

造血器悪性腫瘍に合併した深在性真菌症診断における血清 (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucan 測定の有用性

—Fluconazole の治療効果および G-CSF 併用, 非併用群の検討—

新 津 望・梅 田 正 法

東邦大学第一内科*

(平成 6 年 6 月 22 日受付・平成 6 年 8 月 25 日受理)

対象は造血器悪性腫瘍 69 例で、真菌症と診断された症例は 10 例、真菌感染症が疑われた症例は 33 例であった。 β -D-glucan の陽性率は 69 例中 12 例 (17.4%) で、真菌症確診群 80%、真菌症が強く疑われた群 12.1% と各群間で有意差を認め、 β -D-glucan は深在性真菌症の診断に有用であると思われた。また、急性骨髄性白血病では顆粒球減少時に発症し、悪性リンパ腫ではリンパ球数の減少した症例に多かった。Fluconazole (FLCZ) は 43 例に投与し、全体の有効例は 28 例 (65.1%) で、granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) 併用群 18 例中 11 例 (61.1%)、非併用群 25 例中 17 例 (68%) と有意差は認めなかった。 β -D-glucan は深在性真菌症の診断に有用であるが、一部の症例特に病変が局在している例では陽性率が低いと考えられ、このような症例では種々の検査の組合せにより診断することが大切であると思われた。また、FLCZ は造血器悪性腫瘍の真菌症の治療に有用であると考えられた。

Key words: 造血器悪性腫瘍, 深在性真菌症, 血清 (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucan, fluconazole; G-CSF

造血器悪性腫瘍に合併した感染症は、強力な化学療法後の白血球減少時に発症することが多い。そのため、白血球減少時には予防的に広域スペクトルの抗生剤を併用することが多く、その後に真菌感染症を併発する症例が認められる。また、悪性リンパ腫では液性、細胞性免疫能の低下があり、真菌感染症の頻度が高い。そのため、真菌感染症の早期診断、早期治療は予後を大きく左右する。しかし、血液より真菌が分離される頻度は低く、また喀痰、尿、咽頭ぬぐい液などより分離されても常在菌との区別が難しい。

今回我々は真菌の菌体成分である (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan の血清濃度を測定し、真菌感染症の診断における有用性を検討した。また fluconazole (FLCZ) の有用性についてもあわせて検討した。

I. 対象および方法

1) 対象 (Table 1)

対象は 1991 年 4 月より 1994 年 1 月までに当科に入院した造血器悪性腫瘍 69 例で、急性骨髄性白血病 (AML) 25 例、急性リンパ性白血病 (ALL) 3 例、悪性リンパ腫 (ML) 32 例、多発性骨髄腫 (MM) 3 例、骨髄異形成症候群 (MDS) 3 例、慢性リンパ性

白血病 (CLL) 2 例、慢性骨髄性白血病 (CML) 1 例である。また、発熱および CRP などの炎症反応が陽性で感染症が疑われ、抗生物質投与を行っても 4~6 日間解熱せず深在性真菌症が疑われた症例とした。真菌症と診断された症例は 10 例で、肺アスペルギローマ 1 例、カンジダ血症 2 例、肺炎 7 例 (気管支鏡検査にて当該区域支より洗浄を施行し、培養によりカンジダが 4+ 以上検出されたものとした) であり真菌感染症が疑われた症例は 33 例であった。クリプトコッカスおよびムコール感染症は認めなかった。Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF; lenograstim 2

Table 1. Patient Characteristics

Haematological malignancies	69 cases
Acute myelocytic leukemia (AML)	25
Acute lymphocytic leukemia (ALL)	3
Malignant lymphoma (ML)	32
Multiple myeloma (MM)	3
Myelodysplastic syndrome (MDS)	3
Chronic lymphocytic leukemia (CLL)	2
Chronic myelocytic leukemia (CML)	1

* 東京都大田区大森西 6-11-1

$\mu\text{g}/\text{kg}$)は18例に使用し、原則として顆粒球数 $1,000/\mu\text{l}$ 以下となった時点で開始し、白血球数 $10,000/\mu\text{l}$ まで使用した。ML, ALLおよびMMに使用し, AMLに関しては芽球を増加させるとの報告があるため慎重に使用した。経過中ST合剤, ガンマグロブリン製剤などの血液製剤の使用や透析を行っていた症例は見られなかった。

2) 方法

血清(1→3)- β -D-glucan値はtoxicolor値とendospecy値の差とし, $20\text{ pg}/\text{ml}$ 以上を陽性^{1,2)}とした。FLCZは43例に投与し, 1日1回 $200\sim 400\text{ mg}$ を点滴静注で投与し, 原則として先行投与している抗生物質は変更せず, 他の抗真菌剤の併用は行わなかった。効果判定は投与開始後1~2週間後の発熱, 炎症反応, 画像診断, β -D-glucan値などにより行った。

II. 結果

1. β -D-glucanの陽性率

69例中12例(17.4%)が陽性で, 真菌症確診群10例中8例(80%), 真菌が疑われた群33例中4例(12.1%), 非真菌群26例中0例で各群間に危険率5%で有意差を認め, β -D-glucanは深在性真菌症の診断に有用であると思われた。また, 4例(5.8%)はtoxicolor, endospecy共に $20\text{ pg}/\text{ml}$ 以上で血液培養より大腸菌2例, 肺炎桿菌2例が検出された(Table 2)。疾患別ではAML, MLに多く, AML23例中5例(21.7%), ML30例中7例(23.3%)が β -D-glucanが陽性であった(Fig. 1)。

2. 真菌症発症時の顆粒球数とリンパ球数の検討(Figs. 2, 3)

β -D-glucan陽性のAML5例, ML7例の顆粒球数について検討したが, AMLでは $125.2\pm 9.39/\mu\text{l}$ (平均 \pm SD)と低値の症例が多く, MLでは $2,538.6\pm 1,782.4/\mu\text{l}$ と正常範囲であった。また, 同様にリンパ球数について検討したが AML $958\pm 944/\mu\text{l}$ と正常, ML $271.3\pm 229.7/\mu\text{l}$ と低下していた。よって, AMLでは顆粒球数減少, MLではリンパ球数低下が β -D-glucan陽性に関与していると考えられた。

Table 2. Positivity β -D-Glucan

Positive (FI $\geq 20\text{ pg}/\text{ml}$)	12 (17.4%)
Definitely diagnosed as mycosis	8/10 (80%)
Strongly suspected mycosis	4/33 (12.1%)
Toxicolor, Endospecy $\geq 20\text{ pg}/\text{ml}$	4 (5.8%)
Negative (FI $< 20\text{ pg}/\text{ml}$)	53 (76.8%)
Total	69

FI (Fungal Index) = Toxicolor-Endospecy

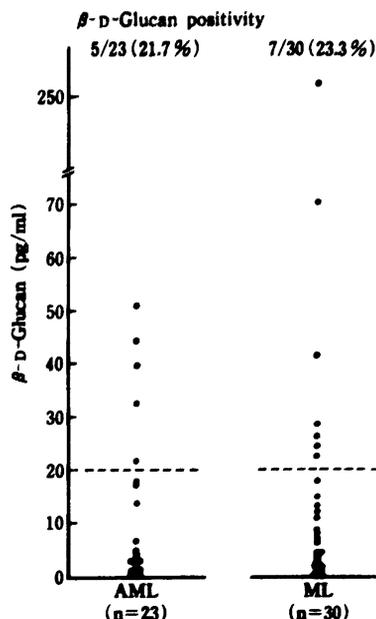


Fig. 1. Serum β -D-Glucan concentrations in AML and ML.

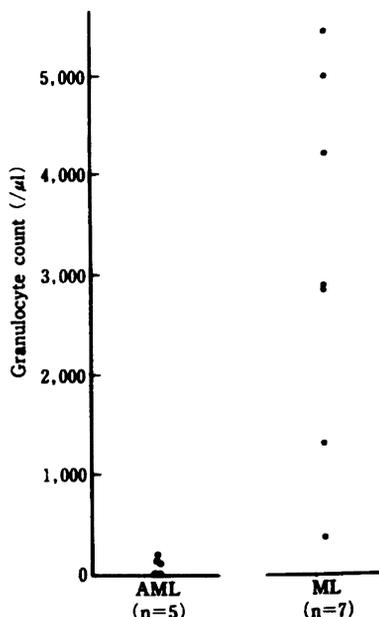


Fig. 2. Granulocyte count in β -D-Glucan positive cases of AML and ML.

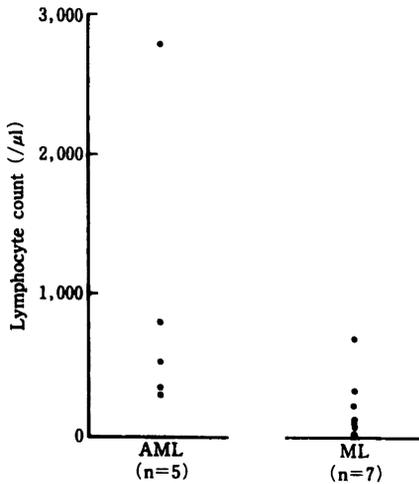


Fig. 3. Lymphocyte count in β -D-Glucan-positive cases of AML and ML.

3. FLCZ の有効率の検討 (Tables 3~5)

全体の有効率は43例中28例(65.1%)で、 β -D-glucan陽性例12例中8例(66.7%)、陰性例31例中14例(44.8%)で陽性例陰性例共に有効であった。真菌症確信群10例中6例(60%)、真菌症が強く疑われた群33例中22例(66.7%)にFLCZが有効であった(Table 3)。G-CSF使用群18例中11例(61.1%) (Table 4)、G-CSF非使用群25例中17例(68%) (Table 5)に有効であり、使用群と非使用群間に有

Table 3. Efficacy of Fluconazole on Deep Mycosis in Hematological Malignancy

Overall	28/43 (65.1%)	
With G-CSF*	11/18 (61.1%)] NS
Without G-CSF	17/25 (68.0%)	
Positive cases of β -D-Glucan	8/12 (66.7%)] NS
Negative cases of β -D-Glucan	20/31 (64.5%)	

*G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor

Table 4. Efficacy of fluconazole without G-CSF in 25 patients with deep mycosis

Case	Sex	Age	Disease	Fungal infection	(1→3)- β -D-glucan (pg/ml)		Response	Total dose of FLCZ (Days)	Duration of FLCZ administration (Days)
					before	after			
1	M	46	AML	Lung aspergilloma	32.4	0.1	good	400 mg	18
2	M	64	AML	Pneumonia	39.8	2.0	good	400 mg	14
3	M	72	AML	Pneumonia	44.3	64.2	none	200 mg	26
4	F	64	AML	Suspected mycosis	21.6	2.6	good	400 mg	12
5	M	44	AML	Candida albicans sepsis	51.0	ND	none	400 mg	18
6	M	68	ML	Pneumonia	24.2	2.0	good	400 mg	16
7	F	42	AML	Pneumonia	17.2	78.2	none	400 mg	21
8	M	36	AML	Suspected mycosis	13.8	0	good	200 mg	10
9	F	34	AML	Suspected mycosis	17.6	1.4	good	200 mg	10
10	F	62	ML	Suspected mycosis	17.6	0	good	200 mg	9
11	F	41	ML	Pneumonia	14.8	2.1	good	400 mg	21
12	M	52	AML	Suspected mycosis	3.0	0.4	good	400 mg	7
13	M	46	AML	Suspected mycosis	1.2	2.0	none	400 mg	12
14	M	44	AML	Pneumonia	3.0	4.0	none	200 mg	14
15	M	48	AML	Suspected mycosis	0	ND	good	200 mg	10
16	M	18	AML	Suspected mycosis	4.8	0.4	good	200 mg	10
17	M	49	AML	Suspected mycosis	0	0.8	good	200 mg	7
18	M	64	AML	Pneumonia	6.6	9.0	none	200 mg	21
19	M	76	AML	Pneumonia	3.0	4.4	none	200 mg	24
20	F	64	ML	Suspected mycosis	8.0	0.6	good	200 mg	8
21	M	54	ML	Suspected mycosis	6.2	ND	good	200 mg	9
22	F	58	ML	Suspected mycosis	1.8	ND	good	200 mg	7
23	F	62	ML	Suspected mycosis	4.1	0.4	good	200 mg	8
24	M	64	ML	Suspected mycosis	4.1	ND	none	200 mg	16
25	M	32	ML	Suspected mycosis	2.0	0	good	200 mg	7

FLCZ: fluconazole

Table 5. Efficacy of fluconazole with G-CSF in 18 patients with deep mycosis

Case	Sex	Age	Disease	Fungal infection	(1→3)- β -D-glucan (pg/ml)		Response	Total dose of FLCZ (Days)	Duration of FLCZ administration (Days)	Duration of G-CSF administration (Days)
					before	after				
26	F	78	ML	Pneumonia	252.6*	204.2	none	200 mg	8	6
27	M	46	ML	Suspected mycosis	22.8	2.0	good	200 mg	10	12
28	M	64	ML	Suspected mycosis	26.4	8.0	good	200 mg	12	8
29	M	42	ML	Suspected mycosis	70.5	0.8	good	400 mg	21	10
30	M	46	ML	Pneumonia	28.4	ND	none	200 mg	28	8
31	M	74	ML	Pneumonia	41.4	ND	good	400 mg	14	6
32	M	74	ML	Pneumonia	12.0	14.6	none	400 mg	14	16
33	F	62	ML	Pneumonia	13.4	1.2	good	200 mg	10	11
34	F	72	ML	Pneumonia	11.0	12.6	none	400 mg	7	6
35	M	76	MM	Suspected mycosis	17.4	6.0	good	200 mg	18	8
36	M	24	ALL	Pneumonia	3.2	ND	none	200 mg	10	12
37	M	26	ALL	Candida albicans sepsis	2.2	2.1	none	200 mg	8	18
38	F	64	CLL	Pneumonia	7.4	0.6	good	200 mg	12	10
39	M	62	ML	Pneumonia	0.8	ND	none	200 mg	21	14
40	M	68	ML	Suspected mycosis	6.8	0.4	good	200 mg	14	8
41	M	76	ML	Pneumonia	1.4	ND	good	200 mg	8	9
42	M	74	ML	Suspected mycosis	3.0	0.6	good	400 mg	12	14
43	M	72	ML	Pneumonia	8.2	0.8	good	200 mg	10	6

*Aspergillus antigen: positive

FLCZ: fluconazole

意差は認めなかった。

III. 考 察

造血器悪性腫瘍では感染症および出血による死亡例が多くみられていたが、近年抗生物質、血小板輸血などの進歩により細菌感染症、出血による死亡例は減少しつつある。しかし、副腎皮質ステロイド、抗癌剤、広域抗生物質などが汎用されることが多くなり深在性真菌症の頻度が増加している。培養による真菌の分離の頻度は少なく、特異的な画像所見もないため診断に難渋する症例も少なくない。また、造血器悪性腫瘍で深在性真菌症を発症するような状態は、全身状態の悪い immunocompromized host の場合が多く侵襲的な検査が行いにくいことが多い。そのため血清学的診断法が進歩してきており、カンジダの代謝産物である D-アラビノニトール⁹⁾やカンジダ抗原 (CAND-TEC)¹⁾ による診断が行われているが、いまだ特異的なものはみられていない。(1→3)- β -D-glucan はカンジダ、アスペルギルスなどの真菌の菌成分として共通に含まれる物質であり、近年その測定が可能となりその有用性が報告されている^{5,6)}。

今回我々は、深在性真菌症が疑われた症例に対し血中 β -D-glucan を測定し、真菌症診断における意義を検討するとともに臨床所見、検査所見および FLCZ

の有用性との関係について検討した。 β -D-glucan の陽性率は 17.4% で諸家の報告に比しやや低率であった^{7,8)}。真菌症確信群では 80% と高率で、非真菌群に比し有意に高率であり深在性真菌症の治療に有用であると思われた。真菌感染症の発症には好中球数の減少⁹⁾およびリンパ球数の減少¹⁰⁾が関与するとの報告があり、造血器悪性腫瘍の opportunistic infection として問題となっている。今回 β -D-glucan 陽性例 12 例の顆粒球数、リンパ球数を検討したが、AML では顆粒球数減少、ML ではリンパ球数低下が真菌症発症および進展に関与していると考えられた。

FLCZ は新トリアゾール系抗真菌剤で、静脈内および経口投与が可能であり、血中半減期が約 30 時間と長く 1 日 1 回投与が可能で副作用の発現率が低いことより¹¹⁾、全身状態が不良の症例にも使用しやすい薬剤である。吉田ら¹²⁾は、血液悪性腫瘍に合併した深在性真菌症 14 症例に対し FLCZ を投与し 61.1% の有効率を得ており、我々も 65.1% と同様の有効率を得た。真菌症確信群で 60% の有効率を得、肺アスペルギルスの 1 例には有効であったが、カンジダ血症は 2 例とも無効であった。また、確定診断のついていない 33 例中 22 例 (66.7%) にも FLCZ は有効であった。また、 β -D-glucan 陽性例陰性例共に FLCZ は有効で

あり、 β -D-glucan 陰性例でも FLCZ が有効であった症例は臨床的に真菌症が強く疑われた症例であり、特に病変が局在している症例では β -D-glucan 陽性率が低かった。また、FLCZ 使用中に陽性になる症例もあり、FLCZ により真菌の菌体が破壊され、 β -D-glucan 値が上昇すると考えられた。よって、FLCZ は造血器悪性腫瘍に合併した深在性真菌症の治療に有効であると思われた。また、近年 G-CSF は抗癌剤による化学療法後の顆粒球数減少の予防、発熱および細菌感染症の頻度の減少に有効であると言われている¹³⁾。In vitro で G-CSF と FLCZ の併用効果¹³⁾は証明されているが、臨床効果を検討した報告はほとんどない。今回リンパ系悪性腫瘍で検討し、G-CSF 併用例非併用例で有意差はなかった。悪性リンパ腫ではリンパ球数の減少が真菌感染症発症および進展に関与していると考えられることより、G-CSF 使用により顆粒球数が増加し相対的リンパ球減少が見られるために真菌感染症に対しては G-CSF 併用効果は少ないと思われた。よって、AML のような顆粒球減少が真菌感染症の発症に関与する症例での G-CSF 併用は効果的と思われるが、AML では G-CSF により白血病細胞を増加させるとの報告もあり慎重に使用する必要があると思われた。

文 献

- 1) 遠藤重厚, 他: β -D-glucan 定量による深在性真菌症の診断と Fluconazole 投与有効例の検討。薬理と治療 20: 637~641, 1992
- 2) Kohno S, et al: An evaluation of serodiagnostic tests in patients with candidemia: beta-glucan, mannan, candida antigen by cand-tec and D-arabinitol. Microbiol Immunol 37: 207~212, 1993
- 3) Soyama K, et al: Early diagnosis of invasive candidiasis in leukemia. Jpn J, Med Mycol 27: 165~169, 1986
- 4) Fung J C, Donta S T, Tilton R C: Candida detection system (CAND-TEC) to differentiate between Candida albicans colonization and disease. J Clin Microbiol 24: 542~547, 1986
- 5) 古谷利通, 外山圭助: 深在性真菌症診断における(1→3)- β -D-glucan 測定の有用性の検討。Jpn J Antibiotics 46: 437~443, 1993
- 6) 武澤 純: 血中 β -glucan 濃度測定をもちいた Candida albicans による重症真菌感染症の早期診断および早期治療。阪大医誌 41: 133~142, 1989
- 7) 浦部晶夫, 他: 血液疾患に伴う深在性真菌症における血中 β -glucan 測定ならびに miconazole 投与の臨床的有用性。感染症学 66: 1113~1119, 1993
- 8) 笹田昌孝, 他: 造血器疾患に合併した深在性真菌感染症の診断。病態解析並びに miconazole による治療効果に関する臨床的研究。感染症学 67: 673~679, 1993
- 9) 阿部章彦: 真菌症における組織反応と寄生菌の動態—白血病と真菌感染—。真菌誌 28: 208~214, 1987
- 10) 久米 光: Opportunistic fungus infection の発症病理に関する研究。真菌誌 17: 142~155, 1976
- 11) 山口英世: 新トリアゾール系抗真菌剤 Fluconazole の in vitro 抗真菌活性: J Jap Antibiotics 42: 1~6, 1989
- 12) 吉田 稔, 他: 血液悪性腫瘍の合併した深在性真菌症に対する fluconazole の臨床効果。Chemotherapy 41: 1027~1031, 1993
- 13) 新井 望, 梅田正法, 白井達男: 悪性リンパ腫に対する化学療法と Granulocyte colony-stimulating factor 併用による治療効果の検討。Biotherapy 6: 1803~1808, 1992
- 14) Yamamoto Y, et al: Immunomodulators and fungal infections: use of antifungal drugs in combination with G-CSF: In Microbial Infections: Role of biological response modifiers. p 231~241, Prentice Hall, New York, 1992

Usefulness of (1→3)- β -D-glucan for diagnosing deep mycosis associated
with malignant hematopoietic organ tumors

—Investigation of the therapeutic effect of fluconazole—

Nozomi Niitsu and Masanori Umeda

First Department of Internal Medicine, School of Medicine, Toho University,
6-11-1 Omori-Nishi, Ota-ku, Tokyo 143, Japan

Sixty-nine patients with hematopoietic malignancies who were complicated with severe opportunistic infection were studied. Ten of them were diagnosed as having mycosis, and 33 of the remaining 59 patients were suggested to have fungal infections. β -D-glucan was positive in 12 (17.4%) of the patients. The positivity rates for β -D-glucan in patients who were diagnosed as having mycosis, in those whose infection was strongly suspected to be mycosis were 80.0% and 12.1% respectively. The differences in the positivity rates of β -D-glucan among those three groups were statistically significant. These results suggest that the measurement of β -D-glucan is useful for diagnosing deep mycosis. β -D-glucan was more frequently detected during the neutropenic state in patients with acute myeloid leukemia, while the frequency of positive β -D-glucan was higher during the lymphopenic state in patients with malignant lymphoma. Fluconazole (FLCZ) was effective against fungal infections in 27 (65.1%) of 43 patients in whom it was administered. Combined therapy with FLCZ and G-CSF was effective in 11 (61.1%) of 18 patients, while treatment with FLCZ alone was effective in 17 (68.0%) of 25 patients. These results suggest that G-CSF has no significant additive benefit to FLCZ against fungal infections. Although the measurement of β -D-glucan is useful for diagnosing deep mycosis, it was positive in only a few patients with localized fungal infection. In such patients, it is important to confirm the diagnosis by using the combination of several tests for fungal infection. FLCZ was considered effective for the treatment of mycosis associated with hematopoietic malignancies.