

原 著

非定型抗酸菌症患者の排菌菌種の細菌学的・経時的変遷
—7年間の15症例—

¹平岡 武典 ¹難波 煌冶 ²緒方 浩幸 ²斉藤 宏

¹国立療養所宮崎病院内科, ²検査科

THE ALTERNATIVE OR SIMULTANEOUS EXCRETION OF
DIFFERENT SPECIES OF MYCOBACTERIA IN ATYPICAL MYCOBACTERIOSIS
—15 CASES IN 7 YEARS—

^{1*}Takesuke HIRAOKA, ¹Koji NAMBA, ²Hiroyuki OGATA, and ²Hiroshi SAITOU

^{1*}Internal Medicine, ²Clinical Laboratory, National Miyazaki Hospital

Five hundreds and five cases of *Mycobacterium tuberculosis* infection admitted to our hospital during 7 years from 1993 to 1999. Numbers of newly diagnosed cases were 390, of which 329 (84.4%) were bacilli positive with sputum examination on admission. The recurrent cases were 115, of which 55 (47.8%) were bacilli positive cases. During the same period, mycobacteria other than tuberculosis (atypical mycobacteria) were detected in the sputum of other 121 cases. The 63 (52.1%) out of these 121 cases were diagnosed as atypical mycobacteriosis (AM) due to repetitive detection of bacilli with fulfilled the criteria according to the Japanese Mycobacteriosis Research Group of the National Chest Hospitals. The ratio of 63 AM cases to 329 bacilli positive TB cases was 19.1%, but it range from 8.2% to 31.3% year by year.

In these 63 AM cases, 9 (14.3%) cases excreted AM bacilli simultaneously or alternately with TB bacilli. The other 15 (23.8%) cases excreted different AM bacilli simultaneously or alternately. The changes or combinations with *M. avium* and *M. intracellulare* were most frequently observed (in 12 cases). The manners of changes and combinations with different species were described in detail.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*,
Atypical mycobacteriosis, Criteria, Change,
Combination

キーワード: 肺結核, 非定型抗酸菌症, 診断基準,
菌の交代, 同時排菌

*〒889-1301 宮崎県児湯郡川南町川南 19403-4

* 19403-4, Kawaminami, Kawaminami-cho, Koyu-gun,
Miyazaki 889-1301 Japan.

(Received 31 Jan. 2001/Accepted 30 Mar. 2001)

緒言

1950年代、結核菌やライ菌以外で抗酸菌染色が陽性を示す非定型抗酸菌 (AM) 群が注目され、分類学的研究が活発に行われた。1959年、Runyon は菌の発育速度と集落の性状、着色や発色性の特徴より、抗酸菌の細菌学的な分類を行った。この Runyon の4つの分類は、現在も AM の簡易分類基準として広く利用されている。しかし、AM の正確な同定には熟練した手技と多大な労力と時間が必要であり、しかも結核菌に比し検出頻度は低く、深く研究の対象とならなかった。また、AM 症と診断されても、適切な抗菌剤がなく、難治性で慢性化する症例が多いにもかかわらず AM の病原性が低いため、致命的であることは稀であった。これらが理由となって AM 症が重要な感染症として脚光を浴びることはなかった。

ところが1980年代の AIDS 患者の多発が全世界的な問題となり、しばしば早期に合併する AM 感染が致命的となる患者が多く報告されるようになった。このような状況下、AM 症の早期の診断と的確な治療のために、正確でかつ迅速な診断法の開発が大きな課題となった。1983年にアイソトープを利用した BACTEC 法が、さらに DNA または RNA プローブを用いた核酸同定法の開発は、迅速性と普遍性という点で大きな利点があり、社会に対し十分に貢献した。

当院でも1989年頃より、従来の Ziehl-Neelsen 法と並行して、この核酸同定法を結核菌および AM の分別同定に採り入れ、1992年より本格的に採用している。そして、1993年より7年間で、AM 症63例中の15例に AM の菌間で交代現象を観察した。それら15例について、細菌学的、経時的変遷を検討したので報告する。

材料と方法

肺結核患者は1993年から1999年の7年間の505名を検討対象とした。新患症例は結核菌排菌陽性者、および排菌はないが、強く肺結核が疑われ抗結核剤の投与により胸部所見が改善した症例を含む。一方、再入院患者は再排菌者と、排菌はないが胸部 X 線写真の増悪と臨床症状で再発が強く疑われ抗結核剤の投与により諸所見が改善した症例を含んでいる。

AM は、喀痰培養で得られたコロニーを核酸同定法である DDH 法で同定した。DDH 法で複数菌検出例および疑問例については、それらのコロニーを PCR 法を用いて結核菌、*M. intracellulare* または *M. avium* について再同定を行った。同期間の AM 症例は、喀痰検査で複数回連続して AM を排菌し国療非定型抗酸菌症共同研究班の診断基準¹⁾を満した63症例を検討対象

とした。

喀痰検査は、入院後早朝喀痰を連続3日間採取し、各々を粘液溶解剤で均一化し、その後遠心集菌した。集菌された検体の一部を用いて塗抹標本を作製し、Ziehl-Neelsen 染色またはキニヨン法と蛍光法にて鏡検した。

液体培養導入前は集菌後の検体をコハク酸を含む処理液で酸処理後、2%小川培地ベース卵培地の変法培地 (小川 K 培地とビット培地) に接種培養した。1997年の液体培地導入後は、集菌後の検体を2つに分け、1つは前述の酸処理後、小川 K 培地に培地を培養。残りはNALC-NaOH 処理後、液体培養した。液体培養で陽性が確認できた時点で再度小川培地に接種して分離培養した。その後 DDH 法で同定し、疑問があれば PCR 法を用いて結核菌、*M. intracellulare* または *M. avium* を再同定し、その結果を優先した。

排菌の経過は、原則的に月1回 (3日間) の定期検査に加え、増悪時には臨時的に検査した。退院後の外来患者は月1回の検査が原則である。今回、最も長期間観察できた症例は7年間、最も短いものでも6カ月間の排菌の推移を連続的に観察できた。

結果

1993年からの7年間で、結核病棟への肺結核症入院患者は505名であった。新入院患者が390名で、うち排菌陽性例は329名 (84.4%) であり再入院患者は115名で、うち排菌陽性例は55名 (47.8%) であった。一方、同期間に AM が検出された例数は121名であり、肺結核症入院患者505名に対する比率は23.9%であった。AM が検出された例数のなかで臨床症状があり、胸部異常影が出現し、かつ複数回排菌があつて診断基準¹⁾を満した AM “症” は63名 (12.5%) であった (Table 1)。入院時排菌陽性の肺結核新規発生患者に対する AM 症の比率は、最も頻度の低い1998年の8.2%から、最も高い1994年の31.3%であつて、平均は19.1%であった。

“症” としての診断基準には該当しないが、AM 全体の排菌状況を反映していると考えられる1回のみの排菌者を含む121例の菌種 (Table 2) と AM 症診断の63例 (延べ数83菌株) (Table 3) と比較検討した。この2つのグループでの AM の検出頻度はⅢ群が大多数であり、一回排菌例で82.6% (100/121)、AM 症で85.5% (71/83) を占めた。Ⅱ群は9.1% (11/121) と6.0% (5/83) であり、Ⅰ群は *M. kansasii* の2例のみで検出頻度は低かった (Table 2, 3)。

結核菌と AM が同一患者で検出された症例が9例あつた (Table 4)。うち7例では、どちらかの経過中の同時排菌であった。これら9例中の3例は肺結核の経過中に検出され、3症例は AM 症が先行した後で結核菌が証

Table 1 Total number of *M. tuberculosis* and atypical mycobacterium on sputum examination for past 7 years

	Number of admission	Virgin case (bacilli +)	Recurrent (bacilli +)	Just on time of AM bacilli	Plural positive of AM bacilli
1993	77	55 (41)	22 (3)	13	8 (/41=19.5)
1994	82	61 (48)	21 (9)	21	15 (/48=31.3)
1995	84	56 (51)	28 (22)	25	14 (/51=27.5)
1996	61	46 (40)	15 (7)	15	7 (/40=17.5)
1997	79	65 (58)	14 (5)	23	6 (/58=10.3)
1998	56	52 (49)	4 (4)	13	4 (/49= 8.2)
1999	66	55 (42)	11 (5)	11	9 (/42=21.4)
	505	390 (329) (84.4%)	115 (55) (47.8%)	121 (/505=24.0%) (/390=31.0%)	63 (/505=12.5%) (/329=19.1%)

Table 2 Total number of atypical mycobacterium on sputum examination for past 7 years (including only one time bacilli positive case)

Total	I Group		II Group			III Group		IV Group		
	kan	scr	gord	szul	avi	int	for	che	absce	
1993	13		1	1	1	3	6		1	
1994	21	1	1			4	14	1		
1995	25		1	1		6	15		2	
1996	15	1			1	1	12			
1997	23		2	1		5	13		2	
1998	13					4	9			
1999	11		1			5	3		1	1
	121 (%)	2 (1.7)	6 (5.0)	3 (2.5)	2 (1.7)	28 (23.1)	72 (59.5)	1 (0.8)	6 (5.0)	1 (0.8)

kan : *M. kansasii* scr : *M. scrofulaceum* gord : *M. gordonae*
 szul : *M. szulgai* avi : *M. avium* int : *M. intracellulare*
 for : *M. fortuitum* che : *M. chelonae* absce : *M. abscessus*

Table 3 Total number of atypical mycobacterium on sputum examination for past 7 years (limited plural times bacilli positive case)

Total	I Group		II Group			III Group		IV Group		
	kan	scr	gord	szul	avi	int	for	che	absce	
1993	8 (12)		1	1		3	6		1	
1994	15 (21)	1	1			4	14	1		
1995	14 (17)			1		7	8		1	
1996	7 (10)	1			1	1	7			
1997	6 (8)					4	3		1	
1998	4 (6)					2	4			
1999	9 (9)					5	3			1
	63 (83)	2 (2.4)	2 (2.4)	2 (2.4)	1 (1.2)	26 (31.3)	45 (54.2)	1 (1.2)	3 (3.6)	1 (1.2)

kan : *M. kansasii* scr : *M. scrofulaceum* gord : *M. gordonae*
 szul : *M. szulgai* avi : *M. avium* int : *M. intracellulare*
 for : *M. fortuitum* che : *M. chelonae* absce : *M. abscessus*

Table 4 Alternate or simultaneous changes with *M. tuberculosis* and atypical mycobacteriums

Case	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
1	int	int	int	int	int	int+tbc	
2	avi	avi	avi	avi	avi	avi+tbc	
3		tbc	int	int	int+avi	int+kan	int+kan
4			int	int			tbc
5				tbc	int		
6						tbc, tbc+che	
7						tbc+avi	
8						tbc+avi	
9						tbc+avi	

tbc: *M. tuberculosis* kan: *M. kansasii* avi: *M. avium*
int: *M. intracellulare* che: *M. chelonae*

Table 5 Changing of species of atypical mycobacterium for past 7 years

Case	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
1		int, avi					
2		scr		int			
3	int	int		che			
4	int	avi	int	avi		avi	
5	scr	scr	avi				
6	tbc	avi, int	int	int	int		
7		int	int	int	avi+int	int	
8			avi	avi	int		
9			int		int+avi	int	
10		tbc, int	int	int	avi, int	int, kan	int, kan
11		int+avi	int+avi				
12					int+avi	int, avi	int
13						int	avi
14						int	int+avi
15							int, avi

tbc: *M. tuberculosis* kan: *M. kansasii* scr: *M. scrofulaceum*
szul: *M. szulgai* avi: *M. avium* int: *M. intracellulare* che: *M. chelonae*

明された。残りの3例は入院時の喀痰検査で同時に検出されている。この中の1例は肺結核症入院治療後、糖尿病悪化、インシュリン注射でもなかなかコントロールができず、その後 *M. avium*, *M. intracellulare* と *M. kansasii* の3種類のAMが交代して検出され、そのうち呼吸不全となり死亡した症例である。

AM症の63例で15例が経過中にAM間の菌交代現象を起こしていた(Table 4, 5)。それらの菌間の交代現象は *M. intracellulare* と *M. avium* の交代が最も多く12例(80.0%)に観察された。その内訳は、*M. intracellulare* から *M. avium* への交代症例が8例、*M. avium* から *M. intracellulare* への菌交代現象が2例、重複するが *M. intracellulare* と *M. avium* の同時排菌が5例に認められた。その他、Ⅲ群からⅢ群以外のAMへの交代が2例、その逆の症例が3例に見られた

(Table 5)。

考 察

結核菌以外で、人工培地で培養可能なAM群は土壤、草むら、水中や海水など、一般自然界に広く存在する菌である。感染経路や進展機序は明らかでなく、一般健康人が感染を受けることは非常に稀とされてきた。発生頻度は20年前までは排菌陽性結核患者の10%前後であったが²⁾、最近の報告によると15~20%と、肺結核症に対するAM症の比率が増加傾向にあると報告されている^{3)~5)}。本邦でもエイズ患者の増加に伴い、HIV陽性者でのAM症が報告されるようになり、さらに増加するものと危惧されている⁶⁾。

当院の1993年以後の7年間で、結核菌排菌陽性者(新発生)に対する比率は一回排菌者を含めて31.0%、

複数回排菌者 (AM 症) では 19.1% であり、全国平均とはほぼ同じ状況にある。しかし、7 年間で各年ごとで見ると相当の変動 (8.2~31.3%) が見られる (Table 1)。またこの間の一回排菌例 (121 例) と複数回排菌例 (AM 症; 63 例) との比率からみても、本症確定診断の難しさと曖昧さがあり、原因菌追求に対する医師側の熱心さも年単位変動の大きな要因と考えられている (Table 2, 3)。

AM 症は結核とは異なり、AM を検体中から検出しても AM “症” とは断定できず、単なる colonization のこともあるため⁷⁾⁸⁾、各種の診断基準が提案されている¹⁾⁹⁾¹⁰⁾。AM 症の菌種はⅢ群が大多数で 8 割強を占め、Ⅱ群が 1 割前後で、残りの 1 割弱をⅠ群とⅣ群が占めている (Table 2, 3)。*M. kansasii* が 10 年間で 2 例と国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班¹¹⁾ の頻度に比べ少なかった。

AM の排菌状況を長期間観察すると、(1) 同一菌種が長期間、連続または間欠的に排菌される、(2) 結核菌と同時にまたは前後して排菌される、(3) AM 間で菌交代現象がみられることが分かった。(1) に関して、7 年間の複数回排菌例の 63 例中の 48 例 (76.2%) が同一菌種を長期間、連続または間欠的に排菌していた。(2) に関して、過去 7 年間の総結核症 384 名 (排菌陽性新入院患者 329 名 + 排菌陽性再入院患者 55 名) の 9 例 (2.3%) に AM 症の合併があった。この中の 1 例は糖尿病コントロール不良患者で肺結核治療後、*M. avium*、*M. intracellulare* と *M. kansasii* の 3 種類を単独に、時には複数で連続排菌し、衰弱と呼吸不全で死亡した症例であった (Table 4)。(3) の AM 間での菌交代現象は、7 年間で 63 例中 15 例 (23.8%) に観察された。なかでも、*M. intracellulare* と *M. avium* が 12 例 (80.0%) と最も多く関係していた。*M. avium* と *M. intracellulare* の両菌が AM の中で検出頻度が高いため当然の結果と推測されるが、12 例中 8 例 (66.7%) では同一検体中に重複して検出されている現象に興味がある。*M. intracellulare* と *M. avium* は核酸診断法が開発される以前は、ほとんど識別できず、両者併せて MAC として扱われ、分離同定が困難であった。両菌の特性が非常に近似していることと、もしくは発育する自然発育環境が極めて似ていることが関与していると考えられる。

水谷¹²⁾ および坂谷は国療研究班の集計¹³⁾ で、近畿地方より以北では *M. avium* が多く、中国地方以南では *M. intracellulare* がより多いと報告しているが、国療宮崎病院でも *M. avium* と *M. intracellulare* の比率は約 1:2 であり、全国集計と同じ傾向にあった。この両菌の北と南の分布の違いが地理的なものとすれば、温度が最も関係する因子と推測される。

当院では 1990 年より、集菌・酸処理した検体の一部

を 2% 小川培地ベース卵培地の変法培地で培養し、結核菌と AM の同定に DDH 法を用いている。さらに、複数菌種例および疑問例は PCR 法で確認する核酸診断法を用いているが、培地上のコロニー採取時、優勢なコロニーだけの同定検査でなく、形態、色調、粘稠性に注意し複数のコロニーを DDH 法で同定し、必要があれば PCR 法にかけるように心掛けている。これらの意識的な操作が、複数菌種の検出や同時検出につながっていると考えられる。

AM 症の患者では、一部の亜急性の進展例を除けば、一般に AM を持続排菌し、多くの症例が慢性的に経過する。今回の検討から、長期排菌者の一部ではその経過中に菌種の変遷があることが明らかになった。今後、丁寧な緻密な細菌検査が普及すれば、このような AM の菌交代現象、さらには複数菌種排菌や同時排菌の症例が多く報告されると思われる。

結 語

- 1993 年より 1999 年の 7 年間で肺結核症で入院した患者は 505 名であった。
 - 390 名は新入院患者で、そのうちの 329 名 (84.4%) は排菌陽性者であった。
 - 115 名は再入院患者で、そのうちの 55 名 (47.8%) は再排菌者であった。
- 同じ 7 年間で、非定型抗酸菌が 121 名に検出された。
 - そのなかで、63 名 (52.1%) が複数回排菌であり、非定型抗酸菌症であった。
 - この 63 名と排菌陽性結核新患との対比は 19.1% (/329 名) であった。しかし、各年で 8.2~31.3% と変動が著しかった。
 - また、この 63 名の中の 15 名 (23.8%) に非定型抗酸菌の間での交代現象が観察された。その約 80% は、*M. avium* と *M. intracellulare* の 2 つの菌種が関係する相互の菌交代であった。
 - 肺結核症と非定型抗酸菌症の合併が 9 症例あった。結核菌症の 2.3% (/384) と非定型抗酸菌症の 14.3% (/63) に相当した。

この研究の一部は厚生省研究助成金「非定型抗酸菌症に関する研究」坂谷班の班員として行われた。

文 献

- 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班：非定型抗酸菌症 (肺感染症) の診断基準。結核。1985; 60: 51.
- 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症の研究 (国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班 1986 年度報告)。結核。1988; 63: 493-

- 499.
- 3) 坂谷光則：非定型抗酸菌症の疫学. 日胸疾誌. 1994; 32 (増刊号): 211-215.
 - 4) 坂谷光則：非定型抗酸菌症の疫学と臨床. 結核. 1999; 74: 377-384.
 - 5) 近藤有好, 真島一郎：増加が著しい肺非定型抗酸菌症の将来予測. 治療. 1994; 76: 2714-2724.
 - 6) 増田剛太, 味澤 篤, 根岸昌功, 他：都立駒込病院の HIV/AIDS 症例と日和見感染症. 厚生省科学研究費補助金エイズ対策研究推進事業1994年度報告1995; 17-24.
 - 7) Tsukamura M: Background factors for casual isolation of *Mycobacterium intracellulare* from sputum of patients with tuberculosis. Am Rev Respir Dis. 1973; 108: 679-683.
 - 8) Rossman MD: Colonization with *Mycobacterium avium* complex—an outdated concept. Eur Respir J. 1999; 13: 479.
 - 9) 非定型抗酸菌症研究協議会：肺非定型抗酸菌症診断基準についての提案. 結核. 1976; 51: 61.
 - 10) American Thoracic Society: Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. Am J Respir Crit Care Med. 1997; 156: s1-s25.
 - 11) 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症の研究 (国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班1985年度報告). 結核. 1987; 62: 319-327.
 - 12) 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.
 - 13) 坂谷光則：疫学の現状 (特集：非定型抗酸菌症). 化学療法の領域. 1994; 10(12): 2257-2263.