

# *Candida tropicalis* の尿由来と口腔由来株間における細胞外分泌酵素の比較研究

五十嵐 吉平<sup>1</sup>, 有賀 みつき<sup>2</sup>, 眞野 容子<sup>1,2</sup>, 古谷 信彦<sup>1,2</sup>

1 文京学院大学大学院 保健医療科学研究科

2 文京学院大学 保健医療技術学部 臨床検査学科

## 要旨

*Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) は, non-*albicans Candida* 種で3番目に多く分離され, 尿路感染症に関与している. 本菌は細胞外分泌酵素の産生など, 宿主感染の確立に寄与する多くの特徴を有するが, *C. tropicalis* の由来間の病原因子の違いに関する研究はほとんどない. 我々は20株の *C. tropicalis* (尿および経口分離株それぞれ10株ずつ) を用いて Secreted Aspartyl Protease (SAP), Phospholipase (PL), Esterase, Caseinase, Hemolysin, Phytase をプレート法にて測定し, 活性値を算出し, (4+) から (0+) に分類した. *C. tropicalis* の尿および口腔由来株は, Hemolysin および Phytase は (4+) の結果であった. 尿分離株では, SAP は (3+, 2+, 1+) にて 50%, PL は (4+, 3+, 2+) にて 100%, Esterase は (4+) が 100%, Caseinase は (4+, 2+) で 50% であった. 口腔分離株では SAP は (2+, 1+) にて 60%, PL は (4+, 3+, 2+) にて 100%, Esterase は (4+, 3+) にて 90%, Caseinase は (4+, 3+, 2+) にて 80% であった. Hemolysin のみが, 口腔分離株において統計的に有意に高かった. Hemolysin が尿より口腔において感染成立に関与している可能性が示唆された. これらの結果は, *C. tropicalis* が宿主組織を傷害する可能性があることを示している.

## キーワード

*Candida*, *Candida tropicalis*, non-*albicans Candida*, 病原因子, 細胞外分泌酵素

## 1. 序論

カンジダ種はヒトの皮膚および粘膜表面等に定着している常在真菌である. 重症患者および免疫不全患者は, 表在性および深在性真菌症の両方を発症する可能性がある<sup>1)</sup>. 日本での病理剖検例における内臓真菌症の原因真菌別頻度では, 1989年ではカンジダ症は42.3%で最多であり, 次にアスペルギルス症は30.2%であった<sup>2)</sup>. 2011年の調査では順位は逆転し, 最多はアスペルギルス症46.2%となり, 次にカンジダ症の28.9%であった<sup>3)</sup>. このようにカンジダ症による死亡例が減少傾向にあるが, 臨床的に経験するカンジダ症の頻度と病理剖検例にカンジダ症の頻度は異なると指摘されている<sup>2)</sup>. またカンジダ症のほとんどの症例が *Candida albicans* (*C. albicans*) に起因するとされてきたが, 近年になって, ノンアルピカンスカンジダ (non-*albicans Candida*; NAC) 種である *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) や *Candida glabrata* などが病原真菌として同定されるようになり, ヒト感染におけるカンジダ種の罹患率は変化しているとされる<sup>4)</sup>. さらに Basseetti<sup>5)</sup> らの1991年から2003年までの研究によれば2000年から2001年までの間に *C. al-*

*bicans* と NAC 種の割合は変化し 60% の真菌血症症例は NAC 種によるものであったと報告している. これらの変化の理由は, 静脈内カテーテルを使用する免疫不全患者, 広範囲の抗生物質の使用の増加<sup>6)</sup>, HIV 感染患者の増大<sup>7)</sup> であると考えられている. NAC 種の中では *C. tropicalis* は 3 番目に多く分離される頻度であり, 尿路感染症と血液悪性腫瘍に関与しているとされる<sup>8) - 9)</sup>.

カンジダ種は宿主感染成立の為に寄与する病原因子が多く知られており, 酵母から菌糸への形態変化, バイオフィルム形成による宿主免疫からの回避, 細胞外分泌酵素の産生が挙げられる<sup>10) - 11)</sup>. カンジダ種の細胞外分泌酵素には主としてアスパラギン酸プロテアーゼ (Secreted aspartyl protease; SAP), ホスホリパーゼ (Phospholipase; PL), Hemolysin 等が知られており, これらの因子は宿主組織破壊, 組織浸透, *Candida* の成長促進作用に関わっているとされている<sup>12)</sup>. SAP は, *C. albicans* の持つ病原遺伝子として SAP ファミリー (SAP1-10) が同定されており, ヒトアルブミン, ケラチンなどのタンパク質を分解することができ, また免疫グロブリン A を破壊する能力も SAP2 遺伝子によってコードされている<sup>13)</sup>. また *C. tropicalis* は SAP 病原遺伝子が同

定されていることが知られており<sup>14)</sup>、上皮細胞に傷害を与えることが報告されている<sup>15)</sup>。PLは、カンジダの宿主組織への侵入および破壊に関与するので、重要な病原因子と考えられている。PLは宿主生体膜中のリン脂質成分を分解し、宿主細胞における感染を促進する<sup>16)</sup>。カンジダのHemolysinの分泌とそれに続く鉄の獲得は、カンジダにおける菌糸浸潤を促進するとの報告がある<sup>17)</sup>。しかしながら、これらの研究は*C. albicans*に対するものが多数であり、NAC種である*C. tropicalis*に対する細胞外分泌酵素の研究は少ない<sup>12)</sup>。

そこで我々は測定用寒天培地を作成して、細胞外分泌酵素(SAP, PL, Esterase, Caseinase, Hemolysin, Phytase)を測定し、*C. tropicalis*が由来別間において細胞外分泌酵素産生性に違いがあるか調査することを目的とした。

## 2. 方法

### 2.1 使用菌株

関東地域の検査センターで分離された*C. tropicalis*計20株(尿由来10株, 口腔由来10株)を用いた。また精度管理株として、*C. albicans* ATCC90028を用いた。

### 2.2 菌液調整と活性値評価法

生理食塩水で $1.5 \times 10^4$  CFU/mLに調整した菌液を測定用培地に10 $\mu$ L滴下した。細胞外分泌酵素活性をPriceらの方法を改変した方法で評価した<sup>18)</sup>。コロニーの直径(a)と沈殿ゾーンとコロニーを合算した直径(b)を測定しPz Value (a/b)を算出し、Pz Valueを5つのクラスに分類した。Pz value 1.0はNegative (0+) ; Pz value 0.90 - 0.99はweak producers (1+) ; Pz value 0.80 - 0.89はmild producers (2+) ; Pz value 0.70 - 0.79はstrong producers (3+) ; Pz value 0.69以下はvery strong producers (4+)と定義した。1枚の平板を3等分し3箇所に滴下しPz valueの平均値を求めn=1とした。そしてこの検討はそれぞれ各3回行い、SDで評価した。

### 2.3 SAP 活性測定

SAP活性測定は牛アルブミン(Bovine serum albumin;BSA)含有培地をAokiらの方法に準拠して作製した<sup>19)</sup>。滅菌精製水60mLに硫酸マグネシウム7水和物(Kanto Chemical Co.,INC, Tokyo, Japan)0.04g, リン酸二カリウム(FUJIFILM Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)0.5g, 塩化ナトリウム(FUJIFILM Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)1.0g, 酵母エキス(BD Diagnostics, sparks, MD, USA)0.2g, グルコース(FUJIFILM Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)4.0g, BSA(FUJIFILM Wako

Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)0.5gを加え1mol/Lの塩酸(FUJIFILM Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)でpH3.5に調整した。溶液をろ過滅菌し、細菌用寒天3.0gを140mLの精製水に溶かし、オートクレーブ後、混合した。そして調整した菌液を培地に滴下し、35 $^{\circ}$ C好気環境下で7日間培養後判定した。

### 2.4 PL 活性測定

PL活性測定はPriceらの方法に準拠して行った<sup>18)</sup>。1L当たり、麦芽寒天培地(Nissui, Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan)45g, 塩化ナトリウム1mol/L, 塩化カルシウム(Kanto Chemical Co., INC, Tokyo, Japan)0.005mol/L, 卵黄液を終濃度4%になるように加え、培地を作製した。そして調整した菌液を培地に滴下し、35 $^{\circ}$ C好気環境下で5日間培養後判定した。

### 2.5 Esterase 活性測定

Esterase活性測定はZiccardiらの方法に準拠して行った<sup>20)</sup>。100mL当たり、ハイポリペプトン(FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan)1.0g, 塩化ナトリウム0.5g, 塩化カルシウム0.01g, 細菌用寒天(OXIOID LTD, England)1.5gを加えオートクレーブをかけた。その後、約50 $^{\circ}$ Cに冷ましたフラスコにTween80(Tokyo Chemical Industry CO.LTD, Tokyo, Japan)を0.5mL加え、培地を作製した。そして調整した菌液を培地に滴下し、35 $^{\circ}$ C好気環境下で5日間培養後判定した。

### 2.6 Caseinase 活性測定

Caseinase活性はZiccardiらの方法に準拠して行った<sup>20)</sup>。1Lあたり、グルコース20.0g, ハイポリペプトン16.0g, 酵母エキス5.0g, カゼイン4.0g(FUJIFILM Wako Pure Chemical Industries, Osaka,Japan), 細菌用寒天16.0gを加え、培地を作製した。そして調整した菌液を培地に滴下し、35 $^{\circ}$ C好気環境下で5日間培養後判定した。

### 2.7 Hemolysin 活性測定

Hemolysin活性測定はMannsら、Luoらの方法に準拠して行った<sup>21)-22)</sup>。100mLのサブロー寒天培地(Nissui, Pharmaceutical Co.,Ltd., Tokyo, Japan)に7%のヒツジ血液を加え、そこに最終濃度3%となるようにグルコースを加え培地を作製した。そして調整した菌液を培地に滴下し、37 $^{\circ}$ C, 5%炭酸ガス環境下で48時間培養後判定した。

### 2.8 Phytase 活性測定

Phytase活性測定は、Tsangの方法に準拠して行った<sup>23)</sup>。

100mL当たり, グルコース 1g, 硫酸アンモニウム (FUJIFILM Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan) 0.05g, 塩化カリウム (FUJIFILM Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan) 0.02g, 硫酸マグネシウム 7水和物 0.01g, フィチン酸カルシウム (Tokyo Chemical Industry CO.LTD, Tokyo, Japan) 0.02g, 0.05g, 硫酸マンガン (Alfa Aesar, Heysham, England) 0.0005g, 硫酸鉄 (II) 7水和物 (Hayashi Pure Chemical Ind, Osaka, Japan) 0.0005g, 細菌用寒天 1.5gを加え, 培地を作製した. そして調整した菌液を培地に滴下し, 35°C好気環境下で 48 時間培養後判定した.

### 2.9 統計分析

すべての細胞外分泌酵素の Pz value 値において *C. tropicalis* の尿由来間と口腔由来間における有意差を決定するために GraphPad prism 6Jを用いて Mann-Whitney test を行い,  $P < 0.05$  以下を有意差ありとした.

## 3. 結果

### 3.1 細胞外分泌酵素測定

Pz value の活性範囲, 平均値の結果を Table1 に示した. *C. tropicalis* の SAP は尿由来, 口腔由来においては (3+) から (0+) まで示し, SAP は尿由来 50%, 口腔由来 40% の合わせて 9 株が (0+) であった. Range, Mean  $\pm$  SD は尿由来では 1.00-0.71, 0.90  $\pm$  0.10, 口腔由来では 1.00-0.85, 0.92  $\pm$  0.06 であった. PL は (4+) から (2+) まで示し, 全ての由来株において PL 産生が認められた. Range, Mean  $\pm$  SD は尿由来では 0.82-0.69, 0.75  $\pm$  0.05, 口腔由来では 0.84-0.65, 0.74  $\pm$  0.06 であった. Esterase は尿で 100% で (4+) を示したが, 口腔由来では (4+, 3+) を合わせて 90% であった. 1 株のみが (0+) を示した.

Range, Mean  $\pm$  SD は尿由来では 0.54-0.41, 0.47  $\pm$  0.04, 口腔由来では 1.00-0.45, 0.47  $\pm$  0.17 であった. Caseinase は尿由来において (4+, 2+) の活性を示し, 合わせて 50% であった. その他の株は (0+) であった. 口腔由来では (4+, 3+, 2+) を合わせて 80% であり, 20% は (0+) であった. Range, Mean  $\pm$  SD は尿由来では 1.00-0.58, 0.86  $\pm$  0.16, 口腔由来では 1.00-0.57, 0.77  $\pm$  0.15 であった. Hemolysin は全ての由来株において (4+) を示した. Range, Mean  $\pm$  SD は尿由来では 0.47-0.40, 0.43  $\pm$  0.02, 口腔由来では 0.43-0.36, 0.40  $\pm$  0.02 であった. Phytase も Hemolysin と同じく全ての由来株において (4+) を示した. Range, Mean  $\pm$  SD は尿由来では 0.35-0.27, 0.32  $\pm$  0.02, 口腔由来では 0.36-0.25, 0.27  $\pm$  0.04 であった. SAP, PL, Esterase, Caseinase の細胞外分泌酵素は由来間では有意差は認められなかったが, Hemolysin にのみ有意差が認められ, 尿由来に比べ口腔由来の Hemolysin 活性が高かった (Figure1) .

## 4. 考察

本研究では *C. tropicalis* の尿由来, 口腔由来株間における細胞外分泌酵素の比較検討を行った.

SAP は *C. albicans* にとっては重要な宿主組織破壊因子であり, SAP ファミリー病原遺伝子が 1-10 までが報告されている. これらの多様さによって宿主の様々な部位における感染力に寄与している<sup>13)</sup>. *C. tropicalis* においては SAPT 病原遺伝子ファミリーが 14 まで同定されている<sup>14)</sup>. ヒト上皮細胞に対する細胞障害性試験では, SAPT が細胞障害を起こした報告があり, SAPT3 の発現量が最も高かった<sup>15)</sup>. しかし今回の結果では, SAP は由来差を認めなかった. また全体の 9 株は (0+) であり, 約半分が平板上で活性を示さ

Table1 Urine and Oral isolates *Candida tropicalis* of Extracellular secretory enzymes in Range and Mean  $\pm$  SD

Extracellular secretory enzymes	<i>Candida tropicalis</i>			
	Urine (n=10)		Oral (n=10)	
	Range (Pz)	Mean $\pm$ SD	Range (Pz)	Mean $\pm$ SD
Secreted aspartyl protease (SAP)	1.00 - 0.71	0.90 $\pm$ 0.10	1.00 - 0.85	0.92 $\pm$ 0.06
Phospholipase (PL)	0.82 - 0.69	0.75 $\pm$ 0.05	0.84 - 0.65	0.74 $\pm$ 0.06
Esterase	0.54 - 0.41	0.47 $\pm$ 0.04	1.00 - 0.45	0.47 $\pm$ 0.17
Caseinase	1.00 - 0.58	0.86 $\pm$ 0.16	1.00 - 0.57	0.77 $\pm$ 0.15
Hemolysin	0.47 - 0.40	0.43 $\pm$ 0.02	0.43 - 0.36	0.40 $\pm$ 0.02
Phytase	0.35 - 0.27	0.32 $\pm$ 0.02	0.36 - 0.25	0.27 $\pm$ 0.04

なかった。そのため、今回の検討では、*C. tropicalis*のSAP産生能は他の細胞外分泌酵素と比較して重要な病原因子ではない可能性が考えられる。今後は尿と口腔由来株以外の株も用いて、追加検討していく必要がある。

PLは、人体における細胞膜破壊に関わる細胞外分泌酵素である。今回の結果ではすべての株においてPLは(4+)から(2+)に占められていた。また、由来間において有意差が認められなかったことから、*C. tropicalis*にとって

重要な細胞外分泌酵素であることが考えられる。

Esteraseは脂肪酸を加水分解する酵素であり、PLと同様に細胞膜破壊等の一端を担っている酵素である。口腔由来の1株のみ(0+)を除き、残りの株は活性を示した。Pandeyら<sup>24)</sup>の報告では集中治療室に入院している患者の血液から得られた*C. tropicalis* 24株中のうち9株は無活性であった。これには地域差や地理的状況などが関与していると考えられる。また病原遺伝子の欠損や突然変異の可能性もあ

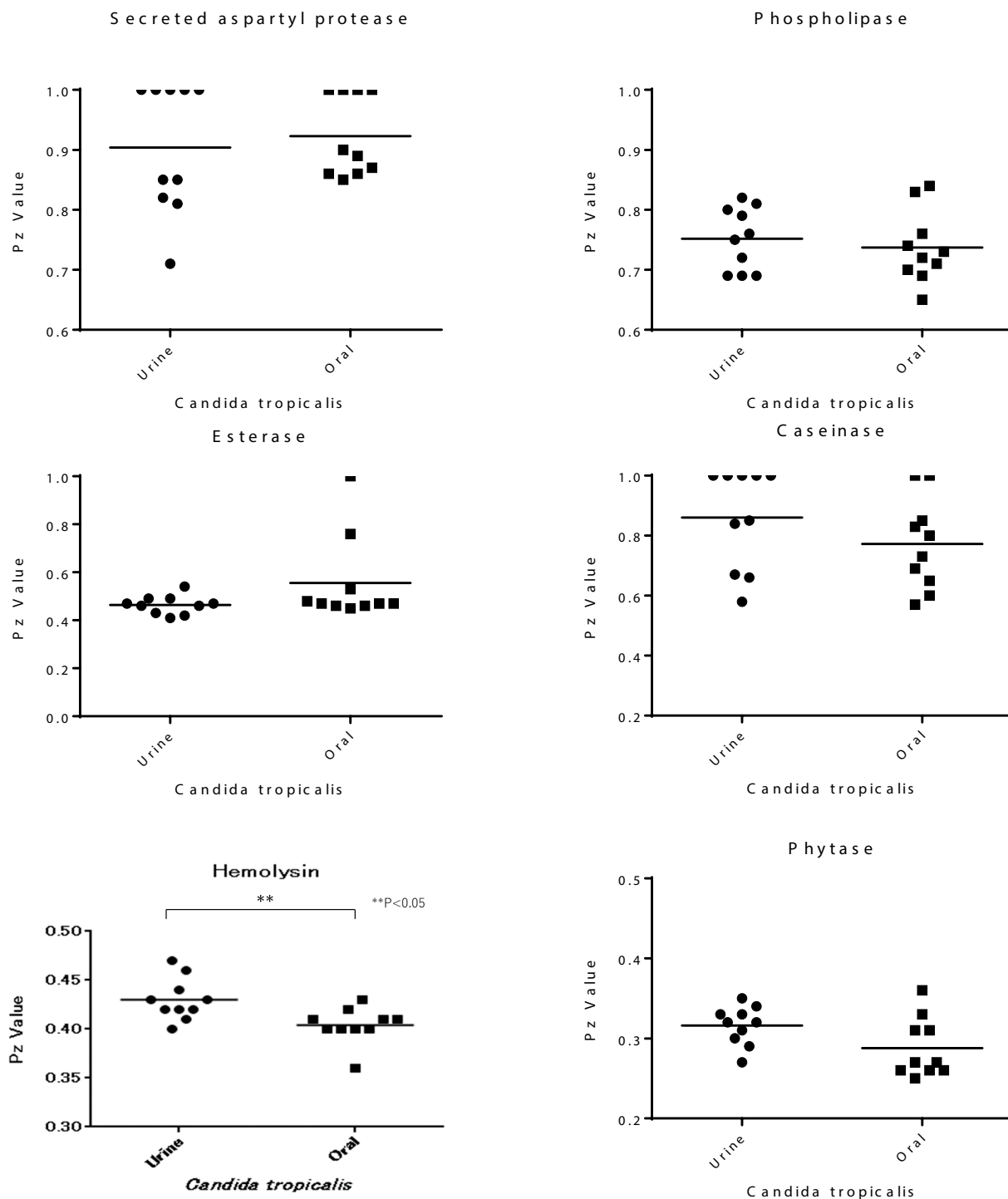


Figure1

り、さらなる検討が必要であると考えられる。

Caseinはリンタンパク質の一種である。またCaseinaseはメタロおよびセリンプロテアーゼに属している。ブラジルで分離された*C. glabrata*に対して行われたCaseinase試験では91株中1株も検出されなかった<sup>25)</sup>。しかし、インドで分離された肺結核患者と非肺結核患者から分離されたカンジダ株は*C. albicans*, *C. tropicalis*等のNAC種も含め全62株すべてにおいてCaseinaseを産生する結果であった<sup>26)</sup>。今検討では*C. tropicalis*由来間に有意差は認められず、7株が無活性であった。しかしCaseinaseに対する研究は少なくメカニズム等は*C. glabrata*と同じく病原性については不明なことが多い<sup>25)</sup>。

Hemolysinは鉄などに含まれるヘモグロビンなどから鉄源を獲得する酵素である。そのため、Hemolysinはカンジダの生存に必要な酵素である<sup>21)</sup>。今回の結果では全ての株において(4+)を示し、口腔由来において有意差が認められた。高齢者の口腔カンジダ症は内臓真菌症の入り口でもあり、血行性に移動し内臓真菌症をおこす可能性があるとされる<sup>27)</sup>。また義歯装具者においては紅斑性カンジダ症が多く認められ出血を伴うこともある。また高齢者においては口腔カンジダ症の再発を繰り返す<sup>28)</sup>。Françaら<sup>29)</sup>はHemolysin活性がヘモグロビンまたは赤血球の存在下において活性を示すと報告した。これらのことより何らかのメカニズムにより口腔由来の*C. tropicalis*は尿由来と比べ赤血球もしくはヘモグロビン利用能が高まっており口腔*Candida*症の感染に関係している可能性が考えられる。しかし、今研究では検討数が少ないため、さらに株数を増やして追加検討していく必要があると考えられる。

Phytaseはフィチン酸を無機リン酸とmyo-inositolに加水分解する酵素である。そしてこれらは、カンジダに必須の栄養である。無機リン酸は核酸の構成要素であり、またアデノシン三リン酸、リン脂質の構成要素でもある。Myo-inositolは膜形成やシグナル伝達、浸透圧調整に関与している<sup>23)</sup>, <sup>30)</sup>。さらに*C. albicans*のPhytaseをコードするorf19.3727破壊株は、野生株と比べて、Phytase活性、菌糸形成、*In Vitro*付着性、上皮への浸透能力の低下を示した報告がなされていることから*C. albicans*の病原性に大きくかかわっていると考えられる<sup>31)</sup>。今研究ではPhytaseは全ての株において(4+)の産生が認められ、由来間による差は認められなかった。このことから、*C. tropicalis*の病原性に不可欠であり、Hemolysinと同じく生存に関わる因子であるとともに*C. tropicalis*においてもヒト組織に障害を及ぼす因子である可能性が示唆された。また菌株を増やして由来による差が認められるかを追加検討していく必要がある。

## 5. 結語

本研究では*C. tropicalis*が多くの細胞外分泌酵素を寒天平板上で産生し、宿主に障害を及ぼす可能性がある事を示唆している。しかし、SAPは、*C. tropicalis*の細胞外分泌酵素として、宿主組織破壊に重要でない可能性が示唆された。またHemolysinは尿由来株に比べ口腔由来株において強い作用を及ぼす可能性が示唆された。

## 引用文献

- 1) Harbarth S et al. Epidemiology and prognostic determinants of bloodstream infections in surgical intensive care. Arch Surg 2002 Dec;137(12):1353-9; discussion 1359.
- 2) 河野茂 (2006). 深在性真菌症 Q & A 改訂3版 医薬ジャーナル社
- 3) 鈴木裕子ら. 日本病理剖検輯報からみた真菌症の疫学-2011年 update. Med. Mycol. J. Vol. 56J, J 99 - J 103, 2015
- 4) Silva et al. Biofilms of non-*Candida albicans* *Candida* species: quantification, structure and matrix composition. Medical Mycology November 2009; 47: 681-689
- 5) Bassetti M et al. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. BMC Infect Dis. 2006 ; 10: 6:21
- 6) Ortega M et al. *Candida* species bloodstream infection: epidemiology and outcome in a single institution from 1991 to 2008 J Hosp Infect. 2011 ;77(2):157-61
- 7) Samaranyake et al. Fungal infections associated with HIV infection. Oral Dis. 2002;8 Suppl 2:151-60.
- 8) Pfaller et al. Twenty Years of the SENTRY Antifungal Surveillance Program: Results for *Candida* Species From 1997-2016 Open Forum Infect Dis. 2019 Mar; 6(Suppl 1): S79-S94.
- 9) Negri M et al. *Candida tropicalis* biofilms: effect on urinary epithelial cells. Microb Pathog. 2012 Aug;53(2):95-9.
- 10) Schaller M et al. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. Mycoses, 2005;48:365-377.
- 11) Silva S et al. Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species. Trends Microbiol, 2011; 19,241-247.
- 12) Silva S et al. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. FEMS Microbiol Rev 2011;36:288-305.

- 13) Julian R *et al.* *Candida albicans* Secreted Aspartyl Proteinases in Virulence and Pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev*,2003;67:400-428
- 14) Zaugg *et al.* Secreted aspartic proteinase family of *Candida tropicalis*. *Infect Immun*. 2001;69:405-412.
- 15) Negri M *et al.* An in vitro evaluation of *Candida tropicalis* infectivity using human cell monolayers. *J Med Microbiol*. 2011 Sep;60 (Pt 9) :1270-5. doi: 10.1099/jmm.0.031195-0. Epub 2011 May 12.
- 16) Chin, V.K *et al.* *Candida albicans* isolates from a Malaysian hospital exhibit more potent phospholipase and haemolysin activities than non-*albicans* *Candida* isolates. *Trop Biomed*,2013;30:654-62
- 17) Tsang CS *et al.* Phospholipase, proteinase and haemolytic activities of *Candida albicans* isolated from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus. *J Med Microbiol*,2007;56:1393-8
- 18) Price *et al.* Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*,1982,20:7-14.
- 19) Aoki *et al.* Comparative pathogenicity of wild-type strains and respiratory mutants of *Candida albicans* in mice. *Zol Bakt*,1990; 273: 332-343
- 20) Ziccardi *et al.* *Candida parapsilosis (sensu lato)* isolated from hospitals located in the Southeast of Brazil: Species distribution, antifungal susceptibility and virulence attributes. *Int J Med microbiol*,2015;305:848-859
- 21) Manns *et al.* Production of hemolytic factor by *Candia albicans*. *Infect Immun*,1994;62:5154-5156
- 22) Luo *et al.* *Candida* Species Exhibit Differential *In Vitro* Hemolytic Activities. *J Clin Microbiol*,2001;39:2971-2974
- 23) P.W.Tsang. Differential Phytate Utilization in *Candida* species. *Mycopathologia*,2011;172:473-479
- 24) Pandey N, Gupta MK, Tilak R. Extracellular hydrolytic enzyme activities of the different *Candida* spp. isolated from the blood of the Intensive Care Unit-admitted patients. *J Lab Physicians*. 2018 Oct-Dec;10 (4) :392-396. doi: 10.4103/JLP.JLP\_81\_18.
- 25) Maria Helena Galdino Figueiredo-Carvalho *et al.* Relationship between the Antifungal Susceptibility Profile and the Production of Virulence-Related Hydrolytic Enzymes in Brazilian Clinical Strains of *Candida glabrata* Mediators Inflamm. 2017; 2017: 8952878 Published online 2017 Jul 26. doi: 10.1155/2017/8952878
- 26) V.G.Kumara *et al.* Phospholipase C, proteinase and hemolytic activities of *Candida* spp. isolated from pulmonary tuberculosis patients. *Journal de Mycologie Médicale* Volume 19, Issue 1, March 2009, Pages 3-10
- 27) 上川 善昭 口腔ケアに必要な口腔カンジダ症の基礎知識--診断・治療と口腔ケアによる口腔カンジダ症の予防 日本口腔ケア学会雑誌 (1881-9141)4巻1号 Page17-23(2010.03)
- 28) 阪口 英夫 高齢者における口腔カンジダ症の治療と予防 *Med. Mycol. J* Vol. 58J, J43-J49, 2017
- 29) França EJ, Furlaneto-Maia L, Furlaneto MC. Hemolytic capability and expression of a putative haem oxygenase-encoding gene by blood isolates of *Candida tropicalis* are influenced by iron deprivation and the presence of hemoglobin and erythrocytes. *Microb Pathog*. 2017 Apr;105:235-239.
- 30) Bizzarri M *et al.* Pharmacodynamics and pharmacokinetics of inositol(s) in health and disease. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2016 Oct;12(10):1181-96.
- 31) Tsang PW, Fong WP, Samaranyake LP *Candida albicans* orf19.3727 encodes phytase activity and is essential for human tissue damage. *PLoS One*. 2017 Dec 7;12(12):e018921

## Comparative Study of Extracellular Secretory Enzymes between Urine and Orae Isolates of *Candida tropicalis*

Kippeï Ikarashi<sup>1</sup>, Mitsuki Aruga<sup>2</sup>, Yoko Mano<sup>2</sup>, Nobuhiko Furuya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Health Care Science, Graduate School of Bunkyo Gakuin University

<sup>2</sup> Department of Clinical Laboratory Medicine, Faculty of Health Science Technology, Bunkyo Gakuin University

### Abstract

*Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) is isolated as a third major species in non-*albicans* *Candida* species and is involved in urinary tract infections. *Candida* species possess many characteristics that contribute to the establishment of host infection, such as production of extracellular secretory enzymes (ESEs). However, there are few studies on the differences in the production of virulence factors among the isolated sources of *C. tropicalis*. Therefore, we investigated ESEs in *C. tropicalis* from oral and urine isolates. We used 20 strains of *C. tropicalis* (10 strains of urine isolates and 10 strains of oral isolates). We measured the following enzymes using the plate method: Secreted Aspartyl Protease (SAP), Phospholipase (PL), Esterase, Caseinase, Hemolysin, and Phytase. The activity value (Pz value) was calculated and was classified from (4+) to (0+). *C. tropicalis* of both the urine and the oral isolates yielded results of (4+) for Hemolysin and Phytase. For the urine isolates, SAP was resulted for 50% in (3+, 2+, 1+), PL was resulted 100% in (4+, 3+, 2+), Esterase was resulted 100% in (4+), and Caseinase resulted for 50% in (4+, 2+). For the oral isolates, SAP was resulted for 60% in (2+, 1+), PL was resulted 100% in (4+, 3+, 2+), Esterase was resulted for 90% in (4+, 3+), and Caseinase was resulted for 80% in (4+, 3+, 2+). Only the Hemolysin activity was statistically significantly higher in the oral isolates than urine isolates. These results suggest that *C. tropicalis* may destruct host tissues.

**Key Words** ——— *Candida*, *Candida tropicalis*, non-*albicans* *Candida*, virulence factor, Extracellular secretory enzymes

Bunkyo Journal of Health Science Technology vol.12: 7-13