

積を増しており、肺胞の拡張とその周辺における重積が目立った。これら肺容積の増大、肺胞の拡張や重責など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値と標準偏差（分散値）を求めて、比較した。この結果、*C. gattii* 株接種群はいずれも *C. neoformans* 株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。以上の所見より、菌株間の毒力の差に関わらず総じて *C. gattii* は *C. neoformans* よりも肺胞腔に留まり易く、同部に留まってその基本構築を破綻させながら増殖するものと推測された。すなわち、*C. gattii* は肺胞上皮への高い接着能を有している可能性が示唆された。さらに、肺構築改変の程度は *C. gattii* 5815 株接種群よりも *C. gattii* R265 株接種群でより強く、*C. gattii* の中でこれらの特徴がより顕在化した株が強毒株である可能性が示唆された。

一方、菌体に対する宿主認識能の客観的指標として感染モデルマウス肺における単位面積あたりの多核巨細胞数、多核巨細胞に含まれる核数、多核巨細胞 細胞質内核密度を比較した。これら項目はいずれも多核巨細胞の成熟度を反映するが、本研究ではいずれの解析においても *C. gattii* 株接種群では *C. neoformans* 株接種群よりも未熟な多核巨細胞が出現することを支持していた。さらに、これらの特徴は *C. gattii* 5815 株接種群よりも *C. gattii* R265 株接種群において顕在化していた。すなわち、菌株間の毒力の差に関わらず総じて *C. gattii* は *C. neoformans* よりも大食細胞を介した細胞間相互作用を発生させ難く、*C. gattii* の中でこれらの特徴がより顕在化した株が強毒株である可能性が示唆された。

E. 結論

菌株間の毒力の差に関わらず総じて *C. gattii* は *C. neoformans* よりも既存の肺構築変換を来たしやすく、大食細胞を介した細胞間相互作用を誘導させ難い特徴を有していると推測された。また、*C. gattii* の中でこれらの特徴がより顕在化した株が強毒株である可能性が示唆された。さらに、本研究により得られたガッティ型クリプトコックス症の感染病態に関する基礎的な知見は今後、ヒト組織材料で病理組織学的に観察された病変の質的評価の一助となる。すなわち、ガッティ型クリプトコックス症の客観的な予後予測や診断・治療法の確立に貢献すると同時に、将来的にガイドライン等の収載において、当該領域における情報提供に資する事が期待できる。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

論文発表

英文論文

1. Isobe K, Hata Y, Kobayashi K, Hirota N, Sato K, Sano G, Sugino K, Sakamoto S, Takai Y, Shibuya K, Takagi K, Honma S. Clinical Significance of Circulating Tumor Cells and Free DNA in Non-small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res.* 32:3339-3344, 2012
2. Isobe K, Hata Y, Sakaguchi S, Sato F, Takahashi S, Sato K, Sano G, Sugino K, Sakamoto S, Takai Y, Mitsuda A, Terahara A, Shibuya K. Pathological response and prognosis of stage III non-small cell lung cancer patient treated with induction chemoradiation. *Asia -Pac J Clin Oncol.* 8:260-266, 2012
3. Sakamoto S, Kikuchi N, Ichikawa A, Sano G, Satoh K, Sugino K, Isobe K,

- Takai Y, Shibuya K, Homma H. Everolimus-induced Pneumonitis after Drug-eluting Stent Implantation: A Case Report. *Cardiovasc Intervent Radiol*. [Epub ahead of print], 2012
4. Ishikawa Y, Akasaka Y, Akishima-Fukasawa Y, Iuchi A, Suzuki K, Uno M, Abe E, Yang Y, Li CP, Mukai K, Niino H, Tanaka M, Kawahara Y, Sugiura H, Shinagawa T, Morinaga S, Ogata K, Onuma J, Yanagida-Iida M, Taki K, Komatsu A, Satoh H, Yamada K, Shimokawa R, Shibuya K, Takahashi K, Ishii T. Histopathologic profiles of coronary atherosclerosis by myocardial bridge underlying myocardial infarction. *Atherosclerosis*. S0021-9150:00721-00726, 2012.
 5. Shimamura T, Kubota N, Shibuya K. Animal model of dermatophytosis. *J Biomed Biotechnol*. 2012:125384, 2012.
 6. Watanabe M, Shiozawa K, Takahashi M, Wakui N, Otsuka Y, Kaneko H, Tanikawa K, Shibuya K, Kamiyama N, Sumino Y. Evaluation of sorafenib for hepatocellular carcinoma by contrast-enhanced ultrasonography: A pilot study. *WJG*. 18:5753-5758, 2012
 7. Shinozaki M, Okubo Y, Sasai D, Nakayama H, Ishiwatari T, Murayama S, Tochigi N, Wakayama M, Nemoto T, Shibuya K. Development and Evaluation of Nucleic Acid-Based Techniques for an Auxiliary Diagnosis of Invasive Fungal Infections in Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded (FFPE) Tissues. *Med Mycol J*, 53:241-5, 2012
 8. Shimodaira K, Okubo Y, Nakayama H, Wakayama M, Shinozaki M, Ishiwatari T, Sasai D, Nemoto T, Takahashi K, Ishii T, Saji T, Shibuya K. Trends in the prevalence of invasive fungal infections from an analysis of annual records of autopsy cases of Toho University: *Mycoses*. 55:435-443, 2012
 9. Togano T, Shibuya K, Kume H. Estimated numbers of visceral mycoses in case of leukemia and MDS in Japan: Analysis of the data from the annual of the pathological autopsy cases and vital statistics in Japan. *Med Mycol J*. 53:53-8, 2012
 10. Sugino K, Gocho K, Ishida F, Kikuchi N, Hirota N, Sato K, Sano G, Isobe K, Sakamoto S, Takai Y, Hata Y, Shibuya K, Uesaka T, Kurosaki A, Homma S. Acquired Hemophilia A Associated with IgG4-related Lung Disease in a Patient with Autoimmune Pancreatitis. *Intern Med*. 51:3151-4, 2012
 11. Shimodaira K, Okubo Y, Ochiai E, Nakayama H, Katano H, Wakayama M, Shinozaki M, Ishiwatari T, Sasai D, Tochigi N, Nemoto T, Saji T, Kamei K, Shibuya K. Gene expression analysis of a murine model with pulmonary vascular remodeling compared to end-stage IPAH lungs. *Respir Res*.13:103, 2012
 12. Shinozaki M, Okubo Y, Sasai D, Nakayama H, Murayama S, Ide T, Wakayama M, Ishiwatari T, Tochigi N, Nemoto T, Shibuya K. Development of a Peptide Nucleic Acid Probe to *Trichosporon* Species and Identification of *Trichosporonosis* using *In Situ* Hybridization in Formalin-Fixed and Paraffin-embedded (FFPE) Sections. 51:295-8, 2013.
 13. Sasai D, Okubo Y, Ishiwatari T, Sugita T, Kaneko T, Murayama SY, Shimamura T, Shinozaki M, Hasegawa C, Mitsuda A, Tochigi N, Wakayama M, Nemoto T, Shibuya K. Histopathological evaluation of the efficacy of antifungals for experimental *Trichosporon* bloodstream infection. *Jpn J Infect Dis*, in press.
 14. Yuzhu Z, Sasai D, Okubo Y, Shinozaki M, Nakayama H, Murayama SY, Wakayama M, Ide T, Zhang Z, Shibuya K. Testing for the DNA preservation in formalin-fixed and paraffin-embedded tissues with comparison in usefulness for

detection of fungi between polymerase chain reaction and in situ hybridization. Jpn J Infect Dis, in press.

15. Okubo Y, Shinozaki M, Wakayama M, Nakayama H, Sasai D, Ishiwatari T, Tochigi N, Naobumi T, Shibuya K. Applied Gene Histopathology: Identification of Fusarium Species in FFPE Tissue Sections by In Situ Hybridization. Louise O'Connor and Barry Glynn (eds), Methods in Molecular Biology, 1st ed, 141-7, 2013, Humana Press, New York

和文論文

1. 中山晴雄, 岩渕 聡, 渋谷和俊. パラフィン包埋組織を用いたISH法およびPCR法による深在性真菌症に対する分子生物学的診断法の現状. 日本外科感染症学会誌9(4):343-8, 2012
2. 大久保陽一郎, 渋谷和俊. 感染症. 高鳥浩介・久米田裕子 編. 第1版. 印刷中, 朝倉書店, 東京.

学会発表 国際学会

1. Okubo Y, Makimura K, Shinozaki M, Nakayama H, Wakayama M, Nemoto T, Sasai D, Ishiwatari T, Shimodaira K, Yuzhu Z, Ide T, Takahashi R, Shibuya K. Biological, histopathological, and genetic analyses of mice infected with *Cryptococcus gattii*. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, June 11-15, 2012, Berlin, Germany.
2. Wakayama M, Shimodaira K, Nakayama H, Shinozaki M, Okubo Y, Sasai D, Ishiwatari T, Zhi Y, Tochigi N, Hasegawa C, Mitsuda A, Nemoto T, Shibuya K. Age-related analysis on the prevalence of invasive fungal infections from autopsy records in Toho University. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, June 11-15, 2012, Berlin, Germany.
3. Shinozaki M, Okubo Y, Sasai D, Nakayama H, Murayama SY, Ide T,

Wakayama M, Nemoto T, Shibuya K. Diagnosis of fungal infections by molecular techniques from formalin-fixed and paraffin-embedded (FFPE) tissues: A retrospective autopsy analysis of 49 cases. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, June 11-15, 2012, Berlin, Germany.

国内学会

1. 杉野圭史, 石田文昭, 太田宏樹, 菊池直, 廣田直, 佐藤敬太, 佐野剛, 磯部和順, 坂本 晋, 高井雄二郎, 高木啓吾, 渋谷和俊, 植草利公, 黒崎敦子, 本間 栄. びまん性小粒状・すりガラス状陰影で発症し、自然軽快、再発を呈した1例. 第52回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 4/20-22, 2012
2. 小林 紘, 磯部和順, 市川敦央, 菊池直, 廣田直, 佐野剛, 佐藤敬太, 杉野圭史, 坂本 晋, 秦 美暢, 黒崎敦子, 渋谷和俊, 高木啓吾, 本間 栄. Gefitinib既治療後のErlotinib投与例の検討. 第52回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 4/20-22, 2012
3. 黒澤武介, 磯部和順, 菊池直, 廣田直, 佐藤敬太, 佐野剛, 杉野圭史, 坂本 晋, 高井雄二郎, 黒崎敦子, 渋谷和俊, 秦 美暢, 高木啓吾, 本間 栄. 悪性胸膜中皮腫の治療法別予後の検討. 第52回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 4/20-22, 2012
4. 後町杏子, 杉野圭史, 佐藤敬太, 坂本 晋, 高木啓吾, 渋谷和俊, 植草利公, 本間 栄. 間質性肺炎合併肺癌における術後急性憎悪の臨床病理学的検討. 第52回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 4/20-22, 2012
5. 磯部和順, 秦 美暢, 菊池直, 廣田直, 佐藤敬太, 佐野剛, 杉野圭史, 坂本 晋, 高井雄二郎, 渋谷和俊, 黒崎敦子, 高木啓吾, 本間 栄. Non-UIP pattern間質性肺炎 (IP/nonUIP) 合併肺癌における治療後急性呼吸障害の検討. 第52回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 4/20-22, 2012
6. 中山晴雄, 渋谷和俊. DPCデータを用

- いた脳神経外科領域における深在性真菌症治療による医療経済効果. 第86回日本感染症学会総会学術講演, 長崎, 4/25, 2012
7. 樽本憲人, 金城雄樹, 大川原明子, 前崎繁文, 渋谷和俊, 宮崎義継. マウスモデルにおける自然免疫の活性化によるカンジダ症増悪の免疫学的解析. 第86回日本感染症学会総会学術講演, 長崎, 4/25, 2012
 8. 渋谷和俊, 大久保陽一郎, 大野秀明, 宮崎義継, 田辺公一, 金子幸弘, 山越 智, 梅山 隆, 安藤常浩, 若山 恵. *Cryptococcus gattii*感染症における病理組織学的解析. 第86回日本感染症学会総会学術講演, 長崎, 4/25, 2012
 9. 大野秀明, 田辺公一, 杉田 隆, 畠山修司, 大久保陽一郎, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄樹, 渋谷和俊, 亀井克彦, 宮崎義継. 北米流行型 *Cryptococcus gattii*株の病原性, 病原因子の解析—国内臨床分離株を中心に—. 第86回日本感染症学会総会学術講演, 長崎, 4/25, 2012
 10. 若山 恵, 安藤常浩, 渋谷和俊. 東邦大学病理剖検例における過去52年間の深在性真菌症の発生動向調査. 第86回日本感染症学会総会学術講演, 長崎, 4/25, 2012
 11. 笹井大督, 大久保陽一郎, 石渡誉郎, 島村 剛, 篠崎 稔, 根本哲生, 若山 恵, 杉田 隆, 金子健彦, 渋谷和俊. トリコスポロン血液感染症の発症機序と病態解析に関する病理学的研究. 第101回日本病理学会総会, 東京, 4/26, 2012
 12. 石渡誉郎, 大久保陽一郎, 根本哲生, 若山 恵, 笹井大督, 密田亜希, 横瀬智之, 島田英昭, 五十嵐良典, 渋谷和俊. 胃癌細胞転移による肺動脈機構改変に関する研究. 第101回日本病理学会総会, 東京, 4/26, 2012
 13. 大久保陽一郎, 大野秀明, 篠崎 稔, 宮崎義継, 根本哲生, 若山 恵, 笹井大督, 石渡誉郎, 中山晴雄, 田辺公一, 金子幸弘, 山越 智, 梅山 隆, 渋谷和俊. *Cryptococcus gattii*気道感染マウスにおける肺の病理組織学的解析. 第101回日本病理学会総会, 東京, 4/26, 2012
 14. 渋谷和俊. 侵襲性真菌症・臨床像 病出までの道のり. Antifungal Therapy Master Class Program 2012, 大阪, 4/14, 2012
 15. 佐々木久美子, 高橋りえ, 井手 忠, 宅間健介, 根本哲生, 渋谷和俊. IPMN症例の膵液・膵管擦過標本に於ける細胞像の検討. 第53回日本臨床細胞学会総会(春期大会), 千葉, 6/1-3, 2012
 16. 小林照明, 清水雅子, 千葉暢子, 羽鳥努, 密田亜希, 若山 恵, 根本哲生, 金澤真作, 渋谷和俊. 粘液癌様の細胞像を示した乳腺神経内分泌癌の1例. 第53回日本臨床細胞学会総会(春期大会), 千葉, 6/1-3, 2012
 17. 間崎和夫, 釘宮剛城, 青木千津, 清水雅子, 若山 恵, 石渡誉郎, 根本哲生, 渋谷和俊, 大村 剛, 森田峰人. 乳癌術後に発症した子宮腺肉腫の1例. 第53回日本臨床細胞学会総会(春期大会), 千葉, 6/1-3, 2012
 18. 樽本憲人, 金城雄樹, 笹井大督, 大川原明子, 上野圭吾, 井澤由衣奈, 篠崎 稔, 竹山春子, 前崎繁文, 渋谷和俊, 宮崎義継. NK T細胞の活性化によるマウスカンジダ症増悪機序の解析. 第23回日本生体防御学会学術総会, 東京, 7/9-11, 2012
 19. 大久保陽一郎, 大野秀明, 篠崎 稔, 宮崎義継, 根本哲生, 若山 恵, 栃木直文, 笹井大督, 石渡誉郎, 中山晴雄, 田辺公一, 金子幸弘, 山越 智, 梅山 隆, 職玉珠, 北原加奈子, 渋谷和俊. クリプトコックス感染症のマウスモデルにおける肺の病理学的解析. 第23回日本生体防御学会学術総会, 東京, 7/9-11, 2012
 20. 笹井大督, 杉田 隆, 金子健彦, 大久保陽一郎, 石渡誉郎, 島村 剛, 篠崎 稔, 職玉珠, 山本慶郎, 栃木直文, 若山 恵, 根本哲生, 渋谷和俊. トリコスポロン血流感染症のマウスモデルを用いた抗真菌薬治療効果の病理組織学的検討. 第23回日本生体防御学会学術総会, 東京, 7/9-11, 2012
 21. 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, 職玉珠, 栃木直文, 長谷川千花子, 密田亜希, 根本哲生, 渋谷和俊. 東邦大学病理解剖例における深在性真菌症発生動向調査. 第23回日本生体防御学会

- 学術総会, 東京, 7/9-11, 2012
22. 鈴木 琢, 島村 剛, 久保田信雄, 渋谷和俊. 爪白癬動物モデルにおける病理組織学的検討. 第23回日本生体防御学会学術総会, 東京, 7/9-11, 2012
 23. 石渡誉郎, 大久保陽一郎, 篠崎 稔, 中山晴雄, 根本哲生, 若山 恵, 栃木直文, 密田亜希, 長谷川千花子, 笹井大督, 山本慶郎, 職 珠玉, 渋谷和俊.
*Cryptococcus gattii*感染症における病態解析. 第23回日本生体防御学会学術総会, 東京, 7/9-11, 2012
 24. 中村 豊, 亀井克彦, 渋谷和俊, 山内広平. 岩手沿岸地方における津波肺 *Scedosporium*感染症. 第23回日本生体防御学会学術総会, 東京, 7/9-11, 2012
 25. 渋谷和俊. 深在性真菌症: 画像の背景を考える. 第10回岐阜深在性真菌症フォーラム, 岐阜, 7/13, 2012
 26. 渋谷和俊. 深在性真菌症における病変形成と変化. 東埼玉真菌症フォーラム, 大宮, 7/18, 2012
 27. 金澤真作, 緒方秀昭, 齋藤芙美, 根本哲生, 渋谷和俊, 金子弘真. 造影の有無で比較した超音波による乳癌術前化学療法経過観察. 第71回日本癌学会学術総会, 札幌, 9/19-21, 2012
 28. 大久保陽一郎, 大野秀明, 篠崎稔, 宮崎義継, 根本哲生, 若山恵, 栃木直文, 笹井大督, 石渡誉郎, 中山晴雄, 下平佳代子, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山隆, 山越 智, 職 玉珠, 北原 加奈子, 山本慶郎, 渋谷和俊. マウス肺クリプトコッカス症モデルを用いた感染防御ならびに肺構築変換の解析. 第56回日本医真菌学会総会, 東京, 11/10-11, 2012.
 29. 若山 恵, 下平佳代子, 中山晴雄, 篠崎 稔, 大久保陽一郎, 笹井大督, 石渡誉郎, 職 玉珠, 栃木直文, 長谷川千花子, 密田亜希, 根本哲生, 渋谷和俊. 東邦大学病理剖検例を用いた過去56年間の侵襲性真菌症発生動向と加齢の及ぼす影響について第56回日本医真菌学会総会, 東京, 11/10-11, 2012.
 30. 篠崎 稔, 中山晴雄, 大久保陽一郎, 笹井大督, 職 玉珠, 栃木直文, 若山恵, 村山琮明, 根本哲生, 渋谷和俊. 剖検例を用いた腸管真菌症における疫学のおよび病理組織学的検討第56回日本医真菌学会総会, 東京, 11/10-11, 2012.
 31. 石渡誉郎, 大久保陽一郎, 和泉春香, 佐藤史朋, 篠崎 稔, 笹井大督, 中山晴雄, 栃木直文, 根本哲生, 名取一彦, 秦 美暢, 若山 恵, 渋谷和俊. 侵襲性肺接合菌症における reversed CT halosign 描出部の病変構築第56回日本医真菌学会総会, 東京, 11/10-11, 2012.
 32. 高橋政義, 池原 孝, 松清 靖, 金川武徳, 一森美生江, 高亀道生, 金山政洋, 塩澤一恵, 篠原美絵, 篠原正夫, 永井英成, 渡邊 学, 石井耕司, 五十嵐良典, 住野泰清, 久保田喜久, 大塚由一郎, 金子弘真, 大久保陽一郎, 根本哲生, 渋谷和俊. 術前診断に苦慮した肝限局性結節性過形成 (FNH) の1例. 第46回肝癌症例検討会, 東京, 11/10, 2012
- 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株の血清化学的解析
および系統学的近縁菌種 *Trichosporon* との比較ゲノム

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、昨年度に続き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株の莢膜多糖の化学構造を検討した。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が、カラムクロマトによる検討から細部では差異がある可能性が示された。新規MLST開発のためにJP01株および系統的に近縁である新興真菌症病原体 *Trichosporon* spp. の 12株の全ゲノム解析を行なった。比較ゲノムから59の候補遺伝子の抽出に成功した。今後は検証実験を行なう予定である。

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。著者らは2010年に特筆すべき渡航歴のない日本人での初の感染例を報告した（感染時期は2007年）。

*C. gattii*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、昨年度に続き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) *C. gattii* JP01と分子系統学的に近縁な新興真菌感染症病原体 *Trichosporon asahii*との比較ゲノムを行った。このゲノム情報より *Trichosporon* 株のMLST解析ツールの開発を試みた

B. 研究方法

1. 莢膜多糖の血清学・化学的性状の解析

莢膜多糖の¹H-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¹H-NMRスペクトルを測定した。さらに可溶性多糖を陰イオン交換カラムクロマトに

より解析した。比較としてバンクーバー分離株 R265 株 (VGIIa) も用いた。

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. *C. gattii* JP01 と *Trichosporon* の比較

ゲノム解析：

i. VGIIa 株間の SNP を SolSNP (<http://sourceforge.net/projects/solsnp/>) を用いて解析した。

ii. JP01 株と *Trichosporon* 属および他の *Cryptococcus* 属菌種合計 13 株について、illumina シーケンサーによりドラフトゲノム解析を行った。自動アノテーションは MiGAP により行った。

iii. 菌株識別マーカー遺伝子候補として 59 個の CDS を選択し、相同性検索により、各ドラフトゲノムから当該領域を抽出、アミノ酸配列に基づき、CDS 毎の系統樹、および concatenate した系統樹を作成した。

なお、本研究は理化学研究所バイオリソースセンターリーダー高島昌子博士および鈴鹿工業高等専門学校青山俊弘准教授との共同研究として実施した。

C. 研究結果

1. 莢膜多糖の ¹H-NMR スペクトル

NMR スペクトル分析から JP01 株および R265 株に O-アセチル基の存在が確認された。また *C. gattii* に特徴的なマンノース残基、キシロース/グルクロン酸およびキシロースも観察された。さらに陰イオン交換カラムクロマトから JP01 株はウロン酸に富んでいることが示された。

2. *C. gattii* JP01 と *Trichosporon* の比較

ゲノム解析

i. VGIIa 株の SNP 解析：ゲノムが公開されている R265、B7467、B8577、B7395、

B8849、B7422 および B7436 株を含めて JP01 株は独立した系統枝を形成した (図 1, 表 1)。

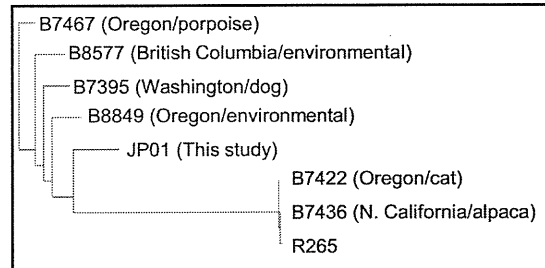


図 1 WGST による JP01 株の分子系統学的解析

表 1 R265 との SNP 比較

Strain	Sum	Indel	Hetero	Homo
B7422	6	3	0	3
B7436	1	0	0	1
B7467	4571	2021	15	2535
B8577	4622	2046	18	2558
B7395	4588	2028	16	2544
B8849	4698	2109	23	2566
JP01	4824	2192	40	2592

ii. ゲノム解析：図 2 に *C. gattii* と *Trichosporon spp.* の rRNA による系統的類縁関係を示した。この青色で示した 13 株の全ゲノムを決定した。おおよそ 20Mb であった。このゲノム情報を基に以下の iii の実験を試みた。

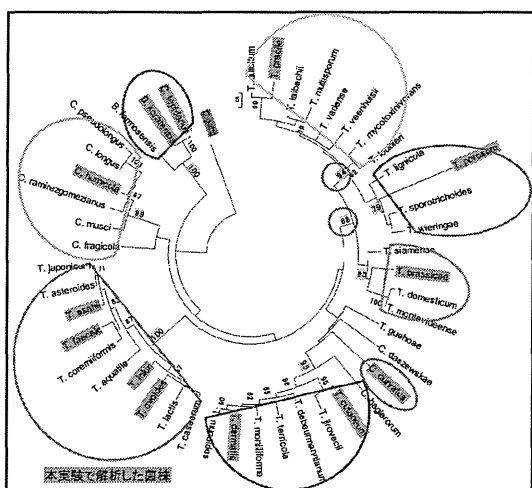


図 2 rRAN 遺伝子による *C. gattii* と *Trichosporon* spp. の系統関係

iii. *Trichosporon* の菌株識別マーカー遺伝子候補：*C. gattii* と *C. neoformans* 間の相関性が高い 238 遺伝子および *T. asahii* とさらに相関性が高い遺伝子の 59 を候補遺伝子として選別した。うちわけを図. 3 に示す。大部分が Genetic information processing であった。グループ分けは微生物ゲノムオーソログデータベース (<http://mbgd.nibb.ac.jp/>) に従った。各々遺伝子の距離を算出したところ、これら 59 遺伝子は、AFTOL 遺伝子より多様性があり、MLST 遺伝子よりは保存性を示した。最尤法により 59 遺伝子の系統樹を作製した (図. 4)。

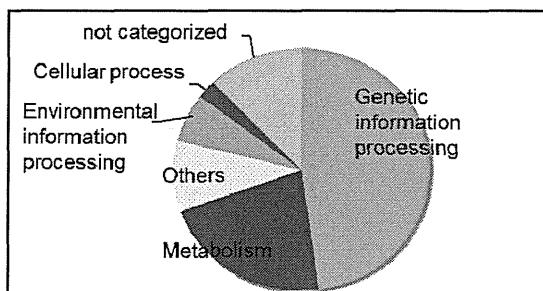


図 3 菌株識別候補遺伝子 59 遺伝子の内容

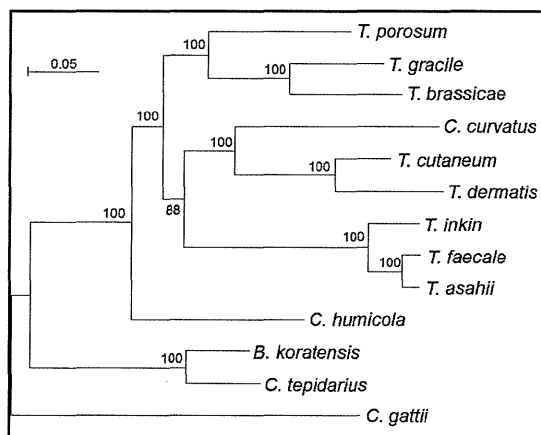


図 4 59CDS のアミノ酸配列に基づく系統樹 (最尤法)

D. 考察

昨年度に続き、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 *Trichosporon* 株とのゲノム比較を行った。併せて *Trichosporon* MLST の開発を試みた。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。JP01 株と R265 株は非常にスペクトルが類似し、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の存在が推定された。カラムクロマトからウロン酸含量および収率は JP01 株が高いことから、同じ血清型 B でも微細構造レベルでは多少の差異があることが推定された。

本構造と免疫応答の関係が興味のあるところである。

これまでに複数の *C. gattii* VGIIa 株の全ゲノムが解析されている。JP01 株は特異的な系統枝を形成していたことから、感染経路に興味をもたれる。

系統的に近縁な *T. asahii* はミカファンゲン投与後にブレイクスルーする病原性酵母として近年注目されている。本年度はさらに *T. asahii* に近縁な菌株 11 株を追加ゲノム解析した。これは、*C. gattii* および

Trichosporon spp.に対する新規な MLST を開発することを目的としている。59 の候補遺伝子を見いだすことに成功した。今後はその有用性の検証を行なう予定である。

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 株と莢膜多糖構造は細部で異なる可能性があることが示された。また、*Trichosporon* spp.に対する MLST 開発の候補遺伝子の抽出を行なった。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

論文発表

1. 川澄紀代、山岸由佳、萩原真生、藤巻恵理子、杉田隆、三嶋廣繁.臨床におけるトリコスポロン属の分離状況に関する検討.日本化学療法学会雑誌 80, 18-24, 2012.
2. 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.
3. 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 54, 350-355, 2012
4. Zhang E, Tanaka T, Tsuboi R, Makimura K, Nishikawa A, Sugita T. Characterization of *Malassezia*

microbiota in the human external auditory canal and on the sole of the foot. Microbiol. Immunol. 56, 238-244, 2012

5. 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, 2012
6. Ishino M, Kinoshita K, Takahashi K, Sugita T, Shiro M, Hasegawa K, Koyama K. Phomactins K-M, three novel phomactin-type diterpenes from a marine-derived fungus. Tetrahedron 68, 8572-8576, 2012
7. Hayashi T, Sugita T, Hata E, Katsuda K, Zhang E, Kiku Y, Sugawara K, Ozawa T, Matsubra T, Ando T, Obayashi T, Itoh T, Yabusaki T, Kudo K, Yamamoto H, Koiwa M, Oshida T. Molecular-based identification of yeasts isolated from bovine clinical mastitis in Japan. J. Vet. Med. Sci. Oct 26. [Epub ahead of print] 2012.
8. Hiruma M, Kano R, Sugita T, Mochizuki T, Hasegawa A, Hiruma M. Urease gene of *Trichophyton rubrum* var. *raubitschekii*. J. Dermatol. 2012 Oct 22. doi:10.1111/1346-8138.12017. [Epub ahead of print]
9. Hiruma M, Kano R, Sugita T, Mochizuki T, Hasegawa A, Hiruma M. Epidemiological aspects of *Trichophyton rubrum* var. *raubitschekii* in Japan. J. Dermatol.

2012 Dec;39 (12) :1000-1. doi:
10.1111/j.1346-8138.2012.01635.x.

Epub 2012 Aug 20

10. Zhang E, Tajima M, Tsuboi R, Sugita T. Sequence diversity of the intergenic spacer region of the rRNA gene of *Cryptococcus albidus* isolated from the skin of patients with atopic dermatitis and healthy individuals. *Microbiol. Immunol.* 57 (1) :74-76, 2013.
11. Takashima M, Sugita T, Hong B, Nakamura M, Endoh R, Ohkuma M. Taxonomic richness of yeasts in Japan within subtropical and cool temperate areas. *PLOS ONE* 7 (11) : e50784, 2012.

学会発表 (国際)

1. Sugita T. *Malassezia* community structure and its association with skin diseases. ISHAM 2012, 2012/6, Berlin, Germany
2. Sugita T. Recent progress of *Malassezia* and related skin diseases, International Conference on Yeasts, 2012/8, Wisconsin, USA

学会発表 (国内)

1. 上原千明、杉田隆、カルシニューリン阻害薬タクロリムスの病原真菌に対する新規作用、日本薬学会第 132 年会、2012/3、札幌
2. 犬飼俊介、小山清隆、杉田隆、アゾール系抗真菌薬の作用を増強させる海洋由来真菌培養エキスの探索、日本薬学会第 132 年会、2012/3、札幌
3. 浅見恭、杉田隆、新興真菌感染菌

Trichosporon asahii のアゾール薬耐性機構の解析、日本薬学会第 132 年会、2012/3、札幌

4. 芳賀麻美、田元宏樹、石野雅弘、木村恵梨子、杉田隆、高取薫、高橋邦夫、小山清隆、海洋由来真菌 *Didymella bryoniae* からの抗真菌活性物質、日本薬学会第 132 年会、2012/3、札幌
5. 田中貴文、杉田 隆、アトピー性皮膚炎患者皮膚細菌叢の次世代高速 DNA シーケンサーを用いた網羅的解析、日本薬学会第 132 年会、2012/3、札幌
6. 諸星優佳、田中貴文、杉田 隆、尋常性乾癬患者皮膚細菌叢の次世代高速 DNA シーケンサーを用いた網羅的解析、日本薬学会第 132 年会、2012/3、札幌
7. 大野秀明、田辺公一、杉田 隆、畠山修司、大久保陽一郎、金子幸弘、梅山 隆、山越 智、金城雄樹、渋谷和俊、亀井克彦、宮崎義継、北米流行型 *Cryptococcus gattii* 株の病原性、病原因子の解析—国内臨床分離株を中心に—第 86 回日本感染症学会総会・学術講演会、2012/6、長崎
8. 諸星優佳、田中貴文、張恩実、坪井良治、杉田隆、パイロシーケンス法を用いたアトピー性皮膚炎および尋常性乾癬患者皮膚の細菌叢の網羅的解析、日本薬学会生物系薬学部会、第 24 回微生物シンポジウム、2012/09、大阪
9. 杉田 隆、ゲノム解析から見えてきたマラセチアの病原因子、第 56 回日本医真菌学会、2012/11、東京
10. 桑江義介、小川祐美、吉池高志、池田玲子、杉田 隆、手背と大腿部に急速に拡大する皮膚潰瘍を呈した続発性皮膚クリプトコックス症の 1 例、第 56 回日

- 本医真菌学会、2012/11、東京
11. 張 恩実、上原千明、坪井良治 1、西川朱實、杉田 隆、健常人頭皮におけるヒト皮膚主要構成菌種 *Malassezia globosa* および *M. restricta* のリパーゼ遺伝子の検出、第 56 回日本医真菌学会、2012/11、東京
 - 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
 12. 石橋芳雄、菅原二陽、杉田 隆、西川朱實、*Malassezia* のヒトケラチノサイト TSLP 産生誘導に関わるレセプターとリガンドの解析、第 56 回日本医真菌学会、2012/11、東京
 13. 竹本朱美、諸星優佳、杉田 隆、武藤正彦、次世代 DNA シーケンサーを用いた尋常性乾癬患者皮膚真菌叢の網羅的解析、第 56 回日本医真菌学会、2012/11、東京
 14. 高島昌子、杉田 隆、ドラフトゲノム解析に基づく *Trichosporon* 属および近縁菌株の系統関係、第 56 回日本医真菌学会、2012/11、東京
 15. 垣沼智之、杉田 隆、村山琮明、*Trichosporon asahii* の PFGE 法による核型解析、第 56 回日本医真菌学会、2012/11、東京
 16. 石橋芳雄、加藤博司、杉田 隆、西川朱實、アトピー性皮膚炎に関連する *Malassezia restricta* 特異抗原の解析、第 56 回日本医真菌学会、2012/11、東京
 17. 石堂裕史、張 恩実、杉田 隆、抗カンジダ作用を示すドラッグリプロファイリング研究、第 56 回日本医真菌学会、2012/11、東京
 18. Nanthawan Mekha、石堂裕史、池田玲子、西川朱實、杉田 隆、タイ患者より分離される病原真菌、第 56 回日本医真菌学会、2012/11、東京

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
研究協力者 掛屋 弘 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。我が国ではnon-HIV患者におけるクリプトコックス症が他国に比べて多い。本研究では、我が国における本症の診断、治療の実態についてアンケートによる聞き取り調査により解析し、さらに宿主の疾患感受性解析によりアプローチした。我が国のクリプトコックス症の実態が判明し、患者の背景、治療薬の選択、治療期間について一定のデータが得られた。また、疾患感受性遺伝子の候補遺伝子の一つであるMannose-Binding Lectin (MBL) 遺伝子については有意なSingle Nucleotide Polymorphisms (SNPs) 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。昨年までの研究成果をさらに発展させた成果について報告する。

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

non-HIV population におけるクリプトコックス症の実態（感染危険因子、診断、治療、治療期間）に関する解析のためにアンケート調査を行った。日本呼吸器学会認定施設および日本感染症学会認定研修施設、血液内科学会血液専門医研修施設、神経内科学会・教育施設で、のべ1796施設を対象とした。アンケートは郵送で発送し、回答のあったものについて解析を行った。アンケートの内容は、クリプトコックス症の診療の有無、クリプトコックス症の病型、基礎疾患、治療選択薬、治療期間について設問を設け、multiple choice方式による回答方式とした。

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、Mannose-Binding Lectin (MBL) 遺伝子の 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（治療期間に関する解析）

1796 施設に送付したアンケートの回収率は 31.8%で、572 施設からの返答があった。2006 年～2010 年において、572 施設の 70%で 1 例以上のクリプトコックス症例の診療実績があった。

non-HIV population における肺クリプトコックス症の症例数は 683 例で、このうちクリプトコックス培養陽性であった確定診断例は 370 症例であった。45%は基礎疾患を有しない患者に発症しており、基礎疾患を有する場合、最も多い基礎疾患は糖尿病 (28%) で、次いで関節リウマチ (17%)、悪性腫瘍 (11%) の順であった。

治療薬の選択に関して、脳髄膜炎の合併症を有さない肺クリプトコックス症について、全体の 95%はアゾール系抗真菌薬を使用しており、このうちフルコナゾール、およびホスフルコナゾールを使用しているのは全体の 70%に及んだ。脳髄膜炎を合併した肺クリプトコックス症における治療では、アムホテリシン B 製剤を使用する症例が全体の 44%で、アゾール系薬のみを使用する症例が 47%であった。

治療期間に関して、基礎疾患を有さない肺クリプトコックス症（脳髄膜炎なし）の症例の約半数において、3 ヶ月間の治療を行っていた。また、胸部陰影が消失するまで継続する場合は 19%、血清抗原価が陰性になるまで継続する場合は 11%であった。一方、基礎疾患を有する肺クリプトコックス症の場合（脳髄膜炎なし）は、40%の症例において 6 ヶ月間の治療を行っていた。胸部陰影が消失するまで継続する場合、血清抗原価が陰性になるまで継続する場合はそれぞれ 10%であった。6 ヶ月以上の長期間投与する症例は 27%であった。

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

MBL 遺伝子の SNPs について、15 例のクリプトコックス症患者の血液由来 gDNA を用いてシークエンスによる解析を施行した。今回、解析した 15 例について、MBL 遺伝子に有意な SNPs を認めなかった。

D. 考察

前回までに、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な調査を自施設の症例において調査を行った。自施設では、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。

一方、今回の全国アンケート調査では、

基礎疾患の有無については半数ずつであった。基礎疾患として多い疾患は、我々の自施設のデータと類似していた。関節リウマチについて、ステロイド薬の使用に関するアンケート調査はないが、クリプトコックス症発症の要因の一つと考えられる。

治療薬の選択について、脳髄膜炎を合併する場合と合併しない場合では、治療薬選択が異なり、その鑑別は重要である。今回の調査では、脳髄膜炎を有さない肺クリプトコックス症においては、高い頻度で適正な抗真菌薬であるアゾール系薬が選択されていたが、脳髄膜炎を合併するクリプトコックス症では、初期治療として標準薬であるアムホテリシン B 製剤が選択されていた症例は 44%と低い使用率であった。また、肺クリプトコックス症（脳髄膜炎の合併なし）の治療期間について、本邦のガイドラインで推奨されている期間は、基礎疾患を有さない場合は 3 ヶ月、有する場合は 6 ヶ月であるが、遵守率は基礎疾患を有さない場合で約 50%、基礎疾患を有する場合は 40%であった。一般的な推奨よりも長期間投与する傾向にあることが判明した。今回の検討では、予後との相関に関する検討は行われていないため、最適な治療期間を導き出すことが困難である。米国 IDSA のガイドラインでは、6-12 ヶ月を推奨されているが、その根拠となるエビデンスに乏しい。今回の調査結果を参考に、更なる臨床研究が必要である。

クリプトコックス症が、健常人にも発症することより、何らかの疾患感受性遺伝子の SNPs が原因の一つとして推測される。以前の検討で、TLR9 の解析では有意な SNP を認めなかったが、今回は、innate immunity に関与する MBL 遺伝子について検討したが、有意な SNPs を認めなかつ

た。検討症例数も少ないため、今後の更なる解析が必要である。

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、アンケート調査や遺伝子解析という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。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

英文論文

1. Yamamoto Y, Izumikawa K, Morinaga Y, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Miyazaki T, Tsukamoto M, Takeya H, Yanagihara K, Yasuoka A, Kohno S. Prospective randomized comparison study of piperacillin/tazobactam and meropenem for healthcare-associated pneumonia in Japan. *J Infect Chemother.* 2013 Jan 24
2. Izumikawa K, Tashiro M, Kohno S. Management of chronic pulmonary aspergillosis. *Ann N Y Acad Sci.* 1272:40-8, 2012.
3. Kohno S, Izumikawa K, Yoshida M, Takesue Y, Oka S, Kamei K, Miyazaki Y, Yoshinari T, Kartsonis NA, Niki Y. A double-blind comparative study of the safety and efficacy of caspofungin versus micafungin in the treatment of candidiasis and aspergillosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012 Oct 3.

4. Takazono T, Izumikawa K, Yoshioka S, Matsuo N, Yamakawa M, Suyama N, Kohno S. Possible pulmonary cryptococcosis in a patient with Crohn's disease during anti-tumor necrosis factor-alpha treatment: a case report and literature review. *Jpn J Infect Dis.* 65:461-4, 2012.
5. Mihara T, Izumikawa K, Kakeya H, Ngamskulrungrroj P, Umeyama T, Takazono T, Tashiro M, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Ohno H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyzaki Y, Kohno S. Multilocus sequence typing of *Cryptococcus neoformans* in non-HIV associated cryptococcosis in Nagasaki, Japan. *Med Mycol.* 2012 Aug 17.
6. Nagaoka K, Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Ohkusu K, Kohno S. A case of multiple lung abscesses caused by *Actinomyces graevenitzii* mimicking acute pulmonary coccidioidomycosis. *J Clin Microbiol.* 50:3125-8, 2012.
7. Tashiro M, Izumikawa K, Hirano K, 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. Correlation between triazole treatment history and susceptibility in clinically isolated *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Jul 2.
8. Izumikawa K, Yamamoto Y, Mihara T, Takazono T, Morinaga Y, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Nishino T, Tsukamoto M, Kakeya H, Yanagihara K, Mine M, Yasuoka A, Tashiro T, Kohno S. Bronchoalveolar lavage galactomannan for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis. *Med Mycol.* 50:811-7, 2012.
9. Yamamoto Y, Izumikawa K, Hosogaya N, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Sakamoto N, Ishimatu Y, Kakeya H, Yanagihara K, Yasuoka A, Kohno S. A case of refractory chronic respiratory tract infection due to *Pseudomonas aeruginosa* successfully controlled by combination of clarithromycin and azithromycin. *Intern Med.* 51:1383-6, 2012.
10. Yamamoto Y, Izumikawa K, Hashiguchi K, Fukuda Y, Kobayashi T, Kondo A, Inoue Y, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Kakeya H, Yanagihara K, Kohno S. The efficacy and safety of high-dose arbekacin sulfate therapy (once-daily treatment) in patients with MRSA infection. *J Infect Chemother.* 18:241-6, 2012.
11. Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kiya T, Matsuda J, Morinaga Y, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Nishino T, Tsukamoto M, Kakeya H, Yasuoka A, Tashiro T, Kamihira S, Kohno S. Active surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with the BD GeneOhm MRSA™ assay in a respiratory ward in Nagasaki, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 65:33-6, 2012.
12. 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,

Kekeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Tashiro T, Kohno S. Antifungal susceptibilities of *Aspergillus fumigatus* clinical isolates in Nagasaki, Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 56:584-587, 2012.

和文論文

1. 井上祐一、近藤 晃、泊 慎也、村岡昌司、中村洋一、泉川公一、山本 善裕、柳原克紀、田代隆良、河野 茂 肺非結核性抗酸菌症に合併した難治性気胸に対する EWS の使用経験 キュレットを利用した EWS 充填の有用性について 気管支学 34 (5) :442-449, 2012
2. 岩永直樹、中村茂樹、田中章貴、福田雄一、今村圭文、宮崎泰可、泉川公一、掛屋 弘、山本善裕、柳原克紀、早田 宏、田代隆良、河野 茂 γ -グロブリン大量療法が奏功したと思われる成人インフルエンザ脳炎の 1 例 感染症学雑誌 86 (3) : 295-299, 2012
3. 泉川公一、河野 茂 【臨床各科における DDS の現況】 深在性真菌症に対する DDS Drug Delivery System 27 (2) : 93-105,2012
4. 吉田将孝、泉川公一 目で見る真菌と真菌症 診療科・基礎疾患から見た大切な真菌症 呼吸器科・慢性呼吸器疾患 (図説) 化学療法の領域 28 (10) : 1984-1995, 2012
5. 田代将人、泉川公一 【抗菌薬多剤併用療法の理論と実践】 真菌感染症に対する抗真菌薬併用療法 (解説/特集) 化学療法の領域 28 (9) : 1864-1871,2012
6. 泉川公一、河野 茂 【非腫瘍性気道病変のすべて】 先天性ならびに遺伝子異常に伴う気道病変 Cystic fibrosis (囊

胞性線維症) 日本胸部臨床 71 : S94-S100, 2012

7. 泉川公一 呼吸器真菌症の治療戦略 アスペルギルス症について (解説) 感染症道場 1 (2) :46-53, 2012
8. 泉川公一、河野 茂 10 年間で得られたキャンディン系抗真菌薬の位置付け (総説) 感染症 42 (6) : 203-212, 2012
9. 泉川公一、河野 茂 【深在性真菌症の新規治療薬-カスポファンギン-】 カスポファンギンの国内第 III 相臨床試験の結果について 化学療法の領域 28 (6) : 1346-1355,2012

学会発表

国際学会

1. Izumikawa K: Management of chronic pulmonary aspergillosis. 5th Advanced against Aspergillosis (イスタンブール)
2. Ide S, Izumikawa K, Gytoku H, Hirano K, Hosogaya N, Tashiro M, Mihara T, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Ikeda H, Kekeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kanda T, Tashiro T, Kohno S: Bronchial Aspergillosis due to *Aspergillus udagawae*: a rare case report. 5th Advanced against Aspergillosis (イスタンブール)
3. Tashiro M, Izumikawa K, Hirano K, Ide S, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Kekeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S: Antifungal susceptibility of *Aspergillus fumigatus* and relationship with azole exposure in Nagasaki, JAPAN. 5th Advanced against Aspergillosis (イスタンブール)
4. Hirano K, Izumikawa K, Tashiro M, Ide S,

- Morinaga Y, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Tsukamoto M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S: A case of chronic pulmonary aspergillosis due to itraconazole low-susceptible *Aspergillus fumigatus* of which resistance acquired during long-term administration of itraconazole. 5th Advanced against Aspergillosis (イスタンブール)
5. Yoshimura S, Tashiro M, Higashi Y S, Morinaga Y, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Tsukamoto M, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S: A case of chronic pulmonary aspergillosis due to itraconazole low-susceptible *Aspergillus fumigatus* of which resistance acquired during long-term administration of itraconazole. 13th APCCMI (北京)
6. Higashi Y, Hirano K, Takazono T, Hamada Y, Yoshimura S, Morinaga Y, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Tsukamoto M, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S: The correlation between serum trough levels and frequency of side effects of voriconazole at Nagasaki University Hospital, Nagasaki Japan. 13th APCCMI (北京)
3. 泉川公一、三原智、高園貴弘、中村茂樹、今村圭文、宮崎泰可、掛屋弘、山本善裕、柳原克紀、河野茂 マウス接合菌感染モデルにおけるアムホテリシン B リポソーム製剤の吸入療法の有効性, 第 28 回日本 DDS 学会, 札幌, 2012
4. 泉川公一 真菌感染症の治療戦略 第 82 回日本感染症学会西日本地方会学術集会, 福岡, 2012
5. 泉川公一 真菌の抗真菌薬耐性の現状と治療戦略 第 56 回日本医真菌学会総会, 多摩, 2012
6. 泉川公一 マイコプラズマ・ニューモニエ感染症の流行と重症化, 第 44 回日本小児感染症学会, 北九州, 2012
- 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

国内学会

1. 泉川公一 アスペルギルス症治療におけるカスポファンギンの位置づけ, 第 60 回日本化学療法学会, 長崎, 2012
2. 泉川公一 「難治性真菌症への挑戦 難治性肺真菌症 特にアスペルギルス症を取り巻く問題点, 第 86 回日本感染症

厚生労働科学研究費補助金（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

移植等の易感染性患者に発症する深在性真菌症の臨床疫学的研究

研究分担者	高倉俊二	京都大学医学研究科	臨床病態検査学
研究協力者	長尾美紀	京都大学医学研究科	臨床病態検査学
	山本正樹	京都大学医学研究科	臨床病態検査学
	一山 智	京都大学医学研究科	臨床病態検査学

研究要旨 現代の医療において免疫抑制治療と抗真菌薬の進歩に伴い、深在性真菌症の患者背景・菌種・薬剤感受性に大きな変化がみられる。京都大学病院における生体肝移植後の患者に発症する感染症サーベイランスを行った。周術期の抗菌薬・抗真菌薬予防投与の進歩により、肝移植後1ヵ月以内の深在性真菌症は発症が抑制されていることが判明した。一方で院内酵母様真菌血症症例の解析により、免疫抑制や抗真菌薬投与歴と非カンジダ真菌血症の関連も示唆された。

A. 研究目的

- (1) 生体肝移植後の感染症サーベイランスによる侵襲性真菌感染のリスク因子の同定
- (2) 真菌性眼内炎のリスク因子の同定
- (3) 酵母様真菌感染症の疫学情報の更新

B. 研究方法

1. 生体肝移植後感染症サーベイランス

2011年1月～2012年6月までの京都大学病院における全ての生体肝移植後患者において、術後感染のサーベイランスを行い、深在性真菌症の予測因子、予後因子を検索した。

2. カンジダ血症における真菌性眼内炎の発症に関連する因子の解析

2006年～2010年までの京都大学病院における全てのカンジダ血症症例をレビューし、臨床背景、発症時の病態、菌種と真菌性眼内炎の有無について検索し、真菌性眼内炎の発生率、発症予測因子について統計解析を行った。

3. 非カンジダ酵母様真菌に注目した真菌

血症の予後因子の解析

2004年～2009年までの京都大学病院における全ての真菌血症症例をレビューし、臨床背景、発症時の病態、菌種、治療と予後を統計解析し、非カンジダ真菌血症の予測因子、予後因子を検索した。

C. 研究結果

1. 生体肝移植後感染症サーベイランスにおける深在性真菌症

18ヵ月間のサーベイランス期間中に101例の生体肝移植が施行され、40例（39.6%）が1ヵ月以内に腹膜炎、胆管炎をはじめとした手術関連感染を発症し、うち半数で二次性菌血症をみとめた。2001年～2002年に実施した111例を対象とした同サーベイランス時（38.7%）と発症率はほぼ同等であった。菌種においてはMRSA、緑膿菌感染は減少していたが、*Enterococcus faecium*やESBL産生グラム陰性桿菌の割合、および二次性菌血症の発生率は増加していた。カンジダによる腹膜炎、真菌血症

は2001年～2002年間に2例より認めていたが、今期は1例も認めなかった。

2. カンジダ血症における真菌性眼内炎の発症に関連する因子の解析

期間内に眼科的精査が行われたカンジダ血症96症例（真菌性眼内炎の25例含む）の解析にて、*Candida albicans*、血中β-Dグルカン高値が眼内炎合併に関連する有意な独立した因子であることを論文報告した。

3. 非カンジダ酵母様真菌に注目した真菌血症の予後因子の解析

期間内に認めた真菌血症症例125例中11例（8.8%）を占める非カンジダ酵母用真菌 *Cryptococcus neoformans* 6例、*Trichosporon asahii* 4例、*Pichia ohmeri* 1例）の高い死亡率54.5%、予後因子（ステロイド投与、血液透析、SOFAスコア高値、他部位からの検出歴）を明らかにし、論文投稿を行った。

D. 考察

臓器移植において、術後早期の深在性真菌感染は免疫抑制治療のみならず、予防抗真菌薬の進歩により、発症抑制されていると考えられた。ただし、非カンジダ真菌血症と細胞性免疫抑制状態との関連が認められることより、予防抗真菌薬の選択や投与期間に対する検討が必要と考えられた。

また、カンジダ眼内炎は今なお高頻度に発症しており、眼科診や高リスクの予測についての啓発の重要性が明らかとなった。

E. 結論

酵母様真菌血症は臨床背景の複雑化、免疫抑制治療の進歩により様々な原因真菌、病態が予後に大きく左右する。早期の治療介入を推進するべく臨床的な予測因子、予後因子の解析を進めることが必要である。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Nagao M, Saito T, Doi S, et al. Clinical characteristics and risk factors of ocular candidiasis. *Diag Microbiol Infect Dis.* 2012;73:149–152
2. Yamamoto M, Takakura S, Hotta G, et al. Clinical Characteristics and Risk Factors of Non-*Candida* Fungaemia. *BMC Infectious Diseases*, in submission
3. Yamamoto M, Takakura S, Iinuma Y, et al. Update on the Surgical Site Infection after Living-Donor Liver Transplantation. *Liver Transplantation*, in submission

学会発表

国際学会

1. Yamamoto M, Takakura S, Iinuma Y, et al. Surgical Site Infection after Living-Donor Liver Transplantation. IDWeek (A Joint Meeting of IDSA, SHEA, HIVMA, and PIDS) 2013, San Francisco, CA, October 2-6, 2013

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

なし

Cryptococcus gattii の薬剤感受性決定因子に関する研究

研究分担者 石野敬子 昭和大学薬学部 薬物療法学講座 感染制御薬学部門

研究要旨 *Cryptococcus gattii* 感染症は難治性であり、治療期間の延長を余儀なくされることより、標準治療法の確立が急務である。本年度は、*C. gattii*が、アゾール系抗真菌薬のうち特にフルコナゾール (FLCZ) に低感受性を示すことに着目し、標的分子である Lanosterol 14- α demethylase 遺伝子の同定とその構造比較を行なった。その結果、FLCZ 感受性株である VGIIa 型と低感受性株である VGIIc 型との間で、1 アミノ酸の置換 (N249D) を見出した。

A. 研究目的

Cryptococcus gattii 感染症の治療は、*C. neoformans* と比較し、長期化、難治化することが知られている。本研究は、*C. gattii* の薬剤感受性低下、あるいは耐性化因子を解析することで、本菌感染症の標準的治療法確立のための基盤を提供することを目的とする。日本初の臨床症例では、異なる遺伝子型、VGIIa 型 (JP01 株) と VGIIc 型 (JP02 株) が同時に分離されている。また、VGIIc 型は、一般的に FLCZ 低感受性であることが報告されているが、その機構については明らかではない。そこで今年度は、これら 2 種類の菌株について FLCZ 標的分子である Lanosterol 14- α demethylase をコードする Erg11 遺伝子配列を決定し、それぞれについて構造比較を行なった。

B. 研究方法

1. JP01 株および JP02 株の Lanosterol 14- α demethylase 遺伝子配列の決定
国立感染症研究所で解読された JP01 株

および JP02 株の全ゲノム配列データを元に GeneMark-ES で遺伝子予測を行ない、Pfam および blastp でアノテーションを行なった結果をもとに、遺伝子配列を決定した。

2. Lanosterol 14- α demethylase の構造比較

C. gattii である JP01 株 (VGIIa 型)、JP02 株 (VGIIc 型)、WM276 株 (VGI 型, gene bank; JF965444.1)、R265 株 (VGIIa 型, gene bank; JF965442.1)、および、*C. neoformans* var. *grubii* である H99 株 (gene bank; JQ044790.1) を由来とする遺伝子配列およびアミノ酸配列データについて、BioEdit7.1.9 を用いて alignment 解析を行なった。

C. 研究結果

1. JP01 株および JP02 株の Lanosterol 14- α demethylase 遺伝子配列の決定
JP01 株、JP02 株の全ゲノムデータからの遺伝子予測の結果、それぞれ 1 コピーの