

E. 結論

本邦で初めて感染患者より分離された VGIIa-JP01 株は、他の VGIIa 株とは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。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表 (原著)

1. Hiruma M, Kano R, Sugita T, Mochizuki T, Hasegawa A, Hiruma M. Urease gene of *Trichophyton rubrum* var. *raubitschekii*. *J Dermatol.* 2013 Feb;40(2):111-3.
2. 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, 74-76, 2013.
3. Haga A, Tamoto H, Ishino M, Kimura E, Sugita T, Kinoshita K, Takahashi K, Shiro M, Koyama K, Pyridone alkaloids from a marine-derived fungus, *Stagonosporopsis cucurbitacearum*, and their activities against azole-resistant *Candida albicans*. *J Nat Prod.* 2013 Apr 26;76(4):750-4.
4. Hashino S, Takahashi S, Morita R, Kanamori H, Onozawa M, Kawamura T, Kahata K, Kondo T, Tokimatsu I, Sugita T, Akizawa K, Asaka M. Fungemia due to *Trichosporon dermatis* in a patient with refractory Burkitt's leukemia. *Blood Res.* 2013 Jun;48(2):154-6.

5. Nakajima A, Saraya T, Mori T, Ikeda R, Sugita T, Watanabe T, Fujiwara M, Takizawa H, Goto H. Familial summer-type hypersensitivity pneumonitis in Japan: two case reports and review of the literature. *BMC Res Notes.* 2013 Sep 13;6:371. doi: 10.1186/1756-0500-6-371.

6. Mekha N, Takashima M, Boon-Long J, Cho Otomi, Sugita T, Three new basidiomycetous yeasts, *Pseudozyma alboarmeniaca*, sp. nov., *P. crassa* sp. nov., *P. siamensis* sp. nov isolated from Thai patients, *Microbiol. Immunol.* (accepted)

学会発表 (国際)

1. Tonya Watkins, Xuelian Lu, Richard Lee, He Wang, Ying-Chun Xu, Ying Liu, Lisong Shen, Elizabeth M. Brown⁶, Susan E. Richardson, Kaede V. Ota, Karin L. McGowan, Shawn R. Lockhart, Mary E. Brandt, Adrian Zelazny Susan E. Slechta, Kimberly E. Hanson, Lynne Sigler, Jeff Fuller, Mariana Castanheira, Daniel J. Diekema, Takashi Sugita, Sean X. Zhang, Identification of *Trichosporon* species by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), ASM, 2013/5, USA
2. Murayama-Yamagata, S, Sugita T, Hirose D, Kano R, Shibata Y, Kosuge Y, Ogawa Y, Electrophoretic Karyotyping of *Trichosporon asahii*, 2013 Asia Pacific Society for Medical Mycology, 2013/6, Chendgu, China

3. Watanabe A, Zhang E, Tsuboi R, Nishikawa A, Sugita T, DNA sequence comparison of the *Malassezia restricta* mating type locus (MAT), 2013 Asia Pacific Society for Medical Mycology, 2013/6, Chendgu, China

7. 市川智恵、張音実、杉田隆、池田玲子、*Cryptococcus gattii* の遺伝子型と細胞表層多糖類、日本薬学会134年会、2014/3、熊本

H. 知的財産権の出願特許状況

なし。

学会発表 (国内)

1. 高島昌子、杉田隆、眞鍋理一郎、菅原秀明、大山彰、大熊盛也、担子菌系酵母のゲノム解析と分類学的考察：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20回日本微生物資源学会、6/2013、筑波

2. 杉田隆、クリプトコックス症の基礎と臨床：Multilocus sequence typing (MLST) からみた我が国のクリプトコックス症、第57回日本医真菌学会総会、2013/09、東京

3. 黒金理絵、杉田 隆、ステロイド薬が *Candida albicans* の二形成変換に及ぼす影響、第57回日本医真菌学会総会、2013/09、東京

4. 池田玲子、宮崎裕介、清水七帆、市川智恵、杉田 隆、*Trichosporon asahii* 臨床分離株細胞表層のプラスミノゲン結合タンパク質の探索とその性状解析、第57回日本医真菌学会総会、2013/09、東京

5. 飯野裕太、高島昌子、杉田 隆、*Trichosporon asahii* が産生する分泌性アスパラギン酸プロテアーゼの検出、日本薬学会第132年会、2012/3、札幌

6. 黒金里絵、中島早苗、杉田 隆、ステロイド薬が病原真菌 *Candida albicans* の形態変換に及ぼす影響、第57回日本薬学会関東支部大会、2013/10、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 呼吸器病態制御学

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病態について患者の背景、治療薬の選択、治療期間などについて解析し、新たな知見をえた。また、疾患感受性遺伝子の候補遺伝子の一つであるMBL遺伝子について解析したが、有意な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などを目的とする。

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

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。最近、経験された症例も追加して解析を行う。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. 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

non-HIV におけるクリプトコックス症 151 例について解析した。解析対象の内訳は、男性 80 例、女性 71 例、平均年齢は 54.0 歳であった。

基礎疾患を有さない例が 84 例、有する例が 67 例であった。表 1 に基礎疾患の内訳を示す。糖尿病が最も多く、ステロイド使用者が 31 (37%) 症例に認められた。

表 1. non-HIV population におけるクリプトコックス症患者背景・基礎疾患の内訳 (67 症例)

基礎疾患 (重複あり)	Cases (%)
糖尿病	27 (32.1%)
血液疾患 (HTLV-I carrier を含む)	19 (22.6%)
膠原病 (SLE, RA など)	19 (22.6%)
腎疾患	14 (16.7%)
悪性腫瘍	11 (13.1%)
慢性肺疾患	11 (13.1%)
肝疾患 (肝硬変など)	8 (9.5%)
腎移植	2 (2.4%)
その他	8 (9.5%)
HIV	0

ステロイド使用 (5-40 mg/day or pulse therapy) 31 (37.0%)

臨床症状について、基礎疾患を有しない患者 67 症例のうち、43 例 (64.2%) は無症状で、胸部異常陰影を景気に診断された。有症状者では、咳嗽 (n=15; 22.3%)、喀痰 (n=4; 6.0%)、胸痛 (n=7; 10.4%)、発熱 (n=2; 3.0%) などが認められた。基礎疾患を有する 84 症例では、39 症例 (46.4%) が無症状で、胸部異常陰影を契機に診断された。有症状者では、咳嗽 (n=15; 17.6%)、喀痰 (n=15; 17.6%)、胸痛 (n=3; 3.6%)、発熱 (n=20; 23.8%)、その他の症状 (n=19; 22.6%) を認めた。

基礎疾患を有する患者と有しない患者の検査所見による相違について表 2 に示す。

表 2. non-HIV population におけるクリプトコックス症患者背景・基礎疾患の有無による相違

項目	基礎疾患						Wilcoxon test p value
	なし			あり			
	n	mean	SD	n	mean	SD	
年齢	67	44.6	18.37	84	61.5	14.3	<0.0001
リンパ球数	54	1924.6	654.8	74	1727.7	1121.8	0.03
好中球数	55	3870.6	1895.6	75	5076.5	3041.4	0.02
IgG	32	1273.9	328.1	37	1479.6	670.3	0.31
IgM	32	150.3	86.3	37	176.4	123.1	0.49
IgA	31	296.5	163.8	37	318.2	165.7	0.39
TP	48	6.98	0.50	65	6.33	0.98	0.0002
Alb	42	4.32	0.40	60	3.50	0.81	<0.0001
CD4/CD8	31	1.50	0.45	37	2.67	5.89	0.53
CRP	40	0.69	1.21	49	3.67	7.45	0.001
クリプトコックス抗原	56	365.01	1236.30	63	649.80	1784.50	0.35
CD4 counts	17	818.04	218.40	19	826.40	775.10	0.99

基礎疾患を有する患者は有しない患者に比較して、高齢、低栄養状態でリンパ球数が低く、CRP 値が高い傾向にあった。

脳髄膜炎を合併した例は 14 例のみで、110 例は肺クリプトコックス症であった。脳髄膜炎の合併と関連する因子を表 2 に示す。

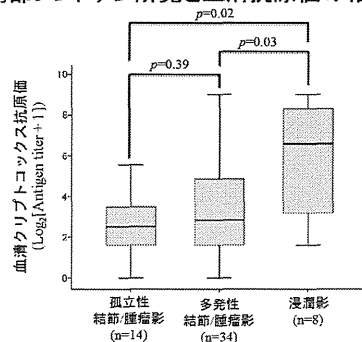
表 3. non-HIV population におけるクリプトコックス症 脳髄膜炎合併の有無と関係する因子

項目	脳髄膜炎合併						Wilcoxon test p value
	なし			あり			
	n	mean	SD	n	mean	SD	
年齢	110	50.7	18.6	14	65.4	14.8	0.004
リンパ球数	98	1914.2	979.5	11	1119.9	844.3	0.005
好中球数	99	4139.9	2398.5	11	7142.3	3218.2	0.001
IgG	61	1385.7	562.8	5	1290.4	503.6	0.78
IgM	61	167.1	111.7	5	115.1	70.6	0.33
IgA	60	309.9	168.9	5	318.6	161.5	0.74
TP	88	6.68	0.86	11	5.95	0.95	0.02
Alb	82	3.95	0.71	9	3.16	0.91	0.01
CD4/CD8	60	2.27	4.63	3	0.84	0.23	0.03
CRP	69	1.87	5.68	4	10.68	7.76	0.004
クリプトコックス抗原	90	495.07	1552.20	7	969.28	835.40	0.02
CD4 counts	30	812.46	583.36	1	421.50		0.30

脳髄膜炎を合併する患者は、合併しない患者に比較して、高齢、低栄養状態でリンパ球数が低く、CRP 値と血清クリプトコックス抗原価が高い傾向にあった。

レントゲン画像所見について、孤立性結節影 23 例、多発性結節影 54 例、浸潤影 10 例であったが、基礎疾患を有する場合と有さない場合で優位な差は認められなかった。一方、図 1 のように、胸部レントゲン所見と血清クリプトコックス抗原価には相関があり、浸潤影を呈する場合は、結節や腫瘍陰影を呈する場合より、血清クリプトコックス抗原価が高い傾向にあった。

図1. non-HIV populationにおけるクリプトコックス症胸部レントゲン所見と血清抗原価の相関



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ヵ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。

治療について、基礎疾患を有しない場合は、83.6%でアゾール系抗真菌薬が使用され、内訳は、fluconazole (n=21, 31.3%)、itraconazole (n=4, 5.9%)、voriconazole あるいは miconazole (n=10, 15.0%)、これらのアゾール経口真菌薬+5-fluorocytosine の併用 (n=15, 22.4%) で、これ以外に、amphotericin B (n=3, 4.5%) が使用されていた。一方、基礎疾患を有する場合は、fluconazole (n=30, 35.7%)、アゾール系抗真菌薬+5-fluorocytosine の併用 (n=17, 20.2%)、itraconazole (n=6, 7.1%)、voriconazole あるいは miconazole (n=10, 11.9%) が使用され、これ以外に、amphotericin B±5-fluorocytosine (n=4, 4.8%) が使用されていた。治療期間について、基礎疾患を有しない患者でアゾール系抗真菌薬を使用した場合は、平均 2.87 ヶ月 (range 60–110 日) が使用され、基礎疾患を有する場合は、3例を除いて、平均 6.64 ヶ月間使用されていた。治療効果と血清クリプトコックス抗原価の変化について、上記

の治療期間でほぼすべての症例で血清クリプトコックス抗原価は低下したが、陰性化しない症例もあった。

クリプトコックス脳髄膜炎を合併した症例の予後予測因子を表4に示す。

表4. non-HIV populationにおけるクリプトコックス症予後相関因子

項目	予後						
	軽快			死亡			Wilcoxon test p value
	n	mean	SD	n	mean	SD	
年齢	123	51.9	18.6	13	67.0	13.0	0.004
リンパ球数	108	1832.1	805.9	11	2000.5	2036.8	0.26
好中球数	109	4264.2	2436.0	11	7872.3	3176.7	0.003
IgG	63	1392.3	534.2	5	1400.8	740.4	0.87
IgM	63	165.6	106.5	5	162.7	141.0	0.80
IgA	62	304.9	163.9	5	366.8	186.3	0.34
TP	99	6.74	0.80	10	5.52	0.88	0.0003
Alb	90	3.96	0.69	8	2.69	0.87	0.0006
CD4/CD8	61	1.61	1.03	5	1.72	1.72	0.45
CRP	76	2.04	5.74	5	8.36	7.45	0.003
クリプトコックス抗原	103	474.55	1465.30	11	1152.90	2425.30	0.15
CD4 counts	34	836.80	576.90	1	95.00		0.09

予後不良因子としては、高齢、低栄養状態、高い好中球数、CRP 値があがった。

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、23 例のクリプトコックス症患者の血液由来 gDNA を用いてシーケ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

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。1977年から2012年までに151例の non-HIV population におけるクリプトコックス症例を解析した。約半分の症例は、基礎疾患を有しない症例で胸部レントゲンの異常所見（無症状）を契機に診断されていた。基礎疾患を有する場合は、糖尿病が最多で、血液疾患、関節リウマチなどの膠原病がその感染危険因子となり、ステロイドの投与歴も重要なリスクとなることが判明した。さらに、脳髄膜炎を合併しや

すい因子や予後予測因子、すなわち、高齢、低栄養状態でリンパ球数が低く、CRP 値と血清クリプトコックス抗原価が高いといった点が危険因子である新しい知見を得た。これらは、診断後治療を開始する時点で、臨床的にきわめて重要な情報となる。また、放射線学的な解析では、基礎疾患を有する場合と有さない場合で、レントゲン所見条に、優位な相違がないこともわかり、重要な新しい所見となった。一方で、レントゲン上の異常所見の大きさ（陰影の大きさ）に応じて、血清クリプトコックス抗原価が高くなることを証明した。病変部のクリプトコックスの菌量（抗原量）との相関があるものと思われる。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。米国 IDSA のガイドラインでは、non-HIV population における治療期間は 6-12 ヶ月を推奨されているが、今回の我々のデータから、少なくとも基礎疾患を有さない場合は、3 ヶ月の治療期間でも十分であることを示している。HIV 感染者におけるクリプトコックス感染症の臨床解析は少なくないが、本邦のように HIV 感染者が少ない背景で、これだけ多数の症例の解析を行った研究は他になく、重要なデータとなったと考えられる。

健康人にも感染を呈する可能性があるクリプトコックス症について、発症する健康人と発症しない健康人の免疫学的な差（何らかの疾患感受性遺伝子の SNPs）に着目し、研究をおこなった。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

遺伝子についてさらに症例数を増やして検討したが、有意な SNPs を認めなかった。コントロール症例の SNPs の解析も将来的に行い、研究を進める必要がある。疾患感受性遺伝子が同定されれば、将来的に、クリプトコックス症の罹患率を下げることが可能となる。

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、臨床解析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い、新たな知見を得た。

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

1. Yamamoto Y, Izumikawa K, Morinaga Y, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Miyazaki T, Tsukamoto M, Kakeya 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.* 19: 291-298, 2013
2. 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. 32: 387-397, 2013
3. Hosogaya N, Miyazaki T, Nagi M, Tanabe K, Minematsu A, Nagayoshi Y, Yamauchi S, Nakamura S, Imamura Y, Izumikawa K, Takeya H, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kugiyama K, Kohno S: The heme-binding protein Dap1 links iron homeostasis to azole resistance via the P450 protein Erg11 in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res.* 13: 411-421, 2013
 4. Nagaoka K, Yanagihara K, Harada Y, Yamada K, Migiyama Y, Morinaga Y, Hasegawa H, Izumikawa K, Takeya H, Nishimura M, Kohno S: Macrolides inhibit *Fusobacterium nucleatum*-induced MUC5AC production in human airway epithelial cells. *Antimicrob Agents Chemother.* 57: 1844-1849, 2013
 5. Mihara T, Izumikawa K, Takeya H, Ngamskulrungrroj P, Umeyama T, Takazono T, Tashiro M, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Ohno H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S: Multilocus sequence typing of *Cryptococcus neoformans* in non-HIV associated cryptococcosis in Nagasaki, Japan. *Med Mycol.* 51: 252-260, 2013
 6. Harada Y, Yanagihara K, Yamada K, Migiyama Y, Nagaoka K, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Hasegawa H, Miyazaki T, Izumikawa K, Takeya H, Kohno S: In vivo efficacy of daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a mouse model of hematogenous pulmonary infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 57: 2841-2844, 2013
 7. Tanaka A, Nakamura S, Seki M, Fukudome K, Iwanaga N, Imamura Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Takeya H, Yanagihara K, Kohno S: Toll-like receptor 4 agonistic antibody promotes innate immunity against severe pneumonia induced by coinfection with influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Vaccine Immunol.* 20: 977-985, 2013
 8. Kaku N, Yanagihara K, Morinaga Y, Izumikawa K, Nagashima S, Takeya H, Yamamoto Y, Fukuda M, Takatani H, Fukuda M, Hashiguchi K, Kohno S: The definition of healthcare-associated pneumonia (HCAP) is insufficient for the medical environment in Japan: a comparison of HCAP and nursing and healthcare-associated pneumonia (NHCAP). *J Infect Chemother.* 19: 70-76, 2013
 9. Migiyama Y, Kaneko Y, Yanagihara K, Morohoshi T, Morinaga Y, Nakamura S, Miyazaki T, Hasegawa H, Izumikawa K, Takeya H, Kohrogi H, Kohno S: Efficacy of AiiM, an *N*-acylhomoserine lactonase, against *Pseudomonas aeruginosa* in a mouse model of acute pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 57: 3653-3658, 2013
 10. Yamada K, Yanagihara K, Kaku N, Harada Y, Migiyama Y, Nagaoka K, Morinaga Y,

- Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Hasegawa H, Mikamo H, Kohno S: Azithromycin attenuates lung inflammation in a mouse model of ventilator associated pneumonia by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 57: 3883-3888, 2013
11. Iwanaga N, Fukuda Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Yanagihara K, Soda H, Tashiro T, Kohno S: Necrotizing pneumonia due to femoral osteomyelitis caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Intern Med.* 52: 1531-1536, 2013
 12. Tashiro T, Izumikawa K, Tashiro M, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Hayashi T, Nagayasu T, Kohno S: A case series of chronic necrotizing pulmonary aspergillosis and a new proposal. *Jpn J Infect Dis.* 66: 312-316, 2013
 13. Miyazaki T, Yamasaki N, Tsuchiya T, Matsumoto K, Hayashi H, Izumikawa K, Izumikawa K, Nagayasu T: Partial lung resection of supernumerary tracheal bronchus combined with pulmonary artery sling in an adult: report of a case. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* Jul 13. [Epub ahead of print], 2013
 14. Takazono T, Izumikawa K, Suyama N, Kohno S. Cavitory pulmonary metastases and aspergillosis: an autopsy case. *Intern Med.* 52: 1751-1752, 2013
 15. Yamada K, Yanagihara K, Kaku N, Harada Y, Migiyama Y, Nagaoka K, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Hasegawa H, Yasuoka A, Kohno S. In vivo efficacy of biapenem with ME1071, a novel metallo- β -lactamase (MBL) inhibitor, in a murine model mimicking ventilator-associated pneumonia caused by MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents.* 42: 238-243, 2013
 16. Nagaoka K, Yanagihara K, Harada Y, Yamada K, Migiyama Y, Morinaga Y, Izumikawa K, Kakeya H, Nakashima M, Nishimura M, Kohno S. Establishment of a new murine model of liver abscess due to *Fusobacterium necrophorum* via injection into caudal vein. *J Med Microbiol.* Aug 21, 2013, accepted
 17. Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M, Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa

- H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M. The first identification and retrospective study of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. *J Infect Dis.* Sep 26, 2013, accepted
18. Izumikawa K, Izumikawa KI, Takazono T, Kosai K, Morinaga Y, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Miyazaki T, Tsukamoto M, Yanagihara K, Hara K, Kohno S. Clinical features, risk factors and treatment of fulminant *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia: a review of the Japanese literature. *J Infect Chemother.* Sep 30, 2013, accepted
19. Nagaoka K, Yanagihara K, Morinaga Y, Nakamura S, Harada T, Hasegawa H, Izumikawa K, Ishimatsu Y, Kakeya H, Nishimura M, Kohno S. *Prevotella intermedia* induces severe bacteremic pneumococcal pneumonia in mice with up-regulated platelet-activating factor receptor. *Infect Immun.* Nov 18, 2013, accepted
20. Morinaga Y, Yanagihara K, Gytoku H, Oshima K, Izumikawa K, Yamasaki N, Kakeya H, Hayashi T, Fukuoka J, Nagayasu T, Kohno S. Pulmonary artery pseudoaneurysm caused by *Streptococcus constellatus*. *Int J Infect Dis.* Nov 17, 2013, accepted
- 也、宮崎泰可、泉川公一、掛屋 弘、山本善裕、柳原克紀、田代隆良、河野 茂；肺炎球菌感染を併発したインフルエンザ肺炎に、脳梁膨大部病変を伴う脳症を合併した 1 成人例；*感染症学雑誌*；87；451-456；2013
2. 泉川公一、田代将人、河野 茂；薬剤耐性アスペルギルスの現状、耐性獲得機序と今後；*日本化学療法学会雑誌*；61；149-156；2013
3. 平野勝治、泉川公一、河野 茂；重症・難治性肺炎治療へのアプローチ 重症非定型肺炎の病態と治療プロセス-2 肺炎マイコプラズマ；*感染と抗菌薬*；16；157-163；2013
4. 小佐井康介、泉川公一、河野 茂；画像から読み解く肺炎の病態・診断・治療 マイコプラズマ肺炎；*呼吸器内科*；24；21-26；2013
5. 武田和明、泉川公一、河野 茂；シリーズ・検査法 解説 肺炎球菌の抗原検出；*感染症内科*；1；196-199；2013
6. 吉田将孝、泉川公一；シリーズ よく使う日常治療薬の正しい使い方 呼吸器内科における抗真菌薬の使い方～適応疾患、投与量、副作用・相互作用を理解する～；*レジデントノート*；15；1735-1739；2013

学会発表

国際学会

b. 和文

①雑誌（総説も含む）

1. 井上祐一、平山達朗、近藤 晃、泊 慎

1. Izumikawa K, Kohno S: The management of chronic pulmonary aspergillosis and

- azole resistance. 28th International Congress of Chemotherapy and Infection (横浜)
2. Izumikawa K, Tashiro T, Tashiro M, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Kakeya H, Hayashi T, Yanagihara K, Nagayasu T, Kohno S: Pathological and clinical analysis of chronic pulmonary aspergillosis. 28th International Congress of Chemotherapy and Infection (横浜)
 3. Izumikawa K: Topics of pulmonary aspergillosis. 28th International Congress of Chemotherapy and Infection (横浜)
 5. 泉川公一、河野 茂； 薬剤耐性アスペルギルスと臨床的問題, 第 57 回日本医真菌学会総会, 東京, 2013
- 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、河野 茂 臨床現場の抗菌薬用法・用量設定に PK-PD 理論はオールマイティか? ~呼吸器感染症を治療する立場から~, 第 28 回日本環境感染学会総会, 横浜, 2013
2. 泉川公一、河野 茂 呼吸器真菌症の病態生理と免疫応答; 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会; 東京; 2013
3. 泉川公一、河野 茂 呼吸器感染症におけるキノロン系薬の適正使用, 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2013
4. 泉川公一、宮崎泰可、河野 茂 カンジダ症に対する新しい治療戦略, 第 87 回日本感染症学会学術講演会・第 61 回日本化学療法学会総会, 横浜, 2013

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

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 免疫抑制治療と抗真菌薬治療の進歩に伴い、深在性真菌症の疫学に大きな変化がみられ、単なる診断・治療を越えた問題点が浮上している。京都大学病院におけるカンジダ血症患者の診療内容と予後の関連を後ろ向きに調査し、予後改善のための課題を検討した。より早期からの経験的治療の対象とすべき群として、リスク因子の中でも高致死率に関わる因子（人工呼吸、腎不全、長期ICU）を同定した。また、肺移植後の肺アスペルギルス症について、予防抗真菌薬と発生状況、拒絶反応との鑑別についての検討を行った。イトラコナゾールによる予防は有効だが、投与期間を1年程度に延長することが望ましいことが示唆された。

A. 研究目的

侵襲性カンジダ症の予後の改善のために、カンジダ血症症例の診療内容を評価し、問題点ないし課題を発見する。

肺移植症例において、慢性期に現れる肺病変について、真菌感染症（とくにアスペルギルス症）と慢性拒絶反応との鑑別ポイントを探索する。

B. 研究方法

1. 京都大学病院における ACTIONs

Bundle を用いたカンジダ血症に対する診療の評価

2010年～2011年において、京都大学病院で血液培養からカンジダ属を検出した全症例を対象にし、真菌症フォーラムの提唱する侵襲性カンジダ症の診療支援ツールである ACTIONs Bundle を用いて評価を行った。各項目の遵守率・該当率に基づいて、予

後と項目との関連を解析した。

2. 肺移植後肺アスペルギルス症の検討

肺移植後の患者を対象に、抗真菌薬予防（薬剤、血中濃度）と肺アスペルギルス症発症との関連を後ろ向きに検討した。

C. 研究結果

1. 京都大学病院における ACTIONs

Bundle を用いたカンジダ血症に対する診療の評価

期間中、65例にカンジダ血症が起り、Bundle遵守率は平均87.1%であったが、28日以内に26例(40%)が死亡していた(血培陽性判明までの死亡3例を含む)。血培2セット採取は55例(84.6%)、β-D-グルカン測定は35例(53.8%)、中心静脈カテーテル(CVC)は全56例で抜去されたが、血培採取から24時間以内の抜去は39例(69.6%)であった。初期選択薬は2例(VRCZ, L-AMB各1例)を除き

適切だった。死亡例と生存例の比較では遵守率は各々82.1%、90.3%($P=0.003$)であった。ステロイド、人工呼吸器、化学療法、腎不全、長期ICU、重症度の6項目が死亡例で多く、この6項目中の該当数は死亡例 2.2、生存例 1.2であった($P=0.006$)。

2. 肺移植後肺アスペルギルス症の検討

肺移植では術後キャンディン薬投与とアムホテリシンB吸入を行っている。29例の肺移植例中、4例が移植後に肺アスペルギルス症を発症した。すべて肺アスペルギルス症であり、気管・気管支・吻合部アスペルギルス症は認めなかった。非発症群はCMV感染、腎不全イトラコナゾールまた、肺アスペルギルス症との鑑別に苦慮した慢性拒絶の例を2例みとめた。

D. 考察

京都大学病院では感染制御部の診療支援により、カンジダ血症における早期CVカテーテル抜去や適切な抗真菌薬投与はできているが、なお死亡率の高いことが判明した。今後の対策として死亡に関連するリスク因子のスコア化、死亡確率の高い群を選択して、早期CVC抜去とempiric治療の推進するシステムが必要と判断した。

肺移植後のアスペルギルス症は予防投与悪を行っていてもまれではない。抗真菌予防投与の内容・投与期間、鑑別診断を見直す必要がある。

E. 結論

カンジダ血症、肺移植後肺アスペルギルス症は、一定の指標に基づいて診療内容を振り返り、評価と見直しを行うことで課題を同定し、診療の是正を続けて行かねばならない。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Yamamoto M, Takakura S, Hotta G, Matsumura Y, Matsushima A, Nagao M, Ito Y, Ichiyama S. Clinical characteristics and risk factors of non-Candida fungaemia. *BMC Infect Dis.* 13:247, 2013
2. Chen F, Chibana N, Kanematsu A, Takakura S, Yurugi K, Hishida R, Fukatsu A, Kubo T, Shoji T, Fujinaga T, Bando T, Date H. Antibody-mediated rejection of a unilateral donor lung in bilateral living-donor lobar lung transplantation: report of a case. *Surg Today.* 42(8):808-11, 2012
3. Kato K, Nagao M, Yamamoto M, Matsumura M, Ito Y, Takakura S, Ichiyama S. Itraconazole prophylaxis for invasive *Aspergillus* infection in lung transplantation. *Clin Microbiol Infect*, in submission

学会発表

国際学会

なし。

国内学会

1. 高倉俊二、山本正樹、加藤果林、中野哲志、柚木知之、堀田 剛、松村康史、長尾美紀、伊藤 穰、一山 智. 京都大学病院における ACTIONs Bundle を用いたカンジダ血症に対する診療の評

価. 第 26 回日本外科感染症学会総会.

11 月 25-26 日, 2013 年, 神戸.

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。

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*のフルコナゾール(FLCZ)低感受性株の薬剤排出能との関連性について検討した。

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。今年度は、FLCZ 低感受性株の薬剤排出能を検討した。

B. 研究方法

1. 使用菌株

C. gattii IFM5815 株および JP01 株、JP02 株を使用した。

2. 薬剤感受性試験

CLSI M27-A3 に準じた微量液体希釈法で、MIC50 および MIC90 を決定した。

3. ローダミン 6G (R6G) 排出能の測定

エネルギー依存的 R6G 排出能は、和田ら (JBC,277:46809-46821, 2002)の論文に準じて行った。グルコース飢餓下の菌体に R6G(15 μ M)を 45 分間取り込ませ、洗浄後、グルコース (22 mM) を添加し、15 分後の蛍光 (excitation 485 nm/emission 520 nm) を測定し、菌体外に排出された R6G 量を算出した。

4. mRNA 抽出と RT-PCR

対数増殖期まで培養した菌株をビーズ破砕後、セパゾール I (ナカライテスク) で

RNA 抽出を行ない、ReverTraAce-plus-(TOYOBO)で cDNA 合成した。RT-PCR 反応は、SYBR premix ExTaq(TAKARA)を用い、リアルタイム PCR 解析装置 (BioRad) で測定した。*Cryptococcus gattii*の JP01 株,JP02 株ゲノムデータおよびデータベースより 10 種の薬剤排出関連遺伝子および *erg11* の塩基配列を得、プライマーを設計した。ハウスキーピング遺伝子として *act1*を用いた。

C. 研究結果

1. *C. gattii*の薬剤感受性

FLCZ の MIC50/MIC90(μ g/ml) は、IFM5815 株で 4/4, JP01 株で 8/32、JP02 株で 16/32 を示した。アムホテリシン B (AMPH-B)の MIC90は、全ての株で<0.25 だった。

2. R6G 排出能の検討

R6G 排出能を検討した結果、IFM5815 株と比較し、JP01 株、JP02 株で顕著に亢進していた (図 1)。

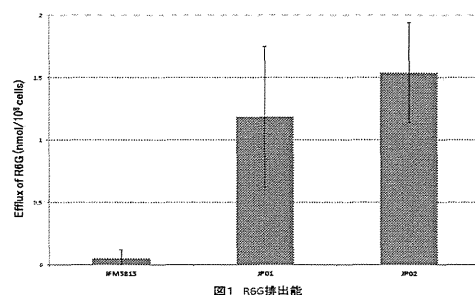


図1 R6G排出能

3. 薬剤排出ポンプ関連遺伝子の発現

No.5およびNo.10の2種類の薬剤排出関連遺伝子で、IFM5815株と比較した場合、JP01株、JP02株で100倍以上の発現上昇を認めた(表1)。また、これら3株間で*erg11*の発現量には差を認めなかった(表1)。

表1 *erg11*および薬剤排出ポンプ関連遺伝子の発現量の比較

	<i>erg11</i>	No.5	No.10
IFM5815	1	1	1
J01	1.3 (0.97-1.61)	490 (107-873)	612 (89-1136)
J02	1.7 (1.56-1.74)	750 (284-1218)	1422(491-2353)

*独立した2回の実験の平均値(実験値の範囲)

D. 考察

今回、FLCZ低感受性株で、R6G排出能の亢進および2種類の薬剤排出ポンプ関連遺伝子の発現上昇が認められた。No.5は*C. neoformans*のABC transporterの相同遺伝子であり、No.10は*C. albicans*でアゾール耐性に関与するCDRファミリーの相同遺伝子だった。今後、これらの遺伝子が*C. gattii*のFLCZ排出に直接的な関与を証明する必要がある。また、両遺伝子はFLCZ感受性株にも存在するため、遺伝子発現上昇のメカニズムを解析する必要がある。

E. 結論

*C. gattii*のFLCZ低感受性株は、薬剤排出能の亢進の関与が示唆された。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

論文発表

1. 石野敬子.グッドマン・ギルマン薬理書 [下]薬物治療の基礎と臨床[第12版]. P1939-1960, 2013年, 廣川書店, 東京.

学会発表

国際学会

1. 特記事項なし

国内学会

1. 前田真之, 石野敬子. 抗菌薬適正使用に関連する因子についての解析. 第61回日本化学療法学会総会・学術講演会. 6月5-6日, 2013年, 横浜.
2. 詫間隆博, 前田真之, 石野敬子, 小司久志, 二木芳人. クロストリジウム・デオフィシレ関連腸炎の臨床的検討. 第61回日本化学療法学会総会・学術講演会. 6月5-6日, 2013年, 横浜.

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

日本で分離された北米流行型 *Cryptococcus gattii* 株の病原性および菌学的性質の解明

研究分担者 大野秀明
国立感染症研究所 真菌部 室長

研究協力者 田辺公一、梅山 隆、山越 智、金城雄樹、宮崎義継
(国立感染症研究所 真菌部)
大久保陽一郎、渋谷和俊
(東邦大学医学部病院病理学講座)

研究要旨 我が国で初めて分離された北米流行型 *Cryptococcus gattii* 株2株（JP01株、JP02株）について、昨年度に続いてマウス感染モデルを用いた病原性や感染病態、ならびに菌の病原因子について解析、検討を行った。感染病態の検討では *C. gattii* 株では *C. neoformans* 株と比較し全身臓器への易播種性があるものと考えられ、病原性が強い *C. gattii* 株ほど全身臓器への播種傾向が高いと考えられた。さらに菌学的性質として倍加時間や菌体外酵素の産生能について検討したが、倍加時間と病原性の間に明らかな相関は認めず、また、菌体外酵素の産生能もいずれの株でも認められなかった。我々の検討から、極めて病原性の強い *C. gattii* 株の我が国への定着が懸念され、今後の公衆衛生学的対策の必要性が認められた。

A. 研究目的

1999年から現在に至るまで、北米太平洋岸（カナダ・バンクーバーから米国ワシントン州、オレゴン州付近）を中心とした *Cryptococcus gattii* による感染症が多発していることが報告され、その原因菌として3つの亜型（VGIIa、VGIIb、VGIIc）の *C. gattii* が存在し、しかもそのうちの2種（VGIIa、VGIIc）の菌は高病原性で致死性も高く、かつ免疫不全宿主にも発病を認めている点で注目されている。

この北米流行型の *C. gattii* については、2007年にわが国の北米への渡航歴を持た

ないクリプトコックス症患者から分離されていたことが2010年に報告され、わが国への侵入経路、感染経路とともに、その病原性、病原因子の解明やわが国での生息状況、広がりなどの調査、移植患者などの免疫不全宿主はもとより日本国民を対象とした感染対策等が課題として考えられている。このような背景のもと、本研究ではわが国で初めて臨床分離されたこの北米型 *C. gattii* 株の病原性に関して検討を行うことを目的とした。

本年度は、昨年度に引き続き、マウス感染モデルにおける病態解析と、*in vitro* での

菌学的性質の検討を継続した。

B. 研究方法

1. 対象菌株

本邦分離北米流行型 *C. gattii* 株 (JP01 株 (VGIIa)、JP02 株 (VGIIc)) を対象とし、病原性比較のための対照株として *C. gattii* R265 株 (VGIIa、北米流行株)、*C. gattii* 5815 株 (VGI、本邦分離株)、*C. neoformans* H99 株 (標準株) とした。

2. マウスに対する菌接種法

メス、9 週齢、C57BL/6J マウスにイソフルラン麻酔後経気管的に *Cryptococcus* 属を接種し、各種検討に供した。接種 *Cryptococcus* 属として、対象菌株の -80°C 保存株を YPD 液体培地 (pH5.6) で 30°C、約 48 時間培養した菌を遠心後集菌し、PBS にて 1 回洗浄後、再度 PBS に懸濁した菌液を用いた。接種菌数は接種液を段階希釈後 PDA 培地に接種し、生菌数として算出した (10^3 CFU/mouse)。

3. *Cryptococcus* 属感染マウスの病態解析

上記対象菌株を感染させたマウスについて肺、肝、脾、脳の生菌数測定、ならびに肺の病理組織学的解析を行った。各 *Cryptococcus* 属を 2. の方法で感染させ、14 日後に安楽死のうえ各臓器を摘出し、PBS と懸濁したうえでホモジネートした。その後ホモジネート液を PDA に接種し (一部は段階希釈を行った液) 分離菌数を算出した。また、肺の病理組織学的検討では右上葉を切除し、10%ホルマリン溶液に浸漬したのち、肉眼的比較、および東邦大学で顕微鏡的解析を行った。

4. 各クリプトコックス属の 37°C での発育

能、菌体外酵素産生能の検討

昨年度の *Cryptococcus* 属において病原性に関与するとされているメラニン産生能と、菌の莢膜の厚さについての検討に続き、本年度は 37°C での発育能とプロテアーゼ産生能、フォスホリパーゼ産生能について検討した。37°C での発育能は brain heart infusion (BHI) 液体培地 (pH7.4) を使用し、OD660nm での吸光度から倍加時間を測定した。また、プロテアーゼ産生能、フォスホリパーゼ産生能については Fortedar の方法 (Fortedar R, et al. Mycoses 48, 2005) により測定した。

(倫理面からの配慮について)

本研究は国立感染症研究所動物実験委員会の承認を得て、規定に従い実施した。

C. 研究結果

1. 感染マウスモデルにおける各臓器からの分離菌数 (図 1)

感染 14 日目の各臓器菌数を検討したところ、肺からはいずれの感染群からも 10^6 ~ 10^7 CFU/g tissue のクリプトコックス属が分離された。一方、他の臓器を見てみると、*C. gattii* 株では肝、脾、脳から菌が分離される個体が多く認められるのに対し、*C. neoformans* 株である H99 株は菌が分離される個体は認められなかった。また *C. gattii* 株の中でも JP02 株、R265 株、5815 株ではほぼ全例で肺以外の臓器からも菌が分離されるのに対し、JP01 株ではこれら臓器から菌が分離される個体は少なく、とくに脳からは全く分離されなかった。

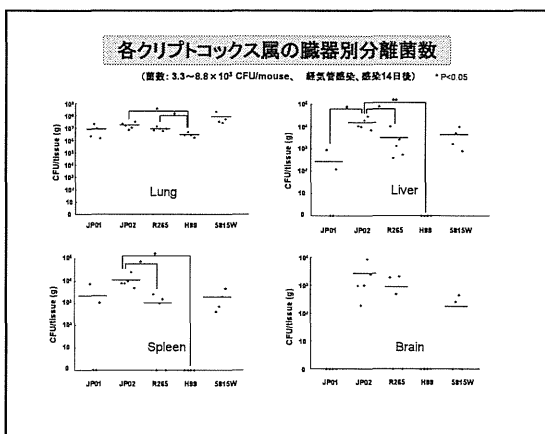
2. 肺の病理組織学的検討

肺の肉眼的所見では、JP02 株、R265 株接種マウスの肺は著明な容積増加と膿汁様

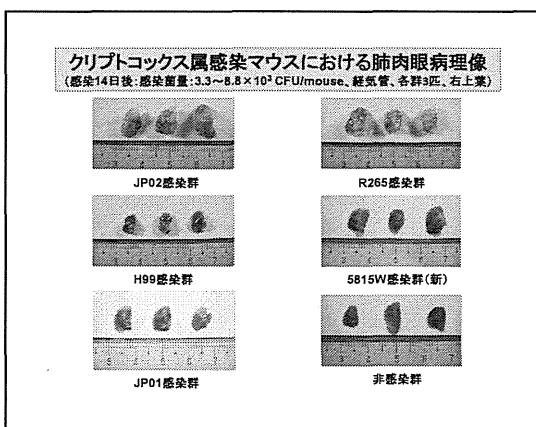
物質の貯留が認められた (図 2)。一方、H99 株感染マウスでは肺表面からも観察される多数の白色結節が観察されたが、肺容積の増加はあまり認められなかった。また、5815 株、JP01 株感染マウスでは、若干の容積増加と少量の膿汁様物質の貯留が認められた。

さらに、顕微鏡的組織像 (図 3) では、H99 株感染マウスでは、炎症細胞による肉芽腫形成が比較的良好に形成されているのに対し、JP02 株、R265 株感染マウスでは炎症細胞の出現や肉芽腫の形成に乏しく、肺の既存構造の破壊が著しかった。また、5815 株、JP01 株感染マウスではその中間的な病理組織学的所見であった。

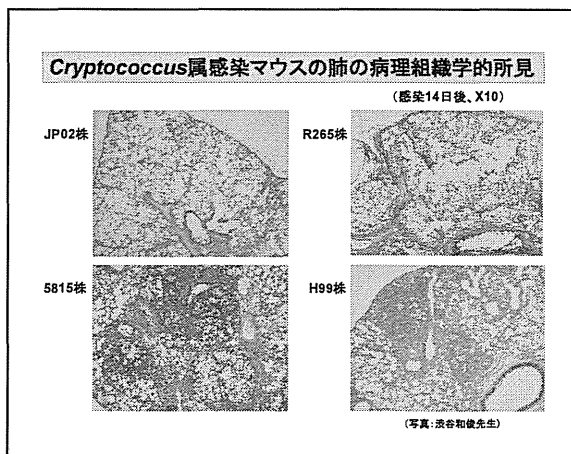
(図 1)



(図 2)



(図 3)



3. 各クリプトコックス属の 37°Cでの発育能、菌体外酵素産生能の検討

37°Cにおける倍加時間では、JP01 株、JP02 株、R265 株、5815 株、H99 株それぞれ 3.40、3.22、4.49、6.28、3.60 時間であった (図 4)。また、プロテアーゼ産生能、フォスホリパーゼ産生能については、今回検討した株全てにおいて産生能は確認されなかった (図 4)。

(図 4)

病原因子検討のまとめ					
	JP01	JP02	R265	5815	H99
倍加時間 (Doubling time[h]) BHI pH 7.4, 37°C	3.40	3.22	4.49	6.28	3.60
菌床の厚さ (平均値[mm])	6.01	5.65	3.22	6.31	2.33
液体培地による メラニン産生 (測定1日目 [OD ₆₁₀])	0.55	0.02	0.19	0	0.68
寒天培地による メラニン産生	○	○	○	○	○
ホスホリパーゼ活性	×	×	×	×	×
プロテアーゼ活性	×	×	×	×	×
ウレアーゼ活性	○	○	○	○	○

D. 考察

われわれは昨年度に引き続き、我が国で初めて分離された北米流行型 *Cryptococcus gattii* 株 2 株 (JP01 株、JP02 株) につい

て、マウス感染モデルを用いて病原性や感染病態、ならびに菌の病原因子について検討を継続して行った。その結果、新たな知見や興味深い事象が観察された。

全体を俯瞰して見ると、なぜわが国で VGIIa 型と VGIIc 型の *C. gattii* 株が分離されるに至ったのが極めて興味あることであるが、これについてはゲノム情報などを基にした検討結果が待たれる。一方、我々の検討では、VGIIc 型である JP02 株は極めて毒性の強い株であること、VGIIa 型である JP01 株は毒性の弱い株であることは、昨年度も述べたことであるが、非常に興味深いデータである。

本検討では、この病原性が病態にどう反映されるのか、菌側の因子は何かを検討した。その結果、1) 強毒型の *C. gattii* では肺における生体の反応、いわゆる炎症反応が極めて弱く、菌が認識されていない可能性が高い、2) 強毒型の *C. gattii* ほど全身に播種する傾向が強い、3) マウスの死亡は肺構造の破壊、ならびに全身臓器への播種が大きく関与していると考えられる、4) 従来のクリプトコックス属の病原因子とされている因子と今回の検討での病原性とは必ずしも相関しない、などの知見が得られた。これらの結果は、*C. gattii* における病原性を考察する上で、重要な所見と考えられるが、では *C. gattii* の病原性が何によって規定されるのか、は更なる検討が必要である。また、この問いについては JP01 と R265 の比較ゲノムの検討が有用である可能性は排除できない。

新興感染症としての *C. gattii* 感染症は今後もわが国の公衆衛生学上、監視を続けていく必要のある感染症と考えられるが、我々の検討が理解の一助となれば幸いと考える。

E. 結論

わが国で分離された北米型 *C. gattii* 株のうち JP01 株はマウスへの病原性は低く、一方 JP02 株は *Cryptococcus* 属の中でも極めて高い病原性を示す株であることが示された。また、*C. gattii* 株は *C. neoformans* 株に比較し、全身への易播種性があると考えられた。さらに、従来から考えられているクリプトコックス属の病原因子の発現と我々が検討した *C. gattii* 株の病原性との間での明らかな相関は認められなかった。

F. 健康危険情報

高病原性の北米流行型 *C. gattii* 株が流行地域（北米太平洋岸）への渡航歴のない日本人から分離された。

G. 研究発表

論文発表

1) Ueno K, Okawara A, Yamagoe S, Naka T, Umeyama T, Utena-Abe Y, Tarumoto N, Niimi M, Ohno H, Doe M, Fujiwara N, Kinjo Y, Miyazaki Y. The mannan of *Candida albicans* lacking β -1, 2-linked oligomannosides increases the production of inflammatory cytokines by dendritic cells. *Med Mycol* 51: 385-395, 2013.

2) Ohno H, Tanabe K, Umeyama T, Kaneko Y, Yamagoe S, Miyazaki Y. Application of nested PCR for diagnosis of histoplasmosis. *J Infect Chemother* 19 (5): 999-1003, 2013.

3) Kaneko Y, Miyagawa S, Takeda O, Hakariya M, Matsumoto S, Ohno H, Miyazaki Y. Real-time microscopic observation of *Candida* biofilm development and effects due to

micafungin and fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 57: 2226-2230, 2013.

4) Okubo Y, Wakayama M, Ohno H, Yamamoto S, Tochigi N, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Umeyama T, Shinozaki M, Nemoto T, Nakayama H, Sasai D, Ishiwatari T, Shimodaira K, Yamamoto Y, Kamei K, Miyazaki Y, Shibuya K. Histopathological study of murine pulmonary cryptococcosis induced by *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans*. *Jpn J Infect Dis* 66: 216-221, 2013.

5) Kaneko Y, Fukazawa H, Ohno H, Miyazaki Y. Combinatory effect of fluconazole and FDA-approved drugs against *Candida albicans*. *J Infect Chemother* 19 (6): 1141-1145, 2013.

6) Okubo Y, Tochigi N, Wakayama M, Shinozaki M, Nakayama H, Ishiwatari T, Shimodaira K, Nemoto T, Ohno H, Kaneko Y, Makimura K, Uchida K, Miyazaki Y, Yamaguchi H and Shibuya K. How histopathology can contribute to an understanding of defense mechanisms against Cryptococci. *Mediators of Inflammation*, volume 2013, article ID 465319, 2013.

7) Norkaew T, Ohno H, Sriburee P, Tanabe K, Tharavichitkul P, Takarn P, Puengchan T, Burmrungsri S, Miyazaki Y. Detection of environmental sources of *Histoplasma capsulatum* in Chiang Mai, Thailand by nested PCR. *Mycopathologia* 176 (5): 395-402, 2013.

8) 大野秀明、金子幸弘、田辺公一、梅山隆、宮崎義継. *Cryptococcus gattii* 感染症 - 新興・再興感染症 up to date-. 化学療法の

領域 29 S-1: 1144-1151, 2013.

9) 大野秀明. 結核感染症の病態・結核発症の危険因子とは?-. *治療* 95 (6): 1159-1163, 2013.

10) 大野秀明、荒岡秀樹、梅山 隆、金子幸弘、宮崎義継. 接合菌症. *臨床検査* 58 (1): 97-103, 2014.

学会発表

国際学会

1) Kamei K, Watanabe A, Yaguchi T, Muraosa Y, Toyotome T, Ohno H, Miyazaki Y. Epidemiology of imported mycoses in Japan-its past and the present status. 28th International Congress of Chemotherapy and Infection, Yokohama, 2013.

2) Sriburee P, Puengchan T, Ohno H, Tanabe K, Siriaunkul S, Lamaroon A, Chanwong S, Khamwan C, Khantawa B, Miyazaki Y. Early diagnosis of histoplasmosis by nested PCR. 6th Trends in Medical Mycology, Copenhagen, 2013.

3) Tanabe K, Ohno H, Hoang Thi Thu Ha, Nguyen Thuy Tram, Miyazaki Y. Histoplasmosis. NIID-NIHE review meeting on collaborative research program, Hanoi, 2013.

国内学会

1) 大野秀明、宮崎義継. 中枢神経系感染症の遺伝子診断の進歩・真菌性脳髄膜炎の遺伝子診断・(シンポジウム). 第54回日本神経学会学術大会、5月29日-6月1日、東京、2013.

2) 秋根 大、加藤幹朗、辻 浩史、榎村浩一、大野秀明、小林裕幸. 2 cases of cryptococcal meningitis in