

と畜場でみられた*Rhizomucor pusillus*による 肉用牛の播種性ムコール症

工藤 剛¹⁾ 近藤光恵²⁾ 熊谷 光³⁾

1) 食肉衛生検査所 2) 保健環境センター 3) 気仙沼保健福祉事務所

接合菌症は接合菌綱の菌種を原因とする人および動物の真菌症である¹⁾。同症は病理学および微生物学的に診断され、起因菌種によりムコール症あるいはエントモフトラ症に分けられる¹⁾。しかしながら起因菌の分離は多くの症例で困難であり、病理組織学的特徴からムコール症あるいはエントモフトラ症に分けられている¹⁾。他方で、起因菌の検出と同定を目的とした分子生物学的検査として、真菌のリボゾームRNA (rRNA) 遺伝子の塩基配列解析が、病巣部から抽出したDNAを材料に実施されている²⁾。

牛の接合菌症の多くはムコール症であり、その病変は消化管潰瘍あるいはリンパ節炎であるが^{3~5)}、原発巣から他臓器へ播種する例も知られている³⁾。と畜場でみられる症例の多くはリンパ節炎であり^{4,5)}、他臓器へ播種した例は見当たらない。また本症の病変は乾酪壊死を伴う肉芽腫性炎であり、牛結核病の類症鑑別としても重要な疾病である^{4~7)}。

この報告では、と畜場の解体後検査で牛結核病に類似した病変が認められ、精密検査で*Rhizomucor pusillus*による播種性ムコール症と診断された肉用牛の病理学的、微生物学および分子生物学的検査成績を述べる。

材料および方法

本症は29ヶ月齢の黒毛和種去勢牛の1頭に見られた。2012年12月に一般畜として同一ロット3頭とともに搬入された。全頭とも生体検査で異常は認められず、治療歴および薬剤投与歴は確認されなかった。

解体後検査で、他の3頭に異常はみられなかった。

病理学的検査：解体後検査とともに、胸腔内腫瘍、主要臓器および各リンパ節を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、チール・ネルゼン (ZN) 染色およびグロコット・メセナミン銀 (GMS) 染色を施した。

微生物学的検査：解体後検査時に得た胸腔内腫瘍、心臓、肝臓および腎臓を、それぞれ好気性下の5%羊血液加HI寒天培地、10%CO₂環境下のチョコレート寒天培地および嫌気性下の5%羊血液加GAM寒天培地で37℃、1週間培養した。また、真菌の分離を目的に、サブロー・ブドウ糖寒天培地およびクロラムフェニコール加サブロー・ブドウ糖寒天培地を用いて、それぞれ好気性下で30℃および37℃で1週間培養した。

分子生物学的検査：凍結保存されていた腫瘍から市販キット (QIAmp DNA Mini Kit, キアゲン(株), 東京) を用いてDNAを抽出した。得られたDNAを材料に真菌rRNA遺伝子のD1/D2領域をターゲットとしたPCRならびに増幅産物の塩基配列解析を市販キット (Fungal rDNA (D1/D2) PCR Kit, タカラバイオ(株), 滋賀) で実施し、得られた配列を用いてBLAST検索を行った。

成績

病理学的検査成績：解体後検査で、直径30×24×14cmの腫瘍が、肺前葉前部の背側中央に存在した

(図1. a). 腫瘍は堅く表面は粗造で黄白色を呈していた。剖面は黄白色充実性で広範囲の石灰化を伴い、結合組織で分画されていた(図1. b)。これら所見は結核結節を思わせた。気管気管支リンパ節は腫大し髓様であった。腎臓は退色し、剖面における髓質と皮質の境界は不明瞭で、乾酪壊死巣が髓質に認められた。同壊死巣は腸間膜リンパ節にもみられた。

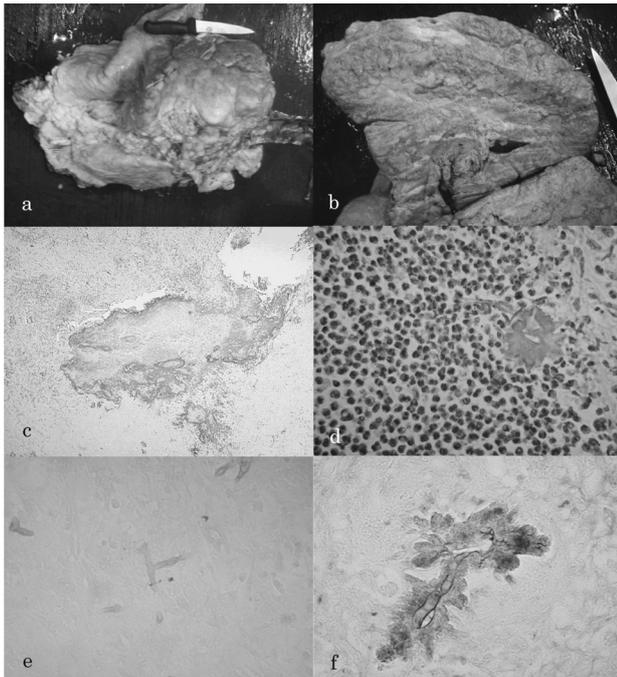


図1 当該牛の肺。(a) 肺前葉前部の背側中央に腫瘍が存在する。(b) 腫瘍の剖面は黄白色充実性で広範囲の石灰化を伴う。(c) 腫瘍中心部に著しい石灰化がみられる(HE染色 弱拡大像)。(d) 腫瘍辺縁にアステロイド体の存在と多数の好酸球浸潤を伴う肉芽腫性炎が観察される(HE染色 強拡大像)。(e) 腫瘍辺縁に真菌様物が散在する(HE染色 強拡大像)。(f) アステロイド体中心部に菌糸が観察される(GMS染色 強拡大像)。

組織学的に、著しい石灰化および壊死が腫瘍中心部に存在し、リンパ球、好中球、マクロファージおよび多核巨細胞が浸潤していた(図1. c)。アステロイド体(Splendore-Hoepli phenomenon)の存在と多数の好酸球浸潤を特徴とする肉芽腫性炎が腫瘍辺縁に認められた(図1. d)。同様の肉芽腫性炎が腎臓髓質でみられ、正常部位を圧迫していた。アス

テロイド体は腎臓にも認められた。好酸球浸潤を主体とする肉芽腫性炎が気管気管支リンパ節でみられた。腸間膜リンパ節では石灰化、壊死および炎症細胞の浸潤がみられたが、アステロイド体と好酸球は認められなかった。これら病変部ではいずれにもヘマトキシリンに淡染する真菌様物が散在した(図1. e)。

真菌様物はGMSで黒染され、腫瘍、腎臓および腸間膜リンパ節で確認された。菌糸は無隔壁で不規則に分岐し、アステロイド体の中心部で明瞭に染色され(図1. f)、その形態から接合菌と推察された。ZN染色およびグラム染色で抗酸菌あるいは細菌は確認されなかった。

微生物学および分子生物学的検査成績：有意菌は分離されなかった。PCRおよび塩基配列解析により525bpが決定され、得られた配列は接合菌綱ムコール目の*R. pusillus*のrRNA遺伝子(strain KACC 45886 28S-rDNA)と100%一致した。

考 察

解体後検査で肥育牛1頭に結核結節を疑う病変がみられ、精密検査を実施した。病理学的に、好酸球を主体とした炎症細胞、アステロイド体および接合菌を伴う肉芽腫性炎が胸腔内腫瘍および腎臓に認められ、同部位の真菌のrRNA遺伝子の塩基配列は*R. pusillus*のそれと一致した。以上から本例を*R. pusillus*による播種性ムコール症と診断した。

*Rhizomucor*属菌は環境中に広く分布し、*R. pusillus*は呼吸器を主たる感染経路として哺乳類および鳥類の接合菌症の原因となる⁸⁾。牛の播種性接合菌症の感染経路は呼吸器および消化管であり、前者は呼吸器から腎臓あるいは肝臓へ、後者は消化管粘膜から腸間膜リンパ節および肝臓へ播種する³⁾。本例において、接合菌症の病変が胸腔内および腎臓に認められた事実は、*R. pusillus*が呼吸器から感染し、腎臓へ播種したことを示唆していると思われる。

接合菌症の病理組織学的所見として、ムコール症は壊死、好中球、形質細胞および多核巨細胞の浸潤を、エントモフトラ症は好酸球浸潤およびアステロイド体の存在を特徴とする¹⁾。本例で双方の病理組

織学的所見が観察された事実は、既報⁶⁾と併せ、*R. pusillus*による牛のムコール症では、エントモフトラ症類似の病変も形成される可能性を示唆していると思われた。

*R. pusillus*は気温52°Cまで発育する好熱性真菌である⁸⁾。この性状は、発熱する宿主体内での増殖を可能とすることから、同菌の病原性の1つと考えられている⁸⁾。加えて、高温小雨の乾燥環境が同菌胞子の発芽を促し、牛の接合菌症の原因となる可能性が示唆されている⁵⁾。本例が飼養された地域の2012年夏季の日最高気温は観測史上1, 4および9位を記録し、同時期の降水量は平年値を下回った。感染時期を推測することは困難であるが、この環境条件も本症発生の誘因となったのかもしれない。他方で、他疾患の存在、免疫力の低下および抗生物質投与が宿主側の要因として示唆されているが³⁾、本例ではこれらを確認できなかった。

最後に、乾酪壊死病巣を伴うリンパ節炎が認められたアメリカのと畜牛の98%が接合菌症であった⁵⁾。国内の同症の発生率は不明であるが、同症は牛結核病の類症鑑別として重要な疾病であると思われる。

引用文献

- 1) Rippon JW: Mucormycosis, Medical Mycology: The Pathogenic Fungi and The Pathogenic Actinomycetes, 2nd ed, 615-640, WB Saunders, Philadelphia (1982)
- 2) Patrick S, Ste'phane B, JC Gantier, Dea GH, Olivier L, Franc,oise D and Eric D: Molecular Identification of Zygomycetes from Culture and Experimentally Infected Tissues, J Clin Microbiol, 44, 340-349 (2006)
- 3) Chihaya Y, Okada H, Matsukawa K and Matsui Y: Disseminated mycoses in cattle: a study on nine autopsy cases, J Vet Med Sci, 54, 485-491 (1992)
- 4) Jensen HE, Schonheyder H and Jorgensen JB: Intestinal and pulmonary mycotic lymphadenitis in cattle, J Comp Pathol, 102, 345-355 (1990)
- 5) Ortega J, Uzal AF, Walker R, Kinde H, Diab SS, Shahriar F, Pamma R, Eigenheer A and Read DH: Zygomycotic Lymphadenitis in Slaughtered Feedlot Cattle, Vet Pathol, 47, 108-115 (2010)
- 6) Vitovec J, Vladik P, Proks C and Fragner P: Mucormycosis (*Mucor pusillus*) with asteroid in a young bull, Acta Vet Acad Sci Hung, 25, 31-35 (1975)
- 7) Nishimura M, Toyota Y, Ishida Y, Nakaya H, Kameyama K, Nishikawa Y, Miyahara K, Inokuma H and Furuoka H: Zygomycotic Mediastinal Lymphadenitis in Beef Cattle with Ruminal Tympany, J Vet Med Sci, 76, 123-127 (2014)
- 8) Gomes MZ, Lewis RE and Kontoyiannis DP: Mucormycosis caused by unusual mucormycetes, non-*Rhizopus*, -*Mucor*, and -*Lichtheimia* species, Clin Microbiol Rev, 24, 411-445 (2011) .