

学 位 論 文 要 旨

博士課程 ①・乙	第 号	氏 名	神田 卓弥
[論文題名]			
<p><i>Mycoplasma bovis</i> が分離された牛の疣贅性心内膜炎の病態に関する研究</p> <p>Bovine Endocarditis Associated with <i>Mycoplasma bovis</i> Journal of Comparative Pathology, 171:53-58. 2019, DOI: 10.1016/j.jcpa.2019.07.003</p>			
[要 旨]			
<p><i>Mycoplasma bovis</i> (<i>M. bovis</i>)は牛に対して、肺炎・乳房炎・中耳炎・関節炎等の様々な病態を生じさせる。<i>M. bovis</i> の病原因子は十分に解明されていないが、細胞への接着と侵入、活性酸素種の産生等の宿主に対する直接の病原性のほか、リンパ球の疲弊化、好中球の浸潤抑制、マクロファージファゴソーム内での生存等の宿主免疫回避機構を介した病原性が知られている。牛の心内膜炎の多くが、細菌等の微生物が血行性に心臓の主に弁膜に接着し定着することで増殖性の病変を形成する感染性心内膜炎である。心内膜炎は、多くの場合に特異的な臨床兆候がなく、そのほとんどがと畜検査において摘発される。本研究では、世界的に未報告の <i>M. bovis</i> が分離された牛の心内膜炎症例について、病理組織学的・微生物学的調査研究を行った。</p> <p>2015年8月から2020年5月までの期間に、鹿児島県内4箇所の食肉衛生検査所において、心内膜炎と診断された牛のうち、左心房壁に5cm以上の病変を認めた12頭（黒毛和種牛、21～210ヶ月齢）から、心臓、肺、腎臓、肝臓および脾臓を採材した。</p> <p>細菌学的検査として、各臓器小片をPPL0液体培地に接種し、<i>M. bovis</i> の分離を実施した。<i>M. bovis</i> の同定は、Loop-mediated isothermal amplification(LAMP)、16s rDNAおよび <i>uvrC</i> の特異領域を増幅させるPCR法で行った。さらに <i>M. bovis</i> 以外の一般細菌検査のために、各臓器を羊血液寒天培地に接種し、微好気ならびに嫌気下で1週間培養した。各臓器から分離された <i>M. bovis</i> の分子疫学解析のために、Multi Locus Sequence Typing(MLST)解析を行った。すなわち、分離された <i>M. bovis</i> に対して7遺伝子(<i>dnaA</i>, <i>gltX</i>, <i>gyrB</i>, <i>gpsA</i>, <i>pta2</i>, <i>tdk</i>, <i>tkl</i>)を対象にダイレクトシーケンスを実施し、PubMLST(https://pubmlst.org/)を用いてそれぞれの遺伝子のアレルタイプを決定した。</p> <p>病理組織学的検査として、各臓器はホルマリン固定の後、定法に従い切片を作製し、</p>			

HE 染色、マッソントリクローム(MT)染色、グラム染色、抗酸菌染色および免疫組織化学的染色(IHC)を実施した。

心内膜炎と診断された症例牛は、全て異なる農場で飼養されていた。生体検査において異常を認めず、発育は健康畜と同等程度であった。心内膜炎の病変は、全て肺静脈が開口する左心房の壁(肉柱部)に位置し、心房内腔に突出した直径5~12cm大の乾酪性の病変を形成していた。うち2例は肺静脈にも病変が達し、肺のリンパ節は腫大していた。その他の主要臓器に特筆すべき肉眼所見は認められなかった。

12頭全ての心臓病変部位から *M. bovis* が分離された。病理組織学的検査では、変性好中球の浸潤した多発性壊死巣、その周囲にマクロファージの浸潤を認め、最外層は膠原繊維からなる厚い結合組織に被覆され、血管新生が認められた。抗 *M. bovis* ウサギ血清を用いた IHC では、壊死巣とその周囲のマクロファージの細胞質内において *M. bovis* 抗原陽性反応を認めた。この病理組織学的所見は、*M. bovis* 肺炎や関節炎で認められる所見に共通であった。12頭全ての心臓病変部位から *M. bovis* 以外の細菌は分離されず、グラム染色、抗酸菌染色において菌体は認められなかった。心臓以外の臓器では、5頭の肺から *M. bovis* が分離され、そのうち1頭で肝臓、脾臓および腎臓から分離された。肺から分離されなかったものの腎臓および脾臓から *M. bovis* が分離された症例が1例あった。しかし、*M. bovis* が分離された臓器において、病理組織学的検査で著変は認められず、IHCも陰性であった。

心臓病変から分離された *M. bovis* 株の MLST 解析の結果、4頭から同じ ST 型の株が分離され、これは、2014年に福岡で分離された肺炎由来と同一のプロファイルであった。残りの8頭から分離された6つの ST 型は、これまでに報告のない型であった。また、心臓由来の *M. bovis* は、肺ならびにその他臓器由来 *M. bovis* とプロファイルが一致した。一般に、心内膜炎の病変は右心房の弁に形成されることが多い。しかし、本研究で対象とした *M. bovis* が分離された心内膜炎では、全て左心房に病変が形成されていた。したがって、本症例では、肺に感染した *M. bovis* が、血行性に左心房に到達して病変を形成し、その後全身に播種したと考えられた。いくつかの *Mycoplasma* 属菌が菌血症を起こすことが報告されているが、*M. bovis* では証明されていない。本研究は、*M. bovis* が血流を介して他の器官に感染した可能性を強く示した重要な報告である。

以上、本研究は、*M. bovis* が関与する牛の心内膜炎について世界で初めて報告し、*M. bovis* が血流によって全身に広がる全身感染症であることを強く示した研究である。

備考 論文要旨は、和文にあつては2,000字程度、英文にあつては1,200語程度