

*Actinomyces dermatonomus*, *Actinomyces congolensis*, *Streptothrix bovis* などと呼ばれていたが、family *Dermatophilaceae* が確立されてから、現在使用されている名称で呼ばれるようになった。

*Dermatophilus* 属菌は、*D. congolensis* の1属1種とされていたが、最近、カメより *D. chelonae* が分離された。今回の分離菌は硝酸塩還元能を示すことから *D. chelonae* と考えられたが、至適発育温度が異なっていた。

宿主域は非常に広範で、今までに牛、羊、馬、ラバ、ロバ、豚、海獣（アザラシ）、犬と猫（稀）、ラクダ、野生動物（鹿、ウッドチャック、スカンク、アライグマ、キリン、アンテロープ、レイヨウ、サル、オラウータン、バッファロー、シマウマ、飼育下シロクマ）、小型齧歯類などで報告されている。実験的にはマウスは感受性が低い。鳥は一般に抵抗性で、鶏への感染実験がある。爬虫類では良く見られる疾患ではないが、ヘビ、トカゲやカメで報告がある。ヒトでは、通常、手とときに足に限局性の膿疱として見られる。4から9日で接種された部位に痂皮の形成が見られる。感染後30日まで病変が残ることがあるようであるが、普通、ヒトでは、治療をしなくてもあるいは簡単な治療で自然治癒する。羊の *Dermatophilosis* が頻発している地方で、何人もの人が感染した動物を扱っていても罹患しないのは、人での感染成立には、ある易感染性素因が重要とされている。

病理発生は、良く理解されていないが、*D. congolensis* が正常な健康な皮膚を侵襲するとは考えられていない。小さな傷、外部寄生虫の刺咬や過度に濡れることが菌の侵入を容易にしているものと考えられ、感染を左右する因子として、雨量、湿度、温度、外部寄生虫（ダニ、ハエ、刺咬ハエ）、植物（種子、棘などによる創傷）、皮膚色素沈着、畜産形態、ストレス、随伴疾患、栄養状態、遺伝（素因）があり、気候は重要な要因で、発生率は、季節によって異なり、雨期に多い。感染は接触感染で、外部寄生虫の刺咬、有棘植物による創傷に遊走子が水などを介して感染するとされている。

今回の症例は、輸入直後の貿易商飼育施設と販売店での発症で、おそらく、長期の輸送、密飼によるストレスと擦れ（体表の外傷）、環境の激変によるストレスが誘因となり発症したものと考えられた。また、貿易商飼育施設では、産地の異なる爬虫類がほぼ同様の症状を呈したことから、施設内で水平感染した可能性が高かったが、爬虫類の皮膚には *Dermatophilus* 属細菌が常在しているという報告もあり、先に記述した誘因によりそれぞれ発症した可能性も否

定できなかった。また、斃死した爬虫類は衰弱に加えて皮膚病変からの2次感染によって死亡したものと推察された。

以上のように、*Dermatophilus* 属菌の病原性は比較的弱いものと考えられ、ヒトを含めて動物における感染・発症には、いくつかの要因が必要で、感染防御は比較的容易かもしれない。しかし、体表に多量の菌を付着した発症動物が、容易に愛玩用としてヒトの身近に存在しうる。また、近年の日本ではアトピー性皮膚炎罹患患者数が増加傾向にあること、治療や感染によって免疫抑制状態のヒトもいることなどから、以前に増して、ヒトへの感染の機会が増加しているものと推察され、十分に注意にすべき疾患と考えられる。

### 結語

愛玩用爬虫類においてヒトにも感染する可能性のある *Dermatophilosis* の発生が見られたことは公衆衛生上問題があるものと考えられた。

### 写真説明

- 1 ヨロイトカゲ 左側頭部皮膚の潰瘍形成
- 2 ヨロイトカゲ 右側後肢基部の肉芽形成（矢頭）
- 3 プレートトカゲ 前駆 右側頭部の大型潰瘍と全身性の鱗の剥離
- 4 プレートトカゲ 後駆 右側大腿部大型潰瘍。左側趾鱗にも高度の鱗の脱落がある。
- 5 スミスセダカカメ 前駆 右前肢表面の地図状偽膜形成
- 6 スミスセダカカメ 後駆 左後肢蹠部の偽膜形成
- 7 クビワトカゲ 全身像 表面隆起する結節が全身皮膚に散在
- 8 クビワトカゲ 尾部拡大。痂皮を搔爬すると出血する
- 9 培養 18 日目の所見 バラのつぼみのようなコロニー形成。コロニーは肌色を呈する。右下は拡大。（クビワトカゲの痂皮）
- 10 クビワトカゲ 皮膚。表面に痂皮形成を伴う壊死・炎症病巣。H.E 染色
- 11 ヨロイトカゲ 皮膚。結節状をなす痂皮。表皮の再生肥厚が顕著。H.E 染色
- 12 ヨロイトカゲ 痂皮拡大。痂皮内の塩基性を呈する細線維状の菌体。H.E

染色

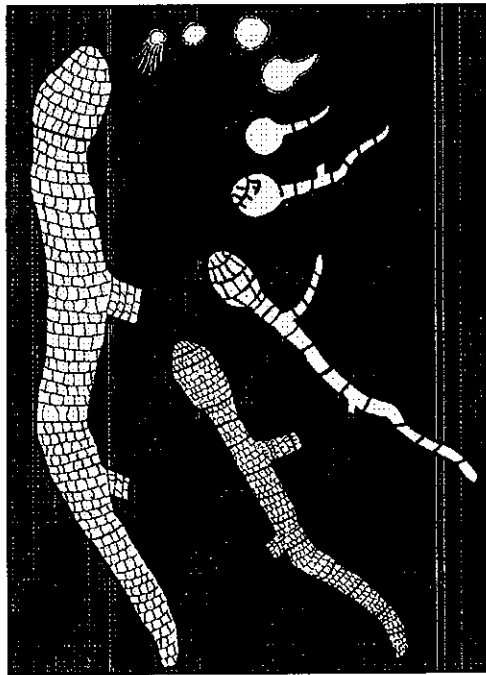
13 プレートトカゲ レールの枕木様に増殖する菌。 グロコット染色

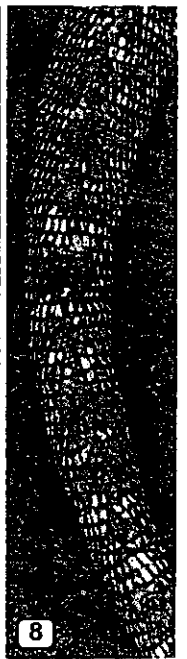
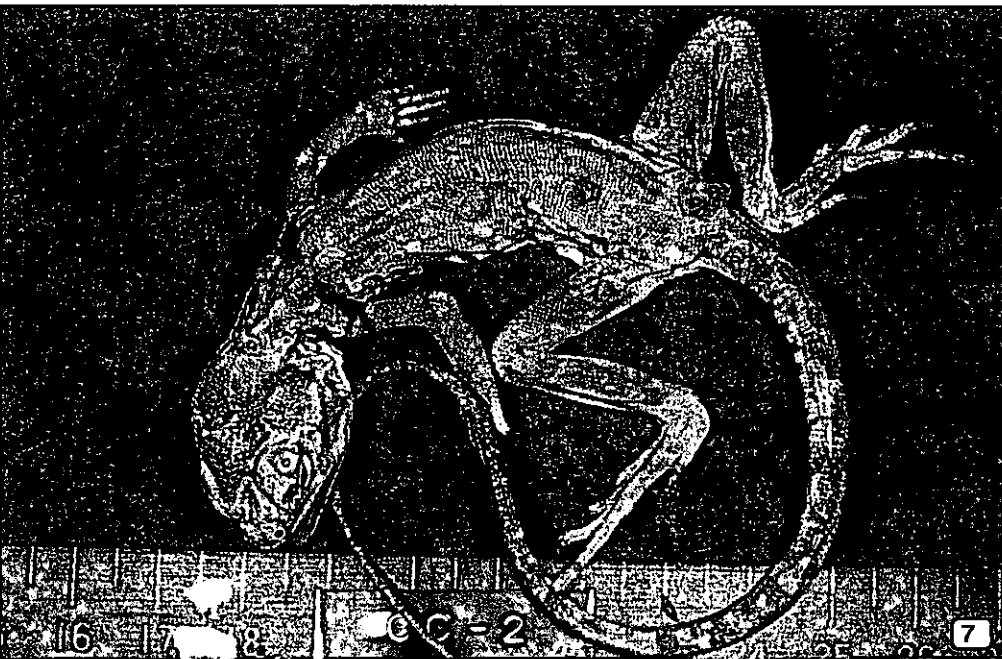
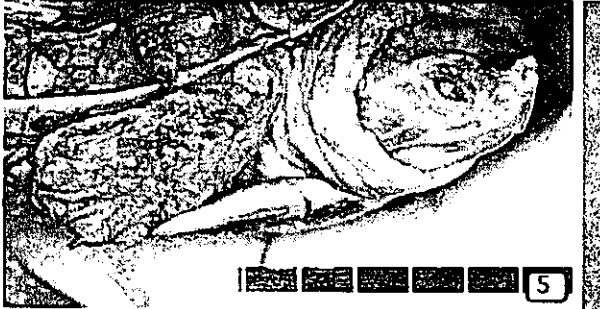
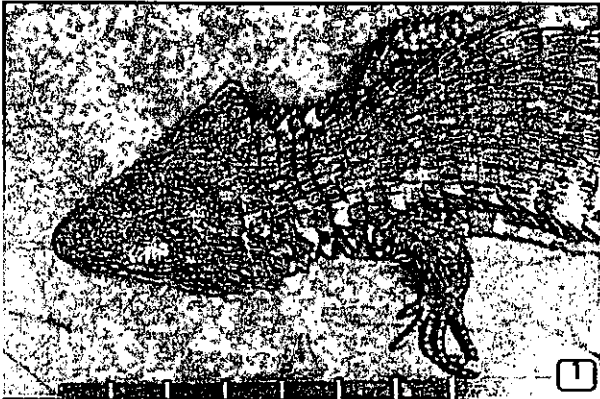
14 プレートトカゲ ドット状を呈し、破線のように配列する。 グロコット  
染色

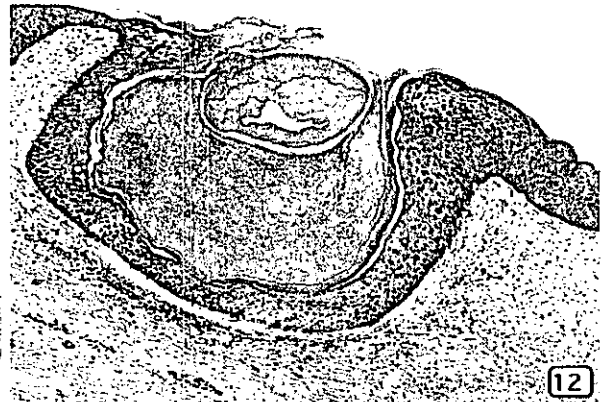
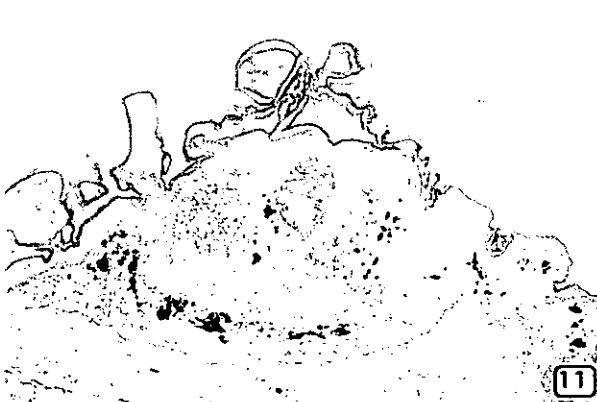
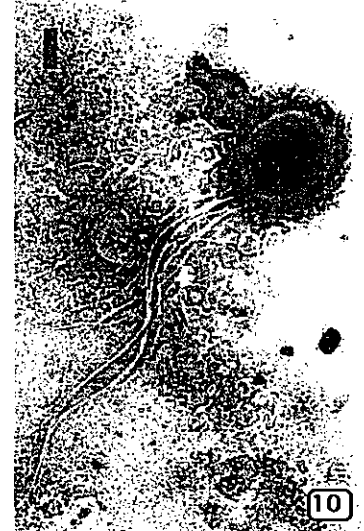
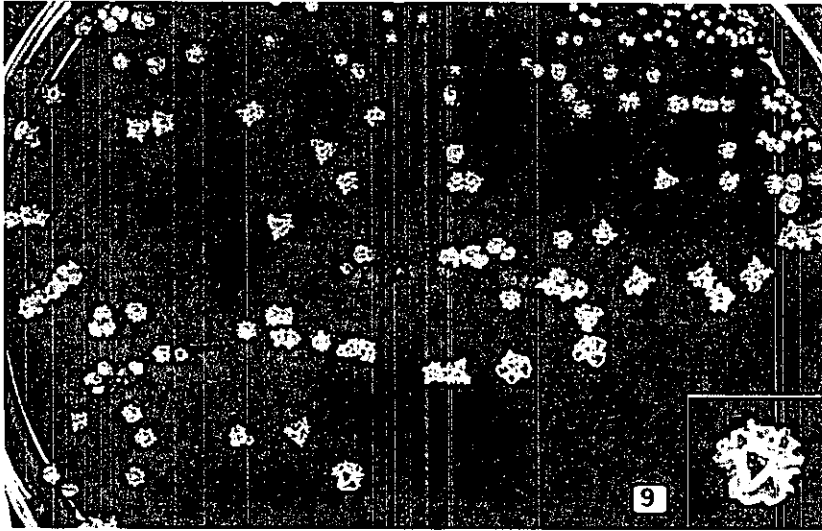
15 ヨロイトカゲ 抗 *Dermatophilus* 属菌抗体を用いた免疫染色。菌は陽性  
となっている。

表1 分離株の性状

	トカゲ分離株	<i>D. chelonae</i>	<i>D. congolensis</i>
鞭毛を有する遊走子	+	+	+
Gram陽性横・縦断裂する細線維状菌糸	+	+	+
小さな、乾燥した固着性溶血性集落	+	+	+
微好気性/好気性	+	+	+
カタラーゼ産生		+	+
抗酸菌染色	-	-	-
オレンジ色の集落	+	-	+
ウレアーゼ産生	-	-	+
増殖至適温度	35℃	23℃	35℃
硝酸塩還元能	+	+	-







## 分担研究報告書

### 翼手目の感染症に関する基盤研究

主任研究者 吉川泰弘（東京大学大学院農学生命科学研究科）

協力研究者 大松勉、久和茂、石井寿行

（東京大学大学院農学生命科学研究科）

#### 研究要旨

基盤研究として、近年ニパウイルスやヘンドラウイルスなどの自然宿主と考えられている果食オオコウモリのミトコンドリア DNA の全塩基配列の決定し、ミトコンドリア DNA からみたオオコウモリ、小型コウモリとの関係及び他の動物種と翼手目の関係を明らかにすることを試みた。また疫学調査のためのコウモリ免疫グロブリンに対する特異抗体の作成と、免疫グロブリンの抗原エピトープの交差性からみた、翼手目と他の動物種、原猿・霊長目、齧歯類、食虫目との関連を検索した。

#### A. 研究目的

熱帯雨林の開発等、発展途上国における変化はヒトや動物及びそれ等に寄生する病原微生物の生態系に著しい変化を与えている。エボラ出血熱、マールブルグ病、ラッサ熱、ポリビア出血熱、アルゼンチン出血熱のような新興感染症が人類を脅かしてきた。さらに近年翼手目に由来するウイルス感染症が世界的に問題となっている。狂犬病及びコウモリリッサウイルスとニパ、ヘンドラウイルス等である。またこれら以外にも、翼手目に由来するウイルスが分離されつつある。それにも拘わらず、これまで翼手目を対象とした基盤研究は世界的にも欠落しており、翼手目の分類、生態、免疫機能、感染病原体等については、ほとんど調べられてい

ないし、系統的な研究は行われていない。本研究では、翼手目に関する基盤研究と翼種目に由来する感染症の疫学的解明のための基礎技術の開発を目的とする。

本年度の目的：世界の哺乳類は約4500種が知られており、うち約1000種は翼手目の動物である。コウモリは大きく小型コウモリとオオコウモリに分けられ、熱帯から亜熱帯の熱帯雨林に分布するコウモリは果食性のオオコウモリ（約150種）である。わが国には2種（オガサワラオオコウモリ、クビワオオコウモリ）のオオコウモリと小型コウモリが生息している。

本年度は1) 基盤研究として、ミトコンドリア DNA の全塩基配列の決定と、



ミトコンドリア DNA からみたオオコウモリ、小型コウモリの関係、及び他の動物種と翼手目の関係を明らかにすること。2) 疫学調査のためのコウモリ免疫グロブリンに対する特異抗体の作成と、免疫グロブリンの抗原エピソードの交差性からみた、翼手目と他の動物種、原猿・霊長目、齧歯類、食虫目との関連を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

オオコウモリミトコンドリア DNA を用いた全塩基配列の決定とその分類。オオコウモリとして *Rousettus aegyptiacus* の肝エタノール固定材料より DNAzo(GIBCO BRL)により抽出した mtDNAについて、コントロール領域の mtDNAを鋳型とし、既報の塩基配列に基づいて作成したプライマーを用いて PCR法により増幅し、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。得られた塩基配列から新たにPrimerを設計し、LATAqを用いて増幅し、16kbpの全長 mtDNAを制限酵素 *AfaI* (TAKARA)で断片化しプラスミド *pUCH18Hic II/BAP*(TAKARA)に挿入後、挿入断片の塩基配列を決定した。さらに新たなPrimerを設計しPCR法により増幅し、ダイレクトシーケンスを行い全長 mtDNA塩基配列を決定した。また他動物種の全長 mtDNAシーケンスデータをデータベースから検索し、今回得られ

た *R.aegyptiacus* と共に TREE-PUZZLE、PHYLIPを用いて解析を行い、系統樹を作成した。

オオコウモリ免疫グロブリン抗体の作成と分類大翼手亜目である *Rousettus aegyptiacus* の血清中より immunoglobulin G (IgG)を分離・精製し、そこから抗コウモリ IgG抗体を作成、competitive ELISA法により他動物種との抗原性の類似性について検索を行い、系統発生的な分類を行った。対象動物として、霊長目4種(カニクイザル、キツネザル、リスザル、ヒト)、食虫目2種(モグラ、ジャコウネズミ)、大翼手亜目2種(ルーセットオオコウモリ、フィリピンオオコウモリ)、小翼手亜目1種(未同定種)、齧歯類1種(ラット)を用いた。

## C.D. 結果と考察

1) *R.aegyptiacus* の mtDNAのうち、蛋白コード領域である ND1, ND2, COX1, COX2, ATP8, ATP6 と、Control Region, 12S, 16Sについて塩基配列を決定し、これらの中から ND1(957bp), ND2(1050bp), COX1(1545bp), COX2(684bp), ATP8(204bp), ATP6(681bp)を用いて系統樹の作成を行った。その結果、大翼手亜目と小翼手亜目、特にキクガシラコウモリ (*Rhinolophus monoceros*) は近縁の種であると考えられ、これらは別系統ではなく翼手亜目として単系統であると考えられた。またアフリカの大翼

手亜目についてアジアのものとは別の起源が存在するという説があるが、これらは大翼手亜目となってから分化したものであり起源も同じであると推察された。

2) 翼手目を除いた動物種におけるIgG エピトープの交差反応は5から20%と低い値を示したが、翼手目は大翼手亜目、小翼手亜目共に95%以上の高い値を示した。これらの結果から、IgGの分子進化という観点から見ると大翼手亜目と小翼手亜目はかなり近縁種であり翼手目として単系統であり、近縁種と考えられている霊長類や食虫目とはかなり以前に分岐したと考えられる。

#### E, 結論

翼手目内（大翼手亜目と小翼手亜目）の近縁性が明らかになったので、次年度は今回作成した抗オオコウモリ IgG 抗体を用いて、1) コウモリのウイルス抗体保有状況に関して疫学調査を行う。また2) コウモリ由来初代培養細胞を作成し、動物感染症及び人獣共通感染症の主なウイルスに対する感受性を明らかにする。

#### F, 研究発表

日本獣医学会（岩手大学 2001年秋）大松 勉・吉川 欣亮・石井 寿幸・久和 茂・宇根 有美・吉川 泰弘  
ミトコンドリア DNA 塩基配列を用いたルーセットオオコウモリの系統分類



業 績 資 料

20010712

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、  
「業績資料」をご参照ください。

### 「業績資料」

吉川泰弘、身近に多い動物由来感染症  
Current Concept in Infectious Diseases,  
20, 12-15, 2001

Furuta, T., Une, Y., Omura, M.,  
Matsutani, N., Nomura, Y., Kikuchi, T.,  
Hattori, S., Yoshikawa, Y. Horizontal  
Transmission of *Toxoplasma gondii*  
in squirrel monkeys. *Exp. Anim.* 50,  
299-306, 2001.

吉川泰弘、Creutzfeldt-Jakob 病と感染源、  
その他の TSE. *Central Neuroscience*, 19,  
932-934, 2001.

Ikegami, T., Calaor, A. B., Miranda,  
M. E., Niikura, M., Saijo, M., Kurane, I.,  
Yoshikawa, Y. Morikawa, S. Genome  
structure of Ebola virus subtype  
Reston: differences among Ebola  
subtypes. *Arch. Virol.* 146, 2021-2027.

吉川泰弘、感染症論からみた BSE、畜産  
の情報、19-31, 2002

Hatta, Y., Kanai, T., Matsumoto, Y.,  
Kyuwa, S., Hayasaka, I., Yoshikawa, Y.  
Analysis of cDNA coding MHC classII  
beta chain of the chimpanzee (*Pan  
troglodytes*). *Exp. Anim.* 51, 133-142,  
2002.

Miranda, M.E., Yoshikawa, Y., Malano,  
D., Calaor, A.B., Miranda, N.L, Cho, F.,  
Ikegami, T., Ksiazek, T.G.  
Chronological and spatial analysis of  
the 1996 Ebola Reston virus outbreak in  
a monkey breeding facility in the  
philippines. *Exp. Anim.* 51, 173-179,  
2002.

弘重光一、池田稔、本藤良：Ramusay Hunt  
症候群の涙液および唾液における水痘・帯  
状疱疹ウイルス DNA の検出。日本耳鼻咽  
喉科学会会報103、928-36 (2000)

安孫子讓、池田稔、本藤良：ベル麻痺患者  
の涙液および唾液における単純ヘルペスウ  
イルスの分泌とその動態。日本耳鼻咽  
喉科学会会報104、1078-1088 (2001)

本藤良：Bウイルス感染症における DNA  
診断とその応用。第8回ヘルペス感染症  
フォーラム。ヘルペス感染症研究会 (2002)