

令和 6 年 4 月 18 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17237

研究課題名（和文）慢性肺アスペルギルス症の病態における細菌叢、宿主因子としてマクロファージの検討

研究課題名（英文）Investigation of Microbiota and Macrophage as Host Factors in the Pathogenesis of Chronic

研究代表者

池上 博昭 (Ikegami, Hiroaki)

産業医科大学・医学部・非常勤医師

研究者番号：30833511

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：【背景】慢性肺アスペルギルス症は、難治性感染症である。本症の肺病変部における一般細菌叢の病態形成への関与は明らかでない。【方法】産業医科大学病院で慢性肺アスペルギルス症が疑われ、気管支鏡検査を施行した24症例を対象とした。細菌叢解析にはSanger法にクローンライブラリー法を組み合わせた手法を用いた。【結果】慢性肺アスペルギルス症と診断した15症例中16SrRNA領域でのPCR陽性は11例で、Streptococcus属（9例）と嫌気性菌（10例）が高頻度に検出された。【結語】Streptococcus属と嫌気性菌の混合感染が慢性肺アスペルギルス症の病態形成に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに慢性肺アスペルギルス症に対しては、背景病態として、嫌気性菌などの一般細菌が関与していることを検討している報告はなく、一般細菌が本症の病態や進行に関与していることが明らかになれば、治療に難渋することが多い慢性肺アスペルギルス症に対する有効な治療戦略に対する新しい知見が見いだされる可能性が考えられ、社会に大きく貢献できることが期待される。今回の解析からは慢性肺アスペルギルス症においてStreptococcus属と嫌気性菌の混合感染が多い傾向を認め、病態や宿主因子、疾患進行との関係性について今後さらなる検討が必要である。

研究成果の概要（英文）：Background; Chronic pulmonary aspergillosis is a refractory respiratory infection. In chronic pulmonary aspergillosis, the involvement of the normal bacterial flora in the pathogenesis of lung lesions has not yet been elucidated. Methods; The study targeted 24 cases suspected of chronic pulmonary aspergillosis, who underwent bronchoscopy at the Hospital of the University of Occupational and Environmental Health, Japan. A method combining the Sanger method with a clone library method was used for bacterial flora analysis. Results; Among the 15 cases diagnosed with chronic pulmonary aspergillosis, PCR positivity in the 16S rRNA region was observed in 11 cases, with genus Streptococcus (9 cases) and anaerobic bacteria (10 cases) being frequently detected. Conclusion; Mixed infection of the genus Streptococcus and anaerobic bacteria may be implicated in the pathogenesis of chronic pulmonary aspergillosis.

研究分野：細菌叢

キーワード：慢性肺アスペルギルス症

1. 研究開始当初の背景

アスペルギルス属は、世界中の土壌を中心とした環境中に広く生息する腐生菌であり、建築物や屋内環境から検出される重要な病原真菌であり、その感染や進展形式は非常に特殊であり、既存肺構造の破壊に伴い腐生性に感染し緩徐に進行する「慢性肺アスペルギルス症」は難治性かつ致死性である。

本症の罹患患者数は世界で 300 万人と試算されており、本邦においても超高齢化や癌医療及び免疫抑制状態をきたす各種治療薬（免疫抑制薬、生物学的製剤等）の飛躍的な進歩により各種疾患の疾病管理が可能となる反面、日和見感染症としての肺アスペルギルス症を含めた深在性真菌症が増加している。また、空調を含めた環境因子と本症とは密接な関係があり、発症リスク因子として解体作業現場などの粉塵曝露の多い環境があり、空調や建築作業と関連した院内での集団発生なども報告され、院内感染対策も重要である。

本症（図1）は、肺実質や気管支局所の防御機能低下を伴う肺結核後遺症や肺 NTM 症、気管支拡張症、空洞性病変などの既存の肺病変を有する患者に多く、治療抵抗性で難治性であり、緩徐に進行して大量咯血や呼吸不全などで致死性となり、5 年生存率が 50%程度と極めて予後不良な慢性感染性肺疾患である。

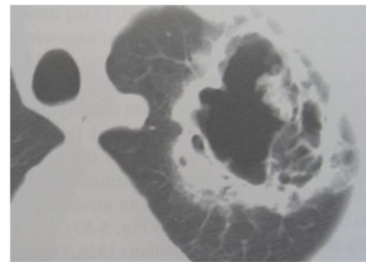


図1 慢性肺アスペルギルスのCT像

近年、次世代シーケンスなどにより慢性閉塞性肺疾患などの慢性呼吸器疾患の肺や腸管の細菌叢解析の知見が増え、細菌叢の慢性呼吸器疾患の臨床経過に与える影響や、肺内局所の免疫制御と慢性の活動性炎症への関与などが次々と報告されている（*Lancet Respir Med*, 2019, *Chest*, 2019）。我々は、肺病変局所からの気管支肺胞洗浄液の細菌叢解析で、本症と同様に気管支拡張病変を呈する肺 NTM 症で嫌気性菌が画像上の増悪に関与している可能性を報告した（Yamasaki K, et al. *Respirology*, 2015）。

また、本症も含めたアスペルギルス属が関与する肺疾患において、肺や腸管の細菌叢により、アスペルギルス属に対するアレルギー惹起や宿主防御が調整されている可能性も報告されており（*Eur J Immunol*, 2014）、本症による気道や肺の構造破壊の機序における宿主因子としても、アスペルギルス属以外の肺の細菌叢の知見は本症に対する効果的な治療戦略に必要不可欠である。

2. 研究の目的

慢性肺アスペルギルス症の肺病変部位における細菌叢を明らかにし、慢性肺アスペルギルス症の診断に至らなかった症例との細菌叢の差異について検討する。

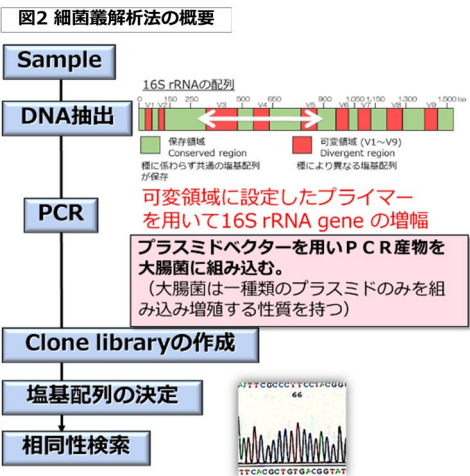
3. 研究の方法

2018 年 7 月から 2022 年 12 月までに産業医科大学病院で慢性肺アスペルギルス症(以下「CPA」)が疑われた 24 症例を対象とした。

CPA の診断については、深在性真菌症の診断・治療ガイドライン 2014 をもとに行った。臨床所見、画像所見、血清学的検査（抗アスペルギルス沈降抗体、アスペルギルス GM 抗原、 β -D グルカン）、病理組織学的検査、培養検査をもとに CPA か非 CPA かの診断を行った。

BALF から細菌の DNA を抽出後、16S rRNA 遺伝子を PCR 法で網羅的に増幅し、PCR 産物のクローンライブラリーから無作為に 96 クローンを選択して、それぞれの塩基配列を決定し、BLAST

(Basic Local Alignment Search Tool) アルゴリズムで基準株との相同性から細菌種を推定した (図 2)。

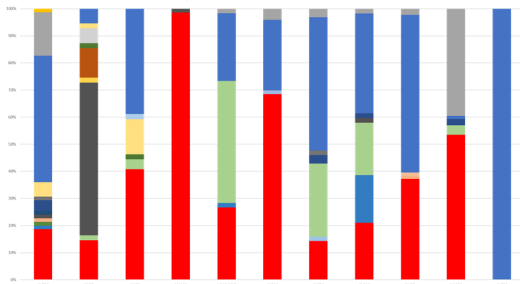


4. 研究成果

24例のうち、CPA群は15例、非CPA群は9例であった。CPA群のうち16SrRNA領域でのPCR陽性例は11例(73.3%)、非CPA群では5例(55.6%)であった(図3、図4)。CPA群は *Streptococcus* 属(9例、60.0%)と嫌気性菌(10例、66.7%)が高頻度に検出された。CPA群と非CPA群において *Streptococcus* 属が占める割合を比較(16SrRNA領域でのPCR陰性例は除外)すると、CPA群での中央値は36.2%(IQR 5.5-49.2)で、非CPA群は中央値13.2%(6.0-45.2) ($p=0.57$)で、CPA群で *Streptococcus* 属が占める割合が多い傾向にあった。CPA群と非CPA群において嫌気性菌が占める割合はCPA群で37.9%(2.9-53.5)、非CPA群で23.3%(6.7-64.0) ($p=0.82$)であり、CPA群で嫌気性菌が占める割合が多い傾向にあった。

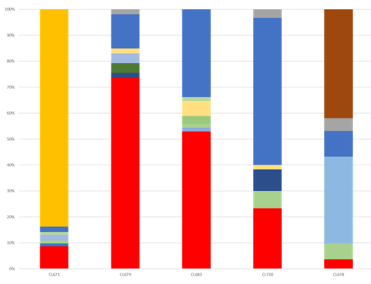
今回の検討から慢性肺アスペルギルス症について、*Streptococcus* 属と嫌気性菌との混合感染が多い傾向を認め、病態や疾患進行との関係性について今後更なる検討が必要である。

図3 CPA群の一般細菌叢解析結果



嫌気性菌 (偏性嫌気性菌)
Streptococcus属
Neisseria属
Staphylococcus属

図4 非CPA群の一般細菌叢解析結果



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 船田 碧
2. 発表標題 慢性肺アスペルギルス症の肺病変部における16S ribosomal RNA遺伝子を用いた網羅的細菌叢の検討
3. 学会等名 第16回福岡県医学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 茂見 紗喜
2. 発表標題 慢性肺アスペルギルス症における16S ribosomal RNA遺伝子を用いた網羅的細菌叢の検討
3. 学会等名 第5回日本医真菌学会 九州・中四国支部会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

—

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	船田 碧 (Funada Midori)		
研究協力者	茂見 紗喜 (Sigemi Saki)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------