

原 著

北部タイ Phayao 地域における HIV 感染患者に合併する
クリプトコックス髄膜炎に関する環境調査

黒木 美鈴¹⁾, Cheseda PHICHAICHUMPON²⁾, 安岡 彰³⁾, Piphat CHIRANAIKADUL⁴⁾,
帖佐 徹³⁾, 宮崎 泰可¹⁾, 中村 茂樹¹⁾, 柳原 克紀¹⁾, 宮崎 義継¹⁾,
朝野 和典¹⁾, 石田 裕⁵⁾, 河野 茂¹⁾

¹⁾ 長崎大学医学部第二内科, ²⁾ チェムワン病院, ³⁾ 国立国際医療センター,
⁴⁾ パヤオ県病院, ⁵⁾ 国際協力事業団

目的: クリプトコックス症は HIV (Human Immunodeficiency Virus) 感染患者の日和見感染症の一つとして重要な真菌症である。タイは HIV の感染率の高い地域として知られているが、合併日和見感染症としてクリプトコックス症が高率であると報告されている。しかし、その理由はこれまで明らかにされていない。今回我々はタイ北部地方の居住環境から *Cryptococcus neoformans* の検出を試みた。

方法: タイ国 Phayao province の三つの村 150 軒より鶏の糞を採取し、*C. neoformans* の分離を行った。

結果および考察: 鶏の糞から高率に *C. neoformans* を分離することができた。今回の結果から、これらがクリプトコックス髄膜炎の感染源である可能性が示唆され、発症予防に有益な疫学情報となるものと考えられた。

キーワード: HIV 感染, クリプトコックス髄膜炎, 北部タイ, 鶏糞, クリプトコックス・ネオフォルマンズ

日本エイズ学会誌 5: 13-16, 2003

緒 言

タイは世界でも HIV 感染患者数の多い地域として知られている。1999 年末には累積 HIV 感染および AIDS 患者は 75 万人と言われている。タイにおける HIV 感染者のクリプトコックス症 (主に髄膜炎) の発症率は 18.5% と高率である¹⁾。しかし、その理由はこれまで明らかにされていなかった。

そこで、今回我々はその感染源を解明すべく、現地の居住環境から *Cryptococcus neoformans* の検出を試みた。*C. neoformans* はユーカリの木や、鳥類の糞など自然界に広く生息しているが、今回の調査では、現地ではほとんどの民家で家畜として飼育されている鶏の糞を感染源と予想して *C. neoformans* の分離同定を試みた。北部タイの民家は、高床式住居であり、その床下に家畜として鶏を飼育している。それらは放し飼いになっているため、大量の糞がいたるところに堆積しているのである。堆積して乾燥した糞は *C. neoformans* の絶好の生息場所と思われた。

著者連絡先: 黒木美鈴 (852-8501 長崎市坂本町 1-7-1 長崎大学医学部第二内科)

Fax: 095-849-7285, E-mail: m-kuroki@umin.ac.jp

2002 年 4 月 16 日受付; 2002 年 12 月 5 日受理

このような感染経路の解明は HIV 感染者に発症する、クリプトコックス髄膜炎に対する適切な予防を可能とするものと期待される。

対象および方法

1) 検体の採取

タイ国 JICA の協力を得て、事務所所在地である、Phayao province の Chiang Muan district 30 村 90 軒、Chiang Kham district 10 村 30 軒、Pon district 10 村 30 軒より鶏の糞を採取した (図 1)。

2) 培地

市販のバードシード寒天平板培地 (BBL)、トリパンブルー寒天平板培地、サブローデキストロス寒天培地 (BBL)

3) *C. neoformans* の分離法

鶏の糞 3~6g を滅菌生理食塩水 20 ml に入れ、途中数回 vortex mixer にて攪拌しながら、1 時間以上浸した。次に、一辺が 292 $\mu\text{m} \pm 10\%$ の滅菌ナイロンメッシュ (栄研) にて糞塊などを取り除いた濾液を、3000 rpm で 10 分間遠心し、沈渣をバードシード寒天培地に接種した。30°C で 2~8 日間培養した後、褐色のコロニーを釣菌し、さらにトリパンブルー寒天培地で確認を行うと同時にサブローデキスト

コース寒天培地で純培養を行った。

4) *C. neoformans* の同定法

酵母様真菌の同定試薬オクサカラー (Sanofi Diagnostics Pasteur) を用いて同定を行った。

5) 血清型

血清型の決定は *C. neoformans* 同定用因子抗体セットクリプトチェック (ヤトロン社) を用いて行った。



図 1 タイ王国地図と検体収集地域

結 果

1) 鶏糞採取状況

鶏は住居の床下やその周囲を自由に動き回り、それらの糞は散在、あるいは堆積しており、ほとんどは除去されることなく放置されていたためよく乾燥していた。

鶏の糞の採取場所は高床式住居の床下、またはその周囲で行い、よく乾燥した糞を採取した。これらの糞は堆積糞、または土壌上のものであった (図 2)。

2) 分離状況

Chiang Muan district 90 軒 (=検体数) のうち 18 軒 (20%), Pon district 30 軒のうち 4 軒 (13.3%), Chiang Kham district 30 軒のうち 14 軒 (46.6%) より *C. neoformans* が分離同定された (表 1)。

これらの *C. neoformans* の血清型は全て A 型であった。

考 察

Cryptococcus neoformans は、肺クリプトコックス症とク

表 1 地域別 *Cryptococcus neoformans* 検出率と血清型

district	houses	villages	serotype
Chiang Muan	18/19(20%)	14/30(46.6%)	all type A
Pong	4/30(13.3%)	3/10(30.0%)	all type A
Chiang Kham	14/30(46.6%)	7/10(70.0%)	all type A

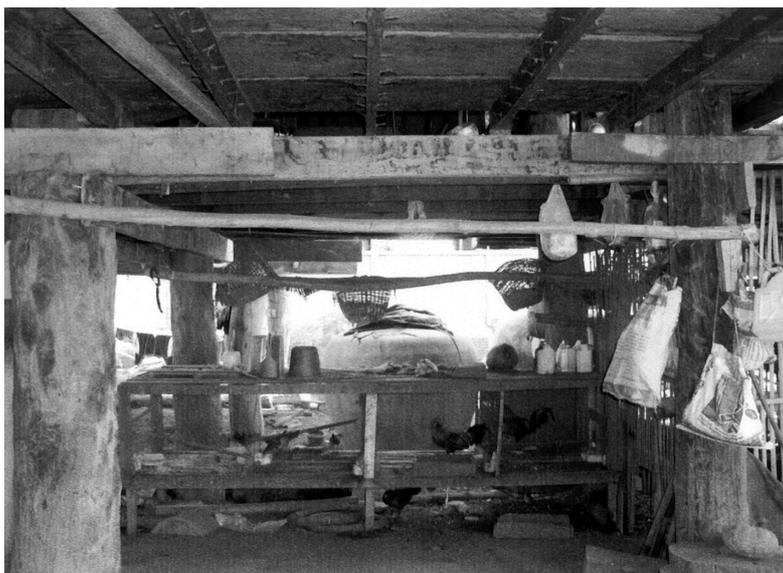


図 2 高床式住居と床下の鶏舎

リプトコックス髄膜炎および播種性クリプトコックス症を引き起こす病原真菌である。*C. neoformans* は土壌など自然界に広く生息しており、鳩をはじめとする鳥類の糞、なかでも乾燥糞で増殖すると言われている²⁻⁴⁾。その理由として、他の微生物が生存できない乾燥した基質でも *C. neoformans* は適応し、他の微生物が淘汰される中で定着ならびに増殖し、長期間生存しているという報告がある⁴⁾。

我が国の真菌症の頻度に関して、明確な臨床疫学的調査はなされていないが、剖検例にみる疫学調査では、一般にクリプトコックス症の発生率は、カンジダ症やアスペルギルス症に比べてはるかに低い⁵⁾。

一方、AIDS患者に起こるクリプトコックス症はほとんどがクリプトコックス髄膜炎であり、死亡原因として問題になっている。

米国や、日本では、AIDS患者に合併するクリプトコックス髄膜炎の発症率は約3.0~4.0%と報告されている。一方、タイにおけるクリプトコックス症（主に髄膜炎）の発症率は18.5%と、特にその割合が高い¹⁾。

今回我々はなぜこの地域において、HIV感染患者にクリプトコックス髄膜炎が高頻度に見られるのかについて検討を行った。この背景にはこれまで感染源と考えられていた鳩の糞以外の感染源が住民の居住に密接に関連しているのではないかと考え、ほとんどすべての地方の民家の高床式住居で飼育されている鶏の糞に着目して、*C. neoformans* の分離を試みた。

分離の結果、150検体中36検体で *C. neoformans* が分離され、24%の分離率であった。

これまで鶏の糞から *C. neoformans* がこのような高頻度で分離されたという報告はない。鳩の糞と比較し、鶏の糞から *C. neoformans* が分離されにくい理由として、Walterらは鶏糞のpHがよりアルカリ性で *C. neoformans* が発育しにくいこと、*C. neoformans* の成長を抑制するような耐熱性かつ低分子量の物質が含まれていることをあげている⁶⁾。

今回、*C. neoformans* が分離された北部タイではAIDS患者にクリプトコックス髄膜炎が高率に合併することが知られている。またKwon-Chungらの報告によるとタイにおいてAIDS、AIDS以外の患者検体から分離される *C. neoformans* は serotype A、serotype B がそれぞれ50%の分離率であったが、AIDS患者からの分離株はすべて serotype A であった⁷⁾。本調査でも環境から分離された株の血清型はすべてA型であった。この事実は、この地域では、鶏糞中に生息するクリプトコックスが自然界の中でも

ひとつの感染源であることを強く示唆するものと思われる。しかしその証明には今後この地域でのAIDS患者からの分離株と環境分離株を生物学的に検討する必要がある。すなわちYamamotoらのAP-PCR法を用いた random amplified polymorphic DNA (RAPD) profile 等でのさらなる解析が必要である⁸⁾。

これらの疫学的解析結果は今後タイにおけるクリプトコックス髄膜炎発症の予防につながるものと期待される。

謝辞：本研究は厚生労働省国際医療協力研究費委託事業「HIVの感染予防、合併症対策及び療養支援に関する国際協力研究」の分担研究として行われた研究の一部である。同研究にご協力いただいた方々、とりわけパヤオ保健局長 Dr. Petchsri Sirinirund、現地 JICA 事務所の方々に深く感謝する。

文 献

- 1) Suwat C, Thira S, Orapan S, Kenrad EN : Clinical presentation and risk behaviors of patients with acquired immunodeficiency syndrome in Thailand, 1994-1998 : Regional variation and temporal trends. Clin Infect Disease 32 : 955-962, 2001.
- 2) Ajello L : Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in soils. Am J Hyg 67 : 72-77, 1958.
- 3) Denton JF, DiSalvo AF : The prevalence of *Cryptococcus neoformans* in various natural habitats. Sabouraudia 6 : 213-217, 1968.
- 4) 松田良夫 : 環境、特にハト糞からの *Cryptococcus neoformans* の分離、同定法. 臨床検査 30 : 1077-1080, 1986.
- 5) 久米光, 阿部美知子 : 病理剖検例にみる内蔵真菌症の疫学. The Mycology News 3 : 16-19, 2000.
- 6) Walter JE, Yee RB : Factors that determine the growth of *Cryptococcus neoformans* in avian excreta. Am J Epidemiol 88 : 445-450, 1968.
- 7) Kwon-Chung KJ, Bennett JE : Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. Am J Epidemiol 120 : 123-130, 1984.
- 8) Yamamoto Y, Kohno S, Koga H, Kakeya H, Tomono K, Kaku M, Yamazaki T, Arisawa M, Hara K : Random amplified polymorphic DNA analysis of clinically and environmentally isolated *Cryptococcus neoformans* in Nagasaki. J Clin Microbiol 33 : 3328-3332, 1995.

Environmental Research for Cryptococcal meningitis in HIV Infected Patients in Northern Thailand

Misuzu KUROKI¹⁾, Cheseda PHICHAICHUMPON²⁾, Akira YASUOKA³⁾, Piphat CHIRANAIKADUL⁴⁾,
Toru CHOSA³⁾, Taiga MIYAZAKI¹⁾, Shigeki NAKAMURA¹⁾, Katsunori YANAGIHARA¹⁾,
Yoshitsugu MIYAZAKI¹⁾, Kazunori TOMONO¹⁾, Yutaka ISHIDA⁵⁾ and Shigeru KOHNO¹⁾

¹⁾ Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University

²⁾ Chiang Muan Hospital, Thailand,

³⁾ International Medical Center of Japan

⁴⁾ Medical Department of Phayao Hospital, Phayao, Thailand,

⁵⁾ The Japan International Cooperation Agency

Objective : Cryptococcal meningitis is one of the serious and common opportunistic infections in AIDS patients, especially in Thailand. To determine the origin of infection and the route of transmission in the patients with cryptococcal meningitis, we isolated *Cryptococcus neoformans* from chicken excreta in Phayao, one of the rural provinces of northern Thailand.

Methods : *C. neoformans* was isolated from 36 of 150 samples (24%) of chicken excreta and serotype was nothing but serotype A.

Result and conclusion : From these results, it was suggested that *C. neoformans* in chicken excreta might cause cryptococcosis in AIDS patients living in northern Thailand. Etiological studies for the relationship between clinical isolates and environmental isolates are important to prevent the incidence of cryptococcosis in AIDS patients.

Key words : HIV infection, *Cryptococcal meningitis*, northern Thailand, chicken excreta, *Cryptococcus neoformans*