

気管支洗浄液の遺伝子検査が迅速診断に有用であった肺カンサシ症の1例

¹森 雅秀 ¹揚塩 文崇 ¹香川 浩之 ¹押谷 洋平
¹藤川 健弥 ²斎藤 晴子 ²佐子 肇 ¹矢野 幸洋
¹北田 清悟 ¹前倉 亮治

要旨：症例は59歳男性。近医で慢性閉塞性肺疾患，気管支喘息で加療中，検診で胸部異常陰影を指摘された。胸部X線写真では右上肺野に結節陰影2カ所，胸部CTでは右上葉に長径29 mmと10 mmの結節を認めた。経気管支肺生検組織で肉芽腫形成性疾患が疑われたが，気管支洗浄液では抗酸菌塗抹陰性，結核菌と*Mycobacterium avium complex* (MAC) の遺伝子検査 (transcription reverse transcription concerted reaction: TRC法) も陰性であった。検査3日後に遺伝子検査 (TRC法) で*Mycobacterium kansasii*が陽性と判明し，肺カンサシ症と診断した。約2週間後には培養陽性となり，DNAプローブ法で再確認した。isoniazid, rifampicin, ethambutolによる3剤治療を行い軽快した。カンサシ症はわが国では非結核性抗酸菌症の中でMAC症に次いで症例が多く，また結核との鑑別がしばしば問題となる。*kansasii*-TRC法は迅速な診断が可能で，抗酸菌感染症の実地診療において有用な検査法である。

キーワード：非結核性抗酸菌，*M.kansasii*，TRC法，気管支洗浄，結節陰影

はじめに

肺抗酸菌症の診断には，結核菌*Mycobacterium tuberculosis* (TB)と*Mycobacterium avium complex* (MAC)の遺伝子検査がきわめて有用である¹⁾²⁾が，MAC菌以外の非結核性抗酸菌 (Nontuberculous mycobacteria: NTM)では菌種同定のために培養検査の結果を待たなくてはならない。なかでも，頻度がMACに次ぐ肺カンサシ症では病状が結核に類似することが多く^{3)~5)}，結核菌の遺伝子検査が陰性の場合には患者対応に苦慮することが多い。

今回，われわれは孤立結節陰影に対し，経気管支肺生検組織像で抗酸菌感染症が疑われ，気管支洗浄液の遺伝子検査で*M.kansasii*と同定して早期に治療を開始できた症例を経験したので報告する。

症 例

患 者：59歳，男性。

主 訴：労作時息切れ。

既往歴：13歳時から気管支喘息。34歳時，右自然気胸。

家族歴：特記事項なし。

喫煙歴：1日20本×40年 (20~59歳)。

現病歴：近医で慢性閉塞性肺疾患，気管支喘息の治療を受けていた。X年4月の検診で胸部異常陰影を指摘されたため，5月下旬に当院へ紹介され検査入院となった。

入院時現症：身長165.3 cm，体重44.2 kg，体温36.6度，SpO₂ 96% (室内気)，心拍数90/分，血圧111/68 mmHg。胸部では心音異常なし，異常呼吸音は聴取せず。腹部異常所見なし。

入院時検査所見 (Table)：WBC 9110/ μ L，CRP <0.10 mg/dL，ESR 11 mm/hr。喀痰・胃液の抗酸菌検査は塗抹・培養・遺伝子検査ともすべて陰性であった。

画像所見：胸部X線写真では右上肺野に2個の結節陰影があった (Fig. 1A)。胸部CTでは右上葉S³aに胸膜までつながる長径29 mmの結節とその内側に10 mm大の結節を認めた (Fig. 2)。

臨床経過：臨床所見・画像所見から腫瘍あるいは感染

性結節陰影の可能性を考慮し、第2病日に気管支内視鏡検査を施行した。右上葉外側の結節の生検組織でリンパ球主体の炎症細胞浸潤と肺胞腔内の一部に類上皮様細胞からなる結節を認め (Fig. 3)、抗酸菌、真菌など感染性

の肉芽腫形成性疾患が疑われたが、Ziehl-Neelsen 染色では抗酸菌は確認されなかった。また、気管支洗浄液の抗酸菌塗抹検査は陰性、結核菌とMACの遺伝子検査 (転写-逆転写協奏反応, transcription reverse transcription concerted

Table Laboratory findings on admission

| Hematology | | Biochemistry | |
|-------------|----------------------------|-----------------------|-------------|
| RBC | 436 × 10 ⁴ /μL | T-Prot | 7.7 g/dL |
| Hb | 13.8 g/dL | Alb | 4.5 g/dL |
| Ht | 41.7 % | T-Bil | 0.71 mg/dL |
| WBC | 9110 /μL | AST | 21 U/L |
| Neu | 69.5 % | ALT | 14 U/L |
| Lym | 23.5 % | LDH | 186 U/L |
| Mono | 4.3 % | ALP | 322 U/L |
| Eos | 2.4 % | γ-GTP | 32 U/L |
| Baso | 0.3 % | AMY | 48 U/L |
| Plt | 27.9 × 10 ⁴ /μL | CPK | 234 U/L |
| | | Che-E | 361 U/L |
| | | BUN | 10.4 mg/dL |
| | | Creat | 0.79 mg/dL |
| | | UA | 3.5 mg/dL |
| | | Na | 140 mEq/L |
| | | K | 4.0 mEq/L |
| | | Cl | 101.3 mEq/L |
| Tumor maker | | Mycobacteria | |
| CEA | 1.9 ng/mL | sputum smear | (-) |
| Cyfra21-1 | 1.5 ng/mL | sputum Tb-TRC | (-) |
| ProGRP | 27.3 pg/mL | sputum MAC-TRC | (-) |
| | | gastric fluid smear | (-) |
| | | gastric fluid Tb-TRC | (-) |
| | | gastric fluid MAC-TRC | (-) |
| | | | |
| Serology | | | |
| CRP | < 0.10 mg/dL | | |
| ESR | 11 mm/hr | | |
| | | | |
| T-SPOT | (-) | | |
| TBGL | 3.20 U/mL | | |
| MAC Ab | < 0.50 U/mL | | |

Tb: tuberculosis MAC: *Mycobacterium avium* complex
TRC: transcription reverse transcription concerted reaction

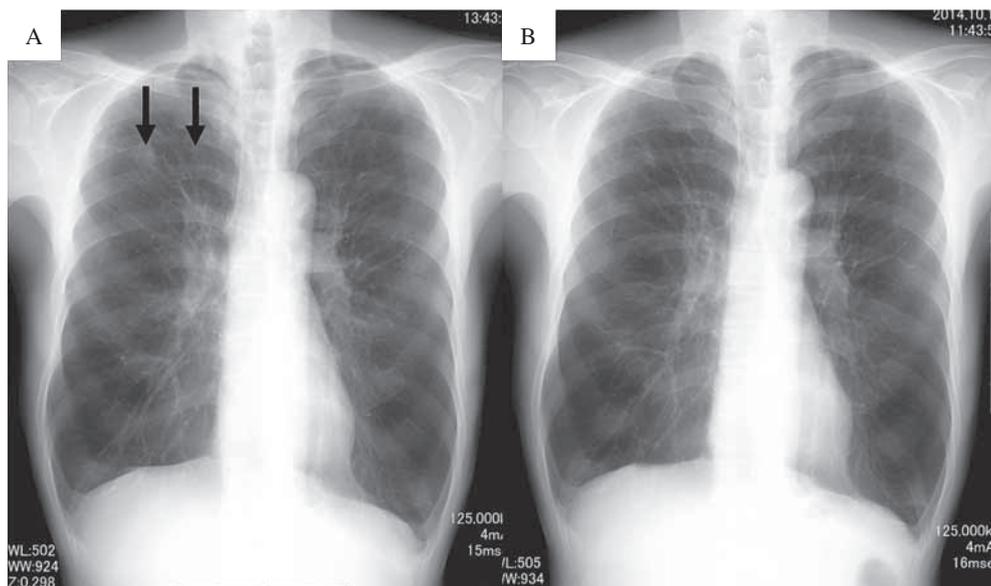


Fig. 1 Chest roentgenogram during the clinical course

A chest roentgenogram on admission showed two nodules in the right upper lung field (A). The nodules markedly shrank four months after the initiation of treatment (B).

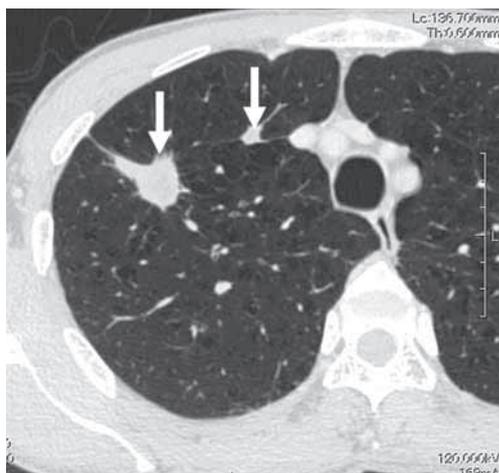


Fig. 2 A chest CT scan on admission
A chest CT scan showed two nodules of 29 mm and 10 mm connected to pleura in the right upper lob of the lung.

reaction: TRC法)も陰性であった。組織学的に抗酸菌感染症も疑ったため、*M.kansasii*の遺伝子検査(TRC法)を追加したところ、第5病日に陽性と判明した。肺結核の可能性も考慮して個室入院としていたが、隔離を解除した。第8病日よりisoniazid (INH), rifampicin (RFP), ethambutol (EB)による3剤治療を開始した。特に副作用は認めず、第23病日に退院とした。なお、内視鏡検査13日後(第15病日)に抗酸菌液体培養が陽性となり、DNAプローブ法で*M.kansasii*であることを再確認した。

その後の治療継続により陰影は著明に縮小した(Fig. 1B)。

考 察

肺抗酸菌症の実地診療においては、院内感染対策の観点で常に結核菌との鑑別が問題となるため、迅速な菌種の同定が強く求められる。結核菌やNTMの80%近くを占めるMACに関しては、PCR法などによる遺伝子検査が広く行われており、偽陽性率が低いこと¹⁾²⁾を考慮すれば、いずれかが陽性の場合にはまず菌種の確定と考えてよいであろう。一方、抗酸菌の存在が疑われるにもかかわらず、結核・MACがともに遺伝子検査陰性の場合には、抗酸菌培養の結果を待つ必要がある。

肺カンサシ症は、NTMではMAC症に次いで頻度が高くNTM症の約20%にのぼる。圧倒的に男性に多く、30代~50代に多いとされ、結核に類似する病型をとることが多い^{3)~5)}。比較的頻度が高く結核との鑑別に苦慮するにもかかわらず、菌種同定には培養結果を待つ必要があるため、実地臨床においては、感染対策上の理由で結核が否定されるまで個室管理を余儀なくされる場合が少なくない。

本症例では、右上葉に大小2つの孤立結節があり、大

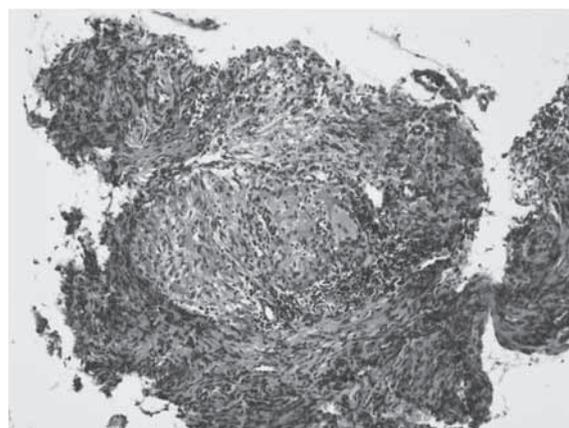


Fig. 3 Histological features of transbronchial lung biopsy specimen
Granulomatous inflammation was surrounded by fibrosis.

きいほうは胸膜陥入様の陰影を伴ったため、肺癌の可能性を疑われた。また、結節が複数であったため、抗酸菌感染症の可能性も疑われていた。気管支洗浄液では結核菌/MACともに遺伝子検査は陰性であったが、病理組織で肉芽腫様病変を確認し、やはり抗酸菌感染症が疑われたため、組織像が判明した直後から、個室管理としていた。

肺内結節やリンパ節の生検像で組織学的に抗酸菌症が疑われた場合には、喀痰検査や気管支洗浄液での抗酸菌塗抹や結核菌遺伝子検査が陰性であっても、この時点で菌の確定がないまま、臨床診断で肺結核として治療を開始している施設が少なくないのではないかと推察する。

当院では、結核菌/MACの遺伝子検査に関しては、2012年からTRC法によって院内で実施している。TRC反応は、一定温度で標的のRNAを増幅させる反応で、RNAの切断、増幅、RNAの検出という3つの工程を1本のチューブ内で連続的に反応させる遺伝子増幅法である。TRC法は、この反応にintercalation activating fluorescence probe (INAF probe)を組み合わせた方法である⁶⁾⁷⁾。TRC法の検出限界はPCRを上回るとされており、標的遺伝子の検出に有用である⁸⁾。*M.kansasii*のrRNAを検出するprobeも既に販売されている。保険適応外であるためルーチンでの実施は難しいが、抗酸菌塗抹陽性検体あるいは抗酸菌感染症が強く疑われる組織所見にもかかわらず結核菌/MACのTRC法が陰性の場合で、*M.kansasii*の検索が必要と判断された症例に対しては、これを用いてTRC法を実施している。

本症例でも、*M.kansasii*の可能性を考慮してTRC法を行い陽性と判明したため、気管支内視鏡検査2日後に診断し、個室隔離を解除し標準治療⁹⁾を開始できた。気管支洗浄液の抗酸菌培養が陽性となりDNAプローブ法で*M.kansasii*と確認できたのは、検査後約2週間経過して

からである。*kansasii*-TRC法による迅速な診断によって、個室隔離の解除と早期の治療開始が可能となったため、患者にとっては大きなメリットがあった。

以上、経気管支肺生検で肺抗酸菌症が疑われ、気管支洗浄液の遺伝子検査TRC法で速やかにカンサシ症と診断がついた1例を報告した。実施できる施設は限定されるものの、迅速な診断が可能であるため、*M.kansasii*も含めた3菌種のTRC法は抗酸菌症の日常診療において有用である。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関して特になし。

文 献

- 1) Iinuma Y, Ichiyama S, Yamori S, et al.: Diagnostic value of the Amplicor PCR assay for initial diagnosis and assessment of treatment response for pulmonary tuberculosis. *Microbiol Immunol.* 1998; 42: 281-287.
- 2) 中川義久, 宮川清隆, 内田太郎, 他: 各種臨床検体における *Mycobacterium avium* complex と結核菌のPCRによる検出. *呼吸.* 1997; 16: 1202-1206.
- 3) 田中栄作: 非定型抗酸菌症の臨床像—肺感染症を中心に. 「結核」第3版, 泉 孝英, 網谷良一編, 医学書院, 東京, 1998, 288-294.
- 4) 下出久雄: 非定型抗酸菌症の臨床的研究. 第16報. 17年間の国立療養所東京病院における *Mycobacterium kansasii* 症の臨床経験. *日本胸部臨床.* 1984; 43: 925-932.
- 5) 松下葉子, 新実彰男, 田中栄作, 他: *Mycobacterium kansasii* 症の臨床像 肺結核症, *Mycobacterium avium* complex 症との比較を含めて. *日本胸部疾患学会雑誌.* 1993; 31: 1507-1514.
- 6) Takakura S, Tsuchiya S, Isawa Y, et al.: Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory samples by transcription-reverse transcription concerted reaction with an automated system. *J Clin Microbiol.* 2005; 43: 5435-5439.
- 7) 田村 卓, 富永健司, 坂本和美, 他: TRC法を用いた結核菌検出方法 (TRC Rapid M.TB 東ソー) の有用性に関する検討. *日本臨床微生物学雑誌.* 2008; 18: 15-19.
- 8) 佐々木裕子, 佐藤貴美, 樫尾一志, 他: 抗酸菌検出におけるTRC法の有用性の検討. *医療と検査機器・試薬.* 2012; 35: 103-109.
- 9) 日本結核病学会非結核性抗酸菌症対策委員会, 日本呼吸器学会感染症・結核学術部会: 肺非結核性抗酸菌症化学療法に関する見解—2012年改訂. *結核.* 2012; 87: 83-86.

Case Report

THE GENETIC EXAMINATION OF BRONCHIAL LAVAGE ENABLES THE PROMPT DIAGNOSIS OF PULMONARY *MYCOBACTERIUM KANSASII*—A CASE REPORT¹Masahide MORI, ¹Fumitaka AGESHIO, ¹Hiroyuki KAGAWA, ¹Yohei OSHITANI,¹Takeya FUJIKAWA, ²Haruko SAITO, ²Hajime SAKO, ¹Yukihiro YANO,¹Seigo KITADA, and ¹Ryoji MAEKURA

Abstract A 59-year-old man with chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma presented at our hospital with an abnormal shadow on the chest radiograph, which was obtained as part of a routine medical examination. Computed tomography of the chest revealed two nodules in the right upper lung with the longest diameter measuring 29 mm and 10 mm, respectively. A granulomatous disease was strongly suspected based on the histological features of the transbronchial lung biopsy specimen. Results of smear examination for mycobacteria and genetic examination of the bronchial lavage aspirate by the transcription reverse transcription concerted (TRC) reaction method for *Mycobacterium tuberculosis* and *M.avium* complex (MAC), were both negative. However, three days after the bronchoscopic examination, an additional genetic examination by the TRC method confirmed the diagnosis of *M.kansasii* infection. About two weeks later, the culture results were positive and *M. kansasii* infection was re-confirmed with the DNA probe method. The patient responded well to treatment with a combination of isoniazid, rifampicin, and ethambutol. In Japan, among the nontubercu-

lous mycobacterial infections, the prevalence of pulmonary *M.kansasii* disease is second only to infection with MAC. However, it is often difficult to distinguish this disease from pulmonary tuberculosis. In this patient, a genetic examination with the TRC method enabled a prompt diagnosis of *M.kansasii* infection. The TRC method appears to be a useful tool for diagnosing nontubercular mycobacterial infections.

Key words: Nontuberculous mycobacteria, *M.kansasii*, TRC method, Bronchial lavage, Nodular shadow

¹Department of Respiratory Medicine, ²Devison of Clinical Laboratory, National Hospital Organization Toneyama National Hospital

Correspondence to: Masahide Mori, Department of Respiratory Medicine, National Hospital Organization Toneyama National Hospital, 5-1-1, Toneyama, Toyonaka-shi, Osaka 560-8552 Japan. (E-mail: mmori@toneyama.go.jp)