

7. 黒毛和種の肥育牛に発生したロドコッカス・エクイ感染症の一例

大分家畜保健衛生所

○病鑑 河上友、病鑑 磯村美乃里

【はじめに】

ロドコッカス・エクイ感染症は、*Rhodococcus equi*によって引き起こされる疾病である。*R. equi*はグラム陽性無芽胞好気性桿菌で、細胞内に寄生する。また、細胞壁の構成成分にミコール酸を有し、弱好酸性を示す。これらの性状は結核病の原因菌である*Mycobacterium bovis*と類似し、そのためロドコッカス・エクイ感染症では肉芽腫や乾酪壊死様の病変といった、結核病様の病変が形成される[1]。

ロドコッカス・エクイ感染症は一般には子馬に重篤な肺炎や腸炎を引き起こすとされており、牛での発生の報告は少ない。今回、県内の黒毛和種の肥育牛で、肺やリンパ節に乾酪壊死様病変が顕著に認められた症例が発生し、病性鑑定の結果、ロドコッカス・エクイ感染症と診断したので、その概要を報告する。

【発生経過】

2017年7月18日、飼養頭数310頭規模の肥育農場で、2016年12月12日に県内子牛市場より導入された19カ月齢の黒毛和種の肥育牛に腸骨下リンパ節の腫大と間欠的な排膿がみられた。2017年10月23日には鼠径部に新たな腫瘤の形成と排膿がみられ、同年11月16日には呼吸器症状も認められたため、同年11月22日に予後不良として鑑定殺に供された。

当該牛については成牛型牛白血病を疑って、2017年7月18日及び11月16日にBLV ELISA検査を実施したが、いずれも抗体陰性であった。また、治療歴としては、初診の7月18日より、抗生物質とステロイド剤による治療を実施していた。

【外貌所見及び剖検所見】

外貌所見：腸骨下リンパ節が腫大し、排膿していた（図1）。また、鼠径部に腫瘤がみられ（図2、左写真）、左側の腸骨下リンパ節も腫大していた（図2、右写真）。

剖検所見：腸骨下リンパ節、内腸骨リンパ節及び鼠径リンパ節に境界明瞭な淡黄色の結節が多数形成されており、その外観は乾酪壊死様であった（図3）。肺は表面に凹凸がみられ、その断面にはリンパ節と同様の乾酪壊死様の病変がみられた（図4）。縦隔、鼠径部及び腹腔内にも同様の病変が多数認められた。



図1 外貌所見
リンパ節の腫大



図2 外貌所見
リンパ節の腫大



図3 剖検所見
複数のリンパ節に乾酪壊死様病変腫大

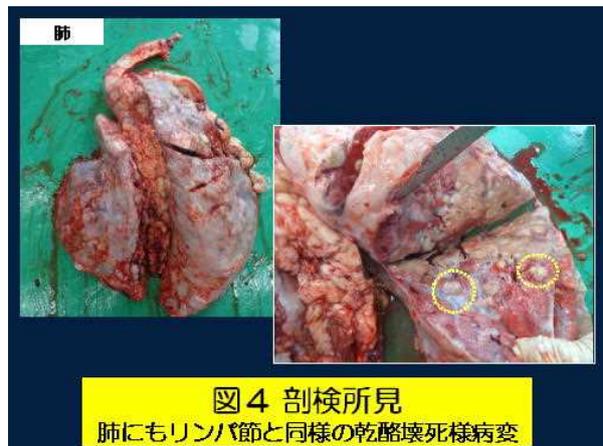


図4 剖検所見
肺にもリンパ節と同様の乾酪壊死様病変

【鑑別診断（図5）】

臨床症状としてみられた複数リンパ節の腫大と呼吸器症状から、腫瘍、細菌感染、真菌感染等が鑑別診断として上げられ、病理及び細菌学的検査が必要と考えられた。

また、剖検所見としては乾酪壊死様病変が顕著であったが、これについては肉芽腫や膿瘍と考えられた。

特に肉芽腫については、家畜伝染病である結核病（牛）を第一に否定すべきと考え、その他に非結核性抗酸菌症、放線菌症、真菌感染症等の鑑別診断が必要と考えられた。それらの診断のためには、細菌学的検査として抗酸菌分離やPCR法、病理学的検査として組織切片上で肉芽腫病変の確認、Ziehl-Neelsen染色による抗酸菌の確認、補助診断として免疫組織化学的検査、その他真菌や細菌を染色する特殊染色が必要と考えられた。膿瘍については、トゥルエペラ・ピオゲネス感染症等の細菌感染症の鑑別診断が必要と考えられ、診断のためには菌分離等の細菌学的検査、グラム染色等の細菌を染色する特殊染色の実施が必要と考えられた。



図5 鑑別診断

【病性鑑定の材料および方法】

(1) 細菌学的検査

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、腸骨下リンパ節、内腸骨リンパ節及び鼠径リンパ節について定法に従い菌分離を実施した。

また、肺、腸骨下リンパ節、内腸骨リンパ節及び鼠径リンパ節については抗酸菌培養と遺伝子検査を実施した。

(2) 病理組織学的検査

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、第四胃、腸骨下リンパ節及び内腸骨下リンパ節について定法に従いHE染色及び特殊染色（グラム染色、Ziehl-Neelsen染色、グロコット染色、PAS染色、ムチカルミン染色）を実施した。

また、動物衛生研究部門にて家兎抗*Mycobacterium bovis* (BCG) 血清及び家兎抗*R. equi*血清を用いた免疫組織化学的検査（免疫染色）を実施していただいた。

【検査成績】

(1) 細菌学的検査

肺、腸骨下リンパ節、内腸骨リンパ節及び鼠径リンパ節から*R. equi*が分離され、すべての株からVapN遺伝子が検出された。*Mycobacterium bovis*を含む抗酸菌は分離されなかった。

(2) 病理組織学的検査

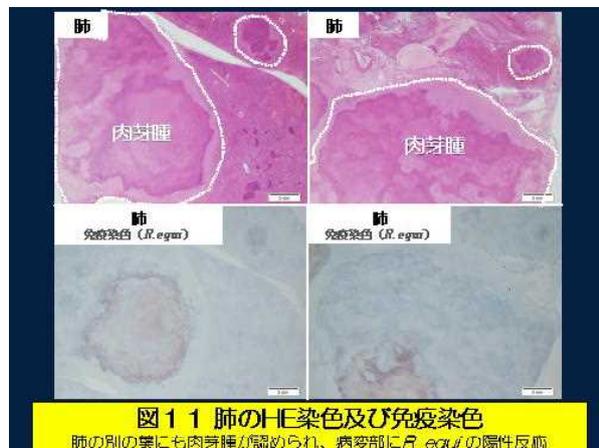
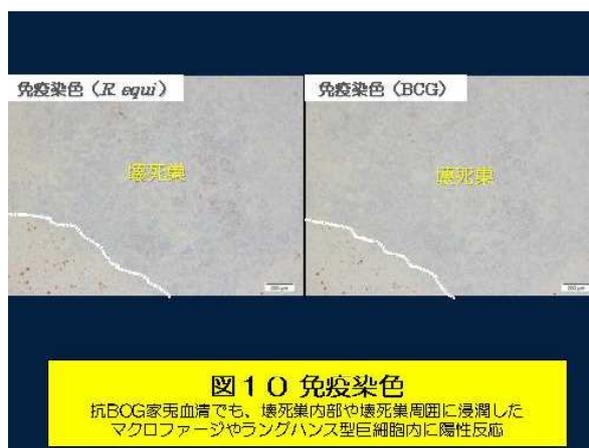
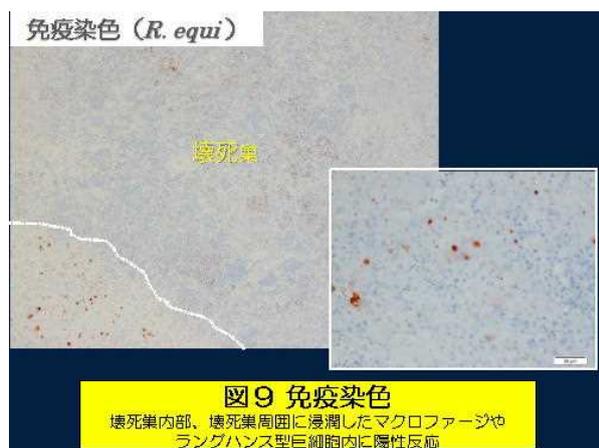
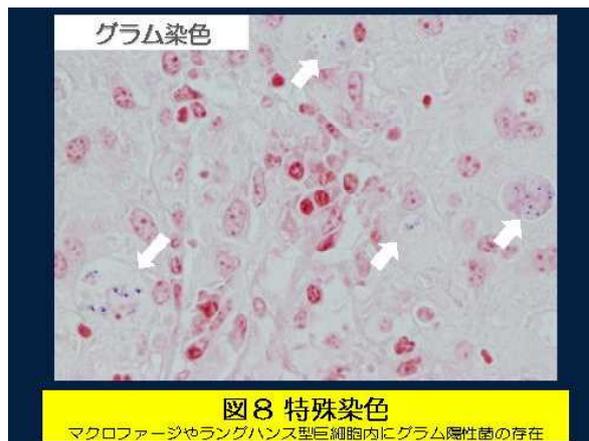
肺のHE染色では、中心部が凝固壊死に陥り、周囲にマクロファージやラングハンス型巨細胞の浸潤がみられる肉芽腫が多発性に形成されていた（図6, 7）。好中球の浸潤も認められ、組織学的には化膿性肉芽腫性炎と考えられた。

また、特殊染色では、マクロファージやラングハンス型巨細胞内にグラム陽性菌の存在が確認され（図8）、Ziehl-Neelsen染色やムチカルミン染色では、染色される抗酸菌や真菌は確認されなかった。さらに免疫染色では、壊死巣内や、壊死巣周囲に浸潤したマクロファージやラングハンス型巨細胞内に、*R. equi*の陽性反応がみられた（図9）。BCGについても同部位に陽性反応が認められた（図10）。

肺の別の葉（図11）、腸骨下リンパ節及び内腸骨下リンパ節においても化膿性肉芽腫性炎がみられ、第四胃にも肉芽腫の形成が認められた。免疫染色ではそれらの病変部において、*R. equi*の陽性反応がみられた。（図12）



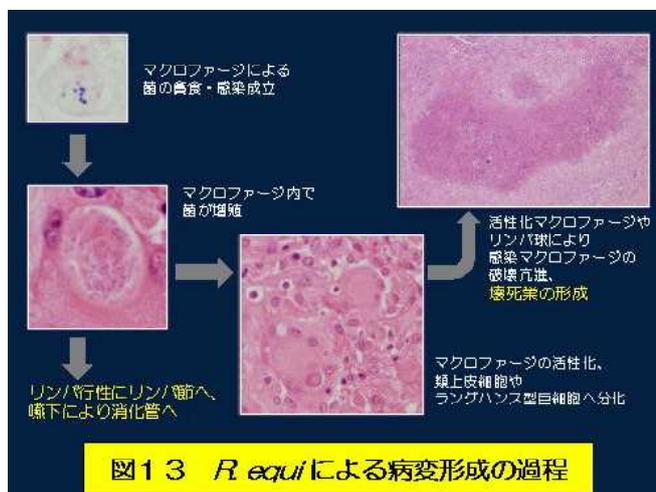
細菌学的検査で肺及びリンパ節から*R. equi*が分離され、*M. bovis*を含む抗酸菌は分離されなかったこと、病理組織学的検査で肺、第四胃、腸骨下リンパ節及び内腸骨下リンパ節で肉芽腫の形成が認められ、病変部にグラム陽性菌の存在と*R. equi*の陽性反応が確認されたことから、本症例を牛のロドコッカス・エキイ感染症と診断した。



【考察】

(1) *R. equi*による病変形成の過程について

*R. equi*による病変形成の過程は、菌の性状から、結核菌を含む抗酸菌に類似すると考えられている。マクロファージによって菌が貪食され、感染が成立すると、マクロファージ内で菌が増殖する。一方で、活性化したマクロ



マクロファージが類上皮細胞やラングハンス型巨細胞に分化し、感染マクロファージを取り囲んで肉芽腫を形成する。肉芽腫の中心部分の細胞が酸素欠乏やマクロファージの細胞傷害活性によって破壊されると、中心部に壊死巣が形成される[6, 7]。本症例についても組織切片上に、マクロファージによる菌の貪食・感染成立、マクロファージ内での菌の増殖、マクロファージの類上皮細胞やラングハンス型巨細胞への分化、肉芽腫と壊死巣の形成、といった病変を確認することができた(図13)。

動物	品種	年齢	症状・肉眼所見	組織所見	細菌学的検査	参考文献
馬	全般	0~2歳	・呼吸器症状 ・リンパ節炎	・化膿性肉芽腫形成 ・肺炎 ・腸炎	<i>R. equi</i> 分離 VapA遺伝子	獣医微生物学 第3版p122-123 動物病理学各論 第2版p113
山羊	ホアー	約5歳	・食欲不振 ・前産→産後 ・腹内に腫瘍 ・リンパ節腫大	・肉芽腫性肉芽腫 ・壊死性肉芽腫性リンパ節炎	<i>R. equi</i> 分離 VapN遺伝子	日獣誌 2015; 66(7):711-700
山羊	不明	産後13歳	・元氣消失→死亡 ・肺臓に腫瘍 ・リンパ節に腫瘍	・肝臓に多病巣性壊死性肉芽腫 ・肺、リンパ節、回盲部 ・回盲に壊死性肉芽腫	<i>R. equi</i> 分離 VapN遺伝子	2017年度 家畜衛生研究誌 (病態部門)
牛	黒毛和種	19カ月齢	・と畜場で発見 ・肺に腫瘍多発 ・リンパ節腫大	・多数のリンパ節に 肉芽腫	<i>R. equi</i> 分離 VapN遺伝子	J Vet Med Sci 2018; 80(6):19-622
牛	黒毛和種	19カ月齢	・リンパ節腫大 ・呼吸器症状 ・産後 ・肺に腫瘍多発 ・リンパ節に腫瘍	・肺、リンパ節に 化膿性肉芽腫性炎	<i>R. equi</i> 分離 VapN遺伝子	本症例

図14 国内既報症例と本症例の比較

(2) 国内既報症例と本症例の比較 (図14)

近年国内では山羊や牛のロドコッカス・エキイ感染症が報告されている[2-4]。それらは病理組織学的には馬のロドコッカス・エキイ感染症と同様で、肺、リンパ節や腸などに肉芽腫が形成されていた。一方、病馬由来の*R. equi*からはVapA遺伝子が検出されることが知られているが、近年国内で報告された山羊や牛のロドコッカス・エキイ感染症の菌株からは、VapAではなくVapN遺伝子が検出されており、本症例についてもVapN遺伝子が検出された。このVapN遺伝子は2015年にイギリスで報告されたもので、牛のリンパ節病変由来の*R. equi*より検出されている[5]。

また、本症例は、病理組織学的に肺及びリンパ節に化膿性肉芽腫性炎が認められ、これはVapN遺伝子を保有する*R. equi*による牛のロドコッカス・エキイ感染症の国内初報告例と同様であった。

【まとめ】

今回、19カ月齢の黒毛和種の肺及びリンパ節に乾酪壊死様病変の形成が認められ、病性鑑定を実施したところ、細菌学的検査では肺及びリンパ節から*R. equi*が分離された。また、病理組織学的検査では肺及びリンパ節に化膿性肉芽腫性炎が認められ、免疫染色で病変部に一致して*R. equi*陽性反応がみられた。これらの結果から、本症例を牛のロドコッカス・エキイ感染症と診断した。

本症例については腸管の採材はされなかったが、馬では腸管病変が認められることも多く、山羊のロドコッカス・エキイ感染症の国内既報症例でも腸管に病変が見られており[2, 4]、牛でも腸管の採材は必要と考えられた。

これまで*R. equi*は牛には病原性が低いとされてきたが、本症例のように顕著な病変を形成することもあり、その病態や病原性関連遺伝子との関連性の解明のため、症例の蓄積が必要である。

また、ロドコッカス・エキイ感染症は、肉芽腫や乾酪壊死様病巣の形成といった点が結核病(牛)と臨床的に類似しており、鑑別診断において重要な疾病と考えられる。

【謝辞】

本症例の免疫組織化学的検査を実施していただいた、農研機構動物衛生研究部門病態研究領域 山田学先生、ならびに細菌学的検査について御助言・御協力いただいた細菌・寄生虫領域 永田礼子先生に深謝致します。

【参考文献】

- [1] 後藤義孝, 放線菌関連 D. その他の放線菌関連菌と感染症 3) ロドコッカス属, 獣医微生物学, 見上彪ら, 第3版, p.122-123, 永井富久, 東京都, 2011
- [2] 中尾聡子ら, 山羊のロドコッカス・エクイ感染症国内初症例, 日獣会誌, 68, p.751-755, 2015
- [3] Ryoko Nakagawa et al., A case report on disseminated *Rhodococcus equi* infection in a Japanese black heifer, The Journal of Veterinary Medical Science, 80 (5), p.819-822, 2018
- [4] 早島彬美, 家畜衛生研修会 (病性鑑定病理部門, 2017) における事例記録 (I) 山羊の肝臓における *Rhodococcus equi* による多病巣性壊死性肉芽腫, 日獣会誌, 71, p.501, 2018
- [5] Ana Valero-Rello et al., An Invertron-Like Linear Plasmid Mediates Intracellular Survival and Virulence in Bovine Isolates of *Rhodococcus equi*, Infection and Immunity, 83 (7), p.2725-3737, 2015
- [6] Mary K. Hondalus et al., Survival and Replication of *Rhodococcus equi* in macrophages, Infection and Immunity, 62, 10, p.4167-4175, 1994
- [7] Peter Parham, 6章 T細胞を介する免疫系 エフェクターT細胞の特性と機能, エッセンシャル免疫学, 笹月健彦, 第1版, p.171-172, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京都, 2007