

地球規模課題対応国際科学技術協力 (SATREPS)

感染症研究分野「感染症開発途上国のニーズを踏まえた感染症対策研究」領域

AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における 新規診断法による真菌症対策

(ブラジル連邦共和国)

終了報告書

期間 平成22年4月～平成25年3月

代表者氏名：亀井克彦
(千葉大学 真菌医学研究センター 教授)

§1 プロジェクト実施の概要

真菌症は、HIV 感染や種々の疾患などにより免疫力の低下した人々にとって、生命を奪い、生活の質 (QOL、Quality of Life) を低下させる脅威であり、ブラジル (以下「ブ」国と略す) においては、免疫不全患者のおかれた状況は深刻である。本プロジェクトでは、「ブ」国における真菌症の疫学調査を実施し、千葉大学真菌医学研究センター (以下「千葉大真菌セ」と略す) で開発した菌種同定用の DNA チップ及び新しい DNA 検出法である LAMP 法やリアルタイム PCR 法を利用した迅速簡便な診断・同定法、更に真菌症のより優れた治療法を共同で開発することを第一の目的として実施したプロジェクトである。またこれらの成果に基づいて同国がエイズ対策を進めるアフリカ・ポルトガル言語圏や中南米各国及びわが国における HIV 感染者など免疫不全患者の真菌症の克服、QOL の改善に役立てることをも目的としたプロジェクトである。さらに本プロジェクトでは、千葉大真菌セとプロジェクトサイトの「ブ」国サンパウロ州立カンピーナス大学との共同研究を通じて、真菌感染症の診断及び治療に関する研究能力が相互に向上することを目指した。

プロジェクト開始後 2 年において「ブ」国においては共同研究に必要な主な供与機材が納入され、それらの供与機材を用いて患者から分離した病原真菌の菌種同定が現地の研究者により迅速かつ詳細に進み、その結果、「ブ」国において、分離された病原真菌数は 400 株以上に達している。それらの菌株に関連する臨床患者情報の収集や解析、さらにはプロジェクトで最終目標とした真菌感染症の迅速診断法及び病原真菌の同定法が実際にカンピーナス大学で活用される状態になっている。また本プロジェクトの個々の成果と活動については、以下に報告するが、事業における数値目標であり、成果の公開と発表として重要である論文発表において、特にインパクトファクター (IF) が 1.0 以上の国際誌への発表目標に対しては、既に 20 報の論文が受理公表され (うち 2 つの論文では IF がついていない)、目標数を達成することができた。

具体的な目的達成の目指す 2 つの指標としては、(1) プロジェクト期間内に、「ブ」国カンピーナス大学において、エイズ患者及び免疫不全患者における真菌感染症の全症例が疫学的に解析されることと、(2) DNA チップ、 β グルカン測定、リアルタイム PCR 法、LAMP 法のカンピーナス大学へ技術移転とその実用性の確認にあるが、いずれもそれぞれの項目においては、成果は十分に達成されている。これらの 2 項目の成果を達成するために行った具体的な活動は以下の通りである。

(1) の研究指標については、i). エイズ患者及び免疫不全患者から採取分離した病原真菌株が 400 株以上に達した。これらの菌株について双方でその保存法を検討した結果、「ブ」国ではサンプルチューブでの凍結保存、千葉大真菌セでは真空アンプル保存により半永久的な保存を行うこと、ii). 基礎的なデータとして、真菌分離株の形態学的、生理生化学的解析結果による同定を行うこと、iii). リボゾームやハウスキーピング遺伝子解析に基づく遺伝子型の決定を行い、それぞれの分離株について詳細な菌株戸籍情報を確定すること。また iv). 日本のメーカーが作製した薬剤感受性試験プレートで、日本で開発された抗真菌薬であるミカファンギン等を含めてより正確で鋭敏な薬剤感受性試験を行い、より優れた治療効果を発揮するために、臨床現場に情報を提供することできた。優れた臨床効果を示すことが期待できる投与方法の開発を目指して、千葉大真菌セが中心となって確立してきたバイセルトレーサ(BCT)により、薬剤の投与時期の確定や、併用効果を発揮する薬剤の組み合わせを見出すために、「in vitro 生体モデル実験系」に基づく実験を「ブ」国において行った。これらを総合して、患者分離の真菌株とその感染源、感染部位、患者の免疫状況を含む検査データとの関連性を纏めて、関係する医師や研究者が利用可能な状態にするためのデータの整理が進み、公表する段階に達している。

(2) の研究指標で、i). DNA チップについては、本プロジェクトの申請時においてわが国での主たる病原真菌を対象として開発されチップにプリントされた DNA 情報について、それぞれの菌株の遺伝子配列情報を「ブ」国側に開示した。また、「ブ」国側からの要望に基づき、特に病原真菌で、感染の患者数の多いフザリウム症について、その原因菌を同定するための DNA チップを作製することができた。更に、その他「ブ」国の臨床現場で問題

となる真菌症の原因となる真菌の同定を確実に実施するために、「ブ」国の患者から分離された菌種を対象として千葉大真菌セが保存している標準株との比較情報に基づいて、新たに「ブ」国側に 14 菌種を追加した DNA チップを作製することができた。これらの新しい「ブ」国版の DNA チップ（「ブ」国 version）研究については、感染症専門の医師である Plínio 准教授を中心とした研究グループが担当することとなり、医師や技師に大学院生が参加した研究体制が出来上がっている。それぞれの担当者には、DNA チップの作製法の研修を繰り返し行った結果、現在までに大量の DNA チップ作製のための技術移転が完了した。「ブ」国カンピーナス大学で分離された 173 株の分離株を用いて、DNA チップの感度及び特異性に関する性能確認が「ブ」国サイドで行われ、その有効性が確認された。ii). β グルカンについては、機器の導入が遅れていた関係で、本邦での研修も延期されていたが、「ブ」国内での機器の導入業者からの「ブ」国の研究者や医師に対して、 β グルカン測定キットを用いた真菌症診断法の講習が行われ、さらに臨床サンプルでの検討の結果から深在性真菌症早期診断のための基準となるカットオフ値が検討され、診断基準値が確定した。これらの情報に基づいて、カンピーナス大学附属病院の集中治療室のカンジダ血症が疑われる患者について、 β グルカン値測定や、その他のバイオマーカーの解析が進んでおり、これらの情報は今後の臨床分野において深在性真菌症の診断のための貴重な臨床情報として発表する準備を進めている。なお、わが国で使われていた測定キットについては、キットの販売の中止などがあり、両キットの比較が難しくなったことから、「ブ」国での研究が中心となって進んだ。iii). リアルタイム PCR については特に「ブ」国からの希望もあり、「ブ」国においては、最も臨床的に重要なフザリウム菌種 (*Fusarium solani* species complex) の特異的な同定法が開発され、「ブ」国に技術移転され、既に用いられている。また LAMP 法についても、本プロジェクトの期間中に治療に困難が伴うアスペルギルス症の原因菌の簡単な同定法が開発されて、「ブ」国に技術導入された。リアルタイム PCR 及び LAMP 法の技術については、「ブ」国の研究者が真菌の他の感染症分野の研究にも利用するための独自の研究も開始され、技術の移転に伴う新しい成果が得られつつある。

医療技術の進歩は目覚しく、従来生存が不可能であった疾患を有する患者においてもその延命や場合によっては治癒が可能となっている。特に、「ブ」国においてはエイズのみならず、臓器移植が多く実施されているため、これらに伴った日和見感染症が多く発生し、その治療は重要な検討課題である。本プロジェクトを通して導入された機器や技術の応用により、多くの新しい知見が得られ、「ブ」国の感染症治療がよりレベルアップしつつあり、それらの情報は「ブ」国のみならず、世界的にも公開されつつある。従って、今回のプロジェクトで得られた成果は、これらの疾患を抱える他の国々の患者の QOL の改善にも貢献することは明らかである。

他方、わが国の若手研究者の育成に目を転じると、千葉大学からは特任助教 2 名を含む 3 名の若手研究者が本プロジェクトに従事しており、「ブ」国という文化の全く異なる外国で共同研究や研究指導を行うといった新しい経験により、苦労を重ねながらも「ブ」国研究者と積極的に協調することの重要性を学び、研究者として人間として大きく成長したことは、本プロジェクトの成果の一端として特筆に値する。

本プロジェクトで導入された真菌感染症診断のための DNA チップ、リアルタイム PCR、 β グルカン測定及び LAMP 法については、広く普及させるために、ポルトガル語の「真菌感染症診断マニュアル」の作成が完了した。このマニュアルではそれぞれのメーカーからの掲載許可が正式に得られて進み、より理解が得やすいように、写真を多く利用することができた。従って、将来的には「ブ」国以外のポルトガル語圏アフリカ諸国への普及が期待されている。また、今年 11 月 22 日、23 日の両日において、その情報を広く発信するために、国際シンポジウム“New diagnostic approaches in the management of fungal infections in AIDS and other immunocompromised patients”が「ブ」国のカンピーナス大学で米国（感染症疾病センター、CDC）からの専門家等も招聘して行われ、盛会裏に終了した。

§2. プロジェクト構想（及び構想計画に対する達成状況）

（1）当初のプロジェクト構想

真菌感染症の迅速診断法及び病原真菌株の同定法の「ブ」国での実用性の確認

1) DNA チップによる病原真菌の同定及びこれによる真菌症の診断

真菌感染症の診断・治療において感染菌の同定は欠かせない過程であるが、従来の方法では、菌の単離培養、生理生化学的性状の検査や遺伝子配列の決定など、手間と時間がかかる。この同定を簡便に行えるようにする目的で計画を立案した。プラスチック・スライド上に真菌を個々に識別することが可能な DNA プローブを貼り付け、蛍光スキャナーなど特殊な器械を必要とせず、目視により短時間で菌種を同定するこの DNA チップは、わが国で開発したものである。本プロジェクトでは現地での対応可能な「ブ」国版の DNA チップを改良作製して、その有用性を確認し、実用化を目指した。DNA プローブは「ブ」国で特に問題となっているヒト病原真菌を対象として、これまでの作製法と同様にリボゾーマル RNA 遺伝子の ITS 領域に設定した。DNA チップの基本は、まずユニバーサル・プライマーを用いてあらゆる種類の真菌の遺伝子を増幅し、これを DNA チップにハイブリダイゼーションさせ、ストレプトアビジン/ビオチン HRP 法によって化学発色させて、得られた発色のパターンから菌種を識別することにあるが、永続的な現地での使用が求められることから、これらの試薬の現地で供給が可能となるための検討もあわせて必要であったが、より安価で現地で供給が可能な試薬を用いることが出来るように計画した。

その結果、「ブ」国で問題となる病原真菌を全て含む、DNA チップの作製が本共同研究によって「ブ」国で可能となった。特に DNA プローブの考案からその作製、さらにそれらをプラスチック・スライドにハイブリダイゼーションさせて、発色させるための技術移転もわが国での研修や短期在外研究員の派遣指導により行うことを検討した。血液等の患者から採取した検体から直接真菌の遺伝子を検出する方法も技術移転の対象とした。

2) LAMP 法及びリアルタイム PCR 法

【LAMP 法】

LAMP法のプロジェクトでは『主要な病原性 *Aspergillus* 属及び *Fusarium* 属菌の迅速識別法の開発』を目標とした。*Aspergillus* 属においては、*A. fumigatus* を *Fusarium* 属においては *F. solani* (*F. solani* species complex: FSSC) を検出対象とし、有用性の高いすぐれたプライマーの開発を目指した。また、「ブ」国側に対して LAMP 法の技術習得、LAMP プライマー設計法の修得、設計したプライマーの特異性の検証及びデータ解析方法の習得といった目標も加えた。

【リアルタイム PCR】

フザリウム症の原因菌である *Fusarium* 属菌を患者血液サンプルから迅速かつ高感度に検出することを目標に、リアルタイムPCR法を用いた診断法の開発を目指した。*Fusarium* 属菌及びFSSCに特異的なプライマーとプローブを設計し、「ブ」国で集められた *Fusarium* 属菌臨床分離株から抽出したDNAを用いて検出特異性を評価し、新しいプライマーとプローブを用いて、100%の特異度を確保することを目指した。

【院内及び病院周辺環境から分離された *Fusarium* 属菌の解析】

Fusarium 属菌は本来、植物や土壌に生息している真菌であるが、免疫不全患者においては日和見感染症で問題となる。「ブ」国カンピーナス大学付属病院でも免疫不全患者の間でフザリウム症が問題となっていたことから、*Fusarium* 属菌の感染源を特定するために院内環境及び病院周辺から *Fusarium* 属菌の分離を試みた。さらに免疫不全患者から分離された *Fusarium* 属菌と院内及び病院周辺環境から分離された *Fusarium* 属菌との関連性の調査も検討課題とした。

（2）新たに追加・修正など変更したプロジェクト構想

【DNAチップ】

当初の目標を達成するために研究を続けて行く過程で、本方法（DNAチップ法）の利便性をさらに上げる必要性を感じ、ヒト血液から本DNAチップを用いて直接的に菌の同定を可能とする方法を開発すること新たな研究項目とした。さらに特殊な機器を必要とするPCR法を用いず、簡便な恒温槽で遺伝子を増幅して用いる方法の開発を新たな検討項目にした。

【LAMP法】

病原真菌を LAMP 法で迅速に検出することを目的に研究を進めて行く過程で、薬剤耐性遺伝子を持った細菌を LAMP 法を用いて検出できないかという相談があった。そこで、Plínio 准教授を中心にカンピーナス大学医学部内で別のプロジェクトとして検討し、ごく簡単な初期実験を行ったところ、有効性を確認するデータが集積しつつある。しかし、これまでの検討では属全体や種複合体といった幅広い検出を目的とした LAMP 法のプライマーを設計するのは困難であるが、いずれの感染症においても耐性菌は深刻な問題であり、迅速かつ簡便な耐性菌検出法の開発は臨床的必要性がきわめて高いテーマであることから、新たな検討課題とすることとした。この件に関しては、「ブ」国の千葉大真菌セとの間で真菌における耐性菌の検討も可能な限り早急に行う必要があるとの意見の一致を見ている。

【リアルタイム PCR】

当初は、新たに開発したリアルタイム PCRによる診断法の有効性を評価するために、フザリウム症患者の血液サンプルを用いる予定であったが、充分量の血液サンプルが集まらなかったため、侵襲性フザリウム症モデルマウスを作製し、その血液を用いて検定した結果、そのモデルの高い有用性が示されたことから、この実験も新たに検討項目として採用して研究を進めた。

【院内及び病院周辺環境から分離された*Fusarium*属菌の解析】

院内環境からは、主にエアースンプラーを用いて*Fusarium* 属菌の分離を試みた。しかし*Fusarium* 属菌以外の菌が優位に培地上に発育してきたため、効率良く*Fusarium* 属菌を分離することが困難であった。そこで、*Fusarium* 属菌選択分離培地に関する検討を進め、さらにこれをエアースンプラーと組み合わせることで、効率良く*Fusarium* 属菌を分離することが可能となり、院内におけるフザリウム症発生ルートの解析の大きなステップとなった。実際にこれらの研究は「ブ」国の学位論文の作製を目的とした実験計画に組み込まれた。

（3）活動実施スケジュール（実績）

項目	H21年度 (ヶ月)	H22年度	H23年度	H24年度	
1. 真菌症の発症に関する患者のデータ収集及び、患者から菌を採取・分離（亀井、田口、村長）		←		→	
2. PCRやLAMP 法を用いて分離した菌の菌種サブタイプの同定（五ノ井、川本、松澤、三上）		←		→	
3. 患者から分離した病原真菌の保存法の確立（五ノ井、三上）		←		→	
4. 機材の設置・人材育成を通じて、「ブ」国におけるDNAチップの作製と体制の整備（五ノ井、酒井、三上）		←		→	

5. 菌種同定に関するDNAチップでの診断の有効性の検証（五ノ井、酒井、三上）		←	→		
6. 血清診断法のβグルカン測定法の感度・特異性の試験（亀井、村長、田口）		←	→		
7. 菌の薬剤感受性試験と適切な投与方法の検討（田口、亀井、三上）		←	→		
8. ポルトガル語実習テキストの作成（亀井、川本、三上、田口）				←	→
9. シンポジウムの開催と成果の公開				←	→

§3 プロジェクト実施体制・投入実績

3. 1. 実施体制

①研究参加者

(1)グループ1

【日本側】

グループ リーダー	氏名	所属	役職 (身分)	研究参加期間			
				開始		終了	
				年	月	年	月
○	亀井 克彦	千葉大学	教授	22	4	25	3
	三上 襄	千葉大学	名誉教授	22	4	25	3
	五ノ井 透	千葉大学	教授	22	4	25	3
	川本 進	千葉大学	教授	22	4	25	3
	田口 英昭	千葉大学	助教	22	4	25	3
	村長 保憲	千葉大学	特任助教	22	4	25	3
	酒井 香奈江	千葉大学	特任助教	22	4	25	3
	松澤 哲宏	千葉大学	技術職員	23	2	25	3
	山本 恵一	富山大学	名誉教授	22	12	25	3
	池田 一繁	クボタコンプス株式 会社	部長	24	1	25	3
	野本 明男	千葉大学	センター長	24	4	25	3
	富永 健一郎	プロジェクト	業務調整	22	10	25	3

【相手国側】

グループ リーダー	氏名	所属	役職 (身分)	研究参加期間			
				開始		終了	
				年	月	年	月
○	Maria Luiza Moretti	カンピーナス大学	教授	22	4	25	3
	Plínio Trabasso	カンピーナス大学	准教授	22	4	25	3
	Angelica Zaninele Schreiber	カンピーナス大学	助教	22	4	25	3
	Mariângela Ribeir Resende	カンピーナス大学	助教	22	4	25	3
	Christian Cruz H öfling	カンピーナス大学	臨床医	22	4	25	3
	Sandra Bonon	カンピーナス大学	助教	22	4	25	3
	Renata Fagnani	カンピーナス大学	管理看護師	22	4	25	3
	Luis Felipe Bachur	カンピーナス大学	臨床医	22	4	25	3
	Frederico Aguirre	カンピーナス大学	大学院生	22	4	23	2
	Michela Ferrari	カンピーナス大学	大学院生	22	4	25	3
	Renato Moraes	カンピーナス大学	大学院生	22	4	25	3
	Luzia Lyra Fernandes	カンピーナス大学	技術職員	23	3	25	3
	Marcela de Souza	カンピーナス大学	大学院生	23	12	25	3
	Adeniza Cristina da Silva	カンピーナス大学	大学院生	23	8	25	3
	Ana Isabela Passos Morsh	カンピーナス大学	大学院生	23	12	25	3
	Cristiane Kibune Nagasako	カンピーナス大学	臨床医	23	11	25	3
	Ariana Fideli Busso	カンピーナス大学	技術職員	23	12	25	3
	Maria Luiza Oller	カンピーナス大学	インターン	23	4	23	12
	Érivan Ribeiro	カンピーナス大学	技術職員	22	4	25	3

②研究項目

- (1) 本センターで開発したDNAチップによる病原真菌の同定及び真菌症の診断
- (2) β グルカンによる真菌症の診断
- (3) リアルタイムPCRおよびLAMP法による真菌症の診断・原因菌の同定
- (4) 薬剤最適投与法の検討

§4 プロジェクト実施内容及び成果

4. 0. プロジェクト全体

グループ全体の成果

近年、「ブ」国におけるエイズの蔓延によって、それら病原真菌に感染する患者の数は、増加しており、治療のための簡便で迅速な感染症原因菌の同定が求められている。千葉大真菌セで開発した菌種同定の DNA チップは、多数の病原真菌に対応する DNA プローブをスライド・ガラス等に貼り付け、DNA ハイブリダイゼーションによって目視で感染症原因菌の同定を行うために開発された方法であり、その解析のための高価な測定器機を必要としないわが国独自の技術に基づくものであり、その有効性が実験レベルでは確認されていたが、本プロジェクトでは「ブ」国に特有の真菌感染症の原因菌を新に含めた「ブ」国版の DNA チップを作製して、その技術移転を行い、現地での有用性を確認することにあつた。リアルタイム PCR, LAMP 法についても「ブ」国の要求に基づいて、新しい検出プライマーの作製からそれらの現地での応用研究にも利用するための技術の移転を目指すものである。その結果、本プロジェクトを通して、「ブ」国版の DNA チップの作製からその利用が、またリアルタイム PCR や LAMP 法についても技術移転が順調に進み、既に「ブ」国で分離された病原真菌の同定や、それらの原因菌による感染症の診断に応用されている。

DNA チップの現地での利用とは別に、今回のプロジェクトで新たな問題として生じた「ブ」国に特異的とも思われる新興真菌症としての *Fusarium* 菌による感染症（フザリウム症）についての対策の要望について精力的に共同研究が進んだ。フザリウム症の原因菌の分類学的な研究は、世界的にはその感染例数が少なかったことからあまり注目されていなかった。しかし、近年欧米諸国で感染例が増加し、さらに最近新しい *Fusarium* の菌種の分類体系が世界的な研究者の共同研究により提案された。そこで、本プロジェクトでは、初期の目的にはなかった *Fusarium* 菌による感染症例についての検討が新たに加わった。その結果、リアルタイム PCR を用いて、より迅速な菌種の同定が最新の分類に基づいて行うことのできる方法を確立することができた。さらに、リアルタイム PCR とは別に LAMP 法においても、新しいフザリウム症の診断法が開発され、その有効性を検討する段階に達している。フザリウム症の原因菌は、多くの薬剤に対して低感受性であり、その治療には困難と伴うことから、早期診断法の確立により、本プロジェクトで行われている薬剤の併用法の検討結果と併せて、その治療がより効率的になることが期待されている。またこれらの患者情報を公表することにより、「ブ」国の他の地域病院においても、困難な状態にあるフザリウム症の治療成績の向上が期待できる。今回技術移転が進んだ LAMP 法は、わが国で開発された新しい感染症の診断システムであり、すでにインフルエンザや細菌感染症の診断法として確立している。真菌症に関してもその応用が期待できることから、「ブ」国からの他の感染症への新しい応用研究の提案が出されており、期間中に対応すべく努力が開始されている。

「ブ」国のカンピーナス大学は医療分野においては、中南米の国々と密接な協力関係にあり、またアフリカのポルトガル国圏からは多くの医療従事者を受け入れるプロジェクトを進めている。そのため、いずれの技術においてもその移転が完了した場合には、同地域はもとより「ブ」国がエイズ対策支援を進めているアフリカ・ポルトガル言語圏や中南米各国でも利用することができ、真菌症に苦しむこれらの地域の患者に対しても QOL の改善や生存率の向上などの効果が期待できる。

4. 1. 各活動における現時点での成果

テーマ：「AIDS 患者及びその他の免疫不全患者における真菌診断法による真菌症対策」

(1) 項目別研究実施内容及び成果 (PDM に記載順)

1. より良い抗真菌治療や真菌感染症研究に役立つための免疫不全患者における「ブ」国の真菌症の疫学的研究

1-1. エイズ及び免疫不全患者から採取した新鮮分離株の保存

MTA の締結後に日本に分譲された菌株については、遺伝子解析情報、DNA チップでの解析結果、さらに個々の患者の詳細な臨床情報が追加され、貴重な病原菌資源として多くの研究者に利用できる体制が整備されて、Web での公開が進んでいる。

1-2. 患者分離株の形態的、生理生化学的、遺伝学的な手法による同定

分離した糸状菌の菌株については、日本では形態観察や生理生化学的な観察を行わずに、遺伝学的手法での解析が中心で、その解析数は 200 株以上となっており、特に、血液検体から分離された *Fusarium* 菌株及び眼科検体からの分離株については ITS 領域の解析のみならず、D1/D2 及び EF-1 α 遺伝子の解析により同定が完了した。新たに「ブ」国側から提供された臨床分離株 36 株の遺伝学的解析も完了した。現在、「千葉大真菌セ」と「ブ」国の双方での論文作成を行っている。

1-3. 同定された真菌分離株の遺伝子型解析

「ブ」国から MTA で千葉大学に分与された 26 株の *Cryptococcus* 株と 30 株の *C. parapsilosis* 株については遺伝子解析による同定が終了した。*C. gattii* 株については、Multilocus Sequence Typing (MLST) の解析が新たに行われ、それにより「ブ」国において、はじめて高度病原性株である VGIIa (ST20) の遺伝子型の存在が確認され、ブラジルサイドにその情報を提供した。

1-4. 薬剤最適投与方法の検討

遺伝子解析によって同定して、種が確定した *Fusarium* 属菌 20 株と、26 株の *Cryptococcus* 属菌、さらに 30 株の *Candida parapsilosis* 菌について、E-test とドライブレートをを用いた薬剤感受性試験を行った。なお、これら研究結果を実地医療で臨床応用させるために、右分析結果をもとにしたカンピーナス大学付属病院における *Candida* 属による真菌症の「院内治療診断ガイドライン」の策定準備が進んでいる。

「院内治療診断ガイドライン」の策定は、本プロジェクトの協力範囲外の活動になるが、研究成果を臨床現場にフィードバックするための手段となり、臨床的有用性を確認するだけでなく、臨床成績の向上に資する取り組みである。

1-5. 真菌特性と感染源、病巣部位、検査データ及び免疫抑制状態などの患者データとの関連

DNA チップや遺伝子解析で、感染に関与した菌種が特定された *Candida* 属菌による深在性真菌感染症例については、「ブ」国の患者についての疫学的な解析のためのデータとして「ブ」国サイドに提供した。解析は「ブ」国で行なわれ、現在までに 100 例の解析が完了して、論文作成が行われている。

2. 真菌感染症の迅速診断法及び病原真菌株の同定法の「ブ」国での実用性の確認

2-1. DNA チップによる病原真菌の同定及びこれによる真菌症の診断

現在、24 菌属、47 菌種の病原真菌の同定が可能な DNA チップが作製されている。これまで、新たに作製した DNA チップを用いて、血液から分離された 173 株 *Candida* 属真菌の同定が行われており、その結果 conventional な同定法である VitecII と遺伝子解析との結果が一致することが明らかになった。特に *non-albicans Candida* については遺伝子解析と DNA チップに基づいた解析結果でも例外なく一致しており、DNA チップによる菌種の同定が現地でも有効であることが確認された。これらの成果については、2013 年 2 月に 2 報の論文が投稿された。

DNA チップの有効性の試験のために用いる臨床分離株をいかに安定して保存するかは重要なポイントである。この保存法を確立するための検討を進め、「ブ」国側では、よりコストが低く何度も利用可能な液体冷凍保存が主に行われ、日本側は凍結・L 乾燥で保存されることになった。

【 β グルカン測定キットによる真菌感染症の迅速診断】

機材供与が遅れていた β グルカン測定機器の到着をもって、「ブ」国での臨床サンプルからの β グルカンの測定が急ピッチに進んでいる。カンピーナス大学付属病院集

中治療室のカンジダ血症が疑われる患者の β グルカン値などのバイオマーカーを解析し、現在 50 名の患者データを集積中である。また、真菌症患者の血清を用いて市販の β グルカン測定キット (Fungitell と Fungitec の 2 種) の性能比較分析が日本と「ブ」国で分担して行うことになっていたが、日本での試薬が急遽販売中止となったことから、最終的には、「ブ」国での結果で得られた成果で論文を作成することになった。

2-2. リアルタイム PCR 及び LAMP 法による真菌症の診断・原因菌の同定

本プロジェクトで導入された真菌感染症診断のための病原性真菌同定法の普及については、短期在外研究員により「ブ」国への技術移転が進行し、それらに基づく新しい応用研究も「ブ」国側の研究者によって開始されるなど、着実に成果が上がっている。基本的な成果については論文を作成中である。

2-3. 真菌感染症診断のための病原性真菌同定法の普及

「ブ」国内の免疫不全患者から分離した *Fusarium* 菌を対象に、リアルタイム PCR 法による迅速診断法の開発を行った。特に新たに作製した PCR プライマー及びプローブについて *Fusarium* 菌種以外の真菌を検出しないことを確認し、その有効性が確認できた。特に、「ブ」国において最も多く分離される *F. solani* species complex (FSSC) 菌を 35 株用いた実験において、その有効性が確認できたが、例外的に *F. lunatum* の菌種も検出されることも明らかとなった。さらに「ブ」国内で患者から分離された *Fusarium* 菌の 51 株を対象にリアルタイム PCR 法による同定を行った。その結果、48 株が FSSC *Fusarium* 菌として、また 3 株が非 FSSC *Fusarium* 菌に同定され、これらの同定結果は遺伝子解析による同定結果とすべて一致した。さらに「ブ」国側から提供された新しい臨床分離株 36 株のリアルタイム PCR での同定も 2012 年の末に完了している。

LAMP 法を用いた真菌の菌種の迅速同定法については、主要な真菌症の起因菌で、その治療が困難な感染症を起こす *Aspergillus fumigatus* と *A. terreus*, *A. niger*, *A. flavus* を特異的に検出するプライマーを設計して、その有用性が確認された。

LAMP 法については供与資材の導入と実験環境作り及び「ブ」国での技術移転講習の結果、「ブ」国においても LAMP 法を用いた遺伝子同定法の研究・開発環境が整った。現在、「ブ」国において *Fusarium* 及び *Aspergillus* 属菌の新規プライマーの有用性を検証中である。また、Plínio Trabasso 准教授が中心となってカンピーナス大学附属病院内で *Fusarium* 及び *Aspergillus* 属菌以外で問題となっている真菌症原因菌を調査している。それらの中で Zygomycetes 関連菌種についても検出用のプライマーを作製することになっている。また、「ブ」国側では、習得した LAMP 法の技術を細菌の薬剤耐性遺伝子の検出にも用いることができないか新たな研究分野への展開も検討され始めている。ブラジルも含めてポルトガル圏での技術移転を容易にするため、リアルタイム PCR、DNA チップに関するポルトガル語テキストが作成された (2013 年 3 月)。本テキストシリーズでは、初期の計画ではなかった MIC 測定法のテキストも追加で作成された。

4. 2. 各共同研究課題の成果

2011 年 11 月 23 日に開催された第二回 JCC 会合において日伯間で合意された共同研究項目で、合意文書 (MM) に記載されている事項について、それらの項目ごとに具体的な研究の現況や成果がわかるように、原著論文の作成状況も含めて、簡潔に纏めてものを下述する。

(1) 「ブ」国でカンジダ症患者から分離された *Candida* spp. の DNA チップ法を用いた診断・同定法の開発

I: 分担状況: 2006 年から 2011 年に患者血液から分離された 173 株の *Candida* spp. について

- i) 遺伝子解析により 56 株の菌種が同定された (双方の研究者により)。残りの 117 株はわが国と「ブ」国が 3 : 1 の割合で分け合って解析した (117 株

- は MTA 締結後にわが国に移送)。2012 年中に全ての解析が完了した。
- ii) DNA チップ：(技術移転完了)。新しい「ブ」国版の DNA チップが作製され、その有効性が確認された。
 - iii) 薬剤の感受性：143 株がブ国で、残りの 30 株も「ブ」国で行った（現在、論文作成中）。
- II: 研究成果：DNA チップの基礎論文は 2013 の 2 月に投稿した。また応用論文は 2013 年 2 月に投稿した

(2) カンジダ血症の患者から継続的に分離される患者の臨床的及び疫学的研究と分離株の薬剤感受性

- I: 分担状況：2010 年までに患者血液から 2 菌種以上の真菌が分離された 13 人の患者について
- i) 13 人の患者よりの 28 株の菌種が遺伝子解析により同定された（千葉大真菌セの研究者により）。残り 3 株の解析も千葉大で行った。
 - ii) 21 株の真菌の薬剤感受性試験が完了：「ブ」国で、残り 7 株の解析も「ブ」国で。
- II: 研究成果：論文は 2012 に論文発表済み
- (3) 過去 5 年間のカンジダ症の調査 (329 患者の調査)
- I: 分担状況：2006 から 2010 年までの免疫抑制及び非免疫抑制患者の記録の調査
- i) 266 人が完了(「ブ」国で追加を検討)。
- II: 研究成果：論文は「ブ」国で作成中
- (4) 集中治療室において真菌症患者の血清を用いた市販のβグルカン測定キットの性能比較
- I: 分担状況：ブ国の患者血清での比較
- i) Fungitell Associate Cape Cod での解析（「ブ」国）。
 - ii) Fungitec Gtest MK の解析（日本での試薬販売が中止となり、比較研究を中止）。
- II: 研究成果：論文の作成「ブ」国で投稿
- (5) 集中治療室においてカンジダ血症が疑われ患者の免疫応答 (Th1,Th2,Th17) の解析とβグルカン値やリアルタイム PCR での真菌遺伝子検出などのバイオマーカー解析
- I: 分担状況：「ブ」国の患者データ解析
- i) 7 人の患者データが完了、50 人の患者データが集積中、2011 年 12 月までにさらに 30 人、2012 年 7 月までに 10 人が追加された(「ブ」国)。
 - ii) PCR 解析用のサンプルの一部が逸失したが、残ったサンプルでデータの解析中（「ブ」国）。
- II: 研究成果：論文の作成中(「ブ」国)。
- (6) Candida glabrata によるカンジダ血症患者解析
- I: 分担状況：303 カンジダ血症患者から 33 *C. glabrata* 感染患者の解析
- i) 患者情報の解析と(「ブ」国)、33 菌種の菌種の同定(日本側)と 3 種の培地を用いた薬剤感受性試験が完了(「ブ」国)。
- II: 研究成果：論文の作成中「ブ」国)。
- (7) 全身性 Fusarium 感染症患者（血液悪性腫瘍患者及び免疫不全患者など）の臨床情報の解析とその原因菌種の解析と薬剤感受性試験
- I: 分担状況：「ブ」国での 13 名の患者と分離菌の解析
- i) 13 名の患者情報が集積され、日本側で作製された新規リアルタイム PCR での菌種 (*Fusarium solani* species complex) の遺伝子解析が完了(リアルタイム PCR 操作技術の移転完了)。
 - ii) 薬剤感受試験が終了。
- II: 研究成果：数名の新規患者情報を含めて、論文の作成中(「ブ」国)
- (8) 眼科 Fusarium 感染症患者（血液悪性腫瘍患者及び免疫不全患者など）の患者情報解析

とその原因菌の解析と薬剤感受性試験

- I: 分担状況：「ブ」国での 83 人の患者から分離された菌種と患者情報解析
- i) 74 株の *Fusarium* 菌株と 9 株の *Collectotrichum* 菌株の解析完了。
 - ii) 薬剤感受性試験が終了(Natamicin に対する薬剤感受性を追加)。
- II: 研究成果：論文の作成中(「ブ」国)。
- (9) 院内環境及び病院周辺の植物から分離された *Fusarium* の解析
- I: 分担状況：環境からの *Fusarium* 菌の分離作業
- i) 12 の環境中からの真菌の分離を decantation method で開始(「ブ」国)。
 - ii) 4 台の air sampler での分離方法の改良(日本側担当者による)。
 - iii) *Fusarium* 菌種の選択的分離培地の考案とその応用。
- II: 研究成果：感染に関与すると想定される菌種の分離に成功。一部は論文作成中
- (10) *Cryptococcus* 症患者から分離された菌株の解析
- I: 分担状況：「ブ」国での 2009 年～2010 年に分離された 26 名の患者から分離された菌種と患者情報解析
- i) 23 株の *C. neoformans* var. *grubii* 菌株と 2 株の *C. gatti* の患者情報解析が完了(「ブ」国)。
 - ii) 菌種の同定(日本)、薬剤感受性(「ブ」国)は完了、菌株の遺伝子解析(日本側で)、特に 30 株について、MTA を締結して日本に移送。解析が完了。
- II: 研究成果：2012 年の国際シンポジウムで成果を発表
- (11) 免疫不全患者における食道カンジダ症
- I: 分担状況：「ブ」国での患者から分離
- i) 分離菌の DNA チップによる菌種同定と薬剤感受性試験を完了(「ブ」国)。
担当者が他施設に勤務先を変えたため、一時的に研究が中止したが、新たに日系の医師が研究に参加して、研究が進展した。食道分離の菌株について、DNA チップでの同定が進んだ。
- II: 研究成果：カンジダ症の原因菌の解明に関する成果を国際シンポジウムで発表
- (12) 患者(生存中)からの新たに分離された *Zygomycetes* 菌の BCT による治療を目的とした薬剤感受性の検討
- BCT (バイオセルトレーサー) の使用法の技術移転が完了。前のプロジェクトで購入した機器を使用していることから、機器の故障があったが、その都度専門家が対応して、順調に成果が得られている。修士論文などの作成が進行中。
- (13) AIDS 患者における肺真菌症診断
- 2012 年にブ国の倫理委員会の承諾が得られて実験が開始された。血液中の β -グルカン値測定と真菌抗原の検出実験が行われている。
- (14) 骨髄移植患者における真菌症の LAMP 法による原因菌の解析
- 本プロジェクトの開始後に「ブ」国の倫理委員会の承認を得てからの新しいプロジェクトとして、研究が開始され、本プロジェクトの終了後も共同研究として研究が行われることになった。

4. 3. 今後期待される効果

DNA チップを用いて特殊な機器を用いることなく病原真菌を肉眼的に同定する技術は、千葉大真菌セが日本の企業と共同で開発した新しい技術であり、この方法は、他の感染症分野においても、利用されることが期待できる。特に本プロジェクトを通して、この DNA チップの発色などに利用する試薬が「ブ」国において供給体制が確立できたことは、極めて重要であり、輸入に比して安価に購入できることから本チップが継続的に利用されるようになることが期待されている。リアルタイム PCR については、世界的にも多くの感染症の診断に利用が始まっており、「ブ」国のカンピーナス大学が最先端研究を行うためには必須な機器であり、その技術移転の効果は「ブ」国カンピーナス大学の感染症を中心とした分野

の研究能力の向上に役立つものと期待されている。LAMP 法は、わが国独自の技術でその幅広い応用が「ブ」国においても検討されているが、特に、その利用のために必要な多くの試薬も、本プロジェクトを通して、現地での供給が可能であることが確認された。本発見は重要で、その結果、本技術が「ブ」国においても今後、広く利用されることが期待できるようになったと思われる。同大学の医師及びスタッフが研究熱心であることから、習得したわが国の技術を、より現地の状態の変化に合わせて工夫を重ね、より「ブ」国に則した形に改良することも期待される。このように本プロジェクトの相手機関であるカンピーナス大学感染症科のスタッフに対する教育及び機器の導入により、最先端の真菌症診断が可能となっている。特に、今回のプロジェクトには、容易に持ち運びできるもの、特別な機器を必要としないものなどが診断機器として多く含まれており、今後、同大学を中心とする医療地域、関連した中南米諸国、さらにはポルトガル語圏アフリカ諸国などへの普及と、これに伴う真菌症診療レベルの高度化、患者 QOL の向上等が期待される。

科学技術力の向上は、科学立国としてのわが国においては大きな課題であるが、「ブ」国においても重要政策のひとつであり、カンピーナス大学は地域の拠点機関としての成長が益々期待できる大学である。「ブ」国は WHO が定める結核の高蔓延国の 22 カ国の一つであり、HIV 感染の蔓延と相俟って、結核感染は深刻な問題となっている。本プロジェクトにおいても結核の合併症としての真菌感染対策はさらなる課題として要望された課題である。この問題は、「ブ」国だけの問題ではなく、中南米地域及びアフリカ諸国にも共通する課題である。

本プロジェクトでは、「ブ」国のカンピーナス大学における真菌感染症の状況を把握できたが、今回のプロジェクトで得られた成果をさらに浸透させるためには、カンピーナス大学が「南米の真菌感染症研究の地域拠点」として発展していくことが必要であると「ブ」国からも強い提案があり、日本からの支援が強く求められている。

§ 5 成果発表等

(1) 原著論文発表

① 発表総数 (国内 6、国際 14 件)

【published】

- (1) Zhu J, Kang Y, Uno J, Taguchi H, Liu Y, Ohata M, Tanaka R, Moretti ML, Mikami Y: Comparison of genotypes between environmental and clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* based on microsatellite patterns. *Mycopathologia* 169(1), 47-55, 2010. [IF: 1.654](#)
- (2) Girish Kumar CP, Prabu D, Mitani H, Mikami Y, Menon T: Environmental isolation of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* from living trees in Guindy National Park, Chennai, South India. *Mycoses* 53(3), 262-4. 2010. [IF: 2.247](#)
- (3) Ohji G, Kikuchi K, Inoue K, Imoto K, Yamamoto S, Hosokawa N, Kamei K, Iwata K: Progressive disseminated histoplasmosis in an immunocompetent patient as an under-recognized imported mycosis in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy* 16 (6), 443-445, 2010. [IF: 1.816](#)
- (4) Kamei K: Coccidioidomycosis and paracoccidioidomycosis. *Nippon Rinsho. Japanese Journal of Clinical Medicine* 68 Suppl 6, 267-270. 2010. [IF: なし](#)
- (5) Oarada M, Igarashi M, Tsuzuki T, Kamei K, Hirasaka K, Nikawa T, Miyazawa T, Nakagawa K, Gono T: Effects of a high-protein diet on host resistance to *Paracoccidioides brasiliensis* in mice. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 74 (3), 620-626, 2010. [IF: 1.276](#)
- (6) Shimizu K, Li H-M, Virtudazo EV, Watanabe A, Kamei K, Yamaguchi M, Kawamoto S: Deletion of *CnLIG4* DNA ligase gene in the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* elevates homologous recombination efficiency. *Mycoscience* 51 (1), 28-33. 2010. [IF: 1.212](#)
- (7) Takayama A, Itano E N, Sano A, Ono M A, Kamei K: An atypical *Paracoccidioides*

- brasiliensis* clinical isolate based on multiple gene analysis. Medical Mycology 48 (1), 64-72, 2010. [IF: 2.457](#)
- (8) Virutudazo EV, Kawamoto S, Ohkusu M, Aoki S, Sipiczki M, Takeo K: The single Cdk1-G1 cyclin of *Cryptococcus neoformans* is not essential for cell cycle progression but has important roles in the proper commitment to DNA synthesis and bud emergence in this yeast. FEMS Yeast Research 10 (5), 605-618, 2010. [IF: 2.403](#)
- (9) Yamaguchi M, Ikeda R, Nishimura M, Kawamoto S: Localization by scanning immunoelectron microscopy of triosephosphate isomerase, the molecules responsible for contact – mediated killing of *Cryptococcus*, on the surface of *Staphylococcus*. Microbiology and Immunology 54, 368-370, 2010. [IF: 1.304](#)
- (10) Li H-M, Virtudazo EV, Toh-e A, Yamaguchi M, Kawamoto S, Shimizu K: Non-homologous end joining pathway of the human pathogen *Cryptococcus neoformans* influences homologous efficiency but not virulence. Mycoscience 51, 272-280, 2010. [IF: 1.212](#)
- (11) Abe F, Ohkusu M, Kubo T, Kawamoto S, Sone K, Hata K: Isolation of yeasts from palm tissues damaged by the red palm weevil and their possible effect on the weevil over wintering. Mycoscience 51, 215-223, 2010. [IF: 1.212](#)
- (12) Matsuzawa T, Tanaka R, Horie Y, Gono T, Yaguchi T: Development of rapid and specific molecular discrimination methods for pathogenic *Emericella* species. Japanese Journal of Medical Mycology 51, 109-116, 2010. [IF: なし](#)
- (13) Takeda K, Kang Y, Yazawa K, Gono T, Mikami Y: Phylogenetic studies of genus *Nocardia* species based on *gyrB* gene analyses. Journal of Medical Microbiology 59, 165-171, 2010. [IF: 2.502](#)
- (14) Virtudazo EV, Suganami A, Tamura Y, Kawamoto S: Towards understanding cell cycle control in *Cryptococcus neoformans*: Structure-function relationship of G1 and G1/S cyclins homologue CnCl1. Biochemical and Biophysical Research Communications 416(1-2), 217-221, 2011. [IF: 2.484](#)
- (15) Matsumoto Y, Miyazaki S, Fukunaga D-H, Shimizu K, Kawamoto S, Sekimizu K: Quantitative evaluation of cryptococcal pathogenesis and antifungal drugs using a silkworm infection model with *Cryptococcus neoformans*. Journal of Applied Microbiology 112(1), 138-146, 2011. [IF: 2.337](#)
- (16) Biancalana FSC, Lyra L, Moretti ML, Kamei K, Schreiber AZ: Standardization of hyphal growth inhibition rate as a means of evaluating *Microsporium* spp. In vitro susceptibility to terbinafine, griseofulvin, and ciclopiroxolamine. Mycopathologia, DOI 10.1007/s11046-011-9433-7, 2011. [IF: 1.654](#)
- (17) Biancalana FSC, Lyra L, Moretti LM, Schreiber AZ: Susceptibility testing of terbinafine alone and in combination with amphotericin B, itraconazole, or voriconazole against conidia and hyphae of dematiaceous molds. Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases 71(4), 378-385, 2011. [IF: 2.528](#)
- (18) Imai K, Koibuchi T, Kikuchi T, Koga M, Nakamura H, Miura Tohru Gono T, Yazawa K, Iwamoto A, Fujii T: Pulmonary nocardiosis caused by *Nocardia exalbida* complicating Pneumocystis pneumonia in an HIV-infected patient. Journal of Infection and Chemotherapy 17, 547-51, 2011. [IF: 1.796](#)
- (19) Tamura T, Matsuzawa T, Oji S, Ichikawa N, Hosoyama A, Katsumata H, Yamazoe A, Hamada M, Suzuki K, Gono T, Fujita N: A genome sequence-based approach to taxonomy of the genus *Nocardia*. Antonie van Leeuwenhoek, DOI 10.1007/s10482-012-9780-5, 2012. [IF: 2.091](#)
- (20) Moretti LM, Trabasso P, Lyra L, Fagnani R, Resende MR, Cardoso LGO, Schreiber AZ: In the incidence of candidemia caused by *Candida glabrata* increasing in Brazil? Five-year surveillance of *Candida* bloodstream infection in a university reference hospital in southeast Brazil. Medical Mycology, 51(3), 225-30, 2013. [IF: 2.457](#)

(2) 研修コースや開発されたマニュアル等

- ① 研修コース概要 (コース目的、対象、参加資格等)、研修実施数と修了者数

わが国での「ブ」からの研修生に行うことが予定されていた研修コースが、測定機器の「ブ」国の搬入が遅れたため、カンピーナス大学で β グルカンの測定に関する研修コースが急きょ設けられた。参加資格は、本プロジェクトに参加している医師、研究者などで、講師はすでに「ブ」国で測定機器の使用を行っていた研究者と機器販売会社の担当者。

② 開発したテキスト・マニュアル類

高度な分子生物学的な手法の導入には、多くの基礎知識と熟練した技術者の存在が必要であるが、必ずしも十分な人材の確保が可能であるとは限らない、想像できない結果となることも多い。本プロジェクトにおいても、訓練された担当者以外に院生などが参加することから、真菌や、DNA の取り扱い、DNA 解析や実験を行うための基礎的な取り扱いなどを詳細に記載した入門書(マニュアル)を作成して、その都度配布してきた。

(3) その他の著作物 (総説、書籍など)

ポルトガルのテキスト :

Manuais Tecnicos Aprimorando o diagnostico laboratorial das infeccoes fungicas

- ① Manual: Metodo de identificacao do complexo de especies “*Fusarium solani*”(FSSC) atraves da PCR em Tempo Real
- ② Manual: Metodo para identificacao de Fungos Patogenicos principalmente *Fusarium* e *Aspergillus*, atraves do Metodo LAMP
- ③ Manual: Protocolo de observacao visual do DNA Array
- ④ Manual: Avaliacao da susceptibilidade aos antifungicos de isolados clinicos de leveduras e fungos filamentosos pela tecnica de microdilucioe em caldo
- ⑤ Manual: PROJETOS BIOMARCADORES: GALACTOMANANA E 1-3 β -D GLUCANA

(4) 国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 8 件、国際会議 26 件)

- (1) 芝崎あずさ、大楠悦子、矢澤勝清、矢口貴志、Larissa Anuska Zeni Condas、Marcio Garcia RIBEIRO、五ノ井透： ブラジルにおいて分離された病原性放線菌の分類学的研究. 日本放線菌学会大会、東京、2010.9.2-3.
- (2) 松澤哲宏、大楠悦子、矢澤勝清、芝崎あずさ、矢口貴志、Larissa Anuska Zeni Condas、Marcio Garcia RIBEIRO、五ノ井透： ブラジルにおいて分離された病原性放線菌の分類学的研究. 日本細菌学会関東支部会、東京、2010.10.21-22.
- (3) Kanae Sakai, Motoko Oarada, Tohru Gono: アスペルギルス症原因菌 *Aspergillus fumigatus* におけるレクチンの機能解析 -Functional analysis of lectins in oppatinistic pathogene, *Aspergillus fumigatus*-、糸状菌分子生物学カンファレンス、Hiroshima、2010.11.6-7.
- (4) Azusa Shibazaki, Hiroaki Tateno, Jun Hirabayashi, Tohru Gono: Profiling of fungal cell-surface carbohydrates using a lectin microarray technique. Annual Conference of the Society for Glycobiology. TradeWinds Island Grand Resort, FL. November 7-10. 2010.
- (5) 田口英昭、渡辺哲、佐藤綾香、Maria Luiza Moretti、Park Jong Chul、亀井克彦：接合菌に対する Epigallocatechin-3-O-gallate と各種抗真菌薬の協調作用に関する基礎的研究. 第 22 回日本臨床微生物学会、岡山、2011.1.8.
- (6) 大楠美佐子、竹川啓史、大楠清文、川本進：国内感染患者から分離された *Cryptococcus gattii* の MLST による遺伝子型解析. 第 32 回関東医真菌懇話会. シンポジウム「難治性真菌症の病態解明と制御法」東京、2011.5.21.
- (7) Susumu Kawamoto, Eric Virtudazo, Misako Ohkusu, Yutaka Tamura, Tomoko Sonoda, Satoshi Miura, Kanji Takeo: Towards understanding of cell cycle control in pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. The 2nd Symposium on Microbial Engineering between Kyoto University–Kyungpook National University, Daegu,

- Korea, June 21, 2011.
- (8) Susumu Kawamoto, Eric Virtudazo, Misako Ohkusu, Yutaka Tamura, Tomoko Sonoda, Satoshi Miura, Kanji Takeo: Towards understanding cell cycle regulation in medically-important pathogenic yeast, *Cryptococcus neoformans*. 2011 International Symposium & Annual Meeting of the Korean Society for Microbiology and Biotechnology) “Translational Research in Microbiology and Biotechnology”, Gyeongju, Korea, June 22-24, 2011.
 - (9) Maria Luiza Moretti: Manejo Clínico do Paciente com *Criptococose*. The 47th Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Pirâmide Natal Resort e Convention – Rio Grande do Norte – Brazil, 2011.3.26
 - (10) Maria Luiza Moretti: Novas Perspectivas do Tratamento Antifúngico. The 47th Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Pirâmide Natal Resort e Convention – Rio Grande do Norte – Brazil, 2011.3.26.
 - (11) Plínio Trabasso: Novas Perspectivas do Tratamento Antifúngico, com tema: “*Associação de Antifúngicos*”. XLVII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Pirâmide Natal Resort e Convention–Rio Grande do Norte–Brazil, 2011.3.26.
 - (12) Maria Luiza Moretti: The Role of Molecular Epidemiology in Fungal Infections. XV Pan American Congress of Infectious Diseases, Punta del Este, Uruguay, 2011.4.8.
 - (13) Maria Luiza Moretti: The best of the year in Mycosis. XV Pan American Congress of Infectious Diseases, Punta del Este, Uruguay, 2011.4.11.
 - (14) Plínio Trabasso: Alterações Imunes no Paciente Transplantado. I Jornada de Imunização em Gropos Especiais do HC–UNICAMP, Brazil, 2011.6.3.
 - (15) Maria Luiza Moretti: Diagnóstico Laboratorial em Infectologia. XVII Congresso Brasileiro de Infectologia, na cidade de Brasília–Brasil, 2011.8.28.
 - (16) Maria Luiza Moretti: A importância dos fungos nas infecções hospitalares. VI Seminário de Resistência Bacteriana e V Seminário de Resistência Microbiana, Hospital São Rafael-Salvador–Brasil, 2011.11.5.
 - (17) Maria Luiza Moretti: Micoses Endêmicas-Uma Questão Negligenciada. Doenças Transmissíveis de Interesse em Saúde Pública na Região de, Hospital de Clínicas-UNICAMP-Campinas– Brasil, 2011.11.11.
 - (18) Maria Luiza Moretti: Tratamento das infecções fúngicas em UTI e Oncologia –o que e como escolher. III Congresso Norte Nordeste de Epidemiologia e Infecção Hospitalar, Hotel Parque dos Coqueiros, Aracaju –Sergipe– Brasil, 2011.12.10.
 - (19) 川本進 (千葉大学) : 病原性出芽酵母 *Cryptococcus neoformans* 細胞周期制御機構の解明に向けて. Basic Science Joint Meeting、千葉大学医学研究院、千葉、2011.12.2.
 - (20) 川本進 (千葉大学) : 病原性出芽酵母 *Cryptococcus neoformans* “細胞周期エンジン” の分子機能解析. 第181回酵母細胞研究会、横浜、2011.12.2.
 - (21) Maria Luiza Moretti: Mofulo Antifúngicos Anfotericina B em Evidência、8th Congresso Paulista de Infectologia, Campos do Jordão-SP, Brazil, 2012.5.16.
 - (22) Maria Luiza Moretti: Monoterapia ou terapia combinada no tratamento de Biofilmes, 8th Congresso Paulista de Infectologia, Campos do Jordão-SP, Brazil, 2012.5.16.
 - (23) Maria Luiza Moretti: *Criptococose Garrii*: Aspectos Epidemilógicos e seu Impacto Clínico, 8th Congresso Paulista de Infectologia, Campos do Jordão-SP, Brazil, 2012.5.19.
 - (24) Maria Luiza Moretti: AIDS/Infecções Imunocomprometidos/Não AIDS, 8th Congresso Paulista de Infectologia, Campos do Jordão-SP, Brazil, 2012.5.18.
 - (25) Maria Luiza Moretti: Identificação Molecular de Leveduras Não-C. Albicans Isoladas de Hemaculturas, Utilizando as Técnicas de Microarranjo e Sequenciamento de DNA, 8th Congresso Paulista de Infectologia, Campos do Jordão-SP, Brazil, 2012.5.19.
 - (26) 大楠美佐子、大楠清文、川本進 : 世界および日本における *Cryptococcus gattii*

の環境について。第 56 回日本医真菌学会総会・シンポジウム「真菌の生態学」、東京、2012.11.10.11.

- (27) Yuzuru Mikami: Multilocus microsatellite (MLMT) typing as a useful characterization method of *Cryptococcus* strains, International Forum: New diagnostic approaches in the management of fungal infections in AIDS and other immunocompromised patients, Sao Paulo, Brazil, 2012.11.22-23.
 - (28) Maria Luiza Moretti: 1-3 β -D-glucan and galactomanan in the diagnosis of fungal infections in immunocompromised patients. International Forum: New diagnostic approaches in the management of fungal infections in AIDS and other immunocompromised patients, Sao Paulo, Brazil, 2012.11.22-23.
 - (29) Angelica Schreiber: New approaches in the study of antifungal susceptibility testing, International Forum: New diagnostic approaches in the management of fungal infections in AIDS and other immunocompromised patients, Sao Paulo, Brazil, 2012.11.22-23.
 - (30) Plinio Trabasso: Loop-mediated isothermal PCR (LAMP) in the diagnosis of fusariosis and invasive candidiasis. International Forum: New diagnostic approaches in the management of fungal infections in AIDS and other immunocompromised patients, Sao Paulo, Brazil, 2012.11.22-23.
 - (31) Tohru Gono: Microarray as a tool for the diagnosis of invasive fungal infection, International Forum: New diagnostic approaches in the management of fungal infections in AIDS and other immunocompromised patients, Sao Paulo, Brazil, 2012.11.22-23.
 - (32) Katsuhiko Kamei: Pulmonary fungal infections in immunocompromised patient, International Forum: New diagnostic approaches in the management of fungal infections in AIDS and other immunocompromised patients, Sao Paulo, Brazil, 2012.11.22-23.
 - (33) Susumu Kawamoto: Multilocus sequence typing (MLST) analysis of *Cryptococcus gattii* isolated in Brazil, International Forum: New diagnostic approaches in the management of fungal infections in AIDS and other immunocompromised patients, Sao Paulo, Brazil, 2012.11.22-23.
 - (34) Mariangela Resende: Fungal infections in transplant patients and patients under anti-lymphocyte antibody therapy, International Forum: New diagnostic approaches in the management of fungal infections in AIDS and other immunocompromised patients, Sao Paulo, Brazil, 2012.11.22-23.
- ② 口頭発表 (国内会議 7 件、国際会議 13 件)
- (1) 芝崎あずさ、大楠悦子、矢澤勝清、矢口貴志、Larissa Anuska Zeni Condas, Marcio Garcia RIBEIRO、五ノ井透：ブラジルにおいて分離された病原性放線菌の分類学的研究。日本放線菌学会大会、東京、2010.9.2-3.
 - (2) 松澤哲宏、大楠悦子、矢澤勝清、芝崎あずさ、矢口貴志、Larissa Anuska Zeni Condas, Marcio Garcia RIBEIRO, 五ノ井透：ブラジルにおいて分離された病原性放線菌の分類学的研究。日本細菌学会関東支部会、東京、2010.10.21-22.
 - (3) Kanae Sakai, Motoko Oarada, Tohru Gono: アスペルギルス症原因菌 *Aspergillus fumigatus* におけるレクチンの機能解析 -Functional analysis of lectins in opportunistic pathogene, *Aspergillus fumigatus*-、糸状菌分子生物学カンファレンス、Hiroshima、2010.11.6-7.
 - (4) Azusa Shibasaki, Hiroaki Tateno, Jun Hirabayashi, Tohru Gono: Profiling of fungal cell-surface carbohydrates using a lectin microarray technique. Annual Conference of the Society for Glycobiology. TradeWinds Island Grand Resort, FL. November 7-10. 2010.
 - (5) 田口英昭、渡辺哲、佐藤綾香、Maria Luiza Moretti、Park Jong Chul、亀井克彦：接合菌に対する Epigallocatechin-3-O-gallate と各種抗真菌薬の協調作用に関する基礎的研究。第 22 回日本臨床微生物学会、岡山、2011.1.8.

- (6) 大楠美佐子、竹川啓史、大楠清文、川本進: 国内感染患者から分離された *Cryptococcus gattii* の MLST による遺伝子型解析. 第 32 回関東医真菌懇話会. シンポジウム「難治性真菌症の病態解明と制御法」 東京、2011.5.21.
 - (7) Maria Luiza Moretti: Manejo Clínico do Paciente com Criptococose. The 47th Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Pirâmide Natal Resort e Convention – Rio Grande do Norte – Brazil, 2011.3.26.
 - (8) Maria Luiza Moretti: Novas Perspectivas do Tratamento Antifúngico. The 47th Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Pirâmide Natal Resort e Convention – Rio Grande do Norte – Brazil, 2011.3.26.
 - (9) Plínio Trabasso: Novas Perspectivas do Tratamento Antifúngico, com tema: “Associação de Antifúngicos”. XLVII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Pirâmide Natal Resort e Convention–Rio Grande do Norte–Brazil, 2011.3.26.
 - (10) Maria Luiza Moretti: The Role of Molecular Epidemiology in Fungal Infections. XV Pan American Congress of Infectious Diseases, Punta del Este, Uruguay, 2011.4.8.
 - (11) Maria Luiza Moretti: The best of the year in Mycosis. XV Pan American Congress of Infectious Diseases, Punta del Este, Uruguay, 2011.4.11.
 - (12) Plínio Trabasso: Alterações Imunes no Paciente Transplantado. I Jornada de Imunização em Gropos Especiais do HC–UNICAMP, Brazil, 2011.6.3.
 - (13) Maria Luiza Moretti: Diagnóstico Laboratorial em Infectologia. XVII Congresso Brasileiro de Infectologia, na cidade de Brasília–Brasil, 2011.8.28.
 - (14) Maria Luiza Moretti: A importância dos fungos nas infecções hospitalares. VI Seminário de Resistência Bacteriana e V Seminário de Resistência Microbiana, Hospital São Rafael-Salvador–Brasil, 2011.11.5.
 - (15) Maria Luiza Moretti: Micoses Endêmicas-Uma Questão Negligenciada. Doenças Transmissíveis de Interesse em Saúde Pública na Região de, Hospital de Clínicas-UNICAMP-Campinas– Brasil, 2011.11.11.
 - (16) Maria Luiza Moretti: Tratamento das infecções fúngicas em UTI e Oncologia –o que e como escolher. III Congresso Norte Nordeste de Epidemiologia e Infecção Hospitalar, Hotel Parque dos Coqueiros, Aracaju –Sergipe– Brasil, 2011.12.10.
 - (17) Susumu Kawamoto, Eric Virtudazo, Misako Ohkusu, Yutaka Tamura, Tomoko Sonoda, Satoshi Miura, Kanji Takeo: Towards understanding of cell cycle control in pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. The 2nd Symposium on Microbial Engineering between Kyoto University–Kyungpook National University, Daegu, Korea, June 21, 2011.
 - (18) Susumu Kawamoto, Eric Virtudazo, Misako Ohkusu, Yutaka Tamura, Tomoko Sonoda, Satoshi Miura, Kanji Takeo: Towards understanding cell cycle regulation in medically-important pathogenic yeast, *Cryptococcus neoformans*. 2011 International Symposium & Annual Meeting of the Korean Society for Microbiology and Biotechnology) “Translational Research in Microbiology and Biotechnology”, Gyeongju, Korea, June 22-24, 2011.
 - (19) 川本進 (千葉大学) : 病原性出芽酵母 *Cryptococcus neoformans* 細胞周期制御機構の解明に向けて. Basic Science Joint Meeting、千葉大学医学研究院、千葉、2011.12.2.
 - (20) 川本進 (千葉大学) : 病原性出芽酵母 *Cryptococcus neoformans* “細胞周期エンジン” の分子機能解析. 第 181 回酵母細胞研究会、横浜、2011.12.2.
- ③ ポスター発表 (国内会議 4 件、国際会議 27 件)
- (1) Yasunori Muraosa, Plínio Trabasso, Maria Luiza Moretti, Katsuhiko Kamei: Development of the Real-time PCR System to Detect *Fusarium* Species and identify *Fusarium solani* species complex (FSSC) from clinical samples. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo Japan, 2011, 9, 6-10.
 - (2) Yingqian Kang, Chethrapilly Purushothaman Girish Kumaru, Thangam Menon, D Prabu, Takashi Suguta, Yuzuru Mikami, Tohru Gono: *Cryptococcus cassiae* sp. nov.,

- a basidiomycetous yeast isolated from bark debris of a cinnamon tree in India. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo Japan, 2011, 9, 6-10.
- (3) Mojgan Aminnejad, Rosemary Handke, Joseph Torres-Rodriguez, Alicia Arechavala, Marcia Lazera, Yuzuru Mikami, David Ellis, Wieland Meyer: Identification of new serotype AD VNII/VNIV hybrids of *Cryptococcus neoformans*. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo Japan, 2011, 9, 6-10.
 - (4) Susumu Kawamoto, Eric Virtudazo, Misako Ohkusu, Yutaka Tamura, Kiminori Shimizu, Masashi Yamaguchi, Kanji Takeo: Characterization of Cell Cycle Control Genes in *Cryptococcus neoformans*. 8th International Conference on *Cryptococcus* and Cryptococcosis (ICCC8) (May 1-5, 2011), (Charleston, South Carolina, USA).
 - (5) Misako Ohkusu, Eric Virtudazo, Takafumi Sato, Kiminori Shimizu, Akio Toh-e, Masashi Yamaguchi, Susumu Kawamoto: *Cryptococcus neoformans* Wee1 kinase has an important role in controlling G2-M checkpoint. International Union of Microbiological Societies Congress, Sapporo, Japan, 2011, 9, 6-10.
 - (6) 村長保憲, Plínio Trabasso, Angélica Zaninelli Schreiber, 田口英昭, Maria Luiza Moretti, 亀井克彦: *Fusarium* 属菌及び *Fusarium solani* species complex (FSSC)を検出・同定するリアルタイム PCR 法の開発研究. 第 55 回日本医真菌学会学術集会、東京、2011.10.21-22.
 - (7) Susumu Kawamoto, Eric Virtudazo, Misako Ohkusu, Yutaka Tamura, Maria Luiza Moretti, Kanji Takeo: Molecular and Functional Characterization of Two Key Players (Cyclin and Cyclin-dependent kinase 1) of Cell Cycle Control Genes in Pathogenic Yeast, *Cryptococcus neoformans*. 第 84 回日本生化学会大会, Kyoto, 2011.9.21-24.
 - (8) Maria Luiza Moretti, Plínio Trabasso, Luzia Lyra, Renata Fagnani, Mariangela Riberiro Resende, Luís Felipe Bachur, Luis Gustavo de Oliveira Cardoso, Angélica Zaninelli Schreiber: Is the incidence of candidaemia caused by *Candida glabrata* increasing in Brazil?, five-year surveillance of *Candida* bloodstream infection in a university reference hospital in southeastern Brazil, 22nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, London, England, 2012.3.31.
 - (9) Maria Luiza Moretti: Prevalência e Avaliação de Suscetibilidade de Diferentes Espécies de *Candida* Não-*Albicans* Isoladas a Partir de Hemoculturas na Era dos Azóis: Um Estudo de Cinco Anos, 8th Congresso Paulista de Infectologia, Campos do Jordão-SP, Brazil, 2012.5.17.
 - (10) Angélica Zaninelli Schreiber, Luzia Lyra, Michela de Luca Ferrari, Yuzuru Mikami, Hideaki Taguchi, Plínio Trabasso, Katsuhiko Kamei, Mariangela Riberiro Resende, Maria Luiza Moretti: Prevalence of different non *albicans*-*Candida* species and antifungal susceptibility tests for bloodstream isolates in the era of azoles: a five-year study, 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Berlin, Germany, 2012.6.11-15.
 - (11) Ana Beatriz Alkmin Teixeira Loyola, Maria Luiza Moretti, Plínio Trabasso, Katsuhiko Kamei, Yuzuru Mikami, Hideaki Taguchi, Angélica Zaninelli Schreiber: Hypha growth inhibition study for susceptibility testing of *Aspergillus terreus* to amphotericin B, voriconazole and itraconazole, 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Berlin, Germany, 2012.6.11-15.
 - (12) Renata Fagnani, Angélica Zaninelli Schreiber, Yasunori Muraosa, Yuzuru Mikami, Mariangela Riberiro Resende, Tohru Gono, Sandra Helena Alves Bonon, Plínio Trabasso, Katsuhiko Kamei, Maria Luiza Moretti: Clinical and epidemiological features of blood stream infection caused by *Candida* “psilosis” complex, 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Berlin, Germany, 2012.6.11-15.
 - (13) Renata Fagnani, Mariangela Riberiro Resende, Angélica Zaninelli Schreiber, Plínio Trabasso, Maria Luiza Moretti: Candidemia in pediatric in a Brazilian hospital: Five years of surveillance, 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Berlin, Germany, 2012.6.11-15.

- (14) Michela de Luca Ferrari, Mariangela Riberiro Resende, Katsuhiko Kamei, Yasunori Muraosa, Sandra Helena Alves Bonon, Thoru Gonoi, Yuzuru Mikami, Angélica Zaninelli Schreiber, Plínio Trabasso, Maria Luiza Moretti: Molecular identification of yeasts non-*Candida albicans* recovered from blood stream infections using DNA-microarray technique and DNA sequencing, 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Berlin, Germany, 2012.6.11-15.
- (15) Kanae Sakai, Plínio Trabasso, Maria Luiza Moretti, Katsuhiko Kamei, Thoru. Gonoi: Visible DNA microarray system: Easy and rapid method to identify fungal pathogens in clinical samples, 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Berlin, Germany, 2012.6.11-15.
- (16) Marcello Mihailenko Chaves Magri, R D Duarte, Vera Lúcia Teixeira de Freitas, Silvia Figueiredo Costa, Fernanda Aparecida Reis, Maria Luiza Moretti, Maria Aparecida Shikanai Yasuda: *Candida tropicalis* bloodstream infection in two teaching hospitals in Sao Paulo State-Brazil, 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology, Berlin, Germany, 2012.6.11-15.
- (17) Schreiber AZ, Lyra L, Ferrari MDL, Mikami Y, Taguchi H, Trabasso P, Kamei K, Resende MR, Moretti ML: Prevalence of different non-*albicans Candida* species and antifungal susceptibility tests for bloodstream isolates in the era of azoles: a five-year study. International Forum - New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (18) Fagnani R, Resende MR, Schreiber AZ, Lyra L, Moretti ML: Candidemia in pediatric patients in a Brazilian hospital: five years of surveillance. International Forum-New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (19) Fagnani R, Resende MR, Schreiber AZ, Lyra L, Moretti ML: Clinical and epidemiological features of blood stream infection caused by *Complex psilosis*. International Forum - New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (20) Souza M, Matsuzawa T, Gonoi T, Kamei K, Schreiber AZ, Lyra L, Moretti ML, Trabasso P: Identification of *Fusarium* species from clinical samples of the Clinical Hospital of UNICAMP through the technique of loop - mediated isothermal amplification (LAMP). International Forum - New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (21) Teixeira-Loyola ABA, Moretti ML, Trabasso P, Kamei K, Mikami Y, Taguchi H., Schreiber AZ: Hypha growth inhibition study for susceptibility testing of *Aspergillus terreus* to Amphotericin B, Voriconazole and Itraconazole. International Forum - New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (22) Camargo LM, Lyra L, Luz EA da Queiros VS de, Schreiber AZ: In vitro antifungal activity of essential oils diluted in three different solvents against *Candida* strains. International Forum - New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (23) Nagasako CCK, Souza M, Taveira LN, Carvalho RB, Lyra L, Sakai K, Gonoi T, Kamei K, Schreiber AZ, Moretti ML, Trabasso P: Identification of *Candida* esophagitis species from clinical samples of the Clinical Hospital of UNICAMP through the methodology of microarray. International Forum - New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (24) Reichert-Lima F, Lyra L, Busso AF, Moretti ML, Schreiber AZ: *Cryptococcus neoformans* and others pathogenic microorganisms Isolated from pigeon excreta in

- Campinas, Brazil. International Forum-New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (25) Reichert-Lima F, Lyra L, Busso AF, Moretti ML, Schreiber AZ: *In vitro* antifungal susceptibility profiles and genotypes of clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* from a public referral Hospital in Campinas – São Paulo, Brazil. International Forum - New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (26) Silva-Fonseca AC, Teixeira-Loyola ABA, Lyra L, Busso AF, Moretti ML, Schreiber AZ: Standardization of hyphal growth inhibition rate measure in real time for zygomycete *Rhizopus oryzae* for use in susceptibility testing. International Forum-New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (27) Silva-Fonseca AC, Teixeira-Loyola ABA, Lyra L, Busso AF, Moretti ML, Schreiber AZ: Susceptibility of zygomycetes strains to antifungal agents alone and in combination. International Forum - New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (28) Nagasako CK, Yamanaka A, Souza M, Taveira LN, Carvalho RB, Lyra L, Sakai K, Gonoi T, Kamei K, Schreiber AZ, Moretti ML, Trabasso P: Candidíase Esofágica: Epidemiologia, diagnóstico e espécies infectantes. International Forum - New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (29) Ferrari MDL, Resende MR, Kamei K, Muraosa Y, Lyra L, Gonoi T, Sakai K, Mikami Y, Tominaga K, Schreiber AZ, Trabasso P, Moretti ML: A new DNA-microarray platform as an accurate technique for molecular identification of non- albicans *Candida* species recovered from blood stream. International Forum - New Diagnostic Approaches in the Management of Fungal Infections in AIDS and other Immunocompromised Patients. Campinas-SP, Brazil, 2012.10.22-23.
- (30) 田口英昭, 渡辺 哲, 佐藤綾香, Schreiber A.Z, Lyra L, 久米 光, 亀井克彦: *Rhizomucor pusillus* に対する voriconazole と terbinafine の協調作用に関する基礎的検討. 第24回日本臨床微生物学会総会, 横浜, 2013.2.2-3.
- (31) 大楠美佐子, 清水公德, 亀井克彦, 川本進: *Cryptococcus gattii* ブラジル由来株の MLST 解析. 第86回日本細菌学会総会, 千葉, 2013.3.18-20.

(5) 知財出願

①国内出願 (0件)

該当なし

②海外出願 (0件)

DNA チップに関しては、現在「ブ」国のカンピーナス大学で申請準備中である。

その他の知的財産権

現在作成中の真菌遺伝子検査マニュアル各種において、検査キットや検査機器メーカーよりその取扱説明の一部にかかる著作権を利用する許可を取り付け中である。

(6) 受賞・報道等

① 受賞

該当なし

② マスコミ (新聞・TV等) 報道

千葉日報紙に本プロジェクトを報道する記事が掲載され、「ブラジルに大きな成果として寄与している」と報道された。

(7) 成果展開事例

① 実用化に向けての展開

フザリウム属菌の同定法としてリアルタイム PCR 法を開発し、「ブ」国において特許申請の可能性を含めて準備している。本法は迅速、簡便に菌を同定できるのみならず、患者血清から直接診断できる優れた能力が示唆されており、臨床現場での実用化を目指して検証が行われている。

DNA チップはもともと千葉大真菌セトわが国の企業との共同研究で開発されたものであり、その基本は、真菌のリボゾーム遺伝子の ITS 領域の領域の塩基配列情報から、それぞれの真菌について特異的な配列情報を発見し、プラスチック基盤に情報を印刷して、多くの真菌を正確に区別して、その違いを目視できるようにすることにある。特許の申請により、それぞれの真菌に特異的な ITS 領域の情報が公開されると、追従する企業などが同じ情報を利用する可能性があることから、わが国においては特許の申請は行っていない。「ブ」国のカンピーナス大学医学部は、「ブ」国の政府に対して情報を提供し、それらの政策に反映することができる極めて重要な立場にある。本システムはカンピーナス大学で量産体制とそれに伴う恒常的な使用体制が既に整えられており、その実用性がさらに確認されたことから、他の病院などへの普及も必要であるため、その特許申請の手続きが「ブ」国で(千葉大の許可を得て)進行中である。

また、LAMP 法により新たに発見された、特異的な検出プライマーの情報などについては、今後さらに多くの菌株において、試験が完了した時点での特許化が検討されることになっている。

② 社会実装（研究成果の社会還元）への展開活動

カンピーナス大学付属病院は、「ブ」国サンパウロ州南西地域カンピーナス市とその周辺の42市町村を管轄する第三次医療機関であり、公的の基幹病院として機能している。基本的医療サービスが無償で提供されている「ブ」国では、貧困層が公的医療機関、富裕層は民間セクターでサービスを受けるといった構図になる。同病院の対象人口は、約500万人（ノルウェーの総人口に相当）で貧困層の患者がレフェラルシステムに則って地域全体から来院している。すなわち、プロジェクトサイトである同病院を通じての研究協力事業の成果は、自動的に広く地域住民、とりわけ貧困層へと普及し、これらの人々に裨益する機能（システム）を有していることを示唆する。

具体策のひとつとして、本プロジェクトで行われた薬剤に関する共同研究で得られた結果を実地医療で臨床応用させるために、分析結果をもとにしたカンピーナス大学附属病院における *Candida* 属による真菌症の「院内治療診断ガイドライン」の策定準備が「ブ」国側で進行している。ガイドラインの策定は、本プロジェクトの協力範囲外の活動になるが、研究成果を臨床現場にフィードバックするための手段となり、臨床的有用性を確認するだけでなく、臨床成績の向上に資する取り組みである。さらに、このガイドラインは附属病院の関連する各医療施設にも波及することが予想され、影響範囲はさらに拡大するものと推測される。

DNA チップ、リアルタイム PCR 及び LAMP 法において、本プロジェクトで新たに発見や開発された情報や技術については、「ブ」国での特許申請などが終了した時点で情報が公開されることになっている。

§6 プロジェクト期間中の主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所 (開催国)	参加人数 (相手国からの招聘数)	概要
平成 22 年	「Bio Japan 2010」	パシフィコ横浜	2 名	DNA チップ技術の発表

9月29日				
10月13日	「神奈川県ものづくり技術交流会」	神奈川県産業技術センター	2名	DNA チップ技術の発表
10月28日	真菌センター プロジェクト会議	真菌医学研究センター	8名	プロジェクト参加者が全員での研究の進捗状況の報告等
11月10日	「産業交流展 2010」	東京ビックサイト	2名	DNA チップ開発技術の発表
11月12日	第一回 JCC(Joint Coordinating Committee)会合	カンピーナス大学	11名(ブラジル) 3名(千葉大)、JST(2名)、JICA(1名)	
11月24日	定期打ち合わせ会	カンピーナス大学付属病院	8名 (日本人専門家2名)	研究の進捗状況の確認と専門家との打ち合わせ
11月29日	定期打ち合わせ会	カンピーナス大学付属病院	8名 (日本人専門家2名)	研究の進捗状況の確認と専門家との打ち合わせ
12月9日	定期打ち合わせ会	カンピーナス大学付属病院	8名 (日本人専門家2名)	研究の進捗状況の確認と専門家との打ち合わせ
12月14日	定期打ち合わせ会	カンピーナス大学付属病院	8名 (日本人専門家2名)	研究の進捗状況の確認と専門家との打ち合わせ
平成23年1月17日	第一回月例報告会	真菌医学研究センター	7名	プロジェクト参加者での研究進捗状況の報告など
2月1日	「産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会」	つくば市	2名	DNA チップ技術の発表
2月11-12日	研究打ち合わせ	富山県健康増進センター、ほか	5名 (ブラジル2名、日本専門家2名、研究主幹1名)	研究の進捗状況の確認と専門家との打ち合わせ 山本名誉教授及び倉田 J S T 研究主幹の出席
2月24日	表敬訪問	JICA, JST	2名 (内ブラジル人1名)	プロジェクトの進捗状況を報告 ブラジルのプロジェクトディレクターの Moretti LM 教授及び亀井プロジェクトリーダー
4月7日	第三回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
4月17日	日本における AIDS の予防及び対策会議	カンピーナス大学付属病院	10名 (日本側1名)	集団研修「AIDS の予防及び対策」の研修員帰国報告
4月27日	大島賢三 JICA 副理事長のプロジェクトサイト視察	カンピーナス大学 (ブラジル)	カンピーナス大学学長以下プロ関係者全員(ブラジル)、JICA 中南米部南米課長、JICA ブラジル事務所長以下3名 (日本側)	
4月29日	DNA マイクロアレイ	カンピーナス大学付属病院	10名 (日本側2名)	DNA チップスポッターの有効活用検討会

	ワークショップ			
5月6日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	6名 (日本側1名)	研究の進捗状況の確認と打ち合わせ
5月12日	第四回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
5月26日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	8名 (日本側3名)	研究の進捗状況の確認と打ち合わせ
6月3日	ワクチンと免疫生物学研究検討会	カンピーナス大学医学部	200名 (日本側1名)	免疫不全患者の症例を中心にした疫学研究検討会
6月20日	第五回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名 (ブラジル側1名 Angelica Schreiber 准教授)	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
7月6日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	10名 (日本側5名)	研究の進捗状況の確認と実験計画の打ち合わせ
7月15-17日	2011 フェスティバル・ド・ジャポン(日本祭)	サンパウロ市	入場者数 延べ19万人	プロジェクトの研究概要や意義・成果についての展示
7月20日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	15名 (日本側5名)	<ul style="list-style-type: none"> 研究の進捗状況の確認と実験計画の打ち合わせ 短期派遣研修員の研修成果報告 研究分析結果の臨床現場へのフィードバック検討
7月29日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	8名 (日本側3名)	研究の進捗状況の確認と打ち合わせ
8月12日	第六回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
9月29日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	12名 (日本側1名)	研究の進捗状況の確認と打ち合わせ
9月29日	第七回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	7名	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
10月06日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	10名 (日本側1名)	研究の進捗状況の確認と打ち合わせ
10月13日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	10名 (日本側1名)	研究の進捗状況の確認と打ち合わせ
11月1日	第八回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名 (ブラジル側1名 Plinio Trabasso 准教授)	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
11月7日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	10名 (日本側2名)	研究の進捗状況の確認と打ち合わせ
11月11日	カンピーナス地域の公衆衛生上の問題となる感染症フォーラム	カンピーナス大学医学部	200名 (日本側1名)	地域の主な感染症に対する臨床・公衆衛生的課題を協議するフォーラム
11月23日	第二回プロジェクト合同委員会(JCC)会	カンピーナス大学付属病院	20名 (日本側7名)	プロジェクトの進捗状況の確認とレビューに

	合			かかわる日伯合同委員会
12月12日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	13名 (日本側4名)	研究の進捗状況の確認と今後の実験計画の打ち合わせ
平成24年1月10日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	10名 (日本側1名)	研究の進捗状況の確認と今後の実験計画の打ち合わせ
2月3日	JICA会計監査法人によるプロジェクト会計往査	カンピーナス大学付属病院	10名 (日本側8名)	プロジェクトの会計監査と実施状況の確認
2月16日	第九回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	7名	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
2月27日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	11名 (日本側1名)	研究の進捗状況の確認と今後の実験計画の打ち合わせ
3月5日	岡谷重雄参事役(JST)のプロジェクト視察	カンピーナス大学付属病院	13名 (日本側3名)	研究の進捗状況の確認と今後の実施計画について議論
3月20日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	18名 (日本側4名)	研究の進捗状況の確認と今後の実験計画の打ち合わせ
4月6日	第10回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	9名 (ブラジル側1名)	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
4月12日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	9名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と11月開催の学会にかかる打ち合わせ
4月19日	日本におけるAIDSの予防及び対策会議	カンピーナス大学付属病院	10名 (日本側1名)	集団研修「AIDSの予防及び対策」の研修員帰国報告
5月2日	第11回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
5月16日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	9名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と11月開催の学会にかかる打ち合わせ
5月31日	JICAブラジル事務所研修会	JICAブラジル事務所	10名	業務調整員からJICAブラジル事務所所員に対してプロジェクト運営管理のあり方について講演
6月12日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	9名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と11月開催の学会にかかる打ち合わせ
6月15日	第12回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名 (ブラジル側2名)	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
6月28日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	9名 (日本側3名)	共同研究の進捗状況の確認と今後の方向性の検討
7月13日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	9名 (日本側3名)	共同研究の進捗状況の確認と今後の方向性の検討

7月25日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	9名 (日本側2名)	共同研究の進捗状況の確認と今後の方向性の検討
7月26日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	6名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と11月開催の学会にかかる打ち合わせ
8月10日	第13回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名 (ブラジル側1名)	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
9月20日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	10名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と11月開催の学会にかかる打ち合わせ
10月11日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	11名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と11月開催の学会にかかる打ち合わせ
10月18日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	8名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と11月開催の学会にかかる打ち合わせ
10月25日	第14回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名 (ブラジル側1名)	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
11月8日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	6名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と11月開催の学会にかかる打ち合わせ
11月15日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	6名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と11月開催の学会にかかる打ち合わせ
12月6日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	15名 (日本側1名)	治療診断ガイドラインの作成について
12月13日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	11名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と意見交換
12月19日	第15回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名	プロジェクト参加者が全員の研究の進捗状況の報告等
平成25年1月29日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	15名 (日本側3名)	共同研究の進捗状況の確認と意見交換
2月7日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	11名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と意見交換
2月21日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	12名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と意見交換
2月22日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	6名 (日本側1名)	真菌症診断マニュアルの作成打ち合わせ
2月22日	第16回月例報告会	千葉大学真菌医学研究センター	8名	プロジェクト終了に向けて現状の確認
2月28日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	13名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と意見交換
3月22日	定期研究検討会	カンピーナス大学付属病院	17名 (日本側1名)	共同研究の進捗状況の確認と意見交換

*アウトリーチに関して

DNAチップに関しては、社会への還元を目指して、千葉大真菌セにおいて医師、獣医師、薬剤師、検査技師や研究者を対象とした講習会を毎年行っており、その中で実際にDNAチップを用いてその実用性や簡便性に関する、講義と実習を行ってきた。

さらに、平成 22 年 9 月には、“Bio Japan (2010)(パシフィコ横浜)”、10 月 13 日には”神奈川県ものづくり技術交流会（神奈川県産業技術センター）“で、11 月 10 日には”産業交流展 2010 (東京ビッグサイト)“で、平成 23 年度 2 月 1 日には、“産総研、産技連 LS-BT 合同発表会（つくば市）”で展示と報告を行ってきた。さらに平成 23 年の 4 月 29 日には、「ブ」国カンピーナス大学附属病院でのワークショップで、その有効性を報告するなど、これまで、DNA チップの簡便性と有効性を、広く行政サイドのみならず、地域住民、バイオの関係者や医療関係者に周知するなど、社会還元の可能性への議論を含めて広く情報を発信してきた。特に、これまで DNA チップの作製や検出に要するコストに関しても、「ブ」国で供給可能であることから、低価格で作製可能であることをあわせて報告してきた。

同様に、わが国独自の技術である LAMP 法や、新しい病原真菌の検出系が確立したリアルタイム PCR についても、「ブ」国においてカンピーナス大学の本プロジェクトの関係者を通じた情報を発信して、その普及を図る努力をしている段階である。

③ 合同調整委員会開催記録

年月日	出席者	議題	概要
2010 年 11 月 12 日	チーフアドバイザー、JST、JICA カンピーナス大学 C/P 計 18 名	プロジェクトの進捗確認と課題にかかる対応策	詳細は別添書類①の会議録（MM 含む）を参照。
2011 年 11 月 23 日	チーフアドバイザー、JICA カンピーナス大学 C/P 計 22 名	プロジェクト全体や各研究課題の進捗確認と今後の計画の確認	詳細は別添書類②の会議録（MM 含む）を参照。
2012 年 11 月 26-30 日	チーフアドバイザー、JICA、JST、 カンピーナス大学 C/P 計 26 名	評価結果の共有	終了時評価の結果

§ 7 国際共同研究実施上の課題とそれを克服するための工夫、教訓など

(1) 共同研究全体

(i) プロジェクト全体の現状と課題

3 年間という他案件と比して短い期間で成果をあげる必要があるなか、供与機材調達の遅れや東日本大震災の発生による影響は、プロジェクト促進上の大きな障害であった。こうした課題に対して、事業展開への影響を最小限にいとめるために、「ブ」国及び日本側研究者全員が一丸となってより柔軟に対応し、後ろ倒しになっていた各研究課題に積極的に取り組んだ。

その結果、平成 24 年度の協力期間内に期待された研究・事業成果ともに達成することができた。プロジェクトにとって実施上の障害がないほうが望ましいことは言うまでもないが、立ち向かうべき障害があることによってかえって関係者の団結力が強化された面もあったことは否定できない。「ピンチを逆にチャンスに変えよう」という共通意識を関係者がもち、果敢に取り組んだそのプロセスが一体感醸成の一助になったと思料する。

他方で、こうした取り組みを通じて、「ブ」国の研究者の自立発展性が向上しつつあることが実感される。導入された資機材を初期の研究課題以外の独自の考えに基づく研究にも使用したいとの要望がだされ(3. 2.1. の共同研究項目とその成果の中の(12)から(14)の項目は第二回 JCC で「ブ」側から新たに提案された研究課題である)、大学院生を中心にした若手研究者が本プロジェクトに次々に参加するようになったことなど、本プロジェクトが新たな段階に移行しつつあることを示していると思われる。

(ii) 各種課題を踏まえ、共同研究プロジェクトの妥当性・有効性・自立発展性・インパクトを高めるために実際に行った工夫

コミュニケーション強化への取り組み

基礎・応用の別によらず大まかに言えば、「研究とは仮説の構築とその検証、再評価の延々たる繰り返し」であり、そのプロセスを通じて成果を導くものである。こうした地道な作業を多国間で協働してすすめる国際共同研究事業において、確固たる信頼関係を土台にした「二カ国間共同研究チーム」を作ることは、至上命題であり、どれだけ早く One チームに仕上げるか否かが、研究の質やプロジェクトの成果を大きく左右させる。こうした観点から、プロジェクト開始当初より、両国間のコミュニケーション強化、信頼関係の構築に力点を置いた様々な取り組みを行ってきた。ひとつは、定期的(原則週1回)に開催しているラボミーティング(共同研究検討会)である。カンピーナス大学附属病院院内疫学内会議室で、「ブ」国側の議事進行のもと、研究進捗状況の確認とそれに基づいた新しい実験のアイデアや方向性の検討、研究作業をすすめる上での重要な課題の共有、今後のスケジュールの確認等が議事として活発な議論が交わされた。一方、日々の恒常的な対話については、専門家(業務調整)とC/Pとの間の強力なコミュニケーションラインを主軸にした風通しのよい関係が作られた。常時活動から雑談までを話し合える状況を維持されており、場合によっては深夜・早朝でも電話で打ち合わせすることができる体制が構築された。機器の故障、特に DNA チップ作製機などに対しては、カメラ付きのインターネットで相互に情報の交換できる体制が、機器のメーカーを含めて出来上がっている。

プロジェクトマネジメント技術の指導

専門家(業務調整)から「ブ」国側のプロジェクトディレクター及びプロジェクトマネージャーに対して、プロジェクトマネジメントの一部である企画、進捗管理から運営管理上の諸問題を深刻化するまえに手際よく対処すべきリスク管理技術等に至るまでのプロジェクトを適切に管理する技術の指導を実施してきた。

持続可能性の確保に対する取り組み

協力活動実施当初より、「相手側の事業に対する主体性、熱意、責任感を引っ張り出す」ことを重点的に取り組んできた。そのひとつが、日本側から「ブ」国側(カンピーナス大学)に対して、これまでカンピーナス大学医学部内の真菌ラボの「常勤」臨床検査技師を増員配置することを粘り強く働きかけてきたことである。その結果、緊縮財政のおり、人員増は極めて困難であるにもかかわらず、検査技師(1名)を増員することが認められ、2011年12月から正式に配置されている。

プロジェクトサイトであるカンピーナス大学医学部真菌ラボは、先の JICA 技術協力プロジェクトである「カンピーナス大学臨床研究プロジェクト」(1997-2002)で供与された供与資機材等が、型式は古いものの現在もよく維持管理されている。他方で、オープンラボが主流の現代において、ラボ全体のデザインは一時代前のものであり機能性や利便性は低い。供与機材の遅延などプロジェクトの進捗に対するマイナス要素を克服していくためには、徹底した事業効率性を求めることが必要であり、ラボの機能性を高めることも重要な投入要素と考えられる。係る背景のもと、日本側から「ブ」国側(カンピーナス大学)に対して、ラボの改修工事について鋭意働きかけた。その結果、2011年4月に学内の研究基金(Fundo de Apoio ao Ensino à Pesquisa e à Extensão-FAPEX)から工事費として R\$50000(約 250 万円)の資金が調達できることになり、改善がはかられた。

(iii) プロジェクトの自立発展性向上のために、今後相手国が取り組む必要のある事項

「ブ」国側の希望に基づいて現地で患者数が多く、特に問題となるフザリウム菌を特異的に検出するためのプローブを設計し、その技術移転をすることは「ブ」国の感染症の研究の進展に通じたが、遺伝子情報解析と DNA チップ用のプライマーの作製や改良に関しては千葉大真菌セの協力のもと「ブ」国の研究者が中心となって実施したものであり、これは DNA チップの「ブ」国での利用が新しい独自の段階に進んだことを意味している。さらに本技術は細菌やウイルスなどの分野への応用が期待される段階になっており、既に担当者により新たな細菌学分野への他の部局

の研究者も含めた応用も検討されている。リアルタイム PCR 技術も、真菌感染症以外にも他の分野での応用が可能で、特に感染症研究に必須な機器とも考えられており、「ブ」国においても臨床医の興味は高い。このように DNA チップを含めてこれらの開発技術が移転されたが、その技術は数名の医師と検査室関係者への移転であり、これらの技術と広め、さらに発展させて、真の「ブ」国の技術として定着させるためには、その関連する優れた人材の育成が必要である。実際にカンピーナス大学感染症分野には、大学院生などの多くの優れた人材があつまりつつあることを現地で感じる事ができたが、それらの移転技術が若手研究者を通して、独自の技術として発展して、「ブ」国の感染症研究に寄与できることが望まれる。

千葉大真菌セの真菌感染症にかかる総合的な識見、ノウハウの技術移転が進み、平成 24 年度の協力期間内に期待される研究・事業成果ともに達成されつつある現在、「ブ」国における患者の QOL の改善が着実に進展することが期待できる状態となっている。

このように本プロジェクトでは、カンピーナス大学附属病院を中心として真菌症診療のレベルの明確な向上をもたらし、社会にも大きな影響を与えたと考えられるが、今回対象とした免疫不全患者以外にも、少なからぬ数の難治性真菌症が発生して患者を苦しめている。その菌種や病像は多彩であり、治療も困難を極めている。また一般細菌で良く知られている耐性菌の出現も次第に深刻な問題となりつつある。引き続き「ブ」国における真菌症対策とその医療レベルの向上に留意する必要がある。

(2) 研究グループ(千葉大真菌セ)について

相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用

「ブ」国においては、真菌感染症の分野においても、まだまだ解決されなければならない多くの課題がある。その多くは、解析のための研究機器が不十分であることにあったが、本プロジェクトを通して、多くの研究機器が導入された結果、最先端の研究成果が「ブ」国の研究者により発表されるようになった。その成果が多くの国際誌や国際学会において発表され始めたことから、「ブ」国においても高く評価されるようになり、結果的に「ブ」国政府やサンパウロ州からの研究費の支給が約束された例が本プロジェクトの最終段階において多く報告され始めた。このように研究目的に沿った新しい機器の導入や日本との共同研究が、カンピーナス大学の医師を中心とした研究グループの研究をより新たな段階へと変化しているのを実感できた。今後、それらの資金を使っての千葉大真菌セの若手研究者に対する招聘計画が検討され始め、共同研究が新たな段階に入っている。

本プロジェクトによって、培養を介さないヒト検体からの直接の PCR 増幅、PCR 機器を用いない恒温での遺伝子増幅を行い、本チップで検出・同定する試みに成功しており、「ブ」国の研究者が、特にポルトガル語圏のアフリカ諸国などの安定な電源の供給がないなど培養設備や PCR 機器のない発展途上地域での困難な環境を克服しての検査体制の普及に貢献できると思われる。本プロジェクトの目標は“真菌感染症の診断及び治療に関する研究能力が相互に向上する”ことにあるが、「ブ」国の担当部局で感染症に関与する若い医師や研究者の育成がさらに進み、感染症研究においても世界をリードする研究グループの誕生が望まれる。

類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等

以下の本プロジェクトを通しての気になっていることについて、教訓と提言をまとめた：遺伝子関係実験においては、DNA などの取り扱いにおいて、基本的なことがらとしてのコンタミの問題がある。特に、PCR 試薬のような、試薬の共同利用においては、一人の杜撰な取り扱いが、大きな問題となることが多いので、(i) 基本操作の徹底指導が望まれる。また、(ii) ピペットの滅菌の確立や、開発途上国では特に、(iii) 実験用の水、蒸留水の品質を如何に高めるかが、その後の実験にも影響するので、水の安定で品質の高い水の供給が可能となるまでは、目的にあった蒸留水を購入して管理して使用することが望まれる。多くの発展途上国では、一般に最先端の機器の扱いや実験手技や実験結果の解析法などは、指導する相手によっては(特に院生などでは)、他に技術移転されないことも多いので、(iv) 常勤の技術職員などへの移転が望まれる。また、遺伝子関係で、その指導する関係者が(v) 確実に遺伝子の解析ができるような体制を作っておくと、その都度、本国に持ち帰って解析する必要がなく、短期の専門家の仕事が効率的に進むと思われる。

§8 結び

本プロジェクトで最も重要な DNA チップについては、必要な機器や技術を特に問題なく「ブ」国側に導入することができた。DNA チップを中心にそれぞれの機器については、医師（大学教員）などがそれぞれの責任者となり、それをサポートする技術者や大学院生が付く体制となり、機器のメンテナンスもスムーズに進むようになったが、それらを可能にするためには、中心となる責任者以外に、絶えず機器を保守する技術者などの存在は「ブ」国においては必須であることを再認識する機会が数多くあった。多くの国々がそうであるように、技術の取得がそれぞれの個人の特技であることが評価されるという文化がそれぞれの国にあり、そのための技術がスムーズの他の人に移転しないこともあることを認識して対応する必要がある。本プロジェクトを通して、「ブ」国カンピーナス大学の学長や医学部長の特別のサポートもあった。資源が豊富な国である「ブ」国においても、世界的な不況の波はわが国と同様にあり、国の財政状況が良くないことから、研究室の整備や人員の採用は極めて厳しい状況下にあった。しかし、本プロジェクトをサポートするために、カンピーナス大学は、新たな職員を採用して配置したり、研究室の整備を進めてくれたりと、積極的に支援をしてくれたことは、本プロジェクトを効率的に進める上で極めてありがたい状況であった。

最先端の国際共同研究を展開するためのみならず、高度研究能力の持続可能性を確保する上でも必要不可欠となる「ブ」国側の「研究基盤」の強化については、JICA などの関係者によるプロジェクトの意義の説明などの、日本側からの粘り強い働きかけがあり、その結果、人員（常勤検査技師 1 名増員）や研究室改築資金が新たに獲得され、より効率的な研究実施体制の整備に繋がったと考えられる。HIV/エイズ対策に積極的に取り組んでいる「ブ」国においては、日和見感染症としての真菌感染症対策は、感染管理や患者の QOL 向上に重要な研究課題である。特に真菌感染症の克服には、効果的な治療が不可欠であり、そのために早期診断、すなわち原因菌のより正確で迅速な同定法の開発が求められている。千葉大真菌セからの取り組みは、「ブ」国の医療政策とも合致しており、「ブ」国から高く評価されており、そのため「ブ」国の関係者が積極的に支援してくれたことにより、本研究が順調に進んだと思われる。

「ブ」国側の希望に基づいて現地で患者数が多く、特に問題となるフザリウム菌を特異的に検出するためのプローブを設計し、その技術移転をすることは「ブ」国の感染症の研究の進展に通じたが、遺伝子情報解析と DNA チップ用のプライマーの作製や改良に関しては千葉大真菌セの協力のもと「ブ」国の研究者が中心となって実施したものであり、これは DNA チップの「ブ」国での利用が新しい独自の段階に進んだことを意味している。さらに本技術は細菌やウイルスなどの分野への応用が期待される段階になっており、既に担当者により新たな細菌学分野への他の部局の研究者も含めた応用も検討されている。リアルタイム PCR 技術も、真菌感染症以外にも他の分野での応用が可能で、特に感染症研究に必須な機器とも考えられており、「ブ」国においても臨床医の興味は高い。このように DNA チップを含めてこれらの開発技術が適切に移転されることにより、「ブ」国の感染症対策に資する優れた人材の育成が見込まれる。実際にカンピーナス大学感染症分野には、大学院生などの多くの優れた人材があつまりつつあることを現地で感じる事ができた。また、本プロジェクトによって、培養を介さないヒト検体からの直接の PCR 増幅、PCR 機器を用いない恒温での遺伝子増幅を行い、本チップで検出・同定する試みに成功しており、特に、安定な電源の供給がないなど培養設備や PCR 機器のない発展途上地域での利用に役立つと考えられる。さらに本プロジェクトの開始以後に、「ブ」国のカンピーナス大学の担当部門へ大学院生や若い医師が多く集まるようになり、その結果、これらの移転技術の効率的な利用がさらに進展している。本プロジェクトの目標は“真菌感染症の診断及び治療に関する研究能力が相互に向上する”ことにあるが、担当部局で感染症に関与する若い医師や研究者の育成が進んだ事実は「ブ」国の感染症研究においても極めて重要な事象と思われる。

千葉大真菌セの真菌感染症にかかる総合的な識見、ノウハウの技術移転が進み、平成 24

年度の協力期間内に期待される研究・事業成果ともに達成されつつある現在、「ブ」国における患者の QOL の改善が着実に進展することが期待できる状態となっている。

このように本プロジェクトでは、カンピーナス大学附属病院を中心として真菌症診療のレベルの明確な向上をもたらし、社会にも大きな影響を与えたと考えられるが、今回対象とした免疫不全患者以外にも、少なからぬ数の難治性真菌症が発生して患者を苦しめている。その菌種や病像は多彩であり、治療も困難を極めている。また一般細菌で良く知られている耐性菌の出現も次第に深刻な問題となりつつある。引き続き「ブ」国における真菌症対策とその医療レベルの向上に留意する必要がある。

3年間という他案件と比して短い期間で成果をあげる必要がある中、運営管理上の課題であった供与機材調達の遅れや東日本大震災の発生による種々の影響は、プロジェクト促進上の大きな障害であった。こうした課題に対して、事業展開への影響を最小限に食い止めるために、「ブ」国及び日本側研究者全員が一丸となってより柔軟に対応し、先送りになっていた各研究課題に積極的に取り組んだ。その結果、協力期間内に期待される研究・事業成果ともに達成できる見通しが現在つきつつある。プロジェクトにとって実施上の障害がないほうが望ましいことは言うまでもないが、立ち向かうべき障害があることによってかえって関係者の団結力が強化された面もあったことは否定できない。「ピンチを逆にチャンスに変えよう」というチャレンジ精神の共通意識を関係者がもち、果敢に取り組んだそのプロセスが一体感醸成の一助になったと思料する。他方で、こうした様々な運営管理上の課題をクリアーすることが、「ブ」国の研究者の自立発展性を向上させた誘因といえるかもしれない。導入された資機材を初期の研究課題以外の独自の考えに基づく研究にも使用したいとの要望が出され(4.3.の共同研究課題とその成果の中の(12)から(14)の項目は第二回 JCC で「ブ」側から新たに提案された研究課題である)、大学院生を中心にした若手研究者が本プロジェクトに次々に参加するようになったことなど、初期段階では想像できないほど、ブラジル側の自立性が向上していることを示している。

最後に、限られた時間での研究協力を大過なく無事遂行し、期待される成果を導けたのは、数多くの優れた方々の手助けを得られたからであることを付言したい。共同研究のパートナーであるカンピーナス大学関係者とは、試行錯誤の取り組みを経ながらも友好的な雰囲気の中、共同研究を推進できたことは、本当に幸運であった。これもすべて、JST、JICA など、数多くの関係者からの過大なサポートを得たからこそ成し得たことである。様々な場面で多大なお力添えを頂いた JST 岡谷重雄室長以下、佐藤雅之参事役ほか地球規模課題国際協力室の方々、日々緊密な連携の上ご支援いただいた川端賢主査には、心より感謝を申し述べたい。研究主幹として倉田毅先生、北 潔先生からの適確かつ時宜をえた御指導は、感染症分野における開発国との共同研究事業をすすめるにあたって貴重なものであった。ここで伏して御礼申し上げたい。

JICA においては、国際科学技術協力室の方々や、人間開発部長以下、職員の方々からの強力なサポートがなければ、十分な成果を導くことはできなかった。とりわけ、保健第二グループ保健第四課の竹本啓一元課長、佐藤真司前課長、大野裕枝課長の歴代課長の皆様、さらにはなみなみならぬご芳情を頂いた山田朋未職員をはじめとする歴代の担当者の方々への謝意は、言葉で言い尽くせないところである。

そして、現場「ブ」国において、歴代の JICA ブラジル事務所長以下所員の方々および、日々活動支えてくれた畠野クリスチアーネ寛子職員を含む数多くの関係者からの厚情とご指導をいただいたことは言うまでもなく、末筆ながらあらためて深く御礼申し上げる次第である。

§9 PDM の変遷 (該当する場合)

該当なし

以上