

表 2. 真菌血症由来酵母 353 株に対する従来法と遺伝子学的同定の比較

従来法による同定		ITS1-5.8S rDNA-ITS2 (ITS) 及び 26S rDNA (D1/D2)による同定		遺伝子同定法 と従来法の一 致 (%)
菌種名	菌株数	菌種名	菌株数	
<i>Candida albicans</i>	153	<i>Candida albicans</i>	150	150 (97)
		<i>Candida dubliniensis</i>	3	0 (0)
<i>Candida parapsilosis</i>	92	<i>Candida parapsilosis</i>	88	88 (96)
		<i>Candida orthopsilosis</i>	1	0 (0)
		<i>Candida metapsilosis</i>	2	0 (0)
		<i>Lodderomyces elongisporus</i>	1	0 (0)
<i>Candida glabrata</i>	41	<i>Candida glabrata</i>	41	41 (100)
<i>Candida tropicalis</i>	27	<i>Candida tropicalis</i>	27	27 (100)
<i>Candida krusei</i>	5	<i>Issatchenkia orientalis*</i>	5	5 (100)
<i>Candida guilliermondii</i>	3	<i>Pichia guilliermondii*</i>	2	2 (67)
		<i>Pichia anomala</i>	1	0 (0)
<i>Candida lusitanae</i>	4	<i>Clavispora lusitanae*</i>	4	4 (100)
<i>Candida sake</i>	2	<i>Lodderomyces elongisporus</i>	2	0 (0)
Unidentified <i>Candida</i> sp.	4	<i>Candida parapsilosis</i>	1	0 (0)
		<i>Candida metapsilosis</i>	1	0 (0)
		<i>Candida tropicalis</i>	1	0 (0)
		<i>Pichia guilliermondii*</i>	1	0 (0)
<i>Candida, total</i>	331			316 (95)
<i>Cryptococcus curvatus</i>	9	<i>Cryptococcus curvatus</i>	9	9 (100)
<i>Cryptococcus neoformans</i>	5	<i>Filobasidiella neoformans*</i>	5	5 (100)
<i>Trichosporon asahii</i>	4	<i>Trichosporon asahii</i>	4	4 (100)
<i>Rhodotorula sp.</i>	4	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	4	0 (0)
Total	353			334 (95)

*: Teleomorph

表 3. 従来法で *C. albicans* と同定された株の group I intron typing

Group I intron type	Number of strains (%)
A (<i>C. albicans</i>)	58 (42)
B (<i>C. albicans</i>)	28 (20)
C (<i>C. albicans</i>)	17 (12)
E (<i>C. albicans</i>)	0 (0)
NT* (<i>C. albicans</i>)	31 (23)
Total, <i>C. albicans</i>	134 (98)
D (<i>C. dubliniensis</i>)	3 (2)
Total	137 (100)

*NT; non typeable

表 4. *C. dubliniensis* 真菌血症の臨床背景

項目	症例 1	症例 2	症例 3
	TWCC13035	TWCC13348	TWCC13452
年齢	72	41	5
性別	女	女	男
診療科	泌尿器科	精神科	循環器小児科
感染症病名	真菌血症	カテーテル関連真菌血症	食道潰瘍、感染性心内膜炎
基礎疾患	不明	躁鬱病 尿崩症	単心室 (Blalock, Fontan 手術後)
治療	不明	Fluconazole	Fluconazole
転帰	不明	治癒	死亡

表 5. *C. dubliniensis* に対する抗真菌薬の MIC

Antifungal agent	MIC (mg/ml) against		
	TWCC13035	TWCC13348	TWCC13452
Amphotericin B	0.12	0.25	0.12
Fluorocytosine	0.12	0.06	0.06
Fluconazole	2	2	4
Itraconazole	0.06	0.25	0.03
Voriconazole	0.015	0.015	0.03
CS-758	0.008	0.015	≤0.004
Micafungin	0.015	0.008	16
Aureobasidin A	0.06	0.12	0.03

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」

分担報告書

輸入真菌症および日和見真菌症の迅速診断法の開発

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

研究要旨 輸入真菌症および日和見真菌症の迅速診断法の開発を適切に施行するためには、その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。この観点から、本研究班においては主要深在性真菌症の発生動向をアンケート調査等と通じて継続的に行ってきた。そこで国内における深在性真菌症発生動向調査の第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。また、診断法の開発としては、かつて癩風、脂漏性皮膚炎をはじめとした皮膚科疾患に限った病原真菌と考えられてきた、新興深在性真菌症起因菌: *Malassezia* 属酵母に注目した。本菌は、経中心静脈カテーテルと脂質性剤の使用に関連した真菌血症等深在性真菌症起因菌としての報告が増加しつつある。そこで、感染の診断と起因菌同定を早期・簡便に可能とするための分離培地組成を検討すると共に、培養および簡易な遺伝子技術による菌種同定法を開発した。そこで、「輸入真菌症および日和見真菌症の迅速診断法の開発」のための抗真菌薬感受性診断・検査法研究として、分担研究者が行った以下の研究課題(Ⅰ『深在性真菌症発生状況とその動向調査(第1期)』および Ⅱ『新興感染症起因菌としての *Malassezia* 属に対する、分子生物学的・表現型質的検出同定法の開発』)に関する本年度の成果、ならびに Ⅲ 本年度の発表業績を以下に報告する。

I 深在性真菌症発生状況とその動向調査

(第1期)

A. 研究目的

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。

B. 研究方法

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。

C. 研究結果

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%に組織侵入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 日以上の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(Eggimann1999)。

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、健康人の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(槇村 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 における真菌血症 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 (三嶋廣繁 2003)。

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

3. アスペルギルス症

1)起因菌:*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)起因菌の分布:土壌、上水をはじめとした建築物等の環境 (Anaisie 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 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)。

(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)

D. 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る。

E. 結論

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。

F. 文献

1. 相川直樹、谷村弘、河野茂、他:好中球非減少患者に発症する深在性カンジダ症の診断と治療-日本におけるコンセンサスを求めて-. Jpn J Antibiotics 51:721-734, 1999.
2. Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, Summerbell RC, Rex JH, Monson TP, Spencer T, Kasai M, Francesconi A, Walsh TJ. Pathogenic Aspergillus species recovered from a hospital water system: a 3-year prospective study. Clin Infect Dis. 2002 Mar 15;34(6):780-9.
3. Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, Lee CK, Mahfouz TH, Rex JH, Summerbell RC, Walsh TJ. Cleaning patient shower facilities: a novel approach to reducing patient exposure to aerosolized Aspergillus species and other opportunistic molds. Clin Infect Dis. 2002 Oct 15;35(8):E86-8.
4. Bodey G, Buelmann B, Duguid W, Gibbs D, Hanak H, Hotchi M, Mall G, Martino P, Meunier F, Milliken S, et al. Fungal infections in cancer patients: an international autopsy survey. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1992 Feb;11(2):99-109.
5. Boutati EI, Anaissie EJ. Fusarium, a significant emerging pathogen in patients with hematologic malignancy: ten years' experience at a cancer center and implications for management. Blood. 1997 Aug 1;90(3):999-1008.
6. Brooks RG. Prospective study of Candida endophthalmitis in hospitalized patients with

- candidemia. Arch Intern Med. 1989 Oct;149(10):2226-8.
7. Chen SJ, Chung YM, Liu JH. Endogenous Candida endophthalmitis after induced abortion. Am J Ophthalmol. 1998 Jun;125(6):873-5.
 8. Chuck SL, Sande MA. Infections with Cryptococcus neoformans in the acquired immunodeficiency syndrome. N Engl J Med. 1989 Sep 21;321(12):794-9.
 9. Denning DW. Invasive aspergillosis. Clin Infect Dis. 1998 Apr;26(4):781-803; quiz 804-5.
 10. Eggimann P, Francioli P, Bille J, Schneider R, Wu MM, Chapuis G, Chioloro R, Pannatier A, Schilling J, Geroulanos S, Glauser MP, Calandra T. Fluconazole prophylaxis prevents intra-abdominal candidiasis in high-risk surgical patients. Crit Care Med. 1999 Jun;27(6):1066-72.
 11. Francisco J, Medrano, Marco Montes-Cano, Manuel Conde, Carmen de la Horra, Nieves Respaldiza, Antonia Gasch, Maria J. Perez-Lozano, Jose M. Varela, and Enrique J. Calderon: *Pneumocystis jirovecii* in General Population. Emerging Infectious Diseases 11: 245-250, 2005
 12. Funada H, Matsuda T. Pulmonary mucormycosis in a hematology ward. Intern Med. 1996 Jul;35(7):540-4.
 13. Goodrich JM, Reed EC, Mori M, Fisher LD, Skerrett S, Dandliker PS, Klis B, Counts GW, Meyers JD. Clinical features and analysis of risk factors for invasive candidal infection after marrow transplantation. J Infect Dis. 1991 Oct;164(4):731-40.
 14. Imataki O, Kami M, Kim SW, Gotoh M, Komaba S, Kasai M, Hashino S, Naito K, Masuda M, Anan K, Teshima H, Togitani K, Inoue T, Nishimura M, Adachi Y, Fukuhara T, Yamashita T, Uike N, Kobayashi Y, Hamaguchi M, Higuchi M, Kawakami K, Takaue Y. A nationwide survey of deep fungal infections and fungal prophylaxis after hematopoietic stem cell transplantation in Japan. Bone Marrow Transplant. 2004 Jun;33(12):1173-9
 15. 石橋康久、本村幸子、渡辺亮子: 本邦における内因性真菌性眼内炎 1986 年末までの報告例の集計. 日眼会誌 92: 952-958, 1988.
 16. Kami M, Hori A, Takaue Y, Mutou Y. The gastrointestinal tract is a common target of invasive aspergillosis in patients receiving cytotoxic chemotherapy for hematological malignancy. Clin Infect Dis. 2002 Jul 1;35(1):105-6
 17. 木村哲 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 2002
 18. Kobayashi K, Kami M, Murashige N, Kishi Y, Fujisaki G, Mitamura T. Breakthrough zygomycosis during voriconazole treatment for invasive aspergillosis. Haematologica. 2004 Nov;89(11):ECR42.
 19. Kojima R, Kami M, Nannya Y, Kusumi E, Sakai M, Tanaka Y, Kanda Y, Mori S, Chiba S, Miyakoshi S, Tajima K, Hirai H, Taniguchi S, Sakamaki H, Takaue Y. Incidence of invasive aspergillosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with a reduced-intensity regimen compared with transplantation with a conventional regimen. Biol Blood Marrow Transplant. 2004 Sep;10(9):645-52.

20. Kontoyiannis DP, Wessel VC, Bodey GP, Rolston KV. Zygomycosis in the 1990s in a tertiary-care cancer center. *Clin Infect Dis*. 2000 Jun;30(6):851-6.
21. Kostick DA, Foster RE, Lowder CY, Meyers SM, McHenry MC. Endogenous endophthalmitis caused by *Candida albicans* in a healthy woman. *Am J Ophthalmol*. 1992 May 15;113(5):593-5.
22. Krcmery V Jr, Mateicka F, Kunova A, Spanik S, Gyarfaz J, Sycova Z, Trupl J. Hematogenous trichosporonosis in cancer patients: report of 12 cases including 5 during prophylaxis with itraconazole. *Support Care Cancer*. 1999 Jan;7(1):39-43.
23. 草野良明、大越貴志子、佐久間敦之、他：真菌性眼内炎の起因菌におけるフルコナゾール耐性 *Candida* 属の増加。臨眼 54: 836-840, 2000
24. 植村浩一、山口英世. 本邦文献にみる真菌血症起因菌の分離状況。モダンメディア 39(5) 231-240, 1993.
25. Marchetti O, Bille J, Fluckiger U, Eggimann P, Ruef C, Garbino J, Calandra T, Glauser MP, Tauber MG, Pittet D; Fungal Infection Network of Switzerland. Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000. *Clin Infect Dis*. 2004 Feb 1;38(3):311-20.
26. Marty FM, Cosimi LA, Baden LR. Breakthrough zygomycosis after voriconazole treatment in recipients of hematopoietic stem-cell transplants. *N Engl J Med*. 2004 Feb 26;350(9):950-2.
27. 松岡龍雄、田中秀治、後藤英昭、他：救急領域における深在性真菌症の現況。日本外科感染症研究 12: 127-130, 2000.
28. 三嶋廣繁、玉舎輝彦：産婦人科領域における敗血症～診断と治療～. 化療の領域 19: 67-71, 2003.
29. Mori T. [Controversial points in the treatment of patients with haematologic malignancies complicated with systemic fungal infections] *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 1999;40(3):143-9.
30. Mori T, Egashira M, Kawamata N, Oshimi K, Nakamura K, Oguri T, Aida H, Hiruma A, Ichinohe M. [Zygomycosis: two case reports and review of reported cases in the literature in Japan] *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 2003;44(3):163-79.
31. Morris A, Lundgren JD, Masur H, Walzer PD, Hanson DL, Frederick T, Huang L, Beard CB, Kaplan JE. Current epidemiology of *Pneumocystis pneumonia*. *Emerg Infect Dis*. 2004 Oct;10(10):1713-20
32. National Nosocomial Infections Surveillance System. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control*. 2004 Dec;32(8):470-85.
33. Nguyen MH, Peacock JE Jr, Morris AJ, Tanner DC, Nguyen ML, Snyderman DR, Wagener MM, Rinaldi MG, Yu VL. The changing face of candidemia: emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. *Am J Med*. 1996 Jun;100(6):617-23.
34. 西村哲哉、岸本直子、宇山昌延：真菌性眼内炎の経過と硝子体手術の適応。臨眼 47: 641-645, 1993.
35. Parke DW 2nd, Jones DB, Gentry LO. Endogenous endophthalmitis among patients with candidemia. *Ophthalmology*. 1982 Jul;89(7):789-96.

36. Patel R, Paya CV. Infections in solid-organ transplant recipients. *Clin Microbiol Rev.* 1997 Jan;10(1):86-124.
37. Patterson TF. Role of newer azoles in surgical patients. *J Chemother.* 1999 Dec;11(6):504-12.
38. Paya CV. Fungal infections in solid-organ transplantation. *Clin Infect Dis.* 1993 May;16(5):677-88.
39. Pruitt BA Jr, McManus AT, Kim SH, Goodwin CW. Burn wound infections: current status. *World J Surg.* 1998 Feb;22(2):135-45.
40. Selik RM, Starcher ET, Curran JW. Opportunistic diseases reported in AIDS patients: frequencies, associations, and trends. *AIDS.* 1987 Sep;1(3):175-82.
41. Selik RM, Chu SY, Ward JW. Trends in infectious diseases and cancers among persons dying of HIV infection in the United States from 1987 to 1992. *Ann Intern Med.* 1995 Dec 15;123(12):933-6.
42. Solomkin JS, Flohr AM, Simmons RL. Indications for therapy for fungemia in postoperative patients. *Arch Surg.* 1982 Oct;117(10):1272-5.
43. Sugita T, Nishikawa A, Shinoda T, Kume H. Taxonomic position of deep-seated, mucosa-associated, and superficial isolates of *Trichosporon cutaneum* from trichosporonosis patients. *J Clin Microbiol.* 1995 May;33(5):1368-70.
44. Takakura S, Fujihara N, Saito T, Kudo T, Iinuma Y, Ichiyama S. National surveillance of species distribution in blood isolates of *Candida* species in Japan and their susceptibility to six antifungal agents including voriconazole and micafungin. *J Antimicrob Chemother.* 2004 Feb;53(2):283-9.
45. 田中秀治、吉沢美枝、篠原高夫、他：集中治療における抗菌薬の使用法；熱傷、外傷患者における抗菌薬の使用。集中治療（総合医学社）10：1146-1158, 1998.
46. 田中秀治、古畑敏子、後藤英昭、桜井勝、島崎修次：救命救急センターにおける深在性真菌症の発症頻度の検討-真菌感染のリスクと疾病形態、患者重症度との関係-。真菌誌 40：135-142, 1999.
47. Tsai CC, Chen SJ, Chung YM, Yu KW, Hsu WM. Postpartum endogenous *Candida* endophthalmitis. *J Formos Med Assoc.* 2002 Jun;101(6):432-6.
48. 上原至雅 平成13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」研究報告書 2002
49. 上原至雅 平成14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 2003
50. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, Wolff M, Spencer RC, Hemmer M. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA.* 1995 Aug 23-30;274(8):639-44.
51. Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, Collette L, Martino P, Vandercam B, Doyen C, Lebeau B, Spence D, Krcmery V, De Pauw B, Meunier F. Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group

- (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). Clin Infect Dis. 1999 May;28(5):1071-9.
52. 山田佳恵、西村哲哉、大熊紘、他:最近3年間に経験した真菌性眼内炎の14例24眼の症例. あたらしい眼科 7: 131-134, 1990.
53. Yamazaki T, Kume H, Murase S, Yamashita E, Arisawa M. Epidemiology of visceral mycoses: analysis of data in annual of the pathological autopsy cases in Japan. J Clin Microbiol. 1999 Jun;37(6):1732-8.
54. 矢野啓子:真菌性眼内炎の診断と治療. 眼科 33: 1341-1346, 1991
55. Yoshida M. Infections in patients with hematological diseases: recent advances in serological diagnosis and empiric therapy. Int J Hematol. 1997 Oct;66(3):279-89.
56. Yoshida M. [Guidelines for the management of deep mycosis in neutropenic patients] Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi. 2004;45(4):209-15.
57. Yoshida M, Ohno R. Current antimicrobial usage for the management of infections in leukemic patients in Japan: results of a survey. Clin Infect Dis. 2004 Jul 15;39 Suppl 1:S11-4.
58. Yoshida M, Tsubaki K, Kobayashi T, Tanimoto M, Kuriyama K, Murakami H, Minami S, Hiraoka A, Takahashi I, Naoe T, Asou N, Kageyama S, Tomonaga M, Saito H, Ohno R. Infectious complications during remission induction therapy in 577 patients with acute myeloid leukemia in the Japan Adult Leukemia Study Group studies between 1987 and 1991. Int J Hematol. 1999 Dec;70(4):261-7.

G. 健康危険情報・研究発表
ない。

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当しない。

II 新興感染症起因菌としての *Malassezia* 属に対する、分子生物学的・表現型質的検出同定法の開発

A. 研究目的

Malassezia 属酵母は、脂質要求性の担子菌酵母である。本菌は、かつて癬風、脂漏性皮膚炎をはじめとした皮膚科疾患に限った病原真菌と考えられてきた。しかし、通常臨床検査室で用いられる培地で発育しない本菌の生態学と病原性は、永らく不明であった。

しかし、今日の診断技術の向上と分子生物学的研究の発展によって、本菌の分類は再構成され、またその病原性としては、経中心静脈カテーテルと脂質性剤の使用に関連した真菌血症等深在性真菌症起因菌としての報告が増加しつつある。そこで、新興真菌感染症としての本菌感染の診断と起因菌同定を早期・簡便に可能とするため、本菌の分離培養に適した培地組成を検討すると共に、培養および簡易な遺伝子技術による菌種同定法を開発することを目的とした。

B. 研究方法

表13に示した *Malassezia* 属基準株および標準株を用い、既存の培地組成を用いた発育支持能を相互比較することによって、本菌に対する発育支持因子(群)を明らかにした。また、各菌種における既知の表現形質を再検討すると共に、菌種識別可能性を検討し、キット化を行った。簡易遺伝子同定系としては、28SrDNA(D1/D2)領域の塩基配列を利用し、特殊な機器を要さないPCR-RFLP法に基づいた同定法を開発した。

C. 研究結果

本菌発育支持培地としては、表11に示されるように、牛乳を含まない Leeming and Notman 培地の組成が簡便かつ広範囲の菌種発育を良好に支持することが示された。この結果より、従来困難であった本菌培養のための基礎培地の提供が可能となった。また、各菌種の生理学的性状をとりまとめて検討したところ、表12に示すような4種類の培地とカタラーゼ反応の組み合わせによって、新分類に対応した本属菌種の同定が可能となることが示された。また、PCR-RFLPでは、おむね1種類の制限酵素の利用によって、新分類の菌種同定が可能であることが明らかとなった(図2)。

D. 考察

本属菌種の発育および同定上の問題は、医真菌研究上ならびに本菌感染症管理上大きな問題であった。本研究は、本菌感染症診断を迅速

簡便かつ確実にこなすための基本的手法を提供するものである。とりわけ、本菌の安定な培養法の基本となる培地検討は実務上重要であり、また、培養による新分類菌種の同定システムの開発は本研究が世界に先駆けたものである。PCR-RFLP法による *Malassezia* 属同定系は、遺伝子塩基配列の決定が出来ない実験室においても簡便に遺伝子同定が可能となることから、本菌感染対策に関わる裾野が広がり、本研究が推進されることを期待したい。

現在、本培養システムと、簡易遺伝子同定法並びに、従来から信頼性が高い遺伝子塩基配列決定法に基づく同定法との比較研究が進行中である。

E. 結論

新興深在性真菌症起因菌 *Malassezia* 属に対する培養および同定系が提供された。

F. 健康危険情報

ない。

G. 研究発表

1. 原著論文

- 1) Hossein Mirhendi, Koichi Makimura, Kamiar Zomorodian, Tsuyoshi Yamada, Takashi Sugita, Hideyo Yamaguchi: A simple PCR-RFLP method to identification and differentiation of 11 *Malassezia* species. *Journal of Microbiological Methods* 61:

- 281-284, 2005.
- 2) Tsuyoshi Yamada, Koichi Makimura, Katsuhisa Uchida, and Hideyo Yamaguchi: A reproducible genetic transformation system for two dermatophytes, *Microsporum canis* and *Trichophyton mentagrophytes*. *Medical Mycology* 43(6): 533-544, 2005.
 - 3) Takamasa Kaneko, Koichi Makimura, Masanobu Onozaki, Kumiko Ueda, Yoko Yamada, Yayoi Nishiyama, Hideyo Yamaguchi : Vital growth factors of *Malassezia* species on modified CHROMagar Candida. *Medical Mycology* 43: 699-704, 2005.
 - 4) Koichi MAKIMURA, Toyoko OGURI, Yuzuru MIKAMI, Hikaru KUME, Ryo HANAZAWA, Michiko ABE, Reiko IKEDA and Takako SHINODA: Multicenter evaluation of commercial frozen plates for microdilution broth antifungal susceptibility testing of yeasts and comparison of MIC limits recommended in NCCLS M27-A2, *Microbiology and Immunology* 49(2): 97-106, 2005.
 - 5) Hossein Mirhendi, Koichi Makimura, Kamiar Zomorodian, Nobuko Maeda, Tomoko Ohshima, Hideyo Yamaguchi. Differentiation of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* using a single-enzyme PCR-RFLP method. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 58 (4): 235-237, 2005.
 - 6) Kano R, Yamada T, Makimura K, Yamaguchi H, Watanabe S, Hasegawa A. Metalloprotease gene of *Arthroderma gypseum*. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 58(4):214-217, 2005.
 - 7) Sugita T, Kikuchi K, Makimura K, Urata K, Someya T, Kamei K, Niimi M, Uehara Y. *Trichosporon* species isolated from guano samples obtained from bat-inhabited caves in Japan. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(11):7626-7629, 2005.
 - 8) 伊藤友章、茂田江理、田島磨美、丸山隆児、榎村浩一、伊藤義彦、坪井良治：広範囲に疣状局面を認めたクロモミコーシスの一例。 *臨床皮* 59(3):234-237, 2005.
 - 9) Tsuyoshi Yamada, Koichi Makimura, Shigeru Abe: Isolation, characterization, and disruption of *dnr1*, the *areA/nit-2*-like nitrogen regulatory gene of the zoophilic dermatophyte, *Microsporum canis*. *Medical Mycology* 43(6):533-544, 2005.
 - 10) Takamasa Kaneko, Koichi Makimura, Takashi Sugita, Hideyo Yamaguchi: Tween 40-Based Precipitate Production Observed on Modified Chromogenic Agar and Development of Biological Identification Kit for *Malassezia* species. *Medical Mycology*, 2005, in press.
 - 11) S. Porgpermddee, Y. Shiraki, M. Hiruma, K. Makimura, M. Ichinohe, H. Ogawa, S. Ikeda: Molecular detection of *Aspergillus sydowii* from the infected nail of a patient with onychomycosis. *Journal of Dermatology*, 2005, in press.
 - 12) Eri Yoshida, Koichi Makimura, Hossein

Mirhendi, Takehiko Kaneko, Masataro Hiruma, Tatsuya Kasai, Katsuhisa Uchida, Hideyo Yamaguchi, and Ryoji Tsuboi: Rapid identification of *Trichophyton tonsurans* by specific PCR based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) 1 region. Journal of Dermatological Science, 2005, in press.

2. 総説・著書

- 1) 榎村浩一. 深在性真菌症の検査 感染制御 2 (1): 58-62, 2006.
- 2) 榎村浩一. 182 章 真菌症の診断と治療、pp. 1228-1231、ハリソン内科学 第2版 原書第

16版、メディカル・サイエンス・インターナショナル、東京、2006.

- 3) 榎村浩一. 190 章 その他の真菌症と微細藻類、pp. 1244-1247、ハリソン内科学 第2版 原書第16版、メディカル・サイエンス・インターナショナル、東京、2006.
- 4) 榎村浩一. 191 章 *Pneumocystis* 感染症、pp. 1247-1250、ハリソン内科学 第2版 原書第16版、メディカル・サイエンス・インターナショナル、東京、2006.

H.知的財産権の出願・登録状況

該当しない

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
ウイルス	CMV	22-29	8-32	9-35	39-41	50
	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>A. M.furfur</i>	A	A	A	A
<i>M.symphodialis</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 10^0 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. symphodialis</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; *.