

原 著

血清型を異にする *Mycobacterium avium* Complex のマウスに対する
ビルレンス並びにマクロファージ化学発光誘起能

富岡 治明 ・ 佐藤 勝昌 ・ 斎藤 肇

島根医科大学微生物・免疫学教室

受付 平成3年6月28日

RELATIONSHIP BETWEEN VIRULENCE TO MICE AND MACROPHAGE
CHEMILUMINESCENCE-TRIGGERING ACTIVITY OF THE
MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX BELONGING
TO VARIOUS SEROVARS

Haruaki TOMIOKA, Katsumasa SATO and Hajime SAITO*

(Received for publication June 28, 1991)

Macrophage chemiluminescence (M ϕ CL)-triggering activities of *Mycobacterium avium* complex (MAC) strains belonging to various serovars were examined. When SmT colonial variant (smooth, transparent, irregularly shaped) of *M. intracellulare* N-260 strain was compared with its SmD variant (smooth, opaque, dome-shaped) for M ϕ CL-triggering function and resistance to antimicrobial activity of murine resident peritoneal M ϕ s, the SmT variant showed much lower M ϕ CL-triggering activity accompanied by its high resistance to M ϕ microbicidal functions. Thus, difference in the virulence of the two MAC clonal variants seems to be originated from their different activities in M ϕ -triggering to be stimulated state in terms of O₂-dependent antimicrobial functions.

When disease-associated MAC strains belonging to serovars 1, 14, 16 (major serovars seen in Japan), 8 (intermediate serovar) and 9 (minor serovar) were challenged to mice, their virulence, in terms of mortality of host animals and growth of the organisms in the lungs, was nearly in the order of serovar 16, 14, 8, 1 and 9. However, there was found no obvious serovar-dependent difference in M ϕ CL-triggering activity of these MAC strains. Thus, no significant correlation was found between virulence of the MAC strains of various serovars and their triggering activities for M ϕ active oxygen production, which is important for the O₂-dependent microbicidal mechanisms of host M ϕ s.

When *M. avium* and *M. intracellulare* from human or environmental sources were examined for virulence to mice in terms of incidence and degree of gross pulmonary lesions or behavior of the organisms in the lungs, human-derived *M. intracellulare* caused most progressed state of gross lung lesions in all test mice, with average 2.6 Log-increase in bacterial CFU in the lungs. This was followed by environmental *M. intracellulare*, which caused less degree of lesions in 15 of 19 mice and 1.3 Log-increase in pulmonary CFU. On

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

the other hand, human-derived *M. avium* caused much weaker lesions in a small part of test animals and environmental *M. avium* caused no lesions. In the case of the *M. avium*-infection, there was substantially no bacterial growth in the host lungs. These results indicate that the virulence of the MAC was in the order of human-derived *M. intracellulare*, environmental *M. intracellulare*, human-derived *M. avium* and environmental *M. avium*. On the contrary, there was found no obvious difference in M ϕ CL-triggering activity among these MAC species from the two types of sources.

Thus, at least among SmT variants of the MAC, there seems to be no relationship between their activity to induced M ϕ respiratory burst and virulence to mice. Therefore, it is thought that O₂-dependent antimicrobial mechanism in host M ϕ s plays only minor roles in the host resistance to the SmT colonial variants of the MAC.

Key words : *Mycobacterium avium* complex, Serovar, Virulence, macrophage, Chemiluminescence

キーワード : *Mycobacterium avium* complex, 血清型, ビルレンス, マクロファージ化学発光

緒言

Mycobacterium avium complex (MAC) には, SmT (平滑, 透明, 扁平・不整形集落), SmD (平滑, 不透明, ドーム型・円形集落) 並びに RG (ラフ, 不整形集落) の3種の集落変異株が存在し, ニワトリやマウスに対するビルレンスを異にすることが知られている¹⁾。先にわれわれ²⁾³⁾は, MACのマクロファージ(M ϕ)化学発光(CL)誘起能は, その集落形態により著しく異なり(SmD>SmT), マウスに対するビルレンスとの間に負の相関が存在すること, またMAC菌体には glycolipoprotein moiety を有するM ϕ CL-triggering ligand が存在し, このものの菌体表面上の表現量はSmD>SmTであることについて報告した。

今回は, *M. avium* および *M. intracellulare* の SmT 集落株のマウスに対するビルレンスの比較並びにこれら両菌種の血清型⁴⁾⁵⁾とビルレンスとの関連性について検討するとともに, 血清型を異にするMAC SmT集落株のM ϕ CL誘起能とマウスに対するビルレンスとの間の相関性についての比較検討をも併せ行った。

材料と方法

1) 供試菌株

わが国におけるヒトの肺 *M. avium* 症患者よりの分離菌計 22 株 (血清型 1, 4, 8, 9) 並びに *M. intracellulare* 症患者よりの分離菌計 23 株 (血清型 7, 13, 14, 16) SmT 集落変異株を用いたが, *M. intracellulare* N-260 株では SmD 集落変異株をも併せ用いた。

MAC 菌株の血清型別は, われわれの教室で調製され

た供試菌液について D. J. Dawson 博士 (Queensland Department of Health, Australia) によってなされた⁶⁾。また, MAC の *M. avium* あるいは *M. intracellulare* の同定は Gen-Probe[®] Rapid Diagnostic System for the MAC (Gen-Probe Inc., San Diego, Calif., U. S. A.) を用いて行った⁷⁾⁸⁾。

2) 実験的マウス感染症

7H9 培地中, 37°C で OD₅₄₀ = 0.15 になるまで培養した菌を超音波処理後, 1,000rpm, 5分間遠心し, その上清を OD = 0.1 に調整したものの 0.1ml (0.7×10⁶ ~ 6.5×10⁶ CFU) を MAC 感受性 (Bcg^s) C57BL/6 系マウス⁹⁾ (5週齢, 雌) の尾静脈内に接種し, 112 あるいは 363 日間にわたって動物の生死を観察し, 死亡時にはそのつど, また生残マウスでは屠殺・剖検して, 肺の肉眼的病変の有無ないし程度を観察後, 肺, 脾の各全量をガラスホモジナイザーを用いて生食水中で均等化し, 得られたホモジネートの生食水による 10 倍階段希釈液の 0.1ml を 7H11 寒天平板上に接種し, 37°C で 2 週間培養後の還元 CFU を計測した。

3) M ϕ の CL 測定法

既報の方法²⁾に準じて行った。すなわち, C57BL/6 (Bcg^s) および C3H/He (Bcg^r) マウス⁹⁾ (9~12 週齢, 雌) よりの zymosan A 誘導腹腔浸出細胞¹⁰⁾ (M ϕ : 60~70%) の 2.5×10⁶ を 0.1mM luminol, 10mM HEPES 加ハanks液 (pH 7.4) 1ml に浮遊し, 被検 MAC の 6×10⁸~5×10⁹ CFU を加え, M ϕ より生ずる CL を ATP Lumiphotometer (東洋科学産業, 東京) で測定した。この場合被検 MAC は, 7H9 培地中で 37°C, 2 週培養菌を遠心 (3,000rpm, 15分), 洗浄して蒸留水に浮遊し, Handy Sonic (トミー精工, 東京)

で15秒間超音波処理後、1,000rpm、5分間遠心して可及的大きい菌塊を除いたものを用いた。

4) マウス腹腔Mφ内でのMACの挙動

BALB/c (Bcg^s) マウス⁹⁾ (8~12週齢, 雌) より採取, 調製した腹腔細胞¹⁰⁾ (Mφ: 50~60%) の 5×10^5 と *M. intracellulare* N-260 株の SmT 集落株 (2.3×10^6) あるいは SmD 集落株 (1.0×10^6) を polystyrene tube (10×100 mm) 中で0.5ml の10%牛胎児血清加 RPMI 1640 培地に浮遊させ、37°C, 4日間振盪培養後、蒸留水処理でMφを溶解し、7H11寒天平板上に接種してCFUを計測した¹¹⁾。

結 果

(1) SmT および SmD 集落株のマウス腹腔Mφ内でのCFUの推移

Table 1 は、*M. intracellulare* N-260 株の SmT 集落株と SmD 集落株の宿主腹腔常在Mφ内でのCFU

の推移を比較したものである。SmD 株は容易に殺菌されたのに対して、SmT 株では培養日数の経過につれて多少とも増殖し、これら両菌株間にはMφの殺菌作用に対する抵抗性に大きな差異がみられた。

(2) SmT および SmD集落株のマウス腹腔Mφ CL 誘起能

Fig. 1 に示すように、C3H/He 系 (Bcg^r) マウスあるいはC57BL/6系 (Bcg^s) マウスよりのMφの別なく、SmD 株は SmT 株に比べてより強い化学発光誘起能を有し、上記(1)の成績を併せ考える時、これら集落変異株のMφ CL 誘起能とMφの殺菌作用に対する抵抗性との間には、逆相関があるものようである。他方、SmT 株ではC3H/He系 (Bcg^r) とC57BL/6 (Bcg^s) マウス由来MφのCL 誘起能には差はなく共に弱かったが、SmD により誘起されたCLは前者において後者におけるよりも高かった。

(3) MAC 血清型とマウスに対するビルレンス

Table 1. Behavior of SmT and SmD Colonial Variants of *M. intracellulare* N-260 in Mouse Resident Peritoneal Mφs

Variant	Mφs	Incubation time (days)	CFU/tube (10^5)	Growth index
SmT	—	0	23	1
SmT	5×10^5	2	106	4.6
SmT	5×10^5	4	216	9.4
SmD	—	0	10	1
SmD	5×10^5	2	0.15	0.015
SmD	5×10^5	4	0.032	0.0032

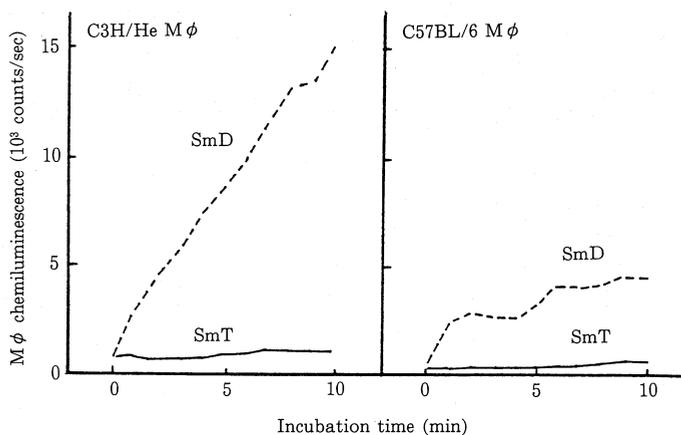


Fig. 1. Mφ CL-triggering activity of SmT and SmD colonial variants of *M. intracellulare* N-260. (A) C3H/He Mφs : SmT, 8.5×10^8 CFU ; SmD, 6.3×10^8 CFU. (B) C57BL/6 Mφs : SmT, 1.7×10^9 CFU ; SmD, 1.3×10^9 CFU.

Table 2. Virulence of Various Serovar Strains of *M. avium* and *M. intracellulare* against C57BL/6 Mice

Species	Serovar	Strain	Challenge dose ($\times 10^6$ CFU)	Died/ total	Mean survival time (days)	Lung lesions ^{a) b)}					Log CFU/organ ^{a)}	
						-	1+	2+	3+	4+	Lungs	Spleen
<i>M. avium</i>	1	N-289	2.2	0/6	>363	0	0	1	1	4	6.41	5.12
		N-356	3.0	0/6	>363	0	5	1	0	0	4.97	4.00
		N-357	2.1	0/6	>363	0	0	2	2	2	7.41	6.38
		N-364	1.3	0/6	>363	3	3	0	0	0	4.27	2.56
		N-445	1.3	0/6	>363	0	0	0	0	6	6.25	5.33
		N-458	1.3	0/6	>363	0	0	0	4	2	8.27	7.77
		N-461	4.7	0/6	>363	0	0	0	3	3	6.46	5.66
	8	N-307	1.4	0/6	>363	0	0	1	2	3	6.87	6.23
		N-339	1.4	3/6	355	0	0	0	1	5	8.37	7.77
		N-361	1.6	0/6	>363	0	0	0	3	3	8.79	7.87
		N-444	3.8	0/6	>363	0	0	0	1	5	9.16	8.59
		N-463	1.6	0/6	>363	0	0	3	3	0	5.52	5.39
	9	N-254	2.9	0/6	>363	0	0	6	0	0	6.73	5.92
		N-302	0.7	0/6	>363	4	2	0	0	0	2.92	2.55
<i>M. intracellulare</i>	14	N-244	1.6	2/6	337	0	0	0	0	6	9.19	8.61
		N-245	1.3	6/6	293	0	0	0	0	6	9.20	9.15
		N-256	2.6	6/6	103	0	0	0	2	4	9.35	9.15
		N-291	1.0	1/6	351	0	0	0	0	6	8.33	8.05
		N-299	1.9	6/6	149	0	0	0	0	6	9.16	9.06
		N-349	5.1	0/6	>363	0	0	0	1	5	7.14	5.64
		16	N-241	1.1	6/6	129	0	0	0	2	4	9.02
N-260	2.5		6/6	259	0	0	0	0	6	9.27	9.16	
N-283	1.6		6/6	286	0	0	0	0	6	9.43	9.25	
N-284	0.7		6/6	185	0	0	0	1	5	9.42	9.26	
N-285	3.3		6/6	300	0	0	0	0	6	9.35	9.23	
N-292	1.7		0/6	>363	0	0	0	4	2	8.86	8.03	
N-477	2.0		6/6	185	0	0	1	1	3	9.28	9.29	

a) Observation was done immediately after death of each mouse or on day 363 for survivors.

b) Criteria for gross pulmonary lesions: -, no lesion; 1+, less than 20 small nodules; 2+, more than 20 small nodules; 3+, many small nodules with a few large ones; 4+, confluent nodules.

Table 2 は、*M. avium* 並びに *M. intracellulare* (いずれも SmT 変異株) の血清型とマウスに対するビルレンスとの関係をみたものである。*M. avium* では、1 型菌計 7 株 (N-289, N-356, N-357, N-364, N-445, N-458, N-461) あるいは 9 型菌計 2 株 (N-254, N-302) の各群 6 匹宛の感染マウス (計 54 匹) では 363 日間にわたる観察期間中死亡例は皆無であり、また、同じく *M. avium* に属する 8 型菌計 5 株 (N-307, N-339, N-361, N-444, N-463 株) の感染マウス (計 30 匹) についても、わずかに N-339 株感染マウスの 6 匹中 3 匹が感染 355 日後に死亡したに過ぎず、残りのマウス (27 匹) は全例生存した。した

がって、*M. avium* 感染マウスの死亡例は全供試マウス 84 匹中わずかに 3 匹 (3.5%) に過ぎなかったことになる。

これに対して、*M. intracellulare* では 14 型菌計 6 株 (N-244, N-245, N-256, N-291, N-299, N-349 株) および 16 型菌計 7 株 (N-241, N-260, N-283, N-284, N-285, N-292, N-477) の各 6 匹宛の感染マウスでは、その死亡例は前者では 36 匹中 21 匹 (58%) および後者では 42 匹中 36 匹 (86%) で *M. avium* 感染の場合に比べると有意に多く、また死亡マウスの平均生残日数についてみても、N-349 株 (14 型) および N-292 株 (16 型) での観察期間 (363

日)における死亡例が皆無であったものを除けば, 14型菌では103~351日(平均247日), 16型菌では129~300日(平均224日)であり, *M. intracellulare* 感染マウス全体としては103~300日(平均234日)であり, *M. avium* の8型菌感染マウスでは355日であったのに比べるとはるかに短かった。

これら感染マウスの肺の肉眼的病変についてみると, *M. avium* のN-364株(1型菌)およびN-302株(9型菌)にはそのみられなかった動物もあったが, その他のMAC菌株では*M. avium* と *M. intracellulare* のいずれを問わず全例に病変がみられ, また, その程度は *M. intracellulare* (14, 16型菌)において *M. avium* (1, 8, 9型菌)におけるよりも強いものが多いようであった。

さらに, こうしたMAC血清型別とマウスに対するビルレンスとの相関を感染マウスの肺内CFUを指標としてみると, *M. intracellulare* の16型菌で最も増殖能が高く(Log CFU: 8.86~9.43, 平均9.23), 次

いで同14型菌が高かった(Log CFU: 7.14~9.35, 平均8.73)のに対して, *M. avium* ではその最も高かった8型菌でもLog CFUは5.52~9.16, 平均7.74であり, 1型菌(Log CFU: 4.27~8.27, 平均6.29)および9型菌(Log CFU: 2.92~6.73, 平均4.82)ではそれよりもさらに低かった。また, 脾内CFUの推移についても肺におけると同様な傾向がみられた。以上の成績を考え合わせ時, MACのマウスに対するビルレンスは16および14型(*M. intracellulare*), 8, 1および9型(*M. avium*)の順といえよう。

(4) 患者並びに自然環境分離の *M. avium* および *M. intracellulare* のマウスに対するビルレンス

Table 3は, MAC感染症患者並びに自然環境より分離された *M. avium* 並びに *M. intracellulare* のSmT集落株の感染112日後のマウスの肺の結核結節様肉眼病変の有無と程度並びに肺, 肝および脾内CFUの消長から菌種の由来別ビルレンスの比較成績を示したものである。まず *M. intracellulare* についてみると, 肺病変

Table 3. Virulence of *M. avium* and *M. intracellulare* Isolated from MAC Patients and Environmental Sources against C56BL/6 Mice

Species	Origin	Serovar	Strain	Challenge dose (x10 ⁸ CFU)	Number of mice	Lung lesions ^{a)}					Log CFU/organ ^{a)}		
						-	1+	2+	3+	4+	Lungs	Spleen	Liver
<i>M. avium</i>	Human	1	N-289	3.4	4	0	0	3	1	0	6.68 (5.05)	6.10	5.58
		1	N-364	1.8	4	4	0	0	0	0	4.85 (4.58)	4.14	4.83
		8	N-307	1.1	5	4	1	0	0	0	5.00 (4.80)	5.62	4.15
		9	N-254	2.7	5	5	0	0	0	0	6.02 (4.86) ^{b)}	5.72	5.33
		9	N-302	3.7	5	5	0	0	0	0	3.68 (5.02)	4.07	4.22
	Environment	2	N-395	2.6	5	4	1	0	0	0	4.60 (4.06)	5.24	4.09
		2	N-396	2.1	4	4	0	0	0	0	4.34 (4.17)	4.96	3.53
		2	N-424	2.2	5	5	0	0	0	0	3.82 (3.92)	5.02	3.68
		Nontypable	N-415	2.4	5	5	0	0	0	0	1.96 (4.48)	4.79	2.00
	<i>M. intracellulare</i>	Human	14	N-256	4.2	4	0	0	0	0	4	9.18 (5.04)	9.22
16			N-237	1.1	5	0	0	4	1	0	6.22 (4.59)	6.22	5.90
16			N-260	6.5	5	0	0	0	5	0	7.77 (4.70)	8.03	NC ^{c)}
16			N-283	4.3	5	0	0	1	1	3	7.18 (5.07)	6.47	7.08
16			N-292	2.7	4	0	3	1	0	0	5.47 (4.25)	6.31	5.67
NT ^{d)}			N-310	3.8	4	0	0	1	3	0	8.04 (4.57)	8.28	8.67
Environment		16	N-414	1.1	5	0	0	2	2	1	8.08 (4.90)	8.04	8.13
		16-42	N-409	4.9	5	1	0	2	2	0	6.37 (4.59)	5.28	5.37
		42	N-410	1.2	5	0	0	4	1	0	6.78 (4.72)	6.01	5.74
		NT	N-411	3.8	4	4	0	0	0	0	3.34 (4.69)	3.87	3.70

a) Observation was done on day 112 after infection. No mice died during the first 112 days.

b) In parenthesis, CFU on day 1 after infection is indicated.

c) Not counted.

d) Not tested.

は患者由来菌で最も出現頻度が高く、供試計6株(N-237, N-256, N-260, N-283, N-292, N-310)各接種の1群4~5匹、計30匹のいずれのマウスにも病変がみられ、その程度もN-292株を除いては中等度ないし強度と強かった。また、感染112日での肺内 Log CFU も、N-292株のように例外的に低いものもみられたが、5.47~9.18 に分布し、本菌群全体としては平均 7.31 ± 0.54 、さらに肺内感染菌の増殖の程度を表す指標としての $\Delta \text{Log CFU}$ ($=\text{Log CFU} [\text{day 112}] - \text{Log CFU} [\text{day 0}]$) も患者分離の *M. intracellulare* では $1.22 \sim 4.14$ 、平均 2.6 ± 0.5 で他の MAC 菌群に比べて最も高かった。

次に自然環境分離の *M. intracellulare* では、供試4株(N-409, N-410, N-411, N-414)中N-411株全感染マウスとN-409株感染マウス5匹中1匹を除く計19匹中14匹(74%)に肉眼的肺病変が見られ、その程度は上述の患者由来 *M. intracellulare* に次ぐものであった。また感染112日後における肺内 Log CFU および $\Delta \text{Log CFU}$ 値は各平均 6.14 ± 1.00 および 1.4 ± 1.0 で、ともに患者分離 *M. intracellulare* のそれに次いで高かった。しかし本菌群では患者分離 *M. intracellulare* 群におけると同様ビルレンスの強い菌株(N-414)から、肉眼的肺病変を全く惹起しえず肺内増殖のみられない菌株(N-411)まで、菌株によりマウスに対するビルレンスの強さを異にした。

他方、患者由来 *M. avium* では、供試5株(N-254, N-289, N-302, N-307, N-364)中N-289株感

染マウスの4匹中4匹とN-307株感染マウス4匹中1匹に肺病変がみられたにすぎず、したがってこれらの菌の感染マウス計23匹中5匹(22%)に軽度ないし中等度の肺病変がみられたにすぎなかったことになり、また、感染112日後の肺内 Log CFU および $\Delta \text{Log CFU}$ は、 $3.68 \sim 6.68$ (平均 5.25 ± 0.52) および $-1.34 \sim 1.63$ (平均 0.4 ± 0.5) で *M. intracellulare* におけるよりも低かった。次に、自然環境由来の *M. avium* では、供試4株(N-395, N-396, N-415, N-424)の感染マウス計19匹中N-395株感染マウスのわずか1匹(5%)に軽度の肉眼的肺病変がみられたにすぎず、また感染112日後の肺内 Log CFU および $\Delta \text{Log CFU}$ も各 $1.96 \sim 4.60$ (平均 3.68 ± 0.60) および $-2.52 \sim 0.54$ (平均 -0.5 ± 0.7) で供試 MAC 菌群中最も低かった。

以上、MAC のマウスに対するビルレンスは、患者分離 *M. intracellulare*、環境分離 *M. intracellulare*、患者分離 *M. avium*、環境分離 *M. avium* の順であると考えられる。

(5) MAC 血清型と $M\phi$ CL 誘起能

Fig. 2 は、わが国におけるヒト肺 MAC 症患者由来の *M. avium* 8株(血清型1, 4, 9)並びに *M. intracellulare* 7株(血清型7, 13, 14, 16)の SmT 集落計15株の $M\phi$ CL 誘起能についてみたものである。いずれも2回の実験成績を示したが、バラツキが大きくわずかに7型(N-242株)と13型(N-249株)では他の血清型菌に比べて低値を示したという点を除いては、血清型と $M\phi$ CL 誘起能との間の相関性については一定

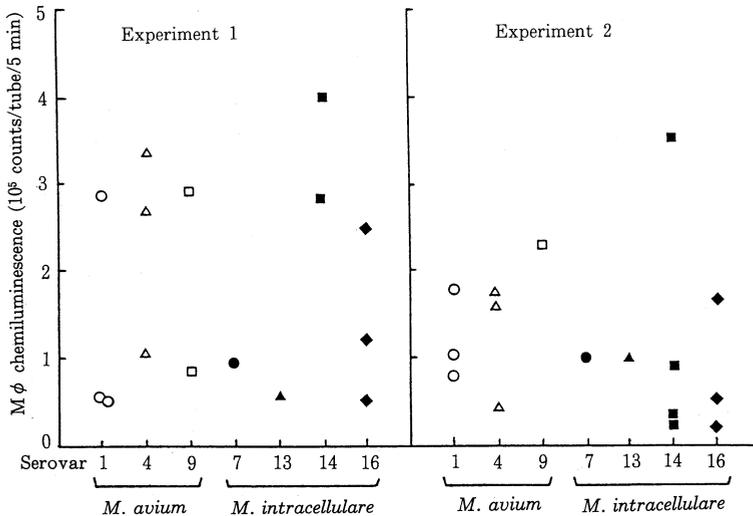


Fig. 2. $M\phi$ CL-triggering activity of various serovar strains of the MAC. The intensity of $M\phi$ CL induced by the organisms added at the concentration of 5×10^9 CFU/ml is indicated. Each plot indicates $M\phi$ CL induced by each of test MAC strain.

の結論を得るにいたらなかった。

(6) 患者並びに環境分離の *M. avium* および *M. intracellulare* の M ϕ CL 誘起能

Fig. 3 は、患者並びに自然環境分離の *M. avium* と *M. intracellulare* (いずれも SmT 集落株) の M ϕ CL 誘起能をみたものである。N-307 株を除く患者由来の *M. avium* (N-254, N-302) では、環境由来の 2 株 (N-395, N-424) よりも低い M ϕ CL 誘起能を示し、また *M. intracellulare* では環境由来の 3 株中 2 株 (N-409, N-410) において患者由来の 3 株 (N-237, N-256, N-283) よりもやや高い M ϕ CL 誘起能を示した。したがって、*M. avium* と *M. intracellulare* のいずれを問わず、ヒト由来株の M ϕ CL 誘起能は自然環境由来株におけるよりも多少とも低い傾向にあるように見受けられた。しかしながら、*M. avium*, *M. intracellulare* 両菌種間には M ϕ CL 誘起能に有意な差異を認め得なかった。

考 察

以上の成績より、マウス腹腔 M ϕ 内の殺菌作用に対する MAC 集落株の抵抗性は SmT > SmD であるが、他方 M ϕ CL 誘起能にはこれとは逆の相関がみられ、SmD 株では M ϕ との interaction により強い CL が誘起されるが、SmT 株ではそうしたことがほとんど起こらないことが明らかにされた (Fig. 1)。一般に MAC に対する宿主抵抗性の発現には、M ϕ のエフェクター細胞としての役割が大きいことが知られており¹²⁾、このことよりすれば、今回の成績は、SmT および SmD 集落株の M ϕ CL、すなわち呼吸爆発誘起能、ひいては活性酸素の産生に連動した M ϕ 殺菌メカニズムの発動と、それらマウスに対するビルレンスとの間には逆の相関性がみられるという先のわれわれの成績³⁾ とよく符合するものである。したがって、こうしたことが、両集落株のマウス M ϕ 内での殺菌機構に対する抵抗性、ひいてはマウスに対するビルレンスの異なる主要な原因をなしているものと考えられる。以上、MAC の SmT, SmD 集落株間のビルレンスの差異¹⁾ は、大きくはこれら集落株の M ϕ に対する活性酸素産生能の誘起能の違いに起因したものと考えて大過なかならう。

他方、MAC SmT 集落株間では Table 2 および 3 に示すように、*M. avium* 並びに *M. intracellulare* 菌種あるいは血清型の違いに基づいたビルレンスの差異が見られ、MAC 菌株のマウスに対するビルレンスの程度は *M. intracellulare* > *M. avium* であり、この場合、患者分離菌 > 環境分離菌であり、血清型では 16, 14, 8, 1, 9 型菌の順といった成績が得られた。ところが、これら MAC の M ϕ CL 誘起能の強弱 (Figs. 2, 3) とそのビルレンスとの間には一定の相関は認められず、

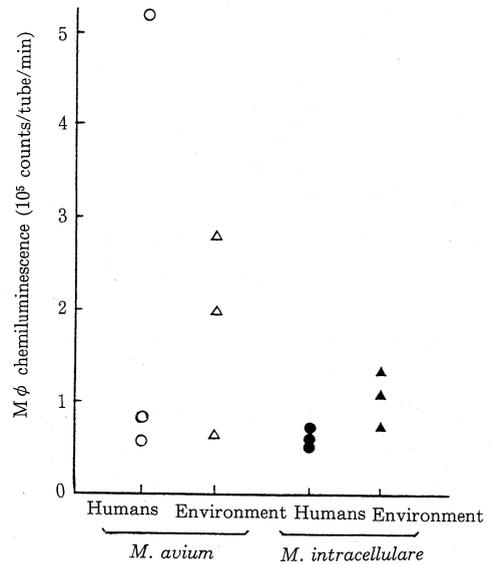


Fig. 3. M ϕ CL-triggering activity of *M. avium* and *M. intracellulare* isolated from MAC patients and natural sources. The others are the same as in Fig. 2.

SmT 集落菌株間におけるビルレンスの差異は M ϕ に対する活性酸素産生能の誘起能の違いに基づくものではなく、これとは別のビルレンス因子が関与しているものように思われる。

米国において AIDS 患者からの分離頻度の最も高い 8 型菌では superoxide anion 産生能を指標とした場合の M ϕ 活性酸素産生誘起能が最も強いという報告 (Gangadharam ら¹³⁾) は今回のわれわれの成績とは馳背するものである。本実験においてわれわれは SmT 集落変異株のみを供試しているのに対して、Gangadharam らの報告ではそれに関する記載がなく、この点、直接の比較は困難なように思われる。

以上、MAC に対する M ϕ の殺菌機構においては、酸素依存性の殺菌メカニズムが一定の役割を演じてはいるものようであるが、SmT 集落株間でのビルレンスの違いを左右するほどの重要性はないものようである。別途、最近われわれが行った検討では、IFN- γ または TNF- α で *in vitro* 処理して活性化した M ϕ はいずれも強い活性酸素産生能を獲得したにもかかわらず、前者で処理して得られた M ϕ のみにその抗 MAC 抗菌活性の増強が認められた (Tomioaka, Sato & Saito, 論文執筆中) が、これは上述のわれわれの考え方を支持するものである。したがって、SmT 集落株のビルレンス因子としては M ϕ 内での酸素非依存性の殺菌メカニズムや、T 細胞によって担われる宿主免疫応答の成立・発現

のプロセスに拮抗するような類の別の因子を探すが重要課題であろう。

結 語

血清型を異にする MAC 菌株の M ϕ CL 誘起能について検討し、概要以下の知見を得た。

(1) SmT 集落株の M ϕ CL 誘起能は SmD 集落株におけるよりも極めて低く、このことはマウス常在 M ϕ 内での殺菌メカニズムに対する SmT 集落株の抵抗性とよく相応したものといえよう。

(2) MAC SmT 集落株のマウスに対するビルレンスの程度は、16, 14, 8, 1, 9 血清型菌の順であったが、これら MAC 菌株の M ϕ CL 誘起能には特に血清型との関連はみれなかった。

(3) *M. avium* ならびに *M. intracellulare* の SmT 集落株のマウスに対するビルレンスは、*M. intracellulare* において *M. avium* よりも強く、また患者分離株において環境分離株におけるよりも強かった。これら MAC 菌株のビルレンスとその M ϕ CL 誘起能との間には特に一定の相関はみられなかった。

(4) MAC の SmT 集落株間でのビルレンスの差異は MAC 菌株の M ϕ CL 誘起能の違いに起因するものではなく、これとは別の因子が関与している可能性が示唆された。

謝 辞

MAC 菌株の血清型の判別を行って頂いた D. J. Dawson 博士、並びに Gen-Probe 同定キットをご提供頂いた中外製薬株式会社に深謝します。

文 献

- 1) Schaefer, W. B., Davis, C. L., Cohn, M. L. : Pathogenicity of transparent, opaque, and rough variants of *Mycobacterium avium* and the nonphotochromogens, *Am Rev Respir Dis*, 102 : 7499-7524, 1970.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) Schaefer, W. B. : Serologic identification and classification of the atypical mycobacteria by their agglutination, *Am Rev Respir Dis*, 92 (Suppl.) : 85-93, 1965.
- 5) Wolinsky, E., Schaefer, W. B. : Proposed numbering scheme for mycobacterial serotypes by agglutination, *Int J Syst Bacteriol*, 23 : 182-183, 1973.
- 6) Reznikov, M., Dawson, D. J. : Serological examination of some strains that are in the *Mycobacterium avium-intracellulare-scrofulaceum* complex but do not belong to Schaefer's serotypes, *Appl Microbiol*, 26 : 470-473, 1973.
- 7) Gen-Probe[®] Rapid Diagnostic System for the *Mycobacterium avium* complex, Gen-Probe Inc., San Diego, Calif., U. S. A.
- 8) 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.
- 9) Goto, Y., Nakamura, R., Takahashi, H. et al. : Genetic control of resistance to *Mycobacterium intracellulare* infection in mice, *Infect Immun*, 46 : 135-140, 1984.
- 10) Yamada, Y., Saito, H., Tomioka, H. et al. : Relationship between the susceptibility of various bacteria to active oxygen species and intracellular killing by macrophages, 1987, *J Gen Microbiol*, 133 : 2015-2021, 1987.
- 11) Sato, K., Saito, H. and Tomioka, H. : Enhancement of host resistance against *Listeria* infection by *Lactobacillus casei* : Activation of liver macrophages and peritoneal macrophages by *Lactobacillus casei*, *Microbiol Immunol*, 32 : 689-698, 1988.
- 12) Rastogi, N., David, H. L. : Mechanisms of pathogenicity in mycobacteria, *Biochimie*, 70 : 1101-1120, 1988.
- 13) Gangadharam, P. R. J., Edwards, C. K. III : Release of superoxide anion from resident and activated mouse peritoneal macrophages infected with *Mycobacterium intracellulare*, *Am Rev Respir Dis*, 130 : 834-838, 1984.