

重度免疫不全動物などの易感染性動物の感染症

林元展人

公益財団法人実験動物中央研究所

ICLAS モニタリングセンター

はじめに

実験動物のマウス、ラットなどの小型齧歯類の感染症起因微生物のほとんどは既知であり、その病原性や伝播性、流行度を元にし、さらに動物側の要因（実験内容、免疫機能など）を加味して微生物モニタリング項目は設定される。これらの項目は地域により若干の違いがあるものの世界的に見て大きな違いはない。近年、従来の免疫不全動物よりもさらに免疫機能が低いNOGマウスのような重度免疫不全動物や、実験の目的に合わせて感染免疫に関連する遺伝子を操作した動物が作出され、様々な実験に利用されるようになってきた。これらの動物、特に前者の重度免疫不全動物は微生物に感染しやすい、いわゆる易感染性であり、厳重な微生物学的管理が必要である。

易感染性の動物では一般的に知られている感染症起因微生物に加え、ありとあらゆる飼育環境中の微生物が感染症を引き起こす可能性があり、またこれらの微生物が起因とならなくても感染症の増悪因子として関与する可能性がある。動物実験では易感染性の動物の利用は今後も増加していくと思われるが、これらの感染症の情報は非常に少ない。このような背景のもと今回著者の所属する公益財団法人実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター（以下、実中研 ICLAS モニタリングセンターという）で経験した易感染性動物の感染症症例のいくつかを紹介する。尚、ユーザー情報の保護の観点から情報が明確化されていない部分があるがご容赦頂きたい。

症例 1. *Rag2* ノックアウトマウスに見られた

Pneumocystis murina 感染症

動物：*Rag2* ノックアウトマウス、雄、19 週齢
 由来施設：A 大学
 主訴：衰弱、突然死
 剖検所見：肺の退縮不全、一部灰白色化ならびに肝変化
 検査結果：*Pneumocystis murina* 陽性（追加検査）、他の検査項目（実中研 ICLAS モニタリングセンター通常動物コアセット）は全て陰性

本マウスでは、まずうずくまりの状態が確認されるとともに、体全体で大きく呼吸をしている様子が観察された。剖検時には上述したように退縮不全を中心とした肺の病変が観察された（図 1）。肺をサンプルとした PCR では *Pneumocystis murina* (*P. murina*) が陽性となり、病理組織学的検査でも HE 染色像で特徴的な肺胞腔内に充満する泡沫状滲出物が見られ、滲出物中に Grocott & Giemsa 染色で黒染する本真菌のシストが確認された（図 2）。

このマウスでは *P. murina* の検査は実施されていなかった。また飼育環境中には本真菌を不顕性で保有する可能性がある野生型マウス等の健全な免疫機能を持つ系統は飼育されていなかった。Recombination-activating gene 2 (*Rag2* 遺伝子) は T 細胞ならびに B 細胞の受容体遺伝子の再構成に必要であり、*Rag2* が欠損することにより T 細胞ならびに B 細胞の分化が起こらず、免疫不全状態となる [1]。*Rag2* ノックアウトマウスにおける *P. murina* 感染症は著者の所属する実中研 ICLAS モニタリングセンターにおける検査でも年に数例程度検出される。

症例 2. *Myd88* ノックアウトマウスにおける

Staphylococcus aureus 感染症

動物：*Myd88* ノックアウトマウス、雄、7 週齢
 由来施設：製薬企業 B
 主訴：斜頸、突然死
 検査結果：*Staphylococcus aureus* 陽性（追加検査）、他の検査項目（実中研 ICLAS モニタリングセンター通常動物コアセット）は全て陰性

本マウスでは元気消失とともに右側斜頸（図 3）、右側一方向に円を描くような歩行が確認された。剖検所見では胸腔、腹腔内の主要臓器に著変が認められなかったものの、右側耳腔を閉塞する集積物が確認された（図 3）。集積物からは *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) が単独で分離され、病理組織学的検査では化膿性中耳炎ならびに化膿性内耳炎が確認された（図 4）。

このマウスでは *S. aureus* の検査は実施されてい

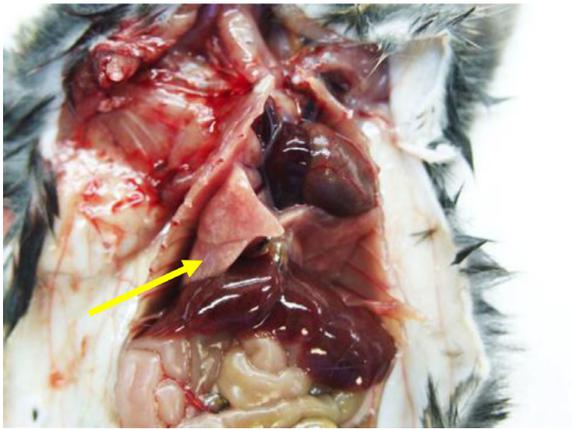


図1 *Rag2* ノックアウトマウスに見られた両肺の退縮不全と肝変化 (黄色矢印). PCR 検査により *Pneumocystis murina* の陽性が確認された.

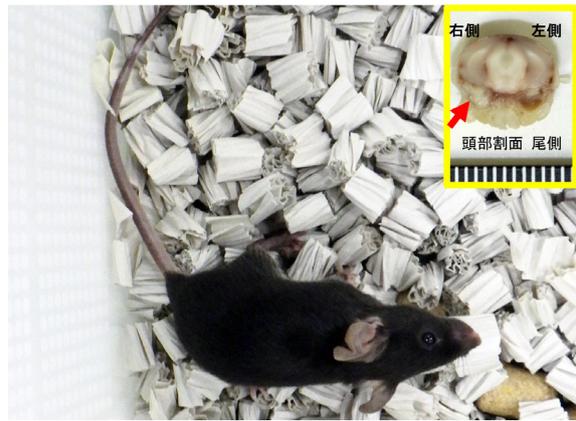


図3 *Myd88* ノックアウトマウスに見られた右側斜頸。Inset: 頭部断面の肉眼所見で右側耳腔内を閉塞する集積物が充満しており (赤色矢印), *Staphylococcus aureus* が単独で分離された.

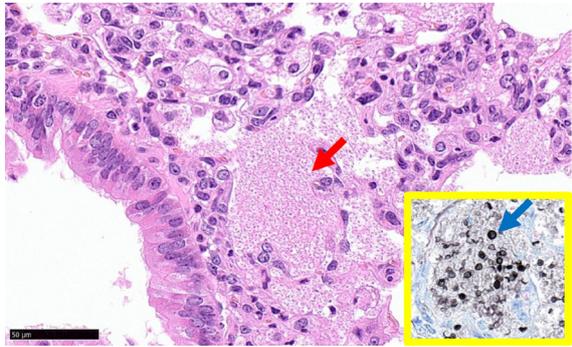


図2 *Rag2* ノックアウトマウスに見られた *Pneumocystis murina* 感染による肺病変, 肺胞腔内に泡沫状滲出物の充満が見られる (赤色矢印), HE 染色 (Bar=50 μ m). Inset: 滲出物内に Grocott 染色に黒染する *P. murina* のシストが見られる (青色矢印), Grocott & Giemsa 染色 (HE 染色写真と等倍).

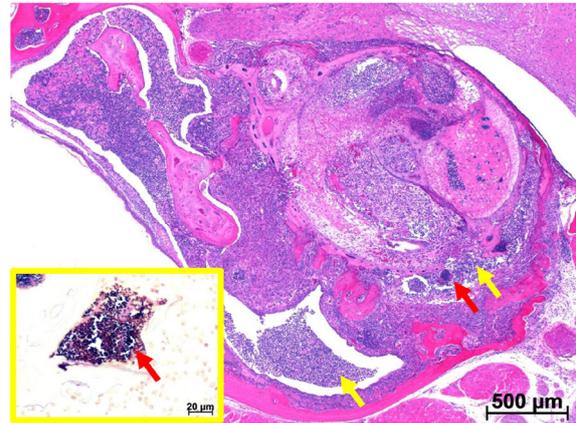


図4 *Myd88* ノックアウトマウスの右側耳腔に見られた *Staphylococcus aureus* 感染による化膿性中耳炎および化膿性内耳炎. 中耳腔ならびに内耳への好中球を主体とした炎症性細胞浸潤 (黄色矢印) が見られ, 内耳にグラム陽性球菌塊を認める (赤色矢印). HE 染色 (Bar=500 μ m). Inset: 内耳に見られたグラム陽性を示す球菌塊 (赤色矢印), Gram 染色 (Bar=20 μ m).

かった。また飼育環境中には本菌を不顕性で保有する可能性がある野生型マウス等の健全な免疫機能を持つ系統は飼育されていなかった。Myeloid differentiation primary response (MyD) 88 は全ての Toll-like receptor を介した病原微生物の構成成分による炎症性サイトカインの誘導に必須であり, *Myd88* ノックアウトマウスでは様々な細菌に対し易感染性となることが報告されている [2-4]。

症例 3. NOG マウスにおける *Staphylococcus sciuri* 感染症

動物: NOG マウス (NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Sug}/ShiJic), 雌, 32 週齢

由来施設: 製薬企業 C

主訴: 脱毛, 衰弱, 突然死

検査結果: *Staphylococcus sciuri* 陽性 (追加検査), 他の免疫不全動物用検査項目 (実中研 ICLAS モニタリングセンター免疫不全動物コアセット) は全て陰性

本マウスでは元気消失とともに頸背部を中心とした被毛粗剛, 鱗屑, 脱毛が確認された (図 5)。剖検所見では胸腔, 腹腔内の主要臓器に著変は認められな



図5 NOGマウスに見られた被毛粗剛・脱毛, 鱗屑(黄色矢印), 皮膚スワブからは *Staphylococcus sciuri* が単独で分離された。



図7 NOGマウスに見られた被毛粗剛ならびに眼瞼浮腫。皮膚スワブからは *Corynebacterium bovis* が単独で分離された。

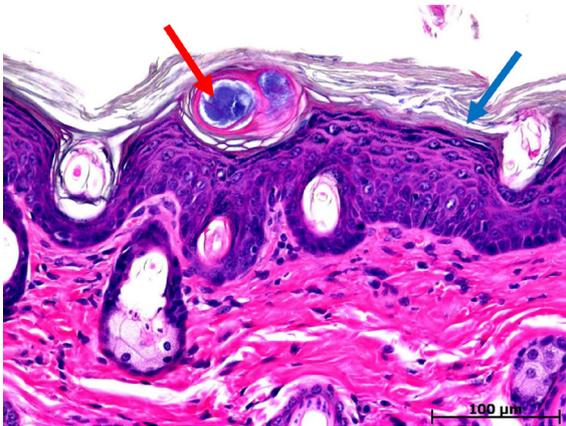


図6 NOGマウスの *Staphylococcus sciuri* 感染による皮膚の過角化を伴った表皮肥厚(青色矢印), 角質内には球菌塊が確認された(赤色矢印), HE染色 (Bar=100 μm)。

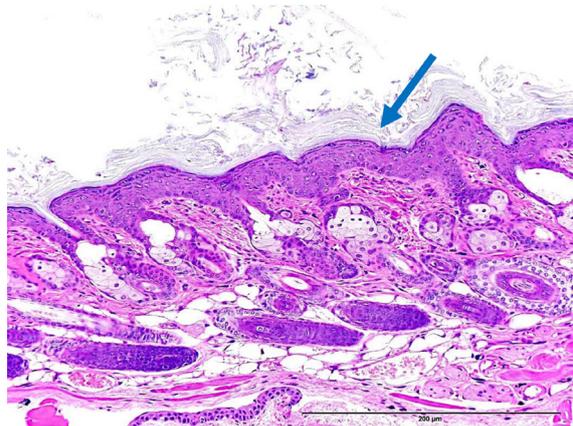


図8 NOGマウスの *Corynebacterium bovis* 感染で見られた皮膚の過角化を伴った表皮肥厚(青色矢印), HE染色 (Bar=200 μm)。

かった。皮膚ならびに外耳道のスワブからは *Staphylococcus sciuri* (*S. sciuri*) が単独で分離された。病理組織学的検査では皮膚に過角化を伴った表皮肥厚症が見られ角質内には球菌の存在が確認された(図6)。また中耳にも滲出性中耳炎が見られ, 球菌の存在が確認された。NOGマウスはT細胞, B細胞とナチュラルキラー細胞を欠失する重度免疫不全動物である[5]。本マウスのコロニーにおいて, 通常免疫不全項目は定期的に検査され, 全て陰性であることが確認されていた。本症例では起因菌として環境中の菌である *S. sciuri* の関与が強く疑われた。*S. sciuri* はコアグラマーゼ陰性のグラム陽性球菌で動物の皮膚や粘膜の常在菌の一種であり, ヒトの心内膜炎などからも分離された例がある。また土壌や水があるところなどの外部環境にも存在することが知られている[6-8]。

症例4. NOGマウスにおける *Corynebacterium bovis* 感染症

動物: NOGマウス (NOD.Cg-Prkdc^{scid1}l2rg^{tm1Sug}/ShiJic), 雌, 20週齢

由来施設: 製薬企業D

主訴: 脱毛, 衰弱

検査結果: *Corynebacterium bovis* 陽性(追加検査), 他の免疫不全動物用検査項目(実中研 ICLAS モニタリングセンター免疫不全動物コアセット)は全て陰性

本マウスでは元気消失とともに被毛粗剛ならびに眼瞼浮腫が確認された(図7)。剖検所見では胸腔, 腹腔内の主要臓器に著変は認められなかった。皮膚スワブからは *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*) が単独で分離された。病理組織学的検査では皮膚の過角

化を伴った表皮肥厚症が確認された (図 8)。本マウスのコロニーでは一般的な免疫不全項目は定期的に検査され、全て陰性であることが確認されていた。*C. bovis* は主に免疫不全マウスに皮膚疾患を起こすことが知られている [9]。また動物施設内に入り込むと飼育環境中に残存し、排除が難しいことが報告されている [10]。

おわりに

易感染性動物における感染症の発生は比較的多く、実中研 ICLAS モニタリングセンターではその程度の大小を問わず年に数十例ほど見出される。これらの起因のほとんどが偶発的に感染した日和見病原体や飼育環境中の細菌である。異常所見としては被毛粗剛や脱毛、肺の肝変化、肝臓の白斑、腸管壁の肥厚などが多く見られる。本稿には記載をしなかったが *Helicobacter hepaticus* (*H. hepaticus*)、*H. bilis* 以外の *Helicobacter* 属菌の感染例も散見される。易感染性動物に見られる異常は他の動物に見られる異常に比べ感染症に起因する可能性が高いことから、易感染動物に異常が見られた際には微生物モニタリング項目の検査に加え病変部の培養検査や病理組織学的検査など、原因追及のための検査を行うべきである。本稿では実中研 ICLAS モニタリングセンターの検査において易感染性動物に見られた 4 つの感染症例を紹介した。今後、易感染性動物を用いた実験はさらに増えていくと思われる。これらの動物を扱う飼育者、研究者は微生物学的管理に対し、より一層の高い意識を持って頂きたいと思う。

謝辞

本稿において病理組織学的検査を担当して頂いた (公財) 実験動物中央研究所 病理解析センターの保田昌彦博士に感謝の意を表します。

文献

1. Shinkai, Y., Rathbun, G., Lam, KP., Oltz, EM., Stewart, V., Mendelsohn, M., Charron, J., Datta, M., Young, F., Stall, AM. and Alt, FW. (1992) RAG-2-Deficient Mice Lack Mature Lymphocytes Owing to Inability to Initiate V(D)J Rearrangement, *Cell*, 68: 855–867.
2. Takeda, K. (2005) Toll-like receptor, *Jpn. J. Clin. Immunol.*, 28: 309–317.
3. Takeuchi, O., Hoshino, K., Akira, S. (2000) Cutting edge: TLR2-deficient and MyD88-deficient mice are highly susceptible to *Staphylococcus aureus* infection. *J. Immunol.*, 165: 5392–5396.
4. Villano, J.S., Rong, F., Cooper, T.K. (2014) Bacterial infection in Myd88-deficient mice. *Comp. Med.*, 64: 110–114.
5. 公益財団法人実験動物中央研究所 NOG マウス https://www.ciea.or.jp/laboratory_animal/nog.html (2020年5月29日)
6. Hedin, G., and M. Widerstrom. (1998) Endocarditis due to *Staphylococcus sciuri*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 17: 673–675.
7. Hauschild, T., and S. Schwarz. (2003) Differentiation of *Staphylococcus sciuri* strains isolated from free-living rodents and insectivores. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health*, 50: 241–246.
8. Kloos, W. E. (1980) Natural populations of the genus *Staphylococcus*. *Annu. Rev. Microbiol.*, 34: 559–592.
9. Kim, TH., Kim, DS., Han, JH., Chang, SN., Kim, KS., Seok, SH., Kim, DJ., Park, JH., Park, JH. (2014) Detection of *Corynebacterium bovis* infection in athymic nude mice from a research animal facility in Korea. *J. Vet. Sci.*, 15: 583–586
10. Holly N Burr, Felix R Wolf, Neil S Lipman. (2012) *Corynebacterium bovis*: Epizootiologic Features and Environmental Contamination in an Enzootically Infected Rodent Room. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.*, 51: 189–198.