

## 齧歯類のニューモシスチス感染症

池 郁生

理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室

## 要 約

ニューモシスチス感染症は、1909年にラットの肺で発見され、100年以上の歴史がある。病原体は形態から新種の原虫とされ、*Pneumocystis carinii* と命名された。この病原体は他の哺乳動物やヒトにも感染することがわかり、その間質性形質細胞性肺炎はニューモシスチス肺炎（カリニ肺炎、*Pneumocystis pneumonia*, PCP）として知られるようになった。ヒトの HIV 感染症では多くの PCP が認められて研究が進み、18S rRNA 遺伝子解析によって本病原体が原虫でなく真菌に属することが判明した。遺伝子および生化学解析を基に、由来動物種によって株間に大きな違いがあることや、各々が厳密な宿主特異性を有することが証明された。すなわちある動物種から分離されるニューモシスチスは、他の動物種に病気を起こすことはできない。現在、ヒト病原体は *P. jirovecii*、マウス病原体は *P. murina*、ラット病原体は *P. carinii* と *P. wakefieldiae* 2種とされ、*P. carinii* という呼称で各哺乳動物に見られる本病原体を包括することはできなくなった。一般にニューモシスチス感染症は日和見感染症と扱われる。しかし最近、免疫系が正常なラット系統に見られる肺炎（旧名ラット呼吸器ウイルス感染症）が本病原体に起因することが分かった。ニューモシスチスの感染性について今後の研究の進展に注目する必要がある。本項では、2012年の段階におけるニューモシスチス感染症の基本知識を整理しておく。

1. 病原体：マウス病原体は *Pneumocystis murina*、ラット病原体は *P. carinii* と *P. wakefieldiae* (*Pneumocystidaceae* 科, *Pneumocystis* 属)  
 症状：間質性肺炎

## a. 形態および生活環

3種類の発育形態が報告されている。栄養体、プレシスト（スポロサイト）、シストである [1]。シストは8個のスポロゾイトを内蔵し、スポロゾイトが成熟するとシストから放出され、そのあとには三日月状のシストが観察される。なお、各用語については、原虫と真菌の用語が混用されていて、今後これら用語が整理される可能性がある。本病原体は *in vitro* で継続培養が困難であり、宿主肺における正確な生活環は不明であるが、有性生殖環と無性生殖環があるとされる [1]。ニューモシスチスがバイオフィームを形成するという報告がある [6]。

## b. 分類

マウスに感染する病原体は *P. murina*、ラットに感

染する病原体は *P. carinii* ならびに *P. wakefieldiae*、ヒトに感染する病原体は *P. jirovecii* である [1]。なお、由来の異なる *Pneumocystis* 株の各々を、*P. carinii* の特別品種 *forma specialis* (f.sp. と略記) とし、たとえばマウス病原体を "*P. carinii* f.sp. *muris*", ラット病原体を "*P. carinii* f.sp. *carinii*" などと命名する方式もある [1]。

ニューモシスチスは以前、原虫に分類されていた。現在は 18S rRNA 遺伝子等の解析から真菌の子囊菌門 Phylum *Ascomycota* に分類される。分裂酵母 *Saccharomyces pombe* や植物寄生性真菌の一種 *Taphrina wiesneri* が最も近縁とされる [1]。ラットでは、ラット呼吸器ウイルス (rat respiratory virus, RRV) 感染症の原因病原体が *P. carinii* であると 2011年に報告された [5, 10, 15]。

## c. 培養

*In vitro* 培養系は確立されていない。細胞や臓器の培養に加えることにより増殖できるという報告はあるが、継代培養に成功したという報告はないようである [1]。

#### d. 株

感染動物から分離された株の報告がある [1]。株は一般に、ステロイドを投与して免疫抑制した動物を用いて継代維持される。本病原体を含む感染肺の乳剤を液体窒素あるいは  $-80^{\circ}\text{C}$  において保存可能である [7]。

### 2. 感染様式

#### a. 感受性動物種

ニューモシスチスの 18S rRNA 塩基配列解析により宿主ごとに異なった真菌が存在することが分かった。ある動物種から分離されるニューモシスチスは、他の動物種に病気を起こすことはできない。上記のように、マウスには *P. murina*、ラットには *P. carinii* ならびに *P. wakefieldiae* が感染する。旧名 RRV 感染症は、ラットに感染する *P. carinii* が病原体であることが判明し、ラットのみが感受性を持つ [4]。

#### b. 病原性

日和見病原体として知られ、ヌードマウスや SCID マウス等の免疫不全動物やステロイドを投与した免疫抑制動物などの免疫欠損状態で致死性の肺炎を起こす [12]。一方、免疫系の正常な動物では無症候性とされてきたが、旧名 RRV 感染症では、免疫が健全な F-344、CD や RNU などあらゆるラットの系統で間質性肺炎を引き起こすという [4]。ただし、免疫系が健全な動物では、間質性肺炎症状を示すのは一過性とみられる [5]。ニューモシスチスの宿主細胞は I 型肺胞上皮細胞とされ、宿主細胞外で増殖する [1]。

#### c. 地理分布

全世界に分布する [13]。

#### d. 伝播経路

空気感染が主要伝播経路と考えられている。旧名 RRV 感染症では、感染性間質性肺炎を示す CD ラットの汚れ床敷き、あるいは同ラットの同居で感染が成立する [4]。汚れ床敷き感染では 1～2 週目に感染が始まる。同居感染の場合、汚れ床敷き感染より激しい感染性間質性肺炎を呈す。また感染性間質性肺炎のピークは汚れ床敷きの場合 7～8 週目、同居感染の場合 4～5 週目である [4]。垂直感染については不明 [13]。

#### e. 感染率および致死率

旧名 RRV 感染症はアメリカではよく見られ (7.7%) [4]、ヨーロッパ、アジアでの汚染も報告されているが、日本国内での汚染率は不明である。

#### f. 臨床症状

体重減少、毛並みの悪化、チアノーゼ、呼吸困難など [4, 13]。

#### g. 診断

臨床的な診断は困難である。ニューモシスチスに感染すると、病原体は I 型肺胞上皮細胞周囲で増殖し、間質にリンパ球が集簇され、間質性肺炎が起こる。病変部の病理学的検査、あるいは肺のスタンプ標本や肺乳剤塗抹標本を染色してシストの存在を確認する。現在はそれに加え、PCR および IFA による診断法が報告されている。国内では日本チャールス・リバー株式会社が血清検査 (蛍光マイクロビーズ法、IFA) および PCR 検査可能である [5]。ただし PCR で用いるプライマ配列は公にされていない。実中研 ICLAS モニタリングセンターでは肺乳剤の顕微鏡検査あるいは PCR 検査が可能である。最近、*P. carinii* の診断用組換え抗原が報告された [17]。

#### h. 実験への影響

免疫系が正常なラットでも臨床症状を示すため、感染性間質性肺炎を示すラットコロニーでは *P. carinii* を排除するのが望ましい [4]。実験への直接的な影響は今後の調査と検討を待って判断する必要があるが、間質性肺炎を起こす以上、麻酔下での致死率上昇が示唆され、炎症性マクロファージ機能やサイトカイン応答といった免疫系、呼吸器の生理や毒性病理などを解析する実験では問題となる可能性がある [4]。免疫系が健全な C57BL/6 マウスにも実験感染で間質性肺炎を起こすことがあるという報告がある [11]。このほか、Dectin-1 欠損マウス [16] や surfactant protein A 欠損マウス [14] を用いた研究によると、これら分子がニューモシスチス感染に関与するとされる。

### 3. 感染制御／予防

#### a. バイオセーフティ

*P. carinii* は動物バイオセーフティレベル (ABSL) 2 に分類されている [2]。アメリカではラットでの *P. carinii* 感染が広範に見られるとされる [4]。ウイルスが原因と見られていた、免疫が健全な CD ラットや RNU ラットの間質性肺炎が *P. carinii* 感染によって起こると分かったからには、今後、ラットにおける *P. carinii* の取り扱いに関し検討する必要がある。しかし判断データの蓄積が不十分なため、今後、国内での検査体制の整備や汚染状況の把握が進み次第、国立大学法人動物実験施設協議会が策定した「実験動

物の授受に関するガイドライン」および「感染動物実験における安全対策」への取り扱い変更も検討される予定であるが、現時点では未決定である（上記2.e項も参照のこと）。マウスにおけるニューモシスチス感染症は、免疫不全系統で問題となることがあるが、免疫系が健全なマウスでは発症しないとされてきた。しかしながら上記のように免疫系が健全なマウスで間質性肺炎を発症する可能性が示唆されると、今後の取り扱いについて判断データの蓄積を待ったうえでラット同様に注意深く検討する必要があるだろう。

#### b. 清浄化方法

ヒトではトリメトプリム-スルファメトキサゾール合剤 (ST 合剤) が第一選択薬として治療に使用される。マウスおよびラットで ST 合剤 [3] や echinocandin 化合物 [9] の効果が実験的に示されているが、清浄化における有効性は不明である。胚移植や帝王切開による清浄化は有効である [5]。

#### 4. 検査方法

##### a. 分離

*In vitro* 分離培養法は報告されていない [1]。

##### b. 抗体検査

宿主は本病原体に対して抗体を産生するが、検出用抗原の調整が困難なため、組換え抗原を用いた抗体検査が開発されている（上記の2.g項参照）。また、*P. murina* の major surface glycoprotein (MSG) 組換えタンパクを用いて抗体産生を調べた報告がある [14]。市販の抗体検査キットはない。

##### c. PCR

*P. murina* あるいは *P. carinii* を対象とする各種プライマが報告されている [12, 18]。我々の経験では、*P. carinii* の遺伝子を対象とするプライマを用いてもマウスのニューモシスチス感染症動物の肺抽出 DNA を増幅することはできなかったが、*P. murina* の遺伝子を対象とするプライマで同 DNA を増幅することができた。

##### d. 組織病理学

肺のスタンプ標本を Grocott のメテナミン銀染色、トルイジンブルー-O染色、ギムザ染色などで染色し光学顕微鏡下で観察すると、小型の栄養体と大型のシストを間質中に認めることができる [1]。また免疫染色も用いられる。

#### 5. 感染実験

##### a. 感染症モデル

ニューモシスチス肺炎：動物にステロイドを投与して免疫抑制状態にし、ニューモシスチスを感染させて PCP を誘導する。

##### b. 封じ込めレベル

国立感染症研究所では *P. carinii* について、感染実験の動物バイオセーフティレベル (ABSL) をレベル 2 としている [2]。

#### 参考文献

1. 山口英世. 2011. ニューモシスチスとはどんな微生物か?—その生物学と分類学を中心に—. *モダンメディア* 57: 125–145.
2. 国立感染症研究所 [Internet]. 病原体等安全管理規程 (改訂第三版) [cited 31 May 2012]. Available at [www0.nih.go.jp/niid/ja/Biosafety/kanrikitei3](http://www0.nih.go.jp/niid/ja/Biosafety/kanrikitei3)
3. Bartlett, M.S. *et al.* 1992. Inoculated mouse model of *Pneumocystis carinii* infection. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 15: 129–134.
4. Charles River Laboratories International, Inc. [Internet]. New webinar available now for viewing: *Pneumocystis carinii* and interstitial pneumonia in laboratory rats [cited 31 May 2012]. Available at [www.criver.com/en-us/newsevents/whatsnew/pages/pneumocystis\\_carinii.aspx](http://www.criver.com/en-us/newsevents/whatsnew/pages/pneumocystis_carinii.aspx)
5. Charles River Laboratories International, Inc. [Internet]. *Pneumocystis*. (*P. murina*, *P. carinii*, *P. wakefieldae*, *P. oryctolagi*). [cited 31 May 2012]. Available at [www.criver.com/sitecollectiondocuments/rm\\_ld\\_r\\_pneumocystis.pdf](http://www.criver.com/sitecollectiondocuments/rm_ld_r_pneumocystis.pdf)
6. Cushion, M.T. *et al.* 2009. Biofilm formation by *Pneumocystis* spp. *Eukaryotic Cell* 8: 197–206.
7. Cushion M.T. *et al.* 2011. Susceptibility of *Pneumocystis* to echinocandins in suspension and biofilm cultures. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55: 4513–4518.
8. Furuta, T. *et al.* 1984. Effect of T-cell transfer on *Pneumocystis carinii* infection in nude mice. *Jpn. J. Exp. Med.* 54: 57–64.
9. Furuta, T. *et al.* 1998. Therapeutic effects of water-soluble echinocandin compounds on *Pneumocystis pneumonia* in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 37–39.
10. Henderson, K.S. *et al.* 2012. *Pneumocystis carinii*

- causes a distinctive interstitial pneumonia in immunocompetent laboratory rats that had been attributed to “rat respiratory virus”. *Vet. Pathol.* 49: 440–452.
11. IDEXX RADIL [Internet]. First rats, now mice: RADIL scientists discover link between pneumocystis and mouse lung lesions. [cited 31 May 2012]. Available at [www.idexxradil.com/inside/Technical\\_Library\\_Archive/First\\_Rats\\_Now\\_Mice\\_\\_RADIL\\_Scientists\\_Discover\\_Link\\_Between\\_Pneumocystis\\_and\\_Mouse\\_Lung\\_Lesions/](http://www.idexxradil.com/inside/Technical_Library_Archive/First_Rats_Now_Mice__RADIL_Scientists_Discover_Link_Between_Pneumocystis_and_Mouse_Lung_Lesions/)
  12. Ito, M., *et al.* 2000. Prophylactic effect of FK463, a novel antifungal lipopeptide, against *Pneumocystis carinii* infection in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 2259–2262.
  13. Kitada, K. and Serikawa, T. 1994. *Pneumocystis carinii*. pp. 205–208. *In: Manual of Microbiologic Monitoring of Laboratory Animals*, 2nd ed., NIH Publication no. 94-2498 (Waggie K. *et al.* eds.), National Center for Research Resources, Bethesda.
  14. Linke, M.J. *et al.* 2009. *Pneumocystis murina* colonization in immunocompetent surfactant protein A deficient mice following environmental exposure. *Respir. Res.* 10: 10.
  15. Livingston, R.S. *et al.* 2011. *Pneumocystis carinii* infection causes lung lesions historically attributed to rat respiratory virus. *Comp. Med.* 61: 45–52.
  16. Saijo, S. *et al.* 2007. Dectin-1 is required for host defense against *Pneumocystis carinii* but not against *Candida albicans*. *Nature Immunol.* 8: 39–46.
  17. Wunderlich, M.L. *et al.* Development of a recombinant *Pneumocystis carinii* protein as an antigen for serological screening of laboratory rats. AALAS National Meeting Abstracts, p. 810. [cited 31 May 2012]. Available at [nationalmeeting.aalas.org/pdf/2011-abstracts.pdf](http://nationalmeeting.aalas.org/pdf/2011-abstracts.pdf)
  18. Yabuuchi, K., *et al.* 2010. A diagnostic method for *Pneumocystis carinii* a causative agent of pneumonia in immunodeficient rats. *Exp. Anim.* 59: 261–267.