

教育シンポジウム 2

皮膚糸状菌症の臨床と菌学

—皮膚糸状菌同定の第一歩—

西本 勝太郎

日本海員救済会会長崎病院

I. はじめに

皮膚糸状菌（以下白癬菌）は、角層内における寄生形態の単純さに比べ、培養では形態的に大きな差異を示す一群の真菌からなっており、他の比較的に肉眼的形態の似通った菌、たとえばアスペルギルス属や、生物学的性状に依存することの多い酵母の同定とは、異なるとらえ方が要求される。また一方では原因菌の分離と同定を行う前に、その病変の性状から推定される原因菌種に的を絞って、検索を進めることができるという特徴も持っている。つまり難しさと楽しさが同居しているのである。

皮膚真菌症の菌学的な検索の第一の目的は、その病変の原因となった真菌を分離・確認し、同定することにある。

皮膚糸状菌症（以下、病名としての白癬を用いる）において、原因菌の種までの同定が求められるのは、1) 珍しい症例の検索時、2) 疫学的調査、3) 難治例あるいは爪真菌症などで、原因菌の薬剤に対する感受性が必要とされる場合、4) 感染源の検索、などがある。すなわち培養と同定のレベルはこの目的に合うものでなければならない。最近では分子生物学的な手技の導入によって、従来の種（species）までの同定に加えて、遺伝子型による種以下のレベルの検索まで可能となった。

同定の第一歩は、純培養の真菌をえることから始まる。臨床的な病型の特徴や、あるいは露出部の炎症性白癬などから推定される感染源によって目的とする菌種を絞り込み、場合によっては分離用の培地を選ぶことも考える。生えてきた菌の中から形態的な特徴にもとづいてコロニーを拾い上げ、純培養とする。

真菌の「分類学」と「同定法」は別物である。同定とは、分類とは無関係にその真菌の特徴を捉えることとも云える。皮膚糸状菌についてもこれは当てはまる。近年分子生物学的な手技が急速に取り入れられ、菌種の同定に際してもその有用性が確認されたとはいえ、肉眼的・顕微鏡的形態の特徴をキイとした菌種の同定はまだ基本的な手技として残る。皮膚糸状菌の特徴として、コロニーの形態が綿毛状から湿潤性に近いものまで幅広く、また顕微鏡形態についても、大分生子、小分生子など菌種の特徴となる器官の産生能が、菌種によって極端に異なることがあげられる。また *Trichophyton rubrum* などは

菌種内の変異が大きい。

本セミナーにおいては、以下に述べるカセイカリ鏡検所見や培地・培養法の実際、皮膚糸状菌のいくつかの菌種について成書に記載されているその形態的な特徴を他菌種との比較においてまとめ、同定法のポイントとして供覧する。個々の手技や培地の詳細については成書を参照されたい。

II. 臨床症状と苛性カリ標本所見

白癬の診断は、一般に臨床症状と、それを裏付けるカセイカリ鏡検所見によってなされる。もし治療だけを目的とした場合、白癬の診断はカセイカリ鏡検までで十分であり、培養による原因真菌の確認は必ずしも要しない。カセイカリ鏡検の有用性はこれのみでなく、その寄生形態によって目的とする菌種を絞ることができ、寄生形態と、培養によってえられた皮膚糸状菌種との間に矛盾がないことも正確な同定のために必要である。たとえば皮膚糸状菌については、

- a) 菌体が黒色真菌症におけるように、淡褐色などに着色されることはない
- b) カンジダ症に見られるように、出芽型の孢子産生、すなわち酵母型を取ることはない。また癬風に見られる meat ball and spaghetti 型となることもない
- c) 非白癬性爪真菌症においてときに見られる巾の極端に広い、不規則な外壁を持つ菌糸を作ることもないなどがあげられる。

III. カセイカリ標本・培養のための試料の採取

菌学的に正しい検索結果を得るためには、まず適切な病変部位から試料を採取することが求められる。

- a) 頭部白癬：毛髪が取ればもつとも良い。病毛はピンセットなどで容易に抜ける。逆に抜けにくい毛は真菌感染の可能性が低い。毛髪が取れないときには鱗屑ということになるが、もし鱗屑や鱗屑痂の中に毛髪が含まれていれば、そのカセイカリ標本における寄生形態は重要な情報となる。
- b) 体部白癬・股部白癬：病巣の周辺部の鱗屑あるいは小水疱の疱膜。ピンセットあるいは鈍い刃のメスで鱗屑をこそぎ取る。
- c) 足白癬：よく間違われるが、湿った皮膚表面部には白癬菌要素はむしろ少ない。この場合も病巣周辺の鱗屑

をピンセットなどではがし取る。角化型足白癬など厚く硬い角層は爪切りを使うこともある。

d) 爪白癬：混濁した爪甲すべてが対象となるが、先端部(遊離端)は菌が枯死していることが多く、また汚染菌の混入も多い。培養の場合、なるべく基部(爪母寄り)の病変部、あるいは正常な部位との境界近くをとる。

e) 感染源検索のためのペットや被髪頭部からの真菌の分離には、滅菌したプラスチックのヘアブラシで被検部位を10回ほど強めに摩擦し、そのままペトリ皿の培地表面におしつける。

IV. 臨床症状からの原因菌種の絞り込み

わが国の皮膚糸状菌相は比較的単調である。生えてきたコロニーの中から原因菌種と思われるものを見分ける以前に、病型によってあらかじめ分離されることが期待される菌種を絞り込むことができる。

表1に、どのような菌が、どのような白癬の原因菌となるのかを病型別にまとめた。菌種数としては10種以下であり、このようにごく少数の菌について知ることによって、原因菌種の分離と同定が容易になることが理解できる。

V. 培地の選び方

原因菌の分離のための培地と、同定用の培地に大別される。後者は分生子(無性的に産生される孢子)や色素産生など、菌種の特徴を確認することを目的としている。

a) 分離用培地：抗生物質(cycloheximideとchloramphenicol)添加サブロー・デキストロース寒天培地(Sabouraud dextrose agar)がもっとも広く用いられており、牛からの感染が疑われる *Trichophyton verrucosum* による病変が疑われるとき(サイアミンとイノシトールを添加した培地が必要)以外はこれで十分である。ペトリ皿による平板、あるいは試験管での斜面培地として用

いる。いずれも市販品がある。平板培地は接種面積が広く、多くの試料を処理できるが、開口部が広いと乾燥も早く、また汚染の危険が高くなる。スクリーキャップの試験管培地では、栓が密封されないように注意が必要である。白癬菌を対象とした選択培地も市販されているが、これはあくまで便宜的なものと考えべきである。

b) 同定用培地：コーンミール・デキストロース寒天培地が広く用いられる。

VI. 病原菌の選択・分離・純粋培養

病変部から採取した試料は通常一部をカセイカリ鏡検へ、他を培養に回す。試料はなるべく培地表面に埋め込むように接種する。室温で培養、1週間目位から菌の発育が見られる。皮膚はつねに外界に曝されているため、そこからえられた試料の培養に際しては、偶然そこに付着していた細菌や真菌も同時に生育してくる。これらの中から病原となった菌種を選び、確認することになるが、これには経験も必要であり、単純に機械的には判定できない。通常、培地表面上でもっともコロニー数が多いもの(分離培地の表面上に生育したコロニーの数が少ないとき)となるが必ずしもそうでない場合もある。まず白癬菌の性状に合わないコロニーを除外し、その上で残ったコロニーの中から、経験にもとづいて白癬菌に一致する菌株を拾い上げ、新しい培地に移して培養する。

VII. 皮膚糸状菌コロニー形態の観察と同定

純培養となった菌株は、試験管のまま、あるいは平板培地で巨大培養として肉眼的な所見を確認し、さらにスライド培養をおこなって顕微鏡の形態を観察する。ときにはコーンミール培地による色素産生、ビタミン添加による発育促進、毛髪穿孔試験なども参考することもある。以下に個々の菌種について、同定に際してのポイントを上げる。

表1 わが国における病型別のおもな原因菌種

頭部白癬	<i>Trichophyton tonsurans</i> (endothrix), <i>Microsporum canis</i> (microsporia) <i>T. violaceum</i> (endothrix), <i>T. verrucosum</i> (ectothrix) ()内は毛髪における菌寄生形態
体部白癬	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>T. tonsurans</i> , <i>M. canis</i>
股部白癬	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i>
足白癬	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>E. floccosum</i>
爪白癬	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i>

表2 形態による白癬菌の特徴

菌学的性状	白癬菌には見られない性状
発育速度	極端に速い伸長
コロニー表面の色調	緑, 青, 黒
コロニーの性状	クリーム状, 泥状, (酵母様)
顕微鏡所見	極端に幅広い, あるいは不規則な菌糸, 褐色の菌糸 出芽, annelide, phyalide などの存在, 着色した分生子

1) *Trichophyton rubrum* (Castellani) Sabouraud 1911

わが国の白癬病原菌として最も重要な菌種。分離頻度は最も高く、すべての白癬病型を作る。形態的に変異の多い菌である。コロニーの発育はやや遅く、平坦か中央部がわずかに盛りあがることが多い。ときに複雑なしわをつくる。表面は粉末状-ビロード状-綿毛状で多くは白色であるがときに赤-紫の色調を持つ。裏面は赤色となることが多いがときに色素産生の乏しい株もあり、コーンミール・デキストロース培地、ポテトデキストロース培地での色素産生を確認する。顕微鏡的な観察では *T. rubrum* は孢子（分生子）産生の乏しい菌が多い。小分生子はゴマ状で、菌糸の側壁に列ぶ。大分生子は小型で腸詰状ないし棍棒状。

2) *Trichophyton mentagrophytes* (Robin) Blanchard 1896

ヒトの足白癬から分離されることが多いのは *Trichophyton interdigitales* と呼ばれる、発育が速く平坦な黄白色円板状のコロニーを作るグループである。一方小動物をおもな宿主とし、ヒトでは炎症性の体部白癬の原因菌となるのは狭義の *T. mentagrophytes*, *T. granulosum-asteroides* と呼ばれる菌で、表面は顆粒状に近く、辺縁は鋸歯状となる。顕微鏡的にはいずれも球状から洋なし型の小分生子、棍棒状の大分生子、螺旋状の菌糸などを共通とする。適当な条件下での交配で有性世代が見いだされることもあり、これらは子囊菌の *Arthroderma benhamiae* または *A. vanbreuseghemii* に分類される。

3) *Trichophyton tonsurans* Malmsten 1845

格闘競技者間における流行が話題となっているが、今後はその周辺への拡大も懸念される。変異の多い菌とされているが、現在わが国で分離されるのは発育の比較的速い平坦なコロニーを作る、表面の色調が茶褐色か淡褐黄色の菌である。表面はビロード状から短毛、後に中央部にシワや凹凸を作ることもある。

ビタミンB1添加で発育が促進される。顕微鏡的には細長い小分生子が特徴であり、マッチ棒状と形容される小分生子の基部の短い菌糸がラクトフェノール青に染まらずに残ることもある。ときに大分生子や螺旋状の菌糸をつくる。

4) *Trichophyton violaceum* Sabouraud apud Bodin 1910

および *Trichophyton glabrum* Sabouraud 1910

両菌種はコロニーの色調の相違で区別するが、同一種とされることが多い。かつてのわが国における頭部白癬の代表的な原因菌種であり、今でもときに分離される。発育は遅く、蠟様からごく短い菌糸を持つもりあがったコロニーを作る。*Trichophyton violaceum* は赤紫色、*T. glabrum* 帯褐黄白色。顕微鏡的には不規則に曲がりなが

らのびる菌糸と大型の介在性孢子がみられる。

5) *Trichophyton verrucosum* Bodin 1902

本来は牛の白癬菌。この菌によるヒトの白癬は牛からの感染による。病変部からの分離に際しては、サイアミンとイノシトール添加サブロー培地を用いなければならない。発育の遅い、淡灰黄白色、しわの多いコロニーを作る。顕微鏡的には大型の孢子の連鎖が特徴的である。

6) *Microsporum canis* Bodin 1902

発育は速く、淡黄色の平坦なコロニー。顕微鏡的には8-10個の細胞からなる大分生子をつくる。大分生子の表面には微細な棘状の突起が多数見られる。

7) *Microsporum gypsum* (Bodin) Guiart et Grigorakis 1928

発育は速く、平坦な荒い粉末状、淡黄から淡褐黄白色のコロニーを作る。顕微鏡的には、6-7個の細胞からなる大分生子が特徴である。大分生子の表面には棘状の小突起を持つ。

8) *Epidermophyton floccosum* (Harz) Langeron et Milochevitch 1930

発育は中程度。淡黄色、短毛の平板あるいは不規則にもりあがったコロニーとなる。白色綿毛状の変異を生じやすい。顕微鏡的には5-6細胞性の大分生子が豊富に見られる。小分生子を作らない。

VIII. 同定を始める前に

真菌の同定とは、既知の菌種の中から、分離された菌に相当する菌種を選び出す作業でもある。皮膚糸状菌のように、形態に基礎をおいた判断が求められることの多い分野では、経験がものをいうことがしばしばである。あらかじめ実際の菌種を見ておくことで、一挙に解決できる部分が多い。

今回の講習においては、基本的な手技の解説と、できるだけ標本等の準備をしたがやはり限度がある。実際に同定を始めようという場合、いくつかの施設で開催されるセミナーのような機会を利用して、まず実際に菌を見ることが早道である。同時に病変からの真菌の分離に関する基本的な手技を身につけることもできる。

次にまず実際に経験する症例について、カセイカリ鏡検と培養を並行して行ってみることである。えられた菌株についての病原性の判断など、迷う場合がしばしば出て来るであろう。それらについての疑問を一つ一つ解決していくことで経験を積むことになる。このような場合に対応する施設の数に限られているのが現状であるが、その様な場合の菌株の保存や送り方などについても触れる。