Debaryomyces 属の血清学的分類に関する研究

Studies on The Serological Classification of The Genus Debaryomyces

佐野 弥文 次*

Yabunji SANO

抗生物質の使用増加に伴い、真菌症は漸増の傾向を示し、特に *Candida* による重篤な全身感染も数多く報告され、これら酵母様真菌に関する分類と同定の問題は改めて検討されるようになった。*Candida* (以下 C と略す) 属と近縁の性状を有する人体寄生酵母の中に *Debaryomyces* (以下 D と略す) 属といわれる菌属があり、これは胞子の形態学的特徴に基いて初めて Klöcker によつて記載され、次いで Lodder and Kreger-van Rij は有孢子酵母科の 1 属としてこれを 5 種に分類した。

D 属は医学的にも古くから注目されており、Peju はアンギーナ患者から *D. kloeckeri* を分離し、Diddens and Lodder¹⁾ は D 属の 1 菌種を helminthiasis 患者の糞便から分離し、また太田も皮膚毛髮疾患々々から D 属の菌株を多数分離した。さらに Ciferri and Baldacci²⁾ も本菌属の酵母は人や動物に寄生すると述べている。

酵母の分類は従来主としてその形態学的性状に基いて行われ、かつ長い間の混乱を経て最近 Lodder and Kreger-van Rij³⁾ によつて系統的分類が一応示されている。又血清学的性状を分類の基礎として、同定に役立たせようとする試みも 2, 3 の酵母についてなされ、Benham⁴⁾, Martin et al⁵⁾ は凝集反応により、Lamb and Lamb⁶⁾, Martin⁷⁾ は沈降反応により、また Stone and Garrod⁸⁾ は補体結合反応によつて、主として C 属の分類を試みた。しかし酵母間には広く共通抗原が存在し、又その分析も不充分であつたので、分類の基礎として用いることは何れの場合にも成功しなかつた。しかし土屋等⁹⁾, 深沢¹⁰⁾, 川北¹¹⁾ は Slide 凝集反応による抗原分析を行い、10 数種の C の抗原構造を明らかにしてその血清学的分類を示し、さらに C 属の抗原との関連に於て林¹²⁾, 佐藤¹³⁾ は数種の *Saccharomyces* (以下 S. と略す) の抗原構造を明らかにし、また雨宮¹⁴⁾, 西川¹⁵⁾ は数種の *Hansenula* (以下 H. と略す) の抗原構造を示した。その結果 C 属, S 属および H 属の菌種間には共通抗原が存在し、なお有孢子

酵母 (Sporogenous yeast) である S 属および H 属のある菌種と無孢子酵母 (Asporogenous yeast) に属する C 属のある菌種との間には抗原的に全く同一な菌種が幾組かあることも明らかとなり、合理的酵母の分類は、安定であつて且特異性の強い血清学的性状によつて再編成されるべきことを示唆した。著者は D 属もまた C 属と密接な共通抗原を有することを知り、D 属の 5 種について C 属の抗原との関連において Slide 凝集反応による抗原分析を行い、その抗原構造を明らかにし、酵母の血清学的分類に関する新知見を得たのでこれを報告する。

実験材料および実験方法

使用菌株は *Debaryomyces* 属の 5 種 5 株であつて、*D. hansenii* IFO 0564, *D. kloeckeri* IFO 0019, *D. nicotianae* IFO 0582, *D. membranaefaciens* IFO 0052, *D. globosus* IFO 0016 である。なお C 属, H 属および S 属の数菌種も因子血清作製のため使用した。これら菌株のすべては大阪の酵醉研究所の長谷川農学士の御好意によつて分与されたものである。

免疫に用いる加熱抗原の作製には、まず菌をブドウ糖 2%, ペプトン 1%, Yeast Extract (Difco) 0.5% を含む寒天平板培地に塗布し 37°C で 48 時間培養する。平板に発育した Yeast phase の菌を集め、0.5% 食塩水で 2 回洗滌後約 20~30mg/cc の菌浮遊液をつくり、これを Koch 釜で 100°C 2 ½ 時間加熱し、この浮遊液を Glas homogenizer で約 30 分間磨砕する。その後菌浮遊液の濃度を約 20mg/cc に補正し、防腐剤としてホルマリンを 0.5% になるように加える。免疫に用いる非加熱抗原の作製法は菌を加熱する操作以外は上記の方法と全く同じである。

動物の免疫にはウサギを用い、免疫前予め正常凝集素による自発凝集反応の有無を確かめ、この正常血清 2cc を採血保存した後、菌浮遊液の 0.5cc, 1.0cc, 1.5cc を連続 3 日間第 1 Series として静注し、1 日休んで第 2 Series からは 2.0cc づゝ連続 3 日間静注する。この期間中時々試験採血を行い、凝集価が 640 倍以上に上昇した時、最後の注射から 10~14 日目に全採血する。凝集

* 順天堂学医学部細菌学教室

1959 年 1 月 14 日受付

価が希望水準に達するには 少くとも 3~4 Series の注射が必要であつた。

吸収血清をつくるには、稀釈した血清に約 10mg/cc の濃度に加熱菌を加えるのであるが、この吸収菌は免疫用抗原作製の場合と同じようにして処理作製したものである。この混合した浮遊液を 37°C の恒温槽に 3 時間保ち、その後 1 夜氷室に放置してから遠心沈澱し、その上清について吸収が完全に行われたか否かを検査した。この上清は多くの場合数回の再吸収を必要とした。吸収血清が吸収菌に対し陽性の凝集反応を示さなくなっても、吸収の完全を期するため少くとももう 1 回吸収を行った。吸収試験に用いる抗血清は凝集価がおよそ 1:128 になるように稀釈する。例えば凝集価が 1:1280 であれば抗血清を 10 倍に稀釈した。凝集価は時日が経つに従って低下するので、勿論その降下に従って稀釈倍数を変更した。抗原分析は上記の吸収血清と各種の加熱および非加熱抗原との Slide 凝集反応によつて行つた。因子血清の作製には免疫に用いる菌種と吸収菌との間に種々の組合が考えられるけれども、著者は第 1 表の組合せを用いた。

生物学的性状検査は主として Lodder の記載に従つたが、当教室慣用の方法も用いた。子嚢孢子 (Ascospore) の形成を検するには、まず前孢子用培地 (Presporulation medium) として麦芽汁または Wickerham 栄養培地斜面寒天に 3 代継代した菌を、孢子用培地の人参寒天、Gorodkova 寒天、セロリ寒天、V8 寒天培地等に移植して、25°C かまたは温暖の季節には室温で培養し、6 週まで観察した。仮性菌糸 (Pseudomycelium) の有無を検するには、Corn meal 寒天 (Difco) を用いる Slide 培養を行い、25°C で培養し、10 日まで観察した。醗酵試験は Yeast Extract (Difco)、ペプトン水 (指示薬として BTB を加える) に糖を 2% の割に加え、Durham 管入り小試験管を用いて行い、利用試験は NH_4SO_4 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ を含む合成培地を用いる Auxanographic method によつた。ともにブドウ糖、麦芽糖、ガラクトーゼ、乳糖および蔗糖等の 5 種の糖について検査した。

実験成績

実験 I 抗原分析はまず耐熱抗原について行つた。すなわち 23 種の耐熱性抗原 2~24 に対応する因子血清または吸収血清と D 属 5 菌種の加熱菌との Slide 凝集反応を行い、被検菌種の所有する既知抗原を検討した (第 1 表)。その結果 *D. hansenii*, *D. kloecheri*, *D. nic-*

otianae, *D. membranaefaciens* の 4 種は耐熱性抗原 2, 3, 4, 9, 14 に対応する因子血清と陽性凝集反応を示し、その他の耐熱性抗原に対応する因子血清との凝集反応は陰性であつた。又 *D. globosus* は耐熱性抗原 2, 3, 10, 24 に対応する因子血清と陽性凝集反応を示し、その他の耐熱性抗原に対応する因子血清との凝集反応は陰性であつた。

実験 II D 属 5 菌種の新耐熱性抗原の有無を検索した (第 2 表)。実験 I において抗 *D. hansenii* 加熱菌血清から *C. albicans* の加熱菌で吸収した吸収血清は、D 属の 5 菌種および C 属の 7 菌種の加熱菌と、凝集反応はすべて陰性であつた。実験 2, 3 において抗 *D. kloecheri* 加熱菌血清および抗 *D. nicotianae* 加熱菌血清からそれぞれ *C. albicans* の加熱菌で吸収した吸収血清も、同様の結果を得た。それ故 *D. hansenii*, *D. kloecheri*, *D. nicotianae* の 3 菌種は抗原 9, 14 を所有するが、それら抗原に対応する抗体の産生能力は極めて弱い、又は欠如していると思われる。かゝる抗原は表示する場合には括弧をつけて示した。*D. membranaefaciens* は実験 I の結果から上記の 3 菌種と同一抗原構造を示したが、実験 4~6 において抗 *D. membranaefaciens* 加熱菌血清から *C. albicans* の加熱菌で吸収した血清は、D 属の 4 菌種および C 属の 3 菌種の加熱菌と陽性凝集反応を示した。これは実験 I の結果と合わせて抗原 9 及び 14 に対応する抗体の残存しているための反応と解される。次にこの吸収血清から抗原 9 を有する *C. guilliermondii* の加熱菌で吸収すると、この再吸収血清は D 属の 4 菌種および C 属の 2 菌種と陽性凝集反応を示し、この再吸収血清中には抗原 14 に対応する抗体がなお存在していることを示している。次いでこの吸収血清からさらに抗原 14 を有する *C. robusta* の加熱菌で吸収した吸収血清は、被検菌種のすべてと凝集反応が陰性になった。なお Slide 凝集反応検査の抗原として用いた菌種数は 10 数種であつたが、第 2 表および第 4 表に掲げた菌種は C 属の各群の代表の数菌株を示すに止めた。

次に実験 7~10 において抗 *D. globosus* 加熱菌血清から *C. albicans* の加熱菌で吸収すると、この吸収血清は C 属の 2 菌種および *D. globosus*, *S. rosei* の加熱菌と陽性凝集反応を示した。これは実験 I の結果から抗原 10 および 24 に対応する抗体の残存しているための反応と考えられる。次いでこの吸収血清から抗原 10 を有する *C. robusta* の加熱菌で吸収すると、この吸収血清は *D. globosus* と *S. rosei* の加熱菌とだけ陽性凝集反応を示し、これは抗原 24 に対応する抗体が残存するた

第1表 耐熱性抗原の因子血清による Slidl 凝集反応

因子血清	抗加熱菌血清	吸 收 菌 (加 熱 処 理)	抗 原 (加熱処理)					因子血清	抗加熱菌血清	吸 收 菌 (加 熱 処 理)	抗 原 (加熱処理)				
			han.	kl.	nic.	mem.	gl.				han.	kl.	nic.	mem.	gl.
2	C. alb.	C. pt.	+	+	+	+	+	14	C. pul.	C. alb.	+	+	+	+	-
3	C. pk.	C. kr.	+	+	+	+	+	15	C. pel.	C. ut.	-	-	-	-	-
4	C. st.	C. pk.	+	+	+	+	±	16	C. pel.	C. pk.	-	-	-	-	-
5	C. st.	C. glm.	-	-	-	-	-	17	C. ut.	C. pel.	-	-	-	-	-
6	C. tr.	C. st.	-	-	-	-	-	18	C. rob.	{C. alb. C. pk. C. pt.	-	-	-	-	-
7	C. alb.	C. tr.	-	-	-	-	-	19	C. rug.	{C. alb. C. cat.	-	-	-	-	-
8	C. mac.	{C. alb. C. sct.	-	-	-	-	-	20	C. pel.	{C. alb. C. pk. C. ut. C. rob.	-	-	-	-	-
9	C. glm.	C. tr.	+	+	+	+	-	21	H. sat.	C. pel.	-	-	-	-	-
10	C. sct.	C. alb.	-	-	-	-	+	22	H. cal.	H. sat.	-	-	-	-	-
11	C. cat.	C. alb.	-	-	-	-	-	23	S. del.	C. alb.	-	-	-	-	-
12	C. myc.	C. kr.	-	-	-	-	-	24	S. ros.	{C. alb. C. pk.	-	-	-	-	+
13	C. pul.	{C. alb. C. pel.	-	-	-	-	-								

註	C. alb.	C. albicans	C. pel.	C. pelliculosa	D. han.	D. hansenii]
	C. kr.	C. krusei	C. sct.	C. scotti	D. kl.	D. klockeri
	C. pk.	C. parakrusei	C. ut.	C. utilis	D. nic.	D. nicotianae
	C. pul.	C. pulcherrima	C. glm.	C. guilliermondii	D. mem.	D. membranaefaciens
	C. rug.	C. rugosa	C. myc.	C. mycoderma	D. gl.	D. globosus
	C. tr.	C. tropicalis	C. pt.	C. pseudotropicalis	H. sat.	H. saturnus
	C. cat.	C. catenulata	C. rob.	C. robusta	H. cal.	H. californica
	C. mac.	C. macedoniensis	C. st.	C. stellatoidea	S. del.	S. delbrueckii
			C. zey.	C. zeylanoides	S. ros.	S. rosei

めであつて、この吸収血清から抗原 24 を有する *S. rosei* の加熱菌で吸収すると、この再吸収血清は *D. globosus* とだけ陽性凝集反応を示した。これは *D. globosus* だけが有する独自の抗原の存在を示すものであつて、この新抗原を抗原 27 と名づける。

実験Ⅲ 実験ⅠおよびⅡによつて樹立された抗原構造に基いて D 属の 4 菌種すなわち *D. hansenii*, *D. klockeri*, *D. nicotianae* および *D. membranaefaciens* は C 属の特異抗原 9 をもっているの、その第Ⅴ群に編入することができ、また *D. globosus* は抗原 24 をもっているの、第Ⅶ群に編入することができる。そこで C 属の第Ⅴ群に属する D の 4 菌種と *C. guilliermondii* の 5 菌種間で相互吸収試験を行い、また第Ⅶ群に属する *D. globosus* は *S. rosei* と、さらに第Ⅴ群と第Ⅶ群に属する D 属の各菌種間の相互吸収試験を行つてこれらの菌種の抗原構造をさらに確かめた (第3表)。実験 11

—A, —B において *D. klockeri* の加熱菌で吸収した抗 *D. hansenii* 加熱菌血清と D 属および C 属の各菌種との Slide 凝集反応はすべて陰性であり、逆に *D. hansenii* の加熱菌で吸収した抗 *D. klockeri* 加熱菌血清もすべての菌種に対して陰性の反応を示した。同様に実験 12—A から 16—B における D 属 4 菌種間のあらゆる組合せによる相互吸収試験においても、それぞれの抗体は完全に吸収し尽された。それ故 *D. hansenii*, *D. klockeri*, *D. nicotianae* および *D. membranaefaciens* は抗原的に同一であつて、何れも抗原 14 を有することが明らかとなつた。

次に実験 17—A, —B において *C. guilliermondii* の加熱菌で吸収した抗 *D. hansenii* 加熱菌血清は D 属および C 属の各菌種との Slide 凝集反応が陰性であり、逆に *D. hansenii* の加熱菌で吸収した抗 *C. guilliermondii* 加熱菌血清も同じように陰性の反応を示した。こ

第2表 新 耐 熱 性 抗 原 の 検 索

実験 番号	抗加熱菌血清	吸 收 菌 (加 熱 処 理)	抗 原 (加 熱 処 理)														吸 收 後 残 存	す る 抗 体
			D. han.	D. kl.	D. nic.	D. mem.	D. gl.	C. alb.	C. pt.	C. rob.	C. kr.	C. pk.	C. glm.	C. pel.	S. ros.			
1	D. han.	C. alb.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(9) (14)		
2	D. kl.	C. alb.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(9) (14)		
3	D. nic.	C. alb.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(9) (14)		
4	D. mem.	C. alb.	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	9 14		
5	As (4)	C. glm.	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	14		
6	As (5)	C. rob.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
7	D. gl.	C. alb.	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	10 24 27		
8	As (7)	C. rob.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	24 27		
9	As (8)	S. ros.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	27		
10	As (9)	D. gl.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			

註 As: 吸収血清, 括弧内は実験番号を示す.

れと同様の反応は実験 18—A から実験 19—B における *D. kloekerii* および *D. nicotianae* の2菌種と *C. guilliermondii* との相互吸収試験においても示された. しかし実験 20—A において *C. guilliermondii* の加熱菌で吸収した抗 *D. membranaefaciens* 加熱菌血清は *D. globosus* を除く D 属の他の4菌種および C 属の2菌種と陽性反応を示し, 吸収血清中には抗原 14 に対応する抗体の残存していることを示し, この逆の吸収試験を行つた実験 20—B においてはこの吸収血清の凝集反応は陰性であつた. 以上の実験結果から *D. membranaefaciens* 抗原 14 に対応する抗体を産生し, 他の3菌種はいずれもその産生能が弱いまたは欠如しているものと思われる.

実験 21—A, —B において *D. hansenii* の加熱菌で吸収した抗 *D. globosus* 加熱菌血清は *D. globosus* および C 属の2菌種ならびに *S. rosei* の加熱菌と陽性凝集反応を示し, この吸収血清中には抗原 10, 24, 27 に対応する抗体の残存していることを示した. 逆に *D. globosus* の加熱菌で吸収した抗 *D. hansenii* 加熱菌血清は D 属の4菌種と C 属の5菌種と陽性凝集反応を示し, これは抗原 2, 4 に対応する抗体が残存しているためである.

次に実験 22—A, —B において *S. rosei* の加熱菌で吸収した抗 *D. globosus* 加熱菌血清は *D. globosus* および C 属の2菌種と陽性凝集反応を示したが, これは

吸収血清中に抗原 10, 27 に対応する抗体の残存しているためである. 逆に *D. globosus* の加熱菌で吸収した抗 *S. rosei* 加熱菌血清は *D. globosus* を除く D 属の4菌種と C 属の2菌種および *S. rosei* の加熱菌に陽性凝集反応を示したが, これは抗原 4 に対応する抗体が残存するためである. この結果から *D. globosus* は *S. rosei* の所有する抗原以外に更に新抗原 27 を所有していることが確認された.

実験Ⅳ 易熱性抗原については耐熱性抗原の場合と同じように a から h までの易熱性抗原に対応する8種の因子血清を作製し, D 属の非加熱菌と Slide 凝集反応を行つた (第4表). その結果 D 属5菌種においては既知の易熱性抗原を証明することはできなかつた. しかし実験 40, 41 において *D. globosus* の抗ホルマリン処理菌血清から同種の加熱菌で吸収した吸収血清は, *D. globosus* の生菌とだけ凝集反応が陽性であつた. この抗体に対応する抗原は *D. globosus* のみの有する抗原であつて, この新易熱性抗原を i と名づける. 以上の実験結果から各菌種の抗原構造を第5表に示した.

次にこれら抗原分析に使用した D 属各菌種の生物学的性状を検討した (第6表). 子嚢胞子の形成は D 属の3菌種に認められ, いずれの菌種も円形の胞子をつくり, 子嚢中の胞子の数は1個であつて, D 属特有の Wart は認められなかつた. 仮性菌糸については *D. kansenii*, *D. kloekerii*, *D. membranaefaciens* と *Pri.*

第3表 相互吸収試験

実験番号	抗 加 熱 菌 血 清	吸 收 菌 (加 熱 処 理)	抗 原											吸 收 後 残 存 す る 抗 体		
			D. han. D. kl. D. nic. D. mem. D. gl.	C. alb. C. pt. C. rob. C. kr. C. pk. C. glm. C. pel.	S. ros.											
11—A	D. hen.	D. kl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
—B	D. kl.	D. han.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
12—A	D. han.	D. nic.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
—B	D. nic.	D. han.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
13—A	D. han.	D. mem.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
—B	D. mem.	D. han.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
14—A	D. kl.	D. nic.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
—B	D. nic.	D. kl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
15—A	D. kl.	D. mem.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
—B	D. mem.	D. kl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
16—A	D. nic.	D. mem.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
—B	D. mem.	D. nic.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
17—A	D. han.	C. glm.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		(14)	
—B	C. glm.	D. han.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		(14)	
18—A	D. kl.	C. glm.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
—B	C. glm.	D. kl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		(14)	
19—A	D. nic.	C. glm.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
—B	C. glm.	D. nic.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
20—A	D. mem.	C. glm.	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	+	—	14	
—B	C. glm.	D. mem.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10, 24, 27 2, 4, (9), (14) 10, 27 4	
21—A	D. gl.	D. han.	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—	—		+
—B	D. han.	D. gl.	+	+	+	+	—	+	—	+	±	+	+	—		—
22—A	D. gl.	S. ros.	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	+	—		—
—B	S. ros.	D. gl.	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	+	—	+	
23	C. alb.	D. han.	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	(5), 6, 7	
24	C. alb.	D. kl.	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	(5), 6, 7	
25	C. alb.	D. nic.	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	(5), 6, 7	
26	C. alb.	D. mem.	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	(5), 6, 7	
27	C. alb.	D. gl.	+	+	+	+	—	+	—	+	±	+	+	—	2, 4, (5), 6, 7	

mitive の仮性菌糸が僅かに認められ、*D. nicotianae* および *D. globosus* には全く仮性菌糸の形成が認められなかった。5種の糖を用いる酵解試験と利用試験については、*D. hansenii* は4種の糖を分解し、その中ブドウ糖だけを分解してガスを作り、5種の糖をすべて利用した。*D. klockeri* は4種の糖を分解してもガスを作らず、乳糖を除く他の4種の糖を利用した。*D. nicotianae* と *D. membranaefaciens* は乳糖を除く他の4種の糖を分解して僅かながらガスを作り、*D. nicotianae*

は乳糖を除く他の4種の糖を利用し、*D. membranaefaciens* は5種の糖のすべてを利用した。*D. globosus* はブドウ糖と蔗糖を分解してガスを作り、またブドウ糖と蔗糖を利用した。この結果は酵解試験においてやや強い酵解能を示す菌種もあつたが、一応 Lodder の記載に一致したものと思われる。

考 案

Debaryomyces 属の特徴は糖酵解能の乏しいこと、

第4表 易熱性抗原の検索

実験 番号	抗 ホル マリン 処 理 菌 血 清	吸 収 菌 (加 熱 菌)	吸 収 菌 (非 加 熱 処 理)	因 子 血 清	抗 原					(非 加 熱 処 理)							
					D. han.	D. kl.	D. nic.	D. mem.	D. gl.	C. alb.	C. pt.	C. rob.	C. kr.	C. pk.	C. glm.	C. pel.	
28	C. pt.	C. pt.		a	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	
29	C. kr.	C. kr.		b	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
30	C. pk.	C. pk.		c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
31	C. pul.	C. pul.		d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	C. rob.	C. rob.		e	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
33	C. rk.	C. rk.		f	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	C. rug.	C. rug.		g	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	C. zey.	C. zey.		{C. pk. C. pt.	h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	D. han.	D. han.		i	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
37	D. kl.	D. kl.			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	D. nic.	D. nic.			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	D. mem.	D. mem.			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	D. gl.	D. gl.			-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
41	D. gl.	D. gl.			D. gl.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

註 C. rk.: C. reukaufii

子嚢胞子の表面に Wart を有することである。Guilliermond, Stelling-Dekker および Lodder and Kreger-van Rij 等はこの Wart が見出しにくいと述べている。著者も胞子を証明したものは *D. hansenii*, *D. kloecheri* および *D. globosus* であり, *D. nicotianae* と *D. membranaefaciens* の胞子は証明できず, また胞子を証明した菌種においても胞子の Wart をはつきり認めることは困難であつた。Lodder も Wart を有する胞子を D 属の特徴とすることにはむしろ批判的であり, これのみで他の属特に S 属との区別がつかないことを強調し, むしろ D 属の醗酵能が乏しいことをその特徴として挙げ, 強い醗酵能力のあるものは S 属に入れるべきであるとした。かくて *D. globosus* は胞子に Wart を認め難く, また蔗糖およびブドウ糖に対する醗酵作用も強いので, 本菌種を D 属からはずして S 属に含め, 蔗糖とブドウ糖の利用態度および1個の子嚢中に1個の胞子を形成する点などから, *S. rosei* の異名とするのが妥当であるとした。

D. hansenii は Zopf によつて綿の種から分離され, 次いで Konokotina によつてチーズから, また Guilliermond によつてソーセージから分離された。*D. kloecheri* は Peju によつてアンギーナ患者から, *D. nicotianae* は Giovanozzi によつて醗酵したタバコの葉から

分離された。Lodder の記載によれば *D. hansenii* と *D. nicotianae* は共に麦芽汁において菌膜を形成し, 前者は5種の糖を利用するが, 後者は乳糖を利用しない点が異り, また *D. kloecheri* は糖の利用態度が *D. nicotianae* と同一であるが, 菌膜を形成しない点が異つている。

このようにこれら3菌種の生物学的性状はかなり類似性があり, 菌膜形成の有無と乳糖に対する態度が僅かに異なるに過ぎない。Lodder もこの密接な類似性を認めており, 特に *D. hansenii* と *D. nicotianae* とは系統発生学的に同一のものであらうと考えている。また *D. membranaefaciens* は Saito によつて空気中から分離され, Lodder はこれを *D. hansenii* の異名とした。著者の実験 I ~ VI においてもこれら4菌種はいずれも抗原 1, 2, 3, 4, 9, 14 を所有し, 各菌種の抗原構造は全く同一であつた。たゞ *D. membranaefaciens* は抗原 9, 14 に対応する抗体を産生する能力を有しているが, 他の3菌種からは本抗体の産生を証明できなかった。

D. hansenii など4菌種の抗原構造を C 属の抗原との関連において見れば, これらがすべて群特異抗原 9 をもっていることによつて抗原的に *C. guilliermondii* と近縁の関係にある。*C. guilliermondii* との相異は抗原 14 の有無だけであり, D 属の菌種はこれを所有し,

第5表 標準株の抗原構造

群	菌 種 名	耐 熱 性 抗 原	易熱性 抗 原
I	<i>C. albicans</i>	1 2 3 4 5 6 7	
II	<i>C. pseudotropicalis</i>	1 8 (10)	a
III	<i>C. krusei</i>	1 2 5 (11)	b
IV	<i>C. parakrusei</i>	1 2 3 5 (13) (14) (15)	c
V	<i>C. guilliermondii</i>	1 2 3 4 9	
	<i>D. hansenii</i>	1 2 3 4 (9) (14)	
	<i>D. kloeckeri</i>	1 2 3 4 (9) (14)	
	<i>D. nicotianae</i>	1 2 3 4 (9) (14)	
	<i>D. membranaefaciens</i>	1 2 3 4 9 14	
VI	<i>C. pelliculosa</i>	1 2 14 15 16 20	
VII	<i>S. rosei</i>	1 3 4 24	i
	<i>D. globosus</i>	1 3 10 24 27	

第6表 標準株の生物学的性状

菌 種 名	子 囊 胞 子		假 性 菌 糸	酸 酵 作 用					同 化 作 用				
	胞子の形態	胞子の数		G	M	Ga	L	S	G	M	Ga	L	S
<i>D. hansenii</i>	円 形	1	P	AG	A	A	—	A	+	+	+	+	+
<i>D. kloeckeri</i>	円 形	1	P	A	A	A	—	A	+	+	+	—	+
<i>D. nicotianae</i>	形成せず		—	AG	AG	AG	—	AG	+	+	+	—	+
<i>D. membranaefaciens</i>	形成せず		P	AG	AG	AG	—	AG	+	+	+	+	+
<i>C. guilliermondii</i>	証明せず		+	AG	A	A	—	AG	+	+	+	—	+
<i>D. globosus</i>	円 形	1	—	AG	A	—	—	AG	+	—	—	—	+
<i>S. rosei</i>	形成せず		—	AG	—	—	—	AG	+	—	—	—	+

註 A: 酸 G: ブドウ糖
 AG: 酸及びガス M: 麦芽糖
 P: Primitive Ga: ガラクトーゼ
 +: 利用する L: 乳糖
 —: 糖分解又は利用せず S: 蔗糖

C. guilliermondii は所有しない。しかも *D. membranaefaciens* を除く他の3種即ち *D. hansenii*, *D. kloeckeri*, *D. nicotianae* の抗原14に対応する抗体産生能は証明できないし、また生物学的性状においても、*C. guilliermondii* と D 属の4菌種との間には假性菌糸の形成、糖の分解、利用などの点で、その強弱の差はあるにしても、乳糖の同化作用の有無を除き判然とした相異は見出されない。さらにアルブチン分解、エタノール利用の点にいたるまで *C. guilliermondii* と D 属の4菌種は同一である。従つて D 属の4菌種と *C. guilliermondii*

とは生物学的にも抗原的にも極めて近縁の関係にあるから1つの群として分類すべきである。また D 属4種間においても *D. membranaefaciens* が *D. hansenii* の異名であることは当然であるが、さらに他の2菌種もそれらの僅かな相異によつて独立した種とすべきでなく、これら4菌種は単一の種であると思ふのが妥当である。何故ならば1種の糖の分解、利用態度の変異など進化の過程において当然起りうることであり、またそのような時でもより安定な抗原的性状だけは同一のまゝ保持されることが多いからである。

D. globosus は Lodder によつて *S* 属に編入され、*S. rosei* の異名として分類されている。著者の抗原分析においても *D. globosus* は明らかに他の4菌種と異り、何ら近縁関係は認められなかつた。しかし又 Lodder の如く、これを *S. rosei* の異名とすることも認めることができない。すなわち両菌種の生物学的性状は完全に一致したが、抗原分析においては、実験 I ~ VI の結果から抗原構造の一致は認められなかつた。第3表の相互吸収試験において抗 *D. globosus* 加熱菌血清から *S. rosei* の加熱菌の吸収すると、この吸収血清中には、抗原 10 および 27 に対応する抗体が存在し、その逆の吸収試験においては抗原 4 に対応する抗体の残存することが証明された。この実験 22-B によつて *D. globosus* は抗原 4 を所有しないこととなる。さらに実験 27 において抗 *C. albicans* 加熱菌血清から *D. globosus* の加熱菌で吸収した吸収血清は抗原 2 を有する菌種とは陽性凝集反応を示したが、これをもたない菌種とは陰性であつた。さらに実験 I において *D. globosus* が抗原 2 および 4 に対応する吸収血清と陽性反応を示したのは、この吸収血清がそれぞれ抗原 3 又は 10 に対応する抗体を有するためであつて、実験 21 および 27 の結果から *D. globosus* は抗原 2 および 4 が欠如しているものとする。それ故 *D. globosus* の抗原構造は 1, 3, 10, 24, 27 であり、*S. rosei* のそれは 1, 3, 4, 24 であつて、結局 *D. globosus* は *S. rosei* より上位の抗原 27 を有し、両菌種は抗原的にある程度の近縁関係にあるけれども、なお相当の差異の存することが認められた。従つて *D. globosus* は *S* 属の独立した種とするのが妥当である。

Mrak and Phaff¹⁶⁾ は *D* 属は塩類に対して抵抗性が強く、20%前後の食塩含有培地でも繁殖し、又塩漬けからも多数分離されると述べている。その他チーズ、ソーセージ、ハム等の肉製品からもしばしば分離されるから、人の消化器系にも寄生する酵母であることは疑いない。消化器系の検査材料から *Candida* を検索する場合には、*D* 属の菌種が *C. guilliermondii* と近縁であることに注意することが必要であらう。また近い将来このようなまぎらわしさを伴わない、抗原構造に基いた合理的な分類が示され、かくて医真菌学の大きな進歩が招来されることを望むものである。

結 論

D 属の5菌種を因子血清と吸収血清を用いる Slide

凝集反応によつて抗原分析を行い、各菌種の抗原構造を示した。

1) *D. hansenii*, *D. klockeri*, *D. nicotianae*, *D. membranaefaciens* の4菌種は共に耐熱性抗原 1, 2, 3, 4, 9, 14 を有し、易熱性抗原をもつていなかった。なおこれら4菌種は抗原的には全く同一であり、また何れも *C. guilliermondii* と抗原的に近似の関係にある。

2) *D. globosus* は耐熱性抗原 1, 3, 10, 24, 27 を有し、また易熱性抗原 i を有し、その抗原構造からも *D* 属に所属させることは妥当でない。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師土屋教授に対し深甚の謝意を表すると共に、一方ならぬ御援助をいただいた深沢講師並びに川北助手に深謝致します。

文 献

- 1) Diddens, A., and Lodder, J.: Mycopathologia **2**, 36, (1939).
- 2) Ciferri, R., and Baldacci, E.: Mycopathologia **2**, 322, (1939).
- 3) Lodder, J., and Kreger-van Rij, N.J.W.: The Yeasts, A Taxonomic Study (1952).
- 4) Benham, R.W.: J. Infect. Dis. **49**, 185~215, (1931).
- 5) Martin, D.S., and Jones, C.P.: J. Bact. **39**, 609~630, (1940).
- 6) Lamb, J.H., and Lamb, M.L.: J. Infect. Dis. **56**, 8~20, (1935).
- 7) Martin, D.S.: Amer. J. Trop. Med. **22**, 295~303, (1942).
- 8) Stone, K., and Garrod, L.P.: J. Path. Bact. **34**, 429~436, (1931).
- 9) 土屋, 岩原, 宮崎, 深沢: 日本細菌学雑誌, **9**, 449, (1954).
- 10) 深沢義村: 日本細菌学雑誌, **11**, 245, (1956).
- 11) 川北祐幸: 日本細菌学雑誌, **12**, 321, (1957).
- 12) 林栄: 日本細菌学雑誌, **12**, 321, (1957).
- 13) 佐藤一郎: 日本細菌学雑誌, **12**, 949, (1957).
- 14) 雨宮定夫: 日本細菌学雑誌, **13**, 905, (1958).
- 15) 西川幸雄: 順天堂医学雑誌投稿中。
- 16) Mrak, E.M., and Phaff, H.J.: Ann. Rev. Microbiol. **2**, 29~30, (1948).

Summary

There are serological cross reactions among many species of the genera *Candida* and *Debaryomyces*. Five species of the genus *Debaryomyces* were obtained for antigen analyses. The experiments were carried out through the slide agglutination method using monospecific or absorbed antisera homologous to the antigens of the genus *Candida*. Then, antiserum of a species was absorbed repeatedly with heated cells of several species of the genus *Candida* in order to find a new antigen, until the absorbed antiserum was exhausted. Antigenic structures of the species were confirmed by the reciprocal absorption. The new thermostable antigen 27 and the thermolabile antigen i were found in *D. globosus*. Antigenic structures of the five species were shown as follows: *D. hansenii*, *D. kloockeri*, *D. nicotianae* and *D. membranaefaciens* have the thermostable antigens 1, 2, 3, 4, 9 and 14, and no thermolabile antigen. *D. globosus* has the thermostable antigens 1, 3, 10, 24 and 27, and the thermolabile antigen i.

Department of Bacteriology, Juntendo University, School of Medicine.