自然界からの *Exophiala jeanselmei* の分離

岩 津 都 希 雄

成田赤十字病院皮膚科

宮 治 誠

千葉大学生物活性研究所食中毒研究部

岡 本 昭 二

千葉大学医学部皮膚科学教室

〔受付：2月20日，1981年〕

千葉および茨城の両県で採取した朽木，土壤等の自然環境物，計177サンプルより83株の黒色真菌を分離した。これらの菌株のうち3株を *Exophiala jeanselmei* と同定した。そのうちの2株は朽木から，また1株はアカマツの樹皮から分離されたものである。形態学的性状および生理学的性状において，これらの自然分離株と患者由来の *E. jeanselmei* との間に顕著な差を認めることはできなかった。また，これらの自然分離株はラットに対して弱い病原性を有していた。本報告は *E. jeanselmei* の自然界からの分離に関して，本邦でははじめてのものと思われる。

Exophiala jeanselmei (Langeron 1928) McGinnis et Padhye 1977 は足菌腫および皮下膿腫あるいは皮下膿瘍 (phaeomycotic cyst, phaeohyphomycosis) の原因菌として知られている¹⁾。福代ら²⁾によると，本邦では1979年10月までに21例の本菌感染症が報告されているという（ただし，その全例において，原因菌名として *Phialophora gougerotii* なる名称が用いられている）。彼ら^{2,3)}によると，本菌感染症は本邦において最近増加傾向にあるといい，またその病型として，皮下膿腫ないしは皮下膿瘍のほかには通常のクロモミコーススの病変に似た肉芽腫状，疣状ないしは紅斑局面をとる症例が少からずみられることが本邦例の特徴であるという。ただし，本邦においては，これまでに足菌腫はみられていない。

本菌は，元来，自然界に存在するものであり，皮膚面の外傷部より人体に侵入し，感染をおこすものとされている³⁾。それゆえ，本菌の自然界での生態，すなわち，本菌の natural habitat を知ることは，本菌感染症の疫学を理解する上で意義があることと思われる。本菌は，

Ajello⁴⁾ によれば，自然界に比較的普遍的に存在する菌とされ，事実，諸外国では本菌をパルプから分離した Wang⁴⁾ の報告，鳥の巣，土壤から分離した Conti-Diaz et al.⁵⁾ の報告および樹皮，木材，土壤から分離した Dixon et al.⁶⁾ の報告がある。しかしながら，本邦では，本菌を臨床材料以外から分離したという報告は，著者らの知る限りでは，見あたらないようである。

最近，著者らは朽木およびアカマツの樹皮より3株の *E. jeanselmei* を分離したので，ここに報告する。また，これら自然分離株の形態学的性状，生理学的性状およびラットに対する病原性を臨床分離株のそれらと比較検討したので，その結果についても触れたい。

実験材料と方法

菌の分離材料および分離方法

自然界から採取したサンプルの種類およびその検体数を Table 1 に示した。採取した場所は千葉および茨城の両県で，採取した季節は四季に及んだ。採取後2日から30日以内に次の操作をおこなった。すなわち，Smith and Furcolow⁷⁾ の方法に準じ，サンプル (5～50 g) を滅菌された 500 ml 入コルベンに入れ，これに抗生物質（ペニシリン G 200 単位/ml，ストレプトマイシン 200 μg/ml，

別刷請求先：岩津都希雄

〒286 千葉県成田市飯田町90—1
成田赤十字病院皮膚科

Table 1. List of natural samples examined and number of positive isolates for *Exophiala jeanselmei*

Sample	No. of samples examined	No. of positive isolates from nature
Rotting wood	78	2
Lumber and logs	7	0
Bark (pine)	18	1
(other trees)	13	0
Sawdust	4	0
Soil	54	0
Wasp nests	2	0
Bird nests	1	0
Total	177	3

クロラムフェニコール200 $\mu\text{g/ml}$ およびシクロヘキシミド500 $\mu\text{g/ml}$ 加減菌生理的食塩水100 mlを加え、30分間室温に放置した。ついで、各コルベンに、20 mlの滅菌流動パラフィンを加え、5分間振盪した。20分間静置した後、パラフィン相と水相の境界面よりピペットで懸濁液を採取し、その1滴を上記の抗生物質が同じ濃度で加えられたサブロー・ブドウ糖寒天平板に滴下し、白金耳で塗抹した。1サンプルにつき2枚の平板を作製し、それぞれを27°Cと37°Cで培養した。培養後、隔日毎に観察をおこない、黒色調の集落が生じてきた場合はこれを白金耳で釣菌し、新しい平板に移した。この操作をくり返すとともに適宜鏡検をおこなった。

形態学的性状

分離菌の集落の肉眼的形態はサブロー・ブドウ糖寒天培地で、27°C、35日間培養したものについて観察した。また、その間も適宜観察をおこなった。顕微鏡的形態はコーンミール寒天培地を用いたスライドカルチャー法にて、27°C、14日間培養したものについて観察した。また、一部の菌株については、NishimuraとMiyaji⁸⁾の方法に準じて試料を作製し、走査型電子顕微鏡(日立HFS-2型)にて観察をおこなった。

生理学的性状

分離菌の耐熱性に関してはサブロー・ブドウ糖寒天培地およびブドウ糖(1%)加ブレイン・ハート・インフュージョン寒天培地を用いて、各菌を35, 37, 39°Cでそれぞれ28日間培養し、その発育状態を観察した。

澱粉水解能は0.2%澱粉、1%ペプトン、0.6%ブドウ糖、1.5%寒天より成る培地に分離菌を接種し、27°C、28日間培養したものについて、ヨード澱粉反応をおこな

い、澱粉に対する水解能を調べた。

スキムミルク分解能はスキムミルクを10%の濃度とした寒天培地に分離菌を接種し、27°Cで28日間培養し、その分解能を試験した。

ハイポキサンチン分解能はイースト・モーフオロジー寒天培地およびサブロー・ブドウ糖寒天培地を基礎培地とし、これにハイポキサンチンが5 mg/mlの濃度になるように混入し、ついで菌を接種し、27°C、35日間培養し、その分解能を調べた。

動物接種試験

接種実験に用いた胞子は、あらかじめ各菌をサブロー・ブドウ糖斜面寒天培地にて27°C、21日間培養したものにTween 80 (0.02%)加滅菌生理的食塩水を加え、ピペットにて軽く搅拌することによつて採取した。つぎに血球計算盤にてこれら胞子懸濁液中の胞子数を数え、その数を 2×10^7 cell/mlに調整した。この0.05 mlを分離菌1株につき3匹のラット(♂, 150~180 g)の後肢足背に皮下注射した。5週間後、これらの動物を犠牲死させ、注射部位の皮膚および皮下組織を一括して切除し、病理組織学的検索と逆培養に供した。

対照実験に用いた臨床分離株

11株の*E. jeanselmei*臨床分離株を自然分離株の場合と全く同様の方法で形態学的性状、生理学的性状および実験動物に対する病原性を検索した。なお、これら臨床分離株の由来は次のとおりである。当初*Phialophora jeanselmei*として分離同定され、Center for Disease Control (CDC), Atlanta, U.S.A.にて*E. jeanselmei*として継代保存されているもので、同施設より分与を受けたもの: DCU 641=CDC B-1003; DCU 643=CDC B-1770; DCU 644=CDC B-1773。当初*P. gougerotii*として分離同定され、CDCにて*E. jeanselmei*として継代保存されているもので、同施設より分与を受けたもの: DCU 646=CDC B-1785=Wang 1040; DCU 648=CDC B-1823; DCU 649=CDC B-2762; DCU 650=CDC B-2763。当初*P. gougerotii*として分離同定され、金沢大学医学部皮膚科学教室にて*P. gougerotii*として継代保存されているので、同教室より分与を受けたもの: DCU 608=金沢大999=サンルイ病院株; DCU 634=金沢大2036; DCU 636=金沢大2091=群馬大堀株、当初*P. jeanselmei*として分離同定され、金沢大学医学部皮膚科学教室にて*P. jeanselmei*として継代保存されているもので、同教室より分与を受けたもの: DCU 609=金沢大1171=久留米大No. 382=Duke 大株。

Fig. 1. Natural isolates of *Exophiala jeanselmei*. Annellides and annelloconidia.
 a. DCU 419; b. DCU 420; c. DCU 419; d. DCU 418; e. DCU 420; f. DCU 420; g. DCU 418; Bar=5 μ m.

実験結果

検索した177検体から計83株の黒色真菌が分離された。これらのうち3株が以下に述べる形態学的特徴から *E. jeanselmei* と同定された。これらのうち1株 (DCU 418) は1979年2月11日に千葉県我孫子市新木において朽木から、1株 (DCU 419) は1979年5月5日に茨城県稲敷郡牛久町において朽木から、また1株 (DCU 420) は1979年5月5日に茨城県稲敷郡江戸崎町下君山においてアカマツ (*Pinus densiflora*) の樹皮から分離されたものである (Table 1)。

形態学的性状

自然分離株の DCU 418, DCU 419 および DCU 420 の肉眼および顕微鏡的形態は次のとおりである。集落は最初は湿性であるが、しだいに気中菌糸が表面を被う

ようになってくる。培養35日目で DCU 418 は 45 mm, DCU 419 は 29 mm, DCU 420 は 34 mm の直径となった。集落の表面は灰黒色ビロード状で、裏面は黒色を呈する。1株 (DCU 419) では集落の一部は湿性のままである。顕微鏡的には菌糸は円柱状で、隔壁を有し、時に分枝し、壁は平滑で、色はオリーブ色である。DCU 419 では数珠状の菌糸もみられる。分生子は菌糸側壁の突起または菌糸に生じた分生子形成細胞から形成される。これらの分生子形成細胞は円柱状、根棒状あるいはフラスコ状を呈する (Fig. 1)。また、走査型電子顕微鏡にて、分生子形成細胞に環紋 (annellation) を認め、これらの分生子形成細胞が annellide であることがわかる (Fig. 2)。分生子は1細胞性、類円形、楕円形または円柱状で、色は無色であり、はじめは分生子形成細胞の先端に

Fig. 2. Natural isolates of *Exophiala jeanselmei*. Annellated conidiogenous cell apex. a. DCU 418; b. DCU 419; Bar=1 μ m.

Fig. 3. Clinical isolates of *Exophiala jeanselmei*. Anellides and annelloconidia.
a. DCU 649; b. DCU 646; c. DCU 650; d. DCU 643; Bar=5 μ m.

集中するが、しだいに側壁に沿ってすべり落ちる傾向にある。また遊離の分生子形成細胞 (free conidiogenous cells) も存在する。

一方の臨床分離株11株の肉眼的および顕微鏡的形態は自然分離株のそれらに酷似する (Fig. 3)。

生理学的性状

結果を一括して Table 2 に示した。

耐熱性：3株の自然分離株のうち、37°Cで発育をみた

のは1株だけであり、2株は37°Cで発育が抑制された。一方、11株の臨床分離株のうち、37°Cで発育を認めたのは7株で、他の4株は37°Cで発育が抑制された。自然分離株および臨床分離株のいずれの菌も35°Cでは発育し、39°Cでは全く発育しなかった。

澱粉水解能：自然分離株は3株とも陰性であった。臨床分離株では11株中9株は陰性であったが、2株が陽性の所見を呈した。

スキムミルク分解能：自然分離株および臨床分離株の計14株はすべて陰性であつた。

ハイポキサンチン分解能：自然分離株は3株のうち1株が陽性，2株が陰性であつた。一方，臨床分離株では11株のうち3株が陽性，8株が陰性であつた。

動物接種試験

肉眼的所見：自然分離株である DCU 418および DCU 419が接種されたラットのそれぞれ3匹中1匹において，また同じく自然分離株である DCU 420が接種されたラットの3匹中2匹において，接種部位に一致して肉眼的に結節の形成が認められた (Table 3)。一方，臨床分離株が接種されたラットは，すべて，接種部位に肉眼的な

Table 2. Physiological characteristics of natural and clinical isolates of *Exophiala jeanselmei*

Source	No. of isolates examined	No. of isolates growing at			No. of isolates decomposing of		
		35°C	37°C	39°C	Starch	Skim milk	Hypoxanthine
Natural	3	3	1	0	0	0	1
Clinical	11	11	7	0	2	0	3

変化を示さなかつた。

病理組織学的所見：これらの結節を病理組織学的に検討したところ，主たる変化は真皮下層における肉芽腫性炎であつた (Fig. 4-a)。また，その肉芽腫の中心部

Fig. 4. Histopathological features of cutaneous lesions induced by natural isolates of *Exophiala jeanselmei* in rats. a. Granulomatous inflammation in the dermis. DCU 419. HE stain. Bar=100µm. b. Arrow indicates fungus element within giant cell. DCU 420. HE stain. Bar=10µm. c. Arrows indicate fungus elements, either free or enclosed in giant cells. DCU 419. PAS stain. Bar=10µm.

Table 3. Results of pathogenicity test on natural and clinical isolates of *Exophiala jeanselmei*

Source /Strain	Rat No.	Nodular lesion formation	Presence of fungus elements in tissue sections	Recovery of a culture from tissues
Natural				
DCU 418	1	+	+	—
	2	—	—	—
	3	—	—	—
DCU 419	1	+	+	+
	2	—	—	+
	3	—	—	—
DCU 420	1	+	+	+
	2	+	+	—
	3	—	—	—
Clinical				
Each of eleven isolates	1	—	—	—
	2	—	—	—
	3	—	—	—

+: Positive —: Negative

に壊死巣あるいは膿瘍が認められたものもあつた。浸潤細胞はリンパ球ならびに組織球が主体で、好中球および巨細胞も認められた。組織内菌要素は、これらの結節のすべてにおいて、陽性であつた (Table 3)。一方、菌の接種部位において肉眼的な変化が認められなかつたラットは、すべて、組織内菌要素も陰性であつた。陽性例における菌要素の形態は、典型的な sclerotic cells あるいは菌糸はともにみられず、比較的小型の酵母様細胞のみが観察された (Fig. 4—b, c)。これらの菌要素は HE 染色ではその褐色調の色調が淡く、識別しがたかつた (Fig. 4—b)。

逆培養：これらの結節の半数 (2/4) において逆培養が陽性であつた (Table 3)。また、菌の接種部位において肉眼的な変化が認められず、組織内菌要素も陰性であつたラットのほとんどは逆培養も陰性であつたが、例外的に、自然分離株である DCU 419 が接種されたラットの1匹において、逆培養のみが陽性という結果が得られた。

考 察

Exophiala jeanselmei (Langeron) McGinnis et Padhye はこれまで *Phialophora jeanselmei* (Langeron) Emmons として記載されてきたが、最近 McGinnis と Padhye⁹⁾ は本菌が *Phialophora* 属の定義に合致しないとして

Exophiala 属へ移した。従来の医真菌学の教科書を繙くと、足菌腫から分離されたものを *P. jeanselmei* とし、皮下囊腫 (皮下膿瘍) から分離されたものを *Phialophora gougerotii* (Matruchot) Borelli と記載して、この2つを別種として扱っている¹⁰⁻¹²⁾。McGinnis & Padhye⁹⁾ は *P. jeanselmei* と *P. gougerotii* を形態学的に詳細に比較検討した結果、由来を異にするこの両者の間に差は認められなかつたとして、後者を前者の synonym とした。そしてまた、これらの菌の分生子形成細胞は *Phialophora* 属に特徴的な collarette を有する phialide ではなく annellide であるとし、*Phialophora* 属から *Exophiala* 属に移した。今回自然界より分離された DCU 418, DCU 419 および DCU 420 の3株の形態学的特徴は McGinnis と Padhye⁹⁾ の記載に一致し、またこれらの菌株の分生子形成細胞が annellide であることは電子顕微鏡的にも確かめられたので、*E. jeanselmei* と同定した。また、形態学的に *E. jeanselmei* 臨床分離株と区別できないこれら自然分離株は、生理学的性状においても、臨床分離株に類似した傾向を示した。すなわち、耐熱性に関しては、35℃では発育可能、39℃では発育不能そして37℃では菌株によっては発育可能また発育不能というほぼ同一のパターンを示した。腐生性黒色真菌の代表的な属である *Cladosporium* の中にはスキムミルクや澱粉を分解するものが多いとされているが¹³⁾、*E. jeanselmei* 自然分離株はこれらの性質を有しておらず、その点に関しても大多数の臨床分離株と同様であつた。

さて、これら *E. jeanselmei* 自然分離株の病原性に関してであるが、今回はラット後肢足背皮下接種試験をおこない、この実験系で感染が成立したか否かによつて分離菌の病原性の有無を推察した。感染の成立、不成立は組織内菌要素の有無と逆培養の結果を、一応、指標とした。実験の結果は、3株の自然分離株が接種されたラットのそれぞれ3匹中1匹において、組織内菌要素あるいは逆培養のどちらか一方が陽性である所見が得られ、さらに、このうちの2株 (DCU 419, DCU 420) では、それぞれの1匹ずつに、組織内菌要素および逆培養がともに陽性である所見が得られた。つまり、これら自然分離株は、3株ともに、ラットに対する病原性のある程度は保有しているものと思われた。しかしながら、これらの自然分離株は、3株ともそれぞれ、接種したラットのすべてに組織内菌要素および逆培養がともに陽性となる病巣を発生させることはできず、その病原性の程度は比較的弱いと考えるのが妥当と思われた。一方、今回の実

験系では、臨床分離株は、すべて、ラットに対して病原性を示さなかつた。以上のごとく、自然分離株の方が弱いながらもラットに対して病原性を示し、臨床分離株の方がそれを示さなかつたという結果になつてしまつたことは、やや奇異な感じがしないでもないが、今回実験に使用した臨床分離株はすべて継代をくり返しているものであり、その継代中に病原性が消失してしまつた可能性も否定できない。一般に、*E. jeanselmei* の病原性は弱いとされ^{3,10)}、動物への感染実験においては corticosteroid 等の宿主の抵抗力を低下するものの前処置をしてはじめて感染が成立するともいわれ¹⁴⁾、また臨床例においても、本菌感染症は生体の防衛機構がなんら障害された者に多いのは周知の事実である。

病原性黒色真菌の自然界からの分離に関して、現在までに諸外国では多くの文献がみられているが、本邦ではこの種の報告は多くはない。*P. verrucosa* は、本邦において以前に、ナメコ (*Pholiota nameko*) の鋸屑栽培々地¹³⁾ やホウロクタケ (*Trametes dickinsii*)¹⁶⁾ から分離されたことがあつたが、最近著者ら¹⁷⁾ によつて本菌は本邦においても朽木等の木質にかなり普遍的に存在していることが明らかにされた。*Fonsecaea pedrosoi* は、病原性黒色真菌の中で臨床材料から最も高頻度に分離される菌であるが、自然界からこの菌を分離したという報告は、本邦においては、朽木から分離したという著者ら¹⁷⁾ のものがあるにすぎない。このほかに、*Cladosporium bantianum* が土壌¹⁸⁾ から、*Wangiella dermatitidis* が加湿器¹⁹⁾ から分離されたことはあるが、*E. jeanselmei* が本邦において自然界から分離されたという報告はこれまでになかつた。そして、前述の報告¹⁵⁻¹⁹⁾ に加えて今回の報告により、本邦において臨床材料から分離されたことのある黒色真菌の *P. verrucosa*, *F. pedrosoi*, *C. bantianum*, *W. dermatitidis* および *E. jeanselmei* は、すべて、本邦の自然界にも存在することが証明されたことになるわけである。

本菌の natural habitat に関して、諸外国ではこれまでにバルブ⁴⁾、樹皮⁶⁾、木材⁶⁾、鳥の巣⁵⁾ および土壌^{3,6)} といった環境物が報告されている。今回の調査では、朽木から2株、アカマツの樹皮から1株が分離されたが、土壌から1株も分離されなかつた。本菌の木質に親和性のある性質は、*P. verrucosa* および *F. pedrosoi* をはじめとする病原性黒色真菌共通のものようである^{5,17,20)}。

今回、*E. jeanselmei* が本邦の自然界から分離されたことを報告したが、その調査地域は千葉、茨城の両県とい

う比較的狭い範囲でしかない。本邦における本菌感染症の症例の地理的分布をみても、本菌は本邦の自然界に広い範囲で存在することが予想される。今後の検討を期待したいものである。

稿を終えるにあたり、貴重な菌株を御分与下さつたアメリカ、CDC の Dr. Ajello および金沢医科大学皮膚科学教室福代良一教授に深謝いたします。

本研究の要旨は第24回日本医真菌学会総会（昭和55年11月22日、福岡市）にて報告した。なお、その際、神戸市環境保健研究所松田良夫博士より、神戸市内の一般住宅に棲息していた家蝙蝠の糞から本菌をきわめて多数株分離したとの追加発言があつたことを付記する。

文 献

- 1) Ajello, L.: The black yeasts as disease agents: Historical perspective. In The Black and White Yeasts, p. 9—10, Pan American Health Organization, Washington, D.C., 1978.
- 2) 福代良一, 井上久美子, 加世多秀範: *Phialophora gougerotii* 感染について. 真菌誌, 21: 32—32, 1980.
- 3) 福代良一: 黒色真菌感染の基礎と臨床—クロモミコーシスを中心に—. 真菌誌, 18: 398—421, 1977.
- 4) Wang, C.J.K.: In Fungi of pulp and paper in New York, p. 76—76, State Univ. Coll. Forestry Tech. Pub. No. 87, 1965.
- 5) Conti-Díaz, I.A., Mackinnon, J.E. and Civilia, E.: Isolation and identification of black yeasts from the external environment in Uruguay. In The Black and White Yeasts, p. 109—114, Pan American Health Organization, Washington, D.C., 1978.
- 6) Dixon, D.M., Shadomy, H.J. and Shadomy, S.: Dematiaceous fungal pathogens isolated from nature. Mycopathologia, 70: 153—161, 1980.
- 7) Smith, C.D. and Furcolow, M.L.: Efficiency of three techniques for isolating *Histoplasma capsulatum* from soil including a new flotation technique. J. Lab. Clin. Med., 64: 342—348, 1964.
- 8) Nishimura, K. and Miyaji, M.: Studies on perithecium of *Ceratocystis stenoceras* by a scanning electron microscope. Mycopathologia, 59: 125—128, 1976.
- 9) McGinnis, M.R. and Padhye, A.A.: *Exophiala jeanselmei*, a new combination for *Phialophora jeanselmei*. Mycotaxon, 5: 341—352, 1977.
- 10) Conant, N.F., Smith, D.T., Baker, R.D. and

- Callaway, J.L.: *In* Manual of Clinical Mycology, 3rd. Ed., p. 458—481, p. 527—540, Saunders, Philadelphia, 1971.
- 11) Emmons, C.W., Binford, C.H., Utz, J.P. and Kwong-Chung, K.J.: *In* Medical Mycology, 3rd. Ed., p. 425—463, Lea & Febiger, Philadelphia, 1977.
 - 12) Rippon, J.W.: *In* Medical Mycology, The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes, p. 48—69, p. 229—247, Saunders, Philadelphia, 1974.
 - 13) Fuentes, C.A. and Bosch, Z.E.: Biochemical differentiation of the etiologic agents of chromoblastomycosis from non-pathogenic *Cladosporium* species. *J. Invest. Dermatol.*, **34**: 419—421, 1960.
 - 14) Rao, V.K. and Prasad, C.R.: Experimental maduramycosis. I. Infection of mice with *Phialophora jeanselmei*. *Mycopathol. et Mycol. Appl.*, **51**: 119—126, 1973.
 - 15) 小松光雄: ナメコ鋸屑栽培々地から分離された数種の不完全菌類について. 菌草研究所研究報告, **7**: 78—89, 1969.
 - 16) Udagawa, S. and Horie, Y.: Taxonomical notes on mycogenous fungi. I. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **17**: 141—159, 1971.
 - 17) Iwatsu, T., Miyaji, M. and Okamoto, S.: Isolation of *Phialophora verrucosa* and *Fonsecaea pedrosoi* from nature in Japan. *Mycopathologia*, **75**: 149—158, 1981.
 - 18) Matsushima, T.: *In* Icones Microfungorum A Matsushima Lectorum, p. 33—33, published by the author, 1975.
 - 19) 西村和子, 宮治 誠, 河井玲子: 加湿器より分離された "*Phialophora*" *dermatitidis* と思われる1菌株について, 真菌誌, **21**: 30—30, 1980.
 - 20) Gezuele, E., Mackinnon, J.E. and Conti-Díaz, I.A.: The frequent isolation of *Phialophora verrucosa* and *Phialophora pedrosoi* from natural sources. *Sabouraudia*, **10**: 266—273, 1972.

Isolation of *Exophiala jeanselmei* from Nature in Japan

Tokio Iwatsu, Makoto Miyaji* and Shoji Okamoto**

Division of Dermatology, Narita Red Cross Hospital, Narita, Chiba 286, *Department of Food Hygiene, Research Institute for Chemobiodynamics, Chiba University, Chiba 280, and **Department of Dermatology, Chiba University School of Medicine, Chiba 280, Japan

Three strains of *Exophiala jeanselmei* were isolated from 177 natural samples which were collected in rural regions of both Chiba and Ibaragi prefectures, Japan. Two of them were isolated from rotting wood and one from pine (*Pinus densiflora*) bark (Table 1). The colonies of these isolates on Sabouraud's dextrose agar at 27°C were blackish in color with a velvety appearance or with a yeast-like one. These isolates produced annellated conidiogenous cells (annellides) and annelloconidia (Fig. 1, 2). Conidiogenous cells of these isolates were cylindrical, obclavate or lageniform, and conidia were non-septate, subglobose, ellipsoidal to cylindrical and hyaline. Toruloid hyphae and free conidiogenous cells were present (Fig. 1-c). These morphological features of the natural isolates were almost similar to those of clinical isolates of *E. jeanselmei* (Fig. 3). Furthermore, there were no distinct differences between both the natural and clinical isolates in physiological characteristics concerning thermotolerance and decomposition of starch, skim milk and hypoxanthine (Table 2). One or 2 out of 3 rats, which received subcutaneous injection of 10⁶ conidial cells of each natural isolate of *E. jeanselmei*, produced nodules at the sites of the injected skin (Table 3). Histopathologically, these lesions were granulomas in the lower dermis (Fig. 4-a). Fungus elements were present in all of the granulomas (Table 3, Fig. 4-b, c). The recovery of a culture from the tissues was positive in 2 of 4 animals which produced nodular lesions and in one of 5 animals which looked apparently normal at the sites (Table 3). These results of pathogenicity test suggest that the natural isolates of *E. jeanselmei* might be pathogenic for rats, even though their pathogenicity is relatively weak one. The present paper is the first report on the isolation of *E. jeanselmei* from nature in Japan.