Candida 属菌細胞の微細構造と機能に 関する 2, 3 の知見

高 木 篤 谷村 教俊 石井 厚史
上田 益巳 三浦 篤典

鳥取大学医学部細菌学教室

近年の高分解能電子顕微鏡の出現と、電子顕微鏡的検査技法の進歩によつて、微生物細胞の微細構造に関する詳細が段々と明らかになつてきたが、とくに、一般細菌より高等な真菌類については、色々な複雑な構造、とりわけ高等動植物細胞のそれに比すべき細胞質内膜系が観察されるようになってきている。しかし、このものの機能的意義については、いまだ十分に明らかではない。われわれの教室においては、数年来この問題に取り組み、若干の成果を挙げているが¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。ここでは、*Candida* 属について得られた最近の 2, 3 の知見を紹介したい。

1. *Candida albicans* における内毒素と細胞質内膜系との関係

C. alb. の毒素の性状については、今日なお不明の点が多いが、Salvin⁵⁾ および Braude ら⁶⁾は、致死作用および発熱原性の存在を述べ、Isenberg ら⁷⁾は、血清学的な面から考察して、本菌の毒素は一般細菌の内毒素に類似したものであらうと考えている。われわれは、*C. alb.* より取り出した細胞画分の毒性を、発熱原性、末梢血白血球像に及ぼす影響、皮内反応、病理組織学的変化の面より比較検討した。

1) 細胞画分の作製法

材料としては、*C. alb.* Duke University 株を用い、これを $1/15$ M 磷酸塩緩衝液中に浮遊させ、久保田製音波破壊器に納めて、冷水で冷却しつつ30分間菌体を破壊した。その破壊液を、図1のようにして超遠心法により分画し、4,000 r.p.m. (1,000 g) 10分間遠沈の沈渣を細胞壁画分(CW)、12,000 r.p.m. (13,400 g) 30分間遠沈の沈渣を大顆粒画分(P_1)、32,000 r.p.m. (65,000 g) 60

図1. 細胞画分の調製法

分間遠沈の沈渣を小顆粒画分 (P_2), その上清をSと名づけた。

写真1はCWの超薄切片の電顕像であるが、細胞壁の断片に相当するものが環状および弓状などの形態を呈して認められる。しかし、内部に多少の細胞質内容の残存も認められる。 P_1 は、直径 150 m μ 内外の顆粒よりなっているが、写真2はその超薄切片像であつて、細胞質内膜系あるいはミトコンドリア様構造に相当するものが明らかに認められるほかに、細胞質成分の混在がある。 P_2 は、直径50—80 m μ の顆粒よりなるが、その超薄切片像は、写真3で示すように、細胞質成分のほかに、単位膜よりなると思われるリング様構造などが認められ、これは、細胞質内膜系あるいはミトコンドリア様構造の断片と考えられる。一方Sは、比較的均一な直径50 m μ 以下の微細顆粒よりなり、膜成分はみつけ難く、リボソームを主体とする画分と考えられた。

Atsushi TAKAGI, Noritoshi TANIMURA, Atsushi ISHII, Masumi UEDA and Atsunori MIURA: Some Findings on the Fine Structure Related to its Function of the Cells of *Candida* Group. From the Department of Bacteriology, Tottori University School of Medicine.

表 1. *C. alb.* CW 接種によるウサギの発熱試験

動物番号	時 間										
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24	48
I	38.6	38.4	38.6	39.2	39.4	39.1	39.0	38.8	38.9	38.3	38.5
II	38.4	38.7	38.9	39.3	38.8	38.9	38.8	38.9	38.7	38.8	38.2
III	38.8	38.6	38.9	39.3	39.2	39.5	38.9	38.4	38.7	38.6	38.9
IV	38.2	38.2	38.8	38.9	39.2	39.0	38.8	38.7	38.4	38.9	38.4
平 均	38.5	38.5	38.8	39.2	39.2	39.1	38.9	38.7	38.7	38.7	38.5

註：表中の数字は℃を示す。以下表5まで同様

表 2. *C. alb.* P₁ 接種によるウサギの発熱試験

動物番号	時 間										
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24	48
I	38.3	39.4	40.3	40.8	40.5	40.7	39.9	38.7	39.4	39.2	38.7
II	38.7	39.6	40.0	40.9	41.1	40.2	39.7	39.8	39.9	39.0	38.6
III	38.6	39.3	40.0	40.4	40.8	40.3	39.8	39.4	39.9	38.6	38.3
IV	38.8	39.5	39.9	40.2	39.9	40.1	39.9	39.8	39.1	38.4	38.5
平 均	38.6	39.5	40.1	40.6	40.6	40.3	39.8	39.4	39.6	38.8	38.5

表 3. *C. alb.* P₂ 接種によるウサギの発熱試験

動物番号	時 間										
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24	48
I	38.7	39.1	40.5	41.2	41.6	41.4	40.8	38.8	38.6	39.4	39.2
II	38.6	39.6	40.0	40.9	41.1	40.2	39.7	39.8	39.8	39.9	39.0
III	38.5	39.5	40.8	41.2	41.4	40.6	40.0	39.7	38.8	39.2	38.4
IV	38.6	39.2	39.9	39.7	40.1	39.8	39.6	39.3	38.8	38.8	38.5
平 均	38.6	39.4	40.3	40.8	41.1	40.5	40.0	39.4	39.0	39.3	38.8

表 4. *C. alb.* S 接種によるウサギの発熱試験

動物番号	時 間										
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24	48
I	38.1	38.8	39.3	39.5	40.3	39.1	39.0	39.0	38.9	38.3	38.6
II	38.4	39.1	39.1	39.3	38.8	38.7	38.6	38.4	38.7	38.4	38.3
III	38.3	38.7	39.1	39.7	39.3	39.2	38.9	38.9	38.4	38.6	38.3
IV	38.5	38.9	39.4	39.5	39.8	38.9	38.7	38.6	38.9	38.5	38.6
平 均	38.3	38.9	39.2	39.5	39.6	39.0	38.8	38.7	38.7	38.5	38.5

表 5. *C. alb.* 加熱顆粒画分 (P₁+P₂) 接種によるウサギの発熱試験

動物番号	時 間										
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24	48
I	38.6	39.2	40.3	40.8	40.6	40.9	39.6	39.0	39.0	38.4	38.6
II	38.9	39.0	39.1	40.1	40.4	41.1	40.8	39.3	39.1	38.2	38.4
III	39.0	39.7	40.2	40.7	40.5	39.9	40.4	39.7	39.3	38.6	38.5
IV	38.7	39.8	40.6	40.8	41.3	40.6	39.9	39.8	39.9	38.7	38.7
平 均	38.8	39.4	40.1	40.6	40.7	40.6	40.2	39.5	39.5	38.5	38.6

表6. *C. alb.* CW接種ウサギ白血球数の時間的消長

動物番号	時 間									
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24
I	9,200	10,800	10,600	11,000	10,200	10,400	9,000	8,400	9,600	10,800
II	9,000	9,800	10,200	10,600	10,800	10,200	11,600	10,800		9,000
III	9,400	9,600	11,400	11,400	12,200	11,400	10,600		10,800	11,000
IV	9,200	10,200	10,600	10,800	9,600		9,200	9,600	9,000	
平 均	9,200	10,100	10,700	11,100	10,700	10,700	10,100	9,600	9,800	10,900

表7. *C. alb.* P₁接種ウサギ白血球数の時間的消長

動物番号	時 間									
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24
I	9,400	11,400	16,200	17,600	19,000	17,800		15,600	16,800	11,000
II	9,600	10,600	12,000	14,800	16,000	19,400	16,800	17,400	15,600	10,200
III	9,600	13,200	17,400	20,200	18,400		18,000		17,400	12,800
IV	10,800	13,600	17,000	18,600	23,200	19,600	16,400	17,800	12,600	12,400
平 均	9,600	12,200	15,700	17,800	19,200	18,900	17,100	16,900	15,600	11,600

表8. *C. alb.* P₂接種ウサギ白血球数の時間的消長

動物番号	時 間									
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24
I	10,200	11,400	14,400	18,600	18,000	18,200	14,200	13,400	12,600	10,200
II	9,400	11,800	15,000	14,800	15,200	14,600		12,800	12,200	9,800
III	9,000	12,400	13,600	19,200	18,600	19,400	15,800	13,200	14,400	10,600
IV	8,800	11,200	13,800	18,600	17,800		16,800	12,400	13,600	12,200
平 均	9,300	11,500	14,200	17,800	17,400	17,400	15,600	12,900	13,200	10,700

表9. *C. alb.* S接種ウサギ白血球数の時間的消長

動物番号	時 間									
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24
I	8,200	9,600	11,400	11,200	13,800	13,600	12,000	13,200		10,200
II	9,600	11,000	13,800	12,400		14,000	12,600		11,200	9,400
III	9,000	10,000	13,600	13,200	14,400	12,800	13,400	13,000	12,800	9,600
IV	10,400	10,800	12,200	13,600	14,200	14,800		12,600	11,800	10,200
平 均	9,300	10,400	14,000	12,600	14,400	13,800	12,700	12,900	11,900	9,900

表10. *C. alb.* 加熱顆粒画分接種ウサギ白血球数の時間的消長

動物番号	時 間									
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24
I	9,400	12,000	14,600	18,200	17,800	14,400	10,600	10,000	12,400	9,800
II	9,000	10,800	12,800	15,200	16,500	12,400	14,400	12,400	11,000	10,000
III	8,800	10,600	11,600	13,200	13,400	14,200	11,400	11,000	10,600	9,200
IV	10,800	11,800		12,800	19,000	19,600	12,400	12,400	13,600	10,200
平 均	9,500	11,300	13,000	14,900	16,700	15,200	12,200	11,500	11,900	9,800

2) 細胞画分の発熱原性

細胞画分を、各々乾燥重量10mg/kgの割合にウサギの耳静脈内に接種し、時間的に直腸温を測定して発熱原性を検査した。対照液としては、滅菌 $1/15$ M 磷酸塩緩衝液 (pH 7.2) を用いた。結果は表1, 2, 3, 4, 5に示すとおりであつて、 P_1 , P_2 両画分接種動物においては (表2, 3), 接種後1時間ですでに体温の上昇が認められ、4時間では 41°C を越える最高温度を示し、以後下降したが、両画分の発熱傾向に差はみられなかつた。これに比較して、Sでは (表4), 3—4時間で軽度の発熱を認めたのみであり、CW (表1) では、ほとんど体温の上昇はなかつた。

つぎに、 $60^{\circ}\text{C}30$ 分加熱した P_1+P_2 画分接種では (表5), やはり接種後3—6時間で 41°C に達する体温上昇が認められる。

3) 細胞画分接種ウサギにおける末梢白血球像の変化

前項と同様にして、各細胞画分をウサギに接種し、経時的に採血して末梢白血球像の変化を観察した。まず、白血球数の時間的消長は、表6, 7, 8, 9, 10に示すように、 P_1 , P_2 両画分接種ウサギにおいては (表7, 8), 接種後2時間で急激な白血球数の増加を認め、4—6時間で最大となり、接種前の約2倍となつたが、その後減少し、24時間後には生理的限界の範囲に戻つた。このようにして、発熱現象と白血球数の増加との間には、時間的に平行関係が認められる。つぎにCW接種では (表6), 白血球数の増加はほとんどなく、S接種では (表9), 接種後4—6時間で、軽度の白血球数増加を認めたのみで、 P_1 および P_2 接種ウサギに比較すると明らかに異なつた。しかし $60^{\circ}\text{C}30$ 分加熱 P_1+P_2 接種では、接種後4時間で、接種前の約2倍に相当する増加が認められている (表10)。

一方白血球分類では、 P_1 および P_2 画分接種において、中性好性桿状核、多核白血球、および偽エオジン好性白血球の増加があり、合計で70—80%に達するものもあつた。

4) 細胞画分のウサギにおける皮内反応

前2項の実験成績より、 P_1 および P_2 両画分の特徴は、 $60^{\circ}\text{C}30$ 分の加熱により失なわれないことが考えられる。そこで $60^{\circ}\text{C}30$ 分加熱各画分の乾燥重量1mg相当量をウサギの皮内に注射し、48時間後の発赤の大きさ、および硬結の強さを計測した結果は表11に示すようである。

表11. *C. alb.* 加熱諸画分によるウサギ皮内反応

動物番号	CW	P_1	P_2	S
1	— 10×12	— 12×12	— 12×10	— 0×0
2	— 10×12	— 13×13	— 15×15	— 15×15
3	— 0×0	— 6×6	— 6×7	— 0×0

硬結の強さ (+, —)
註: 発赤の大きさ (縦径 $\times$ 横径)

すなわち、いずれの画分の反応も強くはないが、 P_1 および P_2 において、いくぶん強い反応があつたことがわかる。

5) 細胞画分接種動物における病理組織学的変化

a) マウス

各画分の乾燥重量3mg相当量を5日間隔で計4回、総量で12mgをdd系マウス尾静脈内に接種し、25日目に屠殺して病理組織学的変化を調べた。 P_1+P_2 接種マウスにおいては、肝では、小葉内に限局性の細胞変性を認め、核の大小不同および消失の認められる細胞もあり、それらが互いに融合して斑状の壊死巣を形成する像もあつた。また Glisson 氏鞘および中心静脈の周囲にリンパ球、組織球および単球からなる円形細胞浸潤が認められる (写真4)。腎では、髄質、皮質ともに肝ほど著明な変化は認められないが、細尿管上皮の混濁および腫脹があり、限局性に壊死巣の形成を認め、また円形細胞浸潤がみられた (写真5)。肺では、肺胞壁結合組織の増殖および円形細胞浸潤を認めた (写真6)。一方S接種マウスにおいては、肝に限局性の肝細胞核の大小不全および Pyknotic を認め、明らかに細胞変性の所見はあつたが、肝細胞索はなお本来の走行を残していた。しかし、腎および肺には、なんらの病的所見は認められなかつた。CW接種マウスでは、肝、腎、肺、いずれの臓器でも、なんらの病理組織学的変化は認められなかつた。

以上のようにして、病理組織学的変化は P_1+P_2 にお

表12. *C. alb.* P_1+P_2 接種マウス臓器の病理組織学的変化の総括

肝	1. 肝細胞の変性および壊死 2. 小葉内 Glisson 氏鞘および中心静脈の周囲の円形細胞浸潤 3. Kupffer 氏星細胞の増殖
腎	1. 細尿管上皮の混濁、腫脹および壊死 2. 円形細胞浸潤
肺	1. 肺胞壁結合組織の増殖 2. 円形細胞浸潤

いて最も著明であることがわかったが、表12はそれを総括したものである。

b) ウサギ

各画分を乾燥重量10 mg/kgの割合で、5日間隔で4回耳静脈内に接種し、25日目に屠殺して病理組織学的変化を観察したが、 P_1 および P_2 接種ウサギにおいては、発熱現象および白血球数の増加などの変化が認められるにもかかわらず、各画分接種ウサギとも、肝、腎、肺に全く病変を認めることができなかった。

6) 考察と小括

以上のようにして、*C. alb.* の P_1 および P_2 両画分接種動物に、最大の発熱原性と白血球数の増加を認め、病理組織学的変化も最も強いことがわかった。一方皮内反応でも、 P_1 および P_2 に強いことが知られたが、これらの毒性は、60°C30分の加熱でも減弱しないことも確かめられた。すでに八田⁸⁾は、糸状菌の発熱原性物質は比較的耐熱性で、同時に白血球数の増加も起こすと報告し、Kobayashi ら⁹⁾は、*C. alb.* の snail enzyme と音波処理により作製した細胞壁画分と spheroplast 画分の発熱原性を比較して、細胞壁画分にはまったく発熱原性を認めることなく、spheroplast 画分に体温上昇が認められたと述べているが、これらはわれわれの結果と一致している。また、Neytcheff¹⁰⁾は、*C. alb.* の抽出画分に発熱原性物質の存在を認め、かつそれが polysaccharide-complex を含んでいることを指摘したが、武田らは¹¹⁾¹²⁾種々の細菌の内毒素が polysaccharide-protein-complex であることを示し、その発熱原性を認め、内毒素接種動物に一定の病理組織学的変化が起こることを観察したが、その変化は、われわれの P_1+P_2 接種動物にみたものとほぼ一致していた。さらに Hasenclever ら¹³⁾は、*C. alb.* の加熱死菌をマウスに接種して、白血球数の増加が起こることを認め、とりわけ顆粒白血球の増加を指摘している。以上のことから、*C. alb.* の内毒素が細胞質内膜系を含む顆粒画分と最も関係が深いことがわかり、したがって、細胞質内膜系の持つ意義が注目されるわけである。ところで、Sにおいても若干の毒性が証明されたことは、強力な音波破壊によつて、 P_1 および P_2 に相当する部分に含まれている内毒素としての有効成分が、Sの方に解離移行したものと解釈すれば納得できよう。もつとも本菌の細胞質内膜系を含む P_1 および P_2 が毒性を発揮するためには、量的に見て、一般細菌内毒素のほぼ100—150倍の著しく多量を要することは事実である。このよ

うにして、本菌における内毒素と膜性成分との結合状態を明らかにすることが将来の課題となると思われる。

なお、岩田ら¹⁴⁾は、*C. alb.* でウサギを免疫中、頸が左右いずれかに傾く現象を認め、これは迷路障害による運動性失調だと報告しているが、われわれの細胞画分接種の場合には、このような預曲り現象は、まったく認めることはできなかった。

2. *Candida* 属菌細胞画分の抗原性

Candida 属菌における共通抗原の問題は、土屋教授一門¹⁵⁾¹⁶⁾によつて詳細に行なわれているが、Siebert ら¹⁷⁾は、菌体を Membran-fraktion と Zellinhalt との2画分に分ち、抗原性は Membran-fraktion に優ること、ならびに、*C. alb.* と *C. tropicalis* 間の共通抗原は、両画分にも含まれたと述べている。われわれも、まず、*C. alb.* と *C. trop.* について、共通抗原性の問題を細胞画分に関して検討する。手始めとして、凝集反応、沈降反応、補体結合反応を応用して、各画分の抗原性を検討した。

1) 供試菌株と細胞画分ならびに免疫血清の作製

用いた菌株は、順天堂大学医学部細菌学教室より分子を受けた *C. alb.* 1011株と *C. trop.* 1017株の両株であるが、免疫反応の実施に当つて全菌を抗原とする場合には、

図2. French press による菌体成分の分画法

生菌をそのまま生理的食塩水あるいは veronal buffer に浮遊させて使用した。画分の作製には、この実験では、菌体の破壊に French press を用い、図2に示すようにして行なつた。菌体はあらかじめ0—5°Cに冷却しておき破壊を行なうと、破壊の程度は、音波破壊法による程強烈ではなく、破壊率は、光学顕微鏡による観察

表13. *C. alb.* 諸画分と対応する各種抗血清との間の凝集反応

抗血清 <i>C. alb.</i>	50	100	200	400	800	1,600	3,200	6,400	12,800	抗血清 <i>C. alb.</i>	50	100	200	400	800	1,600	3,200	6,400	12,800
Wh	Wh	#	#	#	#	+	+	±	—	P	Wh	#	+	—	—	—	—	—	—
	CW	#	#	#	+	±	—	—	—		CW	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	—	—	—	—	—	—	—	—		P	—	—	—	—	—	—	—	—
	S	—	—	—	—	—	—	—	—		S	—	—	—	—	—	—	—	—
CW	Wh	#	#	#	#	+	±	—	—	S	Wh	—	—	—	—	—	—	—	—
	CW	#	#	+	±	—	—	—	—		CW	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	#	+	±	—	—	—	—	—		P	—	—	—	—	—	—	—	—
	S	—	—	—	—	—	—	—	—		S	—	—	—	—	—	—	—	—

表14. *C. trop.* 諸画分と対応する各種抗血清との間の凝集反応

抗血清 <i>C. trop.</i>	50	100	200	400	800	1,600	3,200	6,400	12,800	抗血清 <i>C. trop.</i>	50	100	200	400	800	1,600	3,200	6,400	12,800
Wh	Wh	#	#	#	#	+	±	—	—	P	Wh	+	—	—	—	—	—	—	—
	CW	#	#	#	#	#	+	±	—		CW	+	+	±	—	—	—	—	—
	P	+	+	—	—	—	—	—	—		P	—	—	—	—	—	—	—	—
	S	—	—	—	—	—	—	—	—		S	—	—	—	—	—	—	—	—
CW	Wh	#	#	#	#	—	—	—	—	S	Wh	—	—	—	—	—	—	—	—
	CW	#	#	#	#	±	—	—	—		CW	—	—	—	—	—	—	—	—
	P	+	±	—	—	—	—	—	—		P	—	—	—	—	—	—	—	—
	S	—	—	—	—	—	—	—	—		S	—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 <i>C. alb.</i>	抗血清 <i>C. alb.</i>	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1,024	2,048	4,096
P	Wh	++	++	++	++	+	+	+	+	—	—	—	—
	CW	++	++	++	++	+	+	+	—	—	—	—	—
	P	++	++	++	+	+	+	+	+	—	—	—	—
	S	++	++	++	+	+	+	+	+	—	—	—	—
S	Wh	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	—
	CW	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	P	++	++	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
	S	+	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—

[illegible][illegible][illegible]

P	Wh	0	0	0	0	0	2	3	3	3	3
	CW	0	0	0	0	0	0	1	3'	3	3
	P	0	0	0	2	3'	3	3	3	3	3
	S	1	3'	3	3	3	3	3	3	3	3
S	Wh	0	0	0	3'	3	3	3	3	3	3
	CW	0	0	0	1	3'	3	3	3	3	3
	P	0	1	3'	3	3	3	3	3	3	3
	S	3'	3	3	3	3	3	3	3	3	3

表24. *C. trop.* 画分と*C. alb.* 画分免疫血清間の補体結合反応

抗 原 <i>C. trop.</i>	抗 血 清 <i>C. alb.</i>	40	80	160	320	640	1,280	2,560	5,120	血清対照 40×	抗原対照
Wh	Wh	0	0	0	0	0	1	3	3	3	3
	CW	0	1	3'	3	3	3	3	3	3	3
	P	3'	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	S	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
CW	Wh	0	0	0	0	2	3	3	3	3	3
	CW	0	0	0	2	3'	3	3	3	3	3
	P	0	2	3	3	3	3	3	3	3	3
	S	0	3'	3	3	3	3	3	3	3	3
P	Wh	0	0	0	0	0	1	3'	3	3	3
	CW	0	0	0	0	1	2	3	3	3	3
	P	0	0	1	3'	3	3	3	3	3	3
	S	0	2	3'	3	3	3	3	3	3	3
S	Wh	0	0	0	1	3	3	3	3	3	3
	CW	0	0	0	0	1	3	3	3	3	3
	P	0	0	2	3	3	3	3	3	3	3
	S	1	1	3	3	3	3	3	3	3	3

で、60%以上であることを確認している。この破壊液より、型のようにして、細胞壁 (CW)、顆粒 (P)、上清 (S) の3画分を得たが、これらの画分を電子顕微鏡的に観察したところ、音波破壊法の場合に準じた所見を得た。

免疫血清は、両 *Candida* 菌の60°C30分加熱全菌(Wh)、ならびにCW、P、Sの各画分の4者を、それぞれ、ウサギに、乾燥重量にして総量45mgを3週間にわたり9回に分けて耳静脈内に接種免疫し、その後2週間目に採血して作製した。

2) 試験管内凝集反応成績

各免疫血清と各抗原の間で凝集反応を行なった結果、まず、同一菌画分抗原と各々に対応する抗血清の間で反応を行なった場合には、表13,14に示すように、*C. alb.*、*C. trop.* とともに、CW抗原と抗Wh血清、ならびに対応する抗CW血清、および、Wh抗原と抗CW血清との間の反応が最も強かった。ついで、Pの抗原性が強く、

Sは、抗体産生能、反応性の両面で、抗原性が最も弱いことが知られた。つぎに、両菌の諸画分とそれぞれに対応する抗血清の間で、両菌間に交叉的に反応を行なうと、表15,16に示すように、同一菌画分間における場合と同様に、CW抗原と抗Wh血清、および抗CW血清、ならびにWh抗原と抗CW血清との間の反応が最も強いことがわかった。CW抗原と抗P血清、P抗原と抗CW血清との組み合わせでは、弱い反応が認められるが、そのほかの組み合わせの場合は、ほとんど反応は認められなかった。

3) 沈降反応成績

沈降反応は重層法を採用し、抗原稀釈法によつて行なった。結果は表17,18,19,20に示すようである。すなわち、同一菌画分抗原と各々に対応する抗血清との間の反応の場合には(表17,18),それぞれでかなりの反応度が認められたが、S抗原と抗S血清との間の反応の弱いことが注目される。両菌の諸画分とそれぞれに対応する

表25. Yeast および *Candida* 属菌のチトクロム吸収極大の位置

報 告 者	菌 種	γ (m μ)	β (m μ)	α (m μ)	備 考
Chance '52	Yeast	426 445	525	552(c) 563(b) 605(a)	差スペクトル
Hennessy '62	Baker's yeast		523(c) 530(b)	550(c) 565(b) 605(a+a ₃)	//
	Brewer's yeast		530(b)	558(b ₁) 590(a)	//
Okunuki ら '64	<i>S. cerevisiae</i>	415 (c)	520 (c)	550 (c)	還元型
	<i>Kloeckera</i>	415 (c)	520 (c)	550 (c)	//
	<i>C. krusei</i>	415 (c)	520 (c)	549 (c)	//
Okunuki ら '64	Baker's yeast	418(c ₁) 443(a)	517 (a) 523(c ₁)	553(c ₁) 603 (a)	//
Iwata ら '64	<i>C. albicans</i>	420 附近		550(c) 557(b) 596(a)	//
Takagi ら '66	<i>C. albicans</i>	430 445	523 532	552 563 605	差スペクトル
	<i>C. tropicalis</i>	426 445	523 532	552 563 605	//

抗血清の間で、両菌間に交叉的に反応を行なつた場合にも(表19, 20),同様の事が観察できた。これはSの抗原性の弱さを示すものと考えられる。

4) 補体結合反応成績

補体結合反応は、Kolmer の変法にしたがつて行なつた。その結果は表21, 22, 23, 24に示すとおりである。すなわち、同一菌画分抗原とそれぞれに対応する抗血清との間の反応の場合では(表21, 22),抗CW血清に関係した反応が強いことがうかがわれ、CW抗原と抗CW血清、Wh 抗原と抗CW血清、P 抗原と抗CW血清、S 抗原と抗CW血清間の反応がそれぞれ強く、P 抗原と抗P 血清、とくにS 抗原と抗S 血清間の組み合わせでは弱かつた。そのほかの組み合わせの反応は一般に顕著ではなかつた。つぎに、両菌の諸画分と、それぞれに対応する抗血清の間で、両菌間で交叉的に反応を行なつた場合にも(表23, 24),同様にCW抗原と抗CW血清間の反応が強く、P 抗原と抗P 血清、とくに、S 抗原と抗S 血清間の反応は弱かつた。しかし、P 抗原と抗CW血清、S 抗原と抗CW血清の組み合わせにおいては、相当の反応性が認められたが、そのほかの組み合わせにおける反応は一般に顕著ではなかつた。

4) 考察と小括

上述のように、凝集反応、沈降反応、補体結合反応を通じて、とくに補体結合反応の場合に、CWに最も強い抗原性が認められたが、P、とくに、Sは弱かつた。さらに、教室の三浦³⁾は、CWはマウスに高い血清凝集価の上昇を与えるが、P₁はCWに比すると弱く、P₂は一層微弱であつて、Sには、これが認められなかつたことを報告し、今回の結果と符合した。Sの抗原性の弱いことに関係して、最近 Youmans¹⁸⁾は、結核菌について、顆

粒画分に感染防御抗原性が強いことを述べ、これは、この中に含まれる膜成分が adjuvant 的に作用しているためとしているが、*Candida* 属の場合でも、S 単独では、膜成分は一応含まれていないと考えられるので、この点からもSの抗原性が弱いことが考えられ得る。

Candida 属菌における共通抗原性の問題を、細胞画分に関連して追求してゆくためには、吸収試験を行なう必要があることは論をまたない。われわれも、上述の実験にひきつづき、両菌のほかにも別の *Candida* 属菌をも取り上げて、吸収試験を試みている。いずれにしても、共通抗原性の問題も、細胞壁に重点がおかれねばならないことが示されたことは注目すべきものとする。

3. *C. alb.* と *C. trop.* における cytochrome

すでに yeast 類の cytochrome については、Chance などをはじめとして報告は多いが^{19) 20) 21) 22)}、*Candida* 属に関しては少なく、岩田²³⁾が、*C. alb.* について、cytochrome a, b, c の存在をみたのと、奥貫²¹⁾が、*C. krusei* の cytochrome について報告しているのをみるのみである。表25は、これらの報告のうちから、cytochrome の吸収極大を調べた結果を一部列記したものである。すなわち、還元型マイナス酸化型差吸収スペクトル、または、還元型吸収スペクトルの吸収極大の位置が示してあるが、われわれも、島津 MPS 50 L 型マルチパーパス自記分光光度計を用いて、*C. alb.* および *C. trop.* について、好氣的培養菌の sodium dithionite による還元型と oxygenated steady state のものとの、可視部差吸収スペクトルを観察した。

図3は、*C. alb.* についてのものであるが、 α 帯に 605 m μ , 563 m μ , 552 m μ の3つの吸収極大が得られ、これらは、それぞれ、cytochrome a+a₃, cytochrome b,

図3 *C. alb.* の還元型 マイナス 酸化型差吸収スペクトル

oxidized: O₂ gas reduced: sodium dithionite

図4 *C. trop.* の還元型 マイナス 酸化型差吸収スペクトル

oxidized: O₂ gas reduced: sodium dithionite

cytochrome c あるいは c_1 に相当すると考えられる。さらに、 β 帯に、532 m μ と 523 m μ の2つの吸収極大が存在するが、これらは、それぞれ、cytochrome b, cytochrome c あるいは C_1 に相当する。 γ 帯には、445 m μ と 430 m μ の2つの吸収極大が認められ、それぞれ、cytochrome a+ a_3 , cytochrome b と c あるいは c_1 の重複に相当するものと考えられた。*C. trop.* についても、図4に示すように、ほとんど同様の所見がえられた。要するに、両菌とも、cytochrome a+ a_3 , b, c あるいは c_1 の存在は確かであり、先人の yeast, *Candida* についての報告と大体において一致していると考えられる。

さて、すでにわれわれが報告しているように^{1) 2) 3) 4)}, P は、細胞質内膜系を含む画分であり、酸素吸収の面からは、succinate を基質としたときに強い活性を示し、TTC-formazan の形成も、とくに succinate, lactate を基質としたときに強いことが判明している。また、電子顕

微鏡的にも、TTC-formazan が、細胞質膜内系を構成する単位膜の周囲、あるいは、その膜間に沈着することが認められ、細胞質内膜系の酸化還元酵素局在部位としての重要性が認められているので、cytochrome の局在部位としても、細胞質内膜系の重要性が類推される。目下われわれは、両菌の細胞画分について、全菌の場合と同様にして差吸収スペクトルを観察し、cytochrome の細胞内局在部位を知ること努めているが、同時に、これらの材料から cytochrome を抽出、精製し、吸収極大の位置の決定や、他の性質の検討を行なつて、その詳細な同定に進みたいと考えている。

4. むすび

上述してきたように、われわれは、細菌体細胞よりかなり大きく、細胞質内膜系もより複雑によく発達した *Candida* 属菌細胞における微細構造の機能の問題の2, 3の側面を、とくに、細胞壁と細胞質内膜系を中心として捉えてきたが、このような試みは、より小さくより下等で、したがって研究対象としてはより取り扱い難い一般細菌の同様な問題の追求に、大きな示唆と方向を与え得ると考えている。当然のことながら、機能面の裏づけあつてこそ形態的研究の意義が深まるわけであるので、一方において高等動植物細胞微細構造の機能的意義に関する研究の成果を参照しつつ、他方には細胞の原始形態と考えられる細菌細胞の問題を踏まえ、両者の中間に位置する真菌細胞の微細構造の機能の解明に努力することの効用は大きく、将来ますます発展させるべきものと考えている。

写真説明

- 写真1 *C. alb.* 細胞壁画分の超薄切片像
- 写真2 *C. alb.* 大顆粒画分の超薄切片像
- 写真3 *C. alb.* 小顆粒画分の超薄切片像
- 写真4 *C. alb.* 顆粒画分接種 マウス肝の病理組織像, H.E. 染色, 拡大 64 倍
- 写真5 *C. alb.* 顆粒画分接種 マウス腎の病理組織像, H.E. 染色, 拡大 144 倍
- 写真6 *C. alb.* 顆粒画分接種 マウス肺の病理組織像, H.E. 染色, 拡大 144 倍

終りに、この発表の機会を与えられた、第10回日本医真菌学会総会会長岩田和夫教授、ならびに、このシンポジウムを司会された藤野恒三郎教授に対し厚く感謝の意を表する。

文 献

- 1) 長田昭夫: 米子医誌, 13: 4-24, 1962.
- 2) Takagi, A. and Nagata, A.: Japan. J. Micro-

- biol., 6 : 95—111, 1963.
- 3) 三浦篤典：米子医誌, 14 : 212—230, 1963.
 - 4) 谷村教俊：米子医誌, 17 : 192—212, 1966.
 - 5) Salvin, S.B.: J. Immunol., 69 : 89—99, 1952.
 - 6) Braude, A.I., McConell, J. and Douglas, H.: J. clin. Invest., 39 : 1266—1276, 1960.
 - 7) Isenberg, H.D., Allenhand, J. and Berkman, J.E.: Nature, 197 : 516—517, 1963.
 - 8) 八田貞義：綜合医学, : 9 : 315—319, 1952.
 - 9) Kobayashi, G.S., Friedman, L. and Kofroth, J.F.: J. Bacteriol., 88 : 795—801, 1964.
 - 10) Neytcheff, S.: Zbl. f. Bakter., I. Abt., Orig., 190 : 132—138, 1963.
 - 11) 武田徳晴, 土屋郁郎：東京医事新誌, 68 : 5—6, 1951.
 - 12) 武田徳晴：日本細菌誌, 8 : 441—455, 1953.
 - 13) Hasenclever, H.F. and Mitchell, W.O.: J. Bacteriol., 84, 402—409, 1962.
 - 14) 岩田和夫：真菌と真菌症, 3 : 157—179, 1963.
 - 15) 土屋毅, 林実隆：日本細菌誌, 13 : 820—826, 1958.
 - 16) 土屋毅：日本細菌誌, 19 : 253—267, 1964.
 - 17) Siegert, R., Müller, H.L. und Pachaly, D.: Zbl. f. Bakter., I. Abt., Orig., 191 : 533—542, 1963.
 - 18) Youmans, A.S. and Youmans, G.P.: J. Bacteriol., 89 : 1291—1298, 1965.
 - 19) Chance, B.: Nature, 169 : 215, 1952.
 - 20) Hennessy, J.P.: J. Inst. Brewing, 68 : 332—343, 1962.
 - 21) Yamanaka, T., Mizushima, H., Katano, H. and Okunuki, K.: Biochim. Biophys. Acta, 85 : 11—17, 1964.
 - 22) Sekuzu, I., Mizushima, H. and Okunuki, K.: Biochim. Biophys. Acta, 85 : 516—519, 1964.
 - 23) 岩田和夫, 音川実, 横田健：医学と生物学, 66 : 1—6, 1963.

(昭和 42 年 2 月 17 日受付)