

# 学 位 論 文 の 要 旨

所 属	甲 三重大学大学院医学系研究科 生命医科学専攻 病態制御医学講座	氏 名	菅原 由美子
<p>主論文の題名</p> <p>Clinical Utility of a Panfungal Polymerase Chain Reaction Assay for Invasive Fungal diseases in Patients with Haematologic Disorders</p> <p>主論文の要旨</p> <p>目的：深在性真菌感染症(Invasive fungal disease ; IFD)は血液疾患患者の治療中に併発する重篤な合併症であり、時に致命的となる。診断には、血液培養、画像検査、血清学的検査などが行われているが、診断困難な場合が多く、対応すべき起因菌種も増加しつつある。今回我々は、血液疾患患者を対象に、真菌感染症における末梢血 Polymerase chain reaction(PCR)検査法の臨床的有用性について検討を行った。</p> <p>方法：2007年4月から2010年10月までに当院血液内科へ入院し、European Organization for the Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group(EORTC/MSG)基準の宿主因子を満たす血液疾患患者 51 人の 64 エピソードから定期的あるいは発熱時に、末梢血 273 検体を採取し、真菌 DNA を抽出して PCR 検査を行った。Broad-range PCR として、真菌の 18S rRNA 遺伝子をターゲットとして first PCR を行い、引き続き nested PCR を行ったのち、必要に応じてシーケンシングにより菌種を同定した。接合菌、Fusarium 属の検出には種特異的な PCR が必要であり、これらを併用した。また、血液培養、β-D-glucan 測定、アスペルギルスガラクトマンナン抗原検査、画像検査、気管支鏡検査を可能な限り施行した。</p> <p>結果：51 人 64 エピソード中、真菌 PCR 陽性例は 18 エピソード(35.3%)であった。EORTC/MSG 診断基準に基づき検討した結果、proven IFD エピソードはみられず、probable IFD が 7 エピソード、possible IFD が 7 エピソードで、これら 14 エピソードではすべて真菌 PCR 陽性であった。EORTC/MSG 診断基準で IFD のカテゴリーに入らなかった 50 エピソードでも、4 エピソードで PCR 陽性であった。以上より、今回施行した末梢血真菌 PCR 検査の診断精度は、probable/possible 例において、感度 100%、特異度 92%、陽性的中率 77.8%、陰性的中率 100%であった。同定可能であったのは、Aspergillus 属 8 症例、Candida 属 2 症例、Rhizopus 属 2 症例、Cunninghamella 属、Fusarium 属、Scedosporium 属、Rodotorula 属、Paecilomyces 属、Penicillium 属が各 1 症例であり、Aspergillus 属、Candida 属以外の真菌が 44.4%(18 エピソード中 8 エピソード)を占めた。PCR で検出された真菌のうち、Cunninghamella 属、Aspergillus ustus、Fusarium 属、Scedosporium apiospermum、Rhodotorula 属、Rhizopus 属が検出された症例では、適切な抗真菌剤の選択が可能となり、臨床的に有用であった。</p>			

(注) 2, 0 0 0 字以内にまとめて記入すること。

考察：血液疾患に併発する IFD に対して、有効な治療を行うためには、迅速で正確な診断が不可欠である。しかし、従来の培養検査は陽性率が低く、菌の同定に長時間を必要とする。画像検査は感度、特異度に問題があり、血清学的検査も検出菌種が限られており、結果が陰性であっても真菌感染を否定することができない。また、血液疾患患者においては、強力な化学療法や造血幹細胞移植などに伴う著明な好中球減少や血小板減少により、侵襲的検査が困難である場合が多い。一方、末梢血真菌 PCR 検査は迅速性に優れ、高感度で特異性が高く、非侵襲的であり、繰り返し施行することが可能である。今回の我々の検討では、末梢血真菌 PCR 検査は、感度、陰性的中率が極めて高く、PCR 陰性例では抗真菌薬の投与を保留できる可能性が示唆された。今後、末梢血 PCR 検査法の臨床的な有用性を検証するための前向き試験が必要であると思われる。近年、血液疾患においては、*Aspergillus* 属、*Candida* 属以外の真菌が病原性真菌として多数報告されるようになってきている。接合菌を含めたこれらの菌種については、 $\beta$ -D-glucan やアスペルギルスガラクトマンナン抗原による血清学的検査では診断が困難で、剖検で初めて菌種が明らかとなることも多い。侵襲的検査が不可能な場合は、末梢血 PCR 検査が現在、唯一の診断方法になると考えられる。今回の我々の末梢血 PCR 検査法の検討では *Aspergillus* 属、*Candida* 属以外の真菌が 44.4% と高率に認められた。これらの中で、PCR 検査により、迅速に真菌の菌種あるいは属レベルの同定が可能となり、抗真菌剤を感受性のあるものに変更することにより、救命しえた症例も散見された。従来より報告されている PCR 検査は主に *Aspergillus* 属、*Candida* 属を対象としており、稀な真菌菌種について検討された報告ははまだ殆どみられない。今後、本検査法の *standardization* と臨床的な *validation* を含めた大規模試験による検討が実施され、幅広い真菌菌種が同定可能な *broad-range* PCR 検査法が IFD の診断に本格的に導入されることが期待される。

結論：血液疾患患者に対し、我々が行った末梢血 *broad-range* PCR 検査法は IFD の診断において、感度、陰性的中率が良好であり、また幅広い菌種の検出、同定が可能であった。これにより、血液疾患患者における IFD に対する治療選択において有用な情報を与えることができ臨床的に有用であった。今後、大規模臨床試験での検証が望まれる。