

Mycobacterium avium tandem repeat loci variable-number tandem-repeat (MATR-VNTR) 型別解析法により浴室からの環境感染が示唆された肺 MAC 症の 1 例

¹多賀 収 ^{2,3}新美 政樹 ^{2,3}黒河 和広 ^{3,4}中川 拓
^{3,4}小川 賢二

要旨：症例は63歳女性。2010年9月の住民健診胸部X線異常陰影にて来院，無症状。胸部CTでは中葉舌区主体の浸潤影と気管支拡張像を認め，喀痰と気管支肺胞洗浄液から*Mycobacterium avium*が培養・同定され，肺MAC症と診断した。MACの環境感染経路の一つを解明するため患者の自宅浴室を調査したところ，*M. avium*（浴槽にて），*M. gordonae*（シャワー蛇口にて）が培養された。*hsp65*遺伝子および遺伝子挿入配列を用いた菌種・亜種同定により*M. avium*臨床株はすべて*M. avium* subsp. *hominissuis*であった。また，*Mycobacterium avium* tandem repeat loci variable-number tandem-repeat (MATR-VNTR) 型別解析による系統樹から，多クローン性に浴槽に定着した*M. avium*環境由来株は5種類の遺伝子タイプの異なる*M. avium*に分類され，そのうちの1種類と患者由来株が一致した。結論として，本症例の自宅浴室は*M. avium*環境感染の感染源であることが示唆され，従来の報告に矛盾しない結果であった。

キーワード：*Mycobacterium avium* tandem repeat loci variable-number tandem-repeat (MATR-VNTR) 型別解析法，MAC (*Mycobacterium avium* complex)，環境感染，浴室，浴槽

はじめに

MAC (*Mycobacterium avium* complex) はヒトからヒトへ直接感染した事例は確認されていないため，環境から感染すると考えられている。近年，MACの感染源・感染経路の一つとして浴室が有力視されており，MACが健常人浴室に比べ患者浴室から有意に高頻度に分離されること，特に浴槽内出水口から多クローン性に分離されること，さらに pulsed field gel electrophoresis (PFGE)，restricted fragment length polymorphism (RFLP) 法によって浴室分離株と喀痰分離株の遺伝子型に相同性を認めたことが報告されている¹⁾²⁾。しかし感染源・感染経路に関する報告は限られており^{1)~5)}，今後解明すべき問題も多い。

今回われわれは，肺MAC症患者の喀痰と浴室から得た

M. avium 菌株に対し，*Mycobacterium avium* tandem repeat loci variable-number tandem-repeat (MATR-VNTR) 型別解析法を用いて遺伝子タイピングし，従来の報告と同様に浴室からの環境感染が示唆された肺MAC症の1例を経験したので，ここに報告する。

症 例

症 例：63歳，女性。

主 訴：住民健診胸部異常陰影。

既往歴：高血圧症，高脂血症，多発ラクナ梗塞。

家族歴：特記すべきものなし。

生活歴：60歳まで競輪場チケット販売に従事。喫煙歴・飲酒歴なし。ペットなし。住宅は築36年木造。52歳頃に浴室のリフォームを行い，全自動給湯器や浴槽出水口に循環アダプターが装着された。風呂掃除は主に患者

¹総合大雄会病院呼吸器内科，²名城大学薬学部微生物学研究室，³国立病院機構東名古屋病院臨床研究部，⁴同呼吸器科

連絡先：多賀 収，総合大雄会病院呼吸器内科，〒491-8551 愛知県一宮市桜1-9-9 (E-mail: shu-tagata@umin.org)
(Received 2 Sep. 2011/Accepted 21 Jan. 2012)

自身が行っていたが、アダプターを外して浴槽出水口を掃除することはなかった。

現病歴：2010年秋の住民健診胸部異常陰影にて2010年9月下旬に初診。なお、同年8月頃にわずかに咳を認めていたが、来院時は無症状であった。

現 症：意識清明。身長149 cm、体重49 kg。体温35.6℃、脈拍63/分整、血圧153/100 mmHg、SpO₂ 98%（室内気）。胸部聴診では右下肺野にわずかにラ音を聴取、心雑音なし。その他特記すべき身体所見を認めなかった。

胸部画像所見 (Fig. 1, 2)：胸部X線では右下肺野に粒状影、左下肺野の心陰影に接する浸潤影を認めた。胸部CTでは中葉舌区、一部両下葉胸膜直下に浸潤影を認



Fig. 1 Chest radiograph showing nodular opacities in the right lower lung field, and infiltrations in the left lower lung field

め、中葉舌区にわずかに気管支拡張所見を認めた。

検査所見 (Table)：血算、生化学、血液ガス、肺機能検査、6分間歩行試験などでは異常所見を認めなかったが、KL-6とSP-Dが軽度上昇していた。来院時の喀痰検査では *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) 1+、抗酸菌塗抹2+ (Ziehl-Neelsen染色)、MAC-PCRにて *M. avium* (+)

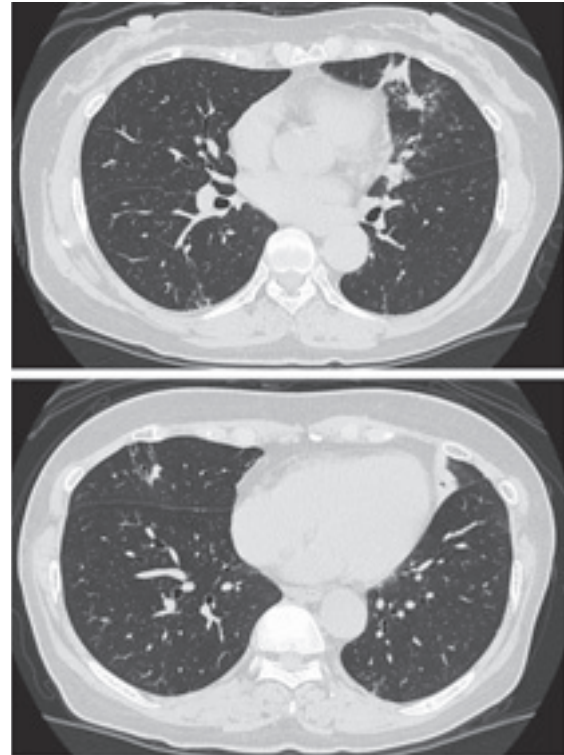


Fig. 2 Chest computed tomography showing patchy infiltrations with bronchiectasis in bilateral lungs

Table Laboratory findings

Hematology		Chemistry		Pulmonary function	
WBC	4920 /mm ³	TP	8.2 g/dl	VC	3.02L, 132.5%
Neu	65.1 %	Alb	4.7 mg/dl	FVC	3.11L, 136.4%
Lym	25.2 %	T-Bil	0.6 mg/dl	FEV ₁	2.44L, 142.7%
Eos	2.2 %	AST	40 IU/l	FEV ₁ %	78.46%
Baso	0.6 %	ALT	20 IU/l	DLco	112.3%
Mono	6.9 %	LDH	226 IU/l	6-minute walking test	
RBC	468×10 ⁴ /mm ³	BUN	13 mg/dl	Distance	489 m
Hb	14.7 g/dl	Cre	0.65 mg/dl	Minimum SpO ₂	94%
Ht	41.7 %	Na	141 mEq/l	Maximum HR	132 bpm
Plt	22.9×10 ⁴ /mm ³	K	4.2 mEq/l	Sputum examination	
BGA-A (room air)		Cl	105 mEq/l	<i>S. pneumoniae</i> (1+)	
pH	7.407	Serology		Cytology negative	
PaCO ₂	40.2 torr	CRP	0.09 mg/dl	Acid fast bacilli (2+)	
PaO ₂	81.7 torr	Tumor marker	negative	Tb-PCR (-)	
HCO ₃ ⁻	24.8 mmol/l	CTD* marker	negative	MAC-PCR (+), <i>M. avium</i>	
BE	0.7 mmol/l	KL-6	690 U/ml		
		SP-D	267 ng/ml		

*CTD means connective tissue disease.

を認めた。

気管支鏡：気管支肺胞洗浄を左B⁴にて施行し、回収62/150 ml、淡黄色やや混濁、総細胞数 $11.8 \times 10^5/\mu\text{L}$ と増加し、好中球(42.4%)、リンパ球(41.8%)分画の高値を認めた。また*S.pneumoniae*(PRSP)1+、抗酸菌塗抹1+(Ziehl-Neelsen染色)、MAC-PCRにて*M.avium*(+)を認めた。同部位で行った経気管支肺生検では、類上皮細胞性肉芽腫は確認されなかったが、わずかに巨細胞とリンパ球浸潤が確認された。

診断・治療：その後喀痰・気管支肺胞洗浄液から*M.avium*が培養(2%小川培地、喀痰：4週20コロニー、気管支肺胞洗浄液：4週10コロニー)・同定(抗酸菌群核酸同定精密検査)され、肺MAC症と確定診断した。診断後ただちにRifampicin 450 mg, Ethambutol 750 mg, Clarithromycin 800 mg, およびSitafloxacin 100 mg/dにて治療を開始し、治療開始6カ月の時点で画像所見の改善、排菌陰性化が得られた。

環境調査：MAC環境感染の感染源・感染経路を解明するために、患者・家族の同意を得て、2010年10月下旬に自宅訪問し、浴室(浴槽出水口の循環アダプター、浴槽へお湯を注ぐ蛇口、シャワーヘッド、シャワー蛇口、の計4カ所)からシードスワブを用いて検体を採取した。なお、今回は感染源の一つとして有力視されている浴室を重点的に調査することとし、他の水回りの調査は見合わせた。4カ所から得た検体のうち、浴槽出水口の循環アダプターから*M.avium*(2%小川培地、8週10コロニー)、シャワー蛇口から*M.gordonae*(2%小川培地、8週5コロニー)が培養・同定された。

菌種・亜種の同定およびMATR-VNTR型別解析法：

(1) 使用菌株

本症例の浴槽出水口の循環アダプターから得られた環境由来10株(E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10：Eは環境由来株を指す)、痰から得られた患者由来2株(L1, L2：Lは患者由来株を指す)を解析した。*M.avium*基準株として、*M.avium* subsp. *avium* GTC 00603(ATCC25291)、*M.avium* subsp. *hominissuis*(ATCC19978)の2株を用いた。

(2) 方法

DNA抽出：菌はMGITを用いて培養した。MGITからMyco Brothに継代培養し、吸光度(530 nm)が0.2になるまで培養を行った。滅菌蒸留水1 mLを1.5 mLのエッペンドルフチューブに分注し、培養菌液100 μL を入れ、12000 rpm、1分間の遠心分離後、上清を捨て、200 μL のINSTAGENE MATRIXを加え、ボルテックスにて均一の菌浮遊液を作成した。56℃の温浴にて20分間保温し、ヒーティングブロックにて100℃、8分間の処理を行い、DNA抽出を行った。

菌種の同定：*heat shock protein 65*-PCR Restriction enzyme Analysis (*hsp 65*-PRA法)⁶⁾を用いた。2 μL のDNAテンプレートに10x buffer 5 μL 、2 mM dNTP mix 5 μL 、AmpliTaq GOLD DNA polymerase (5 U/ μL) 0.5 μL 、Dimethyl sulfoxide 1 μL 、25 μM のプライマー(F：5'-ACCAACGATGGTGTGTCCAT-3'、R：5'-CTTGTGCAACCGCATA CCCT-3')を各1 μL それぞれ加え、滅菌精製水で全量50 μL とした。95℃10分のプレヒーティング後、94℃45秒、60℃45秒、72℃1分の増幅サイクルを45回実行し、最後に72℃7分間の伸長反応を行った。得られたPCR産物10 μL を*BstE* IIまたは*Hae* IIIでDNAを断片化し、その後4%アガロースゲルで泳動し、DNAフラグメントの解析を行った。

亜種の同定：*BamH* Iにおける亜種同定では2 μL のDNAテンプレートに10x buffer 5 μL 、2 mM dNTP mix 5 μL 、AmpliTaq GOLD DNA polymerase (5 U/ μL) 0.5 μL 、Dimethylsulfoxide 2 μL 、25 μM のプライマー(F：5'-AATCGCGTACGACGAAGAGG-3'、R：5'-ACGGACTCAGAA GTCCATGC-3')を各1 μL それぞれ加え、滅菌精製水で全量50 μL とした。95℃10分のプレヒーティング後、94℃1分20秒、60℃2分、72℃1分5秒の増幅サイクルを35回実行し、最後に72℃7分間の伸長反応を行った。得られたPCR産物10 μL を*BamH* IでDNAを断片化し、その後2%アガロースゲルで泳動し、DNAフラグメントの解析を行った。また、亜種*paratuberculosis*と亜種*hominissuis*を分離するためにIS900の保有の有無をPCR法を用いて検討した。方法は下記に示すMATR-VNTR型別解析法と同じ条件で行った⁷⁾。プライマーはInagakiら⁷⁾の方法に従いMATR-0を用いた。

遺伝子タイピング法：Inagakiらが報告したMATR-VNTR型別解析法⁷⁾に従い、15種のプライマーを用いて行った。2 μL のDNAテンプレートに10x PCR buffer 5 μL 、2 mM dNTP mix 5 μL 、AmpliTaq GOLD DNA Polymerase (5 U/ μL) 0.5 μL 、25 μM のプライマーを各1 μL 加え、全量50 μL になるように滅菌精製水で調節した。95℃10分間のプレヒーティング後、98℃10秒、68℃30秒、72℃1分の増幅サイクルを38回実行し、最後に72℃7分間の伸長反応を行った。得られたアレルプロファイルを基に、Microsoft Excelマクロプログラムにより距離行列を算出し、系統樹をPHILIP (<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>)を用いてFitch-Margoliash法にて推定した。推定された系統樹データをFigtree v.1.3.1で描画した。

(3) 結果

環境由来10株と患者由来2株の菌種を同定した結果、これら12株はすべて*M.avium*と判明した。また、IS900の保有の有無を検討した結果、環境菌はIS900を保有し

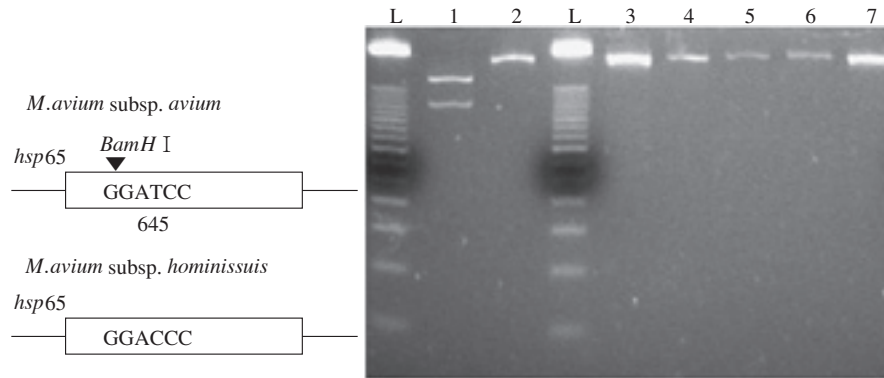


Fig. 3 Analysis of *M. avium* *hsp65* variants digested with *BamH* I.

Lane L, molecular weight ladder; lane 1, *M. avium* subsp. *avium* (GTC00603); lane 2, *BamH* I digests of *M. avium* subsp. *hominissuis* (ATCC19978); lane 3, *BamH* I digests of E1, E2, E3, E4, E6-1, E7-1, E8-2; lane 4, *BamH* I digests of E5, E8-1; lane 5, *BamH* I digests of E6-2; lane 6, *BamH* I digests of E7-2; lane 7, *BamH* I digests of E9, L1, L2.

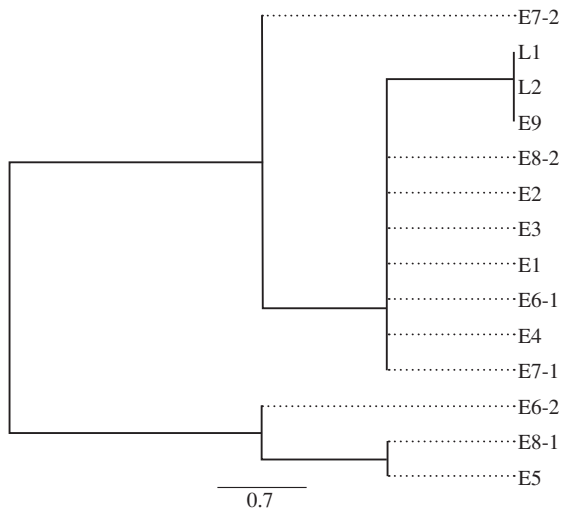


Fig. 4 Fourteen loci *Mycobacterium avium* tandem repeat loci variable-number tandem-repeat (MATR-VNTR) analysis dendrogram. It shows not only E5, E8-1, E1, E2, E3, E4, E6-1, E7-1, E8-2 but also E9, L1, L2 were syngeneic. E means Environment (*M. avium* isolated from the patient's bathroom), L means Lung (*M. avium* isolated from the patient's sputum).

ていなかったため、亜種 *paratuberculosis* ではないことが判明し、さらに *BamH* I における亜種同定の結果から、これら12株はすべて亜種 *hominissuis* と判明した (Fig. 3)。

環境由来10株と患者由来2株に対しMATR-VNTR型別解析法を行った結果、E6, E7, E8は多クローン性であったため分離培養を行い再度型別解析を行ったところ、E6-1, E6-2, E7-1, E7-2, E8-1, E8-2に分離された。また、VNTR-9については、増幅が認められなかった菌が多いため系統樹解析から除外し、E10に関しては、VNTR-14, 16で増幅が認められなかったため系統樹解析から除外した。従って、環境由来12株 (E1, E2, E3, E4, E5, E6-1, E6-2, E7-1, E7-2, E8-1, E8-2, E9)、患者由来2株 (L1,

L2) についてアリルプロファイルを基に系統樹を作成した結果、環境由来12株は5種類の遺伝子タイプの異なる菌に分類され、そのうちの1種類 (E9) と患者由来2株 (L1, L2) の遺伝子タイプが一致した (Fig. 4)。

考 察

非結核性抗酸菌は結核菌群、らい菌、ヨーネ菌を除くミコバクテリウム属菌の総称であり、世界中の環境 (土壌、河川水、海水、室内塵埃など) に広く分布している。ヒトおよび動物の非結核性抗酸菌症 (NTM: Non Tuberculous Mycobacteriosis) の主要な病原菌はMACである。MACは *M. avium* と *M. intracellulare* からなり、*M. avium* は4つの亜種、すなわち亜種 *avium* (トリ型)、亜種 *hominissuis* (ヒト・ブタ型)、亜種 *silvaticum* (トリ型) と亜種 *paratuberculosis* (ウシ型) に分類されている。

動物においてMACは結核様の感染を引き起こす。鳥において、亜種 *avium* と亜種 *silvaticum* は遺伝子挿入配列 IS901 と IS1245 を保有し強い病原性を有する。亜種 *hominissuis* は IS901 を保有しないが IS1245 は保有し病原性は弱く環境から多く分離され、亜種 *paratuberculosis* は IS900 を保有し反芻獣に重度の腸炎を起こす。鳥以外にも、豚や犬、牛、山羊などにもNTMが報告されている。家畜の敷床として使用されているオガクズ、そこに生息する昆虫・ミミズの体表および消化管内容、さらに飼料添加剤として給餌された泥炭、などが動物のNTMの主要な感染源と考えられている⁸⁾。

一方、ヒトにおいて、MACは日和見感染を起こすのみと考えられており、結核菌群にみられるような、ヒトからヒト、動物からヒト、あるいはヒトから動物への感染の伝播は現在まで確認されていない。そのため環境から感染すると考えられているが、近年、MACの感染源・感染経路に関し浴室との関係が指摘されている。わが国

では敗戦後、生活様式が洋式化し、アメリカからユニットバス形式の浴室の輸入やシャワーの普及も関連して入浴行動が変化した。銭湯などの公衆浴場の利用が減少し、内風呂の普及から手軽に毎日入浴できるようになり、残り湯は洗濯家事に使われてきた。このような入浴行動の変化とわが国の肺MAC症増加は関連している可能性がある。しかしながらアメリカにおいてMACの罹患率がわが国のように高いわけではないので、MACの感染性に関し人種的な問題があるのかもしれない。西内らは健常人43人、患者49人の家庭内MAC分布を検討し、MAC以外の抗酸菌が家庭の水回りに満遍なく分布していたの 비해、MACは浴室からのみ分離したことや、健常人浴室より患者浴室から有意に高頻度に分離したこと、さらにMACを分離した患者浴室8例中2例の浴室分離株はPFGEおよびRFLP法で喀痰分離株と相同であったことを報告した¹⁾。さらに西内らはMAC患者浴室90室の調査において、28の浴室からMACを分離し、最も高頻度に分離した場所は浴槽出水口であったこと、また8株において多クローン性を示したこと、さらにPFGE法にて9株に喀痰分離株の遺伝子型と相同性を認めたことも報告した²⁾。これらに対し常松らは*M. avium*と*M. intracellulare*との複合感染症例において、患者宅の風呂場からは*M. avium*は検出されず、感染源は特定できなかったと報告した³⁾。

今回われわれは、MAC環境感染の感染源・感染経路を解明するために、西内らの報告¹⁾を踏まえ、浴室の4カ所（浴槽出水口の循環アダプター、浴槽へお湯を注ぐ蛇口、シャワーヘッド、シャワー蛇口）のみにおいて環境調査を行った。その結果、浴槽出水口の循環アダプターから得られた環境由来株および痰から得られた患者由来株はすべて*M. avium* subsp. *hominissuis*と判明し、またMATR-VNTR型別解析法により多クローン性に存在した*M. avium*環境由来株は遺伝子タイプが異なる5種類の菌に分類され、その1種類と患者由来株が一致し、これらの菌は遺伝子的に同一菌であると考えられた。これらからMACの浴室からの環境感染が従来の報告と同様に示唆されたと考えたが、1症例の解析かつ浴室の1回みの調査であったため、従来の報告同様、患者から浴室に菌が移った可能性が否定できていないという問題点が未解決である。この点に関し、西内らは患者喀痰分離株と異なる遺伝子型の*M. avium*が浴室内に多く認められた点に注目し、浴室が感染源であるとの考えを示した¹⁾²⁾。本症例においてはMATR-VNTR型別解析法によって西内らと同様の結果が示され、また浴室の*M. avium*が多クローン性に存在したことから、われわれも患者から浴室に菌が移ったのではなく浴室から患者に菌が移ったものと考えている。今回の研究から改めて提起されたこの問

題点を解明するために、*M. avium*のみならず*M. intracellulare*が培養・同定された未治療患者の痰・浴室の検体を定期的に採取し、分離した両菌の遺伝子をVNTR型別解析法を用いて解析し、さらに病勢や治療反応性などの病態に菌の遺伝子タイプがどのように関連しているのかを解析することも含めた前向き臨床研究を検討中である。この研究によって環境由来株と患者由来株の相同性・相違性を解明し、MACの感染源・感染経路のみならず、浴室を介した再燃・再感染の問題をも解明していきたいと考えている、なお、本症例では浴室から菌が証明されたのち浴室のリフォームが施行されたが、その半年後、患者の排菌停止中での浴室の同一部位における検体採取では*M. gordonae*（シャワー蛇口）のみ再び培養・同定され、*M. avium*は培養されなかった。本症例の環境由来株と患者由来株も、経時的に解析していく予定である。

謝辞：本研究にご協力・ご指導をいただきました名古屋大学医学部附属病院中央感染症制御部の八木哲也先生、名古屋大学医学部附属病院薬剤部の市川和哉先生、高山赤十字病院薬剤部の稲垣孝行先生、国立病院機構東名古屋病院呼吸器科の林悠太先生、そして総合大雄会病院呼吸器内科の中村さつき先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Nishiuchi Y, Maekura R, Kitada S, et al.: The recovery of *Mycobacterium avium* complex (MAC) from pulmonary MAC patients' residential bathrooms. *Clin Inf Dis*. 2007 ; 45 : 347-351.
- 2) Nishiuchi Y, Tamaru A, Kitada S, et al.: *Mycobacterium avium* complex organisms predominantly colonize in the bathtub inlets of patients' bathrooms. *Jpn J Infect Dis*. 2009 ; 62 : 182-186.
- 3) Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, et al.: An official ATS/IDSA statement: Diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 ; 175 : 367-416.
- 4) von Reyn CF, Maslow JN, Barber TW, et al.: Persistent colonization of potable water as a source of *Mycobacterium avium* infection in AIDS. *Lancet*. 1994 ; 343 : 1137-1141.
- 5) Angenent LT, Kelley ST, Amand A, et al.: Molecular identification of potential pathogens in water and air of a hospital therapy pool. *Proc Nat Acad Sci*. 2005 ; 102 : 4860-4865.
- 6) Smole SC, McAleese F, Ngampasutadol J, et al.: Clinical and epidemiological correlates of genotypes within the *Mycobacterium avium* complex defined by restriction and sequence analysis of *hsp65*. *J Clin Microbiol*. 2002 ; 40 : 3374-3380.
- 7) Inagaki T, Nishimori K, Yagi T, et al.: Comparison of a variable-number tandem-repeat (VNTR) method for typing *Mycobacterium avium* with mycobacterial interspersed

- repetitive-unit-VNTR and IS1245 restriction fragment length polymorphism typing. J Clin Microbiol. 2009 ; 47 : 2156–2164.
- 8) 森田幸雄, 藤田雅弘, 丸山総一: 非定型抗酸菌と非定型抗酸菌症. モダンメディア. 2006 ; 52 : 57–66.

- 9) 常松範子, 後藤美江子, 斉木由美子, 他: VNTR法の解析により確認された*Mycobacterium avium*と*Mycobacterium intracellulare*との複合感染の1例. 結核. 2008 ; 83 : 629–633.

————— Case Report —————

A CASE OF ENVIRONMENTAL INFECTION
WITH PULMONARY *MYCOBACTERIUM AVIUM* COMPLEX DISEASE
FROM A RESIDENTIAL BATHROOM OF A PATIENT
SUGGESTED BY VARIABLE-NUMBER TANDEM-REPEAT TYPING OF
MYCOBACTERIUM AVIUM TANDEM REPEAT LOCI

¹Shu TAGA, ^{2,3}Masaki NIIMI, ^{2,3}Kazuhiro KUROKAWA, ^{3,4}Taku NAKAGAWA,
and ^{3,4}Kenji OGAWA

Abstract A 63-year-old woman was referred to our hospital because of bilateral infiltrations and nodular opacities in her chest radiograph taken in the mass radiography screening in September 2010. The chest computed tomography showed patchy infiltrations with bronchiectasis in the lower lung fields on both sides. She was diagnosed with pulmonary *Mycobacterium avium* complex (MAC) disease based on the bacteria recovered from the sputum and the bronchoalveolar lavage fluid. To elucidate an environmental MAC source, we investigated her home, and isolated *M. avium* and *M. gordonae* from the bathtub and shower tap, respectively, in her residential bathroom. Analysis of the *hsp65*-PRA variants digested with *Bam*HI and some insertion sequences showed that the clinical strains recovered from sputum and strains from the bathtub were *M. avium* subsp. *hominissuis*. A dendrogram of the *Mycobacterium avium* tandem repeat loci variable-number tandem-repeat (MATR-VNTR) analysis of the MAC strains showed that the bathtub strains formed a polyclonal colonization, and that 1 of the 5 MATR-VNTR patterns was identical to the corresponding pattern of the sputum strain from the patient. In

conclusion, we believe that the residential bathroom of the patient was the environmental source of her pulmonary MAC disease, as has been previously reported.

Key words: *Mycobacterium avium* tandem repeat loci variable-number tandem-repeat (MATR-VNTR) typing method, *Mycobacterium avium* complex (MAC), Environmental infection, Residential bathroom, Bathtub

¹Department of Respiratory Medicine, Daiyukai General Hospital, ²Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Meijo University, ³Department of Clinical Research, and ⁴Department of Pulmonary Medicine, National Hospital Organization Higashinagoya National Hospital

Correspondence to: Shu Taga, Department of Respiratory Medicine, Daiyukai General Hospital, 1–9–9, Sakura, Ichinomiya-shi, Aichi 491–8551 Japan.
(E-mail: shu-taga@umin.org)