雅 国立感染症研究所生物活性物質部長

平成 12 年度厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)  
総括研究報告書

「輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究」

主任研究者 上原至雅 国立感染症研究所 部長

研究要旨：輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と深在性真菌症の発生動向を把握するために、1) 深在性真菌症に対する意識調査および真菌血症の発生状況と分離真菌の動向を知るためのアンケート調査、2) 輸入真菌症の発生動向調査：国内発生数の調査及び疾患・地域毎の発生状況と感染経路の把握、3) 輸入真菌症の診断・治療法の開発：国外の流行地域における予防、診断、治療法の調査と、国内で可能な診断・治療法の導入および開発、4) 深在性真菌症の発生動向調査：国内で発生する深在性真菌症発生動向のサーベイランス、5) 深在性真菌症診断法と適用の評価、ならびに新規遺伝子診断法の開発、6) MPO 機能低下ヒトおよびマウスの好中球を用いた真菌感染抵抗性の解析、7) アゾール系抗真菌剤に対する耐性機構の解明と新しい抗真菌剤の探索に関する研究を行った。

分担研究者：

亀井克彦 千葉大学真菌医学研究センター  
助教授  
菊池 賢 東京女子医科大学医学部中央検査  
部感染対策科講師  
横村浩一 帝京大学医真菌研究センター講師  
鈴木和男 国立感染症研究所 室長  
新見昌一 国立感染症研究所 室長

に対する医療に関する法律」において、コクシジオイデス症が四類感染症に規定された。これは本疾患に代表される真菌感染症の医療行政上の法律の重要性が認識されたことを反映するものといえよう。

これらの真菌感染症においては一般に培養検査による診断が困難なものが多く、血清学的診断法や遺伝子診断法などの迅速かつ高感度の診断法の開発が待たれている。特に PCR 法による遺伝子診断と DNA プローブを用いた分離菌の同定は今後の開発の中心となることが予想されるが、これらのシステムが実用化するまでにはまだ多くの問題が残されている。遺伝子レベルにおける真菌の病原因子の探索や生体との相互作用についてもほとんど未解明である。一方、深在性真菌症に対する有効な抗真菌剤の種類は少なく、現在頻用されているアンホテリシン B あるいはフルコナゾールなどのアゾール系抗真菌剤は安全性や有効性の点で限界があり、さらに耐性菌の出現によって真菌感染症の治療が将来一層困難になることが危惧されている。

以上のように真菌感染症に対する適切な対

#### A. 研究目的

今日、カンジダ症、アスペルギルス症、クリプトコッカス症などの深在性真菌感染症の発生率がエイズ、悪性腫瘍など易感染患者を中心に多発しており、高度医療に伴う日和見感染として極めて憂慮すべき状況にある。また国際交流が益々盛んになるにつれて、国内にはない感染症にかかる可能性がでてくるのは避けがたく、事実、致命率の高いコクシジオイデス症を始め、ヒストプラズマ症やバラコクシジオイデス症などのいわゆる輸入真菌症が国内に侵入した事例がすでに報告されている。そのような状況下で平成 11 年 4 月に施行された「感染症の予防及び感染症の患者

応策は緊急の課題となっている。そこで本研究事業では深在性真菌症ならびに輸入真菌症の診断と治療に関わる諸問題を解決するための臨床および基礎の両面にわたる研究を企画した。研究全体としては、わが国の深在性真菌症および輸入真菌症患者の発生動向のサーベランスおよびレファレンスシステムを確立し、新しい遺伝子診断法、薬剤耐性機構の解明および有効な治療法と新しい抗真菌剤の開発につながる基礎研究を計画した。

我が国における深在性真菌症に関する発生状況等の疫学調査はこれまで活発には行われてこなかった。そこで深在性真菌症に対する医療従事者の意識調査を行うとともに、国内でのおおまかな発生状況を知るために、調査および評価が比較的容易な真菌血症に焦点を絞ったアンケート調査を行うことにした。輸入真菌症については海外における流行状況と国内発生状況、さらにわが国と流行地域との国際交流の調査を行った。一方、新しい診断法、薬剤耐性機構の解明および治療法の開発につながる基礎研究については、現行の診断法の適用と評価、および新規遺伝子診断法の設計、MPO 機能低下マウスを用いた好中球関与の真菌感染抵抗性の解析および薬剤耐性に関わる真菌の排出ポンプの機能解析と新しい抗真菌剤の探索を行った。

## B. 研究方法

1. 本研究は主任ならびに分担研究者6名に加えて、研究協力者として、大川原明子 国立感染症研究所研究員、岡部信彦 国立感染症研究所感染症情報センター部長、沖 俊一 玉川大学学術研究所客員教授、奥田 徹 玉川大学学術研究所教授、渋谷和俊 東邦大学医学部助教授、高鳥浩介 国立医薬品食品衛生研究所室長、直江史郎 東邦大学医学部教授、深澤秀輔 国立感染症研究所室長、堀田国元 国立感染症研究所室長、三上襄 千葉大学真核微生物研究センター教授、宮治誠 千

葉大学真核微生物研究センター教授、八木澤守正 日本抗生物質学術協議会常務理事、山口英世 帝京大学医真菌研究センター教授の13名および奥平雅彦 北里大学名誉教授をオブザーバーとして迎え、研究チームを拡大・編成した。第1回班会議は平成12年7月12日(18名参加)に行い、今後の研究事業の進め方について討議し、特に深在性真菌症の発生動向調査のためのアンケート調査の方法について議論した。第2回班会議は平成12年9月1日に行い(9名出席)、発生動向調査の具体化に向けてアンケート作りを行い、アンケートAは深在性真菌症に対する意識調査とし、アンケートBは真菌血症の発生状況と分離真菌の動向調査を行うことにした。アンケート調査表は平成12年10月始めに全国509病院に郵送した。第3回班会議は平成12年11月16日に行い(12名出席)、発生動向調査のアンケート解析を行った。第4回班会議は平成13年1月18日に行い(19名出席)、発生動向調査のアンケートAおよびBの解析結果を発表するとともに、主任、分担研究者ならびに研究協力者の活動報告を行った。

2. 輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する各分担研究を行った。各分担研究課題は次のとおりである。
  - 1) 新しい抗真菌剤の探索(担当:上原至雅、新見昌一 国立感染症研究所)
  - 2) 輸入真菌症の発生動向調査(担当:亀井克彦 千葉大学真菌医学研究センター)
  - 3) 日和見真菌および新興真菌による真菌症の分子疫学的調査と予防・治療法の開発に関する研究(担当:菊池賢 東京女子医科大学医学部中央検査部感染対策科)
  - 4) 輸入真菌症および日和見真菌症の迅速診断法の開発(担当:榎村浩一 帝京大学

医真菌研究センター)

- 5) 真菌感染成立に関与する Myeloperoxidase (担当: 鈴木和男 国立感染症研究所)
- 6) 抗真菌剤耐性機構の解明と排出ポンプ阻害剤の探索 (担当: 新見昌一 国立感染症研究所)

### C. 研究結果

1. 深在性真菌症に対する意識調査および真菌血症の発生状況と分離真菌の動向 (担当: 上原至雅、亀井克彦、菊池賢、榎村浩一、鈴木和男、新見昌一)

アンケート A および B の調査結果を本総括研究報告書の末尾に添付した。

2. 新しい抗真菌剤の探索 (担当: 上原至雅、新見昌一)

玉川大学学術研究所奥田徹教授より分与された糸状菌培養抽出物 960 検体をスクリーニングに供し、フルコナゾール存在下で真菌の増殖阻害活性の有無をしらべた。スクリーニングの評価系としてはアゾール剤耐性の *Saccharomyces cerevisiae* OE 株 (Pdr5p 過剰発現) およびアゾール剤耐性臨床分離株 *Candida albicans* B59630 株 (Cdr1p と Cdr2p ポンプが発現亢進)、フルコナゾール自然耐性の *C. krusei* IFO 0011 株を用いた。その結果、いくつかのサンプルがフルコナゾール存在下でこれらのアゾール剤耐性真菌の増殖を阻害した。

3. 輸入真菌症の発生動向調査 (担当: 亀井克彦)

- 1) 輸入真菌症の発生動向調査: 国内発生数の調査及び疾患・地域毎の発生状況と感染経路の把握および海外の流行状況

主要な輸入真菌症について、日本国内における発生状況を調査し、海外での多発地域における流行状況も現地医療機関と協力して検討した。

日本国内で診断または治療された輸入真菌症は、コクシジオイデス症27例、ヒストプラズマ症30例、パラコクシジオイデス症13例であり、マルネツフェイ型ベニシリウム症も1例が確認された。コクシジオイデス症、ヒストプラズマ症、パラコクシジオイデス症はいずれも近年急増しており、AIDSの蔓延とともに今後も増加することが予想された。コクシジオイデス症はほとんどが米国(主にアリゾナ、カリフォルニア)で感染していた。海外渡航歴のない症例はいずれも輸入綿花の取扱者であり、輸入した綿花に付着していたコクシジオイデスの胞子を吸入することによって感染したものと推測された。ヒストプラズマ症は、海外で集団で感染して帰国する例が大部分を占めたが、海外渡航歴がない症例もあった。パラコクシジオイデス症はブラジルでの感染例が大部分を占めた。コクシジオイデス症は、日本人が流行地に一時的に滞在した際に感染したと考えられ、パラコクシジオイデス症は、ほとんどが日本在住のブラジル人あるいは日系ブラジル人に発生したものであった。

海外の流行状況については、コクシジオイデス症が米国カリフォルニア州およびアリゾナ州でも増加しており、特にアリゾナ州では患者が激増していた。肺に限局した輸入真菌症例が多かったが、パラコクシジオイデス症はすべての症例で肺外への進展が認められた。死亡率については、ヒストプラズマ症ではAIDSなど重篤な基礎疾患を有していた症例が多く、最も高かった。コクシジオイデス症は重篤な基礎疾患を持った症例が無かったため比較的low率であった。パラコクシジオイデス症では死亡例は認められなかった。我が国の医療機関は輸入真菌症に対する認識が乏しく、予防、診断、治療など疾患に関する知識や技術面での対応が

ど疾患に関する知識や技術面での対応が遅れているので、今後早急な対策が必要である。

2) 輸入真菌症起因菌の迅速同定システムの研究（楨村浩一との共同研究）後述。

4. 日和見真菌および新興真菌による真菌症の分子疫学的調査と予防・治療法の開発に関する研究（担当：菊池 賢）

アンケート調査 B の解析を試みた。過去 5 年間の血液培養数、培養陽性件数は年々増え続けており、両者の増加率はほぼ同じであった。一方、真菌陽性件数は増加していたが、前 2 者に比べて、増加率は緩やかであった。従って、血液培養陽性中の真菌血症の比率は、年々減少していることが伺われた。各施設では血液培養自動検出システムの導入が近年急速に進んでおり、従来のマニュアル検出法は用いられなくなっている。マニュアル検出法の減少と全血液培養陽性件数に占める真菌陽性数の減少が一致していた。

近年、深在性真菌症の増加が指摘されているが、今回の調査から真菌血症が減少傾向にあるという矛盾した結果が得られた。その理由の一つとしては、血液培養自動検出システムが普及したため、一般細菌の培養効率が上がり、細菌が増殖し過ぎて真菌が検出されにくくなる可能性が考えられた。今後は自動検出システムの検証や培地の改良等が行わなければならない。

今回のアンケート調査では、真菌血症由来の菌種では *C. albicans* が最も多かったが、それ以外の菌種では *C. glabrata* や *C. krusei* にわずかではあるが増加の傾向が見られた。また未同定の菌種や、同定が困難な株が多数あったため、深在性真菌症の実態を把握するためには、さらに

詳細な調査を行う必要があると考えられた。*C. glabrata* や *C. krusei* などではアゾール系抗真菌剤に対する耐性が問題となっており、抗真菌剤の不適切な使用によっては、今後 MRSA や緑膿菌などと同じように院内感染の起因菌として拡がる恐れもある。このような深在性真菌症の正確な実態を把握するためのシステム作りが非常に重要であり、本研究の使命の一つであると考えられた。

5. 輸入真菌症および日和見真菌症の迅速診断法の開発（担当：楨村浩一）

1) 深在性真菌症補助診断法の評価に関する研究（健常人例）

真菌細胞壁  $\beta$ -グルカン測定法と真菌遺伝子 PCR 増幅法は、深在性真菌症の補助診断法として用いられている。健常成人血液を用いて両検出法による陽性の出現頻度をしらべ、補助診断法としての適正とその意義を評価した。両検出法は、従来の検査法に比較して極めて高感度かつ特異的であり、検体中に含まれる微量の真菌菌体成分（ $\beta$ グルカン及び DNA）を検出した。これらの検査法を用いると、健常人血液検体中にも陽性例が見られたので、従来の検査法では検出できなかった微量の真菌菌体成分が血液などに存在することが強く示唆された。微生物が感染によらずに、無菌的体液・組織中に侵入する現象は、Microbial translocation (MT) または Bacterial translocation として知られている。深在性真菌症は日和見感染症として免疫不全状態の患者に発症するので、そのような患者にとっては、健常人には問題とならない MT が、致命的な感染に繋がる可能性が極めて高い。今回検討したキットは、そのような患者の感染症診断に有力な検査法になる。また、今回 MT に基づくと考えられる陽性例は、MT を惹起しやすい素因を持つ



ていると考えられ、そのような人が免疫抑制状態に陥ると日和見感染を受ける可能性が高いことが示唆される。今後追跡調査を行う必要がある。

## 2) 病原真菌の分子生物学的同定システムの研究

起因菌の同定は、感染管理上・治療上極めて重要である。現在、真菌の菌種同定は、菌株の表現形を観察することによって行われている。しかし、臨床分離菌株の中には典型的な形態または生化学的性状を示さない場合もあり、そのような菌の同定は事実上不可能であった。この問題を解決するために研究されたのが DNA 塩基配列の解析による同定法（分子生物学的同定法）である。本法は菌の発育環境に左右されにくい、固有の遺伝型に基づいた同定法であることから、信頼性の高い同定結果が期待できる。

そこで、菌種特異性が高い ITS1 の配列解析によって、主要病原真菌の属から菌種レベルの詳細な同定が可能なシステムを開発した。本法の応用によって、分離菌株から 1 日以内で菌種同定が可能となり、迅速性および簡便性の点で臨床的有用性をもつことが示唆される。

## 3) 輸入真菌症起因菌の迅速同定システムの研究

本研究班における主要研究課題である輸入真菌症管理のためには、確実にして簡便迅速な病原診断検査法および、当該検査が可能なレファレンスシステムの確立が必須である。しかしながら、現状において全例報告第 4 類感染症に規程されたコクシジオイデス症をはじめとした輸入真菌症に関して、国内で診断し、あるいは起因菌を同定するシステムは存在しない。そこで、本研究では、輸入真菌症対策上焦眉の急ともいえるこれら病原診

断検査法に限定して、実用可能な具体的方法および手順の開発を目的とする。

病原診断法として、最も信頼性が高く、簡便性および迅速性に優れた方法は、分子生物学的手法による起因菌の検出同定系である。そこで、輸入真菌症起因菌 3 種 (*Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Penicillium marneffeii*) に対する各々特異的 PCR 同定検出系を開発した。本法により、千葉大学真菌医学研究センターおよび帝京大学医真菌研究センター保存の各々の菌種を特異的、迅速、簡便に同定することが可能となった。

## 4) インターネットを用いた病原真菌及び真菌症に関する情報公開に関する研究

真菌症研究の重要性は今日益々高まっているが、これに反して医真菌研究のために利用できる情報は限られていると言わざるを得ない。そこで、分散限局している医真菌研究・教育資料の効率的利用と、研究者相互の情報交換を計る目的で、病原真菌情報をデータベース化し、それらをインターネットサーバ上で公開することによって、研究者が容易に（誰もが、自由に、無料で）利用できる知的基盤の整備が必要である。そのために「オンライン病原真菌データベース」(英名: Pathogenic Fungi Database、略称: PFDB) (<http://timm.main.teikyo-u.ac.jp/pfdb/>) の作成を試みた。本データベースは、現在世界各国から、1 日に 1000 件程のアクセスを記録しており、多くの協賛を得て、順次データを更新中である。

## 6. 真菌感染成立に関与する Myeloperoxidase (担当: 鈴木和男)

真菌感染の成立に関与している生体防御機構の低下の分子機構を明らかにし、

抗真菌薬開発に役立てることを目的とする。これまで、臨床疫学から好中球機能不全症、特に、真菌感染に関連して myeloperoxidase (MPO) 欠損ではカンジダ症に、NADPH oxidase 欠損では慢性肉芽腫症として *Aspergillus* 感染による重篤症状を示すことが報告されているが、感染防御機構の詳細は不明である。そこで、本研究分担において好中球機能不全症のモデルマウスを作成し、好中球機能の殺真菌への関与を明らかにするとともに、真菌誘発の慢性疾患についても解析した。作成した MPO 欠損マウスは、*Candida albicans* の殺作用が野生型に比し著しく低下した。また、菌体成分により誘発され冠状動脈炎に伴って血清中の自己抗体 MPO-ANCA が上昇した。また、MPO 欠損マウスにより、これらの疾患には MPO および MPO-ANCA が関与していることを明らかにした。

#### 7. 抗真菌剤耐性機構の解明と排出ポンプ阻害剤の探索 (担当: 新見昌一)

##### 1) パン酵母を用いた病原真菌の薬剤排出ポンプの機能解析

真菌のアゾール剤耐性には主に ABC (ATP Binding Cassette) トランスポーター および MFS (Major Facilitator Superfamily) トランスポーターなどの薬剤排出ポンプが関与することが明らかになってきた。病原真菌の有する一連の主要な排出ポンプ遺伝子を、7 種の自己のポンプが破壊されたためにアゾール剤に高度感受性になった *S. cerevisiae* AD 株に導入・発現し、それぞれの排出ポンプが耐性を与える程度および基質選択性などを比較した。すでに *C. albicans* の主要な ABC 排出ポンプである *CDR1* を *S. cerevisiae* AD 株に導入し、多剤耐性となった AD/*CDR1* 株を得ており、AD 株が病原真菌の排出ポンプの発現系酵母と

して極めて有用であることが示された。今回はこの株に *C. albicans* の *CDR2* または *C. glabrata* の *CgCDR1* を導入、発現させてアゾール剤耐性株を作製した。SDS-PAGE によって AD/*CDR2* 株の細胞膜画分には 170kDa の蛋白が過剰に発現していた。AD 株およびベクターのみを挿入した AD/pSK-PDR5 株はアゾール剤のいずれに対しても高い感受性を示したのに対して、AD/*CDR1*、AD/*CDR2* あるいは AD/*CgCDR1* 株はアゾール剤 3 剤に対して交叉耐性を示した。このように異種の排出ポンプを *S. cerevisiae* AD 株に発現させて高度耐性株を作製することによって個々のポンプの詳細な生化学的解析、特に基質特異性、キネテックスおよびポンプ NTPase 活性等を解析することができ、ポンプ間の性状比較が可能となる。

##### 2) 日和見真菌 *Candida glabrata* の抗真菌剤に対する耐性機構

最近 *C. glabrata* や *C. krusei* などアルビカンス以外のカンジダ属菌による日和見真菌症が増加し、分離されるカンジダ菌種の約半数を占めている。これらの真菌はフルコナゾールに自然耐性を示すが、その機構はよく分かっていない。そこで *C. glabrata* のフルコナゾール耐性に関わると考えられる性質について調べた。YEP を基にして好気培養すると、グリセロールに比べグルコース中でフルコナゾールに対する感受性が低く、グルコース存在下での嫌気培養菌は好気培養菌に比べて感受性が低かった。グリセロールに呼吸阻害剤を加えて培養するとフルコナゾール感受性が著しく低下することも観察された。いずれの場合も菌の呼吸活性がフルコナゾール感受性に深く関わっていることを示唆する。菌の細胞膜画分を SDS-PAGE 上で泳動すると、フルコナゾ

ール存在下で培養した菌では排出ポンプに相当する 170 kDa と 55 kDa の蛋白が過剰に検出された。ノーザン分析でも 170 kDa の蛋白に一致する ABC ポンプ *CgCDR1* mRNA の過剰発現が見られた。以上より *C. glabrata* のフルコナゾール感受性は呼吸の低下に伴って低下し、フルコナゾールが排出ポンプの発現を誘導することが分かった。これらの機序についてはさらに解析するが、臨床的にもこのような菌の性質がフルコナゾール耐性に寄与するならば、生体内の酸素分圧の低い環境でフルコナゾール感受性が低下し、フルコナゾール投与によって排出ポンプが誘導され耐性を獲得することになると思われる。

### 3) 真菌の薬剤排出ポンプ阻害剤の探索

薬剤排出ポンプを阻害する物質をアゾール剤と併用すれば、アゾール剤はポンプに汲みだされることなく真菌細胞内で有効濃度が保たれ、耐性菌の増殖をも阻止することが期待される。*Streptomyces* 属菌を主体とする土壌細菌の培養ろ液の中から薬剤排出ポンプを標的分子とする阻害剤を効果的に探索することを企画した。薬剤排出ポンプ *Pdr5p* が過剰発現してフルコナゾールに高度耐性となった *Saccharomyces cerevisiae* OE 株をスクリーニングの評価系として用い、フルコナゾール共存下でこの耐性株の増殖を阻止する培養ろ液を検索した。増殖阻害を示した培養ろ液についてはさらに *S. cerevisiae* AD 株に *C. albicans* の主要な排出ポンプ遺伝子 *CDR1* または *CDR2*、および *C. glabrata* の *CgCDR1* を導入し、アゾール剤耐性となった AD/*CDR1* 株、AD/*CDR2* 株および AD/*CgCDR1* 株に対する阻害効果をしらべた。1357 株のうち 1 株の培養ろ液 (780F) がフルコナゾール存在下で *S. cerevisiae* OE 株に対し

て強い増殖阻害効果を示した。さらにクロマトグラフィーにより粗分画した活性物質は AD/*CDR1* 株、AD/*CDR2* 株、AD/*CgCDR1* 株に対してもフルコナゾール存在下でのみ菌の阻害効果を示した。以上の結果からフルコナゾールと 780F 培養ろ液との組み合わせはフルコナゾール耐性の *S. cerevisiae* のみならず、*C. albicans* や *C. glabrata* のポンプを発現しフルコナゾール耐性を獲得した *S. cerevisiae* に対しても有効であることが明かとなった。

### D. 考察

初年度の新興・再興感染症研究事業を終了した時点で、この研究事業により得られた成果を次のように要約することができる。即ち、

1) 深在性真菌症に関する医療従事者の意識調査においては、感染症法の四類感染症に規定されたコクシジオイデス症が全数把握の感染症で、その報告義務のことを知っていた回答者は 48% であり、過半数の医師がこの事実を知らないという実態が浮かび上がった。また真菌症の診断は主に培養と鏡検に基づいて行なわれており、一方でその他に 7-8 種類の診断基準を用いていることが分り、医療現場では真菌症の診断に苦労していることが推測された。さらに医師が最も必要としている情報は診断法と治療法に関するものであった。国内での深在性真菌症の発生状況を知るためのアンケート調査では、真菌血症由来の菌種では *C. albicans* が最も多かったが、それ以外の菌種では *C. glabrata* や *C. krusei* にわずかではあるが増加の傾向が見られた。深在性真菌症の増加が指摘されているが、今回の調査では真菌血症が減少傾向にあるという矛盾した結果が得られた。これは血液培養自動検出システムの導入やフルコナゾールの血中濃度などが複雑に関与していることが考えられ、今後はさらに深在性真菌症の正確な

実態を把握するための調査が必要であることが分かった。

2) 輸入真菌症の発生動向に関しては、病理剖検、臨床検体、症例数などの報告が散見されるのみであったが、今回の調査で国内ならびに海外における流行地での最近の発生状況を含む新しい動向がある程度把握された。本症の診断法は極めて難しく危険を伴うが、輸入真菌症が発生した場合に、臨床現場において迅速で適切な診断および処置がなされることを期待するのは現状では難しい。輸入真菌症はこれまでは稀な感染症であったために、我が国の医療機関がこの感染症に対して十分な認識を持っているところが多いとは思えない。しかし海外との交流がますます盛んになり、交通手段の発達が地球規模での迅速な移動を可能にしているため、予防、診断、治療など疾患に関する知識や技術面での対応の改善をはかるためのマニュアル作りなど早急な対策が必要である。本研究事業の一つである輸入真菌症起因菌の迅速同定システムの確立のために、千葉大学真菌医学研究センターおよび帝京大学医真菌研究センターにおいて輸入真菌症の保存菌種を特異的、迅速、簡便に同定することが可能となったことは極めて意義深い。

3) 真菌症の診断上最大の問題点は、低い培養陽性率にある。そのために起因菌の同定が不能となり、確定診断がつけられないケースが少なくない。そこで新規診断法としては、分子生物学的手法を中心とした非培養系による遺伝子診断と菌種同定システムの開発を試みている。本システムは、世界に先駆けて培養陰性の真菌症に対して確定診断を可能とするのみならず、コクシジオイデス等の培養に危険を伴う菌種による感染症の診断をも安全かつ確実にするものである。また、今後はマイクロアレイ技術を融合させることによって、新時代における菌種同定システムの創成にも繋がる研究として期待できる。

4) MPO 機能の低下は真菌症発生の宿

主側の重要な要因と考えられている。MPO 機能欠損の原因は、MPO 遺伝子の SNPs による欠損や、mRNA スプライシングの異常によるものなどであり、欧米と日本とは変異様式と変異頻度が異なっている。その意味で、作成した MPO 欠損マウスによる真菌抵抗性の機構解析は重要である。また、MPO 欠損症、MPO 機能低下マウスの好中球の利用により、真菌感染抵抗性機構の解析と抗真菌剤の評価法を開発するのは独創的といえる。

5) 薬剤耐性の臨床分離株では多くの場合ポンプ遺伝子 (ABC または MFS 輸送体) の発現が亢進しているため、ポンプが耐性化に寄与していると考えられているが、実際に薬剤を細胞外に排出するという直接の実験的証拠に乏しく、未だ不明の点が多い。今回得られた結果から主要な排出ポンプを除去したパン酵母に病原真菌の排出ポンプを発現させることによって、薬剤特異性など個々のポンプの機能が解析できた。従って、この発現系は排出ポンプ機能の詳細をしらべ、阻害剤を検索するための新しい系として有用であることが分かった。抗真菌剤の探索ならびにポンプ阻害剤の探索を試み、実際にいくつかの阻害物質が見つかったため、今後の研究の進展が望まれる。

## E. 結論

本研究により、輸入真菌症の実態および深在性真菌症の全国的な発生動向が初めて明らかにされると共に、臨床面で今まで明確な根拠のないまま行われていた本症の診断・治療に対する標準的な指針を得ることの重要性が明らかとなった。一方、基礎研究としては本研究全体を通して分子遺伝学的診断法の開発および抗真菌性化学療法剤に対する耐性機構の解明および真菌感染と宿主との相互作用に基づく新しい抗真菌剤の開発が期待された。これらの研究によって期待される成果は真菌感染症から国民を守るために多大の貢献をするものと考えられた。

## 深在性真菌症の発生動向に関するアンケート調査

### 目的と方法

国際交流が盛んになるにつれ、わが国においても重篤な輸入真菌症発生の脅威は年々高まってきており、医療の高度化、複雑化に伴って発症する致命的な日和見真菌症は増加の一途にある。深在性真菌症は、診断・治療・予防が困難な感染症であるにもかかわらず、これらの感染症を克服するために必要な発生動向調査、および基礎的・応用的研究は細菌感染症やウイルス感染症に比較して著しく遅れており、早急な対策が求められていた。本研究班では、わが国における輸入真菌症ならびに深在性真菌症の発生動向を調査してその疫学的データを集積するとともに、これらの真菌感染症に対する診断・治療法の研究を行うことを目的とし、今年度から班研究を開始した。

免疫不全患者に多発する日和見感染症の代表的な感染症として深在性真菌症に臨床上十分な注意が払わなければならないにもかかわらず、深在性真菌症に関する発生状況等の疫学調査はこれまでほとんど行われてこなかった。深在性真菌症に関する意識調査および全国レベルの発生動向調査を行うことによって現状を正確に把握することが必要であると考え、分担研究者を中心にワーキンググループを作り会議を重ねた結果、全国のおおむね500床以上の主要な一般病院（508施設）に協力を仰ぎ、情報の収集を行って現状を正確に把握することから研究を開始することとした。そのために、初年度の調査として、「深在性真菌症に対する一般的事項」を問い合わせるアンケート A、および「真菌血症の発生状況と分離真菌の動向」調査のアンケート B の2種類の調査票を作成した。アンケート A では、臨床医が真菌症をどのように意

識しているのか、日常の医療活動において実際に真菌症に遭遇した際にどう対応し、どのような問題が生じるのかを調査した。アンケート B では、評価基準が比較的明瞭な真菌血症に絞って、本邦真菌血症の発生状況概略を把握するために総血液培養件数、総血液培養陽性件数、真菌培養陽性件数、真菌菌種別培養陽性件数ならびに使用した血液培養システムおよび使用した真菌同定システムについて1995年から1999年にかけての年次推移をアンケート調査し、我が国における深在性真菌症の発生状況の一端を把握することにした。以下に、今回のアンケート調査の結果を示す。

### アンケート回収結果

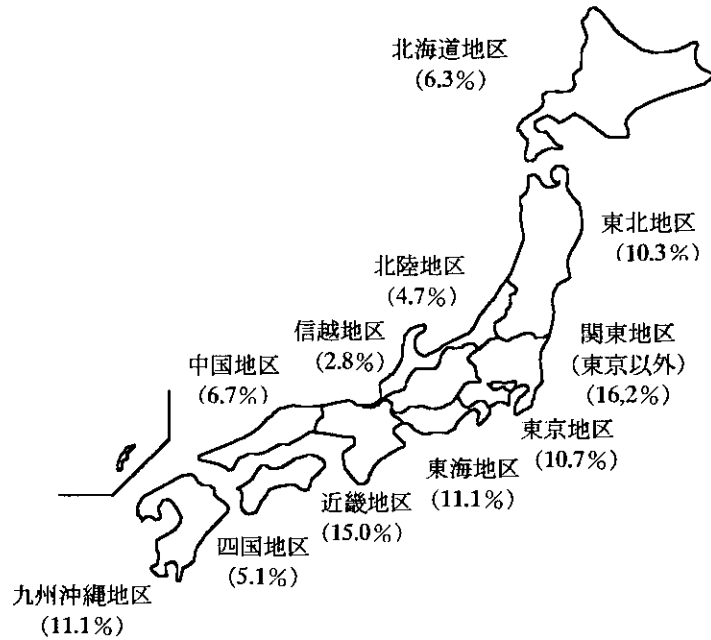
アンケート A は感染症担当医師、アンケート B は検査部担当者に回答してもらうよう依頼したところ、253の施設（49.8%）から回答が得られた。平成12年10月に発送したアンケートは締め切りまでの期間が短かったにも関わらず多数の施設から回答を頂いた。ご多忙の中、ご協力頂いた方々に深く感謝申し上げます。また、15の施設からは複数の医師達から回答が寄せられた。回答数が特に多かった、医仁会武田総合（24人）、金沢大医学附属（18人）、永生病院（16人）、愛知医大病院（12人）等の病院には、今回のアンケートに対する格別のご協力に感謝する次第である。

回答施設を地域的に見ると、次頁の図表のように全国に偏りなく分布しており、従って、この調査はわが国全体の医療機関における深在性真菌症の発生動向の実態を反映しているものと推察できる。

発送数：508（対象；概ね500床以上の一般病院）  
 回答施設数：253（回収率49.8%）

地域別の内訳

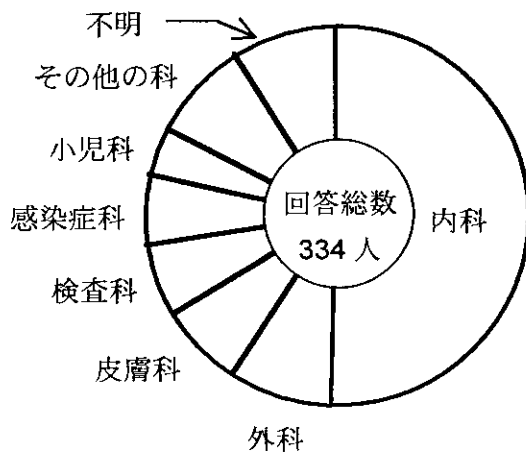
| 地区名            | 施設数 (%)   |
|----------------|-----------|
| 北海道地区          | 18 (6.3)  |
| 東北地区           | 26 (10.3) |
| 北陸地区           | 12 (4.7)  |
| 関東地区<br>(東京以外) | 41 (16.2) |
| 東京地区           | 27 (10.7) |
| 信越地区           | 7 (2.8)   |
| 東海地区           | 28 (11.1) |
| 近畿地区           | 38 (15.0) |
| 中国地区           | 17 (6.7)  |
| 四国地区           | 13 (5.1)  |
| 九州沖縄地区         | 28 (11.1) |
| 合計             | 253       |



アンケートA（深在性真菌症に対する一般的事項）の解析結果

回答枚数：334（複数回答の施設あり）

アンケートA回答者の科別の内訳



|       |     |
|-------|-----|
| 内科    | 171 |
| 外科    | 29  |
| 皮膚科   | 24  |
| 検査科   | 21  |
| 感染症科  | 20  |
| 小児科   | 14  |
| その他の科 | 28  |
| 不明    | 29  |

深在性真菌症の発生動向調査に関するアンケート A

年 月 日 病院名 部署

アンケート回答者氏名

深在性真菌症に対する一般的な事項についてお尋ねします。

- 1 これまでにつぎのような真菌症や放線菌症の診断・治療を経験したことがありますか。  
該当する ( ) 内に○印をご記入ください。

|                | ある  | ない  |                 | ある  | ない  |
|----------------|-----|-----|-----------------|-----|-----|
| カンジダ症(口腔、膈を除く) | ( ) | ( ) | コクシジオイデス症       | ( ) | ( ) |
| アスペルギルス症       | ( ) | ( ) | ヒストプラズマ症        | ( ) | ( ) |
| クリプトコックス症      | ( ) | ( ) | プラストミセス症        | ( ) | ( ) |
| ムーコル症(接合菌症)    | ( ) | ( ) | パラコクシジオイデス症     | ( ) | ( ) |
| トリコスポロン症       | ( ) | ( ) | マルネッフェイ型ペニシリウム症 | ( ) | ( ) |
| 放線菌症           | ( ) | ( ) | その他(菌名) ( )     |     |     |
| ノカルジア症         | ( ) | ( ) |                 |     |     |

- 2 感染症新法でコクシジオイデス症は4類感染症に規定され、全数報告が義務づけられた輸入真菌症ですが、このことをご存知ですか(添付資料1「感染症発生動向調査について」をご参照下さい)。  
1) 知っている ( ) 2) 知らなかった ( )

- 3 真菌症の診断はどのように行なっていますか。(○印をご記入ください、複数回答可)

|              |     |              |     |
|--------------|-----|--------------|-----|
| 1) 臨床症状      | ( ) | 6) 血清検査      | ( ) |
| 2) 抗細菌剤不応熱   | ( ) | 7) 病理組織検査    | ( ) |
| 3) 画像        | ( ) | 8) 遺伝子検査     | ( ) |
| 4) 鏡検(塗抹、組織) | ( ) | 9) 皮内反応      | ( ) |
| 5) 培養        | ( ) | 10) 除外診断     | ( ) |
|              |     | 11) その他(具体的に | )   |

- 4 真菌症に関してどこから情報を入手していますか。(○印をご記入ください、複数回答可)

|               |     |                    |     |
|---------------|-----|--------------------|-----|
| 1) 感染症教科書、解説書 | ( ) | 5) 製薬メーカーの医薬情報(MR) | ( ) |
| 2) 専門誌        | ( ) | 6) 新聞、一般誌等         | ( ) |
| 3) 他の医師       | ( ) | 7) インターネット(具体的に    | )   |
| 4) 検査室        | ( ) | 8) その他(            | )   |

- 5 真菌症に関してどのような情報を最も必要としていますか。(1つだけ○印をご記入ください)

|        |     |            |     |
|--------|-----|------------|-----|
| 1) 予防法 | ( ) | 4) 発生情報/動向 | ( ) |
| 2) 診断法 | ( ) | 5) 感染管理    | ( ) |
| 3) 治療法 | ( ) | 6) その他(    | )   |

- 6 真菌症に関して相談する人や施設などがありますか。

1) ある ( ) 2) ない ( )  
あれば具体的に ( )

- 7 このアンケートや真菌症に関してのご意見などをお知らせください。(必要に応じ別紙ご添付下さい)

ご協力を誠にありがとうございました。

返送期限：10月31日

Fax：03-5285-1175

Tel：03-5285-1111, 内線 2301

平成12年度厚生科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業  
「輸入真菌症等の診断治療法の開発と発生動向調査に関する研究」  
主任研究者：上原至雅(国立感染症研究所生物活性物質部部長)

## 感染症発生動向調査について

## 添付資料 1

平成11年4月1日から施行された感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（以下「感染症新法」という。）に基づく感染症発生動向調査の集計結果を公表しています。

- ・詳細は、次のリンク先をクリックしてご覧下さい。

国立感染症研究所感染症情報センター

<http://idsc.nih.go.jp/kanja/index-j.html>

- ・感染症の発生動向調査とは、感染症新法に規定された疾病の患者が全国でどのくらい発生したのかを調査集計したものです。集計表は、疾病毎、各都道府県毎に集計してあります。第1週は、1月から始まります。

- ・感染症新法に規定された感染症は、1類感染症から4類感染症に分類され、次の73疾病が対象となっています。

### 1類感染症

(1)エボラ出血熱、(2)クリミア・コンゴ出血熱、(3)ペスト、(4)マールブルグ病、(5)ラッサ熱

### 2類感染症

(6)急性灰白髄炎、(7)コレラ、(8)細菌性赤痢、(9)ジフテリア、(10)腸チフス(11)パラチフス

### 3類感染症

(12)腸管出血性大腸菌感染症

### 4類感染症

(13)アメーバ赤痢、(14)エキノコックス症、(15)急性ウイルス性肝炎、(16)黄熱、(17)オウム病、(18)回歸熱、(19)Q熱、(20)狂犬病、(21)クリプトスポリジウム症、(22)クロイツフェルト・ヤコブ病、(23)劇症型溶血性レンサ球菌感染症、(24)後天性免疫不全症候群、(25)コクシジオイデス症、(26)ジアルジア症、(27)腎症候性出血熱、(28)髄膜炎菌性髄膜炎、(29)先天性風疹症候群、(30)炭疽、(31)ツツガムシ病、(32)デング熱、(33)日本紅斑熱、(34)日本脳炎、(35)乳児ポツリヌス症、(36)梅毒、(37)破傷風、(38)バンコマイシン耐性腸球菌感染症、(39)ハンタウイルス肺症候群、(40)Bウイルス病、(41)ブルセラ症、(42)発疹チフス、(43)マラリア、(44)ライム病、(45)レジオネラ症、(46)インフルエンザ、(47)咽頭結膜熱、(48)突発性発疹、(49)A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、(50)百日咳、(51)感染性胃腸炎、(52)風疹、(53)水痘、(54)ヘルパンギーナ、(55)手足口病、(56)麻疹（成人麻疹を除く。）、(57)伝染性紅斑、(58)流行性耳下腺炎、(59)急性出血性結膜炎、(60)流行性角結膜炎、(61)性器クラミジア感染症、(62)性器ヘルペスウイルス感染症、(63)尖形コンジローム、(64)淋菌感染症、(65)急性脳炎（日本脳炎を除く）、(66)クラミジア肺炎（オウム病を除く）、(67)細菌性髄膜炎、(68)ペニシリン耐性肺炎球菌感染症、(69)マイコプラズマ肺炎、(70)成人麻疹、(71)無菌性髄膜炎、(72)メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症、(73)薬剤耐性緑膿菌感染症

- ・疾病のうち全数把握（実際の発生患者数）の対象となる疾病は、(1)から(45)です。

- ・(46)から(73)までについては、全数把握ではなく、指定届出機関（定点）からの報告をもとに把握する疾病です。

指定届出機関（定点）とは、発生動向調査に協力していただいている医療機関です。

- この定点当りの数値をご覧いただくことで、各地での感染症の流行の状況（数値が高いと流行している。）が把握できます。

- ・医師から都道府県知事等への届出のための基準

- ・感染症発生動向調査は、週報（毎週月曜日から翌週日曜日までの週単位の発生動向）と月報（月の1日から末日までの月単位の発生動向）があります。

月報による集計は、性器クラミジア感染症、性器ヘルペスウイルス感染症、尖形コンジローム、淋菌感染症、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症、ペニシリン耐性肺炎球菌感染症、薬剤耐性緑膿菌感染症です。それ以外の疾病は、週報となります。

- ・感染症発生動向調査の週報及び月報は、発生動向と併せまして、感染症の情報も掲載してありますので、ご活用下さい。

照会先：厚生省保健医療局結核感染症課 感染症情報管理室 電話：03-3503-1711 内線：2376、2384

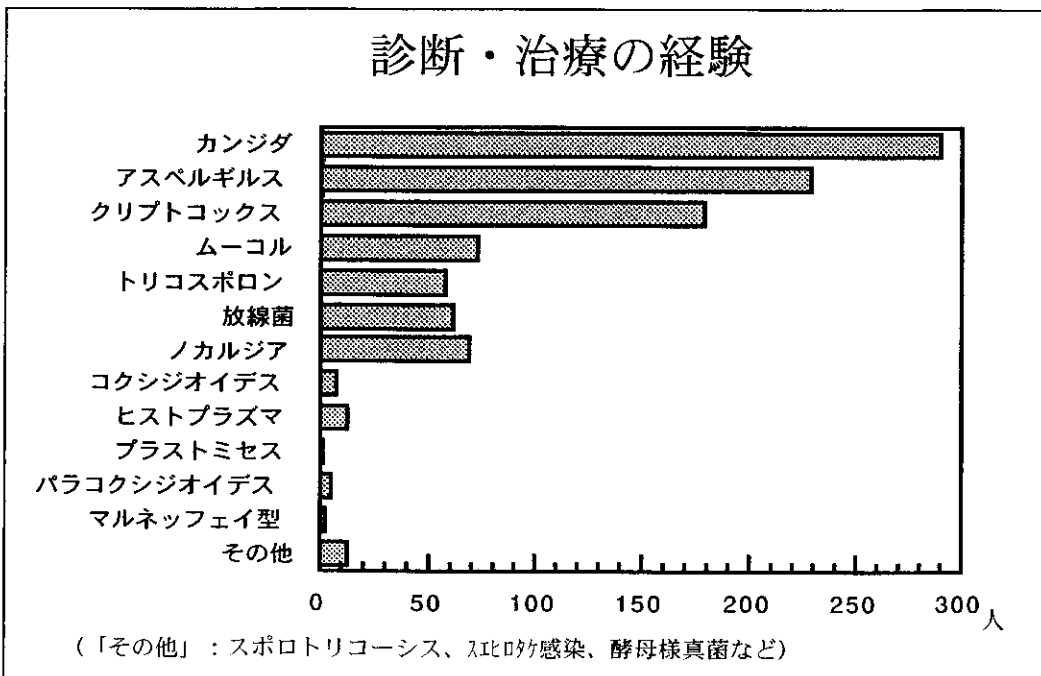


**A. まず深在性真菌症に対する意識やご経験についてお尋ねします。**

1 これまでにつぎのような真菌症や放線菌症の診断・治療を経験したことがありますか。該当する ( ) 内に○印をご記入ください。

|                | ある  | ない  |                 | ある  | ない  |
|----------------|-----|-----|-----------------|-----|-----|
| カンジダ症(口腔、膣を除く) | ( ) | ( ) | コクシジオイデス症       | ( ) | ( ) |
| アスペルギルス症       | ( ) | ( ) | ヒストプラズマ症        | ( ) | ( ) |
| クリプトコックス症      | ( ) | ( ) | プラストミセス症        | ( ) | ( ) |
| ムーコル症(接合菌症)    | ( ) | ( ) | パラコクシジオイデス症     | ( ) | ( ) |
| トリコスボロン症       | ( ) | ( ) | マルネッフェイ型ペニシリウム症 | ( ) | ( ) |
|                | ( ) | ( ) |                 |     |     |
| 放線菌症           | ( ) | ( ) | その他(菌名)         | ( ) | ( ) |
| ノカルジア症         |     |     |                 |     |     |

- 深在性真菌症の原因菌別に診断・治療の経験を尋ねたところ、カンジダ症はほとんどの回答者(86%)が経験ありと答えた。つづいて、アスペルギルス症(68%)、クリプトコックス症(53%)で、これら3種が主な真菌症である。つづいて、ムーコル、トリコスボロン、放線菌、ノカルジアの4種が占め、いずれも20%前後であり、意外に多いとの印象である。一方、コクシジオイデス症、ヒストプラズマ症、プラストミセス症、パラコクシジオイデス症、マルネッフェイ型ペニシリウム症の輸入真菌症であるが、あわせて24名が経験ありと回答した。これら回答者には、分担研究者の亀井が直接コンタクトをとるなどして情報を集め、別項の分担研究報告書に盛り込まれている。

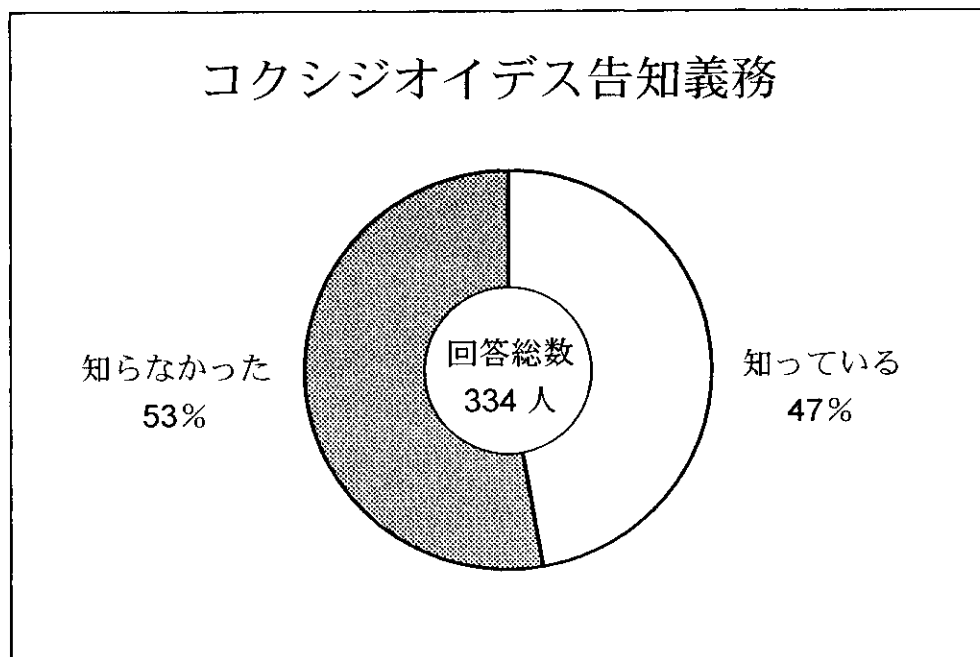


2 感染症新法でコクシジオイデス症は4類感染症に規定され、全数報告が義務づけられた輸入真菌症ですが、このことをご存知ですか（添付資料1「感染症発生動向調査について」をご参照下さい）。

1) 知っている（ ）

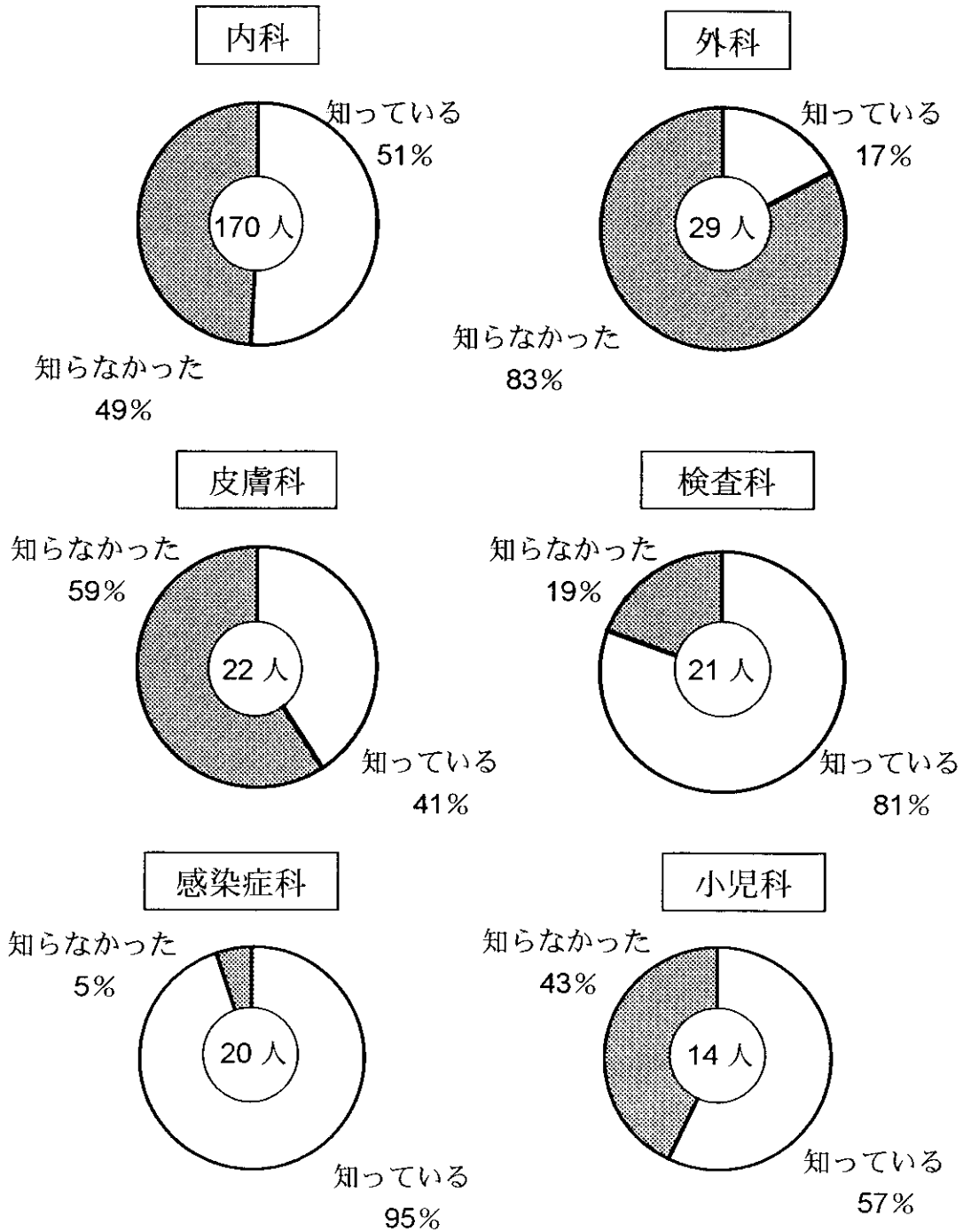
2) 知らなかった（ ）

- ・ コクシジオイデス症は、感染症法に四類感染症として規定された全数把握の感染症である。このことと、その報告義務のことを知っていた回答者は47%であった。従って、過半数の医師達がこの事実を知らないという実態が明らかになった。今後、周知徹底が必要であるばかりでなく、実施可能な診断法の開発と普及も必要である。
- ・ ところで、上の回答結果を専門科別に集計してみると興味ある結果が得られた。報告義務を最もよく知っていたのは、感染症科（95%）と検査科（81%）で、その比率が最も少なかったのは外科（17%）という結果である。感染症科と検査科の医師達は日頃から感染症に対する知識の吸収に努力している様子が見える。一方、対極の外科医であるが、実数（29人）が少なくならずともこの結果が全体を反映しているとはいえないが、専門外であるコクシジオイデス症について、その報告義務を知らないのは無理がないのかもしれない。しかし、今後、臨床の現場に周知徹底を行う上で参考になる結果であろう。



# コクシジオイデス告知義務

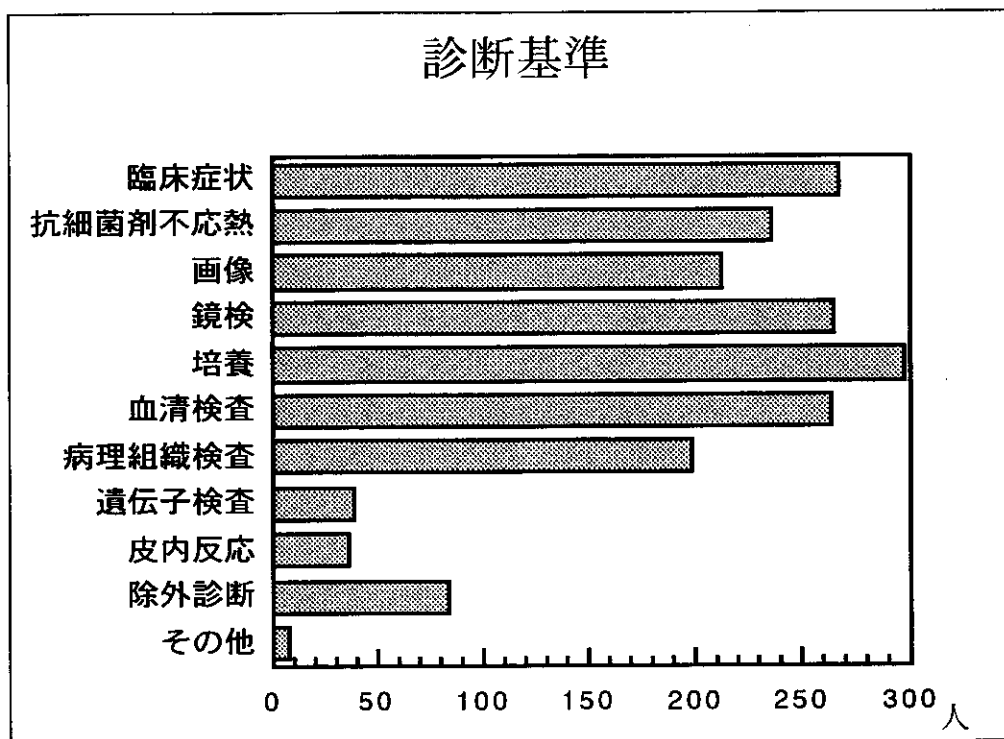
## 科別回答内訳



3 真菌症の診断はどのように行なっていますか。(○印をご記入ください、複数回答可)

- |              |     |           |     |
|--------------|-----|-----------|-----|
| 1) 臨床症状      | ( ) | 6) 血清検査   | ( ) |
| 2) 抗細菌剤不応熱   | ( ) | 7) 病理組織検査 | ( ) |
| 3) 画像        | ( ) | 8) 遺伝子検査  | ( ) |
| 4) 鏡検(塗沫、組織) | ( ) | 9) 皮内反応   | ( ) |
| 5) 培養        | ( ) | 10) 除外診断  | ( ) |
- その他(具体的に)

- 真菌症の診断法で最も回答が多かったのは培養(88%)であり、次に臨床症状(80%)、鏡検(79%)、血清検査(79%)、そして抗菌剤不応答性(70%)、画像(63%)、病理組織検査(63%)とつづいた。将来的に普及が予想される遺伝子検査は11%であった。



- 一方、使用する診断基準の数をプロットしたところ、最も多かったのが7種類(69人、22%)、つづいて8種類、5種類、6種類の順で多く、5種類以上の診断基準を組み合わせる真菌症と診断している回答者が70%以上を占めた。以上の結果は、真菌症の診断がいかに難しいかを反映しているといえよう。