自治医科大学附属大宮医療センター皮膚科における
5年間の白癖菌相とPCR-RFLP法による非定型分離
白癖菌株の同定について

梅本 尚可  加倉井真樹  横倉 英人
戸田 淳  大沢 真澄  阿部 浩之
平塚裕一郎 岡田 栄子  東 隆一
和田 由香* 林 和* 望月 隆**
出光 俊郎

当科において5年間に来院した白癖患者293例から分離された白癖菌308株の菌種
の同定を行った。また、形態学的分類不能な14株については、分子生物学的手法
により同定を行い、形態学的同定結果と比較した。

同定した白癖菌株はTrichophyton rubrum（TR）172株、Trichophyton mentagro-
phytes（TM）132株、Microsporum canisが1株であった。同定が困難であった14株
では、PCR-RFLP法により、TRと思われがTMであった3株を含め、計4株が形
態による同定法の結果と異っていた。

当科では全国平均よりもTMの割合が高く、全白癖のTR/TM比は1.30、足白癖の
TR/TM比は0.85であった。TMの多い背景には気候、地域性、病院の特殊性などが
推測された。形態学的に同定困難な非定型的な白癖菌株の同定には、PCR-RFLP法
が有効であった。
（キーワード：白癖、皮膚条状菌、白癖菌相、PCR-RFLP法、さいたま市）

I. はじめに

皮膚真菌症は皮膚科外来患者の10%を占めており、その大半は我が国に1000万人以上の患者
がいるといわれる足白癖である（1）。国民病と
いわれる足白癖の起因菌はTrichophyton（T.）
rubrumがその大半を占めると言うのが定説である
（2）。白癖から分離される菌種は、地域に
よって差が認められる。菌の種類によって、感
染源や白癖の症状、あるいは治療に対する反応
性に相違のみられることがある。白癖菌相は世
相を繰り返すといわれているが、白癖菌相を研
究する施設も大幅に少なくなったため、実態を
つかみにくい現状である。現在まで埼玉県にお
いて、白癖菌の培養成績について統計的検討
はされていない。そのような状況から、さい
たま市の大学医学部附属医療機関皮膚科におい
て5年間の統計的観察を行った。

II. 対象および方法

1. 白癖菌株

当科に2001年4月から2006年1月まで約5年
間に来院した白癖患者293例（男181例・女112例）

自治医科大学附属大宮医療センター皮膚科
* 錦谷検診部細菌検査室
** 金沢医科大学環境皮膚科
から分離された白癬菌308株の菌種の同定を行った。

2 真菌同定

真菌培養では、サンプルドウ糖寒天培地に
の集落の肉眼的観察、ポテトデキストロース培
地での T. rubrum の色素産生、ウレアーゼテス
トにおける発色の有無を観察した。一部はスラ
イド培養を行い、同定を試みた。

3 Ribosomal DNA region の Mva I による
PCR-RFLP（PCR 産物の制限酵素分析法）

肉眼的、顕微鏡的、生化学的に分類不能な14
株については、近年開発された分子生物学的手
法（PCR-RFLP 法）により同定を行って、確認
した（3）。具体的には真菌のリポソーム RNA 遺
伝子を ITS 領域の制限酵素分析（PCR-RFLP
法）行った。用いた制限酵素は Mva I である。
これら14株の内訳を表1に示した。足白癬由来
が11株、体部白癬が3株（1株は顔面白癬由来）
であった。

III. 結果

1 分離菌株の種類

分離した総白癬菌株308株の内訳は T. rubrum 172株（55.8%）、T. mentagrophytes 132
株（42.9%）であった。また、Microsporum canis（MC）が1例あった（図1）。3株は Trichophyton
属であるものの分類できなかった。全白
癬菌の T. rubrum/T. mentagrophytes (TR/
TM) 比は1.30である。

年次別にみると2002年、2003年が T. mentagrophytes 優位で、2004年と2005年は T. ru-

brum が多くなっていた（図2）。1) 部位別 TR/TM の割合

308株について、分離菌株の割合を部位別にみ
ると足白癬が163（52.9%）、爪白癬82（26.6%）
臀部・陰部部白癬32（10.4%）、体部白癬
17（5.5%）、顔面白癬10（3.2%）、手白癬4
(1.3%) であった。TR/TM の割合について、
分類不能白癬菌株や M. canis 1株を除くと以下
のようになる。足白癬161株では TR/TM=74:87、TR/TM 比0.85で、T. mentagrophytes
優位であった。爪白癬80株は TR/TM=44:36、臀
部、股部白癬は TR/TM=26:6 であった。
顔面白癬の TR/TM=10:0 であった。顔
面以外の体部白癬は TR/TM=14:2 であった。
手白癬 TR/TM=4:0 であった（図3）。

2) 混合感染

一つの解剖学的部位の鱗屑から2種類の菌種
が得られた例は2症例あり、部位は臀部白癬と
足白癬各1例で、いずれも T. rubrum と T. mentagrophytes の両者が分離された

3) 重複感染

二つ以上の解剖学的部位から別の菌種が分離

図2 年次別 Trichophyton mentagrophytes と
Trichophyton rubrum の比較。
2001年4月皮膚科新設時から2006年1月まで
の各分離株数を実数で示した。2002年、2003年
は Trichophyton mentagrophytes 優位になっている。

図3 Trichophyton mentagrophytes と Trichophyton rubrum の部位別にみた分離株数

図1 分離菌種

分離された白癬菌の割合を円グラフで示した。
Trichophyton rubrum 172株（55.8%）、Trichophyton mentagrophytes 132株（42.9%）、Microsporum canis 1株が分離、同定された。3株は
Trichophyton であるものの同定ではできなかっ
た。
された例は3例であった。顔面T. rubrumと足T. mentagrophytes、足T. rubrumと爪T. mentagrophytes、および陰股部T. rubrumで足T. mentagrophytesの症例がそれぞれ1例ずつであった。

2 PCR-RFLP法（PCR産物の制限酵素分析法）

菌株それぞれにバンドが検出された（図4）。これにより、T. mentagrophytes var. interdigitale型およびT. rubrum特有の分子型であった。8株がT. mentagrophytes var. interdigitale型で、6株がT. rubrum型であった。

PCR-RFLP法により肉眼的、顕微鏡的、生化学的、各検体における同定が困難であった14例では4例が肉眼的および生化学的同定結果と異なる結果を示し（表1）。足白癖から分離されたT. rubrum類似の3株はT. mentagrophytes var. interdigitaleと同定された。また、体部白癖からのT. tonsuransと思われる株はT. rubrumと確認された。肉眼的にT. rubrumと思われる同定困難例では、実際にT. mentagrophytesの可能性があるといえる。

| 表1 一般的同定法とPCR-RFLP法による菌種同定の比較 |
|---|---|---|
| 臨床病型 | 一般的同定（肉眼的／顕微鏡的／生化学的） | PCR-RFLP分析 |
| 1 | 足白癖 | T. rubrum suspected | T. mentagrophytes var. interdigitale |
| 2 | 足白癖 | T. rubrum suspected | T. mentagrophytes var. interdigitale |
| 3 | 足白癖 | T. mentagrophytes suspected | T. mentagrophytes var. interdigitale |
| 4 | 足白癖 | T. mentagrophytes suspected | T. mentagrophytes var. interdigitale |
| 5 | 体部白癖 | T. rubrum suspected | T. rubrum |
| 6 | 足白癖 | Trichophyton species | T. rubrum |
| 7 | 足白癖 | T. mentagrophytes suspected | T. mentagrophytes var. interdigitale |
| 8 | 足白癖 | T. mentagrophytes suspected | T. mentagrophytes var. interdigitale |
| 9 | 足白癖 | T. mentagrophytes suspected | T. mentagrophytes var. interdigitale |
| 10 | 足白癖 | T. rubrum suspected | T. rubrum |
| 11 | 足白癖 | T. rubrum suspected | T. rubrum |
| 12 | 頭面白癖 | T. rubrum suspected | T. rubrum |
| 13 | 体部白癖 | T. tonsurans suspected | T. rubrum |
| 14 | 足白癖 | T. rubrum suspected | T. mentagrophytes var. interdigitale |
IV. 考察
今回得られた分離菌株は T. rubrum と T. mentagrophytes がほとんどで、そのほかの白癬菌は M. canis 1株のみであった。分離された菌種が少ないのは、当施設では小児の診療を行っていないので、小児の白癬がないこと、さいたま市近郊は都市化が進み土壌由来の菌の感染する機会が減少していることなどが考えられる。

1. 分離菌株の割合と年次推移
都内では白癬菌相が変わりつつある。成書 (2) によれば TR/TM 比は 2.63 とされる。当科では、TR/TM 比が 1.3 と菌種が拮抗していた。また、足白癬の TR/TM 比は、全国的には 1.62 であるのに対して、今回の検討では 0.85 と逆転している。そこで、日本各地のデータと当施設のデータを比較してみるとする (表 2)。山城対による梳細の診査所の白癬菌相の報告 (4) では、全分離白癬分離菌株では TR/TM 比は 1.5 で、足白癬では 0.8 であり、さいたま市の今回の報告と近似している。山城 (4) は、足白癬の TR/TM 比が 0.8 と逆転現象を生じたことにについて、「気候との関係では平均気温が 20℃、平均湿度が 70% をこえた 4 月から 10 月の間に足白癬患者が激増し TR/TM 比の逆転を呈した」としている。一方、北都道札幌市の診査所の報告 (5) では足白癬の TR/TM 比は 4.08、足白癬 2.98 であることの T. rubrum 優位である。さいたま市大学附属医療機関と梳細の診査所の白癬菌相が類似していたことについては、様々な推測をすることができるが、君津中央病院 (6) のデータでも TR/TM 比は白癬全体では 1.43 で、足白癬では 0.81 とこれも逆転のデータで、昭和大学薬が丘病院の 2002 年～2004 年の 3 年間の統計では、足白癬では T. rubrum/T. mentagrophytes = 260:257、爪白癬では T. rubrum/T. mentagrophytes = 92:17 と足白癬の TR/TM 比が拮抗している (7)。彼らは施設による違いとしているが、TR/TM 比の減少は、全国的な傾向かも知れない。

2. T. rubrum の足白癬と T. mentagrophytes の足白癬の違い
当科の成績は他の多くの報告と異なり、前述のように TR/TM 比が低かったが、特に足白癬では TM が優位であった。皮膚炎状態の菌種によって、好気性、好土壌性皮膚炎状菌などでは、ヒトに感染した場合には炎症症状が顕著であるなどの臨床的特徴がみられる。しかし、どちらも好気性皮膚状菌である T. rubrum による白癬と T. mentagrophytes による白癬の違いとしては (1) T. mentagrophytes は T. mentagrophytes var. interdigitale といわれるように時間に発生するものが少ない。若年者に発症白癬を呈するものは T. mentagrophytes が多い。(3) T. mentagrophytes は湿度依存性である、などといわれるもの、正確には不明である。無症候性の足白癬では TR/TM 比は 0.72 と低いことが報告されている (8)。したがって、当施設の T. mentagrophytes 優位には、(1) 糖尿病など生活習慣病患者の院内紹介が多い(2)昨今のマスクコロナ足白癬、爪白癬を取り上げることが多く、無症状や軽症の T. mentagrophytes による足白癬患者が多数来院するようになったことも関与してしているのではないかと思われる。元来、環境中から分離される白癬菌は T. mentagrophytes が多いとされる (9)。T. mentagrophytes のほうが発症が多いが、医療機関を受診する患者の白癬菌は TR 優位とも考えられる。また、T. mentagrophytes は T. rubrum に比較して培地での成育はよいことが知られている。テクニカルに未熟な研究者も患者からの検体を培地に植え込むため、T. mentagrophytes のほうが生えやすく、T. rubrum は生えにくいということもあるかもしれない。今後、基礎疾患などの患者のバックグラウンドや地域の環境の変化などの面から考えていく必要がある。

3. 混合感染と重複感染

<table>
<thead>
<tr>
<th>表 2</th>
<th>T. rubrum/T. mentagrophytes (TR/TM) 比の地域比較</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>最新皮膚科学大系</td>
<td>札幌市</td>
</tr>
<tr>
<td>全発表 TR/TM 比</td>
<td>2.63</td>
</tr>
<tr>
<td>足癬発表 TR/TM 比</td>
<td>1.62</td>
</tr>
</tbody>
</table>
図5 Trichophyton rubrumを分離した顔面の異型白癬（臨床像）
右こめかみ部に毛囊一致性的丘疹（毛囊炎）を合併している。

まずはT. mentagrophytesとT. rubrumの混合感染であるが、おそらく、時期を異にして、同一部位に感染したと考えられるが、局所の環境が複数菌種の感染をきたしやすいのではないかと思われる。一方、2カ所から別々の菌種が分離された症例は3例であった。

4 顔面白癬からの分離菌種

10例からすべてT. rubrumが分離された。顔面の白癬は異型白癬が多い（10）、今回の例でも定型像をとらないものが多かった（図5）。小児で多種の菌種が分離されることが多いが、当センターでは小児診療を行っていないことも菌種が多様でない要因のひとつであろう（11）。

5 Microsporum canisについて

人畜共通感染症であるM. canisによる白癬が1例にみられた（図6）。一時期、本菌種は日本各地で蔓延していたが、最近では、本菌種患者数は著明に減少している（12）。野良猫や拾いネコからの感染が有名であるが、自験例では、動物専門学校のシャンプー実習で感染したため、発症の数は少なく、腕のみで顔面にはない特徴があった。実習でベアを組んだ学生にも同様症状があり、真菌症として他医で治療をうけた。

6 非定型的白癬菌株の分子生物学的同定

とりわけ、T. mentagrophytesをT. rubrumと見間違う傾向がみられた。おそらく、同定の困難な例でT. rubrumと同定している株の内にはT. mentagrophytes var. interdigitaleが混在していると思われる。本方法の簡便化が進み、一般的検査室レベルで検査が可能になることが期待される。

V. まとめ

さいたま市の大学附属医療機関である当施設の自発菌相では、ほとんどが、T. rubrumとT. mentagrophytesであり、そのうちT. mentagrophytesの割合が高くなっている。これは従来の教科書的記載と逆であり、気候の温暖化や軽症受診患者の増加などとも関連している可能性があり、より大きな集団での検討が必要と考えられる。肉眼的に同定の困難な非定型分離菌株の正確な同定には、分子生物学的手法は有用であり、より簡便に施行でき普及されることが期待される。

文 献

1 渡辺晋一：皮膚真菌症治療のニューコンセプト 日本医事新報 No.3953（2000年1月29日）
2 望月隆：皮膚糸状菌症 最新皮膚科学大系
204-223.
3 望月隆，田遠洋，河崎昌子，他：リポゾーム
RNA 遺伝子の ITS 領域の分子型に基づ
く，皮膚糸状菌の菌種同定の実績 日皮
会誌114：1763-1767，2004
4 山城一純：沖縄の一診療所における最近3
年間の白癬の菌相調査成績と統計的観察
西日皮膚62：662-667，2000
5 芝木秀臣，芝木晃彦：札幌市の一診療所に
おける10年間（1992-2001年）の白癬菌相
真菌誌44：209-216，2003
6 高橋容子，西村和子：君津中央病院皮膚科
における最近6年間（1994～1999年）の白
癬菌相 日本医真菌学会雑誌（真菌誌）43：
21-27，2002
7 清住浩：足白癖，爪白癖の病態と治療 日
皮会誌115：1889-1893，2005。
8 小笠原弓恵：白癖の頻度と患者意識 日本
医真菌学会雑誌44：253-260，2003。
9 加藤卓朗：白癖の感染経路 皮膚病診療
22：608-613，2000。
10 出光俊郎，藤井祥子，加倉井真樹，他：タ
クロリムス外用剤使用中の食道癌患者にみ
られた顔面白 癬の1例 皮膚臨床48：
131-132，189-191，2006。
11 出光俊郎，花田順子，平本力，他：顔面白
癖50例の臨床的検討，臨床皮膚科42：
279-285，1988年。
12 笠井達也：皮膚真菌症30年の推移 国立仙
台病院皮膚科に於ける1968～1997年の皮膚
真菌症の統計的観察 日本医真菌学会雑誌
45：149-163，2004。
Analysis of Dermatophyte Flora for 5 years at Jichi Medical University Omiya Medical Center in Saitama and Identification of Atypical Dermatophytes using Molecular Biological Technique (PCR-RFLP analysis)

Naoka Umemoto, Maki Kakurai, Hideto Yokokura, Sunao Toda, Masumi Osawa, Hiroyuki Abe, Yuichiro Hiratsuka, Eiko Okada, Ryuichi Azuma, Yuka Wada*, Mutsumu Hayashi*, Takashi Mochizuki**, Toshio Demitsu

Abstract

Background It is well known that tinea, especially tinea pedis, is a common dermatosis. However, dermatophyte flora causing tinea in Saitama City has not been previously investigated.

Materials & Methods (1) Dermatophyte flora in the central city of Saitama was evaluated. Three-hundred-eight strains of dermatophytes were isolated from the patients from 2001 to 2006 January. (2) Fourteen cases of undetermined strains were analyzed by the PCR-RFLP method.

Results (1) *Trichophyton rubrum* (TR)/*Trichophyton mentagrophytes* (TM) proportion was 172 : 132. TR/TM in tinea pedis was TM predominant; 74 : 87. Four cases of 14 strains revealed different results from those by routine analyzes by the PCR-RFLP method.

Conclusion In the central city of Saitama, TM is an important fungus as a causative fungus in tinea pedis. This is a characteristic result because TR is the predominant causative fungus of tinea pedis in Japan. Interestingly, our results are similar to those in Okinawa and Chiba. The PCR-RFLP method is a useful and reliable tool for the precise identification of the dermatophytes which cannot be identified by routine examination such as macroscopic, microscopic, and biochemical methods.

(Key words: tinea, dermatophyte, fungal culture, PCR-RFLP analysis, Saitama City)

Department of Dermatology, Jichi Medical University Omiya Medical Center
* Department of Clinical Laboratory, Division of Bacteriology
** Department of Dermatology, Kanazawa Medical University