

K. Remodeling of the pulmonary artery induced by metastatic gastric carcinoma: a histopathological analysis of 51 autopsy cases. *BMC Cancer*, in press.

論文発表 (和文)

1. 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
2. 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.
3. 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誌*. 60(1):174-178, 2011.
4. 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.
5. 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*. 49:612-618, 2011.
6. 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*.

49:602-606, 2011.

7. 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*. 9:343-348, 2012.

著書 (英文)

1. Okubo Y, Shinozaki M, Wakayama M, Nakayama H, Sasai D, Ishiwatari T, Nemoto T, Tochigi N, Shibuya K. *Applied Gene Histopathology: Identification of Fusarium species in tissue sections by In situ hybridization. Fungal Diagnostics: Methods and Protocols* (Louise O'Connor and Barry Glynn eds), 1st ed. Vol 968, Pg141-Pg147, 2013, Humana Press, New York.

著書 (和文)

1. 秋山一男, 大久保陽一郎, 太田利子, 久米田裕子, 坂元 仁, 渋谷和俊, 高鳥浩介, 高橋淳子, 田中真紀, 土戸哲明, 椿 和文, 村松芳多子, 森永 力, 森山康司, 渡辺麻衣子. *カビのはなし ミクロな隣人のサイエンス* (高鳥浩介, 久米田裕子 編), p86-95, 2013年, (株) 朝倉書店, 東京.

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 2011 Congress, September 6-16, 2011, Sapporo, Japan.
2. Kaneko T, Shibuya K. A PATIENT CYSTIC GRANULOMA TRICHOPHYTICUM WHO REQUIRED SURGICAL RESECTION. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 6-16, 2011, Sapporo, Japan.
 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 2011 Congress, September 6-16, 2011, Sapporo, Japan.
 4. Shibuya K, Wakayama M, Shinozuka M. WHAT'S HAPPENED BEHIND CT? International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 6-16, 2011, Sapporo, Japan.
 5. Shibuya K. Dynamic Pathophysiology of Onychomycosis. 2011 Medical Mycology Workshop-Recent Advances on Dermatmycoses, 2011, Guanzhou, China.
 6. 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.
 7. 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.
 8. Tochigi N, Ando T, Shinozaki M, Ishiwatari T, Okubo Y, Wakayama M, Nemoto T, Shibuya K. Histological analysis of Chronic Necrotizing Pulmonary Aspergillosis. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology, June 19-23, Chengdu, China
 9. Okubo Y, Wakayama M, Ohno H, Yamamoto S, Shinozaki M, Ishiwatari T, Sasai D, Tochigi N, Hasegawa C, Mitsuda A, Nemoto T, Nakayama H, Shimodaira K, Yamamoto Y, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Umeyama T, Kamei K, Miyazaki Y, Shibuya K. Difference in pathophysiology of experimental cryptococcosis between *C. gattii* and *C. neoformans*. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology, June 19-23, Chengdu,

China.

10. Wakayama M, Shimodaira K, Nakayama H, Shinozaki M, Okubo Y, Ishiwatari T, Tochigi N, Hasegawa C, Mitsuda A, Nemoto T, Shibuya K. Age-Related Analysis of Autopsy Cases in Toho University on the prevalence of Invasive Fungal Infections. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology, June 19-23, Chengdu, China
11. Ishiwatari T, Okubo Y, Izumi H, Sato F, Sasai D, Ando T, Shinozaki M, Natori K, Yamamoto Y, Tochigi N, Hasegawa C, Wakayama M, Hata Y, Nakayama H, Nemoto T, Shibuya K. Pathophysiological Implication of Reversed CT Halo Sign in Invasive Pulmonary Mucormycosis: A rare Case Report. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology, June 19-23, Chengdu, China

国内学会

1. 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, 4 月 21-22 日, 2011 年, 東京.
2. 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, 4 月 21-22 日, 2011 年, 東京.
3. 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, 4 月 21-22 日, 2011 年, 東京.

4. 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. 4 月 28-30 日, 2011 年, 横浜.
5. 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. 4 月 28-30 日, 2011 年, 横浜.
6. 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. 4 月 28-30 日, 2011 年, 横浜.
7. 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. 4 月 28-30 日, 2011 年, 横浜.
8. 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. 4 月 28-30 日, 2011 年, 横浜.
9. 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. 4 月 28-30 日, 2011 年, 横浜.
10. 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. 5月20-22日, 2011年, 福岡.
11. 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, 2011年, (東日本大震災の影響により会場開催は中止, 電子媒体やWEBにて公開).
 12. 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. 10月21-22日, 2011年, 東京.
 13. 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. 10月21-22日, 2011年, 東京.
 14. 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. 10月21-22日, 2011年, 東京.
 15. 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. 10月21-22日, 2011年, 東京.
 16. 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. 10月21-22日, 2011年, 東京.
 17. 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. 10月21-22日, 2011年, 東京.
 18. 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. 10月21-22日, 2011年, 東京.
 19. 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. 10月21-22日, 2011年, 東京.
 20. 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. 10月21-22日, 2011年, 東京.
 21. 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. 10月21-22日, 2011年, 東京.
 22. 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

- 科系連合学会学術集会. 6月16-17日, 2011年, 千葉.
23. 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. 12月1-2日, 2011年, 三重.
 24. 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, 4月14日, 2012年, 大阪.
 25. 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, 4月20-22日, 2012, 神戸.
 26. 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, 4月20-22日, 2012, 神戸.
 27. 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, 4月20-22日, 2012, 神戸.
 28. 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, 4月20-22日, 2012, 神戸.
 29. 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, 4月20-22日, 2012, 神戸.
 30. 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. 4月25日, 2012年, 長崎.
 31. 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. 4月25日, 2012年, 長崎.
 32. 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. 4月25日, 2012年, 長崎.
 33. 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. 4月25日, 2012年, 長崎.

34. 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. 4月25日, 2012年, 長崎.
35. 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. 4月26-28日, 2012年, 東京.
36. 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. 4月26-28日, 2012年, 東京.
37. 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. 4月26-28日, 2012年, 東京.
38. 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). 6月1-3日, 2012年, 千葉.
39. 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). 6月1-3日, 2012年, 千葉.
40. 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). 6月1-3日, 2012年, 千葉.
41. 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. 7月9-11日, 2012年, 東京.
42. 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. 7月9-11日, 2012年, 東京.
43. 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. 7月9-11日, 2012年, 東京.
44. 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 珠玉, 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. 7月9-11日, 2012年, 東京.

45. 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. 7月9-11日, 2012年, 東京.
46. 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. 7月9-11日, 2012年, 東京.
47. 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. 7月9-11日, 2012年, 東京.
48. 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, 7月13日, 2012年, 岐阜.
49. 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. 7月18日, 2012年, 大宮.
50. 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の経過観察. 第71回日本癌学会学術総会. 9月9-21日, 2012年, 札幌.
51. 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 玉殊, 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. 11月10-11日, 2012, 東京.
52. 磯部和順, 秦 美暢, 鍋木教平, 小林 紘, 坂本 晋, 高井雄二郎, 渋谷和俊, 高木啓吾, 本間 栄. 間質性肺炎 (IP) 合併肺癌の 2nd line 化学療法における治療後急性呼吸障害の検討. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会, 4月19-21日, 2013年, 東京.
53. 山本 愛, 磯部和順, 鍋木教平, 菊池直, 坂本 晋, 高井雄二郎, 秦 美暢, 渋谷和俊, 高木啓吾, 本間 栄. EGFR-TKI 中止後の急激な病勢増悪 (disease flare) の臨床的検討. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会, 4月19-21日, 2013年, 東京.
54. 根本哲生, 山本慶郎, 谷島 聡, 石渡誉郎, 笹井大督, 大久保陽一郎, 栃木直文, 長谷川 千花子, 密田亜希, 若山 恵, 島田英昭, 渋谷和俊. 食道扁平上皮癌早期癌における DNA メチル化の網羅的解析. 第 102 回日本病理学会総会, 6月6-8日, 2013年, 札幌.
55. 山本慶郎, 根本哲生, 石渡誉郎, 笹井大督, 大久保陽一郎, 宅間健介, 栃木直文, 長谷川千花子, 密田亜希, 岡野直樹, 若山 恵, 五十嵐良典, 渋谷和俊. 内視鏡的に切除された十二指腸乳頭部腫瘍の病理学的検討. 第 102 回日本病理学会総会, 6月6-8日, 2013年, 札幌.
56. 石渡誉郎, 大久保陽一郎, 根本哲生, 若山 恵, 山本慶郎, 笹井大督, 栃木直文, 長谷川千花子, 密田亜希, 横瀬智之, 島田英昭, 五十嵐良典, 渋谷和俊. 癌細胞関連肺動脈構造変化に関する病理学的研究. 第 102 回日本病理学会総会, 6月6-8日, 2013年, 札幌.
57. 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

- 渡譽郎, 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. 当院剖検例を用いた侵襲性真菌症の疫学的検討: 危険因子としての加齢の影響. 第 102 回日本病理学会総会, 6 月 6-8 日, 2013 年, 札幌.
58. 栃木直文, 安藤常浩, 篠崎 稔, 石渡譽郎, 笹井大督, 大久保陽一郎, 若山 恵, 根本哲生, 澁谷和俊. 慢性壊死性肺アスペルギルス症の病理組織学的検討. 第 102 回日本病理学会総会, 6 月 6-8 日, 2013 年, 札幌.
59. 大久保陽一郎, 根本哲生, 栃木直文, 石渡譽郎, 笹井大督, 下平佳代子, 山本慶郎, 長谷川千花子, 密田亜希, 若山 恵, 青山 肇, 大倉康男, 桂 奏, 藤井丈士, 西上隆之, 横瀬智之, 渋谷和俊. 多施設共同研究による gangliocytic paraganglioma の生物学的特性の解明. 第 102 回日本病理学会総会, 6 月 6-8 日, 2013 年, 札幌.
60. 鍋木教平, 佐藤敬太, 関谷宗之, 佐野剛, 杉野圭史, 磯部和順, 坂本 晋, 高井雄二郎, 渋谷和俊, 本間 栄. BCG 膀胱内還流療法施行後、粟粒結核様所見を呈した全身性反応性肉芽腫の 1 例. 第 204 回日本呼吸器学会関東地方会, 5 月 25 日, 2013 年, 東京.
61. 澁谷和俊. 医真菌: 技師にできること、医師にできること. 第 34 回関東医真菌懇話会ランチョンセミナー, 6 月 1 日, 2013 年, 東京.
62. 澁谷和俊. 真菌感染症の今日の問題 - 疫学・診断・治療から研究的知見まで -. 1. 病理からみる侵襲性アスペルギルス症・侵襲性糸状菌症. 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合同学会, 6 月 5-6 日, 2013 年, 横浜.
63. 澁谷和俊. 真菌感染症の病理. 第 102 回日本病理学会総会ランチョンセミナー4, 6 月 6 日, 2013 年, 札幌.
64. 高橋りえ, 清水雅子, 稲毛麻弥, 田辺なおみ, 篠崎 稔, 井手 忠, 栃木直文, 若山 恵, 渋谷和俊. 体腔液細胞診検体を用いたセルブロック標本の有用性に関する研究. 第 54 回日本臨床細胞学会総会 (春期大会), 6 月 2 日, 2013 年, 東京.
65. 下平佳代子, 若山 恵, 澁谷和俊, 佐地 勉. 実験的 PAH モデルマウスの遺伝子発現変動解析によるヒト特発性 PAH の病態関連因子の探索. 第 2 回日本肺循環学会学術集会, 6 月 22-23 日, 2013 年, 東京.
66. 大久保陽一郎, 大野秀明, 篠崎稔, 宮崎義継, 山本 修平, 根本哲生, 若山 恵, 栃木直文, 石渡譽郎, 中山晴雄, 下平佳代子, 安藝恭子, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 渋谷和俊. ガッティ型肺クリプトコックス症に関する感染防御機構ならびに病原因子の解析. 第 57 回日本医真菌学会総会・学術集会, 9 月 27-28 日, 2013 年, 東京.
67. 若山 恵, 下平佳代子, 中山晴雄, 篠崎稔, 大久保陽一郎, 石渡譽郎, 二本柳康博, 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侵襲性真菌症発生動向と加齢の及ぼす影響について - 侵襲臓器を中心として -. 第 57 回日本医真菌学会総会・学術集会, 9 月 27-28 日, 2013 年, 東京.
68. 安藝恭子, 篠崎稔, 大久保陽一郎, 石渡譽郎, 栃木直文, 若山 恵, 澁谷和俊.

本邦におけるアスペルギルス症発症に
関与する遺伝子多型の解析. 第 57 回
日本医真菌学会総会・学術集会, 9 月
27-28 日, 2013 年, 東京.

69. 篠崎稔, 栃木直文, 中山晴雄, 大久保
陽一郎, 石渡誉郎, 若山恵, 村山そう
明, 根本哲生, 渋谷和俊. 慢性型肺ア
スペルギルス症における細胞診断材料
を用いた菌要素の検出に関する検討.
第 57 回日本医真菌学会総会・学術集会,
9 月 27-28 日, 2013 年, 東京.
70. 栃木直文, 安藤常浩, 篠崎稔, 石渡誉
郎, 大久保陽一郎, 後町杏子, 秦美暢,
村山そう明, 若山恵, 根本哲生, 渋谷
和俊. 慢性壊死性肺アスペルギルス症
の病理組織学的検討. 第 57 回日本医
真菌学会総会・学術集会, 9 月 27-28
日, 2013 年, 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

平成23年度-25年度

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

総合研究報告書

本邦で初めて分離された *Cryptococcus gattii* VGIIa JP01 株の細胞表層多糖の構造解析

研究分担者 杉田 隆 明治薬科大学微生物学教室

研究協力者 張 音実 明治薬科大学微生物学教室

研究協力者 池田 玲子 明治薬科大学感染制御学教室

研究協力者 市川 智恵 明治薬科大学感染制御学教室

研究要旨

カナダ・バンクーバー島で集団発生した *C. gattii* 感染症の優位な遺伝子型は VGIIa 型である。特筆すべき渡航歴のない日本人から本邦で初めて VGIIa 株(=JP01 株)を分離したので、当該菌株の細胞表層多糖を解析し、併せて VGIIb/VGIIc 株のそれらと比較した。VGIIa/b/c 株莢膜多糖の ¹H-NMR スペクトルは、非常に類似していたが、異なるシグナル強度が検出された。また、VGIIa 株間の糖組成は、JP01 株とバンクーバーR265 株は類似したがその他の VGIIa 株とはキシロース含量が異なった。両者の脱アセチル化多糖類を部分加水分解し、得られたオリゴ糖を多糖類の部分加水分解と蛍光ラベル糖鎖電気泳動 (FACE)解析を行った結果、部分的に異なる多糖類が存在する可能性が示唆された。これが NMR スペクトルの違いを反映していると考えられた。

以上、免疫応答に重要な莢膜多糖の化学構造では、JP01 株は他の株に比べて細部が異なることが示唆された。

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。われわれは2010年に特筆すべき渡航歴のない日本人での初の *Cryptococcus gattii* VGIIa 型の感染例を報告した。*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。C. gattii の病原因子は多様であるが、中でも細胞表層多糖は宿主免疫応答に重要な役割を担っている。

本研究では、JP01 株の細胞表層多糖を解析し、併せて VGIIb/VGIIc 株のそれらと比較・考察した。

B. 研究方法

1) 莢膜多糖の血清学的性状：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 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 JP01 株を培養した。対照として、R265 (VGIIa)、M9030 (VGIIa)、VGIIb 株および VGIIc 株もあわせて用いた。各々の遺伝子型は MLST 法により再確認した。菌体を加熱後、上清を水で透析し、EtOH/AcOH (9:1, v/v) で粗多糖を得た。これを脱アセチル化して 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。

3) 莢膜多糖の糖組成分析：サンプルに 4 M Trifluoroacetic acid を添加し、100℃ で 3 時

間の処理を行うことにより酸加水分解をおこなった。次に、無水酢酸を用いて N-アセチル化を行い、ABEE 化試薬にて蛍光標識を行い、これを分析に供した

4) 多糖類の部分加水分解と蛍光ラベル糖鎖電気泳動 (FACE)

多糖をトリフルオロ酢酸処理しオリゴ糖を得た。これを蛍光ラベル標識後、電気泳動を行なった。

C. 研究結果

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(Table 1)。

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 ¹H-NMR スペクトル (Fig. 1) : NMR スペクトル分析から JP01 株を含めて供した全株に 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。スペクトルの帰属はされていないが 5.30 ppm のケミカルシフトの強度が JP01 株が R265 株に比べると若干低かった。また、M9030 株も MLST 解析で VGIIa であることを確認した。この株

は 5.44 ppm のシフトが出現するのに対して、JP01 株では出現していなかった。

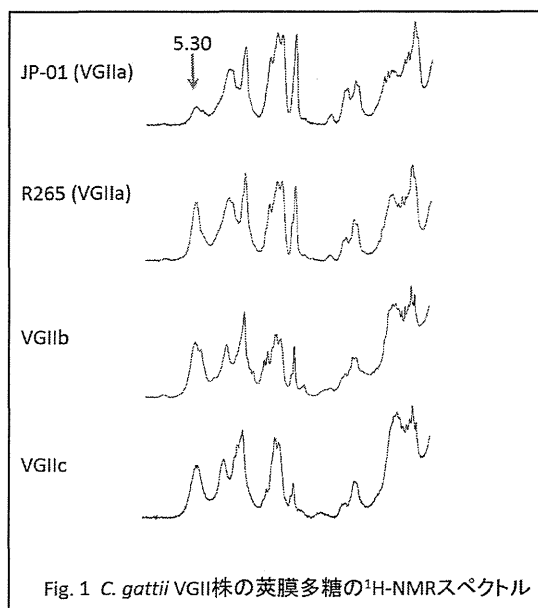


Fig. 1 *C. gattii* VGII株の莢膜多糖の¹H-NMRスペクトル

3) 莢膜多糖の糖組成分析: Mannose、Xylose、Glucuronic acid、Glucose および Galactose が検出されたが、主要な構成糖は前 3 糖であった (Fig. 2)。Mannose を 1 とした時の構成糖のモル比は、JP01 株と R265 株はほぼ同じで、Man:Xyl:GlcA=1:1:0.2 であった。しかし、M9030 株は Man:Xyl:GlcA=1:0.75:0.2 であったことから JP01 株は M9030 株より Xylose 含量が少なかった (Table 2)。

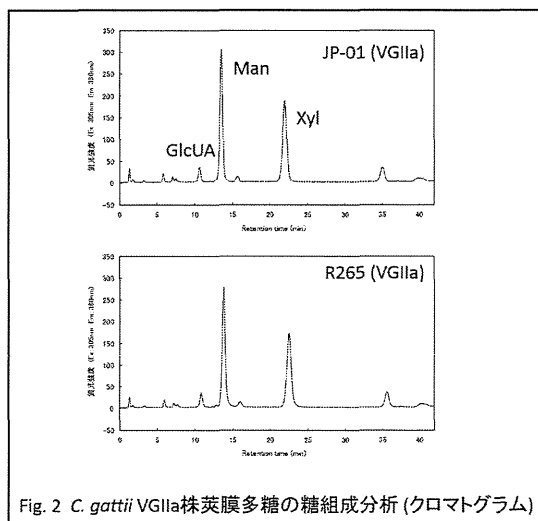


Fig. 2 *C. gattii* VGII株莢膜多糖の糖組成分析 (クロマトグラム)

糖組成	JP01株	R265株	M9030株
Mannose	1	1	1
Xylose	1	0.9	0.75
Glucuronic acid	0.2	0.2	0.2

Mannoseを1とした場合の比率

4) FACE 解析

JP-01 および R265 を部分加水分解して FACE 解析を行った結果、単糖、二糖程度の移動度を示すバンドが複数得られた。両者のバンドのプロファイルと比較した結果、2本のバンドの強度が異なっている結果を得た (Fig. 4)。

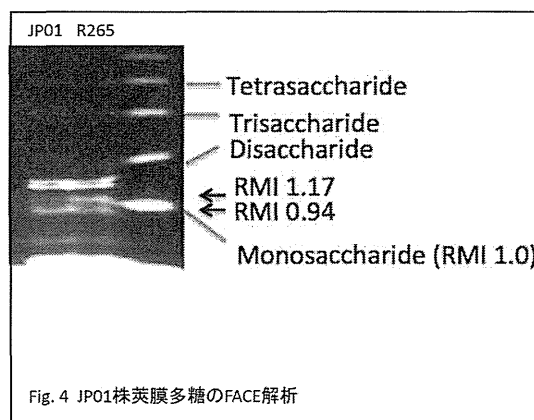


Fig. 4 JP01株莢膜多糖のFACE解析

D. 考察

本邦初の *C. gattii* VGIIa 感染患者から分離した JP01 株の莢膜多糖の化学構造の解析を行った。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。JP01 株と他の VGII 株は非常にスペクトルが類似していたが、特定のケミカルシフト部分で差異が認められた。また糖組成についても VGIIa 株間では差異がみられた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。FACE 解析で強度の異なるバンドが存在していることから、両株には酸加水分解に対

する感受性の異なる構造の多糖類が含まれていると考えられる。すなわち、両者の可溶性多糖類の組成あるいは構造は全く同じではなく、部分的に異なる多糖類が存在する可能性が示唆され、NMR スペクトルもその違いを反映していると考えられた。本構造と免疫応答の関係が興味のあるところである。

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. 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, *Arthrinium sacchari*. J Nat Prod. 74, 1645-1649, 2011
2. 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
3. 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

4. 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(1):74-80, 2012

5. Tomida J, Sakamoto D, Sugita T, Fujiwara N, Naka T, Hamada M, Morita Y, Kawamura Y: *Branchiibius cervicis* sp. nov., a novel species isolated from patients with atopic dermatitis. Syst Appl Microbiol. 34, 503-507, 2011

6. 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

7. 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 *Torichosporon 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

8. 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.

9. Fukai M, Tsukada M, Miki K, Suzuki T, Sugita T, Kinoshita K, Takahashi K, Shiro M, Koyama K. Hypoxylonols C-F,

- Benzo[*jj*]fluoranthenes from *Hypoxylon truncatum*. *J. Nat. Prod.* 75, 22-25, 2012.
- Microbiol. Immunol.* 56, 238-244, 2012
10. 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
11. Fukai M, Tsukada M, Miki K, Suzuki T, Sugita T, Kinoshita K, Takahashi K, Shiro M, Koyama K: Hypoxylonols C-F, Benzo[*jj*]fluoranthenes from *Hypoxylon truncatum*. *J Nat Prod.* 75, 22-25, 2012
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.* In press

学会発表 (国際)

1. 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 2012 2012 Congress, 9/2011, Sapporo
2. 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 2012 2012 Congress, 9/2011, Sapporo

3. Uehara C, Morohoshi Y, Sugita Takashi; The calcineurin inhibitor tacrolimus inhibits the activity of asparatyl proteases secreted by *Candida albicans*, International Union of Microbiological Societies 2012 2012 Congress, 9/2011, Sapporo
4. 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
5. 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. 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
4. 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
5. 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
6. 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
7. 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

学会発表 (国内)

1. 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
2. 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. 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
9. 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

10. 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
11. 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
12. 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
13. 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
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
17. 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
18. 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
19. 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
20. 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
21. 池田玲子、宮崎裕介、清水七帆、市川智恵、杉田隆、*Trichosporon asahii* 臨床分離株細胞表面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
22. 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
23. 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
24. 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面多糖類、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。

平成23年度-25年度

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

総合研究報告書

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
(現・大阪市立大学大学院医科学研究科 臨床感染制御学)

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、半数は無症状で胸部レントゲンの異常所見を契機に診断されることが多く、基礎疾患を有する症例が約半数で、糖尿病が最も多く、他に膠原病や血液疾患が重要であることを示した。脳髄膜炎の合併の因子は、高齢、低栄養状態などであり、予後不良因子も同様であった。治療は、脳髄膜炎の合併がない場合は、アゾール系抗真菌薬が使用されており、基礎疾患がない場合と、ある場合で、それぞれ、3、6ヶ月の治療が行われ、治療効果は高かった。疫学研究では、本邦でクリプトコックスを発症する菌は、*Cryptococcus neoformans*でgenotypeはほとんどがVNII型であった。疾患感受性遺伝子の候補遺伝子の一つであるToll-like receptor 9とmannose binding lection遺伝子についてSNPsの解析を行ったが、有意なSNPsは認めなかった。

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

1) 臨床解析・自験例

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) 臨床解析・アンケート調査

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。

3) 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・自験例

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				
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	1893.6	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	26	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。

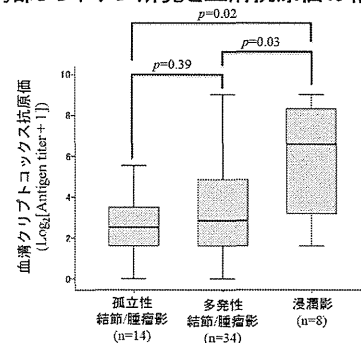
表3. non-HIV populationにおけるクリプトコックス症脳髄膜炎合併の有無と関係する因子

項目	脳髄膜炎合併					Wilcoxon test p value	
	なし		あり				
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が、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。

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、上記の治療期間では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						Wilcoxon test p value
	軽快			死亡			
	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	2056.8	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	474.53	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) 臨床解析・アンケート調査

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。

3) Genotyping