

Ultrastructural Studies on Host Cell Changes in Experimental Cryptosporidiosis of Chicks

（鶏のクリプトスポリジウム感染による宿主細胞の超微形態学的研究）

学位論文内容の要旨

クリプトスポリジウム（CR）は、孢子虫綱、コクシジウム類、アイメリア亜目、クリプトスポリジウム科に属し、種は1種あるいは複数種と意見が分かれている。CRは宿主域が極めて広く、ヒトを含む哺乳類、鳥類、爬虫類及び魚類に感染し、人獣共通の原虫である。

CRはいずれの宿主においても主に消化管の粘膜上皮に寄生するが、時には気道、胆道、尿路の粘膜上皮にも寄生する。CRの顕性感染は宿主が免疫不適格な時に起こり、宿主の免疫が適格な時にはCRは不顕性感染を示し、しかもそれは一過性である。

CRは極めて小型の原虫（ $2 - 5 \mu\text{m}$ ）であり、全生活環が宿主細胞の自由表面の微絨毛に由来した parasitophorous membrane に囲まれた空胞内で営まれる。したがってCRは、“細胞内寄生ではあるが、細胞質外寄生である。”と言われる。CRと宿主細胞の間には attachment organ が形成され、ここを介して物質代謝が行われる。従来のCRに関する超微形態学的研究において、虫体の発達過程並びに attachment organ の構造はかなり詳細に明らかにされている。しかし、CR寄生による宿主細胞の超微構造の変化に関しては、ほとんど明らかにされていない。

本研究では、鶏のCR感染において最も寄生頻度の高いファブリキウス嚢（BF）と、寄生頻度は少ないが時には呼吸器症状発現の要因となる気管を選び、CR寄生によって起こる宿主細胞（粘膜上皮細胞）の超微形態学的変化を検討した。

BFへのCR感染は、初生雛の嚢内に精製オーシストを接種して作出した。検索材料はCR感染後5～28日の16羽のBFで、これら全ての粘膜上皮には軽度、中等度、重度と個体別に程度差を示すCR寄生が組織学的に認められた。これらの粘膜の主な組織病変としては、上皮細胞の腫大、増生、CR付着部における微絨毛の消失、偽好酸球浸潤が所見された。

BFの超微形態学的変化は、CRの寄生程度に関係なく、ほぼ同様であった。CRは濾胞被蓋

上皮細胞と濾胞間表層細胞の自由表面に寄生し、無性生殖世代並びに有性生殖世代、さらにはオーシストと、全生活環の寄生体が認められた。CR は parasitophorous membrane に取り囲まれ、これと細胞質との間には良く発達した attachment organ が形成されていた。CR の付着した近隣の微絨毛は萎縮して鈍化したり、他方では膨化あるいは融合などの変化を示した。以上の細胞表面の変化は、CR の寄生によって生じた物理的障害であると解された。

CR の寄生した BF 上皮細胞の細胞質では、蛋白合成細胞小器官に活性化像が認められた。すなわち、粗面小胞体並びにゴルジ装置は良く発達し、ミトコンドリア、リボゾーム及び被覆小胞は増数し、細胞質の自由表面近くに滑膜に囲まれた空胞が増加していた。また、発達した粗面小胞体がミトコンドリアを部分的あるいは完全に取り囲むミトコンドリア-粗面小胞体結合、直径 20-90 nm の高電子密度の線維様構造物の集積あるいは束形成、細線維様構造物とリボゾームが交互に同心円状に配列した ribosome-lamella complex、波状に走行する microtubule で構成された microtubulo-reticular complex も所見された。これらの変化も、蛋白合成細胞小器官の変化と並んで、蛋白合成あるいは細胞活性化を示唆するものとみなされた。一方、これらの上皮細胞においての変性性変化は極めてまれに認められ、それはミトコンドリアの腫大、ポリゾームの解離、粗面小胞体の空胞性拡張などであった。

CR の寄生を伴った BF 上皮細胞の核では、核形の不整化、核小体の形態異常並びに核膜近くへの移動、核小体の解離、核内小体の出現などが認められた。これらのうち核小体の形態異常は様々で、腫大した核小体内で核小体系と核基質 (nuclear matrix) が複雑に変化していた。すなわち、核小体系と核基質が網状をなして混在したり (網状核小体)、核小体系が周縁をリング状に取り囲み内部に核基質が広く存在したり (環状核小体)、核小体系と核基質が 1 核小体内で数個の粗大な領域に分れたり (thin-shelled nucleolus)、あるいはこれら相互の移行像など多態であった。また、核内小体はこのような多形性を示す核小体近くに出現し、細線維様物質のみ、微細顆粒状物質のみ、あるいは両者の混在で構成されていた。時にはこれらの内部に脂肪滴様の空胞を有するものもあった。以上の核形の変化、核小体の形態的变化並びに位置の移動、核内小体出現は、細胞質の蛋白合成像の根源となる活性像と解された。

気管の CR 感染は、精製オーシストを初生雛の気管内に接種して作出した。検索材料は接種後 5-21 日の 5 羽である。これらの気管の組織学的検索では、CR は個体別に軽度、中等度、重度に寄生し、粘膜上皮は CR の寄生程度に関係なく、腫大、増生、脱絨毛、微絨毛消失を示した。

CR 感染を受けた気管の粘膜上皮の超微形態学的変化は、本質的には BF の粘膜上皮における

変化と同一であったが、以下の点において差異が認められた。気管の上皮細胞自由表面の脱纖毛を示した部位に異常纖毛である複合纖毛（compound cilia）が認められた。また、脱纖毛に対して纖毛再生を示唆する中心子の増数が所見された。さらに微纖毛の変化として、分岐あるいはY字型化が所見された。気管の上皮細胞の細胞質では、ribosome-lamella complex 並びに microreticulotubular complex は認められなかったほか、高電子密度の線維様構造物の出現が乏しかった。気管上皮の核の変化では、核形の不整化並びに核小体の腫大がBFにおけるより著明で、核内小体は出現していたが内部に脂肪滴様の空胞を有する像はなかった。以上のように、CRの寄生した気管とBFの粘膜上皮の超微形態学的変化は、若干の差はあったが総体的にはほぼ同様で、細胞活性化像であった。

以上の検索所見から、細胞自由表面でのみ全生活環を営むCRは、宿主細胞に蛋白合成をうながし、相互に共存することが明らかである。蛋白合成亢進像としては、細胞質小器官のみならず、その根源、特にリボゾーム供給源である核小体の多形性変化が注目された。CRはいずれの生活環においても多数リボゾームを有し、この素材を宿主細胞に依存しているものと解される。核小体の変化の中で、環状核小体、核小体成分の解離はRNA合成阻害で生じるとされて来たが、著者の所見はRNA合成亢進とみなすべきものであった。また、核内小体出現の生物学的意義は不明とされているが、著者の所見は細胞活性に伴って出現していた。

このほか気管の杯細胞ではCR寄生が認められ、この細胞表面では微纖毛の存在が確認された。これに対し、BFの杯細胞ではCRの寄生は確認できなかった。この理由として、BFの杯細胞の表面には微纖毛がないか極めて少ないことが考えられる。以上の事実から、CR寄生にとって微纖毛は必須であることが再確認された。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	・ 板 倉 智 敏
副 査	教 授	杉 村 誠
副 査	教 授	神 谷 正 男
副 査	助教授	橋 本 善 春

クリプトスポリジウム（CR）は人獣共通の原虫であり、宿主細胞の微纖毛のみに寄生し、こ

こで全生活環を営む。本原虫の発達過程については良く研究されているが、宿主細胞自身の変化については知見が乏しい。申請者は鶏に CR を実験的に感染させ、鶏では最も感染頻度が高いファブリキウス嚢 (BF) と、呼吸器症状の要因となる気管の粘膜上皮の超微形態学的変化について研究し、本論文をまとめた。

CR 寄生を受けた BF 並びに気管の粘膜上皮は、組織学的には腫大、増生を示した。超微形態学的には、CR は両粘膜上皮細胞の自由表面に寄生し、寄生部位の微絨毛は消失し、近隣の微絨毛は萎縮あるいは膨化、融合などの変化を示した。気管の粘膜上皮細胞では、さらに脱絨毛が見られ、かつ異常絨毛である複合絨毛が認められた。BF 並びに気管の粘膜上皮細胞の寄生体と宿主細胞の細胞質との間には、attachment organ が形成され、ここを介して物質交換がなされているようであった。

・宿主細胞の細胞質の小器官の変化としては、蛋白合成を示唆した細胞活性化像が観察された。すなわち、粗面小胞体並びにゴルジ装置は良く発達し、リボゾームおよび被覆小胞は増数していた。また、蛋白合成活性を示唆するミトコンドリアー粗面小胞体結合、径20～90 nm の高電子密度の線維様構造物、ribosome-lamella complex, microtubuloreticular complex も所見された。

宿主細胞の核の変化としては、核形の不整化、核小体の様々な形態並びに核膜近くへの移動、核内小体の出現などが認められた。これらの核の変化は、細胞質における蛋白合成、特にリボゾーム合成の活性化像と解された。

以上のように、申請者は、細胞表面に寄生した CR による宿主細胞の細胞小器官の様々な変化を、機能と関連づけて明らかにした。この研究成果は細胞小器官の形態学に貢献するところが大きい。よって審査員一同は、シンボリオ ルズヴィミンダ タデハ氏が、博士 (獣医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。