

第58回総会特別講演

実験的非定型抗酸菌症

久 世 文 幸

京都大学結核胸部疾患研究所

受付 昭和 58 年 7 月 8 日

The 58th Annual Meeting Special Lecture

EXPERIMENTAL (CHEMOTHERAPY OF) MYCOBACTERIOSES
PROVOKED BY ATYPICAL MYCOBACTERIA

Fumiyuki KUZE*

(Received for publication July 8, 1983)

Thirty years have passed since the epoch-making report of the disease caused by atypical acid-fast bacilli presented by Pollak and Buhler in the beginning of the 1950s. During these three decades, the epidemiology, and the clinical features of the diseases caused by so called atypical mycobacteria have been elucidated by many investigators, who have been supported by a remarkable advance in the field of the classification of mycobacteria.

Many problems are still unsolved, however, and the urgent problems to be solved exist in the treatment of *Mycobacterium avium-M. intracellulare* complex (*M. intracellulare*) infection, which is now the most prevalent disease among atypical mycobacterial infections in Japan. Because of lack of susceptibilities of *M. intracellulare* against various antimicrobial substances, *in vitro* and *in vivo* energetic investigations are still of paramount importance. In this lecture, the author intended to discuss the present status of experimental studies from the point of clinical mycobacteriology with intentional references to our recent studies.

(1) *In vitro* studies: Many clinical investigators have suggested the benefits of using multi-drug regimens in the treatment of *M. intracellulare* infections. Our *in vitro* studies demonstrated the potentiations of the bacteriostatic effects against *M. intracellulare* in various 3-antituberculous drug regimens, and possibly in some 5-drug regimens on solid medium. However, the results were rather unpredictable, and the elucidation of the fundamental mechanisms of the drug resistance of *M. intracellulare* are urgently needed. In the study of different colony-formers [thin-transparent colony-formers (T-formers), opaque dome-shaped colony-formers (D(O)-formers), intermediate colony-formers (IM-formers), rough colony-formers (R-formers)], marked differences between D(O)-formers and the other colony-formers were demonstrated. The D(O)-formers tended to be far less resistant to a number of drugs than the others. Relative prevalences of these different colony-formers in an individual strain, especially in stock cultures, are diverse, and any evaluation of *in vitro* susceptibilities of stock cultures should have a reference to colony morphology.

(2) *In vivo* studies: The efforts of making a suitable animal model for experimental chemotherapy of *M. intracellulare* infection have been hampered by the lack of or low pathogenicity (virulence) to experimental animals of *M. intracellulare*. A few investigators have reported, however, reasonably virulent strains for mice, which has encouraged our efforts to select a

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

virulent strain for mice. Our systematic search for a mouse (ddY) virulent strain was based on the following observations; that T-formers were more virulent for mice than the other colony-formers, that T-formers tended to be dysgonic on Ogawa medium, and that stock cultures for long periods of time should be avoided.

One strain of *M. intracellulare* (31F093T) revealed itself to be reasonably virulent for mice. The strain showed exclusively thin-transparent colonies immediately after the passage through mice, and by intravenous infections of relatively large inocula ($10^6 \sim 10^8$ v.u.), it provoked a chronic progressive systemic infection in mice. Macroscopic lung lesions appeared subacutely (beyond 6 weeks), and later liver and kidney lesions with an ever progressive splenomegaly. Viable bacilli in lung and spleen, especially in lung, showed steep uprisers until 9 to 11 weeks. Other macroscopic parameters demonstrated suitable characteristics of this model for experimental chemotherapy.

Intraperitoneal as well as air-borne infection models of mice with 31F093T strain showed a reasonable usability.

A few trials of experimental chemotherapy thus far done with our model of intravenous infection were presented. The bases of multi-drug chemotherapy for human *M. intracellulare* were partly qualified in treatments of murine *M. intracellulare* infections.

A few more animal models, with compromised animals and also with strains of different susceptibilities to drugs are needed for the more precise evaluations of *in vivo* efficacies of the various combinations of drugs.

はじめに

1950年代のはじめに Pollak と Buhler¹⁾ によって "yellow acid-fast bacillus" (= *Mycobacterium kansasii*) による 2 症例 (死亡例) が報告されてから 30 年経過している。この間抗酸菌分類学の進歩^{2)~5)} にささえられ結核菌群以外の多くの抗酸菌を原因菌とするいわゆる非定型抗酸菌 (AM) 症の疫学、臨床像について数々の知見^{6)~10)} が得られてきた。慢性肺感染症を主な病像とする本症の原因菌は代表的なものを取り上げても 10 種類近くになっているが、本邦における頻度が高く、特に重要な *M. avium*-*M. intracellulare* complex (以下 *M. intracellulare*) は諸種の抗菌薬に対して感受性が低く、opportunistic pathogen としての傾向が強いことも加わり、この菌による感染症の治療には数々の困難がある。現在飛躍的な発展を遂げた結核の化学療法は *in vitro* における薬剤感受性の検討、実験動物による感染モデルを用いた *in vivo* での治療効果の検討、これらに基礎づけられた本邦の誇る臨床治験の成果であると思ふが、AM 症の治療術式解明にもこの成果を十分に生かし、更に最近得られつつある抗酸菌の基礎的研究の成果をもふまえ、基礎、臨床が一体となって取り組む必要があると考える。

本格的な AM 症の研究が 30 年を経過した現在、臨床細菌学的な立場から、*in vitro* と *in vivo* での実験的な面での現状を再認識し、現時点での問題点をできるだ

け明らかにしたいと考える。この問題に関連して今回は *M. intracellulare* と *M. kansasii* に限り私どもの成績を中心に述べたい。

I. AM の *in vitro* 薬剤感受性

抗結核薬に対する AM の *in vitro* 感受性について現在までの主な文献^{11)~14)} によると *M. kansasii* は RFP, CS, TH に感受性を示し、その他結核菌よりは感受性は低いが、EB, アミノグリコシッド並びにペプチド系抗生物質, INH などにも比較的良好な感受性を持っている。これに反して *M. intracellulare* は抗結核薬全てに対して感受性が低く、私どもでの 1% 小川培地を用いた患者分離株の成績でも 50% 以上の菌株が感受性を示す薬剤は CS 1 剤であり、高濃度薬剤含有培地においてのみ SM, INH, KM, TH などに不完全耐性とか、少ない頻度で感受性を示すのみであった。この成績ではいかに希望的にみても、結核を治療してきた私どもの経験からは、抗結核薬の通常用いられる術式での *M. intracellulare* 症の細菌学的治癒は極めて困難であろうと考えられる。したがって *M. intracellulare* 症の化学療法を目指すには、(1)新しい抗菌薬の開発に努めること、(2)抗結核薬以外の抗菌薬を *M. intracellulare* を対象として再検討すること、(3)抗結核薬等の種々の組み合わせを綿密に検討し、効果のよりすぐれた術式を探索し、その "併用効果" を期待することなどの方策しかない。私どもはまず、抗結核薬の多剤組み合わせが *M. intracellulare* に対していかに作用するかについ

てなお検討の余地があると考えた。

〔1〕抗結核薬の *in vitro* 併用効果

多数の菌株処理の必要性から Tween albumin 液体培地を用い、実験条件をできるだけ簡略にした上で、各単独薬の MIC と、各薬剤を等量に混合した各種の3剤組み合わせでみられた最低発育阻止分割濃度 (Minimal Inhibitory Fractional Concentration=MIFC) との比較から組み合わせ効果の有無をまず推定したいと考えた。

1) *M. kansasii*: 図1 (略, Kuze et al. Rev Inf Dis 3: 887, 1981) は各単独薬の成績, 図2 (略, 久世他結核 52: 508, 1977) は各種3剤組み合わせを含めた成績であり、いずれも各薬剤濃度で発育を阻止された菌株の累積%を示した。RFP に良好な感受性を示すのがみられるが、図2にみられるようにRFP を含まない各種3剤組み合わせ術式、例えば SM·PAS·INH, KM·INH·EB, SM·INH·EB などにも各単独薬の成績と比較するとかなりの差をもって制菌力の増強が認められる。RFP を含む術式ではRFP の効果におおわれ、単独薬との差は明らかではないが、アミノグリコシッドなど、EB または TH との組み合わせでは制菌力増強の傾向が認められる。Tsang ら¹⁵⁾ は 7H11 培地を用いて22株の *M. kansasii* を検討し、INH·SM, INH·SM·EB の術式が各単独薬と比較し、制菌力の増強を示したと報告している。なお、図1でみられるように各単独薬の制菌効果を示す累積%の曲線は急傾斜を示し、*M. kansasii* では菌株ごとの感受性の差が少ないことが認められた。このように *M. kansasii* は各種の3剤組み合わせに対して感受性が良好であるが、結核菌と対比すると感受性は劣り、治療上留意すべきと考えられる。

2) *M. intracellulare*: 図3 (略, Kuze et al. Rev Inf Dis 3: 388, 1981) は各単独薬の成績, 図4 (略, 久世他結核 52: 336, 1977) は各種3剤組み合わせを含んだ成績である。単独薬検討に用いた菌株は米国分離の長期保存株も含んでおり、累積%の曲線はRFP, KM, EB, SM など極めてなだらかで菌株ごとの感受性の差が大きいと考えられる。図4は本邦分離株のみの成績であるが、*M. kansasii* の場合と同様、RFP を含む組み合わせも、含まない組み合わせも単独薬と比較すると制菌効果の増強は明らかではあるが、MIC または MIFC の絶対値としては *M. kansasii* にはるかに劣る成績である。結核菌との対比でもその差は極めて大きく、制菌効果の増強のみられる種々な3剤組み合わせでも制菌効果は充分というにはほど遠い。しかし、それぞれ制菌効果の弱い単独薬の組み合わせで、制菌力の増強がともかく得られたことは明らかで、私どもが *M. intracellulare* 症に対して抗結核薬の併用を使用する根拠が弱いながらも得られたことになる。

臨床での治療成績をみると、通常の抗結核薬の使用 (多くは3剤併用と考えられる) では本症の場合、菌陰

性化率は20%前後の低率にとどまるという報告^{16)~18)} が多く、KM·TH を主軸とした併用術式¹⁹⁾、あるいは KM·EB·(RFP) を主軸とした併用術式²⁰⁾ に比較的良好な成績を得ているものもあるが、化学療法の効果はかなりみられる文献^{21)~24)} では4剤以上の併用を使用しているものが多い。Wolinsky¹⁰⁾ は注射薬1剤を含む4剤併用で治療を開始することをすすめ、Lester²⁵⁾ は両側重症の肺感染症とか全身播種性の *M. intracellulare* 症に対しては、アミノグリコシッドなどの注射薬に加うるにINH, EB, TH, PZA, CS それに時にRFP と6~7剤併用をすすめている。もちろん副作用の厳密な監視のもとで、との条件付なのは申すまでもない。このように米国では4剤以上の多剤併用がかなり提唱されているようであるが、しかし、Rosenzweig²⁶⁾ はこのような多剤併用術式がそれほど高率に成功するとは限らないことから、極めて重症例に限るべきだとし、Dutt ら²⁷⁾ は5剤以上の併用は3剤ないし4剤の併用に比べ、あまり治療効果の増強はみられないようだと報告している。

一方、これら4剤以上の多剤併用の *in vitro* における検討は少なく、Heifets の報告²⁸⁾ はMICにかえてED₇₅を用い、Isobologramで解析したRFP, SM, TH, EB 4剤相互の併用効果の検討であるが、これら薬剤の2剤組み合わせ、3剤組み合わせの殆んどに併用効果を認めているものの4剤以上の組み合わせには進んでいない。Ostenson²⁹⁾ がINH, EB, CS, CPRM, TH を用いて2剤、3剤、4剤、5剤の組み合わせを検討し、全体として2剤、3剤の組み合わせでは制菌力の増強は認められるが、4剤目、5剤目を追加しても効果は増強されなかったとしているのが唯一の成績である。

私どもはそこで現在用いられている1%小川培地による感受性検査を少し変更し、各薬剤の添加濃度を SM 20 μ g (/ml), PAS 1 μ g, INH 0.1 μ g, KM 25 μ g, CS 10 μ g, TH 12.5 μ g, EB 2.5 μ g, EVM 25 μ g, RFP 10 μ g と一率に一濃度に規定し、これを組み合わせることによって7種類の3剤組み合わせと2種類の5剤組み合わせの臨床分離株 (20株) に対する制菌力を検討した。表1と表2に示すように、単独薬剤にすべて不完全耐性以上を示す菌株で3剤組み合わせで発育が完全に阻止された菌株は、SM·PAS·INH には認められなかったが、KM·TH·CS で15株、SM·RFP·INH で4株、EB·RFP·INH で8株、EB·TH·CS で14株、EB·RFP·TH で10株、KM·EB·RFP で8株認められ、5剤組み合わせでは KM·EB·RFP·CS·INH に14株、KM·EB·RFP·CS·TH に18株を数えた。この成績ではCS とTH に耐性度の低い菌株が多く、3剤組み合わせと5剤組み合わせの効果の差は安易に結論できないが、これら多剤組み合わせによる制菌力の増強は1%小川培地上でも示されたと考える。また、この方法を改

Table 1. Modified Susceptibility Test on 1.0% Ogawa Medium
 - Disease-associated *M. avium-intracellulare* complex -

Inoculum: 10⁻³ mg

Strain	C*	SM	PAS	INH	KM	CS	TH	EB	EVM	RFP	SM PAS INH	KM TH CS	SM RFP INH	EB RFP INH	EB TH CS	EB RFP TH	KM EB RFP	KM EB RFP CS INH	KM EB RFP CS TH
1. 31F 008	+++	+++	++	+++	+++	+	++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	+	+++	+++	+	+
2. 31F 022	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+++	+++	+++	++	-	+++	+++	-	-	++	+	-
3. 31F 047	+++	++	++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	++	-	+++	+++	-	++	+++	+	-
4. 31F 053	+++	++	++	+++	+	+	+++	+++	+	++	+	20	20	-	+	-	-	-	-
5. 31F 059	+++	+	++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6. 31F 078	+++	+++	+	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+	-	+++	+++	-	++	+++	-	-
7. 31F 083	+++	++	++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	++	-	+++	+++	-	-	++	++	-
8. 31F 218	+++	+	++	+++	+	++	++	++	+	+	+	-	+	-	++	-	-	-	-
9. 31F 136	+++	++	+++	+++	+++	+	++	+++	+++	+++	10	-	-	-	-	-	-	-	-
10. 31F 135	+++	+++	++	+++	+++	+	++	+++	+++	+++	++	-	++	++	-	++	++	-	-

* C = Control medium SM 20, PAS 1.0, INH 0.1, KM 25, CS 10, TH 12.5, EB 2.5, EVM 25, RFP 10 (μg/ml)

Table 2. Modified Susceptibility Test on 1.0% Ogawa Medium
 - Disease-associated *M. avium-intracellulare* complex -

Inoculum: 10⁻³ mg

Strain	C*	SM	PAS	INH	KM	CS	TH	EB	EVM	RFP	SM PAS INH	KM TH CS	SM RFP INH	EB RFP INH	EB TH CS	EB RFP TH	KM EB RFP	KM EB RFP CS INH	KM EB RFP CS TH
11. 31F 134	+++	+++	+	+++	++	+	+	+++	+++	++	+	-	++	++	-	++	++	-	-
12. 31F 131	++	++	+	++	++	+	+++	++	++	++	++	10	++	++	+	30	+	+	+
13. 31F 122	+++	+++	+++	+++	+++	30	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	-	+++	+++	-	-
14. 31F 553	+++	+++	++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	++	-	++	++	-	-
15. 31F 554	+++	++	+++	+++	++	+	+++	++	++	+	++	-	30	-	30	-	-	-	-
16. 31F 577	+++	+	++	+++	+	+	++	+	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
17. 31F 563	+++	++	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
18. 31F 573	++	++	+	+++	++	+	++	++	++	++	++	-	+++	++	-	++	++	++	-
19. 31F 587	+++	+++	++	+++	+++	+	++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++	-	++	+++	-	-
20. 31F 093	++	++	+++	++	+	+++	++	++	++	++	++	+	+	-	+	-	-	-	-

*C = Control medium SM 20, PAS 1.0, INH 0.1, KM 25, CS 10, TH 12.5, EB 2.5, EVM 25, RFP 10 (μg/ml)

良すれば臨床薬剤選択の予備的な判定に役立つかも知れない。

in vitro で薬剤の併用効果を検討するには、checkerboard 法, killing curve を利用する方法, Isobologram の作成など多くの方法が提唱され、その優劣が盛んに論議³⁰⁾³¹⁾ されている。しかし、いずれの方法を用いようとこれら *in vitro* の成績は臨床での観察結果、あるいは

少なくとも感染モデルを用いた *in vivo* での成績との注意深い関連づけの努力が必要であろう。

私どもが結核の化学療法を実施する上で、「併用効果」という言葉で理解していたものは、各薬剤の耐性上昇の阻止という側面が大きかったように考えられ、真の意味での薬剤相互間の相乗効果とか相加効果への関心は現在まで比較的少なかったようである。最近に至つ

で強化(短期)化学療法の努力がなされるとともに、より殺菌効果の強い術式の探索から後者の概念も比較的比重を増してきたように考えられる。

結核菌を使用した *in vitro* の実験で、耐性上昇の阻止効果と真の併用効果を区別し得る成績は少ないが、結核菌と薬剤の接触の早期に *killing curve* の検討から相乗効果を推測できる成績³²⁾³³⁾もある。*M. intracellulare* に関しても薬剤併用効果の問題は薬剤耐性の機構と密接にからんでおり、結核菌と対比しながら今後解明していくべき重要な課題である。

〔2〕抗結核薬以外の抗菌薬に対する *M. intracellulare* の *in vitro* 感受性

私どもの成績^{34)~37)}も含め、現在までに *M. intracellulare* を対象とし検討されている薬剤に、Cephem系薬剤^{38)~42)}、TC系薬剤⁴³⁾⁴⁴⁾、ST合剤⁴⁵⁾、抗レプラ剤である Lamprene (B663)⁴⁶⁾⁴⁷⁾ などがある。臨床治験も一部試みられているようであるが、厳密な評価をうるまでには至っていない。私どもの *in vitro* の成績からは *M. intracellulare* 症に対して卓効を期待できそうな薬剤とは言いがたく、症状によって併用薬剤の一助となる可能性を考えるに止っている。

II. *M. intracellulare* の集落形態

— *in vitro* 薬剤感受性とマウスに対する virulence —

Petroff が BCG を用いて R 型、S 型の集落を分離して以来、集落形態と virulence の関連については抗酸菌の分野でも多くの報告がある。1933年に Winn と Petroff⁴⁸⁾ は gentian violet egg medium 上で *M. avium* を用い、Smooth, Flat Smooth, Rough, Chromogenic の4集落形態を分離し、鶏でそれぞれの集落形成菌の virulence の差を認めている。その後 AM 症の研究が本格化するにつれ最初は Fregnan と Smith⁴⁹⁾、Kubica ら⁵⁰⁾ の AM の同定、鑑別を主な目的とした諸種抗酸菌の集落形態の研究が現われた。いずれも oleic acid-albumin agar, modified cornmeal agar などの透明な平板寒地培地上で発育した菌を microcolony の状態から鏡検するもので肉眼的な観察ではない。したがって、私どもが1%小川培地上で肉眼的に観察する R 型、S 型、R-S 型などとは必ずしも一致はしない訳である。私どもも数年来 AM の鑑別、同定の一助として上記の方法による集落の観察⁵¹⁾を行ってきたが、*M. intracellulare* では cornmeal glycerol agar (CMG) [cornmeal agar (Difco) 17g, glycerol 30ml, distilled water 1,000ml] を使用した場合、3週培養で弱拡大で鏡検すると図5のごとく諸種の集落形態を観察することができる。薄く広がった透明な集落 (smooth thin-transparent colony, T 集落)、不透明で半球状の滑らかなドーム形集落 (smooth dome-shaped opaque colony, D (O) 集落)、その中間形を思わせる集落 (smooth intermediate colony, IM 集落)、粗な集落 (rough colony, R 集落) などである。(以下これらの諸集落を形

成する菌をそれぞれ、T 形成菌、D (O) 形成菌、IM 形成菌、R 形成菌と略する。)患者からの新鮮分離株では T 集落とか IM 集落で占められている菌株が殆んどで時に R 集落のみの菌株が見出される。米国の文献では新鮮分離株は殆んど T 集落で占められると記載されているが、私どもの観察では T 集落、D 集落のいずれとも断定できない IM 集落がかなり多い印象をうけている。観察基準による差か培地による差かは不明であるが、Dunbar ら⁵²⁾も私どものいう IM 集落と記載上同一と思われる集落を観察したとしているので別個の集落形態として取り上げた。

さて、人工培地上で継代された菌株では上記の各集落形態が種々の比率で混在しているのが観察される訳であるが、私どもの現在までの観察では、人工培地上で T 形成菌からは一定の比率で D 形成菌が生じてくるようで、CMG 上ではほぼ 10^4 に 1 々の割合である。McCarthy⁵³⁾ は *M. avium* の検討でこの変異は 7H10 agar 上 4.7×10^{-5} から 3.5×10^{-4} per cell per generation の頻度で生じるとしており、この頻度はプラスミッドの脱落もしくは獲得で説明するものだとされている。また、Woodley ら⁵⁴⁾ は逆に D 形成菌から T 形成菌への変異も低頻度で生じるとしており、その頻度を 10^{-6} から 10^{-7} per generation と報告している。ともかく人工培地上での T 形成菌から D 形成菌への変異は spontaneous でそれもかなり高頻度であることがうかがわれる。その他に私どもの観察で IM 集落、D 集落両者からの R 集落の出現はかなり高頻度でみられたが、観察ごとに頻度は大幅に異なっていた。

T 形成菌と D 形成菌については従来、実験動物に対する virulence と *in vitro* 薬剤感受性に関連して多くの報告^{52)55)~60)}がある。T 形成菌は D 形成菌と比較すると実験動物に対して virulence が強く、また諸種の薬剤に対して感受性が乏しいという成績である。Schaefer ら⁵⁷⁾の報告には R 形成菌の成績があり、R 形成菌は D 形成菌より virulence は強かったとしている。

私どもがこれら各種集落と集落形成菌のより綿密な検討が必要であると感じた端緒は、図3(略)に示されているように *M. intracellulare* の RFP, KM, EB, SM などに対する感受性が菌株ごとに極めて不均一であったことであった。この現象はその後、*M. intracellulare* のアミノグリコシッドおよびペプチド系抗生物質に対する感受性を、本部分離株と TMC 株 (Trudeau Mycobacterial Culture Collection に含まれる菌株で、1975年に NIH を介し、U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program-NIAIDの一環として著者に供与された長期保存株) で対比して検討した際より明確になり、この両菌株群の感受性が大きく異なり、図6(略、内藤他結核54:425, 1979)に示したように TMC 株の感受性が本部分離株と比較すると極めて良好なことを視察したのである。

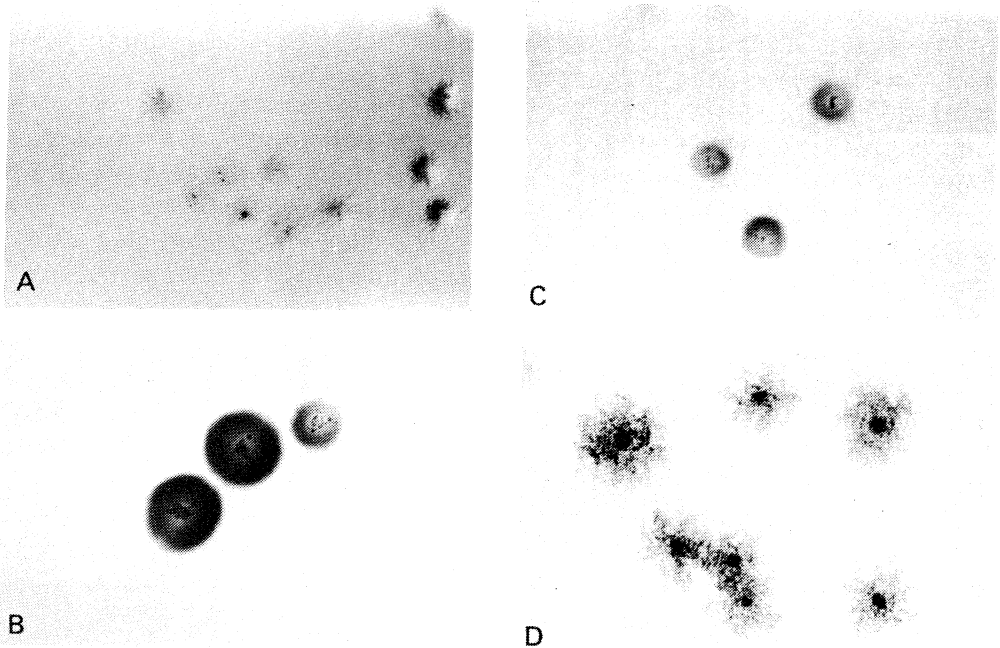


Fig. 5. Representatives of the four different colony forms of *M. intracellulare* on CMG (3 weeks).

- A. Smooth transparent colonies of 31F093 strain.
 B. Smooth dome-shaped opaque colonies of 31F093 strain.
 C. Intermediate colonies of 31F122 strain.
 D. Rough colonies of 31F122 strain.

(Original magnification: X 40)

私どもは両菌株群の集落形態の観察により、この現象はおそらく TMC 株が人工培地で長期に保存された結果であると推測した。もしこれが事実とすれば、TMC 株の良好な感受性は T 形成菌が D 形成菌に変異した結果である可能性が極めて強く、本邦分離保存株でもこの現象が起りうることは容易に推測される。また、この人工培地上の変異が、前述した多くの研究者が報告しているように、実験動物に対する virulence、あるいはまた、薬剤感受性と密接に関連しているとすれば極めて重大な意味を持つてくる。即ち保存株を用いた場合、その菌株の *in vitro* 薬剤感受性、あるいは実験動物に対する virulence の検討成績の再現性は極めて乏しいことになる。私どもが目的としている *M. intracellulare* の実験動物による感染モデル作成もこの問題を避けて通ることはできないと考えた。もちろん、薬剤感受性に関して同一菌株内に複数のクローンが存在することは *M. intracellulare* に限ったことではなく、結核菌においてもその耐性機構に関連して論議⁶¹⁾ されていることである。しかし、*M. intracellulare* の変異率（同一菌株内における各クローンの比率の変動）は結核菌などと比較すると格段に大きいと考えられる。プラスミドの関与を論じる 1 つの根拠⁵³⁾ であろう。

さて、私どもは、表 3 に示した TMC 株 5 株と本邦分離保存株 5 株の計 10 株を対象として、CMG 上の集落形態と関連して、*in vitro* 薬剤感受性とマウスに対

する virulence の検討を行なった。TMC 株は分離後保存期間が長く、本邦分離株と少なくとも 10 年以上の差がある。TMC 702 株は R 集落、TMC 1469 株は IM 集落で占められているが他の TMC 3 株は殆んど D 集落で占められている。本邦分離の 3 株 (31F049, 31F059, 31F093) は T 集落と少数の D 集落との混在を、また 2 株 (31F122, 31F135) は IM 集落と少数の R 集落と D 集落の混在を示した。1% 小川培地上の発育状態は、T 集落が多い本邦分離 3 株のみが dysgonic で他は全て eugonic である。1% 小川培地上の感受性検査では D 集落を示す TMC 3 株では RFP に完全に感受性を示した。

まず、本邦分離株 5 株を用い、CMG 上に発育した孤立集落から各集落形成菌の分離を試み、計 10 株の substrain (31F049T, 31F049D, 31F059T, 31F059D, 31F093T, 31F093D, 31F122IM, 31F122R, 31F135IM, 31F135R) を作成し、各々のペアで諸種薬剤に対する *in vitro* 感受性を比較した。CET, RFP, GM, TOB, KM の Tween albumin 液体培地での成績では、T 形成菌と D 形成菌の MIC に顕著な差が認められ、T 形成菌に対する上記薬剤の MIC は D 形成菌に対する MIC の 30 倍から数 1,000 倍以上を示した。

図 7 と表 4 に抗結核薬に対する成績を示した。Tween albumin 液体培地と血清加 Kirchner 培地を用いた成績 (図 7) では、SM, KM, RFP, EVM に両培地とも差は

Table 3. Characteristics of 10 *Mycobacterium-avium-intracellulare* complex

Strain	Year of Isolation	Colony form (%)*				Growth on OM	Drug Susceptibility on OM																				
		T	on CMG				20	SM 200 ⁺	PAS 1 10	INH 0.1 1 5	KM 25 100	CS 20 40	TH 25 50	EB 2.5 5 10	EVM 25 100	RFP 10 25 50											
			IM	D	R																						
TMC 702	1936				100 (100) [‡]	E	P	P	R	R	R	R	R	P	S	P	S	R	R	R	R	S	P	S	R	P	P
TMC 1411	1956		5	95 (100)		E	P	S	R	R	R	R	P	P	S	P	S	P	S	R	S	S	P	S	S	S	S
TMC 1419	1956			100 (100)		E	P	S	R	R	R	R	S	P	S	P	S	R	R	R	P	S	P	S	S	S	S
TMC 1467	1967			100 (100)		E	P	S	R	R	R	R	P	S	P	S	P	S	R	S	S	P	S	S	S	S	S
TMC 1469	1960		100 (100)			E	R	P	R	R	R	R	P	R	P	S	S	P	S	R	P	S	R	P	R	R	R
31F 049	1972	92 (100)		8		D	R	P	R	R	R	R	S	R	R	P	S	R	S	R	R	R	R	P	R	R	R
31F 059	1972	96 (100)		4		D	R	S	R	R	R	R	P	R	S	P	S	P	P	R	S	S	R	P	R	R	R
31F 093	1973	79 (100)		21		D	R	P	R	R	R	R	P	P	S	P	S	R	P	R	R	S	R	P	R	R	R
31F 122	1974	98 (97)	1.5	0.5 (3)		E	R	R	R	R	R	R	P	R	R	P	S	R	P	R	R	P	R	R	R	R	R
31F 135	1974		89	11 (100)		E	R	P	R	R	R	R	R	S	P	S	R	P	R	R	S	R	P	R	R	R	R

Definitions of abbreviations: CMG=cornmeal glycerol medium, T=smooth transparent, IM=intermediate, D=smooth dome - shaped opaque, R=rough, OM=1% Ogawa medium, D=dysgonic, E=eugonic, S=susceptible, P=partially resistant, R=resistant.

* % in 500 colonies

+ Micrograms per milliliter

‡ Colony form (%) on cornmeal glycerol medium of bacilli recovered from lungs after third passage through mice.

Table 4. *In Vitro* Susceptibilities of Various Colony Formers to Antituberculous Drugs on 1.0% Ogawa Medium

Inoculum: 10⁻³ mg, 4 weeks

Strain	Colony Form on CMG	C	SM		PAS		INH			KM		CS		TH			EB			EVM			RFP				
			20	200	1	10	0.1	1	5	25	100	20	40	25	50	2.5	5	10	25	100	10	25	50				
			31F 049	D T	+++ +++	# #	- #	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	- +	10 30	- -	+++ +++	++ ++	- +	+++ +++	++ ++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	- +	- +	- +
31F 059	D T	+++ +++	++ ++	- 5	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	5 60	30 -	- -	+++ +++	- +	- -	+++ +++	++ ++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	5 -	- -	- +	- +	- +	
31F 093	D T	+++ +++	+++ +++	- +	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +	+	-	+++ +++	-	-	+++ +++	++ ++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++
31F 122	IM R	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	++ +	- -	+++ +++	- -	+++ +++	++ ++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++
31F 135	IM R	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	40 +	- +	+++ +++	- -	+++ +++	++ ++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++

Abbreviations: T = transparent colony former. D = opaque colony former.
IM = intermediate colony former. R = rough colony former.

顕著で、EB, TH, CS では差は僅少であった。また、INH では Tween albumin 液体培地を使用した時のみ差が認められた。1%小川培地を用いた通常感受性検査では、RFP に対する感受性に顕著な差が認められた。即ち D 形成菌は RFP に対して感受性であるが T 形成菌は RFP に対して完全耐性を示した。一方、IM 形成菌と R 形成菌の差は認められず、両者とも感受性

は低く T 形成菌と同様な成績を示している。(表 4)
同一菌液を用いた ddY マウス尾静脈感染の成績を表 5 に示す。2 回同一実験を繰り返した成績であるが、菌接種後 3 週、7 週の肺還元菌数、肺の肉眼病変、肺、脾の重量の比較で 4 株の検討では、T 形成菌および R 形成菌が D 形成菌と IM 形成菌に比較し、virulence の強いことを示している。病理組織学的所見でもこの差は

Table 5. Colony Forms on CMG & Virulence to Conventional ddY Mice
- *M. avium-intracellulare* -

Strain	Growth (2 wks) on 1% Ogawa Medium	Colony Forms (3 wks) on CMG	Intravenous Challenging Dose (viable units)	Viable Bacilli recovered from Lung (log ₁₀)		Macroscopic Lesions of Lung							- L (g)	- S (g)
				3 wks	7 wks	No. of Mice								
						1	2	3	4	5	6	7		
1. 31F 049	dysgonic	T	6.00 × 10 ⁶	4.92	6.34	++	+	-	+	++	+	++	0.32	0.56
			1.10 × 10 ⁶	6.00	5.11	++	++	++	++	++	++	++		
	eugonic	D	3.00 × 10 ⁵	2.99	3.26	-	-	-	+	-	+	+	0.25	0.18
			1.00 × 10 ⁶	2.21	0.86	-	++	-	+	-	-	+		
2. 31F 059	dysgonic	T	5.00 × 10 ⁷	4.03	6.42	+	++	++	+	++	++	+	0.33	0.42
			1.50 × 10 ⁶	4.56	5.22	++	++	++	++	+	++	++		
	eugonic	D	2.00 × 10 ⁷	2.03	1.43	-	-	-	-	++	-	-	0.27	0.23
			4.50 × 10 ⁶	3.04	2.36	-	-	-	-	-	-	-		
3. 31F 122	eugonic	R	2.00 × 10 ⁷	5.09	5.72	+	++	++	-	++	+	++	0.33	0.37
			8.00 × 10 ⁵	6.23	5.72	++	++	++	++	++	++	++		
	eugonic	IM	2.70 × 10 ⁷	3.60	3.77	-	-	-	-	-	-	-	0.24	0.24
			4.30 × 10 ⁶	4.05	4.19	-	-	-	+	+	-	-		
4. 31F 135	eugonic	R	8.00 × 10 ⁶	4.35	5.82	-	-	-	+	-	+	++	0.27	0.65
			8.00 × 10 ⁵	6.24	5.84	+	++	++	++	++	++	++		
	eugonic	IM	6.00 × 10 ⁶	3.40	3.68	-	-	-	-	-	+	++	0.25	0.22
			1.40 × 10 ⁶	4.64	6.63	++	-	++	++	-	-	+		

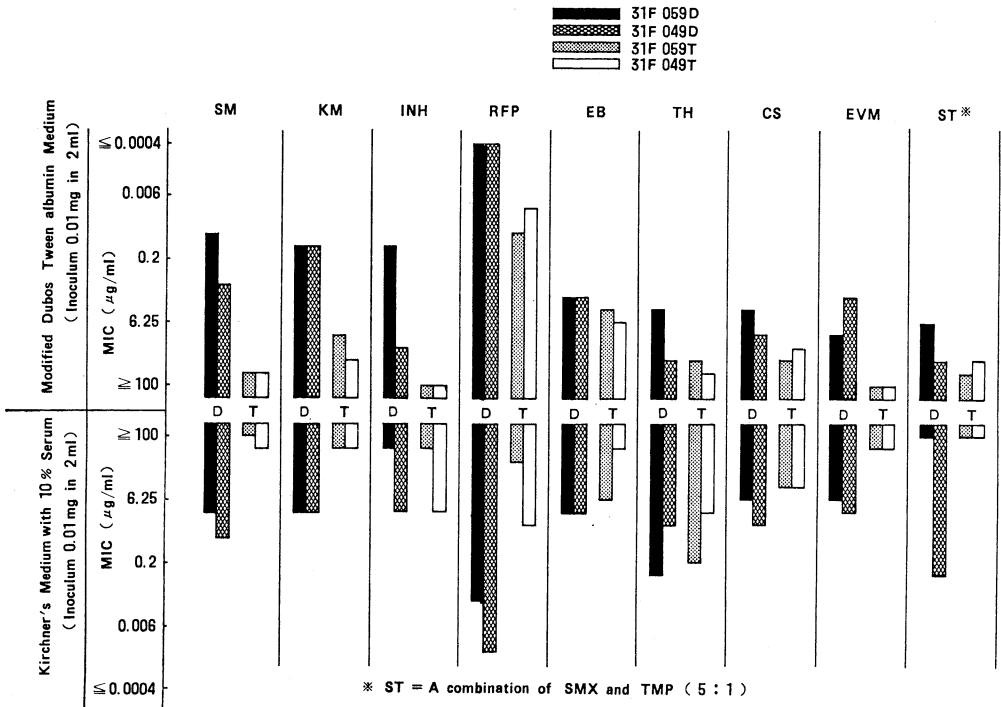


Fig. 7. Differences of Susceptibilities to Antituberculous Drugs between Transparent and Opaque Colony-Formers of *M. avium-intracellulare*.

裏付けられた。また、1%小川培地ではT形成菌のみが dysgonic な発育を示している。

以上、本邦分離保存株においても同一菌株内に複数の集落形態の存在が認められ、その各々が *in vitro* 薬剤感受性、マウスに対する virulence と密接に関連していることが示された。*M. intracellulare* 感染モデル作成に際しては、使用菌株の注意深い検討が必要である。細菌の毒力を論ずる際、問題の菌が virulence に関して均一のクローンであることが絶対に必要⁶²⁾ であるが、実験動物感染モデルで *in vivo* での薬剤効果を検定する際にも、使用菌株が *in vitro* 薬剤感受性ならびに virulence に関して均一であることは必要不可欠のことであると考えられる。私どもの分離した各集落形成菌がそれぞれ均一のクローンであるか否かは不明である。しかし、臨床細菌学的手法で上記の要請に一步近づく方向であるとは考えられる。また、*M. intracellulare* の耐性機構についても各集落形成菌の今後の検討によって一つの手掛りは得られるかも知れない。Crawford⁶³⁾ と水口⁶⁴⁾ による *M. intracellulare* からのプラスミッドの分離はこの方面で極めて興味ある研究成果である。

III. AM 実験動物感染モデル作成の問題点—マウス *M. intracellulare* 感染モデル作成の試みを中心として—

はじめにも述べたように、AM 症の治療術式の解明、ことに治療術式のいまだ確立されていない *M. intracellulare* 症においては、*in vivo* での治療効果の検討は極めて重要な課題であるが、いまだ適切な実験動物感染モデルの確立がなく、この方面での研究は空白状態だといっても過言ではない。AM 症の研究初期の Tarshis⁶⁵⁾、Pollak⁶⁶⁾ の報告以来、AM に関して実験動物に対する数多くの病原性の検索^{67)~76)} が行なわれているが、*M. intracellulare* (初期の文献では non-photochromogen) に関しては多くの菌株の比較検討という現象的記述に終わっている。最近になって治療術式の検討を目的とするかみ見える、*M. intracellulare* を対象とした成績が散見^{77)~80)} されるようになった。

M. kansasii (photochromogen) に関しては初期の報告からマウスに対してかなりの virulence を持つという成績が多く、マウス感染モデルを用いた治療実験^{81)~93)} も10編以上報告されている。感染方法としては比較的大量の菌 ($10^6 \sim 10^7$ v. u.) の尾静脈感染で、治療効果の指標としては肺、腎の肉眼病変、肺、腎、脾の還元菌数、病理組織所見などが用いられているのが一般的である。問題点として、菌株ごとに virulence が異なる⁸¹⁾ こと、したがって菌株の選択が必要で、また virulence を維持する方法の検討が必要であること、使用菌株の *in vitro* 薬剤感受性によって *in vivo* における治療効果も異なること、菌接種後7週間後で臓器内生菌数の減少と病変の消退傾向 (spontaneous regression)⁸⁷⁾ が認められるので臓器内生菌数の検討

は是非必要であることなどが指摘されているが、治療実験としてはいずれも一応成功していると考えられる。

M. intracellulare (nonphotochromogen) に関しては多くの成績⁶⁹⁾⁷⁰⁾⁷⁵⁾ が *M. kansasii* と比較するとマウスなどに対し、概して virulence の弱いことを示している。しかし、松本ら⁷¹⁾⁷³⁾、東村⁷⁴⁾ の成績をみると nonphotochromogen (おそらく *M. intracellulare* であろう。) の中にもかなり virulence の強いと思われる菌株も含まれており、松本らの報告している Gamou 株、T. Saito 株の臓器内生菌数の増加は著明であり、肺、肝、脾、腎の病理組織学的所見も明らかである。東村の報告している人体分離の Sakatani 株 (NJ-17) なども臓器内生菌数の増加は顕著にみえる。また、Dunbar⁵²⁾ の記載した Strain Tampa #673 をはじめとする T 集落を示す *M. intracellulare* 数株は菌接種後7週で全てのマウスに肺、肝の肉眼病変を生じ、virulence の強さで注目すべき菌株と考えられる。Kubica によると Dunbar と Collins⁹⁴⁾ は D-673 strain (Strain Tampa #673?) を用い、マウス感染モデルを作成しているとのこと (著者との personal communication)、この菌株 (D-673) は文献に "mouse virulent strain" として記載されている。Gangadharam⁷⁸⁾ も彼らの 8330 株と 571-8 株で、D-673 株と同様な感染モデルを作成したとしている。しかしながらこれらの菌株での治療実験の報告は私どもの知るかぎり見当らず、*M. intracellulare* を用いた治療実験は、Karlson の nonchromogenic acid-fast organism の1株での試み⁸⁴⁾、阪本らの non-photochromogen 岡山株での試み⁸⁶⁾、豊原の Balb/c と nu/nu マウスを用いた EVM の治療実験⁹¹⁾、Shronts⁹⁰⁾、および著者ら⁹⁵⁾ の報告に止っている。Schronts⁹⁰⁾ の成績は *M. intracellulare* 数株の子備的検討の後、その中の1株 (T 形成菌) で、腎の還元菌数の減少傾向より、SM-RFP の2者併用の効果を得たとしているが、非治療菌接種群においても腎内生菌数は有意の増加を示しておらず腎をはじめとし、臓器の肉眼的病変を認めなかったとしているので良好な感染モデルとは言いがたい。前回報告した著者ら⁹⁵⁾ の治療実験を図8 (略、久世他 結核 54:457, 1979) と表6 (略、久世他 結核 54:456, 1979) に示したが、同様な不十分な感染モデルと考えられ、肺、脾の生菌数は実験期間中有意の増加を示さず、肺、脾の生菌数の減少傾向で治療効果を推測した訳であるが、使用菌株の選択に誤りがあったと考えられ、より強い virulence を持つ菌株選択の必要性を痛感した次第である。

[1] mouse virulent strain の検索

virulence の強い菌株の選択といっても効率の良い選択方法がある訳ではない。基本的には多数の菌株について virulence の検討を実施する以外に方法はない。ただ集落形態に関しては T 形成菌が、また 1%小川培地の発育状態からは dysgonic な菌が virulence が強そ

うであるということが今までの実験から判明しているに過ぎない。しかし、これも例外があり、Dunbarら⁵²⁾はT形成菌の中にも virulence の弱い場合があること、またSchaeferら⁵⁷⁾はD形成菌の中にもT形成菌と同様 virulence の強い菌株があったと報告している。他の側面からみて、virulence の強い結核菌 H37Rv 株では各臓器内生菌数の比が肺>肝・脾・腎であるに反して、virulence の弱い AM の諸菌株では腎・脾・肝>肺の傾向⁶⁷⁾があるようで、これもある程度の選択基準にはなると考えられた。

結局私どもは治療実験に有用な感染モデルを作成するという現実面に重きを置き、(1)治療実験に重要な時期と考えられる菌接種後3週から7週の期間に肺生菌数が増加すること、(2)治療効果の指標として使用できる肉眼的肺病変が認められること、(3)種々な parameter に再現性があること、の3点を満足する菌株を選択し

ようと考えた訳である。これらの点を考慮に入れて表3に示した10菌株について、(i)菌接種(尾静脈)後3週、7週後の肺、脾生菌数による菌増殖率(Log Ratio= \log_{10} [7週の臓器内生菌数/3週の臓器内生菌数])、(ii)肺の肉眼的病変、(iii)肺、肝、脾の重量を主な指標として3回反復検討した。またこの実験では菌の動物通過も考慮に入れ、第2回目の検討からは前回の7週肺還元菌をできるだけ早期に使用した。成績は表7、表8に示したが結果として本邦分離株 31F093 株が平均 Log Ratio 2.3 を示し、肺の肉眼的病変も高度で最も私どもの条件にかなう菌株と考えられた。実験終了後、本菌のCMG上の集落は全てT集落で占められ、私どもはこの菌株を“31F093T”と仮に名付け現在 ddY マウス継代接種で保存している。

次に私どもは *M. intracellulare* (31F093T), *M. kansasii* (KMC 1113), *M. tuberculosis* (H37Rv) の3菌

Table 7. Virulences of 10 *Mycobacterium - avium - intracellulare* complex

Strain	Passage through Mice	No. of Bacilli in Inoculum	Counts of Bacilli in whole Lung (\log_{10})		Counts of Bacilli in whole Spleen (\log_{10})		Log Ratio* of Multiplication		Mean Organ Weight at 7 weeks (gram)		
			3 weeks	7 weeks	3 weeks	7 weeks	Lung	Spleen	Lung	Spleen	Liver
TMC 702	1	4.3×10^6	6.93	7.23	7.85	7.75	0.30	-0.10	0.31	0.34	2.31
	2	6.3×10^7	4.60	5.58	4.87	4.26	0.98	-0.61	0.31	0.34	2.29
	3	5.0×10^7	6.23	5.25	5.77	5.97	-0.98	0.20	0.34	0.44	2.56
TMC1411	1	6.4×10^6	4.17	NR†	7.01	4.89	-4.17	-2.12	0.25	0.19	2.01
	2	6.4×10^7	2.41	1.82	4.31	3.93	-0.59	-0.38	0.25	0.40	2.33
	3	7.4×10^7	3.10	1.60	3.69	3.55	-1.50	-0.14	0.26	0.27	2.23
TMC1419	1	1.1×10^6	4.18	3.92	6.79	5.93	-0.26	-0.86	0.29	0.20	1.94
	2	7.0×10^7	3.81	4.14	4.33	4.31	0.60	-0.02	0.25	0.22	2.04
	3	1.4×10^8	3.97	2.68	4.58	3.70	-1.29	-0.88	0.26	0.19	2.11
TMC1467	1	1.5×10^7	NR	NR	5.47	4.84		-0.63	0.24	0.21	2.06
	2	1.2×10^8	2.11	1.49	4.06	3.08	-0.62	-0.98	0.23	0.24	2.05
	3	9.0×10^7	2.27	1.16	2.49	2.74	-1.11	0.25	0.23	0.16	2.02
TMC1469	1	8.5×10^8	7.82	7.95	8.60	9.68	0.03	1.08	0.53	0.13	1.12
	2	5.6×10^8	4.39	4.68	5.68	5.57	0.29	-0.11	0.27	0.39	2.52
	3	5.0×10^8	4.51	4.85	5.87	6.43	0.34	0.56	0.28	0.34	2.43
31F 049	1	1.6×10^7	7.92	8.78	8.76	8.68	0.96	-0.08	0.30	0.55	2.70
	2	8.0×10^7	4.48	5.65	5.64	5.11	1.17	-0.53	0.30	0.56	2.76
	3	2.5×10^8	4.81	5.64	4.96	5.99	0.83	1.03	0.28	0.53	2.53
31F 059	1	5.0×10^6	7.00	9.93	8.17	7.78	2.93	-0.39	0.32	0.63	2.84
	2	3.0×10^7	4.80	5.85	5.82	5.22	1.05	-0.60	0.31	0.39	2.65
	3	1.4×10^8	4.71	5.87	5.24	6.12	1.16	0.88	0.30	0.41	2.78
31F 093	1	5.0×10^6	6.82	9.31	7.74	8.54	2.49	0.80	0.38	0.50	2.95
	2	8.0×10^7	4.33	6.26	5.67	6.23	1.93	0.56	0.36	0.68	3.29
	3	1.8×10^8	4.51	6.98	6.16	6.98	2.47	0.82	0.43	0.53	3.31
31F 122	1	8.0×10^7	7.65	7.26	7.02	7.92	-0.39	0.09	0.24	0.22	2.16
	2	4.0×10^8	5.84	6.64	4.96	4.63	0.80	-0.33	0.31	0.47	2.71
	3	8.0×10^8	4.98	6.65	5.23	6.33	1.67	1.10	0.41	0.47	3.07
31F 135	1	1.6×10^7	7.05	7.58	7.64	8.78	0.53	1.14	0.26	0.43	2.35
	2	2.6×10^8	5.11	5.23	5.02	5.23	0.12	0.21	0.30	0.51	2.46
	3	9.0×10^7	4.68	5.54	4.85	5.73	0.86	0.88	0.31	0.41	2.59

* Log Ratio of multiplication = $\log_{10} \left\{ \frac{\text{Count of bacilli in organ at 7 th week}}{\text{Count of bacilli in organ at 3rd week}} \right\}$

† Not recovered

Table 8. Macroscopic Lesions of Lungs

Strains	Passage through Mice	3 Weeks			7 Weeks after challenge							
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	
TMC 702	1	-	-	##	+	-	-	+	+	+	+	+
	2	-	+	##	-	##	+	##	##	##	##	##
	3	##	+	+	-	+	+	##	##	##	##	##
TMC 1411	1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
TMC 1419	1	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	##	-	-
	3	-	-	-	+	##	+	-	-	-	##	+
TMC 1467	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	##	-	-
	3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
TMC 1469	1	-	-	-	##	##	##	##	+	##	##	##
	2	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
	3	-	-	-	##	-	-	##	##	##	##	+
31F 049	1	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	-	-	+	+	+	##	##	##	##
	3	-	-	-	+	##	+	+	##	##	##	##
31F 059	1	-	-	-	##	##	##	##	+	+	##	##
	2	-	+	+	+	+	+	+	##	##	##	##
	3	-	+	+	##	-	+	+	##	##	##	##
31F 093	1	-	-	+	##	##	##	##	+	+	##	##
	2	-	-	-	##	##	##	##	##	##	##	##
	3	+	-	+	##	##	##	##	##	##	##	##
31F 122	1	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	2	-	-	-	+	+	+	##	##	##	##	##
	3	-	-	-	##	##	##	##	##	##	##	##
31F 135	1	-	-	+	-	-	##	##	-	-	##	##
	2	-	-	-	+	+	-	-	##	##	##	##
	3	+	-	-	##	+	+	-	##	##	##	##

* Symbols of gross pathology of lung: - = no macroscopic lesion
 + = scattered small nodules; ## = many small nodules;
 ### = innumerable small nodules (miliary pattern)
 #### = innumerable small nodules with a few big nodules
 † died at 6 weeks after challenge

株の比較を ddY マウス尾静脈感染で試みた。
 H37Rv 株では菌接種後3週から急激な体重減少がみられ、4週で肺重量は実験開始時の3倍になり、且つ高度の粟粒病変を呈し、その前後に全マウスが死亡する。

31F093T 株では、同様粟粒病変で肺重量は2倍以上に増加するにもかかわらず、体重は6週まで順調に増加し、肺重量が3倍近くになる11週ではじめて体重は減少しはじめるが、23週まで(実験期間中)マウスは死亡しない。17週では90%前後のマウスに肝、脾の粟粒病変、

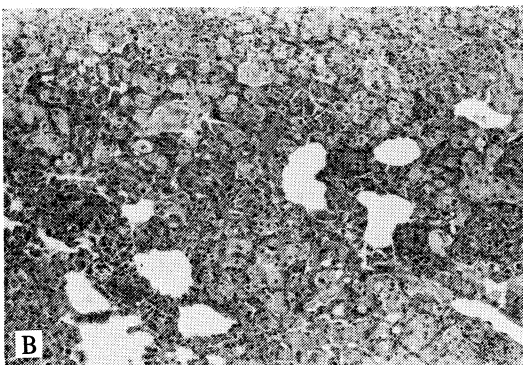
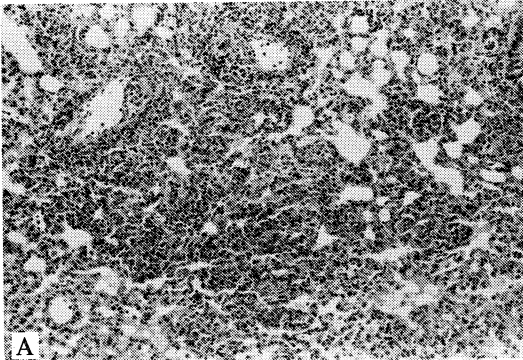
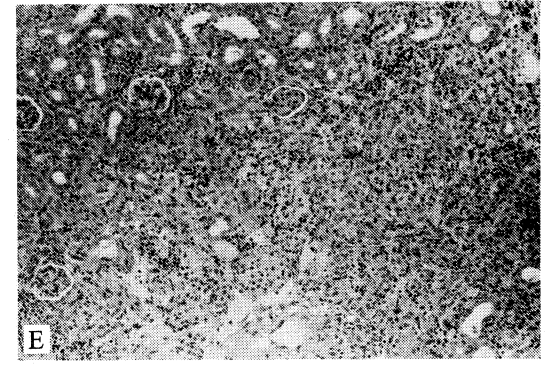
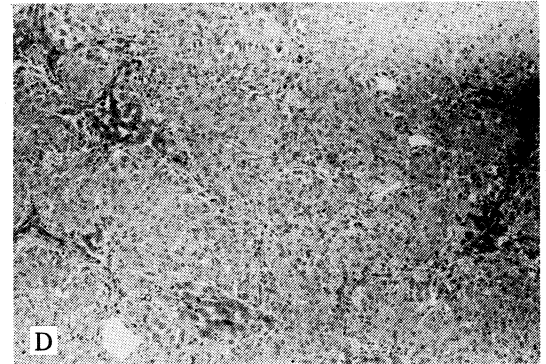
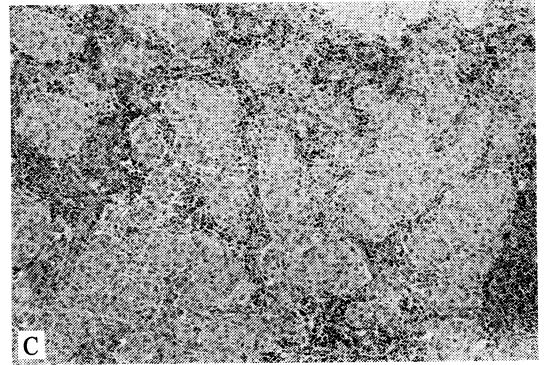


Fig. 9. Representatives of histopathological findings of the murine mycobacterioses.
 A. Granulomatous lung lesions at 6 weeks (*M. intracellulare*, 31F093T).
 B. Diffuse proliferative lesions at 23 weeks (*M. intracellulare*, 31F093T).

C. Granulomata in spleen at 23 weeks (*M. intracellulare*, 31F093T).
 D. Extensive granulomata in liver at 23 weeks (*M. intracellulare*, 31F093T).
 E. Granulomatous kidney lesions at 6 weeks (*M. kansasii*, KMC 1113)
 (Original magnification: X 100, H.E.)

腎の膿瘍を生じる。肺病変は比較的垂急性に発現し、10週前後からは **persistent** な **systemic chronic infection** が成立すると考えられる。

KMC 1113 株は 31F093T 株より **virulence** は弱く、11週以後病変は消退傾向がうかがわれた。

3 菌種感染時の病理所見の総括を表 9 に示した。H37Rv 株で肺は肉芽腫病変からびまん性繁殖型の病変に移行し、更に広範な壊死を伴い、この時期にマウスは死亡する。脾、肝は小肉芽腫病変が主体で時に腎膿瘍を認める。31F093T 株では肺はびまん性繁殖型の病変に止り、泡沫細胞とか単核細胞の集簇果がかなり多くみられる。肝、脾の肉芽腫病変は H37Rv 株より遙かに顕著である。KMC 1113 株の所見は 31F093T 株の所見に似るがその程度はやや軽い。特徴としては腎の間質炎、肉芽腫病変が時に顕著なことである。図 9 に 31F093T 株を主にした病理組織所見を示した。

なお、31F093T 株の肺肉眼病変であるが、6 週前後で全肺表面がごく微細な灰白結節でおおわれる。この時期には肺の色調が残っているが、17週以後になると肺は大きく硬度を増し、肺全体が灰白色に近くなり結節も粗大になる。病変の再現性は極めて高い。

以上、*M. intracellulare* 31F093T 株で私どもの前提条件にはほばかな慢性感染モデルを作成できたと考え基礎的検討を継続した。

〔2〕31F093T 株に対するマウス系統別感受性、並びに感染経路の検討

今まで検討したのは ddY 普通マウスに対する静注感染系である。次に SPF マウスで、ddY、BALB/C、ICR 3 系統の尾静脈感染系と C57BL/6、C3H/He 2 系統による腹腔内感染系を検討した。肺、脾の還元菌数からみると C57BL/6 (i. p.) と BALB/C (i. v.) は他の系統より本菌に対して感受性が強いことがうかがわれる。これら 2 系統の特徴として肺より脾の還元菌数が多い。これに対して ddY では肺、脾ともほば同程度の生菌数還元がみられる。各系統による態度の差が推

測されるが、大量の菌を画一的に接種しているので 31F093T 株に対するマウス感受性の差のみとは断定できず⁹⁶⁾、接種菌量の変更とともに **preimmune phase** の増殖率でも比較検討する必要がある。

ともかくこの実験で、BALB/C (i. v.)、C57BL/6 (i. p.) の感染系も使用できることが判明した。他の特徴として ddY で肺重量の増加率が最も大きく治療効果の指標として適当であること、BALB/C の脾重量の増加が極めて顕著であったことがあげられる。腹腔内感染に関しては、その後実施した ddY の静脈内と腹腔内感染の比較実験で、腹腔内感染では肺病変発現がやや遅れる傾向はあるが ddY でも感染モデルとして充分使用可能であることが判明している。

組織所見では、BALB/C と C57BL/6 の病変はむしろ脾に顕著であり、ddY では脾の病変はやや少なく、むしろ肺のびまん性病変が強い傾向にあった。現在私どもは肺の病変を重視したいと考えている。

図10、表10に 31F093T 株を用いた吸入感染の成績を示した。middlebrook aerosol chamber (Tri-R Instruments, Rockwell Center, N. Y., Model A42) を用い、吸入菌液としては Tween albumin 液体培地 2 週培養菌液を直接用いた成績で、マウスとの接触は60分で約 10⁴ v. u. が肺に定着する。ddY 普通マウス各20匹 3 群を使用し、1 群は吸入感染のみ、2 群にはそれぞれ 2 種類の silica を前処置として10回吸入させた。1 群には半井化学の無水ケイ酸 (径70~100μm)、他の 1 群には Degussa 社の silica (径25~50nm) を使用している。微細 silica 前処置群で肺還元菌数は 9 週前後で有意に多くなっており、その後の肺重量増加も著明である。肺の肉眼病変はいずれの群も **consolidation** とやや粗大な結節の混合病変で、組織学的には気管支肺炎の所見が多い。また、silica のみの吸入肺には通常組織学的レベルでは異常は認められなかった。

前処置としての silica 吸入 (注入) については Taquet⁹⁷⁾、下出ら⁹⁸⁾ のモルモットを対象とした *M.*

Table 9. Histopathology of Murine Mycobacterioses

Time (wks) after Challenge	<i>M. tuberculosis</i> (H37 Rv)						<i>M. kansasii</i> (KMC 1113)						<i>M. avium-intracellulare</i> (31F 093T)							
	Lung		Liver		Spleen		Lung		Liver		Spleen		Lung		Liver		Spleen		Kidney	
	C. agg	Gr.	Prol.	Nec.	(Gr.)	(Gr.)	C. agg	Gr.	Prol.	Nec.	(Gr.)	(Gr.)	C. agg	Gr.	Prol.	Nec.	(Gr.)	(Gr.)	(Gr.)	(Hd.)
3	±*	+~##	+	±	##*	+~##	±	+	±	-	##	+	±	-	+	-	##	##	-	-
4	±	±	##~###	##*	##~##	+~##	±	±	##~###	##*	##~##	+~##	±	±	##~###	##*	##~##	##	±	±
6							+	+	+	-	##	±	±	+~##	+	-	##	##	-	-
11							+	±	##~###	-	+~##	±	±	±	##~###	-	##~###	##	±	±
17							##~###	±	±~+	-	+~##	±	±	±	##~###	-	##	##	+	##
23							+~##	±	+	-	+	±	+~##	±~+	##~###	-	##	##	+~##	##~##

Abbreviations: C. agg. = cell aggregation of mononuclear cell, Gr. = granulomatous lesion, Prol. = diffuse proliferative change, Nec. = necrotic change, Hd. = hyaline drop degeneration in tubular epithelium
* : grades of histopathology

kansasii の感染実験がある。silica または炭粉粒子などの吸入（注入）前処置によって高度の病変が得られたり、還元菌数が増加したりする現象は AM 症の発症要因に関連して興味深い。それはともかく *M. intracellulare* 31F093T 株で吸入感染モデル作成が可能であることが判明した。

〔3〕マウス防御力の修飾

これまで述べてきた実験成績は多くは正常マウスを用いた感染モデルである。しかし、AM 症は何らかの原因で局所並びに全身の防御力の低下した宿主に発症することが多い。臨床により有用な感染モデルはおそらくこの事実を考慮したものであろう。Gangadharam ら⁷⁸⁾の検討に準じて私どもは ddY 普通マウスに silica

静注, cortisone acetate, trypan blue, cyclophosphamide の腹腔内投与, BCG 静注などの影響を 31F093T 静脈感染系で検討したが、肺への影響は silica 前処置で感染初期に生菌数の増加傾向がみられたに止っている。しかし、脾に対してはかなりの影響がみられ、trypan blue 前処置は脾の還元菌数を大幅に増加させ、一方 cortisone を含む前処置は脾の重量増加並びに生菌数を抑制するなどの結果を得ている。また、silica 前処置では脾の重量の著明な増加と、高度な肉芽腫病変を生じさせた。これらの所見の意味づけと感染モデルへの応用は今後の問題である。

IV. AM マウス感染モデルによる Experimental Chemotherapy

M. kansasii と *M. intracellulare* によるマウス感染モデルは私どもの所で一応実用段階に達しているので、現在までに実施した治療実験の概要を述べる。

〔1〕実験的 *M. kansasii* 症の治療実験

患者分離株 KMC 1113 株を用いた抗結核薬の単独治療実験と併用治療実験の成績⁹²⁾⁹³⁾を図11（略、李他結核 57:348, 1982）、12（略、李他結核 57:373, 1982）、並びに表11（略、李他結核 57:371, 1982）に示した。図11に示した単独治療実験の成績で、非治療菌接種群の肺生菌数は6週以後かなり急速に減少し、それ以後の化学療法の効果の比較を困難にしている。RFP 単独の効果はかなり早期に消失し、SM が比較的長期間効果を保つようにみえる。図12に示した併用治療実験ではマウス体内通過菌を用い、単独治療実験の際より大量の菌を接種しているが、非治療菌接種群においても初期の還元菌数の増加がみられない。あるいは BCG 大量接種時にみられる菌増殖の抑制⁹⁶⁾と同様な

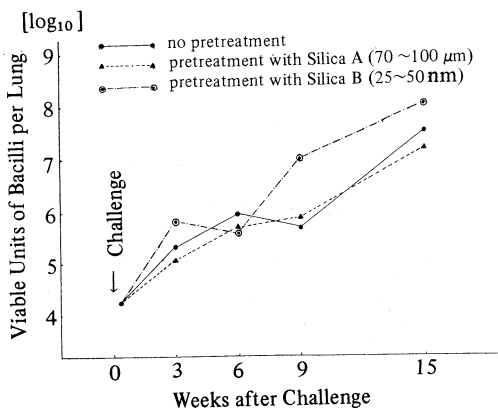


Fig. 10 Murine Air-borne Infection with *M. avium-intracellulare* (31F093T).
-10⁸ v.u./ml Dubos Tween albumin culture -

Table 10. Murine Air-borne Infection with *M. avium-intracellulare* (31F093T)

Silica A : SiO₂ (Nakarai Co.), 5mg/ml
Silica B : SiO₂ (Degussa, Frankfurt) 4mg/ml
a. M. (FRG)

Lapse of Time after Challenge	Air-borne Infection					Silica A Inhalation ↓ Air-borne Infection					Silica B Inhalation ↓ Air-borne Infection							
	3 days	-	-	-	-	-	0.22 [†]											
3 weeks	++	-	+	+	+	0.26	+	-	+	-	+	0.22	-	+	+	+	+	0.24
6 weeks	+++	+++	+++	+++	+++	0.51	+++	+++	+++	+++	+++	0.31	+++	+++	+++	+++	+++	0.38
9 weeks	+++	+++	+++	+++	+++	0.51	+++	+++	+++	+++	++	0.48	+++	+++	+++	+++	+++	0.46
15 weeks	+++	+++	+++	+++	+++	0.49	+++	+++	+++	+++	+++	0.61	+++	+++	+++	+++	+++	0.67

* Symbols - = no macroscopic lesion, + = scattered nodules of middle size
++ = multiple patchy consolidations with scattered nodules of middle size
+++ = lobar or segmental consolidations with scattered nodules of middle size
++++ = lobar or segmental consolidations with gross nodules

† Mean weights of lungs (g)

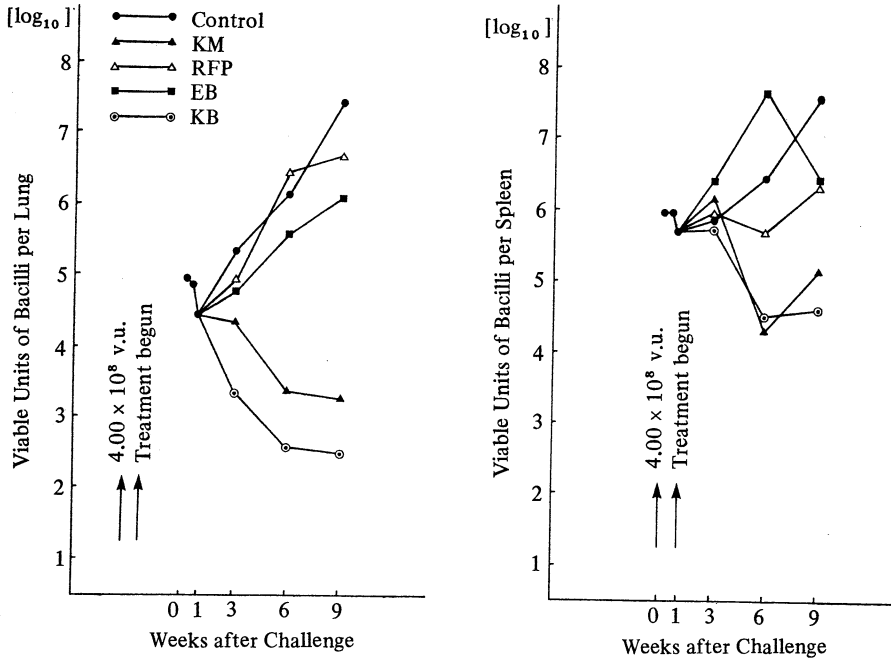


Fig. 13. Chemotherapeutic effects of KM, RFP and EB for murine *M. avium-intracellulare* infection (31F093T).

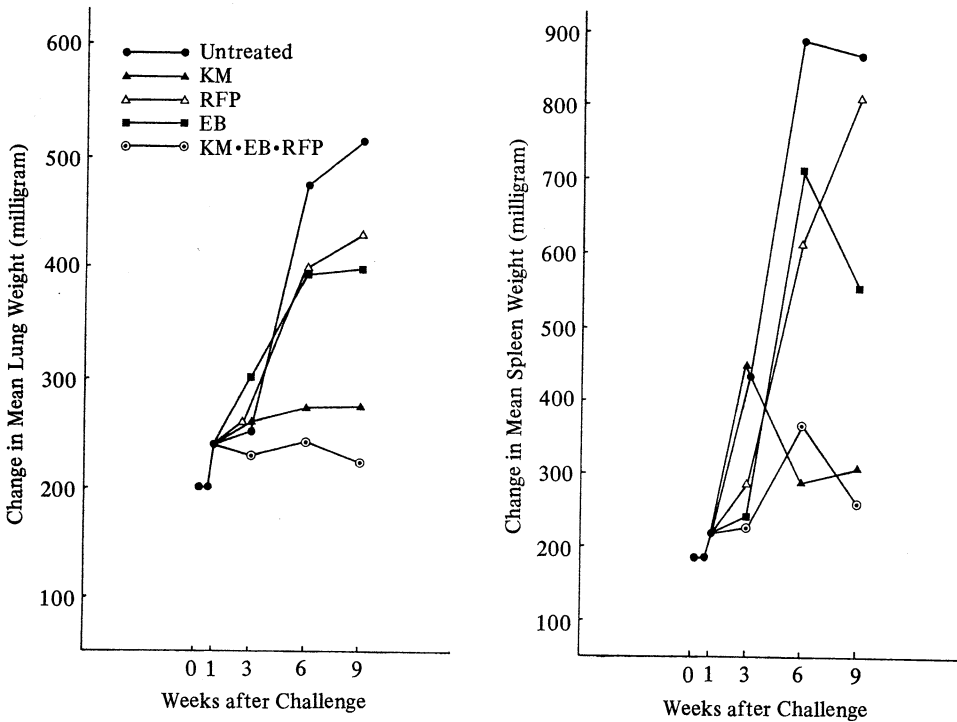


Fig. 14. Chemotherapeutic effects of KM, RFP and EB for murine *M. avium-intracellulare* infection (31F093T).

現象かも知れないが、治療実験としては一つの欠点である。また、両実験で RFP 単独の効果に差異がみられる。再現性に問題があるのであろうか。しかし、表10にみられるように動物通過菌の大量接種によって肉眼的腎病変はより明確になり、治療群との差が認められた。
〔2〕実験的 *M. intracellulare* 症の治療実験

31F093T 株を用いた第一回目の治療実験を図13、14と表12に示した。KM, RFP, EB の単独治療効果と KM・EB・RFP の併用術式を検討している。31F093T 株の実験直前の 1%小川培地上の感受性検査では、

RFP には完全耐性、KM 25 μ g に不完全耐性、100 μ g に感受性を示し、また EB5 μ g に不完全耐性、10 μ g に感受性を示していた。図13に示した肺還元菌数から考え、RFP, EB には殆んど治療効果なしと判定したが、KM にはかなり治療効果がある。これに RFP と EB の 2 剤を追加すると治療効果の増強がみられる。図14に示した肺、脾の重量の推移もこの判定を裏付け、肺病変を指標とすることの有用性が示されたと考える。表12に臓器の肉眼所見を示した。マウスの匹数を考慮すればこの感染モデルは臓器の肉眼的所見のみでも薬剤

Table 12. Chemotherapeutic Effects of KM, RFP and EB for Murine *M. avium-intracellulare* Infection (31F093T) - Macroscopic Lesions -

Lapse of Time after Challenge	Untreated		KM			RFP			EB			KM·EB·RFP		
	Lung	Liver Kidney (3 to 5 mice)	Lung	Liver	Kidney (5 mice)	Lung	Liver	Kidney (5 mice)	Lung	Liver	Kidney (5 mice)	Lung	Liver	Kidney (5 mice)
24 hours	-*	- - †												
1 week	- - -	0/3 0/3												
3 weeks	- + †	2/5 1/5	- + -	-	1/5 0/5	- † -	-	2/5 1/5	† † †	†	1/5 0/5	- - -	-	1/5 0/5
6 weeks	† † †	5/5 5/5	- † †	†	1/5 5/5	† † †	† † †	3/5 4/5	† † †	† † †	4/5 5/5	† † †	†	1/5 1/5
9 weeks	† † †	4/5 4/5	- † †	†	0/5 0/5	† † †	† † †	4/5 3/5	† † †	† † †	4/5 2/5	- - -	†	1/5 0/5

* Symbols of gross pathology of lung : - = no macroscopic lesion ; + = scattered small nodules ; † = many small nodules ; † † = innumerable small nodules (miliary pattern) ; † † † = innumerable small nodules with a few big nodules
† Number of mice with macroscopic lesions

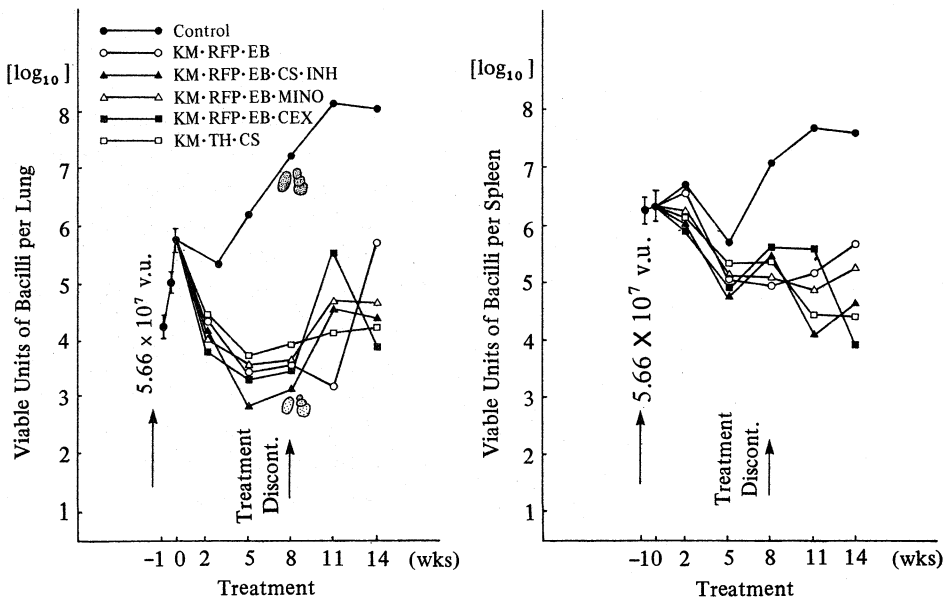


Fig. 15. Chemotherapeutic effects of multiple-drug regimens for murine *M. avium-intracellulare* infection (31F093T)

治療効果判定の予備的 screening に耐えると考ええる。

図15には4ないし5剤併用術式の治療成績を示している。実験期間を延長し、8週で治療を中止した後の還元菌数もみているが、治療中止後肺内生菌数は再び増加する傾向がみられ、正常マウスを用いたこの実験系でも *M. intracellulare* 症治療の困難さをうかがわせる。検討した5種の併用術式の効果は近接しており、この実験系では優劣の判定は結論できないが、現在“delayed therapy”の系で検討中である。

おわりに

臨床細菌学的な立場から以上の成績をふまえ、*M. avium-M. intracellulare* complex に重点をおいて今後の問題点を総括したい。*in vitro* では患者からの新鮮分離株を用いた諸種薬剤の制菌力、殺菌力のより詳細な検討が必要である。特に抗結核薬以外の抗菌薬に関して各研究者の成績を相互に比較検討できる感受性検査基準の確立が望まれる。この際、単一菌株内での感受性の異なるクローンの認識と、保存株使用の際、特にT形成菌での感受性検討が必要である。また、*M. intracellulare* 症治療の現状では、薬剤併用効果の解析もゆるがせにできない。

in vivo では実験動物による *M. intracellulare* 感染モデルを確立する必要がある。正常動物の感染モデルのみでは不十分で、AM症の病態にできるだけ近づけた複数のモデルが必要と考えられる。また、治療の上で臨床に役立たせるためには、*in vitro* 薬剤感受性の異なる複数菌株による感染モデルも必要であろう。また、病理組織レベルでの薬剤効果判定基準の確立の必要性も痛感する。

言うまでもなく *M. intracellulare* 症に対する新薬剤の開発は緊急の課題である。*M. intracellulare* 症に現在使用されている多剤併用は臨床家が止むを得ず追い込まれた苦肉の策であり、臨床に有用な示唆を与える化学療法の基礎的研究の一層の発展を期待する次第である。

(共同研究者：鈴木康弘(京大胸部研病理)、武田貞夫、内藤祐子、李英徹、内平文章、桜井信男、西山秀樹、李啓充、坂東憲司、倉沢卓也(京大胸部研内科1)。実験補佐：中岡トキエ、松下隆寿、西尾貞子、井原えり子。)

謝 辞

今回の特別講演の機会を与えていただいた前川暢夫会長にお礼を申し上げ、座長の労をとっていただいた斎藤肇教授に深く感謝いたします。

文 献

1) Buhler, V.B., Pollak, A.: Human infection with

atypical acid-fast organisms. Report of two cases with pathologic findings, *Am J Path*, 23: 363-374, 1953.

- 2) Runyon, E.H., Wayne, L.G. and Kubica, G.P.: Family II. Mycobacteriaceae Chester 1897, 63. In: Buchanan, R.E., Gibbons, N.E., 8th. ed., *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Baltimore: The Williams & Wilkins Co, 681-701, 1975.
- 3) 斎藤 肇：“非定型抗酸菌”分類の現況, 結核, 51: 233-239, 1976.
- 4) 東村道雄：抗酸菌の分類学 I. 抗酸菌属の定義, 結核, 55: 289-295, 1980.
- 5) 東村道雄：抗酸菌の分類学 II. 抗酸菌の菌種一群別の試案一, 結核, 55: 341-347, 1980.
- 6) Yamamoto, M. et al.: Diagnostic criteria for disease caused by atypical mycobacteria, *Am Rev Res Dis*, 96: 773-778, 1967.
- 7) Yamamoto, M. et al.: A study of diseases caused by atypical mycobacteria in Japan, *Am Rev Res Dis*, 96: 779-787, 1967.
- 8) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班：日本における肺非定型抗酸菌症の疫学的、細菌学的研究, 結核, 55: 273-280, 1980.
- 9) 下出久雄：日本における *M. kansasii* 症, 結核, 52: 577-585, 1977.
- 10) Wolinsky, E.: Nontuberculous mycobacteria and associated diseases, *Am Rev Res Dis*, 119: 107-159, 1979.
- 11) Burjanová, B. and Urbancik, R.: Experimental chemotherapy of mycobacterioses provoked by atypical mycobacteria, *Adv Tuberc Res*, 17: 154-188, 1970.
- 12) Hobby, G.L. et al.: A study on pulmonary disease associated with mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis*: identification and characterization of the mycobacteria, XVIII. A report of the Veterans Administration-Armed Forces Cooperative Study, *Am Rev Res Dis*, 95: 954-971, 1967.
- 13) 下出久雄：非定型抗酸菌症の臨床的研究(第2報) —主として治療成績について—, 日胸, 29: 106-114, 1970.
- 14) Ryneerson, T.K., Shronts, J.S., and Wolinsky, E.: Rifampin: *in vitro* effect on atypical mycobacteria, *Am Rev Res Dis*, 104: 272-274, 1971.
- 15) Tsang, A.Y. et al.: Combined vs single-drug studies of susceptibilities of *Mycobacterium kansasii* to isoniazid, streptomycin, and ethambutol, *Am J Clin Path*, 70: 816-820, 1978.
- 16) 下出久雄：非定型抗酸菌症の諸問題, 日胸, 32:

- 711-719, 1973.
- 17) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班: *Mycobacterium intracellulare* による肺感染症の臨床像, 結核, 49: 139-145, 1974.
 - 18) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班: *Mycobacterium avium-intracellulare* complex による肺感染症の臨床像, 結核, 51: 41-46, 1976.
 - 19) 田村昌敏他: *Mycobacterium intracellulare* 症に対する化学療法, 結核, 54: 75-84, 1979.
 - 20) 喜多舒彦: 非定型抗酸菌症の化学療法 —特に *M. intracellulare* 症を中心として— (第54回日本結核病学会総会シンポジウム) 結核, 54: 543-546, 1979.
 - 21) Lester, W. et al.: Quintuple drug regimens in the treatment of Battey-type infections, Trans 28th VA-AF Pul Dis Res Conf, p.83, 1969.
 - 22) Kumar, U.N. and Varkey, B.: Clinical features, course and treatment response to *Mycobacterium intracellulare* pulmonary disease compared to pulmonary tuberculosis, Am Rev Resp Dis, 117 (Supplement): 424, 1978.
 - 23) Davidson, P.T. et al.: Treatment of disease due to *Mycobacterium intracellulare*, Reviews of Infectious Diseases, 3: 1052-1059, 1981.
 - 24) 下出久雄: 非定型抗酸菌症の臨床的研究—第13報 多剤(4~5剤)併用療法による *M. intracellulare* 肺感染症の治療成績—, 日胸, 40: 669-676, 1981.
 - 25) Lester, T.W.: Drug-resistant and atypical mycobacterial disease, bacteriology and treatment, Arch Int Med, 139: 1399-1401, 1979.
 - 26) Rosenzweig, D.Y.: Course and longterm follow-up of 100 cases of pulmonary infection due to *M. avium-intracellulare* complex, Am Rev Resp Dis, 113 (Supplement): 55, 1976.
 - 27) Dutt, A.K. and Stead, W.W.: Long-term results of medical treatment in *Mycobacterium intracellulare* infection, Am J Med, 67: 449-453, 1979.
 - 28) Heifets, L.B.: Synergistic effect of rifampin, streptomycin, ethionamide, and ethambutol on *Mycobacterium intracellulare*, Am Rev Resp Dis, 125: 43-48, 1982.
 - 29) Ostenson, R.C. and Bates, J.H.: *In vitro* drug interactions with *Mycobacterium intracellulare*, Am Rev Resp Dis, 117 (Supplement): 282, 1978.
 - 30) Norden, C.W., Wenzel, H. and Keleti, E.: Comparison of techniques for measurement of *in vitro* antibiotic synergism, J Inf Dis, 140: 629-633, 1979.
 - 31) Barenbaum, M.C., Norden, C.W. and Moellering, R.C., Jr.: Correlations between methods for measurement of synergy, J Inf Dis, 142: 476-480, 1980.
 - 32) Mackness, G.B. and Smith, N.: The bactericidal action of isoniazid, streptomycin, and terramycin on extracellular and intracellular tubercle bacilli, Am Rev Resp Dis, 67: 322-340, 1953.
 - 33) Dickinson, J.M., Aber, V.R. and Mitchison, D.A.: Bactericidal activity of streptomycin, isoniazid, rifampin, ethambutol and pyrazinamide alone and in combination against *Mycobacterium tuberculosis*, Am Rev Resp Dis, 116: 627-635, 1977.
 - 34) 久世文幸, 武田貞夫, 前川暢夫: 非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性II. 一般抗生物質, 抗腫瘍剤, 抗レプラ剤(B663)等に対する感受性, 結核, 49: 189-194, 1974.
 - 35) 内藤祐子, 久世文幸, 前川暢夫: 非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性. V. *Mycobacterium intracellulare* に対する主としてアミノグリコシッド系抗生物質の試験管内制菌作用, 結核, 54: 423-427, 1979.
 - 36) 桜井信男, 久世文幸: 非定型抗酸菌の諸種薬剤に対する感受性. VI. サルファ剤とその合剤の試験管内制菌効果について, 結核, 投稿中.
 - 37) 桜井信男: 非定型抗酸菌に対する主として Cephem 系抗生物質の試験管内制菌効果について, 結核, 58: 355-362, 1983.
 - 38) 福原徳光, 齋藤健利, 松嶋慎吾: *Mycobacterium intracellulare* に対するセファロsporin系薬剤およびサルファ剤の阻止作用, 結核, 53: 239, 1978.
 - 39) 福原徳光, 齋藤健利, 深谷一太: *Mycobacterium intracellulare* および人型結核菌に対するセファロsporin系薬剤の阻止作用, 結核, 54: 198, 1979.
 - 40) Garcia-Rodriguez, J.A. and Martin-Luengo, F.: *In vitro* susceptibility of atypical mycobacteria to cephalosporins, Tubercle, 61: 39-40, 1980.
 - 41) 吉本録一: 非定型抗酸菌症に対するセファロsporin系化学療法の試みについて, 結核, 55: 185-186, 1980.
 - 42) 吉本録一, 館孝: *Mycobacterium intracellulare* に対する β -lactam系抗生剤の培地内最小阻止濃度とその薬剤感受性に関する臨床的検討, 結核, 56: 248-249, 1981.
 - 43) Tsukamura, M.: *In vitro* antimycobacterial activity of minocycline, Tubercle, 61: 37-38, 1980.
 - 44) 東村道雄他: *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* による肺感染症に対する Mino-

- cycline を含む化学療法の臨床効果, 結核, 56: 57-61, 1981.
- 45) 吉本録一: 非定型抗酸菌症に対する Cephalosporin 系抗生剤を主とした化学療法の試みについて—*M. kansasii* および *M. intracellulare* による重症肺感染症 2 例の治療を出発点として, 結核, 55: 515, 1980.
- 46) Gangadharam, P.R.J. and Candler, E.R.: Activity of some antileprosy compounds against *Mycobacterium intracellulare in vitro*, Am Rev Resp Dis, 115: 705-708, 1977.
- 47) 下出久雄: 第10回非定型抗酸菌症研究協議会報告, *M. intracellulare* 症に対する Lamprene (B663) の臨床使用経験, 1978.
- 48) Winn, W.A. and Petroff, S.A.: Biological studies of the tubercle bacillus, II. A new conception of the pathology of experimental avian tuberculosis with special reference to the disease produced by dissociated variant, J Exp Med, 57: 239-270, 1933.
- 49) Fregnan, G.B. and Smith, D.W.: Description of various colony forms of mycobacteria, J Bacteriol, 83: 819-827, 1962.
- 50) Kubica, G.P. and Jones, W.D., Jr.: Differential colonial characteristics of mycobacteria on oleic acid-albumin and modified cornmeal agars, I. Investigation of slowly growing mycobacteria, Zbl Bakt, 196(Orig): 53-67, 1965.
- 51) 久世文幸, 武田貞夫, 前川暢夫: 非定型抗酸菌の性状 (II) — 平板培地上における集落観察の試み (i) —, 京大胸部研紀要, 8: 99-109, 1975.
- 52) Dunbar, F.P. et al.: *Mycobacterium intracellulare* Maintenance of pathogenicity in relationship to lyophilization and colony form, Scand J Resp Dis, 49: 153-162, 1968.
- 53) McCarthy: Spontaneous and induced mutation in *Mycobacterium avium*, Infection and Immunity, 2: 223-228, 1970.
- 54) Woodley, C.L. and David, H.L.: Effect of temperature on the rate of the transparent to opaque colony type transition in *Mycobacterium avium*, Antimicrobiol agents and Chemotherapy, 9: 113-119, 1976.
- 55) Moehring, J.M. and Solotorovsky, M.R.: Relationship of colonial morphology to virulence for chickens of *Mycobacterium avium* and the non-photochromogens, Am Rev Resp Dis, 92: 704-713, 1965.
- 56) Wichelhausen, R.H. and Robinson, L.B.: Classification and drug-susceptibility determinations on cultures of mycobacteria other than *M. tuberculosis*, Tr 24th VA-AF Pul Dis Res Conf, 24: 56-64, 1965.
- 57) Schaefer, W.B., Davis, C.L. and Cohn, M.L.: Pathogenicity of transparent, opaque, and rough variants of *Mycobacterium avium* in chickens and mice, Am Rev Resp Dis, 102: 499-506, 1970.
- 58) Engbaek, H.C., Vergmann, B. and Baess, I.: Non-photochromogenic mycobacteria serotype Davis, The inhomogeneity within the serological group and the relationship to *Mycobacterium avium*, Acta path microbiol Scand Section B, 78: 619-631, 1970.
- 59) Pattyn, S.R. and Hermans-Boveroulle, M.T.: Dissociation in *M. avium*, Pneumologie, 142: 119-225, 1970.
- 60) Kajioka, R. and Hui, J.: The pleiotropic effect of spontaneous single-step variant production in *Mycobacterium intracellulare*, Scand J Resp Dis, 59: 91-100, 1978.
- 61) Tsukamura, M.: Variation and heredity of mycobacteria with special reference to drug resistance, Japanese J Tuberc, 9: 43-64, 1961.
- 62) 戸井田一郎: 結核菌の基礎的研究, 結核, 57: 409-417, 1982.
- 63) Crawford, J.T., Cave, M.D. and Bates, J.H.: Characterization of plasmids from strains of *Mycobacterium avium-intracellulare*, Reviews of Infectious Diseases, 3: 949-952, 1981.
- 64) 水口康雄: 抗酸菌の遺伝とその周辺 (第57回結核病学会総会シンポジウム), 結核菌研究の進歩, 結核, 57: 687-710, 1982.
- 65) Tarshis, M.S. and Frisch, A.W.: Chromogenic acid-fast bacilli from human sources, II. Pathologic studies, Am Rev Tuberc, 65: 289-301, 1952.
- 66) Pollak, A. and Buhler, V.B.: The cultural characteristics and animal pathogenicity of an atypical acid-fast organism which causes human disease, Am Rev Tuberc, 71: 74-87, 1955.
- 67) 斎藤八重: 抗酸菌の病原性に関する実験的研究 (第1報) 非定型抗酸菌および自然界系抗酸菌のマウスおよびハムスターに対する態度, 広島医学, 7: 2449-2474, 1959.
- 68) Durr, F.E., Smith, D.W. and Altman, D.P.: A comparison of the virulence of various known and atypical mycobacteria for chickens, guinea pigs, hamsters, and mice, Am Rev Resp Dis, 80: 876-885, 1959.
- 69) Meissner, G.: Local pathogenicity and virulence of atypical mycobacteria compared with genuine tubercle bacilli, Bulletin Un int Tuberc, 30: 202-214, 1960.

- 70) 牛場大蔵他：非定型抗酸菌のモルモットおよびマウスに対する病原性について，結核，36：689-693，1961.
- 71) 松本光雄他：非定型抗酸菌のマウスに対する病原性について，結核，37：638-646，1962.
- 72) Kubín, M., Kruml, J. and Jelínek, J.: Experimental generalized granulomatosis in guinea pigs produced by high doses of a photochromogenic strains of mycobacteria, *Am Rev Resp Dis*, 85: 902-909, 1962.
- 73) 松本光雄，永田 彰，間瀬 南：非定型抗酸菌のマウスに対する病原性について(続報)，結核，38：404-406，1963.
- 74) Tsukamura, M. and Toyama, H.: A comparative study of the virulence for mice in "atypical" and named mycobacteria from human and soil sources, *Japanese J Tuberc*, 13: 49-64, 1966.
- 75) Armstrong, A.L., Dunbar, F.P. and Cacciatore, R.: Comparative pathogenicity of *Mycobacterium avium* and *Battey bacilli*, *Am Rev Resp Dis*, 95: 20-32, 1967.
- 76) Meissner, G.: The value of animal models for study of infection due to atypical mycobacteria, *Reviews of Infectious Diseases*, 3: 953-959, 1981.
- 77) 福原徳光，友利玄一：*M. intracellulare* のマウスに対する病原性について—マウス継代菌株と試験管内継代菌株の病原性の比較—，日本結核化学療法研究会，1980年12月東京.
- 78) Gangadharam, P.R., Pratt, P.F. and Davidson, P.T.: Experimental Infections with *Mycobacterium intracellulare*, *Review of Infectious Diseases*, 3: 973-987, 1981.
- 79) 後藤義孝他：*M. intracellulare* 感染症の実験的研究(1) Tween 添加培地による発育促進と CF₁ マウスに対する病原性について，結核，57：519-524，1982.
- 80) 後藤義孝，高橋 宏，徳永 徹：*M. intracellulare* 感染症の実験的研究(2)マウス系統間にみられる感受性差，結核，57：573-578，1982.
- 81) Steenken, W., Jr., Smith, M.M. and Montabline, V.: *In vitro* and *in vivo* effect of antimicrobial agents on atypical mycobacteria, *Am Rev Tuberc Pul Dis*, 78: 454-467, 1958.
- 82) Mayer, R.L. et al.: The chemotherapeutic activity upon chromogenic mycobacteria of certain derivatives of thiocarbanilide (SU1906), thiazoline (SU3068), and thiazolidinone (SU3912), *Am Rev Tuberc Pul Dis*, 77: 694-702, 1958.
- 83) Wolinsky, E.: Chemotherapy and pathology of experimental photochromogenic mycobacterial infections, *Am Rev Resp Dis*, 80: 522-534, 1959.
- 84) Karlson, A.G.: Diamino-diphenylsulfone (DDS): Preliminary observations on its effect *in vitro* and in mice infected with various species of *Mycobacterium*, *Trans 18th VA-AF Conf Chemother Tuberc*, 247-252, 1959.
- 85) Hedgecock, L.W. and Blumenthal, H.T.: The effect of isoniazid and para-aminosalicylic acid of infection in mice produced by *Mycobacterium kansasii*, *Am Rev Resp Dis*, 91: 21-29, 1965.
- 86) 阪本竜夫，合田 忠：実験的非定型抗酸菌症に対する Ethambutol の効果について，結核，41：233-238，1966.
- 87) Burjanová, B. and Urbancík, R.: Experimentelle Chemotherapie von *Mycobacterium kansasii* - Infektionen im Tierversuch, *Beitr Klin Tuberk*, 135: 364-369, 1967.
- 88) Burjanová und Dornetzhuber: Isoxyl und T283 in der Behandlung photochromogener Infektionen bei Mäusen, *Z. Tuberk*, 127: 123-125, 1967.
- 89) Rosenfeld, M.: Chemotherapie sogenannter atypischer Mycobakteriosen, *Beitr Klin Tuberk*, 137: 115-129, 1968.
- 90) Shronts, J.S., Ryneanson, T.K. and Wolinsky, E.: Rifampin alone and combined with other drugs in *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium intracellulare* infection of mice, *Am Rev Resp Dis*, 104: 728-741, 1971.
- 91) 豊原希一：Enviomycin (Tuberactinomycin) の非定型抗酸菌に対する抗菌力(その2)，動物実験，結核，54：461-465，1979.
- 92) 李 英徹他：実験的非定型抗酸菌症に関する研究，4. *Mycobacterium kansasii* 感染マウスに対する抗結核薬の単剤治療効果，結核，57：343-352，1982.
- 93) 李 英徹他：実験的非定型抗酸菌症に関する研究，5. *Mycobacterium kansasii* 感染マウスに対する抗結核薬の併用治療効果，結核，57：369-377，1982.
- 94) Collins, F., Morrison, N.E. and Montabline, V.: Immune response to persistent mycobacterial infection in mice, *Infection and Immunity*, 20: 430-438, 1978.
- 95) 久世文幸他：実験的非定型抗酸菌症に関する研究，2. *Mycobacterium intracellulare* (米国株) 感染マウスに対する抗結核薬の併用効果—経尾靜脈感染の成績—，結核，54：453-460，1979.
- 96) Forget, A. et al.: Differences in response among in

- bred mouse strains to infection with small doses of *Mycobacterium bovis* BCG., *Infection and Immunity*, 32: 42-47, 1981.
- 97) Taquet, A. and Tison, F.: *In vitro* and *in vivo* activity of dextro-2, 2'(ethylenediimino) di-1-butanol (ethambutol) used alone or in combination against atypical mycobacteria, *Rev Tuberc (Paris)*, 27: 431-443, 1963.
- 98) 下出久雄, 豊原希一: 非定型抗酸菌の実験的研究 1. *M. kansasii* のモルモットにおける吸入感染初期像, および珪酸注入, BCG 接種の影響, *結核*, 46: 13-17, 1971.