白癬菌の電子顕微鏡的観察 とくに菌糸の二重構造について

占部 治 邦 伊豆 統一 郎

久留米大学医学部皮膚科教室（主任：占部治邦教授）

はじめに

黄白癬菌の微細構造についての電子顕微鏡（以下電顕と略）的観察は比較的少なく、細胞構造の詳細は十分に解明されているとは思われない。とくに胞子の発芽過程、菌糸の発育伸長にともなう菌体構造の変化などについての詳細な報告はまだみられない。

われわれは *Trichophyton mentagrophytes* の小分生子をサブロー・ブドー糖液体培地に接種し、96時間振盪培養したのち、発芽伸長した菌糸を電顕で観察したところ、菌糸の内部に菌糸が伸長しつつある二重の菌体構造をもつた菌糸を多数観察しえたので、これを光学顕微鏡所見とあわせて報告する。

材料と方法

菌種は *Trichophyton mentagrophytes*（教室保存株）を用いた。サブロー・ブドー糖寒天培地に27°Cで2週間培養し、充分発育した菌苔を採取して滅菌乳鉢で磨砕したのち、滅菌蒸留水を加えて菌浮游液を作成した。先端に小孔をあけたスピッツグラスに約0.5gの脱脂綿をつめて滅菌した綿濾過装置で、この菌浮游液を濾過すると、菌糸を除かれた均一な胞子浮游液をうる事ができる。この胞子浮游液の数滴を200ccのサブロー・ブドー糖液体培地に滴下し、27°Cの往復振盪培養器にて96時間振盪培養したのち、遠心分離器にて菌糸を集収し、水洗することなく、ただちに2%緩衝オスミウム液（pH 7.4）で3時間固定した。そののちアセトン系にて35%より順次脱脂し、Eponにて包埋した。超薄切片はPorter-Blumミクロトームで製作し、3時間ウラン染色をおこなったのち、日立製作所 HU-11A 型電子顕微鏡で観察、撮影した。

また電顕にて観察した試料と同一のブロックを、2 μ 前後に薄切し、樹脂を除去することなくPAS染色をおこない、光学顕微鏡で観察し、撮影した。

結果

A. 電子顕微鏡所見

振盪培養開始後96時間を経過しているため、発芽した菌糸、とくにその先端に近い細胞では、いずれも充実した細胞質を有し、豊富なミトコンドリア、核、小胞体などを認める（第1図）。この正常な菌糸に混つて、菌糸の内部をさらに菌糸が発育伸長していると思われる像をしばしば観察しえた（第2～6図）。すなわち同部には内外二層の細胞壁があるため、われわれはこれを菌糸の二重構造（double hypha）と名づけ、内側の菌糸を内菌糸（inner hypha）、外側の菌糸を外菌糸（outer hypha）とよぶことにした。つぎにそのおのおのについてのべる。外菌糸（outer hypha, OH）の細胞壁（外細胞壁OCW）より内菌糸の細胞壁（内細胞壁ICW）の外側までをいう。細胞壁は電子透過性であり、その内部構造はほとんど認められない。一部では内外両細胞壁が融合または接統している像も認められる（第2, 3, 4, 6図）。一般に細胞質は変性、濃縮し、細胞膜、核、ミトコンドリア、小胞体などの細胞内諸器官は明瞭にはみることができないが、変性、濃縮の初期のものと思われる第5図では、ミトコンドリア、空胞などをわずかに認めうる。内菌糸（inner hypha, IH）は内細胞壁によつて外菌糸の細胞質と境されている。細胞壁は外菌糸の場合と同様に電子透過性で、その構造は明らかではない。細胞膜（CM）は単位膜 unit membrane として観察され、一部は断続し、また凹凸に富み細胞質内への陥入もみられ、胞状にみえる部分もある。

細胞質の基質は微細な顆粒状を呈する（第2図）。核（N）（第3, 4図）は2重の核被膜（NE）によつて周囲の細胞基質より境された比較的電子密度の低い領域として認められる。核質は微細顆粒状、微細線維状を呈す

Harukuni URABE and Toichiro IZU: Electron-microscopic Study of *Trichophyton*, Especially on Double Structure of Hypha, From the Department of Dermatology, Kurume University School of Medicine

る。核被膜は断続しており、その部は核孔(NP)と考えられる(第3図)。また核被膜が小胞体(ER)と接続している所見もえられた(第4図)。ミトコンドリア(M)は多数存在する(第2～6図)。形は類円形、細長形であるが、その切断のされ方によつて種々の形を呈するものと思われる。大きさはまちまちであるが、長辺はほぼ $0.2 \sim 0.8 \mu$ である。ミトコンドリア嚢は薄板状 lamellar で、限界膜は単位膜として認められる。また限界膜の外膜が欠如し、いわゆる open crista の形をとるものが多くみられた。

小胞体(ER)は細管状、胞状として認められる(第2, 4, 6図)。Septal granule (SG)は電子密度の高い小球状無構造の物体で、脂質顆粒(L)とは明らかに区別することができる。脂質顆粒は電子密度において軽度の濃淡を有し、大きさは種々であり、形は類円形、不定形のものが多くある。

B. 光学顕微鏡所見

外菌糸の内部を内菌糸が発育伸長しているのが認められる(第8～10図)。これらの所見はいずれも菌糸の縦断面であるが、内菌糸の一端は外菌糸の隔壁と接続し、先端は外菌糸の他端に向つて発育伸長しているものと思われ、外菌糸は内菌糸の鞘状の構造を示している。第11図では菌糸の一部に2重構造の横断面の像が認められる。

考案

Taplin and Blank¹⁾は *Trichophyton rubrum* を光学顕微鏡で観察した際に、菌糸の空胞化した細胞に向つて、隣接した細胞より細胞質の流動があるのを認めたが、この現象が電顕像でえた菌糸の2重構造と一致するとは考えられない。内菌糸は明らかに菌糸としての構造を有しており、また光学顕微鏡所見でも細胞壁と考えられるものはPAS陽性であつて、単なる細胞質の流動とはみなしがたい。

さきに著者の1人占部²⁾は *Trichophyton gypsum* の電顕像に菌糸の2重構造を観察し、これを母細胞および娘細胞と名づけて記載し、芽胞形成ならびに出芽の像として解釈したが、第7図に示すように、この2重構造は振盪培養のみならず、サブロー寒天上に発育した菌糸においても観察しうることから類推するに、恐らくは同一の現象をとらえていたものと思われる。蜂須賀³⁾によれば内生孢子 endospore を有する *Bacillus* 属、*Clastridium*

属などは、その発芽に際して2重構造を示すことがあるが、われわれのいう真菌における菌糸の2重構造とはその性格が異なると思われる。

われわれが観察した菌糸の2重構造は、内菌糸の発現に関して2つの発生機序があると考えられる。その1つは第5図にみられるように、何らかの理由で菌糸の1細胞の活性が衰え、細胞質に変性がおこると、代償性に細胞内の一部において内菌糸が独立して発生し、次第に発育伸長してその一端は隣接した外菌糸の隔壁と融合し、他端は伸長をつづけ、第6図のごとく充実した内菌糸となるという考えである。光学顕微鏡所見においても、内菌糸の一端と外菌糸の隔壁との融合を示すと思われる像がみられる(第8図、矢印)。しかし内生孢子を有する細胞類ならばともかく、白癬菌において一旦活性を失なつた細胞内に新たに細胞が発生する機序が存在するものか、はなはだ疑がましい。またこの場合重要なことは、第5, 6図は単に菌糸の一切断面をみたにすぎず、切断の方向が異なれば、また異なつた所見をあらわし、解釈も変更せざるをえないと思われる。

発生機序として考えられる他の1つは、第3図に示されるように、一旦発育した菌糸の一部で、細胞がその活性を失なつて細胞質が変化すると、これに隣接した細胞の隔壁が内菌糸の細胞壁に変化しつつ外菌糸の中を伸長してゆくという考えである。外菌糸の細胞質は内菌糸に吸収されつつ濃縮され、ついには内外両菌糸の細胞壁は重合してしまう。あるいは振盪培養の結果、菌糸は十分な酸素と豊富な栄養をえ、振盪によつて菌糸に加えられる物理的な作用と相まつて、本来側枝となるべき菌糸の一部が側方に発育しえず、内菌糸となつて伸長するとも考えられる。しかしこの2重構造は振盪培養の際のみならず、サブロー・ブドー糖寒天培地、27°C培養の気中菌糸においても少なからず観察することができる。

津曲⁴⁾は趾間菌の単孢子培養の際、培養開始後98時間より117時間目頃に、菌糸の急速な伸長と側枝の出現を認めた。また安部⁵⁾は *Trichophyton rubrum* の単孢子培養による発育を観察し、孢子発芽後70～100時間目ごろになると菌糸中央部に孢子形成および分枝が旺盛になりまた菌糸内部に細胞質の濃縮がおこり、その部より側枝が発生するとのべている。ゆえにわれわれが、資料を作成した培養96時間は、菌糸の伸長、側枝形成の盛んな時期であつたといえよう。

第1図 正常な菌糸。1細胞内に2個の核(N)がみられる。ミトコンドリア(M)が多数存在する。

第3図 菌糸の二重構造の縦断面。外菌糸の隔壁に相当すると思われる部分が伸長して内菌糸となっている。外細胞壁は内菌糸の鞘状の構造を示し、外菌糸の細胞質は濃縮し、細胞内諸器官を認めない。

第5図 未発達な内菌糸の像と思われる。外菌糸にはミトコンドリア(M)が残存し、細胞質も細胞膜附近にのみ濃縮を来している。

第2図 菌糸の二重構造の横断面。内菌糸は内細胞壁(ICW)によって外菌糸と境されている。内菌糸の細胞膜(CM)は凸凹、断続しているのが認められるが、外菌糸には細胞膜はみられない。外菌糸の細胞質は濃縮し、細胞内諸器官は認められない。一部に内外細胞壁の融合を認める。

第4図 内細胞壁(ICW)と外細胞壁(OCW)が連絡しているのがみられる。外菌糸の細胞質は濃縮し無構造となっている。内菌糸では核被膜(NE)と小胞体(ER)の接続を認める。

第6図 発達した内菌糸。細胞壁の一端は外菌糸の隔壁(S)に接続、融合しつつある。

第7図 サブロー・ブドー糖寒天培地に培養された *T. mentagrophytes* の二重構造. 抗真菌剤の作用により, 外菌糸 (OH), 内菌糸 (IH) とともに変性を来している.

OH: 外菌糸
IH: 内菌糸
OCW: 外細胞壁
ICW: 内細胞壁
CW: 細胞壁
CM: 細胞膜
N: 核
NE: 核被膜
NP: 核孔
M: ミトコンドリア
ER: 小胞体
L: 脂肪顆粒
SG: Septal granule
S: 隔壁
V: 空胞

第8, 9, 10, 11図 菌の二重構造の光学顕微鏡所見. PAS染色, 1000×. 第8図においては内菌糸の一端が外菌糸の隔壁に接続しているのが認められる (矢印).

第8図

第9図

第10図

第11図

結論

1. *Trichophyton mentagrophytes* の小分生子をサブロー・ブドー糖液体培地で96時間振盪培養して発芽伸長した菌糸の中に、外菌糸と内菌糸の二重構造をもつ菌糸を多数電子顕微鏡および光学顕微鏡で観察した。
 2. この二重構造は、菌糸の隔壁が内菌糸に変化しつつ菌糸内を伸長するためにおこる現象と解釈される。
-

文 献

- 1) Taplin, D. and Blank, H.: J. Invest. Dermat., **37** : 523, 1961.
 - 2) 占部治邦, 中野進 : 日皮会誌, **69** : 1676, 昭34.
 - 3) 蜂須賀養悦 : 芽胞, 岩波書店, 2, 1962.
 - 4) 津曲久之 : 日皮会誌, **69** : 808, 昭34.
 - 5) 安部英一 : 皮と泌, **20** : 724, 昭33.
- (昭和41年 7 月13日受付)