

原 著

## 肺 結 核 と 真 菌 症

—臨床的診断と血清学的診断の対比を中心として—

岩 田 仁

福井医科大学微生物学

三 輪 太 郎

国立療養所東名古屋病院

高 木 健 三

名古屋大学医学部第2内科

受付 昭和63年6月6日

## PULMONARY TUBERCULOSIS AND MYCOTIC INFECTION

—Clinical and Serological Diagnosis—

Hitoshi IWATA\*, Taro MIWA and Kenzo TAKAGI

(Received for publication June 6, 1988)

The antibody activities against *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* by indirect hemagglutination (IHA) and counterimmunoelectrophoresis (CIE) were examined twice at a month's interval in 251 sera from 169 male and 82 female patients admitted to the Higashi Nagoya National Hospital for pulmonary diseases. The patient population was composed of 226 patients with active or cured pulmonary tuberculosis including 25 patients complicated with pulmonary aspergillosis and 25 other lung diseases. In our tests, antigens used were crude supernatants of culture-broth which are the generous gifts of Torii Pharmaceutical Company. The antibody activity against *Aspergillus* by IHA was positive in 2.9% of the sera in the first and in 0.9% in the second test and was positive against *Candida* by IHA in 44.9% in the first and in 44.0% in the second test (Table 1). As regards patients with pulmonary tuberculosis, the population whose serological reaction was positive against *Candida* did not increase with age (Table 2). Two results of the antibody activities against *Aspergillus* and *Candida* by CIE were the same. The CIE results were positive in 19.5% against *Aspergillus* and in 16.3% against *Candida* (Table 3). In CIE test, 4.3% were positive against both *Aspergillus* and *Candida*. The causes of high positive rate in IHA against *Candida* may be due to (1) difference in the antibody, namely, antibody measured by IHA mainly composed of IgM and that by CIE composed of IgG and

\* From the Department of Microbiology, Fukui Medical School, Shimoaizuki 23-3, Matsuoka-cho, Yoshida, Fukui 910-11 Japan.

(2) difference in the virulence between *Candida* and *Aspergillus*. The antibody activity against *Aspergillus* detected by IHA is expected to be low as *Aspergillus* is not found among the normal flora in the airway and our cases of pulmonary aspergilloma were not acute. Because ammonium sulfate supernatant II fraction of *Aspergillus* antigen, which was not absorbed with DE-cellulose column, reacted with C-reactive protein, 24 cases were diagnosed to be false positive clinically. IHA could be a method suitable for diagnosing acute pulmonary aspergillosis and CIE for chronic pulmonary aspergillosis.

**Key words :** Pulmonary tuberculosis, *Aspergillus*, *Candida*, Indirect hemagglutination, Counterimmunoelectrophoresis

**キーワード :** 肺結核, アスペルギルス, カンジダ, 間接赤血球凝集反応, 向流免疫電気泳動

## はじめに

長期入院加療を要する肺結核患者を対象に、真菌症感染の危険性について検討した。肺真菌症は肺結核との鑑別が必要であり、抗結核剤の投与を受け、結核菌の排菌が停止する時期に菌交代現象を起こしがちである<sup>1)</sup>。この現象は高齢症例や重症肺結核症例に多く、特に長期にRFPの投与を受けた症例によく見受けられる<sup>1)</sup>。

われわれは真菌感染を胸部X線写真<sup>2)</sup>と免疫学的検査の二つの方向から検討を試みた。免疫学的検査は間接赤血球凝集反応 (Indirect Hemagglutination, IHA) と向流免疫電気泳動 (Counterimmunoelectrophoresis, CIE) で行った。これは対象症例が多い場合には、簡便で正確と考えられるためである。検討の対象は臨床的に重要でかつ普遍的な真菌症であるアスペルギルスとカンジダに限定した。ムコールについては検討しなかった。アスペルギルスによる内蔵真菌症はほとんどが肺アスペルギルス症で、わが国では、肺結核の開放性空洞に肺アスペルギローマが合併することが最も多い<sup>3)</sup>。一方、カンジダは常在菌であり、肺以外に尿路感染や膣炎を起こすので、IHA や CIE で陽性となっても除外診断を要する。

## 対 象

国立東名古屋病院呼吸器科に入院中の症例を対象に、アスペルギルスとカンジダに対する IHA と CIE を、1985年2月と1985年3月に1カ月の間隔をおいて2回測定した。第1回は238例、第2回は202例、計251例を対象にした。性別は男子169例、女子82例であった。肺結核もしくは肺結核を基礎疾患とする症例が225例あり、その他に非定型抗酸菌症3例、肺癌5例、肺炎6例、肺気腫4例、気管支喘息1例、直腸癌1例、細菌性膿胸1例、特発性間質性肺炎1例、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症2例、胃潰瘍1例、筋萎縮性側索硬化症

1例であった。

肺結核もしくは肺結核を基礎疾患とする症例には、肺アスペルギローマ21例、アスペルギルス性膿胸 (*Aspergillus* Empyema) 4例、糖尿病10例、骨髄カリエス3例、子宮癌2例、脳血管障害2例、慢性関節リウマチ2例、小脳変性症1例、肺癌1例、胃癌1例、膀胱癌1例、塵肺1例であった。その年齢構成は20歳以下1例、20~29歳7例、30~39歳12例、40~49歳18例、50~59歳58例、60~69歳71例、70~79歳66例、80歳以上18例であった。

## 方 法

### (1) 間接赤血球凝集反応 (IHA)

*Aspergillus fumigatus* HA抗原 (日本ロッシュ) と *Candida albicans* HA抗原 (日本ロッシュ) を使用した。吸入用ヒツジ赤血球懸濁液でフォルスマン抗体を吸収した患者血清を10倍希釈から倍々希釈し、希釈血清25 $\mu$ lに抗原懸濁液25 $\mu$ l加えた。血清コントロールと抗原コントロールとともに37°Cで2時間おき、その後12時間冷所保存し判定した。アスペルギルスの場合は20倍希釈以上で、カンジダの場合は320倍希釈以上で凝集を阻止されれば、それぞれ陽性とした<sup>4)</sup>。

### (2) 向流免疫電気泳動 (CIE)

*Aspergillus fumigatus* (*Fresenius*) 抗原 (鳥居薬品) と *Candida albicans* A抗原 (鳥居薬品) を使用した。CIEはGockeとHoweの方法に準じて行った<sup>5)</sup>。1.2%のagaroseをpH8.6のTris bufferで溶解し、ガラス板に拡げた。直径3mmの穴を3mm間隔に2列作り、陰極側に5mg/mlの抗原を陽極側に血清を注入し、2mA/cmで50分間泳動し沈降線の有無を判定した。

## 成 績

### (1) 間接赤血球凝集反応

Table 1. Reciprocal IHA Titers against *Aspergillus* and *Candida*

Serum dilution	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
<i>Aspergillus</i>									
1985. 2	231	4	1	2					
1985. 3	200	1	1						
<i>Candida</i>									
1985. 2	4	9	17	35	66	67	34	5	1
1985. 3	5	11	13	36	48	56	29	3	1

Table 2. Positive IHA Rates against *Candida*

Generation	10	20	30	40	50	60	70	80
1985. 2								
positive cases	0	2	4	10	21	25	37	8
negative cases	1	4	8	7	37	37	28	9
positive rate	0	33.3	33.3	58.8	36.2	40.3	56.9	47.0
1985. 3								
positive cases	0	2	3	5	22	25	28	6
negative cases	1	1	6	7	29	35	24	8
positive rate	0	66.6	33.3	41.6	43.1	41.6	53.8	42.8

アスペルギルスとカンジダに対する IHA の測定結果を Table 1 に示した。アスペルギルスに対する IHA が 20 倍希釈以上で陽性を示した症例は第 1 回では 7 例 (2.9%)、第 2 回では 2 例 (0.9%) であった。カンジダに対する IHA が 320 倍希釈以上で陽性を示した症例は、第 1 回では 107 例 (44.9%)、第 2 回では 89 例 (44.0%) であった。さらに Table 2 にカンジダに対する IHA の陽性率を年齢別に分けて示した。カンジダに対する IHA の陽性率は加齢により特に上昇しなかった。

### (2) 向流免疫電気泳動

Table 3 にアスペルギルスとカンジダに対する抗体活性を CIE で測定した結果を示した。併せて IHA での測定結果と対比させた。アスペルギルスに対する CIE は 2 回の測定で陰性から陽性になった症例や、逆に陽性から陰性になった症例もなかった。251 例中 49 例 (19.5%) で陽性を示し、そのうち沈降線が 5 本認められた症例が 1 例、4 本認められた症例が 2 例、3 本認められた症例が 12 例、2 本認められた症例が 9 例、1 本認められた症例が 25 例あった。カンジダに対する CIE は 251 例中 41 例 (16.3%) で陽性を示した。そのうち沈降線が 2 本認められた症例が 8 例、1 本認められた症例が 33 例あった。

### (3) 測定結果と臨床診断との対比

Table 3 に示したように、1) 血痰や発熱などの臨床症状や、2) 胸部 X 線写真で菌塊陰影が認められたり、3) 開胸術などから得た病理切片などから臨床的に肺アスペルギルス症と診断された 25 症例のうち 5 例で IHA と CIE が共に陽性を示した。内訳は肺アスペルギローマ 3 例 (Case 1, 3, 13)、アスペルギルス性膿胸 1 例 (Case 14)、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症 1 例 (Case 28) であった。そのうち肺アスペルギローマの 1 例では IHA は 2 回の測定のうち 1 回は陰性を示した (Case 3)。アレルギー性気管支肺アスペルギルス症 (Case 50) の 1 例で IHA が陽性であったが、CIE は陰性を示した。肺アスペルギローマの 17 例とアスペルギルス性膿胸の 2 例で IHA は陰性を示したが、CIE は陽性を示した。アスペルギルスに対する IHA が 1 回以上陽性を示した 7 例では 6 例が臨床的に肺アスペルギルス症と診断された。一方、臨床的に肺アスペルギルス症と診断された他の 19 例では IHA は陰性を示した。アスペルギルスに対する CIE が陽性であった症例のうち 25 例は臨床的には肺アスペルギルス症と診断されなかった。カンジダに対する IHA が陽性であった 104 例のうち 10 例で、1) 胸部に新たに異常陰影が出現し、2) 喀痰

Table 3. Serological results and clinical diagnosis

case	CIE (Asp.)	CIE (Can.)	IHA (Asp.)	IHA (Can.)	CRP	Clinical diagnosis
1	###	-	40	2560	2 +	aspergilloma
2	###	-	<10	320		aspergilloma
3	###	-	20	160	5 +	aspergilloma
4 • 5	##	-	<10	80		aspergilloma
6	##	-	<10	80		aspergilloma
7	##	-	<10	160		aspergilloma
8	##	-	<10	160		aspergilloma
9	##	-	<10	160		aspergilloma
10	##	-	<10	320	-	aspergilloma
11	##	-	<10	320	-	aspergilloma
12	##	-	<10	640		aspergilloma
13	##	-	80	1280		aspergilloma
14	##	+	20	640	4 +	aspergillous lung abscess
15	##	-	<10	320		tuberculosis
16	##	-	<10	160		aspergilloma, Kennedy-Alter-Sung syndrome
17	##	-	<10	320		aspergilloma
18	##	-	<10	640		aspergilloma
19	##	-	<10	80		aspergillous lung abscess
20	##	##	<10	160	3 +	aspergillous lung abscess
21	##	+	<10	160	-	pulmonary candidiasis
22	##	-	<10	160	-	tuberculosis
23	##	-	<10	320	2 +	tuberculosis
24	##	-	<10	640	5 +	tuberculosis
25	+	-	<10	40		aspergilloma
26	+	-	<10	80		aspergilloma
27	+	-	<10	320		aspergilloma
28	+	-	20	<10		allergic broncho-pulmonary aspergillosis
29	+	+	<10	640	2 +	aspergilloma
30	+	-	<10	40	3 +	tuberculosis
31	+	-	<10	160	-	pneumoconiosis
32	+	-	<10	160	-	tuberculosis
33~38	+	-	<10	160		tuberculosis
39	+	-	<10	320	-	tuberculosis
40~42	+	-	<10	640		tuberculosis
43	+	##	<10	320		tuberculosis
44	+	##	<10	640		tuberculosis
45	+	+	<10	80		tuberculosis
46	+	+	<10	160		tuberculosis
47	+	+	<10	320		tuberculosis
48	+	+	<10	640		tuberculosis
49	+	##	<10	320		pulmonary candidiasis, Kartagener's syndrome
50	-	-	40	640		allergic broncho-pulmonary aspergillosis
51	-	##	<10	320		pulmonary candidiasis
52	-	##	<10	640		pulmonary candidiasis
53 • 54	-	##	<10	320		tuberculosis
55	-	+	<10	80		pulmonary candidiasis
56~58	-	+	<10	160		pulmonary candidiasis
59~63	-	+	<10	320		pulmonary candidiasis
64	-	+	<10	320		pulmonary candidiasis, pulmonary fibrosis
65	-	+	<10	640		pulmonary candidiasis
66	-	+	<10	20		tuberculosis
67	-	+	<10	80		tuberculosis
68~70	-	+	<10	160		tuberculosis
71~76	-	+	<10	320		tuberculosis
77~80	-	+	<10	640		tuberculosis

### ~+: lines of precipitation

から結核菌を含む病原性の細菌が分離されず、頻回にカンジダが分離され、3) 抗真菌剤が比較的有効であったことなどから臨床的に肺カンジダ症が強く疑われた。そしてカンジダに対するCIEが陽性であった症例のうち16例が臨床的に肺カンジダ症が強く疑われた。

アスペルギルスに対するCIEでの沈降線の本数と臨床診断の相関をTable 3に示した。沈降線が5本認められた症例は胸部レントゲン写真で進行的に組織浸潤を示した肺アスペルギローマの症例であった。沈降線が4本認められた症例は2例共約10年経過し、胸部レントゲン写真でやや組織浸潤を示した肺アスペルギローマであった。沈降線が3本以上認められた15例のうち13例が臨床的に肺アスペルギルス症と診断された。しかしアスペルギルスに対する沈降線が1本だけ認められた症例では25例のうち5例だけが臨床的に肺アスペルギルス症と診断された。

アスペルギルスに対する沈降線が2本以上認められた症例で同時にCRPが測定された11例のうちCRP陽性6例が全例とも、CRP陰性5例のうち4例が臨床的に肺アスペルギルス症と診断された。アスペルギルスに対する沈降線が1本だけ認められた症例で、同時にCRPが測定された9例のうち、CRP陽性2例では1例が臨床的に肺アスペルギルス症と診断されたが、CRP陰性9例では1例も臨床的に肺アスペルギルス症と診断されなかった。

カンジダに対するCIEでの沈降線の本数と臨床診断の相関をTable 3に示した。沈降線が2本認められた症例では8例のうち2例が、沈降線が1本認められた症例では33例のうち14例が肺カンジダ症と診断された。

Table 3に示したように、アスペルギルスとカンジダとの間に交叉があった症例は29例あった。結核性膿胸の1例(Case 14)でアスペルギルスとカンジダに対してIHA, CIEすべてに陽性を示した。肺アスペルギローマの2例(Case 1, 13)でカンジダに対してCIEのみ陰性であった。肺アスペルギローマの1例(Case 29)と肺結核の4例(Case 43, 44, 47, 48)の4例とカルタゲネル症候群、肺カンジダ症(Case 49)ではアスペルギルスに対してIHAのみ陰性であった。結核性膿胸の1例(Case 20)と肺カンジダ症(Case 21)と肺結核の2例(Case 45, 45)ではアスペルギルスとカンジダに対してCIEに陽性を示した。肺アスペルギローマの7例(Case 2, 10, 11, 12, 17, 18, 27)と肺結核の7例(Case 15, 23, 24, 39, 40, 41, 42)ではアスペルギルスに対してCIEが、カンジダに対してIHAが陽性であった。ABPAの1例(Case 50)ではアスペルギルスとカンジダに対してIHAに陽性を示した。

## 討 論

血清学的検査は真菌症の診断において重要性を増しつつあると思われる。しかし菌株によりやや異なるなど抗原特異性に問題があり、他の真菌と交叉を示す場合もある<sup>6)~8)</sup>。今後わが国でも増加すると予想される免疫抑制剤使用時における真菌感染や血液疾患や抗癌剤使用時に合併する真菌感染では、免疫抑制により抗体産生が抑制され、血清学的検査が陰性となるとの報告<sup>9)~11)</sup>がある。

肺結核では免疫抑制があっても抗体産生を抑制する症例は少なく、胸部レントゲン写真で異常陰影を示す症例を早期に鑑別診断する場合には、診断的価値は高いと思われる。ことに喀痰検査ではアスペルギルスは検出されにくく、カンジダは気道常在菌であるため培養分離されても診断的価値が低いので、血清学的検査が決め手になるとと思われる。

そこでわれわれは比較的簡単に手に入れられる試料を用いて、肺結核を主とする呼吸器科入院患者でどの程度の真菌感染があるかを検討した。

IHAの結果をTable 1で示した。アスペルギルスに対して1回以上陽性を示した7例のうち6例(85.7%)が臨床診断と一致した。カンジダに対して1回以上陽性を示した104例のうち10例(9.6%)が臨床的に肺カンジダ症を疑われた。この結果は他の報告<sup>4)12)</sup>とかなり異なった。アスペルギルスに対しては陽性率が他の報告と比較して低かった。逆にカンジダに対しては陽性率が高かった。これはIHA反応は主としてIgMによるため<sup>13)</sup>、対象症例には急性期を過ぎたため陰性化した長期入院症例や呼吸不全症例が多く含まれていたことによるとと思われる。

CIEの結果をTable 3に示した。アスペルギルスに対してCIEで沈降線が3本以上認められた症例では15例中14例(93%)が臨床診断と一致し、2本では9例中5例(55%)が臨床診断と一致した。アスペルギルスに対するCIEで沈降線が1本しか認められなかった症例では、25例のうち20例(80%)が偽陽性と判定された。

この偽陽性は、ある程度患者血清中のCRPがアスペルギルス抗原の分画血清と反応して沈降線を形成する<sup>14)</sup>ためと考えられる。Table 3に示したように、アスペルギルスに対する沈降線が1本だけ認められ、CRPが陽性であった症例では33.3%(3例中1例: 今回の検討群に含まれなかった1例を含む)が、臨床的に肺アスペルギルス症と診断されなかった。症例が少なく、今後の検討をさらに要する。

カンジダに対するCIEでは、沈降線が1本以上認められた症例では41例中16例(39%)が臨床的に肺カ

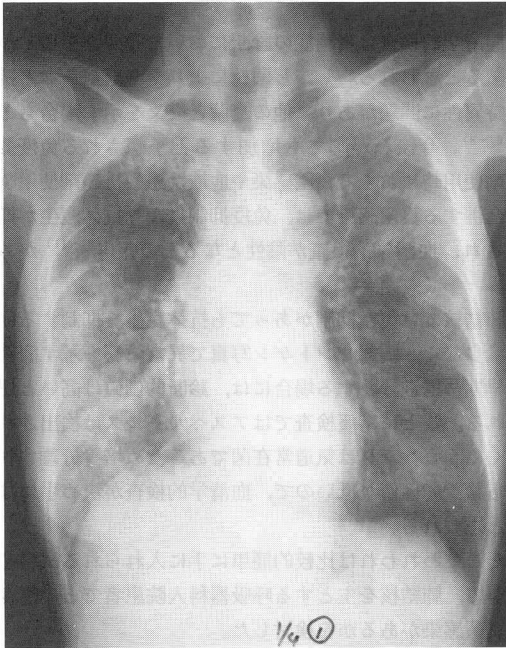


Fig. Diffuse infiltration on the whole lung and the tuberculous lesion on the right upper lung (Case 55).

ンジダ症を疑われた。

アスペルギルスとカンジダに交叉を示した症例は29例(11.5%)あった。CIEで交叉を示したのは11例(4.3%)あった。IHAで交叉を示したのは4例(1.6%)あった。これらの症例がアスペルギルスとカンジダの重複感染かどうかは、病理学的検査などによって総合的に判断される必要がある。

沈降線の本数と胸部レントゲン写真所見との関連についても検討した<sup>2)15)</sup>。

慢性壊死性肺アスペルギルス症<sup>16)</sup>と関連する組織浸潤型や壁在性増殖型では、沈降線が3本以上認められた。アスペルギルス性膿胸や出芽増殖型では沈降線が3本以下しか認められなかった。

池本らは血清反応は病期と関連があり、また加療などにより肺アスペルギルス症が軽快した場合、血清反応は陰性化したと報告している<sup>17)</sup>。しかし、われわれが観察しえた症例では、一般症状や胸部レントゲン写真などで寛解または自然治癒<sup>18)</sup>の状態にある症例でも血清反応が陰性であった症例はなかった。

われわれは、基本的には肺結核に肺アスペルギルス症が続発する場合は、抗結核剤により胸部レントゲン写真所見で改善を認め結核性空洞が透化し、喀痰検査で結核菌が陰性化した後、肺アスペルギルス症が発症すると考えている。しかし実際には、いつアスペルギルスが感染

したのか不明である。また今回われわれは肺アスペルギルス症からは除外したが、Table 3に示したようにアスペルギルスに対する血清反応が陽性であり、胸部レントゲン写真でも結核性空洞が透化した後、アスペルギローマと思われる所見を認め、喀痰検査で結核菌の排菌を認める5症例はどう判定するかは今後の検討を要すると思われる。

一方、第28回日本胸部疾患学会総会で結核菌の排菌を伴う肺アスペルギローマの剖検例が報告された<sup>19)</sup>。このことから、肺結核と肺アスペルギルス症は必ずしも時期的に区分できないとも考えられる。

肺結核に続発した肺アスペルギローマの4例で胸部レントゲン写真でアスペルギローマが消失した症例のうち4例とも消失した時期に抗酸菌の排菌を1回だけ認めた。結核菌の排菌停止時期が明らかな3例では、停止後9~13年経過して抗酸菌の排菌を認めた。そのうち1例だけ非定型抗酸菌と同定できた。

われわれが検討した251例で、検討した時期ではIHAもCIEも陰性であった1例で8カ月経過して、肺アスペルギローマが発症した症例があり、前述のアスペルギルス感染の時期の問題とも関連して興味深い。

#### 謝 辞

この研究に当たって指導頂いた名古屋大学医学部附属病態制御研究施設医真菌研究部門田中健治教授並びに神戸俊夫助手と、この研究のため試料を提供して頂いた日本ロッシュと鳥居薬品に対して感謝いたします。

#### 文 献

- 1) 岩田 仁他：結核性空洞に形成される肺アスペルギローマについて、日胸疾会誌，26：812，1988。
- 2) 岩田 仁他：肺アスペルギローマ33例の胸部X線写真の検討，日胸疾会誌，24：756，1986。
- 3) 佐野文彦：本邦深在性真菌症集計とその解析，感染症誌，59：325，1985。
- 4) 浜本恒男：真菌症の免疫血清学的早期診断：アスペルギルス症およびカンジダ症について，真菌誌，26：265，1985。
- 5) Gocke, D. J. and Howe, C. : Rapid detection of Australia antigen by counterimmunoelectrophoresis, J Immunol, 104 : 1031, 1970.
- 6) Krup, V. P., and Fink, J. N. : Evaluation of methods to detect antibodies against *Aspergillus fumigatus*, Am J Clin Pathol, 69 : 414, 1978.
- 7) 月岡一治他：多糖体抗原を用いた感作赤血球凝集反応法によるCandida症の血清学的診断について。感染症誌，52：439，1978。

- 8) Hasenclever, H. F. and Mitchell : Antigenic studies of *Candida*. 1. Observation of two antigenic groups in *Candida albicans*, *J Bact*, 82 : 570, 1961.
- 9) 石崎武志他 : 血液疾患と肺真菌感染症—特にアスペルギルス肺炎の診断を主として—, *日胸疾会誌*, 23 : 86, 1985.
- 10) 福島孝吉 : 真菌症と免疫, *免疫と疾患*, 3 : 499, 1982.
- 11) 久米 光他 : 真菌感染に及ぼす免疫能—発症病理学的検討—*真菌誌*, 24 : 174, 1983.
- 12) 阿部美知子他 : 内蔵真菌症の血清学的診断—臨床検査の立場から—, *真菌誌*, 26 : 289, 1985.
- 13) Muller, H. N. : IgM- and IgG- antibodies against *Candida polysaccharides* in the serodiagnosis of candidiasis, *Bull Soc Fran Mycol Med*, 3, No.1 : 51, 1974.
- 14) Longbottom, J. L. and Pepys, J : Pulmonary aspergillosis : diagnosis and immunologic significance of antigens and C-substance in *Aspergillus fumigatus*, *J Pathol Bacteriol*, 88 : 141, 1964.
- 15) 岡野 弘他 : 肺アスペルギルス症—特に肺アスペルギローマの薬物的治療と免疫学的反応について, *最新医学*, 36 : 2133, 1981.
- 16) Binder, R. E. et al. : Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis : A discrete clinical entity, *Med*, 61 : 109, 1982.
- 17) 浜本恒男 : 気管支肺アスペルギルス症の診断における血清学的検査の評価, *真菌誌*, 25 : 391, 1984.
- 18) Hammerman, K. J. et al. : Spontaneous lysis of aspergilloma. *Chest*, 64 : 697, 1973.
- 19) 岡野 弘他 : 肺の空洞内壁を内張するごとく発育する壁在性増殖型アスペルギローマ, *日胸疾会誌*, 26 : 442, 1988.