

平成17年度

厚生労働科学研究費補助金(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

研 究 報 告 書

平成18年4月

主任研究者 上原 至雅

(国立感染症研究所生物活性物質部長)

目 次

総括研究報告書：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 上原 至雅（国立感染症研究所）	1
分担研究報告書：コクシジオイデス症およびヒストプラズマ症など輸入真菌症国内発生状況 の把握およびヒストプラズマ症の血清診断法に関する研究 亀井 克彦（千葉大学真菌医学研究センター）	23
分担研究報告書：本邦で分離された真菌血症由来酵母 353 株の遺伝子学的同定 group I intron typing について 菊池 賢（東京女子医科大学感染症科）	31
分担研究報告書：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）	39
分担研究報告書：Fluorescence in situ hybridization（FISH）法を用いた病理細胞診検体に認め られる病原糸状菌の判別に関する基礎的検討 篠崎 稔（東邦大学医療センター大森病院病理部） 渋谷 和俊（東邦大学医学部病院）	58
分担研究報告書：造血器悪性腫瘍患者における深在性真菌症の頻度 上 昌広（東京大学医科学研究所）	62
分担研究報告書：非培養系による <i>Histoplasma</i> の定量的検出と種内多様性の解析 杉田 隆（明治薬科大学）	66
分担研究報告書：真菌感染抵抗性の解析と治療の評価系の開発 鈴木 和男（国立感染症研究所）	72
分担研究報告書：真菌の病原性および薬剤耐性機構の解明 新見 昌一、上原 至雅（国立感染症研究所）	82
分担研究報告書：コクシジオイデス症病原体検出用プライマーの設計とコクシジオイデス症 遺伝子診断法の開発 上原 至雅（国立感染症研究所） 梅山 隆（国立感染症研究所） 新見 昌一（国立感染症研究所） 西村 和子（千葉大学真菌医学研究センター） 亀井 克彦（千葉大学真菌医学研究センター） 佐野 文子（千葉大学真菌医学研究センター）	88
研究協力者による研究報告書：日本病理剖検輯報を検索対象とした深在性真菌症の疫学調査 久米 光（北里大学医学部病理学講座） 渋谷和俊（東邦大学医学部病院病理学講座） 上 昌広（東京大学医科学研究所）	91
研究協力者による研究報告書： <i>Coccidioides</i> spp. の多種遺伝子配列に基づいた再同定 佐野 文子（千葉大学真菌医学研究センター）	98

平成17年度 厚生労働科学研究費補助金(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」名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
主任研究者	上原 至雅	国立感染症研究所・生物活性物質部	部長
分担研究者	亀井 克彦	千葉大学・真菌医学研究センター	教授
分担研究者	菊池 賢	東京女子医科大学・感染症科	講師
分担研究者	榎村 浩一	帝京大学・医真菌研究センター	助教授
分担研究者	渋谷 和俊	東邦大学医学部・病院病理学講座	教授
分担研究者	上 昌広	東京大学医科学研究所・探索医療ヒューマンネットワークシステム部門	客員助教授
分担研究者	杉田 隆	明治薬科大学・微生物学教室	講師
分担研究者	鈴木 和男	国立感染症研究所・生物活性物質部・第三室	室長
分担研究者	新見 昌一	国立感染症研究所・生物活性物質部・第一室	室長
研究協力者	山口 英世	帝京大学医学部	名誉教授
研究協力者	倉島 篤行	NHO 東京病院・臨床研究部	部長
研究協力者	久米 光	北里大学医学部・病理学講座	講師
研究協力者	佐野 文子	千葉大学・真菌医学研究センター	助教授
研究協力者	染谷 孝	佐賀大学農学部・応用生物科学科・土壌環境学研究室	助教授
研究協力者	石川 淳	国立感染症研究所・生物活性物質部・第四室	室長

平成17年度厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

総括研究報告書

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 - - - - - 1

上原 至雅 (国立感染症研究所生物活性物質部)
亀井 克彦 (千葉大学真菌医学研究センター)
菊池 賢 (東京女子医科大学感染症科)
榎村 浩一 (帝京大学医真菌研究センター)
渋谷 和俊 (東邦大学医学部病院病理学研究室)
上 昌広 (東京大学医科学研究所)
杉田 隆 (明治薬科大学微生物学教室)
鈴木 和男 (国立感染症研究所生物活性物質部)
新見 昌一 (国立感染症研究所生物活性物質部)

主任研究者

上原至雅 国立感染症研究所生物活性物質部長

平成17年度厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

総括研究報告書

「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」

主任研究者 上原至雅 国立感染症研究所 部長

研究要旨：(1) 輸入真菌症の発生動向については、コクシジオイデス症およびヒストプラズマ症が増加を続けている。とくにコクシジオイデス症の増加が著しく実態調査を開始してから最多の患者数を示し、滞日中の米国人患者の増加など新しい傾向が認められた。(2) 一方、国内における深在性真菌症発生状況とその動向に関する詳細な文献調査を行い、得られた結果を示した。(3) さらに我が国の悪性腫瘍患者における真菌感染症の実態を明らかにするため、虎の門病院、東京都立駒込病院、東京大学において、1980年1月から2001年6月までに血液内科に入院し、剖検を行った720人の病歴・剖検記録を調査した。720人の患者のうち、252人(35%)で深在性真菌感染症が病的に確認された。起炎菌の種類はカンジダ属 (n=94)、アスペルギルス属 (n=91)、接合菌 (n=34)、クリプトコッカス属 (n=7)、トリコスポロン (n=11)、フザリウム (n=1)、不明 (n=20)であった。研究期間中にカンジダ感染の頻度は著明に減少した。その頻度は1980年代には13.5%であったが、1990年代には9.6%に減少した。アスペルギルス感染症の頻度は研究期間中に一貫して増加した。その頻度は1980年代には9.1%であったが、90年代以降は26.7%であった。1990年代には、アスペルギルスが造血器悪性腫瘍患者における最も高頻度に認められる病原真菌となった。本研究は真菌感染が造血器悪性腫瘍の主要な合併症であり、その起炎菌は変化しつつあることを示している。(4) また1997年より2005年までに国内17施設で発生した真菌血症由来酵母353株について、従来の生化学的手法に加え、ITS1-5.8S rDNA-ITS2, 26S rDNA D1/D2領域の塩基配列解析による遺伝子学的同定を行った。菌株の内訳は *Candida* 属が327株(92.6%)とほとんどを占めた。*Candida* では *C. albicans* が150株(42.5%)と最も多く、次いで *C. parapsilosis* 89株(25.2%)、*C. glabrata* 41株(11.6%)、*C. tropicalis* 28株(7.9%)の順であり、4菌種で308株(94.2%)を占めた。(5) 輸入真菌症診断法については、コクシジオイデス症病原体検出用プライマーの設計とコクシジオイデス症遺伝子診断法を開発した。またヒストプラズマ症の起炎菌 *Histoplasma capsulatum* の臨床材料からの非培養系による定量的検出を指向し、TaqMan probeを用いたreal time PCR検出系を開発した。

分担研究者：	上 昌広	東京大学医科学研究所・探索医療ヒューマンネットワークシステム部門・客員助教授
亀井克彦	千葉大学真菌医学研究センター・教授	
菊池 賢	東京女子医科大学・感染症科・講師	杉田 隆 明治薬科大学・微生物学教室・講師
楨村浩一	帝京大学医真菌研究センター・助教授	鈴木和男 国立感染症研究所・生物活性物質部・第三室・室長
渋谷和俊	東邦大学医学部病院病理学講座・教授	新見昌一 国立感染症研究所・生物活性物質部・第一室・室長

1. 輸入真菌症の実態調査

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、コクシジオイデス症で全身播種による死亡例が発生するに至ったこと、その一方で、感染症法の対象となっているコクシジオイデス症以外の輸入真菌症では実態把握が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が続いていること、重症化が見られていることについては懸念が大きく、引き続き実態調査が必要と考えられた。

症例は前回と同様の方法で収集した。すなわち真菌症のコンサルテーション、菌株の同定、抗体の測定などを目的として、当センターに主治医より接触のあった症例、感染症法4類報告、醫學中央雑誌、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。

1. コクシジオイデス症

総症例数は49例であった。2005年は7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であった2004年をさらに上回った。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。2004年のような死亡例は見られなかったが、昨年1名確認された米国人の感染例が、2005年は2例に増加しており、来日して日本に居住している外国人での感染が日常的に見られ

るようになったことが確認された。また、2005年の症例においては、感染地は7例中4例がカリフォルニア、残りのうち2例がアリゾナであり、近年最大の感染地がアリゾナからカリフォルニアに変化していることが確認された。

2. ヒストプラズマ症

2005年のヒストプラズマ症は2004年と同様に3例認められた。総計は46例となった。5年ごとの症例数は、緩やかな増加傾向にあると考えられた。感染地は1例は米国と考えられた。これまで我が国での米国感染症例はこれまで非常に少なかったが、米国は本症の最大流行地と考えられるため、妥当なものと考えられた。また、1例は海外渡航歴がなく、これまでもしばしば指摘されてきている我が国における国内感染の可能性が示唆された。

3. パラコクシジオイデス症およびその他の輸入真菌症

2005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。

前回の調査で指摘されたコクシジオイデス症およびヒストプラズマ症の増加が持続していることが確認された。その中でもヒストプラズマ症の増加は緩やかであるものの、コクシジオイデス症の増加は著しく特に注意を要すると考えられた。これまで、コクシジオイデス症の増加の主要な原因として、

アリゾナでの患者数の増加が影響しているものと推測されてきたが、2005年は患者数が比較的安定しているカリフォルニアでの感染例が中心を占めていた。この理由は不明であるが、いずれにしてもわが国でのコクシジオイデス症の増加は持続する可能性が考えられ、医療機関に対する情報の徹底が必要と思われた。

ヒストプラズマ症は3例認められ、計47例となった。うち1例は感染地では国内感染の可能性も考えられた。現在われわれのグループで研究を進めているヒストプラズマ症原因菌 *Histoplasma capsulatum* の国内生息の検索をさらに継続する必要があるものと考えられる。

II. 深在性真菌症発生状況とその動向調査

深在性真菌症対策に資する基礎資料として、我が国における深在性真菌症発生現況とその動向をまとめる必要がある。その第1期として、本研究班による調査結果を中心とした深在性真菌症発生状況とその動向に関する基礎文献調査を行った。本調査では剖検例に基づく報告例を除き、生前診断例に焦点を絞って調査を行った。

主要深在性真菌症起因菌別、および病態別に、我が国における発生動向に関する近年の文献を中心に検索を行い、必要に応じて海外論文にて補完した。

病態別真菌症発生動向調査

1. 好中球減少者(血液疾患・臓器移植)

(ア)我が国における発症頻度：本邦の急性白血病剖検例における深在性真菌症の頻度は14-50%以上(Kami 2002, Mori 1999, Yoshida 2004)とも報告されている。しかし、本症については診断法が確立されていないために、当然ながら生前診断例に基づく集計ではより低い発生頻度となる。

本邦577例急性骨髄性白血病患者合併感染症中、起因菌が同定された感染症121例(21.0%)、起因菌不明ながら感染巣が特定されたものの184例(31.9%)、熱発のみで上述の何れも不明であった感染疑い例が237例(41.1%)。起因菌が同定された感染症の内真菌感染症の割合は、敗血症68例中11例(16.2%:カンジダが主)、肺炎33例中16例(48.5%:カンジダとアスペルギルスが主であった(Yoshida 1999)。

本邦骨髄移植患者における深在性真菌症の発症率は、4-7%であり、発症者の死亡率は80%(表1:Imataki 2004)。

本邦骨髄移植患者における深在性真菌症の起因菌別発症頻度は、アスペルギルス症(43%)、カンジダ症(24%)である(表2:Imataki 2004)。

本邦骨髄移植患者における侵襲性アスペルギルス症の発症率は、5%であり、発症者の死亡率は74%(表3:Kojima 2004)。

(イ)海外における発症頻度

組織侵入型アスペルギルス症は、allo-BMTで3.8-8.7%、auto-BMTで0.6-4.5%であり前者で高頻度である(Denning 1998)。

移植臓器別真菌感染頻度(表4:Paya 1993)、移植臓器別真菌感染頻度と起因菌(表5:Patel 1997)から、固形臓器移植時における真菌感染は頻度・重症化率共に主要感染症となっている。

(ウ)海外における死亡率

カンジダ症はBMT患者の11.4-12.5%に見られる。カンジダ血症のみの死亡率39%に対して撒布性臓器病変を認める場合の死亡率は90%にも及ぶ(Goodrich 1991)。

顆粒球減少患者の深在性真菌症リスクとしては、リンパ腫で12%、白血病では25%に組織侵人性真菌感染が病的に認められている。骨髄移植患者にアスペルギルス症を合併した場合の死亡率は90%に上る(Bodey 1992)。

2. HIV

(ア)我が国における発生頻度と動向

我が国においてニューモシスチス症とカンジダ症は、HIV感染者において最も重要かつ一般的な日和見疾患である(表6:木村哲 2002)。

(イ)海外における発生頻度と動向

AIDS症例にみる感染症の頻度と推移では、HAART導入後に感染症全般が減少しているが、ニューモシスチス症と食道カンジダ症は圧倒的に高頻度(30-40/千人年)に見られる(図1:Morris 2004)。

3. 免疫健全者(外科・救命領域)

(ア)我が国における発生頻度

我が国の救急・集中治療領域(多施設)では、

全入院患者の12%に深在性真菌症患者が発生(相川直樹 1999)。

救急・集中治療領域の真菌感染起因菌は、85%が *Candida* spp. (内 *C. albicans* 80%以上)、12-13%は他の酵母、1-2%が *Aspergillus* spp.であった(田中秀治 1998, 松岡龍雄 2000)。

杏林大学高度救命救急センターに搬入された重症患者のうち、在室日数10日以上505例の内、277例(54.9%)に真菌感染を認めた。また、10日を超えた長期の気管内挿管を必要とする症例では、80%以上の真菌感染(VAP)を生じる(田中秀治 1999)。

(イ)海外における発生頻度

III度熱傷患者では80%以上の症例において2週間以内に創感染を生じ、その起因菌の内37%を糸状菌が占めており、酵母を含めると全体の60%を超える症例から組織バイオプシーによって真菌感染が証明された(Pruitt 1998)。

再発性消化管穿孔または縫合不全症例の術後カンジダ性腹膜炎発症率は35%だが、FLCZ予防投与例では4%と有意に低下する(Eggimann 1999)。

4. 免疫健全者(婦人科領域)

(ア)我が国における発生頻度と動向

2002年の岐阜大学医学部附属病院産婦人科担癌患者に発症した腹膜炎98症例中真菌が起因菌であった症例は、約5.6%(3.4% *C. albicans*, 0.9% *C. glabrata*, 1.2% other *Candida* spp.)を占めていた。また、起因菌の分離頻度としては、*C. albicans* が減少し、*C. glabrata* が増

加の傾向にある (表7:三嶋廣繁 2003)。

主要深在性真菌症起因菌別発生動向

1. ニューモシスチス症

1) 起因菌: *Pneumocystis jiroveci*

2) 起因菌の分布: 気道常在菌。患者間における伝播が見られ、健常人の20%程度は咳嗽液中から本菌遺伝子が検出される (Medrano 2005)。

3) 発生動向

(ア) 我が国における発生頻度と動向

(再掲) 我が国においてニューモシスチス症とカンジダ症は、HIV 感染者において最も重要かつ一般的な日和見疾患である (木村哲 2002)。

(イ) 海外における発生頻度と動向 (再掲)

(再掲) AIDS 症例にみる感染症の頻度と推移では、HAART 導入後に感染症全般が減少しているが、ニューモシスチス症と食道カンジダ症は圧倒的に高頻度 (30-40/千人年) に見られる (Morris 2004)。

2. カンジダ症

1) 起因菌: *Candida* 属酵母、代表的起因菌を表8 (Takakura 2004) に示す。

2) 起因菌の分布: ヒト粘膜皮膚消化管における正常菌叢

3) 病型別発生状況と動向

(ア) 真菌血症: 全菌血症中、真菌血症の割合

は施設により5-16%程度である (楨村 1993)。起因菌の95%は主要5菌種 (表8) によって占められる (Takakura 2004)。

好中球減少時における発生頻度:

(再掲) 本邦 577 例急性骨髄性白血病患者合併感染症中、内真菌感染症の割合は、敗血症 68 例中 11 例 (16.2%:カンジダが主)、肺炎 33 例中 16 例 (48.5%:カンジダとアスペルギルスが主) であった (吉田1999)。

C. glabrata をはじめとした non-*Candida albicans* による真菌血症が免疫抑制患者において増加している (Nguyen 1996)。

米国における17大学病院 1991-2000 における菌血症1137例中カンジダ血症は、2.9%であった。その起因菌頻度は、*C. albicans* (66%), *C. glabrata* (15%), *C. tropicalis* (9%), *C. parapsilosis* (1%), *C. krusei* (2%) であり、菌種別分離頻度に推移は認められなかった (Marchetti 2004)。

集中治療領域における発生頻度:

85%が *Candida* spp. (内 *C. albicans* 80%以上)、12-13%は他の酵母、1-2%が *Aspergillus* spp. であった (田中2000)。

血液培養で *Candida* spp. が証明される例は侵襲性カンジダ症においても約50%に留まる (Solomkin 1982)。

(イ) カンジダ性眼内炎: 好中球数が保たれた (または回復した) カンジダ血症例に併発する。

症例は増加傾向にある。起因菌は、1990年代前半までは *C. albicans* が圧倒的多数を占めて

いたが、その後は、non-*albicans Candida*が増加傾向にある(矢野1991、表9:草野2000)。

真菌血症におけるカンジダ性眼内炎発生頻度は、9-80%に及ぶ(矢野2004)。

(ウ) 口腔・食道カンジダ症

(再掲)我が国においてニューモシスチス症と(食道・気道)カンジダ症は、HIV感染者において最も重要かつ一般的な日和見疾患である(木村哲 2002)。

(再掲)AIDS症例にみる感染症の頻度と推移では、HAART導入後に感染症全般が減少しているが、ニューモシスチス症と食道カンジダ症は圧倒的に高頻度(30-40/千人年)に見られる(Morris 2004)。

(エ) カンジダ性腹膜炎

(再掲)2002年の岐阜大学医学部附属病院産婦人科担癌患者に発症した腹膜炎98症例中真菌が起病菌であった症例は、約5.6% (3.4% *C. albicans*, 0.9% *C. glabrata*, 1.2% other *Candida* spp.)を占めていた。また、起病菌の分離頻度としては、*C. albicans*が減少し、*C. glabrata*が増加の傾向にある(三嶋廣繁 2003)。

*C. glabrata*は、腹腔、生殖器、カテーテル挿入後感染起病菌の62%を占める(Patterson 1999)。

3. アスペルギルス症

1)起病菌:*Aspergillus*属糸状菌、我が国における主要菌種と呼吸器検体における分離率は、

A. fumigatus 41%、*A. niger* 17%、*A. flavus* 3%、*A. terreus* 不詳、その他未同定の糸状菌39%であった(上原2003)。

2)起病菌の分布:土壌、上水をはじめとした建築物等の環境(Anaissie 2002)

3)病態別発生動向:

(イ) 侵襲性アスペルギルス症

好中球減少患者における発生頻度:

(再掲)本邦577例急性骨髄性白血病患者合併感染症中、起病菌が同定された感染症121例(21.0%)、起病菌不明ながら感染巣が特定されたもの184例(31.9%)、熱発のみで上述の何れも不明であった感染疑い例が237例(41.1%)。起病菌が同定された感染症の内真菌感染症の割合は、敗血症68例中11例(16.2%:カンジダが主)、肺炎33例中16例(48.5%:カンジダとアスペルギルスが主であった(Yoshida 1999)。

(再掲)組織侵入型アスペルギルス症は、allo-BMTで3.8-8.7%、auto-BMTで0.6-4.5%であり、前者で高頻度である(Denning 1998)。

集中治療領域における発生頻度:

(再掲)85%が*Candida* spp. (内*C. albicans* 80%以上)、12-13%は他の酵母、1-2%が*Aspergillus* spp.であった。(松岡龍雄2000、田中秀治1998)。

4. クリプトコックス症

1) 起因菌: 国内臨床分離 *Cryptococcus* 276 菌株の内、81%が *C. neoformans*、11%は non-*neoformans Cryptococcus* であり、8%では種レベルの同定が行われていない。non-*neoformans Cryptococcus* 30株の内、57%が *C. curvatus*, 20% *C. laurentii*, 10% *C. albidus*, 10% *C. uniguttulatus*, 3% *C. humicola* であった (上原 2004)。

分離菌種別死亡率は、*C. neoformans* が49%、non-*neoformans Cryptococcus* では18%であり、前者で有意に予後不良であった (上原 2004)。

2) 起因菌の分布: 自然環境

3) 発生動向:

(ア) 真菌血症:

1997年から2002年までの本症発症率は、漸増傾向にある (上原 2004)。

クリプトコックス血症: *C. neoformans* が血液から分離される例は16%に過ぎなかったが、non-*neoformans Cryptococcus* は、主に(40%)血液から分離された(上原 2004)。

(イ) クリプトコックス脳髄膜炎:

C. neoformans は約半数(47%)が髄液から分離されたが、non-*neoformans Cryptococcus* の髄液分離例は認められなかった(上原 2004)。

5. 接合菌症

1) 起因菌: 本邦から報告された接合症204例の内、起因菌が分離されたものは14例であり、その内訳は、*Mucor* spp. 2例、*Rhizopus oryzae* 2例、*Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* 2

例、*Rhizopus* sp. 1例、*Rhizomucor pusillus* 1例、*Rhizomucor septatus* 1例、*Cunninghamella bertholletiae* 4例、*Cunninghamella elegans* 1例であった(森 2003)。

2) 起因菌の分布: 自然界

3) 発生動向

Voriconazole 治療下のアスペルギルス症例において接合菌症の breakthrough が認められた (Kobayashi 2004)

Voriconazole 予防投与下の幹細胞移植症例において接合菌症の breakthrough が認められた (Marty 2004)

考察

深在性真菌症は生前診断が困難であることから、その発生頻度は、剖検に基づく集計に比較して低い傾向が認められる。しかし、抗真菌化学療法等が比較的奏功するために経験治療等によって死亡に至らない一部の深在性真菌症の発症頻度については、剖検によって計り得ない。従って、症例背景と診断効率等によるバイアスを考慮の上、国内各施設における本症各疾患・病態別の発生頻度の集計を集積し、これを解析し続けることが、我が国の深在性真菌症対策上必須の情報基盤を与えるものとなろう。

今後以下の展望を以て検討を続ける。

(ア) 深在性真菌症を専門としない読者が本症の現状を理解し、必要な対策を講ずる際に必要となるデータブックとして(剖検集計と共)提供する。この際、剖検によってのみ集計がえられるフ

ザリウム症、接合菌症等をはじめとする主要真菌症を収載する(調査項目案:表10参照)。
 (イ) より詳細なデータを収集するために、深在性真菌症発生動向調査拠点病院を選定し、情

報提供を依頼する。

(ウ) 冊子、およびウェブ上で公開する。

(エ) 年次的にデータの更新を行う。

表1 国内63施設骨髄移植患者における深在性真菌症発症率と、発症者死亡率

症例	母数	発生数(率)	発症者死亡率
骨髄幹細胞移植患者	935	37 (4%)	
同種骨髄移植	414	26 (6.3%)	81%
ミニ移植	154	11 (7.1%)	82%

表2 国内施設から報告された深在性真菌症例における真菌症・病型別発症頻度

深在性真菌症	病型	Yoshida 1999		Imataki 2004	
		症例数	頻度	症例数	頻度
カンジダ症	真菌血症	9	33%	6	16%
	呼吸器感染	8	30%	2	5%
	肝脾膿瘍	0	0%	1	3%
	総数(再掲)	17	63%	9	24%
アスペルギルス症	総数	8	30%	16	43%
フサリウム症	総数	0	0%	1	3%
クリプトコックス症	総数	1	4%	0	0%
トリコスポロン症	総数	0	0%	0	0%
接合菌症	総数	1	4%	1	3%
不詳	総数	0	0%	10	27%
	総数	27	100%	37	100%

表3 東京都内4施設骨髄移植患者における侵襲性アスペルギルス症発症率と、
発症者死亡率

症例	母数	発生数(率)	発症者死亡率
骨髄幹細胞移植患者	664	35 (5.3%)	74.30%

表4 移植臓器別真菌感染頻度

	移植臓器				
	心臓	肺・心肺	肝臓	脾臓	腎臓
真菌感染発症率(%)	0-32	15-35	7-42	18-38	0-14
重症化率(%)	77	85-100	53-67	38	6.1

表5 移植臓器別真菌感染頻度と起因菌

起因菌		移植臓器別感染頻度(%)				
		肝臓	腎臓	心臓	肺・心肺	脾臓・腎脾
細菌	合計	33-68	47	21-30	54	35
	CMV	22-29	8-32	9-35	39-41	50
ウイルス	HSV	3-44	53	1-42	10-18	6
	VZV	5-10	4-12	1-12	8-15	9
真菌	<i>Candida</i> 属	1-26	2	1-5	10-16	32
	糸状菌	2-4	1-2	3-6	3-19	3
	<i>Pneumocystis</i>	4-11	5-10	1-8	15	-

表6 我が国のエイズ診療拠点病院における日和見疾患件年次推移

日和見疾患	観察年次(件数)						総 数	%
	1995	1996	1997	1998	1999	2000		
ニューモシスチス肺炎	70	52	76	57	78	100	433	35.3
カンジダ症	42	33	43	23	38	37	216	17.6
サイトメガロウイルス感染症	37	36	34	27	33	42	209	17
活動性肺結核	21	14	27	23	30	23	138	11.2
非定型性抗酸菌症	13	13	25	8	14	15	88	7.2
カポジ肉腫	9	8	7	2	9	17	52	4.2
トキソプラズマ脳症	9	8	11	8	2	8	46	3.7
クリプトコックス症(肺以外)	10	5	9	5	8	8	45	3.7
ヒストプラズマ症	0	1	0	0	0	0	1	0.1
コクシジオイデス症	0	0	0	0	0	0	0	0

厚生科学研究費補助金エイズ対策研究事業「日和見感染症の治療に関する研究」平成13年度報告書より改

表7 真菌性腹膜炎起因菌分離頻度とその推移

起因菌	調査年度別分離頻度(%)		
	1989-1992 (38例)	1993-1997 (75例)	1998-2002 (121例)
<i>C. albicans</i>	73.7	68	57.9
<i>C. glabrata</i>	7.9	14.7	18.2
<i>C. parapsilosis</i>	5.3	5.3	6.6
<i>C. tropicalis</i>	5.3	4	5.8
<i>C. krusei</i>	2.6	4	4.1
Other <i>Candida</i> spp.	2.6	1.3	3.3
Other fungi	2.6	2.7	4.1
合計	100	100	100

表8 国内 156 施設由来真菌血症起因菌 535 株に見る起因菌の分離頻度

菌種	分離菌株(数)	分離頻度(%)
<i>C. albicans</i>	218	40.7
<i>C. parapsilosis</i>	123	23
<i>C. tropicalis</i>	62	11.6
<i>C. glabrata</i>	96	17.6
<i>C. krusei</i>	13	2.4
<i>C. guilliermondii</i>	7	1.3
<i>C. lusitaniae</i>	3	0.6
<i>C. famata</i>	4	0.7
Others	9	1.7

表9 真菌血症に併発した眼内炎の頻度・起因菌とその推移

起因菌	眼内炎／真菌血症	
	1988-1990	1995-1999
<i>C. albicans</i>	9/19	7/7
<i>C. albicans</i> FLCZ 耐性菌(再掲)	0/0	2/2
<i>C. parapsilosis</i>	0/0	0/3
<i>C. tropicalis</i>	0/0	3/3
<i>C. glabrata</i>	0/0	3/4
<i>C. krusei</i>	0/0	1/1
Others	0/0	2/2
総数	9/19 (47%)	16/20 (80%)

表10 調査項目案

A 病態別真菌症発生動向

1. 好中球減少者(血液疾患・臓器移植)
2. HIV
3. 免疫健全者: 1)外科・救命領域、2)婦人科領域、3)呼吸器領域、4)一般内科

B 起因菌別発生動向

1. ニューモシスチス症
2. カンジダ症: 1)真菌血症、2)眼内炎、3)口腔カンジダ症、4)食道カンジダ症、5)腹膜炎
3. アスペルギルス症: 1)アスペルギローマ、2)肺炎
4. フザリウム症
5. クリプトコックス症: 1)真菌血症、2)肺炎、3)脳髄膜炎
6. トリコスポロン症
7. 接合菌症
8. その他稀な真菌症起因菌

C 抗真菌薬感受性の動向

表11 *Malassezia* 属菌種別分離培養培地発育支持性結果

	Oil-PDA	mDIX	LNA	LNA (-)
<i>E. M.furfur</i>	A	A	A	A
<i>M.sympodialis</i>	C	A	A	A
<i>M.globosa</i>	E	E	B	B
<i>M.obtuse</i>	E	D	B	B
<i>M.slooffiae</i>	C	A	A	A
<i>M.restricta</i>	E	D	D	D
<i>M.pachydermatis</i>	A	A	A	A

Oil-PDA = potato dextrose agar with olive oil; mDIX = modified Dixon agar; LNA = Leeming and Notman agar; LNA (-) = Leeming and Notman agar (without milk); A = growth at 10⁻² inoculation levels; B = growth at 10⁻¹ inoculation levels; C = growth at 10⁰ inoculation levels; D = growth only in direct plating; E = no growth

表12 *Malassezia* 属酵母の資化性による同定キット

Strains	growth on				Catalase reaction
	CHROM	SDA	TE*	EL	
<i>M. pachydermatis</i> CBS 1879	GP	G	GB	G	+
<i>M. sympodialis</i> CBS 7222	GP	N	GB	N	+
<i>M. globosa</i> CBS 7966	GP	N	N	N	+
<i>M. dermatis</i> JCM11348	GP	N	GN	N	+
<i>M. dermatis</i> JCM11470	GP	N	GN	N	+
<i>M. furfur</i> CBS 1878	G	N	GB	G	+
<i>M. slooffiae</i> CBS 7956	G	N	GN	N	+
<i>M. obtusa</i> CBS 7876	G	N	NB	N	+
<i>M. restricta</i> CBS 7877	G	N	N	N	-
<i>M. japonica</i> M9966	G	N	GB	N	+
<i>M. japonica</i> M9967	G	N	GB	N	+

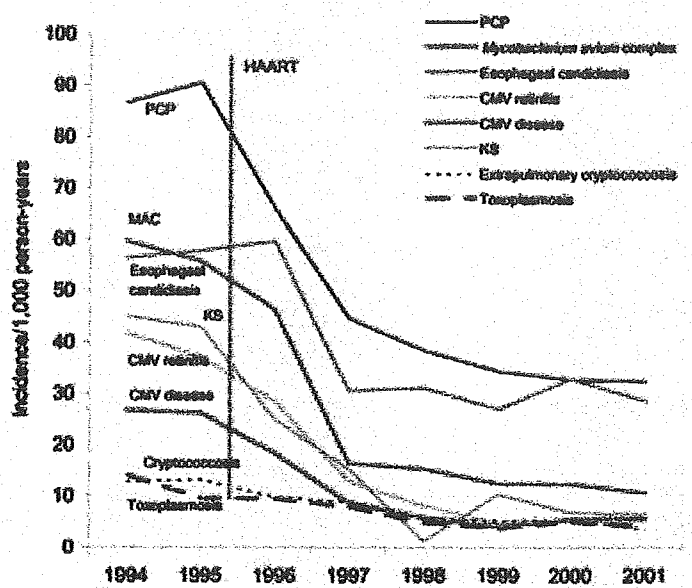
G, growth; N, no growth; GP, growth and production of precipitate; GB, growth and black zone; GN, growth and no change; NB, no growth and black zone; +, test positive; -, test negative; *,

表13 PCR-RFLP 法による *Malassezia* 属の簡易遺伝子同定系被検標準株

Species	Type strains	Standard strains
<i>M. furfur</i>	CBS* 1878	M9970, M9971
<i>M. globosa</i>	CBS 7966	CBS 8744, CBS 8745, CBS 7989, isolate 15, isolate 16
<i>M. restricta</i> CBS 7877		CBS 8747, CBS 7991
<i>M. pachydermatis</i>	CBS 1879	isolate A-3, isolate B-3, isolate C-1, and isolate D-2
<i>M. sympodialis</i>	CBS 7222	M 9978, M9979
<i>M. obtusa</i>	CBS 7876	M 9974, M9975
<i>M. slooffiae</i> CBS 7956		M 9980, M 9981
<i>M. dermatis</i> JCM** 11348		JCM 11469, JCM 11470
<i>M. nana</i>	JCM 12085	JCM 12086, JCM 12087, JCM 12088, JCM 12089
<i>M. japonica</i>	CBS 9431	
<i>M. yamatoiensis</i>	CBS 9725	

*CBS: Centraalbureau voor Schimmelcultures, ** JCM: Japanese Collection of Microorganism

図1 AIDS 症例にみる感染症の頻度と推移 (Morris A, et al. EID10(10):1713-1720, 2004)



III. 造血器悪性腫瘍患者における深在性真菌症の頻度

免疫抑制患者における真菌感染症の頻度は増加傾向で、白血病剖検例の30%程度に播種性深在性真菌症を認め、白血病の化学療法後、或いは骨髄移植例の50%が真菌感染症に罹患するとの報告もある。腎臓、心臓移植では真菌感染症頻度は10-20%である事を考えれば、造血器悪性腫瘍における真菌感染症の頻度は際だっている。しかしながら、我が国における悪性腫瘍患者における真菌感染症の実態は明らかでない。

患者背景

虎の門病院、東京都立駒込病院、東京大学において、1980年1月から2001年6月までに血液内科に入院し、剖検を行った720人の病歴・剖検記録を調査した。患者年齢の中央値は63歳(18-93歳)であった。原疾患は、AML 262人、CML 182人、ALL 87人、悪性リンパ腫 115人、MDS 54人、その他20人であった。646人は原疾患が化学療法抵抗性であった。

上記3施設において真菌感染の管理方法に特記すべき差異はなかった。1980-93年の間は真菌感染予防のために、非吸収性の抗真菌剤を投与していた(oral amphotericin B

(AMPH-B)。真菌感染を疑う、或いは確定診断の場合には、AMPH-B を 0.5-1.0 mg/kg を投与した。1994 年以降は、吸収性抗真菌剤（通常は fluconazole 100-400 mg/day）を真菌感染予防目的に投与した。抗生剤不応性の発熱が生じた場合には Pizzo らの報告に従い対処した (Pizzo et al., NEJM, 1993)。1996 年以降は真菌感染目的にアスペルギルス感染に対するラテックス凝集反応法、(1-3)-beta-D glucan assay、およびアスペルギルス感染に対する早期診断目的の胸部 CT 検査を行った。

診断基準

深在性真菌症の診断基準は、EORTC/NIH 規準を用いた。この規準で、Definite の規準をみたす患者を深在性真菌症患者と定義した。

主要評価項目と統計学的手法

単変量解析にはカイ二乗検定、Man-Whitney 検定、および多変量解析にはコックス比例ハザードモデルを用いた。有意水準は 5% とした。

深在性真菌感染症の頻度

720 人の患者のうち、252 人 (35%) で深在性真菌感染症が病的に確認された。輸入真菌による深在性真菌症と診断された患者はいなかった。6 人の患者では 2 種類の真菌による混合感染を確認した。1980 年以降の深在性真菌感染症の頻度の推移を図 1 に示す。

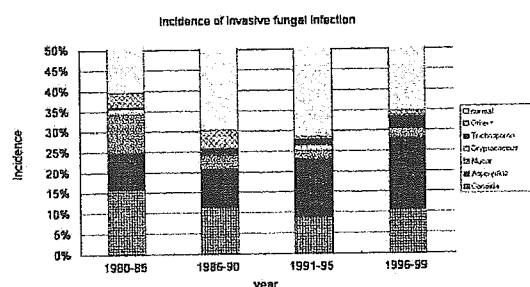


図 1： 造血器悪性腫瘍患者における深在性真菌感染症の推移

起因菌の種類はカンジダ属 (n=94)、アスペルギルス属 (n=91)、接合菌 (n=34)、クリプトコッカス属 (n=7)、トリコスポロン (n=11)、フザリウム (n=1)、不明 (n=20) であった。

カンジダ属

研究期間中にカンジダ感染の頻度は著明に減少した。その頻度は 1980 年代には 13.5% であったが、1990 年代には 9.6% に減少した (Table 1)。61 人の患者では培養にてカンジダの種が同定された。その内訳は以下である。*C. albicans* (n=37), *C. tropicalis* (n=9), *C. glabrata* (n=6), *C. krusei* (n=5), *C. guilliermondii* (n=4), *C. parapsilosis* (n=1)。1980 年代は *C. albicans* が主流で、全カンジダ感染の 74.4% を占めたが、1990 年以降減少している。一方、非カンジダ属の感染が緩徐に増加している。

Table 1: Incidences and sensitivity of blood cultures of invasive fungal infections

Year	Number of patients observed	Number of patients included	Number of samples (n=10)	Candida	Aspergillus	Zygomycetes	Cryptococcus	Trichosporon	Fusarium	Unknown fungi
1980-89	727	641	307 (22%)	10/33	0/48	1/19	0/3	1/1	0/6	0/7
1990-99	930	701	279 (36%)	2/72	1/25	0/8	1/1	3/4	0/3	2/12
2000-09	912	729	210 (28%)	3/19	0/22	0/4	1/2	2/3	0/1	1/1
1980-09	1155	722	122 (13%)	2/76	0/18	0/2	0/0	3/3	1/1	0/1
Total	2624	2103	706 (24%)	15/131	1/63	1/23	1/3	6/11	1/4	3/11

* Each column denotes number of patients with positive blood culture/total number of patients who underwent biopsy.

アスペルギルス属

91人の患者でアスペルギルス感染症が病理的に証明された。91例中、88例は侵襲性肺炎アスペルギルス症と診断された。残りの2例は気管支、腎臓に感染していた。

アスペルギルス感染症の頻度は研究期間中に一貫して増加した。その頻度は1980年代には9.1%であったが、90年代以降は26.7%であった。1990年代には、アスペルギルスが造血器悪性腫瘍患者における最も高頻度に認められる病原真菌となった。

その他の真菌

カンジダ・アスペルギルス感染症以外の起炎菌としては接合菌 (n=34)、クリプトコッカス (n=7)、トリコスポロン (n=11)、フザリウム (n=1)が同定された。残りの20人に関しては、起炎菌は同定されなかった。

1980年代、接合菌は剖検時に同定された病原真菌の17.0%を占めたが、90年代以降6.5%まで減少した。

本研究は剖検患者の40%程度が深在性真菌感染を合併することを示した。この頻度は、過去の海外からの報告とほぼ同様であり、深在性真菌症が造血器悪性腫瘍患者における重

大な合併症で、終末期造血器悪性腫瘍患者のQOLを損ねている可能性を示唆した。真菌感染症対策は治療関連死亡の予防以外に、終末期造血器腫瘍患者のQOL改善を念頭におくべきである。患者のQOL改善のためには、非侵襲的な検査方法の開発、および至適治療法の確立を検討しなければならない。

1980年代以降、真菌感染症の頻度は大きな変化を認めないが、起炎菌の種類は変化している。カンジダ属、特にカンジダアルビカンスが減少し、アスペルギルス属、および非アルビカンス系のカンジダ属が増加している。これは海外の報告とも一致し、フルコナゾールなどアゾール系抗真菌剤の開発が関係しているであろう。

本研究では接合菌やフザリウムなどの rare fungi に関しては、一定の傾向を認めなかった。前者は近年減少傾向で、後者は研究機関に1例しか発症していない。近年の欧米の報告では、いずれの真菌も近年増加傾向であり、本研究とは一致しない。今後の検証が必要である。近年、話題になっている輸入真菌症に関しては、1例も診断されていない。これは臨床医・病理医の認識不足、診断の困難さによるものか、或いは、実際に発症例がないためか解釈が困難である。このようなタイプの真菌に関しても今後の検証が必要である。

本研究は造血器悪性腫瘍患者における真菌感染症の重要な情報を提供したが、言及すべき幾つかの問題が存在する。まず、患者選択に剖検というバイアスが存在することが挙げられる。担当医にとり興味深い症例が選択されたかもしれない。次に、死亡前には集散的