

# 非定型抗酸菌に関する研究

## 第 3 報

### o-Aminophenol Azo-Tuberculin による皮内反応 における型特異性について

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

福 山 裕 三

（受付：昭和40年4月20日）

#### 緒 言

旧ツベルクリン（以下 OT と略す）による皮内反応の型特異性については古くから種々の報告があり、いろいろ論議されてきたが、信頼しうる成績が認められぬままに精製ツベルクリンにその問題を譲ることになった。

まず1933年 Seibert, Morley<sup>1)</sup> は PPD によるツ反応を試みヒト型菌、トリ型菌、チモテー菌の間に型特異性のあることを報告した。1961年 Magnusson<sup>2)</sup> らも PPD を用いてツ反を行い、ヒト型菌とウシ型菌のツ反を区別することはできないが、非定型抗酸菌の各群および雑菌性抗酸菌のツ反ではそれぞれ区別できることを述べた。

本邦でも1954年友安<sup>3)</sup> は精製ツベルクリン  $\pi$  の皮内反応によりヒト型—ウシ型菌群、トリ型菌、雑菌性抗酸菌の三者の間に明瞭な型特異性を認めたと報告している。武谷<sup>4)</sup> らも同様に  $\pi$

によるツ反によりヒト型および photochromogen 群とトリ型および nonphotochromogen 群との間に型特異性が見られるが、ヒト型菌と nonphotochromogen 間あるいはトリ型菌と nonphotochromogen 間では交差反応が強く鑑別できないと述べた。

著者は伊藤、越村<sup>5)</sup> の創製による o-Aminophenol Azo-Tuberculin（以下 AT と略す）を各種抗酸菌培養濾液より精製し、その AT を用いて各種抗酸菌で免疫したモルモットに皮内反応を試み、AT の型特異性のあることを認め、更に *M. fortuitum* における AT の型特異性とその菌の生物学的性状が平行することを認め、AT によるツ反が *Mycobacteria* の分類に役立つ可能性を有することを知ったので以下その成績について述べる。

#### 材料および方法

##### 1) 使用菌株

ヒト型結核菌： H<sub>3</sub>R<sub>v</sub> 株

トリ型結核菌： A-62株、竹尾株、

非定型抗酸菌

I 群： P-1株、P-8株、P-22株、

II 群： 石井株、松本株、渡辺株、

III 群： 上田株、甲府株、121326株、

IV 群： 山本s株、佐藤株、P-5株、P-27株、

P-39株、P-53株、三林株、OP-607株

OP-80A 株、OP-155株、OP-156株、  
OP-283株、OP-295株、OP-182株、  
OP-303株、OP-605株、OP-606株、  
335-R株、LAN-37株、LAN-37A株、

以上の32株を実験に供した。

2) OT ならびに AT の製法；各菌株をソー-ton 培地に10~12週培養し、加熱滅菌し Seitz 濾過し当初の  $\frac{1}{10}$  量に濃縮しその半量は 0.5% の割合に phenol を加え OT 原液として冷蔵庫に保存し、残りの半量

より伊藤, 越村の法<sup>9)</sup>により AT を作製した。

- 3) 感作動物 ; 1群5匹の白色モルモットに各菌株の加熱死菌体の流動パラフィンワクチン(乾燥菌量 5 mg/ml) を 1 ml 宛を臀筋内に注射し 4 週後 homo の AT で試験皮内反応を試み充分感作されていることを確かめて後使用した。

- 4) 皮内反応 : 感作後 5 週経たモルモットの背部に OT (10倍希釈液, 0.1 ml) または AT (100 r/ml, 0.1 ml) を皮内注射し, 24時間および48時間後の注射部位の発赤の長短径を測定した。

各実験における OT または AT の種類および動物感作原の種類は次の表に示した (第 1 表)。

第 1 表 動物感作原および反作用 AT (又は OT) の種類

実験番号	動物感作原	反作用 AT (又は OT)
実験 1	H <sub>37</sub> Rv, 甲府, 121326, 石井, P-8, 山本s, 三林	(H <sub>37</sub> Rv) (甲府) (121326) (石井) (P-8) (山本s) (佐藤) (P-5) (P-27) (P-53) (A-62) (三林)
実験 2 A	同 上	H <sub>37</sub> Rv, 甲府, 121326, 石井, P-8, 山本s, 佐藤, P-5, P-27, P-39, P-53, A-62, 三林
実験 2 B	H <sub>37</sub> Rv, P-1, P-22, 松本, 渡辺, 上田, OP-607, 竹尾	H <sub>37</sub> Rv, P-1, P-22, 松本, 渡辺, 上田, 甲府, 三林, 山本s, OP-607, 竹尾
実験 3	山本s, 佐藤, P-5, P-27, P-39, P-53, A-62, 三林	山本s, 佐藤, P-5, P-27, P-39, P-53, A-62, 三林
実験 5	同 上	OP-80A, OP-155, OP-182, OP-283, OP-295, OP-303, OP-605, OP-606, LAN-37A, 335-R
実験 6	OP-80A, OP-155, OP-156, OP-182, OP-283, OP-295, OP-303, OP-605, OP-606, 335R, LAN-37A, LAN-37	山本s, 佐藤, P-5, 三林, A-62, P-39

### 実験成績

**実験 1.** 各種 OT による皮内反応の成績を各群 5 匹の発赤の平均値で示したものが第 2 表で, 数字は長短径の平均値, 分母はその 24 時間値, 分子は 48 時間値を表わす。この成績よりヒト型菌, 非定型抗酸菌 I 群, II 群, III 群と IV 群との間にはやや特異性が認められるが, ヒト型菌, 非定型抗酸菌 I 群, II 群, III 群相互の間には強い交差反応が認められ, この成績は諸研究者の報告と一致した。

一方 IV 群の OT は三林株感作動物に強い反応を起すものと, 山本s 株感作動物に強い反応を起すものとに大別することができる。すなわち, 前者には山本s, 佐藤, P-5, P-27 が属し, (以下山本s 群と称する) 後者には P-53, A-62, 三林が属する (以下三林群と称する)。

**実験 2.** 各種 AT で皮内反応を試みると, 第 3 表に示すように前実験とは異なり各菌群間に明らかに型特異性 (あるいは菌群特異性) を見ることができる。すなわち, ヒト型菌 H<sub>37</sub>Rv 株, photochromogen の P-8 株, scotochromogen の石井株は homo の場合にのみ強く反応し, nonphotochromogen の甲府株および 121326 株は相互の間に強い交差反応を示すが, 他の菌株との間には交差反応は認められなかった。

なお, OT による皮内反応でも見られた M. fortuitum の山本s 群, 三林群の型特異性は AT による皮内反応では更に明瞭に認めることができた。

更に多くの菌株を追加して種々の AT で皮内反応を行った成績を第 4 表に示す。ここでは

第 2 表 実験 1 の 成績

反応型 OT 感作原	反応型											
	H <sub>37</sub> Rv	甲府	121326	石井	P-8	山本s	佐藤	P-5	P-27	P-53	A-62	三林
H <sub>37</sub> Rv	13.3	12.4	5.8	9.2	8.0	3.6	2.9	2.6	1.0	5.5	4.0	5.4
	13.6	14.5	7.0	13.6	11.2	9.8	3.8	5.5	1.9	11.0	10.6	11.8
甲 府	12.1	15.5	11.2	10.9	8.1	2.8	1.8	2.5	1.6	7.4	6.8	5.3
	14.3	16.1	11.0	12.8	10.6	9.6	3.6	5.4	2.1	8.9	10.1	8.9
121326	12.7	15.0	11.3	10.0	11.6	2.0	2.6	3.4	1.8	7.2	8.2	5.6
	14.5	16.2	11.9	11.5	13.8	9.2	7.4	11.3	8.5	14.0	17.1	10.1
石 井	13.2	15.2	8.4	17.2	8.0	5.0	3.2	4.1	0.8	9.3	8.8	7.0
	15.4	15.5	10.7	18.1	10.5	9.4	7.0	8.2	2.6	12.2	11.8	12.3
P-8	15.1	13.2	12.5	10.9	12.6	2.9	2.5	4.0	0.7	7.5	7.3	5.2
	20.1	14.3	15.2	15.1	14.9	10.1	10.6	8.7	5.2	13.3	10.6	11.0
山 本s	8.3	5.1	1.8	4.6	4.3	15.3	21.1	16.2	14.2	6.4	8.5	5.8
	9.6	9.0	5.5	7.5	6.9	15.5	22.3	16.8	16.1	17.2	17.5	10.9
三 林	8.2	5.4	2.6	3.5	6.8	3.2	1.9	3.1	0.2	20.2	16.9	20.0
	13.8	11.3	7.8	9.6	10.0	13.4	4.2	9.4	1.0	22.0	21.2	28.3

(注： 48時間値)  
24時間値)

第 3 表 実験 2 の 成績 (A)

反応型 AT 感作原	反応型												
	H <sub>37</sub> Rv	甲府	121326	石井	P-8	山本s	佐藤	P-5	P-27	P-39	P-53	A-62	三林
H <sub>37</sub> Rv	13.4	4.3	5.1	0.6	0.6	0.2	0	0	0	0.4	1.1	1.6	1.8
	14.8	9.6	7.6	4.3	2.1	3.2	0	0	0	4.5	5.2	4.3	4.8
甲 府	5.2	12.2	10.6	1.2	0	0	0.2	0	0.6	0	0.6	2.0	2.8
	9.6	14.6	12.5	3.6	2.0	1.6	5.2	3.2	7.0	3.6	3.8	4.6	3.9
121326	6.2	13.2	16.0	1.6	0	0	0.6	0	0.6	2.4	2.2	2.2	2.6
	10.2	14.8	16.2	6.4	2.4	1.8	1.8	3.0	7.2	4.2	4.0	7.4	7.2
石 井	7.0	6.3	5.2	11.3	0	0	0	0	0	0.4	0.8	3.7	2.4
	10.3	8.3	8.0	14.0	2.0	2.0	0	0	0	4.3	5.4	6.0	4.2
P-8	6.3	2.6	3.2	0.6	8.3	0	0	0.6	0.6	1.2	1.6	2.4	0.6
	10.6	8.2	6.0	4.1	8.2	0.6	0.8	3.8	3.0	4.6	4.0	2.8	0.8
山 本s	3.2	1.4	0.8	0.8	0	10.6	13.2	13.6	15.4	1.3	1.8	2.2	2.0
	4.3	2.6	1.6	2.0	2.0	10.3	14.6	15.3	15.9	3.2	4.6	3.6	2.8
三 林	3.0	5.2	0	0.6	0.6	1.0	0	0	0	10.4	10.7	12.5	12.8
	10.6	9.0	1.4	0.8	1.2	4.8	2.4	2.8	2.4	13.0	15.2	12.6	13.0

photochromogen の P-1株, P-22株, scotochromogen の 松本株, 渡辺株, nonphotochromogen の 上田株, 甲府株という具合にそれぞれ Runyon の 群別に特異性が見られ第 4 表の結果と軌を一にする成績が得られた。

実験 3. 前実験で用いた *M. fortuitum* の 8 株はすべて PAS 黒化現象<sup>9)</sup>陽性を示す菌でそ

れぞれ生物学的性状, 生化学的性状ともに酷似し *M. fortuitum* 中の一群を形成するものとみなしてもよいのではなからうかと第 1 報<sup>7)</sup>で述べたが, 前実験における AT による皮内反応の結果では, その 8 株は更に山本s群と三林群の二亜群に分けられることを知った. そこでこの実験ではこれらの 8 菌株の間で AT による交差

第 4 表 実験 2 の 成績 (B)

反応用 AT 感作原												
	H <sub>37</sub> Rv	P-1	P-22	松本	渡辺	上田	甲府	三林	山本s	OP-607	竹尾	
H <sub>37</sub> Rv	<u>13.4</u>	5.0	1.6	2.4	1.8	2.0	4.3	1.8	0.2	0	0	
	<u>14.8</u>	12.1	5.3	6.4	8.0	7.7	9.6	4.8	3.2	9.2	5.4	
P-1	5.1	<u>18.6</u>	<u>12.4</u>	1.6	2.4	5.2	2.3	1.4	0.8	2.6	0	
	11.0	17.4	14.2	8.0	9.3	12.4	6.6	6.2	7.1	9.1	8.0	
P-22	5.0	<u>18.3</u>	<u>12.6</u>	4.2	2.7	3.6	6.2	2.4	0.4	5.2	1.6	
	11.8	14.6	13.5	7.3	8.2	10.4	7.6	6.7	5.3	7.2	6.4	
松 本	2.6	6.1	6.2	<u>11.8</u>	<u>10.0</u>	3.2	0.6	0	0.8	1.6	0	
	9.3	10.0	11.6	11.3	11.0	7.1	4.3	2.2	1.6	10.3	6.2	
渡 辺	3.2	4.2	2.6	<u>12.6</u>	<u>12.9</u>	5.2	2.7	1.4	0.6	0	3.1	
	5.8	7.4	6.4	11.8	13.0	10.3	4.2	4.0	4.0	5.2	7.2	
上 田	3.0	3.8	2.3	3.3	4.5	<u>13.6</u>	<u>10.5</u>	1.6	1.2	0	2.3	
	6.7	5.2	4.2	7.0	7.2	13.2	10.5	2.6	4.3	5.2	6.4	
OP-607	0	0	0	0	1.4	2.2	0	0	0	<u>12.4</u>	1.8	
	4.0	4.1	1.3	0	3.5	7.0	1.4	1.6	1.6	14.6	7.7	
竹 尾	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.2	<u>14.2</u>	
	2.8	1.8	1.6	1.2	3.2	5.1	1.6	7.2	3.6	4.0	15.3	

第 5 表 実験 3 の 結果

反応用 AT 感作原									
	山本s	佐藤	P-5	P-27	P-39	P-53	A-62	三林	
山 本s	<u>10.8</u>	9.6	15.2	<u>12.3</u>	0.8	1.6	0	0	
	13.0	12.0	16.2	14.2	1.6	2.3	0	0	
佐 藤	10.9	9.3	<u>12.3</u>	9.5	1.0	1.4	1.0	0	
	12.2	11.2	15.2	10.3	2.0	3.2	2.1	0.8	
P-5	11.5	11.6	15.4	13.8	1.0	0	0	0	
	12.3	13.0	15.2	13.6	1.8	0.8	0	0	
P-27	9.8	8.8	13.0	10.2	0	0	0	0	
	12.6	9.2	14.5	12.2	0	0	0	0	
P-39	0.6	1.6	1.3	0.6	<u>10.0</u>	<u>13.4</u>	<u>12.8</u>	<u>9.6</u>	
	2.8	3.2	7.0	6.2	12.0	14.3	12.8	10.6	
P-53	1.8	1.4	2.3	4.2	11.8	11.4	12.4	9.8	
	2.6	4.2	2.6	7.0	12.4	12.0	11.5	9.8	
A-62	0	0.8	0	0	<u>10.2</u>	<u>10.3</u>	<u>11.6</u>	<u>10.0</u>	
	1.2	2.0	2.0	1.0	12.6	12.6	12.4	13.0	
三 林	0	0.6	1.2	0	9.6	9.2	10.5	14.7	
	0	1.8	3.2	2.0	10.0	10.8	13.6	16.0	

皮内反応を試みた。その成績は第5表に示す。

この表でも明らかなようにATの特異性で山本s群と三林群とはっきり区別することができる。この二つの亜群を生物学的性状で判別できないものかという観点に立って次の実験を行っ

た。

実験4。(材料および方法) PAS 黒化現象を有する菌8株の28°C, 47°Cにおける発育を1%小川培地に接種して観察した。一方これらの菌を1%小川培地に接種し、60°C 1時間温浴中に

浸してのち 37°C で培養した。

これら 8 株ともに 28°C で 1 週間以内に発育し、47°C ではすべて発育しなかった。60°C 1 時間温浴中に浸してのち 37°C で培養した場合、山本s群の諸菌株(山本s, 佐藤, P-5, P-27) は小川培地の斜面で少数の大きなS型コロニーとして発育したが、これに反し三林群(三林, P-39, P-53, A-62) ではこまかなコロニーとして培地全面に生え両者は全く対照的な発育を示したことはATによる皮内反応の特異性と一致して興味深いことである。ソートン培地上の発育でも山本s群は波状を呈する大きな菌塊として培地全面を覆うが、三林群はこまかな粒状の菌塊の集合として発育するという事実からも山本s群と三林群は明らかに区別して考えるべきものであろうと考えられる。

実験 5. *M. fortuitum* の AT の特異性を更に追求するために東北大抗酸菌研究所より譲り受けた12株の菌から作られたATで実験4に用いた動物に皮内反応を試みた。結果は第6表に示すように山本s群感作動物に強く反応するのは 335-R 株のみで、三林群感作動物に強い皮内反応を示すのは OP-182, OP-303, OP-605, OP-606, LAN-37A の 5 株であった。この結果

これらの前者は山本s群に後者は三林群に属するものと思われる。これに反し OP-80A, OP-155, OP-283, OP-295 は山本s, 三林群以外の菌群に属するものと推察される。

実験 6. 次いでこれらの *M. fortuitum* 12株の菌体感作動物にPAS黒化現象陽性の6株(山本s, 佐藤, P-5, 三林, A-62, P-39) から得たATで皮内反応を行った成績を第7表に示した。成績の概要は前実験の成績と全く一致した結果を示した。すなわち、山本s群ATは335-R感作動物に強く反応したが、他の感作動物にはほとんど反応しなかった。三林群ATはOP-182, OP-303, OP-303, OP-605, OP-606, LAN-37のそれぞれの菌体で感作した動物に強い皮内反応を呈した。従って実験2, 実験5と実験6の結果からこれら12株の菌を次の三つの菌群に分けることができる。

- 1) 山本s群：335-R,
- 2) 三林群：OP-182, OP-303, OP-605, OP-606, LAN-37A, LAN-37.
- 3) その他の菌：OP-80A, OP-155, OP-156, OP-283, OP-295, OP-607.

第 6 表 実験 5 の 成績

反応用 AT 感作原	OP-80A	OP-155	OP-182	OP-283	OP-295	OP-303	OP-605	OP-606	LAN-37A	335-R
山 本s	0	1.2	2.6	0	0	1.2	0	0	0	12.6
	4.2	5.2	9.0	2.0	0.8	3.6	3.0	0	0	14.0
佐 藤	1.2	1.6	3.0	0.6	0.8	1.6	1.2	2.0	1.0	12.6
	4.6	5.0	10.2	3.6	1.6	7.0	2.4	3.6	2.4	16.2
P-5	0	0	1.6	1.0	1.0	0	1.0	0	0	14.8
	1.2	6.2	8.2	2.2	2.0	0	2.4	3.2	0	15.2
P-27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14.2
	1.0	1.2	0.8	1.0	1.0	1.2	1.0	1.0	1.2	14.6
P-39	1.0	1.0	9.9	1.6	0	10.2	9.8	9.6	10.5	1.6
	5.2	4.3	10.3	5.2	2.2	12.0	10.4	12.6	12.5	3.0
P-53	0.8	2.6	10.0	1.0	0	10.6	12.8	9.8	11.0	0
	8.2	7.0	12.3	4.6	2.0	12.3	13.8	12.6	14.3	3.2
A-62	2.6	3.2	11.8	3.9	0.8	13.9	15.0	10.8	11.3	3.2
	6.8	11.0	12.0	10.3	3.6	15.0	14.2	11.0	13.2	5.2
三 林	0	0	10.5	0	2.0	10.8	11.0	9.7	10.0	0
	5.0	3.2	14.2	7.2	3.6	11.6	10.8	9.6	13.0	3.2

第 7 表 実験 6 の 結果

反応用 感作原 AT	山本s	佐藤	P-5	三林	A-62	P-39
OP-80A	$\frac{0}{1.2}$	$\frac{0}{2.4}$	$\frac{0}{2.0}$	$\frac{1.4}{7.2}$	$\frac{3.2}{10.0}$	$\frac{2.4}{9.2}$
OP-155	$\frac{0}{1.0}$	$\frac{0}{1.0}$	$\frac{0}{1.2}$	$\frac{1.2}{5.0}$	$\frac{2.0}{6.7}$	$\frac{1.8}{6.4}$
OP-156	$\frac{0}{2.0}$	$\frac{0}{3.2}$	$\frac{0}{3.6}$	$\frac{1.2}{7.3}$	$\frac{2.4}{11.0}$	$\frac{1.6}{9.4}$
OP-182	$\frac{0.2}{3.2}$	$\frac{0}{3.0}$	$\frac{0}{4.2}$	$\frac{10.3}{13.8}$	$\frac{10.6}{13.2}$	$\frac{9.8}{13.6}$
OP-283	$\frac{0}{2.4}$	$\frac{0}{3.6}$	$\frac{0}{3.2}$	$\frac{0}{9.3}$	$\frac{0}{13.1}$	$\frac{0}{10.6}$
OP-295	$\frac{1.0}{2.0}$	$\frac{0}{4.2}$	$\frac{0}{4.0}$	$\frac{2.4}{4.2}$	$\frac{3.2}{7.1}$	$\frac{3.0}{5.7}$
OP-303	$\frac{0}{2.0}$	$\frac{1.0}{4.0}$	$\frac{3.0}{4.0}$	$\frac{12.5}{12.5}$	$\frac{11.8}{12.0}$	$\frac{13.0}{14.2}$
OP-605	$\frac{0}{1.2}$	$\frac{0}{3.2}$	$\frac{0}{3.2}$	$\frac{9.6}{12.3}$	$\frac{10.2}{13.2}$	$\frac{10.8}{13.7}$
OP-606	$\frac{0}{2.6}$	$\frac{0}{2.4}$	$\frac{2.2}{4.2}$	$\frac{10.9}{12.0}$	$\frac{11.8}{11.8}$	$\frac{12.5}{12.0}$
335-R	$\frac{9.8}{9.8}$	$\frac{10.0}{12.0}$	$\frac{12.3}{14.2}$	$\frac{0}{1.2}$	$\frac{0}{2.0}$	$\frac{0}{2.2}$
LAN-37A	$\frac{0}{2.4}$	$\frac{0}{2.2}$	$\frac{0}{2.4}$	$\frac{9.6}{9.4}$	$\frac{11.3}{12.6}$	$\frac{10.0}{10.8}$
LAN-37	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{1.2}$	$\frac{1.2}{4.0}$	$\frac{14.0}{14.2}$	$\frac{14.5}{14.2}$	$\frac{14.9}{15.1}$

**実験7.** 前実験の成績から予想されることは抗酸菌病研究所由来の12株のうち山本s, 三林群に属する株はいずれもPAS黒化現象陽性菌であろうということである。これを証明するためにこの実験を行った。

(材料および方法) キルヒナー培地原液にPASをそれぞれ2, 1, 0.5 mg/mlの濃度になるように加え120°C 15分滅菌したものに抗酸研由来の12株と対照として山本s菌, スメグマ菌のキルヒナー1週間培養の菌を1白金耳ずつ接種し, 37°C 1週間培養後色調の変化で黒化度を判定した。一方salicylic acidについても1, 0.5, 0.25 mg/mlの濃度につ

いて同様の実験を行った。

これらの12株のPAS黒化現象の有無は第8表に示すようにOP-182, OP-303, OP-605, OP-606, 335-R, LAN-37A, LAN-37の7株に認められた。これらの7株はいずれも実験5, 実験6で山本s群あるいは三林群に属するとみなされた菌株である。その他の菌株は鮮かな橙黄色を呈したが, この呈色の理由は未だ明らかでない。salicylic acidについてもPAS黒化現象陽性の菌株はいずれも黒化現象を認めたが, 他の菌株では発色は認められなかった。

第 8 表 実験 7 の 成績

株	Salicylic acid (mg/ml)			PAS (mg/ml)			対 照
	1	0.5	0.25	2	1	0.5	
OP-80A	—	—	—	*	*	*	—
OP-155	—	—	—	*	*	*	—
OP-156	—	—	—	*	*	*	—
OP-182	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—
OP-283	—	—	—	*	*	*	—
OP-295	—	—	—	*	*	*	—
OP-303	卅	+	+	±	卅	卅	—
OP-605	+	±	±	+	卅	+	—
OP-606	卅	卅	+	卅	卅	卅	—
335-R	卅	卅	+	卅	卅	卅	—
LAN-37A	+	+	+	±	卅	+	—
LAN-37	+	+	+	±	卅	+	—
山 本 <sup>s</sup>	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—
スメグマ	—	—	—	—	—	—	—
対 照	—	—	—	—	—	—	—

(注) 卅：黒色，卅：褐色，+：淡褐色，±：帯淡褐色，\*：橙黄色

総括ならびに考案

精製ツベルクリンには現在 PPDs,  $\pi^2$ , TAP<sup>8</sup>) 等いろいろな方法で精製されたものがあり、それぞれ特徴を有しているが、この実験で用いた o-Aminophenol Azo-Tuberculin (AT) は精製ツベルクリンの中では特異な存在にあり、その精製法も実に容易であり、その標品の Lot が異なっても性状、力価はきわめて安定している。そこで本実験は各種抗酸菌 AT により抗酸菌、特に非定型抗酸菌のツベルクリン型特異性について検討を行った。その結果は諸研究者の報告とほぼ同様の成績が得られ、AT が他の精製ツベルクリンに比し皮内反応における型特異性の点においても決して優るとも劣らないものであることが明らかとなった。

しかも動物実験および集団検診において、ヒト型結核菌および BCG よりの AT を用いてヒト型菌感染と BCG 感染を鑑別し得る<sup>9)</sup> ということは既に報告されている通りである。

現在、抗酸菌の分類は培養条件、發育速度、光発色性、生化学的性状、フェージ感受性、免疫学的反応等で試みられているが、いまだ決定

的な段階にはいたっていない。そのうちで精製ツベルクリンによる皮内反応は最良の条件を選べばかなり適確な型特異性を示すであろう。本実験でも AT を用いて各抗酸菌群別にかなりははっきりと AT 特異性を認めることができた。

すなわち、OT による皮内反応ではヒト型結核菌、非定型抗酸菌 I 群、II 群、III 群の間では交差反応が強く鑑別には困難であるが、M. fortuitum とは交差反応が少ない。しかし AT を用いればヒト型結核菌、非定型抗酸菌 I 群、II 群、III 群、IV 群の間にそれぞれ特異性が認められ、その成績は諸家の報告と一致するところであるが、本実験では AT による特異性により更に M. fortuitum を三林株と強く交差反応を示す群、山本<sup>s</sup>株と強く交差反応を示す群およびその他の群に分けることができた。しかも前 2 群はいずれも PAS および salicylic acid を含む培地を黒化し他は本反応を呈せずこの生物学的性状と AT の皮内反応における型特異性がよく一致したことは興味ある事実であるが、更に多くの菌株について検討する必要がある。

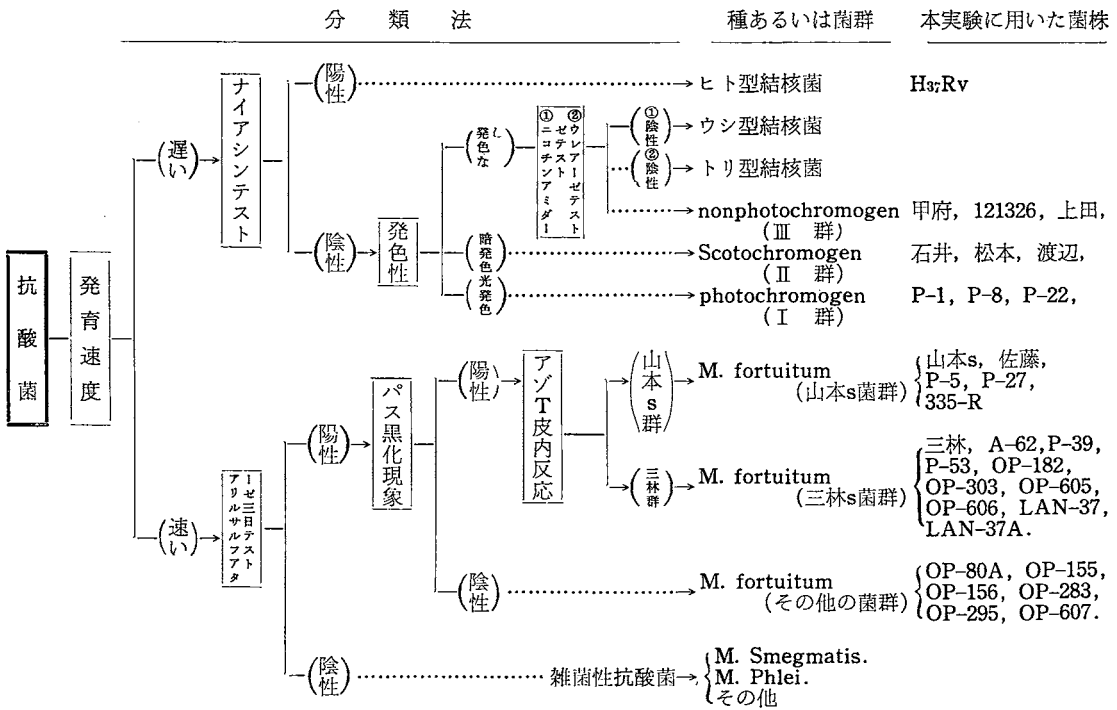
武谷<sup>10)</sup>は山本s株, 佐藤株, 335-R 株らはツベルクリン反応の抗原特異性および酸性フォスファターゼ反応, 硝酸塩還元能, サイトレート利用などの点から古典的 *M. fortuitum* とはかなり違った性状を示すのでこれらを *M. today* として, *M. fortuitum* と分離させた方がよいと述べているが, 確かに *M. fortuitum* はATの皮内反応における型特異性から見ても少なくとも三つの菌群の集合とみなした方がよいと思われる。

ツベルクリンの皮内反応における型特異性は患者の疾患の起因菌を推定するという臨床的応用の他に該当する菌種あるいは菌群の推定という菌分類学的方面にも応用される。

ここでは後者の立場をとり各種抗酸菌について検討してきたが, このATの皮内反応における型特異性と菌の発育速度, Wayne's test, PAS黒化現象等を加味して抗酸菌分類法の一試案を考えて見た。その scheme を第9表に示した。

まず培地に発育した抗酸菌を Dubos 液体培

第9表 抗酸菌の一分類法(試案)



地に接種し3~5日以内に発育するか否かを検す。(陰性ならば Slow grower と見て Runyon の分類法を行う。)迅速発育菌には Wayne's test<sup>11)</sup>を行う。(陰性ならば多くは 雑菌性 抗酸菌である。) Wayne's test 陽性菌は 0.5~1mg/ml の PAS あるいは salicylic acid を含むキルヒナー培地にて PAS 黒化現象の有無を検する。PAS 黒化現象を有する 菌はその 培養濾液より

作った AT または OT で山本s菌体感動物, 三林菌体感動物に皮内反応を行い。山本s菌群と三林菌群に分類する。

この試案は完全なものではなくまだまだ改良の余地がある。すなわち, トリ型菌と non-photochromogen の同異, 雑菌性抗酸菌の分類等の問題を中心に今後更に検討されていくものと考えられる。



## 結 論

ヒト型結核菌 1 株，トリ型結核菌 2 株，非定型抗酸菌 I 群 3 株，II 群 3 株，III 群 3 株，IV 群 20 株，計 32 株の抗酸菌について，それぞれの菌の流バラ死菌ワクチン感作モルモットと各菌の OT ならびに AT の間に交差皮内反応を行って次の成績を得た。

1) OT ではヒト型結核菌，非定型抗酸菌 I 群，II 群，III 群の間では交差反応強く OT の型特異性は認められなかったが，AT ではこれ

ら相互および非定型抗酸菌 IV 群の間に明らかに型特異性が認められた。

2) 非定型抗酸菌 IV 群は AT による型特異性により更に 3 群に分かれ，このうち二つの菌群は PAS 黒化現象陽性で他の 1 群は陰性であった。

なお，AT 型特異性および PAS 黒化現象を加味して抗酸菌を分類する一試案を提示した。

## 文 献

- 1) Seibert, F. B., & Morley, N. : J. Immunol., 24, 149, 1933.
- 2) Magnusson, M., Engbaeck, H. C., & Bentzon, M. W. : Am. Rev. Resp. Dis., 83, 57, 1961.
- 3) 友安 弘 : 九大結研紀要, 1, 41, 1954.
- 4) Takeya, K., Zinnaka, Y., Yamamura, K., & Toda, T. : Am. Rev. Resp. Dis., 81, 674, 1960.
- 5) Ito, R., Koshimura, S. : Jap. Med. J., 1, 427, 1948.
- 6) 福山裕三 : 金大結研年報, 22, 1, 1964.
- 7) 貝原守一 : 福岡医学雑誌, 36, 597, 1943.
- 8) Morisawa, S., Tanaka, A., Shojima, K., & Yamamura, Y. : Biochim. Biophys. Acta, 38, 252, 1960.
- 9) 柿下正道 : 東京医事新誌, 70, 3, 1953.
- 10) 武谷健二, 中山宏明, 中山雍子 : 結核, 40(4), 60, 1965.
- 11) Wayne, L. G. : Am. J. Clin. Path., 36, 185, 1961.