

【短 報】 産業動物

黒毛和種哺乳牛における接合菌による真菌性脳炎の1例

谷口有紀子¹⁾ 中谷 敦子¹⁾ 川内 京子¹⁾

1) 北海道十勝家畜保健衛生所 (〒089-1182 帯広市川西町基線59-6)

※現所属：北海道網走家畜保健衛生所

要 約

十勝管内の1農場において、10日齢の黒毛和種哺乳牛1頭が起立不能、虚脱および肺音粗朧を呈し死亡した。剖検では、大脳脳底部および間脳に軟化がみられ、側脳室は拡張していた。病理組織学的検査で、真菌性脳炎と真菌塞栓を伴う血管炎が散見され、真菌菌糸は接合菌に特徴的な形態を示した。また免疫組織化学的検査で真菌菌糸はマウス抗*Rhizomucor*抗体に陽性反応を示したため、接合菌による真菌性脳炎と診断した。

真菌菌糸を伴う壊死病変は大脳脳底部および間脳に限局しており、小脳から延髄、またその他主要臓器ではみられなかったため、経副鼻腔感染を起こし真菌性脳炎に至ったことが推察された。

キーワード：*Rhizomucor*、鼻脳型接合菌症、真菌性脳炎

-----北獣会誌 64, 140～143 (2020)

牛真菌症の原因菌には、皮膚糸状菌、アスペルギルス、接合菌およびカンジダなどがあげられる^[1]。接合菌症は*Rhizopus*、*Rhizomucor*、*Mucor*、*Lichtheimia*の4属が主要な原因真菌とされ、病型は鼻脳型、肺型、播種型、皮膚型および胃腸型の5つに分類され^[2,3]、血管親和性が高く真菌性塞栓を形成し、病巣部は化膿性壊死性病変を形成する^[3,4]。ヒトでは免疫不全や基礎疾患の有無に関わらず発症するとされているが、合併症として血液疾患や糖尿病に併発した場合、予後は極めて不良である。また、死亡率が高い疾病であるが生前診断例は少なく、剖検時に病変を発見することが多い。血清学的補助診断方法は確立されておらず、早期の診断と病変部の切除やドレナージが必要となる^[5]。牛の接合菌症も致死率が高く、潰瘍性胃腸炎や肉芽腫性肺炎などの病変がみられるが、脳炎の発生例はまれであり、生前診断は困難とされる^[1]。今回十勝管内の1農場において鼻脳型接合菌症に分類される真菌性脳炎の症例に遭遇したので概要を報告する。

材料および方法

1. 発生状況の概要

2019年4月23日に十勝管内で飼養されていた10日齢の黒毛和種哺乳牛1頭が起立不能、虚脱および肺音粗朧を呈したため、臨床獣医師は高アンモニア血症を疑い加療を行ったが、翌4月24日に死亡し、当所へ病性鑑定のため搬入された。本農場は、乳用および肉用育成牛1,500頭を飼養する農場で、当該牛はフリーバーン牛舎で群飼育されており、群内に同様の症状を呈する牛はみられなかった。

2. 細菌学的および真菌学的検査

検査材料（肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、小腸内容物、大腸内容物、胆汁、大脳、小脳、延髄）を5%羊血液加寒天培地（極東製薬、東京）、DHL寒天培地（栄研化学、東京）を用いて5%CO₂下で37℃24時間培養した。また、ポテトデキストロース寒天培地（栄研化学）を用いて、大脳材料について好気性下で37℃5日間培養した。分離された真菌はラクトフェノールコットンブルー染色標本を作製し、形態観察を行った。

連絡責任者：谷口有紀子 北海道網走家畜保健衛生所

〒090-0008 北見市大正323番地5

TEL：0157-36-0725 FAX：0157-36-5801 E-mail：taniguchi.yukiko@pref.hokkaido.lg.jp

3. ウイルス学的検査

大脳、小脳、延髄の各乳剤を用いて、牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）の遺伝子検査を実施した。また同材料でMDBK細胞を用いたウイルス分離を実施した。

4. 病理組織学的検査

剖検後、検査材料（肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、小腸、大腸、大脳、小脳、延髄）を10%中性緩衝ホルマリンで固定後、常法により病理組織標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を実施した。また、大脳および間脳病変部には過ヨウ素酸シッフ（PAS）染色およびファンギフローラY（トラストメディカル、宮城）を用いた蛍光染色を実施した。

5. 免疫組織化学的検査

大脳および間脳病変部の切片に対して、酵素抗体法による免疫組織化学染色を実施した。一次抗体にマウス抗 *Aspergillus* モノクローナル抗体(DAKO、デンマーク)およびマウス抗 *Rhizomucor* モノクローナル抗体(DAKO)を用い、0.1%トリプシン加PBSおよび0.3% H₂O₂加メタノールで前処理を行い、市販の免疫組織化学的検査キット（ヒストファインシンプルステイン SAB-PO (M)：ニチレイバイオサイエンス、東京）と発色液（DABトリス錠：武藤化学、東京）を用いて染色を実施した。

成 績

1. 臨床および剖検所見

脳は全域がうっ血しており、脳底は暗赤色を呈し軟化していた（図1）。側脳室は拡張しており、間脳、前頭葉および側頭葉には出血と壊死がみられた（図2）。肺は充血していた。その他臓器に著変はみられなかった。

2. 細菌学および真菌学的検査

大脳より採取後、培養3日目まで灰白色の綿菓子状コロニーがポテトデキストロース寒天培地上に発育した。菌糸の先端には円形の孢子囊が観察された。コロニーや顕微鏡学的形態の特徴から接合菌と同定したが、菌種の同定には至らなかった。その他検査材料からは有意菌および真菌は分離されなかった。

3. ウイルス学的検査

各臓器の乳剤からBVDV特異遺伝子は検出されなかった。またウイルス分離は全検体とも陰性であった。

4. 病理組織学的検査

大脳および間脳には、好中球浸潤を伴う髄膜炎と血管炎がみられ、実質では壊死巣が散見された（図3）。壊死巣内には真菌が多数みられ、菌糸は太くて内部が中空

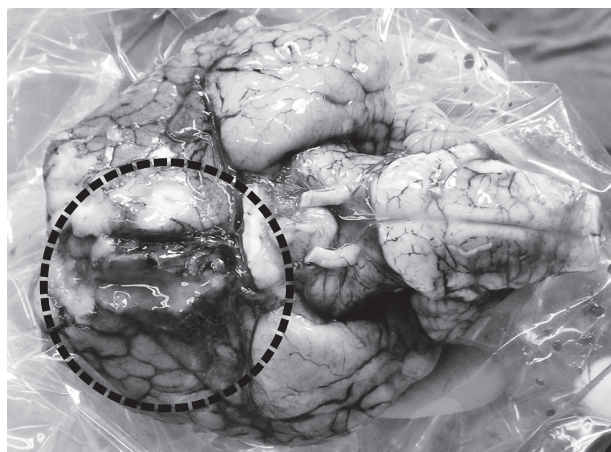


図1. 脳底部の軟化巣（点線円内）

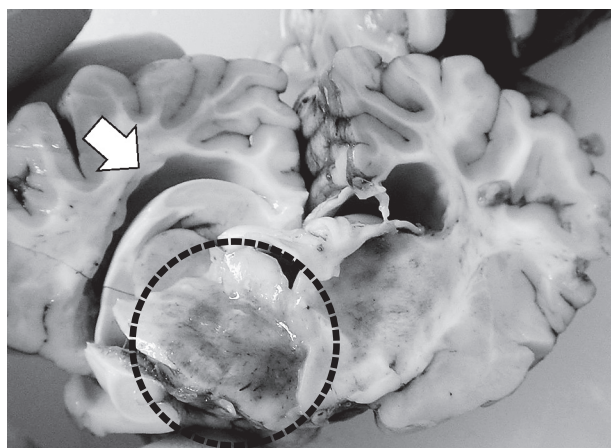


図2. 側脳室の拡張（矢印）と間脳の壊死巣（点線円内）

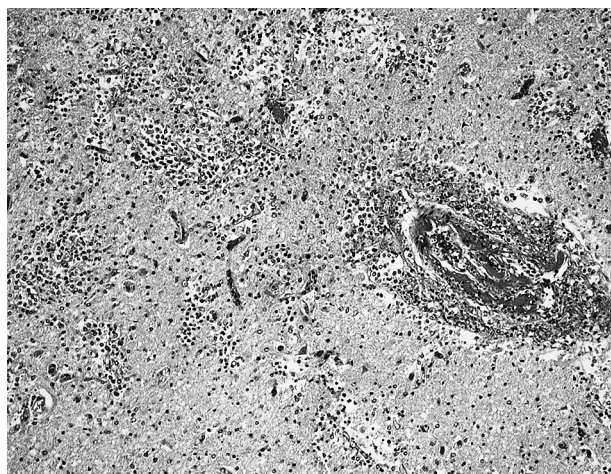


図3. 大脳
壊死巣が散見され血管炎もみられる

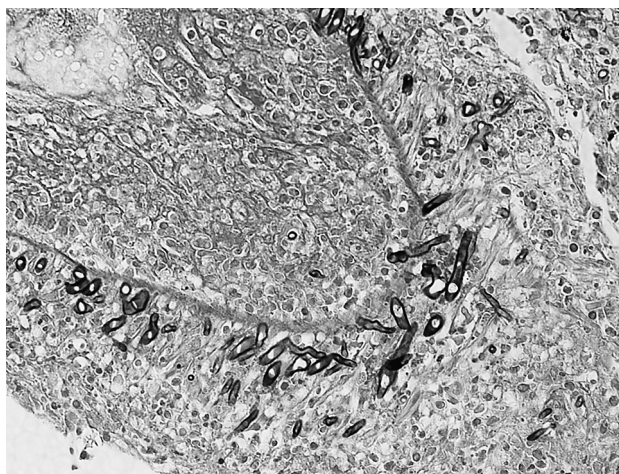


図4. 大脳
血管周囲に菌糸が太く内部が中空状で分岐の角度が不規則な真菌が散見された (PAS染色)

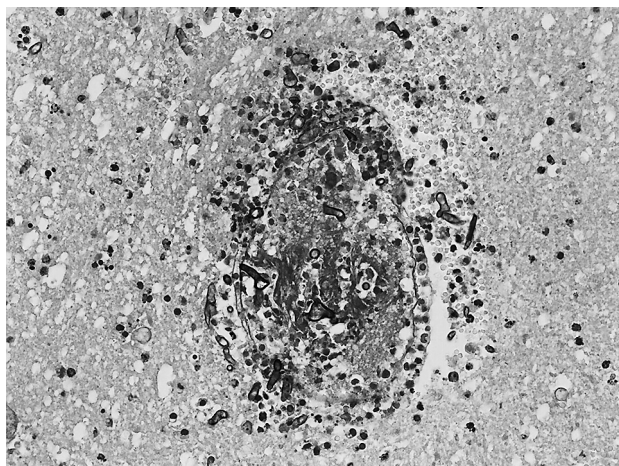


図5. 大脳
血管炎および血管内に真菌性塞栓の形成 (PAS染色)

状で隔壁を持たず、分岐の角度が不規則な形態であった。これら真菌はPAS染色陽性であった (図4)。特に血管壁周囲および血管壁内には、真菌の増殖と好中球浸潤がみられ、血管内腔には真菌性塞栓が形成されていた (図5)。ファンギフローラYを用いた蛍光染色では、真菌に一致した明瞭な蛍光は確認されなかった。

大脳病変は嗅球から脳底部、側脳室周囲に局限しており、頭頂部や小脳から脊髄までの脳神経系では病変形成はみられなかった。肺では間質にうっ血がみられたが、真菌感染症を疑う所見はみられず、その他臓器でも病変形成はみられなかった。

5. 免疫組織化学的検査

大脳および間脳の壊死巣にみられた真菌菌糸はマウス抗*Rhizomucor*モノクローナル抗体で強い陽性反応を示したが、マウス抗*Aspergillus*モノクローナル抗体には

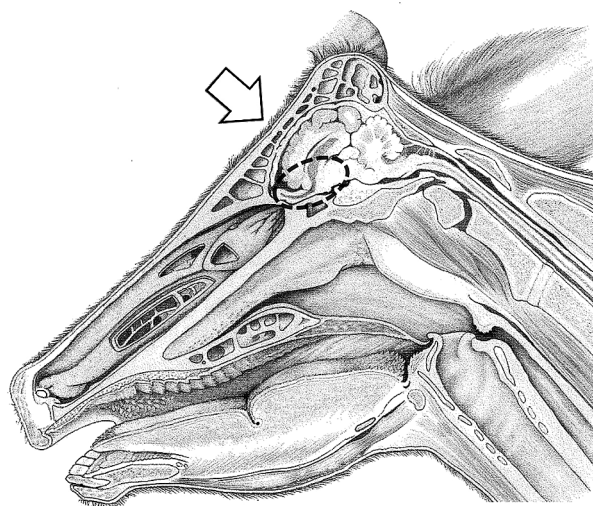


図6. 牛の頭部傍正中断面図 (Budaら^[11]を一部変更)
病変は脳底部付近に局限する (点線楕円内)

反応を認めなかった。

考 察

接合菌症は一般的に血管侵襲性が強いとされており^[5,6]、本症例でも血管壁および周囲に著しい菌糸の増殖と壊死および炎症性細胞浸潤などの病変形成があり、接合菌症の特徴的所見^[6]がみられた。また、病変部にみられた菌糸はPAS染色陽性を示し、接合菌の形態に一致した^[3-5]。今回の蛍光染色にはファンギフローラYを用いたが、本染色は β -グルカンなどの β 構造をもつ多糖類に対する親和性を用いた真菌の蛍光染色方法である。接合菌の細胞壁には β -グルカンが極めて少ないため、蛍光をほとんど呈さない^[7]。本症例では、PAS染色による菌糸の形態、ファンギフローラYを用いた蛍光染色で明瞭な反応がみられないこと、マウス抗*Rhizomucor*モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学染色で菌体に一致して陽性反応がみられたことなどから、接合菌による真菌性脳炎と診断した。

牛の頭部傍正中断面図を図6に示す。本症例では菌糸を伴う壊死巣形成や血管炎などの病変が大脳の一部から間脳に局限しており、小脳から延髄、その他主要臓器では真菌分離陰性で、病変形成がみられず、全身性播種を疑わなかったことから、副鼻腔を介した鼻脳型接合菌症であると推察された。

ヒトの副鼻腔接合菌症は基礎疾患の有無に関わらず発症するが、血液疾患患者や重度糖尿病などに併発することが多い^[2,4,5]。本症例では当該牛に既往歴等はなく、胸腺などの免疫系組織や主要臓器にも異常はみられな

かったことから基礎疾患を伴わない発症と考えられた。

牛の接合菌による真菌性脳炎は過去に報告があるが非常にまれである^[8-10]。Nakagawaらの報告^[8]では、腎臓が原発の小脳炎であり病変は類似していたが、鼻脳型接合菌症を疑うものではなかった。一方、Schönmannらの報告^[9]は、本症例と発生状況および病変形成が非常に類似しており、真菌を伴う化膿性壊死性脳炎と塞栓性血管炎がみられた。また病変が局限していたため、当初はリステリア症を疑っており、生前の確定診断が困難であった。本症例も当初は高アンモニア血症を疑っており、生前の確定診断には至らず、抗真菌剤投与などの治療は行われなかった。

ヒトの副鼻腔を介する接合菌症は予後不良を呈し、血清学的診断マーカーが確立されていないため生前の確定診断は困難とされている^[2,5]。本症例も第2病日で死亡しており急性経過をたどったと考えられる。牛の接合菌による真菌性脳炎は、発生はまれであるが診断が困難な疾病であり、発症すると急性経過をたどり致死的病変を形成すると考えられた。

引用文献

- [1] 田淵 清：獣医伝染病学、清水悠紀臣 他編、第5版、143-145、近代出版、東京（1999）
- [2] 森 有紀：血液疾患におけるムーコル症の診断と治療、日医真菌会誌、57、J155-162（2016）
- [3] 若山 恵、篠崎 稔、渋谷和俊：病理診断、日医真菌会誌、54、27-37（2013）
- [4] 堤 寛：アスペルギルス症、ムコール症、感染症病理アトラス、初版、111-113、近代出版、東京（2001）
- [5] 森 健、八幡悠里子、築根 豊：Zygomycosis（接合菌症）、日医真菌会誌、52、283-289（2011）
- [6] 発地雅夫：ムーコル症、真菌症カラーアトラス、奥平雅彦他 編、第1版、128-136、文光堂、東京（1994）
- [7] 木村雅友：病院病理部で取り扱う深在性真菌症、日医真菌会誌、49、269-273（2008）
- [8] Nakagawa M, Hasegawa K, Suda H, Hiramune T: Bovine cerebellar zygomycosis: a case report, Jpn J Vet Sci, 48, 809-812（1986）
- [9] Schönmann M, Thoma R, Braun U: A case of acute disseminated Mucor encephalitis in a heifer, Schweiz Arch Tierheilkd, 139, 490-494（1997）
- [10] Chihaya Y, Matsukawa K, Okada H: A case of bovine cerebral mucormycosis, Jpn J Vet Sci, 48, 1271-1274（1986）
- [11] Buda S, Habel R, Budras KD: 牛の解剖アトラス、添田 聡訳、第1版、44-45、チクサン出版社（2005）