

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：82710

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08790

研究課題名（和文）重症喘息の気道に腐生する真菌へのアレルギー診断法の開発とその実態解明

研究課題名（英文）Allergy to fungi colonizing the airways of patients with severe asthma: development of a diagnostic method and elucidation of its actual condition

研究代表者

福富 友馬（Fukutomi, Yuma）

独立行政法人国立病院機構（相模原病院臨床研究センター）・臨床研究推進部・部長

研究者番号：30463110

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：喘息患者の気道に腐生する（住み着く）真菌は、気道でアレルギーを産生することにより、喘息を悪化させることが知られているが、気道に腐生しやすい真菌の種類の実態や季節との関係は不明であった。本研究では、成人喘息患者の喀痰から検出される真菌に対して、遺伝子解析も含めて検討することにより、これまで知られていたアスペルギルス・フミガタスに加えて、スエヒロタケという真菌も高頻度に検出されるという実態が明らかになった。さらに、カンジダの特異抗原に対するリコンビナント抗原を作製して、それに対するIgE抗体価を測定してその診断性能を評価した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多数の成人喘息患者に対する解析の結果、成人喘息患者の気道にスエヒロタケが高頻度に腐生して（住み着いて）いるという実態が、本研究により初めて明らかになった。さらに、喘息患者の血清解析を行い、気道粘膜に常在するカンジダに対するアレルギーを診断するための特異的なマーカーの開発を行うことができた。これらの結果は、喘息患者の真菌アレルギーの病態理解やそれへの対処法の確立に向けて重要な知見となる。

研究成果の概要（英文）：Fungi that colonize the airways of patients with asthma are known to aggravate asthma by producing allergens in the airways, but the actual types of fungi that tend to colonize the airways and their relationship with the season are unknown. In this study, we examined fungi detected in sputum from adults with asthma, including genetic analysis, and found that the *Schizophyllum commune* was frequently detected in addition to *Aspergillus fumigatus*, which was previously known. Furthermore, recombinant antigens against specific antigens of *Candida* were prepared, and IgE antibody titers against them were measured to evaluate their diagnostic performance.

研究分野：アレルギー

キーワード：アレルギー 真菌 喘息

## 1. 研究開始当初の背景

1990年代からの吸入ステロイドを中心とした喘息治療の普及により、我が国においても国際的にも、気管支喘息患者のコントロールは大きく改善した。しかしながら、現在でも通常の吸入療法を行っても十分に喘息コントロールができない患者群(難治性喘息)が存在する。真菌アレルギーは、以前より喘息の難治化危険因子として知られてきたが、近年はこれまでに以上に、我が国においても国際的にも、注目されるようになってきた。

我々は先行研究で、10年以上の長い臨床経過を持つ難治性喘息患者の中に、アスペルギルス・フミガタス、カンジダ・アルビカンス、トリコフィトン・ルブラムに新しくアレルギーになる患者の頻度が高いことを確認し報告した(Watai K, Fukutomi Y, et al. Allergy 2018)。さらにこの現象は、高用量の吸入ステロイド治療を行っている患者に高頻度に発生していることも示された。すなわち、ステロイド療法の副作用としての易感染性により喘息患者の気道に真菌が腐生(住み着くこと)し、その真菌にアレルギーを発症しやすくなるという機序が想定されている。アスペルギルス・フミガタス、カンジダ・アルビカンスはよく知られた気道腐生真菌であり、気道で増殖することによってアレルギー性を発揮し、喘息症状を悪化させる。喘息症状のコントロールのために、気道に腐生するこれらの真菌を制御することが必要であるが、その方法は確立していない。海外から抗真菌薬内服による真菌制御方法も報告されているが、その長期的な安全性や耐性菌との関連など懸念すべき点も多い。また、原因真菌が異なれば、その真菌への対処方法も異なるはず(例えば、アスペルギルス・フミガタスは屋内浮遊真菌であるので、屋内環境からの曝露の低減化により対処可能である可能性あり)であるが、後述するように個々の患者の喘息悪化に関わる原因真菌を正確に同定するのは必ずしも容易ではない。さらに、下気道に腐生する真菌にはアスペルギルス・フミガタス、カンジダ・アルビカンス以外にも様々な種があり、腐生真菌の種類やその検出頻度についても明らかになっていない。

実地臨床で真菌アレルギー患者への対処を困難にしている要因の一つとして、個々の患者の真の原因真菌を判別するのが難しい点が挙げられる。現状で真菌アレルギーの診断には、真菌の粗抽出抗原を使用しているが、真菌粗抽出抗原は多くの交差抗原性アレルギータンパク質を含むため、真菌種間の交差反応性が強くなり、真菌種に真に特異的なIgE抗体反応を評価することができない。真にそれぞれの真菌種に感作されているか否かを正確に評価するためには、それぞれの真菌の特異抗原(特異的アレルギーコンポーネント)への感作状況を評価する以外には方法がない(アレルギーコンポーネント解析の概念に関しては、Fukutomi et al. Allergol Int. 2016 Jan;65(1):30-6に詳述)。しかしながら、多くの真菌(アスペルギルス・フミガタスとアルテルナリア、マラセチア以外のすべての真菌)に関しては、このような真菌種特異的なアレルギーの診断のための特異抗原が同定されていない。

また、担子菌類の一つであるスエヒロタケに関してはABPMの原因真菌となり得ることが報告されているが、その他の担子菌類に関しては、ヒトのアレルギー疾患に関与しているのかどうか不明な点も多い。

## 2. 研究の目的

喘息患者の喀痰から検出される腐生真菌(担子菌類含む)を同定し、真菌種毎の検出頻度を明らかにすること。また、それらの検出の季節性を明らかにすること。

主な気道腐生真菌であるカンジダ・アルビカンスへのアレルギー診断マーカーになるような特異抗原(特異的アレルギーコンポーネント)を同定すること。

原因真菌と喘息の臨床像との関係について検証すること。

## 3. 研究の方法

重症喘息患者の喀痰から検出される腐生真菌(担子菌類含む)の実態調査(担当 相模原病院 福富、川上)

2017年11月から2023年3月までに相模原病院呼吸器アレルギー科を受診した喘息患者に由来する喀痰真菌培養の全数調査を行い、検出される真菌の種類やその頻度に関して検討した。喀痰真菌培養により検出された真菌は主に形態学的に同定を行ったが、形態学的には同定が難しい糸状性担子菌類のコロニーが検出された際は、エフシージー総合研究所にて遺伝子解析により同定を行った。

主な気道腐生真菌(対象真菌:カンジダ・アルビカンス)へのアレルギー診断マーカーの開発(担当:相模原病院 福富 大阪府立大学 乾・石橋)

研究対象:相模原病院の重症真菌アレルギー喘息患者とその血清。

研究内容:カンジダ強感作喘息患者の血清を用いて、カンジダ・アルビカンスの抗原性に関して詳細に検討した。その重要抗原であるカンジダのSecreted aspartyl proteinase 2 (SAP2)のり

コンビナントタンパク質を作製し、リコンビナントタンパク質 IgE 抗体価の診断性能を評価した。

真菌感作と喘息の臨床像の関係について（担当：相模原病院 福富）

研究対象：相模原病院の重症真菌アレルギー喘息患者

研究内容：相模原病院アレルギー科の外来喘息患者に対して、各種真菌に対する IgE 抗体価を測定し、真菌感作と喘息の臨床像との関連を評価した。

#### 4. 研究成果

##### 気道腐生真菌の実態調査

対象となった喀痰真菌培養は 145 件であった。頻度の高い検出真菌とその頻度を図 1 に示す。最も検出頻度の高かった真菌種は、アスペルギルス・フミガタス *Aspergillus fumigatus* (27%) で次に、スエヒロタケ *Schizophyllum commune* (23%)、アスペルギルス・ニガー *A. niger* (17%)、*Fomitopsis palustris* (7%) アラゲカワラタケ *Trametes hirsuta* (7%)、*Coprinellus radians* (6%) と続いた。喘息患者において、アスペルギルス・フミガタスやニガーの検出頻度が高いことは既知の事実であるが、本研究によりスエヒロタケ、アラゲカワラタケ、*Fomitopsis palustris* の検出頻度も高いことが初めて明らかになった。特にスエヒロタケの検出頻度が想定していたよりも高いという実態が明らかになった。

次に月別のこれらの真菌の検出率を示した。一般に環境に浮遊する真菌は 6 月から 10 月ごろに増加する。アラゲカワラタケ、*Fomitopsis palustris* に関してはこれらの季節のみに検出された。これは、この 2 種の真菌に関しては、真に患者の気道に腐生しているわけではなく、環境に多いために喀痰真菌培養で検出されているのみである可能性を示唆している。しかしながら、アスペルギルス・フミガタスやスエヒロタケに関しては、一年中高い検出率を示していた。この知見は、この 2 種の真菌が、患者の気道に季節を問わず腐生しつづけている可能性を示唆している。

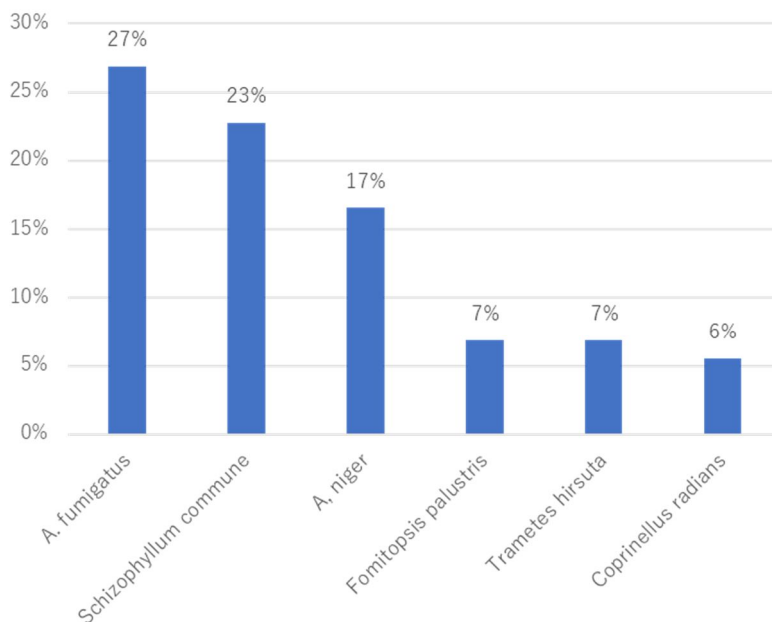
##### 主な気道腐生真菌（カンジダ・アルピカンス）へのアレルギー診断マーカーの開発

カンジダ SAP2 のリコンビナント抗原を作製し、それに対する IgE 抗体価の測定を行った。リコンビナントの SAP2 抗原は精製 SAP2 と同様の抗体価を示し、今回作成したリコンビナント抗原が天然の SAP2 とほぼ同じ抗原性を保有していることが示された。また、カンジダに感作されている喘息患者のうち、カンジダ SAP2 に対して高い IgE 抗体価を示す一群が存在することが明らかになった。

##### 真菌感作と喘息の臨床像の関係について

アスペルギルス・フミガタス、ペニシリウム、カンジダ、クラドスポリウム、マラセチア、トリコフィトンへの IgE 抗体価の測定を行い、喘息の病態に最も強く関連しているのはアスペルギルス・フミガタスであることが明らかになった。アスペルギルスは喘息の重症度、低肺機能と関連していた。

図 1 成人喘息患者における喀痰真菌培養検査で検出される代表的真菌種



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ryu Kai, Fukutomi Yuma, Sekiya Kiyoshi, Saito Akemi, Hamada Yuto, Watai Kentaro, Kamide Yosuke, Taniguchi Masami, Araya Jun, Kuwano Kazuyoshi, Kamei Katsuhiko	4. 巻 12
2. 論文標題 Identification of fungi causing humidifier lung: 2 rare cases and a review of the literature	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Asia Pacific Allergy	6. 最初と最後の頁 e43 ~ e43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5415/apallergy.2022.12.e43	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fukutomi Yuma, Kawakami Yuji	4. 巻 70
2. 論文標題 Respiratory sensitization to insect allergens: Species, components and clinical symptoms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 303-312
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2021.04.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 福富友馬	4. 巻 71
2. 論文標題 アレルゲンコンポーネント解析の診断学上の意義	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アレルギー	6. 最初と最後の頁 27-30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15036/arerugi.71.27.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ueki Shigeharu, Fukutomi Yuma, Miyabe Yui, Yamada Takechiyo, Oguma Tsuyoshi, Asano Koichiro	4. 巻 ND
2. 論文標題 Allergic fungal diseases in the upper and lower airways	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 the European Respiratory Monograph site	6. 最初と最後の頁 119 ~ 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1183/2312508X.10030020	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 福富友馬
2. 発表標題 アレルギーコンポーネント～最新の知見から～ 真菌とアレルギーコンポーネント
3. 学会等名 第71回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2022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
研究分担者	乾 隆  (Inui Takashi)  (80352912)	大阪府立大学・生命環境科学研究科・教授   (24403)	
研究分担者	石橋 宰  (Ishibashi Osamu)  (70293214)	大阪府立大学・生命環境科学研究科・准教授   (24403)	
研究分担者	川上 裕司  (Kawakami Yuji)  (50451307)	独立行政法人国立病院機構（相模原病院臨床研究センター）・その他部局等・研究員   (82710)	

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
---------	---------