

非定型抗酸菌のモルモットおよびマウスに対する病原性について

牛場大蔵・小沢 敦
中山昇二・氏家淳雄

慶応義塾大学医学部細菌学教室

昭和36年5月10日

いわゆる非定型抗酸菌の動物に対する病原性については、本菌の分類学上の位置とともに、種々議論のあるところであるが¹⁾、大体においてモルモットにはきわめて弱いのに反し、マウスに対しては種々の程度の体内増殖や病変形成をきたすことが知られている。

われわれは1非定型抗酸菌株のモルモットおよびマウス皮下接種実験において、モルモット体内では全く増殖の認められないのかかわらず、接種局所に膿瘍を形成することをみたことに発して、他の多くの非定型菌株、既知の他種抗酸菌株を用いてモルモット皮内接種による局所病変の観察を行なった。他方、マウスにおけるそれらの菌のウィルレンスを静脈内接種によつて比較検討した。

実験材料および方法

使用菌株：非定型抗酸菌株は国内および国外由来の、いわゆる登録株（文部省総合研究班一班長戸田忠雄教授）13株のほか、市立浦和療養所においてわれわれの1人（氏家）によつて分離されたもの3株が用いられた。

比較として用いた他種抗酸菌はいずれも教室保存の人型結核菌 H₂、黒野、水木、H37Ra の諸株、トリ型結核菌 Kirchberg 株、M. fortuitum, M. 607, M. phlei, M. smegmatis である。

動物：モルモットは市販 250~300g でツ反応陰性のもの、マウスは市販（金丸商店）dd 系雄 15~20g のものを用いた。なお一部実験ではわれわれが育成している近交系マウス dd/Ks 株と、既知近交系 C57BL/6 株を用いた。

菌接種方法：各菌株の Dubos-Albumin 培地培養（非病原性株は4日、その他は8~10日、37°C）を一定濃度に比濁計にて合わせ、皮下およびマウス静脈内には0.2ml、モルモット皮内には0.1mlを接種した。なおモルモット皮内接種は腹部を選び、あらかじめ鉋でよく剪毛したのち、1匹に2~3種類の菌株を4~6カ所に接種した。

観察方法：皮内接種における局所変化は腫脹、発赤、自潰の程度を縦横径で測定（4週間）、皮下および静脈

接種動物は2, 4, 8週等に数匹ずつ屠殺して各臓器の定量培養を行なった（ホモジナイザー使用、1% NaOH による10倍稀釈、小川培地培養）。同時に臓器の肉眼的変化を記載し、かつ一部のものは病理組織学的検査を行なった。

実験成績

(1) 非定型抗酸菌渡辺株のモルモットおよびマウス皮下接種実験

渡辺株は国内由来 scotochromogenic 株で²⁾、それをモルモットおよびマウスの大腿皮下に接種し、1, 2, 4, 8週に2匹ずつ屠殺して臓器の定量培養を行なった成績は表1に示す。すなわちモルモットでは鼠けいリンパ節を除いて2週以後はいずれの臓器にも菌は証明されなかつたけれども、2週以後接種局所の膿瘍形成が明らかであつた。しかしこれは8週後には完全に治癒した。マウスでは接種局所にはなんらの変化が認められなかつたが、肝、脾に菌は8週まで認められた。肺では2週以後、腎では終始菌は認められなかつた。このことは本株のマウス静脈内接種（後述）に比べて皮下接種ではかなりウィルレンスは弱いものといえる。

以上の成績は非定型抗酸菌がモルモットではマウスよりも体内増殖能がはるかに弱いけれども、皮膚の局所においては強い病変を作るとを予想させるものであつたので、第2の実験が行なわれた。

(2) 各種抗酸菌モルモット皮内接種実験

各菌株を皮内接種後4週まで観察した成績の代表例を、局所変化の大きさと性状をまとめて図1に示した。図にみるごとく、一般に非定型抗酸菌による皮内反応は2週前後に強く現われ、4週にはほとんど消失するが、非病原性菌株（M. phlei, M. gmejmatis, M. 607）がほとんど全く無反応であることに比べて著差を認めた。人型菌は H37Ra を除き、H₂、水木両株とも2週で局所に生じた乾酪物質が自潰し、他菌種とは一見異なる強い変化を示した。トリ型 Kirchberg 株、M. fortuitum もまた、非定型株に劣らない反応を示したのは注目される。これらの成績はくり返し行なった実験でモルモットの個体差、皮膚の接種箇所等によつては左右さ

Table 1
Subcutaneous Inoculation into Guinea Pigs and Mice with
Atypical Mycobacterium, Watanabe Strain.

	Time of sacrifice (weeks)	Bacterial numbers in						Inguinal lymph node	Local abscess
		Lung		Spleen		Liver			
Guinea pigs Inoculum: 1.4×10 ⁸	1	0, 1×10 ²	1×10 ³ , 1×10 ²	1.2×10 ³ , 1.5×10 ²	0, 0	8×10 ² , 1×10 ²	(-)	(-)	
	2	0, 0	0, 0	0, 0	0, 0	5×10 ² , 1.1×10 ³	(+)	(+)	
	4	0, 0	0, 0	0, 0	0, 0	0, 0	(#)	(#)	
	8	0, 0	0, 0	0, 0	0, 0	0, 0	(-)	(-)	
Mice Inoculum: 7.4×10 ⁷	1	1×10 ² , 1×10 ²	7×10 ² , 9×10 ²	2.8×10 ³ , 3.4×10 ³	0, 0	/	(-)	(-)	
	2	0, 0	1.2×10 ³ , 1.1×10 ³	2.1×10 ³ , 2.6×10 ³	0, 0	/	(-)	(-)	
	4	0, 0	1×10 ² , 4×10 ²	1×10 ² , 2×10 ²	0, 0	/	(-)	(-)	
	8	0, 0	1×10 ² , 1×10 ²	1×10 ² , 0	0, 0	/	(-)	(-)	

Bacterial numbers are shown by the number per 1 gram of organ in guinea pigs, and by that in total organ in mice.

Bacterial strains	Inoculum (viable units)	Time of observation (weeks)			
		1	2	3	4
Atypical	Watanabe 1.2×10 ⁷	○	⊗	●	⊗
	Ueda 1.3×10 ⁷		○	⊗	⊗
	Matsumoto 7×10 ⁶	○	●	⊗	○
	Okubo 2.5×10 ⁷		○	●	⊗ ^C
	Kofu 4.7×10 ⁷	○	⊗	● ^C	● ^C
	Ishii 8.8×10 ⁶	○	⊗	○	○
	100616 9×10 ⁵	○	⊗	○	○
	No.22 4.6×10 ⁶	○	⊗	○	○
	No.7 4.5×10 ⁵	○	⊗	○	
	22-1(Ura) 9.2×10 ⁷		⊗	⊗ ^C	⊗ ^C ○ ^C ○
	1-1(Ura) 5.3×10 ⁷		⊗	⊗ ^C	⊗ ^C ○ ^C ○ ^C ○
	24-1(Ura) 5.5×10 ⁷	○	⊗ ^C	⊗ ^C	○ ^C ○
Other mycobacteria	Kirchberg 1.3×10 ⁷	○	○	⊗	● ^C ⊗ ^C ⊗
	M.fortuitum 7.7×10 ⁵	○	⊗	⊗	● ⊗ ⊗
	M.phlei 1.0×10 ⁷				
	M.607 1.8×10 ⁶				
	M.Smegmatis 1.9×10 ⁶	⊗	⊗ ^C ⊗ ^C		
	humantype H ₂ 8×10 ⁶	○	⊗ ^C	●	● Sacrifice
	H37Ra 5×10 ⁶	○	○	⊗	⊗
Mizuki 5×10 ⁶	○	⊗	●	⊗ ^C ○ ^C ○	

○ Swelling, ⊗ ● Redness, ● Ulcer, C Crustformation

Fig. 1. Local findings in guinea pigs inoculated intracutaneously with various strains of mycobacteria.

れないことが確かめられた。

以上のことは (1) の成績をあわせ考えて、非定型抗酸菌がモルモットに対し、皮膚局所性にはある程度の反応を示すことを意味するものであろう。

(3) 非定型抗酸菌株のマウス静脈内接種実験

市販 bb 系マウスを用いた実験は数回に分かれて行なわれたが、便宜上一括して表示すれば、図 2 のごとくである。

臓器定量培養はここでは、2、4 週目の肺、腎における成績のみを図示したが、米国由来株でとくに photo-

chromogenic の中には、体内増殖能の著しいものがあり P-1 株のごときは人型黒野株に匹敵する成績であつた。しかし米国由来株の中にもきわめて弱毒のものがあり (とくに non-photochromogenic の 100616 株, P-7 株), また国内株はすべて non-photochromogenic か scotochromogenic であるが、概して体内増殖能は弱い。M. fortuitum は相当に強い増殖能を示した。

内臓病変もおおよそ体内菌増殖と平行して認められ、ここには示さなかつたが病理組織変化においても、P-1 株のごときはきわめて強い結核様変化を示した。腎への親和性をみるため、とくにその変化を注目したが、使用した菌株の中では腎に強い病変を起こす株は見当たらなかつた。

(4) 近交系 dd/Ks 株および C57 BL/6 株マウスでの実験

前述したようにわれわれの自家育成している dd/Ks マウスは、1 対の dd マウスから出発して腸炎菌感受性 (実験チフス症) の均一性を目標として選抜育成している近交系であるが、本マウスがたまたま結核菌感染に対しても、きわめて均一で高い感受性をもつことが見出された³⁾。たとえば人型黒野株 5×10^6 コの静脈接種によつて dd マウスは 5 ないし 12 週にわたつて不規則に死亡、または生残するに対して、dd/Ks マウスは 4 ないし 5 週の間に一斉に感染死を示すことがみられ、

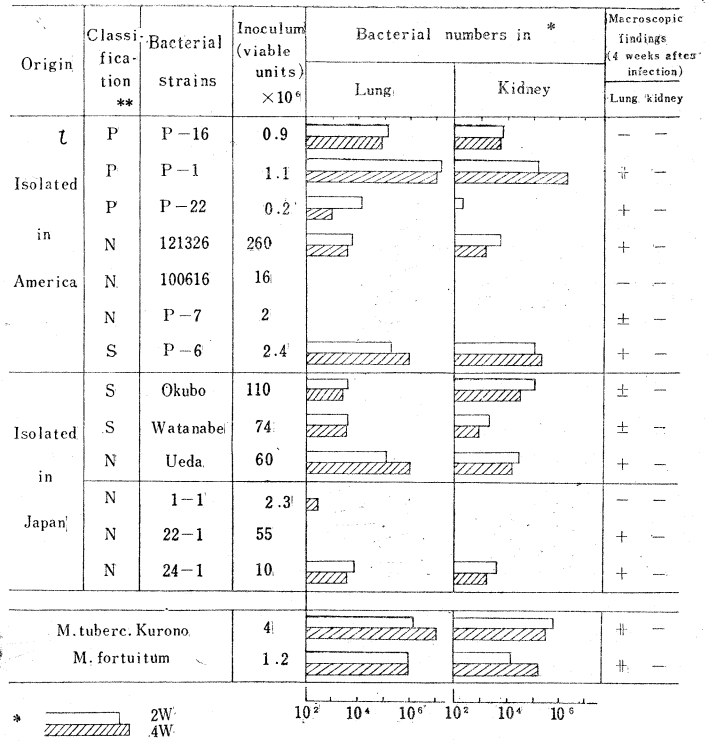


Fig. 2. Intravenous inoculation into mice with various strains of atypical mycobacterium.

2 または 4 週における肺内菌数も著しく多い。この性質は同じく近交系で結核菌感受性が高いものと知られる C57 BL/6 マウスとほぼ同じか、あるいはさらに感受性の強いものといえよう。

Table 2
Susceptibility of Inbred Strains of Mice to Mycobacterium Tuberculosis Kurono Strain and Two Strains of Atypical Mycobacterium. (Results at the eighth week after intravenous inoculation)

Bacterial Strains	Inoculum (viable units)	dd/Ks		C57BL/6		dd	
		Dead/Infected	Bacterial number in lung*	Dead/Infected	Bacterial number in lung*	Dead/Infected	Bacterial number in lung*
M. tuberc. Kurono	1.1×10^6	14/14		12/13	2.1×10^4	6/10	1×10^6 8.1×10^5
Atypical Ueda	6.7×10^6	0/10	1.4×10^4 8×10^4	0/10	7.7×10^3 4.7×10^4	** 1/10	3.1×10^3 1.2×10^4
Atypical Watanabe	1.3×10^6	** 1/10	6×10^2 1×10^5	** 1/10	2.3×10^3 1.6×10^3	0/10	6×10^2 2.3×10^4

* Shown by the number in the total organ of surviving mice (individually).
** Death not attributable to infection.

そこでマウスに中等度または弱毒であつた非定型抗酸菌株のうち、上田および渡辺株を選び、これらのマウスに静脈接種した成績が表2に示されている(対照として人型黒野株使用)。8週後生残マウスは1~2匹を屠殺して肺内菌数を定量培養により測定したが、表にみるごとく dd/Ks または C57BL/6 マウスは非定型抗酸菌に対しては、人型菌に対するように、強い感受性を示さなかつた。いいかえれば、これら非定型抗酸菌株はマウス宿主の差によつても、強い体内増殖能を発揮することはできなかつた。

考 察

いわゆる非定型抗酸菌がモルモットにはほとんど病原性がないことについては多くの発表があるが^{4)~7)} Wolinsky et al.⁸⁾ および Beck⁹⁾ は心内接種によつてはある程度の病原性を認めている。今回われわれの用いた皮内接種法は、古くウサギにおいて人型および牛型の鑑別に用いられたが(戸田¹⁰⁾)、非定型抗酸菌についてはまだ試みられていない。皮下および皮内接種実験の成績をあわせ考えれば、非定型抗酸菌はモルモットに対し、少なくとも皮膚局所性には、非病原性抗酸菌に比べて強い反応を起こす特長をもつているといえるであろう。しかしこれを一つの鑑別方法とするためには、なお多くの条件その他について考究する必要がある。

非定型抗酸菌がマウスに対してはかなり強いウィルレンスを示すことのあることも多くの報告があるが、それには種々の段階があることも明らかである(Durr et al.⁷⁾、大島¹¹⁾、染谷ら¹²⁾)。しかし非病原性抗酸菌との間にマウス病原性に関して判然とした差があるか否かは未解決の問題であつて、その間の連続的の移行、あるいは後者の中にもマウス病原性株の存在を認める報告がある(占部¹⁾、中村¹³⁾)。われわれの今回の成績も種々段階のウィルレンスを認めたが、一般に米国由来の photochromogenic 株が強く、non-photochromogenic, scotochromogenic の株は弱い傾向にあつた。これらのことは同じ菌株が用いられた染谷ら¹²⁾の成績と一致する。

さらに臓器親和性について、非定型抗酸菌がマウス腎にとくに病変を作りやすいとの報告がある(たとえば Schmidt et al.⁵⁾、Wolinsky et al.⁸⁾、染谷ら¹²⁾)。われわれもとくにこの点に注目して実験を行なつたが、使用した菌株はいずれも腎親和性が報ぜられた菌株とは異なるためか、このような傾向は認められなかつた。しかし静脈内接種で腎は肺と同様な菌増殖曲線を描くこと

は、結核菌についても、また非定型抗酸菌でも常に認められているところである(阿部¹⁴⁾、中山¹⁵⁾)。

結 語

いわゆる非定型抗酸菌はモルモット体内増殖能を欠くが、非病原性抗酸菌の数株と異なつて、皮膚局所におけるかなり強い反応性を示した。

非定型抗酸菌のマウス病原性には種々の段階があり、強いウィルレンスを示すものは米国由来の photochromogenic 株であつた。

人型菌に対して均一な高い感受性を示す近交系マウスは、弱毒な非定型抗酸菌株に対しては高い感受性を示さなかつた。

本研究は文部省科学研究費総合研究班「抗酸菌の変異と分類」(班長 戸田忠雄教授)の援助によつた。ここに記して感謝する。

文 献

- 1) 占部薫：医学のあゆみ，34：413，昭35；胸部疾患3：305，昭34。
- 2) 高塩航：日本胸部臨床，19：614，昭35。
- 3) 牛場大蔵：日本細菌学雑誌，15：978，昭35；日本臨床，19(臨増)：79，昭36。
- 4) Pollak, A. & Buhlet, V. B. : Am. Rev. Tuberc., 71 : 74, 1955.
- 5) Schmidt, L. H., Hoffmann, K. & Steenken, W., Jr. : Am. Rev. Tuberc., 75 : 169, 1957.
- 6) Kushner, D. S., McMillen, S. & Senderi, M. : Am. Rev. Tuberc., 76 : 108, 1957.
- 7) Durr, F. E., Smith, D. W. & Alfman, D. P. : Am. Rev. Resp. Dis., 80 : 876, 1959.
- 8) Wolinsky, E., Smith, M. M., Mitchell, R. S. & Steenken, W., Jr. : Am. Rev. Tuberc., 75 : 180, 1957.
- 9) Beck, A. : J. Path. Bact., 77 : 615, 1959.
- 10) 戸田忠雄：結核菌とBCG，南山堂，昭21。
- 11) 大島一馬：結核，35：201，昭35。
- 12) 染谷四郎・林治・小河秀正・江頭靖之：文部省総合研究班「抗酸菌の変異と分類」報告，昭35；第36回日本結核病学会示説17，昭36。
- 13) 中村加代子：結核，36：132，201，昭36。
- 14) 阿部逸夫：結核，28：423，昭28。
- 15) 中山昇二：結核，36：366，昭36。