

第40回関東医真菌懇話会開催にあたって

明治薬科大学 微生物学研究室

杉田 隆

この度、伝統ある「第40回関東医真菌懇話会」を担当させて頂くことになりました。大変光栄に存じますとともに、大きな責任を感じております。

さて、第40回ではテーマを「レーウエンフックは今何を考えるか」と掲げさせて頂きました。顕微鏡で微生物を初めて観察したAntonie van Leeuwenhoekは1632年にオランダで生まれ、「微生物学の父」とも称されています。昨年、オランダ・アムステルダムで第20回ISHAM総会(20th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology)が開催されました。総会への参加の機にオランダにあるカルチャーコレクション、CBSを訪問しましたが、そこでレーウエンフックが作製した顕微鏡のレプリカを目の当たりにし、改めて彼の微生物学発展への偉大なる貢献を再認識しました。

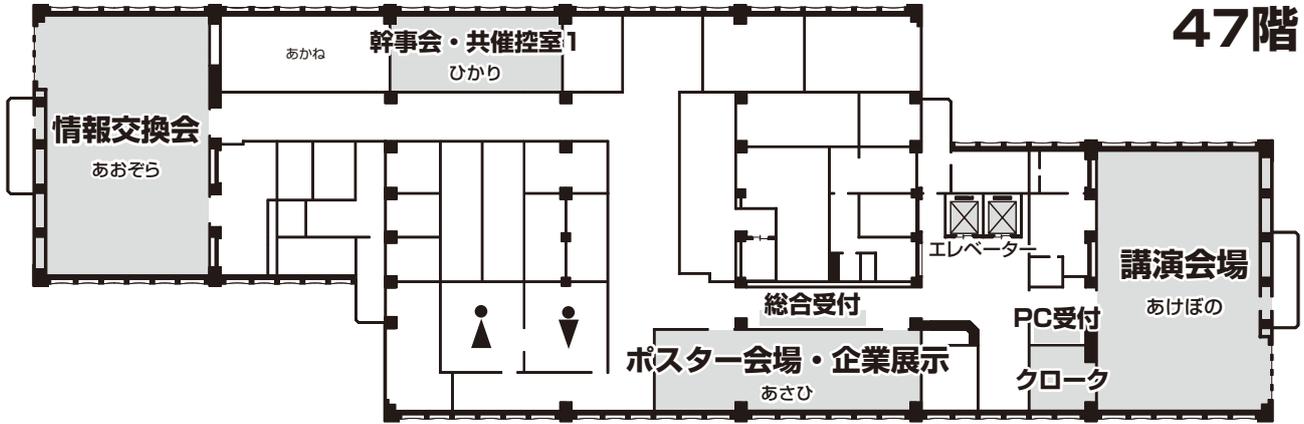
科学の進歩に技術の進歩も必要不可欠であることは誰もが疑わないことです。研究の高度化に伴い研究領域は細分化していますが、医真菌学研究の基本は菌体・細胞の観察からです。本懇話会では、この基本を改めて先生方と問う場にしたいと考えております。限られた時間ではありませんが、医真菌学研究の最前線的话题を取り入れたシンポジウムを3つ、また、顕微鏡技術講座、ランチオンセミナーとスイーツセミナーも企画いたしました。一般演題は多くの登録を頂いたことから、一部を口頭で発表する場も設けました。活発な討論をお願いしたいと思います。

本懇話会の開催にあたり多くの先生方のご指導と、企業・団体様からのご協賛を頂きました。ここに厚く御礼申し上げます。

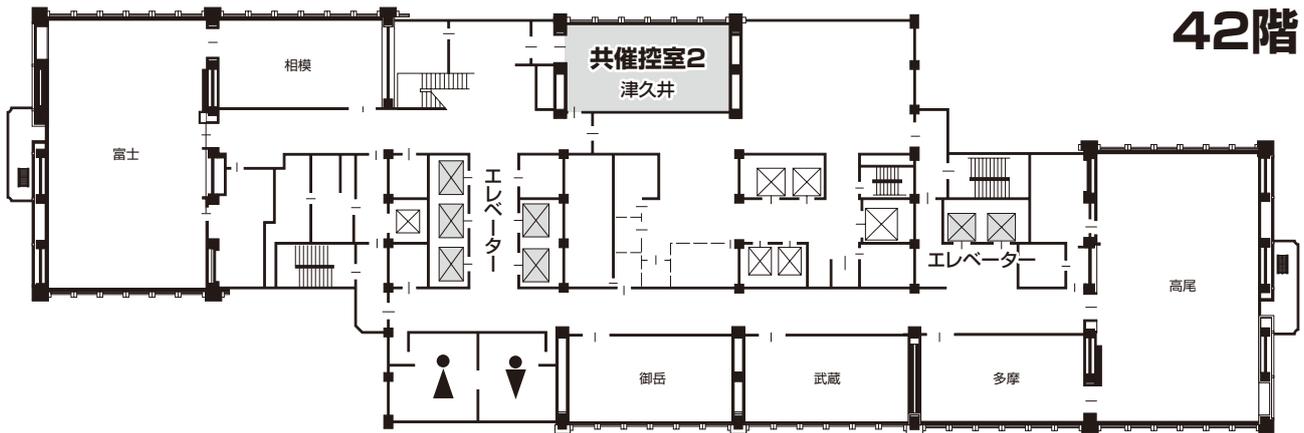
会場案内図

京王プラザホテル(新宿)

47階



42階



参加者へのお知らせとお願い

1. 参加受付

場 所：京王プラザホテル(新宿) 本館 47F「あさひ」前

日 時：2019年6月1日(土) 9:30～17:00

2. 参加登録(現金受付のみ)

医師・一般	2,000円
学生・外国人留学生 ※学生証をご呈示ください	無料
情報交換会	1,000円

- ・受付で参加費をお支払いの上、ネームカードをお受け取りください。所属・氏名をご記入の上、会場内では必ずご着用ください。参加証の無い方のご入場はお断りいたします。
- ・参加証(兼領収書)の再発行はできませんので大切に保管してください。

3. 情報交換会

会 場：京王プラザホテル(新宿) 本館 47F「あおぞら」

日 時：6月1日(土) 18:20～20:20

参加費：1,000円

- ・優秀演題賞受賞者の発表および表彰を行います。
- ・ポスター発表の先生方は是非ともご参加ください。

4. ランチョンセミナー

整理券の配布はございません。セミナー入場時にお弁当をお受け取りください。

5. 単位取得

以下のセッションへの参加により、一般社団法人日本病院薬剤師会感染制御領域に関する講習単位(1セッション0.5単位)が認められます。各セッション終了後、講習会受講証を配布いたします。紛失、配布時間外による再発行はできませんので、ご注意ください。

対象セッション	取得単位
シンポジウム1	0.5
シンポジウム2	0.5
シンポジウム3	0.5
ランチョンセミナー	0.5
スイーツセミナー	0.5

6. 会期中の問い合わせ先

総合受付：京王プラザホテル(新宿) 本館 47F「あさひ」前

TEL：080-6270-6476 ※会期中のみ対応可能

7. その他の注意事項

- ・会場内での呼び出しはいたしません。
- ・会場内では、携帯電話をマナーモードに設定してください。
- ・会長の許可の無い掲示・展示・印刷物の配布・録音・写真撮影・ビデオ撮影は固くお断りいたします。

8. 口演発表

- ・ 進行情報

セッション	発表	討論
一般口演	5分	2分
ポスターディスカッション	3分	2分

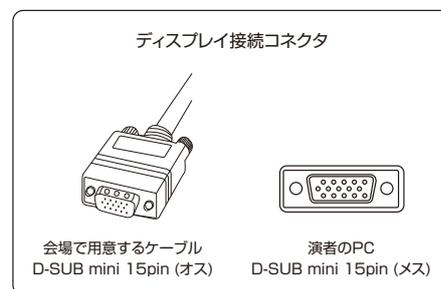
- ・ 講演会場では、発表終了1分前に黄色ランプ、終了・超過時には赤色ランプを点灯してお知らせします。
- ・ 講演会場の舞台上には、モニター、キーボード、マウス、レーザーポインターを用意いたします。舞台上上がると最初のスライドが表示されますので、その後の操作は各自でおこなってください。
- ・ 円滑な進行のため、時間厳守をお願いします。

<演者の方へ>

- (1) 学会当日に発表データの受付を行います。セッション開始30分前までにPC受付にて、発表データの試写ならびに受付をお済ませください。
受付場所：本館 47F「あけぼの」前
受付日時：6月1日(土) 9:30～16:35
- (2) 口演発表はすべてPC発表(Windows PowerPoint)のみといたします。
- (3) 発表データは、Windows PowerPoint 2003～2016のバージョンで作成してください。
- (4) スムーズな進行をするために「発表者ツール」の使用はお控えください。
発表原稿が必要な方は、あらかじめプリントアウトした原稿をお持ちください。
- (5) 作成に使用されたPC以外でも必ず動作確認を行っていただき、USBフラッシュメモリーでご持参ください。
- (6) フォントは文字化け、レイアウト崩れを防ぐため下記フォントを推奨いたします。
MSゴシック, MSPゴシック, MS明朝, MSP明朝
Arial, Century, Century Gothic, Times New Roman
- (7) 音声出力には対応できません。
- (8) 発表データは学会終了後、事務局で責任を持って消去いたします。
- (9) Macintoshで作成したものと動画データを含む場合、ご自身のノートPC本体をご持参ください。

PC持込の場合の注意点

- ・ 会場で用意するPCケーブルコネクタの形状は、D-SUB mini 15pin(右図参照)です。この出力端子を持つPCをご用意いただくか、この形状に変換するコネクタを必要とする場合には必ずご持参ください。デジタル出力(HDMI)の出力端子しか無いPCはHDMI→D-SUBの変換アダプターも必要です。電源ケーブルもお忘れなくお持ちください。
- ・ 再起動をすることがありますので、パスワード入力は“不要”に設定してください。
- ・ スクリーンセーバーならびに省電力設定は事前に解除しておいてください。
- ・ 動画データ使用の場合は、Windows Media Playerで再生可能であるものに限定いたします。



(図)

<座長の方へ>

ご担当セッション開始予定時刻の15分前までに、会場内前方の「次座長席」にご着席ください。
発表者の持ち時間の厳守をお願いいたします。

9. ポスター発表

<演者の方へ>

- ・発表と討論は、座長の指示のもとご自身のポスターの前で行ってください。
- ・セッション開始時刻をご確認のうえ、10分前までにはご自身のパネル前にお越しください。

(1) ポスター貼付・撤去

ポスター受付は設置いたしません。

ポスター貼付用ピンは各ポスターパネルに設置しております。

ポスター貼付・撤去については、所定の時間内に行ってくださいようをお願いいたします。

撤去時間を過ぎても掲示してあるポスターは事務局にて処分いたしますのでご了承ください。

《日程》

貼付 6月1日(土) 9:30～10:00

閲覧 6月1日(土) 10:00～14:50

発表 6月1日(土) 14:50～15:50

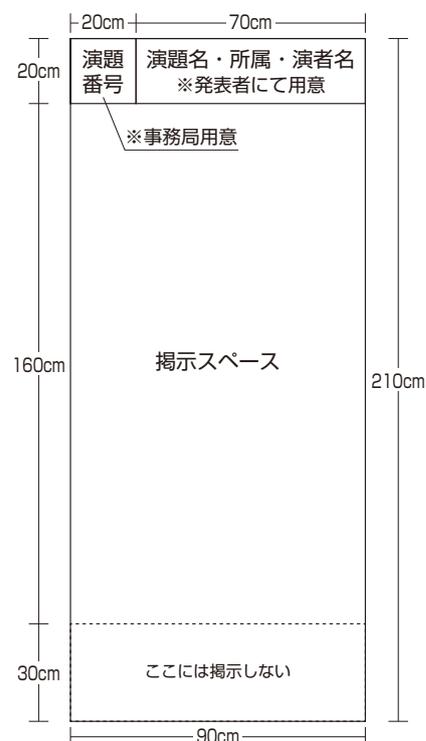
閲覧 6月1日(土) 15:50～17:00

撤去 6月1日(土) 17:00～18:00

(2) ポスター作成要領

演題番号は運営事務局にて用意いたします。

右上図(別添)のパネル規格に従って、演題タイトル、所属名、発表内容のポスターをご用意ください。



<座長の方へ>

セッション開始15分前までに、総合受付(本館47F「あさひ」前)にお越しください。

審査用紙などをお渡しいたします。

セッション5分前には、発表順が1番目のポスター前に待機してください。

10. 発表演題に関する利益相反(COI)の開示について

COI自己申告の基準に基づき、発表の際には開示していただくことになります。

学会ホームページ(<https://www.med-gakkai.org/mmut/>)より専用の書式をダウンロードしていただき開示ください。

11. 幹事会のお知らせ

会 場：京王プラザホテル(新宿) 本館 47F「ひかり」

日 時：6月1日(土) 12:45～13:15

日程表

講演会場 47F あげほの		ポスター会場 47F あさひ		47F ひかり	
9:55		9:30			
10:00	開会の辞		ポスター貼付		
	シンポジウム1 「真菌感染症治療戦略 Update 2019 ～基礎からTDM活用および臨床応用まで～」 座長：澁谷 和俊 演者：鈴木 陽介／時松 一成／榎村 浩一 共催：MSD株式会社	10:00			
11:00	顕微鏡技術講座「映える顕微鏡写真の撮り方」 座長：高島 昌子 演者：矢口 貴志		ポスター閲覧		
11:25					
11:35	ランチョンセミナー 「皮膚真菌症を探求する」 座長：金子 健彦 演者：望月 隆／常深 祐一郎 共催：株式会社ポーラファルマ				
12:35					
12:40	一般口演 (O-01～O-08) 座長：知花 博治／松本 靖彦				12:45～13:15 幹事会
13:36					
13:45	シンポジウム2 「爪白癬の病態・診断・治療」 座長：五十棲 健 演者：澁谷 和俊／原田 和俊 共催：科研製薬株式会社				
14:45		14:50		ポスターディスカッション1 (P-01～P-06) 座長：張 音実	
				ポスターディスカッション2 (P-07～P-12) 座長：中村 遊香	
		15:20		ポスターディスカッション3 (P-13～P-18) 座長：上野 圭吾	
			ポスターディスカッション4 (P-19～P-24) 座長：山田 剛		
16:00	スイーツセミナー 「真菌症の菌体成分を指標とした診断法」 座長：宮崎 義継 演者：吉田 耕一郎／長尾 美紀 共催：バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社	15:50			
			ポスター閲覧		
17:00		17:00			
17:05	シンポジウム3 「Breakthrough 真菌感染症の現状 －臨床と病理の側面から－」 座長：前崎 繁文 演者：木村 宗芳／若山 恵 共催：大日本住友製薬株式会社		ポスター撤去		
18:05	幹事会報告・閉会の辞	18:00			
18:20～ 情報交換会 ※優秀演題賞表彰 (47F あおぞら)					

第40回関東医真菌懇話会 プログラム

9:55-10:00 開会の辞 杉田 隆 (明治薬科大学 微生物学研究室)

10:00-11:00 シンポジウム1
「真菌感染症治療戦略Update 2019 ～基礎からTDM活用および臨床応用まで～」
共催：MSD株式会社
座長：澁谷 和俊 (東邦大学医学部 病院病理学講座)

SY1-1 「TDMを活用したアゾール系抗真菌薬の適正使用の推進」

鈴木 陽介 (明治薬科大学 薬剤情報解析学研究室)

SY1-2 「糸状菌感染症のマネージメント」

時松 一成 (昭和大学医学部 内科学講座 臨床感染症学部門)

SY1-3 「抗真菌薬の臨床の問題点を基礎から ～感受性測定含めて～」

榎村 浩一 (帝京大学大学院医学研究科 医真菌学)

11:00-11:25 顕微鏡技術講座
座長：高島 昌子 (理研バイオリソース研究センター 微生物材料開発室)

「映える顕微鏡写真の撮り方」

矢口 貴志 (千葉大学 真菌医学研究センター)

11:35-12:35 ランチョンセミナー「皮膚真菌症を探求する」 共催：株式会社ポーラファルマ
座長：金子 健彦 (和洋女子大学大学院)

LS-1 「深在性皮膚真菌症 診療の基本」

望月 隆 (金沢医科大学医学部 皮膚科学講座)

LS-2 「外用抗真菌薬を使い分ける」

常深祐一郎 (埼玉医科大学 皮膚科)

12:40-13:36 一般口演
座長：知花 博治 (千葉大学 真菌医学研究センター)
松本 靖彦 (明治薬科大学 微生物学研究室)

O-01 「ホスラブコナゾールが有効であった *Candida parapsilosis* による真菌性黒色爪」

野口 博光 (のぐち皮膚科/お茶の水真菌アレルギー研究所)

O-02 「早期の遺伝子診断により感染の拡大を防ぐことができた *Arthroderma vanbreuseghemii* (*Trichophyton mentagrophytes*) による体部白癬の臨床応用例」

竹田 公信 (金沢医科大学氷見市民病院 皮膚科/金沢医科大学 皮膚科学講座)

- O-03 「工場勤務者の使用済安全靴内からの白癬菌の検出」
石島 早苗 (帝京大学医真菌研究センター)
- O-04 「モルモット爪白癬モデルの作成と病態評価」
長谷川奈海 (株式会社ポーラファルマ/東邦大学大学院 病院病理学)
- O-05 「*Candida albicans*に対するラクトフェリンとラクトパーオキシダーゼシステムの併用効果」
中野 学 (森永乳業株式会社 研究本部素材応用研究所)
- O-06 「*Trichosporon asahii*菌体と相互作用するヒト分子の探索」
市川 智恵 (明治薬科大学 感染制御学研究室)
- O-07 「単施設における血流感染症の疫学と分離された酵母様真菌の薬剤感受性の検討」
石野 敬子 (昭和大学薬学部 臨床薬学講座感染制御薬学部門)
- O-08 「真菌由来活性酸素種によるヒト肝細胞のアポトーシス誘導」
梶原 将 (東京工業大学生命理工学院)

13:45-14:45

シンポジウム2「爪白癬の病態・診断・治療」

共催：科研製薬株式会社

座長：五十棲 健 (東京警察病院 皮膚科)

SY2-1 「爪白癬の病理学的側面」

澁谷 和俊 (東邦大学医学部 病院病理学講座)

SY2-2 「爪白癬の診断と治療 -病型に基づく治療戦略-」

原田 和俊 (東京医科大学 皮膚科学分野)

14:50-15:20

ポスターディスカッション1

47F「あさひ」

座長：張 音実 (明治薬科大学 微生物学研究室)

P-01 「白癬菌 *Trichophyton benhamiae*におけるFLP site-specific recombinaseを用いた薬剤耐性マーカーリサイクルシステムの構築と遺伝子破壊株の作出」

山田 剛 (帝京大学医真菌研究センター)

P-02 「*Aspergillus fumigatus*とその関連種に潜伏するRNAウイルスの網羅的な探索」

千葉 悠斗 (筑波大学大学院 生命環境科学)

P-03 「同一患者から単離された遺伝背景の異なる *Aspergillus fumigatus*について」

新居 鉄平 (千葉大学真菌医学研究センター 臨床感染症分野)

P-04 「同一患者より継続的に分離された *Candida albicans*の薬剤耐性および遺伝的解析」

村山 琮明 (日本大学薬学部 薬学科)

P-05 「ナノポアシークエンサーを用いた *Candida albicans* TIMM1768株の全ゲノム解析」

浜本 洋 (帝京大学医真菌研究センター)

P-06 「ヨーグルトに利用可能な乳酸菌の抗カンジダ活性」

羽山 和美 (帝京大学医真菌研究センター)

14:50-15:20

ポスターディスカッション2

47F「あさひ」

座長：中村 遊香（共立製薬株式会社／帝京大学医学部 皮膚科）

- P-07 「IL-17阻害薬投与により乾癬患者の表在性真菌症の発症リスクは増加する」
比留間淳一郎（東京医科大学 皮膚科）
- P-08 「*Candida parapsilosis*による下腿皮下膿瘍の1例」
青笹 尚彦（公立昭和病院 皮膚科）
- P-09 「薬局服薬指導における足白癬症に関するアンケート調査研究」
三野 浩美（東京薬科大学薬学部 免疫学教室）
- P-10 「The analysis on the genes related to the biofilm formation of *Candida glabrata*」
Chen Xinyue（東京工業大学生命理工学院）
- P-11 「CLSI法とEUCAST法による感受性測定法の違い」
田村 俊（帝京大学医療共通教育研究センター）
- P-12 「抗菌薬によるエキノキャンディンへの*in vitro*阻害作用」
原田 啓樹（東京理科大学基礎工学部 生物工学／千葉大学真菌医学研究センター 病原機能分野）

15:20-15:50

ポスターディスカッション3

47F「あさひ」

座長：上野 圭吾（国立感染症研究所 真菌部）

- P-13 「当院における抗真菌薬の使用状況についての検討」
大澤雄一郎（埼玉医科大学総合医療センター 感染制御室／薬剤部）
- P-14 「医療機関の室内下水環境は侵襲性フサリウム症の感染源として重要である」
日野裕太郎（千葉大学真菌医学研究センター 臨床感染症分野／千葉大学医学部附属病院 血液内科）
- P-15 「光触媒装置の環境空気中の浮遊真菌数に与える影響」
森 毅彦（慶應義塾大学医学部 血液内科）
- P-16 「Dectin-1 変異体発現マクロファージの β -グルカン反応性の解析」
井澤 駿（東京薬科大学薬学部 医療衛生薬学科 免疫学教室）
- P-17 「新たに樹立したマウスDectin-1モノクローナル抗体の反応性に関する検討」
前田 直樹（東京薬科大学薬学部 免疫学教室）
- P-18 「 β -グルカンによるDectin-1発現単核食細胞のCD83発現誘導に関する研究」
加藤 剛志（東京薬科大学薬学部 免疫学教室）

15:20-15:50

ポスターディスカッション4

47F「あさひ」

座長：山田 剛（帝京大学医真菌研究センター）

- P-19 「*Candida albicans*腸管定着が*Clostridioides difficile*感染症に与える影響に関する解析」
阿部 雅広（国立感染症研究所 真菌部／東北大学大学院医学系研究科 感染制御・検査診断学分野）
- P-20 「*Trichosporon asahii*菌体表層のヘパリン結合タンパク質の探索」
貞永 淳平（明治薬科大学 感染制御学研究室）

P-21 「白癬菌が産生する抗菌活性物質の同定とその生合成遺伝子の推定」

増田 圭恭 (筑波大学大学院 生命環境科学)

P-22 「*Trichophyton rubrum*の低分子量Gタンパク質Ras-related C3 botulinum toxin substrate (Rac)のcell division cycle 24 (CDC24)を介した活性化と発芽調節」

石井 雅樹 (武蔵野大学薬学部)

P-23 「ヒト抗 α -1,3-glucan抗体の*Aspergillus*菌体への反応性の検討」

石橋 健一 (東京薬科大学薬学部 免疫学教室)

P-24 「*Candida*属臨床分離株の熱水抽出物作成と致死活性及び血管炎惹起能の検討」

田中 宏明 (東京薬科大学薬学部 免疫学教室/杏林大学医学部付属病院 薬剤部)

16:00-17:00

スイーツセミナー「真菌症の菌体成分を指標とした診断法」

共催：バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

座長：宮崎 義継 (国立感染症研究所)

SS-1 「(1→3)- β -D-グルカン」

吉田耕一郎 (近畿大学病院 安全管理部感染対策室)

SS-2 「真菌症の菌体成分を中心とした診断法～抗原検査を中心に」

長尾 美紀 (京都大学医学部附属病院 検査部・感染制御部/
京都大学大学院医学研究科 臨床病態検査学)

17:05-18:05

シンポジウム3「Breakthrough 真菌感染症の現状 –臨床と病理の側面から–」

共催：大日本住友製薬株式会社

座長：前崎 繁文 (埼玉医科大学 感染症科・感染制御科)

SY3-1 「臨床の側面から」

木村 宗芳 (虎の門病院 臨床感染症科)

SY3-2 「病理の側面から」

若山 恵 (東邦大学医学部 病院病理学講座)

18:05-

幹事会報告・閉会の辞

18:20-

情報交換会 ※優秀演題賞表彰式

47F「あおぞら」

顕微鏡技術講座

映える顕微鏡写真の撮り方

座長

高島 昌子（理研バイオリソース研究センター 微生物材料開発室）

演者

矢口 貴志（千葉大学 真菌医学研究センター）

映える顕微鏡写真の撮り方

矢口 貴志

千葉大学 真菌医学研究センター

1. はじめに

光学顕微鏡は接眼レンズと対物レンズの2つの凸レンズを組み合わせて、微小なものを拡大して見る装置であり、その発明は1590年、オランダの眼鏡職人父子によるとされている。その後1670年代に、同じくオランダのレーウエンフックは、自分でレンズを磨いてレンズのひずみを少なくした顕微鏡を自作し、動植物の細胞、原生動物などの微小なものをこれまでにない高い解像度(270倍)で観察し、「微生物学の父」とも称されている。

本講演では、まず、顕微鏡の特徴を説明し、顕微鏡写真を上手に撮影するために必要なこととして、上質なプレパラートの作製、顕微鏡の性能を十分発揮する調整などについて解説する。

2. 実体顕微鏡

上から光を当て、試料の表面で反射した光を拡大して観察する。そのため、試料をスライスすることなく、カバーガラスを被せずにそのままの状態ですべて立体的な観察が可能である(図1-B、2-A)。また、通常の顕微鏡では像の見え方が実際の標本とは上下左右が反対になるが、実体顕微鏡ではそのまま観察することができる。もう1つの特徴として、対物レンズにズーム機能が付いているため、倍率を連続的に変えることができる。ただし、倍率は通常40倍程度までで、精密な虫メガネともいえる。以上のことから、実体顕微鏡の下で試料を操作しながら観察することが可能であり、プレパラートの作製時に使用すると効率的である。

3. 光学顕微鏡

標本(プレパラート)に光を当て、光を透過させて拡大して観察するため、実体顕微鏡が立体的な像が得られるのに対して、平面的な像となる(図1-C、2-B)。

1) 位相差顕微鏡

コントラストの弱い標本を透過してきた光を位相の異なる直接光と回折光に分離してお互いに干渉させ、明暗のある像として観察する。細胞の輪郭や内部構造を観察するのに適している(図3-A、B)。

2) 微分干渉顕微鏡

偏光を利用し、わずかにずれた2つの光線を干渉させ、透明な標本にコントラストを付けて立体的に観察する。位相差に比べ焦点深度が深く細胞の表面構造の観察に適する(図3-C、D)。

4. プレパラートの作製

映える顕微鏡写真の撮るためには、その被写体のプレパラートが上手くできなければならない。顕微鏡で観察できないものは撮影できない。顕微鏡では深度の浅い平面像となるため、できるだけ薄いプレパラートを作製する。実体顕微鏡の下で、柄付き針で寒天培地をなるべく含まないよ

うに少量の菌体をスライドガラス状に取り、少量のマウント液で浸し菌体を針の先で軽くほぐし、カバーガラスを空気が入らないように被せる。マウント液として、蒸留水に0.1%程度の界面活性剤を添加したものを使用すると、気泡が入りにくい。マウント液はなるべく少なくし深度を薄くする。多い場合は、カバーガラスを軽く押し余分なマウント液を追い出し、カバーガラスの両端に直線に切ったろ紙をあてて吸い取る。寒天培地、気泡が入ってしまった場合、ガスバーナーで軽く加熱すると、寒天培地を溶かし、気泡を膨張させて追い出すことができる。分生子構造が繊細な菌種には、スライド培養法が必要である(方法は成書を参照)。市販の粘着テープを2、3cm切り取り、胞子を形成している部分につけて剥がし、予めスライドガラスに滴下しておいたマウント液に被せる方法もある(粘着テープ法)。この方法は、観察にはとても簡易な方法ではあるが、良い写真を撮影するにはスライド培養法が適している。

5. 顕微鏡の調整

上質なプレパラートを作製し、高性能な顕微鏡を使用しても、顕微鏡の調整が不十分なら、その性能が発揮されず不鮮明な像となってしまふ。観察前に、照明系、両眼の幅・視度、コンデンサーの開口絞り、視野絞りの調整を行う必要がある。

6. カメラの機能

現在では、オートフォーカスで撮影することが多いと思われるが、真菌の写真を撮る際は、その菌学的な特徴を表した部分にフォーカスを合わせる必要がある。露出はオートでも良い場合もあるが、シャッタースピード、絞りの組み合わせで露出を調整し、段階的に撮影する。かつてのフィルム撮影と違いデジタルで撮影では、コストを気にせず多くの写真を取ることができる。撮影後、パソコン上で画像の調整が可能であるが、トリミング、コントラスト(明瞭度)、シャープネス(輪郭)の調整は許容範囲で行い、形、色調が変化してしまうような調整は行ってはならない。

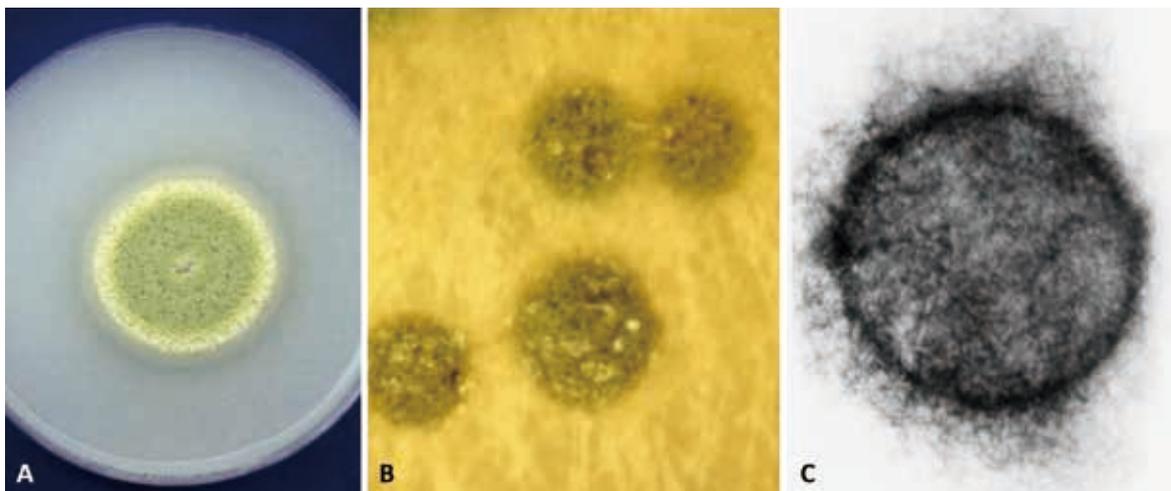


図1 *Talaromyces* sp.
A. 集落(直接観察) B. 子嚢果(実体顕微鏡) C. 子嚢果(光学顕微鏡)

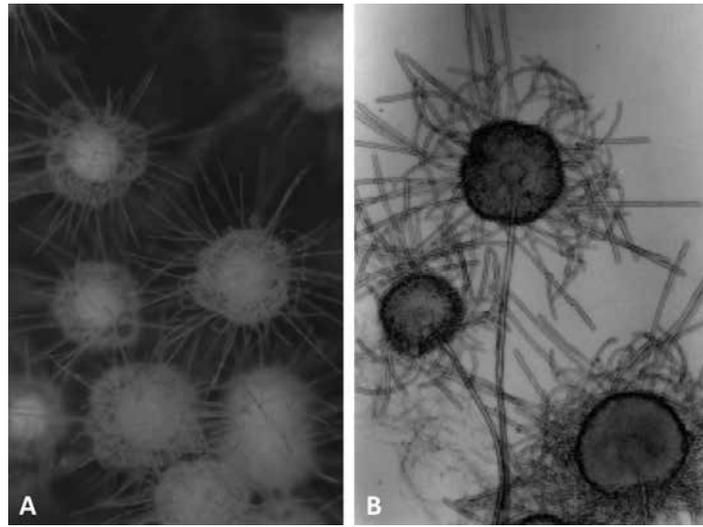


圖2 *Heterocephalum* sp.

A. 分生子形成構造 (實體顯微鏡) B. 分生子形成構造 (光學顯微鏡)

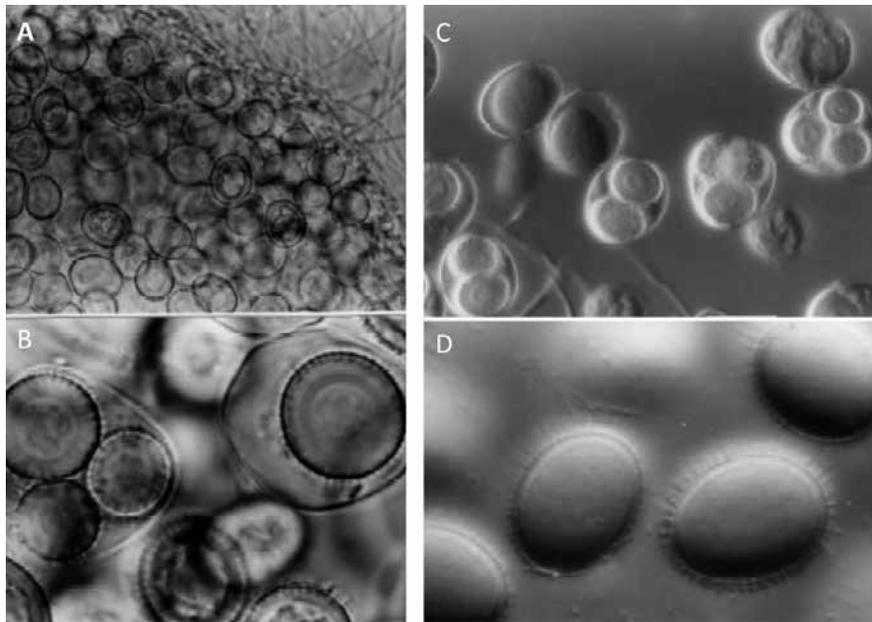


圖3 *Talaromyces* sp.

A. 子囊果 (位相差顯微鏡) B. 子囊 (位相差顯微鏡)
C. 子囊 (微分干涉顯微鏡) D. 子囊孢子 (微分干涉顯微鏡)

略 歴

矢口 貴志 (やぐち たかし)

学歴

- 1985年3月 早稲田大学工学部応用化学科 卒業
- 1987年3月 早稲田大学大学院理工学研究科博士前期課程 修了
- 1995年10月 博士(工学) 受領(早稲田大学)

職歴

- 1987年4月 明治製菓株式会社 入社
- 2003年7月 明治製菓株式会社 退社
- 2003年8月 千葉大学真菌医学研究センター 助教授就任
- 2007年4月 千葉大学真菌医学研究センター 准教授、現在に至る

受賞歴

- 日本菌学会菌学研究奨励賞(1996年)
- 日本医真菌学会奨励賞(2009年)
- 日本菌学会賞(2016年)
- 日本微生物資源学会賞(2018年)



シンポジウム1

真菌感染症治療戦略 Update 2019 ～基礎からTDM活用および臨床応用まで～

座長

澁谷 和俊（東邦大学医学部 病院病理学講座）

演者

SY1-1 「TDMを活用したアゾール系抗真菌薬の適正使用の推進」

鈴木 陽介（明治薬科大学 薬剤情報解析学研究室）

SY1-2 「糸状菌感染症のマネージメント」

時松 一成（昭和大学医学部 内科学講座 臨床感染症学部門）

SY1-3 「抗真菌薬の臨床の問題点を基礎から ～感受性測定含めて～」

槇村 浩一（帝京大学大学院医学研究科 医真菌学）

共催：MSD株式会社

SY1-1

TDMを活用したアゾール系抗真菌薬の適正使用の推進

鈴木 陽介

明治薬科大学 薬剤情報解析学研究室

一部の薬物は、臨床効果や副作用発現と、血液をはじめとした体液中の薬物濃度の間に関連が認められる。そのような薬物は、薬物血中濃度を指標に投与量を調整することが推奨されており、その流れをTherapeutic drug monitoring (TDM)と呼ぶ。抗菌薬では、バンコマイシンやティコプラニンなどの抗MRSA薬や、アミカシンやゲンタマイシンなどのアミノグリコシド系抗菌薬などにおいて、従来からTDMが保険適応となっている。抗真菌薬では、アゾール系抗真菌薬であるポリコナゾール (VRCZ) のTDMが保険適応を受けており、イトラコナゾール (ITCZ) においてもTDMの有用性が報告されている。本発表では、これまでに演者らが行ったアゾール系抗真菌薬のVRCZとITCZのTDMに関する研究を紹介する。

VRCZはトラフ濃度が4–5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上となると、副作用である肝機能障害の発現率が上昇することが報告されている。演者らはVRCZ投与患者におけるトラフ濃度の高濃度持続期間と肝機能障害発現の関係を明らかにするために、後ろ向き調査を実施した。ポリコナゾール投与中にトラフ濃度を指標としたTDMが行われた症例を対象とし、対象症例をトラフ濃度の推移別に3グループ (group A；初回トラフ濃度4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 未満、group B；初回トラフ濃度4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上および次回トラフ濃度4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 未満、group C；初回トラフ濃度4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上および次回トラフ濃度4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上) に分類し、解析を行った。対象症例39例のうち、肝機能障害は11例 (28.2%) に認められた。グループ別の肝機能障害発現率はgroup Aで17.4%、group Bで33.3%、group Cで83.3%であり、group Aとgroup C、およびgroup Bとgroup Cの間に有意差が認められた (図1)。このことから、トラフ濃度が4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上となる期間が長いほど、肝機能障害の発現率が高まることが明らかになった。以上より、初回のTDMでトラフ濃度の上昇が明らかとなった段階で速やかにVRCZの用量調節を行い、トラフ濃度を4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 未満に低下させることで、肝機能障害の発現率を有意に減少させることができることが示唆された。

ITCZは、その活性代謝物であるヒドロキシイトラコナゾール (ITCZ-OH) と合わせてTDMを行うことが推奨されている。ITCZはタンパク結合率が約99.8%と非常に高く、総濃度が一定であっても遊離型濃度は患者間で個人差が大きいと考えられる。そこで、超微量であるITCZの血漿中遊離型濃度のモニタリングを行うため、感度・特異度の高い定量を可能とする超高速高分離液体クロマトグラフトンデム質量分析法によるITCZとITCZ-OHの同時定量法を確立した。本測定法の定量限界は、ITCZおよびITCZ-OHにおいてそれぞれ0.1および0.5 ng/mL であり、高感度な測定が可能となった (図2)。生体試料中薬物濃度分析に関するFDAガイダンスに準拠したフルバリデーションを実施した結果、良好な再現性と正確性が確認された。確立した測定法は、慢性進行性肺アスペルギルス症患者のTDMに適応可能であることが確認され、一部の患者ではITCZ

の遊離型濃度の急激な上昇と副作用発現に関連が認められた。今後は症例を集積し、遊離型濃度のモニタリングの有用性を検証したいと考えている。

抗菌薬と比べると抗真菌薬のTDMの歴史はまだ浅いが、安全でかつ効果的な薬物療法を実施する上で、TDMを活用した抗真菌薬の適正使用を推進するためにも、今後さらなるエビデンスを構築していくことが望まれる。

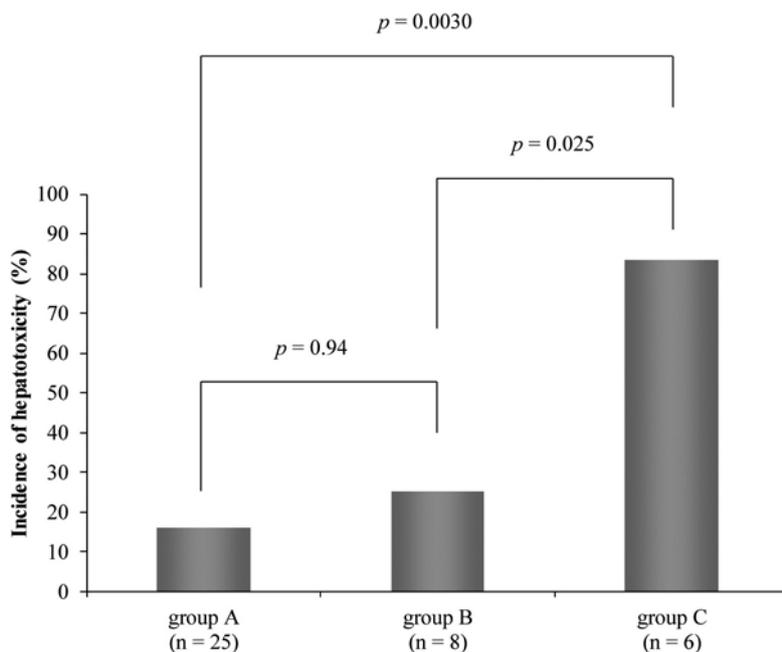


図1 グループ別の肝機能障害発現率

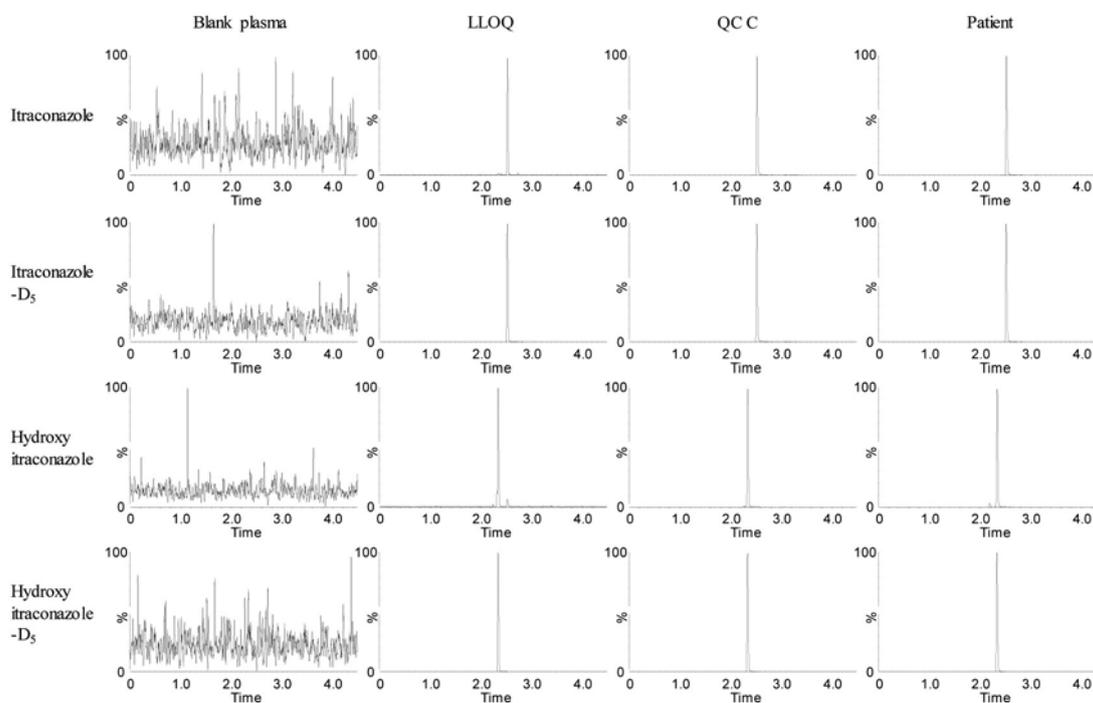


図2 ITCZとITCZ-OHのクロマトグラム

略 歴

鈴木 陽介 (すずき ようすけ)



学歴および職歴

2009年3月 明治薬科大学大学院薬学研究科博士課程前期 修了
2009年4月 大分大学医学部附属病院薬剤部 薬剤師
2012年8月 大分大学医学部附属病院薬剤部 薬剤主任
2014年3月 博士(薬学)取得(明治薬科大学)
2015年4月 ハイデルベルク大学病院臨床薬理学部門 博士研究員
2016年10月 大分大学医学部附属病院薬剤部 薬剤主任
2018年7月 明治薬科大学薬剤情報解析学研究室 助教
現在に至る

資格

日本病院薬剤師会感染制御専門薬剤師、日本医療薬学会指導薬剤師

糸状菌感染症のマネージメント

時松 一成

昭和大学医学部 内科学講座 臨床感染症学部門

侵襲性アスペルギルス症 (IPA) のマネージメントに関するガイドラインは、2015年に日本医真菌学会、2016年に米国感染症学会から、また、2011年には米国胸部疾患学会から、成人および救急救命領域における真菌感染症の治療に関するガイドラインが発表されている。

これらの最新のガイドラインに加え、新しい知見を盛り込んだ糸状菌感染症のマネージメントの要約は以下と演者は考えている。

好中球減少患者では、1. 確定診断、臨床診断例は標的治療を行い、疑い例も検査を行いながら標的治療を開始する。2. IPAではVRCZ、もしくはL-AMBが第一選択薬となるが、重症化や難治化が予想される症例においては、キャンディン系薬に他クラスを組み合わせた併用療法を検討する。3. IPAの診断が確定されていないVRCZの前投与のある症例では、ムーコル症を念頭にL-AMBの選択を検討する。4. 日本でのアスペルギルス耐性分離率は多くなく、全ての症例の感受性試験をする必要はないが、抗真菌薬治療中に繰り返し分離される症例、治療失敗例、稀な菌種の場合は、菌種の同定と抗真菌剤耐性試験も考慮すべきで、専門施設に相談する。これを演者私案のフローチャートに示すと、おおよそ図のようになり、診断の精度をあげるためには、胸部CTと気管支鏡による肺胞洗浄やCTガイド下における肺生検が重要であると考えている。

救急救命領域における糸状菌感染症に対しては、1. 画像は特徴的なものはなく、他の病原体の肺炎と鑑別は困難である。2. 気管支鏡検査は困難な病態が多いが、気管支鏡検体からのアスペルギルスの検出には意義はある。3. ガラクトマンナン抗原検査は血清よりもBALの感度が良いとされる。カットオフ値は定まっていないものの、0.7-1.0が報告されている。4. VRCZによる初回治療がより良い転帰との報告があるが、シクロデキストリンの腎毒性への注意とTDMが必要である。

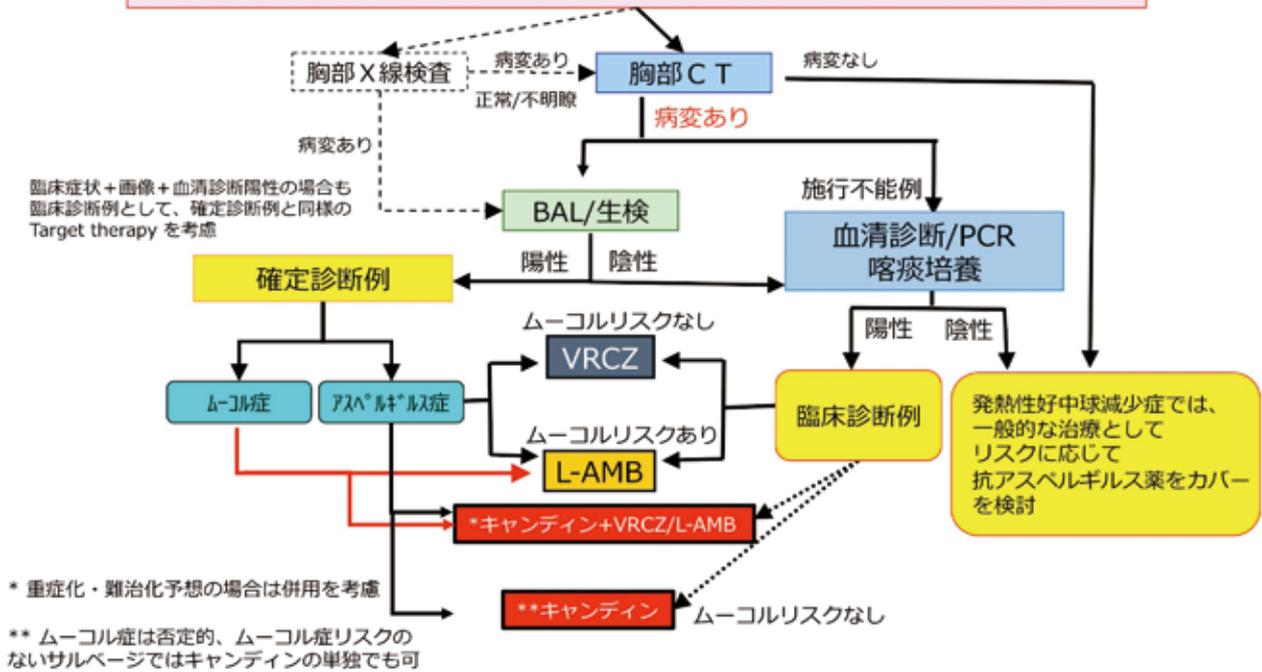
一方、新規抗真菌薬として isavuconazole や posaconazole、anidulafungin の登場も期待されている。

本シンポジウムでは、糸状菌感染症のマネージメントのポイント、ならびに、新規抗真菌薬の海外ガイドラインの位置づけについて解説する予定である。

免疫不全患者における糸状菌肺感染症疑い マネージメントのアルゴリズム (私案)

Maschmeyer G. et al, Eur J Cancer. 2009; 45: 2462-72をもとに、演者が改変

臨床的疑い (発熱 and/or 下気道感染症の兆候 and/or 症状)



略 歴

時松 一成 (ときまつ いっせい)

学歴および職歴

- 1990年 大分医科大学 医学部 卒業
- 1990年 大分医科大学 第二内科 入局
- 1995年 大分医科大学 大学院 卒業 博士(医学)
- 1996年～1998年 米国国立衛生研究所 (NIH) 留学
- 1998年 国立療養所 西別府病院内科 医師
- 1999年 大分県立病院 呼吸器内科 主任医師
- 2002年 大分医科大学 感染分子病態制御講座(第二内科) 助手
- 2007年 大分大学医学部附属病院 呼吸器内科 講師
- 2010年 同 呼吸器内科 診療准教授
- 2014年 神戸大学医学部附属病院 感染制御部 特命准教授／副部长
- 2016年 同 部長
- 2018年 昭和大学医学部 内科学講座 臨床感染症学部門 准教授

ガイドライン作成委員

- 2014年 真菌症フォーラム 深在性真菌症ガイドライン2014
- 2015年 日本医真菌学会 アスペルギルス症の診断と治療ガイドライン2015
- 2012年・2016年 日本化学療法学会／日本TDM学会 抗菌薬TDMガイドライン

受賞歴

- 2005年 真菌症フォーラム第6回学術集会奨励賞
- 2008年 真菌症フォーラム第9回学術集会優秀賞
- 2009年 第17回国際医真菌学会 Poster Award (大学院生指導)
- 2018年 内閣官房・文部科学省・厚生労働省・農林水産省「第2回薬剤耐性 (AMR) 対策普及啓発活動優秀活動表彰・薬剤耐性へらそう！ 応援大使賞」(神戸大学のプロジェクトチーム)



SY1-3

抗真菌薬の臨床の問題点を基礎から ～感受性測定含めて～

榎村 浩一

帝京大学大学院医学研究科 医真菌学

医学医療の高度化・複雑化に加えて、国際的人的交流が一般化している今日において、真菌症は深在性・表在性の別を問わず、従来の病型・病態に留まらず一層の多様性を示す難治疾患の様相を呈しつつある。かかる展望にあっても、これら真菌症に対して適切な抗真菌薬化学療法を施行する上では、起因菌の適切な同定に併せて、その感受性測定が望ましいことには論を待たない。

抗真菌薬感受性測定法としては、我が国の日本医真菌学会 (JSM)、米国の Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)、または欧州の European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST) から、各々病原酵母 (*Candida* 属および *Cryptococcus* 属を中心とする) および病原糸状菌 (*Aspergillus* 属を中心とする) に対する微量液体希釈法を用いた標準的 *in vitro* 抗真菌薬感受性測定法 (標準法) が報告されている。

また、従来、抗真菌薬感受性測定法によって得られる最小発育阻止濃度 (MIC) 値と臨床的効果との関連が不明確であったのに対して、各主要菌種別に抗真菌薬別感受性結果とブレイクポイントも公開された。当該菌種による感染症に対して、「感性」であれば特定の抗真菌薬の臨床的効果が期待でき、「耐性」または「非感性」であれば効果が期待できない。その中間に、「中等度耐性」または「用量依存的感受性」が位置することになる。従って、理論上はこれらのブレイクポイントに基づいて、抗真菌薬の選択および用量の選択等を考慮することが可能となる。

このように、真菌症に対しても細菌感染症同様に MIC 値に基づいた抗菌化学療法への道が開かれている。我が国では「酵母様真菌薬剤感受性検査」として、深在性真菌症の原因菌となった *Candida* 属および *Cryptococcus* 属菌株に限って保険適用となることから、その活用が期待される。

しかし、未だに真菌 MIC 値測定は充分活用されているとは言えず、測定自体実施できない施設も少なくない。また糸状菌に対する MIC 測定は未だに保険適用となっていない問題も依然として残っている。

真菌感受性測定法が一般化しない理由の第一は、医真菌学ならびに臨床微生物学領域における研究ならびに実務態勢の貧弱さにあることは間違いない。しかし、それにも増して臨床の観点から MIC 値の取得が症例の治療・管理上差し迫って必要と考えられていないからとも言える。何故か？

以前より真菌症治療上、抗真菌薬の効果には実験室と臨床間で解離が見られることは指摘されていた。

これには様々な理由がある。第一に一般に行われている抗真菌薬感受性測定法は、国際協調に基づいて広範囲の菌種と全ての市販抗真菌薬に対して、様々な実験環境下にあっても「安定な」

MIC値を得られるべく「標準化」されたものであることから、薬剤別および菌種別における検討は不十分である。また、実臨床を考えると、薬物動態の考慮も必要になる。

抗真菌薬使用上の問題―適正使用へむけた評価について、抗真菌薬感受性測定法の問題点・追加改善点を含めて議論したい。

略 歴

榎村 浩一 (まきむら こういち)

略歴

- 1990年 東京医科大学卒業、帝京大学大学院医学研究科(細菌学)入学
帝京大学病院第1内科にて臨床研修
- 1991-1992年 米国Tampa Bay Research Institute、ウイルス学講座 客員
研究員
- 1994年 帝京大学大学院修了、博士(医学)、
帝京大学医真菌研究センター 助手、1996年 同講師
- 2000年 帝京大学医学部 講師、2002年 同助教授、2007年 同准教授、2011年 同教授
- 2009-2012年 宇宙航空研究開発機構(JAXA)による国際宇宙ステーション(ISS)
日本実験棟「きぼう」船内微生物研究 主任(PI)
- 2012-2018年 帝京大学医療共通教育研究センター 主任・教授、同大学院医学研究科 兼任教授
- 2012-現在 同大学院医療技術学研究科臨床検査学専攻 兼任教授、
同医真菌研究センター 兼任教授、同アジア国際感染症制御研究所 兼任教授
- 2018-現在 帝京大学大学院医学研究科 医真菌学・宇宙環境医学 教授、
帝京大学医療技術学部スポーツ医療学科 教授、
同医療共通教育研究センター 主任・兼任教授、山東医学科学院基礎医学所 客員教授、
濰坊人民医院 客員教授
- 2019-現在 帝京大学医学部 療育環境下AMR真菌症管理研究寄付講座 兼任特任教授



所属学協会

日本医真菌学会(理事、医真菌学専門医)、日本細菌学会、日本宇宙生物科学会(代議員)、日本宇宙航空環境医学学会(宇宙医学認定医)、日本感染症学会(推薦インфекション・コントロール・ドクター)、日本労働安全衛生コンサルタント会(COH労働衛生コンサルタント(保健衛生))、社会医学系専門医・指導医、International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM), American Society for Microbiology (ASM) 他

受賞歴

Young Scientist Award (ISHAM: 国際医真菌学会: 1994年)、日本医真菌学会奨励賞(日本医真菌学会: 2000年)、冲永賞(学校法人帝京大学: 2001年)、冲永荘一学術文化功労賞(学校法人帝京大学: 2013年) 他

専門領域

医真菌学、宇宙環境微生物学、労働衛生学、博物学

シンポジウム2

爪白癬の病態・診断・治療

座長

五十棲 健（東京警察病院 皮膚科）

演者

SY2-1 「爪白癬の病理学的側面」

澁谷 和俊（東邦大学医学部 病院病理学講座）

SY2-2 「爪白癬の診断と治療－病型に基づく治療戦略－」

原田 和俊（東京医科大学 皮膚科学分野）

共催：科研製薬株式会社

爪白癬の病理学的側面

澁谷 和俊

東邦大学医学部 病院病理学講座

本邦でも相次ぐ外用薬の上梓により爪白癬の治療方法に選択肢は増えたが、患者数の漸増傾向に変化はみられない。これまでに、爪白癬の組織学的な検討は報告されているものの、白癬菌の爪甲内への侵入経路や臨床症状と白癬菌の関係性を直接的に検討した研究は少ない。

本講演では、末梢動脈性疾患により切断されたヒトの趾爪を用いた爪白癬病理組織学的解析を紹介し、その成り立ちについて考えてみたい。次いで、薬剤の開発に不可欠な病態モデル開発の変遷を概説し、ヒト爪白癬の病態との比較や問題点について考察する。この後に我々が開発したヒトProximal subungual onychomycosis (PSO) 型爪白癬の病態に外挿可能なin vivo爪白癬モデルを用いて、感染経路および病変進展に関する経時的解析の結果を提示したい。更にはこれらの知見を纏め、爪白癬研究に係る将来の基礎・臨床のクロストークの方向性を考えてみたい。

略 歴

澁谷 和俊 (しぶや かずとし)

略歴

昭和58年3月 東邦大学医学部 卒業

平成元年10月 東邦大学医学部 講師

平成16年4月 東邦大学医療センター大森病院病理部 部長

平成17年6月 東邦大学医学部 教授



役職

日本医真菌学会理事長、関東医真菌懇話会事務局長、医学系大学倫理委員会連絡会議理事、私立医科大学協会倫理委員会委員、研究倫理を語る会世話人、日本病理学会学術評議員、日本感染症学会評議員、日本画像医学会評議員、Pathology International Vice-Editor in Chief、Medical Mycology Editor、国立感染症研究所客員研究員、北京大学第一医院客員教授、千葉大学真菌医学研究センター非常勤講師

爪白癬の診断と治療 – 病型に基づく治療戦略 –

原田 和俊

東京医科大学 皮膚科学分野

爪白癬は人口の10%が罹患していると推計される頻度の高い表在性真菌感染症である。さらに、加齢に伴い爪白癬の罹患率も上昇するという疫学調査も存在し、今後、超高齢化社会を迎える日本では、さらなる患者数の増加が予想されている。爪白癬に罹患すると、爪甲の変形や混濁、爪甲下の角質増殖が生じ、歩行時の疼痛などによって患者のQOLは低下する。また、変形した爪甲は足趾の皮膚を障害し、蜂窩織炎などの細菌感染症や糖尿病性壊疽を誘発する。一方、爪甲で増殖する糸状菌は体部白癬などの新たな皮膚糸状菌感染症の原因となる。このことから、爪白癬は積極的な治療介入が必要な疾患である。

爪白癬は糸状菌の侵入経路、爪甲における増殖部位からDLSO (Distal and Lateral Subungual Onychomycosis) 型、SWO (Superficial White Onychomycosis) 型、PSO (Proximal Subungual Onychomycosis) 型、TDO (Total Dystrophic Onychomycosis) 型の4つの病型に分類されている。DLSO型は糸状菌が足趾の末端もしくは側方から、爪床を経て爪甲に感染した病型である(図1a)。臨床的に爪甲下角質増殖と爪甲の混濁が認められるが、爪床から爪甲表層に向かって病変が進行するため、爪甲の表面は正常である。SWO型は爪甲表面の微細な傷から直接糸状菌が侵入する病型であり、臨床的に爪甲の点状、斑状の白斑を呈する(図1b)。PSO型は糸状菌が爪甲基部から侵入する病型で、比較的稀である。爪甲基部から末梢にかけて、白色の病変が認められる(図1c)。TDO型は爪白癬を治療せずに放置したことによって、爪甲全層に糸状菌が増殖した結果、爪甲が崩壊した病型である(図1d)。さらに、DLSO型の特殊型として楔状に爪甲が白濁する病型も存在する(図1e)。

爪白癬の診断には爪甲もしくは爪甲下で増殖した角質から検体を採取し、KOH(苛性カリ)で角質を溶解後、顕微鏡で観察する直接鏡検法が必須である。しかし、真菌感染が原因ではない爪甲の変形が鏡検検査を行わずに、爪白癬と診断され、抗真菌薬の投与を受けている症例にもしばしば遭遇する(図1f)。鏡検検査を施行する際には、病型により真菌が増殖する部位が異なるため、検体採取部位に注意する。また、顕微鏡で糸状菌を観察すると、足白癬や体部白癬に比べ爪白癬では、糸状菌の菌糸がはっきりしないので、正しい診断を下せるようになるには経験が必要である(図2a)。さらに、楔状白濁型の爪白癬では糸状菌は、分節胞子と短い菌糸が塊状になったdermatophytomaを形成し、通常の糸状菌の顕微鏡所見とは異なる形態を呈するので、注意が必要である(図2b)。

爪白癬の治療の基本は抗真菌薬の内服である。本邦では、テルビナフィン、イトラコナゾールが投与されてきたが、最近、新規経口抗真菌薬である、ホスラブコナゾールが上市された。これらの薬剤は比較的安全性が高いが、定期的な肝機能検査が必要であり、併用禁忌薬をもつ薬剤も

あるので、投与の際に注意する。一方、本邦では外用爪白癬治療薬である、エフィナコナゾール、ルリコナゾールが使用可能である。副作用として、接触皮膚炎が出現する以外は安全性が高く、高齢者や肝機能障害を有する患者にも安心して処方可能である。しかし、内服抗真菌薬に比べ、治癒率は低く、患者アドヒアランスも低下傾向にある。従って、全ての爪白癬の症例に対し、安易に外用薬を選択するのではなく、症例を選んで投与すべきである。内服薬と外用薬の使い分けについて、エビデンスに基づく選択基準はないが、SWO型爪白癬は糸状菌が爪甲の表面に存在するため、外用薬が効果を示す。さらに、楔状白濁型で認められる dermatophytoma は、biofilm を形成し、経口抗真菌薬の浸透が悪いが、この病型にも外用抗真菌薬が効果を発揮する。また、テルビナフィン は糸状菌に対して高い抗真菌活性を示すが、アスペルギルスなどが原因となる非白癬性爪真菌症では効果が期待できず、抗真菌スペクトラムが広いエフィナコナゾールなどが有用な症例もある。

以上のように、爪白癬の診断では、臨床症状から病型分類を行い、それに基づいて、糸状菌が増殖する部位から検体を採取し、顕微鏡検査を行うことが重要である。さらに、顕微鏡の視野の中から糸状菌の成分を適切に見いだす能力も必要とされる。このようなマクロとミクロの正しい「視診」が施行され、はじめて適切な爪白癬の治療が可能となるのである。



図1

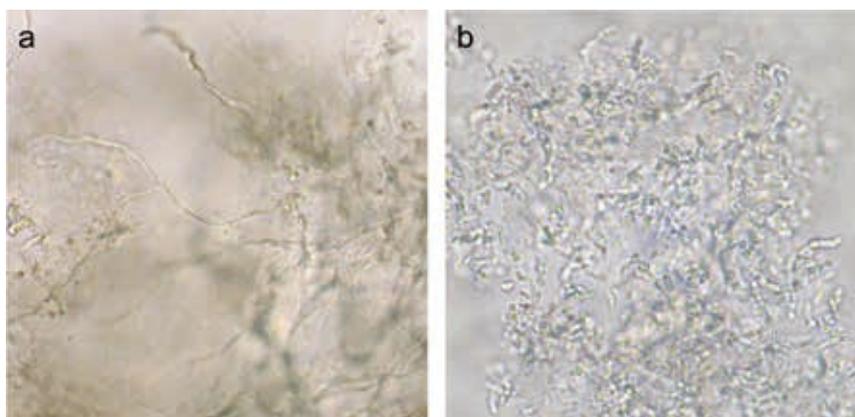


図2

略 歴

原田 和俊（はらだ かずとし）

学歴および職歴

- 1994年3月 山梨医科大学 卒業
- 1994年5月 山梨医科大学皮膚科 研修医
- 1997年4月 山梨医科大学大学院 入学（癌研究会癌研究所）
- 2001年4月 山梨医科大学大学院 卒業・山梨医科大学皮膚科 助手
- 2002年6月 スタンフォード大学皮膚科
- 2005年9月 山梨大学皮膚科 助手
- 2008年2月 山梨大学皮膚科 講師
- 2014年1月 東京医科大学皮膚科分野 准教授



シンポジウム3

Breakthrough 真菌感染症の現状 －臨床と病理の側面から－

座長

前崎 繁文 (埼玉医科大学 感染症科・感染制御科)

演者

SY3-1 「臨床の側面から」

木村 宗芳 (虎の門病院 臨床感染症科)

SY3-2 「病理の側面から」

若山 恵 (東邦大学医学部 病院病理学講座)

共催：大日本住友製薬株式会社

臨床の側面から

木村 宗芳

虎の門病院 臨床感染症科

抗真菌薬の予防投与は同種造血幹細胞移植患者や急性白血病患者といった高リスク患者を対象に用いられている真菌症予防戦略であり、侵襲性真菌症の発症率低下をもたらした。しかし、抗真菌薬が投与されている中であっても真菌症が発症することが知られており、breakthrough真菌症と呼ばれている。Breakthrough真菌症は、予防投与されている抗真菌薬に耐性や低感受性を示す真菌が原因となることが以前から知られていた。しかし、近年の研究で、予防投与中の抗真菌薬に感性を示した真菌が原因となることがしばしばあることがわかってきており、本症の発症には菌側の因子だけではなく、宿主の免疫状態といった宿主側の因子も密接に関与していることが予想されている。今回は、breakthrough真菌症の疫学、診断、発症機序、その治療法について解説していく。米国を中心とした海外からの論文を紹介するだけでなく、国内からの報告も取り上げる。特に虎の門病院臨床感染症科と血液内科、国立感染症研究所真菌部の共同研究として行っている抗真菌薬投与下のbreakthrough真菌血症の治療戦略の構築の取り組みについて紹介したい。

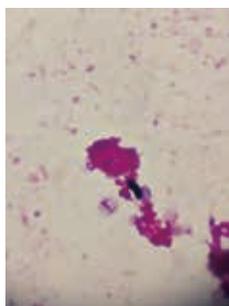


Fig.1 抗真菌薬投与中に生じた真菌血症患者の血液培養のグラム染色像

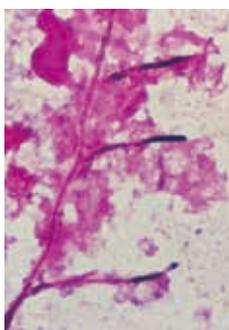


Fig.2 抗真菌薬投与中に生じた真菌血症患者の血液培養のグラム染色像 (Fig.1 と同一患者) : 培養された菌株を国立感染症研究所真菌部で解析したところ *Fusarium solani* species complex と同定された。当院と国立感染症研究所真菌部の共同研究で提唱した Breakthrough 真菌症の治療戦略に基づき治療し救命した。

略 歴

木村 宗芳 (きむら むねよし)



学歴および職歴

平成18(2006)年3月 群馬大学医学部医学科 卒業
平成18(2006)年4月 虎の門病院内科 前期研修医
平成20(2008)年4月 虎の門病院内科 後期研修医
平成23(2011)年4月 虎の門病院臨床感染症科 医員

原著論文(真菌に関する論文で第一著者として執筆したもののみ記載)

- 1) Kimura M, Araoka H, Yamamoto H, et al. Micafungin breakthrough fungemia in patients with hematological Disorders. Antimicrobial Agent Chemother 2018; 62: e02183-17.
- 2) Kimura M, Araoka H, Yamamoto H, et al. Clinical and microbiological characteristics of breakthrough candidemia in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients in a Japanese hospital. Antimicrob Agent Chemother 2017; 61: e01791-16.
- 3) Kimura M, Araoka H, Uchida N, et al. Cunninghamella bertholletiae pneumonia showing a reversed halo sign on chest computed tomography scan following cord blood transplantation. Med Mycol. 2012 May; 50(4): 412-6.

資格

日本内科学会総合内科専門医、日本感染症学会専門医・指導医、インфекションコントロールドクター

所属学会

日本内科学会、日本感染症学会、日本化学療法学会

受賞歴

日本感染症学会東日本地方会(2013年秋)奨励賞
第37回関東医真菌懇話会一般演題優秀演題賞

病理の側面から

若山 恵¹⁾、長瀬 大輔²⁾

1) 東邦大学医学部 病院病理学講座、2) 東邦大学医療センター大森病院 血液・腫瘍科

造血器疾患に対する化学療法や造血幹細胞移植時に生じる高度の好中球減少症は、好中球が主たる感染防御を担う *Candida*、*Aspergillus*、*Mucor*、*Trichosporon* 等の真菌感染の重要なリスクファクターであり、ひとたび感染が成立すると重症化しやすく、すなわち予後に寄与する重要な因子となる。このため近年では、これらの好中球減少患者に対する抗真菌薬の予防投与が治療戦略の一環として行われている。この抗真菌薬の予防投与下で発症する真菌感染症は breakthrough 真菌感染症と呼ばれている。従来、最も頻度の高い侵襲性真菌症の原因菌の一つである *Candida* 感染を予防する目的で fluconazole が使用されてきたが、*Aspergillus* に対する感受性もある micafungin、itraconazole、Amphotericin B 等の使用例も報告されている。この breakthrough 真菌感染症の原因菌は投与された抗真菌薬に感受性の低い真菌が主体を占め、*Trichosporon* 属や *Candida krusei* などの *Candida* 属、*Mucor* 等が挙げられる。特に *Mucor* 症は有効な抗真菌薬が少ないだけでなく、血管侵襲性が強く、大型の壊死性病変を形成しやすいことが治療をさらに困難にしている。

今回は、breakthrough 真菌感染症の中で過去でも現在でも重要な位置を占めている *Mucor* 症を中心として、抗真菌薬の投与歴を含めて病理学的所見について概説する。

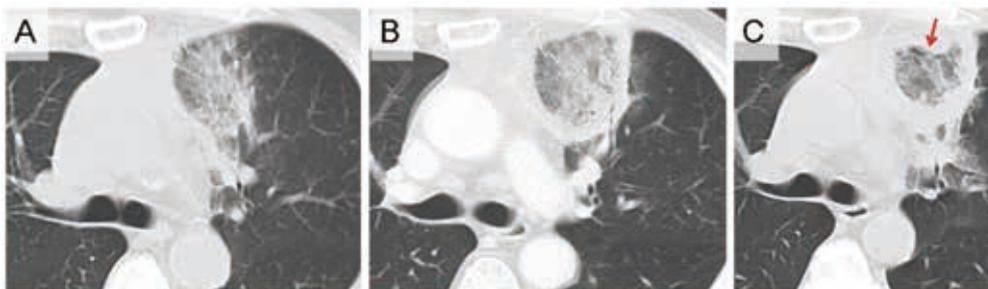


Figure 1 胸部CT画像における reversed CT halo sign

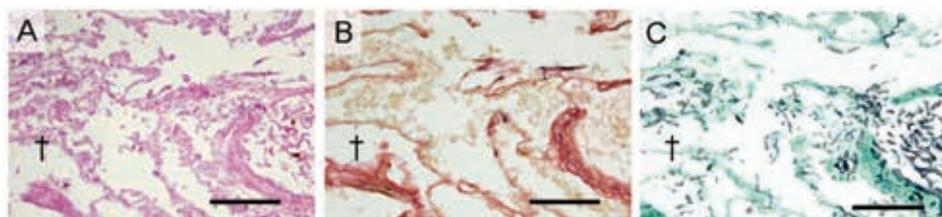


Figure 2 同症例の病理組織像。A：HE染色、B：EVG染色、C：Grocott染色
↑部はすりガラス状陰影を呈していた部に相当する。

Figure 1, 2ともに出典：Okubo Y, et al. *Diagnostic Pathology* 2013 8: 82
(<https://doi.org/10.1186/1746-1596-8-82>) より

略 歴

若山 恵 (わかやま めぐみ)



学歴および職歴

- 1986年 東邦大学医学部 卒業
東邦大学医学研究科博士課程(形態系病理学) 入学
- 1990年 東邦大学大学院 単位取得、医学博士取得
東邦大学医学部 助手(大橋病院病院病理学講座)
- 1994年 同上 講師
- 2004年 国家公務員共済組合連合会東京共済病院 臨床検査科部長代行兼病理科医長
- 2006年 同上 臨床検査科部長兼病理科部長
- 2009年 東邦大学医学部 講師(現職)

学会・資格

- 日本医真菌学会 幹事、認定専門医、代議員、教育委員会委員、専門医委員会委員、利益相反委員会委員
- 日本病理学会 病理専門医、病理専門医研修指導医、学術評議員
- 臨床細胞学会 細胞診専門医
- 臨床検査医学会 臨床検査管理医
- 和洋女子大学看護学部看護学科 客員教授

ランチオンセミナー

皮膚真菌症を探求する

座長

金子 健彦（和洋女子大学大学院）

演者

LS-1 「深在性皮膚真菌症 診療の基本」

望月 隆（金沢医科大学医学部 皮膚科学講座）

LS-2 「外用抗真菌薬を使い分ける」

常深祐一郎（埼玉医科大学 皮膚科）

共催：株式会社ポーラファルマ

深在性皮膚真菌症 診療の基本

望月 隆

金沢医科大学医学部 皮膚科学講座

皮膚真菌症は表在性皮膚真菌症と深在性皮膚真菌症に大別される。表在性皮膚真菌症は真菌の感染が表皮やその付属器、粘膜面に限局するため、KOH直接検鏡法などで菌の存在を確認したのち、外用を中心とした治療が行われる。一方深在性皮膚真菌症は真皮以下で菌が増殖する状態で、多くは抗真菌剤の全身投与が必要となる。その頻度は極めて低く、2012年の日本医真菌学会の疫学調査では3520例の表在性皮膚真菌症に対し深在性皮膚真菌症はスポロトリコーシスの2例のみであった。しかし、基礎疾患の存在のもとで生じる例も少なくなく、迅速な治療開始が望まれる。

深在性皮膚真菌症は菌の侵入経路から、外傷などにより外界から皮膚に菌が持ち込まれて発症する原発性のものと、他臓器から血行性に真皮、皮下組織に至り、病巣を形成する続発性のものとに分けられる。外来で経験されるほとんどの例が原発性であり、多くは単発あるいは限局性である。しかし、後者は免疫抑制状態にある入院患者に見られることがあり、病巣は多発し、予後も深刻である。

臨床像では外傷後の肉芽腫性病変や、炎症所見に比較的乏しい膿瘍を示す例が多い。あるいは膿皮症となり、潰瘍化することもある。抗生物質不応性の難治性の結節や膿瘍、潰瘍の診療に際しては深在性皮膚真菌症を念頭に置きたい。

診断は真菌培養所見と組織所見を勘案して行なう。スポロトリコーシスのように、菌名が疾患名に直結するので、真菌培養とそれに続く菌種同定が必要である。環境菌が分離されれば複数回同一菌種が分離されることを確認する。真皮、皮下組織での真菌の増殖を確認するためには病理組織検査が重要である。PAS染色、あるいはグロコット染色で組織内に菌要素を証明し、その形態が培養された菌と矛盾しないか確認する。これに先立って痂皮、鱗屑や膿瘍から得えられた膿汁を直接検鏡しておく。KOH法によってこれらの検体から菌要素が見つかることも多く、スクリーニングや迅速診断の方法として励行されるべきである。

治療は抗真菌剤の全身投与が基本であるが、小さな病変ならば切除が行われることがある。菌種によって薬剤への感受性が大きく異なるため、培養結果により治療法を見直す。温熱療法が有用な例も少なくない。一般には宿主の免疫能や合併症、薬剤の副作用に留意しつつ抗真菌剤の長期の投与を行うことになる。予後は基礎疾患により大きく左右される。

このセミナーではスポロトリコーシス、フェオヒフォミコーシス(黒色菌糸症)、セドスポリウム感染症を中心に、深在性皮膚真菌症の診療について解説する。

略 歴

望月 隆 (もちづき たかし)



学歴および職歴

1981年3月 弘前大学医学部 卒業

1981年5月 滋賀医科大学皮膚科 研修医

1986年3月 滋賀医科大学大学院修了 医学博士

1986年4月 滋賀医科大学皮膚科 助手

1991年3月 文部省在外研究員 Texas大Austin校植物学教室 (1992年3月まで)

1992年3月 Visiting Professor (Associate) California大Riverside校植物病理学教室 (1993年3月まで)

1997年4月 金沢医科大学 皮膚科学 助教授

2005年2月 金沢医科大学 皮膚科学 教授

2008年4月 金沢医科大学病院 臨床研修センター部長 (2013年11月まで)

2013年9月 金沢医科大学医学部 教務部長

現在に至る

所属学会

日本皮膚科学会 (代議員)、日本医真菌学会 (理事)、日本菌学会、日本医学教育学会ほか

専門医など

日本皮膚科学会専門医、日本医真菌学会認定専門医、インфекションコントロールドクター (ICD)

専門領域：皮膚真菌症の臨床、皮膚糸状菌の分子同定、分子疫学、皮膚真菌症の教育

受賞

平成30年度 日本医真菌学会賞

外用抗真菌薬を使い分ける

常深祐一郎

埼玉医科大学 皮膚科

皮膚真菌症治療の最初は薬剤選択であるが、最小発育阻止濃度 (MIC) や最小殺真菌濃度 (MFC) を考慮する。添付文書で効能・効果を有していても MIC や MFC にはかなりの差があり、必ずしも抗真菌作用が高いとは限らない。白癬ではルリコナゾールやラノコナゾール、アモロルフィン、リラナフタート、テルビナフィン、ブテナフィン等が有効である。カンジダ感染症ではルリコナゾールやラノコナゾール、ネチコナゾール、アモロルフィン、ケトコナゾールが、マラセチア感染症ではルリコナゾールやラノコナゾール、アモロルフィン、ケトコナゾールが有効である。

基剤も重要である。外用抗真菌薬にはいずれにもある程度刺激性があるため、病変の状態を評価し、刺激性皮膚炎による悪化を回避する。浸軟などがある部位には軟膏基剤が無難である。もちろん、強いびらんや湿疹、二次感染などを合併している場合、亜鉛華軟膏やステロイド軟膏、経口抗菌薬等により先にこれらを治療する。一方、使用感ではクリームや液が優れるため使用できる病変ではアドヒアランスを高めるために活用する。

外用指導も忘れてはならない。ポイントは「範囲」と「量」、「期間」である。たとえば足白癬では、白癬菌は肉眼的に症状のない部分にも存在するため、白癬菌の存在しうる趾間及び足底、土踏まず、足縁、アキレス腱部の全体に塗布しなければならない。片足にしか症状がなくても両足に塗布する。この外用範囲に必要な外用薬の量は finger-tip unit (FTU) の概念で考えると1日1gである。つまり、1ヶ月後に再診するなら、30gを処方して、これを使い切るように指導する。さらに、症状が消失してもまだ白癬菌は残存しているため、皮膚のターンオーバー期間を考えて症状消失後1-2ヶ月くらいは外用を継続する。

爪白癬は繰り返す足白癬の原因であり、完治を目指して経口抗真菌薬 (ホスラブコナゾールやテルビナフィンが効果が高い) による治療を行う (同時に足白癬にも効くため一石二鳥である)。足白癬単独であっても、角化型や合併症で外用治療が行いにくい場合には経口抗真菌薬 (足白癬のみの場合、テルビナフィン) を積極活用する。

白癬には、上記足白癬や爪白癬の他、体部白癬や股部白癬、顔面白癬、頭部白癬等がある。体部白癬や股部白癬、顔面白癬は、外用療法が基本であるが、広範囲な病変、手の届かない部位や陰股部など形状が複雑で塗り残しやすい部位、外耳道や眼、頭部にかかる病変を有する場合は経口薬も併用する。頭部白癬は議論があるところではあるが外用抗真菌薬はあまり効果が期待できない上、炎症を惹起または増悪させる可能性もあり、基本的には使用しない。経口抗真菌薬を用いる。

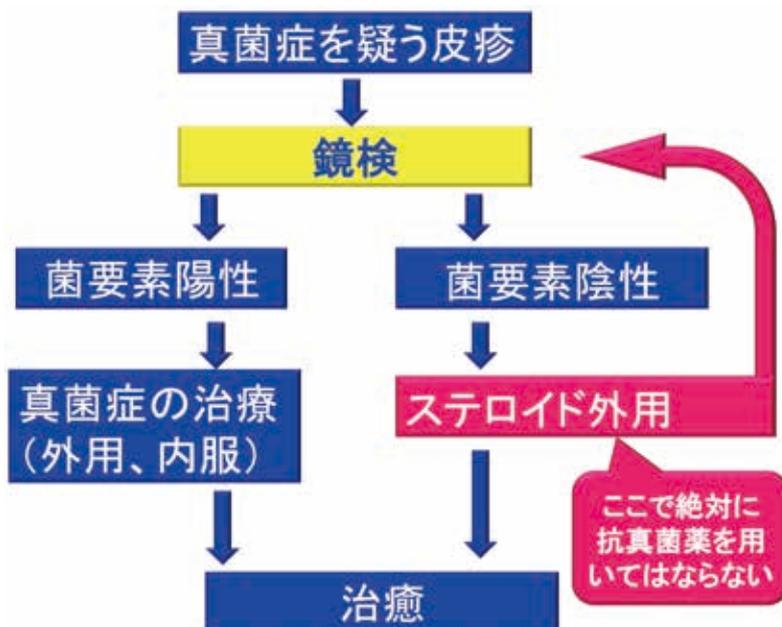
カンジダ感染症にはカンジダ性間擦疹、カンジダ性指間びらん症、カンジダ性口角びらん症・口唇炎、口腔カンジダ症、カンジダ性亀頭・包皮炎、カンジダ性爪囲炎、爪カンジダ症などがある。

カンジダは常在真菌で湿度が高いと難治であり、再発も多い。浸軟している病変では、刺激性皮膚炎を回避し同時に治療効率を高めるため、軟膏基剤の外用抗真菌薬を用い、亜鉛華軟膏を重層する、ガーゼをはさむなど浸軟に対する処置も併用する。カンジダ性爪囲炎や爪カンジダ症では経口抗真菌薬（イトラコナゾール）を用いる。

マラセチア感染症では癬風とマラセチア毛包炎が主たる病型である。マラセチアは毛包や一部脂漏部位の常在真菌であるから、条件が整えば再発も多い。癬風では外用薬が基本であるが、広範囲の病変には経口抗真菌薬（イトラコナゾール）を併用する。マラセチア毛包炎は外用薬では難治なことも多く、その場合経口抗真菌薬（イトラコナゾール）を併用する。

最後に、抗真菌薬は必ず診断確定後に使用することを付言しておく。皮膚真菌症では診断的治療は成り立たない。たとえ抗真菌薬を塗布して改善しなかったとしても、真菌症ではなかったのか、真菌症だが使用した薬剤の効果が低かったのか、刺激性皮膚炎で悪化したのか、区別できない上、その時点で鏡検を実施しようとしても抗真菌薬使用後なので検出率はきわめて低下していて困難である。

足白癬(小水疱型)



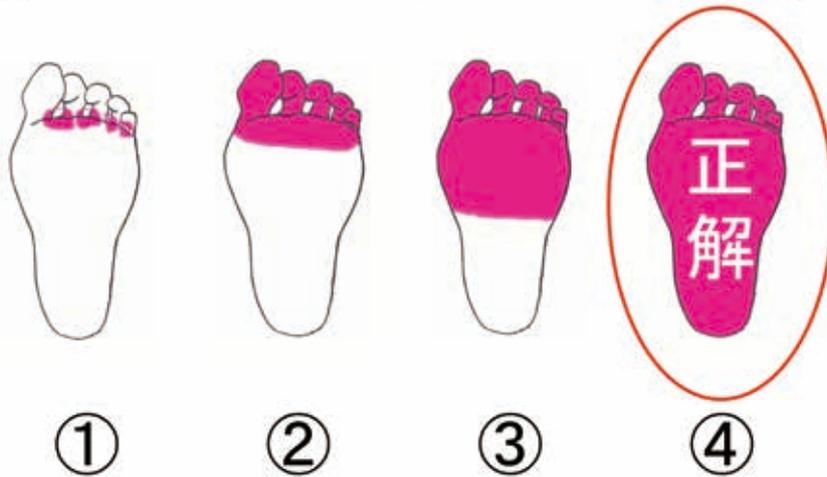
浸軟には

- ステロイド、亜鉛華軟膏重層。
- 乾かしてから抗真菌薬外用(軟膏基剤がよい)。
- 趾間にガーゼを挟む。5本趾靴下。



浸軟はかぶれのリスク!

薬を塗る範囲は?



外用だけでは塗り残しができる
経口薬を併用



略 歴

常深 祐一郎 (つねみ ゆういちろう)

学歴および職歴

1999年3月 東京大学医学部医学科 卒業

1999年5月 東京大学医学部附属病院 皮膚科 研修医

2000年5月 国立国際医療センター 皮膚科 研修医

2001年4月～2005年3月 東京大学大学院医学系研究科 学位取得

2005年4月～2010年3月 東京大学医学部 皮膚科 医員、助手、助教

2010年4月 東京女子医科大学 皮膚科 講師

2014年3月 東京女子医科大学 皮膚科 准教授

2019年4月 埼玉医科大学 皮膚科 教授

専門領域

皮膚真菌症、乾癬、アトピー性皮膚炎、疥癬、抗酸菌感染症、角化症



スイーツセミナー

真菌症の菌体成分を指標とした診断法

座長

宮崎 義継（国立感染症研究所）

演者

SS-1 「(1→3)- β -D-グルカン」

吉田耕一郎（近畿大学病院 安全管理部感染対策室）

SS-2 「真菌症の菌体成分を中心とした診断法～抗原検査を中心に」

長尾 美紀（京都大学医学部附属病院 検査部・感染制御部／
京都大学大学院医学研究科 臨床病態検査学）

共催：バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

(1 → 3) - β -D-グルカン

吉田耕一郎

近畿大学病院 安全管理部感染対策室

深在性真菌症を早期に診断することは臨床上極めて重要である。的確な診断に基づいて、適切な抗真菌薬を遅滞なく開始することが、患者の予後改善の鍵となる。無菌検体から原因真菌を分離・同定することや、組織内への真菌の侵入を病理学的に確認することで、本症の診断は確定する。しかし、侵襲性カンジダ症の血液培養陽性率は50%程度にとどまり、宿主の全身状態や出血傾向などの障壁から、侵襲的検査を積極的に実施して確定診断を得ることができない症例も少なくない。

このような臨床上の問題点を克服する目的で、補助的な診断法としての血清診断法や遺伝子診断法の臨床応用が試みられてきた。真菌の菌体成分の一部を検出する血清診断法には各種真菌の抗原を検出するものや(1 → 3) - β -D-グルカン(β -D-グルカン)を測定する方法がある。本スイーツセミナーでは私は β -D-グルカン測定法について論じる予定である。

β -D-グルカン測定法は1995年、わが国の生化学工業によって最初の測定キット、ファンギテックGテストが開発され、その後、複数のキットが臨床現場に導入された。各々に特徴を有したキットであったが、現在国内では、アルカリ処理-発色合成基質法(ファンギテックGテストMK II「ニッスイ」、ファンギテックGテストES「ニッスイ」、日水製薬)と、希釈加熱-比濁時間分析法(β -グルカンテストワコー：ワコー法、和光純薬工業)の3キットを臨床使用可能である。一方、米国ではMK II法と同様の測定原理を持つFungitell (Associates of Cape Cod)が開発されており、欧米を中心として臨床応用されている。また最近、中国からもGold stream Fungus (1-3) - β -D-glucan (Gold Mountain River Tech Development)とDynamiker Fungus (1-3) - β -D-glucan assayの2種類のキットが発表され、臨床データが蓄積されつつある。各々の臨床成績は当日の講演の中でお示しする予定であるが、キットによって成績に特徴が見られるものの、おおむね良好な検査性能が期待できる。また従来、応用不可能とされていたクリプトコックス症における成績も示されるようになってきており、興味深い。

β -D-グルカンの臨床的性能を評価した論文は多いが、米国のFungitellを評価したものが多数を占める。したがって、これらの成績をそのまま国内の日常診療に当てはめて評価することには慎重であるべきと思われる。また多くの臨床試験では、深在性真菌症発症のハイリスク患者において、前向きに一定の間隔で β -D-グルカン値を測定して評価されている点にも留意して、成績を吟味する必要があるであろう。加えて、担当医が深在性真菌症を早期に疑って、適切なタイミングで β -D-グルカン測定をオーダーできるか否か、がこの検査の有用性を引き出す決め手となる。

本セミナーでは、 β -D-グルカン測定に関する最近の国内外の成績を紹介し、 β -D-グルカンの運用・評価について意見を述べてみたい。

略 歴

吉田 耕一郎 (よしだ こういちろう)



学歴および職歴

- 1990年3月 川崎医科大学 卒業
- 1990年4月 川崎医科大学附属病院 内科 研修医
- 1992年4月 川崎医科大学 呼吸器内科 臨床助手(附属病院シニアレジデント)
- 1995年4月 川崎医科大学大学院医学研究科 入学
- 1999年3月 川崎医科大学大学院医学研究科 終了
- 1999年4月 川崎医科大学 呼吸器内科 臨床助手(附属病院シニアレジデント)
- 2000年4月 川崎医科大学 呼吸器内科 講師(附属病院副医長)
- 2006年4月 川崎医科大学 呼吸器内科 講師(附属病院医長)
- 2007年2月 昭和大学医学部 臨床感染症学 助教授
- 2007年4月 昭和大学医学部 臨床感染症学 准教授
- 2012年4月 近畿大学医学部附属病院 安全管理部感染対策室 教授・室長
- 2018年10月 近畿大学医学部附属病院 病院長補佐兼務

受賞

- 2003年 真菌症フォーラム第4回学術集会 奨励賞
「アルカリ処理 - 発色合成基質カイネティック法による血中(1→3)-β-D-グルカン値測定における非特異反応とその対策」
- 2005年 真菌症フォーラム第6回学術集会 優秀賞
「改良アルカリ前処理法を用いた発色合成基質カイネティック法による血中(1→3)-β-D-グルカン測定の基礎的検討」
- 2005年 川崎学園 柴田賞
- 2007年 日本医真菌学会 奨励賞
「アルカリ処理 - 発色合成基質カイネティック法を用いた血中(1→3)-β-D-グルカン測定法の問題点とその改良」
- 2014年 日本医真菌学会 学会賞
「深在性真菌症の血清診断法の臨床的評価と改良に関する研究」

真菌症の菌体成分を中心とした診断法～抗原検査を中心に

長尾 美紀

京都大学医学部附属病院 検査部・感染制御部／京都大学大学院医学研究科 臨床病態検査学

高度先進医療に伴い、高齢者やいわゆる免疫不全状態の患者が増加し、感染症のマネジメントがますます重要になっている。なかでも深在性真菌症は予後不良であり、その原因となる病原真菌は、酵母様真菌(カンジダ、クリプトコックス、トリコスポロン)、糸状真菌(アスペルギルス、ムーコル、フサリウム)、二相性真菌(ヒストプラズマなど)などに分類される。菌種ごとに感染症の病態やリスク因子、治療が異なることから、早期の適切な診断が鍵となる。

真菌症の診断には、真菌培養と鏡検が診断のゴールドスタンダードとなるが感度が十分ではない。免疫抑制状態の患者においては深在性真菌症の感染徴候と症状は非特異的であり、たとえ真菌が検出されたとしても保菌状態と感染症を区別するのは困難である。そこで、早期診断・早期治療のための各種のバイオマーカーが診断のために極めて重要な役割を担う。

1) アスペルギルスガラクトマンナン抗原

アスペルギルスガラクトマンナン(以下、GM)は、アスペルギルスの細胞壁に存在する炭水化物化合物である。現在市販されているdouble-sandwich ELISA法(プラテリア TMアスペルギルスAg EIA、BioRad)は、血清およびBALでの有用性が認められている。侵襲性アスペルギルス症発症の5-8日前には血中に出現するとされており、基本的には真菌量に相関する。検査の感度・特異度は、患者の基礎疾患、抗真菌薬の投与などの因子によって異なる。たとえば、血液疾患患者では、定期的なGMのスクリーニングが推奨されているが、固形臓器移植患者では血液疾患患者と比較し感度が低いとされている。実際に米国感染症学会(Infectious Diseases Society of America: 以下、IDSA)のアスペルギルス症ガイドラインでは、固形臓器移植患者のGMでのスクリーニングが推奨されていない。その一方で、肝移植患者においてはGM抗原によるモニタリングの有用性についての報告もあり、今後のさらなる検討が期待される。

2) クリプトコックス抗原

酵母様真菌である*Cryptococcus neoformans*の菌体周囲に存在する莢膜抗原を検出する検査であり、通常検査ではラテックス凝集反応が用いられる。感度も特異度も高く、臨床的に有用性が高い検査であるが、トリコスポロン症での擬陽性や非HIV患者でやや感度が低いことなど、その解釈には若干の注意が必要である。

3) そのほか

深在性真菌症の診断のために、PCR検査やラテラルフローデバイスの有用性の報告がされている。まだ本邦では、ルーティン検査で使用可能な検査ではないが、簡便性や正確性の観点からも今後の展開が大いに期待できる。

基本的に、どのような検査であっても検査特性は対象患者によって異なる。また、検査結果単独での確定診断や除外診断はできず、患者背景や病歴、身体所見といった検査前確率とその他検査との組み合わせで判断することが重要である。本セミナーでは抗原検査を中心に、真菌感染症の診断について自験例を紹介しながら考察したい。

略 歴

長尾 美紀 (ながお みき)

現職

京都大学医学部附属病院 検査部・感染制御部 部長
京都大学大学院医学研究科 臨床病態検査学 准教授

職歴

1999年 名古屋大学医学部卒業。市中病院で臨床研修ののち呼吸器内科勤務。
2006年 京都大学医学部附属病院 検査部・感染制御部 医員
2009年 京都大学医学部附属病院 検査部・感染制御部 助教
2011年 京都大学医学部附属病院 検査部・感染制御部 講師
2018年 現職

所属学会

日本医真菌学会、日本感染症学会(指導医 評議員)、日本臨床微生物学会(評議員)、
日本臨床検査医学会(専門医 評議員)、日本環境感染学会(評議員)、
日本検査自動化学会(評議員)、日本化学療法学会(指導医)、
日本内科学会、日本呼吸器学会、日本外科感染症学会、日本結核病学会、日本細菌学会

研究分野

日和見感染症
薬剤耐性菌の分子疫学
院内感染対策



一般口演

座長

知花 博治 (千葉大学 真菌医学研究センター)
松本 靖彦 (明治薬科大学 微生物学研究室)

演者

- O-01 「ホスラブコナゾールが有効であった *Candida parapsilosis* による真菌性黒色爪」
野口 博光 (のぐち皮ふ科／お茶の水真菌アレルギー研究所)
- O-02 「早期の遺伝子診断により感染の拡大を防ぐことができた *Arthroderma vanbreuseghemii* (*Trichophyton mentagrophytes*) による体部白癬の臨床応用例」
竹田 公信 (金沢医科大学氷見市民病院 皮膚科／金沢医科大学 皮膚科学講座)
- O-03 「工場勤務者の使用済安全靴内からの白癬菌の検出」
石島 早苗 (帝京大学医真菌研究センター)
- O-04 「モルモット爪白癬モデルの作成と病態評価」
長谷川奈海 (株式会社ポーラファルマ／東邦大学大学院 病院病理学)
- O-05 「*Candida albicans* に対するラクトフェリンとラクトパーオキシダーゼシステムの併用効果」
中野 学 (森永乳業株式会社 研究本部素材応用研究所)
- O-06 「*Trichosporon asahii* 菌体と相互作用するヒト分子の探索」
市川 智恵 (明治薬科大学 感染制御学研究室)
- O-07 「単施設における血流感染症の疫学と分離された酵母様真菌の薬剤感受性の検討」
石野 敬子 (昭和大学薬学部 臨床薬学講座感染制御薬学部門)
- O-08 「真菌由来活性酸素種によるヒト肝細胞のアポトーシス誘導」
梶原 将 (東京工業大学 生命理工学院)

ホスラブコナゾールが有効であった *Candida parapsilosis*による真菌性黒色爪

野口 博光^{1,2)}、松本 忠彦^{1,2)}、比留間政太郎²⁾、
木村有太子^{2,3)}、加納 壘⁴⁾、矢口 貴志⁵⁾

1) のぐち皮膚科、2) お茶の水真菌アレルギー研究所、3) 順天堂大学浦安病院 皮膚科、
4) 日本大学生物資源科学部、5) 千葉大学真菌医学研究センター

73歳女性で基礎疾患はない。6年前に両第1指爪の黒色変化に気づいた。初診時に同部の爪の混濁と黒褐色の色素沈着、遠位部の爪甲剥離があり、爪囲炎はなかった(図1)。KOH標本で酵母様分生子の集塊と菌糸(図2)、組織のPAS染色で菌要素を認め(図3)、Fontana-Masson染色でメラニン色素の存在を確認した。分離菌は形態学的特徴と遺伝子検査により *Candida parapsilosis* と同定され、真菌性黒色爪を伴うカンジダ性爪甲剥離症と診断した。分離菌のMICはフルコナゾール2.0 μ g/mL、イトラコナゾール0.25 μ g/mL、ラブコナゾール<0.03 μ g/mL、テルビナフィン2.0 μ g/mLで、テルビナフィン125mg/日6ヶ月内服、2回のイトラコナゾールパルス療法も無効であった。この菌による黒色爪は文献検索時段階で世界第6例の報告である。この症例はホスラブコナゾール100mg/日3ヶ月内服により6ヶ月後に症状が改善し、経過観察中である。



図1

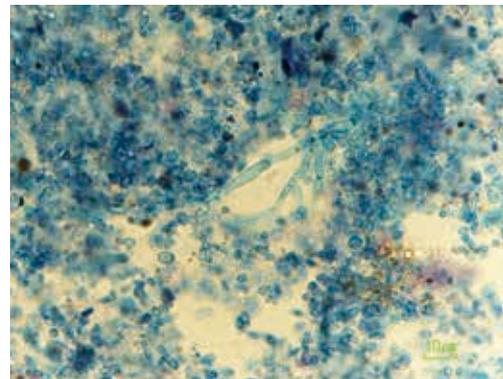


図2

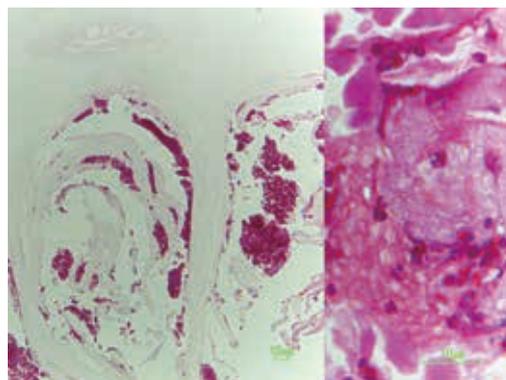


図3

O-02

早期の遺伝子診断により感染の拡大を防ぐことができた *Arthroderma vanbreuseghemii* (*Trichophyton mentagrophytes*) による体部白癬の臨床応用例

竹田 公信^{1,2)}、高木 汐莉¹⁾、望月 弘和^{1,2)}、安澤 数史²⁾、望月 隆²⁾

1) 金沢医科大学氷見市民病院 皮膚科、2) 金沢医科大学 皮膚科学講座

24歳、女性。初診約1カ月前より、右側頸部に疼痛を伴う紅斑を認めた。その後、紅斑が遠心性に拡大したため受診した。初診約4カ月前より弟が拾ってきたネコを飼育中。現症：右側頸部に鷲卵大の中心治癒傾向を伴う環状の紅斑を認めた。紅斑外縁は堤防状に隆起し、毛孔一致性の小水疱、膿疱を認めた。皮疹部のKOH検鏡で菌糸陽性。真菌培養で、培養4日目から白色コロニーの発育を認めた。コロニーよりDNAを抽出し、ITS-sequence法で分子型*Arthroderma vanbreuseghemii*と同定した。他に同居する母親(54歳)と弟(18歳)の右前腕にKOH陽性の紅斑を認めた。また拾ってきたネコに多数の脱毛斑を認めたため、このネコの周辺を調査した結果、実際は室外で飼育されていた飼いネコであることが判明した。他のネコ(4頭)も同様の脱毛斑を認め、その飼い主も紅斑を認めていた。早急に関連したヒトと獣医師によるネコの治療を同時に開始したところ、以降の感染は認めていない。



図1



図2

- 図1 初診時現症：右側頸部に有痛性の鷲卵大の中心治癒傾向を伴う環状の紅斑を認めた。紅斑外縁は堤防状に隆起し、毛孔一致性の小水疱、膿疱を認めた。
- 図2 サブローデキストロース寒天培地所見(巨大培養 室温, 14日目)：コロニーの発育は速く、表面の色調は白色、粉状を呈していた。

工場勤務者の使用済安全靴内からの白癬菌の検出

石島 早苗¹⁾、比留間政太郎²⁾、関水 和久¹⁾、安部 茂¹⁾

1) 帝京大学医真菌研究センター、2) 比留間医院

足白癬の治療薬の進歩は目覚ましく、用法通りに塗布すれば完治するにもかかわらず、国内の罹患者数は減少していない。原因として環境中からの再感染があり、特に、菌で汚染した靴からの再感染が一因と推定している。そこで、靴を履いて勤務する工場勤務者の健康診断と安全靴の更新にあわせ、それまで履いていた靴中の白癬菌の散布状況を調査した。

関東地方の1工場内での皮膚科健診をうけた男性工員19名の内9名が診察とKOH法で足白癬と診断された。その患者9名の痂皮から得られた真菌を同定した。9名の患者のうち6名の痂皮から、足または爪白癬を起こすことが知られている *Acremonium* 属 (*Pak J Biol Sci* 16: 208-218, 2013) を含む糸状菌を培養することができ、5名は白癬菌であった。靴内に生存する真菌を調べた結果、9名中6名の靴で病原糸状菌が検出され、4名の靴からは白癬菌が検出された。これらより、足白癬患者の安全靴内から高率(4/9)で検出されることがわかった。これらの結果より足白癬の再発の原因の一つとして靴からの再感染がありうると考えた。

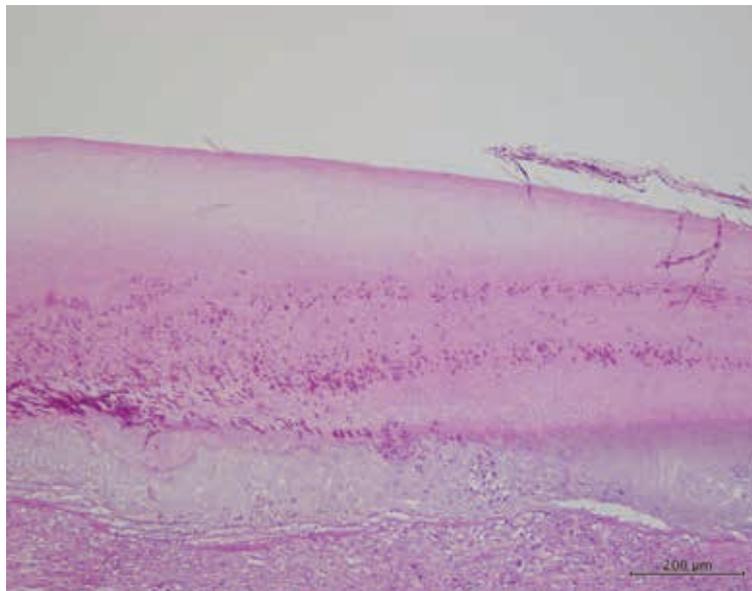
モルモット爪白癬モデルの作成と病態評価

長谷川奈海^{1,2)}、島村 剛¹⁾、澁谷 和俊²⁾

1) 株式会社ポーラファルマ、2) 東邦大学大学院 病院病理学

爪白癬は未だ難治性の表在性真菌症であり、新たな薬剤開発のためには、適切な病態モデルが必要である。しかし、既報のモデルでは、モデル作成の煩雑性や、爪深部での病理学的検索が報告されていないという課題がある。本研究では、免疫抑制剤負荷モルモットを用いた爪白癬モデルを作成し、病理組織学的に爪中白癬菌分布を経時的に観察した。

免疫抑制剤負荷モルモットの爪に白癬菌を14日間暴露させた後に、0、14並びに42日後に安楽死させ、爪を採取し、PAS染色標本を施して光学顕微鏡で観察した。その結果、全期間において爪深部に白癬菌の感染が認められ、薬効評価に有用なモデルである可能性が示唆された。また、0日群では爪上皮および爪根に認められた菌が、経時的に爪遠位方向に広がる像が認められた。よって、当モデルは爪近位に白癬菌が感染することによって成立したPSO型の感染が再現されたと考えたい。



*Candida albicans*に対するラクトフェリンとラクトパーオキシダーゼシステムの併用効果

中野 学¹⁾、鈴木 基文²⁾、若林 裕之¹⁾、羽山 和美²⁾、
山内 恒治¹⁾、阿部 文明¹⁾、安部 茂²⁾、関水 和久²⁾

1) 森永乳業株式会社 研究本部素材応用研究所、2) 帝京大学医真菌研究センター

Candida 属はヒトの消化管などに広く存在し、宿主の免疫低下に伴い病変を起こす日和見感染菌として知られている。口腔カンジダ症の主な原因菌は *Candida albicans* である。ラクトフェリン (LF) やラクトパーオキシダーゼ (LPO) は、乳や唾液など外分泌液中の生体防御成分である。LPOはチオシアン酸と過酸化水素の存在下で抗微生物活性の強い次亜チオシアン酸を産生する (LPOシステム)。本研究では、*C. albicans* に対するLFとLPOシステムの作用を評価した。

C. albicans に各成分を作用させ、形態学的に観察したところ、LFやLPOシステム単独と比較し、それらの併用物は菌糸量を減少させ、細胞の形状にも影響を与えた。クリスタルバイオレット法で菌糸形発育量を定量したところ、50%阻害濃度はLF 1,000 μ g/mL、LPOシステム 400 μ g/mLであったが、LF 7.8 μ g/mLとLPOシステム 50 μ g/mLの併用物は80%以上抑制し、顕著な相乗作用を示した。AlamarBlueを用いた評価では、LFやLPOシステム単独では代謝能抑制作用を殆ど示さなかったが、併用物は低濃度でも代謝能を完全に抑制した。以上の結果から、LFとLPOシステムの併用物は、*C. albicans* に対し強力な阻害作用を示すことが確認された。この相乗効果は生体内に近い濃度域でも効果を発揮する。LFとLPOが外分泌液中に共存する理由のひとつかもしれない。今後、LFとLPOシステムの併用物を含むカンジダ症予防の医薬品や食品への応用が期待される。

Trichosporon asahii 菌体と相互作用する ヒト分子の探索

市川 智恵、水村 友弥、森田 雄二

明治薬科大学 感染制御学研究室

*Trichosporon asahii*は、深在性真菌症を引き起こす病原性酵母であり、特徴として多様なコロニー形態を示す。我々はこれまでにコロニー形態により接着性が異なることを見出し、高接着株に特徴的に存在量の多いタンパク質を同定した。本研究では *T. asahii* の高接着株に強く発現する分子と相互作用する宿主分子を探索する目的で、まずは *T. asahii* の菌体表層に結合するヒト生体分子の探索を行なった。*T. asahii* 臨床分離株にリコンビナントのヒト生体分子を添加し菌体表層へ結合させたのち、プルダウン解析を行った。菌体に結合するタンパク質は、SDS-PAGE で分離し、PVDF 膜へ転写後にウエスタンブロットにより検出した。結合が確認できた分子について、表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance ; SPR) 測定に、菌体表層分子との結合を解析した。プルダウン法で *T. asahii* 菌体に結合する分子が複数得られ、SPR 測定ではその一部で結合が確認できた。複数の宿主生体分子が *T. asahii* に結合することが示され、これら分子が感染に寄与する可能性が示唆された。

単施設における血流感染症の疫学と分離された酵母様真菌の薬剤感受性の検討

石野 敬子¹⁾、前田 真之¹⁾、服部はるか^{1,2)}、長友 安弘³⁾、
詫間 隆博³⁾、時松 一成³⁾、二木 芳人³⁾

1) 昭和大学薬学部 臨床薬学講座感染制御薬学部門、2) 昭和大学薬学部 病院薬剤学講座、
3) 昭和大学医学部 内科学講座臨床感染症学部門

【目的】昭和大学病院における血流感染症の疫学と分離された酵母様真菌の分離菌種と薬剤感受性の経年的変化を検討することを目的とする。

【方法】疫学については2012年1月から2016年12月に昭和大学病院において血液培養が陽性となった患者を対象とし、患者背景、併存疾患、重症度、転帰、感染源、原因微生物に関するデータを診療録より後方視的に調査した。また、2009年から2017年までに昭和大学病院の血液培養から分離された酵母様真菌217株について、ITS領域の遺伝子配列決定により菌種同定し、微量液体希釈法で薬剤感受性を測定した。

【結果・考察】血流感染症の疫学を検討した結果、5年間の血液培養陽性症例は4,464症例であり、そのうちコンタミネーション(497症例)と患者重複(1,862症例)を除外した2,105症例で解析を行った。5年間のBSIs症例の30日死亡率は15.2%(319/2,105)であった。多変量解析では真菌血症がBSIsにおける30日死亡のリスク因子であった。また、酵母様真菌2013年より血液培養からの酵母様真菌分離数に増加がみられた。分離菌種の割合は全体で*C. albicans* 38.7%であり、経年的なNon-albicansの顕著な増加は認めなかった。また、薬剤感受性試験の結果、経年的な耐性菌の増加は認めなかった。今後、菌種ごとの30日死亡のリスク因子についても解析する必要がある。

真菌由来活性酸素種によるヒト肝細胞のアポトーシス誘導

梶原 将¹⁾、Huang Yao¹⁾、藤井 啓資¹⁾、
岩谷 駿¹⁾、知花 博治³⁾、小嶋 聡²⁾

1) 東京工業大学生命理工学院、2) 理化学研究所、3) 千葉大学

病原真菌が血液中に侵入すると真菌血症となり、血管中を移動して各種臓器へ感染する。肝臓も真菌感染が認められる臓器の1つであるが、肝臓への真菌感染のメカニズムはあまり分かっていない。発表者らは、その感染メカニズムを明らかにすべく、病原真菌がヒト肝細胞に与える影響について研究を行ってきた。これまでに病原真菌 *Candida albicans* や *C. glabrata* が産生・分泌する活性酸素種 (ROS) がヒト肝細胞のトランスグルタミナーゼ2 (TG2) 活性を誘導し、それより肝細胞にアポトーシスが誘導されることを示した (Shrestha et al. *Sci. Rep.* 2017)。また肝細胞共培養下で *C. glabrata* の ROS 産生・分泌には、NADPH oxidase (NOX) ファミリーの CgNox1p が主に関わっていることも明らかにした。今回は、肝細胞共培養下において *C. albicans* の ROS 産生・分泌を担う酵素の特定を行った。酵素遺伝子発現解析および酵素遺伝子破壊株の解析から *C. albicans* では CaCfl11p が ROS 産生・分泌を担う酵素であることを突き止めた。加えて、出芽酵母にこの酵母の NOX ファミリーの遺伝子を高発現させた結果、その株も *Candida* 真菌と同様に肝細胞の TG2 活性を誘導することが分かった。

ポスターディスカッション1

座長

張 音実 (明治薬科大学 微生物学研究室)

演者

- P-01 「白癬菌 *Trichophyton benhamiae* における FLP site-specific recombinase を用いた薬剤耐性マーカーリサイクルシステムの構築と遺伝子破壊株の作出」
山田 剛 (帝京大学医真菌研究センター)
- P-02 「*Aspergillus fumigatus* とその関連種に潜伏する RNA ウイルスの網羅的な探索」
千葉 悠斗 (筑波大学大学院 生命環境科学)
- P-03 「同一患者から単離された遺伝背景の異なる *Aspergillus fumigatus* について」
新居 鉄平 (千葉大学真菌医学研究センター 臨床感染症分野)
- P-04 「同一患者より継続的に分離された *Candida albicans* の薬剤耐性および遺伝的解析」
村山 琮明 (日本大学薬学部 薬学科)
- P-05 「ナノポアシーケンサーを用いた *Candida albicans* TIMM1768 株の全ゲノム解析」
浜本 洋 (帝京大学医真菌研究センター)
- P-06 「ヨーグルトに利用可能な乳酸菌の抗カンジダ活性」
羽山 和美 (帝京大学医真菌研究センター)

P-01

白癬菌 *Trichophyton benhamiae* における FLP site-specific recombinase を用いた薬剤耐性 マーカーリサイクルシステムの構築と遺伝子破壊株の作出

山田 剛、西山 彌生

帝京大学医真菌研究センター

微生物感染のメカニズムの解明、原因菌の病原因子の同定などを進める上で、遺伝学的解析アプローチは有用な手段となる。

今回我々は、皮膚糸状菌(白癬菌)の研究分野におけるモデル生物ともいえる *Trichophyton benhamiae* を用いて、多重遺伝子族の機能解析への貢献も期待できる「FLP site-specific recombinase を利用した、形質転換体のスクリーニングに用いる選択マーカーのリサイクルシステムの構築」を試みた。非相同末端結合経路の主要分子の1つ、KU70 (AbKU70) をターゲットに、*flp* 遺伝子ならびに選択マーカーとしてネオマイシン耐性遺伝子 (*nptII*) を含む *ku70* 遺伝子座破壊用モジュールを有するバイナリーベクターを構築し、アグロバクテリウム法を用いて *T. benhamiae* に導入した。G418を用いた形質転換体のスクリーニングの結果、得られたクローンの中にマーカーフリー *Ku70* 破壊株が見出され、本菌においてFLPを利用したマーカーリサイクルシステムが機能することが判明した。

我々は、このマーカーリサイクルシステムおよびマーカーフリー *Ku70* 破壊株を用いて、さらにセリンプロテアーゼの1つである *kexin* をコードすると考えられる遺伝子を破壊した変異株の作出を試み、得られた遺伝子破壊株について、形態学的観点に基づく部分的な表現型解析を行った。

Aspergillus fumigatus とその関連種に潜伏する RNA ウイルスの網羅的な探索

千葉 悠斗¹⁾、浦山 俊一^{2,3)}、矢口 貴志⁴⁾、萩原 大祐^{2,3)}

1) 筑波大学大学院 生命環境科学、2) 筑波大学 生命環境系、
3) 筑波大学 微生物サステナビリティ研究センター、4) 千葉大学 真菌医学研究センター

アスペルギルス症の起因菌である *A. fumigatus* において、RNA ウイルスを保有する株はこれまでに多数報告されており、宿主菌の生育阻害を引き起こすことが示唆されている。一方、ヒトから分離例のある *A. fumigatus* 関連種においては、RNA ウイルスの存在が検討されておらず、これらの菌種ではウイルスの宿主菌への影響について一切知見が得られていない。そこで本研究では、臨床および環境から分離された 79 株の *A. fumigatus* に加えて、その関連種である *A. lentulus*, *A. udagawae*, *A. pseudoviridinitans* (*A. viridinitans* から再分類), *Neosartorya fischeri* を対象として RNA ウイルスの探索を行った。その結果、*A. fumigatus* 8 株、*A. lentulus* 5 株、*A. pseudoviridinitans* 4 株に RNA ウイルスの存在を認めた。*A. pseudoviridinitans* から見つかったウイルスは全て同種であり、2 株の *A. fumigatus* からのもこれと近縁なものが見出された。*A. lentulus* からは過去に *A. fumigatus* において報告のある *A. fumigatus partitivirus 2* に相同性を示すものが見つかり、それらの複製酵素の塩基配列を比較すると、両者は 77% の相同性を示した。本研究により *A. fumigatus* 関連種から初めて RNA ウイルスが確認され、*A. fumigatus* と近縁なウイルス種を保持していることが示された。今後はこれらのウイルスが、宿主の生育や薬剤感受性などに及ぼす影響について解析を進めていく予定である。

同一患者から単離された遺伝背景の異なる *Aspergillus fumigatus*について

新居 鉄平¹⁾、馬嶋 秀考^{1,2)}、鎗田 響子¹⁾、渡辺 哲¹⁾、亀井 克彦¹⁾

1) 千葉大学真菌医学研究センター 臨床感染症分野、

2) 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 統合呼吸器分野

アゾール薬はアスペルギルス症において第一選択薬とされており重要な役割を占めている。このため、近年のアゾール耐性 *Aspergillus fumigatus* の増加は世界的な関心事である。アゾール耐性化は、薬剤標的分子の Cyp51A にアミノ酸変異が起こることによる薬剤親和性の低下が主だった原因と考えられている。治療過程で生じると考えられている Cyp51A 変異によりアゾール耐性化した *A. fumigatus* は世界各地で報告されている。

2018年、A病院通院中の皮膚筋炎による間質性肺炎患者から *A. fumigatus* が複数株単離された。これらは全てアゾール感性であった。イトラコナゾール (ITCZ) 内用液投与を開始して6か月後に ITCZ 耐性株が単離され、*cyp51A* に変異 (G54V) が確認された。2018年に単離された感性株の STRs (microsatellite) を解析したところ、タイピングの異なる2つのグループが確認されたが、その後単離された耐性株は、ITCZ 投与前に感性株として確認された2種の STR の中の1種のみであった。遺伝背景の異なる2つの *A. fumigatus* が患者体内で同一条件のアゾール薬によるストレスを受けていたと仮定すると、片方の株のみが耐性化したことになる。これは、*A. fumigatus* では、個体によりアゾール薬または他のストレスに適応する能力が異なり、耐性獲得能力に差がある可能性を示唆しているものと考えられる。現在、*in vitro* の実験で、この2つの異なる遺伝背景の株のアゾール耐性化実験を行っている。

同一患者より継続的に分離された *Candida albicans*の薬剤耐性および遺伝的解析

村山 琮明¹⁾、関口 啓広¹⁾、並木 慧斗¹⁾、榎村 浩一²⁾

1) 日本大学薬学部 薬学科、2) 帝京大学大学院医学研究科 医真菌学

【背景と目的】先天異常の小児より、18ヵ月にわたって尿、開放性膿汁、および便から継続的に *Candida albicans* が分離された。抗真菌薬は FLCZ, MCZ あるいは AMPH-B が使用され、アゾール耐性株が分離されている。今回、この *C. albicans* 分離株の由来が同じであるか、あるいはまったく別の由来の菌株が関与しているのかを調べることを目的として、以下の解析を行った。

【方法】1) Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) 法による核型解析、2) 染色体の制限酵素切断長多型性解析 (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)、3) Multilocus Sequence Typing (MLST)、4) アゾール標的遺伝子 *ERG11* の耐性遺伝子の塩基配列の解析、5) 薬剤排出に関与する遺伝子、*CaMDR1*、*CDR1*、*CDR2*、および *ERG11* の発現解析

【結果および考察】便由来株と開放性膿汁は尿由来株と異なる核型および RFLP を示していた。MLSTによっても由来の異なる株が分離されているとの結果が出ている。すべての結果が揃ってはいないが、薬剤耐性にかかわる遺伝子の変異や発現からも、異なる由来の株が複数感染していたことが示唆される。

ナノポアシーケンサーを用いた *Candida albicans* TIMM1768株の全ゲノム解析

浜本 洋、Suresh Panhtee、石島 早苗、Atmika Paudel、関水 和久
帝京大学医真菌研究センター

C. albicans TIMM1768株は高い病原性と菌糸形成能が特長である。本センターにおいてマウス消化管感染モデルが確立されている。この消化管感染モデルにおけるTIMM1768株の遺伝子発現解析を行うために、今回、本株の全ゲノム解析を行った。本発表では、精度が高いが出力される配列が200から400bp程度と短いショートリードシーケンサーと、精度は低いが数百kbを出力できるロングリードシーケンサーのそれぞれ次世代シーケンサー特長を組み合わせたハイブリッドアセンブリーを、*C. albicans*のゲノム解析用として確立したので報告する。既存のアセンブルアルゴリズムについて比較検討した。long read配列を、Filtlongにより低品質リードを除去し、canu1.7を用いてトリミング、及びアセンブリを行い、さらにLoRDECを用いてSPADEによって処理したshort readとハイブリッドアセンブルを行い、最終的に13個のcontig、及び8個のscaffoldから構成される合計14.4Mbの配列情報が得られ、ほぼクロモソームレベルで解析できることがわかった。得られたゲノム情報から、TIMM1768株は標準株であるSC5314株とクレードが異なることがわかった。すなわち、この株は新たな病原性因子の解析のためのモデル株として有用であると考えられる。

ヨーグルトに利用可能な乳酸菌の抗カンジダ活性

羽山 和美、安部 茂、関水 和久

帝京大学医真菌研究センター

口腔を含めた粘膜でのカンジダの増殖に、腸管内微生物などが強い影響を与えていると考えられている。特に私達は、乳酸菌の共存によるカンジダ発育抑制の重要性を明らかにしたいと考えている。既に、我々は現在サプリメントとして用いられている一部の乳酸菌が、カンジダ増殖を抑制すること、さらに動物モデルで口腔カンジダ症に防御効果を示すことを報告している。これらの乳酸菌は比較的高価なものが多く、利用者は限定されているのが現状である。そこで口腔カンジダ症を含めた口腔内のトラブルの予防法の一つとして、日常的に摂取可能と考えられる、ヨーグルトなどの食品に利用できる乳酸菌の中で、抗カンジダ活性が強いものを得ることを目指した。その結果、*Leuconostoc*属乳酸菌の加熱死菌体が、5～10%濃度で約50%の菌糸形発育を抑制し、サプリメントに使用され比較的高い抗カンジダ活性を示した乳酸菌とほぼ同等の活性を示すことが分かった。この乳酸菌は少なくとも、カイコ腸管収縮モデルでの評価では、既存の株に比較して優れた免疫活性が認められている。この乳酸菌を使用したヨーグルトは製品化が可能であることから、日常的な口腔ケアの一手段としての利用を期待している。

ポスターディスカッション2

座長

中村 遊香（共立製薬株式会社／帝京大学医学部 皮膚科）

演者

- P-07 「IL-17 阻害薬投与により乾癬患者の表在性真菌症の発症リスクは増加する」
比留間淳一郎（東京医科大学 皮膚科）
- P-08 「*Candida parapsilosis* による下腿皮下膿瘍の1例」
青笹 尚彦（公立昭和病院 皮膚科）
- P-09 「薬局服薬指導における足白癬症に関するアンケート調査研究」
三野 浩美（東京薬科大学薬学部 免疫学教室）
- P-10 「The analysis on the genes related to the biofilm formation of *Candida glabrata*」
Chen Xinyue（東京工業大学生命理工学院）
- P-11 「CLSI法とEUCAST法による感受性測定法の違い」
田村 俊（帝京大学医療共通教育研究センター）
- P-12 「抗菌薬によるエキノキャンディンへの*in vitro*阻害作用」
原田 啓樹（東京理科大学基礎工学部 生物工学／
千葉大学真菌医学研究センター 病原機能分野）

IL-17 阻害薬投与により乾癬患者の表在性真菌症の 発症リスクは増加する

比留間淳一郎、原田 和俊、平山 真帆、黒木 香奈、
阿部名美子、大久保ゆかり、坪井 良治

東京医科大学 皮膚科

中等症以上の乾癬で治療に抵抗する症例では、生物学的製剤が投与され高い治療効果が得られている。乾癬の病態形成に重要で治療のターゲットの一つであるIL-17は、一方で細菌・真菌感染防御に関与しており、IL-17シグナルの抑制により細菌・真菌感染症を悪化させる可能性がある。今回2015年1月から2018年4月までに当科で生物学的製剤を投与した乾癬患者について、診療録をもとに表在性真菌症の発生状況を調査した。IL-17阻害薬投与例は非投与例に比べて、表在性真菌症合併率が有意に高かったが、TNF- α 阻害薬、およびIL-12/23p40阻害薬投与例では有意な合併率の上昇は認めなかった。また、表在性真菌症を合併した患者は合併しなかった患者と比べて、年齢が有意に高かった。IL-17阻害薬は表在性真菌症の発症リスクを高める可能性があり、皮膚科医はその点に留意して診療にあたる必要がある。

*Candida parapsilosis*による下腿皮下膿瘍の1例

青笹 尚彦¹⁾、横沢 隆行²⁾、中村 茂樹³⁾、宮崎 義継³⁾、小田 智三⁴⁾

1) 公立昭和病院 皮膚科、2) 公立昭和病院 臨床検査科、
3) 国立感染症研究所 真菌部、4) 公立昭和病院 感染症科

72歳男性。脊椎カリエスの既往のために杖歩行であり、かつ、転倒を頻回に繰り返してきた。気管支喘息のためにステロイド剤を約20年間吸入している。初診1か月前から、下腿上方に紅斑が出現し、滲出液を伴うようになった。前医で抗生剤が処方されたものの、軽快せず当科を紹介受診した。下腿の病変部は以前から転倒した際に繰り返し打撲をしていた領域であり、隆起部に軽度の陥凹を認め、滲出液を伴っていた。経過でカテーテルの留置歴はない。塗抹鏡顕にて酵母様真菌を検出、培養検査にてカンジダ属真菌の生育を認め、遺伝子同定検査で*Candida parapsilosis*と同定された。フルコナゾール100～200mg内服を2か月間行い、滲出液は著明に減少した。内服を終了した後に再度の培養検査を行い、菌体の陰性を確認した。自験例は、*C. parapsilosis*による皮下膿瘍であり、抗菌薬内服に伴う菌交代現象の可能性も考えられた。

カンジダ症の原因菌としては、*C. albicans*のほかに*non-albicans Candida spp.*として*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*を中心として、多数知られている。皮膚に常在する*C. parapsilosis*によるカンジダ症は近年増加傾向を示し、注目されるようになっている。

薬局服薬指導における足白癬症に関する アンケート調査研究

三野 浩美¹⁾、安達 禎之¹⁾、荒川有紀子²⁾、茅野 雅広²⁾、
原 和夫²⁾、石橋 健一¹⁾、山中 大輔¹⁾、大野 尚仁¹⁾

1) 東京薬科大学薬学部 免疫学教室、2) 株式会社わかば

【目的】我が国では糖尿病による下肢切断患者が年間7000人に上るとも言われ、年々増加傾向にある。糖尿病患者の足白癬症も下肢切断のリスクファクターとなることが懸念される。一方、糖尿病患者がフットケアを行うことで足白癬を防ぐことができるとの報告がなされている。糖尿病患者の真菌感染症に対する意識向上を図り、薬剤師が真菌感染予防にどのように貢献できるか検討する目的で、真菌感染症やフットケアに関する患者の意識調査をアンケート形式で実施した。

【方法】わかば薬局相模原緑店に来局された糖尿病患者(以下DM)32名、高脂血症患者(以下HL)30人を対象に、患者への投薬時に薬剤師が口頭で足白癬の既往歴、糖尿病足病変に対する意識、フットケアの方法等についてアンケートを行った。調査は初服薬指導時及び再来局時の2回、同一患者に行い、初回指導の効果を判定した。

【結果】足白癬の罹患率はDMとHLとほぼ同様であったが、糖尿病足病変に対する意識はDMの方がHLより約7倍高かった。初回時の回答で最もスコアが良かったフットケアは靴下等による足の保護であり、悪かったのは正しい爪の切り方であった。また足を清潔に保つフットケアは、DMがHLより1.5倍高行われていることが分かった。

【考察】DMの足白癬に関する意識は、HLよりも高いことが示唆された。また、投薬時にフットケアの指導機会を持つことが、糖尿病足病変の発生リスク低下に貢献できることが期待された。

P-10

The analysis on the genes related to the biofilm formation of *Candida glabrata*

Chen Xinyue¹⁾、梶原 将¹⁾、知花 博治²⁾、Widiyanto Tria Widiasih¹⁾

1) 東京工業大学生命理工学院、2) 千葉大学真菌医学研究センター

C. glabrata is considered as the second most cause of systemic candidiasis. This fungus can develop into surface-attached microbial communities called as biofilm on the surface of host cells and medical materials. Until now, the mechanism of biofilm formation of *C. glabrata* has not been studied well. Therefore, the aim of our study was to isolate and characterize the genes related to the biofilm formation of *C. glabrata*.

A comprehensive genetic screening was conducted by using *C. glabrata* mutant library and several candidate genes were suggested be involved in the biofilm formation. One genes was named as CgSYN8, which encodes a SNARE protein. The *syn8* Δ mutant was defective in the amount of biofilm and the adhesion ability during the biofilm formation, which may link to its abnormal vacuolar function. Another gene was named as CgQDR2. The deletion of QDR2 was suggested to cause an impaired ability to maintain pH homeostasis, then might lead to the reduction of cell growth, adherent cells numbers, and eventually affect biofilm susceptibility and drug efflux towards antifungal drugs.

These findings provide more understanding on the biofilm formation of *C. glabrata*.

CLSI法とEUCAST法による感受性測定法の違い

田村 俊¹⁾、榎村 浩一²⁾

1) 帝京大学医療共通教育研究センター、2) 帝京大学大学院医学研究科 医真菌学

国内における酵母様真菌の感受性試験はほとんどがCLSI法に準じて測定されている。一方、ヨーロッパでは多くのデータがEUCAST法によって測定が行われている。CLSI法とEUCAST法における測定法の違いとして培地組成が異なっている点がある。CLSI法ではグルコースの含有量が0.2%であるのに対し、EUCAST法では2%となっている。

既存の文献によるデータでは、特にAMPH-BでCLSI法は0.25～1μg/mLに収束するが、EUCAST法では0.008～4μg/mLと幅広い分布を示している。そこで今回、酵母様真菌に対してCLSI処方とEUCAST処方の培地でMIC値の比較を行ったのでその結果を報告する。

P-12

抗菌薬によるエキノキャンディンへの*in vitro*阻害作用

原田 啓樹^{1,2)}、佐藤美智代²⁾、高橋 梓²⁾、
山口 正視²⁾、清水 公德¹⁾、知花 博治²⁾

1) 東京理科大学基礎工学部 生物工学、2) 千葉大学真菌医学研究センター 病原機能分野

近年、アゾール系抗真菌薬に対する耐性化の問題のために、エキノキャンディン系抗真菌薬の重要性が上昇している。深在性真菌症は、日和見感染により発症するケースが多く、真菌と細菌による合併症のリスクが高いため、抗真菌薬と抗菌薬が併用されることが多い。そこで我々はエキノキャンディンと抗菌薬との相互作用について検討した結果、いくつかの抗菌薬でエキノキャンディンの阻害効果が確認された。本研究では、*Aspergillus fumigatus*、*Candida albicans*、*C. glabrata*、さらに米国で分離された *C. auris* 多剤耐性株においてテトラサイクリンが、濃度依存的にミカファンギンによる生育阻害活性を低下させることが示された。作用機序について、検討したところ、テトラサイクリンによる真菌細胞への影響によりエキノキャンディンの感受性の低下をもたらしていることが示された。現在、さらに詳細な機序について解析を進めている。

ポスターディスカッション3

座長

上野 圭吾 (国立感染症研究所 真菌部)

演者

P-13 「当院における抗真菌薬の使用状況についての検討」

大澤雄一郎 (埼玉医科大学総合医療センター 感染制御室/薬剤部)

P-14 「医療機関の室内下水環境は侵襲性フサリウム症の感染源として重要である」

日野裕太郎 (千葉大学真菌医学研究センター 臨床感染症分野/
千葉大学医学部附属病院 血液内科)

P-15 「光触媒装置の環境空気中の浮遊真菌数に与える影響」

森 毅彦 (慶應義塾大学医学部 血液内科)

P-16 「Dectin-1 変異体発現マクロファージの β -グルカン反応性の解析」

井澤 駿 (東京薬科大学薬学部 医療衛生薬学科 免疫学教室)

P-17 「新たに樹立したマウス Dectin-1 モノクローナル抗体の反応性に関する検討」

前田 直樹 (東京薬科大学薬学部 免疫学教室)

P-18 「 β -グルカンによる Dectin-1 発現単核食細胞の CD83 発現誘導に関する研究」

加藤 剛志 (東京薬科大学薬学部 免疫学教室)

当院における抗真菌薬の使用状況についての検討

大澤雄一郎^{1,2)}、原 竜也²⁾、灘谷 直実²⁾、関根 進³⁾、
西田 裕介⁴⁾、岡 秀昭⁴⁾、近藤 正巳²⁾、大野 秀明^{1,4)}

- 1) 埼玉医科大学総合医療センター 感染制御室、2) 埼玉医科大学総合医療センター 薬剤部、
3) 埼玉医科大学総合医療センター 中央検査部細菌検査室、
4) 埼玉医科大学総合医療センター 感染症科

【目的】当院では、2014年度からAST (antimicrobial stewardship team) 抗菌薬カンファレンスやラウンドを開始し、抗真菌薬の適応や薬剤選択に関するコンサルトも多く認められる。当院の抗真菌薬の使用状況とカンジダ血症の動向の調査を行った。

【方法】2013年度からの抗真菌薬使用量とカンジダ血症の推移を後方視的に調査し、年度別に比較した。

【結果】2013年度からの6年間の抗真菌薬のAUD推移は、2.30, 2.05, 1.72, 1.56, 1.68, 1.27と減少傾向にあった。カンジダ血症は12例, 18例, 17例, 17例, 16例であった。2015年度時点においてはAST・感染症科によるフォロー率は9.1%から60%へ上昇し、28日以内の死亡率は、36.4%から13.3%へ改善傾向がみられた。

【考察】深在性真菌症治療においては適切な診断、TDM (therapeutic drug monitoring) や相互作用などチームでのかかわりが重要となる。これら当院でのAST・感染症科のかかわりによる臨床効果を考慮し抗真菌薬適正使用を推進するためカンジダ血症バンドルを作成し効果を示している。現在、我が国では耐性真菌の頻度は高くないものの、今後は課題となることが推察され、適切な診断を行い、限られた抗真菌薬を適切に使用することが求められる。

医療機関の室内下水環境は侵襲性フサリウム症の感染源として重要である

日野裕太郎^{1,2)}、村長 保憲¹⁾、渡邊 哲¹⁾、
八尋 真希¹⁾、鎗田 響子¹⁾、亀井 克彦¹⁾

1) 千葉大学真菌医学研究センター 臨床感染症分野、2) 千葉大学医学部附属病院 血液内科

【目的】 侵襲性フサリウム症 (IF) は血液疾患患者などの免疫不全者に発症する致死的な感染症である。血液疾患IF患者の多くは入院中に発症するがその感染経路は不明な点も多い。本研究では血液内科病棟や一般住居における *Fusarium* 属菌の室内環境分布を調査し、臨床分離株と比較することで侵襲性フサリウム症の原因菌種と感染源の解明を目的とする。

【方法】 医療機関・一般住居の空気および室内下水環境 (浴室・キッチン・洗面所などの排水口) から糸状菌を分離培養した。分離菌を *Fusarium* 特異的リアルタイムPCRと形態によってスクリーニングし、ITS領域およびEF-1 α の塩基配列相同性に基づく菌種同定を行った。また、室内下水環境と空気の真菌叢メタゲノム解析を行い、環境菌と臨床分離菌の関連を検討した。

【結果】 計72箇所の室内下水環境から糸状菌108株を分離した。そのうち29株(27%)が *Fusarium* 属菌であった。最も多い菌種は *F. solani* species complex (FSSC) の *F. petroliphilum* であり、室内下水環境から分離されたFSSCと侵襲性フサリウム症から分離されたFSSCの菌種構成は類似していた。一方で空気からはほとんど *Fusarium* 属菌は分離されなかった。メタゲノム解析でも同様に室内下水環境中に *Fusarium* 属菌が多く生息していることが明らかとなった。

【結論】 室内下水環境の菌種構成及び環境真菌叢解析から室内下水環境に生息する *Fusarium* がIFの感染源として重要であることが示唆された。

光触媒装置の環境空气中的浮遊真菌数に与える影響

森 毅彦

慶應義塾大学医学部 血液内科

【緒言】好中球減少患者や造血幹細胞移植患者では環境中の浮遊真菌の曝露が侵襲性真菌感染症発症の原因となる。そのためhigh efficiency particulate air (HEPA) フィルターを装備した防護環境での治療が行われ、その予防効果は確立している。しかし、防護環境の設置・維持の費用に加え、その数は十分確保されていない。

光触媒は酸化チタンなどの光触媒材料が光を吸収することにより空气中的水と酸素からヒドロキシルラジカルなどを発生させ、微生物や有害物質を二酸化炭素と水に分解する作用である。本研究では空气中的浮遊真菌数が光触媒装置稼働により変化するかを検討した。

【方法】密室的空間にて空中浮遊菌サンプラーを用いて100Lの空気を真菌培養用の potato dextrose agar 培地に捕集した。その後、市販の光触媒装置 (SPP-20iT) を稼働させ、24時間後に同量の空気を捕集した。培養後にコロニー数をカウントした。

【結果】光触媒稼働前のコロニー数は100Lあたり 11.2 ± 1.3 、 7.2 ± 1.3 、 2.8 ± 0.4 、 5.4 ± 2.1 であった。稼働24時間後には 7.33 ± 2.0 、 1.8 ± 0.4 、 0.2 ± 0.4 、 0.4 ± 0.5 と、全検証で有意に減少していた ($P < 0.05$)。

【結論】酸化チタン担持セラミックフィルターを用いた市販の光触媒環境浄化装置の稼働により環境空气中的真菌を有意に減少させることができた。造血器疾患や造血幹細胞移植患者の治療において防護環境の管理ができない場合の選択肢になり得る可能性が示唆された。

Dectin-1 変異体発現マクロファージの β-グルカン反応性の解析

井澤 駿、安達 禎之、鉄井 絢子、山中 大輔、石橋 健一、大野 尚仁

東京薬科大学薬学部 医療衛生薬学科 免疫学教室

【目的】酵母やCandida菌の細胞壁(1→3)-β-D-グルカン(BG)は樹状細胞やマクロファージなどの自然免疫系受容体Dectin-1によって認識される。Dectin-1はBGに結合すると4量体を形成することが報告されている。Dectin-1は、BG認識に伴い、活性酸素産生、サイトカイン産生を誘導し炎症反応を促進する。Dectin-1のBG認識と誘導される細胞活性化機構を検討する目的で、Dectin-1の4量体形成に関わるアミノ酸残基の変異体を発現したマクロファージ細胞株に、BGを作用させ、Dectin-1の細胞表面やマクロファージ活性化作用を検討した。

【方法】マクロファージ様細胞株(RAW264.7)にFLAG-tag Dectin-1遺伝子を導入し、安定発現細胞を作製した。Dectin-1変異体として、糖鎖認識ドメイン(CRD)の特徴的なアミノ酸残基を改変した。各変異体発現細胞のDectin-1発現量(膜上)や、depleted Zymosan(dZym, BG-rich particle)などに対する反応性を活性酸素種(ROS)産生やサイトカイン産生の観点から検討した。

【結果および考察】いずれの変異体Dectin-1も細胞表面への発現に差はなく変異に伴う発現変化は認められなかった。BGの添加によって誘導されるサイトカイン産生においては、CRDの塩基性アミノ酸残基の変異によって、活性が高まることが示された。Dectin-1に関連したシグナル経路分子とのかかわりを考慮し、BGによるDectin-1介在性マクロファージ活性機構を考察する予定である。

P-17

新たに樹立したマウス Dectin-1 モノクローナル抗体の反応性に関する検討

前田 直樹¹⁾、安達 禎之¹⁾、曾田 将大¹⁾、鉄井 絢子¹⁾、
石橋 健一¹⁾、山中 大輔¹⁾、岩倉洋一郎²⁾、大野 尚仁¹⁾

1) 東京薬科大学薬学部 免疫学教室、2) 東京理科大学 生命医科学

【目的】Dectin-1 (CLEC7A) はマクロファージや樹状細胞などに発現する C-type レクチン様受容体であり、真菌細胞壁の (1 → 3) -β-D-グルカン (BG) に結合し、真菌感染を防御する重要な自然免疫因子の一つである。本研究ではマウス dectin-1 に特異的なマウスモノクローナル抗体 (mAb) を産生するハイブリドーマを新たに樹立し、得られた抗体の特異性、Dectin-1 と BG との結合活性等を検討した。

【方法】Dectin-1KO マウスに、可溶性マウス Dectin-1 タンパク質 (Dectin-1-Fc) を抗原として投与し、得られたリンパ球とミエローマ細胞との細胞融合及び HAT 選択を経て抗体産生ハイブリドーマクローン (3H8H12D7, 2F3G7A2) を樹立した。

【結果及び考察】3H8H12D7, 2F3G7A2 は可溶性マウス Dectin-1-Fc のみならず細胞表面の膜型 Dectin-1 と結合性を示した。3H8H12D7 及び 2F3G7A2 は各々マウス IgG2b 及び IgG1 であった。BG と Dectin-1 との結合にどのような影響を及ぼすか、特異性や結合阻害活性について現在検討中である。また、既存の市販抗体試薬、BioLegend (クローン名 : RH1)、BioRad (2A11) はいずれもラットの IgG (ratIgG1, ratIgG2b) でありマウスへの抗 Dectin-1 抗体投与実験には不向きと思われる。得られた 3H8H12D7, 2F3G7A2 のマウス *in vivo* 実験への応用を視野に入れ今後検討する予定である。

β -グルカンによる Dectin-1 発現単核食細胞の CD83 発現誘導に関する研究

加藤 剛志、安達 禎之、鉄井 絢子、石橋 健一、山中 大輔、大野 尚仁

東京薬科大学薬学部 免疫学教室

【目的】 CD83は免疫グロブリンスーパーファミリーに含まれるI型膜貫通タンパク質である。主に樹状細胞系に発現しており、樹状細胞の成熟マーカーとして用いられているが、近年、様々な免疫細胞でも活性化に伴い発現が上昇することが報告されている。本研究では、Dectin-1 (CLEC7A) を発現させたTHP-1細胞を β -グルカンで刺激することによって、mRNAの発現上昇が認められたCD83に着目し、THP-1細胞での様々な β -グルカンの刺激によるCD83の発現量への影響を検討した。

【方法】 レンチウイルスを用い、THP-1細胞にヒトDectin-1を発現させた。得られたTHP-1細胞を β -グルカンで刺激し、Clariom S ArrayにてRNA発現を解析した。また、刺激後の細胞膜と細胞内のCD83タンパク質発現量の変化をFACSにて解析した。

【結果及び考察】 mRNA発現のArray解析の結果、発現上昇が確認された膜タンパク質にCD83が見出された。また、様々な β -グルカン刺激での比較では、depleted Zymosanなどの短時間(4及び8時間)の刺激で、細胞膜及び細胞内ともにCD83の発現量の増加を示し、48時間の培養で減少傾向を示した。CD83過剰発現マウスでは抗体産生量の減少やIL-10産生が亢進することが報告されている。 β -グルカン刺激によるCD83の発現量増加は、免疫機能を制御するメカニズムに関係する可能性が考えられる。

ポスターディスカッション4

座長

山田 剛 (帝京大学医真菌研究センター)

演者

- P-19 「*Candida albicans* 腸管定着が *Clostridioides difficile* 感染症に与える影響に関する解析」
阿部 雅広 (国立感染症研究所 真菌部 / 東北大学大学院医学系研究科 感染制御・検査診断学分野)
- P-20 「*Trichosporon asahii* 菌体表層のヘパリン結合タンパク質の探索」
貞永 淳平 (明治薬科大学 感染制御学研究室)
- P-21 「白癬菌が産生する抗菌活性物質の同定とその生合成遺伝子の推定」
増田 圭恭 (筑波大学大学院 生命環境科学)
- P-22 「*Trichophyton rubrum* の低分子量 G タンパク質 Ras-related C3 botulinum toxin substrate (Rac) の cell division cycle 24 (CDC24) を介した活性化と発芽調節」
石井 雅樹 (武蔵野大学薬学部)
- P-23 「ヒト抗 α -1,3-glucan 抗体の *Aspergillus* 菌体への反応性の検討」
石橋 健一 (東京薬科大学薬学部 免疫学教室)
- P-24 「*Candida* 属臨床分離株の熱水抽出物作成と致死活性及び血管炎惹起能の検討」
田中 宏明 (東京薬科大学薬学部 免疫学教室 / 杏林大学医学部附属病院 薬剤部)

P-19

Candida albicans 腸管定着が *Clostridioides difficile* 感染症に与える影響に関する解析

阿部 雅広^{1,2)}、金城 雄樹³⁾、妹尾 充敏⁴⁾、
加藤 はる⁴⁾、柴山 恵吾⁴⁾、宮崎 義継¹⁾

1) 国立感染症研究所 真菌部、2) 東北大学大学院医学系研究科 感染制御・検査診断学分野、
3) 東京慈恵会医科大学 細菌学講座、4) 国立感染症研究所 細菌第二部

【背景】 *Clostridioides difficile* は、広域抗菌薬投与下等の腸内細菌叢が破壊された状態下で、過剰増殖し、*C. difficile* 感染症 (CDI) を生じる。広域抗菌薬投与下には、カンジダ属も同様に腸管に定着することが知られているが、両者の相互作用に関する報告は寡少である。本研究では、*Candida albicans* (CA) と *C. difficile* (CD) の腸管内での相互作用に関して、マウスモデルを用いて解析を行った。

【方法】 野生型 C57BL/6J マウスに、CD 接種 10 日前より 1 週間、複数種類の抗菌薬入り飲料水を与え、腸管除菌を行なった。また、CA/CD 共感染群は CD 接種 8 日前に CA (SC5314 株) を胃内接種し、腸管内に定着を生じさせた。CD 接種 3 日前に抗菌薬入り飲料水を通常の飲料水に変更し、また、CD 接種前日に clindamycin を腹腔内注射した。3 株の *C. difficile* 菌株 (VPI10463 株、KO20 株、DJNS05-22 株) を使用し、感染後 1 週間の体重変化・生存率を評価した。

【結果】 いずれの CD 株を用いた解析でも、CD 接種後の体重減少は、CD 単独感染群と比較して、CA/CD 共感染群で有意に大きい結果であった。また、VPI10463 株を用いた実験では、CA/CD 感染群は、CD 単独感染群と比較して有意な生存率の悪化を認めた。

【結論】 CA/CD 共感染は CD 単独感染に比して CDI の症状を悪化させる可能性が示唆された。今後は CA/CD 共感染により CDI 悪化に関与する因子や腸管内の炎症状態等に関して、さらなる解析を進めたい。

Trichosporon asahii 菌体表層の ヘパリン結合タンパク質の探索

貞永 淳平、市川 智恵、川村 昂平、菊池 綾乃、森田 雄二

明治薬科大学 感染制御学研究室

感染の成立や発症と進展は微生物の病原因子と宿主との相互作用に基づいている。本研究では、宿主グリコサミノグリカンと *Trichosporon asahii* との相互作用に着目した。*T. asahii* はコロニー形態が多様で自発的に形態変化をおこす。そこで、この形態の違いが病原性に関与すると考え、形態の異なる株由来の表層タンパク質を用いて、ヘパリンへの結合性の違いを解析した。*T. asahii* M9435 株を親株として使用し、そのコロニー形態の異なる株として、白色で表面が粉状の white (W) と乳白色で表面がなめらかな off-white (O) を使用した。菌体表層タンパク質を抽出し、表面プラズモン共鳴法を用いてヘパリンとの相互作用を解析した。ヘパリンセファロースビーズを用いてヘパリン結合分子を精製したのち、SDS-PAGE で分離し、バンドを切り出し MALDI-TOF/TOF によりタンパク質を同定した。W 株の表層タンパク質がヘパリンと強く結合し、複数のタンパク質が同定されたが、いずれも hypothetical protein であった。これら分子の本来の機能は不明であるが、今回のヘパリン結合分子の同定結果から、*T. asahii* 細胞表層には、上皮細胞に存在するグリコサミノグリカンと結合する分子が複数存在し、病原性に関与することが推定された。

白癬菌が産生する抗菌活性物質の同定とその生合成遺伝子の推定

増田 圭恭¹⁾、二宮 章洋²⁾、矢口 貴志⁴⁾、浦山 俊一^{2,3)}、萩原 大祐^{2,3)}

1) 筑波大学大学院 生命環境科学、2) 筑波大学 生命環境系、
3) 筑波大学 微生物サステナビリティ研究センター、4) 千葉大学 真菌医学研究センター

各種白癬を引き起こす白癬菌の感染成立機構について、分子レベルの知見は乏しい。特に、感染部位に常在する他の微生物との競合については、ほとんど解析されていない。そこで本研究では、5種 (*Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *Microsporum canis*, *M. gypseum*) の白癬菌を対象として、他の微生物との競合に影響を与えると考えられる抗菌活性物質の産生能を *in vitro* で評価し、その化合物の特定を目指した。

各菌種2株ずつを様々な培地で培養し、培養抽出物を抗菌試験に供した結果、4種のSD寒天培養抽出物において、グラム陽性細菌に対する抗菌活性が認められた。中でも *T. rubrum* 由来抽出物が最も高い抗菌活性を示したので、本菌の培養抽出物を用いて活性成分の単離精製を行い、標品との比較から viomellein であると同定した。本化合物は肝腎毒性、抗グラム陽性細菌活性を示す赤色色素化合物である。白癬菌からの単離の報告は今回が初めてである。抗菌活性が見出された他菌種においても、本化合物の産生が認められたことから、白癬菌が産生する主要な抗菌物質であると考えられる。また、*T. rubrum* において本化合物の生産条件を検討したところ、シャーレにテープを巻き通気を遮断すると産生が抑制された。現在、この非産生条件を利用し発現解析を行い、生合成遺伝子の特定を目指している。白癬菌の感染成立機構における viomellein の果たす役割について解析を進めたい。

*Trichophyton rubrum*の低分子量Gタンパク質 Ras-related C3 botulinum toxin substrate (Rac)の cell division cycle 24 (CDC24)を 介した活性化と発芽調節

石井 雅樹¹⁾、大畑 慎也¹⁾、山田 剛²⁾、宇賀 英子¹⁾、堅田 利明¹⁾

1) 武蔵野大学薬学部、2) 帝京大学医真菌研究センター

低分子量Gタンパク質は、グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) によってGDP結合型から活性型であるGTP結合型に変換されることで、下流のシグナルを制御する。哺乳類などの高等生物においては細胞機能維持に必須の機構に寄与し、癌などの疾患の発症にも関与している。一方で、病原性真菌におけるその役割についての知見は限られている。我々は、白癬(水虫)の主要な起原菌である *Trichophyton rubrum* に既存の低分子量Gタンパク質阻害剤を作用させ、一部の阻害剤が *T. rubrum* の発芽を抑制することを見出した。発芽の抑制が観察された阻害剤は、哺乳類においてアクチン動態を制御するRacを標的としており、*T. rubrum* の菌糸形成にRacが必須の役割を果たすことが期待された。ゲノム情報から見出した *T. rubrum* のRacホモログ(相同性: 80%) はグアニンヌクレオチド結合活性を有しており、Gタンパク質としての機能を有することが示唆された。他の生物種でRac GEFとして機能しているCDC24タンパク質のホモログ(相同性: 27%) の推定GEF活性ドメインは、*in vitro* でRac GEF活性を示した。CDC24によるRac活性化は、上記Rac阻害剤により抑制された。以上の結果から、*T. rubrum* のRacがCDC24により活性化されることで、発芽に寄与することが示唆された。

ヒト抗 α -1,3-glucan抗体の *Aspergillus*菌体への反応性の検討

石橋 健一、山田 庸子、山中 大輔、安達 禎之、大野 尚仁

東京薬科大学薬学部 免疫学教室

【目的】主要病原真菌である*Aspergillus*属の細胞壁には、 α -1,3-glucanが主要構成成分として含まれている。これまでに、*Aspergillus*細胞壁 α -1,3-glucanに結合する抗体がヒト血清中に存在することが示唆された。本研究では、ヒト免疫グロブリン製剤より、抗*Aspergillus*細胞壁 α -1,3-glucan抗体を分画精製し、その抗体の*Aspergillus*菌体への反応性について検討した。

【方法・結果】*Aspergillus*細胞壁 α -1,3-glucan (AspAG) を担体とし、ヒト免疫グロブリン製剤から α -1,3-glucan (AG) に結合する抗体を分離した。調製した抗体の反応性をイメージアナライザーにて検討したところ、抗AG抗体はAspAGに反応したが、*Candida*細胞壁由来 β -glucanには反応しなかった。*A. fumigatus* NBRC33022株菌体への結合を検討したところ、菌糸へ結合が認められた。

【考察】免疫グロブリン製剤に含まれる*Aspergillus*細胞壁 α -1,3-glucanに対する抗体は*A. fumigatus*細胞壁由来 α -1,3-glucanに結合し、菌体にも結合することが示された。ヒト血清中に存在する抗*Aspergillus*細胞壁 α -1,3-glucan抗体は、*A. fumigatus*に結合し、感染などの生体防御機構に関与していることが示唆された。

Candida 属臨床分離株の熱水抽出物作成と致死活性及び血管炎惹起能の検討

田中 宏明^{1,2)}、柳井 千穂¹⁾、石橋 健一¹⁾、大西 宏明³⁾、大野 尚仁¹⁾

1) 東京薬科大学薬学部 免疫学教室、2) 杏林大学医学部附属病院 薬剤部、
3) 杏林大学医学部 臨床検査医学

【背景】 *Candida* 属真菌の菌体成分はマウスの急性致死を誘発することが知られている。今回我々は、臨床分離された *Candida* 属真菌複数種を用い、熱水抽出物を作成しその物性と活性について検討したので報告する。

【方法】 前培養した *Candida* 属真菌 20 株を、それぞれ C-limiting medium 及び YPD medium にて振とう培養した。集菌後、菌体を蒸留水に懸濁しオートクレーブ抽出した。可溶部を凍結乾燥して熱水抽出物とした。得られた抽出物は、元素分析、糖含量、たんぱく質含量分析するとともに、mannan, glucan 含量を ELISA 法により測定した。また、ICR マウスに i.v. 投与し、急性致死活性を検討し、DBA/2 マウスに腹腔内投与し血管炎惹起能を比較した。

【結果】 臨床分離株の熱水抽出物はいずれも高い mannan 含量を示した。一方、急性致死ならびに血管炎惹起活性は種、株、ならびに培養条件によって差異が認められた。

【考察】 臨床分離された *Candida* 属真菌の菌体成分は、mannan を主成分とするものの、活性は多様性を示すものと考えられた。

協賛企業一覧

旭化成ファーマ株式会社

アステラス製薬株式会社

栄研化学株式会社

イーザイ株式会社

株式会社エスアールエル

MSD 株式会社

オリンパスメディカルサイエンス販売株式会社

科研製薬株式会社

佐藤製薬株式会社

株式会社島津製作所

大日本住友製薬株式会社

大鵬薬品工業株式会社

中外製薬株式会社

株式会社ニコンインステック

日本ベクトン・ディッキンソン株式会社

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

株式会社ポーラファルマ

マルホ株式会社

持田ヘルスケア株式会社

五十音順（令和元年5月9日現在）

多くの皆様のご協力に感謝申し上げます。

第40回関東医真菌懇話会

会長 杉田 隆

**第40回関東医真菌懇話会
プログラム・抄録集**

発行 令和元年5月

編集 明治薬科大学 微生物学研究室
〒204-8588 東京都清瀬市野塩2-522-1
TEL : 042-495-8762

印刷 株式会社メッド 東京営業所
〒108-6028 東京都港区港南2-15-1
品川インターシティA棟28階
TEL : 03-6717-2790 FAX : 03-6717-2791