

Cryptococcus 症 の 研究

第 III 編

Cryptococcus 症の感染経路についての検討

岡山大学医学部第1内科教室（指導：小坂淳夫教授）

岡山済生会総合病院内科（院長：大和人士博士）

湯 原 淳 良

〔昭和41年3月30日受稿〕

緒 言

近時真菌症の増加は著しいが、ここ数年間の推移をみると、1950年¹⁾から1959年迄は、抗生物質の普及とともに、菌交代現象で説明される内因性真菌、特に *Candida albicans* による Candidiasis の増加が注目された。その後深在性真菌症として Aspergillosis や Cryptococcosis が注目されるようになつた。なかでも Cryptococcosis は外因性真菌である *Cryptococcus neoformans* により惹起される疾病で、本菌は脳・髄膜に親和性をもち Meningitis を起こし、しばしば死に至らしめる。しかも本症は原発性にくるものが多く、その点末期感染症又は続発症として起こることの多い Aspergillosis とは若干趣を異にしている。本症は最近増加の傾向にあるが、それは本症に対する認識の高まりによることがあるが、一方副腎皮質ホルモン剤などの使用のために起こつたものも多い。又地方的にみても、岡山地方^{2), 3), 4)} においては現在迄に少くとも15例の発見があつた。著者らも6例の自験例を得たことにより本症の重要性を更めて認識した。

Cryptococcosis の感染源が自然界にあり、堆積した鳩の排泄物がその一つであることはよく知られている^{5), 6), 9), 10), 11), 12), 13)}。伝染形式についても、Conant, N. F.¹⁴⁾ は人から人へは感染を起こさず、又本症に罹患した動物から人へ伝染したと云う例もないと述べている。人体への侵入門については多くの意見がある。現在もつとも一般的な考え方は、肺¹⁵⁾に吸入された本菌が初感染病巣を作りその後血行性に脳・髄膜へ転移すると云う説である。しかしこの考え方に対する反対する意見もある。Cox, L. B.¹⁶⁾ は経鼻感染により髄膜炎の発症や全身感染の惹起は困難であると述べている。又顔面や耳後部の皮膚を侵入

門として髄膜炎を惹起したと推定した報告^{18) 20) 21)}もある。Freeman, W.^{22) 24)} は、侵入門として脳・髄膜にもつとも近い咽頭又は扁桃腺を考え、患者の扁桃腺から *Cryptococcus* の純培養に成功している。このように侵入門について色々の症例や動物実験についての考察があるが、侵入門やそこからの転移について系統的実験の報告はない。

本症の感染と発病については、一応結核との analogy が推定されるが、本菌の感染防禦実験は免疫学的操作が困難であるため殆んど行われていない。しかし本症の発症の要因については、とくに副腎皮質ホルモンとの関係において追求されて来た。副腎皮質ホルモンの感染症に及ぼす影響は、色々の面から検討されて来たが、本剤の使用量との対比の上で行われた実験は少い。わずかに阿多²⁵⁾ が、少量の Prednisolone は実験的 Candidiasis に延命効果があると報告しているのみである。

著者は、*Cryptococcosis* の感染と発症について動物実験を行い、*Cryptococcus neoformans* の侵入門、転移経路、発症要因について得た結果を報告する。

実験材料

使用菌株：自験リンパ腺炎型 *Cryptococcus* 症より検出した。石野株 *Cryptococcus neoformans* を用いた。

培養条件：Sabouraud氏 Dextrose Agar 上、37°C 48時間培養の菌を用いた。

使用動物：雑系成熟マウス、体重 15~20gr のもの、及び雑系成熟ラット、体重 80~90gr のものを用いた。

実験方法

I 群：経口投与群

$1 \times 10^9/\text{cc}$ の菌液を、給水瓶に入れ連続 5 日から 68 日間にわたり毎日 20cc から 30cc 飲ませた。

Ia群：無処置経口投与群

Ib群：口腔内傷害経口投与群（口腔内粘膜を、鋭利メス尖で傷つけて飲ませたもの）

Ic群：口腔内注射兼経口投与群（初回経口投与時に、 $1 \times 10^7/\text{cc}$ の菌液を 0.02cc、口腔粘膜下に注射したもの）

Id群：Prednisolone 前処置後経口投与群（経口投与 24 時間前に Prednisolone 1mg 注射したもの）

II群：鼻腔側壁注射群

マウスでは、 $1 \times 10^7/\text{cc}$ の菌液 0.01cc、ラットでは、0.1cc を鼻腔側壁に注射した。

IIa群：無処置鼻腔側壁注射群

IIb群：レントゲン照射群（菌接種 24 時間前に 400 r 照射したもの）

IIc群：Prednisolone 注射群（菌接種時及び 24 時間前に Prednisolone 1mg 注射したもの）

III群：咬筋部皮下接種群

菌 $1 \times 10^7/\text{cc}$ を、1% ムチン溶液にして、マウスではその 0.1cc、ラットではその 0.5cc を咬筋部皮下に注射した。

成 績

Ia群及び Ib群：表 1 の如く、いずれも、脳、肺、他の臓器に病変を認めなかつた。

Table 1 Peroral Administration (Group I)

Group	No. of mice	Brain	Meninges	Lung	others
Ia without injury	1~20	—	—	—	—
Ib with injured oral cavity	21~35	—	—	—	—
Ic with initial inoculation by injection in the oral cavity	40 41 42	++ — ++	— — —	++ — ++	++ — +
Id with preliminary prednisolone injection	43 44 45 46 47	— — ++ + +	— — — — —	— ++ ++ ++ ++	— — — — +

Ic群：3匹のマウスに接種したが、表 1 の如くこのうち 2 匹において、脳実質に囊胞状の病巣をみとめ、又このマウスでは、肺、他の臓器にも病

巣の分布をみとめた。

と Id 群：表 1 の如く、4 匹のマウスのうち、一匹をのぞいて諸臓器に病変をみとめ、そのうち 3 匹は、脳に病変をみとめた。これらの脳膜下の脳病巣は破れて脳膜に拡がる傾向をみるものがあつた。

以上の如く病変をみとめたが、脳膜炎を起こしたもののは皆無であり、脳実質のみで肺に病変をともなわない例はみられなかつた。

IIa群：マウス 15 匹、ラット 18 匹について実験を行つた。マウスでは、表 2 の如く 10 日目、20 日目に

Table 2 Injection in the Lateral Nasal Cavity (Group IIa)

	No. of mice	Brain	Meninges	Lung	others
Slaughtered on the 10th day	53 55 56 57 58 60 61~62	— — — ++ — ++ —	— — — + — — —	++ + T — + + —	— — — — + — —
Slaughtered on the 20th day	63 64 65 66 67 68, 69	— ++ ++ T — —	— ++ ++ — ++ —	++ ++ ++ T ++ —	— — — — — —

屠殺した各々を 8 匹、7 匹についてみると、病変のないものは前者で 2 匹、後者で 2 匹であつたがその他のものは、殆んどが肺に病変を有していた。脳実質及び脳膜に病変を有しながら肺に病変のないものが 1 例あつた。肺に病変をおこした 10 例のうち脳に病巣を形成したものは 4 例で、脳膜炎のみを起こしたのは 2 例であつた。ラットでは表 3 の如く、18 匹中病変のみとめられなかつたものは、10 匹であつた。脳にのみ病変をおこしたものは 1 例もなかつた。肺に病変を生じた 8 例のうちで、脳に病変をみたものは 4 例であり、脳膜炎型は 4 例であつた。このうち脳膜炎のみをおこしたものは 2 例あつた。

IIb：表 4 の如く接種マウス 16 匹中、15 例に病変をみとめた。このうち脳膜炎のみを起こしたもののは 1 例であつた。他は何らかの病変を肺にもつており、そのうち脳に病変を伴なつたものは 4 例であり、脳膜炎型は 2 例であつた。肺の病変を組織学的に検

Table 3 Injection in the Lateral Nasal Cavity
(Group IIa(r)※)

※ : rats

	No. of Rats.	Brain	Meninges	Lung	Others
Slaughtered on the 10th day	123	-	#	#	-
	124	-	-	+	-
	125	-	-	-	-
	126	-	-	#	-
	129	-	-	T	-
	130~135	-	-	-	-
Slaughtered on the 19th day	136	-	-	-	-
	137	T	T	#	-
	138	-	#	#	-
	139	-	-	#	-
Slaughtered on the 24th day	140	+	#	#	-
	141~143	-	-	-	-

Table 4 Injection in the Lateral Nasal Cavity
with Preliminary X-ray Irradiation
(Group IIb)

	No. of mice	Brain	Meninges	Lung	Others
Dead on the 8th day	81	T	+	◎	#
	82	-	T	-	T
	83	-	-	△	-
	102	-	-	T	-
Slaughtered on the 10th day	84	+	-	#	+
	85	-	-	△	-
	86	-	-	T	-
	87	T	-	#	-
	88	-	#	+	-
	89	-	-	#	-
Slaughtered on the 15th day	90	-	-	+	T
	91	-	-	#	-
	92	-	-	#	-
	93	-	-	+	-
	94	-	-	-	-
	95	-	-	T	-

Notes

◎ : Fungal elements were seen in the blood vessels.

△ : Fungal elements were seen in the alveoli.

討してみると、肺全野に菌体の散布がみとめられているが、胞隔の毛細血管内に菌体がありながら、炎症

性反応のみられないものも散見された。

Table 5 Injection in the Lateral Nasal Cavity with Preliminary Prednisolone Injection
(Group IIc)

	No. of mice	Brain	Meninges	Lung	Others
Slaughtered on the 10th day	105	+	+	-	-
	107	+	#	#	-
	108	-	+	-	-
	109	T	-	+	-
	110~113	-	-	-	-
Slaughtered on the 15th day	114	+	-	+	-
	115	-	-	+	-
	116	-	-	T	-
	117	-	-	-	T
	118~121	-	-	-	-

IIc : 表 5 の如く接種マウス 16 匹中、8 例に病変をみとめた。脳にのみ病巣のみとめられたのは 2 例であつた。肺に病変を有するものは 5 例であり、このうち脳に病変を有するものは 3 例であつた。脳に病変のあつた 5 例のうち 3 例では広範囲の髄膜炎がみられ、このような病巣から、Virchow-Robin 氏腔に沿つて脳実質内に病変が進展してゆく像がみとめられた。

III群：マウスでは、表 6 の如く接種した 18 匹のう

Table 6 Subcutaneous Inoculation with Mucin
(Group III)

	No. of mice	Brain	Meninges	Lung	Others
Slaughtered on the 10th day	152	#		+	+
	154	-	※	-	-
	155~157	-	-	-	-
Slaughtered on the 19th day	160	#	#	T	-
	161~164	-	-	-	-
	165	-	※	-	-
	166	-	※	-	-
Slaughtered on the 29th day	167~169	-	-	-	-
	170	-	#	-	-
	171	T	T	-	-
	172	-	-	-	-

Notes

※ : Fungal elements appeared without any reactions

ち接種部以外に病変をみとめたものは、7例であり、そのいずれも脳に病変がみられた。髄膜炎を起こしたもののは5例であつた。肺及び諸臓器に病巣のあつたものは2例であつた。ラッテでは、表7の如く接

Table 7 Subcutaneous Inoculation with Mucin
(Group III(r)※)

※: rats

Slaughtered on the 48th day	No. of Rats	Brain	Meninges	Lung	Others
	204	-	-	+	-
	206	-	T	#	-
	207	+	+	#	-
	208	#	#	#	-
	210	+	#	#	-
	211	+	+	+	-
	212~220	-	-	-	-

Table 8 Incidence of 3 Types (Encephalitis, Meningitis and Pulmonary Type)
of Cryptococcosis in the Different Ways of Inoculation

Group Classification	I a	I b	I c	I d	II a	II a(r)	① II b	II c	III	① III(r)
Number of inoculated animals	20	15	3	5	15	18	16	16	18	15
Number of intact cases	20	15	1	1	4	10	1	8	10	9
Number of sick cases : A	0	0	2	4	11	8	15	8	8	6
Morbidity rate (%)	0	0	66	80	73	44	94	50	44	40
Meningoencephalitis type : B B/A × 100 (%)	-	-	2	3	5	4	5	5	7	5
Meningitis type : C C/B × 100 (%)	-	-	100	75	45	50	33	63	88	83
Encephalitis type	-	-	0	0	3	4	3	3	6	5
Pulmonary type	-	-	0	0	60	100	60	60	86	100
② Mixed type (3 types) : D D/B × 100 (%)	-	-	100	100	80	100	80	60	29	100
Others	-	-	0	3	2	0	3	1	1	0

Notes

① (r) = rats. Other groups are of mice.

② 3 types are excephalitis, meningitis and pulmonary one.

も発症をみなかつた。このことは消化管からの感染はきわめておこりにくいくことを示唆するものである。次に口腔、鼻咽腔粘膜下、咬筋部皮下への菌接種ではかなりの率に発症をみた。髄膜脳炎を起こしたものについて考えてみると、発症マウス・ラッテの33

種した15匹のうち病変を起したものは6例であつた。いずれも肺に病変のひろがりをみとめたが、脳病変を起こしたもののは5例、うち1例は髄膜炎型のみであつた。これらの動物の脳病変を組織学的に検討してみると、囊胞状病巣は少く、大部分が肉芽性の髄膜炎像を示していた。髄膜炎の形も強くラッテでは髄膜脳炎の像を示すものが多かつた。又くも膜下腔の血管外に菌体のみがみとめられ、前髄膜炎状態とも云える像もみられた。

総括並びに考察

Cryptococcus 感染時の侵入門について著者の検討した実験をまとめると表8の如くなる。先ず肺に初感染巣を作らしめることなく、直接脳・髄膜へ感染を起こさしめること目的とした実験として、無処置のまま行つた菌食実験では、I aにみられるごとくすべて発症をみず、口腔粘膜に傷をつけた程度で

%～100%にみられるが、ここで特長的にあらわれているのは II b 33%， III， III(r) それぞれ 88%， 83%と云う数字である。しかも III， III(r) について髄膜炎型の占める割合を求めてみると、髄膜脳炎を起こしたもの、それぞれ86%～100%に相当する。

とくにⅢにおいては、肺病変を合併したものはわずか18例のうち2例であつた。即ち咬筋部皮下接種によつて、肺を経過せず、直接髄膜に感染を起こしたとみるべきである。又Ⅲの病理組織像では、リンパ腔内に菌体が進入している像がみられるところから、頸部より頭側の病巣からの感染ではおそらくリンパ行性に菌の髄膜への進展経路を考えるべきではあるまい。

古来、*Cryptococcus neoformans* の人体への侵入門戸についてはいくつかの記載を見ることができる。Conant, N. F.¹⁴⁾ は、中枢神経系への経路について具体的にはべていないが、主として肺より侵入するのであろうが、鼻咽腔、皮膚、腸管からの感染もあるのではないかとしている。呼吸器を初感染臓器と考えた人は多く、むしろ最近の趨勢とも思われる。Littman, M. L.¹⁵⁾, Cox, L. B.¹⁶⁾, Gendal, B. R.¹⁷⁾, Emmons, C. W.¹⁸⁾¹⁹⁾ 等はその著書で肺の初感染病巣を強調している。皮膚の病変については系統的感染の一部分的現象であるとするものが多い^{18), 19)}。しかしながら、皮膚から感染して髄膜炎をおこした症例として、Johns, F. M.²⁰⁾ は、鬚剃りの傷から感染し肉芽を造り、髄膜炎をおこした例を報告しており、Joseph, M. S.²¹⁾ はリウマチ様疾患に副腎皮質ホルモンを使用中に、コルセットの着用後に生じた耳後部の皮膚潰瘍より感染をおこし髄膜炎を生じて死亡した例を報告している。又 Cox, L. B.¹⁶⁾, Emmons, C. W.¹⁸⁾ も先行した病巣がないのに皮膚 *Cryptococcus* 症を起した例や皮膚や粘膜からの初感染と考えられる例を報告している。皮膚、粘膜からの感染実験は例をみないが、Freeman, W.^{22), 23), 24)} は扁桃腺

からの *Cryptococcus neoformans* の培養に成功し、経鼻感染により、3週間後に髄膜に *Cryptococcus neoformans* を証明している。

かくして著者の今回の実験で静脈内接種によつても脳実質内の囊胞状病巣が主であつたのに比して、咬筋部皮下接種によつて、人体例とく似した髄膜炎型を多数みとめたことは皮膚傷害部よりの本症感染の可能性を書証したものと云える。

結論

1. *Cryptococcus neoformans* の感染実験を行い、経口的、経粘膜的、経皮的諸接種法のうち、ムチン操作を加えた菌液を咬筋部皮下に接種することによつて、マウスについては発症例8例中7例(88%)、ラッテについては発症例6例中5例(83%)に脳・髄膜炎型の病変を認めた。

2. このうち髄膜炎を起したものは、それぞれ6例(86%)と5例(100%)であつた。これらの例では脳のリンパ管腔内に菌体の侵入している組織像をみとめた。

3. 以上の事実より頸部及至頭部の皮膚病巣から、経リンパ行性に髄膜炎をおこす進展経路のあることが証明された。

(本論文の要旨は、第5回日本医真菌学会総会にて発表した。)

(終りに臨み、御指導、御校閲を戴いた岡大小川病理学教室の小川教授並びに堤助教授に深く感謝致します。)

文

- 1) 福島孝吉： 真菌症， p 130， 金原出版K. K., 1963.
- 2) 大和人士他：肺 *Cryptococcus* 症一分離菌の性状。真菌誌 1 : 61~66, 1960.
- 3) 大和人士：内科領域抗真菌物質。真菌誌 3 : 105 ~114, 1962.
- 4) 大和人士：全身の淋巴腺を系統的に侵したクリトコツカス症の1例。済生 412号 : 39~45, 1962.
- 5) 大和人士他：当院におけるクリトコツカス症例。結核 39 : 136, 1964.
- 6) 大和人士：真菌検査法。日本臨床病理学会中国

献

- 7) Littman, M. L. and Schneirson, S. S.: *Cryptococcus neoformans* in pigeon excreta in New York City. Amer. J. Hyg. 69 : 49~59, 1959.
- 8) Emmons, C. W.: Isolation of *Cryptococcus neoformans* from soil. J. Bact. 62 : 685~690, 1951.
- 9) Emmons, C. W.: The natural occurrence in animals and soil of fungi which cause disease in man. Proc. Seventh Internat. Bot. Cong. Stockholm, Sweden, P 416-421, 1950.
- 10) Emmons, C. W.: Saprophytic sources of *Crypto-*

- coccus neoformans* associated with pigeon. Amer. J. Hyg. 62 : 227~232, 1955.
- 11) Emmons, C. W.: The significance of saprophytism in the epidemiology of the mycosis. Trans. New York Acad. Science, Ser. II, 17 : 157~166, 1954.
- 12) Emmons, C. W.: Prevalence of *Cryptococcus neoformans* in pigeon habitats. Publ. Health Rep., Wash., 75 : 362~365, 1960.
- 13) Ajello, L.: Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in soil, Amer. J. Hyg. 67 : 72~77, 1958.
- 14) Conant, N. F. et al : Manual of Clinical Mycology, p 150, 1954.
- 15) Littman, M. L.: Cryptococcosis (Torulosis) current concept and therapy. Am. J. Med. 27 : 976~998, 1959.
- 16) Cox, L. B. et al : Human torulosis; a clinical, pathological and microbiological study with a report of 13 cases, Melbourne, Australia, Melbourne University Press, pp 149, 1946.
- 17) Gendal, B. R.; Cryptococcosis, a review with special reference to apparent association with Hodgkin's disease. Am. J. Med. 9 : 343~355, 1950.
- 18) Emmons, C. W. et al; Medical Mycology, pp 150, 1963.
- 19) Emmons, C. W. : 第5回日本医真菌学会総会シンポジアム及び特別講演, 1961.
- 20) Johns, F. M. et al : Torula meningitis, report of a case and summary of literature. Am. J. Clin. Path. 3 : 459, 1933.
- 21) Joseph, M. S. et al : *Cryptococcus neoformans* infection of the central nervous system: A case treated by amphotericin B, with postmortem examination. Ann. Int. Med. 52 : 445~453, 1960.
- 22) Freeman, W. et al : Cystic blastomycosis of the cerebral gray matter caused by *Torula histolytica*. Arch. Neurol. & Psychiat. 9 : 589~603, 1923.
- 23) Freeman, W.: Torula meningoencephalitis: Comparative histopathology in 17 cases. Tr. Am. Neurol. A. pp 203~217, 1930.
- 24) Freeman, W.: Torula infection of the central nervous system. J. f. Psychol & Neurol. 43 : 236~345., 1931.
- 25) ATA, S.: Zur Pathogenese und Trichomycintherapie der Candidiasis. Münchener Med. Woch. 5 : 187~191, 1958.

Studies on Cryptococcosis

Part III. Studies on the Route of Infection in the Experimental Cryptococcosis

By

Atsuyoshi Yuhara

The 1st Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyowo Kosaka)

Department of Internal Medicine, Okayama Saiseikai General Hospital
(Director: Dr. Hitoshi Yamato)

Abstract

A study on experimental infection of cryptococcosis was carried out through oral, mucosal and subcutaneous inoculations. The results were as follows:

1. Encephalomeningitis was found only in the cases inoculated subcutaneously with mucin

in the buccal region. In mice, 7 cases out of 8 (88%) and in rats, 5 cases out of 6 (83%) gave positive results.

2. Among these, meningitis was seen in 6 cases (86%) in mice and in 5 cases (100%) in rats, respectively. In these cases, histopathologic study revealed invasion of *Cryptococcus neoformans* in the lymphatic spaces of the brain.

3. Among the routes of infection of *Cryptococcus neoformans* the infection through the lymphatic vessel from the skin lesion of the head or the neck to the meninges proved to be efficient.
