

## 肺パスツレラ

川本英一<sup>1</sup>、喜多正和<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 東京医科大学動物実験センター

<sup>2</sup> 京都府立医科大学大学院医学研究科実験動物センター

### 要 約

病因である *Pasteurella pneumotropica* は *Pasteurella sensu stricto* には属さず、げっ歯類クラスターに分類されている。本菌は生化学的及び遺伝学的性状において多様性を有することが明らかとなってきた。自然宿主はげっ歯類とモルモットである。菌は動物の咽喉頭に最初定着し、主たる感染部位は鼻腔、咽喉頭、大腸、膣である。従って、菌は直接及び間接接触により経鼻、経口、経膣感染によって伝播する。感染動物が免疫学的に正常ならば、ほとんどが不顕性感染である。しかし、他の微生物との混合感染や免疫不全動物においては軽度から死亡を伴う重度な疾病がみられる。本菌の病原因子として RTX toxin タンパク質が報告されている。診断法としては細菌学的、血清学的、遺伝学的方法がある。免疫不全動物を用いる動物実験では、実験成績に本感染が影響を及ぼすので注意が必要である。ヒトの感染はまれである。

### 1. 病因

病因は *Pasteurella pneumotropica* である。分類学的には、真正細菌上界、プロテオバクテリア門、ガンマプロテオバクテリア綱、パスツレラ目、パスツレラ科に分類されるが、属として *Pasteurella sensu stricto* には属さず、属の候補である齧歯類クラスターに属する [1]。このグループは *P. pneumotropica* 以外に *Actinobacillus muris*, *Haemophilus influenzae-murium*, Bisgaard Taxon 17 など 9 菌種を含む。本菌はグラム陰性の短桿菌で、運動性はなく芽胞を形成しない。莢膜などの細胞表層構造を持たないとされてきたが、ネガティブ染色により線毛 [2] が、フェリチン法を用いた透過型電顕により紐状の構造 [3] が観察されている。病原性発現の機序解明の観点からも、表層構造に関するより詳細な研究が必要となろう。本菌は通性嫌気性で、カタラーゼ及びオキシダーゼ陽性、硝酸塩を還元する。生化学的性状の違いから Jawetz 型と Heyl 型の生物型に分けられている [4]。糖分解性の違いからは 6 つのグループに分けられ、多様性を有することが示されている [5]。血清学的性状において共通抗原を有するが、マウス株とラット株では抗原性が異なるとの報告がある [6]。遺伝学的性状については、菌の DNA のパルスフィールド電気泳動、16S rDNA の制限酵素断片の多型 [7] 及び塩基配列解析 [8], [9], *rpoB* 遺伝子の塩基配列解析 [5] などから、

その多様性が明らかとなってきた。

### 2. 宿主

本菌の自然宿主はマウス、ラットなどのげっ歯類とモルモットである [1]。マウス由来及びラット由来株で各々の動物に対する感染性が異なるとの報告がある [10]。本菌の生物・生化学的及び遺伝学的性状を調べた研究において、本菌の宿主特異性を示唆する成績が得られている [5]。本感染症のコントロールを考える際に、本菌の宿主特異性は課題の一つとなろう。

### 3. 感染と免疫

本菌は動物の咽喉頭に最初に定着し、主たる感染部位は鼻腔、咽喉頭、大腸、膣である [11]。従って、菌の伝播は、感染動物との直接接触及び分泌物や糞便によって汚染された物との間接接触による経鼻、経口、経膣感染によって起こると考えられている。感染した動物が免疫学的に正常ならば、ほとんどが不顕性感染である [12]。しかし、*Mycoplasma pulmonis*, Sendai virus や Kilham rat virus と混合感染した場合には、肺病変の出現や死亡がみられ感染の顕性化が起こる。一方、免疫不全動物においては、軽度から死亡を伴う重度な疾病が引き起こされることが知られている。マクロファージ機能欠損や成熟

Bリンパ球欠損マウス (*Pneumocystis murina* との混合感染) では、死亡を伴う肺炎を引き起こす。Tリンパ球機能不全及び欠損マウスにおいては、結膜炎、眼窩や眼窩周囲膿瘍あるいは包皮の膿瘍がみられている。T及びBリンパ球欠損に加えてマクロファージやNK細胞などの機能を欠損した重度免疫不全動物では死亡を伴う肺炎がみられ、上に述べた免疫不全動物の中では最も激しい肺病変の形成が認められている [13]。本菌に感染した免疫不全動物にみられる臨床症状は元気消失、逆毛、体重減少、眼窩周囲の腫脹や目やになどである。病理学的には化膿性炎が共通の病理像である。本感染症防御の機序については免疫系の複雑なネットワークが関与していると推察されるが、それについての研究は少ない。TLR4を発現しているマクロファージが本症の防御に重要な役割を果たしているとの仕事がある [14]。日和見病原体である本菌にとって、免疫不全動物における感染は最も重要な課題の一つと考えられるであろう。

本菌の病原性発現に関与する菌側の要因である病原因子に関する理解は重要であるが、それについての研究はほとんど無い。パストレラ科に属するヒトや家畜の菌の中には、細胞障害性を示す RTX toxin タンパク質を保有する菌種が多数存在する。本菌にも3種類 (PnxIA, PnxIIA 及び PnxIIIA) の RTX toxin タンパク質が存在していることが報告されている [15, 16]。この内、PnxIA と PnxIIA は弱い溶血活性を示し、PnxIIIA はその多くが細胞外膜表面に存在して細胞外マトリックスに付着する能力を有し、げっ歯類由来の培養細胞に対して細胞毒性を示すことが明らかとなってきている。

#### 4. 診断と予防・コントロール法

診断は菌の分離・同定によって通常行われている。検査材料としては、主として咽喉頭や気管粘液が使用されている。培養はこれらの材料を液体培地で増菌後あるいは寒天平板培地に直接接種して行う。液体培地としては BHI や GN ブロスが、平板培地には血液寒天やクリンタマイシン加培地が用いられている [17]。選択性を高めるために複数の抗菌剤を加えた NKBT 培地も報告されている [11]。培養後、分離された集落の生物・生化学的性状を調べて同定する。同定には市販の同定キットを用いることも出来る。血清学的診断法として、全菌体抗原やリポオリゴ糖抗原を用いる ELISA が報告されている [18]。遺伝学的診断法としては、16S rDNA のプライマーを用いた菌の同定や分離が報告されている [19]。ただし、いずれの方法を用いたとしても、前述したように本菌

の生化学的及び遺伝学的性状の多様性に起因して、本菌の正確な同定は困難な状況にある。現時点ではそれ故、我が国のワーキンググループによって推奨されている方法 [20] に従って菌の同定を行うことが妥当であろう。

予防に有効なワクチンは開発されていない。従って、本菌に感染した動物、本菌に汚染された器具・機材などを施設に導入しないことが予防にとって重要である。本症のコントロール法としては、微生物モニタリング、感染動物の排除、感染フリーコロニーの確立が特に重要である。不顕性感染コロニーからの本菌排除には、ニューキノロン系のエンロフロキサシンの投与が有効である [21]。感染フリーコロニーの確立は子宮切断や受精卵移植によって行う。

#### 5. 実験への影響及び人獣共通感染症のリスク

前述したように、免疫不全動物における本菌の感染は軽度から死亡を伴う重度な疾病を引き起こすことによって実験成績に影響を与えるので、免疫不全動物を用いた動物実験では特に注意が必要である。しかしながら、最近、本菌を感染させた正常 C57BL/6 マウスにおいても、組織学的な異常は認められないが、IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , CCL3 などのサイトカイン mRNA 発現上昇などの免疫学的変化が認められることより、免疫に関する実験成績に影響を与える可能性が示唆されている [22]。

過去には本菌によるヒトの感染例が報告されていたが、パストレラ科の分類の変更によって本菌の主たる自然宿主がげっ歯類であることが判明したことにより、ヒトにおける本菌の感染はまれであることが明らかとなった。近年、透析チューブの破損に起因する幼児の腹膜炎や敗血症例が報告されている [23]。

#### 謝辞

本稿執筆に貴重なご助言をいただいた東京医科大学動物実験センター佐々木啓博士に深謝いたします。

#### 引用文献

1. Olsen, I., Dewhirst, F.E., Paster, B.J., and Busse, H.J. 2005. Pasteurellaceae. pp. 851–856. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, Part B, 2nd edn. (Brenner, D.J., Kreig, N.R., and Staley, J.T. eds.), Springer, New York.
2. Boot, R., Thuis, H., and Teppema, J.S. 1983. Hemagglutination by Pasteurellaceae isolated from rodents.

- Zent. Bact.* 279: 259–273.
3. Kawamoto, E., Okiyama, E., Sasaki, H., Sawada, T., Mikazuki, K., and Ueshiba, H. 2006. Ultrastructural characteristics of the external surfaces of *Pasteurella pneumotropica* from mice and *Pasteurella multocida* from rabbits. *Lab. Anim.* 41: 285–291.
  4. Mitters, R., Christensen, H., and Bisgaard, M. 2005. *Pasteurella*. pp. 857–866. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Part B, 2nd edn. (Brenner, D.J., Kreig, N.R., and Staley, J.T. eds.), Springer, New York.
  5. Sasaki, H., Kawamoto, E., Tanaka, Y., Sawada, T., Kunita, S., and Yagami, K. 2009. Comparative analysis of *Pasteurella pneumotropica* isolates from laboratory mice and rats. *Ant. Leeuwen.* 95: 311–317.
  6. Nakagawa, M. and Saito, M. 1984. Antigenic characterization of *Pasteurella pneumotropica* isolated from mice and rats. *Exp. Anim.* 33: 187–192.
  7. Sasaki, H., Kawamoto, E., Okiyama, E., Ueshiba, H., Mikazuki, K., Amao, H., and Sawada, T. 2006. Molecular typing of *Pasteurella pneumotropica* isolated from rodents by amplified 16S ribosomal DNA restriction analysis and pulsed-field gel electrophoresis. *Microbiol. Immunol.* 50: 265–272.
  8. Hayashimoto, N., Takakura, A., and Itoh, T. 2005. Genetic diversity on 16S rDNA sequence and phylogenetic tree analysis in *Pasteurella pneumotropica* strains isolated from laboratory animals. *Curr. Microbiol.* 51: 239–243.
  9. Sasaki, H., Kawamoto, E., Ueshiba, H., Amao, H., and Sawada, T. 2006. Phylogenetic relationship of *Pasteurella pneumotropica* isolates from laboratory rodents based on 16S rDNA sequence. *J. Vet. Med. Sci.* 68: 639–641.
  10. Nakagawa, M., Saito, M., and Kojima, K. 1981. Mutual transmission of *Pasteurella pneumotropica* between mice and rats. *Jpn. J. Vet. Sci.* 43: 937–940.
  11. Mikazuki, K., Hirasawa, T., Chiba, H., Takahashi, K., Sasaki, Y., Ohhara, S., and Nenui, H. 1994. Colonization pattern of *Pasteurella pneumotropica* in mice with latent pasteurellosis. *Exp. Anim.* 43: 375–379.
  12. Jacoby, R.O., Fox, J.G., and Davisson, M. 2002. Biology and diseases of mice. pp. 35–120. In: *Laboratory Animal Medicine* (Fox, J.G., Anderson, L.C., Loew, F.M., and Quimby, F.W. eds.), New York, Academic Press.
  13. Kawamoto, E., Sasaki, H., Okiyama, E., Kanai, T., Ueshiba, H., Ohnishi, N., Sawada, T., Hayashimoto, N., Takakura, A., and Itoh, T. 2011. Pathogenicity of *Pasteurella pneumotropica* in immunodeficient NOD/ShiJic-scid/Jcl and immunocompetent Crlj:CD 1 (ICR) mice. *Exp. Anim.* 60: 463–470.
  14. Hart, M.L., Mosier, D.A., and Chapes, S.K. 2003. Toll-like receptor 4-positive macrophages protect mice from *Pasteurella pneumotropica*-induced pneumonia. *Infect. Immun.* 71: 663–670.
  15. Sasaki, H., Kawamoto, E., Tanaka, Y., Sawada, T., Kunita, S., and Yagami, K. 2009. Identification and characterization of hemolysin-like proteins similar to RTX toxin in *Pasteurella pneumotropica*. *J. Bacteriol.* 191: 3698–3705.
  16. Sasaki, H., Ishikawa, H., Sato, T., Sekiguchi, S., Amao, H., Kawamoto, E., Matsumoto, T., and Shirama, K. 2011. Molecular and virulence characteristics of an outer membrane-associated RTX exoprotein in *Pasteurella pneumotropica*. *BMC Microbiol.* 11: 55.
  17. Boot, R., Thuis, H.C.W., Veenema, J.L., Bakker, R.H.G., and Walvoort, H.C. 1994. Colonization and antibody response in mice and rat experimentally infected with Pasteurellaceae from different rodent species. *Lab. Anim.* 28: 130–137.
  18. Boot, R., Thuis, H.C.W., Veenema, J.L., and Bakker, R.G. H. 2005. An Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for monitoring rodent colonies for *Pasteurella pneumotropica* antibodies. *Lab. Anim.* 29: 307–313.
  19. Boot, R., Vlemminx, M.J., and Reubasaet, F.A.G. 2009. Comparison of polymerase chain reaction primer sets for amplification of rodent Pasteurellaceae. *Lab. Anim.* 43: 371–375.
  20. Hayashimoto, N., Aiba, T., Itoh, K., Kato, M., Kawamoto, E., Kiyokawa, S., Morichika, Y., Muraguchi, T., Narita, T., Okajima, Y., Takakura, A., and Itoh, T. 2005. Identification procedure for *Pasteurella pneumotropica* in microbiologic monitoring of laboratory animals. *Exp. Anim.* 54: 123–129.
  21. Ueno, Y., Shimizu, R., Nozu, R., Takahashi, S., Yamamoto, M., Sugiyama, F., Takakura, A., Itoh, T., and Yagami, K. 2002. Elimination of *Pasteurella pneumotropica* from a contaminated mouse colony by oral administration of enrofloxacin. *Exp. Anim.* 51: 401–405.
  22. Patten, C.C. Jr., Myles, M.H., Franklin, C.L., and Livingston, R.S. 2010. Perturbations in cytokine gene expression after inoculation of C57BL/6 mice with *Pasteurella pneumotropica*. *Comp. Med.* 60: 18–24.
  23. Frebourg, N.B., Berthelt, G., Hocq, R., Chibani, A., and Lemeland, J.-F. 2002. Septicemia due to *Pasteurella pneumotropica*: 16S rDNA sequencing for diagnosis confirmation. *J. Clin. Microbiol.* 40: 687–689.