*Aspergillus oryzae*による鼻副鼻腔炎例山内 智彦¹⁾, 横山 秀二²⁾, 小川 洋²⁾¹⁾自治医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座²⁾福島県立医科大学会津医療センター耳鼻咽喉科学講座

*Aspergillus oryzae*は、麹菌の一種であり、醤油や味噌、酒などの醸造に用いられているが、通常は鼻副鼻腔炎の原因菌とは考えられていない。今回、*Aspergillus oryzae*による鼻副鼻腔炎を経験した。症例は味噌醸造業に従事する51歳男性。X年3月、外リンパ漏に罹患した際に撮影した頭部CTで、右上顎洞内に石灰化を伴う陰影があり、上顎洞真菌症を疑った。同年4月、右ESS II型を施行した。手術時に得られた上顎洞貯留物の病理検査ではcrystal depositのみで真菌症の確定診断には至らなかった。X+1年5月、右頬の鈍痛、鼻汁の訴えあり受診。右鼻内に真菌の菌糸を認めた。右上顎洞内に貯留した白色の鼻汁を培養に提出したところ、*Aspergillus* (分類不能)の結果だった。患者本人が、日常的に麹菌(白2号麹、白麹すずらんの2種、いずれも*Aspergillus oryzae*)を扱っており、同菌による鼻副鼻腔炎を疑った。患者本人が扱っている麹菌を提供してもらい、これを陽性コントロールとし、*Aspergillus oryzae* amy gene for alpha-amylaseをターゲットとして、培養で得られた菌体のPCRを行ったところ、麹菌と同様のバンドが培養物からも確認された。以上より、本症例は*Aspergillus oryzae*による鼻副鼻腔炎と判断した。希釈したオキシドールを用いた鼻洗浄や抗真菌薬の局所投与を行ったところ、鼻汁貯留や菌糸の出現は軽快した。*Aspergillus oryzae*は、通常は鼻副鼻腔炎の起炎菌とは考えられていないが、醸造業などで麹菌を日常的に扱っている者が鼻副鼻腔炎に罹患した際には、細菌学的な鑑別診断に加える必要があると考えられた。

キーワード：麹菌、鼻副鼻腔炎、PCR

Rhinosinusitis Caused by *Aspergillus oryzae*: A Case ReportTomohiko Yamauchi¹⁾, Shuji Yokoyama²⁾, Hiroshi Ogawa²⁾¹⁾Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Jichi Medical University²⁾Department of Otolaryngology, Fukushima Medical University Aizu Medical Center

A 51-year-old male who worked as a brewer of miso (fermented soybean paste) presented with a chief complaint of vertigo and was diagnosed with perilymphatic fistula. Head computed tomography (CT) revealed no significant findings in the cerebellum and brainstem, but there was soft tissue density with calcification in the right maxillary sinus. Although there were no nasal symptoms, non-invasive chronic fungal rhinosinusitis was suspected. After resolution of the perilymphatic fistula, endoscopic sinus surgery (ESS) was performed. The pathology of the specimen from the right maxillary sinus revealed only crystal deposition, but the fungus was not identified. Thirteen months after ESS, the patient visited our hospital again with a complaint of pain in the right cheek and rhinorrhea. Endoscopy revealed hyphae in the right nasal cavity. A culture of white pus

from the right maxillary sinus revealed *Aspergillus*, not otherwise specified. Polymerase chain reaction (PCR) of the culture product was positive for *Aspergillus oryzae*, and this was considered to be the causative organism of rhinosinusitis.

Key words: *Aspergillus oryzae*, rhinosinusitis, PCR

(2018年8月13日受稿, 2018年12月14日受理)

はじめに

*Aspergillus oryzae*は、麹菌の一種であり、アミラーゼやプロテアーゼを生産・放出することから、醤油や味噌、酒などの醸造に用いられている。麹菌は日本醸造学会により、平成18年にわが国の「国菌」に認定されている¹⁾。また、通常は鼻副鼻腔炎の原因菌とは考えられていない。今回、通常の細菌培養では細菌学的な診断がつかなかったものの、上顎洞貯留物のPCRにより、*Aspergillus oryzae*による鼻副鼻腔炎との診断を得た症例を経験したため、報告する。

症 例

51歳男性。

味噌醸造業に従事している。既往歴に特記すべきものはない。X年3月、外リンパ漏によるめまいのため、福島県立医科大学会津医療センター耳鼻咽喉科（以下当科）を受診した。めまいの原因検索のため施行した頭部CT（Multi Detector CT）では、頭蓋内に異常は認めなかったが、右上顎洞内に石灰化を伴う陰影があり、上顎洞壁の骨肥厚を伴っていた。副鼻腔MRIでは、T2強調像で右上顎洞内に等～低信号域を認めた。以上の所見から、右上顎洞真菌症を疑った。なお、副鼻腔CT（Cone Beam CT）では、右上顎洞内に陰影が充満しているものの、石灰化は認めなかった（図1）。この時点では、鼻症状はなかった。外リンパ漏は保存的治療で軽快した。右上顎洞

図1 画像所見。A:頭部CT（Multi Detector CT）では右上顎洞内に石灰化を伴う陰影を認めた。B:副鼻腔MRI（T2強調像）では右上顎洞に等～低信号域を認め、周囲に高信号域を伴った。C, D:副鼻腔CT（Cone Beam CT）では右上顎洞内に陰影を認めたが、石灰化は認めなかった。

真菌症に対して、同年4月、右内視鏡下鼻・副鼻腔手術Ⅱ型を施行した。右上顎洞内は、真菌症を疑わせる（通常の真菌症と特段の変化のない）黄白色の乾酪様物質で充満していた。手術時に得られた上顎洞貯留物の病理検査ではcrystal depositのみであり、真菌症の確定診断には至らなかった（図2）。術後は定期的にファイバースコピーを施行し、フォローアップした。右上顎洞真菌症は一旦軽快したが、X+1年5月、右頬の鈍痛、鼻汁の訴えがあり当科を受診した。ファイバースコピーでは、右鼻内に真菌の菌糸を認めた。また、右中鼻道の狭小化を認めた（図3）。右上顎洞内に貯留した白色の鼻汁を細菌培養に提出したところ、*Aspergillus*（分類不能）の結果だった。再発時に撮影した副鼻腔CTでは、鼻処置後であったこともあり、副鼻腔には陰影を認めなかった。末梢血検査では、白血球数4,130/ μ L、CRP <0.05mg/dLと炎症反応上昇は認めず、肝腎機能は正常であった。空腹

図2 病理検査所見（Grocott染色, 400倍）。凝固壊死に陥った組織で、crystal depositionを認めた。真菌は認めなかった。

時血糖97mg/dL、HbA1c（NGSP）5.4%と糖尿病は認めなかった。また、 β -D glucan <5.0pg/mLで陰性で、*Candida* 抗原は陰性であったが、*Aspergillus*抗原は1.3と陽性であった。患者本人が、日常的に麴菌（白2号麴、白麴すずらん）の2種、いずれも*Aspergillus oryzae*）を扱っており、同菌による鼻副鼻腔炎を疑った。患者本人が扱っている麴菌を提供してもらい、これを陽性コントロールとし、*Aspergillus oryzae* amy gene for alpha-amylaseをターゲットとして、培養で得られた菌体のPCRを行ったところ、麴菌と同様のバンドが培養物からも確認された（図4）。

図4 PCR結果。麴菌と同様のバンドが鼻汁の培養物からも検出された。M: DNAラダー（1kb） 1: 白2号麴 2: 白麴すずらん 3: 鼻汁の培養物

図3 鼻腔内視鏡所見。右下鼻甲介と中鼻甲介に、真菌の菌糸の付着を認めた。

以上より、本症例は*A. oryzae*による鼻副鼻腔炎と判断した。希釈したオキシドールを用いた鼻洗浄やリコナゾールの局所投与を行ったところ、鼻汁貯留や菌糸の出現は軽快した。局所処置により軽快したため、再手術は行わなかった。

PCR手順

クリーンベンチ内で、ピペットマンのチップを用いて、培養物のコロニーから胞子をかき取り、TE buffer (10mmol/L Tris-HCl, 1mmol/L EDTA, pH8.0) 50μL中に懸濁した。同様に、陽性コントロールの麹菌2種もTE buffer中に懸濁した。懸濁液はヒートブロックを用いて、95°Cで10分間インキュベートした後、12,000rpmで10分間遠心し、上清5μLをPCR反応液の中に入れた。PCR酵素は、KOD FX (東洋紡ライフサイエンス事業部)を用いた。プライマーはF: CCATGCTTGGAGGATAGCAA (Tm 58.7), R: CACTGTCCAATGCCAGATTG (Tm 57.8)とし、*Aspergillus oryzae* amy gene for alpha-amylase (2.1kb)をターゲットとした。PCR反応液の組成は以下の通りとした。

〈PCR反応液の組成〉

滅菌水	7μL
2 x PCR buffer for KOD FX	25μL
2mM dNTPs	10μL
10pmol/μL Primer F	1μL
10pmol/μL Primer R	1μL
KOD FX (1.0U/μL)	1μL
サンプルの懸濁液	5μL
合計	50μL

PCRサイクルは、熱変性を98°C 10秒、アニーリングを55°C 30秒、伸長を68°C 2分とし、35サイクル実行した。

PCR産物は、1%アガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイド染色で確認した。

考 察

*Aspergillus oryzae*は、和名では黄麹菌と称され、アミラーゼやプロテアーゼを生産・放出することから、醤油や味噌、酒などの醸造に広く用いられている。*A. oryzae*は、わが国の豊かな食文化に貢献したことにより、平成18年に日本醸造学会より、「国菌」に認定されている。*Aspergillus*属では、*Aspergillus fumigatus*や*Aspergillus flavus*、*Aspergillus niger*などはヒトへの病原性が確認されているが、一般的には、*A. oryzae*は人への病原性はな

いものと考えられている。また、*A. flavus*はカビ毒であるアフラトキシンを産生することが知られているが、*A. oryzae*はアフラトキシン産生能を有さないことが確認されている¹⁾。一方で、*A. oryzae*は、醸造業従事者を中心に、いわゆる職業アレルギーを引き起こすことも知られており、吸入により呼吸困難を反復した症例の報告もある²⁾。

一般臨床において*Aspergillus*属が起炎菌として同定された場合、菌種の同定には、主に形態学的な性状により行われる。例えば、*A. fumigatus*ではコロニーの色調が濃緑色～青緑色で、分生子頭（菌糸の突出した部分）は密な円柱状、分生子柄は滑面、アスペルジラ（分生子形成構造）は単列、頂囊（分生子柄の先端の膨らみ）はフラスコ形、といった特徴がある。*A. niger*では、コロニーの色調は黒色、分生子頭は放射状～分岐した複数の円柱状、分生子柄は滑面、アスペルジラは複列、頂囊は球形～垂球形と言われている。*A. flavus*では、コロニーの色調が黄緑色～緑色、分生子頭は放射状～緩い円柱状、分生子柄は粗面、アスペルジラは短列と複列が混在、頂囊は垂球形～フラスコ形、と言われている。しかしながら*A. oryzae*は、形態的には*A. flavus*と大差はないため、形態学的特徴のみでは*A. oryzae*と*A. flavus*を鑑別するのは困難と考えられている。これは、*A. oryzae*は野生型*A. flavus*を長い時間かけて育種した菌種と考えられているためである³⁾。本症例では、培養に用いたSabouraud寒天培地に出現したコロニーは、図3で示した菌糸と同様の白色のコロニーであり、種名の同定は困難であるとの検査結果であった。よって、PCRを施行する方針とし、確定診断を得た。

副鼻腔真菌症の原因菌としては、*Aspergillus*、*Candida*、*Actinomyces*、*Mucor*などが知られている⁴⁾。*Aspergillus*属では、非浸潤型真菌症で*A. fumigatus*が、浸潤型真菌症で*A. flavus*が多いとされている。しかし、麹菌である*A. oryzae*が副鼻腔真菌症の原因菌になるとは通常考えられていない。筆者らが渉猟しえた過去の報告では、本邦では山下が上顎洞炎の235例中1例で*A. oryzae*が検出されたと報告しているのみである⁵⁾。しかし、Zhangらの次世代シーケンサーを用いた検討では、上顎洞炎における原因菌のうち、真菌では*A. flavus*、*A. oryzae*、*Myceliophthora thermophila*が三大起炎菌と報告している⁶⁾。この報告では、手術時に上顎洞内から得られた検体からDNAを抽出し、次世代シーケンサー（Illumina Hi-Seq 2000, イルミナ社）を用いて、米国立生物工学情報センター（NCBI）のデータベースと比較し、網羅的に解析している。本症例で用いたPCRでは、想定する菌種ごとにプライマーを

準備する必要があるが、この次世代シーケンサーを用いた手法では、個々の菌種に応じたプライマーを準備する必要はないことが最も大きな利点である。また、菌種の同定においても、前述の通り、形態学的手法では *A. flavus* と *A. oryzae* は鑑別・同定が困難であるが、次世代シーケンサーではこの問題は回避できる。このことにより従来の手法では、*A. flavus* による副鼻腔真菌症と判断されていたと考えられる症例が、次世代シーケンサーにより正確に *A. oryzae* による副鼻腔真菌症と診断された可能性は否定できない。したがって、*A. oryzae* による副鼻腔真菌症は、これまで考えられていたよりも多く存在している可能性がある。

今回報告した症例は、味噌醸造業に従事している男性であり、日常的に *A. oryzae* を扱っていた。よって、常に *A. oryzae* に曝露されていたと考えられる。したがって、初回手術時には病理検査での証明には至らなかったものの、初回手術時も再発時と同様に *A. oryzae* による鼻副鼻腔炎であった可能性が高いと考えた。また、初回手術時には中鼻道を十分に開放したつもりではあったが、再発時には中鼻道の狭小化を認めており（図3）、このことが再発の誘因の一つであると考えられた。本人の申告では麹菌を扱う作業中はマスクをきちんと着用しているとのことではあったが、PCR結果を説明した上、今一度きちんとマスクを着用するよう説明した。今後の曝露予防の観点からも、今回、PCRにより原因菌を特定出来たことの意味はあったものと考えられる。また、味噌の醸造に限らず、醤油や酒の醸造でも広く *A. oryzae* は使用されており、醸造業従事者は他の業種と比べ、*A. oryzae* への感染リスクが高いと考えられる。よって、醸造業従事者が鼻

副鼻腔炎を呈した場合、*A. oryzae* を細菌学的な鑑別疾患に含める必要性があるものと考えられた。ただし、*A. oryzae* による鼻副鼻腔炎は、これまでに十分な症例数の報告はなく、臨床所見ならびに検査所見の特徴や、有効な治療法に関する詳細な知見は得られていない。今後の症例の蓄積が必要である。

ま と め

麹菌の1種である *Aspergillus oryzae* による鼻副鼻腔炎を報告した。*A. oryzae* は、これまで、鼻副鼻腔炎の起炎菌とは考えられていなかったが、鼻副鼻腔炎を来しうる。また、醸造業従事者は他の業種と比べ、*A. oryzae* への感染リスクが高い可能性がある。

文献

- 1) URL: <http://www.jozo.or.jp/koujikinnituite2.pdf>
- 2) 福田佳奈子, 足立厚子, 指宿千恵子, 他: 味噌醸造を家業とする兄弟に発症した麹菌アレルギーの2例. 臨床皮膚科 2016 ; 70 : 750-755.
- 3) 矢口貴志: 教育シリーズ Basic mycology (1) アスペルギルス属. Med Mycol J 2011 ; 52 : 193-197.
- 4) 吉川 衛: 副鼻腔真菌症の診断と治療. 日耳鼻 2015 ; 118 : 629-635.
- 5) 山下憲治: 耳, 鼻, 咽頭ならびに口腔の真菌フローラ. 真菌と真菌症 1960 ; 1 : 47-56.
- 6) Zhang J, Li Y, Lu X, et al : Distinguishing the dominant species of the pathogen in maxillary sinusitis by sequencing DNA dataset analysis. Gene 2015 ; 561 : 256-260.