

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

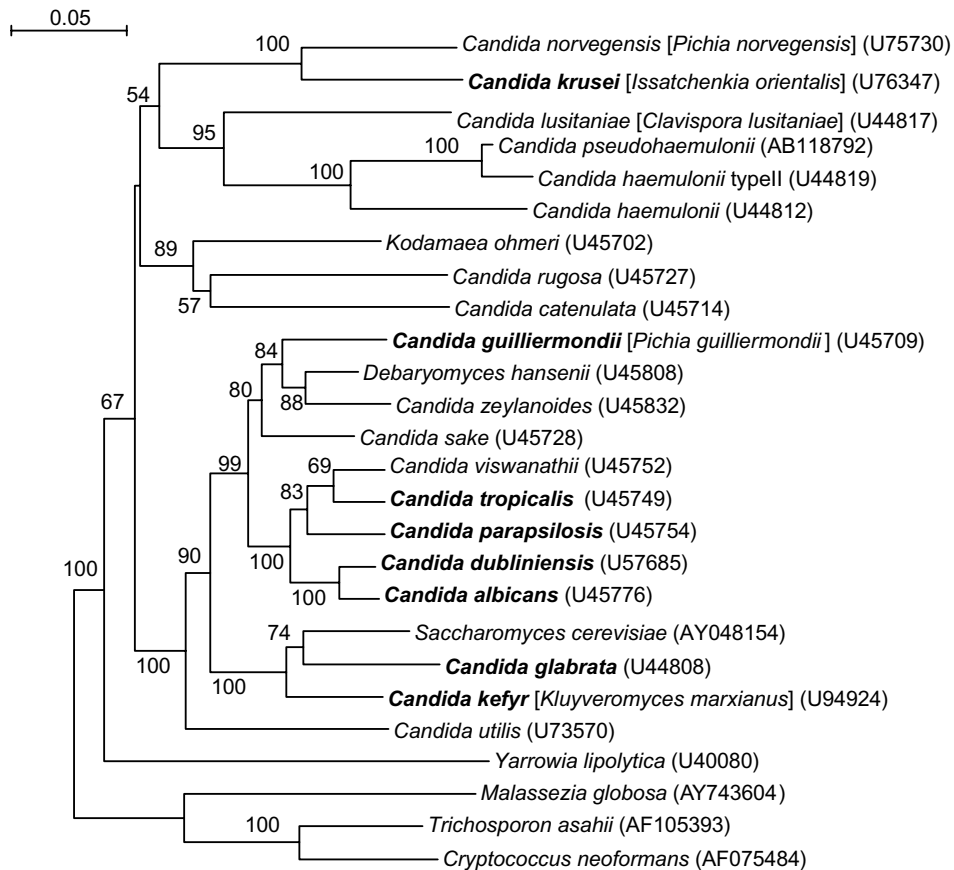


図 1. 主な病原性 *Candida* とその関連菌種の分子系統樹

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

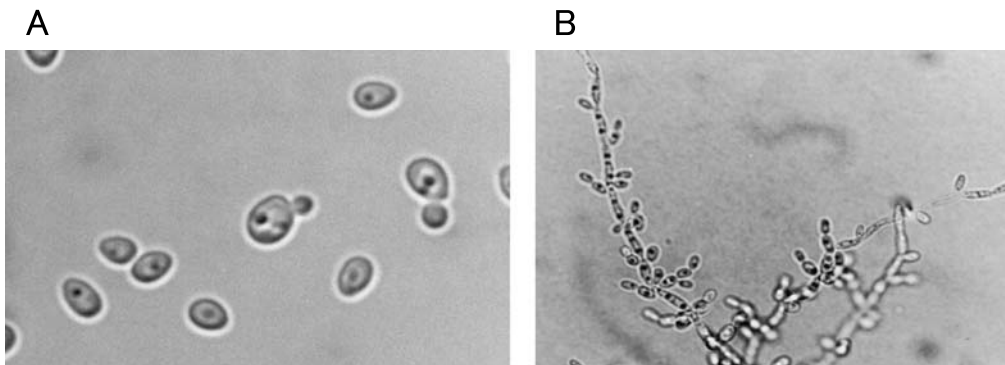


図 2. *Candida* の形態学的特徴。

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

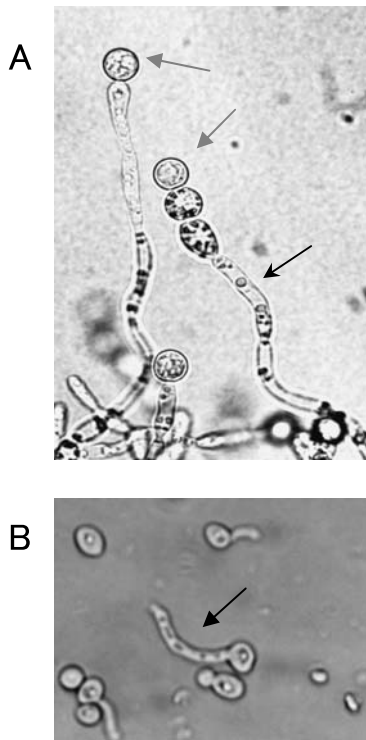


図3. *C. albicans* と *C. dubliniensis* の形態学的特徴.

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.