

論文の内容の要旨

獣医学 専攻

平成 25 年度博士課程入学

氏 名 相澤 (久保田) 早苗

指導教員名 辻本 元

論文題目：

Studies on the epidemiology and pathogenicity of canine and feline gastric *Helicobacter* spp. in Japan
(国内の犬・猫の胃に感染する *Helicobacter* 属菌の疫学調査および病原性の検討)

Helicobacter 属菌は、グラム陰性、微好気性のらせん菌であり、現在少なくとも 40 菌種が報告され、ヒトや犬、猫をはじめ様々な動物の消化器に広く生息していることが知られている。ヒトでは、胃癌などの原因となる *H. pylori* が有名だが、犬や猫では *H. pylori* の感染は非常にまれであり、*H. bizzozeronii*、*H. felis*、*H. heilmannii sensu stricto* (s.s.)などの non-*H. pylori Helicobacter species* (NHPH)が高率にみとめられることが海外で報告されている。NHPH の一部はヒトでは胃炎や胃リンパ腫などの発症に関連することが疑われているが、犬や猫での病原性については一定の見解が得られていない。また国内の犬と猫における NHPH の大規模な疫学調査は行われていない。

そこで、研究の前段階として、第 1 章では医学領域で非侵襲的・簡便な *Helicobacter* 属菌の検出法として汎用されている尿素呼気試験を犬に応用し手技を確立するとともに、少数の内視鏡検査実施症例を用いたパイロットスタディを行った。その結果国内の犬症例においても *Helicobacter* 属菌が高率に感染していることが示唆されたため、第 2-1 章および第 4 章では、国内の犬と猫の胃への *Helicobacter* 属菌の感染率と感染菌種を上部消化管内視鏡検査を実施した犬および猫の臨床症例で調査した。第 2-2 章では、第 2-1 章において *H. pylori* の感染がみとめられた犬の 1 症例に関して、その同居犬と飼い主における *H. pylori* の感染状況および家庭内感染の可能性を探った。第 3 章および第 5 章では、第 2-1 章および第 4 章で得た感染率、感染菌種の結果を踏まえながら犬と猫における *Helicobacter* 属菌の病原性を臨床的、臨床病理学のおよび病理学的見地から検討した。

第2章 内視鏡検査を行った国内の犬における胃内感染 *Helicobacter* 属菌の感染状況に関する研究

第1-1章では、菌種および菌株特異的な病原性の検討の前段階として、未だ大規模な調査が行われていない国内の犬の胃に感染する *Helicobacter* 属菌の感染率および感染菌種を、上部消化管内視鏡検査を実施した144頭の犬の臨床症例を用いて調査した。

Helicobacter 属菌に特異的な polymerase chain reaction (PCR) プライマーを用いた調査では、犬の胃における *Helicobacter* 属菌の感染率は35% (50/144) であった。このうち、42%にあたる21症例で、菌種特異的 (*H. bizzozeronii*、*H. felis*、*H. heilmannii* s.s.、*H. pylori*) PCR 検査で菌種の同定ができなかった。そのため、*Helicobacter* 属菌陽性と判断された50症例全てで、胃 *Helicobacter* 属菌の分類に有用だと報告されている部分的ウレアーゼ AB 遺伝子の塩基配列の系統解析を行ったところ、得られた塩基配列の大多数が既知の *H. heilmannii* s.s. の菌株に89-99%の相同性を示した。また、世界初となる *H. pylori* の感染を1例でみとめた。

以上の結果から、国内の犬の胃に最も広く感染している *Helicobacter* 属菌は *H. heilmannii* s.s. であり、その遺伝配列は多様性があり、亜種が存在する可能性が示唆された。

第1-2章では、第1-1章で見つかった、犬での *H. pylori* 感染症例について、その同居犬と飼い主の胃内からも *H. pylori* の感染をみとめ、3例から検出された *H. pylori* のウレアーゼ遺伝子の塩基配列は完全に一致した。また、検出された *H. pylori* の菌株は、この一家の居住地から遠い沖縄県で分離された株に最も高い相同性を示した。このことから、この家庭での *H. pylori* 感染は個々に起こったものではなく、いずれか1例が感染後に他の2例に広まったものと考えられた。これにより、*H. pylori* がヒトと犬の間で行き来する人獣共通感染症となり得ることが世界で初めて確認された。

第3章 国内の犬の胃における *Helicobacter* 属菌の感染と臨床的、臨床病理学的、および病理学的所見との関連

ヒトでは、*H. pylori* の感染は胃炎症状を引き起こし、胃において粘膜下隆起病変、多発性の発赤、胃皺の肥厚などの特徴的な病変を形成することが知られている。また、胃炎以外にも特発性血小板減少症、鉄欠乏性貧血との関連も報告されている。ところが、犬における NHPH 感染の病原性についてはほとんど明らかにされていない。

そこで、第1-1章で用いた犬の144症例を用いて、*Helicobacter* 属菌の感染と症状の関連、血液検査項目との関連、胃粘膜の内視鏡肉眼所見および病理学的所見との関連性を検討した。また、*Helicobacter* 属菌の除菌を実施した症例における嘔吐頻度の変化も調査した。

結果として、*Helicobacter* 属菌に感染している症例群では、非感染症例群よりも中程度から重度の胃炎が、正常から軽度胃炎に比較して有意に多かった。また、除菌を実施した4症例のうち、3症例で除菌後に嘔吐の改善をみとめた。その他の調査では、*Helicobacter* 属菌の感染との関連はみとめられなかった。

今回の結果から、国内の犬に感染する *Helicobacter* 属菌は胃炎を重症化する可能性があり、一部の症例では嘔吐の発現に関連している可能性があることが分かった。

第4章 内視鏡検査を行った国内の猫における胃内感染 *Helicobacter* 属菌の感染状況に関する研究

本章では、国内の猫の胃に感染する *Helicobacter* 属菌の感染率および感染菌種を、上部消化管内視鏡検査を実施した 56 頭の猫の臨床症例を用いて調査した。

Helicobacter 属菌の感染は 50% (28/56) でみとめられ、菌種特異的 PCR 検査で菌種の同定ができなかったものは 3 症例 (11%) であった。*Helicobacter* 属菌陽性と判断された 28 症例全てで部分的ウレアーゼ AB 遺伝子のシークエンス解析を試みたところ、得られた塩基配列の大多数が既知の *H. heilmannii* s.s. の菌株に 91-99% の相同性を示した。そのうちの半数はヒトの胃疾患患者から検出された *H. heilmannii* s.s. の菌株に 99% という高い相同性を示した。

これらの結果から、国内の猫の胃では *H. heilmannii* s.s. に近縁な *Helicobacter* 属菌の感染が最も多くみとめられ、そのうちのいくつかはヒトと猫の両方に感染する人獣共通感染症となり得る可能性が示唆された。

第5章 国内の猫の胃における *Helicobacter* 属菌の感染と臨床的、臨床病理学的、および病理学的所見との関連

本章では第 3 章で用いた猫の 56 症例を用いて、*Helicobacter* 属菌の感染と臨床所見、臨床病理学的所見、および病理学的所見との関連を検討した。また、*Helicobacter* 属菌の除菌を実施した症例で、嘔吐頻度の変化も調査した。

結果として、*Helicobacter* 属菌に感染している症例と非感染症例では、胃炎の重症度に有意な差はみとめられなかった。しかし、除菌を実施した 6 症例のうち、5 症例で除菌後に嘔吐頻度の減少をみとめた。その他の調査では、*Helicobacter* 属菌の感染との関連はみとめられなかった。

今回の結果から、国内の猫の胃に感染する *Helicobacter* 属菌の胃炎重症化への関与はみとめられなかったが、犬と同様除菌後に嘔吐頻度が低下する症例が存在することから、一部の症例では嘔吐の発現に関連している可能性があることが分かった。

考察

本研究では、国内の犬の胃における *Helicobacter* 属菌の感染率は、35% と海外より低いことが分かった。これは、ヒトの *H. pylori* 感染と同様、国や地域差によるものであると考えられた。しかし、今回集めた多くは消化器症状を呈していて、調査前に抗菌薬の投与を受けていた犬が混じっていることが、海外より感染率が低かったことの一因となった可能性も考えられた。また、感染菌種としては *H. heilmannii* s.s. に近縁な *Helicobacter* 属菌がほとんどを占めており、このウレアーゼ遺伝子の塩基配列に多様性がみとめられたことから、

日本の犬に感染している *Helicobacter* 属菌には、新しい亜種が存在する可能性が示唆された。

今回、*H. pylori* がヒトと犬との間での人獣共通感染症となる可能性が初めて示唆された。NHPH が既にヒトと犬・猫の間での人獣共通感染症として認識されていることも考慮すると、今後これら *Helicobacter* 属菌の感染経路を明らかにし人獣共通感染症の拡大を阻止するためには、医学と獣医学の強い連携が必要と思われた。

国内の猫の胃への *Helicobacter* 属菌の感染率は 50% と海外と同程度であり、感染のほとんどが *H. heilmannii* s.s. に近縁な *Helicobacter* 属菌であることが分かった。このうち、いくつかの配列はヒトの胃炎患者から検出された *H. heilmannii* s.s. の菌株に非常に近縁 (99%) であり、その他の配列は既知の *H. heilmannii* s.s. と 90% 程度と比較的低い相同性を示したことから、国内の猫の胃に感染する *H. heilmannii* s.s. のうち一部は人獣共通感染症となり、別の菌株は新しい亜種である可能性が示唆された。

犬の胃に感染する *Helicobacter* 属菌と臨床所見、臨床病理学的所見、病理学的所見との関連については、*H. heilmannii* s.s. に近縁な *Helicobacter* 属菌の感染が胃炎の重症化に関与する可能性が示唆された。また、除菌症例の一部では嘔吐頻度が低下したこと、一部の犬の症例では感染と嘔吐が関連している可能性が示唆された。ただし、今回除菌の有用性に関して統計学的処理ができなかったため、今後は症例数を増やした解析が必要である。

一方、猫においては *Helicobacter* 属菌の感染と胃炎の重症度には関連がみとめられなかった。しかし、一部の猫では除菌後に嘔吐頻度の低下がみとめられたことより、一部の猫では感染が嘔吐に関与する可能性が示唆された。犬と猫では、いずれも *H. heilmannii* s.s. に近縁な *Helicobacter* 属菌の感染がほとんどを占めていたのにもかかわらず、両者で感染と病理組織学的所見の関連に違いがみとめられた要因としては、宿主の違いや感染している *H. heilmannii* s.s. の菌株の違い、症例数の違いなどが考えられた。過去の報告で示唆されている NHPH の感染と猫の胃リンパ腫との関連については、今回の調査でも感染症例では非感染症例よりもリンパ腫が多い傾向がみとめられたが、今後症例数を増やし統計学的検討を行う必要がある。

犬と猫における *Helicobacter* 属菌の感染と特発性血小板減少症および鉄欠乏性貧血との関連については、今回の調査では明らかにできなかった。今後、より適切に関連を調査するためには、医学領域で行われたようにこれらの疾患を持った症例で、除菌により血液学的および臨床的改善がみられるかを調査する必要があると思われる。

日本の犬と猫の胃に感染する各 NHPH の菌種の病原性については、今回の調査では *H. heilmannii* s.s. に近縁な *Helicobacter* 属菌の感染が犬と猫ともにほとんどを占めていたため明らかにできなかった。今後各 NHPH の病原性を検討するためには、各 NHPH の分離培養と犬や猫の細胞株への感染実験が必要と考えられる。