

## 造血幹細胞移植後の侵襲性肺アスペルギルス症

大分大学医学部 呼吸器・感染症内科学講座

鳥羽 聡史 時松 一成

35 歳, 男性

主訴: 発熱

既往歴: 18 歳時, 急性膵炎

家族歴: 特記事項なし

現病歴: 微熱と全身倦怠感で近医を受診した。脾腫と著しい末梢血白血球の増加 ( $480,000/\mu\text{L}$ ) を認め、血液内科専門医を紹介され、慢性骨髄性白血病と診断された。白血病に対する化学療法の後、造血幹細胞移植を目的に入院となった。臍帯血移植を行なうも、50 日以上にわたり好中球減少 ( $100/\mu\text{L}$ ) が続いた。移植細胞は生着しなかったと考え、骨髄移植を行なった。骨髄移植時頃より 38 度台の発熱が出現した。中心静脈カテーテルが留置されていた。病院および病院周辺で、建築・解体工事は行なわれていなかった。

検査所見: 【血液検査所見】 WBC  $100/\mu\text{L}$ , RBC  $254 \times 10^4/\mu\text{L}$ , Hb 7.7g/dL, Ht 21.8%, PLT  $2.8 \times 10^4/\mu\text{L}$  【生化学検査所見】 TP 5.98g/dL, T-BIL 1.54mg/dL, AST 32.1IU/L, ALT 73.1IU/L, ALP 805IU/L, LDH 208IU/L, BUN 23.2mg/dL, Cr 0.46mg/dL, CRP 9.83mg/dL 【その他の検査所見】 血清  $\beta$ -D-グルカン検査 陰性, 血液培養 陰性, 喀痰検査 糸状菌が検出

経過: 発熱性好中球減少症を考え、イミベネム/シラスタチン、フルコナゾールが投与されたが、発熱には不応性であった。そのため、アムホテリシン B (AMPH) の投与が開始された。骨髄移植日の胸部単純 X 線写真では、右肺野に新たに出現した結節性陰影を認めた (Fig. 1)。血清アスペルギルス・ガラクトマンナン抗原が 5.0 カットオフインデックス以上と陽性化した。侵襲性肺アスペルギルス症 (Invasive pulmonary aspergillosis: IPA) が疑われ、AMPH に加え、ミカファンギン (MCFG), イトラコナゾール (ITCZ) の併用が開始された。

骨髄移植 22 日目には、白血球数が  $1,000/\mu\text{L}$  まで回復した。胸部 X 線は内部に air crescent sign 有する浸潤影を呈した (Fig. 2)。発熱などの臨床症状の改善と血清アスペルギルス・ガラクトマンナン抗原値の減少より、抗真菌薬は有効と考え、AMPH と MCFG, ITCZ の投与を続けた。移植後 28 日目に喀血を認めた。血管造影を行ない、気管支動脈塞栓を行なった。白血球数が  $4,200/\mu\text{L}$  に回復した骨髄移植 32 日目に、再度、大量に喀血し、死亡された。剖検

は得られていない。

生前の喀痰培養検査にて、糸状菌が分離培養された。サブロー・グルコース寒天培地上の発育コロニーの色は淡い黄色で (Fig. 3)、ラクトフェノール・コットンブルー染色による顕微鏡での培養形態の観察で、*Aspergillus* 属菌であることが確認された。更に、コロニーの色調や分生子頭の特徴より、*Aspergillus terreus* であると同定された。

考察: 本症例は、骨髄性白血病の好中球減少期に発症した *A. terreus* による IPA の 1 例である。欧州

Fig. 1 骨髄移日の胸部 X 線写真。右中肺野に円形の結節影を認める (文献 3 より)。



Fig. 2 移植20日目の胸部X線(左)と、胸部CT写真(右). 矢印部位に空洞 (air-crescent sign) を伴う浸潤影を認める (文献3より).

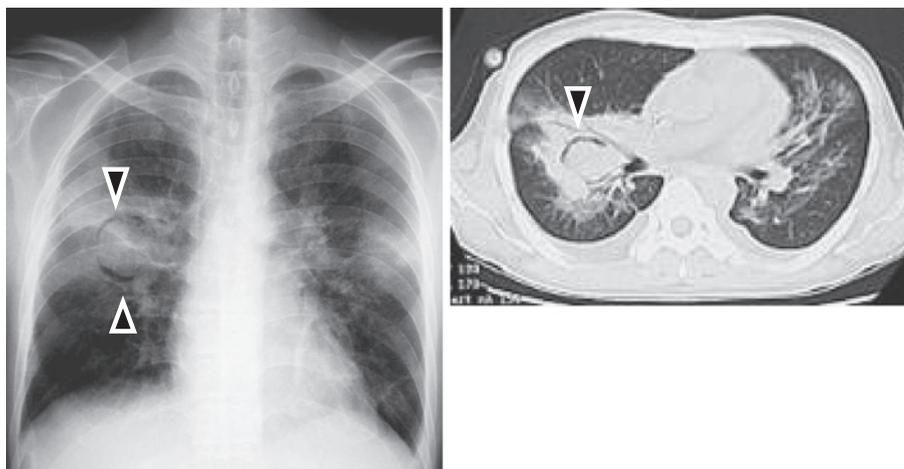


Fig. 3 喀痰培養にて分離された発育コロニー. 表面はベルベット状で、溝があり、淡い黄色を呈した. 時間とともに黄褐色になった. サブロー・グルコース寒天培地.



癌治療研究機構/米国真菌症研究グループ (European Organization for Research in Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infection Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group : EORTC/MSG) は臨床研究のために侵襲性真菌症に対して、「確定診断」, 「臨床/推定診断」, 「可能性診断」の3つの診断カテゴリーを提示している<sup>1)</sup>. 本症例はこの診断カテゴリーでは、好中球減少などの宿主因子、胸部X線写真などの臨床基準、喀痰からの培養や血清ガラクトマンナン抗原陽性を満たす「臨床/推定診断症」例である. EORTG/MGS の診断カ

テゴリーは診療に対する直接指針ではない. 画像などよりIPAを疑う症例では、抗真菌薬を早期に開始した方が良いと報告されている<sup>2)</sup>. 本症例は、好中球回復期に咯血した. 好中球減少はIPAの発症の重要な因子であるが、IPA発症後の好中球回復期には、咯血に十分注意する必要がある.

本症例は2004年以前に経験した症例である. 本症例の症例報告と、本症例から分離された *A. terreus* の *in vitro* の研究は、2007年にINTERNAL MEDICINEにおいて発表した<sup>3)</sup>.

#### 文献

- 1) De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, *et al.* : Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis.* 2008 ; 46 : 1813—21.
- 2) Greene RE, Schlamm HT, Oestmann JW, Stark P, Durand C, Lortholary O, *et al.* : Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis : clinical significance of the halo sign. *Clin Infect Dis.* 2007 ; 44 : 373—9.
- 3) Tokimatsu I, Kushima H, Iwata A, Hashinaga K, Umeki K, Ohama M, *et al.* : Invasive pulmonary aspergillosis with hematological malignancy caused by *Aspergillus terreus* and in vitro susceptibility of *A. terreus* isolate to micafungin. *Intern Med.* 2007 ; 46 : 775—80.

# “本症例の疑問点”から“研究的考察”へ

大分大学医学部 呼吸器・感染症内科学講座

時松 一成

## 問題 1. *A. terreus* ってどんな真菌だろう？

*Aspergillus* 属は自然界に広く分布し、200 以上の菌種を含むといわれている。*Aspergillus* 属の菌種の鑑別・同定は、一般的には、コロニー形態と顕微鏡的形態による。炭水化物利用能の違いを指標とした菌種の同定を行うカンジダ属と異なり、形態を観察できる技能や経験が、*Aspergillus* 属菌種の鑑別には必要である。

侵襲性アスペルギルス症の原因菌種は、*A. fumigatus* が多く *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* がこれに次ぐ<sup>1)</sup>。本症例は、喀痰から *A. terreus* が検出されており *A. terreus* による IPA と臨床診断された。

*A. terreus* のコロニーはシナモン色～黄褐色示し、顕微鏡による菌体観察では、フィアライドはフラスコ型、副列、ドーム型の頂嚢を特徴としている (Fig. 1)<sup>2)</sup>。土壌などの自然環境からしばしば分離されるが、深在性真菌症の原因としても報告されている<sup>3)~6)</sup>。

*A. terreus* は AMPH に対しては *vitro* での感受性が低く、*in vivo* の検討でも効果が乏しいと報告されている<sup>7)~8)</sup>。これまでのデータから、本菌が原因の侵襲性真菌症には、アゾール系抗真菌薬を投与すべきと、米国感染症学会によるアスペルギルス症治療のガイドラインに記載されている<sup>9)</sup>。

本症例から分離された株の抗真菌薬に対する最小発育阻止濃度 (MIC) を Table 1 に示す。AMPH の MIC は 1 $\mu$ g/mL であった。*Aspergillus* 属菌では臨床

的に有効性を示す薬剤感受性ブレイクポイントが提示されていないものの、AMPH には感受性であったと考えられる。しかし、本菌の殺菌曲線を、AMPH と MCFG を含む培養液中で検討したところ、AMPH に対しては経時的に菌は増殖し、MCFG では減少した<sup>10)</sup>。海外の *in vivo* の検討でも、MCFG は本菌に対して有効であることが示されている<sup>11)</sup>。

2002 年スペインの報告では、呼吸器検体からの *Aspergillus* 属分離菌としては、*A. terreus* は *A. fumigatus* に次いで多かった<sup>12)</sup>。2003 年米国のある国立大学病院からは、*A. terreus* の分離頻度が多くなっていると報告された<sup>5)</sup>。*A. terreus* は施設によっては、*A. flavus* とともに最も高頻度に分離される菌種であるという報告もある<sup>9)</sup>。

## 問題 2. アスペルギルス属感染症の菌種疫学は？

施設や地域によって *Aspergillus* 属感染症の原因菌種の順位が異なり、偏りがみられることは、問題 1 で述べた。耐性や低感受性を示す真菌症の頻度は、深在性真菌症の初期治療における抗真菌薬の選択に重要である。したがって、地域における分離状況や感受性に関する報告は、臨床的には極めて重要である。

米国感染症学会によるアスペルギルス症治療のガイドラインでは、AMPH に耐性を示す菌属として、

Fig. 1 分離された真菌の顕微鏡写真。ラクトフェノール・コットンブルー染色 (文献 10 より)。

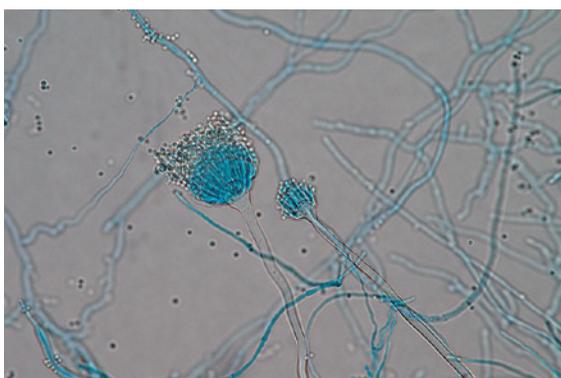


Table 1 本症例の分離真菌の薬剤感受性

薬剤名	MIC ( $\mu$ g/mL)
AMPH	1
5-FC	64
FLCZ	>64
ITCZ	0.03
MCZ	0.125
MCFG	<0.03

AMPH: アムホテリシン B,  
5-FC: フルシトシン,  
FLCZ: フルコナゾール,  
ITCZ: イトラコナゾール,  
MCZ: ミコナゾール,  
MCFG: ミカファンギン

Table 2 主な *Aspergillus* 属菌種の分離頻度

基礎疾患 または検体	株数	菌種% (順位)						国	調査年度	文献
		<i>A. fumigatus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. terreus</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>A. nidulans</i>			
血液幹細胞移植	72	56 (1)	18.7 (2)	16 (3)	8 (4)	1.3 (5)	0	米国	2001-2002	1
臓器移植	20	76.4 (1)	11.8 (2)	11.8 (2)	0	0	0	米国	2001-2002	1
呼吸器検体	247	60.7 (1)	7.7 (3)	15.8 (2)	2.4 (5)	nd	4.9 (4)	スペイン	2000-2002	12
移植患者	274	66.1 (1)	9.9 (3)	8 (4)	10.2 (2)	2.6 (5)	nd	米国	2001-2006	13
呼吸器検体	67	58.2 (1)	10.4 (3)	4.5 (5)	20.9 (2)	6 (4)	0	日本	1998-2004	14
呼吸器検体	98	28.6 (2)	2 (6)	7.1 (4)	39.8 (1)	16.3 (3)	3.1 (5)	日本	2005-2009	14
病院内外の 浮遊菌*	4919	73.5 (1)	1.7 (3)	0.2 (4)	4.3 (2)	nd	nd	ドイツ	2007-2008	19

nd: 記述なし

\**A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* の4株に同定した3919株を記述。残り1000株は同定していない。

*A. terreus* 以外に *A. lentulus*, *A. nidulans*, *A. ustus*, *A. versicolor* があると述べている<sup>9)</sup>。菌種には留意すべきであると考えられるが、IPAの原因の菌種の報告は、2000年代の報告が多く、更に、年代推移を報告したものは少ない。

米国では、血液幹細胞移植後に発症したIPAから分離された *Aspergillus* 属の菌種頻度や薬剤感受性を、多施設で検討し報告している<sup>13)</sup>。菌種頻度は、以前と大きく変化はないものの、多剤アゾールに耐性を示す菌種が報告された。日本においても、IPAの菌種や薬剤感受性の傾向、地域差を検討する大規模研究が重要であると思われる。*Aspergillus* 属の鑑別・同定、および薬剤感受性試験には、技能や経験を要するため、侵襲性真菌症の分離菌を専門施設に集積し、これらの検討を行うこととも考慮すべきである。

近年、日本の一施設における呼吸器検体からの *Aspergillus* 属の分離菌種や薬剤感受性の変遷が報告された<sup>14)</sup>。この報告では1998年から2004年に比較して、2005年から2009年では、*A. fumigatus* の分離頻度が減少し、*A. niger* が増加していた。国内の他施設における同様の検討が待たれる。

### 問題3. 環境から分離される *Aspergillus* 属とアスペルギルス感染症は関係あるのか?

*Aspergillus* 属は自然環境に普遍的に生息している。医療施設やその周辺での建築工事は、IPAの発症と関連していることが知られている<sup>15)~17)</sup>。一方、通常の場合で自然環境に浮遊している *Aspergillus* 属菌とアスペルギルス症発症の関係を明瞭に関係付けた報告はない。本症例は発症時に病院および病院付近での建築工事は行なわれておらず、また、同じ施設内で、この頃、IPAが多く発症していたという報

告はなかった。

オーストリアの1施設での検討では、1年間に34株が環境から、15株が患者検体から分離され、侵襲性のアスペルギルス症は1例のみであり、いずれも、遺伝子パターンに一致性はなかった<sup>18)</sup>。ドイツの1施設からは、浮遊している *Aspergillus* 属菌を調査、全体で4000以上の株を得られたが、環境分離菌は季節的変動が大きく、*A. terreus* は9株(0.2%)しか検出されなかったと報告された<sup>19)</sup>。更に、240人(855検体)の鼻腔の監視培養を行い、10例で陽性であったが、その後のアスペルギルス症の発症には関係が見出せなかった<sup>19)</sup>。欧州の環境中から分離される *Aspergillus* 属の感受性の検討では、耐性菌の出現が報告され、農園で使用されている農薬のアゾール含有量との関係が懸念されている<sup>20)</sup>。

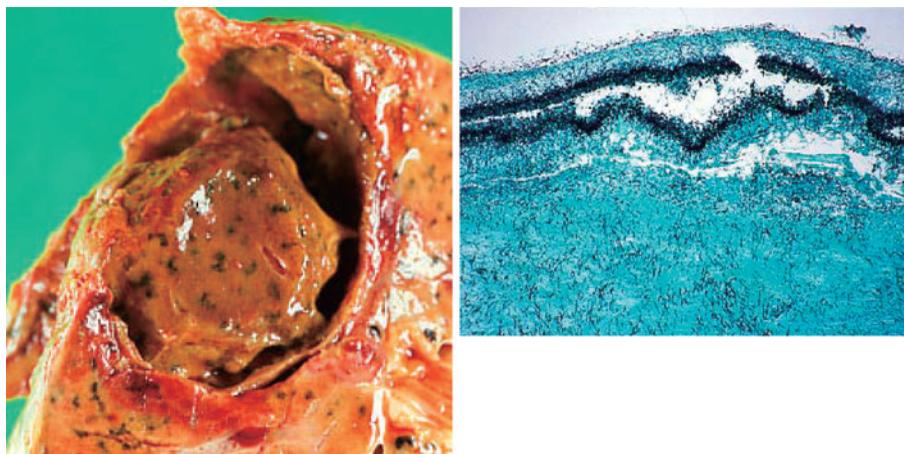
日本は多彩な自然環境を有する国である。わが国における環境からの *Aspergillus* 属菌の分離頻度や季節変動を報告したものはなく、問題2と同様、今後の検討が期待される。臨床検体からの分離菌種との対比も重要である。引用した文献をもとに、様々な検体や基礎疾患からの主な *Aspergillus* 属菌種分離頻度を Table 2 に示す。

### 問題4. IPAにおける喀血のリスク因子は?

好中球減少患者に発症したIPAでは、初期の胸部X線像では単発性・多発性の結節性陰影が多い。約1/3の症例で周囲にスリガラス陰影を伴う halo sign を認める<sup>21)</sup>。Halo sign は結節周囲の出血を反映している。結節陰影は発症7日目には3-4倍と最大径に達すると報告されている<sup>22)</sup>。胸部単純X線検査で、IPAの初期の異常陰影を見つけることは難しく、胸部CT検査がIPAの早期診断に有効である<sup>23)</sup>。

病理学的検討では、好中球減少患者のIPAのみら

Fig. 2 Air crescent sign の病理所見 (別症例). 肉眼像 (左) では, air space の内部に壊死した肺組織が見られる. 顕微鏡像 (右) では, 下方の壊死組織の内部に増殖する真菌が観察される. 上方の Air space の周囲は特に真菌が多数見られる. グロコットメテナミン染色



れる結節は凝固壊死であり, 好中球の浸潤はほとんどみられない. 一方, 陰影が出現したときに, 末梢血好中球が  $500/\mu\text{L}$  以上ある場合は, 好中球の浸潤や融解壊死を認める. IPA の病変の形態的相違は, 好中球浸潤とその組織障害により規定される<sup>24)</sup>. 好中球の回復とともに, air crescent sign といわれる空洞陰影を呈する<sup>25)</sup>. 肺局所の好中球が好中球エラスターにより壊死組織を処理し, あるいは, 菌体自体が産生するエラスターゼにより, 壊死組織の周囲に空洞を形成するためと考えられている<sup>26)</sup>. Fig. 2 に, 本症例とは別の症例であるが, air crescent sign を呈した症例の剖検写真を提示する.

好中球の回復とともに血管壁が破れると, IPA は回復しているにもかかわらず, 致命的な咯血を生じることがある. IPA の 8 例の咯血患者を検討した報告では, 5 日間に  $4,500/\mu\text{L}$  の好中球の増加は咯血する危険因子であるとの報告がある<sup>27)</sup>. 更に, AMPH の投与は咯血には影響されなかった<sup>27)</sup>. 但し, この報告は, キャンディン系抗真菌薬, 抗糸状菌活性をもつアゾール系抗真菌薬, アムホテリシン B リポソーム製剤が臨床使用される前の時期の報告である. 早期に, これらのアスペルギルス活性をもつ抗真菌薬による治療は咯血を防ぐことができるか. 今後の課題と思われる.

#### 文献

1) Morgan J, Wannemuehler KA, Marr KA, Hadley S, Kontoyiannis DP, Walsh TJ, *et al.*: Incidence of invasive aspergillosis following hematopoietic stem cell and solid organ transplantation:

interim results of a prospective multicenter surveillance program. *Med Mycol.* 2005; 43 Suppl 1: S49—58.

- 2) 内田勝久: アスペルギルス症 (2), 内田勝久, 山口英世編, 真菌症の検査医学的診断—起因菌の検出と同定—, 株式会社メディカルトリビューン社, 東京, 2003; p.50—1.
- 3) Steinbach WJ, Benjamin DK, Kotoyiannis DP, Perfect JR, Lutsar I, Marr KA, *et al.*: Infections due to *Aspergillus terreus*: a multicenter retrospective analysis of 83 cases. *Clin Infect Dis.* 2004; 39: 192—8.
- 4) Walsh TJ, Petraitis V, Petraitiene R, Field-Ridley A, Sutton D, Ghannoum M, *et al.*: Experimental pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus terreus*: pathogenesis and treatment of an emerging fungal pathogen resistant amphotericin B. *J Clin Dis.* 2003; 188: 305—19.
- 5) Baddley JW, Pappas PG, Smith AC, Moser SA: Epidemiology of *Aspergillus terreus* at a university hospital. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 5525—9.
- 6) Lass-Flörl C, Griff K, Mayr A, Petzer A, Gastl G, Bonatti H, *et al.*: Epidemiology and outcome of infections due to *Aspergillus terreus*: 10-year single centre experience. *British J Hematol.* 2005; 131: 201—7.
- 7) Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Pfaller MA: Activities of caspofungin, itraconazole, posaconazole, ravuconazole, voriconazole, and amphotericin B against 448 recent clinical isolates of filamentous fungi. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 3623—6.
- 8) Steinbach WJ, Perfect JR, Schell WA, Walsh TJ, Benjamin DK Jr: In vitro analyses, animal models, and 60 clinical cases of invasive *Aspergillus terreus* infection. *Antimicrob Agents Chemoter.*

- 2004 ; 48 : 3217—25.
- 9) Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA, *et al.* : Treatment of aspergillosis : clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2008 ; 46 : 327—60.
  - 10) Tokimatsu I, Kushima H, Iwata A, Hashinaga K, Umeki K, Ohama M, *et al.* : Invasive pulmonary aspergillosis with hematological malignancy caused by *Aspergillus terreus* and in vitro susceptibility of *A. terreus* isolate to micafungin. *Intern Med.* 2007 ; 46 : 775—80.
  - 11) Warn PA, Morrissey G, Morrissey J, Denning DW : Activity of micafungin (FK 463) against an itraconazole-resistant strain of *Aspergillus fumigatus* and strain of *Aspergillus terreus* demonstrating in vivo resistance to amphotericin B. *J Antimicrob Chemother.* 2003 ; 51 : 913—9.
  - 12) Gomez-Lopez A, Garcia-Effron G, Mellado E, Monzon A, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M : In vitro activities of three licensed antifungal agents against spanish clinical isolates of *Aspergillus* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003 ; 47 : 3085—8.
  - 13) Baddley JW, Marr KA, Andes DR, Walsh TJ, Kauffman CA, Kontoyiannis DP, *et al.* : Patterns of susceptibility of *Aspergillus* isolates recovered from patients enrolled in the Transplant-Associated Infection Surveillance Network. *J Clin Microbiol.* 2009 ; 10 : 3271—5.
  - 14) Tashiro T, Izumikawa K, Tashiro M, Takazono T, Morinaga Y, Yamamoto K, *et al.* : Diagnostic significance of *Aspergillus* species isolated from respiratory samples in an adult pneumology ward. *Med Mycol.* 2011 ; 49 : 581—7.
  - 15) Kuehn TH : Airborne infection control in health care facilities. *TransASME, J Sol Energy Eng (USA).* 2003 ; 125 : 336—71.
  - 16) Pini G, Donato R, Faggi E, Fanci R : Two years of a fungal aerobiocontamination survey in a Florentine haematology ward. *Eur J Epidemiol.* 2004 ; 19 : 693—8.
  - 17) Iwen PC, Davis JC, Reed EC, Winfield BA, Hinrichs SH : Airborne fungal spore monitoring in a protective environment during hospital construction, and correlation with an outbreak of invasive aspergillosis. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1994 ; 15 : 303—8.
  - 18) Blum G, Perkhofer S, Grif K, Mayr A, Kropshofer G, Nachbaur D, *et al.* : A 1-year *Aspergillus terreus* surveillance study at the University Hospital of Innsbruck : molecular typing of environmental and clinical isolates. *Clin Microbiol Infect.* 2008 ; 14 : 1146—51.
  - 19) Rüping MJ, Gerlach S, Fischer G, Lass-Flörl C, Hellmich M, Vehreschild JJ, *et al.* : Environmental and clinical epidemiology of *Aspergillus terreus* : data from a prospective surveillance study. *J Hosp Infect.* 2011 ; 78 : 226—30.
  - 20) Enserink M : Infectious diseases. Farm fungicides linked to resistance in a human pathogen. *Science.* 2009 Nov 27 ; 326 : 1173
  - 21) Caillot D, Casasnovas O, Bernard A, Couaillier JF, Durand C, Cuisenier B, *et al.* : Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery. *J Clin Oncol.* 1997 ; 15 : 139—47.
  - 22) Caillot D, Couaillier JF, Bernard A, Casasnovas O, Denning DW, Mannone L, *et al.* : Increasing volume and changing characteristics of invasive pulmonary aspergillosis on sequential thoracic computed tomography scans in patients with neutropenia. *J Clin Oncol.* 2001 ; 19 : 253—9.
  - 23) Kami M, Tanaka Y, Kanda Y, Ogawa S, Masumoto T, Ohtomo K, *et al.* : Computed tomographic scan of the chest, latex agglutination test and plasma (1 → 3)-β-D-glucan assay in early diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis : a prospective study of 215 patients. *Haematologica.* 2000 ; 85 : 745—52.
  - 24) 杉野圭史, 長谷川千花子, 木村一博, 佐野 剛, 磯部和順, 渋谷和俊, 他 : 白血病に合併した侵襲性肺アスペルギルス症の臨床病理学的検討. *感染症学雑誌* 2007 ; 81 : 261—7.
  - 25) Abramson S : The Air Crescent Sign. *Radiology.* 2001 ; 218 : 230—2.
  - 26) Pai U, Blinkhorn RJ Jr, Tomaszefski JF Jr : Invasive cavitary pulmonary aspergillosis in patients with cancer : a clinicopathologic study. *Hum Pathol.* 1994 ; 25 : 293—303.
  - 27) Todeschini G, Murari C, Bonesi R, Pizzolo G, Verlato G, Tecchio C, *et al.* : Invasive aspergillosis in neutropenic patients : rapid neutrophil recovery is a risk factor for severe pulmonary complications. *Eur J Clin Invest.* 1999 ; 29 : 453—7.