

BLV 感染を伴う牛の深在性真菌症

長崎県諫早食肉衛生検査所国見支所 ○中島 仁志

長崎県諫早食肉衛生検査所

下條 香奈子、樋渡 佐知子※

※現佐世保市食肉衛生検査所

はじめに

牛のと畜検査において全身性の腫瘤を認めた場合、まず牛伝染性リンパ腫を疑うが、その他の腫瘍や肉芽腫等との鑑別も必要となる。今回、当所で検査した牛の全身に腫瘤を認め、病理組織学的検査によって真菌の関与を疑う多発性の肉芽腫を確認したので、その概要を報告する。

材料及び方法

1) 症例

2023 年 11 月 30 日に S と畜場に搬入された 40 カ月齢のホルスタイン種の雌で、治療歴や薬剤投与歴は確認されなかった。生体検査において消瘦、横臥、沈鬱および浅速呼吸を、解体後検査において複数臓器およびリンパ節に腫瘤を認めたため保留とした。

2) 微生物学的検査

心臓、肝臓、腎臓、脾臓、内腸骨リンパ節、浅頸リンパ節および筋肉を 5%羊血液加寒天培地にスタンプし、37℃、48 時間好気および嫌気培養を行い、発育した真菌様コロニーから釣菌し、シェアー液で封入し、鏡検した。

3) 病理学的検査

①塗抹標本：肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓および内腸骨リンパ節のスタンプ標本を作製し、ディフクイックおよびチールネルゼン染色を実施した。また、血液塗抹の白血球百分比を算定した。

②組織標本：肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓および各リンパ節を 10%中性緩衝ホルマリン液にて固定後、組織切片を作製し、ヘマトキシリンエオジン（HE）、過ヨウ素酸シッフ（PAS）、グロコット、グラムおよびチールネルゼン染色を実施した。

4) 遺伝子検査

DNeasy Blood&Tissue kit（QIAGEN）を用いて腎臓および脾臓から DNA を抽出し、牛伝染性リンパ腫ウイルス（BLV）プロウイルス遺伝子について、コンベンショナル PCR [1] を実施した。また、と畜検査で分離される敗血症起因グラム陽性菌 6 菌種（*Streptococcus suis*、*Streptococcus bovis*、*Erysipelothrix rhusiopathiae*、*Streptococcus porcinus*、*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*、*Trueperella pyogenes*）および *Fusobacterium necrophorum* を同定するリアルタイム PCR [2, 3] を実施した。

成績

1) 肉眼所見

肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓および内腸骨リンパ節において、白色、充実性、類円形で境界が比較的明瞭な腫瘤を多数認めた。その他のリンパ節では腫瘤を認めず、出血がみられた。腫瘤の大きさは直径 3～10 mm 程度、脾臓で最も大きく直径 30 mm 程度で中心部は壊死していた。いずれも膿瘍および乾酪壊死は認められなかった。

2) 微生物学的検査

腎臓および脾臓の好気培養において、白色綿毛状の真菌コロニーが分離された。コロニーは 24 時間後から確認され、48 時間後には臓器スタンプ部位全体に広がった。直接鏡検では長く、鋭角～直角に分岐し、黄緑色で隔壁のない菌糸が観察された。その他に有意な菌は検出されなかった。

3) 病理学的検査

①塗抹所見：各臓器および内腸骨リンパ節では壊死細胞が多く塗抹され、腫瘍性リンパ球やその他の腫瘍細胞は認められなかった。また、抗酸菌やその他の有意な細菌も認められなかった。血液塗抹の白血球百分比は桿状核好中球 7.5%、分葉核好中球 73.5%、単球 0.5%、リンパ球 12.5%、異型リンパ球 6%であった。

②組織所見：各臓器および内腸骨リンパ節の腫瘤において、その中心部には壊死細胞が多数存在し、その周囲を類上皮細胞、リンパ球および線維芽細胞が取り囲んでおり、正常組織との境界は比較的明瞭で、腫瘍細胞は認められなかった。脾臓では髄外造血を認めた。肺、肝臓、腎臓および脾臓の腫瘤部に PAS 陽性の菌糸を散発的に認めた。グロコット染色では、Y 字に分岐し隔壁を有する菌糸と、直角～鈍角に分岐し隔壁のない菌糸を認めた。肺および腎臓では血管腔内に浸潤する菌糸を認めた。抗酸菌、アステロイド体およびその他細菌は認められなかった。

4) 遺伝子検査

腎臓および脾臓より、598 bp の BLV プロウイルス遺伝子が検出されたが、各細菌の DNA はすべて検出されなかった。

考察

本症例でみられた腫瘤は、すべての臓器および内腸骨リンパ節において典型的な肉芽腫であった。肉芽腫の原因として結核菌、放線菌およびアクチノバチルスとの鑑別も必要であるが、乾酪壊死を認めず、抗酸菌染色で菌体を認めなかったことから結核を否定した。さらに、舌を含む頭部に著変を認めず、壊死部にアステロイド体を認めなかったことから、放線菌症およびアクチノバチルス症も否定している。一方、微生物および病理学的検査で複数臓器から真菌を検出し、肺および腎臓の血管内への真菌の浸潤がみられ、全身への血行性播種が示唆されたことから、本症例を播種性の深在性真菌症と診断した。原因真菌として、隔壁を有する真菌と保有しない真菌も認められたことから、複数の真菌による混合

感染が示唆された。牛の真菌症では多種の真菌による混合感染事例も多く報告されている〔4〕。なお、当該牛については敗血症として全部廃棄している。

また、好発部位での発生や脆弱な腫瘍といった牛伝染性リンパ腫に特徴的な所見がみられず、組織学的にもリンパ球の腫瘍性増殖を認めなかったことから、牛伝染性リンパ腫を否定していた。しかし、末梢血中に低率ではあるものの異型リンパ球を確認し、臓器からは BLV プロウイルス遺伝子を検出したことから、BLV 感染が示唆された。BLV は宿主の免疫機能を低下させ、他の感染症を誘起することが知られており〔5〕、本症例では BLV 感染が真菌の二次感染につながったことが推察された。

当所の 2022 年度の牛全部廃棄 50 例のうち、敗血症 12%、膿毒症 22%に対し、牛伝染性リンパ腫が 66%と大部分を占めているが、過去の報告にもあるとおり、肉眼的には無症状だが持続性リンパ球増多症を呈し免疫機能が低下した BLV 感染個体も多数存在するものと推測される〔6〕。BLV との重感染により今後も多様な病態の発見が想定されるため、それらに対応できる検査体制の整備と維持が必要と考える。

まとめ

と畜場に搬入された牛の多臓器に腫瘍が認められた。精密検査の結果、腫瘍はすべて肉芽腫であり、真菌が検出されたことから播種性の深在性真菌症と診断した。一方、BLV にも感染しており、これが真菌の二次感染を引き起こしたものと思慮された。

- (1) 上間育美ら：と畜場における牛白血病の型別調査，平成 26 年度長崎県食肉衛生技術研修会並びに衛生発表会抄録
- (2) 嶋田圭一ら：と畜検査における敗血症起因菌同定の迅速化を目的とした multiplex PCR 法の開発，JVM 獣医畜産新報，67，93-98（2014）
- (3) 三上朋美ら：*Fusobacterium necrophorum* 同定用リアルタイム PCR の標準化への検討，平成 29 年度長崎県食肉衛生技術研修会並びに衛生発表会抄録
- (4) Y Chihaya et al: Disseminated mycoses in cattle. A study on nine autopsy cases, J Vet Med Sc, 54(3), 485-91（1992）
- (5) 柿沼清市ら：牛白血病ウイルス感染搾乳牛における細胞性免疫低下が及ぼす他の疾病発生について，家畜感染症学会誌，3 巻 4 号，111-115（2014）
- (6) 平田さやか：食肉センターに搬入された牛における牛白血病ウイルス浸潤調査，平成 26 年度長崎県食肉衛生技術研修会並びに衛生発表会抄録