

生物検査への応用、シンポジウム「先端技術と検査医学研究」第 25 回日本臨床化学学会東海・北陸支部総会、第 33 回日本臨床検査医学会東海・北陸支部例会、2014.8.2.

7. 山岸由佳、三嶋廣繁：カンジダ血症とそれ以外のカンジダ症、第 58 回日本医真菌学会学術集会 シンポジウム 2 侵襲性真菌症、横浜、2014.11.1.
8. 野村伸彦、三嶋廣繁：PK-PD 解析は抗真菌薬の耐性化抑制に有用か？、第 58 回日本医真菌学会学術集会 薬剤師セッションシンポジウム 侵襲性真菌症、横浜、2014.11.1.
9. 山岸由佳、三嶋廣繁：薬剤耐性カンジダ属の臨床的意義、第 58 回日本医真菌学会学術集会 シンポジウム 6 病原真菌の抗真菌薬耐性 Up-To-Date、横浜、2014.11.2.
10. 山岸由佳、三嶋廣繁：薬剤感受性試験とブレイクポイント、第 58 回日本医真菌学会学術集会 臨床検査技師セッションシンポジウム 侵襲性真菌症、横浜、2014.11.2.
11. 山岸由佳、三嶋廣繁：臨床的に重要な真菌感染症の感染制御、第 58 回日本医真菌学会学術集会 ICD 講習会、横浜、2014.11.2.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

特許取得
該当なし

実用新案登録
該当なし

その他
該当なし

病状と病原性に関する研究

研究分担者 荒岡 秀樹 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 臨床感染症部 医員

研究協力者 谷口 修一 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液内科 部長

研究協力者 木村 宗芳 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 臨床感染症部 医員

研究要旨 造血幹細胞移植領域における侵襲性カンジダ感染症の疫学、その臨床像を把握するため、後ろ向き調査を行った。2008年12月から2012年11月までに、虎の門病院で同種造血幹細胞移植を受けた513例中、19例（3.7%）でカンジダ血症が生じていた。その全例が抗真菌薬投与下で生じるbreakthrough candidemiaであり、移植後100日目までの累積発症率は3.9%であった。原因菌種の遺伝学的同定では*C. parasilosis*、*C. glabrata*が主要な原因菌であった。薬剤感受性結果の解析からは、breakthrough candidemiaは、*in vitro*で感性を示す抗真菌薬投与下であっても生じうることがわかった。

A. 研究目的

造血幹細胞移植領域における侵襲性カンジダ感染症の疫学、その臨床像を把握する。その多くは抗真菌薬投与下で生じるbreakthrough candidemiaである。

B. 研究方法

2008年12月から2012年11月までに、虎の門病院で同種造血幹細胞移植を受けた513例（臍帯血361例、骨髄101例、末梢血幹細胞51例）を対象に、後ろ向き調査を行った。保存されていた原因真菌を対象に国立感染症研究所にて菌種の遺伝学的解析と薬剤感受性試験を追加した。

C. 研究結果

1. 侵襲性カンジダ感染症の発症

513例のうち19例（3.7%）でカンジダ血症

(candidemia) を生じており、すべてが抗真菌薬投与下に発症していた (breakthrough candidemia)。移植後100日までの累積発症率は3.9%であった。

2. 原因菌種

19例のbreakthrough candidemiaのうち、15例で原因菌株が保存されていた。これらの遺伝学的菌種同定の結果は、*C. parapsilosis* (4例)、*C. glabrata* (4例)、*Pichia guilliermondii* (3例)、*C. albicans* (2例)、*C. tropicalis* (1例)、*C. fermentati* (1例) であった。

3. 発症時に投与されていた抗真菌薬

遺伝学的同定まで行った15例において、発症時に使用されていた抗真菌薬を調査した。内訳はミカファンギン; MCFG (8例), リポソーマル・アムホテリシンB; L-AMB (4例), ポリコナゾール; VRCZ (2例), イトラコナゾール; ITCZ (1例)となっていた。

4. 薬剤感受性試験結果

Azole 投与中に生じた breakthrough candidemia における原因菌株は、azole の MIC 値が高い傾向にあった。一方、投与していた MCFG や L-AMB に *in vitro* では感性を示した菌株も breakthrough candidemia を起こしうることがわかった。

表 1. MCFG 投与中に生じた breakthrough candidemia

No.	原因菌種	転帰	MCFG	AMPH	FLCZ	ITCZ	VRCZ
1	<i>C. glabrata</i>	生存	0.12 (I)	1	64	2	1
2	<i>C. glabrata</i>	死亡	4 (R)	2	16	4	1
3	<i>P. guilliermondii</i>	生存	0.25 (S)	0.5	4	1	0.25
4	<i>P. guilliermondii</i>	死亡	0.5 (S)	0.5	16	1	0.5
5	<i>C. parapsilosis</i>	死亡	0.5 (S)	1	0.5	0.12	0.015
6	<i>C. parapsilosis</i>	生存	0.5 (S)	1	0.25	0.03	0.015
7	<i>C. albicans</i>	生存	0.015 (S)	1	>64	>8	>8
8	<i>C. fermentati</i>	生存	0.25 (NA)	1	2	0.5	0.06

表 2. L-AMB 投与中に生じた breakthrough candidemia

No.	原因菌種	転帰	AMPH	MCFG	FLCZ	ITCZ	VRCZ
1	<i>C. glabrata</i>	死亡	2 (R)	0.03	8	2	0.25
2	<i>C. glabrata</i>	生存	2 (R)	0.015	2	1	0.12
3	<i>P. guilliermondii</i>	死亡	0.5 (S)	0.25	>64	>8	>8
4	<i>C. parapsilosis</i>	死亡	1 (S)	1	0.5	0.25	0.03

表 3. ITCZ 投与中に生じた breakthrough candidemia

No.	原因菌種	転帰	ITCZ	MCFG	AMPH	FLCZ	VRCZ
1	<i>C. parapsilosis</i>	生存	0.25 (S-DD)	2	1	8	0.12

表 4. VRCZ 投与中に生じた breakthrough candidemia

No.	原因菌種	転帰	VRCZ	MCFG	AMPH	FLCZ	ITCZ
1	<i>C. albicans</i>	死亡	>8 (R)	2	1	>64	>8
2	<i>C. tropicalis</i>	生存	>8 (R)	0.03	2	>64	8

5. 群別の累積発症率の比較

移植後 100 日までの breakthrough candidemia の群別の累積発症率を算出した。その結果、初回の移植での発症率が 3.4% に対して 2 回目以上の移植での発症率が 6.5% であり、2 回目以上の移植を受けたケースで発症率が高い傾向にあった ($P=0.11$)。

D. 考察

Breakthrough candidemia は原因菌が投与されていた抗真菌薬に耐性であるため生じることもあるが、*in vitro* で感性を示す抗真菌薬投与下であっても生じることがわかった。また、累積発症率が 2 回目以上の移植症例において高い傾向があることを考慮すると、本症の発症には宿主免疫力の低下が関わっていることが予想される。

E. 結論

Breakthrough candidemia は原因菌株の耐性化だけが原因では無く、*in vitro* で感性を示す抗真菌薬投与を受けていても生じることがわかった。

F. 健康危険情報

疫学調査であり、特に無し

G. 研究発表

論文発表

1. Abe M, Kimura M, Araoka H, Taniguchi S, Yoneyama A. Serum (1,3)-beta-

D-glucan is an inefficient marker of breakthrough candidemia. *Med Mycol.* 2014; 52(8): 835-40.

2. Takagi S, Araoka H, Uchida N, Uchida Y, Kaji D, Ota H, Nishida A, Ishiwata K, Tsuji M, Yamamoto H, Ito T, Matsuno N, Yamamoto G, Asano-Mori Y, Hayashi M, Izutsu K, Masuoka K, Wake A, Makino S, Yoneyama A, Taniguchi S. A prospective feasibility study of primary prophylaxis against invasive fungal disease with voriconazole following umbilical cord blood transplantation with fludarabine-based conditioning. *Int J Hematol.* 2014; 99(5): 652-8.

学会発表

1. 荒岡秀樹. アスペルギルス症. 第58回医真菌学会総会・学術集会. 11月1-2日, 2014年, 横浜.
2. 荒岡秀樹, 神田善伸. 発熱性好中球減少症～造血細胞移植患者～「感染症診療のクリニカル・パール: ADVANCEDコース」. 第88回日本感染症学会学術講演会, 第62回日本化学療法学会総会. 6月18-20日, 2014年, 福岡.
3. 荒岡秀樹, 梅山隆, 大野秀明, 田辺公一, 山越智, 名木稔, 宮崎義継. 造血幹細胞移植後に発症した肺ムーコル症～第11回症例から学ぶ感染症セミナー～. 第88回日本感染症学会学術講演会, 第62回日本化学療法学会総会. 6月18-20日, 2014年, 福岡.
4. 荒岡秀樹. 造血幹細胞移植領域における真菌感染症, 対策が急務な侵襲性真菌症. 第63回日本感染症学会東日本地方会総会学術集会, 第61回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会. 10月29-31日, 2014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

該当なし

実用新案登録

該当なし

その他

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

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 若山 恵、篠崎 稔 東邦大学医学部病院病理学講座

村山 琮明 日本大学薬学部分子細胞生物学研究室

研究要旨 ムーコル症の確定診断には真菌学的検査が必要であるが、培養による検出率は低く、生検などの病理組織学的検査による菌要素の証明が求められる。しかし、形態学的判断のみでは確定診断に苦慮することも少なくない。今回、本菌種の検出を目的として、*in situ* hybridization (ISH)法における新たなプローブを設計し、感染マウスモデルおよび臨床検体でその特異性を確認した。

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を継続して行っている。本年度中に診断した原因真菌は *Aspergillus* 1件、*Scedosporium* 1件、*Cryptococcus* 2件、*Histoplasma* 2件、糸状菌 4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2件あり、真菌症への関心が高まっている証左と思われる。

*Mucor*目菌種を標的としたプローブについて、培養菌体、マウス感染モデル、臨床検体を用いて、その特異性を検証した。

昨年度と同様、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。加えて、本年度は学術報告を目的とした依頼件数の増加がみられた。本年度は真菌症病理診断支援システムのホームページを立ち上げ、これを介した依頼も増えつつある。ネットワークを確立し、さらに安定した支援を行うために、より多くの primer や probe の開発、ネットワークを支える人材の確保・育成が急務と考える。

*Mucor*目を標的とした本プローブによる ISH 法は、病理診断において有用な補助診断手法となり得ると考えられた。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の応用は、今後さらに発展が望ま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

ムーコル症は有効な血清診断も無く、治療も Amphotericin-Bのみであり、一刻も早い診断が望まれる。菌学的検査も難しいことから、病理診断において、診断標本中の菌から菌種を特定することが重要になる。このような背景から、ムーコル目菌種の推定を目的とした *in situ* hybridization (ISH)法について検討した。

また、真菌症が疑われる症例でも臨床検体が

らの培養で菌が分離できない症例も多いことから、感染病巣から直接組織を採取し、菌種の推定が可能な検査法として病理組織診断は重要な役割を果たしている。近年では、適正な治療薬の選択を目的とした真菌症の病理診断が求められている。我々の展開している真菌症診断システムの現状とさらなる展望について述べる。

B. 研究方法

1. プローブの作製

Mucor 目菌種を検出するために、Vector NTI explorer ver. 10.3 を用いて、菌種間での多様性が報告されている 28S rRNA 遺伝子 (rDNA) の多重配列アライメントを行った。対象とする *Mucor* 目菌種と標的遺伝子の genbank No. を表 1 に記載した。

さらに、Beacon Designer Ver. 8.3 を用いて、以下に列挙した PCR 用のプライマーを設計した。

Sense Primer: ATGTGAAATTGTTAAAAGGGAACC

Reverse Primer: GAAAGCGCCAGCAATCTTG

増幅産物の長さは 228 bp で、PCR DIG Probe Synthesis Kit (Roche Diagnostics K.K., Japan)あるいは PCR Fluorescein Labeling Mix (Roche)を用いて、digoxigenin (DIG)あるいは fluorescein isothiocyanate (FITC)標識した。

表 1. 多重配列アライメントに用いたムーコル目菌種

Family	Genus	Species	GenBank No.
<i>Mucor/Ab-sidiaceae</i>	<i>Absidia</i>	<i>Abisidia corymbifera</i>	JN938888
	<i>Apophysomyces</i>	<i>Apophy somyces elegans</i>	AF113450
	<i>Mucor</i>	<i>Mucor circinelloides</i>	JF723723
		<i>Mucor hiemalis</i>	JN938893
		<i>Mucor racemosus</i>	JN938898
		<i>Mucor indicus (Mucor rouxianus)</i>	HM849690
		<i>Mucor ramosissimus</i>	AY213715
	<i>Rhizomucor</i>	<i>Rhizomucor pusillus</i>	HM8849716
	<i>Rhizopus</i>	<i>Rhizopus oryzae</i>	AY213624
		<i>Rhizopus azygosporus</i>	AB250184
		<i>Rhizopus rhizopodifoumis</i>	AB250180

		<i>Rhizopus schipperae</i>	AY213627
		<i>Rhizopus microsporus var. microsporus</i>	AB250180
		<i>Rhizopus microsporus var. oligosporus</i>	JN938900
		<i>Rhizopus microsporus var. rhizopodiformis</i>	AB250180
		<i>Rhizopus stolonifer</i>	JN315059
<i>Cunninghamella</i>	<i>Cunninghamella</i>	<i>Cunninghamella bertholletiae</i>	AF113461
<i>Mortierella</i>	<i>Mortierella</i>	<i>Mortierella wolfii</i>	JN940864
<i>Thamnidium</i>	<i>Cokeromyces</i>	<i>Cokeromyces recurvatus</i>	DQ273812
<i>Saksenaea</i>	<i>Saksenaea</i>	<i>Saksenaea vasiformis</i>	HM776674
<i>Syncephalastrum</i>	<i>Syncephalastrum</i>	<i>Syncephalastrum racemosum</i>	JN938906

3. プローブの特異性の検証

本プローブの特異性は、感染マウスモデルの腎組織を用いて検証した(感染マウスは千葉大学真菌医療研究センター、横山耕治博士により調製された)。条件は ICR マウス (Sankyo Labo Service Corporation Inc., Tokyo, Japan), 5 週齢, 雄性に対して、シクロフオスファミドを感染 4 日前, 1 日前, 3 日後 100mg/kg/day 腹腔投与し、 $1 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6$ の菌液 0.2ml を尾静脈接種した。感染 7 日後に腎臓を中性ホルマリン固定、パラフィン包埋した。

なお、以下の菌種の培養菌体からパラフィンブロックを作製することで、コントロールアレイを作製した。*Cryptococcus neoformans* (TIMM0372), *Candida albicans* (ATCC10231), *Aspergillus niger* (NBRC 33023), *A. terreus* (NBRC 33026), *A. fumigatus* (NBRC 6344), *Fusarium solani*, (NBRC 5232), *Pseudallescheria boydii*, (NBRC 8078), *Rhizopus oryzae* (NBRC 5780), *Cunninghamella elegans var. elegans*

(NBRC 4446), *Mucor circinelloides* f.sp. *circinelloides* (NBRC 4554), *Penicillium commune* (NBRC 5763), *Pseudocochliobolus spicifer* (NBRC 100222)

4. 過去1年間において、当講座に依頼された真菌症の病理診断コンサルテーション例について、その概要と得られた結果について検討した。

この診断支援活動については、図1に示すシステムに従って行った。依頼は受付を経て、最初に病理組織学的検討を行い、目標菌種を決定後、遺伝子補助診断法を選択した。

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業の支援を受けて行った
真菌症病理診断支援システムの流れ (2015.02現在)

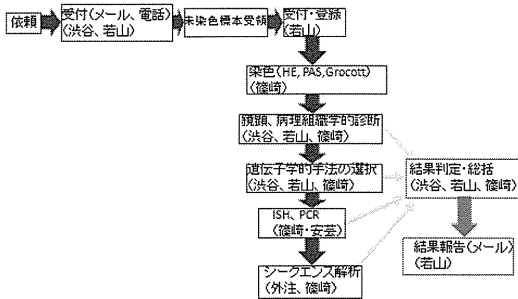


図1. 真菌症病理診断支援システム

当講座では2014年4月より、真菌症病理診断支援システムのホームページを開設し、真菌症の診断に苦慮する医療関係者からの依頼の受け入れを開始した(図2ab)。



図2a. 真菌症病理診断支援システムホームページ(文頭)

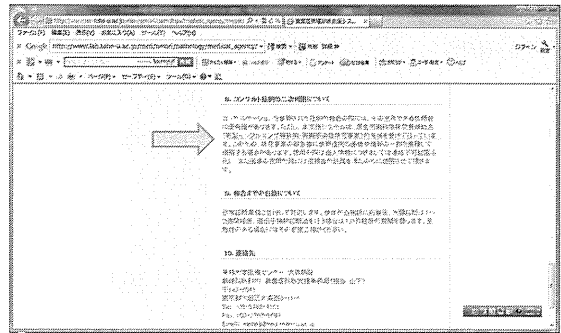


図2b. 真菌症病理診断支援システムホームページ(矢印部に本班会議による支援を明記)

受付後の手順としては、HE染色、PAS反応、Grocott染色を行い、病理組織学的に真菌の存在確認と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染色標本を用いて同様の評価を行った。その後、遺伝子補助診断法として、ISH法、polymerase chain reaction (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。

C. 研究結果

1. 感染マウスにおけるISH法の検証

感染マウスモデルにおけるISH法の結果を図2に示した。

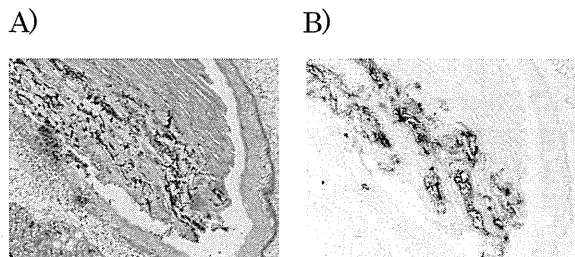


図2: ISH法による *R. oryzae* 感染マウスモデル腎検体からの接合菌の検出
A)Grocott染色, B)ISH法
A)のGrocott染色に対応した場所にISH陽性の菌要素が認められる。DIG標識プローブを用いた。

A. fumigatus, *A. niger*, *A. flavus*, *A. nidurans*, *T. asahii*, *P. boydii*, *S. apiospermum*, *C. neoformans*, *A. terreus*, *P. boydii* 感染マウスでは、陽性反応は認められなかった。

2. コントロールアレイを用いた ISH 法の検証

コントロールアレイを用いた ISH 法の結果を図 3 に示す。

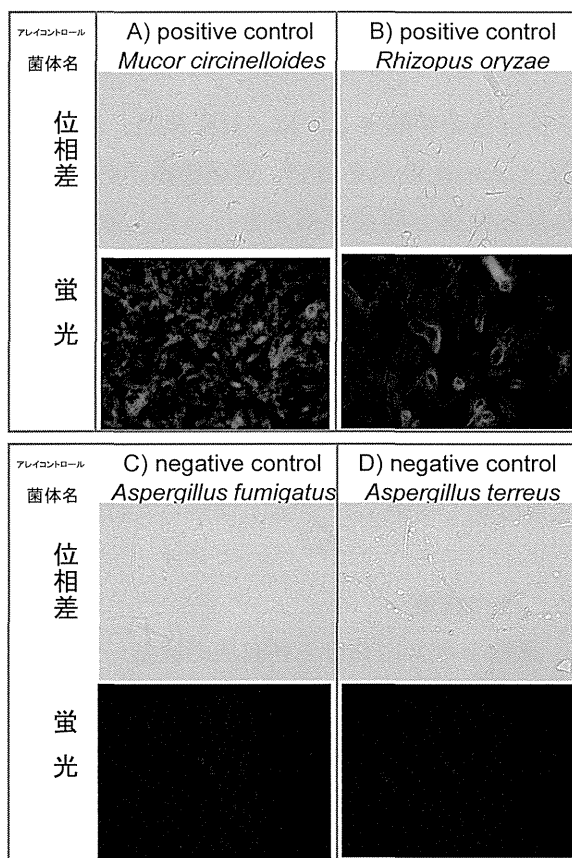


図 3: コントロールアレイを用いた ISH 法
A) *M. circinelloides* 菌体, B) *R. oryzae*, C) *A. fumigatus*, D) *A. terreus*, 各菌株の純培養菌体で作製したコントロールアレイに FITC 標識したプローブを用いて行った。

Mucor 目菌種では陽性反応が, *Aspergillus* 菌種では陰性反応が認められた。

3. 臨床検体におけるプローブの有用性

R. oryzae の感染が PCR 法により検証された臨床検体の DIG 標識プローブを用いた ISH

法の結果を図 4 に示す。菌要素に沿って陽性のシグナルが認められた。

Mucor 目菌種感染 5 症例の FITC 標識プローブを用いた ISH 法の結果を図 5 に示す。いずれも菌要素に沿って陽性のシグナルが検出された。

対照に *Aspergillus* 属菌種の感染が認められた 3 症例の FITC 標識 ISH 法の結果を図 6 に示す。

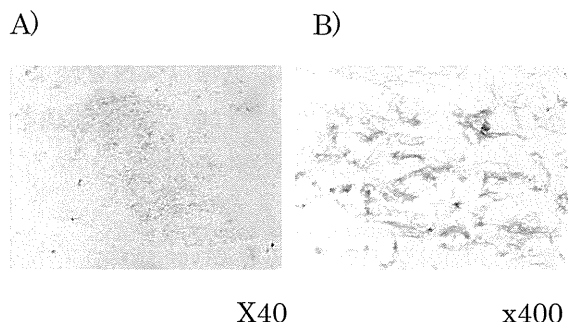


図 4 臨床検体を用いた DIG 標識プローブによる ISH 法

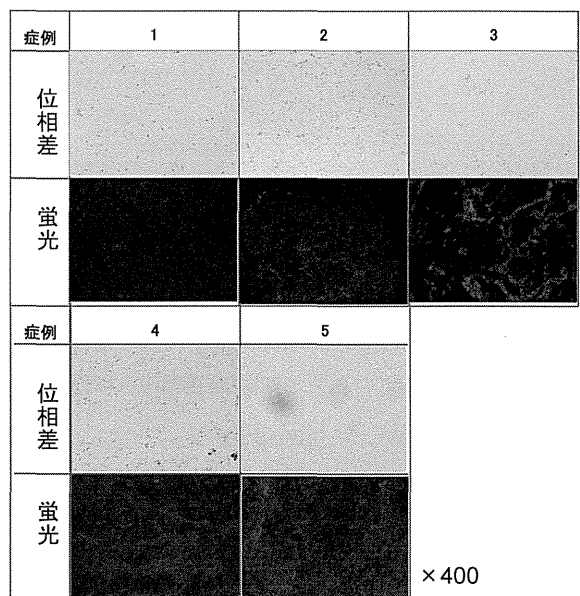
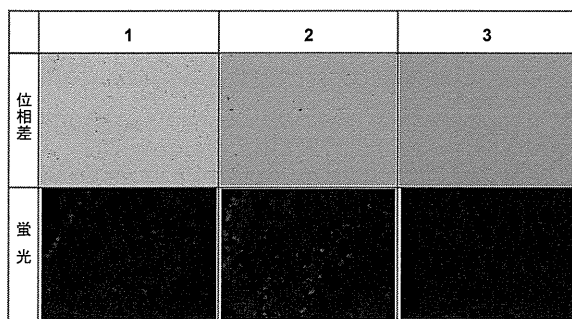


図 5 *Mucor* 目感染 5 症例の検体を用いた ISH 法



X400

図 6 *Aspergillus* 感染 3 症例の検体を用いた ISH 法

4. 真菌症病理診断支援システムにおける検討結果

2014 年度（2014 年 4 月～2015 年 1 月）のコンサルテーション依頼件数は 21 例であった。依頼経路としては、担当医から直接の依頼が 17 件、関連施設を経由した依頼が 4 件であった。これらのうち、当講座の立ち上げた真菌症病理診断支援システムのホームページからの依頼は 4 件であった。

21 例中、未染色標本の送付を受けた症例が 19 例、鱗屑を用いて組織標本を作製した症例が 1 例、ブロック提供が 1 例であった。

21 例中、検討が完了している 12 例の起炎真菌は *Aspergillus* 1 件、*Scedosporium* 1 件、*Cryptococcus* 2 件、*Histoplasma* 2 件、糸状菌 4 件であり、昨年度と若干異なっていた（表 2）。これらに加えて顕微鏡で病原真菌が認められなかった症例が 2 件あった。

表 2 依頼症例における菌種別件数

菌種別件数の推移（分子生物学的手法未検例および陰性例は顕微鏡所見と臨床所見で判断）

	<i>Aspergillus</i> (n)	<i>Mucor</i> (n)	<i>Scedosporium</i> (n)	<i>Fusarium</i> (n)	Filamentous fungi (n)	<i>Candida</i> (n)	<i>Cryptococcus</i> (n)	<i>Pneumocystis</i> (n)	<i>Histoplasma</i> (n)	Dimorphic Yeasts (n)	None (n)	Total (n)
2013年度	1	3	0	0	2	3	0	0	0	2	5	16
2014年度	1	0	1	0	4	0	2	0	2	0	2	12
Total	2	3	1	0	6	3	2	0	2	2	7	30

D. 考察

以上の結果から、本プローブの特異性が確認できた。病理標本上で *Aspergillus* 属菌種、*Fusarium* 属菌種、*Pseudallescheria* 属菌種などの糸状菌は鑑別に苦慮することが少なくない。*Mucor* 目を標的とした本プローブによる ISH 法は、病理診断において有用な補助診断手法となりえる。

昨年度は真菌症病理診断支援システムへの診断の依頼は 16 件であったが、本年度は 21 件であり、依頼件数の増加が認められた。本年度の特徴としては学術報告を目的とした依頼件数の増加がみられ、これに伴い *Aspergillus* や *Mucor* を除く比較的稀な糸状菌の同定依頼の増加がみられた。また、*Mucor* においては治療効果としての「菌不在」の証明が求められた症例もあり、今後の需要の変化を示唆する例であった。

今年度、真菌症病理診断支援システムのホームページを立ち上げた。2015 年 2 月 4 日現在、ホームページを経由した依頼はまだ 4 件であるが、今後依頼数の増加が期待できる。

真菌症病理診断ネットワークを確立し、さらに安定した支援を行うために、より多くの primer や probe の開発、ネットワークを支える人材の確保・育成が急務と考える。現時点において、ISH を応用した網羅的補助診断システムに関わる特許取得を申請中であり、本診断支援システムの精度管理の一助となることが期待できる。

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の応用は、今後さらに発展が望ま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。

E. 結論

今年度作製した *Mucor* 目菌種を標的としたプローブについて、培養菌体、マウス感染モデル、臨床検体を用いて、その特異性を確認、検

証した。

また、真菌症病理診断支援システムについてホームページを立ち上げ、対象・機能を拡充しつつある。今後、より多くの primer や probe の開発、ネットワークを支える人材の確保・育成が急務となる。

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の応用は、今後さらに発展が望ま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。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

原著および総説

1. Yamamoto Y, Nemoto T, Okubo Y, Nihonyanagi Y, Ishiwatari T, Takuma K, Tochigi N, Okano N, Wakayama M, Igarashi Y, Shibuya K. Comparison between the location and the histomorphological/immunohistochemical characteristics of noninvasive neoplasms of the ampulla of Vater. *Human Pathology* 1910-1917 Vol.45 No.9, Sep 2014
2. Sasaki Y, Fujii T, Shiono N, Katayanagi T, Okuma S, Wakayama M, Shibuya K, Watanabe Y. Interrupted Aortic Arch With Massive Saccular Collateral Aneurysm in an Adult. *The Annals of Thoracic Surgery*. Vol.98 No.1, July 2014
3. Muramatsu Y, Isobe K, Sugino K, Kinoshita A, Wada T, Sakamoto S, Takai Y, Sato F, Hata Y, Wakayama M, Shibuya K, Uekusa T, Iyoda A, Homma S. Malignant pleural mesothelioma mimicking the intrapulmonary growth pattern of epithelioid hemangioendothelioma. *Pathology International*. 358-360 Vol.64, Issue 7, July 2014
4. Sato F, Hata Y, Otsuka H, Makino T, Koezuka S, Sasamoto S, Wakayama M, Shibuya K, Sekijima Y, Iyoda A. Isolated Nodular Thymic Amyloidosis Associated With Diplopia. *Ann Thorac Surg*. 1470-2 Vol.98, Issue4, Oct 2014
5. Nakamura Y, Hata Y, Koezuka S, Makino T, Otsuka H, Sato F, Sasamoto S, MD, Okubo Y, Shibuya K, Iyoda A. Tracheal Leiomyoma Resected With Endobronchial Electrocautery Snare, J Bronchol Intervent Pulmonol. 90-3 Vol22 No.1 Jan 2015
6. 栃木直文, 大久保陽一郎, 澁谷和俊. ムーコル症. 検査と技術. 434-8 医学書院 Vol.42 No.5 2014
7. 澁谷和俊. アスペルギルス属のアゾール耐性にかかわる諸問題. 133-40 化学療法の領域. Vol.30, 2014 年増刊号
8. 栃木直文, 澁谷和俊, 逸見仁道. 医学英語教育の重要性を考える: 本学における臨床医学英語口述試験の実施と岐阜大学 English OSCE 見聞録. 125-28 東邦医学会雑誌. Vol.61, No.3, May 2014
9. 根本哲生, 山本慶郎, 澁谷和俊. 表在型 Barrett 食道腺癌の生検病理診断の問題点. 515-21 消化器内視鏡 Vol.26 No.4 2014
10. 栃木直文, 大久保陽一郎, 澁谷和俊. 肺アスペルギルス症の病理学的考察. 22-26. 呼吸器内科. Vol.26 No.1 July 2014
11. 澁谷和俊. アルトマンの曲線. 19 化学療法の領域. Vol.30 No.9 Sep 2014

12. 樽本憲人, 金城雄樹, 北野尚樹, 渋谷和俊, 前崎繁文, 宮崎義継. 全身性カンジダ症の増悪における iNKT 細胞の関与. 115-122. Med.Mycol.J. Vol.55, No3, 2014
13. 若山 恵, 渋谷和俊. 真菌感染症が注目される理由－全体像と小児の特徴－. 1726-1729. 小児内科. Vol.46 No.12, December 2014

著書

若山 恵, 齊藤円佳, 渋谷和俊. 真菌症診断の新しい病理学, 目で見る真菌と真菌症 (亀井克彦 編), pp203-12 (株) 医薬ジャーナル社, 大阪, 2014

その他

菊池 賢, 楨村浩一, 黒川正美, 渋谷和俊. 真菌症と真菌検査の現状と問題点: 検査室でどこまで, どのように対処すべきか. BioScan Fresh and Future. No.9. June 2014

学会発表

1. 渋谷和俊. 侵襲性ムーコル症の病態. 造血管腫瘍感染症研究会, 東京, 4/16, 2014
2. 和田智博, 磯部和順, 佐藤敬太, 佐野 剛, 坂本 晋, 高井雄二郎, 秦 美暢, 伊豫田明, 栃木直文, 渋谷和俊, 本間 栄. 肺病変に対する EBUS-TBNA の有用性・安全性も検討. 第 54 回日本呼吸器学会学術講演会, 大阪, 4/25-27, 2014
3. 後町杏子, 杉野圭史, 一色琢磨, 渋谷和俊, 植草利公, 本間 栄. 上葉優位型特発性間質性肺炎も臨床病理学的特徴. 第 54 回日本呼吸器学会学術講演会, 大阪, 4/25-27, 2014
4. 大久保陽一郎, 安藝恭子, 篠崎 稔, 中山晴雄, 石渡誉郎, 栃木直文, 若山 恵, 根

- 本哲生, 笹井大督, 山本慶郎, 下平佳代子, 二本柳康博, 小林純子, 渋谷和俊. 酵母血流感染症に関する遺伝子診断法の確立ならびに多施設共同後方視的発生動向調査. 第 103 回日本病理学会総会, 広島, 4/24-26, 2014
5. 根本哲生, 山本慶郎, 平野直樹, 大久保陽一郎, 栃木直文, 石渡誉郎, 二本柳康博, 小林純子, 若山 恵, 渋谷和俊. 非癌食道粘膜および早期食道扁平上皮癌における上皮乳頭内血管の密度. 第 103 回日本病理学会総会, 広島, 4/24-26, 2014
6. 二本柳康博, 大塚由一郎, 小林純子, 松清美彩, 山本慶郎, 石渡誉郎, 長谷川千花子, 大久保陽一郎, 栃木直文, 若山 恵, 根本哲生, 鏡 哲, 皆川輝彦, 船橋公彦, 金子弘真, 渋谷和俊. 術後肝肉芽腫の 1 例. 第 103 回日本病理学会総会, 広島, 4/24-26, 2014
7. 山本慶郎, 根本哲生, 二本柳康博, 石渡誉郎, 大久保陽一郎, 栃木直文, 若山 恵, 五十嵐良典, 渋谷和俊. 十二指腸乳頭部腫瘍 (非浸潤症例) の局在と組織形態学的、免疫組織学的特徴との関連. 第 103 回日本病理学会総会, 広島, 4/24-26, 2014
8. 石渡誉郎, 大久保陽一郎, 小林純子, 二本柳康博, 山本慶郎, 栃木直文, 長谷川千花子, 若山 恵, 根本哲生, 渋谷和俊. 胃癌細胞転移による肺動脈構築改変. 第 103 回日本病理学会総会, 広島, 4/24-26, 2014
9. 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, 小林純子, 山本慶郎, 安芸恭子, 栃木直文, 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 II: 侵襲臓器と加齢の影響について. 第 103 回日本病理学会総会, 広島, 4/24-26,

2014

10. 澁谷和俊. 肉芽腫と真菌症. 第 89 回日本結核病学会総会 モーニングセミナー. 岐阜, 5/10, 2014
11. 伊藤貴文, 石田文昭, 後町杏子, 菊池 直, 佐野 剛, 磯部和順, 坂本 晋, 高井雄二郎, 井内亜美, 澁谷和俊, 本間 栄. 吸入誘発試験で診断し得た加湿器肺の 2 症例. 第 209 回日本呼吸器学会関東地方会, 千葉, 5/24, 2014
12. 稲毛麻弥, 大久保陽一郎, 篠崎 稔, 若山 恵, 澁谷和俊. 十二指腸 Gangliocytic paraganglioma の超音波内視鏡下穿刺吸引(EUS-FNA)標本の細胞像. 第 55 回日本臨床細胞学会総会, 横浜, 6/5-7, 2014
13. 澁谷和俊. 真菌感染症の病理. 第 35 回関東医真菌懇話会 特別公演. 東京, 6/7, 2014
14. 根本匡章, 上田啓太, 長尾孝晃, 福島大輔, 榊田博之, 野本 淳, 近藤康介, 原田直幸, 周郷延雄, 大久保陽一郎, 澁谷和俊. 「Olfactory groove schwannoma の 1 例」. 第 17 回脳神経外科疾患の臨床と病理の JOINT CONFERENCE, 東京, 6/28, 2014
15. 砂川泉子, 菊池 直, 石田文明, 廣田 直, 佐藤啓太, 佐野 剛, 杉野圭史, 磯部和順, 坂本 晋, 高井雄二郎, 澁谷和俊, 本間 栄. 多彩な肺病理所見を認め長期経過を追えた MPO-ANCA 陽性間質性肺炎 (PLV) の一例. 第 166 回日本結核病学会関東支部学会 第 211 回日本呼吸器学会関東地方会 合同学会, 埼玉, 9/20, 2014
16. 上野圭吾, 金城雄樹, 大久保陽一郎, 浦井誠, 金子幸弘, 大野秀明, 亀井克彦, 澁谷和俊, 宮崎義継. 高病原性 *Cryptococcus gatti* の感染防衛に寄与する樹状細胞ワクチン. 第 166 回日本結核病学会関東支部学会 第 211 回日本呼吸器学会関東地方会 合同学会, 東京, 9/20, 2014
17. 澁谷和俊. 白血病に関わる糸状菌感染症. 血液疾患領域 肺真菌症 Meeting, 栃木, 10/16, 2014
18. 澁谷和俊. 白血病と真菌症. 第 14 回血液疾患フォーラム 特別演題 2. 東京, 10/18, 2014
19. 中山晴雄, 澁谷和俊. ABPC/SBT の腫瘍内濃度を計測することが可能であった脳腫瘍の 1 例. 第 63 回日本感染症学会東日本地方会総会学術集会 第 61 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会, 東京, 10/29-31, 2014
20. 澁谷和俊. 医真菌学の中の病理. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会 教育講演 4, 横浜, 11/1-2, 2014
21. 金城雄樹, 上野圭吾, 浦井 誠, 金子幸弘, 大久保陽一郎, 清水公德, 大野秀明, 亀井克彦, 川本 進, 澁谷和俊, 宮崎義継. クリプトコックスの莢膜多糖による免疫回避機構の解析及びその制御法の開発. シンポジウム 3 病原真菌の感染成立機構. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 横浜, 11/1-2, 2014
22. 大櫛 瞳, 安藝恭子, 篠崎 稔, 大久保陽一郎, 若山 恵, 栃木直文, 澁谷和俊, 加納 塁, 村山琮明. FISH 法による臨床病理検体からのムーコル目真菌検出系の開発. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 横浜, 11/1-2, 2014
23. 大久保陽一郎, 大野秀明, 安藝恭子, 篠崎 稔, 石渡誉郎, 栃木直文, 若山 恵, 根本哲生, 下平佳代子, 中山晴雄, 田辺公一, 山越 智, 金子幸弘, 宮崎義継, 亀井克彦, 澁谷和俊. *Cryptococcus gattii* 株における病原性発現機構の解明. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 横浜, 11/1-2, 2014
24. 中山晴雄, 本城小径, 澁谷和俊. 脳神経外

- 科領域におけるカテーテル関連酵母血症の傾向. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 横浜, 11/1-2, 2014
25. 壇辻百合香, 大野秀明, 梅山 隆, 上野圭吾, 大久保陽一郎, 田辺公一, 名木 稔, 山越 智, 金城雄樹, 杉田 隆, 澁谷和俊, 宮崎義継. マクロファージの食食を指標とした *Cryptococcus gattii* 感染病態の評価. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 横浜, 11/1-2, 2014
26. 上野圭吾, 金城雄樹, 大久保陽一郎, 清水公德, 金子幸弘, 浦井 誠, 川本 進, 亀井克彦, 大野秀明, 澁谷和俊, 宮崎義継. 高病原性 *cryptococcus gattii* の感染防衛に寄与する樹状細胞ワクチンの作用. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 横浜, 11/1-2, 2014
27. 若山 恵, 篠崎 稔, 三宅洋子, 大久保陽一郎, 石渡誉郎, 安藝恭子, 富士原弘子, 高安健人, 栃木直文, 密田亜希, 根本哲生, 澁谷和俊. 呼吸器細胞診標本に検出された真菌の臨床的意義. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 横浜, 11/1-2, 2014
28. 篠崎 稔, 若山 恵, 三宅洋子, 大久保陽一郎, 石渡誉郎, 安藝恭子, 富士原弘子, 高安健人, 栃木直文, 密田亜希, 村山琮明, 根本哲生, 澁谷和俊. 慢性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 2 報-第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 横浜, 11/1-2, 2014
29. 栃木直文, 安藤常浩, 篠崎 稔, 安藝恭子, 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, 澁谷和俊. 慢性肺アスペルギルス症の病理組織学的検討. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 横浜, 11/1-2, 2014
30. 稲毛麻弥, 篠崎 稔, 石渡誉郎, 若山 恵, 石井真由美, 佐々木久美子, 井手 忠, 釘宮剛城, 根本哲生, 澁谷和俊. 腹水細胞診中に出現した神経内分泌腫瘍の一例. 第 53 回日本臨床細胞学会秋期大会, 下関, 11/8-9, 2014
31. 澁谷和俊, 侵襲性ムーコル症の病態, アムビゾームエリアフォーラム in 岐阜, 岐阜, 11/14, 2014
32. 後町杏子, 伊藤貴文, 石田文昭, 菊池 直, 佐藤敬太, 佐野 剛, 磯部和順, 坂本 晋, 高井雄二郎, 若山 恵, 植草利公, 澁谷和俊, 本間 栄. 加湿器使用人による再燃症状軽減型の慢性過敏性肺炎と診断した IVATS 例. 第 212 回日本呼吸器学会関東地方会, 横浜, 11/22, 2014
33. 澁谷和俊. 侵襲性糸状菌症の病理と病態. 第 6 回中杉血液内科感染症講演会. 東京, 12/2, 2014
34. 澁谷和俊. 侵襲性糸状菌症の病態. 第 14 回血液疾患感染症カンファレンス. 名古屋, 1/16, 2015
- 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研究センター

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、1) LAMP法による *T. tonsurans* 感染症診断法の開発（キット化と標準化）として都内大学柔道部の本症検診検体に対する検討、および2) 既存血清診断キットの再評価としてクリプトコックス血清ラテックス凝集反応の交差性に関する検討を目的とした基盤研究を行った。以下にその成果を報告する。

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. LAMP法による *T. tonsurans* 感染症診断法の開発（キット化と標準化）：

昨年度までに作成した *T. tonsurans* 特異的LAMP (Loop-mediated isothermal

AMPLification) 系の診断上における有用性を都内大学柔道部の本症検診検体に対する検討によって検証することを目的とした。

尚、本検討は研究分担者が指導する、帝京大

学大学院 医学研究科 宇宙環境医学研究室
大学院学生 楊 彩佳 医師らと共に実施した。

2. 既存血清診断キットの再評価：

クリプトコックス抗原ラテックス凝集反応検査法 (*Cryptococcus antigen latex agglutination test*; CALAT)はグルクロノキシロマンナン抗原を検出する方法である。

本法はこれまで、non-*neoformans*の *Cryptococcus*属や *Trichosporon*属に交差反応を示すことが報告されてきた。しかし、その他の菌種については十分に検証されていない。

近年、真菌症の起炎菌は多様化してきていることから、上記菌種以外にどのような真菌に交差反応性を示すのか、検証することが必要であると考え、クリプトコックス血清ラテックス凝集反応の交差性に関する検討を行うことを目的とした。

尚、本検討は研究分担者が指導する、帝京大学大学院 医学研究科 宇宙環境医学研究室 大学院学生 戸根 一哉 医師らと共に実施した。

B. 研究方法

1. LAMP法による *T. tonsurans* 感染症診断法の開発（キット化と標準化）：

都内大学柔道部の本症検診検体に対する検討は、以下の要領によって行われた。

1) 対象：東京都内大学柔道部員（2014年11月28日、12月18日および同月20日、男子柔道部13名、女子柔道部29名の合計42名）

2) 検診方法：頭皮等における皮疹の視診、ヘアブラシサンプリング（#1, #2：計2個）および問診を行った。

3) 検査方法：ヘアブラシ#1に対するマイコセル寒天培地接種培養ならびにヘアブラシ残渣のKOH観察、および#2に対するDNA抽出と

LAMP反応を行っている。

尚、本研究は帝京大学倫理委員会の審査を経て行われたものである。

2. 既存血清診断キットの再評価：

クリプトコックス血清ラテックス凝集反応（CALAT）の交差性に関する検討は、現在入手できる2種類の市販キット（図1）を用いて、以下の要領によって行われた。

1) 表1および2に示した真菌を Sabouraud dextrose agar、および CHROM agar *Malassezia* (*Malassezia* spp.)にて培養し、各々菌体を生理食塩液に懸濁し、McFarland 標準液 No. 0.5 に相当する菌液を作成した。

2) 上述の菌液上清を Serodirect®栄研クリプトコックス（以下、Serodirect）、Pastrex™クリプトプラス（以下、Pastrex）にて解析

サンプル中のタンパク質の不十分な前処理による非特異的凝集反応を除外するため、凝集が認められたサンプルを 0.01M 2-mercaptoethanol (2-ME)を添加し、35°C、60 分間処理した後、再度 CALAT を行った。

C. 研究結果

1. LAMP法による *T. tonsurans* 感染症診断法の開発（キット化と標準化）：

都内大学柔道部の本症検診検体に対する検討について、以下の通り中間結果が得られた。

1) 視診上、男子柔道部員13人中1名、女子柔道部員29名中6名の頭皮には、*T. tonsurans* 感染症に特徴的である Black dot tinea capitis (BD) が認められた（図2）。

2) 培養試験によって、男女各1例の陽性例を認めた。但し、両例ともBDを認めなかった。

3) 本研究によって開発されたLAMP法によって、上述の培養陽性例は両例とも陽性結果が得られた。しかし、BDと培養のいずれも陰性でありながらLAMP反応が陽性となる例（図3）が認められた。

2. 既存血清診断キットの再評価：

CALAT を用いた各種真菌に対する反応性を表1および2に示した。Serodirect では、従来交差反応が知られていた菌種以外に、スエヒロタケ *S. commune*、ヒラタケ *P. ostreatus*、ヒトヨタケ *C. cinereus*、アルテルナリア *A. alternata*、およびムコール *M. circinelloides* においても程度の差こそあれ陽性を示した。一方、Pastrex では、ヒラタケとヒトヨタケのみが陽性となった。

D. 考察

1. LAMP法による *T. tonsurans* 感染症診断法の開発（キット化と標準化）：

本研究は、必ずしも医真菌学を専門としない

医師等が *T. tonsurans* 感染症を診断するために必要となる病原診断法として、LAMP法を用いた遺伝子検査系を研究開発しているものである。本法は従来の視診および培養法に比べて理論的には高感度であることから、その陽性結果が単純に検体中における原因菌の存否または生死を反映するものではないことが明らかである。そこで、今回の研究によって得られた Black dot所見、ヘアブラシ培養所見と、LAMP結果の相関性を検討し、適切なCut off値設定等の判定基準を作成する。また、本症に特徴的なBlack dot所見の存否と感染の活動性についても検討を続ける。

2. 既存血清診断キットの再評価：

これまでに報告されているCALATにおける交差反応の原因としては、幾つかの微生物、宿主因子の他、タンパク質に対する不十分な前処理等による偽陽性が知られている。但し、本研究では、2-ME処理後に凝集反応に差がみられなかったことから、本研究によって得られた結果はサンプルに含まれるタンパク質の不十分な前処理による非特異的な凝集ではないと考えられる。

また、Serodirectによる検査結果では担子菌にのみならず、*A. alternata*,や *M. circinelloides*にも交差反応が認められ、本検査法における交差反応性は必ずしも系統関係を反映しないことが示された。

本研究によって示されたとおり、同様にグルクロノキシロマンナン抗原を検出するラテックス凝集反応キットであっても、結果に乖離があり得ることから、各々の特性を念頭に結果を解釈する必要があることが示された。

本研究で認められたCALATの交差反応の原因菌が感染症の起炎菌となることもある。しかしながらCALATの力価は *C. neoformans* に比し低く、その実臨床における影響の度合いについては、改めて検証する必要があるだろう。

引き続き本研究では、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炎菌・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、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。

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. 既存血清診断キットとして臨床的に広く使われているクリプトコックス抗原ラテックス凝集反応検査法の有効かつ適切な判定に資する情報が提供された。

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. Ogawa H, Fujimura M, Ohkura N, Makimura K: A Proposal of Guidance for Identification of *Schizophyllum commune*-Associated Sinobronchial Allergic Mycosis. *Allergol Int*, Jun;63(2):287-8, 2014 (Letter to editor)
2. Khodadadi H, Mirhendi H, Makimura K, Satoh K, Karimi L, Izadi S:β-D-Glucan Assay in Diagnosis and Monitoring the Systemic Candidiasis in a Rat Model. *Jundishapur J Microbiol*, Jun;7(6): e10247, 2014
3. Rezaei-Matehkolaei A, Mirhendi H, Makimura K, de Hoog GS, Satoh K, Najafzadeh MJ, Shidfar MR: Nucleotide sequence analysis of beta tubulin gene

- in a wide range of dermatophytes. *Med Mycol*, Oct1;52(7):674-88, 2014
4. Ogawa H, Fujimura M, Ohkura N, Satoh K, Makimura K: Impact of *Bjerkandera adusta* Colonization on Chronic Cough. *Allergol Int*, Sep;63(3):499-500, 2014 (Letter to editor)
 5. Takano M, Hoshi S, Nagai K, Ishidaira H, Onozaki M, Satoh K, Makimura K : The first case of human protothecosis caused by *Prototheca zopfii* in Japan (Case Report). *J Infect Chemother*, Oct;20(10):647-649, 2014
 6. Ogawa H, Fujimura M, Ohkura N, Makimura K: It is Time to Call Attention to the Clinical Significance of Fungal Colonization in Chronic Cough. *Allergol Int*, Dec;63(4):611-2, 2014
 7. Mirhendi H, Makimura K, de Hoog GS, Rezaei-Matehkolaei A, Najafzadeh MJ, Umeda Y, Ahmadi B: Translation elongation factor 1- α gene as a potential taxonomic and identification marker in dermatophytes. *Med Mycol*, 2014 Dec 30. pii: myu088. [Epub ahead of print](Oct 2014 accepted)
 8. Ogawa H, Fujimura M, Ohkura N, Makimura K: Effects of nebulized amphotericin B and budesonide inhalation for chronic cough-related laryngeal sensations. *Auris Nasus Larynx*. 2014 Nov 22. pii: S0385-8146(14)00198-9. doi: 10.1016/j.anl.2014.10.008. [Epub ahead of print] PMID: 25466805
 9. Yasuhiro Matsumura, Michiko Abe, Koichi Makimura: Commensal Fungi are Involved in Antigen-Specific Antibody Production in the Elderly. *British Journal of Medicine and Medical Research*, Nov;5(12): 1562-1570, 2015
 10. 諸戸尚也、望月清文、宮崎崇、大楠清文、砂田淳子、浅利誠志、榎村浩一：白内障手術創に生じた *Alternaria alternata* による角膜真菌症の一例。眼科、Jun;56(6):761-766, 2014 (臨床報告)
 11. 戸根一哉、榎村浩一：3真菌(3)ムーコル(接合菌)症.化学療法の領域.耐性病原体 up-to-date~耐性メカニズムから治療戦略まで~ 2014年増刊号(平成26年4月30日発行、医薬ジャーナル社), 30 (S-1): 151(1035)-156(1040), 2014
 12. 戸根一哉、榎村浩一：ムーコル(接合菌)症の基礎と臨床. 感染症(The Infection), May; 44(3 通巻 257): 1(81)-6(86), 9(89)-10(90), 2014
 13. Nobuyasu Yamaguchi, Michael Roberts, Sarah Castr3, Cherie Oubre, Koichi Makimura, Natalie Lays, Elisabeth Grohmann, Takashi Sugita, Tomoaki Ichijo, and Masao Nasu: Microbial Monitoring of Crewed Habitats in Space-Current Status and Future Perspectives- Microbes and Environments, Sep 17;29(3):250-60, 2014
 14. 榎村浩一：担子菌と呼吸器疾患. アレルギーの臨床(今日の言葉 452), Jul; 34(8): 13(635), 2014
 15. 榎村浩一：Special Features 2「水虫」傾向と対策 水虫の正体に迫る. ヘルシスト, Jul; 38(4) 20-23, 2014
 16. 榎村浩一：ニューモシスチス・イロベチイ. 臨床検査(微生物検査イエローページ)(III章)菌種別の培養・同定方法 真菌), Oct; 58(11): 1423-1426, 2014

17. Haruhiko Ogawa, Masaki Fujimura, Noriyuki Ohkura, Koichi Makimura: Atopic cough and fungal allergy. *J Thorac Dis*, Oct;6(Suppl 7):S689-98, 2014 (Keynote lecture)
8. 大野 直子、大胡 惠樹、榎村 浩一、菱木 清、関 玲子、楯 直子、上野 公子、林 弘美、井上 真智子：多職種医療者間コミュニケーション教育の実践：帝京大学の取組み。第6回ヘルスコミュニケーション学会学術集会 in 広島(2014)、広島、2014年9月19日

学会発表

1. 楊 彩佳、石川武子、田中隆光、大西誉光、榎村浩一、渡辺晋一：皮膚クリプトコックス症。第113回日本皮膚科学会総会、京都（国際会議場）、2014年5月31日（ポスター）
2. 榎村浩一：病原真菌と有人宇宙環境における健康障害。第10回東京血液感染症セミナー、東京（港区六本木泉ガーデンコンファレンスセンター）、2014年6月19日
3. 榎村浩一：微生物としての真菌と宇宙環境における健康障害。第4回千葉県真菌症研究会学術講演会 千葉（ホテルニューオータニ幕張） 2014年6月28日特別講演 (*The Japanese Journal of Antibiotics* (0368-2781)67巻4号 Page250-251(2014.08))
4. 榎村浩一：カビと人の健康。帝京大学板橋キャンパスオープンキャンパス、東京、2014年7月12日
5. 榎村浩一：もっと聞きたい！真菌の話。臨床微生物チュートリアル、東京（Learning Square新橋）、2014年7月12日
6. 井上 真智子、大野 直子、大滝 恭弘、大胡 惠樹、筒井 秀代、山崎 丘、榎村 浩一：1年生多職種合同ヒューマンコミュニケーション授業における学生の授業体験評価への関連要因の検討。第46回日本医学教育学会大会、和歌山、2014年7月19日
7. 榎村浩一：皮膚疾患を起こす真菌。第2回日本医真菌学会皮膚真菌症指導者講習会、東京（帝京大学板橋キャンパス）2014年9月14日
9. 榎村浩一：第63回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第61回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会（同時開催：第97回日本細菌学会関東支部総会 東京（東京ドームホテル） 2014年10月29-31日
10. 榎村浩一：ヒトにおけるプロトテカ症 Human Protothecosis. 第58回日本医真菌学会総会・学術集会 シンポジウム5(医藻類学2014-ISHAM-WG Symposium: Medical Phycology 2014), 神奈川(ワークピア横浜) 2014年11月1日
11. 榎村浩一：診断の進歩。第58回日本医真菌学会総会・学術集会 ワークショップ「ニューモシスチス症の最近の話題」、神奈川（ワークピア横浜・横浜産貿ホールマリネリア） 2014年11月2日
12. 榎村浩一：真菌と真菌症、最近の話題と診断。第58回日本医真菌学会総会・学術集会 ICD 講習会 神奈川(ワークピア横浜) 2014年11月2日
13. 楊 彩佳、石川 武子、田中 隆光、大西 誉光、榎村 浩一、渡辺 晋一：皮膚クリプトコックス症の一例。第58回日本医真菌学会総会・学術集会 深在性真菌症2、神奈川(ワークピア横浜) 2014年11月1日
14. 五十棲 健、楊 彩佳、榎村 浩一：Penicillium citrinum による爪真菌症の1例。第58回日本医真菌学会総会・学術集会、神奈川(ワークピア横浜) 2014

年 11 月 1 日

15. Hossein Mirhendi, Koichi Makimura, Sybren de Hoog, Ali Rezaei-Matehkolaei, Mohammad Javad Najafzadeh, Yoshiko Umeda, Kazuo Satoh : Translation elongation factor 1- α gene as a new potential taxonomic and identification marker for dermatophytes. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 神奈川(ワークピア横浜) 2014 年 11 月 2 日 (ポスター)
16. アレシャフニ ムハンマド、山田 剛、榎村 浩一 : Studies on calcineurin A gene in the dermatophytes *Arthroderma vanbreuseghemii*. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 神奈川(ワークピア横浜) 2014 年 11 月 2 日 (ポスター)
17. 南條 育子、榑 哲夫、古賀 裕康、榎村 浩一、坪井 良治: 各種外用抗真菌薬の白癬起因菌に対する *in vitro* 抗真菌活性. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 神奈川(ワークピア横浜) 2014 年 11 月 2 日 (ポスター)
18. 戸根 一哉、榎村 浩一 : クリプトコックス・ネオフォルマンس抗原検査法における交差反応性の検討. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 神奈川(ワークピア横浜) 2014 年 11 月 2 日 (ポスター)
19. Reza Shokuhi, Koichi Makimura, Hossein Mirhendi, Ali Rezaei-Matehkolaei, Kazuo Satoh: The first case of onychomycosis in Koala due to an atypical isolates of *Microsporum gypseum*, diagnostic challenges. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 神奈川(ワークピア横浜) 2014 年 11 月 2 日 (ポスター)
20. 山崎 丘、楊 彩佳、戸根 一哉、藤崎 竜一、榎村 浩一 : 主要真菌検出用 LAMP プライマーを用いた生活環境中真菌の検出. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 神奈川(ワークピア横浜) 2014 年 11 月 2 日 (ポスター)
21. 佐藤 一朗、Alshahni Mohamed Mahdi、山崎 丘、榎村 浩一 : 国際宇宙ステーション搭載機器内部から分離した真菌の特性. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 神奈川(ワークピア横浜) 2014 年 11 月 2 日 (ポスター)
22. 中山 孝子、アルシャフニ モハマド マハディ、山崎 丘、榎村 浩一 : *Microsporidia* 感染症の薬剤感受性試験. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 神奈川(ワークピア横浜) 2014 年 11 月 2 日 (ポスター)
23. 楠原 正洋、下山 陽也、榎村 浩一、清佳浩: 福岡市一診療所における 1 年間に受診した皮膚真菌症の統計的観察. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 神奈川(ワークピア横浜) 2014 年 11 月 2 日 (ポスター)
24. 樋口 健太郎、黒田 正美、荻原 真二、柳原 伸江、五十里 博美、羽田 牧子、阿南 晃子、山本 智子、上原 広幸、中村 晃英、田澤 庸子、古畑 由紀江、板垣 沙紀、石神 亜矢子、滝川 久美子、荒井 ひろみ、大橋 久美子、三坂 香織、柳沢 英二、江原 和志、竹澤 理子、深沢 裕美、及川 紅子、小川 美保、佐野 純子、山田 邦子、藤井 幸太郎、打田 孝枝、横沢 郁代、高橋 佳久、高橋 茜、吉田 勝一、石垣 しのぶ、森 千尋、市川 りさ、鶴沢 豊、後藤 亜江子、鶴岡 直樹、平井 由児、霜島 正浩、川上小夜子、榎村 浩一、菊池 賢: 臨床材料で分離される“*Candida albicans*”菌株同定の再検討. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会, 神奈川(ワークピア横浜)

2014年11月2日 (ポスター)

25. 下山 陽也、佐藤 一郎、榎村 浩一、清佳浩:リアルタイム PCR 法を用いた爪真菌症起因菌の同定. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会 ランチョンセミナー2 見つける! 塗る! 治す! -新規成分による新しい爪白癬治療-, 神奈川(ワークピア横浜) 2014年11月1日
26. 榎村浩一:病原真菌と血液感染における真菌症の管理.Infection Seminar in Josai LectureII, 東京(京王プラザ), 2014年12月17日 特別講演
27. 二木芳夫、坪生良治、杉田隆、榎村浩一、宮崎義継、望月隆、澁谷和俊:真菌感染症の検査法と臨床.第 26 回日本臨床微生物学会総会・学術集会 ワークショップ2、東京(新宿京王プラザホテル)、2015年1月31日-2月1日
28. 荻原繁広、梅田宣子、田村俊、尾又有紀、金田友香理、榎村浩一:外耳道から検出した *Aspergillus* spp.の同定および薬剤感受性試験. 第 26 回日本臨床微生物学会総会・学術集会, 東京(新宿京王プラザホテル)、2月1日
29. 榎村浩一:深在性真菌症これから解決すべきこと:基礎. 真菌症フォーラム第16回学術集会 シンポジウム、東京(第一ホテル東京)、2015年2月14日
30. 榎村浩一: *Pneumocystis jirovecii* を知ろう.第3回日本移植学会スプリングセミナー、東京(都市センターホール)、2015年3月7日
31. 榎村浩一:国際宇宙ステーション「きぼう」船内における真菌叢モニタリング.第88回日本細菌学会総会シンポジウム6「国際宇宙ステーションでの宇宙微生物学研究の現状」,岐阜, 2015年3月27日
32. 榎村浩一:TOF-MSによる真菌の同定. 第88回日本細菌学会総会 共催セミナー、

岐阜, 2015年3月27日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. LAMP法による *T. tonsurans* 感染症診断法 (出願予定)

その他

1. 榎村浩一: N スタ ジメジメ雨の季節到来怖い! 食中毒防ぐには注目! 最新カビ撃退法. TBS Nスタ 2014年6月6日(金) 15:15 ~
2. 榎村浩一、黒川正美、澁谷和俊(司会:菊池賢):座談会「真菌症と真菌検査の現状と問題点:検査室でどこまで、どのように対処すべきか」 ICC in the BioScan Fresh and Future, Jun; (9): 2-8, 2014
3. 榎村浩一: どうすれば安全安心「治りにくい夏風邪」 毎日新聞 7月17日(木)夕刊、2014
4. Suzuki k, Suzuki S, Sunagawa T, Phung T: パンデミックインフルエンザの脅威と対策、治療.e-ASIA プロジェクト 国際感染症シンポジウム=大学院特別講義【アジアにおける呼吸器感染症の現状と課題:インフルエンザと結核】part2 Commentators (Makimura, Sunagawa, Inoue, Akagawa, Kawachi)、東京(帝京大学板橋キャンパス)、2015年1月17日