

## Filobacterium 症

池 郁生<sup>1</sup>小久保年章<sup>2</sup><sup>1</sup> 理化学研究所バイオリソース研究センター<sup>2</sup> 量子科学技術研究開発機構

### 要 約

*Filobacterium rodentium* は、ラットやマウスの気道の線毛上皮細胞 (ciliated epithelial cell) に主に感染するグラム陰性のフィラメント状桿菌である (基準株は SMR-C<sup>T</sup> = JCM 19453<sup>T</sup> = DSM 100392<sup>T</sup>)。以前は、感染部位と菌の形態学的な特徴から CAR (カー) バチルスと呼ばれていた。*F. rodentium* はラットやマウスで慢性呼吸器疾患の一因となり、宿主は特異抗体を産生するものの肺炎が治癒することはない。ラットやマウスでは抗体の有無で *F. rodentium* の感染を検査することができる。*F. rodentium* は、まれに、日米欧で主にラットに感染が見られる。欧米およびオーストラリアの野生ラットは *F. rodentium* を高率に保有する。日本でもドブネズミが *F. rodentium* を保有するとの報告がある。ラットやマウスのほかの動物では、病理解析からウシ、ブタ、ヤギ、ネコなどで *F. rodentium* に類似した細菌が報告され、16S rRNA 遺伝子塩基配列の系統解析によってそれらの多くは各動物固有の *Filobacterium* 属菌と考えられる。最近では 16S rDNA 領域アンプリコンのメタ解析により、ウサギ、ウシ、サル、ネコ、ミズハタネズミなどで *Filobacterium* 属菌が検出されている。ウシの *Filobacterium* 属菌は呼吸器系常在菌叢の構成因子であり、病原性には関与しないようだ。ネコの *Filobacterium* 属菌は気道下部の菌叢を構成し、菌量が増加すると慢性気管支炎や自発性アレルギー性喘息に関与する。

(実験動物ニュース 2023 Vol. 72 No. 1, p.5-12.)

### 1. 病原体: *Filobacterium rodentium* (ラット・マウス), *Filobacterium* 属菌 (他動物種)

#### a. 形態

*Filobacterium rodentium* は、グラム陰性のフィラメント状桿菌である。ラットやマウスの気道の線毛上皮細胞 (ciliated epithelial cell) に主に感染してコロニーを形成する。細胞の線毛と類似した形態から以前は 'CAR バチルス' (Cilia-Associated Respiratory bacillus) と呼ばれていた [16]。以下、*F. rodentium* のほか、16S rRNA 遺伝子塩基配列によって *Filobacterium* 属に属することが確認されたものを *Filobacterium* 属菌、形態学等の特徴から同定され遺伝子解析がされていないものを 'CAR バチルス' とする。

*F. rodentium* の感染部位では、気管支周囲粘膜固有層へ単核細胞の浸潤ならびに過形成が起き、慢性呼吸器疾患の一因となる。菌の形態学的な特徴をもとにして、ウサギ [10, 11, 29], ブタ [19], ウシ [19], ヤギ [13], 野生のシカやシャモア [8], ネコ [44] でも 'CAR バチルス' 様のフィラメント状桿菌の存在が報告されている。シマイワガラガラヘビ (Banded

Rock Rattlesnake, *Crotalus lepidus klauberi*) においても 'CAR バチルス' 類似の細菌が見出されたが [53], 16S rRNA 遺伝子配列の報告された例を除き、これらの動物で報告された菌が同一の菌種あるいは同属の菌種であるかどうかは不明である (下記分類の項参照)。

'CAR バチルス' の存在はまずオランダの実験用ラットコロニー [54], 次に米国の穀物倉庫の野生ラットで記述された [30]。後者の報告によると、それ以前にもラットの慢性呼吸器マイコプラズマ症の教育用スライド (1958 年作製) や、市販のマウス、ウサギで本菌類似の細菌が見られたという。

*F. rodentium* の感染部位の組織切片を Warthin-Starry 法などで銀染色すると菌塊を見いだすことができる。また同部位の走査電子顕微鏡像には、上皮細胞の線毛と平行して、菌端が丸く、線毛とよく似た細長いフィラメント状の桿菌 (0.12–0.21 μm × 4–12 μm) が観察される [52]。本菌と線毛の断面透過電子顕微鏡像を比較すると、線毛に 9 対の微細管が確認されるのに対し、本菌では中心に電子密度の低い (電子顕微鏡で明るく見える) 領域とその周囲を 3 層の膜が囲んだ構造を示す。

*F. rodentium* を含む ‘CAR バチルス’ 分離株は滑走運動 (gliding motility) を示す。これらの電子顕微鏡像には鞭毛や線毛などの既知の運動機構が見られないため、本菌群の滑走運動機構は不明であるが、同様に滑走運動する *Flavobacterium johnsoniae* の研究では、菌体表面のアドヘジタンパク質が膜上を動くことによって付着面上を運動するという [38]。著者らが行ったゲノム解析によると、*F. rodentium* SMR-C<sup>T</sup> のゲノム上に *F. johnsoniae* の滑走運動関連機構 (9 型分泌装置) と同様の遺伝子群が存在していた。

b. 分類

*Filobacterium rodentium* : グラム染色陰性のフィラメント状桿菌である。2016 年にフィロバクテリウム科フィロバクテリウム属の新菌種と認められた [24, 40]。基準株は SMR-C<sup>T</sup> である (表 1 参照)。

表 1 *Filobacterium rodentium* の学名

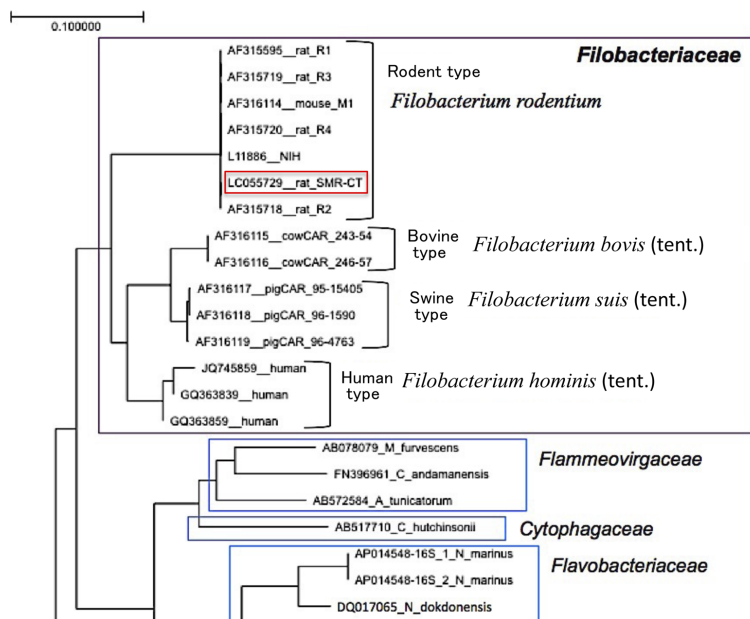
門	<i>Bacteroidota</i> (=Bacteroidetes)
綱	<i>Sphingobacteriia</i>
目	<i>Sphingobacteriales</i>
科	<i>Filobacteriaceae</i>
属	<i>Filobacterium</i>
種	<i>rodentium</i>
基準株	SMR-C <sup>T</sup> = JCM 19453 <sup>T</sup> = DSM 100392 <sup>T</sup>

*Filobacterium* 属菌 : 16S rRNA 遺伝子配列による系統解析で、ラット・マウス以外の動物に見つかった ‘CAR バチルス’ 様菌の同配列は、*F. rodentium* のものに近い相同性を示し、これらは近縁の *Chitinophaga* 科の菌種とは独立した群を形成した。複数の動物種で見つかった ‘CAR バチルス’ 様菌の 16S rRNA 遺伝子配列はそれぞれ同一動物種内で高い相同性があり、その一方、他の動物の ‘CAR バチルス’ 様菌のそれとは相同性が低いことから、各動物種には独自の *Filobacterium* 属の菌が感染あるいは常在していると考えられる。

これらから著者らはいまのところ、*Filobacterium* 属には、*F. rodentium* を含め、少なくとも 5 種の *Filobacterium* 属菌種が含まれると考えている (図 1 に示す 4 種と、2021 年に発表されたネコの *Filobacterium* 属菌)。

c. 培養

‘CAR バチルス’ は寒天培地による分離培養ができない。そのため齧歯類由来株の分離・増殖では、動物への実験感染による継代、孵化鶏卵漿尿膜への注入培養や、3T3 細胞などの細胞に感染させて共培養するなどの工夫がなされた。ブタ由来株およびウシ由来株では、両動物の気管拭い液を添加したラット [16, 50] 小腸上皮細胞株 IEC-18 との共培養法で分離された [39]。混入しているマイコプラズマの除去には限界希釈法が用いられた [39]。



・本系統樹は、齧歯類型、ウシ型、ブタ型、ヒト型それぞれのrDNA塩基配列が他の属とは異なった群を作り、*Filobacterium* 属として独立した菌群を形成していることを示す

注: JQ745859に合わせ、各配列はrDNA配列のV1~V5領域を含むようトリミングを行った。ただしGQ363859とGQ363839はV1とV2領域をカバーしていないため、同領域欠損配列として扱った。トリミング後の各配列長は、約890 bp (GQ363859とGQ363839は約560 bp)。

図 1 *Filobacterium* 属はホストにより菌種が異なるブタ・ウシ・ヒトで見つかった各 *Filobacterium* 属菌 rDNA 配列と齧歯類 (*F. rodentium*) の rDNA 配列 (LC055729 ほか) とを ClustalW2 にてアラインメントし、塩基長を調整後、NJ 法、Bootstrap 1,000 にて系統樹を描画した。

著者らは、Schoebらの方法 [47] を参考に、病理組織学的に同定したラットから分離した SMR 株 [32] が Vero E6 細胞と共培養するとよく増殖することを見だし、最終的に Vero E6 調製培地 (Vero E6 細胞を 37°C, 5% CO<sub>2</sub> インキュベータで 10% ウシ胎児血清添加 IMDM 培地を用いて 3 日間、集密培養し、その培養上清を 0.22 μm フィルターろ過したもの) を使用すると、SMR 株を 37°C, 5% CO<sub>2</sub> インキュベータで単独培養可能なことが分かった。こうして単独培養できるようになった SMR 株を改めて SMR-C 株と名付け、学名命名の際の基準株とした [24]。

SMR-C<sup>T</sup> は理研 BRC の微生物材料開発室 (JCM) とドイツの DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) に条件無しで寄託されている (JCM 19453<sup>T</sup>=DSM 100392<sup>T</sup>)。

#### d. 株

ラット、マウス、ウサギ、ブタ、ウシから分離された株の報告がある。NIH 株 [46], SMR 株 [32], CBM 株 [49] などのラット・マウス由来株, B6 株 [11] などのウサギ由来株, 95-15405 株 [39] などのブタ由来株, 243-54 株 [39] などのウシ由来株が報告されている。これらのうち、単独培養が可能となった SMR-C<sup>T</sup> 株は、上記培養の項のとおり、JCM と DSMZ に寄託されている。

これら株の一部については、上記分類の項のように 16S rRNA 遺伝子配列が決定され、塩基配列情報が DDBJ/Genbank 等の公的データベースに収録されている。なおこれら分離株の中には、肺マイコプラズマなどが同時に感染していることがあり、それら

を検査や実験に用いる際には混入病原体の除去とその確認が必要である [39, 47]。ヤギ, シカ, 野生のシカやシャモア, ネコ, ガラガラヘビからの菌株分離の報告はない。

菌株は -80°C で保存可能である [16, 24, 46, 50]。

#### e. 基準株の主要性状 [24] (表 2 参照)

*F. rodentium* SMR-C<sup>T</sup> は微好気性で、胞子を形成せず、グラム染色陰性かつ好銀性のフィラメント状桿菌である。SMR-C<sup>T</sup> は Vero E6 調製培地などで増え、増殖中の菌は位相差顕微鏡で確認できる。分裂時間は 20–24 時間。増殖最適温度は 37°C である。pH は 6 から 8 が最適である。ラット・マウスの生理的な塩濃度以上では成長しない。SMR-C<sup>T</sup> は Vero E6 調製培地中で、単独で浮遊状態で増え、大きさは 0.8–0.9 × 8.3–10.0 μm を示す。SMR-C<sup>T</sup> は滑走運動を行う。SMR-C<sup>T</sup> はバイオフィルムを形成する。SMR-C<sup>T</sup> を BALB/c マウスに投与すると慢性呼吸器疾患を発症する。SMR-C<sup>T</sup> の横断面は透過型電子顕微鏡で 3 層の外膜構造を示す。SMR-C<sup>T</sup> の生化学性状では、ウレアーゼが陽性であり、α ガラクトシダーゼ、β ガラクトシダーゼ、α グルコシダーゼ、α フコシダーゼはそれぞれ陰性である。

#### f. ゲノム解析

著者らが服部正平元教授 (当時: 東京大学大学院新領域創成科学研究科附属オーミクス情報センター) らと行った SMR-C<sup>T</sup> の完全ゲノム配列決定によると、ゲノム全長は 1,439,084 bp, ゲノム塩基配列から計算した G+C 含量は 47.7 mol%, コード領域数は 1,179

表 2 *Filobacterium rodentium* SMR-C<sup>T</sup> の主要性状

分離源	ラット呼吸器疾患肺
グラム染色	陰性
銀染色	陽性
細胞長	8–10 μm
形状	フィラメント状桿菌
孢子形成	なし
鞭毛・線毛	なし
滑走運動	あり
ゲノム塩基長	1,439,084 bp
DNA G+C 含量	47.7 mol%
ウレアーゼ活性	あり
α-ガラクトシダーゼ活性	なし
β-ガラクトシダーゼ活性	なし
α-グルコシダーゼ活性	なし
α-フコシダーゼ活性	なし
主要脂肪酸	iso-C <sub>15:0</sub> , anteiso-C <sub>15:0</sub> , C <sub>16:0</sub> , C <sub>14:0</sub>

だった [24]。ゲノム塩基配列から推定した 16S rRNA 遺伝子領域 (1,491 塩基, LC055729, DDBJ/EMBL/GenBank) はゲノム中に 1 セットのみ存在した。本ゲノムは、ウレアーゼ遺伝子セットを持つ一方、上記のように、*F. johnsoniae* の滑走運動関連機構 (9 型分泌装置) と同様の遺伝子群を保有する。その他の特記すべき既報の病原因子関連遺伝子は見つからなかった。

## 2. 感染様式

### a. 感受性動物種

実験動物における *F. rodentium* の自然感染はラット、マウスに見られるが、実験などにもたらす影響が問題となるのはラットである [2]。ラットでは F344, LEW および SD の各系統間で感受性に差がないが、病原性には株間で差があると報告されている [47]。

*F. rodentium* ラット由来 NIH 株の BALB/c と C57BL/6 マウスへの実験感染によると、両系統間で病原性に差が生じ (BALB/c の方が重症になる)、BALB/c では抗体産生が活発なうえ、サイトカイン産生の混乱が見られたのに対し、C57BL/6 は 'CAR バチルス' 感染に抵抗性であった [27]。*F. rodentium* ラット由来 R3 株の感染実験では、スナネズミが同株に感受性があった [51]。*F. rodentium* マウス由来 CBM 株の感染実験では、ウサギ、モルモットで病理組織学的変化が認められなかった。一方、本株感染でハムスターの気管支および気管の粘膜下層に単核細胞の増殖が見られるとともに、気管洗浄液から CBM 株が回収され、ハムスターは 'CAR バチルス' 感受性動物であるとしている [49]。

マウスの *F. rodentium* 感受性に関する宿主側遺伝子の報告はない。

### b. 病原性

*F. rodentium* はラット、マウスに慢性呼吸器疾患を起こす。本菌の単独感染の報告 [36] はあるが、センダイウイルスやマイコプラズマが同時に検出されることが多いとされる。本菌と肺マイコプラズマ (*M. pulmonis*) の混合感染は各々の単独感染より呼吸器症状が重くなる [12]。

ウサギの 'CAR バチルス' 感染では呼吸器臨床症状はほとんど見られない。病理組織学的には、線毛上皮が存する気管上部の肥大や近傍のリンパ組織の肥厚、線毛消失、基底膜の軽微な炎症が見られる [9, 18, 29, 60]。

### c. 地理分布

日本、ヨーロッパ、北アメリカ [1]、オーストラリア [14] の実験用ラット・マウスコロニーで *F. rodentium* の存在が報告されている。

'CAR バチルス' は野生のドブネズミおよびクマネズミに高率で感染している。米国ボルチモア近郊都市部のドブネズミの 52.1% は 'CAR バチルス' 陽性であった [12]。米国ではテキサス州ヒューストンの穀物倉庫 [30] やアイオワ州中部 [9] の野生ラットでも本菌検出の報告がある。ニュージーランドの野生およびペットショップのラット [26]、カリブ海西インド諸島の野生ラット [59]、オーストラリアのサバクネズミの一種スピニフェックスホッピングマウス (*spinifex hopping-mouse*, *Notomys alexis*) [31] でも 'CAR バチルス' が認められた。最近では、フランスのヨーロッパミズハタネズミ (*water vole*, *Arvicola terrestris*) の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンメタ解析で *F. rodentium* が検出された [56]。日本では、池袋と川崎で捕獲されたクマネズミから PCR によって *F. rodentium* が検出されている [21]。

以上をまとめると、世界中の多くの地域で野生齧歯類が 'CAR バチルス' に感染あるいは保有しているといえよう。

これら野生齧歯類が実験用ラット・マウスコロニーにおける *F. rodentium* の感染源となる可能性はあるが、多くの報告では 16S rRNA 遺伝子配列が読まれておらず、また読まれていても公的バンクに配列が登録されておらず、現時点でこれ以上の言及は困難である。

### d. 伝播経路

経鼻による直接接触感染で伝播するとされる [1, 2, 18, 52]。金属メッシュで隔てられたケージ内で *F. rodentium* の感染マウスから健康なマウスへ感染が成立することからも、接触する機会があることが感染成立に必要なことが示唆される [28]。

### e. 感染率および致死率

2008 年の Charles River Laboratories のモニタリング報告 [42] によると、マウスの北米における CAR バチルス陽性率は 0.01%、ヨーロッパにおける同陽性率は 0.00%、ラットの北米における同陽性率は 0.27%、ヨーロッパにおける同陽性率は 4.63% だった。また、公益財団法人実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンターの 2006 年から 2021 年のモニタリング結果によると、ラットでのみ日本の複数飼育施設において 'CAR バチルス' 陽性が確認されている [5, 20]。

感染率および致死率はセンダイウイルスや肺マイコプラズマなどの共存病原体による重複感染に影響されるとされる [52]。

### f. 臨床症状

*F. rodentium* のラット感染例では、体重減少、呼吸困難などの症状を示すことがあるが、不顕性感染が多いとされる [18]。「実験動物の感染症の対応マニユ

アル」[1]によると、「ゴロゴロという異常音は、本症を疑わせる特徴的な臨床症状である。このような徴候を示すラットの一部は背を丸め、呼吸困難を呈する」とある。同様の臨床像はマウスでも見られる [18]。

ウサギの‘CAR バチルス’では臨床症状はほとんど見られない [18, 60]。

ネコの *Filobacterium* 属菌感染例では、断続的な発咳を含む慢性の気管支疾患を示した [37]。別の報告では、自発性アレルギー性喘息を示した [55]。

#### g. 診断

*F. rodentium* は寒天培地での分離培養ができないため（上記培養の項参照）、血清学的診断法（蛍光抗体法や ELISA）で陽性の結果が出た場合は、鼻腔粘液や気管支洗浄液、病変部などの抽出 DNA を用いた PCR および気道の病理学的診断法（通常の HE 染色および銀染色）によって確定診断する。具体的な検査方法については下記参照。

#### h. 実験への影響

*F. rodentium* が感染すると、感染部位に好中球やリンパ球が浸潤し、特有の炎症像（潰瘍性細気管支炎や粘膿性肺炎）を示す。マウスにおける本菌の実験感染では、IgM および IgG クラスの特異抗体は産生される [27] が炎症抑制ならびに感染治癒には働かず、発症したラットやマウスから症状が消退することはない。また、本菌に感染したマウスはサイトカイン産生の混乱を来すことがある。

#### i. 常在菌叢としての *Filobacterium* 属菌

16S rRNA 遺伝子アンプリコンのメタゲノムによる網羅的な解析（後述）により、ウサギ、ウシ、サル、ネコ、ミズハタネズミなどで *Filobacterium* 属菌が検出されている [22, 23, 37, 45, 55, 56]。それらの報告の多くは、従来の形態学による‘CAR バチルス’同定手法が行われていないため、今後の解析に待たなければならないが、ウシの *Filobacterium* 属菌については呼吸器系常在菌叢の構成因子であり、病原性には関与しないとされている [57]。臨床症状を示したネコの場合（上記）、*Filobacterium* 属菌が気道下部の菌叢を構成し、何らかの原因で菌量が増加すると慢性気管支炎や自発性アレルギー性喘息に関与する [37, 57]。

### 3. 感染制御 / 予防

#### a. バイオセーフティ

*F. rodentium* のヒトへの感染報告はない [52]。ヒト小児検体から得られた *Filobacterium* 属菌 16S rRNA 遺伝子塩基配列が DDBJ/Genban などの公的バンクに 3 例登録されているが、*F. rodentium* のものとは異なっ

ており（図 1 参照）、*F. rodentium* が人へ感染したものととは考えられない。本菌は 56℃ 30 分の熱処理で死滅する [16]。

*F. rodentium* は免疫正常なラットに自然感染することからバイオセーフティレベル 2 に分類されている [3]（下記封じ込めレベルも参照）。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」では本菌に関し、ラット・マウスともに、カテゴリー C、発生頻度☆（過去 10 年程度国内外での発生がほとんどない）、微生物学的ステータス Excellent とし、不定期検査（飼育施設の状況や実験目的に応じて随時検査を行うが、将来的に国内の検査体制の整備や検査キットの開発に応じて定期検査とすべき）でよいとしている [4]。

*F. rodentium* の基準株 SMR-C<sup>T</sup> は理研 BRC の微生物材料開発室 (JCM) へ寄託されており、JCM においては本株を BSL2 として扱っている [25]。

#### b. 清浄化方法

*F. rodentium* は抗生物質に弱く、ラット由来 SMR 株を BALB/cNrs に経鼻実験感染し、その前後にスルファメラジン、アンピシリン、クロルテトラサイクリンを投与したところ、いずれも病原性減弱を示したが、スルファメラジンの効果が際立っていたという [35]。

本菌による胎盤感染や、子宮・卵管の汚染の報告はなく、本菌排除には、帝王切開や胚移植が有効であろう [52]。

#### c. 治療

ネコの *Filobacterium* 症では *Mycoplasma felis* などのマイコプラズマ感染を併発していることがあるため、TMS（トリメトプリム・スルファメトキサゾール合剤）およびアジスロマイシン、ドキシサイクリンあるいはフルオロキノロンとの併用投与が必要と報告されている [37]

### 4. 検査方法

#### a. 分離

感染臓器等から本菌を分離する際は、孵化鶏卵の漿尿膜腔培養法や動物を用いた継代法が用いられた。ただし、最近ではワクチン作製グレードの高品質の孵化鶏卵の入手が難しく、孵化鶏卵を用いて本菌の分離を図る場合は鶏卵種の選択が必要である。マウスを用いた継代には、本菌に感受性の清浄な BALB/c 系統を用いるとよい。培養細胞に本菌を *in vitro* で感染させて分離する場合は、3T3 細胞、IEC-18 細胞、Vero E6 細胞などが用いられる。本分離法についても必ずしもうまくいくとは限らず、細胞種や培養条件の検討が必要となる（上記の培養の項参照）。

## b. 抗体検査

宿主は本病原体に対して感染の早い時期に抗体を産生する[18]ため、モニタリングには蛍光抗体法[33]やELISA検査[41]などの血清学的検査が一般に用いられる。市販の診断キットはない。公益財団法人実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンターやジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社モニタリングセンターは血清検査を請け負っている。

## c. PCR

鼻腔拭い液を用いたPCR法[15]と口腔・鼻腔・気管支拭い液を用いたRT-PCR法[17]の報告がある。我々の経験では、両報告ともにラット由来SMR株の16S rRNA遺伝子を増幅可能であった。ただし、前者の報告[15]に記載のRF141プライマは塩基配列が間違っているのに注意を要する。抗体検査と同様、上記モニタリングラボにてPCR検査も可能である。

## d. 組織病理学

中耳、耳管、気道、肺のパラフィン切片をHE染色して光学顕微鏡下で観察すると、線毛上皮細胞上に本菌の存在を認める。また、Warthin-Starry法などにより銀染色すると本菌を黒く染め出すことができる[8]。また免疫染色も可能である[41]。病変部位の透過電子顕微鏡あるいは走査電子顕微鏡による観察も用いられる。

## e. 16S rRNA 遺伝子アンプリコンのメタゲノム解析

次世代シーケンサーを用いて *F. rodentium* および *Filobacterium* 属菌を検出した報告が近年、増えている[22, 23, 37, 45, 55, 56]。これらでは16S rRNA 遺伝子塩基配列に対するユニバーサルプライマーでPCRを行い、アンプリコンからライブラリーを作成後、次世代シーケンサーを用いて配列を読み、SILVA (www.arb-silva.de) [43] などの16S rRNA 遺伝子データベースを用いて細菌種を推定する。この手法で注意すべき点は、1. ユニバーサルプライマーによっては *Filobacterium* 属菌の16S rRNA 遺伝子が増幅されないこと、2. 古いデータベースを使用すると *Filobacterium* 属菌が登録されていないことである。なお、本法を用いた微生物モニタリングが提案されている[58]。

## 5. 感染実験

### a. 感染症モデル

齧歯類由来株のラット、マウス、ウサギ、モルモット、ハムスター、スナネズミへの経鼻感染実験[34, 49, 51]と、ブタ由来株のラット、マウス、ブタへの経鼻感染実験の報告がある[39]。

### b. 封じ込めレベル

国立感染症研究所では‘CAR パチルス’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[3]。*F. rodentium* は、研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令の規定に基づき認定宿主ベクター系等を定める件(平成十六年一月二十九日 文部科学省告示第七号)にて、最終改正: 令和三年二月十五日文部科学省告示第十三号の別表第2(第2条関係)に記載されており、遺伝子組換え実験もP2レベルで実施可能である[6]。

## 6. 最後に

本稿は、実験動物ニュースで2014年に発表した「CAR パチルス感染症」[62]、および同じく2016年に発表した「齧歯類分離 CAR パチルスの新学名、*Filobacterium rodentium* について」[63]に、最新知見を加え、全面的に書き直したものである。

## 文 献

1. 「実験動物感染症の対応マニュアル」前島一淑監修 株式会社アドスリー p.181, 2000.
2. 「実験動物としてのマウス・ラットの感染症対策と予防」(社)日本実験動物学会監修, (社)日本実験動物学会, マウス・ラットの感染症対策委員会編集 株式会社アドスリー p.176, 2011.
3. 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 22 Dec 2022]. www.niid.go.jp/niid/ja/byougen-kanri/8136-biosafe-kanrikitei.html
4. 国立大学法人動物実験施設協議会 [Internet] 実験動物の授受に関するガイドライン (平成24年12月21日) [cited 22 Dec 2022]. www.kokudoukyou.org/index.php?page=kankoku\_juju
5. 実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター [Internet]. わが国の動物実験施設の微生物モニタリング成績 [cited 22 Dec 2022]. www.iclasmonic.jp/jigyuu/results/monipos.html
6. 文部科学省 [Internet]. 研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令の規定に基づき認定宿主ベクター系等を定める件 (平成十六年一月二十九日 文部科学省告示第七号) 最終改正: 令和三年二月十五日文部科学省告示第十三号 別表第2 (第2条関係) [cited 22 Dec 2022]. www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n648\_02.pdf
7. Baker D.G.: Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. Clin. Microbiol. Rev. 11(2): 231–266, 1998.

8. Bergottini R. et al.: Cilia-associated respiratory (CAR) bacillus infection in adult red deer, chamois, and roe deer. *J. Wildlife Dis.* 41(2): 459–462, 2005.
9. Brogden K.A. et al.: Cilia-associated respiratory bacillus in wild rats in central Iowa. *J. Wildl. Dis.* 29(1): 123–126, 1993.
10. Caniatti M. et al.: Cilia-Associated Respiratory (CAR) Bacillus Infection In Conventionally Reared Rabbits. *Zentralbl Veterinarmed B.* 45(6): 363–371, 1998.
11. Cundiff D.D. et al.: Characterization of cilia-associated respiratory bacillus in rabbits and analysis of the 16S rRNA gene sequence. *Lab. Anim. Sci.* 45(1): 22–26, 1995.
12. Easterbrook J.D. et al.: A survey of rodent-borne pathogens carried by wild-caught Norway rats: a potential threat to laboratory rodent colonies. *Lab. Anim.* 42(1): 92–98, 2008.
13. Fernández A. et al.: Morphological evidence of a filamentous cilia-associated respiratory (CAR) bacillus in goats. *Vet. Pathol.* 33(4): 445–447, 1996.
14. France M.P.: Cilia-associated respiratory bacillus infection in laboratory rats with chronic respiratory disease. *Aust. Vet. J.* 71(10): 350–351, 1994.
15. Franklin C.L. et al.: Detection of cilia-associated respiratory (CAR) bacillus in nasal-swab specimens from infected rats by use of polymerase chain reaction. *Lab. Anim. Sci.* 49(1): 114–117, 1999.
16. Ganaway J.R. et al.: Isolation, propagation, and characterization of a newly recognized pathogen, cilia-associated respiratory bacillus of rats, an etiological agent of chronic respiratory disease. *Infect. Immun.*, 47(2): 472–479, 1985.
17. Goto K. et al.: Detection of cilia-associated respiratory bacillus in experimentally and naturally infected mice and rats by the polymerase chain reaction. *Exp. Anim.* 44(4): 333–336, 1995.
18. Hansen A.K. and Nielsen D.S.: "Cilia-associated respiratory bacillus" *In Handbook of Laboratory Animal Bacteriology Second Edition*, CRC Press, Boca Raton, Florida. p. 171–172. 2015.
19. Hastie A.T. et al.: Two types of bacteria adherent to bovine respiratory tract ciliated epithelium. *Vet. Pathol.* 30(1): 12–19, 1993.
20. Hayashimoto N. et al.: Current Microbiological Status of Laboratory Mice and Rats in Experimental Facilities in Japan. *Exp. Anim.*, 62(1): 41–48, 2013.
21. 林元展人ほか. 東京と神奈川で捕獲されたクマネズミ, ドブネズミにおける微生物調査; 実験動物施設の潜在的な感染源として. *実験動物技術* 52(2): 67–76, 2017.
22. Holman1 D.B. et al.: Antibiotic treatment in feedlot cattle: a longitudinal study of the effect of oxytetracycline and tulathromycin on the fecal and nasopharyngeal microbiota. *Microbiome.* 7: 86, 2019.
23. Hu X. et al.: Rabbit microbiota across the whole body revealed by 16S rRNA gene amplicon sequencing. *BMC Microbiology* 21: 312, 2021.
24. Ike F. et al.: *Filobacterium rodentium* gen. nov., sp. nov., a member of *Filobacteriaceae* fam. nov. within the phylum *Bacteroidetes*; includes a microaerobic filamentous bacterium isolated from specimens from diseased rodent respiratory tracts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66: 150–157, 2016.
25. JCM Catalogue [internet] *Filobacterium rodentium* Ike et al. 2016. [cited 22 Dec 2022]. [www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_number?JCM=19453](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=19453)
26. Kakrada, M. K., et al.: Cilia-associated respiratory bacillus infection in rats in New Zealand. *N. Zeal. Vet. J.* 50(2): 81–82, 2002.
27. Kendall L.V. et al.: Antibody and cytokine responses to the cilium-associated respiratory bacillus in BALB/c and C57BL/6 mice. *Inf. Immun.* 68(9): 4961–4967, 2000.
28. Kokubo T. and Matsushita S.: Evaluation of new cage lid with partitioning barrier based on transmission of CAR bacillus in mice. *Exp. Anim.* 58(2): 189–192, 2009.
29. Kurisu K. et al.: Cilia-associated respiratory bacillus infection in rabbits. *Lab. Anim. Sci.* 40(4): 413–415, 1990.
30. MacKenzie W.F. et al.: A filamentous bacterium associated with respiratory disease in wild rats. *Vet. Pathol.* 18(6): 836–839, 1981.
31. Mackie J.T. et al.: Concurrent infection with cilia-associated respiratory bacillus and mycoplasmas in spinifex hopping-mice (*Notomys alexis*) with pneumonia. *Aust. Vet. J.* 79(7): 502–504, 2001.
32. Matsushita S.: Spontaneous respiratory disease associated with cilia-associated respiratory (CAR) bacillus in a rat. *Jap. J. Vet. Sci.* 48(2): 437–440, 1986.
33. Matsushita S. et al.: Serodiagnosis of cilia-associated respiratory bacillus infection by the indirect immunofluorescence assay technique. *Lab. Anim.* 21(4): 356–359, 1987.
34. Matsushita S. et al.: Transmission experiments of cilia-associated respiratory bacillus in mice, rabbits and guineapigs. *Lab. Anim.* 23(2): 96–102, 1989.
35. Matsushita S. and Suzuki E.: Prevention and treatment of cilia-associated respiratory bacillus in mice by use of antibiotics. *Lab. Anim. Sci.* 45(5): 503–507, 1995.
36. Medina L.V. et al.: Respiratory disease in a rat colony: identification of CAR bacillus without other

- respiratory pathogens by standard diagnostic screening methods. *Lab. Anim. Sci.* 44(5): 521–525, 1994.
37. Načeradská M. et al.: A novel *Filobacterium* sp can cause chronic bronchitis in cats. *PLoS ONE* 16(6): e0251968, 2021.
  38. Nakane D. et al.: Helical flow of surface protein required for bacterial gliding motility. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 110(27): 11145–11150, 2013.
  39. Nietfeld J.C. et al.: Isolation of cilia-associated respiratory (CAR) bacillus from pigs and calves and experimental infection of gnotobiotic pigs and rodents. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11(3): 252–258, 1999.
  40. Oren A. and Garrity G.M.: Notification that new names of prokaryotes, new combinations and new taxonomic opinions have appeared in volume 66, part 1, of the *IJSEM. Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66: 1607–1611, 2016.
  41. Orós J. et al.: Demonstration of rat CAR bacillus using a labelled streptavidin biotin (LSAB) method. *J. Vet. Med. Sci.* 58(12): 1219–1221, 1996.
  42. Pritchett-Corning K.R. et al.: Contemporary prevalence of infectious agents in laboratory mice and rats. *Lab. Anim.* 43(2): 165–173, 2009.
  43. Quast C. et al.: The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucl. Acids Res.* 41 (D1): D590–D596, 2013.
  44. Ramos-Vara J.A. et al.: Bronchitis and bronchiolitis in a cat with cilia-associated respiratory bacillus-like organisms. *Vet. Pathol.* 39(4): 501–504, 2002.
  45. Rhoades N.S. et al.: Functional, transcriptional, and microbial shifts associated with healthy pulmonary aging in rhesus macaques. *Cell Rep.* 39: 110725, 2022.
  46. Schoeb T.R. et al.: Cultivation of cilia-associated respiratory bacillus in artificial medium and determination of the 16S rRNA gene sequence. *J. Clin. Microbiol.* 31(10): 2751–2757, 1993.
  47. Schoeb T.R. et al.: Pathogenicity of cilia-associated respiratory (CAR) bacillus isolates for F344, LEW, and SD rats. *Vet. Pathol.* 34(4): 263–270, 1997.
  48. Shoji Y. et al.: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibody to CAR bacillus. *Exp. Anim.* 37(1): 67–72, 1988.
  49. Shoji-Darkye Y. et al.: Pathogenesis of CAR bacillus in rabbits, guinea pigs, Syrian hamsters, and mice." *Lab. Anim. Sci.* 41(6): 567–571, 1991.
  50. Shoji Y. et al.: Propagation of CAR bacillus in artificial media. *Exp. Anim.* 41(2): 231–234, 1992.
  51. St Clair M.B. et al.: Experimentally induced infection of gerbils with cilia-associated respiratory bacillus. *Lab. Anim. Sci.* 49(4): 421–423, 1999.
  52. Waggie K. et al.: "Cilia Associated Respiratory" (CAR) Bacillus. In: Waggie K. et al. editors. *Manual of microbiologic monitoring of laboratory animals*, 2nd ed. Bethesda (MD): National Center for Research Resources. NIH Publication no. 94-2498. p. 121–123. 1994.
  53. Watson V.E. et al.: Cilia-associated Respiratory (CAR) Bacillus-like Organism (CLO) Identified in a Banded Rock Rattlesnake (*Crotalus lepidus klauberi*). *J. Herpetol. Med. Surg.* 21(2): 50–53, 2011.
  54. Van Zwieten M.J. et al.: Respiratory disease in rats associated with a filamentous bacterium: a preliminary report. *Lab. Anim. Sci.* 30(2) Pt 1: 215–221, 1980.
  55. Vientós-Plotts A.I. et al.: Respiratory dysbiosis in cats with spontaneous allergic asthma. *Front. Vet. Sci.* 9: 930385, 2022.
  56. Villette P. et al.: Spatio-temporal trends in richness and persistence of bacterial communities in decline-phase water vole populations. *Sci. Rep.* 10: 9506, 2020.
  57. Zeineldin M. et al.: Meta-analysis of bovine respiratory microbiota: link between respiratory microbiota and bovine respiratory health. *FEMS Microbiol. Ecol.* 96: faaa127, 2020.
  58. Stephanie B. and André B.: Health Monitoring of Laboratory Rodent Colonies—Talking about (R)evolution. *Animals.* 11: 1410, 2021.
  59. Boey K. et al.: Seroprevalence of Rodent Pathogens in Wild Rats from the Island of St. Kitts, West Indies. *Animals.* 9: 228, 2019.
  60. Hansen A.K. and Nielsen D.S.: "Rabbit-associated cilia-associated respiratory bacillus" *In Handbook of Laboratory Animal Bacteriology Second Edition*, CRC Press, Boca Raton, Florida. p. 203. 2015.
  61. Hansen A.K. et al.: Bacterial species to be considered in quality assurance of mice and rats. *Lab. Anim.* 53(3): 281–291, 2019.
  62. 池 郁生 : CAR パチルス感染症. 実験動物ニュース 63(3): 50–55, 2014. [www.jalas.jp/files/infection/kan\\_63-3.pdf](http://www.jalas.jp/files/infection/kan_63-3.pdf)
  63. 池 郁生 : 齧歯類分離 CAR パチルスの新学名, *Filobacterium rodentium* について. 実験動物ニュース 65(4): 65–68, 2016. [www.jalas.jp/files/infection/kan\\_65-4.pdf](http://www.jalas.jp/files/infection/kan_65-4.pdf)