

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3篇 マウス以外の実験動物に対する病原性の検討

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

第1¹⁾, 2²⁾ 篇において自然界から分離した29株の雑菌性ミコバクテリウムおよび研究室保存のスメグマ菌, チモテー菌を供試し, マウスに対する病原性の有無および毒力の強弱によりそれらの菌株を概略4群に分けることができた。その結果マウスに対し病原性を示す菌株の珍しくないことを知った。

さらにこれらの菌株中, 病原性, 毒力のほぼ顕著な2株についてマウスに対する病原性, 毒力の本質について詳細に検討し, 動物の臓器に病変を生じ臓器組織内で菌が増殖傾向を示し, マウスを斃すものもあることを知った。そこで本篇においてはこれらの雑菌性ミコバクテリウム (以下「ミ」と略す) の中の8株を選び, マウス以外の実験動物すなわち海猿, ハムスター, ラッテ, 家兎, 緋鮒等に対する病原性, 毒力の有無および程度を検討した。かたわら近時喧しく論議せられつつあるいわゆる *Atypical acid-fast bacteria* はその特徴としてマウス, ハムスターには強い病原性を発揮するが海猿, 家兎には軽度かあるいは全く病原性がない, またラッテ, 鶏には全く病原性がないといわれているが, それをここに供試した雑菌性「ミ」のこれら動物に対する病原性, 毒力の有無および程度と比較対照して考察してみたい。

材 料

〔供試菌株〕 第1篇¹⁾ においては供試雑菌性「ミ」29株およびスメグマ菌, チモテー菌をマウスに対する病原性, 毒力の有無および強弱に従って概略4群別した。I群は10 mg 接種でも死亡せしめず, また臓器変化を生じない5株, II群は10 mg では早期に死亡せしめるが臓器変化の顕著でないもの9株, IV群は10 mg で死亡せしめないものもあるが, 1, 0.1mg でも臓器変化の顕著なもの5株, III群はすなわちII群

とIV群の中間に位すると考えられるもの12株のように概略群別した。上記のI群から1株(219号株), II群から2株(20(3)号株, 211号株), III群から3株(247号株, 15(5)号株, 8(2)号株), IV群から2株(220号株, 230号株)の計8株を選んで供試し, それぞれ1%グリセリン寒天培養基に5~7日間培養したものを下記の実験に用いた。

〔供試動物〕 a) 海猿……体重400g~500g, あらかじめ10, 100倍ツベルクリン皮内反応陰性のもの。b) ハムスター……体重80g~100gのもの。c) ラッテ……体重150~180gのもの。d) 家兎……体重2~2.5 kgのもの。e) 緋鮒……体重50~60gのもの等を供試した。

実 験

〔実験その1〕 海 猿

A) 8(2)号株腹腔内接種
 湿菌量10 mg/ml 生理食塩水菌液を作り, 10匹に1 ml 宛を接種した。接種1, 2, 4および6週後にそれぞれ2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, 淋巴腺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。接種2日後に2匹が斃死し, それはともに肺が強度に充血し肝および脾は黄白色の薄膜に被われ, 腹膜面, 腸間膜に多数の粟粒大~米粒大の膿瘍があつた。各臓器および心血の塗抹標本中に多数の菌を証明した。1および2週後には肝および腎に5~10コの粟粒大内外の膿瘍があり, 脾は黄白色の薄膜に被われ大網, 胃と癒着し, 腋窩, 鼠蹊淋巴腺の軽度腫脹をみ腸間膜, 腹膜面に数コの米粒大~小豆大の膿瘍があつた。さらに4および6週後にも肝, 腎になお数コの粟粒大膿瘍があり肝, 脾, 胃, 大網等の癒着もなお軽度に認めたが淋巴腺の著明な腫大はなかつた。塗抹染色標本では1週後には相当数のまた2

週後には少数の菌を証明したが、4週以後には証明できなかつた。接種3, 4週後におのおの4匹に10, 100倍ツベルクリンで皮内反応を行なつたが全く陰性であつた。

B) 219号株, 211号株, 20(3)号株, 247号株
15(5)号株, 230号株, 220号株の腹腔内接種

上記7株の湿菌量 10 mg/ml 生理食塩水菌液を作り、おのおの2匹宛に 1 ml 宛を接種し3週後にすべて屠殺し、また途中斃死したものはその都度肺、肝、脾、腎および淋巴腺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。接種3, 5日後に15(5)号株を接種した1匹宛が斃死しともに肺は強度に充血し、肝、脾は黄白色の薄膜に被われ、腎には数コの米粒大の膿瘍があり、各臓器の塗抹染色標本中には相当数の菌を証明した。他の6株を接種したものはすべて3週後に屠殺して観察したが、それらのすべてにおいて肉眼的変化なく、顕微鏡的にも菌を証明することはできなかつた。

以上8(2)号株, 15号株を接種した海狸は早期に死亡し肉眼的に肺に強度の充血を、他臓器に膿瘍を証明しそれらの臓器の塗抹標本中に相当数の菌体を証明した。他の6株を接種した海狸にはなんら著変を認めなかつた。供試雑菌性「ミ」の8株中の2株が海狸にかなり顕著な病原性をもつことを知つた。

〔実験その2〕 ハムスター

211号株, 20(3)号株, 247号株, 15(5)号株, 8(2)号株, 230号株, 220号株のおのおの湿菌量 10 mg/ml 生理食塩水菌液を作り、各菌液の 1 ml を2匹宛の腹腔内に接種し、3週後にすべてを屠殺し、また途中斃死したものはその都度実験その1と同様に検討した。15(5)号株を接種した1匹は14日後に、他の1匹は17日後に斃死しともに著明に体重が減少し、肺は強度に充血し肝、胃、大網、脾がわずかに癒着した。腋窩、鼠蹊淋巴腺の軽度腫脹があり、各臓器の塗抹標本中にはそれぞれ相当数の菌を証明した。他の6株を接種したものはすべて3週後に屠殺した。そのうち20(3)号株, 8(2)号株, 230号株を接種したものに肝、脾、胃、大網等の間に軽度の癒着がみられ、おのおのそれらの塗抹標本中には少数の菌を証明したにすぎなかつた。

以上15(5)号株を接種したハムスターは海狸おけると同様にやや早期に死亡し、体重の顕著な減少があり、肉眼的変化および各臓器の菌所見も海狸のそれとほぼ同様であつた。他の6株を接種したハムスターには著明な変化は認めなかつた。すなわち雑菌性「ミ」の中には多少ともハムスターに病原性をもつものがあることを知つた。

〔実験その3〕 ラ ッ テ

8(2)号株の湿菌量 10 mg/ml 生理食塩水菌液を作り、その 1 ml 宛を15匹の腹腔内に接種し1, 2, 4, 6, 10週後におのおの2匹宛を屠殺し、また途中斃死したものはその都度実験その1と同様に観察した。接種2日後に3匹が斃死しそれらは肺に強度の充血があり、わずかに血液を混じた相当多量の胸水および腹水がたまり、肝および脾に3~4コの粟粒大膿瘍があり腋窩、腸間膜および鼠蹊淋巴腺が軽度に腫大した。肺、肝、脾、腎、胸水、腹水、心血等の塗抹染色標本中に相当多数の菌を証明した。さらに6, 7日後におのおの1匹宛斃死したがこの2匹も2日後に斃死したものと同様に肺の強度の充血および胸水を認めた。また肝、腎に数コの粟粒大膿瘍があり2日後と同様に淋巴腺の軽度の腫脹があり肺、肝、脾、腎、胸水等から相当数の菌を証明した。しかし心血中にはみられなかつた。2週後には肝に3~5コの粟粒大膿瘍があり1匹には血液を混じた腹水がたまり腹膜面、腸間膜に数コの粟粒大膿瘍があり肝、脾、胃、大網等が癒着した。肺、肝、腹水等の塗抹染色標本中に少数の菌を証明した。4, 6, および10週後に屠殺したすべてのラッテにおいてはとくに肉眼的変化なく、また顕微鏡的にも菌を証明できなかつた。

以上ただ1株を供試したにすぎないがこの菌株はラッテに対しある程度の病原性をもつものと判断せられた。

〔実験その4〕 家 兎

8(2)号株および230号株の湿菌量 10 mg/ml 生理食塩水菌液を作り、おのおの2匹宛の腹腔内に 1 ml を接種した。3週後にすべてを屠殺して肺、肝、脾、腎、淋巴腺の肉眼的所見およびそれらの塗抹染色標本について観察した。8(2)号株接種では肺は充血し肝、脾に7~10コの粟粒大膿瘍、また腸間膜、腹膜面にも10~20コの粟粒大~米粒大の膿瘍が散在し腋窩、鼠蹊淋巴腺の軽度腫脹をみた。肺、肝、脾および腹腔内膿瘍の塗抹染色標本中に相当数の菌を証明した。しかし230号株接種では脾に数コの粟粒大膿瘍をみ肺、脾の塗抹染色標本中に少数の菌を証明したのみであつた。

以上8(2)号株は家兎に対してわずかな病原性をもつものであると考えられた。

〔実験その5〕 緋 鮎

8(2)号株および230号株の湿菌量 $10 \text{ mg}/0.5 \text{ ml}$ 生理食塩水菌液を作り、おのおの 0.5 ml を7匹宛の腹腔内に接種し3, 5, 7週後におのおの2匹宛を剖検し内臓の肉眼的所見およびその塗抹染色標本中の菌を観察した。8(2)号株接種では3, 5, 7週後ともにすべて内臓ことに肝、脾、腸、胆嚢等が軽度に癒着していたが膿瘍、結節形成はみられなかつた。しかし腸、肝、脾、腎、胆汁、筋肉、心血等の塗抹染色標本中には多

数の菌を証明した。ことに肝、脾において著明であった。しかし230号株接種では5週以後になり4匹に多量の腹水を見、その中に菌を証明した。他の内臓には癒着を見、その塗抹染色標本中には常に菌を認めたことは8(2)号株と同様であった。

すなわち緋鮎においてもこれら2株はやや長期間体内にとどまり多少の変化を惹起することが知られた。

総括ならびに考案

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ので、本篇ではすでに第1篇¹⁾においてマウスに対し全く病原性、毒力を欠いたI群から1株、毒力は強いが病変の顕著でないII群から2株、比較的病原性、毒力のあつたIII群から3株、さらに病原性、毒力の強いIV群から2株の以上計8株を選び、海狸、ハムスター、ラッテ、家兎および緋鮎に接種してこれら動物に対する病原性、毒力の有無ないし強弱を検討した。その結果は動物の種類によつて接種後の早期死亡の有無、病変の強弱、臓器内の菌の分布を異にしたが、供試菌株中のあるものはこれらの動物のある種類に一定の病変を生じ、動物を早期に斃死せしめるものもあつた。すなわちこれら雑菌性「ミ」中のあるものは上記の種々の動物に対し病原性を示すと判断して誤りがないのではないかと思う。ただしここに観察した臓器病変は肉眼的に結核性のそれとは明らかに異なり小膿瘍の形成、充血、癒着等を主とするものであつた。なお臓器中の菌は週を追つて綿密に追求することはできなかつたが上記のごとき観察の方法でも病原性があると考えられた菌株においては増殖傾向が多少ともうかがわれた。

すでに前篇¹⁾においても記載したごとく、従来からこの種の菌は非病原性「ミ」という名称のもとに総括的に扱われてきたが、マウスに対すると同様上記諸種の実験動物に対しても病原性、毒力を大なり小なり現わすものもあるから、そういう名称が穏当でないことは明らかである。ひるがえつて従来から雑菌性「ミ」のほとんどが動物に病原性を発揮しないものと考えられ、またそのような成績も多いが少数はなんらかの病変を生じたと報告しているものもある。たとえば Thomson³⁾ は雑菌性「ミ」のあるものが海狸の肺および肝に病変を生じたと報告しているが、結核菌によるそれとの差異は明らかでない。最近佐々木⁴⁾ は牛乳から分離した「ミ」の23株を用いて海狸に接種し肺および肝に結節様病巣を作り病原性を有するものが5株あつたと報告している。また占部その他報告^{5)~7)} はラッテあるいはその他の動物に対してある程度の病原性を有するものがあつたことを報告している。しかし雑菌性「ミ」のこれら実験動物

に対する病原性の詳しい検討はいまだ少ないようである。著者もまた上記の観察において明らかなように雑菌性「ミ」中のあるものが上記これら各種の動物に対し、ある程度の病原性を保持するものと判断したい。さらに近時問題になつているいわゆる *Atypical acid-fast bacteria* に関する多数の文献をみるに、海狸に対して Tarshis and Frisch⁸⁾ は大量を腹腔内に接種すると26株中の7株は動物を斃死せしめ、12株は内臓に膿瘍を生じ、7株は全く病原性を欠いていたという。また Buhler and Pollak⁹⁾ は人間と同様の病変を生じたと報告し、Wood, Buhler and Pollak¹⁰⁾ は17株中の1株のみが病原性を示したといい、Wayne et al.¹¹⁾ は Photochromogenic で中性紅反応陽性のもものでは病原性を認めた。また Crow et al.¹²⁾ は病変を生じたものが44.6%あつたと報告している。その他多少なりとも海狸に病原性を示したというもの^{13)~20)}、あるいは全く非病原性であつたというもの^{21)~27)}、またハムスターに病原性を示したというもの^{13), 21), 22)}、病原性を欠いていたというもの^{16), 20)}、その他ラッテ、家兎に対しても種々の報告がみられたがいわゆる *Atypical acid-fast bacteria* は海狸、ハムスターにおいてある程度の病変を惹起しうることを重要視しているが、上記観察において雑菌性「ミ」を用いた場合にも同様の結果が得られた点にはとくに注意したいと考える。第2篇²⁾におけるマウスに対する病原性、毒力の吟味の結果等をあわせ考えるといわゆる *Atypical acid-fast bacteria* と酷似した性状を雑菌性「ミ」のある種のものが示すということにとくに注意したいと考える。

結 論

自然界から分離した29株の雑菌性「ミ」の中から8株を選び海狸、ハムスター、ラッテ、家兎、緋鮎に接種して、これら動物に対する病原性の有無および毒力の強弱を検討した。その結果は動物の種類によつて接種後の早期死亡の有無、病変の軽重、臓器内の菌の分布を異にしたが、供試菌株中にはこれら動物中のあるものに病変を生じ、また早期に斃死せしめるものがあつた。すなわちこれら雑菌性「ミ」の中には上記の種々の動物に対してある程度の病原性をもつものがあることを知つた。

いわゆる *Atypical acid-fast bacteria* がマウスに対すると同様に海狸、ハムスターにおいてもまたある程度の病変を惹起せしめることが指摘されているが、上記の供試雑菌性「ミ」中にもこれらの動物に酷似した病変を惹起するものがあつた。

稿を終るにのぞみ、終始御懇切なる御指導ならびに御校閲を賜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、御鞭撻を賜つた平川公行教授、

上坂一郎助教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 中村加代子：結核，36：132，昭36.
- 2) 中村加代子：結核，36：201，昭36.
- 3) Thomson, H. M. : Am. Rev. Tuberc., 26 : 162, 1932.
- 4) 佐々木諭：日本細菌学雑誌，14：138，昭34.
- 5) 占部薫：福岡医科大学雑誌，29：3037，昭11.
- 6) 大田正雄：満洲医学会雑誌，17：1，昭7.
- 7) 太田原 他：日本学術協会報告，9：567，昭9.
- 8) Tarshis, M. S. & Frisch, A. W. : Am. Rev. Tuberc., 65 : 289, 1952.
- 9) Buhler, V. B. & Pollak, A. : Am. J. Clin. Path., 23 : 363, 1953.
- 10) Wood, L. E., Buhler, V. B. & Pollak, A. : Am. Rev. Tuberc., 73 : 917, 1956.
- 11) Wayne, L. G., krasnow, I. & Huppert, M. : Am. Rev. Tuberc., 76 : 451, 1957.
- 12) Crow, H. E., King, C. T., Smith, C. E., Corpe, R. F. & Stergus, I. : Am. Rev. Tuberc., 75 : 199, 1957.
- 13) Pollak, A. & Buhler, V. B. : Am. Rev. Tuberc., 71 : 74, 1955.
- 14) Wolinsky, E., Smith, M. M., Mitchell, R. S. & Steenken, W. : Am. Rev. Tuberc., 75 : 181, 1957.
- 15) Schmidt, L. H., Hoffman, R. & Steeken, W. : Am. Rev. Tuberc., 75 : 169, 1957.
- 16) Weed, L. A., Karlson, A. G., Ivins, J. C. & Miller, R. H. : Proc. Staff Meetings Mayo Clinic, 31 : 238, 1956.
- 17) Keltz, H., Colton, R. & Lester, W. : Dis. Chest, 34 : 368, 1958.
- 18) 染谷・林：日本細菌学雑誌，7：605，昭27.
- 19) 田坂・高橋：日本臨牀結核，17：272，昭33.
- 20) 宮本・岩崎：結核，34：498，昭34.
- 21) Middlebrook, G., Cohn, M. L. & Oestreicher, R. : Am. Rev. Tuberc., 72 : 693, 1955.
- 22) Veterans Administration National Tuberculosis Association : Am. Rev. Tuberc., 72 : 866, 1955.
- 23) Timpe, A. & Runyon, E. H. : J. Lab. & Clin. Med., 44 : 202, 1954.
- 24) Lominski, I & Harper, E. M. : Path. Bact., 65 : 253, 1953.
- 25) Engbaek, H. C., Friis, TH. & Ohlsen, A. S. : Acta tuberc. scand., 34 : 145, 1957.
- 26) Nassau, E. & Hamilton, G. H. : Tubercle, 38 : 389, 1957.
- 27) 占部・河合：医学と生物学，44：196，昭32.