

原 著

実験的非定型抗酸菌症に関する研究

1. 非定型抗酸菌のマウスに対する病原性について(i)

—経尾静脈感染の成績—

久世文幸・前川暢夫

京都大学結核胸部疾患研究所内科学第1

鈴木康弘

京都大学結核胸部疾患研究所病理

受付 昭和52年5月28日

A STUDY ON EXPERIMENTAL MYCOBACTERIOSES
PROVOKED BY ATYPICAL MYCOBACTERIA

1. Pathogenicity of Atypical Mycobacteria for Conventional Mice

—Pathological processes by intravenous inoculation—

Fumiyuki KUZE*, Nobuo MAEKAWA and Yasuhiro SUZUKI

(Received for publication May 28, 1977)

Relatively high dose of various atypical mycobacteria were inoculated intravenously into conventional mice (dd strain) and the pathological processes were evaluated mainly by the successively recovered viable units of bacilli in the lungs, spleens and kidneys. In addition, the mean body weights of mice, macroscopic pathological findings as well as root indices of lung and spleen were used for the comparisons of the pathogenicities of the various atypical mycobacteria.

One strain of *M. kansasii*, one of *M. scrofulaceum*, 5 of *M. intracellulare*, one of *M. xenopi* and one of *M. fortuitum* as well as *M. tuberculosis* (Kurono) as for the comparison were injected to each group of 20 mice. The inoculum sizes were in the range of 2.0×10^5 to 1.4×10^8 viable units of bacilli.

Three mice of each group were sacrificed at 24 hours, 3 days, 9 days, 16 days, 30 days and 44 days after inoculation. The organs (lung, spleen and kidney) were emulsified by Teflon homogenizers adding the suitable amount of 2% NaOH aqueous solution and were cultured on 1% Ogawa media by successive ten times-dilutions in order to calculate the viable units of bacilli in each organ. At the same time, the weights of the organs and the macroscopic pathological findings were evaluated. The remaining mice were sacrificed for the microscopic histopathological sections at the end of the observation.

No mouse died in this period of observation except two, one infected with *M. tuberculosis*, which showed an extensive pulmonary lesions at autopsy and another, which was infected with *M. intracellulare* and showed no macroscopic pathology. Normal increase of body weights were moderately suppressed in the mice infected with *M. tuberculosis* (Kurono) and *M. kansasii*,

* From the First Department of Medicine, Chest Disease Research Institute, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606 Japan.

however, remaining groups of mice infected with various atypical mycobacteria other than *M. kansasii* showed apparently normal gains of their body weights.

On the observation of macroscopic pathology, the pathologic lesions provoked by various atypical mycobacteria were as a whole minimal to moderate, if any, and not constant in the lungs as well as in other organs, though extensively far advanced lesions were detected constantly in the lungs of mice infected with *M. tuberculosis* (Kuroono) towards 16 days after inoculation. One exception was the lesions in the kidneys provoked by *M. fortuitum* (No. 49), which were rather constantly confirmed in the latter half of the observation with moderate severity.

The results of the calculations of the culturable acid-fast bacilli as well as the microscopic findings suggested a lower pathogenicity of mycobacteria other than human tubercle bacilli. Although the culturable bacilli in the lungs showed a tendency of steady increase in the mice infected with *M. tuberculosis*, apparent spontaneous regressions of the pulmonary lesions in the mice infected with various atypical mycobacteria were suggested by frequent decreases of culturable bacilli towards the end of the observation, and occasional rapid disappearances of the culturable bacilli confirmed again a definite low pathogenicity of atypical mycobacteria for mice.

In another series, a higher dose of *M. fortuitum* (No. 49) and *M. chelonae* (No. 52) were again injected intravenously to ten mice each and histological lesions were evaluated. The mice infected by *M. fortuitum* were found to have far extensive renal pathology with multiple abscesses, and 4 of them died due to severe infection within 4 weeks after inoculation, all of which showed queer rolling movement before their deaths. The mice infected with *M. chelonae* showed no apparent macroscopic pathology, though minimal lesions were found in histological sections of the kidneys.

In view of a definite low pathogenicity of the atypical mycobacteria for mice infected by ordinary intravenous route, further investigations are mandatory to obtain a suitable model of experimental mycobacterioses for the *in vivo* evaluation of therapeutic efficacy of various drugs.

序 論

種々の実験動物を対象とした非定型抗酸菌 (AM) の感染実験に関する報告は¹⁷⁻¹⁸⁾, AMの分類または単に病原性の検索を目的としたものが多く, また結核菌ないし AM の challenge に対する感染防御実験も散見されるが, *in vivo* における薬剤の効果判定を目的とした本格的な治療実験の報告は比較的少ないのが現状である。

非定型抗酸菌症 (AM 症) の原因菌ならびに臨床像に関する知見は日々新たであるが, *Mycobacterium kansasii* 症を除いてその治療方法の検索はかなり遅れており早急に解決すべき課題となつている。*M. intracellulare* をはじめとして *M. scrofulaceum*, 更には rapid grower に属する諸菌種が *in vitro* において抗結核薬をはじめ他の抗菌剤に抵抗を示すことも, これらの菌種を対象とした *in vivo* での検索を遅らせている大きな要因と思われるが, AM を対象とした動物実験そのものが持つている多くの問題¹⁹⁾があり, 結核菌に準じただけでは解決できないことも事実である。

in vitro の成績は生体内での薬剤の態度を必ずしも

反映しないのは周知の事実であり, 評価に限界はあるにしても, 適当な感染実験による治療効果の判定によつて實際上臨床へのより望ましい示唆が得られることは私どもが肺結核症の治療で経験してきたことである。

私どもは以上の観点より, 治療実験を実施するに適切な実験的非定型抗酸菌症のモデル作成を究極の目的として種々の検討を開始した。

本編では実験動物としてマウスを対象とし従来広く用いられてきた経尾静脈接種法を用い数種の AM の病原性を, 主として臓器内還元生菌数を指標として検討したのでその概要を報告する。

I. 実験材料ならびに方法

1) 実験動物

均一系 dd 雄 conventional マウスで生後 5 週前後, 体重約 25 g 前後のものを主として用い, 一部の実験では C3H 系と AL Jackson 系とを比較対照のため使用した。飼料は市販の固形飼料を用いた。

2) 接種菌株

M. tuberculosis Kuroono 株, *M. kansasii* No. 3 (ATCC

Table 1. Number of Viable Units Recovered from Organs in Various Strains of Mice Infected with *M. intracellulare*(No.23)
Inoculum: 3.0×10^8 viable units

Organ	Days after inoculation	Strains of mice		
		dd	C3H	AL Jackson
Lung	3	$1.6 \times 10^{4*}$		1.6×10^4
	10	1.5×10^2	2.6×10^2	2.7×10^2
	17	1.0×10^2	1.7×10^2	35
	24	38	15	37
	31	15	30	28
Liver	3	1.0×10^5		1.1×10^5
	10	1.1×10^5	3.8×10^4	1.7×10^4
	17	1.1×10^4	1.5×10^4	2.6×10^4
	24	4.5×10^4	9.0×10^4	3.3×10^4
	31	9.0×10^3	2.2×10^4	2.6×10^4
Kidney	3	8.0×10^2		2.0×10^3
	10	1.1×10^2	1.5×10^2	1.0×10^2
	17	60	2.5×10^2	25
	24	39	1.7×10^2	24
	31	11	1.0×10^2	28
Spleen	3	3.5×10^5		1.0×10^6
	10	3.0×10^4	3.3×10^4	1.4×10^4
	17	3.0×10^3	3.6×10^3	2.1×10^3
	24	4.5×10^4	3.2×10^4	6.0×10^3
	31	2.2×10^3	1.1×10^4	8.0×10^2

* Viable units in 10 mg of each organ.

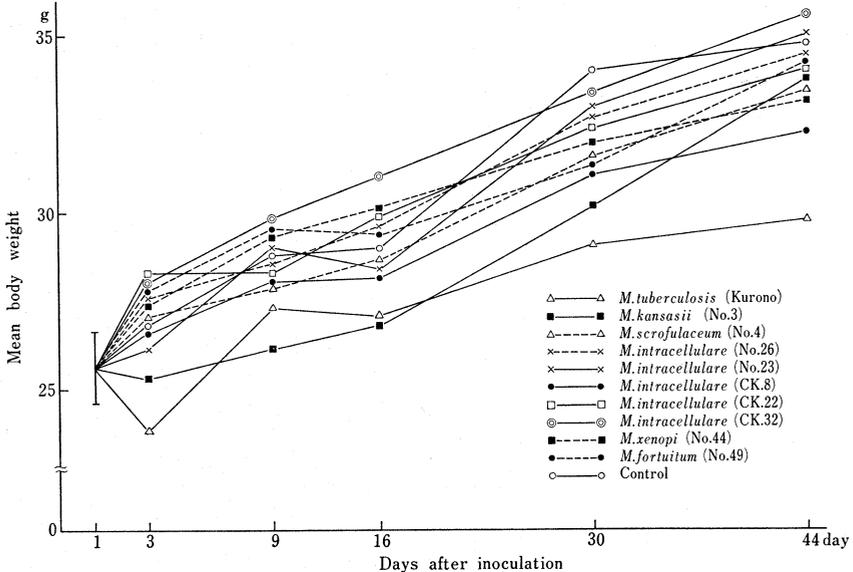


Fig. 1. Mean body weights of mice.

12478), *M. scrofulaceum* No.10 (ATCC19981), *M. xenopi* No. 44(ATCC19276), *M. intracellulare* No. 26 (ATCC15985), No.23 (P48), *M. fortuitum* No. 49

(ATCC6841), *M. chelonae* No.52 (ATCC19977) の8株(保存株)の他に *M. intracellulare* 症患者喀痰からの分離株3株 (CK.8, CK.22, CK.32)を使用した。

3) 菌接種方法およびその後の操作

いずれの菌株も1%小川培地上で培養3週から4週(M. fortuitum と M. chelonae のみ1週間)の培養菌を用い、ガラス玉コルベンで磨砕し滅菌生理食塩水を添加して均等な菌液(約0.1 mg/ml)を作成しその0.2 ml をマウスの尾静脈より接種した。接種した菌液の残りは滅菌生理食塩水で10倍希釈をくり返した後1%小川培地に接種し、接種生菌単位算定に供した。

各菌株ごとに20匹のマウスを使用し、菌接種後24時間、3日、9日、16日、30日、44日に各菌株接種マウスのうち3匹ずつを屠殺してその主要臓器、すなわち肺、肝、脾、腎の定量培養を実施するとともに肉眼的病変、臓器重量などを記載した。同時に体重の変化も観察した。最後の還元培養時には1,2匹を病理組織学的検索に供し

た。

定量培養にはテフロンホモジナイザーを使用し、2% NaOH で臓器を10倍に磨砕希釈し、更に2% NaOH を用いて10倍希釈系列を作成し1%小川培地で培養し臓器内生菌単位算定を行なった。

II. 実験成績

1) マウス系統別による臓器内還元生菌数の比較

3系統のマウス、すなわち dd 系, C3H 系, および AL Jackson 系を用いた臓器定量培養の成績を表1に示した。C3H 系で腎および脾にやや還元生菌数が多いようであるが、その差は有意とは考えられなかつたので、以後の実験には大量に入手しやすい dd 系を用いた。

2) dd 系マウスに対する諸種抗酸菌の病原性

Table 2. Macroscopic Findings at Autopsies

Mycobacterial species	<i>M. tuberculosis</i> (Kurono)				<i>M. kansasii</i> (No. 3)				<i>M. scrofulaceum</i> (No. 10)				<i>M. intracellulare</i> (No. 26)				<i>M. intracellulare</i> (No. 23)					
	Lu ¹⁾	Li ¹⁾	S ¹⁾	K ¹⁾	Lu	Li	S	K	Lu	Li	S	K	Lu	Li	S	K	Lu	Li	S	K		
Viable units of inoculum	2.0×10 ⁵				2.4×10 ⁵				5.4×10 ⁷				1.4×10 ⁸				1.4×10 ⁶					
Days after inoculation																						
1	-	-	-	-	-	-	-	-	## (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	##	##	+	-	
16	2) ++ (1)(2)	+	### (2)(1)	+	+	-	-	-	+	### (1)(2)	## (1)	+	-	+	-	-	-	-	+	### (1)(1)	## (2)	-
30	### (2)(1)	-	### (2)(1)	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	### (2)(1)	+	-	### (1)(2)	-	-	
44	### (2)(1)	-	### (1)(2)	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	
Mycobacterial species	<i>M. intracellulare</i> (CK. 8)				<i>M. intracellulare</i> (CK. 22)				<i>M. intracellulare</i> (CK. 32)				<i>M. xenopi</i> (No. 44)				<i>M. fortuitum</i> (No. 49)					
Viable units of inoculum	1.3×10 ⁶				4.6×10 ⁷				5.4×10 ⁷				8.0×10 ⁶				4.8×10 ⁷					
Days after inoculation	Lu	Li	S	K	Lu	Li	S	K	Lu	Li	S	K	Lu	Li	S	K	Lu	Li	S	K		
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
9	-	## (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	## (2)	-	-	-	-	-	-	-	+	##	##	+
16	-	-	### (2)(1)	-	-	-	## (1)	+	-	-	### (1)(2)	-	-	-	-	-	-	+	##	##	+	
30	+	-	## (3)	-	-	-	### (2)(1)	+	-	-	### (1)(2)	## (2)	-	## (1)	### (2)(1)	+	-	-	-	+	+	
44	+	-	### (2)(1)	+	-	-	## (2)(1)	+	-	## (2)	### (1)(2)	## (2)	-	-	### (2)(1)	+	+	-	-	##	##	

1) : Lu=Lung, Li=Liver, S=Spleen, K=Kidney

2) : +, ##, ### : Grades of pathologic findings

The numbers in the parentheses denote the numbers of mice which showed the respective pathologic finding.

(i) 体重と観察

図1に各菌株感染マウスの平均体重の変動を示した。接種菌株は、*M. tuberculosis* 1株、*M. kansasii* 1株、*M. scrofulaceum* 1株、*M. intracellulare* 5株、*M. xenopi* 1株、*M. fortuitum* 1株の計10株で、各菌株を20匹ずつのマウスに接種した。図1にみられるごとく *M. tuberculosis* (Kurono) と *M. kansasii* No.3(ATCC 12478) 両株感染マウスでは体重増加が軽度抑制されているが、他の菌株感染マウスの体重増加は無処置対照マウスと有意差はない。したがって *M. tuberculosis* と *M. kansasii* 感染マウス以外では菌接種後の経過を体重の変動を指標として観察し、諸菌株の毒力と関連づけることは困難であった。

観察期間中斃死したマウスは計2匹で Kurono 株感染マウス1匹と *M. intracellulare* No.23 株感染マウス1匹で、それぞれ感染後35日後と12日後に死亡している。前者は剖検により肺に広範な結節性病巣を認めたが、後者は肉眼的に著変なく死亡原因は明らかでない。

(ii) 臓器の肉眼的所見

表2に各剖検時の臓器の肉眼的所見を示し、表3には接種菌株ごとの平均ルート比肺重 $^{20} \sqrt{\frac{\text{肺(mg)}}{\text{体重(g)}} \times 10}$ お

よびルート脾指数 $^{20} \sqrt{\frac{\text{脾重(g)}}{\text{体重(g)}} \times 100}$ を示した。*M. tuberculosis* Kurono株感染マウスでは、菌接種後16日の剖検時より例外なく両肺に高度の粗大結節性病変が認められ、これらはいずれも結核予防会結研の分類方式²¹⁾によるとVI以上の病変であった。また全例で脾の腫大が認められた。これに反してAM諸菌株感染マウスでは、典型的な肺の結節形成は *M. intracellulare* No. 23 株接種後9日の剖検で1匹に認められたのみで、肉眼的な病変があつた場合でも肺の充血、硬化等の1葉以上の肺炎様の所見がほとんどで、少数のものに肺表面の極めて小さい結節(予防会分類方式でII)²¹⁾が認められたにすぎなかつた。更にこれらの病変は *M. tuberculosis* におけるごとく全剖検例に認められる訳ではなく、経時的な観察でも病変は不規則に発現していた。肝の病変は *M. tuberculosis* を含めてごく少数にみられ小範囲の微小結節形成にとどまつていた。脾腫はかなりの剖検例で認められたが、AMの2,3の菌株で1度認められた脾腫が再び消退していく傾向がみられた。腎病変に関しては *M. fortuitum* (No.49) 感染例で菌接種後9日以降全剖検例で軽度ではあるが結節性病変が認められたのが注目された。*M. fortuitum* 感染マウスに起こるといわれる不規則な回転

Table 3. Root Indices of Spleen and Lung

Mycobacterial species (Strain)	Index	Days after inoculation					
		1	3	9	16	30	44
<i>M. tuberculosis</i> (Kurono)	Lung	7.5	8.4	7.8	9.3	13.2	12.9
	Spleen	0.81	0.83	0.96	1.3	1.6	1.1
<i>M. kansasii</i> (No. 3)	Lung	7.7	8.2	7.3	8.0	7.2	6.9
	Spleen	0.95	0.85	0.72	0.65	0.68	0.64
<i>M. scrofulaceum</i> (No. 10)	Lung	10.0	7.7	8.0	7.3	8.2	8.0
	Spleen	0.71	0.77	0.84	1.4	0.91	0.77
<i>M. intracellulare</i> (No. 26)	Lung	8.4	8.9	8.1	7.9	8.2	8.9
	Spleen	0.87	0.84	0.81	0.69	0.93	0.99
<i>M. intracellulare</i> (No. 23)	Lung	7.7	7.9	8.8	7.6	8.1	8.0
	Spleen	0.84	0.79	1.0	1.2	1.1	0.71
<i>M. intracellulare</i> (CK. 8)	Lung	7.9	7.3	7.5	8.2	7.7	7.6
	Spleen	0.95	0.73	0.96	1.4	1.2	1.1
<i>M. intracellulare</i> (CK. 22)	Lung	8.4	7.5	7.3	7.6	7.3	8.1
	Spleen	0.73	0.75	0.73	0.93	1.1	0.97
<i>M. intracellulare</i> (CK. 32)	Lung	8.8	8.3	7.7	7.2	7.9	8.2
	Spleen	0.75	0.83	1.1	1.4	1.9	1.4
<i>M. xenopi</i> (No. 44)	Lung	9.7	7.7	7.5	7.5	8.2	7.5
	Spleen	0.82	0.82	0.75	0.73	1.2	1.1
<i>M. fortuitum</i> (No. 49)	Lung	8.3	8.2	8.4	8.1	8.2	7.8
	Spleen	0.77	0.82	1.1	1.1	0.74	0.69
Control	Lung	7.9	8.1	8.2	6.3	7.5	7.7
	Spleen	0.65	0.55	0.71	0.57	0.56	0.62

Table 4. Number of Viable Units Recovered from the Lungs of Mice

—Mean viable units in 10 mg of the lungs—

Mycobacterial species		<i>M. tuberculosis</i> (Kurono)	<i>M. kansasii</i> (No. 3)	<i>M. scrofulaceum</i> (No. 10)	<i>M. intracellulare</i> (No. 26)	<i>M. intracellulare</i> (No. 23)
Viable units of inoculum		2.0×10^5	2.4×10^5	5.4×10^7	1.4×10^8	1.4×10^6
Days after inoculation	1	1.2×10^3	1.2×10^3	5.5×10^2	2	2.3×10^3
	3	5.5×10^2	6.0×10^2	1.3×10^2	1	1.6×10^3
	9	1.7×10^4	1.2×10^3	30	0	4.6×10^2
	16	3.5×10^4	6.8×10^2	8	0	1.6×10^3
	30	3.3×10^5	2.3×10^3	4	0	3
	44	3.1×10^5	5.0×10^2	1	0	1
Mycobacterial species		<i>M. intracellulare</i> (CK. 8)	<i>M. intracellulare</i> (CK. 22)	<i>M. intracellulare</i> (CK. 32)	<i>M. xenopi</i> (No. 44)	<i>M. fortuitum</i> (No. 49)
Viable units of inoculum		1.3×10^6	4.6×10^7	5.4×10^7	8.0×10^6	4.8×10^7
Days after inoculation	1	9.0×10^3	1.0×10^3	1.0×10^3	4.0×10^2	16
	3	2.5×10^3	1.5×10^3	7.0×10^2	1	5
	9	6.0×10^2	1.2×10^2	2.7×10^2	1	0
	16	5.1×10^2	2.7×10^2	5.0×10^2	0	1
	30	6.5×10^3	3	6.0×10^3	0	0
	44	1.5×10^4	4	3.2×10^4	0	1.5×10^2

Table 5. Number of Viable Units Recovered from the Spleens of Mice

—Mean viable units in 10 mg of the spleens—

Mycobacterial species		<i>M. tuberculosis</i> (Kurono)	<i>M. kansasii</i> (No. 3)	<i>M. scrofulaceum</i> (No. 10)	<i>M. intracellulare</i> (No. 26)	<i>M. intracellulare</i> (No. 23)
Viable units of inoculum		2.0×10^5	2.4×10^5	5.4×10^7	1.4×10^8	1.4×10^6
Days after inoculation	1	2.0×10^3	2.0×10^3	1.2×10^4	7	1.3×10^4
	3	2.8×10^3	7.0×10^3	5.5×10^2	5	3.5×10^4
	9	1.8×10^4	1.3×10^4	7.0×10^2	20	2.2×10^4
	16	1.0×10^4	8.1×10^3	2.0×10^3	9	2.9×10^3
	30	2.0×10^4	1.6×10^4	1.2×10^3	0	4.6×10^2
	44	1.4×10^4	2.3×10^4	1.2×10^2	0	2.1×10^2
Mycobacterial species		<i>M. intracellulare</i> (CK. 8)	<i>M. intracellulare</i> (CK. 22)	<i>M. intracellulare</i> (CK. 32)	<i>M. xenopi</i> (No. 44)	<i>M. fortuitum</i> (No. 49)
Viable units of inoculum		1.3×10^6	4.6×10^7	5.4×10^7	8.0×10^6	4.8×10^7
Days after inoculation	1	5.4×10^4	1.4×10^4	9.0×10^4	8.8×10^2	2.1×10^2
	3	2.4×10^5	2.1×10^4	5.0×10^4	1	4.0×10^2
	9	1.9×10^4	4.4×10^4	4.3×10^4	1	6
	16	3.4×10^4	5.5×10^3	4.3×10^4	0	2
	30	5.0×10^4	9.0×10^4	1.2×10^5	0	4
	44	3.5×10^4	9.0×10^3	1.3×10^5	0	6

運動²²⁾は本観察期間中は認められていない。

(iii) ルート比肺重とルート脾指数

結核菌感染動物の肉眼的病変判定の方法として、従来よりマウスではルート比肺重²⁰⁾が、モルモットではルート脾指数²⁰⁾が菌の毒力と比較的よく相関し客観的であるとされている。表3に剖検マウスの両指数の平均値を経時的に示した。ルート比肺重 10.0 以上、ルート脾指数 1.0 以上を指標として各菌種接種マウスの成績をみると、

Table 6. Number of Viable Units Recovered from the Kidneys of Mice

—Mean viable units in 10 mg of the kidneys—

Mycobacterial species		<i>M. tuberculosis</i> (Kurono)	<i>M. kansasii</i> (No. 3)	<i>M. scrofulaceum</i> (No. 10)	<i>M. intracellulare</i> (No. 26)	<i>M. intracellulare</i> (No. 23)
Viable units of inoculum		2.0×10^5	2.4×10^5	5.4×10^7	1.4×10^8	1.4×10^6
Days after inoculation	1	9.5×10^2	1.3×10^2	5.6×10^2	1	6.8×10^2
	3	1.8×10^2	1.3×10^2	36	0	6.8×10^2
	9	5.0×10^3	1.2×10^2	16	0	5.7×10^2
	16	1.1×10^3	5.6×10^2	16	0	40
	30	4.0×10^3	3.0×10^2	4	0	8
	44	5.8×10^3	1.6×10^2	1	0	1
Mycobacterial species		<i>M. intracellulare</i> (CK. 8)	<i>M. intracellulare</i> (CK. 22)	<i>M. intracellulare</i> (CK. 32)	<i>M. xenopi</i> (No. 44)	<i>M. fortuitum</i> (No. 49)
Viable units of inoculum		1.3×10^6	4.6×10^7	5.4×10^7	8.0×10^6	4.8×10^7
Days after inoculation	1	7.5×10^3	3.0×10	6.0×10	5.5×10^2	11
	3	2.2×10^3	1.0×10^2	2.0×10^2	1	4
	9	1.7×10^3	29	2.5×10^2	1	1
	16	1.7×10^3	6	6.0×10	0	4
	30	2.0×10^3	2	2.3×10^2	0	1
	44	4.5×10^2	19	8	0	2

ルート比肺重では *M. tuberculosis* (Kurono) 接種マウスのみが4週以後より高値を示しているが、他の菌種ではいずれも無処置対照との比較ならびに経時的な変化の両観点からとも有意差はなく、AMでは毒力は低いと考えられる。一方ルート脾指数は *M. tuberculosis* (Kurono), *M. scrofulaceum* (No. 10), *M. intracellulare* 4株, *M. xenopi* (No. 44), *M. fortuitum* (No. 49) に1週以後高値が認められている。しかし前述したごとくこの中の2, 3の菌株接種マウスでは、脾重の変化を反映して一時増加した数値が再び減少するとき傾向が認められた。

(iv) 臓器定量培養の成績

表4, 5, 6に経時的な臓器定量培養成績を臓器10mg中の還元生菌単位で示した。

肺の定量培養の成績では、経時的に明らかに生菌数の増加がみられるのは *M. tuberculosis* (Kurono) のみで、*M. intracellulare* CK. 8 と CK. 32 は最終剖検時やや菌数増加の傾向があるが明確でなく、他のAM諸菌株では還元生菌数は経時的に減少傾向を示しているものが多い。また早期に還元培養がほとんど不能になる菌株もみられる。この成績はルート比肺重の成績を裏付けている。

脾の成績では *M. intracellulare* (No. 26), *M. xenopi* (No. 44), *M. fortuitum* (No. 49) を除いて生菌数は比較的良好に保たれていたが、ルート脾指数と還元生菌数との

相関は明らかでなかつた。

腎の成績は肺の成績と傾向を等しくするようであるが、臓器内生菌数の減少傾向は *M. tuberculosis* (Kurono), *M. kansasii* (No. 3), *M. intracellulare* (CK. 8) 以外の菌株接種マウスにより顕著であつた。

以上要するに、明らかに進行性の病変を示しているのは *M. tuberculosis* (Kurono) 接種マウスのみで、他のAM諸菌株は、病原性は全体として弱く、かつ病変形成は一過性の傾向がうかがわれる。*M. intracellulare* (CK. 8) はその中では病原性は比較的強いと思われるが、この菌株は *M. intracellulare* 症患者喀痰からの分離株で、この患者は右上葉切除を受けたが再び右肺に広範な異常陰影を来し、*M. intracellulare* 持続排菌例となつている。CK. 諸株を除くと他はいずれも長期継代保存株であつた。

(v) 病理組織学的所見

菌接種後約6週の肺の病理組織学的所見を図2, 3, 4に示した。図5は無処置対照マウスの肺所見である。*M. tuberculosis* (Kurono) による病変は図2のごとく強度のびまん性繁殖型²³⁾の様相をとり Kurono 株の強毒性を示唆している。また組織内には抗酸性染色で多数の抗酸菌が病変部に証明された。一方AM諸菌株による感染マウスでは、軽度のびまん性繁殖型²³⁾ないし肉芽腫型²³⁾の病変を示した(図3, 4)。後者では組織切片全視野に2, 3個の小肉芽巣が散在しているものがほとんどであ

り、組織内の抗酸菌も Kurono 株感染マウスでは病巣内に集簇して多数みられるに反して、AM 感染肺ではほとんどの場合短桿菌が孤立して散在していた。これらはすべて AM の弱毒性を示唆している。

3) 高濃度の菌液を接種した rapid grower による腎病変

同様 dd 系マウスを用い、*M. fortuitum* (No. 49) と *M. chelonae* (No. 52) の濃厚菌液 0.4 ml (接種菌量約 0.5 mg) をそれぞれ 10 匹ずつに尾静脈接種を行なった。菌接種後 2 週間後より *M. fortuitum* 感染マウスの体重減少が目立ち、うち 4 匹は相前後して不規則な回転運動を示しているのがみられ脳内病巣の存在が考えられた。これらのマウスはすべて接種後 4 週までに斃死した。一方 *M. chelonae* 感染マウスでは体重減少もみられず脳内病巣の存在を示唆する症状の発現もなかつた。菌接種 4 週後全生存マウスを剖検したが、*M. fortuitum* 接種マウス全例に腎の著明な腫大と多数の粗大結節性病変が認められ、3 例では両側腎全体が巨大膿瘍と化していた。*M. chelonae* 感染マウスでは腎の軽度腫脹がみられたほかは 2 例に小結節病巣が認められたにすぎなかつた。肺、肝、脾には両菌種感染マウスとも明らかな肉眼的病変は認められなかつた。病理組織学的所見では *M. fortuitum* 感染例で腎に広範な間質性腎炎と肉芽腫の形成がみられ、肝では Kupffer cell の腫大とその周囲の細胞浸潤が認められ一部では肉芽腫形成の傾向を示していた。*M. chelonae* 感染例では上記の所見は軽度で細胞浸潤のみを認める例がほとんどであつた。図 6, 7 に典型的な組織像を示した。

III. 考 案

Burjanová¹⁹⁾ は実験的非定型抗酸菌症の化学療法を論じた総説の中で、治療実験に使用する目的にかなう実験的非定型抗酸菌症作成にあつた問題点を詳細に論じているが、その中で最大の難点は適切な再現性とむ実験モデル作成の困難性である。すなわち AM は *M. tuberculosis* と比較すると実験動物に対する病原性が概して弱く、病原性があるとされる菌種においても病変の進行は緩慢であり、病変の自然消退の傾向が認められることが多いという。更に同種類の菌でも菌株相互間の病原性の差違が大きく、前段階としてあらかじめ適当な菌株の選択を要するであろうという。彼らの総説では抗酸菌の種類は Runyon の group 分けで論じられているが、菌種ごとに検討した私どもの今回の成績でも上述の問題点は再確認された。私どもの検討では実用的な治療実験モデル作成という目的があつたため菌接種後の観察期間が短すぎた嫌いはあるが、体重、臓器の肉眼的所見、経時的な臓器定量培養の成績などによる総合判定をもつてして確実に進行性病変を惹起しえたと判断された菌種は比較対照のため検討した *M. tuberculosis* (Kurono) の

1 株のみであり、AM の諸菌株はいずれも病原性は弱く菌種によつてはほとんどないと判断される成績であつた。ことに臓器内還元生菌数の推移をみて印象的であつたのは、菌接種翌日の臓器内生菌数と 6 週後の生菌数が AM 諸菌株においてはほとんど変化しないことである。更に 2, 3 の菌種では菌接種後早期に生菌数の還元はほとんど不能になつている。病理組織学的所見ではたしかに抗酸菌によると思われる病変は散見されたが、総合的にみて私どもの目的とする実験モデルの理想にはほど遠かつた。例外として *M. fortuitum* 感染マウスでは腎病変の発生が比較的再現性にとんでおり、接種菌量の増加で腎の肉眼的病変も明らかであり、一つの実験モデルになりうる可能性は大きいと思われる。また *M. kansasii* に関しては、今回の検討では他の菌種と比較すると接種生菌単位が少なかつたので、これが病原性の弱かつた一つの原因と思われ再検討の必要があると考えている。

現在までの報告¹⁶⁾⁻¹⁸⁾では AM に関する実験的感染症による治療実験は主としてマウスを用いて検討されており、尾静脈感染後、臓器内生菌数の推移を指標としたものが多い。Shronts¹⁸⁾の成績は、*M. kansasii* では、感染後腎、肺で生菌数の増加を認めており、かつ治療効果も明らかであり、実験モデルとして評価しうるが、*M. intracellulare* 感染マウスでは、菌株によつては菌接種後生菌数増加がみられず治療効果の判定も明確さを欠いている。しかし彼らがその集落形態として transparent と記載した菌株では、菌接種後軽度ではあるが生菌数増加が腎で認められており、治療効果も比較的明らかである。*M. intracellulare* の病原性の弱さと同一菌種間でも病原性の差違が大きいことを示唆するものであろう。

M. intracellulare をはじめ病原性の弱い諸菌種については今後多くの検討が必要であるが、実際的な検索方向としては、病原性のより強い菌株の選択、実験動物ならびに指標臓器の選択に加えて宿主条件の考慮などがまず考えるところであろう。

すでに Dunbar²⁰⁾ は *M. intracellulare* について菌株の集落形態と病原性との相関を示唆し thin-colony-forming bacteria の比率が大きいほどマウスに対する病原性は強いと述べている。私ども²⁵⁾も *M. intracellulare* の平板培地上での集落形態の観察を試みているが、この観点から *M. intracellulare* の病原性を検討し直すのも興味ある課題である。私どもが本実験で使用した *M. intracellulare* は 5 株であるが、その中で No. 23, No. 26 の 2 株は長期保存株で III 型²⁵⁾の集落 (ドーム様集落) を形成し、その他の臨床分離株 3 株は III 型と IV 型²⁵⁾集落 (薄層集落) の混在する菌株であつた。このほか菌自体の毒力を増加させず方法として動物通過、*in vitro* における菌株継代法の検討も必要とならう。

一方宿主側の条件として、実験動物に対する X 線照射、

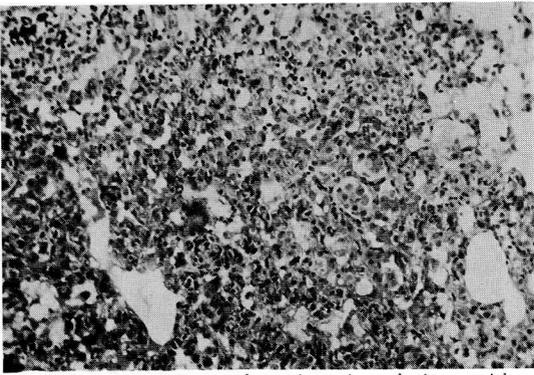


Fig.2. Lung, 6 weeks after inoculation with *M. tuberculosis* (Kuronu). Diffuse proliferation of mononuclear cells having large nuclei with light chromatin and one or two nucleoli was demonstrated all over the lung. Some of the cells appear to be transforming into foam cells with swelling of the cytoplasm. Diffuse proliferative pattern, advanced. (H. E. $\times 100$)

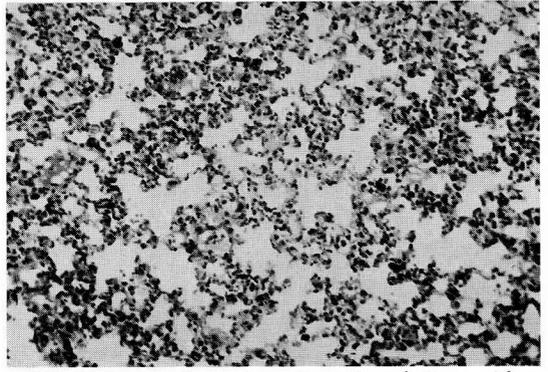


Fig.3. Lung, 6 weeks after inoculation with *M. kansasii* (No.3). Proliferation of mononuclear cells with large nuclei was demonstrated. Moderate exudation of polymorphnuclear cells was also demonstrated with slight thickening of alveolar septa. Diffuse proliferative pattern. (H. E. $\times 100$)

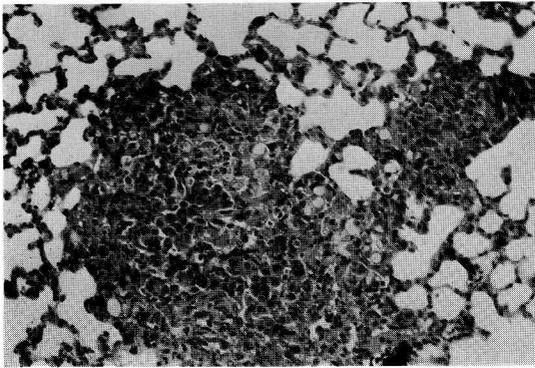


Fig.4. Lung, 6 weeks after inoculation with *M. intracellulare* (C.K. 8). Small tubercle with proliferation of mononuclear cells. Granulomatous pattern. (H. E. $\times 100$)

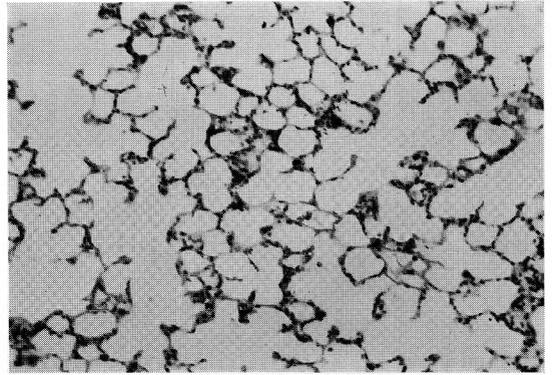


Fig.5. Lung, control. (H. E. $\times 100$)

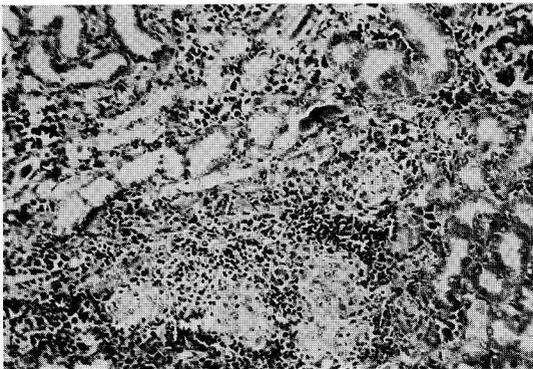


Fig.6. Kidney, 4 weeks after inoculation with *M. fortuitum* (No. 49). Tubercle formation with large mononuclear cells with light cytoplasm was demonstrated with exudation of small round cells in the peripheral area. Renal tissue around the tubercle showed atrophy with infiltration of plasma cells. Hyaline casts were demonstrated in the tubules. (H. E. $\times 100$)

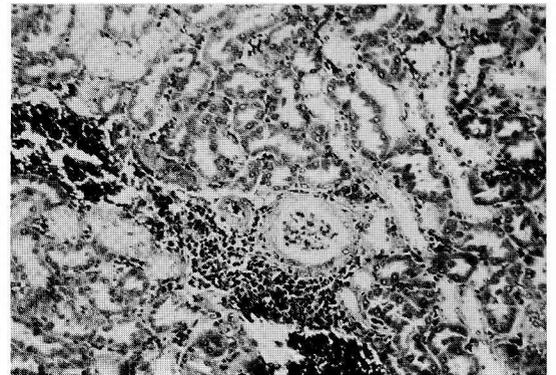


Fig.7. Kidney, 4 weeks after inoculation with *M. chelonae* (No. 52). Perivascular cuffing of small round cells was demonstrated. (H. E. $\times 100$)

副腎皮質ホルモンの投与のほか、珪酸粉塵吸入²⁶⁾、飼料の工夫による感染に対する抵抗力の減弱化の可能性が示唆されているがすべて今後の課題であろう。

IV. 結 論

M. tuberculosis 1株, *M. kansasii* 1株, *M. scrofulaceum* 1株, *M. intracellulare* 5株, *M. xenopi* 1株, *M. fortuitum* 1株, *M. chelonae* 1株の計11株について、dd 系マウスに対する尾静脈感染法による病原性を、主として臓器内生菌数の推移を指標として検討し次の結論を得た。

1) dd 系マウスを対象とした標準的な尾静脈接種法による AM の病原性は *M. tuberculosis* (Kuroho) と比較すると格段に弱い。すなわち AM 感染マウスにおいては菌接種後臓器内生菌数の明らかな経時的増加は本実験の観察期間では得られなかつた。

2) 濃厚菌液を接種すると、*M. fortuitum* によつて進行性の腎病変を惹起しえた。

3) *M. intracellulare* をはじめ病原性の弱い菌種については、適切な治療実験モデル作成のため今後病原菌の毒力と実験動物の条件の両観点から種々の検討が必要と考えられた。

文 献

- 1) Tarshis, M.S. and Frisch, A.W.: Amer. Rev. Tuberc., 65: 289, 1952.
- 2) Pollak, A. and Buhler, V.B.: Amer. Rev. Tuberc., 71: 74, 1955.
- 3) Durr, F.E. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 80: 876, 1959.
- 4) 牛場大蔵他: 結核, 36: 689, 1961.

- 5) 武谷健二他: 結核, 37: 135, 1962.
- 6) 松本光雄他: 結核, 37: 638, 1962.
- 7) 松本光雄他: 結核, 38: 404, 1963.
- 8) Armstrong, A.L. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 95: 20, 1967.
- 9) Youmans, G.P. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 83: 903, 1961.
- 10) Dunbar, F.P. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 89: 280, 1964.
- 11) 小山憲次郎: 結核, 39: 64, 1964.
- 12) 小山憲次郎: 結核, 40: 295, 1965.
- 13) Larson, C.L. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 98: 1055, 1968.
- 14) Pejovic, et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 99: 786, 1969.
- 15) Mayer, R.L. et al.: Amer. Rev. Tuberc., 77: 694, 1958.
- 16) Wolinsky, E.: Amer. Rev. Tuberc., 80: 522, 1959.
- 17) Steenken, W., Jr. et al.: Amer. Rev. Tuberc., 78: 454, 1958.
- 18) Shronts, J.S. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 104: 728, 1971.
- 19) Burjanová, B. and Urbancik, R.: Adv. Tuberc. Res., 17: 154, 1970 (Karger, Basel/New York).
- 20) 青木正和: 結核, 42: 301, 1967.
- 21) 工藤祐是他: 結核菌の臨床細菌学, 結核予防会, p. 230~235, 1970.
- 22) Wells, A.Q. et al.: Amer. Rev. Tuberc. Pul., 72: 53, 1955.
- 23) 上田雄幹: 結核, 51: 491, 1976.
- 24) Dunbar, F.P. et al.: Scand. J. Resp. Dis., 49: 153, 1968.
- 25) 久世文幸他: 京大胸部研紀要, 8: 99, 1975.
- 26) 下出久雄: 結核, 46: 13, 1971.