

厚生労働科学研究研究費補助金

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

平成16年度～18年度 総合研究報告書

主任研究者 上原至雅

平成19(2007)年4月

目 次

I.	総合研究報告書	
	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	1
	(資料) 資料名 健康危険情報通報 カナダ・ブリティッシュコロンビア州のバンクーバー島東岸地方 における病原真菌 <i>Cryptococcus gattii</i> のアウトブレイク情報	
II.	研究成果の刊行に関する一覧表	37
III.	研究成果の刊行物・別冊	51

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 国立感染症研究所生物活性物質部長

研究要旨 (1) 輸入真菌症および深在性真菌症の発生動向調査と輸入真菌症診断・治療ガイドラインの作成: (a) わが国における輸入真菌症の累計は、コクシジオイデス症53例、ヒストプラズマ症52例、パラコクシジオイデス症19例、マルネツフェイ型ペニシリウム症3例となった。輸入真菌症に関する情報提供を充実するために、2002年度に作成した輸入真菌症診断ハンドブックを全面改訂し、2006年には新たに輸入真菌症診断・治療ガイドラインを作成し、医療関係者に配布した。(b) 深在性真菌症については、悪性腫瘍患者における真菌感染症の実態を、日本病理学会の剖検輯報をもとに、悪性腫瘍の原発臓器別に真菌症の頻度を解析した。白血病患者のアスペルギルス感染頻度が高く増加しているが、消化器癌や呼吸器癌に真菌感染症を合併する患者実数が実際には多いことが明らかになった。また、真菌血症由来酵母の遺伝子解析による菌種同定を行い、ほとんど認識されていない菌種が多数含まれており、新興深在性真菌症が発生していることが裏付けられた。(2) 輸入真菌症に対する遺伝子診断法の開発: (a) コクシジオイデス症起因菌に特異的な遺伝子領域に対してPCR法プライマーを設計し、特異性の優れた遺伝子検出系を開発した。さらにこの検出系は*Coccidioides immitis*と*C. posadasii*を明確に区別することもできた（特許出願）。(b) ヒストプラズマ症の起因菌*Histoplasma*を臨床検体から定量に検出するための系（real-time PCR）を構築した。*Histoplasma*の18S rRNA中のgroup I intronの多様性を明らかにし、分子疫学的マーカーとなりうる可能性を示した。(3) ヒストプラズマ症感染抗体検査を実施: 臨床的に肺結核症が疑われながら、結核菌の検出に至らなかった患者を対象に、保存血清中の抗体を免疫拡散法にて測定した。110検体のうち、陽性9（8.2%）、疑陽性（弱陽性）5（4.5%）であった。陽性のうち1名（全体の0.9%）は、病理学的にヒストプラズマ症であることを確認した。(4) ヒストプラズマ属菌の分離の試み: ヒストプラズマ症の起因菌*Histoplasma*を国内から分離するために洞窟中のコウモリグアノ中の菌叢解析を行った。*Histoplasma*は分離されなかったが、*Trichosporon*が高頻度に分離された。さらに入洞者から抗*Trichosporon*抗体も検出されたことから、洞窟熱の原因抗原は*Trichosporon*と推定された。(5) 抗ヒストプラズマ抗体検出法の改良: ヒストプラズマ症の迅速診断法の開発・改良を目的としてヒストプラズマ抗原を探索し、本症患者血清によって認識される複数の抗原が同定された。現在、それらの組換え抗原タンパク質を作製して血清診断法への応用を試みている。(6) その他の基礎的・応用的研究: 蛍光標識プローブによるアスペルギルス属菌の組織・細胞診の開発、真菌糖タンパク質によって惹起される血管炎の初期応答の解析、真菌の病原性と薬剤耐性機構の解明およびポンプ阻害剤の探索を行い、有意な成果が得られた。

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	順天堂大学医学部大学院感染制御科学 COE・講師	杉田 隆	明治薬科大学・微生物学教室・助教授
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

A. 研究目的

わが国の輸入真菌症の実態に関するこれまでの研究から、輸入真菌症の症例数は全体として増加傾向にあり、その中心がコクシジオイデス症およびヒストプラズマ症であり、コクシジオイデス症についてはアリゾナ、カリフォルニアで感染した患者が多数発生していることなどを明らかにした。しかし、輸入真菌症に関する知識が医療スタッフに十分に普及していないことや、感染症法の対象外の輸入真菌症については実態把握が困難であるため、今後は輸入真菌症の潜在的な増加が懸念される。

輸入真菌症の中では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ため、輸入真菌症の実態調査を継続して行う必要がある。

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

1) コクシジオイデス症

2004年度は5例が確認（総症例数は42例）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。

2005年は7例が確認（総症例数は49例）され、前年の症例数をさらに上回った。2005年度においては死亡例はなかったが、来日した外国人が国内で発症する症例が日常的に見られるようになった。また本年は7例中4例がカリフォルニアでの感染、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。

2006年は4例が確認（総症例数は53例）された。今年度も死亡例は見られなかった。感染地の観点から見ると、アリゾナが減少し、4例中3例がカリフォルニア、残り1例がメ

キシコであり、2 大流行地域としてのカリフォルニアの重要性が再認識された。

2) ヒストプラスマ症

2004年は3例認められ、総計は43例となった。1例はホンジュラスで感染した症例であり、他の1例は中南米およびマレーシアなどの流行地を旅行した患者であったが、感染地は特定できなかった。残りの1例も感染地は確認できなかった。また、長年にわたり診断に至らなかった症例が、ヒストプラスマ性髄膜炎と確認された。診断に長期間を要した理由は、起因菌の検出を主体とした手法を用いたためであり、血清診断法を用いていれば長期間を要しなかったかもしれない。

2005年は、前年と同様に3例認められ、総計46例となった。1例は米国での感染と考えられた。これまで邦人の米国における感染症例はまれであったが、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、国内感染の可能性が示唆された。

2006年は4例認められ、総計は52例となった。5年ごとの症例数は緩やかな増加傾向を示している。2例は東南アジアでの感染であり、メキシコおよびガーナでの感染がそれぞれ1名ずつと考えられた。4例中3例がAIDSを基礎疾患としており、内1名は死亡した。AIDSは我が国で増加を続けていることから今後注意が必要と考えられた。

3) パラコクシジオイデス症およびその他の輸入真菌症

2004年、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。

2006年には2003年以来3年間見られなかったパラコクシジオイデス症が1例見られ、わが国における本症の累計は19例となった。患者はブラジルからの労働者であり、1991年から1997年にかけて出現した流行時と同じ特徴が認められた。その他の輸入真菌症では、マルネツフェイ型ペニシリウム症が1例認められた。本例は我が国3例目となるが、菌の分離に成功した初めての例である。

D. 考察

この3年間で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った。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、2004年の死亡例は、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。この症例は、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。

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、本症例はヒストプラズマ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。

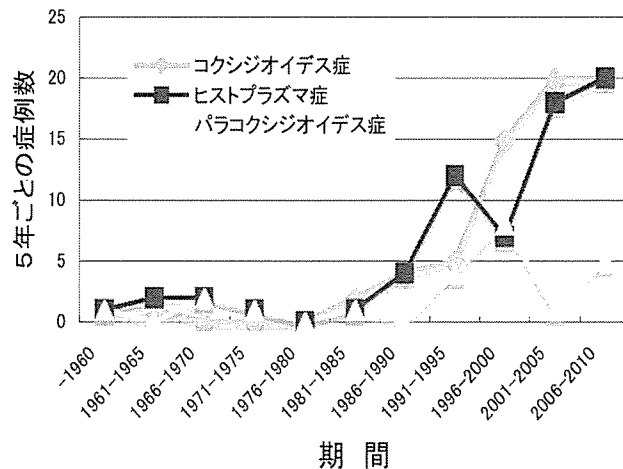
特に注目されるのは AIDS を基礎疾患とする輸入真菌症であり、ヒストプラズマ症では 4 例中 3 例が、またマルネツフェイ型ペニシリウム症の 1 例も AIDS を基礎疾患として発症したと考えられた。ヒストプラズマ症のうち 1 例は死亡しており、我が国における AIDS 患者の増加とあわせ、重要な傾向と考えられた。

感染地が確認できず、国内感染の可能性も考えられたヒストプラズマ症が存在するため *Histoplasma capsulatum* の国内生息の有無明らかにする必要があるため示された。

2006 年のコクシジオイデス症の 1 例は膿気胸を呈したため、本症を疑わないまま開胸手術がなされ、しかも術後に本症が診断された。従って、院内感染対策と感染拡大の防止に奔走する結果となった。幸い感染拡大は認められていないが、このような事例は医療施設の機能麻痺を生じる危険性がある。医療従事者への啓蒙の重要性が示された。

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ブ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。

ヒストプラズマ症、コクシジオイデス症を中心に、今後もわが国での輸入真菌症の増加は継続することが予想され、医療機関に対する情報の徹底が必要と思われた。



図：我が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

II. 我が国のヒストプラズマ症に関する調査

A. 研究目的

国内での発生が疑われるヒストプラズマ症について、定着の想定される環境からの分離、定着の想定される環境に接する機会の多い洞窟探検家、ならびに洞窟環境付近で生活、居住する住民の臨床症状、血液検査（炎症所見等）、血清抗ヒストプラズマ抗体等を調査すると同時に、国内各所の洞窟内コウモリグアノからの *Histoplasma capsulatum* 分離を試みた。

B. 研究方法

日本洞窟学会など洞窟研究、洞窟探検家団体などの協力を得て、日本各地の洞窟 41 箇所よりコウモリグアノサンプル 92 検体（図 1）を採取した。得られたサンプルは 5 倍量の滅菌生理食塩水を加え vortex 後、1 時間静置し、上清を直接及び 100 倍希釈したものそれぞれ 100 μ l について、10 mg/L gentamicin, 10 mg/L polymyxin B, 20 mg/L aztreonam 添加 Mycosel 寒天培地 (BD) に塗布し、8 週間

25°C で培養を行った。1 週間以降に生えてきた糸状菌について Sabouraud 寒天培地に継代培養（巨大コロニー作成）、スライドカルチャーを行い、菌種同定を行った。

血清抗ヒストプラズマ抗体の調査については、洞窟探検家 100 名（国内 79 名、韓国 21 名）ならびに A 地方またはその近郊に在住する健常者 34 名を対象に同意を得た上で採血を行った（資料 1-4）。また、洞窟探検家 19 名については洞窟入洞前ならびに入洞 24 時間後の採血を併せて行った。得られた血液はラテックス凝集法ならびに免疫拡散法による抗ヒストプラズマ抗体（分担研究者：千葉大学亀井先生実施）、白血球数、好中球数、高感度 CRP、過敏性肺臓炎のマーカーである KL-6、SP-D を測定した。また、I, II, III, I-III 型 *Trichosporon* 抗体価の測定（分担研究者：明治薬科大学杉田先生実施）を行った。B 地方在住の健常人ボランティア 48 名の採血を併せて行い、同じ項目について検査した。

（倫理面への配慮）国立感染症研究所ならびに東京女子医科大学の倫理規定に沿い、各倫

理委員会倫理審査を受け、実施許可を得た。

C. 研究結果

1) 国内洞窟内からのヒストプラスマ分離

図1にサンプル採取洞窟の地域、採取サンプル数の内訳を示す。解析した92サンプルからヒストプラスマは培養では検出されなかった。

2) 洞窟探検家ならびに地域住民の血液検査

表1に採血調査対象者の内訳を示す。表2には抗ヒストプラスマ抗体価の測定結果を示す。ラテックス凝集法、免疫拡散法いずれも陽性者はみられなかった。図2-3に各抗 *Trichosporon* 抗体価の測定結果を示す。A地方居住者で抗I型 *Trichosporon* 抗体が洞窟探検家と比較して有意に高い値を示したが、健常対照との間に差は認められなかった。木造家屋の住民に発症する夏型過敏性肺臓炎との関連性を指摘されている抗II型 *Trichosporon* 抗体は洞窟探検家1名を除いてすべて陰性であった。一方、抗III型 *Trichosporon* 抗体については日本の洞窟探検家がB地方在住対照と比較して有意に高値を呈したが、A地方在住者は更に高値を示していた。B地方在住対照者の測定は行っていないが、抗I-III型 *Trichosporon* 抗体についても同様の傾向が認められた。炎症反応のマーカーでは韓国の洞窟探検家の白血球数、好中球数が有意に高く、日本の洞窟探検家もB地方在住対照に比べると高値を呈していた(図4)。一方、CRPに差は認められなかった(図5)。間質性肺炎、過敏性肺臓炎などのマーカーとされるKL-6、SP-Dについてはいずれの群でも差は認められなかった(図5)。

図6には過去2週間以内に別の洞窟に入洞していない洞窟探検家19名の洞窟入洞前、入洞24時間後に行った各炎症マーカー、KL-6、SP-Dの変化を示す。入洞後には有意にCRPの

上昇が認められた。入洞負荷により19名中2名に呼吸器症状が出現した(データ未提示)。

そこで呼吸器症状と洞窟探検家や地域住民に陽性者の多かった抗III型、抗I-III型 *Trichosporon* 抗体価と炎症所見、KL-6、SP-Dとの関連を調べた(図7、8)。抗III型 *Trichosporon* 抗体陽性(≥3)とKL-6に有意の関係を認めた。また、入洞後の呼吸器症状の既往のある洞窟探検家に対する検査成績(図9、10)では抗 *Trichosporon* 抗体価に有意差は認められなかったものの、症状を呈した洞窟探検家にはSP-Dが有意に高値を示していた。

D. 考察

輸入真菌症として知られているヒストプラスマ症は国内で報告されている40数例のうち約20%は国内での感染が疑われている。ヒストプラスマの感染源としては洞窟環境に棲息するコウモリ由来グアノ(堆積した糞)が以前から重要視されている。疾患としては洞窟入洞後に呼吸器症状を呈する急性ヒストプラスマ症として発症し、「洞窟熱」としてよく知られている。今回、調査した国内41箇所の洞窟の92サンプルからはヒストプラスマは検出されなかった。ヒストプラスマは我が国では稀な疾患であり、実際に環境に定着しているとしても、それはごく限られた地域である可能性がある。この結果から直ちに国内でのヒストプラスマ定着を否定することは難しいが、少なくとも国内洞窟環境にヒストプラスマが普遍的に蔓延している可能性は低いと考えられた。洞窟探検家に血清抗体価測定でも陽性者がみられなかったこともこのことを支持する所見である。但し、抗ヒストプラスマ抗体の陽性持続期間はそれほど長くなく、今回調査した地域には国内発症ヒストプラスマ症で唯一、菌の培養され

たC地区の検体、洞窟探検家、地域住民が含まれていない。このことから、今後、国内での発症が推察された地域での同様の調査が必要になるものと思われる。

一方、洞窟探検家が洞窟入洞後に呼吸器症状を呈する頻度は高く、「日本洞窟熱」とでもいうべき新たな疾患の関与も推察される。今回の調査でも健常者に比較して、抗III型 *Trichosporon* 抗体が高値を示すこと、症状を有したことの洞窟探検家にはSP-Dのような過敏性肺臓炎で上昇するマーカーが高値を示していること、洞窟入洞によってCRPの有意な上昇がみられること、などアレルギー機序を介した洞窟由来 *Trichosporon* の何らかの関与が疑われた。これらの抗 *Trichosporon* 抗体価は一部の地域住民も高値を示したが、今回調査した地域と住民の数が限られること、調査した住民の中に呼吸器症状を呈しているヒトは認められなかったことより、この抗体価高値にどのような臨床的意義があるかどうかは現時点では不明である。*Trichosporon* 抗体価に関する全国調査は本研究班の本来の目的からはそれるが、今回の結果を踏まえ、調査の範囲を広げて正確な実態を把握する必要があると思われる。

E. 結論

日本国内洞窟 41 箇所から得られたコウモリグアノからはヒストプラズマは分離されず、洞窟探検家などの血清抗体価も陰性であった。但し、調査地区がまだ限定されており、国内での発症地域を中心に引き続き調査が必要と考えられた。洞窟入洞後の急性呼吸器症状についてはアレルギー機序を介した洞窟由来 *Trichosporon* の何らかの関与が疑われた。

III. 国内コウモリ・グアノの菌相と入洞者血清抗体の解析

A. 研究目的

Histoplasma capsulatum を起因菌とするヒストプラズマ症は主要な輸入真菌症の一つであるが、国内感染と推定される症例が少なくない。また、動物における国内感染例も報告されている。このことから *Histoplasma* は我が国に存在している可能性が考えられる。南米を中心とした環境調査から本菌はコウモリあるいはその堆積糞(グアノ)からしばしば分離されている。本研究では我が国に *Histoplasma* が存在するか否かを調べるために様々な地域の洞窟・風穴から採取されたグアノから *Histoplasma* の検出を非培養法を用いて行なった。また、前年度のグアノの菌相解析から *Trichosporon* が高頻度に検出されることを明らかにした。*Trichosporon* は夏型過敏性肺臓炎の原因抗原である。そこで入洞に伴う呼吸器症状との関連性を明らかにするため、入洞経験者と未経験者の血清中抗 *Trichosporon* 特異抗体を測定・比較した。

B. 研究方法

1) コウモリ・グアノサンプル

本研究班分担研究者である東京女子医科大学感染症対策科菊池賢先生より分与頂いた80サンプルを実験に供した。

2) *Histoplasma* の検出

約1gのグアノにブレインハート インフュージョンブロースを加え27°Cで3日間培養、および滅菌生理食塩に懸濁し、真菌DNAを抽出した。ITS領域上に、*H. capsulatum*、*H. duboisii* および *H. farciminosus* の3変種に共通なDNA塩基配列を見出し特異プライマーを作製した。Nested PCR後、陽性PCR産物はTAクローニングを行い、DNA塩基配列を決

定した。なお、PCRの特異性は、*Histoplasma* 保存株の DNA(分担研究者 楨村浩一先生より分与)を用いて確認した。

3) グアノサンプル中の真菌相解析

約 0.5 g のグアノに YM ブロース(含、ペニシリン、ストレプトマイシン、クロラムフェニコール)を加え 27°C で 1 日培養し、培養液を同寒天培地に塗抹した。得られた酵母様コロニーの ITS1-5.8S-ITS2-D1/D2 26S rDNA 塩基配列解析を行ない、当該菌株の同定を行なった。

4) 血清中抗 *Trichosporon* 特異抗体の検出

Trichosporon 抗原(血清型 I, II, III, I-III)に対する反応性をスライド凝集反応により測定した。なお、血清は入洞経験者 100 例、入洞未経験者(A 地方 34 例、B 地方 48 例)から所定の手続きを経て得た(分担者: 菊池賢先生より)。

C. 研究結果

1) *Histoplasma* の検出

80 サンプルについて *Histoplasma* の検出を非培養法で試みたが、本検出条件下では *Histoplasma* DNA は検出できなかった。

2) グアノサンプル中の真菌相解析

20 の洞窟から採取したグアノから約 700 の酵母を分離し、rDNA シーケンスから菌株を同定した。担子菌系酵母として、*Trichosporon prosum*, *T. laibachii* および unknown *Trichosporon* spp. *Cryptococcus podzolicus* 子囊菌系酵母は *Candida palmioleophila*, *C. lusitaniae*, *Debaryomyces hansenii*, *Hanseniaspora* sp. *Saccharomyces cerevisiae* *Williopsis californica* および *Zygosaccharomyces florentinus* が分離・同定された。*Trichosporon* の分離頻度を Fig. 1 に、それ以外の酵母の分離頻度を Fig. 2 に示す。特に *Trichosporon* spp. は 20 洞窟中 17 と高

頻度に分離された。また、50% の洞窟から新種に相当する菌種も分離された。分離された *Trichosporon* spp. は、Ovoides clade 以外のすべての clade に広く分布していた(Fig. 3)。

3) 抗 *Trichosporon* 特異抗体の検出

抗体価は便宜的に反応性に応じて 0-7 までにスコア化した(Fig. 4)。また、抗体陽性率を Fig. 5 に示す。入洞経験者は未経験者(B 地方)より有意に抗体が検出された。特に、III 型および I-III 型抗原に対する反応性が高く、I 型にはわずかに、また II 型には反応しなかった。A 地方の未経験者は入洞経験者と同程度かそれ以上の検出率を示した。

D. 考察

本試験では、前年度に引き続き関東から九州に至る洞窟・風穴から採取されたコウモリ・グアノ中の *Histoplasma* の検出を試みたが、全てのサンプルから検出されなかった。南米を中心とした環境調査からコウモリあるいはそのグアノ中からの分離例は多く報告されていることから、今後も継続して分離を試みる必要があると思われる。

Histoplasma は分離できなかったものの大部分の洞窟から担子菌系酵母 *Trichosporon* spp. が分離された。*Trichosporon* spp. は我が国固有のアレルギー疾患とされている夏型過敏性肺臓炎(SHP)の原因抗原でもある。本菌は、血清学的には 4 型(I, II, III, I-III

型)に大別され、その血清型は分子系統樹上の clade と相関する。SHP 患者家屋から分離される菌株の大部分は I 型あるいは II 型であり、III 型および I-III 型はほとんど分離されない(Fig. 6)。一方、グアノからは II 型を除いてすべての血清型株が分離された(Fig. 3)。Fig. 7 に SHP 患者家屋およびグアノから分離された菌株の血清型を比較して

示した。

Trichosporon spp. は SHP の原因抗原であるため、入洞に伴う呼吸器症状との関連性が示唆された。入洞経験者の約 30% から *Trichosporon* 抗体が検出された。特に III 型抗体の検出率が高く II 型は検出されなかった。これは、グアノ中の菌相結果とよく相関することから、入洞経験者は洞窟内で *Trichosporon* 抗原に感作されている可能性が考えられた。A 地方の入洞未経験者についても入洞経験者と同様の抗体検出パターンであった。今後はさらに検査対象を広げて調査する必要がある。

E. 結論

今回解析したサンプルからは *Histoplasma* は検出出来なかった。渡航歴のないヒストプラズマ症患者が報告されていることから、更に継続した広範囲な調査が必要である。また、大部分の洞窟に SHP 原因抗原である *Trichosporon* が存在することが明らかになった。入洞者から抗 *Trichosporon* 抗体が検出されたことから、本菌と入洞に伴う呼吸器症状との関連性が示唆された。

IV. 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 か月および 1 週間振盪培養し、回収、洗浄の後、ガラスビーズにて破砕した。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 (ø 8 cm) を用いて拡散用のアガープレートを作製し、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. 結語

- ・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きている。
- ・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。

V. 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

コクシジオイデス症は感染症法第四類感染症全数把握疾患に規定された唯一の真菌症である。本症は米国西南部 (カリフォルニア州、ネバダ州、ユタ州、テキサス州、ニューメキシコ州、アリゾナ州)、メキシコ北部、アルゼンチンのパンパ地域、ベネズエラのファルコン州の半乾燥地域の風土病で、土壤中に生息する *Coccidioides immitis* および *Coccidioides posadasii* が原因真菌である。真菌としては最も感染力が強く危険である。日本国内ではこれまで42例あまりが発症し、約85%がアメリカ合衆国での感染例である。近年は増加が著しく、毎年3-4名の発病が確認されている。コクシジオイデス属は感染力が強いため健常者でも感染する例が多く、検査中の感染事故が起こりやすい。

コクシジオイデス症は特異的抗体の検出によって診断がなされる場合が多い。しかし、深在性真菌感染症のリスクが特に高い免疫不全患者においては感染しても抗体が産生されない可能性があるため、診断できないという問題点がある。また、臨床検体から真菌を培養・同定することによって感染症の診断がなされる場合、培養はバイオセーフティーレベル3実験室に限られており、さらに、培養に数週間を要するため、真菌の培養を介さない診断検査法の開発が強く望まれている。近年、感染症の検査法として遺伝子診断が広く導入されるようになり、コクシジオイデス症においてもITS (internal transcribed spacer) 領域や proline rich antigen を標的としたPCR検出法が報告されているが、非特異的検出の問題により実用化には到っていない。そのため、コクシジオイデス属真菌を

特異的に検出する PCR 法プライマーの設計と
その評価が必要であった。

C. posadasii は、以前は非カリフォルニア
型 *C. immitis* として認識されていた菌種で
ある。臨床症状、表現型にほとんど差が無い
にも関わらず、その一塩基多型の多さから *C.*
immitis とは別菌種として認識される経緯と
なった。これらの 2 つの種はマイクロサテラ
イトを含む領域の長さや真菌酵素をコード
する遺伝子内の変異によって識別される。現
在のところ、臨床上、2 菌種を識別する重要
性は低いが、生息地域によって異なる遺伝子
多型が存在している点で進化生物学的に興
味深い対象として研究が行われている。

本研究は、PCR 法によりコクシジオイデス
属真菌遺伝子の特異的に検出し、*C. immitis*
および *C. posadasii* を区別するためのプ
ライマー配列を提供することを目的とした。

これまで開発されている遺伝子診断法で
は、近縁種との交差増幅が頻繁に認められる
など、特異性に問題があった。この問題を解
消するために、*Coccidioides* 属の DNA を検出
可能、かつ、*Coccidioides* 属以外の真菌由来
の DNA では陰性になるようなプライマーの開
発が必要となる。そのために、米国 Broad
Institute において既に公開されている *C.*
immitis のゲノム配列より、PCR で 720 bp を
増幅できる領域を数ヶ所選別した。その領域
を増幅するための 20 mer のプライマーを設
計し、*C. immitis* のゲノム DNA に対して DNA
増幅を行った。

プライマーセット Coi9-1 を用いた PCR 検
出系により、5 株の *C. immitis* 由来の DNA よ
り 720 bp、14 株の *C. posadasii* 由来の DNA
より 630 bp の DNA 断片を増幅することが示
された。塩基配列の解析により、その増幅産
物の長さの違いは 90 bp の欠失によることが
判明した。従来、2 菌種の識別には数塩基の

違いを検出するフラグメント解析や 1 塩基変
異を検出するための塩基配列解析が必要で
あったが、本研究によって開発した PCR 検出
法によりアガロースゲル電気泳動による解
析のみで識別が可能になった。

病原真菌に対する PCR 検出系の特異性およ
びコクシジオイデス属真菌以外の病原真菌
(60 菌種、73 株) に対する非特異性も検討
した。本 PCR 検出系においてはコクシジオイ
デス属真菌以外の病原真菌を検出しないこ
とが示された。

以上、特異プライマーセットを PCR 検出系
に用いた場合、コクシジオイデス属真菌を特
異的に検出し、分類学上非常に近い 2 菌種 *C.*
immitis と *C. posadasii* を容易に識別でき
ることを初めて明らかにした。本研究により、
真菌培養を介さない簡便かつ迅速なコクシ
ジオイデス症診断が、臨床現場で可能となる。
それにより、検査室事故の危険性を軽減させ
ることが出来る。また、産業上の利用可能性
として本研究によるプライマーセットを用
いた PCR 検出系は、コクシジオイデス症の体
外診断薬としての実用化が期待できる。

VI. 非培養系による *Histoplasma* の定量的 検出と種内多様性の解析

Histoplasma capsulatum を起因菌とするヒ
ストプラズマ症は主要な輸入真菌症の一つ
である。確定診断には菌の培養が不可欠で
あるが、本菌は培養に時間を要することから非
培養系の検出が迅速性の点からは好ましい。
一方、本症は中南米およびアフリカで認めら
れるが、輸入感染症として国内症例がしば
しば報告されている。感染経路(原産国)を明
らかにするには本菌の種内多様性の解析が適
している。

そこで本年度は、1) 早期診断法の開発を指向し real time PCR を用いた非培養検出系の開発、および 2) 様々な分離源由来の菌株の種内多様性を解析した。

オランダの菌株保存機関である CBS に保存されている 25 株を用いた。本菌株からの DNA 抽出は本研究班分担研究者である帝京大学榎村浩一先生に実施して頂いた。Real time PCR を用いて *Histoplasma* を検出するためには rRNA 遺伝子の LSU 上に *Histoplasma* 特異的な primer および TaqMan probe を設計した。PCR 増幅された LSU 領域を pCR 2.1 プラスミドに挿入し、 10^1 から 10^8 copy までの希釈系列を用いて検量線を作製した。測定機器は AB 7500 システムを用いた。種内多様性を解析するために、18S rRNA 中に挿入されている Group I intron を挟むように PCR primer を作製し、PCR を行った。PCR 陽性産物はダイレクトシーケンスにより DNA 塩基配列を決定し、分子系統解析を行った。

1. Real time PCR を用いた *Histoplasma* の検出

H. capsulatum には 3 変種 (variety *capsulatum*, variety *duboisii*, variety *farciminosum*) が存在するが、全変種を検出できるように primer/probe を設計した。 10^1 ~ 10^8 では $r^2=0.999$ の直線的な検量線がいずれの変種に対しても作成された。アフリカ・中南米に渡航歴のある日本人患者病理組織サンプルから本定量系を用いて解析したところ、約 10^3 copy の rRNA 遺伝子が検出できた。

2. 種内多様性の解析

CBS 由来の 25 株を実験に供した。このうち 15 株 (=60%) から intron が検出された。PCR 産物は塩基配列解析から group I intron であることを確認した。今回塩基配列を決定し

た 15 株と既に GenBank に登録されている 3 株の intron 配列から系統樹を作製したところ、7 グループに大別された。Variety *capsulatum* は多系を示したが、variety *farciminosum* は互いに系統枝を形成した。なお、variety *duboisii* からは intron は検出されなかった。

本年度は *Histoplasma* の非培養定量系を構築し、また *H. capsulatum* の種内多様性を解析した。*Histoplasma* の培養には時間を要することから患者からの迅速な菌の検出が必要である。今回は多くの臨床検体を入手できなかったが、供試した剖検サンプルから比較的多量の DNA を定量的に検出することができた。今後の臨床応用を期待したい。

これまでに *Histoplasma* の多様性解析は主に機能遺伝子について行われている。rRNA 遺伝子中に intron の挿入が確認されている菌種はごく一部に限られる。Intron は水平伝播であることから疫学的解析には適していると考えられる。限られた菌株数の検討であるが variety *farciminosum* に顕著な変種内多様性は認められなかった。一方、variety *capsulatum* は顕著な多様性が認められた。アフリカ・中南米に渡航歴のある日本人患者病理組織サンプルからもこの intron が検出でき、系統的には suriname 株の配列と一致した。このことからただちに当該患者が中米で感染したとは言えないが、今後更に多くの菌株を検討することで分子疫学調査に応用したいと考えている。

VII. 肺結核疑診例に潜在するヒストプラズマ症のスクリーニングに関する研究

A. 研究目的

これまでの研究より、本邦におけるヒストプラズマ症の約 18%に該当する海外渡航歴が見られていないことが明らかとなっている。これは輸入真菌症としてはきわめて例外的であり、コクシジオイデス症、パラコクシジオイデス症などほかの疾患で見ることが出来ない特徴といえる。一方、ヒストプラズマ症は、1) 軽症例では自然治癒例がある、2) 臨床上、特徴的所見に乏しい、などの特徴があるため、正診を得られなくても治癒したりあるいは死亡に至ることにより、結果的に看過されてしまった症例が多数存在する可能性が考えられる。

そこで、臨床像が近似し誤診されやすい疾患を対象に、ヒストプラズマ症が混入している可能性を検討した。

B. 研究方法

具体的疾患として、ヒストプラズマ症と臨床像や胸部 X 線写真像が類似している肺結核症疑診症例を対象とした。具体的には明らかな肺結核症を除外するため、「臨床上、肺結核症を疑われながらも、結核菌の存在が確定できなかった症例」を対象とした。協力病院に依頼し、同条件に合致する患者 113 名の血清を収集した。血清の収集にあたっては、必要に応じて倫理委員会の了承を得た。

ヒストプラズマ症のスクリーニングには、本研究でも用いてきた抗体測定法（免疫拡散法および IgM ラテックス凝集法）を用い、血清を対象として測定した。

C. 研究成果

被検者 113 名からそれぞれ 1 検体ずつ採取、検討した。その結果、陽性は ID 法で 9 名（8.0%）、LA 法で 0 名であった。また、疑陽性（弱陽性）は ID 法で 5 名（4.4%）、LA 法では 0 名であった。ID 法にて陽性を示した 9 名のうち 1 名（全体

の 0.9%）は、ヒストプラズマ症であったことが病理学的に確認された。そのほかの陽性患者については、主治医に結果を報告したところ、2 名で臨床的にヒストプラズマ症の可能性が考えられるとの見解であった。これらはいずれも「原因の明確でない肺炎」の臨床像を呈していた。

D. 考察

今回の検討で、少数とはいえ真性のヒストプラズマ症が結核疑診例の中から発見されたことは、多くのヒストプラズマ症症例が肺結核症と誤診されたまま看過されている、という我々の仮説を支持するものであり、きわめて重要な問題を提起している。

今後、今回明確な結論に至らなかった陽性例や偽陽性例について、特に疑わしい症例を中心に画像その他の専門家を交えて詳細な検討に関して検討を行うとともに、早急に、検討対象の症例数を拡大し、広範な検討を行う必要がある。さらに現在用いられている抗体検出法にはその検出能力に限界があることから、次項にて検討を進めている改良抗体検出法を用いて再検査を行うことも含め、早急な検討が必要と考えられる。

VIII. 国内コウモリ・グアノの菌叢解析と新興感染症の診断法開発

A. 研究目的

Histoplasma capsulatum を起因菌とするヒストプラズマ症は主要な輸入真菌症の一つであるが、国内感染と推定される症例が少ない。南米を中心とした環境調査から本菌はコウモリあるいはその堆積糞(グアノ)からしばしば分離されている。このことから平成 16 年度に国内の洞窟に生息するコウモリの

堆積糞の菌叢を解析した。*Histoplasma* は検出されなかったが、夏型過敏性肺臓炎の原因抗原である *Trichosporon* が高頻度に検出された。本年度も継続して国内洞窟から採取したコウモリグアノから *Histoplasma* の検出を試みた。また、新興感染症の一つであるトリコスポロン症の起原菌 *T. asahii* の非培養検出法の開発を行い、新規な病原真菌の分離を行った。

B. 研究方法

1) コウモリグアノからの *Histoplasma* の検出

a) コウモリグアノサンプル

本研究班分担研究者である順天堂大学菊池賢先生より分与頂いた 94 検体(26 洞窟)を実験に供した。

b) *Histoplasma* の検出

約 1 g のグアノにブレインハート インフュージョンブロースを加え 27°C で 3 日間培養、および滅菌生理食塩に懸濁し、真菌 DNA を抽出した。昨年度に構築した *Histoplasma* DNA 特異的 probe/primer を用いた real-time PCR を用いて *Histoplasma* DNA を検出した。

c) グアノサンプル中の真菌叢解析

約 0.5 g のグアノに YM ブロー(含、ペニシリン、ストレプトマイシン、クロラムフェニコール)を加え 27°C で 1 日培養し、培養液を同寒天培地に塗抹した。得られた酵母様コロニーの ITS1-5.8S-ITS2-D1/D2 26S rDNA 塩基配列解析を行ない、当該菌株の同定を行なった。

2) 臨床検体からの *Trichosporon asahii* の検出

a) 患者血清

血液培養によりトリコスポロン症と診断された 21 患者の血清を用いた。

b) Real time PCR を用いた *T. asahii* の検出

rRNA 遺伝子の IGS1 上に *T. asahii* 特異的な primer および TaqMan probe を設計した。PCR

増幅された IGS1 領域を pCR 2.1 プラスミドに挿入し、 10^1 から 10^8 copy までの希釈系列を用いて検量線を作製した。測定機器は AB 7500 システムを用いた。

c) LA test

Serodirect Eiken Cryptococcus test を用いて抗原検出を行った。

3) 新規病原真菌の分離

菌学的解析

タイ人患者血液より分離された酵母を実験に供した。ITS1-ITS2-D1/D2 26S rDNA の塩基配列から分子系統解析を行い、また EIKEN kit により薬剤感受性を調べた。

C. 研究結果

1) コウモリグアノからの *Histoplasma* の検出

96 検体から *Histoplasma* は検出されなかった。しかしながら、平成 16 年度に続いて *Trichosporon* が高頻度で分離された。96 検体中、71 (76%)、26 洞窟中 23 (88%) から分離された。*Trichosporon* は 5 clades に大別されるが、Ovoides clade 以外のすべての clade から検出された。分離された菌種は系統樹として Fig. 1 に示す。

2) 臨床検体からの *Trichosporon asahii* の検出

T. asahii のみを検出できる primer/probe を設計した。 10^1 – 10^8 /mL のプラスミド濃度では $r^2=0.999$ の直線的な検量線が得られた。また、*Cryptococcus neoformans* や *Candida albicans* をはじめとした他の病原真菌 DNA とは、反応しなかった。21 検体中 16 検体が LA 反応陽性(1:4–1:64)となった。LA 反応陰性の 5 検体を含めた全検体とも real-time PCR では陽性となった。また、LA 反応による PS 抗原価とプラスミド数には良好な相関性が認められた($r^2=0.9097$) (Fig. 2).

3) 新規病原性真菌の分離

rDNA の塩基配列に基づく分子系統解析から、*Candida* 属に位置する新種と判断され、*Candida pseudohaemulonii* sp. nov.と命名した (Fig. 3)。本株はアムホテリシン B およびアゾール薬 (FCZ, ITZ, MCZ) に耐性を示した。形態を Fig. 4 に示す。

D. 考察

平成 16 年度より継続的に国内コウモリグアノ中からの *Histoplasma* の非培養系による検出を試みている。本年度は本邦で発症例のあった岡山県をサンプルリングの場所を選んだ。阿哲台の洞窟を中心に 28 ヶ所からサンプルリングしたが、*Histoplasma* は検出された。しかしながら、高頻度で *Trichosporon* が分離されたことと平成 16 年度の結果と併せると本邦の洞窟熱には *Trichosporon* が深く関与していると推定された。

Trichosporon asahii を起因菌とする深在性トリコスポロン症は予後が著しく不良である。特に、近年ではミカファンギンの投与によりブレークスルー感染症としての報告が増加している。本法は抗原検出法にくらべて感度が高いことから、新規診断法としての利用が期待される。

日和見真菌感染症の起因菌は多様化の一途である。これは医療的背景にも起因するが、同定技術の向上が大きく関わっている。この度、見出した *C. pseudohaemulonii* は *C. haemulonii* type 1, 2 と系統枝を形成していた。これらの菌種もアムホテリシン B およびアゾール薬に耐性であることから、系統と薬剤感受性が相関する興味ある例である。なお、本邦では本菌の分離は確認されていない。

E. 結論

Histoplasma は検出できなかったが、症例が

存在することから今後も継続的に分離を試みる必要がある。また、臨床応用可能なトリコスポロン症起因菌の非培養系定量検出法を提供した。日和見真菌感染症の起因菌は多様化の一途であることから、網羅的にこれらを検出するシステムの構築が必要である。

IX. 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 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 jirovecii*

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(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