

図2. 使用菌株のMolecular type

菌株名	由来	Molecular type	
<i>Cryptococcus gattii</i>	TIMM 4097	コアラ 剖検肺分離株	VG I
	TIMM 4901	コアラ 鼻腔分離株	VG I
	TIMM 4902	コアラ 鼻腔分離株	VG I
	TIMM 4903	コアラ 鼻腔分離株	VG I
	TIMM 4904	コアラ 鼻腔分離株	VG I
	TIMM 4905	コアラ 鼻腔分離株	VG I
	TIMM 4906	コアラ 鼻腔分離株	VG I

3. *C. gattii* の molecular type 検索

MLST型解析を用いて molecular type を検索した結果、本研究で用いた *C. gattii* TIMM4097 ならびに TIMM4901-4906、計7株はいずれも VGI 型であった(図2)。

4. 病理組織学的解析

1) 肺の病理組織学的所見

a) *C. gattii* TIMM4097 接種マウス肺

接種後5日目には肺胞内で1ないし2個程度の菌体をみるが、炎症細胞浸潤は明らかではない。接種後10日目以降は菌体数の増加ならびに肺胞腔の拡張とその周囲における重積が目立つようになり、接種後30日目には大型の結節性病変が肺のほぼ全域に認められ菌体は広範囲に分布しており、肺胞構造が高度に破壊されている(図3)。

b) *C. gattii* TIMM4903 接種マウス肺

接種後5日目は同時期の *C. gattii* TIMM4097接種群の組織像に類似しており、肺胞内に少数の菌体をみるのみである。しかしながら、10日目以降30日目に至るまで *C. gattii* TIMM4097接種群で確認された、肺胞腔内を中心とした著明な菌増殖、それに伴う肺胞腔の拡張と重積は目立たなかった。一方、*C. gattii* TIMM 4903接種群にみられた特徴的な所見として、気管支内を主体とした菌分布が、特に接種後10日目以降に確認された(図4)。

図3. *C. gattii* TIMM 4047接種マウス肺

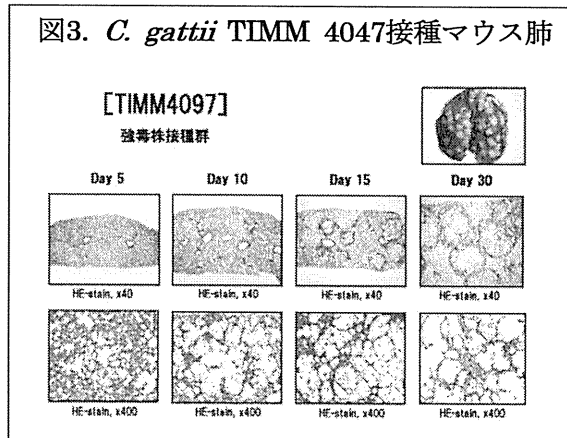
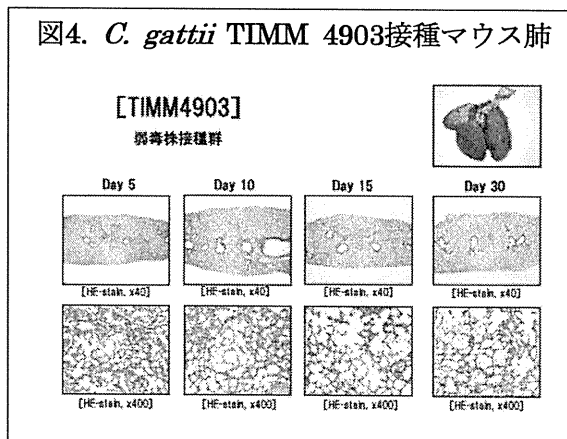


図4. *C. gattii* TIMM 4903接種マウス肺



2) 画像解析

C. gattii TIMM4097 接種群では平均交点間距離が経時的に延長している一方で、*C. gattii* TIMM4903 接種群では延長が目立たない。平均交点間距離ならびにその分散について両群を比較したところ、接種後15日目ならびに30日目において *C. gattii* TIMM4097 接種群の平均交点間距離が有意に長く、より大きな分散を示す(図5)。

図5. *C. gattii* 接種後の肺胞隔壁間距離

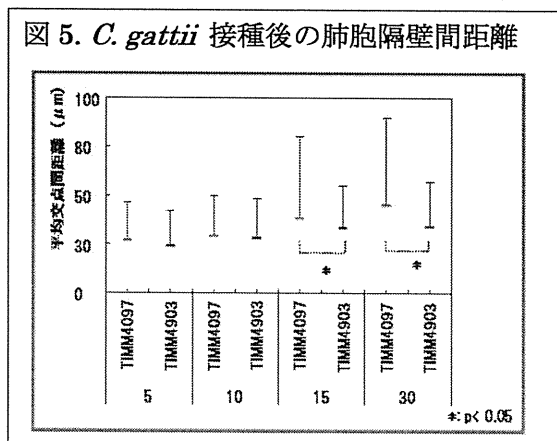


図6. 菌の分布に関する評価

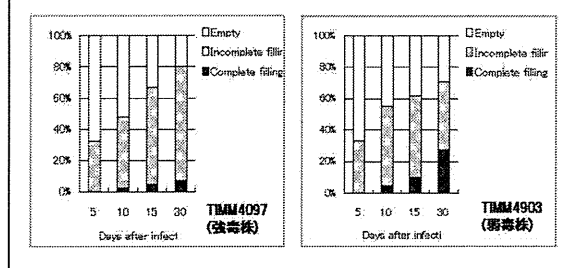
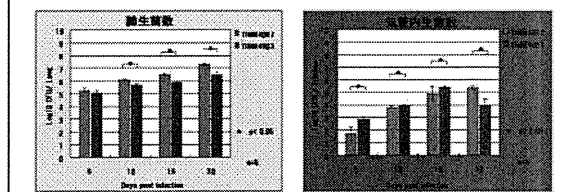


図7. 肺ならびに気管支内生菌数



3) 菌の分布に関する評価

接種後10, 15, 30日目において、充満型の気管支の占める割合は、*C. gattii* TIMM4903接種群が5.0%、10.1%、27.4%である。

一方、*C. gattii* TIMM4097株接種群では2.4%、4.9%、7.1%であり、両者ともに感染10日目から30日目にかけて漸増傾向を示したが、その程度はTIMM4903株でより著明であった(図6)。さらに、両株接種後マウスにおける肺および気管内の生菌数を比較した。全観察期間中、肺生菌数は両株接種群ともに経時的な増加を示したが、一貫して*C. gattii* TIMM4097の肺生菌数が*C. gattii* TIMM4903よりも多かった。一方、気管内の生菌数では、両株接種群ともに感染15日目まで経時的な増加を示したものの、*C. gattii* TIMM4903と比べて*C. gattii* TIMM4097の生菌数が少ない傾向を示した(図7)。

D. 考察

本研究では国内動物園飼育下のコアラに由来するクリプトコックス属菌 9 菌株を用

いて、従来の研究で毒力規定因子と推定されている各種生物学的諸性状について比較したが菌株間に有意な差を見出せなかった。

一方、各菌株の経鼻接種マウスの死亡率は大きく異なっており、特に *C. gattii* TIMM4097 接種群は他の *C. gattii* 菌株接種群と比較して死亡率が有意に高い。その原因が異なる molecular type によると推測し、*C. gattii* 7 菌株に対して MLST 型解析を行なったが、いずれも VGI 型であった。今回の検索からは、特に高い感染致死毒力を有するとされる *C. gattii* VGIIa 型は検出されておらず、国内動物園飼育下のコアラは *C. gattii* VGIIa 型を保有していない、あるいは優位ではないと推測された。また、同じ molecular type(VGI 型)を有する *C. gattii* 間においても感染致死毒力が大きく異なる事も判明した。

より詳細に毒力規定因子を検討すべく、*C. gattii* TIMM4097 ならびに TIMM 4903 の経気道感染モデルマウスを作製し、病理組織学的検索を行った。特にここでは、肺胞の拡張や隔壁の重責などの構築改変の客観的指標として、任意に設定した線分との交点間の線分上での距離の平均と分散を求めて、比較を行った。この結果、強毒株である *C. gattii* TIMM4097 接種群は *C. gattii* TIMM4903 接種群よりも平均交点間距離が有意に長く、より大きな分散を示した。すなわち、*C. gattii* TIMM4097 接種群では時間経過に伴って肺胞腔の拡張と重積が進行したと考えられる。一方、菌の分布に関する評価、肺内ならびに気管内生菌数の測定結果はいずれも *C. gattii* TIMM4903 が肺胞より気管支に分布しやすいことを示唆している。以上の所見より、*C. gattii* TIMM4097 が肺胞腔に留まり易く、同部に留まってその構造を破綻させな

がら増殖するが、*C. gattii*TIMM4903 は比較的容易に肺胞から気管支へ移動するため、肺胞構造の変化に乏しく、気管内分布が目立ち、気管内生菌数も多くなつたと推測した。すなわち、菌株の肺胞上皮への接着能の相違が感染致死毒力規定因子の 1 つである可能性が示唆された。

これら肺ならびに気管支内生菌数の比較と形態学的解析に基づく我々の仮説を検証すべく、現在我々は DNA マイクロアレイ法を用いた網羅的遺伝子解析を開始しており、発現変動を示す遺伝子についてさらなる検討を加えたい。

E. 結論

Multilocus sequence typing(MLST)解析により、本研究で利用した国内動物園で飼育下のコアラ由来 *C. gattii* 7 株の分子型は全て VG I 型であることが判明した。

各種接種経路で異なる感染致死毒力を示した *C. gattii* 2 株 (TIMM4097・TIMM4903)を用いてマウスの肺感染病変を作製し、これを組織学的に比較したところ、菌株の肺胞上皮への接着能の相違に由来する可能性が示唆された。この仮説を検証すべく、現在我々は DNA マイクロアレイ法を用いた解析を開始しており、今後さらなる検討を加えたい。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

論文発表

1. Shimodaira K, Okubo Y, Nakayama H, Shinozaki M, Sasai D, Takahashi K, Saji T, **Shibuya K**. Trends in incidence of invasive fungal infections emerged from analysis of

annual records of autopsy cases of Toho University. *Mycoses*, in press.

2. Nagayoshi M, Tada Y, West J, Ochiai E, Watanabe A, Toyotome T, Tanabe N, Takiguchi Y, Shigeta A, Yasuda T, **Shibuya K**, Kamei K, Tatsumi K. Inhalation of *Stachybotrys chartarum* Evokes Pulmonary Arterial Remodeling in Mice, Attenuated by Rho-Kinase Inhibitor. *Mycopathologia*. 172: 5-15, 2011.

3. Takahashi H, Yokoyama Y, Terajima F, Hasegawa K, Suguro T, **Shibuya K**, Wada A. Isolated neck extensor myopathy causing a dropped head: a case report. *Journal of Orthopaedic Surgery*. 19:104-107, 2011.

4. Okubo Y, **Shibuya K**, Namiki A, Takamura K, Kameda N, Nemoto T, Mitsuda A, Wakayama W, Shinozaki M, Hiruta N, Kitahara K, Ishiwatari T, and Yamazaki J. Leiomyosarcoma with partial rhabdomyoblastic differentiation: First case report of primary cardiac origin. *BMC Cancer*. 11: 76 (online journal), 2011.

5. Wakui N, Iida K, Kanayama M, Nagai H, Watanabe M, Ishii K, Kudo T, Kaneko H, **Shibuya K**, Sumino Y. Splenic artery aneurysm that gradually increased in size over 4 years until threatening rupture. *J Med Ultrasonics*. 38:167-171, 2011.

6. Shimamura T, Kubota N, Nagasaka S, Suzuki T, Mukai H, **Shibuya K**. Establishment of a Novel Model of Onychomycosis in Rabbits for Evaluation of Antifungal Agents.

- Antimicrob Agents Chemother. 55:3150-3155, 2011.
7. Isobe K, Nagata R, Ota H, Sugino K, **Shibuya K**, Homma S. A case of small-cell lung cancer associated with paraneoplastic limbic encephalitis during Chemotherapy. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi*. 49: 602-606, 2011.
 8. Shiozawa K, Watanabe M, Igarashi Y, Ichimori M, Hirano N, Nakano S, Maeda T, Yamazaki K, Okubo Y, Nemoto T, **Shibuya K**, Sumino Y. Gastrointestinal Stromal Tumor Mimicking Arteriovenous Malformation of the Jejunum. *Case Rep Gastroenterol*. 5: 558-64, 2011.
 9. 笹井大督, 石渡誉朗, 大久保陽一郎, 井手忠, 根本哲生, 若山恵, 渋谷和俊: 環境由来カビによる感染症の診断. *かびと生活* 4: 113-9, 2011
 10. 根本哲生, 若山 恵, 酒井 謙, 渋谷和俊. 特集 透析医療に必要な薬の使い方 真菌症. *腎と透析*. 70(4):593-596, 2011.
 11. 高橋賢司, 松江陽一, 福田雄介, 長嶋克, 森山 梓, 青木千津, 間崎和夫, 竹下直樹, 前村俊満, 片桐由起子, 田中政信, 森田峰人, 根本哲生, 渋谷和俊. 胎児機能不全を呈した臍帯血管断裂の1例. *日本産科婦人科学会東京地方部会会誌*. 60(1):174-178, 2011.
 12. 後町杏子, 坂本 晋, 笹本修一, 渋谷和俊, 高木啓吾, 本間 栄. 3D-CTにより診断し、異常血管のみの切除にて治癒した肺底動脈大動脈起始症の1例. *日本呼吸器学会雑誌*. 49(3): 221-225, 2011.
 13. 石黒 卓, 高柳 昇, 齋藤明美, 秋山一男, 若山 恵, 渋谷和俊, 清水禎彦, 杉田 裕, 亀井克彦. スエヒロタケとアスペルギルスによるアレルギー性気管支肺真菌症の1例. *日本呼吸器学会雑誌*. 49(8):612-618, 2011.
 14. 磯部和順, 永田莉那, 太田宏樹, 杉野圭史, 渋谷和俊, 本間 栄. 化学療法中に傍腫瘍性辺縁系脳炎を合併した肺小細胞癌の1例. *日本呼吸器学会雑誌*, 49(8):602-606, 2011.
- 図書発表
1. Okubo Y, Shinozaki M, Wakayama M, Nakayama H, Sasai D, Ishiwatari T, Nemoto T, **Shibuya K**. *Applied Gene Histopathology: Identification of Fusarium species in tissue sections by In situ hybridization* Editors: Louise O'Connor and Barry Glynn. *Fungal Diagnostics: Methods and Protocols*. Humana Press New York (in press)
- 学会発表
- 国際学会
1. Wakayama M, Okubo Y, Shinozuka M, Tochigi N, Ono H, Miyazaki Y, Nakatani Y, Kamei K, Murayama S, Nemoto T, **Shibuya K**. HISTOPATHOLOGICAL DIAGNOSIS OF HUMAN HISTOPLASMOSIS USING *IN SITU* HYBRIDIZATION TECHNIQUE. International Union of Microbiological Societies Congress, Sapporo, Japan, 2011.
 2. Kaneko T, **Shibuya K**. A PATIENT CYSTIC GRANULOMA TRICHO

- PHYTICUM WHO REQUIRED SURGICAL RESECTION. International Union of Microbiological Societies Congress, Sapporo, Japan, 2011.
3. Kamei K, Watanabe A, Kakeya H, Miyazaki Y, Shibuya K. EPIDEMIOLOGIC STUDY ON ZYGOMYCOSIS IN JAPAN BASED ON QUESTIONNAIRE TO MEDICAL FACILITIES. International Union of Microbiological Societies Congress, Sapporo, Japan, 2011.
 4. Shibuya K, Wakayama M, Shinozuka M. WHAT'S HAPPENED BEHIND CT? International Union of Microbiological Societies Congress, Sapporo, Japan, 2011
 5. Shibuya K: Dynamic Pathophysiology of Onychomycosis. 2011 Medical Mycology Workshop-Recent Advances on Dermatmycoses, Guanzhou, China, 2011.

国内学会

1. 中山晴雄, 篠崎 稔, 職 珠玉, 大久保陽一郎, 笹井大督, 若山 恵, 根本哲生, 村山そう明, 岩瀬 聡, 渋谷和俊. パラフィン包埋組織を用いた ISH 法および PCR 法による分子生物学的診断法の現状. 第 24 回日本外科感染症学会総会, 三重, 2011.
2. 下平佳代子, 若山 恵, 大久保陽一郎, 中山晴雄, 篠崎 稔, 笹井大督, 石渡誉郎, 高橋 啓, 石井寿晴, 渋谷和俊. 東邦大学病理剖検例における深在性真菌症の過去 52 年間の発生動向について. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 東京, 2011.
3. 安藤常浩, 守屋敦子, 熊坂利夫, 武村民子, 渋谷和俊. 慢性アスペルギルス症の病理組織学的解析とバイオフィルム形成についての一考察. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 東京, 2011.
4. 守屋敦子, 安藤常浩, 熊坂利夫, 武村民子, 渋谷和俊. 急速に進展し予後不良となった慢性肺アスペルギルス症 3 例の検討. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 東京, 10/21-22, 2011
5. 笹井大督, 杉田 隆, 大久保陽一郎, 石渡誉郎, 島村 剛, 篠崎 稔, 若山恵, 渋谷和俊. アゾール耐性トリコスポロンに対する in vivo での L-AMB の有効性検討. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 東京, 2011.
6. 大久保陽一郎, 篠崎 稔, 中山晴雄, 若山 恵, 笹井大督, 石渡誉郎, 渋谷和俊. *Cryptococcus gattii* 感染症における病態解析. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 東京, 2011.
7. 大野秀明, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山隆, 山越 智, 杉田 隆, 畠山修司, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮崎義継. 本邦初の北米流行型 *Cryptococcus gattii* 臨床分離株の実験的病原性解析. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 東京, 2011.
8. 中山晴雄, 篠崎 稔, 大久保陽一郎, 笹井大督, 職 珠玉, 若山 恵, 井手忠, 根本哲生, 村山琮明, 渋谷和俊. ホルマリン固定パラフィン包埋組織を用いた病原酵母の遺伝子学的補助診断法の開発. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 東京, 2011.
9. 鈴木 琢, 久保田信雄, 島村 剛, 渋谷和俊. 爪白癬動物モデルを用いた肉眼的所見と病理組織所見との相関にお

- ける検討. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 東京, 2011.
10. 金城雄樹, 樽本憲人, 大川原明子, 上野圭吾, 篠崎 稔, 渋谷和俊, 宮崎義継. 自然免疫の活性化による播種性カンジダ症マウスモデルの解析. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 東京, 2011.
 11. 篠崎 稔, 中山晴雄, 大久保陽一郎, 笹井大督, 若山 恵, 村山琮明, 根本哲生, 渋谷和俊. FFPE 試料を用いた遺伝子補助診断法の開発と評価. 第 55 回日本医真菌学会学術集会, 東京, 2011.
 12. 白坂健太郎, 船橋公彦, 小池淳一, 栗原聰元, 塩川洋之, 松田 聡, 鈴木孝之, 島田英昭, 若山 恵, 渋谷和俊, 金子弘真. FAP にて腹腔鏡下全結腸切除術後に腹膜炎を契機に発見されたデズモイド腫瘍の 1 例. 第 36 回日本外科学系連合学会学術集会, 千葉, 2011.
 13. 大久保陽一郎, 北原加奈子, 笹井大督, 平野孝幸, 長谷川千花子, 密田亜希, 羽鳥 努, 若山 恵, 横瀬智之, 根本哲生, 渋谷和俊. 第 100 回日本病理学会総会, 横浜, 2011.
 14. 石川由紀雄, 赤坂喜清, 鈴木高祐, 藤原美恵子, 井 清, 新野 史, 田中道雄, 森永正二郎, 小沼純子, 下川伶子, 緒方謙太郎, 川原 穰, 杉浦 仁, 品川俊人, 滝本寿朗, 飯田(柳田)真岐, 渋谷和俊, 高橋 啓, 宇月美和, 深澤(秋嶋)由里, 石井壽晴. 心筋梗塞発生の基盤となる心筋架橋が左冠状動脈前下行枝の内膜病変進展に及ぼす意義. 第 100 回日本病理学会総会, 横浜, 2011.
 15. 若山 恵, 篠崎 稔, 渋谷和俊. 病理検体を用いた遺伝子診断と後方視的発生動向. 第 100 回日本病理学会総会, 横浜, 2011.
 16. 安藤常浩, 渋谷和俊. 画像から考える病態. 第 100 回日本病理学会総会, 横浜, 2011.
 17. 宮崎義継, 田辺公一, 梅山 隆, 山越智, 渋谷和俊, 大野秀明. 深在性真菌症における臨床的課題. 第 100 回日本病理学会総会, 横浜, 2011.
 18. 奥平雅彦, 渋谷和俊. 真菌と真菌症と病理. 第 100 回日本病理学会総会ランチョンセミナー19, 横浜, 2011.
 19. 高橋りえ, 篠崎 稔, 佐々木久美子, 大久保陽一郎, 密田亜季, 羽鳥 努, 若山 恵, 根本哲生, 渋谷和俊, 山辺史人. 膀胱原発小細胞癌の 1 例. 第 52 回日本臨床細胞学会, 福岡, 2011.
 20. 重田文子, 多田裕司, 笠原靖紀, 渋谷和俊, James West, 巽浩一郎. CD40 刺激は気腫肺形成に関与している. 第 51 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2011.
 21. 杉野圭史, 秦 美暢, 石田文昭, 磯部和順, 渋谷和俊, 植草利公, 本間 栄. 肺癌を合併した気腫合併肺線維症の画像病理学的検討. 第 51 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2011.
 22. 磯部和順, 秦 美暢, 坂口真之, 佐野剛, 杉野圭史, 坂本 晋, 高井雄二郎, 渋谷和俊, 高木啓吾, 本間 栄. IPF 合併肺癌における IP 領域の SUV 値上昇機序の検討. 第 51 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2011.
 23. 渋谷和俊. 深在性真菌症における病理診断の現状と課題. 第 28 回日本医学会総会, 横浜, 2011.
 24. 奥平雅彦, 渋谷和俊. 真菌と真菌症と病理. 第 100 回日本病理学会総会. 横浜, 2011 年.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得

特記事項なし

実用新案登録

特記事項なし

その他

特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)
「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」班
分担研究報告書

本邦で初めて分離された *Cryptococcus gattii* VGIIa JP01株の血清学的解析
および比較ゲノム

研究分担者 杉田 隆 明治薬科大学微生物学教室

研究要旨 カナダ・バンクーバー島で集団発生した *Cryptococcus gattii* 感染症の優位な遺伝子型はVGIIa型である。本年度は、特筆すべき渡航歴のない日本人から本邦で初めて分離されたVGIIa株の血清学的性状および莢膜多糖の化学構造を検討した。日本株(JP01株)およびバンクーバー集団発生株(R265)の因子血清を用いた定量的反応性は同一であった。また、両菌株の莢膜多糖の¹H-NMRスペクトルは、非常に類似していた。このことから両菌株は血清・化学的に同等であると考えられた。さらに、JP01株の病原因子を特徴づけるために、系統的に近縁な *Trichosporon asahii*株の全ゲノムを決定した。本菌株は9,711のCDSから構成され、*C. gattii*とは1,396のCDSで高い相同性が認められた。今後の比較ゲノム解析のための情報を得ることができた。

A. 研究目的

*Cryptococcus gattii*型クリプトコックス症の発症は、オーストラリア、南米あるいは東南アジアに限定的であったが、1999年にカナダのバンクーバー島で集団感染が報告された。これは、100万人あたり25人と高い発症率であり、また死亡率も8.7%と高い。その後、感染経路は不明であるものの米国ワシントン州やオレゴン州へとその感染は拡大した。2010年に特筆すべき渡航歴のない日本人での初の感染例が報告された(感染時期は2007年)。

*C. gattii*には Multilocus sequence typing (MLST)解析によりVG1~VGIVの遺伝子型に大別できる。このMLSTは疫学的解析に有用なツールである。例えば、オーストラリアではVGI型が優位であるのに対してバンクーバー島ではVGII型が優位

である。さらにVGII型はa~cの亜型に細分される。本邦初の感染株(以下、JP01株)のMLST型は、バンクーバー島で優位なVGIIaと同一であった。

本年度は、本邦分離株の病原性理解のために、1. 莢膜多糖の血清学・化学的性状の解析、および2. 分子系統学的に近縁な病原性酵母 *Trichosporon asahii*との比較ゲノムを行った。

B. 研究方法

1. 莢膜多糖の血清学・化学的性状の解析

① 血清反応

サブロー培地培養菌体から加熱死菌抗原を作製し、因子血清を用いて定量スライド凝集反応を行った。なお、対照としてR265株(VGIIa)、R272株(VGIIa)およびR38株(VGIIc)を用いた。

② 莢膜多糖の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

2%グルコースおよび 1%カザミノ酸を含む Yeast nitrogen base 培地で当該菌株を培養した。加熱後、上清を水で透析し、EtOH/AcOH (9:1, v/v)で粗多糖を得た。Sodium 4,4-dimethyl-4-silapentane-1-sulphonate を内部標準物質として 400 MHz の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを測定した。

なお本研究は、明治薬科大学微生物学教室・池田玲子教授との共同研究として実施した。

2. *Trichosporon asahii* ゲノム解析

基準株 JCM 2466 株を 454 Titanium シーケンサーを用いて解析を行った。これを 454 シーケンサーの de novo assembly プログラムによりつなぎ、全ゲノムドラフト配列を作成した。自動アノテーションは MiGAP (<http://www.migap.org/>) により行い、解析は IMC (インシリコバイオロジー株)を用いて行った。

なお、本研究は理化学研究所バイオリソースセンター・高島昌子博士との共同研究として実施した。

C. 研究結果

1. 莢膜多糖の血清学・化学的性状の解析

① 血清学的性状

因子血清 2, 3, 4, 5, 6, 7 および 8 との反応性を定量的に解析した。*C. gattii* は血清型 B あるいは C 型を示す。VGII 株は、因子血清 2, 3 および 4 と反応する血清型 B であった。因子血清 4 との反応は、JP01 株と R265 が 1:16 であったのに対して、R272 株と R38 株は 1:8 を示した(表 1)。

表 1. JP01 株および他の VGII 型株と因子血清反応

菌株	MLST 型	因子血清との反応性							
		2 B,C,D	3 A,D	4 B,C	5 B	6 C	7 A	8 D	
JP01	VGIIa	+	-	16	+	-	-	-	
R265	VGIIa	+	-	16	+	-	-	-	
R272	VGIIb	+	-	8w	+	-	-	-	
R38	VGIIc	+	-	8	+	-	-	-	

② 莢膜多糖の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

JP01 株および R265 株の NMR スペクトルを図 1 に示す。両株のスペクトルは非常に近似し、O-アセチル基の存在が確認された。

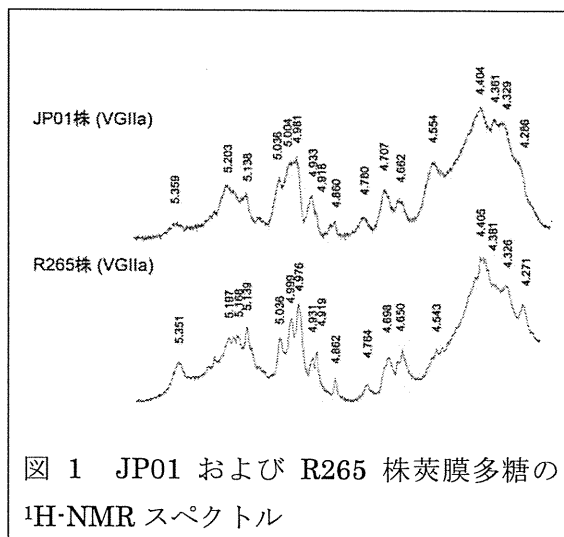
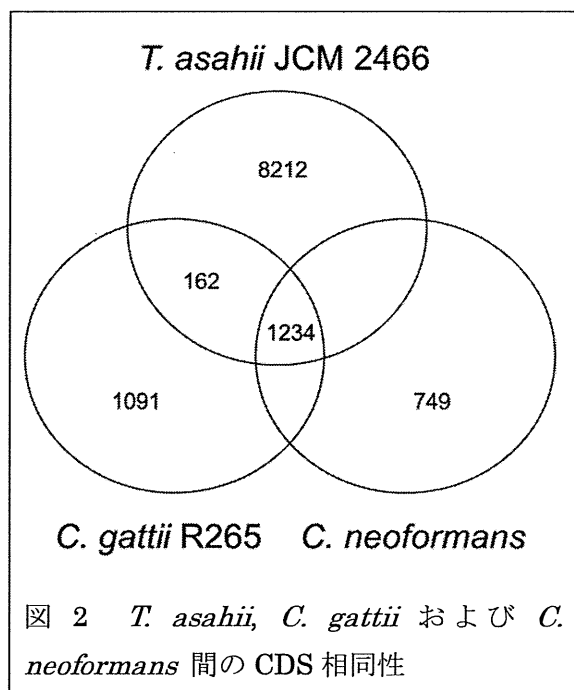


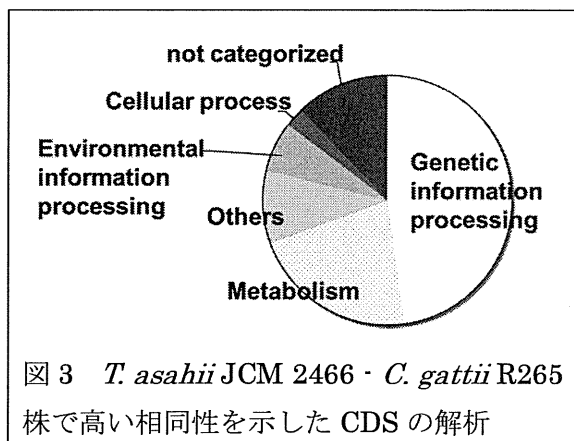
図 1 JP01 および R265 株莢膜多糖の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

2. *Trichosporon asahii* ゲノム解析

平均冗長度約 15 倍の配列データの解析を行い de novo assembly の結果、1671 個の contig(平均長 16652 bp)を得た。ゲノムサイズは約 20 Mb(GC : 59.19%)。MiGAP による自動アノテーションで 9,711 個のタンパク質をコードしている領域(CDS)が得られた。*T. asahii*、*C. gattii* および *C. neoformans* の CDS の相同性を図 2 に示す。



T. asahii と *C. gattii* R265 とは 1,396 の CDS に相同性が見られた。その大部分が Genetic information processing に関するものであった(図 3)。



D. 考察

本年度は、本邦初の *C. gattii* VGIIa 感染患者から分離した JP01 株の血清学的性状および *T. asahii* とのゲノム比較を行った。¹H-NMR スペクトル解析は莢膜多糖の化学構造を反映し、その構造的類似性あるいは差異を容易に推定することができる。*C. gattii* はスペクトルが複数の chemo-type に

分類できるが、JP01 株と R265 株は非常にスペクトルが類似していた。5.1, 5.2 および 5.3 ppm のシグナルは、それぞれマンノース残基、キシロース/グルクロン酸およびキシロースと推定される。因子血清による血清学的性状ならびに莢膜多糖の NMR スペクトル解析から、JP01 株は R265 株に非常に類似していると推察された。本構造と免疫応答の関係が興味のあるところである。

さらに、*C. gattii* VGIIa 株の病原性をゲノムレベルで解析するために、系統的に近縁な *T. asahii* 株の全ゲノムを決定した。本菌はミカファンギン投与後にブレークスルーする病原性酵母として近年注目されている。9,711 CDS 中 1,396 に高い相同性が見られた。この詳細な解析を行うことで *C. gattii* 株に特徴的な病原性の解明につながると考えられる(JP01 株は国立感染症研究所で別途解析中である)。

E. 結論

本邦で初めて感染患者より分離された VGIIa 株は、バンクーバー島でアウトブレイクした VGIIa 株と血清学的性状ならびに莢膜多糖構造は非常に類似していることが判明した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

英文論文

1. Tsukada M, Fukai M, Miki K, Shiraishi T, Suzuki T, Nishio K, Sugita T, Ishino M, Kinoshita K, Takahashi K, Shiro M, Koyama K: Chemical Constituents of a Marine Fungus, *Arthrrium sacchari*. J Nat Prod. 74, 1645-1649, 2011.

2. Kaga M, Sugita T, Nishikawa A, Wada Y, Hiruma M, Ikeda S: Molecular analysis of the cutaneous *Malassezia* microbiota from the skin of patients with atopic dermatitis of different severities. *Mycoses* 54, e24-28, 2011.
 3. Zhang E, Tanaka T, Tajima M, Tsuboi R, Nishikawa A, Sugita T: Characterization of the skin fungal microbiota in patients with atopic dermatitis and healthy subjects. *Microbiol Immunol.* 55, 625-632, 2011.
 4. Zhang E, Sugita T, Tsuboi R, Yamazaki T, Makimura K: The opportunistic yeast pathogen *Trichosporon asahii* colonizes the skin of healthy individuals: analysis of 380 healthy individuals by age and gender using a nested polymerase chain reaction assay. *Microbiol Immunol.* 55, 483-488, 2011.
 5. Unoura K, Miyazaki Y, Sumi Y, Tamaoka M, Sugita T, Inase N. Identification of fungal DNA in BALF from patients with home-related hypersensitivity pneumonitis. *Respir Med.* 105, 1696-703, 2011.
 6. Satoh K, Nishiyama Y, Yamazaki T, Sugita T, Tsukii Y, Takatori K, Bennno Y, Makimura K: Microbe-I: fungal biota analyses of Japanese experimental module KIBO, international space station which passed for about 460 days. *Microbiol Immunol.* 55, 823-829, 2011.
 7. Kaneko T, Murotani M, Ohkusu K, Sugita T, Makimura K: Genetic and biological features of catheter-associated *Malassezia furfur* from hospitalized adults. *Med Mycol.* 50:74-80, 2011.
 8. Tomida J, Sakamoto D, Sugita T, Fujiwara N, Naka T, Hamada M, Morita Y, Kawamura Y: *Branchiobius cervicis* sp. nov., a novel species isolated from patients with atopic dermatitis. *Syst Appl Microbiol.* 34, 503-507, 2011.
 9. Ishibashi Y, Sugawara K, Sugita T, Nishikawa A: Secretion of thymic stromal lymphopoietin from human keratinocytes in response to *Malassezia* yeasts. *J Dermatol Sci.* 62, 134-138, 2011.
 10. Zhang E, Tanaka T, Mami Tajima T, Tsuboi R, Kato H, Nishikawa A, Sugita T: Anti-*Malassezia*-specific IgE antibodies production in Japanese patients with head and neck atopic dermatitis: relationship between the level of specific IgE antibody and the colonization frequency of cutaneous *Malassezia* species and clinical severity. *J. Allergy*, 2011:645670, 2011.
 11. Fukai M, Tsukada M, Miki K, Suzuki T, Sugita T, Kinoshita K, Takahashi K, Shiro M, Koyama K: Hypoxylonols C-F, Benzo[j]fluoranthenes from *Hypoxylon truncatum*. *J Nat Prod.* 75, 22-25, 2012.
 12. Nagata R, Nagano H, Ogishima D, Nakamura Y, Hiruma M, Sugita T: Transmission of the major skin microbiota, *Malassezia*, from mother to neonate, *Pediatrics International*, accepted.
- 和文論文
1. 杉田 隆、池田玲子、西川朱實、Nanthawan Mekha、Natteewan Poonwan、Pathom Sawanpanyalert : アゾール薬に低感受性を示す新興深在性真菌症トリコスポロン症起因菌 *Trichosporon asahii* 株に対する amphotericin B の効果—Time-kill 法による評価—、臨床と微生物、38, 93-98, 2011
- 学会発表
- 国際学会
1. Zhang E, Miyamoto M, Sugita T, Nishikawa A, Tajima M, Tsuboi R: Molecular analysis of *Corynebacterium* microbiota in tinea pedis patients: comparison with healthy subjects, 22nd World Dermatological Congress, 5/2011, Seoul, Korea.
 2. Makimura K, Satoh K, Yamazaki T, Nishiyama Y, Sugita Takashi: Monitoring of environmental fungi on board and fungal biota in flight crew members; International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), 9/2011, Sapporo.
 3. Kang Y, Kumar G, Menon T, Prabu D, Sugita T, Mikami Y, Gono T: *Cryptococcus cassiae* sp. nov., A basidiomycetous yeast isolated from bark debris of a cinnamon tree in India, International Union of Microbiological Societies 2011

- Congress (IUMS2011), 9/2011, Sapporo.
4. Sugita T, Tanaka T, Zhang E, Suzuki S, Tajima M, Tsuboi R, Nishikawa A; The cutaneous fungal microbiota of patients with atopic dermatitis, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), 9/2011, Sapporo.
 5. Ishibashi Y, Sugawara K, Sugita T, Nishikawa A; Secretion of thymic stromal lymphopoietin from human keratiocytes in response to *Malassezia* yeasts; International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), 9/2011, Sapporo.
 6. Zhang E, Sugita T, Tajima M, Nishikawa A, Tsuboi R; Molecular detection of new *Malassezia* phylotypes from the ear canal and the sole of the foot, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), 9/2011, Sapporo.
 7. Shiokama T, Aoki N, Ando Y, Sugita T; New anti-*Candida* effects of antitumor agents: Inhibition of the activity of secreted aspartyl proteases and biofilm formation, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), 9/2011, Sapporo.
 8. Uehara C, Morohoshi Y, Sugita T, Takashi; The calcineurin inhibitor tacrolimus inhibits the activity of aspartyl proteases secreted by *Candida albicans*, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), 9/2011, Sapporo.
 9. Tanaka T, Zhang E, Tajima M, Tsuboi R, Nishikawa A, Sugita T; Comparative analysis of the skin bacterial microbiota of lesional and non-lesional sites of patients with atopic dermatitis, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), 9/2011, Sapporo.
 10. Sugita T; Symposium: *Malassezia* community structure and its association with skin diseases, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), 9/2011, Sapporo.
- 国内学会
1. 富田純子、坂本 大、杉田 隆、藤原永年、中 崇、浜田盛之、森田雄二、河村好章、アトピー性皮膚炎患者から分離された新菌種 *Branchiobius cervicis* sp. nov. の解析：日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
 2. 張 恩実、田中貴文、杉田 隆、成人アトピー性皮膚炎患者皮膚真菌叢の解析-重症度と菌叢：日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
 3. 田中 貴文、杉田 隆、張 恩実、池田 玲子、西川朱實、次世代高速シーケンサーを用いたアトピー性皮膚炎患者皮膚細菌叢の網羅的解析、日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
 4. 坂本 大、杉田 隆、小山 清隆、池田 玲子、西川 朱實、富田 純子、河村 好章、アトピー性皮膚炎患者皮膚から分離された抗生物質産生菌と病態への関与：日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
 5. 上原 千明、諸星 優佳、田中 貴文、杉田 隆、池田 玲子、西川 朱實、尋常性乾癬患者皮膚の微生物叢の解析：日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
 6. 犬飼 俊介、杉田 隆、坂本 大、小山 清隆、池田 玲子、西川 朱實、海洋由来真菌培養エキスからの抗真菌活性物質の探索：日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
 7. 塩釜 智之、杉田 隆、池田 玲子、西川 朱實、病原真菌 *Candida* に対する抗悪性腫瘍薬の増殖抑制と病原因子産生抑制作用：日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
 8. 田中 廣行、三好 伸一、渡部 一仁、上村 尚、飯島 義雄、杉田 隆、小西 良子、微生物試験法汚染指標細菌試験法腸内細菌科：日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
 9. 深井 みゆき、塚田 真梨子、鈴木 俊宏、杉田 隆、木下 薫、高橋 邦夫、小山 清隆、クロコブタケ (*Hypoxylon truncatum*) 子実体からの血管内皮細胞増殖阻害活性化化合物の探索：日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
 10. 杉田 隆、三好 伸一、渡部 一仁、田中 廣行、飯島 義雄、小西 良子、上村 尚、微生物試験法 核酸増幅法 細菌および真菌のDNA塩基配列解析による同定法：日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
 11. 杉田隆、マラセチアと皮膚：神奈川県皮膚科医会第135回例会、2011/3、横浜
 12. 杉田 隆、基礎研究から医療現場への展開：第32回関東医真菌懇話会、2011/5、

- 東京
13. 張恩実、杉田隆、西川朱美、田嶋磨美、坪井良治、*Malassezia globosa* の二形成特異遺伝子の探索：第32回関東医真菌懇話会、2011/5、東京
 14. 田辺公一、大野秀明、金子幸弘、梅山隆、山越智、金城雄樹、杉田隆、畠山修司、亀井克彦、渋谷和俊、宮崎義継、*Cryptococcus gattii* 国内分離株の病原因子解析：第60回日本感染症学会、第58回日本化学療法学会合同、2011/10 山形
 15. 坂本大、小山清隆、杉田隆、アトピー性皮膚炎患者皮膚から分離された抗生物質産生細菌、第55回日本薬学会関東支部総会、2011/10、千葉
 16. 田中貴文、杉田隆、次世代高速DNAシーケンサーを用いたアトピー性皮膚炎患者皮膚細菌叢の網羅的解析、第55回日本薬学会関東支部総会、2011/10、千葉
 17. 杉田隆、マラセチアの菌叢解析に関する up to date：第55回日本医真菌学会総会 2011/10 東京
 18. 比留間翠、市ノ川悠子、舟串直子、貞政裕子、比留間政太郎、杉田隆、ギニア人に生じた *T. rubrum* var. *raubitschekii* による頭部白癬の家族内感染例、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 19. 野口博光、山田理子、杉田隆、市之川悠子、比留間政太郎、*Aspergillus sydowii* による爪真菌症の1例、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 20. 上原千明、杉田隆、カルシニューリン阻害薬による *Candida albicans* 分泌性アスパラギン酸プロテアーゼ活性阻害、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 21. 大野秀明、田辺公一、金子幸弘、梅山隆、山越智、杉田隆、畠山修司、亀井克彦、渋谷和俊、宮崎義継、本邦初の北米流行型 *Cryptococcus gattii* 臨床分離株の実験的病原性解析、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 22. 高島昌子、杉田隆、次世代シーケンサーによる *Trichosporon asahii* JCM 2466 のドラフトゲノム解析、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 23. 串間直子、時松一成、鳥羽聡史、杉田隆、門田淳一、FLCZ 耐性 *Trichosporon asahii* のアゾール標的酵素遺伝子配列とアミノ酸変異の検討、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 24. 笹井大督、杉田隆、大久保陽一郎、石渡誉郎、島村剛、篠崎稔、若山恵、渋谷和俊、アゾール耐性トリコスポロンに対する in vivo での L-AMB の有効性検討、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 25. 張恩実、杉田隆、宮本真由美、田嶋磨美、西川朱實、坪井良治、外耳道と足底に形成される特異な *Malassezia* 叢と新規なファイロタイプ、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 26. 鈴木健晋、鈴木陽子、富田浩一、前田明則、杉田隆、続発性皮膚クリプトコックス症の1例、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 27. 杉村真理子、比留間政太郎、比留間翠、市之川悠子、舟串直子、貞政裕子、杉田隆、脂漏性皮膚炎に対するジンクピリチオン配合シャンプーの有用性の検討、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 28. 石橋芳雄、菅原二陽、杉田隆、西川朱實、*Malassezia* による LPA レセプター刺激を介したヒトケラチノサイトの TSLP 産生、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 29. 山崎丘、佐藤一朗、山田深、杉田隆、榎村浩一、国際宇宙ステーションに滞在する宇宙飛行士の身体真菌叢評価研究、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 30. 榎村浩一、佐藤一朗、西山彌生、杉田隆、高鳥浩介、山崎丘、国際宇宙ステーション「きぼう」における微生物研究、第55回日本医真菌学会総会、2011/10、東京
 31. Enshi Zhang, Takashi Sugita, Mayumi Miyamoto, Mami Tajima, Ryoji Tsuboi; Molecular analysis of Woods' lamp (365 nm UVA)-visualized microbiota colonizing keratotic plugs、第36回日本研究皮膚科学会学術大会、2011/12、京都
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
- 特許取得
特記事項なし
- 実用新案登録
特記事項なし
- その他
特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
「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」班
分担研究報告書

生体側の因子に関する研究/診断応用研究

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

研究要旨

深在性真菌症のうち、クリプトコックス症は健常人にも発症する特異な真菌症である。一般的な感染危険因子は、細胞性免疫不全であり欧米ではHIV感染症が最も重要である。一方、我が国では、HIV患者は少ないもののクリプトコックス症は決して少ない疾患ではない。欧米における本感染症との相違を見ることは本感染症の発症機序を解明できる可能性がある。本研究では、我が国における本症の病態解析を臨床的、微生物学的に解析し、さらに宿主の疾患感受性解析によりアプローチした。現時点までに、複数の本症の感染危険因子を同定し、治療法についても我が国独自のエビデンスを明らかにできている。微生物学的には、遺伝子学的に非常に類似しているVNI株が優勢で、韓国や中国と同様の結果であった。疾患感受性遺伝子の候補遺伝子の一つであるTLR9については、その一部について有意なSNPを認めなかった。

A. 研究目的

深在性真菌症は一般に、免疫低下状態にある患者に日和見感染症として発症するが、クリプトコックス症は、免疫能が正常な宿主にも発症する特異な真菌症である。また、欧米では Human Immunodeficiency Virus (HIV)感染者に日和見感染症として発症することが多いが、本邦においては non-HIV 感染患者におけるクリプトコックス症の症例も多く、世界的に見ても貴重である。本研究では、non-HIV 患者におけるクリプトコックス症の発症に関する危険因子、ならびに病態、治療について本邦の症例を後方視的に調査し、病態解明を行うこと、さら

に、前方視的に、本症における疾患感受性遺伝子の同定を行い、ハイリスク患者における適切な予防投与の基準作成のエビデンスを形成することとを目的とする。

B. 研究方法

1. non-HIV population におけるクリプトコックス症の臨床病態解析

1) 臨床解析

non-HIV population におけるクリプトコックス症について、長崎大学病院における non-HIV 患者に発症したクリプトコックス症自験例について、年齢、性別、基礎疾患、診断方法(抗原価、培養結果)、播種性

の有無(脳髄膜炎など)、レントゲン所見、治療内容、期間、転帰、予後、治療による抗原価の推移について、診療記録から解析する。これらのデータより、クリプトコックス症の実態を調査し、感染危険因子を解明する。

2) Genotyping

1997～2009年における長崎大学の臨床分離株 35 株とタイの環境分離株 10 株を Serotype、Mating type、MLST を用いた genotype を解析し、参照株やこれまで報告されている他地域の分離株と長崎の臨床分離株を Multilocus Sequence Typing (MLST)法を用いて比較した。参照株は、WM148 (serotype A, VNI), WM626 (serotype A, VNII), WM628 (serotype AD, VNIII), WM629 (serotype D, VNIV), WM179 (serotype B, VGI), WM178 (serotype B, VGII), WM175 (serotype B, VGIII) and WM779 (serotype C, VGIV) (Meyer et al., 2003)を用いた。さらに、臨床分離株のうち 26 症例の病歴を検討した。

2. non-HIV population におけるクリプトコックス症の疾患感受性遺伝子解析

長崎大学病院と関連施設におけるクリプトコックス症例を対象に、患者血液から gDNA を抽出し、候補遺伝子アプローチ法による Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)解析を行った。本検討においては、研究プロトコールについて、長崎大学病院の倫理委員会で承認され、かつ、患者本人より承諾が得られた場合にのみ行われた。

C. 研究結果

1. non-HIV population におけるクリプトコックス症の臨床病態解析

1) 臨床解析

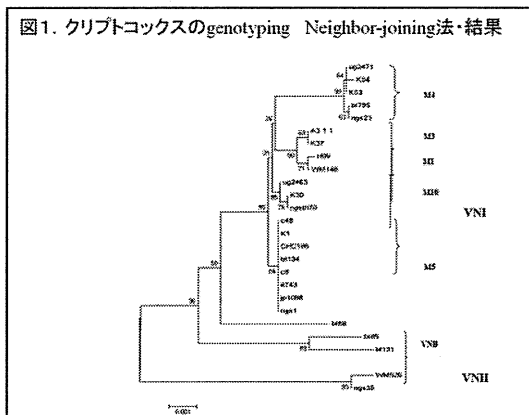
今年度は、直近に経験した 34 症例について解析した。解析対象の内訳は、男性 14 例、女性 20 例、平均年齢は 61.8 歳であった。基礎疾患を有さない例が 6 例、有する例が 28 例であった。脳髄膜炎を合併した例は 1 例のみで、32 例は肺クリプトコックス症であった。臨床症状について、基礎疾患を有さない症例：無症状が 3 例、呼吸器症状を有した 2 例、発熱 1 例、歩行困難 1 例基礎疾患を有する例：胸部異常陰影が発見動機となった症例が 15 例、呼吸器症状を有した 8 例、胸痛 2 例、発熱 4 例であった。患者の基礎疾患について、固形癌、血液悪性腫瘍が 12 例、糖尿病 9 例、関節リウマチ 6 例などが主で他の自己免疫性疾患などを認めた。ステロイドの長期投与歴がある症例は 10 例に認めた。診断方法は、血清抗原価は 31 例(92%)で陽性、病理や細胞診陽性例は 19 例、培養陽性例は 9 例であった。画像所見について、孤立性結節影 5 例、多発性結節影 19 例、浸潤影 12 例であった。治療について、全例でアゾール系抗真菌薬を使用した。3 例のみポリエン系抗真菌薬を使用しており、脳髄膜炎を呈した症例を含む 3 例を除いて、基礎疾患を有する症例で 6 か月、基礎疾患を有さない症例では 3 ヶ月で治療を終了していた。1 例を除いて全例で再発、再燃を認めなかった。

2) Genotyping

臨床分離株 35 株は、すべて血清型 A、交配型 MAT α、*Cryptococcus neoformans* var. *grubii* であった。35 の臨床分離株のうち、32 株が VNI、3 株は VNII と確認された。VNI のうち 31 株は、CAP59、GPD1、LAC1、PLB1、SOD1、URA5、IGS1 の Allele type が 1、3、19、5、2、13、1 となり、MLST

Sequence type46 と同定された。診療録を入手できた 26 症例中 9 例は免疫正常で、残りの 17 人の患者は悪性腫瘍、長期のステロイド使用など基礎疾患や危険因子があり、長崎大学病院の保存株の大部分は、遺伝的に均一であった。

図 1 に neighbor-joining 法による解析結果を示す。



ngs23, 1, 37, 35 は長崎大学病院にて分離された臨床分離株であり、VNII の 3 株を除いて、32 株はすべて VNI に分類された。VNII に分類された 3 例について、全例が死亡症例であったが、死亡原因とクリプトコックス症の明らかな関連性は示されなかった。

2. non-HIV population におけるクリプトコックス症の疾患感受性遺伝子解析

候補遺伝子アプローチ法により、Toll-like receptor 9 (TLR9) 遺伝子の SNPs について、48 例のクリプトコックス症患者の血液由来 gDNA を用いて解析した。TLR9 の SNPs のデータベースより、解析候補のローカスとして rs352140、rs187084 について塩基配列を解析した。コントロールと比較して、何れのローカスにおいても、有意差をもった SNP は認められず、TLR9 の 2 つのローカスにおける SNPs は認められ

なかった(表 1)。

表 1. non-HIV population におけるクリプトコックス症の疾患感受性遺伝子解析・患者背景 48 例 TLR9 の解析結果

	No. (% frequency)						χ^2	P
	Genotype			Allele				
rs352140	C/T	C/C	T/T	C	T			
Control	55 (48.6)	29 (25.7)	29 (25.7)	113 (50)	113 (50)			
cryptococcosis	17 (43.6)	12 (30.3)	10 (26.0)	41 (52.6)	37 (47.4)	0.104	0.7466	
rs187084	A/A	G/A	G/G	A	G	χ^2	P	
Control	4 (17.4)	16 (69.6)	3 (13.0)	24 (52.3)	22 (47.8)			
cryptococcosis	7 (18.9)	15 (40.5)	15 (40.5)	29 (39.2)	45 (60.8)	1.9394	0.164	

D. 考察

本邦におけるクリプトコックス症について、臨床病態、感染危険因子などについて後方視的に調査を行い、non-HIV population において、比較的軽症の症例が多く、固形癌、血液悪性腫瘍、糖尿病、関節リウマチなどがその感染危険因子で、かつ、ステロイドの長期投与歴は全体の 3 分の 1 に認めた。治療については、基礎疾患、脳髄膜炎の有無に応じて、どちらも認められない場合はアゾール系薬の 3 ヶ月投与、基礎疾患を有し、脳髄膜炎を有さない場合は、アゾール系薬の 6 ヶ月の投与が行われ、良好な治療成績を認めていた。この治療期間については、欧米の推奨治療期間より明らかに短い点の特徴であり、長期の治療が必要でないことが明らかとなった。また、クリプトコックス菌の genotyping では 35 株中 32 株が VNI に分類された。この結果は、ほかの極東諸国である中国や韓国と同様の結果であった。疾患感受性遺伝子については、TLR9 の SNPs 解析では、有意な SNP を認めなかったが、今後、Dectin1 をはじめとしたほかの遺伝子解析が必要である。

E. 結論

本邦における、non-HIV population にお

けるクリプトコックス症について、多角的なアプローチで、生体側の感染危険因子に関して研究を行った。いまだ、未解明な点は多くの残されており、今後の更なる継続的な解析が必要である。

F. 健康危険情報
特記事項なし

G. 研究発表
論文発表

a. 英文

①Journal(review も含む)

1. Izumikawa K, Motoi N, Takaya H, Miyamoto A, Eishi Y, Yoshimura K, Kishi K. A case of concurrent sarcoidosis, aortitis syndrome and Crohn's disease. Intern Med. 50:2915-2917, 2011
2. Izumikawa K, Kohno Y, Izumikawa K, Hara K, Hayashi H, Maruyama H, Kohno S. Eosinophilic pneumonia due to visceral larva migrans possibly caused by *Ascaris suum*: a case report and review of recent literatures. Jpn J Infect Dis. 64:428-432, 2011
3. Kohno S, Izumikawa K, Kakeya H, Miyazaki Y, Ogawa K, Amitani R, Niki Y, Kurashima A. Clinical efficacy and safety of micafungin in Japanese patients with chronic pulmonary aspergillosis: a prospective observational study. Med Mycol. 49:688-93, 2011
4. 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. 49:581-7, 2011
5. Tashiro M, Izumikawa K, Minematsu A, Hirano K, Iwanaga N, Ide S, Mihara T, Hosogaya N, Takazono T, Morinaga Y, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Miyazaki T, Nishino T, Tsukamoto M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Tashiro T, Kohno S. Antifungal susceptibilities of *Aspergillus fumigatus* clinical isolates in Nagasaki, Japan. Antimicrob Agents Chemother. 56:584-7, 2012
6. Takazono T, Izumikawa K, Nagayoshi Y, Tanaka A, Mihara T, Kosai K, Saijo T, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kamihira S, Kohno S. Evaluation of the Cica Fungi Test Candida, a novel serum *Candida* mannan antigen kit, and its comparison with Cand-Tec in candidemia patients. Jpn J Infect Dis. 64:116-20, 2011

7. Miyazaki T, Izumikawa K, Yamauchi S, Inamine T, Nagayoshi Y, Saijo T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Yasuoka A, Kohno S. The glycosylphosphatidylinositol-linked aspartyl protease Yps1 is transcriptionally regulated by the calcineurin-Crz1 and Slt2 MAPK pathways in *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 11:449-56, 2011
8. Miyazaki T, Izumikawa K, Nagayoshi Y, Saijo T, Yamauchi S, Morinaga Y, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Functional characterization of the regulators of calcineurin in *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 11:621-30, 2011
9. Gyotoku H, Izumikawa K, Ikeda H, Takazono T, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Nishino T, Miyazaki T, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Yaguchi T, Ohno H, Miyazaki Y, Kamei K, Kanda T, Kohno S. A case of bronchial aspergillosis caused by *Aspergillus udagawae* and its mycological features. Med Mycol. 2011 Dec 13.
10. Tashiro M, Kimura S, Tateda K, Saga T, Ohno A, Ishii Y, Izumikawa K, Tashiro T, Kohno S, Yamaguchi K. Pravastatin inhibits farnesol production in *Candida albicans* and improves survival in a mouse model of systemic candidiasis. Med Mycol. 2011 Sep 28
11. Tagawa T, Yamasaki N, Tsuchiya T, Miyazaki T, Hara A, Amenomori M, Fujita H, Sakamoto N, Izumikawa K, Yamamoto Y, Kohno S, Hayashi T, Nagayasu T. Immediate single lobar retransplantation for primary graft dysfunction after living-donor lobar lung transplantation: Report of a case. Surg Today. 41:1447-9, 2011
12. Morinaga Y, Yanagihara K, Araki N, Harada Y, Yamada K, Akamatsu N, Matsuda J, Nishino T, Hasegawa H, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yasuoka A, Kohno S, Kamihira S. Clinical characteristics of seven patients with *Aeromonas* septicemia in a Japanese hospital. Tohoku J Exp Med. 225:81-4, 2011
13. Yamada K, Yanagihara K, Araki N, Harada Y, Morinaga Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Hasegawa H, Kohno S, Kamihira S. In vivo efficacy of KRP-109, a novel elastase inhibitor, in a murine model of severe pneumococcal pneumonia. Pulm Pharmacol Ther. Epub ahead, 2011

14. Kobayashi T, Kakeya H, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Ohno H, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S. Synergistic antifungal effect of lactoferrin with azole antifungals against *Candida albicans* and a proposal for a new treatment method for invasive candidiasis. *Jpn J Infect Dis.* 64:292-6, 2011
15. Tanaka A, Seki M, Yamahira S, Noguchi H, Kosai K, Toba M, Morinaga Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohda N, Kohno S. *Lactobacillus pentosus* strain b240 suppresses pneumonia induced by *Streptococcus pneumoniae* in mice. *Lett Appl Microbiol.* Epub ahead, 2011
16. Yamada K, Yanagihara K, Hara Y, Araki N, Harada Y, Morinaga Y, Matsuda J, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Kohno S, Kamihira S. Clinical features of bacteremia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary hospital. *Tohoku J Exp Med* 224:61-7, 2011
17. Nakamura S, Yanagihara K, Araki N, Yamada K, Morinaga Y, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Kamihira S, Kohno S. High-dose tobramycin inhibits lipopolysaccharide-induced MUC5AC production in human lung epithelial cells. *Eur J Pharmacol.* Epub ahead, 2011
18. Kosai K, Seki M, Tanaka A, Morinaga Y, Imamura Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tomono K, Kohno S. Increase of apoptosis in a murine model for severe pneumococcal pneumonia during Influenza A virus infection. *Jpn J Infect Dis.* 64:451-7, 2011
- b. 和文
- ①雑誌(総説も含む)
1. 泉川公一:アスペルギルスの薬剤耐性機序に関する疫学研究と治療法の最適化研究 *The Japanese journal of antibiotics* 64(1): 22-34, 2011
 2. 藤田華子、石松祐二、原敦子、雨森美里、坂本憲穂、泉川公一、山本善裕、柳原克紀、山崎直哉、田川努、永安武、河野 茂 生体肺移植を施行した耐性緑膿菌感染合併の嚢胞性線維症の1例 *Therapeutic research* 6: 798-800, 2011
 3. 掛屋弘、今村圭文、宮崎泰可、泉川公一、山本善裕、田代隆良、河野茂 慢性真菌感染症、最新の知見 *感染症学雑誌* 85(4): 333-339, 2011
 4. 泉川公一:肺アスペルギルス症の新しい試み *呼吸* 8: 692-699, 2011
 5. 泉川公一:呼吸器材料を用いた肺炎球菌抗原検出法の有用性 *Medical Technology* 3: 223-225, 2011
 6. 永吉洋介、泉川公一、河野 茂:呼吸

器疾患の新治療 キャンディン系抗真菌薬 呼吸 9:801-805, 2011

7. 中村茂樹、泉川公一：【注目される抗菌薬・抗菌薬療法】ガレノキサシン、モキシフロキサシン、シタフロキサシンの実力 呼吸器内科 20(1): 1-8, 2011
8. 平野勝治、泉川公一：【抗菌薬の使い方 感染症の基本的考え方と抗菌薬の適正使用】免疫不全患者の感染症アスペルギルス症の診断と治療 月刊レジデント 4(9): 100-110, 2011
9. 長岡健太郎、泉川公一：【新版 感染症診療実践ガイド 有効な抗菌薬の使いかたのすべて】主な感染症に対する実地医家の抗菌薬使用の実際 主要感染症からみた抗菌薬の選択と使用の実際 マイコプラズマ肺炎 Medical Practice 28: 301-306, 2011
10. 高園貴弘、泉川公一：慢性肺アスペルギルス症の診断と治療 最新の知見 日本医事新報 4536: 74-80, 2011

②図書

1. 泉川公一：真菌性肺炎。(藤田次郎(編): 最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 17 呼吸器4 肺炎(改訂第2版), pp.200-204 最新医学社, 東京
2. 泉川公一：肺炎球菌尿中抗原検査法の活用。(渡辺 彰、二木芳人、青木洋介(編): 感染症診療 Pro&Con, pp.18-20, 南江堂, 東京
3. 泉川公一：侵襲的・非侵襲的検査方法の種類とその適応は？。(河野茂(編): ガイドラインサポートブック ハンドブック 呼吸器感染症, pp. 197-199, 医薬ジャーナル社, 大阪
4. 泉川公一、栗原慎太郎、塚本美鈴：呼

吸器感染症対策 院内感染対策講習会テキスト(平成 23 年度)pp. 57-74

5. 泉川公一、栗原慎太郎、塚本美鈴：呼吸器感染症対策 院内感染対策講習会テキスト(平成 23 年度)pp. 57-74
6. 泉川公一、河野 茂：マイコプラズマ抗体 (富野康日己(編): 臨床検査基準値 express, pp. 333, 中外医学社, 東京
7. 高園貴弘、泉川公一、河野 茂：赤痢アメーバ抗体 (富野康日己(編): 臨床検査基準値 express, pp. 332, 中外医学社, 東京
8. 永吉洋介、泉川公一、河野 茂：ツツガムシ病リケッチア抗体、ワイルーフエリックス反応 (富野康日己(編): 臨床検査基準値 express, pp. 334, 中外医学社, 東京

学会発表 国際学会

1. Izumikawa K, Izumikawa K, Kohno S: Clinical analysis of fulminant *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia with hypoxia. Joint Congress of The 5th Meeting of the Asian Organization for Mycoplasmaology (AOM) and The 38th Meeting of the Japanese Society of Mycoplasmaology (JSM), (長崎)
2. Mihara T, Izumikawa K, Saijo T, Takazono T, Tashiro M, Morinaga Y, Nakamura S, Yamamoto K, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Umeyama T, Ohno H, Miyazaki Y and Kohno S: Multilocus Sequence