

Fig. 1 – Spectrophotometric profile at 280nm of *A. kalrae* CFA in Sephadex G-200 chromatography. Immunoplates were coated with the fractions and incubated with polyclonal antibodies anti-*A. kalrae*, followed by anti-rabbit IgG peroxidase conjugate, ortho-phenylenediamine substrate and read at 492 nm.

in Sephadex G-200 for CFA antigens (Fig. 1). Molecular mass (MM) of the two positive fractions was estimated as being higher than 200 kDa and lower than 100 kDa based on the exclusion volume. There was no recognition of the second peak of Sephadex G-100 and G-200 chromatography in both CFA and SA by ELISA or WB. The results of WB showed that polyclonal antibodies recognized innumerable bands, of which the most evident in several samples were those of high MM and others of lower MM (105, 80, 65, 55, 43 e 35 kDa), being the profile differentiated in respect to the antigen preparation

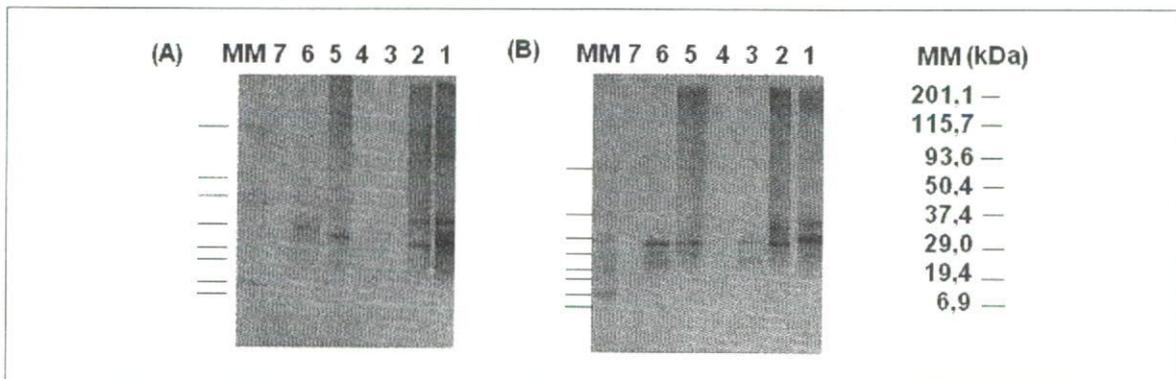


Fig. 2 - Results of western blotting with polyclonal antibodies anti-*A. kalrae*. Samples: A1) CFA; B1) SA; 2) Sephadex G-100 chromatography: 1<sup>st</sup> peak fraction; 3) G-100 intermediary fraction; 4) G-100 2<sup>nd</sup> peak fraction; 5) Sephadex G-200 chromatography: 1<sup>st</sup> peak fraction; 6) G-200 intermediary fraction; 7) G-200 2<sup>nd</sup> peak fraction, in respect to CFA (A) and SA (B). MM= molecular mass standard.

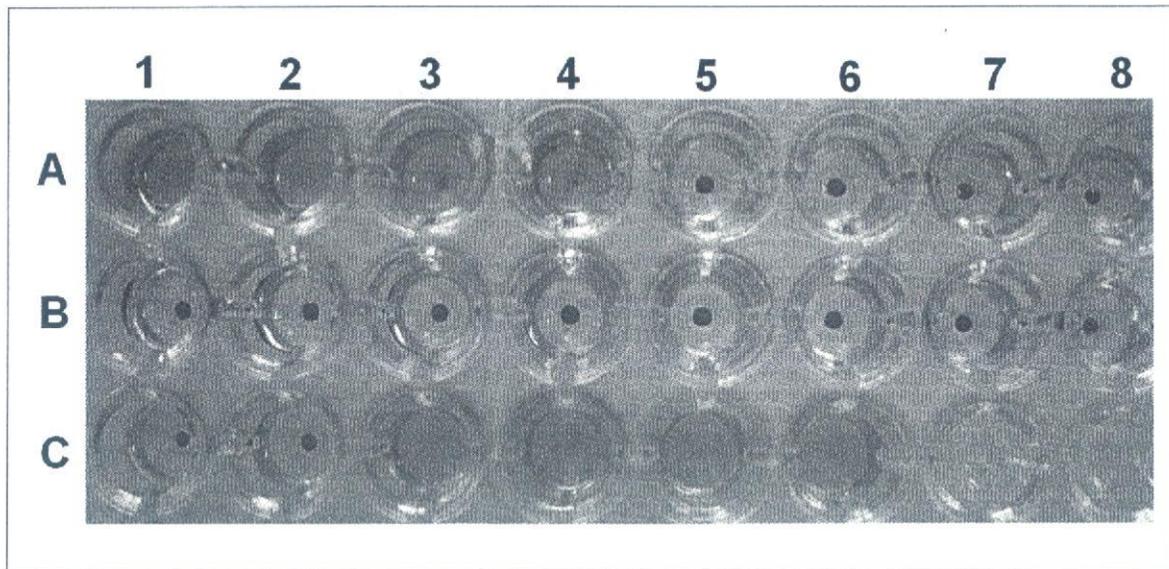


Fig. 3 – Analysis of hemolytic activity. Samples, in duplicate, from pure and diluted in series (1/2, 1/4 and 1/8): CFA (A) and SA (B). Controls: negative (C1 and C2) and positive (C3 to C6).

(Fig. 2). Immunodiffusion showed two lines of precipitation and the analysis of hemolytic activity resulted in lyses of the sheep red blood cells after incubation with CFA of *A. kalrae* (Fig. 3). The results suggest that the fungus can release a component with hemolytic activity. It could be one new virulence factor of *A. kalrae*. Further studies of characterization of immunogenic components may contribute to the diagnosis and studies of virulence factors and thus with the best understanding of pathogenesis of disease caused by fungus *A. kalrae*.

## Conclusions

From these results it can be concluded that: a) the two main components of fungus *A. kalrae* can be better separate by Sephadex G-200 than G-100 chromatography; b) the SA preparation presents a higher number of antigenic and immunogenic components than CFA; c) the fungus seems to release a component with hemolytic activity.

## References

1. TEWARI, R.P.; MACPHERSON, C.R. Pathogenicity and neurological effects of *Oidiiodendron kalrai* for mice. *J. Bacteriol.*, v. 95, n. 3, p. 1130-1139, 1968.
2. DEGAVRE, B.; JOUJOUX, J.M.; DANDURAND, M.; GUILLOT, B. First report of mycetoma caused by *Arthrographis kalrae*: successful treatment with itraconazole. *J. Am. Aca. Dermatol.*, v. 37, n. 2 Pt 2, p. 318-320, 1997.
3. CHIN-HONG, P.V.; SUTTON, D.A.; ROEMER, M.; JACOBSON, M.A.; ABERG,

- J.A. Invasive fungal sinusitis and meningitis due to *Arthrographis kalrae* in a patient with AIDS. *J. Clin. Microbiol.*, v. 39, n. 2, p. 804-807, 2001.
4. XI, L; FUKUSHIMA, K; LU, C; TAKIZAWA, K; LIAO, R; NISHIMURA, K. First case of *Arthrographis kalrae* ethmoid sinusitis and ophtalmitis in the People's Republic of China. *J. Clin. Microbiol.*, v. 42, n. 10, p. 4828-4831, 2004.
  5. PERLMAN, E.M.; BINNS, L. Intense photophobia caused by *Arthrographis kalrae* in a contact lens-wearing patient. *Am. J. Ophthalmol.*, v. 123, n. 4, p. 547-549, 1997.
  6. BISER, S.A.; PERRY H.D.; DONNENFELD, E.D.; DOSHI, S.J.; CHATURVEDI, V. *Arthrographis* keratitis mimicking *Acanthamoeba* keratitis. *Cornea.*, v. 23, n. 3, p. 314-317, 2004.
  7. CINO, P.M.; TEWARI, R.P. Purification of *Oidiodendron kalrai* proteases. *Can. J. Microbiol.*, v. 22, n. 3, p. 327-333, 1976.
  8. CAMARGO, Z.P.; TABORDA C.P.; RODRIGUES E.G.; TRAVASSOS L.R. The use of cell-free antigens of *Paracoccidioides brasiliensis* in serological tests. *J. Med. Vet. Mycol.*, v. 29, p. 31-38, 1991.

## 四類感染症

## コクシジオイデス症

Coccidioidomycosis

佐野文子 亀井克彦

**Key words** : *Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii*, coccidioidomycosis

## はじめに

コクシジオイデス症は南北両アメリカ大陸の半砂漠地帯に限局して生息する高度病原性真菌 *Coccidioides* spp. の感染によって起こる風土病で、感染症法第四類感染症全数把握疾患に指定されている唯一の真菌症である。我が国では輸入真菌症として取り扱われ、2006年8月現在、49例が把握されている。本症の取り扱いは以下のようになっている<sup>1)</sup>。

感染症法における取り扱い(2003年11月施行の感染症法改正に伴い更新)

コクシジオイデス症は四類感染症に定められており、診断した医師は直ちに最寄りの保健所に届け出る。報告のための基準は以下のとおりである。

○診断した医師の判断により、症状や所見から当該疾患が疑われ、かつ、以下のいずれかの方法によって病原体診断がなされたもの。

・病原体の検出

例：喀痰などからの分離・培養と菌の分離(鏡検)など。

1. 原因菌 *Coccidioides* spp.

## a. 歴史

コクシジオイデス症の第1例目は1892年、

アルゼンチンの医学生 Posadas A による難治性の皮膚病の報告で、患部に小型球体を伴うと記載されている。2001年までに使用されていた原因菌の広義の名称 *Coccidioides immitis* (Stiles GW, in Rixford & Gilchrist (1896)) は、1896年にアメリカ合衆国で報告された3例目の報告に伴って行われたもので、当初‘原虫’として記載されていた<sup>2)</sup>。

2002年に Fisher らはマイクロサテライトの多種遺伝子解析に基づいた分子生物学的分類に基づいて、カリフォルニア地域で分離される遺伝子型をもつ株はそのまま *C. immitis* を用い、それ以外の地域で分離される遺伝子型をもつ株を *Coccidioides posadasii* (Fisher MC, Koenig GL, White TJ, Taylor JW (2002)) として分類した<sup>3)</sup>。よって、現在、コクシジオイデス症の原因菌は2菌種である。

臨床的現場では両者を区別せず *Coccidioides immitis* (広義) が用いられているが、感染地の推定が必要とされる場合、2菌種に分けることが望ましい。我が国で発症した症例の原因菌は *C. immitis*, *C. posadasii* ともに確認されている<sup>4)</sup>。

b. 菌学<sup>5,6)</sup>

*C. immitis*, *C. posadasii* ともに有性世代は不明で、菌学的特徴は両菌種ともに共通である。普通の培地上では菌糸形を生体内および特殊な

Ayako Sano, Katsuhiko Kamei: Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University  
千葉大学真菌医学研究センター

培養法で培養すると、内生孢子(endospore)で満たされた球状体(spherule)を形成する。集落の形態は初め無毛で灰白色、次第に白色ないしは淡褐色、綿毛状ないしは淡粉状である。発育は速く、27°Cより37°Cの方が優れている。

顕微鏡的には菌糸は培養するにつれ菌糸内に多数の隔壁を生じ、細胞質が消失した解離細胞(disjunctive cell)と分節型分生子が交互に連なる状態になる。分節型分生子は矩形から樽型(2.5~3×4~6 μm)である。自然界では条件が整うと分節型分生子が発芽し、菌糸となる。生体内に入った分節型分生子は球状に腫大し球状体となる。初期の球状体は内外の2層に分かれる。外層は細胞質よりなり、内層は多糖体様物質で満たされているが発育するにつれ消失する。球状体の腫大とともに細胞質膜、次いで細胞壁が中心に向かって折れ込むように発達し、以後球状体の発達とともに連続的に分葉し、細胞質を無数の小室に分けていく。続いて個々の小室内に幾つかの内生孢子が現れ、内生孢子は成熟とともに周囲の組織は融解し、最後には無数の内生孢子(2~5 μm)が充満した球状体(40~2,000 μm)が形成される。やがて球体内の壁の一部が破れ、内生孢子は組織中に放出される。これら内生孢子は腫大して球状体となり、同じサイクルを繰り返す。なお、感染した分節型分生子が成熟した球状体となり、内生孢子が組織中に放出されるまでの期間は約5日である。

いずれの菌種にしても真菌では最も病原性が強く、取り扱いにはバイオセーフティーレベル3実験室に限られている。しかも分生子が非常に飛散しやすく、実験室内感染事故が起こりやすいため、分離・同定は、特別に訓練を受けた研究者や臨床技師に委ねるべきで、一般の検査室での取り扱いは避けるべきである<sup>11)</sup>。図1は千葉大学真菌医学研究センターレベル3実験室内で作製した集落である。ホルマリン固定した際に、菌糸が飛散し、シャーレの蓋に付着した標本およびその顕微鏡所見を示す。なお、ホルマリン注入は原液を用い、空気口および注入口にアルコール綿をあて、シャーレ内部から飛散した菌糸が出ないように、細心の注意を払って操作

したものである。

### c. 現在の分類に則した分子生物学的同定法

遺伝子同定基準となる遺伝子は dioxxygenase, serine proteinase, chitinase で、これらの配列を連結させてクラスター解析することにより、*C. immitis* と *C. posadasii* を分けることができる<sup>12)</sup>。しかし、病原真菌の分類基準として多くの配列データが GenBank に登録されている ribosome RNA 遺伝子の internal transcribed spacer 領域や D1/D2 domain of the large subunit ribosomal RNA 遺伝子の配列では両者を分類することはできない<sup>13)</sup>。

我が国独自の分子生物学的同定法として Umeyama らがマイクロサテライトの配列を基に、PCR で両菌種を迅速に鑑別する方法を発表している<sup>14)</sup>。

## 2. コクシジオイデス症の疫学

### a. 分 布

*C. immitis* (広義)は、米国西南部(カリフォルニア、アリゾナ、テキサス、ネバダ、ユタの諸州)、メキシコ西部、アルゼンチンのパンパ地域、ベネズエラのフェルコン州コロなどの半乾燥地域およびアマゾン川流域に分布する。特に高い頻度で発症するカリフォルニア、アリゾナの住民の間では渓谷熱(valley fever)、砂漠リウマチ(desert rheumatism)、砂漠熱(desert fever)、サンホアキン熱(San Joaquin fever)、瘤(bump)などとも呼ばれている。本症の最大の流行地はカリフォルニア州のサンホアキン渓谷(San Joaquin valley)。特にその中心都市であるベーカーズフィールド(Bakers field)で、この一帯に広がる半乾燥地帯(ソノラ砂漠)である<sup>15)</sup>。

流行地では気候の変動により発症数が増減し、特に春から秋の驟雨の後、症例が増加することがある。また本症はヒトだけでなく各種動物も感染する<sup>16)</sup>。

### b. 発生率・死亡率<sup>17)</sup>

米国内の無症候性感染は15万人以上と推定されている。毎年多数発生する患者の約0.5%は全身感染に波及し、その半数が致死的となる。*C. immitis*の病原性はヘスト菌に相当する。

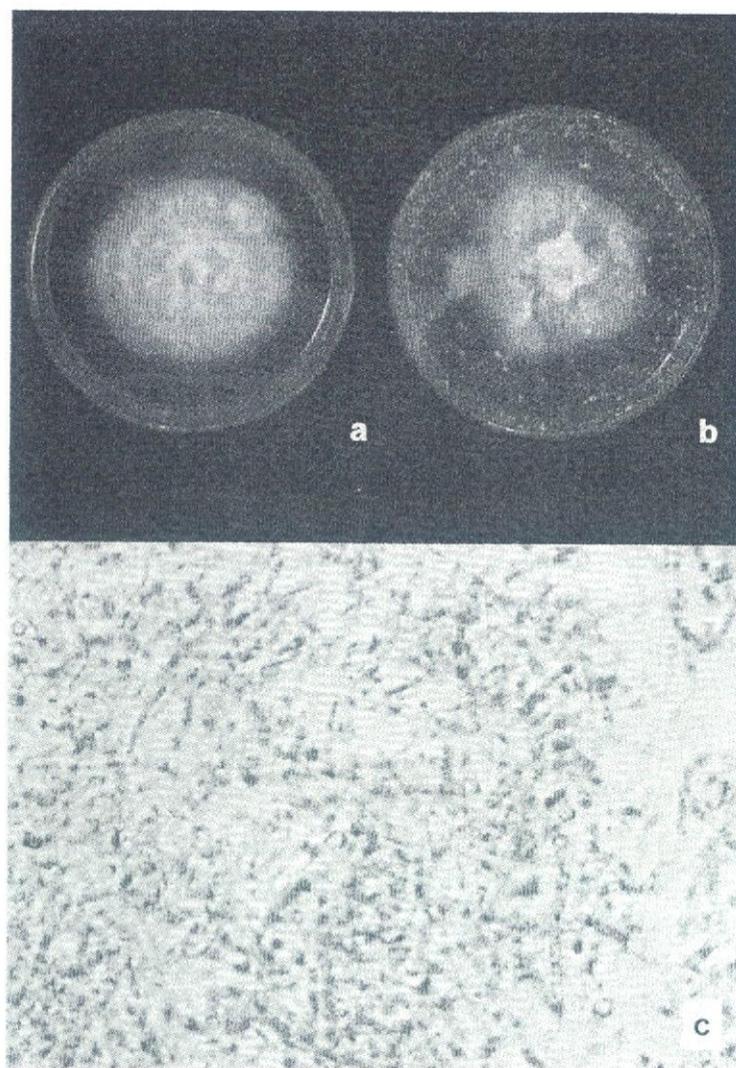


図1 (a)ホルマリン固定時に分節型分生子が飛散していない *Coccidioides immitis* (広義) の集落(サブロー寒天平板培地, 25°C, 1 カ月培養), (b) シャーレ蓋に分節型分生子が飛散し, 付着した集落(ポテト・デキストロース寒天平板培地, 25°C, 1 カ月培養) および (c) その分節型分生子の直接塗抹標本(ラクトフェノールコットンブルー染色, ×200)

また考古学の研究のため発掘調査を行った大学関係者に発病することが多く、カリフォルニア州では本菌に対して免疫のない学生や研究者が発掘調査に加わることを禁止している。

日本人はこれらの地方に旅行あるいは滞在して感染することがある。多くはアメリカ合衆国で感染しているが、渡航歴のない原綿など輸入原料を取り扱う職業人にも発生している。

2001年10月に米国カリフォルニア州ベーカーズフィールド郊外のローストヒルズにおいて世界模型飛行機選手権大会が行われ、世界30国から300人以上が参加し、大会後、帰国した参加者2人がコクシジオイデス症に感染したことが判明している。参加者は強風の中、屋外の砂地で連日競技を行っていたものと推測され、これが感染に結びついたものと思われる<sup>1)</sup>。

### 3. 臨床所見<sup>10)</sup>

基本的には *Coccidioides immitis* (広義) の胞子 (分節型分生子) を吸い込んで肺から感染する。吸入された胞子は球状体→内生胞子→球状体というサイクルを繰り返しつつ急速に増殖し、全身播種へと進行する。

#### a. 病 型

- (1) 不顕性感染で自然治癒するもの、
- (2) 肺に感染し急性炎症を起こすもの (原発性肺コクシジオイデス症)、
- (3) 慢性化するもの (慢性肺コクシジオイデス症および慢性線維化空洞性肺炎、ただし活動性は様々である)、
- (4) (2)、(3) を経るか、あるいは直接全身播種を起こすもの (播種型コクシジオイデス症)、などがある。

標的臓器として肺、髄膜、骨、皮膚などがある。最終的には、感染者の 30~40% が発病し、そのうちの 3% あまりが播種型を呈する。基礎疾患は特に必要とせず、全くの健常人でも感染する。特に感受性が高いハイリスクグループとして AIDS、糖尿病などの基礎疾患を有する人、ステロイドや抗 TNF- $\alpha$  薬の投与、また妊婦、黒人、フィリピン人などが知られており、予防をするうえで、あるいは感染がみられた場合の対応に、留意が求められる。

#### b. 症状・検査所見

##### 1) 原発性肺コクシジオイデス症

感染の初期にみられる急性炎症型で、発熱、胸痛、咳嗽、関節痛などの感冒様症状を呈する。胸部 X 線写真上は浸潤影が多く、ほかにリンパ節腫大、胸水 (少量) などがある。結節性紅斑、多形滲出性紅斑などを伴うことがある (特に女性)。ときに好酸球増多がある。自然治癒が多いが、一部は慢性あるいは全身性へと進行する。発熱、関節痛、結節性紅斑の組み合わせを desert rheumatism という。

##### 2) 慢性肺コクシジオイデス症

咳嗽、血痰、胸痛などを呈するが無症状のものもある。胸部 X 線写真上は結節影あるいは空洞が多い。空洞の多くは薄壁である。これとは

別に、活動性の高いタイプである慢性線維化空洞性肺炎を呈することもある。一般検査所見では、CRP が正常で赤沈のみ亢進する場合があり、CRP のみでは判断は難しい。我が国の症例はこれまでのところ大部分がこの病型である。

#### 3) 播種型コクシジオイデス症

重篤型で感染者の 0.5~1% 程度とされるが、基礎疾患により大きく異なる。急速に進行する場合と慢性の場合がある。胸部 X 線写真はびまん性粒状影、胸水など様々である。また、胸部 X 線陰影の消退とともに全身播種を起こすこともあり、経過の判定は注意して行う。無治療であるにもかかわらず、増悪と寛解を繰り返すように見えるときもある。皮膚、髄膜など様々な臓器を侵すが、髄膜炎は項部硬直 (nuchal rigidity) が少ないなど症状に乏しく気づかれにくい。また、髄膜病変を伴わない脳内病変もしばしば報告されており、播種型の場合、CT あるいは MRI は必須である。皮膚病変としては、丘疹、疣贅、潰瘍などがあり、生検材料として有用である。

### 4. 診 断 法<sup>10)</sup>

#### a. 既往歴の聴取

流行地への旅行、滞在、居住の有無が重要である。数時間立ち寄っただけでも感染することが知られているので、航空機乗り換えによるトランジットの有無も聞き漏らしてはならない。

#### b. X 線検査

急性の場合、肺炎症状、また過去の感染ではコイン状あるいは空洞の陰影が認められる。

#### c. 分離菌の同定

痰、生検材料より分離。37°C での発育は速い。培養 14 日前後のスラントを顕微鏡の鏡台に置き観察すると、菌糸の先端部に分節型分生子と解離細胞が交互に連なっているのが観察される。なおシャーレを使用した場合はビニールテープで厳重に封をし、決してシャーレの蓋を開けてはならない。かすかな空気の流れで分節型分生子は空中に舞い上がり検査室内を汚染するため、スライドカルチャーの作製は決してしてはならない。過去には検査室での二次感染による死亡

例も多数記録されている。本菌の生育が疑われた場合、極めて危険なため、しかるべき施設に依頼するべきである。

#### d. 病理組織学的診断法

塗抹標本、病理組織標本ともに本菌に特徴的な内生胞子で満たされた球状体を確認することにより、確定診断とすることができる。しかし、病変中の球状体の数は多いものではなく、また典型的な球状体がみられる例は少ないため、video-assisted thoracic surgery (VATS) などによりできるだけ大きめの検体を採取することが好ましい。また、まれに菌糸が認められることもあるが、菌糸には本菌に特徴的な所見はなく、診断上有用ではない。染色法としては HE, PAS, Grocott などがよい。

#### e. 血清診断, 抗体検出

血清および髄液の特異抗体の検出は本症では特に重要な検査法であり、ID法(免疫拡散法)では感度、特異度とも高く、CF法(補体結合法)では titer は重症度の判定に役立つため、病型(重症度)、経過判定などに有効である。偽陽性は多くが類似の輸入真菌症(ヒストプラズマ症など)との交叉抗原性によるものであり、全く異なる疾患や健常人で偽陽性となることはまれである。AIDSにおける播種型などでは偽陰性となることがある。ELISA法は一時試みられたが、信頼性に問題が多い。髄膜炎が疑われる症例では、髄液の培養陽性率が低いため、髄液中の抗体測定が有用である。抗原検出は一部で

実験的に行われているが、確立していない。皮内テストは現在、試薬が販売中止となっている。

#### f. 鑑別すべき疾患

肺のコイン状結節は癌、結核、クリプトコックス症のそれと類似する。かぜおよび肺炎症状は他の呼吸器感染症との鑑別が必要となるが、渡航歴の有無の確認が重要である。病理組織学的にはプロトテカ症、リノスポリジウム症などの鑑別も重要である。

### 5. 予防および治療方針

流行地を訪れる際はマスクなどの着用による対策のほか、海外感染症情報に注意する(成田空港検疫所 <http://www.forth.go.jp/keneki/narita/>など)。なお、危険因子(特に細胞性免疫障害のある場合や妊娠後期)をもつ場合は、流行地訪問を避けるべきである。

また、実験室内の二次感染の予防が重要である。汚染が考えられる手術器具、リネン類、ガーゼなどは放置せず、直ちに滅菌処理することが重要である。

治療は、本症には様々なパターンがあるため、一例一例で異なっており、一般化は難しい。症例に応じて専門家に相談すべきだが、病態によっては、治療方針は専門家の間でも必ずしも統一されていない。原則的には、重症、緊急時に amphotericin B (0.5~1.5 mg/kg/日あるいは隔日)、慢性の病態ではアゾール剤を用いる。病状により外科的切除も有効である<sup>10)</sup>。

### ■ 文 献

- 1) 宮治 誠: 感染症の話: コクシジオイデス症 (Coccidioidomycosis). [国立感染症研究所感染症情報センター: 2003年6月9-15日掲載 (<http://idsc.nih.go.jp/idwr/kansen/index.html>)].
- 2) 亀井克彦: わが国の輸入真菌症とその問題点. 真菌誌 46(1): 17-20, 2005.
- 3) Kamei K, et al: The trend of imported mycoses in Japan. J Infect Chemother 9(1): 16-20, 2003.
- 4) 宮治 誠: カビ博士奮闘記 私カビの味方です, 講談社, 2001.
- 5) Fisher MC, et al: Molecular and phenotypic description of *Coccidioides posadasii* sp. nov., previously recognized as the non-California population of *Coccidioides immitis*. Mycologia 94: 73-84, 2002.
- 6) Sano A, et al: Reexamination of *Coccidioides* spp. reserved in the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University, based on a multiple gene analysis. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi 47: 113-117, 2006.
- 7) 宮治 誠ほか: 新・土の微生物(8) 土のヒト病原菌類(日本土壌微生物学会編), 博友社, 2002.
- 8) Fisher MC, et al: Biogeographic range expansion into South America by *Coccidioides immitis* mirrors New World patterns of human migration. Proc Natl Acad Sci USA 98: 4558-4562, 2001.

- 9) Umeyama T, et al: Novel approach to designing primers for identification and distinction of the human pathogenic fungi *Coccidioides immitis* and *Coccidioides posadasii* by PCR amplification. J Clin Microbiol 44: 1859-1862, 2006.
- 10) Galgiani JN, et al: Coccidioidomycosis. Clin Infect Dis 41: 1217-1223, 2005.
- 11) 亀井克彦：輸入真菌症：米国の世界模型飛行機選手権大会参加者に集団発生したコクシジオイデス症. IASR 23: 58-59, 2002.

### 3. 遺伝子診断の実際

## 12) 感染症 (13) 真菌

佐野文子<sup>1)</sup>

(KEYWORDS) 酵母, 糸状菌, 病原真菌

#### はじめに

自然界に存在する約 70,000 種の酵母, 糸状菌, キノコなど一般に菌と呼ばれている真核生物のうち約 300 種が真菌症の原因菌といわれているため, 本稿で取り扱う菌種は極めて多種に及び, すべてを網羅することはできない。

真菌症は皮膚糸状菌症, 日和見真菌症, 新興真菌症, 高度病原性(輸入)真菌症に大別できる。真菌症の診断は, 原因菌の分離・同定が診断上のゴールドスタンダードであり, 最重要検査である。

しかし, 原因菌が分離されない場合も多く, 臨床現場では原因菌の分離・同定結果が出る前の迅速診断が要求されている。また, 菌が分離された場合でも, 最近の検査方法は形態学的観察と同時に遺伝子情報から原因菌を同定し, 両者を総合して最終同定に至る方法に移行しつつある。さらに真菌症の症例報告では, 形態学的観察や生理生化学的性状に加えて, 遺伝子情報による菌の同定の記載が要求されることが多い。

本稿では, 分離された菌株の遺伝子同定と臨床検体から原因菌の遺伝子を検出する遺伝子診断法を紹介する。

#### 臨床的有用性

##### 1. 診断的価値

真菌症の診断は, 表在性・深在性を問わず臨床検体中で起因菌を分離・培養する検査と顕微鏡的に観察する検査が不可欠である。ここで分離培養された菌株の同定に遺伝子同定を導入すると, 形態学的観察や生理生化学的性状の測定よりも短時間で原因菌の菌種推定ができるので, 一種の迅速診断法として有用性が高い。

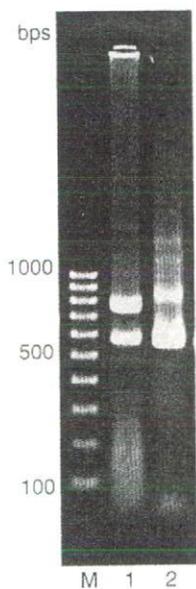
もちろん菌分離同定が重要ではあるが, 深在性真菌症では培養検査陽性率が低い。そのため確定診断法として培養検査のほかに顕微鏡検査, 病理組織学的検査, 血清診断法として特異抗原検出, 特異抗体検出, (1-3)- $\beta$ -D-glucan 測定, D-アラビニトール測定と組み合わせた診断が保険適用されて行われている<sup>1)</sup>。

遺伝子診断法は保険適用外であり, 感度の点で鏡検法や一部の血清診断法に優れるものではないが, 汚染による影響を取り除くことができれば, 原因菌の種特異的遺伝子の検出や基準となる遺伝子配列の解析によって, 種レベルの同定が可能であり, 補助的診断法として有用である<sup>1)</sup>。また, 遺伝子診断法は実際に応用されており, 培養検査よりも検出感度が高く, 真菌症を疑って早期に治療を開始できる利点があり, 予後判定の指標としての有用性も高いという見解もある<sup>2)</sup>。

##### 1) 分離菌株の遺伝子同定

Web 上でデータベースとして充実している

1) SANO Ayako 千葉大学真菌医学研究センター



複数バンドの中に原因菌の遺伝子が含まれている可能性がある。M: マーカー, 1 および 2 はそれぞれ別検体。

図 パラフィンブロックから抽出した DNA を用い、ユニバーサルプライマー NS-7 および NL-2 でファースト PCR を行った後、ITS-5 および ITS-4 でセカンド PCR を行ったときの泳動像

rRNA 遺伝子群の配列を決め、NCBI blast search (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) で nucleotide blast を行い、web 上での簡易系統樹 (distance tree of result) および遺伝子の相同性から菌種を推定する方法が菌種同定の手がかりとなる。属レベルの同定は 18S 領域、属または種 26S、種または個体識別は ITS (internal transcribed spacer) 領域、地域多型および個体識別は NTS (non-transcribed spacer) もしくは IGS (intergenic spacer) 領域が有用である<sup>3)</sup>。DNA の抽出から遺伝子配列決定までの一連の経験があれば、比較的簡単に取り組める方法である。

## 2) 原因菌種特異的プライマー

真菌症診断で最も重要なのは日和見真菌症で、菌種別特異的プライマーが数多く発表されている。なかでも topoisomerase II をターゲットとした検出系が有用である<sup>4)</sup>。また、黒色真菌、病原性キノコなど新興真菌症原因菌および皮膚糸状菌症原因菌で種特異的 PCR (polymerase chain reaction) 法や分子疫学的解析法が開発されている。臨床検体からの遺伝子検出にもこれらのプライマーは有用で、多くは nested-PCR 系による検出が行われている。なお、詳細は PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>) で検索して

ほしい。

さらにコクシジオイデス症 (原因菌 *Coccidioides immitis* および *C. posadasii*)、ヒストプラズマ症 (*Histoplasma capsulatum*)、パラコクシジオイデス症 (*Paracoccidioides rasilensis*)、マルネツフェイ型ペニシリウム症 (*Penicillium marneffeii*)、ブラストミセス症 (*Blastomyces dermatitidis*) の 5 疾患を指す高度病原性真菌症 (輸入真菌症) では、原因菌の遺伝子同定・診断は有用な補助診断法で、病理細胞学的診断法、血清学的診断法などと組み合わせて行われている<sup>5,6)</sup>。しかし、原因菌はすべてバイオハザードレベル 3 で、DNA の抽出も含めて取り扱いが非常に危険であるため、専門機関に相談することを推奨する。

特にコクシジオイデス症の場合、原因菌は 2007 年 6 月 1 日より第三種病原体 (厚生労働省: 感染症法に基づく特定病原体等の管理規制について、<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou17/03.html>) として制限されているうえ、実験室内感染の危険性が極めて高いことから、一般の検査室では取り扱わないことが懸命である。コクシジオイデス症原因菌以外の届出は今のところ必要ではない。

## 3) 病理所見上真菌症を否定できない場合の菌種の推定

種特異的 PCR での遺伝子検出が不可能でなおかつ菌要素の確認ができていない臨床検体、パラフィンブロック、ホルマリン固定後 1~2 か月程度の組織片 (数か月以上経過すると DNA が破壊されるので適さない) などからの遺伝子検出による菌種推定も可能である。この場合、真菌用ユニバーサルプライマー (Conserved primer sequences for PCR amplification and sequencing from nuclear ribosomal RNA: <http://www.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm>) を組み合わせた nested-PCR が有効である。検体によっては環境菌や常在菌などの混入が避けられないため、検出されるバンドが複数になる場合もあり (図)、バンド切り出し後の配列決定が必要であるが、原因菌になりうる菌種の推定に至ることもある。

#### 4) 真菌症遺伝子診断キットおよび外注による遺伝子同定

現在、商業的に利用できる真菌症遺伝子診断キットは GeniQ-カンジダ/アスペルギルス(大塚アッセイ研究所)、病原真菌遺伝子検出(東洋紡ジーンアナリシス)、ニューモシスチス遺伝子診断(SRL、大塚アッセイ研究所、ほか)がある<sup>13)</sup>。

また、多くの検査室では真菌の遺伝子同定は外注による検査を行っているのが実情である<sup>7)</sup>。結果が報告されるまでの必要日数はおおよそ3~15営業日以内、料金はPCR産物からの配列決定が数千円~1万円程度、菌体からの配列決定が数千円~2万円程度、BLASTサーチが千円~数万円程度である。料金の中には学会発表用スライド作製までが含まれる業者もあり、時間と労力の節約になる。費用の面からも保険適用できないとはいえ、10年前は配列決定が10万円程度に設定されていたことから比べると廉価となっている。

#### 2. 治療応答性や予後判定の材料としての遺伝子診断法

現在約50種の真菌でゲノム解析が進み、NCBI genomic BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sutils/genom\\_table.cgi?organism=euk](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sutils/genom_table.cgi?organism=euk))をはじめ、web上で多々公開されており、アノテーションも進んで、薬剤感受性と関連した遺伝子や病原性に関する遺伝子が多数解読されている。また、遺伝子の発現と薬剤耐性機構、病原性、感染時の宿主応答などのマイクロアレイによる解析システムが研究されている<sup>7,8)</sup>。

一方、臨床検体中からの病原真菌遺伝子検出と予後との関連は示唆されているが、症例数の蓄積が必要とされ、基準化には至っていない<sup>13)</sup>。

### 従来法との関連

菌が分離されても、熟練した菌学的経験がなければ従来から行われてきた形態学的・生理生化学的手法で同定に至るのは難しい。一方、遺伝子同定では菌学の初心者でもある程度の同定が可能であるが、臨床分離株では典型的な性状が保たれていない株も多いため、従来法にも限界がある。遺伝子情報が同定への突破口となることも多い。

また、真菌分離を試みた場合、必ずしも培養が成功するとは限らない。培養後、生育してくるまでに酵母で24時間以上、ある種の糸状菌では数週間を必要とするうえ、形態、生理生化学的性状などから同定するには、長時間を費やす場合もある<sup>3)</sup>。したがって、培養結果を待つ間の臨床検体からの遺伝子検出は迅速診断法として有用性が高い。特に、特異的PCRを用いたバンド検出による遺伝子同定は数時間で種レベルの同定が可能である<sup>1)</sup>。さらに塩基配列決定の必要な同定も形態学的観察よりは短時間で結果を得られる。真菌症が疑われた場合や幼若な培養物が得られた時点での遺伝子同定・診断は併行して行う検査として推奨できる。現在、遺伝子同定・診断は、学会発表や論文投稿に必要なデータとして重要な位置を占めつつある。

血液、喀痰、尿、生検組織などからの遺伝子検出による診断は、従来の血清学的診断法や培養検査よりも感度が高い場合もある。

病理組織切片上や塗抹標本中からの真菌要素の検出は、原因菌の寄生形態と宿主の反応を観察するための重要な情報である。迅速・簡便な方法として真菌用蛍光染色液による真菌要素の検出をはじめ、真菌用特殊染色、酵素抗体法<sup>14)</sup>などがある。遺伝子検出法としては *in situ* hybridizationによる病理組織標本上での原因菌の同定<sup>15)</sup>や、パラフィンブロックからDNAを抽出して原因菌の遺伝子検出を行う方法などがある<sup>3)</sup>。

### 各種遺伝子診断法の利点と欠点

PCR法およびその他の遺伝子同定法の利点は菌学の初心者でもある程度の同定が可能となったことである。しかし、最新情報に沿った菌の同定には単独遺伝子配列での同定が難しい場合もあり、多遺伝子解析に基づいた同定が必要となることもあるので、専門家のアドバイスを求めることを推奨したい。

外注検査での配列解析に基づいた菌種同定は、以前から比較すると廉価となり、信頼できる検査機関であれば、取り入れる価値は高い。

臨床材料からの遺伝子検出は、他の検査で真菌

症と診断される根拠が乏しいときに、補助的診断法として有用であるが、環境からの混入か病原体由来かを的確に判断する必要があり、他の検査所見と合わせて解釈するための熟練を要する。

Real-time PCR 法による迅速同定・遺伝子検出、マイクロアレイによる多菌種または多遺伝子同時の網羅的検索や同手法による薬剤耐性および病原性遺伝子の同時検索を兼ねた遺伝子同定法が開発され<sup>10-12)</sup>、一部の施設では研究として取り入れられている。しかし、標準化、設備、コスト、マンパワーなどの課題もある。

病理組織標本上での *in situ* hybridization による原因菌の同定は、菌の寄生部位での同定ができ、確実な診断根拠となる場合もある。しかし、近縁種との交差反応の問題が完全に解決されていない。また、手法もやや煩雑で酵素抗体法と同程度である。

迅速診断法の LAMP (loop-mediated isothermal amplification) 法は環境中にほとんど常在しない菌種を目的とした遺伝子検出には有用である。しかし、検出感度が鋭敏なため、検査環境、試薬およびプライマーの管理に細心の注意が必要である<sup>7)</sup>。

## おわりに

真菌症における同定・診断において遺伝子解析を用いた方法は、原因菌の同定をする場合、迅速同定ならびに同定根拠として、その利用価値は高い。一方、臨床検体からの遺伝子検出による診断は補助的診断として捉えることが望ましく、臨床症状、他の検査成績などと総合して診断することが必要である。

## 文 献

- 1) 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・治療ガイドライン、協和企画、2007
- 2) 石嶋拓郎、武澤純：集中治療室における深在性真菌症に対する遺伝子診断の応用、真菌誌 47：283-288, 2006
- 3) 内田勝久、山田英世：真菌症の検査医学的診断(起因菌の検出と同定)、メディカルトリビューン、2003
- 4) Kanbe T, Arishima T, Horii T, et al : Improvements of PCR-based identification targeting the DNA topoisomerase II gene to determine major species of the opportunistic fungi *Candida* and *Aspergillus fumigatus*. *Microbiol Immunol* 47 : 631-638, 2003
- 5) 佐野文子、藤崎竜一：感染組織を用いた真菌症の遺伝子診断、最新医学 58 : 1160-1166, 2003
- 6) 亀井克彦：わが国の輸入真菌症とその問題点、真菌誌 46 : 17-20, 2005
- 7) 植村浩一：シリーズ/病原性真菌の今日的意味(9)3. 真菌感染と生体防御機構、5) 真菌症の遺伝子診断法、化学療法領域 20 : 165-169, 2004
- 8) 植村浩一：真菌症遺伝子診断とその展望、真菌誌 45 : 59-62, 2004
- 9) Hanazawa R, Murayama SY, Yamaguchi H : *In-situ* detection of *Aspergillus fumigatus*. *J Med Microbiol* 49 : 285-290, 2000
- 10) Garaizar J, Brena S, Bikandi J, et al : Use of DNA microarray technology and gene expression profiles to investigate the pathogenesis, cell biology, antifungal susceptibility and diagnosis of *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res* 6 : 987-998, 2006
- 11) Kawazu M, Kanda Y, Nannya Y, et al : Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1-->3)-beta-D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. *J Clin Microbiol* 42 : 2733-2741, 2004
- 12) Schabereiter-Gurtner C, Selitsch B, Rotter ML, et al : Development of novel real-time PCR assays for detection and differentiation of eleven medically important *Aspergillus* and *Candida* species in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 145 : 906-914, 2007

## めずらしい真菌症

佐野文子

## 要約

めずらしい真菌症とは、すなわち新興真菌症で、①その地域にとっては新たに流入と伝搬した真菌感染症、②無毒あるいは弱毒性菌種および薬剤抵抗性菌種による日和見真菌感染症、③新菌種、希少菌種、病原性未記録菌種による真菌症と定義できる。原因菌は多菌種に及び、輸入真菌症、黒色真菌症、環境中に分布する菌種や病原性キノコなどによる感染症があげられ、小動物臨床領域でも、近年、多くの症例が報告されるようになってきた。

## はじめに

獣医学領域でも真菌症は稀な疾患ではない。皮膚糸状菌症やマラセチア症は日常的に遭遇する疾患である。また、四大日和見真菌症といわれるアスペルギルス症、カンジダ症、クリプトコックス症、接合菌症もよく知られるようになってきた。しかしながら、上記以外の病原真菌を原因菌とする真菌症については、あまり知られていない。このような真菌症は新興真菌症といわれ、その原因菌は多菌種におよぶ。ここでは新興真菌症のいくつかの症例とその原因菌を紹介する。

## 新興真菌症とは

真菌によって発症する新興感染症で、以下のように定義できる。

- ①その地域にとっては新たに流入と伝搬した真菌感染症
- ②無毒あるいは弱毒性菌種および薬剤抵抗性菌種による

Ayako Sano : 千葉大学真菌医学研究センター  
(〒260-8673 千葉県千葉市中央区夜嵐1-8-1)



趣味を生業にできて幸せです。

## 日和見真菌感染症

③原因菌が新しい、すなわち新菌種、希少菌種、病原性未記録菌種による真菌症

これらには輸入真菌症も含まれ、*Candida albicans* 以外の *Candida* 属菌種によるカンジダ症、*Aspergillus fumigatus* 以外の *Aspergillus* 属菌種によるアスペルギルス症、*Cryptococcus neoformans* 以外の *Cryptococcus* 属菌種によるクリプトコックス症、*Microsporum canis* や *Trichophyton mentagrophytes* などの一般に知られている皮膚糸状菌症原因菌以外による皮膚糸状菌症、黒色真菌症、環境中に分布する菌種や病原性キノコなどによる感染症があげられる。なお、接合菌症を新興真菌症として取り扱う場合もある。これらの菌種は同定が難しい上、薬剤耐性菌が多いことが診断治療上大きな問題となっている<sup>1)3)</sup>。表1は小動物臨床領域で確認されている皮膚糸状菌を除くおもな新興真菌症原因菌を示した。

## ヒストプラズマ症

元来ヒストプラズマ症は輸入真菌症5症(コクシジオイデス症、ヒストプラズマ症、パラコクシジオイデス症、マルネツフェイ型ペニシリウム症およびプラストミセス症)の1つである。唯一、ヒストプラズマ症だけは、我が国も流行地の1つであるため、輸入真菌症は高度病原真菌症とも表現されるようになってきた。

ヒストプラズマ症は我が国に存在するもっとも危険度レベルの高い(レベル3)病原真菌 *Histoplasma capsulatum* によって起こる真菌症である。我が国の人では輸入症例と土着症例が50例以上報告されているが、犬では全て後者である。

原因菌の *H. capsulatum* は世界中の熱帯、亜熱帯、温帯地域に分布し、特に大河の流域が流行地である。流行地域、宿主により variety が *capsulatum*, *duboisii*, *farcinosum* に分類され、病名も variety に対応してカプスラーツム、ズボアジ、ファルシミノーズム型に分類されている。中でもファルシミノーズム型は馬、ロバ等の頸部

表1 小動物臨床領域で確認されている新興真菌症原因菌

輸入真菌症原因菌 (高度病原性真菌)	接合菌	その他
<i>Coccidioides immitis</i>	<i>Absidia corymbifera</i>	<i>Acremonium hyalinum</i>
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	<i>Basidiobolus ranarum</i>	<i>Acremonium kiliense</i>
<i>Histoplasma capsulatum</i> *	<i>Cokeromyces recurvatus</i>	<i>Acremonium</i> sp.
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	<i>Conidiobolus</i> sp.	<i>Arthrographis kalrae</i> *
<i>Penicillium marneffei</i>	<i>Rhizomucor pusillus</i> など	<i>Chaetomium globosum</i> *
		<i>Collerotrichum gloeosporioides</i> *
		<i>Chrysosporium</i> sp.
<b>病原性酵母</b>	<b>病原性黒色真菌</b>	<i>Fusarium chlamyosporum</i>
<i>Candida famata</i> *	<i>Alternaria</i> spp. ( <i>A. alternata</i> , <i>A. infectoria</i> )	<i>Fusarium solani</i> *
<i>Candida glabrata</i>	<i>Bipolaris spicifera</i>	<i>Lagenidium</i> sp. ( <i>L. giganteum</i> )
<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Cladophialophora bantiana</i>	<i>Lecytophora hoffmannii</i> *
<i>Candida krusei</i>	( <i>Cladosporium trichoides</i> 旧名)	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
<i>Candida parapsilosis</i> *	<i>Cladosporium trichoides</i>	<i>Paecilomyces</i> sp.*
<i>Candida pulcherrima</i>	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Paecilomyces varioti</i>
<i>Candida tropicalis</i> *	<i>Exophiala dermatitidis</i> *	<i>Penicillium</i> sp.*
<i>Cryptococcus albidus</i> *	<i>Exophiala jeanselmei</i>	<i>Pythium insidiosum</i>
<i>Rhodotorula</i> spp.	<i>Exophiala spinifera</i>	<i>Prototheca</i> spp.*
<i>Trichosporon beigeli</i>	<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	<i>Pseudallescheria boydii</i>
<i>Trichosporon cutaneum</i>	<i>Hortaea werneckii</i> *	<i>Rhinosporidium</i> sp.
<i>Trichosporon domesticum</i> *	<i>Ochroconis gallopava</i>	<i>Scedosporium apiospermum</i>
<i>Trichosporon pullulans</i>	<i>Phialophora verrucosa</i> など	<i>Scedosporium prolificans</i>
<i>Trichosporon</i> sp. など		<i>Schizophyllum commune</i> *
		<i>Sporothrix schenckii</i> * など

\*: 我が国の犬、猫などで症例が報告されている菌種。

や脚のリンパ管やリンパ節を特異的に侵し、四足獣から分離されたという事実によってのみ他の2種と区別されてきた。我が国でも、戦前、軍馬を中心に2万頭以上に「仮性皮疽」として確認され、日本も本症の流行地の1つとして認識されていたことを忘れてはならない。

*H. capsulatum* は温度依存性の二形性真菌で、室温での発育は遅く、集落は粉状から綿毛状で次第に黄褐色を帯びてくる。顕微鏡的に大、小の分生子が形成され、大分生子の細胞壁は厚く表面には多くの指状の突起を持つのが特徴である。富栄養の培地を用い35~37℃で培養すると白色~淡黄色の酵母様集落を形成する株もある。酵母細胞は球形または卵円形、直径は数μmである(図1)。本菌の生息地は土壌であり、ヒバリやコウモリの糞を好むといわれている。

現在までに知られている我が国の犬症例は7例、馬1例、ラッコ1例である。診断は菌分離・培養・同定が望ましいが、動物症例では皆無である。犬症例7例中6例は病

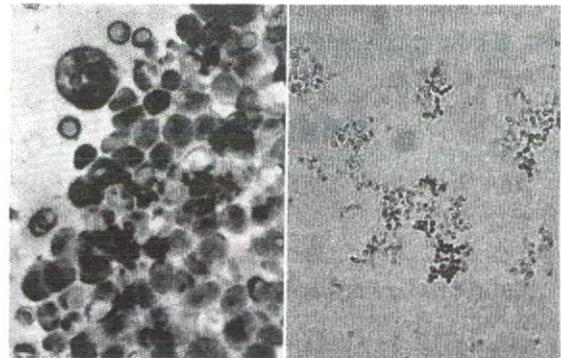


図1 ヒストプラズマ症原因菌 *Histoplasma capsulatum* の酵母形

左: 犬皮膚潰瘍の膿塗抹中に見られた酵母様細胞(ギムザ染色, ×400)

右: 培養して得られた酵母様細胞(ラクトフェノール・コトンプール固定染色, ×400)

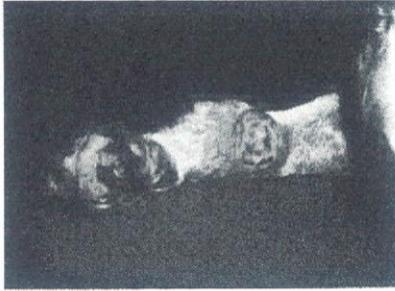


図2 犬のヒストプラズマ症の皮膚潰瘍の1例

理組織学的所見と遺伝子診断により診断されている。なお、検出された遺伝子のタイプは戦前、我が国でも流行していた馬の仮性皮疽の原因菌 *H. capsulatum* var. *farcinosum* と類縁の遺伝子型であることが判明した。またこの遺伝子型は人の土着感染症例から分離された株にも認められている。よって、*H. capsulatum* var. *farcinosum* を宿主によって定義することに矛盾が生じ、この variety は人、犬、馬に共通に感染すると理解されているようになってきた。

犬症例は全て粘膜もしくは皮膚病変を伴う症状が特徴で(図2, 3)、全身播種を起こした症例も知られている。完治例は、2例に過ぎず、安楽死を含めて不幸な転帰を取った症例が2例報告されている(表2)。

治療はイトラコナゾールなどのアゾール系抗真菌剤の局所療法、内服のほかアムホテリシンBも用いられているが、効果は一律ではない<sup>4)</sup>。

### Non-albicans *Candida* spp. による真菌症

Non-albicans *Candida* spp. による感染症は小動物臨床領域でも問題となっている。これらの菌種は薬剤耐性菌が多いことも知られている。また、non-albicans *Candida* によ

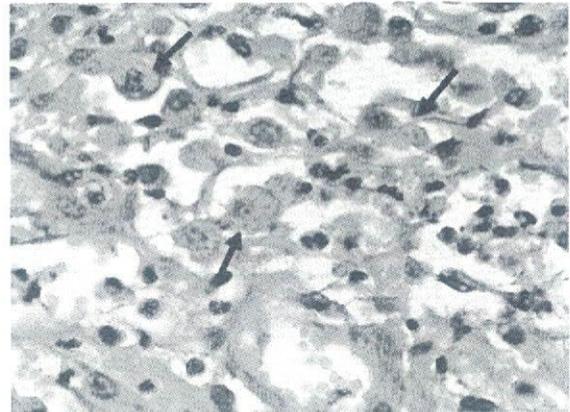


図3 犬のヒストプラズマ症の皮膚潰瘍の病理組織  
PAS染色, ×400。矢印はマクロファージ内の酵母様細胞を示す。

る感染症は飼育イルカの日和見感染症原因菌としても知られるようになってきた<sup>5,8)</sup>。

原因菌は通常の市販培地で培養すると白色の酵母である。また、呈色試験用培地を用いると、菌種によって発色する色調が異なるので、Non-albicans *Candida* と *C. albicans* を鑑別する一次スクリーニングが可能である。この培地の調整は特別な装置や設備を必要としない。使用時に水と粉末をよく混ぜて、電子レンジなどで寒天を十分に溶解し、滅菌容器(シャーレ、試験管など)に流し、固まれば使用できる。血液、尿、膿などを培地表面に塗布し、室温で24~48時間培養すると、おおよその判定ができる。このとき *C. albicans* 以外の酵母が確認されれば、治療は難渋すると理解されたい(図4)。

膀胱炎を例にとると *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Trichosporon* spp. などが原因菌として知られている。動

表2 我が国における犬のヒストプラズマ症

症例	犬種	年齢	性別	症状	診断	転帰	塩基長	参考文献
1	雑種	8	F	歯齦、皮膚	H, IA	治療	ND	<i>J. Vet. Med. Sci.</i> 60, 863-865, 1998
2	Min Dac	3	M	皮膚	H, MB	治療	516	<i>Jpn. J. Med. Mycol.</i> 42, 229-235, 2001
3	シーザー	3	M	皮膚	H, MB	緩解	518	<i>Jpn. J. Med. Mycol.</i> 42, 229-235, 2001
4	柴	5	F	皮膚	H, MB	安楽死	518	<i>Vet. Microbiol.</i> 94, 219-224, 2003
5	SH	4	M	皮膚	C, H, MB	緩解	518	<i>J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.</i> 52, 478-480, 2005
6	シーザー	12	M	皮膚	C, MB	緩解増悪†	518	<i>Med. Mycol.</i> 45, 2007, 印刷中
7	BT	8	F	皮膚・全身	H, MB	死亡	518	<i>Med. Mycol.</i> 45, 2007, 印刷中

Min Dac: ミニチュアダックスフント, SH: シベリアンハスキー, BT: ポストンテリア

H: 病理組織学的診断, MB: 分子生物学的診断, C: 細胞診, †: 2005年2月高齢により死亡

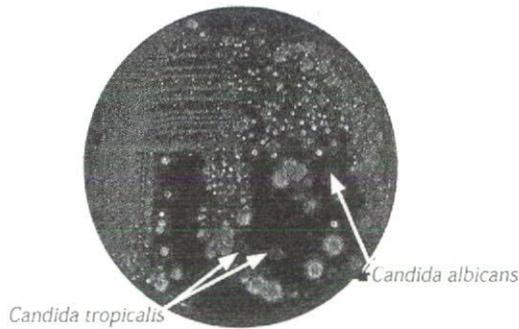


図4 呈色培地上での各種 *Candida* spp. の集落の例  
右下方(典型的)および全体で緑色集落が *C. albicans*、中央下  
方の青色集落(典型的)が *C. tropicalis*。なお、呈色試験では  
*C. albicans* と *C. tropicalis* の鑑別が難しい場合も多い。

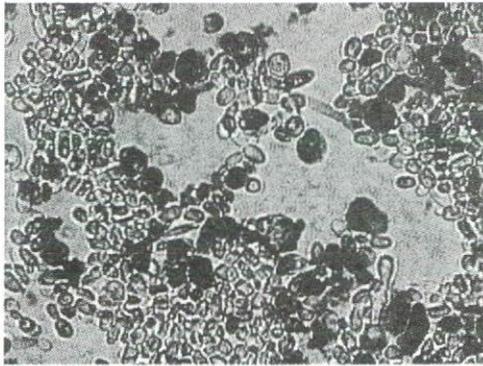


図5 猫のカンジダ性膀胱炎における尿沈渣中の酵母細胞

物は頻尿や血尿を示す他、雌個体では膣炎を併発することもある。診断は尿沈渣中の酵母細胞の確認により容易である(図5)。あわせて培養や遺伝子診断等で、菌種を同定し、薬剤感受性試験に基づいた治療が重要である。なお、原因菌が比較的耐性菌が少ないと言われている *C. albicans* と同定されても、尿路感染の場合、耐性菌が多いので薬剤感受性試験は必須である。

小動物の膀胱炎の治療は、尿中から菌が消失した後も、尿沈渣の顕微鏡観察および培養検査での確認はもちろんのこと、数週間は抗真菌剤の投与を継続することが望ましい。抗真菌薬の併用も効果が期待できる。またアムホテリシンBによる膀胱洗浄も有効である。また、人ではキャンディン系抗真菌剤の使用により、良い治療効果を得ており、小動物臨床領域でも応用されている。屋内飼育している個体が膀胱炎を発症した場合、排泄物の処理が問題となる。家

族に乳幼児、高齢者、糖尿病、その他免疫状態の低下した方が含まれる場合、手袋の着用、感染動物との接触を避ける等の説明は重要である。

### 黒色真菌症

黒色真菌症も稀に報告されている。我が国でも *Exophiala dermatitidis* による壊死性リンパ腫に付随した皮膚感染が犬で報告されている<sup>9)</sup>。海外でも *E. jeanselmei* による猫の全身感染や袋腫性の皮下腫瘍<sup>10) 11)</sup>、*E. spinifera* による猫のファエオヒフィオミコーシス<sup>12)</sup>、*Cladophialophora bantiana* による犬や猫の菌種や全身感染<sup>13) 14)</sup>、*Fonsecaea pedrosoi* による猫の皮膚の硬結腫脹<sup>15)</sup>、*Phialophora verrucosa* による猫のファエオヒフィオミコーシスなどが報告されている<sup>16)</sup>。ここでは人での黒癬と同様疾患を示した *Hortaea werneckii* によるモルモットの黒癬を紹介する<sup>17)</sup>。

原因菌の *H. werneckii* は、手掌、足底の角質内に褐色の菌糸と胞子で寄生する。世界的な本菌の分布は熱帯および亜熱帯地域とされ、とくに海岸地方から症例が報告されている。我が国でも1980年代に沖縄で症例が報告されて以来、九州、四国、関東から次々に症例が報告されている。また環境中では、ハウスダストやブルーからも分離されている。*H. werneckii* の集落は初め黄緑色、黒緑色、やがて金属性光沢のある漆黒糊状(黒色酵母)集落を形成する。しばらくすると菌糸が成育し、気菌糸を形成する株も見られる。顕微鏡的には菌糸は太く隔壁がある。分生子は初め1細胞性で淡褐色、楕円形、成熟すると2細胞性で、褐色、暗褐色、ピーナッツ形、紡錘形になる。

症例のモルモットはケージ内を歩行する際に異常な鳴き声を出し、かきむしる行動を示したことから、身体検査をしたところ、手掌と背部に角化した黒色の病変を認めた(図6)。培養したところ、本菌種が分離され、ケトコナゾール1か月とグリセオフルビン1週間の経口投与、抗真菌剤入りシャンプーでの沐浴により治療した。なお、この症例はダニの寄生と細菌感染による化膿も同時に観察されたことを付け加えておく。

### その他

*Sporothrix schenckii* による猫のスポロトリコーシス<sup>18)</sup>、*Prototheca wickerhamii* による犬のプロトテカ症<sup>19)</sup>、担



図6 モルモットの *Hortaea werneckii* 感染  
枠内は培養菌体の顕微鏡所見。二細胞性の黒色酵母である。

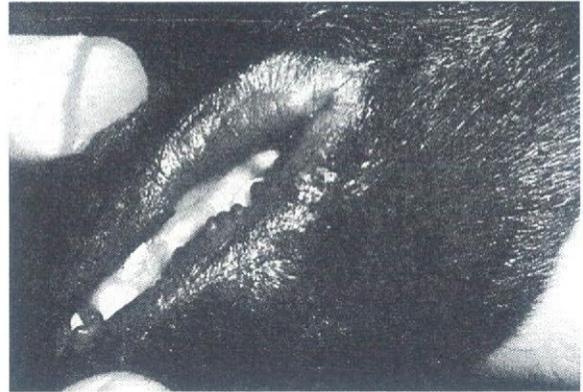


図8 *Chaetomium globosum* による口唇周囲の脱毛と落屑

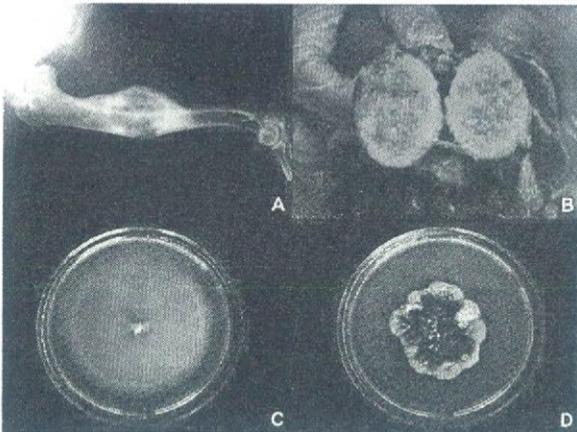


図7 *Lecythophora hoffmannii* による壊死性骨髄炎  
A: 発病 176 日目の X 線像  
B: 同日に切断された前肢の断面  
C: リンパ節より分離された本菌種のサブロー寒天上で集落 (25℃, 3 週間)  
D: ポテトデキストロース寒天平板上で集落 (同条件)

子菌の *Schizophyllum commune* によるスエヒロタケ感染症<sup>21)</sup>, *Arthrographis kalrae*<sup>21)</sup> などによる感染も報告されている。なかでも単独では子実体を形成しない *S. commune* の 1 核菌糸体が分離された場合、形態による同定は難しいため、交配試験と分子生物学的同定が必須である。

また、最近、産業用有用微生物として取り上げられている菌種による感染例も知られるようになってきた。*Lecythophora hoffmannii* はその有性型である *Coniochaeta ligniaria* が木質のリグニン分解菌として知られている。我が国でも *L. hoffmannii* による壊死性骨髄炎から全身播種

性感染となり、神経症状を示し、安楽死に至った症例が犬で報告されている (図7)<sup>22)</sup>。また *Chaetomium globosum* は抗菌物質産生菌およびセルロース分解菌として産業用有用微生物に取り上げられているが、本菌種による犬の落屑・脱毛・紅斑が報告されている (図8)<sup>23)</sup>。さらに、動植物ともに病原菌である *Fusarium solani* の犬症例<sup>24, 25)</sup>, *Colletotrichum gloeosporioides* による FeLV 陽性猫の感染例<sup>26)</sup> などが報告されている。

上記に示した原因菌種の多くは、通常培養検査に使用されているサブロー寒天培地やポテトデキストロース寒天培地上での集落は白色なため、皮膚糸状菌と紛らわしい点が問題である (図9)。しかし、白色の綿毛状集落だからといって、環境からの混入として見過ごされるよりも、原因の可能性として真菌を疑ったという事実は、真菌症診断の

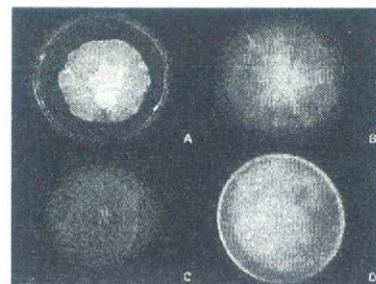


図9

- A: *Arthrographis kalrae* (ポテトデキストロース寒天平板 25℃, 4 週間)
- B: *Chaetomium globosum* (サブロー寒天平板 25℃, 4 週間)
- C: *Colletotrichum gloeosporioides* (サブロー寒天平板 25℃, 1 週間)
- D: *Schizophyllum commune* の 1 核菌糸体 (ポテトデキストロース寒天平板 25℃, 8 週間)

エキスパートとしての第一歩である。培養検査と遺伝子同定診断の組み合わせは、今や欠かすことはできない。真菌症では稀な菌種による感染が示唆された場合、重篤な感染症に発展する危険性もあることを忘れてはならない。

### 最後に

新興真菌症原因菌は多菌種に及び、同定が難しい上、薬剤耐性菌が多いことが問題である。培養した菌が白色の綿毛状集落であっても、検査センターなどの同定結果が、見たことも聞いたことも無い菌の名前であっても、皮膚糸状菌と推定することや、環境からの混入と考えるのは早計である。病原菌か非病原菌かを知るには、Centraalbureau voor Schimmelcultures (<http://www.cbs.knaw.nl/>), University of Alberta Microfungus Collection and Herbarium (<http://www.devonian.ualberta.ca/uamh/>) および Dr. Fungus (<http://www.doctorfungus.org/>) などのデータベースで検索することを推奨したい。

本編の執筆にあたり、上田八千代（上田動物病院・東京都）、猪股智夫（麻布大学獣医学部実験動物学）、石川利雄（午久動物病院・千葉県）、高橋俊一（ファミリーアニマルホスピタル高橋動物病院・神奈川県）、植田啓一（美ら海水族館・沖縄県）、播谷久美子（なみき動物病院・千葉県）、榮山信一（秋川どうぶつ病院・東京都）、畑井喜司雄（日本獣医生命科学大学獣医学部魚病学）、杉山和寿（杉山獣医科・静岡県）、森 俊士（森動物病院・千葉県）および千葉大学真菌医学研究センター関係者の諸氏（敬称略）の御協力に心より感謝致します。

#### 引用文献

- Walsh,T.J., Groll,A., Hiemenz,J. et al. (2004) : *Clin. Microbiol. Infect.* 10, Suppl 1, 48-66.
- Pfaller,M.A. & Diekema,D.J. (2004) : *J. Clin. Microbiol.* 42, 4419-4431.
- Nucci,M. & Marr,K.A. (2005) : *Clin. Infect. Dis.* 41, 521-526.
- Murata,Y., Sano,A., Ueda,Y. et al (2007) : *Med. Mycol.* (in press).
- Ozawa,H., Okabayashi,K., Kano,R. et al. (2005) : *Mycopathologia* 160, 159-62.
- Murata,Y., Sano,A., Takeuchi,Y. et al. (2007) : *Jpn. J. Vet. Clin. Pathol.* (in press)
- 植田啓一, 宮原弘和, 佐野文子ほか (2006) : 真菌誌 47, Suppl.1, 79.
- 石川利雄, 佐野文子, 村田佳輝ほか (2005) : 平成 16 年度 (第 29 回) 千葉県獣医学会抄録集 p9.
- Kano,R., Kusuda,M., Nakamura,Y. et al. (2000) : *Vet. Microbiol.* 76, 201-205.
- Nuttal,W., Woodgyer,A. & Butler,S. (1990) : *N. Z. Vet. J.* 38, 123.
- Helms,S.R. & McLeod,C.G. (2000) : *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 217, 1858-1861.
- Kettlewell,P., McGinnis,M.R. & Wilkinson,G.T. (1989) : *J. Med. Vet. Mycol.* 27, 257-264.
- Anor,S., Sturges,B.K., Lafranco,L. et al. (2001) : *J. Vet. Intern. Med.* 15, 257-261.
- Shinwari, M.W., Thomas, A.D. & Orr, J.S. (1985) : *Aust. Vet. J.* 62, 383-384.
- Fondati,A., Gallo,M.G., Romano,E. et al. (2001) : *Vet. Dermatol.* 12, 297-301.
- Beccati,M., Vercelli,A., Peano,A. et al. (2005) : *Vet. Rec.* 157, 93-94.
- Sharmin,S., Haritani,K., Tanaka,R. et al. (2002) : *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 43, 175-180.
- Hirano,M., Watanabe,K., Murakami,M. et al. (2006) : *J. Vet. Med. Sci.* 68, 283-284.
- Tsuji,H., Kano,R., Hirai,A. et al. (2006) : *Vet. Microbiol.* 118, 305-311. Epub 2006 Aug 8.
- Kano,R., Oomae,S., Nakano,Y. et al. (2002) : *J. Clin. Microbiol.* 40, 3535-3537.
- 村田佳輝, 佐野文子, 高山明子ほか (2006) : 真菌誌 47 (増刊), 100.
- Sakaeyama,S., Sano,A., Murata,Y. et al. (2007) : *Med. Mycol.* (in press)
- 杉山和寿, 佐野文子, 西村和子ほか (2006) : 真菌誌 47 (増刊), 98.
- Kano,R., Okayama,T., Hamamoto,M. et al. (2002) : *Med. Mycol.* 40, 435-437.
- Zhang,N., O'Donnell,K., Sutton,D.A. et al. (2006) : *J. Clin. Microbiol.* 44, 2186-2190.
- 村田佳輝, 森 俊士, 佐野文子ほか (2006) : 真菌誌 47 (増刊), 99.

# ペットショップの不適切な対応により飼い主の重症皮膚疾患の原因となった猫の1例

兼島 孝<sup>\*1</sup> 佐野 文子<sup>\*\*2</sup>

## 要約

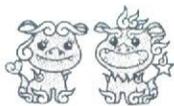
ペットショップ店員が真菌症と診断された子猫を、人へ感染しないと説明し、販売した。その後、飼育者の女兒に皮膚病変が現れ、数件の皮膚科医を受診したが、動物からの感染は疑われず悪化し、ケルスス禿瘡まで発展し、はじめて真菌症と診断された。診断に至るまでに受信した医師からは、動物飼育歴についての質問はなかった。最終的に、動物由来感染症の皮膚糸状菌症と診断した医師から、罹患動物の安楽死を勧められ、当該猫は安楽死のため、当院を受診した。培養により猫は *Microsporium canis* 感染が証明されたため、治療可能と説明し、安楽死を回避した。猫は3か月間の投薬後、真菌陰性となった。現在、ケルスス禿瘡の女兒は治癒し、症例猫と一緒に暮らしている。

## はじめに

平成16年度新興・再興感染症研究事業の「国内の患者症例報告に基づく動物由来感染症の実態把握および今後の患者症例報告収集と検索システムの開発に関する研究」(高山班)によると、人医において感染症を診る機会の多い小児科、皮膚科、内科で共通感染症の経験は全体の25%で、特に皮膚科の医師では52%に経験があると報告されている。しかし、動物飼育歴に関する問診は十分とはいえない。

<sup>\*1</sup>Takashi KANESHIMA: みずほ動物病院 (〒354-0018 富士見市西みずほ台1-21-5)

5月に“琉球動物医療センター”を開院します。沖縄県は国内で唯一、亜熱帯地域に属するので、多くの感染症が存在します。今から楽しみです(笑)。



Ayako SANO: 千葉大学真菌医学研究センター (〒260-8673 千葉市中央区玄倉1-8-1)

かぶり物にはまっていますが、ザボンをかぶっても皮膚糸状菌症は防げません。

さらに、飼い主が共通感染症に対して意識が向いていないと十分な情報が医師へ伝わらない。今回、皮膚疾患を伴ったにもかかわらず、初動で共通感染症でないとして指導され、人の症状が悪化したケースに遭遇したのでその概要を報告する。

## 症例

アビシニアン、雄、8か月齢、体重3.7kg

来院理由: 安楽死

経過: 女兒へのクリスマスプレゼントとして子猫を購入した。購入時(3か月齢)に子猫の額に円形の脱毛皮膚病変があり、ペットショップ併設動物病院にて真菌症と診断され薬用シャンプーと軟膏を処方されていた。また、ペットショップ店員より「人に感染せず、シャンプーと軟膏をぬってれば心配は無い」と説明を受けていた。飼育2か月後(5か月齢)には子猫の皮膚病変は発毛し完治したように見えた(図1a)。飼育3か月頃より女兒の頭部に発赤皮膚病変が出現し、加療中に脱毛部が拡大し、飼育5か月目にケルスス禿瘡に発展した(図1b)。女兒が動物由来の皮膚糸状菌症と診断されたのは数件目の皮膚科を受診したときで、同医師より、猫の安楽死を勧められた。一方、当院を受診した猫は、直接鏡検で、真菌要素を認めたため、その日は培養結果が出るまで、安楽死は保留とした。4日

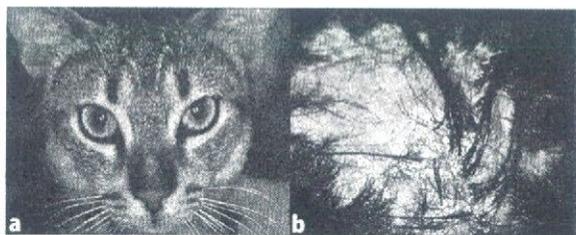


図1 a: 軟膏、抗真菌剤入りシャンプーでの治療にもかかわらず、保菌状態にあった感染源の猫、b: 女兒頭部のケルスス禿瘡