

201420053B

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

侵襲性真菌症例から分離された原因真菌の  
分子疫学解析と疫学データベース化を用いた  
院内感染対策の研究

平成24年度～26年度 総合研究報告書

研究代表者 田辺 公一  
(国立感染症研究所)

平成27(2015)年 3月



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

侵襲性真菌症例から分離された原因真菌の  
分子疫学解析と疫学データベース化を用いた  
院内感染対策の研究

平成24年度～26年度 総合研究報告書

研究代表者 田辺 公一  
(国立感染症研究所)

平成27(2015)年 3月

# 目 次

I. 総合研究報告	
侵襲性真菌症例から分離された原因真菌の分子疫学解析と疫学データベース化を用いた院内感染対策の研究-----	1
研究代表者（国立感染症研究所・生物活性物質部・田辺 公一）	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表・別刷-----	11

# I. 総合研究報告書

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）  
総合研究報告書

侵襲性真菌症例から分離された原因真菌の分子疫学解析と  
疫学データベース化を用いた院内感染対策の研究

研究代表者 田辺 公一  
国立感染症研究所 真菌部 第一室室長

研究要旨

*Candida* 属や *Aspergillus* 属による侵襲性真菌症に関する疫学研究は乏しく、治療ガイドラインは設けられているが予後は一般に不良である。*Candida* 属は臨床検体から最も頻繁に分離される真菌であり、院内感染を引き起こすような高病原性株が存在することが報告されている。分離された *Candida* 属の疫学情報（遺伝学的系統解析結果や薬剤感受性試験結果）が充実すれば、高病原性株や薬剤耐性株の早期発見が可能になり、院内感染対策や治療方針の決定に大きく貢献できるものと期待される。本研究では、侵襲性感染を引き起こした *Candida* 属を医療機関から提供していただくネットワークを構築し、継続的サーベイランスを行うこと、また、提供された菌株の遺伝子型解析を行い、侵襲性感染や薬剤耐性化を起こしやすい株の予測を可能にすることを目的とした。

A. 研究目的

本研究では、国内の主要医療機関において侵襲性感染を引き起こした *Candida* 属、特に分離頻度の高い *C. albicans* を収集し、感染症発生動向と分離菌の薬剤感受性を検証することを目的とする。分離された菌の菌学的解析、分子疫学的解析を通じて、これらに共通する特定の遺伝学的パターンや因子の存在を検討する。さらに、特定分子系統の菌種において発病がより高頻度に認められるのかの検討を行い、最終的に分子疫学型と予後に

関するデータベースを構築する。これにより、どのような症例により重大な関心を払うべきかや、発病リスクを低減する院内環境整備など内因性感染、院内感染対策に活用することで生命予後の改善を図るとともに、効果的な治療を通じた国民医療費軽減にも貢献することを目的とする。

研究期間3年間を通して、医療機関において分離される *Candida* 株を分離臓器の区別なく送付いただいた。菌種同定を行い、*C. albicans* についてコロニーPCR産物を用いた迅速かつ

簡便な実験手法で Multi Locus Sequence Typing (MLST) によって各株の遺伝子型解析を行った。また、対象とする菌株を用いて、簡易的な薬剤感受性試験を行い、耐性株の有無のみを調べた。以上の解析結果と、分離臓器との相関を検討した。

## B. 研究方法

### <菌株輸送のプロトコル>

埼玉医科大付属病院・検査部より月2回を目安に、臨床検体(皮膚、喀痰、血液、膿など)から分離された酵母様真菌を分与いただいた。介入は行わず検査の一環で分離された菌株のみを対象とした。平成26年度までに血液培養分離株を中心に約250株を分与いただいた。

### <Candida株遺伝子解析>

リボソームDNAの塩基配列から菌種を同定し、*C. albicans*であった株について7遺伝子の特定の領域をコロニーPCRで増幅し、塩基配列を決定しMLST解析を行った。

### <薬剤感受性試験>

臨床で用いられる代表的な抗真菌薬(フルコナゾール、ミカファンギン、アムホテリシンB)について耐性株の有無を調べた。96穴プレートのすべてのウェルに耐性株しか発育できない薬剤を含む培地を調製し、同じく96穴プレートの各ウェルに菌の懸濁液を調製し、トランスファープレートを用いて菌の接種を行った。この実験系によって耐性株の有無について一度に96株試験することができた。

(倫理面への配慮)

菌株が分離された臓器や患者の疾患名など、臨床情報を利用した解析を予定しているため、埼玉医科大付属病院、国立感染研ともに医学研究倫理審査委員会の承認を得る手続きを平成24年度までに完了した。

## C. 研究結果

### <Candida株遺伝子解析>

MLST解析に必要な増幅する遺伝子名および遺伝子領域の長さは以下のとおりである。

表1 MLST解析に用いた遺伝子

gene name	length(bp)
AAT1a	373
ACC1	407
ADP1	443
MPIb	375
SYA1	391
VPS13	403
ZWF1b	491

(<http://www.mlst.net/>)

比較的短い領域であるために、追加のプライマーは設定せず、増幅に用いたプライマーで双方の末端から塩基配列決定を行った。

埼玉医大より96株の*Candida*株を分与いただき、解析を行った。まずリボソームDNAの塩基配列を決定し、遺伝子データベース情報検索から平成25年度は104株(69.3%)が平成26年度は57株(59.4%)が*C. albicans*であることを確認し、MLST解析に進

めた。

平成 26 年度は、キャンディン系抗真菌薬に低感受性である *C. parapsilosis* の分離頻度が前年度 0.63%から 8.3%に増加していた。

遺伝子型については百種類以上が登録されており、互いに完全一致するケースは少ないが、配列の相同性を利用したクレード分類を行った。前年度の結果を合わせて、分離臓器と遺伝子型の比較検討を行った。血液培養分離株ではクレード番号 4、9が多かったのに対して、定着と考えられる尿からの分離株はクレード番号 1 のものが多かった。

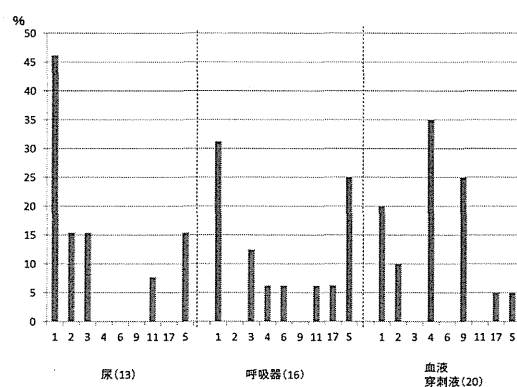


図 1 MLST 解析結果 (クレード分類)

分与いただいた *Candida* 株の薬剤感受性を調べた。耐性化が懸念される、アゾール系抗真菌薬、キャンディン系抗真菌薬についてまずはスクリーニングを行った。96 株の菌液を 96 穴プレートにそれぞれ調製し、耐性株だけが発育できるような液体培地を接種した。この試験で発育してきた耐性化候補株について詳細に薬剤感受性試験を行った。その結果、8 株のアゾー

ル系抗真菌薬耐性株を同定した。キャンディン系抗真菌薬耐性株やアムホテリシン B 耐性株は検出されなかった。

#### D. 考察

2 年間収集した *C. albicans* を用いて MLST 解析を行い、分離臓器によって遺伝子型の分布が異なることを見出した。本検討における遺伝子型解析を行った株数はまだ十分ではないが、血液培養分離株の遺伝子型は互いに共通性があることが予想された。欧州で行われた同様の検討においては、特定の遺伝子型クレードに属する *C. albicans* 株が血液培養から分離される頻度が高いという報告がある

(Eukaryot Cell. 2007

Jun;6(6):1041-52.)。これらの結果は、すべての *C. albicans* 株が同じ確率で重症の血流感染症を引き起こすのではなく、血流感染を引き起こすリスクが *C. albicans* 株によって異なること、またそのリスクは MLST などの遺伝子型解析で予測が可能であることを示唆している。この仮説をさらに検証するために、さらに多数の検体を複数の医療機関から分与いただき、解析する必要がある。

薬剤感受性の簡易試験の結果、分与いただいた株の中に、8 株のアゾール耐性 *C. albicans* 株が存在したが、分離された臓器の共通性や、遺伝子型の相同性もなかった。この結果は、それぞれのアゾール耐性株が独立して派生した可能性を示唆しており、多剤耐

性黄色ブドウ球菌の院内集団感染例のように単一株の院内感染伝播の可能性は低いものと考えられた。また、キャンディン耐性、ポリエン（アムホテリシン B）耐性株は、分与いただいた株の中にはいずれも存在しなかった。これらの抗真菌薬に対する耐性 *C. albicans* 株の発生頻度は極めて低いと考えられており、本検討で得られた結果は、これまでの予測と矛盾しないものであった。

また、平成 26 年度は分与いただいた株のうち *C. parapsilosis* の分離頻度が顕著に増加していた。この結果は、キャンディン系抗真菌薬が第一選択薬になりつつある臨床背景を反映するものと推測される。キャンディン使用量の増加にともない *C. parapsilosis* の分離頻度が上昇したという報告は他の医療機関からも報告されており、分離頻度の動向を注視する必要がある。

MLST 解析より、分与いただいた株は互いに同一の株はほとんど存在しなかったことから *Candida* 株が一人の患者から派生して院内感染を引き起こす可能性は極めて低く、多くの *Candida* 感染症は各患者に常在していた菌が播種性感染を引き起こす孤発性のものであると考えられる。したがって本検討は、院内感染対策よりも、各患者の保有する菌株が重症感染症を引き起こすかどうかのリスク評価への応用を目指すべきであると考えられた。

## E. 結論

*C. albicans* 株の MLST 解析結果から、血液培養分離株の遺伝子型には、互いに共通性があることを示唆する結果が得られた。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

論文発表

原著論文

英文

1. Saraya T, Tanabe K, Araki K, Yonetani S, Makino H, Watanabe T, Tsujimoto N, Takata S, Kurai D, Ishii H, Miyazaki Y, Takizawa H, Goto H. Breakthrough invasive *Candida glabrata* in patients on micafungin: a novel FKS gene conversion correlated with sequential elevation of MIC. *Journal of Clinical Microbiology*. 52(7):2709-2712, 2014.
2. Urai M, Kaneko Y, Niki M, Inoue M, Tanabe K, Umeyama T, Fukazawa H, Ohno H, Miyazaki Y. Potent drugs that attenuate anti-*Candida albicans* activity of fluconazole and their possible mechanisms of action. *J Infect Chemother*. 20(10):612-615, 2014.



3. Norkaew T, Ohno H, Sriburee P, Tanabe K, Tharavichitkul P, Takarn P, Puengchan T, Bumrungsri S, Miyazaki Y. Detection of Environmental Sources of *Histoplasma capsulatum* in Chiang Mai, Thailand, by Nested PCR. *Mycopathologia*. 2013;176(5-6):395-402
4. Okubo Y, Wakayama M, Ohno H, Yamamoto S, Tochigi N, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Umeyama T, Shinozaki M, Nemoto T, Nakayama H, Sasai D, Ishiwatari T, Shimodaira K, Yamamoto Y, Kamei K, Miyazaki Y, Shibuya K. Histopathological Study of Murine Pulmonary Cryptococcosis Induced by *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans*. *Jpn J Infect Dis*. 2013;66(3):216-21.
5. Hosogaya N, Miyazaki T, Nagi M, Tanabe K, Minematsu A, Nagayoshi Y, Yamauchi S, Nakamura S, Imamura Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kugiyama K, Kohno S. The Heme-binding Protein Dap1 links Iron Homeostasis to Azole Resistance via the P450 Protein Erg11 in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res*. 2013 13(4):411-21
6. Nagi M, Tanabe K\*, Ueno K, Nakayama H, Aoyama T, Chibana H, Yamagoe S, Umeyama T, Oura T, Ohno H, Kajiwara S, Miyazaki Y. The *Candida glabrata* sterol scavenging mechanism, mediated by the ATP-binding cassette transporter Aus1p, is regulated by iron limitation. *Mol Microbiol*. 2013 88(2):371-81 (\*Corresponding author)
7. Umeyama T, Ohno H, Minamoto F, Takagi T, Tanamachi C, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Kishi K, Fujii T, Takemura H, Watanabe H, Miyazaki Y. Determination of Epidemiology of Clinically Isolated *Cryptococcus neoformans* Strains in Japan by Multilocus Sequence Typing. *Jpn J Infect Dis*. 2013;66(1):51-5
8. Ohno H, Tanabe K, Umeyama T, Kaneko Y, Yamagoe S, Miyazaki Y. Application of nested PCR for

diagnosis of histoplasmosis. J Infect Chemother.

2013;19(5):999-1003

9. Nagi M, Tanabe K, Nakayama H, Yamagoe S, Umeyama T, Oura T, Ohno H, Kajiwara S, Miyazaki Y. Serum cholesterol promotes the growth of *Candida glabrata* in the presence of fluconazole. J Infect Chemother. 2013;19(1):138-43.

#### 総説

#### 和文

1. 田辺公一, 宮崎義継. 耐性病原体 up-to-date~耐性メカニズムから治療戦略まで~, I 抗微生物薬に対する耐性メカニズム, 2 抗真菌薬耐性. 化学療法の領域. 30(S-1):20-5, 2014 年.

#### 国内学会

1. 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 名木 稔, 大野秀明, 宮崎義継. アスペルギルスの抗真菌薬耐性. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.
2. 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, 澁谷和利, 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. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.

3. 浦井 誠, 金子幸弘, 上野圭吾, 田辺公一, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄樹, 大野秀明, 杉田 隆, 宮崎義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* の莢膜多糖成分が免疫細胞に及ぼす影響. 第 58 回日本医真菌学会総会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.
4. 田辺公一, 宮崎義継. カンジダ症における薬剤耐性. 第 97 回日本細菌学会関東支部総会. 10 月 30-31 日, 2014 年, 東京.
5. 名木 稔, 田辺公一, 石野敬子, 梅山 隆, 山越 智, 大野秀明, 宮崎義継. 真菌の薬剤耐性の現状と課題. 第 63 回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 10 月 29-31 日, 2014 年, 東京.
6. 田辺公一, 大野秀明, 名木 稔, 浦井 誠, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 宮崎義継. カンジダ属の抗真菌薬耐性. 第 35 回関東医真菌懇話会. 6 月 7 日, 2014 年, 東京.
7. 田辺公一, 大野秀明, 名木 稔, 浦井 誠, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 荒木光二, 皿谷 健, 宮崎義継. ミカファンギン耐性 *Candida glabrata* 株の in vitro 性状解析.

- 第 35 回関東医真菌懇話会. 6 月 7 日, 2014 年, 東京.
8. 浦井 誠, 金子幸弘, 稲垣浩司, 狩谷哲芳, 政本大二郎, 水谷 真, 名木 稔, 上野圭吾, 山越 智, 田辺公一, 梅山 隆, 大川原明子, 金城雄樹, 大野秀明, 宮崎義継. 腹膜透析中に発症した *Cryptococcus laurentii* による腹膜炎の一例. 第 35 回関東医真菌懇話会. 6 月 7 日, 2014 年, 東京.
  9. 梅山 隆, 大野秀明, 田辺公一, 山越 智, 名木稔, 宮崎義継. 症例から学ぶ感染症セミナー—ムール症の真菌同定検査. 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合同学会. 6 月 18 日-20 日, 2014 年, 福岡.
  10. 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 名木稔, 金子幸弘, 金城雄樹, 大野秀明, 宮崎義継. 病原糸状菌 *Aspergillus fumigatus* の Polo-like キナーゼ遺伝子破壊株の菌糸成長・分生子形成・抗真菌薬感受性への影響. 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合同学会. 6 月 18 日-20 日, 2014 年, 福岡.
  11. 田辺公一, 大野秀明, 名木 稔, 浦井 誠, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 知花博治, 亀井克彦, 宮崎義継. カンジダ属の抗真菌薬感受性の変貌. 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合同学会. 6 月 18-20 日, 2014 年, 博多.
  12. 浦井 誠, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄樹, 大野秀明, 杉田 隆, 宮崎義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* 由来荚膜多糖の免疫細胞に及ぼす影響. 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合同学会. 6 月 18-20 日, 2014 年, 博多.
  13. 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 名木 稔, 知花博治, 亀井克彦, 宮崎義継 : 日本のキャンディン耐性カンジダの現状 第 57 回 日本医真菌学会総会 シンポジウム 2013 年 9 月
  14. 大野秀明, 大久保陽一郎, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山 隆, 山越 智, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮崎義継 : *Cryptococcus gattii* 感染症の病態解析 第 57 回 日本医真菌学会総会 シンポジウム 2013 年 9 月
  15. 浦井 誠, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継 : *Candida albicans* のアゾール感受性に対する併用薬の影響と作用機構に関する検討 第 57 回 日本

- 医真菌学会総会 2013年9月
16. 犬飼達也、田辺公一、名木 稔、中山浩伸：病原真菌 *Candida glabrata* のマンノプロテイン TIR3 のステロール取り込みにおける役割 第57回 日本医真菌学会総会 2013年9月
  17. 名木 稔、田辺公一、中山浩伸、梅山 隆、山越 智、知花博治、梶原 将、大野秀明、宮崎義継： *Candida glabrata* における ABC タンパク質 Aus1p の細胞外ステロール取り込みと病原性における役割 第57回 日本医真菌学会総会 2013年9月
  18. 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、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：ガッティ型クリプトコックス症に関する感染防御ならびに病原因子の解析 第57回 日本医真菌学会総会 2013年9月
  19. 梅山 隆、山越 智、田辺公一、名木 稔、金子幸弘、金城雄樹、大野秀明、宮崎義継： *Aspergillus fumigatus* の polo-like キナーゼは菌糸伸長と分生子形成を制御している 第57回 日本医真菌学会総会 2013年9月
  20. 田辺公一、名木 稔、中山浩伸、梅山 隆、山越 智、大野秀明、宮崎義継：病原真菌 *Candida glabrata* における細胞外ステロール取り込み 第35回 日本分子生物学会年会 2012年12月
  21. 山越 智、梅山 隆、田辺公一、金子幸弘、橋本ゆき、大野秀明、宮崎義継： *Aspergillus fumigatus* の細胞壁、分泌蛋白質 B-11 の機能解析 第56回 日本医真菌学会総会・学術集会 2012年11月
  22. 大久保陽一郎、大野秀明、篠崎 稔、宮崎義継、根本哲生、若山 恵、栃木直文、笹井大督、石渡誉郎、中山晴雄、下平佳代子、田辺公一、金子幸弘、梅山 隆、山越 智、職玉珠、北原加奈子、山本慶郎、渋谷和俊：マウス肺クリプトコックス症モデルを用いた感染防御ならびに構築変換の解析 第56回 日本医真菌学会総会・学術集会 2012年11月
  23. 田辺公一、梅山 隆、金子幸弘、山越 智、大野秀明、宮崎義継： *Candida glabrata* の生体内における病原因子；鉄欠乏における遺伝子発現調節 第56回 日本医真菌学会総会・学術集会 2012年11月
  24. COX 阻害剤による *Candida*



- albicans* の抗真菌薬感受性変化と排出ポンプ発現誘導：金子幸弘、田辺公一、梅山 隆、大野秀明、宮崎義継 第 56 回 日本医真菌学会総会・学術集会 2012 年 11 月
25. 田辺公一、名木 稔、山越 智、梅山 隆、大野秀明、宮崎義継：病原真菌 *Candida glabrata* の細胞外ステロール取り込み活性化機構 第 41 回 薬剤耐性菌研究会 2012 年 10 月
26. 田辺公一、名木 稔、梅山 隆、金子幸弘、山越 智、大野秀明、宮崎義継：*Candida glabrata* の鉄欠乏における遺伝子発現調 第 95 回 日本細菌学会 関東支部総会 2012 年 10 月
27. K. Tanabe, H. Ohno, T. Umeyama, S. Yamagoe H. Chibana and Y. Miyazaki: Genetic analysis of echinocandin-resistant *Candida glabrata* isolated in Japan 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology June 2012
28. H. Ohno, K. Tanabe, Y. Kaneko, T. Umeyama, S. Yamagoe and Y. Miyazaki: Nested PCR for diagnosis of histoplasmosis 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology June 2012
29. T. Umeyama, H. Ohno, K. Tanabe, Y. Kaneko, S. Yamagoe and Y. Miyazaki: Multi-locus sequence typing epidemiology of *Cryptococcus neoformans* strains clinically isolated in Japan 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology June 2012
30. M. Niimi, K. Tanabe, K. Niimi, E. Lamping, M. Nagi, A.R. Holmes, M.V. Keniya, B.C. Monk and R.D. Cannon: Milbemycins are broadspectrum fungal multidrug efflux pump inhibitors that interact directly with the transmembrane domains of *Candida albicans* Cdr1p and Cdr2p. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology June 2012
31. 山越 智、梅山 隆、田辺公一、金子幸弘、大野秀明、宮崎義継：*Aspergillus fumigatus* 分泌蛋白質 B\_11 の病原性の解析とサンドイッチ ELISA 系の構築 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演会 2012 年 4 月

32. 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮崎義継: 侵襲性肺アスペルギルス症の主要原因菌 *Aspergillus fumigatus* による肺胞上皮細胞への接着と侵入 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演会 2012 年 4 月
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・学術講演会 2012 年 4 月
34. 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・学術講演会 2012 年 4 月
35. 名木 稔, 田辺公一, 山越 智, 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継: 病原真菌 *Candida glabrata* はユニークなステロールトランスポーターによりアゾール耐性となりうる 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演会 2012 年 4 月
36. 田辺公一, 大野秀明, 梅山 隆, 山越 智, 知花博治, 宮崎義継: 我が国のキャンディン耐性 *Candida glabrata* 株の遺伝子解析 第 60 回日本化学療法学会学術集会 2012 年 4 月
- H. 知的財産の出願・登録状況 (予定を含む)  
該当なし

## II. 研究成果の刊行に関する一覧表・別刷

雑誌

英文

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版 年
Saraya T, Tanabe K, Araki K, Yonetani S, Makino H, Watanabe T, Tsujimoto N, Takata S, Kurai D, Ishii H, Miyazaki Y, Takizawa H, Goto H	Breakthrough invasive <i>Candida glabrata</i> in patients on micafungin: a novel FKS gene conversion correlated with sequential elevation of MIC.	Journal of Clinical Microbiology	52(7)	2709-2712	2014
Urai M, Kaneko Y, Niki M, Inoue M, Tanabe K, Umeyama T, Fukazawa H, Ohno H, Miyazaki Y.	Potent drugs that attenuate anti- <i>Candida albicans</i> activity of fluconazole and their possible mechanisms of action.	J Infect Chemother	20(10)	612-615	2014
Norkaew T, Ohno H, Sriburee P, Tanabe K, Tharavichitkul P, Takarn P, Puengchan T, Bumrungsri S, Miyazaki Y	Detection of Environmental Sources of <i>Histoplasma capsulatum</i> in Chiang Mai, Thailand, by Nested PCR	Mycopathologia	176(5-6)	395-402	2013



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(3)	216-221	2013
Hosogaya N, Miyazaki T, Nagi M, Tanabe K, Minematsu A, Nagayoshi Y, Yamauchi S, Nakamura S, Imamura Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kugiyama K, Kohno S	The Heme-binding Protein Dap1 links Iron Homeostasis to Azole Resistance via the P450 Protein Erg11 in <i>Candida glabrata</i> .	FEMS Yeast Res.	13(4)	411-421	2013
Nagi M, Tanabe K*, Ueno K, Nakayama H, Aoyama T, Chibana H, Yamagoe S, Umeyama T, Oura T, Ohno H, Kajiwara S, Miyazaki Y.	The <i>Candida glabrata</i> sterol scavenging mechanism, mediated by the ATP-binding cassette transporter Aus1p, is regulated by iron limitation.	Mol Microbiol.	88(2)	371-381	2013

Umeyama T, Ohno H, Minamoto F, Takagi T, Tanamachi C, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Kishi K, Fujii T, Takemura H, Watanabe H, Miyazaki Y.	Determination of Epidemiology of Clinically Isolated Cryptococcus neoformans Strains in Japan by Multilocus Sequence Typing.	Jpn J Infect Dis.	66(1)	51-55	2013
Ohno H, Tanabe K, Umeyama T, Kaneko Y, Yamagoe S, Miyazaki Y.	Application of nested PCR for diagnosis of histoplasmosis.	J Infect Chemother.	19(5)	999-1003	2013
Nagi M, Tanabe K, Nakayama H, Yamagoe S, Umeyama T, Oura T, Ohno H, Kajiwara S, Miyazaki Y.	Serum cholesterol promotes the growth of Candida glabrata in the presence of fluconazole.	J Infect Chemother.	19(1)	138-143	2013

和文

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版 年
田辺公一, 宮崎義継	耐性病原体 up-to-date～耐性メ カニズムから治療戦 略まで～	化学療法の領 域	30(S-1)	20-25	2014

# Breakthrough Invasive *Candida glabrata* in Patients on Micafungin: a Novel *FKS* Gene Conversion Correlated with Sequential Elevation of MIC

Takeshi Saraya,<sup>a</sup> Koichi Tanabe,<sup>b</sup> Koji Araki,<sup>c</sup> Shota Yonetani,<sup>c</sup> Hiroshi Makino,<sup>c</sup> Takayasu Watanabe,<sup>a</sup> Naoki Tsujimoto,<sup>a</sup> Saori Takata,<sup>a</sup> Daisuke Kurai,<sup>a</sup> Haruyuki Ishii,<sup>a</sup> Yoshitsugu Miyazaki,<sup>b</sup> Hajime Takizawa,<sup>a</sup> Hajime Goto<sup>a</sup>

Kyorin University School of Medicine, Department of Respiratory Medicine, Mitaka, Tokyo, Japan<sup>a</sup>; Department of Chemotherapy and Mycoses, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan<sup>b</sup>; Kyorin University School of Medicine, Department of Laboratory Medicine, Mitaka, Tokyo, Japan<sup>c</sup>

***Candida glabrata* strains sequentially isolated from blood developed resistance to micafungin (MICs from <0.015 to 4 µg/ml). A novel mutation identified in micafungin-resistant strains at bp 262 of *FKS2* (containing a deletion of F659 [F659del]) was inserted into the homologous region in *FKS1*.**

## CASE REPORT

A 93-year-old man was admitted to our hospital with a diagnosis of pulmonary tuberculosis (day 1). The patient had been receiving treatment for essential hypertension with chronic renal failure for a decade. On admission, the patient's vital signs were normal; however, serum laboratory data showed a marked elevation of creatinine (Cr) (4.7 mg/dl) and blood urea nitrogen (BUN) (74.5 mg/dl). After initiation of antituberculous therapy with oral isoniazid (300 mg/day) plus rifampin (450 mg/day), renal failure progressed (Cr, 7.0 mg/dl) due to drug-induced myoglobinemia (1,000 ng/ml) with uremic symptoms. Although an urgent flexible double lumen (FDL) catheter was introduced into the internal jugular vein, readministration of isoniazid (day 18) caused severe rhabdomyolysis (myoglobinemia, 25,650 ng/ml), with a recurrence of the uremic symptoms.

On day 27, the patient suddenly went into a state of shock with high fever and was empirically treated with intravenous meropenem (0.5 g/day), vancomycin (0.5 g, every 48 h [q48h]), and fluconazole (200 mg/day) based on a tentative diagnosis of aspiration pneumonia or catheter-related bloodstream infection complicated by sepsis. On the same day, two sets of blood cultures and serum endotoxin antigen were negative except for an elevation of β-D-glucan (133 pg/ml). On day 32, the patient's serum value of β-D-glucan rose to 530 pg/ml, and he had a positive result for serum galactomannan (*Aspergillus* antigen) of 4.5, thrombocytopenia ( $6.4 \times 10^3$  platelets/µl), and leukocytopenia ( $2.0 \times 10^3$  leukocytes/µl). Therefore, the fluconazole was changed to voriconazole (6 mg/kg of body weight/day, q12h) with the intent of targeting *Aspergillus* spp. However, on day 35, a blood culture collected on day 32 (strain NO1) was identified as *Candida*

*glabrata*; therefore, voriconazole was changed to intravenous micafungin (100 mg/day) according to the Infectious Diseases Society of America (IDSA) 2009 guidelines (1). A blood culture taken on day 34 (NO2) also was positive for *C. glabrata*; however, after initiation of treatment with micafungin, the persistent fever subsided, and a blood culture taken at day 37 was negative for the yeast. Both strain NO1 and strain NO2 were susceptible to micafungin (MIC, <0.015 µg/ml) but susceptible-dose dependent to fluconazole (MIC <8 µg/ml) by Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) broth microdilution (BMD) methods (CLSI document M27-S4). With regard to voriconazole, no breakpoint was determined for *C. glabrata*. In spite of two rounds of replacement of the FDL catheter, the serum value of β-D-glucan remained high (>600 pg/ml), and blood cultures taken on day 48 (NO3) and day 51 (NO4) again yielded *C. glabrata*. Based on the suspicion of a micafungin-resistant strain, micafungin treatment was changed to intravenous liposomal amphotericin B (3 mg/

Received 26 December 2013 Returned for modification 23 January 2014

Accepted 18 April 2014

Published ahead of print 30 April 2014

Editor: D. J. Diekema

Address correspondence to Takeshi Saraya, sara@yd5.so-net.ne.jp.

T.S. and K.T. are co-first authors.

Supplemental material for this article may be found at <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.03593-13>.

Copyright © 2014, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

doi:10.1128/JCM.03593-13

TABLE 1 Drug susceptibilities of isolated *Candida glabrata* strains

Strain	MIC (µg/ml) of <sup>a</sup> :						
	MCFG (S, R)	AMPH-B (S)	5-FC (S)	FLCZ (SDD)	ITCZ (S, SDD)	VRCZ	PSCZ
NO1	<0.015	1	<0.12	8	1	0.5	2
NO2	<0.015	1	<0.12	8	1	0.5	0.5
NO3	<0.015	0.5	<0.12	4	0.5	0.25	0.5
NO4	2	1	<0.12	4	1	0.25	0.5
NO5	4	0.5	<0.12	8	1	1	2

<sup>a</sup> AMPH-B, amphotericin B; 5-FC, 5-flucytosine; FLCZ, fluconazole; ITCZ, itraconazole; MCFG, micafungin; VRCZ, voriconazole; PSCZ, posaconazole; R, isolates were resistant; S, isolates were susceptible; SDD, isolates were susceptible, depending on the dose.