

日本抗生物質学術協議会奨励賞受賞講演会記録

2010年11月2日, グランドヒル市ヶ谷 珊瑚

【2010年度受賞講演, 座長: 木津純子】

アスペルギルスの薬剤耐性機序に関する疫学研究と 治療法の最適化研究

泉川公一

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

感染免疫学講座 (第二内科)

1. 研究の背景

1) 増加傾向にあるアスペルギルス症と分類

深在性真菌症の3大原因真菌は, アスペルギルス, カンジダ, クリプトコックスである。日本病理剖検報によると剖検症例からの真菌検出は著明な増加傾向にあり, 肺からの検出が他臓器に比較すると圧倒的に多く, 中でもアスペルギルス属は, 近年, 最もよく検出される真菌で, 肺の日和見感染症においては重要な原因真菌である (図1)¹⁾。

肺アスペルギルス症は, 感染する宿主の状態に応じて病型が異なり, 大まかに図2のように分類される。侵襲性肺アスペルギルス症は, 好中球減少が遷延するような重篤な状態において, 日~週単位で急激に進行する, きわめて予後不良の病態である。慢性肺アスペルギルス症 (慢性壊死性肺アスペルギルス症・肺アスペルギローマなど) は, 結核遺残空洞, 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) などの肺の器質的病変を有する患者で, さらに, 糖尿病, ステロイド投与, HIV/AIDS, 臓器移植患者

などにいたる中等度の日和見感染危険因子が加わった場合に, 週~月, あるいは月~年単位で進行する病態である。アレルギー性気管支肺アスペルギルス症は, アレルギー素因を有する場合には, アスペルギルス抗原にアレルギー反応を呈し, 気管支喘息様の病態を示す病型であり, 一般的には, 深在性真菌症ではなくアレルギー性疾患として扱われる。

2) アスペルギルス症の問題点

アスペルギルス症の問題点としては, 移植技術の向上, 化学療法剤の進歩に伴う日和見感染罹患因子が増加していること, 喫煙に起因すると思われる肺癌やCOPD患者をはじめ, 結核罹患歴のある高齢者が多い本邦においては, 侵襲性, 慢性に関わらず肺アスペルギルス症に罹患する可能性がある患者予備層は多く, 今後, 肺アスペルギルス症は増加する可能性がきわめて高い。また, アスペルギルスに対し抗真菌活性を有する抗真菌薬

図1. 剖検総数に対する深在性真菌症の経年的発生頻度

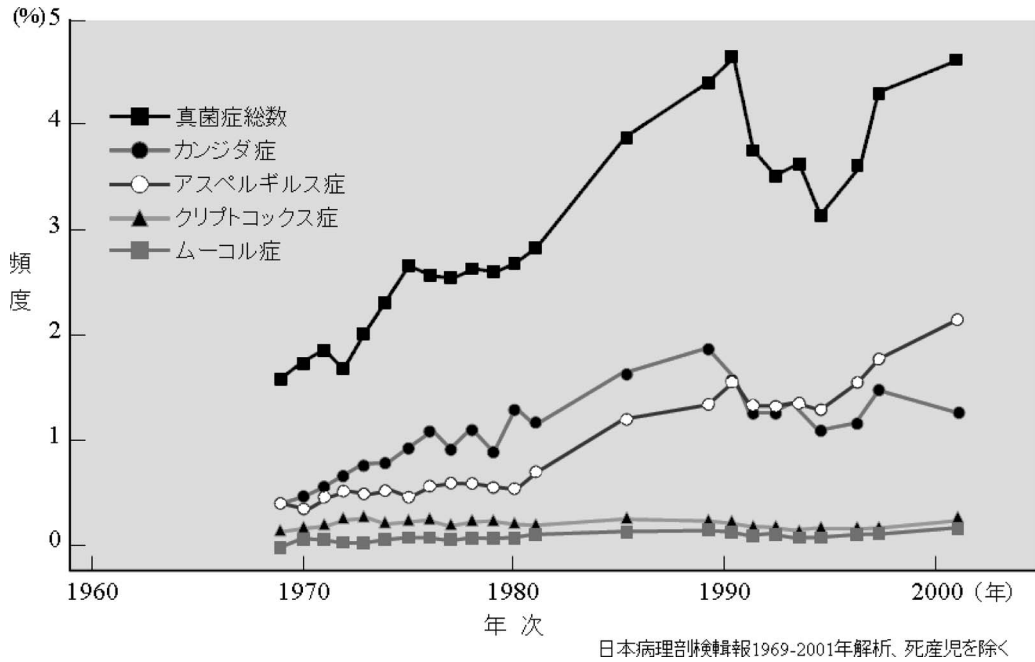
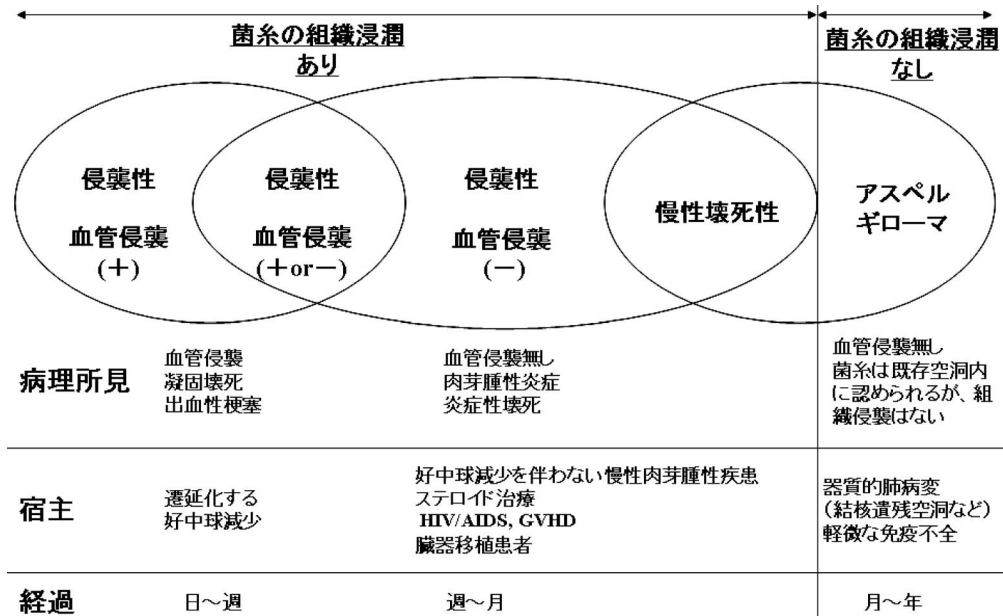


図2. 肺アスペルギルス症の分類



Hope WW et al: Medical Mycology 43: S207-238, 2005より引用、一部改変

は、アゾール系、カンディン系、ポリエンマクロライド系薬など複数存在するが一般の抗菌薬と比較するとその選択の幅は狭い。また、薬剤感受

性試験は、最近になりようやく確立されたものの、臨床的ブレイクポイント（最小発育阻止濃度と実際の臨床効果との相関値）は設定されておらず、

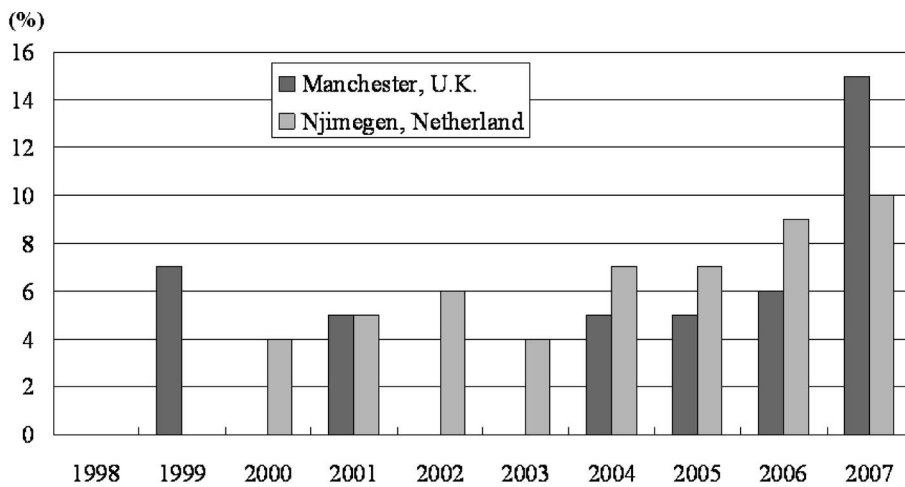
データの集積が必要な状況にある。その一方、近年、オランダや英国などヨーロッパを中心に、これらアゾール系抗真菌薬に耐性を示すアスペルギルスの検出頻度が増加していることが報告されている (図3)²⁾。

2. 薬剤耐性アスペルギルスの耐性機序

アゾール系抗真菌薬は、アスペルギルスの細胞

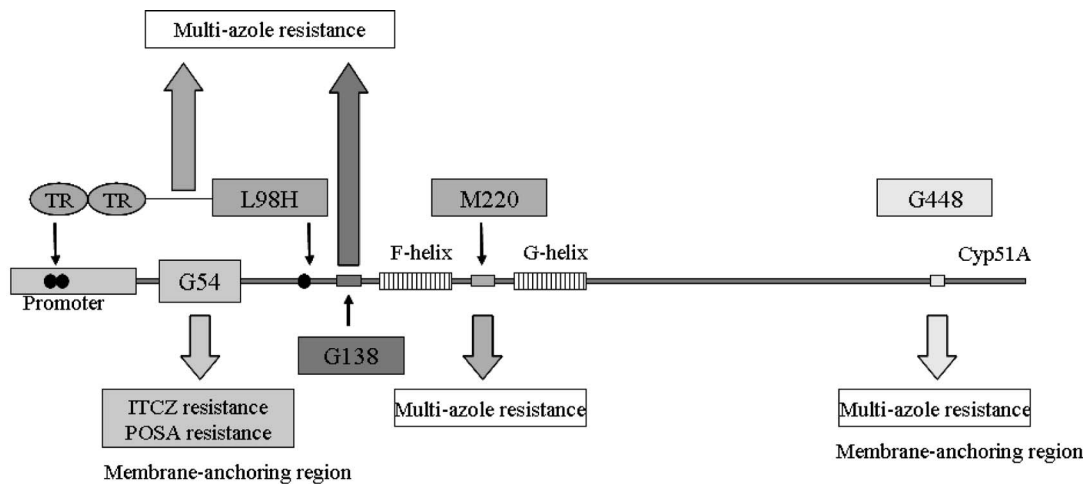
膜の構成成分であるエルゴステロールの合成を阻害することにより抗真菌活性を有するが、アゾール系薬の標的部位であるP450DMの変異・過剰発現がおこることにより耐性化し、その責任遺伝子Cyp51Aにおける変異のホットスポットも判明している (図4)³⁾。また、これらのホットスポットに変異を認めないにもかかわらずアゾール系薬に耐性を示す株があることも報告されている。さら

図3. アゾール耐性 *Aspergillus fumigatus* の検出頻度



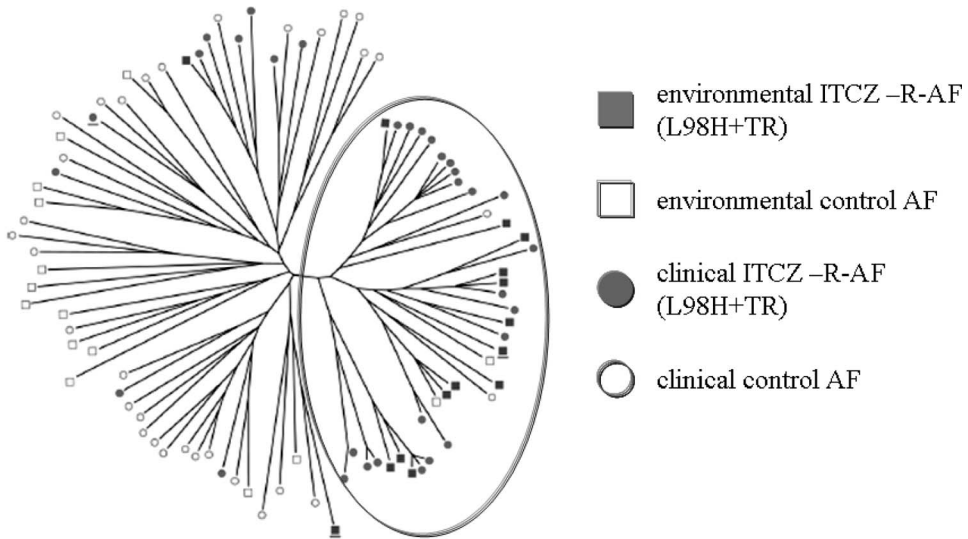
Drug Resistance Updates. 12, 141-147, 2009

図4. Azole 耐性アスペルギルス・耐性機序
Cyp51A 変異 Hot spot



Verweij PE, et al. Lancet Infect Dis 9: 789-795, 2009

図5. Azole 耐性アスペルギルスはどこから？
環境由来を示唆する論文・病院環境
microsatellite analysis



Appl Environment Microbiol. 75, 4053-4057, 2009

に、これらの薬剤耐性分離株の由来について、患者体内でのアゾール系薬に暴露されやすい慢性肺アスペルギルス症患者で多く検出されるというデータから、抗真菌薬の使用と暴露により耐性化しているとする報告がある一方、環境において自然耐性化した株を、吸入することにより耐性アスペルギルス感染症を発症するという報告もあり、耐性の誘導がどのようなメカニズムで惹起されているか未解明である (図5)。

以上から、アゾール系薬に対し耐性のアスペルギルスが増加傾向にあり、耐性機序の不明な株も増加している。一方、本邦においては、臨床分離アスペルギルスの正確な検出頻度はもとより、その薬剤耐性分離株の検出頻度に関する疫学データは皆無であることが問題である。

3. 長崎大学病院における薬剤耐性アスペルギルスの検出

長崎大学病院第二内科に保存されているアスペ

ルギルス株のうち、形態学的同定により、*Aspergillus fumigatus* と同定され、かつ、上記の慢性肺アスペルギルス症由来の39株を対象として薬剤感受性について検討した。薬剤感受性は、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) より発行されている CLSI M38-A2 法の定法に従い、微量液体希釈法により、fluconazole (FLCZ), voriconazole (VRCZ), itraconazole (ITCZ), amphotericin B (AMPH-B), micafungin (MCFG) の Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ならびに、Minimum Effective Concentration (MEC) (MCFGのみ) を測定した。耐性、感性の判定基準は、CLSI M38-A2の基準に従った (表1)。アゾール系抗真菌薬に対して、39株中29株 (83%) が感性を示したが、1株 (3%) が ITCZ にのみ耐性を示し、5株 (14%) が ITCZ と VRCZ の両方に耐性を示した。なお、AMPH-B に耐性を示す株は1株 (3%) に認めしたが、MCFG に耐性を示す株は認められなかった。アゾール系抗真菌薬に耐

表1. 薬剤耐性アスペルギルス菌の定義
(CLSI M38-A2)

	感受性カテゴリー, MIC (μ g/ml), MEC for MCFG		
	感性 (S)	中等度耐性 (I)	耐性 (R)
ITCZ	≤ 1	2	$4 \leq$
POSA	≤ 1	2	$4 \leq$
VRCZ	≤ 1	2	$4 \leq$
AMPH-B	≤ 1	2	$4 \leq$
MCFG	≤ 1	2	$4 \leq$

CLSI M38-A2より引用

性を示した6株, 6症例の臨床背景を調べたところ, 4例において耐性菌検出の前にアゾール系抗真菌薬の使用歴があった。以上のデータから, 対象として解析した菌株数は少ないものの, アゾール系抗真菌薬に耐性を示す株の存在が明らかになり, さらに, アゾール系抗真菌薬の使用歴があるケースもあり, 抗真菌薬の使用が耐性化を招いている可能性があることが示唆された。ただし, 本解析で不十分な点として, 解析された株が *A. fumigatus* であるという遺伝子学的な確認が行われていない点がある。従来, 大規模病院の検査室レベルでは, 臨床的に糸状菌が検出された場合, 顕微鏡を用いた形態学的な所見に基づき同定が行われるのが一般的であったが, 近年, *A. fumigatus* とほぼ同様の形態を示すものの, 遺伝子学的には異なる *A. lentulus* と呼ばれる菌種が存在することが報告されている⁴⁾。本菌は *A. fumigatus* に比較して, キャンディン系抗真菌薬を除くすべての抗真菌薬に低感受性であることより, アスペルギルスの薬剤耐性の疫学研究を行う上ではきわめて重要な点である⁵⁾。

4. アゾール耐性アスペルギルス症に対する治療の新知見

本邦で使用可能な抗アスペルギルス活性を有する抗真菌薬は, 前述の AMPH-B, そのリポソーム製剤である liposomal AMPH-B (L-AMB), VRCZ, ITCZ, MCFGに限られる。これらの抗真菌薬をどのように使い分けるか, 臨床的に重要なことであるが, アスペルギルスの各病型別における治療のエビデンスは十分とはいえない。米国感染症学会のガイドラインにおいては, HERBRECHTらによって行われた侵襲性肺アスペルギルス症における AMPH-B と VRCZ の比較試験が唯一のゴールドスタンダードとして採用されている。この比較試験では, VRCZ が AMPH-B よりも優れた成績を示した⁶⁾。しかし, 前述したアゾール耐性アスペルギルスが今後, 増加する事態となれば, その治療薬の選択は困難となる。

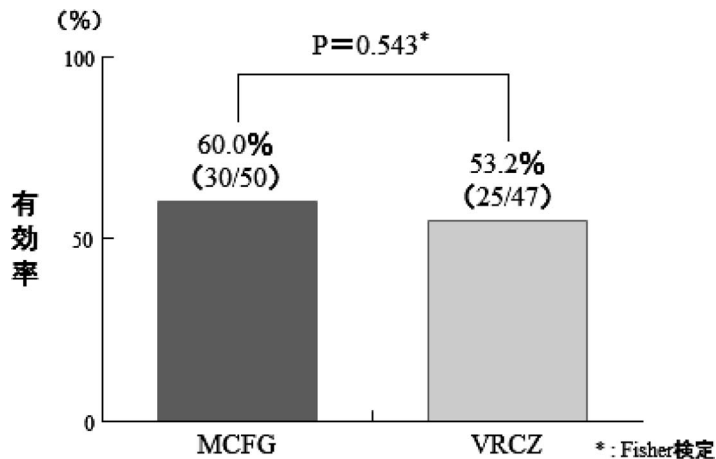
一方, 慢性肺アスペルギルス症において, 我々は, 世界で初めての抗真菌薬の比較試験を行った。これは, MCFG と VRCZ の注射薬の有効性を比較したもので, それまでに第一選択薬として推奨されていた VRCZ と比較して MCFG の有効性を証明したものである。結果は, MCFG は VRCZ

とほぼ同等の有効性を示し、かつ、副作用が優位に少なかったというデータが得られた(図6, 7)⁷⁾。この結果は、慢性肺アスペルギルス症の治療における世界初の比較試験であったことに加えて、アゾール耐性株による感染症でもMCFGが使用できることを示しているデータとして捉えることもできる。

5. 新しい治療法の開発

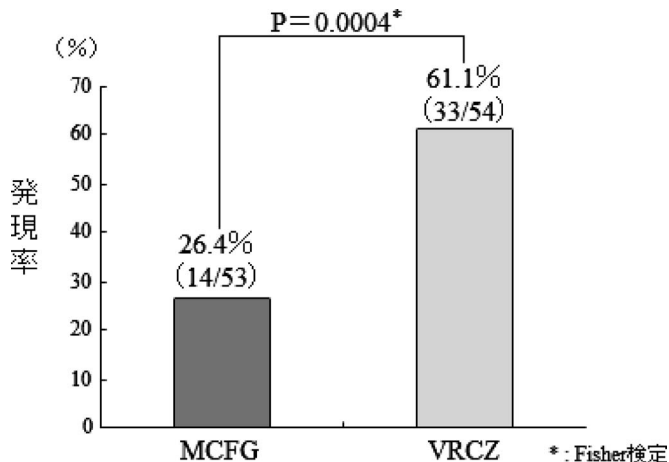
アゾール耐性アスペルギルス株の今後の動向は重要であるが、現在使用できる抗真菌薬の種類が限られている現状からは、既存の抗真菌薬を使用した新しい治療法の開発も必要である。特に、慢性肺アスペルギルス症のように肺の既存構造が破壊された部位に感染を惹起した場合は、抗真菌薬の全身投与でも十分な治療効果が得られない可能

図6. 慢性肺アスペルギルス症治療のエビデンス
有効性評価—最終治療成功率—



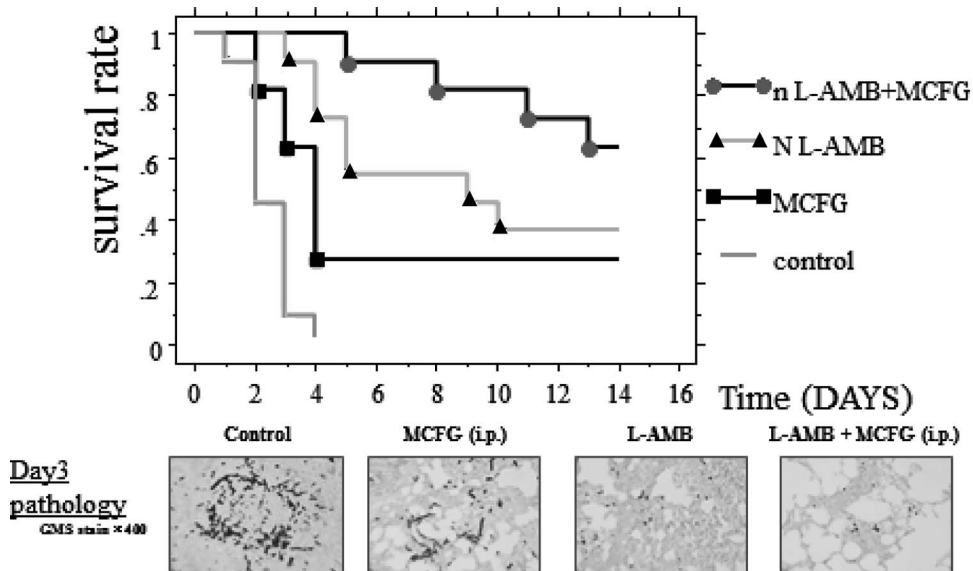
Kohno, Izumikawa et al: J Infect, 2010

図7. 慢性肺アスペルギルス症治療のエビデンス
副作用発現率



Kohno, Izumikawa et al: J Infect, 2010

図8. Another route of antifungal administration
nebulized L-AMB & MCFG, IPA murine model



Takazono, Izumikawa: AAC 53: 3508-3510, 2009

性も高い。侵襲性肺アスペルギルスモデルを用いて、L-AMBの吸入による治療を行ったところ、MCFGの腹腔内投与と比較してほぼ同等の治療効果が得られ、また、L-AMBとMCFGを併用することにより優位に生存率が改善することが証明された(図8)⁸⁾。本研究においては、生存率以外に、肺の局所におけるAMPH-Bの肺組織内の濃度ならびに、血中における濃度を測定したところ、血中にはほとんど検出されないことも証明され、L-AMBの副作用も全身投与と比較して軽減される可能性があることが示された。

6. おわりに

アスペルギルスの薬剤感受性に関する疫学研究に関するデータはほとんどないのが現状であり、今後、データの集積が望まれる。予後が不良であるアスペルギルス症において、薬剤耐性株が増加することは、さらなる予後の悪化を招くため、今後、耐性の抑制、新たな治療薬、治療法の開発など多角的な研究が必要である。

謝辞

日本抗生物質学術協議会奨励賞を頂きましたことを深謝いたします。これまでご指導いただいた当科の河野茂教授、諸先輩方、教室の先生方のご協力によりこのような栄える賞を頂くことができました。ありがとうございました。

文献

- 1) KUME, H., *et al.*: Epidemiology of visceral mycoses in patients with leukemia and MDS—Analysis of the data in annual of pathological autopsy cases in Japan in 1989, 1993, 1997 and 2001. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 47: 15~24, 2006
- 2) VERWEIJ, P. E. *et al.*: Azole-resistance in *Aspergillus*: proposed nomenclature and break-points. *Drug Resist. Update* 12: 141~147, 2009
- 3) VERWEIJ, P. E. *et al.*: Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a side-effect of environmental fungicide use? *Lancet Infect. Dis.* 9: 789~795, 2009

- 4) BALAJEE, S. A.; J. L. GRIBSKOV, E. HANLEY, D. NICKLE & K. A. MARR: *Aspergillus lentulus* sp. nov., a new sibling species of *A. fumigatus*. *Eukaryot Cell*. 4: 625~632, 2005
- 5) ALCAZAR-FUOLI, L.; E. MELLADO, A. ALASTRUEY-IZQUIERDO, M. CUENCA-ESTRELLA & J. L. RODRIGUEZ-TUDELA: *Aspergillus* section Fumigati: antifungal susceptibility patterns and sequence-based identification. *Antimicrob. Agents Chemother.* 52: 1244~1251, 2008
- 6) HERBRECHT, R.; D. W. DENNING, T. F. PATTERSON, J. E. BENNETT, R. E. GREENE, J. W. OESTMANN, W. V. KERN, K. A. MARR, P. RIBAUD, O. LORTHOLARY, R. SYLVESTER, R. H. RUBIN, J. R. WINGARD, P. STARK, C. DURAND, D. CAILLOT, E. THIEL, P. H. CHANDRASEKAR, M. R. HODGES, H. T. SCHLAMM, P. F. TROKE & B. DE PAUW: Invasive Fungal Infections Group of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer and the Global *Aspergillus* Study Group. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N. Engl. J. Med.* 347: 408~415, 2002
- 7) KOHNO, S.; K. IZUMIKAWA, K. OGAWA, A. KURASHIMA, N. OKIMOTO, R. AMITANI, H. KAKEYA, Y. NIKI & Y. MIYAZAKI: Japan Chronic Pulmonary Aspergillosis Study Group (JCPASG). Intravenous micafungin versus voriconazole for chronic pulmonary aspergillosis: a multicenter trial in Japan. *J. Infect.* 61: 410~418, 2010
- 8) TAKAZONO, T.; K. IZUMIKAWA, T. MIHARA, K. KOSAI, T. SAJO, Y. IMAMURA, T. MIYAZAKI, M. SEKI, H. KAKEYA, Y. YAMAMOTO, K. YANAGIHARA & S. KOHNO: Efficacy of combination antifungal therapy with intraperitoneally administered micafungin and aerosolized liposomal amphotericin B against murine invasive pulmonary aspergillosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53: 3508~3510, 2009