

201028012A

差替え版

厚生労働科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業

COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

平成 23 年 3 月

研究代表者

宮崎 義継

(国立感染症研究所)

厚生労働科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業

COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

平成 23 年 3 月

研究代表者

宮崎 義継

(国立感染症研究所)

平成 22 年度 新興・再興感染症研究事業
「COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究」班
班員名簿

氏 名	所 属	職 名
宮崎 義継	国立感染症研究所 生物活性物質部	部長
河野 茂	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学	教授
二木 芳人	昭和大学医学部 臨床感染症学講座	教授
小川 賢二	国立病院機構東名古屋病院 臨床研究部	部長
安藤 常浩	日本赤十字社医療センター	副部長
山越 智	国立感染症研究所 生物活性物質部	主任研究官
泉川 公一	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学	助教
亀井 克彦	千葉大学真菌医学研究センター 病原真菌研究部門真菌感染分野	教授
渡邊 浩	久留米大学医学部 感染医学講座 臨床感染医学部門	教授
大野 秀明	国立感染症研究所 生物活性物質部	室長

目 次

I. COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究	
総括研究報告書（平成 22 年度）	・・・・・・・・・・ 1
研究代表者：宮崎 義継（国立感染症研究所 生物活性物質部）	
II. 分担研究報告書	
1. 患者背景因子に関する研究（1）	・・・・・・・・・・ 7
研究分担者：河野 茂（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学）	
2. 患者背景因子に関する研究（2）	・・・・・・・・ 20
研究分担者：河野 茂（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学）	
3. 慢性肺アスペルギルス症の臨床的研究	
－画像所見、および血清診断法を中心に－	・・・・・・・・ 22
研究分担者：二木 芳人（昭和大学医学部 臨床感染症学講座）	
4. 慢性壊死性肺アスペルギルス症の症状と病原性に関する研究	・・・・・・・・ 30
研究分担者：小川 賢二（国立病院機構東名古屋病院 臨床研究部）	
5. 慢性肺アスペルギルス症における病理組織学的病態の解析	
－上皮障害と菌糸の関連について－	・・・・・・・・ 32
研究分担者：安藤 常浩（日本赤十字社医療センター）	
6. 慢性壊死性肺糸状菌感染症における新たな抗原検索に関する研究	・・・・・・・・ 38
研究分担者：山越 智（国立感染症研究所 生物活性物質部）	

7. *Aspergillus fumigatus* の Y1 遺伝子の機能解析と病原性について 44
研究分担者：宮崎 義継（国立感染症研究所 生物活性物質部）
8. 新たな抗原検索と診断応用に関する研究 51
研究分担者：泉川 公一（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学）
9. 慢性壊死性肺糸状菌感染症における微生物側の病原因子に関する検証 62
研究分担者：亀井 克彦（千葉大学真菌医学研究センター
病原真菌研究部門真菌感染分野）
10. *Aspergillus fumigatus* が産生するバイオフィルムと
Fetuin の関連についての基礎的研究 66
研究分担者：渡邊 浩（久留米大学医学部 感染医学講座 臨床感染医学部門）
11. クリプトコックス・ガッティ (*C. gattii*) 感染症の実態把握に関する研究 72
研究分担者：大野 秀明（国立感染症研究所 生物活性物質部）

I. 総括研究報告書

総括研究報告書

研究代表者 宮崎義継 国立感染症研究所 生物活性物質部

研究要旨 COPD等の呼吸器疾患に合併する慢性糸状菌感染症の的確な診断法と有効性の高い治療法の開発を促進すること、ひいては当該疾患の患者予後や生活の質の改善、ならびに当該疾患における医療の効率化等に貢献することを目的として、臨床的および基礎的研究を行った。また、本年度より新たに、クリプトコックス・ガッティ (*C. gattii*) 感染症の実態把握に関する研究も開始した。臨床小班では、昨年より引き続き、疾患概念の検証を目的として、患者背景、検査法、症状の検討を行った。基礎小班では、診断基準の科学的根拠の創造、および、有効な治療法の開発等を目標として、病理組織像の検証および疫学、新規診断法の開発研究、病原性に関する研究、および難治化因子に関する研究を実施した。*C. gattii*感染症については、クリプトコックス属菌株を収集し、血清型・遺伝子型を検討した。特に、昨年度と比較して、臨床的には、症例数が増え、患者背景などについてより詳細な結果が得られた。また、基礎的には、進展様式などに関する知見がさらに進み、宿主と病原菌の関連性、病原菌の病原性の解明、新規診断法の開発などにおいて、良好な成果が得られた。*C. gattii*感染症については、調査した限りにおいて、ほとんどの株が従来型のクリプトコックスであることが判明したが、継続的な検討が必要である。

A. 研究目的

COPD等における慢性壊死性肺糸状菌感染症はときに致死性であるが、疾患概念が曖昧であり、明確な診断指針が確立されていない。わが国と欧米諸国において、疾患の捉え方のみならず、診断名自体も統一されていない現状にある。

代表疾患である慢性肺アスペルギルス症 (CPA) は、長期的予後が不良であり、予後や治療の有効性を検証する臨床研究の実施が望まれている。したがって、臨床研究の実施に先立ち、治療対象となるCPAの診

断基準の確立は優先課題である。

本研究の目的は、CPAの診断基準を策定することのみならず、CPAの的確な診断法を確立すること、および有効性の高い治療法の開発を促進することにある。本研究で得られた成果は、CPAの患者予後や生活の質の改善、ならびに医療の効率化等に貢献するものと期待される。

本年度は最終年度であり、これまでの成果の総括と発展・応用を目指した。

また、上記に加えて、本年度より新たに、クリプトコックス・ガッティ (*C. gattii*)

感染症に関する研究を開始した。*C. gattii* 感染症は、従来型のクリプトコックス症に比べ、発病率、死亡率が高いと推定され、北米太平洋岸を中心とした発症地域の拡大傾向が指摘されている。近年、北米型と同じ遺伝子パターンをもつ *C. gattii* にわが国で感染した可能性のある症例が報告されたため、実態把握を目的として本研究を開始した。

B. 研究方法

昨年度より引き続き、臨床小班と基礎小班に分け、以下に示す通り検討を行った。

また、*C. gattii* の実態把握を開始した。

<臨床小班>

1) 患者背景に関する研究

a) 臨床背景

昨年度の「呼吸器科領域におけるアスペルギルス症に対するキャンディン系抗真菌薬ミカファンギン (MCFG) の臨床効果」に登録された91例についての解析に引き続き、本年度は、臨床試験NEOCI-0001「慢性壊死性肺アスペルギルス症 (CNPA) を対象としたMCFGとポリコナゾール (VRCZ) の比較試験」(全国24施設)に登録された107例について、同様の患者情報を集計、前回のデータと比較し、解析を行った。(河野)

b) 遺伝子背景

昨年度から症例を増やし、mannose-binding lectin (MBL) 等の遺伝子多型(一塩基多型 (SNPs)) を検討した。(河野)

2) 検査法: 画像所見と血清検査の検討

MCFG呼吸器特定使用成績調査にエントリーされた症例(男性46例、女性17例の計

63例)を対象に、胸部単純X線・CTを再検討し、血清ガラクトマンナン (GM) 検査と比較し、結果を総括した。(二木)

3) 症状に関する研究

昨年度に引き続き、入院を必要とする細菌性肺炎患者282例と、CNPA 57例の臨床データを比較し、①年齢、②男女比、③咳、④喀痰、⑤気道出血(血痰・喀血)、⑥発熱、⑦CRP、の7項目についての有意差検定を行った。(小川)

<基礎小班>

4) 病理学的解析

CPAの病態解明を目的として、病理検体が得られた症例を対象に病理組織学的に解析を行った。(安藤)

5) 新規抗原の診断への応用および病原性との関連

a) 診断への応用

前年度までに、哺乳類の細胞表層および分泌蛋白質を網羅的に同定できるシグナルシーケンストラップ (SST-REX) 法を用い、*Aspergillus fumigatus* の膜蛋白質、分泌蛋白質の網羅的同定を行い113種類の遺伝子を得ることができた。その中から、バイオインフォーマティクス的手法と分子生物学的手法により10種類の蛋白質を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、モノクローナル抗体を作製してきた。今年度は、その中から2遺伝子産物に対するサンドイッチELISA系構築を試み、これまで構築したELISA系と合わせて、マウス感染モデルでの検証を行った。(山越)

b) 病原性との関連

SST-REX法により同定された75種類の

遺伝子の中で、最も発現量が高いと推測されたY-1蛋白質の病原性との関連を検討した。(宮崎)

6) 臨床プロテオミクスを用いた新規診断系の開発

新規診断法の樹立を目的として、臨床プロテオミクスの手法により、肺アスペルギルス症の患者血清 (IPA)、非患者血清 (Healthy)、および菌体抽出物 (Fungus) の蛋白質を網羅的に比較した。昨年までに、IPAとFungusに共通し、Healthyには認められない蛋白質として、アスペルギルス由来ユビキチン様蛋白質を同定した。今年度は、ウェスタンブロット法やELISA法による診断系の確立を試みた。(泉川)

7) 難治化因子の研究

a) *A. fumigatus* の発育に及ぼす血清の影響

昨年度は、*A. fumigatus*のバイオフィーム様構造物の構築が、血清添加により促進されることを確認し、その微細構造を、走査電子顕微鏡 (SEM) で、また、その生育速度に関して、Bio-Cell Tracer (BCT) システムを用いて解析した。本年度は、これらの結果をより詳細に解析し、総括を行った。(亀井)

b) バイオフィーム産生能に及ぼすFetuinの影響

昨年度までに、*A. fumigatus*のバイオフィーム産生能に及ぼすFetuinの影響を、microtiter biofilm assay (MBA) 法および共焦点レーザー走査型顕微鏡 (CLSM) を用いて検討した。本年度は、上記のSEMおよびBCTの解析と合わせ詳細に検討し、総括を行った。(渡邊)

< *C. gattii*感染症 >

8) *C. gattii*感染症の実態把握

本年度は、わが国で保存してあるクリプトコックス属と同定された株を対象に、血清型同定を行った。(大野)

C. 研究結果

< 臨床小班 >

1) 患者背景

a) 臨床的背景

CPAは70歳前後に好発する疾患で、男女比は、ほぼ3:1であった。低体重患者が多く、肺結核後遺症を有する患者が約半数を占めていた。炎症所見について、白血球数は比較的低い傾向にあり、CRP値、血沈 (1時間値) は中等度の値であった。栄養状態を表す指標として総タンパク (TP) とアルブミン値 (Alb) を検討したところ、平均としては、特に不良ではなかった。(河野)

b) 遺伝子背景

29例のCPA患者において、MBL遺伝子の解析を行った。C649TおよびG1011AのSNPsを多く認めた。また、コーカサス人のCPA (CCPA) に多いC868Tは、1例も認められなかった。(河野)

2) 画像所見

CPAの大多数の症例に肺の構造破壊をともなう基礎疾患を認めた。右上肺野に空洞を伴い、その壁と周囲の胸膜の肥厚を伴う症例が多かった。空洞が複数あり、小真菌球を複数認めるものも少なくなかった。空洞周囲に出現した浸潤影は、比較的高濃度な症例が多く、すりガラス陰影は少なかった。また、CPAの画像は多岐にわたり、アスペルギローマ (AG) とCNPAは、一時点の画像のみで区別することは困難であると考えられた。

また、GMについても、CNPAではGMの上昇を認める症例と認めない症例があり、偽陽性も多く認められ、GMでCNPAを診断する事は困難と考えられた。(二木)

3) 症状

CNPAの症状は、咳・痰・発熱・気道出血症状が主であり、細菌性肺炎との比較で、咳・痰は共通し、発熱時の体温は平均値で0.7℃低く、気道出血症状はCNPA特異的であった。また炎症マーカーであるCRP値は、6.60mg/dlと細菌性肺炎よりも低値であった。(小川)

<基礎小班>

4) CPAの病理組織学的解析

CPAにおいては、空洞および気道の上皮障害が生じ、ついで気腔への強い滲出反応・壊死性変化とさらに実質での器質化を生ずる。つまり菌に由来する上皮障害と好中球反応が関与した組織障害(潰瘍・壊死)と慢性炎症が関与した器質化が同時に進行する病態と考えられた。(安藤)

5) 新規抗原の診断への応用および病原性との関連

a) 診断への応用

新たに構築したY58およびB68蛋白質のELISA系のうち、B68蛋白質のプロトタイプサンドイッチELISA系では、感度が数ng/ml程度の系が得られた。マウスの感染モデルでも、非感染マウスに比べて血清抗原価が高いことが確認された。(山越)

b) 病原性との関連

*A. fumigatus*のY-1遺伝子破壊株を作製した。その結果、遺伝子破壊株は、マウスにおける病原性が著しく低下していることが確認された。(宮崎)

6) 臨床プロテオミクス研究

同定したアスペルギルス由来ユビキチン様蛋白質を、western blotting法で検証したところ、特異性は低く、新規抗原検査としての可能性は低いことが判明した。(泉川)

7) 難治化因子に関する検討

SEMによる観察で、血清添加培地にて培養した*A. fumigatus*菌集落においてのみ、菌体外多糖からなると思われる膜状構造が認められた。BCTシステムによる定量的解析においても、血清添加が菌糸先端成長を促進していることが確認された。また、MBA法およびCLSMを用いた検討により、Fetuinは、*A. fumigatus*によるバイオフィーム産生能を増強することが示唆された。(亀井・渡邊)

< *C. gattii*感染症 >

8) *C. gattii*感染症の実態把握

対象となった70株中、クリプトコックス属は69株であり、うち68株が血清型Aの*C. neoformans*、残る1株は*C. unigattlatus*と同定され、今回の検討では*C. gattii*株は検出されなかった。(大野)

D. 考察

1. CPAの診断基準に必須の項目に関する提言

治療が必要なCPAの診断に必須と考えられる項目として、下記4項目を提案する。

1) 症状および炎症所見

a) アスペルギルス症に起因すると考えられる、咳嗽、血痰・喀血、等の呼吸器症状。

b) 全身性炎症反応に伴う、発熱、CRP上昇。

2) 画像所見

- a) 数ヶ月以内の肺の新たな陰影の出現。
- b) 既存のアスペルギローマ等の陰影の増悪*。

* アスペルギローマが合併する場合は、空洞壁の肥厚や周囲への進展も増悪と捉える。

3) 原因診断（真菌学的検査所見）

- a) アスペルギルス属を気道由来検体あるいは無菌的な検体から分離。

あるいは、

- b) GM陽性、または、オクタロニー法による沈降抗体陽性。

4) 他の疾患の除外

3日以上の上注射用抗菌薬の投与により十分な効果が得られず、真菌感染症と判断される場合。

2. 診断基準の各項目等に関する考察

①患者背景

基礎疾患として、COPD等の慢性肺疾患、および肺結核症を主とする肺抗酸菌感染症の後遺症が重要であることが示唆された。

遺伝子背景としては、本邦のCPAに特異的な遺伝子多型が存在する可能性がある。

②症状

気道出血症状は、肺炎との鑑別点となりうる事が判明した。

③検査

高頻度に使用される血清診断法であるβ-グルカンについて、測定法の違いによる結果の乖離は少ないことが示された。

また、GMに関する検討で、GMのみでは、本疾患を区別することは困難であることが示された。

④画像所見

一時点の画像のみによる診断は困難であり、経過やその他の臨床所見を考慮する必

要がある。

3. CPAの基礎研究に関する考察

病理組織に関する研究で、CPAの病理像は、菌に由来する上皮障害と好中球反応が関与した組織障害（潰瘍・壊死）と慢性炎症が関与した器質化が同時に進行する病態を反映していると考えられた。

新規診断法の開発においては、SST-REX法で見出された標的蛋白質に対するサンドイッチELISA法が、診断に応用可能となる可能性が示唆され、新規の診断系を構築する足掛かりが得られた。また、SST-REX法で同定された分泌蛋白質のうちY-1蛋白質は、病原性との関連性が示唆され、新たな治療法への応用の可能性も示された。

また、昨年度、臨床プロテオミクスにより、新規抗原として同定したアスペルギルス由来ユビキチン様蛋白質については、残念ながら特異性に問題が見つかったが、方法を改良することにより新たな新規抗原の発掘は可能であると考えられた。

難治化因子に関しては、診断や治療への応用が期待される結果となった。

4. *C. gattii*感染症に関する考察

結果として、今回は*C. gattii*株は1株も同定されず、従来より報告されているように、日本で臨床分離されるクリプトコックス属のほとんどは血清型Aの*C. neoformans*であることを裏付ける結果であった。しかし、今回の検討は日本国内の点での検討に過ぎず、今後は継続的かつ全国的なサーベイランスを行う必要がある。

E. 結論

臨床小班では、治療が必要なCPAの診断における必須項目の検証が行われた。

基礎小班では、CPAの病理像、新規診断法、病原因子、および難治化因子に関する良好な結果が得られた。

今年度新たに開始した*C. gattii*感染症については、今後も更なる規模での検討が強く望まれる。

F. 健康危険情報

各々の研究分担報告書を参照。

G. 研究発表

各々の研究分担報告書を参照。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記事項なし

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
「COPD等における難治性感染症の病態把握等に関する研究」班
分担研究報告書

患者背景因子に関する研究（1）

研究分担者 河野 茂 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学
研究協力者 泉川公一 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学

研究要旨 COPD等の慢性呼吸器疾患患者における難治性感染症の一つである慢性肺アスペルギルス症（CPA）の患者背景因子解析の一環として、臨床的患者背景の検討を行った。全国で集積された計198症例における、年齢、性別、基礎疾患などをはじめとした臨床情報について解析したところ、CPAは70歳前後に好発する疾患で、男女比はほぼ3:1であった。ほとんど全ての患者が何らかの基礎疾患を有していた。呼吸器基礎疾患の内訳では、高い肺結核罹患率を反映して、肺結核後遺症が最も多く、COPDが最多である欧米とはやや異なる傾向にあった。炎症所見について、白血球数は比較的低い傾向にあり、CRP値上昇・血沈（1時間値）亢進を認めるものの中等度の値で、極度な低栄養状態ではなかった。今後の患者数の動向などに注意が必要である。

A. 研究目的

COPD等を基礎疾患に有する場合の難治性感染症の一つである慢性肺アスペルギルス症（CPA）については、診断、治療、管理に関する基準は世界的なコンセンサスが得られていない。COPDや陳旧性肺結核患者の多い本邦においては、これらの基準を独自に制定することが重要である。本研究は、臨床的患者背景因子について検討し、危険因子や治療効果判定因子等を探ることを目的とする。

B. 研究方法

「MCFG オープン試験」（全国 36 施設）に登録された 91 例、ならびに、臨床試験 NEOCI-0001「CNPA を対象とした MCFG と VRCZ の比較試験」（全国 24 施設）に

登録された 107 例を対象とした。

<診断基準>

以下の項目を満たす。

(1) 慢性的な呼吸器症状又は全身症状を示し、発熱、体重減少、喀痰、咳嗽、倦怠感の増悪、呼吸困難又は血痰のうち少なくとも 1 症状を有する。

(2) 新たな浸潤影を呈するか、空洞性肺病変（アスペルギローマ（AG）を含む）を有する場合には、6 ヶ月以内に空洞及びその周辺部の変化を伴う。

(3) 血清学的検査（抗原又は抗体）が陽性、又は血液の真菌遺伝子診断にてアスペルギルス属に特異的な遺伝子が検出される、又は喀痰あるいは病変局所からアスペルギルスが培養されるか病理組織学的検査で検出される。

(4) 炎症マーカー (CRP、白血球数、ESR) のいずれかが陽性である。

(5) 広域抗細菌薬を3日間以上投与したにもかかわらず十分な効果が認められない (CNPA様病態を示す呼吸器感染症の除外)。ただし、上記(4)、(5)については、NEOCI-0001「CNPAを対象としたMCFGとVRCZの比較試験」(全国24施設)にのみ適応された。

C. 研究結果

1) 基礎的患者背景

男女比はほぼ3:1、好発年齢はほぼ70歳前後、低体重患者が多く、肺結核後遺症を有する患者が約半数を占めていた (図1)。

臨床的背景	MCFG open (n=93)	NEOCI 0001 (n=107)	overall (n=198)
年齢			
平均	67.8	70.9	69.5
性別 - no. (%)			
男性	62 (66.1)	83 (77.6)	145 (73.2)
女性	29 (31.9)	24 (22.4)	53 (26.8)
身長 - cm			
平均		159.5	159.5
体重 - kg			
平均	43.6	45.7	44.7
BMI		18.1	
基礎疾患 - no. (%)			
肺結核後遺症	36 (39.6)	56 (52.3)	92 (46.5)
COPD	15 (16.2)	22 (20.6)	34 (17.2)
糖尿病	12 (13.2)	13 (12.1)	25 (12.6)
Others	12 (13.2)	16 (14.9)	16 (43.0)

図1 CPA患者の基礎的患者背景

2) 臨床所見

臨床所見としては、咳嗽、喀痰を認める症例が多かった (図2)。

	NEOCI 0001
体温 (°C)	
測定数	95
平均	37.1
呼吸数 (/min)	
測定数	61
平均	19.7
症状 (%)	
測定数	97
咳嗽	36 (88.7)
喀痰	82 (84.5)
血痰	15 (13.4)
SpO ₂ (%)	
測定数	92
平均	96.5

図2 CPA患者の臨床所見 (NEOCI-0001)

3) 検査データ

CPA患者の平均白血球数 (WBC) は比較的lowであったが、平均CRP値は上昇し、平均血沈 (1時間値) も亢進していたが、中等度の値であった (図3)。

Characteristic	MCFG open (n=93)	NEOCI 0001 (n=107)	overall (n=198)
WBC (mm ³)			
測定数	90	97	187
平均	8298.2	7981.4	7822.6
レンジ	3400-21600	2600-27600	1600-27600
CRP (mg/dl)			
測定数	59	94	153
平均	5.5	4.8	5.6
レンジ	0.15-24.84	0.0-21.0	0.0-24.84
ESR (mm/hr)			
測定数	42	59	101
平均	54.6	79.8	81.8
レンジ	39.0-150.0	7.0-156.9	7.0-166.9

図3 CPA患者の臨床検査データ(1)

栄養状態を表す指標として総タンパク (TP) とアルブミン値 (Alb) を検討したところ、平均としては、特に不良ではなかった (図4)。

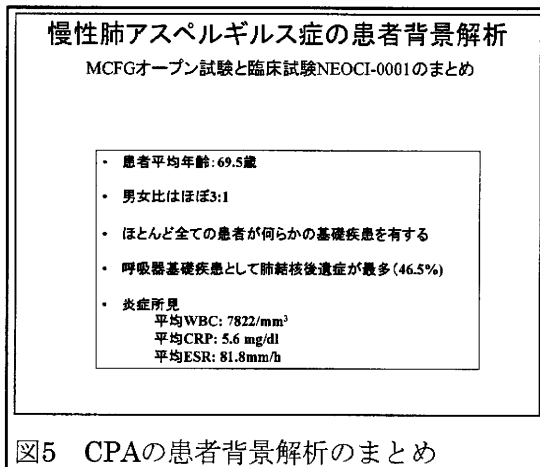
Characteristic	NEOCI 0001 (n=107)	overall (n=107)
TP (mg/dl)		
測定数	85	86
平均	7.1	7.1
レンジ	4.7-10.4	4.7-10.4
Alb (mg/dl)		
測定数	85	88
平均	3.1	3.1
レンジ	2.1-4.5	2.1-4.5

図4 CPA患者の臨床検査データ(2)

D. 考察

CPAは70歳前後に好発する疾患で、男女比は、ほぼ3:1であった。ほとんど全ての患者が何らかの基礎疾患を有しており、呼吸器基礎疾患としては、海外での報告にあるようなCOPD等の慢性肺疾患が多かった。ただし、本邦では、高い肺結核罹患率を反映して、呼吸器基礎疾患の内訳では、肺結

核後遺症が最も多かった。炎症所見について、白血球数は比較的低い傾向にあり、CRP値、血沈（1時間値）は中等度の値であった（図5）。BMIは低値であったが、栄養状態は極度に低栄養状態ではなかった。



E. 結論

本邦における CPA の特異的な患者背景因子を同定した。結核罹患者、喫煙者の多い本邦においては、COPD を基礎疾患に CPA を発症しうる可能性があり、今後も動向に注意が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Tashiro T, Izumikawa K, Tashiro M, Takazono T, Morinaga Y, Yamamoto K, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Kohno S. Diagnostic significance of *Aspergillus* species isolated from respiratory samples in an adult pneumology ward. *Med Mycol.* 2011 Jan 5.
2. Kaku N, Seki M, Doi S, Hayashi T,

Imanishi D, Imamura Y, Kurihara S, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S. A case of intravascular large B-cell lymphoma (IVLBCL) with no abnormal findings on chest computed tomography diagnosed by random transbronchial lung biopsy. *Intern Med.* 49:2697-701, 2010.

3. Morinaga Y, Yanagihara K, Nakamura S, Hasegawa H, Seki M, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yamada Y, Kohno S, Kamihira S. *Legionella pneumophila* induces cathepsin B-dependent necrotic cell death with releasing high mobility group box1 in macrophages. *Respir Res.* 11:158, 2010.
4. Kohno S, Izumikawa K. Posaconazole for chronic pulmonary aspergillosis: The next strategy against the threat of azole-resistant *Aspergillus* infection. *Clin Infect Dis.* 51:1392-4, 2010.
5. Izumikawa K, Takazono T, Kohno S. Chronic aspergillus infections of the respiratory tract: diagnosis, management and antifungal resistance. *Curr Opin Infect Dis.* 23:584-9, 2010.
6. Yamamoto Y, Izumikawa K, Hara A, Fujita H, Amenomori M, Sakamoto N, Seki M, Kakeya H, Yanagihara K, Takasaki K, Miyazaki T, Tsuchiya T, Yamasaki N, Tagawa T, Nagayasu T, Kohno S. Importance of controlling drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection: experience from

- lung transplantation in a cystic fibrosis case. *Intern Med.* 49:2353-8, 2010.
7. Morinaga Y, Yanagihara K, Araki N, Yamada K, Seki M, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yamada Y, Kohno S, Kamihira S. In vivo efficacy of sivelestat in combination with pazufloxacin against *Legionella* pneumonia. *Exp Lung Res.* 36:484-90, 2010.
 8. Kohno S, Izumikawa K, Ogawa K, Kurashima A, Okimoto N, Amitani R, Kakeya H, Niki Y, Miyazaki Y. Intravenous micafungin versus voriconazole for chronic pulmonary aspergillosis: a multicenter trial in Japan. *J Infeccion.* 61:410-8, 2010.
 9. Miyazaki T, Inamine T, Yamauchi S, Nagayoshi Y, Saijo T, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Role of the Slt2 mitogen-activated protein kinase pathway in cell wall integrity and virulence in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res.* 10:343-52, 2010.
 10. Miyazaki T, Yamauchi S, Inamine T, Nagayoshi Y, Saijo T, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Roles of calcineurin and Crz1 in antifungal susceptibility and virulence of *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother.* 54:1639-43, 2010.
 11. Saijo T, Miyazaki T, Izumikawa K, Mihara T, Takazono T, Kosai K, Imamura Y, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kohno S. Skn7p Is Involved in Oxidative Stress Response and Virulence of *Candida glabrata*. *Mycopathologia.* 169:81-90, 2010.
 12. Izumikawa K, Nakano K, Kurihara S, Imamura Y, Yamamoto K, Miyazaki T, Sakamoto N, Seki M, Ishimatsu Y, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tsuchiya T, Yamasaki N, Tagawa T, Mukae H, Nagayasu T, Kohno S. Diffuse alveolar hemorrhage following itraconazole injection. *Intern Med.* 49:497-500, 2010.
 13. Morinaga Y, Yanagihara K, Miyashita N, Seki M, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Mukae H, Yamada Y, Kohno S, Kamihira S. Azithromycin, clarithromycin and telithromycin inhibit MUC5AC induction by *Chlamydomyphila pneumoniae* in airway epithelial cells. *Pulm Pharmacol Ther.* 22: 580-6, 2009.
 14. Yanagihara K, Kihara R, Araki N, Morinaga Y, Seki M, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yamada Y, Kohno S, Tsukamoto K, Kamihira S. Efficacy of linezolid against Panton-Valentine leukocidin (PVL)-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a mouse model of haematogenous pulmonary infection. *Int J Antimicrob Agents.* 34: 477-81, 2009.
 15. Izumikawa K, Tomiyama Y, Ishimoto H, Sakamoto N, Imamura Y, Seki M,

- Sawai T, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Mukae H, Yoshimura K, Kohno S. Unique mutations of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene of three cases of cystic fibrosis in Nagasaki, Japan. *Intern Med* 48: 1327-31, 2009.
16. Takazono T, Izumikawa K, Mihara T, Kosai K, Saijo T, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kohno S. Efficacy of combination antifungal therapy with intraperitoneally administered micafungin and aerosolized liposomal amphotericin B against murine invasive pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 53: 3508-10, 2009.
 17. Yamamoto K, Yanagihara K, Sugahara K, Imamura Y, Seki M, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Hirakata Y, Kamihira S, Kohno S. In vitro activity of garenoxacin against *Streptococcus pneumoniae* mutants with characterized resistance mechanisms *Antimicrob Agents Chemother*. 53: 3572-5, 2009.
 18. Nakamura S, Yanagihara K, Araki N, Morinaga Y, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Kamihira S, Kohno S. In vivo efficacy of sitafloxacin in a new murine model of non-typeable *Haemophilus influenzae* pneumonia by sterile intratracheal tube. *Int J Antimicrob Agents*. 34: 210-4, 2009.
 19. Izumikawa K, Hashiguchi K, Sawai T, Inoue Y, Imamura Y, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kohno S. [Study on the blood concentration and clinical efficacy of ceftazidime, a cephem antibiotic at dose of one gram q.i.d, for adult hospital-acquired pneumonia patients] *Jpn J Antibiot*. 62: 9-16, 2009.
 20. Yanagihara K, Izumikawa K, Higa F, Tateyama M, Tokimatsu I, Hiramatsu K, Fujita J, Kadota J, Kohno S. Efficacy of azithromycin in the treatment of community-acquired pneumonia, including patients with macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* infection. *Intern Med*. 48: 527-35, 2009.
 21. Izumikawa K, Akamatsu S, Kageyama A, Okada K, Kazuyama Y, Takayanagi N, Nakamura S, Inoue Y, Higashiyama Y, Fukushima K, Ishida T, Sawai T, Yoshimura K, Nakahama C, Ohmichi M, Kakugawa T, Nishioka Y, Aoki N, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kohno S. Evaluation of a rapid immunochromatographic ODK0501 assay for detecting *Streptococcus pneumoniae* antigen in sputum samples from patients with lower respiratory tract infection. *Clin Vaccine Immunol*. 16: 672-8, 2009.
 22. Nakamura S, Yanagihara K, Morinaga Y, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Kamihira S, Kohno S. Multiplex real-time polymerase chain reaction for rapid

- detection of beta-lactamase-negative, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 64: 64-9, 2009.
23. Seki M, Kosai K, Hara A, Imamura Y, Nakamura S, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mukae H, Tashiro T, Kohno S. Expression and DNA microarray analysis of a platelet activating factor-related molecule in severe pneumonia in mice due to influenza virus and bacterial co-infection. *Jpn J Infect Dis.* 62: 6-10, 2009.
 24. Nakamura S, Yanagihara K, Morinaga Y, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Kamihira S, Kohno S. Melting curve analysis for rapid detection of topoisomerase gene mutations in *Haemophilus influenzae*. *J Clin Microbiol.* 47: 781-4, 2009.
 25. Seki M, Higashiyama Y, Imamura Y, Nakamura S, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S. A clinical comparative study of piperacillin and sulbactam/ampicillin in patients with community-acquired bacterial pneumonia. *Intern Med.* 48: 49-55, 2009.
 26. Nakamura S, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Pulmonary cryptococcosis in late pregnancy and review of published literature. *Mycopathologia.* 167: 125-31, 2009.
 27. Kohno S. High mortality in invasive aspergillosis: what we need to know for determination of poor prognosis and next countermeasures. *Clin Infect Dis.* 47: 1185-7, 2008.
 28. Saijo T, Izumikawa K, Takazono T, Kosai K, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Fukushima K, Kohno S. A case of *Legionella pneumophila* pneumonia followed by invasive aspergillosis. *Jpn J Infect Dis.* 61: 379-81, 2008.
 29. Morinaga Y, Yanagihara K, Nakamura S, Yamamoto K, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yamada Y, Kohno S, Kamihira S: In vivo efficacy and pharmacokinetics of tomopenem (CS-023), a novel carbapenem, against *Pseudomonas aeruginosa* in a murine chronic respiratory tract infection model. *J Antimicrob Chemother.* 62: 1326-31, 2008.
 30. Nakamura S, Higashiyama Y, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mizuta Y, Kohno S. The roles of the quorum-sensing system in the release of extracellular DNA, lipopolysaccharide, and membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa*. *Jpn J Infect Dis.* 61: 375-8, 2008.
 31. Tashiro M, Izumikawa K, Yoshioka D, Nakamura S, Kurihara S, Sakamoto N, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y,

- Yanagihara K, Mukae H, Hayashi T, Fukushima K, Tashiro T, Kohno S: Lung fibrosis 10 years after cessation of bleomycin therapy. *Tohoku J Exp Med.* 216: 77-80, 2008.
32. Yamamoto Y, Shiohita K, Takazono T, Seki M, Izumikawa K, Kakeya H, Yanagihara K, Tashiro T, Otsuka Y, Ohkusu K, Kohno S: An autopsy case of *Erysipelothrix rhusiopathiae* endocarditis. *Intern Med.* 47: 1437-40, 2008.
 33. Ishimoto H, Yanagihara K, Araki N, Mukae H, Sakamoto N, Izumikawa K, Seki M, Miyazaki Y, Hirakata Y, Mizuta Y, Yasuda K, Kohno S. Single-cell observation of phagocytosis by human blood dendritic cells. *Jpn J Infect Dis.* 61:294-7, 2008.
 34. Seki M, Watanabe A, Mikasa K, Kadota J, Kohno S: Revision of the severity rating and classification of hospital-acquired pneumonia in the Japanese Respiratory Society guidelines. *Respirology.* 13: 880-5, 2008.
 35. Nakamura S, Yanagihara K, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Miyazaki Y, Suyama N, Kohno S: Severe pulmonary tuberculosis complicating ileocecal intussusception due to intestinal tuberculosis: a case report. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 13: 7-16, 2008.
 36. Izumikawa K, Zhao Y, Motoshima K, Takazono T, Saijo T, Kurihara S, Nakamura S, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Hayashi T, Kohno S: A case of pulmonary cryptococcosis followed by pleuritis in an apparently immunocompetent patient during fluconazole treatment. *Med Mycol.* 9:1-5, 2008.
 37. Ehara N, Fukushima K, Kakeya H, Mukae H, Akamatsu S, Kageyama A, Saito A, Kohno S: A novel method for rapid detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen in sputum and its application in adult respiratory tract infections. *J Med Microbiol.* 57: 820-6, 2008.
 38. Fukushima KY, Yanagihara K, Hirakata Y, Sugahara K, Morinaga Y, Kohno S, Kamihira S: Rapid identification of penicillin and macrolide resistance genes and simultaneous quantification of *Streptococcus pneumoniae* in purulent sputum samples by use of a novel real-time multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol.* 46: 2384-8, 2008.
 39. Kakeya H, Ehara N, Fukushima K, Seki M, Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Saito A, Kohno S: Severe Legionnaires' disease successfully treated using a combination of fluoroquinolone, erythromycin, corticosteroid, and sivelestat. *Intern Med.* 47: 773-7, 2008.
 40. Nakamura S, Izumikawa K, Seki M, Fujimoto K, Mishima K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Mizuta Y, Kitaoka T, Kohno S: Reversible