

雑菌性ミコバクテリウムの研究

— いわゆる Atypical acid-fast bacteria との異同を顧慮して —

第 2 篇 マウス病原性の詳細

中 村 加 代 子

京都大学結核研究所細菌血清学部 (指導 植田三郎教授)

関西医科大学第三内科 (主任 平川公行教授)

受付 昭和 35 年 12 月 2 日

緒 言

前回実験¹⁾においてマウスに対し病原性、毒力のとくに顕著であつた 8 (2) および 230 号株の両菌株についてさらにやや詳細にその病原性の検討を行なつた。

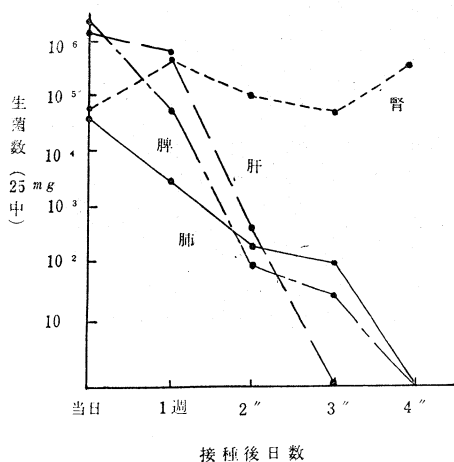
実 験

[実験その 1] 8 (2) 号株の病原性、毒力

A. 静脈内接種 (1 mg)

1 mg/0.2 ml 生理食塩水菌液を作り、20 匹の体重 20 g 前後の均一系 H 系マウスの尾静脈内に接種した。接種当日および 1, 2, 3, 4 週後にそれぞれ 3 匹宛を屠殺し、また途中斃死したものはその都度肺、肝、脾、腎の肉眼的変化と同時にそれらおよび心血の塗抹標本について菌所見を検討した。また定量培養によつて臓器内の菌数の消長を追求した。接種 1, 2 週後には臓器所見はなかつたが 3 週後には屠殺 3 匹いずれも両腎に 4~6 コの粟粒大内外の灰黄色膿瘍を証明した。さらに 4 週後には屠殺 3 匹中 2 匹の肝および腎に 3 週後と同様 3~6 コの粟粒大の膿瘍をみた。当日の塗抹染色標本中

表 1 8 (2) 号株 1 mg マウス i. v.



心血および各臓器に相当数の菌を証明し、ついで 1, 2 週後にはすでに心血中には証明できなかつたが各臓器には少数を、さらに 3 週後には 1, 2 週後に比し菌数の増加の傾向を認め、ことに腎において顕著であつた。4 週後になると臓器中の菌数は減少した。定量培養による臓器中の菌数の消長については、まず当日の心血中には相当数の菌を証明したが 1 週後には全く消失した。肺、肝、脾においては表 1 に示すように 1 週後から 3, 4 週と経過するに従い漸次減少したが、腎のみは当日、1, 2, 3, 4 週ともに常に多数の菌を証明した。途中 18 日後に死亡した 1 匹は肺に強度の充血があり肝、脾、腎に粟粒大膿瘍を数コ宛生じ、それらの塗抹標本中には相当数の菌を証明した。各臓器中の菌はその大多数が細胞外に、少数が細胞内にみられた。

B. 腹腔内接種 (1, 0.1 mg)

1 mg/0.5 ml および 0.1 mg/0.5 ml 生理食塩水菌液を作り、それぞれの菌液を 20 匹のマウス腹腔内に接種した。3, 5, 7 および 10 週後にそれぞれ 4 匹宛を屠殺し、また途中斃死したものはその都度肺、肝、脾、腎の肉眼的変化と同時にそれらの塗抹標本について菌所見を検討した。1 mg 接種では 1 週間以内に 5 匹が死亡し、これらすべてにおいて肺の充血が著明で、そのうちのあるものは肝、脾、腎、腸間膜、腹膜面等におおの数の粟粒大~米粒大の灰黄色膿瘍をみ、これらの塗抹標本中に相当数の菌を証明した。3, 5 週後には 1 mg 接種はすべて肺に軽度の充血をみ肝、腎、腸間膜および腹膜面に数コに粟粒大膿瘍を、0.1 mg 接種ではただ単に肝に 1~数コに粟粒大膿瘍をみたのみであつた。7 週後には 1 mg 接種では腸間膜、腹膜面に粟粒大内外の膿瘍を数コみしたが、0.1 mg 接種では肉眼的変化はなかつた。各臓器の塗抹標本による菌染色所見は 1 mg 接種では 3, 5 週後には各臓器中に、7 週後には腎のみに少数の菌がみられたが、0.1 mg 接種では 3, 5, 7 週後ただ肝および腎にのみ少数の菌を証明したにすぎなかつた。

8 (2) 号株は前篇¹⁾において述べたように 10 mg 腹腔内接種を行なうと、マウスのすべてを早期すなわち 2~7 日以内に斃死せしめるためこのように大量接種では経過を追って観察することができなかつた。それゆえ便宜上少量接種によつて検討したのである。今回の実験においては静脈内接種で腎においては膿瘍を形成し、他の臓器に比し菌数の増加がみられた。いずれの臓器においても結節の形成はなかつた。また 1 mg および 0.1 mg の腹腔内接種でも結節の形成はみられなかつたが、ただ肝および腎に膿瘍形成をみた。菌数の増加はいずれの臓器においてもみられなかつた。

〔実験その 2〕 230 号株の病原性、毒力

A. 静脈内接種 (0.1 mg)

0.1 mg/0.2 ml 生理食塩水菌液を作り、30 匹の尾静脈内に接種した。接種翌日および 1, 2, 3, 5, 7 週後にそれぞれ 4 匹宛を屠殺し、また途中斃死したものはその都度肺、肝、脾、腎の肉眼的変化と同時にそれらおよび心血の塗抹標本について菌所見を検討した。また定量培養によつて臓器内の菌数の消長を追求した。1 週後から 7 週後までに剖検したすべての腎の一侧または両側に 2~6 コ宛の粟粒大内外の灰黄色膿瘍があつた。他の臓器にはとくに膿瘍もまた結節もみることではできなかつた。10 日ないし 2 週後から 30 匹中の 9 匹が顕著な平衡失調を起し、あるものは右側に傾き右へ回転しながら這い、また他のものは左側に傾き左に回転しながら這つた。腎の塗抹染色標本中には 1~7 週後まですべて相当数の菌を、ことに 2 および 3 週後には菌数の増加をみた。肺では 1 および 2 週後に、肝では 1~5 週後に、また脾では 2~7 週後にそれぞれ少数の菌を証明した。また平衡失調をみたマウスの脳塗抹標本中にもそれぞれ少数の菌を証明した。定量培養による臓器中の菌数の消長についてまず心血中には相当多数の菌を証明したが 1 週後には消失した。肺、肝、脾においては

表 2 230 号株 0.1 mg マウス i. v.

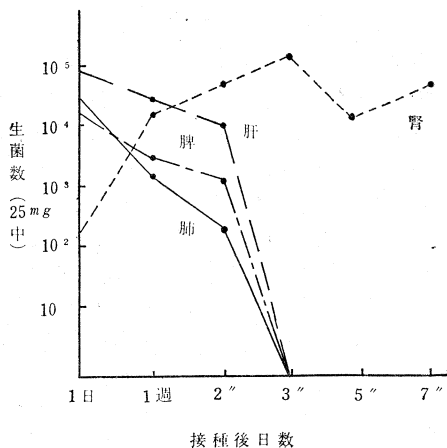


表 2 に示すように 1, 2, 3 週と経過するに従い漸次減少したが、腎のみは 1 週目に増加し以後 7 週まで大体同じ程度の多数の菌を認めた。この所見は塗抹染色標本の菌所見と大体一致した。途中ことに 3~10 日の間に 5 匹が斃死したが、これらのすべての肺は強度に充血し、肺および腎には数コノ粟粒大膿瘍があつた。また肺、肝、腎の塗抹染色標本中にはそれぞれ相当数の菌を証明した。これらの菌の大多数は細胞外に少数は細胞内にみられた。

B. 腹腔内接種 (0.1 mg)

0.1 mg/0.5 ml 生理食塩水菌液を作り、20 匹の腹腔内に接種した。1, 3, 5, 7 および 10 週後にそれぞれ 3 匹宛を屠殺し、また途中斃死したものはその都度肺、肝、脾、腎の肉眼的変化と同時にそれらの塗抹標本について菌所見を検討した。また定量培養によつて臓器内の菌数の消長を追求した。肝には 2 週後に、脾には 2~5 週後にそれぞれ数コノ灰黄色粟粒大膿瘍があつた。またそれらの塗抹染色標本中にはおのおの少数の菌を証明した。定量培養では各臓器は一様に 1, 2, 3 週と経過するにつれて急速な菌数の減少をみた。途中 8 および 12 日後に各 1 匹宛斃死したマウスは、それぞれ肺が強度に充血し肺、肝、脾に数コノ粟粒大膿瘍があり、塗抹染色標本中には相当数の菌を証明した。

230 号株は前篇¹⁾に述べたようにその 10 mg 腹腔内接種および 1 mg 静脈内接種ではマウスのすべてを早期すなわち 1 週間以内に斃死せしめ、それらの肺は強度に充血しあるものは各臓器に多数の小膿瘍を形成し、各臓器の塗抹標本中には多数の菌を、またごく初期には心血中にも多数の菌を証明した。このような量では経過を追って観察できないために今回はさらにより少量接種によつて検討した。静脈内接種では腎に膿瘍を形成し他の臓器に比し菌数の増加傾向がみられた。また接種マウスの 30% に平衡失調を証明した。同一菌量の腹腔内接種では一時期に肝および脾に膿瘍の形成がみられたが菌数の増加傾向はなかつた。また静脈内および腹腔内接種マウスのすべてに結節形成はみられなかつた。

総括ならびに考案

非病原性ミコバクテリウム (以下「ミ」と略す) あるいは雑菌性「ミ」といわれたものの中に、実験動物ことに家兎、海猿、ラッテ等に対してある程度の病変を生ぜしめるものがあるということはすでに古くから知られているがマウスについてはまだ詳細に検討されていないようである。すでに第 1 篇¹⁾において記載したが自然界から分離した雑菌性「ミ」の中にもマウスを早期に斃死せしめ、臓器になんらかの病変を生ぜしめる菌株が必ずしも少なくないことを知つた。本篇ではすでに第 1 篇¹⁾においてマウスに比較的病原性、毒力のあることを知つ

1961年4月

た III 群中の 1 株すなわち 8 (2) 号株およびさらに病原性、毒力の強い IV 群中の 1 株すなわち 230 号株の 2 株を選んで供試し、マウスに対する病原性、毒力を詳しく検討した。その結果 8 (2) 号株 1 mg 静脈内接種ではすべて 3 週以後には腎に膿瘍を形成し、塗抹染色標本および定量培養で菌の増殖傾向がみられた。また 1 mg を腹腔内に接種した場合には、そのうち早期に斃死したもので肺に著明な充血があり肝、脾、腎に膿瘍を形成し、それぞれの臓器に相当数の菌が撒布されているのを見た。生残し日数が経過するにつれて各臓器の肉眼的病変はしかしながら漸次軽快し、かつ菌数も減少した。さらに 0.1 mg を腹腔内に接種した場合には早期に斃死せしめるということではなく、肉眼的には一時期にわずかに変化を認めたのみで各臓器中の菌も少数にすぎなかつた。230 号株もまた 0.1 mg の静脈内接種ですでに 1 週後から腎に膿瘍を形成し、また腎組織内で菌の増殖傾向がみられ、さらに接種動物の 30 % に著明な平衡失調をみた。次に 0.1 mg の腹腔内接種で早期に斃死したものは肺が強度に充血し肺、肝、腎に膿瘍を形成し、それぞれの臓器に相当数の菌が撒布されていることを知った。生残し肝および脾に膿瘍を形成したのも日数が経過するにつれ病変は軽快し、また各臓器中の菌数も減少した。またこれら 2 菌株においては早期には心血中にもかなりの菌を認め、また組織内でも細胞の内外に多数の菌が撒布されたのを見た。生残しやや経過を経た動物においては就中腎における膿瘍形成ならびに菌の増殖がみられた。

すなわち雑菌性「ミ」の病原性、毒力については前篇においてその概略を知り、病原性、毒力のあるものが珍しくないということを明らかにしたが、上記実験においてはそれらの菌株中から 2 株を選びそのマウス病原性、毒力の詳細について検討し第 1 篇¹⁾の成績を補うことができた。これらの菌株の感染にさいしては大量を投与した場合には前篇において知りえたように臓器の充血が著明であつて、小膿瘍の形成がみられ臓器中に多数証明できる菌は少数が細胞内に、大多数は細胞外に存在し同時に初期には心血中からも相当数の菌を証明することができ、動物は 1 週間内外で死亡した。より少量接種の場合は今回の実験で知りえたように動物のやや少数が死亡し、臓器とくに腎における小膿瘍の形成と菌の増加がみられた。すなわちこれらの菌による病変は肉眼的には結核菌によるそれと異なることは一見して明らかである。なお 8 (2)、230 号株の加熱死菌 10 mg を腹腔内に接種した前篇の実験結果ではいずれもマウス臓器に相当程度の病変を生ぜしめているが、これら両菌株は今回の実験において臓器ごとに腎において増殖している点からみて、その病原性をことごとく菌体内物質の毒作用に帰せしめることはできないであろう。これら雑菌性「ミ」

をマウスに与えた場合、臓器内において増殖し、一定の臓器病変を起こし大量接種では動物を比較的短時に死亡せしめるのであるから、この種の動物に対して病原性、毒力を有するものと判断して誤りはないと考える。従来からこの種の菌を非病原性「ミ」という名称のもとに包括する「ならわし」があるが、このような名称が穩当でないことは上記観察の結果から自明である。

翻つていわゆる *Atypical acid-fast bacteria* (以下 A. A. B. と略す) に関する多数の文献 (第 1 篇文献参照) をみるに、マウス病原性、毒力が特徴の 1 つとして重要視されている。しかるにこのマウス病原性という性質は独りいわゆる A. A. B. に限らないのであつて上記雑菌性「ミ」にも共通した性質である。なおいわゆる A. A. B. のマウス病原性に関する下記のごとき研究はとくにこの見地から興味がある。すなわち Wolinsky²⁾ は Photochromogenic の 2 株がマウスの両腎に膿瘍を形成することを観察し、さらに Youmans³⁾ もまた Photochromogenic のある菌株が静脈内接種の場合に肺よりも腎に親和性のあることを指摘した。さらに Lominski⁴⁾ もまた腎に膿瘍の形成を観察した。すなわちこれら先進研究者の得た所見は上記において著者が雑菌性「ミ」について観察したものと近似であることが分かる。この点からだけみてもいわゆる A. A. B. を雑菌性「ミ」とは全く異なつた 1 つの新しい菌群であるとするのは妥当ではないように考えられる。因みに Wells⁵⁾、Kushner⁶⁾ が *M. fortuitum* はマウスに病原性が強く静脈内接種で腎に膿瘍を生じ、また Wells は平衡失調を起こしたマウスもあつたと報告したが、上記において著者が供試した 2 株は彼らのような *M. fortuitum* の性状を具備するものではなかつた。

結 論

雑菌性「ミ」29 株中から比較的マウス病原性、毒力の強い 2 株を選び病原性、毒力を詳細に検討した。1) 大量投与では臓器の充血が著明で、小膿瘍の形成がみられ臓器中に多数証明できる菌は少数が細胞内に大多数は細胞外に存在し、同時に初期には心血中からも相当数の菌を証明することができ、動物は 1 週間内外で死亡した。より少量接種の場合臓器とくに腎における小膿瘍の形成と菌の増加が顕著であり、少数の動物が死亡した。2) 雑菌性「ミ」中にはマウス病原性をもつ菌株が少なくない。しかもその臓器変化はいわゆる A. A. B. のそれに関する記載に酷似するものがある。3) 雑菌性「ミ」の上記のごとき病原性中で菌体の毒性がある部分の役割を演じていることは疑いないが、上記感染実験においてはあらかじめ臓器内における菌の増殖が確かめられたのであるから、上記観察の結果は必ずしも毒性のみに由来するものとは考えられない。

稿を終わるにのぞみ、終始御懇切なる御指導ならびに御校閲を賜わつた植田三郎教授に深甚の謝意を表します。なお終始御助言、御鞭撻を賜わつた平川公行教授、上坂一郎助教授に深謝いたします。

交 献

- 1) 中村加代子：結核, 36 : 132, 昭和36.
- 2) Wolinsky, E. Smith, M.M. Mitchell, R.S. & Steenken, W. JR. : Am. Rev. Tuberc., 75 : 181,

1957.

- 3) Youmans, G. P. : 結核文献抄録速報, 9 : 750, 昭33.
- 4) Lominski, I. & Harper, E.M. : J. Path. Bact., 65 : 253, 1953.
- 5) Wells, A.Q. Agins, E. & Smitn, N. : Am. Rev. Tuberc., 72 : 53, 1955.
- 6) Kushner, D.S. Mc Millen, S. & Senderi, M. : Am. Rev. Tuberc., 76 : 108, 1957.