

20082904/A

厚生労働科学研究費補助金  
新興・再興感染症研究事業

## COPD等における難治性感染症の病態把握等に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

平成21年3月

研究代表者

宮 崎 義 継

(国立感染症研究所)

厚生労働科学研究費補助金  
新興・再興感染症研究事業

COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

平成 21 年 3 月

研究代表者

宮崎 義継

(国立感染症研究所)

平成 20 年度 新興・再興感染症研究事業  
「COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究」班  
班員名簿

氏 名	所 属	職 名
宮崎 義継	国立感染症研究所・生物活性物質部	部長
河野 茂	長崎大学 大学院 医歯薬学総合研究科	教授
二木 芳人	昭和大学医学部 臨床感染症学講座	教授
小川 賢二	国立病院機構東名古屋病院 臨床研究部	部長
安藤 常浩	日本赤十字社医療センター 感染症科	副部長
山越 智	国立感染症研究所 生物活性物質部	主任研究官
泉川 公一	長崎大学 大学院 医歯薬学総合研究科	助教
亀井 克彦	千葉大学 真菌医学研究センター	教授
渡邊 浩	久留米大学医学部・感染医学講座臨床感染医学部門	教授

## 目 次

- I. COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究  
総括研究報告書（平成 20 年度）・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1  
研究代表者：宮崎 義継（国立感染症研究所・生物活性物質部）
- II. 分担研究報告書
1. 慢性肺糸状菌感染症の診断基準案－背景と根拠ならびに骨子案－ ・・・・・・・・ 7  
研究分担者：宮崎 義継（国立感染症研究所・生物活性物質部）
2. 患者背景因子に関する研究（1）・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10  
研究分担者：河野 茂（長崎大学 大学院 医歯薬学総合研究科）
3. 患者背景因子に関する研究（2）・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 17  
研究分担者：河野 茂（長崎大学 大学院 医歯薬学総合研究科）
4. 改良(1→3)- $\beta$ -D-グルカン測定法の臨床的評価 ・・・・・・・・・・・・・・・・ 23  
研究分担者：二木 芳人（昭和大学医学部 臨床感染症学講座）
5. 慢性壊死性肺アスペルギルス症の症状と病原性に関する研究 ・・・・・・・・ 27  
研究分担者：小川 賢二（国立病院機構東名古屋病院 臨床研究部）
6. 慢性壊死性糸状菌感染症、とくにアスペルギルス感染症における病理組織学的研究、  
文献上の病態の解析の変遷とともに ・・・・・・・・ 29  
研究分担者：安藤 常浩（日本赤十字社医療センター 呼吸器内科）
7. 慢性壊死性肺糸状菌感染症における新たな抗原検索に関する研 ・・・・・・・・ 32  
研究分担者：山越 智（国立感染症研究所 生物活性物質部）

8. 新たな抗原検索と診断応用に関する研究 . . . . . 36

研究分担者：泉川 公一（長崎大学 大学院 医歯薬学総合研究科）

9. 慢性壊死性肺アスペルギルス症における微生物側の病原因子に関する検証 . . . 42

研究分担者：亀井 克彦（千葉大学 真菌医学研究センター）

10. 肺炎球菌が産生するバイオフィルムと莢膜の関連についての研究 . . . . . 47

研究分担者：渡邊 浩（久留米大学医学部・感染医学講座臨床感染医学部門）

# I. 総括研究報告書

## 総括研究報告書

研究代表者 宮崎義継 (国立感染症研究所 生物活性物質部 部長)

研究要旨 COPD等の呼吸器疾患に合併する慢性糸状菌感染症の的確な診断法と有効性の高い治療法の開発が促進され、当該疾患の患者予後や生活の質の改善、ならびに当該疾患における医療の効率化等に貢献することを目的として、診断プロトコル作成のための研究を行った。臨床小班では、疾患概念と患者背景、検査法、症状の検討を行い、下記の4項目からなる診断基準骨子を作成した；1) 症状、2) 画像所見、3) 原因診断、4) 他疾患の否定。基礎小班は診断基準の科学的根拠を創造する目的で、病理組織像の検証、難治化因子の検討、疾患特異的診断法に関する研究を実施した。病理組織では consolidationには菌糸が存在しない場合があることを示し、難治化の生体側因子として fetuin が同定され、診断に関してもアスペルギルス属から多くの新規抗原をみいだした。

### A. 研究目的

COPD等における慢性壊死性肺糸状菌感染症はときに致死性であるが、疾患概念が曖昧であり明確な診断指針が確立されていない。わが国と欧米諸国における疾患の捉え方や診断名自体も統一されていない現状にある。

慢性アスペルギルス症の長期的予後は不良であることが指摘されており、予後や治療の有効性を検証する臨床研究の実施が必要である。そのために、治療が必要と考えられている慢性肺アスペルギルス症の診断基準を策定し適切な疾患名を提案することにより、慢性糸状菌感染症の的確な診断法と有効性の高い治療法の開発が促進され、当該疾患の患者予後や生活の質の改善、な

らびに当該疾患における医療の効率化等に貢献することを目的とする。

### B. 研究方法

臨床小班と基礎小班がそれぞれ必要な研究を行った。

臨床小班では、疾患概念、患者背景、有効な検査法、画像診断、自覚症状に関して下記のような方法で検討を行った。

1) 診断基準骨子案の作成。わが国と海外における慢性アスペルギルス感染症に関する知見を検証し、診断基準の素案を策定した。(宮崎)

2) 患者背景に関する研究。全国36施設において、臨床研究として行われた「呼吸器科領域におけるアスペルギルス症に対するキャンディン系抗真菌薬ミカファンギンの

臨床効果」に登録された91例について、臨床情報の集計、解析を行った。また、同意を得られた患者より約3mlの全血採血を行い、gDNAを定法により抽出（一部は-80℃にて保存）。PCRにて、MBL、SP-A、TLR2、TLR4、TLR9、Dectin-1遺伝子を増幅し、増幅産物のシークエンスを行い、遺伝子多型を検討した。（河野）

3) 現行検査法の研究。深在性真菌症疑が疑われβ-グルカンが測定された保存血漿121検体を用いて、診断レベル毎に測定方法の変更が及ぼす影響に関して検討を行った。（二木）

4) 症状に関する研究。慢性壊死性肺アスペルギルス症に合致すると考えられた自験例59例と、細菌性肺炎例との比較研究を行った。アスペルギルス症に多いとされる咯血や、咳嗽、呼吸困難等の呼吸器症状の頻度に関して検討した。（小川）

基礎小班では、病理組織、新規の抗原検索、難治化因子に関する研究を行った。

5) 病理組織の研究。詳細な病歴と照合可能であった4例の肺組織検体をホルマリン固定後、肉眼的観察を行った後、パラフィン切片を作製した。これらをhematoxylin-eosin (HE) 染色、elastica van Giesson (EVG) 染色、グロコット染色、Masson 染色など各種染色をほどこし、病理組織学的に詳細な検討を行なった。また、経過中の臨床所見、画像所見についても検討を加え、画像所見と病理組織所見との対比を行なった。（安藤）

6) 新規診断法の開発研究。A. fumigatus MF-13株からRNAを抽出しcDNAを作成後に、活性型MPLを含むレトロウイルス発

現ベクターpMX-SSTを用いてcDNAレトロウイルスライブラリーを作成した。マウスBA/F3細胞に感染させ、IL-3非依存的増殖可能な細胞をスクリーニングした。得られた細胞から、導入したベクター配列を用いA. fumigatus由来遺伝子と推定される遺伝子断片を増幅させシークエンスを行った。（山越）また、検体からの直接的アプローチとして、TOF-MSを用いて肺アスペルギルス症の患者血清（感染群と非感染群）とアスペルギルス菌体からのタンパク収集、プロテインチップシステムを用いた臨床プロテオミクス（タンパク質のプロファイリング）を試行し、診断マーカーの候補となるピーク（タンパク）を選定、精製とアミノ酸シークエンスを行い、同定した。（泉川）

7) 生体側難治化因子。A. fumigatus IFM49896株をPDAスラントに接種し25℃にて2週間培養して十分な孢子形成を得た後、0.05% Tween-20を添加し、その溶液中に分生子を懸濁し孢子懸濁液を作成した。37℃、5%CO<sub>2</sub>存在下で30時間培養し、遠心により限外濾過された画分を30kDa以下の画分として実験に用い、30kDa以上の画分も作成しとして実験に用いた。

血清中の糖タンパク質分離にはGlycoprotein Isolation kit, ConA/WGA (Pierce)を用いて糖タンパク質の分離を行った。（亀井）

8) 菌側難治化因子の研究。ゲノム配列が解読されている肺炎球菌TIGR4野生株にアンピシリン及びビストレプトマイシン耐性遺伝子をもつプラスミドを莢膜形成に関与するcps4D遺伝子を組み込み、莢膜を損傷させたTIGR4変異株を作成した。continuous flow cell chamber内にそれぞれの菌を2時間

接種後に 24 時間培養し、confocal laser scanning microscope によるバイオフィルムの観察を行った。(渡邊)

### C. 研究結果

臨床小班では、患者背景、現行検査法、症状に関する研究を開始し、診断基準案を作成した。

1) 疾患概念. わが国の慢性壊死性肺アスペルギルス症は、欧米の慢性空洞性肺アスペルギルス症を包括する概念であることが明らかになった。また、抗真菌薬による治療対象とするための診断基準案を作成した。(宮崎)

2) 患者背景. 慢性壊死性肺アスペルギルス症と診断した患者の、男女比が男：女＝2：1、好発年齢：60歳代後半、低体重患者が多く、ほぼ全ての症例において基礎疾患を有していた。そのうち、肺結核後遺症、肺炎、非定型抗酸菌症、COPD などが呼吸器系の基礎疾患として頻度が高かった。疾患感受性の指標としてマンノース結合レクチン遺伝子の多型性を検討したが、欧米の報告と異なる傾向が示唆された。(河野)

3) 検査法. 測定法の改良前後の  $\beta$ -グルカン値の比較では、各々の測定値は一定の相関を認めたが、改良前 MK 法の測定値が高い数値になる傾向が認められた。定性判定結果が改良前後とも陽性の検体は 25 検体、両法とも陰性であったものは 86 検体、改良前 MK 法が陽性で改良後 MK 法が陰性であったものは 9 検体、改良前 MK 法が陰性、改良後 MK 法が陽性であったものは 1 検体であった。両者の一致率は 91.7%であった。(二木)

4) 症状. 慢性壊死性肺アスペルギルス症

で見られる特徴的な症状を 59 症例で検討したところ、通常の細菌性肺炎ではほとんど見られない症状である咯血と血痰が 40 症例 (68%) に認められた。(小川)

基礎小班では、病理組織と画像の対比、疾患特異的な診断標的の検索、

5) 病理組織と画像の対比. いずれの症例も上肺肺尖部付近に、菌球を有する空洞を認めた。空洞壁は壊死、器質化、線維性肥厚よりなり、その辺縁部から離れた部位まで、種々の程度の器質化肺炎像が観察された。いずれも異物型巨細胞の浸潤と肉芽腫性反応を認め、2例ではその近傍に尿酸カルシウム結晶の沈着を認めた。また、1例で bronchocentric granulomatosis 様の肉芽腫性変化が認められた。なお、全例ともアスペルギルス菌糸の組織内への侵襲像は認められなかった。また、いずれも空洞から離れた病変部位ではアスペルギルス菌糸は認められなかった。

6) 疾患特異的な診断標的の検索. 真菌である *A. fumigatus* 遺伝子をマウス由来細胞に導入した場合でも、糸状菌由来蛋白質のシグナルペプチドによりマウス細胞表面に移送されることが明らかにした。得られたクローンの総数は 465 個で、シークエンスにより 75 個の *A. fumigatus* 遺伝子を同定した。その中で 9 個の遺伝子は既に報告されていた。残りの得られた遺伝子の約 8 割は、既存の蛋白質に何らかのホモロジーを持つもの、あるいは蛋白質モチーフを持つものであったが、約 2 割は機能不明蛋白質であることが判明した。TOF-MS を用いた解析から得られた情報を基に、ポリアクリルアミドゲルを用いた二次元電気泳動法、

peptide mass fingerprint 法、アミノ酸シーケンスを行い、本タンパクがアスペルギルス由来のエピキチン様タンパクが重症患者の血清中に出現することを明らかにした。

7) 生体側難治化因子。ウシ血清由来 fetuin を終濃度 2mg/ml となるように添加し、*A. fumigatus* 培養結果の解析から、fetuin 添加により *A. fumigatus* の発育状態は血清添加時と完全に同一にはならないものの、BSA 添加時に比べると明らかに血清添加時に近似した生育形態をとっていることが観察された。このことから血清中の fetuin が生育促進に重要な役割を果たしていることが強く示唆された。

8) 菌側難治化因子。変異株の血清型の変化、発育能の変化、コロニー形態の変化を確認した。産生されたバイオフィルムの厚さが野生株と比較して変異株では増加し、変異株において有意なバイオフィルム産生増加を認めた。

#### D. 結論および考察

臨床小班では、慢性壊死性肺アスペルギルス症の診断に必須と考えられる項目として下記4項目を提案した。ただし、慢性壊死性肺アスペルギルス症の中には、症状を有するアスペルギローマも含まれてよい。

1) アスペルギルス症に起因すると考えられる血痰、咯血、咳嗽、呼吸困難などの呼吸器症状、あるいは、発熱や倦怠感などの全身症状を有する。

2) 数ヶ月以内に肺の新たな陰影の出現や、既存のアスペルギローマ等の陰影の増悪を認める。アスペルギローマが合併する場合は、空洞壁の肥厚や周囲への進展も増悪と捉える。

3) アスペルギルス属を気道由来検体あるいは無菌的な検体から分離する。あるいは、ガラクトマンナン抗原陽性、または、オクタロニー法による沈降抗体陽性が陽性である。

4) 3日以上注射用抗菌薬の投与により十分な効果がえられず、真菌感染症と判断される。

これら各項目の詳細に関して、基礎疾患、検査法、症状に関する研究を行った。基礎疾患としては、COPDや抗酸菌感染症が重要であることが示唆される結果をえた。症状に関しては、細菌性肺炎との比較において血痰や咯血が高頻度出現する可能性が示された。検査に関しては、高頻度使用される血清診断法であるβグルカンについて、測定法による結果の乖離は少ないことを示唆した。さらに必要な研究内容としてガラクトマンナン抗原と沈降抗体の評価が最も重要なもののひとつである。さらに、今後は画像所見に関する研究が必須であり、陰影の出現時期と分布や性状の詳細に関して検討し診断基準案に反映させる予定である。

基礎小班では、診断基準案に科学的な根拠を与えることを目標として、病理組織像の検証、新規診断方法の開発、難治化因子の研究を行っている。今年度行った病理組織と画像に関する研究では、急性増悪で出現した consolidation の病変部位には菌糸が存在しない、あるいは極めて少量の菌が存在するのみである可能性が示された。このことは、慢性壊死性肺アスペルギルス症の病態を理解する上で極めて有益な知見であると考えられる。新規診断法の開発に関しては、*A. fumigatus*

から多数の新規蛋白抗原を見いだした。  
また、別の方法により血清から検出された抗原が同定され、今後は、臨床検体を用いた開発・応用研究を行う予定である。難治化因子の研究に関しても、生体側の難治化因子の一つとして fetuin を見いだし、生体内で菌の生育を促進していることが示された。菌側の難治化因子の研究として、混合感染の存在、バイオフィルム形成の関与についてひきつづき検討を行う計画である。

**E. 健康危機情報：**

特になし。

**F. 研究発表**

各々の研究分担報告書を参照。

**G. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

## II. 分担研究報告書

# 1. 慢性肺糸状菌感染症の診断基準案 —背景と根拠ならびに骨子案—

研究分担者：宮崎 義継 (国立感染症研究所 生物活性物質部)

研究協力者：河野 茂 (長崎大学 医歯薬学総合研究科)

二木 芳人 (昭和大学医学部 臨床感染症学)

研究要旨：わが国と欧米諸国の現況を考慮し、慢性糸状菌感染症のうち治療適応を考慮すべき基準として慢性壊死性肺アスペルギルス症の診断基準案を作成した。1) 慢性糸状菌感染症に起因すると考えられる血痰、咯血、咳嗽、呼吸困難などの呼吸器症状、あるいは、発熱や倦怠感などの全身症状を有する。2) 数ヶ月以内に肺の新たな陰影の出現や、既存のアスペルギローマ等の陰影の増悪を認める。アスペルギローマが合併する場合は、空洞壁の肥厚や周囲への進展も増悪と捉える。3) アスペルギルス属を気道由来検体あるいは無菌的な検体から分離する。あるいは、ガラクトマンナン抗原陽性、または、オクタロニー法による沈降抗体が陽性である。4) 3日以上注射用抗菌薬の投与により十分な効果がえられない。これら1)～4)を全て満たす場合を慢性壊死性肺アスペルギルス症とする素案を提言した。

## A. 研究目的

COPD等の呼吸器疾患に合併する肺真菌症として肺アスペルギルス症が知られており、死亡時に認められる深在性真菌症の中では、アスペルギルス症の頻度が最も高い。

*Aspergillus* 属の胞子は環境中に存在しており、これを吸入することで感染し下気道に病変を形成する。肺アスペルギルス症のうち、急速に進展する侵襲性アスペルギルス症は、発熱等の症状が顕著であり胸部X線所見も急速に進行することから、ベッドサイドで患者の異常に気付かれ易く診断のための検査に移行しやすい。一方、慢性肺アスペルギルス症は、激しい症状に乏しいため、胸部X線やCT検査の際に異常に気付かれ診断に至る場合も多い。さらに、臨床経過が年余に及ぶため症候の悪化や改善

を自覚しづらく、治療の有効性の検証が困難で質の高い臨床研究が困難な疾患である。そのため実際に無作為化比較試験は極めて少ない。

しかし、慢性アスペルギルス症の長期的予後は不良であることが指摘されており、予後や治療の有効性を検証する臨床研究の実施が必要である。そのために、治療が必要と考えられている慢性肺アスペルギルス症の診断基準を策定し適切な疾患名を提案することにより、慢性糸状菌感染症の的確な診断法と有効性の高い治療法の開発が促進され、当該疾患の患者予後や生活の質の改善、ならびに当該疾患における医療の効率化等に貢献することを目的とする。

## B. 研究方法

1. わが国および諸外国における慢性ア

スペルギルス症の病態の理解について、文献的な検証を行い、これに基づいて病態の整理を行う。

2. わが国や海外で直近に行われた信頼性の高い臨床研究における、糸状菌真菌感染症に関する診断の基準や、抗真菌薬の効果判定基準に使用される指標を整理する。
3. 病態の整理と、臨床研究に必要な診断と治療に関する項目を参考にして、現在考えられる診断基準案を作成し、今後さらに研究が必要な課題を選択する。

### C. 研究結果

#### 1. わが国における慢性肺アスペルギルス症の診断.

わが国においては、他の先進諸国と比較して肺結核の罹患率が高く、肺結核の後遺症として空洞性肺病変を有する患者が多かった。この空洞性肺病変にアスペルギルス属が腐生する肺アスペルギローマ

(aspergilloma) が代表的な慢性糸状菌肺感染症と理解されていたと推察される。すなわち、抗酸菌感染症等の後遺症としての遺残空洞が、肺アスペルギローマの主たる背景因子であると考えられてきた。倉島らにより、空洞内に感染したアスペルギルス属が、空洞の壁に沿って進展増悪し壁在型肺アスペルギローマとなり、一部が空洞内に脱落し核となって菌球 (fungus ball) が形成される旨、説明されている。さらに、アスペルギローマは空洞の拡大や、空洞周辺への病変の進展に関しても経験的に知られている。アスペルギローマの長期的な経過に関する大規模な調査はないが、呼吸不全による死亡が多いことが報告されている。

アスペルギローマ以外の慢性糸状菌感染症の病態として、臨床的には低侵襲性病変として慢性壊死性肺アスペルギルス症

(Chronic necrotizing pulmonary

aspergillosis ; CNPA) がある (真菌症フォーラム, 深在性真菌症診断・治療ガイドライン, 2007)。現在の理解は、肺に基礎疾患を有していること、当該感染症に起因すると考えられる症状と画像所見を有すること、真菌学的な証拠があること、一般細菌感染症が否定的であること、と理解されアスペルギローマの合併の有無は問われていない。歴史的には病理学的に necrotizing pneumonia と理解されており、臨床経過は亜急性～慢性で semi-invasive pulmonary aspergillosis と同義に取り扱われてきた。典型的な経過としては壊死性肺炎から中心壊死部の脱落を経て軽快・治癒し、必ずしも空洞は残存しない。

#### 2. 海外における慢性肺アスペルギルス症の診断.

欧米においてもアスペルギローマ、慢性壊死性肺アスペルギルス症の用語が用いられている。以前は亜急性肺アスペルギルス症とされていた疾患を慢性壊死性肺アスペルギルス症として取り扱っている (Walsh, IDSA ガイドライン, 2008)。さらに、慢性壊死性肺アスペルギルス症と区別して慢性空洞性肺アスペルギルス症 (chronic cavitary pulmonary aspergillosis) の病型が追記されている。慢性空洞性アスペルギルス症は宿主の自然免疫に関する遺伝的異常を主因とする病因論を根拠としている。サーファクタントプロテイン A (SP-A) やマンノース結合レクチンの患者遺伝子の変異が指摘されているが (Vaid et al. *Clin Chem Lab Med.* 2007)、原因遺伝子との相関には検証の余地が残っていると考えられる。

#### 3. わが国の信頼性の高い臨床研究における診断の基準.

慢性肺アスペルギルス症に関する無作為化比較試験は存在せず、単一薬剤の非比較臨床試験が報告されているのみである

(Kohno et al. *Scand J Infect Dis.* 2004)。こ

の試験における慢性壊死性肺アスペルギルス症の診断基準は、呼吸器症状があること、画像所見に変化が認められること、炎症反応の亢進がみられること、真菌学的証明、一般細菌感染症の否定が基本になっている。

#### D. 結論と今後の予定

以上のような現況から以下の診断基準素案を提言する。

下記の1～4を全て満たす患者。

1. アスペルギルス症に起因すると考えられる血痰、咯血、咳嗽、呼吸困難などの呼吸器症状、あるいは、発熱や倦怠感などの全身症状を有する。
2. 数ヶ月以内に肺の新たな陰影の出現や、既存のアスペルギローマ等の陰影の増悪を認める。アスペルギローマが合併する場合は、空洞壁の肥厚や周囲への進展も増悪と判断する。
3. アスペルギルス属を気道由来検体または無菌的な検体から分離する。あるいは、ガラクトマンナン抗原陽性、または、オクタロニー法による沈降抗体が陽性である。
4. 3日以上注射用抗菌薬の投与により十分な効果がえられず、真菌感染症と判断される。

抗真菌薬投与が考慮されるべき患者を抽出することを念頭に置き、以上の診断基準素案を提言する。わが国で行われた臨床試験との比較では、本素案には炎症反応の亢進が含まれない。糸状菌感染症で炎症反応に乏しい症例も経験されることから、治療適用を考慮するための基準としては必ずしも必要が無いと考え素案からは除外した。

最終的な診断基準を提案するために検討が必要な課題としては以下が考えられる。

- 1) 異常画像所見の出現時期をどこまで遡るか明記する。
- 2) 臨床研究や症例の検討から、基礎疾患を具体的に記載する。その上で基礎疾患を診断基準に含めるかを検討する。
- 3) 診断基準に採用すべき検査法と検体を明記する。
- 4) 他疾患の否定に必要と考えられる治療方法と期間について詳細を決定する。
- 5) 副腎皮質ステロイド投与、糖尿病や低栄養等により、軽度の全身性免疫不全の可能性について、基準案に加えるか否か検討する。

#### E. 健康危機情報：特になし。

#### F. 研究発表

論文発表。

- 1) Kakeya H, Miyazaki Y, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yanagihara K, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S. Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in comparison with amphotericin B, liposomal amphotericin B, and micafungin against murine pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 52(5):1868-70. 2008

学会発表。

- 1) 宮崎義継. 日米ガイドラインからみた重症感染症戦略-真菌症-. 第48回日本呼吸器学会学術講演会(神戸)
- 2) 宮崎義継. 多様な深在性真菌感染症の現況. 衛生微生物技術協議会 第29回研究会(東京)

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 2. 患者背景因子に関する研究 (1)

研究分担者 河野 茂 長崎大学大学院医歯薬総合研究科 感染免疫学

研究協力者 泉川公一 長崎大学大学院医歯薬総合研究科 感染免疫学

**研究要旨** COPDや結核後遺症などの慢性呼吸器疾患を有する患者における難治性感染症の一つである慢性肺アスペルギルス症について、その患者背景因子を検討した。全国で集積された91症例における、年齢、性別、基礎疾患などをはじめとした臨床情報について解析したところ、慢性肺アスペルギルス症は60歳代に好発する疾患で、男女比はほぼ2:1。ほとんど全ての患者が何らかの基礎疾患を有していた。呼吸器基礎疾患の内訳では、高い肺結核罹患率を反映して、結核後遺症が最も多く、COPDが最多である欧米とはやや異なる傾向にあった。炎症所見について、白血球数は比較的低い傾向にあり、CRP値、血沈(1時間値)は中等度の値になる。

### A. 研究目的

COPD等を基礎疾患に有する場合の難治性感染症の一つである肺アスペルギルス症について、診断、治療、管理に関する基準は世界的なコンセンサスが得られておらず、COPDや陈旧性肺結核患者の多い本邦においては、これらの基準を独自に制定することが重要であり、本研究において、患者背景因子について検討し、危険因子や治療効果判定因子などを探ることを目的とする。

### B. 研究方法

全国36施設において、臨床研究として行われた「呼吸器科領域におけるアスペルギルス症に対するキャンディン系抗真菌薬ミカファンギンの臨床効果」に登録された91例について、臨床情報(患者の性別、年齢、体重、基礎疾患の有無、検査データ)の集計、解析を行った。

### C. 研究結果

#### 1) 調査対象

#### 慢性肺アスペルギルス症の患者背景解析 対象

調査期間: 2003年4月～2005年3月

調査対象施設: 全国36施設、呼吸器科領域

CPA診断基準

アスペルギルス症に起因すると考えられる臨床症状(咳嗽、喀痰、血痰、喀血、発熱)のうち37.0℃以上のいずれか)

+

炎症所見(CRP高値、白血球数増多、赤沈亢進のいずれか)があり、かつ、診断標準として以下のいずれかの項目を満たす患者とした。

1) 顕著局所の真菌学的検査又は病理組織学的検査により原因真菌(アスペルギルス属)が証明された患者

2) 胸部CT等により新たな陰影の出現や既存の陰影の増悪が確認され、かつ其の血液学的検査あるいは真菌学的検査からアスペルギルス症と疑われた患者

3) 胸部CT等によりアスペルギルローマを疑わせる所見が認められた患者

調査対象症例: 91例

#### 2) 性別・年齢・体重の分布

#### 慢性肺アスペルギルス症の患者背景解析 性別・年齢・体重

項目	全症例	CNPA	アスペルギ ローマ	
全症例	91	57	34	
性別	男	52	21	
	女	29	13	
年齢	24～54	31	22	
	55～79	49	20	
	80～90	11	5	
	MEAN±SD	67.6±11.38	65.7±12.56	71.2±8.10
体重	MEAN±SD	43.6±9.49	42.8±9.58	43.2±9.29

男女比が男:女=2:1、好発年齢:60歳代後半、低体重患者が多い。

### 3) 基礎疾患の有無

慢性肺アスペルギルス症の患者背景解析 基礎疾患の有無				
項目		全症例	CNPA	アスペルギローマ
基礎疾患の有無	なし	2	0	2
	あり	89	57	32

ほぼ全ての症例において基礎疾患を有する。

### 4) 呼吸器基礎疾患の内訳 (病型別)

慢性肺アスペルギルス症の患者背景解析 呼吸器基礎疾患の内訳 (1)				
基礎疾患	症例数 (%)	CNPA	アスペルギローマ	
結核後遺症	38 (38.8)	22 (38.6)	14 (41.2)	
肺炎	25 (27.3)	20 (35.1)	5 (14.7)	
非結核性抗酸菌症	15 (16.5)	10 (17.5)	5 (14.7)	
COPD	12 (13.2)	8 (14.0)	4 (11.8)	
肺原病	12 (13.2)	8 (14.0)	4 (11.8)	
気管支拡張症	8 (8.8)	3 (5.3)	3 (8.6)	
慢性呼吸不全	5	4	1	
気管支腫瘍	3	3	0	
肺動脈瘤	2	2	0	
肺線維症	2	1	1	
慢性気管支炎	2	0	2	
嚥下気管支拡張症	1	1	0	
肺腫瘍	1	1	0	
肺動脈瘤	1	1	0	
その他の肺疾患	10	5	5	

結核後遺症、肺炎、非定型抗酸菌症、COPDなどが呼吸器の基礎疾患として多い。

### 5) 呼吸器基礎疾患の内訳 (病型別・性別)

慢性肺アスペルギルス症の患者背景解析 呼吸器基礎疾患の内訳 (2)						
基礎疾患	全症例		CNPA		アスペルギローマ	
	M	F	M	F	M	F
結核後遺症	27	8	17	5	10	4
肺炎	18	7	15	5	3	2
非結核性抗酸菌症	7	8	4	4	7	4
COPD	12	0	8	0	4	0
肺原病	7	5	4	4	2	2
気管支拡張症	3	5	2	1	1	2
慢性呼吸不全	3	2	3	1	0	1
気管支腫瘍	2	1	2	1	0	0
肺動脈瘤	2	0	2	0	0	0
肺線維症	2	0	1	0	1	0
慢性気管支炎	2	0	0	0	2	0
嚥下気管支拡張症	0	1	0	1	0	0
肺腫瘍	1	0	1	0	0	0
その他の肺疾患	7	4	3	3	1	1

結核後遺症、肺炎、COPDなどは男性が多いのに対し、非結核性抗酸菌症では、女性が多い。

### 6) 炎症所見 (白血球数)

慢性肺アスペルギルス症の患者背景解析 炎症所見(WBC)														
白血球数	Total	例数	全例		CNPA		アスペルギローマ							
			投与前	投与後	投与前	投与後	投与前	投与後						
			平均	8246.23	7877.25	8354.24	8297.26	8131.83	7147.92					
最小値-最大値	3402-21800	2200-27000	3400-21800	3800-27000	3440-18300	2200-18210								
男	例数	42	56	41	38	21	18							
								平均	8516.81	7932.88	8885.24	8411.84	8180	8921.67
								最小値-最大値	3400-21800	2200-27000	3400-21800	4200-27000	3440-18300	2200-11220
女	例数	28	24	16	13	12	11							
								平均	7827.5	7747.5	7862.5	7941.54	8047.5	7518.18
								最小値-最大値	4200-15400	3800-20500	4200-15400	3800-20500	4290-12990	4200-18210

慢性肺アスペルギルス症患者の白血球数は比較的低めであり、平均するとほぼ正常上限になる。

### 7) 炎症所見 (CRP値)

慢性肺アスペルギルス症の患者背景解析 炎症所見(CRP)														
CRP	Total	例数	全例		CNPA		アスペルギローマ							
			投与前	投与後	投与前	投与後	投与前	投与後						
			平均	4.31	5.07	7.27	5.91	5.23	5.37					
最小値-最大値	0.15-24.84	0-37.37	0.99-24.84	0-37.37	0.15-21.1	0.05-25.69								
男	例数	61	56	40	38	21	18							
								平均	7.24	5.25	5.6	6.44	4.83	3.95
								最小値-最大値	0.2-24.84	0.05-37.37	0.99-24.84	0.2-37.37	0.2-21.1	0.05-25.69
女	例数	29	24	8	13	12	11							
								平均	4.69	4.4	3.81	4.38	5.72	4.43
								最小値-最大値	0.15-14.18	0-18.72	1.2-13.12	0-15.29	0.15-14.18	0.14-18.72

平均CRP値は、中等度陽性を示す。

### 8) 炎症所見 (血沈1時間値)

慢性肺アスペルギルス症の患者背景解析 炎症所見(ESR)														
ESR	Total	例数	全例		CNPA		アスペルギローマ							
			投与前	投与後	投与前	投与後	投与前	投与後						
			平均	34.52	36.13	36.9	41	36.21	36.21					
最小値-最大値	33-150	20-107	33-150	20-102	36-118	44-107								
男	例数	31	11	18	7	13	4							
								平均	36.5	39.73	34.92	70.14	74.68	69
								最小値-最大値	33-150	22-102	33-150	22-102	37-118	50-83
女	例数	11	5	6	2	5	3							
								平均	29.03	58.2	78.43	29	78.74	77.67
								最小値-最大値	36-122	20-107	53-122	20-38	36-113	44-107

平均血沈(1時間値)は、中等度陽性を示す。

### D. 結論と今後の予定

慢性肺アスペルギルス症は60歳代に好発する疾患で、男女比はほぼ2:1。ほとんど全

ての患者が何らかの基礎疾患を有しており、呼吸器基礎疾患としては、海外での報告にあるような COPD 等の慢性肺疾患が多い。ただし、本邦では、高い肺結核罹患率を反映して、呼吸器基礎疾患の内訳では、結核後遺症が最も多く、COPD が最多である欧米とはやや異なる傾向にある。炎症所見について、白血球数は比較的低い傾向にあり、CRP 値、血沈（1 時間値）は中等度の値になる。

以上より、本邦に特異的な患者背景因子を同定することができた。

今後は、治療効果判定因子を決定するために、治療奏功例に対象を絞り、炎症所見などの推移を検討する。

#### E. 健康危険情報

特になし。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kohno S: High mortality in invasive aspergillosis: what we need to know for determination of poor prognosis and next countermeasures. Clin Infect Dis 47: 1185-7, 2008
2. Nakamura S, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S: Pulmonary Cryptococcosis in Late Pregnancy and Review of Published Literature. Mycopathologia, 2008
3. Morinaga Y, Yanagihara K, Nakamura S, Yamamoto K, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yamada Y, Kohno S, Kamihira S: In vivo efficacy and pharmacokinetics of tomopenem (CS-023), a novel carbapenem, against *Pseudomonas aeruginosa* in a murine chronic respiratory tract

infection model. J Antimicrob Chemother 62: 1326-31, 2008

4. Nakamura S, Higashiyama Y, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mizuta Y, Kohno S. The roles of the quorum-sensing system in the release of extracellular DNA, lipopolysaccharide, and membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa*. Jpn J Infect Dis 61: 375-8, 2008
5. Tashiro M, Izumikawa K, Yoshioka D, Nakamura S, Kurihara S, Sakamoto N, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Mukae H, Hayashi T, Fukushima K, Tashiro T, Kohno S: Lung fibrosis 10 years after cessation of bleomycin therapy. Tohoku J Exp Med 216: 77-80, 2008
6. Yamamoto Y, Shiohita K, Takazono T, Seki M, Izumikawa K, Kakeya H, Yanagihara K, Tashiro T, Otsuka Y, Ohkusu K, Kohno S: An autopsy case of *Erysipelothrix rhusiopathiae* endocarditis. Intern Med 47: 1437-40, 2008
7. Seki M, Watanabe A, Mikasa K, Kadota J, Kohno S: Revision of the severity rating and classification of hospital-acquired pneumonia in the Japanese Respiratory Society guidelines. Respirology 13: 880-5, 2008
8. Nakamura S, Yanagihara K, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Miyazaki Y, Suyama N,

- Kohno S: Severe pulmonary tuberculosis complicating ileocecal intussusception due to intestinal tuberculosis: a case report. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 13: 7-16, 2008
9. Izumikawa K, Zhao Y, Motoshima K, Takazono T, Saijo T, Kurihara S, Nakamura S, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Hayashi T, Kohno S: A case of pulmonary cryptococcosis followed by pleuritis in an apparently immunocompetent patient during fluconazole treatment. *Med Mycol*: 9:1-5, 2008
  10. Ehara N, Fukushima K, Kakeya H, Mukae H, Akamatsu S, Kageyama A, Saito A, Kohno S: A novel method for rapid detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen in sputum and its application in adult respiratory tract infections. *J Med Microbiol* 57: 820-6, 2008
  11. Fukushima KY, Yanagihara K, Hirakata Y, Sugahara K, Morinaga Y, Kohno S, Kamihira S: Rapid identification of penicillin and macrolide resistance genes and simultaneous quantification of *Streptococcus pneumoniae* in purulent sputum samples by use of a novel real-time multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol* 46: 2384-8, 2008
  12. Kakeya H, Ehara N, Fukushima K, Seki M, Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Saito A, Kohno S: Severe Legionnaires' disease successfully treated using a combination of fluoroquinolone, erythromycin, corticosteroid, and sivelestat. *Intern Med* 47: 773-7, 2008
  13. Nakamura S, Izumikawa K, Seki M, Fujimoto K, Mishima K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Mizuta Y, Kitaoka T, Kohno S: Reversible visual disturbance due to cryptococcal uveitis in a non-HIV individual. *Med Mycol* 46:367-70, 2008
  14. Kihara R, Yanagihara K, Morinaga Y, Araki N, Nakamura S, Seki M, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Tsukamoto K, Kamihira S, Kohno S: Potency of SMP-601, a novel carbapenem, in hematogenous murine bronchopneumonia caused by methicillin-resistant and vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 52: 2163-8, 2008
  15. Kosai K, Seki M, Yanagihara K, Nakamura S, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S: Gabexate mesilate suppresses influenza pneumonia in mice through inhibition of cytokines. *J Int Med Res* 36: 322-8, 2008
  16. Motoshima M, Yanagihara K, Yamamoto K, Morinaga Y, Matsuda J, Sugahara K, Hirakata Y, Yamada Y, Kohno S, Kamihira S: Quantitative detection of metallo-beta-lactamase of blaIMP-cluster-producing *Pseudomonas aeruginosa* by real-time polymerase chain reaction

- with melting curve analysis for rapid diagnosis and treatment of nosocomial infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 61: 222-6, 2008
17. Kosai K, Seki M, Yanagihara K, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S: Two-dimensional gel electrophoresis analysis in simultaneous influenza pneumonia and bacterial infection in mice. *Clin Exp Immunol* 152:364-71, 2008
  18. Hirakata Y, Yanagihara K, Kurihara S, Izumikawa K, Seki M, Miyazaki Y, Kohno S: Comparison of usefulness of plasma procalcitonin and C-reactive protein measurements for estimation of severity in adults with community-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 61: 170-4, 2008
  19. Sawai T, Soda H, Kohno S: *Mycobacterium intracellulare* pulmonary infection which co-existed and mimicked lung cancer. *Intern Med* 47: 459-62, 2008
  20. Kakeya H, Miyazaki Y, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yanagihara K, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S: Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in comparison with amphotericin B, liposomal amphotericin B, and micafungin against murine pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 52: 1868-70, 2008
  21. Kakeya H, Miyazaki Y, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S: Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in a murine model of systemic cryptococcosis. *Antimicrob Agents Chemother* 52: 1871-2, 2008
  22. Watanabe A, Yanagihara K, Kohno S, Matsushima T; HAP study group: Multicenter survey on hospital-acquired pneumonia and the clinical efficacy of first-line antibiotics in Japan. *Intern Med* 47: 245-54, 2008
  23. Yanagihara K, Morinaga Y, Nakamura S, Seki M, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yamada Y, Kamihira S, Kohno S: Subinhibitory concentrations of telithromycin, clarithromycin and azithromycin reduce methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* coagulase in vitro and in vivo. *J Antimicrob Chemother* 61: 647-50, 2008
  24. Kosai K, Seki M, Yanagihara K, Nakamura S, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S: Elevated levels of high mobility group box chromosomal protein-1 (HMGB-1) in sera from patients with severe bacterial pneumonia coinfecting with influenza virus. *Scand J Infect Dis* 40: 38-42, 2008
2. 学会発表
    1. ATS 2008 (トロント) Kohno S, Izumikawa K, Akamatsu S, Kageyama A,