

氏名(本籍)	加藤行男(愛知県)
学位の種類	博士(獣医学)
学位記番号	乙第383号
学位授与の要件	学位規則第3条第3項該当
学位論文題名	都市のビル内に生息するクマネズミにおける人畜共通感染症原因細菌に関する研究
論文審査員	(主査)金内長司 (副査)光崎研一 福安嗣昭

論文内容の要旨

ネズミは、ペスト、レプトスピラ症、鼠咬症、サルモネラ症、ラッサ熱、腎症候性出血熱など様々な疾病の病原巣あるいは媒介者として知られ、これらの疾病の発生あるいは流行の原因となってきた。ネズミは、その生活圏の違いから一般にイエネズミとノネズミに分けられている。イエネズミには、クマネズミ、ドブネズミ、ハツカネズミの3種があり、ヒトの生活圏に生息することから住家性ネズミとも言われ、ヒトと密接に係わっている。この3種のなかでも、特にドブネズミは、かつて日本の田園および都市において年間数百人の死者を出したレプトスピラ症の主要な病原巣であり、また、1935年に発生したサルモネラ食中毒(大福餅事件)の汚染源であったことなどにより、一躍注目を浴び多くの調査がなされてきた。

一方、近年都市の近代化が著しく進み、都市環境の急激な変化と共に、そこに生息するネズミの生態にも大きな変化が起こっている。すなわち、1970年代に入ると、それまで優勢であったドブネズミに代わって、乾燥に強く、殺鼠剤に抵抗性で、垂直移動を好むクマネズミが優勢となり、今日では、都市のビル内に生息しているネズミのほとんどはクマネズミであることが明らかにされている。

本研究は、これまでに不明であったこのように近代都市のビル内に生息するようになり、猖獗を極めているクマネズミにおける各種人畜共通感染症原因細菌の保有状況をはじめ明らかにし、さらにビル内環境(飲食店など)における汚染状況を調べ、ネズミと環境汚染の関連性について検討した。

I. 都市のビル内のクマネズミにおける人畜共通感染症原因細菌の保有状況

1988～1992年に、東京都心部の16のビル内で捕獲したクマネズミ1,191匹(大腸内容物など)を供試し、各種人畜共通感染症原因細菌の分離培養を行い、分離菌株の種の同定、生物型、血清型、プラスミド型、DNA型などの各種型別、病原因子の試験などを実施した。

1. *Salmonella* の保有状況

ビル内のクマネズミにおける *Salmonella* の保有率は1.5% (17/1144) で、1960年代の東京および大阪の市街地のネズミにおける保有率約2%とほぼ同率であり、40年前とほとんど変化が認められなかった。ま

た、出現血清型は Typhimurium (35.3%)、Hadar (29.4%)、Isangi (11.8%)、Enteritidis (11.8%) などが高頻度で検出された。本研究と同時期の都心部のビル内小売り食肉における *Salmonella* の汚染率は鶏肉 26.6%、豚肉 5.3%、牛肉 1.3% であり、血清型は今回のネズミと同様の血清型が高頻度で検出されている。したがって、都市のネズミの *Salmonella* 保有状況はこれらの食肉の汚染状況を反映していることが示唆された。

2. *S. aureus* の保有状況

ビル内のクマネズミにおける *S. aureus* の保有率は 17.3% (161/932) で、既報の他の場所に生息するネズミ (35.7~84.5%) や他の動物 (0~85.3%) の保有率に比較してかなり低率であった。ビル内環境の清浄さを反映していると考えられた。

分離菌の生物型は、これまでネズミなどの齧歯類から多く検出される齧歯類型 (G 型) よりも、齧歯類型 (G 型) とヒト型 (A 型) の中間型 (UT1) が 58.9% と圧倒的に多いという特徴が認められた。コアグラゼ型については、ヒトの膿瘍疹などの臨床由来株に多い V 型 (55.9%)、次いで食中毒患者から最も頻繁に分離される VII 型 (31.8%) の 2 型が最優勢であった。分離菌 161 株のうち 41 株 (25.5%) がエンテロトキシンを産生し、しかもヒト食中毒の原因菌として頻度が高いエンテロトキシン A、B、C 産生株が 87.8% を占めた。3 株 (1.9%) が TSST-1 を産生した。したがって、都市のネズミの *S. aureus* はヒト型あるいはヒト食中毒由来株に類似の性状を示す傾向が認められた。食中毒の汚染源になっている可能性が示唆された。

3. *Listeria* の保有状況

ビル内のクマネズミにおける *Listeria* spp. の保有率は 19.2% (133/692) で、既報の他の場所に生息するネズミ (0~9.4%) や他の動物 (0~12.2%) における保有率に比較してかなり高率であった。また、菌種別にみた場合、リステリア症の原因菌は病原性 *L. monocytogenes* の保有率は 10.5% (43/410) で、既報の他の場所に生息しているネズミ (0~3.6%) や他の動物 (0~1.4%) における保有率に比較して著しく高率であり、さらに、*L. monocytogenes* の分離株の血清型はヒトの病原性 3 大血清型として知られている 1/2a、1/2b、4b が圧倒的に多く、91.7% を占めるなどの顕著な特徴が認められた。従って、近年リステリア症は食品媒介性であることが明らかになりつつあるが、都市のクマネズミが飲食店の食品を介して感染源になっている可能性が示唆された。

4. *Vibrio* の保有状況

ビル内のクマネズミにおける *Vibrio* spp. の保有率は 13.4% (67/500) であった。このうち主に生鮮魚介類を販売している食品店では 20.0% (51/255) で、飲食店での 6.5% (16/245) より有意義 ($P < 0.01$) に高率であり、しかも、より多くの菌種 (6 種) が検出されることなどから、ビル内に搬入される生鮮魚介類がビル内のネズミの主な汚染源であることが示唆された。

好塩性の腸炎ビブリオ (*V. parahaemolyticus*) は食品店のネズミのみから比較的低率 (3.1%) で検出されたが、分離菌 38 株は 26 血清型に型別され、また、1 匹のネズミから 8 種の異なる血清型が検出される例がみられることなど変化にとみ、世界の広い海域の生鮮魚介類がビル内に搬入されていることが示唆される

と共に、本菌はビル内のネズミや環境で生存できないと考えられた。

これに対して、淡水性の *V. cholerae* non-01 は、食品店および飲食店のネズミの両者からほぼ同率 (7.5%と 4.5%) で検出され、分離菌 41 株は比較的少ない 16 血清型に型別されるのみで変化に乏しく、また特定の血清型 (本研究で初めて発見、追加された 0107、0108、0109 など) が約一ヶ月間継続して同一の食品店から検出されることなどから、*V. cholerae* non-01 はネズミの腸管内あるいはビル内環境でかなり長期間生存でき、汚染が維持されていると考えられた。

ビル内のネズミにおける *Vibrio* spp. の保有率には海産魚介類の場合と同様に季節差が認められ、夏季で 25.8% (49/190) と高率であったが、冬季では、1.9% (1/52) と著しく低率であった。したがって、都市のネズミは *V. cholerae* non-01 の特定の血清型を選択的に保有し、食品の汚染源になっている可能性が示唆された。

5. *Yersinia* の保有状況

ビル内のクマネズミにおける *Yersinia* spp. の保有率は 29.4% (341/1161) で、過去に報告されている都市の下水道のドブネズミにおける保有率 (1.3~20.5%) よりもむしろ高率であった。出現菌種は、5 菌種で、そのうち病原性 (食中毒菌) の *Y. enterocolitica* (173 株、14.9%) および非病原性のいわゆる環境エルシニアと呼ばれる *Y. frederiksenii* (180 株、15.5%) の 2 菌種が最優勢であった。しかし、*Y. enterocolitica* の分離菌はいずれも病原因子 (45Md プラスミド、カルシウム要求性、自己凝集性など) が全て陰性で、環境エルシニア化していると考えられた。したがって、ビル内のネズミと環境は環境エルシニアによってかなり高率に汚染されていて、病原性 *Y. enterocolitica* などが汚染豚肉などとともにビル内に侵入しても、ネズミや環境を汚染するまでに至らないと考えられた。

6. *Campylobacter* の保有状況

都市のネズミにおける *Campylobacter* の保有状況についてはこれまで主にドブネズミについて調べられており、保有率として下水道 17.6%、港湾地域 1.1% などが報告されている。今回ビル内のクマネズミ 545 匹について調べたが、全て陰であった。

一方、東京都区内の小売り食肉における *Campylobacter* の汚染率として鶏肉 77.2%、牛肉 5.1%、豚肉 1.4% などが報告されている。このような汚染食肉とともに *Campylobacter* がビル内に持ち込まれても、衛生的に管理されるとともに、比較的乾燥したビル内環境では死滅しやすく、ビル内のネズミを汚染することは少ないと考えられた。

7. *Leptospira* の保有状況

ネズミにおける *Leptospira* の保有はこれまで主に田園地域のネズミについて調査されており、11~70% の保有率が報告されている。また、1970 年代までの東京都区内の下水道や飲食店のドブネズミにおいて 20~25% の保有率が報告され、都市だけでも年間 10 名以上の死亡が記録されていた。今回、都心部のビル内のクマネズミ 564 匹にちて腎臓乳剤のモルモット接種などを行って精査したが *Leptospira* は全く検出されず、また、血中抗体価も全て 10 倍以下であった。したがって、*Leptospira* は本来水系感染によって伝播す

るため、比較的乾燥した近代ビル内に生息するクマネズミが、下水道などからの *Leptospira* に感染し、それを持続する機会は非常に少なくなっているものと考えられた。

以上、東京都心部のビル内に生息するクマネズミにおける各種病原細菌の保有状況を調べた結果、*Salmonella* と *S. aureus* については従来の都市のドブネズミにおける保有率とほぼ同様であったが、*Campylobacter* と *Leptospira* については著しく減少し、全く検出されなかった。しかし、*Listeria*、*Vibrio*、および *Yersinia* は著しい高率を示し、特に、*L. monocytogenes* については他のいずれの動物における保有率よりも際だって高率であるという顕著な特徴が認められた。そこで、このビル内ネズミにおける *L. monocytogenes* の高率保有の原因を探るため、次項においてビル内環境における *Listeria* 汚染について調べた。

II. 都市のビル内のクマネズミとその生息環境における *Listeria* の汚染状況

1994～1995年に3つのビル(Q、R、S)で捕獲されたクマネズミ183匹の腸内容183検体およびその生息環境(飲食店厨房の床面と排水溝)の拭き取りスワブ243検体を供試し、*Listeria* の分離培養と分離株の菌種の同定、血清型別およびDNA型別をおこなった。

1. 各ビルにおける *Listeria* の汚染率

3つのビルにおけるネズミと環境の *Listeria* 汚染率を比較すると、Rビルでは両汚染率共に最も高くそれぞれ52.0%、35.5%、Sビルでは共に最も低く14.8%、4.4%、Qビルは共にRビルとSビルの中間値29.6%、23.5%であった。従って、ネズミと環境の両汚染率は、ネズミで高い場合環境でも高く、ネズミで低い場合環境でも低いというビル間の変化に明瞭な並行関係が認められた。この並行関係は、出現菌種の *L. monocytogenes* と *L. innocua* の汚染率についても明瞭に認められ、さらに、Qビルの各階においても同様であった。

2. *L. monocytogenes* の血清型およびRAPDタイプ

ネズミと環境における *L. monocytogenes* の出現血清型の種類とその検出率、またDNAのRAPDタイプは、いずれも各ビル間あるいはQビル各階の間で著しく異なっているが、同一のビルあるいはQビルの同一の階では両者間に明瞭な並行関係あるいは類似性が認められた。

一方、これまでに *L. monocytogenes* はラットの腸管に定着できないが、湿潤な環境には長期間生存できることが明らかにされている。したがって、特定の血清型やRAPDタイプが特定のビルあるいは階を汚染、定着し、そこに生息するネズミはこの環境汚染状況を反映して *Listeria* を保菌し、環境汚染の拡大を助長していることが強く示唆された。また、ビル内のネズミの行動範囲(テリトリー)は同一の階のあるいは同一のビル内などにかなり限定されていることが強く示唆された。

本研究は、これまでほとんど不明であった近代都市環境に適応し隆盛を極めているクマネズミにおける各種病原細菌の汚染状況を初めて明らかにしたもので、その汚染状況は、かつてのドブネズミにおけるレプト

スピラ症、鼠咬症、腎症候性出血熱などのようなネズミを本来の宿主とする疾病の病原微生物によるものではなく、これらに代わって、*L. monocytogenes*、*V. cholerae non-01*、*S. aureus* あるいは *Salmonella* などのような近代ビル内の特殊環境で生存あるいは定着していると考えられる病原細菌によって逆に汚染され、ネズミはこれらの環境汚染病原細菌の拡大者 (spreader) としての役割を果たしていることを強く示唆する成績を得、近代都市環境とそこに生息するクマネズミに関わる病原細菌の新しい生態の一面を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

ネズミはこれまで多くの人獣共通感染症の病原菌あるいは感染源として重要視されてきた。近年、都市の近代化、高層化が著しく進み、そこに生息するネズミの生態にも大きな変化が起こっている。1970年代に入ると、それまで優勢であったドブネズミに代わって、近代都市のビル内環境に適応し乾燥に強く、殺鼠剤に抵抗性で、垂直移動を好むクマネズミが優勢となり、今日では、都市のビル内に生息しているネズミのほとんどはクマネズミであることが明らかにされている。

本研究は、このような近代都市のビル内環境に適応し、猖獗を極めているクマネズミにおける各種人獣共通感染症原因細菌の保菌状況を明らかにし、さらに、ビル内環境における汚染状況についても調べ、両者の関連性を検討したもので、その成績の概要は次のとおりである。

I 都市ビル内に生息するクマネズミにおける人獣共通感染症原因細菌の保有状況

1. *Salmonella*

1988～1992年に、東京都心部の16のビル内で捕獲したクマネズミ1,144匹の大腸内容物について調べた結果、*Salmonella*の保有率は1.5%で、1960年代の東京および大阪の市街地の主にドブネズミにおける保有率約2%とほぼ同率であり、ビル内の環境衛生の進歩にもかかわらず、最近の*Salmonella*の世界的な蔓延を反映していると考えられるが、40年前とほとんど変化が認められなかった。

本研究のクマネズミから高頻度で検出された血清型はTyphimurium、Hadar、Isangi、Enteritidisなどであった。本研究と同時期の都心部のビル内小売り生肉における*Salmonella*の汚染率は鶏肉26.6%、豚肉5.3%、牛肉1.3%であり、本研究のクマネズミと同様の血清型が高頻度で検出されていることが報告されている。したがって、都市のネズミの*Salmonella*汚染はこれからの小売り生肉の汚染状況を反映しているものと考えられた。

2. *S. aureus*

ビル内のクマネズミにおける*S. aureus*の保有率は17.3% (161/932)で、既報の他の場所に生息するネズミ (35.7～84.5%) や他の動物 (0～85.3%) の保有率に比較してかなり低率であり、ビル内環境の清浄さを反映していると考えられた。

分離菌は、ヒト食中毒の原因菌として頻度が高いエンテロトキシンA、B、C、産生株が87.8%を占め、またヒト膿瘍疹など臨床由来株に多いコアグラゼV型が55.9%に達するなど、齧歯類由来株よりもヒトの疾病やヒト食中毒由来株に類似の性状を示す傾向が認められた。したがって、ビル内のネズミの*S. aureus*汚染はヒトからの影響を受けていると共に、ヒトの*S. aureus*食中毒の汚染源になりうることが示

唆された。

3. *Listeria*

ビル内のクマネズミにおける *Listeria* spp. の保有率は 19.2% (133/692) で、既報の他の場所に生息するネズミ (0~9.4%) や他の動物 (0~12.2%) における保有率に比較して非常に高率であった。

また、菌種別ではリステリア症の原因菌である病原性 *L. monocytogenes* の保有率は 10.5% で、既報の他の場所に生息しているネズミ (0~3.6%) や他の動物 (0~1.4%) における保有率よりも著しく高率であり、さらに、分離株の血清型はヒトの病原性 3 血清型として知られている 1/2a、1/2b、4b、が圧倒的に多く、91.7% を占めるなどの顕著な特徴が認められた。

近年、ヨーロッパや米国における集団リステリア症の多くは食品媒介性であることが明らかにされているが、日本におけるリステリア症の感染源はほとんど不明である。したがって、都市のクマネズミが飲食店の食品を介して感染源になっている可能性が強く示唆された。

4. *Vibrio*

ビル内のクマネズミにおける *Vibrio* spp. の保有率は 13.4% (64/500) であった。このうち、主に生鮮魚介類を販売している食品店 (20.0%) では飲食店 (6.5%) より有意 ($P < 0.01$) に高率であり、しかも、より多くの菌種 (6 種) が検出されるなど、ビル内に搬入される生鮮魚介類が主な *Vibrio* の汚染源であることが示された。

好塩性の腸炎ビブリオ (*V. parahaemolyticus*) は、飲食店から全く分離されず、食品店のネズミから低率 (3.1%) で分離されるのみで、本菌はビル内のネズミや環境で生存できないと考えられた。その血清型は著しく多様で変化に富むことから、世界の広い海域の生鮮魚介類がビル内に搬入されていることが示唆された。

一方、淡水性の *V. cholerae* non-01 は、食品店および飲食店のネズミからほぼ同率 (75% と 45%) で検出され、分離菌の血清型は比較的变化に乏しく、また同一の血清型が比較的長期間に亘って検出されていることなどから、特定の血清型 (本研究で初めて発見、追加された O107、O108、O109 など) がビル内環境あるいはネズミの腸管内でかなり長期間生存し、汚染を維持していることが示唆された。

したがって、都市のクマネズミは、比較的淡水性でビル内環境に適応しやすい *V. cholerae* non-01 で汚染され、しかも、特定の血清型を選択的に保有し、食中毒の汚染源になっている可能性が示唆された。

5. *Yersinia*

ビル内のクマネズミにおける *Yersinia* spp. の保有率は 29.4% (341/1161) で、過去に報告されている都市の下水道のドブネズミにおける保有率 (1.3~20.5%) よりもむしろ高率であった。出現菌種は 5 菌種で、そのうち病原性の *Y. enterocolitica* (173 株、14.9%) および非病原性のいわゆる環境エルシニアと呼ばれる *Y. frederiksenii* (180 株、15.5%) の 2 菌種が最優勢であった。しかし、*Y. enterocolitica* の分離株はいずれも病原因子 (45Md プラスミド、カルシウム要求性、自己凝集性など) が全て陰性で、環境エルシニア化していると考えられた。したがって、ビル内のクマネズミと環境の環境エルシニアによってかなり高率に汚染されていて、病原性 *Y. enterocolitica* などが汚染豚肉 (2~3%) などによってビル内に搬入されても、ネズミや環境を汚染する機会は非常に少なくなっていることが示唆された。

6. *Campylobacter*

都市のネズミにおける *Campylobacter* の汚染はこれまで主にドブネズミについて調べられており、保有率として下水道 17.6%、市街地 19.5%、港湾地域 1.1%などが報告されている。今回ビル内のクマネズミ 545 匹について調べたが、全て陰性であった。

一方、東京都区内の小売り生肉における *Campylobacter* の汚染率として鶏肉 77.2%、牛肉 5.1%、豚肉 1.4%などが報告されている。このような汚染生肉によって *Campylobacter* がビル内に持ち込まれても、比較的乾燥したビル内環境では、死滅しやすく、ビル内のネズミや環境を汚染するまでに至らないと考えられた。

7. *Leptospira*

ネズミにおける *Leptospira* 感染はこれまで主に田圃地域のネズミについて調査されており、11～70%の感染率が報告されている。また、1970年代までの東京都区内の下水道や飲食店のドブネズミにおいても 20～25%の感染率が報告され、年間 10 名以上の死亡が記録されていた。今回、クマネズミ 564 匹について腎臓乳剤のモルモット接種などを行って精査したが、*Leptospira* は全く検出されず、また、血中抗体価も全て 10 倍以下であった。したがって、*Leptospira* は本来水系感染によって伝播するため、比較的乾燥した近代ビル内に生息するクマネズミが、下水道などからの *Leptospira* に感染し、それを持続する機会は非常に少ないものと考えられた。

以上、東京都心部のビル内に生息するクマネズミにおける各種病原細菌の保有状況は次のように要約される。

(1) ネズミに比較的親和性を持つ *Salmonella* と *S. aureus* については、近年のビル内環境衛生の改善にもかかわらず以前の都市のドブネズミの場合と同様のかかなり高い保有率が維持されていた。

(2) しかし、ビル内のような比較的乾燥した環境では生存しにくい *Leptospira* と *Camoylobacter* の保有率は著しく減少し、今回は全く検出されなかった。

(3) 一方、*Listeria monocytogenes*、*Yersinia enterocolitica* あるいは *Vibrio cholerae* non-01 は以前の都市のドブネズミに比較して逆に著しく高い保有率を示し、特に、*L. monocytogenes* は他の場所に生息するネズミや他のいずれの動物における保有率よりも際だって高率であるという顕著な特徴が認められた。

そこで、次項ではこの *L. monocytogenes* の高率保有の原因を探るため、ビル内環境における *Listeria* 汚染について調べ、クマネズミにおける保有率との関連性を検討した。

II. 都市のビル内のクマネズミとその生息環境における *Listeria* の汚染状況

1994～1995年に3つのビル(A、B、C)で捕獲されたクマネズミ 183 匹の腸内容 183 検体およびその生息環境(飲食店厨房の床面と排水溝)の拭き取りスワブ 243 検体を供試し、*Listeria* の分離培養と分離株の菌種の同定、血清型別および DNA 型別を行った。

1. 各ビルにおける *Listeria* 汚染状況

3つのビルにおけるネズミと環境の *Listeria* spp. の汚染率を比較すると、Aビルでは両汚染率共に最も高くそれぞれ 52.0%、35.5%、Cビルでは共に最も低く 14.8%、4.4%、Bビルでは共に AビルとCビルの

中間値 29.6%、23.5%であった。したがって、ネズミと環境汚染率は、ネズミで、高い場合環境でも高く、ネズミで低い場合環境でも低いというビル間の変化に明瞭な並行関係が認められた。この並行関係は同一のビルの各階の間にも、また *L. monocytogenes* と *L. innocua* の検出割合の間にも明瞭に認められた。

2. *L. monocytogenes* の血清型および RAPD タイプ

ネズミと環境からの、*L. monocytogenes* の血清型の種類は同一のビルあるいは階において高い類似性を示した。また、各血清型の検出および DNA の PAPD タイプについてもネズミと環境の間に高い類似性と明瞭な並行関係が認められた。

これまでに *L. monocytogenes* はラットの腸管に投与しても定着できないことが明らかにされている。したがって、特定の血清型や DNA の PAPD タイプが特定のビルあるいは階の環境に定着していて、そこに生息するネズミはこれらの環境汚染菌によって逆に汚染され、環境汚染の機械的拡大を助長していることが強く示唆された。また、ビル内のクマネズミの行動範囲（テリトリー）は、近代ビルの気密性などの構造上の特性を反映して同一の階あるいは同一のビル内などにかかなり限定されていることが示唆された。

本研究の成績は以下のように要約される。

(1) 現在の都市のビル内のクマネズミは、ネズミを本来の宿主としかつての都市のドブネズミにも高率に保有されていた *Leptospira* は、著しく減少し今回は全く検出されなかった。また、食鳥肉などによって頻繁にビル内に搬入されるにもかかわらず、比較的乾燥したビル内環境で生存できない *Campylobacter* も検出されなかった。

(2) それらに代わって、*L. monocytogenes*（あるいは *V. cholerae* non-01 や *Y. enterocolitica*）は、ビル内の特殊な環境で比較的長期間生存あるいは増殖でき逆にそこに生息するクマネズミを汚染し、クマネズミはこれらの環境汚染病原細菌の拡大者（*spreader*）としての役割を果たしている。

(3) ネズミに対して比較的親和性を持つ *Salmonella* や *S. aureus* は、ビル内環境衛生の改善にもかかわらず、かつての市街地のドブネズミの場合と同様にかかなり高率に保有されていた。また、*Salmonella* は小売り生肉由来株と、*S. aureus* はヒトの疾病や食中毒由来株とそれぞれ類似の性状を持ち、特に *S. aureus* はヒトからの影響を受けている傾向が認められた。

以上、本研究は近代都市のビル内環境とそこに生息するクマネズミに係わる各種人獣共通感染症原因細菌の生態の新しい局面を明らかにしたもので、今後これらの病原細菌の生態および疫学の解明に、ひいては獣医公衆衛生学の発展に寄与するところ大きく、博士（獣医学）の学位を授与するにふさわしい業績と評価した。