

Trichosporon beigeliiによるラットの上行性腎盂腎炎

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9146

Trichosporon beigeli によるラットの上行性腎盂腎炎

金沢大学医学部泌尿器科学講座 (主任代理: 大川光央助教授)

瀬 戸 親

Trichosporon beigeli (*T. beigeli*) によるラットの上行性腎盂腎炎モデルを作成し、組織学的、細菌学的に検討するとともに、腎内キサンチンオキシダーゼ (xanthine oxidase, XO) 活性を測定し、*T. beigeli* 腎盂腎炎におけるスーパーオキシドアニオン (superoxide anion, O_2^-) などの活性酸素の役割についても検討した。使用菌株は皮膚由来の表在性菌 *T. beigeli* IFO 1198株 (表在株) および尿由来の深在性菌 *T. beigeli* IFM 41606株 (深在株) で、菌液 1.0ml (10^7 個) を経尿道的に膀胱内に注入した。上行性 *T. beigeli* 腎盂腎炎の作成は、膀胱尿管逆流を高頻度に発症させるための酢酸溶液 (0.75%, 0.5ml) の経尿道的膀胱内注入に加えて、不完全尿管閉塞による片側水腎症の作成や全身免疫能低下を目的としたサイクロフォスファミド (cyclophosphamide, CPA) (200mg/kg) の腹腔内投与などの処置を組み合わせで行った。腎内 XO 活性は、腎懸濁液の上清を透析することで得られた試料にプテリン (pterin) を加え、生成されたイソキサントプテリン (isoxanthopterin) を分光蛍光光度法によって測定し、イソキサントプテリン濃度で表した。腎盂腎炎は、表在株では菌接種 1 日後に軽度のものが少数ながら発症し、7 日後には認められなかった。深在株による腎盂腎炎は、免疫能低下の有無により大きく異なっていた。すなわち、免疫能を低下させなかったラットでは、接種 1 日後に軽度の腎盂腎炎が約半数に認められ、7 日後の発症は認められなかった。一方、免疫能を低下させたラットでは、菌接種 1 日後の腎盂腎炎発症率は低いものの *T. beigeli* 菌体は血管内に侵入し、他臓器にも高率に播種していた。7 日後には腎盂腎炎の発症は約 70% に認められ、その多くは腎実質内に及ぶ高度の炎症であったが、生菌数と腎盂腎炎の有無には有意の関係は認められなかった。腎内 XO 活性は、7 日後に有意の上昇が認められ ($p < 0.01$)、さらに腎実質内炎症を有する腎では有さない腎に比し、有意に高かった ($p < 0.05$)。以上の結果より、ラットにおいて、上行性 *T. beigeli* 腎盂腎炎は発症することが証明されたが、表在性菌や全身免疫能が正常な宿主における深在性菌によるものは、尿路障害があっても自然治癒することが示唆された。一方、全身免疫能が低下した状態では、腎盂腎炎としての反応は軽度で、多くは全身播種にて死亡するが、死を免れ免疫能が回復した宿主においては高率かつ高度な腎盂腎炎が発症し、腎盂腎炎の増悪・進行には、*T. beigeli* の血管への侵入によって障害された血管内皮細胞内で産生される XO やそれに続く活性酸素の関与が重要であることが示唆された。

Key words *Trichosporon beigeli*, rat, ascending pyelonephritis, xanthine oxidase

Trichosporon beigeli (*T. beigeli*) は自然界に広く分布し、皮膚科領域の疾患である白色砂毛の原因菌として、また夏型過敏性肺炎¹⁾のアレルゲン²⁾として知られている。一方、1970年に本菌による脳膿瘍や全身感染症の症例³⁾が報告されて以来、血液悪性疾患、血液透析および臓器移植後患者などの易感染性宿主における深在性感染症⁴⁻⁷⁾の原因菌の1つとして注目されるようになった。一方、*T. beigeli* の尿中からの分離頻度は上昇しており⁸⁻¹¹⁾、*Candida* に次いで分離頻度の高い真菌であることが知られるようになってきた⁹⁻¹¹⁾。腎における *T. beigeli* の感染はわずかに散見される^{5,8)}ものの、尿路における *T. beigeli* の病原性についてはほとんど解明されていない。そこで、ラットを用いて、*T. beigeli* による尿路の病原性、ことに腎における病原性を組織学的および細菌学的に検討した。感染経路に関しては、臨床的に大半の細菌性腎盂腎炎が上行性感染で、血行性感染が多い *Candida albicans* (*C. albicans*) におい

ても上行性腎盂腎炎の発症が実験的に確かめられている^{12,13)}ことより、経尿道的に菌液を接種する上行性感染とした。

ところで近年、炎症における活性酸素の役割が明らかになりつつあり、スーパーオキシドアニオン (superoxide anion, O_2^-) が炎症反応の引金かつ増悪に関与することが報告されている¹⁴⁾。現在のところ、実質臓器における活性酸素を直接測定することは困難なため、スーパーオキシドジスムターゼ (superoxide dismutase, SOD)、過酸化脂質やキサンチンオキシダーゼ (xanthine oxidase, XO) などが測定されている¹⁵⁾。その中で XO は、腎では血管内皮細胞のみに限局して存在し¹⁶⁾、血管内皮細胞が傷害を受けて微小循環障害が生じた際、血管内皮細胞内でキサンチンデヒドロゲナーゼ (xanthine dehydrogenase, XD) から XO への転換が促進されるもので^{14,15)}、XO は活性酸素の一種である O_2^- の産生を促進すると考えられている。*T. beigeli* は強い血管侵襲性を有していることから^{8,9,11,17,18)}、*T.*

平成7年5月31日受付、平成7年7月3日受理

Abbreviations: CPA, cyclophosphamide; O_2^- , superoxide anion; *T. beigeli*, *Trichosporon beigeli*; VUR, vesicoureteral reflux; XD, xanthine dehydrogenase; XO, xanthine oxidase; 深在株, 深在性菌 *T. beigeli* IFM 41606株; 表在株, 表在性菌 *T. beigeli* IFO 1198株

beigelii による炎症は血管内皮細胞傷害, すなわち XO と大きく関連するものと考えられる。そこで, *T. beigelii* の腎における病原性を解明するための一つの手掛かりとするため, 腎内 XO 活性を測定し, *T. beigelii* 腎盂腎炎における活性酸素の役割をも検討した。

材料および方法

I. 使用菌株および使用菌液の調整

菌株には, 皮膚由来の表在性菌 *T. beigelii* IFO 1198 株 (表在株) (発酵研究所, 大阪) および尿由来の深在性菌 *T. beigelii* IFM 41606 株 (深在株) (千葉大学真核微生物研究センター, 千葉) を使用した。表在株および深在株をそれぞれの至適温度である 24 および 37℃ の液体培地 [ポリペプトン (和光純薬工業, 大阪) 0.5%, 酵母エキス (Difco, Detroit, USA) 0.3%, 麦芽エキス (Difco) 0.3%, ブドウ糖 1.0%, pH6.0] にて振盪培養し, 得られた増殖定常期初期 (16 時間培養) の菌液を本実験に使用した。菌数の測定は血球計算板を用いて行い, 菌液の調整は 1ml あたり 10^7 個になるよう生理食塩水を一定の割合で加えることにより行った。

II. 実験動物

体重 220~250g のウイスター (Wistar) 系雌性ラット (三協ラボサービス, 東京) を使用した。

III. 菌接種法

T. beigelii 菌液 1.0ml (10^7 個) を経尿道的に膀胱内へ注入し, 直ちに 30 分間外尿道口をクリップで閉塞した。

IV. 上行性腎盂腎炎の作成法

1. 酢酸溶液の膀胱内注入

0.75% 酢酸溶液 0.5ml を経尿道的に膀胱内へ注入した。この処置により同じウイスター系ラットでは膀胱尿管逆流が 70~80% に発生することが, 教室の折戸により報告されている¹⁹⁾。

2. 不完全尿管閉塞の作成

下腹部正中切開にて左尿管を剥離露出し, 尿管膀胱接合部よ

り約 1cm 上方にて瞬間接着剤アロンアルファ[®] (東亜合成化学工業, 東京) を 1 滴々下し, 不完全尿管閉塞による片側の水腎症を作成した^{20,21)}。

3. サイクロフォスファミド (cyclophosphamide, CPA) (塩野義製薬, 大阪) の腹腔内投与

リンパ球および好中球ともに減少させる CPA²²⁾ (200mg/kg) を腹腔内へ投与することにより, 全身免疫能を低下させた。なお, 同じウイスター系ラットでは, 200mg/kg の CPA の腹腔内投与量により, 末梢血白血球数は CPA の投与後, 急激に減少し, 3 日後から 7 日後まで最低値が持続した後に徐々に増加し, 10 日後にはほぼ回復することを教室の徳永が報告している¹²⁾。

上行性腎盂腎炎の作成は上記 3 つの処置を組み合わせ, 以下の 4 群で検討した。すなわち, 菌接種 1 日前に酢酸の膀胱内注入のみを行った A 群, 菌接種 1 日前に酢酸処置を施し菌接種直後に左側の不完全尿管閉塞を追加した AH 群, さらに菌接種 3 日前に CPA の腹腔内投与を行い, 前述の処置をそれぞれ行った C-A 群, C-AH 群である。なお, 無処置ラットに菌液のみを接種した群を対照群とした。

なお, 全群に汚染細菌による混合感染を予防する目的として, 酢酸注入日より屠殺日まで連日, 硫酸ゲンタマイシン (gentamicin sulfate) (塩野義) (8mg/kg) を 1 日 1 回, 皮下注射した。

V. 病理組織学的所見の観察

CPA 投与によってラット末梢血白血球数がほぼ最低となる菌接種 1 日後 (CPA 投与 4 日後), およびその回復期である 7 日後 (CPA 投与 10 日後) にエーテル麻酔下にて開腹し, 無菌的に摘出した腎, 尿管, 膀胱, 肝および肺を HE 染色にて炎症所見, および Grocott 染色にて菌体の有無を観察した。腎については左右それぞれを半切し, それらの一方を組織学的に観察するとともに, 他方を腎内生菌数の測定用に供した。腎盂腎炎の程度については Arana ら²³⁾ の分類を一部改め, 以下のごとく分

Table 1. *Trichosporon beigelii* (*T. beigelii*) pyelonephritis due to strain IFO 1198 (superficial strain) in rats

Group ^{a)}	Period after inoculation (day)	No. of kidneys tested	No. (%) of kidneys showing pyelonephritis		
			Total	Grade	
				I	II
A	1	8	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	7	8	0 (0)	0 (0)	0 (0)
AH	1	8	3 (38)	3 (38)	0 (0)
	7	8	0 (0)	0 (0)	0 (0)
C-A	1	8	2 (25)	2 (25)	0 (0)
	7	8	0 (0)	0 (0)	0 (0)
C-AH	1	8	2 (25)	2 (25)	0 (0)
	7	8	1 (13)	1 (13)	0 (0)

^{a)} Group A: vesicoureteral reflux (VUR) was induced in rats in the absence of immunosuppression. Group AH: VUR and hemilateral hydronephrosis were induced in rats in the absence of immunosuppression. Group C-A: VUR was induced in rats in the presence of immunosuppression. Group C-AH: VUR and hemilateral hydronephrosis were induced in rats in the presence of immunosuppression.

類した。すなわち、グレード (grade) 0 は炎症細胞が認められないもの、グレード I は炎症細胞が腎盂に限局しているもの、グレード II は炎症細胞が腎実質に及んでいるものとした。

VI. 腎内生菌数の測定

半切した腎の一方に生理食塩水 (1.0ml/100mg) を加えて碎粉して、懸濁液を作成し、生理食塩水で100倍段階希釈し、その0.1ml を以下の平板培地に塗布したのち、それぞれの菌株の最適温度にて、48~72時間培養後、腎内生菌数を測定した。*T. beigelii* の検出には YM 寒天培地 (和光純薬工業) を用いた。なお、*T. beigelii* 以外の細菌が分離されたラットも存在したが、本研究においては *Trichosporon* 腎盂腎炎を解明することを目的としていることから、汚染細菌の分離されなかったラットのみを検索に用いた。

酢酸処置によって両側に膀胱尿管逆流が高率に発生する A, C-A 群においては腎内生菌数が左右腎で異なるものもあり、菌数の多い方をそのラットの腎内生菌数とした。また、左不完全尿管閉塞の作成を追加した AH, C-AH 群では水腎症を有する左腎の生菌数をそのラットの腎内生菌数とした。各群とも、当該腎における腎盂腎炎のグレードをそのラットの腎盂腎炎のグレードとした。

VII. 腎内 XO 活性の測定

腎内 XO 活性は Akaike ら¹⁵⁾の方法に準じ、以下のごとく測定した。即ち、腎を生理食塩水にて灌流したのち摘出し、半切した腎の一方を組織学的に観察し、もう一方を4℃の5mlのリン酸カリウム緩衝液 [EDTA 2mM, 4-アミジノフェニルメタネスルフォニルフルオリド (4-amidinophenylmethanesulfonfyl fluoride) (Sigma, St. Louis, USA) 2mM, ジチオトレイトール (dithiothreitol) (和光純薬工業) 10mM, ロイペプチン (leupeptin) (和光純薬工業) 0.5μg/ml 含有 50mM のリン酸カリウム緩衝液, pH7.4] 内にてポリトロンホモジナイザー (Polytron homogenizer) (Kinematica GmbH, Lucerne, Switzerland) にて碎粉し、細胞内器官を破壊した。こうして得られた腎懸濁液を4℃で50分間、46,000×g で超遠心し、その上清を透析膜 (三光純薬, 東京) に注入し、5l のリン酸緩衝液内で4℃にて24時間、透析した。XO 存在下にプテリン (pterylene) が反応してイソキサントプテリン (isoxanthopterylene) が生成されることを利用して¹⁹⁾²⁰⁾、透析後の試料 0.1ml をプテリン (Sigma) 9μM を含有する 0.9ml のリン酸緩衝液内に加え、37℃で反応させた。こうして生成したイソキサントプテリンの蛍光強度を、分光蛍光光度計850型 (日立, 東京) にて励起波長 345nm, 蛍光波長 390nm で測定した。イソキサントプテリン (Sigma) は、あらかじめ作成した検量線をもとに1分間あたりの生成量として求め、タンパク定量キット (Kit for Protein Determination) (Sigma) を用いて測定した試料のタンパク濃度で補正したイソキサントプテリン濃度を、腎内 XO 活性とした。なお、予備実験で *T. beigelii* IFM 41606株自身には、XO 活性が認められないことを確認した。

統計学的処理には、 χ^2 検定、一元分散分析法、Scheffe 法による多重比較を用いた。なお、測定値は、 $\bar{x} \pm SD$ で表現した。

VIII. 統計学的処理

統計学的処理には、 χ^2 検定、一元分散分析法、Scheffe 法による多重比較を用いた。なお、測定値は、 $\bar{x} \pm SD$ で表現した。

成 績

I. 病理組織学的観察

1. 表在株による *T. beigelii* 腎盂腎炎の発症 (表 1)

菌接種 1 日後における腎盂腎炎の発症頻度は、AH, C-A, C-AH 群で25~38%に認められたもののいずれもグレード I と軽度であった。菌接種 7 日後には C-AH 群の 1 腎にグレード I の腎盂腎炎が認められたにすぎなかった。なお、菌接種 1, 7 日後とも対照群では炎症所見は認められなかった。

2. 深在株による *T. beigelii* 腎盂腎炎の発症 (表 2)

菌接種 1, 7 日後とも対照群では腎盂腎炎の所見は認められなかった。菌接種 1 日後では、A, AH 群では腎盂粘膜に *T. beigelii* 菌体が付着するグレード I の腎盂腎炎 (図 1-A) がそれぞれ 8 腎中 5 腎 (63%), 3 腎 (38%) に認められた。一方、C-A, C-AH 群では腎門蓋部から腎実質内にかけて菌体が侵入しており、さらに腎髄質の直細血管に侵入している菌体 (図 1-B) や、腎盂に接した腎静脈に直接侵入している菌体が観察されたが (図 1-C)、炎症反応は軽度で腎盂腎炎の発症率はともに 13% と低く、いずれもグレード I であった。

菌接種 7 日後の腎盂腎炎は C-A, C-AH 群の CPA 投与群にのみ認められ、発症率はそれぞれ 75, 65% で、腎盂腎炎が認められなかった A, AH 群に比し有意に高い発症率であった。

Table 2. *T. beigelii* pyelonephritis due to strain IFM 41606 (deep strain) in rats

Group	Period after inoculation (day)	No. of kidneys tested	No. (%) of kidneys showing pyelonephritis		
			Total	Grade	
				I	II
A	1	8	5 (63)	5 (63)	0 (0)
	7	8	0 (0)	0 (0)	0 (0)
AH	1	8	3 (38)	3 (38)	0 (0)
	7	8	0 (0)	0 (0)	0 (0)
C-A	1	8	1 (13)	1 (13)	0 (0)
	7	8	6 (75)*	0 (0)	6 (75)
C-AH	1	8	1 (13)	1 (13)	0 (0)
	7	8	5 (63)*	1 (13)	4 (50)

* $p < 0.05$ vs. group A and AH by χ^2 test.

($p < 0.05$, χ^2 検定). また, C-A, C-AH 群で腎盂腎炎の発症が認められた11腎中10腎 (91%) がグレードⅡの腎盂腎炎であった. グレードⅡの腎盂腎炎では, 腎門蓋部から腎実質内にかけて侵入した菌体を好中球を主体とする炎症細胞が取り囲み, 化膿性の高度の炎症によって尿細管や血管の構造が破壊されていた (図 1-D, 1-E).

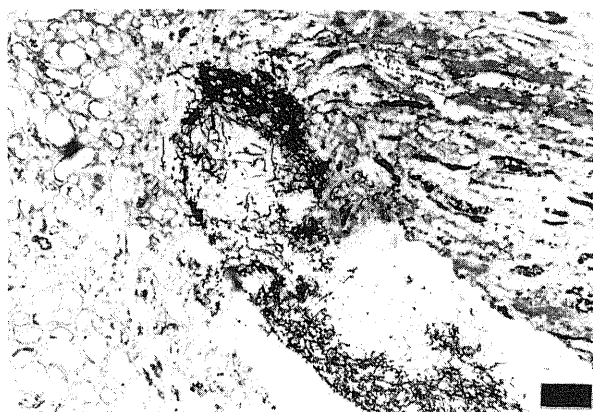
3. 他臓器での観察

摘出された膀胱, 肺および肝を組織学的に検討した.

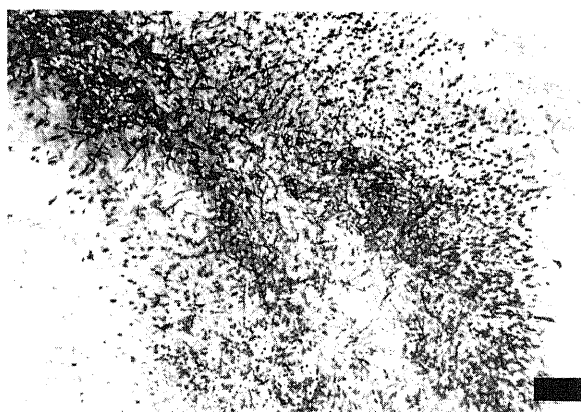
表在株においては菌接種1, 7日後ともいずれの群にも *T.*

beigelii 菌体は観察されなかった.

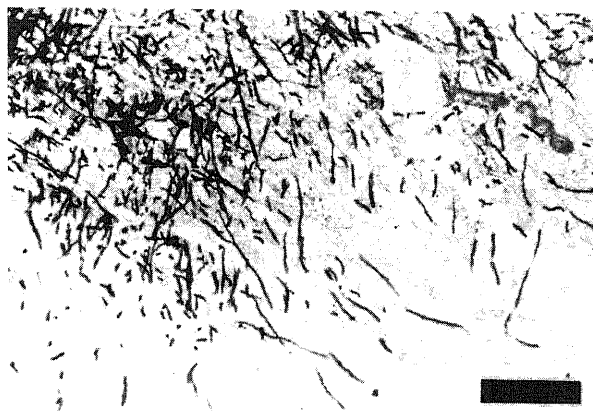
深在株においては, 菌接種1日後に, 膀胱では *T. beigelii* 菌体が AH, C-A, C-AH 群に8匹中それぞれ3匹 (38%), 3匹 (38%), 6匹 (75%) に観察された. 菌体は膀胱粘膜内に侵入しており, 一部は筋層内にも侵入していた (図2). 肺では, 菌体が C-A, C-AH 群で8匹中それぞれ3匹 (38%), 6匹 (75%) に認められ, 肺泡中隔を中心に菌体の塞栓や侵入が観察されたが炎症細胞浸潤はほとんど認められなかった (図3). 肝では菌体は認められなかった. 菌接種7日後になると菌体は, 膀胱では



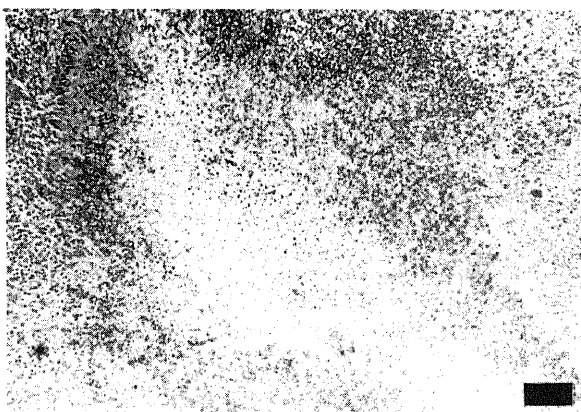
A



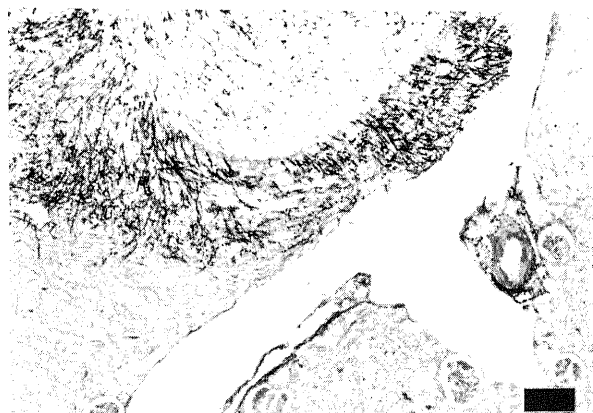
D



B



E



C

Fig. 1. Representative histological findings in the kidneys of the rats one day (A, B, C) and 7 days (D, E) after inoculation with *T. beigelii* IFM 41606 strain (deep strain). A bar indicates 100 μ m length. (A) Rats in group A, in which they were treated with acetic acid before inoculation of the organism. *Trichosporon* cells adhered to the pelvic mucosa but did not invade the renal parenchyma (Grocott's stain, $\times 100$). (B, C) Rats in group B, C, in which they were treated with cyclophosphamide and acetic acid before the inoculation. In (B), *Trichosporon* cells invade the fornix to the renal parenchyma and capillary invasion was also observed (Grocott's stain, $\times 200$). In (C), *Trichosporon* cells invaded the renal pelvis (Grocott's stain, $\times 100$). (D, E) Rats in group C-A. Polymorphonuclear leukocytes surrounded *Trichosporon* cells which invaded the renal parenchyma from the fornix, and renal tubuli and capillaries were destroyed owing to highly suppurative inflammation (D, Grocott's stain, $\times 100$; E, HE stain, $\times 100$).

C-A, C-AH 群で 8 匹中ともに 2 匹 (25%) に、肺では C-AH 群の 1 匹 (13%) に認められた。7 日後にも肝では菌体は認められなかった。

4. 深在株接種ラットの死亡例についての検討

深在株を接種したラットの 7 日後までの死亡率は、A, AH 群では 0% であったのに対し、C-A, C-AH 群ではそれぞれ 61% (36 匹中 22 匹), 79% (39 匹中 31 匹) であった。死亡例の多くは接種 2~3 日後にみられた。C-A, C-AH 群の CPA 投与群においては、投与した CPA 自体の毒性による死亡も考えられたため、酢酸溶液の膀胱内注入および CPA 投与を施行したうえで菌液の代わりに生理食塩水を注入し、7 日後までの死亡率 (13%; 16 匹中 2 匹) と比較した。結果は、菌液接種群の死亡率が有意に高く ($p < 0.01$, χ^2 検定), *T. beigelii* 感染が主たる死亡原因と考えられた。

CPA 投与群において検索可能であった死亡ラットの腎および他臓器についての検討では以下のごとくであった。すなわち、腎では *T. beigelii* 菌体は 74% (38 匹中 28 匹) の検体で認められたが、そのうち軽度の炎症反応が 29% (28 匹中 8 匹) に認め

られたにすぎなかった。肺については、菌体の肺胞中隔毛細血管内塞栓および肺胞内への侵入が 56% (32 匹中 18 匹) の検体にみられ、全例に肺胞中隔および肺胞に著しい出血性変化が認められたが、炎症細胞はほとんど観察されなかった。膀胱では 60% (30 匹中 18 匹) に膀胱粘膜内の菌体侵入が観察されたが、炎症細胞は肺と同様にほとんど観察されなかった。肝では菌体は認められなかった。

II. 深在株接種ラットにおける腎内生菌数と腎盂腎炎 (表 3)

深在株を接種されたラット (各群 8 匹) を用いて腎内生菌数と腎盂腎炎との関係を検討した。A, AH 群においては、菌接種 1 日後に 10^2 個/g 以上の腎内生菌数を示したそれぞれ 4 腎, 3 腎すべてに腎盂腎炎の所見が認められ、菌接種 7 日後になると 10^2 個/g 以上の生菌数を示したのは AH 群の 1 腎のみで、この腎に炎症所見は認められなかった。一方、C-A, C-AH 群においては、菌接種 1 日後にそれぞれ 4 腎および 6 腎が 10^2 個/g 以上の腎内生菌数を示したにもかかわらず、各 1 腎に腎盂腎炎の所見が認められたにすぎなかったのに比し、菌接種 7 日後には

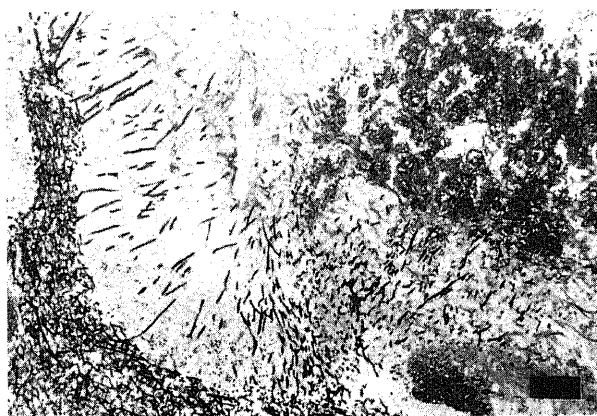


Fig. 2. Histological findings in the bladder of group C-A rats one day after inoculation with *T. beigelii* IFM 41606 strain. A bar indicates 100 μ m length. *Trichosporon* cells invaded the vesical mucosa and the muscle layer (Grocott's stain $\times 100$).

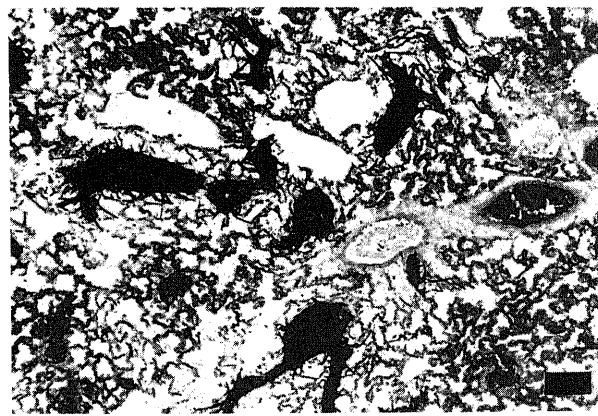


Fig. 3. Histological findings in the lung of group C-A rats one day after inoculation with *T. beigelii* IFM 41606 strain. A bar indicates 100 μ m length. Fungal thrombi were seen in the capillaries of alveolar septa and *Trichosporon* cells invaded alveoli (Grocott's stain, $\times 100$).

Table 3. *T. beigelii* population in the kidney of rats inoculated with strain IFM 41606 (deep strain)

Group	No. of kidneys tested	Period after inoculation (day)	No. of kidneys with <i>T. beigelii</i> cells per gram kidney tissue		
			$<10^2$	$\geq 10^2 \sim <10^4$	$\geq 10^4 \sim <10^6$
A	8	1	4 (1) ^{a)}	3 (3)	1 (1)
	8	7	8 (0)	0 (0)	0 (0)
AH	8	1	5 (0)	1 (1)	2 (2)
	8	7	7 (0)	1 (0)	0 (0)
C-A	8	1	4 (0)	1 (1)	3 (0)
	8	7	5 (3)*	3 (3)*	0 (0)
C-AH	8	1	2 (0)	2 (1)	4 (0)
	8	7	6 (3)*	1 (1)*	1 (1)

^{a)} Number of kidneys showing pyelonephritis.

* Grade II pyelonephritis.

10² 個/g 以上の生菌数を示したそれぞれ 3 腎, 2 腎以外に, 10² 個/g 未満であったそれぞれ 5 腎中 3 腎 (60%), 6 腎中 3 腎 (50%) においても炎症所見が認められた。しかも, 菌接種 7 日後に認められた腎盂腎炎のほとんどがグレード II と高度のものであった。

Ⅲ. 腎盂腎炎の有無と腎内 XO 活性 (表 4)

腎盂腎炎の有無と腎内 XO 活性との関係を検討するため, 腎盂腎炎が遷延化し, かつ経時的に炎症の程度が高度になる C-A 群を新たに 12 匹作成し, 22 腎の腎内 XO 活性値を測定した。CPA の前処置による XO 活性値に対する影響も考えられるため, 無処置のラットに生理食塩水を注入した群 (対照群 I: 6 匹, 12 腎) および CPA 投与と酢酸処置を施したラットに生理食塩水を注入した群 (対照群 II: 6 匹, 12 腎) を作成し, 比較した。

C-A 群の菌接種 1 日後の腎内 XO 活性値は 0.144 ± 0.024 nmol/mg/min であり, 対照群 I (0.119 ± 0.022 nmol/mg/min) および対照群 II (0.138 ± 0.026 nmol/mg/min) との間に有意差は認められなかった。しかし, C-A 群の菌接種 7 日後の腎内 XO 活性値は 0.261 ± 0.102 nmol/mg/min であり, 対照群 I (0.139 ± 0.029 nmol/mg/min) および対照群 II (0.162 ± 0.031 nmol/mg/min) に比し, 有意に高かった ($p < 0.01$, 一元分散分析法, Scheffe 法による多重比較)。

Ⅳ. 腎盂腎炎のグレードと腎内 XO 活性 (表 5)

腎盂腎炎のグレードと腎内 XO 活性について, 菌接種 7 日後の C-A 群 22 腎について検討した。グレード II を示した 12 腎の腎内 XO 活性値は 0.317 ± 0.101 nmol/mg/min であり, グレ-

ード 0 および I を示したものに比し, 有意に高かった ($p < 0.05$, 一元分散分析法, Scheffe 法による多重比較)。

考 察

深在性 *Trichosporon* 症は近年増加傾向にあると報告されている²⁴⁾。これは医療の発達に伴う易感染性宿主の増加の他に, 本症に対する感心の低さや本菌の同定の困難さなどによる症例の見逃しが過去には多かったことも大きな理由と思われる²⁵⁾。*T. beigelii* による深在性感染症は, 血液悪性疾患や血液透析, 臓器移植患者などの易感染性宿主に発症し^{5)~7)}, 病変部位としては肺, 腎, 消化器の他あらゆる臓器に認められている²⁶⁾ものの, その報告は少なく, ことに尿路についての報告はわずかに散見されるのみである⁵⁸⁾。本菌の侵入門戸としては, 気道, 消化管, 中心静脈カテーテルおよび心臓手術などの手術創などが推測されているが²⁷⁾, 実際には感染経路が不明な症例も多く²⁴⁾, 尿路の可能性も示唆されている⁷⁾²⁸⁾。

一方, 真菌尿症における本菌の尿中分離頻度は 17–23% に達し, 著しい増加傾向が報告されている^{9)~11)}。また尿中から本菌が分離されたのち播種性 *Trichosporon* 症や⁷⁾菌血症をきたした症例²⁹⁾も報告されているが, 発症機序を含め, その病態はほとんど解明されていない。そのため, 尿中から *T. beigelii* が分離された場合, 単なる汚染菌として取り扱うべきなのかなど, その対処に苦慮しているのが現状である。著者はこの問題を少しでも解明するため, *T. beigelii* の上行性感染経路による腎盂腎炎発症の可能性について検討した。使用動物としては, 経尿道的操作が容易な雌性ラットを用いた。一般に, 弱毒菌に

Table 4. Xanthine oxidase activity in kidney tissues of rats inoculated with *T. beigelii* IFM 41606 strain (deep strain)

Period after inoculation (day)	Group ^{a)}	No. of kidneys tested	Xanthine oxidase activity (nmol isoxanthopterin/min/mg protein)	
			Range	$\bar{x} \pm SD$
1	Control I	12	0.085~0.163	0.119±0.022
	Control II	12	0.100~0.189	0.138±0.026
	C-A	22	0.098~0.194	0.144±0.024
7	Control I	12	0.099~0.175	0.139±0.029
	Control II	12	0.107~0.223	0.162±0.031
	C-A	22	0.121~0.493	0.261±0.102*

^{a)} Control I: physiological saline is instilled into the bladder of untreated rats. Control II: physiological saline is instilled into the bladder of rats treated with cyclophosphamide and acetic acid.

* $p < 0.01$ vs. control I and control II by oneway ANOVA.

Table 5. Xanthine oxidase activity in kidney tissues of rats treated cyclophosphamide and acetic acid on day 7 after inoculation with *T. beigelii* IFM 41606 strain

Grade of pyelonephritis	No. of kidneys tested	Xanthine oxidase activity (nmol isoxanthopterin/min/mg protein)	
		Range	$\bar{x} \pm SD$
0	6	0.121~0.302	0.195±0.067
I	4	0.180~0.227	0.193±0.024
II	12	0.190~0.493	0.317±0.101*

* $p < 0.05$ vs. kidneys showing grade 0 and I pyelonephritis by oneway ANOVA.

よる上行性腎盂腎炎の発症には、なんらかの処置が必要とされている。臨床的に膀胱尿管逆流や水腎症は腎盂腎炎を併発しやすい代表的疾患であることから、尿路自体の障害として膀胱尿管逆流の発症を容易にする膀胱内酢酸注入や片側水腎症を惹起するための不完全尿管閉塞の作成を行った。また全身障害として免疫能の低下を目的に腹腔内へ CPA を投与した。

ところで、*T. beigelii* には至適温度の違いなどから表在性および深在性感染症由来菌の存在することが報告されている^{29,30}。上行性腎盂腎炎の原因菌は、会陰部や外陰部から尿道、そして膀胱へと侵入するものと考えられる。したがって、*T. beigelii* による上行性腎盂腎炎も皮膚由来の表在性菌で発症する可能性も考えられるため、尿由来の深在性菌とともに表在性菌についても検討した。表在性菌による腎盂腎炎は全身免疫能障害の有無にかかわらず、菌接種1日後にのみ発症し、発症率は低くいずれも腎盂に限局する軽度の腎盂腎炎であった。これは、易感染性宿主においても表在性菌は腎盂腎炎の原因菌とはなりにくいことを示唆しているものと考えられた。また、7日後で全く発症が認められなかったが、この時期は白血球数の回復期にあたることと関連しているものと考えられ、仮に表在性菌で腎盂腎炎を発症したとしても、自然治癒する傾向があることをしめしているものと考えられた。

一方、尿由来の深在性菌によって、腎盂腎炎は確実に発症し、全身免疫能の状態によりその病態は異なっていた。すなわち全身免疫能が障害されていないラットでは、表在性菌同様、菌接種1日後に腎盂内にとどまる軽度の腎盂腎炎が約半数に発症するものの、7日後にはほとんど認められなくなっていた。一方、全身免疫能が障害されたラットでは菌接種1日後における腎盂腎炎発症率は低く、炎症反応も腎盂内にとどまる弱いものであったが、末梢白血球数の回復期である菌接種7日後には腎盂腎炎は高頻度に発症し、かつ、腎門蓋部から腎実質内に侵入した *T. beigelii* を取り囲むように炎症細胞が高度に浸潤しているのが観察された。これらのことから、免疫能が正常であれば、たとえ膀胱尿管逆流や水腎症などの尿流障害が存在していても深在性菌による腎盂腎炎は腎盂にとどまる軽度なものであり、経時的に自然治癒する傾向が高いものと推察された。しかし、免疫能が低下した状態では腎門蓋部を侵入門戸として *T. beigelii* が腎実質に深く侵入し、多くは顕著な炎症反応を示さずそのまま全身播種へと進行し死亡するが、死亡を免れ免疫能が回復するとともに、*T. beigelii* による炎症像が明瞭になるものと考えられた。

T. beigelii の全身播種については、易感染性宿主の肺、腎、脳や多数の臓器において *T. beigelii* の血管内への侵入が確認されており^{6,8,17,18}、他菌種に比し強い血管侵襲性が播種に関与していることが報告されている。本研究においても深在性菌接種1日後のラットや死亡したラットでは、腎実質内に *T. beigelii* は観察されたものの、免疫が抑制されていたため、炎症反応が低率であったものと考えられた。しかし、腎血管内への *T. beigelii* の侵入は多くの検体で認められ、それらのラットでは高率に肺動脈を隔てて菌体の塞栓や浸潤が観察された。以上の成績は、免疫能が低下した宿主では、上行性に腎に到達した *T. beigelii* による腎の炎症反応は軽度であるが、*T. beigelii* は血管内に速やかに侵入し、腎内の静脈系から腎静脈、下大静脈、心臓そして肺に達し、肺塞栓などを発症して高い死亡率を示したものと考えられた。

腎内生菌数と腎盂腎炎との関係については、一般細菌では高い腎内生菌数を示す腎ほど高度な腎盂腎炎を有していることは、よく知られている。同じ真菌である *C. albicans* による上行性腎盂腎炎の検討でも、酢酸処理した上で CPA の投与もしくは一側不完全尿管閉塞を施行したラットにおいて経時的に腎内生菌数が増加し、高頻度にかつ高度な腎盂腎炎の発症することが報告されている^{12,13}。今回の検討でも、正常な全身免疫能を有するラットでは同様の傾向が認められたが、全身免疫能低下ラットにおいては、これと異なる傾向が認められた。すなわち、菌接種7日後には、腎内生菌数が検出されなかったにもかかわらず、高度な腎盂腎炎が高率に発症していた。

このような変化は、Akaike らのインフルエンザウイルスによるマウスの肺感染実験¹⁵においてみられた結果、すなわち、肺炎による肺硬化病変が出現する時期には接種したウイルスが減少、消失していたことと類似している。Akaike らは気管支肺動脈洗浄液や肺内組織の XO 活性を測定し、肺病変の出現時期に XO 活性が上昇していることより、肺病変の形成には XO の関与する活性酸素が重要な役割を果たしているものと推察している。何らかの原因で組織に微小循環障害が生ずるとその組織は虚血に陥り、虚血組織の毛細血管内皮細胞内では、ATP の分解過程でヒポキサンチン (hypoxanthine) やキサンチン (xanthine) が産生されるとともに、XD の XO への転換も促進される。この XO の存在下でヒポキサンチンやキサンチンを基質とする酵素反応が生ずる際に酸素 (O_2) から活性酸素の一種である O_2^- が産生され^{31,32}、 O_2^- は血漿中の好中球走化性因子前駆物質と反応し、産生された好中球走化性因子によって局所好中球が浸潤する³³。炎症組織内で活性化好中球の放出するプロテアーゼや酸化物はさらに血管内皮細胞を傷害して血管内皮細胞内の XD を XO に転換することが知られており¹⁴、このような組織の虚血と炎症における一連のサイクル¹⁶ が推定されている。XO は好中球やマクロファージといった炎症細胞には存在せず、肺胞上皮細胞および多くの臓器の血管内皮細胞のみに存在するため³⁴、微小循環障害のパラメーターとしても注目されている。腎盂腎炎における XO 活性についての報告はないが、XO が腎において毛細血管と直細動脈に局在していることから³⁵、腎盂腎炎においても腎内 XO 活性が上昇するものと予想される。

本モデルにおける腎内 XO 活性は、免疫能が低下している菌接種1日後には上昇が認められなかったが、免疫能が回復した菌接種7日後に有意の上昇が認められ、かつ、腎実質内に達する高度の腎盂腎炎を有する腎では軽度なものに比し、有意に高かった。このことは、腎盂腎炎の局所的進行に XO が関与していることを示唆している。すなわち、免疫能が低下した状態では、*T. beigelii* 菌体は腎実質内の血管へ侵入し、微小循環障害によって XO の転換は促進され、おそらく O_2^- は動員されるであろうが、好中球などの炎症細胞が動員されないためにそれ以上、微小循環障害による組織の虚血と炎症のサイクルが成立せず、腎盂腎炎は伸展しない。一方、免疫能が回復し好中球などの炎症細胞が動員されると、食細胞による貪食などにより *T. beigelii* 菌体数は減少するものの、*T. beigelii* の血管への侵入によってもたらされた微小循環障害は、虚血、XO の転換促進、 O_2^- の動員、好中球の動員とこれによるさらなる微小循環障害へと一連のサイクルが成立し、腎盂腎炎を伸展させるものと推察された。このような XO やその結果として生じる活性酸素の

動員による腎盂腎炎の伸展は、原因菌種にかかわらず生じているであろうが、T. beigelii 腎盂腎炎では、T. beigelii の有する強い血管侵襲性にも起因しているものと考えられた。

結 論

尿流障害として膀胱尿管逆流や水腎症を有するラットを用いて、T. beigelii の上行性感染による腎盂腎炎モデルを作成し、組織学的、細菌学的に検討するとともに、腎内 XO 活性を測定し、T. beigelii 腎盂腎炎における活性酸素の役割についても検討し、以下の結論を得た。

1. 皮膚由来の表在性菌 T. beigelii IFO 1198 株による腎盂腎炎は、全身免疫能の低下の有無に関わらず、菌接種 1 日後には腎盂にとどまる軽度のものが少数ながら発症し、7 日後には認められなくなっていた。

2. 尿由来の深在性菌 T. beigelii IFM 41606 株による腎盂腎炎は、全身免疫能が正常なラットでは、菌接種 1 日後には腎盂にとどまる軽度のものが約半数に発症するが、7 日後には認められなくなっていた。一方、全身免疫能が低下したラットでは、菌接種 1 日後には、腎盂腎炎の発症率は低いものの T. beigelii 菌体は血管内に侵入し、他臓器にも高率に播種していた。しかし、菌接種 7 日後には腎盂腎炎は約 70% に認められ、多くは腎実質内に膿瘍や肉芽を形成する高度なものであった。

3. 全身免疫能が低下したラットでは、菌接種 7 日後には腎内生菌数が減少するにも関わらず高度の腎盂腎炎が認められた。

4. 全身免疫能が低下したラットの腎内 XO 活性は、菌接種 7 日後に有意の上昇が認められ、しかも炎症が腎実質内にまで達するものでは、そうでないものに比し、有意に高かった。

以上の実験成績より、ラットにおいて T. beigelii による腎盂腎炎の発症が証明されたが、表在性菌や全身免疫能が正常な宿主における深在性菌によるものは、組織内への菌体の侵入があっても、自然治癒することが示唆された。一方、全身免疫能が低下した状態では、炎症反応は軽度で、多くは T. beigelii の全身播種にて死亡するが、死を免れ免疫能が回復した宿主においては高率かつ高度な腎盂腎炎が発症することが示された。また、腎盂腎炎の増悪・伸展には、T. beigelii の血管への侵入によりもたらされた微小循環障害によって産生される XO や、それに続く活性酸素が関与していることが強く示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を頂いた当教室大川光央助教授、本学微生物学教室中村信一教授に深甚の謝意を表します。また本研究の遂行に際し、直接御指導戴いた当教室徳永周二講師、熊本大学医学部微生物学教室赤池孝章助教授、ならびに御教示、御助言を戴いた本学学生化学第二教室山本 博教授、福井医科大学第一病理学教室三好憲雄助手に感謝します。病理学的所見に関して御協力を戴いた金沢大学医学部病理学第一教室故木村顕子博士に感謝いたします。さらに、本研究に御協力戴いた当教室員、ならびに熊本大学医学部微生物学教室員各位に感謝するとともに、病理標本作製に協力を惜しまれなかった故田中耕一技官、川渕由加利氏に感謝します。なお、本論文の要旨は第 43 回日本泌尿器科学会中部総会、第 68 回日本感染症学会総会、第 37 回日本腎臓学会総会、第 83 回日本泌尿器科学会総会において発表された。

文 献

1) 越智則夫, 宮川トシ, 大杉隆史, 藤田一誠, 山本英樹, 菊井正紀, 高橋久雄: 夏に発症し抗 *Cryptococcus* 抗体をもつ過敏

性肺臓炎 (自験 42 例について). 日胸疾会誌, 16, 320-328 (1978).

2) Shimazu, K., Ando, M., Sakata, T., Yoshida, K. & Araki, S.: Hypersensitivity pneumonitis induced by *Trichosporon cutaneum*. Am. Rev. Respir. Dis., 130, 407-411 (1984).

3) Watson, K. C. & Kallichurum, S.: Brain abscess due to *Trichosporon cutaneum*. J. Med. Microbiol., 3, 191-193 (1970).

4) Taschdjian, C. L., Kozinn, P. J. & Toni, E. F.: Opportunistic yeast infections, with special reference to candidiasis. Ann. N. Y. Acad. Sci., 174, 606-622 (1970).

5) Evans, H. L., Kletzel, M., Lawson, R. D., Frankel, L. S. & Hopfer, R. L.: Systemic mycosis due to *Trichosporon cutaneum* - A report of two additional cases. Cancer, 45, 367-371 (1980).

6) Saul, S. H., Khachatoorian, T., Poorsattar, A., Myerowitz, R. L., Geyer, S. J., Pasculle, A. W. & Ho, M.: Opportunistic *Trichosporon* pneumonia - Association with invasive aspergillosis. Arch. Pathol. Lab. Med., 105, 456-459 (1981).

7) 塚本達雄, 南方 保: 播種性 *Trichosporon beigelii* (*cutaneum*) 感染症をきたした慢性血液透析患者の 1 例. 内科, 66, 595-598 (1990).

8) Walling, D. M., McGraw, D. J., Merz, W. G., Karp, J. E. & Hutchins, G. M.: Disseminated infection with *Trichosporon beigelii*. Rev. Infect. Dis., 9, 1013-1019 (1987).

9) 和志田裕人, 津ヶ谷正行, 平尾憲昭, 坂上 洋, 岩瀬豊: 真菌性尿路感染症, 第一報, 泌尿紀要, 32, 1543-1546 (1986).

10) 菅野治重: 臨床材料より分離される真菌の検出状況と患者背景. Jpn. J. Med. Mycol., 29, 100-107 (1988).

11) 徳永周二, 大川光央, 中嶋孝夫, 山口一洋, 西川忠之, 松下友彦, 美川郁夫, 平野章治, 川口正一, 宮城徹三郎, 島村正喜, 沢木 勝, 菅田敏明, 折戸松男, 庄田良中, 元井 勇, 高島三洋: 尿路真菌症に対する Flucytosine の臨床評価. Jpn. J. Antibiot., 45, 1060-1064 (1992).

12) 徳永周二: *Candida albicans* による上行性腎盂腎炎の実験的研究. 日泌尿会誌, 74, 683-697 (1983).

13) 高島三洋: 水腎症ラットにおける上行性カンジダ腎盂腎炎の実験的研究. 十全医会誌, 101, 395-404 (1992).

14) Phan, S. H., Gannon, D. E., Varani, J., Ryan, U. S. & Ward, P. A.: Xanthine oxidase activity in rat pulmonary artery endothelial cells and its alteration by activated neutrophils. Am. J. Pathol., 134, 1201-1211 (1989).

15) Akaike, T., Ando, M., Oda, T., Doi, T., Ijiri, S., Araki, S. & Maeda, H.: Dependence on O_2^- generation by xanthine oxidase of pathogenesis of influenza virus infection in mice. J. Clin. Invest., 85, 739-745 (1990).

16) McCord, J. M.: Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. Fed. Proc., 46, 2402-2406 (1987).

17) Yung, C. W., Hanauer, S. B., Fretzin, D., Rippon, J. W., Shapiro, C. & Gonzalez, M.: Disseminated

- Trichosporon beigeli* (*cutaneum*). *Cancer*, 48, 2107-2111 (1981).
- 18) Rivera, R. & Cangir, A.: *Trichosporon* sepsis and leukemia. *Cancer*, 36, 1106-1110 (1975).
- 19) 折戸松男: *Proteus mirabilis* による腎盂腎炎の化学療法に関する実験的研究. 日泌尿会誌, 72, 680-693 (1981).
- 20) 池田彰良: 不完全尿管閉塞による実験的水腎症に関する研究. (第1報). ラットの尿管閉塞作成法について. 日泌尿会誌, 72, 1056-1063 (1981).
- 21) 池田彰良: 不完全尿管閉塞による実験的水腎症に関する研究. (第2報). 日泌尿会誌, 74, 1086-1097 (1983).
- 22) 伊藤隆明, 滝沢韶一, 伊藤明弘, 山崎孝男, 西原法味, 西原盈実, 横路謙次郎: X 線及び Cyclophosphamide (Endoxan) の造血組織に及ぼす影響について. *Acta Haem. Jpn.*, 31, 1082-1104 (1968).
- 23) Arana, J. A., Kozij, V. M. & Jackson, G. G.: Retrograde *E. coli* urinary tract infection in rats. *Arch. Pathol.*, 78, 558-567 (1964).
- 24) 中村智次, 酒井俊彦, 福澤正男, 羽山正義, 免地雅夫: まれな深在性真菌症の病理—トリコスポロン症を中心に—. *Jpn. J. Med. Mycol.*, 34, 155-163 (1993).
- 25) Mochizuki, T., Sugiura, H., Watanabe, S., Takada, M., Hodohara, K. & Kushima, R.: A case of disseminated trichosporonosis: a case report and immunohistochemical identification of fungal elements. *J. Med. Vet. Mycol.*, 26, 343-349 (1988).
- 26) Tashiro, T., Nagai, H., Kamberi, P., Goto, Y., Kikuchi, H., Nasu, M. & Akizuki, S.: Disseminated *Trichosporon beigeli* infection in patients with malignant diseases: Immunohistochemical study and review. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 13, 218-224 (1994).
- 27) Walsh, T. J.: Trichosporonosis. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 3, 43-52 (1989).
- 28) Madhavan, T., Eisses, J. & Quinn, E. L.: Infections due to *Trichosporon cutaneum*, an uncommon systemic pathogen. *Henry Ford Hosp. Med. J.*, 24, 27-30 (1976).
- 29) Lee, J. W., Melcher, G. A., Rinaldi, M. G., Pizzo, P. A. & Walsh, T. J.: Patterns of morphologic variation among isolates of *Trichosporon beigeli*. *J. Clin. Microbiol.*, 28, 2823-2827 (1990).
- 30) Kemker, B. J., Lehmann, P. F., Lee, J. W. & Walsh, T. J.: Distinction of deep versus superficial clinical and nonclinical isolates of *Trichosporon beigeli* by isoenzymes and restriction fragment length polymorphisms of rDNA generated by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 29, 1677-1683 (1991).
- 31) McCord, J. M.: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.*, 312, 159-163 (1985).
- 32) Granger, D. N., Höllwarth, M. E. & Parks, D. A.: Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 548, 47-63 (1986).
- 33) Petrone, W. F., English, D. K., Wong, K. & McCord, J. M.: Free radicals and inflammation: Superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77, 1159-1163 (1980).
- 34) Jarasch, E. D., Bruder, G. & Heid, H. W.: Significance of xanthine oxidase in capillary endothelial cells. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 548, 39-46 (1986).
- 35) Haining, J. L. & Legan, J. S.: Fluorometric assay for xanthine oxidase. *Anal. Biochem.*, 21, 337-343 (1967).
- 36) Nonaka, A., Manabe, T., Tamura, K., Asano, N., Imanishi, K. & Tobe, T.: Changes of xanthine oxidase, lipid peroxide and superoxide dismutase in mouse acute pancreatitis. *Digestion*, 43, 41-46 (1989).

Ascending *Trichosporon beigelii* Pyelonephritis in Rats Chikashi Seto, Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., **104**, 418—427 (1995)

Key words *Trichosporon beigelii*, rat, ascending pyelonephritis, xanthine oxidase

Abstract

An experimental model of ascending *Trichosporon beigelii* (*T. beigelii*) pyelonephritis was made in rats with urinary flow disturbance in the absence or presence of immunosuppression, and the pathogenesis of the pyelonephritis was studied. In addition, to investigate the role of oxygen radicals in the development of ascending *T. beigelii* pyelonephritis, xanthine oxidase (XO) activity in the kidney tissues was studied. The strains used were *T. beigelii* IFO 1198 (an isolate from skin, superficial strain) and IFM 41606 (an isolate from urine, deep strain). Experimental pyelonephritis was produced in rats by transurethral inoculation of 1.0 ml of *T. beigelii* solution (containing 10^7 cells). In the absence or presence of immunosuppression induced by intraperitoneal administration of cyclophosphamide (200 mg/kg, CPA), vesicoureteral reflux (VUR) with/without hemilateral hydronephrosis as urinary flow disturbance was induced in rats as follows: VUR and hemilateral hydronephrosis were induced by transurethral instillation of 0.5 ml of 0.75% acetic acid solution into the bladder and by incomplete obstruction of the left ureter, respectively. The XO activity in the kidney tissue was assayed as follows: after reaction of pterin with the putative XO from dialyzed supernatant of kidney homogenates, the isoxanthopterin formed was fluorometrically measured, and the XO activity in the kidney tissue was expressed as isoxanthopterin concentrations. The incidence of *T. beigelii* IFO 1198 pyelonephritis was 25-38% and 0-13% 1 and 7 days after the inoculation, respectively, and pyelonephritis locally existed only at the renal pelvis. The incidence and grade of the pyelonephritis did not differ according to the type of urinary flow disturbance or the presence of immunosuppression. On the other hand, different features of *T. beigelii* IFM 41606 pyelonephritis were observed according to the immune condition, but not according to urinary flow disturbance. In the normal immune condition, pyelonephritis localizing at the renal pelvis occurred at the rate of 38-63% 1 day after the inoculation and was not observed in any rat 7 days after the inoculation. In the presence of immunosuppression, the incidence was only 13% on the 1st day. However, *T. beigelii* invaded 63-88% of the kidneys tested, especially into the vessels, and was frequently disseminated to the lung. On the 7th day, the incidence of pyelonephritis increased to 63-75% and inflammatory changes were observed to extend to the renal parenchyma. *T. beigelii* was not always isolated from all the pyelonephritic kidneys on the 7th day and there was no significant correlation between the presence of pyelonephritis and renal population of *T. beigelii*. In the immunosuppressed rats treated with the acetic acid solution, the XO activity in the kidneys 7 days after inoculation of *T. beigelii* IFM 41606 strain was significantly higher than that of similarly treated rats and untreated rats instilled with physiological saline ($P<0.01$), but the difference was not significant 1 day after the inoculation. Furthermore, the XO activity in the kidneys was significantly elevated in the rats with infection extending to the parenchyma that in those with infection only at the pelvis or without infection ($P<0.05$). These results suggested that ascending pyelonephritis can be caused by any strain of *T. beigelii* in the presence of urinary flow disturbance but *T. beigelii* pyelonephritis disappears spontaneously under normal immunological condition. However, in the presence of immunosuppression, pyelonephritis due to the deep clinical type of *T. beigelii* strain is mild and most rats die owing to general dissemination of fungi, but severe pyelonephritis develops with the recovery of immunocompetence. In addition, XO may play an important role in the occurrence and development of *T. beigelii* pyelonephritis but not the number of *T. beigelii* cells in the kidney. Since *T. beigelii* strains possess the capacity for vascular invasion and XO is activated by vascular endothelial injury, oxygen radicals including superoxide anion (O_2^-) which is generated by XO seemed to be one of the factors involved in the development of ascending *T. beigelii* pyelonephritis.