ライム病感受性に関する遺伝的要因の解析

磯貝恵美子¹、米山 裕¹、磯貝 浩²

¹ 東北大学大学院農学研究科動物微生物学教室 ² 札幌医科大学医学部動物実験施設

Analysis of genetic background in disease-sensitivity associated with Lyme disease

Emiko ISOgai¹, Hiroshi YONEYAMA¹, Hiroshi ISOgai²

¹ Laboratory of Animal Microbiology, Department of Microbial Biotechnology, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University

² Division of Animal Research Center, Sapporo Medical University

1. はじめに

ライム病ボレリアによるマダニ媒介性の人獣共通感染症で、関節炎、脳神経麻痺などを起こす。ライム病は1975年に北米コネチカット州ライム地方で若年性の関節リウマチが多発したことに端を発する新興感染症である。本病はボレリア属のスピロヘータが原因であり、全身の様々な臓器組織に炎症病変を起こす。本レビューではライム病を紹介するとともに、種々の実験動物モデルについて概説したい。

2. ライム病の病原体

ヒトや動物に対して病原性が強く問題となるのは、*Borrelia burgdorferi* sensu stricto(アメリカ合衆国のプロトタイプ株)、*B. garinii*、*B. afzelii*の3菌種である。動物の種によって様々の特性があるように、ライム病ボレリアでも種によって媒介するマダニは異なり病態も異なっている。日本では*B. burgdorferi* sensu strictoは分離されず、シュルツェマダニから*B. garinii*や*B. afzelii*が、ヤマトマダニから*B. japonica*が分離される。本菌は長さ4～30 μm、幅0.18～0.25 μmの緩やかなラセン状を呈し、多数の鞭毛を有する。外膜蛋白質のうち脂質分子にアンカーしているリポ蛋白OspA～OspFは生物活性をもつ分子として重要である。培養はBSK II(Barbour-Stoenner-Kelly II)培地を用い、31～34℃、微好気性条件下で数週間行う。

3. ライム病の伝播維持機構と感受性動物

ライム病の分布は*Ixodes*属のマダニ分布地域に一致している。マダニは昆虫とは異なる節足動物である。

形態的には昆虫のように頭部・胸部・腹部に分かれておらず、一体型となっている。成虫では4対の脚を持つ。図1にシュルツェマダニおよびヤマトマダニを示した。ライム病は地球規模の疾病で、特に北半球で多く発生報告がある。発生時期はマダニの活動と一致しているが、遅発性の発症も存在する。

ライム病ボレリアは野生鳥獣とそれらに寄生するマダニによって維持されている。マダニにおいて経卵巣感染は認められないが、マダニの発育過程ではライム病ボレリアを持ち続ける。幼ダニと若ダニの寄生対象は野鼠などの小型哺乳類と野鳥であり、自然界でのボ

図1：日本におけるライム病媒介のマダニ。
山野や放牧地周辺の森林に生息している。
中央：シュルツェマダニ(♀)、左下：シュルツェマダニ(♂)、左上：ヤマトマダニ(♀)、右：ヤマトマダニ(♂)

連絡先：磯貝 恵美子

現所属：東北大学大学院農学研究科生産産業創成科学動物微生物学研究室

〒981-8555 宮城県仙台市青葉区雨宮1-1

(email: emiko@bios.tohoku.ac.jp)

レリア伝播の主要サイクルが完成する。特定のボレリアは特定のマダニが保有するというニッチが存在する。野鳥の感染は本病を遠隔地に運びうる可能性を有している。未吸血幼ダニは当初ボレリア陰性であるが、保菌宿主に寄生することで陽転化する。飽血から若ダニへの脱皮の過程でボレリアは経発育期感染により幼ダニへ伝播される。このボレリア陽性幼ダニは他の保菌宿主を吸血する際にボレリアを未感染宿主側に返す。中・大型哺乳類はマダニ類の個体群維持に役立つだけでなく、第二の伝播維持機構を担っている。伝播維持機構において鳥類から哺乳類までが登場することは、自然界で多くの生物に感染する能力をライム病ボレリアが持つことを示している。偶発宿主としてヒト、家畜および愛玩動物が存在しているが、動物のライム病の記載は犬と馬に多い。

4. ライム病の病理と臨床症状

感染部位の病理像として関節炎、中枢および末梢神経の脱髄病変、結膜炎、ぶどう膜炎、慢性萎縮性肢端皮膚炎、肝炎、肺炎、腎炎など、病変の部位と程度は多様である。

皮膚刺傷部においてマダニは皮膚に深く頭部をめり込ませ、周囲組織は壊死する（図2）。マダニ刺傷直下部から離れた部位では血管周囲性の細胞浸潤が認められる。ダニを介して皮膚内に接種されたライム病ボレリアは、皮膚に局在するだけでなく、血流に乗って全身へ運ばれる。また、凝固線溶系を活性化させ、炎症性サイトカインを誘導する。

ライム病の患者では皮膚、神経、循環器、筋骨格系に病期に応じて種々の症状を呈する。発熱、食欲不振、元気沈衰、リンパ節の腫脹などの一般的なかぜ様の症状や関節痛なども急性症状である。人での皮膚の遊走性紅斑 *erythema migrans* (EM) はライム病に唯一特徴的な病態であるが、犬や家畜での観察は難しい。しか

図2：マダニ (*Ixodes persulcatus*: シュルツェマダニ) 刺傷部位の皮膚。

し、マダニ刺傷を受けライム病ボレリアが検出された野生動物の解剖所見では皮下に出血病変が見られ、それが拡大していることがわかる。動物での慢性症状としての関節炎は前肢部によくみられ、緩解と発症を繰り返す特徴がある。関節炎は北米では多いが、日本では稀である。

国内での犬のライム病は神経症状が主体であり、髄膜炎や脳炎、顔面麻痺などが出現する (Azuma ら、1994)。感染を受けたキタキツネではマダニ刺傷部位以外の皮下組織だけでなく、中枢神経系からライム病ボレリアが分離された (Isogai ら、1994a) ヒトでも同様の症状を呈する場合が多い。循環器症状として、心筋壊死や心内膜炎と、それに伴う房室ブロックが認められる。ライム病の眼疾患では発症早期に一過性の結膜炎や角膜炎が約 10% に見られる。後期には実質性角膜炎、硝子体炎、ブドウ膜炎、視神経炎、全眼球炎なども報告されている。さらに、眼そのものではなく瞳孔障害、複視などの神経異常が現れることもある。

5. 実験動物モデル

ライム病の発病病理機構を明らかにする目的で多くの動物モデルが作成された。その種類はマウスのみならず、ハムスター、モルモット、豚、犬そして猿と幅広いが必ずしもヒトのライム病の病態を反映しなかった。たとえば、C3H/He マウスは菌を接種後 2 から 4 週間目で関節炎や心筋炎を起こすが、遊走性紅斑点 (EM) や神経症状などは呈さない (Barthold ら、1990)。

関節炎や心筋炎の重症度はマウスの系統によって異なっている。C57BL/6(B6)、BALB/c、C3H の 3 系統で比較すると B6、BALB/c、C3H の順に重症度が上がる。B6 では関節腔内に多数のボレリアが存在しても重症化が進まない理由として自然免疫が関与していると報告されている (Ma ら、1998)。BALB/c では接種菌数に依存して関節病変が重症化する。C3H ではライム病ボレリアに対する自然免疫および獲得免疫ともに十分に働いていないため、ごくわずか (100 ほど) の菌数で重症化が進むとされている。*B.garinii*、*B.afzelii* および *B.japonica* の 3 菌腫で BALB/c、C3H およびいくつかの系統で感染率を比較してみると *B.garinii* および *B.afzelii* 感染に対して C3H では BALB/c に比べて有意に感染率が高い (Ishii ら、1995、図 3)。また、系統間で感染率に差があることがわかる。一方、*B.japonica* 感染に対してマウス系統間には感染率に差がなく、感染率も先の 2 菌腫に比べて低かった。C57BL/10 とコンジェ

図3：マウス系統間による感染率の違い

表1：種々のH-2ハプロタイプを持つマウス系統間における皮膚反応-B.afzelii抗原投与時の応答性の違い

系統	H-2	足掌反応レベル ($\times 10^{-2}$ mm)
	K A E S D	
B10.A	k k k d d	11.5 $\pm$ 1.8
C57BL/6	b b 0 b b	13.7 $\pm$ 1.3
A.BY	b b 0 b b	10.4 $\pm$ 0.7
C3H/SW	b b 0 b b	7.2 $\pm$ 1.3
B10.D2	d d d d d	13.1 $\pm$ 1.5
BALB/c	d d d d d	9.2 $\pm$ 1.0
B10.GD	d d o b b	11.7 $\pm$ 1.9
B10.A(2R)	k k k d b	8.9 $\pm$ 1.8
B10.A(5R)	b b b d d	12.8 $\pm$ 1.0
B10.BR	k k k k k	12.7 $\pm$ 1.4
BALB.K	k k k k k	14.7 $\pm$ 0.5
C3H/He	k k k k k	14.6 $\pm$ 0.8
B10.G	q q 0 q q	9.7 $\pm$ 0.9
B10.RIII	r r r r r	14.6 $\pm$ 1.1
A.SW	s s 0 s s	11.3 $\pm$ 0.8
A.TL	s k k k d	10.3 $\pm$ 1.4
A.TH	s s 0 s d	15.3 $\pm$ 0.8
B10.HTT	s s s k d	11.0 $\pm$ 1.8
B10.S(9R)	s s s d d	15.2 $\pm$ 1.8
B10.T(6R)	q q 0 q d	15.3 $\pm$ 1.0

ニックマウス B10.D2 および B10.BR を比較するとライム病ボレリアに対する感受性の違いを認めた。このことはH-2ハプロタイプの違いが病原体感受性の違いを反映していると考えられた。ヒトにおいてもライム病疾患感受性にHLA-DR2 HLA-DRが密接に関与していることが報告されている (Martin ら、1987)。

C3HマウスではマクロファージおよびTリンパ球が心臓病変部に浸潤し、細胞性免疫が病態制御の鍵となる (Ruderman ら、1995)。対照的に、好中球とリンパ球は関節病変部の主要浸潤細胞であり、液性免疫が関節炎制御の鍵となる (Barthold ら、1990、Feng ら、2000)。C3Hマウスでは急性病変が寛解しても、接種部位の皮膚に持続感染し続ける。このことはヒトにおいて関節病変の再発がおこることと関連するのかもしれない。

6. MHCとの関連

系統間による感染性の違いにはMHCが関与すると考えられる。ライム病ボレリア感染における制御には細胞性免疫が関与することから、様々のH-2ハプロタイプを持つマウスでのDTH反応では異なる反応が得られている (Ishii ら、1995)。B.afzelii抗原に対する反応ではH-2ハプロタイプの異なる系統間で差を認めた (表1)。しかし、この結果は感染感受性の結果と一致するものではなかった。別の菌種B.gariniiやB.japonica抗原を用いたときも同様の結果が得られた。感染感受性はH-2領域だけでなく非H-2遺伝子領域が関係していることを示す。

7. トリのモデル実験

ライム病ボレリアは哺乳類だけでなく、鳥類にも感染することが報告されてきた。実験感染モデルとしてウズラにライム病ボレリアB.gariniiを接種すると長期にわたり病原体が保持される (Isogai ら、1994b)。体表部だけでなく、脳病変も呈することから哺乳類よりも高い体温を持つ鳥類でも感染が成立し、病変形性を伴う。ボレリアは通常の細菌培養温度である37度では発育しない。しかし、日本で分離されるB.gariniiは他の2菌腫に比べて高い温度でも発育することから、トリへの感染への感染が可能になった菌腫といえる。実際、自然界でB.gariniiは野鳥から分離されるのに対して、B.afzeliiおよびB.japonicaは野鼠から分離されている。

8. 炎症の惹起

ライム病ボレリアは非常に強い炎症性の自然免疫応答を誘導する。OspAなどのリポ蛋白はTLR-1や-2を介してマクロファージなどの細胞を活性化させる (Alexopoulou ら、2002、Wooten ら、2002)。刺激を受けたこれらの細胞からサイトカインの放出があると考えられている。ライム病ボレリア感染マウスにおいてTNF- α 、IL-1 α 、IL-6などの炎症性サイトカインが脳や血清から高レベルで検出できる (Isogai ら、1996a)。著明な炎症性サイトカインレベルの上昇は感受性マウスであるC3H/HeNでは認められるが、抵抗性マウスBALB/cでは認められない。さらに、B.garinii感染させたハプロタイプの異なるマウスの血清中においてC3H/HeN (H-2k)、B10.BR (H-2k)やB10 (H-2b)では高い炎症性サイトカインの応答が認められ、BALB/c (H-2d)では認められない (Isogai ら、1997)。

血小板はライム病ボレリアの結合サイトを持ち、このことが全身拡散への第1歩と考えられてきた(Coburnら、1993, Galbe ら、1993)。ヒト血小板では活性化した血小板においてのみ結合が認められる。血小板への結合部位は α IIb β 3 であり、事実この分子は活性化血小板においてはじめて発現する。ライム病ボレリアは *in vitro* において血小板には結合せず、直接的な活性化はしない。すなわち、血小板活性化は宿主の炎症反応に依存したものといえる。初期病変の形成が血小板活性化因子 (PAF) 拮抗剤で抑制される (Isogai ら、1996b)。好中球は強力な PAF 産生細胞であり、好中球・血小板・ライム病ボレリアを共培養すると血小板の活性化が見られる。PAF はライム病における炎症性メディエーターとして PAF カスケードの中心に位置し、炎症性サイトカインの産生増強にも関与する。逆に炎症性サイトカインは PAF の産生を誘導する。

9. おわりに

野生動物はライム病ボレリアを保有するので、その根絶は不可能である。一般に感染症の予防対策としてはワクチンを使用するが、日本においては患者数が少ないため実用化されていない。さらに、おなじ菌種でも抗原のバリエーションに富むこともワクチンの効果を期待できない場合が多くなる。環境回復や天敵のない状況での野生の鹿の増加によって、ライム病が今後増加する懸念がある。

参考文献

- Alexopoulou L, Thomas V, Schnare M, Lobert Y, Anguita J, Schoen RT, Medzhitov R, Fikrig E, Flavell RA. 2002. Hyporesponsiveness to vaccination with *Borrelia burgdorferi* OspA in humans and TLR-1 and TLR-2 deficient mice. *Nat Med* 8: 878-884.
- Azuma Y, Isogai E, Isogai H, Kawamura K. Canine Lyme disease: clinical and serological evaluations in 21 dogs in Japan. 1994. *Vet Rec* 134:369-372.
- Barthold SW, Beck DS, Hansen GM, Terwilliger GA, Moody KD. 1990. Lyme borreliosis in selected strains and ages of laboratory mice. *J Inf Dis*. 162: 133-138.
- Coburn J, Barthold SW, Erban JM. 1993. Integrin α IIb β 3 mediates binding of the Lyme disease agent *Borrelia burgdorferi* to human platelets. *Proc Soc Acad Sci USA* 90: 7059-7063.
- Feng S, Hodzic E, Barthold SW. 2000. Lyme arthritis resorption with antiserum to a 37-kilodalton *Borrelia burgdorferi* protein. *Infect Immun*. 68: 4169-4173.
- Galbe JL, Guy E, Zapatero JM, Peerschke EI, Benach JL. 1993. Vascular clearance of *Borrelia burgdorferi* in rats. *Microbe Pathogen* 14: 187-201.
- Ishii N, Isogai E, Isogai H, Kimura K, Nishikawa T, Fujii N, Nakajima H. 1995. T cell response to *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii* and *Borrelia japonica* in various congenic mouse strains. *Microbiol Immunol* 39: 929-935.
- Isogai E, Isogai H, Kawabata H, Masuzawa T, Yanagihara Y, Kimura K, Sakai T, Azuma Y, Fujii N, ohno S. 1994a. Lyme disease spirochetes in a wild fox (*Vulpes vulpes schrencki*) and ticks. *J Wildl Dis* 30: 439-444.
- Isogai E, Isogai H, Kimura K, Hayashi S, Kubota T, Nishikawa T, Nakane A, Fujii N. 1996a. Cytokines in the serum and brain in mice infected with distinct species of Lyme disease *Borrelia*. *Microb Pathog* 21: 413-419.
- Isogai E, Kimura K, Fujii N, Nishikawa T, Ishii N, Postic D, Baranton G, Isogai H. 1996b. Platelet-activating-factor-mediated pathogenesis in Lyme disease. *Infect Immun* 64: 1026-1029.
- Isogai E, Tanaka S, Braga IS, Itakura C, Isogai H, Kimura K, Fujii N. 1994b. Experimental *Borrelia garinii* infection of Japanese quail. *Infect Immun* 62: 3580-3582.
- Isogai H, Kimura K, Hayashi S, Kubota T, Fujii N, Nishikawa T, Kotake S, Isogai E. 1997. Levels of endogenous interleukin-1, interleukin-6, and tumor necrosis factor in congenic mice infected with *Borrelia garinii*. *Microbiol Immunol*. 41: 427-430.
- Ma Y, Seiler KP, Eichwals EJ, Weis JH, Teucher C, Weiss JJ. 1998. Distinct characterization of resistance to *Borrelia burgdorferi*-induced arthritis in C57BL/6N mice. *Infect Immun*. 66:161-168.
- Martin R, Orlauf J, Sticht-Groh V, Mertens HG. 1987. Isolation and characterization of *Borrelia burgdorferi* --specific and autoreactive T cell lines from cerebrospinal fluid of patients with Lyme meningoradiculitis. *J Neuroimmunol*. 16: 115-116.
- Ruderman EM, Kerr JS, Telford III SR, Spilman A, Glimcher LH, Gravallese EM. 1995. Early murine Lyme carditis has a macrophage predominance and is independent of major histocompatibility complex class II-CD4+ T cell interactions. *J Inf Dis* 171: 362-370.

Wooten RM, Ma Y, Yoder RA, Brown JP, weis JH, Zachary JF, Kirschning CJ, Weis JJ. 2002. Toll-like receptor 2 is required for innate, but not acquired, host defence to *Borrelia burgdorferi*. J Immunol. 168:348-355.