

短 報

東北地方における *M. avium-intracellulare* Complex
分布の DNA プローブ法による検討菊 地 宏 明 ・ 庄 司 聡
渡 辺 彰 ・ 本 宮 雅 吉

東北大学抗酸菌病研究所内科学研究部門

吉 田 司

岩手県立中央病院呼吸器科

受付 平成4年8月15日

IDENTIFICATION OF *MYCOBACTERIUM AVIUM*-*INTRACELLULARE*
COMPLEX IN TOHOKU DISTRICT OF JAPAN BY USING DNA PROBESHiroaki KIKUCHI*, Satoru SHOJI, Akira WATANABE,
Masakichi MOTOMIYA and Tsukasa YOSHIDA

(Received for publication August 15, 1992)

Attempts were made to identify *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* in the *M. avium-intracellulare* complex (MAC) isolated in the Tohoku district of Japan by using DNA probes (Gen-Probe; Rapid Diagnostic System) which are specific for *M. avium*, *M. intracellulare* and *M. tuberculosis* complex, respectively. In the Tohoku district, the ratio of *M. avium* isolates (80%) exceeded that of *M. intracellulare* isolates. It was thus shown that, in the Tohoku district where no data concerning the ratio of *M. avium* to *M. intracellulare* isolates had been available, the ratio of *M. avium* by far exceeded that of *M. intracellulare*.

Key words : DNA probe, *M. avium-intracellulare* complex, *M. avium*, *M. intracellulare*, TOHOKU district

キーワードズ : DNA プローブ, *M. avium-intracellulare* complex, *M. avium*, *M. intracellulare*, 東北地方

近年、本邦では非定型抗酸菌症患者の増加が報告されており¹⁾、各種非定型抗酸菌間の鑑別、同定が以前にも増して重要となっている。その同定には従来、生化学的検査を組み合わせて同定する方法が用いられてきたが、

この方法では *M. avium* と *M. intracellulare* の鑑別はきわめて困難であり、多くの場合 *M. avium-intracellulare* complex (以下、MAC) として記載する方法がとられてきた。

* From the Department of Internal Medicine, Research Institute for Tuberculosis and Cancer, Tohoku University, 4-1 Seiryō-machi Aobaku, Sendai 980 Japan.

Table Percent Hybridization of MAC in TOHOKU District with DNA Probes Specific for *M. avium*, *M. intracellulare* and *M. tuberculosis*

Strain	DNA Probe		
	<i>M. avium</i>	<i>M. intracellulare</i>	<i>M. tuberculosis</i>
<i>M. avium</i> complex			
1	76(+)	4(-)	1(-)
2	78(+)	3(-)	1(-)
3	76(+)	3(-)	2(-)
4	75(+)	2(-)	2(-)
5	74(+)	3(-)	1(-)
6	71(+)	5(-)	1(-)
7	76(+)	3(-)	1(-)
8	78(+)	2(-)	1(-)
9	75(+)	2(-)	3(-)
10	45(+)	2(-)	1(-)
11	42(+)	2(-)	1(-)
12	31(+)	2(-)	1(-)
13	33(+)	2(-)	2(-)
14	55(+)	2(-)	1(-)
15	43(+)	2(-)	1(-)
16	53(+)	2(-)	2(-)
17	35(+)	4(-)	2(-)
18	44(+)	6(-)	1(-)
19	53(+)	3(-)	1(-)
20	52(+)	2(-)	1(-)
21	48(+)	1(-)	1(-)
22	49(+)	2(-)	1(-)
23	46(+)	2(-)	2(-)
24	37(+)	3(-)	1(-)
25	27(+)	2(-)	1(-)
26	53(+)	1(-)	1(-)
27	26(+)	1(-)	1(-)
28	50(+)	1(-)	1(-)
29	2(-)	39(+)	3(-)
30	3(-)	38(+)	1(-)
31	1(-)	45(+)	2(-)
32	1(-)	39(+)	2(-)
33	2(-)	18(+)	1(-)
34	2(-)	42(+)	2(-)
35	1(-)	43(+)	2(-)
<i>M. avium</i>			
ATCC 25291	46	2	2
<i>M. intracellulare</i>			
ATCC 15985	1	42	2
<i>M. tuberculosis</i>			
H ₃₇ RV	2	3	38

最近, DNAプローブ法の進歩により抗酸菌の同定が簡便に行えるようになり, MACの分布についても本邦での成績が次第に報告されつつある^{2)~4)}。しかしながら,

東北地方における分布についてはこれまでのところ報告がまったくなかった。われわれは東北地方におけるMACの分布をDNAプローブ法を用いて検討し, 以下

の結果を得たので報告する。

対象とした菌株は1988年から91年に臨床分離されたナイアシン陰性のMAC計35株で、その内訳は東北大学抗酸菌病研究所附属病院で分離された6株、仙台厚生病院で分離された23株、岩手県立中央病院で分離された6株である。また、標準菌株として *M. avium* ATCC 25291株、*M. intracellulare* ATCC 15985株、および *M. tuberculosis* H₃₇RV株を使用した。

菌株の同定は Gen-Probe 迅速同定キット (Gen-Probe社) を用い、キット添付の標準マニュアルに従い、次のようにして行った。すなわち、1%小川培地上37°C、3~4週間培養菌を用い、McFarland No.1濃度に調整した蒸留水菌浮液を溶菌剤 (ラウリル硫酸ナトリウム) 含有チューブに分取し、超音波処理を行い、リボソームRNAを抽出した。この抽出液に *M. avium*, *M. intracellulare*, または *M. tuberculosis* complexのそれぞれに特異的な¹²⁵I標識単鎖DNAプローブ溶液を加え、72±1°Cで1時間インキュベートし、各特異DNAプローブと相補的なリボソームRNAに¹²⁵I-DNA・RNAハイブリッドを形成させ、ヒドロキシアパタイトに吸着させた。次に遠心分離等の洗浄操作により未反応のプローブを除去し、得られた沈渣中の放射活性をγカウンター (UNITED TECHNOLOGIES PACKARD, A500C) にて計測した。%ハイブリダイゼーション値は次式より算出した。

$$\frac{\text{Sample cpm} - \text{Background cpm}}{\text{Total cpm}} \times 100$$

%ハイブリダイゼーション10%以上を反応陽性として、菌種の同定を行った⁵⁾。

東北地方の計3施設で分離された35株の%ハイブリダイゼーション結果をTableに示した。

使用したプローブは上記の3種類であり、結果を菌株毎に表示したが、*M. avium* のプローブと反応する株が多く、80%を占めた。

ここでNo.1~9株は *M. avium* 標準株に比較して高い%ハイブリダイゼーション値を示しているが、これはこれらの株から調整した菌液濃度が高かったことによるものと考えられる。

Saito³⁾、水谷⁴⁾らは、DNAプローブ法によりわれわれと同じ方法で全国の分離株を用いて検討し、いずれも *M. avium* は東日本で多く、*M. intracellulare* は西日本で多いと指摘している。しかし、いずれの報告でも東北地方の成績は欠けていた。われわれの今回の検討成績では *M. avium* が8割と *M. intracellulare* より多く、Saito、水谷らの報告を裏づける結果であった。すなわち、*M. avium* が東日本で多く、*M. intracellulare* が西日本で多いという事実が確認された。

今回の対象株数は35株と未だ少数であり、さらに、岩手県で分離された6株 (No.26~31) は3株が *M. avium*、3株が *M. intracellulare* と同定されており、この検討はさらに継続していく必要があると考えている。

M. avium 症と *M. intracellulare* 症の臨床像を比較した場合、*M. avium* 症は合併症を伴うものが多く⁶⁾、治療成績においては再治療の成績が不良であり⁴⁾、さらに薬剤感受性では耐性例が多いことが指摘されている³⁾⁴⁾⁶⁾。また、従来の臨床報告でもMAC症の治療効果は東日本の方がやや不良であると言われている。これは今回のわれわれの検討でも確認されたように、東日本では *M. avium* の分離頻度が高いためと考えられる。したがって、*M. avium* の分離頻度の高い東北地方ではMAC症、とりわけ *M. avium* 症に対する治療法の確立が望まれる。

謝 辞

DNAプローブを分与された中外製薬株式会社に深謝する。

文 献

- 1) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班：日本における非定型抗酸菌感染症の研究 (国療非定型抗酸菌症共同研究班1986年度報告), 結核. 1988; 63: 493-499.
- 2) 後藤美江子, 奥住捷子, 後藤元, 他: DNAプローブを用いた *M. avium* complex の同定と東京大学附属病院における非定型抗酸菌の菌種別分離率の検討, 感染症学雑誌. 1990; 64: 269-273.
- 3) 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. 1989; 27: 994-997.
- 4) 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. 1991; 66: 19-38.
- 5) Drake TA, Hindler JA, Berlin OGW, et al.: Rapid identification of *Mycobacterium avium* complex in culture using DNA probes, J Clin Microbiol. 1987; 25: 1442-1445.
- 6) 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. 1990; 65: 639-641.