

[症 例]

気管支拡張症患者に発症した *Exophiala dermatitidis* による難治性の肺黒色真菌症の 1 例棚町千代子・橋本好司・中田一徳・佐川公嬌
久留米大学病院臨床検査部

(平成 19 年 3 月 29 日受付, 平成 20 年 1 月 9 日受理)

症例は 53 歳, 女性, 気管支拡張症の既往があり, 黄色痰と前胸部痛を主訴として入院。胸部 X 線写真, 胸部 CT において右下肺野の陰影を認め, 肺真菌症が疑われた。患者の気管支肺胞洗浄液のグロコット染色標本に多数の酵母様真菌を認めた。細菌培養検査においては, 喀痰・気管支肺胞洗浄液培養の結果, 発育初期に 35°C 培養では黒色酵母様コロニーを形成したため, 黒色酵母 black yeast と考えられた。しかし, 27°C 培養では糸状のコロニーを形成したため, 二形性黒色真菌である *Exophiala dermatitidis* と確定した。miconazole (MCZ) に flucytosine (5-FC), itraconazole (ITCZ) を加え加療し, 現在, 菌の検出は認められない。*E. dermatitidis* は肺真菌症の原因菌としてはまれであり, 菌種が同定されたことにより適切な治療が行われたものと思われる。医療進歩の反面, immunocomprised patient は増加し, 新興, 再興を含めた真菌症の増加も予想されるため, 今後, 真菌検査に精通する必要があると思われる。

Key words: *Exophiala dermatitidis*, dematiaceous fungi, pulmonary chromomycosis

序 文

Exophiala dermatitidis は腐朽樹皮, 土壌, 汚れた水, 鳥の巣など自然界から分離されており, 加湿器, 浴槽の水および配水管の泥からも分離される^{1), 2)}。さらに, 皮膚クロモミコーシス, 皮下膿瘍, 脳その他の内臓病変を惹起する弱毒菌・非病原性と考えられ, 近年問題となっている³⁾。

今回我々は, 気管支拡張症と診断された患者より, 反復して本菌を分離した症例を経験したので報告する。

I. 症 例

症 例: 53 歳, 女性。

主 訴: 黄色痰, 胸部痛。

既往歴: 気管支拡張症 (1999 年 10 月)。

家族歴: 特記すべきものなし。

生活歴: 喫煙歴なし, 無職。

現病歴: 1999 年 10 月中旬に黄色痰, 前胸部痛のため近医を受診し, 気管支拡張症と診断された。その後, tosufloxacin (TFLX) 300 mg/day, clarithromycin (CAM) 400 mg/day による治療の結果, 一時, 前胸部痛の改善は認められたが, 1999 年 11 月中旬, 胸痛を認め, 時折 37°C の微熱が出現したため, 久留米大学病院に紹介となった。外来にて去痰剤(ムコソルバン: 塩酸アンブロキシソール; 帝人ファーマ)と erythromycin (EM) 600 mg/day の内服加療したところ, 2 週間後, 前胸部痛は改善し, moist rales (湿性ラ音) は著明に減少, 痰の切れも良くなり改善傾向を示した。その後は, 加療することなく経過観察とした。2000 年 7 月, 喀出痰の増量, 微熱および右中肺野に陰影を認め, 外来にて EM と cefpodoxim (CPDX) の抗菌剤の治療が行われたが, 痰と発熱は寛解憎悪を繰り返した。2002 年 12 月, 血中 (1→3)-β-D-グルカン値 (比濁時間分析法; 和光純薬工業)⁴⁾ 40.0 pg/ml (正常値: 11 pg/ml 以下) と上昇が認められた。2003 年 1 月採取された喀痰の病理細胞診のグロコット染色においてわずかに酵母様真菌を認めたため, 肺真菌症が疑われた。外来で itraconazole (ITCZ) 300 mg/day と EM 400 mg/day 内服にて経過観察されていたが, 改善せず, 胸部 X 線写真に見られていた右下肺野の陰

著者連絡先: (〒830-0011) 久留米市旭町 67

久留米大学病院臨床検査部

棚町千代子

TEL & FAX: 0942-31-7760

E-mail: tanamachi_chiyo@kurume-

u.ac.jp

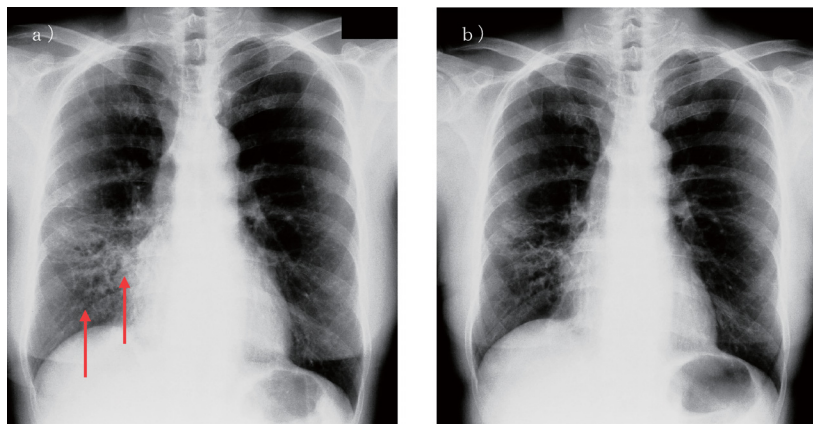


Fig. 1. Chest X-ray photo of the patient
 a) Shadow in the lower right field on admission (red arrow).
 b) Improved shadow after treatment.

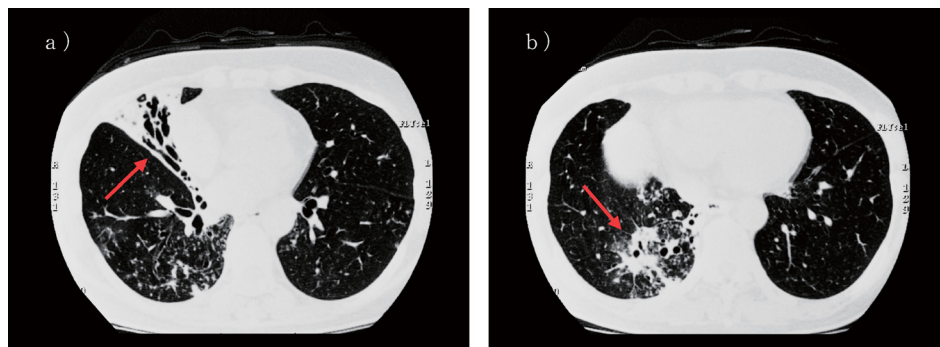


Fig. 2. Chest CT scan
 a) Reticular-granular shadow and extended bronchi wall are recognized in the right middle lobe.
 b) Same findings are recognized in the right lower lobe.

影もわずかに増悪傾向を示し、また胸部CTでも同部位の病変増悪が認められたため、2003年7月14日精査目的で当院に入院となった。

入院時所見：身長 156 cm，体重 50 kg，体温 36.8℃，呼吸数 14/分，脈拍 72/分・整，血圧 116/70 mmHg，前胸部痛があり，膿性の喀痰の咯出があった。胸部X線写真で右肺中葉と舌区を主体に粒状網状影が出現していた (Fig. 1-a)。胸部CTでもX線写真と同様の部位に，気管支壁の肥厚と気管支の拡張像を伴っていた (Fig. 2)。末梢血の検査所見をTable 1に示した。CRPの軽度上昇，白血球の増加および(1→3)-β-D-グルカン値の軽度上昇を認めた。

病理細胞診所見：臨床診断は肺癌，肺結核，肺アスペルギルス症，および細菌性肺炎を疑い，気管支鏡検査にて気管支肺胞洗浄液と喀痰が採取された。喀痰の

グラム染色では多数の好中球とリンパ球が見られ，酵母様真菌および糸状菌は認められなかった。気管支肺胞洗浄液では異型細胞の出現はなく，グロコット染色標本にて糸状菌は認められなかったが，多数の酵母様真菌が認められた (Fig. 3)。

II. 細菌学的所見

入院後採取された喀痰の培養においては口腔常在菌の発育が認められ，真菌は陰性であった。気管支肺胞洗浄液の培養では，常在菌とともに酵母様真菌(1+)の発育が認められ，その20日後採取された喀痰からも同様の酵母様真菌の発育が認められた。酵母様真菌について，酵母様真菌同定カードYBC(日本ビオメリュー)を用いて同定を行ったが，30℃ 24時間および48時間培養後の判定結果，いずれも同定不能で

Table 1. Laboratory data on admission

Complete blood count				
WBC		$11.7 \times 10^3/\mu\text{l}$	Acid-fast stain	Negative
	Bas	0.2%	PCR	
	Eo	0.9%	<i>M. tuberculosis</i>	Negative
	Neu	79.3%	<i>M. avium</i> complex	Negative
	Ly	13.7%	Culture on Ogawa	Negative
	Mo	5.9%	<i>Aspergillus</i> antigen	Negative
RBC		$4.51 \times 10^6/\mu\text{l}$	Anti- <i>Aspergillus</i> Ab (ELISA)	Negative
	Hb	13.4 g/dl	<i>Cryptococcus</i> antigen	Negative
	Ht	42%	β -D-Glucan	27.3 pg/ml
Plt		$20.1 \times 10^4/\mu\text{l}$		
Laboratory data				
TP		7.25 g/dL		
GOT		13 IU/L		
GPT		7 IU/L		
LDH		166 IU/L		
ALP		276 IU/L		
BUN		9.4 mg/dL		
Cr		0.64 mg/dL		
CRP		2.37 mg/dL		

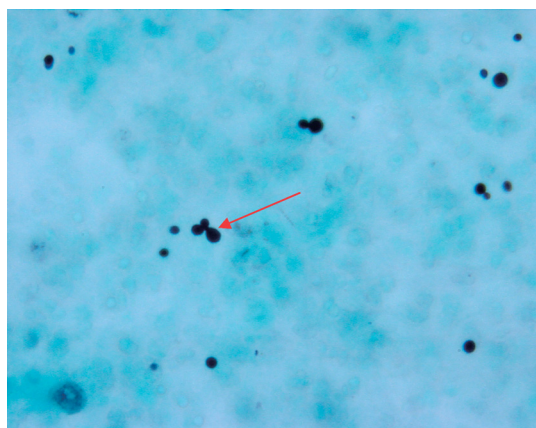


Fig. 3. Many yeasts in bronchial washings of the patient (Grocott stain $\times 400$)

あった。また、API 20C AUX (日本ビオメリュー) を用いて同定を行ったが、30℃ 24 時間、48 時間、72 時間培養後の判定結果、いずれも同定不能であった。

発育初期段階ではサブロー寒天培地には小さな淡褐色のコロニーを形成していたが、日ごとに黒く色づいたため黒色糸状菌を疑い、基礎培地としてサブロー寒天培地 (日水製薬) を使用し、27℃ で好気培養による巨大集落とスライド培養法 (Slide Culture)⁵⁾ による観察を行った。巨大集落の形成では、27℃、約 2 週間の培養で辺縁が湿潤し、平坦で黒色の気中菌糸を有する巨大集落が認められた。3 週間後より菌糸発育が徐々



Fig. 4. Giant colony cultured on 30th day

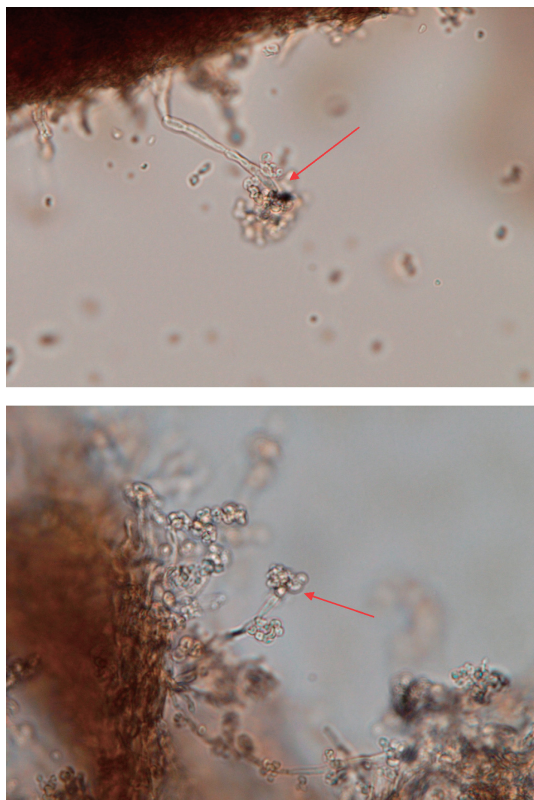


Fig. 5. Slide culture on 30th day (Lactophenol stain $\times 400$)

に増しピロード状から羊毛状を呈するようになった。また色調も黒色からしだいにオリーブ色がかった灰色に変化した (Fig. 4)。

Slide Culture 30 日培養における鏡検では、褐色の有隔菌糸と菌糸先端に分生子の形成器官であるアネライド annellide が認められた。アネライドは、フラスコ型を呈し、アネロ型 (環紋型) 分生子 anelloconidium を形成しており、その先端部には環紋と見られる黒色の影を認めた。分生子は、淡褐色で 1 細胞性胞子、卵円形を呈して、アネライド先端部に集まって球状集塊をなしているのが確認できた (Fig. 5)。また、 37°C および 42°C でも生育可能であった。しかし、ツァベック・ドックス培地 (Czapek Dox agar, 日本製薬) における生育は不良であり硝酸カリウム利用能陰性である。以上より本菌は、酵母様真菌 (*Candida* spp.) ではなく、*E. dermatitidis* と最終報告した⁶⁾。

また、amphotericin B (AMPH), 5-fluorocytosine (5-FC), fluconazole (FLCZ), miconazole (MCZ), micafungin (MCFG), itraconazole (ITCZ) の抗真菌薬に

Table 2. Susceptibility of antifungal drugs (27°C , 72 hours cultured)

AMPH-B	0.25 $\mu\text{g/ml}$
5-FC	4 $\mu\text{g/ml}$
FLCZ	8 $\mu\text{g/ml}$
ITCZ	0.25 $\mu\text{g/ml}$
MCZ	0.125 $\mu\text{g/ml}$
MCFG	$\geq 16 \mu\text{g/ml}$

対する最小発育阻止濃度 (MIC) 測定を行った。MIC の測定には Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の標準法 M27-A に準拠した微量液体希釈法を用いた^{7)~9)}。抗真菌薬に対する MIC 値を Table 2 に示した。その結果、MCFG においては高い MIC 値を示したが、それ以外の薬剤においては良好な結果を示した。

III. 治療経過

慢性的な臨床症状の経過、治療に苦慮してきた経緯とも考え合わせ、気管支拡張症に伴うアスペルギルスによる肺真菌症¹⁰⁾が発症したと考えられ、入院後は MCFG150 mg/day の点滴静注にて加療を開始。加療開始 2 週間後に施行した胸部 CT では、入院前と比較し全体的に陰影は増悪傾向であった。MCFG を 300 mg/day に増量し、およそ 10 日経過をみたが症状に変化は認められず、投与を中止した。菌種の同定、感受性結果が得られるまで、外来において経過観察 (未治療) されていたが、2004 年 3 月 4 日、右中下葉の浸潤影の増悪を認め、再入院となった。分離菌 *E. dermatitidis* の感受性結果より、同年 3 月 13 日より、副作用として悪心、嘔吐などの消化器症状のみで、肺組織への移行性がよく、かつ原因不明で真菌感染症が疑われるときに使用される MCZ 400 mg/day が選択投与された。2 週間後の胸部 X 線写真、胸部 CT では改善傾向にあり、また前胸部痛、咳嗽、喀痰などの症状の改善も認められたため、MCZ を 4 週間投与し、2004 年 4 月 14 日に退院となった。

2003 年 1 月より、深在性真菌症の第一選択薬として広く使用される ICTZ の内服加療が外来にて投与されたが、本剤は肺への臓器移行が悪いことから病変増悪が認められた。その結果、2004 年 4 月 14 日退院後の外来治療は、作用機序の異なる 5-FC 100 mg/kg/day, ITCZ 200 mg/day による 2 剤併用にて加療を継続している。退院後、真菌培養で *E. dermatitidis* の検出は認められず、臨床所見、画像所見は改善し、現在も再燃はなく経過良好である。

考 察

呼吸器感染症の具体的な治療方法とし、原因微生物を確定し、これに有効な抗菌薬を使用することが感染症治療の原則であるが、原因微生物の確定は、過半の症例で困難であり、臨床においては起炎菌不明のまま治療にあたらなければならない場合が多い。その治療は経験的な方法、すなわち empiric therapy として開始される症例が多いのが現状であり、特に肺真菌症は診断も治療もいまだ困難である。本症例では *E. dermatitidis* を気管支肺胞洗浄液と喀痰で繰り返し分離されている。気管支肺胞洗浄液の細菌培養検査においては、口腔内の常在菌の影響はほとんどなく、定量培養すると 10^3 cfu/ml 程度が検出されれば起炎菌として意義が高いとされている。本症例における気管支肺胞洗浄液の細菌培養検査では、わずかな口腔常在菌と酵母様真菌が 10^3 cfu/ml 程度発育が認められ、M&J の分類で P2 と評価された喀痰からも、本菌が繰り返し分離されている。また、抗真菌薬の投与により臨床症状の改善、右下肺野の陰影も消失している (Fig. 1-b) ことから、起炎菌と考えて良いと思われた。

E. dermatitidis は、病原性黒色真菌に属する 1 菌種である。皮膚クロモミコシス、皮膚膿瘍、肉芽腫性病変の原因菌として知られ、感染症例はあまり多くはないが、ほとんどが日本において発生している。*E. dermatitidis* による肺真菌症は、非常にまれで、医学中央雑誌で検索したところ本邦での報告はない。海外では MEDLINE で検索を行ったが、*E. dermatitidis* による感染で喀痰より検出されているのは 3 例^{11)~13)}で、基礎疾患として嚢胞性繊維症患者に発症していた。

本症例では、気管支拡張症の既往歴があり、既存の気管支拡張部に真菌が付着したのか、あるいは真菌感染の結果、気管支拡張部に至ったかという点についての詳細は不明であるが、繊毛運動の機能低下により、外因性真菌の分生子を吸入し排出が障害され、その結果、真菌が定着し、病変部を惹起し感染巣が形成されたのではないかと推測された。誤嚥を起こすような脳梗塞や口腔内手術などはなく、治療当初は肺アスペルギルス症が疑われていた。しかし、病理細胞診検査では、酵母様真菌の胞子を多数認めると報告された。細菌培養検査では、サブロー寒天培地上で発育当初、淡い褐色の色調で酵母様発育を呈したため、酵母様真菌の各種同定キットによる同定を行ったが同定不能であったので、酵母様真菌と臨床医に報告した。27°C において培養時間を延長した結果、酵母様真菌から菌糸

に変化したため、精査を行ったところ、黒色二形性真菌である *E. dermatitidis* と最終報告した。今回の分離菌のように宿主に感染し発育形態を変える菌種の場合、生体内あるいは培養条件によっては酵母様になるため、真菌症の診断をするうえで真菌培養は必要不可欠であった。

E. dermatitidis は、長期の培養時間を要し、培養温度を 35°C と 27°C に変えることにより、形態が酵母様と菌糸に変化する二形性真菌である。現在のところ黒色真菌を同定するための同定キットはなく、市販のキットによる検出はできない¹⁴⁾。糸状菌の属や菌種の決定には、形態以外の性状 (温度耐性、硝酸カリウム利用能など) を参考にするのはもちろんだが、一般的には形態的特徴に基づいて行われている。糸状菌の同定は、ときには温度、培養日数などの工夫をする必要があり、糸状菌の形態をよく理解しておくことが重要である。

本菌の同定が適切に行われたことにより、臨床的に有効な治療の選択が可能となった。治療については、MCZ 投与が有効であった。今後、再燃は十分に考えられるため、ITCZ と 5-FC による 2 剤併用にて加療を継続し、臨床症状を注意深く観察し、経過を見ていく必要がある。

近年、生体の免疫力の低下を伴う疾患の増加に伴い、本症例に見られるように、従来は弱毒菌・非病原性と考えられてきた真菌による感染症例も報告されている。真菌検査は起因菌としての分離率が低いこと、培養に日数を要すること、また糸状菌は形態学的検査が主体であることから検査技師にとっては敬遠されがちな検査の一つであるが、検査に際しては、長期にわたり注意深い観察と経験が必要である。また、環境中からも低頻度ながら分離されることがあるため、汚染菌か起炎菌であるかの判定は臨床医との密接なコミュニケーションによって初めて可能になる。本症例は原因菌としてまれであり、貴重であったため、報告した。

謝 辞 今回、菌の同定および MIC 測定に際しご協力いただきました北里大学病院臨床検査部の小幡進先生、北里大学大学医療衛生学部講師の阿部美知子先生、北里大学医学部病理学講師の久米 光先生に感謝いたします。

文 献

- 1) Wang, Li, K. Yokoyama, M. Miyaji, et al. 2001. Identification, Classification, and Phylogeny of the Pathogenic Species *Exophiala jeanselmei*

- and Related Species by Mitochondrial Cytochrome *b* Gene Analysis. *J. Clin. Microbiol.* 39: 4462-4467.
- 2) Nisimura, K., M. Miyaji. 1982. Studies on a saprophyte of *Exophiala dermatitidis* isolated from fumidifler. *Mycopathologia* 3(77): 173-181.
 - 3) Revankar, S. G. 2007. Dematiaceous fungi. *Mycoses* 50(2): 91-101.
 - 4) 大林民典. 2002. 血中(1,3)- β -D-グルカン測定の診断的意義. *日胸* 61: 28-37.
 - 5) 高鳥浩介. 2002. かび検査マニュアルカラー図譜. p. 110-115, 株式会社テクノシステム.
 - 6) 山口英世, 内田勝久. 1994. 真菌症診断のための検査ガイド, 栄研化学株式会社, p. 189-190.
 - 7) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1997. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved Standard. NCCLS document M27-A. NCCLS, Wayne, Pa.
 - 8) 池田文昭, 大友寿美, 中井 徹, 他. 2002. キャンディン系抗真菌薬 micafungin の *in vitro* 抗真菌活性. *日本化学療法学会雑誌* DEC: 8-18.
 - 9) Espinel-Ingroff, A., A. Fothergill, M. Ghanoum, et al. 2005. Quality Control and Reference Guidelines for CLSI Broth Microdilution Susceptibility Method (M38-A Document) for Amphotericin B, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole. *J. Clin. Microbiol.* 43: 5243-5246.
 - 10) 亀井克彦. 2002. 最近の肺真菌症の動向. *日胸* 61: 1-7.
 - 11) Horre, R., K. P. Schaal, R. Sielmeier, et al. 2004. Isolation of fungi, especially *Exophiala dermatitidis*, in patients suffering from cystic fibrosis. A prospective study. *Respiration* 71(4): 360-366.
 - 12) Diemert, D., D. Kunimoto, C. Sand, et al. 2001. Sputum isolation of *Wangiella dermatitidis* in patients with cystic fibrosis. *Scand. Infect. Dis.* 33(10): 777-779.
 - 13) Blaschke-Hellmessen, R., I. Lauterbach, K. D. Paul, et al. 1994. Detection of *Exophiala dermatitidis* (Kano) De Hoog 1977 in septicemia of a child with acute lymphatic leukemia and in patients with cystic fibrosis. *Mycoses* 37: 89-96.
 - 14) 槇村浩一. 2002. 遺伝子診断の現状と可能性. *日胸* 61: 19-27.

A Case of Pulmonary Chromomycosis Caused by *Exophiala dermatitidis*

Chiyoko Tanamachi, Kouji Hashimoto, Kazunori Nakata,
Kimitaka Sagawa

Department of Laboratory Medicine, Kurume University Hospital

We report a rare case of pulmonary mycosis involving *E. dermatitidis*. The subject was a 53-year-old woman with a history of bronchiectasis whose primary complaints at the time of hospitalization were yellowish phlegm and anterior chest pain. Chest X-rays and chest CT images revealed a shadow in the lower right lung field, and pulmonary mycosis was suspected. Grocott staining of samples from the patient's bronchial lavage fluid showed many yeast-like fungi. When coughed up sputum and bronchial lavage fluid were cultured at 35°C, colonies formed which appeared to be black yeast. However, when cultured at 27°C filamentous colonies formed, so we confirmed a diagnosis of the dimorphic black yeast *Exophiala dermatitidis*. After initial treatment with miconazole, combined treatment with itraconazole and flucytosine proved effective.