

13) Ishikawa N. : Ethics of tropical medicine: people-centered health promotion, reflections from 20 years experiences of medical cooperation in Bangladesh” , Jpn. J. Trop. Med. Hyg. , 2000, Vol. 28, No. 3 (第40回日本熱帯医学会会長講演:住民主体の健康づくり:熱帯医学の知のモラルーバングラデシュ医療協力20年の経験よりー).

14) Islam M. A. , Nakamura Y. , Wonghkomthong S. , Ishikawa N. : Involvement of community health workers in tuberculosis control in Bangladesh. Jpn. J. Trop. Med. Hyg. 27(2) : 167-173, 1999

15) 石川信克:日本の結核対策に学ぶもの:公衆衛生 63(3) : 170-174, 1999

16) 石川信克:外国人結核の背景と対策:結核 70(12) : 691-703, 1995

17) 石川信克:移住と結核:医学のあゆみ 123(10) : 905-914, 1982

#### 主な著書(共著)

1) (翻訳)保健と医療の人類学 調査研究の手引き (A. ハルドン他著) 世界思想社, 2004. 10

2) 国際保健の現代的課題. :「国際保健医療学(日本国際保健医療学会編)第2版」, 杏林書院 2005. 3

3) グローバルな視点から見た結核対策・国際協力. 「結核(光山正雄編)」, 医薬ジャーナル, 2001. 2

4) 参加型アクションリサーチを用いた結核対策システムの開発:「小規模社会開発評価(アユース NGO プロジェクト評価法研究会編)」. pp122-131, 国際開発ジャーナル, 1995

5) “Go to the People”: 地球規模で考える健康と環境-国際保健への道(土井陸雄編), 恒星社厚生閣, 1993

#### ・平成23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

「地域における効果的な結核対策の強化に関する研究」に応募中

## 罹患構造の変化に対応した 結核対策の構築に関する研究

研究代表者 : 結核予防会結核研究所 石川信克  
 共同研究者(10名): 結核研究所

- ・抗酸菌レファレンス部 御手洗
- ・臨床疫学部 伊藤、大森
- ・対策支援部 加藤、下内

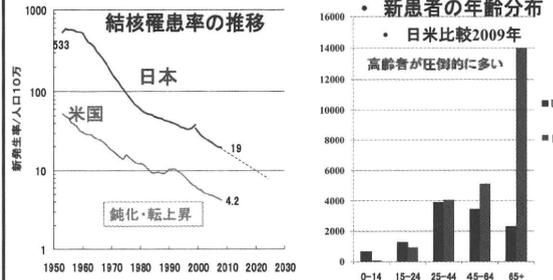
結核予防会複十字病院 吉山  
 国立病院機構

- ・近畿中央病院 岡田
- ・東広島医療センター 重藤

山形県健康福祉部 阿彦  
 大阪市保健所 吉田

## 背景

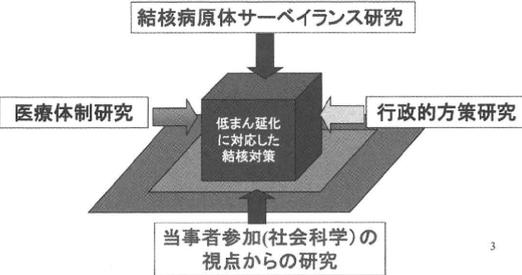
日本が結核低まん延国(<10/10万)になるのは2020年頃。  
 低まん延国に近づくほど問題が複雑化する。



## 研究の目的

結核低まん延化に伴い、罹患構造が様々に変化。  
 これに対応した新しい結核対策構築の提言を行う。

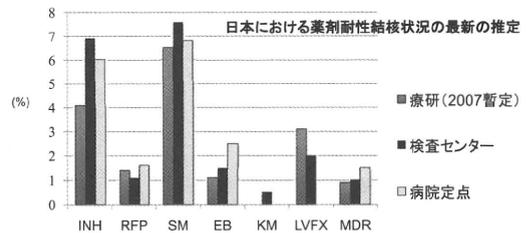
<保健システム研究>



## 病原体サーベイランス研究

### 民間検査センター(+精度保証)を用いた結核菌 薬剤耐性サーベイランス(リアルタイム)の可能性

検査センターのデータ精度を上げることによって、リアルタイムサーベイランス上利用できる可能性が高い



民間検査センター[3社]: 全国から検査を委託する検査センターでの薬剤耐性データ(n=2,052)

療研2007 : 結核療法研究協議会による第13次全国調査の暫定中間報告(n=2,722)

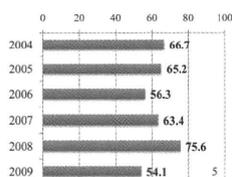
## 病原体サーベイランス研究/御手洗 結核病原体サーベイランスのための 菌バンク機能の確立

効果的な結核病原体サーベイランス運用のため現在  
1万株を超える本邦臨床分離菌を収集

⇒標準的VNTR法の開発・MDR中XDR率調査・M.bovis感染頻度解析・  
検査キットのパフォーマンス解析

⇒薬剤感受性検査の外部精度評価

外部精度評価の基準達成率



・日本結核学会は2003年より毎年薬剤感受性検査精度管理を実施。  
 ・WHOの合格基準では、全体の50~70%しか基準を達成していない。

## 病原体サーベイランス研究/岡田

### 全国医療機関NHOネットワークを利用した広域結核菌 サーベイランスの基礎的検討と感染動態の分析

・3年間で全国の結核患者の菌株1262株に対して遺伝子タイプング施行。

・Supply等の15 Optimized MIRU-VNTR とJATA12のVNTR法の高い相関を確認。

・クラスター形成率:31.6%—近年の感染による発病が多い。

・共通の結核菌が東京・大阪・愛媛・山口を含む広域地域に分布している事が明らかになり、同一結核菌株の感染拡大を確認し、現在の対策では効率的に防止されていない広域感染連鎖の存在が示唆された。

対策研究/阿彦

### 患者発見・予防のあり方

①低まん延地域(山形県)の3年間の菌陽性肺結核患者全例の背景因子/発見の遅れを分析

⇒若年者の都会での感染、  
高齢者でも外来性再感染発病事例の遍在。

	全体	59歳以下	60~69歳	70~79歳	80歳以上
菌陽性肺結核新登録患者数	236	50	25	57	104
うち介護保険サービス利用中の発病・診断例	50	1	1	10	38
	(21.2)	(2.0)	(4.0)	(17.5)	(36.5)

2005-06年 山形県 菌陽性肺結核新登録患者

⇒介護医療サービス受給者からの発病/診断の遅れが目立つ

⇒「結核早期診断と施設内感染予防のガイドライン作成へ」

②接触者健診ガイドライン

ワーキンググループによる検討と実証的根拠

⇒わが国における基準的「結核の接触者健診の手引き」

改定(第4版)と「質疑応答集」作成



対策研究/重藤

### 結核医療・体制研究-I

①現行の結核病棟制度の分析

⇒結核病床で診療困難な合併症の現状

⇒薬剤耐性結核診療経験/専門医不足

アンケート調査による全国結核病床の現状

合併症の外科治療不可能	49%
病病床利用率半分以下	61%
担当医1名and/or結核病学会員ゼロ	31%
1年間で薬剤耐性結核の診療経験無し	21%
多剤耐性結核の治療不可能	22%

8

対策研究/重藤・加藤・伊藤

### 結核医療・体制研究-II

②総合病院への結核医療統合に関する検討

⇒米国における結核医療の総合病院への統合過程の文献レビュー

⇒モデル病床事業全国調査(呼吸器科医がいれば可能)

⇒結核対策指導者養成研修修了者ワークショップによる提案

③治療中断者の現状と対策

⇒多剤耐性を含む治療中断者が多く存在する

⇒有効な法的強制力の必要性(現場での認識)

⇒結核医療における法的強制力の米国学術文献レビュー

④結核医療の質確保への試み

⇒地域連携パスの作成と施行および評価

⇒Quality Index of Clinical Care(QI)の基礎的検討

⇒結核医療全般のガイドライン(案)の作成/発表

9

対策研究/大森

### 疫学サーベイランスの質の向上と還元

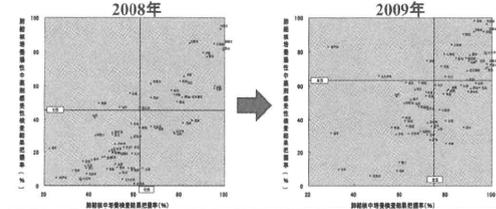
①国の新システムから得られた情報を分析して、対策に還元

・ HIV情報や薬剤感受性情報

・ 学会「結核誌」に疫学情報を分析して毎号投稿(eg.高齢者結核、都市部の結核)

②各県、保健所で使える「管理図」「評価図」の作成と配布

③質向上のための保健所への働きかけ(eg.菌情報把握率)



対策研究/吉山・下内

### 自治体結核対策評価法の開発と実態調査

(従来無かった評価導入の試み)

①7個所の県・自治体で結核対策外部評価(レビュー)を行い、その方法を開発(大阪市・山形県・台東区・堺市・秋田県・長崎県・京都市)

⇒内容改善には内部評価、外部評価の必要性

⇒レビュー後の再評価により対策の質向上を確認。

②地方自治体における結核対策の実態調査。

⇒様々なバラツキ。例えば、ハイリスク者健診を行っている自治体は少ない。(外国人健診は20/100自治体で、20人のみ発見)

⇒厚生科学審議会の重要な資料となった。

③米国の対策評価・改善手法の検討

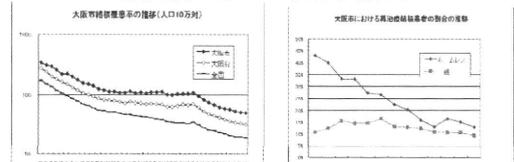
⇒指標の設定と評価による対策へのフィードバック(治療中断率<5%、再治療率↓、LTBI治療完了率、MDR-TB ↓)

11

対策研究/吉田・下内

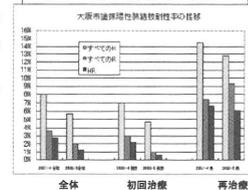
### リスク集団への効果的な対策

指標を用いたDOTS試行(大阪市)



ホームレス結核患者の分子疫学分析により多発性大規模感染株が存在していることを明らかにし都市リスク集団での感染の場の存在を示した。(シェルター/簡易宿泊所の可能性)

(下内昭:結核,2009,84:727-735)



対策研究／石川  
**当事者参加の視点からの研究**  
 新宿区生活困窮者のグループ活動の試行から

- A) 治療中のグループミーティング(GM)の効果:  
 中断率減少、OBとしてGMに参加
- B) 治療終了後、自助グループの組織化により、自  
 律的生活への移行、他者への思いや社会参加  
 への熱意が生まれる

➡ **DOTSのエンパワメント効果**  
 (直接的治療効果のみではなく心理的、社会的  
 自立の機会となっている)  
 (第69回日本公衆衛生学会(2010東京)にて報告)

対策研究／加藤・他  
**対策実施体制のあり方**

- A) 低まん延先進諸国の実態比較による考察 (視察・文献・会議)
- B) 他分担研究者の研究成果を含め、「厚生科学審議会結核部会」に今後  
 の特定感染症予防指針改定に関する議論の基礎資料として提出/その他  
 に発表・発信

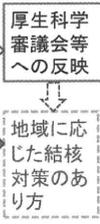
テーマ	厚生科学審議会結核部会/その他
低蔓延下での医療提供体制	第15回(2009年10月29日):資料2-7 第83回日本結核病学会シンポジウム
新入国者対策	第14回国際結核セミナー(2008年)
病原体サーベイランス体制整備	第18回(2010年6月30日):資料2 第83回日本結核病学会シンポジウム
入院勧告に従わない患者への対策	第20回(2010年11月5日):資料⑧⑩ 第14回全国結核対策推進会議(2008年)
現場における患者支援・医療等の質の確保	第23回(2010年1月28日):資料
都市結核対策	第16回国際結核セミナー(2010年)

14

**まとめと今後の課題**

A) 結核予防指針改定への提言

- 分担研究者・指導者研修修了者全員ワークショップ
- ① 患者発見法
- ② 都道府県での目標設定と対策評価
- ③ 病原体サーベイランスの構築
- ④ 日本版DOTS戦略の展開
- ⑤ 結核医療体制の構築
- その他の研究成果



B) 国際専門家による日本の結核対策への提言



## 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 成果概要

研究課題：COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究

課題番号：H20-新興-一般-012

予定期間：H20 年度から H22 年度まで

研究代表者：宮崎義継

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：生物活性物質部

職名：部長

年次別研究費(交付決定額)：

1 年目 15,300,000 円 2 年目 13,005,000 円 3 年目 13,005,000 円 計 41,310,000 円

### I. 研究の意義

- (1) COPD 等における慢性壊死性肺糸状菌感染症は、ときに致死的な慢性の難治性感染症の一つであり、適正な治療等を検討するための明確な臨床診断指針を確立する。
- (2) 慢性肺アスペルギルス症は、治療開始と終了の目安となる客観的検査法がないため、適切な検査方法を構築する。
- (3) 本症の真菌学的、かつ、病理組織学的な病態を明らかにする。

### II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 診断基準の策定 → 臨床研究の推進。
- (2) 診断法の開発 → 治療対象の明確化、予後・生活の質の改善、医療の効率化
- (3) 病態を解明し疾患概念の明確化 → 新規診断法・治療法の開発促進。

### III. 3 年間の研究成果

・研究代表者（宮崎 義継）

- (1) 慢性肺糸状菌感染症の診断基準案の策定：本邦と欧米における慢性肺糸状菌感染症を比較しつつ、病態の特徴を考慮した本邦独自の慢性肺アスペルギルス症（CPA）のための診断基準項目を策定し、臨床診断基準案を作成した。
- (2) 作成した診断基準を用いた無作為化比較試験の臨床研究プロトコルを作成し、現在実施中である。（分担者河野、泉川と共同実施）
- (3) CPA の新規治療法開発：*Aspergillus fumigatus* の細胞表面抗原に対するモノクローナル抗体

を作製し、診断のための検査キットを作成した（特許申請準備中）。

・研究分担者(河野 茂)

(1) CPA の患者層・基礎疾患：60 歳以上の男性に好発し（男女比 2：1）、全例に肺の基礎疾患を認めた。基礎疾患は、肺結核後遺症が COPD より多く、COPD が多い欧米とやや異なる傾向にあった。

(2) CPA の診断に有用な検査値に関する検討：白血球数は低い傾向にあり、CRP 値、血沈は中等度であり、治療による変動が認められた。アスペルギルス沈降抗体は陽性であることが多く、同抗体測定の見積り意義は比較的高いことが示唆された。

(3) 日本人における CPA の遺伝的背景：欧米では報告されていない C649T の SNPs を多く認め、欧米とは異なる遺伝的背景を有する可能性が示唆された。

・研究分担者(二木芳人)

(1) 血清補助診断法の評価：(1→3)-β-D-グルカン測定では改良型 MK 法の有用性が示唆された。

(2) 画像診断の評価：慢性型肺アスペルギルス症の画像では浸潤影を伴うことが多く、多数の空洞、アスペルギローマを認めることが示唆された。

(3) 本症の診断には多方面からの評価が必要で、症例ごとに画像や血清検査結果の時間的推移を診断指針に盛り込むことも重要と考えられた。

・研究分担者(小川賢二)

(1) 慢性壊死性肺アスペルギルス症（CNPA）の症状に関する検討：CNPA の重要な症状は、気道出血症状（血痰・喀血）、咳・痰、発熱であった。CNPA 57 例と細菌性肺炎 282 例の比較検討で、気道出血症状（血痰・喀血）は CNPA に有意に多く、咳・痰は両者に共通し、発熱・CRP の上昇は細菌性肺炎の方が高値であった。このような症状の違いが、CNPA と細菌性肺炎とを鑑別する重要なポイントであるとの結論に至った。

(2) CNPA の病原性に関する検討：出血症状の原因として菌産生エラスターゼの関与が示唆された。

・研究分担者(安藤常浩)

(1) CNPA の病理所見と画像所見の比較：菌糸（菌糸塊）は空洞内および連続する気管支にまばらに散布し、腔内への強い滲出性反応と化膿性炎症が確認された。空洞周囲の組織や末梢組織において器質化肺炎を認めた。また、画像の経過が確認できた症例の検討では陰影の進展拡大した部位は病理組織学的に器質化肺炎を呈していた。これらの所見から、器質化が CNPA の病態を修飾している可能性が示唆された。

(2) 剖検例における侵襲性真菌感染症（IFI）の後方視的発生動向の解析：1990 年頃までは、侵襲性

真菌感染症(IFI)の原因真菌として *Candida* が主であったが、その後減少し、*Aspergillus* や接合菌によるIFIが増加していることが確認された。

・研究分担者(亀井克彦)

(1)宿主血清が *Aspergillus fumigatus* のバイオフィルム産生に及ぼす影響についての検討(渡邊浩教授との共同研究): 宿主血清成分の添加により *Aspergillus fumigatus* の生育が著明に促進されること、さらに厚く強固な菌塊を形成すること、菌体外マトリクスの産生が促されることを明らかにした。

(2) *Aspergillus fumigatus* のバイオフィルム産生に影響を及ぼす宿主血清成分の同定(渡邊浩教授との共同研究): *Aspergillus fumigatus* のバイオフィルム産生に影響を及ぼす宿主血清成分として Fetuin を同定した。

・研究分担者(渡邊 浩)

(1)肺炎球菌のバイオフィルムに関する検討: COPD における急性増悪の原因菌である肺炎球菌に関して、莢膜変異株を作製し、莢膜はバイオフィルムには抑制的に作用していることを明らかにした(論文投稿中)。

(2) *Aspergillus fumigatus* のバイオフィルムに関する検討(亀井克彦教授との共同研究): Fetuin によりバイオフィルム産生が高まることを明らかにした(論文投稿中)。

・研究分担者(泉川公一)

(1)プロテインチップシステム・プロテオミクスによるアスペルギルス由来の新規抗原の検索: 診断マーカーとなりうる新規抗原の候補蛋白として、ユビキチン様蛋白質を同定し得たが、同蛋白質のモノクローナル抗体を用いた Western Blotting で、アスペルギルスより抽出した蛋白質を検出できなかった。

・研究分担者(山越 智)

(1) *A. fumigatus* の分泌蛋白質を標的とした診断系の確立: シグナルシーケンストラップ法を用いて網羅的に探索した分泌蛋白質の中から、診断に利用可能な候補蛋白質として、Y1 および B68 を同定した。Y1 と B68 の特異的抗体によるサンドイッチ ELISA を作製し、感染マウスモデルでの診断的有用性を確認した。

(2)分泌蛋白 Y1 の病原性の検討: Y1 欠損株はマウスでの病原性が低下しており、Y1 は病原性と関連した分泌蛋白である可能性が示唆された。

#### IV. 今後考えられる新たな課題

### (1)診断基準の改定

欧米とは患者背景が異なり、肺アスペルギローマと CNPA を包括する疾患として、CPA という疾患概念を提案していく必要がある。また、抗真菌薬による治療の必要性を決定するための診断基準の作成を目的として、今回作成した診断基準を臨床試験を通して検証する必要がある。

### (2)新たな診断系の確立

網羅的解析によって、Y1 遺伝子が病原性に関連しており、診断の標的として有望であることが確認されたが、検出感度を改良する必要がある。また、プロテオミクスによって得られた診断標的であるユビキチン様蛋白質は非特異的であり、他の診断標的を探索する必要がある。

### (3)CPA の病態解析

バイオフィーム形成に関与した宿主側蛋白質が同定されたため、そのような機序が治療の標的となりうるかどうか等、さらなる病態の解明が必要である。

## V. 行政施策への貢献の可能性

(1)ガイドライン等への成果反映による、COPD 患者等での感染予防や生活の質の向上。

(2)診断基準の作成により、潜在的な患者が診断され正確な疾病患者数が把握され、行政施策の根拠となる。

(3)効率的な診断系・治療の開発による、難治性真菌症の患者への利益。

(4)臨床研究の促進と治療ガイドラインへの発展により、効率的な医療の実施に繋がり、医療資源の有効活用に結びつく。

## 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 宮崎義継、研究分担者 山越 智

1. 金子幸弘, 宮崎義継, 河野 茂編. 5 カンジダによる各臓器感染症の推奨治療と予防 3) 慢性播種性カンジダ症の治療. 米国感染症学会 IDSA ガイドライン 真菌症治療の UP-TO-DATE ~2008-2010 年のアスペルギルス, カンジダ, クリプトコックス IDSA GL 改訂版を踏まえて. 145-150, 2010.
2. 宮崎義継, ほか. 抗真菌薬使用ガイドライン. 日本化学療法学会. 2009.
3. 河野 茂, 宮崎義継ほか. 一般医療従事者のための抗真菌薬使用ガイドライン(日本化学療法学会). 2009.

研究分担者 河野茂、泉川公一

1. Kohno S, Izumikawa K. Posaconazole for chronic pulmonary aspergillosis: The next strategy against the threat of azole-resistant *Aspergillus* infection. Clin Infect Dis. 51:

1392-1394, 2010.

2. Izumikawa K, Takazono T, Kohno S. Chronic aspergillus infections of the respiratory tract: diagnosis, management and antifungal resistance. *Curr Opin Infect Dis*. 23: 584-589, 2010.
3. Kohno S, Izumikawa K, et al. Intravenous micafungin versus voriconazole for chronic pulmonary aspergillosis: a multicenter trial in Japan. *J Infection*. 61(5): 410-418, 2010.
4. Takazono T, Izumikawa K, et al. Efficacy of combination antifungal therapy with intraperitoneally administered micafungin and aerosolized liposomal amphotericin B against murine invasive pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 53(8): 3508-3510, 2009.
5. Kohno S. High mortality in invasive aspergillosis: what we need to know for determination of poor prognosis and next countermeasures. *Clin Infect Dis*. 47: 1185-1187, 2008.
6. Izumikawa K, Ohtsu Y, Kawabata M, Takaya H, Miyamoto A, Sakamoto S, Kishi K, Tsuboi E, Homma S, Yoshimura K. Clinical efficacy of micafungin for chronic pulmonary aspergillosis. *Med Mycol*. 45(3): 273-278, 2007.

研究分担者 二木芳人 (研究協力者 吉田耕一郎)

1. Takemoto K, Yamamoto Y, Ueda Y, Kanazawa K, Yoshida K, Niki Y. Comparative study on the efficacy of liposomal amphotericin B and voriconazole pulmonary aspergillosis model. *Chemother*. 55: 105-113, 2009.
2. 吉田耕一郎, 小司久志, 二木芳人. (1→3)- $\beta$ -D-グルカン測定の問題点と進歩. *日本医真菌学会雑誌*. 49: 75-80, 2008.

研究分担者 小川賢二

1. 小川賢二, 滝 久司. アゾール系抗真菌薬. 米国感染症学会 IDSA ガイドライン. 183-187, 2010. 医薬ジャーナル社, 大阪.
2. 林 悠太, 小川賢二. キャンディン系抗真菌薬(MCFG)-その臨牀-. *化学療法の領域*. 26: 570-575, 2010.
3. 小川賢二. 真菌感染症診療の実際. 深在性真菌症. 5(2): 34-35, 2009.
4. 小川賢二. 主な呼吸器疾患の診断と治療 肺感染症-肺真菌症-. *呼吸器病学レジデントマニュアル*. 257-265, 2008. 医学書院, 東京.
5. Okumura Y, Ogawa K, et al. Biochemical properties and primary structure of elastase inhibitor AFUEI from *Aspergillus fumigatus*. *J Med Microbiol*. 57(pt7): 803-808, 2008.
6. Okumura Y, Ogawa K, et al. Biochemical properties of elastase inhibitor, AFLEI from *Aspergillus flavus*. *Jpn J Med Mycol*. 49(2): 87-93, 2008.

研究分担者 安藤常浩

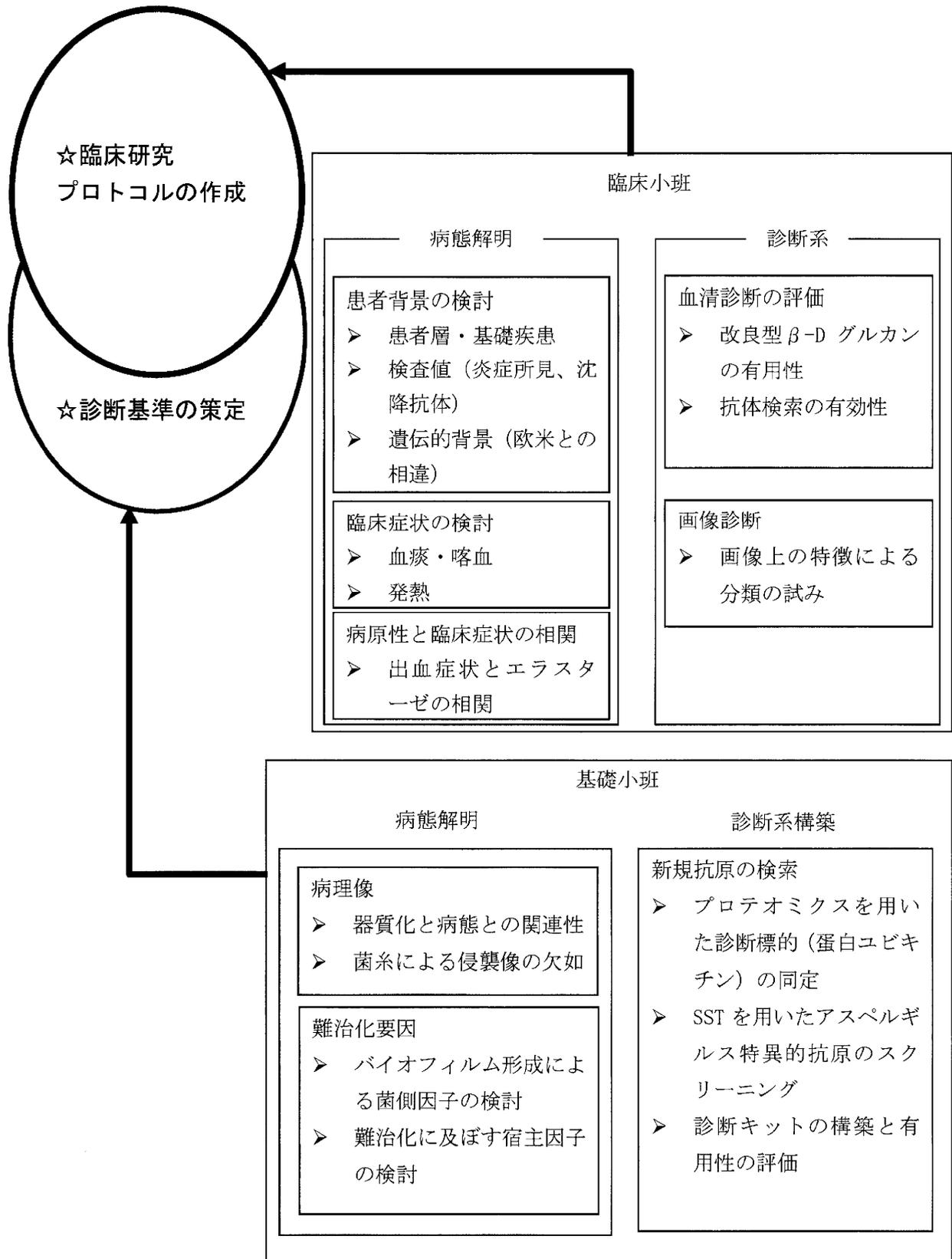
1. Greene R, Shibuya K, Ando T. Chapter 27 Histology and Radiology. Lage JP and Steinbach WJ ed. *Aspergillus fumigatus and Aspergillosis*. 353-362, 2009. ASM Press, Washington DC, USA.
2. 安藤常浩. アスペルギルス症. 日本臨床. 66(12): 2345-2349, 2008.

研究分担者 亀井克彦

1. Toyotome T, Adachi Y, Watanabe A, Ochiai E, Ohno N, Kamei K. Activator protein 1 is triggered by *Aspergillus fumigatus* beta-glucans surface-exposed during specific growth stages. *Microb Pathog*. 44(2): 141-150, 2008.
2. Toyotome T, Adachi Y, Watanabe A, Ochiai E, Ohno N, Kamei K. Activator protein 1 is triggered by *Aspergillus fumigatus* beta-glucans surface-exposed during specific growth stages. *Microb Pathog*. 44(2): 141-150, 2008.
3. Higurashi H, Arai M, Watanabe A, Igari H, Seki N, Kamei K, Kuriyama T. Gene expression profiling of polymorphonuclear leukocytes treated with the culture filtrate of *Aspergillus fumigatus* and gliotoxin. *Microbiol Immunol*. 51(4): 407-419, 2007.

### Ⅶ. Ⅲ (3年間の研究成果)の概要図等

※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。



## ●研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

### ・過去に所属した研究機関の履歴

- (1) 長崎大学医学部附属病院 (1988年6月～1989年5月)
- (2) 長崎大学大学院医学研究科 (1990年4月～1994年3月)
- (3) 米国立衛生研究所 (感染症アレルギー研究所; NIAID) (1995年1月～1998年5月)
- (4) 長崎大学医学部 (1998年7月～2007年3月)
- (5) 国立感染症研究所 生物活性物質部 (2007年4月～現在に至る)

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- (1) 河野 茂 教授 (長崎大学 医歯薬学総合研究科)
- (2) Dr. John E Bennett (Director of Infectious Diseases Training Program, Chief in Clinical Mycology Section /米国 National Institute of Allergy and Infectious Diseases)

### ・主な研究課題

呼吸器感染症と深在性真菌症の病態解明ならびに診断と治療方法に関する研究

### ・これまでの研究実績

1. 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 Infecion*. 61(5): 410-418, 2010.
2. 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 Slr2 mitogen-activated protein kinase pathway in cell wall integrity and virulence in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res*. 10: 343-352, 2010.
3. 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: 1639-1643, 2010.
4. 金子幸弘, 宮崎義継. 河野茂編. 5 カンジダによる各臓器感染症の推奨治療と予防 3) 慢性播種性カンジダ症の治療. 米国感染症学会 IDSA ガイドライン 真菌症治療の UP-TO-DATE～2008-2010 年のアスペルギルス, カンジダ, クリプトコックス IDSA GL 改訂版を踏まえて. 145-150, 2010.
5. 金子幸弘, 宮崎義継. 連載企画・感染対策 真菌感染症に必要な抗菌薬対策～注意すべき真菌症とその治療～ . 難病と在宅ケア. 16(2): 62-65, 2010.
6. 金子幸弘, 宮崎義継. ◇基礎編◇II 各論 11 耐性真菌: *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*. 感染症診療の基礎と臨床～耐性菌の制御に向けて～. 123-134, 2010.
7. 金子幸弘, 宮崎義継. 特集・抗真菌薬の基礎と臨床—今日の考え方— 1. アゾール系抗真菌薬—その基礎—. 化学療法の領域. 26(4): 540-551, 2010.
8. Kaneko Y, Ohno H, Kohno S, Miyazaki Y. Micafungin alters the expression of genes related to cell wall

- integrity in *Candida albicans* biofilms. *Jpn J Infect Dis.* 63(5): 355-357, 2010.
9. Kaneko Y, Ohno H, Fukazawa H, Murakami Y, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. Anti-*Candida*-biofilm activity of micafungin is attenuated by voriconazole but restored by pharmacological inhibition of Hsp90 related stress responses. *Med Mycol.* 48(4): 606-612, 2010.
  10. 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. *Inter Med.* 49: 491-495, 2010.
  11. Hoshino Y, Fujii S, Shinonaga H, Arai K, Saito F, Fukai T, Satoh H, Miyazaki Y, Ishikawa J. Monooxygenation of rifampicin catalyzed by the *rox* gene product of *Nocardia farcinica*: structure elucidation, gene identification and role in drug resistance. *J Antibiot (Tokyo).* 63(1): 23-28, 2010.
  12. Nagi M, Nakayama H, Tanabe K, Bard M, Aoyama T, Okano M, Higashi S, Ueno K, Chibana H, Niimi M, Yamagoe S, Umeyama T, Kajiwara S, Ohno H, Miyazaki Y. Transcription factors CgUPC2A and CgUPC2B regulate ergosterol biosynthetic genes in *Candida glabrata*. *Genes Cells.* (in press).
  13. **宮崎義継, 河野 茂, 山口英世, 芦澤和人, 井内敬二, 岡 慎一, 上 昌広, 亀井克彦, 竹末芳生, 田村和夫, 戸塚恭一, 前崎繁文, 榎村浩一, 三嶋廣繁, 森 雅亮, 安岡 彰, 吉田浩一郎, 吉田 稔, 渡辺 彰. 抗真菌薬使用ガイドライン. 日本化学療法学会. 2009.**
  14. 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(5): 392-393, 2010.
  15. 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. *Biosci Trends.* 3: 139-143, 2009.
  16. Murakami Y, Noguchi K, Yamagoe S, Suzuki T, Wakita T, Fukazawa H. Identification of bisindolylmaleimides and indolocarbazoles as inhibitors of HCV replication by tube-capture-RT-PCR. *Antiviral Res.* 83: 112-117, 2009.
  17. **大野秀明, 宮崎義継. 医療・福祉施設における感染制御と臨床検査. 各論 2. 微生物の種類別にみた施設内感染制御. 3) 真菌. クリプトコックス. 臨床検査(増刊号). 53(11): 1381-1386, 2009.**
  18. Kaneko Y, Ohno H, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. The effects of an hsp90 inhibitor on the paradoxical effect. *Jpn J Infect Dis.* 62(5): 392-393, 2009.
  19. Nagi M, Tanabe K, Takano Y, Kikuchi K, Miyazaki Y, Niimi M. Serum or bile affects the in vitro azole susceptibilities of *Candida* spp. *Jpn J Infect Dis.* 62(4): 306-308, 2009.
  20. Okumura A, Nagao R, Suzuki T, Yamagoe S, Iwai M, Nakazato K, Enami I. A novel protein in Photosystem II of diatom *Chaetoceros gracilis* is one of the extrinsic proteins located on lumenal side and directly associates with PSII core components. *Biochim Biophys Acta.* 2008.
  21. Okumura A, Saito T, Otani I, Kojima K, Yamada Y, Ishida-Okawara A, Nakazato K, Asano M, Kanayama K, Iwakura Y, Suzuki K, Yamagoe S. Suppressing role of leukocyte cell-derived chemotaxin 2 in mouse anti-type II collagen antibody-induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 58: 413-421, 2008.

22. Ogasawara Y, Kaya H, Hiraoka G, Yumoto F, Kimura S, Kadota Y, Hishinuma H, Senzaki E, Yamagoe S, Nagata K, Nara M, Suzuki K, Tanokura M, Kuchitsu K. Synergistic Activation of the Arabidopsis NADPH Oxidase AtrbohD by Ca<sup>2+</sup> and Phosphorylation. *J Biol Chem.* 283: 8885-8892, 2008.
23. Kakeya H, Miyazaki Y, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yanagihara K, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S. Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in comparison with amphotericin B, liposomal amphotericin B, and micafungin against murine pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 52(5): 1868-1870, 2008.
24. Kakeya H, Miyazaki Y, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S. Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in a murine model of systemic cryptococcosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 52(5): 1871-1872, 2008.
25. Noguchi K, Fukazawa H, Murakami Y, Takahashi N, Yamagoe S, Uehara Y. gamma-Herpesviruses and cell signaling in AIDS-associated malignancies. *Cancer Sci.* 98: 1288-1296, 2007.
26. 真菌症フォーラムガイドライン作成委員会(宮崎義継 内科領域編集). 深在性真菌症の診断治療ガイドライン 改訂第2版. 2007. 株式会社協和企画, 東京.

・ **平成 23 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**

※申請している場合は、申請課題名を記載して下さい。

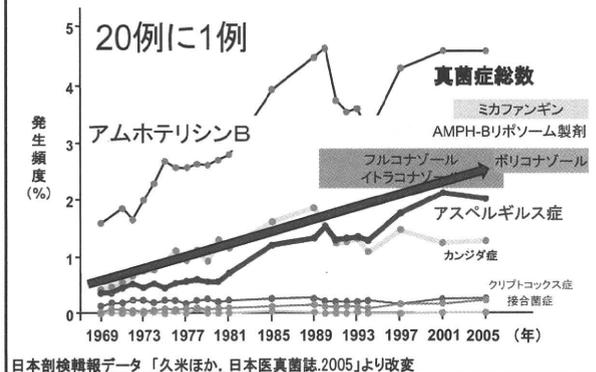
感染症対策総合研究事業 (1) 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業【一般公募型】 [2] 感染症の新たな脅威への対応及び感染症対策の再構築に関する研究分野 ④ 地域流行型真菌症の疫学調査、診断治療法の開発に関する研究 (23210601)

平成22年度厚生労働省科学研究費補助金  
 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

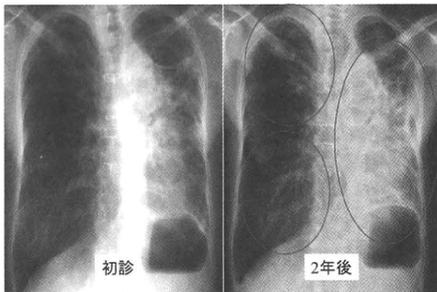
## COPD等における難治性感染症の 病態把握等に関する研究

研究代表者 国立感染症研究所 生物活性物質部 宮崎義継  
 研究分担者 国立病院機構東名古屋病院 小川賢二  
 千葉大学真菌医学研究センター 亀井克彦  
 長崎大学感染免疫学講座 河野 茂  
 長崎大学感染免疫学講座 泉川公一  
 長崎大学感染免疫学講座 掛屋 弘  
 昭和大学医学部感染制御学 二木芳人  
 国立感染症研究所 生物活性物質部真菌症室 山越 智  
 久留米大学医学部感染症学 渡邊 浩  
 研究協力者 全国の52病院の担当医  
 米国感染症学会 David Denning

## 内臓真菌症の増加



慢性糸状菌感染症は、肺胞構造の破壊を有するCOPD等の患者等に好発する。



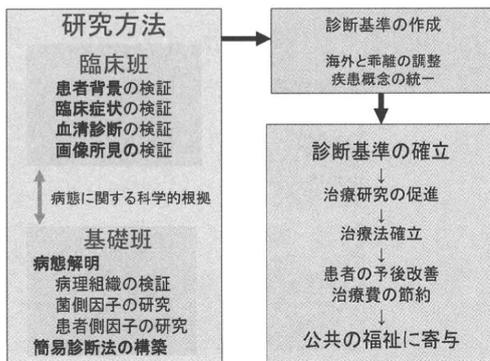
かつ、これらの疾患は難治性である。

- COPD患者だけで500万人と推定される。
- 内臓真菌症に対する抗真菌開発と使用増(約400億円/年)にもかかわらず、治療適応を判断する明確な診断指針が存在しない。

科学的な根拠に基づく診断基準の作成が必要  
 新たな診断系の確立  
 現在の治療の問題点を浮き彫りにする  
 新たな治療法の創出

慢性糸状菌感染症の治療効果を最大化する

## 研究体制



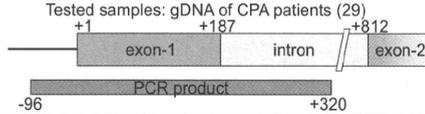
## 臨床小班：患者背景に関する結果(1) 臨床的背景(諸外国とのデータ比較)

	日本 (n=198)	韓国 (n=43)	UK (n=126)
Reference	自験例	Nam et al. Int J Infect Dis, 2010	Smith et al. ERJ, 2010
平均年齢	69.5	60.0	59 (alive)
性別			
男性	145 (73.2)	34 (79.1)	75 (59.5)
女性	53 (26.8)	9 (20.9)	51 (40.5)
BMI	17.6	17.5	-
基礎疾患			
肺結核後遺症	92 (46.5)	40 (93.0)	21 (16.7) NTM 20 (15.9)
COPD	34 (17.2)	6 (14.0)	42 (33.3)
糖尿病	25 (12.6)	5 (11.6)	5 (11.6)

### 臨床小班；患者背景に関する結果(2)

#### 遺伝的背景

#### マンノース結合レクチン (MBL) の一塩基多型 (SNPs)



	C649T(C-66T)	C868T	G875A (G161A)	G1011A(G297A)
		CCPA		ABPA
CPA	10/29 (34.5%)	none	5/29 (17.2%)	11/29 (37.9%)
HV	1/4	none	1/4	1/4

- CPA患者において、有意なSNPsとして報告されているC868Tは本邦では少ない可能性がある。一方、ABPAのSNPsであるG1011Aの陽性率は高い。
- 欧米では報告されていないC649T、G875AのSNPsを認めた。

### 臨床小班；臨床症状に関する結果 (比較研究)

項目	糸状菌 (%) n=91	細菌性肺炎 (%) n=199	p値
背景因子			
年齢	67.8±11.4	61.9±15.2	<0.001
男性	62(68.1)	209(77.1)	NS
症状			
咳嗽	83(91.2)	257(95.0)	NS
喀痰	82(90.1)	255(94.0)	NS
血痰	18(20.0)	0(0)	<0.0001
発熱	37.6±0.8	38.4±0.9	<0.01
炎症反応			
CRP (mg/dl)	8.74±6.92	15.34±8.86	<0.01

### 臨床小班；画像所見に関する結果

項目	実数	(%)	n=63
年齢	66.6±12.4		
性別			
男性	46	(73.0)	
女性	17	(26.9)	
陰影の性状			
consolidation	58	(92.1)	
うちairbronchogram	23	(36.5)	
空洞・のうほう	56	(88.8)	

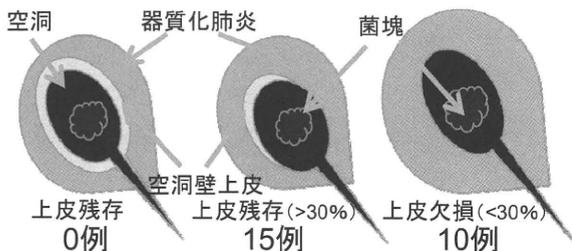
### 臨床班 総括

#### 診断基準案(1~4すべてにを満たす)

- 症状；感染症によると考えられる発熱、咳嗽、喀痰、血痰、呼吸困難などの呼吸器症状がある。
- 糸状菌関与の証拠として下記のいずれか；気道由来検体で鏡検による菌糸成分確認、培養陽性、ガラクトマンナン陽性、沈降抗体陽性。
- 画像所見；胸部X線あるいはCTで、新たな浸潤影や空洞性陰影を確認。既存空洞の拡大や壁の肥厚が明らかな場合も含む。菌球のみみられる場合は除外。
- 一般抗菌薬無効；3日間以上の注射用広域抗菌薬投与で改善が不十分。

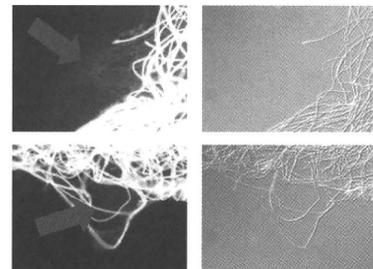
### 基礎小班；病理組織に関する結果

- 空洞・周囲の実質・末梢領域も一連の病態と考え得る。
- 気道(気腔)に上皮欠損が生じ、気腔への強い滲出 反応・壊死性変化とともに、実質での器質化を生ずる。
- 菌による上皮障害と、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進行。



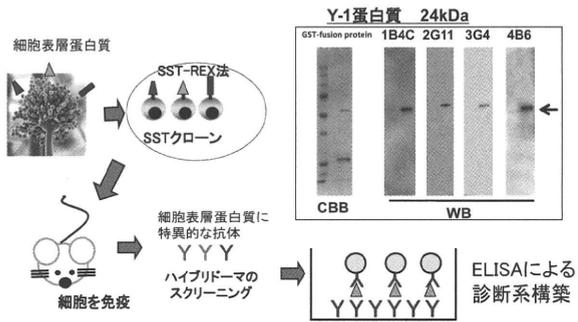
### 基礎小班；難治化因子に関する検討

- fetuinの発見と、バイオフィルム様形態

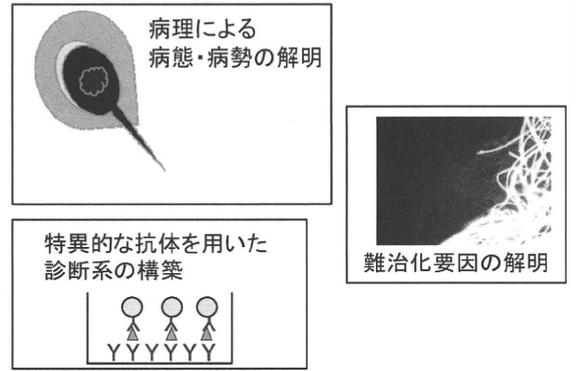


基礎小班；疾患特異分子の検索、診断系構築

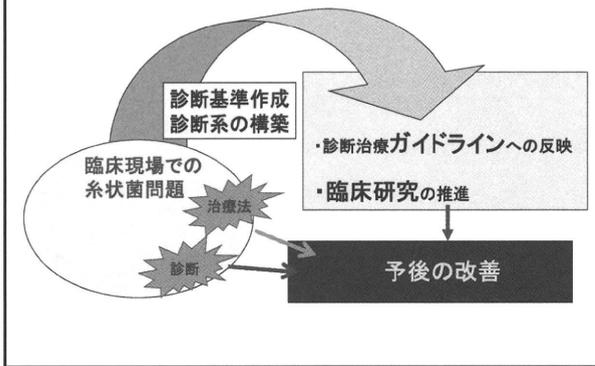
A. fumigatusの分泌分子の同定



基礎班 総括



本研究班の成果：総括



## 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 成果概要

研究課題：アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

課題番号：H20-新興-一般- 013

予定期間：H20 年度から H22 年度まで

研究代表者：渡邊治雄

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：

職名：所長

年次別研究費(交付決定額)：

1 年目 136,160,000 円 2 年目 122,544,000 円 3 年目 122,544,000 円 計 381,248,000 円

## I. 研究の意義

- 1) アジアを起点として発生する新興・再興感染症は後を絶たない。一国で発生した感染症の原因となる病原体は SARS の事件が実証したように、ヒトあるいは物を介して瞬く間に世界中に拡散し、時には莫大なる被害をもたらす。
- 2) いつ発生するかまたはどのような状況で伝播するかわからない感染症に対しては、常時監視体制の強化が最も効果的防止法である。そのためには国を越えての協力体制の構築が求められている。
- 3) 本研究はアジアを中心として問題となっているいくつかの疾患を例として各国の感染症対策に関与する国立研究機関と国立感染症研究所とのラボネットワークを構築し、情報の交換を促進する。それにより、わが国への病原体の侵入あるいは拡散を未然に防止あるいは最小限に食い止めることができる。

## II. 研究の目的、期待される成果

- 1) アジア各国の CDC 様機能を持つ国立研究機関との間で、アジアで蔓延している感染症の代表的なものとしてウィルス疾患としては高病原性鳥インフルエンザ、H1N1 新型インフルエンザ、デング熱、狂犬病等、原虫性疾患としてマalaria 等、細菌性疾患として赤痢、コレラ、腸チフス等の下痢性疾患の感染症発生動向および病原体情報の交換、およびその解析を行う(アジアの研究機関には委託金を渡し、その国の状況を解析してもらう)
- 2) 病原体検出法の標準化および共通のマニュアルの作成、開発した検査キットの配布を行い、病原体の検出感を高める
- 3) 病原体の分子疫学的解析法の開発と標準化、それを用いた病原体遺伝情報のデータ集積を行い、共通の物差しで病原体の動向を把握する

### 期待される成果

各国の厚生省管轄下の研究機関とのネットワーク化を図ることにより、問題となる感染症の病原体の情報を迅速に共有できる様になり、アジアにおける感染症の制御およびわが国への感染症侵入阻止に貢献する。

## III. 3 年間の研究成果

(1)細菌チーム；主任研究者(渡邊治雄)、分担研究者(寺嶋、泉谷、伊豫田、森田、大澤、大西)

アジア(韓国、中国、台湾、ベトナム、マレーシア、フィリピン、タイ、バングラデシュ、インド、オーストラリア、ニュージーランド)および米国 CDC 等の国立の感染症研究所との連携を図り、コレラ菌等の腸管系細菌のゲノム情報(PFGE)に基づくデータベース化およびそのネットワーク(Pulse-Net)の構築を行った(各国に研究委託金を渡し、各国の分離株の解析を依頼した)。アジア地域で現在流行しているコレラ菌は、古典型コレラ毒素を産生するエルトール型コレラ菌のハイブリッド型にシフトしてきており、それが臨床症状の悪化に関与している可能性が示唆された。他

の分子疫学的解析法 (MLVA) の検討を行い、赤痢菌での有用性を示した。

(2) ウィルスチーム；

1) デング熱等 (研究分担者；倉根、高崎、田島、林、高橋)：最近、デング熱流行地域での病原体診に用いられ始めているデングウイルス NS1 抗原 ELISA の感度をウイルス遺伝子検出検査 (リアルタイム RT-PCR 法) と比較した。タイ患者血清を用いたウイルス分離によりこれまでに 3 株のチクングニヤウイルスを分離した。系統学的解析の結果いずれの分離株も現在アフリカおよびアジア地域で流行域を拡大している東・中央アフリカ型の遺伝子型に分類されることが示唆された。各国および世界で市販されている日本脳炎 IgM 抗体検査法を評価した。2010 年 5 月 27 日、WHO 西太平洋事務局域内レファレンスセンター会議を、国立感染症研究所において開催した。また、中国 CDC、韓国 CDC と日本脳炎 IgM 抗体検査法の統一化に関する会議をおこなった。

2) 狂犬病 (研究分担者；山田、朴、井上)：狂犬病ウイルスの組換え N 蛋白およびプラスミド免疫で作出した抗 N 蛋白 monospecific-polyclonal Abs (mpAbs) を利用して迅速抗原検出法「DRIT 法 (a direct, rapid immunohistochemical test)」をフィリピンの熱帯医学研究所 (RITM) 狂犬病診断チームと連携して確立した (mpAbs-DRIT 法)。狂犬病の簡易・迅速遺伝子検出を可能とする RT-LAMP 法と Real-time PCR 法の開発をベトナム NIHE 研究所の狂犬病ラボと行った。フィリピン、ベトナム、中国における狂犬病流行の実態と診断システムの課題等について当該国の狂犬病ラボ担当とアジアの狂犬病国際会議と ASEAN Plus Three 会議において意見及び情報交換を行って、アジアで必要とされるラボラトリーネットワーク構築に必要な研究課題について議論した。

3) インフルエンザ (研究分担者；田代、小田切、板村等)：中国、台湾、韓国、モンゴル、シンガポール、ミャンマー、ラオス、シリア、グアムからの分離株の HA 遺伝子および NA 遺伝子の塩基配列の決定と系統樹解析を行い、A/H3N2 亜型ではこれらの抗原性変化は、東南アジア諸国がわが国より早く起る傾向がみられ、東南アジア諸国でのウイルス株サーベイランスが次シーズンの北半球諸国での流行予測をする上で、極めて重要な鍵を握ることが示唆された。2008/09 シーズンの 5 月以降から、ブタインフルエンザウイルス由来の新型 A/H1N1 ウイルスによるパンデミックが起こった。ミャンマー、ラオス、モンゴルからは臨床検体を受け入れ、感染研で新型インフルエンザ用に構築した PCR 診断系が高感度に稼働することが確認され、これらのマニュアルを連携している周辺諸国へ提供することができた。

4) 麻疹・風疹 (研究分担者；駒瀬、牛島等)：ラオス、ビエンチャン市の 4 つの小学校の児童の風疹抗体価、麻疹抗体価を測定した。約 45% が風疹抗体陽性であり、95% 以上が麻疹抗体陽性であった。

(3) 原虫チーム (分担研究者；大前、田辺ら)：マラリア原虫の尿中抗体検査を、アジア・太平洋地域で増えているマラリア低浸淫地を中心に、疫学的状況の評価や対策のモニタリング、Rapid Assessment 手法として利用できる可能性を示した。クロロキン及びピリメサミン耐性の熱帯熱マラリア原虫は、東南アジアからアフリカに、異なった年代に 10 年程度かけて移入していたことがわかった。また、アフリカでは 1990 年代のピリメサミン使用頻度の増加に伴い、アフリカ起源の耐性が出現したことがわかった。

#### IV. 今後考えられる新たな課題

(1) 本プロジェクトで共同研究を進めているアジア諸国の研究機関と一層の連携を強化し、新型インフルエンザウイルスを初めとする各地で問題となっている感染症の変化を経時的に監視する。

(2) 経時的に各検査診断系の精度を検証し、適宜改定を進める。それらの情報は連携しているアジア諸国の研究機関へ速やかに情報提供し、当該国での感染症対策へ貢献する。

(3) 病原体の薬剤耐性株のモニターを強化し、未知の耐性化変異の同定、およびその検出系の構築を進め、対策等に活かす。

#### V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 新たな検査法の改良と情報共有は、国内外の感染症対策に直接的に貢献できる。
- (2) アジアにおけるサーベイランスの結果を国内外の対策に活かすことができる。
- (3) アジア諸国とサーベイランス、感染診断検査で協力、連携を強化することにより、WHOあるいはASEAN+3EID等に対して日本として国際貢献ができる。

#### VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) 田代,小田切;WHO:WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus in humans - update . 18 August 2009
- (2) Takasaki ;WHO Training Workshop Report of JE; Hands-On Training on the Laboratory Diagnosis of JE. Seoul, Korea 15-19 June 2009.
- (3) Kam KM, Luey CK, Parsons MB, Cooper KL, Nair GB, Alam M, Islam MA, Cheung DT, Chu YW, Ramamurthy T, Pazhzni GP, Bhattacharya SK, Watanabe H, Terajima J, Arakawa E, Ratchtrachenchai OA, Huttayananont S, Ribot EM, Gerner-Smidt P, Swaminathan B; for the Vibrio parahaemolyticus PulseNet PFGE Protocol Work Group. Evaluation and Validation of a PulseNet Standardized Pulsed-Field Gel Electrophoresis Protocol for Subtyping Vibrio parahaemolyticus: an International Multicenter Collaborative Study. J Clin Microbiol. 46 (8):2766-2773 (2008).
- (4) Tokunaga, A., Yamaguchi, H., Morita, M., Arakawa, E., Izumiya, H., Watanabe, H., and Osawa, R. Novel PCR-based genotyping method, using genomic variability between repetitive sequences of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 El Tor and O139. Molecular & Cellular Probes 24(2):99-103 (2010)
- (5) Morita M., Ohnishi M., Arakawa E., Yamamoto S., Nair G.B., Matsushita S., Yokoyama K., Kai A., Seto K., Watanabe H., Izumiya H. Emergence and genetic diversity of El Tor *Vibrio cholerae* O1 that possess classical biotype *ctxB* among travel-associated cases of cholera in Japan. J. Med. Microbiol. 59: 708-712. (2010)
- (6) Aoyama I, Uno K, Yumisashi T, Takasaki T, Lim CK, Kurane I, Kase T, Takahashi K. A case of chikungunya fever imported from India to Japan, follow-up of specific IgM and IgG antibodies over a 6-month period. Jpn J Infect Dis;63(1):65-6(2010).
- (7) Bazartseren B., Inoue S., Tuya N., Dulam P., Batchuluun D., Sugiura N., Okutani A., Kaku Y., Noguchi A., Kotaki A., and Yamada A. Molecular Epidemiology of Rabies Virus in Mongolia, 2005-2008. Jpn. J. Infect. Dis. 63: 358-363. (2010)
- (8) Bazartseren B., Inoue S., Tuya N., Dulam P., Batchuluun D., Sugiura N., Okutani A., Kaku Y., Noguchi A., Kotaki A., and Yamada A. Molecular Epidemiology of Rabies Virus in Mongolia, 2005-2008. Jpn. J. Infect. Dis. 63: 358-363. (2010)
- (9) Somboon, P., Rory, A., Tsuda, Y., Takagi, M. and Harbach, R. E. Systematics of *Anopheles (Cellia) yaeyamaensis* sp. n., alias species E of the *An. minimus* complex in southeastern Asia (Diptera: Culicidae). Zootaxa 2651: 43-51. (2010)
- (10) Saito-Nakano Y, Tanabe K, Kamei K, Iwagami M, Komaki-Yasuda K, Kawazu S, Kano S, Ohmae H, Endo T. Genetic evidence for *Plasmodium falciparum* resistance to chloroquine and pyrimethamine in Indochina and the Western Pacific between 1984 and 1998. Am J Trop Med Hyg. 79: 613-619, (2008)
- (11) Lim, C.K., Nishibori, T., Watanabe, K., Ito, M., Kotaki, A., Tanaka, K., Kurane, I., Takasaki, T. Chikungunya virus isolated from a returnee to Japan from Sri Lanka: Isolation of two sub-strains with different characteristics. Am. J. Trop. Med. Hyg., 81(5):865-868 (2009).