

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2013

課題番号：21390305

研究課題名(和文)クリプトコックス症の病原因子検索、臨床病態解析とデータベースの構築

研究課題名(英文)Exploration of virulence factors, investigation of clinical pathophysiology, and construction of database for cryptococcosis

研究代表者

河野 茂 (Kohno, Shigeru)

長崎大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：80136647

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円、(間接経費) 4,050,000円

研究成果の概要(和文)：non-HIV感染者に発症したクリプトコックス症について、分離されたクリプトコックス株の解析を行った。しかし、genotypeの相違(VNIもしくはVNII)と臨床的な特徴に明らかな関連を認めなかった。当科で経験された肺クリプトコックス症患者151例について臨床的な解析を行った。67例(44.4%)は基礎疾患を有しない患者に発症していた。残りの84症例(54.6%)は基礎疾患を有し、糖尿病、血液疾患、膠原病が多かった。結節陰影を示す症例が多く、CNS感染症がない場合は、アゾール系薬が使用されていた。基礎疾患がない場合は3ヶ月、ある場合は6ヶ月の治療が行われており、良好な治療成績を示した。

研究成果の概要(英文)：Cryptococcus species isolated from non-HIV patients with cryptococcosis were investigated. However, no apparent relevance was detected between genotype variations (VNI or VNII) and clinical manifestations. Retrospective review of 151 patients with proven pulmonary cryptococcosis. There were 67 cases (44.4%) in immunocompetent hosts. Eighty-four patients (65.6%) had underlying disease. The most common were diabetes (32.1%), hematologic disease (22.6%), and collagen disease. Peripherally distributed pulmonary nodules/masses were most commonly seen in both groups. Lesions in the right middle lobe and air bronchogram were significantly more frequent ( $p = 0.01$  and  $p = 0.05$ ), respectively, in immunocompromised hosts than immunocompetent hosts. Azole-type drugs were mainly selected to treat pulmonary cryptococcosis patients without encephal meningitis. Mean treatment duration for immunocompetent and immunocompromised patients was 2.87 months and 6.64 months, respectively.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・感染症内科学

キーワード：感染症学

### 1. 研究開始当初の背景

HIV/AIDS 時代にあり、クリプトコックス感染症は、死亡率も高くきわめて重要な日和見感染症である。剖検症例からの検出頻度は著明ではないが、健常人にも発症する可能性のある深在性真菌症として、クリプトコックスは重要であり、基礎疾患を有さない場合のクリプトコックス症は予後も良好であるため、潜在的な罹患率は高いと予想される。病原因子の基礎的な検討は行われているもの、大規模な臨床分離株を用いた包括的な病態解析に関する知見は少ない。

### 2. 研究の目的

本研究は、当科に保存する豊富な臨床分離クリプトコックス株を材料に、新たな病原因子を検索、病原因子の発現の定量化を行い、臨床病態と病原因子の発現量をデータベース化、また、クリプトコックス症の症例を集積し、将来的に、クリプトコックスリファレンスセンターを設立、診断、治療における中心的役割をはたすことを目的としている。

### 3. 研究の方法

平成 21 年度の当初の研究計画は、臨床分離 *C. neoformans* cDNA ライブラリーの作成、培養細胞に発現ライブラリーを導入しスクリーニング、クローニングされた *C. neoformans* 遺伝子のシーケンスを行い、データベースを用いてそれぞれのタンパクの情報解析する。という予定であった。平成 21 ~ 23 年度には、全分離株について、gDNA を抽出し、血清型と菌株同士の相同性をみるために、遺伝子学的に検討を行った。

### 4. 研究成果

血清型確認には PCR 法を用い、ほとんどの株が型であった。遺伝子学的疫学研究には MLST 法を用いて、全株の 7 つの遺伝子解析を行った。数株を除いてほとんどの菌株が VNI 型 (数株は VNII 型) であり、韓国や中国の報告とほぼ同様の結果が得られた。Genotype の相違 (VNI と VNII) での臨床的な特徴に明らかな差はみられなかった。平成 24 年度には、当科で経験された肺クリプトコックス症患者 151 例について臨床的な解析を行った。67 例 (41.4%) は基礎疾患を有しない患者に発症していた。残りの 84 症例 (54.6%) は基礎疾患を勇姿、糖尿病、血液疾患、膠原病を有する患者が多かった。画像所見について、結節陰影を示す症例が多く、CNS 感染症を有しない場合は、アゾール系抗真菌薬が使用されており、基礎疾患がない場合は 3 ヶ月、ある場合は 6 ヶ月の治療が行われており、良好な治療成績を示した。解析は引き続き行っており、出来る限り早めに結果をまとめる方針である。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

(雑誌論文) (計 17 件)

1. Miyazaki T, Kohno S. ER stress response mechanisms in the pathogenic yeast *Candida glabrata* and their roles in virulence. *Virulence* 5(2):365-370, 2014.
2. Mihara T, Izumikawa K, Kakeya H, Ngamskulrunroj P, Umeyama T, Takazono T, Tashiro M, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Ohno H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Multilocus sequence typing of *Cryptococcus neoformans* in non-HIV associated cryptococcosis in Nagasaki, Japan. *Med Mycol.* 51(3):252-60, 2013.
3. Miyazaki T, Nakayama H, Nagayoshi Y, Kakeya H, Kohno S. Dissection of Ire1 functions reveals stress response mechanisms uniquely evolved in *Candida glabrata*. *PLoS Pathog.* 9(1):e1003160, 2013.
4. 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.* 13(4):411-21, 2013.
5. Tashiro T, Izumikawa K, Tashiro M, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Hayashi T, Nagayasu T, Kohno S. A case series of chronic necrotizing pulmonary aspergillosis and a new proposal. *Jpn J Infect Dis.* 66(4):312-6, 2013.
6. Iwanaga N, Fukuda Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Yanagihara K, Soda H, Tashiro T, Kohno S. Necrotizing pneumonia due to

- femoral osteomyelitis caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Intern Med.* 52(13):1531-6, 2013.
7. Yamada K, Yanagihara K, Kaku N, Harada Y, Migiyama Y, Nagaoka K, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Hasegawa H, Mikamo H, Kohno S. Azithromycin attenuates lung inflammation in a mouse model of ventilator-associated pneumonia by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 57(8):3883-8, 2013.
  8. Migiyama Y, Kaneko Y, Yanagihara K, Morohoshi T, Morinaga Y, Nakamura S, Miyazaki T, Hasegawa H, Izumikawa K, Kakeya H, Kohrogi H, Kohno S. Efficacy of AiiM, an N-acylhomoserine lactonase, against *Pseudomonas aeruginosa* in a mouse model of acute pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 57(8):3653-8, 2013.
  9. Tanaka A, Nakamura S, Seki M, Fukudome K, Iwanaga N, Imamura Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Yanagihara K, Kohno S. Toll-like receptor 4 agonistic antibody promotes innate immunity against severe pneumonia induced by coinfection with influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Vaccine Immunol.* 20(7):977-85, 2013.
  10. Harada Y, Yanagihara K, Yamada K, Migiyama Y, Nagaoka K, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Hasegawa H, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Kohno S. In vivo efficacy of daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a mouse model of hematogenous pulmonary infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 57(6):2841-4, 2013.
  11. Yamamoto Y, Izumikawa K, Morinaga Y, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Miyazaki T, Tsukamoto M, Kakeya H, Yanagihara K, Yasuoka A, Kohno S. Prospective randomized comparison study of piperacillin/tazobactam and meropenem for healthcare-associated pneumonia in Japan. *J Infect Chemother.* 19(2):291-8, 2013.
  12. Yamamoto Y, Izumikawa K, Hosogaya N, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Sakamoto N, Ishimatsu Y, Kakeya H, Yanagihara K, Yasuoka A, Kohno S. A case of refractory chronic respiratory tract infection due to *Pseudomonas aeruginosa* successfully controlled by combination of clarithromycin and azithromycin. *Intern Med.* 51: 1383-6, 2012.
  13. Yamamoto Y, Izumikawa K, Hashiguchi K, Fukuda Y, Kobayashi T, Kondo A, Inoue Y, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Kakeya H, Yanagihara K, Kohno S. The efficacy and safety of high-dose arbekacin sulfate therapy (once-daily treatment) in patients with MRSA infection. *J Infect Chemother.* 18: 241-6, 2012.
  14. Izumikawa K, Yamamoto Y, Mihara T, Takazono T, Morinaga Y, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Nishino T, Tsukamoto M, Kakeya H, Yanagihara K, Mine M, Yasuoka A, Tashiro T, Kohno S. Bronchoalveolar lavage galactomannan for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis. *Med Mycol.* 50: 811-7, 2012.
  15. Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kiya T, Matsuda J, Morinaga Y, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Nishino T, Tsukamoto M,

- Takeya H, Yasuoka A, Tashiro T, Kamihira S, Kohno S. Active surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with the BD GeneOhm MRSA™ assay in a respiratory ward in Nagasaki, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 65: 33-6, 2012.
16. Tashiro M, Izumikawa K, Hirano K, Ide S, Mihara T, Hosogaya N, Takazono T, Morinaga Y, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Miyazaki T, Nishino T, Tsukamoto M, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Tashiro T, Kohno S. Correlation between triazole treatment history and susceptibility in clinically isolated *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 56: 4870-5, 2012.
17. Tashiro M, Izumikawa K, Minematsu A, Hirano K, Iwanaga N, Ide S, Mihara T, Hosogaya N, Takazono T, Morinaga Y, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Miyazaki T, Nishino T, Tsukamoto M, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Tashiro T, Kohno S. Antifungal susceptibilities of *Aspergillus fumigatus* clinical isolates in Nagasaki, Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 56: 584-587, 2012.

〔学会発表〕(計5件)

1. 河野茂：抗菌化学療法の過去、未来。第83回日本感染症学会西日本地方会学術集会(大阪)2013年11月6日。
2. 河野茂：医真菌学の未来を考える。第57回日本医真菌学会 特別講演(東京)2013年9月27日。
3. 河野茂：肺炎の克服を目指して。第110回日本内科学会総会 招請講演(東京)2013年4月13日。

4. 河野茂：感染症学の未来を創ろう。第86回日本感染症学会総会(長崎)2012年4月25日。
5. 河野茂：呼吸器感染症診療のこれまでの軌跡と、未来への展望。第52回日本呼吸器学会学術講演会(神戸)2012年4月21日。

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者 河野 茂  
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授  
研究者番号：80136647

(2)研究分担者 宮崎義継  
国立感染症研究所真菌部・部長  
研究者番号：00311861

(3)連携研究者 泉川公一  
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科  
感染免疫学講座臨床感染症学分野・教授  
研究者番号：20404212