

# 病巣に真菌の認められる馬の顆粒性皮膚炎について III

雨 宮 淳 三

## On the Granular Dermatitis in Horses which contains a Kind of True Fungus in the Foci III

Junzo AMEMIYA

(Laboratory of Veterinary Public Health)

### 緒 言

さきに著者ら<sup>1)</sup>は、九州地方の馬のいわゆる顆粒性皮膚炎の病巣より真菌を分離し、また組織切片にも認め報告した。その真菌の形態より、*Mortierellaceae*に該当するものとみなした。その後、症例を加えたが<sup>2)</sup>、分離した真菌は菌糸の形態および培養上の所見および二、三の生物化学的性状により同一の菌種とみなされる。

しかし分類上確定し得ないので分離真菌の生物化学的性状をつまびらかにし、また動物接種試験を行ない、本菌の病原性について、真菌学的、病理組織学的方法により検討したので報告する次第である。大別次の二部よりなる。

- I. 分離真菌の生物学的性状
- II. 動物接種試験

#### I. 分離真菌の生物学的性状

##### 材料および方法

1966年にいわゆる馬の顆粒性皮膚炎の症例（鹿児島県輝北町 報告<sup>2)</sup> 第1症例）より分離した真菌をサブロー寒天培地、ブドウ糖ペプトン水などで培養保存し得たので、これをおもな供試菌株とした。菌糸の形態および培地上の集落などの所見は前報告の菌株と同様とみなされる。一般的性状の外、病原性の検討に参考になると思われる点についても実験した。真菌の分類は細菌のそれとことなり、生物化学的方法は分類上の手段にあまり利用されていない。実験にあたり細菌学的方法に準じたが、E. C. CANTINO<sup>3)</sup>の報告、J. M. CROSE-MANN<sup>4)</sup>の報告を参考にした。培養は 37°C にて行なった。実験方法は便宜上成績の項で記述する。

### 成 績

#### A. 分離真菌の生物化学的性状

(1) Gelatin 液化性：常法のゼラチン培地を使用する。37°C 24時間～48時間で液化。本菌は gelatin 液化酵素をもつ。

(2) 栄養素としての窒素源 (Table 1. 2. 参照)。

##### a) 無機窒素化合物

N-auxanographic test 用培地 (glucose 2.0%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05% agar 2.0%) (以下N-培地と略記す)を使用した。

対照に N-培地のみ、およびペプトン加 N-培地を使用した。硫酸アンモンは利用し得たが硝酸塩 ( $\text{NaNO}_3$ )、亜硝酸塩 ( $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{KNO}_2$ ) を利用し得ない。

##### b) Proteins と Peptides

前述のように gelatin を液化し、peptone を利用する。keratin を N および C 源としてみ、N-培地、C-auxanographic test 用培地 ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%, agar 2.0%) (以下 C-培地と略記す) および C, N を含まない培地 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%, agar 2.0%) (以下 C-N-培地と略記す) のそれぞれに keratin を加えて行なった。keratin を C 源、N 源として利用し得る結果であった。collagen, C-N-培地に臍由来の collagen を所々に置き培養した。collagen のあるところに発育し collagen は変色したが collagen のない部分では発育し得なかった。hemoglobin についても同様にして行なった。これも利用し得た。

##### c) Amino acids

L-asparagine, sodium glutamate, L-arginine, L-cystine HCl, L-cysteine HCl は N 源として利用し得た。sodium glutamate 添加の N-培地上の発育が一番よく、L-cysteine は添加量を少なくすることによって発育したが、発育は cystine ほどでなかった。cystine, asparagine, arginine はそれぞれ同程度であった。tryptophan は利用しがたい。L-proline,

Table 1. Average colony radii and comparative densities of the tested fungus on the various media. (at 37°C)

	Average colony radius (mm)			Density	
	24 hs	48 hs	72 hs	24 hs	48 hs
Control					
No added N and C source	0	0			
No added N source	0	0			
No added C source	0	0			
Sabouraud's glucose agar	6	17		+++	+++
Keratin+no added N and C source	5	14		++	++
Keratin+no added N source	5			++	++
Collagen+no added N and C source	5			++	++
Hb+no added N and C source	5	20		+	+
Sodium glutamate+no added N source	6	12	16	+++	+++
L-asparagine+no added N source	5		28	++	++
L-arginine+no added N source	5		28	++	++
L-cysteine HCl+no added N source		12	20	+	+
L-cysteine HCl+no added N and C source	5	12		+	+
L-cystine HCl+no added N source	5	15		+	+
L-methionine+no added N and C source	5	12		±~+	+
Creatine+no added N and C source	5	10		+	+
Urea+no added N source	7	14	25	++	++

The basal media...No added N source medium.

(Glucose 2%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%, washed agar 2%)

No added C source medium.

( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%, washed agar 2%)

No added N and C source medium,

( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%, washed agar 2%)

Table 2. Availability to this fungus of various nitrogen sources in the basal medium containing 2% glucose as a carbon source.

Compound	Growth
No added N source	---
Ammonium sulfate	++
Nitrite ( $\text{NaNO}_2$ , $\text{KNO}_2$ )	---
Nitrate ( $\text{NaNO}_3$ )	---
Urea	+++
Pepton	+++
Sodium glutamate	+++
Asparagine	++
Arginine	++
Cysteine HCl	++
Cystine HCl	++
Hydroxyproline	++
Proline	++
Glycine	++

The basal medium...

Glucose 2%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%, washed agar 2%.

L-hydroxyproline, glycine も N源として利用し得たが, hydroxyproline は密度はあるが発育度は三者の中一番よくない, glycine は三者の中では利用度が高い.

L-methionine は C-N-培地で行なったが発育はよくない.

#### d) Creatine

C-N-培地を使用, かなり発育した.

#### e) Urea

N-培地で行ない, 尿素はオートクレーブにかける とアンモニアになるので, この点に留意した. 尿素を N源として利用し, よく発育した.

(3) 栄養素としての炭素源 (Table 3. 参照)

#### a) Monosaccharides

C-培地に 2%の糖をそれぞれ加えて行なった (pH 7.0 に調整). Table 3 のようで, hexoses の D-glucose (++++), D-fructose (++++), D-galactose

Table 3. Availability to this fungus of various carbon sources (2%) in the basal medium containing 0.5%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  as a nitrogen source.

Compound	Growth
No added C source	---
Glucose	+++
Fructose	+++
Galactose	---
Xylose	---
Mannitol	Trace
Glycerol	---
Maltose	++
Sucrose	Trace
Lactose	---
Glycogen	+++
Starch	+++
Inulin	---
Acetate	---
Citrate	---

(十). pentoses の xylose では陰性であった。その他の monosaccharides, polyhydric alcohols で mannitol を行なった。利用し得ないデータである。

#### b) Oligosaccharides

maltose, sucrose, lactose について行なった。maltose のみ利用し得て、sucrose, lactose は利用し得ない (sucrose (±) lactose (—))。

#### c) Polisaccharides

starch についてはヨードを加え、色の変化によっても判別した。よく発育した(++)。inulin は発育しがたい。glucose 培地で得た菌体は inulin, sucrose に直接働き得ないが酵母エキスを加えることによって利用し得る。との五月女<sup>5)</sup>の乳酸菌についての報告より、酵母エキス +C-培地, inulin または sucrose + 酵母エキス +C-培地で行なった。酵母エキス +C-培地でも生えるが、それに inulin または sucrose を加えた方が発育がよかった。inulin, または sucrose を加えた培地に発育した菌糸は粘稠物を産出した。

上記の供試菌はサブロー寒天培地からのもので行なった。

glycogen は真菌の栄養としてテストされないのが普通であるが、動物の筋組織には glycogen が含まれており、ことに馬は他の家畜より glycogen 量が多いので実験を行なった。peptone + agar + glycogen と peptone + agar + glucose で比較して行なった。37°C 培養, 24, 48 時間で glucose の方が発育がよかったが、96 時間でほぼ同量となった。glucose を含む培地で保存した菌株で行なったので、又 glycogen を含む培地で発育した菌株を用いて同様な実験を行なった。glycogen も glucose と同程度よく利用し得る。

#### d) Acetate, citrate

ともに利用できなかった。

(4) Thiamin, 添加と無添加では顕著な差はなかった。thiamin は不可欠の要素ではない。

(5) 上記成績のまとめ、L. AJELLO<sup>6)</sup> は *Polychytrium aggregatum* の栄養についての研究で、その keratin の利用性をその発育するコロニーの大きさと厚さで観察しているの、この方法に準じて行なった。本菌は keratin を加えた C-N-培地で keratin より C, N を栄養源として利用し発育する。J. S. KARLING<sup>7,8)</sup> の Keratinophilic Chytrids の研究にあげられる *Rhizophyidium keratinophilum*, *Phlyctorhiza variabilis* N. sp. の如き厳格な意味での keratinophilic でなく、keratin も栄養源としてま

た利用し得る程度である。一般に keratin を C 源, N 源として利用する菌を Dermatophytic fungi としておる。その代表的な *Microsporum gypseum* の毛の分解についての W. H. STAHL ら<sup>9)</sup> の研究で氏は菌体外酵素の問題にふれているが本菌ではそれまで検討しなかった。本菌が keratin および collagen を栄養素として利用し得ることは gelatin 液化能とともに動物体内における増殖と関係して興味ある性質である。nitrate-nitrogen は多くの真菌ですぐれた N 源となるが、*Phycomycetes* の中に利用できないものがあり、本菌も利用し得ない。CZAPEK DOX 培地に生えがたい理由もこのことによる。

Dermatophytic fungi に属する真菌および *Mucorales* の中 urea を利用しうるものがあるが本菌が urea を利用することは興味がある。また sodium glutamate を N 源としてよく利用し得る点も一つの特徴である。sucrose は真菌にとってよい C 源であるが mannitol ほど普遍的でない。とくに *Mucorales* の真菌は sucrose を利用できないのが普通であるとされている。なお lactose を利用し得るものは真菌ではきわめて少ない。真菌では mannitol を C 源として単独に利用し得ないか利用し得てもわずかししか発育しない。E. C. CANTINO<sup>3)</sup> によれば *Lower Phycomycetes* の中、glycerol でわずかに生えるものが少数あるとされているが本菌は利用し得ない。本菌の glycogen の利用度はよく、glucose と同程度とみられる。

### B. 分離真菌のその他の性状

#### (1) glucose からの酸の産生

ブドウ糖 ペプトン水 (pH 7.2 および pH 6.4) 37°C, 室温とに培養したがどちらも終末 pH は 4.6 であった。37°C と室温では pH 4.6 になる時間は 37°C の条件の方が短く 37°C の方が発育しやすいことを示した。産出された酸は FeCl<sub>3</sub> 液の作用 (Boas の反応)<sup>10)</sup>, UFFELMANN の反応<sup>10)</sup> で乳酸とみなされる。また FeCl<sub>3</sub> 添加の方法<sup>10)</sup> により醋酸を認める。D. PERLMAN<sup>11)</sup> の報告の方法および精密な方法による定性定量は行なわなかった。

#### (2) 馬および家兎の血液添加培地上の発育状況 (Table 4. 参照)

馬および家兎の脱繊維血を用いそれぞれを寒天および普通寒天 (ブイオンを含む, pH 7.2 に調整) に加えた培地で発育状況を観察した。家兎血液添加培地は馬血液添加培地に比べ菌の発育密度が少ない傾向である。さらに糖を加えたものは加えた糖の量の差が菌の

Table 4. Average colony radii and comparative densities of the tested fungus on the various blood media. (at 37°C)

Medium (pH 7.2)	Average colony		Average colony	
	radius (mm) 24 hs	Density	radius (mm) 48 hs	Density
Agar (3%) 15cc	0	—	0	—
Agar (3%) 15cc+blood (Horse) 1 cc	8	+	15	++
Agar (3%) 15cc+blood (Rabbit) 1 cc	2	+	6	++
Agar (3%) 15cc+glucose 0.25g+blood (H) 1cc	8	+	16	+++
Agar (3%) 15cc+glucose 0.25g+blood (R) 1cc	6	+	12	+++
Nutrient agar (N.A)	15	+	25	+++
N.A 5cc+blood (Rabbit) 1 cc	16	+	30	+++
N.A 5cc+blood (R) 1.5 cc	17	+	30	+++
N.A 5cc+blood (Horse) 1 cc	16	+	30	+++
N.A 5cc+blood (H) 1.5 cc	16	+	30	+++
N.A 5cc+glucose 0.1g+blood (H) 1 cc	17	+	30	+++
N.A 5cc+glucose 0.1g+blood (H) 1.5 cc	17	+	30	+++
N.A 5cc+glucose 0.2g+blood (H) 1 cc	17	+	30	+++
N.A 5cc+glucose 0.3g+blood (H) 1 cc	17	+	30	+++

発育度に明確な差をつけなかった。しかし糖添加分と無添加分では明確な差がみられた。菌の発育した部分の培地の色は黄褐色に変色、透明度を増す。

(3) 胆汁末添加培地における発育状況 (Table 5. 参照)

胆汁末 1 g を蒸留水 12 cc に溶解し、サブロー寒天培地に加え、pH 7.2 に調整し、37°C 培養で 24 時間、48 時間後観察した。胆汁末添加量は B. G. L. B. 培地の胆汁末量を規準にしたもので 2% 胆汁末含有培地を規準に添加量を変えた。本菌の発育部位としての腸内条件の適否について推量する資料とするために行なったものである。2% 含有培地では発育を抑制される。

Table 5. Colony radii of the tested fungus on the Sabouraud's glucose agar (15cc, pH 7.2, 37°C) containing gall powder.

Added gall solution (cc)	(hs)	Colony radius in mm	
		24	48
3	24	0	0
	48	0	0
2	24	0	2
	48	2	2
1	24	2	5
	48	5	5
0	24	6	6
	48	17	17

1cc Of gall solution contains 3 mg of gall powder.

(4) 真菌および病巣顆粒中の Ca, Mg

試料として前報<sup>1)</sup> 第 3 例の菌株でシスチン添加ペプトン加ブイオン培地 (半流動) 上で発育した黄色の菌糸の塊と、前報<sup>1)</sup> 第 8 例の顆粒について次亜硫酸アルカリおよび *p*-nitrobenzenazoresorcine による微

量反応で両試料とも  $Mg^{++}$  は陰性、炎色反応で  $Ca^{++}$  は陽性、また  $K_4Fe(CN)_6$  によりベルリン青を生ずる方法で  $Fe^{++}$  の存在が認められた。 $Ca^{++}$  の量は wet weight で菌糸塊 0.022 mg/g、顆粒 0.030 mg/g であった。

## II. 動物接種試験

### 材料および方法

供試菌株は 1966 年鹿児島県輝北町で発生した症例より分離したもので、この症例の臨床上および組織学的所見ならびに菌の形態および生物学的性状は前記のようである。

実験動物として主として家兎を用いた。その理由は家兎の筋肉中の糖量が馬に近い点である。また接種菌糸の培地よりの完全な分離が困難であるので、培地の生体に与える影響があるとしても生体量の多い動物が実験しやすいと見なしたからである。

家兎を使用するにあたってはあらかじめ皮下接種により、マウス、モルモットと比較し、家兎の病変形成が短期間でかつ明瞭であった。また培地成分の影響については接種試験の結果、肉眼的に反応は認められなかった。家兎は体重 2~3 kg のものを使用した。系統などは考慮に入れなかった。本菌が培地含有 glucose の量を増加することにより発育が盛んになる実験結果を得たことより、皮下および筋肉内接種用に cortisone 投与家兎および alloxan 投与家兎を使用した。

ムコール症動物実験 (菌種は *Rhizopus sp. Absidia sp.* 使用) に alloxan を用い糖尿病をおこさせた動物を使用した H. BAUER<sup>18)</sup>, R. A. SCHOFIELD and

R. D. BAKER<sup>15)</sup>, D. ELDER and R. D. BAKER<sup>16)</sup>, W. H. SHELDEN and H. BAUER<sup>17)</sup> など<sup>13)14)</sup> の報告および cortisone 投与を用いた. H. BAUER<sup>19)</sup>, D. B. LOURIA and H. G. BROWNE<sup>12)</sup> の報告を参考にした. また A. SYMEONIDIS ら<sup>21)</sup> の報告も参考にした. cortisone として Dexamethason 1日量 1mg を毎日, 菌糸接種 5 日前より死の前日まで連続投与した. 血糖値は投与前 110mg/dl, 接種実験中 150mg/dl~200mg/dl であった. 血糖値の測定は簡便法 Dextrostix (Ames Co. 製) によった. alloxan は菌接種後, 2日にわたり 100mg/kg 続いて 140mg/kg 静注した. 血糖値は alloxan 投与前 110mg/dl alloxan 投与後 200~250mg/dl となった.

本菌種は孢子形成の条件が不明であるので, 実験には孢子を使用できず, 菌糸のみを用いた. 馬より分離し培地のみで保存の菌株と家兎を通した菌株を混合して接種した. 固形培地に一定密度に発育した集落の一定面積をとり, 生理食塩水で稀釈, 乳鉢で磨潰する. 鏡検で菌糸を確認し注射器により接種した. 心臓穿刺による接種には二重ガーゼで濾過した. 菌糸量の測定は乾燥重量で推定した. 一定面積の固型培地上の菌糸をとり, 加水後加温して培地を可能だけ融解除去し, 120°C, 30分で乾燥重量を秤量. 接種は皮下, 筋肉内, 心臓内を中心とし, 皮内, 腹腔内接種については最少限の例数を行なった. 家兎の死後すみやかに解剖, 病巣を真菌の培養に供し, 使用培地はサブロー寒天培地, 37°C 培養である. 病理組織はホルマリン固定, パラフィン包埋となし, 染色は H-E 重染色および PAS 染色である. 殺処分用家兎は頸動脈切開によった.

実験馬は主にサラブレッド種で, 馬術用に飼養中のものを用いた. 方法は上記の家兎の場合と同様であるが, ブドウ糖ペプトン水に培養した菌糸を接種した例もある. 検体は手術により病変部を摘出して用いた.

## 成 績

### A. 家 兎

#### 1. 皮下および皮内接種

皮下接種は肩部, 背部, 臀部を接種部位とした. 接種量 3~20mg (乾燥重量). 20例中 19例, 触診により硬結の形成を認めた. 例外の 1例は右臀部接種 7日後小さな硬結 (径約 0.7cm) 形成後, 点状に縮小し 82日後外部よりの触診不能で解体時全く消失していた. 19例中 1例は一部自然排膿した後, 痂皮を形成した. 接種後 48時間後術野より漿液を排出した例は

3例のみであった. またその時期に外部より結節を認め得る場合もあったが, これは普通 3~4日目で, 認められた.

結節が最大の大きさに達するまでの日数は無処置家兎, 5個の結節の平均が 35日, cortisone 投与家兎の 5個の結節の平均が 25日であった. 結節は長期 (100日) 観察した例 (3例) で依然存在した. この中 2例は縮小したが 1例には変動がなかった. 結節の大きさには供試動物の生理的条件, 接種菌量, 接種部位などの諸因子が影響すると推定される.

形は長球形が多い. 中には 2~3個に増え, 異形になった例もある. また次のように結節が大型化し, かつ移動した例も認められた. すなわち無処置家兎の左前肢上部接種, 菌糸量 5mg で 3日目触診により硬結を認め, 5日目 1.5×1.2×1.0cm, 20日目 3.5×5×2cm に拡大し, 30日目 3×4×2cm の結節とそれに接する 1.5×4.5×2cm の結節の 2個に, 判然と分離触診された. 40日目一部自然排膿, 50日目肢端方向に移動 4×2.8×2cm, 95日目左腋部に移動し 4×2×2cm の結節を形成した.

結節より採取した膿様物を直接鏡検し, また培養したところ, 接種後普通 15日目位のもの全部培養により菌糸を回収し得た. 中に接種後 30日目のものを直接鏡検出来て, 培養回収し得た例もあったが, 日数の経過したものは一般に菌糸の検出は困難である.

膿様物は一般に灰白色であるが, 中に帯黄灰白色, 淡紅色のものもあった. 無臭, 流動性なくチーズ様またはそれに近い粘度である. 結節の被包膜の厚さは区々である. 接種後 21日目 2cm<sup>3</sup> の結節の組織所見は次のようである. 病巣に壊死部が存し, 好酸球 (エオジン好性白血球), 偽酸球 (偽エオジン好性白血球) の浸潤が著明, リンパ球も認められた. また肉芽組織も認められる. 直接鏡検で菌糸の断片は認められたが培養は陰性であった. これらは化膿性炎症の像で結節は膿瘍と認められる.

菌糸を死菌にし (100°C 5分) 接種した例では 25日目 0.5cm<sup>3</sup> の硬結が出来たが 75日後消失した. 解体時も不明であった. またサブロー寒天培地の成分を接種したが, その際反応は認められなかった.

菌糸の皮下接種では膿瘍を形成した. 菌量は 3mg でも充分である. 菌量を 20mg に増加した例でも同様の膿瘍の形成を見た. これらの膿瘍の大部分は接種部位に限局され, 自然排膿例は 1例のみであったがそれも不完全な排膿に終わった. この実験に使用した家兎は 100日観察にとどまるが, この病変のため死を招く

ことはなかった。

皮内接種例では、腫脹後結節を形成するものと初期腫脹せずに結節を形成するものがある。

皮膚に肉眼的にいわゆる顆粒をふくむ結合組織の増殖した例を挙げると下記の通りである。

cortisone 投与例で皮下および筋肉内接種したもので接種部位でない部位の腰椎部下の皮膚に結節を形成した。1.5×1×0.5 cm 球形の病変部で断面に顆粒が認められた。組織像としては真皮に壊死巣が認められその一部は石灰化している。壊死組織の周囲には好酸球を主体とする著明な細胞浸潤が観察された。また壊死部を囲み毛細血管は多数新生し肉芽組織の増殖が認められた。PAS 染色により菌糸が壊死組織の中心部およびその周囲組織に認められた。腹部の同一部位の皮内と皮下に接種し接種後 35 日目に接種部位に 1×1.5×1 cm の結節が形成され、その組織内には PAS 染色で菌糸が認められる。わずかに壊死が認められ、膿瘍が著明、また肉芽も発達している。巨細胞も散見された。

他の例も同様腹部で接種後 16 日目 2×2×0.7 cm 皮下組織に達する顆粒を含む結節で PAS 染色により菌糸が多数認められ、その付近は壊死または類壊死 (Necrobiosis) を来し、一部好酸球浸潤が認められた。膿瘍形成も観察された。

## 2. 筋肉内接種 (Table 6. 参照)

無処置家兎および cortisone 投与家兎 alloxan 投与家兎の背部の中央部、臀部などに接種した (菌量は乾燥重量 3~10 mg)。接種部位全部に病変を起し肉眼的にワックス様変性のもまた肉芽腫様病変であった。その他少数例で接種後数日の例では筋肉間に膿様

物を認めた。大型のものは No. 5 の例で、接種後 23 日目、部位は左背部中央、8×6.3 cm 厚さ 2.7 cm におよんだ。7 例中最少が 3×3 cm 厚さ 2 cm。臀部接種の 2 例とも接種後 9 日目と 12 日目に後軀が起立不能になった。

病変部に刀で断面をつくったところ抵抗を感じる顆粒を認めたものは無処置家兎 1 例、cortisone 投与家兎 2 例であった。その他病変部が皮膚と癒着したもの、また骨膜、胸膜に病変部が達した例もあった。顆粒は不整形で灰白~帯黄灰白色で径 0.2~0.3 mm、その培養により接種した菌を回収し得た。病変部の病理組織像は壊死が強く、筋組織は萎縮、壊死し、わずかしか残存せず、肉芽組織におきかえられている。壊死部の周囲には巨細胞の出現が認められる。PAS 染色で壊死部の中央および周辺に菌糸を確認できる。これらは H-E 重染色ではわずかに菌糸と推定される。種々の細胞の浸潤がみられるが好酸球、偽酸球の浸潤が著明で No. 2. 4. 5. 6. 7 に認められる。また No. 4. 5. 6 は壊死が甚だ顕著に認められた。

接種部位以外では接種後 7 日の例ですでに胸大動脈中膜に壊死を伴う肉芽の形成が認められた。この例はその他の臓器では真菌による変化は認められない。接種後長期のもので、cortisone 投与例では 1 例 23 日目、他の 1 例は 24 日目に斃死したが、両例とも胸腹部大動脈にそれぞれ長さ 6 cm、横径 0.7 cm および長さ 2.5 cm、横径 1 cm の白色の結節を認めた。大動脈中膜に壊死を伴う肉芽の形成をみる。その中 1 例では接種部位から離れた腰椎部下の皮膚に同様病変の形成を認めた。その他この接種例の中で肺の水腫を認めた

Table 6. Intramuscular inoculation of the tested fungus in rabbits.

Rabbit No.	Interval from inoculation to death, days.	Location of lesions		Remarks
		Inoculated muscles	Extramuscular	
1	7 (died)	3×3×2 cm N+G+GC+H	aorta N+~#G+GC+H	Hyposthenia
2	11 (killed)	4×3×2 cm N+G+GC+H		
3	20 ( " )	6×2×2 cm		
4	21 ( " )	3×3×3 cm N##G##GC+H		
5	23 ( " )	8×6.3×2.7 cm N##~##G+GC+H	aorta corium N+G+GC+H	Cortisone
6	24 (died)	5×3×2 cm N##~##G+GC##H	aorta N+~#G##~##GC##H	"
7	17 ( " )	7×4×2 cm N+G+H	aorta kidneys, peritoneum, N+G+GC+H suprarenal body	Alloxan diabetes

N...necrotic area G...granulated area GC...giant cells H...hyphae

が真菌による病変であるとは認められなかった。

alloxan 投与 17 日目に斃死した例では大動脈中膜の真菌性の病変さらに腎臓にも病変が認められた。また真菌性化膿性の腹膜炎が認められた。

全例に接種部位筋肉に病変を認めた外、7 例中 4 例に大動脈、1 例に腎臓、1 例に腹膜および皮膚真皮に病変がみられた。

接種部位以外の病変について下に記す。

大動脈 大動脈の病変は顕著で、No. 1, No. 5, No. 6, No. 7. の諸例に観察された。病変部は肉眼的に白く見え、大動脈壁が著しく肥厚していた。病変部大動脈は長さ 6 cm, 横径 2 cm に達するものもあり (No. 5), 内膜は正常であるが、動脈を切開するに灰白色の病巣を認めその中に顆粒を含むものがある。病巣の一部または顆粒を培養すると真菌を回収し得、またその菌を他の家兎に接種し病変を形成し得た。

大動脈の組織像は中膜の所々に中心部壊死を伴う肉芽の形成が見られ、中心壊死部には細胞の破砕物、変性した核の残渣がみられ、PAS 染色により真菌も認められる。その周囲は肉芽で、壊死部に近い部位には異物型またはラングハンス型巨細胞の出現もみられる。肉芽は毛細血管の発達が比較的良好、形質細胞、好酸球の浸潤を認める。全体として肉芽のよく発達した真菌による慢性特殊性炎の像を呈する。No. 1, 6, 7. 家兎大動脈病変の肉眼的所見は病変部の大きさに差はあるが、他は同様で、また組織像も No. 1 と同様な像を示した。菌数も多く、菌糸は PAS 染色で確認したが、H-E 重染色でも推定できる。実験家兎 7 例中 4 例で、大動脈に病巣を形成したが、cortisone および alloxan 処置家兎の外、無処置家兎に 1 例あった。この 1 例は衰弱著しい家兎であった。大動脈の病変部は接種部位に近い部位に発生した。なお、肉眼的に胸膜および腹膜が破壊されているところはなかった。内膜および外膜に病変がないことより大動脈を灌養する *Vasa vasorum* で病変筋から菌が入り病変を形成したものと推定される。

これらの病変は後述の心臓穿刺による接種例の大動脈病変とともに興味ある事実である。大動脈中膜の病変は人の梅毒の病変にあるが、中膜の病変は稀有であるとされている。

腎臓 (No. 7 alloxan 投与家兎例), 肉眼的に病変を認め、組織的に腎皮質に充、出血、尿細管に変性、壊死が認められ、細胞浸潤は少ない。PAS 染色により血管内に真菌が認められる。糸球体内に数は少ないが菌糸を観察する。ポーマン氏嚢壁が肥厚し、内容がわ

ずかしか認められない。これらの菌糸は膿瘍由来か血管由来か不明である。以上は真菌による腎炎の像である。なお腎臓中の菌糸は H-E 重染色では認められない。病変部の組織を培養し同様の真菌を回収し得た。

腹膜および副腎, No. 7 の腹膜炎および副腎の病変も真菌の存在により真菌性と認められる。

肝臓 肝臓は肉眼的病変を認めず、No. 6, No. 4 の組織像にうっ血、肝細胞萎縮を観察する。さらに No. 6 では細胞浸潤、肉芽組織増殖を認める。No. 7 は PAS 染色で赤紫色に染る物質が間質に認められるのみである。これらの肝臓組織に真菌が認められないので、これらの病変が真菌によるものかは不明である。

なお No. 5 の腰椎部下の皮膚真皮の結節は前述の如き病変で真菌によるものである。

以上のように筋肉内接種では筋肉内に著明な病変を形成した。組織像に壊死と肉芽組織増殖が顕著に認められる。一方病変部は拡大している。各個例では No. 5 と No. 6 の cortisone 投与家兎と No. 4 の家兎 (分娩後接種) はその病変の程度が著しい。少数例の実験であるが、cortisone 投与並びに alloxan 投与家兎は他の無処置家兎に比し、接種部位外の組織に伝播し病巣を形成する傾向を示した。cortisone の使用についてはその作用の複雑さにより真菌感染の実験で問題があるとされている (D. R. BOGGES<sup>20</sup>), D. B. LOURIA and H. G. BROWNE<sup>12</sup>)。勿論この実験では少数例のみであるためこのような問題については論及出来ない。この cortisone 投与例に関係のある腎臓の病変についてみても D. B. LOURIA and H. G. BROWNE<sup>12</sup>) の報告によれば、*Candida* をマウスに接種し、cortisone 投与例では腎臓に病変が出来ないこともあるとしている。

### 3. 心臓穿刺による接種 (Table 7. 参照)

無処置家兎 10 例について、心臓穿刺により菌糸の接種を行なった。実験は一度に実施したのではなく、No. 1, 2, 6 の 3 例, No. 7, 8, 9 の 3 例, No. 3, 5 の 2 例, 他は 1 例ずつそれぞれ別期間に実施した。接種菌量は 1~4 mg である。

Table 7 のように 10 例中 9 例が斃死した。接種部位に近い心筋内に 10 例中 5 例, また心膜に 10 例中 4 例に病変を認めた。また 10 例中 2 例の大動脈に病変が形成された。遠隔性の臓器では 10 例中 6 例で腎臓に病変部を認め、10 例中 2 例で肝臓に病変を形成した。また接種後 30 日間生存した 1 例では腸管に病変が認められた。その他の臓器では 1 例で食道壁、2 例

Table 7. Experimental inoculation of the tested fungus in rabbits by cardiocentesis.

Rabbit No.	Dry weight of hyphae injected, mg.	Interval from inoculation to death, days.	Location of lesions					
			myo-cardium	pericar-dium	kidneys	liver	aorta	the others
1	2	3 (died)	+		+			intestine
2	2	4 ( " )			+			
3	2	4 ( " )	+					
4	2	5 ( " )			+			
5	2	5 ( " )			(right kidney)	+		
6	2	11 ( " )	+	+			+	pleura
7	4	13 ( " )	+	+				"
8	4	14 ( " )	+		+			
9	4	20 ( " )		+				pleura, esophagus
10	1	30 (killed)		+	+	+	+	pleura

で肺臓に病変を認めた。各臓器ごとに下記に詳述する。

腎臓 No. 5 家兎の腎臓の病変は右腎に認められ、左腎に認められない。他の家兎は両腎臓に病変を認めた。No. 10 の腎臓の病巣は組織検査により判明したが、他は肉眼的に明瞭な病変を形成していた。これらの腎臓の病変の概要は下記のようなものである。

包膜の剝離は容易で包膜下に 3~4 mm の灰白色円形の膿様結節を認めた (No. 1, 2, 4)。表面には軽度の凹凸がみられる。断面に楔状の病巣が観察される (No. 1, 2, 4, 5, 8)。この病変は病変のある全腎臓の皮質に存在し、一部のものは髓質におよんでいた。間質および髓質に出血のみられる病変があり、髓質におよんでいるものは皮質との境界が不明である。

No. 5 家兎の腎臓は他方の正常腎臓の約 1.5 倍の大きさを示した。No. 1, 2, 4, 5, 8 はそれぞれ病巣から、培養によって真菌を回収し得た。No. 2 の腎臓は皮質髓質を問わず間質に膿瘍が不規則に認められ、所々に壊死病巣が認められる。PAS 染色により菌糸も認められる。No. 4 家兎の腎臓は同様に膿瘍、細胞浸潤、また菌糸が認められる。しかし壊死巣は認められない。

No. 5 の腎臓は間質に広範な細胞浸潤と膿瘍の形成が認められる。実質に圧迫壊死、糸球体出血、フィブリン析出、ボーマン氏嚢肥厚、尿細管上皮の変性、硝子様円柱の出現を認める。また菌糸が認められる。

No. 8 家兎の腎臓は壊死および膿瘍が顕著に見られ、細胞浸潤も著しい。病巣には菌糸が認められる。No. 10 家兎の腎臓病変の組織像には梗塞による壊死、線維化、石灰沈着が認められる。また、PAS 染色により菌糸も認めることが出来た。

以上の所見は次のように要約される。すなわち、No. 1, 2, 5 では糸球体の中に少数の菌糸が認められる。一般に実質に壊死、類壊死、間質に膿瘍、細胞浸

潤が認められる。糸球体は出血、充血、ボーマン氏嚢肥厚が見られ、結合組織の増殖はほとんど認められない。梗塞様の病変と腎臓で菌糸が増殖して壊死を起したと見られる病変が認められた。膿瘍にはその中に真菌を認めるものと認められないものがある。菌糸は壊死部および膿瘍中に認められるが時に細胞浸潤の中に認められることもある (No. 1)。接種後経過日数の少ないものに膿瘍の形成が多く認められ、接種後経過日数の多い病巣に膿瘍形成が少なく、かわりに壊死巣が多く認められる傾向がある。

肝臓 No. 5 家兎、各葉には所々に灰白色の大豆大病変が存在した。肝の小葉に関係なく、多発性膿瘍としてみられ、組織像は膿瘍、肝細胞の萎縮および壊死を現わす。しかし肉芽組織の増殖は認められなかった。PAS 染色により菌糸も認められる。菌糸とそれを含む膿瘍と膿瘍のみの像が観察された。また病変を認めなく菌糸のみ認められる像もあった。上記の菌体は内部が透明である。この例の真菌培養は陽性。

No. 8 家兎の肝臓の病変は肉眼的に病変を認めず、組織像により、軽い程度の肝細胞の壊死が認められた。

No. 10 家兎 (接種後 30 日自殺処分例) の肝臓病変は各肝葉全体に認められたが、方形葉は最も著しく、正常の色調と異なり灰白色を帯びて 12×12×6.5 cm の結節であった。組織像を観察するに、壊死著明、肝細胞萎縮が見られ、肉芽の増殖、線維化が認められた。グリソン氏鞘部に胆管増生を観察する。PAS 染色により菌糸の存在を認めるが菌糸の数は多くない。この例の培養は陰性に終わった。

心筋、心膜、大動脈、その他

心筋、心膜、心膜炎著しく心膜と胸膜と癒着し (No. 6, 7, 9) 心膜に膿様物が認められた (No. 10)。その他は灰白色の結節が心膜に認められた (No. 3,



6, 7). No. 6 の家兎では心臓の肥大が目立った。No. 6, 7 の家兎では胸膜炎を伴い胸膜に鳩卵大の炎症滲出物が認められた。No. 6 の家兎では大動脈に、No. 3 家兎では大動脈および肺動脈に病変を認めた。その他 No. 9 家兎では胸腔、食道および心膜と胸膜の癒着部に結節が認められた。心筋などに形成された病巣の組織学的変化は下記のようなものである。

No. 3 家兎例 (4 日目斃死) 膿瘍, 壊死, 細胞浸潤, 4 日で壊死が認められた。No. 7 家兎例 (13 日目斃死) 膿瘍, 壊死, 肉芽形成, 細胞浸潤が認められた。No. 9 家兎例の心膜と肋骨面胸膜の癒着部結節は約  $1\text{ cm}^3$  で顆粒を含む結節であり, 壊死と肉芽形成が顕著で, 巨細胞の出現がみられた。また, それぞれに菌糸が認められた。

肺臓 No. 6, 7 家兎に線維素性胸膜炎が認められ, その組織像は炎症像が強い。胸腔内の炎症滲出物は線維素と多核白血球で少数の菌糸が PAS 染色により認められた。滲出物の培養によっても菌糸の発育が認められた。

大動脈 No. 6 家兎では部位は大動脈, 長さ  $1.5\text{ cm}$ , 厚さ  $0.7\text{ cm}$  の外観灰白色の病変が認められた。大動脈を切断すると動脈内腔はほとんど閉塞されていた。この病巣内容を培養し真菌を回収し得た。この No. 6 家兎は上述のようで心膜, 心筋に病変があり, 心臓肥大し, 右肺胸膜, 肋骨面胸膜と癒着している。No. 3 家兎の大動脈病変は, 心臓よりの起始部で, 長さ  $2\text{ cm}$  にわたり著しく肥厚していた。肺動脈も同様であり, 起始部で両動脈とも内腔はほとんど閉塞されていた。なお No. 3 家兎は心筋に  $0.3\text{ cm}^3$  程度の小病変が認められた。

No. 6 家兎, No. 3 家兎の大動脈病変部の組織像はほぼ同様で, No. 6 家兎の大動脈病変部についての組織像を見ると内腔は血栓で満たされ, 内膜を明視し得ない。中膜より外方外膜にわたり著明な細胞浸潤が観察された。以上のように中膜, 内膜のほか, 外膜にも病変が認められ, 血栓および内膜の病変部に菌糸が多数認められた。中膜の肉芽性炎の外内膜に潰瘍の形成それとともない血栓形成があった。

食道 No. 9 家兎, 気管支より横隔膜に至る部の食道に長さ  $4\text{ cm}$  にわたり厚さ  $1\sim 1.3\text{ cm}$  の割面顆粒の存在する病変部が認められた。組織像を観察すると筋層に壊死, 肉芽組織増殖が認められ, 巨細胞が散見された。また PAS 染色で菌糸を認める。

なお, この食道病変よりの顆粒, および同じく No. 9 例の心膜癒着部の病変 (前述) よりの顆粒は培

養によって真菌の発育が認められた。

腸管 No. 10 家兎の盲腸に 3 カ所, 結腸の盲腸に近い部分に 3 カ所, 腸の筋層, 粘膜に径  $1\sim 1.5\text{ cm}$  の病巣が認められ, 病変が腸内腔におよんでいる病巣も観察された。組織像は強い壊死と肉芽組織の増殖が認められ, 巨細胞も多く出現していた。これもまた, 培養により菌糸の良好な発育を認めた。

肉眼的に病変が認められない脳, 脾臓などの組織を作り検討したが, 1 例脳に軽い浮腫の見られるものがあったが, 真菌との関係は認められなかった。脾臓に濾胞発達した感染脾の像を呈するものが認められた (No. 10)。病変の概要は以上のようなものであった。

心臓穿刺により菌糸を接種した家兎はすべて病巣を形成した。10 例中 9 例は斃死した。他の 1 例の病変も著明な病変であった。これらの病変は組織学的にも真菌学的にも真菌によるものであることが確認された。腎臓に病巣を形成した例と, 接種部位付近, 心筋心膜などに病巣を形成した例とに大別される。病変の組織像でみると, 筋組織, 肝臓, 腎臓など壊死が著明である。

肉芽組織の増殖は腎臓以外の組織および臓器では一般に盛んである。

膿瘍は腎臓および接種後経過日数の短い家兎の肝臓および心筋に認められた。

接種より斃死までの期間は接種菌量とは一致しない。菌糸の増殖部位の違いによるとみなされる。同一臓器に現われた病変, 例えば腎臓に形成された病変を例にすれば, その病変の程度に接種菌量の影響が見られた。

病巣からの検体培養の結果は真菌菌糸の回収は極めて良好であった。なお家兎の病巣より分離した真菌を再び家兎に接種し病変を形成し得た。またこれら家兎の病巣より分離した真菌の一部を馬に接種し同様の病変を形成した。

#### 4. 腹腔内接種 (Table 8. 参照)

無処置家兎 4 例に腹腔内接種を行なった。

接種菌糸量は  $3\text{ mg}$  (乾燥重量)。4 例中 No. 1 家兎は接種 4 日後の解剖時病変が認められなかった。

No. 2 家兎は接種後 5 日目解剖, 横隔膜に灰白色結節を認める。径  $0.5\sim 0.6\text{ cm}$ , 厚さ  $0.2\sim 0.3\text{ cm}$  の円形のもの数個である。その組織像は出血, 水腫を伴う膿瘍の像で PAS 染色により菌糸が認められる。結節の内容物を培養し, 真菌を回収し得た。

No. 3 家兎は接種後 17 日目斃死, 接種部位皮下に  $2\text{ cm}^3$  の灰白色でやや硬い結節が認められた。病変部

は一部真皮を含み腹壁にわたっている。その他、接種部位付近皮下織に  $0.7\text{ cm}^3$  の灰白色結節が4個認められた。大網にも二十数個の約  $0.3\text{ cm}^3$  の灰白色の結節が認められた。また腸管では盲腸に  $1\times 1\times 0.5\text{ cm}$  の灰白色結節が付着している。その他、腸間膜に径  $0.5\sim 0.7\text{ cm}$  の円形灰白色の結節10個が認められた。腸の一部は腹膜と癒着している。肝臓に径  $0.2\sim 0.3\text{ cm}$  の灰白色、不正円形の病変の散在するのを認める。膀胱体外面に径  $2\times 2\times 0.5\text{ cm}$  の灰白色結節が存在し、断面は白く硬くない。腎臓、肺臓、大動脈などに病変は認められなかった。

No. 4 家兎は接種後28日目斃死、横隔膜に灰白色結節7個が認められる。大型のもの ( $2\times 2\times 0.8\text{ cm}$ ) は3個、小型のもの ( $0.5\times 0.5\times 0.3\text{ cm}$ ) は4個。大網に同様、小型結節 ( $1\times 1\times 0.5\text{ cm}\sim 0.5\times 0.8\times 0.4\text{ cm}$ ) 8個。内斜走筋に小型結節 ( $1.5\times 1.5\times 1\text{ cm}$ ) を認める。結節はいずれも断面灰白色で、やや硬い。胃の小彎外面に大型 ( $4\times 4\times 3\text{ cm}$ ) の炎症滲出物があったが、胃粘膜には異常を認めない。肝臓の病変は内側右葉および方形葉の横隔膜面に著しく、また内臓面にいたる鋭縁に著しい。外円の左葉が同様でとくに内臓面において胃肝間膜と癒着していた。右葉の病変部は少ない。病変部と正常部との境界は明確で病変部は灰白色の結節であり肝臓全体は変型している。その他膀胱体左背面に  $2.5\times 2.5\times 0.6\text{ cm}$  の灰白色結節が認められ、その断面は灰白色で硬くない。

No. 3, No. 4 家兎の腸間膜結節の組織像をみるに菌糸数の多い壊死巣とそれを囲んで肉芽がよく発達した像でことに新生血管に富んでいた。また No. 3, No. 4 家兎の大網の結節も同様に菌糸数多く分枝の状態の長い菌糸が認められた。壊死、肉芽組織の増殖は前例と同様であるが巨細胞の出現が著明であった。No. 3 家兎の腹部の病巣の像は類壊死の状態でその中に菌糸が認められる。肉芽はよく発達し、細胞浸潤ことに好酸球の浸潤が著明である。No. 4 家兎の肝臓は心臓穿刺 No. 10 の肝臓所見と同様である。No. 3, No. 4 家兎は腹腔内広く病巣を形成し肝臓におよんだ

が胸腔には変化が認められず、また腹腔内でも腎臓、大動脈に病変は認められなかった。No. 2 家兎の横隔膜の病巣が接種後5日で形成されたように、腹腔内接種では早期に病巣が形成された。

## B. 馬

### 皮下および皮内接種試験

さきの報告の通り、鹿児島県国分市の症例（前報の第3症例）より分離した菌株について馬に菌糸の皮下接種を行なった。大要は24時間後の反応著しく、著明な腫脹が認められ、48時間後漿液が滴下した。接種後5日目に硬結径  $5\text{ cm}$ 、円形、厚さ  $2\text{ cm}$  の硬結を切除、組織像を観察するに軽度の好酸球浸潤を伴う軽度の炎性肉芽の像を呈した。その後家兎試験に使用の菌株により下記のように接種試験を行なった。接種試験の目的の外、一定間隔を置いて接種し、病変の差をあわせて検討した。試験は同一馬で行ない、手術により病巣を摘出した。

皮下接種1 接種量  $8\text{ mg}$ 、接種部は下腹部、接種後腫脹、24時間後径約  $10\text{ cm}$ 、厚さ約  $3\text{ cm}$ 、円形、48時間後  $15\times 20\text{ cm}$ 、厚さ約  $4\text{ cm}$ 、その後腫脹次第に減じ硬結化し、20日後切開手術時の硬結は径  $7.5\text{ cm}$ 、ほぼ円形、厚さ約  $2\text{ cm}$  である。摘出した硬結部の中心部は無臭で流動性のない膿様物を含み、その周囲に肉芽を認める。出血部あり、また病巣深部は腹膜に癒着し切開除去するのがむずかしかった。組織像は筋組織の萎縮、壊死が著しく好中球、好酸球（エオジン好性白血球と認められる）、リンパ球、その他形質細胞に近い原形質が大きくエオジンに好染する細胞などの浸潤が認められ、肉芽組織の増殖が観察された。膿様物の真菌培養は陰性に終わった。

皮下接種2 接種量同じく  $8\text{ mg}$ 、接種部は胸前部、接種後円形腫脹、24時間後径約  $10\text{ cm}$  厚さ  $3\text{ cm}$  の腫脹。48時間後径約  $20\text{ cm}$ 、厚さ約  $5\text{ cm}$  に拡大し、その後腫脹次第に減じ、硬結して20日後切開手術時の硬結は約  $8\text{ cm}$ 、厚さ  $2\text{ cm}$ 、ほぼ円形であった。病巣に瘻管 ( $2\times 1\text{ cm}$ 、深さ  $2\sim 3\text{ cm}$ ) が認められる。組織像は1に同じく膿瘍部を中心として、その周囲に

Table 8. Intraperitoneal inoculation of the tested fungus in rabbits.

Rabbit No.	Dry weight of injected hyphae, mg.	Interval from inoculation to death, days.	Location of lesions
1	3	4 (killed)	no lesion
2	3	5 ( " )	peritoneum, diaphragm
3	3	17 (died)	peritoneum, diaphragm, intestine, bladder, liver
4	3	28 (killed)	peritoneum, diaphragm, bladder, liver

肉芽組織の増殖が認められた。本例も上記同様培養陰性であった。

皮下接種 3 接種量 20 mg, 接種部胸部前部, 接種後腫脹し 24 時間後 30×7 cm, 厚さ約 4 cm, 9 日後切開時は径 7.5 cm, 厚さ 2 cm, 形は瓢箪形で中心部に薄紅色膿様物を含有し, 表面波動性を欠く。サブロー寒天培地およびハートインフュージョン寒天培地で 37°C 培養し, 真菌を分離し得たが細菌は分離出来なかった。また膿様物を直接鏡検するに少数菌糸が認められた。病変部の組織像を観察するに, 筋組織の萎縮, 壊死が認められ, 好中球, 好酸球, リンパ球の浸潤が著しい。一部線維芽細胞が出現し肉芽組織の増殖を認める。PAS 染色によって菌糸は上記浸潤細胞中にわずかに認められた。

皮下接種 4 接種量 15 mg, 接種部下腹部, 接種後腫脹し 3 日後手術除去, 病変部の大きさは径 6 cm 円形, 厚さ 1.5 cm で硬結を認めない。真菌培養は陽性。組織には主としてリンパ球浸潤が認められ一部好酸球の浸潤も認められた。

上記のよう皮下接種例は 4 を除き一種の著明な肉芽性炎の像を呈した。1, 2 とも培養により菌が証明されず, 3 も菌数がごく少数である。対照に培地成分を生理食塩水に希釈して接種したが, 反応は認められなかった。

他に皮内接種を試みたが 5 回とも接種部位の腫脹, 漿液滲出, 硬結など上記皮下接種と同様な症状を呈した。

## 考 察

分離真菌の病原性の検討を主体においての考察であるので, 一部前報記載した真菌の性状についてもあわせて考察の資料とした。病原性の検討については動物接種試験が主体となるので, それを中心として他の実験成績の一部で病原性の検討に関係するところはその中で触れる。

### I. 真菌の生物学的性状について

本菌の発育環境のうち温度と pH についてみるに, 37°C が発育至適温度であること, また pH 7~7.5 が発育良好で, pH 5.0 以下で発育しがたくなり, pH 4.6 で発育を停止することは, 本菌が生体内で充分発育しうる可能性を示している。P. M. STOCKDALE<sup>33)</sup>のあげている Dermatophytic fungi (*Trichophyton persicolor*) の発育温度および pH の性状を備えているのも興味あることである。

本菌の gelatin 液化性, collagen および keratin

利用性についてはともに病原性と関係深い。本菌栄養の N 源 C 源として collagen を利用し得る性質より, 間接的であるが collagen 水解酵素 collagenase を持つものと充分推定される。collagenase は *Clostridia* (ガス壊疽菌群) の生物活性抗体の一つとして詳細に研究されており, 結合組織の構造を破壊し, 組織の崩壊を助長するとされている。

兎の皮下, 筋肉に接種すると皮下組織の collagen, 筋線維の間質を溶解し, 強い出血—渗出性炎をひきおこし, さらに進むと壊死を起し, 病巣を拡げるとされている。本真菌の collagen 利用性は発病に関与し得る性状の一つとみなされる。糖分解力の強いこともこれに関与するものとみなされる。

### II. 動物接種試験方法について

動物実験は本菌の病原性を検討するためと病態の検討に役立たせるためである。

皮下, 筋肉内, 心臓内接種を中心とし, あわせて皮内, 腹腔内接種を行なった。皮内および腹腔内接種例は最少限例数である。

真菌の感染実験の接種方法として普通とられている方法は皮下, 静脈, 腹腔内が多い。菌糸の接種のために静脈のかわりに心臓穿刺によった。筋肉内接種は皮下接種による病巣の局所化を防止するためと, 筋に対する本菌の態度を観察するために行なった。

一般に自然感染経路によることが望ましいが, 感染成立のため確実な方法によった。cortisone および alloxan 投与家兎を用いたのもその理由である。cortisone の影響は種々の報告がある通り問題が多い。alloxan 投与家兎および無処置家兎での成績とあわせて考察した。心臓穿刺で心筋に病変が形成されたがこれは避けられないことであろう。

菌量の測定は, 固形培地の使用と菌糸の長さの不定のため一定菌数の測定に正確な方法を見出せなかった。乾燥重量によった。接種菌量の測定は大略のものである。心臓穿刺接種試験は菌量との関係があり, 菌量の測定には出来るだけ留意した。なお同一時に実験を行なったのではなく, 数例ずつ長期にわたって実施したため, 接種菌糸の発育状態に留意した。同一菌株のものでも人工培地上で長期間培養された場合と, 分離直後の場合と, また動物を通じた場合とでは当然その菌力の差があるのではないかと, この点考慮に入れた。すなわち動物を通じたものと, 培地上のみで保存したものを混合して使用し, また接種時の菌の状態を同一にするため同一培地上に, 一定の温度で, 一定時間培養することにした。以上が実験方法についてで

あるが、実験結果は病原性の検討に充分用いられる成績であった。

### III. 実験感染動物の病変の検討

実験動物病変の検討にあたっては、微生物学的ならびに病理組織学的方法を用いた。

真菌培養にあたっては病巣よりの真菌の分離の外、ハートインフュージョン寒天培地を使用し、細菌にも留意した。真菌培養の成績としては、皮下接種により形成された病変の中、病変形成後経過が長いものからは接種真菌を回収し得なかつたが、その他は全般的に各病巣から接種真菌のみを分離回収し得た。

家兎実験で病巣を形成し、それより分離回収したものの一部について再び馬に接種検討した。

実験の結果より全般的に病変を観察すると、下記の傾向が認められる。家兎の病巣は collagen に富む組織に形成される傾向がみられる。真皮、皮下織、筋、腹膜、大動脈壁などである。本菌の栄養源としての collagen 利用性と関連して興味あるところである。また弾性組織とも関係しよう。

筋肉内接種による病巣の形成部位より血行性とみられるが、感染家兎の解体時の血液の培養は陰性に終わっていることと、馬血液培地上の発育度からみて、本菌の血中での増殖はあまりないとみられる。血管中および血管壁に真菌菌糸の認められる頻度は少ない。血管の発達により臓器に病変が形成されず、脾臓、肝臓に病変がないか、または病変形成頻度が少ない。一方血管の発達していない腎臓の間質その他臓器でも間質部の変化が強い。血行性に播種されるが、血管の発達との因果関係は認められなかつた。またリンパ節への侵襲はほとんど認められない。真菌が組織内に入った場合、その附近の結合組織より段階的に病巣を形成する傾向が認められる。

病巣の分布をみると、心臓内接種例では腎臓、肝臓に病巣を形成した。腸管に1例心臓穿刺例で病変を形成した。接種後30日の例である。他の Mucormycosis で腸管と肝臓に病変のある自然例の報告は R. D. BAKER ら<sup>22)</sup>の報告がある。脳に伝播された例はなく、また脾臓、膵臓に病変を形成しなかつた。皮下接種、筋肉内接種をみると無処置家兎についてはほとんど局限された形である。比較的菌が播種された腹腔内接種の場合でも腹膜、横隔膜、肝臓に病変が形成されたが胸腔内臓器および腎臓には病巣の形成が認められなかつた。

大動脈の病巣形成は特徴のあることである。筋肉内接種で高度に大動脈中膜の変化を認めたが終末動脈に

近い *Vasa vasorum* に由来したもので、特異的な変化を来たしたのは興味ある事実である。人の梅毒の場合の大動脈中膜の病変は胸大動脈のみに形成されるが、この場合腹、胸兩大動脈に病変が形成された。

組織学的に動脈炎の巨細胞を伴う慢性肉芽性炎 Temporal arteries, Burger's disease とともに根本的に弾力線維をもたない中小動脈の炎症であり、大動脈中膜に変化を来す炎症としては、梅毒性の大動脈中膜炎をみるにすぎないと思われる。心臓穿刺による大動脈の病変は内膜、中膜、外膜に病変を有し血栓が形成されていた。直接大動脈により菌が播種され、内膜より外膜に病巣が形成されたものと見られるし、また心筋心膜に病巣があることより、大動脈の外側より内部に病巣が形成されたとも見られる。なお上記の病変と異なるが、大動脈外の動脈の血管壁、血管内腔、血栓に菌糸の発育が認められた *Phycomycetes* (*Rhizopus* sp., *Mucor* sp.) による人の自然感染症例の報告<sup>23)24)26)27)28)29)30)31)</sup>は多い。血管中と血管壁に優勢な菌塊があり、これが血栓を形成するとされている。また大動脈の病変の自然発生症例は R. FIENBERG and T. S. RISLEY<sup>25)</sup>によって報告されている1例がある。血栓と血管壁に真菌が認められる例では菌は *Mucorales* と認められた例であり、患者は糖尿病があり、虫垂破裂に原因する病変としている。なお、筋肉内接種による大動脈病変形成の4例中無処置家兎は1例で、それも衰弱著しい家兎で、他の健康な家兎にみられなかつたのは cortisone または alloxan 処置家兎の感受性の問題で、興味あることと考えられる。また一方全身衰弱の家兎であるが、無処置家兎に病変が形成されたことは、この病変を考える上に興味あることである。

個々の病変の肉眼的所見は成績の項で記載のようであるが、全般的に皮下および肝臓の結節、接種部位の筋の病変部は大型化した。又腎臓、肝臓、大動脈らの病変も肉眼的に明瞭であった。

病変の組織像には、中心部壊死を伴うよく発達した肉芽の形成が認められ、巨細胞の出現、好酸球の浸潤がみられる。壊死または類壊死は比較的早期に病巣の中心部にみられる。菌糸は通常、壊死または類壊死部に認められるが、時に膿瘍の中にもみられ、また細胞浸潤の間に認められる場合もある。組織中の菌糸は分枝状を呈し認められることは少ない。また多数塊をなして認められることも少なく、単体で認められる場合が多い。一般に菌糸は H-E 重染色で認められないが、大動脈中膜の病巣、接種部位の筋肉内病巣の菌糸

ではそれが菌糸と推定できる像を示した。菌糸の内部はしばしば不染性で透視出来る。また比較的長い菌糸で圧迫された形のものも認められる。組織切片作製中の影響による場合が多いとみられる。

壊死像を有した病変は筋、真皮、肝臓、大動脈などにみられ、その代表的病変を大動脈の病巣の例にとれば、中心に壊死、類壊死をもちその周囲は肉芽により包まれ、壊死部に近いところに異物型またはラングハンス型巨細胞の出現もみられる。肉芽は毛細血管の発達がよく形質細胞、好酸球の浸潤をみる。壊死部は細胞の破砕物、変性した核の残渣がみられ、PAS染色で真菌が認められる。

他の代表的病変の組織像は腎臓、肝臓、皮下織の病巣に認められる膿瘍の像で、その中に菌糸の存在が認められるものと然らざるものがある。なお、壊死部が内部に存在する膿瘍像もある。その他の病変として腎臓に梗塞様壊死、膿瘍による圧迫壊死像が認められる。

真菌と病変との関係について考察すると、下記のようなである。菌糸が組織中に入り増殖した場合、菌の代謝産物、或は酵素の如きものが毒素様に組織に作用するか、ただ単に異物として作用するか、また両方の形で作用するか、種々の生体反応がみられよう。侵入した菌糸の周囲に細胞が浸潤してくることは当然で、菌糸と細胞との関係で、菌の毒素様の作用があれば細胞が破壊され、その細胞の酵素で壊死をおこす。菌に毒素様の作用がない場合は菌の周囲に細胞浸潤し、その細胞は健全な形である筈である。この組織像は少ない。一方内に菌糸を含む壊死部と、それを取り囲む組織球の集積像、内に菌糸を含む壊死部を中心部に含んだ膿瘍像、菌糸の周囲に壊死とその部に細胞の崩壊残存がみられる像、菌糸が壊死部のエオジンに単染する無構造物に包まれている像などの菌糸を中心とした像を多く認める。以上の所見より菌の代謝産物、或は酵素様のものが壊死をおこすものと考えられる。さらに、壊死組織が細胞浸潤をおこし、また膿瘍を形成させるのであろう。菌糸が毒素様に作用しない場合、ただ異物としてのみ作用するのであれば、さらに単純な形の組織反応であろう。菌の変性した場合、死菌の場合にはこの像がみられる。菌の作用物質の中に酵素とみられるものがあることは前述の本菌の gelatin 液化性、collagen, keratin 利用能などの性質から推察できる。

菌の作用が強い場合か、或は菌が適切な組織に侵入し増殖が盛んな場合、傷害の程度が強く、病変部が拡大する。この場合、壊死および類壊死の存在、膿瘍の

形成、多核白血球の浸潤、肉芽組織の増殖が認められる。壊死部の周囲に巨細胞の出現も認められる。病巣に肉芽形成の認められることは、菌の作用が急激でないと考えられるが、一方肉芽の中でも真菌が存在することは、真菌の可成り強い抵抗性によるものとも考えられる。

菌の作用が弱い場合か、菌がその増殖に不適當な組織に入った場合、傷害の程度は弱くその範囲は小さい。多核白血球が浸潤するか小膿瘍を形成するからである。菌が変性したり死菌の場合も同様で、ついには菌は融解しよう。この場合も巨細胞が出現し、その中に菌糸の分層が認められることがある。

以上が病変の組織像の菌糸との関係についての考察であり、病変の大要である。

次に、これら病変の中で特徴の一つとみなされ得る病変について、馬の自然症例とあわせ記述する。すなわち巨細胞の出現と好酸球の浸潤と特異の壊死組織いわゆる顆粒の形成である。実験感染家兎で巨細胞は、異物型とラングハンス型の両型の出現が認められ、巨細胞内に菌糸の分層が認められることがある。馬の自然感染症例の病巣組織でも巨細胞の出現は認められ、また C. H. BRIDGES and C. W. EMMONS<sup>41)</sup> も木村、田熊<sup>40)</sup> も自然感染症例に見ている。

好酸球(エオジン好性白血球)の浸潤は実験感染馬にも早期に認められ、また馬の自然感染症例の病巣に顕著に観察される。なお前記 BRIDGES ら<sup>41)</sup>、木村ら<sup>40)</sup> も自然感染症例でこれを指摘しているところである。

顆粒の形成については、病理学的には副次的なものとされているが、肉眼的に顆粒と見なされるものが家兎では形成されたが、実験接種馬では認められなかった。家兎では、真皮、大動脈、筋、心膜、食道筋層などで認められた。その組織像は壊死が著しく、その周囲は肉芽の形成が著しい像であった。その壊死組織中に菌糸の存在を認め、また顆粒の培養によっても顆粒中に真菌の存在を確認し得た。筋肉内の病変では壊死の顕著な例において、肉眼的に顆粒は認められなかった。病巣に顆粒が必ず認められるとは限らない。家兎の組織像から顆粒は菌糸を含む壊死組織で、その中には細胞の崩壊、破砕物、変性残渣が見られる。顆粒は凝固壊死に属するものとする。組織像から見て馬の自然感染症例の病巣の顆粒も家兎のその組織像も同性質のものとする。顆粒の直接鏡検でも菌糸を認め得るが菌糸数は少ない。馬の自然感染症例の病巣の顆粒、いわゆる壊死組織で石灰変性は見出されな

った。また顆粒の化学的分析でも石灰変性は認められなかった。家兎では1例石灰変性を認めたが壊死組織が石灰化することは当然考えられることである。

木村ら<sup>40)</sup>はさきはその報告で顆粒は主として縦横に錯綜せる1種の糸状黴菌糸の聚落より形成せられ、かつ毎常多少のエオジン嗜好細胞の群簇を時にその周囲部に認め得られるとするしている。C. H. BRIDGESら<sup>42)</sup>は凝固壊死の病巣とみなし、顆粒の中にコラーゲン束と血管と推定されるものを認め、壊死している好中球、好酸球の浸潤を観察している。また直接菌糸を顆粒中に見ている。

馬の実験例では肉眼的顆粒の形成を認めなかった。真菌の性質上、生体側の影響を受け易いので、実験動物の生理的状态、接種菌量などが病変に関係しよう。したがって馬に関する今回の実験は一般真菌の感染実験として許容される範囲であろう。

以上病理組織学的検討および真菌分離の結果より人工接種による家兎および馬の病変は真菌による特殊炎症の像と認められる。その組織像は我々が前報において検討した馬の症例の組織像と本質的に同じものと認められ、本真菌は病原性を有することが証明せられたと考える。

第1報<sup>1)</sup>第2報<sup>2)</sup>の報告症例中沖繩の症例をのぞいた症例は20症例で、おもに南九州、鹿児島地方の症例である。真菌培養を行なった症例は12症例で、それぞれ真菌が分離された。組織学的検索を行なったのは18症例で、その中17症例に組織学的に病巣に真菌の存在が認められた。20症例の中19症例に真菌培養および組織学的検索の両者か、またはいずれか一方によって真菌の存在が証明せられた。その中真菌学的にも組織学的にも真菌の存在が確認出来た症例は10症例である。なお真菌およびハプロネマ幼虫両者を検出した症例は3症例であった。上記20症例中真菌による19症例外の1症例は内眼角直下の皮膚ハプロネマ症であった。

鹿児島島の症例の分離菌株(12菌株)については前述のようで、すべての菌株に孢子嚢の形成が見られないので同種と決定し兼ねるが、菌糸の形態、集落の性状、組織中の菌糸の染色性などより、同じ科に属するものとする。12菌株中の4菌株について馬に皮内、または皮下接種を行ない、4菌株とも同様接種部位に病変を形成した。馬の自然感染症例に他の科の真菌、細菌、寄生虫の幼虫などが検出されたが、全症例にわたるものでなく、その混在が発病の必須な要件とは言えない。真菌のみで発症させ得ることは動物実験が示

している通りである。

次に本症に関連する報告中、動物接種実験についてみると、木村ら<sup>40)</sup>の報告には顆粒性皮炎(馬のひむし)に真菌を認め培養したが、接種試験については未了のため報告されていない。またその後も報告がない。BRIDGESら<sup>41)</sup>も本症と同じ疾病と推定される北米テキサス地方の馬のPhycomycosisよりの分離菌の接種試験を行っていない。古くは本症類似の馬の疾患より真菌を分離培養し *Hyphomyces destruens equi* とした J. de HAAN, L. J. HOOGKAMER<sup>39)</sup> も接種試験陰性であったと報告している。また BRIDGESら<sup>41)</sup>の報告中に M. W. EMMEL は馬の Leeches よりの真菌の馬への接種試験を試み成功しなかったとある。

BRIDGESら<sup>41)</sup>は真菌学的にテキサス地方のPhycomycosisの原因菌は *Hyphomyces destruens* とことなるものと考えている。J. de HAANら<sup>39)</sup>の報告による顆粒の辺縁に菌糸が認められ、これには無数の胞子を伴っていると記しているが、我々の症例ではみられない。その他培地上の性状について記載されている範囲でもことなる点がある。本真菌は前報<sup>1)2)</sup>でも述べたように BRIDGESら<sup>41)</sup>の報告している菌と同種のものと同推察される。木村ら<sup>40)</sup>の報告している真菌とは、その真菌についての記載不十分のため比較し得ないが、組織像から同種のものと同推定される可能性はある。

van ULSSEN<sup>46)</sup>の報告による牛の流産原因菌としての *Mortierella polycephala* も接種実験はされていない(本真菌は *M. polycephala* とは形態学的にことなる)。

IV. 他のPhycomycosisとの組織上の特徴の比較  
Phycomycosisと称されているものの主要病原菌は通例、*Rhizopus* sp., *Absidia* sp., *Mucor* sp. (*Mucoraceae*), *Basidiobolus* sp. (*Entomophthoraceae*)があげられている。人によっては *Mortierellaceae*を加えている。好酸球についてみると、LIE KIAM JOEら<sup>34)35)36)</sup>の報告の *Basidiobolus* sp.による人の自然感染例では、eosinophilsの出現をインドネシアの症例で報告し、特徴と認めている。同じく *Basidiobolus* sp.によるアフリカの症例の D. B. JELLIFFEら<sup>37)</sup>の報告および A. M. WILSON<sup>38)</sup>の報告の中にも記載されている。また C. H. BRIDGESら<sup>42)</sup>は *Basidiobolus* sp.と同じく、*Entomophthoraceae*に属する *Entomophthora coronata*による馬の鼻腔の結節病変に eosinophilsの大浸潤を認めている。他方 *Rhizopus* sp., *Absidia* sp.による報告では、M. CHRISTIANSEN<sup>43)</sup>

が豚の淋巴節の慢性病変部に、また C. L. DAVIS<sup>44)</sup> が牛の例 (*Lichtheimia (mucor) corymbifera*) で認めている位である。

組織中での菌糸の染色性についてみると、*Rhizopus* sp., *Absidia* sp. は H-E 重染色法で染色されている。*Basidiobolus* sp. でも一応 H-E 重染色法で染色されるが、本症の組織中の真菌は H-E 重染色では容易に認められない。

巨細胞の出現は C. A. GLEISER<sup>45)</sup> が犬の腎臓の病変に見ている (菌株は培養してないので単に *Mucor-mycosis* としている)。M. CHRISTIANSEN<sup>43)</sup> も前述の例で (*Absidia* sp., *Rhizopus* sp.) その出現を認めている。その他 R. BAKER<sup>32)</sup> の報告にもあり、また T. D. ELDER<sup>ら</sup><sup>16)</sup> (*Rhizopus* sp.), A. SYMEONIDIS<sup>ら</sup><sup>21)</sup> (*Absidia* sp.) も実験感染例で認めており、また *Basidiobolus* sp. の例もその出現が報告<sup>34)35)36)</sup> されている。*Rhizopus* sp., *Absidia* sp. らの自然例<sup>23)</sup><sup>26)27)30)</sup> および実験感染例<sup>15)16)</sup> の組織内に、よく血管壁内および血管内の菌糸を認めているが、本症の自然発生例ではきわめて少ない。*Basidiobolus* sp. の例では LIE KIAM JOE<sup>ら</sup><sup>35)36)</sup> はその報告中で *Rhizopus* sp., *Absidia* sp. と比較してその像がみられないとしている。また本菌による病変はこれらの *Phycomycosis* に比べて肉芽組織の増殖が顕著である。

#### V. 自然感染成立についての考察

上記の実験より推察できるように、接種家兎で菌の侵入部位に病変を形成すること、および馬の自然症例が限局性であることより、馬の自然感染は経皮感染とみられる。自然例で毛包中に菌糸を見ていること、および潰瘍面のない病変の皮膚の表層に顆粒を認められることも経皮感染を思わせる。また本菌の *keratin* 利用性も一つの考え方を示している。すなわち皮膚面に本真菌が生存し得る可能性をもっている点である。本症は古くより創傷に継発するものとされて来たが、侵襲力の弱い真菌が生体内で生活を始める初期の段階には、このような要因が必要であると考えられる。肉眼的に認められない創傷もこれに含まれよう。また昆虫によることも考えられる。

自然発生例は田植と密接な関係があるとされている事実は、我々も観察するところである。田植時の田圃水温は 25~35°C とされている。この温度とこの時季の降雨も関係すると見なされる。また馬の使用目的である深耕も考慮に入れられよう。すなわち本菌種の属する *Phycomycetes* について、次のような報告がなされている。*Mortierella* は土壤中最も普遍的に存在するが、土壌上層 40 cm には存在せず、それより下層に

豊富に分布されるとされ、また J. WARCUP<sup>47)</sup> によれば、季節雨の降った 3~6 日後 *Mucor*, *Mortierella* および *Penicillium* が盛んに孢子囊柄を作るといふ。

一般に考えられることは、真菌の侵襲力の弱さから真菌の汚染があったとしても、また侵入の好機があっても増殖するまでに、言いかえれば侵入しても発病する機会は非常に少ないとみられる。一方、感染体側の生理的条件が感染成立に関係すると考えられる。このことは実験家兎症例では *cortisone* または *alloxan* 投与家兎において示されよう。また他の実験的家兎の *Phycomycosis* で論及されている問題である<sup>16)</sup>。

馬の筋肉含有糖量が一般家畜のそれに比べて著しく高いことも感染成立に関係すると推定される。とくに田植時の農馬の急激な重労働の連続は、一過性の生理的異状状態を来すのではないかと考えられる。これらの事実も感染成立に関与する因子と推定される。

#### 総 括

馬のいわゆる顆粒性皮膚炎の症例より分離した真菌 (*Phycomycetes* に属すると見なされる) の生物学的性状を検索した。下記のような性状が認められ、本真菌が生体内で发育し、病原性を示す可能性が認められた。

1. *gelatin* を液化し、*collagen*, *keratin* を炭素源および窒素源として利用し得る。
2. 窒素源として尿素、硫酸アンモニウムを利用し得るが硝酸塩 ( $\text{NaNO}_3$ )、亜硝酸塩 ( $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{KNO}_2$ ) は利用できない。ペプトンが窒素源としては最良である。
3. 炭素源として *glycogen* も *glucose* 同様よく利用される。*maltose*, *fructose* も利用し得るが *sucrose* は利用し得ない。
4. 发育至適温度と pH は 37°C, pH 7.0 である。

次に本真菌の動物接種実験について家兎を使用して行なった。家兎を 4 群に分ち、第 1 群には皮下および皮内接種、第 2 群には主として背部筋肉内に接種、第 3 群は心臓内に、第 4 群では腹腔内に接種した。

真菌接種によりいずれの群にも真菌性の中心部壊死を伴う肉芽性病巣を、接種部位および遠隔の臓器に認めた。組織学的には病巣は中心部の滲出性の壊死部と、それを囲む巨細胞を含む肉芽組織の形成がみられ、結核結節に類似した特殊像を示した。PAS 染色で真菌は主に中心壊死部に認められた。

第 2 群では 7 例中 4 例、第 3 群では 10 例中 2 例に胸腹部大動脈中膜に肉芽の形成を認めた。その他肝臓、腎臓、肺臓などにも真菌による結節性病変が認め

られた。本真菌が単独で家兔に病原性を示すことが実験的に認められた。この病理組織像は広義の馬の顆粒性皮膚炎の組織像および真菌を馬へ接種した場合、また家兔より馬へ再接種した場合の病変組織像に極めてよく類似していた。

### 結 言

前報告<sup>1)2)</sup>と本報告を含めての結言は次のようである。主に南九州地方のいわゆる顆粒性皮膚炎に該当する臨床所見を有する症例(20症例)の真菌学的、病理組織学的検索を行ない、病巣に真菌の存在を確認した(19症例)。その中にはその病巣にハプロネマ幼虫と混在する症例も認められた(3症例)。また沖縄石垣島の症例はハプロネマ症であり、真菌による症例は確認し得なかった。

病巣より分離した真菌は真菌学上 *Phycomycetes* に属するものと見なされ、本菌は家兔および馬に病原性を示した。この実験的病理組織像は上記自然発生の馬の皮膚炎の組織像に極めてよく類似し、本真菌感染が馬のこの種における皮膚炎の病原である可能性を示す所見と考えられた。

以上より広義の馬の顆粒性皮膚炎の中に藻菌類に属する真菌による皮膚炎が含まれ、馬の皮膚 *Phycomycosis* が存在することが確認された。

本研究に際し種々助言を賜わった、東大犬越伸博士、鹿大農学部西山実光博士、鹿大医学部福西亮博士に深謝する。

なお本研究は文部省科学研究費の補助による。

### 文 献

- 1) 雨宮淳三・西山実光：鹿大農学術報告，**17**，215~224 (1966)
- 2) 雨宮淳三・西山実光：鹿大農学術報告，**18**，185~191 (1968)
- 3) CANTINO, E.C. : *Am. J. Botany*, **36**, 95~112 (1949 a)
- 4) CROSEMANN, J.M. : *Am. J. Botany*, **41** 302~310 (1954)
- 5) 五月女伸一：乳酸菌の研究(北原覚雄編著)，307~318, 東大出版会 (1966)
- 6) AJELLO, L. : *Am. J. Botany*, **35**, 135~140 (1948)
- 7) KARLING, J.S. : *Am. J. Botany*, **33**, 751~757 (1946)
- 8) KARLING, J.S. : *Am. J. Botany*, **34**, 27~32 (1947)
- 9) STAHL, W.H. et al : *Arch. Biochem.*, **27**, 211~220 (1950)
- 10) 藤井暢三：生化学実験法(定性篇)，23~27, 南山堂 (1962)
- 11) PERLMAN, D. : *Am. J. Botany*, **37**, 237~241 (1950)
- 12) LOURIA, D. B. and H. G. BROWNE : *Ann. New York Acad. Sc.*, **89**, 39~49 (1960~1961)
- 13) BROWDER, A. A. and R. G. PETERSDORF : *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **115**, 332~336 (1964)
- 14) CRUICKSHANK, A. H. : *J. Path. Bact.*, **67**, 323~333 (1954)
- 15) SCHOFIELD, R. A. and R. D. BAKER : *Arch. Pathology*, **61**, 407~415 (1956)
- 16) ELDER, T. D. and R. D. BAKER : *Arch. Pathology*, **61**, 159~168 (1956)
- 17) SHELDON, W. H. and H. BAUER : *Am. J. Pathology*, **34**, 575 (1958)
- 18) BAUER, H., J. F. FLANGAN and W. H. SHELDON : *Am. J. Pathology*, **31**, 600 (1955)
- 19) BAUER, H. : *Am. J. Pathology*, **32**, 627 (1956)
- 20) BOGGES, D.R. et al : *Am. J. Pathology*, **44**, 763~773 (1964)
- 21) SYMEONIDIS, A. and C.W. EMMONS : *Arch. Pathology*, **60**, 251~258 (1955)
- 22) BAKER, R. D., D. E. BASSERT and E. FERRING : *Arch. Pathology*, **63**, 176~182 (1957)
- 23) SMITH, H. W. and E. YANAGISAWA : *New Eng. J. Med.*, **260**, 1007~1012 (1959)
- 24) BAKER, R. D. : *J. Am. Med. Ass.*, **163**, 805~808 (1957)
- 25) FIENBERG, R. et al : *New Eng. J. Med.*, **260**, 626~629 (1959)
- 26) SMITH, W. and J. KIRCHNER : *Arch. Otolaryngology*, **68**, 715~726 (1958)
- 27) LA TOUCH, C. J., T. W. SUTHERLAND and M. TELLING : *Lancet*, **2**, 811~813 (1963)
- 28) STEFANINI, M. and S. ALLEGRA : *New Eng. J. Med.*, **256**, 1026~1029 (1957)
- 29) RABIN, E. R., G. D. LUNDBERY and E. T. MITCHELL : *New Eng. J. Med.*, **264**, 1286~1289 (1961)
- 30) MAYFIELD, G. R. and F. CONDIE : *Arch. Pathology*, **63**, 260~264 (1957)
- 31) GUNSON, H. H. and D. H. BOWDEN : *Arch. Pathology*, **60**, 440~443 (1955)
- 32) BAKER, R. D. : *Am. J. Pathology*, **32**, 287~314 (1956)
- 33) STOCKDALE, P. M. : *J. Gen. Microbiol.*, **8**, 434~441 (1953)
- 34) LIE-KIAN-JOE, NJO-INJO. T. ENG, S. T. SCHAAFMA and C. W. EMMONS : *Am. J. Clin. Path.*, **32**, 62~70 (1959)
- 35) LIE-KIAN-JOE, NJO-INJO. T. ENG, A. POHAN and H. van der MEULEN : *Arch. Dermatology*, **74**, 378~383 (1956)
- 36) LIE-KIAN-JOE and NJO-INJO TJOEI ENG :



- Ann. New York Acad. Sc.*, **89**, 4~16 (1960~1961)
- 37) JELLIFFE, D. B., D. BURKITT, G. T. O'CONNOR and P. C. BEAUER : *J. Pediatrics*, **59**, 124~127 (1961)
- 38) WILSON, A.M. : *Nature*, **191**, 612~613 (1961)
- 39) de HAAN, J. and L. J. HOOGKAMER : *Archiv f. wissenschaft. u. prakt. Tierheik. Berl.*, **29**, 395~410 (1903)
- 40) 木村哲二・田熊清一郎 : 日本病理学会誌, **9**, 284~292 (1919)
- 41) BRIDGES, C.H. and C.W. EMMONS : *J. Ame. Vet. Med. Ass.*, **138**, 579~589 (1961)
- 42) BRIDGES, C. H., W. M. ROMANE and C. W. EMMONS : *J. Ame. Vet. Med. Ass.*, **140**, 673~677 (1962)
- 43) CHRISTIANSEN, M. : *Virchows Arch.*, **273**, 829~858 (1929) (cit. in G. C. AINSWORTH and P. K. C. AUSTWICK : *Fungal Diseases of Animals* (1959))
- 44) DAVIS, C. L., W. A. ANDERSON and B. R. McCRORY : *J. Ame. Vet. Med. Ass.*, **126**, 261~267 (1955)
- 45) GLEISER, C. A. : *J. Ame. Vet. Med. Ass.*, **123**, 441~445 (1953)
- 46) van ULSEN, F. W. : *Tijdschr. Diergeneesk.*, **80**, 1081~1088 (1955) (cit. in G. C. AINSWORTH and P. K. C. Austwick : *Fungal Diseases of Animals* (1959))
- 47) WARCUP, J. H. : *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **40**, 237 (1957) (cit. in A. BURBES : *Microorganisms in the soil* (1958))

### Summary

A kind of true fungus was isolated from the foci of the granular dermatitis of horses in Kyushu districts, and it was assumed to be a species belonging to class *Phycomycetes*, family *Mortierellaceae*.

The nutritional requirements of this fungus were studied and some of the results obtained are summarized as follows:

1) This fungus can utilize collagen and keratin as sources of carbon and/or nitrogen. Moreover, it has an ability to liquefy gelation.

2) Urea and ammonium sulfate are utilized by this fungus, while both nitrite and nitrate-nitrogen are not utilized. Growth is most rapid and extensive, with peptone. This superiority of peptone can not be overtaken by various amino acids.

3) This fungus can utilize both glucose and glycogen as an excellent source of carbon, and can also utilize maltose and fructose. But it can not utilize sucrose and lactose.

Animal inoculations of this fungus were carried, and the results are summarized as follows:

1) Subcutaneous inoculations of hyphae carried into rabbits resulted in nodules at the site of inoculation.

2) Intramuscular inoculations of the same hyphae carried into seven rabbits including three treated with cortisone and alloxan resulted in inflammatory masses. These masses usually consisted of necrotic tissues, surrounded by zones of polymorphonuclear leucocytes, giant cells, and fibroblasts. Another type of lesion is abscess-formation.

These masses were formed in all muscles injected, and also in the mediae of aorta (4 cases), kidneys (1 case), corium, peritoneum, and suprarenal body (1 case). The same fungus could be recovered from lesions by culture on Sabouraud's agar and hyphae were found in all of the above-mentioned lesions by histological examinations.

3) Inoculations by cardiocentesis into ten rabbits resulted in inflammatory masses and nine of them died within three weeks after the inoculation.

These masses were found in the kidney, liver, lung, aorta, and mucosae of intestine. The tissue reactions were characterized by necrosis, polymorphonuclear and giant cells response, and granulation.

Hyphae were proved in and around the necrotic areas of all lesions by histological and microbiological examinations.

Besides, it seemed to be of not a small interest that the mycotic lesions developed in the mediae of aorta in 4 of 7 cases inoculated intramuscularly and in 2 of 10 cases inoculated intracardially.

4) Intraperitoneal inoculation into 4 rabbits also, resulted in the lesions similar to those above-stated ones. These lesions were found in the peritoneum, diaphragm, and liver. By histological and microbiological examinations, the similar results were obtained.

5) Subcutaneous inoculations into horses resulted in the marked swelling, followed by nodule formation at the site of the inoculation.

The lesions were characterized by necrosis, appearance of polymorphonuclear cells (especially eosinophils) and granulation.

From above-mentioned results, it was recognized that this fungus was pathogenic for rabbits and horses.

The present investigation suggests conclusively that the granular dermatitis of horses (in a broad sense) involves the cutaneous phycomycosis (a mycotic eosinophilic necrotic dermatitis).

#### Explanation of Plates

- Fig. 1. Necrotic lesion in kidney. (Table. 7. No. 8)
- Fig. 2. Necrotic lesion in liver. (Table. 8. No. 4.)
- Fig. 3. Granulated area with giant cells. (Table. 6. No. 6., the wall of an aorta, H-E stain.)
- Fig. 4. Fragmented hyphae within the giant cells shown in Fig. 3.
- Fig. 5. Some hyphae, H-E stain. (Table. 6. No. 6., the wall of an aorta.)
- Fig. 6. Some hyphae, PAS stain. (Table. 6. No. 3., greater omentum.)
- Fig. 7. Abscess formation. (Table. 6. No. 5., the wall of an aorta, H-E stain.)
- Fig. 8. Necrotic area in corium, showing calcareous degeneration. (Table. 6. No. 5., H-E stain.)
- Fig. 9. Lesion in the media of an aorta. (Table. 7. No. 6., H-E stain.)
- Fig. 10. Media invaded by masses of hyphae. (Table. 7. No. 6., PAS stain.)
- Fig. 11. Cutaneous nodular lesion. (Table. 6. No. 5.)
- Fig. 12. Hyphae in the inflammatory corium. (Table. 6. No. 5.)
- Fig. 13. Nodules in greater omentum. (Table. 8. No. 3.)
- Fig. 14. Hyphae in a nodule shown in Fig. 13.
- Fig. 15. Interstitial nephritis. (Table. 7. No. 5., H-E stain.)
- Fig. 16. Hyphae in liver. (Table. 7. No. 5., PAS stain.)



