子馬の *Rhodococcus equi* 感染症

高 井 伸 二

北里大学獣医学産学部（十和田市三本木前谷地 149-2, 〒034）

Rhodococcus equi Infection in Foals

Shinji TAKAI

School of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Kitasato University, Towada-shi, Aomori-ken 034, Japan

Rhodococcus equi (旧学名 *Corynebacterium equi*) は 1~3 カ月齢の子馬に化膿性肺炎、潰瘍性腸炎および付属リンパ節炎などを引き起こす細菌で^{3, 37, 43, 51}、1923 年にスウェーデンの子馬から MAGNUSSON³⁷ が初めて分離し *Corynebacterium equi* と命名した。本菌は獣医学分野では古くからよく知られた病原細菌であるが、最近では人のエイズ患者における本菌の感染症例（肺炎）が急増している^{20, 51}。

本菌の病原性、発病機構および本症の診断・治療・予防に関する知見は近年に至るまできわめて乏しかった^{3, 43, 51, 52, 97}。子馬の本菌感染症の研究が遅れた原因のいくつかは本症の特徴にも起因すると考えられる。すなわち、本症の研究を困難にしている理由は、①感染初期の臨床症状に乏しく、早期診断が難しいこと、②その発生は散発的であり、特定の牧場では地方病的に発生すること、③多くの場合、死亡後の病理解剖により診断されること、④感染モデルが子馬以外に無いことなどである。これらに加え、⑤ *R. equi* の基準株である ATCC 6939 株を実験的に子馬に感染しても本症を再現することが難しく、その病原性に不明な点が多いこと、⑥土壌など飼育環境からの菌分離が難しく、感染源としての本菌の生態もよく分かっていなかったことなどがあげられる。

近年、選択培地⁹³と莢膜血清型別^{27, 49}による本菌の生態学的研究^{4, 96}、酵素抗体法 (ELISA) による本症の血清診断法の開発^{15, 23, 72}、実験感染子馬を用いた感染様式や免疫応答、発病機構などの研究^{1, 29, 39, 55}、菌細胞壁の化学組成と分類の研究^{2, 18}などが進展し、1982 年にはオーストラリアで、また、1986 年にはカナダで本症の研究会が開催されるに至った。しかし、本菌の病原性については依然として不明な点が多かった。

最近、著者らは本菌の毒力に関連する抗原とその遺伝子に関する新しい知見を得た。それは、① *R. equi* には強毒株と無毒株が存在し、強毒株の 15-17kilodalton (kDa) 菌体抗原が毒力マーカーとなること⁷⁵、② *R. equi* にはプラスミドが存在し、15-17kDa 抗原が約 85kilo-

base (kb) の病原性プラスミドにコードされていることなどである⁸⁵。これらの発見は、これまで矛盾に満ちていた本菌の毒力について明確に説明することができることから、本菌の病原性研究の突破口となった。

本稿では、著者らの研究室で得られた成績を中心に本菌の生態と病原性に関する最新の知見を解説したい。なお、BARTON ら³、PRESCOTT⁵¹ および中沢⁴³らの本菌や本症に関する優れた総説があるので、ここでは主に 1986 年以降の報告についての記述に留める。

子馬の *R. equi* 感染症

本症の病型と疫学的特徴

本症は、主たる馬の伝染病の発生がワクチンにより制圧された今日においても、致死率がきわめて高いために生産地では依然として問題となっている感染症の一つである。日本中央競馬会競走馬総合研究所が昭和 60 年に生産地（北海道日高地方）で行った子馬の疾病調査によれば、5~6 月の約 1 カ月間に病理解剖された死亡子馬（1~90 日齢）の 15.6% (5/32) が本菌感染症で、1 カ月齢以上の子馬では 55.6% (5/9) と高率であった³¹。米国では子馬の死亡原因の約 3% が本症であるとの報告もある³⁶。

本症の病型は肺の化膿性膿瘍（仮に肺炎型）、回腸と盲結腸部を中心とした化膿性潰瘍性腸炎およびその付属リンパ節炎（仮に腸炎型）、肺炎と腸炎の複合型の 3 つの型が認められる。オーストラリアでの調査では²⁶、肺炎型 9/40 (22.5%)、腸炎型 8/40 (20%) および複合型 23/40 (57.5%)、カナダでは¹⁰²肺炎型 60/125 (48%)、腸炎型 5/125 (4%)、複合型 55/125 (44%) およびその他の病変 5/125 (4%) であった。わが国では、先にのべた昭和 60 年の調査で 5 頭すべてが肺炎型であり³¹、青森県では³⁰肺炎型 1/10、複合型 9/10 であった。カナダの症例については発病月齢、死亡月齢、感染馬の品種、病理解剖所見なども詳細に記載されている¹⁰²。

臨床診断

本症の臨床症状は、発熱や発咳と同時に白血球数の増加が認められる程度で、多くの場合、発病に気づいた時点では病変が拡大しており、早期発見が困難なことによる治療開始の遅れが本症の致命率を高めている。感染実験においては臨床症状の発現までに約2週間の潜伏期が認められる¹⁾。また、病型・病状は宿主の感染防御能、侵入ルート、侵入した菌量、感染時期、治療時期などの種々の要因による影響を受け^{24, 97)}、このことが診断を難しくしているものと考えられる。欧米においては気管洗浄液の細菌培養と胸部レントゲン像が日常の診断に用いられ^{13, 17, 24)}、血小板数の測定も本症診断に有効であるとの報告もある^{1, 32)}。

血清学的診断法は、酵素抗体法 (ELISA) が開発されたことにより早期診断法として利用されている^{15, 23, 72, 74)}。感度が高いために、自然抗体 (1~2カ月齢の健康な子馬の腸管内で生理的変動の範囲で増加した本菌の腸管内抗原刺激によると考えられる) や移行抗体に対しても時に高い値を示すことから^{15, 23, 71)}、感染馬の診断には少なくとも経時的に2回以上採血した組血清を用いることが望ましい。また、感染馬の抗体価の経時的推移は治療効果の判定指標としても利用できる。最近、北海道日高地方の軽種馬群における血中 ELISA 抗体価の保有状況が報告された⁶¹⁾。

抗生物質による治療

感染馬の病変部のマクロファージ内に多数認められる本菌に対して有効な抗生物質は細胞内に浸透できる脂質親和性のものでなければならない。エリスロマイシン (25mg/kg 1日3回投与) とリファンピン (5mg/kg, 1日2回投与) の併用は本症に有効で、自然感染した子馬の治療率が88%を示す報告もある^{25, 50, 54, 59, 67)}。わが国では副作用を懸念し、先の2種類の薬剤はほとんど利用されておらず、ゲンタマイシンが一般的に使われている。ゲンタマイシンはペニシリンとの併用により相乗作用を示すが、エリスロマイシンあるいはリファンピンとの併用では拮抗的に作用する⁵⁷⁾。感染ヌードマウスを用いた生体内モデル実験では、単独投与の場合、バンコマイシン、イミペネム、リファンピンが有効で、2種類の薬剤の併用ではエリスロマイシンとリファンピンよりもバンコマイシンとイミペネムあるいはリファンピンの組み合わせが、より有効である⁴⁷⁾。今後これらの薬剤の馬での治療効果を確かめるために、自然感染および実験感染馬での臨床実験が期待される。

子馬の感受性と易感染因子

本菌は馬に限らず、家畜 (牛, 羊, 豚など) の飼育環境中にも広く存在するが^{87, 88)}、子馬以外の幼畜が感染して発病することはほとんどない^{3, 43, 51)}。この宿主特異性に加え、本症の発病の特徴の一つに年齢依存性がある。

なぜ1~3カ月齢以内の子馬のみが感染発病するかはよく分かっておらず、子馬の易感染因子として先天性および後天性免疫不全、移行抗体の消失、免疫機構の未熟、ウイルス感染、寄生虫感染などがあげられている^{51, 97)}。*R. equi* 感染馬のガンマグロブリン量が実際に測定されているが、低ガンマグロブリン血症馬はそれほど多くない^{31, 89)}。生体防御の第一線で働く好中球と肺胞マクロファージの機能を比較した報告では、子馬の末梢血中の好中球の殺菌能は成馬と同じレベルであるが、新生子馬の肺胞マクロファージの殺菌能は未熟でこれが本症の易感染因子の一つであると述べている^{9, 38, 78, 99, 101, 104)}。本症の発生には宿主要因、病原要因、そして環境要因が複雑に絡み合っているものと考えられる。

免疫応答と感染防御試験

細胞内寄生性と考えられる本菌に対する感染防御については細胞性免疫の果たす役割が大きいと予想される^{16, 58, 95, 97)}。実験感染された子馬の肺胞マクロファージの殺菌能は成馬の肺胞マクロファージと同レベルまで活性化されている²²⁾。また、経口投与による生菌で免疫された子馬は、経気管感染により攻撃試験において発病しない¹²⁾。これらの報告はいずれも細胞性免疫の関与を示唆するものと思われる。

いっぽう、体液性免疫が感染防御の発現に重要であるとの成績も得られている⁹⁵⁾。試験管内における子馬の好中球と肺胞マクロファージの本菌に対する殺菌能は免疫血清のオプソニン化で有意に高くなる^{21, 41, 103)}。また、生菌免疫馬のプラズマを投与した子馬は感染実験では発病せず⁴⁰⁾、野外実験では免疫プラズマ投与群における発病率は非投与群に比べて有意に低い傾向を示した³⁶⁾。しかし、妊娠馬を死菌免疫することにより初乳中の移行抗体の抗体価を高めた子馬群では、本症の発生を防ぐことができなかった³⁶⁾。米国では1990年から *R. equi* に対する免疫プラズマが市販され本症の予防や治療に用いられている。

子馬とマウスの実験感染モデル

これまでの報告された子馬の感染実験では、供試された実験馬の品種や週齢、菌株、接種方法、接種菌量などが研究者により様々である^{1, 29, 39, 55, 73)}。これらの諸条件が感染防御因子へ与える影響を考えると^{51, 97)}、実験馬を含めた条件設定が必要と感じられる。現在、著者らは日本中央競馬会競走馬総合研究所および日高家畜衛生防疫推進協議会との共同研究で子馬を用いた実験感染モデルの検討を進めており、このモデルの作出後に本症の予防および治療実験を計画している。

マウスは本症の感染モデルとはならないが、本菌の毒力測定のほか^{8, 42, 44, 77)}、本菌に対する生体防御機構の解析^{6, 7, 48, 76)}に利用され、最近では、抗生物質の治療効果判定モデル⁴⁷⁾にも用いられている。マウスの系統と本菌の

感染に対する抵抗性の関係は検討されてない。免疫不全マウス（ヌードマウス、重症複合免疫不全マウス、補体不全 A/J マウス、C57BI/6J. bg/bg マウス）に 10^7 cfu の菌量を経気道感染した場合、ヌードおよび重症複合免疫不全マウスの肺では菌の増殖がみられるが、その他のマウスでは菌数が減少する¹⁰⁰。免疫抑制剤（サイクロフォスファミド、カラゲニン、ナイトロジェンマスタード）投与マウスを用いた実験では、マクロファージと好中球が本菌の感染防御に重要であることが示唆された^{6, 76}。硫酸デキストランを静脈内投与すると肝臓のクッパー細胞に取り込まれ、その食食能が低下するため、少量の *Listeria monocytogenes* の感染でもマウスは死亡する。しかし、本菌感染では、まったく逆の現象が認められ、大量の菌を接種しないとマウスは死亡しない⁹⁰。これは、硫酸デキストランが一時的に血中の白血球数を増加させ、本菌の食食および殺菌を促進する一方で肝臓での菌の取り込みを減少させることがその原因と考えられる⁹⁰。また、マウスの腹腔内接種では静脈内接種に比べて約 10 倍高い 50% 致死量を示し⁸³、肺内接種では静脈内接種の約 5 倍の 50% 致死量でも菌は肺からクリアランスされることから¹⁰⁰、接種ルートによってマウスの 50% 致死量に差のあることが確認されている。さらに、ヌードマウスは無毒株でも菌の排除が極めて遅いことから、人のエイズ患者由来菌株に対する抗生物質の効果判定の生体モデルに用いられ、最近では、免疫細胞の移入による本菌に対する細胞性免疫応答の研究にも利用されている⁴⁸。

これまで述べた子馬とマウスの感染実験に関する報告のほとんどは、菌株の毒力や病原性に関する新しい知見^{75, 85}が得られる以前のものであり、再検討を要するものもある。

本菌の生態と感染源

本菌が馬の飼育環境に存在することは古くから知られていたが、適当な手段がないことから十分な疫学研究は進まず^{3, 37}、詳細な疫学研究は、WOOLCOCK らの選択培地 (NANAT) の開発以降に行われた^{4, 14, 52, 68, 79, 94, 96}。これにより馬を含めた家畜の糞便とその飼育環境中の土壌に本菌が広く分布することが明らかとなった^{14, 52, 79, 96}。BARTON ら⁴は馬の糞便がパドックあるいは放牧地に放置されると、その中で本菌が 1000 倍以上に増殖することを示し、放置された糞便が感染源として重要であると指摘した。PRESCOTT ら⁶⁰はカナダ・オンタリオ州の 5 つの牧場について設立後の年数や本症の発生数と、馬房、パドック、放牧地などの土壌中の菌数との関連性を検討し、本症の発生と馬房中の菌数が有意に相関することを示した。筆者らは青森県下の軽種馬生産牧場の土壌について通年にわたり菌数を調べ、本菌が土壌の表面に多く (10^3 cfu/g)、地下 30cm 以下ではほとんど認められない

こと、雪融けの始まる 3 月下旬から 5 月にかけて土壌中の菌数が増加することを明らかにした⁷⁹。さらに、土壌の浸出液を培地の代わりに用いても本菌が発育することから、本菌は土壌中で温度や湿度などの発育条件さえ整えばいつでも増殖できることが確認された^{27, 79}。また、馬房内の落下細菌数の測定結果から、晴れた日には本菌が空气中に浮遊している事実も明らかとなった⁶⁸。

母馬の糞便中には 10^2 – 10^3 cfu/g の本菌が認められ、分離率は様々である^{4, 81, 88, 96}。いっぽう、新生子馬では生後間もない頃から本菌が分離され始め、4 週齢頃までにすべての子馬で検出される。ピーク時にはその菌数は 10^4 – 10^5 cfu/g に達し、8–9 週齢までこの菌数が維持された後、しだいに母馬のレベルまで減少する⁸¹。このことから、この時期の子馬の糞便中には母馬の約 100–1000 倍の本菌が生息することになるが、子馬におけるこの一時的な腸管内の本菌の増殖は、子馬の食餌と腸管微生物フローラの変化に関連すると考えられ、本症の腸管感染型の感染メカニズムを考える上で大変興味深い⁸¹。さらに、腸管病変が認められた感染馬の糞便中菌数は発病と同時に 10^6 – 10^8 cfu/g まで増加することから、本症の早期診断指標の一つとなる⁷⁰。なお、この膨大な菌の排泄は感染源の拡大の意味でも大変重要な役割を演じている。

本菌の病原性に関する新しい知見

本菌の病原性に関するこれまでの研究

病原性因子としてこれまで詳細に研究された菌体成分は、莢膜、エクイファクター (equi factor) および細胞壁ミコール酸である。何れの菌体成分もすべての *R. equi* に共通に存在するものであり、強毒株と無毒株を区別する毒力因子として結論づけることはできない。

莢膜：PRESCOTT⁴⁹ はゲル内沈降反応により本菌の莢膜血清型が 7 種類あると報告し、中沢⁴⁶ は菌体凝集反応で 27 種類の血清型の存在を示した。両者とも、莢膜血清型が菌株の由来によって片寄りが認められるものの、病原性とは関連がないであろうと述べている。いっぽう、YAGER ら⁹⁸ は莢膜抗原がマクロファージ内において本菌を取り込んだ食胞とリソソームとの融合を阻害するらしいことをみだし、莢膜が病原性因子の一つであると述べている。また、ルテニウム染色された莢膜は電子顕微鏡により観察されたが、菌株間における量的な相違は認められていない^{63, 92}。莢膜多糖体の化学組成は PRESCOTT の莢膜血清型 1 がグルコース、マンノースおよびグルクロン酸の 3 種の糖からなる繰り返し構造で³³、血清型 2 がグルコース、マンノース、グルクロン酸およびラムノースの 4 種の糖からなる繰り返し構造であることが最近明らかとなった⁶²。

エクイファクター (Equi factor)：*R. equi* は *Corynebacterium pseudotuberculosis* のホスホリパーゼ D, Sta-

phyllococcus aureus のベータ溶血素あるいは *Listeria monocytogenes* の溶血素との相乗作用によって各種動物の赤血球を溶解する⁵⁾。すべての菌株の培養上清中に認められることから、エクイファクターと呼ばれ、本菌の簡易同定に用いられている⁵⁶⁾。エクイファクターはコレステロールオキシダーゼとホスホリパーゼC (コリンホスホドロラーゼとスフィンゴミエラーゼC) からなることが最近明らかとなった³⁴⁾。エクイファクターは高い抗原性を持ち、感染馬の血清中の同抗原に対する抗体は溶血反応を利用した中和試験^{53, 54, 55, 66)}あるいはゲル内沈降反応で測定される⁴⁵⁾。MACHANGU ら³⁵⁾はエクイファクターで免疫した子馬と抗エクイファクター免疫血清を移入した子馬を用いて攻撃試験を実施したが、すべての子馬が発病したことによりエクイファクターが感染防御抗原である可能性は低いと述べている。

細胞壁糖脂質-ミコール酸：本菌は放線菌目に属し、ノカルジア属やマイコバクテリウム属と分類学的に近縁である。また、本菌は罹患した子馬に化膿性肉芽腫性肺炎を起こし、細胞内寄生菌としての増殖態度を示す^{28, 29, 51)}。GOTOH ら¹⁹⁾は、豚のリンパ節の膿瘍部あるいは正常部位から分離した *R. equi* のミコール酸の炭素数がリンパ節病変と深く関連することをみいだした。すなわち、炭素数が40以上のものはマウスに肉芽腫を形成するが、それ以下のものは形成しない。これはノカルジア属菌類で認められた成績と同様のものである¹⁹⁾。しかし、感染馬病変由来株である JCM1311 (ATCC 6939) と JCM 1312 (ATCC 10146) 株は肉芽腫形成が弱く、マウスに対して弱毒でありミコール酸炭素数は40以下である¹⁹⁾。今後、馬の自然感染例における肉芽腫形成と分離株のミコール酸の炭素数との関連についての研究が必要で、その結果について興味を持たれる。

菌の毒力と毒力マーカーとなる菌体抗原の発見

R. equi の毒力に関してはこれまでその詳細についてよく分かっておらず、菌株間に相違があるという程度であった⁵¹⁾。すなわち、*R. equi* の基準株である ATCC 6939 は感染馬の肺病変部からの分離株であるにもかかわらず、実験的に子馬に本症を再現することができず^{39, 73)}、近年になって馬の病変部からの新鮮分離株を用いることによりようやく子馬での感染実験ができるようになった^{1, 39, 55, 73)}。また、本菌の毒力測定についてはマウスの静脈内投与での50%致死量の報告が散見され、菌株間に相違が認められている^{8, 44, 77)}。しかしながら、このマウスに対する毒力の菌株間における相違がどのような理由に基づくのかということについては最近まで不明であった。

CHIRINO-TREJO ら^{10, 11)}は、病変部由来新鮮分離株とその継代株の菌体抗原をポリアクリルアミド電気泳動で解析し、17.5kDaの菌体抗原に違いをみいだした。しかし、

残念ながら病原性との関連まで検討しなかった。著者らは感染馬の血清中に強毒株に特有の抗原を認識した抗体があるのではないかと考え、5頭の自然感染子馬の血清を強毒株である ATCC33701 株の培養上清抗原および全菌体抗原を用いウエスタンブロット法で検索した。感染馬の血清は菌体抗原および培養上清抗原と反応し、多数のバンドを形成した。次に、土壌由来株について感染馬血清を用いウエスタンブロット法によりの比較したところ、15-17kDa 抗原を保有する株と保有しない株が存在することを認めた⁷⁵⁾。そこで、これらの菌株についてマウス50%致死量を測定したところ、15-17kDa 抗原保有株の50%致死量は $2-4 \times 10^6$ cfu でマウスに対し強毒であるのに対し、15-17kDa 抗原非保有株は 10^9 cfu を接種してもマウスは死亡せず、すべて無毒株であった⁷⁵⁾。さらに、感染馬病変部由来株についても検索したところ、すべての株が15-17kDa 抗原を保有する強毒株であり、子馬に対し病原性を示す菌株はマウスに対しても強毒であった^{75, 82)}。これらの成績から、15-17kDa 抗原が *R. equi* の強毒株の毒力マーカーとなることが初めて明らかとなった。

本菌の病原性プラスミドの発見

15-17kDa 抗原は感染防御抗原か？その構造と機能は何か？これらの問題を明らかにする第一歩として15-17kDa 抗原について遺伝学的アプローチを試みた。*Rhodococcus* 属にはプラスミドを保有する菌種が知られている。そこで、PRESCOTT の荚膜血清型標準株と病馬由来株を用い、本菌がプラスミドを保有するか否かについて検索した。その結果、強毒株から約85kbという大きさのプラスミドを検出し *R. equi* で初めてその存在を証明した⁸⁵⁾。なお、無毒株からプラスミドは検出されなかった。次に、プラスミド脱落株を得るために液体培地を用いて強毒株を38℃の培養温度で連続継代培養したところ、5-15代の連続継代により脱落株が容易に分離された。このプラスミド脱落株は15-17kDa 抗原を保有しないマウス無毒株であった⁸²⁾。これらの成績からは *R. equi* の85kb プラスミドはマウスに対する病原性プラスミドであることが示唆された⁸⁵⁾。いっぽう、少し遅れて PRESCOTT ら⁹¹⁾は *R. equi* が6種類のプラスミドを保有することを明らかにしたが、病原性との関連まで明らかにできなかった。その後、著者らは軽種馬生産牧場の土壌と馬の糞便由来株から種々の大きさのプラスミドを検出した。現在ではその数は12種類に及んでいる⁸⁴⁾。その中で、病原性プラスミドはこれまで報告した85kb プラスミドのほか90kb プラスミドが存在し、これらは遺伝学的にもきわめて類似したDNA分子であることを明らかにした⁸⁴⁾。現在、15-17kDa 抗原をコードする遺伝子をクローニングし、その塩基配列の決定を進めている。今後、15-17kDa 抗原の構造と機能に関する分子遺

伝学的解析,ならびに15-17kDa 遺伝子をターゲットにしたPCR法やプローブ作製による強毒株の迅速同定が可能となるであろう。さらに,15-17kDa 抗原以外の病原性関連遺伝子の解析についても進展することが期待される。

ごく最近,15-17kDa 抗原が培養温度に依存して発現されるという新たな知見が得られた。本菌の培養至適温度は30℃であるが,15-17kDa 抗原は培養温度が32℃以下では発現されず,34℃以上ではじめて発現し,38-40℃で最大となる⁶⁹⁾。これはあたかも細菌が環境中から馬の体内に侵入した状況を想像させるが,このユニークな性状が何を意味するかは今後の検討を待たねばならない。さらに,15-17kDa 抗原は菌体表層で発現されることが菌体表層蛋白のビオチンラベル法とトリプシン処理による研究で明らかとなったが⁶⁹⁾,この結果は本抗原の機能と構造を考えるうえで興味深い。

実験室継代と無毒化

実験室継代株の無毒化の代表例は,病原性プラスミドを保有していない*R. equi*の基準株であるATCC6939であり,継代培養中にプラスミドが脱落し無毒株となったと解釈される⁸⁵⁾。それではどのように強毒株が実験室内での継代中に無毒株となったのか?38℃培養下での増殖速度を病原性プラスミド保有株と脱落株間で比較したところ,脱落株は保有株に比べ増殖速度が速かった。そこで,保有株と脱落株を同じ割合で新しい液体培地に接種し,48時間培養後に培養液中での両株の割合を調べたところ,90%以上が脱落株であった⁸⁶⁾。継代を重ねるごとに脱落株のポピュレーションが優位となってゆく原因はこの38℃での増殖速度の差によるものであった。いっぽう,30℃培養では両株の増殖速度は同じであった。このことから,現在著者らは,本菌の分離・培養・継代を30℃で行っている。

毒力マーカーの疫学への応用:強毒株による牧場汚染の比較

これまでの本菌の汚染調査では糞便あるいは環境中から検出される*R. equi*の菌数を基準にその汚染度を判定した^{52,60)}。しかし,毒力マーカーがみつかったことで,本症の原因となる強毒株にのみ限定した汚染度の判定が可能となった。

著者らは,本症が発生した3つの牧場と全く発生のない牧場から母馬と子馬の糞便およびパドックの土壌を採取し,*R. equi*の菌数と強毒株の割合(%)を比較した⁸⁰⁾。糞便と土壌中の菌数については牧場間での有意な差は認められなかったが,土壌と子馬の糞便由来株中の強毒株の割合は発生牧場(20-25%)の方が発生のない牧場(5%)に比べて有意に高い値を示した⁸⁰⁾。また,発生牧場の健康な子馬の糞便中に占める強毒株の割合もきわめて高かった。これは,発生牧場の飼育環境が強毒

株で広く汚染され,子馬が強毒株に常に暴露されていることを意味するものと解釈された。さらに,最近,著者らは感染馬の糞便中に占める*R. equi*の強毒株の割合を調べたところ,分離株の大半が強毒株であった(未発表成績)。これらの事実から新生子馬は汚染された環境から強毒株を取り込み,腸管内で増やして排泄し環境汚染を広げるとともに,一部の子馬は感染発病するという悪循環を繰り返すことが牧場汚染と地方病的発生の構図ではないだろうかと推察される。

おわりに

本菌の病原性プラスミドの発見はこれまで説明できなかったいくつかの疑問を解き明かし,分子遺伝学的手法による本菌の病原性や本症の発病機構の解明の突破口となった。ワクチン開発や強毒株の汚染調査などの予防衛生面への応用を含めた本菌および本症に関する研究の進展が期待される。

本研究は,北里大学獣医学教室における椿 志郎教授ならびに教室員各位との共同研究である。病原性プラスミドの研究は農水省家畜衛生試験場岡崎 勉博士,伊藤博哉博士との共同研究である。また,日本中央競馬会鎌田正信博士には有益なご助言を賜った。

本研究は日本中央競馬会委託研究費,文部省科学研究費(課題番号59760237,60760225,61760283,01760265,03856078,04760229),ならびに北里学術奨励資金(平成元年,2年)の援助を受けて行われた。

本研究は青森県・北海道の軽種馬生産地のご理解とご協力のもとで行われた。ここに感謝の意を表します。

引用文献

- 1) BARTON MD, EMBURY DH : Aust Vet J, 64, 332-339 (1987)
- 2) BARTON MD, GOODFELLOW M, MINNIKIN DE : Int J Med Microbiol, 272, 154-170 (1989)
- 3) BARTON MD, HUGHES KL : Vet Bull, 50, 65-80 (1980)
- 4) BARTON MD, HUGHES KL : Vet Microbiol, 9, 65-76 (1984)
- 5) BERNHEIMER AW, LINDER R, AVIGAD LS : Infect, Immun, 29, 123-131 (1980)
- 6) BOWLES PM, WOOLCOCK JB, MUTIMER MD : Vet Immunol Immunopathol, 22, 369-378 (1989)
- 7) BOWLES PM, WOOLCOCK JB, MUTIMER MD : J Comp Pathol, 101, 411-420 (1989)
- 8) BOWLES PM, WOOLCOCK JB, MUTIMER MD : Vet Microbiol, 14, 259-268 (1987)
- 9) BRUMBAUGH GW, DAVIS LE, THURMON JC, et al : Am J Vet Res, 51, 766-771 (1990)
- 10) CHIRINO-TREJO JM, PRESCOTT JF : Can J Vet Res, 51, 301-305 (1987)
- 11) CHIRINO-TREJO JM, PRESCOTT JF : Can J Vet Res, 51, 297-300 (1987)
- 12) CHIRINO-TREJO JM, PRESCOTT JF, YAGER JA : Can

- J Vet Res, 51, 444-447 (1987)
- 13) CRANE SA, ZIEMER EL, SWEENEY CR : Am J Vet Res, 50, 2042-2048 (1989)
- 14) DEBEY MC, BAILIE, WE : Vet Microbiol, 14, 251-257 (1987)
- 15) ELLENBERGER MA, KAEERLE ML, ROTH JA : Am J Vet Res, 45, 2428-2430 (1984)
- 16) ELLENBERGER MA, KAEERLE ML, ROTH JA : Am J vet Res, 45, 2424-2427 (1984)
- 17) FALCON J, SMITH BP, OBRIEN TR, et al : J Am Vet Med Assoc, 186, 593-599 (1985)
- 18) GOODFELLOW, M : Vet Microbiol, 14, 205-209 (1987)
- 19) GOTOH K, MITSUYAMA M, IMAIZUMI S, et al : Microbiol Immunol, 35, 175-185 (1991)
- 20) HARVEY RE, SUNSTREAM JC : Rev Infect Dis, 13, 139-145 (1991)
- 21) HIETALA SK, ARDANS AA : Vet Immunol Immunopathol, 14, 279-294 (1987)
- 22) HIETALA SK, ARDANS AA : Vet Microbiol, 14, 307-320 (1987)
- 23) HIETALA SK, ARDANS AA, SANSOME A : Am J Vet Res, 46, 13-15 (1985)
- 24) HILLIDGE CJ : Vet Res, 119, 261-264 (1986)
- 25) HILLIDGE CJ : Vet Microbiol, 14, 337-342 (1987)
- 26) HUTCHINS DR, BROWNLOW MA, JOHNSTON KG : Aust Vet Pract 10, 248-252 (1980)
- 27) HUGHES KL, SULAIMAN I : Vet Microbiol, 14, 241-250 (1987)
- 28) ISHINO S, KUMAGAI K, KUNIYOSHI S, et al : J Vet Med Sci, 54, 509-515 (1992)
- 29) JOHNSON JA, PRESCOTT JF, MARKHAM RJ : Vet Pathol, 20, 450-459 (1983)
- 30) 柿塚典子 : 北里大学獣医畜産学部獣医学科修士論文 (1984)
- 31) 兼子樹広, 及川正明, 吉原豊彦ほか : 馬の科学 22, 413-438 (1985)
- 32) LEADON D, FARRELLY B, FOGARTY U et al : Vet Rec, 123, 279 (1988)
- 33) LEITCH RA, RICHARDS JC : Biochem Cell Biol, 68, 778-789 (1990)
- 34) MACHANGU RS, PRESCOTT JF : Can J Vet Res, 55, 332-340 (1991)
- 35) MACHANGU RS, PRESCOTT JF : Vet Microbiol, 26, 323-333 (1991)
- 36) MADIGAN JE, HIETALA S, MULLER N : J Reprod Fertil Suppl, 44 571-578 (1991)
- 37) MAGNUSSEN H : Arch Wiss Prakt Tierheilk, 50, 22-38 (1923)
- 38) MARTENS JG, MARTENS RJ, RENSHAW HW : Am J Vet Res, 49 295-299 (1988)
- 39) MARTENS RJ, FISKE RA, RENSHAW HW : Equine Vet J 14, 111-116 (1982)
- 40) MARTENS JG, MARTENS RJ, FISKE RA et al : Equine Vet J, 21, 249-255 (1989)
- 41) MARTENS JG, MARTENS RJ, RENSHAW HW : Vet Microbiol 14, 277-286 (1987)
- 42) MUTIMER MD, WOOLCOCK JB : J Reprod Fertil Suppl, 32, 469-476 (1982)
- 43) 中沢宗生 : 農林水産省家畜衛生試験場研究報告, 89, 1-10 (1986)
- 44) NAKAZAWA M, HARITANI M, SUGIMOTO C et al : Jpn J Vet Sci, 45, 679-682 (1983)
- 45) NAKAZAWA M, ISAYAMA Y, KASHIWAZAKI M et al : Vet Microbiol, 15, 105-113 (1987)
- 46) NAKAZAWA M, KUBO M, SUGIMOTO C et al : Microbiol Immunol, 27, 837-846 (1983)
- 47) NORDMANN P, DERESTEDJIAN JJ, RONCO E : Antimicrob Agents Chemother, 36, 1244-1248 (1992)
- 48) NORDMANN P, RONCO E, NAUCIEL C : Infect Immun 60, 2748-2752 (1992)
- 49) PRESCOTT JF : Can J Comp Med, 45, 130-134 (1981)
- 50) PRESCOTT JF : J Vet Pharmacol Ther, 4, 27-31 (1981)
- 51) PRESCOTT JF : Clin Microbiol Rev, 4, 20-34 (1991)
- 52) PRESCOTT JF : Vet Microbiol, 14, 211-214 (1987)
- 53) PRESCOTT JF, COSHAN-GAUTHIER R, BARKSDALE L : Can J Comp Med, 48, 370-373 (1984)
- 54) PRESCOTT JF, HOOVER DJ, DOHOO IR : J Vet Pharmacol Ther, 6, 67-73 (1983)
- 55) PRESCOTT JF, JOHNSON JA, MARKHAM RJ : Can J Comp Med, 44, 280-288 (1980)
- 56) PRESCOTT JF, LASTRA M, BARKSDALE L : J Clin Microbiol 16, 988-990 (1982)
- 57) PRESCOTT JF, NICHOLSON VM : J Vet Pharmacol Ther, 7, 61-64 (1984)
- 58) PRESCOTT JF, OGILVIE TH, MARKHAM RJ : Am J vet Res, 41, 2073-2075 (1980)
- 59) PRESCOTT JF, SWEENEY CR : J Am Vet Med Assoc, 187, 725-728 (1985)
- 60) PRESCOTT JF, TRAVERS M, YAGER-JOHNSON JA : Can J Comp Med 48, 10-13 (1984)
- 61) SANADA Y, NODA H, NAGAHATA H : J Vet Med Sci, 54, 649-652 (1992)
- 62) SEVERN WB, RICHARDS JC : Carbohydr Res, 206, 311-332 (1990)
- 63) 白戸明 : 北里大学獣医畜産学部獣医学科修士論文 (1985)
- 64) SKALKA B : Vet Microbiol, 14, 269-276 (1987)
- 65) SKALKA B, SVASTOVA, A : Vet Microbiol, 10, 293-300 (1985)
- 66) SKALKA B, SVASTOVA A : Zentralbl Veterinarmed B, 32, 137-142 (1985)
- 67) SWEENEY CR, SWEENEY RW, DIVERS TJ : Vet Microbiol, 14, 329-336 (1987)
- 68) TAKAI S, FUJIMORI T, KATSUZAKI K : Vet Microbiol, 14, 233-239 (1987)
- 69) TAKAI S, IIE M, WATANABE Y et al : Infect Immun, 60, 2995-2997 (1992)
- 70) TAKAI S, IMORI S, TSUBAKI S : Can J Vet Res, 50, 479-484 (1986)
- 71) TAKAI S, KAWAZU S, TSUBAKI S : J Clin Micro-

- biol 23, 943-947 (1986)
- 72) TAKAI S, KAWAZU S, TSUBAKI S : Am J Vet Res, 46, 2166-2170 (1985)
- 73) TAKAI S, KAWAZU S, TSUBAKI S : Vet Microbiol 14, 321-327 (1987)
- 74) TAKAI S, KAZAMA N, TSUBAKI S : Jpn J Vet Sci, 52, 653-655 (1990)
- 75) TAKAI S, KOIKE K, OHBUSHI S et al : J Clin Microbiol, 29, 439-443 (1991)
- 76) TAKAI S, MATSUMURA K, NAGAI M et al : Jpn J Vet Sci, 48, 667-673 (1986)
- 77) TAKAI S, MICHIZOE T, MATSUMURA K et al : Microbiol Immunol, 29, 1175-1184 (1985)
- 78) TAKAI S, MOROZUMI Y, HIGASHIYAMA S et al : Jpn J Vet Sci, 48, 405-408 (1986)
- 79) TAKAI S, NARITA K, ANDO K et al : Vet Microbiol 12, 169-177 (1986)
- 80) TAKAI S, OHBUSHI S, KOIKE K et al : J Clin Microbiol, 29, 2887-2889 (1991)
- 81) TAKAI S, OHKURA H, WATANABE Y et al : J Clin Microbiol, 23, 794-796 (1986)
- 82) TAKAI S, OZAWA T, TSUBAKI S : Plowright, W, Posedale P R, Wade F J (ed) Equine Infectious Diseases VI, R & W Publications, 45-48 (1992)
- 83) TAKAI S, SASAKI Y, TSUBAKI S : Microbiol Immunol 36, 895-898 (1992)
- 84) 高井伸二, 関崎勉, 伊藤博哉 : 日本細菌学雑誌, 47, 229 (1992)
- 85) TAKAI S, SEKIZAKI T, OZAWA T et al : Infect Immun, 59, 4056-4060 (1991)
- 86) TAKAI S, SUGAWARA T, WATANABE Y et al : submitted for publication
- 87) TAKAI S, TAKEUCHI T, TSUBAKI : Jpn J Vet Sci, 48, 445-448 (1986)
- 88) TAKAI S, TSUBAKI S : Jpn J Vet Sci, 47, 493-496 (1985)
- 89) TAKAI S, YAMAGATA T, TSUBAKI S : Jpn Vet Sci, 51, 1291-1293 (1989)
- 90) TAKAI S, YOKOYAMA Y, TSUBAKI S : Microbiol Immunol, 34, 697-701 (1990)
- 91) TRACHUK-SAAD O, PRESCOTT J : J Clin Microbiol, 29, 2696-2700 (1991)
- 92) WOOLCOCK JB, MUTIMER, MD : J Gen Microbiol, 109, 127-130 (1978)
- 93) WOOLCOCK JB, FARMER AT, MUTIMER MD : J Clin Microbiol, 9, 640-642 (1979)
- 94) WOOLCOCK JB, MUTIMER MD : Vet Res Commun, 4, 291-294 (1981)
- 95) WOOLCOCK JB, MUTIMER MD, BOWLES PM : Vet Microbiol, 14, 215-224 (1987)
- 96) WOOLCOCK JB, MUTIMER MD, FARMER AM : Res Vet Sci, 28, 87-90 (1980)
- 97) YAGER JA : Vet Microbiol 14, 225-232 (1987)
- 98) YAGER JA, DUDER CK, PRESCOTT JF et al : Vet Microbiol, 14, 287-294 (1987)
- 99) YAGER JA, FOSTER SF, ZINK MC et al : Am J Vet Res, 47, 438-440 (1986)
- 100) YAGER JA, PRESCOTT CA, KRAMAR DP et al : Vet Microbiol, 28, 363-376 (1991)
- 101) ZINK MC, JOHNSON JA, PRESCOTT JF et al : J Reprod Fertil Suppl, 32, 491-496 (1982)
- 102) ZINK MC, YAGER JA, SMART N : Can Vet J, 27, 213-217 (1987)
- 103) ZINK MC, YAGER JA, PRESCOTT JF et al : Vet Microbiol, 14, 295-305 (1987)
- 104) ZINK MC, YAGER JA, PRESCOTT JF et al : Am J Vet Res, 46, 2171-2174 (1985)