各種近交系マウスの *Mycobacterium avium* に対する感受性

3) 少量腹腔内感染例について

種 村 睦 子 須 子 田 キ ョ
(東京女子医科大学, 微生物学教室)

川 口 陽 一 郎 松 岡 正 典
(国立多摩研究所)

(受付: 1981年2月25日)

各種近交系マウス (C3H, C57 BL/6, BALB/c, DDD, KK) の腹腔内に多量の *Mycobacterium avium* (鳥型菌), Kirchberg 株を接種して, その経過を観察したところ, C3H 系のみは鳥型菌に対して強い抵抗性を示し, その病変が著しく軽かったのに, 他の4系の病変は極めて重く, ほぼ同時期に死亡して, その間に著明な差は認められなかった。なお, この C3H 系の示す鳥型菌抵抗性が宿主の細胞性免疫とかかわりのうすいことも指摘しておいた⁽¹⁾。

しかし, C3H 系以外のマウスにおいて, 鳥型菌病変の進展と宿主の細胞性免疫との関係を論ずるには明らかに資料が不足であった。

それは別報⁽²⁾にも述べたように, 多量菌腹腔内接種例では, 体内に広くまき散らされた菌が各所で増殖し, 宿主体内に細胞性免疫が生じて菌の増殖を抑制しうる以前に, 体内に致死の病変が形成されてしまうからである。

従って, 病変進展と細胞性免疫の関係を知らるために, 鼠癩菌接種例に倣って⁽³⁾, 少量腹腔内接種例について, 病変進展の経過を観察し, 検討してみた。

実験材料および方法

1) 使用マウス:

C3H, C57BL/6, DDD, BALB/c, KK, CF#1 系の6系統, 総て東京大学, 医科学研究所, マウス繁殖施設より種親の分与をうけ, 多摩研究所, 疫学研究室にて, 繁殖, 飼育したものである。

実験開始時は生後約6週, 1群は雄8匹で, いずれも特殊繁殖用固型飼料(オリエンタル)と水で飼育された。

2) 使用鳥型菌と感染方法:

使用鳥型菌株は Kirchberg 株, 1%小川培地に12日間培養した菌より, 滅菌生理食塩水を用いて 0.01mg/ml 菌液を作り, これの 0.5ml (0.005mg) を各マウスの腹腔内に注射した。

使用菌液の生菌単位は mg につき 5.5×10^8 で, 接種菌数は1マウス当り 2.3×10^5 ということになる。

3) 観察方法:

鳥型菌感染後, 50週まで途中殺解剖を行わず, 死亡例について, その時期を記載するとともに, 内臓病変の軽重をスタンプ標本により既報⁽⁴⁾の規準に従って検査した。また, 生残例については, 50週後の実験終了時に殺解剖し, 同様な検査を行った。

感受性に対するマウス系統間差は死亡例の平均生存週数を中心に検討した。なお, 平均生存週数は, 鳥型菌感染による死亡例中最初と最後の例を除いた, 中間の例より算出した。

実験成績

表1にみるように, C3H 系では50週まで死亡例は1例もなく, 剖検所見も極めて軽いもので, 既報の成績^(1,2)と全く同じ傾向がみられた。

次に, C57BL/6, DDD 系はよく似た病変の進展を示し, 平均生存週数もそれぞれ 38.7 と 39.8 であった。C57BL/6 系に胸水, 腹水の増量をみた例があり, 肝, 脾の色調が白色に転じたものの多かったこと, また DDD 系で腹部膨満がみられたこと, 肝の辺縁が円味を帯び硬くなった例の多かった点など, 既報⁽⁴⁾の死亡例の

Table 1 Average survival time and visceral lesions of male mice intraperitoneally infected with 0.005 mg of *M. avium*, strain kirchberg. [V.U. per mg : 5.5×10^8]

Mouse strain	Weeks after infection							Average survival time of median mice	Visceral lesions			
	20	25	30	35	40	45	50		Lung	Liver	Spleen	Kidney
C 3 H							K50 K50 K50 K50 K50 K50 K50	>50.0 W	++ ++ ++ ++ ++ ++ ++	— — — — — — —	— ++ ++ ++ ++ ++ ++	— — — — — — —
C57BL/6			D34				D37 D37 D38 D38 D38 D44 D45	38.7 W	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	++ ++ ++ ++ ++ ++ ++
DDD			D33 D33		D38 D40		D42 D42 D44 D46	39.8 W	++ ++ +++ +++ +++ +++ +++	++ ++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	— ++ ++ ++ ++ ++ ++
BALB/c		D24	D26 D28 D29		D38 D38		D43 D47	* 39.7 W	++ ++ ++ ++ +++ +++ +++	— — — — ++ +++ +++	++ ++ ++ ++ +++ +++ +++	++ — — — +++ +++ +++
KK	D20 D20		D30 D30		D31 D31 D33		D38	29.2 W	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	+++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	++ ++ ++ ++ ++ ++ ++
CF#1		D24	D27 D27 D28 D29 D30				D33 D36	29.0 W	++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	++ +++ +++ +++ +++ +++ +++	— ++ ++ ++ ++ ++ ++

* At 24 to 28 weeks, 3 BALB/c mice died. These did not show signs of extensive involvement due to *M. avium* infection.

所見と同様であった。

BALB/c 系では表 1 にみるように 3 例が鳥型菌感染以外の病因により死亡したため、鳥型菌感染による死亡例が少なくなった点は幾分問題もあろうが、一応平均生存週数を算出すると 39.7 となり、C57BL/6、DDD 系とほぼ同じであった。剖検例の病変もスタンプ標本から重

篤なことがわかり、また、脾の腫大が著明であったことなど、既報⁽¹⁾の成績とよく似ていた。

KK、CF#1 系の成績も、表 1 にみるように、内臓病変は極めて重篤であり、スタンプ標本所見は死亡例についてのものだけに、前記 3 系統とほぼ同じであったが、平均生存週数はそれぞれ 29.2 と 29.0 であって、

C57BL/6, DDD, BALB/c 系より10週も早く死亡したことになる, その間に明らかな差のあることがわかった。

考 察

C3H 系が他系に比べて鳥型菌感染に著しい抵抗性を示すことを見出し, しかも, 感染初期の段階で一時的な菌の増殖をみることなく後期に僅かな増殖しか示さないことから, この C3H 系の抵抗性は宿主の細胞性免疫によるものではないであろうと第1報⁽¹⁾に述べておいた。

しかし, C3H 系はともかく, マウスに接種された鳥型菌が, その増殖に際し, 細胞性免疫の影響をうけることなく経過するとは考え難い。ただ, 既報⁽¹⁾の実験は多量の菌を腹腔内に接種した例についての観察であるため, その間に細胞性免疫の関与する可能性は極めて少ないものと思う。

各種近交系マウスに鼠癩菌を腹腔内接種した場合, 多量の菌を接種すると, マウス系統間に感受性の差はほとんどなく, ほぼ同時期に死亡するのに, 少量菌を接種した時は, KK, C3H 系が早く死亡し, C57BL/6 系などは長期間生存した⁽³⁾。鼠癩菌皮下接種においては C3H 系の病変が最も重く, C57BL/6 系の病変が最も軽かった。そのうえ, この病変進展の差は細胞性免疫の強い影響をうけていることも既にわかっている⁽⁴⁾。そこで, 多量菌腹腔内接種の場合は, 病変の進展が急激であって, 細胞性免疫の影響をほとんどうけず, 宿主は早期に死亡するのに, 少量菌腹腔内接種例では, 病変の進展が遅いため, ここに細胞性免疫による菌増殖阻止作用が, それぞれ系統間に差はあっても, 明らかに働いてきて, 各系統間の平均生存週数に差を生じてくるものと考えられる。また, 鼠癩菌の多量をマウスの静脈内に接種した場合の成績もこれとよく似ていて, Lefford ら⁽⁵⁾は BALB/c 系の方が C3H/He 系より早く死亡したと述べてはいるが, その差は著明なものとはいえない。この間の関係は結核菌多量静脈内接種の場合にもみられる⁽⁶⁾。

これまで述べてきたようなことから, ここでは各種近交系マウスに鳥型菌の少量腹腔内接種を行い, 系統間の平均生存週数に差がでてくるか, どうかを観察したのである。

表2に, 平均生存週数についての, 既報の成績^(1,2)と今回の成績を併記した。0.5mg 接種群では系統間差が3週前後であったのに, 今回の0.005mg 接種群では10週以上にひろがっていた。さらに感受性の強い KK 系では, 0.5mg 接種群と0.05mg 接種群との間に, また

Table 2 Average survival time of mice intraperitoneally infected with *M. avium*, strain Kirchberg.

Mouse strain	Inoculum size (IP)		
	0.5 mg *	0.05 mg *	0.005 mg
C 3 H	>50.0W	>50.0W	>50.0W
C57BL/6	27.7	29.8	37.8
DDD	26.5	35.0	39.8
BALB/c	27.8	34.0	39.7
KK	23.5	27.8	29.2
CF#1	—	—	29.0

* : Average survival times were calculated from the results of earlier experiments.

0.05mg 接種群と0.005mg 接種群との間に, それぞれ2週から3週程度の平均生存週数の延びがあったのに, BALB/c 系では, それぞれほぼ5週の延びがみられ, DDD, C57BL/6 系の成績もこれに似た平均生存週数の延長がみられた。

このような生存週数の延長を, 鼠癩における成績から推論すると, KK 系または CF#1 系に比べて, BALB/c, C57BL/6, DDD 系では宿主の細胞性免疫の作用が強かったと考えてよからう。鳥型菌の体内増殖と細胞性免疫とのかかわりがうすいと思われる C3H 系を別にすれば, 他の系統においては, 強弱の差こそあれ, 鳥型菌の増殖に宿主の細胞性免疫の影響があるものと思う。

結 語

各種近交系マウス (C3H, C57BL/6, DDD, BALB/c, KK, CF#1) に *M. avium*, Kirchberg 株の0.005 mg を腹腔内接種し, 平均生存週数, 内臓病変を中心に, 感受性の系統間差を検討した。

C3H 系は著しい抵抗性を示したが, この系統を除けば, 他の系統はいずれも感受性を示した。ただ, 平均生存週数からみて, KK 系, CF#1 系の群と C57BL/6, DDD, BALB/c 群との間には明らかな差がみられ, この生存週数の差は宿主の細胞性免疫と関連の深いことが, 鼠癩における同様な実験の成績から, 推察できる。

終りに, 本研究の一部は日米医学協力計画, 癩専門部会, ならびに WHO より補助をうけた。記して謝意を表する。

文 献

- 1) 種村睦子: 各種近交系マウスの *Mycobacter-*

- ium avium* に対する感受性, 1) 腹腔内接種例について, 日らい誌, 50, 74-90(1981).
- 2) 川口陽一郎, 松岡正典, 須子田キヨ, 種村睦子: C3H/He マウスの *Mycobacterium avium* に対する感受性, 日らい誌, 50, 128-134(1981).
- 3) 川口陽一郎: 近交系マウスの鼠癩菌感受性, とくに腹腔内接種例について, レブラ, 42, 238-244(1973).
- 4) Kawaguchi, Y., Matsuoka, M., Kawatsu, K., Homma, J. Y. and Abe, C.: Susceptibility to murine leprosy bacilli of nude mice, Jap. J. Exp. Med., 46, 167-180(1976).
- 5) Lefford, M. J., Patel, P. J., Poulter, L. W. and Mackaness, G. B.: Induction of cell-mediated immunity to *Mycobacterium lepraemurium* in susceptible mice, Infect. Immunity, 18, 654-659(1977).
- 6) Pierce, C., Dubos, R. J. and Middlebrook, G.: Infection of mice with mammalian tubercle bacilli in Tween-albumin liquid medium, J. Exp. Med., 86, 159-174(1947).

Susceptibility to *Mycobacterium avium* of Various Inbred Strains of Mice

III. On the Cases Intraperitoneally Infected with Small Dose

MUTSUKO TANEMURA, KIYO SUSHIDA
YOICHIRO KAWAGUCHI*, and MASANORI MATSUOKA*
(Department of Microbiology, Tokyo Women's Medical College
and *National Institute for Leprosy Research)

Male mice, approximately 6 weeks of age, of 6 inbred strains (C3H, C57BL/6, DDD, BALB/c, KK and CF#1) were inoculated intraperitoneally with 0.005 mg of *M. avium*, strain Kirchberg. Susceptibility to *M. avium* was evaluated mainly by the average survival time and visceral lesions of experimental animals.

C3H strain mice were confirmed to be resistant to the infection with *M. avium*. And mice of the other strains were susceptible. However, there was remarkable difference in average survival time between KK and CF#1 group and C57BL/6, DDD and BALB/c group.

From the results of our earlier experiments with mouse leprosy, above mentioned difference in the susceptibility was assumed to be due to cell-mediated immunity developed in the hosts, excepting C3H strain.