

非 定 型 抗 酸 菌 に 関 す る 研 究

第 1 報 興味ある非定型抗酸菌の一例 (寺井株)

——患者の臨床経過および試験管内実験——

小 川 辰 次・足 立 達・村 江 久 忠
大 谷 典 子・宮 城 小 枝 子

北里研究所付属病院 (院長 福住定吉)

受付 昭和 39 年 8 月 13 日

STUDIES ON THE UNCLASSIFIED MYCOBACTERIA*

I. An Interesting Strain of the Unclassified Mycobacteria (Teraï Strain).

A Case Report and in Vitro Experiment of the Strain

Tatsuji OGAWA, Itaru ADACHI, Hisatada MURAE,
Noriko OTANI and Saeko MIYAGI

(Received for publication August 13, 1964)

From a male patient, 37 years old, with pulmonary lesions belonging either to rII₂ type according to the classification of the Japanese Tuberculosis Association or to the moderately advanced type according to the classification of American Tuberculosis Association, a strain of unclassified mycobacteria, probably of non-photochromogen type, was isolated by the present authors. This strain was named Teraï strain, and regarding to its characteristics and the clinical pictures of the case likely to have been caused by this strain, there were observed several different points from those formerly reported which will be discussed in the present paper.

Clinically the patient had intestinal symptoms associated with diarrhea and tuberculous bronchitis, Type III, on bronchoscopy. By the treatment with various anti-tuberculous drugs, diarrhea and bronchitis gradually improved but chest X-ray findings did not change, for which surgical resection was performed. The lesions in the lung appeared quite similar to tuberculous lesion treated with anti-tuberculous drugs macro-and microscopically.

The patient was cured by surgery and now is under further observation.

From bacteriological viewpoints, the sputa were purulent, always positive of acid-fast bacilli in five smear tests and yielded many colonies in culture tests. Numerous colonies were observed also in the culture test with stool specimens, the number of which decreased gradually with the decrease of diarrhea due to the treatment, becoming finally negative.

In addition, the resected lung was positive on smear test and yielded many colonies. The same strain was recovered from sputa, stool and resected lungs, but no tubercle bacilli were detected. The bacteria were of short rods both on direct smear from the lesion and on smear from the cultured media, yielded gray-white, smooth colonies and became grossly visible within 4 days at 37°C or at room temperature when successively inoculated on media. Niacin test was negative. The strain was naturally resistant to SM, PAS, PZA and VM but sensitive to 1314 Th and cycloserine. To INH the strain gained resistance during the treatment. When inoculated

* From Kitasato Institute Hospital, Shiba Shirokane Sanko-cho, Minato-ku, Tokyo, Japan.

to animals and recovered from them, the resultant colonies, if found as isolated colonies, disso-
ciated to R type and S type. The R typed revealed yellow color after being exposed to room
temperature, just as in the photochromogen. Urease test was positive. The S type, however,
did not show any coloring and was negative of urease test.

1. 緒 論

非定型抗酸菌 (以下 A. M. と略す) は、わが国でも最
近は珍しくはないが、われわれの例は、臨床的には腸結
核症を思わせる症状が合併しており、分離された菌は、
モルモット、マウスに毒力があつて、さらに接種した動
物よりの菌の還元培養においては R 型と S 型に解離し
た。臨床的にも細菌学的にも興味ある例である。今回
は、その中の臨床経過、試験管内の種々の実験について
報告する。

2. 臨床経過

患者は 37 才の男子でその経過は表 1 に示した。母が
腹膜炎で死亡しているほかは特記すべきものはない。ツ
ベルクリン反応の陽転の時期ははつきりしない。昭和
13 年に右滲出性肋膜炎をやつた。昭和 24 年、右肺に病
巣を発見された。36 年 8 月、喀痰、咳嗽、下痢、倦怠
感あり、X 線写真を撮つたら増悪していた。喀痰検査で
ガフキー 5 号、耐性は INH は感性であつたが、SM 10
γ, PAS 1 γ であつた。SM, PAS, INH, サイアジン、
サイクロセリン等による化学療法を同年 12 月まで継続

したが、喀痰の検査では常にガフキー 4~5 号を示し、
腸症状は依然として続き衰弱が加わつてきたので、36
年 12 月、当所に入院した。X 線写真は、右に高度の肋
膜の癒着があり、肺尖部に空洞を認める。すなわち結核
病学会の II₂ γ, 学研の B₁ Kb pl 型に一致する。気管支
鏡の検査では、右主気管支に結核性気管支炎Ⅲ型を思わ
せる所見を認めた。喀痰は膿様でガフキー 1 号を示し、
培養により無数の集落を認めた。また糞便は不消化の下
痢便で、培養により無数の集落を認めた。耐性を検査す
ると、SM, PAS とともに 10 γ 不完全, INH 感性, PZA
5,000 γ 不完全, サイクロセリン, サイアジンはともに
感性であつた。それでヒドロロンサン, PAS, サイクロセ
リン, 1314 Th 等を投与し、4 月よりは KM を 2 g 宛
週 2 回投与した。一般症状は多少好転し、気管支の病変
も消失し、下痢も軽度になつたが、肺の病巣は不変であ
つたし、毎月の痰検査では常にガフキー 1~7 号を示し、
培養でも常に無数の集落を認めた。糞便の培養は、腸症
状がよいのに比例して 2 月の培養では少数の集落とな
り、4 月には全く陰性を呈した。5 月 8 日に右上葉切除
と同時成形を実施した。切除された材料を、肉眼的、組
織学的にみると、化学療法を受けた結核病巣とほぼ同じ

Table 1. Clinical Course of Mr. Terai, 37 Year-old Male

Year	1961					1962									
Month	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Clinical events	Spread	Spread	Admis- sion			Operation Resect. r. upper lobe with thoracoplasty									
Chemotherapy	SM				PZA	P	P	P	P	P	P				
	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
	Si	Si	Si	Si	Si	1314 Th	K	K	K	K	K	K	K	K	K
			Cs	Cs	Cs	Cs	Cs	Cs	Cs	Cs	Cs	Cs	Cs	Cs	Cs
Tbc bac. in sput.		G ₅	G ₄	G ₅	G ₅	G ₁	G ₇	G ₂	G ₂	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
Tbc bac. in stool					⊕		⊕		⊖			⊖			
BSR		27	16	5	10	10	14	16	5	61	19	8	4	5	9

Note : 1. Chemotherapeutic agents are described as follows :
SM.....Streptomycin
PZA.....Pyrazinamide
P.....Para-amino salicylic acid
Si.....Sinomin (Sulfaisomezole)
2. Tubercle bacilli in sputum and stool are expressed as follows :
G.....Gaffky number
⊕.....innumerable colonies in culture
3. BSR is expressed in mm/one hour
1314 th.....Ethionamide
K.....Kanamycin
Cs.....Cycloserine
24.....24 colonies in culture
⊖.....no growth in culture

である。菌の検査成績については、後で述べる。

3. 種々の材料よりの菌の検出状態

喀痰は小川の方法¹⁾により、糞便は工藤²⁾の方法により前処理し、2本の3%小川培地に0.1cc宛接種した。切除肺病巣は前処理せず、2本の1%小川培地に白金耳で塗抹接種した。なお切除肺病巣では、血液寒天培地、Thioglycolate 培地を用いて一般細菌の検査を、Sabroud 培地により真菌の検査も試みた。

成績は表2のように、喀痰は切除前4月までに6回検査されたが、いずれも塗抹陽性で、培養ではいずれも無数の集落を認めた。しかし、結核菌は一度も検出されない。切除後は喀痰が出ないので、主として喉頭粘液により、退院の11月までの間に7回検査しているが、全部陰性であつた。糞便は入院直後の3回の検査では無数の集落を認めたが、糞便の性状の正常化とともに24コとなり、手術直前では陰性を示した。この場合も結核菌は認めない。術後は、1回の検査だけではあるが陰性を示した。切除肺病巣は空洞内容と空洞内壁の2カ所検査したが、ともにガフキ-5号であつて、培養では培地全面あますところなく発育したが、結核菌は検出されない。なお一般細菌、真菌は認められなかつた。

4. 検出された菌の諸性状

(1) 菌の形態、発育、集落

喀痰および切除肺病巣の塗抹標本は、Ziehl-Neelsen 法で染色したが、いずれも短桿菌であつて、抗酸性は正常であつた。抗煮沸値は1である。分離された初代抗酸菌は、喀痰、切除肺病巣ともに灰白色であつたし、糞便では前処理液のアクリフラビンにより着色していたが、継代すると前同様灰白色となつた。性状は粘潤で、白金耳で処理すると、集落が長く糸をひき、蒸留水で簡単に均等化された。すなわちS型であつた。集落を染色してみると、いずれも定型的な短桿菌であつて、材料による差を認めなかつた。集落の発育するまでの期間は、表2でみるように、NaOHで処理する喀痰では種々であつたが、5コの集落のときの37日を除けば、10~21日であり、前処理を強く行なう糞便では28~35日のようになっていたが、前処理を行わない切除肺病巣では11

Table 2. Natures of Acid Fast Bacilli from Various Specimens

Specimens examined		Date of examinatio.	Results in direct smear	Results in culture		Niacin test
				Colony counts	Period till growth observed	
Sputum		1961. 12. 19	G 7	+++	21 days	—
		1. 16	G 1	++	21	—
		2. 13	G 7	+++	10	—
		1962 3. 12	G 2	++	10	—
		4. 7	—	5	37	—
		4. 10	G 2	++	14	—
Stool		12. 19		++	28	—
		1961 12. 20		++	28	—
		12. 21		++	28	—
		1962 2. 15		24	35	—
		4. 7		—		—
		7. 3		—		—
Resected lung	Cavity contents	1962. 5. 8	G 5	+++	11	—
	Inner wall of cavity		G 5	+++	11	—

Note: Colony counts are expressed as follows;

— negative

24 24 colonies

++

+++

innumerable colonies; number of + shows degree of growth

日で早い。しかしいずれの材料でも1週間以内で発育したものはない。しかし37年3月に喀痰より分離した菌および切除肺病巣より分離した菌2株を7月中に1%小川培地に4本宛塗抹培養し、2本は37℃に、2本は室温に培養したところ室温では多少発育が悪いが、4日ですでに(±)、1週でははつきり陽性を示した。継代3代のものを同様の実験をすると、室温、37℃ともに4日までに発育を認めた。またこれらの菌について Runyon の光着色性を検査してみると陰性である。ナイアシントテストは喀痰で4株、糞便、切除肺病巣では2株宛行なっているが、いずれも陰性を示した。

以上の成績から、喀痰、糞便、切除肺結核病巣より分離された菌株は結核菌ではなく、非定型抗酸菌の Non-photochromogen に属する同じ菌株であることが推定される。この株を寺井株とよぶことにする。

(2) 化学療法剤に対する耐性

表3は入院後、切除までの間の耐性値の推移を示したものであつて、喀痰による直接法で4回、切除病巣より分離した菌で間接法で5月に1回行なつた。

直接法には、SM, PAS, INH, Cycloserine, VM は3%小川培地、1314 Th は1%小川培地、PZA はpH 5.5にした1%小川培地、KM は変法Ⅲ Kirchner 寒天培地で作った耐性培地に、4% NaOH で処理しあるい

はさらに中和した材料を接種した。間接法では 1314 Th と PZA は直接法と同様の培地を用い、KM では Kirchner 寒天培地、その他は 1% 小川培地で作った耐性検査培地に、前処理しない菌液を接種した。接種菌量は 10^{-8} mg である。判定はすべて 3~4 週で行なつた。

成績をみると、SM, PAS は入院直後にすでに耐性を示し、その後も同様の耐性を示している。INH は入院時感性であつたが、術前 1 γ の耐性となり、その後さらに 5 γ と耐性値が上昇している。KM は入院時検査していないが、術前の検査では 10 γ の耐性で、切除された病巣からのものは 100 γ の耐性を示している。なお昭和 36 年 8 月他所での化学療法開始前の耐性検査では SM 10 γ , PAS 1 γ , INH 0.1 γ の耐性を示したということである。

Cycloserine, 1314 Th はいずれの場合でも感性を示したが、PZA は術前 2 回、術後 1 回、合計 3 回検査し、VM は術前 1 回だけ検査しているが、ともに耐性を示している。

最後の耐性検査の成績を耐性値の消長と化学療法剤の投与とに関連づけてみていくと、SM は化学療法前に耐性であるし、VM は使用していないし、PZA も一カ月程度しか使用していないから、これらは自然耐性であると考えられる。PAS, INH は化学療法以前には感性であつたのであるから、獲得された耐性であることが推定される。

次に表 4 にみるように、喀痰よりの菌の分離において 4% NaOH で前処理し、3% 小川培地およびわれわれの保存全血液寒天培地 II およびペニシリンを 100 u/cc に混入した培地に接種し、さらにそれを中和して 1% 小川培地、保存全血液寒天培地 I、ペニシリンを前同様に混入した保存全血液寒天培地 I および Tarshis 培地に 0.1 cc 宛接種したときに、ペニシリンの入った培地では

Table 3. Change in Drug Resistance

Antituberculous drugs	Change in degree of resistance				
	1. 16	2. 13	3. 12	4. 10	5. 8
SM	10 γ p	100 γ p	100 γ p	100 γ p	100 γ p
PAS	10 γ p	10 γ c	10 γ p	10 γ p	10 γ p
INH	Sensitive	0.1 γ p	1 γ p	1 γ p	5 γ p
KM				10 γ c	100 γ c
Cs		Sensitive	Sensitive	Sensitive	Sensitive
1314 Th				Sensitive	Sensitive
PZA			100 γ p	1,000 γ c	1,000 γ c
VM				100 γ c	
Colony counts in control	卅	卅	卅	卅	卅

Note: 1. Abbreviation of drugs are indicated in Table 1.

2. In the column of change in degree of resistance, 1. 16 for instance, means January 16 and p and c mean partial and complete resistance respectively.

3. Colony counts in control are expressed in such way as in Table 2.

集落が少なかったこと、あるいは全然発育しなかつたこと等、また切除病巣よりの菌においてもペニシリンの混入した培地では発育が悪かつたこと等は、これらの菌はペニシリンに対して感性であることを示している。

これを総合して考えてみると、化学療法以前においてはわれわれの菌は、SM, VM, PAS に対しては自然耐性であり、PAS, INH, Cycloserine, 1314 Th, Penicillin に対しては感性であつたことが推定される。また KM については、KM 使用以前には検査しておらず、KM がかなり長い間使用されているので、自然耐性が感性かはつきりしない。

(3) 集落の解離

分離された菌は前述のように S 型であつた。この菌を次回で述べるように ddN 系マウスの静脈およびモルモット、ウサギ、鶏の皮下に接種し、種々の時期に屠殺、剖検し、肉眼的、組織学的にみるとともに、脾、肝、肺、腎等より還元培養を行ない、集落数につき検討したが、そのさい集落が計算できるように屠殺までの期間によつて種々の段階に稀釈、接種した。それで集落が孤立して発育する機会が多かつたが、そこにはつきりと 2 つの型の集落がみられた。S 型と R 型の解離である。R 型

Table 4. Influence of Penicillin Mixed in Media on Growth

Specimens examined	Date examined	Results in direct smear	Dilution	4% NaOH			Neutralization or no treatment			
				3% Ogawa media	Blood agar II	Blood agar II (p)	1% Ogawa media	Blood agar I	Blood agar I (p)	Tarshis media
Sputum	1961. 12. 20	G 10	10^4	15. 5	28. 5		12. 5	20. 0		—
	1962. 3. 12	G 2	10^1	卅	卅	卅	卅	卅	—	—
Resected lung	1962. 5. 8	G 5					卅	卅	23	卅
		G 5					卅	卅	15	卅

Note: 1. Number in the Table shows numbers of colony and 卅, 卅, 卅, 卅 show degree of the growth of colonies, that are all innumerable.

2. blood agar (p) contains penicillin instead of malachite green.

といつても、その周辺が多少粘稠を帯びていたし、またこれを培地に継代したりあるいは載せガラスに塗抹するときの感じではぼろぼろしない。したがってS型とR型の中間型といったほうがよいのかもしれない。このR型の集落の検出される頻度は種々であつて、多いので3コの中の1コ、少ないので200コの中に2コくらいであつた。動物や臓器、屠殺した日等には無関係にいずれも認めることができた。なお原株の菌液を集落が個々に発育するように稀釈して1%小川培地に接種しても、R型の集落は認めることができなかった。

これらの集落を塗抹染色していても、原株のS型と同様の抗酸性の短桿菌であつて抗煮沸値も1を示した。1%小川培地に継代して発育をみると、S型と同様に37°C、室温とも2~3日で発育した。またナイアシンテストも、S型、R型とも全く陰性、耐性値も全く同様である。Runyonによる光着色性は両型とも陰性である。

またこれらの同じ臓器から分離したS型、R型の10組の菌株について、1%小川培地に白金耳で塗抹して継代すると、この中の8組はともにS型を示したが、他の2組は全くR型を示し、結核菌の集落と間違ふほどであつた。次にUreaseはS型は陰性であるがR型は陽性であつた。このR型を室温に放置しておくとも2~3週後には灰白色の集落が黄色となつた。その色は日数と経過とともに増強され、Runyonの分類のPhotochromogenに属するPP8と全く同様の着色を示した。S型はこのような傾向を認めない。

5. 総括および考察

われわれの経験した寺井株はRunyonのNonphotochromogenに一致する非定型抗酸菌であるが、臨床的には胸部のX線写真は右上葉に空洞のある中等度の拡りをもつた病巣であつたこと、また切除によつて治癒したことは従来の例と大差ないが、下痢が長く続き、腸結核症を思わせるものがあり、また気管支鏡の検査によつて、気管支炎のⅢ型が認められたように一般状態がかなり重篤であつたこと、またSM、PAS、INH、Sinomin、Cycloserine、1314 Th、KM等の2者あるいは4者併用がそのときどきによつて使用されたのであるが、胸部のX線写真の上では著変はなかつたけれども、肺の切除病巣の検査においては、化学療法剤の投与を受けた肺結核病巣とほとんど差がなかつたこと、腸症状が消失して、糞便中の菌も次第に消失したこと、また気管支炎のⅢ型の像が治癒していた事等は、これらの化学療法剤のあるものが効果のあつたことを示すものであろう。この事実を裏書きするかのよう、INHの投与によつて寺井株が次第に耐性を獲得していく様子がみられる。

次に細菌学的にもいろいろ興味があつた。すなわち入院当初に前述の腸症状に一致して糞便にたくさんの菌を

証明したが、これは喀痰とともに嚥下された菌も多少は含まれているかもしれないが、大部分は腸の病巣よりのものであろうことは、糞便中の菌が次第に減少し、ついには陰性を示したにもかかわらず、喀痰の培養ではひきつづき無数の集落を認めたことによつて推定できる。このように、腸の病巣よりと推定された菌がたくさん証明されたこと、寺井株を動物に接種し、種々の時期に屠殺、剖検し、その臓器よりの還元培養において、本来のS型がS型とR型に解離し、R型が室温に保存することにより灰白色であつたものが黄色に着色したことなども従来みながつたもののように思われる。なお病原性抗酸菌、非病原性抗酸菌についての集落の解離については、多くの諸先進^{3)~8)}の報告がある。われわれの例は、最近脚光をあびた非定型抗酸菌においても同様なことがみられたことで興味がある。

以上のように寺井株は臨床的にも細菌学的にも興味があるが、動物接種については次回に報告することにする。

6. 結 論

われわれは、肺には日本結核病学会の分類ではγⅡ₂型、アメリカの結核病学会の分類では中等度の拡りの病巣をもつた37才男子の患者から、Nonphotochromogenに一致する非定型抗酸菌を分離した。この株を寺井株とよぶことにするが、この寺井株及び寺井株によつて起こつたと推定される非定型抗酸菌症は、従来とかなり異なるものであつたので、その一部について報告する。

まず臨床的には下痢を伴う腸症状があり、気管支鏡の検査により気管支炎Ⅲ型の所見を認めた。種々の化学療法剤の使用によつて、下痢および気管支炎の所見は次第に消失したが胸部X線写真は変化がなかつたので、外科的に病巣を切除した。切除肺病巣は肉眼的組織学的に検査すると、化学療法剤の投与を受けた結核病巣とほとんど同じであつた。切除により治癒し現在なお観察中である。

次に細菌学的にみると喀痰は膿様で、術前5回の検査で常に塗抹陽性、培養でも常にたくさんの集落を認めた。糞便からも無数の集落を認めたが、化学療法により下痢の少なくなるとともに集落数は減りついには陰性を示した。なお切除病巣も塗抹陽性で、培養によりたくさんの集落を認めた。これらの菌は同一の菌であつて結核菌は1回も検出されなかつた。この菌は病的材料の単純塗抹標本においても、発育した集落の塗抹標本においても短桿菌であつて、発育した集落は灰白色のS型であつたが、継代して培養すると、37°C、室温ともに4日以内に集落を認めた。またナイアシンテストはいずれも陰性を示した。SM、PAS、PZA、VMに対しては自然耐性を示したが、1314 Th、Cycloserineに対しては感性で

あり、INH に対しては投与による耐性の獲得がみられた。この菌を動物に接種して還元培養をしたところ、孤立した集落の発育がみられたところではS型とR型に分離し、R型は室温に放置すると、Photochromogen とほぼ同程度の黄色に着色した。また Urease test は陽性であつた。S型では着色はなかつたし、Urease test も陰性であつた。

文 献

1) 小川辰次・佐波薫・鈴木つき：結核，25：33，

1950.

- 2) 工藤祐是：結核，26：20，1951.
- 3) R. Kraus：Ztschr. f. Imm., 61, 454, 1929.
- 4) Morton C. Kahn and Helen Schwarz Kopf：J. of Bact., 25：157, 1933.
- 5) M. Pokrowskaja：Zbl. f. Bakt., 1 Abt. Originale, 116：304, 1930.
- 6) Toda Tadao：Ztrchr. f. Hyg., 112：463, 1931.
- 7) W. Steenken and A. Landen：J. Inf. Dis., 58：247, 1936.
- 8) 占部薫：福岡医科大学雑誌，29：3008, 1936.