

*Candida albicans*の生物学と病原性

新見 昌一・徳永 美知子

鹿児島大学歯学部 口腔細菌学講座

Recent developments in the biology and pathogenicity of *Candida albicans*

Masakazu Niimi and Michiko Tokunaga

Department of Microbiology, Kagoshima University,
Dental School, Kagoshima 890, Japan

Abstract

The imperfect, dimorphic fungus *Candida albicans* is a widespread commensal of human and other animals recovered from oral cavity, alimentary tracts and vagina, and is clinically isolated as an opportunistic pathogen. The incidence of both superficial and systemic candidiasis has been increased markedly over the last few decades. Some reasons for this are due to iatrogenic factors such as long-term-uses of broad-spectrum antibiotics, immunosuppressive agents and indwelling catheters to compromised hosts.

In an attempt to survey some developments and future trends of the basic researches of this medically important fungus, this review endeavors to summarize recent papers dealing with the basic problems and subjects described below. Those are as follows: 1) taxonomy and nomenclature; 2) dimorphism including environmental factors to promote morphological transition, physiological and biochemical changes during the transition, and a glucose effect of the fungus; 3) adherence and fungal toxins or toxic metabolites presumably associated with pathogenicity; 4) host defense mechanisms; and 5) basic problems of antifungal agents and chemotherapy.

Key words

C. albicans, taxonomy, dimorphism, opportunistic infection, antifungal agents

- I. はじめに
- II. 分類学上の位置づけ
- III. 二形性 (Dimorphism)
 - A. 物理・化学的環境因子
 - B. 形態変換に伴う細胞の生理・生化学的变化
 - 1. 細胞壁
 - 2. 細胞膜
 - 3. 核酸およびタンパク質
 - 4. calmodurin
 - 5. cAMP
- 付記
- IV. 病原性
 - A. 感染における菌側の要因
 - 1. 付着
 - 2. 毒素
 - 3. 酵素
 - B. 宿主の感染防御機構
 - 1. 非特異的防御機構
 - 2. 特異的防御機構
- V. 抗真菌性化学療法剤
 - A. amphotericin B
 - B. 5-fluorocytosine
 - C. イミダゾール系抗真菌剤
- VI. おわりに

I. はじめに

日和見真菌 *Candida albicans* は常在菌叢の一員として健康人の口腔、気道、腸管および腔などに存在しているが時に発症することがある。歯科領域においては日常の診療中に驚口瘡 thrush や義歯性口内炎 denture stomatitis などの浅在性カンジダ症に遭遇することはめずらしくない。一方、近年治療法の著しい進歩により、白血病やその他の悪性腫瘍あるいは糖尿病に罹患し感染抵抗力が極めて低下した宿主 (compromised host; 易感染宿主または減抵抗性宿主) に、抗生物質や副腎皮質ホルモン剤、抗腫瘍剤または免疫抑制剤の大量投与、留置カテーテルの長期使用によって、グラム陰性菌、ウイルス、真菌、原虫などあらゆるタイプの日和見病原体による感染症 (opportunistic infection) が顕在化してきた。気管支、肺、食道、髄膜などに起こる続発性の深在性カンジダ症や重篤なカンジダ血症はその例である。信州大学の1975年から1984年までの剖検例中、13%の高率で真菌感染症が検出され、その半数がカンジダ症で最も多く、ついでアスペルギルス症、クリプトコッカス症であったと報告している。さ

らにその背景にある基礎疾患として上述の疾患を挙げている¹⁾。

このようにカンジダ症の発症頻度が十数年前に比べ著しい増加の傾向にあり、今日その対策が医学上極めて重要な課題となっている。これまで日和見真菌 *C. albicans* に関する基礎的研究に多大の努力がなされてきた²⁾が未解明の部分が多く、カンジダ症の発症機序も未だ不明である。この総説では *C. albicans* の医学的に重要な細胞生物学、特に *Candida* 属の分類学上の位置づけと *C. albicans* の形態変換 (二形性)、病原性発現に関与する菌側の要因と宿主の感染防御機構についてこれまでに明らかになった知見と今後の問題点を概説し、最後に抗真菌性化学療法の現状について触れることにする。なお、カンジダおよび病原真菌の詳細については優れた参考書 (例えば3, 4) があるので参照されたい。

II. 分類学上の位置づけ

真菌は有性生殖の様式によって藻菌類、子囊菌類、担子菌類に分けられ、有性生殖を行わないかまだみ

つかっていないものは不完全菌類に分類されている。そのために不完全菌類には便宜上種々雑多な菌が含まれ、必ずしも真の近縁種の集合とは言い難い。同一菌種内においても類縁性に異論のある菌種が多数存在している。Candida属菌も不完全菌類に属し分類学上の取り扱いに多くの疑問が生じている。臨床材料から分離されるCandida属菌はC. albicansが大半を占め、その他にC. tropicalis, C. parapsilosis, 稀にC. guilliermondii, C. krusei, C. stellatoideaがある。

最近上梓された権威ある酵母分類学の書“The yeasts, a taxonomic study”第3版において新しい分類体系が提唱され、Candida属菌についてもいくつかの変更が行なわれた⁵⁾。その中で最も大きな変化はC. stellatoideaがC. albicansに併合されたことと、Torulopsis属が廃止されてCandida属に移されたことである。C. stellatoideaは種々の生物学的性状がC. albicansと極めて類似し、DNAの相同性も高いのでC. albicansに吸収された訳である。しかし病原性の面から比較すると明らかに相違が見られ、両者の統合の是非が問われている。またTorulopsis属(特にT. glabrataは病的材料から頻りに分離される日和見真菌の一種)は菌糸形成を示さないという点でCandida属菌と区別されていたが、形態的な相違だけで分けるのは意味がないという理由からTorulopsis属が消えたのである(T. glabrataはC. glabrataに変更)。この点に関しても医真菌学者の間で強硬な反論が起こっている⁶⁾。

従来真菌は主に形態的な特徴と生物学的性状を分類の基礎にしていたが、最近DNA相同性や新しい遺伝子解析の方法論が取り入れられ、また医学上重要な不完全菌類の中にも有性生殖の過程がみいだされることによって、分類学的な移動がおこるのは当然である。しかし一方で病原性の相違などが置き去りになっている感があり、それらの性状が分類学的基準に加味されるところまで医真菌学者が研究を押し進めなければならないという指摘がなされている⁷⁾。

III. 二形性 (Dimorphism)

一般に真菌は球形または楕円形の細胞形態をとるか、あるいは糸状に長く伸びた菌糸形のいずれかの発育様式を示し、それぞれを酵母菌および糸状菌と呼んでいる。真菌の中にはそれらのいずれの形態(酵母形⇄菌糸形)にも変わり得るものがあり、この性質を二形性(dimorphism)と呼び、このような形態変換をする真菌を二形性真菌(dimorphic fungi)と総称している。病原真菌の中には二形性の性質を示すものが多く、C.

albicansもその一つである。

C. albicansの二形性は以前から多くの研究者の関心を集めてきた⁸⁻¹⁰⁾。第一の理由は病原性発現との関係からである。C. albicansは常在菌としてヒトの体内に存在している時は酵母形を示すが、菌が組織内へ侵入し増殖して感染病巣を形成する部位には酵母形に混って多数の菌糸形細胞が認められることや、動物にC. albicansの酵母形菌を接種すると組織内で速やかに菌糸を形成して感染が成立するので、菌糸形発育と病原性との関連性が強く疑われてきた。しかし反論もまた多数あり、これまでのところ二形性と病原性の因果関係を明確にする証拠は得られていない。第二は二形性が真核細胞の分化、形態形成の最も単純なモデルとして有用であるという点にある。C. albicansの形態変換はin vitroにおいても容易に発現するので、そのメカニズムをしらべることにより高等細胞の分化や形態形成の調節機構についての糸口が得られるかもしれないという期待があるからである。

A. 物理・化学的環境因子

C. albicansが酵母形から菌糸形に転換する初期の段階を発芽管形成(germ tube formation, germination)と呼ぶ(図1)。血清中で1~2時間内にgerm tubeを形成することが分かって以来、現在までにin vitroにおいて二形性変換に影響する多数の物理・化学的環境因子がしらべられてきた(文献4の表7-1参照)。この現象はCandida属菌の中ではC. albicans(とC. stellatoidea)にみられ、他の菌種はgerm tubeを形成しないので、厚膜胞子形成能とともに菌種の迅速同定の一助になっている。

様々な環境因子の中で特に温度と炭素源や窒素源などの栄養素がC. albicansの形態変換を誘導する重要な因子である。35℃以下では酵母形、37℃では菌糸形発育をする。栄養因子としては血清の他にN-アセチルグルコサミン(GlcNAc)やプロリンなどが菌糸形発育を促進し、システインなどのSH化合物は抑制的に作用する。特定の培養条件下ではpHによって形態変換を制御でき、37℃においてpH4.5で酵母形、pH6.5では菌糸形発育をする。従って両形態間の生化学的変化をしらべる際に温度の影響を除去することが出来る。なお、静止期の細胞は対数増殖期の細胞に比較してgerm tubeの形成が良いが、対数期の細胞を飢餓の状態においたり血清を添加するとgerm tube形成率が上がる。また、 5×10^6 cells/ml以上の細胞密度でgerm tube形成を始めると菌糸形発育の最適条件下においても形成

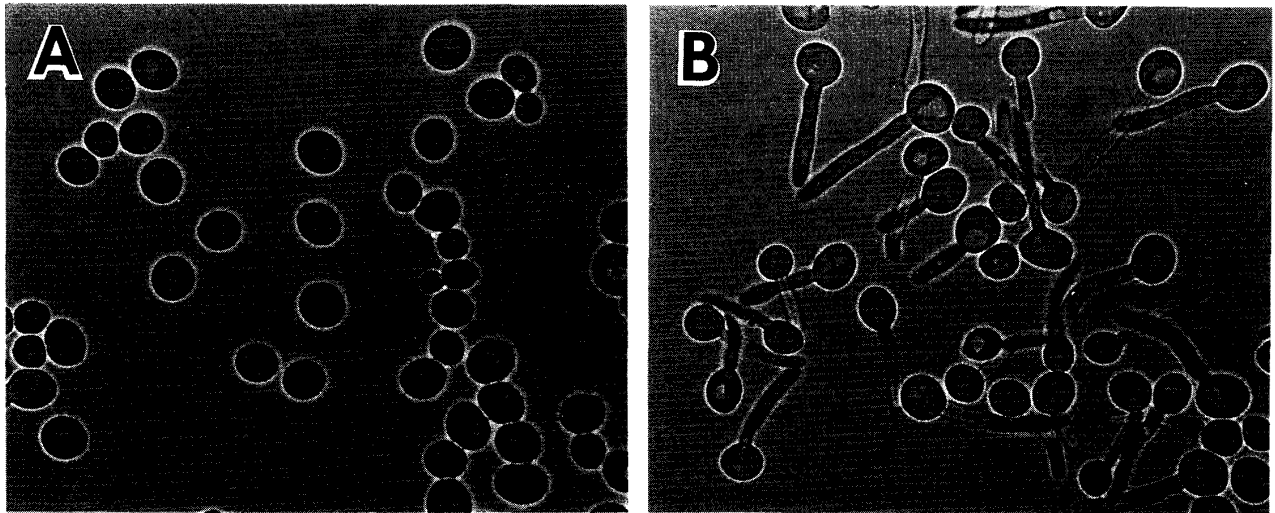


Fig. 1. Morphology of *C. albicans* cells. (A) Yeast form cells in 18-h culture in Sabouraud's broth supplemented with 0.5% (w:v) yeast extract at 37°C. × 400. (B) Germ tube-forming cells after 3-h incubation of yeast cells in proline phosphate buffer medium at 37°C. × 400.

頻度が低下する。このように *C. albicans* 細胞の生理的状态も二形性変換に影響する。

B. 形態変換に伴う細胞の生理・生化学的变化

1. 細胞壁

C. albicans の細胞壁の主要構成成分はグルカン、マンナン・タンパク、キチンである。形態変換によって最終的にはこれらの細胞壁構成成分の合成が盛んになるので、従来から酵母形細胞と菌糸形細胞の細胞壁成分の比較や germ tube を形成する際の壁成分の変化が知られてきた。これまでの研究を総合すると、両形間の細胞壁に質的な相違はみられないが構成成分の量的な差があるという報告が多い。特にキチンに関連した変化が興味深い。菌糸形細胞が酵母形細胞の3倍のキチンを含有すること¹¹⁾、菌糸形細胞の方が GlcNAc (キチンの前駆物質) の取り込み能が高く、その大部分が細胞壁のアルカリ不溶画分 (おそらくキチンポリマー) に存在すること¹²⁾、グルコースからキチン合成に至る経路の最初の key enzyme である glucosaminophosphate isomerase (glutamine-forming) (別名, glutamine-fructose-6-phosphate aminotransferase) と最終段階に働くキチン合成酵素 chitin synthase がいずれも菌糸形細胞で高い比活性を示すこと¹²⁻¹⁴⁾ が明らかにされ、キチン合成が形態変換に密接に関連していることが示唆されている。図2にキチン合成経路を示した。

2. 細胞膜

形態変換と細胞膜脂質組成の変動に関しても興味深い報告が多数ある。例えば、germ tube 形成の初期にホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンが増加し、ホスファチジルイノシトール/ホスファチジルセリンが著しく減少する。またリン脂質アシル鎖の脂肪酸の不飽和度が増し、特にホスファチジルコリンにおいてオレイン酸 ($C_{18:1}$) の減少とリノール酸 ($C_{18:2}$) の増加が顕著になり、時間の経過とともに再び元のレベルに戻るとい¹⁵⁾。

またステロールとの関連について、ポリエン抗生物質 (エルゴステロールに結合して膜傷害を起こす抗真菌剤) に耐性の変異株はエルゴステロールが著しく減少し、その前駆物質の 14α -メチルステロールが蓄積する。しかも親株が菌糸形発育をする環境下において、この変異株は菌糸形発育を示さない。その revertant (親株に復帰した株) はポリエン感受性、エルゴステロール量および菌糸形発育能を同時に回復している。さらにイミダゾール系抗真菌剤 clotrimazole (エルゴステロール合成阻害剤) を親株に作用させると、変異株にみられた変化と類似の現象が再現され、 14α -メチルステロールの蓄積と菌糸形発育の欠如を生じたとい¹⁶⁾。

これらの報告例から細胞膜脂質の変化と *C. albicans* の形態変換の機構には密接な関係があることが分かる。真菌細胞膜の流動性や安定性はリン脂質の脂肪酸残基の長さや不飽和度によって影響され、エルゴステロールによっても調節されている。従ってこれらの膜構成

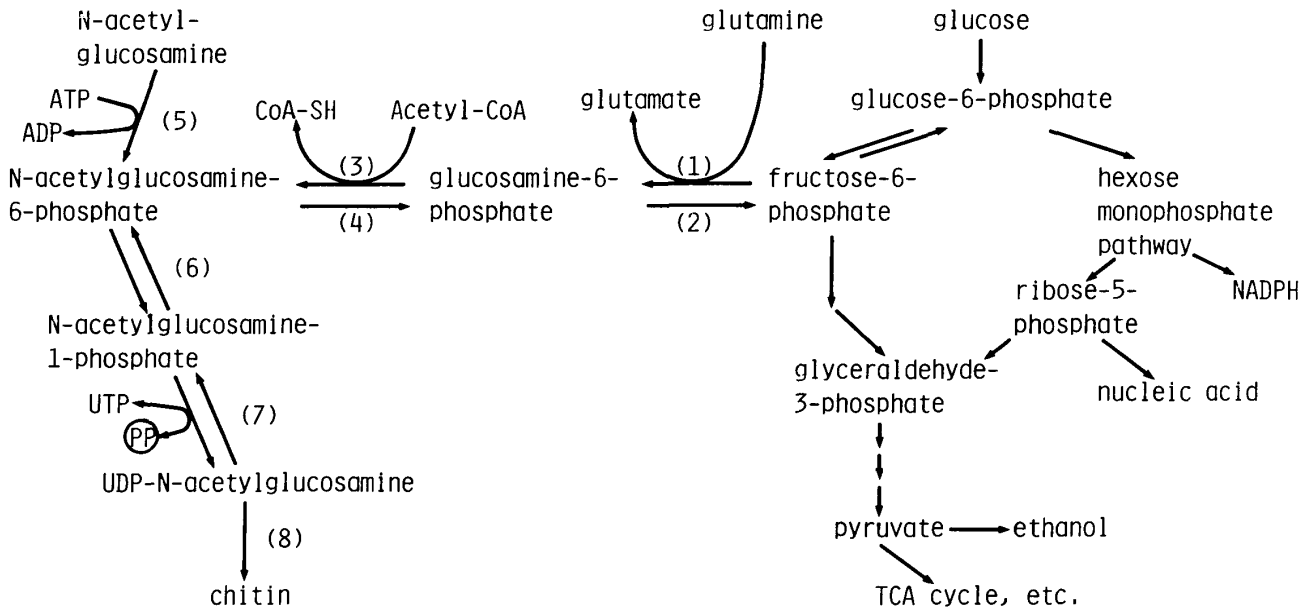


Fig. 2. Biosynthetic pathway of chitin from glucose in *C. albicans*, also showing points of input of *N*-acetylglucosamine and glutamine and related metabolic pathways. The enzymes involved in the pathways are: (1) glucosaminephosphate isomerase (glutamine-forming) (2) glucosamine-phosphate isomerase, (3) glucosamine-phosphate acetyltransferase, (4) *N*-acetylglucosamine-6-phosphate deacetylase, (5) *N*-acetyl-D-glucosamine kinase, (6) acetylglucosamine phosphomutase, (7) UDPacetylglucosamine pyrophosphorylase and (8) chitin synthase. (Quoted from ref. 9.)

成分が変化することによって膜の透過性や膜結合酵素（例えば前述のキチン合成酵素）の活性が変化し、結果として細胞の形態が変化することが考えられる。さらに詳細な解析が期待される。

3. 核酸およびタンパク質

二形性変換の過程で異なる遺伝子発現が生じているのか、あるいは翻訳後のタンパク質に修飾が加わっているかなどについては最も興味のある問題である。前者については遺伝子産物であるタンパク質の解析が有効である。酵母形、菌糸形のタンパク質をポリアクリルアミドゲル電気泳動法で展開するとそれぞれの形態に特有のタンパク質が出現する¹⁷⁻¹⁹。従って、それぞれの形態の誘導と維持に必要な特異的な遺伝子産物が現われているのかもしれない。しかし中には酵母形と菌糸形を誘導する条件（温度や培地）の違いによって生じるタンパク質が加わっている可能性もある。事実、23℃から37℃の温度シフトによって形態変換とは無関係の熱ショックタンパク質が出現する²⁰。そのような因子を除去する最良策は形態変換の出来ない変異株を control に用いることであろう。変異株を用いた系での解析に

よればそれぞれの形態に特有のタンパク質が得られたという報告がある²¹。その差は非常に僅かであるが、二形性に異なる遺伝子が発現することが考えられる。

最近、*C. albicans*の菌糸形細胞においてDNA中のシトシンのメチル化の程度が酵母形細胞の1/2であるという報告がなされた²²。一般に真核細胞では遺伝子発現と5-メチルデオキシシチジン (m^5 Cyt)の量は逆比例の関係を保つと言われているので、この結果は菌糸形発育が酵母形発育に比べて遺伝子レベルの活性化（転写活性）の程度が高いことを想像させる。

4. calmodulin

calmodulinは細胞内のCaイオン受容タンパクとして真核細胞に広く分布し、Caイオンによる細胞機能の調節を仲介する。*C. albicans*にもcalmodulin様タンパクが存在することが報告されている²³。子囊菌類の*Ceratocystis ulmi*においては菌糸形発育をCaイオンが促進し、Caイオンchelaterのethylene glycol-bis(β -aminoethyl ether)-*N*, *N*-tetraacetic acid (EGTA)やcalmodulin阻害剤のtrifluoperazineが菌糸形発育

を阻止することが分かり²⁴⁾、その後 *C. albicans* においても germ tube 形成が trifluoperazine によって阻害される報告がなされた²⁵⁾。従って、Ca イオン→calmodulin→calmodulin 結合タンパクの活性化が二形性変換に関与する図式が想定される。

5. cAMP

cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate (cAMP) は原核細胞から真核細胞まで広く細胞内に存在し、細胞の調節因子として働くことが分かっているが、その働きは原核細胞と真核細胞では全く異なっている。真菌においては *Saccharomyces* 酵母 (いわゆるパン酵母) の細胞分裂などの調節機構に cAMP が重要な役割を演じ、その作用は動物細胞と同様に cAMP 依存性プロテインキナーゼによるタンパク質のリン酸化を介することが明らかにされている^{26,27)}。一方、細菌では cAMP は cAMP 結合タンパク (真核細胞の cAMP 依存性プロテインキナーゼの regulatory subunit に相当) と複合体を形成して直接遺伝子に作用する。

cAMP の様々な調節機能のうちで真菌の形態変換との関連性については接合菌類の病原真菌 *Mucor* において詳しくしらべられている²⁸⁾。この菌では、1) 酵母形から菌糸形増殖を始める際に細胞内の cAMP 濃度が $1/3 \sim 1/4$ に低下し、2) 菌糸形増殖を行なう培地に dibutyryl cAMP (膜透過性の cAMP 誘導体) を加えると菌糸形発育が阻止されて酵母形発育すること、3) 細胞内の cAMP 濃度の変動は主に cAMP phosphodiesterase (cAMP 分解酵素) 活性の上昇によることが明らかになっている。また *Mucor* には cAMP 依存性プロテインキナーゼが存在するので、cAMP の作用を介してキナーゼが活性化され、DNA 結合性のヒストンをリン酸化して遺伝子発現の調節を行なう一連の反応が考えられる。

C. albicans の二形性発現の機構に cAMP が関与するか否かについてははっきりしていない。我々は *C. albicans* の細胞内にも cAMP および cGMP が存在することを確認、*Mucor* とは逆に germ tube 形成時に cAMP 濃度が上昇し (cGMP は不変)、培地中に dibutyryl cAMP を添加すると germ tube 形成が僅かに促進されるという結果を得た²⁹⁾。同様の結果が他の研究者からも報告されているが、関与の可能性を否定する報告もあり未だ結論は得られていない。

以上 *C. albicans* の二形性変換の開始を誘導する環境因子と形態変換に伴って生じる生理、生化学的な変化を紹介した。二形性についてはさまざまなデータが提

示されているが、互いに相反する結果も少なくない。細胞全体が複雑に絡み合った形態変換のしくみを統一的に理解するのは非常に難しい。外部からのシグナルを細胞がどのように「認識」(recognize) し、次にどのような「遺伝情報の活性化」(gene expression) が起こって最終的な形態変換が起きるかという一連の事象 (events) を一つずつ解きほぐし、事実を積み重ねる努力が引き続き必要である。

付 記

二形性とは別に、我々は *C. albicans* の細胞生理と cAMP の挙動について興味深いデータを得たので以下に述べたい。第一は cAMP の細胞内濃度が菌の対数増殖が進むにつれて増加し、静止期に入るとほぼ一定値に落ち着くことである³⁰⁾。培養動物細胞においても cAMP 濃度は対数増殖期に低く、接触阻止 (contact inhibition) がかかって増殖が停止すると高くなることが知られているが、あるいは本質的に同じ現象なのかもしれない。第二はグルコース効果との関係である。グルコースの存在下である種の代謝活性が抑制される現象をグルコース効果またはカタボライト・リプレッションと呼び、原核細胞から真核細胞までさまざまな生物種に認められる (例えば酵母に関する総説³¹⁾)。 *C. albicans* においても炭素源の利用に関してグルコース効果が存在することを我々は確認した^{32,33)}。即ち、培地中にグルコースの他にマンニトールあるいは GlcNAc が共存すると菌はまずグルコースを利用して増殖する。グルコースが枯渇するともう一方の炭素源の利用に必要な異化代謝酵素 (マンニトールに対しては NAD-linked mannitol dehydrogenase, GlcNAc には GlcNAc kinase 図 2 の(5)酵素) が誘導されてその消費が始まり巧妙な代謝調節が行なわれている。この様子はグルコース+マンニトール培地を用いて明瞭に促えることができ、菌は増殖途中で遅滞期を生じる典型的な二相性増殖 (diauxie) を示した (図 3)。

細菌においてはグルコース効果の機構に cAMP の関与が知られており、特に大腸菌のラクトース・オペロンに対する調節機構については詳細な研究がなされている。真菌に見られるグルコース効果に cAMP が関与しているか否かについては数多くの研究がなされてきたが、最近の *Saccharomyces* 酵母の cAMP の利用に関する変異株を用いた研究結果³⁴⁾ から判断すると cAMP の関与はないと考えるのが妥当のようである。我々の行なった実験からも *C. albicans* におけるグルコース効果に cAMP 不関与を思わせる結果を得ている³²⁾。従っ

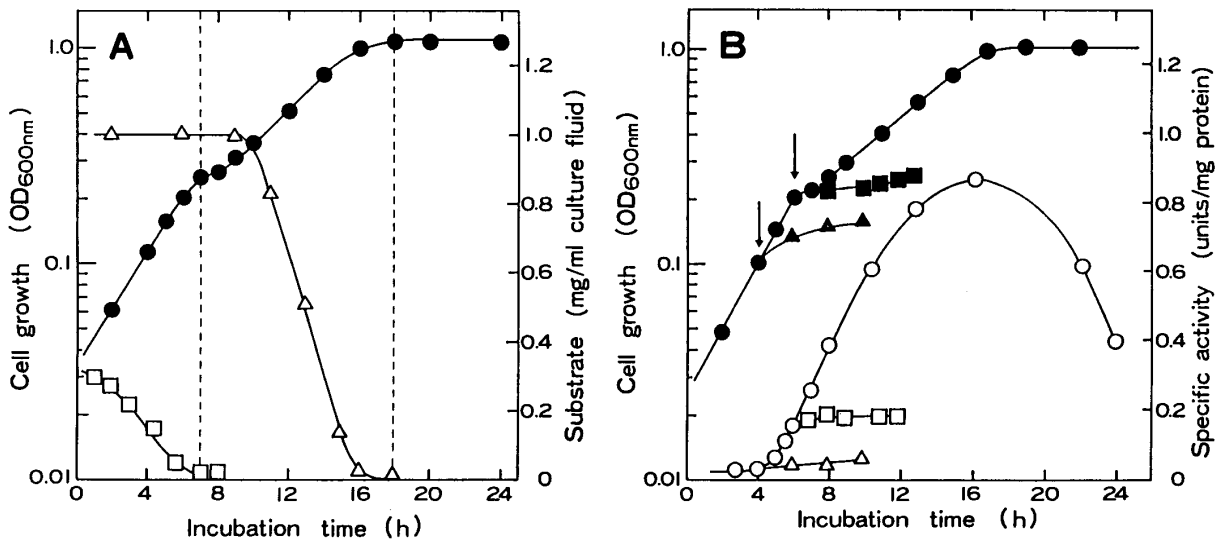


Fig. 3. A. Diauxie and substrate consumption in *C. albicans* cells grown in YNB medium containing 0.03 % (w:v) glucose and 0.1 % (w:v) mannitol. ●, cell growth; □, glucose concentration in the medium; △, mannitol concentration in the medium. B. Diauxie and NAD-linked mannitol dehydrogenase activity in *C. albicans*. Cells were grown in YNB medium containing 0.03 % (w:v) glucose and 0.1 % (w:v) mannitol. Solid symbols, cell growth; open symbols, specific activity of NAD-linked mannitol dehydrogenase. To a portion of the culture was added 4 μ g of trichodermin per ml before (Δ , \blacktriangle) or at (\square , \blacksquare) the intermediate pause.

て、見掛け上類似性を示すグルコース効果は各生物種でそれぞれ異なる調節機構が働いているものと思われる。

IV. 病原性

真菌症の発症機序については多角的に研究されているが、依然として不明な点が多い。一般に微生物の病原性を規定する因子としては侵襲性や毒素産生性などが考えられる。カンジダ感染においても例外ではなく、これまでに付着性、毒素産生能、酵素やその他の代謝産物の生物活性がしらべられてきた。同時に、日和見型の真菌感染に対して宿主側の感染防御に関与する因子を明らかにすることも重要である。この項ではこのような宿主-寄生体関係に基づいて感染における菌側の要因と生体の防御機構について述べる。

A. 感染における菌側の要因

1. 付着

口腔、消化管、膣などの粘膜表面に集落を形成したり、血流中の菌が血管壁を通過して組織内に侵入する、あるいは義歯床や心臓の人工弁、留置カテーテルに菌が付着するといったような生体内に起こるさまざまな

現象から判断して、付着が病原性発現に重要であることは明らかである。そのため宿主細胞や非生体材料を用いて *in vivo*, *in vitro* の系で *C. albicans* や *Candida* 属のその他の菌による付着のメカニズムがしらべられている³⁵⁾。 *in vitro* の実験で付着は温度、培地、菌の増殖時期、菌株、上皮細胞の種類と状態などに大きく影響される。一般に *C. albicans* は他の病原性の弱い *Candida* 属菌に比べ強い付着性を示し、 *C. albicans* の germ tube 形成細胞は yeast 細胞よりも宿主細胞への付着が容易である。

付着に関与する菌側の因子 (adhesin) や宿主細胞の receptor についての解析が試みられているが分子レベルの説明は未だなされていない。adhesin については未解決の部分が多いものの細胞壁マンナン・タンパクが重要視されている。その根拠として培養濾液中のマンナン・タンパクや菌体細胞壁成分による競合的な付着の阻害、 *Candida* 細胞表層に化学的・酵素的処理を加えると付着能が低下すること、あるいはコンカナバリン A などのレクチンや細胞壁成分に対する抗体によって付着が阻止されるというデータが挙げられる。我々は新しい電子顕微鏡試料作製技術の急速凍結置換法を用いて *C. albicans* 細胞の微細構造を解析し、細胞

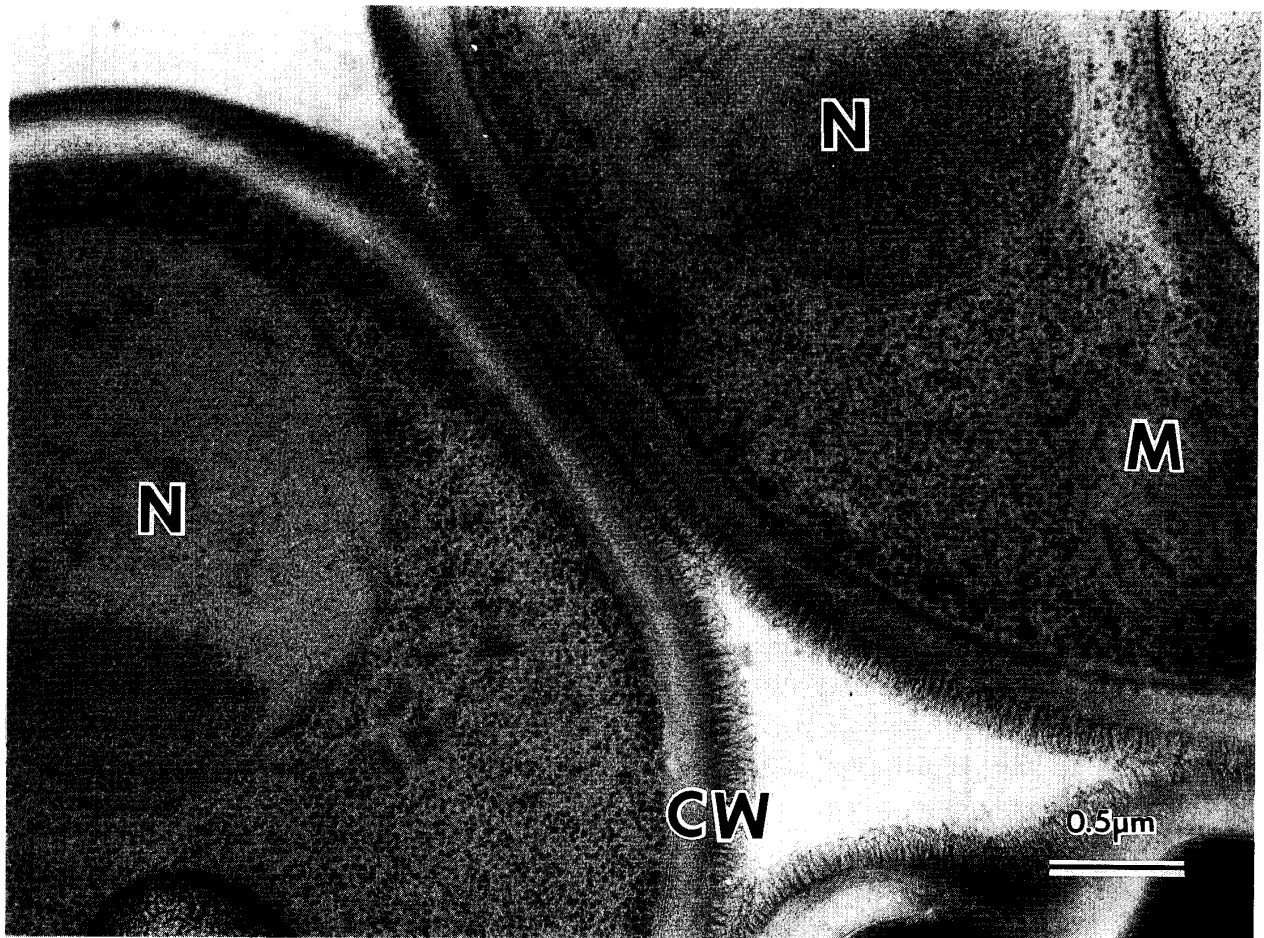


Fig. 4. Transverse section of *C. albicans* cells by freeze-substitution fixation for transmission electron microscopy. Very delicate fibrillar structure covered outer surface of the cell wall (CW). In cytoplasm, abundant ribosomes, mitochondrion (M), nuclei (N) and smooth contour of membranous systems are clearly seen. $\times 40,000$.

壁表層が微細な線維構造で覆われていることを明らかにした³⁶⁾(図4)。この構造は細胞壁マンナン・タンパクの一部を構成するものと考えられるので付着との関連から非常に興味深い知見といえよう。一方、宿主細胞についてはL-fucoseが最も有力なreceptor決定因子として挙げられるが、その他にGlcNAcやD-mannoseを含むglycosidesがreceptorとしての機能を担っているものと思われる。*Candida*細胞と宿主細胞間の付着に比べ、義歯レジン床や高分子材料への付着についてはまだよく分かっていないが、おそらく非特異的な“polymeric bridging”によるものであろう。

2. 毒素

*C. albicans*の菌体破碎抽出液をマウスに静脈内注射

すると致死活性を示す。培養濾液中や種々の抽出法によって菌体から得られた分画中に毒性糖タンパクが見いだされ、ウサギに対する発熱活性やマウス致死活性(LD₅₀ 290 ~ 750 $\mu\text{g/g}$ body weight)などさまざまな生物活性および免疫原性などが認められた³⁷⁾。これらの性状はグラム陰性細菌の内毒素に類似の物質と考えられている。これに対して*C. albicans*からマウスに強い致死活性(LD₅₀ 0.3 $\mu\text{g/g}$ body weight)を示す“Canditoxin”が単離され、その本態が分子量約75000の単純酸性タンパクの真菌外毒素であるという報告がなされている³⁸⁾。このように*C. albicans*から抽出される高分子物質(大部分は細胞表層の糖タンパク)が動物に対して発熱やアナフィラキシー型の反応を引き起こし致死的に作用する例が明らかになった。従って深

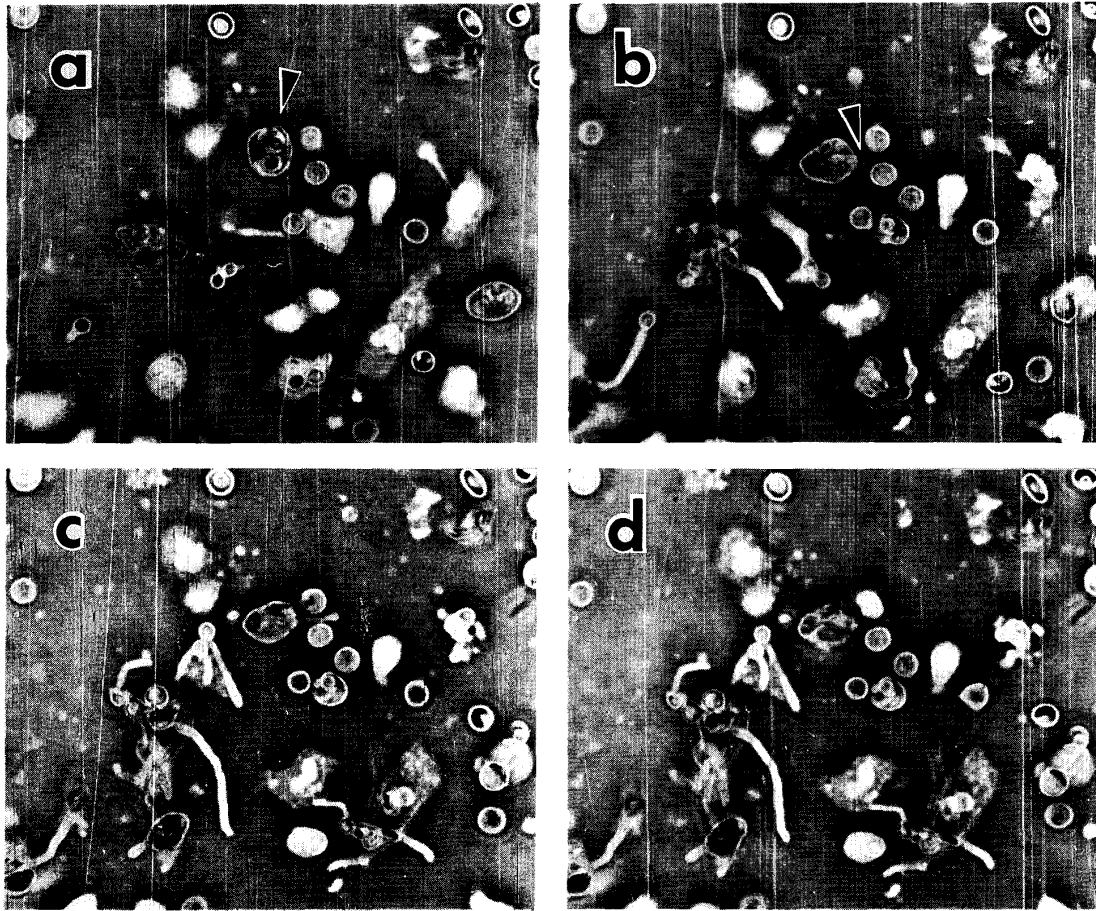


Fig. 5. Time-lapse cinematographs of in vitro phagocytosis of *C. albicans* by human polymorphonuclear leukocytes (PMNs). $\times 200$. (a) Two phagosomes were seen in a PMN (arrow) 44 min after incubation of *C. albicans* yeast cells with PMNs. (b) One of the engulfed yeast cells initiated germ tube formation (arrow) after 113 min incubation. (c) Protrusion of a germ tube-forming cell within the PMN after 168 min incubation, immediately before the PMN destruction. (d) The PMN burst after 170 min incubation.

在性カンジダ症に罹患したヒトにおいても *Candida* 細胞そのものや食菌作用によって細胞から遊離した菌体成分が同様の生体反応を引き起こし、動物に観察されたような症状を呈する可能性があるものと思われる。

3. 酵 素

C. albicans が種々の酵素を分泌することはよく知られている。中でも酸性プロテアーゼは宿主組織の破壊を引き起こすことが想像され、感染との関連が盛んにしらべられている³⁹⁾。*C. albicans* をアルブミン含有培地に培養するとこの酵素の産生が誘導されて菌体外に多量に分泌される。分子量約 44000、至適 pH4.0 でペプスタチンにより特異的に阻害され、カテプシン D 様

のカルボキシプロテアーゼと考えられている⁴⁰⁾。しかし臨床材料から分離された *C. albicans* の中にはプロテアーゼ産生能のみられない株も少なくないので、今のところプロテアーゼ産生を一元的に病原性に結びつけるのは問題があろう。上述のプロテアーゼと同様の性質を有する酵素としてヒト表皮角質を窒素源として培養したときに分泌される keratinolytic proteinase⁴¹⁾ や歯牙象牙質のコラーゲン分解活性を示すプロテアーゼ⁴²⁾ などの存在が明らかになっている。前者は *C. albicans* が皮膚角層内に侵入増殖して表在性カンジダ症を発症するのに関与すると考えられている。プロテアーゼの他に数種のホスホリパーゼが菌体外に分泌されることが確認され、細胞膜に対する為害作用やこの酵素の産

生株と病原性の関連が示唆されている⁴³⁾。今後それぞれの酵素の病因的意義をより厳密に検証する必要がある。

B. 宿主の感染防御機構

真菌感染に対する生体の防御機構は細菌やウイルスの場合と同様に非特異的と特異的な機構に分けられ、それぞれに液性と細胞性の二機能が存在する⁴⁴⁾。従ってここではそのしくみを非特異的と特異的防御の面から考察することにする。

1. 非特異的防御機構

C. albicans の感染に対する宿主の防御機構のうち、非特異的な細胞性の機構として多形核白血球とマクロファージによる貪食作用が重要である⁴⁵⁾。食細胞が感染部位へ集合すると非特異的に食菌する。食細胞の集合と菌の取り込みは代替経路または古典経路で活性化された補体 (C3 および C5a) によって増強される。我々は *in vitro* の系で食細胞の食菌能をしらべたことがあるが、一個の多形核白血球が平均 4 ~ 5 個の *C. albicans* 細胞を取り込むことを観察した⁴⁶⁾。取り込まれた *C. albicans* 細胞の 1/3 ~ 1/2 が食胞内で殺菌され、生き残るものも多い。中には食胞内で germ tube を形成して白血球の細胞膜を突きやぶり殺菌をまねがれるものもあった (図 5)。

食細胞による菌の処理機構には酸素に依存する系としない系が存在する⁴⁷⁾。酸素に依存する殺菌系には H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , OCl^{\cdot} , 1O_2 などの活性酸素分子種が関与する。特にミエロペルオキシダーゼ依存の殺菌と OH^{\cdot} による殺菌が重要である。前者はミエロペルオキシダーゼ- H_2O_2 -ハロゲンイオン系によって OCl^{\cdot} が生じ、菌のアミノ酸を分解して不安定なクロールアミンを形成する。後者は細胞膜不飽和脂肪酸の過酸化や DNA 鎖の切断を引き起こす。酸素を必要としない系は食細胞の顆粒に含まれる抗菌物質 (Cationic proteins, カテプシン G, ラクトフェリンなど) が食胞内に放出されて殺菌作用を発揮する。

液性、細胞性の免疫能は正常にもかかわらず、食細胞の機能異常によって化膿性球菌や *C. albicans* に易感染性になる例が数多く知られている。Chediak-東症候群 (微小管の重合不全のため走化不能) や慢性肉芽腫症 (Chronic granulomatous disease, CGD; NADPH oxidase の欠損のために酸素依存の殺菌能が欠如) はその例である。

貪食系細胞の他にある種のリンパ球 (Natural killer

cell) が *Cryptococcus neoformans* や *Histoplasma capsulatum* などの真菌に対して非特異的に抗菌活性を示し感染防御の一端を担っていることが明らかになっているが、*C. albicans* に対する作用はまだよく分かっていない。

2. 特異的防御機構

非特異的防御機構に加えて、免疫が関与する機構も重要である。マウスを用いた実験によって、生菌ワクチン、 γ 線照射カンジダワクチン、カンジダのリボゾーム画分の投与が感染防御効果をもたらすことが報告されている。このような免疫マウスの解析からカンジダ感染に対する特異的防御機構は細胞性免疫が主になり、抗体の存在はある程度感染抵抗性を増すがその役割は小さいと言われている。抗体は補体と共にむしろ食細胞の貪食能を促進するオプソニンとして働くことに重要性があるように思われる。

カンジダ症に対する生体の防御機構を理解する上で、慢性粘膜皮膚カンジダ症 (Chronic mucocutaneous candidiasis, CMCC) は貴重な情報を与えてくれる⁴⁸⁾。この疾患は若年者に発症し、粘膜、皮膚、爪に化膿性肉芽腫性炎症病巣を形成して慢性の経過をとる。CMCC に罹患した患者の多くは細胞性免疫の異常を伴っており、液性免疫は正常かむしろ高い。カンジダ抗原による遅延型皮膚反応、リンパ球転換試験、マクロファージ遊走阻止能などに関する細胞性免疫機能の異常に基づいて、この疾患はいくつかのタイプに分けられ、それぞれの病型には特定の T 細胞亜群に障害があることが考えられている。CMCC の治療には新しいイミダゾール系抗真菌剤 ketoconazole の経口投与による臨床検討が行なわれ効果を上げていることを付け加えておく。

我々の体を真菌の感染から防ぐシステムは種々の因子が絡み合っているが、上述のように貪食系細胞による非特異的処理と細胞性免疫が重要であることが明らかにされた⁴⁹⁾。ちなみに両者の比重は病原体によって微妙に異なり、*C. albicans* や *Aspergillus fumigatus* などの日和見真菌に対しては多形核白血球やマクロファージが感染防御の主体をなし、これらの防御壁を越えた *Candida* に対してはさらに第二の防御反応として細胞性免疫が成立すると考えるのが妥当のようである。一方、病原性の強い細胞内寄生菌の *Histoplasma capsulatum* や *Sporothrix schenckii* の感染に対しては感作リンパ球と活性化マクロファージが積極的に働くとされている。

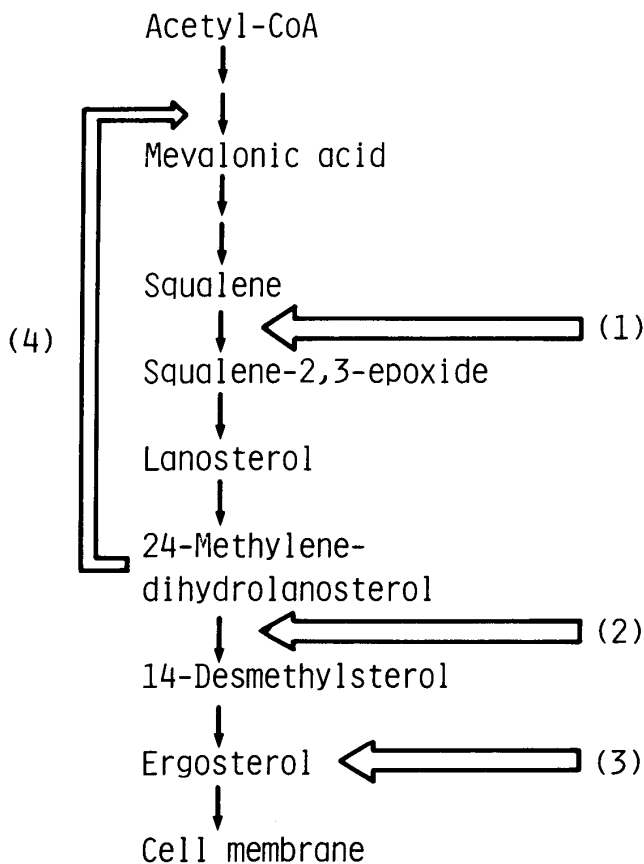


Fig. 6. Ergosterol synthetic pathway of fungi and mode of actions of antifungal drugs, (1) thiocarbamate and allylamine, (2) azoles (imidazoles and triazoles), and (3) polyene antimycotics. Additively (4), feedback inhibition by accumulated intermediates of sterol biosynthesis occurs.

V. 抗真菌性化学療法剤

現在わが国で市販されている抗真菌剤のうち静脈注射による全身投与が可能な薬剤は amphotericin B, 5-fluorocytosine および miconazole のわずか 3 剤であり, その他に経口投与の可能な薬剤はいくつかあるが, ほとんどは外用抗真菌剤である。β-ラクタム抗生物質 (細胞壁合成阻害剤) のように大きな効力を発揮している抗細菌性化学療法剤に比べて抗真菌性化学療法剤は著しく立ち遅れていると言わざるをえない。その理由の第一に, 真菌が真核細胞であるため宿主に対して為害作用のない選択毒性の高い薬剤が得られにくいことが挙げられる。第二に, 従来真菌症の大部分が皮膚や粘膜表層に限局する表在性真菌症であり, 主として局所的療法を特徴としてきたからであろう。しかし, はじ

めに述べたように日和見感染型の深在性真菌症が増加の傾向にあるため, より一層優れた抗真菌剤の開発が急務となっている⁵⁰⁾。ここでは上記の 3 剤の真菌細胞に対する作用機作を述べ, 臨床面で生じる問題と新しい試みなどについて簡単に触れる。

A. amphotericin B

amphotericin B などのポリエン抗生物質は真菌細胞膜のエルゴステロールに結合して膜の流動性を失わせ, 殺菌的に働く (図 6)。動物細胞の細胞膜コレステロールに対しては親和性が低いので選択毒性が得られる。しかし大量投与によって溶血性貧血や腎障害, 肝障害などの副作用を伴う危険性がある。そのため amphotericin B の塩酸メチルエステル誘導体を用いたり, リポソームに封入して静脈内に投与するなどの副作用の軽減策が試みられている。このような問題は残っているがこの薬剤は強い殺菌作用をもつので, 免疫能の低下した宿主 (immunocompromised host) には第一の選択剤である。なお口腔領域では鵝口瘡や義歯性口内炎にみられる *C. albicans* の異常増殖に対して amphotericin B のシロップを口腔内にしばらく停留させたあと嚥下する方法が治療効果を発揮している。

B. 5-fluorocytosine

5-fluorocytosine (FC) は合成のピリミジンアナログであり, 酵母様真菌に対してすぐれた選択毒性を有している。この薬剤は cytosine permease によって細胞内に輸送され, 次に cytosine deaminase によって脱アミノ化されて 5-fluorouracil (FU) に変わる。さらにいくつかの代謝的変換を受けて生成された 5-fluorodeoxyuridylate (FdUMP) がチミジン酸合成酵素 (thymidylate synthase) を阻害して DNA の合成阻害を起こす (静菌作用, 図 7)。その他にも FC の代謝物が多量に RNA に取り込まれ, 細胞内 RNA の uracil が fluorouracil で置換されて異常な RNA が合成される。FC が動物細胞に対して毒性を示さない理由は cytosine deaminase が動物細胞に全く存在しないかまたはごく僅かしか存在せず, cytosine permease 活性も低いからである。

FC は副作用が少なく強い選択毒性を有している反面, 耐性菌の出現頻度が高いという欠点がある⁵¹⁾。臨床から分離される *C. albicans* の 57% が FC 感受性, 6% が高度耐性, 残りの 37% が中間的耐性を示したという米国の報告がある。最近の遺伝学的研究によると *C. albicans* は通常 2 倍体 (diploid) であり, 中間的耐性株の薬剤

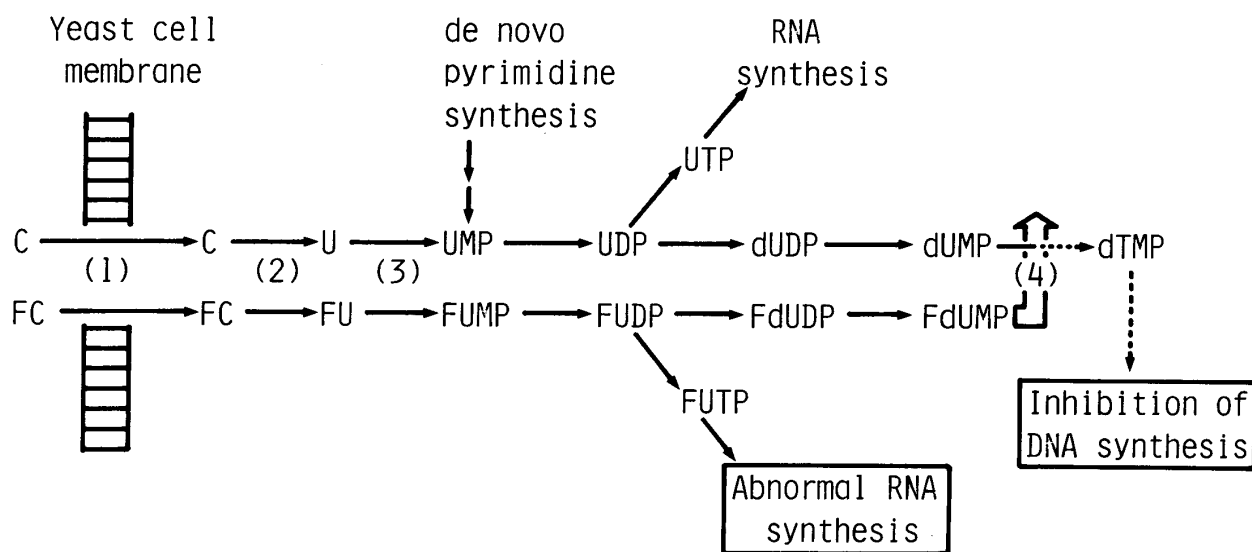


Fig. 7. Metabolism and mode of actions of 5-fluorocytosine in yeast. The normal pathways of *de novo* pyrimidine synthesis, pyrimidine salvage, and thymidylate synthesis are indicated schematically. Several enzymes involved in the pathways are: (1) cytosine permease, (2) cytosine deaminase, (3) uracil phosphoribosyltransferase and (4) thymidylate synthase.

Abbreviations: (F)C, (5-fluoro)cytosine; (F)U, (5-fluoro)uracil; (F)UMP, (5-fluoro)uridylylate; (F)UDP, (5-fluoro)uridine diphosphate; (F)UTP, (5-fluoro)uridine triphosphate; (F)dUMP, (5-fluoro)deoxyuridylylate; (F)dUDP, (5-fluoro)deoxyuridine diphosphate; dTMP, deoxythymidylylate. (Modified from ref. 51.)

耐性遺伝子はヘテロ接合体 (heterozygote) であることが分かった。従ってヘテロ接合体から分離 (mitotic segregation) によってホモ接合体 (homozygote) が生じると高度耐性と薬剤感受性菌が出現する (FCY/fcy → fcy/fcy + FCY/FCY; fcy は劣性の resistant allele)。さらに感受性を決める遺伝子 (FCY) は FU をリン酸化して FUMP に変換するのに働く uracil phosphoribosyltransferase (別名, UMP pyrophosphorylase) の産生を支配する遺伝子であることが分かり、劣性のホモ接合体 (fcy/fcy) はこの酵素が欠如するために高度耐性になることなどが明らかになった。その他にまれではあるが cytosine deaminase 活性の欠如によって耐性を獲得した株も知られている。

C. イミダゾール系抗真菌剤

イミダゾール系抗真菌剤 (miconazole, clotrimazole, econazole など) はこの 10 年間における抗真菌剤の開発の中心を占めてきた。miconazole 以外はすべて外用抗真菌剤である。この群の抗真菌剤は二形性の項でも触れたが、真菌のステロール合成系に作用し、 14α -demethylase (cytochrome P-450_{14DM} monooxygenase) によって触媒される 14α -メチルステロールの C-14 脱メチル化反応を阻害する。その結果、エルゴス

テロールの合成が阻害され、中間体の 14α -メチルステロールが過剰に蓄積して静菌作用を示すことが明らかにされた (図 6)。イミダゾール剤は動物細胞のミクロソーム画分中の cytochrome P-450 isozymes にも結合するが、真菌細胞の cytochrome P-450 に比べて親和性はかなり低い。この点がイミダゾール剤が優れた選択毒性を有する理由と考えられる。この薬剤は MIC (最小発育阻止濃度) 以上の高濃度では真菌の細胞膜リン脂質に対して直接的に傷害を与え、その結果膜輸送の障害および K イオンなど主要な細胞質内成分の漏出を促進して殺菌的に働く。ketoconazole は新しく合成された内服可能の水溶性イミダゾール誘導体である。腸管からの吸収が極めてよく生体内では低濃度で幅広い抗真菌スペクトルをもち副作用が少ないなどの特性を有している。この他にイミダゾール剤と同じ作用機作を示すトリアゾール系抗真菌剤やステロール合成経路の別の部位に作用 (squalene epoxidase 活性を阻害) するチオカルバミン酸およびアリルアミン系抗真菌剤の開発研究が進められている (図 6)。

有効な抗真菌剤の開発とは別に、既存の薬剤の作用効果を高めるためにさまざまな工夫がなされている。上述の amphotericin B の例の他に、FC と amphotericin B の併用療法が深在性真菌症の治療にしばしば行

なわれるのはその例である。amphotericin Bが真菌細胞膜の透過性を高め、FCの取り込み促進が起こることがすでに分かっているので、両者の併用によってFC耐性菌の出現とamphotericin Bの副作用が防止され、相対的な抗菌活性が期待されている。しかし将来は細菌に対する β -ラクタム抗生物質の例を見るまでもなく、真菌の細胞壁合成系を阻害するようなお一層選択毒性の高い作用機作をもつ薬剤の開発が望まれる。

VI. おわりに

分類の項で述べたように *C. albicans* の有性生殖はみつかっていないので、この菌の遺伝学的研究は *Saccharomyces* 酵母などに比較して極めて不利である。しかし最近、細胞壁を除いたスフェロプラストを融合させるいわゆる準有性生殖 (parasexual reproduction) の手法が確立し、また *C. albicans* の遺伝子クローニングなども始められている^{52,53)}。このような遺伝学的手法を *C. albicans* の細胞生理、形態変換、病原因子、薬剤の作用機作および耐性のしくみの解析に応用することによって、この日和見病原体についての基礎知識が飛躍的に深まり、臨床面への貢献につながるものと確信している。

謝 辞：稿を終えるにあたり、著者のひとり (新見) は *Candida* の研究テーマを与えて戴き生前に御懇篤なる御指導を戴いた恩師、元鹿児島大学歯学部長 徳永純一教授に深甚なる謝意を表し、御霊前に本紀要を捧げます。また終始暖かい御指導と御鞭撻を戴きました徳永美知子教授、ならびに常に的確な御助言を戴いた九州大学歯学部細菌学教室中山宏明教授に心から感謝致します。

引用文献

- 金子健彦, 加藤匡志, 崔 進, 阿部章彦, 発地雅夫: 最近の剖検例からみた深在性真菌症とその組織病変について, 真菌誌, 28, 241-249, 1987
- Shepherd, M. G., Poulter, R. T. M. & Sullivan, P. A.: *Candida albicans*: biology, genetics, and pathogenicity. Ann. Rev. Microbiol. 39, 579-614, 1985
- Odds, F. C.: *Candida and Candidosis*, Leicester University Press, Leicester, 382pp, 1979
- 山口英世, 宮治 誠, 西村和子: 病原真菌学, 南山堂, 東京, 413pp, 1987
- Meyer, S. A., Ahearn, D. G. & Yarrow, D.: Genus 4. *Candida* Berkhout., In; The yeasts, a taxonomic study, 3rd revised and enlarged Ed., N. J. W. Kreger-van Rij, Ed. 585-844, Elsevier, Amsterdam, 1984
- McGinnis, M. R., Ajello, L., Beneke, E. S., Drouhet, E., Goodman, N. L., Halde, C. J., Haley, L. D., Kane, J., Land, G. A., Padhye, A. A., Pincus, D. H., Rinaldi, M. G., Rogers, A. L., Salkin, I. F., Schell, W. A. & Weitzman, I.: Taxonomic and nomenclatural evaluation of the genera *Candida* and *Torulopsis*. J. Clin. Microbiol. 20, 813-814, 1984
- 山口英世: 最近の酵母分類の動向と医真菌学への影響, モダンメディア, 33, 2-13, 1987
- San-Blas, G. & San-Blas, F.: Molecular aspects of fungal dimorphism. CRC Crit. Rev. Microbiol. 11, 101-127, 1984
- Odds, F. C.: Morphogenesis in *Candida albicans*. CRC Crit. Rev. Microbiol. 12, 45-93, 1985
- Cassone, A., Sullivan, P. A. & Shepherd, M. G.: N-acetyl-D-glucosamine-induced morphogenesis in *Candida albicans*. Microbiologica 8, 85-99, 1985
- Chattaway, F. W., Holmes, M. R. & Barlow, A. J. E.: Cell wall composition of the mycelial and blastospore forms of *Candida albicans*. J. Gen. Microbiol. 51, 367-376, 1968
- Braun, P. C. & Calderone, R. A.: Chitin synthesis in *Candida albicans*: Comparison of yeast and hyphal forms. J. Bacteriol. 133, 1472-1477, 1978
- Chiew, Y. Y., Shepherd, M. G. & Sullivan, P. A.: Regulation of chitin synthesis during germ-tube formation in *Candida albicans*. Arch. Microbiol. 125, 97-104, 1980
- Chattaway, F. W., Bishop, R., Holmes, M. R., Odds, F. C. & Barlow, A. J. E.: Enzyme activities associated with carbohydrate synthesis and breakdown in the yeast and mycelial forms of *Candida albicans*. J. Gen. Microbiol. 75, 97-109, 1973
- 森田達也, 柳沼英哉, 小瀬木幸司, 野沢義則: 二形性真菌 *Candida albicans* の形質膜脂質の変動, 真菌誌, 26, 216-220, 1985
- Shimokawa, O., Kato, Y. & Nakayama, H.: Accumulation of 14-methyl sterols and

- defective hyphal growth in *Candida albicans*. J. Med. Vet. Mycol. 24, 327-336, 1986
- 17) Manning, M. & Mitchell, T. G.: Morphogenesis of *Candida albicans* and cytoplasmic proteins associated with differences in morphology, strain, or temperature. J. Bacteriol. 144, 258-273, 1980
 - 18) Brown, L. A. & Chaffin, W. L.: Differential expression of cytoplasmic proteins during yeast bud and germ tube formation in *Candida albicans*. Can. J. Microbiol. 27, 580-585, 1981
 - 19) Ahrens, J. C., Daneo-Moore, L. & Buckley, H. R.: Differential protein synthesis in *Candida albicans* during blastospore formation at 24.5 °C and during germ tube formation at 37 °C. J. Gen. Microbiol. 129, 1133-1139, 1983
 - 20) Dabrowa, N. & Howard, D. H.: Heat shock and heat stroke proteins observed during germination of the blastoconidia of *Candida albicans*. Infect. Immun. 44, 537-539, 1984
 - 21) Finney, R., Langtimm, C. J. & Soll, D. R.: The programs of protein synthesis accompanying the establishment of alternative phenotypes in *Candida albicans*. Mycopathologia 91, 3-15, 1985
 - 22) Russell, P. J., Welsch, J. A., Rachlin, E. M. & McCloskey, J. A.: Different levels of DNA methylation in yeast and mycelial forms of *Candida albicans*. J. Bacteriol. 169, 4393-4395, 1987
 - 23) Hubbard, M., Bradley, M., Sullivan, P., Shepherd, M. & Forrester, I.: Evidence for the occurrence of calmodulin in the yeasts *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*. FEBS Lett. 137, 85-88, 1982
 - 24) Muthukumar, G. & Nickerson, K. W.: Ca (II)-calmodulin regulation of fungal dimorphism in *Ceratocystis ulmi*. J. Bacteriol. 159, 390-392, 1984
 - 25) Gupta Roy, A. & Datta, A.: A calmodulin inhibitor blocks morphogenesis in *Candida albicans*. FEMS Microbiol. Lett. 41, 327-329, 1987
 - 26) Pall, M. L.: Adenosine 3, 5-phosphate in fungi. Microbiol. Rev. 45, 462-480, 1981
 - 27) 宇野 功, 松本邦弘: 細胞分裂および形質発現における cAMP の役割 (特集 酵母の分子遺伝学における最近の進歩), 細胞工学 4, 328-338, 1985
 - 28) Sypherd, P. S., Borgia, P. T. & Paznokas, J. L.: Biochemistry of dimorphism in the fungus *Mucor*. Adv. Microb. Physiol. 18, 67-104, 1978
 - 29) Niimi, M., Niimi, K., Tokunaga, J. & Nakayama, H.: Changes in cyclic nucleotide levels and dimorphic transition in *Candida albicans*. J. Bacteriol. 142, 1010-1014, 1980
 - 30) 新見昌一: *Candida albicans* におけるグルコース効果 その存在, 呼吸および細胞内 cAMP 濃度との関係, 福岡医誌, 75, 356-365, 1984
 - 31) Johnston, M.: A model fungal gene regulatory mechanism: the *GAL* genes of *Saccharomyces cerevisiae*. Microbiol. Rev. 51, 458-476, 1987
 - 32) Niimi, M., Tokunaga, M. & Nakayama, H.: Regulation of mannitol catabolism in *Candida albicans*: evidence for cyclic AMP-independent glucose effect. J. Med. Vet. Mycol. 24, 211-217, 1986
 - 33) Niimi, M., Kamiyama, A., Tokunaga, M. & Nakayama, H.: Evidence for a glucose effect on *N*-acetylglucosamine catabolism in *Candida albicans*. Can. J. Microbiol. 33, 345-347, 1987
 - 34) Matsumoto, K., Uno, I., Toh-e, A., Ishikawa, T. & Oshima, Y.: Cyclic AMP may not be involved in catabolite repression in *Saccharomyces cerevisiae*: evidence from mutants capable of utilizing it as an adenine source. J. Bacteriol. 150, 277-285, 1982
 - 35) Douglas, L. J.: Adhesion of *Candida* species to epithelial surfaces. CRC Crit. Rev. Microbiol. 15, 27-43, 1987
 - 36) Tokunaga, M., Kusamichi, M. & Koike, H.: Ultrastructure of outermost layer of cell wall in *Candida albicans* observed by rapid-freezing technique. J. Electron Microsc. 35, 237-246, 1986
 - 37) Cutler, J. E., Friedman, L. & Milner, K. C.: Biological and chemical characterization of toxic substances from *Candida albicans*. Infect. Immun. 6, 616-627, 1972
 - 38) Iwata, K.: Fungal toxins and their role in the etiopathology of fungal infections., In;

- Recent advances in medical and veterinary mycology, K. Iwata, Ed. 15-34, University of Tokyo Press, Tokyo, 1977
- 39) Shimizu, K., Kondoh, Y. & Tanaka, K.: Proteinase production and pathogenicity of *Candida albicans* I. Invasion into chorioallantoic membrane by *C. albicans* strains of different proteinase activity. Microbiol. Immunol. 31, 1045-1060, 1987
- 40) Röchel, R., Tegeler, R. & Trost, M.: A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. Sabouraudia 20, 233-244, 1982
- 41) Tsuboi, R., Kurita, Y., Iwahara, K., Hirofani, T., Matsuda, K., Negi, M. & Ogawa, H.: The biological role of keratinolytic proteinase (KPase) and its inhibitor on the growth of *Candida albicans*. In: The biological role of proteinases and their inhibitors in skin, H. Ogawa, G. S. Lazarus & V. K. Hopsu-Havu, Eds. 161-173, University of Tokyo Press, Tokyo, 1986
- 42) Kaminishi, H., Hagihara, Y., Hayashi, S. & Cho, T.: Isolation and characteristics of collagenolytic enzyme produced by *Candida albicans*. Infect. Immun. 53, 312-316, 1986
- 43) Barrett-Bee, K., Hayes, Y., Wilson, R. G. & Ryley, J. F.: A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeasts. J. Gen. Microbiol. 131, 1217-1221, 1985
- 44) Murphy, J. W.: Host defenses against pathogenic fungi. Clin. Immunol. Newslett. 7, 17-22, 1986
- 45) Fromtling, R. A. & Shadomy, H. J.: An overview of macrophage-fungal interactions. Mycopathol. 93, 77-93, 1986
- 46) Tokunaga, M., Tokunaga, J. & Niimi, M.: Leukocyte and macrophage movements under phagocytosis. Biomed. Res. 2, Suppl. 13-22, 1981
- 47) 野沢竜嗣: 食細胞と感染防御システム, 日細菌誌, 41, 783-795, 1986
- 48) Kirkpatrick, C. H.: Host factors in defense against fungal infections. Am. J. Med. 77 (4D) 1-12, 1984
- 49) Rogers, T. J. & Balish, E.: Immunity to *Candida albicans*. Microbiol. Rev. 44, 660-682, 1980
- 50) Kerridge, D.: Mode of action of clinically important antifungal drugs. Adv. Microb. Physiol. 27, 1-72, 1986
- 51) Whelan, W. L.: The genetic basis of resistance to 5-fluorocytosine in *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. CRC Crit. Rev. Microbiol. 15, 45-56, 1987
- 52) Whelan, W. L.: The genetics of medically important fungi. CRC Crit. Rev. Microbiol. 14, 99-170, 1987
- 53) Riggsby, W. S.: Some recent developments in the molecular biology of medically important *Candida*. Microbiol. Sci. 2, 257-263, 1985