

学 位 論 文 題 名

わが国で分離された *Yersinia enterocolitica*
血清型 0 : 8 菌の生態と病原性に関する研究

学位論文内容の要旨

食中毒原因菌である *Yersinia enterocolitica* のうち、0:3、0:5,27、0:8 と 0:9 の 4 血清型菌は検出頻度が高く、代表的な病原性菌とされている。これらのうち、0:3、0:5,27 と 0:9 は世界的に広く分布しているのに対し、病原性の最も強い血清型 0:8（以下 0:8 菌）だけは、北アメリカ大陸にほぼ限局して存在するとされてきた。このため、国際的には 0:8 菌に対する関心が他の病原性 *Y. enterocolitica* に比べて低く、自然界における本菌の生態や分布に関する研究も著しく遅れている。

本研究ではわが国の野ネズミについて病原性 *Yersinia* 属菌の感染調査を実施し、0:8 菌がわが国にも存在することを明らかにするとともに、わが国固有の野ネズミであるヒメネズミ (*Apodemus argenteus*)、ヤチネズミ (*Eothenomys andersoni*) とアカネズミ (*Apodemus speciosus*) ならびにマウス、ラット、イヌとブタに対する本菌の病原性の検討を行った。さらにこれらの成果をもとに、近年、0:8 菌感染症の散発流行がみられる青森県津軽地方において本菌の病原巣動物と感染経路を調査し、疫学的解析を行った。

第1章 1989年8月から1990年10月まで、わが国各地の山野において各種の野生小型哺乳類を捕獲し、*Yersinia* 属菌の保有状況を調査した。*Yersinia* 属菌は、げっ歯類ではヒメネズミ、ヤチネズミ、アカネズミ、カゲネズミ (*Eothenomys kageus*) とハタネズミ (*Microtus montebelli*) の 5 種類の野ネズミ 152 匹中 77 匹 (50.7%)、

ドブネズミ(*Rattus norvegicus*)とクマネズミ(*Rattus rattus*)の2種類の住家性ネズミ56匹中2匹(3.6%)、合計208匹中79匹(38.0%)から、また、食虫目動物ではヒミズ(*Urotrichus talpoides*)、トガリネズミ(*Sorex shinto*)とジネズミ(*Crocidura dsinezumi*)の3種類、合計15匹中7匹(46.7%)から分離された。さらに *Y. enterocolitica* は野ネズミ152匹中58匹(38.2%)と住家性ネズミ56匹中1匹(1.8%)および食虫目動物15匹中5匹(33.3%)から分離された。そこでこれらの分離株について血清型別を行ったところ、新潟県浅草岳で捕獲されたヒメネズミ4匹とヤチネズミ1匹由来の5株が0:8菌と同定された。本例はげっ歯類からの0:8菌の世界最初の分離例であると同時に、常在流行地である北米以外の地での野生動物からの最初の報告例である。

第2章 日本の山野に広く生息するヒメネズミ、ヤチネズミとアカネズミを用いて、新潟県のヒメネズミから分離された0:8菌の経口投与実験を行い、これらの野ネズミの感受性を検討した。すなわち、ヤチネズミとアカネズミにおける ID_{50} 値はそれぞれ $10^{5.7}$ と $10^{7.1}$ であった。これら3種類の野ネズミはいずれも経口投与によって不顕性感染を起こし、無症状のまま長期間糞便に排菌した。排菌期間はヤチネズミで7~21日間、アカネズミで10~28日間、また、ヒメネズミで35~49日間であって、ヒメネズミの排菌期間が他の2種類より長かった。これらのことから、これらの野ネズミは自然界においても0:8菌の病原巣となり得るものと判断された。

第3章 実験動物に対する0:8菌の病原性をみるためにマウスとラットを用い、0:8菌の経静脈あるいは経口投与実験を行った。マウスの経静脈投与による ID_{50} 値と LD_{50} 値はいずれも $<10^{0.3}$ 個、また、経口投与による ID_{50} 値は $<10^{4.9}$ 個、 LD_{50} 値は $<10^{5.2}$ 個であった。すなわち、本菌の経静脈投与は微量でもマウスに致死性であったが、経口投与ではわずかながら生残例も認められた。また、ヒメネズミ由来0:8菌は北米で分離されたヒト敗血症由来の0:8菌WA株よりマウスに対する病原性が強かった。

ラットに0:8菌を経静脈投与した場合の ID_{50} 値と LD_{50} 値はそれぞれ

れ $<10^{3.5}$ と $10^{5.5}$ 、また、経口投与では ID_{50} 値は $10^{4.9}$ 、 LD_{50} 値は死亡例がないため算出できず 10^{10} 個以上となった。少量の経静脈投与では発症しても回復例が多く、菌量の増加とともに死亡率も次第に上昇し、投与菌量と死亡率との間に相関が認められた。また、 10^5 個以上の投与群では関節炎様の所見を示す個体が観察された。しかし、ラットでは大量に経口投与しても関節炎症状は現れず、しかも全例が糞便に長期間排菌しながら回復した。すなわち、これらの成績はマウスの場合とは著しく相違し、むしろ野ネズミの成績に類似することが明らかとなった。

第4章 イヌについて経口投与による0:8菌の病原性を検討した。0:8菌の経口投与後に $NaHCO_3$ 液を飲ませた場合、幼犬(4ヶ月齢)で 10^6 個、また、成犬(12~24ヶ月齢)で 10^9 個以上の投与量で感染が成立し、持続的な糞便への排菌が認められた。排菌期間は、幼犬では7~21日間、また、成犬では7~14日間であった。排菌の認められた個体では発病例は認められなかったが、投与菌に対する血中凝集素価とELISA抗体価が上昇した。しかし、0:8菌の経口投与後に $NaHCO_3$ 処理を受けなかったイヌでは感受性が低く、自然感染しにくいことが示唆された。

第5章 ブタにおける0:8菌の経口投与実験では、2ヶ月齢のブタで10~35日間にわたる直腸便への排菌が認められたが、その排菌量は少なく、しかも大部分が断続的であった。また、4ヶ月齢のブタでは直腸便でも排菌が認められなかった。しかし、排菌例の多くは症状を全く示さなかったものの、投与菌に対する血中凝集素価が上昇し、感染の成立が認められた。すなわち、ブタでは主に幼豚が不顕性感染を起こして糞便にも排菌し得ることから、食肉などの汚染源としても重要と思われる。

第6章 人の0:8菌感染症の散发流行がみられた青森県津軽地方において、1992年の11月、1993年の6月と8月の3回、本菌感染既往者の居住地周辺で野ネズミを捕獲して0:8菌の分離を試みるとともに、野ネズミと患者発生との関係を検討した。0:8菌は1993年の6

月と8月に捕獲されたヒメネズミ、ヤチネズミとアカネズミで、合計193匹中10匹(5.2%)から分離された。そこで、野ネズミ10匹と患者12例から分離された22株の0:8菌について、プラスミドの保有状況を調査したところ、全株から病原性プラスミドが検出された。次に、これらのプラスミドを*Cfo I*で処理して制限酵素切断像を比較したところ、これらはⅠ型とⅡ型の2つに分類され、しかも両型は野ネズミと患者のいずれの分離株でも観察された。これらのことから本地方で発生した0:8菌感染症患者の散発流行には感染源として野ネズミが重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

以上の如く、本研究によりこれまで北米大陸にほぼ限局して分布すると思われていた0:8菌がわが国の野ネズミにも保有され、人への感染源となっていることが明らかとなった。さらに、野生げっ歯類から人への感染経路についても疫学的な解明を行うとともに、マウス、ラット、イヌとブタに対する本菌の病原性について実験的な検討を加えた。これらの成果は、今後の本菌感染症の予防対策を確立する上の基礎資料として極めて重要と思われる。

学位論文審査の要旨

主査	教授	橋本	信夫
副査	教授	喜田	宏
副査	教授	小沼	操
副査	助教授	高島	郁夫

学位論文題名

わが国で分離された *Yersinia enterocolitica* 血清型 0 : 8 菌の生態と病原性に関する研究

食中毒原因菌である *Yersinia enterocolitica* のうち病原性の 0:3 菌、0:5, 27 菌と 0:9 菌は世界的に広く浸淫しているのに対し、最強毒の 0:8 菌は北米大陸に局限して分布するとされてきた。

申請者は 0:8 菌をわが国の野ネズミから分離するとともに各種動物に対する本菌の病原性とヒトへの感染源としての動物の役割を検討した。本論文は和文 146 頁からなり、参考論文 14 編を付している。

わが国に生息する野ネズミについて病原性 *Yersinia* 属菌の感染調査を行ったところ、新潟県で捕獲されたヒメネズミ 4 匹とヤチネズミ 1 匹から計 5 株の 0:8 菌が分離された。これはげっ歯類からの本菌の世界最初の分離例として注目された。そこでヒメネズミ、ヤチネズミとアカネズミに 0:8 菌を経口投与したところ、いずれも無症状のまま糞便への長期排菌が観察された。

実験動物ではマウスの感受性が著しく高く、経口投与で大部分が死亡した。ラットは経静脈投与では 10^5 個以上で関節炎様症状を発現して死亡したが、経口投与では不顕性感染した。イヌとブタも経口投与では不顕性感染し、血中抗体価の上昇が認められた。すなわち、これらの動物はいずれも本菌感染後長く糞便に排菌し、病原巣となり得ることが判明した。

次に、0:8 菌感染症患者在散発した青森県津軽地方で野ネズミから分離された 0:8 菌 10 株と患者由来の 12 株、計 22 株の保有するプラスミドについて制限酵素切断像を比較したところ、これらは I 型と II 型の 2 群に分類された。また両型はヒトと野ネズミのいずれの 0:8 菌にも保有されていたことから、本地方ではヒトへの感染源として野ネズミの重要性が示唆された。

これらの成果は本症の予防対策を確立する上の基礎資料として極めて重要

と思われる。よって審査員一同は林谷秀樹氏が博士（獣医学）の資格を有するものと認めた。