

E. 結論

同種造血幹細胞移植を受けた513例中19例、3.7%にカンジダ血症が生じていた。30日後死亡率は36.8%と高値であった。

F. 健康危険情報

疫学調査であり、特になし。

G. 研究発表

論文発表

1. Sawa N, Ubara Y, Sumida K, Hiramatsu R, Hasegawa E, Yamanouchi M, Hoshino J, Suwabe T, Uchida N, Wake A, Taniguchi S, Takaichi K. Direct hemoperfusion with a polymyxin B column versus vasopressin for gram negative septic shock: a matched cohort study of the effect on survival. *Clin Nephrol.* 2013;79(6):463-470.
2. Matsuno N, Yamamoto H, Watanabe N, Uchida N, Ota H, Nishida A, Ikebe T, Ishiwata K, Nakano N, Tsuji M, Asano-Mori Y, Izutsu K, Masuoka K, Wake A, Yoneyama A, Nakauchi H, Taniguchi S. Rapid T-cell chimerism switch and memory T-cell expansion are associated with pre-engraftment immune reaction early after cord blood transplantation. *Br J Haematol.* 2013;160(2):255-258.

学会発表

1. 荒岡秀樹. 血液疾患領域で抗真菌薬耐性は問題か. 第57回日本医真菌学会総会・学術総会. 東京. 2013.
2. Abe M, Kimura M, Araoka H, et al. C

linical and Microbiological characteristics of breakthrough candidaemia compared with non-breakthrough candidaemia. 23rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Berlin, Germany. 27-30 April 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得

1. 該当なし

実用新案登録

1. 該当なし

その他

1. 該当なし

遺伝子補助診断法を活用した病理診断リファレンス活動の現状に関する研究

研究分担者 渋谷 和俊 東邦大学医学部 病院病理学講座

研究協力者 篠崎 稔 東邦大学大森病院病理部
若山 恵 東邦大学医学部 病院病理学講座

研究要旨 深在性真菌症の病理診断においては、感染真菌の形態学的判断のみではその確定診断に苦慮することが少なくない。そこで、これまで菌種の推定を目的とした*in situ* hybridization (ISH)法およびPCR法を基幹とした病理診断領域における遺伝子補助診断法の開発を進めて来た。さらに今後、これらの手技を用いた実地医療機関での真菌症病理診断の支援における本法の応用と実用化が求められている。

本報告では、深在性真菌症の病理診断において、形態学的に鑑別が求められる*Aspergillus*属と*Pseudallescheria*属を*in situ* hybridization (ISH)法を施行する事で、明確に鑑別する事を目的として、新たに*Pseudallescheria*属を標的としたPeptide Nucleic Acid (PNA)プローブを設計しその特異性を検証した。さらに、ISH法の再現性と生産性を考慮して、マイクロプローブ染色装置を新規に導入しその染色性と特異性を検証した。

*Pseudallescheria*属を標的としたPNAプローブは、種々の感染マウスモデルにおいて良好な染色性と特異性を示した。さらに、マイクロプローブ染色装置を使用したISH法では良好な染色性を示す事を確認した。

真菌症の病理診断支援システムを構築する目的で行っているコンサルテーション活動では、起炎真菌は*Mucor* 2件、*Candida*属 1件、糸状菌 2件、二形性酵母 2件であった。これらに加えて光顕標本で病原真菌が認められなかった症例が5件あり、この中には標本中に混入した食物残渣や環境由来菌による汚染と思われた症例がみられ、真菌症への関心が高まっている証左と思われた。

治療に有用な情報を提供する真菌症の病理診断の重要性は高まっている。真菌症病理診断支援ネットワークを確立し、安定した支援を行うために、より多くのprimerやprobeの開発、ホームページ等を使用したさらなる啓発活動、また支援を行う人材の育成が急務と考えた。

これまでに本事業で確立した病理診断領域における遺伝子補助診断法による真菌症の病理診断への応用は、今後進められる真菌症診断支援ネットワークの構築に寄与すると考えられる

A. 研究目的

真菌症の病理診断において、診断標本中の菌

形態のみで菌種を特定することは困難な場合が少なくない。斯様な背景から、菌種の推定を

具体的な方法としては、病理組織学的検討には、HE染色、PAS反応、Grocott染色を行い、菌種の推定を行った。細胞診標本に関しては、提供されたパニコロウ染色、Grocott染色標本を用いて評価を行った。その後、遺伝子補助診断法として、ISH法、PCR法を適宜選択、施行した。ISH法、PCR法はいずれも当講座で構築した手法に準拠して行った。ISH法には、多数の真菌に共通の塩基配列を用いたprobeであるPanfungal、*C. albicans*に特異的な塩基配列を用いたprobe、および*Aspergillus*属に特異的な塩基配列を用いたALP、*Afut1*、及び*Fusarium*属に特異的な塩基配列を用いたprobe、*Trichosporon*属に特異的な塩基配列を用いたprobe、前述の*Pseudallescheria*属に特異的な塩基配列を用いたprobeの各probeを用いた。PCR法に関しては、Panfungalのほか、*Mucor*をターゲットとしたnested PCR、*Aspergillus*属をターゲットとしたnested PCR、*Fusarium*属をターゲットとしたnested PCR、*Pseudallescheria*属ターゲットとしたPCRを随時行った。糸状菌の鑑別を目的とした遺伝子補助診断のアルゴリズムの1例を図4に示す。

遺伝子補助診断のアルゴリズム(糸状菌)

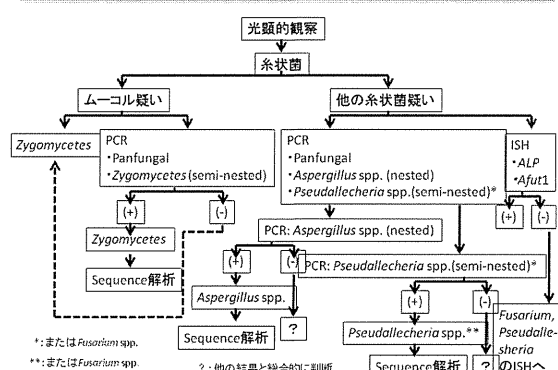


図4. 糸状菌の鑑別を目的とした遺伝子補助診断のアルゴリズム

C. 研究結果

1. *A. fumigatus*, *A. terreus*, *P. boydii*, *F. solani*感染マウスにおける*Pseudallescheria*属を標的としたPNAプローブの特異性に関する検討では、*P. boydii*の菌体に特異的なシグナルを認め(図5:上段)、他の3菌種ではシグナルを認めなかった。一方、PanfungalプローブによるISH法では全ての菌の菌体にシグナルが認められ、評価可能な核酸の保存性が検証された(図5:下段)。

る検討では、*P. boydii*の菌体に特異的なシグナルを認め(図5:上段)、他の3菌種ではシグナルを認めなかった。一方、PanfungalプローブによるISH法では全ての菌の菌体にシグナルが認められ、評価可能な核酸の保存性が検証された(図5:下段)。

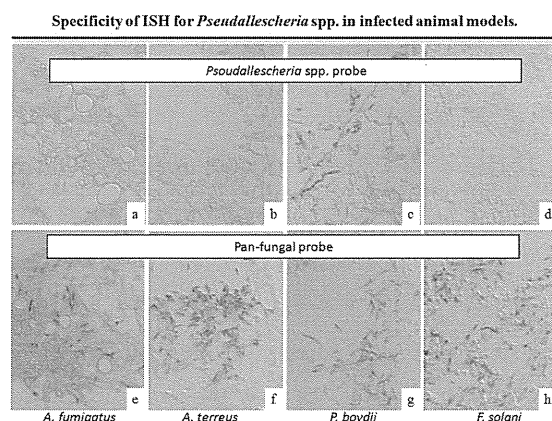


図5. 4種の感染マウスモデルにおける*Pseudallescheria*属を標的としたPNAプローブの特異性に関する検討

2. マイクロプローブ染色装置の有用性を検証するために施行した*Trichosporon*属を標的としたPNAプローブによるISH法において、*T. asahii*の菌体に強いシグナルが観察された。一方、*C. albicans*においてシグナルは得られず、本装置を使用した際においても、十分な染色性と特異性が得られることを確認した(図6)。

マイクロプローブ染色装置を用いた真菌感染病理組織標本に対する迅速診断

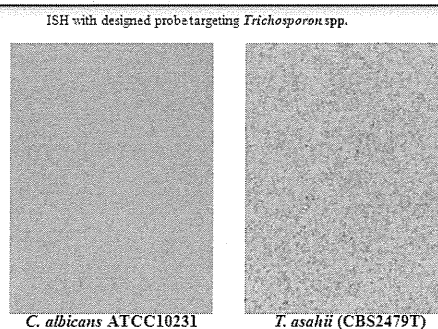


図6. マイクロプローブ染色装置を用いた*Trichosporon*属プローブによるISH法

3. 2013年4月～2014年1月の当講座における真菌症の病理診断コンサルテーション依頼件数は12件であった。

依頼経路としては、担当医から直接の依頼が8件、関連施設を経由した依頼が4件であった。

提供された試料の種類は、遺伝子補助診断を行うに適切な未染色標本が提供されたものが8件、染色済み組織標本または細胞診標本のみの提供が4件であった。

これらのうち、5例について遺伝子補助診断を施行した。その内訳は、ISH法とPCRを併せて行った症例が施行中の1件を含めて2件、PCR法のみが2件、ISHのみが1件であった。PCR法陽性例についてはシーケンス解析を施行中である。

判定された菌種については、*Aspergillus*属0件、*Mucor*2件、*Pseudallescheria*0件、*Fusarium*0件、*Candida*属1件であった。この他、病理組織標本の観察では糸状菌と思われたが遺伝子補助診断法で現時点で菌種が確定できなかった症例が2件、二形性酵母が推測されたが菌種が確定できなかった症例が2件であった。また光顕標本で病原真菌が認められなかった症例が5件あり、この中には標本中に混入した食物残渣や環境由来菌による汚染と思われた症例がみられた。

D. 考察

組織標本上で*Aspergillus*属と形態学的に鑑別を要する真菌として、*Fusarium*属や*Pseudallescheria*属などの糸状菌が挙げられる。これまで我々は*Fusarium*属を標的としたPNAプローブによるISH法を開発し、その特異性について検討してきた。今回作製した*Pseudallescheria*属を標的としたPNAプローブの特異性は、種々の真菌の感染マウスにおいて検証されたことから、本プローブによるISH法は、病理診断材料中において、形態学的に鑑別が求められる*Aspergillus*属と*Pseudallescheria*属を高

い精度で鑑別し得る可能性が示唆された。今後、人体組織での検証が望まれる。

真菌症の病理診断コンサルテーションについては、12件中8件において未染色標本またはPCR用切片が提供されており、形態学的診断に加えて遺伝子補助診断が望まれる症例の割合が多かった。

一方で、光顕標本で病原真菌が認められなかった症例が5件あり、臨床医や検査医の間に真菌症への関心が高まっている証左と思われるのと同時に、いわゆるFalse mycosisの増加が認められた。

また、糸状菌の鑑別を目的とした依頼が多かったが、*Mucor*に関する依頼2件は、培養で分離ができなかったために診断、あるいは研究報告の根拠として遺伝子補助診断法を望む依頼であった。*Mucor*に関しては信頼できるprimerを使用したPCRを行っているが、形態学的に*Mucor*が疑われても時に陰性となる症例もあり、*Mucor*を標的としたISH法を確立することで検出率の上昇が期待できると思われた。

さらに、形態学的に*Aspergillus*や*Mucor*以外の糸状菌である可能性のある症例の解析依頼も増加しており、酵母状真菌においてもカンジダか否か確定困難な症例があった。これらから、ISH法、PCR法ともにより様々な真菌に対するprobe、primerを開発し、検討する必要があると考えられた。

臨床の場での治療に有用な情報を提供する真菌症の病理診断の重要性は高まっており、より広い診断支援ネットワークを確立し、安定した支援を行うことが必要と思われる。支援を安定して供給する上で、ホームページ等を使用した啓発活動、また支援を行う人材の育成が急務と思われた。

E. 結論

今年度作製した*Pseudallescheria*属を標的としたPNAプローブの特異性について検証し

た。また、後方視的多施設共同疫学観察研究や真菌症病理診断ネットワークの構築コンサルテーションに寄与するためにISH法の能率化を図る目的で、キャピラリーアクション法によるマイクロプローブ染色装置の応用性の検証を行った。

真菌症の病理診断支援のためのコンサルテーションシステムおよびネットワーク構築のためには、より多くのprimerやprobeの開発はもとより、ホームページ等を使用した啓発活動、および支援を支える人材の育成が必要と考える。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

論文発表 (英文)

1. Zhi Y, Sasai D, Okubo Y, Shinozaki M, Nakayama H, Yamagata Murayama S, Wakayama M, Ide T, Zhang Z, Shibuya K. Comparison between the effectiveness of polymerase chain reaction and in situ hybridization in detecting the presence of pathogenic fungi by using the preserved DNA in formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. *Jpn J Infect Dis.* 66:173-179, 2013.
2. 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.
3. Okubo Y, Ishiwatari T, Izumi H, Sato F, Aki K, Sasai D, Ando T, Shinozaki M, Natori K, Tochigi N, 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. *Diagnostic Pathology* 17:82 (online journal), 2013.
4. Oda M, Saraya T, Wakayama M, Shibuya K, Ogawa Y, Inui T, Yokoyama E, Inoue M, Shimoyamada H, Fujiwara M, Ota T, Takizawa H, Goto H. Calcium oxalate crystal deposition in a patient with Aspergilloma due to *Aspergillus niger*. *J Thorac Dis.* 5:E174-178, 2013.
5. 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, Shibuya K. How histopathology can contribute to an understanding of defense mechanisms against cryptococci. *Mediators Inflamm.* 465319 (online journal), 2013.
6. Tochigi N, Okubo Y, Ando T, Wakayama M, Shinozaki M, Gocho K, Hata Y, Ishiwatari T, Nemoto T, Shibuya K. Histopathological implications of *Aspergillus* Infection in Lung. *Mediators Inflamm.* 809798 (online journal), 2013.
7. Ishiwatari T, Okubo Y, Tochigi N, Wakayama M, Nemoto T, Kobayashi J, Shinozaki M, Aki K, Sasai D, Yamamoto Y, Nakayama H, Shibuya K. Re

modeling 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. 若山 恵, 斎藤円佳, 渋谷和俊: 目で見る真菌と真菌症(23) 真菌症診断の新しい病理学. 化学療法の領域 29:2000-2010, 2013.

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), pp86-95 (株) 朝倉書店, 東京, 2013

学会発表

国際学会

1. 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
2. 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

s between *C. gattii* and *C. neoformans*. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology, June 19-23, Chengdu, China

3. 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
4. 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. 磯部和順, 秦 美暢, 鏑木教平, 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.
2. 山本 愛, 磯部和順, 鏑木教平, 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.
3. 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.
 4. 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.
 5. 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.
 6. 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. 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.
 7. 栃木直文, 安藤常浩, 篠崎 稔, 石渡誉郎, 笹井大督, 大久保陽一郎, 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102回日本病理学会総会, 6月6-8日, 2013年, 札幌.
 8. 大久保陽一郎, 根本哲生, 栃木直文, 石渡誉郎, 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.
 9. 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.
 10. 渋谷和俊. 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.
 11. 渋谷和俊. 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.
 12. 渋谷和俊. 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.
 13. 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.
 14. 下平佳代子, 若山 恵, 渋谷和俊, 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.
 15. 牧野 崇, 後藤英典, 肥塚 智, 大塚 創, 佐藤史朋, 田巻一義, 笹本修一, 若山 恵, 渋谷和俊, 秦 美暢. 右中葉肺嚢胞と横隔膜に異所性子宮内膜を認めた月経随伴性気胸の1例. 第17回日本気胸・嚢胞性肺

- 疾患学会，9月6-7日，東京。
16. 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，石渡誉郎，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。
 17. 若山恵，下平佳代子，中山晴雄，篠崎稔，大久保陽一郎，石渡誉郎，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。
 18. 安藝恭子，篠崎稔，大久保陽一郎，石渡誉郎，栃木直文，若山恵，渋谷和俊. 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。
 19. 篠崎稔，栃木直文，中山晴雄，大久保陽一郎，石渡誉郎，若山恵，村山琮明，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。
 20. 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，村山琮明，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。
 21. 若山 恵. チームワークで挑む侵襲性糸状菌症—播種性ムーコル症の診断と集学

的治療—、診断のポイントと病理学的解説.
第75回日本血液学会学術集会 コーポレートセミナー18，10月12日，2013年，札幌。

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）
分担研究報告書

新興・日和見真菌症の管理に寄与する実験室的診断法等の開発に関する研究

研究分担者 榎村 浩一 帝京大学大学院 医学研究科 宇宙環境医学研究室
帝京大学大学院 医療技術学研究科 臨床検査学専攻
帝京大学アジア国際感染症制御研究所
帝京大学医真菌研究センター
帝京大学医療共通教育センター

研究要旨 日和見真菌感染の原因となる新興真菌のレファレンス機能を果たし、以て国内における日和見病原真菌および真菌症の起因菌・診断・感受性等の状況を明らかにすると共に、サーベイランス等に寄与することを目的として行った、1) Loop-primerの設計による *Trichophyton tonsurans* 検出・同定用LAMP反応の加速と高感度化、2) MALDI-TOF MS による *Malassezia*同定データベースの作成と乳児脂漏性湿疹の解析、および3) 真菌に再分類されたmicrosporidia感染症の診断・治療を目的とする基盤研究成果を報告する。

A. 研究目的

本研究では、日和見真菌感染の原因となる新興真菌のレファレンス機能を果たし、以て国内における日和見病原真菌および真菌症の起因菌・診断・感受性等の状況を明らかにすると共に、サーベイランス等に寄与することを目的とする。また、この目的を可能とするために、必要な実験室的診断法等を開発する。

具体的には本年度の研究として、以下の小項目毎の目的を設定した。

1. Loop-primerの設計による *Trichophyton tonsurans* 検出・同定用LAMP反応の加速と高感度化：昨年度までに作成した *T. tonsurans* 特異的LAMP (Loop-mediated isothermal AMPLification) 系を臨床検体に適用するためには、その反応時間を加速し、感度を向上させることが望ましい。これを可能にする方法を検討し、その効果を検証する。

2. MALDI-TOF MS による *Malassezia*同定データベースの作成と乳児脂漏性湿疹の解

析：従来検査室で行われている常法では同定困難なマラセチア菌種の同定が可能となるMALDI-TOF MS (マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析、Matrix-assisted laser desorption and ionization-time-of-flight mass spectrometry) データベースを新規開発するとともに、本法を用いた健康乳児と脂漏性皮膚炎患児における皮膚マラセチア属分離頻度の検討を行うことによりその効果を検証する。

3. 真菌に再分類されたmicrosporidia感染症の診断・治療を目的とした基盤研究：microsporidiaは微孢子虫とも呼ばれ、永らくヒトを含む多くの動物に感染する原生生物(原虫)と認識されてきたが、最近の分子生物学的解析によって真菌に再分類された。この事実によって、本菌の研究は寄生虫学領域の研究者の手を離れ、真菌研究者の研究課題となった。本菌に属する真菌の内、少なくとも十数種のヒト病原菌種(健康人感染の起因菌も含む)が報告されて

おり、ヒト罹患率は報告によって数から数十%に及ぶ、ありふれた病原体と考えられている。しかし、人工培地で培養が出来ない事などの扱い難さから、本菌のヒト感染に関する研究者は稀少であり、本菌感染症は顧みられなかった真菌関連健康障害 (Neglected Fungal Health Disorders; NFHD) の一つとして放置されている可能性がある。そこで本菌感染の病態を明らかにすると共に、その診断および治療法を検討する基盤を与えるために、本菌の安定した培養を可能にし、分子生物学的に診断するための研究を行う。

B. 研究方法

1. Loop-primerの設計による *Trichophyton tonsurans* 検出・同定用LAMP反応の加速と高感度化: 昨年度までの研究によって開発された *T. tonsurans* 特異的LAMP系を用いた迅速遺伝子検査法の反応時間を加速し、感度を向上させるためには、LAMP産物のループ部分に特異的なプライマー (loop-primerと呼ばれる) の利用が効果的である (図1A) とされる。そこで、本LAMP系に適用できるloop-primerを設計し、その効果をプラスミド鋳型に対する反応成によって検証する。

2. MALDI-TOF MS による *Malassezia* 同定データベースの作成と乳児脂漏性湿疹の解析: 先ず、本属における主要8菌種の基準株および代表的標準株を用いてMALDI-TOF MSのデータベースを作成し、上記データベースによる同定可能性を、標準株および保存株や臨床分離株を用いて解析すると共に、リボソームRNA遺伝子塩基配列に基づいた同定結果と比較・評価する。

また、乳児1か月健診においてテープ (Opsite) を使用して集めたサンプルから、本菌選択培地を用いて得られた臨床分離株を培養し、本法により菌種を同定する。これによって、健常乳児および脂漏性湿疹患児におけるマラセチア属

菌種分離頻度を解析する (論文発表2 参照)。

3. 真菌に再分類された *microsporidia* 感染症の診断・治療を目的とした基盤研究: 本菌の基準種であり、ヒト感染例も多い *Encephalitozoon cuniculi* を用い、先ずは組織培養を用いた安定な培養系を樹立する。また、本菌を検出同定するための遺伝子同定系を検討する。

C. 研究結果

1. Loop-primerの設計による *Trichophyton tonsurans* 検出・同定用LAMP反応の加速と高感度化: ループ領域から設計したLoop-primer2本 (LFおよびLB) をLAMP反応系に添加し、 10^5 copies/reactionのプラスミド鋳型の増幅陽性時間を観察したところ、何れの反応も鋳型無添加 (N) では増幅を認めなかったが、鋳型添加 (P) 時には増幅を認めた (図1)。増幅に要した反応時間は、loop-primer無添加時には34分であったのに対して、LFまたはLBのいずれか一方のloop-primer添加時には21分 (無添加の62%)、両方のloop-primer添加時には16分 (無添加の47%) であった。

2. MALDI-TOF MS による *Malassezia* 同定データベースの作成と乳児脂漏性湿疹の解析: 主要8菌種の基準株から、良好なスペクトラムが得られた (図2)。そこで、より多くの標準株に対する同定を試みたところ、MALDI-TOF MS によるスコアバリューが、低いものでも1.6以上では、種レベルの同定結果が塩基配列による同定結果と一致していた (表1)。また、1か月乳児でのマラセチア検出率は、健常乳児皮膚において44%であったのに対して、脂漏性皮膚炎乳児皮膚では68%と高い検出率を示した。この際、臨床分離のすべての株においてMALDI-TOF MSの同定結果は遺伝子解析法と完全に一致した。

3. 真菌に再分類された *microsporidia* 感染症の診断・治療を目的とした基盤研究: イヌ腎

腫瘍由来組織 (MDCK ; 図 3) および、ヒト肺繊維細胞 (図 4) の組織培養上に *E. cuniculi* を感染させ、安定した培養系の樹立に成功した。また、培養菌体から抽出した DNA より、microsporidia ユニバーサル、および *E. cuniculi* 特異的プライマーによる遺伝子検出・同定の可能性が示された。

D. 考察

1. Loop-primer の設計による *Trichophyton tonsurans* 検出・同定用 LAMP 反応の加速と高感度化：本研究によって検討された loop-primer 添加 LAMP では、良好な反応時間の短縮効果が認められ、検出感度の向上が期待された。これらのプライマーセットを以て、次年度は臨床検体から直接 *T. tonsurans* を検出する LAMP 診断系の開発を期することができる。
2. MALDI-TOF MS による *Malassezia* 同定データベースの作成と乳児脂漏性湿疹の解析：MALDI-TOF MS は、表現形質による同定が困難なマラセチアに関しても簡便で安価かつ信頼性の高い同定法となり得ることが示された。近年、カテーテル関連感染症の原因としても問題となっている *Malassezia* 関連疾患の診断、治療、および研究に、本法の有用性が期待される。
3. 真菌に再分類された microsporidia 感染症の診断・治療を目的とした基盤研究：本菌の培養が可能となったことから、本菌の感染病態等の解析が可能となった上、次期には治療に必要な抗真菌薬の感受性測定法を検討したい。また、診断的には通常の PCR 系を本研究では検討したが、次期に向けては定量 PCR 法の検討を行う。

E. 結論

本研究の成果として以下の行政施策への貢献の可能性が期待できる。

1. 地方衛生研究所等においても実施可能な、*T. tonsurans* 感染症診断キットが提供される。
2. 真菌症対策上必要な、*Malassezia* 等我が国における病原真菌叢について解析法が提供され、そのデータが蓄積される。
3. 新興真菌感染症として注目される Microsporidia 感染の病態が明らかにされ、その診断・治療法の基盤が提供される。

F. 健康危険情報

現状において国民に発信する情報はない。

G. 研究発表

論文発表

1. Tamura T, Asahara M, Yamamoto M, Yamaura M, Matsumura M, Goto K, Rezaei-Matehkolaei A, Mirhendi H, Makimura M, Makimura K: In vitro susceptibility of dermatomycosis agents to six antifungal drugs and evaluation of combined effects of amorolfine and itraconazole using fractional inhibitory concentration index in dermatophytes. Microbiol immunol accepted October 2013
2. Yamamoto M, Yamaura M, Makimura K et al: Utilization of MALDI-TOF MS for identification of infantile seborrheic dermatitis-causing *Malassezia* and incidence of culture-based cutaneous *Malassezia* microbiota of one-month-old infants. J Dermatol accepted in October 2013
3. Ogawa H, Fujimura M, Takeuchi Y, Makimura K: Dealing with cough-related laryngeal sensations for a substantial reduction in chronic cough. Pulm Pharmacol Ther accepted 2013 Jun.

4. Abastabar M, Mirhendi H, Rezaei-Matehkolaei A, Shidfar MR, Kordbacheh P, Makimura K: Restriction analysis of β -tubulin gene for differentiation of the common pathogenic dermatophytes. *J Clin Lab Anal* 2013 June accepted
5. Ogawa H, Fujimura M, Satoh K, Makimura K: Is Bjerkandera allergy affected by the arrival of yellow sand dust? *Allergology International*, 2013 May accepted.
6. Zarrinfar H, Mirhendi H, Makimura K, Satoh K, Khodadadi H, Paknejhad O: Use of Mycological, Nested-PCR and Real-Time PCR Methods on BAL Fluids for Detection of *Aspergillus fumigatus* and *A. flavus* in Solid Organ Transplant Recipients. *Mycopathologia* 2013 March accepted.
7. Toya T, Shinohara A, Tatsuno K, Seo S, Nannya Y, Ichikawa M, Makimura K, Moriya K, Kurokawa M: A case of *Schizophyllum commune* sinusitis following unrelated cord blood transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol*. 2013 98(2): 261-263.
8. Satoh K, Maeda M, Umeda Y, Sugamata M, Makimura K: *Cryptococcus lacticolor* sp. nov. and *Rhodotorula oligophaga* sp. nov., novel yeasts isolated from the nasal smear microbiota of Queensland koalas kept in Japanese zoological parks. *Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology*. 2013 104:83-93.
9. Fukai T, Hiruma M, Ogawa Y, Ikeda S, Ikeda H, Sano A, Makimura K: A Case of *Phaeoophomycosis* Caused by *Exophiala oligosperma* Successfully Treated with Local Hyperthermia. *Med Mycol J*. 2013 54(3):297-301.
10. Monden Y, Yamamoto S, Yamakawa R, Sunada A, Asari S, Makimura K, Inoue Y: First case of fungal keratitis caused by *Pestalotiopsis clavispora*. *Clinical Ophthalmology*. 2013 7:2261-2264.
11. Yamaura M, Satoh K, Yamazaki T, Ogawa H, Makimura K: Specific Detection of *Bjerkandera adusta* by Polymerase Chain Reaction and its Incidence in Fungus Associated Chronic Cough. *Mycopathologia*. 2013 176:337-343.
12. Ogawa H, Fujimura M, Ohkura N, Makimura K: Implications of high antifungal susceptibility on *Schizophyllum commune*-Associated Allergy in Clinical Practice. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Nov; 57(11):5783.
13. Ogawa H, Fujimura M, Ohkura N, Makimura K: Chronic cough management (II): dealing with a sensation of irritation in the throat. *Respirology*. 2013 Nov;18(8):1278-9.
14. Ogawa H, Fujimura M, Takeuchi Y, Makimura K: Impact of *Schizophyllum* sensitization on decline of lung function in asthma. *J Asthma*. 2013 Sep;50(7):764-768.
15. Ogawa H, Fujiwara M, Satoh K, Makimura K: Integrated research on the association between yellow sand and Bjerkandera allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Sep&Oct;1(5): 543.
16. Onozaki M, Makimura K, Satoh K, Hasegawa A: Detection and

- identification of genotypes of *Prototheca zopfii* in clinical samples by quantitative PCR analysis. *Jpn J Infect Dis* 2013 Sep; 66(5): 383- 390.
17. Mohammadi R, Mirhendi H, Rezaei-Matehkolaei A, Ghahri M, Shidfar MR, Jalalizand N, Makimura K: Molecular identification and distribution profile of *Candida* species isolated from Iranian patients. *Med Mycol*. 2013 Aug; 51: 657-663.
18. 榎村浩一 : V 真菌感染症 接合菌症(ムールコル症). p586-590. 感染症症候群(第2版)上 病原体別感染症編, 日本臨床, 大阪, 2013.7
19. Ogawa H, Fujimura M, Takeuchi Y, Makimura K : Chronic cough management: dealing with a sensation of mucus in the throat. *Respirology*. 2013 May;18(4):732-3.
20. Zarrinfar H, Makimura K, Satoh K, Khodadadi H, Mirhendi H: Incidence of pulmonary aspergillosis and correlation of conventional methods with Nested-PCR and Real-time PCR assay using BAL fluid in Intensive Care Unit patients. *J Clin Lab Anal*. 2013 May; 27(3): 181-185
21. 籠手田 聡子, 野村 桂, 橋口 道俊, 川口 城毅, 奥 英二郎, 大崎 浩一, 中村 剛之, 毛利 文彦, 今村 理恵, 関 律子, 長藤 宏司, 榎村 浩一, 岡村 孝: HLA 半合致移植後に発症した *Mucor indicus* による致死的接合菌症. *臨床血液*, 54(3):311-315, 2013.03
22. 榎村浩一: カンジダ症. p503-504, アスペルギルス症. p504-506, クリプトコックス症. p506-507, ニューモシスチス症. p507-508. *臨床病態学* 2巻(北村聖 総編集), ヌーヴェルヒロカワ, 東京, 2013年(平成25年)3月25日第2版1刷発行(平成18年11月30日初版発行)
23. Khodadadi H, Mirhendi H, Mohebbali M, Kordbacheh P, Zarrinfar H, Makimura K: *Pneumocystis jirovecii* Colonization in Non-HIV-Infected Patients Based on Nested-PCR Detection in Bronchoalveolar Lavage Samples. *Iran J Public Health*. 2013 Mar 1; 42(3):298-305.
24. Miyajima Y, Satoh K, Uchida T, Yamada T, Abe M, Watanabe SI, Makimura M, Makimura K: Rapid real-time diagnostic PCR for *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes* in patients with tinea unguium and tinea pedis using specific fluorescent probes. *J Dermatol Sci*. 2013 Mar;69(3):229-235.
25. Rezaei-Matehkolaei A, Makimura K, de Hoog S, Shidfar MR, Zaini F, Eshraghian M, Naghan PA, Mirhendi H: Molecular epidemiology of dermatophytosis in Tehran, Iran, a clinical and microbial survey. *Med Mycol*. 2013 Feb; 51(2):203-207.
26. Ogawa H, Fujimura M, Makimura K, Takeuchi Y: Clinical experience with low-dose itraconazole in chronic idiopathic cough. *Cough*. 2013 Jan; 14; 9(1):1.

学会発表

1. 浅原 美和, 川上 小夜子, 厚川 喜子, 石垣 しのぶ, 田中 孝志, 榎村 浩一, 斧 康雄, 古川 泰司: マイクロスキヤン W/A96Plus と質量分析装置 VITEK MS における細菌同定精度の比較検討. *臨床*

- 微生物学会, 神奈川 (パシフィコ横浜), 2013年2月3日(臨床病理,60巻補冊:150,2012.10)
2. 浅原 美和, 川上 小夜子, 長井 慎一郎, 厚川 喜子, 石垣 しのぶ, 田中 孝志, 榎村 浩一, 斧 康雄, 古川 泰司: クロモアガー-MDRP スクリーン培地の検討. 臨床微生物学会, 神奈川(パシフィコ横浜), 2013年2月3日(日本臨床微生物学雑誌 22巻4号 Page181(2012.12))
 3. 田村 俊, 比留間 翠, 小川 祐美, 廣瀬 伸良, 比留間 政太郎, 浅原 美和, 山本 美佳智, 松村 充, 後藤 一雄, 榎村 浩一: *Trichophyton tonsurans* における抗真菌剤7薬剤の感受性パターンの検討. 臨床微生物学会, 神奈川 (パシフィコ横浜), 2013年2月2日(日本臨床微生物学雑誌, 22巻4号 Page170(2012.12))
 4. 石垣 しのぶ, 川上 小夜子, 浅原 美和, 厚川 喜子, 榎村 浩一, 斧 康雄, 古川 泰司: VITEK MS(MALDI-TOF MS)による酵母様真菌の同定精度と臨床的有用性の検討. 臨床微生物学会, 神奈川 (パシフィコ横浜), 2013年2月2日(日本臨床微生物学雑誌, 22巻4号 Page139(2012.12))
 5. 榎村浩一: 真菌症フォーラム, 東京 (第一ホテル東京), 2013年2月16日 (土)
 6. 榎村浩一: *Pneumocystis jirovecii* とは何か? 静岡呼吸器感染症談話会, 静岡 (ホテルアソシア静岡), 2013年3月9日 特別講演
 7. 村上 智哉, 鎌田 一宏, 岡田 優基, 秋根 大, 辻 浩史, 小林 裕幸, 玉岡 晃, 榎村 浩一, 宮崎 義継, 徳田 安春: 非 AIDS 患者のクリプトコックス髄膜炎の1例. 第595回日本内科学会関東地方会例会、千葉 (比内会館)、2013年3月9日 (土)
 8. 榎村浩一: 病原真菌の新しい分類と学名. 第86回日本細菌学会総会 ワークショップ10「真菌研究のニューフロンティア」, 千葉(幕張メッセ), 2013年3月20日(水) (日本細菌学雑誌, 68(1): 114, 2013.02)
 9. 佐藤一朗, 西山彌生, 山崎丘, 杉田隆, 辨野義己, 榎村浩一: 国際宇宙ステーション「きぼう」における微生物研究 Microbe-II 中間報告. 第86回日本細菌学会総会, 千葉(幕張メッセ), 2013年3月18~20日(月~水) ポスター (日本細菌学会誌, 68(1): 226, 2013.02)
 10. 榎村浩一: 真菌症の検査・治療の実際. 八戸病院薬剤師会 青森 2013年3月22-23日 特別講演
 11. 榎村浩一: 病原真菌と有人宇宙環境における健康障害. 第3回小児 Febrile Neutropenia 研究会, 広島 (広島市中区中町、三井ガーデンホテル広島), 2013年4月19日 (金) 特別講演
 12. 榎村浩一: 国際宇宙ステーション「きぼう」における微生物研究. 日本臨床皮膚科医会北海道ブロック第55回研修講演会, 北海道(札幌市中央区、ロイトン札幌), 2013年4月20日 (土) 特別講演
 13. 榎村浩一: 大阪 Microbiology 2013 年5月20日
 14. 榎村浩一: 宇宙に開く医真菌. 第34回関東医真菌懇話会, 東京 (帝京大学板橋キャンパス), 2013年6月1日 (土) 会長講演
 15. 楊彩佳, 田中隆光, 大西誉光, 神田奈緒子, 榎村浩一, 渡辺晋一: 続発性皮膚クリプトコックス症の1例. 第34回関

- 東医真菌懇話会, 東京 (帝京大学板橋キャンパス), 2013年6月1日 (土)
16. 山本美佳智、楊彩佳、山浦真理子、戸根一哉、田村俊、川上小夜子、山崎丘、佐藤一朗、榎村浩一: MALDI-TOF MS によるマラセチア同定法の検討. 第34回関東医真菌懇話会, 東京 (帝京大学板橋キャンパス), 2013年6月1日 (土)
 17. 吉原久直、小泉佑太、田中祐輔、杉本直也、中瀬裕子、戸田貴子、田宮浩之、小島康弘、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、田嶋誠、長瀬洋之、榎村浩一、山口正雄、大田健: *Pseudallescheria boydii* による副鼻腔炎から真菌性気管支肺炎を併発した胸腺腫の1例. 第34回関東医真菌懇話会, 東京 (帝京大学板橋キャンパス), 2013年6月1日 (土)
 18. 藤崎竜一、田中孝志、榎村浩一、佐川俊世、坂本哲也: 帝京大学付属病院において3年間に観察された真菌血症とその診断・治療・転帰に関する検討. 第34回関東医真菌懇話会, 東京 (帝京大学板橋キャンパス), 2013年6月1日 (土)
 19. 榎村浩一: 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 ニューモシスチス症. 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, 神奈川 (パシフィコ横浜), 2013年6月5日 (感染症学雑誌 87(臨増): 139, 2013.05)
 20. 秋根大、加藤幹朗、辻浩史、榎村浩一、大野秀明: 2 cases of cryptococcal meningitis in HIV-uninfected healthy patients. 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, 神奈川 (パシフィコ横浜), 2013年6月5-6日
 21. 楊彩佳、田中隆光、大西誉光、神田奈緒子、渡辺晋一、榎村浩一: 続発性皮膚クリプトコッカス症 (症例報告) 第112回日本皮膚科学会総会, 神奈川 (横浜, パシフィコ横浜), 2013年6月14-16日 (日本皮膚科学会雑誌, 123(6): 1095, 2013.05)
 22. 久保田恭子、鹿島真人、五十棲健、齋田俊明、小野恵理、芝田敏勝、榎村浩一、望月隆: 下腿に生じた *Trichophyton mentagrophytes* animal type による生毛部炎症性白癬の1例. (症例報告). 第112回日本皮膚科学会総会, 神奈川 (横浜, パシフィコ横浜), 2013年6月14-16日 (日本皮膚科学会雑誌: 123(5): 988, 2013.04)
 23. Koichi Makimura: Medical mycology in space. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology (APSMM), Chengdu (成都), China, June 19-20, 2013
 24. Harunari Shimoyama, Yoshihiro Sei, Kazuo Sato, Koichi Makimura: Identification of causative agents of onychomycosis. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology (APSMM), Chengdu (成都), China, June 19-20, 2013 (ポスター)
 25. Aya Yo, Takamitsu Tanaka, Takamitsu Ohnishi, Naoko Kanda, Koichi Makimura, Shinichi Watanabe: A case of secondary cutaneous *Cryptococcus*. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology (APSMM), Chengdu (成都), China, June 19-20, 2013 (ポスター)
 26. Hiroyasu Koga, Yasuko Nanjoh, Sutthirat Reangchainam, Kowit Kampirapap, Koichi Makimura,

- RyojiTsuboi: Comparison of in vitro activity of various antifungal drugs against clinically important non-dermatophyte speacies causing superficial mycoses. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology (APSM), Chengdu (成都), China, June 19-20, 2013 (ポスター)
27. 榎村浩一: 「病原真菌と真菌症」岐阜深在性真菌症フォーラム, 岐阜県(岐阜市じゅうろくプラザ), 2013年7月12日
28. 榎村浩一: 微孢子虫. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 教育講演1 東京都新宿京王プラザホテル2013年9月28日
29. 榎村浩一: 抗真菌薬の感受性と作用機序. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 シンポジウム (S6-1) 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
30. 榎村浩一: 表在性皮膚真菌症における炎症反応と外用真菌薬. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ランチョンセミナー4「表在性皮膚真菌症の最近の知見と治療」 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
31. 楊 彩佳、山崎 丘、榎村浩一: ミトコンドリアDNAの全塩基配列比較による白癬菌同定法の検討. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
32. 杉田 隆、山崎 丘、榎村浩一、山田 深、張 恩実、渡辺愛弓: 国際宇宙ステーションに滞在する宇宙費欧市の皮膚真菌叢の解析. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
33. 戸根一哉、藤崎竜一、山崎 丘、榎村浩一: Loop mediated isothermal amplification (LAMP)法を用いた *Aspergillus* 属の特異性検出法. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
34. 山浦真理子、佐藤一朗、山崎 丘、小川晴彦、榎村浩一: Specific detection of *Bjerkanderaadusta* by PCR and the incidence in fungus associated chronic cough. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
35. 田村 俊、比留間 翠、小川祐美、廣瀬仲良、比留間政太郎、山本美佳智、榎村浩一: 1 *Trichophyton tonsrans* 124株における抗真菌剤7薬剤の感受性パターンの検討. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
36. 佐藤一朗、小川晴彦、榎村浩一: 黄砂飛来時期における石川県金沢市の環境真菌調査. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
37. 中村孝子、アルシャフニ モハマドマハディ、山崎 丘、榎村浩一: 微孢子虫による感染症の診断及び治療方法の検討. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
38. 山崎 丘、楊 彩佳、藤崎竜一、榎村浩一: 真菌検出用のLAMPプライマーの設計とその利用. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
39. 黒川正美、石川里枝、大石貴幸、荻原真二、佐々木雅一、柴崎真由美、田村順子、藤田留美、石垣しのぶ、川上小夜子、榎村浩一、菊池 賢: 東日本における真菌

- 検査方法の実態調査. 第 57 回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル 2013 年 9 月 28 日
40. 榎村浩一: 真菌が引き起こす健康障害: LAMP 法の応用. 中国 LAMP 研究会第 4 回大会 (The Fourth National LAMP Research Form, Cheng Du, China)、成都、中国、2013 年 10 月 29 日~11 月 3 日
浅原 美和, 川上 小夜子, 厚川 喜子, 石垣 しのぶ, 田中 孝志, 榎村 浩一, 斧康雄, 古川 泰司: マイクロスキャン W/A96Plus と質量分析装置 VITEK MS における細菌同定精度の比較検討. 臨床微生物学会, 神奈川 (パシフィコ横浜), 2013 年 2 月 3 日(臨床病理,60 巻補冊:150,2012.10)
41. 浅原 美和, 川上 小夜子, 長井 慎一郎, 厚川 喜子, 石垣 しのぶ, 田中 孝志, 榎村 浩一, 斧 康雄, 古川 泰司: クロモアガーMDRP スクリーン培地の検討. 臨床微生物学会, 神奈川 (パシフィコ横浜), 2013 年 2 月 3 日 (日本臨床微生物学雑誌 22 巻 4 号 Page181(2012.12))
42. 田村 俊, 比留間 翠, 小川 祐美, 廣瀬 伸良, 比留間 政太郎, 浅原 美和, 山本 美佳智, 松村 充, 後藤 一雄, 榎村 浩一: *Trichophyton tonsurans* における抗真菌剤 7 薬剤の感受性パターン の検討. 臨床微生物学会, 神奈川 (パシフィコ横浜), 2013 年 2 月 2 日(日本臨床微生物学雑誌, 22 巻 4 号 Page170(2012.12))
43. 石垣 しのぶ, 川上 小夜子, 浅原 美和, 厚川 喜子, 榎村 浩一, 斧 康雄, 古川 泰司: VITEK MS(MALDI-TOF MS)による酵母様真菌の同定精度と臨床的有用性の検討. 臨床微生物学会, 神奈川 (パシフィコ横浜), 2013 年 2 月 2 日(日本臨床微生物学雑誌, 22 巻 4 号 Page139(2012.12))
44. 榎村浩一: 真菌症フォーラム, 東京 (第一ホテル東京), 2013 年 2 月 16 日(土)
45. 榎村浩一: *Pneumocystis jirovecii* とは何か? 静岡呼吸器感染症談話会, 静岡 (ホテルアソシア静岡), 2013 年 3 月 9 日 特別講演
46. 村上 智哉, 鎌田 一宏, 岡田 優基, 秋根 大, 辻 浩史, 小林 裕幸, 玉岡 晃, 榎村 浩一, 宮崎 義継, 徳田 安春: 非 AIDS 患者のクリプトコックス髄膜炎の 1 例. 第 595 回日本内科学会関東地方会例会、千葉(比内会館)、2013 年 3 月 9 日(土)
47. 榎村浩一: 病原真菌の新しい分類と学名. 第 86 回日本細菌学会総会 ワークショップ 10 「真菌研究のニューフロンティア」, 千葉 (幕張メッセ), 2013 年 3 月 20 日 (水) (日本細菌学雑誌, 68(1): 114, 2013.02)
48. 佐藤一朗, 西山彌生, 山崎丘, 杉田隆, 辨野義己, 榎村浩一: 国際宇宙ステーション「きぼう」における微生物研究 Microbe-II 中間報告. 第 86 回日本細菌学会総会, 千葉 (幕張メッセ), 2013 年 3 月 18~20 日 (月~水) ポスター (日本細菌学会誌, 68(1): 226, 2013.02)
49. 榎村浩一: 真菌症の検査・治療の実際. 八戸病院薬剤師会 青森 2013 年 3 月 22-23 日 特別講演
50. 榎村浩一: 病原真菌と有人宇宙環境における健康障害. 第 3 回小児 Febrile Neutropenia 研究会, 広島 (広島市中区中町、三井ガーデンホテル広島), 2013 年 4 月 19 日 (金) 特別講演

51. 榎村浩一: 国際宇宙ステーション「きぼう」における微生物研究. 日本臨床皮膚科医会北海道ブロック第 55 回研修講演会, 北海道(札幌市中央区、ロイトン札幌), 2013 年 4 月 20 日(土) 特別講演
52. 榎村浩一: 大阪 Microbiology 2013 年 5 月 20 日
53. 榎村浩一: 宇宙に開く医真菌. 第 34 回関東医真菌懇話会, 東京(帝京大学板橋キャンパス), 2013 年 6 月 1 日(土) 会長講演
54. 楊彩佳、田中隆光、大西誉光、神田奈緒子、榎村浩一、渡辺晋一: 続発性皮膚クリプトコックス症の 1 例. 第 34 回関東医真菌懇話会, 東京(帝京大学板橋キャンパス), 2013 年 6 月 1 日(土)
55. 山本美佳智、楊彩佳、山浦真理子、戸根一哉、田村俊、川上小夜子、山崎丘、佐藤一朗、榎村浩一: MALDI-TOF MS によるマラセチア同定法の検討. 第 34 回関東医真菌懇話会, 東京(帝京大学板橋キャンパス), 2013 年 6 月 1 日(土)
56. 吉原久直、小泉佑太、田中祐輔、杉本直也、中瀬裕子、戸田貴子、田宮浩之、小島康弘、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、田嶋誠、長瀬洋之、榎村浩一、山口正雄、大田健: *Pseudallescheria boydii* による副鼻腔炎から真菌性気管支肺炎を併発した胸腺腫の 1 例. 第 34 回関東医真菌懇話会, 東京(帝京大学板橋キャンパス), 2013 年 6 月 1 日(土)
57. 藤崎竜一、田中孝志、榎村浩一、佐川俊世、坂本哲也: 帝京大学付属病院において 3 年間に観察された真菌血症とその診断・治療・転帰に関する検討. 第 34 回関東医真菌懇話会, 東京(帝京大学板橋キャンパス), 2013 年 6 月 1 日(土)
58. 榎村浩一: 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 ニューモシスチス症. 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, 神奈川(パシフィコ横浜), 2013 年 6 月 5 日(感染症学雑誌 87(臨増): 139, 2013.05)
59. 秋根大、加藤幹朗、辻浩史、榎村浩一、大野秀明: 2 cases of cryptococcal meningitis in HIV-uninfected healthy patients. 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, 神奈川(パシフィコ横浜), 2013 年 6 月 5-6 日
60. 楊彩佳、田中隆光、大西誉光、神田奈緒子、渡辺晋一、榎村浩一: 続発性皮膚クリプトコックス症(症例報告) 第 112 回日本皮膚科学会総会, 神奈川(横浜, パシフィコ横浜), 2013 年 6 月 14-16 日(日本皮膚科学会雑誌, 123(6): 1095, 2013.05)
61. 久保田 恭子, 鹿島 真人, 五十棲 健, 齋田 俊明, 小野 恵理, 芝田 敏勝, 榎村 浩一, 望月 隆: 下腿に生じた *Trichophyton mentagrophytes* animal type による生毛部炎症性白癬の 1 例.(症例報告). 第 112 回日本皮膚科学会総会, 神奈川(横浜, パシフィコ横浜), 2013 年 6 月 14-16 日(日本皮膚科学会雑誌: 123(5): 988, 2013.04)
62. Koichi Makimura: Medical mycology in space. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology(APSMM), Chengdu (成都), China, June 19-20, 2013
63. Harunari Shimoyama, Yoshihiro Sei, Kazuo Sato, Koichi Makimura:

- Identification of causative agents of onychomycosis. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology (APSM), Chengdu (成都), China, June 19-20, 2013 (ポスター)
64. Aya Yo, Takamitsu Tanaka, Takamitsu Ohnishi, Naoko Kanda, Koichi Makimura, Shinichi Watanabe: A case of secondary cutaneous *Cryptococcus*. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology (APSM), Chengdu (成都), China, June 19-20, 2013 (ポスター)
65. Hiroyasu Koga, Yasuko Nanjoh, Sutthirat Reangchainam, Kowit Kampirapap, Koichi Makimura, Ryoji Tsuboi: Comparison of in vitro activity of various antifungal drugs against clinically important non-dermatophyte species causing superficial mycoses. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology (APSM), Chengdu (成都), China, June 19-20, 2013 (ポスター)
66. 榎村浩一: 「病原真菌と真菌症」岐阜深在性真菌症フォーラム, 岐阜県(岐阜市じゅうろくプラザ), 2013年7月12日
67. 榎村浩一: 微孢子虫. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 教育講演1 東京都新宿京王プラザホテル2013年9月28日
68. 榎村浩一: 抗真菌薬の感受性と作用機序. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 シンポジウム(S6-1) 東京都新宿京王プラザホテル2013年9月28日
69. 榎村浩一: 表在性皮膚真菌症における炎症反応と外用真菌薬. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ランチョンセミナー4「表在性皮膚真菌症の最近の見聞と治療」 東京都新宿京王プラザホテル 2013年9月28日
70. 楊 彩佳、山崎 丘、榎村浩一: ミトコンドリアDNAの全塩基配列比較による白癬菌同定法の検討. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル2013年9月28日
71. 杉田 隆、山崎 丘、榎村浩一、山田 深、張 恩実、渡辺愛弓: 国際宇宙ステーションに滞在する宇宙費欧市の皮膚真菌叢の解析. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル2013年9月28日
72. 戸根一哉、藤崎竜一、山崎 丘、榎村浩一: Loop mediated isothermal amplification (LAMP)法を用いた *Aspergillus* 属の特異性検出法. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル2013年9月28日
73. 山浦真理子、佐藤一朗、山崎 丘、小川晴彦、榎村浩一: Specific detection of *Bjerkandera adusta* by PCR and the incidence in fungus associated chronic cough. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル2013年9月28日
74. 田村 俊、比留間 翠、小川祐美、廣瀬仲良、比留間政太郎、山本美佳智、榎村浩一: 1 *Trichophyton tonsurans* 124株における抗真菌剤7薬剤の感受性パターンの検討. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル2013年9月28日
75. 佐藤一朗、小川晴彦、榎村浩一: 黄砂飛来時期における石川県金沢市の環境真菌調査. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会 ポスター 東京都新宿京王プラザホテル2013年9月28日