

原 著

抗 α 抗体による遅育抗酸菌の血清学的
同定に関する研究

Mycobacterium avium-*M. intracellulare* complex および
Mycobacterium kansasii における α 抗原の特異性

田 坂 博 信・松 尾 吉 恭

広島大学医学部細菌学教室

受付 昭和 58 年 6 月 29 日

SEROLOGICAL IDENTIFICATION OF SLOWLY GROWING MYCOBACTERIA
WITH ANTI-ALPHA ANTIBODY :

Specificity of Alpha Antigen among the Strains of *Mycobacterium avium*-*M. intracellulare*
complex and *Mycobacterium kansasii*

Hiromichi TASAKA* and Yoshiyasu MATSUO

(Received for publication June 29, 1983)

Specificity of antigen determinants in alpha antigens of *Mycobacterium intracellulare* and *Mycobacterium kansasii* was investigated in 159 strains classified into 14 species of slowly growing mycobacteria by the agar gel diffusion technique using the respective absorbed anti-alpha serum. The specific antigen determinants in alpha antigen of *M. intracellulare* were detected in 85 out of 87 strains classified as *M. intracellulare* or *M. avium*, and not in strains belonging to other species. The specific antigen determinants in alpha antigen of *M. kansasii* were detected only in all the 20 strains classified as *M. kansasii*.

Fifty-two strains of clinical isolates of slowly growing mycobacteria were subjected to serological identification using absorbed anti-alpha antibodies against *M. intracellulare*, *M. kansasii* and *M. tuberculosis*. Thirty-two strains were identified as *M. intracellulare*, 6 as *M. kansasii* and one as *M. tuberculosis* by both the serological and routine methods with 100% agreement. None of other strains belonged to these species. These results suggest that the absorbed anti-alpha-*M. intracellulare* and -*M. kansasii* sera are useful for serological identification of these species of slowly growing mycobacteria.

Keywords: Mycobacterial alpha antigen, Anti-alpha antibody, Serological identification, Slowly growing mycobacteria, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium kansasii*

キーワードズ: 抗酸菌アルファ抗原, 抗アルファ抗体, 血清学的診断法, 遅育抗酸菌, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium kansasii*

* From the Department of Bacteriology, Hiroshima University School of Medicine, Kasumi, Minamiku, Hiroshima 734 Japan.

緒 言

非定型抗酸菌を血清学的に鑑別ないし同定しようとする試みは、多くの研究者によってなされて来た^{1)~3)}。しかし、残念ながら臨床的に用いられる方法はいまだ確立されていない⁴⁾。その理由としては、多くの場合に精製されていない抗原が用いられ、それが、判定および再現性に問題を生じているためと考えられる。

抗酸菌から分離・精製された抗原の1つに米田・福井^{5)~10)}によって *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv株の非加熱培養液から精製された α 抗原がある。 α 抗原は分子量約30,000のタンパクで、遅育抗酸菌種に広く分布する cross-reacting material である。 α タンパク分子は遅育抗酸菌種に広く分布する共通抗原決定基のほかに、特異抗原決定基の少なくとも2群の抗原決定基群をもつものと考えられるので、特異抗原決定基を検討し、遅育抗酸菌の血清学的鑑別の可能性を追究しようとして意図した。既報¹¹⁾のように遅育抗酸菌からの精製 α 抗原は、米田・福井の精製法を改良し、更にその共通抗原決定基の特性を利用する免疫学的吸着クロマトグラフィー法を用いることによって、比較的容易に得ることができる。そこで、我国の非定型抗酸菌症の90%以上の原因菌である *Mycobacterium intracellulare*¹²⁾、および最近、全国各地から感染症の報告がなされるようになった *Mycobacterium kansasii*¹²⁾の α 抗原を精製し、その特異性を既命名菌株および臨床分離菌株について血清学的検討を行なったので、以下報告する。

材料ならびに方法

1. α 抗原の精製：*M. intracellulare* ATCC 19350株のR型変異株および *M. kansasii* ATCC 12478株をそれぞれ根本¹³⁾の変法 Sauton 培地に37°C、4~6週

間浮上培養した。それぞれの培養液より既報¹¹⁾の方法に従い、濾過、50%硫酸塩析により析出したタンパク性沈殿物について Ultrogel AcA54によるゲル濾過および DEAE sephacel でイオン交換クロマトグラフィーを行ない、部分精製 α 抗原液を得た。分画液中の α 抗原の検出は、非吸収抗 α -*M. tuberculosis* (抗 α -T) 抗体を用いて寒天ゲル内沈降反応で行なった。部分精製 α 抗原を、更に抗 α -T 抗体結合 sepharose カラムを用いる吸着クロマトグラフィー法で処理し、精製 α -*M. intracellulare* (α -I) 抗原および α -*M. kansasii* (α -K) 抗原を得た。

2. 抗 α 抗体の作製：既報¹¹⁾通り、それぞれの精製 α 抗原を Freund の incomplete adjuvant と等量混和し、油中水滴として、ウサギを免疫して作製した。

3. 吸収抗 α 抗体の作製：既報¹¹⁾の方法に従い、それぞれの抗 α 抗体より硫酸分画により粗精製した Immunoglobulin G 20-40mg/ml に対し部分精製 α -T 抗原10~20mg を加え、37°C に1時間、更に4°C に一夜放置後遠沈した。

4. 供試菌株：既命名遅育抗酸菌14菌種、159菌株 (Table 1 参照)、および臨床分離株は国立療養所広島病院分離株33株中速育抗酸菌5株を除いた28株 (同定名は伏せて分与をうけた)、広島大学医学部附属病院中央検査部分離株10株 (未同定) および1978年以降地域医療機関より同定を依頼された遅育抗酸菌14株の計52株。

5. 供試菌よりの抽出抗原液の作製：既報¹¹⁾の方法に従い、供試菌をそれぞれ1%小川培地上37°C、2~3週間、ただし *Mycobacterium marinum* のみは33°C、1~2週間、培養したのち、-20°C に冷却した小型乳鉢に移し、ほぼ等量のガラスビーズとともに磨砕し、0.02 M Tris buffer, pH8.0 を加え、遠沈し、タンパク量2 mg/ml 以上になるように調製した。

Table 1. Strains Used for Serological Identification

Received as:		Source ^b
Species	Strain ^a	
<i>M. tuberculosis</i>	H37Rv	K. Kanai
	H37Ra	M. Tsukamura
<i>M. microti</i>	ATCC 19422	H. Takahashi
	Pattyn 1279	H. Takahashi
<i>M. bovis</i>	Ravenel	H. Saito
	BCG	H. Takahashi
<i>M. kansasii</i>	ATCC 12478	H. Saito
	P 8	H. Saito
	P 21	H. Saito
	ML	H. Saito
	07011	M. Tsukamura

Table 1. Cont'd

Received as:		Source ^b
Species	Strain ^a	
<i>M. kansasii</i>	07012	M. Tsukamura
	07021	M. Tsukamura
	07022	M. Tsukamura
	07023	M. Tsukamura
	07024	M. Tsukamura
	07130	M. Tsukamura
	07131	M. Tsukamura
	07132	M. Tsukamura
	07133	M. Tsukamura
	07134	M. Tsukamura
	07135	M. Tsukamura
	07136	M. Tsukamura
	07138	M. Tsukamura
	07139	M. Tsukamura
	07140	M. Tsukamura
<i>M. marinum</i>	B-916	H. Saito
	# 1160	H. Saito
	# 1325	H. Saito
	ATCC 927	H. Saito
	Irita	H. Saito
	Shirohmaru	H. Saito
	08001	M. Tsukamura
	08019	M. Tsukamura
	08020	M. Tsukamura
	08021	M. Tsukamura
	08026	M. Tsukamura
	08027	M. Tsukamura
<i>M. gastri</i>	ATCC 15754	H. Takahashi
	W 465	H. Takahashi
	W 479	H. Takahashi
<i>M. nonchromogenicum</i>	ATCC 19530	H. Saito
	ATCC 19531	H. Saito
	1712	H. Saito
	1714	H. Saito
	ATCC 19532	H. Saito
<i>M. terrae</i>	ATCC 15755	H. Saito
	W-511	H. Saito
	W-897	H. Saito
	W-168 A	H. Saito
<i>M. triviale</i>	ATCC 19386	H. Saito
	ATCC 23290	H. Saito
	ATCC 23291	H. Saito
	ATCC 23292	H. Saito
<i>M. gordonae</i>	ATCC 14470	H. Takahashi
	ATCC 19277	H. Takahashi

Table 1. Cont'd

Received as:		Source ^b	
Species	Strain ^a		
<i>M. gordonae</i>	ATCC 23283	H. Takahashi	
<i>M. scrofulaceum</i>	ATCC 19981	H. Saito	
	ATCC 19073	H. Saito	
	W-194	H. Saito	
	ATCC 19275 (<i>M. marianum</i>)	H. Saito	
	Bridge (serotype 41)	H. Saito	
	963 (serotype 41)	H. Saito	
	Lunning (serotype 42)	H. Saito	
	EW 10407 (serotype 42)	H. Saito	
	Gause (serotype 43)	H. Saito	
	Brooks (serotype 43)	H. Saito	
	<i>M. intracellulare</i>	P 55 (serotype 4)	H. Saito
		13528-1079 (serotype 4)	H. Saito
		4443-1237 (serotype 5)	H. Saito
		25546-759 (serotype 5)	H. Saito
		34540 (serotype 6)	H. Saito
12315/67 (serotype 6)		H. Saito	
P 49 (serotype 7)		H. Saito	
Manten (serotype 7)		H. Saito	
SJB 2 (serotype 8)		H. Saito	
23435 (serotype 8)		H. Saito	
17584-286 (serotype 9)		H. Saito	
6450-204 (serotype 9)		H. Saito	
Iowa (serotype 10)		H. Saito	
1602-1965 (serotype 10)		H. Saito	
14186-1424 (serotype 11)		H. Saito	
Vitoch (serotype 11)		H. Saito	
Woodduck (serotype 12)		H. Saito	
P 42 (serotype 12)		H. Saito	
Chance (serotype 13)		H. Saito	
Lynn, H. (serotype 13)		H. Saito	
P 39 (serotype 14)	H. Saito		
Edgar (serotype 14)	H. Saito		
Dent (serotype 15)	H. Saito		
Simpson (serotype 15)	H. Saito		
Yandle (serotype 16)	H. Saito		
(ATCC 13950)			
ATCC 15987 (serotype 16)	H. Saito		
P 54 (serotype 17)	H. Saito		
Cornell (serotype 17)	H. Saito		
Melnick (serotype 18)	H. Saito		
2219 (serotype 18)	H. Saito		
Darden (serotype 19)	H. Saito		
WS 52 (serotype 19)	H. Saito		
6312 (serotype 20)	H. Saito		

Table 1. Cont'd

Received as:		Source ^b
Species	Strain ^a	
<i>M. intracellulare</i>	W 53 (serotype 20)	H. Saito
	2993 (serotype 21)	H. Saito
	T 77 (serotype 21)	H. Saito
	Sasaki	H. Saito
	Minamizawa	H. Saito
	Saito (S)	H. Saito
	Takakura	H. Saito
	Terai	H. Saito
	Takata	H. Saito
	Suhara	H. Saito
	Tagami	H. Saito
	Ohnari	H. Saito
	Saito (T)	H. Saito
	Nakamura	H. Saito
	Ishiburo	H. Saito
	Okayama	H. Saito
	Okada	H. Saito
	Ueda	H. Saito
	Shimamoto	H. Saito
	Gamoh	H. Saito
	Tasaka	H. Saito
	ATCC 15985	H. Saito
	ATCC 19076	H. Saito
	ATCC 19077	H. Saito
	ATCC 19078	H. Saito
	Tanabe (mice)	H. Takahashi
	K 2	H. Takahashi
	K 3	H. Takahashi
	K 4	H. Takahashi
	K 8	H. Takahashi
	K 10	H. Takahashi
	K 14	H. Takahashi
	K 16	H. Takahashi
	K 17	H. Takahashi
	Ninomiya	H. Takahashi
	ATCC 15986	H. Takahashi
<i>M. avium</i>	Kirchberg	H. Saito
	Nagoya 59	H. Saito
	Flamingo	H. Saito
	P 52	H. Saito
	P 53	H. Saito
	4121	H. Saito
	ATCC 15773	H. Saito
	ATCC 15976	H. Saito
ATCC 15977	H. Saito	

Table 1. Cont'd

Received as:		Source ^b
Species	Strain ^a	
<i>M. avium</i>	ATCC 17939	H. Saito
	ATCC 17940	H. Saito
	ATCC 17941	H. Saito
	ATCC 17942	H. Saito
	ATCC 19075	H. Saito
	B 92 (serotype 1)	H. Saito
	B 87 (serotype 1)	H. Saito
	14141 (serotype 2)	H. Saito
	6194 (serotype 2)	H. Saito
	6195 (serotype 3)	H. Saito
	6197 (serotype 3)	H. Saito
	ATCC 17939	M. Tsukamura
	<i>M. xenopi</i>	ATCC 19156
ATCC 19276		H. Saito
ATCC 19970		H. Saito

a) The serotypes are followed by the numbering of Wolinsky and Schaefer (14).

b) K. Kanai and H. Takahashi, National Institute of Health, Tokyo, Japan; M. Tsukamura, The National Chubu Hospital, Obu, Japan; H. Saito, Hiroshima University, Hiroshima, Japan.

実験結果

1. 既命名菌株について

1. 抗 α -T, 抗 α -Iおよび抗 α -K抗体の比較: Fig. 1に示すように, 抗 α -T抗体は α -Iおよび α -K抗原との間に一部融合する沈降線を形成した。同様に, 抗 α -I抗体は, α -Tおよび α -K抗原との間に, また抗 α -K抗体は, α -Tおよび α -I抗原との間に一部融合する沈降線を形成した。

2. 吸収抗 α -T, 吸収抗 α -Iおよび吸収抗 α -K抗体の特異性: 共通抗原決定基に対する抗体を除去するために吸収処理を行なったところ, それぞれの吸収抗 α 抗体は対応する抗原とのみ沈降線を形成した (Fig. 2参照)。したがって, ここに形成された沈降線は特異抗原決定基に由来するものと思われる。

3. α -I抗原の分布と特異性の程度: Table 2に示したように吸収抗 α -I抗体は, *Mycobacterium avium* 20株 (中 Schaefer の serotypes 1~3, 各2株ずつ6株を含む) 中18株の抽出抗原液との間に融合する沈降線を形成した。同様に, *M. intracellulare* 69株 (中 Schaefer の serotypes 4~21, 各2株ずつ36株を含む) 中67株の抽出抗原液との間に融合する沈降線を形成した。これに対し *M. avium*-*M. intracellulare* complex 以外の供試12菌種, 70株の抽出抗原液との間には, 沈降線の形

成は全く認められなかった。他方, *M. avium*-*M. intracellulare* complex 89株中88株の抽出抗原液と吸収抗 α -Tおよび吸収抗 α -K抗体との間にも沈降線の形成は認められなかったが, 他の1株 (ATCC19076株) のみは吸収抗 α -T抗体との間にのみ一部融合する沈降線を生じた。

M. avium-*M. intracellulare* complex に分類されている菌株のうち吸収抗 α -I抗体との間に沈降線を形成しなかった4株について, 若干の生理学的および生化学的性状の検査および抗原分析を行なった (Table 3参照)。ATCC17939株は Tween 水解陽性および Ethambutol に感受性の点で *M. avium*-*M. intracellulare* complex とは異なり, また, その抽出抗原液中に α 抗原の存在は認められなかった。ATCC17939株一束村株も, 全く同様の性状を示した。6195株は暗所で培養しても黄色の集落で, 2週間露光培養すると光増強効果が認められたので *M. avium*-*M. intracellulare* complex とは異なった。P49株および ATCC19076株は, α -I抗原の特異抗原決定基をもたない点以外は, *M. avium*-*M. intracellulare* complex に一致する性状を示した。

4. α -K抗原の分布と特異性の程度: 吸収抗 α -K抗体は, 供試 *M. kansasii* 20株, 全株の抽出抗原液との間にのみ融合する沈降線を形成した。*M. marinum* を

Table 2. Distribution of Specific Antigen Determinants of α -T, α -I and α -K Antigens among Strains of Slowly Growing Mycobacteria

Strain and number tested	Number of strains of positive reaction against absorbed serum		
	anti α -T	anti α -I	anti α -K
<i>M. tuberculosis</i> 2	2	0	0
<i>M. microti</i> 2	2	0	0
<i>M. bovis</i> 2	2	0	0
<i>M. kansasii</i> 20	0	0	20
<i>M. marinum</i> 12	0	0	0
<i>M. gastri</i> 3	0	0	0
<i>M. nonchromogenicum</i> 5	0	0	0
<i>M. terrae</i> 4	0	0	0
<i>M. triviale</i> 4	0	0	0
<i>M. gordonae</i> 3	0	0	0
<i>M. scrofulaceum</i> 10	0	0	0
<i>M. intracellulare</i> 69	1*	67	0
<i>M. avium</i> 20	0	18	0
<i>M. xenopi</i> 3	0	0	0

* spur formation

Table 3. Characteristics and Antigen Analysis of Strains P 49 and ATCC 19076 of *M. intracellulare* and Strains ATCC 17939 and 6195 of *M. avium*

Character*	P 49	ATCC 19076	ATCC 17939	6195
Slow growth	+	+	+	+
Colonial morphology	S	S	R	S
Colonial pigmentation				
In dark	-	(+)	-	+
Photoactive (1h)	-	-	-	-
Photoactive (2w)		(+)		+
Niacin production	-	-	-	-
Nitrate reduction	-	-	-	-
Tween hydrolysis (5d)	-	-	+	-
Arylsulfatase (2w)	-	+	+	+
Resistance to EB	+	+	-	+
Tolerance to PA	-	-	-	-
Resistance to PNB	+	+	+	+
Resistance to HA	+	+	+	+
anti α -T unabsorbed	spur	spur	-	spur
absorbed	-	spur	-	-
anti α -I unabsorbed	spur	spur	-	spur
absorbed	-	-	-	-
anti α -K unabsorbed	spur	spur	-	spur
absorbed	-	-	-	-

* Tested by the method of Tsukamura et al⁽⁸⁾

はじめ *M. kansasii* 以外の供試13菌種、139株の抽出抗原液との間の沈降線の形成は皆無であった。他方、*M. kansasii*20株の抽出抗原液は、吸収抗 α -T および吸収抗 α -I 抗体との間に、いずれも沈降線を形成しなかった (Table 2 参照)。

II. 臨床分離株について

C-13株の寒天ゲル内沈降反応の例を Fig. 3 に示した。C-13株抽出抗原液は吸収抗 α -I 抗体との間にのみ融合する沈降線を形成したので、*M. intracellulare* と同定した。このようにして検討した成績は、まとめて Table 4 に示した。国療広島病院分離28株 (A-01~A-28) 中、13株は *M. intracellulare* に、また5株は *M. kansasii* と同定された。この結果を報告し、従来法での同定結果と照合したところ、*M. intracellulare* および *M. kansasii* に関しては100%の一致であった (望月孝二一私信)。広島大学医学部附属病院中央検査部分離の10株 (B-01~B-10) 中では、*M. intracellulare* 6株および *M. tuberculosis* 1株が血清学的に同定された。その後、従来法で同定したところ、これも血清学的同定と100%の一致をみた。本学の関連医療機関から同定を依頼され

た14株 (C-01~C-14) 中、C-01~C-12の12株は *M. intracellulare*11株および *M. kansasii* 1株が血清学的に同定され、既同定の結果と一致した。C-13株および C-14株は、血清学的検討ののちに従来法で同定したが、両菌株ともいずれの方法でも *M. intracellulare* であった。

以上のように、臨床分離52株中の *M. intracellulare*32株、*M. kansasii* 6株および *M. tuberculosis* 1株は、血清学的に100%正確に同定された。なお、血清学的同定が陰性に終わった菌株は、従来法ではすべてこれら以外の菌種に属するものであった。

考 察

非定型抗酸菌の同定法には、日本結核病学会抗酸菌分類委員会¹⁵⁾、東村¹⁶⁾および内藤ら¹⁷⁾の提案があり、また最近、簡易同定法として東村ら¹⁸⁾および斎藤ら¹⁹⁾の方法が報告されている。これらはいずれも抗酸菌の生理学および生化学的性状検査に基づく方法で、免疫学的方法は、いまだ実際の同定に應用されるに至っていない。しかし、血清学的診断法は、特異性の高い反応で

Table 4. Serological Identification of Clinical Isolates of Slowly Growing Mycobacteria by Absorbed Anti-alpha Antibodies

Strain	absorbed serum			unabsorbed anti α -T	Serological identification
	anti α -I	anti α -K	anti α -T		
A-01	-	+	-	+	<i>M. kansasii</i>
A-02	-	+	-	+	<i>M. kansasii</i>
A-03	-	+	-	+	<i>M. kansasii</i>
A-04	-	+	-	+	<i>M. kansasii</i>
A-05	-	-	-	+	unidentified
A-06	-	-	-	+	unidentified
A-07	-	-	-	+	unidentified
A-08	-	-	-	+	unidentified
A-09	-	-	-	+	unidentified
A-10	-	-	-	+	unidentified
A-11	-	-	-	-	unidentified
A-12	-	-	-	+	unidentified
A-13	-	-	-	+	unidentified
A-14	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-15	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-16	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-17	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-18	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-19	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-20	-	-	-	+	unidentified
A-21	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-22	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>

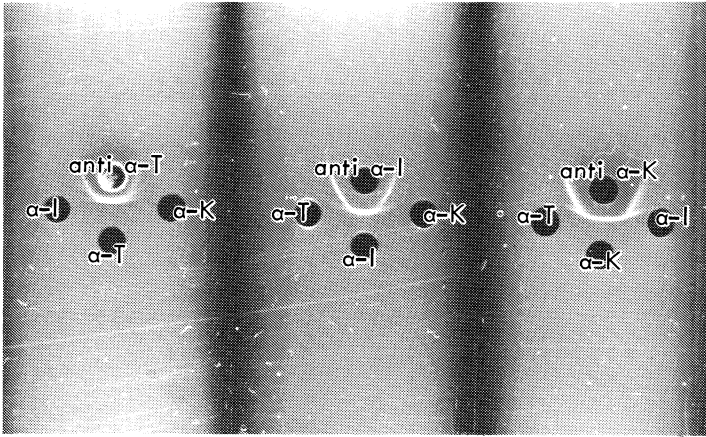


Fig. 1. Antigen analysis of alpha-T, alpha-I and alpha-K with respective unabsorbed anti-alpha serum.

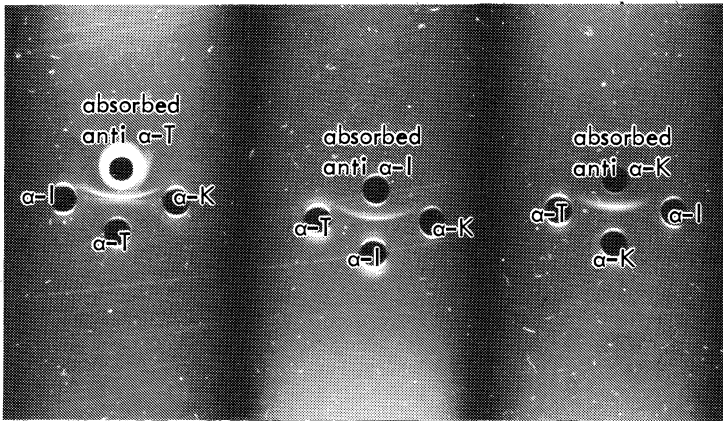


Fig. 2. Agar gel precipitation pattern of alpha-T, alpha-I and alpha-K antigens using absorbed anti-alpha sera.

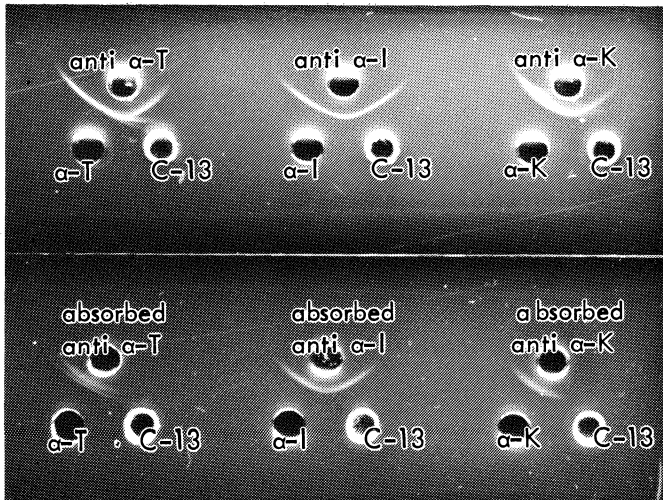


Fig. 3. Serological identification of clinical isolates of slowly growing mycobacteria by agar gel diffusion technique using anti-alpha sera.

Table 4. Cont'd

Strain	absorbed serum			unabsorbed anti α -T	Serological identification
	anti α -I	anti α -K	anti α -T		
A-23	-	+	-	+	<i>M. kansasii</i>
A-24	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-25	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-26	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-27	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
A-28	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
B-01	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
B-02	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
B-03	-	-	-	-	unidentified
B-04	-	-	-	-	unidentified
B-05	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
B-06	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
B-07	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
B-08	-	-	-	-	unidentified
B-09	-	-	+	+	<i>M. tuberculosis</i>
B-10	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-01	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-02	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-03	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-04	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-05	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-06	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-07	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-08	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-09	-	+	-	+	<i>M. kansasii</i>
C-10	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-11	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-12	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-13	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>
C-14	+	-	-	+	<i>M. intracellulare</i>

+ = fuse formation, + = spur formation

あり、質のよい抗血清を得ることができれば、細菌同定の一手段として有用なことは異論のないところである。各菌種から species specific な抗原を見出し分離・精製することができれば、それに越したことはないが、それはなかなか困難なことである。

米田・福井によって分離された α 抗原に対し Daniel ら²⁾は、Antigen 6 と同一のものであろう、そして、このものは抗酸菌全般に共通な抗原決定基と結核菌および非定型抗酸菌にそれぞれ特異的な抗原決定基の少なくとも2群の抗原決定基をもっているだろうと指摘し

ている。私たちは、非定型抗酸菌全菌種に共通な特異的な抗原決定基という点に疑問を抱き、非定型抗酸菌各菌種のもつ特異抗原決定基の特異性の程度を明らかにしたいと考え、検討をはじめた。

その結果、*M. intracellulare* の α 抗原の有する特異抗原決定基は、テストした *M. avium*-*M. intracellulare* complex 89 株中 *Mycobacterium scrofulaceum* および *Mycobacterium nonchromogenicum* complex に所属させる方が適切と思われる2株を除いた87株中85株(97.7%)に見出され、結核菌を含む遅育抗酸菌12

菌種, 70株中には全く見出だされない特異性の高いものであった。*M. avium*, *M. intracellulare* および *M. scrofulaceum* は計数分類的^{20)~23)}, 脂質分析的²⁴⁾ および血清学的²⁵⁾²⁶⁾ に類似の性状を呈することから *M. avium*-*M. intracellulare*-*M. scrofulaceum* complex²⁷⁾ の名前が提案されており, 最近東村はこれら3菌種に, 更に *M. asiaticum* を加えた4菌種を *M. avium* series²³⁾ と呼ぶことを提案している。*M. avium* と *M. intracellulare* の α 抗原の特異抗原決定基は同一のものであるが, *M. scrofulaceum* は吸収抗 α -I抗体との間に沈降線を形成しない (Table 2 参照) ことから異なる特異抗原決定基を有しているものと予想される。東村²⁷⁾ は, *M. scrofulaceum* と *M. intracellulare* の中間型の存在を報告しており, これら中間型と α 抗原の特異抗原決定基との関係にも興味もたれる。*M. kansasii* の α 抗原の有する特異抗原決定基は, テストした *M. kansasii* 20株, 全株 (100%) に見出だされたが, その他の遅育抗酸菌13菌種, 139株中には皆無であり, species specific なものであるといえよう。

以上の結果より, α 抗原の特異抗原決定基は, Danielらの言う非定型抗酸菌全菌種に共通なものではなく, *M. avium*-*M. intracellulare* complex および *M. kansasii* には, それぞれ特異的な抗原決定基があり, その特異性の程度は, 血清学的同定を行なうに十分な, 極めて有用なものと思われたので, 引き続き臨床分離株について血清学的同定を試みた。その結果, 遅育抗酸菌52株中32株は *M. intracellulare* に, 6株は *M. kansasii* に, および1株は *M. tuberculosis* に, 血清学的方法でも従来法でも100%の一致をみて同定された。

吸収抗 α 抗体を用いる遅育非定型抗酸菌の血清学的同定の可能性は, 大きいものと思われるので, 更に抗 α 抗体の種類を増やして検討したいと考えている。

結 語

M. intracellulare および *M. kansasii* の α 抗原の特異性および菌種内分布について, 遅育抗酸菌14菌種, 159株について検討した。

M. intracellulare の α 抗原の特異抗原決定基は, *M. avium*-*M. intracellulare* complex に特異的で, その生理・生化学的性状を満足する供試87株中85株に見出だされたが, その他の遅育抗酸菌株中には見出だされなかった。

M. kansasii の α 抗原の特異抗原決定基は species specific で, 供試 *M. kansasii* 20株全例にのみ見出だされた。

臨床分離の遅育抗酸菌52株中の *M. intracellulare*, *M. kansasii* および *M. tuberculosis* は血清学的方法でも従来法でも100%の一致をみて同定された。

M. intracellulare および *M. kansasii* の α 抗原の特異抗原決定基は, 血清学的同定のマーカーとなりうる

十分な条件を満たしているものと考えられた。

謝 辞

菌株を御分与下さった金井興美副所長および高橋宏博士 (国立予防衛生研究所), 東村道雄博士 (国立療養所中部病院), 望月孝二院長 (国立療養所広島病院), 斎藤肇教授 (現島根医科大学) ならびに小田咲子副技師長 (広島大学医学部附属病院中央検査部) に深謝いたします。

本論文の要旨は, 昭和58年4月, 第58回日本結核病学会総会 (京都市) において報告した。

文 献

- 1) Barksdale, L. and Kim, K-S. : *Mycobacterium*, *Bacteriol. Rev.* 41 : 217, 1977.
- 2) Daniel, T.M. and Janicki, B. W. : *Mycobacterial antigens : a review of their isolation, chemistry, and immunological properties*, *Microbiol. Rev.* 42 : 84, 1978.
- 3) Goren, M. B. : *Immunoreactive substances of mycobacteria*, *Am Rev Respir Dis*, 125 (Suppl) : 50, 1982.
- 4) 東村道雄 : 抗酸菌の同定法一ある展望, *結核*, 57 : 435, 1982.
- 5) Yoneda, M. and Fukui, Y. : *Extracellular proteins of tubercle bacilli I. Zone-electrophoretic purification of the proteins of a virulent strain (H37Rv) of Mycobacterium tuberculosis*, *Biken's J.* 4 : 25, 1961.
- 6) Yoneda, M. and Fukui, Y. : *Extracellular proteins of tubercle bacilli II. Some serological properties of purified extracellular proteins of a virulent strain (H37Rv) of Mycobacterium tuberculosis*, *Biken's J.* 4 : 121, 1961.
- 7) Fukui, Y. and Yoneda, M. : *Extracellular proteins of tubercle bacilli III. Column chromatographical purification of the proteins of a virulent strain (H37Rv) of Mycobacterium tuberculosis*, *Biken's J.* 4 : 187, 1961.
- 8) Fukui, Y. et al. : *Extracellular proteins of tubercle bacilli IV. α and β antigens as major extracellular protein products and as cellular components of a strain (H37Rv) of Mycobacterium tuberculosis*, *Biken J.* 8 : 189, 1965.
- 9) Yoneda, M., Fukui, Y. and Yamanouchi, T. . *Extracellular proteins of tubercle bacilli V. Distribution of α and β antigens in various mycobacteria*, *Biken J.* 8 : 201, 1965.
- 10) Yoneda, M. and Fukui, Y. : *Isolation, purification*

- tion, and characterization of extracellular antigens of *Mycobacterium tuberculosis*, Am Rev Respir Dis, 92 : 361, 1965.
- 11) Tasaka, H., Kiyotani, K. and Matsuo, Y. : Purification and antigenic specificity of alpha protein (Yoneda and Fukui) from *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium intracellulare*, Hiroshima J Med Sci, 32 : 1, 1983.
 - 12) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班 : 日本における非定型抗酸菌症の研究 (国療非定型抗酸菌共同研究班1980年度報告) —— *Mycobacterium kansasii* 症の 'Endemic Status' から 'Epidemic Status' への変化, 結核, 57 : 299, 1982.
 - 13) 根本 久他 : ツベルクリン製造法の検討 II. Sauton 培地の再検討, 家畜衛試研究報告, 53 : 14, 1965.
 - 14) Wolinsky, E. and Schaefer, W. B. : Proposed numbering scheme for mycobacterial serotypes by agglutination, Int J Syst Bacteriol, 23 : 182, 1973.
 - 15) 日本結核病学会抗酸菌分類委員会 : 臨床材料に見出される抗酸菌とその鑑別, 同定法——抗酸菌分類委員会試案, 結核, 57, 247, 1976.
 - 16) 東村道雄 : 簡便な抗酸菌の同定法, 日本胸部臨床, 36 : 278, 1977.
 - 17) 内藤祐子・久世文幸・前川暢夫 : 抗酸菌の臨床細菌学的同定に関する一考察, 結核, 54 : 481, 1979.
 - 18) 東村道雄・水野松司・村田 浩 : 簡単な検査による抗酸菌の同定法, 結核, 57 : 335, 1982.
 - 19) 斎藤 肇・浅野健治・高倉鉄也 : 抗酸菌同定キットの開発(第1報), 業室株を用いてのキットの有用性の評価, 臨床検査, 26 : 1539, 1982.
 - 20) Wayne, L. G. : Selection of characters for an adansonian analysis of mycobacterial taxonomy, J Bacteriol, 93 : 1382, 1967.
 - 21) Meissner, G. et al. : A co-operative numerical analysis of nonscoto- and nonphotochromogenic slowly growing mycobacteria, J Gen Microbiol, 83 : 207, 1974.
 - 22) 東村道雄 : 抗酸菌の分類学 II. 抗酸菌の菌種——群別の試案, 結核, 55 : 341, 1980.
 - 23) Tsukamura, M. : Numerical classification of 280 strains of slowly growing mycobacteria, Proposal of *Mycobacterium tuberculosis* series, *Mycobacterium avium* series, and *Mycobacterium nonchromogenicum* series, Microbiol Immunol, 27 : 315, 1983.
 - 24) Marks, J., Jenkins, P. A. and Schaefer, W. B. : Thinlayer chromatography of mycobacterial lipids as an aid to classification : Technical improvements; *Mycobacterium avium*, *M. intracellulare* (Battey bacilli), Tubercle, 52 : 219, 1971.
 - 25) Schaefer, W. B. : Serologic identification and classification of the atypical mycobacteria by their agglutination, Am Rev Respir Dis, 92 (Suppl.) : 85, 1965.
 - 26) Reznikov, M. and Leggo, J. H. : Modification of Schafer's procedure for serotyping of organisms of the *Mycobacterium avium*-*M. intracellulare*-*M. scrofulaceum* complex, Appl Microbiol, 23 : 819, 1972.
 - 27) 東村道雄 : *Mycobacterium scrofulaceum* と *Mycobacterium intracellulare* の中間型, 医療, 27 : 232, 1973.