トリ型菌ならびに非定型抗酸菌 Group III Battey 菌 の ウ サ ギ に 対 す る 病 原 性

占 部 薫・斎 藤 肇・田 坂 博 信

広島大学医学部細菌学教室

受付 昭和 42 年 8 月 25 日

COMPARATIVE PATHOGENICITY OF MYCOBACTERIUM AVIUM AND BATTEY BACILLI FOR RABBITS*

Kaoru URABE, Hajime SAITO and Hiromichi TASAKA

(Received for publication August 25, 1967)

In order to differentiate *Mycobacterium avium* from Battey bacilli, comparative pathogenicity of these two kinds of acid-fast bacilli from the aspect of Yersin type for rabbits was investigated.

Four strains of M.avium and eleven strains of Battey bacilli were employed. Bacterial suspensions (10 mg per ml in saline) were prepared from two-week old cultures grown on 1% Ogawa egg medium at 37° C. Two male rabbits, weighing $2,000\sim3,000$ g, were inoculated intravenously with 1 ml of the bacterial suspension of each strain. After infection, the animals were weighed every other day. Quantitative blood cultures, and measurements of total serum bilirubin were done before infection, and one, two and three weeks after infection. With the exception of animals that died, survivors were held for 21 days. At autopsy, gross findings on lungs, liver, kidneys and spleen were recorded, and each visceral organ was weighed and cultured for viable unit counts.

All of the animals inoculated with M.avium died ten to twenty-one days after infection. With the exception of one animal inoculated with the Shimamoto strain, all animals infected with Battey strains of mycobacteria survived twenty-one days after infection.

All animals inoculated with *M. avium* decreased markedly in their body weight. However, most animals inoculated with Battey bacilli usually increased in body weight, with the exception of two animals infected with P39 strain and P42 strain, respectively. Also, these latter animals decreased in weight to about the same degree as those infected with *M. avium*.

The total serum bilirubin of animals infected with M.avium increased to $1.0 \sim 15.2 \, \text{mg/d}l$ and yellowing of the ears was noticed two to three weeks after infection. With the exception of the Shimamoto strain, none of the animals infected with Battey bacilli showed such an increase in total serum bilirubin amounts.

The number of bacteria recovered from the blood of animals infected with *M. avium* increased markedly two to three weeks after infection as compared with the number recovered one week after infection. Except the Shimamoto strain, blood cultures on animals infected with Battey bacilli were almost negative two to three weeks after infection.

None of the animals infected with both mycobacteria showed macroscopic abnormal findings

^{*} From Department of Bacteriology, Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima, Japan.

on the visceral organs.

Spleen to body weight ratio of two animals infected with the Flamingo strain and one with the Kirchberg strain of *M. avium* was high. However, the ratio of animals infected with the Nagoya 59 strain and the E 38686 strain of *M. avium* was much the same as that of those with Battey bacilli.

The viable units recovered from the visceral organs of animals infected with the Shimamoto strain of Battey bacilli were a little lower than those of M.avium, and yet much higher than those of other strains of Battey bacilli. The viable units recovered from lung, liver, kidney and spleen from the animals infected with Battey bacilli other than the Shimamoto strain were lower in the orders of $10^2 \sim 10^4$, $10^8 \sim 10^6$, $10 \sim 10^4$ and $10^8 \sim 10^6$ than those of M.avium, respectively.

All rabbits infected with *M. avium* died of Yersin type, whereas none of the animals infected with Battey bacilli, except the Shimamoto strain, developed Yersin type. Therefore, it is felt that the investigations on the comparative pathogenicity from the aspect of Yersin type for rabbits may be helpful for differentiating *M. avium* from Battey bacilli. Further studies are necessary to identify the Shimamoto strain as *M. avium*.

緒 言

トリ型菌と非定型抗酸菌の Group III Battey 菌とは、すでに Runyon¹⁾ はじめ多数の研究者によつて報告されているように、それらの生物学的諸性状においてはきわめて近似しているので、この両者を鑑別する唯一の方法はニワトリに対する病原性の有無の検討にあるともいわれている 2) が、しかしながらこれには、なお異論のあるところでもある 3) 4)。

他方ウサギに対する病原性の有無もまた、これら両菌の鑑別上参考になりうるということは Meissner⁴⁾, Engbaek⁵⁾ および Armstrong 6^6)によつて報告されているところではあるが、ただしこれらの報告のいずれにおいても Yersin 型病症発現の見地からの詳細な比較検討は、いまだなされていないようである。

そこでわれわれは、これら両菌のウサギに対する病原性をとくに Yersin 型病症発現の面より詳細に検討し、これが両抗酸菌の鑑別上役立つかどうかについて追究した結果、いささか興味ある知見を得たので以下報告する。

実験材料ならびに方法

- 1) 供試菌: われわれの所属する日本結核病学会抗酸菌分類委員会よりのトリ型菌 4 株=Flamingo 株,名古屋 59 株,E 38686 株および Kirchberg 株ならびに非定型抗酸菌 Group III Battey 菌 11 株=蒲生株,上田株,甲府株,嶋本株,P2 株,P7 株,P23 株,P25 株,P39 株,P42 株および P47 株。
 - 2) 方法:供試菌の1%小川培地上2週間培養菌より

調製した $10 \, \mathrm{mg/ml}$ の生塩水均等菌浮遊液 $1 \, \mathrm{ml}$ を $2 \, \mathrm{mg}$ ずつ(ただし P2 株は $1 \, \mathrm{me}$)の体重 $2 \, \mathrm{mg}$ の雄のウサギの耳縁静脈内に各別に接種した。接種生菌単位(表 $1 \, \mathrm{sm}$)はトリ型菌では 10^{9} order また Battey 菌では $10^{8} \, \mathrm{mg}$ order であつた。

3) 検査事項:体重の測定(隔日)のほかに、菌接種前および接種後 1,2 および 3 週目における 血液 培養(朝川の方法 71) ならびに血清総ビリルビン量の測定(Lathe-Hogg の変法 81) を行ない、斃死したものはその都度、また斃死しなかつたものは 21 日目に屠殺剖検し、内臓についての肉眼的病変の有無の観察および重量測定を行なうとともにそれらの $1 \, \text{mg}$ ずつよりの定量還元培養をも実施した。

実験成績

- 1. 動物の生存日数,体重の推移,血清総ピリルビン量および血液培養成績は一括して表1に示した。
- 1) 生存日数: トリ型菌接種動物では、いずれも菌接種後 $10\sim21$ 日平均 16 日で斃死したが、Battey 菌では嶋本株接種の1 匹(No.22)が 19 日目に斃死したのみで、これを除いては 21 日にいたるも斃死したものはなかつた。
- 2) 体重の推移: トリ型菌接種動物では、いずれも著しい体重の減少(350~630g)がみられたのに反し、Battey 菌群では大多数において、逆に多少にかかわらずその増加(60~630g)がみられ、トリ型菌におけると同程度の減少を示したものは、わずかに P39 株および P42 株接種の各 1 匹のみで、これらを除いては、たとえ減少のみられたものでもその程度はトリ型菌におけ

						T	1	1				1			
Cultures		r of als	Inoculum size (Viable units)	Survival time (in days)	Fate	Change in body weight	Yellowing of ears	serum		oilirubin in n (mg/d <i>l</i>)		Blood culture**			
		Number		viva in da				nfec-	Days after infection		nfec-	Days after infection			
			Ino (Viz	Sur				Preinfec- tion	7	14	21	Preinfec- tion	7	14	21
	Gamoh	1 2	16.2×10 ⁸	21	Killed	+100 +280	_	0.4 0.3	0.4 0.5	0⋅8 0⋅6	0.8 0.6	_	18 6	3 1	1 1
	Ueda	3 4	63. 4×10 ⁸	"	" "	+ 90 +620	_	0. 4 0. 4	0. 4 0. 5	0.4 0.6	0. 4 0. 6		21 22	2	_
	Kohfu	5 6	11.5×10^{8}	"	" "	$-180 \\ +150$	_	0.4 0.3		0⋅6 0⋅4	0. 4 0. 4	_	1 1	1	_
	P 23	7 8	10.7×10^{8}	",	" "	+260 -170	_	0. 4 0. 4		0. 4 0. 4	0.6 0.4	_	_	-	_
bacilli	P 25	9 10	11.1×10^9 55.7×10^8	"	" "	+630 +270	_	0.5 0.4	0. 4 0. 6	0⋅6 0⋅5	0.6 0.6		10 53	1 5	$\frac{1}{2}$
Battey b	P 47	11 12	$43.0 \times 10^{8} \\ 34.0 \times 10^{8}$	" "	" "	+140 - 10	_	0. 4 0. 4	0.5 0.4	0⋅5 0⋅6	0.6 0.4		1 4	1	_
Bat	P 2	13	6.7×10^7	"	"	+190	_	0.4	0.4	0.4	0.4	-	_	_	_
	P 7	15 16	18.2×10^7	",	" "	+150 +240	_	0. 4 0. 4	0. 4 0. 4	0. 4 0. 4	0. 4 0. 4	_	1	_ _	_
	P 39	17 18	60.2×10^{8}	"	" "	+ 60 -570	_	0.5 0.4	0. 4 0. 4	0. 4 0. 4	0. 4 0. 4	_	4 47	3 1	_
	P 42	19 20	36.6×10^8	"	" "	+370 -400	_	0.5 0.4	0. 4 0. 4	0. 4 0. 4	0. 4 0. 6		1 12	1 –	_
	Shimamoto	21 22	10.2×10 ⁹	" 19	" Died	$-250 \\ -260$	+	0.4 0.5	0. 4 0. 4	0.7 4.5	1.0	_	80 #	34 174	26
	Flamingo	23 24	45. 2×10 ⁸	17 15	Died "	-550 -480	++	0· 4 0· 4	0.6 0.5	1.2 1.8	/	_	82 36	109 ++	/
nium	Nagoya 59	25 26	89. 4×10^8	14	" "	-590 -670	++	0⋅5 0⋅4	0.6 0.6	14.2	/	_	42 47	#	/
M. avium	E 38686	27 28	$30 \cdot 2 \times 10^8$	10 21	" "	-350 -490	++	0⋅ 4 0⋅ 5	0.5 0.5	15. 2* 0. 6	1.0	_	27 72	# * #	#
	Kirchberg	29 30	64.6×10^{8}	16	"	$-470 \\ -630$	++	0.4 0.3	0. 4 0. 4	1.2 3.8	2.0	_	1 73	#	#/

^{*} Findings on ten days after infection (death time) ** Numbers or amounts of colonies

るよりもはるかに軽少であつた。

1967年12月

- 3) 血清総ビリルビン量: 菌接種前における値は、いずれのウサギにおいても $0.3\sim0.5\,\mathrm{mg/dl}$ であつたが、トリ型菌ならびに Battey 菌嶋本株接種動物では時日の経過とともにその増加の傾向がみられ、 $2\sim3\,\mathrm{JJ}$ 目における値は $1.0\sim15.2\,\mathrm{mg/dl}$ にも達し、耳朶の黄染がみられたが、その他の Battey 菌では、かかる増量のみられたものはなかつた。
- 4) 血液培養成績:菌接種後7日目における定量還元発育菌量は、トリ型菌においては Battey 菌におけるよりも一般に多く、かつ全例陽性であり、しかも 14~21日目においては7日目におけるよりも発生集落量に著しい増加がみられたのに反し、Battey 菌では嶋本株を除いてほとんど陰性に近い状態に終始した。嶋本株においては発生集落数は時日の経過とともに減少の傾向を示しはしたけれども、なお他の Battey 菌株に比べるとかな

- り多くの集落の発生がみられた。
 - 2. 内臓の肉眼的病変所見ならびに脾・体重比これらは表2に示した。

すなわちトリ型菌および Battey 菌のいずれにおいても内臓に肉眼的病変のみられたものは皆無であつた。

脾・体重比は、Battey 菌では $0.1\sim0.7\%$ 平均 0.3% であり、他方トリ型菌にあつては名古屋 59 株および E 38686 株各接種動物では $0.4\sim0.5\%$ 平均 0.4% であって Battey 菌におけるものと大差はなかつたが、Flamingo 株接種の No. 23 および No. 24 ではそれぞれ 1.0% および 1.2%, また Kirchberg 株接種の No. 29 では 1.2% と大きかつた。

3. 内臓よりの定量還元培養成績

これは表 3 に示すように、トリ型菌接種動物の肺、肝、腎および 脾からの 還元生菌単位は、 それぞれ $10^3 \sim 10^6$ order、 $10^5 \sim 10^6$ order、 $10^5 \sim 10^6$ order、 $10^5 \sim 10^6$ order、 $10^5 \sim 10^6$

Table 2. Pathogenicity of Group III Battey Bacilli and M. avium for Rabbits

(2. Macroscopic findings of visceral organs and spleen to body weight Ratio)

	Cultures	Number of animals	Macroscopic findings of lungs, liver, kidneys and spleen	Spleen/body weight (%)		
	Gamoh	1 2		0.4 0.6		
	Ueda	3 4	_	0.3 0.7		
	Kohfu	5 6		0⋅2 0⋅2		
	P 23	7 8	_	0.3 0.2		
acilli	P 25	9 10	_ _ _ _	0. 2 0. 2		
Battey bacilli	P 47	11 12	_	0· 4 0· 2		
Bat	P 2	13	_	0.1		
	P 7	15 16	_ _ _	0.1 0.1		
	P 39	17 18	_ _ _ _	0.1 0.2		
	P 42	19 20	_	0. 2 0. 2		
	Shimamoto	21 22	=	0.3 0.2		
	Flamingo	23 24	_	1.0 1.2		
vium	Nagoya 59	25 26	_	0. 4 0. 4		
M. avium	E 38686	27 28	=	0.3 0.5		
	Kirchberg	29 30	_	1.2 0.7		

order であつたのに対して、Battey 菌では、ただ嶋本株においてはそれぞれ 10²~10³ order、10⁴~10⁵ order、10⁴~10⁵ order であつてトリ型菌におけるよりも多少とも小さいながら、なおかつ大きい還元生菌単位が得られたが、その他の Battey 菌接種動物においては、肺および腎からの還元発育は陰性か、または少数の集落の発生がみられたにすぎず、また肝および脾からは、かなりの還元発育のみられたものもあつたが、トリ型菌や Battey 菌嶋本株のそれらに比べるとはるかに少なかつた。

考 案

トリ型菌と非定型 抗 酸 菌 の Group III Battey 菌とが、きわめて近似した諸性状を示すことはすでに多数の研究者によつて報告されているところであるが、その本態の異同性については今日なお異論の多いところである\$\(^3\4\)9\(^10\)00

ところでこれら両菌の実験動物に対する病原性のうち

ウサギに対しては、トリ型菌は静脈内に接種されると Yersin 型病症といわれる敗血症様病型をもつて動物を整死させることは、すでに先人諸家によつて認められておりわが国においては朝川 7 の詳細な報告がみられる。他方 Battey 菌のそれに対する病原性はきわめて弱いか全くないことは Meissner 4)、Engbaek 5)、Armstrong 6)、Crow ら 11 によつて報告されているところであるが、これら両菌のウサギに対する病原性を Yersin 型病症発現の面から詳細に比較検討した報告は、いまだないようである。

そこでわれわれは、とくにこの点を追究することを意図してトリ型菌4株および Battey 菌 11株の 10mg ずつをウサギの静脈内に各別に注射して検討したところ、概略以下述べるような知見が得られた。

トリ型菌接種ウサギでは、経過中に著しい体重の減少がみられ、血清総ピリルピン量は Lathe-Hogg の変法 89 で正常値 $0.3\sim0.5\,\mathrm{mg/dl}$ であつたものが、菌接種後 $2\sim3$ 週目には $1.0\sim15.2\,\mathrm{mg/dl}$ にも達し、耳朶の黄染がみられ、血液よりの定量還元発育は終始陽性で、かつ還元発育菌量は $2\sim3$ 週目において 7 日目におけるそれに比べて著しい増加を示し、 $10\sim21$ 日平均 16 日で全供試動物は斃死した。

他方 Battey 菌では嶋本株を除いては、菌接種後 21 日にいたるもウサギを斃したものはなく、体重は大多数において多少にかかわらずその増加がみられ、たとえ減少のみられたものでも一般にその程度はトリ型菌の場合におけるよりもはるかに少なく、血清総ピリルピン量も経過中ほとんど正常値を示し、たとえ増加のみられたものでも 1.0 mg/dl 以上の増加を示したものはなく、耳朶の黄染もみられず、また血清よりの定量還元発育菌量は菌接種後7日目においてはトリ型菌におけるよりも少ないものが多く、しかも 14~21 日目にはほとんど陰性になつた。

ところが嶋本株のみは、上述の他の Battey 菌株と著しく趣を異にして、これを接種された 2 匹のウサギ(No. 21, No. 22) では、ともにかなりの体重の減少がみられ、血清総ピリルピン量の最高値も 1.0 mg/dl (No. 21) および 4.5 mg/dl (No. 22) を示し、 耳朶に黄染が起こりかつ血液培養でも時日の経過とともに減少の傾向はみられたとはいえ終始陽性であり、しかも他の Battey 菌株の場合よりもより多くの還元発育が得られ 1 匹 (No. 22)は 19 日目に斃死し、他の1 匹は 21 日にいたるも生存するにはしたが一般状態は悪く、かなりの衰弱がみられた。

なお内臓に肉眼的病変を招来したものは、トリ型菌および Battey 菌のいずれにおいても皆無であつたが、脾・体重比はトリ型菌では Flamingo 株接種の2匹および Kirchberg 株接種の1匹ではこれが大きかつた。た

Tabl	e 3.	Pathog	enicity	of	Grou	p III	Battey	Bacilli	and	M. avium	for	Rabbits	
(3. ′	The n	umber	of viat	ole	units	reco	vered f	rom 1.0) mg	of each vi	scer	al organ)	

	Cultures	Number of animals	Lungs	Liver	Kidneys	Spleen
	Gamoh	1 2	11 10	138 167	1 2	239 226
	Ueda	3 4	10 6	59 4	4	224 86
	Kohfu	5 6	2 1	83 143		183 126
	P 23	7 8	1	1 —		
bacilli	P 25	9 10	32 16	86.5×10 45 ×10	11 1	115 ×10 200
Battey b	P 47	11 12	19 12	31 26	2 2	70 100
Bat	P 2	13				_
	P 7	15 16	1 1	1		3 4
	P 39	17 18	6 4	72 160	1	41 178
	P 42	19 20	12 1	35 34	1	66 66
	Shimamoto	21 22	$64 \times 10 \\ 15.8 \times 10^{2}$	34 ×10 ³ 14 ×10 ⁴	48 61	13 ×10 ⁴ 77 ×10 ⁴
	Flamingo	23 24	$10.5 \times 10^{3} \\ 44.5 \times 10^{3}$	139.5×10 ⁴ 294 ×10 ⁴	$\begin{array}{c c} 28.1 \times 10^{2} \\ 24.0 \times 10^{2} \end{array}$	232 ×10 ⁴ 346 ×10 ⁴
ium	Nagoya 59	25 26	$\begin{array}{c} 62 \times 10^{2} \\ 32.5 \times 10^{3} \end{array}$	126. 5×10 ⁴ 95 ×10 ⁴	30×10^{2} 38.5×10^{2}	64 ×10 ⁴ 60 ×10 ⁴
M. avium	E 38686	27 28	$77.5 \times 10^{2} \\ 30.5 \times 10^{3}$	40 ×10 ⁴ 108 ×10 ⁴	142 62 ×10	150 ×10 ⁴ 225 ×10 ⁴
	Kirchberg	29 30	294 ×10 ³ 37.5×10 ³	128 ×10 ⁴ 296 ×10 ⁴	$\begin{array}{c} 140.5 \times 10^{2} \\ 56 \times 10^{2} \end{array}$	242. 5×10 ⁴ 295 ×10 ⁴

だしこれら以外のトリ型菌株では Battey 菌の場合の脾・体重比の値と大差はないようであつた。

肺,肝,腎および脾よりの還元発育生菌単位はトリ型菌ではそれぞれ $10^3 \sim 10^5$ order, $10^5 \sim 10^6$ order, $10^2 \sim 10^4$ order および $10^5 \sim 10^6$ order であったのに対し,Battey 菌では嶋本株においてのみそれぞれ $10^2 \sim 10^8$ order, $10^4 \sim 10^5$ order, 10^1 order および $10^4 \sim 10^5$ order という比較的トリ型菌の場合に近い値を示したが,これを除いた他の Battey 菌接種動物の肺,肝,腎および脾よりの還元生菌単位はトリ型菌のそれに比べてより低くてそれぞれ $0 \sim 10^1$ order, $0 \sim 10^2$ order, $0 \sim 10^1$ order および $0 \sim 10^8$ order の値にすぎなかつた。

如上の所見よりすれば、ウサギに対して菌量 10 mg を静脈内に接種すればトリ型菌は Yersin 型病症の敗血症死を招来するが、Battey 菌ではトリ型菌に やや似た所見を呈した嶋本株を除いてはいずれも Yersin 型病症を誘起することがないといつてもよいであろう。したがつてこれら両菌は、それらのウサギに対する病原性をYersin 型病症招来の面より検討することによつて鑑別できるものといつてよくはないだろうか。

なお一応 Battey 菌群に編入されているところの嶋本

株についてであるが、本菌株は、佐藤ら¹²⁾によつて肺および肋膜感染症患者の喀痰および切除肺病巣より分離され nonphotochromogenic であるところから、トリ型菌との鑑別を行なうことなしにただちに Battey 菌群に所属させられてきたもののようであるが、今回の私達のウサギに対する病原性の検討の結果によると本菌株はむしろトリ型菌に所属させるべきものではないかと思わせられる。

なお古来トリ型菌によるヒトの結核性疾患はきわめてまれとされていたけれども、最近にいたり欧米諸国では、その症例が漸次増加していることが Kubin ら¹³⁾ の集計によつてみられるところであり、このときにあたり、この嶋本株のごときトリ型菌を思わせる抗酸菌が、わが国においても人体材料から分離されたことは、きわめて興味あるところであろう。なおこの嶋本株が真のトリ型菌かどうかについては、今後さらにニワトリに対する病原性ならびにトリ型菌と Battey 菌との鑑別上参考となる生物学的および生化学的諸性状¹⁰⁾¹⁴⁾を検討して決定のうえ後日報告する予定である。

結 語

トリ型菌と非定型抗酸菌の Group III Battey 菌との ウサギに対する病原性を Yersin 型病症発現の面より検 討することは、これら両者の鑑別上役立つものと思われ る。

本研究にあたり菌株を分与下さつた大阪大学微生物病研究所堀三津夫教授に深謝する。

主要文献

- Runyon, E.H.: Med. Clin. North Amer., 43: 273, 1959.
- Durr, F. E., Smith, D. W., and Altman, D. P.: Amer. Rev. Resp. Dis., 80: 876, 1959.
- Bönicke, R.: Bull. Int. Un. Tuberc., 32:13, 1962.
- Meissner, G.: Zbl. Bakt., I. Orig., 180: 510, 1960.

- Engbaek, H.C.: Acta. Tuberc. Scand., 40: 35, 1961.
- Armstrong, A. L., Dunbar, F. P., and Cacciatore, R.: Amer. Rev. Resp. Dis., 95:20, 1967
- 7) 朝川貫之:結核, 18:1000, 昭 15.
- 8) 柴田進・北村元仕:臨床生化学定量法,中山書店 (東京), p.86, 昭 39.
- Wayne, L.G.: Amer. Rev. Resp. Dis., 93: 919, 1966.
- 10) Runyon, E. H.: Amer. Rev. Resp. Dis., 95: 861, 1967.
- Crow, H. E., King, C. T., Smith, C. E., Corpe, R. F., and Stergus, I.: Amer. Rev. Tuberc., 75: 199, 1957.
- 12) 佐藤陸平・平尾明・黒原健助・石原章:日胸, 21 :856, 昭 37.
- Kubin, M., Kruml, J., Horak, Z., Lukavsky,
 J., and Vanek, C.: Amer. Rev. Resp. Dis.,
 94: 20, 1966.
- 14) 斎藤肇:広島医学, 20:335, 昭 37.