総　説

連載 6

医学細菌の分類・命名の情報
6．抗酸菌の分類・命名の現状と将来像

大阪市立大学大学院医学研究科感染防御学
前田　伸司　　小林　和夫

はじめに

抗酸菌感染症には結核，非結核（非定型）性抗酸菌感染症やハンセン病があり，現在，多くの患者が存在している．結核菌感染者だけでも，19億人が存在し，全世界の人口が60億人であることから，人類の約1/3が感染している．全世界では毎年800万人が発病，200万人が死亡し，有病者は2,200万人で，結核は単一病原体による世界最大の感染症である[1]．日本では毎年約4.8万人が結核を発病し，0.29万人が死亡し，有病者は5.5万人である[2]．抗酸菌感染症，特に，結核は，近年，増加しており，代表的な再興感染症である．また，非結核性抗酸菌感染症は，全抗酸菌感染症の約20％を占めている[2]．慢性らい菌感染症（ハンセン病）は世界的に64万人/年の新規患者を発生している[3]．

抗酸菌の特徴

抗酸菌（*Mycobacterium*）属は*Mycobacteriaceae*科に属し，DNA塩基構成の特徴としてguanine＋cytosine含有量（62～70％）が高い．抗酸菌は，桿菌（0.2－0.6×1－10 μm），細胞壁は脂質に富み，そのため，アニリン色素に難染色性，Gram染色陽性，しかし，一旦，染色された場合，酸アルコールに脱色され難い（抗酸性：acid-fastness）．また，偏性好気性，芽胞非形成，非運動性である．集落性状は正円，平滑（smooth型）－不正，粗（rough型），色素産生性－非産生性，すなわち，多様である．増殖倍加時間は菌種により異なるが，2～20時間以上であり，集落形成に2日～8週間を要し，至適発育温度は30～45℃である[4]．

分　類　学

抗酸菌属の分類や同定には1）発育/増殖速度，集落の性状（形状，色調や光反応性），2）生化学的性状（代謝・酵素活性，鉄取り込み，食塩耐性，脂質），さらに，3）遺伝子解析などが有用である．なお，標準菌種は結核菌（*Mycobacterium tuberculosis*）である．

1）発育/増殖速度および集落の性状

固形培地（Löwenstein-Jensen，小川やMiddlebrook培地）を用い，集落形成に7日以上を要する遅発育抗酸菌（slow growers）と7日以内である迅速発育抗酸菌（rapid growers）に大別される．なお，人工培地において，培養不能ならい菌（*M. leprae*）は培養不能抗酸菌に分類される．さらに，集落の性状として，色素産生と光反応性により，光発色菌群（photochromogens，I群），暗発色菌群（scotochromogens，II群），非光発色菌群（nonchromogens，III群），また，迅速発育菌群は色素産生や光反応性に拘わらず，一括して，IV群に分類される．発育/増殖速度および集落性状を加味した抗酸菌のRunyon分類（表）がある[5)6)]．

2）生化学的性状

抗酸菌の代謝・酵素活性（アリルサルファターゼ陽性：*M. fortuitum*群，*M. marinum*，*M. asiaticum*，*M. szulgai*，*M. xenopi*，*M. triviale*および*M. flavescens*，カタラーゼ陽性：*M. gastri*やイソニアジド耐性菌を除く，全抗酸菌，ウレアーゼ陽性：暗発色菌および迅速発育菌群，ピラジナマイド分解酵素陽性：ピラジナマイド耐性を除く結核菌，ニコチン酸/ナイアシン細胞内蓄積性：結核菌，硝

平成13年6月20日

表．抗酸菌の Runyon 分類

分類			菌種名
培養可能菌	遅発育菌	結核菌群	*M. tuberculosis* *M. bovis* *M. microti* *M. africanum*
		非結核性抗酸菌群 Ⅰ群菌 光発色菌	*M. kansasii* *M. marinum* *M. simiae* *M. asiaticum*
		Ⅱ群菌 暗発色菌	*M. flavescens* *M. gordonae* *M. scrofulaceum* *M. szulgai*
		Ⅲ群菌 非光発色菌	*M. avium* complex *M. celatum* *M. haemophilum* *M. gastri* *M. genavense* *M. malmoense* *M. nonchromogenicum* *M. shimoidei* *M. terrae* *M. trivale* *M. ulcerans* *M. xenopi*
	迅速発育菌	Ⅳ群菌	*M. abscessus* *M. fortuitum* group *M. chelonae* group *M. phlei* *M. smegmatis* *M. vaccae*
培養不能菌			*M. leprae*

文献　5，6 を一部改変

酸塩還元能陽性：結核菌，*M. kansasii*，*M. szulgai*，*M. smegmatis* や *M. fortuitum* 群，亜テルル酸還元能陽性：*M. avium* complex，Tween 80 加水分解陽性：*M. avium* complex と *M. xenopi* を除く非光発色菌群および *M. scrofulaceum* を除く暗発色菌群など），鉄取り込み（迅速発育菌群）や発育条件として 5% 食塩水耐性（*M. triviale* や *M. chelonae*）などがある．脂質分析法として，ミコール酸などの細胞壁脂肪酸分析（高速液体クロマトグラフィー：ミコール酸解析やガス液体クロマトグラフィー：短炭素鎖脂肪酸解析）などがある．なお，ミコール酸炭素鎖長は菌属に依存し，*Corynebacterium* 属：22～38，*Rhodococcus* 属：34～52，*Nocardia* 属：44～60，*Gordona* 属：48～66，*Mycobacterium* 属：60～90，従って，*Mycobacterium* 属のミコール酸炭素鎖は最長である[7]．

遺伝子解析による分類

従来，抗酸菌属は発育/増殖速度および集落の性状や生化学的性状により分類されてきたが，長所として，1）技術的に確立されていること，2）標準化されていること，3）比較的安価であることが挙げられるが，短所として，1）医療情報提供に際し，迅速性に欠くこと，2）大量に菌量を要することなどがある．これらの短所に対し，脂質や遺伝

子解析は補完的である[8].

抗酸遺伝子解析法として，原理的に核酸探索子（プローブ），核酸塩基配列および核酸増幅法が開発されている．核酸探索子法は菌種特異的リボゾーム RNA に相補的 DNA 探子を用いる（AccuProbe®，Gen-Probe）．rRNA は固形および液体培地に培養した抗酸菌から抽出する．所要時間は約 2 時間である．現在，入手可能な DNA 探子は，結核菌群，*M. avium* complex，*M. avium*，*M. intracellulare*，*M. gordonae* や *M. kansasii* などがある．核酸塩基配列法は正確，迅速であるであるが，欠点として，高価および熟練を要するため，限られた部署のみ，用いられている．抗酸菌の 16S rRNA が超可変部であり，菌種により異なることから，菌種特異的核酸配列を同定に用いる．この方法は既知の抗酸菌の同定のみならず，未知の抗酸菌の同定にも応用可能であり，*M. interjectum* や *M. conspicuum* の分類や同定に貢献した．さらに，この方法と核酸増幅法（転写による rRNA 増幅および polymerase chain reaction）や DNA 指紋法（DNA fingerprinting, restriction fragment length polymorphism）を組み合わせることにより，感染源特定など，分子疫学領域，さらに，薬剤耐性抗酸菌の迅速検出にも応用されている[9].

医療分野において市販されている分類・同定キットとして，DNA-RNA hybridization を利用した AccuProbe®（Gen-Probe），DNA-DNA hybridization を利用した DDH®（極東製薬工業），核酸増幅法を応用した Mycobacterium Tuberculosis Direct Test®（MTD test，Gen-Probe）や AMPLICOR MTB®（Roche Diagnostics）などが用いられている．欠点として，DNA 増幅では，菌の生死に依存しない，すなわち，疾患活動性を反映しないことである．また，臨床分離株の 16S rRNA 遺伝子塩基配列が標準株と異なるため，或いは，新種のため，キットを用いた場合，分類不能抗酸菌も存在する．

将来展望

抗酸菌属の分類や同定は伝統的に 1) 発育/増殖速度，集落の性状や 2) 生化学的性状が用いられてきたが，分子生物学や脂質生化学の進歩，さらに，医療領域からの要請，特に，迅速性などの諸要因により，変貌しつつある．しかし，感染症領域において，生きた抗酸菌を対象とした場合，伝統的手法は極めて重要であり，今後共，その価値は不変であろう．すなわち，伝統的手法と現代的手法を巧みに組み合わせることにより，正確かつ迅速に分類・同定され，薬剤耐性抗酸菌感染症も含め，21 世紀の抗酸菌感染症制圧対策に寄与することが期待される．

文　献

1) World Health Organization : http : //www. stoptb. org
2) 厚生労働省：http : //www.mhlw.go.jp/search/mhlwj/mhw/houdou/1209/h0922-1_11. html
3) World Health Organization：http : //www.who. int/lep
4) Metchock BG, Nolte FS, Wallace RJ：*Mycobacterium.* Manual of Clinical Microbiology, 7th edition. Edited by Murray PR, Baron, EJ, Pfaller MA, Tenover FC, and Yolken RH. ASM Press, Washington DC, 1999；399—437.
5) Runyon EH：Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. Med Clin North Am 1959；43：273—90.
6) Brooks GF, Butel JS, Morse SA：Mycobactera. Jawetz, Melnick, and Adelberg 's Medical Microbiology, 21st edition. Appleton and Lange, Stanford, Connecticut, 1998；279—88.
7) Henrikson HP, Pfyffer GE：Mycobacterial mycolic acids. Med Microbiol Lett 1994；3：49—57.
8) Tenover F, Crawford J, Huebner R, Getter L, Horsburgh CR Jr, Good RC：The resurgence of tuberculosis：is your laboratory ready? J Clin Microbiol 1993；32：767—70.
9) Watterson SA, Drobniewski FA：Modern laboratory diagnosis of mycobacterial infections. J Clin Pathol 2000；53：727—32.

Current Topics on Classification and Nomenclature of Bacteria
6. Classification of Mycobacteria and Future Perspectives

Shinji MAEDA & Kazuo KOBAYASHI
Department of Host Defense, Osaka City Unversity Graduta School of Medicine

〔J.J.A. Inf. D. 75：457～459, 2001〕

平成13年 6 月20日