

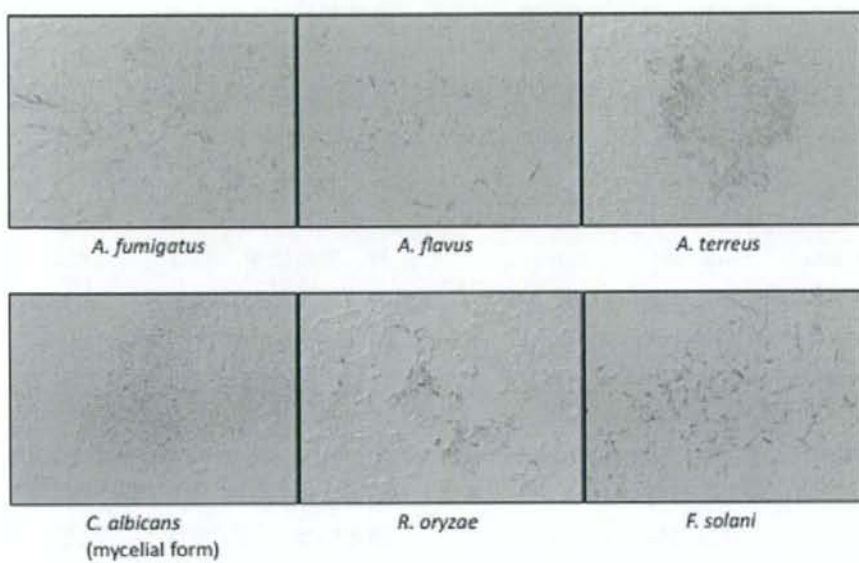
10. Ando T, Moriya A, **Shibuya K**.
Aspergillosis. *Nippon Rinsho*, 66 (12),
2345-9,
11. Haugen AC, Goel A, Yamada K, Marra G,
Nguyen TP, Nagasaka T, Kanazawa S,
Koike J, Kikuchi Y, Zhong X, Arita M,
Shibuya K, Oshimura M, Henmi H,
Boland CR, Koi M. Genetic instability
caused by loss of MutS homologue 3 in
human colorectal cancer. *Cancer Res*
68(20), 8465-72, 2008
12. Saito N, Hatori T, Aoki K, Hayashi M,
Hirata Y, Sato K, Nakayama H,
Harashina J, Murata N, Zhang Z, Nonaka
H, **Shibuya K**, Iwabuchi S. Dynamics
of global gene expression changes during
brain metastasis formation. *Wiley*
InterScience JOURNALS
Neuropathology, 1440-789, 2008
13. 尾野大洋、大橋則夫、関東裕美、土
屋一晃、森田あや子、**渋谷和俊**、伊
藤正俊。手背に生じた皮膚型平滑筋
肉腫の1例。 *臨床皮*、62(8)、576-8、
2008
14. 菊池由宜、松崎淳人、藤田泰子、渡
邊慶太、中野 茂、渡辺 学、五十
嵐良典、住野泰清、中野弘一、**渋谷
和俊**。腓小細胞癌の1例。 *癌の臨床*、
54(11)、935-40、2008
15. Greene R, **Shibuya K**, Ando T.
Diagnosis; *Histology and Radiology*,
pp353-362, *Aspergillus fumigatus* and
Aspergillosis, Ed Latge JP, Steinbach W,
ASM PRESS, Washington DC, 2008
2. 学会発表
1. Hata Y, Takagi S, Sasamoto S, Tamaki K,
Fukumori K, Otsuka H, Kusano E, Isobe
K, Hasegawa C, Mitsuda A, **Shibuya K**.
An Endobronchial Emergency Core-out
Procedure and Subsequent Elective
Surgery for a Central Airway Obstruction
Caused by Lung Cancer with Polypoid
Growth. 15th World Congress for
Bronchology (WCB) and 15th World
Congress for
Bronchoesophagology(WCBE)
MEDIMOND S.r.l, April:221-24、2008
2. **渋谷和俊**. Mini Lecture, 第237回
臨床病理検討会, 4, 10, 2008 東京
3. 羽鳥 努, 密田亜希, 長谷川千花子,
大久保陽一郎, **渋谷和俊**, 齊藤紀彦,
佐野弘子, 板橋正幸, 田島康夫, 北
山康彦, 鎌田信悦, 三浦弘規, 竹内
賢吾, 森 茂郎. 5重癌の1つとし
て認められた精巣悪性リンパ腫の1
例. 第97回日本病理学会総会,
5, 15・16・17, 2008 金沢市
4. 中山晴雄, 岩渕 聡, 上田守三, 篠
崎 稔, 大久保陽一郎, **渋谷和俊**.
中枢神経カンジダ症に関する病理学
的検討. 第97回日本病理学会総会,
5, 15, 2008 金沢市
5. 磯部和順, 阪口真之, 鍋木教平, 佐
野 剛, 杉野圭史, 草野英美子, 坂

- 本 晋, 高井雄二郎, 本間 栄, 秦美暢, 笹本修一, 高木啓吾, 長谷川千花子, **渋谷和俊**. 間質性肺炎(IP)合併肺癌における治療後急性増悪の検討. 第48回日本呼吸器学会学術講演会, 6, 15・16・17, 2008 神戸市
6. 秦 美暢, 笹本修一, 田巻一義, 福森和彦, 大塚 創, 牧野 崇, 高木啓吾, 磯部和順, 草野英美子, 本間 栄, 長谷川千花子, 密田亜希, **渋谷和俊**. 重症・最重症 COPD 合併肺癌の7切除例. 第48回日本呼吸器学会学術講演会, 6, 15・16・17, 2008 神戸市
7. 永吉 優, 多田裕司, 笠原靖紀, 田邊信宏, 栗山喬之, 長岡鉄太郎, 佐藤弘一, **渋谷和俊**, 渡邊 哲, 亀井克彦. *Stachybotrys chartarum*による肺血管病変の形成に関与する因子の検討. 第48回日本呼吸器学会学術講演会, 6, 15・16・17, 2008 神戸市
8. 磯部和順, 阪口真之, 鍋木教平, 杉野圭史, 坂本 晋, 高井雄二郎, 本間 栄, 秦 美暢, 高木啓吾, 長谷川千花子, **渋谷和俊**. 間質性肺炎(IP)および合併肺癌組織におけるSUV値とGlut-1の対比. 第48回日本呼吸器学会学術講演会, 6, 15・16・17, 2008 神戸市
9. 落合理恵, 亀井克彦, 豊留孝仁, 永吉 優, 渡辺 哲, **渋谷和俊**. *Stachybotrys chartarum*による肺動脈病変の形成におけるマウス系統差について. 第82回日本感染症学会総会, 4, 17・18, 2008 島根県
10. 杉野圭史, 宮崎泰斗, 佐野 剛, 後町杏子, 鍋木教平, 岩田基秀, 山崎陽子, 石田文昭, 佐藤大輔, 阪口真之, 草野英美子, 磯部和順, 坂本 晋, 高井雄二郎, 本間 栄, 長谷川千花子, **渋谷和俊**. 慢性壊死性肺炎アスペルギルス症の臨床病理学的検討. 第82回日本感染症学会総会, 4, 17・18, 2008 島根県
11. **渋谷和俊**. 侵襲性糸状菌症. 第4回岐阜SFI研究会, 9, 5, 2008 岐阜県
12. 篠崎 稔, 中山晴雄, 大久保陽一郎, **渋谷和俊**. in situ hybridization法による糸状菌感染起因菌の病理同定. 第52回日本医真菌学会総会, 9, 10・11, 2008 長崎県
13. 安藤常浩, 守屋敦子, 折津 愈, 鈴木憲史, 鈴木利哉, 武村民子, **渋谷和俊**. 剖検にて接合菌とアスペルギルスの重複感染が確認された急性骨髄性白血病の1例. 第52回日本医真菌学会総会, 9, 10・11, 2008 長崎県
14. 鈴木 琢, 向井秀樹, 久保田信雄, 島村 剛, 長坂沙織, **渋谷和俊**. 爪白癬動物モデルにおける病理組織学的検討. 第52回日本医真菌学会総会, 9, 10・11, 2008 長崎県

15. 島村 剛、久保田信雄、長坂沙織、鈴木 琢、向井秀樹、**渋谷和俊**。爪白癬動物モデル作製に関する検討。第52回日本医真菌学会総会、9、10・11、2008 長崎県
16. 落合恵理、亀井克彦、佐藤綾香、豊留孝仁、永吉 優、渡辺 哲、**渋谷和俊**。真菌胞子の吸入と肺動脈壁肥厚の形成について。第52回日本医真菌学会総会、9、10・11、2008 長崎県
17. Nakayama H, Shinozaki M, Aoyama T, **Shibuya K**. Histopathological Features of Two Strains of *Cryptococcus neoformans* Var. *gattii* with Different Virulence, and Analysis of Differentially Expressed Genes. The 7th International Conference on Cryptococcus and Cryptococcosis. September 11 to 14, 2008 Nagasaki
18. **渋谷和俊**。Set up an equation of granuloma. 7th International Conference on Cryptococcus and Cryptococcosis Luncheon Seminar 1、9、11、2008 長崎県
19. **渋谷和俊**。Dynamics in Pathophysiology of Onychomycosis. The 4 Asia Pacific for Medical Mycology Meeting、10、4・5、2008 KOREA
20. **渋谷和俊**。深在性真菌症の病態と診断。第20回腎移植免疫研究会（旧ミゾリピン移植検討会）プログラム、10、18、2008 大阪
21. 三宅洋子、清水雅子、篠崎 稔、**渋谷和俊**、安井久美子、永田梨耶、岩本康之介、長瀬大輔。治療効果判定に形態評価が有用であったクリプトコッカス髄膜炎の1例。第47回日本臨床細胞学会秋期大会、11、14・15、2008 東京
22. 石井真由美、緒方美和子、大久保陽一郎、密田亜希、羽鳥 努、**渋谷和俊**、馬越俊輔、緒方秀昭、横瀬智之。乳腺腺筋上皮腫の2例。第47回日本臨床細胞学会秋期大会、11、14・15、2008 東京
23. **渋谷和俊**。侵襲性糸状菌症。第16回山口県呼吸器セミナー、11、6、2008 山口県
24. **渋谷和俊**。侵襲性肺糸状菌症。第14回山形呼吸器感染症研究会、11、7、2008 山形県
25. **渋谷和俊**。「クリプトコックス症の病理、肉芽腫の方程式を解く?」。第1回西新宿呼吸器セミナー、11、27、2008 東京
26. **渋谷和俊**。非アスペルギルス性糸状菌感染症の動向と対策～接合菌症を中心として～。深在性真菌症～SFI Forum～4 (2)、2008

H. 知的財産権の出願・登録情報なし。

Confirmation of panfungal PNA probe specificity using formalin-fixed, paraffin-embedded sections



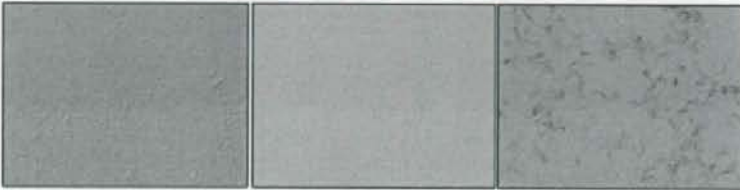
☒ 1

Assessments of retention of rRNA using panfungal PNA probe

ISH targeting the 28S rRNA of pathogenic fungi



ISH targeting the 28S rRNA of *Fusarium* spp.



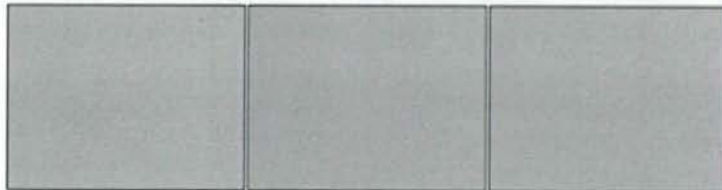
P. byodii

A. terreus

F. solani

☒ 2

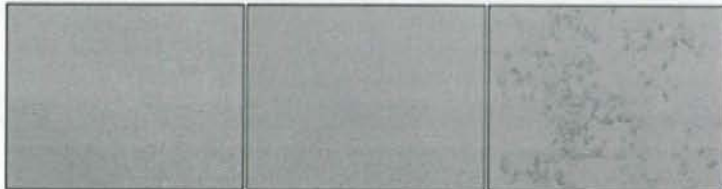
Confirmation of *Fusarium* spp. PNA probe specificity using formalin-fixed, paraffin-embedded sections



A. fumigatus

A. flavus

A. terreus



C. albicans
(mycelial form)

R. oryzae

F. solani

☒ 3

Confirmation of *Histoplasma capsulatum* PNA probe specificity
using formalin-fixed, paraffin-embedded sections

ISH targeting the 28S rRNA of pathogenic fungi



ISH targeting the 28S rRNA of *H. capsulatum*

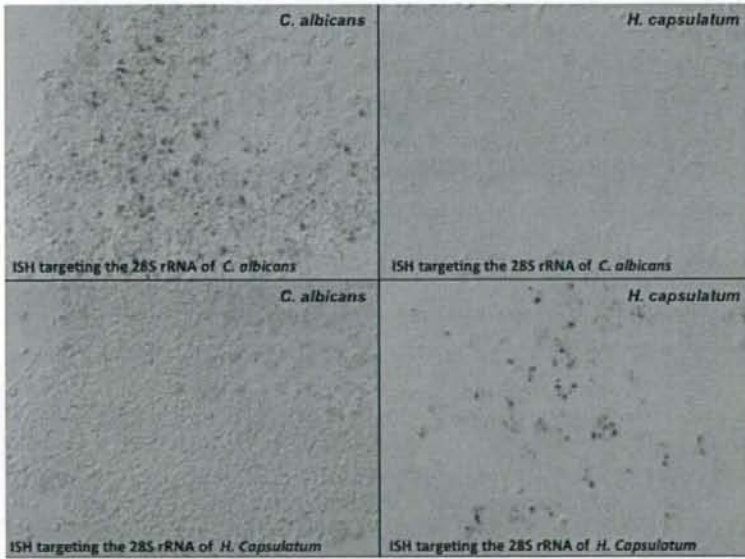


A. fumigatus

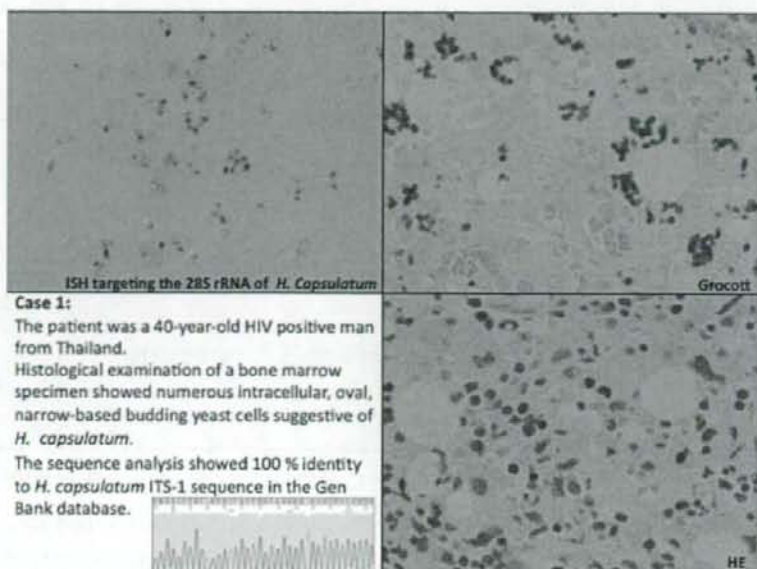
H. capsulatum

P. boydii

☒ 4



☒ 5



☒ 6

厚生労働省科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

「深在性真菌症と輸入真菌症に関する新しい検査法と抗真菌薬の開発、並びに病原因子の解明に向けたポストゲノムの基盤的研究」
分担研究報告書

新聞誌上における真菌感染症の報道状況

研究分担者 上 昌広 東京大学医科学研究所 客員准教授
研究協力者 岸 友紀子 東京大学医科学研究所

研究要旨 深在性真菌症や輸入真菌症は臨床的に重要な感染症である。近年、抗真菌薬の開発が進み、治療選択も増えてきた。治療のコンプライアンスをあげ迅速な治療を行うために、患者側の真菌に対する知識と理解が増えることが期待される。本年度は日経テレコンという新聞データベースを用い、真菌感染に関する情報が国民にどの程度提供されているかを調査した。本研究では、「かび」や「真菌」に関する情報が新聞誌上で扱われることは少なく、1990年代以降、報道量は増加していないことが明らかとなった。真菌感染症に関する啓発を考えた場合、新聞という媒体を有効に活用できていないことは大きな問題であろう。

A. 研究目的

近年、抗真菌薬の開発が進み、治療選択も増えてきている。真菌症の治療において、治療のコンプライアンスをあげ迅速な治療を行うためには患者や家族に対して十分な説明と理解を得る必要がある。そのためには患者側の真菌に対する知識と理解が増えることが期待される。

そこで、今回我々は現状の真菌に対する認知度を調査し現状の把握を行った。また、情報入手経路を調査することで今後の真菌に関する情報発信に関して考察した。

B. 研究方法

日経テレコン 21

(<http://telecom21.nikkei.co.jp/>) のデータベースを利用し、1992年から2007年の真菌感染に関する報道数を調べた。日経テレコン21の基本データベースには、国内で発行されている新聞紙の記事内容が登録されている。検索語を入力すると、登録されている「タイトル」「内容」「キーワード」から該当するデータが抽出される。

対象となる新聞

収載されている新聞紙の中から、「朝日新聞」「毎日新聞」「読売新聞」「産経新聞」「日本経済新聞」のいわゆる五大紙を対象として検索した。すべての新聞紙のデータベースが完備しているのが1992年

以降であるため、1992年以降を対象とした。

C. 研究結果

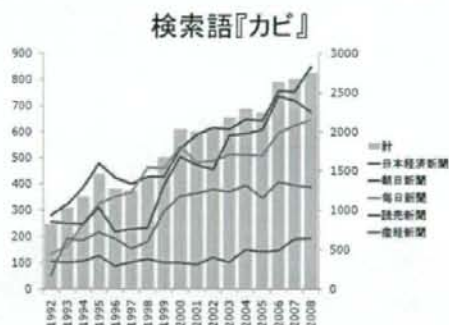
総記事数

対象となった五紙の総記事数のデータベースの登録数は、90年代前半から増加し、2000年以降はほぼ横ばいである。2000年以降、朝日、読売、毎日新聞は、日経新聞、産経新聞と比較して約3倍の記事データが登録されている。

「かび」に関する記事数

対象となった五紙の真菌に関する記事数の年次推移を図1に示す。データベースの登録数は、90年代前半から増加し、2000年以降はほぼ横ばいである。

図1



総記事に対する「かび」に関連する記事の割合

総記事数に対する「かび」関係の記事の割合はほぼ一定であった(図2)。5紙を比較すると、産経新聞の割合が高く、日経新聞が低かった。

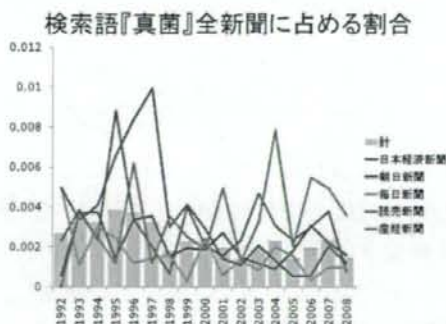
図2



総記事に対する「真菌」に関連する記事の割合

総記事に占める「真菌」関連の記事数を示す(図3)。何れの新聞においても真菌の記事数は少なく、研究期間中に大きな変化を示さなかった。

図3



D. 考察

新聞は国民への情報提供の強力な手段である。近年、医療や医学に関する新聞記事は増加傾向にあり、がん対策や産科・小児科問題を啓発する上で大きな役割を果たしていると考えられている。

本研究では、真菌感染症に関する新聞記事報道は極めて少なく、新聞を通じて真菌感染情報が国民には伝わっていないことを明らかにした。これは抗真菌剤が製薬企業にとり大きな売り上げを占めること、水虫がありふれた病気であることを考慮すれば奇異な感じがする。その正確な理由は来年度以降の研究課題としたいが、新聞という有力な媒体を、真菌感染症の啓蒙活動に利用できていないことについては、研究者は深く考える必要があるだろう。一方、真菌感染症領域で興味深いのは、『もやしもん』という真菌感染を対象とした漫画が発売され、映画化されていることである（下図）。

農大を舞台に菌を中心として描かれる漫画
「もやしもん」



2007年にはアニメ化もされた

漫画の影響力を考慮した場合、このような動向は極めて興味深い。来年度の主たる研究テーマと考えている。

近年、さまざまなメディアが発達し、国民に多様な医療情報を提供している。しかしながら、その詳細については不明な点が多い。真菌感染症対策の徹底を考慮した場合、このようなメディアの特性を理解し、効率的に利用することが重要であろう。

E. 結論

主要新聞誌上における真菌感染症の報道は少ない。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

特記すべき事項はなし。

厚生労働省 新興・再興感染症研究事業
「深在性真菌症と輸入真菌症に関する新しい検査法と抗真菌薬の開発、並びに病原因子
の解明に向けたポストゲノムの基盤的研究」
分担研究報告書

抗真菌薬シーズの開拓と新興感染症トリコスポロン症の分子疫学

研究分担者 杉田 隆 明治薬科大学微生物学教室 准教授

研究要旨 新規な抗真菌薬の開発を目指して、きのこおよび海生菌の二次代謝産物からシードとなる化合物の探索を試みた。昨年度に見出した抗真菌活性を示す画分の化学構造式を決定した。当該画分には2種の化合物(DB-1 および DB-2)が存在し、両者の差は-OH基の有無だけあが、OH基を有するDB-2のみに抗真菌活性が認められた。DB-2は新規化合物であった。

新興真菌感染症の一つであるトリコスポロン症は予後不良な真菌感染症に位置づけられる。本研究ではその起因菌である *Trichosporon asahii* の遺伝子型を日本、タイ、米国患者由来の200株以上について調べた。その結果、遺伝子型は各国に特徴的であったことから、本法は分子疫学調査に応用できる可能性が考えられた。

A. 研究目的

現在、上市されている抗真菌薬は抗細菌薬や抗ウイルス薬に比べればその数は格段に少ない。また、ヒトと同じ真核細胞であるため選択毒性となる作用機序も限られる。そこで新たな抗真菌薬シードをきのこおよび海生菌の代謝産物に求めた。昨年、440種のエキスから抗真菌活性を有する画分を見出した。今年度は、その活性画分の化学構造を決定した。

また、これまでに輸入真菌症ヒストプラズマ症の起因菌 *Histoplasma capsulatum* やマルネッフィ型ペニシリウム症の起因菌である *Penicillium marneffei* の定量的検出と種内多様性の解析を行ってきた。新興真菌感染症の一つであるトリコスポロン症は予後不良の

感染症であり、1970年以降散発的にその感染が報告されてきた。近年ではカンディディン系抗真菌薬投与後のブレークスルー感染症として注目されている。特に、致死率は70%以上でありカンジダ症のそれよりも高い。本年度は、本症の起因菌である *Trichosporon asahii* の種内多様性を調べ、諸外国患者由来株と比較を行うことにより本邦の真菌学的な特徴を比較検討した。

B. 研究方法

1) 抗真菌作用を有する化合物の探索

a. 分画エキス：海洋から分離した真菌 *Didymella bryoniae* の培養ろ液を常法に従い抽出エキスを得た。このうち、 CHCl_3 エキスに抗真菌活性が得られた (Fig. 1)。

b. 化学構造の決定:CHCl₃エキスをSilica gel または Sephadex LH-20 を用いたカラムクロマトグラフィーおよびHPLCにより分離・精製し、2種の化合物を単離した(それぞれをDB-1 および DB-2 と名付けた)。なお本研究は、明治薬科大学生薬学教室、小山清隆准教授および大学院生田元宏樹君との共同研究として実施した。

2) トリコスポロン症起因菌 *T. asahii* の分子疫学調査

T. asahii の rRNA 遺伝子中の最も variable な領域である IGS1(intergenic spacer region)の DNA シーケンスを行い、本邦、米国、タイ患者由来株についてその多様性を比較した。なお、本研究はタイ国立衛生研究所(NIH)真菌室との共同研究として実施した。

C. 研究結果

1) 化合物の化学構造: NMR および MS 等から決定された化学構造は、Figs 2 および 3 である。DB-1 は既知化合物であったが、DB-2 は新規であった。両者の差異は OH 基の有無のみである。DB-2 は *Candida albicans* や *Cryptococcus neoformans* 等の病原真菌に殺菌的な作用を示したが、細菌には作用を示さなかった。また DB-1 は、16 μg/mL 以上でも抗真菌作用を示さなかった。

2) トリコスポロン症起因菌 *T. asahii* の分子疫学調査

IGS1 は 7 種の遺伝子型に分類することができる。日本株は 1 型が約 80%をしめ、3 および 4 型がこれにつづいた。タイ株は 1 型と 3 型がほぼ 40%程度であった。一方、米国株は 3 型と 5 型で 100%をしめた。少

なくとも 3 国間では、その遺伝子型分布は特徴的であった。

D. 考察

創薬にはまず有用なシードを見出すことが基本である。新規化合物の探索のために、ほとんど検討されていないきのこ海生菌に着目した。この代謝産物から約 1%の確率で子囊菌と担子菌の両方に抗真菌活性を有するエキス分画が存在することを昨年度見出した。今回、化学構造を決定した DB-1 と-2 はわずかに-OH 基の有無しか差がない。このことは今後、活性を至適化する上で貴重な知見である。しかも、子囊菌と担子菌の両方に活性を示すことから広域スペクトル化が期待できる。

トリコスポロン症が報告されて 30 年がすぎた。深在性真菌症に占める本症の割合は、本邦ではおおよそ 5%程度と推定されている。タイ NIH の調査でも同程度であった。しかもゆるやかながらその発症頻度は上昇している。この度、世界規模での分子疫学調査を実施したところ、その遺伝子型には地域特異性が見出された。各々の遺伝子型と患者背景についての相関は今後の調査課題であるが興味のあるところである。

E. 結論

子囊菌および担子菌の両方に抗真菌活性を有するエキスを見出しその化学構造を決定した。また、新興感染症の一つであるトリコスポロン症の世界規模での分子疫学調査を行い、起因菌の遺伝子型は地域特性を有することが判明した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ağırbaşlı H, Bilgen H, Özcan K, Otlu B, Sinik G, Çerikçioğlu N, Durmaz R, Can E, Yalman N, Gedikoğlu G, Sugita T: Two Possible Cases of Trichosporon Infections in Bone Marrow Transplanted Children: The First Case of *T. japonicum* Isolated From Clinical Specimens. *Jpn. J. Infect. Dis.* 61:130-132, 2008
2. Tsuji Y, Tokimatsu I, Sugita T, Nozaki M, Kobayashi D, Imai K, Kogawa K, Nonoyama S: Quantitative PCR assay used to monitor serum trichosporon asahii DNA concentrations in disseminated trichosporonosis. *Pediatr Infect Dis J.* 27: 1035-1037, 2008.
3. Kikuchi K, Sugita T, Makimura K, Urata K, Someya T, Sasaki T, Kamei K, Niimi M, Hiramatsu K, Uehara Y: Is *Histoplasma capsulatum* a native inhabitant of Japan? *Microbiol. Immunol.* 52: 455-459, 2008
4. Kalkancı A, Mekha N, Poonwan N, Makimura K, Sugita T: Comparative Evaluation of the Susceptibility of *Trichosporon asahii* isolates Using the ASTY Colorimetric Microdilution Method and CLSI M27-A2 Broth Microdilution Reference Method. *Microbiol. Immunol.* 52: 435-439, 2008
5. Tajima M, Sugita T, Nishikawa A, Tsuboi

R: Molecular analysis of *Malassezia* microflora in seborrheic dermatitis patients: comparison with other diseases and healthy subjects. *J. Inv. Dermatol.* 128:614-625, 2008

6. Takahata Y, Muto T, Hiruma M, Sugita T: A case of onychomycosis due to *Aspergillus sydowii* diagnosed using DNA sequence analysis. *Mycoses* 51:170-173, 2008
7. Shiraki Y, Hiruma M, Sugita T, Ikeda S: Assessment of the Treatment Protocol Described in the Guidelines for *Trichophyton tonsurans* Infection. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi.* 49: 27-31, 2008.
8. Takashi M, Sugita T, Toriumi Y, Nakase T: *Cryptococcus tepidarius* sp. nov., a thermotolerant yeast species isolated from a stream from a hot spring in Japan. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59, 181-185, 2009

2. 学会発表 (国際)

1. Tokimatsu I, Kushima H, Kadota J, Sugita T, Takakura S, Takata T, Fukuda T, Tamura K: Nationwide Study to Evaluate the Clinical Characteristics and Prognosis with Treatment of Trichosporonemia in Japan, 15th Symposium on Infections in the Immunocompromised Host, 2008/6, Athens, Greece
2. Kalkancı A, Mekha N, Poonwan N, Makimura K, Sugita T: Comparison of the susceptibility of *Trichosporon asahii* isolates using the ASTY colorimetric and

- CLSI M27-A2 broth microdilution reference methods, 12th International Congress of Mycology, Meeting of the three divisions of the International Union of Microbiological Union (IUMS) 2008, 2008/8, Istanbul, Turkey
3. Dizbay M, Adisen E, Kuştimur S, Sarı N, Cengiz B, Yalçın B, Kalkancı A, Sugita T Fungemia and cutaneous mucormycosis due to *Mucor circinelloides* in an intensive care unit patient: Case report and review of literature, 12th International Congress of Mycology, Meeting of the three divisions of the International Union of Microbiological Union (IUMS) 2008, 2008/8, Istanbul, Turkey
 4. Otağ F, Kalkancı A, Kuyucu N, Kuştimur S, Emekdaş G, Sugita T: *Pichia fabianii* infection in a child with renal failure disease: a case report, 12th International Congress of Mycology, Meeting of the three divisions of the International Union of Microbiological Union (IUMS) 2008, 2008/8, Istanbul, Turkey
 5. Sugita T, Nishikawa A: Molecular analysis of cutaneous *Malassezia* in patients with *Malassezia*-related skin disease using Real-Time PCR, 12th International Congress of Mycology, Meeting of the three divisions of the International Union of Microbiological Union (IUMS) 2008, 2008/8, Istanbul, Turkey
 6. Kalkancı A, Dizbay M, Turan Ö, Fidan I, Yalçın B, Hirfanoğlu İ, Kuştimur S, Aktaş F, Sugita T Nosocomial transmission of *Candida pelliculosa* fungemia in a pediatric intensive care unit, 12th International Congress of Mycology, Meeting of the three divisions of the International Union of Microbiological Union (IUMS) 2008, 2008/8, Istanbul, Turkey
 7. Kalkancı A, Sugita T, Kuştimur S: Molecular identification and susceptibility patterns of Turkish *Trichosporon* isolates 12th International Congress of Mycology, Meeting of the three divisions of the International Union of Microbiological Union (IUMS) 2008, 2008/8, Istanbul, Turkey
 8. Sugita T: Taxonomy and phylogeny of the genus *Trichosporon*, 12th International Congress on Yeasts, 2008/8, Kiev, Ukraine
 9. Sugita T: Taxonomy and phylogeny of the genus *Malassezia*, Japan-China Pan-Asia Pacific Mycology Forum, 2008/7, Changchun, China
 10. Fukuda T, Sugita T, Takakura S, Takata T, Kushima H, Takaue Y, Tamura K, Tokimatsu I: Clinical Characteristics and Treatment Outcome of Disseminated Trichosporonosis: Survey of 67 Patients with Hematological Disease, 2009 BMT Tandem Meetings, 2009/2, Florida, USA
 11. Sugita T: Molecular epidemiological investigation of emerging infectious disease, and development of novel diagnosis and therapeutic agents, 3rd Medicinal chemistry seminar of Asia/Africa Scientific Platform Program,

2009/1, Tokyo, Japan

12. Mekha N, Sugita T, Poonwan N, Ikeda R: Molecular epidemiological investigation and development of novel diagnosis for emerging infectious disease, 3rd Medicinal chemistry seminar of Asia/Africa Scientific Platform Program, 2009/1, Tokyo, Japan

3. 学会発表 (国内)

1. 高倉俊二、時松一成、杉田隆、高田徹、門田淳一: 我が国における深在性トリコスポロン症の臨床疫学研究、第19回日本臨床微生物学会、2008/1、東京
2. 串間尚子、時松一成、門田淳一、杉田隆、高倉俊二、福田隆浩、高田徹、田村和夫、血液疾患群と非血液疾患群における深在性トリコスポロン症の臨床像—わが国の疫学調査の結果から—、真菌症フォーラム第9回学術フォーラム、2008/2、東京
3. 菅原二陽、石橋芳雄、杉田隆、西川朱實: マラセチア刺激によるヒトケラチノサイトの TSLP 産生誘導、日本薬学会第128年会、2008/3、横浜
4. 岡田彩、杉田隆、池田怜子、小山清隆: アトピー性皮膚炎患者皮膚から発見された抗菌物質産生菌の皮膚常在菌に対する抗菌作用、日本薬学会第128年会、2008/3、横浜
5. 山田亜由子、小山清隆、杉田隆、木下薫、高橋邦夫、江川清、野瀬清: 海洋由来真菌からのチロシンキナーゼインヒビターの探索、日本薬学会第128年会、2008/3、横浜
6. 大河優、鈴木俊宏、杉田隆、木下薫、高橋邦夫、小山清隆: 海洋由来真菌からの HIF-1 α 阻害活性物質の探索、日本薬学会第128年会、2008/3、横浜
7. 清水美貴子、増子由樹、杉田隆、田村悦臣: Caco-2 細胞の抱合反応に対するプロバイオティクスの影響、日本薬学会第128年会、2008/3、横浜
8. 串間尚子、時松一成、平松和史、門田淳一、杉田隆、高倉俊二、福田隆浩、高田徹、田村和夫: 播種性トリコスポロン症における血中 β -D-グルカン検査の臨床的検討、第82回日本感染症学会、2008/4、島根
9. 時松一成、串間尚子、岩田敦子、梅木健二、石井寛、岸建志、白井亮、緒方正男、平松和史、門田淳一、真柴晃一、杉田隆、高倉俊二、福田隆浩、高田徹、田村和夫: 我が国で発生した播種性トリコスポロン症とその分離真菌に関する大規模疫学研究、第82回日本感染症学会、2008/4、島根
10. 串間尚子、時松一成、平松和史、門田淳一、杉田隆、高倉俊二、福田隆浩、高田徹、田村和夫: トリコスポロン血症におけるアゾール系抗真菌薬の有効性—深在性トリコスポロン症研究会報告症例の解析—、第56回日本化学療法学会総会、2008/6、岡山
11. Nanthawan Mekha、杉田隆、池田怜子、西川朱實: タイ患者より分離された *Trichosporon asahii* の遺伝子型および薬剤感受性、第52回日本医真菌学会総会 2008/9、長崎
12. 時松一成、串間尚子、門田淳一、杉田隆

非血液疾患における深在性トリコスポロン症の臨床検討—血液疾患発症症例と比較して—、第 52 回日本医真菌学会総会 2008/9、長崎

13. 倉門早苗、杉田隆、西川朱實：*Candida albicans* のバイオフィルム形成関連遺伝子、第 52 回日本医真菌学会総会 2008/9、長崎
14. 菅原二陽、石橋芳雄、杉田隆、西川朱實：マラセチア刺激によるヒト表皮角化細胞の TSLP 産生、第 52 回日本医真菌学会総会 2008/9、長崎
15. 杉田隆、木下 薫、小山清隆、高橋邦夫、江川清、野瀬清：海洋由来真菌代謝産物からの HIF-1a 阻害活性、日本生薬学会第 55 回年会、2008/9、長崎
16. 田元宏樹、杉田隆、木下 薫、小山清隆、高橋邦夫：海洋由来真菌からの抗真菌活性物質の探索、日本生薬学会第 55 回年会、2008/9、長崎
17. 菅野華子、牛腸義宏、三村成巨、渡辺誠、須藤真理子、重盛朋子、植田高弘、前田美穂、福永慶隆、杉田隆：ALL 維持療法中に深在性真菌症を発症した 3 例、第 70 回日本血液学会、2008/10、京都

H. 知的財産権の出願特許状況

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
深在性真菌症と輸入真菌症に関する新しい検査法と抗真菌薬の開発、並びに病原因子の
解明に向けたポストゲノムの基盤的研究

分担研究報告書

Aspergillus fumigatus 新規抗原検索と診断への応用

研究分担者 大野秀明 室長

研究協力者 山越 智、岡部智也、大川原明子、新見昌一、宮崎義継
国立感染症研究所 生物活性物質部

研究要旨 深在性真菌症、なかでも侵襲性アスペルギルス症はその致死率からも免疫不全者においては最重要の感染症である。現在アスペルギルスガラクトマンナン抗原検出法が比較的信頼性の高い検査として使用されているが、未だに特異度など課題の多い検査である。今回われわれはシグナルシーケンストラップ法を応用し、*Aspergillus fumigatus* 膜蛋白質、分泌蛋白質の網羅的検出を行った。その結果、約 70 個の蛋白質をコードする遺伝子が認められ、一部の遺伝子について *Saccharomyces cerevisiae* に導入した結果蛋白質の分泌が確認された。現在まで数種類の *A. fumigatus* の分泌蛋白質について、診断等への応用が可能な新規抗原となりうる候補蛋白質として選択し、またそれらに対するモノクローナル抗体の作製も進行させており、今後アスペルギルス症の診断、治療などへの応用を試みている。

A. 研究目的

医療技術の進歩によりもたらされる免疫不全者の増加などに伴い深在性真菌症も近年増加傾向を示している。なかでもアスペルギルス属による感染症、とくに白血病などに合併する侵襲性アスペルギルス症は、比較的致死率の高い重篤な感染症である。現在、アスペルギルス感染症の早期診断を目的として使用されているガラクトマンナン抗原検出系は、血液悪性疾患の患者では約 80%の感度を有して

いるが、他の基礎疾患では特異度が低く、より感染実態を反映するアスペルギルス感染症の早期診断系の確立が求められている。

このような背景のもと、われわれの研究室では侵襲性アスペルギルス症の原因真菌で最も多い *Aspergillus fumigatus* を対象に、早期診断系の作製を念頭に新たな標的抗原の検索を行った。

B. 研究方法

1. *A. fumigatus* RNA 抽出: *A. fumigatus* 臨床分離株 MF-13 の conidia を窒素制限培地 (50 mM Borate buffer (pH 7.6), 0.05% YCB) で 37°C で約 7 日間培養した。培地において分生子が菌糸形成し、直径 1 ~ 10mm の球状に増殖した時点で集菌し ISOGEN を用いて total RNA を抽出した。

2. シグナルシークエンストラップ法 (SST 法)

抽出した *A. fumigatus* total RNA から cDNA を作成し、MPL^V を含む発現ベクターを用いて cDNA ライブラリーを作成した。リポフェクチンを用いてマウス由来 BAF 細胞にトランスフェクションし、自律増殖可能な細胞をスクリーニングした。増殖可能な細胞からトランスフェクションにより導入したベクター配列を確認し、*A. fumigatus* 由来遺伝子と推定される遺伝子断片のシークエンスを行った。

3. *Saccharomyces cerevisiae* 発現による分泌蛋白質の検出

SST 法で得られた分泌蛋白質、膜蛋白質をコードすると考えられる *A. fumigatus* 遺伝子の中から *A. fumigatus* のデータベースに記載されている annotation 情報と、得られたクローン数を考慮し、数種類を新規抗原候補として選択した。これら選択した遺伝子を HA tag を含む pADH-HA ベクターに挿入し、*S. cerevisiae* に導入し、分泌蛋白質をコードするかを確認した。

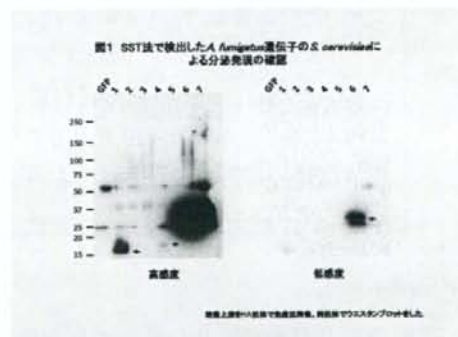
C. 研究結果

1. *A. fumigatus* における SST 法の有効性。真菌である *A. fumigatus* 遺伝子をトランスフェクションによりマウス由来細胞に導入した場合でも、導入した糸状菌由来

タンパク質のシグナルペプチドによりマウス細胞表面に移送されることが明らかになった。

2. 同定された *A. fumigatus* 遺伝子。得られた SST クローンの総数は 403 個で、データベースを参照し約 70 個の *A. fumigatus* 遺伝子が同定された。約 9 個の既に報告されている *A. fumigatus* 遺伝子にコードされるタンパク質には、*A. fumigatus* の細胞表面に局在することが、以前示されている *Afm2p* などが含まれていた。

3. *S. cerevisiae* での分泌確認。*S. cerevisiae* に導入した候補遺伝子のうち、全体の約半数近くで蛋白質の分泌が確認された (図 1)。この分泌が確認されたものの中から一部を選択し、現在モノクローナル抗体を作製中である。



D. 考察

SST 法は、細胞膜あるいは細胞外へ分泌される蛋白質を同定する手法として Tashiro らにより報告された (Tashiro et al. *Science*, 1993)。今回われわれはこの手法を糸状菌、とくに *A. fumigatus* に応用することで、新たな診断系の標的となりうる可能性のある分泌蛋白質の網羅的検出を試みた。