

# トリ型結核菌保存株に関する研究

## 第3報 各種薬剤に対する感受性

武谷 健二・山浦 賢治・池上 恒

九州大学医学部細菌学教室 (主任 戸田教授)

受付 昭和34年7月27日

第1報<sup>1)</sup>および第2報<sup>2)</sup>においてトリ型結核菌保存株のフェージ感受性、毒力およびツベルクリン反応特異性について検討を行ない、トリ型菌として保存されている菌株中にもかなり性質の違った株があることを明らかにした。今回はさらにPAS, INH, neoterazolum (NTC)などの各種薬剤に対する感受性を比較検討した結果について報告する。

### 実験方法と材料

〔供試菌〕 トリ型菌保存菌株としては第1報において述べた菌株中A4110, A4121, A3717, A3717 (Kirchberg), A71, Flamingo, 獣疫, A62(B), A62(C), 伝鳥, 獣調, 竹尾, 細谷の13株を用いた。対照としてヒト型H<sub>37</sub>Rv株, チモテー菌およびスメグマ菌を用いた。便宜上上の8株をI群とよび、残りの5株をII群とよぶ。

〔薬剤感受性検査法〕 血清加Dubos培地に表1の菌株中第I群の8株は10日間, A62(C)は5日間, 伝鳥, 獣調, 竹尾および細谷株は3日間培養したのち、各菌約0.02mgを各種薬剤を各種濃度に含有した血清加Dubos培地5mlに接種した。PASは1mlに10 $\gamma$ , 100 $\gamma$ , 1,000 $\gamma$ および10,000 $\gamma$ , INHは1mlに50 $\gamma$ , 100 $\gamma$ および200 $\gamma$ 含有させ, neoterazolumは30万倍, 10万倍, 3万倍および1万倍稀釈とした。観察は対照が最大の発育を示したのち約1週間後までとしたので、発育の早い菌では2週間、遅い菌では3週間にわたつた。

### 実験成績

薬剤感受性試験の結果を表1にまとめて示す。PASに対してはA4110から獣疫までの6菌株は100 $\gamma$ で強い発育阻止をみ、FlamingoおよびA62(B)の2菌株はやや感受性が低く、第II群の5菌株は1,000 $\gamma$ でもほとんど抑制が認められず、10,000 $\gamma$ ではじめて発育が阻止される。この点、第II群の5菌株の感受性は対照として用いた非病原性抗酸菌, チモテー菌およびスメグマ菌の感受性に似ている。INHに対しては第I群の8菌株は200 $\gamma$ でほとんど完全に抑制されるが、

A62(C)および伝鳥の2菌株は100 $\gamma$ で発育阻止がみられ、獣調, 竹尾および細谷の3菌株および対照として用いた3菌株はすでに50 $\gamma$ で完全に抑制される。

一方、NTCに対しては第I群の8菌株は1万倍稀釈でも全く発育を抑制されないのに反して、A62(C)株は1万倍稀釈で、伝鳥株およびチモテー菌は3万倍稀釈で、獣調, 竹尾, 細谷株およびスメグマ菌は10万倍稀釈ですでに完全な発育阻止がみられる。

### 考案

PASに対する感受性はヒト型結核菌に高く、トリ型結核菌ではやや低く100 $\gamma$ 程度で、自然界抗酸菌の多くは感受性がきわめて低く1,000 $\gamma$ でも発育阻止をうけないものが多いことが知られている<sup>3)~5)</sup>。今回の実験においても、対照として用いたヒト型菌H<sub>37</sub>Rv株は感受性が高く、チモテー菌およびスメグマ菌は10,000 $\gamma$ ではじめて発育阻止をみた点でよく一致した成績が得られた。一方、トリ型菌保存株においてはA4110からA62(B)までの第I群に属する8菌株においては、100 $\gamma$ でかなり強い抑制がみられ、1,000 $\gamma$ で完全に発育が阻止されたが、第II群の5菌株はいずれも対照の非病原性抗酸菌株と同様、10,000 $\gamma$ ではじめて発育阻止が認められた。獣疫株のS型原株とR型解離株とについて行なつたPAS感受性試験において、村上<sup>6)</sup>はS型原株のほうが少しく感受性が高いと述べており、この事実は今回の実験においても、S型の典型的菌株が一般にR型の株よりも感受性が高いという成績とその傾向において一致している。おそらく、A62(B)およびFlamingo株の感受性が典型的S型菌株よりやや低いのは、村上の実験におけると同様、集落のR型化傾向に由来するものと考えられる。

しかし第II群の5菌株と典型的なS型菌株とのPAS感受性の差は、村上の成績におけるR型解離株とS型原株との感受性の差とは比較にならない著しい相違であり、しかも感受性の低い群の細谷株はR型ではなく非典型的S型集落を示している。したがって、この感受性の相違は単なる集落性状の相違にもとづくものではなく、むしろ菌株そのものの性質の相違と考えるのが

表1 トリ型結核菌保存株の薬剤感受性

供試薬剤 濃度		PAS (γ/ml)				INH (γ/ml)			NTC (稀釈倍数)				対 照
		10	100	1,000	10,000	50	100	200	30 万倍	10 "	3 "	1 "	
供試菌株													
A — 4110		+	±	-	-	+	+	-	+++	+++	+++	+++	+++
A — 4121		+	±	-	-	+	+	-	+++	+++	+++	+++	+++
A — 3717		+	±	-	-	+++	++	±	+++	+++	+++	+++	+++
A-3717 (Kirchberg)		+	±	-	-	+++	+	-	+++	+++	+++	+++	+++
A — 71		+	±	-	-	+	+	-	+++	+++	+++	+++	+++
Flamingo		+	+	±	-	+	+	±	+++	+++	+++	+++	+++
獣 疫		+	±	-	-	+++	+	±	+++	+++	+++	+++	+++
A 62 (B)		+	+	-	-	+++	++	±	+++	+++	+++	+++	+++
A 62 (C)		+++	+++	+++	-	+	-	-	+++	++	+	-	+++
伝 鳥		+++	+++	+++	-	+	±	-	+++	+	-	-	+++
獣 調		+++	+++	+++	-	-	-	-	+++	-	-	-	+++
竹 尾		+++	+++	+++	-	-	-	-	+++	-	-	-	+++
細 谷		+++	+++	+++	-	-	-	-	+++	-	-	-	+++
対	ヒト型 H <sub>37</sub> Rv 株	-	-	-	-	-	-	-					+++
	チモテー菌	+++	+++	+++	-	-	-	-	+++	+	-	-	+++
照	スメグマ菌	+++	+++	+++	-	-	-	-	+++	-	-	-	+++

妥当であろう。

INH に対する感受性は第I群の8菌株がもつとも低く、A62 (C) および伝鳥がこれにつき、獣調、竹尾および細谷株は対照として用いた3菌株と同様50γで完全に発育阻止をみた。

村上<sup>6)</sup>は前述の獣疫株のS型原株はR型解離株に比べてINHに対する感受性が低いと述べている。この事実は今回の成績にもある程度あてはまると考えられるが、感受性の低いA62 (B) は完全なR型であるのに反して、感受性の高い細谷株は非典型的S型であることから、この場合も前述のPAS感受性における同様に菌株自体の性質の相違を考えなければならないであろう。ただし、PASの場合は薬剤稀釈が10倍であったのに比べて、INHの場合はわずか2倍稀釈で実験を行なっているので、PASの場合ほど著明な相違があるとはいえない。

最近 Gastambide-Odier および Smith<sup>7)</sup> は NTC に対する感受性によつて非病原性抗酸菌およびトリ型結核菌を他の抗酸菌から鑑別できると報告している。すなわち、ヒト、ウシ型結核菌、非病原性抗酸菌および Myc. fortuitum は4万倍以上のNTC濃度では増殖しないが、非定型抗酸菌およびトリ型結核菌は4万倍以上の濃度で増殖できるので、NTCに対する感受性によつてこの2群に抗酸菌を分けることができると述べている。今回の実験においては第1群の8菌株はNTCの1万倍の濃度でも十分発育するのに反し、伝鳥およびチモテー株は3万倍、獣調、竹尾および細谷株は10万

倍で完全に発育を阻止される。この成績からトリ型結核菌保存株中にはNTC感受性を異にする少なくとも2つの群の菌株が存在することがうかがわれる。

以上、PAS、INH および NTC に対するトリ型結核菌保存株の感受性試験の結果を通覧すると、第I群に属するA4110、A4121、A3717 (Kirchberg)、A71、Flamingo、獣疫およびA62 (B) の8菌株と第II群に属するA62 (C)、伝鳥、獣調、竹尾および細谷の5菌株との2つの菌株群は実験に用いた3種薬剤に対する感受性を異にすることが知られる。この事実は集落の性状とは一応無関係に認められるもので、第I群の示す薬剤感受性は従来からトリ型結核菌について報告されている成績とよく一致するのに反して、第II群の示す感受性はむしろ対照として用いたチモテー菌およびスメグマ菌などの非病原性抗酸菌の示す感受性に類似している。ただし第II群中A62 (C) 株は多少第I群の示す性質に似た感受性を示す傾向がある。

第1報<sup>1)</sup>においてトリ型結核菌保存株の培養性状、ファージ感受性と毒力、第2報<sup>2)</sup>においてツベルクリン精製蛋白質πを用いたツベルクリン反応の特異性、第3報において各種薬剤に対する感受性を検討したが、そのいずれの実験においても、トリ型結核菌保存株は典型的な性質を示す群と、これとはかなり性質の異なつた群との2群に大別されることを知つた。前者をI群、後者をII群とかりに名づければI群は発育が遅く、ファージ感受性が低く、ツベルクリン反応特異性はこの群内の菌株間では共通であるがB群とは明らかに異なり、PAS

表 2 トリ型結核菌保存株の各種性状 (まとめ)

群別	菌 株	発育日数	コロニー 性 状	ファージ感受性	病 原 性	薬 剤 感 受 性		ツ反応特異性 (精製ツ蛋白π)
						PAS	NTC	
I	A — 3717 A — 4110 A — 4121 A — 71	14	S 型	— ~ ±	+ ~ ††	高	低	I 群
	Flamingo 獸 疫 A—62(A) A—62(B)							
II	A—62(C) 伝 鳥 獸 調 竹 尾 細 谷	2~5	R 型	‡	— ~ ±	低	高	II 群
			非典型S型					

に対する感受性は高いが、INH および NTC に対する感受性は低い。これに反してII群は発育が速く、ファージ感受性が高く、ツベルクリン反応特異性においてI群と異なり、PAS に対する感受性は低く、INH および NTC に対する感受性が高い。I 群中の Flamingo, 獣疫, A62 (A) および A62 (B) 株は集落の性状が非典型的 S ないし R 型であつて、ファージ感受性、薬剤感受性においてややII群に類似する傾向があるが、発育日数は遅く、ツベルクリン反応特異性もI群に属するので I' 群とかりに名づけた。この成績を総括すると表2のようになる。これらの性質中、コロニー性状、毒力および薬剤感受性などの諸性質は一般に比較的变化しやすいことが知られているが、発育日数は比較的变化しにくいものである。

また、ツベルクリン反応特異性がきわめて変化しにくいものであることは、弱毒化された BCG がなおヒト型菌に近いウシ型菌としてのツ反応特異性を持ち、ツベルクリン反応による BCG 陽転と自然陽転との鑑別がきわめて困難である事実からも推測できる。典型的トリ型菌といえるI群に比べて I' 群の菌は前述の変化しやすいと考えられる諸性状にはやや相違が認められるが、発育日数およびツ反応特異性においてI群と同一の態度を示すことから I' 群はトリ型菌の変異株と考えて誤りないであろう。中でも、Flamingo 株はコロニーが非典型的 S 型を示す点でI群の菌株と異なるのみであるからむしろI群にいれるべきであるとも考えられる。獣疫株もI群としての性質の多くを残しており、A62 (A) および A62 (B) 株への変異の途中の段階のものではなからうか。一方、II群の菌株はほとんどすべての性状においてI群と異なつており、その多くの性状はむしろ

非病原性抗酸菌に類似している。変化しにくいと考えられるツベルクリン反応特異性においても、I群とは画然とした差異がある。古く Schaeffer<sup>8)</sup> はトリ型菌と考えられる多数の菌株について、補体結合反応によつてこれを4型に分ち、さらに培養性状および毒力などの関連について検討しているが、本実験に用いたようなR型菌株は用いておらないので、今回の成績と比較検討することは困難である。高橋および橋本<sup>9)</sup> は Kirchberg, Flamingo, E38686, Maren Cencile, A62, 竹尾, 伝鳥および獣調の8株のトリ型結核菌保存株について、培養性状、PAS 感受性、脂肪酸に対する感受性、毒力および旧ツベルクリンによるツベルクリン反応などと検討し、はじめの4株をA群、A62株をB群、残りの3株をC群と分けている。さらに、室橋および関<sup>10)</sup> は Penso<sup>3)</sup> のファージを用いた実験によつて、このC群の菌は真のトリ型菌とはいえないと述べている。これらの成績はわれわれの今回行なつた一連の実験の結果と基本的にはよく一致している。彼らの実験におけるA62株は本実験におけるA62(C)株に一致するものであるが、この株は本実験ではA62(A)およびA62(B)株とはかなり性質が異なり、II群にいれられている。もつとも、II群中では幾分I群に近い性状をもっているようである。しかし、この株はファージによる溶菌をうけないという室橋および関のファージ感受性試験の結果とは異なり、Penso のよりも溶菌域の広い<sup>11) 12)</sup> われわれのファージによつては明らかに溶菌され、また、ツベルクリン反応特異性においても明らかにII群に入ることから、獣調および竹尾株などと同一のII群にいれておくのが適当であろうと考えられる。このA62(C)がA62(A)およびA62(B)株と同様に広木<sup>13)</sup> の分離

した A62 株に由来した変異菌であるか否かの判定は今後の検討にまたねばならないであろう。分離当初、典型的な S 型毒力株であった A62 株が、A62 (A) および A62 (B) のように弱毒、R 型株に変異したことから考えて、さらに継代条件によつて A62 (C) のように変異する可能性も否定はできない。

一方、Will<sup>14)</sup>らは米国内のトリ型結核菌保存株について培養性状、フェージ感受性および毒力を検討し、そのうちの数株はトリ型結核菌でなく非病原性抗酸菌であったと断定している。今回の実験に用いたⅡ群の菌株もむしろ多くの性状において非病原性抗酸菌に類似しているが、「典型的トリ型結核菌 (Ⅰ群) → 獣疫株 → A62 (A) または A62 (B) 株 → A62 (C) 株 → その他のⅡ群の菌株」なる変異の可能性もないとはいえないので、真の変異菌か、他の非病原性抗酸菌の混入かの断定はなお今後の研究にまたねばならないと考えられる。しかし、いずれにしても、今回の実験において検討した範囲ではⅡ群の菌株にはトリ型結核菌としての性質を見出だせなかつたので今後トリ型菌ということが重要な意味をもつような実験においてはこのⅡ群の菌株を用いまいほうがよいと考えられる。

### 結 論

トリ型結核菌保存株の PAS, INH および neo-tetrazolium に対する感受性を調べた結果、典型的なトリ型菌としての感受性を示す菌株群とこれとはかなり異なる感受性を示す菌株群とに分かれることを明らかにした。

この成績を第1報および第2報において報告した培養性状、フェージ感受性、毒力および精製ツベルクリン蛋白質 $\pi$ によるツベルクリン反応特異性の実験成績とあわ

せて考察を行なつた。トリ型結核菌保存株は大別して2群に分けられ、このうち第Ⅱ群の菌株は現在トリ型結核菌としての諸性状の大部分を欠いている。

戸田教授の御指導と御校閲とを深謝いたします。本論文の要旨は昭和34年4月第34回結核病学会総会において報告した。

### 文 献

- 1) 武谷健二・吉村哲也・山浦賢治：九大結研紀要，5：423，昭34.
- 2) 神中寛・武谷健二：結核，35：42，昭35.
- 3) Penso, G.: "Bacilles tuberculeux et paratuberculeux", 99~142, Masson et Cie, Paris, 1950.
- 4) 荒木雅：結核，30：19，昭30.
- 5) 大内田務：医学研究，28：1957，昭32.
- 6) 村上孟太：広島医学，5：1028，昭32.
- 7) Gastambide-Odier, M. & Smith, D.W.: Am. Rev. Tuberc., 77：662，1958.
- 8) Schaeffer, W.: Ann. Inst. Past., 58：388，1937.
- 9) 高橋宏・橋本達一郎：第31回日本細菌学会総会，昭33.
- 10) 室橋豊穂・関又藏：日本細菌学雑誌，14：114，昭34.
- 11) Takeya, K. & Yoshimura, T.: J. Bacteriol., 74：540，1957.
- 12) 武谷健二・吉村哲也・森良一・中島教隆・小池聖淳・宮内恭一：日新医学，45：251，昭33.
- 13) 広木彦吉：満洲医学雑誌，23：705，昭10.
- 14) Will, D.W., Froman, S., Krashow, I. & Bogen, E.: Am. Rev. Tuberc., 76：435，1957.