

学 位 論 文 題 名

ラットおよびマウスの CAR bacillus 感染症に関する研究

—特に形態学的変化を中心にして—

学位論文内容の要旨

齧歯類の気道の粘膜上皮の線毛部にのみ付着するフィラメント状の桿菌に起因し、齧歯類呼吸器マイコプラズマ症（MRM）と同様の病変を示す疾患が、1980年にオランダで初めて認められた。この病原菌は1985年 cilia-associated respiratory（CAR）bacillus と呼ぶことが提唱された。CAR bacillus 感染症は、ラット、マウス、ウサギに認められるが、本菌の培養が困難なこともあってその本態の究明が遅れている。本研究では、ラットとマウスに本菌を実験的に感染させ、本症の病態の究明と血清学的診断法を確立し、さらに本菌の伝播様式を解明した。

まず、自然感染ラットから分離された CAR bacillus SMR 株をラットに経鼻接種し、接種後56日まで定期的に解剖後、病理組織学的に検索した。臨床的には、接種後21日目より一部のラットが異常呼吸音を発し、また全例が体重増加の抑制、活動の低下と粗毛を示した。肉眼的には、同じく接種後21日目より肺の肥大と重量増加、無気肺巣、気管支周囲のリング状の灰白色充実域と気管支拡張、ならびに肺気腫などが認められた。組織学的には、接種後14日目より、鼻腔、気管、気管支、細気管支および中耳の粘膜上皮の線毛部に好銀性のフィラメント状 CAR bacillus（長さ4～8 μ m）の付着が見られ、それらの粘膜固有層には小円形細胞浸潤が認められた。病変部の肺内気管支は拡張し、その周囲に重度の小円形細胞浸潤とリンパ濾胞の形成からなる気管支周囲炎が認められた。これらの病変は経時的に、気管支樹の近位へ拡大するとともに病像も重度となり、また接種後21日目以降では化膿性気管支肺炎も認められた。

上記の菌接種ラットの気管と肺内気管支の粘膜上皮を走査電顕と透過電顕で観察した。走査電顕では、菌体が接種後7日目からラットの気管粘膜上皮の線毛間および一部の無線毛細胞の表面に出芽するような形状で付着していた。接種後14日目以降では、気管粘膜の大部分は本菌の群生した苔状巣で覆われていた。これ以外の粘膜は腫大した無線毛細胞によって構成され、その表面も本菌が出芽するようにして付着していた。透過電顕では、接種後14日目より肺内気管支の粘膜上皮の線毛間に線毛と平行して菌が付着していた。菌が多数付着した線毛細胞では、線毛がほと

んど消失する一方で、微絨毛が付着していた。CAR bacillus は杯細胞（粘液細胞）の表面にも粘膜と直角方向に付着し、また侵された粘膜上皮では、線毛細胞と杯細胞の増生ならびにクララ細胞の減数・消失が観察された。

以上の所見から、CAR bacillus はラットの気道粘膜に感染する呼吸器系病原体であることが示された。電顕的に本菌は、菌接種ラットの気道の粘膜上皮で接種後 7 日目から観察されたが、組織病変が出現するまでには 14 日間を要した。感染は上部気道より肺内気管支へ下行性に拡大し、細気管支周囲には化膿性肺炎を惹起する場合もあった。病変部の粘膜の小円形細胞反応は菌の感染にもとづく局所の免疫反応とみなされた。

本菌の感染を受けたラットとマウスの気管と肺内気管支を透過電顕で検索した結果、菌はいずれの粘膜上皮の宿主細胞に対しても表面に直角方向に付着していた。菌の宿主細胞付着端は細くなり（狭部）、先端が膨れているものもあった。付着した菌の先端部と宿主細胞の細胞膜との間には狭い空間が存在し、そこには細線維状構造物が両者を結ぶように存在していた。この構造物はルテニウム赤染色標本で一層明瞭に観察され、接着に関与する粘液物質と考えられた。菌の幅は、最狭部は $0.15 \sim 0.18 \mu\text{m}$ 、その他は $0.35 \mu\text{m}$ 以下（多くは $0.24 \sim 0.28 \mu\text{m}$ ）で、長さは $3.5 \sim 9.0 \mu\text{m}$ 以上あり一定ではなかった。菌の表層は、約 10nm の細胞壁、約 20nm の中間層、および約 7nm の細胞膜の 3 層からなり、細胞壁と細胞膜は単位膜構造を示していた。またルテニウム赤染色標本により、菌体表面に厚さ約 $10 \sim 20\text{nm}$ の電子密度の高い微細顆粒状の粘液層が観察できた。この粘液層は、別の菌体の粘液層あるいは宿主細胞の細胞膜、微絨毛さらには線毛と直接接着しており、宿主細胞への付着に重要な役割を演じているとみなされた。

CAR bacillus 感染症について、間接蛍光抗体法による血清学的診断法の感度を検討した。抗原用プレパラートとしては CAR bacillus SMR 株を実験感染させたマウスの気管切片および菌を増殖させた発育鶏卵尿膜腔液の塗抹を用いた。本菌自然感染ラットコロニーより得られた 13 例の血清を検索した結果、9 例に抗体が検出された（抗体価は $1:10 \sim 1:80$ ）。病理組織学的検索では、菌は抗体陽性例にのみ認められ、血清学的診断と組織学的診断とが一致した。なお、気管粘膜に付着している菌体抗原と発育鶏卵尿膜腔液中の菌体抗原は、いずれも既知の呼吸器系病原体に対する抗体陽性のラット血清および正常対照のラット血清に対しては反応しなかった。次に、本菌自然感染ウサギコロニーから得られた 15 例のウサギ血清の抗体測定では、4 例の陽性例が検出された（抗体価は $1:10$ と $1:40$ ）。またこれらのウサギにおける病理組織学的検索では、抗体陽性 3 例と抗体陰性 3 例で菌が認められ、血清学的診断法と組織学的診断法の成績の間で完全な一致はみられなかった。これは、ウサギの場合は、病変が軽度なため組織学的には菌体を検

出し難いことと、本菌が感染してから抗体が上昇するまでの期間が長いことなどの理由によるものと思われた。さらに、経鼻接種ラットでは、抗体は接種後14日目から21日目までの間に陽転した抗体価は接種後28日目で最高に達し（抗体価 1 : 80 と 1 : 160）、実験終了時の接種後56日目でも高力価が維持されていた。

以上の成績から、ラットにおいては間接蛍光抗体法 CAR bacillus 感染症の血清学的診断に極めて有用であることが示された。

最後に、CAR bacillus の同居感染について、病理組織学的方法と間接蛍光抗体法による血清学的方法を用いて検討した。まずマウスにCAR bacillus SMR 株を経鼻接種し、これを非感染マウスと同一ケージに入れて12週間同居飼育を行った。その結果、同居後 4 週目から感染が成立し始め、同居後12週目では大部分のマウスが感染した。他方、室内同居感染の成立の有無を検討するために経鼻感染したマウスをケージの周囲に、約 3 cm の距離を置いて非感染マウスを入れたケージを配置し、12週間飼育したが、感染例は 1 例も認められなかった。

以上の成績から、CAR bacillus の主要伝播様式は感染動物や汚染媒介物による接触感染であるとみなされた。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	板 倉 智 敏
副 査	教 授	波 岡 茂 郎
副 査	教 授	杉 村 誠
副 査	教 授	橋 本 信 夫

齧歯類において、気道の粘膜上皮の線毛部に感染して慢性呼吸器病を引き起こす cilia-associated respiratory (CAR) bacillus 感染症が、約10年前から問題となっている。本症については、菌の培養が困難なこともあって本態の究明が遅れている。申請者は、ラットとマウスに本菌を実験的に感染させ、本症の病態と血清学的診断法、並びに本菌の伝播様式について研究し、本論文をまとめた。本論文は131頁からなり、4 章で構成されている。

第 1 章では、本菌を経鼻接種したラットの呼吸器系組織を病理組織学的に検索し、病変の詳細を明らかにした。この病変は、粘膜上皮の線毛部への CAR bacillus の付着と、粘膜固有層に

おけるリンパ球反応を特徴としていた。第2章では、実験的に本菌を感染させたラット、マウス及び発育鶏卵の呼吸器系組織を、走査電顕と透過電顕を用いて検索し、菌の形態並びに菌と宿主細胞の相互関係を解明した。菌体表層には粘液層があり、これが宿主細胞との付着に重要な役割を演じていることを指摘した。第3章では、間接蛍光抗体法による本症の血清学的診断法を確立し、その有用性を明確にした。抗原用プレパラートとしては、本菌を感染させたマウスの気管及び菌を増殖させた発育鶏卵尿膜腔液の塗抹を用いたが、両者による抗体価に差はみられなかった。第4章では、マウスを用いて本菌のケージ内同居感染と室内同居感染実験を行い、本菌の主要な感染経路は感染動物あるいは本菌汚染媒介物による接触感染であること、空気感染は成立し難いことを明らかにした。

以上のように、申請者は CAR bacillus 感染症についての系統だてた研究を行い、いくつかの新知見をもたらした。これらの成果は、実験動物の微生物学、病理学並びに疫学に貢献するところが大きい。よって審査員一同は、松下悟氏が博士（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。