

論 文 要 旨

Mycolactone is responsible for the painlessness of *Mycobacterium ulcerans* infection (Buruli ulcer) - a murine study

〔 *Mycobacterium ulcerans* による神経障害
—mycolactone の役割について 〕

圓 純一郎

【序論および目的】（適宜、項目をたてて、必ず2頁で記載する）

ブルーリ潰瘍は、*Mycobacterium ulcerans*感染によってひきおこされるヒトの難治性皮膚疾患であり、熱帯、亜熱帯地域でみられる。大きく深い無痛性の皮膚潰瘍が形成され、重篤な身体後遺症を残すことが多いことからハンセン病と同様に社会的な偏見を受けやすく、治療法の確立が望まれている。

我々は実験的マウスにより、Buruli潰瘍における末梢神経病変についての検討を行ない、これまでに、多くの神経束は正常に保たれているものの一部の神経束には多数の抗酸菌の侵入が見られ、電子顕微鏡による検索では、シュワン細胞の空胞変性が特徴的であること、足底の知覚検査では知覚鈍麻になることなどを報告してきた。

M. ulcerans は抗酸菌としては例外的に毒性脂質 mycolactone を産生し、mycolactone は線維芽細胞とマクロファージにアポトーシスを誘導することが知られている。本研究の目的は、Buruli潰瘍における末梢神経病変についてこの mycolactone の役割と知覚障害の発現機構の解明に迫ることである。

【材料および方法】

Mycolactone注射マウスの足底の腫脹と知覚検査：

M. ulcerans より精製した mycolactone を、微量のエタノールで溶解後に 7H9 broth で希釈し、6週齢 BALB/C 雌マウス (n=25) の左足底に 100 μ g (25 μ l) ずつ注射し、7日目、14日目、21日目、28日目、42日目に足底の厚さをノギスで測定し、von Frey microfilament (Touch-Test Sensory Evaluator Instruments; North Coast Medical, Inc. 0.02, 0.04, 0.07, 0.4, 1, 4, 10g)を用いた知覚検査を行った。対照として、希釈に使用した溶液のみを左足底に注射した6週齢 BALB/C 雌マウス (n=5) を用いた。

Mycolactone注射マウスの組織学的検索：

7日目、14日目、21日目、28日目、42日目に4%パラフォルムアルデヒド (n=3) あるいはそれに1%グルタルアルデヒドを加えた固定液 (n=2) で灌流固定し、足底、脾、胸腺、肝、肺、腎のヘマトキシリン・エオジン染色による組織学的検索と、足底のエポン包埋1ミクロン切片・トルイジンブルー染色による検索を行い、対照と比較した。

【結 果】

Mycolactone注射マウスの足底の腫脹と知覚検査：

mycolactone 100 μ g注射前には 2.38 ± 0.17 mmであった足底の厚さは、注射後に発赤をともなって腫脹して7日目には 3.46 ± 0.046 mm、14日目には 3.49 ± 0.35 mm、21日目には 3.08 ± 0.40 mm、28日目には3.02

±0.24mm、42日目には2.71±0.13mmとなり、7日目から14日目をピークに徐々に腫脹は消退していった。肉眼的には発赤も徐々に減退した。

知覚検査では、注射後7日目と14日目には対照と比較して知覚過敏を示したが、21日目には知覚は回復し、28日目と42日目には逆に知覚鈍麻が認められた。

Mycolactone注射マウスの組織学的検索：

組織学的検索では、皮膚のびらん、間質の浮腫などが見られた。また、好中球浸潤は菌接種では少なかったが、mycolactone注射では中等度認められた。びらん周辺の神経束では、注射後7日目から21日目にはシュワン細胞の核の消失と出血が見られ、一部では神経周膜に強い好中球の浸潤も認められた。また、菌接種時に認められたシュワン細胞の空胞変性と同一の病変が、注射後14日目と21日目に観察された。注射後28日目と42日目になると、炎症は見られないが、髄鞘の再生像と神経線維の減少が認められた。

【結論及び考察】

Buruli潰瘍では、骨まで達する大きな皮膚潰瘍が形成され、初期の腫脹期は有痛性であるが、その後はほとんど痛みがないため、診断や治療が遅れる大きな原因となっている。

今回の研究に於いては注射量を100μgに固定し、7日～42日目まで経時的に足底の厚さ、知覚、病理学的変化を観察した。その結果、mycolactone注射によって、(1)足底は14日目をピークに腫脹し、そのあと徐々に消退すること、(2)初期には知覚過敏になるものの、徐々に知覚鈍麻が起こること、(3)初期には神経周膜に好中球が浸潤すること、(4)菌接種で見られたシュワン細胞の空胞化が、14日目と21日目に見られこと、(5)知覚鈍麻期には、髄鞘再生像と神経線維の減少が見られること、が明らかになった。これらの結果は、ヒトのブルーリ潰瘍における臨床経過と良く合致するものと考えられる。今後さらに、mycolactoneが神経病変をひきおこす機序についての検索を続けて行きたい。

(Infection and Immunity, American Society of Microbiology Vol.76, No.5 2008年 掲載)