

Title	Aspergillus属およびCandida属に対するカンディン系抗真菌薬のin vitro併用効果に関する研究
Author(s)	西, 功
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58247">https://hdl.handle.net/11094/58247</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	西功
博士の専攻分野の名称	博士(保健学)
学位記番号	第24455号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科保健学専攻
学位論文名	<i>Aspergillus</i> 属および <i>Candida</i> 属に対するキャンディン系抗真菌薬の <i>in vitro</i> 併用効果に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 岩谷 良則 (副査) 教授 松浦 成昭 教授 山本 容正

## 論文内容の要旨

## 【目的】

好中球減少を伴う血液疾患や臓器移植などの免疫不全患者において、日和見感染症として発症する深在性真菌症は、難治性であり致死率の高い疾患である。

現在、深在性真菌症の治療に使用可能な抗真菌薬は抗生剤に比し極めて少なく、抗真菌薬によっては副作用や耐性菌出現などの問題が指摘されているため、治療に際しては現有の抗真菌薬を適切に選択し、有効に使用することが重要である。これらの問題を解決し治療効果を上げるため、重篤な深在性真菌症患者に対して作用機序の異なる抗真菌薬を用いた併用療法が行われる。

キャンディン系抗真菌薬は*Aspergillus*属や*Candida*属に対し優れた抗菌力をもつ薬剤であり、真菌細胞壁合成阻害を作用機序としているためヒトに対する安全性が高く、既存のポリエン系やアゾール系抗真菌薬とは異なる薬理作用を持つことから、これら薬剤に対する併用薬として有効であると考えられる。

本研究では、*Aspergillus*属および*Candida*属に対するキャンディン系抗真菌薬 micafungin (MCFG) の *in vitro*併用効果を明らかにした。

## 【臨床分離アスペルギルス属に対するミカファンギンとアンホテリシンBの併用効果に関する研究】

テトラゾリウム塩である 2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxyanilide inner salt (XTT) による比色チェッカーボード法を用い、菌の発育抑制状態を代謝活性率として求めることにより、臨床材料から分離された *Aspergillus*属に対する MCFG とポリエン系抗真菌薬 amphotericin B (AMHP-B) の *in vitro*併用効果を明らかにした。

## 1、対象

2009年1月から2009年12月までの間に大阪大学医学部附属病院において臨床材料から分離された *Aspergillus*属25株 (*A. fumigatus* 10株、*A. nigar* 10株、*A. flavus* 3株、*A. terreus* 2株)を用いた。

## 2、方法

- ①感受性測定はCLSIのM38-A2法に準拠した。
- ②MCFGのMECおよびAMPH-BのMICを判定した後、自家調整したXTT-menadione混合液をチェッカーボードに添加した。
- ③37°C60分反応後、MICROPLATE READERを用い吸光度を測定した。
- ④単剤および併用時における菌株の代謝活性が50%低下する濃度を終末点とし、併用効果の指標となるFICindexを計算した。

## 3、結果

- ①MCFGとAMPH-Bの併用により、MCFGの終末濃度幾何平均値は0.013から0.005 $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $P<0.05$ )、AMPH-Bの終末濃度幾何平均値は0.23から0.08 $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $P<0.05$ ) に低下した。対象とした*Aspergillus*属の36% (対象菌株25株中9株) に相乗効果が認められた。菌種毎の相乗効果は*A. terreus*が100%、*A. fumigatus*が40%、*A. flavus*が33%、*A. niger*が20%であった。
- ②併用ウエルの吸光度がMCFGおよびAMPH-B単剤ウエルの吸光度を上回る組み合わせは無く、*Aspergillus*属に対するMCFGとAMPH-Bの併用では拮抗作用を認めなかった。
- ③AMPH-Bが1/2MIC以下の濃度においてもMCFGとの併用により、全株で代謝活性の低下が認められたことより、副作用軽減のため十分量のAMPH-B投与が不可能な患者において、MCFG併用療法の有効性があると考えられた。
- ④MCFGの高濃度域では代謝活性低下率の鈍化が認められ、キャンディン系抗真菌薬の*in vitro*試験で確認されているparadoxical効果 (高濃度域での微小発育) の関与が示唆された。

### 【臨床分離カンジダ属に対するキャンディン系抗真菌薬の併用効果に関する研究】

臨床材料から分離された*Candida*属に対するMCFGと既存4抗真菌薬アゾール系抗真菌薬fluconazole (FLCZ)とvoriconazole (VRCZ)、miconazole (MCZ)、ピリミジン系抗真菌薬flucytosine (5-FC) およびAMHP-Bの*in vitro*併用効果をCLSIのマイクロ液体希釈法に準拠したチェッカーボード法により検討した。

## 1、対象

1999年7月から2007年12月までの間に大阪大学医学部附属病院臨床検査部で分離された*Candida*属54株 (*C. albicans* 10株、*C. glabrata* 10株、*C. krusei* 10株、*C. parapsilosis* 10株、*C. tropicalis* 10株、*C. famata* 2株、*C. guilliermondii* 2株) を用いた。

## 2、方法

- ①感受性測定はCLSIのM27-A2法に準拠した。
- ②FLCZ、VRCZ、MCZおよび5-FCは50%発育阻止吸光度を終末点、AMPH-BはMICを終末点として併用効果の指標となるFICindexを計算した。

## 3、結果

- ①MCFGとアゾール系抗真菌薬の併用により、*C. glabrata*に相乗効果が認められ、その割合は薬剤により異なり、VRCZとの併用が63%、MCZとの併用が50%、FLCZとの併用が25%であった。
- ②MCFGとAMHP-Bの併用により、*C. krusei*ではMCFGのMIC50が0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ から0.06 $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $P<0.01$ )、AMPH-BのMIC50が1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ から0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $P<0.05$ )と有意なMICの低下が認められた。
- ③全ての組み合わせにおいて拮抗作用を認めなかった。

## 【総括】

併用療法は相乗効果による治療期間の短縮、薬剤投与量の減量および耐性化防止などの利点があるが、明確な投与方法は確立されてはならず、治療の指針となるデータも少ない。本研究において、対象菌株の一部の株に相乗効果が認められ、拮抗作用を認めなかった結果は、今後重篤な深在性真菌症に対する最適な併用療法を模索していくうえで重要な意義を持つものと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、易感染患者における深在性真菌症の二大起因菌である*Aspergillus*属と*Candida*属に対するキャンディン系抗真菌薬micafungin(MCFG)の*in vitro*併用効果を評価したものである。

*Aspergillus*属については感受性判定の問題を回避するため、テトラゾリウム塩である2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxyanilide inner salt (XTT)を用いた比色チェッカーボード法を開発し*in vitro*併用効果を明らかにしている。MCFGとAMPH-Bの併用により、2剤の終末濃度は大きく低下することが明らかとなり、対象とした*Aspergillus*属の36%に相乗効果が認められ、拮抗作用の無いことが確認された。さらに、AMPH-BがMIC以下の濃度においても、MCFGとの併用により代謝活性の低下が認められた。この結果は、副作用軽減のため十分量のAMPH-B投与が不可能な患者に対しては、MCFGとAMPH-B併用療法が有効性である可能性を示唆するものである。

*Candida*属については、MCFGとアゾール系抗真菌薬の併用により、近年アゾール系抗真菌薬に対する低感受性や耐性化が問題となっている*C. glabrata*の11~15%に相乗効果が認められ、すべての組み合わせで拮抗作用の無いことが確認された。

併用療法は相乗効果による治療期間の短縮、薬剤投与量の減量および耐性化防止などの利点があるが、明確な投与方法は確立されてはならず、治療の指針となるデータも少ない。本研究におけるキャンディン系抗真菌薬MCFGの*in vitro*併用効果の結果は、今後重篤な深在性真菌症に対する最適な併用療法を模索していくうえで重要な意義を持つものと考えられる。

以上のことにより、本論文は博士 (保健学) の学位授与に値するものと考えられる。