

## 原 著

## 実験的非定型抗酸菌症に関する研究

7. *Mycobacterium avium*-*M. intracellulare* complex の  
マウスに対する病原性 (ii)

— mouse virulent strain (マウス毒力株) の検索 —

久 世 文 幸・李 啓 充

京都大学結核胸部疾患研究所内科学第1

受付 昭和 58 年 8 月 1 日

A STUDY ON EXPERIMENTAL MYCOBACTERIOSES  
PROVOKED BY ATYPICAL MYCOBACTERIA7. Pathogenicity of *Mycobacterium avium-intracellulare* Complex for Mice  
— Selection of a mouse virulent strain —

Fumiyuki KUZE\* and Kaechung LEE

(Received for publication August 1, 1983)

In order to establish a small animal model of *Mycobacterium avium-intracellulare* infection suitable for *in vivo* evaluations of chemotherapeutic regimens, ten strains were elaborately studied on the virulence to ddY conventional mice. The Log Ratio of the multiplication of bacilli in lung during the period of four weeks, from three to seven weeks of intravenous infection, was used as a main index for selection of a suitable strain for the model. After three consecutive repetitions of the same intravenous infection with the all ten strains, one of the strains, 31F093T, revealed itself to be reasonably virulent to the mice. The mice constantly showed miliary lung lesions, which became grossly visible at seven weeks of infection, with the mean Log Ratio of 2.3. Moderate to marked enlargement of both spleen and liver with gross diseases was also usual findings at the seventh week of infection.

Three mycobacterial strains, *M. tuberculosis* (H37Rv), *M. kansasii* (KMC 1113), and *M. avium-intracellulare* (31F093T), were injected intravenously to ddY conventional mice. Histopathologic findings as well as other parameters were evaluated in these three mycobacterial infections in mice. The murine infection with 31F093T strain was obviously more chronic and persistent than the murine tuberculosis caused by H37Rv. The histopathologic findings of the mice infected with *M. avium-intracellulare* 31F093T were those of granulomatous to diffuse proliferative changes in lung with extensive granuloma formation in both spleen and liver. No necrotic changes were demonstrated in the lungs of mice infected with 31F093T strain, while the changes were frequently observed in the lungs of moribund mice

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

infected with H37Rv. No deaths due to the infection ensued in the mice infected with *M. avium-intracellulare* 31F093T during the whole period of 23 weeks. *M. kansasii* KMC 1113 provoked the disease earlier than 31F093T strain, and a spontaneous regression of the disease was suggested in kidney and liver beyond eleven weeks of infection, though the disease in lung persisted until the end of the observation.

Five different strains of mice, ddY, C3H/He, ICR, BALB/c, and C57BL/6, were evaluated for their susceptibilities to 31F093T strain. Besides the intravenous model with ddY strain, both intravenous model with BALB/c and intraperitoneal model with C57BL/6 also demonstrated their probable usabilities for the infection models of murine *M. avium-intracellulare* infection.

**Key words:** *M. avium-intracellulare*, Experimental infection in mice, Mouse virulent strain

**キーワード:** *M. avium-intracellulare*, マウス実験感染症, マウス毒力株

## 序 論

本邦でみられる非定型抗酸菌症 (AM 症) のなかで最も罹患頻度の高い *Mycobacterium avium-M. intracellulare* 症 (以下 *M. intracellulare* 症) の治療が, その原因菌の諸種抗菌薬に対する感受性の低さ, また opportunistic pathogen としての傾向の強さなどにより, 種々の困難に遭遇していることは周知のことである。有効な治療術式の検索とともに本症の発病にかかわる種々な要因の解析が現在の重要な課題と考えられるが, このためにはまず適切な実験動物感染モデルの作成が必要であろう。

私どもは数年来, *in vivo* での治療術式を評価するに適當な実験動物感染モデル作成を目指し検討を続け, *M. intracellulare* のマウスに対する病原性, 実験的治療法の試みなどについて報告<sup>1)2)</sup>したが, 今回は *M. intracellulare* の毒力 (virulence) に主眼を置き, 本菌の集落形態, 感染マウスの病理組織所見, マウス系統別の感受性の差異などの検討を加えることにより, いわゆるマウス毒力株 (mouse virulent strain) の検索を試みた。その結果, 検討した 1 菌株で, 肺, 脾内生菌数の推移, 各臓器の肉眼的ならびに病理組織学的所見の総合評価から, 所期の目的を一応満たすマウス慢性感染モデルを作成できたと考えられたのでその成績を報告する。

## 実験材料ならびに方法

### (1) 実験動物

実験 1 と実験 2 では ddY conventional 雄マウスを使用し, 実験 3 では ddY, C3H/He, ICR, BALB/c, C57BL/6 の計 5 系統の SPF マウスを用いた。5 系統とも静岡実験動物より購入したものである。感染操作はすべて 4 週齢で実施した。飼料は市販の固形飼料 (船橋農場) を用いた。

### (2) 使用菌株

*M. intracellulare* 10 株と *M. tuberculosis* (H37Rv), *M. kansasii* (KMC1113) の計 12 株を用いた。いずれも臨床材料より分離後, あるいは他施設より供与をうけてから 1% 小川培地に平均年 2 回の頻度で継代し, -20°C で保存されたものである。*M. intracellulare* (*M. avium-intracellulare*) の内訳は, 5 株 (TMC702, TMC1411, TMC1419, TMC1467, TMC1469) が Trudeau Mycobacterial Culture Collection (TMC) に含まれる菌株で, 1975 年米国より供与 (U. S.-Japan Cooperative Medical Science Program-NIAID) を受けたもので, 分離時期は 1936 年から 1967 年であり, 実験開始までに最低 14 年間保存されている。TMC702 のみは鶏より分離された菌株で *M. avium* として供与されたものであるが他の 4 株は臨床材料より分離されたもので *M. intracellulare* として供与された。他の 5 株 (31F049, 31F059, 31F093, 31F122, 31F135) は京大結核胸部疾患研究所入院患者 (*M. intracellulare* 症) の喀痰分離株で, 分離時期は 1972 年より 1974 年にわたり 7 年から 9 年の保存期間を経ている。*M. kansasii* (KMC1113) は, 1978 年当施設での *M. kansasii* 症患者喀痰よりの分離株で, *M. tuberculosis* (H37Rv) は 1975 年米国より TMC102 株として供与されたものである。これら 1% 小川培地上の発育菌を modified Dubos Tween albumin 液体培地 (0.05% Tween80 含有) に継代し, 更に再度同培地に継代した 2 週間培養菌液を直接マウス感染菌液として使用した。使用ごとに滅菌生理的食塩水でその 10 倍稀釈系列を作成し, その 0.1ml ずつを 1% 小川培地に接種, 培養することにより感染菌量を求めた。

### (3) 実験方法

#### 1) 実験 1. — マウス毒力株の検索 —

前述した *M. intracellulare* 10 株の菌液 0.2ml をそれぞれ 10 匹ずつのマウス尾静脈に接種し, 接種後 3 週に 3 匹, 7 週に残余の 7 匹を屠殺, 剖検し, 臓器重量,

臓器肉眼病変を観察するとともに3週には屠殺した全マウス(3匹)、7週には7匹中3匹のマウスを臓器内生菌数算定に使用した。即ち、各3匹のマウスの肺、脾をそれぞれ一括秤量し、それに9倍(V/W)の2% NaOHを加え、ホモゲナイザー(日本精機ユニバーサルホモゲナイザーを使用)で磨碎、更に同様2% NaOHで臓器の10倍稀釈系列を作成し、1%小川培地3本ずつに0.1mlずつ接種、6週後発育集落数より臓器内平均生菌数を算定した。

上記の感染実験を3回繰り返したが、第2回目、第3回目には前回で得られた感染後7週の肺還元菌をそれぞれ modified Dubos Tween albumin 液体培地に継代したものを使用した。肺からの還元ができなかった場合は脾からの還元菌で代用した。また、第1回感染に使用したものと同一の菌液を用い、肉眼的比濁により $10^{-3}$ mg接種での1%小川培地上の抗結核薬に対する感受性検査を実施すると共に、第1回と第3回目に使用した菌液の100倍稀釈液を用い、cornmeal glycerol agar 平板培地上に2定量白金耳(マイクロロープ2号、1/200ml, MWE社製)を接種、3週間培養後弱拡大で鏡検することにより、各菌株の集落形態を観察した。1菌株に複数の集落形態の認められた場合には、500集落を観察することにより、各集落形態の概略の比率を算定した。

使用した保存菌株と第3回感染後7週の肺還元菌については、発育日数、集落の着色(含光発色試験)、ナイアシントラステ、硝酸塩還元試験、Tween80水解試験、ウレアーゼ試験、PAS分解試験、ピクリン酸培地発育試験、半定量カタラーゼ試験、アリルスルファターゼ試験を実施することによりすべて *M. avium-intracellulare* であることを確認した。

#### 2) 実験2. —31F093T株感染マウスの主として病理組織学的検討—

実験1で選択した *M. intracellulare* マウス毒力株31F093Tを経静脈感染させたときの ddY マウスの臓器病変をより詳細に検討するため、*M. tuberculosis* (H37Rv) と *M. kansasii* (KMC1113) を比較対照のために使用し、同じ日に入手した同一週齢のマウス30匹ずつにこれらの3菌種を尾静脈より接種し、経時的に5ないし6匹ずつ屠殺剖検し、臓器肉眼病変、臓器重量ならびに臓器病理組織学的所見を観察した。他に無処置の18匹の正常マウスも同様経時的に2ないし4匹を剖検し比較検討に供した。観察は23週まで実施したが、H37Rv感染マウスのみは4週で終了した。剖検時マウスの肺、肝、腎、脾は10%ホルマリンで固定、後病理切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色をほどこすことにより病理組織学的所見を観察した。

#### 3) 実験3. —*M. intracellulare* 31F093T株に対するマウスの系統別感受性—

5系統のSPFマウス(ddY, ICR, BALB/c, C3H/He, C57BL/6)を15ないし16匹ずつ使用し、全マウスに一樣に31F093T株の $3.40 \times 10^7$ v.u.を接種した。ddY, ICR, BALB/cの3系統には尾静脈感染を、C3H/He, C57BL/6の2系統には腹腔内感染を実施した。感染後3週にそれぞれ3匹のマウスを、8週後には残余のマウスを屠殺剖検し、臓器重量、臓器肉眼病変を観察するとともに3週目には全マウス(3匹)を、8週後には残余のマウスの3匹を用い肺、脾の生菌数を求めた。8週後に屠殺剖検したマウスのうち生菌数算定に用いた残りのマウスはすべて病理組織学的検索に供した。

### 実験成績

#### 実験1. —マウス毒力株の検索—

表1に実験に使用した *M. intracellulare* 10株の性状を示した。1%小川培地上での2週培養の発育状態は、TMC株のすべてと本邦分離株2株(31F122, 31F135)の計7株は eugonic で、集落は大きく相互に融合性であり、残余の本邦分離株3株(31F049, 31F059, 31F093)は dysgonic で、微小集落が密に発育しているが相互の融合傾向はなかった。これら微小集落に混ざって少数の eugonic な大型集落が認められた。cornmeal glycerol agar 上の集落形態の観察では、上記の dysgonic な発育を示した3株は大部分(79~96%)が smooth transparent colony (T集落)で占められており、これに少数(8~21%)の smooth dome-shaped opaque colony (D集落)が混在しているのが観察された。TMC1411, TMC1419, TMC1467の3株は殆んどD集落で占められ、またTMC702は rough colony (R集落)のみを、TMC1469は intermediate colony (IM集落)を示すのが観察され、31F122と31F135の2株はそれぞれIM集落と少数のD集落ならびにR集落の混合、IM集落と少数のR集落との混合であった。図1に各集落形態を例示した。また、表1に示したごとく、1%小川培地での抗結核薬に対する感受性検査では、殆んどD集落を示すTMC1411, TMC1419, TMC1467の3株がRFPに完全に感受性を示すのが注目された。他の菌株はすべてRFPに対して耐性を示した。

表2に感染実験の成績を総括した。接種生菌数は $1.1 \times 10^6$ v.u.から $8.5 \times 10^8$ v.u.とかなりばらつきがあるが培養菌液を直接接種したためと考えられ、それぞれ時期の異なることによる培養条件の差と考えられる。感染後3週、7週の肺、脾の還元菌数( $\log_{10}$ )をみると、3回の反復実験ともにTMC1411, TMC1419, TMC1467の3株では7週での還元菌数が他の菌株に比較し、明らかに少なく、増殖率( $\text{Log Ratio} = \log_{10} [7 \text{週での還元菌数} / 3 \text{週での還元菌数}]$ )でみても、臓器内生菌数の著明な減少傾向が示唆され、毒力は弱いと考えられた。7週後肺平均還元菌数が $10^7$ v.u.以上を示し

Table 1. Characteristics of 10 *Mycobacterium avium-intracellulare*

Strain	Year of Isolation	Colony form(%) <sup>*</sup>			Growth on OM	Drug Susceptibility on OM																				
		T	IM	D		R	SM 20	PAS 1	INH 0.1	5	KM 25	CS 20	TH 25	EB 2.5	EVM 25	RFP 10										
TMC 702	1936				100 (100) <sup>‡</sup>	E	P	P	R	R	R	R	R	P	S	P	S	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
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
TMC 1467	1967			100 (100)		E	P	S	R	R	R	R	R	P	S	P	S	P	S	R	S	S	P	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
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
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
31F 093	1973		79 (100)	21		D	R	P	R	R	R	R	P	P	P	P	S	R	P	R	R	S	R	P	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
31F 135	1974		89		11 (100)	E	R	P	R	R	R	R	R	R	S	P	S	R	P	R	R	S	R	P	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.  
<sup>\*</sup> % in 500 colonies  
<sup>†</sup> Micrograms per milliliter  
<sup>‡</sup> Colony form(%) on cornmeal glycerol medium of bacilli recovered from lungs after third passage through mice.

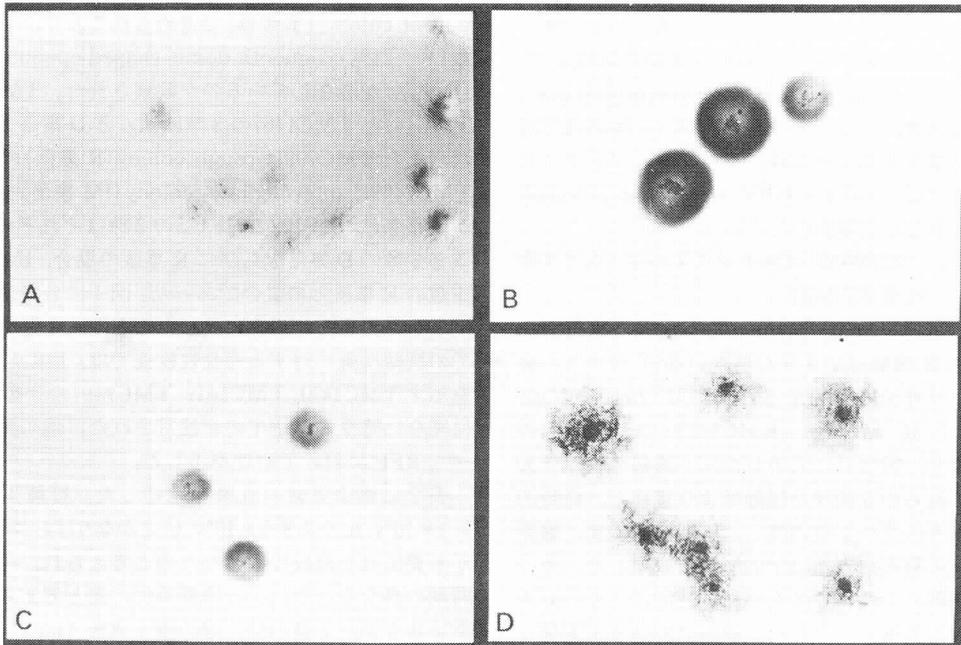


Fig.1. Representatives of the four different colony forms of *M. intracellulare* on cornmeal agar medium (3 weeks).

- 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 ; ×40)

Table 2. Virulences of 10 *Mycobacterium avium-intracellulare*

Strain	Passage through Mice	No. of Bacilli in Inoculum	Counts of Bacilli in whole Lung ( $\log_{10}$ )		Count of Bacilli in whole Spleen ( $\log_{10}$ )		Log Ratio <sup>**</sup> 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	$4.3 \times 10^6$	6.93	7.23	7.85	7.75	0.30	- 0.10	0.31	0.34	2.31
	2	$6.3 \times 10^7$	4.60	5.58	4.87	4.26	0.98	- 0.61	0.31	0.34	2.29
	3	$5.0 \times 10^7$	6.23	5.25	5.77	5.97	- 0.98	0.20	0.34	0.44	2.56
TMC1411	1	$6.4 \times 10^6$	4.17	NR†	7.01	4.89	- 4.17	- 2.12	0.25	0.19	2.01
	2	$6.4 \times 10^7$	2.41	1.82	4.31	3.93	- 0.59	- 0.38	0.25	0.40	2.33
	3	$7.4 \times 10^7$	3.10	1.60	3.69	3.55	- 1.50	- 0.14	0.26	0.27	2.23
TMC1419	1	$1.1 \times 10^6$	4.18	3.92	6.79	5.93	- 0.26	- 0.86	0.29	0.20	1.94
	2	$7.0 \times 10^7$	3.81	4.14	4.33	4.31	0.60	- 0.02	0.25	0.22	2.04
	3	$1.4 \times 10^8$	3.97	2.68	4.58	3.70	- 1.29	- 0.88	0.26	0.19	2.11
TMC1467	1	$1.5 \times 10^7$	NR	NR	5.47	4.84		- 0.63	0.24	0.21	2.06
	2	$1.2 \times 10^8$	2.11	1.49	4.06	3.08	- 0.62	- 0.98	0.23	0.24	2.05
	3	$9.0 \times 10^7$	2.27	1.16	2.49	2.74	- 1.11	0.25	0.23	0.16	2.02
TMC1469	1	$8.5 \times 10^8$	7.92	7.95	8.60	9.68	0.03	1.08	0.53	0.13	1.12
	2	$5.6 \times 10^8$	4.39	4.68	5.68	5.57	0.29	- 0.11	0.27	0.39	2.52
	3	$5.0 \times 10^8$	4.51	4.85	5.87	6.43	0.34	0.56	0.28	0.34	2.43
31 F 049	1	$1.6 \times 10^7$	7.82	8.78	8.76	8.68.	0.96	- 0.08	0.30	0.55	2.70
	2	$8.0 \times 10^7$	4.48	5.65	5.64	5.11	1.17	- 0.53	0.30	0.56	2.76
	3	$2.5 \times 10^8$	4.81	5.64	4.96	5.99	0.83	1.03	0.28	0.53	2.53
31 F 059	1	$5.0 \times 10^6$	7.00	9.93	8.17	7.78	2.93	- 0.39	0.32	0.63	2.84
	2	$3.0 \times 10^7$	4.80	5.85	5.82	5.22	1.05	- 0.60	0.31	0.39	2.65
	3	$1.4 \times 10^8$	4.71	5.87	5.24	6.12	1.16	0.88	0.30	0.41	2.78
31 F 093	1	$5.0 \times 10^8$	6.82	9.31	7.74	8.54	2.49	0.80	0.38	0.50	2.95
	2	$8.0 \times 10^7$	4.33	6.26	5.67	6.23	1.93	0.56	0.36	0.68	3.29
	3	$1.8 \times 10^8$	4.51	6.98	6.16	6.98	2.47	0.82	0.43	0.53	3.31
31 F 122	1	$8.0 \times 10^7$	7.65	7.26	7.02	7.92	- 0.39	0.90	0.24	0.22	2.16
	2	$4.0 \times 10^8$	5.84	6.64	4.96	4.63	0.80	- 0.33	0.31	0.47	2.71
	3	$8.0 \times 10^8$	4.98	6.65	5.23	6.33	1.67	1.10	0.41	0.47	3.07
31 F 135	1	$1.6 \times 10^7$	7.05	7.58	7.64	8.78	0.53	1.14	0.26	0.43	2.35
	2	$2.6 \times 10^8$	5.11	5.23	5.02	5.23	0.12	0.21	0.30	0.51	2.46
	3	$9.0 \times 10^7$	4.68	5.54	4.85	5.73	0.86	0.88	0.31	0.41	2.59

\* Log Ratio of multiplication =  $\log_{10} \left[ \frac{\text{Count of bacilli in organ at 7th week}}{\text{Count of bacilli in organ at 3rd week}} \right]$   
 † Not recovered

た菌株は31F059(7.22)と31F093(7.52)の2株で、同様牌ではTMC1469(7.23)と31F093(7.25)の2株であった。増殖率の平均でみると31F059は肺、脾とも31F093に劣り、更に31F093は7週後の平均肺、脾、肝重量ともに最も大きく毒力の強さが示唆された。

表3に肺肉眼病変を示したが、還元生菌数、臓器重量から得た結論を裏付けており、ことに第3回感染での31F093の所見は菌力の強さを明らかに示すものと考えられた。なお表1に示したように最終回感染後7週剖検時の肺還元菌は、31F093、31F049、31F059 3株とも cornmeal glycerol agar 上ですべて T 集落を示していた。

小括すると、*M. intracellulare*31F093株は、T 集落形成菌で $5.0 \times 10^6 \sim 1.8 \times 10^8$  v. u. の尾静脈感染で感染後3週から7週の間に肺内生菌数は $10^2$ 倍程度増加し、7週後肺、脾、肝の重量は正常マウス(通常肺0.2g, 脾0.1g, 肝1.5g)のそれぞれ2倍、6倍、2倍に増加した。本菌株を仮に31F093T株と名付け、mouse virulent strain(マウス毒力株)として以下の実験に供することにした。

なお、この実験で使用した接種菌量の範囲では、接種菌量と病変との相関は明らかではなく、またマウス通過による毒力の増加についても評価できなかった。

Table 3. 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	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
31F049	1	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
31F059	1	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31F093	1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31F122	1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
	2	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
	3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
31F135	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

実験2. —マウス毒力株31F093T 感染マウスの主として病理組織学的検討—

(i) 体重ならびに臓器重量と死亡数

体重ならびに各臓器重量の推移を図2, 3, 4, 5, 6に示した。菌接種後3週までは3菌種感染群とも正常マウスと同様、体重の増加が認められる。それ以降はそれぞれ様相を異にした体重の減少が認められた。*M. tuberculosis* (H37Rv) 感染マウスでは急激な体重増加の停止と減少がその直後にみられ、感染後3週から4週の間30匹中12匹(40%)が死亡した。*M. kansasii* (KMC1113) 感染マウスでは感染後15週で30匹中1匹の死亡が認められたのみで、実験期間中の死亡数は無視しえた。感染後11週から17週まで体重増加の停止がみられるが、それ以降は正常マウスと比較すると差は認められるが増加傾向が続いている。

*M. intracellulare* (31F093T) 感染マウスでは感染後6週で体重増加は停止し、11週まで正常マウスと比較し3g前後の差を保つた後かなり急速に減少し、実験開始時の体重に近づき、感染後17週から23週まではほぼ横ばいの状態が続いた。11週目に30匹中1匹の死亡がみられたのみであった。31F093T 感染により慢性でpersistentの傾向のある感染症の成立が示唆された。これに対し、H37Rv 感染マウスでは亜急性の致死病変が成立したと考えられた。

肺重量の推移(図3)も上記の観察を裏付けた。死亡

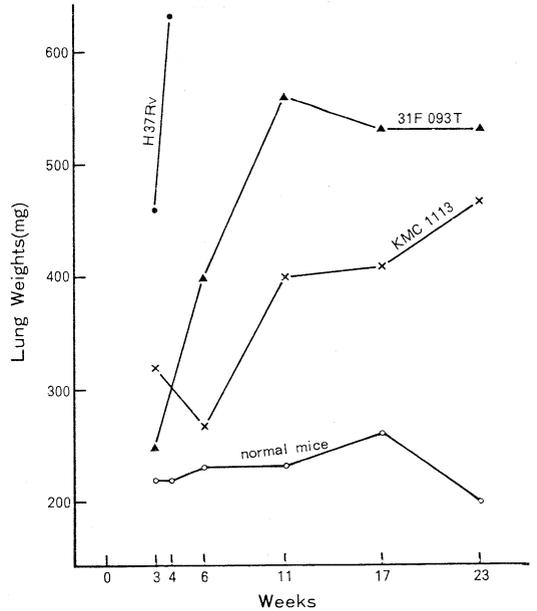


Fig. 3. Average lung weights of three groups of mice infected with *M. tuberculosis* (H37Rv), *M. kansasii* (KMC1113), and *M. avium-intracellulare* (31F093T).

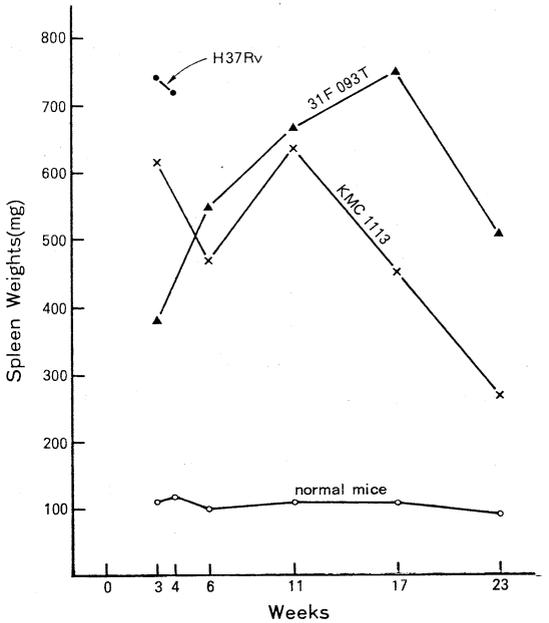


Fig. 4. Average spleen weights of three groups of mice infected with *M. tuberculosis* (H37Rv), *M. kansasii* (KMC1113), and *M. avium-intracellulare* (31F093T).

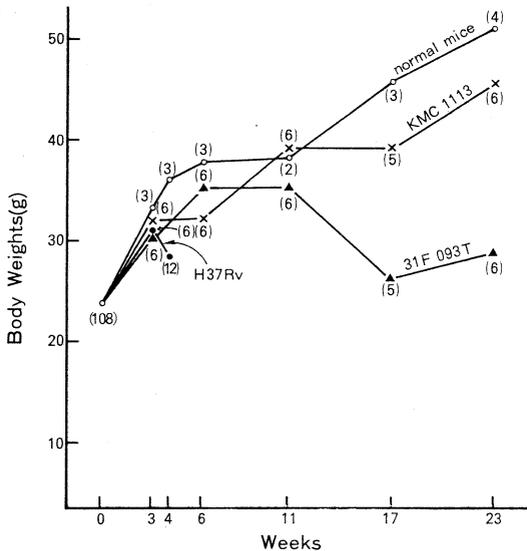


Fig. 2. Average body weights of three groups of mice infected with *M. tuberculosis* (H37Rv) ( $9.6 \times 10^7$  v.u.), *M. kansasii* (KMC1113) ( $5.0 \times 10^6$  v.u.), and *M. avium-intracellulare* (31F093T) ( $1.8 \times 10^8$  v.u.). Average body weights of normal mice were plotted for comparison. Numbers of mice were shown in the parentheses.

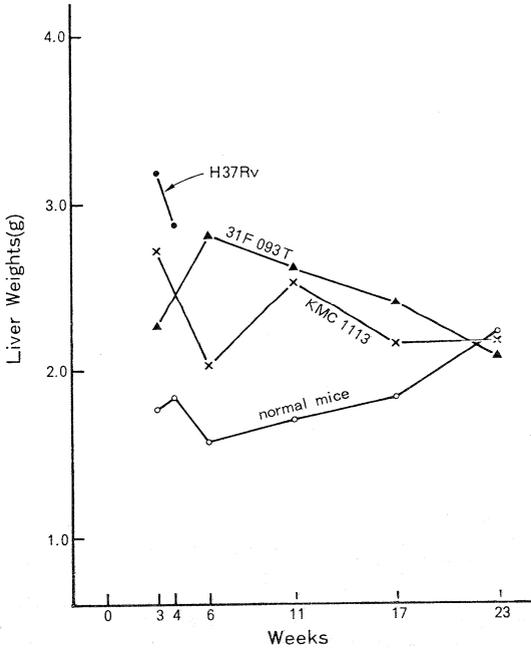


Fig. 5. Average liver weights of three groups of mice infected with *M. tuberculosis* (H37Rv), *M. kansasii* (KMC1113), and *M. avium-intracellulare* (31F093T).

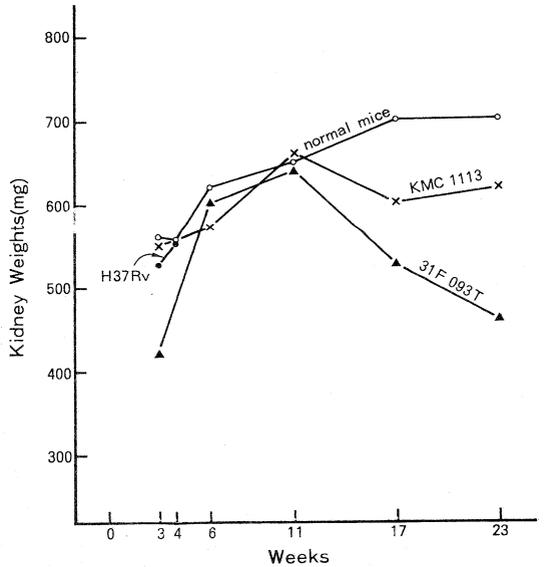


Fig. 6. Average kidney weights of three groups of mice infected with *M. tuberculosis* (H37Rv), *M. kansasii* (KMC1113), and *M. avium-intracellulare* (31F093T).

率40%を示した4週後 H37Rv 感染マウスの肺重量は正常マウスの約2.8倍を示し、この前後に致死的な要因が働くものと考えられた。31F093T 感染マウスでは、体重の観察で示唆された慢性病変は感染後11週で persistent な状態になると考えられ、この病変は実験期間中保持されるようであった。実験終了時肺重量は正常マウスの約2.7倍であった。KMC1113感染マウスでは全実験期間中かなり緩慢な肺重量の増加がみられたが実験終了時の肺重量は正常マウスの約2.4倍で31F093T 感染マウスの増加には及ばなかった。

脾重量の推移(図4)では、初期の増加傾向は肺重量の場合とはほぼ同様であるが、31F093T 感染マウスと KMC1113感染マウス両者のそれぞれ17週, 11週以降の急激な減少が注目された。また、31F093T 感染マウスの17週目脾重量は H37Rv 感染マウスの死亡前後の脾重量と同じであった。

肝重量の推移(図5)も脾重量の推移と基本的に同様な傾向を示した。

腎重量の推移(図6)は、肺、脾、肝と異なり、感染後11週まで感染菌種間の差異はなく、正常マウスと同様増加が認められたが、感染後11週以降では減少傾向が認められ、体重の減少と相関するようになら

れた。

(ii) 臓器肉眼病変ならびに病理組織学的所見

表4に3菌種による感染マウスの肉眼病変を記載した。肺、肝は微小結節を主体とする粟粒病変、脾は脾腫と時にそれに伴う粟粒小結節を示し、腎は肉眼的には腎膿瘍と考えられる病変であった。

31F093T 感染マウスでは、感染後3週目より肺表面に微小結節が出現する。6週目に至ると上記結節は殆んどのマウスで無数となり、肺は硬度を増し、正常肺の光沢を失い実質性となる。17週以降になると肺全面が微小結節でおおわれ、灰白色を呈する。時に粗大な結節の混在が認められた。即ち感染後6週以降では全マウスに明らかな肺肉眼病変が認められ、病変の肉眼判定は容易であった。H37Rv ならびに KMC1113 感染マウスにも同様粟粒病変が認められたが、31F093T による病変と比較すると結節はより粗大な傾向があり、病変発現は早かった。

H37Rv 感染4週後のマウスでは肝、腎の肉眼病変の頻度は低かったのに対し、KMC1113感染マウスでは6週で全マウスに腎病変が、31F093T 感染マウスでは23週で83%(肝), 67%(腎)にそれぞれの病変が出現した。しかし、KMC1113感染マウスでは、6週以降肝、腎病

Table 4. Macroscopic Lesions of Murine Mycobacterioses

Time (wks) after Challenge	M. tuberculosis (H 37 Rv)				M. kansasii (KMC 1113)				M. avium-intracellulare (31F093T)			
	Lung	Liver	Spleen	Kidney	Lung	Liver	Spleen	Kidney	Lung	Liver	Spleen	Kidney
3	※ ### ### ### ### ###	1/6 †	6/6	0/6	### ### ### ### ##	0/6	6/6	0/6	## ## ## ## -	0/6	6/6	0/6
4	### ### ### ### ### ###	3/12	12/12	0/12								
6					## ## ## ## +	0/6	6/6	6/6	## ## ## ## ##	2/6	6/6	0/6
11					## ## ## ## ## ##	1/6	6/6	4/6	### ### ### ### ### ###	3/6	6/6	0/6
17					### ### ### ### ##	0/5	5/5	1/5	### ### ### ### ##	4/5	5/5	1/5
23					### ### ### ### ##	0/6	6/6	0/6	### ### ### ### ##	5/6	6/6	4/6

※ 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  
 † No. of mice with gross lesions/No. of mice autopsied

Table 5. Histopathology of Murine Mycobacterioses

Time (wks) after Challenge	M. tuberculosis (H 37 Rv)					M. kansasii (KMC 1113)						M. avium-intracellulare (31F093T)									
	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														+~##	±	+	-	+	±	+~##	##~##

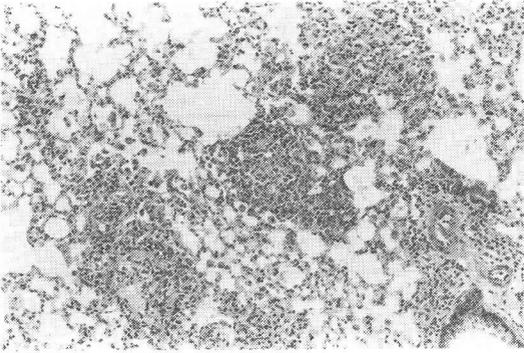
Abbreviation : C.agg. = aggregation of mononuclear cell, Gr. = granulomatous lesion, ProL. = diffuse proliferative change, Nec. = necrotic change, Hd. = hyaline drop degeneration in tubular epithelium  
 ※ : grades of histopathology

変の消退傾向がうかがわれた。

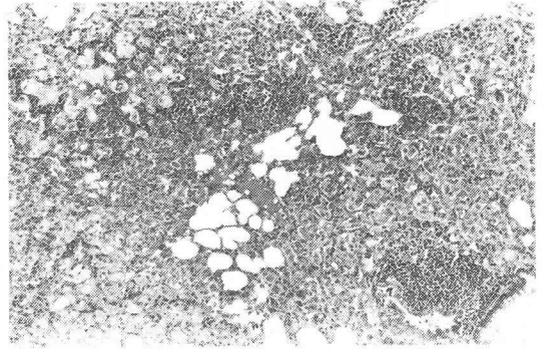
表 5 に各臓器の病理組織学的所見を総括した。なお、図 7 に代表的な病理組織像を示した。

31F093T 感染マウスにみられた肺病変は、単核細胞 (リンパ球とマクロファージ) の集簇巣、類上皮様細胞

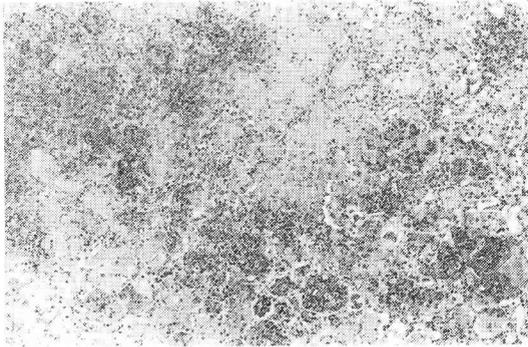
の出現を伴う肉芽腫性変化<sup>3)</sup>、泡沫細胞の出現を伴うびまん性繁殖型病変<sup>3)</sup>などであり、感染後 6 週では肉芽腫性病変 (図 7 ; A) が主なものであるが、11 週では全マウスにびまん性繁殖型病変が出現し、23 週までこの傾向は続いた。また、23 週ではリンパ球の集簇巣がかなり



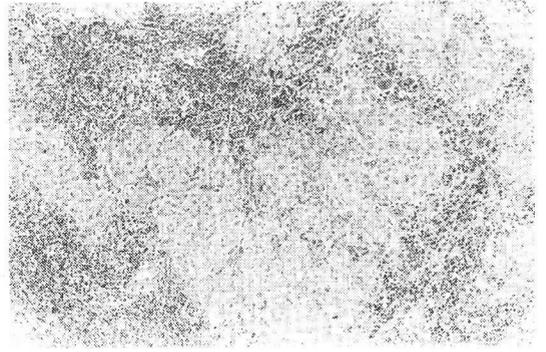
A



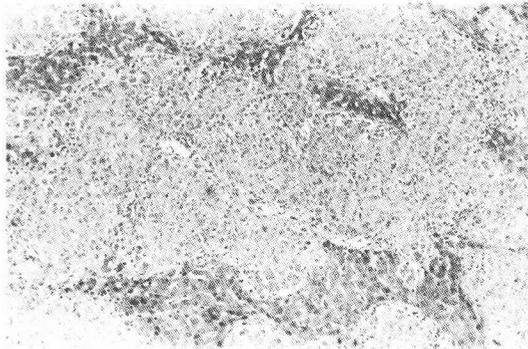
B



C



D



E

Fig. 7. Representatives of histopathologic lesions of murine mycobacterioses.

- A : Granulomatous lung lesions at 6 weeks(31F093T).
- B : Diffuse proliferative lung lesions at 23 weeks, with foamy cells and lymphocytes aggregates (31F093T).
- C : Necrotic lung lesions at 4 weeks (H37Rv).
- D : Granulomata in spleen at 23 weeks (31F093T).
- E : Extensive granuloma formation in liver at 23 weeks (31F093T).

Table 6. Susceptibilities of 5 Different Strains of Mice to *M. avium-intracellulare* (31F093T)—Macroscopic Findings—

Strains of Mice	Mean Body Weight (g)		Mean Organ Weight (g)				Mean Root Index <sup>§</sup> at 8 wks		Gross Disease of Organs at 8 wks			
	3wks (3mice)	8wks (7to13mice)	Lung		Spleen		L	S	Gross Disease of Organs at 8 wks			
			3wks	8wks	3wks	8wks			L	S	Li	K
1. ddY (i.v.)	33.8	38.7	0.31	0.40	0.43	0.57	10.18	1.22	* #(12) +(1)	0/13	8/13	7/13
2. ICR (i.v.)	19.2	37.6	0.37	0.41	0.25	0.80	10.44	1.46	#(12)	3/12	4/12	4/12
3. BALB/c (i.v.)	22.2	24.8	0.22	0.25	1.04	0.96	10.12	1.98	#(11) +(1)	12/12	12/12	6/12
4. C3H/He (i.p.)	25.2	29.2	0.20	0.24	0.23	0.24	9.07	0.96	#(4) +(2) +(1)	0/7	7/7	0/7
5. C57BL/6 (i.p.)	21.5	22.5	0.19	0.27	0.56	0.78	10.95	1.86	#(9) +(2)	10/11	11/11	0/11

Abbreviations : i.v. = intravenous infection, i.p. = intraperitoneal infection, wks = weeks, L = lung, S = spleen, Li = liver, K = kidney

\* : Grade of macroscopic lesion (see footnotes in table 3.)

† : Number(s) of mice which showed respective gross disease

‡ : Number(s) of mice with gross disease / Numbers of mice examined

§ : Mean Root Index (L) =  $\sqrt{\frac{\text{Mean Lung Weight (mg)}}{\text{Mean Body Weight (g)}}} \times 10$ , Mean Root Index (S) =  $\sqrt{\frac{\text{Mean Spleen Weight (g)}}{\text{Mean Body Weight (g)}}} \times 100$ Table 7. Susceptibilities of 5 Different Strains of Mice to *M. avium-intracellulare* (31F093T)—Bacteriological and Pathological Findings—

Strains of Mice	Counts of Bacilli in whole Lung (log <sub>10</sub> )		Counts of Bacilli in whole Spleen (log <sub>10</sub> )		Counts of Bacilli in whole Kidney (log <sub>10</sub> )		Histopathological Findings (Gr.)			
	3 wks	8 wks	3 wks	8 wks	3 wks	8 wks	L	S	Li	K
1. ddY (i.v.)	4.53	6.09	4.93	6.02	4.13	4.53	++ + ##	++ + ##	++ + ##	- + +
2. ICR (i.v.)	4.70	5.33	6.24	6.00	4.29	5.19	++	++	++	- + +
3. BAL B/c (i.v.)	5.54	6.42	5.54	6.42	4.88	6.40	++ + ##	###	##	- + +
4. C3H/He (i.p.)	4.71	5.07	5.57	5.66	4.91	4.08	+ + ##	+	+	- + +
5. C57BL/6 (i.p.)	5.97	7.53	6.96	8.13	6.36	6.21	++ + ##	###	###	-

Abbreviation : Gr. = granuloma

\* : Grade of histopathological lesion

みられた(図7; B)。KMC1113感染マウスでも同様な所見がみられるが、11週でみられたびまん性繁殖型病変は17週以降消退傾向がみられた。H37Rv感染マウスでは強いびまん性繁殖型病変に広範な壊死(図7; C)が伴っていたが、31F093TとKMC1113感染マウス肺で

は23週に至るまで壊死の出現は認められなかった。

肝、脾では、いずれの菌種の感染マウスでも肉芽腫性病変が認められたが、31F093T感染マウスでは他の菌種の感染マウスに比べ、病変はより広範であった(図7; D, E)。

腎病変は、膿瘍、間質性腎炎、肉芽腫性病変などが主であったが、H37RvとKMC1113感染マウスでは病変発現の頻度は比較的lowく、表5には記載しなかったが、H37Rv感染後3週のマウス3匹、1匹にそれぞれ間質性腎炎、膿瘍が、また感染後4週のマウス5匹に間質性腎炎が認められた。そのうち1匹には腎膿瘍の合併がみられた。KMC1113感染マウスでは肉眼病変の頻度が高かつたにもかかわらず特異的な病理組織学的所見にやや乏しい印象をうけたが、31F093T感染17週以降のマウスでは比較的高頻度に肉芽腫性病変の発現とhyaline drop degenerationが認められた。

### 実験3. マウス毒力株31F093Tに対するマウス系統別感受性—

表6, 7に実験成績を総括した。本実験ではC3H/HeとC57BL/6の2系統で腹腔内感染を試みたが、実験的薬療法のための感染モデルとしての実際的な見地から、ことにC57BL/6を使用した場合、むしろ静脈感染系(ddY)を凌駕する感染モデル作成が可能である印象をうけた。

臓器重量と肉眼病変(表6)の検討で、肺重量の増加がBALB/c, C3H/He, C57BL/6の3系統で、他の2系統に比較して少なく、この点は肺重量を指標とする場合難点の1つと考えられるが、感染後8週のルート比肺重<sup>4)</sup>はC3H/Heを除いて4系統間に顕著な差はなく、また肺肉眼病変はいずれも明瞭に識別できるので有用性の面では余り問題はないと考えられる。今回検討した系統間でより明瞭な差を認めたのは脾の所見であり、BALB/cとC57BL/6の2系統で感染後3週で既に顕著な脾腫がみられたのが注目された。ルート脾指数<sup>4)</sup>でもこの傾向は明らかであった。表6には脾の肉眼病変として単なる脾腫のみのは除き明らかな結節病変を有するもののみを記載したが、この点でもBALB/cとC57BL/6の病変が高度であることは明らかであった。また、この2系統では肝肉眼病変も顕著であった。腎肉眼病変は腹腔内感染の2系統では認められていない。

表7に示した臓器内生菌数からみると、肺では感染8週後、C57BL/6, BALB/c, ddYの3系統で還元菌数が多い。増殖率(Log Ratio)はC57BL/6とddYで大きく、これら2系統の利点と考えられた。また、BALB/cとC57BL/6の2系統では8週後の脾還元菌数も多かった。最後に感染後8週の名臓器の病理組織学的所見であるが、肺、脾、肝、腎とも肉芽腫変化が殆んどを占め、ddY, BALB/c, C57BL/6の3系統ではいずれも肺、脾、肝に広範な病変が認められた。BALB/cでは脾が、C57BL/6では脾、肝ともに他の系統に比較し、病変は高度であった。腎病変は全系統で軽度であった。なお、実験期間中、感染後3週から8週の期間にC3H/Heに5匹、C57BL/6に2匹の死亡がみられ

たが死亡マウスの剖検は実施していない。

*M. intracellulare* マウス毒力株31F093Tを用いることにより、ddY, BALB/c 2系統の静脈感染、ならびにC57BL/6の腹腔内感染でいずれも良好な慢性感染モデルの作成が可能と考えられた。

## 考 案

AM症のなかで適切な治療術式がまだ解明されていない*M. intracellulare*症では諸種薬剤の*in vivo*での治療効果の検討は極めて重要な課題であるが、一般的に*M. intracellulare*が結核菌と比較すると実験動物に対して毒力が弱いため、従来感染モデル作成に際しての種々の困難が指摘されてきた。私どもは、本報告の実験1でも再検討したTMC1469株を用いたddYマウスの治療実験<sup>2)</sup>を報告したが、明確な臓器肉眼病変の欠除、実験期間中臓器内生菌数の増加が認められなかったことなどより、*M. intracellulare*感染モデルに関して、より詳細な検討の必要性を痛感してきた。その後感染経路を変更し、同一菌株を用い、吸入感染<sup>6)</sup>、経気管感染<sup>6)</sup>を試みたが所期の成果を達成することができなかった。

現在までの*M. intracellulare*の病原性に関する報告<sup>7-9)</sup>は、*M. kansasii*と比較するとマウスなどに対して一般的に毒力が弱いことを示しているが、本邦での松本ら<sup>10,11)</sup>、東村<sup>12)</sup>の成績をみるとnonphotochromogen(おそらく*M. intracellulare*)のなかには、マウスに対してかなり毒力の強い菌株があることが示唆されている。一方、米国からの報告でDunbarら<sup>13)</sup>の記載したstrain Tampa #673をはじめとするsmooth transparent colonyを示す*M. intracellulare*数株は毒力の強さで注目すべき菌株と考えられ、Collinら<sup>14)</sup>はD673株(上記strain #673と同一?)をmouse virulent strainとして感染実験に使用している。また、この菌株と同程度の毒力を示す菌株としてGangadharamら<sup>15)</sup>は8330株と571-8株を記載している。最近後藤ら<sup>16,17)</sup>はTween加小川培地で菌の毒力を維持し、感受性の高い系統のマウスを用いることにより進行性の感染症を作成したとしている。

上記の諸成績は菌株選択の重要性を示唆しており、私どもも実験1で10株の*M. avium-intracellulare*について寒天培地上の集落形態、抗結核薬に対する感受性も含め、ddYマウスに対する毒力の詳細な検討を実施したわけである。結果として当研究室分離の1株31F093Tがマウスに対し慢性進行性の病変を惹起することを見出だしたのであるが、この間得られた知見につき以下順次考察したい。

まず、集落形態と毒力の関係であるが、今回の実験1で、小川培地ではdysgonicで、cornmeal glycerol agarではT集落形成菌が、ことに肺病変を指標としたとき毒力が強いことが見出だされた。従来、T集落形成

菌がD集落形成菌より実験動物に対して毒力が強いことはDunbarら<sup>13)</sup>の報告以外にも多くの報告<sup>18)~20)</sup>がある。今後の問題としてはR集落ならびにIM集落形成菌の検討が必要であろうし、また私どもの長期保存株(TMC株)と本邦分離株との比較検討成績からみると毒力維持の問題も重要な課題である。実験1で検討したTMC3株は殆んどD集落で占められており、McCarthy<sup>21)</sup>の成績に示されているようにT集落形成菌が人工培地上でかなり高頻度でD集落形成菌に自然変異するのが事実とすれば、毒力株の人工培地上での保存は極めて慎重を要する。実験1で示唆されたようにマウス体内通過により、当初20%以上のD集落が混合していた31F093株が實際上T集落のみに変化しているのが観察されたことから、私どもは31F093T株をマウス体内で継代しているが、後藤ら<sup>19)</sup>のTween加小川培地での継代も試みるべき方法であると考えられる。Kajiokaら<sup>22)</sup>の成績では、T集落形成菌は比較的高濃度(0.5%)のTweenの存在下でD集落形成菌のgrowth constantに近づくとしている。しかし、種々の濃度のTween含有培地での自然変異の検討は今後必要であろう。また、実験的化学療法を目指すには感染モデル作成菌の薬剤感受性の把握は、ゆるがせにできない。今回の検討でD集落形成菌がRFPに対して完全に感受性を示した点は注目すべきである。

実験2では*M. intracellulare*(31F093T)感染マウスが、*M. tuberculosis*(H37Rv)、*M. kansasii*(KMC1113)の両感染マウスに比してより慢性の経過をとること、病変は進行性ではあるが、肺に高度の病変を生じた後も長期間生存することが示された。脾、肝の病変はその広範さにおいてH37Rvによる病変を凌駕する印象があったが、感染後23週までの観察では、肺病変の病理組織学的検討の結果、肺のびまん性繁殖型病変はH37Rv感染におけるように壊死に移行することはなく長期間経過することが示された。文献上*M. intracellulare*感染マウスの病理組織学的検討は少ないが、後藤ら<sup>17)</sup>の記載した肺所見は基本的に私どもの得た所見と同様である。31F093T感染マウスでは感染後7週から8週で全マウスに肉眼的に明らかな粟粒病変が認められ、多くの場合感染後3週でも肉眼観察が可能となるので、この点私どもの作成したモデルは実験的化学療法には有利なモデルであると考えられる。実験2で検討した*M. kansasii*(KMC1113)はむしろ*M. intracellulare*(31F093T)より毒力の弱い印象があり、両菌種の病理像の比較は今後継続検討の必要があると考えられた。

ddY普通マウスと31F093T株を用いた静脈感染モデルは実験的化学療法の評価に十分耐えられると考えられるが、よりすぐれた実験系の検索のためマウス系統別の検討を行なったのが実験3である。抗酸菌感染に対するマウス系統別の感受性の差については数編の報

告<sup>23)~25)</sup>がある。*M. intracellulare*についてはGangadharamら<sup>15)</sup>はAKR, DBA/2, BDF<sub>1</sub>, CBA/N, Swiss Webster(S/W)を使用し、そのなかでS/Wを感受性の面で評価している。最近、後藤ら<sup>17)</sup>は自家繁殖のA/J, ASW, CF<sub>1</sub>に加え、BALB/c, C57BL/6, C3H/He, DBA/2, ddY, CBAと多種類のマウスで感受性の差を検討し、患者分離2株の使用で肝、脾内生菌数の検討から、CF<sub>1</sub>, C57BL/6, BALB/cが他の系統に比べ、感受性が高かったとしている。C57BL/6, BALB/c2系統は私どもの成績でも同様感受性が高い可能性が示唆されているが、肺病変に関してはddYも上記2系統と比較し顕著な差はない結果を得ている。しかし、私どもの検討は感染後3週と8週の所見のみを観察したものであり、いわゆる系統間の感受性の差は、マウス系統の自然抵抗性と免疫応答の両者を考慮に入れねばならず、私どもの成績は結論するに不十分である。

実験的化学療法を本格的に実施するには多数の動物の処理が必要であり、入手容易な小動物を使用するのが実際的である。私どもがddYマウスを主として検討してきたゆえんであり、ddYマウスと31F093Tを用いて治療術式の評価を開始することが現在の課題であると考えている。この感染系を用いて既に諸種治療術式の評価を試みているが、一応その目的を達しており、その成績<sup>26)</sup>は順次報告の予定である。

## 結 論

本邦分離株5株とTMC株5株の計10株の*M. avium-intracellulare*をddY普通マウスの尾静脈に感染させ、臓器内生菌数、その増殖率(Log Ratio)、臓器重量、肉眼病変などの観察により、本邦患者分離の1株(31F093T)が慢性進行性の病変を起すことを見出だした。本菌はT集落形成菌でその $5.0 \times 10^6 \sim 1.8 \times 10^8$  v. u.の尾静脈感染で感染後3週から7週の期間に肺内生菌数は $10^2$ 倍に増加し、7週後肺、脾、肝の重量はそれぞれ正常マウスの2倍、6倍、2倍に増加した。感染後7週から8週で全マウスに高度な肺肉芽腫病変(粟粒病変)が認められ、病変は以後persistentな様相を示した。

病理組織像は、脾、肝の広範な肉芽腫と肺での比較的感染早期(感染後6週)の肉芽腫性変化とそれ以降のびまん性繁殖型病変に代表され、マウスは高度な病変を保ちつつ長期間生存した。比較のため検討したH37Rv感染マウスでは、感染後4週で肺に壊死が認められたが、31F093T感染マウスでは23週まで肺に壊死の出現は認められなかった。

マウス系統別の検討では、本菌によるBALB/cを用いた静脈感染、C57BL/6を用いた腹腔内感染がともにddY静脈感染系と同じく実験的化学療法のための良好な感染モデルとなりうることを示された。

## 謝 辞

稿を終わるにあたり、病理組織の検討について御助力いただいた本研究所病理学部門鈴木康弘助教授、ならびに病理組織切片作成に御協力いただいた松下隆寿氏に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 久世文幸 他：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)一経尾静脈感染の成績一, 結核, 53: 39, 1978.
- 2) 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一経尾静脈感染の成績一, 結核, 54: 453, 1979.
- 3) 上田雄幹：抗酸菌の細胞内寄生性と組織反応の型一マウスの実験結核を中心として, 結核, 51: 491, 1976.
- 4) 青木正和：結核菌の毒力, その測定法と臨床的意義, 結核, 42: 301, 1967.
- 5) 李 英徹 他：実験的非定型抗酸菌症に関する研究 3. マウスを対象とした *Mycobacterium intracellulare* 吸入感染の試み, 結核, 56: 513, 1981.
- 6) 李 英徹：経気管感染によるマウス *M. intracellulare* 症実験モデル作成の試み, 結核, 58: 279, 1983.
- 7) Meissner, G.: Local pathogenicity and virulence of atypical mycobacteria compared with genuine tubercle bacilli, Bulletin Un int Tuberc, 30: 202, 1960.
- 8) 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, 1961.
- 9) Armstrong, A. L. et al.: Comparative pathogenicity of *Mycobacterium avium* and Battey bacilli, Am Rev Resp Dis, 95: 20, 1967.
- 10) 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, 1962.
- 11) 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(続報), 結核, 38: 404, 1963.
- 12) Tsukamura, M. and Toyama, H.: A comparative study of the virulence for mice in "atypical" and named mycobacteria from human and soil sources, Jap J Tuberc, 13: 49, 1966.
- 13) Dunbar, F. P. et al.: *Mycobacterium intracellulare*. Maintenance of pathogenicity in relationship to lyophilization and colony form, Scand J Resp Dis, 49: 153, 1968.
- 14) Collins, F. et al.: Immune response to persistent mycobacterial infection in mice, Infection and Immunity, 20: 430, 1978.
- 15) Gangadharam, P. R. et al.: Experimental infections with *Mycobacterium intracellulare*, Reviews of Infectious Diseases, 3: 973, 1981.
- 16) 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 CF<sub>1</sub> マウスに対する病原性について, 結核, 57: 519, 1982.
- 17) 後藤義孝 他：*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, 1982.
- 18) Moehring, J. M. and Solotorovsky, M. R.: Relationship of colonial morphology to virulence for chickens of *Mycobacterium avium* and the nonphotochromogens, Am Rev Resp Dis, 92: 704, 1965.
- 19) Schaefer, W. B. et al.: Pathogenicity of transparent, opaque, and rough variants of *Mycobacterium avium* in chickens and mice, Am Rev Resp Dis, 102: 499, 1970.
- 20) Engbaek, H. C. et al.: 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, 1970.
- 21) McCarthy, C.: Spontaneous and induced mutation in *Mycobacterium avium*, Infection and Immunity, 2: 223, 1970.
- 22) Kajioka, R. and Hui, J.: The pleiotropic effect of spontaneous single-step variant production in *Mycobacterium intracellulare*, Scand J Resp Dis, 59: 91, 1978.
- 23) Pierce, C. et al.: Infection of mice with mammalian tubercle bacilli grown in tween-albumin medium, J Exp Med, 86: 159, 1947.
- 24) Forget, A. et al.: Difference in response among inbred strains to infection with small doses of *Mycobacterium bovis*, Infection and Immunity, 32: 42, 1981.
- 25) Nakamura, R. M. and Tokunaga, T.: Strain difference of delayed-type hypersensitivity to BCG and its genetic control in mice, Infection and Immunity, 22: 657, 1978.
- 26) 久世文幸：実験的非定型抗酸菌症, 結核, 58: 469, 1983.