

## 症 例

# 喀痰グラム染色によるアレルギー性炎症の 指摘が治療決定に有用であった アレルギー性気管支肺アスペルギルス症を疑う 1 例

木下 愛<sup>1)</sup> 清水 馨<sup>1)</sup> 有田奈弥恵<sup>1)</sup> 末廣 伸子<sup>1)</sup>  
瀬戸瑠里子<sup>2)</sup> 宮平 良満<sup>1)</sup> 九嶋 亮治<sup>1)</sup>

1) 滋賀医科大学医学部附属病院検査部 (滋賀県大津市瀬田月輪町)

2) 滋賀医科大学呼吸器内科

## 【要 旨】

喀痰のグラム染色からアレルギー性炎症を疑い、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症 (ABPA) の可能性を指摘しえた 1 例を報告する。

症例は 71 歳、男性。主訴は咳嗽および膿性痰の持続。喉頭癌術後、関節リウマチ (RA)、RA による間質性肺炎疑いにてフォロー中であった。CT で RA に伴う細気管支炎、気管支内の喀痰貯留が疑われたため気管支鏡検査を実施した。気管支鏡による喀痰吸引と抗菌薬治療を行ったところ、膿性痰の症状は軽減したが、画像所見は著変なく経過観察となった。約 3 か月後には膿性痰、2 週間前から持続する左背部痛が出現し、喀痰の細菌検査が施行された。喀痰のグラム染色では、グラム陰性双球菌、好中球に加えて好酸球が観察され、グラム陰性双球菌による細菌性炎症とアレルギー性炎症が示唆された。培養では *Moraxella catarrhalis* と *Aspergillus fumigatus* が検出された。以上より、Rosenberg の診断基準は満たさなかったが、ABPA を疑い Prednisolone が処方され、症状、胸部陰影とも著明に改善した。

本例は、グラム染色でアレルギー性炎症を指摘し、診断と治療法の選択に重要な情報を提供することができた。グラム染色では、菌種推定だけでなく背景の炎症細胞の種類も詳細に観察することが重要である。

## キーワード

アレルギー性気管支肺アスペルギルス症, グラム染色, 好酸球

## I. 序 文

グラム染色による塗抹検査は今日の微生物検査で広く用いられている方法である。①所要時間が短く迅速検査として有用、②菌種推定が可能で初期抗菌薬選択に有用、③細胞成分が観察できるため炎症像の有無、程度、種類を推定することが可能、④治療効果判定が可能、⑤培養検査と比較して安価である等の利点が存在する<sup>1)</sup>。グラム染色にて観察される炎症細胞のほとんどは好中球で、好酸球が見られる

ことは少ないとされている<sup>2)</sup>。

今回我々は、喀痰グラム染色で好中球に加え、好酸球の存在によりアレルギー性炎症の合併を指摘し、治療決定に有用であったアレルギー性気管支肺アスペルギルス症 (allergic bronchopulmonary aspergillosis: ABPA) を疑う 1 例を経験したので報告する。

## II. 症 例

患者:7■歳、男性。

既往歴:関節リウマチ (以下RA、■歳)、喉頭痛 (■歳)、喘息の既往はなし。

主訴:咳嗽および膿性痰。

現病歴:RAによる間質性肺炎疑いにて外来でフォロー中であり、RAに対してMethotrexateおよびPrednisolone (以下PSL) 5mg/dayを服用していた。20XX年5月14日の定期受診時に喀痰の増加を訴え、同日にCTを施行した。CTでは左下葉の樹枝状陰影の拡大を認め、RAに伴う細気管支炎と気管支内の喀痰貯留が疑われた。6月9日に気管支鏡検査を実施したところ、左主気管支入口部に膿性痰を認めたため、吸引痰の細菌培養が提出された。培養結果では、*a-Streptococcus*が1+検出された。抗酸菌培養は陰性であった。その後も膿性痰が持続したため、過去の喀痰培養における*Moraxella catarrhalis*の検出歴を考慮し、6月18日よりAmoxicillin/Clavulanacid 375mg×3/dayに加えAmoxicillin 200mg×3/dayが1週間処方された。膿性痰は軽減したが、陰影の残存と軽度の喀痰が持続していたため、去痰薬、Erythromycin投与で経過観察となった。

8月27日、膿性痰と2週間前から続く左背部痛を主訴に受診。同日の検査所見をTable 1に示す。胸部レントゲンおよびCTでは既存の左下葉陰影に重なる左下葉浸潤影と胸水が出現、左気管支肺炎及び胸膜炎像と考えられたため、喀痰培養提出後、Moxifloxacin (MFLX) 400mg/dayが2週間処方された。

## III.細菌学的検査所見

### 1. 塗抹検査

8月27日に提出された喀痰はM&J分類にてP1、膿性痰であり、グラム染色はneoB&M法 (和光純薬) にて行った。なお、グラム染色による評価は相原の方法にて行い<sup>2)</sup>、マクロ視野およびミクロ視野を観察し総合的に評価した。

Table 1 Laboratory date of present case (8/27)

<Haematology>		<Blood chemistry>	
WBC	9.8 10 <sup>3</sup> /μl	CRP	1.54 mg/dl
Seg	89.7 %	TP	6.9 g/dl
Lymph	5.2 %	AST	19 IU/l
Mono	3.2 %	ALT	19 IU/l
Baso	0.2 %	LDH	195 IU/l
Eosino	1.7 %	ALP	221 IU/l
RBC	296 10 <sup>4</sup> /μl	γ-GTP	30 IU/l
Hb	14.6 g/dl	T-Bil	0.80 mg/dl
Ht	42.6 %	UN	13.7 mg/dl
PLT	329 10 <sup>3</sup> /μl	CRE	0.69 mg/dl
		Na	139 mmol/l
		K	4.4 mmol/l
		Cl	106 mmol/l
		RF	176 IU/l

### 1) マクロ視野

マクロ (×100) 視野にて多核白血球は2,000以上であり、細菌検査に適した検体であると判断した。Charcot-Leyden結晶や菌糸は認められず、背景に粘液成分が見られ上皮成分は1視野に1個以下であった (Figure 1-A)。

### 2) ミクロ視野

ミクロ (×1000) 視野にて、好中球、好酸球を疑う多核白血球が見られたためギムザ染色 (和光純薬) を追加した (Figure 1-B, C)。複数視野を観察し、好中球および好酸球の比率は80:20であった。細菌は*M. catarrhalis*を疑うグラム陰性球菌を1視野に100 cellsほど認め、一部細胞内取り込みも見られた (Figure 1-D)。

### 3) 総合所見

本症例は、慢性の気道病変がベースにあり、*M. catarrhalis*による細菌性炎症と何らかのアレルギー性炎症を合併している事が示唆された。

## 2. 培養検査

コロンビアCNA 5%ヒツジ血液寒天培地/Mac-Conkey II 寒天培地 (日本バクテンドイッキンソン)、CA羊血液寒天/VCMチョコレートEx II (日本製薬)、クロモアガーカンジダ (関東化学)、chromID MRSA寒天培地 (シスメックスバイオメリユー) にて培養を行い、*M. catarrhalis* 3+

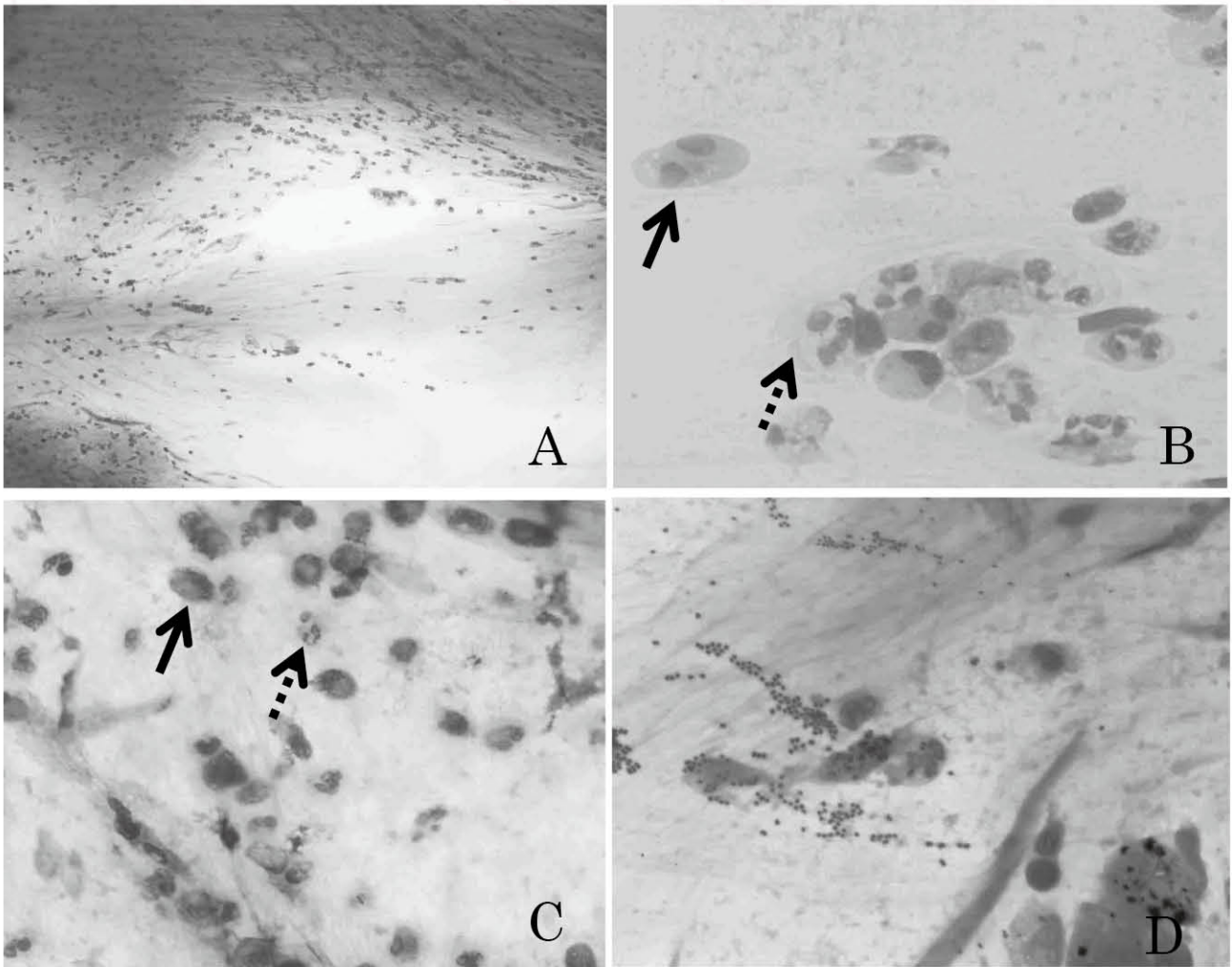


Figure 1 Microscopic examination of the sputum

- A : Gram stain of the sputum ( neoB&M, ×100 ) , Mucous (stained gram negative) is present, which suggests the presence of chronic inflammation.
- B : Gram stain of the sputum ( neoB&M, ×1000 ) , Eosinophils (arrow) and neutrophils (dashed arrow) are observed.
- C : Wright-Giemsa stain of the sputum (×400) , Eosinophils (arrow) and neutrophils (dashed arrow) are present.
- D : Gram stain of the sputum ( neoB&M, ×1000 ) , Many gram-negative cocci are recognized

*a*-Streptococcus 2+ の発育を認めた。塗抹検査にてアレルギー性炎症の合併が示唆されたことから糸状菌発育の可能性も考え、ポテトデキストロス寒天培地を加え培養したところ、*Aspergillus fumigatus* の発育を認めた (Figure 2)。

#### IV. 症例経過

経過をFigure 3に示す。9月3日受診時には膿性痰の透明化、浸潤影および胸水の軽度改善を認めていたが、10日には再度浸潤影の増強、咳嗽症状が見られた。8月27日提出の喀痰培養でアレルギー性の炎症を背景に*A.fumigatus* の発育を認めたことか

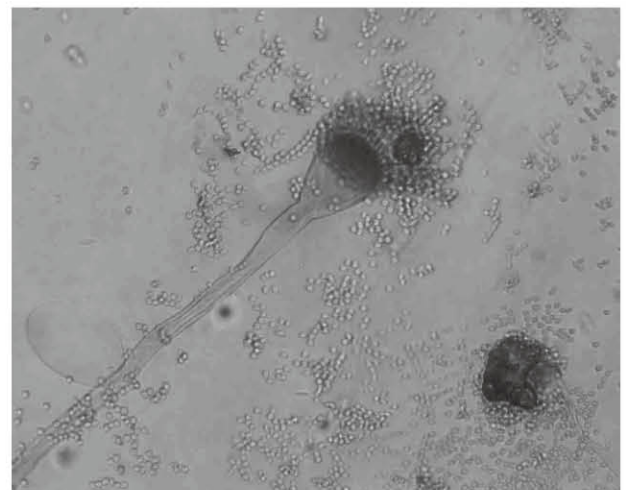


Figure 2 Fungi isolated from the sputum.  
(Lactophenol cotton blue stain, ×400)  
The fungus is identified as *Aspergillus fumigatus*.

ら、Rosenbergの診断基準<sup>3)</sup>は満たさなかったが、同日よりABPAを疑いPSL投与量を35mg (0.5mg/kg/day)に増量された。また、気管支肺炎に関しては膿性痰が透明化していたことから、改善を得たと考え、抗菌薬の投与は行わなかった。PSL増量後は症状、胸部陰影および胸水も著明に改善した。9月25日よりPSLを漸減し、現在まで再燃はしていない。

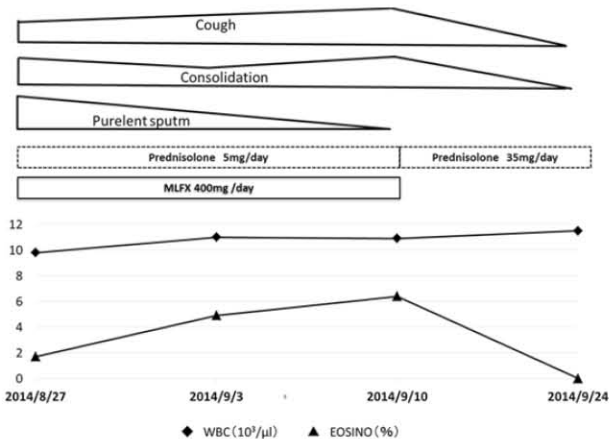


Figure 3 Clinical course

## V. 考察

ABPAは、アスペルギルス属に反応して誘発される気道の炎症性破壊を伴う肺のアレルギー性疾患であり、放置すると肺の線維化が不可逆的に進行し、呼吸不全に至ることから迅速な診断が必要とされている<sup>4)</sup>。診断にはRosenbergの基準<sup>3)</sup>が用いられ、同診断基準には1次基準と2次基準が存在し、1次基準7項目を満たすとABPAの診断が確実、6項目の場合はほぼ確実、さらに2次基準を満たすと確実性が増すとされている。

ABPAの病態についてはSlavinら<sup>5)</sup>によってI・III・IV型アレルギーが関与する病態であると報告された。すなわち、①喘息患者がアスペルギルスを繰り返し吸入することによってIgE抗体が産生 (I型アレルギー)、②アスペルギルス抗原を含む喀痰が気管内で貯留・増殖、③②を抗原として沈降抗体が産生 (III型)、場合によっては②に対しIV型アレルギーが生じ、肺浸潤影・気管支壁破壊が進行するとされている。このような病態から発症には喘息が必要不可欠とされ、診断基準にも喘息の既往が1次基

準に含まれている。しかし、近年喘息を伴わない例も報告されており<sup>6, 7)</sup>、Rosenbergの診断基準では診断できない症例も存在することを認識しておく必要があるとされている<sup>8)</sup>。本症例もRosenbergの基準は満たさなかったが、MFLXが投与された後も症状および陰影が軽快せず、PSL投与にて早期に改善を認めたことからABPAを示唆する経過であったと考えられる。

一方、グラム染色は細菌の細胞壁構造の違いを利用しグラム陰性と陽性に菌を染め分ける方法であり、培養検査と比較し安価で迅速なことから今日の微生物検査において広く用いられている検査である。細菌だけでなく、細胞の形態も観察が可能であるため、呼吸器検体における炎症の推定にも寄与する。細菌感染による急性炎症時には新鮮で変性の少ない好中球が、慢性気道疾患を持つ患者由来検体では粘液成分、アレルギー性炎症時には好酸球が出現するため、出現した多核白血球の種類および好中球の変性度で炎症背景の推定が可能とされている<sup>2)</sup>。本症例では、好中球および好酸球の比率は80:20であり、細菌による炎症とアレルギー性炎症両者の存在が示唆された。喀痰中に好酸球が出現する病態としては好酸球性肺炎や気管支喘息、薬剤性肺炎、寄生虫症等があげられ<sup>9)</sup>、これら疾患に対しては、抗菌薬治療で効果がなく、ステロイド治療や抗寄生虫薬が必要である。松瀬らの報告ではABPA 6例中4例において当初肺結核と診断されたためステロイド治療開始が遅れ不可逆的な肺傷害を認めたとしており<sup>10)</sup>、グラム染色で炎症背景の推定を行うことにより、適切な診断と治療に結びつく有用な情報を提供できると考えられた。

## VI. 結語

今回我々はグラム染色および培養検査にてABPAを疑う1例を経験した。特にグラム染色から、背景に存在する多核白血球の分画から細菌感染症以外の病態を指摘し、診断と治療に有用な情報を提供することができた。

## VII. 謝辞

本論文投稿にあたり御指導いただきました滋賀医科大学検査部講師 石田光明先生に深謝いたします。

本論文の要旨は第37回滋賀県医学検査学会にて「喀痰グラム染色が治療決定に有用であったアレルギー性肺炎支アスペルギルス症を疑う1例」の演題名で発表を行った。

## ■文献

- 1) 小栗 豊子:「グラム染色」臨床微生物検査ハンドブック(第4版),20-26,三輪書店,東京,2011.
- 2) 相原雅典:「喀痰塗抹標本の鏡検による下気道感染症診断法」塗抹標本の顕微鏡検査に拠る感染症診断法, 32-52, シスメックス株式会社学術本部(編), シスメックス株式会社学術本部, 神戸, 2015.
- 3) Rosenberg M, *et al.* "Clinical and immunologic criteria for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis." *Ann Intern Med*, 1977; 86: 405-414.
- 4) Bock PA, "Allergic bronchopulmonary aspergillosis." *Am Fam Physician*, 1988; 37: 177-182.
- 5) Slavin RG, *et al.* "A primate model of allergic broncho-pulmonary aspergillosis." *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1978; 56: 325-333.
- 6) Kumar R, Chopra D, "Evaluation of allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with and without central bronchiectasis." *J Asthma*, 2002; 39 : 473-477.
- 7) Glancy JJ, *et al.* "Allergic bronchopulmonary fungal disease without clinical asthma." *Thorax*, 1981; 36: 345-349.
- 8) 深在性真菌症のガイドライン作成委員会:「深在性真菌症の診断と治療のフローチャート解説」深在性真菌症の診断・治療ガイドライン

2014; 146-147. 深在性真菌症のガイドライン作成委員会(編), 協和企画, 東京, 2014.

- 9) 西国広:「呼吸器の細胞診」～基礎から学ぶ～細胞診の進め方, 81, 西国広(編), 近代出版, 東京, 2001.
- 10) 松瀬厚人, 他:「当院で経験したアレルギー性気管支肺アスペルギルス症6例の臨床的検討」, *日胸疾会誌*, 1994 ; 32 : 836-842.

## Case Report

### A suspected case of allergic bronchopulmonary aspergillosis by detecting allergic conditions by gram stain of the patient's sputum

Megumi KISHITA<sup>1)</sup> Kaoru SHIMIZU<sup>1)</sup> Namie ARITA<sup>1)</sup> Nobuko SUEHIRO<sup>1)</sup>  
Ruriko SETO<sup>2)</sup> Yoshimitsu MIYAHIRA<sup>1)</sup> Ryoji KUSHIMA<sup>1)</sup>

1) Department of Laboratory, Shiga University of Medical Science (Tsukinowa-cho, Otsu-shi, Seta, Shiga 520-2192, Japan)

2) Division of Respiratory Medicine, Department of Internal Medicine, Shiga University of Medical Science

#### Summary

Gram stain can be used not only to identify pathogens, but also to reveal allergic inflammation or bacterial infection by the detection of inflammatory cells. We report a suspected case of allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) by assessing the presence of allergic conditions by gram stain of the patient's sputum. A 71-year old man, with histories of laryngeal cancer, rheumatoid arthritis (RA), and RA-associated interstitial lung disease presented at our hospital with a persistent cough and purulent sputum. Computed Tomography suggested bronchiolitis, and bronchofiberscopy revealed sputum in the left bronchus. His symptoms improved with antibiotics and bronchoscopic treatment, but the consolidation persisted.

Three months later, a sputum examination was performed again because of complaints of back pain and the presence of purulent sputum for the previous two weeks. Gram stain of the sputum demonstrated the presence of gram-negative cocci, neutrophils, and eosinophils, indicating bacterial infection and allergic conditions. *Moraxella catarrhalis* and *Aspergillus fumigatus* were isolated. Accordingly, ABPA was suspected. Prednisolone was administered, although Rosenberg's criteria were not satisfied, and the symptoms improved remarkably. In the present case, the detection of allergic conditions by gram stain led to the isolation *Aspergillus fumigatus* and adequate treatment. Therefore, careful observation of the types of inflammatory cells in the patient sputum, as well as, an identification of pathogens, is important.

**Key words** : allergic bronchopulmonary aspergillosis, gram stain, eosinophil

(Received November 30, 2015; Accepted; December 24, 2015)