原 著

湿疹病変の鱗屑より偶然分離された *Sporothrix schenckii* の 1 株について

岩 津 都 希 雄

千葉大学医学部皮膚科学教室（主任：岡本昭二教授）

国立国府台病院皮膚科（主任：富岡容子医長）

〔受付：4月10日，1978年〕

48歳，女性の臀部の湿疹病変（ステロイド剤の外用で治癒）の鱗屑を抗生物質加サブロー寒天培地にて室温で培養したところ，2，3種類の酵母および細菌に混じて黒褐色湿性の真菌集落を得た．肉眼的ならびに顕微鏡の形態，有性生殖器官形成の有無，培養温度と発育速度との関係，コーンミール寒天培地における色素産生試験，酵母相への転化試験，サイアミン要求性試験，マウス腹腔内接種試験および蛍光抗体法による抗原性状の検索にて，この真菌を *Sporothrix schenckii* と同定した．

S. schenckii が病変をおこすことなく人体皮膚表面に附着をしていた稀有な例と考えた．

Sporotrichosis は *Sporothrix schenckii*（以下 *S. schenckii*

と略す）による感染症で，一般に，外傷部より原因菌が侵入することによって生ずるといわれている．最近の刈谷・岩津¹⁾の統計においても100例中44例になんらかの外傷の既往を認めている．そこで問題になるその感染源であるが，*S. schenckii* はもともと広く自然界に存在するといわれ，土壌，草木などからの分離の報告がある²⁻⁸⁾．しかし本菌が病変，すなわち sporotrichosis を生じしめることなくして人体皮膚表面に附着してみられたという報告は少ない．Brandt and van Niekerk⁹⁾は落屑のみを呈する皮膚表面より形態学的に *S. schenckii* ときわめて類似した株を分離したが，生物学的性状は定型的 *S. schenckii* とはやや異なっていたとしている．

今回，著者は48歳，女性の臀部の湿疹病変の鱗屑より定型的な *S. schenckii* の1株を偶然に分離したので，その同定の根拠となつた菌学的所見ならびにこの株が分離の操作中に混入したのではなく，湿疹病変の鱗屑に附着していたと考えるのが妥当とした理由について述べてみたい．

実験方法と結果

菌の分離

今回問題となる菌は次に述べるような過程で偶然分離されたものである．

1976年9月1日，千葉県我孫子市在住の48歳の主婦が左臀部の掻痒性皮疹を主訴として国立国府台病院皮膚科を受診した．皮疹は境界やや不鮮明な鶏卵大の紅斑丘疹性変化で，臨床的に湿疹と診断された．ただし，患者の既往に糖尿病があるため，皮膚浅在性真菌症を否定する意味で，皮疹部鱗屑の KOH 直接鏡検と真菌培養をおこなった．鏡検で菌陰性を確認した後，ステロイド剤の外用をおこない，2週間で皮疹は治癒した（Fig. 1）．なお，後に施行したスポロトリキン反応および4種の *Ceratocystis*（以下 *C.* と略す）つまり *C. stenoceras*，*C. minor*，*C. ulmi* および *C. ips* より作製した抗原¹⁰⁾を用いた皮内反応はすべて陰性であった．また，皮疹部の生検も施行しなかつた．

ところが，さきにおこなつた鱗屑片の培養（chloramphenicol および cycloheximide 加サブロー・ブドウ糖寒天培地を使用，培養温度は室温）にて2，3種類の酵母および細菌に混じて黒褐色調のやや湿性な真菌集落の発育を数個認めた．この菌の肉眼的性状が *S. schenckii*

に酷似しているため、集落の1カ所より鈎菌し、上記の抗生物質加サブロー・ブドウ糖寒天培地にて純培養をおこなった。以後、この菌株を国府台株と呼ぶことにする。

菌の同定

国府台株の同定に際し、巨大培養およびガラス板培養における形態学的所見に加えて、有性生殖器官形成の有無、培養温度と発育速度との関係、コーンミール寒天培地上における色素産生試験、酵母相への転化試験、サイアミン要求性試験、マウス腹腔内接種試験ならびに蛍光抗体法による抗原性状の検討をおこなった。以下これらの項目について述べる。

1. 巨大培養所見

サブロー・ブドウ糖寒天培地における室温培養90日目の巨大培養所見では、集落は直径54 mm大で、その中心部は黒褐色、湿性で隆起し、さらには脳廻転状の不規則な皺を有し、中間帯から周辺部では色調は褐色となり、また最外側では菌糸の培地内への発育が著明であつた (Fig. 2)。

2. ガラス板培養所見

コーンミール寒天培地を用いたガラス板培養所見では菌糸は幅1~2 μ で、分枝し、隔壁が認められた。分生子は円形、卵円形ないしは西洋梨形を呈し、2~4 $\mu \times$ 1.5~3 μ で、菌糸の側壁に直接あるいは小分枝の先端にブドウの房状に附着していた (Fig. 3)。また、3~5 $\mu \times$ 2~4 μ とこれら分生子よりやや大きめでラクトフェノールコットン青標本で褐色を呈する分生子も認められた。

3. 有性生殖器官形成の有無

S. schenckii は不完全菌であり、現在までのところ、その有性生殖器官の *in vitro* での形成は認められていない^{11,12)}。そこで国府台株をジャガイモ・ブドウ糖寒天培地、コーンミール寒天培地ならびに麩寒天培地にて室温、明所にて4カ月間培養してみたが、この間、いかなる有性生殖器官の出現も認められなかった。

4. 培養温度と発育速度との関係

培養温度と発育速度との関係を観察するために、国府台株およびその対照として金沢大学医学部皮膚科福代良一教授より分与を受けた株である *C. stenoceras* 1689株ならびに患者由来の *S. schenckii* Sp-56株¹¹⁾の3菌株を被検菌として、サブロー・ブドウ糖寒天培地にて20°C、27°C、37°Cで培養をおこない、それぞれの発育曲線を温度別に比較検討した。その結果、37°Cでは *S. schenckii*

Sp-56株がわずかに発育したのに比べて、国府台株はほとんど発育しなかつたが、20°Cおよび27°Cでは国府台株は *S. schenckii* Sp-56株とかなり似た発育曲線を示した (Fig. 4)。また20°Cおよび27°Cでの国府台株の発育は *C. stenoceras* 1689株の発育に比べてより緩慢であつた。

5. コーンミール寒天培地における色素産生試験

S. schenckii はコーンミール寒天培地上において黒色を呈することが1つの特徴とされている⁵⁾。国府台株は本培地において黒色を呈した (Fig. 5)。

6. 酵母相への転化試験

S. schenckii は2相性菌であり、*in vitro* においても培地および培養温度を工夫することによつて酵母相に変換しうることが知られている^{13,14)}。そこで国府台株の菌糸相を1%ブドウ糖加ブレイン・ハート・インフュージョン寒天培地に接種し、これを数代継代したところ、酵母相へ完全に転化した (Fig. 6, 7)。

7. サイアミン要求性試験

S. schenckii の発育にはサイアミンが要求されるといふ^{2,5)}。Howard and Orr²⁾の方法に従い、アスパラギン酸合成培地を作成し、サイアミンを加えたものと加えないものとで、その発育状態を比較したところ、国府台株はサイアミン加合成培地での発育がより著明であつた。

8. マウス腹腔内接種試験

前述の方法で得られた国府台株の酵母相を生理的食塩水に懸濁して菌液を作製した。菌液中の細胞数を 5×10^6 個/mlに調製し、この菌液0.1 mlをマウスの腹腔内に注射し、経過を観察した。菌接種4週間後に犠牲死させ、逆培養および病理組織学的検査をおこなった。その結果、菌の接種部位にあたる腹膜と睪丸周囲に肉眼的に結節性の病変が認められ、これらの結節からの逆培養は陽性であつた。睪丸周囲の結節を病理組織学的に検討したところ、好中球、リンパ球および組織球よりなる細胞浸潤が認められ、肉芽腫様構造を呈していた (Fig. 8)。またPAS染色で深紅色に染まる円形ないしは卵円形を呈する菌要素が多数認められた (Fig. 9)。

9. 蛍光抗体法による抗原性状の検索

国府台株と *S. schenckii* との抗原性の異同を蛍光抗体法にて検討した。本学生物活性研究所宮治誠教授より分与を受けた FITC 標識抗 *S. schenckii* 家兔グロブリンを用いて、国府台株とその対照としての *S. schenckii* Sp-56株の菌糸相を直接法で蛍光染色し観察した¹²⁾。その結果、国府台株は *S. schenckii* 患者株と同様に蛍光染色された (Fig. 10)。

Fig. 1. A woman's buttock from which *S. schenckii* (KONODAI strain) was isolated. Two weeks before, when the fungus was isolated, a eczematous lesion was present in this region and she received with topical steroid therapy to be cured.

Fig. 4. Growth response of *S. schenckii* (KONODAI strain) and its controls to incubation temperature, used Sabouraud's dextrose agar as a medium.

Fig. 5. Pigmented colony of *S. schenckii* (KONODAI strain) developed on corn meal agar.

Fig. 6. *S. schenckii* (KONODAI strain), gross colony of yeast-phase on brain heart infusion dextrose agar at 37°C.

Fig. 7. *S. schenckii* (KONODAI strain), microscopic feature of yeast-phase cells. Bar=10μ.

Fig. 2. 90-day-old colony of *S. schenckii* (KONODAI strain) on Sabouraud's dextrose agar at room temperature.

Fig. 3. *S. schenckii* (KONODAI strain), microscopic feature of mycelial-phase, by slide culture method used corn meal agar as a medium. Bar =10μ.

Fig. 8. Granulomatous inflammation in peritesticular nodule that is observed in the mouse experimentally infected with *S. schenckii* (KONODAI strain). Hematoxylin-eosin stain. Bar =50μ.

Fig. 9. Numerous fungal elements in the granulomatous inflammatory lesion. Periodic acid-schiff stain. Bar=10μ.

Fig. 10. Mycelial-phase of *S. schenckii* (KONODAI strain), showing positive fluorescence stained with fluorescein-labeled anti-*S. schenckii* rabbit globulin. Bar=10μ.

以上の諸性状の検索により、国府台株を *S. schenckii* と同定した。

考 察

S. schenckii の自然界からの分離に際して問題となるのは、まず第1に分離された株が形態学的に *S. schenckii* と類似していても、それを直ちに *S. schenckii* としてよいのかということである。すなわち *S. schenckii* と形態学的に類似する菌として *Ceratocystis*, *Graphium*, *Microascus*, *Petriella* および *Petriellidium* 等があり、特に *Ceratocystis* は形態のみならず生物学的、血清学的性状および実験動物に対する病原性においても *S. schenckii* と区別し得ないという指摘がある¹⁸⁻¹⁹ (ただしこれについては反論もある^{8,10})。第2に、分離された株を仮に *S. schenckii* としても、それが *S. schenckii* 患者株と諸性状を同じくするものであるかどうかという点である。というのは、これまで報告された *S. schenckii* 自然分離株の中には病原性を含めた生物学的性状が患者株の性状とかなり異なっているものが少なからずみられるからである。これらの問題点に留意しつつ、国府台株の同定をおこなったところ、形態のみならず、生物学的あるいは血清学的諸性状に関しても、国府台株は *S. schenckii* 患者株ときわめて近似した性状を示した。また国府台株は *C. stenoceras* および *C. ips* が perithecia を形成するのに最も適した条件下¹⁹)において、いかなる有性生殖器官をも形成せず、国府台株が *S. schenckii* の定型株であることに異論はないものと思われる。

次に、今回の場合、危惧されることとして、国府台株が臀部の鱗屑に附着していたのではなく、分離操作中に混入したのではないかという問題がある。つまり、培養の際に使用する器具を介して、*S. schenckii* の保存株や sporotrichosis 患者の鱗屑や痂皮が混入してしまったのではないかということである。この点に関しては、国府台株が分離された国立国府台病院では *S. schenckii* は1株も保存しておらず、したがって著者はこの病院内では *S. schenckii* を全く扱っていないこと、また当時、外来には sporotrichosis 患者は通院していなかったこと、さらには培養の際に使用する器具類は完全には無菌的ではないものの、一応逆性石鹼で消毒したものを用いていたといった数々の理由から否定しうるものである。

さて、*S. schenckii* の自然界からの分離は諸外国ではかなり以前よりおこなわれており²⁻⁶)、本邦では占部ら⁷)および中原⁸)のすぐれた研究がある。菌の分離は主に土壌、草木^{2-5,7,8})よりなされ、珍しいところではラ

ットの糞²)、冷凍ソーセージ⁶)からなされたという報告はあるが、sporotrichosis となら関係のない人体皮膚表面から分離されたのはきわめて異例なことと言える。Brandt and van Niekirk⁹) は南アフリカの金鉱労働者の落屑のみを呈する皮膚表面から *S. schenckii* を分離したが、これらの株は種々の培地を用いても黒色調を呈さず、また血液寒天培地上、37°Cで酵母相に変換せず、非定型的な株であつたとしている。また、本邦における人体皮膚表面の真菌叢についての報告^{20,21})においても *S. schenckii* を分離したという記載をみない。

なお、この carrier の臀部ならびに身体数カ所の皮膚面より、その後数度にわたって真菌培養をおこなったが、*S. schenckii* は分離されなかつた。またこの carrier の家の庭より土壌を採取し、Mariat³) の方法に従って *S. schenckii* の分離を試みたが失敗に終つた。

今回、偶然、皮膚表面より *S. schenckii* の1株を分離したが、carrier はスプロトリコシスの多発地域である千葉県在住¹)でもあり、今後地域住民の真菌フローラやスプロトリキン反応の検索などの疫学的研究も本症の発症あるいは菌の生態学的な面を理解する上で必要な研究と思われる。

おわりに貴重な *Ceratocystis stenoceras* の菌株を御分与下さった金沢大学医学部皮膚科福代良一教授、抗 *Sporothrix schenckii* 蛍光抗体液を御分与下さった本学生物活性研究所宮治誠教授ならびに本稿を御校閲下さった恩師岡本昭二教授および富岡容子医長の諸先生方に深謝いたします。なお本稿の要旨は日本皮膚科学会第553回東京研究地方会で発表した。

文 献

- 1) 荻谷英郎、岩津都希雄：自験スプロトリコシス100例の統計的観察。西日皮膚，39：790—794，1977。
- 2) Howard, D.H. and Orr, G.F.: Comparison of strains of *Sporotrichum schenckii* isolated from nature. J. Bacteriol., 85: 816—821, 1963.
- 3) Rogers, A.L. and Beneke, E.S.: Human pathogenic fungi recovered from Brazilian soil. Mycopathologia, 22: 15—20, 1964.
- 4) Mariat, F.: The epidemiology of the mycosis: some comments in relation to a particular case of sporotrichosis. Ciba Foundation Symposium on Systemic Mycoses, p. 144—159, 1968.
- 5) Mackinnon, J.E., Conti-Díaz, I.A., Gezuele, E., Civilia, E. and Silvia Da Luz: Isolation

- of *Sporothrix schenckii* from nature and considerations on its pathogenicity and ecology. Sabouraudia, **7**: 38—45, 1969.
- 6) Ahearn, D.G. and Kaplan, W.: Occurrence of *Sporotrichum schenckii* on a cold-stored meat product. Am. J. Epid., **89**: 116—124, 1969.
 - 7) 占部治邦, 中島権一, 名嘉真武男, 白水玄明, 永嶋哲二, 中原哲士, 加治英雄: スポロトリクム症—とくにその病原菌の土壌からの分離について. 真菌誌, **11**: 1—6, 1970.
 - 8) 中原哲士: 土壌より分離した *Sporotrichum schenckii* についての研究. 真菌誌, **12**: 30—46, 1971.
 - 9) Brandt, F.A. and Valerie van Niekerk: An atypical strain of *Sporothrix* from South Africa. J. Path. Bact., **96**: 39—44, 1968.
 - 10) 岩津都希雄, 宮治 誠: *Sporothrix schenckii* と *Ceratocystis* 属の抗原性の比較—細胞性免疫応答からの検索. 真菌誌, **17**: 136—141, 1976.
 - 11) 西村和子, 宮治 誠, 荻谷英郎: 鱗屑および癬皮中における *Sporothrix schenckii* の寄生形態(Ⅱ) 癬皮中に見出された perithecium 様器官について. 真菌誌, **15**: 117—126, 1974.
 - 12) 西村和子, 宮治 誠: 鱗屑および癬皮中における *Sporothrix schenckii* の寄生形態(Ⅳ) 蛍光抗体法による研究. 真菌誌, **18**: 48—57, 1977.
 - 13) 平瀬直之: *Sporotrichum schenckii* の Dimorphism に関する研究(Ⅰ) ビタミンの影響について. 日細誌, **14**: 1059—1064, 1959.
 - 14) 荻谷英郎: *Sporotrichum schenckii* の二相性, 酵母相への変換および酵母相における菌の形態の比較. 真菌誌, **11**: 35—44, 1970.
 - 15) Mariat, F., Escudié, A. et Gaxotte, P.: Isolement de souches de *Ceratocystis* sp. à forme conidienne *Sporotrichum*, de cuirs chevelus humains et de poils de rats. Comparaison avec l'espèce pathogène *Sporotrichum schenckii*. C.R. Acad. Sc. Paris, Série D, **267**: 974—976, 1968.
 - 16) Mariat, F.: Variant, non sexué, de *Ceratocystis* sp. pathogène pour le hamster et comparable à *Sporothrix schenckii*. C.R. Acad. Sc. Paris, à Série D, **269**: 2329—2331, 1969.
 - 17) Mariat, F.: Adaptation de *Ceratocystis* à la vie parasitaire chez l'animal—Etude de l'acquisition d'un pouvoir pathogène comparable à celui de *Sporothrix schenckii*. Sabouraudia, **9**: 191—205, 1971.
 - 18) Taylor, J.J.: A comparison of some *Ceratocystis* species with *Sporothrix schenckii*. Mycopath. Mycol. Appl., **42**: 233—240, 1970.
 - 19) Nishimura, K. and Miyaji, M.: Studies on the development of perithecium of *Ceratocystis stenoceras*. Mycopathologia, **61**: 93—98, 1977.
 - 20) 埜繁弥太: 健康及病的皮膚面に附着する糸状菌の研究. 日皮会誌, **20**: 101—131, 1920.
 - 21) 名嘉真武男: 人体皮表および喀痰の真菌叢について. 真菌誌, **5**: 205—215, 1964.
 - 22) 余 縛: 正常皮膚の真菌に関する研究. 皮膚科紀要, **60**: 126—174, 1965.

A Strain of *Sporothrix schenckii* Happened to Be Isolated from Scales in Nonsporotrichotic Eczematous Lesion

Tokio Iwatsu

Department of Dermatology, School of Medicine, Chiba University, 1-8-1 Inohana, Chiba-shi,
Chiba 280, Japan and Division of Dermatology, Konodai National Hospital, 1-7-1
Konodai, Ichikawa-shi, Chiba 272, Japan

A strain of *Sporothrix schenckii* (named KONODAI strain) happened to be isolated from scales in the eczematous lesion on a woman's buttock without clinical features characteristic of sporotrichosis. The colony of the isolated fungus on Sabouraud's dextrose agar was slightly moist with pigmentation, and the development of pigmentation was more evident on corn meal agar. The fungus produced delicate septate hyphae that gave rise to short conidiophores bearing a cluster of conidia. Conidia were also formed along the sides of hyphae. The fungus converted to a yeast-phase of growth on brain heart infusion dextrose agar at 37°C. It required thiamine for growth. Mice that received intraperitoneal injection of its yeast-phase cells developed peritoneal and peritesticular lesions. Furthermore it was brightly stained with fluorescein-labeled anti-*S. schenckii* rabbit globulin.

It was identified as *S. schenckii* for the reasons mentioned above.

There had been some reports on the isolation of *S. schenckii* from natural sources such as soil, plant debris or wood, but the isolation of the fungus from nonsporotrichotic human skin surface or scrapings of scales was uncommon.