

## 8 肺 *ASPERGILLUS* 症の真菌学的培養法と 血清学的診断法について

北海道立衛生研究所 高橋幸治

### 緒 論

内科的真菌症の増加は、美甘<sup>1)</sup>の統計的観察に述べられているごとく、ペニシリンを始めとする一連の抗生物質の普及を除いては論じられず、その反面これらが果した近代医学における各感染症の治療の分野に貢献した輝やかしい成果も見落すことはできない。

また最近は、食品等の品質保持のため、益々抗生素の使用範囲も拡大し、さらに抗癌剤、皮質ステロイド等の真菌症との役割も考慮するとき<sup>2)</sup>、これらの薬剤の使用頻度とともに深部真菌症の増加と発生傾向に、さらに多くの複雑性がうかがえる。

このようなことから、内科的真菌症はその決定的診断に多くの困難な点があり、それらの意味を KLIGMAN<sup>3)</sup>は、内科的真菌症そのものにも確実なものとは思われない症例が混在することを説いている。このことは、臨床診断に際して多くの制約と困難が伴うことを意味しており、症例の増加とともに臨床、基礎の両面における研究によって、かなりの改善が見られたが、いまだ基礎診断において不備な内科的真菌症が多く、ときには明確さを欠いたため本症確定にしばしば躊躇することが多い。著者は、これら増大する内科的真菌症の中で、代表的増加を認められるひとつにアスペルギルス症があり、その90%を占める肺アスペルギルス症について、感染症としての起因菌の分離培養と、感染に伴う血清抗体の検出により、直接、間接の両立する診断法を検討し、2、3の実験を行ない。これを著者において経験した肺アスペルギルス症に応用して、その診断における有意の成績を得たので諸賢の批判を得たくここに報告する。

表 I 診断根拠と病型

福島（横浜市大医）より

診断	病型	気支 管型	肺 型	気・ 管肺 支型	菌 球型	胸 膜型	混 合型	播 種 型	肺 外 型	総 計 (%)
菌 培 養	7	9	0	14	16	1	1	0	48(19%)	
菌 塊	4	4	0	4	4	1	0	0	17( 7%)	
菌 球	0	1	0	39	1	2	0	0	43(18%)	
手 術	3	22	0	3	11	0	0	0	39(16%)	
剖 検	0	51	4	1	1	1	24	13	95(38%)	
気管支鏡	5	0	0	0	0	0	0	0	5( 2%)	
計	19	87	4	61	33	5	25	13	247	

### I. *ASPERGILLUS* の分離培養法

表 I は、第16回日本医学総会において福島<sup>4)</sup>の纏めたものであるが、症例数に比べて起因菌の検出例が少なく、(19%) 従来肺 *Aspergillus* 症において最も多くの規制を受け、困難を伴うのが起因菌の分離培養である。

肺 *Aspergillus* 症も、他の感染症と同じく起因菌の確認が本症診断の最短距離であるとするならば、起因菌の分離未完やこれの不能に陥った場合は、その診断は最も躊躇される。

著者らは、本症を疑う患者、および確定された肺 *Aspergillus* 症患者についての起因菌分離培養における種々の制約について観察と実験を試みた。

#### 1) 組織内における *ASPERGILLUS*

*Aspergillus* は本来好気的発育のものであるが、肺組織内における増殖像は必ずしも真の好気性条件を保った場合は少なく、図 I-1～I-2のごとく、中心壞死巣および周辺死生層の状態では、酸素の供給量はきわめて悪く、閉鎖部分に発育する図 II のごとき条件では、恐らく嫌気の状態であろうと思われる。さらにこれらは、周局炎層から死生層に変わる過程を繰返しながら病巣を発展することから考察して、*Aspergillus* は嫌気性の状態においても発育し得ることを示しており、*Aspergillus* の培養時において、気中菌糸に劣らず培地中に伸びる栄養菌糸の旺盛であることは良く知られている。また、著者において、腸管回盲部に寄生した嫌気性 *Aspergillus* 例を経験した<sup>5)</sup>。

なお、これらの組織標本像に現われた起因菌の発育能力について、肺切除部分から起因菌を培養したのが表 II である。沢崎<sup>6)</sup>、奥平<sup>7)</sup>、小坂<sup>8)</sup>、三宅<sup>9)</sup>らは詳細な組織変性

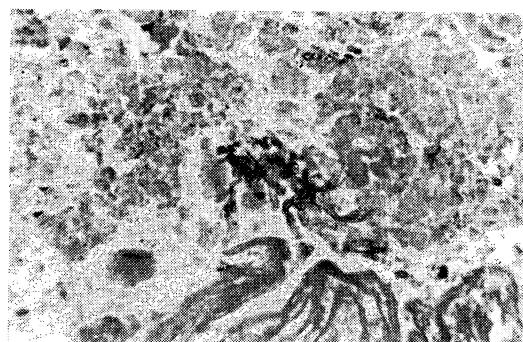


図 I-1 死生層および壞死巣内の菌糸

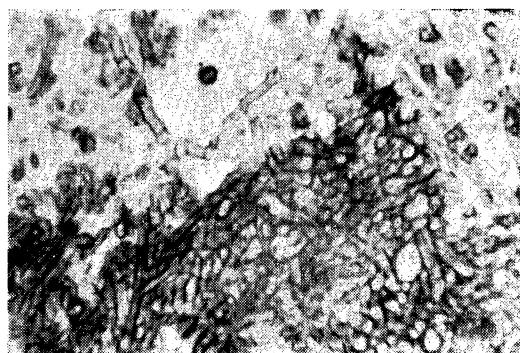


図 I-2 壊死巣内の多形態状菌糸

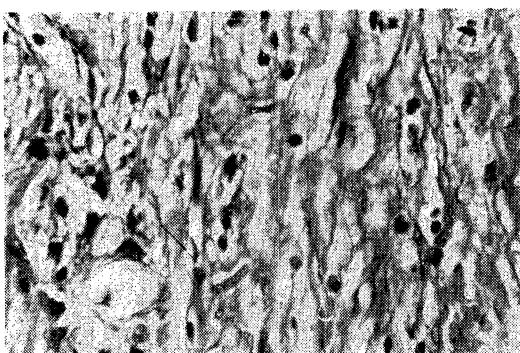


図 II 乾酪性～壊死状組織内の菌糸

と、*Aspergillus* 像について述べているが、著者らの目的としたのは組織内に見られる菌糸像が、喀痰となって排泄される可能性の有無と、その菌糸が増殖し得る能力を有するか否かの点であって、表IIに見ることく組織内の *Aspergillus* は、比較的新しい侵襲部分である周局炎層は培養陽性率が高く、中空状の輪状を示す死生層および壊死巣部分では、培養成績は低下するか、培養陽性であっても生菌数は少なくなり、かつ図IIIのごとく白色菌苔の集落が多くなる傾向を認め、典型的集落は形成し難くなつた。

なお、肺組織内における *Aspergillus* は、沢崎<sup>1)</sup>、奥平<sup>2)</sup>によると、1)、肺野の壊死、2)、気管支狭窄、潰瘍、

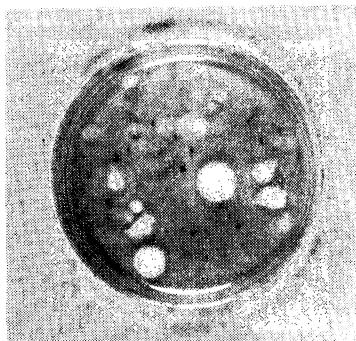


図 III 死生層および壊死部分の組織より分離された無色および白色集落

表 II

患者 標本	組織像	組織の磨細培養					
		浮游培養			混合寒天培養		
		5日	10日	15日	5日	10日	15日
幌	周局 細少気管支～肺胞	+	+	+	-	+10	+12
	炎層 乾酪性	+	+	+	-	+8	+8
西	死生 乾酪性	-	+	+	-	+6	+6
	囊胞	+	+	+	+2	+4	+8
II	死生層～乾酪性～死生層	-	-	±	-	+4	+4
	囊死 死生層～菌球	-	-	+	-	+2	+4
幌	巢部 壊死～菌球	-	-	+	-	+2	+4
	周局 肺胞	+	+	+	+3	+11	+15
西	炎層 肺胞～乾酪性	-	+	+	+2	+5	+10
	死生 層	囊胞	-	-	+	+1	+3
III	死生層～乾酪性～死生層	-	-	+	+1	+1	+1
	死生層～壊死巣部	-	-	-	-	-	+2
佐	周局 細少気管支～肺胞	-	+	+	-	+3	+6
	炎層 乾酪性～肺胞	-	+	+	-	+4	+6
I	壊死 乾酪性～死生層	-	-	±	-	-	+2
	巣部 壊死巣部	-	-	-	-	-	+1
佐	周局 肺胞	+	+	+	+5	+6	+8
	炎層 乾酪性～肺胞	-	+	+	+3	+3	+4
II	死生層～	-	-	±	-	+2	+4
医	死生 乾酪性～死生層	-	-	+	-	-	+5
	II 層 壊死層～菌球	-	-	+	-	+1	+2

数字は発育集落数を示す。

3)、血管の肥厚狭窄の段階を経て、気管支拡張性になるか、また肺切除後に気管支瘻を形成し、気管支の開口部におよぶごとく仮説しているが、著者らの経験した肺 *Aspergillus* 症の肺切除像は、図IV、図Vおよび図VI（解説図）のごとく、ほとんどがこれと同様の傾向を示していた。なお、培養陽性率の低下を示す組織像であっても、*Aspergillus* の性質上、気管支に近い処か、新たな肺胞部分を求める増殖像も必ず見られ、完全に菌の排泄路を失つたと思われるような肺切除像は見られず、組織標本においてもこれを裏付けているごく思われる。

#### 2)、気管支および喀痰中ににおける *ASPERGILLUS*

肺真菌症の形成は、その起因菌の種属によって多少異なるが、1)、細少気管支炎、2)、肺胞炎、3)、乾酪性肺炎、4)、囊胞形成、5)、壊死層の潰瘍か、菌球（Fungus Ball）形成に至るものとされている。しかし、生体内における



図 IV 空洞内に形成された菌球 (Fungus ball)



図 V 菌球 (Fungus ball) よび菌巣部が多く見られる

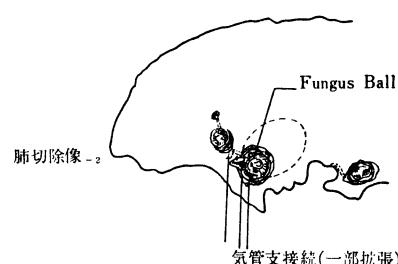
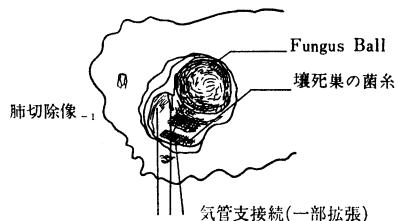


図 IV 肺切除像 解説図

*Aspergillus* は好適な条件下に生棲しているとは考えられず、このことは組織標本の観察から見た *Aspergillus* の菌糸像が、酵母型、仮性菌糸型および真正菌糸型などがある、さらにその間に、互に形態学的な移行性があるという非常に多形態性に富む<sup>10)</sup>ところからも推察される。

このほか、喀痰とともにこれらの菌糸および胞子が排泄する間に受ける影響として、免疫効果、液性抵抗等が考えられるが、これらのうち白血球の喰菌作用について、近松<sup>11)</sup>が、各疾患の *Aspergillus* 胞子の喰菌作用の低下を認めている。これらのほかにも種々の条件を経て排泄されるであろう *Aspergillus* の胞子および菌糸片が、どのような条件の喀痰、あるいは処置において発育を認めるか否

なかを実験したのが表IIIである。

糊状粘稠性、唾液状、食物残渣の混入する喀痰の中でもまた各温度においても、15日間（約2週間）くらくでは大きな変化は認められず、また従来 *Aspergillus* に対する各種抗生素の影響について論じられていたが、Stseptomycin 1,000  $\gamma$  と、Penicillin 10万単位の混合液中では全く何等の障害も認められず発育を示した。この実験により、喀痰とともに排泄される *Aspergillus* は、集落形態のいかにかかわらず発育能力は失っていないことを知った。

表 III

肺 Asp. 患者	喀痰 の状態	保 存 温 度 と	作 用 薬 剤	保存期間と発育集落数 混合稀釀培養法による				
				3日	5日	10日	15日	平均 集落数
佐 ○ ○	糊状粘 性	4 °C		7	6	8	6	6.75
		15 °C		8	8	6	7	7.25
		25 °C		7	5	6	6	6.00
塗染 抹色 (+)	唾液状	4 °C	St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u	11	9	12	10	10.50
		St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u		12	11	10	11	11.00
		25 °C	St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u	5	5	3	4	4.25
山 ○ (+)	食混 物入 残糊 渣状	St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u		4	5	5	3	4.25
		15 °C		16	16	15	16	15.75
		25 °C	St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u	18	15	16	16	16.25
信 ○ (+)	塗染 抹色 (+)	St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u		15	16	15	15	15.25
		15 °C	St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u	19	17	20	17	18.25
		St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u		18	18	19	17	18.25
藤 ○ (+)	糊状粘 性	15 °C		5	5	4	5	4.75
		25 °C	St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u	4	5	5	5	4.75
		St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u		6	4	3	4	4.25
藤 ○ (+)	食混 物入 残糊 渣液	15 °C		6	6	5	4	5.25
		St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u		5	5	6	5	5.25
		St. 1,000 $\gamma$ Pe. 10万 u		21	22	22	23	22.00

数字は発育集落数を示す。

### 3) 初代分離菌の集落変異

著者らは、回盲部より分離した *Aspergillus* が一時的に嫌気性分離培養の必要があったことを経験しており、通気性の肺野に増殖する *Aspergillus* も、発育の段階において必ずしも組織内では好気的でないことは、前の組織像および肺切除像において知ったが、肺 *Aspergillus* 症に

おいては、初代分離菌が図VII、図VIIIに示すとく無色あるいは、白色様の集落を形成するものが多い。

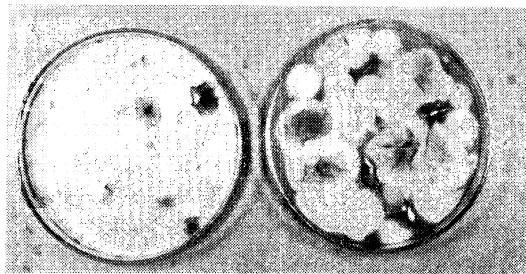


図 VII-1 咳疾初代分離の白色変異集落  
37°C 5日（稀釀混合培養）

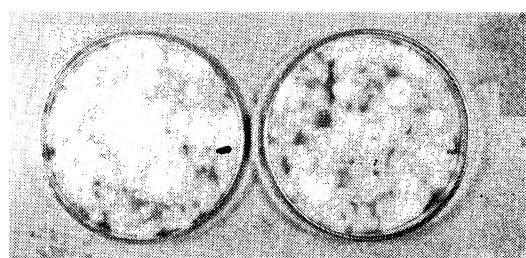


図 VII-2 咳疾初代分離の白色変異集落  
37°C 4日（稀釀混合培養）

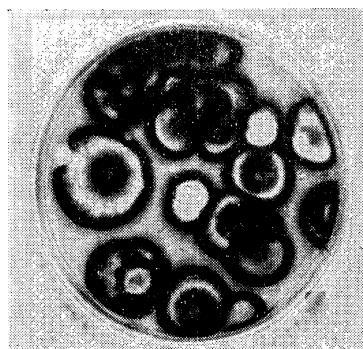


図 VIII 咳疾初代分離の白色変異集落  
37°C（稀釀混合培養）

表 IV

試験別	結果	A. fumigatus の白色集落形成日数 +は白色集落の形成	5日間培養	
			塗抹	混合培養
菌糸と分生子 培地重層		20日 25日 土 +	冷 藏 庫	+
菌糸のみ 培地重層		7日 10日 15日 土 + +	2週 間	- +
菌糸と分生子 液体嫌気培養		20日 25日 土 +	放 置	+ +
菌糸のみ 液体嫌気培養		7日 10日 15日 土 土 +		- +

これについて、肺野に近い条件と、発育停止の条件により、人工的に白色集落を形成し得たが、表IVのごとく次の世代の培養方法によっては、全く発育を認めないものができた。

なお、この白色集落現象は、真菌特有の生殖器官を欠いた増殖像で、同種内、菌学的発育変異に相当するものと思われる。

#### 4) 咳痰の培養方法による発育差異と改良培養法

福島<sup>4)</sup>の纏めた表Iでは、肺 Aspergillus 症 247例中起因菌の培養陽性は48例で、19%，比較的培養陽性率の高い側見<sup>12)</sup>らの8例中3例、37%，このほか螺良<sup>13)</sup>、沢崎<sup>14)</sup>大和<sup>15)</sup>らにおいても、咳痰培養の陽性率に比べて、大部分が肺切除による剖検か、レ線による菌球によって診断した例が多い。

これらは、他の細菌および真菌症に比べて非常に低率でこのような場合診断そのものよりも、起因菌の培養そのものが容易でないことを示唆している。

著者らは、1), 2), 3), の観察と実験から肺 Aspergillus 症にも必ず気管支を通じて起因菌の排泄があることを確信し、排泄した起因菌は、その大部分が増殖能力を失ってはいないことを確認したので、その培養方法について検討を試みた。

すなわち、従来の培養方法方法は、抗生素の添加、非添加にかかわらず、平板分離培地に白金耳で咳痰の一部を探り、これを塗抹して培養するという、細菌学における培養方法がそのまま取り入れられている。

このような培養方法では、糊状粘稠性を呈する咳痰等を直接白金耳で平板培地に塗抹し、37°Cで培養を行なうと、4～5日目付近までは培地表面に水分を認めるが、6～7日を越すころより表面部が乾燥し、8日から10日目に至ると、白金耳で咳痰を塗抹した部分が固着し図IXのごとく、大量に咳痰を塗った部分では、咳痰が凝固乾燥状になるのが認められ、Aspergillus の発育すべき好条件とは見られなかった。

肺 Aspergillus 症における起因菌の培養は、早いものでは24～48時間、遅いものでは10日間以上を要しており、

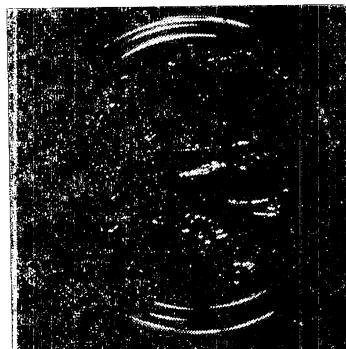


図 IX 糊状粘稠の咳痰の塗抹培養  
に見られる咳痰の乾燥固着

このような場合、3) の実験において形成されたごとき条件の *Aspergillus* では、全く発育を認めずに終ることが多いものと思われる。

これらの培養法は、比較的発育日数の短い、生育の順調な細菌類では支障は認められないが、長期間の培養を必要とする真菌類、特に肺 *Aspergillus* 症の起因菌のような場合では適当とは思われない。また、内科的菌糸形真菌症の増加している現在では、一時的に生殖器官の形成を欠く真菌が、初代培養において多くなるものと考えられるのでこのような目的の真菌に適する培養方法を用いることが妥当と思考された。

著者らは、このような増殖、育成の傾向を有する真菌について、表Vのごとき分離培養方法を試みた。この喀痰稀釀混合培養法では、組織内 *Aspergillus* の生棲、発育条件にも適しており、検出に供される検体を、大量均等に使用するので、少数の発育能力を有する菌糸、または胞子（分生子）の場合でも、培養の場に恵まれる機会が多い。またこれらの菌糸または胞子（分生子）は、稀釀混合されることによって、喀痰特有のムチン様糊状物に包まれることなく、直接培地に触れているため、発育増殖の最も適した条件にある。さらにこの培養方法では、乾燥による発育障害はほとんど防止されるものと思われる。

なお、この分離培養方法と、従来の塗抹培養方法について、肺 *Aspergillus* 症およびこれを疑う患者10例につい

表 V 喀痰の *Aspergillus* 分離培養法

- I 早朝滅菌生理的食塩水で3回以上うがい、(日中・夕刻時も同じ) 正確には、気管支 採痰
  - II Streptomycin 2,000  $\gamma$  + Penicillin 20万u 液を等量に加え良く混合、室温30分間放置 (ここで Streptomycin 1,000  $\gamma$  · Penicillin 10万u で雑菌は防止)
  - III 滅菌された Sabourad 培地を 55~53°C に保ち、IIの喀痰をシャーレに 2cc 宛 2枚に分配、培地を流して回転混合し固める (培地は約 18cc)
  - IV 37°C ふらん器に納めて培養する (喀痰は20倍量に稀釀されている)
  - V *Aspergillus* が発育したら、Czapek の中試斜面培地と薄法膜のスライド培養を併せて行ない、形態学的鑑察を行なう。
- ※ この方法を以って連続3日分くらいの喀痰培養を行なう。
- ※ 集落数を20倍すると、喀痰中の約 /gm 量に含まれる生菌数が計算される。
- ※ 発芽細胞は常に直接培地に触れているので、発芽が容易である。
- ※ 体内 (肺組織内) に近い条件で培養される。

表 VI

患者別	培養法別 比較		
	平板塗抹	混釀培養	他施設検査
山 ○	(-)	4~5日 (8~10)	(-)
江 ○	7日(10~14)	2日(25~30)	(-)
佐 ○ ○	(-)	3日(5~8)	検出
小 ○	14日(2~3)	4~5日 (5~6)	(-)
半 ○	6日(5~6)	3日(15~18)	実施せず
信 ○	(-)	3日(4~6)	実施せず
大 ○	(-)	4~5日 (9~12)	(-)
藤 ○	(-)	2日(21~25)	(-)
谷 ○	(-)	3日(9~13)	実施せず
大 ○	(-)	4日(2~4)	(-)
検出計 (%)	3例 (33%)	10例 (100%)	

括弧内数字は生育集落数、混釀培養は20を乗ずると  
cc 当りとなる。

て、同一喀痰を用いて比較培養を続けて見たのが表VIである。

従来の培養方法では、10例中3例 (33%)、稀釀混合培養方法では、10例中全例 (100%) に発育を見ており、発育日数も短縮され非常に検出率が優れていることを知った

また、この方法では、常に一定量の検体を均等に接種するので、生菌数の定量培養も兼ねており、さらに、気管支細少気管支、肺胞等の生菌糸、および胞子（分生子）の生育条件等も推察し得るのではないかと思われる所以、これらの実験を継続中である。

## II. *ASPERGILLUS FUMIGATUS* 抽出

### 多糖体抗原による補体結合反応

前項に述べたごとく、肺 *Aspergillus* 症も感染症であるならば、起因菌の正確なる分離確定の重要なことは論をまたないが、これと表裏一体をなす特異抗体の検出も間接的診断方法として、広く利用されなければならない。

これらの目的のため、福井<sup>16)</sup>、秋葉<sup>17)</sup>、和田<sup>18)、19)</sup>、螺良<sup>20)</sup>、上塚<sup>21)</sup>、鈴木<sup>22)</sup>らは、それぞれの方法によって、*Aspergillus fumigatus* 菌体より、蛋白分画、あるいは多糖体分画を抽出精製している。

これらは主として、沈降反応と皮内反応を目的としたものであるが、さらに東<sup>23)</sup>らは、補体結合反応の抗原も抽出精製したと報告している。しかしこれらの抗原は、実際の診断において特徴的な一長一短を有しており、なお補体結合反応の抗原は、免疫家兎血清におけるもので、実際の肺 *Aspergillus* 症患者に応用し、診断の目的に供与した例は報告されていないようである。

著者らは、*Aspergillus fumigatus* の分生子を含む菌体を用い、破碎方法として、ホモジナイザー、乳鉢磨碎、超音波破壊、凍結加温破壊を行ない、抗原抽出方法としてそれを飽和硫安法、3%石炭酸法、純アルコール法、0.5 N 三塩化酢酸法、および热水法によって、約20種の抗原を抽出した。

これらのほとんどは、沈降反応の抗原としては、各報告者と同様の成績を示したものが多くあったが、抗原活性の微弱、あるいは不安定なものもあった。

これらの粗分画抗原のうち、沈降反応では特異的ではあるが抗原活性が弱く、補体結合反応抗原としては、非常に優れていると思われる粗分画多糖体を得たので、実際診断に用い、有意の成績が認められたものについて報告する。

### 1) 抗原の抽出

供試菌株は、大阪醸酵研究所保存の、東大分与株を用いた。

抗原の抽出精製は、表VII-1、VII-2の通りであるが、特に抗原性物質と思われるものの抽出は、比較的温和な、化学的に損傷の少ない状態を旨とし、多糖体と、これの複合蛋白物を求めるようにとした。

保存株を MY 20<sup>24)</sup>で、37°C 5日間培養し、滅菌生理的食塩水を注入して、浮遊分生子を採り、500 cc の Sabouraud's broth の振盪培養瓶に接種し、30°C 10日間振盪培養の菌苔を原材料とした。培養菌苔の洗滌は、滅菌生理的食塩水による、菌体表面の粘稠物を除くだけにとどめ、冷室7日間の放置は、菌体浸潤を目的とした。

以下、表VII-1、VII-2を参照されたい。

なお、抽出抗原は、主として热水多糖体分画であろうと思われるが、抗原分析については、それぞれについて実施

表 VII-1 *A. fumigatus* CF 抗原抽出精製法 (1)

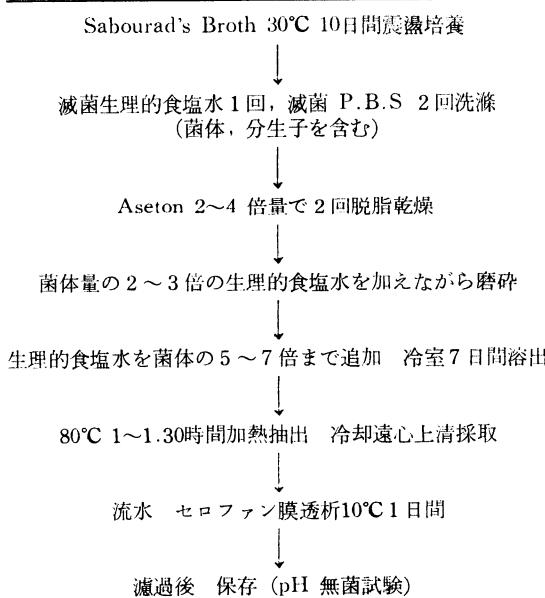
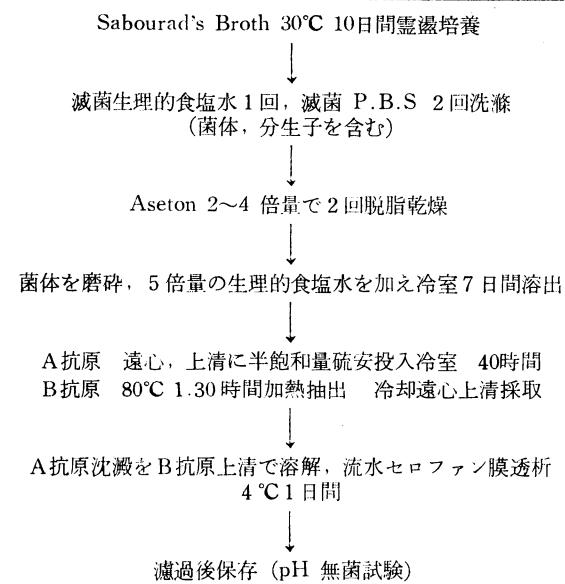


表 VII-2 *A. fumigatus* CF 抗原抽出精製法 (2)



中であり、鈴木<sup>25)</sup>らの加熱抽出多糖体分画に近いものであろうと考えられる。

### 2) 補体結合反応抗原としての特異性

表VII-1、VII-2によって得られた抗原を用い、*Aspergillus* 痘以外の者について、補体結合反応<sup>25)</sup>を行ない、表VIIIの成績を得た。

対象者は、最少年令 6才から、最高年令 82才にわたる、男女健常者 130名、療養年数 2年から21年におよぶ、男女結核患者 232名、慢性の臓器系疾患 31名、各型癌患者（呼吸器を含む）14名、*Candida* 痘深在性 18、皮膚 2、口腔 1 の計 21名、梅毒 30名、*Echinococcus* 痘 10名、細菌感染と思われる呼吸器系疾患 20名、の総計 604名について実施したものであるが、血清の 8 倍稀釀において全員陰性であった。

表 VIII *A. fumigatus* CF 抗原試験対象

最小年令～最高年令 6才～82才	男女 130名	健常者	130名	全員陰性 (8倍以下)
療養年数 2～21年	男女 232名	結核患者	232名	全員陰性 (8倍以下)
慢性疾患 (肝、心、腎、胃)	男女 31名	慢性疾患	31名	全員陰性 (8倍以下)
	男女 14名	癌患者	14名	全員陰性 (8倍以下)
<i>Candida</i> 痘	男女 21名	真菌症	21名	全員陰性 (8倍以下)
補体結合反応陽性	男女 30名	梅毒患者	30名	全員陰性 (8倍以下)
補体結合反応陽性	男女 10名	エヒノコックス症	10名	全員陰性 (8倍以下)
細菌による肺、気管 支炎その他の肺、気管 疾患	男女 26名	肺・気管 支疾患	26名	全員陰性 (8倍以下)
	計 604名			全員陰性

次に、肺 *Aspergillus* 症と決定された者 6 名、連続喀痰検査によって、継続的に *A. fumigatus* を認めた者 4 名、肺 *Aspergillus* 症を疑い、補体結合反応を依頼された者 3 名、および肺 *Aspergillus* 症の治癒者 2 名、結核菌を接種、感染後 *A. fumigatus* を感染せしめた家兎血清 3 例について、補体結合反応を行ない、表 IX の成績を得た。

肺 *Aspergillus* 症患者の 6 名は全員陽性に、継続的に *A. fumigatus* を認めた者も全員陽性を示し、その後レ線断層撮影によって、4 名中、3 名に Fungus Ball を認めこの 3 名のうち、1 名は肺切除術、他の 2 名は抗真菌剤による治療を受けている。肺 *Aspergillus* 症の疑いで補体結合反応を依頼された 3 名も全員陽性で、補体結合反応に併行して行なった、喀痰の連続培養で *A. fumigatus* を認め、このうち 2 名には典型的 Fungus Ball を確認しており、他の 1 名は、気管支に明らかなレ線による病巣部分を確認している。

また、肺 *Aspergillus* 症の治癒者 2 名は、昨年肺切除により菌巣部を除かれた者で、補体結合反応は陰性であった。これは治癒後、反応が陰性となった例と思われる。

家兎血清では、*A. fumigatus* 接種の経過日数に比例し

表 XI

	患者別	CF	沈降 反応	喀痰 培養	レ 線	喀痰	血 清
苦 小 牧 治 癒 者	鍋 ○	-	-	-			
	初 ○	-	-	-			
患 者 余 市 協 会	山 ○	32×	±	+	○ ○ ○		
	江 ○	64×	+	+	○ ○ ○		
者 函 國 館 立	佐々 ○	16×	-	+	○ ○ ○		
	小 ○	32×	++	+	○ ○ ○		
者 幌 西	半 ○	64×	++	+	○ ○ ○		
	信 ○	16×	+	+	○ ○ ○		
疑 惑 者 北(夕) 大(張)	幌 谷 ○	32×	-	+	▲ ○ ▲		
	内 ○	32×	±	+	△ ○ ▲		
患 者 者 十日 勝赤	藤 ○	32×	-	+	▲ ○ ○		
	内 ○	64×	+	+	▲ ▲ ○		
医 大	向 ○	64×	±	+	△ ▲ ○		
	大 ○	128×	++	+	△ ▲ ○		
TB+Asp. 家 兔 (医大 近藤)	接種 2 週間	32×	++				
	" 4 週間	32×	++				
	" 6 週間	128×	++				

○診断 ▲診後 △?

て抗体の上昇を認めている。参考に示した、沈降反応では実際の患者であっても特異性が認めらず、家兎血清に最も強く陽性を示したのは *A. fumigatus* 接種後 4 週間のもので、補体結合反応の場合とでは、明らかに差異が認められた。

なお、この補体結合反応原についても、不備、不明の点が多くあって、菌体破壊の方法についても、岩田<sup>26)</sup>らは、真菌全般に共通する問題として、器機的作用では破碎されない細胞壁を有していることを認めている。

このため、抗原活性物質の抽出が十分におこなわれないことが予測され、また精製の方法では、鈴木<sup>22)</sup>らは、抗原因子の配分で、精製抗原と、粗分画抗原では、糖抗原量に顕著な違いがあるにもかかわらず、抗原的差異はほとんど見られないといっている。

著者らの抗原も、100°C 加熱/時では抗原価は減少するが消滅することなく、また、50 倍くらいに濃縮しても抗原価に差異を認めていない。このようなことから、抗原抽出作成の方法等についてさらに検討を進めている。

## 総括

著者らは、累年増加する肺 *Aspergillus* 症について、定型的臨床像を呈しながら、起因菌の分離率が低いため、決定診断に困難をきたす場合の多いことを知り、さらに、非定型的本症については、特異抗体の検出方法が確立されていないことを知った。

このことから起因菌の特殊性を検討し、併せて肺 *Aspergillus* 症の起因菌の 90% を占める *A. fumigatus* の抗原を抽出し、補体結合反応によって、その特異的であることを確かめるため実際診断に供して、次のとき成績を得た。

- 1)、肺組織内における *Aspergillus* は、常に好気性と嫌気性の間を交互に結び發育巣を拡げている。
- 2)、これらの菌叢は、ほとんどの場合常に気管支方向に開放されているが、排菌量に変動が見られる。
- 3)、排菌されたものには、生殖能力を欠いたものもあるが排菌の途中では、全部が死滅するような条件は見あたらぬ。
- 4)、喀痰中にあっても、また Streptomycin 1,000 mg と Penicillin 10万 U の作用を受けても、そのまま 15 日以内は生殖発育する能力を有する。
- 5)、このような、生物学的に不利な条件下にある起因菌を、直接塗抹培養を行なっては、30% 前後に増殖能力がおさえられる。
- 6)、このような場合を考慮して、喀痰を均等に稀釈し、発育条件に適した混釀培養方法により、そのほとんど (100%) の起因菌が検出可能となつた。
- 7)、*A. fumigatus* より、約 20 種の方法により抗原を抽出し、このうち 2 種の熱水抗原が、補体結合反応原とし

て優れていた。

8), この抗原を用いて、健常者および *Aspergillus* 症以外の者 604 名について補体結合反応を行ない、全員陰性の成績を得た。

9), さらに、肺 *Aspergillus* 症患者、およびその疑いあるものについて補体結合反応を実施して、有意な成績を得た。

なお、この治癒者は陰性を示した。

10), このことから、本反応は *A. fumigatus* を起因菌とする肺 *Aspergillus* 症の血清学的診断に供し得るものと確信される。

さらに、この喀痰稀釀混合培養法と、血清学的診断法は基礎診断において表裏両立する診断方法として、併用されることが望ましい。

稿を終えるにあたって、組織学的なものは当所、北山研究員、抗原抽出、その他細部にわたっては、飯田副所長、井上研究員、検体、肺切除組織の供与は、北大第1内科、札幌医大呼吸器科、および道立幌西療養所、夕張療養所、苫小牧療養所。その他の方々のご協力を賜ったことをご報告申し上げ、心より感謝申し上げる。

### 引 用 文 献

- 1) 美甘義夫：第15回日本医学総会（主題34）1959.
- 2) 田中弘毅：第12回日本医真菌学会（金沢）1968.
- 3) KLIGMAN, A. M.: Are fungus infections increasing as a result of antibiotic therapy?. J. A. M. A., **149**, 979-983, 1952.
- 4) 福島孝吉：真菌と真菌症 **Vol. 5**, No. 1, 1964.
- 5) 高橋幸治：北海道立衛生研究所報 **15**, 1965.
- 6) 沢崎博次：真菌と真菌症 **Vol. 2**, No. 3, 1961.
- 7) 奥平雅彦：真菌と真菌症 **Vol. 5**, No. 1, 1964.
- 8) 小坂不二彦：真菌と真菌症 **Vol. 6**, No. 2, 1965.
- 9) 三宅 仁：第15回日本医学総会（34-C），1959.
- 10) 奥平雅彦：臨床病理（特集6）P. 169～179, 1957.
- 11) 近松徹也：真菌と真菌症 **Vol. 8**, No. 2, 1967.
- 12) 側見鶴彦ほか：真菌と真菌症 **Vol. 5**, No. 2, 1964.
- 13) 螺良英郎ほか：真菌と真菌症 **Vol. 3**, No. 1, 1962.
- 14) 沢崎博次ほか：真菌と真菌症 **Vol. 6**, No. 2, 1965.
- 15) 大和人士ほか：菌真と真菌症 **Vol. 8**, No. 2, 1967.
- 16) 福井雅夫：大阪大学医学雑誌 **11**, 111～130, 1959.
- 17) 秋葉朝一郎：真菌と真菌症 **Vol. 1**, No. 1, 1960.
- 18) 和田敏郎：日本細菌学雑誌 **15**, 528～530, 1960.
- 19) 和田敏郎：日本細菌学雑誌 **15**, 573～580, 1960.
- 20) 螺良英郎：真菌と真菌症 **Vol. 5**, No. 1, 1964.
- 21) 上塙 昭ほか：真菌と真菌症 **Vol. 6**, No. 3, 1965.
- 22) 鈴木益子ほか：日本細菌学雑誌 **21**, 114～119, 1966.
- 23) 東 市郎ほか：真菌と真菌症 **Vol. 8**, No. 4, 1967.
- 24) RAPER & FENNELL: The genus *Aspergillus*.

The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1965.

25) 国立予研学友会編：ウイルス実験学丸善株式会社，1964.

26) 岩田和夫ほか：日本細菌学雑誌 **18**, 393～404, 1963.

### 8 Mycological and serological diagnosis of Aspergillosis of the lungs

Koji Takahashi

(Hokkaido Institute of Public Health)

An improved cultural method for the isolation of *Aspergillus* from sputa was reported. By this method, *Aspergillus* was isolated from sputa of almost all of the patients of pulmonary Aspergillosis.

Complement fixation tests were carried out with antigens extracted from *Aspergillus fumigatus*. With fractions which seem to contain polysaccharides, satisfactory results were obtained. Thus 604 serum samples from individuals who had no signs of Aspergillosis showed negative CF reaction while almost all of the sera from patients with Aspergillosis reacted positively with these polysaccharide-antigens.