



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Studies on the Establishment of a New Animal Model for Q Fever and Some Characteristics of Japanese Isolates of *Coxiella burnetii*

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 安藤, 匡子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2209

氏名(本籍)	安藤 匡子(栃木県)		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博甲第155号		
学位授与年月日	平成16年3月15日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻		
研究指導を受けた大学	岐阜大学		
学位論文題目	Studies on the Establishment of a New Animal Model for Q Fever and Some Characteristics of Japanese Isolates of <i>Coxiella burnetii</i> (Q熱の新しい動物モデルの確立および <i>Coxiella burnetii</i> 日本分離株の性状解析)		
審査委員	主査	岐阜大学	教授 福士 秀人
	副査	帯広畜産大学	教授 白幡 敏一
	副査	岩手大学	教授 品川 邦汎
	副査	東京農工大学	教授 本多 英一
	副査	岐阜大学	教授 源 宣之

論文の内容の要旨

Q熱は偏性細胞内寄生性細菌、*Coxiella burnetii* (*C. burnetii*) 感染による人獣共通感染症である。Q熱の病態および本菌の病原性を解明する動物モデルとして免疫不全 SCID マウスを感染実験により評価しその有用性を明らかにするとともに、日本分離株の分子生物学的性状の一端および薬剤感受性を明らかにした。

急性標準株である Nine Mile 株を SCID マウスに接種し、*C. burnetii* に対する感受性を免疫正常マウスと比較した。本菌を接種した SCID マウスは、立毛や背湾姿勢および著しい体重の減少などを示し斃死した。肝臓および脾臓は顕著に腫大していた。心臓、肺、肝臓、脾臓および腎臓では、細胞質内に *C. burnetii* を含むマクロファージが浸潤していた。心臓では石灰化も認められた。本菌を接種した免疫正常マウスは症状を示さず斃死しなかった。SCID マウスは *C. burnetii* 感染に極めて高い感受性を示し、Q熱が宿主因子により重症化し、慢性の病態も示すことを証明した。

慢性標準株である Priscilla 株の SCID マウスにおける病態を解析した。Priscilla 株感染 SCID マウスでは、立毛および腹部膨満が認められたが、体重減少なしに斃死した。心臓および肝臓の組織病変は、Nine Mile 株感染 SCID マウスよりも軽度であった。一方、免疫正常マウスでは株間に相異が認められなかった。病原体因子も Q熱の病態の多様性

に關与していることを明らかにした。

日本分離株の性状を解析するため、日本分離菌 72 株について *icd* 遺伝子および *com1* 遺伝子の PCR 産物制限酵素切断像解析を行った。*icd* 遺伝子は、49 株が海外慢性株と同じ型であった。これら菌株について PCR 産物の塩基配列を解析した結果、既報の海外および日本分離株の塩基配列とは異なっていたが、推定アミノ酸配列はプラスミド非保有慢性株群と一致した。しかし、*com1* 遺伝子の遺伝子型には適合しなかった。以上の結果から、日本には海外分離株と異なる性状の菌株が存在することを示唆した。

日本分離株の薬剤感受性を明らかにするため、*C. burnetii* 薬剤感受性試験について、高感受性の BGM 細胞を用いる shell vial 法の改良法を確立した。テトラサイクリンおよびフルオロキノロンに対する感受性は日本分離株と海外標準株では同等であった。この結果から、日本の Q 熱の臨床像は海外と異なると報告されているが、化学療法に対しては同様の効果が期待できることを示した。

以上の結果から、Q 熱の新しいモデル動物として、SCID マウスが有用であることを明らかにした。さらに、日本分離株と海外分離株の分子生物学的相異の一端が明らかになり、日本における Q 熱は海外と異なる可能性が示唆された。また、日本分離株について抗生物質に対する感受性をはじめて解析した。

審 査 結 果 の 要 旨

申請者、安藤匡子君の学位論文は世界中に広く分布する偏性細胞内寄生性細菌、*Coxiella burnetii* (*C. burnetii*) 感染による人獣共通感染症である Q 熱の病態および本菌の病原性を解明する動物モデルとして免疫不全 SCID マウスを感染実験により評価しその有用性を明らかにするとともに、日本分離株の分子生物学的性状の一端および薬剤感受性を明らかにしたものである。

氏ははじめに、急性標準株である Nine Mile 株を用い、SCID マウスの *C. burnetii* に対する感受性を免疫正常マウスと比較した。本菌を接種した SCID マウスは、立毛や背湾姿勢などの症状を呈し、著しい体重の減少を呈し斃死した。最長生存日数は接種後 47 日間であった。肝臓および脾臓の顕著な腫大が認められた。心臓、肺、肝臓、脾臓および腎臓では、細胞質内に *C. burnetii* を大量に含むマクロファージの顕著な浸潤が認められた。心臓ではヒトの慢性 Q 熱心内膜炎の特徴的所見である石灰化も認められた。一方、本菌を接種した免疫正常マウスは症状を示さず斃死もみられなかった。以上の結果、SCID マウスは *C. burnetii* 感染に極めて高い感受性を示すことから、Q 熱は宿主因子 (免疫不全) により重症化し、慢性の病態も示すことを証明した。

次いで、慢性標準株である Priscilla 株の SCID マウスにおける病態を解析した。Priscilla 株感染 SCID マウスでは、立毛および腹部膨満が認められたが、体重の著しい減少はなく斃死した。最長生存日数は 119 日間であった。心臓および肝臓の組織病変は、Nine Mile 株感染 SCID マウスよりも軽度であった。慢性標準株は急性標準株よりも病原性が弱く、症状、生存日数および組織像において株間に相異が認められた。一方、免疫正常マウスでは株間に相異が認められなかった。このように、慢性および急性標準株感染を比較し、SCID マウスが *C. burnetii* 株の病原性評価モデルとして有用であることを示唆

した。また、病原体因子も Q 熱の病態の多様性に関与していることをはじめて明らかにした。

日本分離株の性状を解析するため、日本での分離菌 72 株について、急性および慢性株の型別の指標となる *icd* 遺伝子およびプラスミド非保有慢性株の指標となる *com1* 遺伝子の PCR 産物制限酵素切断像 (PCR-RFLP) 解析を行った。*icd* 遺伝子は、49 株が既報の日本分離株と異なり、海外慢性株と同じ型であった。さらに、これら菌株について PCR 産物の塩基配列を解析した結果、既報の海外および日本分離株の塩基配列とは異なっていたが、推定アミノ酸配列はプラスミド非保有慢性株群と一致した。しかし、*com1* 遺伝子の遺伝子型には適合しなかった。以上の結果から、日本には海外分離株と異なる性状の菌株が存在することを示唆した。

さらに日本分離株の薬剤感受性を明らかにするため、*C. burnetii* 薬剤感受性試験について、高感受性の BGM 細胞を用いる shell vial 法の改良法を確立した。本方法により、Q 熱患者由来日本分離株の薬剤 4 種に対する感受性を海外分離株と比較した。テトラサイクリンおよびフルオロキノロンに対する感受性は日本分離株と海外標準株では同等であった。この結果から、日本の Q 熱の臨床像は海外と異なると報告されているが、化学療法に対しては同様の効果が期待できることを示した。

以上の結果から、Q 熱の新しいモデル動物として、SCID マウスが有用であることを明らかにした。さらに、日本分離株と海外分離株の分子生物学的相異の一端が明らかになり、日本における Q 熱は海外と異なる可能性が示唆された。また、日本分離株について抗生物質に対する感受性をはじめて解析した。

以上について、審査委員会全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

1) 題 目: SCID mouse model for lethal Q fever

著 者 名: Andoh, M., Naganawa, T., Hotta, A., Yamaguchi, T., Fukushi, H.,
Masegi, T. and Hirai, K.

学術雑誌名: Infection and Immunity

巻・号・頁・発行年: 71(8): 4717-4723, 2003

既発表学術論文

1) 題 目: At least four non-env factors that reside in the LTR, in the 5'-non-coding region, in gag and in part of pol affect neuropathogenicity of PVC-441 murine leukemia virus (MuLV)

著 者 名: Tanaka, A., Saida, K., Andoh, M., Maeda, K. and Kai, K.

学術雑誌名: Virus Research

巻・号・頁・発行年: 69 (1): 17-30, 2000

- 2) 題 目 : Phase variation analysis of *Coxiella burnetii* during serial passage
in cell culture by use of monoclonal antibodies
著 者 名 : Hotta, A., Kawamura, M., To, H., Andoh, M., Yamaguchi, T.,
Fukushi, H. and Hirai, K.
学術雑誌名 : Infection and Immunity
卷・号・頁・発行年 : 70 (8) : 4747-4749, 2002
- 3) 題 目 : Use of monoclonal antibodies to lipopolysaccharide for antigenic
analysis of *Coxiella burnetii*
著 者 名 : Hotta, A., Kawamura, M., To, H., Andoh, M., Yamaguchi, T.,
Fukushi, H., Amano, K. and Hirai, K.
学術雑誌名 : Journal of Clinical Microbiology
卷・号・頁・発行年 : 41 (4) : 1747-1749, 2003