



令和6年度
希少感染症診断技術研修会

地域流行型真菌症 (輸入真菌症)

国立感染症研究所 真菌部
星野 泰隆

地域流行型真菌症とは

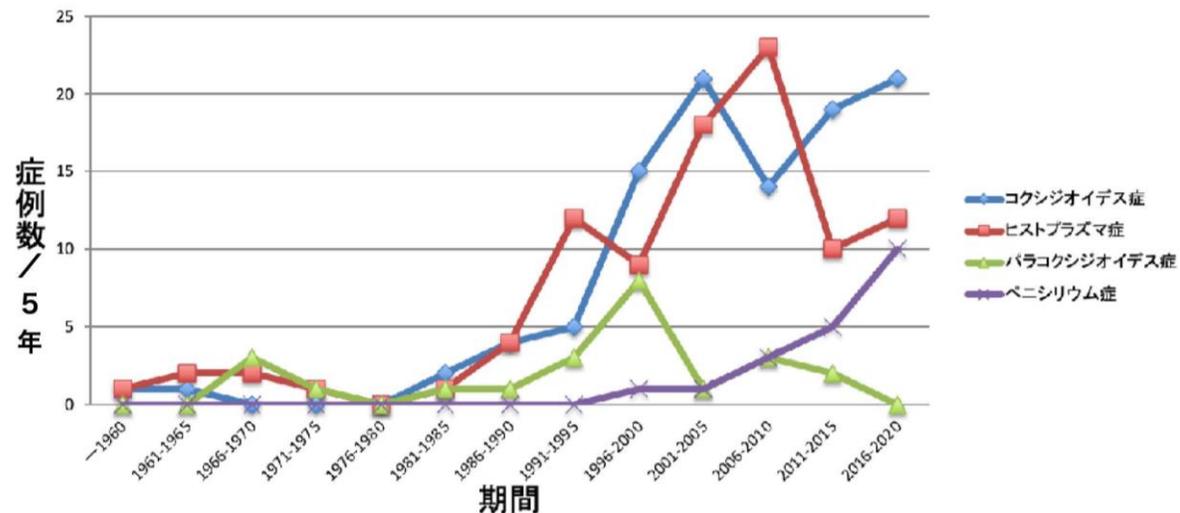
海外の特定地域に生息する真菌による感染症であり、ヒト・モノの移動が活発になるに伴いそれらの真菌症に感染した外国人が入国する、あるいは外国で感染した日本人が帰国するなどして、真菌症の症例が国内でも確認されるようになった。近年では、**渡航機会の増加に伴い、地域流行型真菌症の総数は増加傾向にある。**

まだ地域流行型真菌症自体は本邦では稀であり、一部の施設を除き日常診療では遭遇機会は少ない。そのため、**日常診療でたとえ地域流行型真菌症の患者と遭遇しても鑑別疾患には挙がり難く、診断および治療介入の遅れにつながる恐れがある。**

代表的な感染症

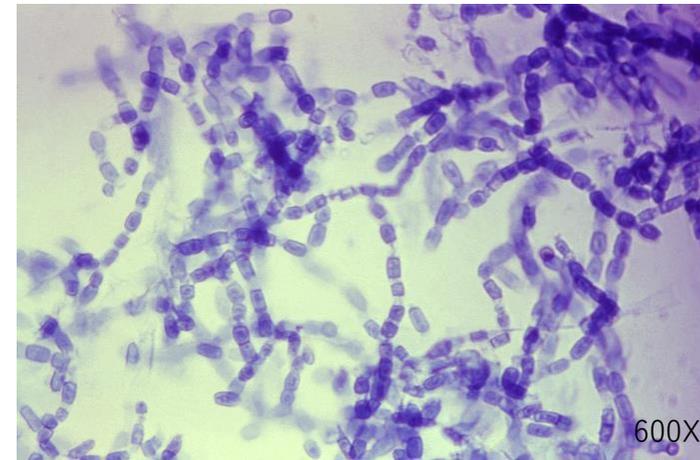
- ①コクシジオイデス症
- ②ヒストプラズマ症
- ③マルネツフェイ型タラロミセス症
- ④ブラストミセス症
- ⑤パラコクシジオイデス症

我が国における輸入真菌症患者数の変動

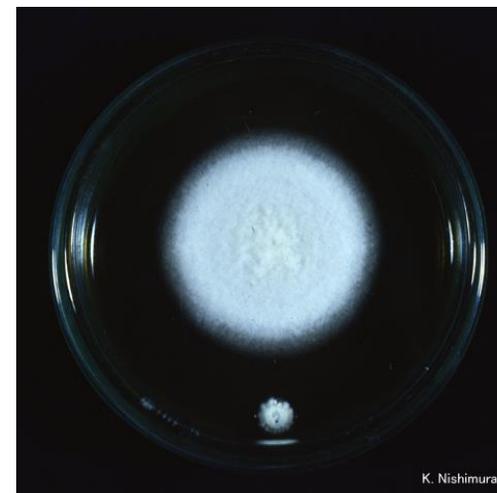


①コクシジオイデス症

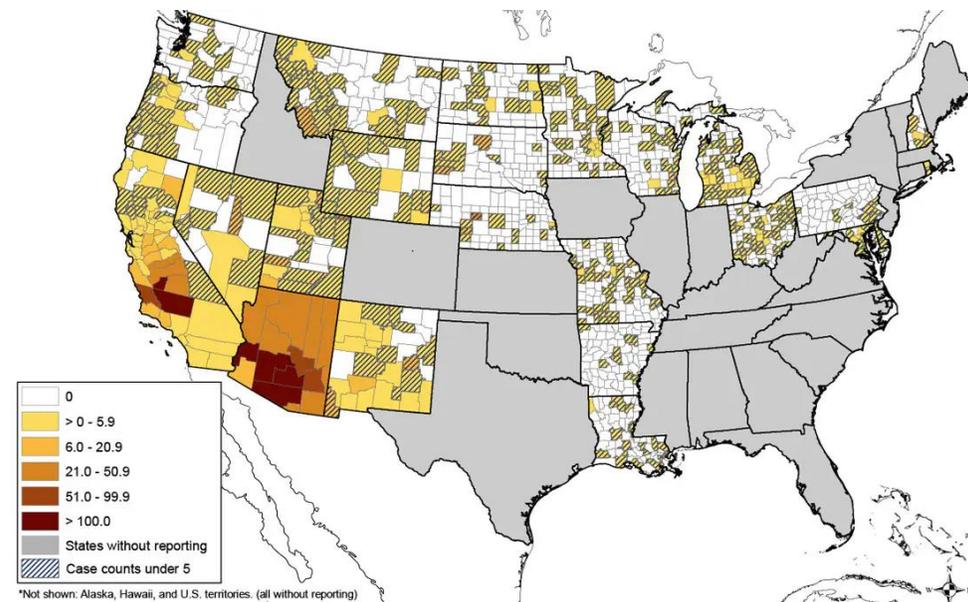
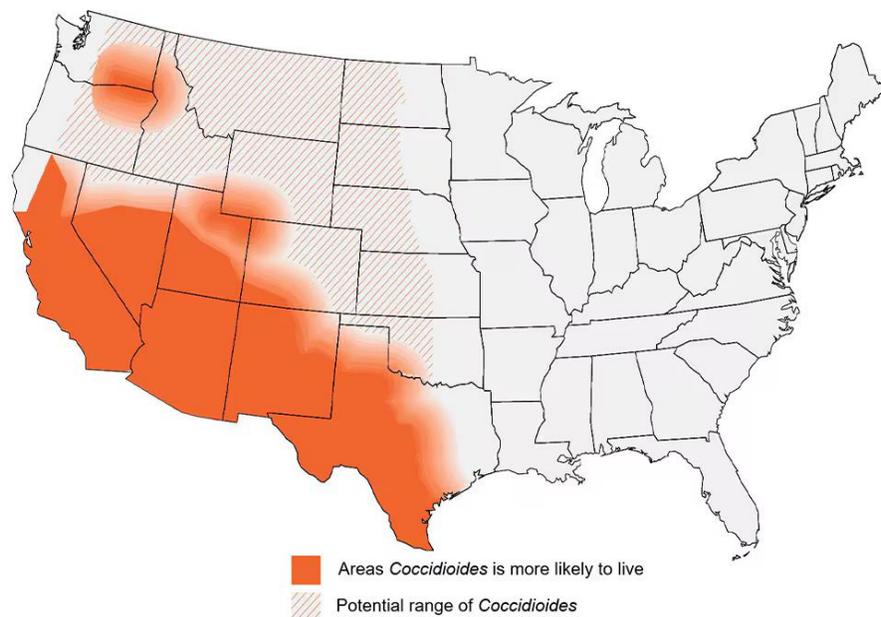
原因菌	<i>Coccidioides immitis</i> <i>Coccidioides posadasii</i>
流行地域	北米の南西部など
菌の形態/環境中	菌糸生育、分節型分生子 二形性真菌 土壌に生息
病態など	呼吸器、皮膚、播種性
感染の特徴	高い飛散性と感染性
ヒト間での伝播	報告されていない
病原体の取扱い	BSL3実験室
感染症法：	4類感染症 3種病原体 (<i>C. immitis</i>)



米国CDC Public Health Image Library



千葉大学真菌医学研究センターフォトギャラリー

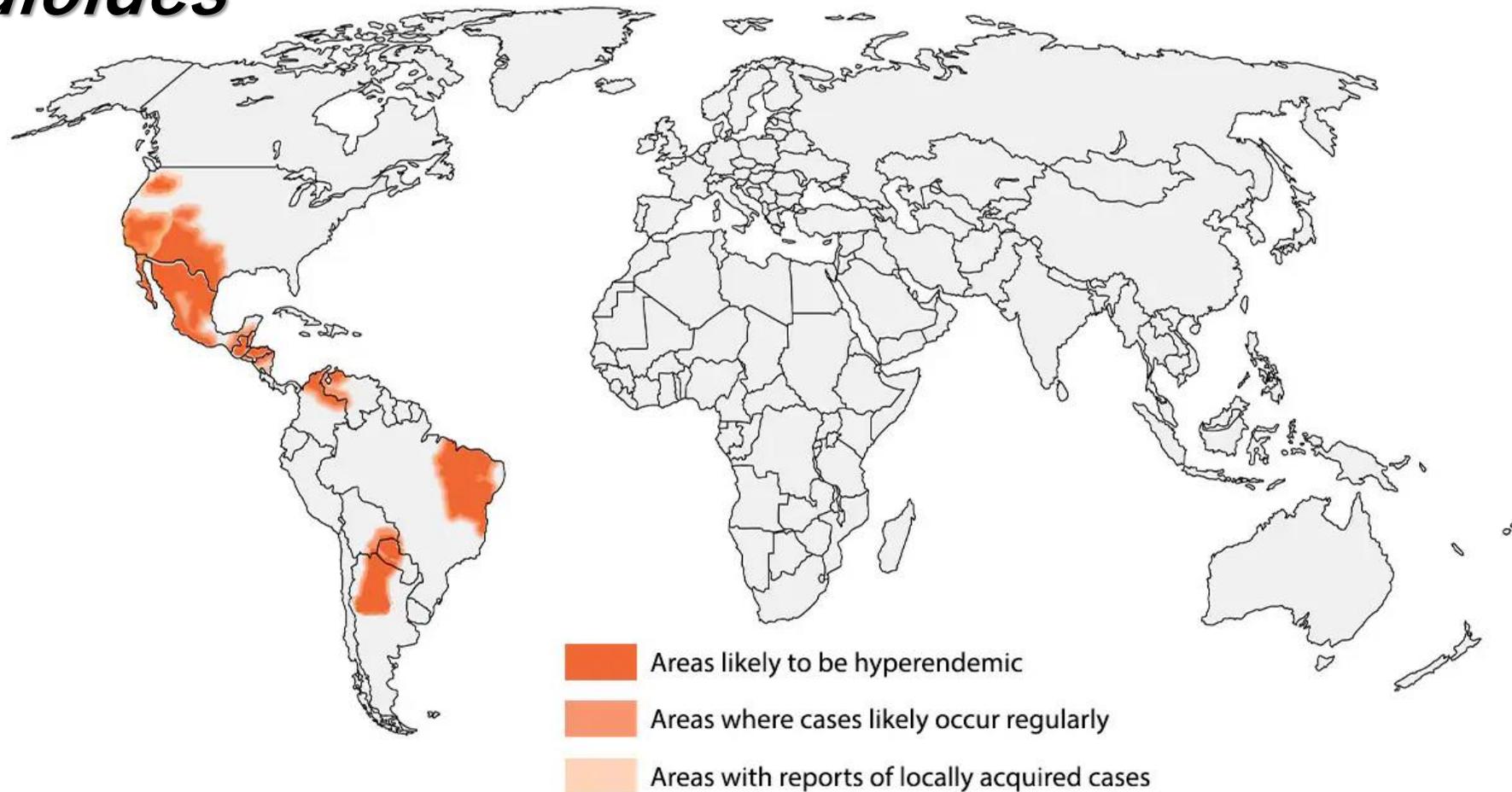


米国のおよその *Coccidioides* の生息地域

コクシジオイデス症の報告がある地域

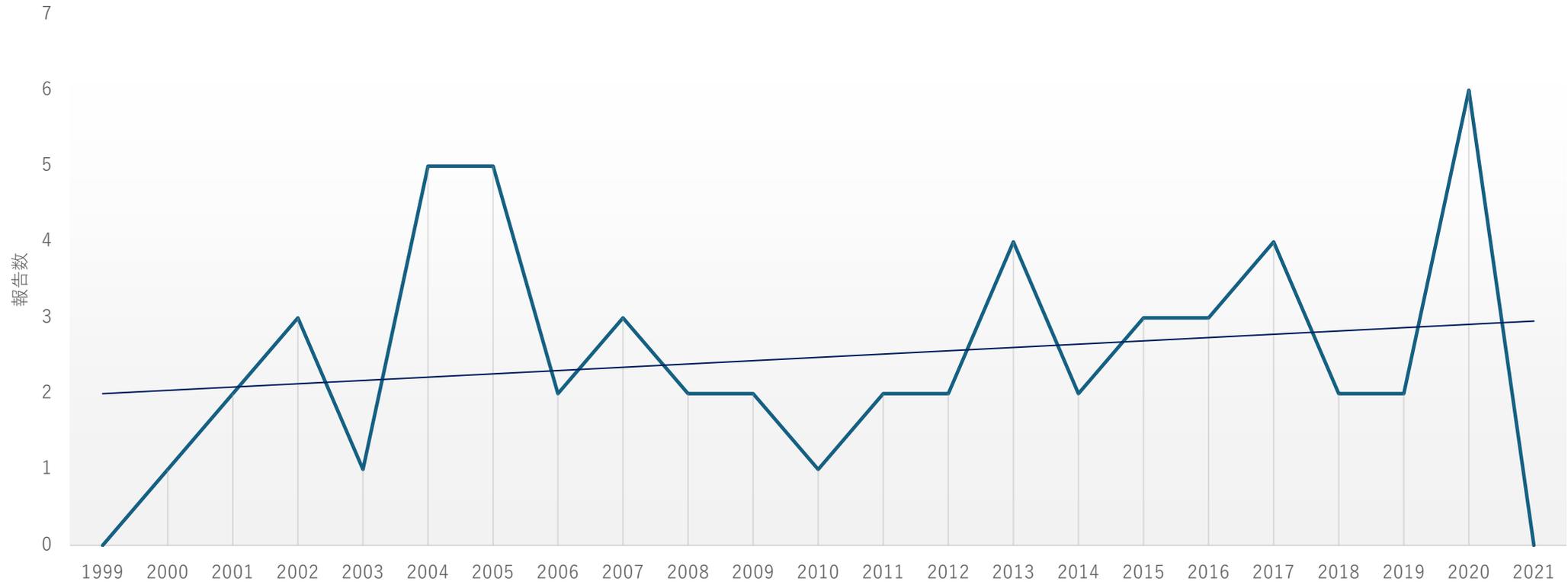
- 生息地域とコクシジオイデス症の発症の報告がある地域に関しておおむね一致している。
- 主な生息地域である**カルフォルニア州**と**アリゾナ州**に関しては、報告例が多い。

世界における *Coccidioides* の生息地域



北米大陸、南米大陸に生息地域が広がっており、これらの地域に関しては、注意が必要である。

本邦でのコクシジオイデス症の報告件数の推移



感染症発生動向調査年別一覧表から作成

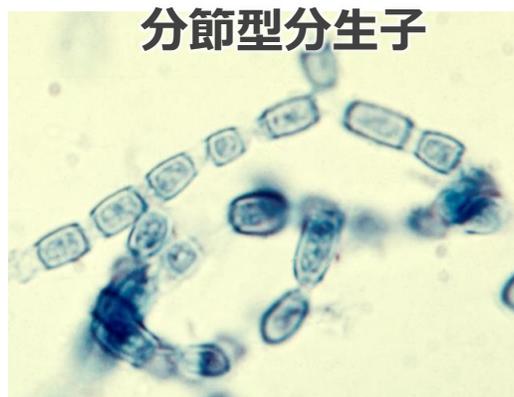
・概ね報告数は、2-3件で推移しているが緩やかな増加傾向
確定症例数であって、本疾患疑いで我々のところに検査依頼される件数は、約5件程度である。



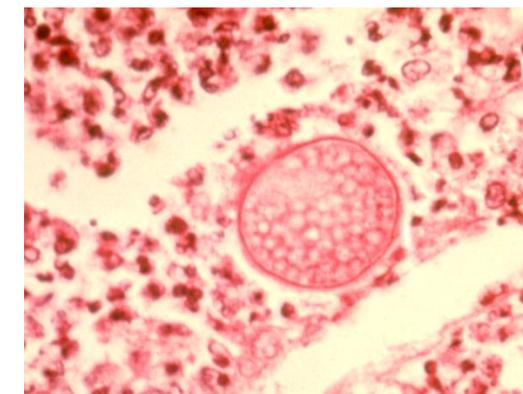
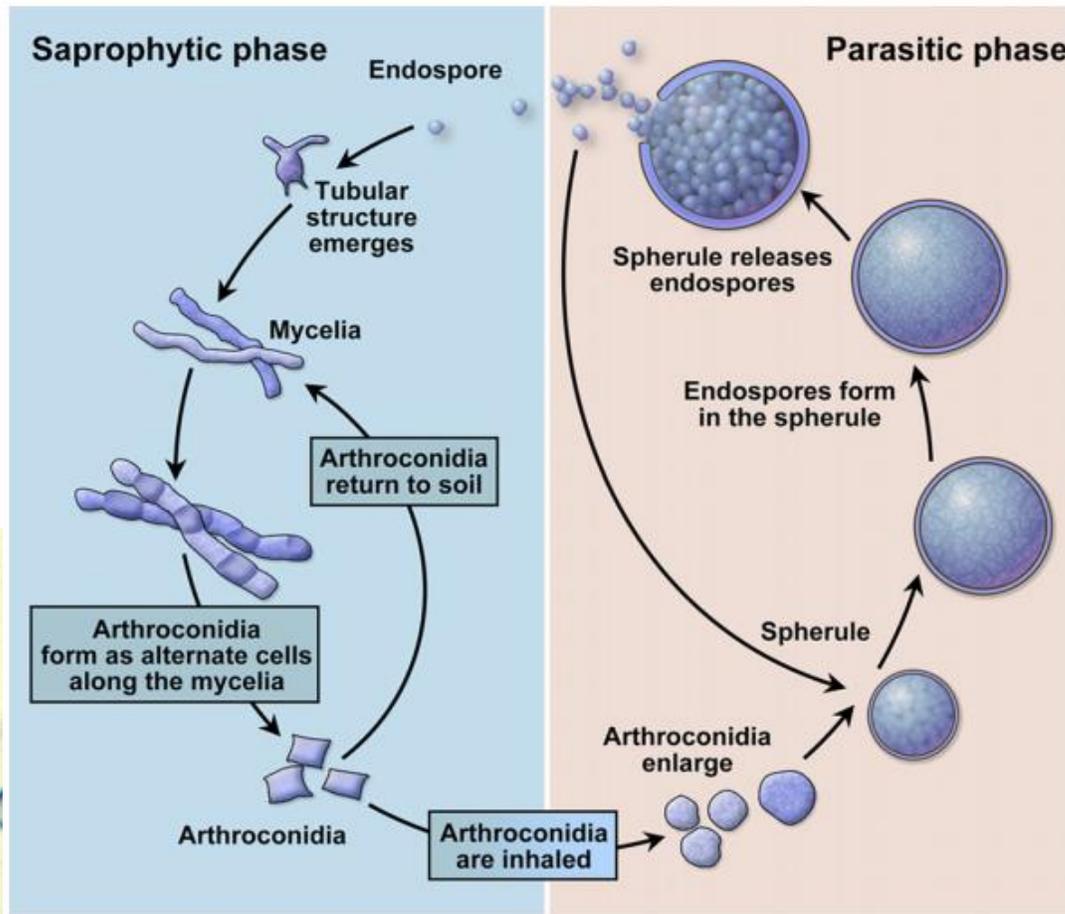
自然環境

ヒト体内

球状体



分節型分生子



検査法 ①コクシジオイデス症

培養検査

- ・寒天平板では、培養を行わない。
(分節型分生子が飛散し汚染する可能性)
- ・密閉可能な寒天培地に検体を塗布し (BSL2) し、常温で送付
(細菌の生育を抑制するため、クロラムフェニコール100 μ g/ml
の濃度で添加してもよい。)
- ・コロニー、菌糸生育、分節型分生子の形態を観察し、
遺伝子検査にて同定する。

病理組織学的検査

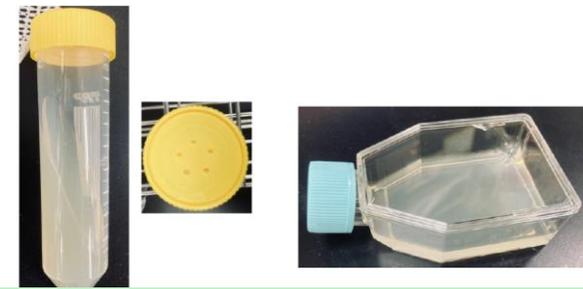
- ・喀痰などの塗沫標本や組織標本で、内生胞子を内蔵した球状体、
放出された内生胞子、発達段階の球状体を観察できるか？
(Papanicolaou染色、HE染色、PAS染色、Grocott染色など)

抗体検出法

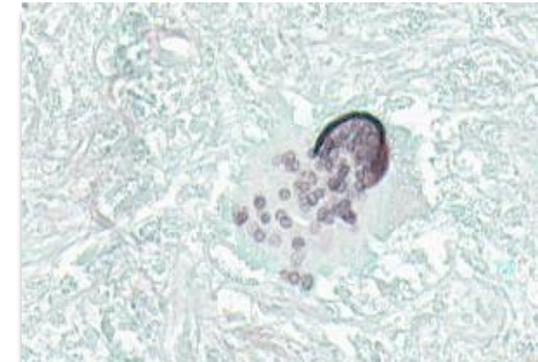
- ・米国IMMY社などからEnzyme Immuno Assay や Lateral Flow Assayによる抗体の検出キットが
市販されている。(血清、脳脊髄液からの、コクシジオイデス特異的IgM、IgG)

遺伝子検査

- ・核酸抽出 (菌株、生検検体、病理組織 (FFPE) など) は、抽出対象の検体により抽出キットを選択。
(菌株の場合は、PBS+0.01% Tween80に懸濁して、100 $^{\circ}$ C、5分)
- ・PCRによるDNAの増幅と塩基配列解析
 - 真菌特異的なrDNA遺伝子領域 (ITS領域、D1D2領域)
 - コクシジオイデス特異的プライマー (Umeyama et al., J Clin Microbiol. 2006、Bialek et al., J Clin Microbiol, 2004)



フィルターキャップ付きのチューブに作製した斜面培地やフラスコ容器に作成した寒天培地



球状体と放出された内生胞子

コクシジオイデス症の1例

5x歳 男性

肺コクシジオイデス症（2019年8月カリフォルニア州で免疫学的に診断）

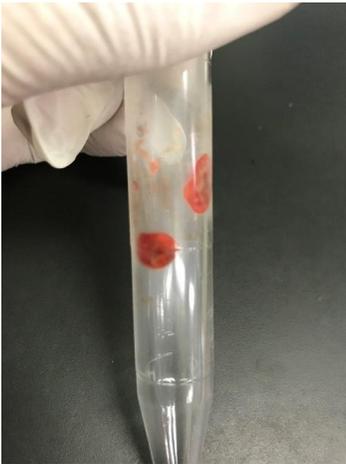
治療は米国でフルコナゾール800mg/日を継続していた。

日本在住、カリフォルニア州に長期の出張（2019年2月-2020年1月）

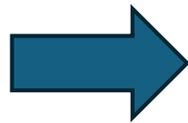
CT検査にて左舌区に結節影を認めた。βDグルカン陰性で、QFT、アスペルギルス、クリプトコックスも陰性。腫瘍マーカーはProGRPが軽度上昇。悪性腫瘍も鑑別にあがるのと、今後の治療決定のために気管支鏡検査を施

→2020年3月：行政検査 組織からのPCR 真菌陰性、血清：検体不良のため未実施

→2020年9月：行政検査 左上葉病変の外科的切除



肺組織



培養用陽性

PDA、25°C、11日

菌体をボイル後、PCR（ITS領域、D1D2領域、コクシジオイデス特異的領域）



Coccidioides immitis を検出

培養の結果

培養 0 日目



培養 4 日目



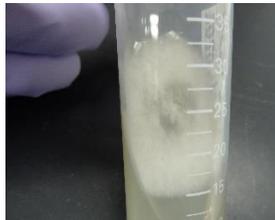
組織周辺から、糸状菌の生育を確認。

培養 6 日目



寒天上に広がった菌糸から、綿上の
気中菌糸が確認される。

培養 1 1 日目



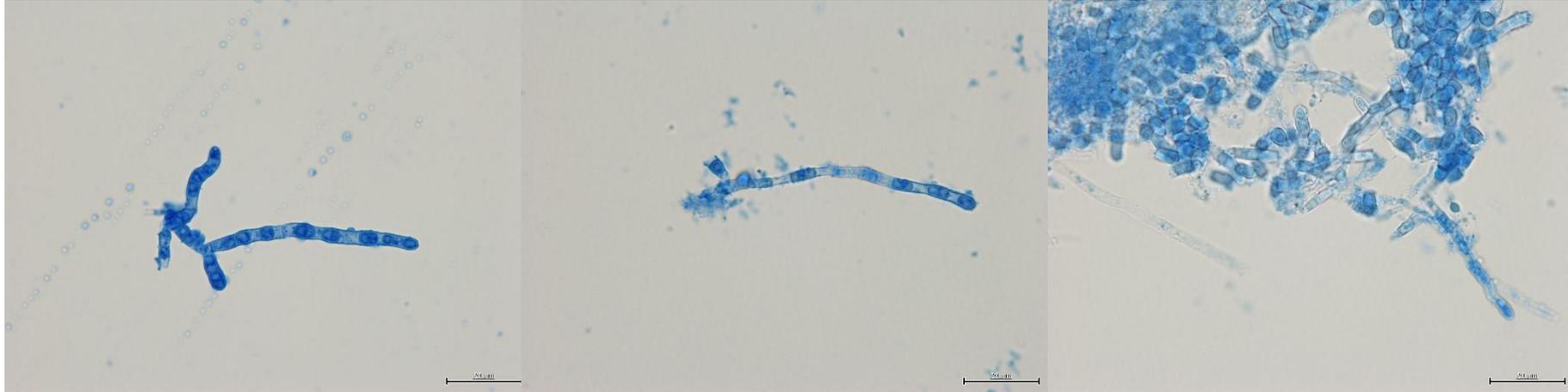
気中菌糸が多くなり綿状に生育。

培養条件：25°C、培地 PDA

顕微鏡による観察

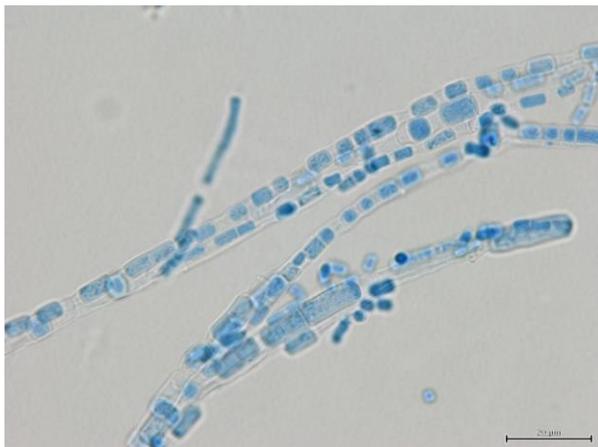
ポテトデキストロース寒天培地上で25℃、11日間培養を行い、PBS (0.01% Tween80添加) に懸濁し100℃で10分間殺菌処理し、菌体を取りラクトフェノールコットンブルーによる染色後、顕微鏡で観察
→菌糸に厚い壁をもつ樽形に分節型分生子がつくられ、空になった解離細胞と交互に配列されている構造が観察される。

C. immitis



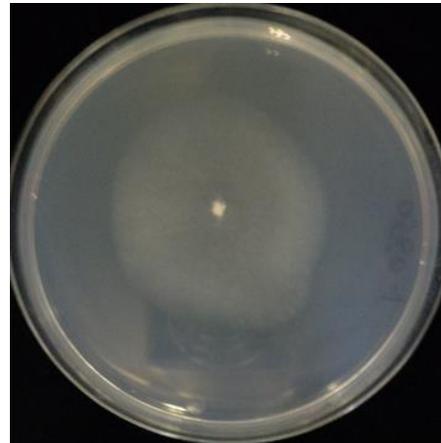
担子菌の一部は、分節型分生子を付けるので、注意が必要

担子菌
Phlebia属

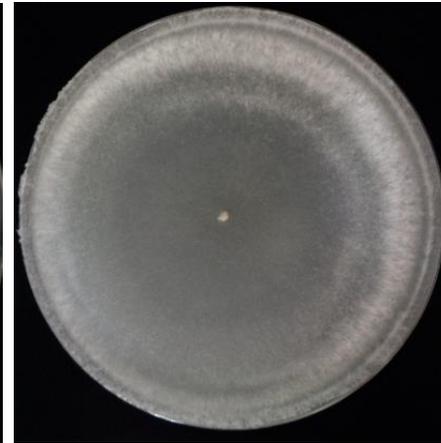


ラクトフェノールコットンブルー染色

培養3日目



培養7日目

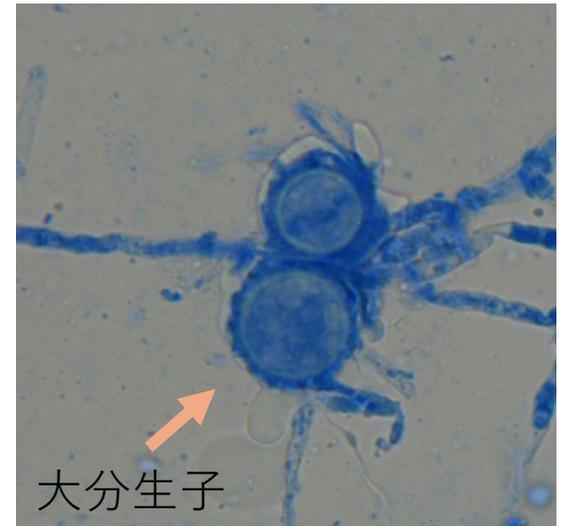
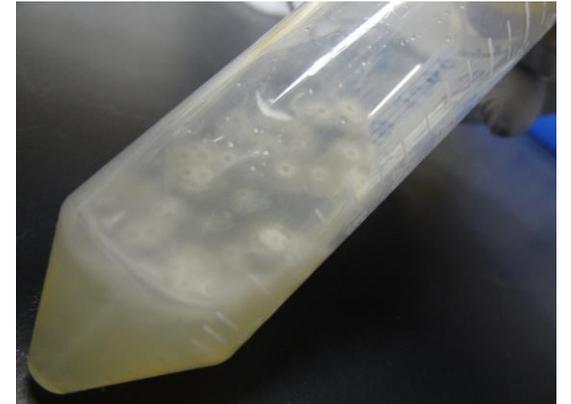


培養10日目

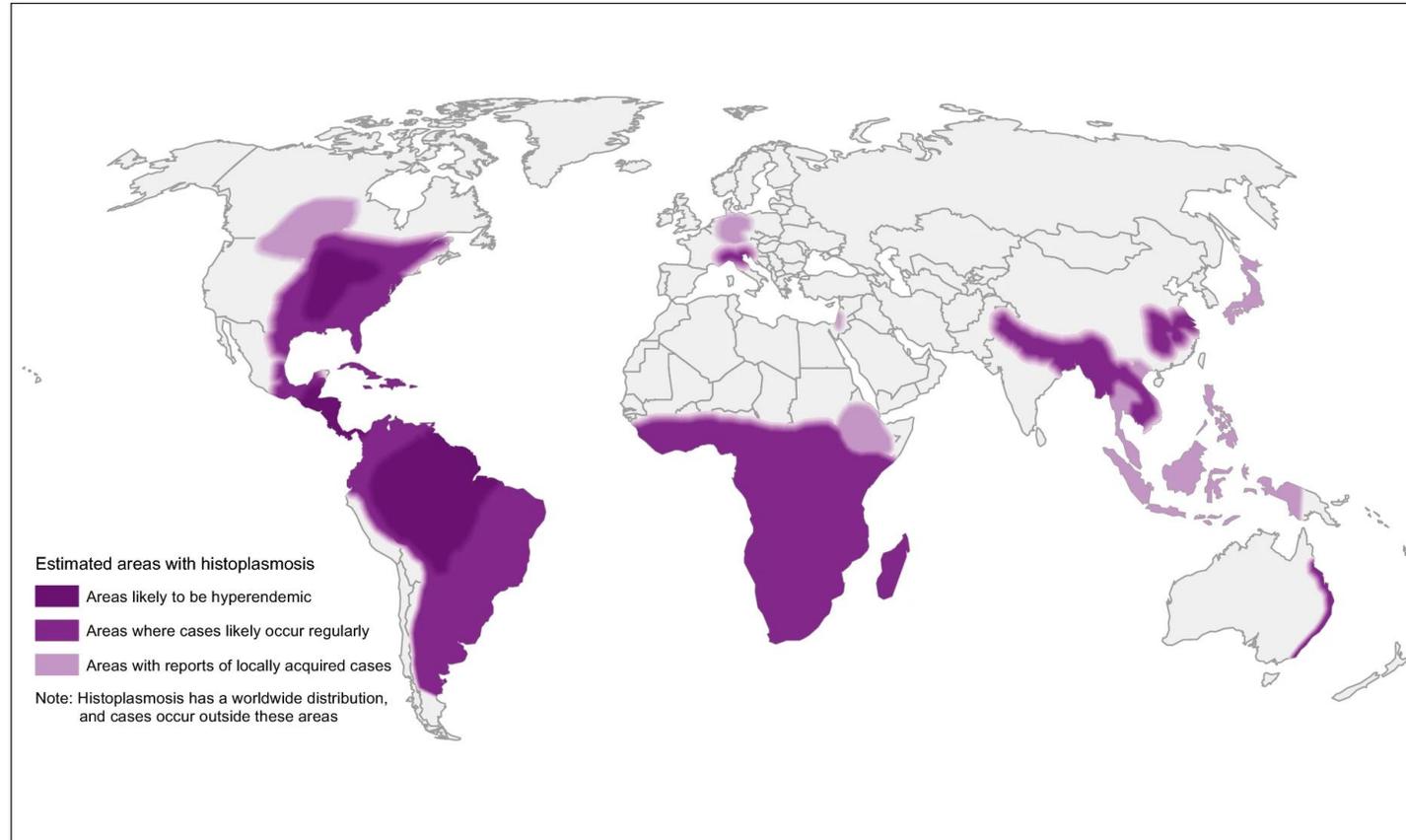


②ヒストプラズマ症

原因菌	<i>Histoplasma capsulatum</i>
流行地域	中南米、北米、アフリカ、東南アジア
菌の形態/環境中	二形性真菌：糸状菌（25℃）、酵母（37℃） 生体内では、酵母型 本来土壌中に生息、コウモリの糞を好む
病態など	呼吸器、播種性 特徴的臨床所見に乏しいため、肺結核、サルコイドーシス、肺線維症と診断されている例が認められる
危険因子	長時間にわたる大量の曝露、年齢55歳以上、乳児 T細胞性免疫不全（例、HIV/AIDS患者、臓器移植患者、免疫抑制薬の使用患者）
ヒト間での伝播	報告されていない
病原体の取扱い	BSL3実験室
感染症法：	指定感染症、指定病原体にはなっていない



世界におけるヒストプラズマ症が発生しやすい推定地域



中南米、北米、アフリカ、東南アジアが主の流行地で、日本においては明らかな海外渡航歴が確認できない症例もある。

検査法 ②ヒストプラズマ症

○培養検査

- ・生育は緩徐で4-6週間かかることも多い。密閉可能な寒天培地に検体を塗布し培養を実施。
(血液、喀痰、BALF、肺生検標本、脳脊髄液など)
- ・一般的に、糸状菌 (25°C)、酵母 (37°C) となる。
- ・コロニー、菌糸生育、大分生子の形態を観察。遺伝子検査にて同定する。

○病理組織学的検査

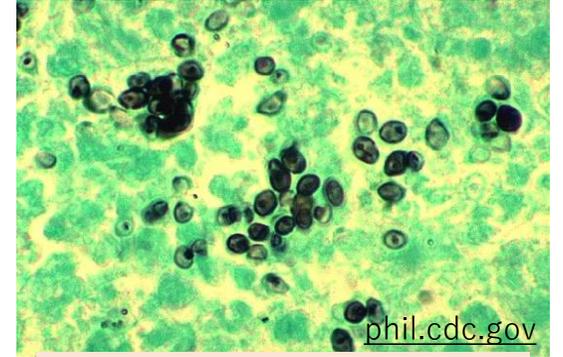
- ・血液、感染組織、BALFの塗沫標本などで、酵母形の本菌や白血球に貪食された本菌を認めることがある
(Papanicolaou染色、HE染色、PAS染色、Grocott染色など)

○抗原検出法

- 米国IMMY社などからEnzyme Immuno Assay による抗原の検出キットが市販されている。
(尿中からの *Histoplasma* Galactomannan抗原を検出)

○遺伝子検査

- ・核酸抽出 (菌株、生検検体、病理組織 (FFPE) など) は、抽出対象の検体により抽出キットを選択。菌株の場合は、PBS+0.01% Tween80に懸濁して、100°C、5分)
- ・PCRによるDNAの増幅と塩基配列解析
 - 真菌特異的なrDNA遺伝子領域 (ITS領域、D1D2領域)
 - ヒストプラズマ特異的プライマーの利用



酵母が確認される

ヒストプラズマ症疑いの1例

患者：50代、女性

渡航歴/国籍等：ベネズエラ出身

基礎疾患：HIV

感染研で実施した検査の結果

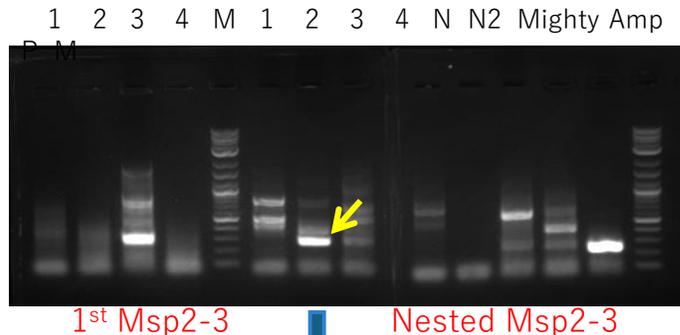
検体の種類	抗原検査	培養検査	遺伝子検査
尿	陽性	陰性	陰性
骨髄液	陽性	陽性	陽性
血液	—	陽性	陰性
血清	陽性	—	陰性

検体から遺伝子検査

PCR条件 MightyAmp
Anneal 55°C 40 cycles

1 : 血液 N : no template
2 : **骨髄液** N2: DWの持ち越し
3 : 尿 P : positive control
4 : 血清 M: マーカー

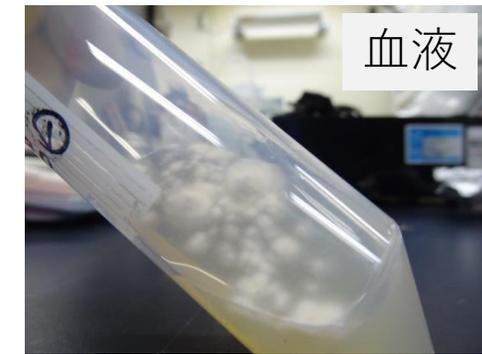
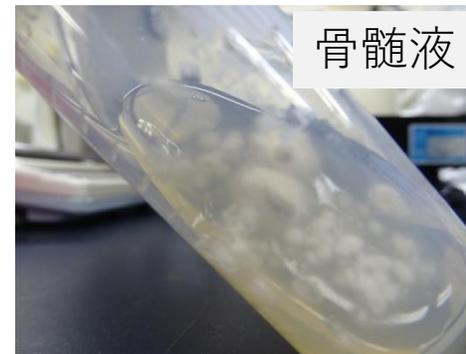
1stはボイル上清、nestedは1st productを10,000倍希釈してtemplateにした



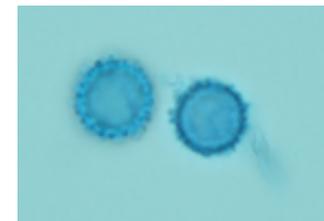
*Histoplasma capsulatum*を検出

培養された菌株

Histoplasma capsulatum



PDA, 25°C



菌体ボイル後、ラクトフェノールコットンブルー染色にて大分生子を確認

③マルネツフェイ型 タラロミセス症

原因菌

Talamomyces marneffeii

流行地域

東南アジア（ベトナム、中国、タイ）、オセアニア、インドも可能性あり

菌の形態/環境中

土壌中では、菌糸生育
赤色素の生産

感染の特徴 病態など

経気道感染から細網内皮系を中心に全身播種。細胞性免疫の低下したホスト、特にAIDS患者に多い。移植等も危険因子

ヒト間での伝播

報告されていない

病原体の取扱い

BSL2実験室

感染症法：

指定感染症、指定病原体には
なっていない

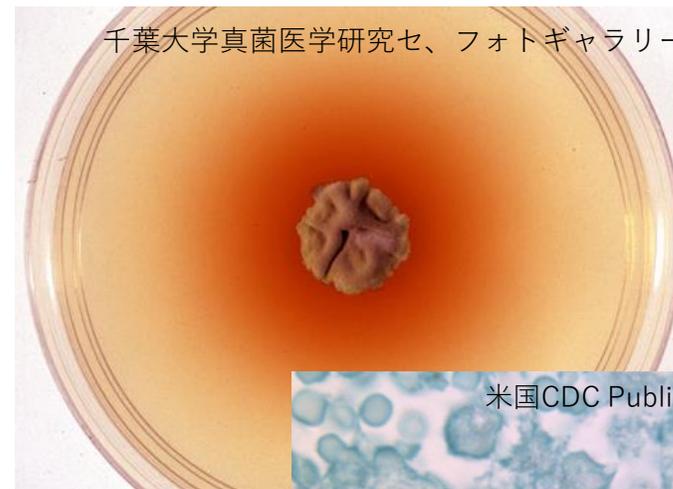
G Talaromycosis



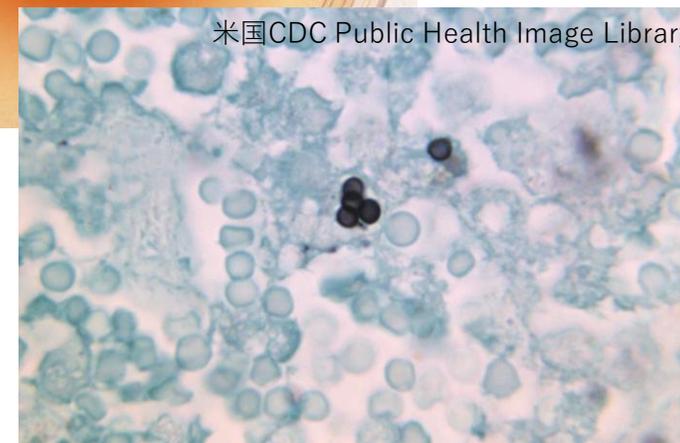
Endemic areas
Regions of highest incidence (>100 reported cases)
Regions of imported or travel-associated cases

Lancet Infect Dis. 2021 Dec;21(12):e364-e374

千葉大学真菌医学研究セ、フォトギャラリー



米国CDC Public Health Image Library



検査法 ③マルネツフェイ型 タラロミセス症

○培養検査

- ・ AIDS患者のうち本感染症血液培養陽性率は70%程度。
- ・ 培養には、脳脊髄液、喀痰、BAL,リンパ節、皮膚生検など
- ・ コロニー、菌糸生育、形態を観察し、遺伝子検査にて同定する。

○病理

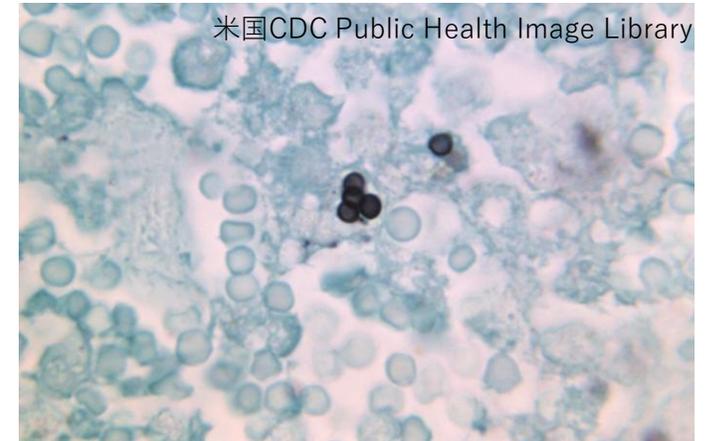
- ・ 皮膚等の生検標本や血液や脳脊髄液等の塗沫で特徴的な分裂像をともなう酵母が貪食細胞内に見られる。*Histoplasma*との鑑別が困難

○抗原検出法

研究段階で、実用化には至っていない。

○遺伝子検査

検体からの遺伝子診断は一般化されていないが、病原体からは、rDNA (ITS-D1D2領域) 等の塩基配列解析で菌種の同定は可能である。



*Talaromyces marneffe*疑いの1例

渡航歴/病歴等 タイ/HIV

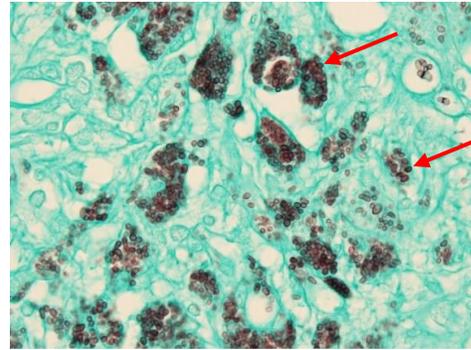
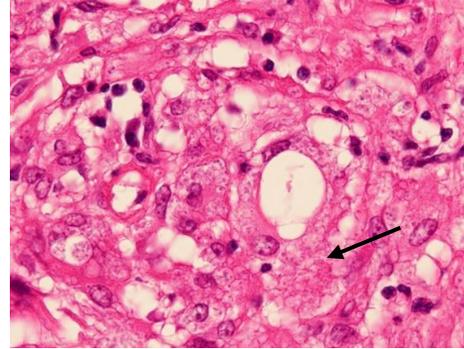
トキソプラズマ脳症を疑い治療を開始

↓
脳生検

意識消失 腫瘍の増大

↓
ヒストプラズマ症疑い

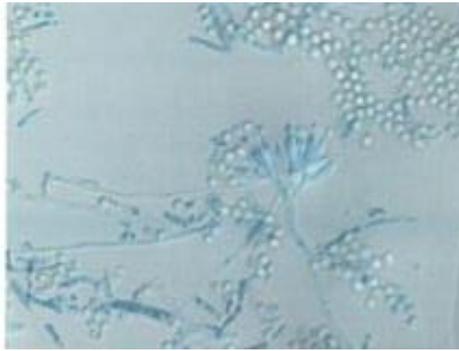
↓
HE染色およびグロコット染色で菌体確認
脳のマクロファージ内に菌体を認める
ヒストプラズマ症にはない分布



脳生検から分離菌株



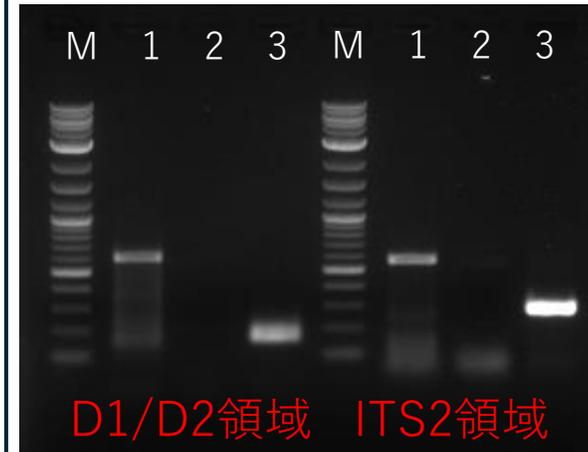
菌体ボイル後、ラクトフェ
ノールコットンブルー染色



塩基配列解析により
*T. marneffe*と同定

FFPE抽出DNAの遺伝子検査
および菌株からの菌種同定

PCR条件 MightyAmp
Anneal 55°C 40 cycles



M: 2 log ladder
1: Sample (FFPE)
2: no template
3: Positive control

T. marneffe を検出

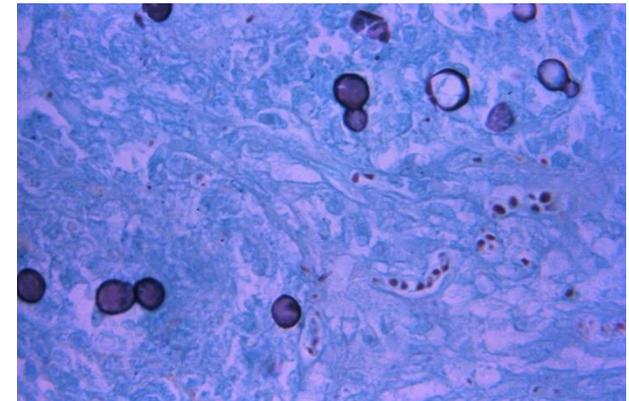
④ブラストミセス症

原因菌	<i>Blastomyces dermatitidis</i>
流行地域	アメリカの北東部、五大湖からミシシッ ピー川流域部など
菌の形態/環境中	二形性真菌、生体内では酵母形 流行地では、環境中に広く生息
病態など	呼吸器、播種性
感染の特徴	経気道的に感染し、健常者では急性感染 では自然治癒場合があるが、慢性化する か全身へ播種
ヒト間での伝播	報告されていない
病原体の取扱い	BSL3実験室
感染症法：	指定感染症、指定病原体にはなってい ない

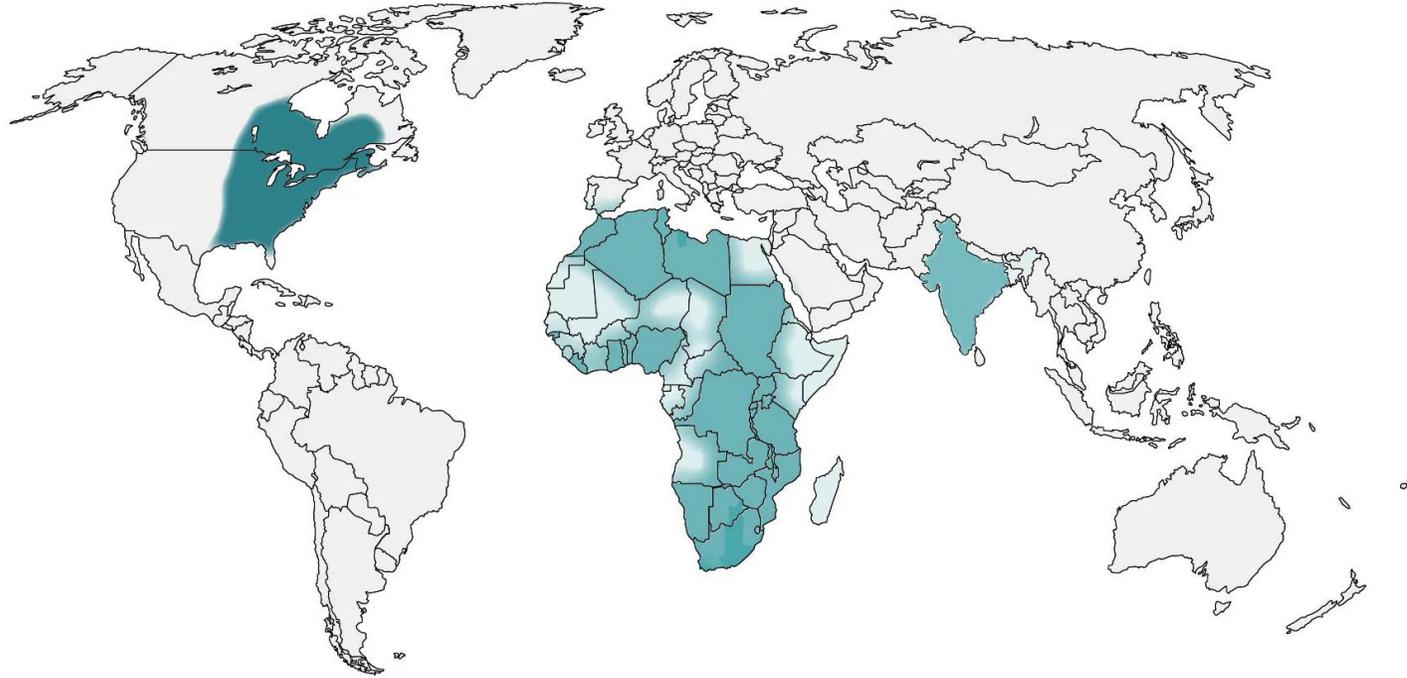
本邦では、2023年に初の症例報告がなされた。



千葉大学真菌医学研究セ、フォトギャラリー



米国CDC Public Health Image Library



世界の *Blastomyces* のおおよその生息地域

アメリカの北東部、五大湖からミシシッピ川流域部など
アフリカやインドなども流行地の可能性が指摘されている

米国ではoutbreakも発生している。(2009-2010 55人感染 Wisconsin、2023 120人感染 Michigan)

検査法 ④ブラストミセス症

○培養同定

培養同定により確定診断になるが、他の地域流行型真菌症と同様に原因菌の危険度が高いので、専門家と相談し感染事故を防ぐ。

○病理

円形一楕円形の酵母が認められる。二重輪郭像。

Cryptococcus neoformans 等の鑑別が容易ではない。

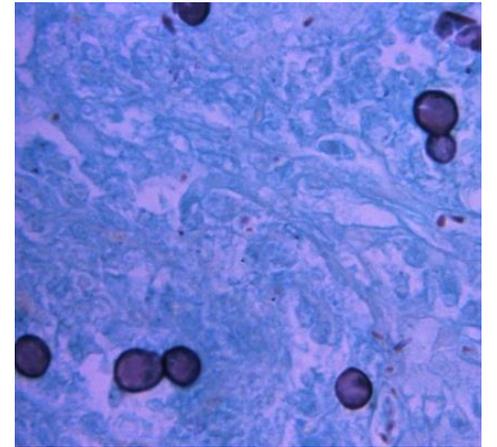
(HE染色、PAS染色、Grocott染色など)

○血清診断

抗原検出及び抗体価の測定が一部で行われている。

○遺伝子診断

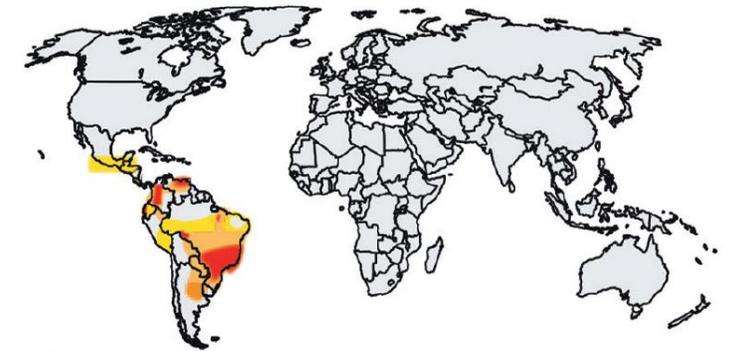
検体からの遺伝子診断は一般化されていないが、病原体からはrDNA (ITS-D1D2領域) の塩基配列解析で菌種の同定は可能である。



米国CDC Public Health Image Library

⑤ パラコクシジオイデス症

原因菌	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
流行地域	南アメリカの大部分（ブラジル、ベネズエラ、コロンビア、アルゼンチン、エクアドル等） メキシコ南部と中央アメリカは頻度が低い
菌の形態/環境中	土壌中に菌糸型で存在し、分生子の吸入により感染するものと推定 肺内では、酵母形。 多くの場合、皮膚や粘膜などに病変が現れる。
病態など	呼吸器に感染し、血行性、リンパ行性に播種性差があり男性が9割。緩徐に進行
ヒト間での伝播	報告されていない
病原体の取扱い	BSL3実験室
感染症法：	指定感染症、指定病原体にはなっていない



Low
Moderate
High

Lancet Infect Dis. 2021 Dec;21(12):e364-e374



検査法 ⑤パラコクシジオイデス症

○培養同定

生育が緩徐であり、培養までに3-4週間必要。（最低4週間）
皮膚粘膜病変、リンパ節や肺等からの生検、喀痰、BALを用いた培養

○病理

多極性出芽した舵輪状の酵母が認められる。（粘膜、リンパ節、肺組織など）
喀痰塗沫は、酵母の形態を認められることが少ない。

○血清診断

抗原検出及び抗体価の測定が一部で行われているが、感度・特異度の点で、診断的意義が低い

○遺伝子診断

検体からの遺伝子診断は一般化されていないが、病原体からはrDNA（ITS-D1D2領域）の塩基配列解析で菌種の同定は可能である。

BSL3対応真菌の取り扱い

●地域流行型真菌症の原因病原体の多くは、BSL3の真菌であるため、検査室感染のリスクが高いことから培養に関しては専門の機関に相談する

- 国立感染症研究所 真菌部
- 千葉大学真菌医学研究センター

●不活性化された検体を用いた遺伝子解析（PCR-塩基配列解析）は有用な手段であり、**真菌一般で用いられるrDNAを標的とした解析は、検査室でも可能**（試験方法は、一般化はされていない。）

感染研では孢子飛散を防止するため、安全キャビネット内に、パスボックス付きグローブボックスを設置し実施



パスボックス

ここを經由し検体、培地、試薬などの出し入れを行う

地域流行型真菌症のポイント

- 感染法上、届出が必要な地域流行型真菌症は、コクシジオイデス症
- 本邦に本来いない病原体のため、海外渡航歴（海外在住歴）および各病原体の流行地域であるか？の聴取は必要**
- 典型的な病理像が確認できないものの、渡航歴などの臨床情報から地域流行型真菌症が強く疑われる場合、遺伝子検査の活用を含めた総合的な診断が必要
- 地域流行型真菌症の病理診断は互いに鑑別対象になる症例が多い
 - ・肉芽腫性病変の病理像が確認された場合、地域流行型真菌症も鑑別にあげる
- 原因菌の多くは、二形性真菌であり、感染力が強く健常人の感染も生じやすい。
- COVID19のポストパンデミックにおいて、人の往来が活発化しているので患者数の増加が懸念される。**