

ISSN 0388-9335

山口獣医学雑誌

第 44 号
2017年12月

山口県獣医学会

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 44

December 2017

THE
YAMAGUCHI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION

山 口 県 獣 医 学 会

編 集 委 員 会

藤田 亨 中市 統三 野村 恭晴
澤井 利幸 白永 伸行 度会 雅久*

(A B C 順 : *編集委員長)

寄 稿 者 へ

山口獣医学雑誌は、山口県獣医学会の機関誌として、毎年1回発刊される。雑誌は、獣医学と関連領域のすべての問題について、原著、総説、短報、記録および資料、等々を登載する。

原稿は、正確に書かれた日本文、英文のいずれでも受理するが、この場合、日本文原稿には英文要約を、英文原稿には日本文要約を添付すること。

原稿は、郵便番号 754-0002 山口県山口市小郡下郷1080-3, 山口県獣医師会館内, 山口県獣医学会事務局あてに送付すること。

THE YAMAGUCHI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION

EDITORIAL COMMITTEE

Tohru FUJITA Munekazu NAKAICHI Yasuharu NOMURA
Toshiyuki SAWAI Nobuyuki SHIRANAGA Masahisa WATARAI*

(in alphabetical order : *Editor in chief)

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine is published annually by the Yamaguchi Veterinary Medical Association. The Journal provides original articles, reviews, notes, reports, and materials, which deal with all aspects of veterinary medicine and related fields. *The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine* assumes no responsibility for statements made by authors or other contributors.

NOTES TO CONTRIBUTORS

Manuscripts written in Japanese or English are accepted. The manuscripts in Japanese should be accompanied by summaries in English. All the manuscripts should be sent to the Editorial Office : *The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine*, The Yamaguchi Veterinary Medical Association, 1080 - 3, Ogorishimogo, Yamaguchi - shi, Yamaguchi - ken 754 - 0002, Japan

山口獣医学雑誌 第44号 2017年

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine No.44 December 2017

目 次

総 説

レジオネラとその宿主としての原生生物
渡邊健太・度会雅久…………… 1～8

動物に病原性を示す*Actinomycetaceae*
村上覚史・鳥居恭司・小林朋子…………… 9～18

原 著

衛生管理の高度化支援における課題等
田中ひろみ・堀切裕治・伊藤和則…………… 19～22

肉用鶏にみられたロイコチトゾーン病について
田中ひろみ・堀切裕治・伊藤和則…………… 23～26

短 報

ダイレクトPCR法による腫瘍組織からの牛白血病ウイルス遺伝子の検出
大貫永輝・村上覚史・小林朋子…………… 27～30

症 例

膵炎と診断した猫 8 症例における腹部超音波所見の検討
大黒屋 勉・大黒屋有美…………… 31～35

平成29年度獣医学術中国地区学会賞受賞演題（山口県）

【日本小動物獣医学会（中国地区）】

犬の*Phialosimplex caninus*感染症の本邦初報告例
酒井麻衣・谷 健二・西川晋平・原口友也・板本和仁・檜山雅人
井芹俊恵・伊藤良樹・中市統三・田浦保穂・加納 壘…………… 37～38

膀胱/尿道移行上皮癌に対し、膀胱尿道腫摘出術および小腸導管尿路変更術を実施した犬の1例
村田安哲・板本和仁・磯崎恒洋・原口友也・西川晋平・檜山雅人
谷 健二・井芹俊恵・伊藤良樹・中市統三・田浦保穂…………… 39～40

The table of contents in English may be found on the back cover.

総 説

レジオネラとその宿主としての原生生物

渡邊健太^{1),2)}・度会雅久^{1),2)}

[2017年12月21日受付・2018年1月9日受理]

REVIEW

Legionella and the protist host

Kenta WATANABE^{1),2)} and Masahisa WATARAI^{1),2)}

1) Department of Veterinary Medicine, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Yamaguchi University, Yamaguchi, 753-8515, Japan

2) The United Graduate School of Veterinary Science, Yamaguchi University, Yamaguchi, 753-8515, Japan

ABSTRACT

Legionellosis is caused by exposure to *Legionella* spp. which can replicate within alveolar macrophages. The most common form of transmission of *Legionella* spp. is inhalation of aerosols contaminated with bacteria. There is basically no direct human-to-human transmission. *L. pneumophila* is ubiquitous in nature and the most common causative agent of outbreaks in Japan. *L. pneumophila* can exist in a planktonic form and replicate within protist hosts such as free-living amoebae in the environment. However, the lifestyle of *L. pneumophila* in the environment remains largely unknown.

In this review, we summarize recent case reports and topics about *Legionella* and discuss our research on *Legionella*. We have established a novel natural host model of *L. pneumophila* endosymbiosis using the ciliate *Paramecium caudatum* and it could reveal a potential mechanism of *L. pneumophila* to control endosymbiosis in *P. caudatum*. The understanding of ecology of *L. pneumophila* is greatly useful for developing the novel strategy for legionellosis control without antibiotics.

Key words: *Legionella*, protist, *Paramecium*, endosymbiosis

キーワード：レジオネラ，原生生物，ゾウリムシ，共生

要 約

レジオネラ属菌はヒトで重篤な肺炎を引き起こす病原細菌である。我々の生活に身近な環境中（土壌や淡水中）に広く存在しており、アメーバなど特定の原生生物の細胞内に潜んでいることも知られている。しかしながら、その生態や細胞内増殖機構の詳細については未だ不明な点が多く、完全な感染制御は困難な状況にある。

本稿ではまず、レジオネラ症に関する現状や近年のトピックスを概説し、後半では、ゾウリムシを用いた我々の研究により明らかになったレジオネラ属菌と原生生物との共生機構について紹介する。

1) 山口大学共同獣医学部獣医公衆衛生学教室

2) 山口大学大学院連合獣医学研究科

1. はじめに

レジオネラ症 (Legionellosis) は、レジオネラ・ニューモフィラ (*Legionella pneumophila*) を代表とするレジオネラ属菌の感染によって起こる呼吸器感染症で、その病型として劇症型のレジオネラ肺炎と一過性のポンティアック熱が知られている。レジオネラ症の歴史は比較的浅く、1976年7月に米国のペンシルバニア州フィラデルフィアのホテルで開催された在郷軍人の集会 (The Legion) で、参加者やホテル従業員を中心に原因不明の劇症肺炎が集団発生したことにより初めて認識され、1979年にこの肺炎の原因菌が *L. pneumophila* と命名された。この集団発生では、最終的に182名が罹患し、29名が死亡している¹⁾。その後、レジオネラ症の認知が進むとともに、我が国を含む先進国を中心に集団発生事例が報告されるようになってきた。

レジオネラ属菌は、もともと湿った土壌や河

川、沼などの淡水域に普遍的に生息している。しかしながら、エアロゾルを発生させる人工的な水利用設備 (噴水等の水景施設、ビルの冷却塔、温泉施設のジャグジー等) の普及や、水資源の節約のため循環水を利用した入浴施設が一般的になってきたことが、ヒトに感染する機会を増やしているものと考えられる。日本国内の状況を見てみると、1999年からは感染症法に基づき全数把握の対象疾患に指定されたことと、加えて尿中抗原検査や遺伝子検査技術の進歩もあり、その報告数は全国的に増加傾向にある。2016年には全国で1,592例が報告されている。レジオネラ属菌に曝露されると必ず肺炎等を発症するわけではなく、高齢者や免疫機能が低下しているヒトで発症しやすく、重篤化する傾向にある。この点から鑑みても、高齢化が進む日本社会において公衆衛生的に留意すべき感染症である。

2. レジオネラとレジオネラ症

レジオネラ属菌は、グラム陰性の好気性桿菌で、多くの菌種で極単毛の鞭毛を保持している。分類学上では、人獣共通感染症であるQ熱を引き起こすコクシエラ菌 (*Coxiella burnetii*) や、ダニ、クモ、アブラムシなど様々な節足動物に感染して共生するリケッチエラ属菌とともに単系統のグループを形成する。現在までに60菌種以上が報告されており、多くの血清群も確認されている。このうちの約半数がヒトから分離されているが、日本国内の状況としては、その中でも大多数を占めるのが *L. pneumophila* (レジオネラ) であり、さらにその8割以上が血清群1である。ただしこれは、現在使用されている尿中抗原検査試薬がレジオネラの血清群1のみを標的としており、この検査法において陰性であった場合にレジオネラ症と診断できていない可能性も否定できない。増殖可能温度は20°Cから50°Cで、36°C前後で最もよく増殖するとされる。また、その増殖には鉄とシステインを要求する (図1)。

レジオネラ症には、致死率の高いレジオネラ肺炎と、一過性の発熱症状が主症状となるポンティアック熱がある。潜伏期間はレジオネラ肺炎で2日~10日、ポンティアック熱で1~2日とされている²⁾。通常は呼吸器から感染する。レジオネラに汚染されたエアロゾルや粉塵を吸入すると、菌は肺胞に到達し肺胞マクロファージに食される。しかし、レジオネラは結核菌やリステリ

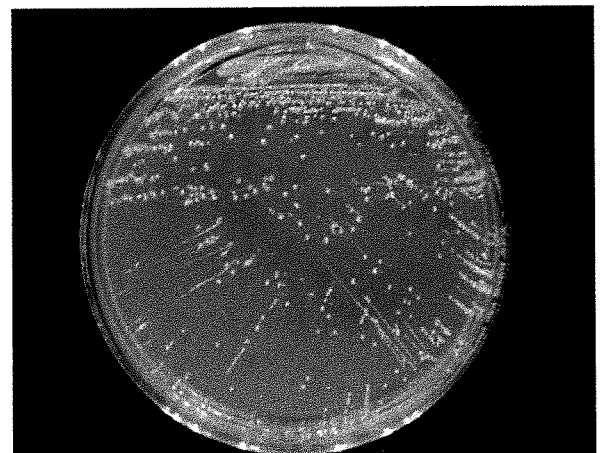


図1 培地上で発育するレジオネラ。乳白色~灰青色で大小不同の湿潤性コロニーが特徴。

アなどと同じ通性細胞内寄生菌であるため、その殺菌を免れ、逆にマクロファージ内で増殖することにより、最終的に重篤な急性肺炎を引き起こす。冒頭で紹介した米国フィラデルフィアの集団感染でも、会場となったホテルの空調システムがレジオネラに汚染されており、そこから発生したエアロゾルが原因となったことが判明している。また、汚染された水や氷の誤嚥による発症も報告されている³⁾。1年の中では夏場の発生が多く、男女比では男性の発症例が多いのも特徴である (2007年1月1日~2016年12月31日に国内で10,310感染例、うち男性患者8,394名、女性患者1,916名)⁴⁾。現在、有効なワクチンは存在せず、

抗生剤投与を中心とした治療が行われる。感染早期に適切な治療が行われなかった場合に、重篤化し致死率も上昇する。基本的にはヒトからヒトへ

の感染は起こらないとされているが、近年になって家族間での感染を疑う事例がヨーロッパで報告されており⁵⁾、今後の続報と解析が待たれる。

3. 様々な環境から分離されるレジオネラ

前述の通り、レジオネラは一般的な環境細菌であり、多種多様な環境から菌が分離される。国内では温泉施設・入浴施設での集団感染が、海外では噴水やビルの冷却塔が原因の大規模な感染事例が報道され注目を集めることが多いが(表1)、我々の生活に身近な水環境がレジオネラの感染源となる事例が複数報告されている。いくつか具体例を挙げると、自動車のウィンドウウォッシャー液を介した感染事例や⁶⁾、歯科診療所の治療用装置が汚染されていたことで生じた感染事例⁷⁾、あるいはウォーターサーバーや加湿器が原因となった感染事例がある⁸⁾。また、こうした人工的な水環境に限らず、様々な自然環境中の水にも同様にレジオネラは生息している。一般的な土壌や淡水(池・沼・河川)に限らず、雨後にできた水たまりからレジオネラが検出された例や⁹⁾、ガーデニングで使用した園芸用の土が汚染されていたことでレジオネラ症を発症した事例も報告されている¹⁰⁾。このように、生息域が広く感染源も多岐に渡ることが、病原菌としてのレジオネラの大きな特徴の一つである。これはレジオネラが栄養状態の乏しい淡水中でも長期間(200日以上)生存が

可能であることや^{11,12)}、バイオフィルムの内部で増殖するといった性状を持つことに起因する¹³⁾。他の細菌や藻類が形成するバイオフィルム内で共存していることが多いが、レジオネラ単独でもバイオフィルムの形成が可能である。バイオフィルム内部の菌には消毒薬等が直接作用し難いため、消毒効果の著しい低下が起こり、感染源として注意が必要となる。

さらに、レジオネラの最も特徴的な性状として、土壌や淡水中に存在する原生生物に感染し、その細胞内で寄生・共生するという生態が挙げられる。この性状もまた、レジオネラの環境中での生息域の広さに大きく貢献している要因の一つであると考えられている。実際の感染事例でも、原生生物の細胞内にレジオネラが退避してしまうことで、バイオフィルム同様に菌の排除や消毒・殺菌が著しく阻害されてしまい、結果として菌の増殖を許し感染事故につながったとする報告が存在する。レジオネラの感染制御を考える上で、原生生物の存在は感染リスクの一つになり得るとして注意が喚起されている。

表1. 近年のレジオネラ症集団発生事例

発生年	発生場所	患者数	死者数	感染源
海外				
2012年	カナダ, ケベック州, ケベック	181名	13名	ビル冷却塔
2014年	ポルトガル, リスボン県, ヴィラ・フランカ・デ・シーラ	334名	10名	産業施設冷却塔
2015年	アメリカ, ニューヨーク州, ブロンクス	138名	16名	ビル冷却塔
国内				
2014年	埼玉県, 北本市	3名	1名	入浴施設
2015年	岩手県, 盛岡市	13名	1名	入浴施設
2017年	広島県, 三原市	58名	1名	入浴施設

4. 原生生物とレジオネラ

レジオネラを対象とした研究は世界中で広く行われているが、その多くはマクロファージなどの哺乳類培養細胞を用いた感染実験を基盤とした解析が中心である。レジオネラは、こうした哺乳類細胞に感染すると「エフェクター」と呼ばれる分泌タンパク質を直接宿主細胞内に輸送する^{14, 15, 16)}。エフェクターは宿主細胞側の様々な因子と相互作用することで機能を発揮し、菌の細胞内増殖を可能にしている。現在までに、レジオネラは全タンパク質の1割近い約300個のタンパク質が、エフェクターとして分泌装置を介して宿主細胞内へ輸送されると想定されている¹⁷⁾。しかしながら、この膨大な数のエフェクターが個々にどのような機能を持ち、菌の細胞内増殖や病原性にどの程度関与しているのかについては、部分的にしか明らかになっていない。遺伝子操作により欠損させても細胞内増殖や病原性に影響が無く、その存在意義が不明なエフェクターも多く存在する^{18, 19)}。さらに、前述の通りレジオネラは基本的にヒトからヒトへの感染が成立せず、菌にとってヒトは最終宿主であることを踏まえると、ヒトに感染した後に、その体内でヒトへの病原性を獲得・進化させた可能性は極めて低いと考えられる。以上のことから、レジオネラの病原性や感染源の全貌を明らかにするためには、既存のアプローチとは異なった解析方法の確立が必須である。

こうした課題に対する答えの一つとして、環境中でのレジオネラと原生生物の関係性が重要な意味を持つ可能性が考えられる。レジオネラは自然界において、細菌捕食性を持つ原生生物の細胞内に侵入し、その消化機構から逃れることによ

て細胞内での生存と増殖を可能にしていることがよく知られている。研究対象としては、アカントアメーバ (*Acanthamoeba*) を用いた解析が最もよく行われており^{20, 21)}、多くの興味深い知見が得られている。一般的に貪食能を持つ原生生物が餌となる細菌を取り込んだ場合、その細菌は食胞内で消化・分解されるが、レジオネラはこの消化機構から逃れ細胞内に留まり、増殖することが可能である。これは、ヒトに感染した場合の肺胞マクロファージにおける動態と非常に類似した現象である。すなわち、レジオネラは進化の過程において、このような自由生活性の原生生物との相互作用を繰り返し、その結果、原生生物内で生存・増殖するためのメカニズムを獲得したと推察でき、さらにこのメカニズムを用いることでヒト肺胞マクロファージに感染・増殖し、結果として肺炎を引き起こしていると考えられる。実際、いくつかのエフェクターに関しては原生生物内での機能解析が行われており、分泌されたエフェクターの作用によって食胞の性状が変化し、菌の生存・増殖に適した環境が原生生物内に確立される分子メカニズムが明らかになっている^{22, 23)}。

また、これまでにアメーバ類以外にも多種多様な原生生物がレジオネラの宿主、またはその可能性の高い宿主候補として報告されている(表2)。未同定種まで含めれば、これらはほんの一部であると考えべきである。レジオネラが持つエフェクターの多様性や冗長性は、自然環境中において幅広い原生生物宿主との関係性を維持するために適応進化した結果であると推察することもできる。

5. ゾウリムシモデルを用いた共生メカニズムの解析

我々は、レジオネラと原生生物の多様な関係性を解析するための新しいツールとして、ゾウリムシの有用性に着目し、これを用いた感染モデルを構築した²⁴⁾。ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は、池や沼、水田などの身近な淡水の止水域に生息する繊毛虫の一種であり、細菌類を捕食して餌としている。その名の通り細胞周囲に多くの繊毛を持つことで、高い運動能力を有する。飼育や増殖が容易であるため、細胞運動や有性生殖を解析するための研究ツールとして広く用いられてきた経緯がある。その一方で、ゾウリムシは基本的に人畜無害であるとされ、レジオネラを含む感染症と関連した研究に用いられることは無かった。ま

た、2012年よりナショナルバイオリソースプロジェクトに採択されており、研究材料として安定的に入手可能な状況である。

実験的にゾウリムシにレジオネラを感染させると、餌となる大腸菌などとは異なり、消化・排泄されることなく、多くの株が食胞内で長期間生存し細胞内共生が成立した。しかし、一部の株はゾウリムシに対して細胞毒性を示し、これを殺して再び細胞外に脱出する現象が認められた²⁴⁾。すなわち、レジオネラとゾウリムシの間には、安定的な共生関係以外にも複数の関係性が存在することが示唆された(図2)。また、レジオネラ株間で、保有しているプラスミドの種類や数が大きく

異なっており、これらプラスミド上の因子がゾウリムシとの共生の成立や細胞毒性に関与している

可能性も示唆されているが、詳細は明らかになっていない²⁵⁾。

表2. レジオネラ属菌が細胞内寄生可能な原生生物例

分類	原生生物名		生存環境	参考文献
Ciliophora 繊毛虫	<i>Tetrahymena spp.</i> テトラヒメナ	<i>T. thermophila</i>	淡水中	(29)
		<i>T. tropicalis</i>		(30)
		<i>T. pyriformis</i>		(31)
		<i>T. vorax</i>		(32)
	<i>Paramecium caudatum</i> ゾウリムシ		淡水中	(24)
Amoebozoa アメーボゾア	<i>Acanthamoeba spp.</i> アカントアメーバ	<i>A. astronyxis</i>	土壌中 淡水中	(33)
		<i>A. castellanii</i>		(34, 35)
		<i>A. lenticulata</i>		(36)
		<i>A. palestinensis</i>		(20)
		<i>A. polyphaga</i>		(34)
	<i>Dictyostelium discoideum</i> キイロタマホコリカビ		自然環境中に 幅広く存在	(37)
Percolozoa (Heterolobosea) ペルコロゾア	<i>Naegleria spp.</i> ネグレリア	<i>N. fowleri</i>	淡水中 (温水環境)	(38)
		<i>N. gruberi</i>		(34)
		<i>N. jadini</i>		(34)
	<i>Willaertia magna</i> ウィラーティアマグナ		土壌中 淡水中	(39)

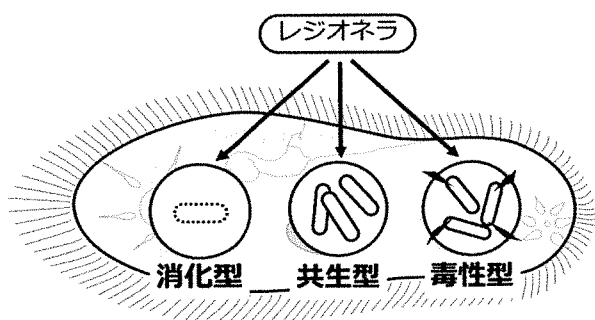


図2 ゾウリムシとレジオネラの関係性

5-1. 共生のメカニズム

ヒト患者由来の臨床分離株と自然環境中の水由来の環境分離株を複数用いた感染実験では、その多くの株でゾウリムシとの共生が成立することが確認できている²⁴⁾ (図3左)。ゾウリムシの食食・消化は非常に活発で、その消化サイクルも早く、餌を食食し、消化を開始してから未消化物を排泄するまでにかかる時間は30~40分程度であるとされる。レジオネラはこのゾウリムシの消化機構から回避するメカニズムを持ち、これにより食胞の内部に留まり続けることができる。レジオ

ネラを含んだ食胞の正常な消化サイクルは停止することが実験的に証明されており、我々が観察した限りでは、最低でもそのまま数日間は維持される。ヒトマクロファージ細胞や、あるいはアカントアメーバでの細胞内増殖に関与するとされる既存の因子とは別に、ゾウリムシとの共生で特異的に機能する菌側因子が存在することが示唆されている。

レジオネラにとってゾウリムシを宿主とした共生関係を構築することは、生存域の拡大や、あるいは安全で外的ストレスの少ない増殖の場が提

供されるという点において利点があると想像できる。しかし逆に、ゾウリムシにとってレジオネラを細胞内に共生させることがどのような利点となるのかは今のところ明らかになっていない。ゾウリムシには、他にも共生細菌が存在することが知られており、その代表がホロスポラ属菌 (*Holospora* spp.) である。ホロスポラ属菌はゾウリムシの核を特異的に認識し、その核内に侵入し

5-2. 毒性のメカニズム

一方で、我々が山口県内の環境中から分離した特定のレジオネラ株は、他の株と同様ゾウリムシに一旦は取り込まれるものの、その細胞内で著しく増殖し、最終的にこれを殺して共生関係を解消する様子が認められた (図3右)。これまでの研究で、こうした特殊な細胞毒性を示す株のみが持つ遺伝子や、あるいはその発現制御機構を解析することにより、ゾウリムシとの共生の解消は菌側の因子に依存した能動的な現象であることが示唆されている²⁴⁾。すなわち、レジオネラはその生存戦略の一つとして宿主生物の選択を行っている可能性が考えられ、ゾウリムシ内環境がその生存に不適な状況であった場合に、細胞毒性が発動するシステムを有していると考えられる。レジオネラを始めとした細菌は自然環境中において、ここで

て共生することが知られている²⁶⁾。このホロスポラ属菌との共生が成立している場合、宿主ゾウリムシの塩ストレス耐性や温度ストレス耐性が向上するという興味深い報告がある^{27,28)}。レジオネラではこのような現象は確認できていないため、厳密な定義での「双利共生」が成立しているとは今のところ断定できておらず、今後の研究課題である。

示したような他の生物との共生関係を含め、我々が想像している以上に複雑で高度なシステムを構築し、その生態を巧妙に維持しているのかもしれない。

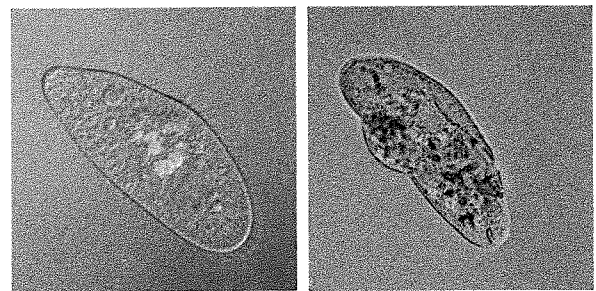


図3 レジオネラを細胞内で維持しているゾウリムシ (共生型) (左) とレジオネラ感染により形態に異常が認められるゾウリムシ (毒性型) (右)。レジオネラは GFP により写真では緑色で示されている。

6. おわりに

レジオネラはヒトに致死的な肺炎を起こすという点で、公衆衛生学上コントロールが必要な病原菌であることに議論の余地はない。しかし同時に、そのような危険な病原菌がなぜ自然環境中の土壌や水中に広く生息しているのか、という疑問が残る。その一方で、レジオネラを普遍的な環境細菌と捉え、安定した生態系構築の一端を担っている微生物の一つとして考えた場合、その存在には我々が把握していない何かしら本来の意義・役割があると考えられることもできる。

こうした病原菌の本来の姿とも言える自然環境中での生態や他の生物 (自然宿主) との共生関係は、これまで感染症分野ではあまり重要視されていなかった。しかし我々は、ここに新しい感染

症対策につながるシーズが存在すると考えている。自然環境中での生態から、ヒトを含めた哺乳類の細胞内環境に移行して病原性を発現するようになるまでの一連の流れを追跡し、その機序を複合的に解析することで新たな知見が得られると期待する。薬剤耐性菌の広がりや世界中で問題となっている現状において、抗生剤に頼らない新しい発想に基づいた革新的な細菌感染症制御法の確立は喫緊の課題である。我々が現在行っているゾウリムシを用いたレジオネラと原生生物の共生機序解析は始まったばかりであるが、こうした感染症を取り巻く問題解決の一助となることを期待している。

引用文献

- 1) Dulebohn, S. C. and Sundareshan, V. :Legionnaires' Disease (*Legionella* Infection) . In: StatPearls. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing LLC. 2017.
- 2) Cunha, B. A., Burillo, A. and Bouza, E. :Legionnaires' disease. *Lancet*. 387 (10016) :376-385. 2016.
- 3) 真柴晃一・浜本龍生・鳥飼勝隆：温泉水の誤嚥により発症したと考えられるレジオネラ肺炎の1症例。

- 感染症学雑誌,67 (2) :163-166.1993.
- 4) 我が国のレジオネラ症の発生動向調査における概要 2007.1.1~2016.12.31. 国立感染症研究所感染症疫学センター (2017年10月30日掲載)
 - 5) Correia, A. M., Ferreira, J. S., Borges, V., Nunes, A., Gomes, B., Capucho, R., Goncalves, J., Antunes, D. M., Almeida, S., Mendes, A., Guerreiro, M., Sampaio, D. A., Vieira, L., Machado, J., Simoes, M. J., Goncalves, P. and Gomes, J. P. :Probable Person-to-Person Transmission of Legionnaires' Disease. *The New England journal of medicine*. 374 (5) :497-498. 2016.
 - 6) Palmer, M. E., Longmaid, K., Lamph, D., Willis, C., Heaslip, V. and Khattab, A.: *Legionella pneumophila* found in windscreen washer fluid without added screenwash. *European journal of epidemiology*. 27(8):667. 2012.
 - 7) Ricci, M. L., Fontana, S., Pinci, F., Fiumana, E., Pedna, M. F., Farolfi, P., Sabattini, M. A. and Scaturro M.: Pneumonia associated with a dental unit waterline. *Lancet*. 379 (9816) :684. 2012.
 - 8) Yiallourous, P. K., Papadouri, T., Karaoli, C., Papamichael, E., Zeniou, M., Pieridou-Bagatzouni, D., Papageorgiou, G. T., Pissarides, N., Harrison, T. G. and Hadjidemetriou, A. :First outbreak of nosocomial *Legionella* infection in term neonates caused by a cold mist ultrasonic humidifier. *Clinical infectious diseases*. 57 (1) :48-56. 2013.
 - 9) Sakamoto, R., Ohno, A., Nakahara, T., Satomura, K., Iwanaga, S., Kouyama, Y., Kura, F., Kato, N., Matsubayashi, K., Okumiya, K. and Yamaguchi, K. :*Legionella pneumophila* in rainwater on roads. *Emerging infectious diseases*. 15 (8) :1295-1297. 2009.
 - 10) 久保田未央・富井啓介・立川良・原田有香・瀬尾龍太郎・加地玲子・竹嶋好・林三千雄・西村尚志・石原享介：自宅土壌からの感染と推定された *Legionella longbeachae* 肺炎の1例. 日呼吸会誌,45 (9) :698-703.2007.
 - 11) Paszko-Kolva, C., Shahamat, M., Yamamoto, H., Sawyer, T., Vives-Rego, J. and Colwell, R. R. :Survival of *Legionella pneumophila* in the aquatic environment. *Microbial ecology*. 22 (1) :75-83. 1991.
 - 12) Mendis, N., McBride, P. and Faucher, S. P. :Short-Term and Long-Term Survival and Virulence of *Legionella pneumophila* in the Defined Freshwater Medium Fraquil. *PloS one*. 10 (9) :e0139277. 2015.
 - 13) Declerck, P. :Biofilms: the environmental playground of *Legionella pneumophila*. *Environmental microbiology*. 12 (3) :557-566. 2010.
 - 14) Qiu, J. and Luo, Z. Q. :Effector translocation by the *Legionella* Dot/Icm type IV secretion system. *Current topics in microbiology and immunology*. 376:103-115. 2013.
 - 15) Nagai, H. :Host-pathogen interaction of *Legionella pneumophila*. *Nihon saikingaku zasshi Japanese journal of bacteriology*. 69 (3) :503-511. 2014.
 - 16) Misch, E. A. :*Legionella*: virulence factors and host response. *Current opinion in infectious diseases*. 29 (3) :280-286. 2016.
 - 17) Zhu, W., Banga, S., Tan, Y., Zheng, C., Stephenson, R., Gately, J. and Luo, Z. Q. :Comprehensive identification of protein substrates of the Dot/Icm type IV transporter of *Legionella pneumophila*. *PloS one*. 6 (3) :e17638. 2011.
 - 18) Liu, Y., Zhu, W., Tan, Y., Nakayasu, E. S., Staiger, C. J. and Luo, Z. Q. :A *Legionella* Effector Disrupts Host Cytoskeletal Structure by Cleaving Actin. *PLoS pathogens*. 13 (1) :e1006186. 2017.
 - 19) Pinotsis, N. and Waksman, G. :Structure of the WipA protein reveals a novel tyrosine protein phosphatase effector from *Legionella pneumophila*. *The Journal of biological chemistry*. 292 (22) :9240-9251. 2017.
 - 20) Anand, C. M., Skinner, A. R., Malic, A. and Kurtz, J. B. :Interaction of *L. pneumophila* and a free living amoeba (*Acanthamoeba palestinensis*) . *The Journal of hygiene*. 91 (2) :167-178. 1983.
 - 21) Escoll, P., Rolando, M., Gomez-Valero, L. and Buchrieser, C. :From amoeba to macrophages: exploring the molecular mechanisms of *Legionella pneumophila* infection in both hosts. *Current topics in microbiology and immunology*. 376:1-34. 2013.
 - 22) Richards, A. M., Von Dwingelo, J. E., Price, C. T. and Abu Kwaik, Y. :Cellular microbiology and molecular ecology of *Legionella-amoeba* interaction. *Virulence*. 4 (4) :307-314. 2013.
 - 23) Lama, A., Drennan, S. L., Johnson, R. C., Rubenstein, G. L. and Cambronne, E. D. :Identification of Conserved ABC Importers Necessary for Intracellular Survival of *Legionella pneumophila* in Multiple Hosts.

- Frontiers in cellular and infection microbiology*. 7:485. 2017.
- 24) Watanabe, K., Nakao, R., Fujishima, M., Tachibana, M., Shimizu, T. and Watarai, M. :Ciliate *Paramecium* is a natural reservoir of *Legionella pneumophila*. *Scientific reports*. 6:24322. 2016.
 - 25) Nishida, T., Watanabe, K., Tachibana, M., Shimizu, T. and Watarai, M. :Characterization of the cryptic plasmid pOfk55 from *Legionella pneumophila* and construction of a pOfk55-derived shuttle vector. *Plasmid*. 90:30-37. 2017.
 - 26) Fujishima, M. and Fujita, M. :Infection and maintenance of *Holospora obtusa*, a macronucleus-specific bacterium of the ciliate *Paramecium caudatum*. *Journal of cell science*. 76:179-187. 1985.
 - 27) Hori, M., Fujii, K. and Fujishima, M. :Micronucleus-specific bacterium *Holospora elegans* irreversibly enhances stress gene expression of the host *Paramecium caudatum*. *J Eukaryot Microbiol*. 55(6):515-521. 2008.
 - 28) Hori, M. and Fujishima, M. :The endosymbiotic bacterium *Holospora obtusa* enhances heat-shock gene expression of the host *Paramecium caudatum*. *J Eukaryot Microbiol*. 50(4):293-298. 2003.
 - 29) Kikuhara, H., Ogawa, M., Miyamoto, H., Nikaido, Y. and Yoshida, S. :Intracellular multiplication of *Legionella pneumophila* in *Tetrahymena thermophila*. *Journal of UOEH*. 16(4):263-275. 1994.
 - 30) Faulkner, G., Berk, S. G., Garduno, E., Ortiz-Jimenez, M. A. and Garduno, R. A. :Passage through *Tetrahymena tropicalis* triggers a rapid morphological differentiation in *Legionella pneumophila*. *Journal of bacteriology*. 190(23):7728-7738. 2008.
 - 31) Cianciotto, N. P. and Fields, B. S. :*Legionella pneumophila* mip gene potentiates intracellular infection of protozoa and human macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 89(11):5188-5191. 1992.
 - 32) Smith-Somerville, H. E., Huryn, V. B., Walker, C. and Winters, A. L. :Survival of *Legionella pneumophila* in the cold-water ciliate *Tetrahymena vorax*. *Applied and environmental microbiology*. 57(9):2742-2749. 1991.
 - 33) Marciano-Cabral, F. and Cabral, G. :*Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clinical microbiology reviews*. 16(2):273-307. 2003.
 - 34) Rowbotham, T. J. :Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. *Journal of clinical pathology*. 33(12):1179-1183. 1980.
 - 35) Tyson, J. Y., Pearce, M. M., Vargas, P., Bagchi, S., Mulhern, B. J. and Cianciotto, N. P. :Multiple *Legionella pneumophila* Type II secretion substrates, including a novel protein, contribute to differential infection of the amoebae *Acanthamoeba castellanii*, *Hartmannella vermiformis*, and *Naegleria lovaniensis*. *Infection and immunity*. 81(5):1399-1410. 2013.
 - 36) Molmeret, M., Jarraud, S., Mori, J. P., Pernin, P., Forey, F., Reyrolle, M., Vandenesch, F., Etienne, J. and Farge, P. :Different growth rates in amoeba of genotypically related environmental and clinical *Legionella pneumophila* strains isolated from a thermal spa. *Epidemiology and infection*. 126(2):231-239. 2001.
 - 37) Solomon, J. M., Rupper, A., Cardelli, J. A. and Isberg, R. R. :Intracellular growth of *Legionella pneumophila* in *Dictyostelium discoideum*, a system for genetic analysis of host-pathogen interactions. *Infection and immunity*. 68(5):2939-2947. 2000.
 - 38) Buse, H. Y. and Ashbolt, N. J. :Differential growth of *Legionella pneumophila* strains within a range of amoebae at various temperatures associated with in-premise plumbing. *Letters in applied microbiology*. 53(2):217-224. 2011.
 - 39) Dey, R., Bodennec, J., Mameri, M. O. and Pernin, P. :Free-living freshwater amoebae differ in their susceptibility to the pathogenic bacterium *Legionella pneumophila*. *FEMS microbiology letters*. 290(1):10-17. 2009.

総 説

動物に病原性を示す *Actinomycetaceae*

村上覚史¹⁾*・鳥居恭司²⁾・小林朋子²⁾

(2017年12月25日受付・2018年1月9日受理)

REVIEW

Actinomycetaceae showing pathogenicity in animals

Satoshi MURAKAMI^{1*)}, Yasushi TORII¹⁾ and Tomoko KOBAYASHI¹⁾

1) Laboratory of Animal Health, Department of Animal Science, Tokyo University of Agriculture,
1737 Funako, Atsugi, Kanagawa, 243-0034, Japan.

* Current address: 1-202 Inagedai-house 7-8 Inagedai-machi, Inage-ku, Chiba, 263-0032, Japan.

ABSTRACT

Even though oral and vaginal cavities are located inside the body, the mucosal surfaces of those lumens are frequently exposed to environment outside the body. The many *Actinomycetaceae* live as members of commensal bacteria in such lumens of animals and humans. When the balance of the defense mechanisms of the host is lost due to some disorders, these bacteria establish the endogenous infection invading from wound sites, resulting in onset of diseases. Although bovine actinomycosis caused by *Actinomyces bovis* is occasionally found at a slaughterhouse, it has been unclear whether the habitat for *Actinomyces bovis* is bovine oral cavity. Several cases of purulent inflammations associated with *Actinomycetaceae* infection have been found in animals, but it is difficult to isolate and identify the exact pathogens because of the presence of various species with similar chemotaxonomical traits. Recently actinomycosis caused by new species of *Actinomycetaceae* have been identified in animals using genomic analyses.

Key words: actinomycosis, *Actinomycetaceae*, domestic animals, taxonomy.

キーワード：放線菌症, *Actinomycetaceae*, 家畜, 分類学.

要 旨

口腔や膣は生体内であるにもかかわらず、その粘膜接触面は生体外という構造になっている。そのような環境で多くの *Actinomycetaceae* は常在菌の一員として生存している。これらの放線菌は宿主側の生体防御に何らかの障害が生じる時を切っ掛けに、創傷部を侵入門戸として内因感染を成立させ、発症に至る。*Actinomyces bovis* による牛の放線菌症は時折と畜場で摘発されているが、この放線菌の生息の場が口腔内かどうかは未だによく分かっていない。*Actinomycetaceae* 感染に関わる化膿性炎の症例があっても、その

1) 元東京農業大学農学部畜産学科 家畜衛生学研究室

現住所：〒263-0032 千葉市稲毛区稲毛台町7-8 稲毛台ハウス1-202

2) 東京農業大学農学部畜産学科家畜衛生学研究室 〒243-0034 厚木市船子1737

仲間は化学分類学的特性がよく類似することから分離株を同定することが難しい。最近、遺伝学的解析手法の普及で種の鑑別が進み、動物で新たな放線菌症も見つかった。

はじめに

獣医学や医学領域では、放線菌と言え放線菌症を思い浮かべるが、放線菌は一般的に抗生物質などを生産する土壌菌で、*Streptomyces* 属菌はその代表としてよく知られている。そのうち、*Streptomyces avermectinicus* は抗寄生虫薬イバーメクチン (Ivermectin) を産生し、途上国を中心に多くの寄生虫患者を救った。その功績によって北里大学の特別荣誉教授の大村 智博士は2015年のノーベル賞に輝いたことは耳新しい。

現在、放線菌類は10の亜目 (suborder), 35の family (科), 約110の genus (属), 1000の species (種) を超える一大細菌群である³⁷⁾。放線菌類 (actinomycetes) は牛の放線菌症に見いだされた独特の菌形態が出発点である。今では放線菌症は古典的ではしばしば忘れられた疾病となったが、19世紀後半、西洋の獣医師は牛の顎に形成されゴツゴツとした腫瘤を“lumpy jaw”と呼んでいた。当時、この牛の病態に関心を持った Bollinger は、「皮膚における新しい真菌病について」と題して1877年のドイツ獣医学雑誌に報告⁹⁾し、その病変を菌の専門家であった Harz に送った。Harz は病巣中の糸状菌を ray-fungus of the cow と表現し、*Actinomyces bovis* という種名を与えた²⁴⁾。ここに actinomycetes が誕生した経緯がある。

獣医学において、病原性を示す放線菌類には *Corynebacterium* 属、*Dermatophilus* 属、*Mycobacterium* 属、*Nocardia* 属および *Rhodococcus* 属があり、加えて、*Actinomycetaceae* 科^{註1)}に *Actinomyces* 属、*Actinobaculum* 属、*Arcanobacterium* 属および *Trueperella* 属の4属が含まれる。特に *Actinomyces* 属が典型的な放線菌症を惹起する。

Actinomycetaceae 科はグラム陽性で、その菌形態は球桿菌状 (coccobacillary) あるいは松葉状 (diphtherial) を示す。病巣では、糸状 (filamentous) に発育する種が多い。かつて *Actinomycetaceae* 科を含めた放線菌類は真菌の仲間と考えられていたが、原核生物であることから細菌として認識されている³⁶⁾。

Actinomycetaceae 科の分類は1970年代以降、コロニーの形状や鏡顕および電顕による形態的な鑑別に加え、少数の生化学的性状や血清型で種の分類が行われていたが、類似菌の発見が加わるにしたがってこのような分類手法に限界が出てきた。その後、細胞壁のペプチドグリカン組成、呼吸鎖酵素キノンの分子種、細胞壁の脂質、脂肪酸の種類、DNAのGC含量などの違いによる化学分類学が進み、さらに現在では遺伝学的解析が重要な分類学的手段となっている⁴⁵⁾。16S rRNA 遺伝子配列に基づいた分離株の類似度の確認、ハウスキーピング遺伝子の類似性、そして全ゲノム解析で得られたDNA-DNAハイブリッド試験が代表的な解析手法である。このような科学的手法の急速な発展によって、*Actinomycetaceae* 科においても分離株の整理が進むようになったが、その一方で属名の変更が相次ぎ種名の混乱も招いている。

獣医学や医学領域の *Actinomycetaceae* 科の種を実際に同定する場合、患者や患畜から分離された株を検査施設で培養し、検査キットを用いて化学分類学的性状を調べる。このようなキットが開発されていなかった時代では、分離株の生化学的性状や血清型を調べるには操作がかなり煩雑で時間もかかり、関心のある研究者以外実施しなかったと思われる。現在、放線菌に類似する株は、ラピッド ID32A アピ嫌気性菌同定キット (bioMérieux) がよく使われている。しかし、分離株を確実に同定することはこのキットを用いても難しいのが現状である。臨床現場では、*Actinomycetaceae* 科による感染症は抗生物質が有効なので菌が分離される前に治療され、株を分離しても同定まで手が回らないことが多かったのではないだろうか。現在、16S rRNA 遺伝子解析が容易にできるようになってきており、産業動物や野生動物から新菌種の発見が相次いでいる。また、今まで考えられなかった動物における放線菌症の存在も分かってきた。16S rRNA 遺伝子配列に基づいたこれらの新知見も交えて、この総説では、産業動物である牛、豚および馬に関わる *Actinomycetaceae* 科の放線菌とその病原性について最近の知見を概説する。

注1) 本来 *aceae* は科を示す語尾で「科」は不要となるが、分かりやすくするために付した。

1. 牛

1) *Actinomyces* 属

東京の芝浦と畜場では多くの地域から食用動物が搬入され、東京都芝浦食肉衛生検査所によって、年間約10万頭近い牛がと畜検査されている。その内、

平成24から28年度に摘発された牛の放線菌症⁵⁸⁾を表1に示す。牛の放線菌症の起因菌は *Actinomyces bovis* が自明の理として考えられているためか、分離株を16S rRNA 遺伝子解析まで実施した例は見当たらない。そこで、放線菌症として摘発された牛のと畜材料についてその診断記録を以下に記載する。

表1. 芝浦と畜場で摘発された牛の放線菌症

年度	H24	H25	H26	H27	H28
発生頭数 / 検査頭数	33/94,325	37/97,031	16/98,997	15/93,275	8/88,309
%	0.04	0.04	0.02	0.02	0.01

神奈川県食肉衛生検査所によると畜検査において牛の放線菌症で廃用となった1頭の搾乳牛は、上顎が大きく自壊していた(図1a)。肉眼的に腫瘍の断面では硫黄顆粒(図1b)が確認でき、その組織病変は典型的な放線菌病変であった(図1c)。その他、その腫瘍には扁平上皮癌がみられた。分離株(kana 4820)はグラム陽性でジフテロイド型(図1d)を示し、ラピッドID32Aアピ(bioMérieux)で登録株 *Actinomyces bovis* DSM43014 と同一性状を示した。16S rRNA 遺伝子解析で *Actinomyces bovis* Harz1877 株に100%一致した。この分離株は千葉県木更津市にあり、国内の菌株保存施設となっている製品評価技術基盤機構(NBRC)に登録済みである(NBRC 112524)⁵⁹⁾。

Actinomyces bovis の感染は、異物による口腔内の創傷が切っ掛けで内因感染すると考えられている³²⁾。1980年代にDent & Williamは牛の口腔から *Actinomyces bovis* の分離を試みたが、分離された *Actinomyces* 属菌は *Actinomyces denticolens*¹²⁾, *Actinomyces howellii*¹³⁾ および *Actinomyces slackii*¹⁴⁾ という新種であった。著者らも62頭の牛の口蓋扁桃から *Actinomyces* 属菌の病理学的検索と分離

を実施し、扁桃陰窩で少数の放線菌塊を確認したが、actinomycotic abscess はみられず、*Actinomyces bovis* は分離されなかった。その検索中、2013年に、16S rRNA 遺伝子配列のみが登録されたアメリカの犬の口腔分離株と、その遺伝子配列が99.01%一致する *Actinomyces* 属菌の新菌種が分離された。^{注2)}

ヒトの放線菌症は、主に顔面部で起こり、口腔や扁桃で常在する *Actinomyces israelii* が創傷を契機に内因感染して発生すると考えられている³²⁾。後述する馬や豚の例でも扁桃に *Actinomyces* 属菌が定着^{39, 40)}するが、牛は口腔内で *Actinomyces bovis* が常在するという確証はなく、感染経路も想像の域を出ていない⁵⁰⁾。

これまで牛から分離された *Actinomyces* 属菌を表2に示す。この内、イギリスにおける牛の下顎膿瘍から *Actinomyces vaccimaxillae* という種が2003年に報告されている²²⁾。また、前述した *Actinomyces denticolens* は、馬の顔面部膿瘍の起因菌としても報告されている^{3, 8, 15, 16)}。 *Actinomyces bovis* は牛の放線菌症の起因菌であることは間違いがないが、他種の出現で必ずしもすべてがそうだと断定できなくなった。

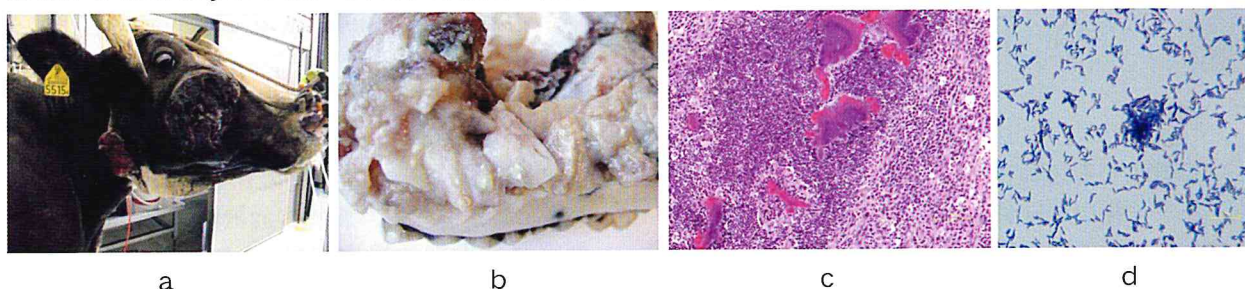


図1 a: ホルスタイン(49ヶ月齢)、自壊した右上顎部の腫瘍。 b: 病巣部の硫黄顆粒を含む肉芽組織
c: 棍棒体を放線菌塊周囲に形成した化膿性肉芽腫。HE染色, bar=100 μm。
d: 松葉状形態を示すグラム染色陽性の *Actinomyces bovis*。bar=10 μm。

注2) 未発表 - 実施に当たって牛の扁桃は、牛海綿状脳症に関わる特定部位であることから監督県-千葉県県の指導の基に実施し、適正に焼却処理した。

表2. 牛から分離された *Actinomyces* 属菌

種名	報告年	牛への病原性	分離領域の詳細
<i>Actinomyces denticolens</i>	1984 ¹²⁾	不明	歯垢
<i>Actinomyces howellii</i>	1984 ¹³⁾	不明	歯垢
<i>Actinomyces slackii</i>	1986 ¹⁴⁾	不明	歯垢
<i>Actinomyces ruminicola</i>	2006 ⁴⁾	不明	晋南牛の第一胃内容物
<i>Actinomyces bovis</i>	1877 ²⁴⁾	あり	顔面部領域の膿瘍
<i>Actinomyces vaccimaxillae</i>	2003 ²²⁾	不明	成牛の下顎部膿瘍

2) *Trueperella* 属および *Arcanobacterium* 属

Corynebacterium pyogenes は *Actinomyces* 属から *Arcanobacterium* 属に転属され⁵¹⁾, その後, *Trueperella* 属となった⁶²⁾. この種は健康な牛の扁桃や膈の粘膜上の汚染細菌として存在する⁵¹⁾. 感染病態は化膿性炎が主で, 他の細菌と共存して感染性心内膜炎, 関節炎, 乳房炎を起こす. 流産は単独感染によって発生し, 産業上重要である. この流産の疫学的調査が平畠ら²⁵⁾ によって詳細に調査されているので, それに基づいて記載する.

流産は散発的に発生し, 2産目以降に多い. 牛の細菌性流産の73%を占め, 異常産全体の4.4%であった. この発生率はアメリカの4.2~5.3%^{2, 51)} およびオランダの6.0%⁵⁾ に類似, 15%に達する記載もある⁵¹⁾. 季節性があり春から夏にかけて多発することから本菌に関わる牛の夏季乳房炎 (summer mastitis) との関連を指摘している. 流産胎仔の病変は化膿性肺炎で, 肺や気管支でグラム陽性の菌塊を見る. また, 胎盤絨毛膜上で本菌の糸状発育が免疫組織化学的に確認されている.

その他の種として, *Arcanobacterium pluranimalium* が知られている³⁸⁾. この種は, 2012年, 乳汁に出血をみたホルスタインの乳房炎から分離されているが, 病原性は分かっていない.

2. 豚

1) 複雑化する菌種名

これまで豚から分離されてきた *Actinomycetaceae* 科は, 分類学的解析手法の急速な進展によって転属が繰り返されている. 現在, 豚から分離された *Actinomycetaceae* 科は3属11種が知られている (表3) が, 化学分類学および遺伝学的解析が実施されていない時期の感染症例は, 本当にその種によるものかどうか不明な点が多い. また, 何度か転属を繰り返してきた種は, 同じ種なのか別の種なのか混乱する. このような状況を踏まえて, 豚

の疾病に関わる *Actinomycetaceae* 科の概要を記載する.

牛の放線菌症が初めて知られるようになったのは19世紀後半であった. その時代に, 豚においても典型的な放線菌症が乳房で観察されていた (図2). また, 豚の扁桃にも放線菌病巣が観



図2 乳房放線菌症となった母豚. Magnusson: *Acta Pathol Microbiol.* 1928より引用³⁵⁾.

察されていた. 牛のヨーネ病を発見した Johne は, それらの病理所見を1882年の論文で報告²⁸⁾ し, *Actinomyces bovis* が発見された15年後の1892年には, Gasperini が豚の乳房放線菌症に存在する糸状菌を *Actinomyces suis* と命名した¹⁸⁾. その後, 1962年に豚のグレーサー病の発見者である Grässer²⁰⁾ および1973年に Franke¹⁷⁾ によって豚乳房放線菌症から *Actinomyces* 属菌が分離され, 彼らは, 再度これらの株を *Actinomyces suis* と名付けた. 一方, 動物の放線菌学者であり, 元東京農業大学教授の東量三 (1926 - 2015) は, *Actinomyces suis* 類似株を同年の1973年に豚の扁桃や乳房から分離し, 代表株を Chiba101 とした^{7, 46)}. 東は, Franke の分離株を譲り受けるために当人へ書簡を送ったが, Franke は所属が変更となり, その株は他の機関へ渡したという返事であった (1974年9月20日付の東宛ての書簡). ところがその後, 分離株は行方不明となり, その

結果, 1980年に制定された「細菌学名承認リスト」(Approved Lists of Bacterial Names)に登録されず, 未承認種となってしまった^{49,50)}.

わが国における豚の乳房放線菌症は1993年に作井らが報告している⁴⁸⁾. しかし, 養豚現場では, 成長促進や疾病予防に抗生物質が飼料添加されており, 飼養衛生管理も充実するなかで, 今日, 野外で豚の乳房放線菌症を見る機会はないといってもいい. そのためか, *Actinomyces suis* という種は細菌学的にも獣医学的にもその存在は忘れられてしまった.

一方, 豚に尿路感染症を起こす *Eubacterium suis* が知られていた⁶⁰⁾. この種は1997年から, *Actinobaculum* 属に転属されている³³⁾が, その転属前の1992年, 16S rRNA 遺伝子解析によって *Eubacterium suis* は *Actinomyces* 属に配属されていた³⁴⁾. そのため, 乳房放線菌症を起こす本来の *Actinomyces suis* と, 以前は *Eubacterium suis* であった *Actinomyces suis* とで種名の混乱が生じることとなり, その後, 間違って文献引用された論文まで出現している⁶³⁾.

この総説では, 両種の混乱を避けるために乳房放線菌症から分離された種を“*Actinomyces suis*” Franke1973 と記載する.

2) *Actinomycetaceae* 科による流産, 肺炎および膣炎

豚の流産から分離された *Actinomycetaceae* 科には, 2属4種類が知られている(表3). その中で,

*Actinomyces hyovaginalis*¹¹⁾ および *Arcanobacterium (Trueperella) abortisuis*⁶⁾ は化学分類学的性状および遺伝学的解析が実施された種である. 一方, これら兩種以外の流産は, 記載され種名が真に原因菌であるという確証はない. *Actinomyces hyovaginalis* は流産以外に, 豚の肺炎を起こし, 肺で播種性の膿瘍を形成する¹⁾. *Arcanobacterium (Trueperella) abortisuis* は千葉県豚流産例から初めて分離され⁴¹⁾, 膣炎からも検出されている⁵⁹⁾. 本種の腹腔内における感染実験で, マウスと新生子豚に腹腔, 胸腔, 肝臓に膿瘍を形成し, 化膿性リンパ節炎を起こすことを著者は確認している(未発表). 富山県におけると畜豚の出血性壊死性脾炎から分離された TO16177 株⁴³⁾ の16S rRNA 遺伝子は *Arcanobacterium (Trueperella) abortisuis* と99.4%一致した⁴¹⁾ことから, この症例は *Arcanobacterium (Trueperella) abortisuis* と考えられ, 本種は豚の新たな病原性細菌として留意する必要がある. ちなみに *Arcanobacterium (Trueperella) pyogenes* による流産例はこれまで知られていない^{41, 57)}.

3) 豚で見つかった新たな *Actinomyces* 属菌

牛の歯垢から1984年に分離された *Actinomyces denticolens*¹²⁾ は, 病原性の無い種と考えられていた⁵⁰⁾. 前述した東は, *Actinomyces denticolens* は“*Actinomyces suis*” Franke1973 の化学分類学的性状に類似することから, 同一種の可能性があることを指摘してい

表3. 豚の病巣から分離されてきた *Actinomycetaceae*

種名	報告年	病態	指摘事項
<i>Actinomyces</i> 属			
<i>A. bovis</i>	1975 ²³⁾	下顎リンパ節の放線菌症	不確定種
<i>A. hyovaginalis</i>	1993 ^{1, 11)}	流産, 肺炎	幾つかの関連報告あり
<i>A. israelii</i>	1986 ⁴⁹⁾	不明	不確定種
<i>A. naeshlundii</i>	1979 ⁴⁹⁾	流産	不確定種
<i>A. suimastitidis</i>	2001 ²⁷⁾	肉芽腫性乳房炎の乳腺から分離	分離後の症例報告はない.
<i>A. suis</i>	1988 ⁶¹⁾	流産	不確定種
“ <i>A. suis</i> ” Franke1973	1973 ¹⁷⁾	乳房放線菌症	未承認種で未登録株
<i>A. viscosus</i>	1972 ¹⁹⁾	豚の肺炎からの分離株	Azuma からの供与株, 不確定種
<i>Actinobaculum</i> 属			
<i>A. suis</i>	1997 ³³⁾		<i>Actinomyces suis</i> と同一種
<i>Trueperella</i> 属			
<i>T. abortisuis</i>	2009 ⁶⁾	流産, 尿路感染, 膣炎	2011年 <i>Arcanobacterium</i> から転属
<i>T. pyogenes</i>	2009 ⁴⁷⁾	膿瘍, 化膿性関節炎	

た。東が1970年に豚から分離し、凍結乾燥で保存した“*Actinomyces suis*” Franke1973類似の代表株 Chiba101を用いて、著者らは*Actinomyces denticolens*の登録株 DSM20671との全ゲノムを比較した。その結果、両株のゲノムは高い確率で相同性を示し²⁹⁾、16S rRNA 遺伝子および7種のハウスキーピング遺伝子は100%一致した。さらに、DNA-DNA ハイブリダイゼーション (DDH) の代替法である average nucleotide identity (ANI) 法 (<http://www.ezbiocloud.net/tools/ani>) では99.95%一致した。以上の成績から*Actinomyces denticolens*と Chiba101株は同一種であることが証明された。この成績は同時に“*Actinomyces suis*” Franke1973が*Actinomyces denticolens*と同じ種であることを強く示唆することとなった⁵⁴⁾。

一方、Johneが1882年に豚の扁桃で放線菌病巣を観察していたことはすでに述べたが、今日においても、豚の扁桃で典型的な放線菌病変を形成する*Actinomyces*属菌が存在する⁴⁰⁾ (図3a)。この放線菌は抗 Chiba101血清を用いた免疫組織化学的染色で陽性を示し (図3b)、分離株の16S

rRNA 遺伝子解析は*Actinomyces denticolens*の登録株と99.9%一致した。また、Chiba101株と同一性状を示す扁桃分離株を用いた母豚乳房への接種試験では、乳房に放線菌病変が形成された⁴²⁾ (図4)。豚に乳房放線菌症を起こす“*Actinomyces suis*” Franke1973は国際的な登録株は存在していないが、この種は*Actinomyces denticolens*と名を変えて、今も豚の扁桃で生存していると考えて差し支えないと思う。

3. 馬

馬での放線菌症の発生は極めて稀であった。わずかな古い報告からその病態は牛の放線菌症に類似し、頸部や下顎部膿瘍を形成する^{10,21,31)} (図5)。その他、1991年には*Actinomyces viscosus*による皮膚膿瘍⁵⁵⁾の症例報告がある。

面白いことに2008年、突如としてイギリスの馬の下顎リンパ節膿瘍から*Actinomyces*属菌が分離され、16S rRNA 遺伝子解析でその分離株は*Actinomyces denticolens*であることが判明した^{3,16)}。その後、2011年にカナダ⁸⁾、2013年にオースト

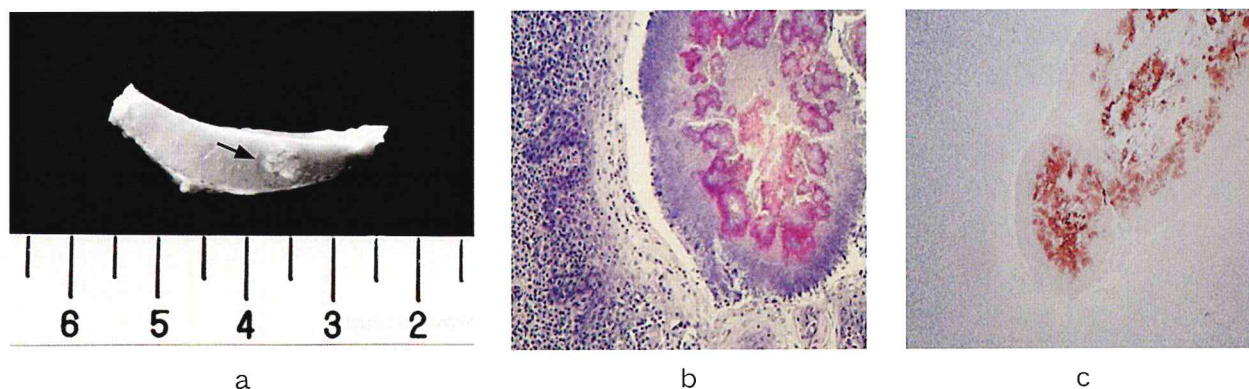


図3 a: 豚の軟口蓋扁桃にみられた硫黄顆粒 (矢印)。b: 豚の扁桃陰窩にみられた放線菌病巣。HE染色, bar=100 μ m。c: bの連続切片における抗*Actinomyces* sp. Chiba101血清を用いた免疫組織化学的染色 (SAB法) 陽性像。bar=100 μ m。

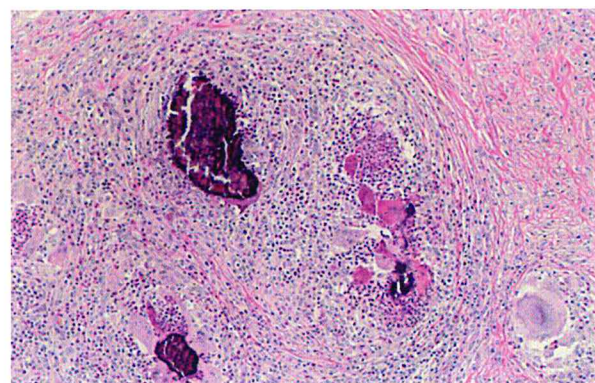


図4 豚扁桃分離*Actinomyces* sp. Chiba101類似株による母豚の乳房接種でみられた化膿性肉芽腫。HE染色, bar=100 μ m。

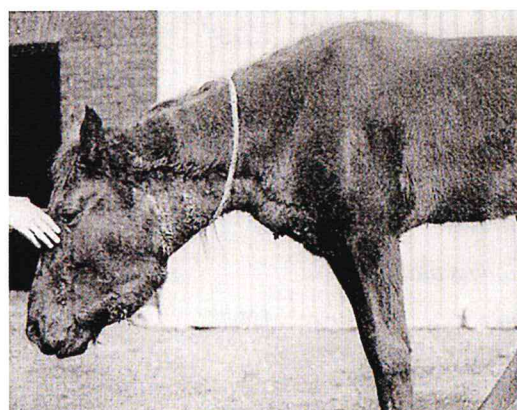


図5 馬の放線菌症。Guard: *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1938より引用²¹⁾。

ラリア¹⁵⁾から *Actinomyces denticolens* による馬の放線菌症の報告が相次いだ。分離された部位は下顎リンパ節膿瘍が主で、顔面部皮下膿瘍¹⁵⁾からも分離され、馬の放線菌症は極めて稀な疾病ではないという認識になっている。

2008年、イギリスから初めて報告された論文のタイトルは“Mandibular lymphadenopathy caused by *Actinomyces denticolens* mimicking strangle in three horses”である³⁾。「腺疫に類似した」というところが発見の重要な臨床所見である。腺疫は馬科動物の急性感染性疾患で上部気道に付随するリンパ節や下顎リンパ節に膿瘍を形成し、感染領域の皮膚が腫脹する³⁰⁾。腺疫が発生すると競馬開催が危ぶまれることから²⁶⁾、いち早く治療されていたと思われる。そのため、馬の放線菌症は今日まで腺疫によってその存在が分からなかったということになる。イギリスで分離株

に関心を持った獣医師が同定を進め、馬の放線菌症の存在を明らかにした。これは新たな疾病の発見であり、敬意を表したい。

著者らは、馬の *Actinomyces denticolens* は扁桃陰窩に常在すると考え、畜馬の口蓋扁桃を病理学的に調べた。その結果、扁桃の陰窩には放線菌塊が普通に存在し、菌塊周囲には好中球やマクロファージの浸潤がみられ、その菌塊は抗 *Actinomyces denticolens* 血清を用いた免疫組織化学的染色で陽性となった。中には陽性抗原が扁桃実質でも検出され、その周囲組織は化膿性炎となっていた。これらの馬の扁桃病巣から分離された株は16S rRNA 遺伝子解析によって、すべて *Actinomyces denticolens* と一致し、豚同様、*Actinomyces denticolens* の定着の場は扁桃であることが確かめられた³⁹⁾。

おわりに

牛の放線菌症は放線菌研究の出発点となった。その時期に豚の放線菌症も存在していた。牛の *Actinomyces bovis* は名を残し、豚の“*Actinomyces suis*”は行方知れずとなり、その名は、全く別の種によって取って替えられた。その“*Actinomyces suis*”を探しに著者らは長い旅に駆りたてられたのかもしれない。牛の口腔内にいた *Actinomyces denticolens* が、まさか Grässer と Franke がみていた“*Actinomyces suis*”だったとは、ここに妙な繋がりを感じる。しかし、*Actinomyces bovis* は牛の口腔内から未だに見つかっていない。

謝 辞

実名を挙げて謝辞を述べることは紙面上控えるが、多くの関係者の協力があった本研究が進んだ。ここに、関係者の皆様に深く敬意と感謝を申し上げる。

参考文献

- 1) Aalbaek, B., Christensen, H., Bisgaard, M., Liljegren, C. H., Nielsen, O.L. and Jensen, H. E.: *Actinomyces hyovaginalis* associated with disseminated necrotic lung lesions in slaughter pigs. *J Comp Pathol.* 129: 70-77. 2003.
- 2) Addo, P. B. and Dennis, S. M.: Experimental production of *Corynebacterium pyogenes* abortion in sheep. *Cornell Vet.*, 69, 20-32. 1979.
- 3) Albini, S., Korczak, B. M., Abri, C., Hüsey, D., Limat, S., Gerber, V. Hermann, M., Howald, B and Miserez, R.: Mandibular lymphadenopathy caused by *Actinomyces denticolens* mimicking stranglers in three horses. *Vet. Rec.*: 162: 158-159. 2008.
- 4) An, D., Cai, S and Dong, X.: *Actinomyces ruminicola* sp. nov., isolated from cattle rumen. *Int J Syst Evol Microbiol.* 56: 2043-2048. 2006.
- 5) Anderson, M. L., Blanchard, P. C., Barr, B. C., Dubey, J. P., Hoffman, R. L. and Conrad, P. A.: *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*: 198, 241-244. 1991.
- 6) Azuma, R., Murakami, S., Ogawa, A., Okada, Y., Miyazaki, S. and Makino, T.: *Arcanobacterium abortisuis* sp. nov., isolated from a placenta of a sow following an abortion. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59: 1469-1473. 2009.
- 7) 東量三・中島靖之：動物由来の *Actinomyces naeslundii*, *A. viscosus* の生物学的性状と血清学性状について

- て。第3回嫌気性菌感染症研究会講演記録, 23 - 30. 1973.
- 8) Beck, A., Baird, J. D and Slavić, D.: Submandibular lymph node abscess caused by *Actinomyces denticolens* in a horse in Ontario. *Can. Vet. J.*: 52: 513-514. 2011.
 - 9) Bollinger, O.: Ueber eine neue Pilzkrankheit beim Rinde. *Centralbl. F.d. med. Wissensch.*, 15: 481-485. 1877.
 - 10) Burns, R. H. G. and Simmons, G. C.: A case of actinomycotic infection in a horse. *Aust. Vet. J.* 28, 34-35. 1952.
 - 11) Collins, M. D., Stubbs, S., Hommez, J. and Devriese, L. A.: Molecular taxonomic studies of *Actinomyces*-like bacteria isolated from purulent lesions in pigs and description of *Actinomyces hyovaginalis* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43: 471-473. 1993.
 - 12) Dent, V. E., and Williams, R. A.: *Actinomyces denticolens* Dent & Williams sp. Nov.: a new species from the dental plaque of daily cattle. *J. Appl. Bacteriol.* 56: 183-192. 1984.
 - 13) Dent, V. E., and Williams, R. A.: *Actinomyces howellii*, a new species from the dental plaque of daily cattle. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34: 361-320. 1984.
 - 14) Dent, V. E., and Williams, R. A.: *Actinomyces slackii* sp. Nov. from dental the dental plaque of daily cattle. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36: 361-320. 1986.
 - 15) Feary, D. J., Abraham, S. and Woolford, D.J.: Identification of *Actinomyces denticolens* as a cause of a soft tissue abscess in a horse. *Aust. Vet. J.*: 91: 416-417. 2013.
 - 16) Fielding, C. L., Magdesian, K.G., Morgan, R. A., Ruby, R.E. and Sprayberry, K.A.: *Actinomyces* species as a cause of abscesses in nine horses. *Vet. Rec.*: 162: 18-20. 2008.
 - 17) Franke F.: Untersuchungen zur atologie der gesäugeaktinomykose des schweines. *Zentralbl. Bakteriologie, Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. I Abt. Orig. A.*: 223, 111-124. 1973.
 - 18) Gasperini G.: Ricerche morfologiche e biologiche sul genere *Actinomyces* Harz come contributo allo studio delle relative micosi. *Ann Ist d'Igiene, Università Roma.*: 2: 167-231. 1892.
 - 19) Georg, L. K., Brown, J. M., Baker, H. J. and Cassell, G. H.: *Actinomyces viscosus* as an agent of actinomycosis in the dog. *Am. J. Vet. Res.* 33: 1457-1470. 1972.
 - 20) Grässer R.: Mikroaerophile actinomyceten aus gesäugeaktinomykosen des schweines. *Zentralbl. Bakteriologie, Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. Orig. Bd.*: 184, 478-492. 1962.
 - 21) Guard, W. F.: Actinomycosis in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 93, 198-199. 1938.
 - 22) Hall, V., Collins, M. D., Hutson, R., Inganäs, E., Falsen, E. and Duerden, B. I. : *Actinomyces vaccimaxillae* sp. nov., from the jaw of a cow. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* : 53, 603-606. 2003.
 - 23) Hadžimerović, Z. and Džuvčić, A.: Minijaturne aktinomikozeu limfnoduli mandibulara svinja. *Vet. Glasnik.* 29: 503-511. 1975.
 - 24) Harz, C. O.: *Actinomyces bovis*, ein neue Schimmel in den Geweben des Rindes. *Deutsch. Z. Tiermed.*, 123-140. 1879.
 - 25) 平島淳・村上覚史・小川明宏・原普・島田純：千葉県における過去12年間の *Arcanobacterium pyogenes* による牛流産の発生状況. *日獣会誌*, 55: 137 - 141. 2002.
 - 26) 帆保誠二・村中雅則・丹羽秀和・内山孝志：腺疫集団発生事例における腺疫特異的血清診断法の応用ならびに分離腺疫菌株の遺伝学的解析. *日獣会誌*, 63: 696 - 701. 2010.
 - 27) Hoyles, L., Falsen, E., Holmström, G., Presson, A., Sjöden, B. and Collins, M. D.: *Actinomyces suimastitidis* sp. nov., isolated from pig mastitis. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 1323-1326. 2001.
 - 28) John E.: Die Actinomykose oder Strahlenpilzkrankung, eine neue Infektionskrankheit. *Deutsche Zeitschrift F Thiermed U vergl Pathologie* VII Bd.: 141-192. 1882.
 - 29) Kanesaki, Y., Ishige, T., Sekigawa, Y., Kobayashi, T., Torii, Y., Yokoyama, E., Ishiwata, H., Hamada, M., Tamura, T., Azuma, R. and Murakami, S.: Whole-Genome Sequences of Two Closely Related Bacteria, *Actinomyces* sp. Strain Chiba101 and *Actinomyces denticolens* DSM 20671T. *Genome Announc.* 5: 2017.
 - 30) 片山雅一・深山美和子・古屋聡子・桑本 康・帆保誠二・安齊 了：輸入馬を感染源とする腺疫の集団発生事例の疫学解析. *日獣会誌*, 56: 139 - 143. 2003.
 - 31) Kimball, B. S. and Frank, E. R.: The isolation of *Actinomyces bovis* from fistulous withers and poll evil. *J. Am. Vet. Res.* 6: 39-44. 1945.

- 32) 黒澤 隆：アクチノマイコージス（アクチノマイセス・ボビス感染症）。牛病学，3版，298。近代出版，東京。2013。
- 33) Lawson, P. A., Falsen, E., Åkervall, E., Vandamme, P. and Collins, M. D.: Characterization of some *Actinomyces*-like isolates from human clinical specimens: reclassification of *Actinomyces suis* (soltys and spratling) as *Actinobaculum suis* comb. nov. and description of *Actinobaculum schaalii* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 899-903. 1997.
- 34) Ludwig, W., Kirchhof, G., Weizenegger, M. and Weiss, N.: Phylogenetic evidence for the transfer of *Eubacterium suis* to the genus *Actinomyces* as *Actinomyces suis* comb. nov. *Inter. J. Syst. Bacteriol.* 42: 161-165. 1992.
- 35) Magnusson, H. The commonest forms of actinomycosis in domestic animals and their etiology. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.* 5, 170-245. 1928.
- 36) 宮道慎二：放線菌の属の同定手順。放線菌の分類と同定，2版：9－19。大昭和印刷，東京。2001。
- 37) 宮道慎二：放線菌の基本的な特徴。放線菌の分類と同定，2版：1－8。大昭和印刷，東京，2001。
- 38) Moser, A., Stephan, R., Sager, J. and Corti, S.: Lehner A.: *Arcanobacterium pluranimalium* leading to a bovine mastitis: species identification by a newly developed pla gene based PCR. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 155: 373-375. 2013.
- 39) Murakami, S., Otaki, M., Hayashi, Y., Higuchi, K., Kobayashi, T., Torii, Y., Yokoyama, E. and Azuma, R.: *Actinomyces denticolens* colonisation identified in equine tonsillar crypts. *Vet. Rec. Open.* 2016; 8: e000161.
- 40) Murakami, S., Azuma, R., Koeda, T., Oomi, H., Watanabe, T. and Fujiwara, H.: Immunohistochemical detection for *Actinomyces* sp. in swine tonsillar abscess and granulomatous mastitis. *Mycopathologia.* 141: 15-19. 1998.
- 41) Murakami, S., Ogawa, A., Azuma, R., Ohba, T. and Murata, R.: Aborted lesions of a pig associated with *Arcanobacterium abortusuis* and the immunohistochemical features. *J. Vet. Med. Sci.* 73:797-799. 2011.
- 42) Murakami, S., Azuma, R., Oomi, H., Watanabe, T., Suzuki, S. and Koeda, T. and Fujiwara, H.: Experimental actinomycosis caused by *Actinomyces*-like bacteria in mice and a sow. *J. Vet. Med. A.* 46: 533-543. 1999.
- 43) Ohba, T., Shibahara, T., Kobayashi, H., Kubo, M., Takashima, A., Imai, S., Murakami, S. and Kadota, K.: Hemorrhagic necrotizing splenitis in a slaughter pig infected with *Arcanobacterium* species. *J. Vet. Med. Sci.* 69: 449-453. 2007.
- 44) 小川郁子・高田隆：口腔および関連領域。カラーアトラス病理組織の見方と鑑別診断，5版：237 - 266。医歯薬出版。東京。2007。
- 45) 大楠清文：最近の分類・同定をより深く理解するために：いま知りたい臨床微生物検査ガイド，医歯薬出版，東京。138 - 155。2013。
- 46) Oomi, H., Azuma, Y., Ishiwata, H., Asahara, T., watanabe, T. and Murakami, S.: Bacteriological study on another pathogenic agent “*Actinomyces suis*” Grässer 1957 in swine tonsils. *Proc. Int. Pig. Vet. Sci.* 13th Congress, Bangkok. pp. 233. 1994.
- 47) Ramos, C. P., Foster, G. and Collins, M. D.: Phylogenetic analysis of the genus *Actinomyces* based on 16S rRNA gene sequences: description of *Arcanobacterium phocae* sp. nov., *Arcanobacterium bernardiae* comb. nov., and *Arcanobacterium pyogenes* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*: 47, 46-53. 1997.
- 48) 作井睦子・大藤進・谷山弘之・古岡秀文：肉芽腫性乳房炎に続発した豚のアミロイド症の1例。日獣会誌，46：163 - 165。1993。
- 49) Schaal, K. P.: Genus *Actinomyces*. pp. 1383-1418. In: Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, ed. Sneath P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E. and holt, J. G. 1st ed., Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, USA. 1986.
- 50) Schaal, K.P. and Yassin, A. F.: Family I *Actinomycetaceae*. pp. 36-126. In: Goodfellow, M., Kampfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, ME., Suzuki, K. and Ludwig W, editors. Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, 2nd ed. Vol. 5, Springer New York; USA. 2012.
- 51) Schlafer, D. H. and Miller, R. B.: Female genital system, *Arcanobacterium pyogenes* as a cause of abortion in cattle and sheep. pp. 497-498. Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals Vol. 3 Maxie, M. G. ed fifth Eds. Elsevier, London. 2007.
- 52) Schiefer, B., Pantekoek, J. F. and Moffatt, R. E.: The pathology of bovine abortion due to *Corynebacterium*

- pyogenes*. *Can. Vet. J.*: 15, 322-326. 1974.
- 53) 製品評価技術基盤機構 (NBRC). NBRC No. 112524. www.nbrc.nite.go.jp/.
 - 54) 関川由里子・大瀧菜里亜・小林朋子・鳥居恭司・横山栄二・石毛太一郎・兼崎友・村上覚史：牛の口腔内常在 *Actinomyces denticolens* (“*A. suis*”) の新たな発見．第31回日本放線菌学会大会講演要旨集, 95. 2016.
 - 55) Specht, T. E., Breuhaus, B. A., Manning, T. O., Miller, R. T. and Cochrane, R. B.: Skin pustules and nodules caused by *Actinomyces viscosus* in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 198: 457-459. 1991.
 - 56) 竹内正太郎：豚のアルカノバクテリウム・ピオゲネス感染症. pp. 234. 獣医感染症カラーアトラス. 見上 彪 編. 文英堂出版. 東京. 2006.
 - 57) Taylor, D. J.: *Arcanobacterium (Actinomyces-Corynebacterium) pyogenes*. pp. 640-642. In: Diseases of Swine. ed. Straw, B. E., Zimmerman, J. J., D' Allaire, S. and Taylor, D. J. 9th ed., Blackwell Publishing, Iowa. 1999.
 - 58) 東京都芝浦食肉衛生検査所. 統計資料 <http://www.fukushihoken.metro.tokyo.jp/sibaura/shiryou/tochiku/tochiku1.html>.
 - 59) Ulbegi-Mohyla, H., Hassan, A. A., Hijazin, M., Alber, J. and Lämmler, C.: Abdulmawjood A, Prenger-Berninghoff E, Weiss R, Zschöck M. Characterization of *Arcanobacterium abortisuis* by phenotypic properties and by sequencing the 16S-23S rDNA intergenic spacer region. *Vet Microbiol.* 148: 431-433. 2011.
 - 60) Wegienek, J., Reddym, C. A.: Nutritional and metabolic features of *Eubacterium suis*. *J. Clin. Microbiol.* 15: 895-901. 1982.
 - 61) Yamini B, Slocombe RF. Porcine abortion caused by *Actinomyces suis*. *Vet. Pathol.* 25:323-4. 1988
 - 62) Yassin, A. F., Hupfer, H., Siering, C. and Schumann, P.: Comparative chemotaxonomic and phylogenetic studies on the genus *Arcanobacterium* Collins, 1982 emend. Lehn. 2006: proposal for *Trueperella* gen. nov. and emended description of the genus *Arcanobacterium*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*: 61, 1265-1274. 2011.
 - 63) Yassin, A. F., Spröer, C., Pukall, R., Sylvester, M., Siering, C. and Schumann, P.: Dissection of the genus *Actinobaculum*: Reclassification of *Actinobaculum schaalii* Lawson *et al.* 1997 and *Actinobaculum urinale* Hall *et al.* 2003 as *Actinotignum schaalii* gen. nov., comb. nov. and *Actinotignum urinale* comb. nov., description of *Actinotignum sanguinis* sp. nov. and emended descriptions of the genus *Actinobaculum* and *Actinobaculum suis*; and re-examination of the culture deposited as *Actinobaculum massiliense* CCUG 47753T (= DSM 19118T), revealing that it does not represent a strain of this species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 65: 615-624. 2015.

原 著

衛生管理の高度化支援における課題等

田中ひろみ¹⁾、堀切裕治²⁾、伊藤和則³⁾

[平成29年11月30日受付・平成29年12月25日受理]

ORIGINAL ARTICLE

Advice for food-related companies to promote advancement of higher-level food hygiene management

Hiromi TANAKA¹⁾, Yuji HORIKIRI²⁾ and Kazunori ITO³⁾

1) Yanai Health & Welfare Center, 658-1 Nakatojyo, Kogaisaku, Yanai, Yamaguchi 742-0032, Japan

2) Nagato Health & Welfare Center, 1344-1 Higashifukawa, Nagato, Yamaguchi 759-4101, Japan

3) Institute of Public Health And Environment of Yamaguchi Prefectural Government, 535

Asada, Yamaguchi, Yamaguchi 753-0871, Japan

ABSTRACT

The “Yamaguchi prefectural regulation of requisite standards in public sanitation based on Food Hygiene Law” was partially revised in July 2015.

To increase the number of food-related companies that adopt the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) system of management in food regulation, we began to publicize the notification system used by companies adopting the HACCP system of management or complete documentation of standard operating programs in food hygiene and records preservation, “Yamaguchi-Eisei-Jump.” We choose companies actively trying to improve their sanitation management and provided guidance and advice by a support team comprising food hygiene inspectors in the health and welfare office of the Environmental Health Division of Yamaguchi Prefecture and an expert professor to promote the companies to certification by the prefectural high hygiene control procedure, private organizations, or industry associations.

After the companies joined the team activation to promote higher hygiene, we found that companies without knowledge of how to create standard operation programs required guidance, that we must promote the concrete aim to these companies to encourage them to continue higher hygiene management despite the long time requirement and cost, and that we must provide them with clear information and HACCP guidance by the Ministry of Health and Welfare.

Key words: HACCP, food, hygiene

1) 山口県柳井健康福祉センター 〒742-0032 山口県柳井古開作中東条 658 - 1

2) 山口県長門健康福祉センター 〒759-4101 山口県長門市東深川 1344 - 1

3) 山口県環境保健センター 〒753-0871 山口県山口市朝田 535

* 連絡責任者・田中 ひろみ

〒742-0032 山口県柳井古開作中東条 658 - 1 TEL 0820-22-3631 FAX 0820-22-7286

キーワード：HACCP, 食品, 衛生

要 約

本県は平成27年7月「食品衛生法の規定に基づく公衆衛生上必要な基準を定める条例（以下「県条例」）の一部改正を行った。HACCP方式を用いる新基準の導入を促進するために衛生管理を新基準で行う事業所の届出を公表する制度及び一般的衛生管理の文書化と記録の作成保存化を実行している事業所を公表する「やまぐち衛生ジャンプ事業所制度」を開始した。自主衛生管理の高度化に意欲のある事業所を選び保健所食品衛生監視員、生活衛生課とアドバイザー（学識者）で組織する「支援チーム」による指導助言を行い県の高度衛生管理工程認定や民間HACCP認証等につなげる取組を行った。その結果、衛生管理の高度化を進めるためには手順書を自力で文書化ができない事業者へ啓発が大切であり、費用も時間もかかる高度化に取り組み続けられる具体的な目標を提案してモチベーションを維持させ、厚生労働省の手引き書等の明確な情報を提供することが必要であった。

はじめに：厚生労働省はHACCPの普及を推進するため「食品等事業者の行うべき管理運営基準に関する指針（ガイドライン）」を改正した。このことを受けて県条例も一部改訂されHACCP方式を用いる新基準が設けられた。一部の事業者が総合衛生管理製造過程承認あるいはISO等の民間・業界HACCP認証を取得している一方で中小規模の事業者にはHACCPは十分に普及していない¹⁾。自主衛生管理の高度化に意欲のある事業所を選び保健所食品衛生監視員、生活衛生課とアドバイザーで組織する「支援チーム」（図1参照）に参加して指導助言を行い今後の支援に役立つ若干の知見を得たので報告する。

支援対象および方法：A事業所は食鳥処理場に隣接した食鳥肉処理施設で年間約600万羽を処理・加工し約9000tの食鳥肉を販売している。従業員数は約150名で食肉処理施設にはベトナムと中国からの技術研修生も多く従事している。施設は営業開始後約20年経過しており老朽化が見られたが補修や機械の入替えも計画的に実施されていた。

平成27年10月から平成29年3月まで支援チームに参加した。開始時の状況を図3に示す。過去に民間認証を目指した経緯から標準作業手順書（以下「SOP」）はほぼ全て品質管理部門（以下「品管」）によって文書化されていたが活用されおらず現場作業と乖離しているものも多かった。また、HACCP12手順のうち①HACCPチームは組織されており②③については製品説明書が活用

成 果：保健所主導の5か月間の進捗状況を図5に示す。

（1）支援開始2か月で「やまぐち衛生ジャンプ事業所」届出があった。SOPの多くにISO等で要求される「目的」と「適用範囲」の項目が抜

HACCP導入支援手順

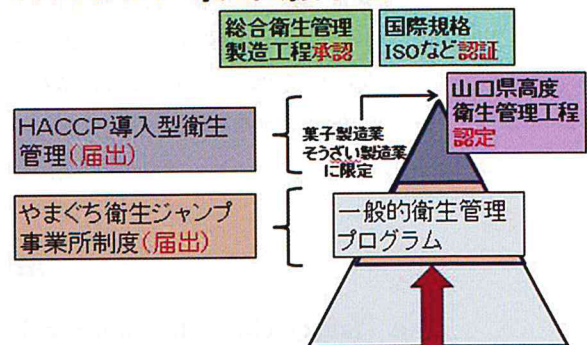


図1 山口県の体制と支援手順

できた。④⑤も作成済みであった。⑥危害も分析済みであり⑦重要管理点は食鳥処理工程については「と体冷却水の温度」、食鳥肉処理工程については「金属検出」であり、これは厚生労働省の手引書と同様である。⑧管理基準値は設定されていた。許容基準（OPRP）の概念が作業者に徹底できていなかったため逸脱もあった。そこで支援はSOPの順守徹底・修正とモニタリング方法の改善等を同時進行とした。支援開始7か月後にA事業所が民間認証取得を目標として外部コンサルタント（以下「コンサル」）を依頼したことからコンサルと品管の監視に同行して保健所就業時間内には見られなかった作業を確認した。また事業者とコンサルとのHACCPチーム会議に同席する機会を得て情報共有も行えた。

けていたこと、実際の現場での作業者はSOPを順守していないこともあった。その他内容も含め修正作業を品管担当者に依頼した。

（2）食鳥処理工程のCCPである冷却チラー水温度のモニタリングを表面温度計で測定していた

施設図及び動線

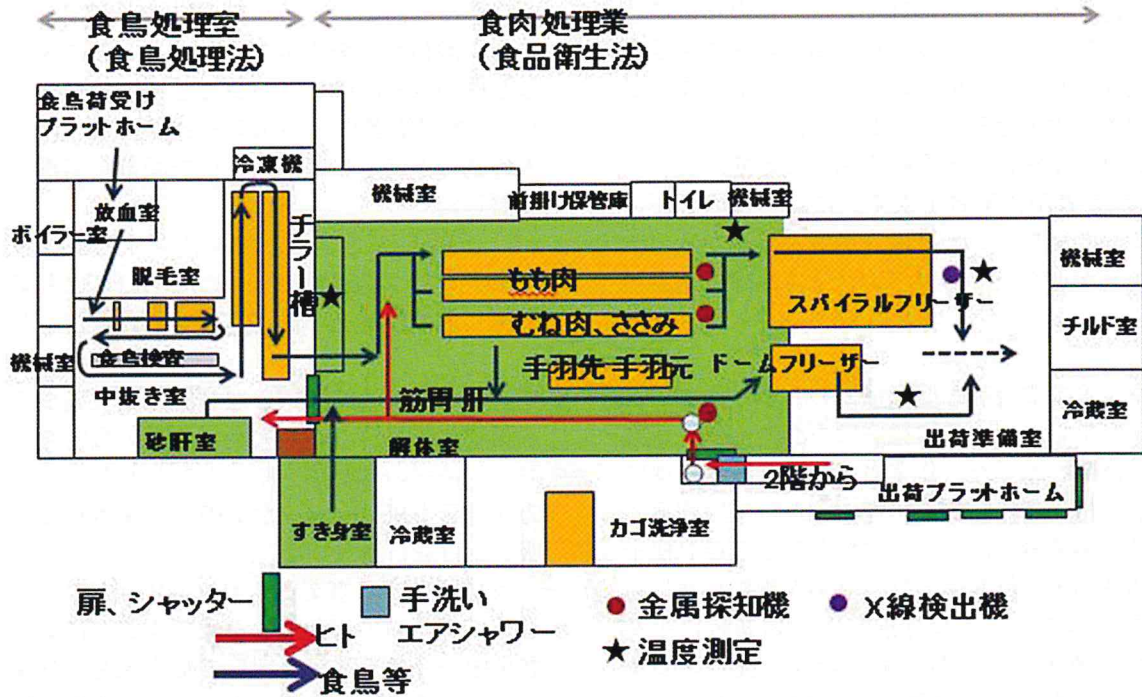


図2 A事業所施設概要及び人と食鳥の流れ

支援開始時の状況

- 一般的衛生管理：標準作業手順書…ほぼ作成済
 部門従業員は知らない
- HACCP方式の取組
- ① HACCPチームの編成…組織系統が既にある
 - ② 製品の記述…製品仕様書をアレンジ
 - ③ 意図する用途及び対象となる消費者の確認
 - ④ フローダイヤグラムの作成…作成済
 - ⑤ フローダイヤグラムを現場で確認
 - ⑥ 原則1: 危害分析…検討済
 - ⑦ 原則2: 重要管理点CCPの決定
 - ⑧ 原則3: 管理基準の設定…設定済
 - ⑨ 原則4: モニタリング方法の設定…設定済. 要検討
 - ⑩ 原則5: 改善措置の設定…設定済. 要検討
 - ⑪ 原則6: 検証方法の設定…設定済. 要検討
 - ⑫ 原則7: 記録と保存方法の設定…実施済
- CCP管理表ではなくSOP管理されていた。

図3 支援開始時の状況

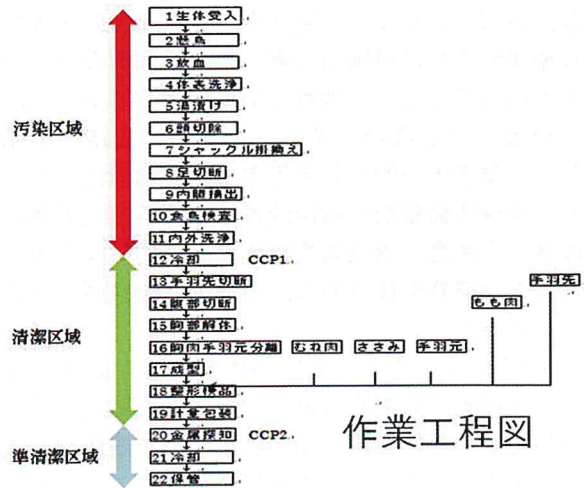


図4 作業工程図

実施日	保健所	A事業所
平成27年12月		衛生ジャンプ届出 HACCP導入型衛生管理を奨励。→品質管理室了解 手引書のHACCPプランをアレンジして提示。
平成28年1月		(CCP)チラー水の温度測定方法の改善指導。→品質管理室が中心に対応。 記録用紙の不備等指導。
2月		(CCP)チラー水の温度測定方法の改善指導。→品質管理室が中心に対応。 記録用紙の不備等指導。
3月		記録用紙の不備等指導。チラー水温度測定方法改善。 HACCP導入管理運営 ← 民間HACCP認証導入情報。施設届出は延期。

図5 保健所主導進捗状況

実施日	保健所	A事業所
平成28年6月	同席	6/13 発起式(キックオフ) 実際とSOPとの違いを照合。 手洗い徹底のためのタイマー設置。
7月		7/1, 7/15 人の動線を調査。 外国人研修生には母国語に翻訳したSOPを周知。 作業員一人一冊取組ファイルを配布した。
8月		8/23施設内外の出入口を制限し消毒設備設置。
9月		9/16 社長、品管、コンサル3者会議。 SOP改正、周知徹底。 HACCPプラン作成は同時進行。
10月		10/14 SOP改正、周知徹底。
11月		毎週チーム会議でHACCPプラン作成。 汚染区域と清潔区域を往來する台車車輪の消毒方法を検討。
12月		頻繁にチーム会議でHACCPプラン作成。

図6 コンサル導入後

ため、実測するよう指導を続けた。チラー槽に設置した温度計と体がぶつかることにより温度計の破損が異物となる可能性やと体の損傷を危惧してのことであった。チラー槽に温度計を固定せずに頻度を1時間に1回に増やして測定記録することで温度管理できるように改善した。

コンサル主導による進捗を図6に示す。

(3) 事業者が作業員1人ずつに関連SOP冊子を支給した結果、SOP順守徹底と現場からの改正案提案が進んだ。ワープロ作業は品管担当者が一人で行った。

考察：A事業所は必要な種類のSOP作成がほぼ完了していたが、その徹底はもちろん修正作業には長時間を要した。作業員への順守徹底は保健所が品管担当者に指摘を伝達するだけでは容易ではなく、事業者が個人ごとに配布したSOP冊子を休憩時間等に作業員のリーダーが周知し意見を吸い上げることにより促進した。始業時に手洗い場が混雑することから不十分な手洗いのまま作業場所へ急ぐことを防ぐためにリーダーが監視に立っていたが使用し易いタイマーを十分な数、設置した結果、効果があった。また外国人の技術研修生には母国語で書かれた絵図の多いSOPを掲示することが理解しやすいようであった。

温度計や手洗いタイマーの更新、会議に出席した作業員の時間外賃金等事業所の負担は多かった。保健所監視員が指摘改善を求める事業者窓口は多くの場合、食品衛生責任者あるいは品管担当者であり経費を伴うもの、人員の召集は難しいこともあった。

品管とコンサルが全ての作業内容を始業前から終業後まで監視する際に同行できた結果、先に清掃を始めた作業員が後の作業工程に洗浄剤や跳ね水汚染を起こす可能性を探知できた。品管が定

(4) 各作業員の作業内容を開始から清掃終了後までコンサルに同行監視した結果、作業終了後すぐに洗浄を開始していたことによって後続の作業工程へ跳ね水汚染等があったこと、先に洗浄殺菌した機器等を汚染していることを探知した。

(5) 外部業者による汚染を持込まないために、人の動線を特定して出入り口を減らし消毒設備を設置した。

(6) 汚染区域と清潔区域を往来する人は次亜塩素酸ナトリウムで消毒していたが台車にも薬剤を浸潤したマット上を通過するように改善した。

期的に清掃後の施設拭き取り検査を実施しているが細菌数にバラツキが大きいことの報告を受けており、清掃の方法が一原因かもしれない。清掃の方法改善も班リーダーが実際の作業員から意見の吸い上げを行っていた。

支援開始時に事業者へHACCP導入のメリットとして食鳥肉の初発菌数を減らすことにより、「消費期限を今より1日延期して販売先をより遠くに増やす」等具体的目標を掲示した。費用も時間も要するHACCPに取り組むモチベーションを維持することが必要であると思われた。

また、A事業所より小規模な事業者からもHACCP導入相談があったがSOPを始めとする文書作成に苦勞しているワープロを使えない事業所、時間を割けない事業所もあった²⁾。

今後HACCP制度化に向けて多数の事業所を同時に支援していく場合には、①SOPの文書化には時間を多く充てる、②事業所の実情に即したメリットを提示する、③厚生労働省モデルプラン、手引書等を積極的に活用させる等、これからも充実していく情報をアレンジ活用しながら支援していきたい。

参考文献

- 1) 内海宏之・柳沢宏太：HACCPの普及・導入支援のための実態調査結果。食品衛生研究.65(12): 7-22.2015
- 2) 新藤登喜男：中小企業の導入例から学ぶHACCP。食と健康。9月号:18-27.2016

原 著

肉用鶏にみられたロイコチトゾーン病について

田中ひろみ¹⁾、堀切裕治²⁾、伊藤和則³⁾

(平成29年12月8日受付・平成29年12月25日受理)

ORIGINAL ARTICLE

Leucocytozoonosis in chickens

Hiromi TANAKA¹⁾, Yuji HORIKIRI²⁾ and Kazunori ITO³⁾

1) Yanai Health & Welfare Center, 658-1 Nakatojyo, Kogaisaku, Yanai, Yamaguchi 742-0032, Japan

2) Nagato Health & Welfare Center, 1344-1 Higashifukawa, Nagato, Yamaguchi 759-4101, Japan

3) Institute of Public Health And Environment of Yamaguchi Prefectural Government,

535 Asada, Yamaguchi, Yamaguchi 753-0871, Japan

ABSTRACT

About 6 million broilers are handled each year at poultry-processing plants in Yamaguchi Prefecture. During simultaneous carcass and visceral inspection, one bevy was diagnosed with chicken leucocytozoonosis based on the presence of needle-apex-stigma in the whole body skeletal muscle, swelling of the liver and spleen, and hemorrhagic inflammation of the gastrointestinal mucous membrane. Although the body was neither anemic nor lean, several insect bodies were identified in a simplified Giemsa-stained specimen of organ stamp, and several indusia of sizont were detected in the granulation tissue after histopathological examination. An inspection system for this disease was established for poultry examine, to eliminate affected meat.

The presence of this infectious disease, must be legally reported to the Livestock Hygiene Center in the district. In this case, the poultry-man was instructed to take precautions against this disease.

Key words: Leucocytozoon, Needle-apex-stigma, Liver swelling, Splenoma

キーワード：ロイコチトゾーン，針尖状出血，肝臓腫大，脾腫

要 約

県内F食鳥処理場では主としてブロイラーを年間約600万羽処理している。と体と内臓の同時検査において1例に全身骨格筋の針尖状出血及び肝臓と脾臓の腫大、消化管粘膜の出血性炎症が見られロイコチトゾーン病と診断した。と体は貧血・削瘦を認めなかったが臓器スタンプを簡易ギムザ染色することによ

1) 山口県柳井健康福祉センター 〒742-0032 山口県柳井古開作中東条 658-1

2) 山口県長門健康福祉センター 〒759-4101 山口県長門市東深川 1344-1

3) 山口県環境保健センター 〒753-0871 山口県山口市朝田 535

連絡責任者：田中ひろみ

〒742-0032 山口県柳井古開作中東条 658-1 TEL 0820-22-3631 FAX 0820-22-7286

り赤血球内に虫体を証明し、病理組織検査において肉芽組織内に虫体シズント包膜を確認した。食鳥検査員で本病の診断手順を共有することにより本病食鳥肉を流通させないように体制を整えた。また届出伝染病として所管の家畜保健衛生所へ通報した結果、生産者へ発生予防を啓発できた。

はじめに：ロイチトゾーン病は住血胞子虫の一種 *Leucocytozoon caulleryi* を原因としニワトリヌカカによって吸血媒介される。本病は家畜伝染病予防法で届出伝染病に規定されている。主な臨床症状は咯血、貧血、緑色便であり、感受性の高い幼雛では急死するが大雛では斃死せず、耐過した鶏が新たに感染源となることが知られている。¹⁾ 飼料に抗菌剤を投与できない採卵鶏での発生が主であるが近年、肉用鶏での報告も少なくない²⁾。野鳥が保有していることも報告されている³⁾。

A農家から出荷された肉用鶏で肝臓と脾臓腫大

材料および方法：平成28年9月20日に処理されたブロイラー、コップ品種47日齢、同ロット7230羽のうちメス1例。本ロットは飲水等によりマレック病、鶏痘、伝染性ファブリキウス嚢病、伝染性気管支炎、ニューカッスル病ワクチンを接種済みであり、平均体重は2.93kgであった。生体所見では異常を認めなかった。

(1) 肝臓、脾臓及び盲腸粘膜のスタンプ標本を

成績：(1) 肉眼所見

と体の発育状態は良好であった。体表面に異常は見られず骨格筋の色は貧血を疑う白さではなかった。(図1)

心臓、肺及び全身骨格筋に針尖状出血斑を認めた。肝臓及び脾臓が充血性に腫大していた。ま



図1 と体肉眼所見

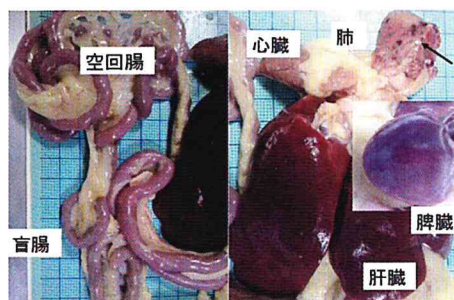


図2 内臓肉眼所見

及び全身の骨格筋に針尖状出血を認めた個体を本病と疑い食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律（以下「食鳥検査法」）に基づき全廃棄とした。臓器スタンプから虫体を検出し病理組織検査によって確定診断した。今後同様の症例を速やかに排除するための判断樹を食鳥検査員内で情報共有した。また、家畜伝染病予防法に基づき所管の家畜保健衛生所に通報した結果、閉鎖鶏舎で飼養している肉用鶏農家にもニワトリヌカカ対策が必要なことを啓発できた。

作製しメタノール固定後ギムザ染色 (Sysmex 社) を実施した。

(2) 浅胸筋の出血部位、肝臓、十二指腸、空腸、結腸及び盲腸をサクラユフィックス (サクラファインテックジャパン) で固定後パラフィン包埋切片を定法に従い作製しヘマトキシリン・エオジン (H E) 染色及び過ヨウ素酸シッフ反応 (P A S 染色) を行い光学顕微鏡検査した。

た筋胃以外の消化管全域に出血性炎症を認め、その断面において粘膜上皮は肥厚し血様内容物が詰まっていた。(図2)

(2) スタンプ標本

肝臓、脾臓から虫体は検出されなかったが、盲腸から複数個メロゾイトが検出された。(図3)

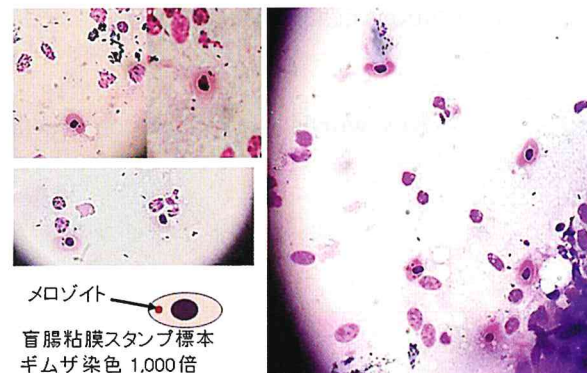


図3 盲腸スタンプ標本
赤血球内の第2代メロゾイト

(3) 組織検査所見

骨格筋：浅胸筋の出血部位に一致して肉芽組織が形成されていた。肉芽組織の中心部分にはシゾン包膜と思われるPAS染色陽性の組織が複数個集まっていた。その周辺には偽好酸球、リンパ

球を主体とした炎症細胞が多数見られた。炎症細胞がヘモジデリンを貪食している像も見られた。肉芽組織周辺の筋線維は広範囲にわたり変性壊死しており筋線維の束と束の間隙には炎症細胞が浸潤していた。(図4～6)

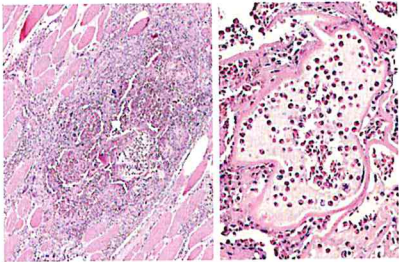


図4 浅胸筋に見られた肉芽組織 (HE染色. 左: ×100, 右: ×400)

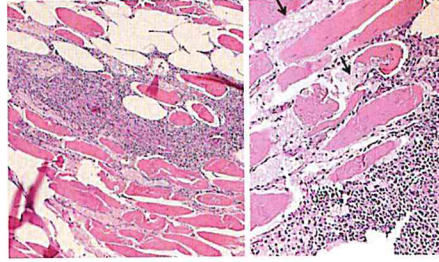


図5 肉芽組織周辺の筋線維の空腔変性 (HE染色. 左: ×100, 右: ×400)

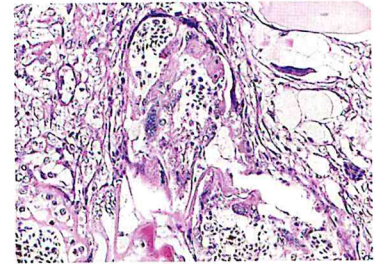


図6 シゾン包膜内に見られた多核巨細胞 (PAS染色. ×400)

肝臓：肝細胞索は乱れ広範囲にわたり細胞が変性壊死していた。小葉間結合組織には炎症細胞が浸潤しておりヘモジデリンが沈着していた。中心静脈には炎症細胞の塞栓を認めた。(図7)

筋胃より下部の消化管：粘膜上皮は変性壊死しており粘膜固有層にリンパ球を中心とした炎症細胞が浸潤していた。(図8)

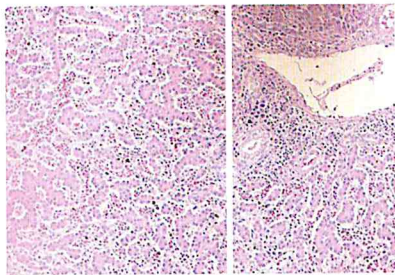


図7 肝臓 (HE染色. 左: ×100, 右: ×400)

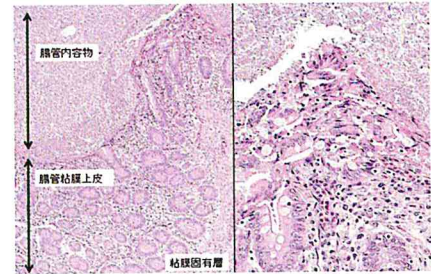
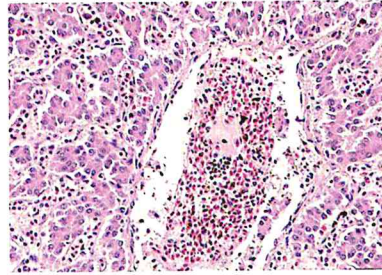


図8 盲腸 (HE染色. 左: ×100, 右: ×400)

診断と措置

(1) 食鳥検査法に基づく措置：全身骨格筋の出血と内臓の所見から本病を疑い全廃棄とした。連続して処理される同一ロットの食鳥には同様病変は見られなかったため出荷を止めなかった。

(2) 「病性鑑定指針」⁴⁾を参考に5月から9月の

ニワトリヌカカの発生期に症例が発生したこと、臓器スタンプ標本及び病理組織検査において虫体を検出できたことからロイコチトゾーン病と診断した。

(3) 家畜伝染病予防法に基づく措置：所管の家畜保健衛生検査所に届出伝染病の通報を行った。

考察：成書による発育環から本症例はニワトリヌカカによる吸血感染後14-19日と推察された²⁾。感染時期(飼養30日)以降に淘汰された羽数が多く見られた。今回ただ1例のみ探知できたことは感染鶏が出荷前に死亡あるいは淘汰されたためであろうと考えられた。(図9)

本病は虫体の感染量や発育段階によって臨床症状の発現程度にばらつきがあることが報告されている。貧血・削瘦が軽度であれば食鳥検査生体観察での排除は困難である。そのためと体と内臓の肉眼検査において全身骨格筋の出血斑および肝臓と脾臓の腫大、消化管の出血性炎症を認めた個体を全廃棄することが大切である。今回はただ1例

のみの探知であったので出荷保留をかけなかった。今後、特に夏期において複数羽に同様の症例が見られた際には適切に食鳥肉を排除し出荷保留できるように食鳥検査員の判断手順と連絡体制を整えた。(図10)

また、家畜保健衛生所に届出伝染病を通報したことによって閉鎖鶏舎で飼育している肉用鶏でもニワトリヌカカ対策が必要であることを生産農家へ啓発できた。

今後も安全な食鳥肉を提供するために迅速な診断と食鳥処理事業者等関係者との情報共有を行っていききたい。

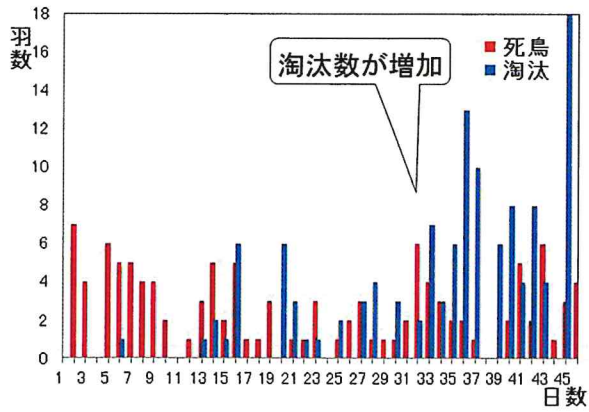


図9 本ロット飼養期間中の死鳥と淘汰羽数
(数値提供：食鳥処理事業者)

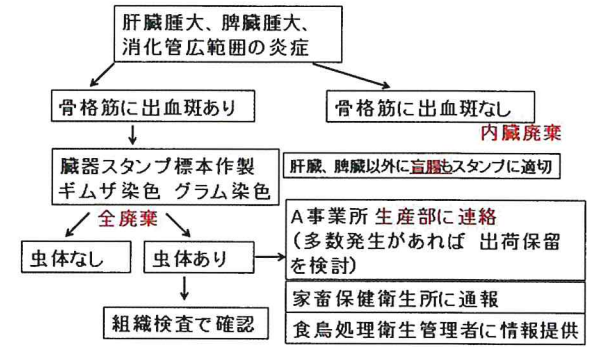


図10 食鳥検査員の判断手順と連絡体制

参考文献

- 1) 石井俊夫著・今井壮一編：改定獣医寄生虫学・寄生虫病学 総論／原虫:109～113：講談社.2007
- 2) 半杭祥子：プロイラーのロイコチトゾーンによる肉芽腫性骨格筋炎．鶏病研究会,50(2):93.2014
- 3) 村田浩一：野生鳥類における血液原虫症研究の現状と課題．全国環境研究会誌,32(4).2007
- 4) 病性鑑定指針．平成20年6月2日付消安第880号農林水産省消費・安全局長通知

短 報

ダイレクト PCR 法による腫瘍組織からの 牛白血病ウイルス遺伝子の検出

大貫永輝¹⁾・村上覚史¹⁾・小林朋子¹⁾

[2017年9月22日受付・2017年11月6日受理]

SHORT COMMUNICATION

DIRECT DETECTION OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS IN TUMOR TISSUES

Nagaki OHONUKI, Satoshi MURAKAMI and Tomoko KOBAYASHI*

*Laboratory of Animal Health, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture,
Tokyo University of Agriculture, 1737 Funako, Atsugi, Kanagawa 243-0034, Japan*

**Corresponding Author: Tomoko Kobayashi*

Enzootic bovine leucosis (EBL) is caused by bovine leukemia virus (BLV) infection. In Japan, most cases of EBL are diagnosed at local slaughterhouses, indicating the necessity of fast and economical methods for detecting BLV infection. In this study, we present a direct polymerase chain reaction method that uses a simple sodium hydroxide reagent that allows for partial BLV provirus amplification directly from the tumor tissue without the need for DNA purification. Using this method, we successfully amplified the partial *pol* gene sequence (732 bp) from tumor tissues from various part of cattle with EBL. The procedure described here is rapid, cost-effective, and sensitive and can be easily incorporated into the process of veterinary food inspection or postmortem examination for detecting BLV.

要 約

牛白血病は、全身のリンパ節が腫瘍化する疾病であり、家畜伝染病予防法に基づく届け出伝染病に指定されている。牛白血病の摘発場所はほとんどがと畜場であり、補助的診断として、食肉衛生検査所での牛白血病ウイルス抗体検査が行われることが多い。本研究では、簡便なアルカリ処理を行うことにより、地方病型牛白血病（EBL）発症牛の腫瘍組織から直接 PCR 法により BLV プロウイルス遺伝子検出を行う方法を確立し、様々な腫瘍組織からの BLV プロウイルス遺伝子の検出を行った。本方法は、生前診断が難しい症例においても、と畜検査後に採取された腫瘍組織を検査材料とすることが可能となり EBL の補助的診断方法として有用である。

緒 言

牛白血病は、全身のリンパ節が腫瘍化する疾病であり、家畜伝染病予防法に基づく届け出伝染病に指定されている。平成 24 年度以降は年間届出件数が 2,000 件を超えており、牛の監視伝染病において最も届出件数の多い疾病となっている¹⁾。牛白血病は、牛白血病ウイルス（Bovine leukemia virus :BLV）の感染

1) 東京農業大学農学部畜産学科家畜衛生学研究室

連絡責任者：小林朋子

〒243-0034 神奈川県厚木市船子 1737

に起因する地方病型牛白血病 (Enzootic Bovine Leukosis : EBL) とウイルス感染によらない散発型牛白血病 (Sporadic Bovine Leukosis : SBL) に大別されるが、牛白血病として届けられる疾病のほとんどは EBL である²⁾。牛白血病牛はと畜場法においては全部廃棄の対象となっている。このことから EBL と類似疾病との鑑別が必要となり、と畜検査の際に抗 BLV 抗体検査が補助的に行われている。これまでに、解体時に採材可能な心残血等を用いて、エライザ法による血清中の抗 BLV 抗体検出 (牛白血病エライザキット、株式会社 JNC 社、東京) が可能であることが報告されている³⁾。しかし、と殺、解体作業工程の中で交差汚染や体液等の混入のない新鮮な血液を採取することは難しい。また、と畜検査における発見頻度では少数検体での検査となるため、これらの方法はコスト面から実施することが難しい場合が考えられる。そこで、本研究では、簡便なアルカリ処理を行うことにより、腫瘍組織から直接 PCR 法により BLV プロウイルス遺伝子検出を行う方法を確立し、様々な腫瘍組織からの BLV プロウイルス遺伝子の検出を行った。

材料及び方法

検査対象：2015年8月から2016年6月までに神奈川県食肉衛生検査所において、牛白血病と診断された成牛14頭の腫瘍組織を使用した。牛白血病と診断された牛については、補助的診断として、受身赤血球凝集反応 (牛白血病抗体アッセイキッ

ト、日生研、東京) を用いて抗 BLV 抗体価を測定した (表1)。検査対象牛の月齢や腫瘍形成部位、抗体価は表1の通りである。採取した腫瘍組織片は5mm角に細切し、RNAlater (Thermo Fisher Scientific, USA) 溶液に浸漬後冷凍保存した。

表1. と畜検査で腫瘍形成が確認された牛の腫瘍採材部位と腫瘍形成臓器数

牛 No.	月齢	腫瘍採材臓器	BLV 抗体価	肉眼的に確認された腫瘍性病変形成臓器数			
				リンパ節	実質臓器	消化管	泌尿生殖器
1	140	心臓	1024	8	1	1	-
2	54	心臓	1024	6	3	1	1
3	81	大腸	256	5	1	2	-
4	107	大腸	≥ 16	7	2	3	1
5	110	腎臓	256	7	3	-	2
6	122	腎臓	256	6	2	2	-
7	68	心臓・第四胃	512	3	1	2	-
8	63	第四胃	1024	1	1	2	-
9	121	肺	256	3	2	-	-
10	113	肺	≥ 16	5	1	-	1
11	30	腸骨リンパ節	2048	8	4	-	-
12	62	腸骨リンパ節	2048	7	-	-	-
13	78	心臓・子宮	256	5	4	-	2
14	56	子宮	128	7	3	1	2

No.11 は黒毛和種 (♂) で、その他はすべてホルスタイン種 (♀)

腫瘍組織ライセートの作成：腫瘍組織片を解凍後、そのうちの一片を取り出し、アルカリ溶液 (50mM NaOH) 180 ml を加え 30 秒間 Vortex にて攪拌した。次に、この溶液を 95℃ 10 分インキュベートした後、1M Tris-HCl(pH8.0) 20ml を加え、30 秒間 Vortex にて攪拌した。次に、12,000rpm 10 分の遠心後、上清 5ml を PCR に用いた。

PCR 条件：小林ら⁴⁾の全血からのダイレクト PCR 法を参考に、市販の酵素 (KOD FX Neo, TOYOBO, 東京都) を用いた。添付のプロトコールに従い KOD Fx Neo 1ml, 2×PCR Buffer for KOD Fx Neo 25 ml, 2mM dNTPs 10ml, F primer (10mM)

5-CGAGCCACATTGGATTAGAAC-3 1ml, R primer (10mM) 5' - AATTGGGGATGAGATCTGCAA-3' 1 ml, DEPC Water 8ml の反応溶液を調整し、ここに作製した腫瘍組織ライセート 5ml (原液、あるいは 10 倍希釈、100 倍希釈したもの) を加え全量 50ml に調整した。そして、94℃ 120 秒にて熱変性を行い、98℃ 10 秒、60℃ 30 秒、68℃ 60 秒を 1 サイクルとし、計 40 サイクル行った後、68℃にて 7 分の最終伸長反応を行った。PCR 産物は、0.8%アガロースゲルにて 100V, 30 分電気泳動を行った。

結 果

腫瘍組織からのダイレクト PCR 法を確立するために、まず、最適なテンプレート濃度の検討を行った。神奈川県食肉衛生検査所において牛白血病と診断された牛の腫瘍形成部位のうち、好発部位である心臓から採取した腫瘍組織をアルカリ処理後、作製したライセート（2検体分）を原液，10倍希釈，100倍希釈し，PCRに供した。その結果，全ての濃度において732bpの目的産物(BLVpol領域)

の増幅がみられた（図1）。次に，様々な臓器由来の腫瘍組織から BLV プロウイルス遺伝子の検出が可能かどうかを検証するために，心臓以外に，大腸，腎臓，第四胃，肺，内側腸骨リンパ節および子宮（各2頭分）において形成された腫瘍組織を同様にアルカリ処理後，PCRに供した。その結果，全ての腫瘍組織で抗 BLV 抗体の検出と一致して BLV プロウイルス遺伝子が確認された（図2）。

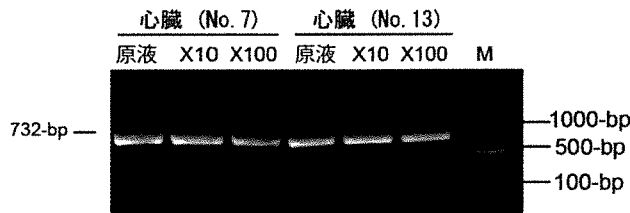


図1. 心臓由来腫瘍組織を用いたダイレクト PCR 法の検討 (M = DNA マーカー)

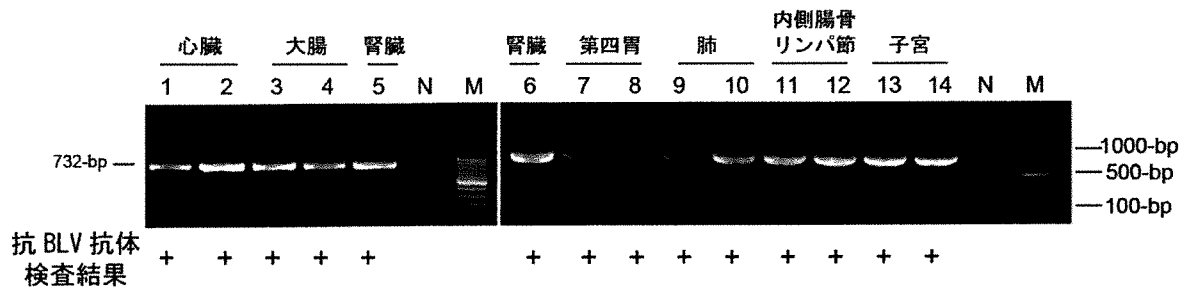


図2. 各種臓器およびリンパ節由来の腫瘍組織を用いたダイレクト PCR 法による BLV プロウイルス遺伝子検出 (N = 陰性対照, M = DNA マーカー)

考 察

本研究において，腫瘍組織から DNA 精製を行うことなく，安価で簡便なアルカリ処理を行うことにより，BLV プロウイルス遺伝子の検出が可能であった。牛白血病発症牛では，さまざまな臓器において腫瘍が形成されることが多いが，今回，好発部位の7ヶ所（心臓，大腸，腎臓，第四胃，肺，内側腸骨リンパ節および子宮）から採取した腫瘍について検討し，それら全ての臓器に形成された腫瘍において，BLV プロウイルス遺伝子の検出が可能であった。

本方法の利点として，PCR テンプレートとしてアルカリ処理により作製した腫瘍ライセートを原液で使用することが可能であり（図1），希釈などの過程を経る必要がなく手順が簡便であることが挙げられる。しかし，使用する腫瘍片が5mm角より大きいと，増幅産物が認められないか，スメア状にみえる場合もあったことから（データ未記載），溶出する腫瘍片の大きさが PCR 反応の成否に関係することが示唆された。

これまで BLV 感染の有無を診断する方法として広く用いられてきた牛白血病診断用抗原（北里研究所，神奈川）による寒天ゲル内沈降反応や，牛白血病抗体アッセイキット（日生研，東京）による受身赤血球凝集反応は，特殊な器具，機材を使用せず，少数検体での検査が可能であり，と畜検査時に使用する場合にも有用であった。しかし，両キットはそれぞれ2014年度および2017年度より発売停止となり，現在入手可能な抗体検出キットは，牛白血病エライザキット（株式会社 JNC 社，東京）のみとなっている。このキットの標準的な使用方法では96穴プレートの縦二列を最小単位（約3,500円）として使用することから，

日常的に少数検体を検査するような場合にはコストが高くなる。一方、血液を用いたりリアルタイム PCR 法や nested-PCR 法による BLV プロウイルス遺伝子検出方法は、少数検体に対応可能であるが、カラムなどを用いて精製した DNA を使用する必要があり、操作も煩雑であることがデメリットとして挙げられる。この点を解決するために、全血を直接 PCR チューブにて反応させることが可能なダイレクト PCR 法が、我々や他の研究グループにより報告されてきた^{4,5,6)}。しかし、小西らの研究結果によると、牛白血病と考えられる牛の摘発場所は、農場での摘発が 34%、と畜検査での摘発が 67%であり、と畜検査での摘発の 70%が生体検査で異常の認められない症例であった²⁾。このデータは、と畜検査で初めて EBL 発症牛の多くが摘発されることを示している。本方法は、と畜検査後に採材された少量の腫瘍組織を材料とすることが可能であり、生前診断が難しい症例においても、EBL の腫瘍病変から直接的に BLV プロウイルス遺伝子を検出する簡易な方法として現場での利便性があると考えられる。

謝 辞

本研究に使用した腫瘍検体の採材にご協力いただいた神奈川県食肉衛生検査所の方々に感謝する。

文 献

- 1) 農林水産省消費・安全局動物衛生課. 監視伝染病の発生状況. : 農林水産省 HP http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html. 2017.
- 2) 小西美佐子: 最新の家畜疾病情報 (6) 地方病性牛白血病 (EBL) 日本獣医師会雑誌 68(6):352-354.2015.
- 3) 山奈津子・佐藤敏彦・岡田聖恵・齋藤亜由子・山本千草・横井智: と畜検査における牛白血病の補助的診断としての血清学的診断の有用性. 北海道東藻琴食肉衛生検査所 平成 22 年版調査研究. 2010
- 4) 小林朋子・綿貫園子・菊池柚衣・竹嶋伸之輔・間 陽子・村上覚史: ダイレクト PCR 法による牛白血病ウイルスの簡易同定法の開発と、本法を用いた疫学調査. 山口獣医学雑誌 (43):21-27.2016.
- 5) Nishimori, A., S. Konnai, R. Ikebuchi, T. Okagawa, A. Nakahara, S. Murata, and K. Ohashi : Direct *polymerase* chain reaction from blood and tissue samples for rapid diagnosis of bovine leukemia virus infection. J Vet Med Sci 78(5):791-796.2016.
- 6) Takeshima, S. N., S. Watanuki, H. Ishizaki, K. Matoba, and Y. Aida : Development of a direct blood-based PCR system to detect BLV provirus using CoCoMo primers. Arch Virol 161(6):1539-1546.2016

症 例

膵炎と診断した猫 8 症例における腹部超音波所見の検討

大黒屋 勉¹⁾、大黒屋 有美¹⁾

[2017年12月21日受付・2017年12月25日受理]

CLINICAL CASE

Ultrasonographic findings in feline pancreatitis: 8 cases

Tsutomu DAIKOKUYA and Yumi DAIKOKUYA

Pancreatitis of cats is a common disease in small animal practice. However, establishment of the diagnosis is difficult by only one examination techniques; a comprehensive examination is always needed for a definitive diagnosis of pancreatitis. We performed ultrasonographic examination in 8 cats suspected to have pancreatitis according to their clinical symptoms, abdominal radiograph findings, and blood test result. We studied retrospectively about 6 findings; pancreatic echogenicity, pancreatic thickness, pancreatic margination, pancreatic duct dilation, common bile duct dilation, and peripancreatic fat echogenicity in relation to pancreatitis in the past literature. All 8 cats showed pancreas which indicate high echogenicity, low echogenicity or mixed echogenicity. Among 6 findings irregular margination and high- echogenicity of peripancreatic fat were detected in 5 of 8 cats. These findings supposed to be helpful findings to detect feline pancreatitis.

要 約

猫の膵炎は小動物臨床において遭遇する可能性の高い疾患の一つである。しかし単独の検査で確定診断を得ることは難しく、各種検査による総合的な診断が必要となる。今回、臨床症状、腹部 X 線検査および血液化学検査より膵炎と診断した猫 8 症例に対して、過去の文献で膵炎と関連付けられた 6 つの超音波所見（膵臓のエコー源生、膵左葉の幅、膵臓辺縁の形状、膵管の拡張、総胆管の拡張、および膵臓周囲脂肪組織のエコー源生）について回顧的に検討を行った。全症例で低エコー性または混合エコー性の膵臓が描出された。また、膵臓辺縁の不整および膵臓周囲脂肪組織の高エコー性変化が、8 症例中各 5 症例で認められた。これらの所見は猫の膵炎を診断する上で有益な所見のひとつであることが改めて示唆された。

キーワード：猫の膵炎、辺縁の不整、膵臓周囲脂肪組織の高エコー性変化

はじめに：猫の膵炎は一般臨床の現場で遭遇する疾患であるが、診断が難しい疾患の一つである。確定診断には病理組織学的検査が必要とされるが、すべての症例で組織生検を行うことは臨床の現場において困難と考えられる。腹部超音波検査は症例に対する侵襲性が極めて低いことに加え無麻酔、無鎮静下で行えることから日常診療での汎用性が高い検査の一つである。今回、膵炎と診断

した猫 8 症例における膵臓の腹部超音波所見を回顧的に検討した。

症例：8 症例はすべて雑種猫で、年齢は 5 か月齢から 16 才齢（平均 10.4 歳）、雄 5 頭、雌 3 頭であった。すべての症例において嘔吐または元気食欲の低下を含む臨床症状が認められた（表 1）。またすべての症例で、血液検査、胸腹部 X 線検査、

1) みさお動物病院 〒740-0022 山口県岩国市山手町 3-2-12 1F

および腹部超音波検査が行われた。本研究では、臨床症状に加え血液化学検査における血清リパーゼまたは猫膵特異的リパーゼのいずれかの上昇、または両者の上昇が認められた8症例について、腹部超音波検査の所見を比較検討した(表2)。

方法：検査機器として、ProSound SSD-3500 および α -7 (ALOKA 社)を使用した。腹部超音波検査は剃毛後に仰臥位で行い、高周波数(13MHz)のマイクロコンベックスまたはリニアプローブを使用して走査を行った。膵臓の描出は、仰臥位で胃の尾背側、門脈の腹側に膵左葉が、十二指腸の尾背側に膵右葉が位置するため⁹⁾これらの臓器を解剖学的指標とした(図1)。正常な膵臓のエコー源生は近接する肝葉と等エコー性またはやや高エコー性であり、また脾臓よりもやや低エコー性である⁹⁾。本研究では、過去の文献で膵炎と関連付けられた6つの超音波所見(膵臓のエコー源生、膵左葉の幅、膵臓辺縁の形状、膵管の拡張、総胆管の拡張、および膵臓周囲脂肪組織のエコー源生)について回顧的に検討を行った^{5) 6) 8) 9) 10)}。

結果：全8症例の腹部超音波所見を表にまとめた(表3)。**[膵臓のエコー源生]** 8症例すべてで膵臓の陰影が描出された。膵臓のエコー源生の内訳は低エコー性6例(図2)、混合エコー性2例であった(図3)。すべての症例で描出されたのは膵左葉であった。**[膵左葉の幅]** 膵左葉の幅は、膵左葉を縦断で描出し最も厚い部位の幅を測定した。全8症例における膵左葉の幅は3.5~9.0mm(平均7.0mm)であった。過去に膵炎に伴い膵左葉の幅が拡大したとの報告があり、10mm以下が正常とされている^{4) 11)}。しかし、本報告では最大でも9.0mmであり、すべての症例が10mm以下であった。また膵左葉の幅と症例の体重との間に相関関係は認められなかった。**[膵臓辺縁の形状]** 膵臓辺縁の形状は不整または平滑の2つに分類した。8症例中5症例(63%)の辺縁は不整であり、残り3症例では平滑であった(図4)。**[膵管の拡張]** 膵管は拡張すると膵臓内を縦走する血流の無い管腔として認められる。今回は8症例中2症例で膵管の拡張が認められ(図5)、いずれも年齢は16歳および17歳と高齢であった。**[総胆管の拡張]** 猫の肝外総胆管の幅は直径4mm以下が正常とされている⁵⁾。今回、1症例でのみ総胆管の拡張(直径4.2mm)が認められた(図6)。**[膵臓周囲脂肪組織のエコー源生]** 膵炎に伴う限局的な腹膜炎のため周囲の脂肪組織が高エコー性を呈すると考えられている。膵臓周囲脂肪組織のエコー源生につ

いては8症例中5症例においてエコー源生の上昇が認められた(図7)。8症例中1症例(症例6)で死後に解剖が行われた。病理組織検査において膵臓全体に広がる慢性炎症性病変が認められ、慢性膵炎と診断された(図8)。

考察：猫の正常な膵臓は周囲の脂肪組織とのコントラストが乏しいため超音波検査での検出が難しいとされている⁷⁾。今回、全8症例で膵臓の陰影が描出された。これにより、すべての症例で膵臓と周囲の脂肪組織との間にコントラストを生じる変化が起きていたと考えられた。組織学的診断を除き、猫の膵炎の診断において最も信頼性が高いのは猫膵特異的リパーゼの測定と腹部超音波検査の組み合わせと考えられている¹³⁾。しかし、猫膵特異的リパーゼの上昇と腹部超音波検査における膵炎を示唆する所見との一致をCohenの κ 係数で比較検討した文献があるが、一致するという結果は得られていない⁶⁾。また血清リパーゼの測定は急性膵炎の診断には価値がないとする報告もある¹²⁾。しかし、本研究においては血清リパーゼの顕著な上昇が認められた症例では猫膵特異的リパーゼにも上昇が認められ、また膵臓のエコー源生にも変化が認められた。これにより、限定的ながら血清リパーゼ測定の臨床的な意義はあるのではないかと考えられた。

今回、全症例で描出された膵臓の部位は、膵左葉であった。これは猫においては膵左葉が膵右葉、膵体部と比較して最も大きく、また上部消化管ガスの影響を受けにくい解剖学的位置にあるためと考えられた^{4) 9)}。しかし、腹部超音波検査で膵臓の陰影が描出されたとしても、膵炎に特異的な所見とは言えない^{1) 12)}。膵臓の腫瘍病変は単一の大きな病変であることが多く、結節性過形成は多数の小病変からなることが多いと報告されている²⁾。また、急性膵炎と慢性膵炎とを超音波検査のみで区別することはできない¹⁾。過去に、腹部超音波検査で膵管の拡張が認められ、死後の剖検で膵炎と診断された高齢猫の報告がある¹⁰⁾。しかし猫の膵管拡張は加齢との間に相関関係があるとも報告されている^{3) 4)}。これらの報告を加味し、超音波検査を膵炎の効果的な診断ツールとするためには、新しい診断基準を定める必要がある⁸⁾。本報告において最も多くの症例で認められた腹部超音波所見は、膵臓辺縁の不整(5/8)および膵臓周囲脂肪組織の高エコー性変化(5/8)であった。このことから、これら2つの所見が猫の膵炎を診断する上で他の所見と比較してより有益であることが改めて示唆された。

表1. 症例の年齢, 性別, 体重および臨床症状

症例	品種	年齢	性別	体重	臨床症状
症例 1	雑種	7 才	去勢オス	5.5 kg	嘔吐, 黄疸
症例 2	雑種	5 才	去勢オス	6.2kg	元気食欲低下, 嘔吐
症例 3	雑種	12 才	避妊メス	3.1kg	疼痛, 食欲低下
症例 4	雑種	16 才	避妊メス	3.2kg	嘔吐(急性・頻回)
症例 5	雑種	5 か月	オス	3.0kg	嘔吐(急性・頻回)
症例 6	雑種	17 才	避妊メス	2.9kg	嘔吐, 食欲廃絶, 黄疸
症例 7	雑種	16 才	去勢オス	2.8kg	下痢, 嘔吐, 体重減少
症例 8	雑種	10 才	去勢オス	4.1kg	虚脱, 脱水, ケトアシドーシス

表2. 症例毎の血漿リパーゼ値および猫特異的リパーゼ値

症例	LIPA (100 - 1400 U/L)	specFPL (< 2.6 µg/L)
症例 1	上昇 2007	—
症例 2	上昇 2519	—
症例 3	上昇 3403	やや高値 3.7
症例 4	上昇 1466	正常 2.7
症例 5	上昇 3153	高値 11.9
症例 6	正常 1066	高値 >50
症例 7	正常 1046	高値 26.3
症例 8	上昇 1453	高値 11.7

表3. 腹部超音波検査の所見

症例	エコー源性	幅(左葉)	辺縁	膵管拡張	総胆管拡張	周囲脂肪
症例 1	低エコー性	6.5 mm	不整	なし	なし	高エコー性
症例 2	低エコー性	4.2 mm	平滑	なし	なし	正常
症例 3	低エコー性	3.5 mm	平滑	なし	なし	正常
症例 4	低エコー性	6.6 mm	平滑	なし	なし	高エコー性
症例 5	低エコー性	9.0 mm	不整	なし	なし	高エコー性
症例 6	混合エコー性	7.3 mm	不整	あり	あり 4.2 mm	高エコー性
症例 7	混合エコー性	7.7 mm	不整	あり	なし	高エコー性
症例 8	低エコー性	7.5 mm	不整	なし	なし	正常

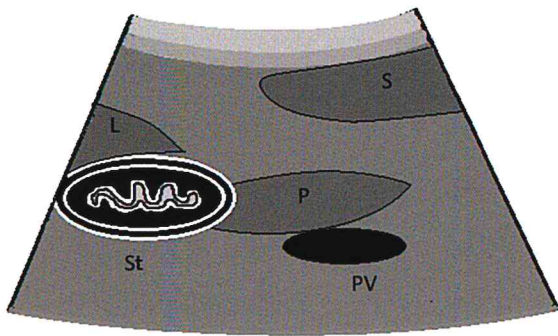


図1. 脾左葉の解剖学的位置を示した模式図.
 仰臥位にて腹部より端子を縦断で走査.
 P: 脾臓 (左葉) L: 肝臓 S: 脾臓 St: 胃
 PV: 門脈

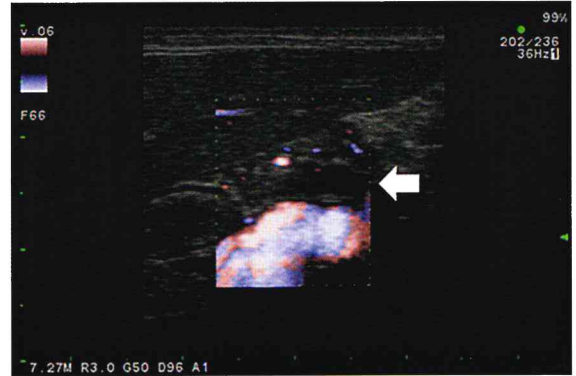


図5. 脾管の拡張 (矢印).
 脾臓内で血流の無い低エコー性の管腔構造を示す.

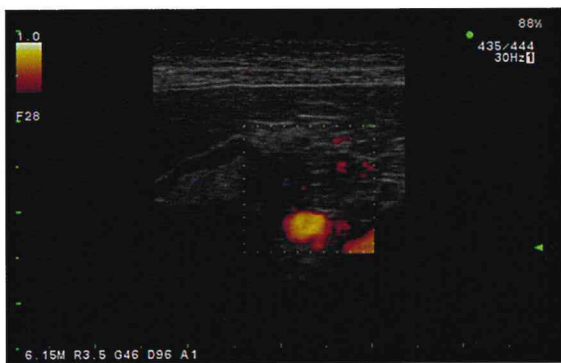


図2. 低エコー性の脾左葉. 腹側の血流は門脈血管を示す.



図6. 肝外総胆管の拡張.
 CBD: 拡張した総胆管 Duo: 十二指腸

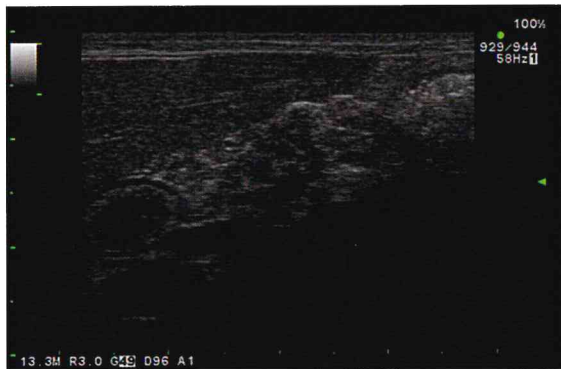


図3. 混合エコー性の脾左葉. 辺縁は不整.

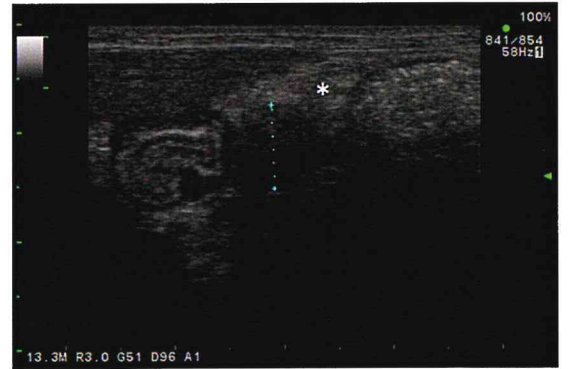


図7. 高エコー性を示す脾臓周囲脂肪組織 (*).

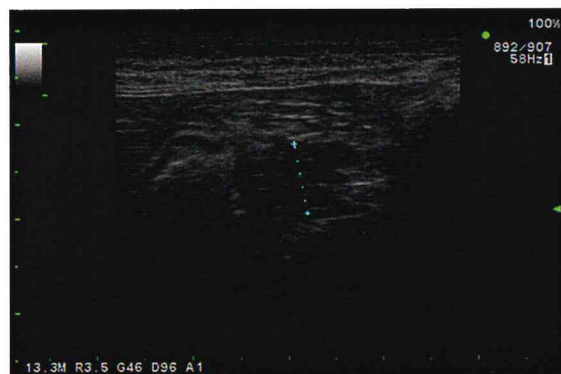


図4. 辺縁が平滑な脾臓.

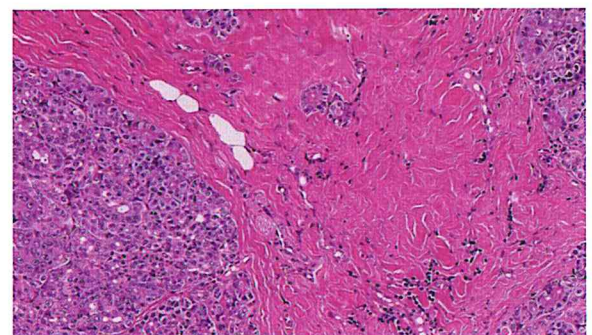


図8. 脾臓の病理組織像.
 全体に広がる慢性炎症性病変が認められた.
 HE染色 (X400) 病理診断および画像提供 アマネセル

参考文献

- 1) Ferreri JA : Clinical differentiation of acute necrotizing form chronic nonsuppurative pancreatitis in cats: 63 cases (1996-2001). *J Am Vet Med Assoc.*, Aug 15;223(4):469-474 (2001)
- 2) Hecht S: Imaging findings in pancreatic neoplasia and nodular hyperplasia in 19 cats. *Vet Radiol Ultrasound.*, Jan-Feb;48(1):45-50(2007)
- 3) Hecht S: Relationship of pancreatic duct dilation to age and clinical findings in cats. *Vet Radiol Ultrasound.*, May-Jun;47(3):287-294(2006)
- 4) Larson MM : Age-related changes in the ultrasound appearance of the normal feline pancreas. *Vet Radiol Ultrasound.*, May;198(3):238-242 (2005)
- 5) Leveille R: Sonographic evaluation of the common bile duct in cats. *J Vet Inter Med.*, Sep-Oct;10(5)296-299
- 6) Oppliger S: Agreement of serum feline pancreas-specific lipase and colorimetric lipase assays with pancreatic ultrasonographic findings in cats with suspicion of pancreatitis; 161 cases (2008-2012). *J Am Vet Med Assoc.*, May 1; 244(9):1060-1065(2014)
- 7) Saunders HM: Ultrasonography of the pancreas. *Probl Vet Med. Dec*;3(4)583-603(1991)
- 8) Saunders HM: Ultrasonographic findings in cats with clinical, gross pathologic, and histologic evidence of acute pancreatic necrosis: 20 cases (1994-2001). *J Am Anim Hosp Assoc.*, Dec 15; 221 (12): 1724-1730(2002)
- 9) Sheila M: Ultrasonography of the feline pancreas and associated anatomic landmark: a prospective study of 20 cats. *Vet Radiol Ultrasound.*, July;42(4):330-336(2006)
- 10) Wall M: Pancreatitis in a cat demonstrating pancreatic duct dilatation ultrasonographically. *J Am Anim Hosp Assoc. Jan-feb*;37(1)49-53(2001)
- 11) Williams JM: Ultrasonographic findings of the pancreas in cats with elevated serum pancreatic lipase immunoreactivity. *J Vet Intern Med.*, 27:913-918(2013)
- 12) Xenoulis PG: Current concepts in feline pancreatitis. *Top Comp Anim Med.*, Nov; 23(4): 185-192 (2008)
- 13) Xenoulis PG: Diagnosis of pancreatitis in dog and cats. *J Smal Anim Pract.*, Jan;56 (1): 13-26(2015)

平成 29 年度獣医学術中国地区学会賞受賞演題（山口県）

犬の *Phialosimplex caninus* 感染症の本邦初報告例

酒井麻衣¹⁾ 谷 健二¹⁾ 西川晋平¹⁾ 原口友也¹⁾ 板本和仁¹⁾ 檜山雅人¹⁾
井芹俊恵¹⁾ 伊藤良樹¹⁾ 中市統三¹⁾ 田浦保穂¹⁾ 加納 塁²⁾

〔2017年8月29日受付・2018年2月21日受理〕

1. はじめに：*Phialosimplex caninus* は2010年にGigler Lらによって *Aspergillus* 属から再分類された新種の糸状菌で、海外では犬のリンパ節などから分離されているが、本邦での報告は無い。*P. caninus* による犬の深在性真菌症は最近報告されたため、その診断・治療に関する臨床的な知見は乏しい。今回、我々は本菌による全身性真菌症と診断された症例に遭遇したので、その概要を報告する。

2. 症例：柴犬、6歳、去勢雄、12.5kg。元気喪失・抑うつを主訴に近医を受診。触診にて腹腔内に腫瘍が認められ、全身の精査を目的として山口大学動物医療センターに来院した（第1病日）。症例には海外渡航歴や免疫抑制剤の投与などの既往歴が無かった。腹部超音波検査およびCT検査から、腸骨下リンパ節および脾門部リンパ節の腫大が確認されたため、エコーガイド下で腸骨下リンパ節のツルーカット生検を実施した。頭部MRI検査では著変は認められなかった。リンパ節生検材料の細胞診には細胞外に多数の酵母様構造物が認められたため、同材料をクロラムフェニコール添加サブロードウ糖寒天培地上に接種し、32℃下で培養を行った。培養7日後に培地表面に白色から黄褐色の絨毛状の集落が多数確認され、集落を釣菌し、ポテトデキストロス寒天培地上で純培養を行った。培養14日後に集落の顕微鏡学的観察を行ったところ、隔壁の有する分岐した菌糸の先端にフィアライドを形成し、そこから大きさ約2.2×4mmの卵円形の分生子が数珠に産生されていた。分離株の遺伝子を抽出し、リボゾームのITS領域の塩基配列を解析したところ、GenBankに登録されている *P. caninus* の同遺伝子と100%の相同性が認められた。以上の結果から、本分離株を *P. caninus* と同定し、解析した遺伝子情報をGenBankへ登録した（GenBank accession number: LC230093.1）。第9病日の血中β-Dグルカン値は2650 pg/mlと高値を示し全身性真菌症が示唆された。また、第1病日に実施した病理組織学的診断は、真菌による肉芽腫性リンパ節炎であった。以上のことから、本症例は、*P. caninus* 感染による全身性真菌症であると診断された。

3. 治療および経過：第10病日からフルコナゾールによる治療を開始したところ、抑うつや虚脱するような機会は減った。第24病日、E-testによる薬剤感受性検査の結果から、イトラコナゾール（ITZ）治療に変更した。第122病日の定期検査では、症例の活発さは増したものの、天候が悪い日などには抑うつになることがあるとのことであった。同日実施したX線CT検査では第1病日と比べて全身リンパ節腫大の軽減は認められなかった。また、血中β-Dグルカン値は29040 pg/mlと更に高値を示した。このときの真菌培養では増菌できなかったことから、ITZは *P. caninus* の増殖抑制効果はあると判断し、ITZ治療を継続した。しかし、第185病日のCT所見に変化は無く、血中β-Dグルカン値は18620 pg/mlと依然高値を示し、生検材料から同じ真菌を分離することができた。ITZの最小発育阻止濃度（MIC）は0.002 mg/L未満だったものが0.012 mg/Lと若干抵抗性を示していることから、第233病日からボリコナゾールに変更した。

4. 考察：渡航歴が無く免疫抑制状態の無い症例に *P. caninus* 感染が顕在していることから、本邦においても腹部腫瘍の鑑別診断に本菌を含めた全身性真菌症が考慮されるべきかもしれない。全身性真菌症の診断には細胞診および血中β-Dグルカン測定が有用であったが、深在性真菌新菌症の場合には分離が困難なことを認識する必要があると思われた。一方、分子生物学的検査は本菌の同定に有用であった。

1) 山口大学・動物医療センター外科系診療科 2) 日本大学・獣医臨床病理学研究室

従来報告されている *Aspergillus* 感染症は鼻腔内や肺炎など呼吸器系での発症例が多く、本症例のような *P. caninus* の感染動態とは異なっているようである。本症例に対する治療は奏功しているとは言えず、過去の報告でも臨床症状の改善は認められるものの腫瘍の縮小や真菌陰性は確認されていないことから、症例の予後には注意が必要であると考えられた。今回、ポリコナゾールに変更したが、獣医領域での報告は少なく手探りで治療継続している。今後の結果を合わせて経過報告する予定である。

平成 29 年度獣医学術中国地区学会長賞受賞演題（山口県）

膀胱 / 尿道移行上皮癌に対し、膀胱尿道腔摘出術および小腸導管尿路変更術を実施した犬の 1 例

村田安哲¹⁾ 板本和仁¹⁾ 磯崎恒洋²⁾ 原口友也¹⁾ 西川晋平¹⁾ 檜山雅人²⁾
谷 健二²⁾ 井芹俊恵³⁾ 伊藤良樹³⁾ 中市統三³⁾ 田浦保穂²⁾

[2017 年 9 月 1 日受付・2018 年 2 月 26 日受理]

【はじめに】

犬の膀胱及び尿道における下部尿路系での悪性腫瘍は移行上皮癌が最も多く、リンパ節や肺への転移を起こすことから、侵襲性の強い腫瘍として知られている。本疾患に対する治療法としては外科的切除、化学療法、放射線治療などが挙げられるが、外科的切除には膀胱や尿道の全摘出術又は部分摘出術が実施される。全摘出術を実施した場合には排尿機能を維持するために、尿管を尿道、腔、包皮、腹壁などに吻合する尿路変更術が同時に実施されるものの、吻合部の狭窄や切除マージン不良などの技術的な問題点も報告されている。

今回、外尿道口付近まで腫瘍の浸潤が見られた膀胱尿道移行上皮癌罹患症例に対し、膀胱尿道全摘出及び腔の部分摘出を実施し、小腸を用いた小腸導管尿路変更術を実施したところ、良好な経過が得られているためその概要を報告する。

【症例】

ミニチュアダックスフンド、未避妊雌、9 歳齢、体重 4.9kg。嘔吐と頻回尿を主訴に近医を受診し、エコー検査にて膀胱及び尿道に腫瘤とそれに伴う尿路閉塞を指摘された。膀胱穿刺にて尿を抜去したものの、翌日も不調が続いたため山口大学動物医療センターの夜間診療を受診した（第 1 病日）。来院時には血液一般検査の結果より脱水が認められ、血液生化学検査では BUN、クレアチニン、無機リンの値が高値を示しており、尿路閉塞による糸球体濾過量の減少が疑われた。エコー検査では膀胱の充満と腹水の貯留が認められたため、腹水と尿を抜去した。腹水はクレアチニンが血漿中よりも高値を示していたため、貯留液は尿であり尿腹症と判断した。第 3 病日に全身麻酔下にて X 線 CT 検査、膀胱鏡による精査を行った。X 線 CT 検査では尿道、膀胱に石灰化を伴う腫瘤状病変を認め、膀胱鏡下生検による細胞診では細胞異型の強い移行上皮細胞が確認されたため、膀胱遠位から尿道近位の移行上皮癌を強く疑い、第 20 病日に膀胱尿道部分摘出術及び膀胱尿道吻合術を実施する治療計画をたてた。手術は恥骨と坐骨を切断し、骨盤腔内へアプローチした。尿道は肉眼的には骨盤より近位に腫瘤を形成しているのみであったが、触診を行うと外尿道口付近まで腫瘍の浸潤が疑われたため、尿道の温存を断念し、膀胱尿道全摘出術に計画を変更した。尿道は外尿道口付近で切断し、同時に外尿道口を含めた腔前庭部で卵巣子宮を全摘出した。また、膀胱側の切除断端においても細胞診を行うと腫瘍細胞が認められたことから尿管側に切除マージンを取りつつ膀胱全摘出術を実施した。術式の変更から、尿管を尿道、腔、腹壁に吻合する尿路変更術は不可能となったため、小腸を用いて導管を作成し、腹壁への尿路変更を実施することとした。小腸導管尿路変更術として小腸の一部 14cm 程度を腸間膜動静脈が 2 組繋がっている状態で自動吻合器にて切断、小腸導管を作成した。作成後の残存した小腸の近位と遠位は端々吻合し、作成した小腸導管の一端に尿管を扇形に開口させ、反対側を腹壁に開口させた。

術中に摘出した組織の病理組織学的検査結果では、尿道では細胞異型性を示す移行上皮細胞の出現が確認され、腫瘍細胞は基底膜を超えて筋層深部まで浸潤していた。一方膀胱は粘膜に非浸潤性の腫瘍細胞が確認されたことから腫瘍は尿道を原発とする移行上皮癌で、膀胱粘膜、腔筋層に浸潤したと考えられた。摘出した膀胱から尿管への浸潤を確認したところ、腫瘍性変化は認められず、切除マージンは充分であっ

たと判断した。

症例は術直後から導管開口部からの良好な尿流出を認め、ペット用おむつの着用で管理した。術後の X 線 CT 検査では、作成した小腸導管に血管造影剤による造影効果が認められ、血流は良好であることが確認され、また尿管から小腸導管への尿の流出も確認された。

現在、術後 334 日が経過するが、腹壁に開口させた小腸導管は閉塞することなく、良好な排尿機能を維持している。また、定期的な X 線 CT 検査においても腫瘍の転移は確認されず、全身状態は良好である。

【考察】

今回の症例では小腸導管を作成し、尿管を開口させて尿路を変更したことで、十分な切除マージンを確保しても腹壁まで尿路を開口できる長さを保つことができた。また直接腹壁に尿管を開口させた場合と比べ、皮膚吻合部における狭窄/閉塞及び、皮膚開口部からの感染の確率を下げることができると考えられた。その一方でデメリットとして、手術手技の煩雑さや血流不足による小腸導管壊死の可能性が挙げられる。

小腸導管造設術は人医療では頻繁に行われているが獣医学分野での報告はない。下部尿路系悪性腫瘍は小動物臨床領域では頻繁に遭遇する疾患であり、今後は症例数を重ねることで手技の向上、術後の臨床症状・治療成績を検討し、本術式の獣医療における有用性を検証したい。

山口獣医学雑誌 投稿規程

1. 山口獣医学雑誌（以下、雑誌という）に関する原稿の取り扱いは、この規程による。
 2. 原稿は2部（正本1部、コピー1部）を学会事務局あて送付する。
 3. 原稿は、編集委員会において審査し、原稿の採否及び掲載の順位は、編集委員会が決定する。但し、編集委員会は、内容に応じて専門家に原稿の審査を依頼することができる。また、審査の過程で著者への修正を求め、再審査を行うことがある。
 4. 審査の結果、採用と認められた原稿は、雑誌の印刷発刊後においても、原則として著者へ返却しない。
 5. 審査の結果、不採用と認められた原稿は、原則として、受付3か月以内に返却する。但し、この場合、不採用の理由を明らかにする義務を負わない。
 6. 原稿は、原則として、刷り上がり6ページ（1ページ約2,400字）以内とし、A4版の用紙を用い、1ページ24字×25行とする。
なお、制限紙数には、論文表題、著者名、所属機関名、図表、文献、写真など一切を含む。抄録は和文・英文のいずれにおいても、制限紙数に含まれる。制限紙数を超過した分および、カラー写真については、著者実費負担とすることがある。但し、編集委員会の依頼による総説論文の原稿は、この限りではない。
 7. 和文原稿は、現代かなづかい、平仮名、横書き、楷書で記述し、英文抄録は刷り上がり1ページ以内とする。英文原稿は、A4判の用紙にダブルスペースで印字するとともに、別に簡潔に要約した和文抄録（刷り上がり1ページ以内）を添付する。
なお、要約の最下段には、原著で5語以内、短報では3語以内のキーワードを記載する。
 8. 図表並びに写真は、まとめて原稿の最後につけ、論文中に、それらを置く位置を明確に指定する。写真は原則として「手札判」以上の大きさとし、番号をつける場合は直接写真に記入せず台紙に位置と番号を記入する。必要に応じて、天地左右を指定する。
 9. 表の天とじ登載を必要とする場合はその旨原稿に明記する。
 10. カラー写真をトリミングする場合はコピー（白黒で可）について記入指定する。
 11. 凸版の原図は、黒インク等でA4版の青色方眼紙または白紙に明記する。原図および写真の送付にあたっては、折・汚損に留意し、台紙に仮付する。
 12. 引用文献は、本誌、本文に引用したものに限り、著者名、論文表題、掲載誌、巻（号）、始頁～終頁、西暦年を明記し、原則としてアルファベット順に配列し、番号をつけ、下記の様式で記載する。特に句読点に注意し、イタリック字体は赤線のアンダーラインで指定する。
- 例 **雑誌**
- 和文： 5) 松本正弘・中村一夫：人および動物血液中の日本脳炎ウイルス中和抗体の分布と推移について。熱帯医学, 15(6): 272～285, 1975.
- 英文： 18) Lawrence J. E. and Clark, D. H.: The Lysis of Leptospire by Antiserum. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 24(2): 250～260, 1975.
- 単行本**
- 和文： 7) 山村雄一・石坂公成：免疫化学概論, 2版: 15～18. 朝倉書店, 東京, 1973.
- 英文： 15) Smith, H. A., Jones, T. C. and Hunt, R. D.: Veterinary Pathology. 4th ed. Lea & Febiger Pub., Philadelphia. U.S.A. 1972.
13. 外国人名、地名などは、原語のまま記述し、数字は算用数字、度量衡はメートル法による。
 14. 印刷の校正は編集委員が行う。但し、初校は著者も行うものとし、この場合、原則として、内容の訂正は認めない。
 15. 別刷は、100部まで無償で贈呈する。それ以上の部数については、著者実費負担とする。必要部数については、初校（著者校正）のとき、原稿の右上端に朱書すること。
 16. 掲載論文の著作権及び電子的形態による利用も含めた包括的な著作権は、公益社団法人山口県獣医師会に帰属する。
 17. この規程の改廃は、編集委員会の議を経て、理事会で決定する。

附 則

1. この規程は、平成24年12月13日から施行する。（3項、16項、17項改正）

山口獣医学雑誌編集内規

- 第1条 雑誌は、原則として毎年12月に定期刊行する。
- 第2条 編集は家畜衛生、小動物医療、獣医公衆衛生及び関連領域の総説、原著、短報、資料等で会員等の寄稿原稿及び学会の依頼原稿について行う。
但し、会員外の者が筆頭著者の場合は、投稿料20,000円を徴収する。
- 第3条 学会長は、学会運営委員の中から編集委員若干名を委嘱し、委員会を設置する。
- 第4条 学会長は、学会事務局に発刊、配付、寄贈、交換、広告取得等の事務を担当させる。
- 第5条 委員の任期は2年とする。ただし、再任を妨げない。
- 第6条 編集委員会
- (1) 委員会は、学会長が必要に応じて招集する。
 - (2) 委員長並びに副委員長は、委員の互選による。
 - (3) 委員会は、寄稿原稿の採否について審査する。
 - (4) 委員会は、発行部数を決定する。
- 第7条 内規に定めない事項は、編集委員会において決定する。
- 第8条 内規の改廃については編集委員会の議を経て、理事会で決定する。

附 則

1. この内規は、昭和54年（1979年）10月13日から実施する。
2. 平成22年11月18日一部改正（第1条、2条、8条）
3. 平成24年12月13日一部改正（第2条、3条、6条、8条）

山口県獣医師会関係事業および刊行物

事業概要

獣医学術の振興・普及・獣医療技術の向上，獣医事の適正化，動物愛護精神の高揚を基調として，畜産の振興，公衆衛生の向上並びに動物保健衛生の向上に関する事業を行い，人と動物による健全かつ豊かな生活と公共福祉の増進に寄与する。

学会・講習会・研修会

山口県獣医学会

1962年第1回開催，毎年1回開催，2017年現在，第55回学会を終了。

講習会・研修会

産業動物，小動物，獣医公衆衛生並びに同関係の講習・研修会を県獣医師会主催で開催するほか，中国地区獣医師会連合会，公益社団法人日本獣医師会，農林水産省，厚生労働省等との共催，後援等により年5～6回実施。

刊行物

[定期刊行物]

・山口県獣医師会会報

1961年6月創刊，毎月1回発行，現在（2017年12月）第679号を発刊。機関事業・方針，提言・要望，学会・学術情報・広報・行事開催，一般公開情報，関連統計等を登載，県内会員，関連機関および全国都道府県獣医師会等へ配布。

・山口獣医学雑誌

1974年1月創刊，毎年1回発行，現在（2017年12月）第44号を発刊。和文，英文の総説，原著，症例報告，短報等，論文を登載。山口県獣医学会の機関誌として内外の学術誌と交換。

・山口県獣医学会抄録

毎年8月発刊

・研修・講習会テキスト

[不定期刊行物]

・技術マニュアル

・事業実施マニュアル

・創立記念号

30年の歩み，50年の歩み等

山口獣医学雑誌

第44号

2017年12月発行

編集委員長	度会雅久	編集委員	澤井利幸
副編集委員長	白永伸行		野村恭晴
			藤田 亨
			中市統三

発行責任者	公益社団法人 山口県獣医師会
	会長理事 山野 洋一
	〒754-0002
	山口県山口市小郡下郷1080番地3
	TEL (083) 972-1174
	FAX (083) 972-1554
	E-mail yama-vet@abeam.ocn.ne.jp
	http://www.yamaguchi-vet.or.jp

印刷所	コロニー印刷
	山口県防府市大字台道522番地

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 44

DECEMBER

2017

CONTENTS

REVIEW

Legionella and the protist host

Kenta WATANABE and Masahisa WATARAI 1 ~ 8

Actinomycetaceae showing pathogenicity in animals

Satoshi MURAKAMI, Yasushi TORII and Tomoko KOBAYASHI 9 ~ 18

ORIGINAL ARTICLE

Advice for food-related companies to promote advancement of higher-level food hygiene management

Hiromi TANAKA, Yuji HORIKIRI and Kazunori ITO 19 ~ 22

Leucocytozoonosis in chickens

Hiromi TANAKA, Yuji HORIKIRI and Kazunori ITO 23 ~ 26

SHORT COMMUNICATION

DIRECT DETECTION OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS IN TUMOR TISSUES

Nagaki OHONUKI, Satoshi MURAKAMI and Tomoko KOBAYASHI 27 ~ 30

CLINICAL CASE

Ultrasonographic findings in feline pancreatitis: 8 cases

Tsutomu DAIKOKUYA and Yumi DAIKOKUYA 31 ~ 35

Systemic mycosis due to Phialosimplex caninus in a dog: the first case report in Japan

Mai SAKAI, Kenji TANI, Shinpei NISHIKAWA, Tomoya HARAGUCHI, Kazuhito ITAMOTO,

Masato HIYAMA, Toshie ISERI, Yoshiki ITO, Munekazu NAKAICHI,

Yasuho TAURA and Rui KANO 37 ~ 38

Total cystectomy and subsequent Ileal conduit urinary diversion in a dog with bladder and urethral transitional cell carcinoma.

Asato MURATA, Kazuhito ITAMOTO, Tunehiro ISOZAKI, Tomoya HARAGUCHI,

Shinpei NISHIKAWA, Masato HIYAMA, Kenji TANI, Toshie ISERI, Yoshiki ITO,

Munekazu NAKAICHI and Yasuho TAURA 39 ~ 40