急性肺 *Aspergillus* 症ラットモデルにおける (1→3)- β -D-glucan 値の検討

¹⁾川崎医科大学呼吸器内科, ²⁾同 中央検査部

橋口 浩二¹⁾ 玉田 貞雄¹⁾ 中林美枝子¹⁾ 菅井 直美²⁾
中島 正光¹⁾ 二木 芳人¹⁾ 副島 林造¹⁾

(平成 6 年 6 月 30 日受付)

(平成 6 年 8 月 8 日受理)

Key words: (1→3)- β -D-glucan, pulmonary aspergillosis

序 文

深在性真菌症, 中でも *Aspergillus* 感染症は当院剖検症例の検討において近年 *Candida* 感染症例の減少に伴いその相対的頻度が増加しており¹⁾, compromised host の死因の一つとして問題となりつつある。深在性真菌症に対する治療上の鉄則は早期診断・早期治療であるが, 早期診断は現状では臨床症状や培養検査をはじめとする検査所見からなされており十分とは言えない。そこで血清中の真菌抗原を検出する検査法が早期診断の方法の一つとして発達してきている。中でも (1→3)- β -D-glucan (以下 β -glucan) は真菌感染時に血中に増加してくると言われており早期診断や治療の指標の一つとして役立つものと考えられている。そこで今回我々は急性肺 *Aspergillus* 症モデルを用いて経時的に肺内生真菌数と β -glucan 値の経時的变化を検討し, 併せて PASTOREX® *Aspergillus* による抗原の検出率との比較を行う事によりその有用性の基礎的検討を行った。

材料と方法

急性肺 *Aspergillus* 症モデルは我々が以前報告したラット感染モデルを使用した²⁾。感染 24, 48, 72, 96 時間後に感染ラットより血清採取を行い血清中の β -glucan 値および *Aspergillus* 抗原の有

無を検索し, 同時に肺組織の定量培養も経時的に行った。 β -glucan 値の測定はグルスベシーおよびインキュベーター内蔵マイクロプレートリーダーであるウェルリーダー SK601 (生化学工業, 東京)³⁾を用いて測定した。また, 同時に *Aspergillus* 細胞壁内の galactomannan に対するラットモノクローナル抗体を用いた抗原検出キットである PASTOREX® *Aspergillus* (Diagnostic Pasteur, France) での抗原検索も併せて行った。

成 績

Table に示す様に 1.0×10^6 conidia/rat 感染後の肺内生真菌数 ($\log_{10}$ CFU/lung) は感染 24, 48, 72, 96 時間後に各々 5.20 ± 0.19 , 5.36 ± 0.20 , 5.59 ± 0.32 , 5.61 ± 0.05 と経時的な増加を示し感染 72 時間後より死亡が観察された。感染前 20.4 ± 2.0 であった β -glucan 値は感染 24, 48, 72, 96 時間後に各々 507.4 ± 464.1 , $1,803.8 \pm 193.4$, $2,322.9 \pm 519.7$, $2,186.9 \pm 926.9$ pg/ml と経時的に増加しており肺内生真菌数と相関が認められた。また, β -glucan 値が増加していない個体は認められなかった。PASTOREX® *Aspergillus* による *Aspergillus* 抗原の検討でも経時的に抗原価の増加傾向を認めたが, 感染 96 時間後においても, 1 個体において陰性結果が得られた。

考 察

β -glucan 値は感染 24 時間後には著明に増加し

別刷請求先: (〒701-01) 岡山県倉敷市松島 577

川崎医科大学呼吸器内科 橋口 浩二

Table Progressive changes of fungal viable count of lungs, values of (1→3)- β -D-glucan and galactomannan antigens in acute pulmonary aspergillosis in rats

	Number of rat	$\log_{10}$ CFU/lung	(1→3)- β -D-glucan	Pastorex® <i>Aspergillus</i>
non-infected control	1	—	18.4	(—)
	2	—	22.4	(—)
	3	—	20.3	(—)
24hrs after the infection	1	5.01	154.5	(—)
	2	5.22	1,033.1	$\times 2 (+)$
	3	5.38	334.6	$\times 4 (+)$
48hrs after the infection	1	5.51	2,002.9	$\times 4 (+)$
	2	5.44	1,616.7	$\times 2 (+)$
	3	5.13	1,791.7	$\times 4 (+)$
72hrs after the infection	1	5.85	2,083.9	$\times 4 (+)$
	2	5.69	1,965.7	$\times 2 (+)$
	3	5.24	2,919.1	$\times 4 (+)$
96hrs after the infection	1	5.57	1,531.4	(—)
	2	5.64	2,842.3	$\times 4 (+)$

1.0 $\times 10^6$ conidia/rat

ており、さらに肺内生真菌数の増加に比例して漸増傾向が明らかであった。この結果本法は肺真菌感染症病態を反映する指標の一つとして有用と考えられた。

PASTOREX® *Aspergillus* による抗原の検出においても2検体を除く全例において病勢に比例して抗原価の上昇を認めたが、明らかな肺感染が存在し、 β -glucan 値の増加が認められるにも拘らず陰性結果が示されるものもあり、その理由としては採血がワンポイントであり血清中抗原のクリアランス⁴⁾やグロブリンをはじめとする他の蛋白との結合により検出し得なくなった⁵⁾ことなどが考えられた。

文 献

- 1) 橋口浩二, 中林美枝子, 玉田貞雄, 守屋 修, 二木芳人, 副島林造: 免疫不全宿主における肺真菌症の現状. *Biotherapy*, 7: 509—513, 1993.
- 2) 副島林造, 橋口浩二, 二木芳人: 肺アスペルギルス症の実験感染モデル. 化学療法の領域, 9: 1743—1750, 1993.
- 3) 田村弘志, 有本やよい, 田中重則, 大林民典, 吉田 稔, 河合 忠: カイネティック自動アッセイによる新しい血中エンドトキシンおよび(1→3)- β -D-グルカン定量法. *医学のあゆみ*, 166: 811—812, 1993.
- 4) Bennett, J.E., Friedmann, M.M. & Dupont, B.: Receptor-mediated clearance of aspergillus galactomannan. *J. Infect. Dis.*, 155: 1005—1010, 1987.
- 5) de Repentigny, L. & Reiss, E.: Current trends in immunodiagnosis of candidiasis and aspergillosis. *Rev. Infect. Dis.*, 6: 301—312, 1984.

Investigation of (1→3)- β -D-glucan in Sera with Experimental Acute Pulmonary Aspergillosis

Kohji HASHIGUCHI¹⁾, Sadao TAMADA¹⁾, Mieko NAKABAYASHI¹⁾, Naomi SUGAI²⁾,
Masamitsu NAKAJIMA¹⁾, Yoshihito NIKI¹⁾ & Rinzo SOEJIMA¹⁾

¹⁾Division of Respiratory Diseases, Department of Medicine, Kawasaki Medical School

²⁾Department of Central Laboratory, Kawasaki Medical School