

平成 26 年度～平成 28 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)

バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法の確立，
及び細胞培養痘そうワクチンの有効性，安全性に関する研究

分担報告書

バイオテロに使用される可能性のある真菌感染症の迅速診断法の確立

所 属 国立感染症研究所真菌部
研究分担者 宮崎義継 (平成 26 年度)
梅山隆 (平成 27-28 年度)

研究要旨: バイオテロに用いられる可能性のある病原真菌として, BSL3 に分類されるコクシジオイデス属 (*Coccidioides immitis*, *C. posadasii*), ヒストプラズマ属 (*Histoplasma capsulatum*), BSL2 に分類されるクリプトコックス・ガッティ (*Cryptococcus gattii*) が想定される. これらの病原真菌は感染性が高く, 分離培養で大量の分生子を飛散させる危険性があることから, 培養を介さない検査技術の開発が望まれる. 本研究は, 臨床検体からコクシジオイデス属などの高病原性真菌 DNA の検出法を検討し, より簡便で成績の良い DNA 検出法を開発し, バイオテロを含めた集団感染事例が起きた際の迅速診断に役立てることを目的とする. LAMP 法によるコクシジオイデスおよびヒストプラズマ DNA の高感度検出系の実用化を目指し, 乾燥ポリメラーゼの有用性を検討し, 菌体取り扱いマニュアル, プライマーセットおよび乾燥ポリメラーゼを使用した検査キットを作製して集団感染時に検査機関, 医療機関に送付する準備を整えた. 他の BSL3 真菌である *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Penicillium marneffei* および BSL2 真菌である *Cryptococcus gattii* の LAMP 法による検出系の開発・導入を行った.

研究協力者

平成 26 年度

田辺公一 国立感染症研究所・真菌部・室長
梅山 隆 国立感染症研究所・真菌部・主任研究官

名木 稔 国立感染症研究所・真菌部・研究員

平成 27-28 年度

名木 稔 国立感染症研究所・真菌部・研究員
星野泰隆 国立感染症研究所・真菌部・主任研究官
宮崎義継 国立感染症研究所・真菌部・部長

A. 研究目的

真菌症は HIV 感染患者や臓器移植, 抗癌剤治療などの免疫不全患者のみでみられる感染症と誤解され, 公衆衛生の観点から重要性が認識されにくかった. しかし従前からクリプトコックス症やコクシジオイデス症, ヒストプラズマ症などは健常者に起こることが知られており, 健常者における集団感染事例や院内感染事例が報告されるようになってきたことから, 他の

病原体同様にサーベランスや疫学研究の重要性が増してきた.

バイオテロに用いられる可能性のある病原真菌としては, BSL3 に分類されるコクシジオイデス属 (*Coccidioides immitis*, *C. posadasii*) とヒストプラズマ属 (*Histoplasma capsulatum*), BSL2 に分類されるクリプトコックス・ガッティ (*Cryptococcus gattii*) 等が想定される. 他にも BSL3 に分類される真菌として, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Penicillium marneffei* が定義されており, いずれの真菌も感染性が高く健常者でも感染が成立し, 播種性感染に進行すると致死率は極めて高くなるが, これらの病原真菌は日本国内には定着していないと考えられてきた. しかし, 近年では海外の流行地への渡航歴のないヒストプラズマ, クリプトコックス・ガッティ感染患者が報告されるようになり, 国内にも感染源が存在する可能性が示唆されている. また, BSL3 真菌については, 分離培養で大量の分生子を飛散させる危険性があること

から、検査室での分離培養は飛散孢子による集団感染を引き起こす危険性が考えられる。

本研究では、分離培養された BSL3 真菌の安全かつ簡便な診断系を構築し、バイオテロを含めた集団感染事例が起きた際の迅速診断に役立てることを目的とする。平成 26 年度は、コクシジオイデス属およびヒストプラスマ属の簡便かつ高感度な検査法である LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 法を実用化レベルまで改良する目的で、乾燥ポリメラーゼの有用性の検討、乾燥ポリメラーゼを用いた LAMP 法キットの作製、感度および特異度の検討、菌体取り扱いマニュアルの作製を行った。平成 27 年度は、*Cryptococcus gattii* の、平成 28 年度は、本研究においてまだ検出系を確立していない、他の BSL 真菌である、*P. brasiliensis*、*B. dermatitidis*、*P. marneffei*、3 菌種について、簡便かつ高感度な検査法として、LAMP 法の検討を行った。

B. 研究方法

コクシジオイデス属検出のための LAMP 法の標的配列として、以前開発したコクシジオイデス特異的 PCR の標的である *Coi9-1* 領域を用いた。ヒストプラスマの標的配列として、M 抗原遺伝子を用いた。

Cryptococcus gattii 検出のための LAMP 法の標的配列として、*Cryptococcus* 属の莢膜の生合成に参与する *CAP10* 遺伝子の配列を選択した。その他、既に論文で報告されている *CAP59* (Lucas S et al., Clin. Microbiol. Infect., 2010)、もしくは *URA5* (Amirabadi AR et al., Af. J. Biotechnol. 2012) を利用した LAMP プライマーについても検討した。

P. brasiliensis 検出のための LAMP 法の標的配列として、既に論文で報告されている主要表面抗原である糖タンパク *gp43* 遺伝子 (Endo S et al., FEMS Microbiol. Lett., 2004) を用いた。LAMP 反応を促進する loop プライマーを設計し、論文中記載のプライマーに加えてプライマーセットとした。

P. marneffei 検出のための LAMP 法の標的配列として、既に論文で報告されている、ITS (internal transcribed spacer) 領域 (Jiufeng Sun et al., FEMS Immunology and Medical Microbiology, 2010) を対象とした LAMP プライマーセットを導入した。*B. dermatitidis* 検出のための LAMP 法の標的配列については過去に報告が無いため、病原因子 *BAD1* のプロモ-

ーター領域 (Burgess JW et al., Med. Mycol. 2006) を用い、LAMP プライマーを数組設計した。

プライマーの設計には LAMP 法プライマー設計支援ソフトウェア PrimerExplorer (富士通) を利用した。LAMP 反応は栄研化学の Loopamp DNA 増幅試薬キット (乾燥型) および検出試薬として Loopamp 蛍光・目視検出試薬を用い、サーマルサイクラーで 63 で反応を行った。検討に用いた *C. immitis*、*Coccidioides posadasii* および *H. capsulatum* の DNA は臨床分離株 (各 4 株ずつ) から抽出した。陰性コントロールとして *Aspergillus fumigatus* AfS35 と *Candida albicans* SC5314 の DNA を用いた。反応後、UV 写真撮影装置で検出を行った。

使用した BSL3 真菌の菌株については、自施設に保存している株が少なく、千葉大学真菌医学研究センターから分与していただいた。菌株から抽出した DNA を用いて検討を行い、LAMP 反応後、UV 写真撮影装置で検出を行った。

【倫理面への配慮】

本実験では臨床検体などは使用せず、分離された菌の DNA を用いるのみであったことから、倫理面に関する配慮は不要であった。

C. 研究結果

1. BSL3 真菌リソースの整備

国立感染症研究所において、BSL3 真菌についてはリソース不足であり、本研究の遂行のために菌株を収集する必要があった。そのために、千葉大学真菌医学研究センターに保存している *C. immitis*、*C. posadasii*、*H. capsulatum*、*P. brasiliensis*、*B. dermatitidis*、*P. marneffei* について菌株を分与していただいた。

2. 乾燥ポリメラーゼを使用した LAMP 法の検討

C. immitis および *H. capsulatum* から抽出したゲノム DNA を定量し、10 倍ずつの希釈系列を作製して、乾燥ポリメラーゼを使用して LAMP 反応を行った。(図 1)。

C. immitis、*H. capsulatum* 共に 2 時間反応後の検出限界は 1 pg であった。以前行った、通常のポリメラーゼ (液体品) を用いた検討では、*Coccidioides* の検出限界は 100 fg であった (*Histoplasma* は未実施)。乾燥ポリメラーゼを用いた場合、感度は 10 分の 1 に低下したが、十分に高感度であると考え、長期間保存可能である乾燥ポリメラーゼを用いて今後の検討を行うこととした。

3. 複数の *Coccidioides* および *Histoplasma* 臨床分離株を用いた検討

これまで、*Coccidioides* 属、*Histoplasma* 属各 1 株ずつの臨床分離株から抽出し、精製した DNA を用いて LAMP 法の検討を行ってきた。千葉大学真菌医学研究センターから分与していただいた菌株を用いて LAMP 法の特異度を検討した(図 2)。また、検査をより簡便に行うことを目的に、DNA 抽出には精製キット等を使用せず、エタノール滅菌後の菌体を煮沸した上清を用いた。今回検討した各 4 株の臨床分離株は全て LAMP 法によって検出された。また、120 分の反応では陰性コントロールは検出されなかった。さらに、DNA を精製することなく菌体煮沸液を用いて検査を行うことができることがわかった。

4. *Cryptococcus gattii* の LAMP 法の開発

まず最初に、既に論文に報告されている CAP59 の配列を利用した LAMP 法の導入を試みた。*C. neoformans* (血清型 A および D) もしくは *C. gattii* (血清型 B および C) の 2 菌種を区別することが出来る LAMP プライマーとして報告されている。論文中の塩基配列を参考にプライマーを合成し、*C. neoformans* H99 株および *C. gattii* R265 株から抽出したゲノム DNA に対して LAMP 反応を行った。1 時間の反応では、*C. neoformans* もしくは *C. gattii* を特異的に検出することが出来たが、2 時間の反応では、水のみ陰性コントロールにおいて検出されており(データ未掲載)、本プライマーによる検出系ではバックグラウンドが高い可能性が高く、高感度検出系としては不適当であることが示唆された。

次に、別の論文で報告されている URA5 の配列を利用した LAMP 法の導入を試みた。また、CAP10 遺伝子の配列を利用して 4 種類の LAMP プライマーセットを設計した。すべてのプライマーセットにおいて、1 時間以内に検出可能であった(図 3)。その中でも CAP10-25-Cg および CAP10-25-Cn プライマーセットでは 30 分で検出可能であった。また、CAP10-13-Cn プライマーセットを用いると、*C. neoformans* 特異的な検出が可能であった。いずれも、水のみ陰性コントロールにおいては、2 時間後でも検出されなかった。

5. *P. brasiliensis* 検出のための LAMP 法の導入

既に論文に報告されている *gp43* 遺伝子を対象とした LAMP プライマーに、本研究で設計したループプライマーを加えて、5 菌株から抽

出した DNA に対して LAMP 反応を行ったところ、水のみ陰性コントロールでは 2 時間経過しても検出されなかったが、菌株 DNA では全て 30~60 分以内に検出可能であった(図 4)。

6. *P. marneffeii* 検出のための LAMP 法の導入

既に論文に掲載されている LAMP プライマーおよびループプライマーを用いて、5 菌株から抽出した DNA に対して LAMP 反応を行い、予想通り、30 分から検出可能であった(図 5)。

7. *B. dermatitidis* 検出のための LAMP 法の開発

本研究で 3 組のプライマーセットを設計し、菌株から抽出した DNA を用いて LAMP 反応を行った。BdBAD1-ID1 のプライマーセットでは 2 時間経過しても検出されず、BdBAD1-ID10 では 90 分後、ID12 のプライマーセットでは 2 時間経過後に検出可能であった(図 6)。

D. 考察

本研究では、過去の研究で開発したコクシジオイデス属・ヒストプラスマ属の実用化、*C. gattii*、*P. brasiliensis*、*B. dermatitidis*、*P. marneffeii* を検出するための LAMP 法の開発・導入を検討した。*C. gattii* および *C. neoformans* の LAMP 法については、2 菌種の鑑別は困難であるが、検出においては実用に耐えうるプライマーセットを開発できた。*P. brasiliensis* および *P. marneffeii* については、既報の論文のプライマーセットの導入により、期待通りの検出感度を確保でき、BSL3 真菌検出システムへの組込みに応用できることが示された。しかしながら、新たに設計した *B. dermatitidis* の LAMP プライマーについては、検出感度が非常に低く、実用レベルに達していないため、今後、他の特異的配列を標的にして設計を行う必要がある。

ヒストプラスマ属やコクシジオイデス属などの BSL3 真菌、クリプトコックス・ガッティがテロ目的で使用され、国内感染者が発生した場合には、検体から菌が分離されるかどうか予想できないので、医療機関の検査室でこれらの菌を偶発的に培養してしまう可能性が考えられる。

病原体の検出法について、PCR 法はサーマルサイクラー・増幅酵素の性能や操作者の技術への依存が強く、検査実施機関によって結果が異なることも多い。LAMP 法の反応系は非常に簡素で、反応温度が定温であるため、サーマルサイクラーの性能に依存しないという利点がある。しかも、1 時間で微量 DNA を検出することが可

能であり、本実験で確立した LAMP 法を用いれば BSL3 真菌を迅速簡便に検出できる。現時点では菌体から調製した DNA でしか検証できていないが、今後、特異性や検出感度について検討し、臨床検体を用いて本研究で確立した LAMP 法が可能になれば、上記のような危険を伴う菌の培養を回避することも可能であるため、今後実験系の改良を進めていきたい。

E. 結論

LAMP 法によるコクシジオイデス属およびヒストプラスマ属の迅速診断キットを作製し、集団感染時に検査機関、医療機関に送付する準備を整えた。LAMP 法による *Cryptococcus gattii*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Penicillium marneffei* の迅速診断系のためのプライマーセットを開発・導入した。

F. 健康危険情報 特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 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) Ikeda I, Ohno T, Ohno H, Miyazaki Y, Nishimoto K, Fukushima S, Makino T, Ihn H. A case of *Fusarium paronychia* successfully treated with occlusive dressing of antifungal cream. *J Dermatol*. 41(4):340-2, 2014.
- 4) Tarumoto N, Kinjo Y, Kitano N, Sasai D, Ueno K, Okawara A, Izawa Y, Shinozaki M, Watarai H, Taniguchi M, Takeyama H,

Maesaki S, Shibuya K, Miyazaki Y. Exacerbation of Invasive *Candida albicans* Infection by Commensal Bacteria or a Glycolipid Through IFN- Produced in Part by iNKT Cells. *J Infect Dis*. , 2014.

- 5) Seki M, Ohno H, Gotoh K, Motooka D, Nakamura S, Iida T, Miyazaki Y, Tomono K. Allergic bronchopulmonary mycosis due to co-infection with *Aspergillus fumigatus* and *Schizophyllum commune*. *IDCases*. 1:5-8, 2014.
- 6) 梅山 隆, 宮崎義継. 侵襲性カンジダ症の診断～血清診断～遺伝子診断. . 侵襲性カンジダ症. 115-117, 2014 年, 医薬ジャーナル社.
- 7) 宮崎義継, 金子幸弘, 樽本憲人. V. 感染症検査・真菌. パーフェクトガイド検査値事典 [第 2 版]. 477-481, 2014 年, 総合医学社.
- 8) 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継. 真菌症-よく目にする真菌症から今後注意すべき真菌症まで-*Aspergillus*: 病態と抗原価の関連. *感染症内科*. 2(6):575-580, 2014 年.
- 9) 金子幸弘, 浦井 誠, 宮崎義継. III 診断・治療法から見た大切な真菌症 4 治療薬の選択と投与. 目で見る真菌と真菌症. p192-202, 2014 年, 医薬ジャーナル社, 大阪.
- 10) 河野 茂, 亀井克彦, 二木芳人, 宮崎義継. 座談会: 深在性真菌症の診断・治療ガイドラインを読み解く. *呼吸*. 33(5):435-43, 2014 年.
- 11) 大野秀明, 宮崎義継. 日本にも現れたクリプトコックス・ガッティ. *日経サイエンス*. 44(5):76p76, 2014 年, 日本経済新聞出版社, 東京.
- 12) 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.
- 13) 宮崎義継, 砂川富正, 大石和徳. ミニ特集: 病原体サーベイランス体制とその利用, 国立感染症研究所の立場から. *小児科*. 55(4):403-6, 2014 年.
- 14) 浦井 誠, 金子幸弘, 宮崎義継. どう変わり, どう攻める? 深在性真菌症の新しい治療: 深在性真菌症における治療薬の選択の変化 ガイドライン改訂から見てくる今後の治療展望. *感染と抗菌薬*. 17(1):5-13,

2014年.

- 15) 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継. ムーコル症: 診断の実際とピットフォール. 呼吸器内科. 25(1):32-7, 2014年.
 - 16) 樽本憲人, 金城雄樹, 北野尚樹, 渋谷和俊, 前崎繁文, 宮崎義継. 全身性カンジダ感染増悪における iNKT 細胞の関与. Med Mycol J. 55J:J115-J122, 2014年.
 - 17) 大野秀明, 荒岡秀樹, 梅山 隆, 金子幸弘, 宮崎義継. 接合菌症. 臨床検査. 58(1):97-103, 2014年.
 - 18) Yurika Ikeda-Dantsuji, Hideaki Ohno, Koichi Tanabe, Takashi Umeyama, Keigo Ueno, Minoru Nagi, Satoshi Yamagoe, Yuki Kinjo, Yoshitsugu Miyazaki. Interferon- promotes phagocytosis of *Cryptococcus neoformans* but not *Cryptococcus gattii* by murine macrophages. Journal of Infection and Chemotherapy. 21: 831-836, 2015
 - 19) Shotaro Okachi, Keiko Wakahara, Daizo Kato, Takashi Umeyama, Tetsuya Yagi, Yoshinori Hasegawa. Massive mediastinal cryptococcosis in a young immunocompetent patient. Respirology Case Reports. 3 : 95-98, 2015
2. 学会発表
- 1) 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, 渋谷和俊, 宮崎義継. シンポジウム 3 病原性真菌の感染成立機構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. 第 58 回日本医真菌学会総会. 11月1-2日, 2014年, 横浜.
 - 2) 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.
 - 3) 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, 渋谷和利, 宮崎義継. マクロファージの貪食を指標とした *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.
 - 4) 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, 渋谷和俊, 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. 11月1-2日, 2014年, 横浜.
 - 5) 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.
 - 6) 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.
 - 7) 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, 渋谷和俊, 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. 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.
 - 8) 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.
 - 9) 本川奈々, 福田雄一, 今村圭文, 宮崎泰可, 泉川公一, 大野秀明, 柳原克紀, 宮崎義継, 早田 宏, 田代隆良, 河野 茂. 肺アスペルギローマとの鑑別が困難であった *Pseudallescheria boydii* による肺菌球症の 1 例. 第 62 回日本化学療法学会西日本支部総会・第 57 回日本感染症学会中日本地方会学術集会・第 84 回日本感染症学会西日本地方会学術集会 合同開催. 10月23日-25日, 2014年, 岡山.
 - 10) 多田明子, 山本剛伸, 藤本亘, 河口 豊, 浦井 誠, 梅山 隆, 宮崎義継. 黒色菌糸症の 1 例. 第 263 回日本皮膚科学会岡山地方会. 9月21日, 2014年, 岡山.
 - 11) 上野 圭吾, 大久保陽一郎, 清水公德, 金子幸弘, 浦井 誠, 水口裕紀, 奈良拓也, 川本 進, 大野秀明, 渋谷和俊, 宮崎義継, 金城雄樹. 高病原性クリプトコックス症に対する樹状細胞ワクチンの効果. 第 25 回日本生体防御学会学術総会. 7月9-11日, 2014年, 仙台.
 - 12) 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.

- 13) 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.
- 14) 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.
- 15) 金城雄樹, 金子幸弘, 梅山 隆, 川上和義, 大石和徳, 宮崎義継. マウスモデルでの肺炎球菌蛋白・糖脂質併用ワクチンの感染防御効果の解析. 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.
- 16) 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コ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.
- 17) 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系成長・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.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) 宮崎義継. 真菌感染症について: 薬剤耐性真菌. 第 3 回日本微生物学連盟市民公開フォーラム<薬が効かない感染症の話-薬剤耐性感染症の現状とその対策>. 4 月 26 日, 2014 年.
- 21) 梅山 隆, 中村茂樹, 山越 智, 名木 稔, 壇辻百合香, 中山靖子, 浦井 誠, 金城雄樹, 上野圭吾, 星野泰隆, 宮崎義継, 治療薬選択に必要な真菌の菌種同定, 第 59 回日本医真菌学会総会・学術集会, 札幌, 10 月 9-10 日, 2015
- 22) 田子さやか, 井口成一, 相野田祐介, 平井由児童, 鶴澤 豊, 後藤亜江子, 柄澤利子, 鶴岡直樹, 渡辺 哲, 亀井克彦, 名木 稔, 梅山 隆, 宮崎義継, 菊池 賢, 米国カリフォルニア州ベーカーズフィールド滞在後に発症した難治性中耳炎の一例, 第 90 回日本感染症学会総会, 仙台 (2016.4)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

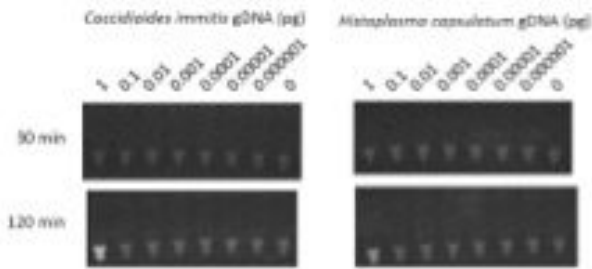


図 1. 乾燥ポリメラーゼを使用した LAMP 法の感度測定 .

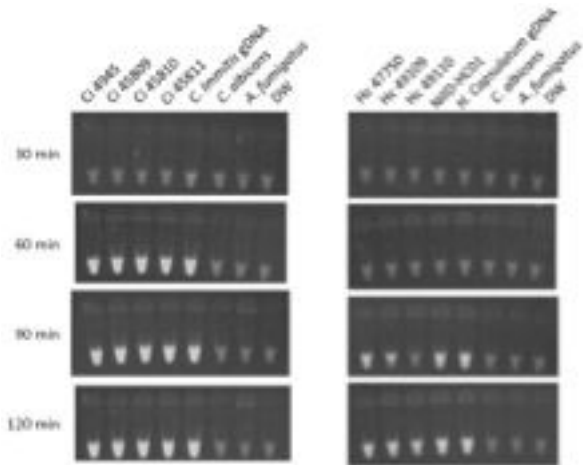


図 2. 複数の臨床分離株を用いた LAMP 法特異度の検討 .

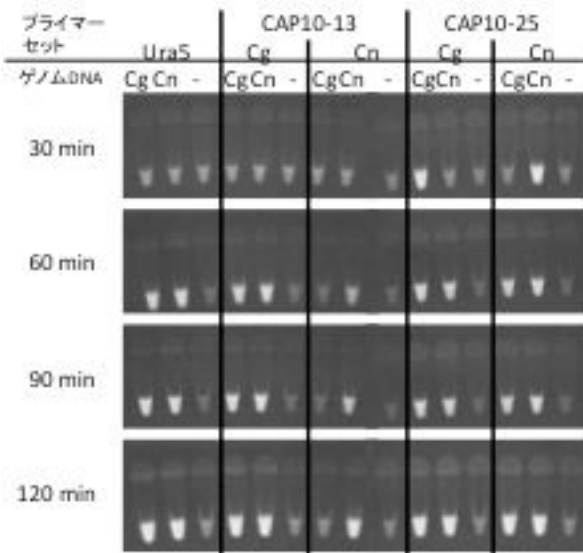


図 3. *C. neoformans* (Cn, H99 株) および *C. gattii* (Cg, R265 株) のゲノム DNA を用いた LAMP 法プライマーセットの検討 .

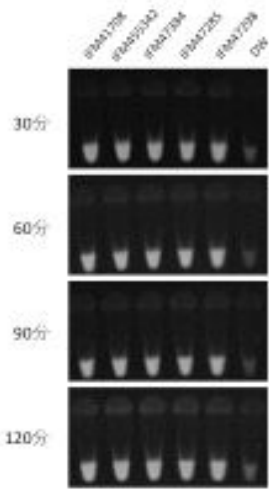


図4. *P. brasiliensis* の LAMP 法検出 .

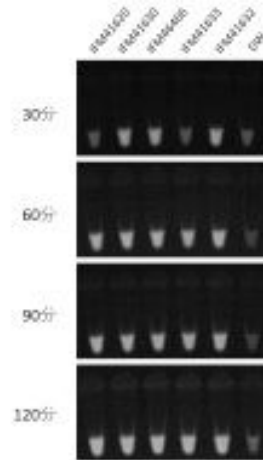


図5. *P. marneffei* の LAMP 法検出 .

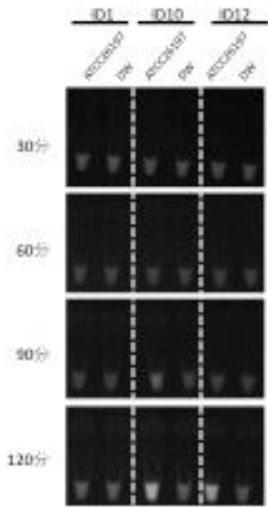


図6. *B. dermatitidis* の LAMP 法検出 .