

国内飼育下チーターの enteric helicobacter に関する病理学的研究

*Pathological study on enteric Helicobacter infection in captive cheetahs
(Acinonyx jubatus) in Japan.*

宇根有美, 野村靖夫

麻布大学大学院獣医学研究科

Yumi Une, Yasuo Nomura

Graduate School of Veterinary Science, Azabu University.

Abstract: There has been no report on the prevalence and pathogenicity of enteric Helicobacter in large felid including cheetahs. The pathogenicity of most enteric Helicobacters remains still unknown. Pathological examination of 63 captive cheetahs revealed a high incidence of lymphocytic enteritis. We therefore studied the prevalence of enteric Helicobacter infection and its pathogenicity in captive cheetahs, in an attempt to identify the cause of this disease. Pathological studies were carried out on 87 intestinal samples from 36 cheetahs that died in captivity (7 duodenum, 28 jejunoleum, 17 colon, 15 cecum, 20 rectum). Immunostain identified enteric Helicobacter in 21 cheetahs out of examined 36 cases (58%). The site prevalence was 0 duodenum, 6 jejunoleum (21%), 9 cecum (60%), 9 colon (53%) and 8 rectum (40%), Helicobacter spp. were mostly present in the crypts, either scattering or clumping, and patterns by SEM, they were straight and rod-like in shape and $3 \sim 3.5 \times 0.3$ microns in size, with regular, densely aligned pericytoplasmic fibers. Intestinal lesions included lymphocytic enteritis, thickened lamina propria, dilated crypts, amyloid deposition, and erosion and ulceration. In all animals examined, varying lymphocytic enteritis was present at least, in the part of the intestines, and was more prominent in the cecum. Advanced amyloid deposition was also highly prevalent, appearing in 27/28 samples of small intestine (96%) and 38/52 samples of the large intestine (73%).

While gastric Helicobacter infection is well known in cheetahs, our results also indicated a high rate (58%) of enteric Helicobacter infection among them. Ultrastructural observation suggested that the bacteria might be *H. bilis* or *Flexispira rappini*. Lympho-plasma cytic enteritis and intestinal amyloidosis were also highly prevalent in the animals observed.

It seems that there were no relation to Helicobacter infection and the pathological changes. However, we will have to consider how helicobacter infection relates to the lesions and ulcer further.

Our results therefore suggest that amyloid deposition in the intestines as well as amyloidosis in other organs, will be a major life-threatening factor in captive cheetahs. (Presented at 52nd ACVP Meeting).

目 的

申請者は、近年、飼育数が激減している絶滅危惧種であるチーターの死因を解明すべく研究を続けてきた。その結果、チーターではヘリコバクター属細菌（以下H菌）による慢性胃炎が続発性アミロイド症を誘発し、これが主たる死因であることを明らかにした（124日本獣医学会以下日獣会，第7回日本ヘリコバクター学会）。また、モデル動物（チーター由来H菌接種マウス）の作成（127回日獣会），これを用いた除菌方法の検討（129回日獣会），H菌感染の非侵襲的検査法の確率（130，132回日獣会），胃内H菌の菌種同定（129回日獣会，獣畜新報）もおこなった。この過程で、チーターには腸炎も高率に観察され、enteric Helicobacterの感染も明らかになった。本研究の目的は、国内飼育下チーターにおけるenteric Helicobacterの感染率と腸炎の関係を明らかにすることである。これらの研究の成果は、消化器疾患罹患率の低下、腎不全の進行を遅らせ、腎不全の発症を抑え、チーターの寿命を延ばすことになり、ひいては、繁殖期間の延長、繁殖可能な個体数の増加を促すことになる。このことは絶滅危惧種であるチーターの種の保存に貢献するものと考えられる。

材料と方法

1994年から2002年の間に病性鑑定を行った63頭より今回の検索に適した36頭を選択し、これらの消化

管87箇所（十二指腸7箇所，小腸28箇所，盲腸15箇所，結腸37箇所）を，ホルマリン固定後，パラフィン標本を作製した。これらの標本にH.E染色，Warthin-Starry染色，抗H. Pylori抗体（DAKO社製）を用いた免疫染色を施して病理組織学的に検索し，さらに，走査型電子顕微鏡と透過型電子顕微鏡を用いてenteric Helicobacterを検索した。炎症性の腸病変については，以下の方法でグレーディングを行った。【リンパ・プラズマ細胞浸潤のグレーディング方法】

0.01 mm²の面積をランダムに10箇所選択し，範囲内のリンパ球，プラズマ細胞数を数え，平均値を算出した。Grade区分はYamasakiら（1996 J.Am.Vet.Med.Assoc.）の犬に関する報告を参考にしに行った。

Grade 0：< 80個の炎症細胞/0.01mm²

Grade 1：80～91個の炎症細胞/0.01 mm²

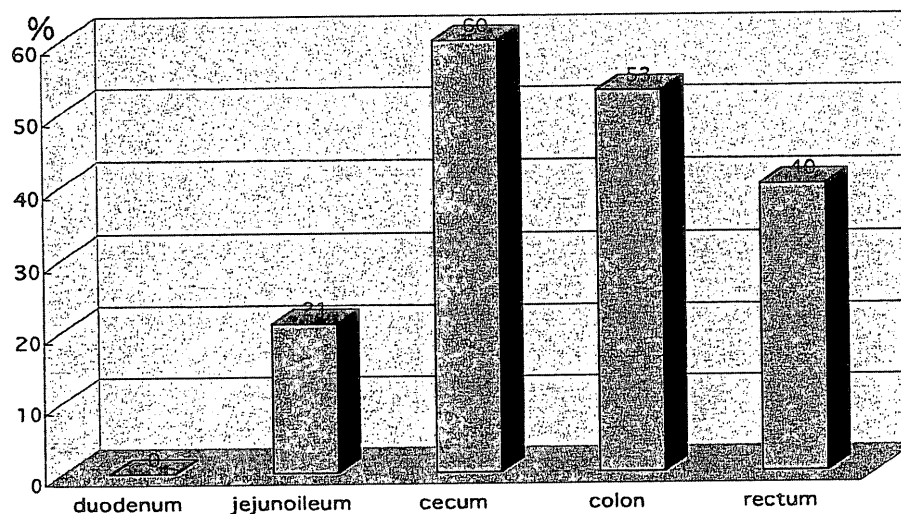
Grade 2：92～101個の炎症細胞/0.01 mm²

Grade 3：> 101個の炎症細胞/0.01 mm²，または細胞数に関わらず糜爛・潰瘍があったもの。

上記の各部位について検索し， χ^2 乗検定により菌の存在と病変との関連を検定した。

結果と考察

臨床症状の明らかな17頭全てに，血便，未消化便及び水様便がみられた。免疫染色により，36頭中21頭（58%）にヘリコバクターが確認された。部位別感染率は，十二指腸0，空回腸6（21%），盲腸9



Graph1 The prevalence of Helicobacter according to organ.

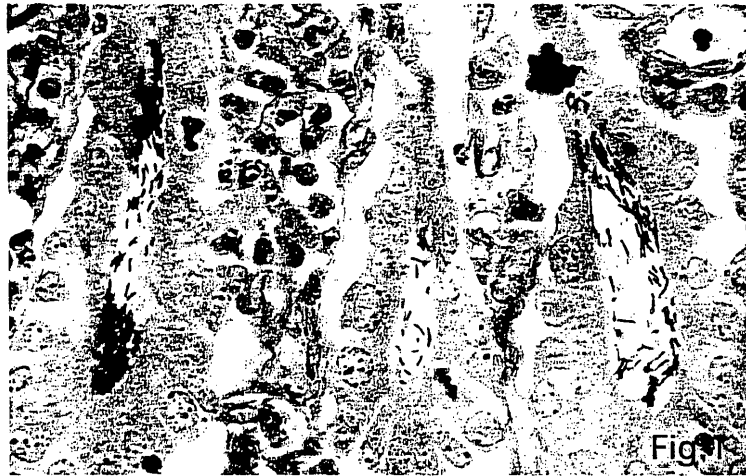


Fig 1 Enteric helicobacter in the crypts. Warthin-Starry staining

(60%), 結腸 9 (53%), 直腸 8 (40%) であった。また、盲腸、結腸と直腸における感染状況は、ほぼ同様であったが、小腸での感染率は低かった。菌は主として陰窩内に散在あるいは集合して観察された。走査電顕では、菌は $3 \sim 3.5 \times 0.3 \mu\text{m}$ で、直線的で、規則正しく密に配列する pericytoplasmic fiber を有していた。病変として、リンパ・プラズマ細胞性腸炎、固有層の拡大、陰窩の拡張、アミロイド沈着や糜爛・潰瘍が観察された。程度の差があったが、リンパ球性腸炎がほぼ全ての症例の、いずれの部位においても観察され、盲腸で病変の程度がやや高度であった。アミロイド沈着は、小腸で 96% (27/28)、大腸で 73% (38/52) と高率かつ高度であった。

胃型ヘリコバクターより感染率は低いが、チーターの主として大腸に腸型ヘリコバクターが感染していることが明らかになった。これらはその超微形態から、*H. bilis* あるいは *Flexispira rappini* と考えられ、以前に実施した糞便を用いた分子生物学的検査 (PCR 法, RFLP 解析と塩基配列) 成績と一致した。チーターの腸にはリンパ・プラズマ細胞性腸炎やアミロイド沈着が高率に観察されたが、ヘリコバクターの観察されない部位にも炎症が認められ、検定によっても腸炎との関連は見出せなかった。しかし、盲腸・結腸に糜爛・潰瘍を有する症例では菌の感染率が高いことから、腸型ヘリコバクターの病原性については今後、さらに検討する必要があると思われる。また、今回の検索により、調査可能であったチーター全てに認められた消化器症状の発現には、腸

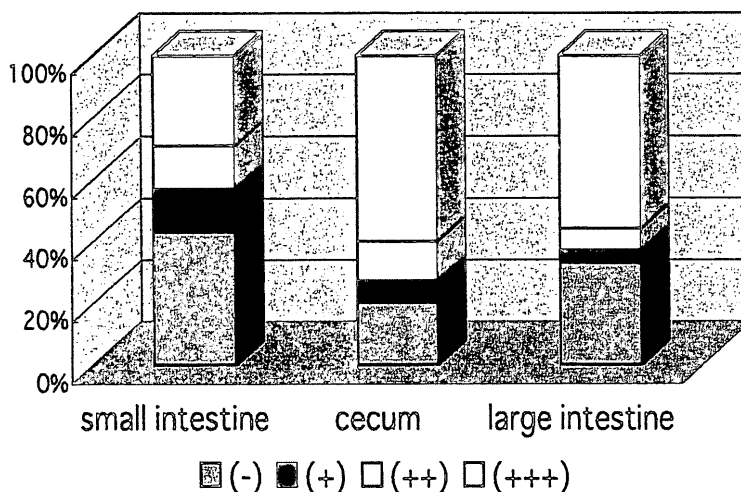


Fig 2 Scanning electron microscopical finding of helicobacter with pericytoplasmic fibers.

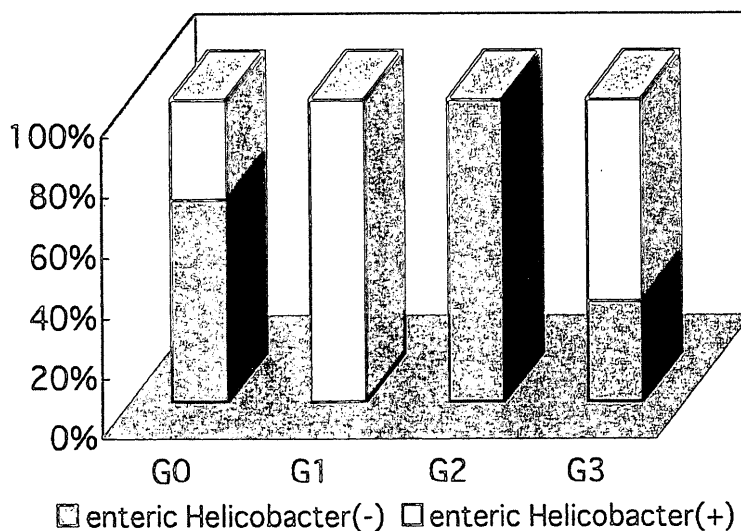


Fig 3 Transmission electron microscopical finding of helicobacter with pericytoplasmic fibers.

炎ないしはアミロイド沈着が重要な役割を担っていることがわかった。特にアミロイド沈着は高度で、他の臓器に沈着とともにチーターの死因として重要な病変と考えられた。



Graph2 The intensity of inflammation according to organ.

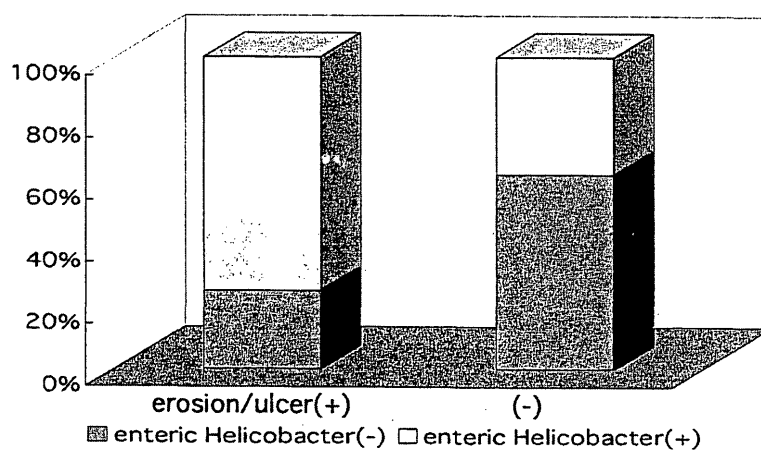


Graph3 The relationship of inflammation and Helicobacter infection of large intestine.

要 約

チーターを始めとする大型肉食ネコ科動物における腸型ヘリコバクターに関する報告は見当たらない。そこで、チーターにおける腸型ヘリコバクターの感染状況と病変との関連を明らかにすることを目的として、本研究を行った。1994年から2002年の間に病性鑑定を行った63頭より今回の検索に適した36頭を選択し、これらの消化管（十二指腸7例 [DD]、小腸28例 [SI]、盲腸15例 [CC]、結腸37例 [LI]）を検索した。また全ての症例および部位に程度に差があったが、リンパ・プラズマ細胞性腸炎が観察され、特に盲腸で高度であった。糜爛・潰瘍が [DD]

1 (14%), [SI] 2 (7%), [CC] 10 (63%) [LI] 12 (40%) でみられ、粘膜固有層へのアミロイド沈着が [DD] 5 (71%), [SI] 28 (97%), [CC] 11 (69%) [LI] 23 (77%) に認められた。ヘリコバクターは、陰窩の拡張を伴って腺底部の腺腔内を中心に21 (57%) に観察され、その内訳は [DD] 0, [SI] 6 (21%), [CC] 9 (56%) [LI] 14 (47%) であった。ヘリコバクターは直線的で、約3.5×0.3 μmで、規則的に密に巻き付く細胞周囲線維を有していた。以上の結果から、*H.bilis*あるいは*Flexispira rappini*と考えられるヘリコバクターがチーターに高率に感染していることが明らかになった。ヘリコバクター感染と病変との関連は一見ないようであっ



Graph4 The relationship of erosion/ulcer and Helicobacter infection of cecum.

た。しかしながら、ヘリコバクター感染がリンパ・プラズマ細胞性腸炎や糜爛・潰瘍とどのように関連するか、さらに検討する必要がある。また、調査可能であったチーター全てに認められた消化器症状の

発現には、腸炎ないしはアミロイド沈着が重要な役割を担っていることがわかった。特にアミロイド沈着は高度で、他の臓器への沈着とともにチーターの死因として重要な病変と考えた。