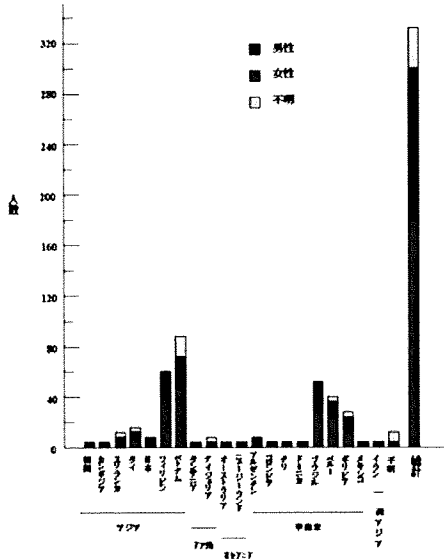


Ⅶ. Ⅲ (3年間の研究成果)の概要図等

平成19/20年度 在留外国人健診受診者 (334名 (男性121名、女性182名、性別不明31名))
 国籍 および 陽性者結果



慢性寄生虫/原虫症罹患可能性が疑われる在留外国人

免疫学的血清診断陽性 27名

- * 抗内臓リーシュマニア症抗体陽性 ベトナム人 2名
- * 抗シャーガス病抗体陽性 ボリビア人 1名
- * 抗トキソカラ症抗体陽性 17名(ベトナム人5名、フィリピン人5名、
タイ人3名、ボリビア人2名、韓国人1名、
日本人1名)
- * 抗顎口虫抗体陽性 ボリビア人 3名
- * 抗赤痢アメーバ抗体陽性 ベトナム人 1名
- * 抗旋毛虫抗体陽性 ボリビア人 1名
- * 抗住血吸虫抗体陽性 ナイジェリア人 1名
- * 抗多包桑虫抗体陽性 フィリピン人 1名

糞便検査陽性 14名(うち1名は、3種混合感染)

- * Entamoeba属感染症 6名(ブラジル人3名、
(*E. histolytica*)か*E. dispar*は未確定)
うち1名は3種混合感染、ペルー人1名、
ボリビア人1名、ベトナム人1名)
- * ランブル鞭毛虫症 3名(ブラジル人1名、ペルー人1名、
ボリビア人1名)
- * クリプトスポリジウム症 6名(ブラジル人1名、ベトナム人5名)
- * 鉤虫症 フィリピン人 1名

平成21年度 在留外国人健診受診者数 (男性71名、女性101名) および 検査所見結果

表2 平成21年度 在日外国人健康診断の実施要領

実施場所	健康診断日	対象	受診者数 (有所見者)	結果報告日
1 群馬県 太田市	某産婦人科医院	8月中～9月下 妊産婦	13 (0)	11月15日
			79 (10)	
2 茨城県 常総市	ブラジル人学校	11月29日	80 (未)	12月19日 (予定)

- * 血清マラリア抗体陽性 1名
- * 血清赤痢アメーバ抗体陽性 5名
- * 血清顎口虫抗体陽性 2名
- * 血清マンソン住血吸虫抗体陽性 1名
- * 大腸アメーバシスト陽性(便) 2名

平成21年度 慢性寄生虫感染症 教育啓発活動

平成 21 年度 慢性寄生虫感染症 教育啓発活動

平成19-21年度
厚生労働科学研究費補助金による新興・再興感染症研究事業

教育講演会

慢性寄生虫感染症の侵入監視
及びその健康管理体制の確立
(H19-新興-一般-007)

研究の背景
1. 在留外国人の増加に伴い、国内で流行を始めた/増えた感染症が確認されている可能性がある。
2. 慢性感染症の侵入/侵入の監視が困難なため、その発生は明らかでない。
3. 本邦では慢性感染症/感染症の侵入/侵入の監視が困難なため、その発生は明らかでない。
4. 本邦では慢性感染症/感染症の侵入/侵入の監視が困難なため、その発生は明らかでない。

慢性寄生虫感染症 研究班 詳細
研究代表者: 首草 博 防衛医科大学校 国際感染症学 教授
研究分担者: 赤坂 博明 京都医科大学 国際感染症学 准教授
研究分担者: 大西 誠也 京都府立医科大学 感染症科 部長
研究分担者: 高本 雅典 徳川大学医学部 感染症学 准助
研究分担者 (注): 倉 豊彦 徳川大学医学部 感染症学 准教授

我々研究班が推進する調査研究は、正しい知識と適切な対応を取るために不可欠な慢性寄生虫感染症の実態解明を目的としています。
日本人の日本人となった在留外国人の方々の母国では、我々日本人には馴染みの無い感染症が流行している地域があります。それらの感染症は、万一日本国内に侵入したとしても流行を起こす可能性が全く無いが、適切に対応すれば流行しない感染症です。
この教育講演会では、これらの感染症を分かりやすく解説し、無知から偏見や不安な恐怖を抱いてしまわないように正しい知識と適切な対応法の普及を念頭に置いています。そして、日本人である日本人と在留外国人の方々が正しい知識で相対していただくための一助となることを期待しています。

東京府講演会 会場: 東京府
日時: 平成21年11月17日(土)午後2時開演 18時閉演(18時30分)
会場: 東京府保健福祉センター(豊洲)第11号館(11-1)
〒163-8671, 東京都江東区豊洲

大阪府講演会 会場: 大阪府 (注)大阪府医師会
日時: 平成21年11月18日(土)午後2時開演 18時閉演(18時30分)
会場: 大阪府医師会(中之島)第1号館(11-1)
〒100-8511, 東京都中央区

徳島県講演会 会場: 徳島県医師会
日時: 平成21年11月19日(土)午後2時開演 18時閉演(18時30分)
会場: 徳島県医師会(徳島市)第1号館(11-1)
〒770-8511, 徳島県徳島市

事務局
防衛医科大学校
国際感染症学推進
会
会址: 東京
〒163-8671
電話: 03-2492-1376
Email: masuo@jhu.ac.jp

「慢性寄生虫感染症の侵入監視及びその健康管理体制の確立」
～研究推進の3つの柱～

在留外国人健診
～より多様な在留外国人の受診が期待出来る～
* 在留外国人診療に実績のある医療機関
* キリスト教会
* 在留外国人コミュニティのリーダー主導
* 在留外国人学校

基盤研究の推進
～疫学研究を支える基礎的研究の推進～
* 新規診断手法の開発研究
* 新規感染制御手法の開発研究

教育啓発活動
～偏見、根拠の無い不安を払拭する～
* 慢性寄生虫症 教育講演会
* 6ヶ国語(日本語、英語、ポルトガル語、ハンガ
ル語、スペイン語、中国語)健康手帳の配布
* 健診結果 説明会

○研究代表者の研究歴等**・過去に所属した研究機関の履歴**

昭和 63 年 4 月 慶應義塾大学医学部 熱帯医学・寄生虫学教室
 平成 4 年 4 月 米国国立衛生研究所 国立アレルギー・感染症研究所 寄生虫病研究部門
 平成 6 年 3 月 米国ニューヨーク大学医学部 医寄生虫学教室
 平成 9 年 1 月 順天堂大学医学部 寄生虫学講座
 平成 16 年 4 月 順天堂大学大学院 アトピー疾患研究センター 兼務
 平成 18 年 4 月 防衛医科大学校 国際感染症学講座 (現職)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

竹内 勤 博士 (慶應義塾大学医学部)
 Dr. James A. Dvorak (米国国立衛生研究所) (物故)
 Dr. Fidel Zavala (米国ニューヨーク大学医学部・現ジョンズホプキンス大学)
 Dr. Ruth S. Nussenzweig (米国ニューヨーク大学医学部)
 奥村 康 博士 (順天堂大学医学部)
 小川 秀興 博士 (順天堂大学医学部)

・主な研究課題

1. ニューモシスチス・カリニの培養法の開発
2. 赤痢アメーバ症の疫学的研究
3. キネトプラスト属原虫における遊離ミトコンドリア DNA の解析
4. マラリア感染制御機構の解析、マラリアワクチンの開発研究
5. トリパノソーマ感染モデルを用いた T 細胞免疫応答誘導手法の開発研究

・これまでの研究実績

1. Miyahira Y.: *Trypanosoma cruzi* infection from the view of CD8⁺ T cell immunity - An infection model for developing T cell vaccine. *Parasitol Int.*, 57, 38-48, 2008. 2. Miyahira Y., Takashima Y., Kobayashi S., *et al.*: Immune responses against a single CD8⁺-T-cell epitope induced by virus vector vaccination can successfully control *Trypanosoma cruzi* infection. *Infect. Immun.*, 73, 7356-7365, 2005. 3. Miyahira Y., Akiba H., Katae M., *et al.*: A potent adjuvant effect of ligand to receptor activator of NF-κB gene for inducing antigen-specific CD8⁺ T cell response by DNA and viral vector vaccination. *J. Immunol.*, 171, 6344-6348, 2003. 4. Miyahira Y., Akiba H., Ogawa S., *et al.*: Involvement of ICOS-B7RP-1 costimulatory pathway in the regulation of immune responses to *Leishmania major* and *Nippostrongylus brasiliensis* infections. *Immunol. Lett.*, 89, 193-199, 2003. 5. Miyahira Y., Katae M., Kobayashi S., *et al.*: Critical contribution of CD28-CD80/CD86 costimulatory pathway to protection from *Trypanosoma cruzi* infection. *Infect. Immun.*, 71, 3131-3137, 2003. 6. Miyahira Y., Katae M., Takeda K., *et al.*: Activation of natural killer T cells by α-galactosylceramide impairs DNA vaccine-induced protective immunity against *Trypanosoma cruzi*. *Infect. Immun.*, 71, 1234-1241, 2003. 7. Katae M., Miyahira Y., Takeda K., *et al.*: Coadministration of an interleukin-12 gene and a *Trypanosoma cruzi* gene improves vaccine efficacy. *Infect. Immun.*, 70, 4833-4840, 2002. 8. Oliveira-Ferreira J., Miyahira Y., Layton G.T., *et al.*: Immunogenicity of Ty-VLP bearing a CD8⁺ T cell epitope of the CS protein of *P. yoelii*: enhanced memory response by boosting with recombinant vaccinia virus. *Vaccine*, 18, 1863-1869, 2000. 9. Akiba H., Miyahira Y., Atsuta M., *et al.*: Critical contribution of OX40 ligand to T helper 2 cell differentiation in experimental leishmaniasis. *J. Exp. Med.*, 191, 375-380, 2000. 10. Miyahira Y., Kobayashi S., Takeuchi T., *et al.*: Induction of CD8⁺ T cell-mediated protective immunity against *Trypanosoma cruzi*. *Int. Immunol.*, 11, 133-141, 1999. 11. Miyahira Y., Garcia-Sastre A., Rodriguez D., *et al.*: Recombinant viruses expressing a human malaria antigen can elicit potentially protective immune CD8⁺ responses in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 95, 3954-3959, 1998. 12. Tsuji M., Miyahira Y., Nussenzweig R.S., *et al.*: Development of anti-malaria immunity in mice lacking interferon-γ receptor. *J. Immunol.*, 154, 5338-5344, 1995. 13. Miyahira Y., Murata K., Rodriguez D., *et al.*: Quantification of antigen specific CD8⁺ T cells using an ELISPOT assay. *J. Immunol. Methods*, 181, 45-54, 1995. 14. Miyahira Y. and Dvorak J.A.: *Kinetoplastidae* display naturally-occurring ancillary DNA-containing structures. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 65, 339-349, 1994. 15. Miyahira Y. and Takeuchi T.: Application of ATP measurement to evaluation of the growth of parasitic protozoa *in vitro* with a special reference to *Pneumocystis carinii*. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 100, 1031-1034, 1991.

・平成 22 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

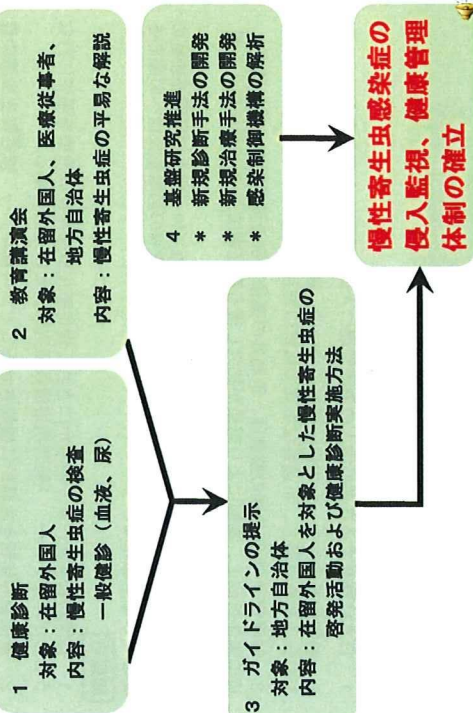
「海外からの旅行者により持ち込まれて国内で感染拡大が危惧される寄生虫等の希少な感染症への対応に関する研究」(22180901)

厚生労働科学研究補助金
新興・再興感染症研究事業

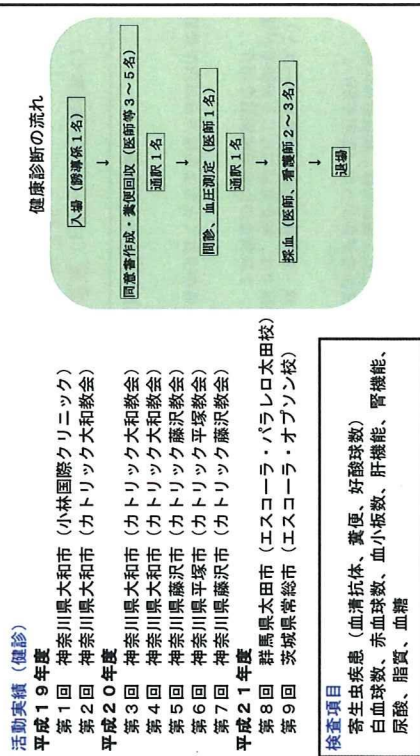
慢性寄生虫感染症の侵入監視
及びその健康管理体制の確立
(H19 - 新興 - 一般 - 007)

研究代表者	宮平 慎	防衛医科大学校
研究分担者	大西 健児	東京医科歯科大学医学部
	高本 雅哉	東京都立豊稷病院
	竹内 浩希	信州大学医学部
	加来 浩希	鹿嶋工業大学医学部
	金山 敦宏	防衛医科大学校
	小野 岳史	防衛医科大学校
	高山 英次	防衛医科大学校 (現 朝日大学歯学部)
	山口 剛子	防衛医科大学校
	梅本 紗央里	防衛医科大学校
	千種 雄一	瑞穂医科大学
	三浦 左千夫	鹿嶋工業大学医学部
	中村 (内山) ふくみ	東京都立豊稷病院
	伊藤 菜一	伊藤産婦人科 (群馬県太田市)
	小林 米幸	小林国際クリニック (神奈川県大和市)
	佐山 理絵	東邦大学医学部
	量 倫子	東邦大学医学部

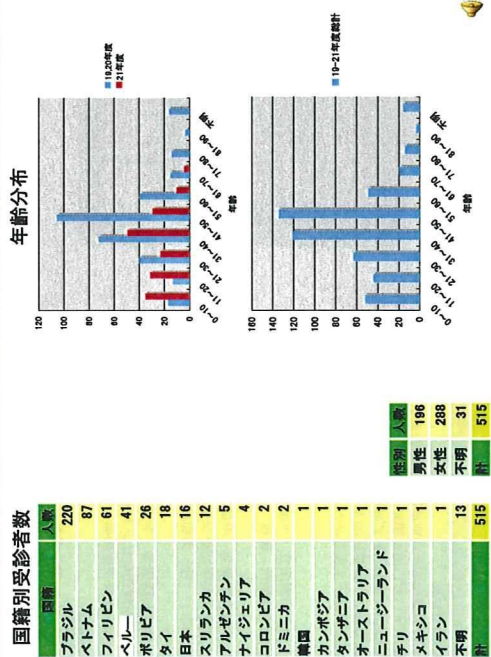
3年間の研究概要



在留外国人対象健康診断の概要



健康診断受診者の概要 (3年間総計)



検査結果の概要とフォローアップの状況

疾患別陽性者数

種別	陽性者数			
	1-7	8	9	計
トキソプラズマ症	61	-	-	61
犬猫回虫症	17	0	2	19
顎口虫症	5	2	3	10
赤痢アメーバ症	1	4	0	5
性血吸虫症	1	1	1	3
内臓リーシュマニア症	2	0	0	2
マラリア	0	1	2	3
シャーガス病	1	0	0	1
旋毛虫症	1	0	0	1
多包虫症	1	0	0	1
Entamoeba 属感染症	6	0	0	6
クリプトスポリジウム症	3	0	0	3
ランボル毛虫症	1	0	0	1
鉤虫症	0	0	1	1
蟻虫症	0	0	1	1
計	106	8	10	124

第1-7回健康診断のカトリック教会をベースとした健診では、結果返却に参集しない受診者が多かった(原因不明)。

第8回・9回健康診断の学校をベースとした健診では、結果返却に応じる受診者が増えた。2次精査のため医療機関を紹介。

20名中少なくとも2名は6日以内に受診

1名は異常なしとの報告

抗体検査 (トキソプラズマ症を除く)

陽性率 = **8.7%**

4.1 (陽性者数) / 47.3 (採血応諾者数)

糞便検査 (蟻虫症を除く)

陽性率 = **6.1%**

1.6 (陽性者数) / 26.3 (糞便検査者数)

教育講演会

教育啓発活動の意義

日本における慢性寄生虫感染症は稀であるため、それに対する医療体制は充実していないのが現状である。慢性寄生虫症を罹患して病状が重いと推測される在留外国人の健康状態が危殆に陥る。この教育講演会は、在留外国人、医療従事者、行政担当者に対し、慢性寄生虫症に関する基礎的な知識を広めることがねらいである。

活動実績

- 第1回 横浜市講演会 (平成21年9月5日)
会場 横浜市保健所、後援 横浜市
- 第2回 大和市講演会 (平成21年10月3日)
会場 大和市保健福祉センター
後援 大和市、(社)大和市医師会
- 第3回 横浜市講演会 (平成21年10月10日)
会場 TRP横浜駅西口ビジネスセンター
後援 (社)横浜市医師会

取り上げた疾患

- 原虫症 (リーシュマニア症、シャーガス病、マラリア、トキソプラズマ症、クリプトスポリジウム症、赤痢アメーバ、ジアルジア症、サイクロスポーラ症、イソスポーラ症、カリニ肺炎)
- 吸虫症 (肺吸虫症、旋毛虫症、イソ回虫症、プラジカル虫症、イヌ糸状虫症、糞線虫症)
- 条虫症 (顎口虫症、無鉤条虫症、有鉤条虫症、有鉤線虫症)
- タニシ

広報ポスター



地方自治体向けガイドライン「地方自治体における在留外国人を 対象とした慢性寄生虫症診療の進め方」の概要

ガイドライン目次	現在作成途中
第1章 在留外国人数の統計資料	6
第2章 慢性寄生虫感染症の原啓発活動	1.0
第3章 健康診断の実施	1.4
1-1 地域協力者の選定	
1-2 会場選定	
1-3 宣伝活動	
1-4 実施要領	
1-5 採血率の向上	
1-6 検体採取場所・検体回収の明確化	
1-7 検体収集の検討等	
おわりに	1.7
資料1 教育講演会プログラム	1.8
資料2 教育講演会の広報ポスター	1.9
資料3 教育講演会のアンケート結果	2.0
資料4 健康手帳と同書	2.4
資料5 慢性寄生虫感染症の確定診断法	5.2

在留外国人が急増していることを統計資料を使って強調した。

教育講演会の意義と実施方法を説明した。

健康診断の実施にあたって、前記以下の点を概説した。

- 1 地域の外国人コミュニティリーダーへのアプローチする方法
- 2 会場方法
- 3 実施要領
- 4 採血方法
- 5 結果返却の方法、フォローアップの仕方

講演会プログラムの組み立てや広報ポスターの具体例を示した。

講演会実施後に健康度を分析し、講演会を評価する方法を具体的に示した。

在留外国人に慢性寄生虫を説明する方法として、各言語版に翻訳した健康手帳の配布を実施した。

医療関係者にとって有用な慢性寄生虫症診断法を紹介した。

地方自治体向けガイドラインに期待される点と問題点

期待される点

- 1 日本に滞在する在留外国人の健康管理に人道的側面から寄与する。
- 2 科学的視点に立った本健康事業の扱いは、在留外国人に対する感染症領域での先入観を排除し、不必要な不安の払拭に寄与する。
- 3 健康管理/教育体制の整備は、予測外の感染事例の可能性を未然に防ぎ、特に輸血行政上、輸血により感染が拡大し得る慢性寄生虫/原虫症に対する対策立案の科学的根拠となる。
- 4 グローバル化により国内への侵入可能性を高めている種々の国際感染症の知識啓蒙に寄与し、医療従事者のみならず一般の方々の方々の国際感染症への関心を高めることが出来る。

問題点

- 1 健康診断実施により明らかになった慢性寄生虫感染症の治療を適切に行なうことが可能か。→「熱帯病治療薬研究班」との連携を図る。
- 2 健康管理体制を系統的に機能させることが可能か。→慢性寄生虫感染症の診断、検査講習会を定期的に実施して行く。

研究班の個別研究内容の紹介 1

1 宮平 靖

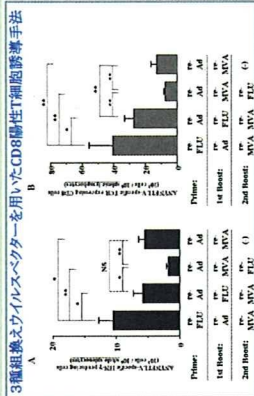
- 実験シヤーカーガス病動物感染モデルを利用した新規感染制御手法の開発研究
- マラリア感染制御手法の新規開発

2 竹内 勤

- 慢性期シヤーカーガス病の疫学研究
- 抗シヤーカーガス病抗体検査キットの有用性についての評価

3 赤尾信明

- 組織寄生虫の免疫血清抗体検査
- dot-ELISA法の確立と赤痢アメーバの血清抗体検査キットの開発



赤痢アメーバの血清抗体検査キットの開発



シヤーカーガス病の疫学調査の実施

研究班の個別研究内容の紹介 2

4 大西健児

- 我が国に居住する外国人の慢性寄生虫症を念頭にいた肝・胆の超音波検査

5 高本雅哉

- 慢性寄生虫/原虫症の罹患状況調査
- トキソプラズマ感染におけるSTAT6シグナルの機能解析

在留外国人超音波検査結果

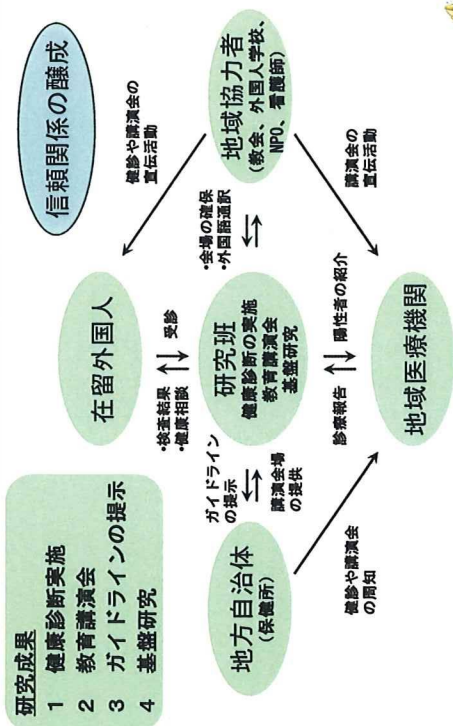
方法
ベトナム出身者68人、フィリピン出身者40人、カンボジア出身者26人、カンボジア出身者24人、ラオス出身者12人、アルゼンチン出身者5人、ナイジェリア出身者3人、コロンビア出身者2人、ニュージーランド出身者1人、オーストラリア出身者1人、メキシコ出身者、チリ出身者、イタリヤ出身者各1人を対象に、寄生虫症病変の検査を目的に肝・胆の超音波検査を行った。

結果
胆結石や胆嚢炎、膵臓がんなどの慢性寄生虫症を示唆する異常所見は観察されなかった。
寄生虫症系を指示する所見ではないが、胆筋が弱り、胆石が2人、胆筋が肥厚と胆石の両者が1人に観察された。

トキソプラズマ陽性者 (20年度)			トキソプラズマ陽性者 (21年度)		
Total	M	F	Total	M	F
Total	61/201	24/70	38/139	15/65	23/74
1-19	2/15	1/6	1/54	0/29	1/25
20-29	6/30	0/10	2/11	0/3	2/8
30-39	10/34	3/12	16/35	6/14	10/21
40-49	23/68	11/24	13/28	5/12	8/16
50-59	13/30	6/12	3/8	2/5	1/3
60-69	5/19	2/3	3/3	2/2	1/1

在留外国人におけるトキソプラズマ症の罹患調査

総括



平成 21 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：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礎的研究

課題番号：H19-新興-一般-008

研究代表者：大野 秀明

I. 研究の意義

(1) 臓器移植など先進医療の進歩に伴い、日和見感染として合併してくる深在性真菌症は多種多様にわたり、また予後不良であるなどその対策は重要であるが、わが国での真菌症の基礎的、臨床的研究は十分とはいえない。とくに侵襲性の真菌症に対する早期診断法の確立ならびに新規抗真菌薬の開発、耐性菌対策等が急務である。

(2) 輸入真菌症は日本人旅行者など健常人でも見られるが、メディア等も含め認知度が低く、診断法や診断可能な施設が極めて限られている問題点がある。これらが診断の遅れや患者の見逃しに繋がっている可能性があり、その対策を講じる必要がある。

II. 研究の目的、期待される成果

(1) 真菌の病原性の解明や深在性真菌症の疫学的検討を行い、真菌症発病に至るまでのメカニズム等について菌側、宿主側それぞれから要因を検討する。これにより真菌症の予防法や迅速診断法の開発に結びつけ、さらに新規抗真菌薬の基礎的研究を行う。これらを通して免疫不全宿主に合併する深在性真菌症の予後の改善を図る。

(2) 輸入真菌症の疫学的研究、迅速診断技術、簡易診断技術の基盤的研究を行う。これらを通して感染危険性地域の情報や患者発生動向を発信し公衆衛生に寄与するとともに、診断技術講習などを通じて輸入真菌症の全国的な認知度を高め診断率向上に繋げる。

(3) 真菌感染に関するメディア報道の実態を検証し、今後の真菌に関する情報発信に関して考察する。

III. 3年間の研究成果

・研究代表者 (H19、H20 年度：新見昌一)

(1) 主要病原真菌の抗真菌薬耐性に関与する遺伝子について、出芽酵母発現系での機能解析を行った。また、とくにカンジダ属、アスペルギルス属の有する種々の薬剤排泄 ABC 蛋白質と基質の相互作用に言及し、ABC 蛋白質の構造的特徴と基質輸送能の関連を明らかにした。

(2) カイコ感染実験モデルを用いたカンジダ属の病原性評価法を樹立した。

・研究代表者 (H21 年度：大野秀明、H20 年度は研究分担者)

(1) SST-REX 法を用いたアスペルギルス属の分泌蛋白、細胞表面蛋白の網羅的同定を行い、これらを標

的としたモノクローナル抗体の作成を通じて侵襲性アスペルギルス症の迅速診断法や抗体治療法の基礎的研究を行い、その有用性を示した。

(2) ヒストプラズマ症遺伝子診断を臨床検体への応用し、2008年に起こった日本人のヒストプラズマ症集団発生事例を診断し報告した。

・研究分担者(亀井克彦)

(1) 輸入真菌症の国内発生状況の経年的調査: 1980年代後半からわが国でのコクシジオイデス症、ヒストプラズマ症の症例の増加傾向が認められている。2009年はコクシジオイデス症2例(現在までの総数61例)、ヒストプラズマ症3例(同68例) パラコクシジオイデス症2例(同21例)などが確認できている。

(2) ヒストプラズマ症の血清診断法に関する検討を行い、組換え精製抗原タンパク質を抗原とする方法が診断法に有用であることを示し、実用化が可能であることを見出した。

(3) 肺線維症症例に潜在するヒストプラズマ症のスクリーニングに関する研究: 海外渡航歴のない日本人ヒストプラズマ症患者が全体の約15%に確認されていることから、わが国での存在が指摘されている。これらは肺線維症と扱われている可能性があり、42名の患者で抗体スクリーニングを行った。

・研究分担者(槇村浩一)

(1) 真菌症起因菌となる新種微生物の記載: ヒト臨床検体より分離された病原体として2種の新種記載・報告(*Candida auris*, *Prototheca cutis*)を行った。また、1種の新種酵母(*Sporobolomyces koalae*)を記載・報告した。

(2) 真菌症起因菌の分離培養と生態の解明: 培養が困難であったために解析が遅れていた *Malassezia* 属酵母に対する有効な培養法と表現形質の解析法を開発・報告した。また、本菌のヒト常在菌としての生態学的研究を行う等、国内における病原真菌の分布および生態に関する報告を行った。

(3) 輸入真菌症および日和見真菌症の迅速診断法の開発

新規プライマー系を用いた新興真菌血症起因菌 *Candida guilliermondii* に対する遺伝子同定法の開発・報告した。また、*Pneumocystis* 肺炎に対して我が国にて発明された loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法を用いた新規遺伝子診断法を研究開発し、報告することに成功した。

・研究分担者(渋谷和俊)

(1) ホルマリン固定パラフィン切片における *In situ* hybridization (ISH)法のプローブとして、Peptide Nucleic Acid (PNA)を新たに導入し、*C. albicans* 26S rRNAを標的としたPNAプローブにおいてその特異性と迅速性を確認した。またこの方法を様々な病原性真菌検出に応用し、病理診断での有用性を確認した。

・研究分担者(上 昌広)

(1) 新聞、雑誌、およびマンガなどにおいて、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、「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。

・研究分担者(菊池 賢)

(1) 日本で分離されたカンジダ属 1200 株を対象にの遺伝的多様性解析を行い、データベース化を行った。また、カンジダ属の検査室レベルでの簡易な同定法を開発した。

(2) 日本国内の洞窟 67 箇所を調査しヒストプラズマ属の検出を行った結果、わが国での生息の可能性は低いことを見出し報告した。

・研究分担者(杉田 隆)

(1) 抗真菌薬シーズの開拓：海生菌の培養ろ液中から新規な化学構造を示す抗真菌物質を単離・精製することに成功した。当該化合物は*Candida*等の子囊菌および*Cryptococcus*等の担子菌に幅広い抗菌スペクトルを示すとともに、アゾール耐性株にも抗菌作用を示した。

(2) 輸入真菌感染症の診断法開発：輸入真菌感染症マルネッフィ型ペニシリウム症の迅速診断の目的で TaqMan Probe を用いた高感度定量検出系を構築した。

・研究分担者(上原至雅)

(1) 深在性真菌症に対する新しい抗真菌剤リードの発見をめざし、微生物由来の化合物ライブラリーの中に探索を行い、真菌の ABC トランスポーターを阻害する新規物質を見出した (19 年度)。また、*Candida albicans* の病原性に関与するタンパク質リン酸化酵素、及びタンパク質脱リン酸化酵素の探索を行い、それぞれ候補の酵素を見出した (20 年度)。*Candida albicans* の生育に必須のタンパク質リン酸化酵素の阻害剤を探索し、抗真菌剤の新たな候補物質を見出した (21 年度)。

・研究分担者(三嶋廣繁)

(1) カンジダ臨床分離株における micafungin の paradoxical effect の機序ならびに臨床効果との相関を検討し、臨床的には感受性と解釈できることを見出した。

・研究分担者(川上和義)

(1) 現在までクリプトコックス感染防御における NKT 細胞の重要性を明らかにしてきた。本研究では、クリプトコックス感染による NKT 細胞の活性化メカニズムを明らかにするために、菌体から得られた糖脂質の NKT 細胞に対する活性化作用について検討を行った。また、クリプトコックス由来の DNA が TLR9 を介して樹状細胞を活性化することを明らかにするとともに、その活性化には CpG モチーフとは異なる機序が関与している可能性を明らかにした。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 深在性真菌症の新たな治療法の研究および真菌症サーベイランスネットワーク体制の構築
- (2) 輸入真菌症の知識、遺伝子診断法の普及ならびにヒストプラズマ症の感染症法指定への取組み
- (3) 高齢化社会や高度医療社会へ向けた真菌感染症に対する予防戦略の構築

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 科学的根拠の提供により深在性真菌症の診断、治療、予防や医療費低減に貢献できる可能性
- (2) 輸入真菌症の情報提供により海外在住者や旅行者の危険地域回避行動や検疫業務活動への貢献
- (3) 真菌症全般に対する国民の認知度を高め、国民的合意形成に資する可能性

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

(研究代表者)

- (1) Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, Miyazaki Y. An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. *Internal Medicine* (in press).
- (2) Kaneko Y, Ohno H, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. The effect of an Hsp90 inhibitor on the paradoxical effect. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 62: 392-393, 2009.

(研究分担者)

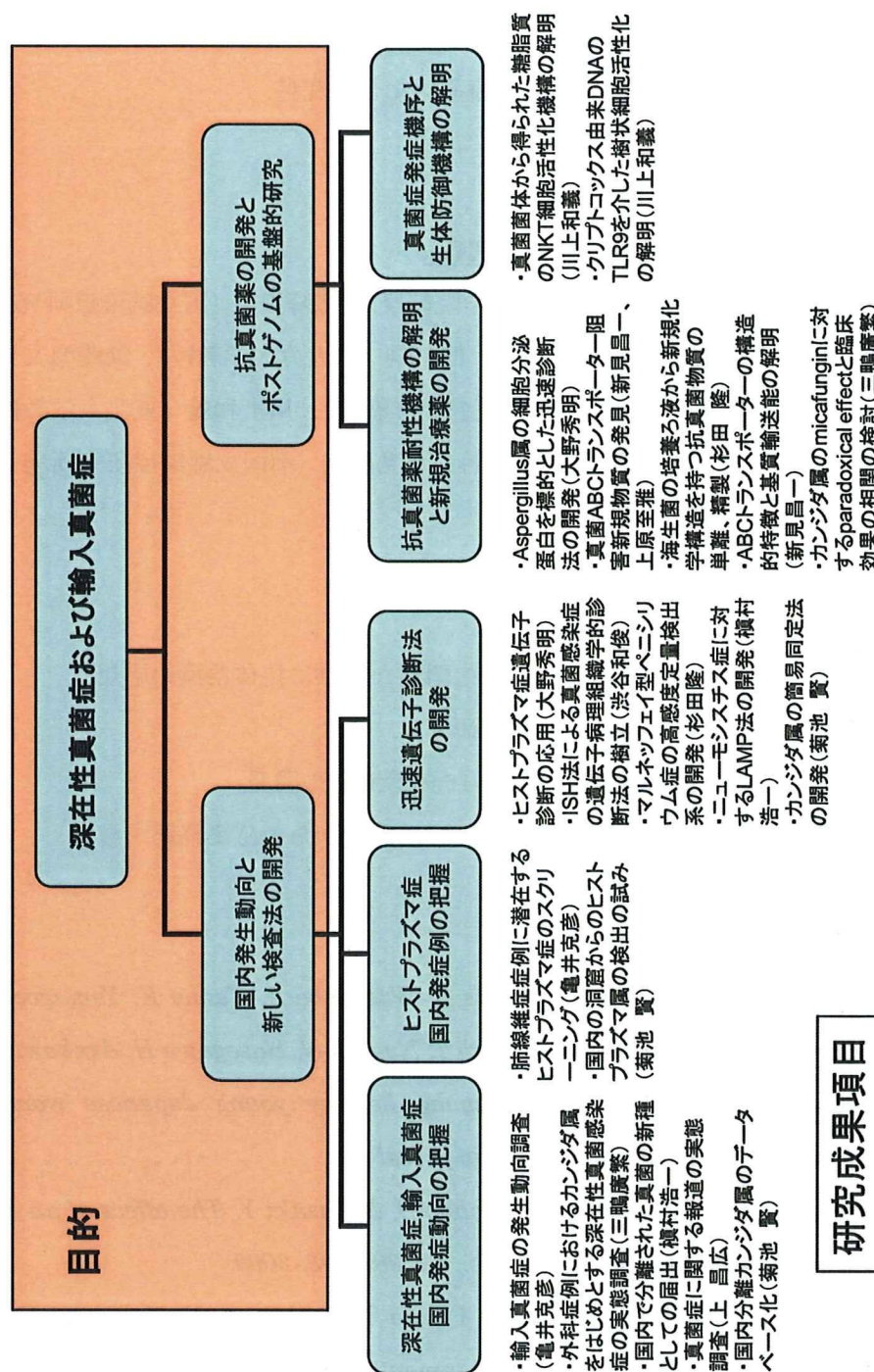
- (3) Tanabe K., Lamping E., Adachi K., Takano T., Kawabata K., Shizuri Y., Niimi M., Uehara Y. Inhibition of fungal ABC transporters by unnarmicin A and unnarmicin C, novel cyclic peptides from marine bacterium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 364: 990-995, 2007.
- (4) Sugita T, Takashima M, Sano A, Nishimura K, Kinebuchi T, Yamaguchi S, Osanai H. *Cryptotoccus arboriformis* sp. nov., a novel anamorphic basidiomycetous yeast species isolated from a patient's urine. *Microbiol. Immunol.* 51:543-5, 2007.
- (5) Kaneko T, Makimura K, Abe M, Shiota R, Nakamura Y, Kano R, Hasegawa A, Sugita T, Shibuya S, Watanabe S, Yamaguchi H, Abe S, Okamura N. A revised culture based identification system for *Malassezia*. *J. Clin. Microbiol.* 45:3737-42, 2007.
- (6) Lamping E, Monk BC, Niimi K, Holmes AR, Tsao S, Tanabe K, Niimi M, Uehara Y, and Cannon RD Characterization of three classes of membrane proteins involved in fungal azole resistance by functional hyperexpression in *Saccharomyces cerevisiae* *Eukaryotic Cell*, 6, 1150-1165, 2007.
- (7) 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.
- (8) Uemura N, Makimura K, Onozaki M, Otsuka Y, Shibuya Y, Yazaki H, Kikuchi Y, Abe S,

- Kudoh S: Development of loop-mediated isothermal amplification method for diagnosing *Pneumocystis pneumonia*. *Journal of Medical Microbiology* 57(1):50-7 2008.
- (9) Sugino K, Hasegawa C, Sano G, Shibuya K, Homma S. Pathophysiological Study of Chronic Necrotizing Pulmonary Aspergillosis. *Jap J Infect Dis*, 61(6): 450-3, 2008.
- (10) Hanaoka N., Takano Y., Shibuya K., Fugo H., Uehara Y. and Niimi M. Identification of the putative protein phosphatase gene PTC1 as a virulence-related gene using a silkworm model of *Candida albicans* infection. *Eukaryotic Cell*, 7: 1640-1648, 2008.
- (11) Ochiai E, Kamei E, Watanabe A, Nagayoshi M, Tada Y, Nagaoka T, Sato K, Sato A, Shibuya K. Inhalation of *Stachybotrys chartarum* causes pulmonary arterial hypertension in mice. *International Journal of Experiment Pathology*, 89 : 201-8, 2008.
- (12) Shibuya K. The Latest Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Invasive Fungal Infection. *Journal of the Medical Society of Toho University* 55(1): 45-54, 2008.
- (13) Omuta J, Uchida K, Yamaguchi H, Shibuya K. Histopathological Study On Experimental Endophthalmitis Induced by Blood stream Infection with *Candida albicans*. *Jpn J Infect Dis* 60: 33-39, 2007.
- (14) Yamada T, Makimura K, Hisajima T, Ito M, Umeda Y, Abe S: Genetic transformation of the dermatophyte, *Trichophyton mentagrophytes*, based on the use of G418 resistance as a dominant selectable marker. *Journal of Dermatological Science* 49(1):53-61 2008 .
- (15) Osumi T, Kishimoto Y, Kano R, Maruyama H, Onozaki M, Makimura K, Ito T, Matsubara K, Hasegawa A: *Prototheca zopfii* genotypes isolated from cow barns and bovine mastitis in Japan. *Veterinary Microbiology* 131(3-4):419-423,2008.
- (16) Kano R, Sano A, Makimura K, Watanabe S, Nishimura K, Yamaguchi H, Hasegawa A: A new genotype of *Arthroderma benhamiae*. *Medical Mycology* 46(7):739-744, 2008.
- (17) Miyazato A, Nakamura K, Yamamoto N, Mora-Montes HM, Tanaka M, Abe Y, Tanno D, Inden K, Gang X, Ishii K, Takeda K, Akira S, Saijo S, Iwakura Y, Adachi Y, Ohno N, Mitsutake K, Gow NA, Kaku M, Kawakami K.: Toll-like receptor 9-dependent activation of myeloid dendritic cells by Deoxynucleic acids from *Candida albicans*. *Infect Immun*. 77: 3056-3064, 2009.
- (18) Shinozaki M, Okubo Y, Nakayama H, Mitsuda A, Ide T, Murayama S, Shibuya K. Application of *In Site* Hybridization to Tissue Sections for Identification of Molds Causing Invasive Fungal Infection. *Jpn J Med Mycol*, 50:75-83, 2009.
- (19) Yang X, Sugita T, Takashima M, Hiruma M, Li R, Sudo H, Ogawa H, Ikeda S. Differentiation of *Trichophyton rubrum* clinical isolates from Japanese and Chinese patients by randomly amplified polymorphic DNA and DNA sequence analysis of the non-transcribed spacer region of the rRNA gene. *J Dermatol Sci*. 54, 38-42, 2009.

- (20) Onozaki M, Makimura K, Hasagawa A: Rapid identification of *Prototheca zopfi* by nested polymerase chain reaction based on the nuclear small subunit ribosomal DNA. *Journal of Dermatological Science*, 2009 Apr;54(1):56-59.
- (21) Koga H, Nanjoh Y, Makimura K, Tsuboi R: In vitro antifungal activities of luliconazole, a new topical imidazole. *Medical Mycology* 47(6):640-647, 2009.
- (22) Uchida T, Makimura K, Ishihara K, Goto H, Tajiri Y, Okuma M, Fujisaki R, Uchida K, Abe S, Iijima M: Comparative study of direct PCR, microscopic examination, and culture-based morphological methods for detection and identification of dermatophytes in nail and skin samples. *Journal of Dermatology* 36(4): 202-208, 2009.
- (23) Ogawa H, Fujimura M, Takeuchi Y, Makimura K: Is *Bjerkandera adusta* important to fungus-associated chronic cough as an allergen? Eight cases report. *Journal of Asthma*, 2009 Oct;46(8):849-55.
- (24) Ogawa H, Fujimura M, Takeuchi Y, Makimura K: Efficacy of itraconazole in the treatment of patients with chronic cough whose sputa yield basidiomycetous fungi; fungus-associated chronic cough (FACC) *Journal of Asthma* 2009. May;46(4):407-12.
- (25) Ebihara M, Makimura K, Sato K, Abe S, Tsuboi R: Molecular detection of dermatophytes and nondermatophytes in onychomycosis by nested PCR based on 28S ribosomal RNA gene sequences. *British Journal of Dermatology*. 2009 Nov;161(5):1038-1044
- (26) Sugita T, Suzuki M, Goto S, Nishikawa A, Hiruma M, Yamazaki T, Makimura K: Quantitative analysis of the cutaneous *Malassezia* microbiota in 770 healthy Japanese by age and gender using a real-time PCR assay. *Medical Mycology*. 2009 May 21:1-5.
- (27) Yamamura M, Makimura K, Fujisaki R, Satoh K, Kawakami S, Nishiya H, Ota Y. Polymerase chain reaction assay for specific identification of *Candida guilliermondii* (*Pichia guilliermondii*). *J Infect Chemother*. 2009 Aug;15(4):214-8.
- (28) Ogawa H, Fujimura M, Takeuchi Y, Makimura K: The importance of basidiomycetous fungi cultured from sputum of chronic idiopathic cough. *Respiratory Medicine*. 2009 Oct;103(10):1492-7.
- (29) Satoh K, Ooe K, Nagayama H, Makimura K. *Prototheca cutis* sp. nov., a newly discovered pathogen of protothecosis isolated from inflamed human skin. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009 Aug 7. [Epub ahead of print]

Ⅶ. Ⅲ (3年間の研究成果)の概要図等

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(研究成果概要図)



○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

- ・1993年～1997年：長崎大学大学院（博士課程）
- ・1999年～2000年：長崎大学医学部
- ・2000年～2003年：米国 Albert Einstein College of Medicine
- ・2003年～2007年：長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
- ・2008年～：国立感染症研究所

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

河野 茂（長崎大学病院長、長崎大学大学院教授）、宮崎義継（国立感染症研究所部長）、朝野和典（大阪大学教授）、賀来満夫（東北大学教授）、門田純一（大分大学教授）、前崎繁文（埼玉医科大学教授）、亀井克彦（千葉大学教授）、渋谷和俊（東邦大学教授）、川上和義（東北大学教授）、三嶋廣繁（愛知医科大学教授）、榎村浩一（帝京大学准教授）、新見昌一（前国立感染症研究所室長）、古賀宏延（宮崎病院長）、泉川公一（長崎大学助教）

・主な研究課題

- ・侵襲性アスペルギルス症の迅速診断法の開発ならびに抗体治療の応用
- ・クリプトコックス属の病原性に関する研究
- ・潜在性クリプトコックス感染症の in vitro 診断系の開発
- ・ヒストプラズマ症の迅速診断法開発ならびに環境からの感染経路の解明

・これまでの研究実績

- 1) Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, Miyazaki Y. *An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. Internal Medicine (in press)*
- 2) Kaneko Y, Ohno H, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. *The effect of an Hsp90 inhibitor on the paradoxical effect. Jpn. J. Infect. Dis., 62: 392-393, 2009.*
- 3) Okumura A, Suzuki T, Dohmae N, Okabe T, Hashimoto Y, Nakazato K, Ohno H, Miyazaki Y, Yamagoe S. Identification and assignment of three disulfide bonds in mammalian leukocyte cell-derived chemotaxin 2 by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *BioScience Trends* 3:139-143, 2009.
- 4) Ohno H, Matsuo N, Suyama N, Nagayoshi Y, Kohara N, Kazumi Y, Miyazaki Y, Kohno S. The first surgical treatment case of pulmonary *Mycobacterium malmoense* infection in Japan. *Internal*

Medicine 47: 2187-2190, 2008.

- 5) Kohno Y, Ohno H, Miyazaki Y, Higashiyama Y, Yanagihara K, Hirakata Y, Fukushima K, Kohno S. In Vitro and In Vivo Activities of Novel Fluoroquinolones Alone and in Combination with Clarithromycin against Clinically Isolated *Mycobacterium avium* complex Strains in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 51: 4071-4076, 2007.
- 6) Yanagihara K, Kuroki M, Higuchi N, Ohno H, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Hirakata Y, Mukae H, Tomono K, Mizuta Y, Kadota J, Tsukamoto K, Kohno S. Telithromycin inhibits the number of viable bacteria but not lymphocyte accumulation in a murine model of chronic respiratory infection. *Chemotherapy*. 53:10-13, 2007.
- 7) Sawai T, Inoue Y, Doi S, Izumikawa K, Ohno H, Yanagihara K, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Hirakata Y, Tashiro T, Kohno S. A case of *Mycobacterium nonchromogenicum* pulmonary infection showing multiple nodular shadows in an immunocompetent patient. *Diagn Microbiol Infect Dis* 54: 311-314, 2006.
- 8) Kondo A, Hirakata Y, Gotoh N, Fukushima K, Yanagihara K, Ohno H, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Nishide K, Node M, Yamada Y, Kohno S, Kamihira S. Quorum sensing system lactones do not increase invasiveness of a MexAB-OprM efflux mutant but do play a partial role in *Pseudomonas aeruginosa* invasion. *Microbiol Immunol*. 50(5):395-401, 2006.
- 9) Fukuda Y, Yanagihara K, Ohno H, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Tsukamoto K, Hirakata Y, Tomono K, Mizuta Y, Tashiro T, Kohno S. In vivo efficacies and pharmacokinetics of DX-619, a novel des-fluoro(6) quinolone, against *Streptococcus pneumoniae* in a mouse lung infection model. *Antimicrob Agents Chemother*. 50(1):121-5, 2006.
- 1 0) Kobayashi T, Miyazaki Y, Yanagihara K, Kakeya H, Ohno H, Higashiyama Y, Hirakata Y, Mizuta Y, Tomono K, Tashiro T, Kohno S. A probable case of aspiration pneumonia caused by *Candida glabrata* in a non-neutropenic patient with candidemia. *Intern Med*. 44(11):1191-4, 2005.
- 1 1) Yanagihara K, Tashiro M, Fukuda Y, Ohno H, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Hirakata Y, Tomono K, Mizuta Y, Tsukamoto K, Kohno S. Effects of short interfering RNA against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* coagulase in vitro and in vivo. *J Antimicrob Chemother*. 57(1):122-6, 2006.
- 1 2) Nakamura S, Miyazaki Y, Higashiyama Y, Yanagihara K, Ohno H, Hirakata Y, Shikuwa M, Mizuta Y, Tashiro T, Kohno S. Community acquired pneumonia (CAP) caused by *Cryptococcus neoformans* in a healthy individual. *Scand J Infect Dis*. 37(11-12):932-5, 2005.
- 1 3) Imamura Y, Yanagihara K, Tomono K, Ohno H, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Hirakata Y, Mizuta Y, Kadota J, Tsukamoto K, Kohno S. Role of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing systems in a mouse model of chronic respiratory infection. *J Med Microbiol*. 54(Pt 6):515-8, 2005.
- 1 4) Imamura Y, Higashiyama Y, Tomono K, Izumikawa K, Yanagihara K, Ohno H, Miyazaki Y,

- Hirakata Y, Mizuta Y, Kadota J, Iglewski BH, Kohno S. Azithromycin exhibits bactericidal effects on *Pseudomonas aeruginosa* through interaction with the outer membrane. *Antimicrob Agents Chemother.* 49(4):1377-80, 2005.
- 1 5) Yanagihara Y, Otsu Y, Ohno H, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Hirakata Y, Tomono K, Kadota J, Tashiro T, Kohno S. Clinical characteristics of pneumonia caused by penicillin resistant and sensitive *Streptococcus pneumoniae* in Japan. *Intern Med.* 43(11):1029-33, 2004.
- 1 6) Yanagihara K, Okada M, Fukuda Y, Imamura Y, Kaneko Y, Ohno H, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Tsukamoto K, Hirakata Y, Tomono K, Kadota J, Tashiro T, Murata I, Kohno S. Efficacy of quinupristin-dalfopristin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-insensitive *S. aureus* in a model of hematogenous pulmonary infection. *Chemotherapy.* 50(5):260-4. Epub 2004 Nov 3, 2004.
- 1 7) Imamura Y, yanagihara K, Mizuta Y, Seki M, Ohno H, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Tsukamoto K, Hirakata Y, Tomono K, Kadota J, Kohno S. Azithromycin inhibits MUC5AC production induced by the *Pseudomonas aeruginosa* autoinducer N-(3-Oxododecanoyl) homoserine lactone in NCI-H292 Cells. *Antimicrob Agents Chemother.* 48(9):3457-61, 2004.
- 1 8) Seki M, Yanagihara K, Higashiyama Y, Fukuda Y, Kaneko Y, Ohno H, Miyazaki Y, Hirakata Y, Tomono K, Kadota J, Tashiro T, Kohno S. Immunokinetics in severe pneumonia due to influenza virus and bacteria coinfection in mice. *Eur Respir J.* 24(1):143-9, 2004.
- 1 9) Seki M, Higashiyama Y, Tomono K, Yanagihara K, Ohno H, Kaneko Y, Izumikawa K, Miyazaki Y, Hirakata Y, Mizuta Y, tashiro T, Kohno S. Acute infection with influenza virus enhances susceptibility to fatal pneumonia following *Streptococcus pneumoniae* infection in mice with chronic pulmonary colonization with *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Exp Immunol.* Jul;137(1):35-40, 2004.
- 2 0) Nakamura Y, Obase Y, Suyama N, Miyazaki Y, Ohno H, Oka M, Takahashi M, Kohno S. A small outbreak of pulmonary tuberculosis in non-close contact patrons of a bar. *Internal Medicine.* 43(3):263-267, 2004.
- 2 1) Ohno H, Zhu G, Mohan VP, Chu D, Kohno S, Jacobs WR Jr, Chan J. The effects of reactive nitrogen intermediates on gene expression of *Mycobacterium tuberculosis*. *Cell Microbiol.* Sep;5(9):637-648, 2003.
- 2 2) Yanagihara K, Tomono K, Kuroki M, Kaneko Y, Sawai T, Ohno H, Miyazaki Y, Higashiyama Y, Maesaki S, Kadota J, Kohno S. Intrapulmonary concentrations of inflammatory cytokines in a mouse model of chronic respiratory infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Exp Immunol.* Oct;122(1):67-71, 2000.
- 2 3) Yanagihara K, Tomono K, Sawai T, Kuroki M, Kaneko Y, Ohno H, Higashiyama Y, Miyazaki Y, Hirakata Y, Maesaki S, Kadota Ji, Tashiro T, Kohno S. Combination therapy for chronic

- Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection associated with biofilm formation. J Antimicrob Chemother. Jul;46(1):69-72, 2000.
- 2 4) Fukuda M, Koga H, Ohno H, Yang B, Hirakata Y, Maesaki S, Tomono K, Tashiro T, Kohno S. Relationship between genetic alteration of the *rpsL* gene and streptomycin susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* in Japan. J Antimicrob Chemother. 43:281-284, 1999.
- 2 5) Yang B, Koga H, Ohno H, Ogawa K, Fukuda M, Hirakata Y, Maesaki S, Tomono Y, Tashiro T, Kohno S. Relationship between antimycobacterial activities of rifampicin, rifabutin and KRM-1648 and *rpoB* mutations of *Mycobacterium tuberculosis*. J Antimicrob Chemother. Nov;42(5):621-8, 1998.
- 2 6) Yang B, Koga H, Ohno H, Ogawa K, Hossain MA, Fukuda M, Hirakata Y, Tomono K, Tashiro T, Kohno S. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in preserved tuberculous lymph nodes by polymerase chain reaction. Tohoku J Exp Med Feb;184(2):123-31, 1998.
- 2 7) Ohno H, Koga H, Kuroita T, Tomono K, Ogawa K, Yanagihara K, Yamamoto Y, Miyamoto J, Tashiro T, Kohno S. Rapid prediction of rifampin susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis*. Am J Respir Crit Care Med. Jun;155(6):2057-63, 1997.
- 2 8) Koga H, Miyamoto J, Ohno H, Ogawa K, Tomono K, Tashiro T, Kohno S. A rapid drug susceptibility test for *Mycobacterium tuberculosis* using the hybridization protection assay. J Antimicrob Chemother. Aug;40(2):189-94, 1997.
- 2 9) Yamamoto Y, Maesaki S, Kakeya H, Yanagihara K, Ohno H, Ogawa K, Hirakata Y, Tomono K, Tashiro T, Kohno S. Combination therapy with fluconazole and flucytosine for pulmonary cryptococcosis. Chemotherapy. Nov-Dec;43(6):436-41, 1997.
- 3 0) Ohno H, Koga H, Kohno S, Tashiro T, Hara K. Relationship between rifampin MICs for and *rpoB* mutations of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Japan. Antimicrob Agents Chemother. Apr;40(4):1053-6, 1996.
- 3 1) Tomono K, Kohno S, Koga H, Ohno H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kaku M, Hara K. Combined use of clarithromycin and antimycobacterial agents in chronic pulmonary infection caused by *Mycobacterium avium* complex. J. Infection and Chemotherapy. 1:64-69, 1995.
- 3 2) 大野秀明、宮崎義継. 微生物の種類別にみた施設内感染制御 3) 真菌 アスペルギルス. 医療福祉施設における感染制御と臨床検査. 臨床検査 53 : 1381-1386、2009.
- 3 3) 大野秀明、宮崎義継. ヒストプラズマ症. 呼吸器科 15: 57-63、2009.
- 3 4) 大野秀明. 各種迅速検査法 抗酸菌感染症. 感染症迅速検査アップデート. Medical Technology 36: 1371-1378、2008.
- 3 5) 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会 (高嶋哲也、御手洗聡、阿部千代治、大野秀明、小栗豊子、桶谷典弘、鎌田有珠、斎藤 肇、塩谷隆信、竹山博泰、長沢光章、中島一光、樋口武史). 結核菌検査指針 2007. 結核予防会、東京、2007.

・平成22年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

研究代表者を交代した上で応募を予定（22180801）

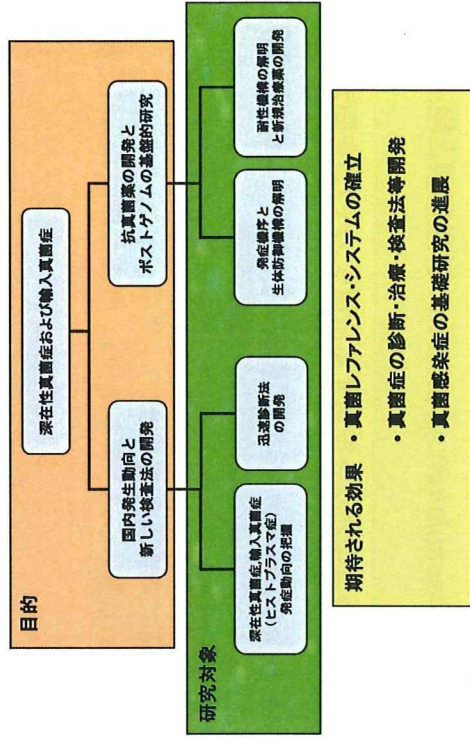
平成22年1月26日
 平成21年度厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等
 新興・再興感染症事業 研究発表会

H19-新興-一般-008

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

研究代表者・大野秀明
 (国立感染症研究所 生物活性物質部)

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



主な研究成果発表内容

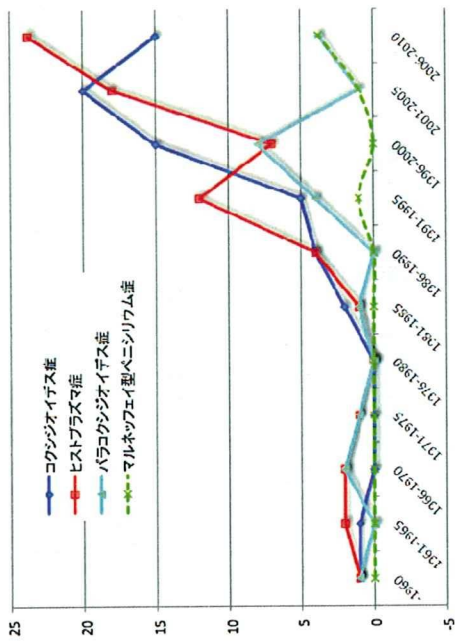
- 輸入真菌症の発生動向とヒストプラズマ症診断法開発について
- 病原因子の解明に向けたポストゲノムの基盤的研究
 - 真菌症(クリプトコックス症)認識におけるTLR9の役割について-
- 抗真菌薬耐性機序の解明と新たな抗真菌化合物の探索

日本における輸入真菌症の発生動向調査

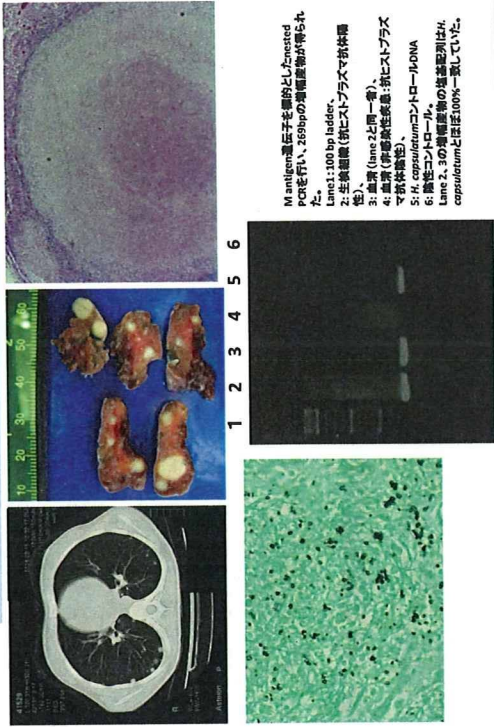
輸入真菌症の発生動向(2009年)

- コクシジオイデス症 2例(計61例)
 米国(アリゾナ1, カリフォルニア1:いずれも肺の孤立性結節)
- ヒストプラズマ症 3例(計68例)
 感染地: タイ2, グアテマラ1 (JICA) (病型: 肺x2, 肝・骨髄+皮膚, 基礎疾患: AIDS 2例)
- パラコクシジオイデス症 2例(計21例)
 感染地: ポリビア, ブラジル
- マルネツフェイ型ペニシリウム症 2例(計5例)
 タイ, ベトナム。いずれもHIV+
- プラストミセス症 0例(計0例)

日本における輸入真菌症例数の変遷



日本人旅行者に発生したヒストプラズマ症の集団発生事例



In situ hybridization法による *H. capsulatum* 検出法の開発

- 1) *In situ* hybridization (ISH)法のプローブとして、新たにPeptide Nucleic Acid (PNA)を導入することで、特異性と迅速性を両立したISH法が可能になる。
- 2) 新興病原糸状菌のひとつである *Fusarium* spp. および本邦における主要な輸入真菌症の一つであるヒストプラズマ症の起因菌 *Histoplasma capsulatum* を標的としたPNAプローブを設計し、その特異性を検証する。



- 1) ホルマリン固定パラフィン切片における *in situ* hybridization (ISH)法のプローブとして、Peptide Nucleic Acid (PNA)を新たに導入した。 *C. albicans* 26S rRNAを標的としたPNAプローブにおいてその特異性と迅速性を確認した。
- 2) 本邦における主要な輸入真菌症であるヒストプラズマ症の病理診断の補助診断法として、ホルマリン固定パラフィン切片において起因菌である *Histoplasma capsulatum* を検出するためにISH法におけるPNAプローブを新たに設計し、その有用性を検証した。

H. capsulatum Ag projectの研究概要と経過

- 患者血清中抗体と反応する抗原タンパク質を同定
- *H. capsulatum*より抗原遺伝子をクローニング、組換えタンパク質の不溶状態での発現・取得
- 数種の抗原タンパク質では患者血清群で健常人群と抗体価に有意な差を検出

新規の抗原タンパク質を同定し、有意な差は得られたが、

バックグラウンドを低く

感度を高く

という改善を行いたい