

日本分離の非定型抗酸菌の細菌学的研究

第4報 「病源性」 Nonphotochromogens の性状

東 村 道 雄・東 村 純 雄

水 野 松 司・外 山 春 雄

国立療養所中部病院 (院長 勝沼六郎博士)

名古屋大学医学部日比野内科教室 (主任 日比野 進教授)

名古屋大学医学部細菌学教室 (主任 小笠原一夫教授)

受付 昭和 41 年 11 月 7 日

BACTERIOLOGICAL STUDIES ON ATYPICAL MYCOBACTERIA
ISOLATED IN JAPAN*

Report IV. Characters of the "pathogenic" nonphotochromogens

Michio TSUKAMURA, Sumio TSUKAMURA, Shoji MIZUNO
and Haruo TOYAMA

(Received for publication November 7, 1966)

Biological and biochemical characters, especially, nutritional requirements of the group III nonphotochromogens isolated in Japan have been described (Tables 1 and 2). Among thirty-seven strains studied, twenty-one with NJ-symbol and three with SJ-symbol were the strains proved to have been pathogenic for human.

This group of mycobacteria was differentiated clearly from *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. kansasii* and *M. marinum* by the characters presented in this study. Relationships between the nonphotochromogens and *M. avium*, *M. terrae* and *M. aquae* will be discussed in the following report.

Slowly growing nonphotochromogenic mycobacteria (以下 nonphoto と略) が人間に病源性を示す例は、Crow et al.¹⁾ により報告され、その後各国で多くの報告がなされた。わが国の nonphoto 感染例は確実なものが 20 数例あり、日比野²⁾、山本など³⁾、須藤⁴⁾ によつて総括されている。nonphoto (必ずしも病源性を示したもののみとはかぎらぬ) の性状については、Crow et al.¹⁾、Runyon⁵⁾、Bojalil & Cerbón⁶⁾、Meissner⁷⁾、Bönicke⁸⁾、戸田⁹⁾、占部¹⁰⁾、Kovacs¹¹⁾ などによつて、主として形態的性状について記載されているが、amidase 活性を中心とする生化学性状についても Bönicke⁸⁾、戸田⁹⁾、占部¹⁰⁾、今野¹²⁾、北村¹³⁾ によつて研究されている。その他血清学的性状については Schaefer¹⁴⁾、Castelnuovo & Morel-lini¹⁵⁾、Jones et al.¹⁶⁾、virulence については Crow

et al.¹⁾、Durr et al.¹⁷⁾、Bojalil & Cerbón⁶⁾、Meissner⁷⁾、東村など¹⁸⁾ によつて *M. avium* と比較されている。

以上のごとく nonphoto の生化学的性状については十分研究されていないので、第1報¹⁹⁾ に記した種々の性状、ことに栄養要求を中心とした性状について系統的に研究した結果を本報に報告する。nonphoto のみならず「非定型」抗酸菌の栄養要求については、これまで研究が行なわれていない。

研 究 方 法

菌株名は実験成績の表にあげた。この中で NJ の記号の付された菌株は、日比野²⁾、山本など³⁾、須藤⁴⁾ によつて、「病源性」ありと認定されたもので、その分離源、

* From the National Sanatorium, Chubu Chest Hospital, Obu-cho, Chita-gun, Aichi-ken, Japan.

Table 1. Characters of Group III Nonphotochromogens

Strain	Colonial morph. (*)	Colonial pigment	Nitrate reduction	2-week-arylsulf.	Tol. to 0.25 mg/ml NH ₂ OH	Growth at 37C	Growth at 45C	Amidases (**)	Utilization of organic acids as sole C source (5)	Acid formation (4)	Utilization of carbohydrates as sole C source (6)	Utilization of N-compounds as simultaneous source (7)	Utilization of N-compounds as sole N source for growth (8)	Niacin	Growth on 0.2% PAS-Ogawa medium	Growth on 0.1% picric acid medium	Growth on salicylate-Ogawa med.	
																	0.05%	0.1%
Ueda	NJ-1	S	-	-	+	+	+	-	A M P F	-	G E P	-	G S	-	+	+	+	+
Tagami	NJ-2	S	-	-	+	+	+	-	A P	-	G E 23	-	G	-	+	+	+	+
Ganoh	NJ-3	S	-	-	+	+	-	N P	A P F	-	G P	-	G	-	+	+	+	+
Toyama	NJ-4	S	-	-	+	+	-	N P	A P	-	G P	-	G A	-	+	+	+	+
Suhara	NJ-6	S	-	-	+	+	+	-	A P F	G	G S P	-	G S	-	+	+	+	+
Hatsuno	NJ-7	S	-	-	+	+	-	N P	A P	-	G E P	-	G S	-	+	+	+	+
Minamisawa	NJ-8	S	-	-	+	+	+	-	A P	-	G E P	-	G S	-	+	+	+	+
Iijima	NJ-9	S	-	-	+	+	-	N P	A M P F	-	G P	-	G	-	+	+	+	+
Onari	NJ-10	S	-	-	+	+	+	-	A P	-	E P	-	G	-	+	+	+	+
Chikaoka	NJ-12	S	-	-	+	+	-	N P	A P	-	G E P	-	G S A	-	+	+	+	+
Hashimoto	NJ-13	S	-	-	+	+	-	-	A P	-	G	-	G A	-	+	+	+	+
Mitsui	NJ-14	S	-	-	+	+	+	N P	A P	-	P	-	G A	-	+	+	+	+
Shimamoto	NJ-15	S	-	-	+	+	+	-	A	-	P	-	G S A	-	+	+	+	+
Saito	NJ-16	S	-	-	+	+	+	-	A P	-	P	-	G S A	-	+	+	+	+
Sakatani	NJ-17	S	-	-	+	+	+	N P	A	-	E P	-	G S	-	+	+	+	+
Saito-T	NJ-18	S	-	-	+	+	-	-	A P	-	G E P 23	-	G	-	+	+	+	+
Yamaki	NJ-19	S	-	-	+	+	+	-	A P	-	P	-	G	-	+	+	+	+
Matsubara	NJ-20	S	-	-	+	+	+	N P	A P	-	G F P	-	G S A	-	+	+	+	+
Okayama	NJ-21	S	-	-	+	+	-	N P	A P	-	P	-	G A	-	+	+	+	+
Kurosawa	NJ-22	S	-	-	+	+	+	-	A	-	G	-	G A	-	+	+	+	+
Saito	NJ-24	S	-	-	+	+	-	N	A P	-	-	-	G A	-	+	+	+	+

As to designations, see Table 2.

Table 2. Characters of Group III Nonphotochromogens

Strain	Colonial morph. (41)	Colonial pigmentation	Nitrate reduction	2-week-arylsulfat. Tol. to 0.25 mg/m, NH ₂ OH	Growth at 37°C	Growth at 45°C	Amidases (42)	Utilization of organic acids as sole C source (43)	Acid formation (44)	Utilization of carbohydrates as sole C source (45)	Utilization of N-compounds as source N and C (46)	Utilization of N-compounds as sole N source for growth (47)	Niacin	Growth on 0.2% PAS-Ogawa medium	Growth on 0.1% pteric acid-medium	Growth on salicylate-Ogawa med.	
																0.05%	0.1%
Ohno	SJ-4	S	+	+	+	+	—	A P	—	—	Gt	G	U	N	NO ₃	+	+
Tomida	SJ-7	S	+	+	+	—	—	A P	—	G E P	Gt	G S M	U	P	N Su NO ₃	+	+
Fukushima	SJ-11	S	+	+	+	—	—	A P	—	—	Gt	G	I	N Su NO ₃	+	+	+
Uchida	S	—	+	+	+	—	N P	A P	—	—	Gt	G	—	NO ₃	+	+	+
Ichihara	S	—	+	+	+	—	N P	A P	—	G P	—	G	U	Su NO ₃	+	+	+
Hasegawa	S	—	+	+	+	—	N P	A P	—	G S E P	—	G S	U	N Su NO ₃	+	+	+
Niikura	S	—	+	+	+	—	N P	A P	—	G S E P	—	G S	U P	N Su NO ₃	+	+	—
Munaishi	S	—	+	+	+	—	N P	A P	—	E P	—	G	U	Su NO ₃	+	+	+
Iwai	S	—	+	+	+	—	—	A M P	—	G P 13	—	G S M	U P	N Su NO ₃	+	+	+
Suzuki-Y	S	—	+	+	+	—	—	A	—	—	—	G	A	Su NO ₃	+	+	—
Terai	S	—	+	+	+	—	—	A P	—	G F	—	G	A P I	Su NO ₃	+	+	—
Shirokashi	S	—	+	+	+	—	—	A P	—	G	—	G	A P I	Su NO ₃	+	+	+
Tanaka-Y	S	—	+	+	+	—	—	A P	—	G F P	—	G	A	N Su NO ₃	+	+	—
Kekkai	S	—	+	+	+	—	—	A P	—	G F P	Gt	G	A P I	N Su NO ₃	+	+	—
Kanayubi	S	—	+	+	+	—	—	A P	—	G F P	—	G	A P I	Su NO ₃	+	+	+
Tanaka-S	S	—	+	+	+	—	—	A P	—	—	—	G S	A	Su NO ₃	+	+	+

(41) Colonial morphology. R=rough, S=smooth.

(42) Amidases (Incubation time: 16 hours at 37°C). The following amidases were tested: Acetamidase (A), benzamidase (B), urease (U), isonicotinamidase (I), nicotinamidase (N), pyrazinamidase (P), salicylamidase (Sa), allantoinase (Al), succinamidase (Su) and malonamidase (M).

(43) Utilization of organic acids as sole carbon source for growth. The following were tested: Acetate (A), citrate (C), succinate (S), malate (M), pyruvate (P), malonate (Mo), benzoate (B) and fumarate (F).

(44) Acid formation from carbohydrates. The following were tested: Glucose (G), mannose (M), galactose (G), arabinose (A), xylose (X), rhamnose (Rh), trehalose (T), raffinose (Ra), inositol (I), mannitol (Mt) and sorbitol (S).

(45) Utilization of carbohydrates as sole carbon source for growth. The following were tested: Glucose (G), fructose (F), sucrose (S), maltose (Ma), galactose (G), arabinose (A), xylose (X), rhamnose (Rh), trehalose (T), inositol (I), mannitol (Mt), sorbitol (So), ethanol (E), propanol (P), propylene glycol (Pr), 1,3-butylene glycol (13), 2,3-butylene glycol (23) and 1,4-butylene glycol (14).

(46) Utilization of nitrogen compounds as simultaneous nitrogen and carbon source for growth. The following were tested: L-Glutamate (Gt), L-serine (S), glucosamine (Ge), acetamide (A), benzamide (B), monoethanolamide (M) and trimethylene diamine (T).

(47) Utilization of nitrogen compounds as sole nitrogen source for growth. The following were tested: L-Glutamate (G), L-serine (S), L-methionine (M), acetamide (A), benzamide (B), urea (U), pyrazinamide (P), isonicotinamide (I), nicotinamide (N), succinamide (Su), nitrate (NO₃) and nitrite (NO₂).

分離年については、日比野²⁾、須藤⁴⁾の文献に記載されている。SJ の記号の3株は、はじめ scoto とされた株であるが、第1報¹⁹⁾および第2報²⁰⁾に述べた定義に従って nonphoto に組み入れた。NJ の記号のない菌株は、病原性の根拠が十分でなかつたもの、またはまだ確定されていない菌株である。

実験方法は第1報¹⁹⁾に記した。

実験成績

成績は表1および2に一括した。表には「病原性」nonphoto 24株とそれに準ずる13株、計37株の性状を示した。これらの性状を要約すると次のごとくである。

集落形態：白色、クリーム色、淡黄色、淡褐色、淡桃色、湿潤、平滑な集落を Sauton 寒天および卵培地 (Löwenstein-Jensen 培地および1% 小川培地) に作る。大部分の株の集落の色は白色ないしクリーム色である。SJ 記号の3株は陳旧培養では黄橙色に着色しているが、Sauton 寒天の初発集落はクリーム色ないし微黄色である。

硝酸還元：陰性。catalase：陽性。peroxidase：陰性。arylsulfatase 3日試験：陰性。

2週 arylsulfatase：23/37 (62%) が陽性。nonphoto の2週 arylsulfatase は陽性とされているが²¹⁾、わが国分離の nonphoto では陰性のものが38% もあることは注目される。

salicylate 分解：陰性。PAS 分解：陰性。

niacin：陰性。

amidases：14/37 (38%) は nicotinamidase と pyrazinamidase 陽性、1/37 (3%) は nicotinamidase のみ陽性；22/37 (59%) は Bönicke の10種の amidase 反応が全部陰性である。Bönicke⁸⁾は nonphoto の amidase pattern として、nicotinamidase と pyrazinamidase 陽性 (*M. avium* と同じ) をあげているが、わが国分離の nonphoto では、この型を示すものは38% であつて、59% まだがすべての amidase 反応陰性であることが注目される。

0.2% PAS 含有1% 小川培地での発育：陽性 (27/37=73%)。

0.25 mg/ml $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 含有1% 小川培地での発育：陽性 (37/37=100%)。0.5 mg/ml $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 含有1% 小川培地での発育：32/37 が陽性 (発育不能の5株は、外山 (NJ-4)、大野 (SJ-4)、福島 (SJ-11)、内田、田中茂の5株)。

0.5 mg/ml Na-salicylate 含有1% 小川培地での発育：陽性 (34/37=92%)。

1.0 mg/ml Na-salicylate 含有1% 小川培地での発育：陽性 (26/37=70%)。

10 $\mu\text{g/ml}$ thiophen-2-carbonic acid hydrazide 含有1% 小川培地での発育：陽性 (37/37=100%)。

0.1% picric acid 含有 Sauton 寒天での発育：陰性 (発育陽性率は 4/37=11%)。

発育温度：(1) 28°C および 37°C に発育するが、45°C に発育しないものは、17/37=46%；(2) 45°C まで発育するが、52°C に発育しないものは、20/37=54%。すなわち 37°C 発育株と 45°C 発育株はほぼ同数ずつで 52°C 発育株はない。

有機酸の単一C源としての発育への利用：acetate は全株により利用された (37/37=100%)；pyruvate は 33/37=89% により利用された；他の有機酸を利用するものはまれで、malate が 3/37=8% により、fumarate が 4/37=11% の株により利用された；citrate, succinate, benzoate, malonate は全株これを利用しなかつた (0/37=0%)。

炭水化物の単一C源としての発育への利用：glucose は 26/37=70%，propanol は 27/37=73%，ethanol は 12/37=32%，fructose は 5/37=14%，sucrose は 3/37=8%，2,3-butylene glycol は 2/37=5%，1,3-butylene glycol は 1/37=3% の菌株により利用された。他の炭水化物 (有機酸を除く) すなわち mannose, galactose, arabinose, xylose, rhamnose, trehalose, raffinose, inositol, mannitol, sorbitol, 1,4-butylene glycol, propylene glycol は利用されなかつた (0/37=0%)。

炭水化物からの酸形成：glucose, fructose, sucrose, mannose, galactose, arabinose, xylose, rhamnose, trehalose, raffinose, inositol, mannitol, sorbitol のいずれからも酸を形成しない (0/37=0%) (ただし glucose よりの酸形成が弱陽性の株が1株あつた)。

N化合物の単一N源としての発育への利用：L-Glutamate は全株 (37/37=100%) により利用された； NaNO_3 も全株 (37/37=100%) により利用された；L-serine は 14/37=38%，acetamide は 18/37=49% により，urea は 18/37=49% により，pyrazinamide は 25/37=68% により，nicotinamide は 21/37=57% により，isonicotinamide は 13/37=35% により，succinamide は 33/37=89% によつて利用された；L-methionine 2/37=5% によつてのみ利用され，nitrite は利用されなかつた (0/37=0%)。

N化合物の中で urea, nicotinamide, pyrazinamide, isonicotinamide の4者の amides の中で、2者以上利用したものは 28/37=76% であつた。この性質は *M. avium*, *M. terrae*²¹⁾²²⁾, *M. aquae*²⁰⁾ (仮称) と類似している。

N化合物の同時NC源としての発育への利用：L-Glutamate を利用したものは 7/37=19% であつた；他の L-serine, glucosamine, acetamide, benzamide, mono-

ethanolamine, trimethylene diamine は利用されなかった (0/37=0%)。

マウスに対する virulence : 一部を既報した¹⁸⁾。一般に *M. avium* より弱い。

考 察

以上の nonphoto の性状を既知 species と比較すると類似度の高いものは、いうまでもなく *M. avium* (*M. avium* の性状については文献 23 参照), *M. terrae*^{21) 22)} および *M. aquae*²⁰⁾ の3者である。これらと nonphoto をあわせた4者は numerical classification でも one large cluster を作り、類似性の高いことが認められる^{24) 25)}。これらの species と nonphoto との比較は次報 (第5報) にゆずり、差異の明確な次の species との差別点をあげておく。

*M. marinum*²⁶⁾ acetate, pyruvate および glucose をC源として利用しない。硝酸還元陽性。urease 陽性。allantoinase も大部分 (7/9) で陽性。また 45°C に発育する株はない。以上の点で nonphoto と異なっている。

*M. kansasii*²⁷⁾ 集落形態は通常 rough で光発色性があり, urease 陽性, 硝酸還元陽性, NH₂OH 培地に発育しない。acetate, pyruvate をC源として利用せず, urea, pyrazinamide, isonicotinamide, nicotinamide をN源として利用しない。45°C に発育するものはない。

M. tuberculosis および *M. bovis*. urease 陽性, 2週 arylsulfatase 陰性, NH₂OH 培地に発育せず, PAS 培地にも発育しない。salicylate 培地に発育しない。45°C に発育しない。acetate, pyruvate, glucose, propanol は本研究の方法により検するかぎり利用されない。硝酸塩, acetamide, urea, pyrazinamide, nicotinamide, succinamide のいずれもN源として利用しない。以上のほかに *M. bovis* は TCH 培地に発育せず, *M. tuberculosis* は niacin 陽性で硝酸還元陽性である。

M. avium, *M. terrae*, *M. aquae* (仮称) との比較については次報に論じる。

総 括

わが国分離の nonphotochromogens 37 株 (うち 21 株は NJ 記号の付されているもの) の生物学的, 生化学的性状を記載した。

文 献

- 1) Crow, H. E. et al.: Amer. Rev. Tuberc., 75 : 199, 1957.
- 2) 日比野進: 日本医事新報, No. 2086 : 29, 1964.
- 3) 山本正彦他: 日胸, 21 : 589, 1962.
- 4) 須藤憲三: 結核, 41 : 157, 1966.
- 5) Runyon, E. H.: Med. Clin. N. Amer., 43 : 273, 1959.
- 6) Bojalil, L. F. & Cerbón, J.: Amer. Rev. Resp. Dis., 81 : 382, 1960.
- 7) Meissner, G.: Zbl. Bakt. I Orig., 180 : 510, 1960.
- 8) Bönicke, R.: Bull. Union Inter. Tuberc., 32 : 13, 1962.
- 9) 戸田忠雄: 第 16 回日本医学会講演集, No. 2 : 91, 1963.
- 10) 占部薫: 胸部疾患, 3 : 305, 1959.
- 11) Kovacs, N.: Zbl. Bakt. I Orig., 184 : 46, 1962.
- 12) 今野淳: 結核, 37 : 315, 1962.
- 13) 北村達明: 胸部疾患, 5 : 227, 1961.
- 14) Schaefer, W. B.: Amer. Rev. Resp. Dis., 92 (No. 6, part 2) : 85, 1965.
- 15) Castelnovo, G. & Morellini, M.: Ann. Ist. C. Forlanini, 22 : 1, 1962.
- 16) Jones, W. D., Jr. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 92 : 255, 1965.
- 17) Durr, F. E. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 80 : 876, 1959.
- 18) 東村道雄他: 医学と生物学, 72 : 118, 1966.
- 19) 東村道雄他: 結核, 41 : 395, 1966.
- 20) 東村道雄他: 結核, 41 : 401, 1966.
- 21) 東村道雄: 医学と生物学, 71 : 110, 1965.
- 22) 東村道雄: 医学と生物学, 72 : 292, 1966.
- 23) 東村道雄他: 結核, 41 : 525, 1966.
- 24) 東村道雄: 医学と生物学, 72 : 75, 1966.
- 25) 東村道雄・東村純雄: 日細, 21 : 217, 1966.
- 26) 東村道雄他: 日細, 21 : 615, 1966.
- 27) 東村道雄他: 日細, 21 : 284, 1966.