

[原 著]

気道由来検体からアスペルギルス属が分離された症例の臨床的意義

渡辺典之¹⁾・高橋 俊¹⁾・橋北義一¹⁾・阿部良伸²⁾樽本憲人²⁾・山口敏之²⁾・前崎繁文²⁾¹⁾ 埼玉医科大学中央検査部²⁾ 埼玉医科大学感染症科・感染制御科

(平成 21 年 1 月 23 日受付, 平成 22 年 3 月 24 日受理)

今回、われわれは 2005 年 1 月から 2008 年 5 月まで、埼玉医科大学中央検査部で気道由来の臨床検体からアスペルギルス属が分離培養された 64 症例について、その臨床的意義を検討した。分離菌種は *Aspergillus fumigatus* が最も多く 47 症例であった。次いで *Aspergillus niger* が 6 例、*Aspergillus flavus* が 4 例、その他の *Aspergillus* 属が 7 例であった。分離されたコロニー数は同一症例で最も多く分離されたコロニー数で検討した結果、1 コロニー分離された症例が 25 例、2~10 コロニー分離された症例が 30 例、11 コロニー以上分離された症例が 9 例であった。分離されたアスペルギルス属のコロニー数と (1→3)-β-D-グルカンの関係では 11 コロニー以上分離された症例では 8 例中 7 例で (1→3)-β-D-グルカンが 11 pg/ml 以上と陽性を示していた。

Key words: *Aspergillus*, respiratory tract specimens, (1→3)-β-D-glucan, *Aspergillus fumigatus*, number of colony

序 文

アスペルギルス属は深在性真菌症の原因真菌として臨床的に重要な真菌である。アスペルギルス属は経気道的に吸入され、主に肺に感染し、肺アスペルギルス症を発症する。空気中にも常在する真菌であるため、常に吸入されているが、健常人では気道から速やかにクリアランスされ、感染が成立することはない。しかし、血液悪性腫瘍患者における好中球減少時や、移植患者における強力な免疫抑制治療時などは侵襲性肺アスペルギルス症を発症し、急速に悪化ししばしば予後不良となる。また、肺結核後遺症として肺内に遺残空洞を認める患者では肺アスペルギローマや、慢性壊死性肺アスペルギルス症などの呼吸器感染症を発症する¹⁾。肺アスペルギルス症の診断には喀痰や気管支洗浄液などの気道由来の臨床検体から、原因真菌である

アスペルギルス属を分離培養することが不可欠である²⁾。しかし、アスペルギルス属は空気中に常在するため、適切な検体の処理が行われないうちは臨床検体中に汚染菌として混入し、時に誤った検査結果となることが懸念されている。そのため、気道由来の臨床検体からアスペルギルス属が分離培養されたときには、菌種、コロニー数、培養回数などとともに臨床的な情報を鑑み、総合的に検査結果を判断することが大切と考えられる³⁾。また、アスペルギルス症の診断には真菌学的な検査結果とともに (1→3)-β-D-グルカン検出法やガラクトマンナン抗原検出法などの血清学的診断や胸部レントゲン検査などの画像所見などから総合的に診断することが必要となる⁴⁾。

今回、われわれは 2005 年 1 月から 2008 年 5 月まで、埼玉医科大学中央検査部で気道由来の臨床検体からアスペルギルス属が分離培養された 64 症例について、その臨床的意義を検討したので、若干の考察を加えて報告する。

対象および方法

対象は 2005 年 1 月から 2008 年 5 月までに埼玉医科大学中央検査部に提出された気道由来の臨床検体が

著者連絡先: (〒350-0495) 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38
埼玉医科大学感染症科・感染制御科
前崎繁文
TEL: 049-276-2032
FAX: 049-276-1188
E-mail: maesaki@saitama-med.ac.jp

らアスペルギルス属が分離培養された64症例とした。なお、複数回アスペルギルス属が分離培養された症例はすべて1症例として検討した。症例は男が45例、女性が19例で、平均年齢は67.9歳であった。アスペルギルス属が分離培養された気道由来の臨床検体の内訳はそれぞれ喀痰が47例、気管内採痰が13例、気管支洗浄液が3例、気管切開カニューレが1例であった。

培養はすべてサブロー寒天培地(日水製薬)を用い、室温で7日間培養し、同定はコロニーの肉眼的形態とスライドカルチャーによる形態学的な同定を行った。また、(1→3)-β-D-グルカンはβ-グルカンテストワコー(和光純薬工業(株)製)にて測定した⁵⁾。なお、(1→3)-β-D-グルカンは真菌培養検査が実施された日に最も近い日に測定された結果を用いた。

アスペルギルス属が分離培養された症例の臨床的な情報は患者の重複を避けて1患者1株で診療録からレトロスペクティブに抽出した。

結 果

1. 分離菌種, コロニー数 (Table 1)

気道由来の臨床検体からアスペルギルス属が分離培養された症例の分離菌種は *Aspergillus fumigatus* が最も多く47症例であった。次いで *Aspergillus niger* が6例, *Aspergillus flavus* が4例, その他の *Aspergillus* 属が7例であった。なお、今回の検討では複数の菌種が同時に分離培養された症例は認められなかった。分離されたコロニー数は同一症例で最も多く分離されたコロニー数で検討した結果、1コロニー分離された症例が25例、2~10コロニー分離された症例が30例、11コロニー以上分離された症例が9例であった。

Table 1. The 64 cultures of *Aspergillus* species isolated from clinical samples of respiratory tract

Species	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	47 strains (73%)
<i>Aspergillus niger</i>	6 strains (9%)
<i>Aspergillus flavus</i>	4 strains (6%)
<i>Aspergillus</i> spp.	7 strains (9%)
No. of colony	
1 colony	25 cultures (39%)
2-10 colonies	30 cultures (47%)
>11 colonies	9 cultures (14%)

2. (1→3)-β-D-グルカンと分離コロニー数の関係 (Table 2)

気道由来の臨床検体からアスペルギルス属が分離培養された64症例中42症例で経過中に(1→3)-β-D-グルカンが測定されていた。分離されたアスペルギルス属のコロニー数と(1→3)-β-D-グルカンの関係では11コロニー以上分離された症例では8例中7例で(1→3)-β-D-グルカンは11 pg/ml以上と陽性を示していた。また2~10コロニー分離された症例では19例中4例で(1→3)-β-D-グルカンが陽性であり、1コロニー分離された症例では15例中4例で陽性を認めた。

3. 気道由来の臨床検体からアスペルギルス属が分離された64症例の基礎疾患 (Table 3)

今回、気道由来の臨床検体からアスペルギルス属が分離された64症例の基礎疾患を診療録から検討した結果、呼吸器疾患が64例中40例と最も多く、次に血液疾患が6例、脳神経疾患が4例、消化器・肝臓疾患が3例、循環器疾患、膠原病、腎疾患がそれぞれ2例であった。基礎疾患として最も多かった呼吸器疾患の内訳は間質性肺炎が9例、COPDが8例、細菌性肺炎が7例、肺癌が7例、肺結核が6例、非結核性抗酸菌症が2例、気管支喘息が1例であり、血液疾患6例のうち5例は血液悪性腫瘍の患者であった。また、今回の64症例の中でレトロスペクティブな臨床的検討では肺アスペルギローマが5例、慢性壊死性肺アスペルギルス症が13例、侵襲性肺アスペルギルス症が4例であり、肺アスペルギローマの3例と侵襲性肺アスペルギルス症の6例は検出されたコロニー数が11コロニー以上であった。

考 察

アスペルギルス属は空気中に浮遊する真菌であり、一般的にその胞子を経気道的に吸入することによって肺内に侵入し、感染が成立する。しかし、健常人では気道上皮の線毛によりクリアランスされて体外に排出されるため、感染は成立しない。アスペルギルス属の感染による深在性真菌症は主に宿主の状態によってさ

Table 2. No. of positive cases of serum (1→3)-β-D-glucan related with numbers of colonies with *Aspergillus* from respiratory tract specimens

No. of colony	Positive case/evaluated cases (%)
1 colony	4/15 (27)
2-10 colonies	4/19 (21)
>11 colonies	7/8 (88)

Table 3. Underlying diseases of the cases isolated *Aspergillus* species from respiratory tract specimens.

Underlying diseases	No. of cases
Respiratory disease	40
Interstitial pneumonia	9
COPD	8
Pneumonia	7
Lung cancer	7
Pulmonary tuberculosis	6
Atypical mycobacteriosis	2
Hematological diseases	6
Leukemia	5
Amenia	1
Cerebral diseases	4
Cerebrovascular disease	1
Encephalitis	1
Brain tumor	1
Dementia	1
Hepatic diseases	3
Hepatic cancer	2
Hepatic failure	1
Renal disease	2
Collagen disease	2
Cardiovascular disease	2
Other	5

さまざまな病態を呈することが知られている。全身性の宿主免疫では好中球が最も重要であり、血液悪性腫瘍や固形癌患者の治療の際の抗癌化学療法に伴う好中球減少時に急性に発症し、急速な経過をとって悪化する侵襲性肺アスペルギルス症は予後不良の肺アスペルギルス症である。また、局所的な宿主免疫としては気道および肺内構造異常が肺アスペルギルス症の発症に関与し、遺残空洞を認める症例では、その空洞内にアスペルギルス属の胞子が侵入し、肺アスペルギローマを発症し、その後気管支拡張など気道病変の進行に伴って慢性壊死性肺アスペルギルス症と呼ばれる病態に進展する。

主にヒトに感染するアスペルギルス属は *Aspergillus fumigatus* をはじめ数種類の菌種と報告されている。その中でも *Aspergillus fumigatus* は最も分離頻度が高い⁶⁾。アスペルギルス属の同定法は培養されたコロニーの色や性状による肉眼的な同定法と、スライドカルチャー法を用いて、顕微鏡的に分生糸頭、胞子、頂囊、分生糸柄の形態から同定される。アスペルギルス属の菌種による病原性の違いは現在でも臨床的に明らかではない。また菌種による抗真菌薬の薬剤感受性の違いも若干の差があることが報告されているが⁷⁾、

いまだそれぞれの抗真菌薬のブレイクポイント MIC などは定められていないため、感受性の結果がそのまま臨床効果を反映しているとはいいがたい。

アスペルギルス属は気道由来の臨床検体から分離されたときには、一般細菌と同様に原因菌として臨床医に報告されるが、その際、常に検査時の空気中の汚染菌の可能性を含めて考える必要がある⁸⁾。一般の微生物検査室ではアスペルギルス属などの糸状真菌は逆に他の臨床検体に汚染菌として混入してしまうことを懸念し、早期に破棄されてしまうことも多い。そのため、アスペルギルス症を疑い培養検査を行う際には臨床的な情報も考慮して、培養されたアスペルギルス属が原因菌か汚染菌かの判断を行うことが重要である。そのため、アスペルギルス属が分離培養されたときにはそのコロニー数と、検出回数とその判断に重要な因子であるとされる。2007年にわが国で公表されている「深在性真菌症の診断・治療ガイドライン」の中でも肺アスペルギルス症の診断においては培養検査では少なくとも1回の検査でアスペルギルス属が分離されることが必要であるとされている⁹⁾。今回の検討からも多くの症例において検出回数は1回のみであったが、(1→3)-β-D-グルカンとの関係を検討した結果、約半数の症例は陰性であった。また、アスペルギルス属が検出された64症例中で何らかの抗真菌薬が投与されていた症例も31例と半数以下であり、臨床医はアスペルギルス属が検出されても直ちにアスペルギルス症と診断していない傾向が推察された。実際に今回の検討でもアスペルギルス属が分離されていたにもかかわらず、抗真菌薬が投与されていない症例も多く認められた。その理由をレトロスペクティブに診療録から推察すると、①アスペルギローマなどアスペルギルス属が検出されても炎症反応や臨床症状から抗真菌薬の投与が必要ないと判断された症例、②一般細菌の微生物検査と同時に真菌検査（あまり臨床的に疑っていない場合も含め）が実施され、アスペルギルス属が検出されたが、抗真菌薬の治療にて臨床症状や炎症反応が改善していたため、抗真菌薬が投与されていない症例、③臨床医が検出されたアスペルギルス属を汚染菌と判断した症例などであった。

検出コロニー数も分離されたアスペルギルス属が原因菌であるか、汚染菌であるか区別する要因となると考えられている。一般的にはコロニー数が少ないときには汚染菌の可能性も否定できないと考えられているが、今回の検討では1コロニーしか分離されなかった症例の中でも(1→3)-β-D-グルカンは陽性を示した症例は、2～10コロニーの症例より多く、コロニー数が少

ないことから原因真菌でないと判断することはできないと考えられる。

近年アスペルギルス症の診断法として血清学的検査が広く臨床的に応用され、基礎疾患、臨床症状、画像所見とともに血清学的検査の結果から総合的にアスペルギルス症が診断されている。血清学的検査には真菌の構成成分である(1→3)- β -D-グルカン検出法とアスペルギルス属の抗原成分としてのガラクトマンナン抗原検出法が有用である¹⁰⁾。今回の検討でも64例中42例はその経過中に(1→3)- β -D-グルカンの測定が行われていたが、アスペルギルスガラクトマンナン抗原はわずか8例のみ測定されており、培養検査の結果との関係を検討することができなかった。(1→3)- β -D-グルカンはアスペルギルス症以外の深在性真菌症であるカンジダ症などでも陽性となることや、他の非特異的な反応で陽性となることもあるため、アスペルギルス症により特異的なガラクトマンナン抗原との関係がより培養検査の結果の臨床的意義を検討するには適切であると考えられるが、今回の検討では症例数が不十分であったため、今後の検討課題とした。

今回の検討では症例数にも限りがあり、また病態の把握もそれぞれの主治医の判断によっているため、病態と気道由来の検体から検出されたアスペルギルス属の臨床的な意義に明確な結論を導き出すことはできなかった。気道由来の臨床検体から検出されたアスペルギルス属は時に検査時の汚染菌と判断されることもあるが、検出コロニー数や、検出回数などの結果と臨床データを総合的に判断し、いかに原因真菌としての意義があるかどうかを今後さらに詳細に検討する必要があると考えられた。

以上、2005年1月から2008年5月まで、埼玉医

科大学中央検査部で気道由来の臨床検体からアスペルギルス属が分離培養された64症例について、その臨床的意義を検討したので、若干の考察を加えて報告した。

文 献

- 1) 前崎繁文. 2005. 肺真菌症. 日内会誌 94: 49-54.
- 2) Judson, M. A. 2004. Noninvasive *Aspergillus* pulmonary disease. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 25: 203-219.
- 3) Herbrecht, R., S. Natarajan-Ame, V. Letscher-Bru, M. Canuet. 2004. Invasive pulmonary aspergillosis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 25: 191-202.
- 4) 堀口祐司. 2004. 侵襲性アスペルギルス症の早期診断における β -グルカン測定およびガラクトマンナン抗原測定法の有用性. *感染症誌* 78: 566-573.
- 5) 吉田耕一郎, 二木芳人, 宮下修行, 松島敏春. 2002. 血中(1→3)- β -D-グルカン測定法の非特異反応検出に関する検討. *感染症学誌* 76: 754-763.
- 6) Stevens, D. A., V. L. Kan, M. A. Judson, V. A. Morrison, S. Dummer, D. W. Denning, J. E. Bennett, T. J. Walsh, T. F. Patterson, G. A. Pankey. 2000. Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. *Clin. Infect. Dis.* 30: 696-709.
- 7) 前崎繁文. 2007. 深在性真菌症治療の新展開. 日内会誌 96: 193-196.
- 8) Morris, G., M. H. Kokki, K. Anderson, M. D. Richardson. 2000. Sampling of *Aspergillus* spores in air. *J. Hosp. Infect.* 44: 81-92.
- 9) 深在性真菌症のガイドライン作成委員会編. 2007. 深在性真菌症の診断・治療ガイドライン 2007. 協和企画, 東京.
- 10) 樽本憲人, 前崎繁文. 2008. 慢性肺アスペルギルス症—肺アスペルギローマと慢性壊死性肺アスペルギルス症. *内科* 101: 1391-1394.

Clinical Investigation of the Isolated *Aspergillus* Species From the Respiratory Tract Specimens

Noriyuki Watanabe,¹⁾ Syun Takahashi,¹⁾ Giichi Hashikita,¹⁾ Yoshinobu Abe,²⁾

Norihito Tarumoto,²⁾ Toshiyuki Yamaduchi,²⁾ Shigefumi Maesaki²⁾

¹⁾ Central Laboratory of Saitama Medical School Hospital

²⁾ Department of Infectious Diseases and Infection Control, Saitama Medical School

We evaluated the clinical investigation of the isolated *Aspergillus* species from the respiratory tract specimens in the patients with Saitama Medical School Hospital. The sixty-four cases was isolated *Aspergillus* species from the respiratory tract specimens from 2005 to 2008. *Aspergillus fumigatus* were isolated 47 cases and *Aspergillus niger* were 6 cases, *Aspergillus flavus* were 4 cases, and other *Aspergillus* species were 7 cases, respectively. Twenty-five cases were isolated one colony of *Aspergillus* species from respiratory tract specimens and 30 cases were isolated between 2 from 10 colonies, and 9 cases were isolated more than 11 colonies. Seven cases were positive (1→3)- β -D-glucan in all of 8 cases isolated *Aspergillus* species more than 11 colonies from the respiratory tract specimens and 14 cases were positive (1→3)- β -D-glucan in all of 33 cases isolated *Aspergillus* species more than 11 colonies from the respiratory tract specimens. We considered the clinical investigation of the isolated the numbers of colonies of *Aspergillus* species from the respiratory tract specimens was an important information for the diagnosis of the patients with pulmonary aspergillosis.