

# 母乳よりの非定型抗酸菌の分離とその1分離抗酸菌について

河 合 恭 幸

広島高原病院 (院長 安田寛之博士)

受付 昭和 35 年 2 月 4 日

## 結 言

結核菌に似て非なるいわゆる *Atypical acid-fast bacilli* によると思われる肺結核類似の疾患が最近注目され、その方面の研究も漸時発展の一途をたどりつつあるが、このような疾患が小児においてもみられることは Weed ら<sup>1)</sup> の 8 例の小児の頸腺や顎下腺腫瘍より結核菌は分離できなかつたが非結核性抗酸菌を分離しえたという報文にもみられるところである。

このような小児の疾患といえども一般の成人肺結核の場合に比べてその感染経路に差異があるとは考えられないが、概して顧慮されていないように思われる感染経路の1つに母乳の問題がある。

かつて Khudushina<sup>2)</sup> は授乳中の 101 名の肺結核患者および 16 名の健康授乳者の母乳より結核菌の分離培養を行ない、対照としての健康者のそれよりは結核菌はもちろん、いかなる菌株も分離されなかつたにもかかわらず肺結核患者のそれよりは結核菌が 23.7% に分離されたが、その分離結核菌は弱毒であり、このような患者によつて養育された乳幼児はその誕生後 1 年ないし 1 年半もツベルクリン反応陰性に終始していると述べている。これらの分離菌株が結核菌か否かは別として、このように母乳中より抗酸菌が分離されうるということは当然考えられるところである。

この問題に関連した牛乳中の抗酸菌については佐々木<sup>3)</sup> および岸本<sup>4)</sup> らの業績がみられるが、母乳中抗酸菌に関する報告はすでに述べた Khudushina および私<sup>5)</sup> の報文を除いてあまりみられないようである。

そこで私は健康授乳者および肺結核患者の母乳より抗酸菌の分離培養を試みた結果、1 名の健康産婦の母乳より結核菌とは明らかに性状を異にした 1 抗酸菌 (石井 M 株) を分離しえたので報告する。

なお、私は生体材料より検出されるところの結核菌に似て非なる抗酸菌に対してとくに「非定型抗酸菌」という名称を用いているが、このことについてはすでに他の報文<sup>6)</sup> に述べたので今回は改めて述べることを省略した。

## 第 1 章 非定型抗酸菌の分離

### 第 1 節 健康産婦ならびに肺結核産婦母乳よりの分離培養

### 1. 実験方法

広島市民病院、県立広島病院および国立呉病院に入院中の健康産婦、計 103 名ならびに呉市東保健所管轄肺結核産婦 4 例、合計 107 名について母乳を採り 4% 硫酸水あるいは 4% 苛性ソーダ液を等量加えて 20~30 分室温に静置したのち 3,000 回転 10 分間遠心沈澱し、その沈澱および上層に浮上したクリーム様層の一部を採つて、岡・片倉培地または 3% 小川培地に接種し 37°C、8 週間にわたつて培養観察した。

なお、母乳の採取にあつては、乳房の消毒はもちろん、最初に流出するものはこれを棄て、数回搾乳ののちに流出するものを厳に無菌的に大型滅菌スピッツグラスに採取するよう細心の注意を払つた。

### 2. 実験成績

培養成績は表 1 に一括して示した。

すなわち、103 名の健康産婦のうち 31 名・39 件について住吉法に準じて非定型抗酸菌の分離培養を試みたところ、その沈澱より 1 例の非定型抗酸菌 (石井 M 株) を分離しえた。また 72 名・104 件について小川法に準じて分離培養を試みたが、結核菌も非定型抗酸菌も培養陰性に終つた。

次に、肺結核患者 4 名・8 件について小川法によつて培養したが、これまた結核菌はもちろん非定型抗酸菌も發育してこなかつた。

したがつて、計 107 名の産婦よりの母乳 150 件について行なつた分離培養の結果、結核菌は全く陰性であつたが、広島市民病院入院中の石井某なる産婦乳より 1 株 (0.9%) の非定型抗酸菌を分離しえた。

### 第 2 節 分離抗酸菌石井 M 株の集落性状

分離抗酸菌の岡・片倉培地における初代ないし 2 代目の集落発生後 1 週間前後における肉眼的外観性状について種々観察したところ、概略次のような所見を得た。

すなわち、その集落は白色系、non-photochromogenic strain に属し、小型円形集落を形成し表面辺縁ともに平滑で、光沢性、粘濁性なく R 型であつた。

初発集落の形成に要する日数は 10 日であつて、集落の色調も純白色である点をも考えれば、結核菌とはやや趣きを異にしているものと思われた。

### 第 3 節 2, 3 の生物学的性状

さきに私<sup>7)</sup> は肺結核患者喀痰および切除肺より分離

表 1 母乳よりの非定型抗酸菌分離培養成績

対象	被検材料	培養前処理	使用培地	培養人数	培養件数		結核菌	非定型抗酸菌
					上層	沈渣		
健康産婦	母乳	4% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	岡・片倉培地	31	5	34	0	1
		4% NaOH	3% 小川培地	72	31	72	0	0
肺結核婦	母乳	4% NaOH	3% 小川培地	4	4	4	0	0
計				107	40	110	0	1 (0.9%)
					150			

された各種非定型抗酸菌の生物学的諸性状を報告したが、本菌株のそれについて、そのうちの2, 3の生物学的性状を同様の実験方法に従って検討観察した結果、次に示す所見を得た。

1. 菌形：長短種々の顆粒桿菌であり、Ziehl-Neelsen染色により美しい赤色を示した。
2. 抗煮沸性：1' 50''
3. カタラーゼ活性：戸田<sup>8)</sup>の定性試験法によれば、本菌株はきわめて強盛なるカタラーゼ作用(卍)を示した。
4. Cord形成性ならびに中性紅反応：Cordを形成せず、中性紅反応は陰性であつた。

5. テルリット加培地における発育能：テルル酸カリを0.05%および0.1%の割合に加えた3%小川培地およびこれを加えない対照3%小川培地に本菌株を接種したところ、本菌株は人型結核菌H<sub>37</sub>Rv株と同様の態度を示し、対照培地を除きテルル酸カリの0.05%および0.1%培地のいずれにも発育を抑制せられ、集落の形成をみながつた。

6. 抗結核剤に対する感受性：3種の抗結核剤すなわちStreptomycin (SM), para-Aminosalicylic acid (PAS) および Isoniazid (INAH) に対する感受性を、それぞれの抗結核剤稀釈添加小川培地を用いて検討した結果、表2に示す結果を得た。

表 2 分離抗酸菌の抗結核剤に対する感受性

菌株名	SM					PAS					INAH				
	対照	薬剤濃度 γ/cc				対照	薬剤濃度 γ/cc				対照	薬剤濃度 γ/cc			
		3	10	100	1,000		1	10	100	500		0.1	1	10	100
石井M株	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍

注：卍 集落数∞, 卍 集落数>200, 卍 集落数>100, + 集落数<99

すなわち、供試抗酸菌石井 M 株は SM, PAS および INAH の 3 種の抗結核剤に対していずれも高度の耐性を有することを認めた。

第4節 ハツカネズミに対する態度

1. 実験動物

供試動物は体重 17~20 g の C<sub>3</sub>H 系雌性 ブラックマウス (熊本系) 3 匹を使用した。

2. 実験方法

法に従って供試抗酸菌の 10 mg/cc 生塩水均等浮游液を作製し、その 0.1 cc あてをハツカネズミの尾静脈内に接種した。

また、動物は菌接種後おおむね 6 週後に屠殺剖検し、内臓とくに肺、肝、脾および腎について肉眼的病変の観察のほか直接塗抹鏡検を行なうとともに定量還元培養をもあわせ行なつた。

3. 実験成績

表 3 分離抗酸菌のハツカネズミに対する態度

動物番号	体重 (g)	死殺別	生存日数	内臓病変および定量還元培養成績 ※			
				肺	肝	脾	腎
1	20	殺	46	-/-	-/-	-/+	-/-
2	20	殺	46	-/-	-/-	-/+	+/+
3	17	殺	46	-/-	+/+	-/-	-/+

注：※分子は内臓病変の程度(戸田<sup>8)</sup>による)を、また分母は定量培養の成績を示す。

卍 結節きわめて多数で臓器全体を覆うの程度  
 卍 結節多数  
 卍 結節相当数  
 + 結節きわめて少数  
 培 卍 発育集落数無数  
 養 卍 発育集落数>100  
 成 績 卍 発育集落数<99

実験成績の大要は表3に一括して掲げた。

すなわち、3匹のハツカネズミはいずれも斃死することなく生存したので菌接種後 46 日目に屠殺剖検した結果、ハツカネズミ No. 1 では肉眼的病変は認められな

かつたがその脾よりの還元培養陽性であつた。No. 2ではその腎に灰白色膿瘍状病巣を認め、その病巣部の還元培養では陽性を示した。また、No. 3ではその肝にNo. 2の腎と同様の膿瘍状病巣を認め還元培養も陽性であつた。さらに肉眼的病変は認められなかつたがその腎よりの還元培養もまた陽性であつた。

以上の所見より、さきに Tarshis<sup>9)</sup> の分類に示唆を得て、被接種マウスにおける所見差に基づく非定型抗酸菌のハツカネズミに対する病原性の程度を4段階に分類した私<sup>10)</sup> の分類に従えば、分離抗酸菌石井 M 株は、「実験期間 8 週間のうちに斃死することなく生存するが、肉眼的病巣を作り、臓器塗抹および定量還元培養で抗酸菌陽性であるもの、ただしその菌量は第1群に比べると少ない」という第2群に属する菌株と考えられる。

### 考案 的 結 語

非定型抗酸菌によると思われる肺結核類似の疾患およびその原因菌と目される非定型抗酸菌に関する研究については、今や世界的な発展をみせつつあることは、1959年度国際結核病学会<sup>11)</sup> のこの方面のシンポジウムによつても明らかである。

私はこのような菌群による感染がすでに乳幼児期においてもあるのではなからうかと考え、母乳より本菌群を分離すべくその分離培養を試みたところおおよそ次に示す結果を得た。

1) 103例・142件の健康産婦母乳よりの抗酸菌分離培養において、結核菌は陰性であつたが1株(0.9%)の非定型抗酸菌を分離した。

2) 4例・8件の肺結核産婦母乳よりのそれでは、例数は少ないが結核菌も非定型抗酸菌も培養陰性に終つた。

3) 分離抗酸菌石井 M 株は、白色系、non-photochromogen に属し、抗煮沸性 1' 50'、カタラーゼ活性強盛、Cord を形成せず、中性紅反応陰性、各種の抗結核剤に対して高度の耐性を示した。なお、テルリット加培地上ではテルル酸カリの 0.05% 濃度によつてもその発育を抑制せられた。

4) 分離抗酸菌はハツカネズミに対し、軽度ながら病原的態度を示した。

5) 以上の所見より、この分離菌株は占部ら<sup>6) 12)~14)</sup> のいういわゆる「非定型抗酸菌」の範疇に入れられうる菌株と考えられる。

以上のように今回の検討の範囲内においては、肺結核産婦よりの本菌群分離培養成績についてはその例数不足のためなんともいえないが、健康産婦母乳中より僅少なから1株の非定型抗酸菌を分離した。この点さらに例数を重ねて検討すれば、このような抗酸菌が母乳からも一層数多く分離されうることを示唆するものであるとともに母乳もまた非定型抗酸菌感染経路の1つとして考えることも可能ではなからうか。

稿を終るにのぞみ、本研究に御協力を頂いた広島市民病院山岡一行博士、県立広島病院新甲洋博士および国立呉病院田中壮博士らの産婦人科医長諸先生に深謝するとともに、本研究に積極的御努力を賜つた国立賀茂療養所研究検査科寺谷一男技官をはじめ菅、金谷、神信および東技官に深謝します。

### 参 考 文 献

- 1) L.A. Weed et al. : Proc. Mayo Clin., 31 : 259, 1956.
- 2) T.A. Khudushina : Am. Rev. Tuberc., 78 (2) : 41, 1958.
- 3) 佐々木諭 : 日本細菌学雑誌, 13 : 1091, 昭33.
- 4) 岸本敬之 : 占部教室開講十周年記念学会講演, 昭35.
- 5) 河合恭幸 : 治療薬報, (576) : 22, 昭34.
- 6) 河合恭幸 : 結核, 33 : 288, 昭33.
- 7) 河合恭幸 : 原著広島医学, 6 : 1391, 昭33.
- 8) 戸田忠雄 : 結核菌とBCG, 南山堂, 昭19.
- 9) M.S. Tarshis & A.W. Frisch : Am. Rev. Tuberc., 65 : 289, 1952.
- 10) 河合恭幸 : 原著広島医学, 6 : 1405, 昭33.
- 11) 柳沢謙 : 胸部疾患, 4 : 29, 昭35.
- 12) 占部薫 : 日本細菌学雑誌, 11 : 178, 昭31.
- 13) 占部薫 : モダンメディア, 5 (6) : 1, 昭34.
- 14) 占部薫 : 胸部疾患, 3 (5) : 1, 昭34.