原 著

腔スミア上に検出されるカンジダ属に関する
形態学的検討東邦大学医学部附属大橋病院病理部¹⁾, 同 第2産婦人科²⁾, 医療法人社団仁厚会安田診療所³⁾田口 勝二¹⁾ 岩原 実¹⁾ 藤田 正志¹⁾ 村石 佳重¹⁾渡辺 裕子¹⁾ 渋谷 和俊¹⁾ 安田 貢³⁾ 寺内 文敏²⁾小倉 久男²⁾ 直江 史郎¹⁾

腔スミア中に酵母様真菌を認め、さらにカンジダ属が分離同定された47例を対象として主に酵母細胞の形態学的検討を行い、細胞診検体の検鏡による種の推定とその精度について検討した。その結果、*C. albicans* 酵母細胞は長径4 μ 以上が多く、最も多くの小型酵母細胞をみた症例でさえも49%は長径4 μ 以上の酵母細胞であった。また、ほとんどの症例に仮性菌糸が観察された。*C. glabrata* は98.5%が長径4 μ 以下の酵母細胞であり、長径5 μ 以上の酵母細胞はきわめてまれであった。*C. krusei* は4 μ 以上の酵母細胞としてみられたが、6 μ 以上のものが多く、*C. albicans* に比べ長楕円形の酵母細胞が多かった。

以上の結果は、腔真菌症の原因菌として重要な *C. albicans* と *C. glabrata* を細胞診で鑑別しうる可能性を示唆するものであり、早期診断や治療に役立つと考えられた。

Key words: Vaginal candidosis—Cytology—Vaginal smear—*Candida albicans*—*Candida glabrata*

I. はじめに

日常、腔スミア中に酵母様真菌をみることはまれではなく、その大半はカンジダ属である^{1~4)}。このカン

Morphological study on *Candida* species in vaginal smears
Katsuji TAGUCHI¹⁾, C.T., Minoru IWAHARA¹⁾, C.T.,
Masashi FUJITA¹⁾, C.T., Yoshie MURAISHI¹⁾, C.T., Yuko
WATANABE¹⁾, C.T., Kazutoshi SHIBUYA¹⁾, M.D., Mitsugu
YASUDA³⁾, M.D., Fumitoshi TERAUCHI²⁾, M.D., Hisao
OGURA²⁾, M.D., Shiro NAOE¹⁾, M.D.

¹⁾Department of Pathology, ²⁾Second Department of Obstetrics and Gynecology, Toho University School of Medicine, Ohashi Hospital

³⁾Yasuda Clinic

論文印刷請求先 〒153 東京都目黒区大橋2の17の6 東邦大学医学部附属大橋病院病理部 田口勝二

平成8年6月19日受付

平成8年10月18日受付

ジダ属は *Candida albicans* (= *C. albicans*) を始めとし多くは二形性 (dimorphism), すなわち酵母型と菌糸型の二つの異なる形態を示すが, *C. glabrata* はいかなる発育条件でも二形性がみられない。

さて腔カンジダ症の原因菌の大半はこの *C. albicans* と *C. glabrata* の二者で占められているといわれ、症例数は圧倒的に前者に多いとされてきた^{5,6)}。しかし近年、本症の原因菌種に変化がみられ、特に本邦では後者によるものが増加し、腔カンジダ症の20~50%にも達しているとの報告もある⁷⁾。また、一般的に *C. glabrata* による腔カンジダ症は、*C. albicans* によるものよりも症状は軽度ながらも難治性であるとされ、両者を迅速に区別することは治療上意義のあることと思われる^{5~8)}。しかし、細胞診領域においてこの2者に関する詳細な形態学的検討は少なく、特に酵母型の菌要素のみでは *C. albicans* と *C. glabrata* の鑑

別はきわめて困難であるというものが多い^{9,10)}。そこで、腔スミアにみられたこれら酵母様真菌に対して形態的な検索を行い、菌種推定の可能性およびその精度について検討した。

II. 材料および方法

本院婦人科外来にて、腔スミア中に酵母様真菌要素を認め、また、同時にカンジダ属が分離同定された47例 (*C. albicans* 34例, *C. glabrata* 10例, *C. albicans* と *C. glabrata* が同時に分離された1例, *C. krusei* 2例) を検索材料として以下の検討を行った。

1. パパニコロウ染色標本による観察

パパニコロウ染色にて観察される酵母細胞数を半定量的に分け、さらに個々の酵母細胞の染色性について検討した。

2. 酵母細胞の形態に関する検討

パパニコロウ染色脱色後、PAS 反応を施行した。このとき、シッフ氏液は酵母細胞への特異性を高めるため、0.25% 亜硫酸水素ナトリウムで100倍に希釈した液を使用した。

酵母細胞を観察後、中間レンズ FK 6.7, 対物レンズ 40 倍で撮影した。また、個々の標本の撮影の最後にオブジェクトマイクロメーター (ゲージ: 1 目盛り 10 μ , オリンパス社製) を対物レンズ 4 倍で撮影し、すべて同倍率で印画紙に焼き付けた。この写真の酵母細胞を切り取り小さい酵母細胞の順に並べた。このとき、隣接する酵母細胞は一塊として切り取り、個々の細胞の大きさと形態を比較した。また、酵母細胞の大きさをわかりやすくするために1目盛りが1 μ になったゲージの写真縦、横にはりつけた。

さらに *C. albicans* で最も小型の酵母細胞が多く観察された1症例、任意に抽出した *C. glabrata* 2例および *C. krusei* 1例の酵母細胞については、接眼顕微計測器 (OSM-D 2, オリンパス社製) を使用して酵母細胞の長径および短径を計測した。

III. 結 果

1. パパニコロウ染色標本による観察 (表1)

C. albicans 分離例: 酵母細胞は、長径4 μ 以下の酵母細胞も認めるが長径4 μ 以上のものが多く、34例中29例に仮性菌糸が確認できた。菌体の多くは、パパニコロウ染色でオレンジGに淡染もしくは好染色性

表 1 全例のパパニコロウ染色による観察

症例	年齢	分離菌	酵母数	4 μ		集簇	仮性菌糸	染色性		
				以上	以下			1	2	3
1	33	C. a	+	+	+	—	+	+	+	+
2	30	C. a	+	+	+	—	+	—	+	+
3	38	C. a	+	+	+	+	+	+	+	+
4	35	C. a	+	+	+	+	+	+	+	+
5	28	C. a	+	+	+	+	+	+	+	+
6	21	C. a	+	+	+	—	+	+	+	+
7	22	C. a	+	+	+	+	+	+	+	+
8	28	C. a	+	+	+	—	+	+	+	+
9	43	C. a	+	+	+	—	+	+	+	+
10	40	C. a	+	+	+	+	+	+	+	+
11	35	C. a	+	+	—	—	+	—	+	+
12	37	C. a	+	+	+	—	+	—	+	+
13	23	C. a	+	+	—	—	+	—	+	+
14	19	C. a	+	+	—	—	+	—	+	+
15	25	C. a	+	+	—	—	+	—	+	+
16	23	C. a	+	+	+	+	+	+	+	+
17	23	C. a	+	+	+	—	+	+	+	—
18	27	C. a	+	+	+	—	+	+	+	+
19	26	C. a	+	+	—	—	+	+	+	+
20	30	C. a	+	+	—	—	+	—	+	+
21	24	C. a	+	+	—	—	—	+	+	—
22	31	C. a	+	+	—	—	—	—	+	—
23	42	C. a	+	+	—	—	+	+	+	+
24	20	C. a	+	+	+	—	+	+	+	+
25	25	C. a	+	+	—	—	+	—	+	—
26	22	C. a	+	+	—	—	—	—	+	—
27	28	C. a	+	+	—	—	—	—	+	—
28	41	C. a	+	+	—	—	+	—	+	+
29	31	C. a	+	+	+	+	+	+	+	+
30	27	C. a	+	+	—	—	—	—	+	+
31	26	C. a	+	+	+	—	+	+	+	+
32	20	C. a	—	—	—	—	+	+	+	+
33	42	C. a	+	+	+	—	+	+	+	+
34	26	C. a	+	+	+	—	+	+	+	+
35	37	C. g	+	—	+	+	—	—	+	+
36	40	C. g	+	—	+	+	—	—	+	+
37	20	C. g	+	+	+	+	—	—	+	+
38	32	C. g	+	+	+	+	—	—	+	+
39	21	C. g	+	+	+	+	—	—	+	+
40	28	C. g	+	+	+	+	—	—	+	+
41	24	C. g	+	+	+	+	—	—	—	+
42	26	C. g	+	+	+	+	—	+	+	+
43	22	C. g	+	—	+	+	—	—	+	+
44	36	C. g	+	+	+	+	—	—	+	+
45	46	C. a+	+	+	+	+	+	+	+	+
		C. g								
46	42	C. k	+	+	—	+	—	+	+	+
47	26	C. k	+	+	+	—	+	+	+	+

—: 確認できなかった

+: 少ないが確認できた

+: 比較的容易に確認できた

+: 容易に確認できた

C. a = *C. albicans* C. g = *C. glabrata* C. k = *C. Krusei*

染色性

1: オレンジGに好染

2: オレンジGに淡染

3: オレンジG以外に淡染や重染

写真1 A: *C. albicans* 例で観察された代表的所見の要約,
B: *C. glabrata* 例で観察された代表的所見の要約

を示すが、ライトグリーンやビスマルクブラウン、ヘマトキシリンなどの色素に淡染性を示すもの、あるいは重染性を示すものもみられた。

C. glabrata 分離例: 酵母細胞のほとんどは、長径 4μ 以下で、菌体はパパニコロウ染色でオレンジGに好染あるいは淡染するものもみられたが、その他の色素に淡染や重染するものが多かった。

C. albicans, *C. glabrata* 同時分離例: 酵母細胞のほとんどは長径 4μ 以下で、一部に仮性菌糸がみられた。

C. krusei 分離例: 2例とも長径 5μ 以上の細長い酵母細胞が多く観察された。酵母細胞の菌体は、パパニコロウ染色でオレンジGに好染性を示すものが多いものの、その他の色素と重染したものもみられた。

2. PAS 反応標本を用いた酵母細胞の形態に関する検討 (写真1~13, 図1)

C. albicans 分離例: 34例中33例に仮性菌糸が確認され、この一部には真性菌糸性菌要素も認められた。さらに、10例に発芽管様構造をみた。酵母細胞の形態は、卵円形を中心に一端がやや膨らみ、さまざまな

写真2 酵母細胞の形態, Case 1~4 (*C. albicans*)

写真3 酵母細胞の形態, Case 5~8 (*C. albicans*)

写真4 酵母細胞の形態, Case 9~12 (*C. albicans*)

形態を示していた。また、すべての症例で標本上の酵母細胞の長径は $5\sim 6\mu$ が主体であった。長径 4μ 以下の小型酵母が最も多く観察され顕微計測を行った症

写真 5 酵母細胞の形態, Case 13~16 (*C. albicans*) 写真 6 酵母細胞の形態, Case 17~20 (*C. albicans*) 写真 7 酵母細胞の形態, Case 21~24 (*C. albicans*) 写真 8 酵母細胞の形態, Case 25~28 (*C. albicans*) 写真 9 酵母細胞の形態, Case 29~32 (*C. albicans*) 写真 10 酵母細胞の形態, Case 33, 34 (*C. albicans*) 35, 36 (*C. glabrata*)

例における酵母細胞の平均長短径比は 1.51 であり、長径 4μ 以上の酵母細胞は 49% を占めていた。

C. glabrata 分離例：酵母細胞は、すべての症例で

円形から卵円形で均一な形態を示し、ほとんどが 4μ 以下の細胞として認められた。顕微計測を行った酵母細胞の平均長短径比は 1.26 で、98.5% は長径 4μ 以

写真 11 酵母細胞の形態, Case 37~40 (*C. glabrata*) 写真 12 酵母細胞の形態, Case 41~44 (*C. glabrata*)
(42=*C. albicans* 共存?) 写真 13 酵母細胞の形態, Case 45 (*C. glabrata*+*C. al-*
bicans) 46, 47 (*C. krusei*)

図 1 顕微計測による酵母細胞の大きさの比較

下の小型酵母細胞であった。さらに、 5μ 以上の酵母細胞はきわめてまれで最大でも 6.5μ であった。

また、10例中1例に仮性菌糸様の構造が観察された。この症例の標本では、強拡大で各視野に数十～数百の 4μ 以下の酵母細胞がみられ、集簇したものも多く認められた。その一方で、一部に仮性菌糸や発芽管様構造を有する 5μ 以上の酵母細胞をみたが、この細胞は、観察された酵母細胞の1%未満であり、99%以上は 5μ 以下の酵母細胞で、特に 4μ 以下のものが97%を占めていた。

C. albicans, *C. glabrata* 同時分離例：この症例の標本では、強拡大で各視野に数個～数十個の 4μ 以下の酵母細胞がみられた。また、全体で約20カ所に仮性菌糸を認め、その一部の周囲に1, 2個の一端がやや膨らんだ $5\sim 6\mu$ の酵母細胞がみられた。

IV. 考 察

日常の腔スミア中に酵母様真菌をみることはまれではなく、そのほとんどはカンジダ属である。ヒトに病原性を示すカンジダ属には、多くの種⁷⁾が知られているが、腔カンジダ症の原因菌の90%以上は、*C. albicans*と*C. glabrata*の2者^{1,2,5,6)}である。また、近年*C. glabrata*に起因する例が増加傾向にあるという報告⁷⁾もある。*C. glabrata*に起因する腔カンジダ症は、一般的に症状は軽いものの化学療法に抵抗性を示す症例が多いと報告されている^{5,6,8)}。したがって、この二者を迅速に鑑別することは、本症の早期治療と予後を

推定する上で有意義なものと思われる。

C. glabrata は、1917 年 Anderson¹¹⁾ によって *Cryptococcus glabratus* (Anderson) としてはじめて発表され、1938 年 Lodder および De Vries^{12,13)} が *Torulopsis glabrata* と命名した。それ以来、N.J.W. Kreger-van Rij 編 “The Yeasts”¹⁴⁾ でカンジダ属に吸収された形で属名が変更になるまでは、トルロブシス属に分類されていた。この分類上の問題については形態上の差のみならず、抗真菌剤に対する感受性の差異などの多くの点からカンジダ属とは区別すべきであるという反論もある¹⁵⁾。

この *C. glabrata* に起因する腔カンジダ症については、辻¹⁰⁾ によつての詳細な臨床的研究がなされている。しかし、細胞診におけるこれらの形態学的な検討はきわめて少ない。特に *C. glabrata* に関しては、Bibbo¹⁶⁾ の報告を嚆矢とし、われわれが渉猟した限りでは、本邦においては佐々木ら⁹⁾ の報告が最初で、他に天神ら¹⁷⁾ の著書に簡単な記載をみる以外に詳細な記録はなく、また、これらの報告では酵母細胞の形態的観察のみでは *C. albicans* との鑑別はきわめて困難とされている。

ここでは、*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* の3種の細胞診標本上での形態的特徴についてとそれらの鑑別点を中心に、われわれの検討結果について若干の考察を加えたい。

今回の検索で *C. albicans* は、仮性菌糸や真性菌糸性菌要素を有し、ときに発芽管様構造を示す形態が特徴であった。これは、培地上で発育した本菌の一般的特徴と一致する。また、まれではあるが酵母型のみが観察される症例でも卵円形を中心に一端がやや膨らんだものが多くさまざまな形態を示し、その多くは長径 4μ 以上の酵母細胞として観察された。

一方、*C. glabrata* は円形から卵円形であり、腔スミア上でほぼ均一な大きさを示し、菌糸形は存在しない。また、98.5% は長径 4μ 以下の酵母細胞であり、長径 5μ を越す酵母細胞の出現はほとんどみなかった。以上の形態的特徴は、細胞診標本上で *C. glabrata* を他のカンジダ属と区別するうえできわめて有用と考えられた。すなわち、標本上に観察される真菌の大半が酵母型の発育をした症例であっても、長径 5μ 以上の酵母細胞が多くみられたならば *C. glabrata* である可能性がほとんどないと判断できよう。また、日常の鏡検では好中球の分葉核の一つの大きさが 4μ 前後であり、これを指標とすることでより簡便な判断

が可能となる。

ところで、*C. glabrata* と *C. albicans* が同時分離された1例と *C. glabrata* のみが分離され、その一部に仮性菌糸がみられた1例では、両者ともに 4μ 以下の酵母細胞が強拡大で各視野に多数みられ、一部に一端がやや膨らんだ $5\sim 6\mu$ の酵母細胞や仮性菌糸が少数認められたという共通の所見を呈していた。このことから、この2例はいずれも *C. glabrata* と *C. albicans* との混合感染例であると推定することができる。また、後者で *C. glabrata* のみが分離された原因としては、*C. albicans* の腔内での増殖もあったものの、*C. glabrata* の増殖が圧倒的に優勢であったため、検体からの分離ができなかったものと考えたい。このように長径 4μ 以下の小型酵母細胞が優位にみられ、しかもその一方で仮性菌糸を見出すことができた場合には、2種類の酵母の存在を疑う必要があろう。しかしながら、*C. albicans* が優勢な症例では二者の存在を細胞診標本から推測することはかなり困難と思われた。

C. krusei は、長短径比2.25で96.5%が長径 4μ 以上の酵母細胞としてみられるが、 6μ 以上の長楕円形を示す酵母細胞が66%と多く、酵母細胞数の多い症例では *C. albicans* との鑑別は比較的容易と思われた。

カンジダのパパニコロウ染色に対する染色性は不安定で、カンジダの観察に適した染色とはいえない。しかし、酵母細胞は腔スミアでよくみられる扁平上皮細胞の表層や中層細胞に混在したり、その周囲にみられることが多い。今回の結果から、腔カンジダ症の主たる原因菌である *C. albicans* と *C. glabrata* を腔スミア細胞診で鑑別しうる可能性が示唆された。これによって腔カンジダ症が臨床的に疑われた場合、迅速に臨床への情報提供が可能となると考えられる。また、細胞診では真菌の形態を生体内で増殖しているそのままの形で観察することができ、組織内の真菌形態観察よりも優れた面があるといえよう。木村ら¹⁸⁾ はカンジダ膿瘍における塗抹標本の有用性を報告し、ホルマリン固定された膿瘍の塗抹標本でさえもその有用性が発揮されると述べている。

真菌の同定は最終的に培養に委ねざるを得ない。しかし、ヒトに感染する病原真菌は約200種といわれ、それぞれ特徴的な形態を有しているものが多い。また日常遭遇する真菌はその数分の1以下であり⁷⁾、それほど多い種類がみられるわけではない。したがって、これらの形態的特徴を見出せば細胞診は有用かつ実

践的な腔カンジダ症の診断法の一つとなりうる。また、今回検討したような腔スミアでは真菌が検出された場合、その大半がカンジダ属であると予測可能であり、特定の検体については鏡検のみでかなり精度の高い真菌症の診断が可能であると考えられた。

稿を終えるにあたり、ご指導を賜った帝京大学医真菌研究センター、内田勝久助教授ならびに元当院臨床検査部細菌検査室、有田聖子技師に心から感謝の意を表します。

本論文の要旨の一部は第32回日本臨床細胞学会総会および第12回国際細胞診学会にて発表した。

Summary

To determine diagnostic accuracy for *Candida* species in routine cytologic examinations, *Candida* species found in 47 examinations of routine vaginal smears were morphologically and morphometrically analyzed. The species of *Candida* had been mycologically confirmed at the same time in each cases.

In cases with *C. albicans*, large yeast cells with a long diameter of more than 4μ were predominant, and they displayed pseudohyphal and hyphal growth. Conversely, 98.5% of *C. glabrata* in vaginal smears had long diameters less than 4μ , and there were no hyphae or pseudohyphae in any of the cases. In cases with *C. krusei*, large yeast cells having a long diameter more than 6μ were often observed. An elongated oval shape is an important morphological characteristic of *C. krusei*.

Candida species can be identified by a routine cytologic examination based on these morphological characteristics. The accuracy of differentiating between *C. albicans* and *C. glabrata* is especially emphasized.

文 献

- 1) 水野重光. 産婦人科領域の真菌症. 真菌誌 1967; 8: 3~16.
- 2) 東出香二, 浅井保正, 成田 収, 中西 勉, 友田 豊, 神戸俊夫・ほか. 妊娠末期婦人における腔真菌症の検討. 真菌誌 1978; 19: 258~261.
- 3) 水野重光. 外陰・腔カンジダ症を巡って. 真菌誌 1977; 18: 422~429.
- 4) 水野重光, 高田道夫, 山田陽久. 腔内真菌を中心とする家族内感染. 真菌誌 1969; 10: 122~125.
- 5) 山本哲郎, 宮崎敏之, 柳生淳二, 岩瀬 一, 片桐信之, 穂垣正暢・ほか. 酵母 *Hansenula mrakii* の生産するキラートキシンを用いた *C. albicans* と *C. glabrata* の判別倍地の作製および, その産婦人科領域への応用. 真菌誌 1988; 29: 257~263.
- 6) 水野重光. 女性性器トルロプシス症の問題点. 産婦人科治療 1983; 46: 1~11.
- 7) 山口英世, 内田勝久. 真菌症診断のための検査ガイド. 東京: 栄研化学株式会社, 1994: 1~94.
- 8) 水野重光. 女性性器真菌症に対する抗真菌剤の臨床的検討. 日獨医報 1985; 30: 436~450.
- 9) 佐々木寿男, 飯田昌義, 青木淳一. *Torulopsis glabrata* vaginitis とその腔スミア像. 日臨細胞誌 1976; 15: 97~101.
- 10) 辻 邦宏. 産婦人科領域における *Torulopsis glabrata* に関する研究. 日産婦誌 1954; 11: 937~946.
- 11) Anderson, H.W. Yeast-like fungi of the human intestinal tract. J. Infect. Dis. 1917; 21: 341~385.
- 12) 水野重光, 辻 邦宏. *Candida* に近似的真菌 "*Torulopsis glabrata* (Anderson) Lodder et DE Vries 1917" について. 産婦の世界 1956; 8: 1328~1339.
- 13) Lodder, J., N.F. DE Vries. Some notes on *Torulopsis glabrata* (Anderson) nov. comb. Mycopathologia 1938; 1: 98~103.
- 14) N.J.W. Kreger-ven Rij. The yeasts a taxonomic study third revised and enlarged edition. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V., 1984: 687~688.
- 15) 岩田和夫. 医真菌学関係用語についての意見と提案の二, 三および改版 "The Yeasts" における *Torulopsis* → *Candida* への変更について. 真菌誌 1984; 25: 182~186.
- 16) Bibbo, M., Wied, G.L. Transparencies and Explanatory Text (Vol. 9) Identification of inflammatory reactions, tissue repair, viral infections and microbiologic classifications in cytologic specimens of the female reproductive tract. Chicago: Tutorials of Cytology, 1973.
- 17) 武田 敏, 大内義智. カンジダ腔炎, 外陰炎. 天神美夫編, 新婦人科細胞診断学—日米欧の比較を中心に—. 東京: 医学書院, 1977: 190~193.
- 18) 木村雅友, 前倉俊治, 門田永治, 尾鼻康朗, 坂谷邦康. カンジダ膿瘍における塗抹標本作製の有用性. 日臨細胞誌 1989; 28: 455~458.