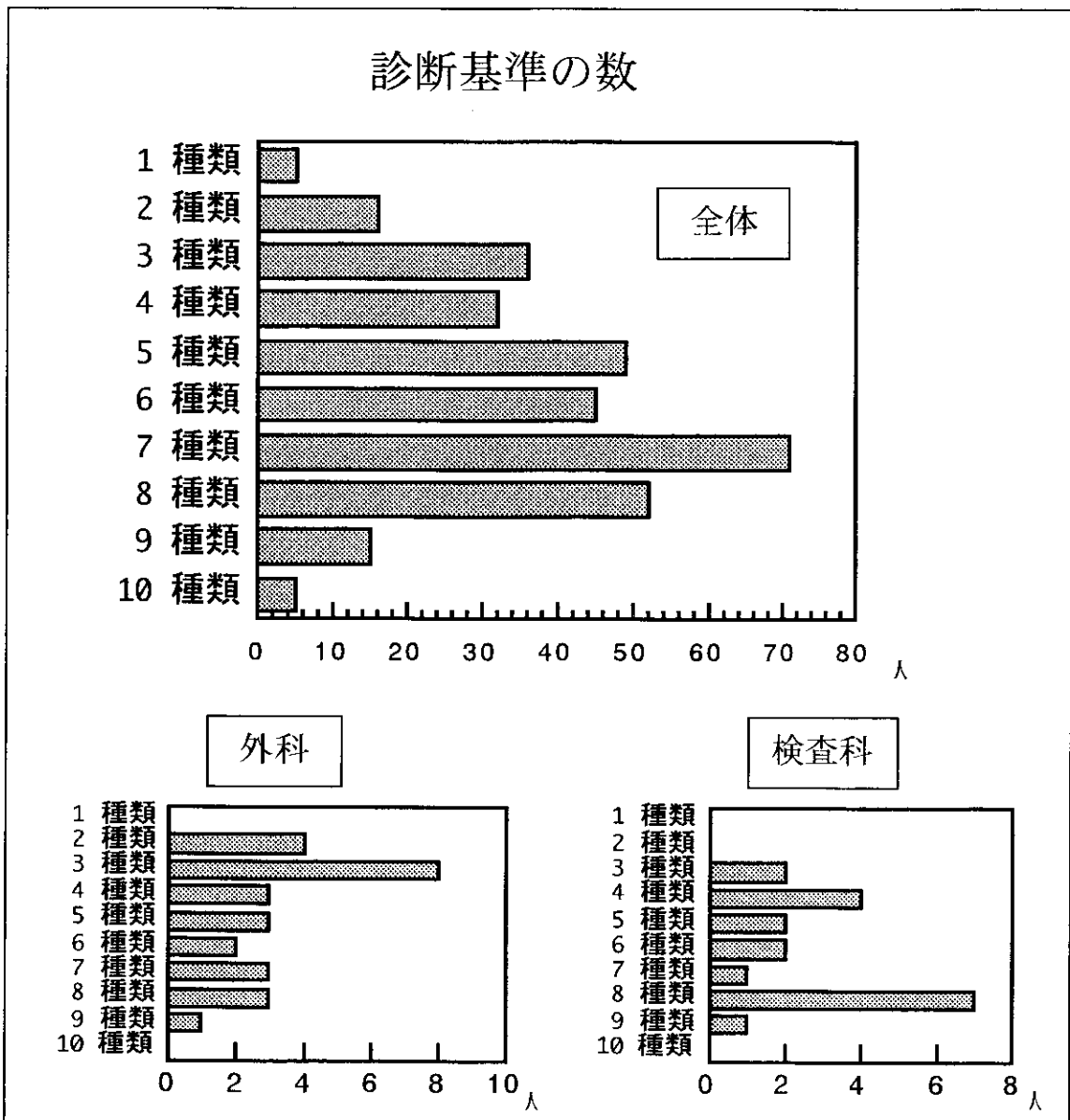


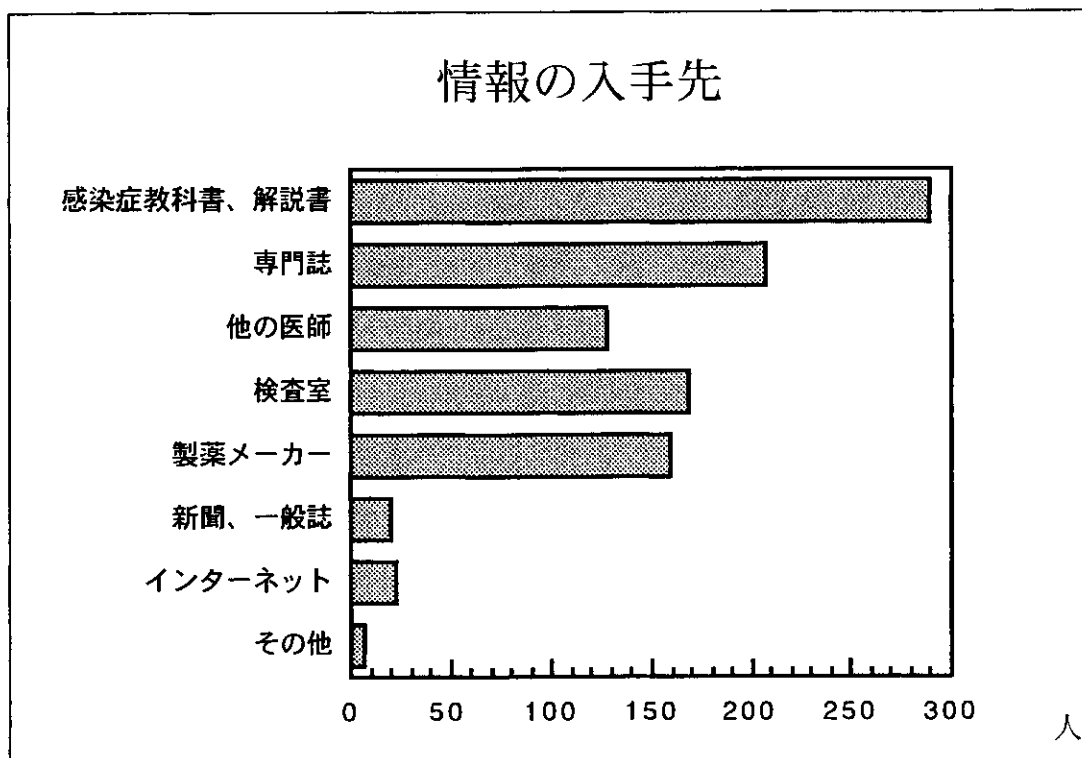
- 診断基準の数を専門家別に分析してみるとこれも興味ある結果が得られた。検査科と感染症科は7種類から8種類の診断法を用いている医師が多いのに対し、外科は3種類が最も多く、次が2種類である。しかし、これらの診断基準の少ない回答者の診断方法の中身は、1種類が「培養」、2種類が「培養と鏡検」、3種類が「培養と鏡検と臨床症状」であり、真菌症の診断で最も信頼性が高い方法が最優先に用いられていることがわかった。
- ほかに、皮内反応が以外に多い、除外診断が少ない、などの感想も班員からあがったが、全体的にリーズナブルな結果であるとの印象である。
- 遺伝子は診断というよりも菌種の同定の手段として有用な手段である。また、保険が適用されていないので普及には時間がかかるであろう。



4 真菌症に関してどこから情報を入手していますか。(○印をご記入ください、複数回答可)

- | | | | |
|---------------|-----|---------------------|-----|
| 1) 感染症教科書、解説書 | () | 5) 製薬メーカーの医薬情報 (MR) | () |
| 2) 専門誌 | () | 6) 新聞、一般誌等 | () |
| 3) 他の医師 | () | 7) インターネット (具体的に | () |
| 4) 検査室 | () | 8) その他 (| () |

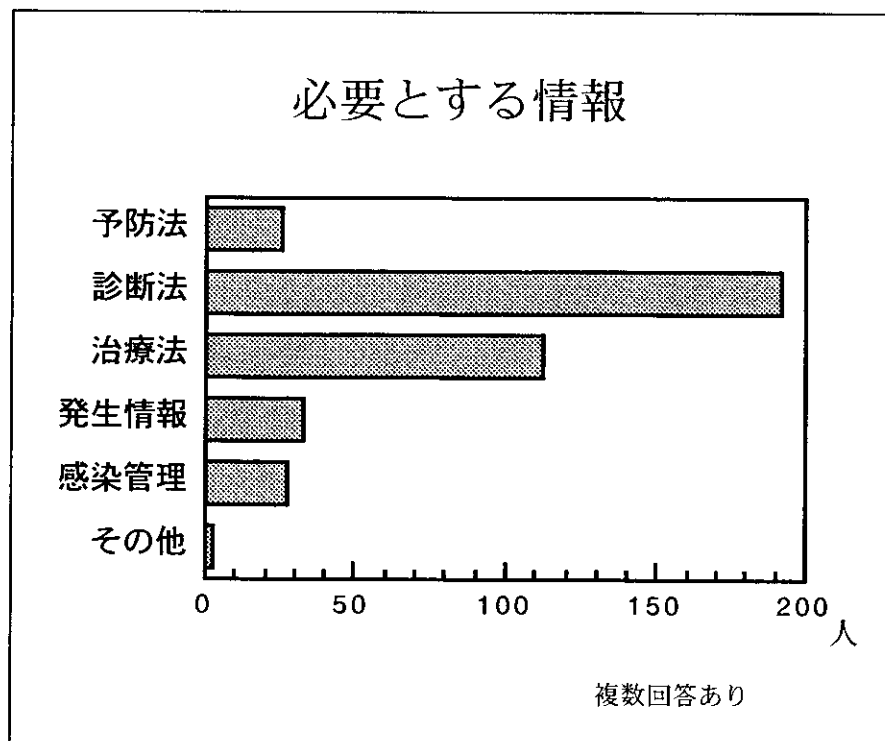
- 真菌症の情報入手先として最も多かったのは、やはり感染症の教科書 (86%)、専門誌 (61%) で、ついで検査室 (50%)、製薬メーカー (47%)、他の医師 (38%) とつづいた。これらの結果について、情報入手先として、「検査室」の50%は少ない、十分に役割を果たしていないのではないかとの感想があった。お互いのコミュニケーションの問題かもしれない。しかし、これに関し、検査科の班員は、意外と多いとの逆の印象をもったことは興味深い。また、感染症の教科書という回答が多いにもかかわらず、我が国を代表するような最新の感染症に関する教科書や手引書の中には真菌症の記述がないものがあり、なぜ真菌感染症が加えられていないのか理解できない。
- 情報入手先にインターネットが以外に少ない (6.3%)。今後、より利用しやすいようにまた有用な情報が入手できるように班員が協力してホームページの拡充を図り、リンクをはって行く予定である。



5 真菌症に関してどのような情報を最も必要としていますか。(1つだけ○印をご記入ください)

- | | | | |
|--------|-----|------------|-----|
| 1) 予防法 | () | 4) 発生情報/動向 | () |
| 2) 診断法 | () | 5) 感染管理 | () |
| 3) 治療法 | () | 6) その他 | () |

- 現在、臨床の現場で最も必要としている情報を一つだけ選んでもらった。その結果、診断法（50%）が最も多く、つづいて治療法（29%）、そして以下に、発生情報、予防法、感染管理とつづいた。ほぼ予想通りの結果であったが、一方で発生動向や感染管理が結構多いとの印象もある。



6 真菌症に関して相談する人や施設などがありますか。

1) ある ()

2) ない ()

あれば具体的に ()

相談先		件数
自院	検査部門	9
	感染症部門	7
	病理	2
	その他（複数回答あり）	19
他院等	千葉大（含：真菌医研セ、亀井先生）	17
	長崎大第二内科（河野 茂 先生）	6
	国療東名古屋（小川 賢二 先生）	5
	帝京大学（含：山口先生、槇村先生）	4
	その他の具体名	34
	一般名称	9
（院内外を問わず 皮膚科）		（7）
合計		110

7 このアンケートや真菌症に関してのご意見などをお知らせください。
(必要に応じ別紙ご添付下さい)

以下の意見があった。

- 一般臨床医は真菌症について知識が乏しい
- このアンケートは感染症科へ届きましたが、実際は内科や外科あるいは小児科、皮膚科といった他科の方が患者数が多いとおもいます。送付方法に問題があると思います。実際に臨床医をメンバーに入れて再検討（送付先etc）をした方がよいと思います。
- アスペルギルス症が増加してきていますので注目しています。
- 悪性疾患、顆粒球減少時に抗真菌投与を行っているが、薬剤の選択、投与中止の基準、予防投与への健康上の取扱いを含みます。
- いわゆる老人病院であり日和見感染症が問題となると思われます。
- 臨床検体より得られた真菌の同定、薬剤感受性等について気軽に相談できるkey stationがあれば有難いです。
- 日本の風土、気候や病棟の清浄度を考えると、アンホテリシンBの積極的な使用（静注）で対応するほかないと考える。アンホテリシンBシロップの意義を再検討して欲しい。
- 保険診療をしておりますと、Sporotrichin反応すら満足にできません。又、Scedosporium apiospermum (Pseudallescheria boydii)の診断を下すさいにも、個人的なつながりがないと出来ない状態でした。まれな症例にも、一般病院で、保険診療で対処できる体制をおつくり下さい。
- 協力した施設に感染対策上メリットが生じるようにご配慮下さい。
- コクシジオイドの診断では、病理をアリゾナへ送りました。国内でも特に問題はありませんが、コクシジオイドの入手先や、確定診断の根拠や検査先を明かにして欲しいと思います。
- 新しい抗真菌薬が早く認可されるといい。また、遺伝子検査等早く保険でできるようになって欲しい。
- アンケートの結果がどのように反映されるのか知りたい。
- 迅速、簡便な診断法の開発が望まれる。
- 真菌症に対するする情報が非常に少ない。
- 眼内炎に関して回答させていただきました。
- 結核後遺症等、基礎疾患があり、アスペルギルス感染と思われる陰影増悪がある例で小康を得た場合加療をなにを目安に中止していくのか判断に迷います。
- 皮膚科では、血液よりの真菌分離、培養は行っていないので、アンケートBは今回送りませんでした。
- 診断に関する苦勞が多い。
- 漠然としすぎて、回答しにくい。
- Ambisome等の抗菌薬が早く臨床の現場で使えるように厚生省に働きかけていただきたい。

アンケート A のまとめ

全国の概ね 500 床以上の一般病院 508 施設の院長宛にアンケートを発送し協力を依頼した。アンケート A は 253 の施設 (49.8%) の 334 名の感染症担当医師等から回答が得られ、この種のアンケート調査の回答率としては極めて高く、真菌症に対する関心の高さが伺われた。

アンケート調査の解析結果の要点をいくつか列記する。(1) 深在性真菌症の診断・治療経験の最も多い 3 大疾患は、カンジダ症、アスペルギルス症、クリプトコックス症であった。(2) 感染症法の四類感染症に規定されたコクシジオイデス症が全数把握の感染症で、その報告義務のことを知っていた回答者

は 47% であった。従って、過半数の医師達がこの事実を知らないという実態が浮かび上がった。(3) 真菌症の診断基準を尋ねたところ、培養と鏡検が最も多いことが分かったが、一方で診断基準の数が 7 - 8 種類と多く、真菌症の診断がいかに困難であるかを反映する結果が得られた。(4) 臨床現場で最も必要とされている情報として、診断法が最も多く、ついで治療法であった。

今後、これらアンケート調査の結果を貴重な資料として活用するだけでなく、この研究班の活動を通じて、真菌症に対してエビデンスに基づいた合理的対策の提案、普及をめざしていきたいと考えている。

深在性真菌症の発生動向調査に関するアンケート B

年 月 日 病院名 部署

アンケート回答者氏名

真菌血症の発生状況と血液から分離される真菌の種類や数の年次推移についてお尋ねします。

記入例をご参照の上、次の表に該当する数字をご記入下さい。なお、項目 6) については、できるだけ菌種別にご記入下さい。必要に応じて、別紙をご添付下さい。もし御面倒でしたら検査データのプリントアウト、または磁気データなどをご送付下さい。項目 7)、および 8) については、方法または型式をお答え下さい。また、もし貴院において、本表の項目を満たす資料があればそれを添付していただいても結構です。

項目	1995年	1996年	1997年	1998年	1999年
1) 総病床数					
2) 総入院患者数					
3) 総血液培養件数					
4) 総血液培養陽性件数					
5) 真菌培養陽性件数 (血液)					
6) 真菌菌種別培養陽性 件数 (血液)					
7) 使用した血液培養 システム					
8) 使用した真菌同定 システム					

このアンケートや真菌症に関してのご意見などをお知らせください。(必要に応じ別紙ご添付下さい)

ご協力を誠にありがとうございました。

返送期限：10月31日

Fax：03-5285-1175

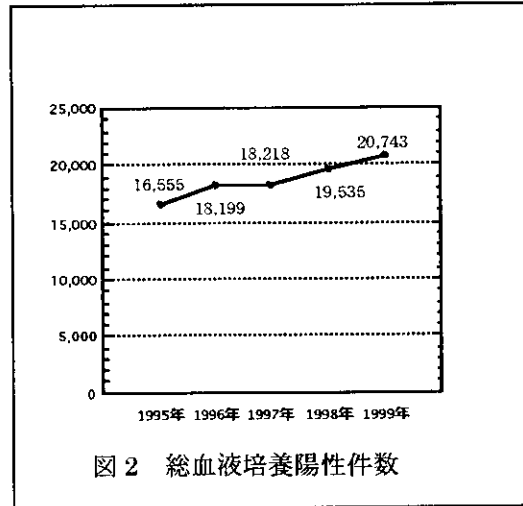
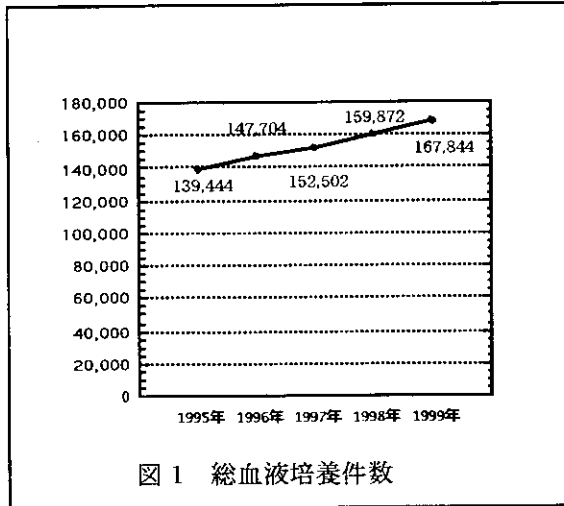
Tel：03-5285-1111, 内線 2301

平成12年度厚生科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業
「輸入真菌症等の診断治療法の開発と発生動向調査に関する研究」
主任研究者：上原至雅（国立感染症研究所生物活性物質部部长）

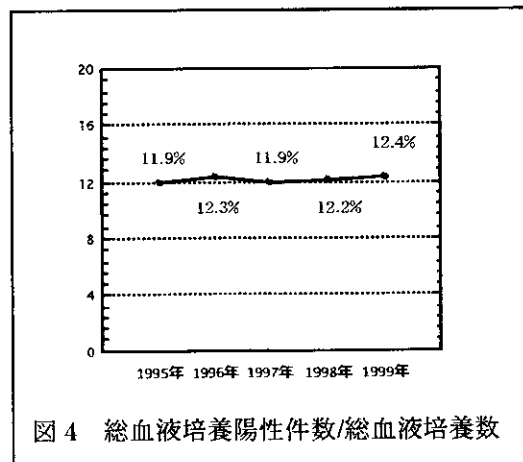
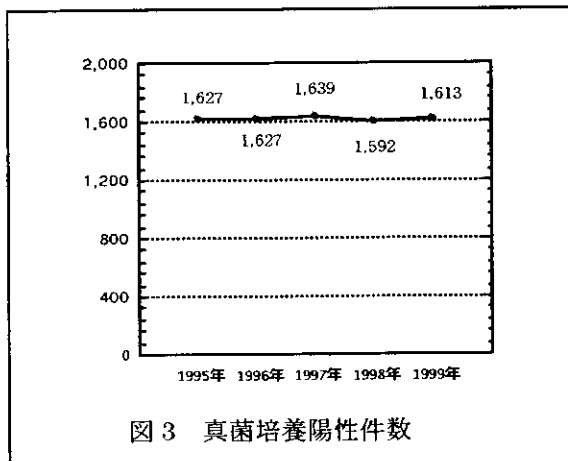
アンケートBの解析結果

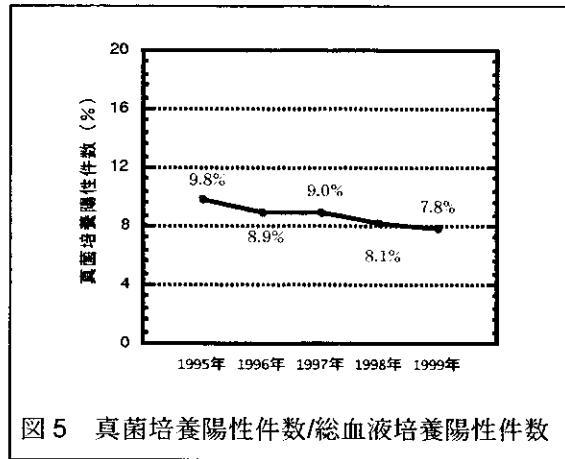
血液培養からみた本邦真菌血症の発生状況と分離菌頻度の検討

回答が得られた 253 通のうち、過去 5 年間のデータが揃っている回答は 133 ケ所であった。これらの施設から得られたデータを集計して、総血液培養数および総血液培養陽性件数をそれぞれ図 1 および図 2 に示した。

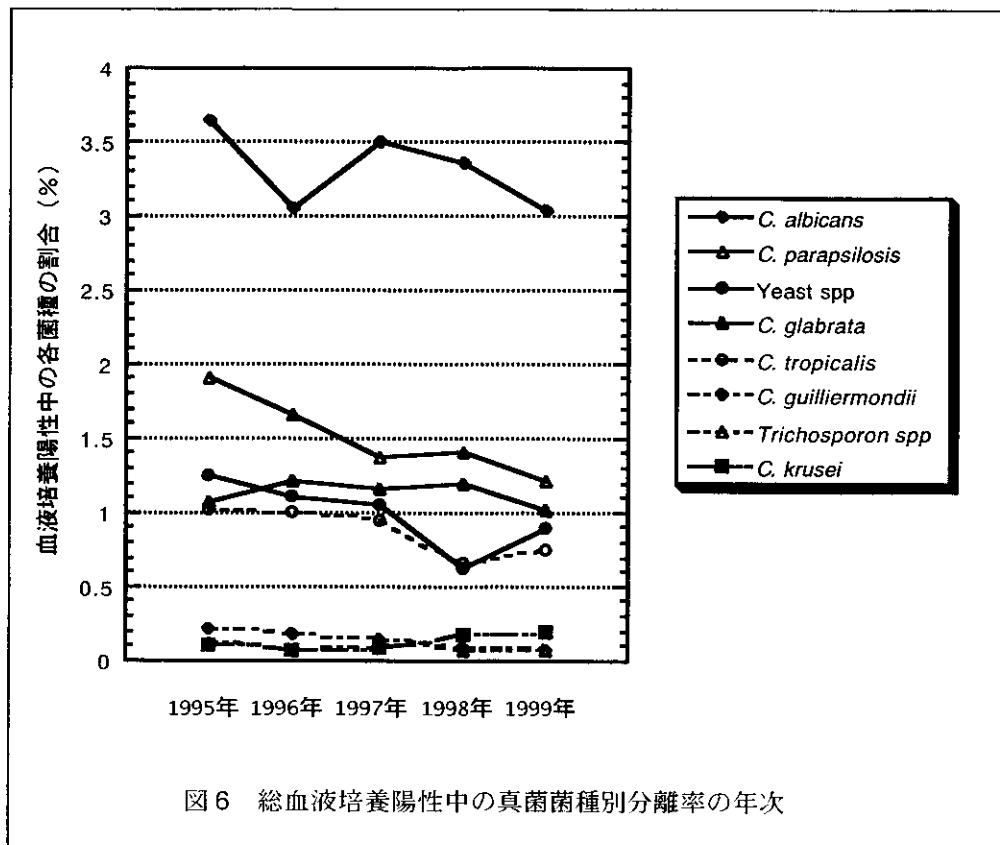


各図からも明らかなように、過去 5 年間にいずれも漸次上昇し、1999 年の培養総数および培養陽性件数はそれぞれ 1995 年の 120% および 125% に増加した。一方、真菌培養陽性件数は図 3 に示したように完全に横ばいであった。総血液培養数に対する総血液培養陽性率および真菌培養陽性率の年次変化を図 4 および図 5 に示した。即ち、血液培養陽性率は培養総数のほぼ 12% にあたり 5 年間一定していた (図 4)。しかし培養陽性となった件数のうち、真菌が検出された割合は 1995 年の 9.8% から 1999 年の 7.8% に減少していた (図 5)。

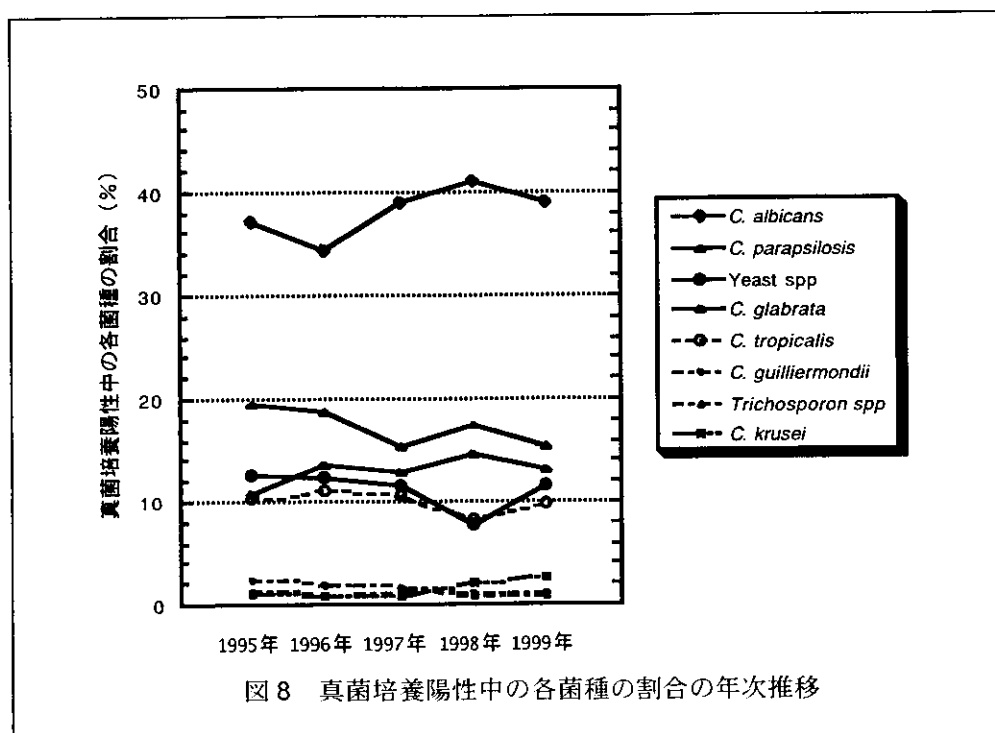
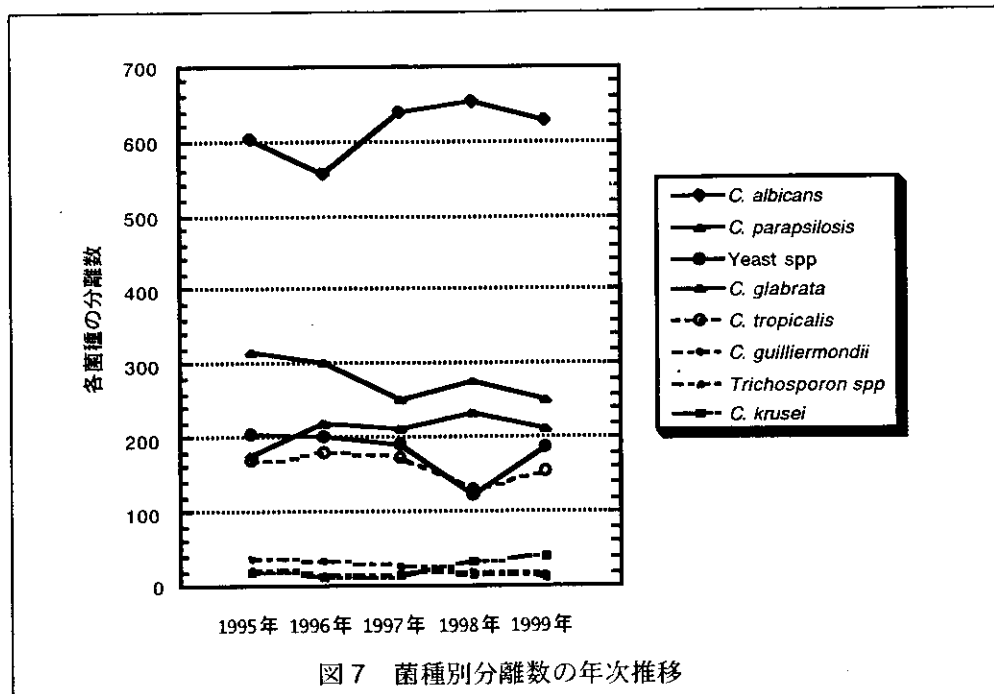




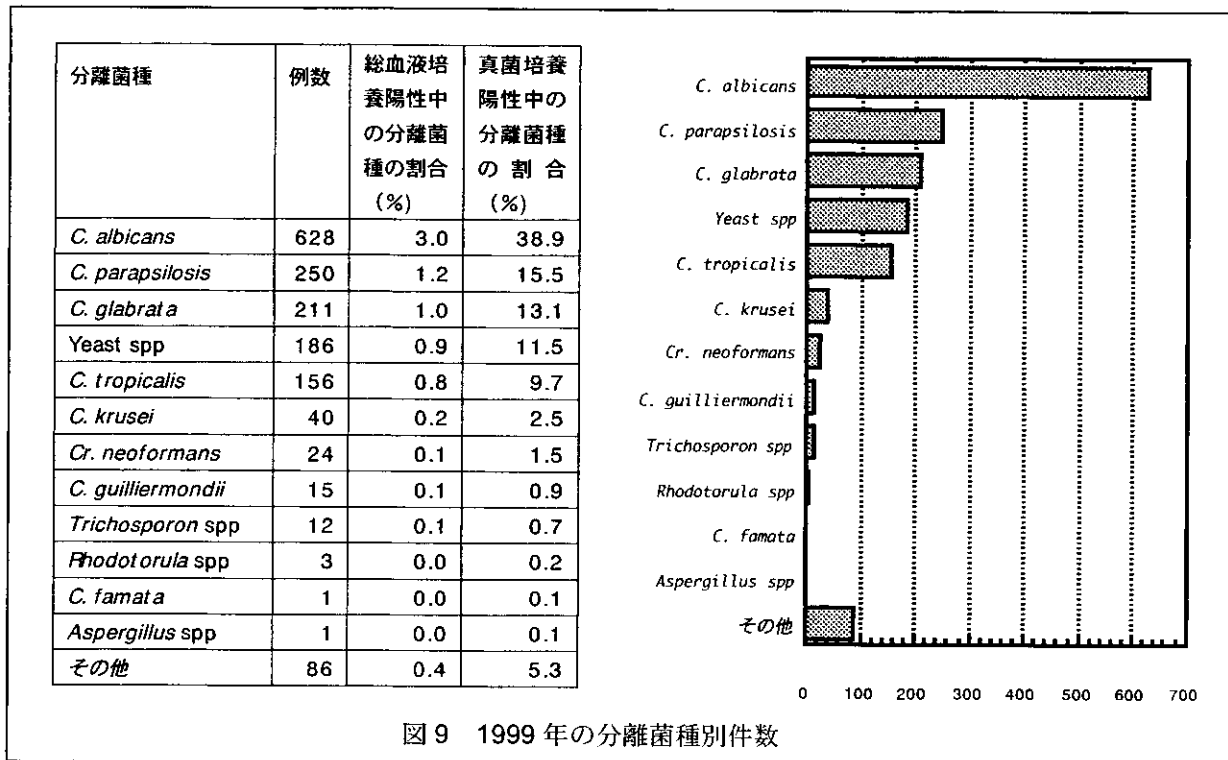
培養陽性になった件数のうち、真菌の菌種別の割合についての年次推移を図6に示した。1995年の集計では、*Candida albicans* が3.7%で最も多く、ついで *C. parapsilosis* の1.9%、未同定の Yeast spp が1.3%、*C. glabrata* 1.1%、*C. tropicalis* 1%であり、その他 *Trichosporon spp*、*C. guilliermondii*、*C. krusei* などが検出された。しかし、この分離率は菌種によっては漸次減少し、1999年には *C. albicans* は約3%に、*C. parapsilosis* は1.3%に減少した。



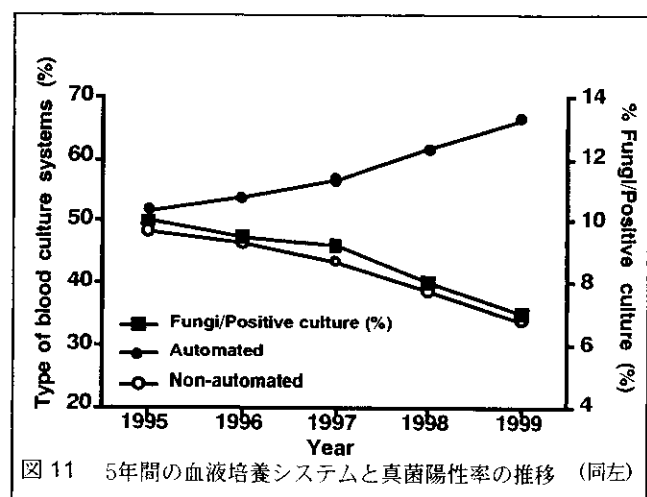
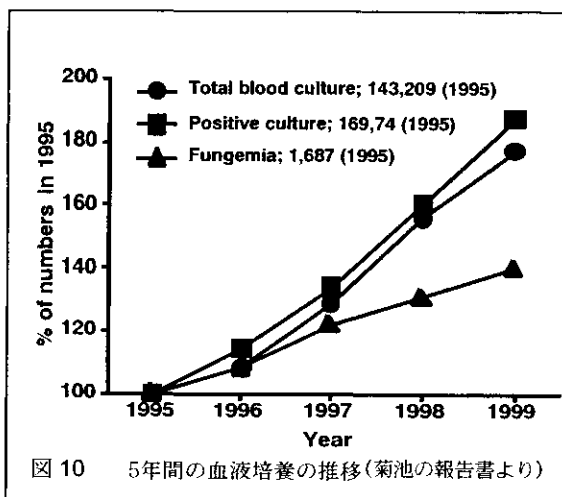
さらに菌種別の年次推移について、図 7 に真菌培養陽性中の各菌種の分離総数を、図 8 に真菌培養陽性中に占める割合を現わした。予想されたように過去 5 年を通じて *C. albicans* が真菌培養陽性全体の 35~40% を占めていた。ついで *C. parapsilosis* が多かったが、その分離率は過去 5 年間に 20% から 15% へと減少していた。それに対して *C. glabrata* と *C. krusei* がわずかではあるが上昇の傾向が伺われた。この 2 菌種は現在最もよく使われているアゾール系抗真菌剤のフルコナゾールに対してある程度自然耐性を示すので、*C. albicans* や *C. parapsilosis* に入れ代わって検出される頻度が増していることが裏付けられる。今後はこれらの菌種の分離動向に注目する必要がある。



1999年の単年度の分離菌種および件数結果を図9に集計した。



回答が得られた 253 通のすべてについて、過去 5 年間の総血液培養数、総血液培養陽性件数、真菌培養陽性件数を比較したものを図 10 に示す。血液培養数および培養陽性件数は年々増え続けており、その率はほとんど同じであった。一方、真菌陽性件数は増加しているものの、前 2 者に比べて、カーブが緩やかであった。このことは上述の図 5 から明らかなように、血液培養陽性の中の真菌血症の比率はむしろ減少していることになる。



そこで、各施設でどのような血液培養システムを用いているのか集計した。結果を図 11 に示す。血液培養自動検出システムの導入が過去 5 年間で急速に進んでおり、それと反比例して従来のマニュアル検出法が用いられなくなっている。このマニュアル検出法の推移と全血液培養陽性件数に占める真菌陽性数の比率の 2 つのカーブがぴったりと重なっているのがよくわかる。

アンケート B のまとめ

総病床数、総血液培養数、真菌培養陽性は 1995、1996 年などの年次にはデータの記載がない施設がかなりあったので、5 年間のデータが揃っていた施設のアンケートを集計し、5 年間の年次推移とした。また最近 1 年間の分離菌種別件数 (1999 年の結果) は図 9 に示した。総血液培養数に対する総血液培養陽性件数 (微生物陽性率) は 12~13% であり (図 4)、予想を裏づけた。また 1995 年度の微生物陽性の中の真菌陽性の割合も 10% 近くであり、これまでの報告とほぼ同じ結果であった。しかしその後減少し、1999 年には 8% となったが、その理由としては次に述べるような複数の因子が影響しているものと考えられる。

深在性真菌症の増加傾向を指摘する報告が多い中で、真菌血症が年々減少傾向にあるのは一見、矛盾しているように考えられる。それが真の現象であるのか、それとも検出システムに問題があるのかという点についての検証が必要である。そこで、最近導入が進んでいる血液培養自動検出システムが浮かび上がってきた。これらのシステムは孵卵器中で自動的に震盪培養を行っている。このため、一般細菌の培養効率が上がり、検出時間が短縮される。真菌が検出される検体には混合感染が少なくなき、このことはより培養に時間のかかる真菌が増殖する前に、一般細菌が増殖し過ぎて、真菌の検出に支障をきたしている可能性が考えられる。また、こうした血液培養自動検出システムでは観察期間を 48 時間などで区切っているが、この培養時間は真菌を検出するには不十分であり、設定条件を見直す必要があると考えられた。実際に深在性真菌症を検出するシステム上の問題点が浮かび上がってきたことで、こうしたシステムの検証や培地の改良等が今後当研究班で行われ、解決されなければならない課題の一つであると考えている。

また最近、虎の門病院血液科の上昌広らの

グループは、深在性真菌症における血液培養の有効性に関して興味深い指摘をしている¹⁾。彼らは 1980 年より 1999 年まで剖検によって深在性真菌感染症と診断された症例を対象とし、生前の血液培養陽性率をしらべて培養結果に影響する因子を解析し、フルコナゾール投与が血液培養に与える影響を *in vitro* で検討した。その結果 *C. albicans* の培養陽性率は 1980 年代の 37% から 1990 年代には 13% に低下したことを見出し、吸収性抗真菌剤の予防投与が *C. albicans* 感染の培養陽性率を低下させると述べた。また彼らは採血量と培養陽性率に正の相関を認め、培養ボトルに 300 CFU の *C. albicans* を接種しても 20 μ g/ml のフルコナゾールが培地に添加されている場合には培養は陰性であったと報告した。従って、吸収性抗真菌剤の投与および不十分な量の採血は *C. albicans* の血液培養の感度を低下させると結論づけている。

今回のアンケート調査によっても、予想されたように真菌血症由来の菌種の中では *C. albicans* が最も多い。しかし、依然、菌種同定がなされていなかったり、また同定が困難な株も相当数含まれているものと思われる。真の深在性真菌症の実態を把握するためには、今後さらに真菌の検出、同定技術の向上をはかることが重要であると考えられた。*C. glabrata* や *C. krusei* などは今回の調査からみずかではあるが増加の傾向が見られたが、これらの菌種による薬剤耐性が大きな問題となっているため、抗真菌剤の不適切な使用によって、今後 MRSA や緑膿菌などと同じように院内感染の起因菌として拡がる恐れもある。このような深在性真菌症の正確な実態を把握するためのシステム作成は非常に重要であり、本研究の使命の一つであると考えている。

深在性真菌症の発生動向を正確に知るためには、一部の診療科に限定されたデータを集積しても、それが我が国の真菌症の実体を把

握したことにはならない。病院全体でどのような真菌血症が存在するのかを的確に判断できる施設が調査対象としては望ましい。検査部に真菌に明るい協力的な人がいて、かつ臨床背景を調べられるような感染症医のいる施設が理想的であるが、この条件を満たす施設は多くはないものと思われる。各施設での血液培養数、陽性率、真菌培養率、分離菌種に加え、臨床データ（CRP, WBC, beta-glucan など）で一定の判定基準を定め、一定の基準を越えたものをより臨床的意義の高い、即ち敗血症の可能性の高い真菌血症として別に集積することが有効ではないかと考えられる。コンピューターで容易に検索できる項目でデータを集める 'presumptive sepsis' といった新しい概念を真菌血症に取り入れることにより、あらたな真菌症発症の実体があらわれるのではないかと考えられる。現在比較的規模の大きな 17 施設で向こう 1 年間発生する真菌血症全例の詳細な調査を行い、遺伝学的な菌の正確な同定による発生状況、薬剤耐性、分子疫学的特徴などの調査を並行して行っている。今後は真菌症発生動向の正確な把握にはこのような方法（分担研究者の菊池賢が担当）による解析を待つ必要がある。総入院患者数は延べ人数、新規入院患者数等、施設によって解釈がまちまちとなり今回の集計には利用出来ず、今後の反省点となった。

最後に今回の調査からは知ることができなかったアスペルギルス症の発生動向について付け加える。調査方法として真菌血症に焦点を絞ると、データの信頼性やまとめやすさの点では利点があるが、カンジダを主体とした酵母様真菌が片寄って検出されるという限界がある。カンジダ症が最も重要な深在性真菌症の一つであることはいうまでもないが、臨床現場ではアスペルギルス感染症の発症率も大きな問題としてすでに顕在化しているので嚴重な注意を払わなければならないのは当然

である。久米らによる日本病理剖検輯報に基づいた解析では²⁾、最近数年間で再び真菌症の発生率が上昇し、アスペルギルス症などの重篤度の高い深在性真菌症が増加する傾向にあることが報告されている。アスペルギルスは確定診断が難しく、疫学的調査には困難さを伴うが、この機会にある程度発生動向を知ることが重要であると考えられる。従って、診断基準を定め、過去のアスペルギルス症の発症例を内科、外科、感染科などから広く集積することが必須であり、発症率の推移を調査することが極めて重要である。またこの疾患は致命率が高いことから、日本病理剖検輯報はこれらの深在性真菌症の発症率の推移を知るための重要な参考資料になると思われる。

結論

血液培養自動検出システムの導入が進むことで、それに反比例して真菌血症の検出率は年々低下傾向にあった。深在性真菌症の正しい診断、検出を行うため、検査システムの改良も念頭に置く必要がある。preliminary には真菌血症の中で *C. albicans* 以外の菌種の増加傾向がうかがえる。今後、菌種の正確な同定方法を踏まえた真菌血症の動向調査が引き続き必要である。

参考資料

1. 上 昌広, 武藤良知, 町田詩子, 米山彰子, 平井久丸, 松村有子, 坂巻 寿. 深在性真菌症における血液培養の有効性 内科学会抄録, 2000.
2. 久米 光, 阿部美知子. 病理剖検例にみる内臓真菌症の疫学 The Mycology News 3, 16-19, 2000.

アンケート協力施設一覧

北海道地区

日鋼記念病院
 市立室蘭総合病院
 王子総合病院
 札幌医科大学医学部附属病院
 医仁会中村記念病院
 市立札幌病院
 溪仁会西円山病院
 旭川赤十字病院
 市立旭川病院
 滝川市立病院
 砂川市立病院
 JA 北海道厚生連総合病院旭川厚生病院
 厚生連総合病院帯広厚生病院
 釧路労災病院
 市立釧路総合病院
 総合病院釧路赤十字病院
 総合病院北見赤十字病院

東北地区

秋田組合総合病院
 平鹿総合病院
 由利組合総合病院
 大館市立総合病院
 岩手医科大学附属病院
 青森県立中央病院
 八戸市立市民病院
 十和田市立中央病院
 弘前大学医学部附属病院
 国立療養所松丘保養園
 八戸赤十字病院
 福島県立医科大学医学部附属病院
 財団法人星総合病院
 財団法人竹田総合病院
 財団法人厚生会仙台厚生病院
 東北大学医学部附属病院
 東北労災病院
 国立療養所西多賀病院
 東北厚生年金病院
 国立仙台病院
 公立気仙沼総合病院
 山形県立中央病院
 山形市立病院済生館
 山形大学医学部附属病院

鶴岡市立荘内病院

山形県立日本海病院

北陸地区

福井医科大学医学部附属病院
 福井県立病院
 福井赤十字病院
 金沢大学医学部附属病院
 国立金沢病院
 富山県立中央病院
 高岡市民病院
 立川メディカルセンター立川総合病院
 新潟県厚生連長岡中央総合病院
 新潟大学医学部附属病院
 佐渡総合病院
 新潟県立新発田病院

関東地区（東京以外）

市立川崎病院
 帝京大学医学部附属溝口病院
 聖マリアンナ医科大学病院
 昭和大学藤が丘病院
 北里大学東病院
 相模原協同病院
 横浜市立大学医学部附属市民総合医療センター
 横浜市立大学医学部附属病院
 総合病院横須賀共済病院
 横須賀市立市民病院
 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院
 日本医科大学付属千葉北総病院
 国立精神・神経センター国府台病院
 国立がんセンター東病院
 柏水会初石病院
 順天堂大学医学部附属順天堂浦安病院
 総合病院国保旭中央病院
 国保直営総合病院君津中央病院
 帝京大学医学部附属市原病院
 総合病院土浦協同病院
 東京医科大学霞ヶ浦病院
 総合病院取手協同病院
 筑波大学附属病院
 水戸赤十字病院
 株式会社日立製作所日立総合病院
 国立療養所晴嵐荘病院
 国立栃木病院

済生会宇都宮病院
上都賀総合病院
大田原赤十字病院
埼玉社会保険病院
毛呂病院
埼玉医科大学附属病院
埼玉医科大学総合医療センター
清和会新所沢清和病院
防衛医科大学校病院
前橋赤十字病院
群馬大学医学部附属病院
伊勢崎市民病院
桐生厚生総合病院
山梨県立中央病院
財団法人山梨厚生会厚生病院
山梨医科大学医学部附属病院

東京地区

財団法人自警会東京警察病院
国立がんセンター中央病院
東京慈恵会医科大学附属病院
東京医科歯科大学医学部附属病院
東京大学医学部附属病院
都立駒込病院
都立墨東病院
NTT 東日本関東病院
昭和大学病院附属東病院
東京労災病院
都立住原病院
日本赤十字社医療センター
都立広尾病院
国立病院東京医療センター
東邦大学医学部附属大橋病院
東京医科大学病院
慶応義塾大学病院
東京女子医科大学病院
社会保険中央総合病院
日本大学医学部附属板橋病院
武蔵野赤十字病院
杏林大学医学部附属病院
都立府中病院
公立昭和病院
永生会永生病院
東京慈恵会医科大学附属第三病院

信越地区

長野赤十字病院

長野県厚生農業協同組合連合会北信総合病院
信州大学医学部附属病院
岐阜市民病院
岐阜大学医学部附属病院
県立岐阜病院
大垣市民病院

東海地区

静岡赤十字病院
静岡県立総合病院
清水市立病院
焼津市立総合病院
市立島田市民病院
聖隷浜松病院
浜松医科大学医学部附属病院
県西部浜松医療センター
豊橋市民病院
岡崎市民病院
愛知県厚生農業協同組合連合会厚生病院
名古屋第一赤十字病院
名古屋掖済会病院
中部労災病院
社会保険中京病院
愛知県がんセンター病院
国立療養所東名古屋病院
名古屋第二赤十字病院
八事病院
藤田保険衛生大学病院
加茂病院
トヨタ記念病院
市立半田病院
愛知医科大学附属病院
小牧市民病院
春日井市民病院
公立陶生病院
一宮市立市民病院

近畿地区

三重県厚生連鈴鹿中央総合病院
国立三重中央病院
三重大学医学部附属病院
滋賀県立成人病センター
市立長浜病院
長浜赤十字病院
大阪府済生会中津病院
大阪府立成人病センター
大阪警察病院

大阪赤十字病院
大阪厚生年金病院
景岳会総合病院南大阪病院
国立療養所刀根山病院
大阪府済生会吹田病院
大阪大学医学部附属病院
恒昭会藍野病院
関西医科大学附属病院
星ヶ丘厚生年金病院
若弘会若草第二竜間病院
大阪府立羽曳野病院
大阪労災病院
国立療養所近畿中央病院
国立療養所千石荘病院
ベルランド総合病院
医仁会武田総合病院
京都市立病院
国立療養所南京都病院
京都社会事業財団京都桂病院
奈良県立奈良病院
天理よろづ相談所病院
奈良県立医科大学附属病院
和歌山県立医科大学附属病院
社会保険紀南総合病院
神戸市立中央市民病院
関西労災病院
兵庫医科大学病院
姫路赤十字病院

中国地区

鳥取県立中央病院
山陰労災病院
総合病院松江赤十字病院
島根医科大学医学部附属病院
川崎医科大学附属川崎病院
岡山済生会総合病院
国立岡山病院
岡山赤十字病院
財団法人倉敷中央病院
広島県厚生農業協同組合連合会尾道総合病院
広島市立安佐市民病院
広島大学医学部附属病院
国立呉病院
国立岩国病院
山口県立中央病院
総合病院山口赤十字病院

山口大学医学部附属病院

四国地区

高松市民病院
香川県立中央病院
香川医科大学医学部附属病院
国立療養所香川小児病院
徳島大学医学部附属病院
小松島赤十字病院
高知県立中央病院
高知医科大学医学部附属病院
愛媛県立中央病院
松山市民病院
松山赤十字病院
国立療養所愛媛病院
愛媛大学医学部附属病院

九州沖縄地区

北九州市立医療センター
社会保険小倉記念病院
財団法人健和会大手町病院
産業医科大学病院
国立病院九州医療センター
北九州古賀病院
国立療養所福岡東病院
九州大学医学部附属病院
原土井病院
福岡大学病院
徳洲会福岡徳洲会病院
麻生セメント株式会社飯塚病院
久留米大学病院
佐賀県立病院好生館
佐賀医科大学医学部附属病院
長崎大学医学部附属病院
国立長崎中央病院
国立療養所菊池患楓園
国立療養所再春荘病院
熊本市民病院
大分県立病院
国立別府病院
大分医科大学医学部附属病院
県立延岡病院
宮崎医科大学医学部附属病院
鹿児島大学医学部附属病院
琉球大学医学部附属病院
国立療養所沖縄愛楽園

(各地区郵便番号順)

平成12年度厚生科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業
分担研究報告書

新しい抗真菌剤の探索

上原 至雅、新見 昌一（国立感染症研究所） - - - - - 33

輸入真菌症の発生動向調査

亀井 克彦（千葉大学真菌医学研究センター） - - - - - 36

日和見真菌および新興真菌による真菌症の分子疫学的調査と予防・治療法の開発に関する研究

菊池 賢（東京女子医科大学医学部） - - - - - 45

輸入真菌症および日和見真菌症の迅速診断法の開発

榎村 浩一（帝京大学医真菌研究センター） - - - - - 48

真菌感染成立に関与する Myeloperoxidase

鈴木 和男（国立感染症研究所） - - - - - 64

抗真菌剤耐性機構の解明と排出ポンプ阻害剤の探索

新見 昌一（国立感染症研究所） - - - - - 69

平成 12 年度厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)

「輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究」

分担研究報告書

新しい抗真菌剤の探索

主任研究者 上原至雅 国立感染症研究所 部長

分担研究者 新見昌一 国立感染症研究所 室長

研究要旨：玉川大学学術研究所奥田徹教授より分与された糸状菌培養抽出物 960 検体をスクリーニングに供し、フルコナゾール存在下で真菌の増殖阻害活性の有無をしらべた。スクリーニングの評価系としてはアゾール剤耐性の *Saccharomyces cerevisiae* OE 株 (Pdr5p 過剰発現) およびアゾール剤耐性臨床分離株 *Candida albicans* B59630 株 (Cdr1p と Cdr2p ポンプが発現亢進)、フルコナゾール自然耐性の *C. krusei* IFO 0011 株を用いた。その結果、いくつかのサンプルがフルコナゾール存在下でこれらのアゾール剤耐性真菌の増殖を阻害した。

A. 研究目的

カンジダ症、アスペルギルス症、クリプトコックス症などの深在性真菌症が、エイズ、悪性腫瘍患者や臓器・骨髄移植患者を中心に高頻度に発症しており、医療の先進・高度化に伴う日和見感染症として極めて憂慮すべき状況にある。重篤な基礎疾患をもつヒトは感染防御能が極度に低下しているため、そのような患者に対する日和見真菌症の予防や治療薬として副作用の少ないアゾール系抗真菌剤（フルコナゾールなど）が幅広く長期的にしかも大量に使われている。その結果、アゾール剤耐性を示す臨床分離株が頻繁に分離されるようになり、その上抗細菌剤に比べて使用可能な抗真菌剤の数と種類は極めて限られているので、真菌症の治療が今後一層難しくなることが予想される。

微生物資源としての菌類の有用性については本研究の研究協力者玉川大学学術研究所の奥田徹教授により研究報告書で述べられている。本研究では、奥田徹教授より分与された

糸状菌培養抽出物をスクリーニングに供し、フルコナゾールとの相乗効果によりアゾール剤高度耐性真菌の増殖を阻害する物質を探索する。

B. 研究方法

糸状菌培養抽出物 960 サンプルを検索した。スクリーニングの評価系としては、Prof. Andre Goffeau (Unite de Biochimie Physiologique, Universite de Louvain, Belgium) および Dr Brian C Monk (Molecular Microbiology Laboratory, University of Otago, New Zealand) が作製した *Saccharomyces cerevisiae* OE 株を用いた。この株は *S. cerevisiae* の薬剤排出ポンプ Pdr5p が過剰発現してフルコナゾールに高度耐性 (MIC = 600 µg/ml) となった変異株である。*S. cerevisiae* OE 株を 40 µg/ml のフルコナゾールを含むまたは含まない YEPD 培地に加えて角形シャーレに流して固めた。次にサンプルを含ませたペーパ

ーディスクを培地表面に置き、27℃で2日間培養した。フルコナゾールを含まない培地では菌の増殖を阻害せず、フルコナゾール存在下で増殖を阻止するサンプルを探した。また活性を示したサンプルについては同様の方法で Cdr1p と Cdr2p がいずれも顕著に亢進したためにアゾール剤耐性になったと考えられる臨床分離株 *Candida albicans* B59630 株（参考文献を参照）およびアゾール剤自然耐性の *C. krusei* IFO 0011 株に対する阻害効果をしらべた。

C. 研究結果

960サンプルのうち、いくつかのものがフルコナゾール存在下で *S. cerevisiae* OE 株に対して強い増殖阻害活性を示した。Fig. 1 に示したようにその内の8サンプルは *C. albicans* B59630 株に対しても強い増殖阻害作用を有し、しかもそれらのほとんどがアゾール剤自然耐性の *C. krusei* IFO 0011 株に対してフルコナゾール存在下で増殖を阻止した。

D. 考察

以上の結果からフルコナゾール高度耐性の *S. cerevisiae* のみならず、*C. albicans* や *C.*

krusei に対してもフルコナゾールとの共存下で強い増殖阻害活性を示す糸状菌培養抽出物が検出された。今後はマイクロタイタープレートアッセイによりフルコナゾール感受性化テスト、フルコナゾールの細胞内蓄積に対する阻害効果、in vitro における排出ポンプ ATPase 阻害効果などをさらに検討する。

E. 結論

糸状菌培養抽出物960検体をスクリーニングに供し、フルコナゾール存在下で真菌の増殖阻害活性を示すものを見い出した。

F. 健康危険情報

ない。

G. 研究発表

ない。

H. 参考文献

Albertson, G. D, Niimi, M., Cannon, R. D. and Jenkinson, H. F. Multiple efflux mechanisms are involved in *Candida albicans* fluconazole resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40, 2835-2841 (1996).

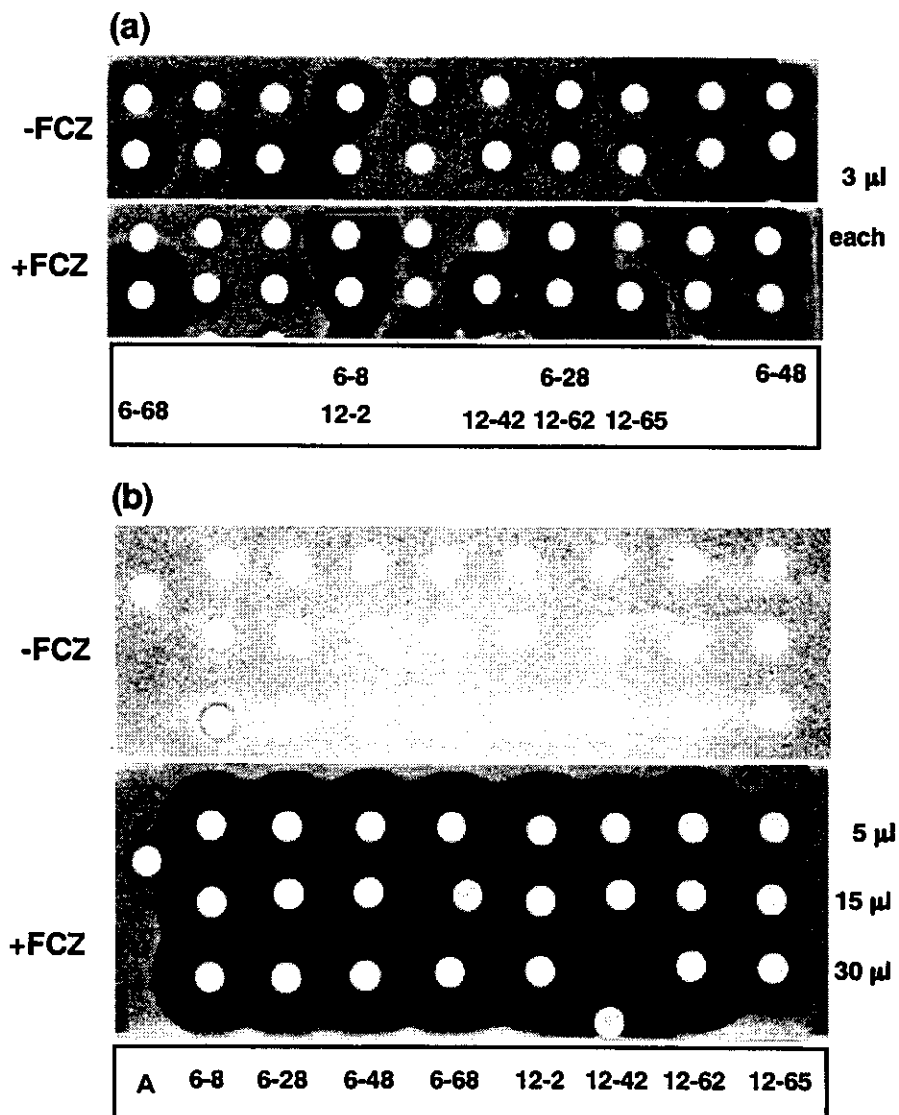


Fig. 1. Synergistic antifungal activities of culture extracts and fluconazole on azole-resistant *S. cerevisiae* OE strain (a) and *C. albicans* B59630 clinical isolate (b). Ascomycin (A, 10 μ g as a positive control) and indicated amounts of culture extracts were spotted onto each disc. FCZ: Fluconazole (40 μ g/ml).