

気管内接種法によるマウスの実験的肺クリプトコックス症 の病理組織学的研究

伊 藤 誠
信州大学医学部第2病理学教室
(主任: 発地雅夫教授)

A Histopathological Study on Experimental Pulmonary Cryptococcosis in Mice Induced by Direct Intra-tracheal Inoculation

Makoto ITO

Department of Pathology, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Masao Horchi)

To study histologic responses to *Cryptococcus neoformans* in lungs, experimental pulmonary infections were induced in immunologically untreated mice by an intra-tracheal inoculation of 10^6 viable yeast cells using two different fungal strains, CDC 551 and S. Goki, and pathologic examinations of the infectious lesions produced by both strains were performed.

In an early stage (1-5 days), the pulmonary lesions induced by both strains were quite similar in that the granulomatous responses were provoked by small, weakly- or non-encapsulated yeast cells. In a later stage (6-30 days), the nature of the histologic responses to each strain was considerably different. Namely, the lesions caused by the strain CDC 551 gradually regressed and finally changed into small discrete granulomata, in which a few yeast cells were observed but they remained small and poorly-encapsulated. In contrast, yeast cells of the strain S. Goki developed a heavy encapsulation with increasing size and rapidly multiplied in the lungs to produce a large number of cystic lesions without inflammatory reaction.

These results suggest that the capsular substance plays a significant role in determining the histologic features of the lesions induced by *Cryptococcus neoformans*, especially whether they become granulomatous or cystic. *Shinshu Med. J.*, 34: 586-604, 1986

(Received for publication May 19, 1986)

Key words: *Cryptococcus neoformans*, pulmonary cryptococcosis, cystic lesion, granulomatous lesion

肺クリプトコックス症, 嚢胞様病変, 肉芽腫性病変

I 緒 言

Cryptococcus neoformans は特定の国や地域への偏在性を示さず, 自然界に広く分布する酵母状真菌である¹⁾²⁾。疫学的には腐生菌として鳩の排泄物中に多

量に含まれ, 重要な感染源を成している³⁾⁴⁾。本菌は, 人畜共通の病原菌であるが, 一般人への感染力は弱く, また人から人, 動物から人への伝染性は証明されていない¹⁾。感染様式は結核と類似しており, 経気道的に菌体をエアロゾル粒子として吸入し, 肺に初期

感染巣を形成すると考えられている⁵⁾。宿主の感染防御能がよく保たれた状態では、ときに原発性肺クリプトコックス症として発症し、無症候性から急性肺炎様症状を呈するものまで多様な病態を示すが⁶⁾⁷⁾、線維性小肉芽腫を残して治癒する場合が多く、全身性感染へ移行することはまれである⁸⁾⁹⁾。しかし、宿主の免疫力の低下特に細胞性免疫能に著しい障害が生じた場合には、血行性に全身播種をおこし、日和見感染の様相を呈することから、病原性真菌としてよりも日和見感染の原因菌として論じられることが一般的である¹⁰⁾¹¹⁾。

本菌による感染巣の組織反応はきわめて多彩である¹⁾²⁾¹²⁾⁻¹⁷⁾。すなわち、他の病原性真菌や日和見感染の原因となる腐生性真菌と同様に、壊死を伴う化膿性病変や異物反応に近い肉芽腫性病変を形成する以外に、組織内での活発な菌の増殖と莢膜産生により周囲の組織を圧排し、嚢胞様病変を形成することで知られている¹⁾²⁾¹³⁾⁻¹⁵⁾。特に後者では、菌体に対する炎症反応がほとんどみられない点で、本菌をめぐる宿主の感染防御機構の特殊性を反映していると考えられている¹⁸⁾。

著者は、特別な免疫抑制処置を施していないマウスに、気管内接種法により発症させた実験的肺クリプトコックス症を用いて、肺の初期感染巣の病理形態学的特徴と感染の推移について、経時的観察を行った。特に、本菌の組織内菌形態を特徴づける莢膜形成能に顕著な差のある2種の菌株を用い、その感染巣を比較し、肉芽腫性病変と嚢胞様病変の形成過程の違いを検討した。また、莢膜の有する抗食菌作用¹⁹⁾²⁰⁾と抗起炎性²¹⁾が、組織像にいかんにか反映されるかについて考察を試みた。

II 材料と方法

A 材料

1. 実験動物：体重25～30gで6～8週齢の雌ICRマウス（静岡県実験動物農業協同組合）を使用した。実験中はTAR-50型エアコンボックス（東洋理工）の中で、恒温恒湿環境下に飼育し、配合飼料MM-2（舟橋農場）と水道水を自由に摂取させた。

2. 使用菌株：Sabouraud 寒天斜面培地（日本製薬）にて継代培養している *Cryptococcus neoformans*（血清A型）の2保存株を使用した。ひとつは、1979年に白血病患者の剖検例（信州大学第2病理 S-3952）より分離された S. Goki 株（以下、SG株）、他は明治薬科大学微生物学教室の篠田孝子教授らが血清A型の標準株として使用された CDC 551株（以下、CDC株）

である²²⁾。これらはいずれも37°Cで増殖能があり、urease 試験および phenol oxidase 試験陽性であることが確認されている²³⁾。

B 方法

1. 接種菌液の調整：上記2株のいずれも Sabouraud 寒天平板培地にて、30°Cで約7日間培養し、集落が十分に形成された段階で、滅菌生理食塩水（以下、滅菌生食水）で、菌の浮遊液を作成した。この菌液を2回、500g、5分間遠沈し、滅菌生食水で洗浄したのち血球計算盤にて菌数を調整した。

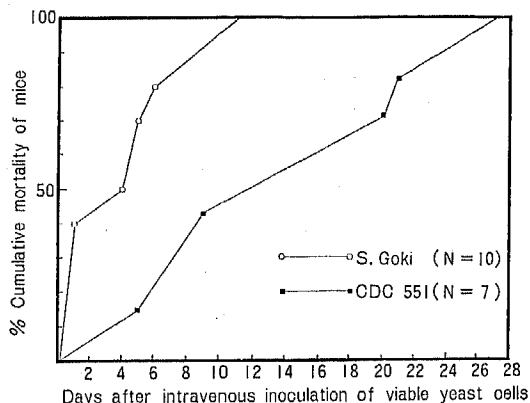


Fig. 1 Comparison of pathogenicity in mice of two strains of *Cryptococcus neoformans* by intravenous inoculation of 1×10^8 viable yeast cells.

2. マウスに対する病原性：それぞれの菌株について、滅菌生食水0.2mlに 10^8 個の生菌浮遊液とし、マウスの尾静脈内に接種し、感染死による経時的累積死亡率を求めた。この結果、SG株接種群の平均生存日数は4.6(±3.89)日、CDC株接種群は13.9(±8.40)日で、マウスに対する病原性はSG株の方が強かった(Fig. 1)。感染死した動物の病理組織学的検索では、接種後間もない時期に死亡した例は肺胞毛細血管内に多量の胞子が存在し、直接の死因は肺の真菌塞栓によると考えられるものが多かった。しかし、それ以降になると、脳や肝臓に少数の胞子を取り囲むように単核細胞が集簇して小肉芽腫巣(Fig. 2a)を形成したり、旺盛な分芽を示す多数の胞子が組織内でコロニーを作り、多形核白血球(以下、PMN)の浸潤のほとんどない嚢胞様病変(Fig. 2b)を形成した。しかし、肉芽腫性病変となるか嚢胞様病変となるかについては、接

Table 1 Summary of histopathologic findings of the pulmonary lesions by intratracheal challenge of *Cryptococcus neoformans*.

Strain	Days after inoculation	Number of mice	Histopathologic findings in pulmonary lesions*				
			Granulomatous lesions		Cystic lesions		
			a)	b)	d)	e)	
		with scattered yeast cells	with multiplying yeast cells	with granulomatous reaction	without prominent inflammatory reaction		
CDC 551	1	4	4	0	0	0	
	3	4	4	0	0	0	
	5	4	0	2	0	0	
	7	4	0	4	0	0	
	10	4	2	0	0	0	
	15	4	0	1	0	0	
	20	4	2(1)c)	0	0	0	
	25	4	4(1)	0	0	0	
30	4	4(2)	0	0	0		
S. Goki	1	5	3	1	0	0	
	3	5	2	0	0	0	
	5	2	1	0	0	2	
	7	5	2	0	2	4	
	10	2	0	0	2	2	
	13	5	0	0	4	4	
	15	2	0	0	2	1	
	17	5	0	0	1	3	
	20	2	0	0	1	1	
	25	2	0	0	0	2	
30	5	0	0	5	4		

* Each number refers to number of mice with each lesion.

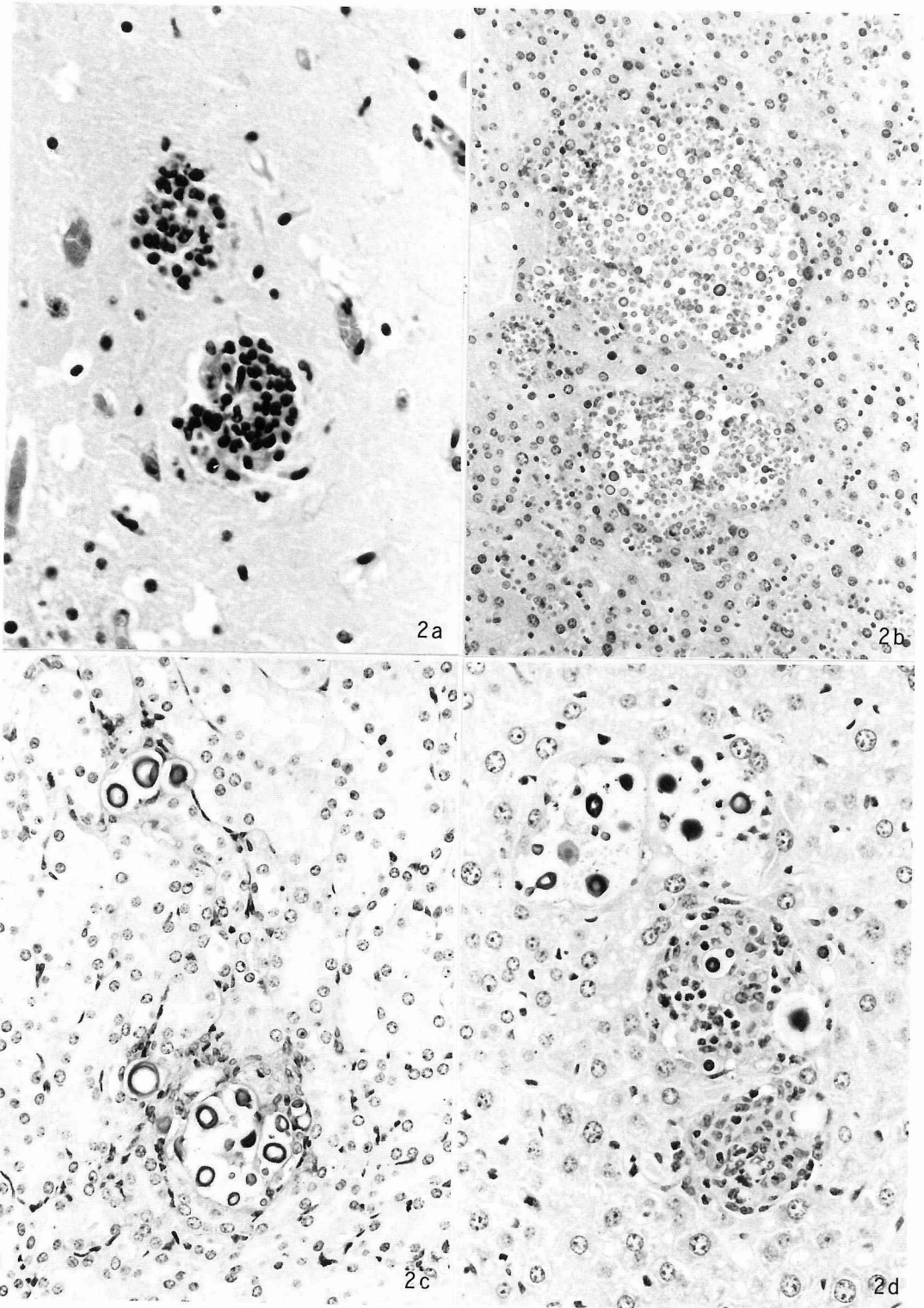
a)-e) These histologic criteria are summarised in the text.

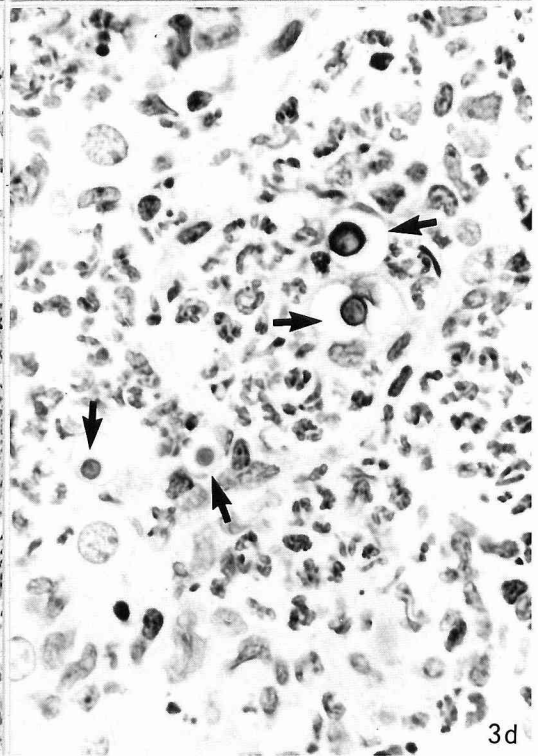
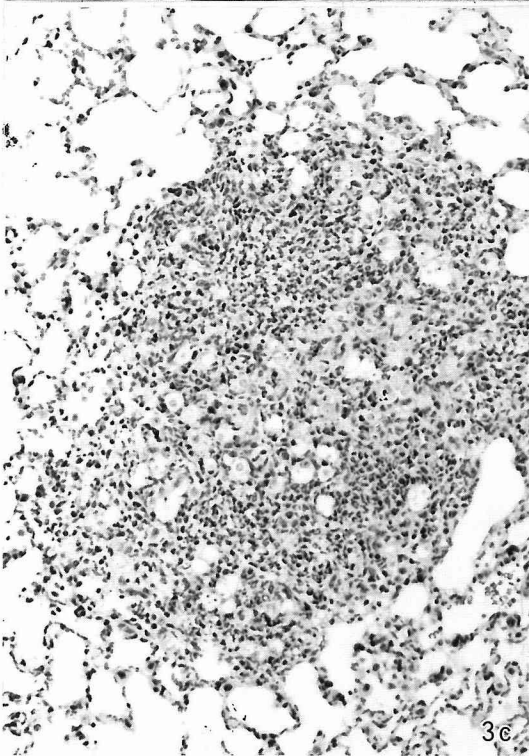
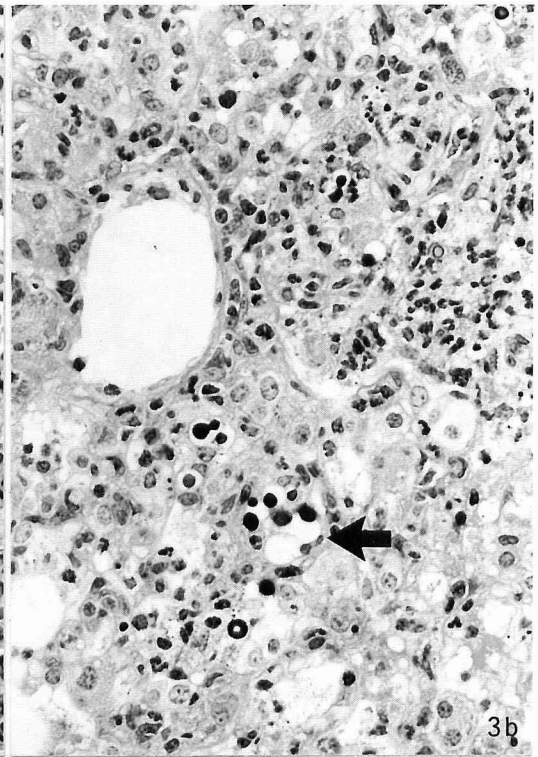
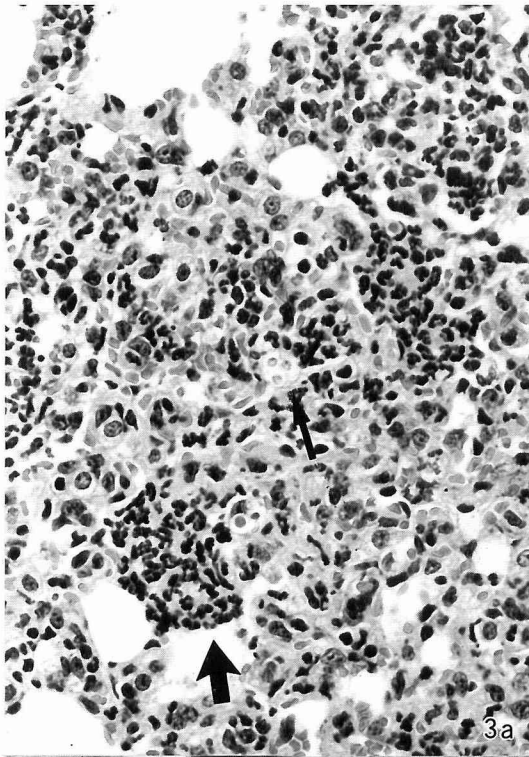
種した菌株との間に一定の傾向は認められなかった。ただし、いずれの株を用いた場合も、腎臓には常に嚢胞様病変が形成されたこと (Fig. 2c), 肝臓ではしばしば2種類の病変が共存するような形がみられたこと (Fig. 2d) が特徴であった。

3. 気管内接種による肺病変の作製と病理学的検査: CDC株は36匹, SG株は40匹のマウスを使用した。それぞれのマウスについて、エーテル麻酔を施し、70%エチルアルコールで消毒後、頸部皮膚を切開して充分に気管を露出し、直視下に26Gのツベルクリン針を

Fig. 2 Various lesions induced by intravenous inoculation of viable *C. neoformans* cells. a) Microgranulomas in the brain (9 days after inoculation, CDC strain), H. E., $\times 100$. b) Cystic lesions in the liver (9 days after inoculation, CDC strain), Mucicarmine, $\times 66$. c) Cystic lesions consisting of heavily encapsulated yeast cells in the kidney (5 days after inoculation, S. G. strain), Mucicarmine, $\times 66$. d) Coexistence of both granulomatous and cystic lesions in the liver (6 days after inoculation, S. G. strain), Mucicarmine, $\times 66$.

実験的肺クリプトコックス症





用いて滅菌生食水0.05ml あたり 10^6 個の生菌浮遊液を緩徐に注入した。切開創は絹糸で縫合し、麻酔から覚醒したのを確認して、飼育用ケージに収納した。接種後30日まで経時的に屠殺し、肺を中心に脳・肝・腎および脾の病理組織学的検索を施行した。各組織は4%リン酸緩衝バラホルムアルデヒド液で固定し、通常の方法によりパラフィン切片を作製し、hematoxylin-eosin (H.E.), alcian blue (pH 2.5)-periodic acid Schiff (AB-PAS), mucicarmine 染色を行った。また同じくパラフィン切片を用いて酵素抗体間接法 (CDC 株を感作原として家兎に免疫して、抗体価が沈降反応で64倍以上の血清を分離し、50% 飽和硫酸塩析法による IgG 画分を一次抗体として使用し、二次抗体は DAKO 社の horseradish peroxidase 標識抗ウサギ抗体を使用²⁴⁾)を行った。肺については電子顕微鏡的観察のため、一部を2%カコジル酸緩衝 (pH 7.2, 0.1 M) グルタルアルデヒド液にて2時間前固定し、同緩衝液で洗い1%カコジル酸緩衝 (pH 7.2, 0.1M) オスミウム酸で1時間後固定を行った。組織片は型通り脱水し、エポン包埋を行い超薄切片を作製、酢酸ウラニウムおよびクエン酸鉛にて重染色した後、日立 HS-9 透過型電子顕微鏡で観察した。

III 結 果

気管内接種法によるクリプトコックス肺感染巣を、以下の病理形態学的基準にしたがって検討した。すなわち、各種染色にて明らかに完全な形の菌体が存在するか、あるいはそれが証明されなくとも酸性ムコ多糖からなる莢膜成分や、酵素抗体法でクリプトコックス抗原を含む貪食細胞が多数存在する病巣を感染巣とみなした。

感染巣の組織反応を大別して、肉芽腫性病変と嚢胞

様病変に分類し、さらにおおのこの病変について、以下のように a)~e) の5型に細分類し、これに基づいて各群における肺感染巣の性状を比較し経時的推移を観察した (Table 1)。

肉芽腫性病変

- a) マクロファージ (Mφ) が主体の限局型肉芽腫ないし肉芽腫性胞隔炎であるが、浸潤細胞の中で PMN の占める割合が比較的多いもの。完全な形の菌体が病巣中に散在してみられるが、肉芽腫巢内での菌の増殖はほとんど認められない病変。
- b) 炎症反応は a) とほぼ同様であるが、肉芽腫巢内での菌の増殖があり、微小コロニーを形成しているもの。しかし、肉芽腫巢外への菌の拡散にはいたっていない病変。
- c) 淡明な胞体を有する泡沫状の大型の Mφ が密集し、その周囲に限局してリンパ球や好酸球の浸潤を伴っているもの。病巣中には完全な形の菌体は含まれないが、泡沫状 Mφ には崩壊した菌体成分や莢膜が組織化学的に証明される。

嚢胞様病変

- d) 肉芽腫巢内での菌の増殖が著しく活発になり、大型の組織内コロニーとなって、その一部が肉芽腫巢周囲の肺泡や気管支内に拡がっていく過程の病変。
- e) 肺泡や気管支腔を中から圧排するようにして、著しい数の孢子や、それらが産生した多量の莢膜が充満している状態で、莢膜成分を貪食して ballooning を示す肺泡 Mφ 以外には炎症性反応が欠如している病変。

以下、CDC 株を用いた群と SG 株を用いた群のおおのこのについて、経時的な肺感染巣の変遷を記載する。

Fig. 3 Pulmonary lesions induced by intra-tracheal inoculation of viable cells of CDC strain. a) Granulomatous pneumonitis with small foci composed of accumulations of PMNs (large arrow) and a few yeast cells (small arrows). 1 day after inoculation, H.E., $\times 100$. b) Perivascular granulomatous lesions and adjacent cystic lesions. 7 days after inoculation, AB-PAS, $\times 100$. c) A discrete granuloma containing several *Cryptococcus* cells. 10 days after inoculation, H.E., $\times 50$. d) Higher magnification of a part of c). Note many Mφs and PMNs surrounding the weakly encapsulated yeast cells (arrows), Mucicarmine, $\times 200$.

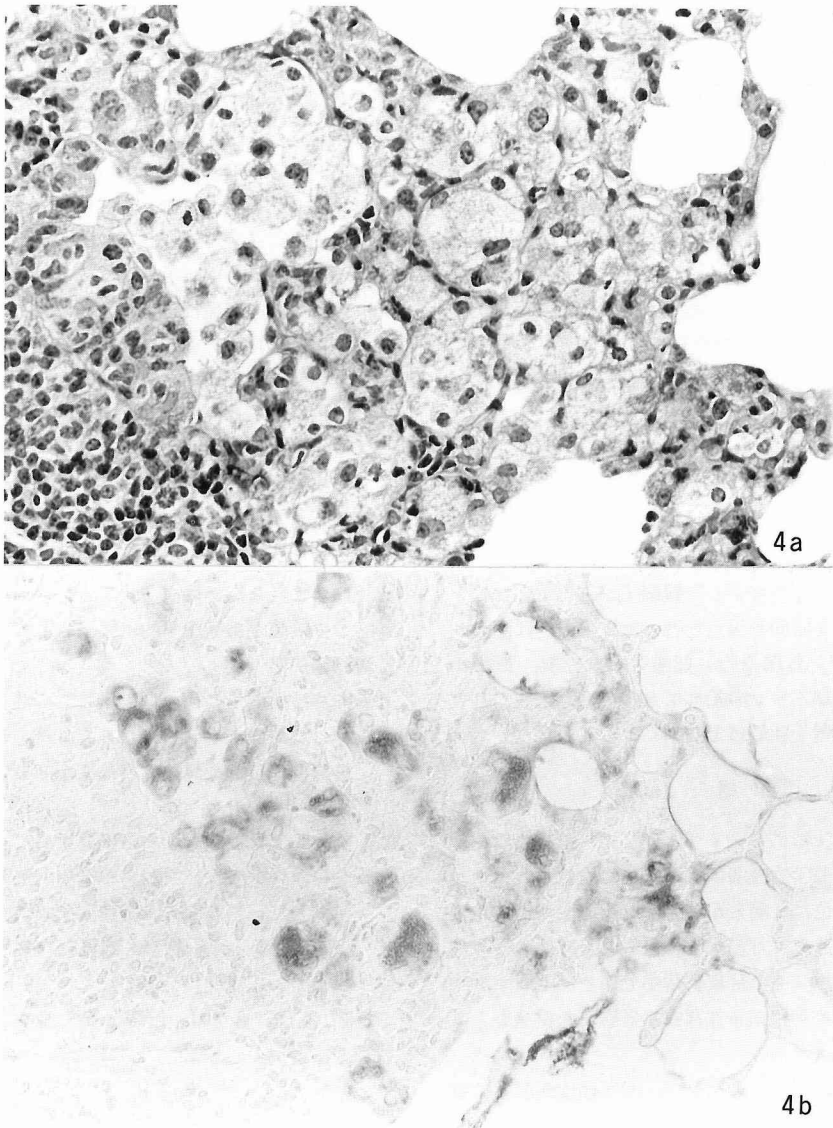
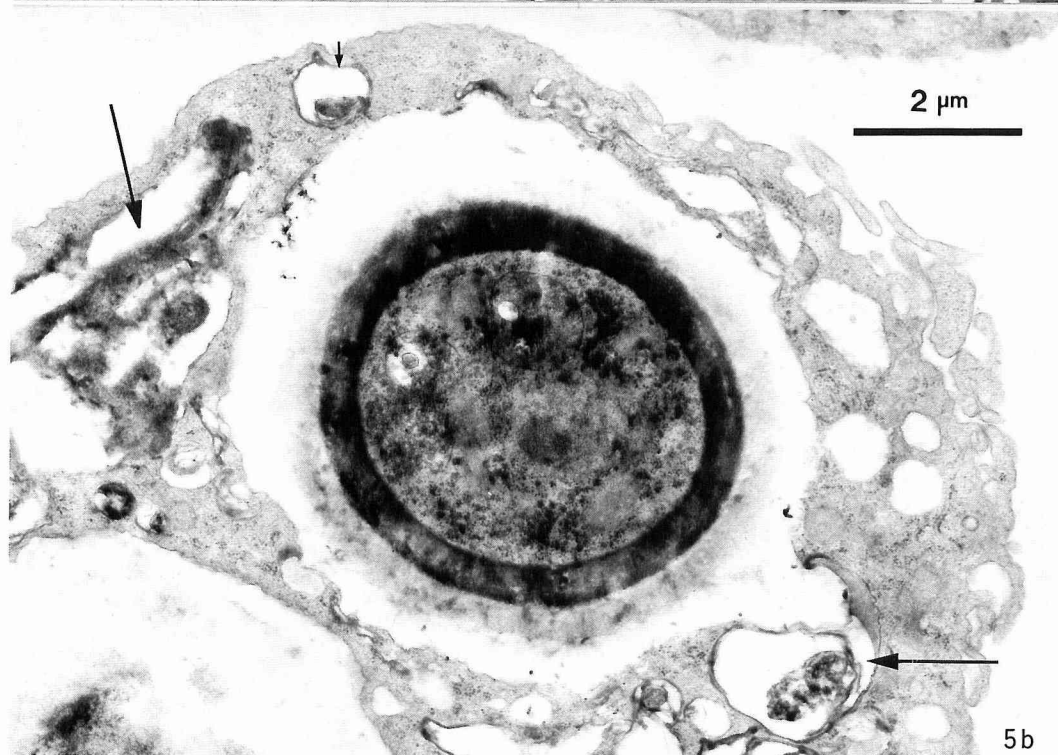
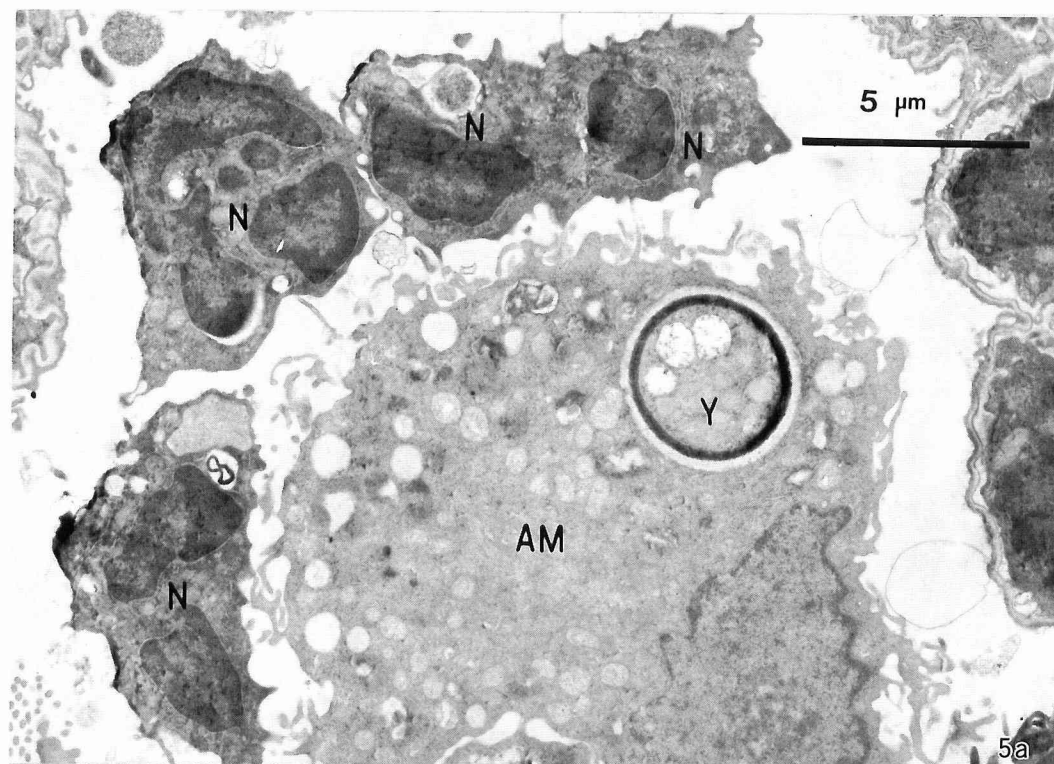


Fig. 4 Pulmonary lesions (continued from fig.3). **a**) An accumulation of large granular $M\phi$ s positively stained by alcian blue. Note absence of complete form of the yeast. 25 days after inoculation, AB-PAS, $\times 100$. **b**) Alcianophilic inclusions of $M\phi$ s mostly positive for anti-*C. neoformans* antibody, the same lesion as **a**). Indirect immunoperoxidase technique, $\times 100$.

Fig. 5 Electron microscopic findings of phagocytic cells in the lesions induced by CDC strain. **a**) Alveolar $M\phi$ (AM) containing a complete form of a poorly encapsulated yeast cell (Y) and several PMNs (N) also noted. 1 day after inoculation. Original magnification, $\times 3,000$. **b**) Alveolar $M\phi$ engulfing a yeast cell and also degraded substance possibly derived from intracellularly killed yeast cells (arrows). 10 days after inoculation. Original magnification, $\times 5,000$.



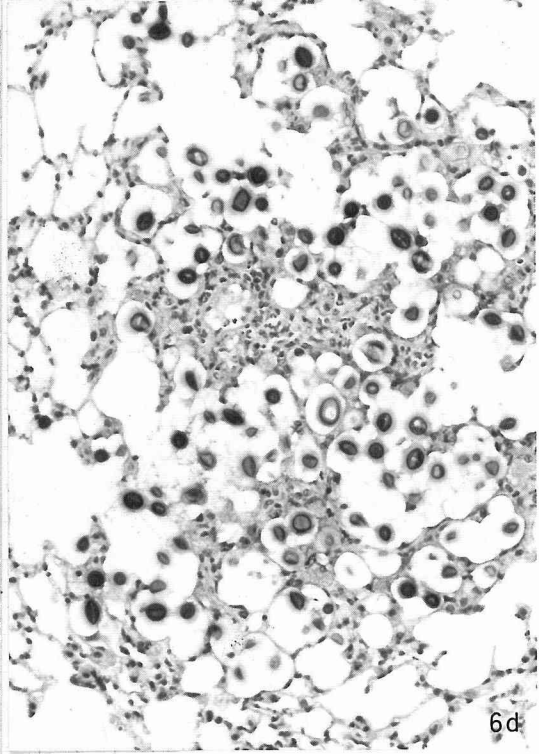
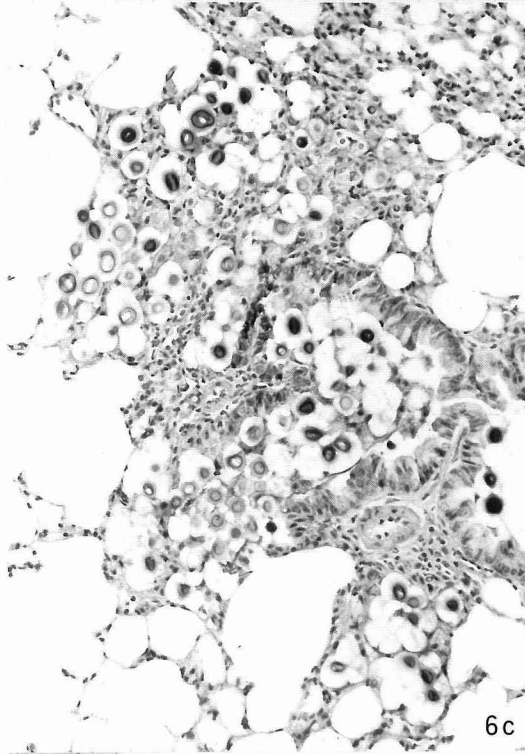
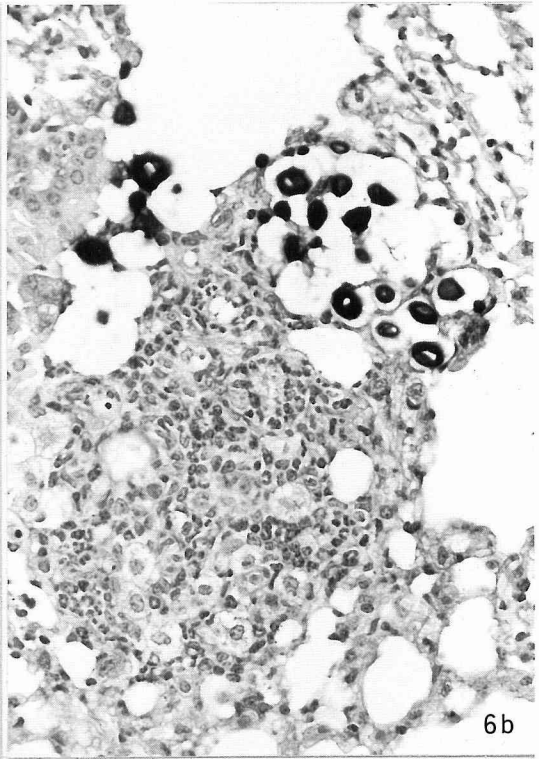
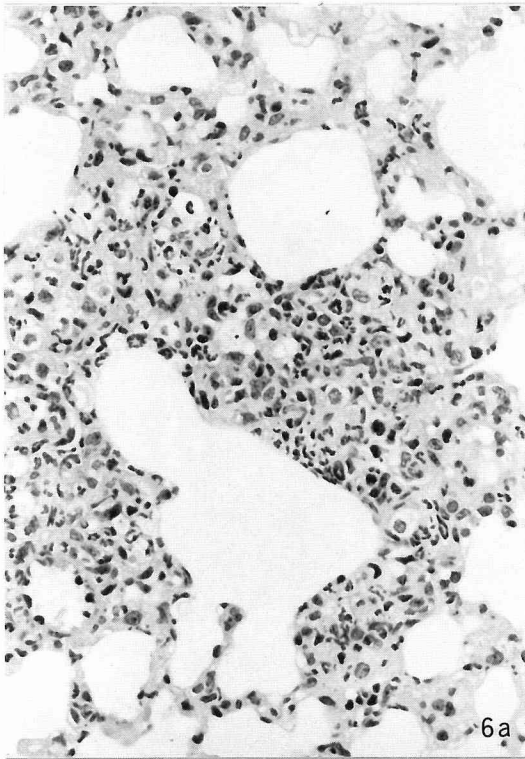


Table 2 Comparison of changes in the size of yeast cells in pulmonary lesion.

Strain	Mean size of yeast cells (μm)	
	1 day after inoculation	5 days after inoculation
CDC 551	3.82 \pm 0.90 (131)*	4.10 \pm 1.22 (148)
S. Goki	4.63 \pm 1.08 (121)	7.72 \pm 2.13 (161)

*Mean \pm One standard deviation (Number counted)

A CDC 株接種群

接種後1日目は、複数の肺葉に気管支中心性の肉芽腫性肺炎といえる像があり、小葉あるいは細葉単位に相互に融合しつつ、不規則な拡がりを示していた。浸潤細胞は大型の類円形核を有し胞体境界の不明瞭なM ϕ が中心であったが、これに混じてPMNの集簇が多数認められた(Fig. 3a)。炎症巣内には小型の胞子が多数含まれていたが、莢膜のないものが大多数を占めていた。電子顕微鏡的にも、莢膜を欠いた胞子が肺胞M ϕ に貪食されている像が観察された(Fig. 5a)。

接種後3日目から7日目にかけても、同様な小葉性肉芽腫性肺炎の像が持続したが、炎症巣内の胞子の一部が薄い莢膜を形成するとともに、僅かながら増殖を示すようになり、肉芽腫巣内に小嚢胞様病変を作った(Fig. 3b)。しかし、CDC株の炎症巣内での増殖力や莢膜形成能はきわめて弱く、肉芽腫巣外への胞子の拡散にまでは至らなかった。また、接種1日目と5日目における菌体の大きさにも有意の差は認められなかった(Table 2)。

接種後10日から15日目になると、全肺に拡がっていた炎症反応は大部分吸収され、ごく一部に少数の比較的よく限局した非類上皮細胞性肉芽腫性感染巣を残すのみとなった(Fig. 3c)。この肉芽腫の性状は、早期の肉芽腫性肺炎像と同様に、胞子周囲への著明な

PMN浸潤を伴い、大型のM ϕ が集簇している点で同質の病変であった(Fig. 3d)。電子顕微鏡的には、肺胞M ϕ は旺盛な胞子の貪食を示して、細胞内で分解する像が認められたが、胞子の中には貪食されたのちも、莢膜を保有したまま完全な形を保っているものもあった(Fig. 5b)。

接種後20日から30日目でも、完全な形の胞子を含む小肉芽腫巣は、肺の一部にごく少数認められたが(Fig. 4a)、肉芽腫を構成するM ϕ は著しく腫大し淡明な泡沫状の胞体を示す細胞に変化していた。しかし、その胞体には、クリプトコックス抗原が強陽性に染色された(Fig. 4b)。また、肉芽腫のうち一部は完全な形の胞子を含まず、泡沫状M ϕ とリンパ球だけで構成されていた。

結局、CDC株では肺の一部に感染性肉芽腫を残すことはあっても、嚢胞様病変を形成して肺内播種をおこしたり、全身に血行性に伝播することはなかった。

B SG 株接種群

接種後1日目の所見は、肺動脈領域を中心にした不規則な形の巣状の小肉芽腫性炎と(Fig. 6a)、比較的広い範囲におよぶ肺胞内および気管支粘膜への胞子の付着である。CDC株の場合にみられたような、小葉性の肉芽腫性肺炎像は認められず、炎症反応の程度は軽微であった。肉芽腫性炎症巣には多数の胞子が散在して

Fig. 6 Pulmonary lesions induced by S.G. strain. a) Granulomatous pneumonitis with a few yeast cells. 1 day after inoculation, H. E., $\times 100$. b) Granulomatous lesion with a cystic focus of collections of a few heavily encapsulated large yeast cells, some of which have spread out of the granuloma. 7 days after inoculation, AB-PAS, $\times 100$. c) Acinar type of bronchocentric infectious lesion without granulomatous reaction. 17 days after inoculation, AB-PAS, $\times 100$. d) Accumulation of many yeast cells in the alveolar spaces, appearing like a "cyst". 17 days after inoculation, AB-PAS, $\times 50$.

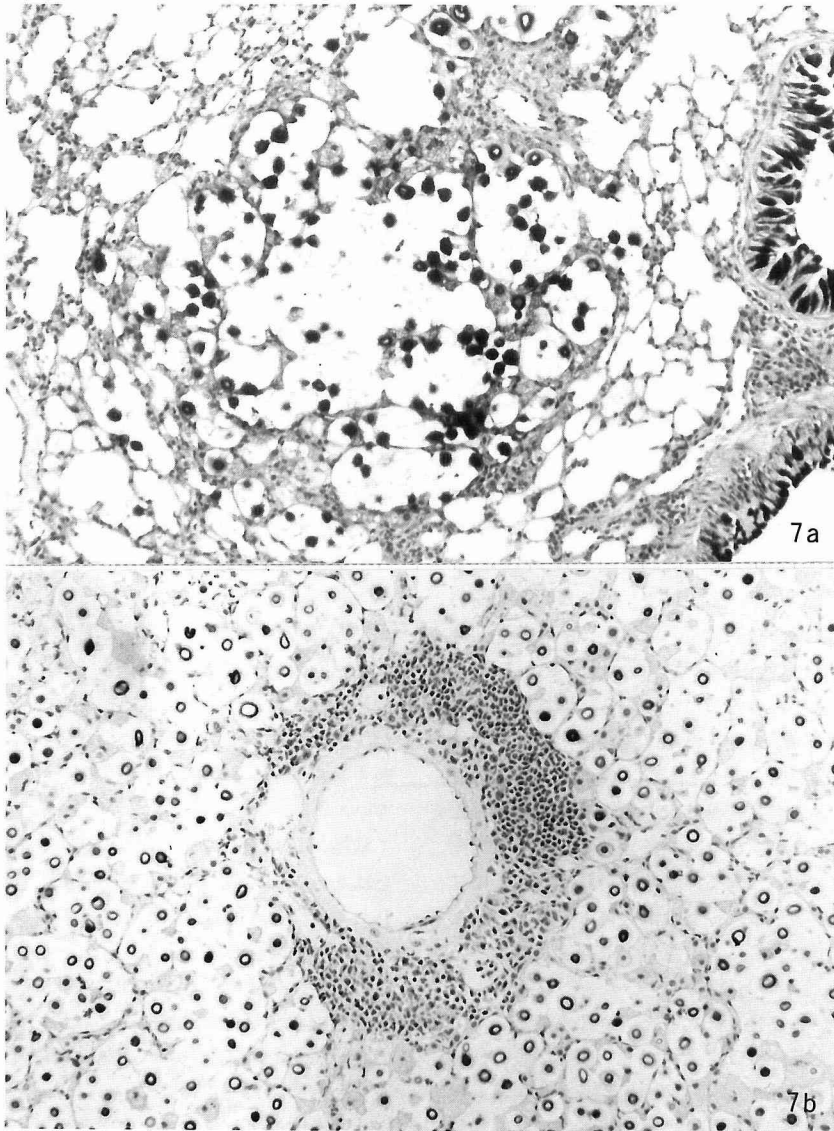
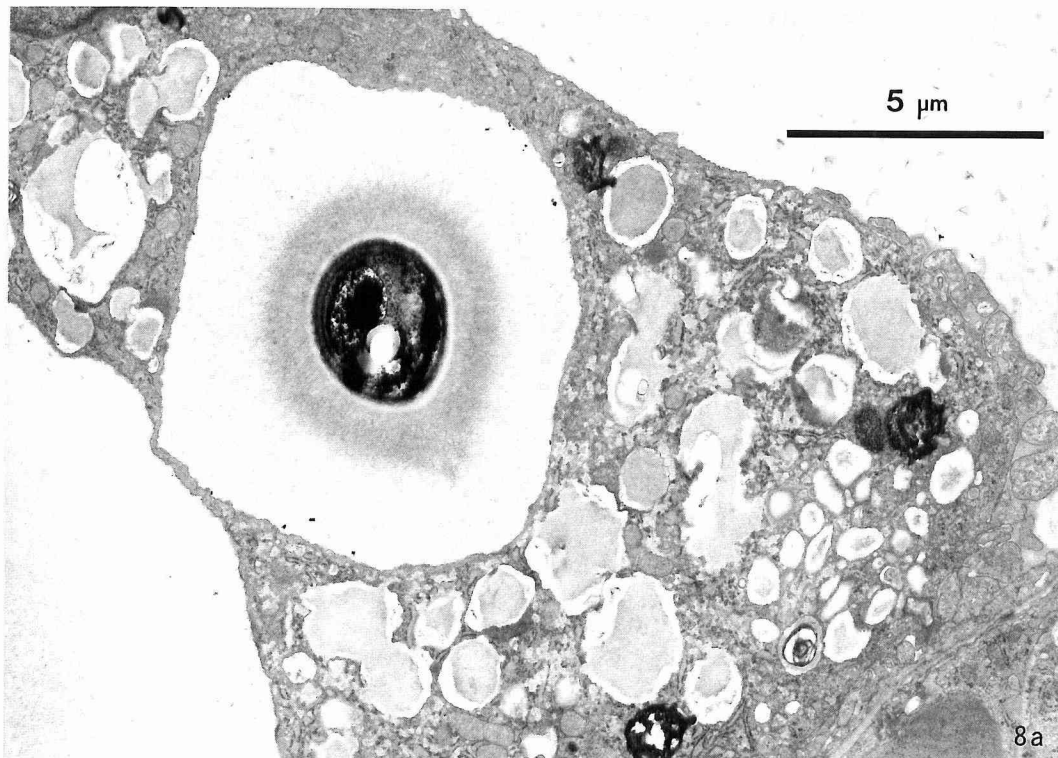
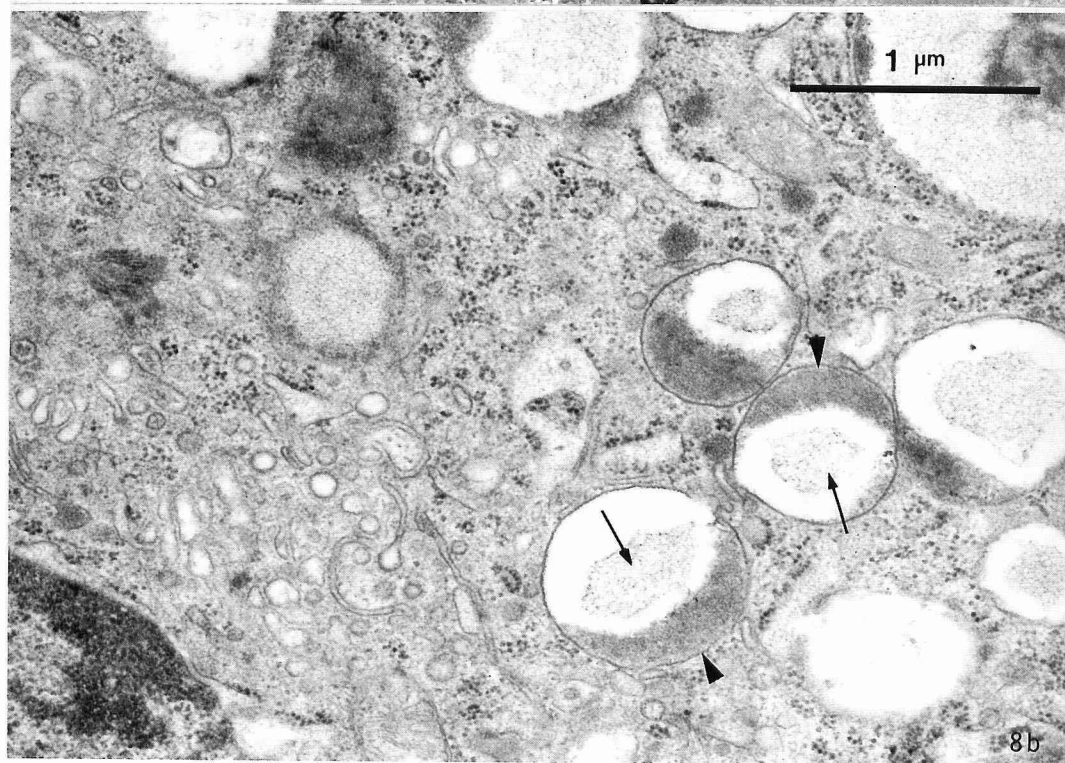


Fig. 7 Pulmonary lesions (continued from fig.6). a) A typical cystic lesion with a poor inflammatory response and focal displacement of the alveolar structures by a large colony of multiplying yeast cells with thick encapsulation. 30 days after inoculation, AB-PAS, $\times 33$. b) Massive intra-alveolar multiplication of the yeast cells, but the alveolar structures were intact. Note perivascular infiltration of lymphoplasmacytic cells. 30 days after inoculation, Mucicarmine, $\times 33$.

Fig. 8 Electron microscopic findings of phagocytic cells in the lesions induced by S.G. strain. a) Alveolar M ϕ engulfing a heavily encapsulated yeast cell and also containing phagocytic vacuoles. 10 days after inoculation. Original magnification, $\times 3,000$. b) Several phagolysosomes were noted in which lysosomal matrices (arrow heads) were replaced by low electron-dense materials (arrows) which could be capsular substance of yeast cells. 15 days after inoculation. Original magnification, $\times 10,000$.



8a



8b

いた。孢子の大きさは CDC 株の 1.2 倍程度であったが (Table 2), CDC 株と異なり特徴的なことは、炎症巣内にある孢子も含めて、大部分が薄いながらも alcianophilia を示す莢膜を保有していたことである。

接種後 5 日から 7 日にかけて、肉芽腫巣内や肺胞内にあった孢子が急速に増殖を開始するとともに、粘液染色で特有な spike 状を呈する厚い莢膜を形成し始めた。この時期になると、菌体そのものも、接種後 1 日目に比べて、直径で 1.5 倍から 3.0 倍程度の大きさのものが主体となった (Table 2)。感染巣の組織所見は、肉芽腫巣内および肺胞内での菌の増殖に基づく嚢胞様病変の形成が中心となって、気管支内にも多数の孢子が認められた。嚢胞様病変に伴ってみられる肉芽腫は莢膜を食食して膨満した Mφ とその他の単核細胞が主体で、PMN の浸潤はきわめて少なかった (Fig. 6b)。

接種後 7 日以降に検索した群では、すべて嚢胞様病変に移行し、時期がたてばたつほどより広範に感染巣が広がってゆき、逆に肉芽腫性反応は徐々に消退していく傾向を示した。感染の伝播を示唆するように、呼吸細気管支を中心に、細葉性の病巣を形成し (Fig. 6c) さらに肺胞内に進展していく像も観察された (Fig. 6d)。最終的には組織内で粘液瘤状のコロニーを形成し、周囲の肺胞を圧排して、定型的な無反応性の嚢胞様感染巣となるか (Fig. 7a)、既存の肺胞構築を破壊することなく多量の莢膜や孢子が充満する状態 (Fig. 7b) となった。

このように、肺内での感染が増幅している時期では電子顕微鏡的に肺胞 Mφ が多量の無定形な莢膜を食食したり、あるいは厚い莢膜を有する孢子をそのまま食食している像が観察された (Fig. 8a)。また莢膜は食食された後、lysosome と癒合して phagolysosome を形成していたが、莢膜成分と lysosome の基質は分離したままの状態にあるものが多かった (Fig. 8b)。

SG 株では、短期間に広範な肺内播種性感染をおこしたにもかかわらず、実験期間中に感染死したり、他臓器への感染の波及を示した動物はなかった。

IV 考 察

クリプトコックス症の頻度は、深在性真菌感染症のうちカンジダ症、アスペルギルス症に次いで、ムコール症と前後して 3 ないし 4 番目に位置づけられる²⁵⁾²⁶⁾。報告例の多くが、immunocompromised host の感

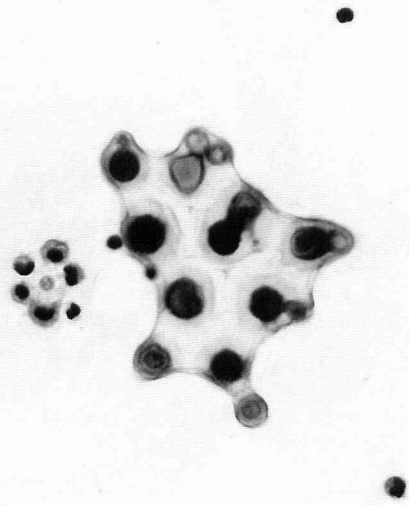


Fig. 9 Smear section of peritoneal fluid obtained 3 days after intraperitoneal inoculation of viable cells of S. G. strain. Note colonization *in vivo*. Mucicarmine, $\times 100$.

染であるのが特徴であるが、本菌は弱いながらも人への感染力を有する点で、常在真菌叢としてしばしば生体内に共生する *Candida* spp. や、腐生菌として外界にある *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. などと異なり、厳密な意味での日和見真菌とは言い難い²⁷⁾。

本邦で分離された *Cryptococcus neoformans* は、大部分が血清型 A で交配型 α の株であるが²⁸⁾、マウスに対する病原性に関して同じ血清型の株どうしでも著しい差があることが知られている²⁹⁾³⁰⁾。本実験で使用した菌株はいずれも血清型 A の共通抗原性を有し、各種代謝活性も同一であったが、*in vivo* での莢膜形成能や菌体の大きさには有意な差が認められた。またマウスに対する病原性についても厚い莢膜を形成する SG 株の方が強く、従来からの報告に一致した¹⁹⁾。

経静脈接種により生じた感染巣は、ヒトの末期的播種性感染像に近いが、自然感染の際の呼吸器系の初感染巣のように、肺胞内を一次的な局所反応の場とする病巣とはかなり隔たった病理組織所見と考えられた。

気管内接種法では、接種菌液の調整により感染粒子は人工的にかかりの修飾を受けると考えられる。本実

験で使用した接種菌液では接種1日目の組織標本での計測で、CDC株は莢膜のほとんどない比較的小型な径4 μm 前後の菌体であったが、一方SG株は前者とはほぼ同じ大きさでありながら薄い莢膜を保有する菌体であった。本実験系では、接種初期の反応は、いずれの株も小型の球状の胞子に対する反応という点で共通しており、接種後しばらくは莢膜による炎症反応への影響はごく軽度であると考えられる。本菌が自然界に存在する場合も、乾燥した状態が強ければ強い程、飛沫感染に適した小型で莢膜を欠いた菌体に変貌するといわれており³¹⁾、エアロゾル粒子として感染するか、生理食塩水浮遊液として接種されるかという基本的な違いはあっても、初期病変の形成は相互に類似していると判断される。

以下、組織内での莢膜形成能と菌体の大きさに著しい違いを示した2種の菌株による病巣形成について、経時的に3相に分けて考察する。第1相は莢膜を欠いたいわば培養状態の胞子が肺胞に直接吸引され、そこでM ϕ やPMNに貪食されて肉芽腫を形成する肉芽腫性反応期、第2相は肉芽腫巣中で貪食殺菌されずに残った胞子が分芽増殖し、豊富な莢膜形成を示して、肉芽腫巣外への菌の播種が行われる感染の増幅期、第3相は初期の肉芽腫性病変が吸収され、広範な無反応性の囊胞様病変が形成される時期である。このうち、CDC株接種群は第1相のままで経過するものであり、第3相にまで至ったのはSG株接種群である。したがって、各時相ごとに、両者の病巣を対比させることはできないが、それぞれによって形成される病巣は、いずれもクリプトコックス感染巣を代表するものであり、両者に共通する、接種直後の莢膜の乏しい小型の菌体に対する反応と、SG株のように組織内で厚い莢膜を形成して大型化した菌体に対する反応との違いが示された。

第1相の肉芽腫性反応期では、莢膜の薄い小型の菌体として接種されたSG株もCDC株も共通して1~5日目までは、肺胞M ϕ とPMNによる貪食排除を受けた。莢膜の乏しいクリプトコックス胞子の貪食は血清中に存在する易熱性の非特異的オプソニンを通じて行われる。この反応はalternative pathwayにより生成された補体C3bが菌体表面に結合し、これを貪食細胞の補体レセプターが認識して貪食がおこると考えられている³²⁾。また、貪食されずに細胞外にある菌体に対しては、同じくM ϕ やPMNが、このまわりをロゼット状に取り囲み、細胞外に放出された酵素による

消化が行われるという別の機序も確認されている³³⁾。正常状態では肺胞中に1%しかないPMNが³⁴⁾、接種初期の段階では肺胞M ϕ と同等の異物処理のための非特異的なエフェクター細胞として参画していることは、PMNの本菌に対する貪食能や殺菌能が肺胞M ϕ に比して優れていること³⁵⁾³⁶⁾と考え併せると、合目的な反応である。しかし、AndersonとDykstraは経鼻接種で生理的食塩水だけを吸入させた際にもその直後からPMN浸潤が豊富にみられたとしており³⁷⁾、この反応は接種液中に含まれる気道の常在細菌などの混入に基づく遊走現象であって今回の実験でも必ずしもクリプトコックス菌体に対して結合した複数の補体成分の一部が走化性因子として作用するためだけではないと考えられる。しかし、感染初期の段階では、PMNの果たす役割は、きわめて重要であるにも関わらず、その後の過程で、いずれの株を接種した群でも、化膿性病変が主体の炎症には移行せず、単核細胞が中心の炎症に変化していった。このことは、補体成分を介して展開する非特異的な急性炎症性細胞反応は、ごく初期の段階で後退し、より特異性の明確なM ϕ や感作リンパ球を中心とする細胞間相互作用を中心とする防御機構へと推移していく過程を示唆している。また、組織像のうえからも、PMN浸潤が最少限に留まったことは、PMNから放出される種々のproteolytic enzymeによる壊死性変化の生じなかった理由といえる。

クリプトコックスに対する反応が、単純な急性化膿性肺炎ではなく、肉芽腫性炎症を惹起するという現象は、胞子そのものが細胞内で容易に消化されにくい大型の粒子状異物であるという肉芽腫原性に依存すると同時に、ある一定期間以上に、肉芽腫性病巣が維持されていくためには、クリプトコックス感染による遅延型アレルギー反応の関与³⁸⁾³⁹⁾も見逃せない。すなわち、初期に胞子を貪食したM ϕ の一部は抗原呈示細胞としてIa抗原依存性にT細胞を活性化し、抗原特異的なT_H1細胞あるいはT_H2細胞から放出されるM ϕ 活性化因子や遊走因子による、高次の免疫学的感染防御機構がクリプトコックス感染の場合にも機能すると考えられており⁴⁰⁾、このことが肉芽腫の維持に重要と考えられる。

形態学的に肉芽腫は結核症に代表される類上皮細胞性と異物型肉芽腫に代表される非類上皮細胞性に分けられるが、本実験系では後者の病変のみが観察された。類上皮細胞性肉芽腫の形成は遅延型アレルギーの成立と密接に関係している⁴¹⁾とされてきたが、活性化マク

ロファージの類上皮細胞化は肉芽腫原の化学的組成そのものに依存する性質であり⁴²⁾、必ずしも非類上皮細胞性肉芽腫を形成したからといって遅延型アレルギーの関与を否定し得るとは考えられない。しかし、ヒトのクリプトコックス症において類上皮細胞性肉芽腫が観察されると報告しており¹⁾²⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、遅延型アレルギーの成立と肉芽腫性病変の形態学的変化との関係については、今後の検討が必要である。

肉芽腫性肺炎期を経過し、接種後5~10日の段階に至ると、CDC株を用いた群とSG株を用いた群との間には、明瞭な組織所見の変化が現れた。すなわち、CDC株を用いた群では肉芽腫性炎が次第に吸収されて縮小し、気管支中心性のよく限局化された非類上皮細胞性肉芽腫のまま経過した。菌は感染巣内にあって、若干の増殖を示したが、菌体の大きさも接種時と大差なく、莢膜の形成はごく僅かで、肉芽腫巣外への菌の播種をおこすまでにはいたらなかった。結局、CDC株では、その後も感染は第1相のまま経過し、最終的に少数の菌体とともに、菌体成分や活動を終えて崩壊した浸潤細胞などを貪食することにより形成されたと考えられる泡沫状のMφを主体とする小肉芽腫性病変となった。この病変はヒトの無症候性原発性感染巣にしばしばみられる組織像に近い⁵⁾⁹⁾。したがって、第2相以降は組織内で大型の菌体に変貌し、厚い莢膜を形成する性質のSG株に特有の経過と考えられた。

以下は、SG株による病巣を中心に、莢膜の性状と組織反応との関係について考察を進める。クリプトコックス莢膜は、glucuroxylo-mannanを主成分とする酸性ムコ多糖体である⁴³⁾。この莢膜は、それ自身に弱いながらも抗原性を有するが⁴⁴⁾、主な作用はクリプトコックス細胞壁の補体や抗体の結合部位を遮蔽することにより、MφやPMNの遊走現象や貪食を阻止したり²⁰⁾²¹⁾⁴⁵⁾⁴⁶⁾、リンパ球の活性化能を直接阻害したり⁴⁷⁾する抗起炎作用および抗食菌作用である。この作用がクリプトコックスの菌体やその他のT細胞依存性抗原に対する抗体産生や細胞反応の応答不能となって現れると考えられている⁴⁸⁾⁴⁹⁾。

Grangerらは肺胞内のように至適な二酸化炭素濃度や湿度が保たれた環境下で、クリプトコックスが厚い莢膜形成能を示すという性質は、宿主の感染防御機構に抗して種を維持してゆくための巧妙な生き残りの手段と考えている⁵⁰⁾。またクリプトコックスの場合、カンジダと異なり、たとえ肺胞Mφに貪食されたとしても、myeloperoxidase-H₂O₂-halide系による通常

の細胞内殺菌を容易には受けにくいとされている⁵¹⁾⁵²⁾。したがって、第2相の反応は、肉芽腫内で殺菌されずに選択的に生き残った胞子や、もともとある程度莢膜があり肺胞Mφによる貪食を受けずに肺胞内に残存していた胞子が、宿主内の環境に適応して感染を増幅させる時期と考えられる。

第3相になると、莢膜の有する抗食菌作用や抗起炎性が、組織像にも明確に反映されるようになり、肺内の各所で新たな無反応性囊胞様病変を形成した。囊胞様病変の発生機転に関して、IkadoとHotchiは酵素組織化学的にクリプトコックス莢膜に種々のhydrolytic enzymeの存在を証明しており、これらによる組織融解作用を示唆している⁵³⁾、基本的には粘液癌と同様な機序で菌が産生した莢膜が貯留しておこる粘液瘤として理解するのが妥当であろう。この点に関して、*in vitro*でクリプトコックスに対する細胞反応を研究する場合、一定の均一な厚さを持つ個々に独立した酵母状微生物を想定して解析が行われているが、*in vivo*の状態はこれとは異なり、不定な大きさの粘液状基質中に複数の胞子が含まれた集合体として存在するという認識が必要である(Fig.9)。このような大型の組織内コロニーを形成したものが、通常の感染防御の枠組のなかでいかにして排除されてゆくかについての疑問が残るが、一度形成された囊胞様病変は宿主の感染防御機構のみでは、再び肉芽腫性病巣には転換し得ない不可逆的变化と考えられている⁵⁴⁾。いずれにしても、第3相に移行した状態は、菌の増殖が宿主の感染抵抗に優ったことを示唆している。経鼻接種法による感染実験では、約3カ月から4カ月で全身播種が生じると報告されており³⁷⁾⁵⁵⁾、今回の実験系でも、観察期間を延長すれば、早晚感染死を招くと想像される。

このように、囊胞様病変を形成するか否かは、まず第1に菌株の保有する組織内での莢膜形成能に依存しているといえる。第2は、宿主側の細胞性免疫能の障害の程度で、このことはNishimuraとMiyajiのnude mouseを用いた研究から示唆されるように⁵⁶⁾、感作T細胞を介したMφの動員や活性化が不十分なために、初期の感染源の排除が効率よく行われず、早期から生体反応の乏しい組織内での菌の増殖がおきてしまうためと考えられる。

感染巣の組織反応は、常に宿主側の抵抗性と寄生体側の病原性との間の相互作用の帰結である。著者は、*Cryptococcus neoformans*による肺の初期感染巣の観察から、接種直後の莢膜のない小型の菌体に対して

は、宿主の感染防御能が優勢で、肉芽腫性反応による菌の排除が行われ、この排除を免れた一部の菌が組織内で莢膜を形成し、増殖し始めると寄生体側の病原性が優位となって嚢胞様病変になるという、一連の過程を追跡することができた。このような経過は、Farhiらの指摘した感染様式によく相応している⁵⁷⁾。また、莢膜の有無と肺の感染巣との病理組織学的対応については、腹腔内あるいは脳内接種法を用いた Farmer と Komorowski の結果と一致していた¹⁸⁾。しかし、本菌の病原性については、莢膜のみでなく phenol oxidase 活性も関係していることが、最近になって明らかにされる⁵⁸⁾⁵⁹⁾とともに、宿主側の要因としても、補体欠損マウス⁶⁰⁾や beige マウス⁶¹⁾に遺伝的易感染性があることが発見され、本菌をめぐる感染防御機構について今後に残された課題も多い。

V 結 語

Cryptococcus neoformans に対する組織反応を検索する目的で、莢膜形成能の異なる2種の血清型Aの菌株(SG株, CDC株)を使用し、マウスの気管内に接種して、経時的に肺の感染巣を病理組織学的に比較検討した。この結果、

1) 接種後5日頃までは、両菌株に対する反応はほぼ等しく、接種用に培養した状態で莢膜の乏しい胞子に対する肉芽腫性炎であった。すなわち、莢膜の有する抗菌作用や抗起炎作用が組織像に反映されなかった。

2) その後、CDC株接種群では病巣内に存在する胞子の莢膜形成能が乏しく、次第に炎症の範囲は限局化し、最終的に微小肉芽腫を残した。一方、SG株接種群では、肉芽腫巣内や肺胞中の胞子が急速に増殖し、

莢膜の厚い大型の菌体に変貌するとともに、多数の組織内コロニーを形成して嚢胞様病変となった。

3) 嚢胞様病変では、大量に産生された莢膜のため Mφ による食菌作用が阻害されたり、抗体や補体成分を介するオプソニン作用が遮蔽されて、感染源の排除を行うに足る炎症性細胞の浸潤がおこらないことが示唆された。

4) 嚢胞様病変となるか肉芽腫性病変となるかは、クリプトコックス菌体が組織内で厚い莢膜を形成するか否かという菌株の性質に依存していると考えられた。

本論文の要旨は、第29回日本医真菌学会総会(1985年11月, 別府)および第75回日本病理学会総会(1986年4月, 仙台)において発表した。

稿を終えるにあたり、終始懇篤なる御指導御校閲を賜りました恩師兠地雅夫教授に深甚なる謝意を表します。同時に本研究に際し、直接御指導御助力下さいました崔進先生、井門慎介博士(現 市立岡谷病院泌尿器科)、小林一夫博士(現 長崎大学医学部形成外科)をはじめとする病理学教室諸兄、ならびに実験感染の手技について御指導いただきました千葉大学生物活性研究所の宮治誠教授、西村和子助教授、また研究遂行に御援助と御理解を下さいました丸子中央総合病院院長丸山大司博士に深く感謝致します。さらに、標本作製に御協力いただいた当教室羽山正義技官、滝沢淳子技官、今井文衛技術補、下村雅彦技術補、総合研究室市川良治技官、亀谷清和技官および丸子中央総合病院病理検査室宮沢富士江、高田礼子、山浦恵子の諸氏、また原稿の準備に御協力いただいた当教室市川寿恵氏に心から感謝申し上げます。

文 献

- 1) Salfelder, K. : Cryptococcosis. In : Baker, R. D. (ed.), The pathologic anatomy of the mycoses. Dritter Band, Fuenfter Teil, pp. 383-464, Springer Verlag, Berlin, 1971
- 2) Kwon-Chung, K. J. : Cryptococcosis. In : Emmons, C. W., Binford, C. H., Utz, J. P. and Kwon-Chung, K. J. (ed.), Medical mycology. 3rd ed., pp. 206-229, Lea and Febiger, Philadelphia, 1982
- 3) Rippon, J. W. : Medical Mycology : The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. 2nd ed., pp. 532-558, Saunders Co., Philadelphia, 1982
- 4) Emmons, C. W. : Saprophytic source of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columba livia*). Am J Hyg, 62 : 227-232, 1955
- 5) Salyer, W. R., Salyer, D. C. and Baker, R. D. : Primary complex of *Cryptococcus neoformans* and pulmonary lymph nodes. J Infect Dis, 130 : 74-77, 1974
- 6) Perkins, W. : Pulmonary cryptococcosis. Report on treatment of nine cases. Dis Chest, 56 :

- 389-394, 1969
- 7) Cohen, A. A., Davis, A. and Finegold, S. M. : Chronic pulmonary cryptococcosis. *Am Rev Respir Dis*, 91 : 414-423, 1965
 - 8) Houk, V. N. and Moser, K. M. : Pulmonary cryptococcosis. Must all receive amphotericin B? *Ann Intern Med*, 63 : 583-596, 1965
 - 9) Haugen, R. K. and Baker, R. D. : The pulmonary lesions in cryptococcosis with special reference to subpleural nodules. *Am J Clin Pathol*, 24 : 1381-1390, 1954
 - 10) Zimmerman, L. E. and Rappaport, H. : Occurrence of cryptococcosis in patients with malignant disease of reticuloendothelial system. *Am J Clin Pathol*, 24 : 1050-1072, 1954
 - 11) Kaplan, M. H., Rosen, P. P. and Armstrong, D. : Cryptococcosis in a cancer hospital : clinical and pathological correlates in forty-six patients. *Cancer*, 39 : 2265-2274, 1977
 - 12) Mark, E. J. : Lung biopsy interpretation. 1st ed., pp. 50-51, Williams and Wilkins, Baltimore, 1984
 - 13) Fezekas, G. and Schwarz, J. : Histology of experimental murine cryptococcosis. *Am J Pathol*, 34 : 517-529, 1958
 - 14) Schwarz, J. : The diagnosis of deep mycoses by morphologic methods. *Hum Pathol*, 13 : 519-533, 1982
 - 15) Baker, R. D. and Haugen, R. K. : Tissue changes and tissue diagnosis in cryptococcosis. A study of 26 cases. *Am J Clin Pathol*, 25 : 14-24, 1955
 - 16) McDonnell, J. M. and Hutchins, G. M. : Pulmonary cryptococcosis. *Hum Pathol*, 16 : 121-128, 1985
 - 17) Knudson, R. J., Burch, H. B. and Hatch, H. B. : Primary pulmonary cryptococcosis. Report of three cases and review of literature. *J Thorac Cardiovascul Surg*, 45 : 730-740, 1963
 - 18) Farmer, S. G. and Komorowski, R. A. : Histologic response to capsule-deficient *Cryptococcus neoformans*. *Arch Pathol*, 96 : 383-387, 1973
 - 19) Bulmer, G. S., Sans, M. D. and Gunn, C. M. : *Cryptococcus neoformans*, I. Nonencapsulated mutants. *J Bacteriol*, 94 : 1475-1479, 1967
 - 20) Kozel, T. R. and McGaw, T. G. : Opsonization of *Cryptococcus neoformans* by human immunoglobulin G : role of immunoglobulin G in phagocytosis by macrophages. *Infect Immun*, 25 : 255-261, 1979
 - 21) Laxalt, K. A. and Kozel, T. R. : Chemotaxigenesis and activation of the alternative complement pathway by encapsulated and non-encapsulated *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*, 26 : 435-440, 1979
 - 22) Ikeda, R., Shinoda, T., Fukazawa, Y. and Kaufman, L. : Antigenic characterization of *Cryptococcus neoformans* serotypes and its application to serotyping of clinical isolates. *J Clin Microbiol*, 16 : 22-29, 1982
 - 23) 篠田孝子 : 私信.
 - 24) 小林一夫, 伊藤 誠, 崔 進, 発地雅夫 : パラフィン切片を用いた酵素抗体間接法による真菌の同定について, *真菌誌*, 26 : 36, 1985
 - 25) Hotchi, M., Okada, M. and Nasu, T. : Present state of fungal infections in autopsy cases in Japan. A statistical survey of all autopsy cases during the ten-year period from 1966-1975. *Am J Clin Pathol*, 74 : 410-416, 1980
 - 26) Gold, J. W. M. : Opportunistic fungal infections in patients with neoplastic disease. *Am J Med*, 76 : 458-463, 1984
 - 27) Lurie, H. I. and Duma, R. J. : Opportunistic infections of the lung. *Hum Pathol*, 16 : 121-128, 1985
 - 28) Hironaga, M., Ikeda, R., Fukazawa, Y. and Watanabe, S. : Mating types and serotypes of *Cryptococcus neoformans* isolated in Japan. *Sabouraudia*, 21 : 73-78, 1983

- 29) Hasenclever, H.F. and Emmons, C.W. : The prevalence and mouse virulence of *Cryptococcus neoformans* strains isolated from urban areas. *Am J Hyg*, 78 : 227-231, 1963
- 30) Kagaya, K., Yamada, T., Miyagawa, Y., Fukazawa, Y. and Saito, S. : Characterization of pathogenic constituents of *Cryptococcus neoformans* strains. *Microbiol Immunol*, 29 : 517-531, 1985
- 31) Neilson, J.B., Fromtling, R.A. and Bulmer, G.S. : *Cryptococcus neoformans* : size range of infectious particles from aerosolized soil. *Infect Immun*, 17 : 634-638, 1977
- 32) Diamond, R.D., May, J.E., Kane, M., Frank, M.M. and Bennett, J.E. : The role of late complement components and the alternate complement pathway in experimental cryptococcosis. *Proc Soc Exp Biol Med*, 144 : 312-315, 1973
- 33) Kalina, M., Kletter, Y. and Aronson, M. : The interaction of phagocytes and the large-sized parasites *Cryptococcus neoformans* : cytochemical and ultrastructural study. *Cell Tissue Res*, 152 : 165-174, 1974
- 34) 安藤正幸 : 肺における生体防御の特殊性. *生体防御*, 2 : 17-26, 1985
- 35) Diamond, R.D. : Effects of stimulation and suppression of cell-mediated immunity on experimental cryptococcosis. *Infect Immun*, 17 : 187-194, 1977
- 36) Kozel, T.R., Highson, B. and Stratton, C.J. : Localization on encapsulated *Cryptococcus neoformans* of serum component opsonic for phagocytosis by macrophages and neutrophils. *Infect Immun*, 43 : 574-579, 1984
- 37) Anderson, D.M. and Dykstra, M.A. : Pulmonary cell response in mice following intranasal instillation with *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*, 86 : 179-184, 1984
- 38) Diamond, R.D. and Bennett, J.E. : Disseminated cryptococcosis in man : decreased lymphocyte transformation in response to *Cryptococcus neoformans*. *J Infect Dis*, 127 : 694-697, 1973
- 39) Lim, T.S., Murphy, J.W. and Cauley, L.K. : Host-etiological interactions in intranasally and intraperitoneally induced cryptococcosis in mice. *Infect Immun*, 29 : 633-641, 1980
- 40) Fung, P.Y.S. and Murphy, J.W. : *In vitro* interactions of immune lymphocytes and *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*, 36 : 1128-1138, 1982
- 41) Adams, D.O. : The granulomatous inflammatory response. A review. *Am J Pathol*, 84 : 164-191, 1976
- 42) Tanaka, A. and Emori, K. : Epithelioid granuloma formation by a synthetic bacterial cell wall component, muramyl dipeptide (MDP). *Am J Pathol*, 98 : 733-748, 1980
- 43) Cherniak, R., Reiss, E., Slodki, M.E., Plattner, R.D. and Bulmer, S.O. : Structural and antigenic activity of the capsular polysaccharide of *Cryptococcus neoformans* serotype A. *Mol Immunol*, 17 : 1025-1032, 1980
- 44) Goren, M.B. and Middlebrook, G.M. : Protein conjugates of polysaccharide from *Cryptococcus neoformans*. *J Immunol*, 98 : 901-913, 1967
- 45) McGaw, T.G. and Kozel, T.R. : Opsonization of *Cryptococcus neoformans* by human immunoglobulin G : masking of immunoglobulin G by cryptococcal polysaccharide. *Infect Immun*, 25 : 262-267, 1979
- 46) Griffin, F.M., Jr. : Role of macrophage Fc and C3b receptors in phagocytosis of immunologically coated *Cryptococcus neoformans*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 78 : 3853-3857, 1981
- 47) Lee, I., Vogel, F., Breen, J. and Friedman, H. : Altered responsiveness of murine lymphoid cells treated with cryptococcal capsular polysaccharide. *Proc Soc Exp Biol Med*, 169 : 427-431, 1982
- 48) Henderson, D.K., Bennett, J.E. and Huber, M.A. : Long-lasting, specific immunologic unresponsiveness associated with cryptococcal meningitis. *J Clin Invest*, 69 : 1185-1190, 1982
- 49) Kozel, T.R., Gulley, W.F. and Cazin, J., Jr. : Immune response to *Cryptococcus neoformans* soluble polysaccharide : immunological unresponsiveness. *Infect Immun*, 18 : 701-707, 1977

- 50) Granger, D.L., Perfect, J.R. and Durack, D.T. : Virulence of *Cryptococcus neoformans*. Regulation of capsule synthesis by carbon dioxide. J Clin Invest, 76 : 508-516, 1985
- 51) Bulmer, G.S. and Tacker, J.R. : Phagocytosis of *Cryptococcus neoformans* by alveolar macrophages. Infect Immun, 11 : 73-79, 1975
- 52) Anderson, D.M. and Dykstra, M.A. : Resistance to challenge and macrophage activity in mice previously vaccinated with formalin-killed *Cryptococcus neoformans*. Mycopathologia, 86 : 169-177, 1984
- 53) Ikado, S. and Hotchi, M. : An enzyme-histochemical study on the cell surface of *Cryptococcus neoformans* by electron microscopy. In : Boxter, M. (ed.), Proceedings of VIIIth. congress of international society for human and animal mycology, p.548, Massey University, New Zealand, 1982
- 54) Watabe, T., Miyaji, M. and Nishimura, K. : Studies on relationship between cysts and granulomas in murine cryptococcosis. Mycopathologia, 86 : 113-120, 1984
- 55) Ritter, R.C. and Larsh, H.W. : The infection of white mice following an intranasal instillation of *Cryptococcus neoformans*. Am J Hyg, 78 : 241-246, 1963
- 56) Nishimura, K. and Miyaji, M. : Histopathological studies on experimental cryptococcosis in nude mice. Mycopathologia, 68 : 145-153, 1979
- 57) Farhi, F., Bulmer, G.S. and Tacker, J.R. : *Cryptococcus neoformans*. IV. The not-so-encapsulated yeasts. Infect Immun, 1 : 526-531, 1970
- 58) Kwon-Chung, K. J., Polacheck, I. and Popkin, T. J. : Melanin-lacking mutants of *Cryptococcus neoformans* and their virulence for mice. J Bacteriol, 150 : 1414-1421, 1982
- 59) Rhodes, J.C., Polacheck, I. and Kwon-Chung, K. J. : Phenol oxidase activity and virulence in isogenic strains of *Cryptococcus neoformans*. Infect Immun, 36 : 1175-1184, 1982
- 60) Rhodes, J.C., Wicker, L.S. and Urba, W. J. : Genetic control of susceptibility to *Cryptococcus neoformans* in mice. Infect Immun, 29 : 494-499, 1980
- 61) Macquis, G., Montplaisir, S., Pelletier, M., Mousseau, S. and Auger, P. : Genetic resistance to murine cryptococcosis : the beige mutation (Chédiak-Higashi syndrome) in mice. Infect Immun, 47 : 288-293, 1985

(61. 5. 19 受稿)