

硝子体液中 β -D-グルカン値の臨床的意義の検討

真保 雅乃, 伊藤 典彦, 門之園一明

横浜市立大学医学部眼科学教室

要 約

目的：硝子体液中の β -D-グルカン値を測定し，真菌性眼内炎の診断における臨床的意義について検討した。

対象と方法：横浜市立大学病院眼科で硝子体手術を行い，硝子体液あるいは硝子体灌流液が保存されていた 26 例に対し， β -D-グルカン値を測定した。

結果：真菌性眼内炎の 2 例で高値を示した。その他の症例では 1 例のみ高値を示したが，それ以外はすべて

10.0 pg/ml 以下であった。

結論：硝子体液中の β -D-グルカン値は，培養検査よりも真菌に対して感度が高く簡便であるため，真菌性眼内炎の診断をする上での適切な指標となり得る。(日眼会誌 106 : 579-582, 2002)

キーワード： β -D-グルカン，真菌性眼内炎，Polymerase chain reaction

Investigation of β -D-Glucan Values in the Vitreous

Masano Shimbo, Norihiko Ito and Kazuaki Kadonosono

Department of Ophthalmology, Yokohama City University, School of Medicine

Abstract

Purpose : β -D-glucan values in the vitreous were investigated in order to evaluate their usefulness for the diagnosis of fungal endophthalmitis.

Methods : The vitreous or vitreous perfusate were collected from twenty-six patients who underwent vitreous surgery at the Department of Ophthalmology, Yokohama City University, School of Medicine and β -D-glucan values in these samples were examined.

Results : Two samples with fungal endophthalmitis showed remarkably high concentration β -D-

glucan values. The other samples, except one, without fungal endophthalmitis showed significantly low β -D-glucan values of less than 10.0 pg/ml.

Conclusion : It is expected that β -D-glucan values in the vitreous may be more sensitive than culture methods, and may be useful for the diagnosis of fungal endophthalmitis. (J Jpn Ophthalmol Soc 106 : 579-582, 2002)

Key words : β -D-glucan, Fungal endophthalmitis, Polymerase chain reaction

I 緒 言

真菌性眼内炎の診断には，前房水あるいは硝子体液からの真菌の検出が必要であるが，真菌の培養陽性率は低く，確定診断に至ることは少ない。また，比較的稀な疾患であることから，診断が困難であり，予後不良の疾患であるにもかかわらず，適切な治療の開始が遅れかねないのが現状である。

深在性真菌感染症の診断において，血中 β -D-グルカン値の測定は既に広く臨床で用いられている¹⁾。また胸水中，髄液中の β -D-グルカン値の意義についても内科・外科領域では検討されている²⁾。

今回，我々は硝子体液中の β -D-グルカン値を測定し，その臨床的意義について検討した。

II 対象と方法

1993年2月～1999年6月までの期間に横浜市立大学医学部附属病院で硝子体手術を行い，硝子体液あるいは硝子体灌流液が保存されていたものに対し，retrospectively に β -D-グルカン値を測定した。

症例は 26 例 26 眼，男性 13 例，女性 13 例であった。年齢は 30～78 歳(平均 62.1 歳)で，疾患は眼内炎 5 例(真菌性 2 例，細菌性 2 例，水晶体核落下 1 例)，裂孔原性網膜剥離 5 例，増殖糖尿病網膜症 5 例，黄斑円孔 5

別冊請求先：236-0004 横浜市金沢区福浦 3-9 横浜市立大学医学部眼科学教室 真保 雅乃
(平成 13 年 10 月 9 日受付，平成 14 年 4 月 5 日改訂受理)

Reprint requests to : Masano Shimbo, M. D. Department of Ophthalmology, Yokohama City University, School of Medicine, 3-9 Hukuura, Kanazawa-ku, Yokohama 236-0004, Japan

(Received October 9, 2001 and accepted in revised form April 5, 2002)

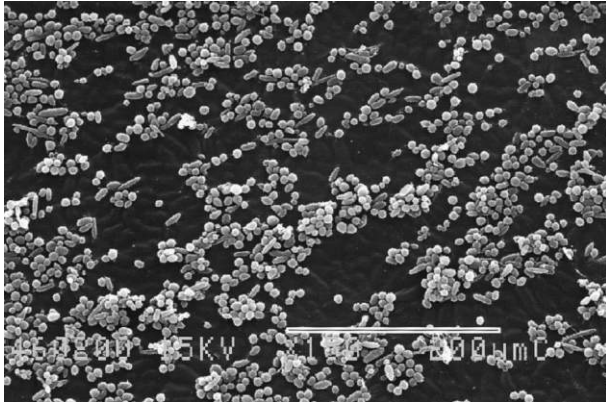


図1 摘出した眼内レンズ表面の走査電子顕微鏡写真。直径5~10 μm の球状物と直径5 μm 、長さ20~25 μm の桿状物がみられた。これらは大きさ、形態学的に酵母様真菌と考えられた。バーは200 μm

例、黄斑上膜3例、サルコイドーシス2例、急性網膜壊死1例であった。

硝子体の採取法は、3ポート作製後、非灌流下で硝子体カッターを使用し、後部硝子体液を採取した。検体は速やかに -80°C で凍結保存した。

測定用の容器は γ 滅菌済みのエッペンドルフ・スピッツを用い、マイクロピペットで15 μl ずつ分注した。

β -D-グルカン値の測定はファンギテック[®] GテストMK(生化学工業株式会社)を用いて行った。

III 結 果

硝子体液中の β -D-グルカン値は、真菌性眼内炎の2例ではそれぞれ73.7 pg/mlと12.1 pg/ml(硝子体灌流液)であった(表1)。

症例2は、白内障手術後数日で眼底に硝子体混濁、軟性白斑がみられたため、眼内炎と診断し、フルコナゾールを投与したところ改善がみられたが、2年半後に再発した症例である。この時の眼底所見は前回とほぼ同様であり、視力は0.5であった。薬物療法で改善がみられなかったため、硝子体手術を行い、術後視力は1.2に回復した。検体は術中の硝子体灌流液を用いており、この時の培養検査、真菌 polymerase chain reaction(PCR)はともに陰性であった。硝子体灌流液の β -D-グルカン値は12.1 pg/mlで、この検体は灌流液により数十倍に希釈されていた。

症例4も白内障手術後の真菌性眼内炎である。臨床初期の症状は、弱い硝子体混濁のみで前眼部の炎症所見に乏しく、真菌性眼内炎の診断が困難で治療が遅れたため、網膜剥離に至り手術となった。硝子体液の培養検査は細菌、真菌ともに陰性であったが、硝子体液の真菌PCRは陽性であった。また、手術中に摘出した眼内レンズ表面に酵母様真菌が付着しているのが電子顕微鏡で観察された(図1)。

表1 硝子体液中の β -D-グルカン値

症例	年齢	性別	疾患名	β -D-グルカン値 (pg/ml)
1	67	F	細菌性眼内炎	—
2	65	M	真菌性眼内炎	12.1(灌流液)
3	70	F	サルコイドーシス	5.1
4	70	M	真菌性眼内炎	73.7
5	76	M	PDR	—
6	65	F	MH	—
7	46	F	PDR	—
8	30	M	PDR	—
9	59	F	ERM	155
10	69	M	MH	—
11	59	M	RRD	—
12	73	M	MH	9.5
13	63	F	サルコイドーシス	—
14	78	F	ERM	7.5
15	72	M	RRD	—
16	76	F	水晶体核落下後眼内炎	—
17	63	F	MH	—
18	59	F	MH	—
19	67	F	ERM	—
20	58	M	RRD	—
21	40	M	PDR	9.3
22	53	M	RRD	—
23	53	M	RRD	—
24	77	F	PDR	—
25	62	M	細菌性眼内炎	8.6
26	52	F	急性網膜壊死	—

F:女性, M:男性, PDR:増殖糖尿病網膜症, MH:黄斑円孔, ERM:黄斑上膜, RRD:裂孔原性網膜剝離。
—:5.0以下

その他の症例では、黄斑上膜2例、サルコイドーシス1例、黄斑円孔1例、増殖糖尿病網膜症1例、細菌性眼内炎1例で β -D-グルカンが検出されている。その中で、黄斑上膜の1例のみ155 pg/mlと高値を示したが、それ以外の23例はすべて10.0 pg/ml以下であった。

IV 考 按

β -D-グルカンは真菌に特徴的な細胞壁構成糖で、菌糸型の接合菌を除くすべての真菌に共通している³⁾。個々の真菌についてのその正確な構造は複雑さのために完全には解明されていないが、三重らせん構造を含む種々の高次構造をとり、細胞壁に強靱性を付与し、外界から菌体を保護するのに役立っていると考えられる⁴⁾⁵⁾。したがって、個々の菌種を同定することはできないが、ほとんどすべての真菌を一度にチェックすることができる。カンジダやアスペルギルス以外の従来稀にしかみられなかったような、様々な菌種による真菌感染症に対処が可能なのである。Miyazakiら⁶⁾のクリプトコッカスによる真菌感染では、血液中の β -D-グルカン値は高値を示さなかったとの報告もあるが、原理的にはカンジダ、アスペルギルス、クリプトコッカスといった3大病原真菌はすべてGテストに反応する。

これを実際に臨床検査に応用するきっかけとなったのは、カプトガニの血液凝固因子である G 因子が、微量の(1→3)- β -D-グルカンによって活性化されるという発見である³⁾。カプトガニの血液は以前からリムルテストとしてエンドトキシンの検出に使われていたが、これは factor C 系と factor G 系の両者を検出してしまうため、factor C 系にのみ反応するリムルテストが開発されると、その差を Fungal Index として臨床に使った⁷⁾⁸⁾。さらに、2 種類のリムルテストを施行する手間を省いて、factor G のみを単離して(1→3)- β -D-グルカンとのみ敏感に反応する検出試薬として、ファンギテック[®] G テストが開発されたのである。この検査法は非常に高感度であり、1.0 pg/ml の(1→3)- β -D-グルカンを検出することができる。

ただし、 β -D-グルカン値測定の際、血液透析や血液製剤の投与を受けている患者の場合には注意が必要である。セルロース膜が(1→3)- β -D-グルカンで汚染されているため、腎透析膜がセルロースで作られている場合や、血液製剤の製造過程でセルロース膜を使用した場合には、その投与を受けた患者の血中(1→3)- β -D-グルカン値が高値になることがあるからである。また、シゾフィランという抗悪性腫瘍剤は(1→3)- β -D-グルカン製剤であるので、これらの投与を受けている患者の結果の解釈には注意が必要とされる。他にも、ウイルス感染、腫瘍熱⁹⁾なども考慮する必要がある。

β -D-グルカン値の測定は、真菌感染の有無、またその経過、治療効果の判定に優れた検査法の一つであり、現在すでに、内科・外科領域では一般的に用いられている。しかし、血清以外の検体における β -D-グルカン値の臨床的意義については、統一した見解は示されておらず、胸水・髄液については現在検討されているが、眼内液についての報告はまだない。

今回、硝子体液中の β -D-グルカン値は、真菌性眼内炎の 2 例ではそれぞれ 73.7 pg/ml と 12.1 pg/ml (硝子体灌流液)であった。硝子体灌流液は数十倍に希釈されていたので、原液を採取できれば、かなり高値を示したものである。真菌性眼内炎以外の症例については、1 例のみ β -D-グルカン値が 155 pg/ml と高値を示したが、それ以外の 23 例はすべて 10.0 pg/ml 以下であった。この β -D-グルカン値が高値を示した 1 例については、患者が透析や他の薬剤の投与を受けているようなエピソードは特になかったため、偽陽性であったのかどうか明確ではない。また、硝子体混濁など明らかな炎症所見はみられなかったが、真菌性眼内炎の遷延による続発性の黄斑上膜¹⁰⁾であった可能性は否定できないだろう。

その他、 β -D-グルカン値が 5.0~10.0 pg/ml であった症例について、疾患による差はみられなかった。

現在、 β -D-グルカン値の血清基準値は 20.0 pg/ml 以下とされているが、血清以外の検体における臨床的意義

についての統一した見解はまだ示されていない。今回の結果からは硝子体液中の基準値は 10.0 pg/ml 以下とするのが適当と考えられた。

また、真菌を直接検出する方法として、培養以外に現在可能な手段に PCR アッセイ¹¹⁾がある。実際にこの方法を使って、硝子体液中のカンジダやサイトメガロウイルス、水痘-帯状疱疹ウイルス、単純ヘルペスウイルスなどの同定は現在行われている¹²⁾¹³⁾。この方法であればごく少量の菌であっても検出が可能であり、しかも菌種の同定まで可能なため、非常に有用な手段の一つである。ただ、操作時間が 6 時間から長いと 24 時間ほどかかり、技術を要すること、また、設備・試薬類にコストがかかることなどから、大多数の臨床検査室では実施できない。もっと簡便なアッセイキットが開発されることが望ましいのであるが、現状では β -D-グルカンが、操作時間は約 45 分と PCR、培養検査より圧倒的に早く、また保険適応も認められている検査であるため実用的であるといえる。

以上から、硝子体液中の β -D-グルカン値は、培養検査よりも真菌に対して感度が高く、簡便であるため、真菌性眼内炎の診断をする上での適切な指標となり得ると考えられた。

今後は、さらに症例数を増やして基準値についての検討を進めたい。

また、手術に至る前の段階で早期に診断を行うために、今後は前房水についての β -D-グルカン値の検討が必要と思われる。

文 献

- 1) 辻仲利政, 上林純一, 今岡真義, 岩永 剛, 森武貞: 消化器外科領域における深在性真菌症の発生・診断および治療についての多施設共同研究. 日外会誌 95: 217-223, 1994.
- 2) 吉田耕一郎, 二木芳人, 大野 学, 渡辺信介, 橋口浩二, 中島正光, 他: 胸水中および髄液中の(1→3)- β -D-グルカン値の臨床的意義についての検討. 感染症学雑誌 71: 1210-1214, 1997.
- 3) 大林民典: (1→3)- β -D-グルカンを指標とした深在性真菌症の検査. 臨床検査 35: 852-853, 1991.
- 4) 山口英世: 病原真菌学. 南山堂, 東京, 79-91, 1987.
- 5) Obayasi T, Yosida M, Mori T, Goto H, Yasuoka A, Iwasaki H, et al: Plasma(1→3)- β -D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet 345: 17-20, 1995.
- 6) Miyazaki T, Kohno S, Mitsutake K, Maesaki S, Tanaka K, Ishikawa N, et al: Plasma(1→3)- β -D-glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. J Clin Microbiol 33: 3115-3118, 1995.
- 7) Morita T, Tanaka S, Nakamura T, Iwanaga S: A new(1→3)- β -D-glucan mediated coagulation

- pathway found in *Limulus* amoebocytes. *FEBS Left* 129 : 318—321, 1981.
- 8) 河野 茂 : 深在性真菌症臨床診断マニュアル. メディカルレビュー社, 大阪, 27—28, 1998.
 - 9) 三沢真人, 武元良整, 金丸昭久, 永井清保, 山神英司 : 血液疾患におけるエンドトキシン血症の意義. *医学のあゆみ* 149 : 669, 1989.
 - 10) McDonald HR, De Bustros S, Sipperley JO : Vitrectomy for epiretinal membrane with *Candida* chorioretinitis. *Ophthalmology* 97 : 466—469, 1990.
 - 11) 山口英世 : 真菌症の DNA 診断法の進歩. 日本臨床 54 : 302—315, 1996.
 - 12) Okahravi N, Adamson P, Mant R, Matheson MM, Midgley G, Towler HMA, et al : Polymerase chain reaction fragment length polymorphism mediated detection and speciation of *Candida* spp causing intraocular infection. *IOVS* 39 : 859—866, 1998.
 - 13) Knox CM, Chandler D, Short GA, Margolis TP : Polymerase chain reaction—based assays of vitreous samples for the diagnosis of viral retinitis. *Ophthalmology* 105 : 37—45, 1998.
-