

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

日本真菌学会雑誌 (1990.10) 31巻4号:317~324.

キタキツネ(*Vulpes vulpes schrenckii*)の生息環境ならびに体毛からの好角質性真菌の分離

久保等、田村俊哉、飯塚一、芝木秀臣、宇田川俊一

原 著

## キタキツネ (*Vulpes vulpes schrenckii*) の 生息環境ならびに体毛からの好角質性真菌の分離

久 保 等

深川市立総合病院皮膚科

田 村 俊 哉 飯 塚 一

旭川医科大学皮膚科学教室

芝 木 秀 臣

札幌市

宇田川 俊 一

国立衛生試験所

[受付1月27日, 1990年. 受理5月1日, 1990年]

### 要 旨

北海道東部の野生のキタキツネの巣穴ならびにキタキツネ牧場から土壤試料を200採取し, Vanbreuseghemのhair-baiting法を用いて好角質性真菌の分離を試みた. その結果, *Trichophyton ajelloi* 112株, *Microsporum cookei* 48株, *Arthroderma cuniculi* 29株, *Chrysosporium* anamorph of *A. tuberculatum* 18株, *Chrysosporium tropicum* および *C. keratinophilum* 各4株, *T. terrestre* 2株が得られた. また, 北海道東部で捕獲された30頭の野生のキタキツネについてhair-brushingを用いて体毛を採取し好角質性真菌の分離を試みた. その結果, *A. cuniculi* を7頭から, *T. verrucosum* を1頭から分離した.

なお *A. cuniculi* の分離は本邦ではじめてのものであり, 本菌の生態は野生のキタキツネと密接な関係があることが示唆された.

**Key words:** キタキツネ (*Vulpes vulpes schrenckii*), 巣穴 (fox burrow), hair brushing, 好角質性真菌 (keratinophilic fungi) *Arthroderma cuniculi*

キタキツネ (*Vulpes vulpes schrenckii*) は北海道, 南千島, 旧樺太地域の海岸, 酪農地域, 山麓に生息している. 最近は人間生活の副産物に依存する傾向が強く, また観光用に人工的に飼育され, 人との接触が密になってきている. しかしキタキツネに関連する調査としてはエヒノコックス症が知られている程度で, 真菌学的検索はなされていないのが現状である.

そこでわれわれはキタキツネに関する真菌の生息実態を調査するため, 北海道における野生のキタキツネの巣穴と観光用に飼育されているキタキツネ牧場 (飼育場) の土壤ならびに野生のキタキツネの体毛からの好角質性真菌の分離を試みたので, その結果を報告する.

### 材料と方法

#### 1. 土壤試料中の好角質性真菌検索

##### 1) 試料

昭和60年11月に北海道東部の土壤を試料採取

別刷請求先: 久保 等

〒074 深川市5条6番  
深川市立総合病院皮膚科

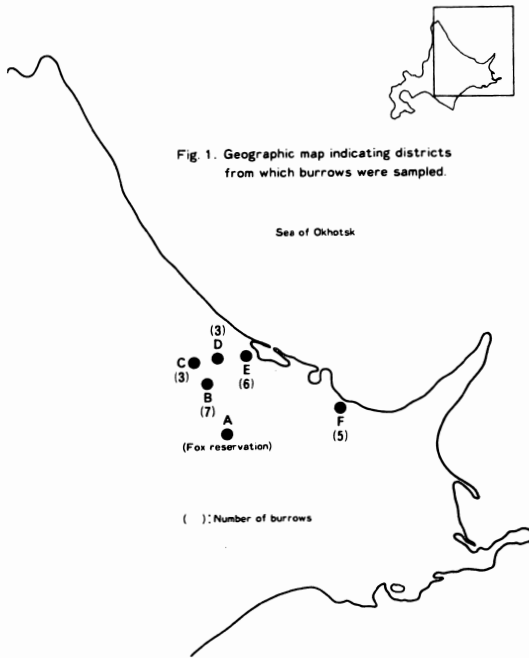


Fig. 1. Geographic map indicating districts from which burrows were sampled.

Fig. 1. Geographic map indicating districts from which burrows were sampled.

の対象とした。野生のキタキツネの巣穴は24カ所から、1つの巣穴につき穴の入り口とその周囲1m以内の範囲で5点または10点の土壤試料を採取し、またキタキツネ飼育場からは at random に40点の土壤試料を採取し、合計200点について検索した (Fig. 1)。巣穴は地元の人々やキツネ狩りをしている人々から確認をとった。採取場所の所在地名は、Aは留辺蘂町、BとCは遠軽町、Dは湧別町、Eは芭露、Fは小清水町である。

## 2) 採取および培養方法

土壤試料は滅菌ヘラを用いて深さ5cm以内の土壤表層から25cm<sup>2</sup>の面積を目途として採取し、直径9cmのプラスチック製滅菌ペトリ皿に約半量になるように土壤を入れ、テープで密封し、直ちに実験室に持ち帰った。土壤試料を入れたペトリ皿に滅菌蒸留水を加え適度に湿らせ、あらかじめ約2cmの長さで切断した滅菌成人頭髪を約20本加え、25~30℃の孵卵器で約2カ月間培養した。

この間、毎週1回観察、コロニーの発生していないものは陰性とし、コロニーの発生したものは経時的観察を行った。

## 3) 分離同定方法

菌学的検索は発育したコロニーの数カ所から白金耳で釣菌、ラクトフェノール・コットンブルーでマウントして鏡検し、また同時にマイコセル寒天培地‘栄研’、4%デキストロース添加サブロー寒天培地、高塩の無機塩類添加1/10希釈サブロー・デキストロース寒天培地で純分離培養を行い同定した。

## 2. 体毛の試料の好角質性真菌検索

### 1) 試料

昭和62年4月、網走地区10頭、足寄地区20頭の捕獲された野生のキタキツネを用いた。全てのキタキツネに脱毛病巣はみられなかった。

### 2) 採取および培養方法

プラスチック製円形ブラシを用い、キタキツネの頭から尾にかけて1頭につき20回 brushing を行い、マイコセル寒天培地平板に突き刺し、25~30℃の孵卵器で約1カ月間培養した。

### 3) 分離同定方法

発生したコロニーは釣菌し、新しいマイコセル寒天培地上で純分離培養を行った。その後、4%デキストロース添加サブロー寒天培地、高塩の無機塩類添加1/10希釈サブロー・デキストロース寒天培地で培養を行い、主な好角質性真菌を同定した。

さらに必要に応じて、ファイトン酵母エキス寒天培地‘BBL’平板に接種、25および37℃で培養し、発育の有無と、発育した場合は巨大コロニーについて形態の観察を行った。一方、分生子の形態観察にはスライド培養を行った。子嚢果を形成する菌については、単子嚢胞子分離を行い、ホモタリック、ヘテロタリックを確認した。

## 3. 交配試験

Hair-soil plate法により、下記の標準株を使用し試験した。

*Arthroderma cajetani* (Ajello) Ajello, Weitzman, McGinnis et Padhye VUT 9017株 (+), VUT 9018株 (-), *A. cuniculi* Dawson UAMH 1788株 (+), UAMH 1789株 (-), *A. insingulare* Padhye et Carmichael VUT 76043株 (+), VUT 76044株 (-), *A. lenticularum* Pore, Tsao et Plunkett VUT 76050 (+) 株, VUT 76051株 (-), *A. quadrifidum* Dawson et Gentles VUT 76054株 (+), VUT 76055株 (-), *A. tuber-*

*culatum* Kuehn VUT 76057 (+) 株, VUT 76056 (-) 株.

なお, VUT 株は東京大学農学部家畜内科学教室, UAMH 株はカナダ国アルバータ大学医学部真菌保存施設から供与された標準株である.

試験菌を標準株と組合わせ, それぞれ接種後, 25°C で培養し, 経時的に子嚢果および子嚢胞子の形成の有無を観察した.

### 実験結果

#### 1. キタキツネ生息地の土壌中の好角質性真菌

Table 1 に示すように, 巣穴および飼育場から採取した土壌試料 200 点のうち 158 点 (79.0%) から好角質性真菌が検出された. 分離菌の種類および菌株数は *Trichophyton ajelloi* (Vanbreuseghem) Ajello が 112 株と最も多く, 次いで *Microsporium cookei* Ajello 48 株, *Arthroderma cuniculi* 29 株, *Chrysosporium* anamorph of *A. tuberculatum* 18 株, *Chrysosporium tropicum* Carmichael および *C. keratinophilum* (Frey) Carmichael 各 4 株, *T. terrestre* Durie et Frey 2 株でいずれも *A. insingulare* であった.

#### 2. *Arthroderma cuniculi* の同定

本種は調査した全地域 (B~F) の野生のキタキツネの巣穴土壌から全て子嚢果を形成した状態

で分離された. 本菌は hair-baiting 法による培養 2 週間後から白色くもの巢状の菌糸として観察され, 3 週間後には子嚢果が多数形成され (Fig. 2), 子嚢果壁菌糸付属器の末端細胞は 3, 4 個の突起を有していた (Fig. 3). 単子嚢胞子培養の結果, 性的な和合性はヘテロタリックを示した. ファイトン酵母エキス寒天培地上での発育はよく, 25°C, 3 週間後には中心にひだ壁を有する黄白色短絨毛状のコロニーが形成された (Fig. 4). スライド培養では単純性, 一部ブドウ状に集生した分生子が多数認められた (Fig. 5).

以上の特徴から, *A. cuniculi* を考え同種の標準株との交配試験を行ったところ, 交配成立を認めた. わが国ではこれまで本種の分離が報告されていないことから, 本邦新記録種と考えられるため, 代表的な分離株 NHL 2994 (+) 株, 2995 (-) 株についての記載を以下に示す.

*Arthroderma cuniculi* Dawson, Sabouraudia 2: 187. 1963; Padhye and Carmichael, Can J Bot 49: 1533. 1971; Currah, Mycotaxon 24: 41, 1985.

St. Anam.: *Chrysosporium*.

Heterothallic. Ascomata superficial, scattered, pale yellow, globose to subglobose, 280-350 μm diam excluding appendages. Peridial

Table 1. Results of investigations of fox burrow soils by Vanbreuseghem's hair-baiting technique

Localities (no. of burrows)	A*	B (7)	C (3)	D (3)	E (6)	F (5)	Total
Nos. of samples detected/tested	39/40	50/50	20/20	12/15	17/30	20/45	158/200
Nos. of fungi isolated							
<i>Trichophyton ajelloi</i>	34	37	16	11	10	4	112
<i>Microsporium cookei</i>	35	8	3			2	48
<i>Chrysosporium</i> anam. of <i>Arthroderma tuberculatum</i>		8	4	6			18
<i>Chrysosporium tropicum</i>		2	2				4
<i>C. keratinophilum</i>		3	1				4
<i>Trichophyton terrestre</i> ( <i>Arthroderma insingulare</i> )		2					2
<i>Arthroderma cuniculi</i>		3	1	2	8	15	29
Total	69	63	27	19	18	21	217

\*Fox reservation.

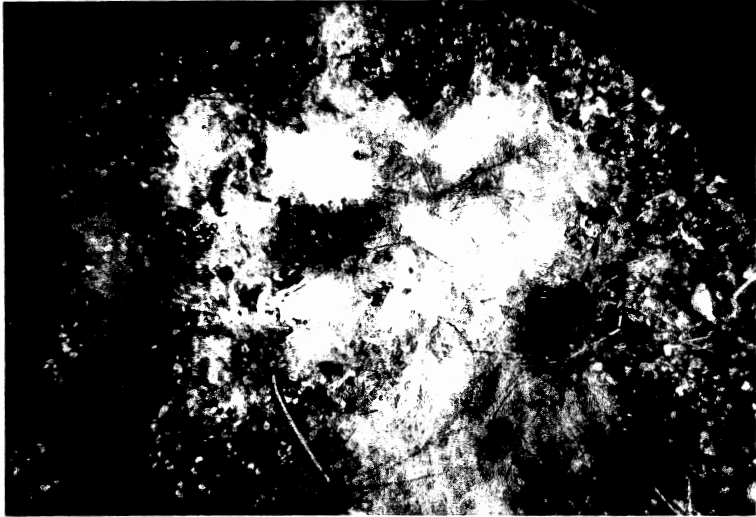


Fig. 2. Gross appearance of ascomata of *Arthroderma cuniculi* on hairs 3 weeks after being placed on soil in a hair-baiting technique.

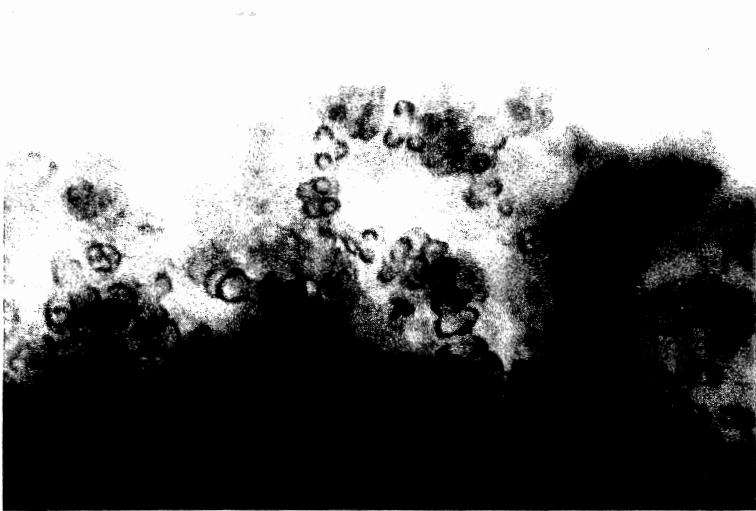


Fig. 3. Peridial hyphae of ascoma of *Arthroderma cuniculi*.

hyphae hyaline to pale yellow, septate, uncinately branched to the outside of the main hypha; cells at first dumbbell-shaped,  $7-10.5 \times 4.5-7 \mu\text{m}$ , echinulate, asymmetrically constricted at middle ( $3-4 \mu\text{m}$  at constrictions), becoming 3-4 condylate at maturity (protuberances up to  $3-4 \mu\text{m}$  long and  $2-3 \mu\text{m}$  at the base develop at each end). Appendages borne

terminally or laterally, composed of septate, smooth-walled, spiral hyphae with 6-7 turns, ending in a slender, pointed tip. Asci 8-spored, subglobose to ovoid,  $6-6.5 \times 5-6 \mu\text{m}$ , evanescent. Ascospores pale yellow, oblate,  $2.5-3 \times (1.5-2-2.5 \mu\text{m})$ , smooth-walled.

Mycelium composed of hyaline, branched, smooth or sometimes minutely roughened, se-

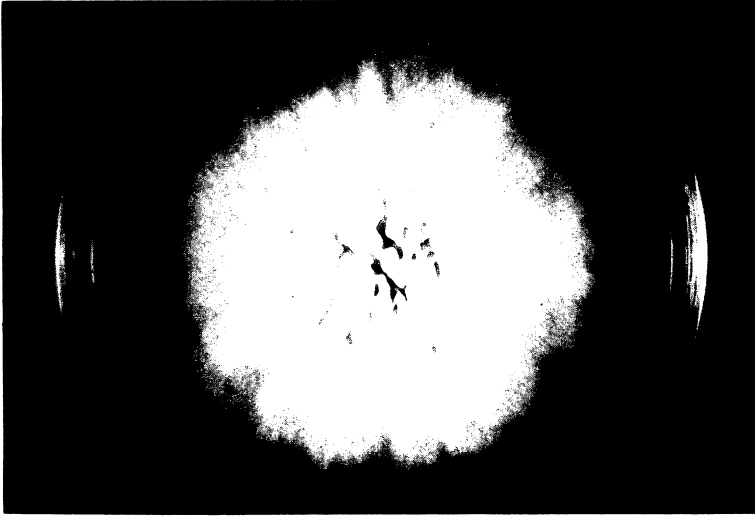


Fig. 4. Colony of *Arthroderma cuniculi* on phytone yeast extract agar after 3 weeks' incubation at 25°C.



Fig. 5. Conidia of *Arthroderma cuniculi*.

ptate, 1-4  $\mu\text{m}$  diam hyphae, sometimes swollen near the septum up to 3.5  $\mu\text{m}$  diam. Conidia short-pedicellate or sessile, hyaline, usually one-celled, pyriform or ellipsoid, 3-7 (-9)  $\times$  1.5-3 (-4)  $\mu\text{m}$ , truncate at the base, smooth-walled; arthroconidia occasionally produced, cylindrical, 9.5-20  $\times$  2.5-3  $\mu\text{m}$ , aseptate or one-septate, truncate at both ends. Chlamydo-

spores not produced.

Colonies on PYE agar growing rapidly, attaining a diameter of 64-66 mm in 14 days at 25°C, floccose, composed of a thin basal felt, white to pale yellow or primrose, abundant conidia produced in small clusters; reverse light yellow or luteous to ochraceous.

Colonies on modified Sabouraud's agar (Ta-

kashio, 1972) growing rapidly, thin, vegetative mycelium with abundant conidia in small clusters, powdery to granular in appearance due to development of numerous ascomata after appropriate, pairings, white to pale yellow or primrose; reverse uncolored to yellowish white.

At 37°C, growth is nil.

Material examined: NHL 2994 (+) × 2995 (-), isolated from soil in the burrow of *Vulpes vulpes schrenckii*, Engaru-cho, Monbetsu-gun, Hokkaido, Japan, Nov. 1985, coll. H. Kubo.

### 3. 体毛の好角質性真菌

1頭から *Trichophyton verrucosum* Bodin, 7頭から *A. cuniculi* が分離されたほか, *T. terrestre* と *C. tropicum* が検出された。

### 考 察

キタキツネはわが国では北海道のみに限られた生息分布をもつ野生動物で、今回はじめて北海道東部地域を対象とし、キタキツネに関連する好角質性真菌の検索を行った。好角質性真菌の検出率は79%と比較的高かったが、これは巣穴や飼育場の土壌がキタキツネの毛や垢などにより animalization されたためと考えられた<sup>1)</sup>。F 地域の検出率が44.4%で他地域より低かったのは海岸地域で砂地を試料にしたためと思われる。

菌種別では *Trichophyton ajelloi* の検出が最も多く、217株中の112株(51.6%)が同定され、全ての調査地域から平均して分離された。

次に多数を占めた種は *Microsporum cookei* の48株(22.1%)であったが、その多くは飼育場の試料に認められている。両種とも世界各地に広く分布し、野生動物ではラット、オポッサム、鳥の巣からの分離が報告されている<sup>2)</sup>。わが国では Okoshi ら<sup>3)</sup>、柿添<sup>4)</sup>の報告があり土壌からの検出頻度は高い菌である。

*Chrysosporium* anamorph of *A. tuberculatum*, *C. tropicum*, *C. keratinophilum* の3種についてもわが国土壌中での分布が柿添<sup>4)</sup>によって報告されているように動物の生息環境では常在的な菌である<sup>2)</sup>。

*Trichophyton terrestre* は本州以南の土壌から分離されていない菌種であるが、すでに北海道全

域の土壌の検索により著者は本菌の所在を明らかにしている<sup>5)</sup>。今回の調査からも生息地土壌から2株が分離され、また体毛からも検出されている。

今回の調査で最も特徴的なことは飼育場を除く全ての地域の巣穴の土壌ならびにキタキツネの体毛から直接 *A. cuniculi* が分離されたことである。本種は1963年、Dawson<sup>6)</sup>がスコットランドの8地域38カ所の野兎の巣穴と死んだ野兎の体毛について好角質性真菌を調査した結果、*A. multifidum* Dawson とともに新種として報告したのが最初である。彼女の研究によれば野兎の住んでいる巣からは54.2%、放棄した巣からは28.5%、また野兎10頭のうち4頭から本種が検出されたことから、兎から菌が土壌に移ったこと、*A. multifidum* とともに本種の所在が兎と密接な関係にあることを示唆している。本種はその後アメリカおよびオーストラリアで、ネズミ、スズメ、有袋類、爬虫類、動物糞、土壌などから分離されている<sup>7-10)</sup>。しかし、キツネからの記録はないようである<sup>9-12)</sup>。本種が北海道にのみ生息するキタキツネの生活圏に初めて記録されたこと、調査場所に広く分布すること、しかもこれまでにを行った通常の土壌を対象にした調査<sup>5)</sup>では全く検出されていないことから、本種と野生のキタキツネの間には密接な関係があるものと推定される。一般に好角質性真菌の種類と野生動物の種類との間の関連性については詳細な研究が少ないが、*A. cuniculi* についての野兎およびキタキツネとの関連は大変興味深い事例と考えられる。動物から巣穴周辺の土壌へは constant inoculation<sup>6)</sup>が行われているものと思われるが、この点についてはキタキツネが去った後、巣穴の土壌を継続的に検索する必要がある。

最後に今回の調査でキタキツネの体毛からわずか1頭とはいえ、*T. verrucosum* が検出されたことは興味深い。キタキツネが本菌の保菌動物であるのか、または牛の胎盤を食べるため牛舎に出入りしていることから、たまたま菌が毛に付着したものは不明である。しかし、いずれにせよキタキツネとの接触は *T. verrucosum* 感染症を誘発させる可能性があり、注意が必要であるとともに今後の検索を要すると思われる。

1975年、Hasegawa, Usui<sup>13)</sup>により、*A. otae* (Hasegawa et Usui) McGinnis, Weitzman, Padhye et Ajello が *M. canis* Bodin の teleomorph

として報告されて以来、世界各国で交配試験が行われてきたが、*M. canis* (+) 系統は本邦のみに13株が分離されているにすぎない<sup>5, 14)</sup>。また、これまでの研究により北海道から*M. canis* (+) 系統が11株ほど分離され、北海道の土壤から hair-baiting 法で *A. otae* の直接分離にも成功していること、さらに古くから北海道では *M. canis* 感染症が知られていたことなどから、キタキツネの生活圏と *M. canis* (+) 系統の分布が関係しているかと想定してみたが、今回の調査からは否定的な結論しか得られなかった。

わが国において、今後も野生動物の体毛ならびに生息環境中の土壤の真菌学的検索を実施し、好角質性真菌の自然界における分布を把握すること、とくに野生動物との関係を明らかにすることは、皮膚糸状菌の疫学上重要な課題の1つと思われる。

#### 文 献

- 1) Battelli G, Bianchedi M, Frigo W, Amorati P, Mantovani Al and Pagliani A : Survey of keratinophilic fungi in alpine marmot (*Marmota marmota*) burrow soil and in adjoining soils. *Sabouraudia* **16** : 83-86, 1978.
- 2) Domsch KH, Gams W and Anderson T-H : "Compendium of Soil Fungi." 2 Vols. Academic Press, London. 1980.
- 3) Okoshi S, Takashio M and Hasegawa A : Isolation of *Microsporium cookei* from soil attaching to animal hoof. *Jpn J Med Mycol*, **4** : 16-19, 1963.
- 4) 柿添富久子 : 自然界における好ケラチン性真菌に関する研究, 第1篇好ケラチン性真菌の土壤よりの分離. *真菌誌* **7** : 182-188, 1966.
- 5) 久保 等 : 北海道における土壤中の好角質性真菌の分布—特に *Nannizzia otae* の土壤からの分離について—. *真菌誌* **27** : 230-238, 1986.
- 6) Dawson CO : Two new species of *Arthroderma* isolated from soil from rabbit burrows. *Sabouraudia* **2** : 185-191, 1963.
- 7) Padhye AA and Carmichael JW : The genus *Arthroderma* Berkeley. *Can J Bot* **49** : 1525-1540, 1971.
- 8) Currah RS : Taxonomy of the Onygenales : Arthrodermataceae, Gymnoasceae, Myxotrichaceae and Onygenaceae. *Mycotaxon* **24** : 1-216, 1985.
- 9) Knudtson WU and Robertstad GW : The isolation of keratinophilic fungi from soil and wild animals in South Dakota. *Mycopath Mycol Appl* **40** : 309-323, 1970.
- 10) Rees RG : Keratinophilic fungi from Queensland-I. Isolations from animal hair and scales. *Sabouraudia* **5** : 165-172, 1967.
- 11) Marsella R, Mercantini R, Spinelli P and Volterra L : Occurrence of keratinophilic fungi in animal of the zoological park of Rome. *Mykosen* **28** : 507-512, 1985.
- 12) Mercantini R, Marsella R and Caprilli F : Isolation of keratomycetes from the soil of wild animal cages and enclosures in the zoo of the Parco Nazionale d'Abruzzo, Italy. *Sabouraudia* **16** : 285-289, 1978.
- 13) Hasegawa A and Usui K : *Nannizzia otae* sp. nov., the perfect state of *Microsporium canis* Bodin. *Jpn J Med Mycol* **16** : 148-153, 1975.
- 14) 田村俊哉, 藤井 理, 飯塚 一, 久保 等, 高木章好, 中根幸雄, 芝木秀臣 : 第33回日本真菌学会総会抄録集, p. 82, 1989.



Isolation of Keratinophilic Fungi from Hair of Wild Fox  
(*Vulpes vulpes schrenckii*) and Soil from the Affected Areas  
in Hokkaido Prefecture of Japan

Hitoshi Kubo, Toshiya Tamura<sup>1</sup>, Hajime Iizuka<sup>1</sup>, Hideomi Shibaki<sup>2</sup> and Shun-ichi Udagawa<sup>3</sup>

Division of Dermatology, Fukagawa City Hospital, Fukagawa 074, Japan

<sup>1</sup>Department of Dermatology, Asahikawa Medical College, Asahikawa 078, Japan

<sup>2</sup>Shibaki Dermatology Clinic, Sapporo 006, Japan

<sup>3</sup>National Institute of Hygienic Sciences, Setagaya-ku, Tokyo 158, Japan

A total of 200 soil samples from a fox reservation and 24 wild fox burrows in the eastern part of Hokkaido Prefecture were examined for keratinophilic fungi using Vanbreuseghem's hair-baiting technique. The fungi isolated were as follows: 112 strains of *Trichophyton ajelloi*, 48 of *Microsporum cookei*, 29 of *Arthroderma cuniculi*, 18 of *Chrysosporium* anamorph of *A. tuberculatum*, 4 of *Chrysosporium tropicum*, 4 of *C. keratinophilum* and 2 of *Trichophyton terrestre*.

Thirty captured wild foxes in the eastern part of Hokkaido Prefecture were examined for keratinophilic fungi by hair-brushing method. *Arthroderma cuniculi* was obtained from the hair of 7 of the animals and *Trichophyton verrucosum* from one. The isolation of the latter species was epidemically important as a potential source of infection.

*Arthroderma cuniculi*, which seems to be associated with wild fox colonization, has been reported for the first time from Japan.

---