

第 66 回総会特別講演

“非定型”抗酸菌研究の最近の動向

齋藤 肇

島根医科大学微生物・免疫学教室

受付 平成3年9月24日

The 66th Annual Meeting Special Lecture

RECENT TREND OF STUDIES ON “ATYPICAL MYCOBACTERIA”

Hajime SAITO*

(Received for publication September 24, 1991)

Recent trend of studies on the bacteriologic, pathogenic, epidemiologic and chemotherapeutic aspects of “atypical” mycobacteria, particularly of *Mycobacterium avium-intracellulare* complex, which is the most important causative agent of tuberculosis-like pulmonary disease in Japan were reviewed.

Key words : “Atypical” mycobacteria, *M. avium-intracellulare* (*M. avium*) complex

キーワードズ : “非定型”抗酸菌, トリ型菌—イントラセルラーレ菌 (トリ型菌) 群

いとぐち

「結核菌群以外の培養可能な抗酸菌」, いわゆる非定型抗酸菌 (非結核性抗酸菌 nontuberculous mycobacteria という呼び名がより適当と思われるが, わが国ではこの呼び名が一般的である) によるヒトの肺結核類似症が大きくクローズアップされるようになってからすでに 30 有余年になる。結核症が減少したとはいえ, 今もってヒトの抗酸菌症の主要原因菌が結核菌であることには変わりはない。しかし, 一方, 国の内外を問わず非定型抗酸菌の分離は最近漸増傾向にあり, その概貌はかなり解明されてはきた¹⁾²⁾ とはいえ, 今なお分類・同定, 発症要因, 病原因子, 疫学, 治療など多くの解明すべき諸問題が残されている。以下, これらをめぐる最近の動向について論じてみたい。

1. 非定型抗酸菌の分類・同定

1) 数値分類学

1957年, Sneath³⁾ が数値分類学を発表し, これを 1962年 Bojalil⁴⁾ が抗酸菌分野に導入, 応用したのを契機として, 多くの研究者によりこの方面の広範な研究が行われ, 多数の新菌種が誕生し, 今や大方の抗酸菌菌株は分類可能となった。なお, この数値分類に用いられる性状検査のうちで簡便かつ鑑別に有用な方法が同定法として用いられている。

非定型抗酸菌は主としてこの数値分類学的手法によって 50 数種にも分類されている (Table 1) が, これらのうちわが国のみならず諸外国における肺結核類似症の主要原因菌は *Mycobacterium avium*, *M. intracellulare* および *M. kansasii* の 3 菌種であるが, *M. scrofulaceum*, *M. szulgai*, *M. fortuitum*, *M.*

* From the Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo 693 Japan.

Table 1. Mycobacterial Species Classified on the Basis of the Pathogenicity for Humans

Group	Runyon's group	Pathogenicity for humans	
		+	-
Slow growers	(<i>M. tuberculosis</i> complex)	<i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. africanum</i>	<i>M. microti</i>
	I	<i>M. kansasii</i> , <i>M. marinum</i> , <i>M. simiae</i>	<i>M. asiaticum</i>
	II	<i>M. scrofulaceum</i> , <i>M. szulgai</i>	<i>M. gordonae</i> , <i>M. farcinogenes</i>
	III	<i>M. avium</i> , <i>M. intracellulare</i> , <i>M. xenopi</i> , <i>M. malmoense</i> , <i>M. shimoidei</i> , <i>M. ulcerans</i> , <i>M. haemophilum</i> , <i>M. shinshuense</i>	<i>M. nonchromogenicum</i> , <i>M. terrae</i> , <i>M. gastri</i> , <i>M. triviale</i>
Rapid growers	IV	<i>M. fortuitum</i> , <i>M. chelonae</i> subsp. <i>chelonae</i> , <i>M. chelonae</i> subsp. <i>abscessus</i>	<i>M. flavescens</i> , <i>M. thermoresistibile</i> , <i>M. fallax</i> , <i>M. pulveris</i> , <i>M. smegmatis</i> , <i>M. parafortuitum</i> , <i>M. chitae</i> , <i>M. senegalense</i> , <i>M. agri</i> , <i>M. porcinum</i> , <i>M. diernhoferi</i> , <i>M. moriokaense</i> , <i>M. phlei</i> , <i>M. vaccae</i> , <i>M. aurum</i> , <i>M. gilvum</i> , <i>M. duvalii</i> , <i>M. neoaurum</i> , <i>M. austroafricanum</i> , <i>M. gadium</i> , <i>M. komossense</i> , <i>M. sphagni</i> , <i>M. obuense</i> , <i>M. rhodesiae</i> , <i>M. aichiense</i> , <i>M. chubuense</i> , <i>M. tokaiense</i>
Organisms which have special growth requirement or have not been cultivated <i>in vitro</i>		<i>M. leprae</i>	<i>M. paratuberculosis</i> , <i>M. lepraemurium</i>

chelonae, *M. xenopi*, *M. shimoidei*, *M. nonchromogenicum*, *M. gordonae*, *M. thermoresistibile* などによる感染症例の報告もみられる。

2) ミコール酸分析

1962年 Asselineau により先鞭のつけられたミコール酸の研究⁵⁾は、その後 Minikin ら⁶⁾, Kaneda & Yano ら^{7,8)}により系統的研究が行われ、分類学的見地からは数値分類により独立種と考えられた新菌種の確認のための主要な手段とされている。

3) DNA ハイブリダイゼーション

数値分類で菌種間の相似度を比較することは間接的には DNA の相同性を調べることになるとはいえ、適用しうるいかに広範にわたる表現分析を行ったとしても細菌の全ゲノム能の1/20以下しか測りえないといわれている。したがって、DNA ハイブリダイゼーションのような染色体の基本的性状は、表現型の類似した菌種間

の遺伝学的関係を決定する上に、より実際的かつ信頼のおける方法であろう。抗酸菌のこの分野における系統的研究には Baess⁹⁻¹¹⁾, Imaeda ら¹²⁾¹³⁾のすぐれた業績があり、2, 3の例外を除いてはほとんどの菌株において数値分類と DNA ハイブリダイゼーションによる分類とが一致しているが、以下のような問題点が指摘される。

(1) *M. tuberculosis* complex: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* および *M. microti* は数値分類学的に一つのコンパクトなクラスターを形成し、*M. tuberculosis* の一菌種とする考え方があり¹⁴⁾, DNA ハイブリダイゼーションでもこれを支持する成績がえられている⁹⁾¹²⁾が、一般的にはこれらを一括して *M. tuberculosis* complex と呼ばれている。最近の遺伝子工学の発達に伴って抗酸菌の分野にも DNA ハイブリダイゼーションを利用した遺伝子学的同定法が開発

Table 2. Identification of *M. tuberculosis* Complex by Means of Gen-Probe Test and AccuProbe Test

Species	Strains	Gen-Probe test (% Hybridization)			AccuProbe test (RLU)		
		Tuberc.	Avium	Intra.	MAC	Probe Tuberc.	Identifi- cation
<i>M. tuberculosis</i>	H37Rv	51.5	1.2	1.9	1,825	568,240	<i>M. tuberc.</i>
	H37Ra	49.4	1.3	1.5	2,137	484,111	<i>M. tuberc.</i>
	Aoyama B	48.4	1.4	2.2	3,521	556,176	<i>M. tuberc.</i>
	Takesaki	47.5	1.3	2.5	2,404	571,745	<i>M. tuberc.</i>
	Fukuda	50.0	1.3	1.7	2,023	474,486	<i>M. tuberc.</i>
	Hoshino	51.9	1.1	1.3	2,217	575,998	<i>M. tuberc.</i>
	Kuwabara	50.8	1.0	1.4	1,809	487,548	<i>M. tuberc.</i>
	Fuji	50.4	1.3	1.8	4,117	517,908	<i>M. tuberc.</i>
	Yamada	48.3	1.1	1.4	1,889	503,707	<i>M. tuberc.</i>
	Nagai	47.5	1.3	1.4	1,097	224,134	<i>M. tuberc.</i>
	Metsugi	48.2	1.1	1.7	825	218,058	<i>M. tuberc.</i>
	Komakawa	48.7	1.6	1.8	877	227,798	<i>M. tuberc.</i>
	Kanetsuki	51.2	1.5	2.0	630	187,908	<i>M. tuberc.</i>
	Iwatani	51.5	1.2	1.5	1,358	215,065	<i>M. tuberc.</i>
	Nagashima	45.8	1.4	1.7	537	163,624	<i>M. tuberc.</i>
	Sato	51.7	1.2	1.5	780	217,192	<i>M. tuberc.</i>
	Nakamoto	48.3	1.3	1.6	675	241,736	<i>M. tuberc.</i>
	Azukizawa	46.1	1.1	1.2	718	207,426	<i>M. tuberc.</i>
	Kaneyama	47.8	1.2	1.2	1,057	204,939	<i>M. tuberc.</i>
	Iizuka	51.1	1.6	1.3	711	245,258	<i>M. tuberc.</i>
Nakano	50.9	1.3	1.5	557	249,317	<i>M. tuberc.</i>	
Aoki	48.6	1.5	1.6	588	213,231	<i>M. tuberc.</i>	
Wada	48.0	1.2	1.4	516	233,413	<i>M. tuberc.</i>	
N-813	NT	NT	NT	1,991	492,805	<i>M. tuberc.</i>	
N-905	NT	NT	NT	1,380	511,735	<i>M. tuberc.</i>	
<i>M. bovis</i>	Ravenel	49.1	1.5	1.8	860	224,618	<i>M. tuberc.</i>
	BCG Yoken	43.8	1.1	1.5	1,509	449,996	<i>M. tuberc.</i>
	BCG Takeo	50.7	1.3	1.8	602	213,733	<i>M. tuberc.</i>
	D-4	45.4	1.3	1.7	1,291	239,185	<i>M. tuberc.</i>
	Denken	45.3	1.3	1.5	2,164	474,349	<i>M. tuberc.</i>
	Ushi 18	42.8	1.1	1.3	1,699	466,931	<i>M. tuberc.</i>
	Ushi 21	46.3	1.8	1.7	1,721	470,315	<i>M. tuberc.</i>
	Ushi 22	48.2	1.5	1.5	1,791	445,584	<i>M. tuberc.</i>
	Miwa	43.0	1.4	1.5	1,676	477,703	<i>M. tuberc.</i>
<i>M. africanum</i>	TC 3	49.6	0.8	1.0	1,175	355,362	<i>M. tuberc.</i>
	TC 8	46.5	1.0	1.2	817	326,765	<i>M. tuberc.</i>
	TC 41	46.8	1.2	1.0	1,272	340,650	<i>M. tuberc.</i>
	TC 66	47.6	1.3	1.0	1,072	336,763	<i>M. tuberc.</i>
	TC 84	43.8	0.8	0.9	639	376,543	<i>M. tuberc.</i>

されつつあり、米国の Gen-Probe 社において 16S rRNA に特異的な DNA プローブを用いた抗酸菌の迅速同定キット (Gen-Probe® Rapid Diagnostic

System) が開発された。本キットには *M. tuberculosis* complex, *M. avium*, *M. intracellulare* および *M. gordonae* にそれぞれ特異的な DNA プローブを

利用したものがある。前三者はわが国でも入手可能となり、われわれの経験からしても本キットは“specificity”並びに“sensitivity”ともに優れた迅速同定法として評価されよう¹⁵⁾⁻²¹⁾。しかし、これらのプローブは微量とはいえ放射性物質(¹²⁵I)で標識されているため一般の臨床検査室での利用には一定の制限がある。最近になって Gen-Probe 社より非放射性物質(アクリニジウムエステル)で標識された同様の DNA プローブキットとして AccuProbe™ Culture Confirmation Test (*M. tuberculosis* complex, *M. avium* complex, *M. kansasii*) および AccuProbe™ Culture

Identification Test (*M. avium*, *M. intracellulare*) が米国で市販され、わが国でも近く入手可能の予定である。Table 2 は *M. tuberculosis* complex の Gen-Probe あるいは AccuProbe と *M. tuberculosis* complex との反応性を比較したものである。

(2) *M. avium*-*M. intracellulare* complex : 抗酸菌の数値分類学的研究²²⁾によれば *M. avium* と *M. intracellulare* とは極めて近似した諸性状を有し、1 菌種、すなわち *M. avium* とする考えかたが支配的であるが、一般的にはこれら両菌種を一括して *M. avium*-*M. intracellulare* complex あるいは *M. avium*

Table 3. *M. avium*, *M. intracellulare* and Intermediate Serovar Strains

Serovar	DNA hybridization ⁹⁾¹¹⁾	Sensitivity reaction ²⁴⁾	Virulence to chickens
<i>M. avium</i> 1, 2, 3	<i>M. avium</i>	<i>M. avium</i>	+ (-)
Intermediate 4, 5, 6, 8, 9, 11	<i>M. avium</i>	<i>M. avium</i>	+ ~ -
<i>M. intra-cellulare</i> 7, 12, 14, 16, 18, 19, 20	<i>M. intra-cellulare</i>	<i>M. intra-cellulare</i>	-

Table 4-1. Reactivity of MAC Strains to the MAC DNA Probe (1) Serovars 1-20

Serovar	Number of strains	% Hybridization		Identification
		<i>M. avium</i> Probe	<i>M. intra-cellulare</i> Probe	
1	2	44.7	1.2	<i>M. avium</i>
2	2	41.1	1.3	<i>M. avium</i>
3	2	44.0	1.1	<i>M. avium</i>
4	2	41.6	1.1	<i>M. avium</i>
5	2	42.8	1.5	<i>M. avium</i>
6	2	42.9	1.0	<i>M. avium</i>
7	2	1.3	39.0	<i>M. intracellulare</i>
8	9	52.2	1.7	<i>M. avium</i>
9	2	45.5	1.2	<i>M. avium</i>
10	2	42.3	1.2	<i>M. avium</i>
11	2	45.3	1.1	<i>M. avium</i>
12	2	2.0	38.0	<i>M. intracellulare</i>
13	2	0.9	33.9	<i>M. intracellulare</i>
14	2	2.0	37.1	<i>M. intracellulare</i>
15	2	2.3	36.8	<i>M. intracellulare</i>
16	2	1.4	36.8	<i>M. intracellulare</i>
17	1	0.9	30.3	<i>M. intracellulare</i>
18	2	2.5	36.5	<i>M. intracellulare</i>
19	2	1.5	36.2	<i>M. intracellulare</i>
20	2	1.4	35.7	<i>M. intracellulare</i>

Table 4-2. Reactivity of MAC Strains to the MAC DNA Probe
(2) Serovars 21-28

Serovar	Number of strains	% Hybridization		Biological characteristics and α -antigen
		<i>M. avium</i> Probe	<i>M. intracellulare</i> Probe	
21	2	44.8	1.4	MAC
22	2	4.6	1.5	<i>M. scrofulaceum</i>
22	2	1.1	27.8	MAC
22	2	2.2	2.6	α (+)
23	4	4.1	2.5	MAC
24	1	1.0	33.9	MAC
24	4	3.7	2.2	MAC
25	10	1.3	30.5	MAC
26	2	0.8	1.0	<i>M. scrofulaceum</i>
26	1	1.4	35.2	MAC
26	3	3.2	2.2	MAC
27	2	0.7	1.1	<i>M. scrofulaceum</i>
27	3	1.5	1.8	MAC
28	2	1.7	33.5	MAC
28	2	2.4	1.6	MAC

complex (MAC) と呼ばれている。MAC は凝集反応により *M. avium* は3血清型(1~3), *M. intracellulare* は25血清型(4~28)の計28血清型に分類されている²³⁾。

Baess の MAC についての DNA-DNA ハイブリダイゼーションに関する研究⁹⁾¹¹⁾によれば *M. avium* と *M. intracellulare* とは異なる菌種であり, *M. avium* 血清型1~3並びに *M. intracellulare* 血清型4~6, 8, 9および11所属菌は *M. avium* であり, *M. intracellulare* 血清型7, 12, 14, 16および18~20所属菌は *M. intracellulare* であるといい, MAC の DNAハイブリダイゼーション並びにセンシチン反応による分類とニワトリに対するビルレンス²⁴⁾との相関が認められている (Table 3)。

他方, 最近, われわれ¹⁷⁾が上述した *M. avium* および *M. intracellulare* に対する特異 DNA プローブ (Gen-Probe[®] Rapid Diagnostic System for the *Mycobacterium avium* complex) を用いて MAC 血清型別菌の解析を行ったところ, Table 4 に示すように, *M. avium* 血清型(1~3) 菌株に加えるに, *M. intracellulare* 4~6, 8~11, および21各血清型菌株は *M. avium*, また *M. intracellulare* 7, 12~20および25各血清型菌株は *M. intracellulare* と同定され, 上述した Baess の成績とよく符合した。しかし, 22~24, 26~28血清型別菌の DNA プローブによる MAC の同定についてはなお問題が残されている。

因みに, 私の蒐集した限りでは, AIDS 患者由来 MAC の主要血清型は米国およびオーストラリアでは4, 8型, スウェーデンでは6, 4型, またドイツでは8/21, 8型で, 国によって異なるが, いずれも *M. avium* 血清型であるのに対して, 非 AIDS 患者由来 MAC は米国では8型 (*M. avium*), 16 (15) 型 (*M. intracellulare*), スウェーデンでは6, 1型 (*M. avium*) であり, わが国では最近のわれわれの検討によれば東日本で1, 8型 (*M. avium*), 西日本で16, 14型 (*M. intracellulare*), 総じて16型 (*M. intracellulare*), 1型 (*M. avium*) である (未発表)。

DNA ハイブリダイゼーションにより分類された *M. avium* と *M. intracellulare* の性状の比較を Table 5 に示した。

(3) *M. fortuitum*-*M. chelonae* complex

M. fortuitum と *M. chelonae* とを一括して *M. fortuitum*-*M. chelonae* complex または *M. fortuitum* complex と呼ぶことがある。Bojalil ら (1962) は *M. fortuitum* に近似の一新種, *M. runyonii* を独立させたが, その後, 本菌種は *M. abscessus* と同一種であることが明らかにされた。その後, *M. borstelense* は *M. chelonae* の同義語, また *M. chelonae* と *M. abscessus* とは別種とする考え方があった。これに対して, 1972年の International Working Group on Mycobacterial Taxonomy による国際共同研究成績²⁵⁾では *M. chelonae* と *M. abscessus* は同種で

Table 5. Comparative Characteristics of *M. avium* and *M. intracellulare* Identified by DNA Hybridization

Characteristics	<i>M. avium</i>	<i>M. intracellulare</i>
Growth at 45°C	+	-
Arylsulfatase	-	+
Serovars	1-6, 8-11 21	7, 12-20, 25
Susceptibility to HNO ₂ (3mg/ml)	+	-
Frequency of resistant strains		
RFP, RFB, KM, SM, TH, CFZ, AMK	High	Low
OFLX, CPF, CS	Low	High
Virulence to mice	Weak	Strong

あるが鑑別可能な性状があるとして、*M. chelonae* subsp. *chelonae* と *M. chelonae* subsp. *abscessus* と命名し、Baess の DNA ハイブリダイゼーション成績でもこれを支持する知見がえられている¹⁰⁾。

M. peregrinum と *M. fortuitum* の異同については異論のあるところであるが、同一種とする考え方が支配的であるため、Approved Lists of Bacterial Names に記載されていないが、Baess は DNA ホモロジーの検討成績より *M. peregrinum* を独立種として復活させるべきであるという¹⁰⁾。最近の Lévy-Frébault らの DNA ハイブリダイゼーションによる *M. fortuitum*-*M. chelonae* complex の分類学的研究²⁶⁾によれば *M. chelonae* subsp. *chelonae* と *M. chelonae* subsp. *abscessus* とは 2 種の異なる genomic species であり、*M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus* および *M. peregrinum* はそれぞれが独立種であるという。

(4) *M. paratuberculosis* : 家畜における Johne 病の一原因菌であるが、最近ではヒトの Crohn 病の原因菌としての疑いもたれている菌でもある。Crohn 病は主として大腸、小腸の慢性肉芽腫性炎症で、腸結核に類似していることから、かつて抗酸菌感染が考えられたこともあるが、病巣組織から菌が検出できなかったことからこの考え方は一時立ち消えていた。ところが、最近になって Crohn 病組織から抗酸菌が分離されたという報告がみられるようになり、抗酸菌が Crohn 病の原因菌であることの可能性が再び論ぜられるようになってきた。

Chiodini ら²⁷⁾⁻²⁹⁾ は Crohn 病患者の腸管粘膜から遅発育性の mycobactin-dependent の一抗酸菌を分離し、山羊に経口接種したところ腸に Crohn 病様病巣の進展がみられ、また本分離菌の培養・生化学的性状、マイコバクチン依存性において *M. paratuberculosis* に類似していたという。その後 McFadden ら³⁰⁾³¹⁾ は Chiodini らの上記分離抗酸菌 Ben 株と数種の既知抗酸菌との間の全塩基配列相同性を調べたところ、Ben 株 DNA の *M. paratuberculosis* および *M. avium* (血清型 2, 5) DNA に対する相同性値は相同 DNA で得られたものと区別できないものであったという。また Ben 株のゲノムの大きさは DNA renaturation kinetics の測定によって 3.1×10^9 Da と決定されたが、これは Baess によって決定された抗酸菌ゲノムの大きさ $2.3 \sim 3.85 \times 10^9$ Da と一致し、また *M. avium*-*intracellulare* 諸種血清型菌の $3 \sim 3.4 \times 10^9$ Da に近い値であるとした³¹⁾。これらの成績は Crohn 病組織から分離された Ben 株並びに *M. paratuberculosis* が *M. avium*-*intracellulare* complex のメンバーであることを示している。

他方、Yoshimura ら³²⁾ は Crohn 病患者から分離され、実験動物に回腸炎をおこす一抗酸菌 Linda 株の特性づけ並びに Crohn 病あるいは潰瘍性大腸炎などの患者組織中の抗酸菌 DNA 塩基配列の探索を DNA-DNA ハイブリダイゼーション法を用いて検討したところ、本菌株と Crohn 病との間の特異的関係を支持するに足る知見は得られなかったという。

Saxegaard & Baess³³⁾ は *M. avium*, *M. paratuberculosis* 並びに Wood pigeon mycobacteria (この菌は動物の偏性寄生性病原体で、トリに結核症や哺乳類に類結核症をおこす) の三者は DNA-DNA ハイブリダイゼーション相同性百分率よりみて単一の genomic species であり, *M. paratuberculosis* 並びに wood pigeon mycobacteria を *M. avium* の変異体と考え、これに3亜種 (subsp. *avium*, subsp. *paratuberculosis*, subsp. *columbae*) を提案している。他方、他の genomic approach としての restriction fragment length polymorphism (RFLP) や field inversion gel electrophoresis (FIGE) により、また数値分類学的研究によってもこれら三者は鑑別可能であるとの報告もある。Thorel ら³⁴⁾ は *M. avium*, *M. paratuberculosis* および wood pigeon mycobacteria は single genomic species であるとして、*M. avium* を種名として採用し、これに3亜種 (subsp. *avium*, subsp. *paratuberculosis*, subsp. *silvaticum*) を提案している。

2. MAC (非定型抗酸菌) 感染症の発症要因

非定型抗酸菌症の発症要因としては菌側の要因としてその地理的分布、ビルレンスなどが、また宿主側の要因としてその局所性並びに全身性抵抗性などが挙げられよう。非定型抗酸菌症、なかんずく MAC 症では発症の素因となるような先行症または随伴症として肺結核、気管支拡張、肺気腫、塵肺、慢性気管支炎などが知られ、これらの疾患の患者にいわゆる二次感染型として発症することが多く、肺の局所抵抗性の低下の重要性がうかがわれる。また他方、糖尿病、白血病、ステロイドホルモンの大量長期使用などによる全身抵抗性減弱もまた本症の発症要因となりうる。

抗酸菌は通性細胞内寄生菌であるが、その感染により宿主にひきおこされる一連の免疫反応は結核菌と非定型性抗酸菌 (MAC) とを問わず共通にみられるものであり、両者間に本質的な差異はない。しかし、MAC は結核菌に比べるとビルレンスは低いにもかかわらず体内滞留性が長いこと、また BCG 免疫マウス宿主では結核菌を重感染させると菌は感染部位で活性化されたマクロファージ (Mφ) により速やかに殺されるが、MAC では殺されることなく、むしろ増殖を示すことがあり、これらの点を併せ考えると結核菌と MAC とでは宿主の感染防御との係わりにおいて少しく様相を異にしていることが考えられる。

抗酸菌の細胞壁は脂質に富んで堅牢であり、そのためもあってか非刺激 Mφ 内ではほとんど殺されることはないが、MAF などのサイトカインで活性化された Mφ 内では比較的良好に殺菌される。以下 Mφ の殺菌メカニ

ズムについて考えてみよう。

1) 酸素依存性殺菌機構

抗酸菌は O_2 , H_2O_2 , $\cdot OH$, 1O_2 などの活性酸素分子種の単独作用に対しては抵抗性が強い。先にわれわれ³⁵⁾³⁶⁾ は MAC を含む抗酸菌は xanthine oxidase-acetaldehyde 系で産生される O_2^- , $\cdot OH$ などの活性酸素分子種ではほとんど殺されないが、 Fe^{2+} -EDTA を触媒とする H_2O_2 依存性ハロゲン化反応系には高い感受性を示し、ファゴリソソーム内の酸性条件 (pH5) 下では速やかに殺菌され、抗酸菌の殺菌に本反応系の関与するところが大きであることを明らかにした。しかしながら、マウス Mφ の活性酸素産生能と抗 MAC 活性とは平行しないとする意見が大勢を占めているようである。

Bermudez & Young³⁷⁾ は TNF- α 単独あるいはそれと IL-2 との併用によって処理された Mφ における活性酸素産生能の亢進と抗 MAC 活性について、また Stokes ら³⁸⁾ は Bcg^r 系並びに Bcg^s 系マウスの Mφ の活性酸素産生能と抗 MAC 活性についてみているが、ともに両者間に相関を認めていない。

他方、われわれ³⁹⁾ は MAC の host recycled type の強毒な smooth, transparent (SmT) variant は Mφ 内殺菌に抵抗して細胞内増殖が可能であるが、laboratory-maintained type の smooth, dome-shaped (SmD) variant は Mφ 内で速やかに殺菌されること、また SmT variant 貪食 Mφ では活性酸素の亢進はほとんどみられないのに対して SmD variant 貪食 Mφ ではその顕著な亢進がみられることを明らかにしている。これらのことは MAC variant の Mφ に対する挙動、ひいてはビルレンス、は MAC 貪食 Mφ における酸素依存性殺菌機構が発動するか否かにかかっており、MAC の Mφ 内殺菌にはその発動が必須ではあるが、これのみでは効率のよい殺菌には至らないということを示唆しているのではあるまいか。

2) 長鎖不飽和遊離脂肪酸

Mφ のリソソーム膜のリン脂質よりホスホリパーゼ A_2 の触媒作用によって遊離する不飽和脂肪酸 ($C_{16:1}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{18:3}$, $C_{20:4}$ など) は抗酸菌に対して強い殺菌作用を有する⁴⁰⁾。また、われわれ⁴¹⁾ は飽和脂肪酸 (C_2 - C_{18}) 並びに不飽和脂肪酸 (C_{16} - C_{20}) の IV 群抗酸菌に対する抗菌活性は不飽和脂肪酸において飽和脂肪酸よりもより強いこと、またヒトに対して起病性のある *M. fortuitum*-*M. chelonae* complex に対しては $C_{16:1}$, $C_{18:3}$, $C_{20:3}$ の脂肪酸に比較的強い抗菌活性がみられるが、本菌群は他種 IV 群抗酸菌株よりも遊離脂肪酸に対してより抵抗性である、ことなどを明らかにした。さらにわれわれ⁴²⁾ は MAC のうち Mφ の殺菌に対して抵抗性の SmT variant は感受性の SmD variant よりも $C_{18:1-3}$, $C_{20:4}$ の脂肪酸に対してより抵抗性である

ことも明らかにした。これらのことより遊離脂肪酸が $M\phi$ の抗酸菌殺菌のエフェクターとして働いていることは十分に考えられるところである。

3) L-アルギニン依存性殺菌機構

最近、 $M\phi$ の腫瘍細胞に対する細胞毒性が酵素 (nitric oxide synthase) による L-アルギニンのグアニジノ基の窒素の酸化により生ずる NO, NO₂ および NO₂ のような毒性のある反応性窒素中間体の産生とリンクした代謝系によることが分かり、この抗腫瘍活性に与かるエフェクター分子は NO/NO₂ であるとされている⁴³⁾⁴⁴⁾。その後、これらの中間体の重要性は *Cryptococcus neoformans*, *Leishmania major*, *Toxoplasma gondii*, *Schistosoma mansoni*, *M. leprae* などの諸種病原体に対する活性化 $M\phi$ の抗菌作用の発現においても証明されており、最近では結核菌についての報告もみられる。

他方、先にわれわれは、IFN- γ 処理 $M\phi$ では *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. kansasii*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum* および *M. chelonae* のいずれに対する抗菌活性も亢進がみられたのに対して、TNF- α 処理 $M\phi$ では *M. tuberculosis*, *M. bovis* に対する抗菌活性の亢進はみられたが結核菌群以外の抗酸菌 (非定型抗酸菌) に対してはその亢進はみられないか、逆に減弱することを明らかにした (未発表)。この知見を Green ら⁴⁵⁾ の IFN- γ で初回抗原刺激を受けたマウス腹腔 $M\phi$ の *Leishmania major* に対するアルギニン依存性殺菌メカニズムの発動では本病原体や LPS などの二次刺激で産生された TNF- α がメディエーターとなっているという報告と併せ考えると、

MAC をはじめとする非定型抗酸菌における L-アルギニン依存性殺菌メカニズムの関与はさして大きくないものかもしれない。

4) そのほかにリソソーム内の殺菌性酵素としての β グルクロニダーゼやリゾチーム、殺菌性塩基性蛋白やペプチドなどがあげられる。

ところで、抗酸菌に対する感染防御系が効率よく発現するためには T 細胞を介しての抗原特異的免疫機構の果たす役割が重要であることは言うまでもないところであるが、MAC に対する宿主抵抗性発現における T 細胞機能の役割については未だ不明の点も多い。われわれ⁴⁶⁾ はこれに関連して以下のような検討を行った。まず、MAC の SmT variant (強毒) あるいは SmD variant (弱毒) を感染させた C57BL/6 系 (Bcg^S: MAC 感受性) マウス並びに C3H/He 系 (Bcg^F: MAC 抵抗性) マウスの肝内 CFU の推移を追跡したところ (Figs. 1-A, -B), SmT 株においては C57BL/6 系マウスでは感染後 28 日間にわたって菌が漸増したのに対して、C3H/He 系マウスでは感染 7 日目以降は漸減傾向がみられ、他方、SmD 株においては両系統マウスにおいて感染 7 日目以降で菌数の著しい低下がみられた。

さらに BALB/c 系 (Bcg^S) athymic nude マウスと euthymic マウスにおける MAC 感染の推移を追跡したところ、肺、肝および脾内 CFU は感染 4~6 週後までは両マウスにおいて同程度に推移したが、それより以降では前者において後者におけるよりも著しい増菌がみられた。また、別途おこなった検討で、リステリアに対する非特異的感染抵抗性の増強を指標としてみた場合、C57BL/6 系マウスでも MAC 感染 4 週間におい

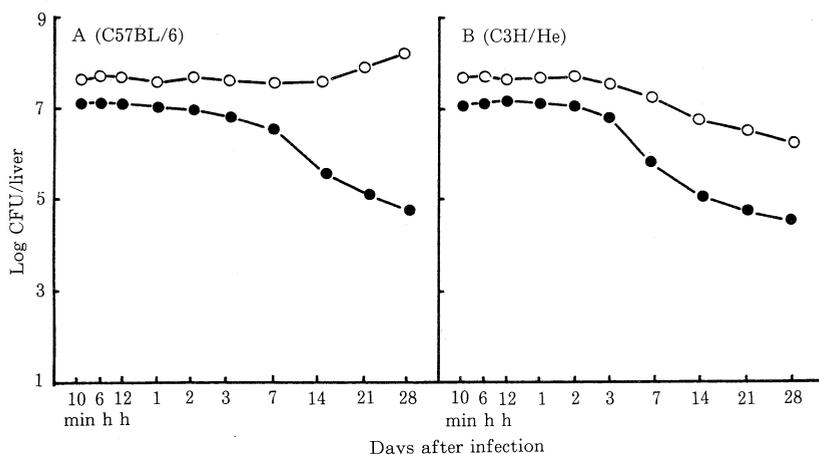


Fig. 1. Change in the Viable Units of the SmT (○) and SmD (●) Variants of *M. intracellulare* N-260 in the Livers of Host Mice during the First 4 Weeks

て強いT細胞依存性免疫応答が成立・発現していることが明らかとなった。

上述した検討成績は、MAC SmT variant の感染部位での増殖抑制あるいは排除にはT細胞の機能発現に負うところが大きいことを示しているものであるが、Bcg^s系マウスではT細胞機能そのものの発現が不十分なこと、あるいはT細胞からのリンホカインを介しての活性化シグナルに対するMφの応答性が低いこと、などに基因したMφの抗MAC殺菌活性の十分な増強が招来されないことによってSmT株の排除がされ得ないのではなからうか。さらに、Bcg^rマウスにおいてもSmT variantは感染約2週後の獲得免疫成立後での排除の速度は極めて遅く、このことは本菌が常在性Mφや炎症性Mφのみならず、T細胞依存性活性化Mφの殺菌作用に対しても抵抗することを示しているものであろう。

5) 発症要因としてのビルレンス因子

結核菌やMACなどの抗酸菌の宿主Mφ内での増殖力あるいはMφの殺菌メカニズムに対する抵抗性を規定するビルレンス因子としては、(1)ファゴソーム・リソソーム融合阻害因子(スルホリピド、グリコペプチドリピド、リポオリゴサッカライドなどの菌体表層物質)、(2)Mφ走化性抑制因子、(3)Mφ活性酸素産生能抑制因子(ペプチドグリコリピド-1、ミコシド、リン脂質など)、(4)endogenous scavenger (superoxide dismutase, catalase など)による活性酸素分子種消去、(5)毒力MAC株菌体外層多糖体、などを挙げる事ができよう。

3. 疫 学

最近、MACの疫学について明らかにされた興味ある一新知見としては、その地理的分布についてである。すなわち、われわれ¹⁶⁾が、北海道から九州に至る17の病

院で分離、同定されたMAC症患者由来MAC計260株の*M. avium*および*M. intracellulare*のGen-Probeとの反応性を調べたところ、Table 6(文献16並びに未発表データを含む)に示すように、北・東・中日本に位置する北海道、関東、東海、および近畿では*M. avium*の占める比率は*M. intracellulare*よりも高く、これに対して西日本に位置する中国、四国、九州では逆に*M. intracellulare*の占める比率は*M. avium*よりも高かった。

さらに、われわれ⁴⁷⁾は近畿から九州に至る新たに11の病院より分与を受けたMAC症患者分離菌計123株について検討したSNAPTM Culture Identification Diagnostic Kit, *Mycobacterium avium* Complex (Syngene, Inc., San Diego, U.S.A.)との反応性成績でも先の報告におけると同様、近畿では*M. avium*が*M. intracellulare*よりも多く、中国、四国、九州ではその逆の関係がみられ、MACに地理的分布差のあることが明らかとなった。なお、MACの中には*M. avium*並びに*M. intracellulare*の両DNAプローブとも反応しない菌株のあることが知られているが、このような菌株が上記の検討でもそれぞれ1.2%および2.4%みられた。他方、結核として入院中の患者喀痰より分離されたMACのcasual isolate 14株をSNAPで同定したところ*M. avium* 11株(79%)、*M. intracellulare* (21%)でXプローブ反応株は皆無であった。

Gangadharam & Edwards III⁴⁸⁾はMAC症の化学療法に対する反応性のretrospectiveな解析より*M. avium*(血清型4, 8)症は化学療法に反応性が悪かったのに対して、*M. intracellulare*(血清型12, 14, 16, 19)症では化学療法によりよく反応したという。浦野ら⁴⁹⁾は*M. avium*症および*M. intracellulare*症患者の病像を比較し、*M. intracellulare*症患者では*M.*

Table 6. Distribution by District of *M. avium* and *M. intracellulare* Isolates in Japan

District	No. of strains	Avium	Intra.	Unidentified
Hokkaido	8	7	1	0
Kanto	85	70	15	0
Tokai	52	29	23	0
Kinki	23	14	8	1
Chugoku	55	23	31	1
Shikoku	5	1	4	0
Kyushu	32	7	24	1
Japan	260	151	106	3

avium 症患者におけるよりも合併症を伴うものが少なく、予後も良好の傾向がみられたといい、水谷⁵⁰⁾もほぼ同様の知見を得ている。

4. 化学療法

MACを含めて非定型抗酸菌は一般に諸種の抗結核剤ないし抗菌剤に対する感受性が低く、より有効な薬剤の出現が待たれるゆえんである。MAC症に対する化学療法的方式の確立されていない現在、本症の治療には結核菌に準じた感受性検査を行い、その成績を参考にして抗結核剤を主とした多剤併用療法を行う²⁾。

以下、最近登場した若干の抗菌物質の抗マイコバクテリア作用についてわれわれの得た知見を紹介したい。

まず、nalidixic acid と構造的に類似した新キノロン系薬剤である norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, AM1091, fleroxacin, および sparfloxacin は代表的病原性抗酸菌のうち、なかんずく結核菌並びに *M. fortuitum* に対して強い *in vitro* 活性を示し、ま

た *M. fortuitum* 感染マウスに対してすぐれた治療効果が期待できたが、MAC に対する活性は一般に弱かった⁵¹⁾⁻⁵⁷⁾。今、別途一括しておこなったこれら薬剤の抗結核菌並びに抗 MAC 活性の検討成績を示すと Table 7 のようであり、結核菌に対しては sparfloxacin をはじめいずれの薬剤もすぐれた抗菌活性を示したが、MAC に対しては最も低い MIC 値を示した sparfloxacin でも MIC₉₀=12.5 µg/ml であり、他薬剤では 25~50 µg と高かった (未発表)。

次に、Farmitalia Carlo Erba 社 (ミラノ, イタリア) によって開発された新抗菌物質である rifabutin の抗マイコバクテリア活性についてみると、MAC を含めた代表的病原性抗酸菌種に対して rifabutin は rifampicin よりも強い抗菌活性を示し、しかも MAC に対しては結核菌に対すると同様、両薬剤間に完全な交差耐性は成立しないことを明らかにした⁵⁸⁾。最近 O'Brien⁵⁹⁾ は化学療法に反応しない重症な進行性 MAC 肺感染症の治療並びに MAC 感染 AIDS 患者の治療に ri-

Table 7. MICs of Various Quinolones against *M. tuberculosis* and *M. avium* Complex

Species	Number of strains	MIC (µg/ml)							
		Ofloxacin		Ciprofloxacin		Fleroxacin		Sparfloxacin	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀						
<i>M. tuberculosis</i>	15	1.6	1.6	1.6	1.6	3.13	6.25	0.4	0.4
<i>M. avium</i>	20	12.5	50	6.25	25	25	50	3.13	12.5
<i>M. intracellulare</i>	20	25	50	12.5	25	25	50	6.25	12.5

*1~7×10⁸ CFU/tube were inoculated onto 1% Ogawa's egg medium and MIC was determined after 4-weeks incubation at 37°C.

Table 8. MIC₉₀ of Benzoxazinorifamycins (KRM) against Representative Pathogenic Mycobacteria⁶¹⁾

Species	No. of strains	MIC ₉₀ (µg/ml)					RFP
		KRM-1648	KRM-1657	KRM-1668	KRM-1686	KRM-1687	
<i>M. tuberculosis</i>							
RFP-sensitive	16	≤0.0125	0.025	0.025	0.025	0.025	0.8
RFP-resistant	6	12.5	3.13	6.25	3.13	3.13	100
<i>M. kansasii</i>	19	0.05	0.05	0.1	0.1	0.2	6.25
<i>M. marinum</i>	10	≤0.0125	0.025	0.05	0.025	0.05	1.56
<i>M. scrofulaceum</i>	19	0.1	0.1	0.4	0.2	0.2	12.5
<i>M. avium</i>	18	1.56	6.25	6.25	3.13	3.13	100
<i>M. intracellulare</i>	31	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	12.5
<i>M. fortuitum</i>	20	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>M. chelonae</i>							
subsp. <i>abscessus</i>	15	>100	>100	>100	>100	>100	>100
subsp. <i>chelonae</i>	20	>100	>100	>100	>100	>100	>100

Table 9. MICs of Rifamycin-S Derivatives against the MAC Isolated from AIDS and Non-AIDS Patients

Source	Species	No. of strains	KRM-1648		KRM-1657		Rifabutin		Rifampicin	
			MIC ₅₀	MIC ₉₀						
AIDS	<i>M. intracellulare</i>	11	0.05*	0.05	0.05	0.05	0.4	0.4	3.13	6.25
	<i>M. avium</i>	77	0.05	0.1	0.1	0.2	0.4	0.8	6.25	25
非AIDS	<i>M. intracellulare</i>	49	0.025	0.05	0.1	0.1	0.4	0.8	1.6	3.13
	<i>M. avium</i>	62	0.05	0.1	0.2	0.2	0.8	1.6	12.5	25

* $\mu\text{g/ml}$ **Table 10.** Susceptibilities of *M. avium* and *M. intracellulare* Isolated from MAC Infection in Humans to Various Antimicrobial Agents

Drug	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Resistance (%)		
		<i>M. avium</i> (n=40)	<i>M. intracellulare</i> (n=58)	P
Rifampicin	0.78	93	74	<0.05
	6.25	50	0	<0.005
Rifabutin	0.1	93	81	-
	0.78	33	2	<0.005
Kanamycin	6.25	93	64	<0.005
	25	33	3	<0.005
Streptomycin	6.25	90	66	<0.005
	12.5	63	38	<0.05
Ethambutol	3.13	100	88	<0.05
	12.5	68	38	<0.005
Clofazimine	0.39	93	83	-
	1.56	20	2	<0.005
Amikacin	12.5	95	67	<0.005
	50	20	2	-
Isoniazid	1.56	95	88	-
	6.25	33	43	-
Ofloxacin	3.13	73	90	<0.05
	12.5	35	69	<0.005
Ciprofloxacin	0.78	73	86	<0.1
	3.13	30	62	<0.005
Cycloserine	12.5	45	83	<0.005
	50	13	28	<0.1

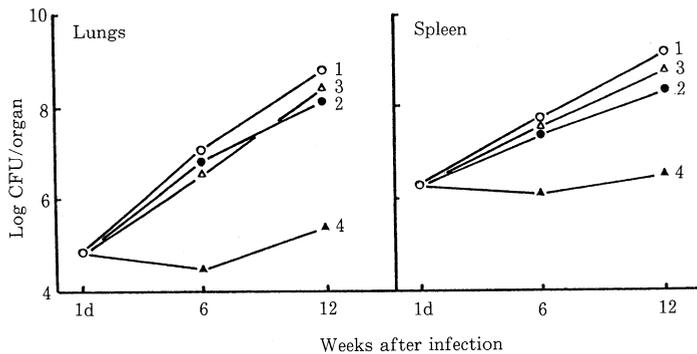
fabutin の併用効果を認めているが、これには異論もあり、今後の検討が待たれる。

最近では rifabutin のほかにも rifapentine, PCE 22807, CGP40/469A, CGP-7040, P-DEA などの新規リファマイシン誘導体が開発されており、これらの薬剤の *in vitro* 抗マイコバクテリア活性は rifampicin よりも強いが、ヒト、特に易感染宿主における MAC 感染に対する活性は必ずしも強くないようである。最近、鐘淵化学工業（兵庫）で新たに合成された benzoxazirifamycin (KRM-1648, KRM-1657, KRM-1668,

KRM-1686 および KRM-1687) の抗マイコバクテリア活性⁶⁰⁾ (Table 8 参照) は遅発育抗酸菌に対しては *M. tuberculosis* では rifampicin 感受性株と耐性株とを問わず rifampicin よりもすぐれたものであり、また、わが国における MAC 症患者より分離された *M. avium* および *M. intracellulare* のいずれの菌株に対しても、前者において後者におけるよりも多少高い MIC 値を示すが、rifampicin におけるよりもはるかにすぐれた活性を示した。同様の成績は Table 9 に示すように米国における AIDS 並びに非 AIDS 患者由来

Table 11. Therapeutic Efficacy of KRM-1648, Rifampicin or Rifabutin against *M. intracellulare* N-260-Infected Beige Mice

Group	Infection	Dose (mg)	Weeks after infection											
			6 W			12 W								
			No. of mice	% Organ weight		Gross lung lesions			No. of mice	% Organ weight		Gross lung lesions		
				Lungs	Spleen	-	1+	2+		Lungs	Spleen	2+	3+	4+
1 Control	+	-	6	1.4	3.2	0	0	6	7	2.2	5.2	0	0	7
2 RFP	+	0.4	6	1.5	2.4	0	0	6	7	2.2	3.3	0	0	7
3 RFB	+	0.4	6	1.5	2.4	0	0	6	7	1.8	3.1	0	3	4
4 KRM	+	0.4	6	1.1	1.2	6	0	0	7	1.2	1.3	7	0	0



A suspension of the *M. intracellulare* N-260 (8.7×10^6 CFU/mouse) was injected into the tail vein of female 7-week-old C57BL/6 (*bg/bg*) mice. RFP, RFB or KRM-1648 suspended in 2.5% arabic gum-0.2% Tween 80 was given by gavage, once daily, six times a week, from day 1 up to 6 or 12 weeks after the infection. The mice were decapitated 1 day after the last administration of the drugs; organs were removed and observed macroscopically. The lungs and spleen were homogenized in 5 ml of saline with a glass homogenizer, treated with 0.5 ml of 2% NaOH for about 20 seconds, neutralized with 0.5 N HCl, and subjected to serial ten-fold dilutions with saline. The CFUs were counted on 7H11 agar plate.

MACについても得られている(未発表)。また、*M. kansasii*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum* に対してもすぐれた活性を示した。これに対して迅速発育抗酸菌(*M. fortuitum*, *M. chelonae*)に対するMIC値はrifampicinにおけると何ら異なるところはなく、極めて高いものであった。

ところで、*M. avium* と *M. intracellulare* の間には有意な薬剤感受性差があり⁶¹⁾⁻⁶³⁾、*M. avium* は *M. intracellulare* よりも ofloxacin, ciprofloxacin 並びに cycloserine に対してより感受性、rifampicin, rifabutin, kanamycin, streptomycin, ethambutol, clofazimine および amikacin に対してはより抵抗性であるが、INH においては両菌種間に差はみられな

かった (Table 10⁶³⁾)。MAC 感染症患者の治療に当たってはこの点に留意すべきであろう。

KRM シリーズのうち、抗 MAC 活性の最もすぐれた KRM-1648 はその MIC 値を異にした *M. intracellulare* を感染した BALB/c マウス、およびベージュマウスに対していずれもすぐれた治療効果を有し、今 Table 11 (並びに付図) にその 1 例を示すように、本剤の 0.4 mg/マウスの 12 週間投与では rifampicin 並びに rifabutin よりもすぐれた治療効果を有した。また authentic *M. avium* N-425 株感染ウサギに対してもその 50 mg/ウサギ投与はすぐれた治療効果を有し、延命をもたらした(未発表)。

むすび

非定型抗酸菌(症)の研究の進展は目覚ましく、その多くはかなり解明されてきた感があるが、*M. avium* complex(症)については、その発症要因、病原因子、疫学、治療の問題など、なお重要な諸問題が残されており、今後の研究の進展が望まれる。

文 献

- 1) 斎藤 肇 : 非定型抗酸菌, 化学療法の領域, 6 : 1675~1685, 1990.
- 2) 斎藤 肇 : “非定型”抗酸菌, 結核, 63 : 667~676, 1988.
- 3) Sneath, P. H. A. : Some thoughts on bacterial classification, J Gen Microbiol, 17 : 184~200, 1957.
- 4) Bojalil, L. F., Cerbón, J. and Triujillo, A. : Adansonian classification of mycobacteria, J Gen Microbiol, 28 : 333~346, 1962.
- 5) Asselineau, J. : The Bacterial Lipids, pp. 1~372, Hermann, Paris, 1962.
- 6) Minikin, D. E., Minikin, S. M., Hutchinson, I. G. et al. : Mycolic acid patterns of representative strains of *Mycobacterium fortuitum*, '*Mycobacterium peregrinum*' and *Mycobacterium smegmatis*, J Gen Microbiol, 130 : 363~367, 1984.
- 7) Kaneda, K., Naito, S., Imaizumi, S. et al. : Determination of molecular species composition of C₈₀ or longer chain α -mycolic acids in *Mycobacterium* spp. by gas chromatography-mass spectrometry and mass chromatography, J Clin Microbiol, 24 : 1060~1070, 1986.
- 8) Kaneda, K., Imaizumi, S., Mizuno, S. et al. : Structure and molecular species composition of three homologous series of α -mycolic acids from *Mycobacterium* spp., J Gen Microbiol, 134 : 2213~2229, 1988.
- 9) Baess, I. : Deoxyribonucleic acid relatedness among species of slowly-growing mycobacteria, Acta Pathol Microbiol Scand, Sect B., 87 : 221~226, 1979.
- 10) Baess, I. : Deoxyribonucleic acid relatedness among species of rapidly growing mycobacteria, Acta Pathol Microbiol Scand, Sect B., 90 : 371~375, 1982.
- 11) Baess, I. : Deoxyribonucleic acid relationship between different serovars of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare* and *Mycobacterium scrofulaceum*, Acta Pathol Microbiol Scand, Sect. B., 91 : 201~203, 1983.
- 12) Imaeda, T. : Deoxyribonucleic acid relatedness among selected strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Mycobacterium microti* and *Mycobacterium africanum*, Int J Syst Bacteriol, 35 : 147~150, 1985.
- 13) Imaeda, T., Broslawski, C. and Imaeda, S. : Genomic relatedness among mycobacterial species by nonisotopic blot hybridization, Int J Syst Bacteriol, 38 : 151~156, 1988.
- 14) Tsukamura, M., Mizuno, S. and Toyama, H. : Taxonomic studies on the *Mycobacterium tuberculosis* series, Microbiol Immunol, 29 : 285~299, 1985.
- 15) 斎藤 肇, 富岡治明, 佐藤勝昌他 : Gen-Probe[®]による *Mycobacterium avium*-*intracellulare* complex の鑑別・同定, 結核, 63 : 261~264, 1988.
- 16) Saito, H., Tomioka, H., Sato, K. et al. : Identification and partial characterization of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* by using DNA probes, J Clin Microbiol, 27 : 994~997, 1989.
- 17) Saito, H., Tomioka, H., Sato, K. et al. : Identification of various serovars strains of *Mycobacterium avium* complex by using DNA probes specific for *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*, J Clin Microbiol, 28 : 1694~1697, 1990.
- 18) 富岡治明, 斎藤 肇 : DNA プローブによる抗酸菌の迅速同定法, 結核, 65 : 49~54, 1990.
- 19) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇他 : *Mycobacterium avium* complex 並びに *Mycobacterium tuberculosis* complex の DNA プローブテストにおける実験条件の検討, 結核, 66 : 381~387, 1991.
- 20) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇他 : 諸種抗酸菌の *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Mycobacterium avium* および *Mycobacterium intracellulare* 各特異 DNA プローブ (Gen-Probe[®] Rapid Diagnostic System) に対する反応性, 結核, 66 : 405~411, 1991.
- 21) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇他 : DNA プローブを用いた *Mycobacterium avium*, *Mycobac-*

- terium intracellulare* および *Mycobacterium tuberculosis* complex の同定, 結核, 66 : 499~502, 1991.
- 22) Meissner, G., Schröder, K. H., Amadio, G. E. et al. : A co-operative numerical analysis of non-scoto- and non-photo-chromogenic slowly growing mycobacteria, J Gen Microbiol, 83 : 207-235, 1974.
 - 23) Wolinsky, E. : Nontuberculous mycobacteria and associated diseases, Am Rev Respir Dis, 119 : 107-159, 1979.
 - 24) Anz, W., Lauterbach, D., Meissner, G. et al. : Vergleich von Sensitiv-Testen an Meer-schweinchen mit Serotyp und Huhnervirulenz bei *M. avium*-*M. intracellulare*-Stämmen, Zbl Bakt, I. Abt Orig, 215 : 536-549, 1970.
 - 25) Kubica, G. P., Baess, I., Gordon, R. E. et al. : A co-operative numerical analysis of rapidly growing mycobacteria, J Gen Microbiol, 73 : 55-70, 1972.
 - 26) Lévy-Frébault, V., Grimont, F., Grimont, P. A. D. et al. : Deoxyribonucleic acid relatedness study of the *Mycobacterium fortuitum*-*Mycobacterium chelonae* complex, Jnt J Syst Bacteriol, 36 : 458-460, 1986.
 - 27) Chiodini, R. J., van Kruiningen, H. J., Thayer, W. R. et al. : Possible role of mycobacteria in inflammatory bowel disease. I. An unclassified *Mycobacterium* species isolated from patients with Crohn's Disease, Digest Dis Sci, 29 : 1073-1079, 1984.
 - 28) Chiodini, R. J., van Kruiningen, H. J., Thayer, W. R. et al. : Characteristics of an unclassified *Mycobacterium* species isolated from patients with Crohn's Disease, J Clin Microbiol, 20 : 966-971, 1984.
 - 29) Chiodini, R. J., van Kruiningen, H. J. and Merkal, R. S. : Ruminant paratuberculosis (Johne's disease). The current status and further prospects, Cornell Veterinary, 74 : 218-262, 1984.
 - 30) McFadden, J. J., Butcher, P. D., Chiodini, R. J. et al. : Determination of genome size and DNA homology between an unclassified *Mycobacterium* species isolated from patients with Crohn's disease and other mycobacteria, J Gen Microbiol, 133 : 211-214, 1987.
 - 31) McFadden, J. J., Butcher, P. D., Chiodini, R. J. et al. : Crohn's disease-isolated mycobacteria are identical to *Mycobacterium paratuberculosis*, as determined by DNA probes that distinguish between mycobacterial species, J Clin Microbiol, 25 : 796-801, 1987.
 - 32) Yoshimura, H. H., Graham, D. Y., Estes, M. K. et al. : Investigation of association of mycobacteria with inflammatory bowel disease by nucleic acid hybridization, J Clin Microbiol, 25 : 45-51, 1987.
 - 33) Saxegaard, F. and Baess, I. : Relationship between *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium paratuberculosis* and "wood pigeon mycobacteria". Determination by DNA-DNA hybridization, APMIS, 96 : 37-42, 1988.
 - 34) Thorel, M. -F., Krichevsky, M. and Lévy-Frébault, V. V. : Numerical taxonomy of mycobatin-dependent mycobacteria, emended description of *Mycobacterium avium*, and description of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* subsp. nov., *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* subsp. nov., Int J Syst Bacteriol, 40 : 254-260, 1990.
 - 35) Yamada, Y., Saito, H., Tomioka, H. et al. : Susceptibility of micro-organisms to active oxygen species : Sensitivity to the xanthine-oxidase-mediated antimicrobial system, J Gen Microbiol, 133 : 2007-2014, 1987.
 - 36) Yamada, Y., Saito, H., Tomioka, H. et al. : Relationship between the susceptibility of various bacteria to active oxygen species and to intracellular killing by macrophages, J Gen Microbiol, 133 : 2015-2021, 1987.
 - 37) Bermudez, L. E. and Young, L. S. : Recombinant tumor necrosis factor alone or in combination with interleukin-2 but not gamma-interferon is associated with macrophage killing of *Mycobacterium avium* complex, J Immunol, 140 : 3306-3013, 1988.
 - 38) Stokes, R. and Collins, F. M. : Growth of *Mycobacterium avium* in activated macrophages harvested from inbred mice with differing innate susceptibilities to mycobacterial infection, Infect Immun, 56 : 2250-2254, 1988.
 - 39) 富岡治明, 斎藤 肇, 佐藤勝昌他 : *Mycobacterium*

- avium* complex のマクロファージ Respiratory Burst Triggering 活性—特にその菌体表層に表現されているリガンドの性状—, 結核, 64 : 401~406, 1989.
- 40) Kanai, K. and Kondo, K. : Antibacterial and cytotoxic aspects of long chain fatty acid as cell surface events : Selected topics, Jap J Med Sci, 32 : 135-174, 1979.
- 41) Saito, H., Tomioka, H. and Yoneyama, T. : Growth of group IV mycobacteria on medium containing various saturated and unsaturated fatty acids, Antimicrob Agents Chemother, 26 : 164-169, 1984.
- 42) Saito, H. and Tomioka, H. : Susceptibilities of transparent, opaque, and rough colonial variants of *Mycobacterium avium* complex to various fatty acids, Antimicrob Agents Chemother, 32 : 400-402, 1988.
- 43) Hibbs, J. B., Jr., Taintor, R. R. and Vavrin, Z. : Macrophage cytotoxicity : Role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite, Science, 235 : 473-476, 1987.
- 44) Stuehr, D. J. and Nathan, C. F. : Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells, J Exp Med, 169 : 1543-1555, 1989.
- 45) Green, S. J., Crawford, R. M., Hockmeyer, J. T. et al. : *Leishmania major* amastigotes initiate the L-arginine-dependent killing mechanisms in IFN- γ stimulated macrophages by induction of tumor necrosis factor - α , J Immunol, 145 : 4290-4297, 1990.
- 46) Saito, H. and Tomioka, H. : The role of macrophages in host defence mechanisms against *Mycobacterium avium* complex infection induced in mice, Res Microbiol, 141 : 206-212, 1990.
- 47) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇他 : DNA プローブテストによる *Mycobacterium avium* complex の同定とその地理的分布, 結核, 66 : 739~746, 1991.
- 48) Gangadharam, P. R. J. and Edwards III, C. K. : Release of superoxide anion from resident and activated mouse peritoneal macrophages infected with *Mycobacterium intracellulare*, Am Rev Resp Dis, 130 : 834-838, 1984.
- 49) 浦野哲哉, 野崎博之, 松本信吾他 : DNA Probe テストによって同定された *Mycobacterium avium* と *Mycobacterium intracellulare* による肺感染症の病像比較, 結核, 65 : 639~641, 1990.
- 50) 水谷清二 : DNA Probe で同定されたわが国の *Mycobacterium avium* 肺感染症と *Mycobacterium intracellulare* 肺感染症の病像の比較, 結核, 66 : 19~38, 1991.
- 51) 斎藤 肇, 佐藤勝昌, 富岡治明他 : 諸種抗酸菌に対する norfloxacin, ofloxacin 及び ciprofloxacin の *in vitro* 並びに *in vivo* 抗菌活性, 結核, 62 : 287~294, 1987.
- 52) 斎藤 肇, 佐藤勝昌, 富岡治明 : 韓国における Environmental mycobacteria. II. 分離菌感染マウスに対する Ofloxacin の治療効果, 62 : 441~444, 1987.
- 53) Saito, H., Watanabe, T., Tomioka, H. et al. : Susceptibility of various mycobacteria to quinolones, Rev Infect Dis, 10 (Suppl 1), S52, 1988.
- 54) Saito, H. and Tomioka, H. : Efficacy of ofloxacin and ciprofloxacin against experimental *Mycobacterium kansasii* infections in mice, Rev Infect Dis, 11 (Suppl 5), S985, 1989.
- 55) Saito, H., Tomioka, H., Sato, K. et al. : AM-1091, Drugs of the Future, 14 : 931-935, 1989.
- 56) 斎藤 肇, 佐藤勝昌, 富岡治明 : Fleroxacin の *in vitro* 並びに *in vivo* 抗マイコバクテリア活性, Chemotherapy, 38 (S-2), 75~79, 1990.
- 57) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇 : Sparfloxacin の抗マイコバクテリア活性, 結核, 66 : 643~649, 1991.
- 58) Saito, H., Sato, K. and Tomioka, H. : Comparative *in vitro* and *in vivo* activity of rifabutin and rifampicin against *Mycobacterium avium* complex, 69 : 187-192, 1988.
- 59) O'Brien, R. J., Lyle, M. A. and Snider, D. E. : Ansamycin LM427 in the treatment of *M. avium* complex disease and drug resistant tuberculosis : A preliminary report, Am Rev Respir Dis, 131 : A223, 1985.
- 60) Saito, H., Tomioka, H., Sato, K. et al. : *In vitro* antimycobacterial activities of newly synthesized benzoxazinorifamycins, Antimicrob Agents Chemother, 35 : 542-547,

- 1991.
- 61) Saito, H., Tomioka, H., Sato, K. et al. : Identification and partial characterization of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* by using DNA probes, J Clin Microbiol, 27 : 994-997, 1989.
- 62) Tomioka, H., Sato, K., Saito, H. et al. : Susceptibility of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* to various antibacterial drugs, Microbiol Immunol, 33 : 509-514, 1989.
- 63) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇 : 諸種抗菌剤に対する *Mycobacterium avium* と *Mycobacterium intracellulare* の感受性, 結核, 66 : 489-492, 1991.