

原 著

Mycobacterium fortuitum のマウスに
対するビルレンスと呼吸爆発誘起活性

江森方子**・富岡治明・斎藤 肇

島根医科大学微生物・免疫
同 眼科**

受付 平成2年9月25日

MACROPHAGE RESPIRATORY BURST-INDUCING ACTIVITY OF *MYCOBACTERIUM*
FORTUITUM : RELATIONSHIP WITH ITS VIRULENCE TO MICE

Masako EMORI*, Haruaki TOMIOKA, and Hajime SAITO

(Received for publication September 25, 1990)

Mycobacterium fortuitum strains F-3 and 126 were studied for their virulence to mice, by being given intravenously to BALB/c strain mice, in terms of incidence of spinning disease, degree of gross renal lesions and growth of organisms in kidneys. In three experiments separately carried out, strain 126 showed considerably higher virulence than strain F-3. In particular, in experiment 2, much higher incidence of spinning disease was seen in strain 126-infected mice than in strain F-3-infected ones. In experiment 3, the degree of gross renal lesions was significantly higher ($P < 0.025$, χ^2 -test) in the strain 126-infected animals than in the F-3-infected ones. Moreover, in experiment 2, the number of viable units in kidneys was significantly larger in the case of strain 126-induced infection than in the case of strain F-3-induced one ($P < 0.01$, Student's t-test).

Secondly the two *M. fortuitum* strains were studied for their activity to trigger chemiluminescence (a parameter for respiratory burst) of murine peritoneal macrophages, due to their contact with macrophages. In two of four experiments separately performed, strain 126 exhibited much lower activity of macrophage chemiluminescence-triggering than strain F-3. In the remaining two experiments, the triggering activities of the two strains were at almost the same level, although the activity of strain 126 was still somewhat lower than that of strain F-3. These findings indicate that strain 126 had lowered ability to induce active oxygen radical production in host macrophages in response to cell-to-cell contact (microbes versus macrophages) than in the case of strain F-3. This may result in an inferior expression of oxygen-dependent antimicrobial mechanisms in macrophages after phagocytosis of strain 126, compared to the case of macrophages ingested strain F-3. Therefore, at least in the two *M. fortuitum* strains tested here, there seems to be in part a converse correlation between their virulence to mice and macrophage chemiluminescence-triggering activity.

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

Key words : *Mycobacterium fortuitum*, Respiratory burst, Virulence

キーワード : *Mycobacterium fortuitum*, 呼吸爆発誘起活性, ビルレンス

はじめに

Candida albicans, *Candida parapsilosis*, *Salmonella typhi*, *Mycobacterium intracellulare* では、そのビルレンスと宿主のマクロファージ (Mφ) や好中球などの貪食細胞に対する呼吸爆発誘起活性との間に一定の相関がみられることが知られている^{1)~7)}。今回われわれは、比較的弱毒と考えられている *M. fortuitum* でもこうした相関がみられるか否かについて若干の検討を加えた。

材料と方法

1. 供試菌 : *M. fortuitum* F-3 株並びに同 126 株の 1% 小川培地上継代保存株の 7H11 寒天平板上 3~4 日培養菌を蒸留水で集菌洗浄し、蒸留水に浮遊後、1,000rpm, 5 分間遠心して粗大菌塊を除去した菌浮遊液を 15 秒間超音波処理したもの。

2. Mφ の化学発光測定法 : Zymosan A (1mg) の腹腔内投与 4~5 日後に採取した腹腔浸出細胞 (Mφ 70~80%) の 2.5×10^6 を 10mM N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethansulfonic acid (HEPES) 並びに 0.1ml luminol 加 Hanks 液 (pH 7.4) に浮遊し、これに 1×10^9 の供試菌を添加した系 (最終 1ml) を 37°C の恒温槽中に保ち、Mφ よりの化学発光 (CL) を 10 秒毎に 5 分間にわたって ATP lumicounter (Model ATP-237, 東洋科学産業, 東京) で測定した。

3. 実験的感染症 : 供試菌液の $OD_{540} = 0.2$ に調製したものを 0.2ml ($1 \times 10^7 \sim 2 \times 10^8$) を BALB/c 系 5 週齢、

雄マウスの尾静脈内へ接種し、spinning disease 発症の有無を 4 週間にわたって観察後、屠殺、剖検して内臓の肉眼病変の有無ないし程度を観察し、さらに腎内生菌単位を 7H11 寒天平板を用いて計測した。

結 果

F-3 株および同 126 株によって誘起される Mφ CL は、Table 1 に示すようである。これから分かるように 4 回繰り返して行った実験において、得られた測定値にはかなりの差がみられ、実験 1 では、F-3 株は 126 株の約 3 倍の高 CL 値であるのに対し、実験 2, 3 および 4 ではその差は軽微であったが、それらのいずれにおいても、F-3 株において 126 株におけるよりも高い成績が得られた。すなわち、F-3 株において 126 株におけるよりも強く Mφ 内殺菌メカニズムを発動させていることを示唆した知見が得られた。

Table 2 は、*M. fortuitum* F-3 株および同 126 株による実験的マウス感染の成績を示したものである。spinning disease の発症についてみると、その頻度は実験 2 では両菌株接種マウス群とも低かったものの、126 株 (35%) において F-3 株 (5%) におけるよりも高かったが、実験 1 および 3 では両菌株接種マウスの 95~100% にその発現がみられ両者間に差はみられなかった。また、spinning disease 発症に至るまでの平均日数は 3 回の実験において 126 株では 7.7~9.4 日、平均 8.4 日であったのに対して F-3 株では 8.3~12.0 日、平均 10.3 日で 126 株において F-3 株よりも多少とも短かった。

他方、感染 4 週間後のマウスの腎の肉眼病変は、実験 1 および 3 では F-3 株と 126 株とを問わず、これらの全接種動物にみられたが、その程度は 126 株において F-3 株におけるよりも強い動物が多いようであり、また実験 2 では、腎の肉眼病変は 126 株接種マウスでは 20 匹中 8 匹 (40%) に、また F-3 株では 20 匹中 3 匹 (15%) にみられ、126 株において F-3 株におけるよりもその発現頻度は高かったが、その程度にはさしたる差はみられなかった。腎内生菌単位は、実験 1 および 2 では 126 株接種動物において F-3 株接種動物におけるよりも約 1 オーダー高かったが、実験 3 では両者間にほとんど差はみられなかった。以上の成績を総括すると、126 株の方が F-3 株よりも BALB/c 系マウスに対するビルレンスは、やや強いといつてよいようであった。

Table 1. Macrophage Chemiluminescence Triggered by *M. fortuitum* F-3 and 126 Strains

Experiment	Macrophage chemiluminescence ^{a)} (10^4 cpm/ 10^6 cells)	
	<i>M. fortuitum</i> F-3	<i>M. fortuitum</i> 126
1	654	216
2	378	354
3	366	258
4	486	480

a) Cumulative value during 5-min incubation.

Table 2. Summary of murine experimental infections induced by two strains of *M. fortuitum*

Exp- eri- ment	Chal- lenge dose (10 ⁶)	No. of mice	Spinning disease		Gross renal lesion ^{a)}				Log(CFU/ kidneys) (mean ± SEM)	
			Incidence (%)	Mean days for onset	-	1+	2+	3+		
1	F-3	11	4	100	10.5	0	3	1	0	2.82 ± 0.37
	126	8.1	3	100	8.0	0	1	2	0	3.66 ± 0.25
2	F-3	20	20	5	12.0	17	3	0	0	1.86 ± 0.27
	126	23	20	35	9.4	12	7	1	0	2.96 ± 0.26
3	F-3	3.6	20	95	8.3	0	15	4	1	3.28 ± 0.23
	126	2.2	19	100	7.7	0	6	13	0	3.38 ± 0.22

a) -, No lesion; 1+, small lesions covering < 25% of body surface; 2+, confluent lesions covering 25~50% of body surface; 3+, confluent lesions covering over than 50% of body surface.

考 察

著者らは、諸種系統マウスの *M. fortuitum* 感染に対する宿主感染抵抗性は、spinning disease 発症および臓器内生菌単位を指標としてみた場合、感染2週以内の比較的早期にみられる感染防御機構の発現に依存していることを示唆した知見を得ている（未発表データ）が、この場合、宿主 Mφ の活性化あるいはNK細胞の誘導などがその成立に重要な役割を演ずるものと考えられる。

われわれの今回の検討では、126株はF-3株よりも強いビルレンスを有し、両菌株間には宿主感染抵抗性を成立させる要因に何らかの差異があることが示唆された。Mφ CL誘起能は、F-3株において126株におけるよりも強かったが、このことはF-3株において126株におけるよりも、Mφ内での酸素依存性殺菌メカニズムの発動が強く、したがって速やかにMφ内で殺菌が進むものと思われる。したがって、F-3株と126株のマウスに対するビルレンスの差異は、両菌株間の菌体成分による宿主Mφの活性化の程度の差異による可能性が大きいもののように思われる。このことは先に李ら⁹⁾の *M. avium* complex および *M. kansasii* について病原性の弱い株では強い株におけるよりも貪食に伴うマウスマクロファージよりのO₂産生が高かったという報告と軌を一にするものといえよう。

ま と め

M. fortuitum F-3株および同126株のマウスに対するビルレンスと呼吸爆発誘起活性について検討し、以下の知見を得た。

1. マウスの腹腔マクロファージの呼吸爆発誘起活性

は、F-3株において126株よりも高かった。

2. マウスに対するビルレンスは、spinning diseaseの発症、腎の肉眼病変の程度および腎内生菌単位を指標としてみた場合、126株においてF-3株におけるより強かった。

3. F-3株および126株においては、マウスに対するビルレンスと呼吸爆発誘起活性との間には逆の相関関係の傾向がみられるとの結論を得た。

文 献

- 1) Sasada, M., Johnston, R. B., Jr. : Macrophage microbicidal activity. Correlation between phagocytosis-associated oxidative metabolism and the killing of *Candida* by macrophages. *J Exp Med*, 152 : 85-98, 1980.
- 2) Miller, R. M., Garbus, J., Hornick, R. B. : Lack of enhanced oxygen consumption by polymorphonuclear leucocytes on phagocytosis of virulent *Salmonella typhi*. *Science*, 175 : 1010-1011, 1972.
- 3) Kossack, R. E., Guerrant, R. L., Denson, P. et al. : Diminished neutrophil oxydative metabolism after phagocytosis of virulent *Salmonella typhi*. *Infect Immun*, 31 : 674-678, 1981.
- 4) Gangadharam, P. R. J., Edwards, C. K., Jr. : Release of superoxide anion from resident and activated mouse peritoneal macrophages infected with *Mycobacterium intracellulare*. *Am Rev Respir Dis*, 130 : 834-838,

- 1984.
- 5) 李 啓充 : 抗酸菌貪食に伴うマウス腹腔マクロファージのスーパーオキシド産生および抗酸菌の細胞内増殖に及ぼすスーパーオキシドの影響, 結核, 60 : 23~30, 1985.
- 6) 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.
- 7) Saito, H., Tomioka, H. : The role of macrophages in host defense mechanisms against *Mycobacterium avium* complex infection induced in mice. Res Microbiol, 141 : 206-212, 1990.