

アーテスネート坐薬の有効性と安全性 — 熱帯病治療薬研究班のデータから —

木村幹男¹⁾, 加藤康幸²⁾, 古賀道子³⁾, 菊地 正³⁾, 清水少一^{3)*}, 丸山治彦⁴⁾

¹⁾ 結核予防会新山手病院内科

²⁾ 国立国際医療研究センター国際感染症センター

³⁾ 東京大学医科学研究所先端医療研究センター感染症分野

⁴⁾ 宮崎大学医学部感染症学講座寄生虫学分野

^{*} 現所属：三菱電機株式会社鎌倉製作所健康増進センター

Key Words : マラリア, 熱帯熱マラリア, 重症マラリア, アーテスネート坐薬, アーテミスニン系薬

はじめに

重症マラリアは主に熱帯熱マラリアで生じるが、熱帯病治療研究班(略称, <http://trop-parasit.jp>)はその治療薬として以前からキニーネ注射薬を導入しており、多くの症例で救命に役立ててきた。しかし重症マラリアの治療薬としては、世界的にアーテミスニン系薬に属するアーテスネートの注射薬が第一選択薬になりつつある。研究班はアーテスネート注射薬(GMP 非準拠)の国内導入

には至っていないが、1999年からアーテスネート坐薬(GMP 準拠)を導入しており、その使用例が集まりつつある。

本研究班での薬剤使用は正式な治験ではなく、そのデータの解釈には限界もあるが、今後の我が国でのマラリア治療の進歩に役立てることを目指し、アーテスネート坐薬使用例を解析して有効性と安全性の検討を試みた。

Efficacy and safety of rectal artesunate – from data of the Research Group on Chemotherapy of Tropical Diseases –

Mikio Kimura¹⁾, Yasuyuki Kato²⁾, Michiko Koga³⁾, Tadashi Kikuchi³⁾, Shoichi Shimizu^{3)*}, Haruhiko Maruyama⁴⁾

¹⁾ Dept. of Internal Medicine, Shin-Yamanote Hospital, Japan Anti-Tuberculosis Association

²⁾ Disease Control and Prevention Center, National Center for Global Health and Medicine

³⁾ Division of Infectious Diseases, Advanced Clinical Research Center, Institute of Medical Science, University of Tokyo

⁴⁾ Dept. of Infectious Diseases, Division of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki
* Current affiliation: Health Promotion Center, Mitsubishi Electric Corporation Kamakura Works

論文請求先: 木村幹男 〒189-0021 東村山市諏訪町 3-6-1 結核予防会新山手病院内科

材料と方法

薬剤

アーテスネート坐薬はスイス Mepha 社の製造で (商品名 Plasmotrim Rectocaps), 1 個が 50 mg (小児用) あるいは 200 mg (成人用) を含む。これを東京大学医科学研究所の研究分担者がスイス Mepha 社に注文し, 国内到着後に関東信越厚生局薬事監視課より輸入許可を取得し, 自らの機関に保管した。そして, 薬剤使用機関からの配付要請に応じて必要最小限度の供給を行なった。

症例

本薬剤の使用や用法・用量の選択は, 原則として主治医により行われた。ただし, 本研究班の研究者や協力者に相談があったときには, 主治医に対して治療に関するアドバイスをこなっている。今回, 平成 15 年～平成 25 年にアーテスネート坐薬を使用したマラリア症例で, 主治医から治療報告書が提出されたものを解析対象とした。

解析は基本的に治療報告書の記載を元に行なった。そこでは主治医により, 有効性 (著効, 有効, 無効, 悪化, 不明, その他) と転帰 (全治, 軽快, 再発, 死亡, 不明) の記載がなされ, 副作用については, 症状, 発現状況, 発現までの総投与量, 副作用の程度/経過/処置, 薬剤との関連性に関する記載欄がある。治療報告書の記載が不明確な場合, 詳細な情報を得るために主治医に直接の問い合わせも行なった。

重症マラリア

重症マラリアの基準としては, 2007 年に発行された英国マラリア治療ガイドライン¹⁾を一部改変して用いた (表 1)。

倫理面への配慮

本研究班では厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」(平成 20 年 7 月 31 日全部改正) を遵守した薬剤使用を行なうべく, 当時の研究代表者の所属機関の倫理審査委員会に研究計画書を提出し, 平成 22 年 7 月 28 日付けで承認を取得した。それに当っては同指針に基づき, 国内未承認薬使用に伴う賠償・補償責任をカバーするための臨床研究保険契約を締結した。その後これを元に, 各薬剤使用機関の代表者 (薬剤使用責任者) が自らの倫理審査委員会から承認を取得した。

結果

属性, 疾患

本薬剤が使われた計 23 例の症例が解析対象となったが, そのうち日本国籍は 17 例, 外国国籍が 6 例であった。平均年齢 (範囲) は全体では 39.4 歳 (8～78) で, 日本人では 44.0 歳 (20～78) であった。性別は全体では男性 17 例 (73.9%), 女性 6 例 (26.1%) で, 日本人では男性 11 例 (64.7%), 女性 6 例 (35.3%) で, 平均体重は全体では 63.7kg (n=21) で, 日本人では 63.2 kg (n=16) であった。マラリア原虫種は全体で熱帯熱マラリア 20 例 (87.0%), 三日熱マラリア 3 例 (13.0%), 日本人

表 1 本研究における重症マラリアの診断基準

・ 意識障害あるいは痙攣	・ 自然出血/DIC(血小板数 <3 万/ μ L)
・ 腎不全(乏尿<0.4 mL/kg/時、あるいは血清クレアチニン>3 mg/dL)	・ ショック(血圧 <90/60)
・ 代謝性アシドーシス (pH <7.3)	・ ヘモグロビン尿(G6PD 欠損なし)
・ 低血糖 (<40 mg/dL)	・ 黄疸(T-bili >3.0 mg/dL)
・ 肺水腫あるいは ARDS	・ 高原虫血症 (non-immune では、赤血球感染率 >2%あるいは>10 万/ μ L、semi-immune では、赤血球感染率 >5%あるいは>25 万/ μ L)
・ 重症貧血 (Hb <8.0 g/dL)	

で熱帯熱マラリア 15 例 (88.2%)、三日熱マラリア 2 例 (11.8%) であった。感染地については、熱帯熱マラリアではアフリカが 17 例 (85.0%)、インドネシアが 3 例 (15.0%)、三日熱マラリアでは、パプアニューギニア、“東南アジア”、ニジェールが各 1 例ずつであった。

薬剤使用

アーテスネート坐薬の用法・用量については、単回使用例、複数回使用例など様々なケースが見られた。23 例中 22 例で他薬剤との併用が行われ、併用薬としてはメフロキシンが 14 例、キニーネ注射薬が 5 例、アーテメター・ルメファントリン合剤が 4 例、キニーネ経口薬、アトバコン・プログアニル合剤、ドキシサイクリン、アーテスネート注射薬が各 1 例であった (複数の併用例あり)。

薬剤の副作用

副作用あるいはその可能性は 5 例で報告され、全て日本人であった。これらの中で 4 例に肝機能障害が記載されていた。また、重症マラリアの 29 歳日本人女性患者で、治療終了後に“黒水熱”と思われる状態が報告された。しかし、本坐薬の使用は 1 回のみで、キニーネ注射薬、アーテメター・

ルメファントリン合剤も用いており、本坐薬による副作用とは確定できなかった。

薬剤の効果

既述の如く、本薬剤は殆どの場合に併用で用いられ、完全に単独で用いられたのは三日熱マラリア 1 例に過ぎなかった。今回、最終的には併用であるが、初めの数日間はアーテスネート坐薬の単独使用で、その間の治療効果を評価できる例を選び出したが、それらは 6 例であり、内訳は熱帯熱マラリア 5 例、三日熱マラリア 1 例であった。

熱帯熱マラリア 5 例の中で重症マラリアの基準を満たしたのは 4 例であり、それらを表 2 に示す。4 例全てにおいて本薬剤の効果が示され、後療法としてメフロキシンが用いられたが、転帰は全例で“完治”であった。また、重症でない熱帯熱マラリア 1 例での転帰も“完治”であった。三日熱マラリア症例についても有効と思われたが、外国人で帰国したため、最終的な転帰は不明であった。

考察

本薬剤のデータは、タイやミャンマーにおいて数件出されている。そこでは成人の重症マラリアを対象に、1 回 200 mg を約 3 日間にわたって投与

表 2 初期治療にアーテスネート坐薬の単独使用を行なった重症マラリア症例

年齢/性別	国籍	感染国	重症マラリア該当項目	本薬剤の用法・用量	解熱日	無性原虫消失日
49/男	日本	リベリア	Hb 7.7 g/dL	400 mg/日 (day 1*), 200 mg/日 (day 2~5)	day 3	day 4
43/男	日本	ナイジェリア	赤血球感染率 3.5%	400 mg/日 (day 1), 200 mg/日 (day 2~3)	day 3	day 3
56/男	日本	スーダン	意識障害, 赤血球感染率 5.0%, 血小板数 1.4 万/ μ L, 血清 Cr 3.0 mg/dL, T-bili 3.3 mg/dL	400 mg/日 (day 1~3)	day 4	day 4
34/女	日本	マダガスカル	意識障害, 赤血球感染率 12.3%, 血小板数 1.8 万/ μ L, T-bili 6.1 mg/dL	200 mg/日 (day 1), 400 mg/日 (day 2), 200 mg/日 (day 3~4)	day 8	day 5

*治療病口

したものが多く、総量として1,200 mg~1,600 mgで、その後にメフロキン総量1,250 mgを用いたが、根治率は78~96%であった²⁾。また別の使用方法としてWHOは、重症（あるいはそれが疑われる）マラリアで、キニーネやアーテスネートの注射薬がすぐには使用できない場合に、それまでの間、合併症の進展や死亡を防ぐ目的での緊急避難的使用を推奨している。実際、アフリカとアジアの複数国で小児の重症マラリアを中心に、6ヶ月~72ヶ月児に100 mg (5 mg/kg~13 mg/kg 推定)、72ヶ月超に400 mgを投与したが、その効果が見られている³⁾。

今回の我々の症例では、表2に示した重症マラリア4例のうち2例は重症度の高い症例であったが、両者ともに本薬剤が初期治療薬として効果的であった。他の2例は貧血あるいは高原虫血症で重症マラリアに分類されたが、これらの項目は必ずしも重症度が高いとみなされてはいない。

本研究では副作用として、悪心・嘔吐、食欲不振などの自覚症状とともに肝機能障害が複数例で報告された。しかし、肝機能障害はマラリア自体でもありうるもので、また他の抗マラリア薬による副作用も否定できない。最近、ヨーロッパの輸入重症マラリアで、アーテスネート注射薬の投与後に“delayed hemolysis”を生ずる症例が問題となっているが⁴⁾、さらにアーテスネート坐薬の投与後に生じた例も報告された。現在までに“delayed hemolysis”による死亡例は報告されていないが、腎障害なども生ずる可能性があり、注意すべきものである。前述の29歳日本人女性における“黒水熱”が“delayed hemolysis”に該当するかどうかは不明である。

本薬剤は坐薬としての性格上、薬物動態パラメ

ータでは個人間で比較的大きなばらつきが見られるが、直腸粘膜からの吸収が多少低下しても、マラリア原虫殺滅効果に問題は生じないとされる⁵⁾。我が国で本薬剤の使用価値がある場合として、キニーネ注射薬がすぐには入手可能でない、心伝導障害のためにキニーネ注射薬を使用できない、重症マラリアでも比較的重症度が低い、などが挙げられる。

我が国における本薬剤の使用基準を明確にするには、さらなる症例の解析が必要であるが、国内承認されて治療の選択肢が増えれば、輸入マラリア治療の進歩につながると思われる。

文 献

- 1) Laloo, D.G. *et al.* (2007) : UK malaria treatment guidelines. *J Infect*, 54, 111-121.
- 2) Awad M.I. *et al.* (2003) : Descriptive study on the efficacy and safety of artesunate suppository in combination with other antimalarials in the treatment of severe malaria in Sudan. *Am J Trop Med Hyg*, 68, 153-158.
- 3) Gomes, M.F. *et al.* (2009) : Pre-referral rectal artesunate to prevent death and disability in severe malaria: a placebo-controlled trial. *Lancet*, 373, 557.
- 4) Kreeftmeijer-Vegter, A.R. *et al.* (2012) : Treatment outcome of intravenous artesunate in patients with severe malaria in the Netherlands and Belgium. *Malaria J*, 11, 102.
- 5) Karunajeewa, H.A. *et al.* (2007) : Rectal administration of artemisinin derivatives for the treatment of malaria. *JAMA*, 297, 2381-2390.



解説

マラリアに対する治療薬*

日谷明裕**** 党 雅子***

春木宏介**** 木村幹男****

Key Words: malaria, *Plasmodium*, antimalarial drug, Research Group on Chemotherapy of Tropical Diseases

はじめに

国際交流の活発化とともに、わが国からも熱帯・亜熱帯地域へ出かける人が増えている。これらの旅行者は種々の感染症にかかるリスクが高いが、なかでもマラリア、特に熱帯熱マラリアは短期間で重症化や死亡の危険がある。そのため、国内の医療従事者には適切なマラリア診療を行うことが求められる。本稿では、主要薬剤の歴史、作用機序、適応、効果、副作用などについて簡潔に述べ、マラリア治療薬を正しく理解するのに資することを目指す。しかしマラリアは特殊な疾患でもあり、熟練していない医療機関では専門医療機関への相談や患者移送も考慮すべきである。

原虫ステージと薬剤

ヒトのマラリアには熱帯熱、三日熱、卵形、四日熱マラリアがあるが、最近では、サルマラリアである *Plasmodium knowlesi* マラリア (和名は未確定) も加わった。マラリア原虫はハマダラカの体内において有性生殖、ヒトの体内において無性生殖 (肝臓内、赤血球内) を行う (図 1)。体内に侵入したスポロゾイトは肝細胞内に入り、そこで分裂して生じた分裂小体 (メロゾイト) が赤血球に侵入し、赤血球内 (赤内) サイクルを形成する。そこで

は輪状体、アメーバ体、分裂体 (シゾン) へと分化し、分裂体が破裂して分裂小体が放出され、それは新しい赤血球内に侵入し、赤内サイクルを繰り返す。分裂体の破裂に伴って宿主内で炎症性サイトカインが放出され、発熱を生じる。熱帯熱マラリアでは血液中に幼若な輪状体のみみられ、分化した原虫がみられないことが多いが、それらが脳血管などの内皮細胞に接着していることによる。これは脳マラリアの機序として重要と考えられている。多くの抗マラリア薬はこのような赤内サイクルの原虫に作用する。

三日熱・卵形マラリア原虫では肝臓に休眠原虫 (ヒブノゾイト) が形成される。これは比較的長期間潜伏して突然に分裂を開始し、原虫が赤内サイクルに入って発熱を生じ、すなわち再発を起こす。そのため、三日熱・卵形マラリアでは急性期治療の後に休眠原虫を殺滅する根治療法 (再発予防) を行うが、それにはプリマキンを用いる。また、すべてのマラリアで赤内サイクルを数回繰り返した後に生殖母体 (ガメトサイト) が形成されることがあり、これはヒト体内ではほとんど無害であるが、ハマダラカが吸血すると次のヒトを刺したときに感染源になる。そのため流行地では、特に熱帯熱マラリアの伝播阻止のために生殖母体保有者の治療が重要であるが、その場合もプリマキンが使われる。

* Antimalarial drugs.

** Akihiro HITANI, M.D. & Kosuke HARUKI, M.D., DMSc.: 獨協医科大学越谷病院感染制御部 (☎343-8555 埼玉県越谷市南越谷2-1-50); Department of Infection Control, Dokkyo Medical University Koshigaya Hospital, Minami-Koshigaya, Saitama 343-8555, JAPAN

*** Masako TO, M.D., Ph.D.: 獨協医科大学越谷病院臨床検査部

**** Mikio KIMURA, M.D., Ph.D.: 結核予防会新山手病院内科

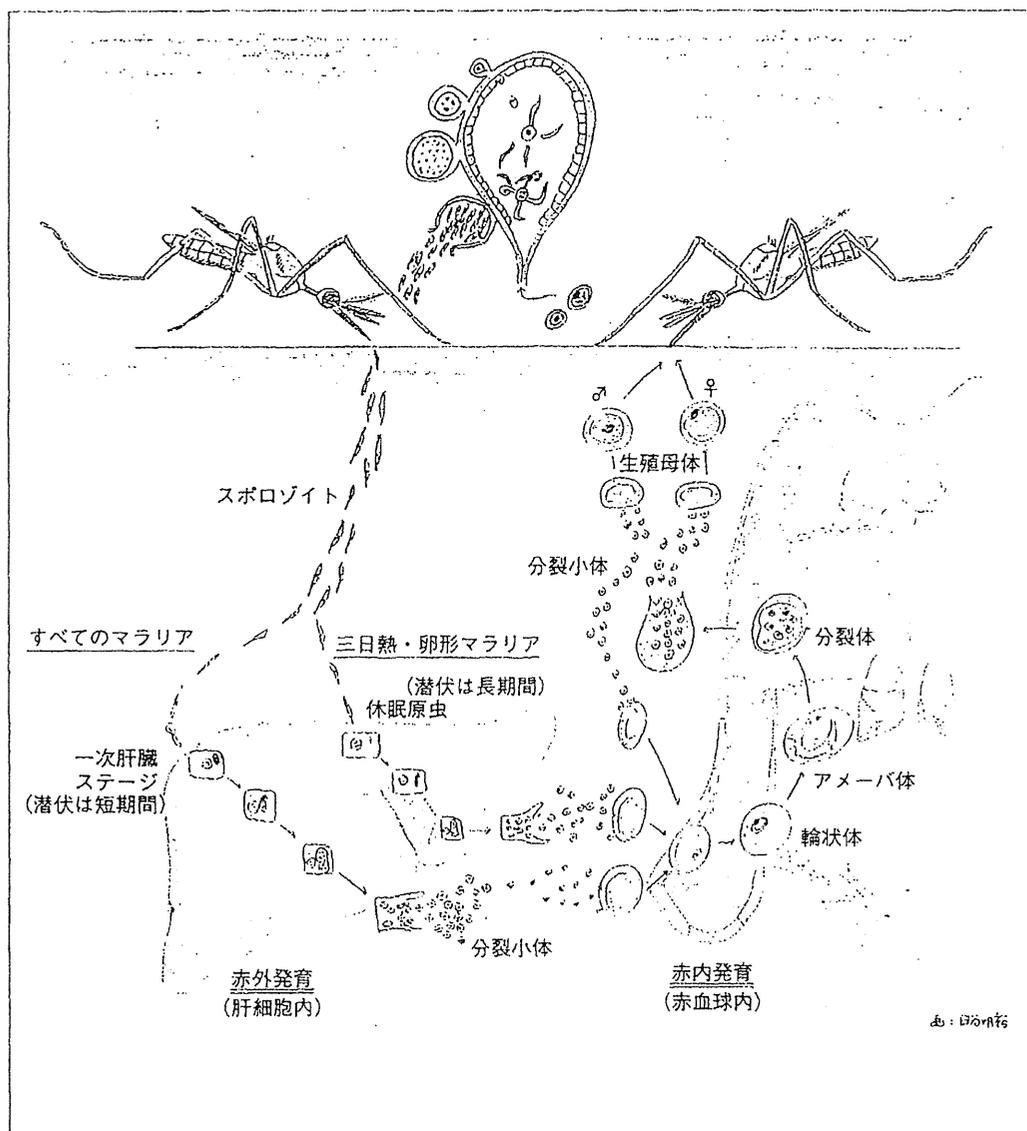


図1 ヒト体内におけるマラリア原虫のライフサイクル

抗マラリア薬の入手と使用上の注意

a. 熱帯病治療薬研究班

わが国では、昭和55年に発足した熱帯病治療薬研究班(略称、<http://trop-parasit.jp>)が国内未承認の抗マラリア薬や他の抗寄生虫薬を国内導入し、欧米先進国レベルの治療対応ができる体制を作り上げてきた。平成25年4月からは新研究班となり(班長:宮崎大学・丸山治彦, 著者の

春木, 木村は班員), 従来25か所であった薬剤使用機関を30か所に増やし, できるだけ多くの地域で薬剤にアクセスできるようにしている。そして以前の研究班の時代から, 抗マラリア薬としてはスルファドキシシン・ピリメタミン合剤(1987年販売開始, 2010年販売終了)やメフロキン(2001年販売開始)の国内承認を支援し, 最近ではアトバコン・プロゲアニル合剤の国内承認(2013年2月販売開始)に貢献した。しかし, 本稿で述べる

クロロキン、プリマキン、アーテメター・ルメファントリン合剤、キニーネ注射薬、アーテスネート坐薬の5種類はいまだ国内未承認薬であり、研究班からの供給に頼らざるを得ない。

筆者の木村は平成25年3月まで熱帯病治療薬研究班の代表者を務めた。その時期の薬剤輸入は研究者の個人輸入であったが、同年4月からの新体制(薬剤保管担当：国立国際医療研究センター・加藤)では臨床試験としての輸入となった。それに伴い、研究班の国内未承認薬使用基準を以前より厳しくする必要性が生じ、世界的標準の薬剤使用法よりも国内承認薬を優先的に勧めることになった。このような変更につき、広く国内の医療従事者には十分なお理解をお願いしたい。

なお、2014年3月には“寄生虫薬物治療の手引き 改訂8.0版-2014-”を発行し、関連学会の学術集会などで冊子を関係者に無料配付するとともに、研究班のホームページ上にPDF版を掲載し、自由にダウンロード可能としている。

b. 抗マラリア薬の塩と塩基

抗マラリア薬の用量において塩と塩基を混同しやすく、注意が必要である。伝統的にクロロキン、プリマキンについては塩基の量で示されてきた。前者の場合、リン酸クロロキンで250 mg塩=155 mg塩基、後者の場合、リン酸プリマキンで26.3 mg塩=15 mg塩基である。このように、これらを間違えた場合の影響は大きい。キニーネは伝統的に塩の量で記載されており、ヨーロッパの輸入マラリア診療ガイドラインでもしかりである¹⁾。しかし、カナダの研究者により、キニーネには異なる塩の複数の製剤があるので、塩基で統一する必要性が述べられた²⁾。世界的に注射薬として広く使われてきたキニーネ2塩酸塩については、10 mg塩=8.3 mg塩基である。メフロキンについては、ヨーロッパや日本を含む多くの国で1錠250 mg塩基(=275 mg塩)の製剤を用いているが、米国では1錠250 mg塩(=227 mg塩基)の製剤を用いており、混乱のもととなっている。ただし、この場合は間違えたときの影響は軽微である。

マラリア治療薬各論

a. キノリン化合物

マラリアの治療は歴史的にキノリン化合物で

行われてきた。マラリア原虫は宿主の赤血球内のヘモグロビンを消化し、ヘムとグロビンを生じるが、ヘムは原虫に対して毒性があるためにヘムポリメラーゼにより重合させ、ヘモゾインとして無毒化させている。キノリン化合物の多くはヘムポリメラーゼの段階を阻害し、ヘモゾイン生成を阻害して原虫を殺滅すると考えられている。ほかに、原虫の食胞をアルカリ化して発育を阻止する機序も考えられている。プリマキンでは、代謝物がミトコンドリア電子伝達系やピリミジン合成に作用する機序も考えられている。

1) クロロキン

4-アミノキノリンに属する薬剤である。1934年に化学合成され、1943年に米国で発売された。わが国では1955年頃から使われ始めたが、腎疾患などに長期間使用されて網膜症が大きな問題となり、1975年に製造・発売中止となっている。そして現在、熱帯病治療薬研究班が保管している。

発売当初は熱帯熱マラリアに顕著な効果がみられたが、1950年代末には東南アジアと南米で薬剤耐性が出現し、その後全世界に拡散し、現在、熱帯熱マラリアの治療に使用できるのはハイチ、ドミニカ共和国、中米(パナマ運河以北)と中東の一部地域とされている¹⁾。一方、熱帯熱マラリア以外ではいまだに使用価値が高く、世界的に第一選択薬である。2009~2010年のインド³⁾や、比較的最近の南米(ボリビア、コロンビア)における三日熱マラリア治療でも、全例でクロロキンが有効であった。しかし、パプアニューギニア、インドネシア、オセアニアなどの地域の三日熱マラリアでは再燃(軽度耐性)を生じることがあり、その他の地域でも同様な症例がみられている。卵形マラリアの急性期治療や四日熱マラリアの治療薬としては、耐性が問題となることは少ない。

副作用として悪心、身体違和感、視力障害、起立性低血圧、黒人での搔痒などがみられることがあるが、一般に軽度である。総投与量100 gを超えると特徴的な網膜症の発生がありうる。

2) キニーネ

4-キノリンメタノールであるが、アリル・アミノ・アルコール類にも属する薬剤である。ボリ

ピアキナノキ *Cinchona ledgeriana* の樹皮に高濃度で含まれ、南米では古くから現地人の間で抗マラリア作用が知られていた。薬剤としては遅くとも17世紀には使われており、1940年代にクロロキンが出現するまで唯一の抗マラリア薬であった。今でも、熱帯熱マラリアの薬剤耐性が最も進行しているタイ(特にその国境地帯)においても、キニーネに対する耐性の進行は比較的緩やかとされる。しかし、再燃やコンプライアンス不良などの理由から、単独での使用はほとんどなくなった。併用薬としてはドキシサイクリン(妊婦ではクリンダマイシン)が多い。妊婦(第1三半期を含む)での安全性は高いが、その場合を除いては後述のアーテシニン系薬に取ってかわられつつある⁹⁾。

経口薬として、わが国では塩酸キニーネが承認されている。合併症のない輸入熱帯熱マラリアでの治療率に関して、2003年12月~2009年の期間のヨーロッパの複数国におけるデータでは100%(25/25)と、良好な数値が示されている⁹⁾。しかし、ほとんどの欧米の輸入マラリア治療ガイドラインでは、後述のアトバコン・プログアニル合剤やアーテメター・ルメファントリン合剤に第一選択薬の地位を譲っている¹⁰⁾。

注射薬はわが国では未承認薬であり、研究班がグルコン酸キニーネを保管している。世界的にも長らく重症例(ほとんどは熱帯熱マラリア)における第一選択薬であり、最近でもその効果が衰えてはいないが、後述のアーテスネート注射薬が選択される傾向にある。輸入例としては、英国の一病院から重症マラリアを対象にした報告がある。キニーネ注射薬による治療が143例、アーテスネート注射薬による治療が24例であったが、原虫消失時間、発熱消失時間、ICU入室率、入院期間などにおいて後者が優れ、致死率でも前者で3.5%(5/143)に対して後者が0%(0/24)と優れていた⁹⁾。

副作用としては耳鳴、可逆性の高音性難聴、悪心、不快気分、嘔吐があり、これらをまとめてcinchonismと呼ばれる。経口薬では不整脈の出現は稀であるが、注射薬では心電図モニタリングを行い、QTc延長を監視し、必要に応じて減量や中止とする。本剤は膵臓からのインスリン分泌を刺激するので低血糖がありうるが、特に妊婦で問題

となる⁷⁾。このため注射薬を投与する際にはブドウ糖含有輸液剤を投与し、頻回に血糖検査を行う。黒水熱(blackwater fever)は高度な溶血と腎不全をひき起こし、暗赤色あるいは黒色尿を生じる病態であるが、キニーネ投与と関係ある場合も多い。

3) メフロキン

キニーネと同様に4-キノリンメタノールで、アリル・アミノ・アルコール類にも属する薬剤である。1970年代に米国ウォルター・リード陸軍研究所で開発されて、1980年代中頃にヨーロッパで承認され、わが国では2001年に発売となっている。血中半減期は2~3週と長いことが特徴である。合併症のない熱帯熱マラリアやその他のマラリアにも、単剤あるいは併用で使われる。タイ・ミャンマーやタイ・カンボジアの国境地域で熱帯熱マラリアの耐性が進んでいるが、他の地域での耐性はさほど問題となっていない。

前述のヨーロッパ複数国における合併症のない輸入熱帯熱マラリアでの治療率は、100%(73/73)であった⁹⁾。また、国内での発売開始前に研究班が導入した薬剤(商品名Lariam[®])を使用したデータでは、治療率98%(49/50)であった⁹⁾。

副作用として多いものは、めまい、ふらつき、悪心・嘔吐、頭痛、睡眠障害、抑うつ気分、腹部膨満感、胃部不快感などである。ふらつきと抑うつ気分は女性に多い。最も重篤な副作用は痙攣、急性精神障害、脳症であるが、それらの発生率はアジア系人種で1/1,000、アフリカ系人種や白人で1/200とされる⁷⁾。このような副作用、特に精神神経症状のために、ヨーロッパの多くの国では第二選択薬に位置づけられ¹⁰⁾、ドイツでは2013年の治療ガイドラインから削除された⁹⁾。

禁忌として精神神経系疾患や痙攣(単なる熱性痙攣を除く)があげられるが、心刺激伝達系に異常のある場合も注意を要する。また、空間認識を必要とする航空操縦士など、ダイビングをする者などへの投与も禁忌とされることが多い。

4) プリマキン

8-アミノキノリンに属する薬剤である。1940年代に米国で合成され、1952年に同国FDAで承認が得られた。わが国では未承認薬であり、熱帯病治療薬研究班が保管している。

三日熱・卵形マラリアの再発予防に使われるが、

三日熱マラリアでは特にバブアニューギニアやインドネシアなどの感染例で、従来の15 mg塩基/日・14日間投与で再発をきたす例が多く、30 mg塩基/日・14日間の高用量が勧められる傾向にある。筆者(木村)らは20年以上前に主に熱帯病治療薬研究班での使用症例を解析したが、15 mg塩基/日・14日間投与後の再発はバブアニューギニアでの感染例で24.1%と多く、インドネシアでは9.3%、タイでは8.7%、インドでは4.5%であった¹⁰⁾。さらに、より最近の研究班のデータからは、体重あたりの投与量が少ないことが再発に関係していた¹¹⁾。

副作用として悪心、嘔吐、腹痛など消化器症状がみられるが、食後の服用で軽減する。G6PD欠損者に用いると溶血の危険があるが、その程度はG6PD欠損症の重症度とprimaquineの用量に依存する。実際上問題となるのは、クラスII(活性<10%)およびクラスIII(10~60%の活性)の場合とされる¹²⁾。日本人でのG6PD欠損症の頻度は0.1%以下で非常に低く、臨床症状を伴う例はさらに稀であるが、アフリカ、東南アジア出身者ではG6PD欠損症の頻度が高い。ほかに、メトヘモグロビン血症がある。primaquineを服用するとほとんどの症例でメトヘモグロビンが増加するが、臨床的に問題となるのは稀である。しかし、NADHメトヘモグロビン還元酵素欠損者にprimaquineを投与すると重篤となる。

禁忌としてはG6PD欠損以外にも妊婦(胎児のG6PDレベルが不明のため)があげられる。関節リウマチ活動期、全身性エリテマトーデスで禁忌とされることもある。

b. アトバコンを含む合剤

1) アトバコン・プログアニル合剤

ヒドロキシ・ナフトキノンに属するアトバコンと、ピグアナイド誘導体のプログアニルとの合剤である。アトバコンはミトコンドリアの電子伝達を阻害し、プログアニルはシクログアニルに代謝されてジヒドロ葉酸還元酵素を阻害し、両者ともに最終的に核酸合成を阻害する。赤内サイクルのみならず、熱帯熱マラリアを含むすべてのマラリアの一次肝臓ステージにも効果があるが、三日熱マラリアの休眠原虫には効果がない。1996年にはじめて英国で承認され、その後で欧米各国で承認・発売されて広く使われてきた。わが国では未承認

薬として熱帯病治療薬研究班が保管していたが、2013年ようやく発売開始に至った。

欧米では、合併症のない熱帯熱マラリアに対する第一選択薬とされる¹³⁾。われわれ(日谷、木村)が熱帯病治療薬研究班のデータを用いて行った観察研究では、non-immuneで合併症のない熱帯熱マラリアの成人20例と小児3例患者の全例に治癒がみられた⁸⁾。ただし、メフロキン使用例に比べて原虫消失時間が長い傾向がみられた。その後、semi-immune症例も含めたさらなる追加症例も検討したが、熱帯熱マラリアの成人14例と小児2例、三日熱/卵形マラリアの成人13例と小児1例でも、全例が治癒を示した¹³⁾。2002年頃から、主にアフリカで罹患した熱帯熱マラリア輸入例で本剤無効の症例が報告され、その多くでチトクロームb遺伝子の変異がみられた。そのため、本剤の使用価値が短期間で減弱することも危惧されたこともある。しかし、上記のヨーロッパ複数国での合併症のない輸入熱帯熱マラリアの治癒率は98.5%(191/194)で⁵⁾、2002年9月~2007年1月の期間でのフランスの多施設においても98.9%(262/265)¹⁴⁾と、高い効果が示されている。タイ・カンボジア国境の熱帯熱マラリアではメフロキンの耐性が高度であり、後述のようにアーテミスニン系薬の効果も減弱しつつあるので、本剤の価値が高い¹¹⁾。また、熱帯熱以外のマラリアにも使用可能であるが、三日熱・卵形マラリアでの再発予防にはprimaquineが必要である。吸収を高めるために、高脂肪の食事と一緒に服用が勧められる。

副作用として悪心・嘔吐、下痢や腹痛などの消化器症状、頭痛などがあるが、軽度のことが多い。また動悸、不眠、眩暈、異常な夢、うつ症状などの精神神経系・自律神経系副作用もありうるとされる。なお、腎機能障害ではプログアニルやシクログアニルの排泄が遅延するので、Ccr<30 ml/分では慎重に投与を検討すべきとされる。

c. アーテミスニン系薬およびその合剤

アーテミスニン(qinghaosu = チンハオス)は、文化大革命時代の中国にて伝統的な薬草薬理学を進展させるという政策のもとで、1970年代に古い文献から発見され、ヨモギ属のクソニンジン*Artemisia annua*より抽出された。そして、1970

年代のうちに、中国を中心に東南アジアの流行地などで広く使われ始めた。化学的にセスキテルペン・ラクトン類であるが、ペルオキシド構造を有することが特徴である。現在、アーテミシニンのほかにジヒドロアーテミシニン、アーテメーター、アーテエーター、アーテスネートがあるが、後3者はいずれも体内で活性を有するジヒドロアーテミシニンに代謝される。作用機序として、ミトコンドリアでの酸化リン酸化を阻害する機序が示唆されたが、筋小胞体Ca ATPaseのオーソログであるP₂ATPase6に対する作用が注目されている¹⁵⁾。また最近では、上記キノリン化合物と同様に、ヘモゾイン生成を阻害する機序も示唆されている。

他の抗マラリア薬と異なり、輪状体から分裂体までのすべての赤内ステージの原虫に効果を示し、速やかに殺滅して短期間で症状を回復させる特徴がある。また、熱帯熱マラリア原虫を含む生殖母体にも効果を示し、流行地において伝播阻止に期待されている。しかし半減期が短い(1~3時間)、再燃防止のためには半減期が長い薬剤と併用する必要があり、薬剤耐性の出現を防止するためにも、流行地では必ず併用で使うように要請されている(WHO)。2007~2008年にカンボジア西部およびタイ北西部で、合併症のない熱帯熱マラリアを対象にアーテミシニン系薬への反応をみたところ、前者において治療開始後の原虫消失時間が長くなっていった¹⁶⁾。今後、明らかな耐性に進展することが危惧されている。

中国製のアーテミシニン系薬はGMP基準を満たしていないので、欧米においては不明の副作用の懸念から、特に注射薬の積極的使用は控えられてきた。しかし、WHOがそれらの製剤の品質に“prequalification”を与えたこともあり、今では欧米でも使用が多くなりつつある。

1) アーテメーター・ルメファントリン合剤

アーテメーターのpartner drugであるルメファントリンは、心毒性のために市場から撤退したハロファントリンや、キニーネやメフロキンとも同様にアリル・アミノ・アルコール類に属する。これは中国で開発され、作用機序は明確ではないが、キノリン化合物と同様にヘモゾイン生成阻害も考えられている。本合剤は1999年に

はじめてスイスで承認され、ヨーロッパで広く使われるようになり、米国でも2009年に承認されている。わが国では未承認薬であり、熱帯病治療薬研究班が保管している。

基本的に合併症のない熱帯熱マラリアの治療薬であり、欧米の多くの国ではアトバコン・プログアニル合剤とともに第一選択薬となっている¹⁵⁾。ただし、熱帯病治療薬研究班は国内承認薬のアトバコン・プログアニル合剤の方を優先している。合併症のない輸入熱帯熱マラリアでの治癒率は、ヨーロッパ人およびコロンビア人でのデータでは96.0%(119/124)¹⁷⁾、前述のヨーロッパ複数国のデータでは97.0%(32/33)¹⁸⁾と、いずれも高い数値であった。重症マラリアの範疇に入る高原虫血症(赤血球感染率30%)でも本薬剤単独で治癒に至ったとの報告¹⁸⁾もあるが、そのような症例に広く勧めるにはさらなる検討が必要であろう。アトバコン・プログアニル合剤と同様に、吸収率を上げるために高脂肪食と一緒に服用が勧められる。わが国からも、薬剤の吸収が不十分と思われる治療不成功例が報告されている¹⁹⁾。

副作用として消化器症状、頭痛、眩暈、咳などがあげられるが、副作用のデータにはマラリア自体による症状も含まれる可能性がある。本剤は、心電図にてQT延長を呈する者には禁忌とされるが、ルメファントリンはハロファントリンと異なり、QT延長を含む心毒性のリスクは有意でないとする報告が多い。

2) アーテスネート坐剤

本剤は国内未承認薬であるが、熱帯病治療薬研究班がGMP基準を満たしたスイスMepha社製の坐剤を保管している。タイやミャンマーのデータでは、重症マラリアの初期治療に用い(総量800~1,600 mgを約3日間)、後療法にメフロキンが使われたが、治癒率が78~96%であり、ほとんどでメフロキン服用開始前に原虫の消失がみられている²⁰⁾。また、重症マラリアでキニーネ注射薬や後述のアーテスネート注射薬が使用可能な場所に移送する前に、本剤の単回投与(6~72か月の児で100 mg, 72か月超の児で400 mg)を行ったところ、重症化や死亡を減らすことができた²¹⁾。流行地ではこのような緊急避難的使用にも期待されている。

熱帯病治療薬研究班では2003年からの使用症

例を解析した。ほとんどは他の薬剤との併用であったが、初めの数日間は本剤単独で治療した重症マラリア症例もみられ、それらでは第3~4治療病日には原虫消失あるいはほぼ消失の状態となり、救命に役立ったと思われた²²⁾。また、特別問題となる副作用は報告されていない。坐剤としての性格上、吸収率などに大きな個人差があるが、多少の吸収不良の場合にも効果に特別な問題はないとされる²³⁾。なお、欧米における本剤の使用はほとんど行われていない。

3) アーテスネート注射薬

アーテスネートには錠剤、坐剤、注射薬があり、水溶性のゆえに静脈注射が可能である。ただし、中国製の製剤はGMP基準での製造でないために、欧米でも承認薬ではない。わが国でも未承認薬であり、熱帯病治療薬研究班も保管していない。しかし2005年には、ヨーロッパの輸入感染症のネットワークであるTropNetEurop(現TropNet)が重症マラリアの第一選択薬として位置づけた²⁴⁾。

流行地で重症マラリアを対象にアーテスネート注射薬とキニーネ注射薬を比較したランダム化試験として、アジアでの研究(15歳未満が13~14%)²⁵⁾とサハラ以南アフリカの研究(小児)²⁶⁾があり、致死率では前者の研究で15%対22%、後者の研究で8.5%対10.9%で、いずれもアーテスネートの方が優れていた。輸入マラリアでも、上述の英国における重症マラリアでの検討では、キニーネ注射薬に比べて本薬剤の方が優れていると思われた⁸⁾。また、比較試験ではないが、ドイツ・スカンジナビア国およびオランダ・ベルギー²⁷⁾の2つの研究でも有効性と安全性に優れていると報告された。わが国でも狩野らによって導入された薬剤が数例で使われ、優れた効果が報告されている²⁸⁾。

副作用として、回復期あるいはそれに近い時期での溶血性貧血が問題となっており、“delayed hemolysis”と呼ばれている。輸血が必要となることもあり、オランダ・ベルギーでの症例ではHb 2.8 g/dlまで低下した症例もある²⁷⁾。原虫数が多い場合がほとんどで(赤血球感染率>10%)、ときに直接クームス試験が陽性となるが⁸⁾、発生機序の詳細は不明である²⁷⁾。なお、アーテスネートの注射薬のみならず、坐薬でも生じている。

おわりに

マラリア、特に熱帯熱マラリアは急速に重症化や死亡の危険を有する疾患であり、わずかの対応の遅れや不適切な対応で不幸な転帰を取りうる。マラリア治療薬の単なる知識のみでは不十分で、迅速かつ適切な臨床対応が必要である。薬剤については、わが国においてもアーテメーター・ルメファントリン合剤が承認薬となり、アーテスネート注射薬も導入されることが望まれる。

謝辞：本論文は厚生労働科学研究費補助金・医療技術実用化総合研究事業「わが国における熱帯病・寄生虫症の最適な診断治療体制の構築」の研究成果を含む。

文 献

- 1) Asklind H, Bruneel F, Burchard G, et al. Management of imported malaria in Europe. *Malar J* 2012; 11 : 328.
- 2) Kain KC, Gadd E, Gushulak B, et al. Errors in treatment recommendations for severe malaria. *Lancet* 1996; 348 : 621.
- 3) Mishra N, Singh JPN, Srivastava B, et al. Monitoring antimalarial drug resistance in India via sentinel sites : outcomes and risk factors for treatment failure, 2009-2010. *Bull World Health Organ* 2012; 90 : 895.
- 4) Achan J, Talisuna AO, Erhart A, et al. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world : role in the treatment of malaria. *Malaria J* 2011; 10 : 144.
- 5) Bouchaud O, Mühlberger N, Parola P, et al. Therapy of uncomplicated falciparum malaria in Europe : MALTHER—a prospective observational multicentre study. *Malaria J* 2012; 11 : 212.
- 6) Eder M, Farne H, Cargill T, et al. Intravenous artesunate versus intravenous quinine in the treatment of severe falciparum malaria : a retrospective evaluation from a UK centre. *Pathog Glob Health* 2012; 106 : 181.
- 7) White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, et al. Malaria. *Lancet* 2014; 383 : 723.
- 8) Hitani A, Nakamura T, Ohtomo H, et al. Efficacy and safety of atovaquone-proguanil compared with mefloquine in the treatment of nonimmune patients

- with uncomplicated *P. falciparum* malaria in Japan. *J Infect Chemother* 2006 ; 12 : 277.
- 9) Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit. Leitlinie : Diagnostik und Therapie der Malaria (November 2013). Available from : URL : <http://www.dtg.org/120.html>.
 - 10) 木村幹男, 富沢 功, 滝沢慶彦, 大友弘士. 三日熱マラリアにおけるブリマキン標準療法後の再発例の検討. *感染症学雑誌* 1996 ; 70 : 1086.
 - 11) Shimizu S, Kikuchi T, Koga M, et al. Primaquine use as the anti-malarial relapse drug in Japan—possible relevance of body weight-adjusted doses to the drug efficacy [abstract]. 13th Conference of the International Society of Travel Medicine, Maastricht 2013 (May).
 - 12) von Seidlein L, Auburn S, Espino F, et al. Review of key knowledge gaps in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency detection with regard to the safe clinical deployment of 8-aminoquinoline treatment regimens : a workshop report. *Malaria J* 2013 ; 12 : 112.
 - 13) Kimura M, Koga M, Kikuchi T, et al. Efficacy and safety of atovaquone-proguanil in treating imported malaria in Japan : The second report from the research group. *Parasitol Int* 2012 ; 61 : 466.
 - 14) Cordel H, Cailhol J, Matheron S, et al. Atovaquone-proguanil in the treatment of imported uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria : a prospective observational study of 553 cases. *Malaria J* 2013 ; 12 : 399.
 - 15) Eckstein-Ludwig U, Webb RJ, van Goethem ID, et al. Artemisinins target the SERCA of *Plasmodium falciparum*. *Nature* 2003 ; 424 : 957.
 - 16) Dondorp AM, Nosten F, Yi P, et al. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med* 2009 ; 361 : 455.
 - 17) Hatz C, Soto J, Nothdurft HD, et al. Treatment of acute uncomplicated falciparum malaria with artemether-lumefantrine in non-immune populations : a safety, efficacy, and pharmacokinetic study. *Am J Trop Med Hyg* 2008 ; 78 : 241.
 - 18) Kopel E, Marhoom E, Sidi Y, Schwartz E. Successful oral therapy for severe falciparum malaria : the World Health Organization Criteria revisited. *Am J Trop Med Hyg* 2012 ; 86 : 409.
 - 19) Mizuno Y, Kato Y, Kudo K, Kano S. First case of treatment failure of artemether lumefantrine in a Japanese traveler with imported falciparum malaria. *Jpn J Infect Dis* 2009 ; 62 : 139.
 - 20) Awad MI, Alkadru AMY, Behrens RH, et al. Descriptive study on the efficacy and safety of artesunate suppository in combination with other antimalarials in the treatment of severe malaria in Sudan. *Am J Trop Med Hyg* 2003 ; 68 : 153.
 - 21) Gomes MF, Faiz MA, Gyapong JO, et al. Pre-referral rectal artesunate to prevent death and disability in severe malaria : a placebo-controlled trial. *Lancet* 2009 ; 373 : 557.
 - 22) 木村幹男. 分担研究報告書「国内未承認薬の有効性と安全性の検討および適切な情報提供」. 厚生労働科学研究費補助金・医療技術実用化総合研究事業「わが国における熱帯病・寄生虫症の最適な診断治療体制の構築」平成25年度総括研究報告書(研究代表者：丸山治彦).
 - 23) Karunajeewa HA, Manning L, Mueller I, et al. Rectal administration of artemisinin derivatives for the treatment of malaria. *JAMA* 2007 ; 297 : 2381.
 - 24) Jelinek T. Intravenous artesunate recommended for patients with severe malaria : position statement from TropNetEurop. *Euro Surveill* 2005 ; 10(47): pii=2841.
 - 25) Dondorp A, Nosten F, Stepniewska K, et al. Artesunate versus quinine for treatment of severe falciparum malaria : a randomised trial. *Lancet* 2005 ; 366 : 717.
 - 26) Dondorp AM, Fanello CI, Hendriksen ICE, et al. Artesunate versus quinine in the treatment of severe falciparum malaria in African children (AQUAMAT) : an open-label, randomised trial. *Lancet* 2010 ; 376 : 1647.
 - 27) Kreeftmeijer-Vegter AR, van Genderen PJ, Visser LG, et al. Treatment outcome of intravenous artesunate in patients with severe malaria in the Netherlands and Belgium. *Malaria J* 2012 ; 11 : 102.
 - 28) Kano S. Artemisinin-based combination therapies and their introduction in Japan. *J Infect Chemother* 2010 ; 16 : 375.

Clinical Utility of Procalcitonin as a Marker of Sepsis: A Potential Predictor of Causative Pathogens

Atsuko Nakajima¹, Junko Yazawa¹, Daisuke Sugiki², Mari Mizuguchi³, Hironori Sagara³, Masahiro Fujisiro¹, Mitsuei Shibazaki¹, Akihiko Hitani¹, Masako To¹ and Kosuke Haruki¹

Abstract

Objective Sepsis is one of the leading causes of mortality in critically ill patients, and providing a timely diagnosis and early intervention is necessary for successful treatment. Procalcitonin (PCT) may be a better marker of sepsis than conventional inflammatory markers. The aim of this study was to evaluate the clinical utility of the PCT level as a marker of sepsis.

Methods Forty-five patients with sepsis, 24 patients with pneumonia who did not meet the SIRS criteria (PN) and 56 controls were enrolled in this study. The levels of PCT and other serum markers were measured, and their utility as markers of sepsis was assessed.

Results The serum PCT levels exhibited statistically significant differences between the three groups ($p < 0.0001$). The PCT levels in the sepsis group (29.3 ± 85.3 ng/mL) were significantly higher ($p < 0.001$) than those observed in the PN group (0.34 ± 8.6 ng/mL) and the control group (0.74 ± 2.1 ng/mL), according to a post hoc analysis. There were no differences in the white blood cell (WBC) counts or C-reactive protein (CRP) levels between the three groups. Fourteen of the 45 patients with sepsis had positive microbiological blood cultures (Gram-positive cocci [GPC] in seven patients, Gram-negative rods [GNR] in six patients, other types of bacteria in one patient). The 13 patients with GNR or GPC were categorized into the GNR group or GPC group according to the identified pathogens. The serum PCT levels were significantly higher in the GNR group (149.8 ± 199.7 ng/mL) than in the GPC group (19.1 ± 41.8 ng/mL) ($p < 0.05$), although there were no differences in the WBC counts or CRP levels between these groups. When the cut-off value for the PCT level was set at 16.9 ng/mL, the sensitivity and specificity for the detection of GNR infection were 85.7% and 83.3%, respectively.

Conclusion The PCT level is a potentially useful marker of the type of causative pathogen in patients with sepsis whose measurement may facilitate the selection of appropriate empiric antibiotic treatment.

Key words: procalcitonin, sepsis, bacterial blood culture

(Intern Med 53: 1497-1503, 2014)

(DOI: 10.2169/internalmedicine.53.1785)

Introduction

Sepsis is one of the leading causes of mortality in critically ill patients in the intensive care unit (1), and providing a timely diagnosis and early intervention for sepsis is important for preventing septic shock and death (2). While microbiological blood cultures are used to identify the causative pathogen of sepsis and help facilitate the selection of anti-

otics, the culture may require several days before the organism is isolated and identified; therefore, culture results may not be sufficiently timely to guide the choice of therapy for sepsis. In addition, microbiological culture exhibits a low sensitivity and specificity for the diagnosis of sepsis (3). Biomarkers of inflammation, such as the white blood cell (WBC) count and C-reactive protein (CRP) level, can also be used to diagnose sepsis, although their specificity is very low. In addition, the WBC count can decrease and the CRP

¹Department of Laboratory Medicine, Dokkyo Medical University Koshigaya Hospital, Japan. ²Shock Trauma Center, Dokkyo Medical University Koshigaya Hospital, Japan and ³Department of Respiratory Medicine, Dokkyo Medical University Koshigaya Hospital, Japan
Received for publication September 19, 2013; Accepted for publication January 21, 2014
Correspondence to Dr. Kosuke Haruki, kos-h@dokkyomed.ac.jp

Table 1. Infections in Patients with Sepsis

Infectious foci	n
Pneumonia and/or pleural empyema	10
Meningitis	4
Microbial infection of burn wounds	3
Pyelonephritis	3
Cholangitis	3
Others	22

level can remain low in cases of severe sepsis. Therefore, identifying a biomarker with higher sensitivity and specificity for the diagnosis of sepsis would be of benefit.

Procalcitonin (PCT) is a 116-amino acid protein with a molecular mass of 13 kD. It is produced by thyroid C cells and converted to calcitonin before being released into the bloodstream. In healthy individuals, PCT is not usually present at a detectable level in the blood. In 1993, a study demonstrated that the serum PCT levels are elevated in patients with sepsis and decrease following successful treatment of sepsis with antibiotics (4). Furthermore, in the context of local bacterial or viral infection, the circulating PCT level remains at <1.6 ng/mL (4). Other studies have suggested that measuring the PCT level is useful for making an early diagnosis of sepsis (5), as well as assessing the severity (6) and prognosis (7, 8) of septic patients.

On the other hand, the serum PCT level can be affected by lipopolysaccharides, sepsis-related cytokines (9, 10) and possibly renal dysfunction (11). The goal of this study was therefore to characterize the clinical utility of the PCT level as a biomarker of sepsis.

Materials and Methods

Subjects

We used a prospective observational design for this study. The study population included patients with sepsis, pneumonia without sepsis and a high fever of non-infectious origin. The patients were recruited from the Shock Trauma Center and Department of Respiratory Medicine at Dokkyo Medical University Koshigaya Hospital between May 2010 and December 2010. The patients diagnosed with sepsis had a definitive focus of infection together with two or more systemic inflammatory response syndrome (SIRS) criteria, according to the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine (12). Briefly, these criteria were: 1) a body temperature of >38°C or <36°C; 2) a pulse of >90 beats/min; 3) a respiratory rate of >20 breaths/min or a PaCO₂ of <32 mmHg; or 4) a WBC count of >12,000/μL or <4,000/μL. The infectious foci in the patients with sepsis are listed in Table 1. As a local bacterial infection group, patients with pneumonia (diagnosed according to the Japanese Respiratory Society (JRS) Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults) who did not meet the SIRS criteria (12) were recruited. Patients with a high fever (>38.0°C) of non-infectious origin were

Table 2. Comorbidities of Patients with Sepsis, of Patients with Pneumonia without Sepsis, and of Control Subjects

	n
Patients with sepsis	
Abdominal trauma	7
Cerebrovascular disease	6
Fracture	5
Diabetes mellitus	5
Heartstroke	4
Heart failure	4
Burn	3
Acute respiratory failure	2
Acute renal failure	1
Others	8
Patients with pneumonia without sepsis	
Lung cancer	6
Renal failure	1
Cardiovascular diseases	1
None	16
Control subjects	
Gastrointestinal diseases	9
Heart failure	8
Postoperative complication (fever)	8
Cerebrovascular disease	6
Renal failure	3
Leukemia	3
Others	19

enrolled in this study as controls. The comorbidities of the three groups of subjects are listed in Table 2.

Phlebotomy for the measurement of the levels of PCT and other serum markers was performed at the time of diagnosis of sepsis and pneumonia in the sepsis group and pneumonia group, respectively. Phlebotomy was performed in the controls at the time of a high fever.

This study was reviewed and approved by the Dokkyo Medical University Koshigaya Hospital Research Ethics Committee and conducted in accordance with the Helsinki Declaration.

PCT measurements

The PCT levels were measured via an electrochemiluminescent immunoassay using Elecsys reagent, Elecsys BRAHMS PCT and Cobas e411 (Roche Diagnostics, Tokyo, Japan), according to the manufacturer's instructions. The lower limit of detection was 0.02 ng/mL. The CRP levels were measured according to the latex agglutination method using Nanopia CRP reagent (Sekisui Medical Co., Ltd., Tokyo, Japan) and JCA-BM2250 (JEOL, Ltd., Tokyo, Japan). The WBC counts were measured using flow cytometry with XE5000 (Sysmex Corporation, Tokyo, Japan). The endotoxin levels were measured via a turbidimetric time assay, which was performed by a clinical laboratory testing company (SRL, Inc., Tokyo, Japan). Blood sampling for the microbiological blood culture was performed prior to the administration of antibiotics, and two sets of samples were obtained from each patient. Identical bacteria detected from both sets of samples were defined as causative pathogens.

Statistics

The results are presented as the mean±standard deviation

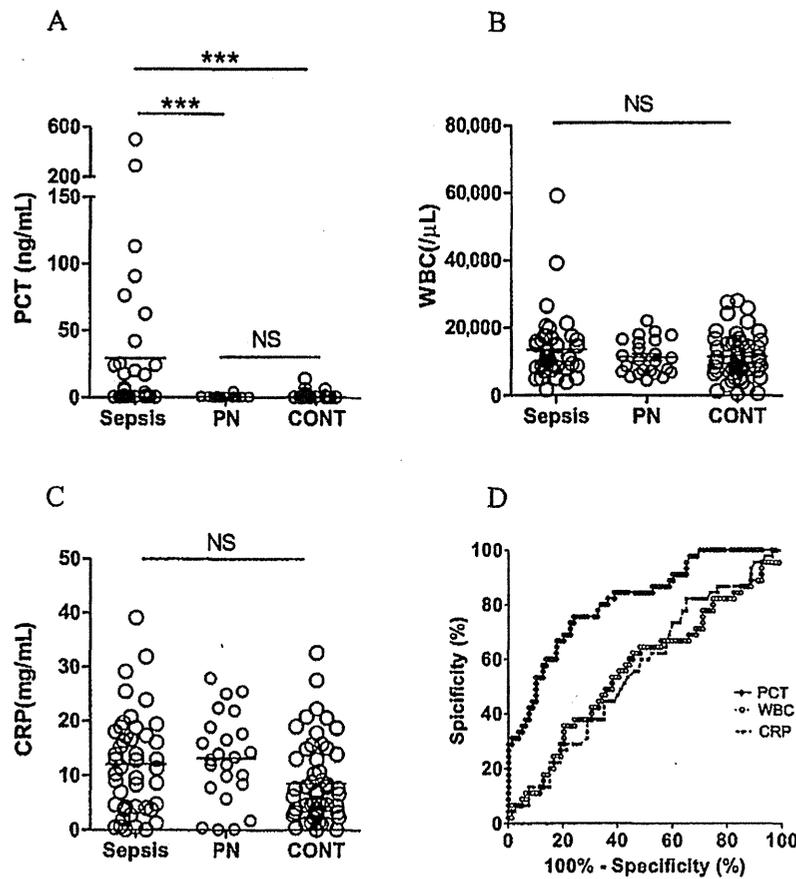


Figure 1. The serum PCT levels (A), WBC counts (B) and CRP levels (C) in the sepsis group, PN group and control group. A receiver operating analysis of the serum PCT levels, WBC counts and CRP levels in the patients with and without sepsis (control and PN groups) was performed (D).
 ***: $p < 0.001$; NS: not significant, PCT: procalcitonin, WBC: white blood cell, CRP: C-reactive protein, PN: pneumonia who did not meet the SIRS criteria

of the mean. Comparisons between two groups of data were made using the Mann-Whitney U test. Comparisons between three groups of data were made using the Kruskal-Wallis test, followed by a post hoc test. Correlations between two groups of data were analyzed using Spearman's rank correlation coefficient. A receiver operating characteristic (ROC) analysis was used to evaluate the results of diagnostic tests. A p value of less than 0.05 was considered to indicate statistical significance.

The statistical analyses were performed using the IBM SPSS Statistics version 20 (IBM, Armonk, USA) and Graph Pad Prism 5 (Graph Pad Prism, San Diego, USA) software programs.

Results

PCT as a diagnostic biomarker of sepsis

Forty-five patients with sepsis (29 men and 16 women; age, 57.2 ± 17.7 years), 24 patients with pneumonia who did not meet the SIRS criteria (PN) (15 men and nine women;

age, 70.5 ± 9.8 years) and 56 control patients (43 men and 13 women; age, 62 ± 18.3 years) were enrolled in this study. The serum PCT levels exhibited statistically significant differences between the three groups ($p < 0.0001$). Post hoc testing demonstrated that the PCT levels in the sepsis group (29.3 ± 85.3 ng/mL) were significantly higher ($p < 0.001$) than those observed in the PN group (0.34 ± 8.6 ng/mL) and the control group (0.74 ± 2.1 ng/mL) (Fig. 1A). There were no differences in the WBC counts or CRP levels between the three groups (WBC, $13,613 \pm 9,681/\mu\text{L}$ in the sepsis group, $11,146 \pm 5,088/\mu\text{L}$ in the PN group and $11,352 \pm 6,375/\mu\text{L}$ in the control group, $p = 0.49$; CRP, 12.3 ± 9.0 mg/dL in the sepsis group, 12.5 ± 7.6 mg/dL in the PN group and 8.54 ± 7.3 mg/dL in the control group, $p = 0.052$) (Fig. 1B, C). A ROC analysis was used to evaluate the utility of the markers for diagnosing sepsis (sepsis group vs. PN group plus control group). The ROC analysis showed an area under the curve (AUC) of 0.80 for the PCT level, 0.56 for the WBC count and 0.60 for the CRP level (Fig. 1D). The sensitivity and specificity of the PCT level for the diagnosis of sepsis were 57.6% and 87.5%, respectively, when the cut-off value was

set at 0.5 ng/mL. In contrast, the sensitivity and specificity of the WBC count for the diagnosis of sepsis were 97.8% and 8.9%, respectively, when the cut-off value was set at 3,500/ μ L. The sensitivity and specificity of the CRP level for the diagnosis of sepsis were 95.6% and 5.1%, respectively, when the cut-off value was set at 0.3 mg/dL.

Association between the PCT level and microbiological blood culture results

Fourteen of the 45 (31.1%) patients in the sepsis group had positive microbiological blood culture results, while 27 of the 45 (60.0%) patients had positive PCT results when the cut-off value was set at 0.5 ng/mL (Table 3). The rate of positive concordance between the results of the microbiological blood cultures and the PCT tests in the culture-positive patients was 85.7%, while that of negative concordance in the culture-negative patients was 51.6%.

The details of each patient with positive microbiological blood culture results are presented in Table 4. Gram-positive cocci (GPC) were identified in the blood samples of seven patients, Gram-negative rods (GNR) were identified in the blood samples of six patients, and Gram-positive rods were identified in the blood samples of one patient. The 13 patients with either GPC or GNR infection were divided into a GNR group and a GPC group according to the bacteria identified in the blood samples. The serum PCT levels in the GNR group (149.8 \pm 199.7 ng/mL) were significantly higher

($p=0.035$) than those observed in the GPC group (19.1 \pm 41.8 ng/mL) (Fig. 2A); however, there were no differences in the WBC counts or CRP levels between the two groups (WBC, 20,033 \pm 20,877/ μ L in the GNR group and 12,086 \pm 4,317/ μ L in the GPC group, $p=0.83$; CRP, 14.3 \pm 7.6 mg/dL in the GNR group and 9.1 \pm 7.9 mg/dL in the GPC group, $p=0.18$) (Fig. 2B, C). A ROC analysis showed an AUC value of 0.85 for the PCT level, 0.54 for the WBC count and 0.73 for the CRP level (Fig. 2D). When the cut-off value for the PCT level was set at 16.9 ng/mL, the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value for GNR were 85.7%, 83.3%, 85% and 83%, respectively. Regarding the association between the endotoxin and PCT levels, the endotoxin-positive (0.8 pg/mL or higher) group had significantly higher PCT levels than the endotoxin-negative (less than 0.8 pg/mL) group (Fig. 2E).

Discussion

This study showed the PCT level, but not WBC count or CRP level, to be significantly higher in the sepsis group than in the control and PN groups. Furthermore, the ROC analysis showed an AUC for the PCT level of 0.80, suggesting that the PCT test had moderate accuracy (according to the classification of Akobeng (13)) for diagnosing sepsis. This finding is consistent with the observations of previous reports suggesting that the PCT level is superior to the endotoxin, interleukin (IL)-6 and CRP levels as a biomarker for the diagnosis of sepsis (5, 8, 14-19). In addition to the confirmation study, the present study provides novel evidence that: 1) the serum PTC level is a superior marker of sepsis, but not local infections, such as pneumonia, and 2) serum PCT elevation is more closely associated with GNR infection than GPC infection in patients with sepsis.

In this study, there were no significant differences in the PCT levels between the PN group and the control group.

Table 3. Association between the Results of Microbiological Blood Culture and the PCT Test

Culture results		PCT		Total
		Positive	Negative	
Culture results	Positive	12	2	14
	Negative	15	16	31
Total		27	18	45

PCT: procalcitonin

Table 4. Details of Each Patient with Sepsis with Positive Microbiological Blood Culture Results

Pt	Age (years)	Sex	Main Diseases	APACHE	PCT (ng/mL)	WBC (/ μ L)	CRP (mg/dL)	Endotoxin (pg/mL)	Bacteria	Outcome
1	61	M	Mud water aspiration, ARDS	20	285.0	1,800	4.8	513	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i>	Dead
2	62	M	Septic shock	23	496.1	26,500	18.9	185	<i>Klebsiella sp</i>	Dead
3	77	M	Pneumonia	26	0.7	8,800	8.3	< 0.8	<i>E. cloacae</i>	Dead
4	74	M	Pyelonephritis	23	17.3	9,300	25.5	< 0.8	<i>E. aerogenes</i>	Survived
5	59	M	Hematemesis	16	23.7	14,600	17.2	< 0.8	<i>E. coli</i>	Survived
6	79	M	Cholangitis	42	75.9	59,200	11.6	7.4	<i>E. coli</i>	Dead
7	58	F	Bacterial meningitis	18	16.5	8,100	16.3	< 0.8	<i>S. pneumoniae</i>	Dead
8	42	M	Ventricular fibrillation	31	0.5	11,400	4.7	< 0.8	<i>S. epidermidis</i>	Survived
9	61	M	Traffic injury	31	3.0	19,900	16.1	< 0.8	<i>S. epidermidis</i>	Survived
10	57	F	Diabetic acidosis	35	0.5	11,000	3.8	< 0.8	<i>Streptococcus sp.</i>	Survived
11	51	F	Aspiration pneumonia	12	113.0	15,900	19.7	< 0.8	<i>Peptostrep. micros</i>	Survived
12	50	M	Hyperammonemia, liver damage	13	0.1	10,000	0.5	< 0.8	<i>S. epidermidis</i>	Survived
13	73	M	Traffic injury, Cerebral hematoma	21	0.1	8,300	2.7	< 0.8	<i>S. epidermidis</i>	Survived
14	70	M	Cerebrovascular disease	32	0.7	16,400	13.8	< 0.8	<i>B. cereus</i>	Dead

APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, PCT: procalcitonin, WBC: white blood cell, CRP: C-reactive protein, *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*: *Escherichia coli*, *E. cloacae*: *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*: *Enterobacter aerogenes*, *S. pneumoniae*: *Streptococcus pneumoniae*, *S. epidermidis*: *Staphylococcus epidermidis*, *Peptostrep. micros*: *Peptostreptococcus micros*, *B. cereus*: *Bacillus cereus*

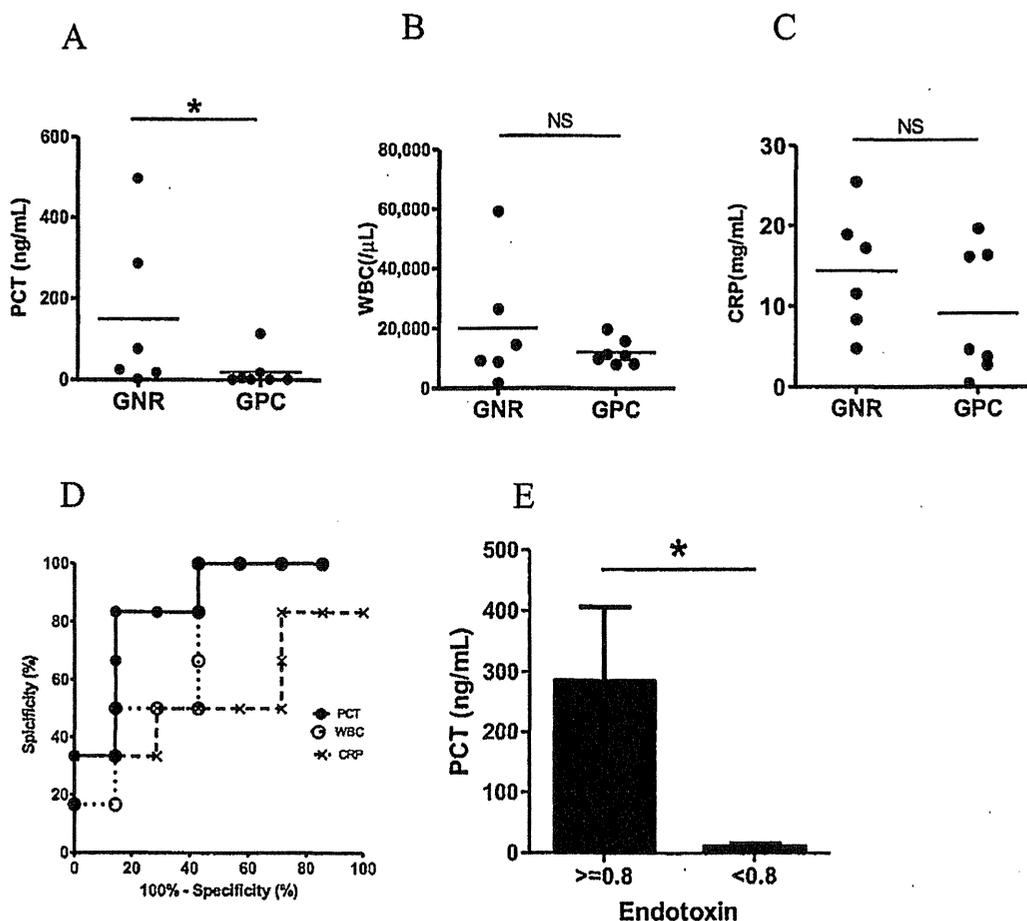


Figure 2. Thirteen patients were categorized into one of two groups according to the pathogens identified in blood cultures (GNR or GPC), and their serum markers were compared. The PCT levels (A), WBC counts (B) and CRP levels (C). A receiver operating analysis of the serum PCT levels, WBC counts and CRP levels in the two groups of patients (D). The 13 patients were also categorized into two groups according to the endotoxin level (cut-off value: 0.8 pg/mL), and the PCT levels were compared between the two groups (E). *: $p < 0.05$; NS: not significant, GNR: Gram-negative rods, GPC: Gram-positive cocci, PCT: procalcitonin, WBC: white blood cell, CRP: C-reactive protein

This finding suggests that the PCT level may not be a good diagnostic marker of local infection, such as pneumonia. In fact, only 34.1% of the patients with pneumonia exhibited positive PCT levels (more than 0.5 ng/mL) (20), although it was not clear whether these patients had sepsis in addition to pneumonia. Furthermore, 93.3% of the patients with mild community-acquired pneumonia had a negative PCT level (20), suggesting that the sensitivity of this parameter is insufficient for diagnosing pneumonia. Therefore, the PCT level may be a marker of systemic inflammation, but not a diagnostic marker for local infection in patients without SIRS.

The rate of positive concordance between the results of the microbiological blood cultures and PCT tests was 85.7%, while that of negative concordance was 51.6%. This finding is likely related to the low sensitivity of blood cultures for the diagnosis of sepsis (31.1%) and is consistent

with the results of previous reports showing that the sensitivity of microbiological blood cultures is low, even in patients with severe sepsis (3). However, the rate of positive concordance between the results of the microbiological blood cultures and PCT tests in the culture-positive patients was fairly high; therefore, we compared the PCT levels between the patients with GNR infection and those with GPC infection. Interestingly, the PCT levels were significantly higher in the GNR group than in the GPC group, and the ROC analysis suggested that the PCT test had moderate accuracy (according to the classification of Akobeng (13)) for predicting the type of causative bacteria of sepsis (i.e., GPC vs. GNR). When the cut-off value for the PCT level was set at 16.9 ng/mL, good sensitivity and specificity for predicting the type of causative pathogen were observed. These findings suggest that the PCT level may be of use in predicting the type of causative bacteria in patients with sepsis, even

before definitive blood culture results become available.

In regards to the difference in the PCT levels observed between the GPC and GNR groups, the potential for contamination from the skin surface should be considered in the GPC group, as GPC is a major component of the normal skin flora. However, two sets of samples for microbiological blood culture were obtained from each patient, and identical bacteria detected in both sets were defined as causative pathogens in this study. Therefore, the possibility of contamination as a confounding factor is negligible. The mechanisms underlying the higher PCT levels noted in the GNR group relative to the GPC group remain unknown; however, the higher PCT levels observed in the GNR group may be associated with the elevated serum endotoxin levels measured in this group, as the endotoxin levels were not detectable in the GPC group, although a level of >0.8 pg/mL was observed in three of six patients with a high PCT level in the GNR group. A previous *in vitro* study also demonstrated that lipopolysaccharide, a major component of endotoxin, stimulates the PCT expression in isolated peripheral blood mononuclear cells (10). Therefore, the PCT level may also be a useful surrogate marker of the serum endotoxin concentration, which otherwise requires a very specialized assay to measure.

Another important clinical characteristic of PCT is the more dynamic change observed in the PCT level in response to changes in the patient's clinical state compared with the CRP level. In a previous study, there was a marked difference in kinetics between PCT and CRP under iatrogenic sepsis: the PCT level was detectable 2.5 hours after the injection of contaminated medicine, reaching a peak at 13.5 hours after injection, while the CRP level reached a peak 30 hours after injection (21). In addition, the half-life of serum PCT is shorter than that of serum CRP (22). This quality may enable the PCT level to be used to make an earlier diagnosis of sepsis and may also aid in decision-making regarding the timing of the initiation of empiric antibiotics and the discontinuation of antibiotic therapy (22-24). Furthermore, the present study showed that measuring the PCT level may help to raise the index of suspicion for Gram-positive vs. Gram-negative organisms as the causative pathogen, which further increases its utility in the selection of specific antibiotic regimens.

One limitation of this study is the small number of patients recruited, especially with respect to the analysis of the association between the results of the microbiological blood cultures (GPC vs. GNR) and the PCT tests. Further investigation using a larger scale study is needed to confirm our results and the diagnostic potential of the PCT level.

In conclusion, the present data demonstrate that the PCT level is a useful marker of the type of causative pathogen in patients with sepsis whose measurement may facilitate the selection of appropriate empiric antibiotic therapy.

The authors state that they have no Conflict of Interest (COI).

Acknowledgement

The authors thank Dr. Keiichi Ikegami for his supervision of the recruitment of patients with sepsis for this study.

References

- Parrillo JE, Parker MM, Natanson C, et al. Septic shock in humans. Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. *Ann Intern Med* 113: 227-242, 1990.
- Garnacho-Montero J, Garcia-Garmendia JL, Barrero-Almodovar A, Jimenez-Jimenez FJ, Perez-Paredes C, Ortiz-Leyba C. Impact of adequate empirical antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. *Crit Care Med* 31: 2742-2751, 2003.
- Tang BM, Eslick GD, Craig JC, McLean AS. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 7: 210-217, 2007.
- Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 341: 515-518, 1993.
- Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 13: 426-435, 2013.
- Endo S, Kasai T, Inada K. Evaluation of procalcitonin levels in patients with systemic inflammatory response syndrome as the diagnosis of infection and the severity of illness. *Kansenshogaku Zasshi (The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases)* 73: 197-204, 1999 (in Japanese, Abstract in English).
- Jensen JU, Heslet L, Jensen TH, Espersen K, Steffensen P, Tvede M. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality. *Crit Care Med* 34: 2596-2602, 2006.
- Theodorou VP, Papaioannou VE, Tripsianis GA, et al. Procalcitonin and procalcitonin kinetics for diagnosis and prognosis of intravascular catheter-related bloodstream infections in selected critically ill patients: a prospective observational study. *BMC Infect Dis* 12: 247, 2012.
- Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations. *Crit Care Med* 36: 941-952, 2008.
- Oberhoffer M, Stonans I, Russwurm S, et al. Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines *in vitro*. *J Lab Clin Med* 134: 49-55, 1999.
- Kapoor S. Procalcitonin and its utility as a diagnostic and prognostic assay in patients with renal dysfunction and immunosuppressive conditions. *J Infect Chemother* 15: 58, 2009.
- No authors listed. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 20: 864-874, 1992.
- Akobeng AK. Understanding diagnostic tests 3: receiver operating characteristic curves. *Acta Paediatr* 96: 644-647, 2007.
- Aikawa N, Fujishima S, Endo S, et al. Multicenter prospective study of procalcitonin as an indicator of sepsis. *J Infect Chemother* 11: 152-159, 2005.
- Buhaescu I, Yood RA, Izzedine H. Serum procalcitonin in systemic autoimmune diseases: where are we now? *Semin Arthritis Rheum* 40: 176-183, 2010.
- Castelli GP, Pognani C, Meisner M, Stuardi A, Bellomi D, Sgarbi L. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care* 8: R234-R242, 2004.
- Gibot S, Bene MC, Noel R, et al. Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient. *Am J Respir Crit Care*

- Med 186: 65-71, 2012.
18. Jekarl DW, Lee SY, Lee J, et al. Procalcitonin as a diagnostic marker and IL-6 as a prognostic marker for sepsis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 75: 342-347, 2013.
 19. Tamaki K, Kogata Y, Sugiyama D, et al. Diagnostic accuracy of serum procalcitonin concentrations for detecting systemic bacterial infection in patients with systemic autoimmune diseases. *J Rheumatol* 35: 114-119, 2008.
 20. Hirakata Y, Yanagihara K, Kurihara S, et al. 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: 170-174, 2008.
 21. Brunkhorst FM, Heinz U, Forycki ZF. Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intensive Care Med* 24: 888-889, 1998.
 22. Kaur K, Mahajan R, Tanwar A. A novel marker procalcitonin may help stem the antibiotic overuse in emergency setting. *Int J Appl Basic Med Res* 3: 77-83, 2013.
 23. Hohn A, Schroeder S, Gehrt A, et al. Procalcitonin-guided algorithm to reduce length of antibiotic therapy in patients with severe sepsis and septic shock. *BMC Infect Dis* 13: 158, 2013.
 24. Schuetz P, Raad I, Amin DN. Using procalcitonin-guided algorithms to improve antimicrobial therapy in ICU patients with respiratory infections and sepsis. *Curr Opin Crit Care* 19: 453-460, 2013.

© 2014 The Japanese Society of Internal Medicine
<http://www.naika.or.jp/imonline/index.html>

グラム陽性菌とグラム陰性菌にみられる塩化メチルロザニリンに対する感受性について

叶一乃¹⁾ 柴田明佳¹⁾ 近藤陽一¹⁾ 中原英臣¹⁾

近藤陽平²⁾ 島村明花³⁾ 党雅子³⁾ 日谷明裕³⁾

春木宏介³⁾ 松本哲哉⁴⁾

1) 新渡戸文化短期大学 臨床検査学科

2) 山野医療専門学校

3) 獨協医科大学 越谷病院 臨床検査部

4) 東京医科大学 微生物学講座

グラム陽性菌である黄色ブドウ球菌とMRSAが塩化メチルロザニリンに対して非常に強い感受性を示すことから、その他のグラム陽性菌について塩化メチルロザニリンの感受性を調べた。塩化メチルロザニリンに対するコリネバクテリウムのMICは0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で、黄色ブドウ球菌の0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ というMICより低い数字を示した。腸球菌、化膿レンサ球菌、肺炎レンサ球菌もグラム陰性菌の大腸菌や緑膿菌より強い感受性を示した。塩化メチルロザニリンをアルコール消毒薬に加えても殺菌効果が変わらなかったことから、塩化メチルロザニリンはMRSAやVREによる院内感染の予防に利用できるものと思われる。

キーワード： 塩化メチルロザニリン グラム陽性菌 グラム陰性菌 アルコール消毒薬
MRSA

[目的]

クリスタルバイオレット(Crystal violet)ともゲンチアナバイオレット(gentian violet)とも呼ばれる塩化メチルロザニリン(ピオクタニン)は、病原菌をグラム陽性菌とグラム陰性菌に分類するグラム染色に使用されている。我々は塩化メチルロザニリンがグラム陽性菌である黄色ブドウ球菌と院内感染を起こす病原菌として医療の分野で大きな問題となっているメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)に対する感受性が非常に高いことから強い殺菌作用を示

すことを明らかにした(1)。

細菌にとって染色されるということは、染料と化学反応を起こして細胞が死滅することを意味する。このことを考えると、グラム陽性菌に対して非常に強い感受性を示す塩化メチルロザニリンが、グラム陽性菌に対して非常に強い殺菌作用を持っているのは当然のことと思われる。今回、我々はアルコール消毒液に塩化メチルロザニリンを加えることでMRSAに対する殺菌効果が高まることを突き止めたので報告す