

日本医真菌学会50周年記念シンポジウムの開催に当たって

原 田 敬 之

東京女子医科大学東医療センター皮膚科

日本医真菌学会は昭和31年に創立されましたので、平成18年に創立50年を迎えました。この半世紀の間に本学会を通じて医真菌学ならびに真菌性疾患に関して目覚ましい進歩、発展を遂げて参りました。形態学、免疫学、生化学ならびに生理学の分野で基礎的な知見や技術の向上によるところが大であります。さらに近年では分子生物学的な分野での急速かつ目覚ましい技術的な発展の結果、医真菌学領域においても新しい知見が蓄積されつつあります。医真菌学のこのような半世紀に亘る歴史を顧みて、平成18年10月に開催されました第50回日本医真菌学会総会において渡辺晋一会長（日本医真菌学会理事長）のもとに記念講演など記念行事が行われました。

さて、平成17年の日本医真菌学会総会の理事会（小川秀興理事長）ならびに評議員会において50周年を記念すべきシンポジウムを開催することが承認され、私にその企画を担当するようにとのご指名がありました。私なりに開催日時や企画の内容などを多くの先生方のご意見を頂戴しつつ検討した結果、教育的なシンポジウムを行うことに致しました。これは up-to-date なテーマは毎年開催される総会やその間に各地で開かれる研究会や懇話会などで取り上げられておりますので、今回は全く異なった切り口のシンポジウムに致したいと考えた結果であります。私自身この十数年間日本医真菌学会の教育委員会や将来計画委員会の委員として参画して参りましたが、その間の議論のなかで最近は特に若い先生方のなかで医真菌学や真菌症に興味を持たれる方が以前に比して少ないのではないかという懸念ないし一種の危機感のようなものがあるということでした。以前は大学の教授の中で医真菌学や真菌症を専門としておられた大御所の先生方が各地ごとにおられ、その教室を中心に周囲の先生方に影響を与えておられ、医真菌学に興味を持たれる先生方が数多くおられました。最近はその傾向が薄れて、「真菌は全く不得手」という教室も少なくありません。しかしながら、私の専門領域の皮膚科学を例にとりましても皮膚真菌症は疾患の頻度や治療の面からも重要な疾患群の一つであり、また医療技術の進歩による臓器移植、免疫不全状態患者（immunocompromized host）が漸増することにより日和見真菌感染、内臓真菌症の増加も危惧されております。

私も真菌症に関する講演や簡単な実習を頼まれて行うことがありましたが、その際多くの先生方は大変熱心であり、学会主導で真菌に関する講習会や実習などを行って欲しいというご要望をお聞きすることが少なからずあ

りました。日本医真菌学会へ演題を出したり、参加することは一寸躊躇するが、医真菌学に興味を持っておられる先生方は相当多くおられるということです。

そこで今回は教育シンポジウムを企画致しまして、日本医真菌学会会員のみならず非会員の臨床家、基礎研究者、検査技師の方々など広く対象と致しまして、各領域の専門の先生に初歩的な事項から最新の話までご講演を頂き、医真菌学ないし真菌症に関しまして総じて勉強ないし知識を整理できるような内容に致しました。

当日は9:30~16:50 ランチオンセミナーも間に入り、一日ほとんど缶詰状態でしたが、用意した200名の席に190名を超える参加者があり、熱心に聴講されました。講演後の情報交換会にも多数の先生方が出席され、「一日大変勉強になった」、「久しぶりに授業を受けた感じ」、「知識が整理された」など概ね好評でした。

今回のシンポジウムは1日で全てを網羅しようとしたところもありましたが、今後も学会として会員を拡大する意味でもこの種の企画を機会があるたびに続けて開催すべきあり、またそのニーズも多いという印象を受けました。

最後に講演を頂きました演者の先生方、数々の多大のご援助、ご支援を賜りました関係の皆様方に深甚の感謝を申し上げます。

プログラム

| | |
|-------------------|---------|
| 皮膚糸状菌症（白癬）の臨床面 | 比留間政太郎* |
| 皮膚糸状菌症の臨床と菌学 | |
| — 皮膚糸状菌同定の第一歩 — | 西本勝太郎* |
| 皮膚カンジダ症の臨床面 | 加藤 卓朗* |
| カンジダの菌学 | 西川 朱實* |
| 分子生物学的真菌検査法 | 望月 隆* |
| 簡便な真菌検査法 | 藤広満智子* |
| 癜風菌関連疾患の臨床面 | 清 佳浩** |
| マラセチアの菌学 | 杉田 隆** |
| 内臓真菌症 | 前崎 繁文** |
| 真菌症の病理 | 渋谷 和俊** |
| ノカルジア症、放線菌症 | 三上 襄** |
| スポロトリコーシスと黒色真菌感染症 | 仲 弥** |

※「日本医真菌学会50周年記念シンポジウム」講演の記録は日本医真菌学会雑誌第48巻3号(*)及び4号(**)に分けて掲載いたします。

教育シンポジウム 1

皮膚糸状菌症 (白癬) の臨床面

比留間 政太郎

順天堂大学医学部附属練馬病院皮膚・アレルギー科

I. はじめに

皮膚糸状菌症 (広義の白癬) の臨床像は、それを取り巻く生活環境の変化, 研究, 治療の進歩などにより修飾を受け変化している。最近のトピックスは, 1. 足白癬・爪白癬の世界中で大規模な疫学調査が行われ, その罹患率が足白癬 (25%)・爪白癬 (13%) と極めて高率であることが判明し, その患者背景を含めた危険因子が研究されるようになってきたこと, 2. わが国では2001年頃より柔道・レスリングなどの格闘技選手の間で *Trichophyton tonsurans* 感染症が急激に蔓延しつつあり, この菌は, 感染力が強く, 一旦感染すると治り難い点で, 従来の白癬の考え方を変える必要があること, 3. ペットブームに伴い, *T. mentagrophytes* の変種による白癬が日本においても拡大していること, 4. 分子生物学の進歩で, 原因菌の同定が, 形態的特徴に頼らず, 塩基配列で決められるようになったこと, 5. 新しい抗真菌剤が開発され, 皮膚における薬物動態が明らかにされ, 治療方法が変化したことなどである。皮膚科医は, 皮膚真菌症を的確に臨床診断し, 真菌検査によって診断を確定, 適切な治療が出来る唯一の専門医である。

II. 皮膚糸状菌症の定義

皮膚糸状菌は, 30種以上の菌種よりなるケラチン好性真菌であり, 動物の角質層・毛・爪などに寄生し, 皮膚糸状菌症を生じる。皮膚糸状菌は白癬菌, 小孢子菌, 表皮菌の3菌属 (無性世代の分類) に分けられ, また, 主たる宿主, 生息環境によって, 土壌好性菌, 動物好性菌, ヒト好性菌の3群に分類され, 感染経路, 治療対策, 予防・予後などを考える上で重要である (表1)。また, 近年有性世代の発見により, 菌名が変わりつつある (表2)。臨床面では, 従来通りの無性世代の分類名を用いることが多い。

皮膚糸状菌症の臨床像は, 菌種, 病変部位, 宿主の免疫状態などに影響され, 一つの疾患が一つの白癬菌によって起こされるのではなく, 数種の菌種が一つの疾患の原因となる。従って臨床像は原因菌によって, 微妙に異なるため, 珍しい菌による場合は誤診されることが多い。その病型の分類法もさまざまであるが, 今日では, 本症の病態と治療を考えるうえで大切な病変の発生部位に従って分類するのが一般的である。

表1 皮膚糸状菌の生態学からみた分類

| | |
|-------|---|
| 土壌好性菌 | <i>Microsporum gypseum</i> , <i>M. cookei</i> , <i>M. nanum</i> |
| 動物好性菌 | <i>M. canis</i> , <i>Trichophyton verrucosum</i> <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i> |
| ヒト好性菌 | <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i> <i>T. tonsurans</i> , <i>T. violaceum</i> , <i>M. audouinii</i> <i>Epidermophyton floccosum</i> |

表2 白癬菌の無性世代と有性世代の関係

| | |
|------------------------------------|---------------------------|
| <i>Microsporum canis</i> | <i>Arthroderma otae</i> |
| <i>M. gypseum</i> | <i>A. incurvatum</i> |
| <i>M. gypseum</i> | <i>A. gypseum</i> |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | <i>A. benhamiae</i> |
| <i>T. mentagrophytes</i> | <i>A. vanbreuseghemii</i> |

III. 皮膚糸状菌症の診断

真菌は感染しても, ウイルス, 細菌と異なり強い症状を起こすことが少なく, 症状は他の皮膚疾患に極めて類似する。従って非専門医による誤診が多く, 診断には真菌顕微鏡検査で, 病巢中に菌を証明し, 培養による菌の確定が必要である。まず, 診断で大切なことは, 真菌症を疑ってみることで, 次に直接鏡検によって菌を証明することである。その理由として, 1. 真菌症に類似の症状を呈する他の皮膚疾患が多く診ただけでは鑑別できないこと, 2. *T. tonsurans* による体部白癬は初期は小型で湿疹との鑑別が難しく, 頭部白癬は Black dot ringworm を呈することが多く, その黒点は小さく見逃され易いこと, 3. めずらしい菌種による白癬は, 臨床像も定型的でなく誤診しやすいこと, 4. 外用ステロイド剤の誤用で非定型的な症状を呈する例が増えていること, 5. 足白癬などでは細菌感染や接触皮膚炎を併発しやすいことなどである。真菌培養によって原因菌の分離・同定を行なうと, おおよその臨床的特徴や治療経過を把握することができる。分子生物学の進歩した今日でも, 直接鏡検と培養は, Golden standard である。皮膚科医は真菌検査に精通する必要がある。

IV. 真菌検査の実際

皮膚真菌学は, 臨床と真菌検査の切り離せない2つの領域からなっており, 伝統的に皮膚真菌症の臨床トレー

ニングは、皮膚科学の一部として行われてきた。従って皮膚科外来診療部門では、顕微鏡検査、培養フラン器、培地作りのための滅菌器などを置くための真菌検査スペースが必要である。具体的には、KOH法による顕微鏡検査、ウッド灯検査、真菌培養による原因菌の分離、特殊培地による菌の生物学的同定、分子生物学的同定（菌種の確定）、最小発育阻止濃度の測定（有効薬剤の同定）、皮膚生検と病理学的診断などである。

更には、十分な外来診察設備と皮膚真菌症に詳しい専門スタッフ、難治性爪真菌症の爪研磨などを行う診療スペースの確保、汎発性白癬、深在性真菌症の入院治療に伴う専門看護師と病室、真菌検査室の完備、医真菌学に造詣の深い皮膚科医、微生物学者の育成である。全ての病院がこの様な施設をそろえることは不可能であるが、狭い診療スペースを活用して、真菌症に備える心構えが大切である。実際の個々の菌の同定については、教科書を参考に行い、難しい場合は真菌学者に依頼する。皮膚科医の役割は、臨床像、検鏡所見より、分離する前に、原因菌をある程度推定できるようになることである。

V. 皮膚糸状菌症の病型と治療

皮膚糸状菌症の病型分類は、前述のように菌が寄生している部位（角質層・毛・爪）に寄って分類するのが、病態と治療を考える上で便利であり、一般的である。

1. 頭部白癬・白癬性毛瘡

白癬菌が毛髪、須毛、陰毛などの硬毛に寄生して生ずる。従って毛に寄生していることを顕微鏡で証明する必要がある。頭部白癬は、頭部浅在性白癬、Black dot

表3 頭部白癬 (Tinea capitis)

| | |
|-----|--|
| 定義 | 頭の白癬で、頭毛に寄生する |
| 原因菌 | <i>M. canis</i> , <i>T. tonsurans</i> , <i>T. rubrum</i> <i>T. verrucosum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i> |
| 病因 | 1. 菌は頭毛に付着しやすい 2. 外傷 3. 炎症の強い場合は、自然軽快する 4. 頭毛への寄生形態 <i>Microsporium</i> 型：毛外小孢子菌性寄生 <i>M. canis</i> , <i>M. ferrugineum</i> , Wood 灯陽性 <i>M. gypseum</i> は、孢子大きい、Wood 灯時に陽性 <i>Trichophyton</i> 型：毛内大孢子菌寄生、Wood 灯陰性 <i>T. verrucosum</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>T. violaceum</i> <i>T. tonsurans</i> , <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i> |
| 臨床像 | 1. 頭毛への寄生形態の違い 2. 宿主の炎症反応の強弱 |
| | 1. 頭部浅在性白癬 <i>M. canis</i> , <i>T. verrucosum</i> , <i>M. ferrugineum</i> 2. Black dot ringworm <i>T. violaceum</i> , <i>T. tonsurans</i> , <i>T. rubrum</i> 3. ケルスス禿瘡 <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>T. verrucosum</i> |

ringworm, ケルスス禿瘡の3型に分類される(表3)。白癬性毛瘡は、須毛部に生じたケルスス禿瘡と考えて良い。原因菌は、*Microsporium canis* (猫からの感染)、*M. gypseum* (土壌から)、*T. tonsurans* (柔道選手など)、*T. rubrum* (高齢の女性) などがある。

頭部白癬、白癬性毛瘡では、菌が毛包内深くの毛髪に寄生するので、経口抗真菌剤を使用する必要がある。外用剤は病巣を却ってこじらせることが多いので使用せず、良く洗髪するように指導する。

経口抗真菌薬の使用法は、治療期間は毛髪が毛包より排出される2-3カ月が目安であり、ヘアブラシ培養法を経時的に行い治癒判定に用いる。ケルスス禿瘡のように、炎症症状の強い病型では自然治癒もあり得るので、抗真菌薬は少量で良いようである。一方 Black dot ringworm では、自然治癒は無く治療期間は長くなる。2薬剤とも小児への安全性は確立されていないので、副作用には注意する。白癬性毛瘡も頭部白癬の治療に準ずる。

2. 生毛部白癬 (体部白癬, 股部白癬)

体部白癬は、頭部白癬と同様に比較的多種の菌が分離され、それに伴い当然多彩な臨床像を呈する。従って白癬のトレーニングには、最も大切な病型である。臨床写真を撮り、検鏡所見の顕微鏡写真を撮影し、培養をする。原因菌第1位は *T. rubrum* で、*T. mentagrophytes*, *M. canis*, *T. tonsurans*, *M. gypseum* などがある(表4, 5)。

生毛部白癬の治療では、角質細胞の脱落に要する時間(約2週間)を目安として、その3-4倍の期間外用させる。この病型の治療は、普通、外用療法で十分であるが、1) 病巣部位が広範囲である場合、2) 再発性である場合、3) *M. gypseum*, *T. verrucosum*, *T. tonsurans* による生毛部白癬の様に早期から菌が毛包内に侵入し、膿疱や小膿瘍を形成している場合、4) ステロイド剤誤用などに基ずく異型白癬、5) 免疫不全を伴う合併症を有する例などでは、経口剤を併用したほうがよい。

表4 体部白癬 (Tinea corporis)

| | |
|-----|---|
| 定義 | 頭, 手, 足, 股を除く生毛部の白癬 |
| 原因菌 | 全ての白癬菌 (多種類の菌が分離される) |
| 病因 | 1. 子供の <i>T. rubrum</i> による体部白癬は、親からの感染 2. 動物好性菌から 3. 土壌好性菌から |
| 臨床像 | 1. 自家接種でなければ、露出部に生ずる 2. 小水疱, 丘疹が環状に配列し、中心が治癒する 3. まれに毛包内に侵入 4. 大きな水疱形成もある 5. 異型白癬 (顔面に多い) 6. 特殊型 a. 環状多発: <i>M. canis</i> b. 露出部位に強い炎症 <i>T. verrucosum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i> c. 臀部, 背中, 広範囲: <i>T. rubrum</i> |

表5 股部白癬 (Tinea cruris)

| | |
|-----|--|
| 定義 | 陰股部の白癬 |
| 原因菌 | <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>E. floccosum</i> |
| 病因 | 高温, 多湿, 男に多い 足白癬から, タオル, スポーツ着共用 |
| 臨床像 | 1. 鼠径部より始まる 2. 臀部, 陰茎, 陰囊へ拡大 3. <i>E. floccosum</i> は, 炎症が少ない 4. <i>T. mentagrophytes</i> では, 小水疱形成あり |

3. 足白癬, 手白癬

菌が掌蹠の厚い角質層に寄生した場合をいう。従って足背部, 手背部に生じた場合は, 体部白癬と診断する。足白癬は趾間型, 小水疱型, 角質増殖型に分類される(表6), 原因菌は, *T. rubrum* (角化傾向あり), *T. mentagrophytes* (小水疱型が多い) が殆どを占める。手白癬は, 比較的まれで, 湿疹と誤診されていることが多い(表7)。

手掌, 足底の白癬は, 一旦感染すると早期発見例を除くと難治であり, 緩急織りまぜて様々な症状を呈する。急性期では, ①湿潤が激しい, ②細菌感染を併発している, ③接触皮膚炎を併発していることなどがあり, この場合は, 皮膚症状に応じた軟膏療法が必要である。治療期間は, 軽症例や発病後間もない例では1-2カ月で良いと思われるが, 多くの通常の足白癬では足底部の角質層は厚く, その turnover time は約3ヵ月といわれるから, 3ヶ月を最短の目安とする。角質増殖型足白癬は, 外用剤単独では難治で, 角質軟化剤, 内用剤の併用が必要

表6 足白癬 (Tinea pedis)

| | |
|-----|---|
| 定義 | 趾間, 足蹠の白癬 |
| 原因菌 | <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>E. floccosum</i> |
| 病因 | 靴など |
| 臨床像 | 1. 趾間型 2. 小水疱型 3. 角化型 |

表7 手白癬 (Tinea manuum)

| | |
|-----|---|
| 定義 | 手掌・手指の白癬 (手背は含まず) |
| 原因菌 | 足と同じでヒト好性菌, <i>T. rubrum</i> |
| 病因 | 殆ど足白癬から 指輪, 腕時計, 手指の変形 末梢循環不全, 掌蹠角化症 |
| 臨床像 | 1. 片側性 2. 手掌のビマン性角化 3. 手掌の皮溝の角化 4. 手背は, 動物好性菌 5. 見逃されていることが多い |

である。期間は3-4カ月を1単位として真菌検査を行い治療期間の参考とする。1-3年間の外用継続が必要なことが多い。

最近の疫学調査によると, 足白癬は, 全人口の4分の1を占めることが明らかにされ, その治療の大切さが再認識されている。足白癬の重症度基準の評価法を作成し, それに準じた治療ガイドラインが作られることが望ましい。野口らは, 重症度基準の一例として足白癬を病期として早期 (趾間の落屑, 土踏まずの小水疱), 中期 (趾間の浸軟, 軽度の角化), 晩期 (中等度以上の角化, 爪白癬の合併) の3段階, 病変の広がりとして, 限局 (片側の趾間または土踏まずの一部), 中間 (片側の足のみ), 広範囲 (両足) の3段階に分類し, 組み合わせて6段階に分類している。1, 2までは外用で十分, 3, 4は短期の経口剤の併用, 5, 6では, 十分な経口剤の併用が望ましいと考えている。

4. 爪白癬

趾爪白癬は足白癬からの連続性感染, 指爪白癬は足白癬や生毛部白癬の搔破による自家接種性感染によって起こる。爪白癬の臨床的特徴である爪の肥厚・混濁・脆弱化は, 菌の感染により生じる爪甲下の角質増殖によるものである。原因菌は, 殆どが *T. rubrum* であるが, 培養成績が悪く陰性例が多いので不明な例が多く今後の問題である(表8)。

爪への菌の侵入経路は足白癬からであるので, 外用治療で十分に足白癬を治療しておくことが原則である。治療期間については, 病爪が新しい爪に置き換わる必要があり, 手の爪で4-6カ月, 足の爪では12-18カ月が目安である。グリセオフルピンの時代には, このように長い期間, 継続的に薬を内服し続けたのであるが, イトラコナゾール, テルビナフィンなどの新しい抗真菌剤による治療では, 間歇投与, パルス投与, 短期投与などが考案され, 初期にある程度の期間 (4-5カ月間), 薬剤を爪内に沈着させ, その後は投薬を中止して爪の改善を観察する治療法が行われている。

最近, 爪真菌症の臨床評価基準 (Scoring Clinical Index for Onychomycosis: SCIO) の試みが報告され

表8 爪白癬 (Tinea unguium)

| | |
|-----|--|
| 定義 | 爪甲の白癬 |
| 原因菌 | <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> |
| 病因 | 1. 手・足白癬に合併 2. 爪周囲より菌が爪甲下へ侵入 3. 爪甲下角質増殖 4. 循環不全, 爪外傷, 加齢 |
| 臨床像 | 爪の混濁・肥厚・変形・崩壊 1. distal-lateral subungual onychomycosis 2. superficial white onychomycosis 3. proximal subungual onychomycosis 4. total dystrophic onychomycosis |
| 管理 | 足白癬を早期に治療 |

た。SCIOは、爪真菌症の重症度を病型、病爪の深さ、厚さなどの臨床因子と、爪の伸長速度をもとにスコア化したもので、1～30点まで分類することができ、各スコアに該当する治療ガイドラインが提案されている。この評価基準は治療法の選択に役立ち、治療期間の決定の目安となり、治癒の評価を正しく行うことに役立つ。今後より良い基準が作られることが望ましい。

5. 深在性白癬

白癬菌が真皮内、皮下組織内、内臓に寄生して生じる。わが国では、これまでに約60例の報告がみられるのみでまれである。トリコフィチン反応は一般に陰性で、全身的な基礎疾患がある場合が多い。原因菌は、ほとんどが *T. rubrum* である。病型は、白癬性肉芽腫、下腿結節性肉芽腫性毛包炎、白癬性膿瘍、白癬性菌腫などがある。治療は、何らかの基礎疾患がある例では予後は不良である。イトラコナゾール、テルピナフィンが有効である。深在性白癬の膿腫または膿瘍型では薬物治療に反応しない可能性もあるので、外科的治療も考慮する必要がある。

VI. 治療薬の特徴

治療は、白癬の病型・病態また個々の症例によっても治療方針は異なる。治療薬剤の特徴を考慮して決定する。治療期間は、表皮、毛、爪のターンオーバーの期間を考慮して決める。

1. 外用抗真菌薬

基剤には、液剤、軟膏剤、クリーム剤、ゲル剤などがあるが、クリーム剤は、薬ののびがよい、角質層への浸透性がよいなどの理由により、無難であり多用されている。主剤の種類は、1. チオカルバメート系、2. イミダゾール系、3. アリルアミン系、4. モルフォリン系の4系統に大別出来る。このうちイミダゾール系とモルフォリン系は、白癬・カンジダ症・癬癩の3者に効果を認めるが、他の系統の薬物は3者全部に有効とは限らない。外用方法は、1日1回薄く単純塗布するだけで良い。その

他、1) 入浴時患部を石鹸でよく洗うこと、2) 患部より少なくとも2.5 cm以上広めに薬を塗擦すること、3) 患部が高温多湿にならぬようにし、乾燥させること、などを指示する。その他の生活指導を与える。

2. 経口抗真菌薬

- a. グリセオフルビン：昔は白癬の唯一の治療薬であったが、作用は静菌的であり、胃腸障害、頭痛、肝障害、光線過敏型薬疹などの副作用が多く現在では殆ど使用されていない。
- b. イトラコナゾール：本剤は、脂溶性で、消化管からの吸収が悪いので食直後に内服する。脂肪組織、皮膚、爪、粘膜に高濃度に分布し、排泄は、皮脂、胆道経由で行われる。抗真菌スペクトルは広域で、ほとんど全ての病原真菌に有効である。副作用は少なく、時に消化器症状がみられる。肝機能検査は定期的に行う必要がある。併用禁忌薬剤が多数ある。
- c. テルピナフィン：本剤は殺真菌作用が強いが、抗真菌スペクトルは狭く、白癬菌が主である。本剤は、経口投与により良好に吸収され、血行、皮脂を介して角層内へ移行する。排泄は、皮脂、胆道経由で行われる。副作用は、まれであるが、胃腸障害、薬疹、味覚障害がある。定期的な血算、肝機能検査は必要である。トリアゾール系薬剤とは異なり、併用禁忌薬剤は少ない。

VII. 生活指導

白癬の感染経路はヒト、動物（猫、犬、牛）、土壌からの直接接種感染のほかに、菌を含む病的材料（鱗屑、毛）が付着するスリッパ、浴場の足拭きマット、畳、脱衣棚などを介しての間接感染が想定される。生活指導に当たっては、患部を清潔に保ち、高温多湿を避け、同僚、家族内に白癬患者がいる場合には同時に全員が治療を行う。感染源として可能性が高い共用するスリッパ、サンダル、浴場の足拭きマットを頻回に取り替え滅菌（日光、熱湯）する。特に *T. tonsurans* 感染症では厳格な対策が必要である。*M. canis* 感染症では、飼育しているネコ、イヌが居る場合は、診察・治療を行う。

教育シンポジウム 2

皮膚糸状菌症の臨床と菌学

—皮膚糸状菌同定の第一歩—

西本 勝太郎

日本海員救済会会長崎病院

I. はじめに

皮膚糸状菌（以下白癬菌）は、角層内における寄生形態の単純さに比べ、培養では形態的に大きな差異を示す一群の真菌からなっており、他の比較的に肉眼的形態の似通った菌、たとえばアスペルギルス属や、生物学的性状に依存することの多い酵母の同定とは、異なるとらえ方が要求される。また一方では原因菌の分離と同定を行う前に、その病変の性状から推定される原因菌種に絞って、検索を進めることができるという特徴も持っている。つまり難しさと楽しさが同居しているのである。

皮膚真菌症の菌学的な検索の第一の目的は、その病変の原因となった真菌を分離・確認し、同定することにある。

皮膚糸状菌症（以下、病名としての白癬を用いる）において、原因菌の種までの同定が求められるのは、1) 珍しい症例の検索時、2) 疫学的調査、3) 難治例あるいは爪真菌症などで、原因菌の薬剤に対する感受性が必要とされる場合、4) 感染源の検索、などがある。すなわち培養と同定のレベルはこの目的に合うものでなければならない。最近では分子生物学的な手技の導入によって、従来の種（species）までの同定に加えて、遺伝子型による種以下のレベルの検索まで可能となった。

同定の第一歩は、純培養の真菌をえることから始まる。臨床的な病型の特徴や、あるいは露出部の炎症性白癬などから推定される感染源によって目的とする菌種を絞り込み、場合によっては分離用の培地を選ぶことも考える。生えてきた菌の中から形態的な特徴にもとづいてコロニーを拾い上げ、純培養とする。

真菌の「分類学」と「同定法」は別物である。同定とは、分類とは無関係にその真菌の特徴を捉えることとも云える。皮膚糸状菌についてもこれは当てはまる。近年分子生物学的な手技が急速に取り入れられ、菌種の同定に際してもその有用性が確認されたとはいえ、肉眼的・顕微鏡的形態の特徴をキイとした菌種の同定はまだ基本的な手技として残る。皮膚糸状菌の特徴として、コロニーの形態が綿毛状から湿潤性に近いものまで幅広く、また顕微鏡形態についても、大分生子、小分生子など菌種の特徴となる器官の産生能が、菌種によって極端に異なることがあげられる。また *Trichophyton rubrum* などは

菌種内の変異が大きい。

本セミナーにおいては、以下に述べるカセイカリ鏡検所見や培地・培養法の実際、皮膚糸状菌のいくつかの菌種について成書に記載されているその形態的な特徴を他菌種との比較においてまとめ、同定法のポイントとして供覧する。個々の手技や培地の詳細については成書を参照されたい。

II. 臨床症状と苛性カリ標本所見

白癬の診断は、一般に臨床症状と、それを裏付けるカセイカリ鏡検所見によってなされる。もし治療だけを目的とした場合、白癬の診断はカセイカリ鏡検までで十分であり、培養による原因真菌の確認は必ずしも要しない。カセイカリ鏡検の有用性はこれのみでなく、その寄生形態によって目的とする菌種を絞ることができ、寄生形態と、培養によってえられた皮膚糸状菌種との間に矛盾がないことも正確な同定のために必要である。たとえば皮膚糸状菌については、

- 菌体が黒色真菌症におけるように、淡褐色などに着色されることはない
- カンジダ症に見られるように、出芽型の孢子産生、すなわち酵母型を取ることはない。また癬風に見られる meat ball and spaghetti 型となることもない
- 非白癬性爪真菌症においてときに見られる巾の極端に広い、不規則な外壁を持つ菌糸を作ることもないなどがあげられる。

III. カセイカリ標本・培養のための試料の採取

菌学的に正しい検索結果を得るためには、まず適切な病変部位から試料を採取することが求められる。

- 頭部白癬：毛髪が取ればもつとも良い。病毛はピンセットなどで容易に抜ける。逆に抜けにくい毛は真菌感染の可能性が低い。毛髪が取れないときには鱗屑ということになるが、もし鱗屑や鱗屑痂の中に毛髪が含まれていれば、そのカセイカリ標本における寄生形態は重要な情報となる。
- 体部白癬・股部白癬：病巣の周辺部の鱗屑あるいは小水疱の疱膜。ピンセットあるいは鈍い刃のメスで鱗屑をこそぎ取る。
- 足白癬：よく間違われるが、湿った皮膚表面部には白癬菌要素はむしろ少ない。この場合も病巣周辺の鱗屑

をピンセットなどではがし取る。角化型足白癬など厚く硬い角層は爪切りを使うこともある。

d) 爪白癬：混濁した爪甲すべてが対象となるが、先端部(遊離端)は菌が枯死していることが多く、また汚染菌の混入も多い。培養の場合、なるべく基部(爪母寄り)の病変部、あるいは正常な部位との境界近くをとる。

e) 感染源検索のためのペットや被髪頭部からの真菌の分離には、滅菌したプラスチックのヘアブラシで被検部位を10回ほど強めに摩擦し、そのままペトリ皿の培地表面におしつける。

IV. 臨床症状からの原因菌種の絞り込み

わが国の皮膚糸状菌相は比較的単調である。生えてきたコロニーの中から原因菌種と思われるものを見分ける以前に、病型によってあらかじめ分離されることが期待される菌種を絞り込むことができる。

表1に、どのような菌が、どのような白癬の原因菌となるのかを病型別にまとめた。菌種数としては10種以下であり、このようにごく少数の菌について知ることによって、原因菌種の分離と同定が容易になることが理解できる。

V. 培地の選び方

原因菌の分離のための培地と、同定用の培地に大別される。後者は分生子(無性的に産生される孢子)や色素産生など、菌種の特徴を確認することを目的としている。

a) 分離用培地：抗生物質(cycloheximideとchloramphenicol)添加サブロー・デキストロース寒天培地(Sabouraud dextrose agar)がもっとも広く用いられており、牛からの感染が疑われる *Trichophyton verrucosum* による病変が疑われるとき(サイアミンとイノシトールを添加した培地が必要)以外はこれで十分である。ペトリ皿による平板、あるいは試験管での斜面培地として用

いる。いずれも市販品がある。平板培地は接種面積が広く、多くの試料を処理できるが、開口部が広いと乾燥も早く、また汚染の危険が高くなる。スクリーキャップの試験管培地では、栓が密封されないように注意が必要である。白癬菌を対象とした選択培地も市販されているが、これはあくまで便宜的なものと考えべきである。

b) 同定用培地：コーンミール・デキストロース寒天培地が広く用いられる。

VI. 病原菌の選択・分離・純粋培養

病変部から採取した試料は通常一部をカセイカリ鏡検へ、他を培養に回す。試料はなるべく培地面に埋め込むように接種する。室温で培養、1週間目位から菌の発育が見られる。皮膚はつねに外界に曝されているため、そこからえられた試料の培養に際しては、偶然そこに付着していた細菌や真菌も同時に生育してくる。これらの中から病原となった菌種を選び、確認することになるが、これには経験も必要であり、単純に機械的には判定できない。通常、培地表面上でもっともコロニー数が多いもの(分離培地の表面上に生育したコロニーの数が少ないとき)となるが必ずしもそうでない場合もある。まず白癬菌の性状に合わないコロニーを除外し、その上で残ったコロニーの中から、経験にもとづいて白癬菌に一致する菌株を拾い上げ、新しい培地に移して培養する。

VII. 皮膚糸状菌コロニー形態の観察と同定

純培養となった菌株は、試験管のまま、あるいは平板培地で巨大培養として肉眼的な所見を確認し、さらにスライド培養をおこなって顕微鏡の形態を観察する。ときにはコーンミール培地による色素産生、ビタミン添加による発育促進、毛髪穿孔試験なども参考することもある。以下に個々の菌種について、同定に際してのポイントを上げる。

表1 わが国における病型別のおもな原因菌種

| | |
|------|--|
| 頭部白癬 | <i>Trichophyton tonsurans</i> (endothrix), <i>Microsporum canis</i> (microsporia) <i>T. violaceum</i> (endothrix), <i>T. verrucosum</i> (ectothrix) ()内は毛髪における菌寄生形態 |
| 体部白癬 | <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>T. tonsurans</i> , <i>M. canis</i> |
| 股部白癬 | <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> |
| 足白癬 | <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>E. floccosum</i> |
| 爪白癬 | <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> |

表2 形態による白癬菌の特徴

| 菌学的性状 | 白癬菌には見られない性状 |
|-----------|--|
| 発育速度 | 極端に速い伸長 |
| コロニー表面の色調 | 緑, 青, 黒 |
| コロニーの性状 | クリーム状, 泥状, (酵母様) |
| 顕微鏡所見 | 極端に幅広い, あるいは不規則な菌糸, 褐色の菌糸 出芽, annelide, phyalide などの存在, 着色した分生子 |

1) *Trichophyton rubrum* (Castellani) Sabouraud 1911

わが国の白癬病原菌として最も重要な菌種。分離頻度は最も高く、すべての白癬病型を作る。形態的に変異の多い菌である。コロニーの発育はやや遅く、平坦か中央部がわずかに盛りあがることが多い。ときに複雑なしわをつくる。表面は粉末状-ビロード状-綿毛状で多くは白色であるがときに赤-紫の色調を持つ。裏面は赤色となることが多いがときに色素産生の乏しい株もあり、コーンミール・デキストロース培地、ポテトデキストロース培地での色素産生を確認する。顕微鏡的な観察では *T. rubrum* は孢子（分生子）産生の乏しい菌が多い。小分生子はゴマ状で、菌糸の側壁に列ぶ。大分生子は小型で腸詰状ないし棍棒状。

2) *Trichophyton mentagrophytes* (Robin) Blanchard 1896

ヒトの足白癬から分離されることが多いのは *Trichophyton interdigitales* と呼ばれる、発育が速く平坦な黄白色円板状のコロニーを作るグループである。一方小動物をおもな宿主とし、ヒトでは炎症性の体部白癬の原因菌となるのは狭義の *T. mentagrophytes*, *T. granulosum-asteroides* と呼ばれる菌で、表面は顆粒状に近く、辺縁は鋸歯状となる。顕微鏡的にはいずれも球状から洋なし型の小分生子、棍棒状の大分生子、螺旋状の菌糸などを共通とする。適当な条件下での交配で有性世代が見いだされることもあり、これらは子囊菌の *Arthroderma benhamiae* または *A. vanbreuseghemii* に分類される。

3) *Trichophyton tonsurans* Malmsten 1845

格闘競技者間における流行が話題となっているが、今後はその周辺への拡大も懸念される。変異の多い菌とされているが、現在わが国で分離されるのは発育の比較的速い平坦なコロニーを作る、表面の色調が茶褐色か淡褐黄色の菌である。表面はビロード状から短毛、後に中央部にシワや凹凸を作ることもある。

ビタミンB1添加で発育が促進される。顕微鏡的には細長い小分生子が特徴であり、マッチ棒状と形容される小分生子の基部の短い菌糸がラクトフェノール青に染まらずに残ることもある。ときに大分生子や螺旋状の菌糸をつくる。

4) *Trichophyton violaceum* Sabouraud apud Bodin 1910

および *Trichophyton glabrum* Sabouraud 1910

両菌種はコロニーの色調の相違で区別するが、同一種とされることが多い。かつてのわが国における頭部白癬の代表的な原因菌種であり、今でもときに分離される。発育は遅く、蠟様からごく短い菌糸を持つもりあがったコロニーを作る。*Trichophyton violaceum* は赤紫色、*T. glabrum* 帯褐黄白色。顕微鏡的には不規則に曲がりなが

らのびる菌糸と大型の介在性孢子がみられる。

5) *Trichophyton verrucosum* Bodin 1902

本来は牛の白癬菌。この菌によるヒトの白癬は牛からの感染による。病変部からの分離に際しては、サイアミンとイノシトール添加サブロー培地を用いなければならない。発育の遅い、淡灰黄白色、しわの多いコロニーを作る。顕微鏡的には大型の孢子の連鎖が特徴的である。

6) *Microsporum canis* Bodin 1902

発育は速く、淡黄色の平坦なコロニー。顕微鏡的には8-10個の細胞からなる大分生子をつくる。大分生子の表面には微細な棘状の突起が多数見られる。

7) *Microsporum gypsum* (Bodin) Guiart et Grigorakis 1928

発育は速く、平坦な荒い粉末状、淡黄から淡褐黄白色のコロニーを作る。顕微鏡的には、6-7個の細胞からなる大分生子が特徴である。大分生子の表面には棘状の小突起を持つ。

8) *Epidermophyton floccosum* (Harz) Langeron et Milochévitch 1930

発育は中程度。淡黄色、短毛の平板あるいは不規則にもりあがったコロニーとなる。白色綿毛状の変異を生じやすい。顕微鏡的には5-6細胞性の分生子が豊富に見られる。小分生子を作らない。

VIII. 同定を始める前に

真菌の同定とは、既知の菌種の中から、分離された菌に相当する菌種を選び出す作業でもある。皮膚糸状菌のように、形態に基礎をおいた判断が求められることの多い分野では、経験がものをいうことがしばしばである。あらかじめ実際の菌種を見ておくことで、一挙に解決できる部分が多い。

今回の講習においては、基本的な手技の解説と、できるだけ標本等の準備をしたがやはり限度がある。実際に同定を始めようという場合、いくつかの施設で開催されるセミナーのような機会を利用して、まず実際に菌を見ることが早道である。同時に病変からの真菌の分離に関する基本的な手技を身につけることもできる。

次にまず実際に経験する症例について、カセイカリ鏡検と培養を並行して行ってみることである。えられた菌株についての病原性の判断など、迷う場合がしばしば出て来るであろう。それらについての疑問を一つ一つ解決していくことで経験を積むことになる。このような場合に対応する施設の数に限られているのが現状であるが、その様な場合の菌株の保存や送り方などについても触れる。

教育シンポジウム 3

皮膚カンジダ症の臨床面

加藤 卓朗

済生会川口総合病院皮膚科

I はじめに

皮膚カンジダ症（口腔カンジダ症も含む）は日本医真菌学会が行っている疫学調査では全皮膚真菌症の約8%を占め、白癬についで多い。今回は臨床面を中心に、基本的なことを解説するとともに、演者らが行った舌の真菌検査と味覚障害の研究結果を示す。

II 発症・悪化因子

皮膚と粘膜のカンジダ症の主要原因菌である *Candida albicans* は粘膜の常在菌であり、病原性は弱く、特殊の条件が重なると菌の増殖や形態変化を生じて発病する。

本症の発症・悪化因子として、①基礎疾患、治療（薬、放射線）、高齢、妊娠などによる全身的防御能の低下、②ステロイド剤外用、先行する皮膚病変、糖尿病患者の血糖コントロール不良などによる皮膚と粘膜の防御能の低下、および③局所因子をあげることができる。

局所因子を①発症部位が間擦部である、あるいは肥満、拘縮、絆創膏貼布などによって密封状態であるなどの物理・解剖学的な問題、②夏季、高温、多湿とそれに基づく多汗などの環境因子、③寝たきりや身体的ハンディなどに伴う不適切なスキンケアや不潔などの医療・看護因子に分けることができる。しかし一つの原因で発症・悪化することより複数の因子が関係することの方が多。

III 診 断

皮膚カンジダ症の診断は、病変部から採取した検体の直接鏡検で菌要素（仮性菌糸と孢子）を認めることで確定する。常在菌のため培養陽性は診断根拠にならない。

IV 特徴的な臨床所見

白癬と対比したカンジダ症の臨床的特徴は、①膜様鱗屑を伴う小膿疱、小水疱、それが破れた小びらんが多発する紅斑、②境界はあまり鮮明ではなく、周囲にも小膿疱が多発する、③中心治癒傾向はみられないなどである。

V 病型分類

病型の分類方法は複数あるが、今回は次のように分けた。なお本学会の2002年次皮膚真菌症疫学調査による頻度を記入する。①カンジダ性間擦疹（45.7%）、②乳児寄生菌性紅斑（乳児カンジダ症）（13.4%）、③カンジダ性指（趾）間びらん（13.6%）、④カンジダ性爪囲・爪炎

（7.5%）、⑤爪カンジダ症（3.8%）、⑥口腔カンジダ症（4.7%）、⑦外陰・膣カンジダ症（4.7%）、⑧慢性皮膚粘膜カンジダ症、⑨その他の浅在性カンジダ症、および⑩深在性皮膚カンジダ症である。

1) カンジダ性間擦疹

小児を除いた間擦部に生じるカンジダ症で、高齢者に多く、皮膚カンジダ症の中で最も多い病型である。好発部位は鼠径部から陰囊、肛囲、腋窩、頸部などの間擦部で、白癬と異なり、陰囊にも病変を生じやすい特徴がある。症状はカンジダ症に特徴的な中心治癒傾向のない紅斑で、紅斑上や周囲に小膿疱が多発する。湿潤したびらんを呈することもある。

2) 乳児寄生菌性紅斑（乳児カンジダ症）

おもに乳児に生じる間擦疹型のカンジダ症で、好発部位は陰股部や臀部などのオムツに覆われた部分で、その他に頸部や腋窩などにも生じる。症状は成人のカンジダ性間擦疹と同様に、中心治癒傾向のない紅斑で、紅斑上や周囲に小膿疱が多発する。

3) カンジダ性指（趾）間びらん

水仕事をする中年女性に多い指間のカンジダ症で、好発部位は手の第3指間で、辺縁に浸軟した鱗屑を付着する紅斑性局面を呈し、中央部がびらんになることもある。足の趾間の頻度は少ない。

4) カンジダ性爪囲・爪炎

中年女性に多い、爪や爪囲のカンジダ症で、好発部位は手指の爪と爪囲で、爪は基部から白濁し、爪囲の皮膚に発赤と腫脹を生じる。

5) 爪カンジダ症

爪カンジダ症は爪甲が混濁、肥厚し、膠原病など基礎疾患患者に生じやすい。疫学調査における頻度は3.8%であるが、典型例は極めてまれとされる。

6) 口腔カンジダ症

口腔内のカンジダ症で、舌を中心に口腔粘膜にも剥がれやすい白苔が付着し、剥がすとその下は発赤・腫脹している。疼痛、違和感、味覚異常を伴う。乳児例は軽症なことが多い。黒毛舌を呈することもある（カンジダ症でない黒毛舌もある）。

7) 外陰・膣カンジダ症

男女の外陰部に生じるカンジダ症で、性感染症（STD）のこともある。男性では亀頭、冠状溝、包皮に小膿疱、鱗屑を伴う紅斑を呈し、女性では外陰部に粥状帯下を伴う湿潤した紅斑を呈する。膣カンジダ症の合併が多い。

8) 慢性皮膚粘膜カンジダ症 (CMCC)

皮膚, 爪甲, 粘膜に慢性で再発性のカンジダ感染を繰り返すが, 内臓がおかされることはほとんどない症候群である. 免疫学的異常に関しては, 本態は細胞性免疫不全とされるが, 障害部位は明確にされていない. 内分泌異常, 貧血, 鉄代謝異常, ビタミンA欠乏症, 胸腺腫などを合併しやすい. 皮膚病変は全身に痂皮と鱗屑を付着する紅斑が多発する. とくに辺縁が隆起して, 中心治癒傾向のある体部白癬様の紅斑を生じやすい. 顔面と被髪頭部には厚い痂皮と鱗屑を付着する角化を伴う紅斑局面を呈することがある (Hauser-Rothman 型のカンジダ性肉芽腫). 病理学的には角質肥厚が著明で菌要素は角質内にあり, 真の深在性の肉芽腫ではない. 手指, 足趾の爪甲が混濁, 角化, 肥厚する. 爪白癬に似るが, 爪囲の発赤と腫脹を伴うことが特徴的である. 舌・口腔粘膜には白苔の付着を伴う発赤・腫脹を呈し, 口角には浸軟した鱗屑を伴う紅斑, 口唇に亀裂を生じやすい.

9) その他の表在性カンジダ症

その他の特殊, あるいは分類があいまいな病型として, ①カンジダ性口角びらん, 口唇炎, ②絆創膏貼布部のカンジダ症, ③ストマ周囲のカンジダ症, ④既存の皮膚疾患やステロイド剤外用部位に続発したカンジダ症などがあげられる.

10) 深在性皮膚カンジダ症

真皮や皮下組織においてカンジダの増殖を認める深在性皮膚カンジダ症は極めてまれで, 機序として全身性(内臓)カンジダ症の皮膚症状として生じる2次性と皮膚局所に深在性病変を呈する原発性に分けられる. 前者は易感染性宿主の内臓カンジダ症にカンジダ血症が起り, 発熱とともに多発性の膿疱, 膿瘍, 潰瘍, 皮下結節などを生じる. 後者は皮膚カンジダ症病変部, カテーテル留置部位などに結節, 皮下膿瘍を孤立性に生じる. 病理学的に真皮内に菌要素を証明するのが診断の決め手になる.

VI 治療

前述した発症・悪化因子を探し出し, その除去, 改善を行うことが重要である. 皮膚カンジダ症は爪カンジダ症など一部の病型を除いて, 薬物療法の効果は高い. しかし保菌状態は続くことが多く, 発症・悪化因子が残っていると再発することが多い.

皮膚カンジダ症の治療の基本はカンジダに抗菌力のある抗真菌剤の外用であるが, 爪, 口腔, 爪囲爪炎などの病型や難治性・広範囲の皮膚カンジダ症では経口剤の適応になる. 深在性皮膚カンジダ症は全身性抗真菌剤(経口および注射剤)を用いる.

外用抗真菌剤では, 抗菌スペクトルが広く, カンジダ症を含む表在性真菌症のすべての原因菌に対して抗菌活性があるイミダゾール系が第一選択薬といえる. 外用抗真菌剤の基剤としては, 従来の薬剤も含めると軟膏剤, クリーム剤, 液剤, ゲル剤がある. カンジダ症はびらん局面を呈することが多いので, 刺激が少ないクリーム剤

ないし軟膏剤が無難であろう.

経口剤ではトリアゾール系のイトラコナゾール(イトリゾール®)は幅広い抗菌活性を持ち, 深在性真菌症とともに難治性あるいは汎発性の表在性真菌症に使用されている. 副作用は比較的少ないが, 長期投与では肝機能検査が必要で, テルフェナジンなど併用が禁忌ないし注意を要する薬剤がある. 使用可能であれば, 皮膚と粘膜のカンジダ症に対する経口剤としては第一選択薬である. 本症に対しては爪白癬に用いるパルス療法ではなく, 連日内服療法を行う. また2006年に口腔咽頭および食道カンジダ症用として, 内用液1%が発売された.

同じトリアゾール系のフルコナゾール(ジフルカン®)はカンジダ症も含めた内臓真菌症に用いられており, カンジダに対する抗菌力も高いが, 浅在性カンジダ症の保険適応はない. 経口剤のテルビナフィン(ラミシール®)は, 皮膚糸状菌に対する抗菌力が強く, 白癬に最適であり, カンジダ症では爪カンジダ症のみが適応となる.

特殊な経口剤として口腔・食道カンジダ症用で, ほとんど吸収されないミコナゾールゲル(フロリードゲル®)がある. 1日1ないし2本を4回に分けて内用するが, 口腔カンジダ症では病変部に外用剤のように塗抹するのみでも有効である.

VII 舌の真菌検査と味覚障害の研究知見

1) 舌の真菌検査

舌カンジダ症の発症率とともに, 粘膜常在菌とされている *Candida albicans* の保菌(以下保菌と略す)率を健康被験者と種々の患者で検討した. 方法は舌を擦過した綿棒を検体とし, 直接鏡検と培養(綿棒塗抹法)を行った.

明らかになった知見を羅列すると, ①高齢者では本人が自覚していなくても舌カンジダ症を発症していることがある. ②寝たきり患者は舌カンジダ症の発症率が高く, 食餌摂取障害の原因になっている可能性がある. ③ステロイド内服患者, 基礎疾患(膠原病, 悪性腫瘍, 糖尿病)のある患者のみならず健康な高齢者は60歳以下の健康な被験者より保菌率が高い. ④舌から綿棒塗抹法で *Candida albicans* を分離すること(保菌)は軽度の易感染性を示す鋭敏な指標になると考え, 60歳以下の健康人に発症した皮膚感染症患者の保菌率を検討したところ, 皮膚カンジダ症や *Trichophyton rubrum* 感染症患者では保菌率が高く, 両者は日和見感染症的な要素があると結論した.

2) 味覚障害

口腔カンジダ症患者は味覚障害があるとされているが実際のデータは少ないため, 健康被験者と糖尿病患者における舌の保菌と味覚障害の関係を含めて検討した. 味覚検査は甘味, 塩味, 酸味, 苦味の4味質の感度を判定できる濾紙法を用いた. この方法の長所は, 疼痛を伴わない検査で味質別に数値で評価できることで, 短所は検査に時間を要することと認知症や意識のはっきりしない患者(口腔カンジダ症には多い)には施行できないこと

である。

明らかになった知見を羅列すると、①舌カンジダ症患者は高度の味覚検査異常があるが、本人が気づいていないこともある。②健康被験者をみると、保菌者は非保菌

者に比べて味覚検査異常の頻度が高い。③糖尿病患者は非保菌者でも味覚検査異常の頻度が高く、糖尿病の神経障害の可能性があり、逆に本方法は糖尿病の神経障害の早期判定に役立つ。

教育シンポジウム 4

カンジダの菌学

西川 朱 實

明治薬科大学免疫生物学教室

I はじめに

カンジダ症の多くは、患者側の局所あるいは全身的な防御機構に異常があって初めて感染が成立する内因性の日和見感染症である。歴史的には、抗生物質の広範な使用に伴う菌交代現象としてのカンジダ症が問題になった頃の1954年に、*Candida albicans*が保存名として採択され、それ以降の20世紀後半に、分類、形態、生化学分野の発展をもたらされた。1980年代には、分子生物学的アプローチにより、*C. albicans*が二倍体ゲノムであることやヘテロ接合体の存在が記載され、2004年には、*C. albicans*のゲノム塩基配列が公表された。本稿では、カンジダの菌学について、基本的な性状と知見について記述した。

II カンジダ症の疫学

Candida 菌種は、健常人からも分離される常在菌であるので、皮膚・粘膜から分離されただけではカンジダ症の原因菌種とは確定できない。健常人では血液は無菌であるので、血液検体からの真菌の分離頻度を以下に挙げる。血液検体から分離される真菌は、*C. albicans*が最も多くおよそ40%であった。ついで、*C. parapsilosis* (15%)、*C. glabrata* (13%)、*C. tropicalis* (10%)、*C. krusei* (2%)の順で、ここまでは全て *Candida* 菌種であった。さらに *Cryptococcus neoformans* (1.5%) をはさんで、*C. guilliermondii* (1%) が分離されている¹⁾。血管内留置カテーテルから検出された真菌は、小栗²⁾の統計 (1989-2000年)によると、1996年までは *C. albicans* が常に最も高い分離頻度であったが、それ以降は *C. parapsilosis* との逆転が多く見られるようになってきている。しかし、カンジダ血症とカテーテルからの感染は、同じ6菌種の *Candida* が起因菌であった。

III カンジダの分類

Candida 属は、ドメイン Eucarya・真菌界・子囊菌門・サッカロミセス綱・サッカロミセス目に属するアナモルフの属名である。生理・生化学および形態に特筆すべき共通性状が認められない子囊菌系の菌種が *Candida* であり、現在、200菌種以上が存在する。かつては、有性世代が見つからないため、独立の高次分類群を構成せず、便宜的に不完全菌類とされていた。近年では、rRNA 遺伝子の塩基配列に基づく系統解析からアナモルフの属名と

して分類されている。病原性 *Candida* でも、*C. krusei*、*C. kefyr*、*C. guilliermondii* 等の菌種にはテレオモルフが存在する。テレオモルフの学名はアナモルフのそれに優先するが、アナモルフとして分離される場合には、慣例として *Candida* 属の学名が用いられている。最新の分類書としては、The Yeasts 第5版が近々出版される予定である。図1に主な病原性 *Candida* とその関連菌種の系統関係を示す。合理的に分類された属は単系統を示すが、*Candida* 属は不均一な菌群であるため、*Pichia*、*Issatchenkia*、*Clavispora*、*Debaryomyces*、*Saccharomyces*、*Kluyveromyces* などが混じり合う多系統である。

IV 同定法

Candida 属は、多極性出芽増殖する酵母様真菌である。培養形態としては、通常の培地上では、酵母形 (図2A) を示すが、0.3% Tween 80加コーンミール寒天培地上では、*C. glabrata* 以外の病原性 *Candida* は、出芽した娘細胞が母細胞から分離せず伸長して、長く連なった仮性菌糸を形成する (図2B)。くびれた隔壁部から分岐する点で真性菌糸と異なる。*C. albicans* は、0.3% Tween 80加コーンミール培地上で、菌糸先端や側壁に厚膜分生子 (厚膜胞子) を形成する (図3A)。まれに真性菌糸も認められる。*C. albicans* は、発芽管 germ tube 形成試験も陽性である (図3B)。1995年に、主に HIV 感染患者の口腔から、厚膜胞子陽性で germ tube 陽性の菌種が分離され、そのなかに、これまでの形態学的同定基準では *C. albicans* と同定されるが、DNA フィンガープリントが非定型で *C. albicans* と異なり、API ID 32C を用いた炭水化物資化性がいずれの *Candida* 菌種とも一致しない株が含まれていた。これらの株は、rRNA 遺伝子解析から新種 *C. dubliniensis* と記載された³⁾。今では、厚膜胞子陽性で germ tube 陽性の病原性 *Candida* 菌種は、*C. albicans* と *C. dubliniensis* である。

API ID 32C (bioMeriëux) は、炭水化物22種類、有機酸5種類、アミノ酸2種類の資化性とその他の性状の計31種類の試験により、*Candida* 37菌種を含む病原性酵母69菌種を同定するシステムである。このデータベースは、ヨーロッパの分離株を用いて開発されている。API 20C AUX は、19種類の炭水化物資化性により、*Candida* 23菌種を含む47菌種の酵母を同定するシステムで、データベースは米国の分離株で開発されている。自動化システムまたは目視判定結果検索ソフトを用いて

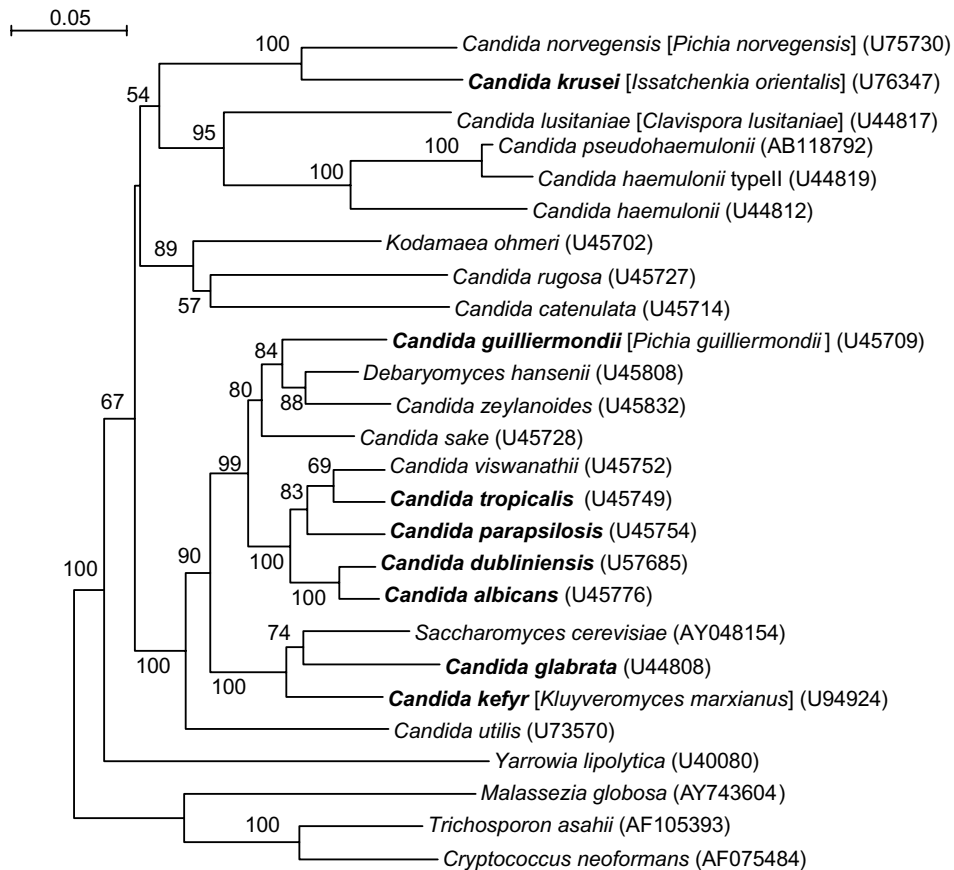


図 1. 主な病原性 *Candida* とその関連菌種の分子系統樹

分子系統樹は 26S rDNA D1/D2 領域のおよそ 600 塩基から近隣結合法により作成。太字は本文中の菌種。[]内はテレオモルフ

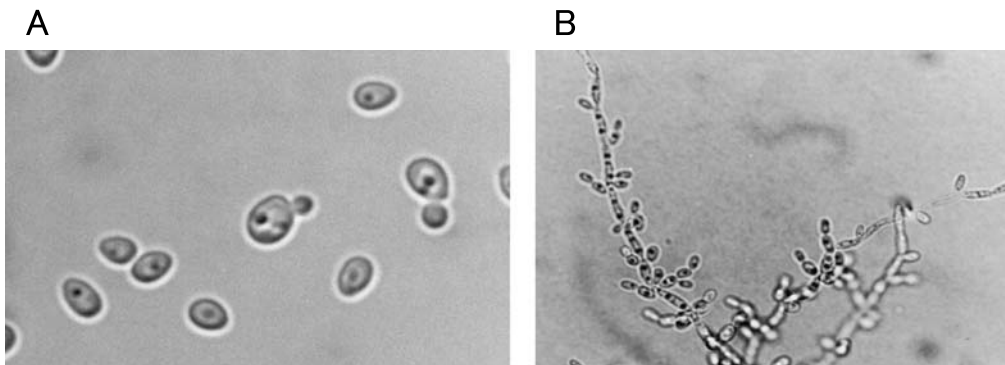


図 2. *Candida* の形態学的特徴。

A; サブロー寒天培地で 27°C 2 日間培養後の酵母形, B; 0.3% Tween 80 加コーンミール寒天培地に移植し, カバーガラスを密着させ, 27°C 2 日間培養後の菌糸形 (*C. glabrata* のみ非形成). 提供 明治薬科大学 池田玲子博士

同定できる. 現在では, 両システムとも *C. dubliniensis* も同定できるように改良されている.

臨床材料から分離される *Candida* 菌種は多様化しており, 日常検査で繁用される同定法では対応できない場合がある. そのような菌種の同定法としては, DNA 塩基配列に基づく同定法がある. 標的としては, 全ての生物に普遍的に存在し, 配列が保存されている rRNA 遺伝子がよく用いられる. そのうち, *Candida* 菌種間の系統関係

の解析に用いられる領域としては, 26S rDNA D1/D2 のおよそ 600 塩基や, 18S と 26S 間の ITS1 および ITS2 の 450 塩基の塩基配列がある.

V 病原因子

Candida の病原因子に関しては, 単独で病原性を説明できるものではなく, 複数の病原因子が複合的に作用して病原性を発揮するものと考えられている. 遺伝子破壊に

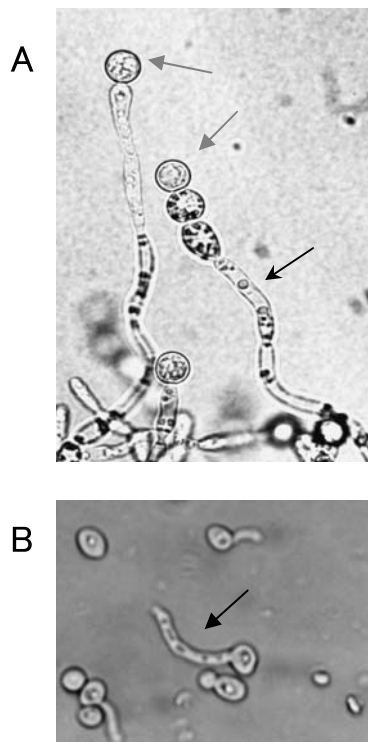


図3. *C. albicans* と *C. dubliniensis* の形態学的特徴.

A; 0.3% Tween 80 加コーンミール寒天培地に移植し、カバーガラスを密着させ、27°C 2日間培養後の厚膜分生子（厚膜胞子）および仮性菌糸、B; 牛血清と混合し、35°C 3時間培養後の発芽管。光学顕微鏡で観察（倍率：400倍）。提供 明治薬科大学 池田玲子博士

よって病原性が低下したものを中心に、代表的な病原因子について以下に述べる。

C. albicans は菌糸形で病原性を示すことから、酵母形から菌糸形への形態変換に関与する因子が検索された。その結果、環境刺激によりシグナル伝達系が活性化されて、転写因子 Efg1p や Cph1p が核内に移行し、菌糸形変換に関与することが示された。菌糸形の *C. albicans* が菌体表層に発現する接着因子の遺伝子としては、マンナンタンパク質の *HWPI*、アグルチニン様タンパク質の *ALSI*、インテグリン様タンパク質の *INT1* が知られている。

C. albicans が皮膚・粘膜に定着している状態から組織に侵入する際の、組織破壊に関与する加水分解酵素としては、分泌性アスパラギン酸プロテアーゼ Sap が最もよく研究されている⁴⁾。これまでに報告されている Sap1~Sap10 のうち、Sap1~Sap3 が酵母形と菌糸形で発現されるのに対して、Sap4~sap6 は菌糸形のみで発現される。Sap1~6 の至適 pH はすべて酸性だが、Sap2 と Sap4~6 は中性でも活性が残存する。この pH 領域は、酸性の膣粘膜や中性の口腔への感染に適しているといえる。*C. albicans* の局所感染には Sap1~Sap3 が寄与し、全身性カンジダ症には Sap4~Sap6 が寄与していた。また、

ホスホリパーゼ PLs 遺伝子のうち、*PLB1* や *PLD1* の欠損により、全身性カンジダ症における *C. albicans* の病原性が減弱した。

VI 耐性菌と耐性遺伝子

1983年に AIDS 患者から HIV-1 が発見され、AIDS 患者の細胞性免疫不全に起因する日和見真菌症としてカンジダ症が再び注目されてきた。皮膚・粘膜では T リンパ球による細胞性免疫不全が感染防御の主役であり、侵襲性カンジダ症では好中球による殺菌が感染防御の主体であるので、AIDS 患者のカンジダ症の主な病型は、口腔カンジダ症とカンジダ食道炎である。その治療には、アゾール系抗真菌薬が用いられる。主要原因菌種である *C. albicans* は、アゾール薬に本来感受性であるが、長期投与による耐性獲得が問題となる。また、侵襲性カンジダ症や膣カンジダ症では、アゾールに自然耐性の *C. krusei* や *C. glabrata* の分離頻度が増加している。アゾール耐性株の多くは、アゾール薬全般に交差耐性を示す。

アゾール系抗真菌薬の耐性機構には、その作用点に関わるものがいくつかあるが、主要な機構は薬剤の細胞外への排出である。排出ポンプには、ATP のエネルギーを必要とする ATP-binding cassette (ABC) 型とプロトンを利用する major facilitator superfamily (MFS) 型がある。ABC 型排出ポンプの遺伝子としては、*C. albicans*、*C. dubliniensis* の *CDR1*・*CDR2*、*C. glabrata* の *CDR1*・*PDH1*、*C. krusei* の *ABC1* などが、MFS 型としては、*C. albicans* の *BEN^R*・*FLU1*、*C. dubliniensis* の *MDR1* などが知られている。HIV 感染患者由来 *C. albicans* のアゾール耐性株の多くは、*CDR1* と *CDR2* を同時に過剰発現している。それぞれの排出ポンプ発現株を用いて MIC 値を比較したところ、*Cdr1p*、*Cdr2p*、*Ben^Rp* の順に強いフルコナゾール耐性を示した⁵⁾。

このような耐性を克服するために、薬剤排出ポンプの阻害剤が探索されており、実用化がもたれる。

引用文献

- 1) 上原至雅, 亀井克彦, 菊池 賢, 植村浩一, 鈴木和男, 新見昌一: わが国における深在性真菌症の現状と対策 - 発生动向に関するアンケート調査の解析から - . *Jpn J Antibiot* **54**: 448-472, 2001.
- 2) 小栗豊子: カンジダ症の疫学 - カンジダ血症を中心に - . *臨床と微生物* **28**: 155-160, 2001.
- 3) Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, Bennett DE, Coleman DC: *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiol* **141**: 1507-1521, 1995.
- 4) Schaller M, Borelli C, Korting HC, Hube B: Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses* **48**: 365-377, 2005.
- 5) 新見昌一: 薬剤耐性遺伝子のパン酵母における発現と機能解析. *真菌誌* **45**: 63-69, 2004.

教育シンポジウム 5

分子生物学的真菌検査法

望 月 隆

金沢医科大学環境皮膚科学部門

要 約

近年、分子生物学的手法が酵母状真菌だけでなく、比較的明瞭な形態学的特徴を示す糸状菌に対しても検査法として用いられるようになってきた。本稿では分子生物学の検査法の原理ならびに、実用例として皮膚糸状菌（白癬菌）の迅速同定に有用な ribosomal RNA 遺伝子を用いた制限酵素分析法（restriction fragment length polymorphisms, RFLP），ならびに応用例として現在感染が拡大している *Trichophyton tonsurans* 感染症の分離株についての分子疫学的検討について解説した。

はじめに

皮膚科の受診患者の約 2 割を占める皮膚真菌症は、病巣から病原真菌を検出してはじめて診断が確定する。しかし、診療の現場では真菌症が疑われても菌が見つからない、菌要素が KOH 直接法で見つかっても培養ができない、培養ができて菌種の同定ができない、あるいは分離菌が病原菌か否か判然としない、という問題がしばしば生じている。分子生物学的方法是、元来は従来の真菌検査の後方支援の手技に他ならず、診断をいかに正確に、簡素に付けるか、が応用のスタートになっていたが、最近では使用する分子の種類、方法によっては疫学研究などに新しい展開、発展が見られる。本稿では分子生物学の検査の原理、ならびに実用例、応用例として、皮膚糸状菌（白癬菌）の迅速同定に有用な ribosomal RNA 遺伝子を用いた制限酵素分析法（restriction fragment length polymorphisms, RFLP），ならびに、現在広く感染が拡大している *T. tonsurans* 感染症からの分離株について分子マーカーによる疫学的解析を行った結果を紹介する。

分子生物学の検査法の原理

糸状菌の種の記載は培養に基づく形質をもとに行われている。これは分子生物学の発展した現在でも白癬菌においては基本的には変わらない。しかし近年分子生物学の進歩にともないミトコンドリア DNA¹⁾、リボゾーム RNA 遺伝子 (rDNA) の internal transcribed spacer (ITS) 領域²⁾、chitin synthase I 遺伝子³⁾ や topoisomerase II 遺伝子⁴⁾ などの分子を用いたクラスター解析、系統進化の解明が進んだ。その中で培養形態や交配試験など培養法を基礎にした白癬菌の種の枠組みと分子解析の所見が、複

数の分子マーカーを用いても多くの場合一致する事が確かめられ、これが確かめられた分子マーカーは種の同定の参考にできることが明らかにされた。最近ではさらに進んで分子生物学の所見で菌種を記述しようとする立場がある。今後形態学的、交配試験による生物学的種との間に整合性が図られると、分子生物学の所見を基準に同定が行われる事になるが、未だ合意には至っていない。

どのような場合に分子生物学の検査が行われるか

皮膚真菌症の診断は浅在性、深在性に関わらず臨床検体から菌を検出し、そして分離された菌を同定する事で確定する。このうち、検体からの菌が顕微鏡で検出しにくい場合、菌種を迅速に知りたいとき、また分離された菌の形態から菌種の同定ができないとき、さらには交配試験の特徴をもって記載された菌の同定に際して交配能力が確認できない場合など、各種の分子生物学的検査が用いられる。また菌の培養が不成功であっても検体から直接 DNA を抽出し、分子マーカーを用いる事で種の同定が可能である例が知られてきた。

実用例 (図 1, 2)

皮膚糸状菌の菌種の同定に有用な rDNA の ITS 領域の RFLP について解説する。ITS 領域は比較的多くの変異が蓄積された領域であるので、近縁の菌種間の鑑別に有用である²⁾。本来はこの領域の塩基配列を決定するのがよいが、経済性、利便性からこれの簡便法である RFLP が用いられる。白癬菌では制限酵素 *Mva* I, *Hinf* I の組み合わせで臨床検体から高頻度に分離される 10 余の taxa を明瞭に鑑別できる⁵⁾。まず少量の菌体から mini-prep 法で抽出した全細胞 DNA を PCR の鋳型とし、rDNA の ITS 領域を含む DNA 断片を PCR で増幅する。これを制限酵素で消化し、電気泳動法で切断パターンを観察する。この PCR-RFLP 法は手技が単純で、培地上に発育したコロニーから数時間で泳動パターンが得られるので、迅速同定や多数の菌株の処理に有用である^{5, 6)}。

この方法はさらに爪、鱗屑などの病的組織⁷⁾、あるいはパラフィン切片⁸⁾ から直接 DNA を抽出し、培養を経ずに原因菌を判定する手法に道を開いた。特に爪では平均の培養陽性率は 20-30% 程度にすぎず、また検体が溶けにくいと、KOH 直接鏡検法さえ陰性に終わる事が稀ではない。このような例でも高率に菌由来の DNA が検出される事が報告されている。しかし、病巣からの非

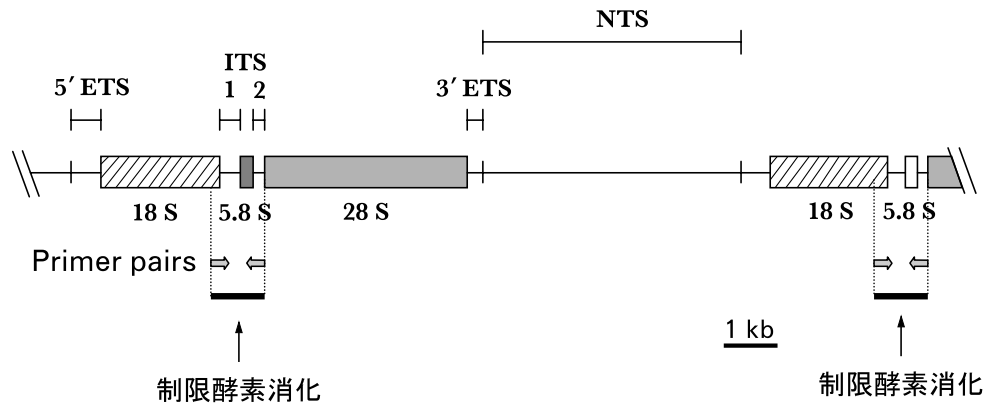


図1. 白癬菌のリボソーム RNA 遺伝子と分子マーカーとしての応用

菌種間でリボソーム RNA 遺伝子の ITS 領域の塩基配列に差がある事が知られているので、分離菌がどのような塩基配列を持つかを解析し、データベースに参照することで菌種を絞り込める。簡便法では制限酵素パターンを観察する。

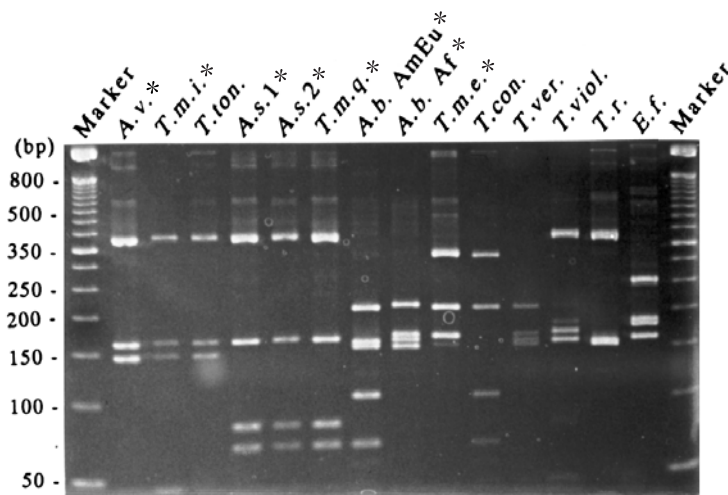


図2. 白癬菌のリボソーム RNA 遺伝子の ITS 領域の制限酵素パターン

制限酵素 *Hinf* I で消化した主要白癬菌の泳動パターン。*で示す *Trichophyton mentagrophytes* 関連の 8 taxa は形態上類似するが5つの分子型に分けられる。文献5) より引用。A. v.: *Arthroderma vanbreuseghemii*, T. m. i.: *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, T. ton.: *T. tonsurans*, A. s.: *A. simii*, T. m. q.: *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum*, A. b. AmEu: *A. benhamiae*, Americano-European race, A. b. Af: *A. benhamiae*, African race, T. m. e.: *T. mentagrophytes* var. *erinacei*, T. con.: *T. concentricum*, T. ver.: *T. verrucosum*, T. viol.: *T. violaceum*, T. r.: *T. rubrum*, E. f.: *Epidermophyton floccosum*.

培養系の DNA の検出は感度が敏感であるため、真の病原菌以外の菌に由来する DNA を検出する危険に留意する必要がある。なお同様の方法が *Fonsecaea pedrosoi*⁹⁾, *Sporothrix schenckii*¹⁰⁾ について開発されている。

応用例

さらに多くの変異を蓄積した分子を用いると種内の株間の鑑別が可能になり、疫学的検討に応用できると予想される。このような分子として rDNA の non-transcribed spacer (NTS) 領域が有望である¹¹⁾。われわれは NTS 領域の RFLP により、*T. tonsurans* の国内分離株について分子疫学的検討を試みた¹²⁾。その結果、本邦分離株には NTS I-VI の 6 つの分子型が認められること、格闘技競技者からの分離株は NTS I, II, III の 3 型が検出されるこ

と、本邦の高齢者の散発例からは NTSIV 型が分離されることが明らかになった。この結果は、格闘技の集団発生には本邦に古くから分布していたと考えられる NTSIV 型は関与せず、数次にわたって国外から持ち込まれた菌が感染、拡散した輸入感染症であることを強く示唆するものである。

最後に

分子生物学的方法は、形態学的に典型でない菌株までも迅速、正確に同定できるためにきわめて有用である。しかし、真菌症診断の基本になるのはあくまでも KOH 直接鏡検法や培養法であり、分子生物学的方法はそれを補完する意味合いが強い。今後は非培養系による菌種レベルの同定や種内変異の検討が広く応用されるなど、分

子生物学ならではの病原真菌学の展開が大いに期待される。しかし、適応と限界を認識して、目的にかなった分子マーカーを選択する必要がある。

文 献

- 1) Kawasaki M, Aoki M, Ishizaki H: Phylogenetic relationships of some *Microsporum* and *Arthroderma* species inferred from mitochondrial DNA analysis. *Mycopathologia* **130**: 11-21, 1995.
- 2) Makimura K, Mochizuki T, Hasegawa A, Uchida K, Saito H, Yamaguchi H: Phylogenetic classification of *Trichophyton mentagrophytes* complex strains based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 regions. *J Clin Microbiol* **36**: 2629-2633, 1998.
- 3) Kano R, Nakamura Y, Watari T, Watanabe S, Takahashi H, Tsujimoto H, Hasegawa H: Phylogenetic analysis of 8 dermatophyte species using chitin synthase 1 gene sequences. *Mycoses* **40**: 411-414, 1997.
- 4) Kanbe T, Suzuki Y, Kamiya A, Mochizuki T, Fujihiro M, Kikuchi A: PCR-based identification of common dermatophyte species using primer sets specific for the DNA topoisomerase II genes. *J Derm Sci* **32**: 151-161, 2003.
- 5) Mochizuki T, Tanabe H, Kawasaki M, Ishizaki H, Jackson CJ: Rapid identification of *Trichophyton tonsurans* by PCR-RFLP analysis of ribosomal DNA regions. *J Dermatol Sci* **32**: 25-32, 2003.
- 6) 望月 隆, 田邊 洋, 河崎昌子, 安澤数史, 石崎 宏: リボソーム RNA 遺伝子の ITS 領域の分子型に基づく皮膚糸状菌の菌種同定の実績. *日皮会誌* **114**: 1763-1767, 2004.
- 7) 吉村理枝子, 伊藤弥生, 森下宣明, 二宮淳也, 滝内石夫: 爪白癬からの起因菌同定における培養法と PCR-RFLP 法の比較検討. *真菌誌* **47**: 11-14, 2006.
- 8) Nagao K, Sugita T, Ouchi T, Nishikawa T: Identification of *Trichophyton rubrum* by nested PCR analysis from paraffin embedded specimen in trichophytia profunda acuta of the glabrous skin. *Jpn J Med Mycol* **46**: 129-132, 2005.
- 9) Tanabe H, Kawasaki M, Mochizuki T, Ishizaki H: Species identification and strain typing of *Fonsecaea pedrosoi* using ribosomal RNA gene internal transcribed spacer regions. *Jpn J Med Mycol* **45**: 105-112, 2004.
- 10) Watanabe S, Kawasaki M, Mochizuki T, Ishizaki H: RFLP analysis of the internal transcribed spacer regions of *Sporothrix schenckii*. *Jpn J Med Mycol* **45**: 165-175, 2004.
- 11) Jackson CJ, Mochizuki T, Barton RC: PCR fingerprinting of *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* using polymorphic subrepeat loci in the rDNA nontranscribed spacer. *J Med Microbiol* **55**: 1349-1355, 2006.
- 12) Mochizuki T, Kawasaki M, Tanabe H, Anzawa K, Ishizaki H, Choi JS: Molecular epidemiology of *Trichophyton tonsurans* isolated in Japan using RFLP analysis of non-transcribed spacer regions of ribosomal RNA genes. *Jpn J Infect Dis* (in press).

教育シンポジウム 6

簡便な真菌検査法

藤 広 満智子

掛斐厚生病院皮膚科

I. はじめに

皮膚科医にとって真菌検査は、内科医の聴打診に匹敵する基本的な検査である。しかし、顕微鏡や検体採取用の器具、20% KOH 溶液の準備など越えなければならないハードルがあり、手間と時間を必要とするため、慣れていないと敬遠しがちである。そこで、ここではひとりでも診察中に片手間にできる、必要最低限の検査法を紹介する。これは、短時間にできて、器具は手の届く範囲にあり、患者にやさしく、消毒・滅菌操作が省略され、必要なら学会報告もできるというたいへん便利な“手抜



図 1. 真菌検査器具一式

き真菌検査法”である。

そのポイントは、①鱗屑採取には、先端に溝のない口腔用摂子または眼科用曲クーパーを、患者ごとに酒精綿で拭いて繰り返し使う。②生毛部白癬にはセロファン粘着テープ（以下“テープ”）を使う。③培養はその摂子を使ってマイコセル斜面培地に、またはテープに付けたまま Actidione, chloramphenicol 添加サブロー平板培地（以下“ACS平板”）に植える。④KOH 標本の加温は顕微鏡の光源の熱などを使う。⑤スライドカルチャーはスライドグラスなしで行う。⑥培養はすべて室温で行う。などである（図 1～4）。特にテープはさまざまな使い方があるので、まずそれを紹介したい。

II. セロファン粘着テープを用いた真菌検査法

皮膚に寄生し、病巣を形成する皮膚糸状菌は、汚染菌として検出される危険性は非常に低い¹⁾。そのため滅菌してないテープを鱗屑の採取、鏡検、培養に利用できる。テープで検体を採取するメリットは、多量の鱗屑が、患者に痛みを与えることなく得られることである。

その手順は

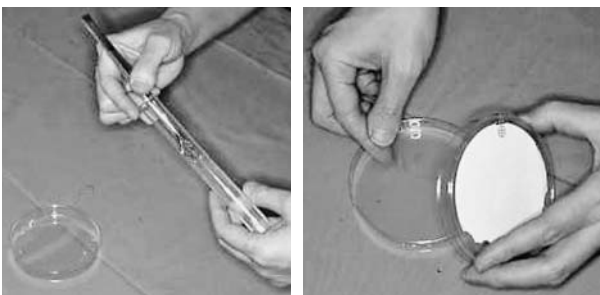
- 1) 皮膚貼付試験の前処置のように、幅 18mm のテープで白癬病巣の辺縁付近から剥離を数回くりかえし、病巣の皮脂やよごれを取り除く。そのテープは捨てる。
- 2) 同一部位を長さ 9 cm のテープの中央で 2, 3 回剥離し、中央に集中して鱗屑を附着させる。その際病巣の中心から辺縁、健常部の方向に接着剥離を繰り返すと



図 2. マイデスク



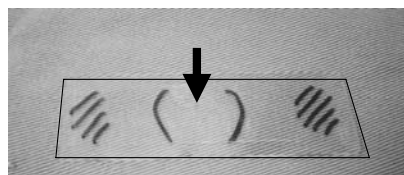
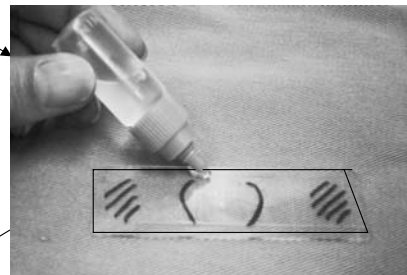
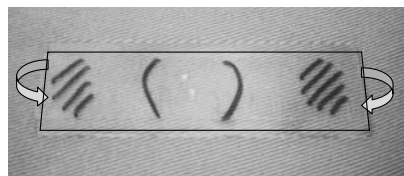
診察機の引き出し
冷蔵庫の上
図3. 培養は室温で十分. 高いところが暖かいので最適



斜面培地への接種
平板培地へのセロテープ接種
図4. マイコセル培地への接種法



図5. セロテープを病巣の辺縁に貼り付けて数回ストリッピングする



中央を軽く押さえ, KOH 液を浸透させる
(鱗屑は透明度が高くなり, 確認困難)

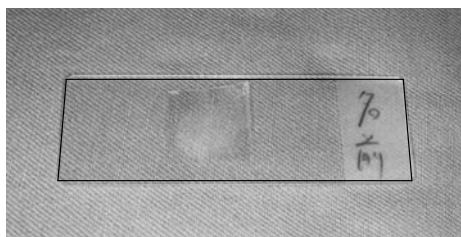
図6. セロテープ KOH 標本の作り方: 中央をわずかに浮かしてスライドガラスに貼り付けて斜線部分を密着させる. 裏まで貼り付けるとよい.

うまく鱗屑が採取できる. 必ず肉眼的に確認できる大きさの鱗屑を採取する (図5).

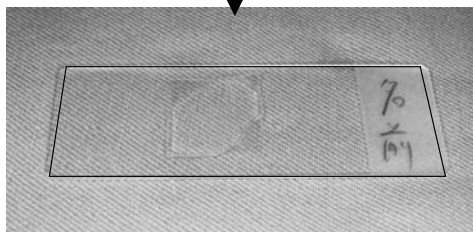
- 3) スリガラス部分のないスライドガラスに, 鱗屑の付着した中央をわずかに浮かせて貼り付け, それ以外の部位を指でしっかりスライドガラスに接着させる. 両端をスライドガラスの裏まで貼り付けるとよい. 鱗屑の付着している部分をマーカーでマークし, すきまに少量のKOH液を入れ, 鱗屑が液に浸るようにかかるく上からおさえる (図6). なお, KOH液はDMSOを含まない方が粘度が低く入れやすいので, できれば自家調整したものがよい.
- 4) 室温で数分待ってコンデンサーを下げた顕微鏡で鏡検する (図7). テープが波打つので温めてはいけない. 両端を密着できていないと, KOH液を入れる際にスライドガラスからテープがはがれて失敗する. 慣れないうちは, 中央の検体付着部をカバーガラスと同じくらいの大きさに切って鏡検したほうが, 広くKOH液に浸って見やすいが, 対物レンズが接触しないように気をつける (図8).
- 5) 培養が必要な場合はもう1枚の2, 3cmのテープで鱗屑を剥離して, ACS平板に接着面を下にしてそのまま植える.
- 6) ビニールテープでシャーレを密封し, 室温で培養する (図9).

この方法は主として股部白癬, 体部白癬などの鱗屑が薄い生毛部白癬に応用している. 肉眼的に鱗屑がはっきりしない場合でも確実に採取でき, 慣れると鱗屑のはがれ方で白癬やカンジダ症がわかるようになる. 足白癬は鱗屑が厚く, テープでは採取しにくいこと, 足には雑菌が多く付着していることから適応ではないが, 摂子を怖がる小児の足白癬には有用である.

この他にもテープは癬風の自己診断 (色素斑に一致して剥離できる細かい鱗屑) (図10), 鱗屑・毛などの検体の保存 (スライドガラスに貼り付けて), それらの輸送手段として利用できる. たとえば訪問看護師が患者宅から持ち帰ったテープ検体を外来で鏡検し, 真菌症の診断をすることも可能である. 最近では, *Trichophyton tonsurans*



カバーガラス大のセロテープで鱗屑を剥離し、
スライドガラスに置く



毛細管現象を利用し, KOH 液を隙間に入れる
数分後に鏡検

図7. セロテープ小片を使った KOH 鏡検

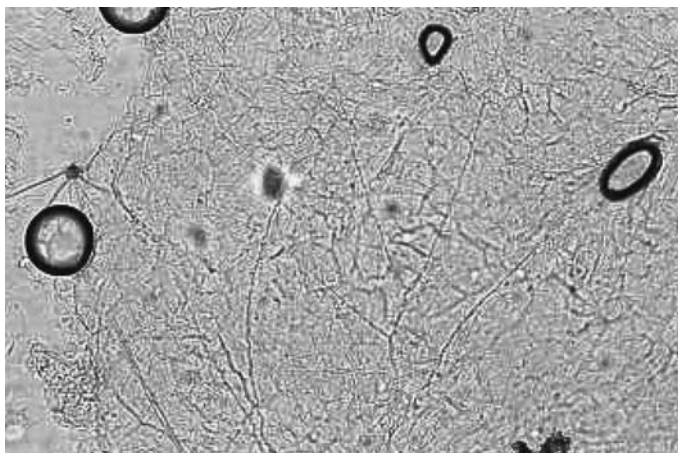


図8. セロテープ KOH 標本中の皮膚糸状菌

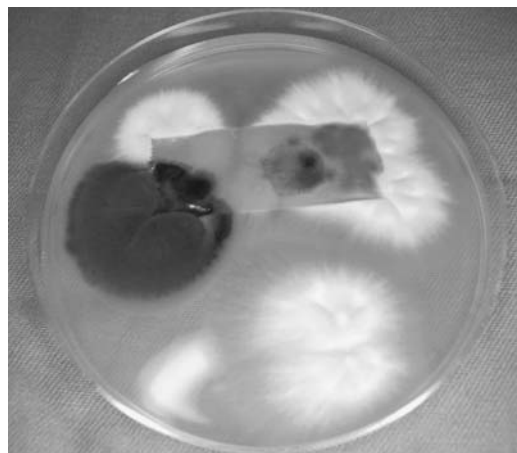
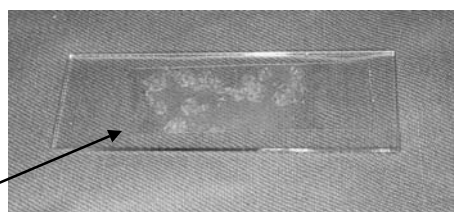
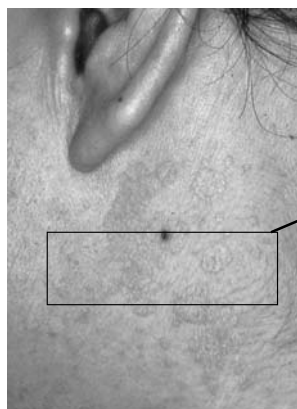
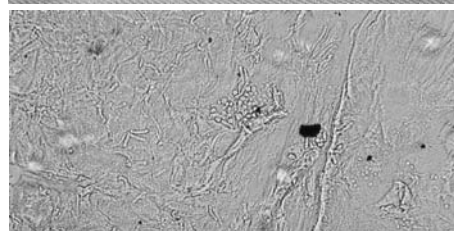


図9. セロテープ培養したマイコセル平板上の *T. rubrum*



セロテープに付着した色素斑に
一致した細かい鱗屑

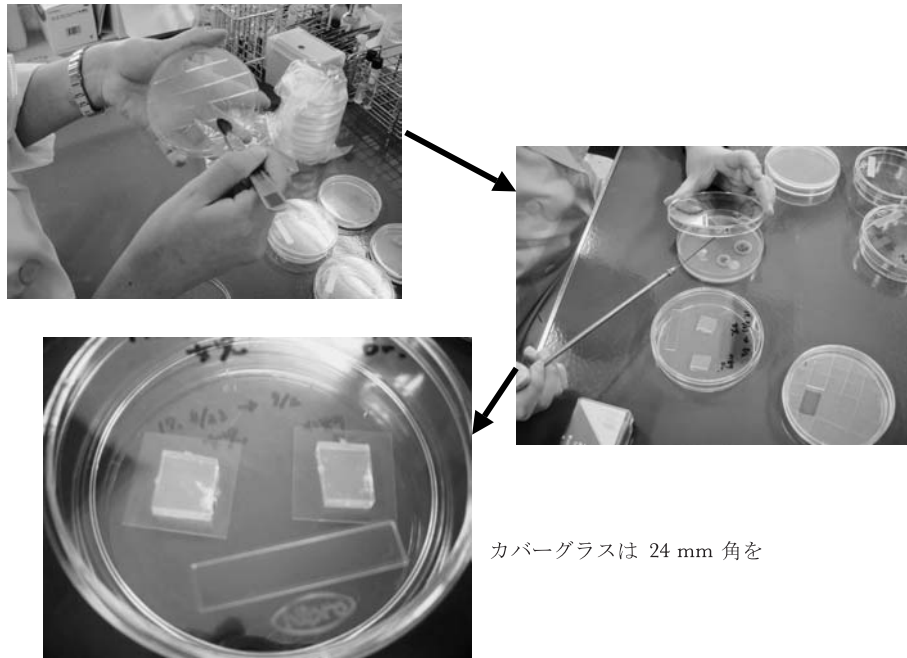


セロテープ KOH 法 (短い菌糸と
胞子塊)

図10. 癬病巣のストリッピングによる自己診断

感染症が疑われる場合に、検体を付着させたテープをクリアファイルに貼り付け、封筒に入れて郵送してもらうよう東海地方の開業医の先生方をお願いしている。

この方法の欠点は、セロファンは親水性なので KOH 処理後 30 分以内に鏡検しないと波打って観察しにくい点、培養では雑菌のコンタミが多い点である。しかし、



カバーガラスは 24 mm 角を

図11. スライドグラスを使わないスライドカルチャーの方法

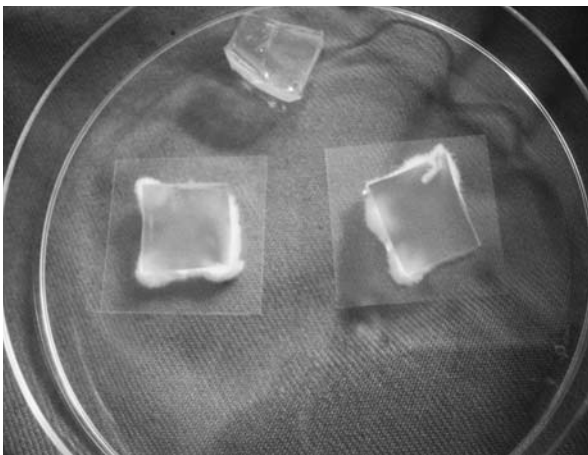


図12. スライドカルチャー 2 週間後



図13. *T. tonsurans* のスライドカルチャー 1 週間後
(シャーレの裏面から観察, 無染色 (×100))

生毛部白癬の培養陽性率は90%と、従来法と比較して遜色はない²⁾。これは採取できる鱗屑量が多いためと考えられている。

III. スライドグラスを使わないスライドカルチャー

皮膚真菌症の学会報告のためには、菌のマクロの所見を示す平板培養とともに、ミクロのそのスライドカルチャーが必要である。2～4週間培養してカバーガラスをはずし、ラクトフェノールコットンブルーで染めて鏡検するのが通常のやり方だ。しかしプレパラートが完成してから、同定に必要な孢子が確認できず、再度行うこともある。そこで発育の様子が裏から経時的に観察ができる、つまり懸滴培養を兼ねたスライドカルチャーをシャーレ内で行っているので紹介する (図11, 12)。

- 1) 薄めに作成した ACS 平板培地をスライドカルチャー用に 1 cm 四方に切る。
- 2) 滅菌シャーレに 2 個培地片を離して置く。

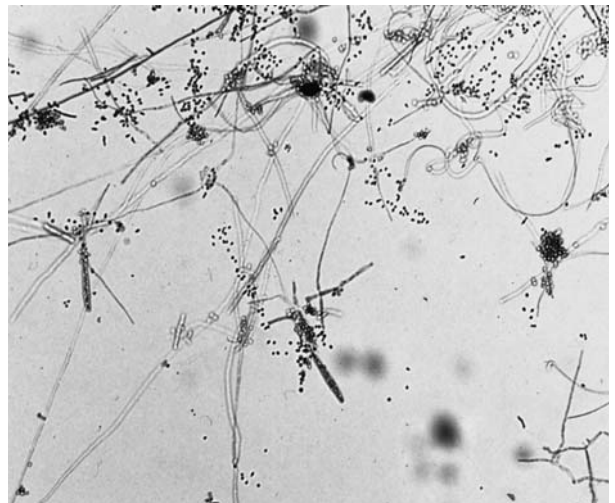


図14. *T. mentagrophytes* のスライドカルチャー所見
(ラクトフェノールコットンブルー染色×100)

- 3) 培地片にそれぞれ2, 3か所菌を接種する.
- 4) 火炎滅菌したカバーガラスを被せ, 軽く押さえる.
- 5) 湿度を保持する目的でもうひとつ培地片をシャーレの隅に入れる.
- 6) ピニールテープでシャーレを密封し, 室温で培養する.
- 7) 培養1週間目ころから, シャーレを逆さにして裏面から菌の発育状況を顕微鏡で観察し (図13), 目的の胞子が観察されたらカバーガラスを取り, コットンブルー染色標本作製する (図14).
- 8) 長期に保存したいコットンブルー染色標本は, カバーガラスの周囲を好みの色のマニキュアで封入する. 透明なものは封入されているかどうかわかりにくいので色のあるマニキュアがよい.

以上が当院で日常的に行っている真菌検査法である. 環境菌などアクチジオンの添加されたACS培地では発育できない菌の培養用に, サブロー培地は常に冷蔵庫に準備してある. しかし皮膚真菌症の原因菌の99%以上を

占める皮膚糸状菌やカンジダはACS培地で十分発育し, スポロトリコーシスを引きおこす, *Sporotrix schenckii* や, クロモミコーシスの原因菌として多い, *Fonsecaea pedrosoi* も十分発育する.

ここに紹介した手抜き法は, まず医真菌学会標準化委員会の提案した真菌検査法³⁾に従ってある程度の件数の鏡検, 培養を実施した後に試すことが望ましい. 手間を惜しまない真菌検査は診断技術の向上に欠かせないので, 是非テープ法を真菌検査に慣れる手段として試していただきたい. またすでに真菌検査に習熟している方は工夫のヒントとしていただければ幸いである.

文 献

- 1) 藤広満智子: 足白癬患者からの白癬菌散布状態の検討. 真菌誌 34: 43-55, 1993.
- 2) 藤広満智子: セロファン粘着テープを用いた生毛部白癬診断法. 皮膚臨床 38: 893-895, 1996.
- 3) 山口英世, 他: 日本医真菌学会標準化委員会報告 (1992~1994年). 真菌誌 36: 61-86, 1995.