

Fig. 1. コウモリグアノからの *Trichosporon* spp. の分離頻度

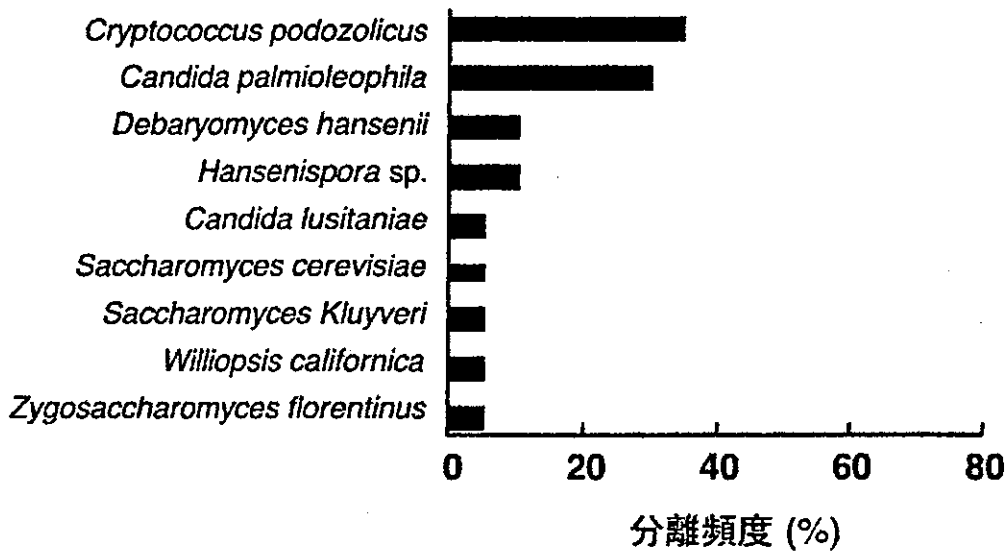


Fig. 2. コウモリグアノからの *Trichosporon* spp. 以外の酵母の分離頻度

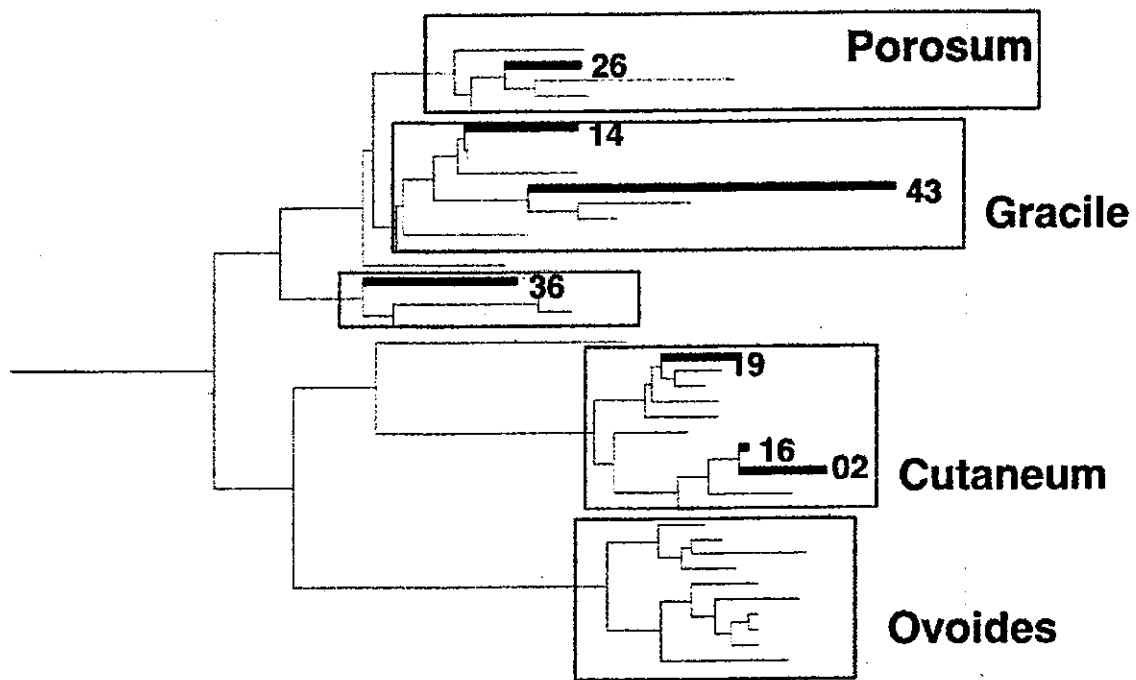


Fig. 3. 新種 *Trichosporon* spp. の系統学的位置
数字が新種株。

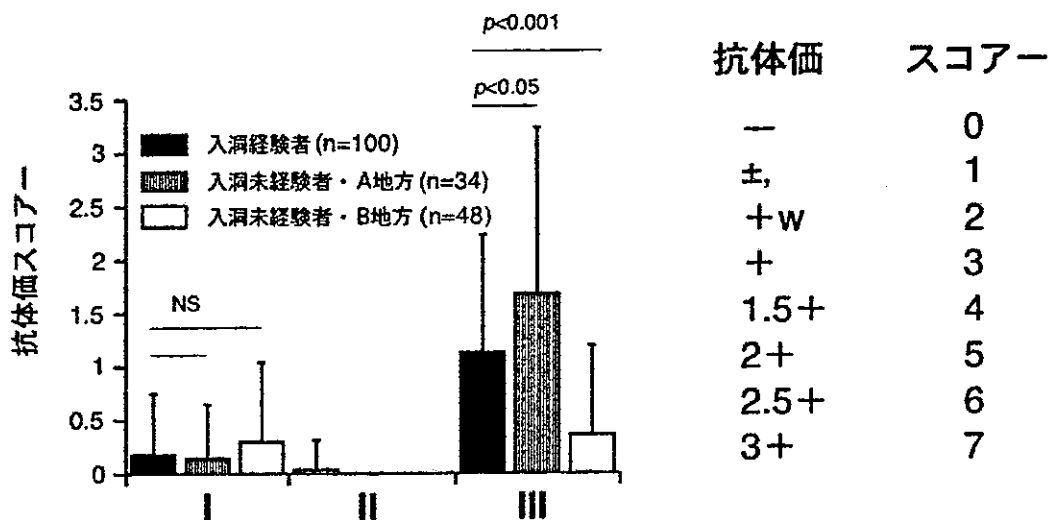


Fig. 4. 入洞経験・未経験者血清中の抗 *Trichosporon* 抗体価

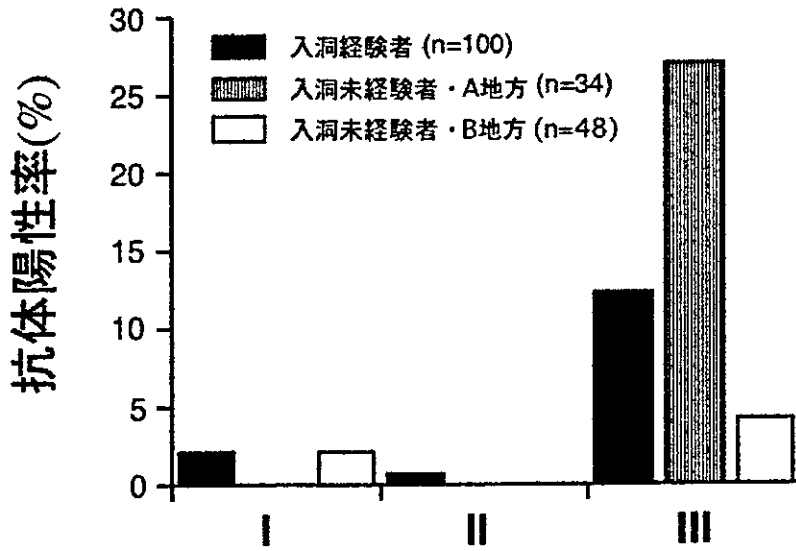


Fig. 5. 入洞経験・未経験者血清中の抗 *Trichosporon* 抗体価

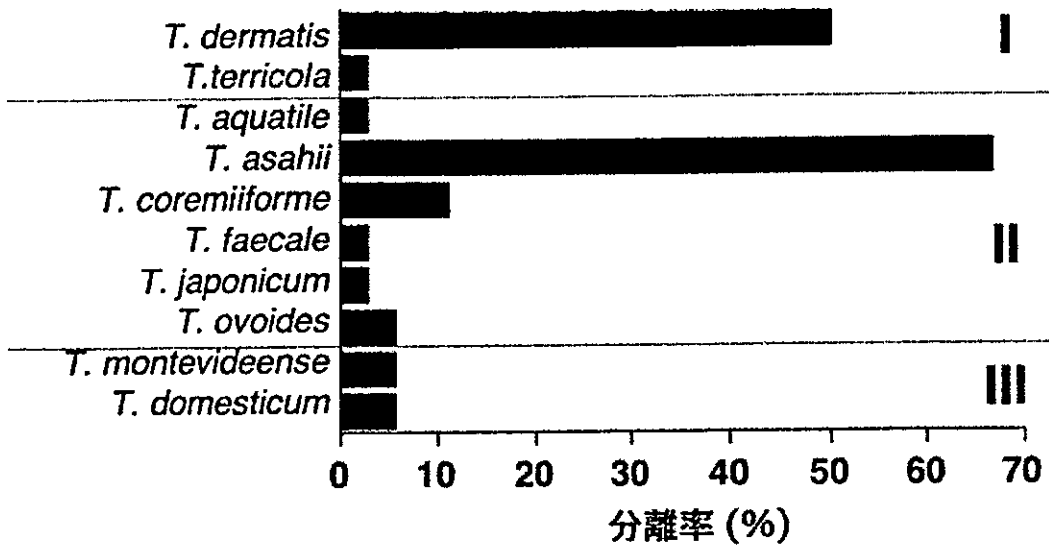


Fig. 6. 夏型過敏性肺臓炎患者家屋からの *Trichosporon* spp. の分離頻度

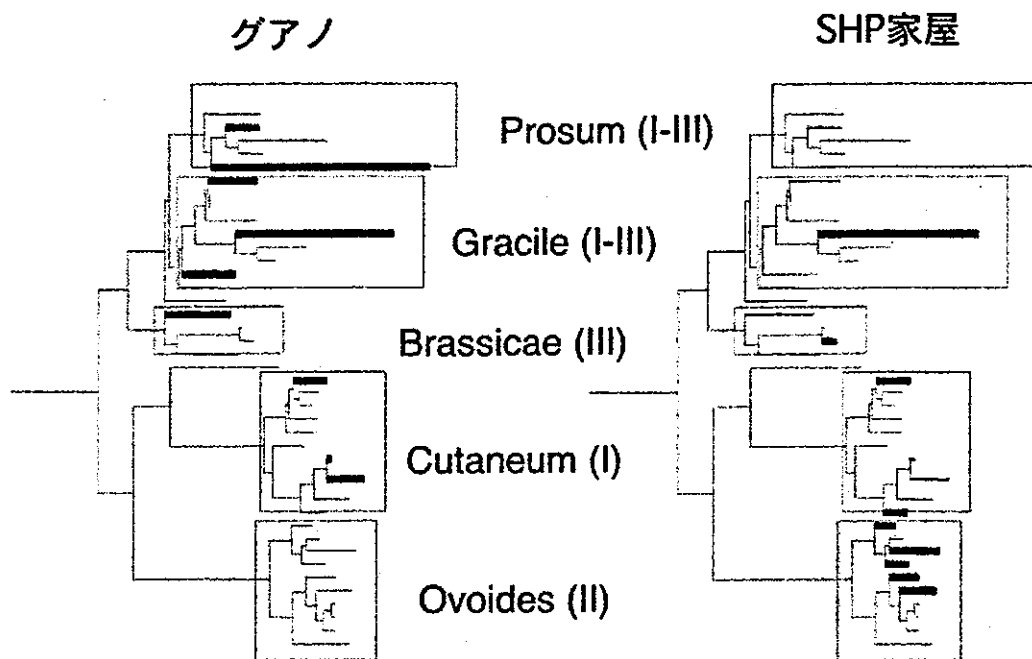


Fig. 7. グアノとSHP患者家屋から分離された *Trichosporon* spp.の菌相の比較
 太字の系統枝が分離された菌種を示す。菌株の血清型は)内に示した。

3. 輸入真菌症の実態調査

A. 研究目的

これまでの研究によりわが国の輸入真菌症症例数は全体として増加傾向にあること、医療スタッフにおいて十分な知識が普及していないこと、その一方で、感染症法の対象疾患が限られていること等から、すべての症例を把握するのは困難であることなどを示してきた。この中でも輸入真菌症、特にコクシジオイデス症、ヒストプラズマ症の増加については懸念が大きく、このまま増加を続けていくと深刻な事態が予想される。一方、これらの症例の増加時期がわが国の経済成長と合致しているため、経済状況が安定している現在、症例数が減少に転ずる可能性も考えられる。そこで、わが国における輸入真菌症の実態調査を行った。

B. 研究方法：

症例は以下の方法で収集した。すなわち

1) 診断、治療法のコンサルテーションを受けるため、千葉大学真菌医学研究センターの真菌症コンサルテーションサービスを窓口として主治医より接触のあった症例、2) 菌株の同定、抗体の測定などを目的として、真菌症特殊検査サービス等を窓口として依頼のあった症例、3) 感染症法4類報告、4) 医学中央雑誌、日本呼吸器学会誌、日本感染症学会雑誌、日本医真菌学会誌、Medlineなどより報告症例を検索した。必要に応じて主治医に直接問い合わせを行ない詳細な経過を確認した。

C. 研究成果 (図)：

1) コクシジオイデス症

総症例数は42例であった。2004年度は5例が確認され、prospectiveな統計をとり始めてから1年間あたりの症例数としては最高を記録した。全体の経過としてもこれまでの右肩上がりの増加傾向が持続していることが明らかとなった。また播種型コクシジオイデス症に伴う死亡例が確認された。これは日本に居住する70歳の米国人(白人)に見られた症例で、Wegener肉芽腫を基礎疾患とし播種に至ったものと考えられた。本症例は、初期感染の再燃と考えられるが、肺炎にて発症し、培養、抗体測定などにより診断され、早期より治療を開始したものの、病巣は急速に広がり救命しえなかった。剖検において、*Coccidioides immitis*の全身初臓器への播種が確認された。なお、本症例の診療に当たっては、検査部との連携がスムーズでなく、輸入真菌症の特徴である感染事故が発生する危険性が示された。また、2004年の症例においては、感染地は5例中4例がアリゾナ、残り1例がカリフォルニアであり、近年見られるアリゾナ感染例の増加傾向が持続していることが確認された。

2) ヒストプラズマ症

2004年のヒストプラズマ症は3例認められ、ほぼ前年と同様であり、総計は43例となった。5年ごとの症例数という観点から見ると、緩やかな増加傾向にあると考えられた。感染地は1例はホンジュラスと考えられたが、1例は中南米およびマレーシアなどの流行地を広汎に旅行しており、確定できなかった。残り

1例はこれまでしばしば見られた例と同様に感染地が必ずしも確認できなかった。また、長年にわたり診断に至らなかったヒストプラズマ性髄膜炎の症例が確認された。本例では血清診断法を用いず、起因菌を手がかりに診断を行うという手法が用いられたが、起因菌の確認に長期間を要し、結果的に診断に至らないまま長期間を経過していた。なお、動物のヒストプラズマ症は確認されなかった。

3) パラコクシジオイデス症およびその他の輸入真菌症

2004年にはパラコクシジオイデス症を始め、その他の輸入真菌症の報告は見られなかった。

D. 考察

今回の結果から、最も危険とされるコクシジオイデス症が、急速な勢いで増加を続けていることが明らかとなり、輸入真菌症の増加が我国の好景気（いわゆるバブル経済）に伴う一時的な現象でないことが示された。この原因の一つとして、今回の感染地として80%を占めたアリゾナでの患者数が増加が影響していることが考えられる。アリゾナでの増加が続く以上、わが国での症例の増加も当分の間持続するものと予測され、わが国にとって重要な問題と考えられる。

それぞれの症例の内容を見ると、コクシジオイデス症で全身播種に伴う死亡例が確認された点が重要と思われる。コクシジオイデス症は、もとより真菌症の中で最も危険なものとしてきたが、われわれの集計でも、これまで1961年の報告以来、過去43年間にわた

って死亡例がなく、「感染力は強いが、生命予後は良好」という誤った印象を持たれがちであった。しかし、米国では毎年多数の死亡例、重症例が発生しており、これまでのわが国での症例は、むしろ特殊事情によると考えるべきであろう。これまでのわが国での症例を分析してみると、患者はいずれも若い留学生や企業より派遣されていたビジネスマンであり、基礎疾患のない健康な青年あるいは中年であったが、今回は、発症時Wegener肉芽腫を基礎とする免疫不全状態にあった点が大きく異なっている。今回の症例は、high risk groupが罹患すると、容易に重症化し致死的になる疾患であるというコクシジオイデス症の本質を再認識されるものであった。

また、この症例はこれまでの症例と異なり、幼少時の感染病巣からの再燃と考えられた。免疫不全を基礎とした再燃は重症化しやすいことが知られており、今後、わが国でも症例が増加していくにつれ、以前の感染の再燃という形での発症が増加することが予想される。また現在は大部分が初感染の症例であるため、診断の目安として「流行地への訪問歴+潜伏期間」から逆算して輸入真菌症であるかどうかを推測する方法が推奨されているが、再燃例ではこの方法は使用できない。このような疾患パターンの変化に対応するため、本症に関する医療従事者の教育と検査体制の充実が早急に求められる。

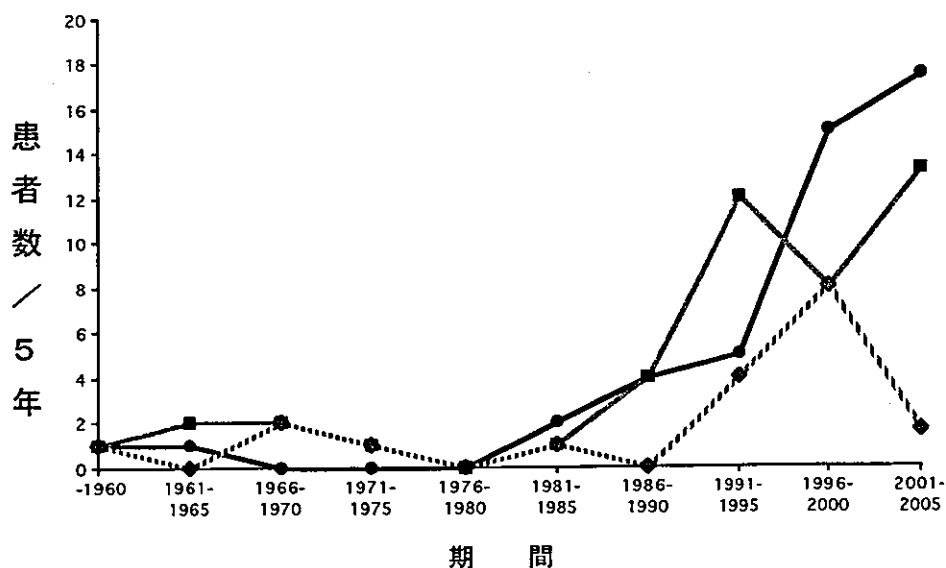
ヒストプラズマ症は3例認められ、計43例となった。うち1例は感染地が必ずしも確認できず、国内感染の可能性も考えられたが、これはこれまでの傾向と同様であり、本症の特

徴と考えられた。*Histoplasma capsulatum* の国内生息の有無につき、現在われわれのグループで進行している研究を推進する必要があると示された。

また、長年にわたり診断に至らなかったヒストプラズマ性髄膜炎の症例では、菌が確認された後に抗体測定に依頼があり、陽性の結果を得た。しかし、病態から見て抗体はかなり早期より検出可能であったと考えられ、実施していればより早期の診断に結びついた可能性が考えられる。この点で、本例は本症を積極的に疑うことの重要性を示唆する症例と考えられる。ともするとこの種の疾患は呼吸器内科医において特に関心が高く、ほかの領域ではやや関心が持たれにくい傾向が

あると思われるが、神経内科を含め広い範囲の医療従事者に知識を広めることが重要と思われた。

パラコクシジオイデス症は2004年は症例が見られなかった。これまで本邦における患者の多くがブラジル人であったことを考えると、近年の患者数の減少は、最大の流行地であるブラジルからの労働者の流入が著しく減少したことによると思われる。今後の経済状況や社会環境の変化に伴い、流入人口が増加すれば、症例数も急増する可能性が考えられる。マルネツフェイ型ペニシリウム症やプラストミセス症についても同様と考えられ、注意が必要である。



図：我国の輸入真菌症症例数の変遷。コクシジオイデス症、ヒストプラズマ症の増加が明らかである。(●コクシジオイデス症、■ヒストプラズマ症、◆パラコクシジオイデス症)

4. ヒストプラズマ症血清診断に関する基礎的研究

A. 研究目的：

ヒストプラズマ症はわが国においてはコクシジオイデス症とともに1、2を争う頻度を持つ輸入真菌症である。また現在も症例の増加が続いており、医療上も重要な疾患である。本症の診断には、菌の培養、病理組織などがあるが、いずれも特殊な設備を要したり、観血的な手技が必要である。簡便な補助診断法として、抗体あるいは抗原を検出する血清診断法が行われているが、わが国の症例で用いてみると、感度が十分に高くないなど満足できる性能を持っているとは言い難い。そこで本疾患の簡便な補助診断法として血清診断法の測定系を確立するために、血清診断法開発の基礎研究を行った。

B. 研究方法

1) *Histoplasma capsulatum* 抗原の作成

Histoplasma capsulatum より抗原を作製した。千葉大学真菌医学研究センター菌株保存施設に保存してある菌株より *H. capsulatum* var. *capsulatum* (15株) および *H. capsulatum* var. *duboisii* (4株) を選択し、これらをPDBおよびBHIにて27/35°Cで1ヵ月および1週間振盪培養し、回収、洗浄の後、ガラスビーズにて破碎した。この上清を生食で洗浄して回収、フィルター滅菌の上、Lowry法にてタンパク濃度を測定の後、-80°Cに保存して適宜利用した。

2) 抗体の検出

ペトリディッシュ (ø8 cm) を用いて拡散用のアガプレートを作製し、免疫拡散法 (Immunodiffusion法, ID法) にて測定を行った。タンパク濃度を700 μg/ml に調整し、陽性コントロール、陰性コントロールの血清 (原液および濃縮液) と反応させ、25°Cにて最大24時間および48時間後に判定した。また、比較のため市販の *Histoplasma capsulatum* 抗原を対象として用いた。なお、陰性コントロールは健常人血清を、陽性コントロールは市販の陽性血清を用いた。

C. 研究結果

24時間後、48時間後とも市販の抗原と陽性血清の組み合わせでは、明瞭なバンドを検出した。作製した抗原では、*H. capsulatum* var. *duboisii* より作製した抗原では、24時間後に太く明瞭なバンドを検出したが、時間経過とともに不明瞭になった。*Histoplasma capsulatum* より作製した抗原液では、24時間後に不明瞭なバンドを確認するも48時間後には検出できなかった。

D. 考察

これまでの研究班による症例検討から、市販されている抗体検出法は陽性率が低いことが示唆されており、臨床的に問題となっている。今回得られた基礎的なデータより、今後、抗原 (culture filtrate, cytosol)、検出法の選択 (ELISA, IFA, ID, CF) 等の検討が必要と思われる。また、測定法確立のためには標準血清の入手が必須であり、今後、流行地

の医療機関との連絡を密にする必要がある。

E. まとめ

- ・ 輸入真菌症はコクシジオイデス症、ヒストプラズマ症を中心に増加を続けており、特にコクシジオイデス症の増加が注目される。
- ・ 2004年に過去43年間みられなかったコクシジオイデス症の全身播種による死亡例が見られた。
- ・ 症例の増加、重症化、あるいは慢性化、再燃化に伴い、より高い診断技術が求められるようになっている。
- ・ 事故につながる輸入真菌症取り扱い時の院内連携体制の整備を含め、わが国における診療体制、教育体制の見直しが必要である。
- ・ ヒストプラズマ症血清診断法については、現在頻用されている方法が低感度である点が問題であり、新たな開発について慎重に検討する必要がある。

資料 1. 洞窟探検家等への説明文書

「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-日本国内血清抗ヒストプラズマ抗体価

および抗トリコスポロン抗体価調査研究」被験者の方へ

1. 本研究について

ヒストプラズマ (*Histoplasma capsulatum*) はヒトや動物に急性、慢性の呼吸器感染症を起こす真菌 (かび) です。中南米、北米、東南アジア、アフリカ、オーストラリアなど世界各国で発生がみられ、米国では毎年 50 万人余りが感染しています。ヒストプラズマはコウモリや鳥類の腸管に生息し、これらの糞で汚染された土壌からも検出されます。菌の含まれる土壌などの細かい粒子を吸い込むことにより、感染を起こします。

日本国内ではこれまでにヒトで 40 数例が報告されています。その多くは海外での感染ですが、一部に国内で感染したとしか思われなないケースが存在します。国内の飼い犬や競走馬の感染例も報告されています。これらの感染源は不明ですが、国内環境に既にヒストプラズマは定着している可能性があります。

急性ヒストプラズマ症は cave fever (洞窟熱) とも呼ばれ、洞窟探検家などが洞窟に入った後、1-4 週間して咳、頭痛、発熱、痰、筋肉痛などの風邪様症状で発症します。診断は血液検査で行います。健康な方に発症した急性ヒストプラズマ症のほとんどの場合は、特別な治療をしないでも治ってしまいますが、一部に慢性ヒストプラズマ症へ移行し、長期に渡って症状が続くことがあります。このため、国内でも洞窟探検後に引いた「風邪」「インフルエンザ」はヒストプラズマ症の可能性があります。これまでに日本洞窟学会などの御協力を得まして行った洞窟探検家の方に対するアンケート調査から国内の洞窟探検家の約 16% が洞窟入洞後に呼吸器症状を示していることが明らかになっています。また、日本の洞窟内コウモリグアノ調査からヒストプラズマは検出されない

ものの、グアノにはトリコスポロン(*Trichosporon*)が多く含まれることがわかりました。トリコスポロンは自然界に広く分布する真菌(かび)の1種で、環境中に飛び散っている菌を繰り返し吸入することで夏型過敏性肺臓炎と呼ばれる疾患を引き起こします。このため洞窟探検家にしばしばみられる呼吸器症状はトリコスポロンによる夏型過敏性肺臓炎の可能性も考えられます。我々は、この度、平成16年度厚生労働省新興・再興感染症研究事業としてヒストプラズマ症、トリコスポロン症の国内での発生動向調査を行なう機会を得ました。そのため、洞窟探検家の方々の血液中のヒストプラズマ抗体、トリコスポロン抗体を測定して、国内におけるヒストプラズマ症の発生の有無、場所をある程度推定し、有症状者と洞窟内の環境調査の関連性を明らかにしたいと考えております。

2. 研究方法について

本研究に御協力いただける方は、同意書、調査書の質問項目に必要事項をご記入の上、採血を受けて下さい。採取された血液は2種類の方法でヒストプラズマに対する抗体を測定し、比較的最近の急性感染、慢性感染、過去の感染のいずれであるか判断します。同時にトリコスポロンに対する抗体も2種類の方法で測定し、入洞後に出現した呼吸器症状との関連性を調べます。

3. 結果の公表、個人情報の保全について

本研究は研究終了後、学会で発表され、医学雑誌に投稿されます。本研究以外の目的で使用されることはありません。得られたデータにより、個人が特定されることはありません。

4. 謝礼について

本研究にご参加いただいた被験者の方には、採血終了後に謝礼(2000円)をお支払い致します。

資料 2. 同意書

同意書

研究担当者 東京女子医科大学 感染症科 菊池 賢 殿

研究名称：「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-日本国内血清抗ヒストプラスマ抗体価および抗トリコスポロン抗体価調査研究」

私は担当医師から上記研究の内容を、説明文書に基づき、十分に説明を受けました。私は担当医師の説明及び説明文書の記載事項をよく理解し承知した上で、本研究に参加することを私の自発的意志によって同意します。その証として以下に署名し、説明文書「日本国内血清抗ヒストプラスマ抗体価および抗トリコスポロン抗体価調査研究被験者の方へ」を受け取ります。

私は本研究に参加することに同意します。

被験者の方のご署名欄

平成 年 月 日

被験者氏名： _____ (自署)

住所： _____

担当医師の署名欄

平成 年 月 日

医師氏名： _____ (自署)

所属： 東京都新宿区河田町 8-1 東京女子医科大学 感染症科

13) 入洞の頻度（平均日数／年間） 約（ ）日 国内の割合 %

14) 入洞した洞窟数（平均数／年間） 約（ ） 国内の割合 %

15) 過去に入洞後（1～4週間）に、せき・たん・息切れ・発熱・倦怠感などを経験されたことがありますか はい ・ いいえ

「はい」とお答えになった方は上記症状に関連した事柄を具体的に教えて下さい

- a. 洞名（ ） 入洞年・月（ ）頃
- b. 経験した症状を選んで（ ）に○を入れて下さい
せき（ ） たん（ ） 息切れ（ ） 発熱（ ）
倦怠感（ ） その他： （ ）
- c. 一緒に入洞した方で上の症状を示した方はいましたか
はい（ ） いいえ（ ）
- d. 上記症状に関連して医療機関を受診しましたか
はい ・ いいえ
- e. 診断名（ ）
受診年・月（ ）頃
- f. 上記受診時の症状はどのくらい続きましたか
（ ）

18) 現在、せき・たん・発熱・倦怠感などの症状はありますか
はい（せき・たん・発熱・倦怠感・その他： ） ・ いいえ

19) 今回既に洞窟に入られましたか はい ・ いいえ
「はい」と答えられた方にお聞きします

入洞された洞窟名

入洞された日時 8月18・19・20・21・22日

滞在されていた時間

入洞後に、以下の症状を感じましたか

せき あり・なし

たん あり・なし

息切れ あり・なし

発熱 あり・なし

倦怠感 あり・なし

一緒に入洞した方で同じような症状を示した方はいましたか

はい ・ いいえ

20) ヒストプラスマについて御存知でしたか はい ・ いいえ

21) 後日検査結果について、御報告したく存じます。さしつかえなければご連絡先をお書き下さい。

電話

ファックス

E-mail

郵送：

宛先氏名

郵便番号

住所

御協力ありがとうございました。

資料 4. 被験者調査票—洞窟負荷試験後用

「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-日本国内血清抗ヒストプラスマ抗体価
および抗トリコスポロン抗体価調査研究」

被験者調査票—入洞後ペア血清測定用

- 1) 検体番号
- 2) 入洞前採血 あり・なし 入洞前採血検体番号
- 3) 体温

下記項目についてご記入下さい。

- 4) お名前
- 5) 今回入洞された洞窟名
- 6) 入洞されていた時間
- 7) 入洞後に、以下の症状を感じましたか
せき あり・なし
たん あり・なし
息切れ あり・なし
発熱 あり・なし
倦怠感 あり・なし
- 8) 一緒に入洞した方で上の症状を示した方はいましたか？
はい ・ いいえ

御協力ありがとうございました。

Detection of anti-*Histoplasma* antibody and anti-*Trichosporon* antibody in speleologists

For participants

Histoplasma capsulatum is one of pathogenic fungi against human and animals. This fungus distributes in many continents such as North America, Mid-South America, Southeast and South Asia, Africa, and Europe. Especially, over 500000 people in the United States are suffered from *Histoplasma* every year. *Histoplasma* is isolated from intestines of bats or some birds and contaminated bat guano or soil. There are three types of infections such as acute or chronic respiratory and disseminated histoplasmosis. Acute histoplasmosis named as “cave fever” is usually self-limited disease 1 to 4 weeks after exposure of *Histoplasma* spore. Patients with acute histoplasmosis show headache, fever, cough, sputum, lethargy, general fatigue, and myalgia. Some sporadic outbreaks were reported in speleologists after caving. *Histoplasma capsulatum* have never been cultured from environments including bat guano or soil in Japan or Korea. However, we have several histoplasmosis that have never been to foreign countries. It supposes that *Histoplasma* have already distributed somewhere in Japan. Histoplasmosis is easily diagnosed as detection of serum antibodies. We reported that 16% of Japanese speleologists showed acute respiratory symptoms 1 to 4 weeks after caving. Moreover, although we have never found any *Histoplasma* in Japanese caves, most of bat guano samples from Japanese caves contain many new species of *Trichosporon*, another fungus that causes summer-type hypersensitivity pneumonitis (SHP). Some cases with acute respiratory symptoms after caving might be SHP caused by *Trichosporon* because they showed positive anti-these new types of *Trichosporon* antibodies. Therefore, we would like to determine anti-*Histoplasma* or anti-*Trichosporon* antibodies in Japanese or Korean speleologists that are high-risk groups of histoplasmosis or *Trichosporon*-SHP.

If you can agree our proposal and can be a participant of this project, we would take blood samples and determine anti-*Histoplasma* and anti-*Trichosporon* antibodies and several infection markers such as white blood cell counts and C-reactive protein before and after caving.

After completing blood tests and their analysis, paper including these data will be submitted to some English-language based medical journal. We never use these data for other purposes. Personal data like participant name, age, or sex are secreted and never opened or submitted.

We will pay 2000 yen after taking blood.

資料 6. 同意書 (英文)

Agreement

To the research representative Ken Kikuchi M.D., Ph.D.
Department of Infectious Diseases, Tokyo Women's Medical University

Name of study: Detection of anti-*histoplasma* antibody and anti-*trichosposon*
antibody in speleologists

I agree the proposal of the study "Detection of anti-*histoplasma* antibody and
anti-*trichosposon* antibody in speleologists" and enroll as a participant of this
study.

Date _____

Name of patient _____ (print)

Signature _____

Address _____

Name of the study representative: Ken Kikuchi M.D., Ph.D. Department of Infectious
Diseases, Tokyo Women's Medical University

Signature

Date 21/8/04

資料 7. 被驗者調查票 (英文)

**Detection of anti-*Histoplasma* antibody and anti-*Trichosporon*
antibody in speleologists—before • after caving**

No. of sample:

Body temperature °C

Please answer the following questions.

1) Name

2) Age 3) Sex Female • Male

4) Country

5) City

6) Work (occupation) years worked

Work place

7) Have you ever worked for mine of minerals, coral, guano, or soils?

Yes • No

8) Have you ever been to the following continentals or districts?

Yes (North America, South America, Central America, Australia, Africa, South Asia, Southeast Asia, Middle East, Europe) • No

9) Have you ever been to caves in the following continentals or districts?

Yes (North America, South America, Central America, Australia, Africa, South Asia, Southeast Asia, Middle East, Europe) • No

10) Have you ever had tuberculosis? Yes • No

11) Are you a smoker?

Yes: How long? How many per day?

No

12) Speleologist carrier years

13) How frequently do you enter caves per year? days

14) How many caves do you enter per year? Number of caves:

15) Have you had any symptoms of cough, sputum, dyspnea, fever, fatigue, lethargy after caving? Yes • No

If you say “Yes”, please answer the followings.

A) Name of the cave

B) Year caved

C) Select any symptoms that you felt. Cough Sputum Fever Dyspnea Fatigue
Lethargy

D) Are there any other persons with similar symptoms at the same time? Yes · No

E) Did you go to the hospital about this episode? Yes · No

F) How long did these symptoms sustain?

18) Do you have the following symptoms right now? Yes : cough, sputum, dyspnea,
fever, fatigue, lethargy · No

19) Did you enter any caves during the 30th conference of the Speleological Society of Japan
(August 20-22 2004)? Yes · No

If you say “Yes”, please answer the name, date, duration of caving.

Name of the cave

Date of caving

Duration of caving hours

Did you have the following symptoms ?

Cough Yes · No

Sputum Yes · No

Dyspnea Yes · No

Fever Yes · No

Fatigue Yes · No

Lethargy Yes · No

Are there any other persons with similar symptoms at the same time? Yes · No

20) Did you know *Histoplasma* before attending the 30th conference of the Speleological
Society of Japan? Yes · No

21) If possible, please let me know your E-mail address or mail address. After completing
analysis, we inform you the results immediately.

Address

E-mail address

Thank you for your contribution.