

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

分担者研究報告書

アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワーク
の促進と共同研究体制の強化に関する研究（H23 - 新興 指定 020）

ベトナムにおけるヒストプラズマ症の基礎的、臨床的研究

研究分担者 大野秀明

国立感染症研究所 生物活性物質部 室長

研究協力者 田辺公一、梅山 隆、山越 智、宮崎義継（国立感染症研究所生物活性物質部）

Thi Thu Ha Hoang（National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam）

Nguyen Van Tien（Bach Mai Hospital, Vietnam）

研究要旨:ベトナムとの真菌症に関する共同研究の一つとしてベトナムにおけるヒストプラズマ症の疫学研究、ヒストプラズマ属の環境中生息状況調査を行った。ハノイ市における医療機関で呼吸器感染症が疑われた症例を対象にしたヒストプラズマ症の疫学調査では、ヒストプラズマ症の確定診断が得られた症例は現時点まで確認できなかったが、抗ヒストプラズマ抗体の陽性率は約 28%であった。また環境検体については約 120 検体を採取しヒストプラズマ属検出の検討に供した。今回の我々の結果から、ベトナムにおいてもヒストプラズマ属感染は稀な事象ではないことが推定され、ベトナムにおける本症に関する初めての疫学的情報と考えられた。

A. 研究目的

ヒストプラズマ症は別名「洞窟熱」ともいわれ、高病原性真菌（BSL3）であるヒストプラズマ属（*Histoplasma capsulatum*）を原因真菌とし、HIV 感染者など免疫不全者に加え、健常人にも発病が認められる真菌感染症である。ヒストプラズマ属は通常土壌中に生息し、コウモリや鳥類の糞中で盛んに増殖する真菌で、世界的に広く生息が確認されているが、なかでも米国ミシシッピー川流域や中南米、

西アジア、東南アジア、オーストラリアが大きな侵淫地域であり、本感染症は地域流行型真菌症の性格をもつ。日本人のヒストプラズマ症患者は年々増加傾向を示し、その多くは北中米と東南アジアでの感染であることが考えられているが、東南アジア地域でのヒストプラズマ症の実態、流行状況、感染源、危険因子等については未解明な点が多く、日本人現地在住者、日本人旅行に対する適切な感染危険情報も少ない。このような状況を鑑み、

本研究では、東南アジア地域での本症の実態把握、流行状況調査、診断能力の向上ならびに分離されたヒストプラズマ属の各国での疫学的解析や基礎研究の推進・発展主要内容として、それぞれの国の感染症研究機関との共同研究ネットワークを構築し、日本ならびにアジア諸国の公衆衛生に貢献することを目的とする。

B. 研究方法

本年度はベトナム社会主義共和国の国立衛生疫学研究所(National Institute of Hygiene and Epidemiology: NIHE, Vietnam) の希少細菌研究室と、ハノイ市の Bach Mai Hospital との共同研究として検討を行った。検討内容としては、呼吸器感染症疑い患者での肺ヒストプラズマ症(急性、慢性)の状況調査(疫学調査)、診断支援、ヒストプラズマ属生息状況に関する調査、環境リスク因子の同定を行った。

1) 北部ベトナム地域におけるヒストプラズマ症の疫学調査

NIHE ならびにハノイ市 Bach Mai 病院、関連病院の感染症部門検査部が主体となり、これら医療機関を受診した(不明熱)患者で、ヒストプラズマ症を含めた侵襲性真菌症が疑われる患者から診断目的で検査に提出された臨床検体を用いて培養検査、遺伝子検査、抗体検査を実施した。患者のエントリー基準として、1) 無症状だが胸部 X 線検査で肺野に陰影を認める、2) 急性呼吸器症状を呈する(発熱、胸痛、倦怠感、咳嗽など)、3) 結核様の慢性の呼吸器症状を呈し徐々に悪化する

症例(結核は否定する)、4) 免疫不全、口腔内潰瘍、中枢神経症状を呈した症例を対象とした。対象検体は喀痰、気管支洗浄液、髄液、胸水、血液、生検組織などで、状況に応じ培養法、遺伝子診断法(PCR 法)、血清診断法を行った。PCR 法については我々が行っているヒストプラズマ属検出用 PCR 法(Ohno H, et al. J Infect Chemother. In press)を行い、また血清診断法についても我々が診断目的で使用しているキット(Histoplasma DxSelect, Focus Diagnostics, Cypress, CA)を用いて抗ヒストプラズマ抗体の有無を検出した。

2) ヒストプラズマ属生息状況に関する調査

ハノイ市内ならびに近郊の公共エリア、住宅地、病院周辺、洞窟などでコウモリや家禽類の糞で汚染された土壌検体を対象としてサンプリングを行った。得られた土壌検体は冷蔵保存の上 NIHE へ運搬し、以後のヒストプラズマ属培養法、PCR 法へ供した。

(倫理面からの配慮について)

本検討においては NIHE の倫理委員会(No.01 IRB)ならびに国立感染症研究所倫理委員会(No.365)の承認を受けて実施した。

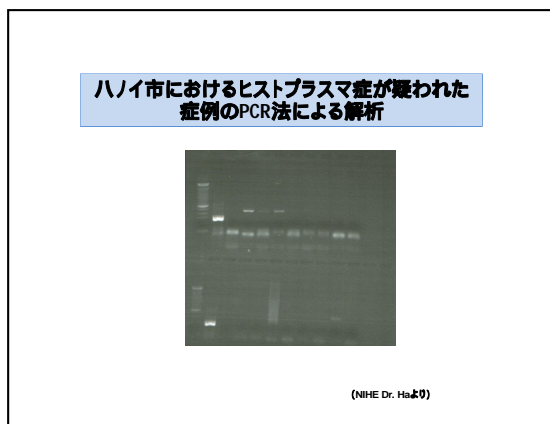
C. 研究結果

1) 北部ベトナム地域におけるヒストプラズマ症の疫学調査

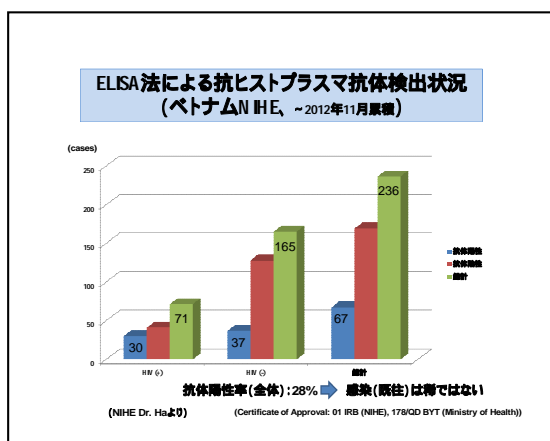
現在まで気管支肺胞洗浄液(BALF)12 検体、血清 236 検体が NIHE へ検査目的にて供された。BALF については培養法、PCR 法を行ったが、いずれとも陽性となった検体は確

認できなかった(図1)。一方、血清についてはすべて血清診断法に供され、67検体(28%)が抗ヒストプラズマ抗体陽性と判定された(図2)。基礎疾患としてHIV感染の有無別で抗体陽性率を検討したところ、HIV陽性検体71検体中30検体(42%)、HIV陰性検体165中37検体(22.4%)が抗体陽性であった(図2)。

(図1)



(図2)



2) ヒストプラズマ属生息状況に関する調査

本年度は現在まで土壌検体計120検体が採取された。現在、培養法、遺伝子検出の検討を行っている。

D. 考察

ヒストプラズマ症は、わが国では海外で感染し国内で発病する、いわゆる輸入真菌症とされているが、東南アジア、とくにタイではHIV感染者を中心に比較的高い頻度で認められる真菌症である。本感染症は基本的にヒト-ヒト感染がないことや、診断が困難であることから、疫学情報の不足が認められる。

ベトナムにおける真菌症診療は、スタッフや診療体制面から十分な体制が整っているとは言い難い現状が認められ、ヒストプラズマ症に関しては診断自体が正確に行われていない面が見受けられる。論文検索上ベトナムでのヒストプラズマ症の症例報告は過去に1例認められるが、その診断に関しては病理組織像のみであった。このような背景から、ベトナムにおけるヒストプラズマ症の疫学的情報は不明で、実際にどれくらいの頻度で発生が認められるのかなどの報告は現在までなく、我々の検討が実質的に初めての疫学調査となる。

我々の現在までの検討はまだ初端に過ぎないが、呼吸器感染症が疑われる患者血清の血清診断法で28%が抗ヒストプラズマ抗体陽性であったことは、ヒストプラズマ属がベトナムでも広く侵淫していることが伺われた。但し、この数字には偽陽性例も含まれると考えべきであるが、それを勘案してもヒストプラズマ属感染は稀ではないことが推測された。またHIV陰性者より陽性者で抗体陽性頻度が高いことは、ベトナムにおけるHIV感染者でもヒストプラズマ症が重要な合併感染症となりうることを示されている。今回の検討

では確定診断例、すなわち培養法、PCR 法において陽性となった例は認められなかったが、血清診断法で高い値を示した症例は数例確認されていることから、今後それら症例の経過を追う必要がある。一方、ヒストプラスマ属の環境中生息状況については現時点で生息を証明する結果は得られていないものの、今後更なる調査を継続していく予定である。

本研究は日本とベトナムとの真菌症に関する共同研究の先駆けであり、今後継続的な研究体制を維持しながら発展させていくことが重要と考えられる。

E. 結論

ハノイ市を中心とする北部ベトナムにおいて抗ヒストプラスマ抗体保有状況の検討から、この地域におけるヒストプラスマ属感染は決して少なくはないものと推定された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

- 1) Kimura M, Araoka H, Uchida N, Ohno H, Miyazaki Y, Fujii T, Nishida A, Izutsu K, Wake A, Taniguchi S, Yoneyama A. *Cunninghamella bertholletiae* pneumonia showing a reversed halo sign on chest computed tomography scan following cord blood transplantation. *Med Mycol* 50: 412-416, 2012.
- 2) Gytoku H, Izumikawa K, Ikeda H,

Takazono T, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Nishino T, Miyazaki T, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Yaguchi T, Ohno H, Miyazaki Y, Kamei K, Kanda T, Kohno S. A case of bronchial aspergillosis caused by *Aspergillus udagawae* and its mycological features. *Med Mycol* 50: 631-636, 2012.

- 3) Sugiura K, Sugiura N, Yagi T, Iguchi M, Ohno H, Miyazaki Y, Akiyama M.

Cryptococcal cellulitis in patient with bullous pemphigoid. *Acta Derm Venereol*, 2012. (DOI: 10.2340/00015555-1385)

- 4) Mihara T, Izumikawa K, Kakeya H, Ngamskulrungrroj P, Umeyama T, Takazono T, Tashiro M, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Ohno H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Multilocus sequence typing of *Cryptococcus neoformans* in non-HIV associated cryptococcosis in Nagasaki, Japan. *Med Mycol* : 1-9. Posted online on 17 Aug 2012. (doi:10.3109/13693786.2012.708883)

- 5) Tarumoto N, Sujino K, Yamaguchi T, Umeyama T, Ohno H, Miyazaki Y, Maesaki S. A first report of *Rothia aeria* endocarditis complicated by cerebral hemorrhage. *Internal Medicine* 51: 3295-3299, 2012 .

- 6) Ueno K, Okawara A, Yamagoe S, Naka T, Umeyama T, Utena-Abe Y, Tarumoto N, Niimi M, Ohno H, Doe M, Fujiwara N, Kinjo Y, Miyazaki Y. The mannan of *Candida albicans* lacking β -1, 2-linked

oligomannosides increases the production of inflammatory cytokines by dendritic cells. Med Mycol. Posted online on October 29, 2012. (doi:10.3109/13693786.2012.733892)

7) Nagi M, Tanabe K, Nakayama H, Yamagoe S, Umeyama T, Oura T, Ohno H, Kajiwara S, Miyazaki Y. Serum cholesterol promotes the growth of *Candida glabrata* in the presence of fluconazole. J Infect Chemother. In press.

8) Umeyama T, Ohno H, Minamoto F, Takagi T, Tanamachi C, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Kishi K, Fujii T, Takemura H, Watanabe H, Miyazaki Y. Determination of epidemiology of clinically isolated *Cryptococcus neoformans* strains in Japan by multilocus sequence typing. Jpn J Infect Dis. In press.

9) Ohno H, Tanabe K, Umeyama T, Kaneko Y, Yamagoe S, Miyazaki Y. Application of nested PCR for diagnosis of histoplasmosis. J Infect Chemother. In press.

学会発表

国際学会

1) Ohno H, Tanabe K, Kaneko Y, Umeyama T, Yamagoe S, Miyazaki Y. Nested PCR for diagnosis of histoplasmosis. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. Berlin, 2012.

2) Umeyama T, Ohno H, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Miyazaki Y. Multi-locus sequence typing epidemiology of

Cryptococcus neoformans strains clinically isolated in Japan. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. June 11-15, 2012, Berlin, Germany.

3) Tanabe K, Ohno H, Umeyama T, Yamagoe S, Chibana H, Miyazaki Y. Genetic analysis of echinocandin-resistant *Candida glabrata* isolated in Japan. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. June 11-15, 2012, Berlin, Germany.

国内学会

1) 大野秀明、田辺公一、杉田 隆、畠山修司、大久保陽一郎、金子幸弘、梅山 隆、山越 智、金城雄樹、渋谷和俊、亀井克彦、宮崎義継。北米流行型 *Cryptococcus gattii* 株の病原性、病原因子の解析-国内臨床分離株を中心に-。第 86 回日本感染症学会総会、4 月 25 , 26 日、長崎、2012。

2) 渋谷和俊、大久保陽一郎、大野秀明、宮崎義継、田辺公一、金子幸弘、山越 智、梅山 隆、安藤常浩、若山 恵。 *Cryptococcus gattii* 感染症における病理組織学的解析。第 86 回日本感染症学会総会、4 月 25 , 26 日、長崎、2012。

3) 梅山 隆、山越 智、田辺公一、大野秀明、宮崎義継。 *Aspergillus fumigatus* プロテインキナーゼの特異的阻害による病原性制御。第 60 回日本化学療法学会総会、4 月 26、27 日、長崎、2012。

4) 木村雅友、大野秀明、梅山 隆、宮崎義

継. アスペルギルスとクリプトコックスによる肺混合感染の2手術例. 第56回日本医真菌学会学術集会、11月10,11日、東京、2012.

5) 大久保陽一郎、大野秀明、篠崎 稔、宮崎義継、根本哲生、若山 恵、栃木直文、笹井大督、石渡誉郎、中山晴雄、下平佳代子、田辺公一、金子幸弘、梅山 隆、山越 智、職 玉珠、北原加奈子、山本慶郎、渋谷和俊. マウス肺クリプトコッカス症モデルを用いた感染防御ならびに構築変換の解析. 第56回日本医真菌学会学術集会、11月10,11日、東京、2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし