

20 カマイルカ (*Lagenorhynchus obliquidens*)

にみられた播種性非結核性抗酸菌症

東青地域県民局地域農林水産部青森家畜保健衛生所

○相馬 亜耶 太田 智恵子
水島 亮 齋藤 豪
林 敏展 菅原 健
中村 成宗 中島 聡
盛田 淳三

1 はじめに

鯨類の抗酸菌症の報告は少なく、シロイルカで皮膚炎等を起こしたという報告があるが¹⁾、国内におけるカマイルカの播種性抗酸菌症の報告はまだない。

今回、県内水族館で飼育されているカマイルカの病性鑑定を行ったところ、播種性抗酸菌症と診断したので、その概要を報告する。

2 発生状況

病性鑑定を実施した個体はカマイルカ、雄、死亡時の年齢は推定7歳だった。

当該イルカは平成21年5月本県西方沖にて保護され、水族館に搬入された。7月に元気消失、体表に丘疹が認められたことから、抗生物質、抗炎症薬、肝機能改善薬等で治療を行ったところ、全身症状は改善したが、体表の丘疹は治癒しなかった。平成24年7月に丘疹対策としてヨクイニンを投与したが、効果を示さなかった。平成25年2月には尾びれの丘疹が血行性に尾びれ全体に拡大、一部に腫瘤を形成するなど悪化が見られたことから、丘

疹部皮膚の掻き取り検査を実施したところ、抗酸菌は認められなかった。しかし、有意菌も分離されず抗酸菌症を否定できなかったことから、抗酸菌に対する診断的治療としてリファンピシン、ミノサイクリン、オフロキサシン3剤を投与したが改善が認められなかったため、約1か月半で投与を中止した。平成26年5月に体温の低下、摂餌困難になる等、全身状態が悪化したことから、抗生物質投与を行ったが、6月20日に死亡した。

3 材料と方法

(1) 血液検査

平成21年5月から26年6月にかけて、計31回採血を実施した。

一般検査は血球計数装置で赤血球数(以下、RBC)、ヘマトクリット値(以下、Ht)、ヘモグロビン量(以下、Hb)、白血球数(以下、WBC)を測定した。また、血液塗抹標本を作成し、白血球百分比を測定した。

生化学検査はドライケミストリー法で総蛋白(以下、TP)、アルブミン(以下、Alb)、グル

コース(以下、Glu)、総コレステロール(以下、TC)、血中尿素窒素(以下、BUN)、AST、ALT を測定した。

血清蛋白分画はセルロース・アセテート膜電気泳動を実施後、デンシトメーターにて解析した。

(2) 病理学的検査

主要臓器、丘疹部皮膚、浅頸リンパ節について、10%ホルマリン固定後、常法によりパラフィン包埋、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を実施した。さらに、肺、丘疹部皮膚、浅頸リンパ節については、チール・ネルゼン染色を、丘疹部皮膚についてはアザン染色、PAS 染色、グロコット染色を実施した。

(3) 細菌学的検査

ア 直接鏡検

主要臓器、丘疹部皮膚、浅頸リンパ節のスタンプ標本をグラム染色とチール・ネルゼン染色したのち、直接鏡検した。

イ 分離培養

主要臓器、丘疹部皮膚、浅頸リンパ節について、常法に従い分離培養を実施した。さらに、1%小川培地、Middlebrook7H10 寒天培地、25°C及び37°C培養した。

分離された抗酸菌については、集落の性状、発育速度、光発色性の観察と、硝酸塩還元試験を実施した。

ウ 遺伝子検査

Kox²⁾らの方法に従い、*Mycobacterium tuberculosis* complex IS6110のPCRと、Telentiら³⁾の方法に従い*Mycobacterium*属 *hsp65*のPCR-RFLPを実施した。また、Uedaら⁴⁾の方法に従い*Lacazia loboi*に近縁な *Paracoccidioides brasiliensis* gp43のPCR

を実施した。

4 結果

(1) 血液検査

WBCの推移を図1に示した。

導入直後の平成21年5月に一度増加してから減少、WBCの低下が数度認められ、最も少ない時で、2,800/ μ Lを示した。

死亡2日前の生化学検査結果を表1に示した。RBC、Ht、Hbは通常より低下したが、WBCは18,800/ μ Lまで増加、その82%を好中球が占めていた。TP、Alb、Glu、TCは低下、AST、ALTは増加が認められた。

血清蛋白電気泳動像を図2に示した。健康カマイルカではTPが6.9g/dL、Albが4.2g/dL、A/Gが1.55であったが、症例ではTPが6.5g/dL、Albが3.6g/dL、A/Gが1.24であった。電気泳動像の比較ではAlbの減少から、相対的なグロブリンの増加が認められた。

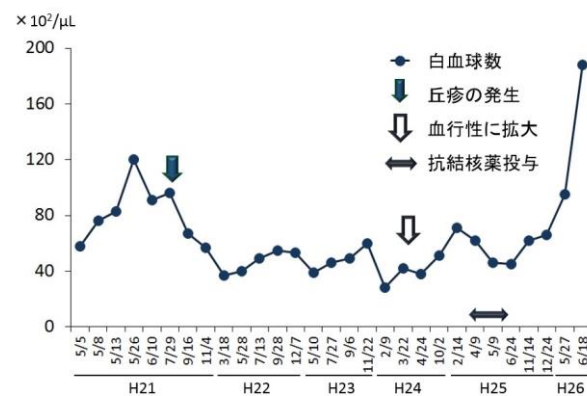


図1 WBCの推移

表1 生化学検査結果

RBC (万/ μ L)	Ht (%)	Hb (g/dL)	WBC (百/ μ L)	Neu (%)	Eos (%)	Lym (%)
450	42.5	15.4	188	82	1	17
TP (g/dL)	Alb (g/dL)	Glu (mg/dL)	TC (mg/dL)	BUN (mg/dL)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)
6.5	3.6	32	<50	29.9	498	144

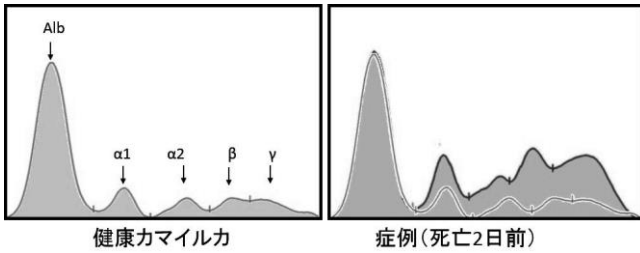


図2 血清蛋白電気泳動像



図3 外貌所見

(2) 病理学的検査

外貌を図3に示した。体長206cmに対し71kgと高度消瘦、体表に丘疹が多数散在し、尾びれでは血行性に拡大、尾びれには腫瘍が認められた。

解剖の結果、肺と胸壁の一部が線維化、肺の断面には胸膜下を中心に多発性巣状に白色結節を認め、気管内に泡沫貯留、耳下リンパ節高度硬結腫脹を認めた。

病理組織学的検査では、肺では図4に示すとおり、結節性に壊死と好中球の浸潤を主体とした化膿性壊死性肺炎と、図5に示すとおり、類上皮細胞と線維芽細胞の浸潤を主体とした肉芽腫性肺炎の2種類の病変を認めた。

丘疹部皮膚では、図6に示すとおり、真皮から表皮基底層を超えた類上皮細胞、線維芽細胞の浸潤を認め、アザン染色では、真皮において脂肪の減少と膠原線維の増生を認めた。PAS染色とグロコット染色で真菌等は認められなかった。

浅頸リンパ節では巣状壊死と、周囲に類上皮細胞、線維芽細胞の浸潤を認めた。

図7に示すとおり、肺、丘疹部皮膚、浅頸リンパ節のチール・ネルゼン染色では、約2~3μmの抗酸菌(矢頭)を多数認めた。

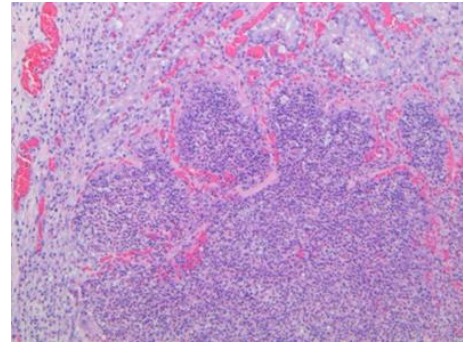


図4 化膿性壊死性肺炎 (HE 染色)

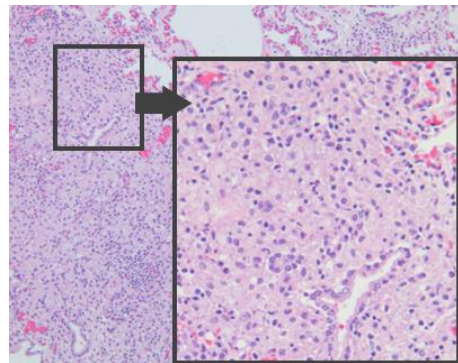


図5 肉芽腫性肺炎 (HE 染色)

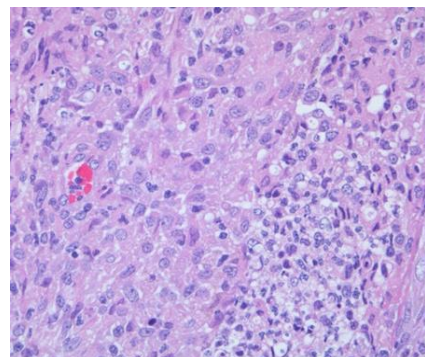


図6 肉芽腫性真皮炎 (HE 染色)

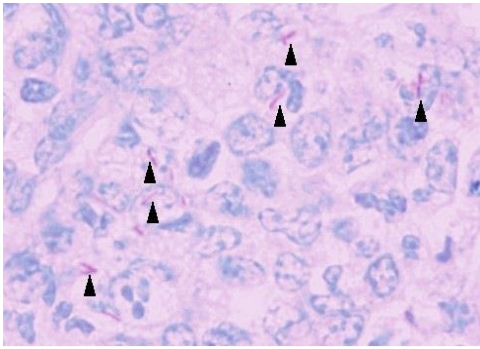


図7 丘疹部皮膚(チール・ネルゼン染色)

(3) 細菌学的検査

スタンプ標本の直接鏡検では、肺と丘疹部皮膚で多数のグラム陰性菌を、チール・ネルゼン染色では、肺、丘疹部皮膚、リンパ節で抗酸性小桿菌を確認した。

分離培養では、肺、丘疹部皮膚から *Vibrio alginolyticus*、*Proteus penneri*、*Schewanella putrefaciens* を分離した。肺、丘疹部皮膚、リンパ節の 25°C 培養、2~3 週間で *Mycobacterium* 属菌を分離した。

分離された *Mycobacterium* 属菌の生化学性状は硝酸塩還元能陰性、光発色性は照射後に黄色に発色した。

遺伝子検査では IS6110 及び *gp43* は陰性であった。*hsp65* の PCR-RFLP 検査では、図 8 に示すとおり *BstE II* で 245bp と 220bp 付近に、*Hae III* で 160bp、115bp、80bp 付近にバンドが確認され、*Mycobacterium marinum* の DNA 断片パターンと同様であった。

これらのことから、分離菌を *M. marinum* と同定した。

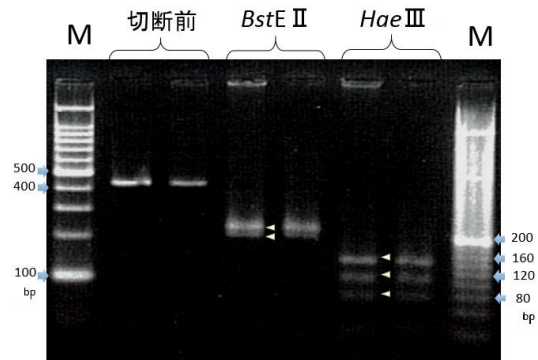


図8 *hsp65* の PCR-RFLP

5 まとめ及び考察

本症例では、肺、丘疹部皮膚、浅頸リンパ節において、肉芽腫病変の形成と抗酸菌が確認され、同部位から *M. marinum* が分離された。以上の結果から、本症例を *M. marinum* による播種性非結核性抗酸菌症と診断した。

鯨類の皮膚病には、抗酸菌症の他にパピローマウイルス感染症、*Nocardia* 属菌の感染によるノカルジオーシス、*Lacazia loboi* の感染によるラカジオーシスが挙げられる^{4,5)}。本症例は、表皮に空胞変性を認めなかったこと、分枝菌を認めず、培養でも分離されなかったことからパピローマウイルス感染症とノカルジオーシスを否定した。さらに、真菌を認めず、*gp43* の PCR が陰性であったことから、ラカジオーシスを否定した。

一般的に、*M. marinum* は創傷から感染することから⁶⁾、本症例の感染経路も同様と推測された。

また、白血球数は平成 22 年~24 年に数回低値を示したことから、免疫機能が低下し、局所感染から全身へ播種したと考えられる。

さらに、全身の肉芽腫病変に伴い、栄養状態が悪化、体力も消耗、消瘦し、最終的には日和見感染により気管支肺炎を起こし、死亡したものと考えられた。

M. marinum は、人では結節、腫脹、潰瘍など多様な症状を示し^{6,7)}、イルカでは潰瘍と、病理学的には肉芽腫を形成したとの報告がある¹⁾。本症例は皮膚に丘疹を形成し、上述のイルカの報告とは異なるため生前診断が困難であった。人において多様な皮膚病変を形成することから、イルカにおいても症状から診断するのは困難であると考えられる。

生前診断が難しかった理由は他にも、掻き取り検査では抗酸菌が認められなかったこと、さらに、診断的治療としてリファンピシン、ミノサイクリン、オフロキサシンの3剤を併用投与したが、1か月半では期間が短かったことがあげられる。

今後、抗酸菌症を疑う事例では、真皮に病変が形成されることをふまえ、真皮を含む皮膚深部の生検を行い診断すること、感受性薬剤による治療を長期間継続することが必要であると考えられた。

<引用文献>

- 1) Bowenkamp, K. E., S. D. I. A. Frasca Jr., et. al.: J. Vet. Diagn. Invest. 13:524-530 (2001)
- 2) Kox LFF, Rhientong D, Medo Miranda A, Udomsantisuk N, Ellis K, Leeuwen van J, Heusden van S, Kuijper S, Kolk AHJ: J Clin Microbiol (1994), 32, 672-678.
- 3) Telenti, A., Marchesi, F., Balz, M. et al: J. Clin. Microbiol (1993), 31, 175-178
- 4) Ueda K, Sano A, Yamate, Itano-Nakagawa E, Kuwamura M, Izawa T, Tanaka M, Hasegawa Y, Chibana H, Izumisawa Y, Miyah

ara H, Uchida S : Case Reports in Veterinary Medicine (2013), article 318548

- 5) Suzanne, K. S.: Infectious Diseases of Marine Mammals, Leslie A. Dierauf, Frances M. D. Gulland (eds.), Marine Mammal Medicine, 285-374
- 6) 清水宏: あたらしい皮膚科学, 第2版, 524
- 7) 森田幸雄ら: 非定型抗酸菌と非定型抗酸菌症, モダンメディア, 52(3), 57-66 (2006)