綜 説

プロトテカという微生物

椿 啓 介

筑波大学生物科学系

Key words: プロトテカ (*Prototheca*)

プロトテカ *Prototheca* という生物は人間および動物のプロトテカ症 *protothecosis* をおこす一つの微生物として最近になって注目をあびてきたが、未だに生物学上の分類位置が判然とされていない。この属は1894年にKrügerにより設立されたもので、種類として当時は2種、すなわち *P. zopfii* Krüger と *P. moriformis* Krüger が設けられた。しかし Krüger は属の設立当時、この微生物は菌類近似のものとして記載しただけであった。その後、Saccardo (1895) がはじめてプロトテカ属を菌類の範囲内に入れ、子嚢菌類のエンドミセス科のものとして *Sylloge Fungorum* 11 巻に記載している。円い細胞の中に入っている内生孢子を子嚢孢子と思ったのであろう。次いで West (1916) はこれは菌類ではなく藻類に入れるべきものとしてクロレラなどをふくむ単細胞藻類の緑藻綱 *Chlorophyceae* のオーキスチス科 *Oocystaceae* に移した。藻類学者である Fritsch (1948) は“Krüger のプロトテカ属は色素を失ったクロレラ以外の何物でもない……”とのべている。一方、Redaelli と Ciferri (1935, 1936) はプロトテカに色素体の欠けている点を重視して緑藻類のクロレラ科のそばにプロトテカ科 *Protothecaceae* を設けた Printz (1927) の説に賛同しており、Ciferri (1957) はその後 *Protothecaceae* とあらためた。

以上のように藻類に入れる説、菌類と藻類との

中間におく説などが入り乱れているが決定的な意見は未だに出されておらず、したがって本属を取扱った報文もきわめて多方面にわたっている（末尾文献集参照）。

プロトテカの特性

属の特徴：無色、細胞は球形、だ円形、長円形など円味をおびた単細胞で出芽増殖はせず、成熟するにしたがってふくらみ、内部に2～8 (20) 個の内生孢子 *autospore* を形成した孢子嚢 *sporangium* となる (Fig. 1.)。内生孢子は、未熟のときは相互に接して菱形のように角ばっているが成熟すると卵～球形となり、大きさは大凡径10～20 (25) μm 、やがて孢子嚢の外壁が破れ、内生孢子は遊離して栄養細胞 *vegetative cell* となり、同様な生活史をたどる。色素体を欠き、有性生殖はみられない。寒天培地上のコロニーは白色～淡クリーム色で酵母状を呈す (Fig. 2, 3)。

基準種は *Prototheca zopfii* Krüger (1894)

分布：現在までの報告によると樹液、尿、爪、じゃがいもの皮、河川、排水処理場の水溝、牛の乳房炎患部、魚内臓などである。このように自然界における分布は広く、日本においては筆者らがはじめて樹液(ミズナラなど)などから分離(1959)して1新種 *P. wickerhamii* を設立し、次いで廃水処理槽から報告した(1987)。プロトテカはその比較的単純な形態と一見酵母様の培地上コロニーのため見逃され易いが、プロトテカ症や廃水処理施設などから今後分離例は増加することであろう。

以上は主に自然界における分布であるが最近注目されてきたプロトテカ症がある。これは牛に発

別刷請求先：椿 啓介

●現 〒274 船橋市習志野台7-7-1

日本大学薬学部生物研究室

Fig. 1. Vegetative cells, sporangia and autospores of *Prototheca zopfii*, scale = 10 μ m.

Fig. 2 & 3. Colonies of *P. zopfii* on malt yeast-extract agar and potato dextrose agar plates ($\times 4$).

熱，感染分房の発赤・腫張・硬結をとまう乳房炎で原因微生物として日本からも池田ら（1985）により見出されており，詳細な薬剤感受性，病理学的知見が報告されている．牛の泌乳量が激減し，長期にわたる重度の病状を持続するので家畜衛生上で重要であり，また，未だ日本では報告がないようであるが人体感染の危険性もあるので今後注意すべき微生物のひとつであろう．外国では牛の他，古くから人体，犬，猫，鹿などにプロトテカ症が報告されており，最も多いのは犬の症例で重度の感染症とされている．

分類：上述のようにプロトテカの分類位置に関

してはさまざまな意見が出ているが決定的なものは未だ見当らない．種の区別にしても過去にいろいろな分類基準が提案されているものの，胞子囊の大きさをとっても種がオーバーラップし，培地や湿度によっても差があり，内生胞子の数も条件によって異なってくるので形態のみによる判別はきわめて難しい．

現在までに発表されてきた種を年代順に列記すると次の如くである．

（種名）	（分離源）	（発表年）
<i>Prototheca zopfii</i> Krüger	樹液	1894
<i>P. moriformis</i> K.	樹液	1894

<i>P. portoricensis</i> Ashford, Ciferri & Dalmau → <i>P. zopfii</i>	人体	1930
<i>P. portoricensis</i> var. <i>trispora</i> Ashf., Cif & Dalmau → <i>P. zopfii</i>	人体	1930
<i>P. ciferri</i> Negroni & Blaisten → <i>P. zopfii</i>	人体	1941
<i>P. wickerhamii</i> Tubaki & Soneda	廃水溝	1959
<i>P. segbwema</i> Davies, Spencer & Wakelin → <i>P. zopfii</i>	人体	1964
<i>P. stagnora</i> W.B. Cooke <i>P. ubrizsyi</i> Zsolt & Novak → <i>P. zopfii</i>	廃水処理場	1968 1968
<i>P. filamenta</i> Arnold & Ahearn Nadakavukaren らにより菌類に移された.	人体	1972
<i>P. salmonis</i> Gentles & Bond	鮭内臓	1977

形態学的研究に引続き、プロトテカの培養が酵母様のコロニーを示す点、また、過去のデータから炭素源の資化性が種によって異なる点などからプロトテカの分類に酵母分類の手法が適用された。Arnold と Ahearn は培養保存されていたプロトテカ 23 株を用いて生理的性質を検討した結果、炭素源の資化性から 5 種に整理して検索表を示した。現在のところ、この検索表の一部を修正すれば種の同定は可能である。資化性試験に使用した炭素源は dextrose, sucrose, maltose, lactose, galactose, xylose, levulose, raffinose, trehalose, methanol, ethanol, *n*-propanol, *iso*-propanol, *n*-butanol, *tert*-butanol, *n*-pentanol, *iso*-pentanol, hexanol, cyclo-hexanol, phenol, glycerol, sorbitol, inositol, dulcitol, erythritol など。すべての種は dextrose, levulose, galactose, ethanol, *n*-butanol, *iso*-butanol, *iso*-pentanol, hexanol, glycerol を消化する。反対にすべて

maltose, lactose, cellobiose, xylose, raffinose などの糖を資化し得ない点にも特徴があり, sucrose, trehalose, *n*-propanol の資化性で種を判別することができる。全種にビタミン要求性があり thiamin が発育に必要である。Arnold と Ahearn (1972) が提案した検索表は以上の資化性を基本としてできたものであるが, そのなかの *P. filamenta* は後に Nadakavukaren ら (1975) によって明らかに真菌であることが示されたので, ここではプロトテカ属から外しておく。最も新しく設立された種として淡水の鮭に内臓疾患をおこす *P. salmonis* があり, これを追加して現段階における種の検索表をつくってみると以下のようになる。

[プロトテカ属の種検索表]

1. コロニーは白色, 24°で発育2
コロニーは成熟すると黄色となり 24°で発育しない*P. salmonis*
2. Sucrose を資化する*P. stagnora*
Sucrose を資化しない3
3. Trehalose と資化する4
Trehalose を資化しない*P. zopfii*
4. *n*-propanol を資化する ...*P. moriformis*
n-propanol を資化しない.....
.....*P. wickerhamii*

なお *P. moriformis* は Sudman にすれば *P. zopfii* に含ませるべきものとされているが, ここでは別種として扱った。

このように一応の検索はできるが, 未だ系統学的見地から不明な点が多く, 分類学的な検討にしても酵母研究者が少しふれたていどで, 藻類学者にも研究対象とされていないようである。成書 Dictionary of the Fungi においても achloric algae ? として載せられているていどの扱いである。プロトテカ症の増加することも予想され, Sudman (1974) のプロトテカ症総説においてもその病原性, 治療対策にふれているところである。最近目覚ましく発展をとげている生化学的手法, 化学分類の知見をとり入れ, この不鮮明な生物のペールをはがしたいものである。

最後に筆者が知り得た限りのさまざまな分野で

発表された文献を列記して参考にする。

文 献

- 1) Anderson, E.H.: Nature of the growth factor for the colorless alga *Prototheca zopfii*. J. Gen. Physiol., 28 : 287—296, 1945.
- 2) Anderson, E.H.: Studies in the metabolism of the colorless alga *Prototheca zopfii*. J. Gen. Physiol., 28 : 297—327, 1945.
- 3) Arnold, P. and Ahearn, D.G.: The systematic of the genus *Prototheca* with a description of a new species *P. filamenta*. Mycologia, 64 : 265—275, 1972.
- 4) Ashford, B.K., Ciferri, R. and Dalmau, L.M.: A new species of *Prototheca* and a variety of the same isolated from the human intestine. Arch. f. Protistenk., 70 : 619—638, 1930.
- 5) Baker, H.A.: The metabolism of the colorless alga, *Prototheca zopfii*. J. Cell. Comp. Phys., 7 : 73—93, 1935.
- 6) Bodenhoff, F. and Madsen, P.S.: Bovine protothecosis. A brief report of the cases. Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B, 86 : 51—52, 1978.
- 7) Buyukmihci, N., Rubin, L.F. and DePaoli, A.: Protothecosis with ocular involvement in a dog. J.A.V.M.A., 167 : 158—161, 1975.
- 8) Ciferri, O.: Thiamine-deficiency of *Prototheca*, a yeast-like achloric alga. Nature 178 : 1475—1476, 1956.
- 9) Ciferri, O.: Metabolismo comparativo della *Prototheca* e delle mutanti achloriche di *Chlorella*. Giornale de Microbiol., 3 : 97—108, 1957.
- 10) Ciferri, R., Montemartini, A. and Ciferri, O.: Caratteristiche morfologiche e assimilative e speciologia della *Prototheca*. Nuov. Ann. Log., 8 : 554—563, 1957.
- 11) Coloe, P.J. and Allison, J.F.: Protothecosis in a cat. J.A.V.M.A., 180 : 78—79, 1982.
- 12) Cooke, W.B.: Studies in the genus *Prototheca*. I. J. Elisha Mitchel Sci. Soc., 84 : 213—216, 1968.
- 13) Cooke, W.B.: Studies in the genus *Prototheca* II. J. Elisha Mitchel Sci. Soc., 84 : 217—220, 1968.
- 14) Conte, M.V. and Pore, S.R.: Taxonomic implication of *Prototheca* and *Chlorella* cell wall polysaccharide characterization. Arch. Microbiol., 92 : 227—233, 1973.
- 15) Cox, G.E., Wilson, J.D. and Brown, P.: Protothecosis. A case of disseminated algal infection. The Lancet, Aug. 17 : 379—382, 1974.
- 16) Davies, R.R., Spencer, H. and Wakelin, P.V.: A case of human protothecosis. Trans. Royal Soc. Trop. Med. & Hyg., 58 : 448—451, 1964.
- 17) DeCamargo, Z.P. and Fishman, O.: Use of morpho-physiological characteristics for the differentiation of the species of *Prototheca*. Sabouraudia 17 : 275—278, 1979.
- 18) DeCamargo, Z.P., Fishman, O. and Silva, M.R.: Experimental protothecosis in a laboratory animals. Sabouraudia 18 : 237—240, 1980.
- 19) Dion, W.M.: Bovine mastitis due to *Prototheca zopfii*. Can. Vet. J., 20 : 221—222, 1979.
- 20) El-Ani, A.S.: Life cycle and variation of *Prototheca wickerhamii*. Science 156 : 1501—1503, 1967.
- 21) Feo, M.: Cinco cepas de *Prototheca* de origen human. Mycopath. Mycol. Appl., 46 : 53—59, 1972.
- 22) Fetter, B.F., Klintworth, G.K. and Nielsen, H. S.: Protothecosis. Algal infection in human with Fungi-actinomycetes and algae. Edit. Baker N.Y. 1971, 1081—1093, 1971.
- 23) Finnie, J.W. and Coloe, P.J.: Cutaneous protothecosis in a cat. Aus. Vet. J., 23 : 307—308, 1981.
- 24) Frank, N., Ferguson, C.C., Cross, R.F. and Redman, D.R.: *Prototheca*, a cause of bovine mastitis. Am. J. Vet. Res., 30 : 1785—1794, 1969.
- 25) Frese, V.K. and Gedek, B.: Ein fall von protothecosis beim reh. Berl. Munch. Tierärztl. Wochenschr., 81 : 171—178, 1968.
- 26) Gentles, J.C. and Bond, P.M.: Protothecosis of Atlantic salmon. Sabouraudia, 15 : 133—139, 1977.
- 27) 池田輝雄ほか: *Prototheca zopfii* による牛乳房炎について. 真菌と真菌症, 26 : 221—227, 1985.
- 28) Joshi, K.R., Gavin, J.B. and Wheeler, E.E.: The ultrastructure of *Prototheca wickerhamii*. Mycopath, 56 : 9—13, 1975.
- 29) Dickinson, R.O.: Protothecosis in a cat. First record case. Sabouraudia, 14 : 281—286, 1976.
- 30) Klintworth, G.K., Fetter, B.F. and Nielsen, J. R.: Protothecosis, an algal infection: report of a case in man. J. Med. Microbiol., 1 : 211—216, 1968.
- 31) Kockova-Kratchvilova, A. and Havelkova, M.: *Prototheca hydrocarborea* n. sp. Life cycle, metabolism and fine structure. Z. Allg. Mikrobiol., 14 : 123, 1974.
- 32) Krüger, W.: Kurz Charakteristik einiger niederen Organismen in Saftflüsse de Laub-

- baume. 1. Ueber einen neuen Pilz-typus, repräsentiert durch die Gattung *Prototheca* (*P. moriformis* et *P. zopfii*). 2. Ueber zwei aus Saftflüssen rein gezüchtet Algen., Hedwigia 33 : 241—266, 1894.
- 33) Lloyd, D. and Turner, G.: The cell wall of *Prototheca zopfii*. J. Gen. Microbiol., 50 : 421—427, 1968.
 - 34) Manners, D.J. and Pennie, I.E.: The molecular structure of a glucan and galactan synthesized by *P. zopfii*. Carbohydr. Res., 29 : 63—77, 1973.
 - 35) Migaki, G., Font, R.L., Sauer, R.M., Kalpin, W. and Miller, R.L.: Canine protothecosis. Review of the literature and report of an additional case. J.A.V.M.A., 181 : 794—797, 1982.
 - 36) Migaki, G., Garner, F.M. and Imes, G.D. Jr.: Bovine protothecosis. A report of three cases. Path. Vet., 6 : 444—453, 1969.
 - 37) Nadakavukaren, M.J. and McCracken, D.A.: *Prototheca*. An alga or a fungus?, J. Phycol., 9 : 113—116, 1973.
 - 38) Nadakavukaren, M.J. and McCracken, D.A.: An ultrastructural survey of the genus *Prototheca* with special reference to plasmids. Mycopath, 61 : 117—119, 1977.
 - 39) Negroni, P. and Blaisten, R.: Estudio morfológico y fisiológico de una nueva especie de *Prototheca*, *P. ciferrii*. n. sp. aislada de epidermis de papa. Mycoath, 3 : 94—104, 1941.
 - 40) Nosanchuk, J.S. and Greenberg, R.D.: Protothecosis of the olecranon bursa caused by achloric algae. Am. J. Clin. Pathol., 59 : 567—573, 1973.
 - 41) Padhye, A.A., Baker, J.G. and D'Amato, R.F.: Rapid identification of *Prototheca* species by the API 20C system. J. Clin. Microbiol., 10 : 579—582, 1979.
 - 42) Pore, R.S.: Nutritional basis for relating *Prototheca* and *Chlorella*. Can. J. Microbiol., 18 : 1175—1177, 1972.
 - 43) Povey, R.C., Austwick, P.K.C., Pearson, H. and Smith, K.C.: A case of protethecosis in a dog. Path. Vet., 6 : 396—402, 1969.
 - 44) Roger, R.J.: Protothecal lymphadenitis in an ox. Aust. Vet., 50 : 281—282, 1974.
 - 45) Schiefer, B. and Gebek, B.: Zum Verhalten von *Prototheca* species im Gewebe von Säugetieren. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 81 : 485—490, 1968.
 - 46) Segal, E., Padhye, A.A. and Ajello, L.: Susceptibility of *Prototheca* species to antifungal agents. Antimicrob. Agents and Chemoth., 10 : 75—79, 1976.
 - 47) Smith, G.C.: Ultrastructural study of *Prototheca salmonis* and comparison with known isolates of *Prototheca*. Mycopath., 71 : 95—101, 1980.
 - 48) Sonck, C.E. and Koch, Y.: Vertreter der Gattung *Prototheca* als Schmarotzer auf der Haut. Mykosen, 14 : 475—482, 1971.
 - 49) Sudman, M.S.: Protothecosis. A critical review. A.J.C.P., 61 : 10—19, 1974.
 - 50) Sudman, M.S., Majka, J.A. and Kaplan, W.: Primary mucocutaneous protothecosis in a dog. J.A.V.M., 163 : 3172—3373, 1973.
 - 51) Sudman, M.S. and Kaplan, W.: Identification of the *Prototheca* species by immunofluorescence. Appl. microbiol., 25 : 981—990, 1973.
 - 52) Sudman, M.S. and Kaplan, W.: Antigenic relationships between *Chlorella* and *Prototheca* spp. Sabouraudia 12 : 364—370, 1974.
 - 53) Tindall, J.P. and Fetter, B.F.: Infections caused by achloric algae (protothecosis). Arch. Dermat., 104 : 490—500, 1971.
 - 54) Tubaki, K. and Soneda, M.: Cultural and taxonomic studies on *Prototheca*. Nagaoa, 6 : 25—34, 1959.
 - 55) 椿 啓介ほか: 廃水処理槽から分離された *Prototheca*. 防菌防黴誌, 15 : 487—490, 1987.
 - 56) Turner, G. and Lloyd, D.: The chemical composition and structure of the cell wall of *Prototheca zopfii*. Biochem. J., 99 : 55—56, 1966.
 - 57) Van Kruiningen, H.J., Garner, F.M. and Schiefer, B.: Protothecosis in a dog. Path. Vet., 6 : 348—354, 1969.
 - 58) Van Kruiningen, H.J.: Protothecal enterocolitis in a dog. J.A.V.M.A., 157 : 56—63, 1970.
 - 59) Vorisek, J. and Kockova-Kratochvilova, A.: Ultrastructural distribution of polysaccharides in *Prototheca hydrocarbonica*. Z. Allg. Mikrobiol., 15 : 203, 1975.
 - 60) Zsolt, J. and Novak, K.: A new species of yeast-like achloric algae, *Prototheca ubrizsyi*, n. sp. Act. Phytopath. Acad. Sci. Hung., 3 : 423—430, 1968.

A Review of the Genus *Prototheca*

Keusuke Tsubaki

College of Pharmacy, Nihon University, Narashinodai 7-7-1, Funabashi-shi, Chiba 274, Japan

The genus *Prototheca* is composed of microscopic achlorophyllous organisms has a life cycle similar to that of *Chlorella* and is widespread in nature. *Prototheca* species are considered adventitious pathogens. The genus is reviewed on the basis of life cycle, morphology and physiology. Colony morphology and physiological identification keys are given. All eleven known epithets published on *Prototheca* are listed and a literature review is provided.