

非定型抗酸菌に関する研究

第3報 興味ある非定型抗酸菌の一例 (寺井株)

寺井株のモルモット, ウサギ, ニワトリに対する接種実験

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*

III. An Interesting Strain on the Unclassified Mycobacteria (Terai Strain). Inoculation Experiment of Terai Strain to Guinea Pig, Rabbit and Hen

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

(Received for publication August 13, 1964)

(1) Experiments in guinea pigs

Guinea pigs were inoculated with 1 mg and 10 mg of the Terai strain subcutaneously and were sacrificed after 2, 4, 6 and 8 weeks, one animal at each time. Comparison was made with guinea pigs inoculated with 0.01 mg of virulent human tubercle bacilli, Kurono strain.

Skin reaction to 100 fold dilution of old tuberculin were positive after 4 to 6 weeks in both groups and it was more marked in the group inoculated with than that inoculated with 0.1 mg, although still weaker than in the group inoculated 10 mg with Kurono strain. The weight of spleen was heavier in the Terai strain group than in the Kurono strain group, being more than twice heavier 8 weeks after the inoculation. There were complications of pleurisy and peritonitis in many of the Terai strain group but no such complications in the Kurono strain group. The macroscopic pathological findings in lymph nodes and other organs were much more marked in the Kurono strain group. But microscopically the tubercles were seen in all the organs examined, i. e. spleen, liver and lung, regardless of the amount of inoculation, and the time of sacrifice. The number of tubercles was generally the most in spleen, then in liver and the least in lung. Colony counts per 1 mg of the organs, were less in the group inoculated with 1 mg than that with 10 mg and were more in spleen and liver than in lung. With the lapse of time, colonies became less in number but were still present 8 weeks after the inoculation. This tendency was the same in the Kurono strain group.

The Terai strain is considered to possess considerable virulence to the guinea pig.

(2) Experiments in rabbits and hens.

Both rabbits and hens were inoculated with 10 mg of the bacteria subcutaneously and were sacrificed 8 and 12 weeks after the inoculation.

The rabbits revealed tubercles only in the regional lymph nodes and no lesion in other organs macroscopically. Histological examination proved these results, i. e. only tubercles in the regional lymph nodes and no tubercles in other organs. Cultures yielded colonies from the inoculated site, the regional lymph nodes, and mesenteric lymph nodes but only a few colonies

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

from the liver at 8 weeks after the inoculation. Other organs failed to yield the bacteria. These results are coincident with the pathological findings.

In hens, there were no macroscopical lesions seen but microscopically many tubercles were seen at the inoculated site and a few in the liver. Cultures yielded many colonies from the inoculated site and a few from the spleen, liver and lung.

Consequently the Terai strain seems to have no or only a slight, virulence to rabbits and hens.

Summary of the first, second and the third reports.

The Terai strain which was isolated from a patient appears to be a strain of non-photochromogen type of the unclassified mycobacteria from the clinical data and the various in-vitro experiments. The pathogenicity of the strain to animals was investigated.

The results show that the strain possess approximately the same degree of virulence to the mouse as virulent human tubercle bacilli, Kurono strain, with intravenous inoculation. The virulence was less to the guinea pig than that of the Kurono strain with subcutaneous inoculation. It seems to have no or slight virulence to the rabbit and the hen, with subcutaneous inoculation.

The results suggest that the strain generally corresponds to one of the unclassified mycobacteria which has been reported previously, but in detail there is no complete agreement with any of them.

The strain does not belong to avian type, bovine type or human type of tubercle bacilli. The fact that the strain is pathogenic to mice and guinea pigs suggests its resemblance to bovine or human tubercle bacilli, but its absence of pathogenicity to rabbits is against its being the bovine type and the results in mice and guinea pigs were considerably different from the results of the inoculation with the Kurono strain, which is against its being the human type.

It seems quite interesting that the patient showed the clinical pictures of intestinal tuberculosis and tuberculous bronchitis. However, it is not certain whether the clinical pictures was caused by the strain, or the so-called "exchange phenomenon of bacterial flora" played a role, as in many cases reported previously.

1. 緒 論

寺井株を分離した患者の臨床経過、寺井株の試験管内実験は第1報で、またマウスに接種した実験は第2報で報告した。今回は第3報としてモルモット、ウサギ、ニワトリに接種した成績について報告する。

2. 実験方法と成績

寺井株はマウスに接種に用いたものと同じ株であつて、マウスの0.1 mgの静脈接種と同時にこなつた。

1) モルモットの実験

a. 方 法

白色のモルモット300 g程度の♂に、まず10倍稀釈の旧ツベルクリンを接種して陰性であることを確かめた後、4匹には1 mgを、他の5匹には10 mgを1 ccの液に含ませて右下腹部皮下に接種し、毎週体重を測るとともに接種局所、所属リンパ腺を観察し、接種後2週、

4週、6週、8週に1匹ずつ屠殺剖検して、マウスと同様に脾の重さをはかり、肉眼的、組織学的に病変を検査するとともに、小川の定量培養法により臓器よりの還元培養を行なつた。対照として強毒人型結核菌黒野株を0.01 mgずつ皮下に接種したものを、4週、8週に1匹ずつ屠殺剖検して比較した。

b. 成 績

イ. 接種局所およびリンパ腺

接種局所は1 mg接種では6週の1匹にのみ膿瘍を認めたが、10 mg接種では4週を除いた他の週でいずれも膿瘍を認めた。また、局所リンパ腺は1 mg、10 mg接種ともにいずれもほとんど変化がなく、後腹膜腺、腸間膜腺等の多少の腫脹が認められた程度であつた。

ロ. 臓器の肉眼的変化

眼につくことは1 mg接種では2週、4週、6週ともに滲出性肋膜炎を併発していたが、6週のものではさらに腹膜炎を認めたこともある。10 mg接種では肋、腹膜

Table 1. Experiment in Guinea Pigs

Amt. of strain and inoculation	Weeks elapsed	B. W. (g)	Weight of spleen (mg)	Macroscopic patholog. findings									Cultures of organs			Tuberculin reaction					
				Site of inocul.	Lymph nodes					Organs			Spleen (10 ²)	Liver (10 ²)	Lung (10 ²)						
					Popliteal	Inguinal	Retropertoneal	Mesenteric	Axillary	Spleen	Liver	Lung									
Terai strain	1 mg	2	270	2,380	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	
		4	350	2,970	-	-	-	-	-	-	+	+	-	490	210	120	-	-	-	-	-
		6	395	4,170	Abscess	-	-	-	-	-	-	+	-	60	25	49	-	-	-	-	-
		8	420	4,470	-	-	-	-	+	-	-	+	-	26	10	12	-	-	-	-	
	10 mg	2	245	3,200	Abscess	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	
		4	370	2,870	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	
		8	335	3,730	Abscess	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	125	-	-	-	-	
	Kurono strain	0.01 mg	4	370	1,900	Abscess	+	-	⊕	⊕	⊕	-	-	+	+	-	56	30	2	-	
8			420	1,500	Abscess	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	+	+	+	92	10	22	-		

- Notes: 1. B. W. and weight are in average.
 2. In macroscopic pathological findings, - means no lesion and +, #, ## etc. mean pathological lesions present, the more marked, the more + are described. Circle () means caseation.
 3. In cultures of organs, number indicates colony numbers and +, #, ##, innumerable colony numbers, in which more + means more growth.
 4. In tuberculin reaction, number in denominator indicates diameter of erythema and numerator indicates presence of induration.

炎を起こしているものはみられなかつたが、腹部の癒着が著明なものが多かつた。また臓器は肉眼的には脾、肝等に結節らしいものを認めたが、肺には異常を認めなかつた。これを人型結核菌黒野株の0.01 mg 接種の4週、8週の剖検成績と比べると、寺井株は1 mg, 10 mg 接種ともにリンパ腺、内臓の病変は著明に軽度であるのにかかわらず脾の腫大は著明である。すなわち1 mg では経過の進むとともに腫脹し8週では4,000 mg を、10 mg 接種では8週で3,730 mg を示した。この傾向はマウスの場合とほぼ同様である。

ハ. 臓器の還元培養

臓器の還元培養の成績をみると、いずれも10²倍稀釈の0.1 cc 接種、すなわち臓器1 mg 中の菌数を示しているが、いずれの臓器においても菌数は多く、臓器による多少を比較すると、脾、肝では多く肺では多少少ない。この傾向はマウスの場合と同様である。次にその消長をみると、経過とともに減少を示すが、それでも8週では多数の菌数を認める。これを黒野株0.01 mg 接種の4週および8週のものとは比べると、寺井株のほうが菌数は多い。これは接種菌量の相違によることと思われる。また脾、肝で多く肺で少ないことは、黒野株と同様

であり、経過による減少の傾向は寺井株が著明である。

ニ. 組織学的検査

次に組織学的にみると、1 mg 接種、10 mg 接種ともにいずれの臓器にも、また屠殺の時期の如何を問わず結節を認めたが、接種菌量による差はつきりしない。そして概してもつとも脾に多く、次に肝であり、肺ではもつとも少ない。なお肉眼的に変化を認めたリンパ腺では、たくさんの大きな結節を認めた。

ホ. ツベルクリン反応

ツ反応は旧ツベルクリンの100倍液により検査したが、1 mg 接種の群では、硬結は認めなかつたが発赤は10×10 mm 以上を示したし、10 mg 接種のものでは、硬結がふれるとともにいずれも10 mm 以上の発赤を示した。この発赤の度は黒野株に比べると多少軽い。

2) ウサギとニワトリの接種実験

a. 方法

白ウサギ2匹、白色レグホーン2匹に寺井株10 mg を1 cc にふくませて、ウサギは右の下腹部に、ニワトリは胸部の皮下に接種して、8週と12週に1匹ずつ屠殺剖検、型のごとく検査した。

b. 成績

Table 2. Experiment in Rabbits and Hens

Animals	Weeks elapsed	B. W. (g)	Weight of spleen (mg)	Macroscopic pathol. findings							Cultures						
				Site of inoculation	Lymph nodes				Organs			Site of inoculation	Lymph nodes		Organs		
					Popliteal	Inguinal	Retroperitoneal	Mesenteric	Axillary	Spleen	Liver		Lung	Popliteal	Mesenteric	Spleen	Liver
Rabbits	8	2,960	1,950	—	+	—	—	+	—	—	—	—	76.0	≡ 18.5	—	1.5	—
	12	2,580	1,800	—	+	—	—	—	—	—	—	—	≡ 36.5	—	—	—	
Hens	8			—	—	—	—	—	—	—	—	—	≡			2.5	16.0
	12			—	—	—	—	—	—	—	—	—	≡		15.0	30.5	2.0

Note : Same as in Table 1.

まず8週後に旧ツベルクリン 10 倍液でツ反応をみたところ、ウサギ、ニワトリともに陰性を示した。次に肉眼的の変化をみると、接種局所はウサギ、ニワトリともに変化がない。リンパ腺はウサギの 8 週、12 週に右膝腺に軽度の腫脹を認めただけで他には変化を認めなかつた。ニワトリにも変化はない。また内臓においても両者とも変化を認めなかつた。還元培養は、臓器、リンパ腺とも 10 倍稀釈のものを 0.1 cc ずつ接種したのであるが、ウサギでは局所、腸間膜リンパ腺、膝腺および8週の肝に少量の菌を認めたのみである。またニワトリは局所では多数の集落を認めた。臓器では 8 週、12 週ともに少量の集落を認めたが、この数はウサギに比して多い。

組織学的にはウサギではリンパ腺、内臓ともに結節を認めなかつたが、ニワトリでは接種局所、肝の8週、12週に小さなわずかの結節を認めた。

以上の成績から、ウサギ、ニワトリともにごく軽度の毒力を示したと考えてよいだろう。

3. 総括および考察

寺井株がモルモットに対して毒力を示したことは、非定型抗酸菌の中でも珍しいものようである。毒力を示したといつても、対照の人型結核菌黒野株と比較すると概して軽いし、いろいろな点で違っている。すなわち寺井株の場合は旧ツベルクリンによるツ反応は陽性であつても概して弱いし、肉眼的にはリンパ腺、臓器ともに黒野株に比して病変が少ない。しかし脾の腫大が著明であるし、滲出性肋膜炎や腹膜炎を併発しているものも認められた。また臓器よりの還元培養においては、黒野株に比し著明に多かつた。これらの現象は接種菌量が黒野株の 0.01 mg に比べて 1 mg, 10 mg といつた多量であつたことにもよると思われるが、それにしても、これらの事実は寺井株がモルモットに対しても毒力があつたことを示している。なお菌の増殖が脾、肝で高度で、肺で

少なかつたことは、黒野株や、マウスにおける寺井株とほぼ同様の傾向を示している。

この成績は、非定型抗酸菌でモルモットに毒力を示さなかつた染谷ら³⁾の1株、Alice Timpl ら⁴⁾の1株、Ann Pollok ら⁵⁾の2株、Hyman Florence⁶⁾の8例、Lyle A. Weed ら⁷⁾の1例、Lawrence E. Wood ら⁸⁾の17例、Horace E. Crow ら⁹⁾の47株、Harrold Keltz ら¹⁰⁾の22株、E. Wolinsky ら¹¹⁾の3株、H. C. Engbaek ら¹²⁾の4株、宮本ら¹³⁾の1例、長田¹⁴⁾の15株、上田ら¹⁵⁾の1株、牛尾ら¹⁶⁾の15株、平野¹⁷⁾の10数株、鴨志田ら¹⁸⁾の1株とまつたく異なる。そして非定型抗酸菌で毒力を示した Harrold Keltz らの3株、Horace E. Crow らの2株、H. C. Engbaek ら¹⁹⁾の1株とほぼ一致するようである。

次に、われわれの寺井株はウサギ、ニワトリに対してはごく軽い病変をみたが、非定型抗酸菌でウサギに対して毒力がなかつたと発表した染谷の1例、Lyle A. Weed らの1例、47株の Horace E. Crow ら、H. C. Engbaek の4例、宮本の1例、上田の1例、鴨志田の1例の成績と一致するし、ニワトリに対して毒力がなかつたと発表した染谷の1例、Lyle A. Weed の1例、H. C. Engbaek の4例、Horace E. Crow ら、宮本らの成績とほぼ一致する。

4. 結 論

1) モルモットの実験

寺井株を 1 mg および 10 mg 皮下に接種して 2, 4, 6, 8 週に 1 匹ずつ屠殺剖検して、強毒人型結核菌黒野株を 0.01 mg 接種したものと対比してみた。

まず100倍の旧ツベルクリンは4週~6週で両者とも陽性を示したが、その強さは、寺井株の間では 10 mg 接種のほうが強いが、黒野株を接種したものに比しては弱かつた。脾の重量は、寺井株は黒野株に比して重く、8週経過のものでは黒野株の2倍以上を示した。また寺井株では、肋膜炎、腹膜炎を併発したものが多かつた

が、黒野株ではこのような合併症はみられなかつた。次にリンパ腺、臓器の肉眼的な病変は、黒野株のほうが著明に重かつた。組織学的には、接種菌量、屠殺の時期の如何を問わず脾、肝、肺のすべての臓器に結節を認めたが、概して脾にもつとも多く、次に肝であり、肺ではもつとも少なかつた。次に脾、肝、肺の1mg中の生菌数をみると、寺井株1mg接種では10mg接種に比して少ないが、そのいずれの場合でも脾、肝に多く、肺では少なかつた。そして経過とともに菌数は減少の傾向を示したが、8週でも集落を認めた。この傾向は黒野株と同様であつた。

以上の成績は、寺井株がモルモットに対してもかなりの毒力を示したと解釈される。

2) ウサギとニワトリの実験

ウサギ、ニワトリともに10mgを皮下に接種、8週と12週の2回にわたつて剖検した。

ウサギでは局所リンパ腺に結節をみた程度で、臓器には肉眼的な病変を認めなかつた。組織学的にもこれとほぼ同様であつて、前述のリンパ腺に結節を認めたのみで臓器には結節を認めなかつた。また還元培養ではそれに一致して、接種局所、膝腺、腸間膜腺では集落を認めたが、臓器では8週の肝に少量を認めたのみでその他では陰性を示した。

ニワトリも肉眼的にはまったく変化がなく、組織学的には局所にたくさんの、肝には少量の結節を認めただけである。還元培養では、接種局所に多数の、脾、肝、肺に少数の集落を認めたのみである。

したがつて寺井株は、ウサギ、ニワトリに対してはほとんど毒力がないか、あつたとしてもごく軽度の毒力を示す程度であると解釈される。

第1報、第2報、第3報のまとめ

われわれの得た寺井株は臨床的および試験管内の種々の実験から、非定型抗酸菌のNonphotochromogenに一致するもののように思われるが、さらにわれわれは動物に対する病原性について検討した。

その成績は、マウスの静脈接種では、強毒人型結核菌、黒野株にはほぼ匹敵する毒力を示したし、モルモットの皮下接種では、黒野株より弱い毒力を示した。またニワトリ、ウサギの皮下接種では、ごく軽度の毒力か、あるいはほとんど毒力を認めなかつた。

以上の実験成績は、大まかには従来発表された非定型抗酸菌のある種に一致するものようであるが、詳細にみるとその例をみない。

また鳥型結核菌にも、牛型結核菌にも、人型結核菌にも一致しない。すなわちマウス、モルモットに対して病

原性を示したことは、牛型結核菌、あるいは人型結核菌を思わせるものがあるが、牛型菌でないことはウサギに対してはつきりした病原性を示さなかつたことでも分かるし、また人型結核菌でないことは、同時に実験した人型結核菌の黒野株のマウス、モルモットに対する態度とかなり異なることでも分かる。

臨床的に腸結核症や気管支結核症を思わせる所見を認めたことはさらに興味をひくものであるが、この菌によつてはたして発病したものか、あるいは菌交代現象のような状態で発病したものかは、従来の多くの例にもれずはつきりしない。

文 献

- 1) 小川辰次・足立達・村江久忠・大谷典子・宮城小枝子：結核，40：79，1965.
- 2) 小川辰次・足立達・村江久忠・大谷典子・宮城小枝子：結核，40：85，1965.
- 3) 染谷四郎・林治：日本細菌学雑誌，7：605，1952.
- 4) Alice Timple & E. H. Runyon：J. Lab. Clin. Med.，44：202，1954.
- 5) Ann Pollok & Victor B. Buhler：Am. Rev. Tbc.，71：74，1955.
- 6) Hyman Florence：Dis. of Chest.，30：250，1956.
- 7) Lyle A. Weed, Alfred G. Karlson, John E. Ivins & Ross H. Miller：Porc. Staff. Meet. Mayo Clin.，31：238，1956.
- 8) Lawrence E. Wood, Victor B. Buhler & Ann Pollok：Am. Rev. Tbc.，73：917，1956.
- 9) Harace E. Crow, Coleman T. King, C. Edwin Smith, Raymond F. Corpe & Ingrid Stergus：Am. Rev. Tbc.，75：199，1957.
- 10) Harrold Keltz, Rosemary Colton & William Lester：Transaction of the 16th Conference on the Chemotherapy of Tuberculosis by Veterans Administration et al. 290，1957.
- 11) Emanuel Wolinsky, Major M. Smith & Roger S. Mitchel：Am. Rev. Tbc.，75：180，1957.
- 12) H. C. Engbaek, Th. Triss & A. Saebory Ohlsen：Acta Tbc. Scandina.，34：147，1957.
- 13) 宮本泰・岩崎龍郎・岩井和郎・足立茂・宮城昌延・岡本季彦・伊藤誠司・荒井登茂雄：結核，34：498，1959.
- 14) 長田富香：日本細菌学雑誌，15：74，1960.
- 15) 上田景光・中村彰・近藤栄宏・小山田耕次郎・中村加代子：結核，35：718，1960.
- 16) 牛尾耕一・高野契姿雄：日本胸部臨床，21：856，1962.
- 17) 平野憲正：日本胸部結核，21：861，1962.
- 18) 鴨志田正五・影浦正輝・庄司正昭・阪井宏：結核，38：16，1963.
- 19) H. C. Eugbaek & Mogens Magnusson：Acta Tbc. Scandina.，40：1，1961.