

深在性真菌症の診断と治療戦略

近畿大学医学部附属病院
安全管理部感染対策室

吉田 耕一郎

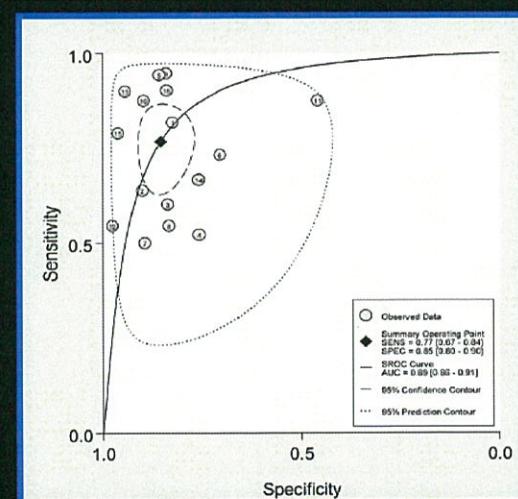
各種血清診断法が応用可能な真菌症

検出対象	カンジダ症	アスペルギルス症	クリプトコックス症	トリコスボロン症	接合菌症
(1→3)- β -D-グルカン	○	○		○	
細胞壁マンナン抗原	○				
易熱性糖蛋白抗原	○				
D-アラビニトール	○				
細胞壁ガラクトマンナン抗原		○			
莢膜グルクロノキシロマンナン抗原			○	○	

β -グルカン測定 4 キットの仕様

	MK 法	マルハ法	ワコー法	ファンジテル
承認国	日本	日本	日本	米国 (FDA)
承認年	1995 年	2001 年	1996 年	2004 年
測定原理	リムルス反応	リムルス反応	リムルス反応	リムルス反応
測定方法	カイティック比色法	エンドホイント比色法	カイティック比濁法	カイティック比色法
検体	血漿・血清	血漿・血清	血漿・血清	血清
検体前処理	アルカリ法	希釈加熱法	希釈加熱法	アルカリ法
標準品	パキマン	レンチナン	カードラン	パキマン
主剤原料	<i>Tachypleus tridentatus</i>	<i>Tachypleus tridentatus</i>	<i>Limulus polyphemus</i>	<i>Limulus polyphemus</i>
カットオフ値	20pg/mL	11pg/mL	11pg/mL	80pg/mL
測定範囲	3.9~500pg/mL	1.2~120pg/mL	6~600pg/mL	31.25~500pg/ml
主反応時間	30分	30分	90分	30分

真菌症の診断における β -グルカン の有用性 — meta-analysis —



16 studies

2979例
(594例 : proven, probable IFIs)
(2385例 : Patients without IFIs)

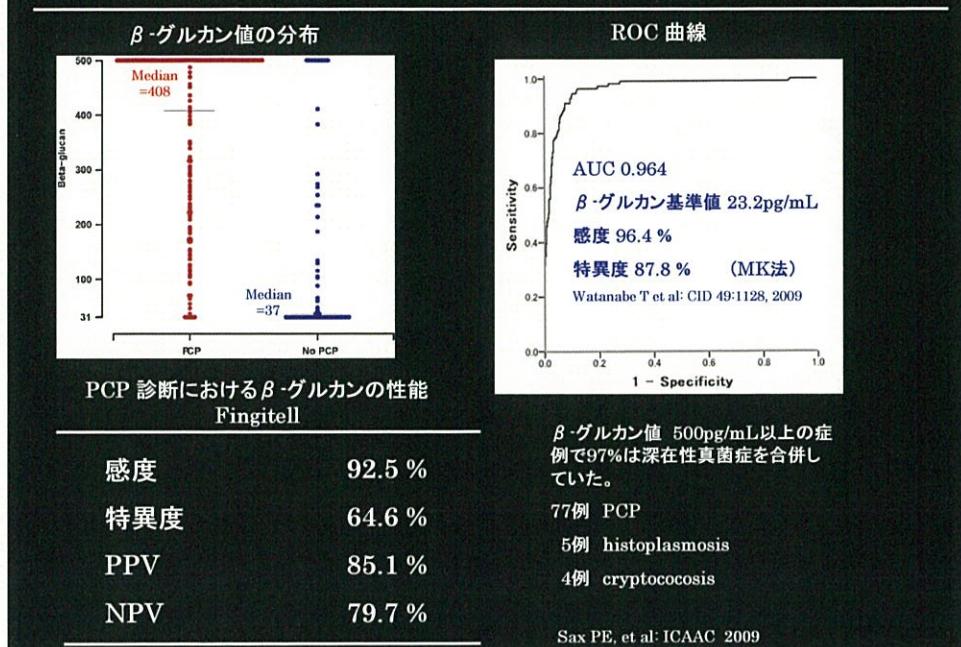
Pooled sensitivity : 76.8 %
(67.1% - 84.3%)

Pooled specificity : 85.3 %
(79.6% - 89.7%)

ROC曲線のAUC : 0.89

Karageorgopoulos DE et al:
Clin Infect Dis 52:750, 2011

HIV感染者における β -グルカンのPCP診断への応用

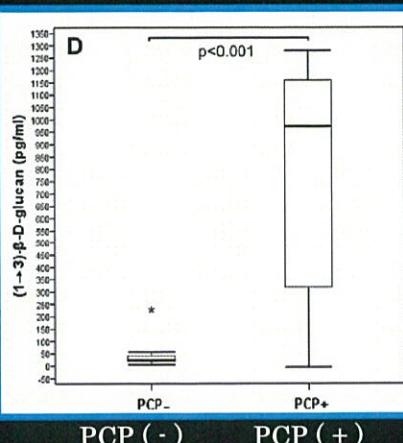


β -グルカンをニューモシスチス肺炎の診断に応用する

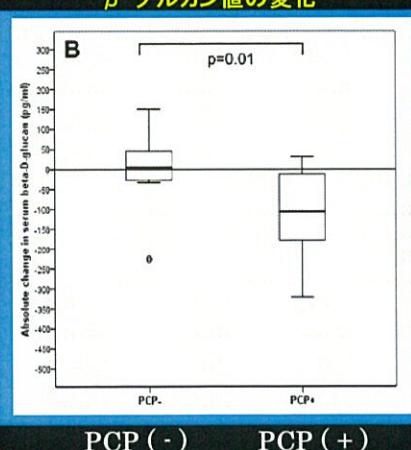
2005. 3 – 2006. 3 Non-HIV 免疫抑制患者 31例

PCP : 21例 Non-PCP : 10例 (市中肺炎3, 間質性肺炎5, NTM1, 不明2)

治療開始時の β -グルカン値



治療開始時と3日後の β -グルカン値の変化



De Boer MGL, et al : J Infect ion 62:93, 2011

β -グルカン測定法の問題点

1. 各 β -グルカン測定キットは性能に大きな差違がある。
2. 採用しているキットが何か、知つておく必要がある。
3. 設定されている β -グルカンの現行基準値が、対象の病態に合っているか否か、再検討が必要ではないか。
4. 原因不明の偽陽性も少なからず経験する。
5. 目の前の患者に応用可能か否か、慎重な見極めを要する。
6. 11pg/mL、20pg/mLの基準値に加え、
海外では 80pg/mLと計 3 種類の基準値が設定された。
7. 國際的な β -グルカン測定の標準法を確立する必要がある。

成人血液疾患患者におけるGM抗原の感度・特異度

Non-IA 症例 201例 3691検体、 IA 症例 38例 1182検体

	COI 1.5	COI 0.5	COI変更による変化
感 度	76.3 %	97.4 %	+21.1 %
特異度	97.5 %	90.5 %	- 7.0 %

Maertens (Gasthuisberg 大学), Verweij (Nijmegen 大学)

バイオ・ラッド富士レビオ株式会社 資料

ガラクトマンナン抗原 ELISA法に影響を及ぼす因子

因子	影響	発表者 / 発表年	
cyclophosphamide	偽陽性	Hashiguchi K et al.	1994
cotton swabs	偽陽性	Dalle F et al.	2002
piperacillin-tazobantam	偽陽性	Viscoli C et al. Adam O et al.	2004 2004
amoxicillin-clavulanate	偽陽性	Maertens J et al.	2004
<i>Bifidobacterium</i> spp.	偽陽性	Mennink-Kersten MASH et al. 2005	
<i>C. neoformans</i> galactoxylomannan	偽陽性	Dalle F et al.	2005
soybean protein	偽陽性	Murashige N et al.	2005
antifungal therapy	感度低下	Marr K et al.	2005

IAにおけるBALF中 ガラクトマンナン検出の感度

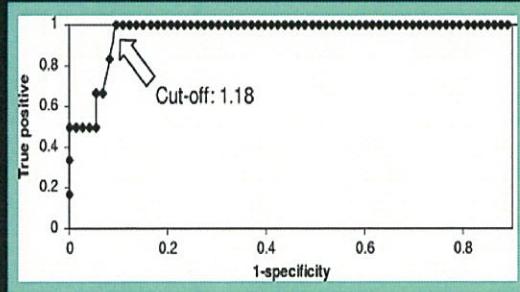
	Cutoff 0.5		Cutoff 1.0	
	感度	特異度	感度	特異度
血液内科領域	-	-	100 %	100 %
骨髄移植領域	76 %	94 %	61 %	98 %
臓器移植領域	100 %	84 %	100 %	91 %
臓器移植領域	67 %	95 %	67 %	98 %
I C U	88 %	87 %	-	-
Non-immuno compromised	100 %	78 %	100 %	88 %

Becker MJ et al: Br J Haematol 121(3):448-457, 2003
 Musher D et al: J Clin Microbiol 42(12):5517-5522, 2004
 Clancy CJ et al: J Clin Microbiol 45:1759-1765, 2007

Husain S et al: Transplantation 83(10):1330-1336, 2007
 Meersseman W: Am J Respir Crit Care Med 177:27-34
 Nguyen MH: J Clin Microbiol 45:2787-2792, 2007

非免疫抑制患者の肺アスペルギルス症へのBALF中ガラクトマンナン抗原の応用

	感 度	特異度	PPV	NPV
BALF GM ≥ 1.0	100 %	88.1 %	42.9 %	100 %
BALF GM ≥ 0.5	100 %	77.6 %	28.6 %	100 %
血清 GM ≥ 0.5	60 %	91.7 %	75 %	84.6 %
BALF 培養	66.7 %	94 %	50 %	96.9 %
BALF 塗沫鏡検	80 %	96.9 %	66.7 %	98.4 %
BALF 培養または塗沫鏡検	100 %	92.5 %	54.5 %	100 %



有病症例:6例

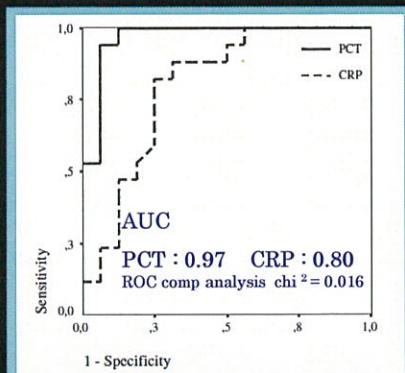
IPA : 2例、CNPA : 2例、
アスペルギローマ : 2例

無病症例:67例

9例でBALF 中GM 1.0以上、
うち2例では抗真菌薬の投与が行
われていた。

Nguyen MH, et al : J Clin Microbiol 2007;
45: 2787-92

プロカルシトニンで カンジダ血症を診断する



敗血症のサインと真菌症のリスクを有する外科ICUに成人

PCT : 2 ng / mL 以下を
cutoffとした場合、

感度:92 % PPT:94 %

特異度:93 % NPV:93 %

細菌性敗血症 16例

カンジダ血症 17例

p 値

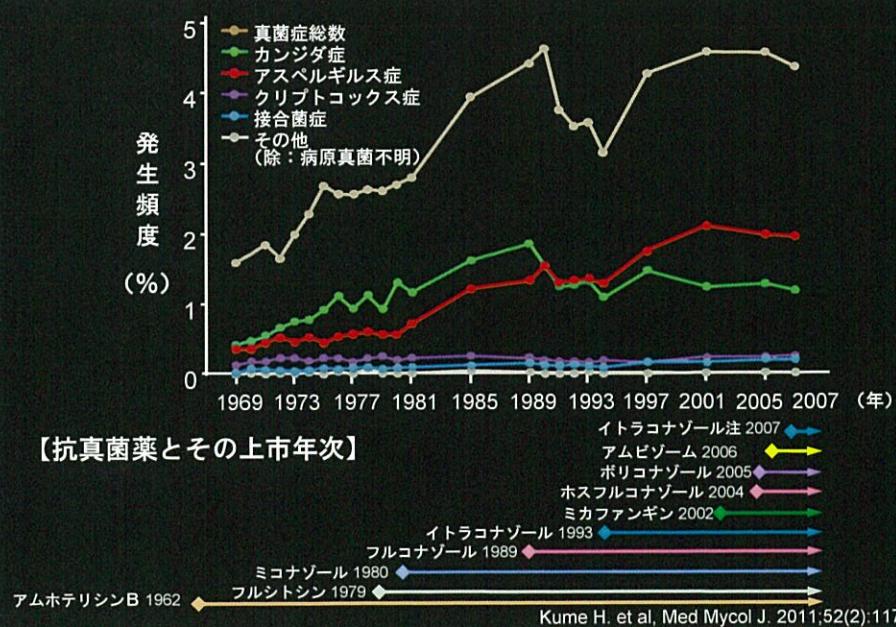
CRP	19.0 (11.5 – 31.6)	9.4 (6.6 – 12.9)	0.002
PCT	12.9 (2.6 – 81.2)	0.71 (0.5 – 1.1)	0.001

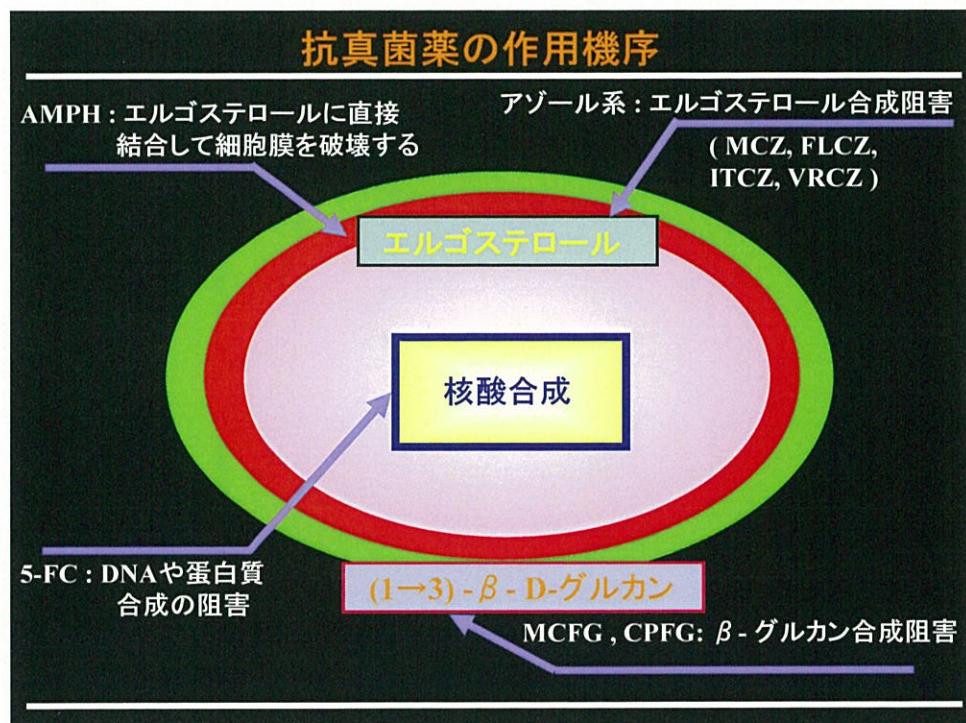
Martini A et al : J Infection 60, 425-430, 2010

まとめ 1

1. 深在性真菌症の血清診断法は、海外でも有用性が認識され始め、多くの臨床試験が実施されてきている。
2. しかし、感度や特異度の面で、常に十分に満足できる成績が得られないのが現状である上、試験によりばらつきも少なくない。
3. 現状では、各々の検査の運用・評価方法などで、性能不足を補う工夫が必要であり、目の前の患者の病態にどのように応用するかを常に考えて使用する必要がある。

本邦の病理剖検例における内臓真菌症の年次別発生頻度





各種抗真菌薬の真菌種別抗真菌活性

真菌種	AMPH	MCZ	FLCZ	ITCZ	VRCZ	MCFZ CPFG	5FC
<i>C. albicans</i>	◎	○	◎	◎	◎	◎	○
<i>non-albicans candida</i> sp.	◎	○	△	◎	◎	◎	△
<i>Cryptococcus</i> sp.	◎	△	◎	◎	◎	×	○
<i>Aspergillus</i> sp.	◎	○	×	◎	◎	◎	△
<i>Trichosporon</i> sp.	○	×	○	○	○	×	×
<i>Fusarium</i> sp.	○	×	×	×	○	×	×
<i>Mucor</i>	○	×	×	△	×	×	×

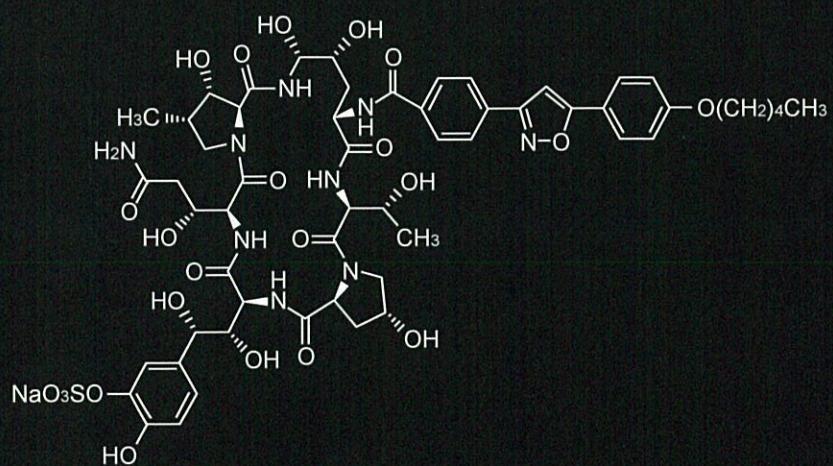
◎ 良好な活性 ○ 活性有 △ 一部で活性 × 活性なし
上記評価は一般論 ○以上でも耐性、低感受性の株も存在する。

抗真菌薬のカンジダ属に対する最適 PK-PD パラメータとマグニチュード

	PK – PD パラメータ	マグニ チュード
ポリエン系	d-AMPH L-AMB	Peak / MIC 4
ピリミジン系	5-FC	%T > MIC 25%
アゾール系	MCZ FLCZ FFLCZ ITCZ VRCZ	AUC / MIC 25
キャンディン系	MCFG CPFG	Peak / MIC 3-4 AUC/MIC 10-20

深在性真菌症の診断・治療ガイドライン 2007 より一部改編

Chemical structure of MCFG



MICs of MCFG for clinical isolates of *Candida* species

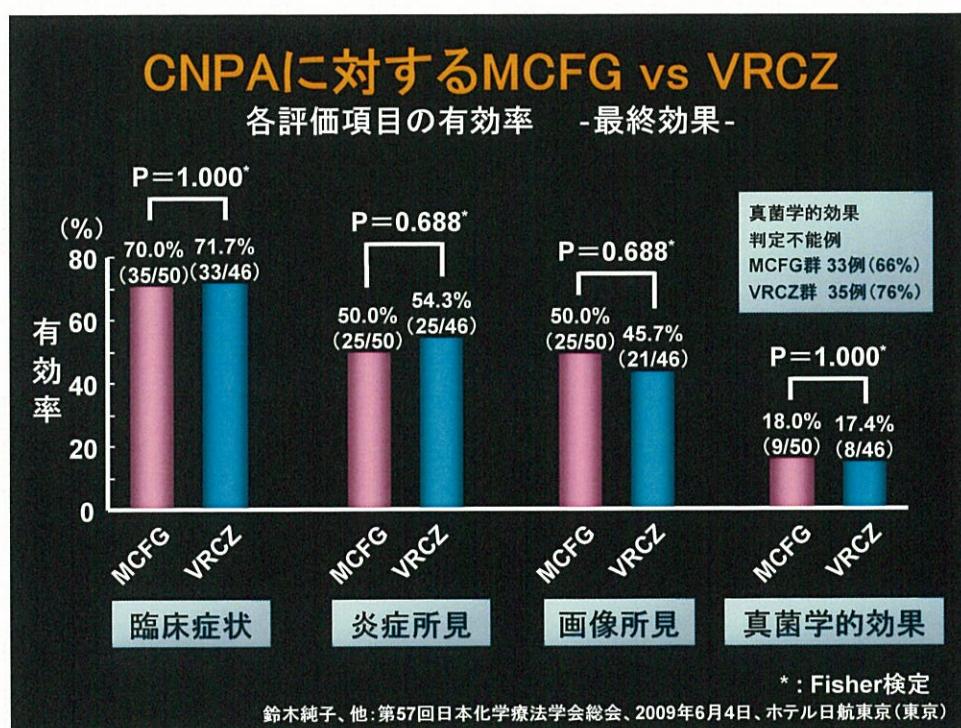
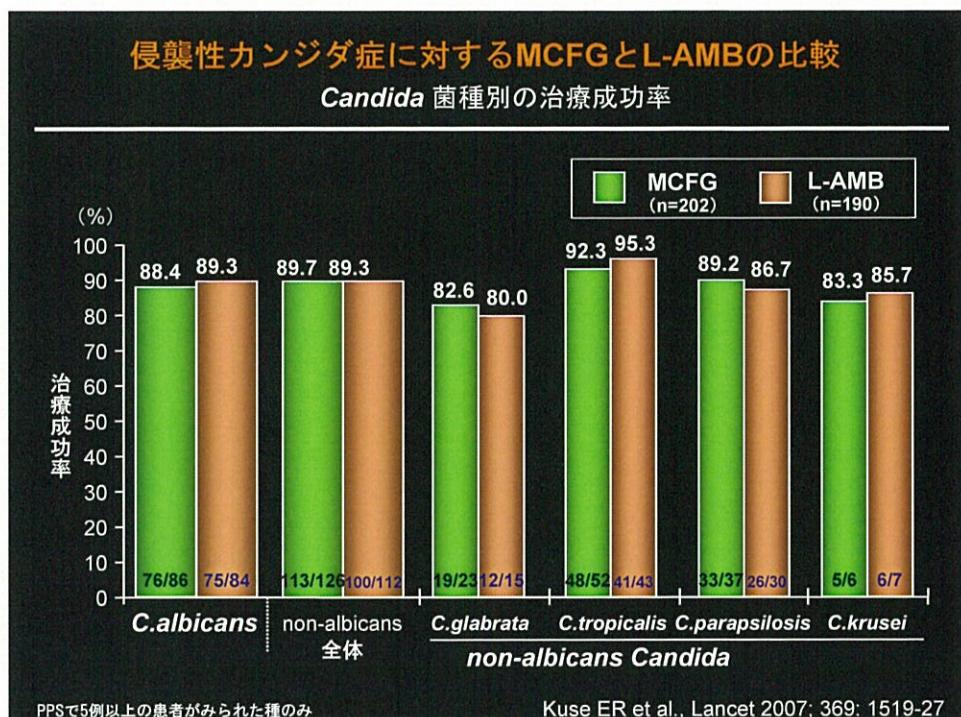
Organism (no. of isolates)	Compound	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	
		Range	90%
<i>C. albicans</i> (37)	MCFG	$\leq 0.0039 - 0.0156$	0.0156
	FLCZ	0.125 - 4	0.5
	ITCZ	0.0156 - 0.25	0.0313
	AMPH	0.25 - 1	0.5
<i>C. albicans</i> , FLCZ resistant (4)	MCFG	0.0156 - 0.0313	0.0313
	FLCZ	16 - >64	>64
	ITCZ	0.5 - >8	>8
	AMPH	0.25 - 0.5	0.5
<i>C. glabrata</i> (20)	MCFG	0.0078 - 0.0156	0.0156
	FLCZ	4 - >64	64
	ITCZ	0.5 - >8	8
	AMPH	0.0625 - 1	1
<i>C. krusei</i> (11)	MCFG	0.125 - 0.25	0.125
	FLCZ	16 - 64	64
	ITCZ	0.25 - 1	1
	AMPH	0.5 - 1	1

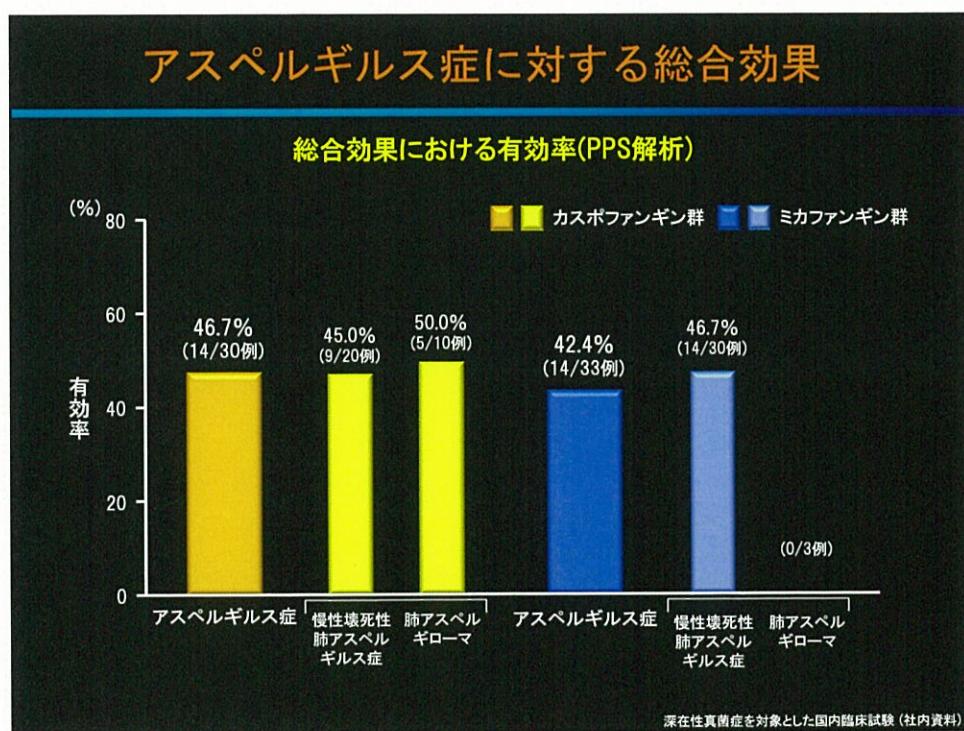
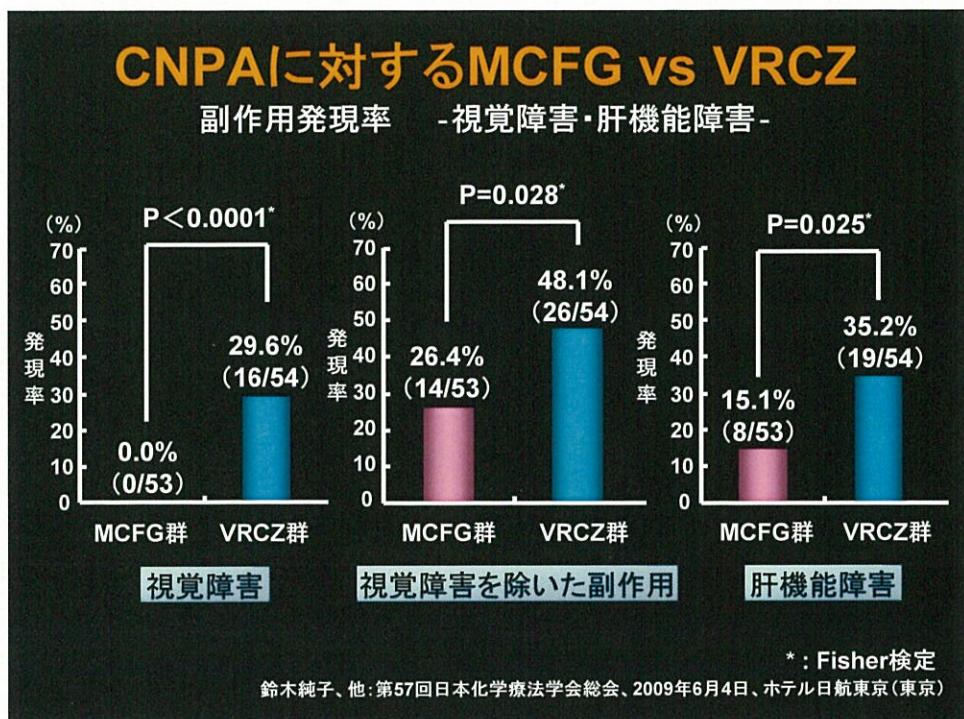
Tawara S et al. Antimicrobial agent and chemotherapy 44;57-62, 2000

***Candida parapsilosis* に対する
MCFG と他の抗真菌薬のMIC**

抗真菌薬	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		
	Range	50%	90%
MCFG	0.5 - 2	1	1
FLCZ	0.125 - 4	0.5	1
ITCZ	0.0313 - 0.5	0.125	0.5
AMPH	0.125 - 0.5	0.25	0.5

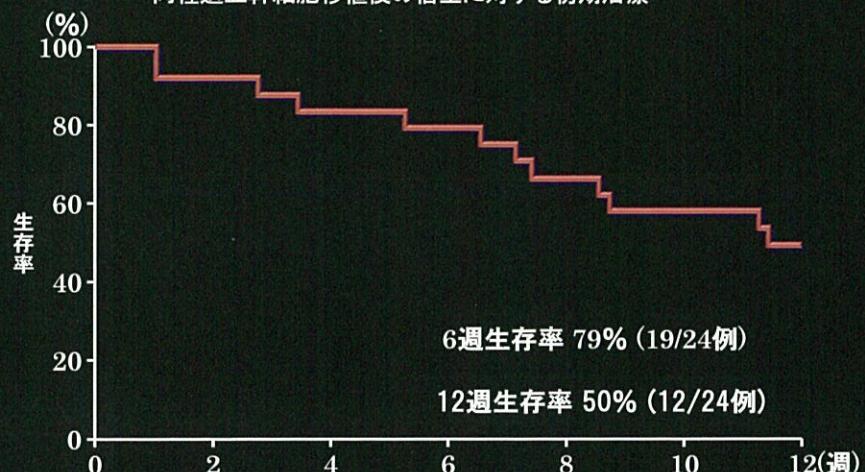
Tawara S et al. Antimicrobial agent and chemotherapy 44;57-62, 2000





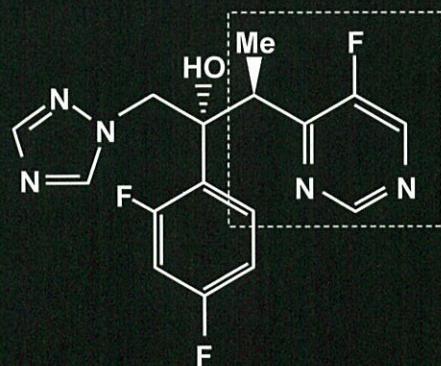
侵襲性アスペルギルスに対するCPFGの臨床効果

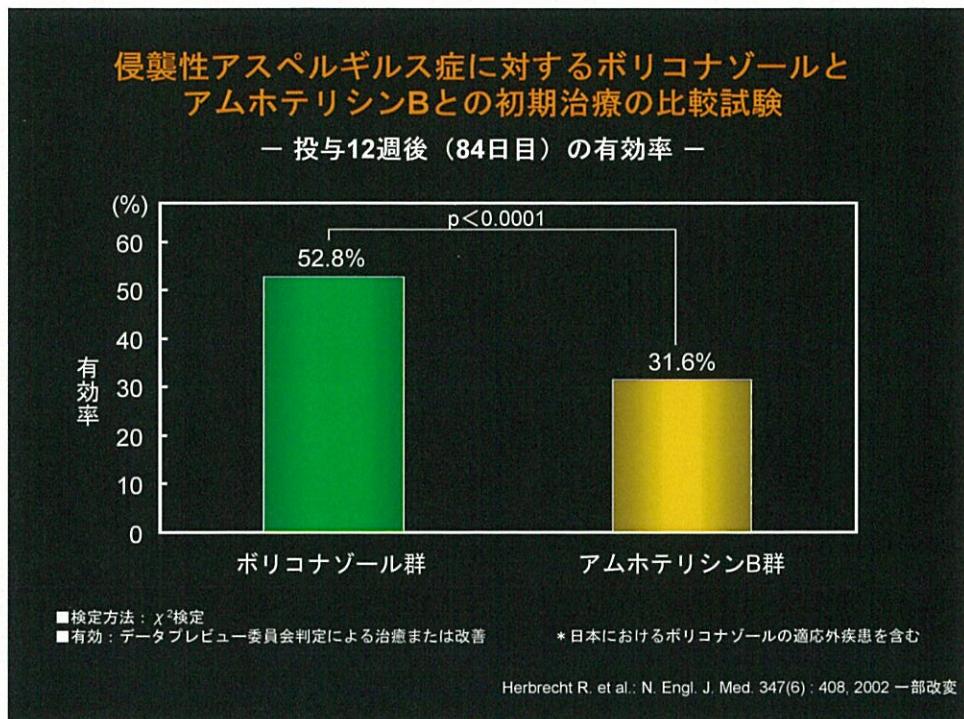
同種造血幹細胞移植後の宿主に対する初期治療



Herbrecht R. et al., *Bone Marrow Transplantation*, 2010; 45:1227-1233.

ボリコナゾールの構造式





**Chronic Cavitary Pulmonary Aspergillosis
に対する VRCZ の効果**

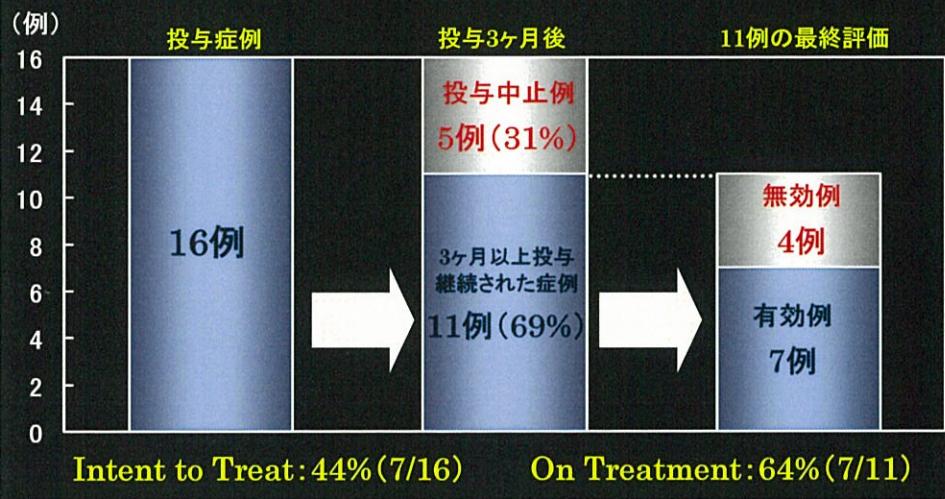
ITCZ に継続して 3ヶ月以上 VRCZ が継続された 11 例

	ベースライン値 (mean±SD)	3ヶ月後に改善 した患者数 (%)	3ヶ月以降の 平均変化値
体重 (kg) (11)	57.8	4/10 (40)	0.1
赤沈 (mm/h) (11)	49.5	8/9 (89)	- 12.8
CRP (mg/dL) (11)	4.85	8/11 (73)	- 0.08
Total IgE (8)	645.3	4/5 (80)	- 119
抗アスペルギルス 沈降抗体価 (7)	18.1	7/7 (100)	- 1.0
Overall response rate		7/11 (64)	

Jain LR, Denning DW: J Infection. 2006;52:e133

CCPA16例におけるVRCZの有効性と安全性

対象:16名の*chronic cavitary pulmonary aspergillosis*の患者
薬剤: Voriconazole経口1回150-200mgを1日2回投与



Jain LR, Denning DW :Journal of Infection,(2006)52,e133-137

視覚に対する影響

- ◆ 視覚に関する主な副作用は、羞明（25%），視覚障害（24%），霧視（5%）等であった。
- ◆ 視覚に対する影響は可逆的で一過性に生じ、失明に至るなどの長期毒性は認められない。
- ◆ 重症度別では全例が軽度または中等度であり、特に治療を必要とせずに消失した。
- ◆ 国内第Ⅲ相臨床試験における視覚に関する有害事象は、投与初期に多く認められた。

● 「視覚」に関する有害事象の経時的発現推移

発現時期	初回発現日(発現件数)					合計
	1日目	2~7日目	8~28日目	29~84日目	85日目以降	
羞明	12(48.0%)	12(48.0%)	1(4.0%)	0	0	25
霧視	3(60.0%)	2(40.0%)	0	0	0	5
視覚障害	13(54.2%)	10(41.7%)	1(4.2%)	0	0	24

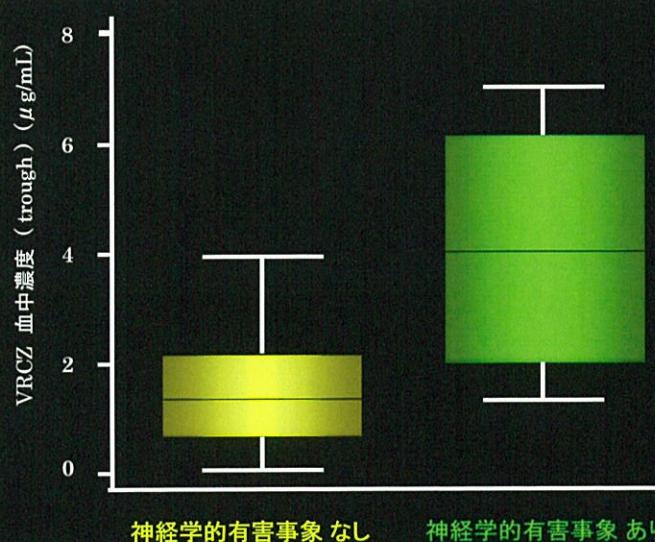
神経学的有害事象を発症した症例の一覧

年齢	性	基礎疾患	神経学的有害事象	用量	使用期間	VRCZ 濃度
43	F	肝移植後	有痛性末梢神経症	N/A	70	N/A
78	M	AML	音楽の幻聴	300mg bid	6	N/A
76	M	肺線維症	錯乱・幻視	4mg/kg bid iv	3	8.96 γ
40	M	AML	hypotonia, 不安, 不眠	200mg bid	7	1.5 γ
57	W	AML	幻視, asthenia, 眼振	300mg bid	4	6.4 γ
61	M	AML	短気, 集中力低下, asthenia	200mg bid	4	5.7 γ
50	M	AML, SCT	幻視, asthenia	300mg bid	22	5.7 γ
58	M	AML, SCT	視覚障害	300mg bid	75	2.3 γ
49	M	apla, SCT	dysarthria, asthenia, 不眠	200mg bid	13	6.5 γ

AML: acute myeloid leukemia, SCT: stem cell transplantation, N/A: not available

Imhof A, et al : Swiss Med Wkly 136:739, 2006

VRCZによる神経学的有害事象の有無と血中濃度の関係



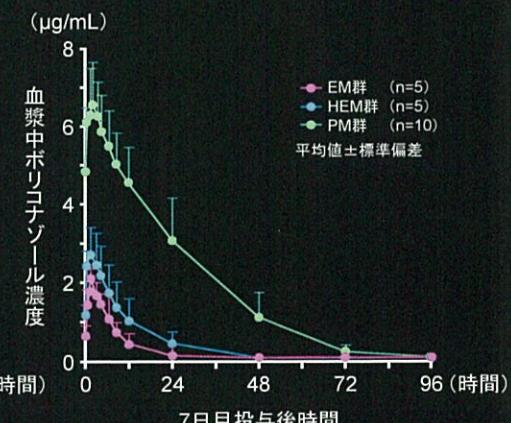
Imhof A, et al : Swiss Med Wkly 136:739, 2006

CYP2C19の遺伝子多型による血漿中濃度への影響 － 健康人 －

反復静脈内投与時の血漿中濃度推移



反復経口投与時の血漿中濃度推移



対象 日本人健康成人男性 各投与群12例

方法 ポリコナゾールを反復静脈内投与(初回は6mg/kgを1日2回、2日目以降は3mg/kgを1日2回)を10日間行い、血漿中ポリコナゾール濃度を測定した。

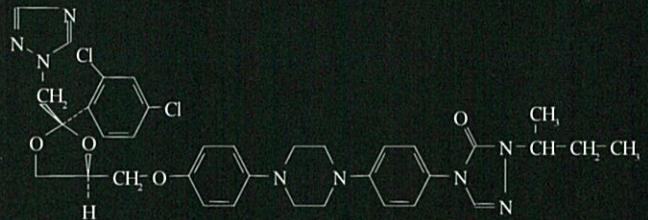
対象 日本人健康成人男性 各投与群20例

方法 ポリコナゾールを反復経口投与(初回は400mgを1日2回、2日目以降は200mgを1日2回)を7日間行い、血漿中ポリコナゾール濃度を測定した。

VRCZ投与中にみられる精神・神経系の副作用の原因は？

- ・VRCZ の血中濃度が過剰に高くなっているためなのか？
- ・VRCZ 血中濃度モニタリングの重要性
- ・現行の血中濃度測定の保険適応では不十分では？
- ・併用薬の詳細な調査を行う必要性

イトラコナゾールの構造式

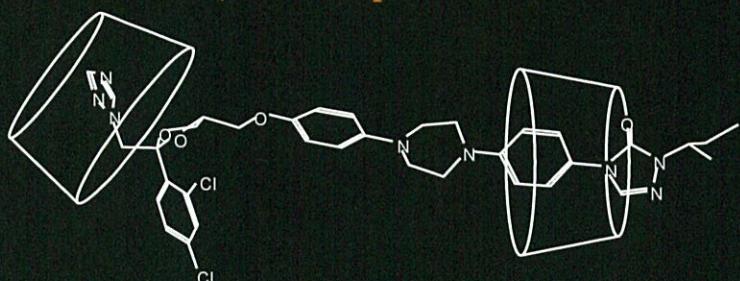


Hydroxy Propyl- β -Cyclodextrin の構造



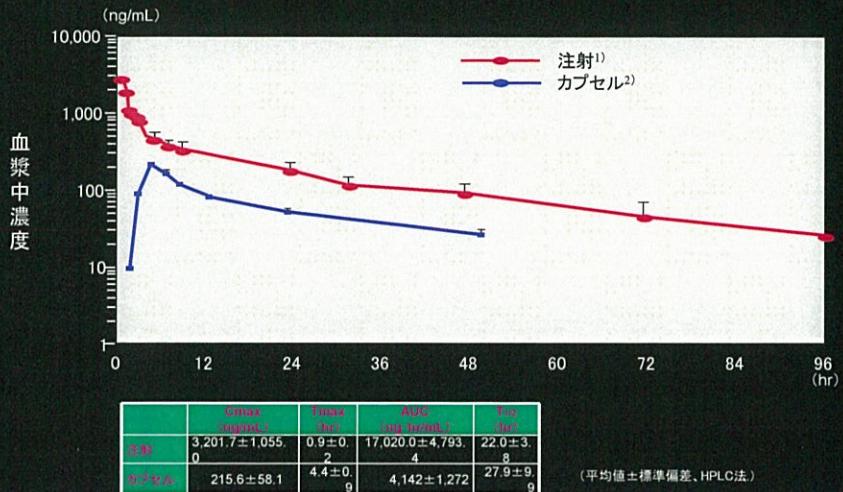
● : Carbon
● : Oxygen
● : Hydrogen
● : Hydroxypropoxyl
or Hydrogne

Itraconazole / HP- β -CD complexn の構造



ITCZ の薬物動態(国内Phase I)

カプセル剤と注射剤の比較: 健常成人200mg単回投与



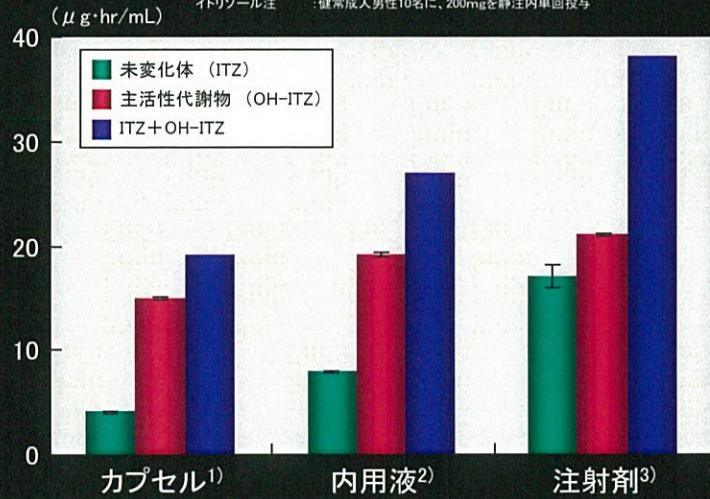
1) 河野 茂, 他: 日本化学会誌, 54(S-1), 32, 2006

2) 小口 勝司, 他: 基礎と臨床, 25:397, 1991

ITCZ の薬物動態(国内Phase I): AUC

カプセル剤と内用液と注射剤の比較

【試験方法】 イトゾール内用液 : 健常成人男性6名に、内用液200mgを空腹時に単回投与
 イトゾールカプセル : 健常成人男性5名に、カプセル200mgを食直後に単回投与
 イトゾール注 : 健常成人男性10名に、200mgを静注内単回投与



1) 小口 勝司, 他: 基礎と臨床, 25:397, 1991

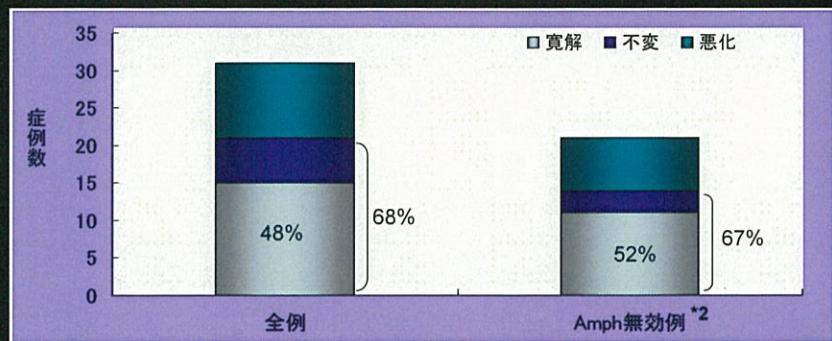
2) T 宗鉄, 他: 日本化学会誌, 54(S-1), 6, 2006

3) 河野 茂, 他: 日本化学会誌, 54(S-1), 32, 2006

ITCZ の侵襲性肺アスペルギルス症の治療効果

【試験対象】 侵襲性肺アスペルギルス症患者31例
(基礎疾患:血液疾患28例、慢性肉芽腫2例、AIDS1例)

【投与方法】 イトリゾール注 400mg/日(1.2日目)、200mg/日(3~14日目)
イトリゾールカプセル 400mg/日(1日2回) 最大14週まで(中央値78.5日)食後投与



有効率(完全寛解+部分寛解):48%
治療成功率(有効+不变):68%

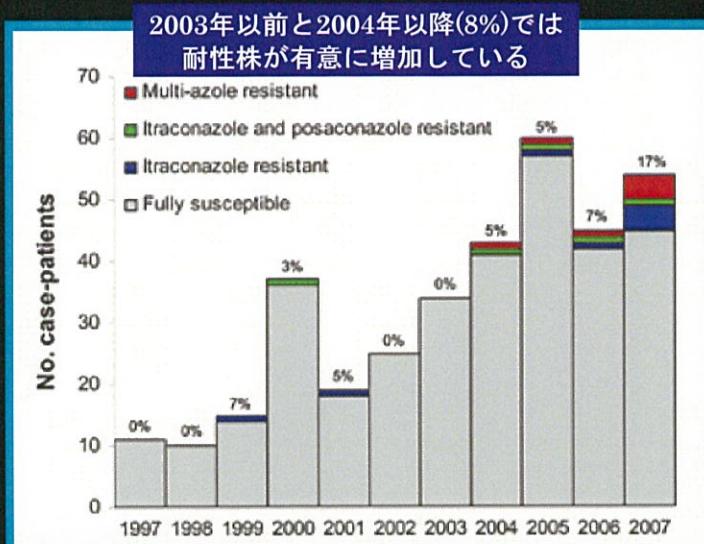
有効率(完全寛解+部分寛解):52%
治療成功率(有効+不变):67%

Caillet D., et al.: Clin. Infect. Dis., 33, e83(2001)

*2 Caillet D.: Acta Haematol., 109, 111-118(2003)

アゾール系薬耐性の臨床分離 *A. fumigatus* の頻度

Regional Mycology Laboratory Manchester culture collection



Howard SJ, et al: Emerg Infect Dis 15, No7, 2009

アゾール薬の長期使用中に耐性化した *A. fumigatus* 株のMICの変化

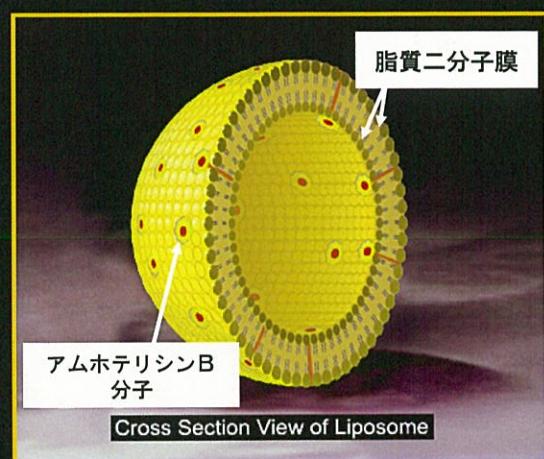
week of collection	MIC measured with CLSI / EUCAST ($\mu\text{g/mL}$)					
	ITCZ	VRCZ	posaconazole	anidulase	MCFG	
1	0	0.125 / 0.5	0.5 / 1	0.016 / 0.125	0.004	0.064
2	108	0.25 / 0.5	0.5 / 1	0.031 / 0.125	0.004	0.064
3	125	>16 / >4	4 / >4	0.25 / 0.5	0.004	0.064
4	127	>16 / >4	4 / >4	0.25 / 1	0.004	0.125

-104 to -102 caspofungin
 -102 to -97 capofungin + VRCZ
 -97 to -96 VRCZ

-67 to +12 VRCZ
 +12 to +90 caspofungin + VRCZ
 +90 to +134 caspofungin + posaconazole

Arendrup MC, et al : PLoS Med 5 e10080, 2010

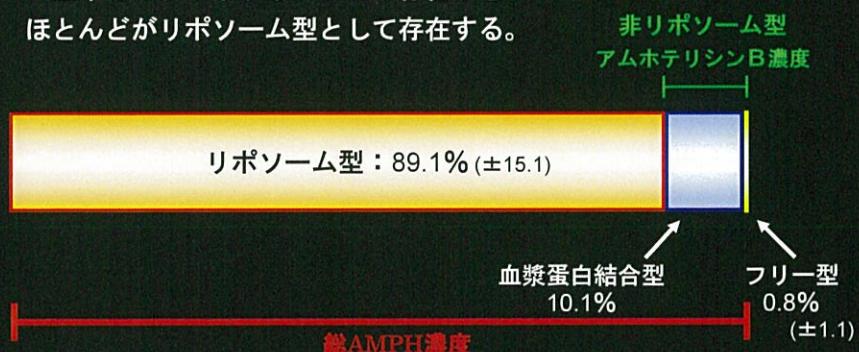
AmBisome の立体模式図



L-AMB 投与後の AMPH の血中での存在形態

血中でのアムホテリシンBの存在形態

ほとんどがリポソーム型として存在する。



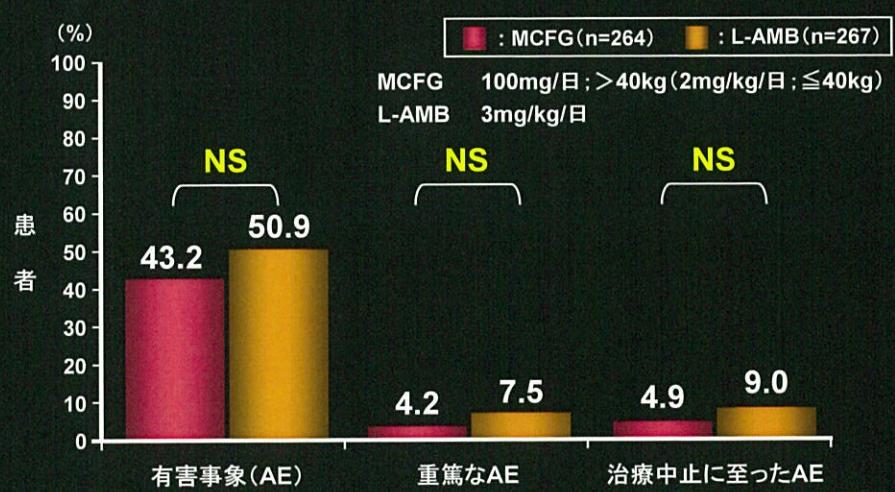
対象：日本人の深在性真菌症患者78例（16～79歳）のうち、本検討に参加可能であった8例
方法：アムビゾーム1日1回2.5mg/kg（初回投与量）から開始し、その後は必要に応じて5.0mg/kgまたは1.0mg/kgに増減可
として、原則3週間～最長12週間静脈内投与した。

アムビゾーム投与直後、4時間後、8時間後及び2日目、3日目、7日目、2週目、3週目のトラフ値、最終投与22～26時間後に限外濾過によりアムホテリシンBの血漿中での存在形態を検討した。

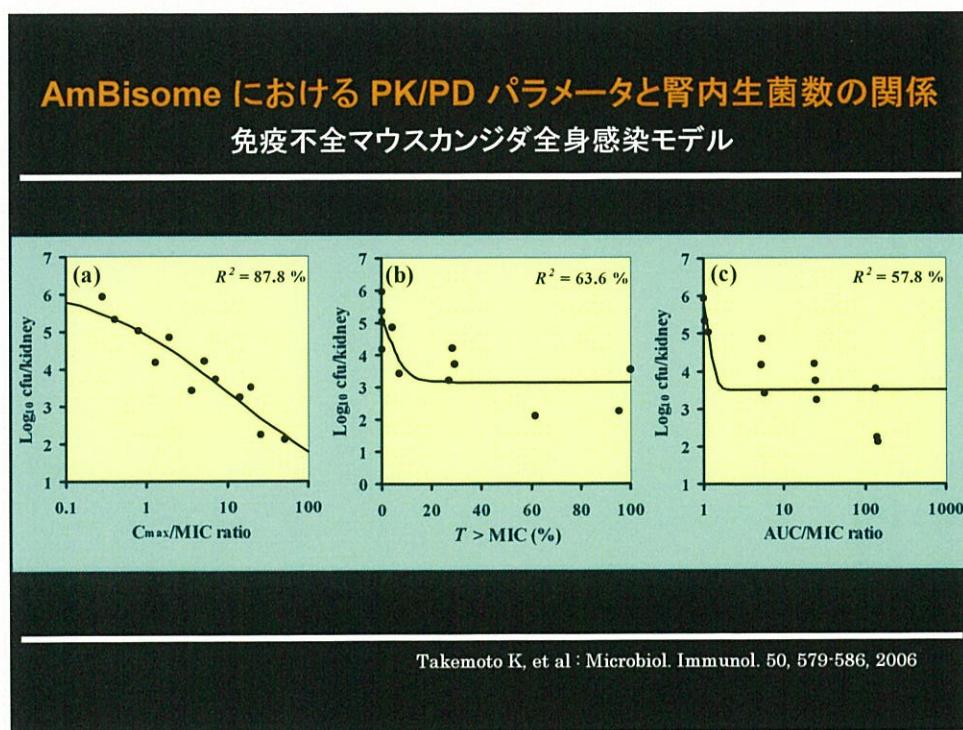
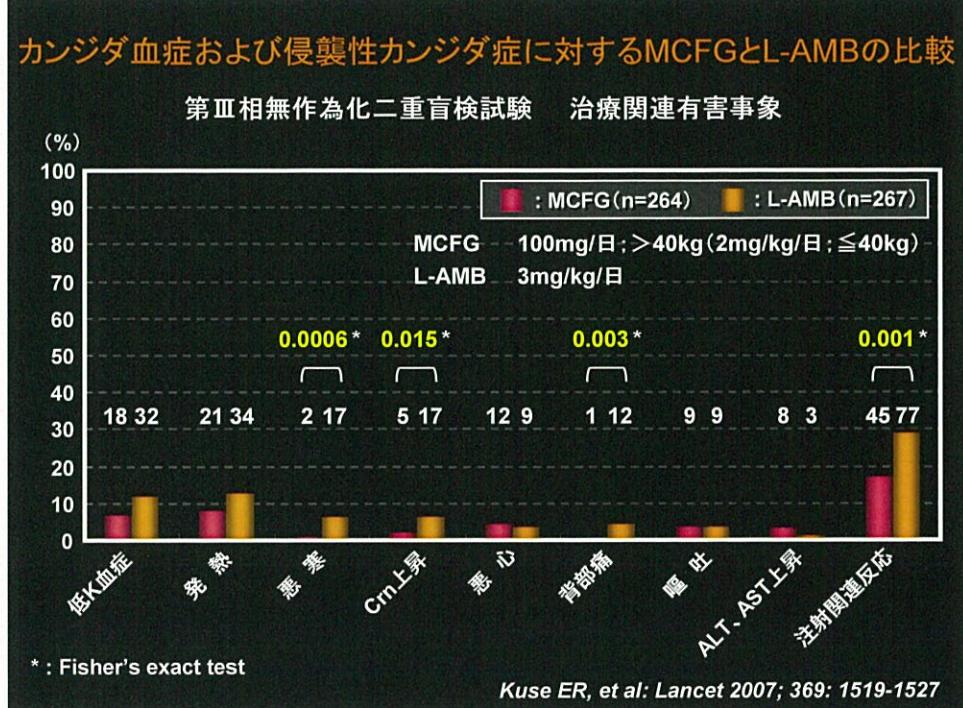
大日本住友製薬社内資料（申請時資料）

カンジダ血症および侵襲性カンジダ症に対するMCFGとL-AMBの比較

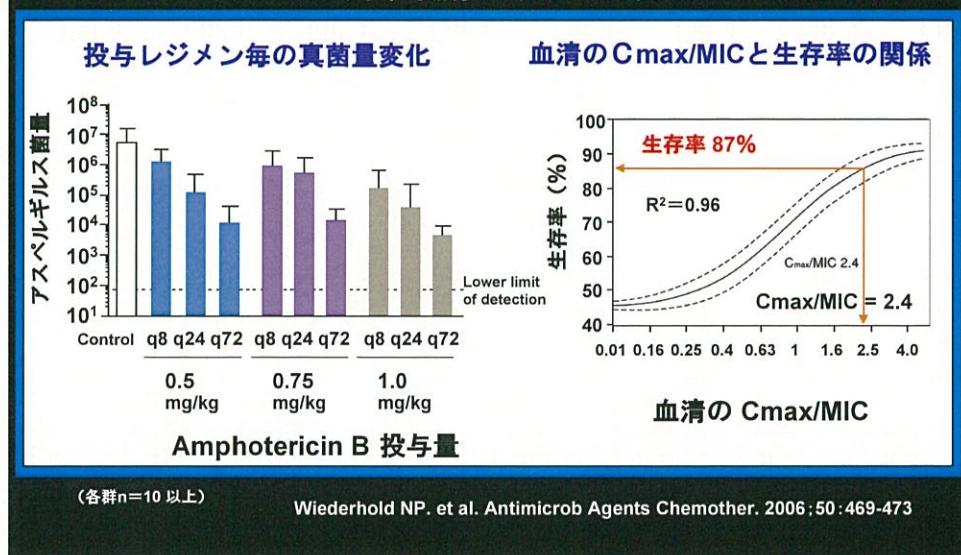
第Ⅲ相無作為化二重盲検試験 治療関連有害事象



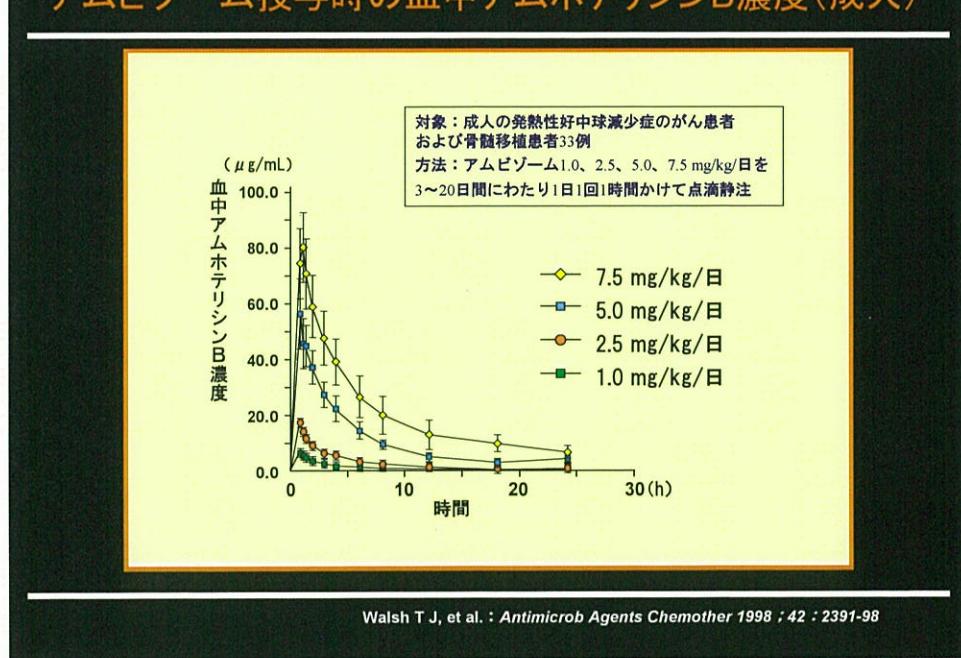
Kuse ER, et al: Lancet 2007; 369: 1519-1527



**侵襲性肺アスペルギルス症に対する
amphotericin B の有効性とPK/PDの関係**
(好中球減少マウスモデル)



アムビゾーム投与時の血中アムホテリシンB濃度(成人)

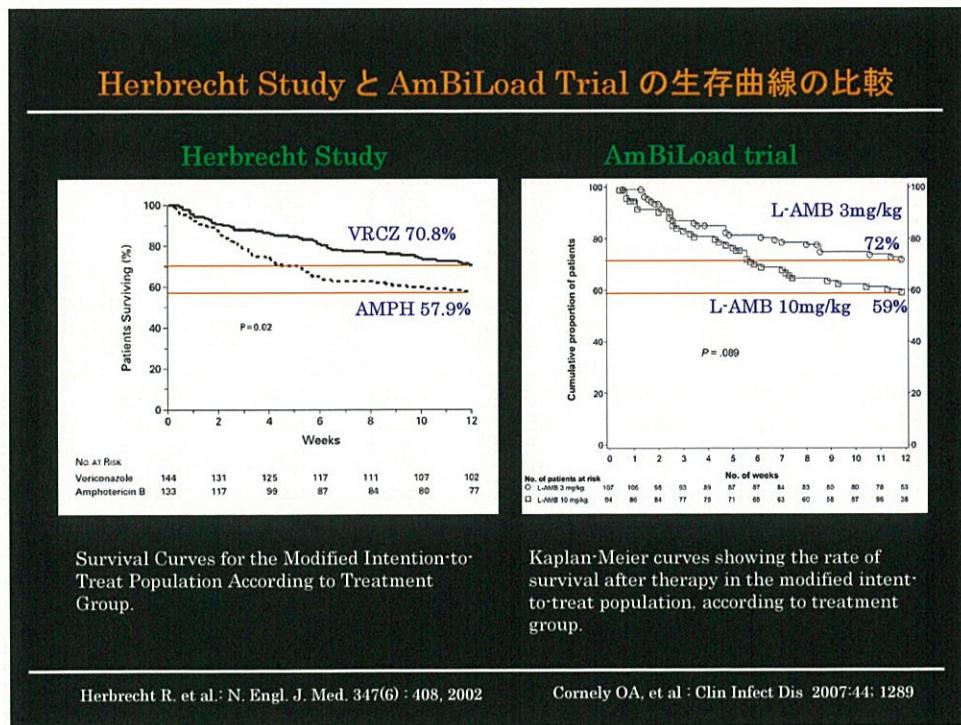


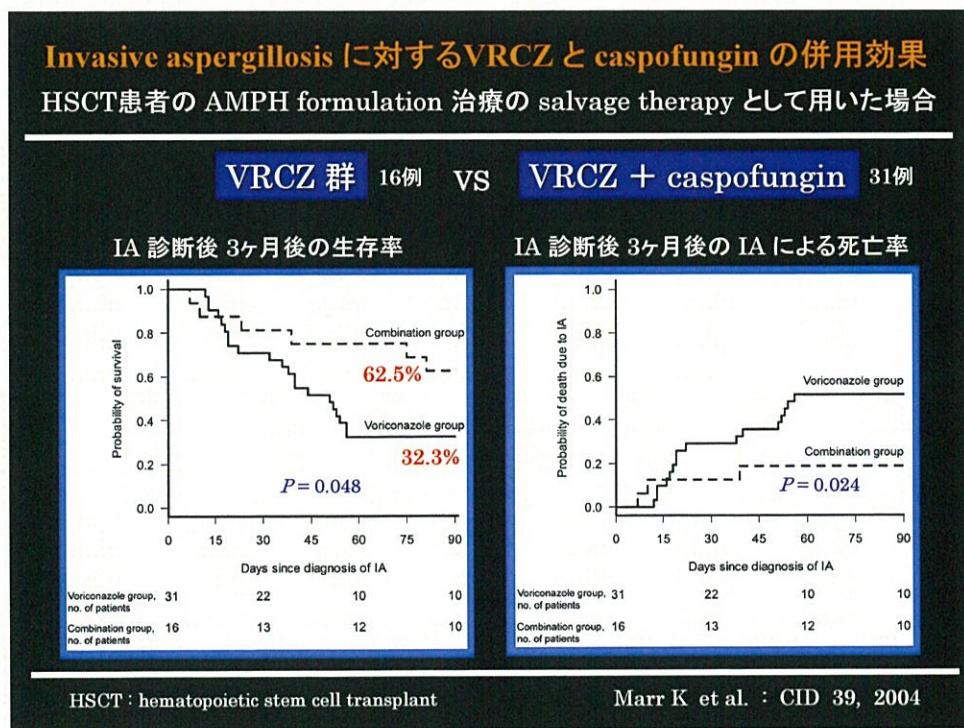
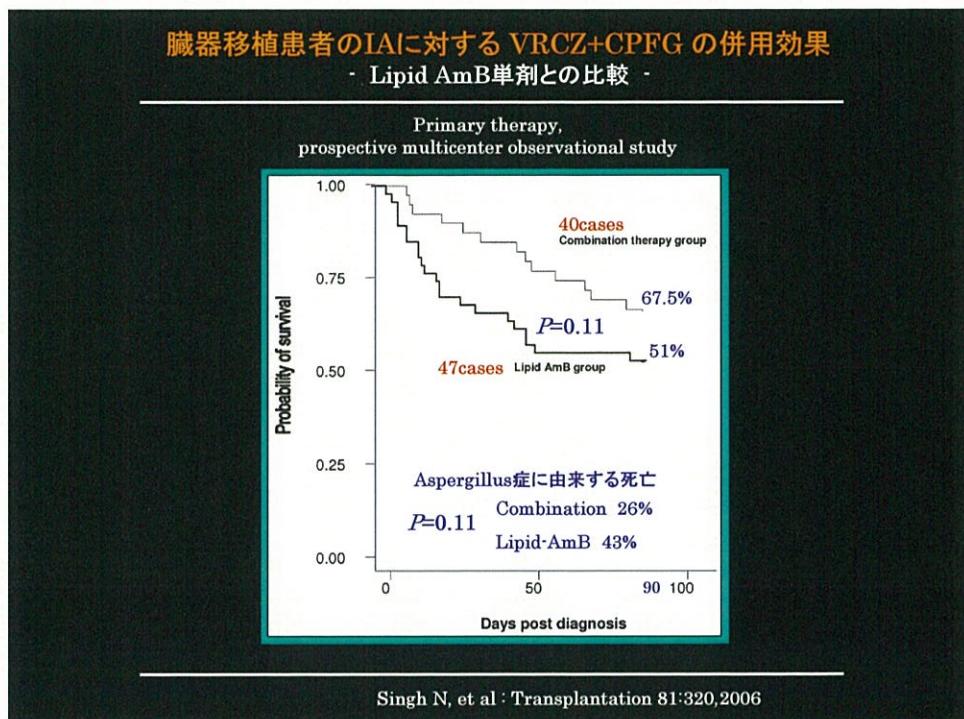
AmBload Trial

Prpven, Probable mold infection
初期治療 3 mg/kg/Day群 10 mg/kg/Day群

Pt. group of characteristics	3 mg/ kg/Day	10 mg/ kg/Day	Defference, % (95% CI)
All Pt.	50 %	46 %	4 (-10 to 18)
All Pt. with aspergillosis	50 %	46 %	4 (-10 to 18)
Pt. with microbiol confirmed aspergillosis	39 %	42 %	-4 (-26 to 18)
Pt. with aspergillosis diagnosed by CT halo	56 %	48 %	8 (-10 to 26)
 Adverse events	 % of presence of adverce events	 P	
Hypkalemia: < 3.0 mmol/L	16 %	30 %	0.015
< 2.5 mmol/L	3 %	4 %	
Increase increatinin level	10 %	27 %	0.002
Doubling creatinin level	14 %	31 %	0.005

Cornely OA, et al : Clin Infect Dis 2007;44: 1289

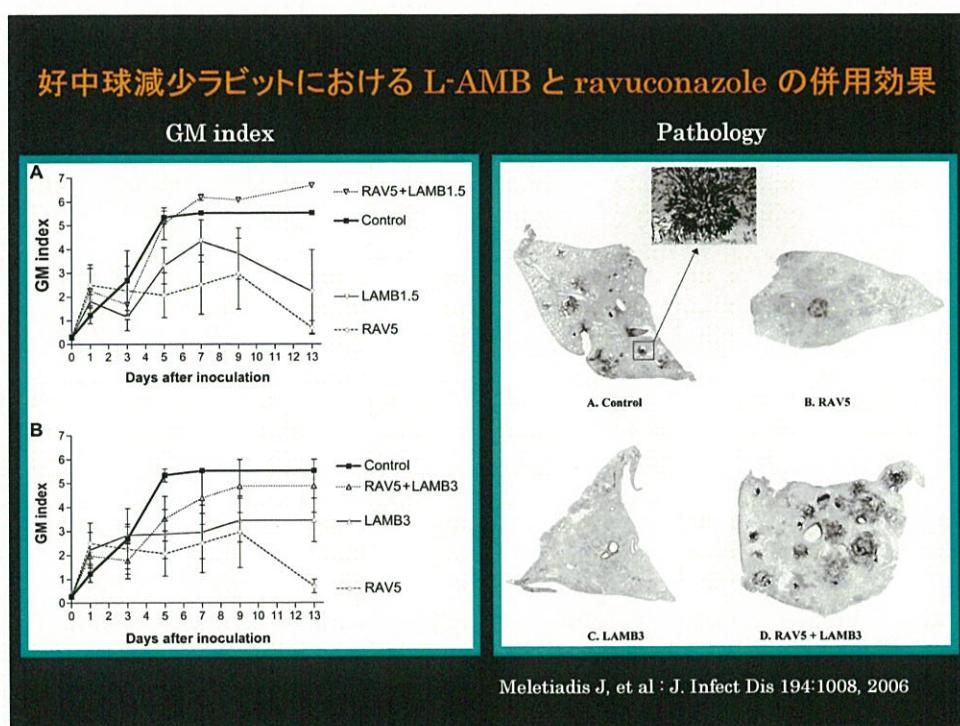




L-AMB + CPFG と L-AMB高用量の比較試験成績			
Combistrat Trial (first line Tx)		No. of patients (%)	
10mg/kg/day L-AMB	vs	10mg/kg/day L-AMB	Combination
3mg/kg/day L-AMB + CPFG		n=15	n=15
Overall treatment response at EOT			
Favorable		4 (27)	10 (67)*
Complete response		0	0
Partial response		4	10
Unfavorable		11 (73)	5 (33)
Stable response		6	4
Failure		4	1
Missing value		1	0
Survival at EOT		14 (93)	15 (100)
Survival at Wk 12		12 (80)	15 (100)

EOT : end of treatment * P=0.028 Three deaths were caused by progression of the underlying hematologic condition (for 1 of those patients, fungal infection contributed to the death according to the investigator).

Caillot D, et al : Cancer 110:2740, 2007



まとめ 2

1. 欧米に比して十分とはいえないものの、国内で臨床応用可能な抗真菌薬は徐々に出揃いつつある。個々の症例における、宿主の全身状態、基礎疾患、併用薬、原因真菌種、真菌症の病態、重症度などに応じたテーラーメイドの抗真菌療法の実践が重要。
 2. 抗真菌薬併用療法については、十分なエビデンスがないのが現状である。しかし、併用療法は単独療法よりも優れた成績が示されており、難治例、重症例では個別に検討されるべきであろう。
 3. ガイドラインの整備は診療レベルの底上げに有用と思われるが、膨大なエビデンスに基づいて作成されたガイドラインを国内の臨床現場でどのように活かすかの工夫をする。
-