

マイコプラズマ感染症の現状と課題

樋口 豪 紀

酪農学園大学獣医学群獣医学類獣医衛生学ユニット

はじめに

ウシにおけるマイコプラズマ感染症は近年、世界的に増加傾向を示し、乳房炎、肺炎および中耳炎等における多彩な病態が明らかになっている。本稿ではこれまでのマイコプラズマに関する学術知見を振り返り、また、新しい情報についてもご紹介したい。

1. マイコプラズマ感染症研究の歴史

マイコプラズマ研究は1920年代から1980年代までの第I～VI期に分類されており、全ては、牛肺疫の研究に端を発している。牛肺疫は16世紀にドイツおよびスイスで、また、19世紀にはオーストラリアや北南米での発生が報告されている。病態は伝染性胸膜肺炎であり、子牛の致死率は50%にもおよぶため、世界的にも大きな問題となった。分類学上は「細菌」として定義されているが、他の細菌とは大きさや生化学的特徴（栄養要求性等）が大きく異なるため、分離技術の構築には時間を要した。1898年にはパスツール研究所で、また1926年には日本でもマイコプラズマの分離に成功している。その後のワクチン開発によって一時は終息の様相を呈したものの、1973年には再びナイジェリアでの発生が報告され、マイコプラズマの多彩な病原性についても注目が集まった。その後、第III期にかけてマイコプラズマの微生物特性の解明や、感受性動物、さらにその病態に関する研究が行われ、現在のマイコプラズマ研究に続く様々な重要な発見がなされている。

家畜においてマイコプラズマ感染症が顕在化するのは1960年代から始まる第IV～V期である。この時

期はアメリカ西部を中心にマイコプラズマに起因する乳房炎や呼吸器感染症が顕在化した。衛生管理技術が十分に確立されていない中で経営規模の拡大を図ったことが、マイコプラズマ感染症の蔓延を許容したものと考えられているが、「なぜマイコプラズマが？」という疑問については未だ解明にされていない。現在でもアメリカ西部におけるマイコプラズマ感染症（乳房炎）の発生率は高く、畜産関係者を悩ませる主要な感染症として位置付けられている。

2. 日本におけるマイコプラズマ乳房炎の発生状況

2010年に筆者が国内1282農場（バルクタンクミルク）を対象に実施した疫学調査では¹⁾、16農場でマイコプラズマ種の存在が確認された（図1）。分離された主要な菌種は*M. bovis* (50%)であり、他に*M. californicum* (27%)、*M. bovigenitalium* (18%)、や*M. canadense* (18%)も検出された。病原性の高い順に広く酪農場分布していることが明らかになった。バルクタンクスクリーニングの感度は300頭に一頭

Farm No.	Herd size (cows/herd)	Bulk tank milk			Cows		
		Culture	PCR	<i>Mycoplasma</i> species	Number of infected cows	(%)	<i>Mycoplasma</i> species
1	50	+	+	<i>M. bovigenitalium</i>	1	2.00	<i>M. bovigenitalium</i>
2	59	+	+	<i>M. arginini</i>	1	1.69	<i>M. arginini</i>
3	60	+	+	<i>M. californicum</i>	5	8.33	<i>M. californicum</i>
4	64	+	+	<i>M. californicum</i>	5	7.81	<i>M. californicum</i>
5	69	+	+	<i>M. bovis</i>	24	34.78	<i>M. bovis</i>
6	98	+	+	<i>M. alkalescens</i>	1	1.02	<i>M. alkalescens</i>
7	102	+	+	<i>M. canadense</i>	3	2.94	<i>M. canadense</i>
8	105	+	+	<i>M. bovirhinis</i>	2	1.90	<i>M. bovirhinis</i>
9	112	+	+	<i>M. canadense</i>	2	1.79	<i>M. canadense</i>
10	120	+	+	<i>M. bovis</i>	4	3.33	<i>M. bovis</i>
11	162	+	+	<i>M. bovis</i>	4	2.47	<i>M. bovis</i>
12	166	+	+	<i>M. bovis</i>	3	1.81	<i>M. bovis</i>
13	180	+	+	<i>M. bovis</i>	11	6.11	<i>M. bovis</i>
14	258	+	+	<i>M. californicum</i>	18	6.98	<i>M. californicum</i>
15	358	+	+	<i>M. bovis</i>	15	4.19	Only <i>M. bovis</i>
		+	+	<i>M. arginini</i>	5	1.40	Only <i>M. arginini</i>
		+	+		3	0.84	<i>M. bovis</i> + <i>M. arginini</i>
16	420	+	+	<i>M. bovis</i>	104	24.76	Only <i>M. bovis</i>
		+	+	<i>M. canadense</i>	15	3.57	Only <i>M. canadense</i>
					10	2.38	<i>M. bovis</i> + <i>M. canadense</i>

図1 日本におけるマイコプラズマ種の浸潤状況

とされているが²⁾、本研究でも200頭牛群において1頭の感染個体を摘発した¹⁾。

3. マイコプラズマ乳房炎の症状と菌種 (臨床症状/体細胞数と菌種)

マイコプラズマ乳房炎罹患牛の乳汁体細胞数(摘発時)について菌種ごとに評価したところ³⁾、体細胞数が20万/ml以上の個体は*M. bovis*では感染個体の93%を占め、平均体細胞数は約100万/mlであった。また、*M. californicum*も88%と高値を示し、平均体細胞数は約85万であった。同様に*M. bovis genitalium*や*M. canadense*も約60%以上の個体が体細胞数の異常を示し、その平均は60~70万/mlであった。複数の菌種が同一乳房から分離された症例について調べたところ、その体細胞数は約100万~200万と単一菌種による感染に比較し著しく高値を示した。これらの結果から、*M. bovis*、*M. californicum*および*M. bovis genitalium*は他の菌種に比較して病原性が高いこと、また、こうした菌種との重複感染は、病態をより悪化させることが示唆された。

4. マイコプラズマの感染経路

マイコプラズマ乳房炎の農場内における感染拡大において、その主要な経路は搾乳作業である。実験感染で感染成立が確認されている菌数は70CFUであるのに対し、感染個体の排菌量は重症例において109CFUに及ぶことがある。わずかな感染乳汁との接触であっても感染が成立する。また、子牛の鼻腔内に定着しているマイコプラズマを、農場作業者が誤って搾乳作業に持ち込むことや、マイコプラズマが牛舎環境(敷料等)でも長期間生存することも、感染拡大の危険要因として認識しなければならない。

多くの発生事例において感染起点は感染個体の市場導入であるが、外部から導入をほとんど行っていない酪農場でも初産牛で突発的に発症する場合がある。搾乳履歴もない個体でマイコプラズマ乳房炎に罹患するメカニズムの一つとして、下行感染の関与が指摘されている。下行感染とは体内の諸臓器に定着したマイコプラズマが血流などの体内循環によっ

て乳腺に到達し、そこで病原性を発現するものである。特に、子牛に多く認められる呼吸器感染では扁桃などのリンパ器官に高率に定着することが示されており⁴⁾、その後の体内移行への関与が疑われている。下行感染の詳細なメカニズムについては、今後の研究を待たなければならない。

5. マイコプラズマ乳房炎の診断技術

マイコプラズマ乳房炎の診断には培養法とPCR法が多用されている。培養法は従来から用いられている方法で、被検乳汁を液体培地で増菌培養した後、平板培養に接種して特徴的なコロニー性状や生化学検査によって同定する。生菌を検出するための方法で信頼性の高い検査手法である。一方で、培養に時間を要することや、菌種の正確な同定には煩雑な操作を必要とする。これに対し、PCR法は生菌および死菌のDNAを分子生物学的に検出する方法である⁵⁾。操作性および再現性にすぐれており、迅速な農場対応を実施するために有効な手段である。PCR法は死菌も検出するという点が培養法と異なる。培養法とPCR法の一致率は95%以上である⁵⁾。

6. マイコプラズマ乳房炎の治療

マイコプラズマ乳房炎に対する治療の実施については、原因菌種および臨床症状の有無などから総合的に判断する。米国等ではマイコプラズマの乳腺感染が確認された時点で淘汰対象としているため、乳房炎治療に関する学術知見は世界的にも非常に乏しい。日本では、*M. bovis*に起因する臨床型乳房炎の治癒率が低いこと、また一時的に排菌が停止しても一定時間を経て再び排菌が始まる等のリスクが指摘されており、治療対象にしない場合が多い。他の菌種によって引き起こされるマイコプラズマ乳房炎では臨床症状の有無にかかわらず治療が選択される。*M. bovis*は多くの薬剤に対して耐性を示しており、実質的に有効な薬物は極めて限られているが、その中で全身治療と局所治療が併用されている。農場での本病制圧において治療中および治療後の個体管理も重要であり、特に非感染牛との完全な隔離が原則と

なる。治療に関する一連の対応については、獣医師の総合的な判断をもとに、他の要因（感染分房数、繁殖性、産次、産乳性、群の感染率、隔離施設等）を勘案しながら、生産者や関係機関との十分な協議のもとで進められる場合が多い。

7. マイコプラズマの免疫回避および免疫抑制機構

マイコプラズマに対する生体の免疫応答性を解明することは、マイコプラズマの特徴的な病態を理解する上で重要である。以下に、生体の免疫応答性に関わる微生物の特性についてご紹介したい。

- 1) Variable Surface Lipoprotein (VSP) : マイコプラズマには生体への生着などに必要なVSPと言われる膜表面分子が存在する。この分子は、その名称のとおり分子構造を頻繁に変化させながら生体の免疫を回避している。マイコプラズマはVSPに対する抗体に暴露された場合、タイプの異なったVSPを分子表面に発現させ液性免疫を回避する⁶⁾。
- 2) バイオフィーム : 免疫細胞や抗生物質などからの物理的回避機構の一つである。*M. bovis*はバイオフィームという物質を産生し菌体表面を覆う⁷⁾。主たる成分はムコ多糖等であり、これらの物質は白血球の菌体認識を物理的に阻害することで、その作用を回避する。また、薬剤が菌体に到達することが困難になるため、試験管内の薬剤感受性試験（最小発育阻止濃度：MIC）では十分な数値（感受性+）が得られても、生体ではこれらの機序によって薬剤の作用が回避される場合があり、臨床学的に十分な治療効果を得られないことがある。また、菌体を覆うことで環境での長期生存も可能になる。バイオフィームの産生能は菌株によって異なり、このことは株による病原性の違いにおいて、その一因を成すものとしても指摘されている。すべてのマイコプラズマ種がバイオフィームを合成するわけではなく、子牛で50%以上の致死率を示す牛肺疫の原因微生物*M. mycoides* spp *mycoides*はバイオフィームを形成しない。
- 3) 細胞内への侵入とアポトーシスの誘導 : *In vitro*の研究では末梢血単核細胞（PBMC）とマイコ

プラズマを共培養することで、24時間後に細胞内のマイコプラズマ数が有意に増加している⁸⁾。マイコプラズマが能動的に細胞内に侵入するのか、また、PBMCが自らの貪食作用によって細胞内への侵入を許すのかは明らかにされていない。興味深いことに、同様の研究結果が赤血球でも確認されている。赤血球内のマイコプラズマ数は培養24時間で有意に上昇している。赤血球は貪食などによって能動的にマイコプラズマを取り込むことは無いため、マイコプラズマが能動的に生体細胞へ侵入したか、その他の何らかのメカニズムによって細胞への侵入が可能になったものと考えられる。さらにマイコプラズマはPBMCと24時間培養することでアポトーシスを誘導する。これらの反応は生菌だけでなく死菌でも誘導され、さらに興味深い知見として培養上清でも誘導される。

8. マイコプラズマ中耳炎

- 1) 疫学情報 : マイコプラズマ性中耳炎に関する国内の疫学については十分に整理されていない。米国における調査報告では、1998年頃から中耳炎の発生が急増したことが示されている⁹⁾。各年度ごとに大気湿度との関連性についても評価しているが、結果的に関連性は認められていない。月齢では2カ月齢までの個体で特に高率に発生し、2.5か月齢以降は1/4～1/2程度まで低下する。品種ごとの発生率に有意性は無い。雌雄の比較ではオスの罹患率がメスに比較して有意に高い数値を示しているものの、管理要因の問題もあり生物学的特性ではないと考えられている。中耳炎の名称に代表されるように、耳炎（otitis）の発生はその60%が中耳であり、30%が中耳と内耳で同時に発生している。罹患個体の70%が両側に発生しており、77%が肺炎に、また29%が関節炎を併発している。
- 2) マイコプラズマの感染経路と病原性 : 呼吸器におけるマイコプラズマの接種試験が実施され、感染経路についてその詳細が報告されている³⁾。2群を設定し、経口と経気道で $10^9 \sim 10^{10}$ CFU/mlのマイコプラズマをそれぞれ接種した場合、興味深

いことに、いずれの投与経路においても、鼻腔に比較し扁桃から高率に分離されることが示されている。耳道および鼓室における菌数は経気道に比較し経口投与で、より高率に分離される。さらに、耳道と扁桃の菌数には一定の相関性があることも興味深い。これらの結果は経口感染したマイコプラズマが扁桃や耳道に定着することが、本感染症の起点となることを示唆している。マイコプラズマは下行感染のリスクが報告されており、リンパ組織である扁桃の関連性は、他組織におけるマイコプラズマ感染症（乳房炎および関節炎等）を理解する上でも非常に興味深いところである。

おわりに

本稿ではマイコプラズマ感染症の概要にてご紹介した。牛のマイコプラズマ感染症については十分な基礎知見が構築されておらず、今後、微生物の病原因子や生体の免疫応答についてその詳細を解明していくことが必要である。また、本感染症の制圧については、酪農家の正しい理解も重要であり、関連情報の啓蒙も必要な対策の一つであると考えられる。

引用文献

- 1) Higuchi, H., Iwano, H., Kawai, K., Gondaira, T., Nagahata, H. (2011) Prevalence of *Mycoplasma* species in bulk tank milk in Japan. *Vet. Rec.* 169 : 442.
- 2) Bicknell, S. R., Gunning, R. F., Jackson, G., Boughton, E. and Wilson, C. D. (1983) Eradication of *Mycoplasma bovis* infection from a dairy herd in Great Britain. *Vet. Rec.* 112 : 294-297.
- 3) Higuchi, H., Gondaira, S., Iwano, H., Hirose, K., Nakajima, K., Kawai, K., Hagiwara, K., Tamura, Y., Nagahata, H. (2013) *Mycoplasma* species isolated from intramammary infection of Japanese dairy cows. *Vet. Rec.* 172 : 557.
- 4) Maunsell, F., Brown, M. B., Powe, J., Ivey, J., Woolard, M., Love, W., Simecka, J. W. (2012) Oral inoculation of young dairy calves with *Mycoplasma bovis* results in colonization of tonsils, development of otitis media and local immunity. *PLoS One.* 7 : e44523. doi : 10.1371.
- 5) Higuchi, H., Iwano, H., Kawai, K., Ohta, T., Obayashi, T., Hirose, K., Ito, N., Yokota, H., Tamura, Y., Nagahata, H. (2011) A simplified PCR assay for fast and easy screening of *Mycoplasma mastitis* of dairy cattle. *J. Vet. Sci.* 12 : 191-193.
- 6) Lysnyansky, I., Ron, Y., Sachse, K. and Yogeve, D. (2001) Intrachromosomal recombination within the *vsp* locus of *Mycoplasma bovis* generates a chimeric variable surface lipoprotein antigen. *Infect. Immun.* 69 : 3703-3712.
- 7) McAuliffe, L., Ellis, R. J., Miles, K., Ayling, R. D. and Nicholas, R. A. (2006) Biofilm formation by *Mycoplasma* species and its role in environmental persistence and survival. *Microbiology* 152 : 913-22.
- 8) van der Merwe, J., Prysliak, T. and Perez-Casal, J. (2010) Invasion of bovine peripheral blood mononuclear cells and erythrocytes by *Mycoplasma bovis*. *Infect. Immune.* 78 : 4570-4578.
- 9) Lamm, C. G., Munson, L., Thurmond, M. C., Barr, B. C. and George, L. W. (2004) *Mycoplasma* otitis in California calves. *J. Vet. Diagn. Invest.* 16 : 397-402.

著者略歴

樋口豪紀氏

- 1969年 北海道紋別郡湧別町生まれ
 1998年 酪農学園大学獣医学研究科博士課程
 修了
 1998年 酪農学園大学 獣医学部 獣医学科
 助手
 2000年 酪農学園大学 獣医学部 獣医学科
 講師
 2006年 酪農学園大学 獣医学部 獣医学科
 助教授
 2006年 酪農学園大学 獣医学部 獣医学科
 准教授
 2009年 日本獣医師会獣医学術賞 産業動物
 部門 獣医学術学会賞 受賞

「牛マイコプラズマ性乳房炎の迅速簡易診断
 技術の開発とその応用に関する研究」
 専門研究分野

- ・乳房炎防除に関する基礎的研究
- ・蹄病防除に関する基礎的研究
- ・生産動物の生態防御機構に関する研究

役職

- ・大動物臨床研究会 事務局長
- ・北海道乳室改善協議会 事業対策委員長