

結核菌培養検査で陽性となるまでに時間を要した 全身播種結核患者の1例

¹芦野 純子 ¹大野 勲 ¹岡田 信司 ¹西巻 雄司
²齋藤 芳彦 ³遠藤 希之 ²賀来 満夫 ³笹野 公伸
¹服部 俊夫

要旨：80歳，男性。発熱，咳，食欲不振を主訴に2000年6月に近医を受診した。患者は原因を特定できないまま細菌性肺炎と診断され抗菌薬による治療を受けた。1カ月後，改善を認めないため入院となった。入院後，気管支洗浄液から抗酸菌が検出され当科紹介入院となった。入院時の喀痰塗抹検査にて抗酸菌が陽性でPCRにて結核菌と判明した。抗結核剤の投与（各々1日量；INH 300 mg，RFP 450 mg，EB 1000 mg，PZA 1000 mg）を開始した。しかし，入院後，患者の意識レベルの低下を認めた。頭部MRIでは両側前頭～頭頂部の皮質内に多数の小結節影を認めた。髄液中に抗酸菌は検出されなかったが，結核性髄膜炎を疑い，ステロイドを投与された。髄液所見およびMRI所見にて結核性髄膜炎と診断した。入院後9日目に患者は結核性髄膜炎のため死亡した。喀痰と髄液を小川培地にて培養したところ，いずれもコロニー形成まで14週間を要した。死後の剖検では，肺，肝臓，腎臓，脾臓にびまん性に結核結節の形成を認めた。試験管内において培養増殖速度が遅い結核菌によって発症した全身播種型結核症例を示した。

キーワード：粟粒結核，結核性髄膜炎，病原性，培養，抗TBGL抗体

はじめに

抗結核薬の普及とともに，我が国をはじめ先進諸国においては着実に結核患者の減少がもたらされ，死亡率も著明に改善した。しかし，未だに本邦では年間約3000人の結核死を認め，またそれまで減少を続けてきた罹患率は平成9年には増加傾向に転じている。今回われわれは結核菌の全身播種により死亡した剖検例を経験したので，この症例の検査結果および組織所見につき，若干の文献的考察を加え報告する。

症 例

症 例：80歳，男性。

主 訴：発熱。

既往歴：30歳頃より高血圧，糖尿病に罹患し加療されている。79歳時に狭心症と下肢閉塞性動脈硬化症に

対しバイパス術を施行された。

家族歴：兄，脳血管障害で死亡。姉，糖尿病。

現病歴：平成12年4月半ば頃より，微熱，咳，食欲不振が認められ，6月中旬に近医を受診した。胸部X線写真にて両側上肺野に粒状影を伴う浸潤影を認め，血液検査でCRPの上昇を認めた。喀痰検査では，結核菌および一般細菌は検出されなかったが肺炎として，外来での抗生物質の内服治療を受けた。しかし臨床症状および胸部X線写真上の所見に改善を認めないため，7月24日同病院に入院となった。入院後の気管支肺胞洗浄液の塗抹検査にて，Gaffky 1号が検出されたため，7月27日当科を紹介され入院となった。

入院時現症：身長175 cm，体重44 kg，意識清明，血圧148/78 mmHgで左右差認めず，脈拍113/分で不整，呼吸数24/分，体温37.9℃，眼瞼結膜黄疸および貧血なし，胸部理学的所見は両側上肺野に一致して湿性ラ音を

¹東北大学医学部附属病院感染症・呼吸器内科，²検査部，³病理部

連絡先：芦野純子，東北大学医学部附属病院感染症・呼吸器内科，〒980-8574 宮城県仙台市青葉区星陵町1-1 (E-mail: ashino@intl.med.tohoku.ac.jp)

(Received 26 Sep. 2001/Accepted 30 Nov. 2001)

認め、収縮期心雑音を聴取した。

入院時検査所見 (Table 1) : 低蛋白血症, 低 K 血症を認めたほか, 血算, 生化学検査で異常を認めなかった。CRP は 3.3 mg/dl と上昇を認めたが, 赤沈の亢進は認めなかった。免疫グロブリン値は正常範囲内であったが抗 TBGL 抗体は陰性であった。ツ反は陽性であった。

胸部 X 線写真 (Fig. 1) : 両側上肺野を中心に, 辺縁が不明瞭な融合傾向に富む粒状影と結節影を含む浸潤影を認めた。

胸部 CT (Fig. 2) : 両側上肺野に大小不同の直径 5 ~ 10 mm の小結節陰影を認め, また全肺野に無数の粟粒大陰影を認めた。

心電図 : V1 ~ 4 にかけて QS パターンを認めた。

喀痰検査 : 喀痰塗抹 Ziel-Neelsen 染色にて Gaffky 1 号, PCR で *Mycobacterium tuberculosis* と判定された。小川培地での培養では 14 週目にて陽性となった。一般細菌は陰性だった。

入院後経過 : 当院入院時の喀痰検査においても *Mycobacterium tuberculosis* を認め結核性肺炎の診断のもとに, 抗結核剤の投与 (INH 300 mg/日, RFP 450 mg/日, EB 1000 mg/日, PZA 1000 mg/日) を開始した。入院翌日, 意識レベルの低下 (JSC 10) があり項部硬直を認めたが, 四肢麻痺はなかった。髄液検査 (Table 2) を実施したと

ころ, 圧の上昇, 単核球優位の細胞数増加, 蛋白量増加および糖減少 (髄液糖/血糖 : 41%) を認めた。結核菌塗抹検査・PCR 検査では共に陰性であった。頭部 MRI (Fig. 3) では, 両側前頭部脳表に硬膜下水腫と思われる CSF intensity の液貯留を認め, 造影にて左右, 特に左大脳半球のシルビウス裂近傍部を中心に脳表に沿って増強効果が著明に認められた。また, 両側前頭~頭頂部の皮質内に散在性に直径 1 ~ 2 mm の結節影を認めた。臨床ならびに検査所見から結核性髄膜炎と診断した。その後, 急激に意識障害が進行し経口摂取も不能となったため, 胃管より抗結核剤の投与を続行したが, 入院 9 日目に結核性髄膜炎にて死亡した。

剖検所見 : 臓器は家族の強い希望により, 胸部正中切開のみ許可され, 腹部臓器の摘出は困難であったが, 可及的に摘出した。肉眼的所見 ; 両側全肺野に無数の粟粒大の白色結節を認めた。右肺上葉には充実性の硬い部分を認め, 結核の原発巣と考えられた。粟粒大の白色結節は腎臓・肝臓・脾臓にも認められた。心臓は前壁中隔壁に直径 1 cm の線維化部分を認め陳旧性の心筋梗塞を示唆させた。

顕微鏡学的所見 ; 肺 (Fig. 4), 肝, 腎, 脾組織全体に無数の粟粒大~小豆大の結核結節が認められ, その中心は凝固壊死に陥りその周囲に類上皮細胞, さらにその周

Table 1 Laboratory data on admission

Hematology		Serological test	
WBC	2900 / μ l	IgG	1193 mg/dl (820~1740)
seg	63 %	IgA	158 mg/dl (90~400)
band	18 %	IgM	151 mg/dl (31)
lymph	15 %	CRP	3.3 mg/dl
mono	3 %	ESR	5 mm/hr
RBC	446 \times 10 ⁴ / μ l	Blood gas analysis (O ₂ 2L/min nasal)	
Hb	13.0 g/dl	pH	7.472
Plt	15.3 \times 10 ⁴ / μ l	PaO ₂	97.5 mmHg
Blood Chemistry		PaCO ₂	38.1 mmHg
T.P	5.2 g/dl	PPD (mm) 12 \times 6/25 \times 12	
Alb	3.0 g/dl	sputa examination	
T.Bil	1.0 mg/dl	General bacteria normal flore	
GOT	20 IU/l	Acid-fast bacilli	smear Gaffky 1
GPT	12 IU/l		culture positive at 16 weeks
LDH	465 IU/l		PCR MT*
Alp	239 IU/l	Cytology	
ChE	120 IU/l		class I
BUN	11 mg/dl	Anti-HIV antibody	negative
Cr	0.5 mg/dl	Anti-TBGL antibody	0.9 U/ml (cut off index<2.0 U/ml)
Na	133 mEq/l	β -D-glucan	3 pg/ml
K	2.9 mEq/l		
Cl	95 mEq/l		
FBS	130 mg/dl		
GlyHbA1c	6.60 %		

**Mycobacterium tuberculosis*

囲にリンパ球の浸潤を認めた。加えて右肺尖部の石灰化(均一紫色の索状物質)や胸膜の肥厚・縦隔リンパ節の炭粉沈着の所見は、陳旧性肺結核の存在を強く裏付ける所見であった。

髄液中の菌の証明：剖検時に採取した髄液から結核菌を証明 (Fig. 5) したが喀痰と同様培養陽性まで14週間を要した。

考 察

症例は、当院入院後、急激な経過で悪化し死亡に至り、剖検の結果、多臓器におよぶ粟粒結核症と診断された。われわれの施設では結核菌検査で塗抹あるいはPCR

Table 2 Cerebrospinal fluid data

appearance	yellow, clear
pressure	180 mmH ₂ O
cells	35:5 (mono:poly) / μ l
protein	259 mg/dl
glucose	62 mg/dl (FBS; 151 mg/dl)
Cl	107 mEq/l
Pandy	2+
Tryptophan	positive
Fibrin	-
General bacteria	normal flore
Acid-fast bacilli	
smear	negative
PCR	negative
Cytology	class I

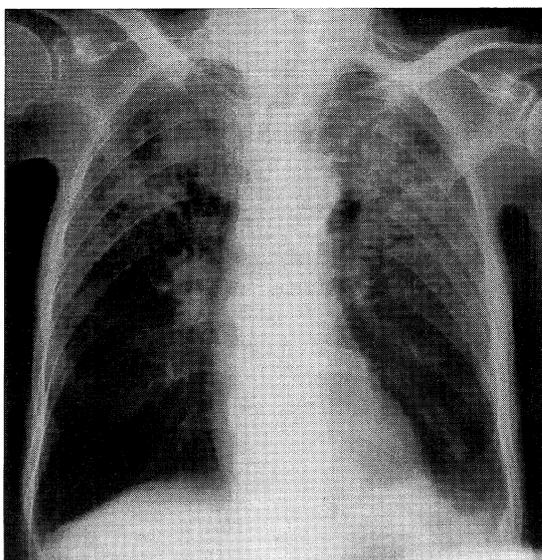


Fig. 1 X-ray film of chest, showing unclear edged small nodular shadow on bilateral upper lobes

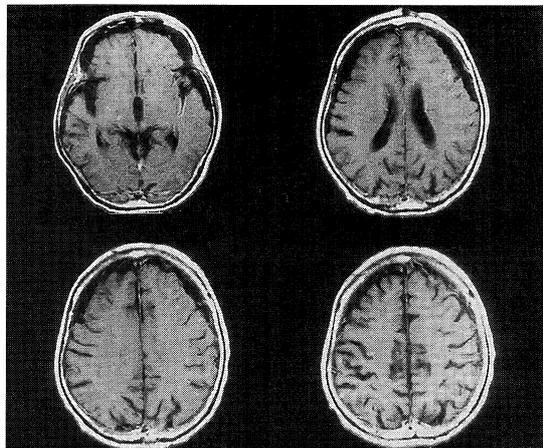


Fig. 3 MRI of the head, showing round enhancing lesions on cortex of bilateral anterior and temporal area

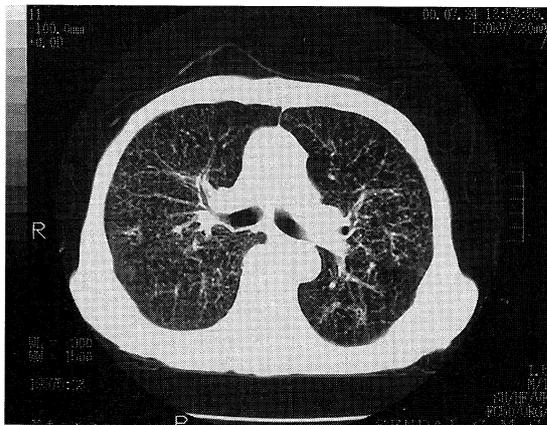


Fig. 2 CT scan of the chest, showing numerous and disseminated nodules in whole lung

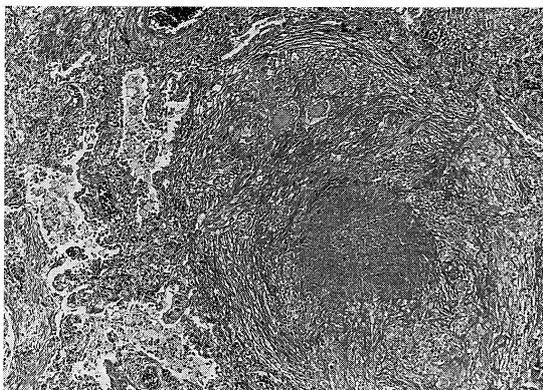


Fig. 4 Specimen from lung granuloma, showing a granuloma with giant cells (Hematoxylin and Eosin. X100)

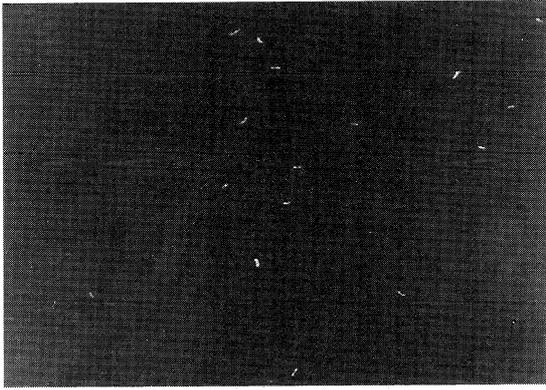


Fig. 5 MTB in CSF, obtained after centrifugation at 3000 rpm for 15 min (Auramine-Rhodamine. ×400)

が陽性になった場合は早期に培養を中断せず約半年間は小川培地にて培養（初代分離）を続けて菌の増殖の有無を確かめている。ほとんどのケースでは培養開始後2～4週間の時期に陽性となるが本症例から検出された菌は、可視的コロニー形成まで14週を要し非常に発育の遅い菌であった。当院入院後の喀痰採取時期は抗結核剤開始前であり、試験管内での結核菌増殖速度に抗結核剤の影響は関与していない。剖検時に採取した髄液検体も慎重に観察した結果、培養開始後14週目に陽性となった。宿主内での結核菌の増殖速度の測定は困難であるが、本症例においては、発症後急速に進行し、2カ月で死亡し、全身に播種性の肉芽腫を生じた点より、生体内での菌の増殖速度は極めて速かったと思われる。しかしながら試験管内での増殖速度が遅いことが今回の症例における菌の特徴であった。その理由としては、喀痰塗抹のGaffky号数が低く、増殖開始時の細菌数が少ないことも否定はできない。しかし髄液由来菌においても培養速度は低く、原因菌の特徴と思われる。一般的には *in vivo* での増殖速度は、*in vitro* 内に比し様々な影響を受ける¹⁾。代表的な例としてアメリカ南部で大流行した結核菌臨床株 CDC1551²⁾を別の臨床株 HN60, HN878ならびに実験室株 H37Rv, Erdman と、増殖速度および宿主側の免疫応答について比較した実験³⁾では、感染初期(1～14日)の増殖速度は CDC1551, HN60, HN878, H37Rv においてほぼ差が無かったものの、その後は CDC1551の増殖速度が他の菌株に比較して明らかに遅くなり、CDC1551感染マウス群が他の感染マウス群に比べ明らかに長い生存率を示した。その理由として CDC1551が他の菌株に比較し宿主側の免疫応答を、より速く強力に導き出すことが明らかとなった。感染当初、増殖速度の速い菌が宿主側の免疫応答の作用によって増殖速度が遅くなったと考えられる。

本症例の生体内での抗結核免疫能として、細胞性免疫の指標であるツベルクリン反応が陽性であり、また、各臓器の組織学的所見でも類上皮細胞肉芽腫の形成が多数認められ、細胞性免疫の大きな異常はなかったと推察される。液性免疫として、結核菌の壁成分である cord factor をその抗原成分の一部に含む抗 TBGL 抗体を測定した。液性免疫の指標である免疫グロブリン (IgG, IgA, IgM) 値は正常範囲内であったが、抗 TBGL 抗体は認められなかったことより結核菌に対する液性免疫の部分的な低下を示唆している。本患者が、糖尿病に罹患し、さらに高齢であったことによる可能性もある。

一方で、宿主内での結核菌の増殖に関連する因子として *erp* 遺伝子が報告されている⁴⁾。*erp* 遺伝子は mycobacterial protein である exported repetitive protein (ERP) を encode している遺伝子として名づけられたが、ERP はファゴゾームの再構築に関与しており、*erp* 遺伝子が変異している BCG 菌をマウスに感染させた場合、菌は速やかに排除されその増殖速度は非常に緩やかである。また、本症例では剖検の結果、多臓器に結核結節の存在が認められたが、肺外結核をもたらず結核菌側の要因として、最近 Pethe らは結核菌から発現される heparin-binding hemagglutinin (HBHA) 因子を報告した⁵⁾。通常、結核菌は macrophage によって取り込まれ phagosome 内で生存し続けるが HBHA の存在下では上皮細胞（特にⅡ型肺上皮細胞）内への結核菌の接着・侵入を許し、肺外結核症の発症に深く関与しているとされている。今後、本症例の結核菌においても *erp* 遺伝子や HBHA 因子などの遺伝子学的検討もし、*in vivo* と *in vitro* の増殖速度の乖離の原因を明らかにしていく必要があると考えられる。

今回の症例は剖検の結果、多臓器に肉芽腫の形成が認められ粟粒結核症と診断されたが、その菌の特徴として培養で肉眼的に可視的コロニーを形成するまでに長期間を要した興味深い1例として報告した。

謝 辞

本症例の治療にあたり、助言をいただきました東北大学神経内科糸山泰人、津田丈秀両先生に厚く感謝致します。

文 献

- 1) Richard Novick: Mycobacteria: Growth, Metabolism, and Molecular Biology. In: Tuberculosis. Rom WN and Garay S ed., Little Brown Company, Boston, 1996, 187-198.
- 2) Valway SE, Sanchez MRN, Shinnick TF, et al.: An outbreak involving extensive transmission of a virulent strain of *Mycobacterium tuberculosis*. N engl J Med. 1998; 338: 633-639.

- 3) Manca C, Tsenova L, Barry III CE, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551 induces a more vigorous host response *in vivo* and *in vitro*, but is not more virulent than other clinical isolates. *J Immunool.* 1999 ; 162 : 6740–6746.
- 4) Berthet FX, Lagranderie M, Gounon P, et al.: Attenuation of virulence by disruption of the *Mycobacterium tuberculosis* *erp* gene. *Science.* 1998 ; 282 : 759–762.
- 5) Pethe K, Alonso S, Biet F, et al.: The heparin-binding haemagglutinin of *M. Tuberculosis* is required for extra-pulmonary dissemination. *Nature.* 2001 ; 412 : 190–194.

————— Case Report —————

A CASE OF DISSEMINATED TUBERCULOSIS REQUIRING EXTENDED PERIOD FOR THE IDENTIFICATION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ON CULTURE

¹Junko ASHINO, ¹Isao OHNO, ¹Shinji OKADA, ¹Yuji NISHIMAKI, ²Yoshihiko SAITO,
³Mareyuki ENDO, ²Mitsuo KAKU, ³Hironobu SASANO, and ¹Toshio HATTORI

Abstract A 80-year-old male visited an outpatient department of a nearby hospital complaining of fever, cough, and poor appetite on June 2000. The patient was diagnosed as bacterial pneumonia and was treated with antibiotics although specific cause could not be identified. After one month, he was hospitalized due to lack of improvement. After admission, acid-fast bacilli (AFB) was found from the bronchial washing. The patient was then transferred to our hospital. Upon admission, sputum smear examination was positive for AFB and MTB was confirmed by PCR. Therapy was initiated with INH 300 mg, RFP 450 mg, EB 1000 mg, and PZA 1000 mg, orally daily. However, on the day following the admission, he became unconscious. Brain MRI showed several small granulomas on the cortex of the bilateral anterior and temporal brain. Although AFB was not detected from the cerebrospinal fluid, tuberculous meningitis was suspected and steroid was given. Nine days after admission, the patient died due to tuberculous meningitis. The isolation of MTB had been attempted on Ogawa culture medium using patient's sputum

and liquor, and it took 14 weeks to find colony growth both from sputum and liquor. In the autopsy, numerous granulomas were detected in his lung, liver, kidney, and pancreas. These findings indicate that disseminated growth of MTB occurred *in vivo* in spite of very slow growth of MTB *in vitro*.

Key words: Miliary tuberculosis, Tuberculous meningitis, Virulence, Culture, Anti TBGL (tuberculous glycolipid) antibody

¹Department of Respiratory & Infection Diseases, ²Clinical Laboratory, ³Pathology Laboratory, Tohoku University Hospital

Correspondence to : Junko Ashino, Department of Respiratory & Infection Diseases, Tohoku University Hospital, 1-1, Seiryō-cho, Aoba-ku, Sendai-shi, Miyagi 980-8574 Japan. (E-mail : ashino@intl.med.tohoku.ac.jp)