

博士（獣医学）末吉益雄

学位論文題名

Treponema hyodysenteriae の実験感染雛モデルの
作出および下痢発生機序に関する形態学的研究

学位論文内容の要旨

Treponema (T.) hyodysenteriae は豚赤痢の原因菌で、豚に経口投与した場合に本症を発症することが明らかにされており、特定のマウスでも該菌によって感染することが報告されている。著者は、比較的取扱いの簡単な雛を用いて感染実験を行い、*T. hyodysenteriae* が雛の盲腸に定着し、かつ豚赤痢発症豚の大腸病変に類似した病変が起きることを確認することができた。このことは豚赤痢の感染モデルとして雛が極めて有用であることを示唆している。

本研究では、孵化後24時間以内に雛に *T. hyodysenteriae* を 0.5ml ずつカテーテルで経口的に投与した。まず、投与後7日および14日目に雛を殺処分し、細菌学的および病理学的に検査した。該菌は盲腸、とくに盲腸本部の粘膜に最も多く付着した。 10^8 個/ ml の菌浮遊液を投与した雛では、感染後7日目および14日目に該菌が高率に定着することが確認された。 10^7 個/ ml の菌浮遊液を投与した雛の感染後7日目では、全ての雛の盲腸から *T. hyodysenteriae* が分離され、該菌が定着していることが確認された。しかし、14日目では、全ての雛からは分離されず、分離菌数も低値を示した。 10^8 個/ ml の菌浮遊液を投与した雛群の投与後14日目では、該菌が多数盲腸粘膜に付着し、その一部が固有層に侵入しているのが観察された。病変としては、盲腸粘膜における上皮細胞の剥離、固有層における水腫、充・出血および細胞浸潤が認められた。これらのことから、*T. hyodysenteriae* が雛の腸管、とくに盲腸に定着し、病変が惹起されることが確認された。

つぎに、*T. hyodysenteriae* を雛に投与した後、経時的に3日間隔で殺処分し、該菌の盲腸への定着、盲腸粘膜への付着状態および盲腸粘膜の病変発現過程を検索した。その結果、菌投与後3日目にはすでに該菌が盲腸に定着していることが明らかとなり、該菌の定着は実験終了まで持続していた。該菌の盲腸粘膜表面への付着は、すでに、菌投与後3日目に、陰窩の上皮細胞表面および絨毛表面で観察され、6日目では、一部小菌塊として付着し、9日目および12日目では、菌塊はさらに大きくなり、陰窩腔内あるいは絨毛表面に付着し、一部上皮の剥離部にも認められ

た。15日目および18日目では、さらに多数の該菌が粘膜表面に付着しており、上皮細胞間および固有層への侵入も認められた。21日目には、盲腸内容物からの *T. hyodysenteriae* の分離菌数値は最も高く、該菌は陰窩腔内、上皮細胞間、杯細胞内および固有層内に多数認められた。24日目にも、該菌は上皮細胞間および固有層内に侵入していた。一方、盲腸粘膜上皮の病変としては、はじめに、上皮細胞の微絨毛の配列の乱れがみられ、つぎに、上皮細胞の剥離および軽度の過形成が認められた。菌投与後21日目にはそれらの病変は激しさを増し、とくに粘膜表層の壊死・剥離および上皮細胞の過形成がみられ、豚赤痢で見られる大腸病変に類似していた。

以上の成績から、経口投与された *T. hyodysenteriae* は雛の盲腸に速やかに移行し、そこで増殖し定着することが確認され、さらに、粘膜に付着した菌は塊を形成し始め、それが大きく発達することが観察された。また、該菌は上皮細胞への付着とともに、その細胞間に侵入するため、結果として多くの上皮細胞が変性・剥離していた。

そこで、豚赤痢の発症機序を解明することを目的とし、雛に *T. hyodysenteriae* を経口投与し、投与後21日目にその雛を殺処分して、盲腸粘膜病変を詳細に観察した。その結果、ほとんどの雛の盲腸は萎縮し、粘膜が肥厚し、白色あるいは赤色の水様性の内容物を盲腸内に認めた。組織学的には、粘膜表層の上皮細胞の剥離、好塩基性の短縮した上皮細胞の過形成、有糸核分裂像の増数および杯細胞の過形成が認められた。

これらの粘膜病変は粘膜表層の上皮細胞の変化に基づき、上皮細胞の剥離・脱落が著明な病変と塩基好性の短縮した上皮細胞および杯細胞の過形成が著明な病変の二つに分けられた。これらの二つの病変を観察したところ、上皮細胞の剥離の著明なものは、透過型電子顕微鏡的観察では微絨毛が疎らとなり、細胞質内では糸粒体が腫脹し、核濃縮が認められ、変性あるいは壊死に陥っていた。また、この病変では該菌の粘膜組織内侵入も著明であった。該菌の盲腸の固有層への侵入経路は、上皮細胞間の細胞間接着複合体を通過して侵入する経路および上皮細胞のエンドサイトーシスで細胞内に取り込まれ、固有層に達する二つの経路が観察された。該菌の侵入が認められた上皮細胞は糸粒体の腫脹、核の濃縮等の退行性変化が認められた。該菌はさらに上皮細胞層下の基底膜に沿って深部まで侵入するため、上皮細胞は固有層から剥離・脱落した。このように、該菌の組織内侵入は粘膜における病変の発現と密接に関連していた。

上皮細胞の過形成が認められたものでは、上皮細胞層は塩基好性の短縮した上皮細胞から構成され、多くの核分裂像が表層付近にまで認められた。また、この上皮細胞の微細構造としては、不規則な配列を呈したが少数の短い微絨毛が存在し、細胞質にはリボソームが多数観察され、端網層は不明瞭で、糸粒体は少数であった。このことから、過形成した上皮細胞は未分化な細胞で

あり、このような上皮細胞の異常な過形成病変は表層の上皮細胞の壊死、剥離および脱落に伴う陰窩深部からの上皮細胞の再生・更新によるものであることが示唆された。未分化な上皮細胞の不明瞭な端網層には膜で包まれた微小水疱が多数認められ、また、それらの上皮細胞間は著明に拡張し、その中には膜に囲まれた水疱が存在した。さらに、拡張した陰窩の上皮細胞の内腔表面には舌状の隆起が認められ、一部、陰窩腔内に流出していた。これらの所見は組織から腸管腔内への液成分の流出を示唆していた。さらにまた、杯細胞の過形成も認められ、陰窩開口部からの粘液の分泌像も認められた。

以上の実験成績から、豚赤痢でみられる大腸病変は、*T. hyodysenteriae* の組織内侵入と密接に関連して発現し、下痢の発生は、第一に上皮細胞の広範囲の剥離・脱落による吸收不全、第二に、吸收機能として未分化な上皮細胞の置換による吸收不全、また、第三として、組織から腸管腔内への液成分の分泌増加に起因しているものと考えられた。さらに、豚赤痢発症豚の下痢便でしばしば観察される粘液は杯細胞の過形成による粘液分泌過多が関与していることが示唆された。血便は上皮細胞の著明な剥離・脱落によって露出した固有層からの出血に起因していることが示唆された。

以上述べたように、本研究では、他の実験動物と比較して、経済的に安価である孵化直後の雛を豚の代替動物として使用することによって、雛の盲腸に豚赤痢発症豚の大腸病変に類似した病変を容易に作出することができ、雛の盲腸は *T. hyodysenteriae* による豚赤痢の極めて有用な感染モデルとなり得ることが明らかとなった。また、詳細に雛盲腸モデルの病変を検索することで豚赤痢にみられる下痢の発生機序に関しても新しい解析を提示することができた。

学位論文審査の要旨

主　査　教　授　波　岡　茂・郎
副　査　教　授　清　水　悠紀臣
副　査　教　授　板　倉　智　敏
副　査　教　授　小　沼　操

豚赤痢は昭和40年代にわが国に侵入し多大の被害を与えて現在に至っているが、該疾病的豚結腸における感染機序、出血性下痢に至る病理変化などに関しては不明な点が多い。そこで著者は

T. hyodysenteriae (トレポネーマ) が雛に感染することから、これが豚赤痢のモデル動物として有用であることを明らかにし、ついで詳細な盲腸病変の形成、出血の成因などについて光学顕微鏡ならびに透過型および走査型電子顕微鏡によって解析を行った。本論文は和文128頁から成り参考論文15篇を付している。

著者はまず、 10^8 のトレポネーマを孵化後24時間以内の雛に投与したところ、その14日後には該菌が多数盲腸粘膜に付着し、一部が、固定層に侵入していた。この場合、盲腸粘膜における上皮細胞の剥離・固有層における水腫、充・出血および細胞浸潤が認められ、トレポネーマが雛の盲腸に定着し病変を惹起することが明らかにされた。

つぎに、トレポネーマを雛に投与した後、経時的に3日間隔で殺処分し該菌の盲腸における定着、盲腸粘膜への付着および病変発現過程を検索した。その結果、トレポネーマ投与後3日目にはすでに該菌が盲腸に定着していることが明らかとなり、その定着は実験終了の24日目まで持続していた。定着は陰窩の上皮細胞表面および絨毛表面で観察され、上皮細胞間および固有層への侵入も認められた。一方、盲腸粘膜上皮の病変としては、まず上皮細胞の微絨毛の配列の乱れがみられ、ついで該細胞の剥離および軽度の過形成が認められた。さらに粘膜表層の壊死・剥離および上皮細胞の重度の過形成がみられ、これらの変化は豚赤痢でみられる大腸病変に類似していた。以上の成績から、経口投与されたトレポネーマは雛の盲腸に速やかに移行し、そこで増殖定着したのち粘膜に付着した菌は塊を形成するとともに、該菌は上皮細胞間に侵入するため結果として多くの上皮細胞が変性・剥離することが明らかとなった。これらの粘膜病変は粘膜表層の上皮細胞変化に基づき、上皮細胞の剥離・脱落が著明な病変ならびに塩基好性の短縮した上皮細胞および杯細胞の過形成が著明な病変の二つに分けられた。すなわち、上皮細胞の剥離の著明なものは、透過型電子顕微鏡的観察では絨毛が疎らとなり、細胞質内では糸粒体が腫脹し、核濃縮が認められ、変性あるいは壊死に陥っていた。トレポネーマの盲腸粘膜固有層への侵入経路は、上皮細胞間連絡複合体を通過して侵入するものおよび上皮細胞のエンドサイトーシスで細胞内に取り込まれ固有層に達する二通りのものが観察された。このようにトレポネーマの細胞内侵入は粘膜における病変の発現と密接に関連してた。一方、過形成した上皮細胞は未分化な細胞であり、このような上皮細胞の異常な過形成病変は表層の上皮細胞の壊死、剥離および脱落に伴う陰窩深部からの上皮細胞の再生・更新によるものであることが示唆された。未分化な上皮細胞の不明瞭な端網層には膜で囲まれた微小水泡が多数認められ、またそれらの上皮細胞間は著明に拡張し、その中には膜で囲まれた水泡が存在した。さらに、拡張した陰窩の上皮細胞内腔表面には舌状の隆起が認められ、一部は陰窩腔内に流出していた。これらの所見は組織から腸管腔内への液成分

の流出を示唆していた。さらにまた、杯細胞の過形成も認められ、陰窩開口部からの粘液の分泌像も観察された。

これらのことから、豚赤痢でみられる大腸病変はトレポネーマの組織内侵入と密接に関連して発現し、下痢の発生は第一に上皮細胞の広範囲の剥離・脱落による吸收不全、第二に吸收機能として未分化な上皮細胞の置換による吸收不全、また第三として組織から腸管腔内への液成分の分泌増加に起因しているものと考えられた。さらに、豚赤痢発症豚の下痢便でしばしば観察される粘液は杯細胞の過形成による粘液分泌過多が関与していることが、また血便は上皮細胞の重度の剥離・脱落によって露出した固有層からの出血に起因していることが示唆された。

このように著者はトレポネーマを齋に感染させ、豚赤痢の疾患モデルを作出することによって今まで不明な点が多かった該疾病的感染および赤痢発症の機序を明らかにした。これらの知見は今後の豚赤痢の研究推進のうえに貢献するところが大きい。よって審査員一同は末吉益雄氏が博士（獣医学）の学位を受ける資格を有するものと認める。