

トレポネーマ様らせん菌による乳牛の疣状皮膚炎および趾乳頭腫症の集団発生

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者名	永井,文紀 太田,浩運 藤本,勝久 阿部,英雄 宗像,巧 安部,健彦 田中,実 伊藤,篤 山本,康朗 安藤,達哉 小岩,政照 谷山,弘行 菊池,直哉 草場,信之
発行元	日本獣医師会
巻/号	53巻9号
巻号補足	
掲載ページ	p. 577-581
発行年月	2000年9月

トレポネーマ様らせん菌による乳牛の疣状皮膚炎 および趾乳頭腫症の集団発生

永井文紀¹⁾ 太田浩運¹⁾ 藤本勝久¹⁾ 阿部英雄¹⁾ 宗像 巧¹⁾
 安倍健彦¹⁾ 田中 実¹⁾ 伊藤 篤¹⁾ 山本康朗¹⁾ 安藤達哉¹⁾
 小岩政照²⁾ 谷山弘行²⁾ 菊池直哉²⁾ 草場信之³⁾

- 1) 石狩NOSAI北部家畜診療センター (〒067-0055 江別市篠津401-4)
 2) 酪農学園大学獣医学部 (〒069-8501 江別市文京台緑町582-1)
 3) 北海道NOSAI連合会家畜臨床講習所 (〒069-0805 江別市元野幌612)

(1999年10月6日受付・2000年3月3日受理)

要 約

北海道石狩管内の一酪農家において、乳牛（ホルスタイン種）43頭の蹄踵部に、疣状皮膚炎あるいは趾乳頭腫症と呼ばれる慢性皮膚炎の集団発生をみた。病理組織学的検査で、病変は角質層の増殖と不全角化を特徴とし、Warthin-Starry染色およびLevaditi染色標本で角質層に侵入・増殖する無数のらせん菌が認められた。このらせん菌は、走査型電子顕微鏡ではトレポネーマに類似した形態を示し、免疫組織化学的には*Treponema pallidum*と共通抗原を持つ細菌であった。外科的切除後の抗生物質（テトラサイクリン、セファゾリン、クロラムフェニコールなど）の局所塗布による治療に対し、一時的には病変の消失をみたが、1～3カ月後にはその約半数に再発が認められた。また、EMJH培地およびTYGVS培地を用いて細菌の分離を試みたがらせん菌の分離・同定にはいたらなかった。

—キーワード：乳牛、趾乳頭腫症、らせん菌、*Treponema pallidum*、疣状皮膚炎。

日獣会誌 53, 577～581 (2000)

牛の疣状皮膚炎および趾乳頭腫症は、1974年、イタリアにおいてCheliとMortellaro [4] が最初に報告して以来、ヨーロッパ諸国、アメリカ合衆国、イランなど多数の国々で報告されている [1, 2, 8, 9]。これら一群の疾病は、乳牛に集団的に発生する流行性疾病の一つと考えられているが、いまだ病原体は特定されていない。BloweyとSharp [1] はイギリスで趾皮膚炎の牛の皮膚塗抹標本のグラム染色でスピロヘータ様らせん菌を見つけた。Readら [10] はアメリカ合衆国で、Bloweyら [2] はイギリスで、趾乳頭腫症の牛からトレポネーマに似たスピロヘータ様らせん菌をWarthin-Starry染色を用いて検出した。わが国では木村ら [7] が群馬県で疣状皮膚炎および趾乳頭腫症27例を報告し、うち2例の病変部にスピロヘータ様らせん菌を病理組織学的に検出している。その後カナダ [6]、南アフリカ [12]、オーストラリア [8, 11]、ドイツ [5] でも病理組織学的に同様のらせん菌が検出されている。一方、Walkerら [13] は病変部組織からの菌分離に成功し、原因菌がトレポネーマ属である可能性を示唆しているが、いまだ細菌学的同定にいたっていない。

今回、われわれは一酪農家において跛行を主症状とする疣状皮膚炎および趾乳頭腫症の集団発生に遭遇し、臨床観察とともに抗生剤を中心とする治療を行った。また、皮膚病変部の生検材料に対する病理組織学ならびに免疫組織化学的検索および走査型電子顕微鏡的検索によって、無数のトレポネーマ様らせん菌の増殖を認め、このらせん菌の分離・同定を試みた。

材料および方法

同酪農家における本症の初発は、1996年3月に北海道の他地域より導入された乳牛に認められた。本例は同年6月に分娩しその後フリーストール内へ移されたが、1週間後に右後肢皮膚に疣状皮膚炎が発生し加療に付された。病変部を洗浄し消毒をした後、抗生物質を4日間筋肉内投与したところ、7日後には完治した。しかし、その1カ月後より同居牛に次々と同様の皮膚病変の形成が認められるようになった。今回、検索した症例は同年6月から翌1997年6月の間に、同農家で飼養されていた自家生産の乳用成牛（ホルスタイン種）54頭中、疣状皮膚炎あるいは趾乳頭腫症と診断された43頭（57肢）

である。

臨床検査：跛行、疼痛、悪臭、発生部位、病変の肉眼的性状等を観察した。

血液検査：病変の著しい4例について血液細胞学ならびに生化学的検索を行った。

病理組織学的検査：35例の病変部の生検材料を10%ホルマリン水溶液で固定し、厚さ4mmのパラフィン切片を作製、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を行うとともに、スピロヘータの特殊染色である Warthin-Starry 染色ならびに Levaditi 染色を行い病理組織学的に検索した。

免疫組織化学的検索：35例の病変部の10%ホルマリン固定パラフィン切片を用い、抗 *Treponema pallidum* ウサギ多クローン抗体^{a)}、また抗 *Borrelia burgdorferi* マウス単クローン抗体^{b)} を一次抗体とした avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) 法による免疫組織化学的染色を施し検索した。多クローン抗体に対してはビオチン標識抗ウサギIgGヤギ血清^{c)}を、単クローン抗体に対してはビオチン標識抗マウスIgGウサギ血清^{d)}を二次抗体として用い、一次、二次抗体ともに室温で30分間反応させ、酵素試薬反応後、3,3'-diaminobenzidine tetrachloride (DAB) 基質溶液で発色、ヘマトキシリンで核染色を施した。

走査型電子顕微鏡的検索：10%ホルマリン水溶液の固定材料からエチルアルコールを用いて脱水し、酢酸イソアミルに浸し、液体窒素を用いて凍結切断した。その後臨界点乾燥および金イオンスパッタコーティングを施し走査型電子顕微鏡^{d)}で観察した。

細菌学的検索：原因菌分離の目的で、5%ウシ血液寒天培地で好気および嫌気培養を37℃・3日間、レプトスピラ分離用EMJH培地で好気培養を30℃・7日間、口腔内トレポネーマ分離用TYGVS培地で嫌気培養を37℃・7日間行った。

成 績

臨床事項：乳牛はフリーストール牛舎にて飼養され、飼料給与は乾草以外をミックスして給与するセミコンプリートフィード方式であった。罹患牛43頭のうち、左前肢4頭、右前肢1頭、左後肢17頭、右後肢9頭、両後肢11頭、四肢1頭に病変がみられた。ほとんどが後肢（88.4%）に発生していた。跛行は全例において比較的軽度であったが、まれに蹄球部を挙上し蹄尖で歩行する例もみられた。病変形成の部位は趾間隙背側端の皮膚が4肢（7.0%）、蹄冠上部（おもに内外両蹄球上部の中間）の皮膚が42肢（73.7%）、趾間隙腹側端の皮膚が5肢（8.8%）、趾間過形成の部位が6肢（10.5%）で、ほと



図1 乳牛に集団発生した疣状皮膚炎（矢印）の肉眼像。

んどが蹄冠上部の中間の皮膚に発生していた。病変は主として丘疹状に膨隆し、境界は明瞭であった（図1）。進行した例では表皮が疣状に隆起あるいは乳頭状に進展した病変が形成されていた。病変は直径0.5～5cmで、多くは3～4cmの大きさで類円形あるいは不整形を示し、表面は滲出液で湿り、腐敗臭を放っていた（搾乳時に気づくことが多い）。触診すると著しい疼痛を示した。洗浄後の病変部には出血やイチゴ状の赤色肥厚病変あるいは巣状性びらん・潰瘍を伴う病変がみられ、病変周囲の被毛は異常に伸長していた（疣状皮膚炎；53指趾）。さらに病変が進行したと考えられる例では、病変は乳頭状に変化し、表皮の乳頭状過形成（長さ5～20mm）さらには乳頭腫状に著しく進展していた（趾乳頭腫症；4指趾）。4頭の血液検査では特に異常は認められなかった。その他一般症状として食欲、元気、行動等にも特に異常は認められなかった。また、泌乳量の著しい減少も認められなかった。

治療：枡場保定にて肢をあげ、病変をよく観察し、糞、泥などを落として十分に洗浄した後、蹄底の肥厚したものは削蹄を行った。病変部皮膚を外科的に可能なかぎり広範囲に切除し、抗生物質（テトラサイクリン、セファゾリン、クロラムフェニコールなど）を塗布し包帯で保護した。包帯は1週間程度で自然に脱落するように巻いた。処置後、患部の疼痛および跛行は24時間以内に消失し、皮膚の病変も治癒したが、1～3カ月後にはその約半数（43頭中19頭；44.2%）に再発が認められた。

a) ViroStat, U.S.A. b) Chemicon International, U.S.A.

c) Vector Laboratories, U.S.A. d) HHS-2R, 日立, 東京。

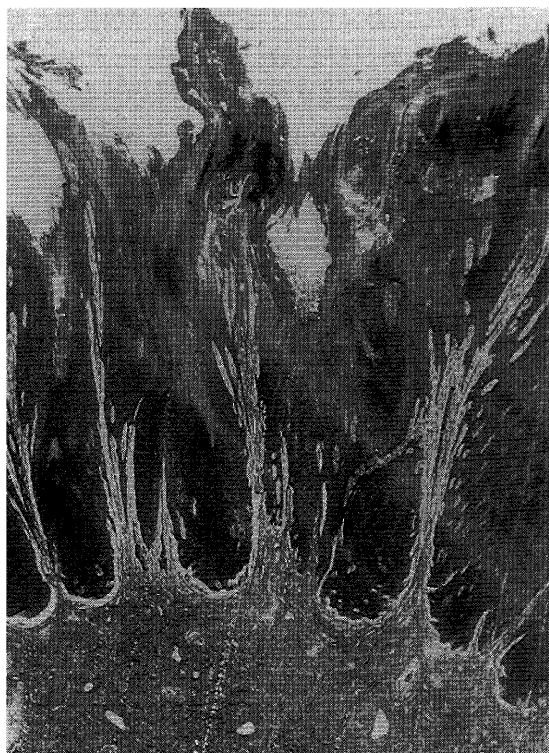


図2 趾乳頭腫症の組織像。表皮は乳頭腫状に著しく増殖し、乳頭の過度の伸展を伴っている (HE染色 ×15)。

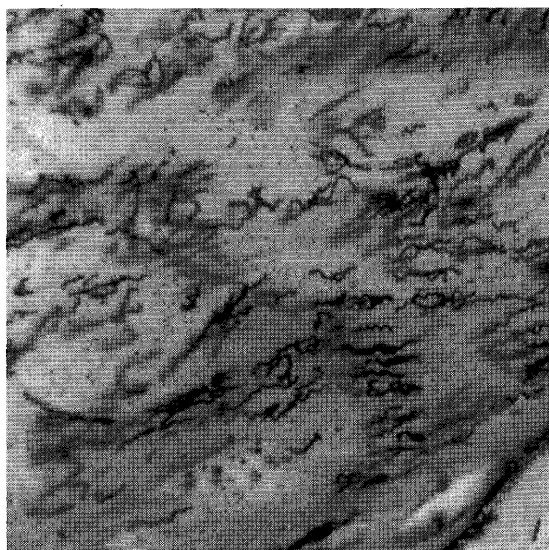


図3 増殖した表皮浅層内で増殖する無数のらせん状菌 (Warthin-Starry染色 ×860)。

またあわせて、環境浄化の目的で牛舎の床に消石灰の塗布を行ったが著効は認められなかった。

病理組織学的所見：検索した35例の病変部皮膚は著しく肥厚(2~10mm)していた。表皮は有棘細胞層から角質層にかけて著しく増殖、かつ真皮乳頭の不規則な肥大・延長が認められた。皮膚表面は顆粒層から角質層が著しく増殖することにより、乳頭状の進展を示してい

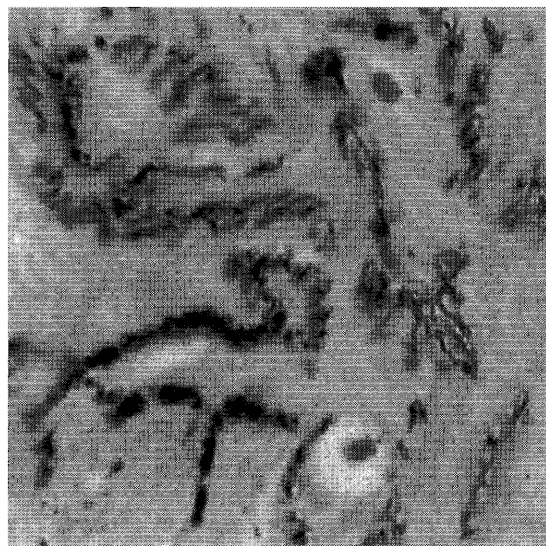


図4 表皮細胞間で増殖する抗*T. pallidum*抗体陽性のらせん状菌 (ABC法 ×860)。

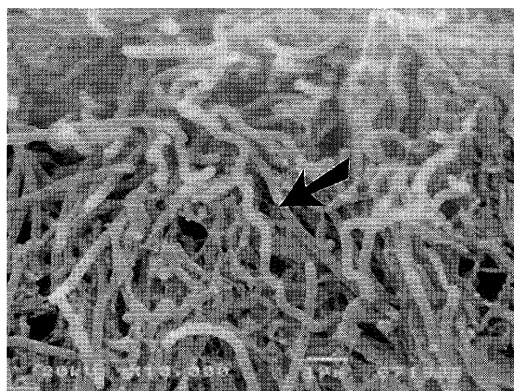


図5 らせん状構造を示す桿菌(矢印)の増殖 (走査型電子顕微鏡 ×5,200)。

た(図2)。一部には表皮の壊死と潰瘍形成による真皮乳頭部の露出と出血が認められた。角質層には、有核でケラトヒアリンに乏しい豊富な好酸性細胞質を持つ上皮細胞からなる不全角化の像が認められた。基底層では有糸分裂像が多発し、有棘層では細胞間隙が解離した海綿状態の形成が認められた。乳頭層は高度に伸長し、充血、好中球、リンパ球、大食細胞の囲管性浸潤を伴う部位や出血、組織の壊死を伴う部位などが混在していた。27頭中25頭の組織病変部のWarthin-Starry染色ならびにLevaditi染色標本で、病変部角質層深部から有棘層浅層にかけて上皮細胞間に侵入・増殖する無数のらせん菌が認められた(図3)。

免疫組織化学的所見：*T. pallidum*に対する多クローン抗体を用いた免疫組織化学的染色では、検索した35例のすべてにおいて、病変部の表皮細胞の間隙に増殖するらせん状の細菌に一致して陽性所見が認められた(図4)。一方、*B. burgdorferi*に対する単クローン抗体を用

いた染色では、いずれの症例においても陽性所見は得られなかった。

走査型電子顕微鏡的所見：表皮細胞間に幅約0.5 μ m、長さ6~7 μ m、うねり幅約1 μ mのらせん状を呈する多数の細菌が認められた(図5)。

細菌学的所見：5%ウシ血液寒天培地、レプトスピラ分離用(EMJH)培地、トレポネーマ分離用(TYGV5)培地で検索を行ったが、トレポネーマやレプトスピラのようならせん状の特異的細菌は検出されなかった。

考 察

今回の集団発生に先だち、1996年3月に北海道の他地域より本農家に導入された乳牛1頭に特有の蹄皮膚炎が発生した。そしてその1カ月後より自家生産の同居牛に同様の病変が次々と発生したことから、この導入牛が本集団発生の感染源であると考えられた。また、本病変に対しては抗生物質塗布による治療が著効を示したことから、当初から細菌性の疾患を疑い、細菌の分離・同定を試みたが、原因菌を明らかにすることはできなかった。しかし、病理組織学および走査型電子顕微鏡的検索の結果、各症例の病巣内にらせん状の細菌の増殖が認められたことから、木村ら[7]がわが国で報告した症例と同様にスピロヘータ様らせん菌を原因菌とする病変であることが示唆された。さらに免疫組織化学的検索では、この細菌は*T. pallidum*に共通した抗原性を示したことから、トレポネーマ属に関連するらせん菌である可能性が高いと考えられた[10]。同様の疾患は諸外国では、趾皮膚炎、疣状皮膚炎、趾乳頭腫症の名で報告されているが、いずれもスピロヘータ様らせん菌の関与が示唆されている[5, 6, 8, 10, 11]。自家例においては肉眼的に疣状皮膚炎あるいは趾乳頭腫症と診断したが、いずれも病理組織学的には同質の病変から成り立っていたことから[7]、病原菌の分離・同定とともに病名の統一が必要であると考えられた。

本病変は、おもに趾間隙の底端または背側面の蹄冠帯に始まり、次第に趾間隙全体の皮膚に広がるとされているが[9]、われわれの症例では、病変は内外両蹄球上部の中間の皮膚に限局して発生しており、特に後肢に発生しやすいことが特徴であった。病牛は病変部に触れられると激しい疼痛を示し、強い腐敗臭を放っていたことから[7]、搾乳時の注意深い観察で容易に発見できるものと考えられる。本病の治療には抗生物質が著しい効果を示すとされており、病変部への抗生物質溶液の直接噴霧[1, 3, 7, 12]や、抗生物質の筋肉注射[1, 9, 10]、抗生物質の蹄浴[1, 2]も奨励されている。自家例の場合には、皮膚病変の切除と術後の抗生物質塗布を主体とする方法を用いたが、多くの例で有効であった。しかし、治療後1~3カ月で再発したものが約半数にのぼり、治療

ならびに予防にあたっては長期にわたる予後観察と衛生管理の徹底が必要と考えられた。また、これらの再発が、宿主の抵抗力の減退によって不完全な治癒がふたたび悪化するのか[7]、隣接部位に新しく発生(再感染)したもののかなどの検討も、今後の課題である。

木村ら[7]の例とは異なり、本症のほとんどはフリーストール牛舎で発生している[1, 6, 9, 12]。フリーストール方式による飼育形態は、個体管理が不十分になりやすいこと、糞尿による蹄の汚染が持続的に続くことから他の蹄病も発生しやすいことが管理衛生上問題とされている。したがって、動物の群管理形態が本症の集団発生に大きく関与していることは想像に難くない。

今回、治療は1頭ごとに枠場保定にて行った。しかしこのような治療法はフリーストール牛舎においては、労力やコストがかかりすぎるという問題がある。今後より効果的な治療法や予防法の確立および導入牛の事前検査を徹底して行い、集団発生を未然に防ぐ必要があろう。

本検索の結果、北海道における本症の存在が初めて確認された。またその後の調査で、北海道をはじめ本州の多府県においても同様の皮膚炎が発生しているとの情報を得ている。本症の蔓延を防ぐ意味でも、蹄病処置の際には本症の存在も十分に考慮する必要があると考えられた。

皮膚病変の走査型電子顕微鏡的検索には、酪農学園大学獣医学部獣医学科獣医解剖学教室岩佐憲二先生のご協力をいただいた。ここに深謝する。

引用文献

- [1] Blowey RW, Sharp MW : Vet Rec, 122, 505-508 (1988)
- [2] Blowey RW, Sharp MW, Donne SH : Vet Rec, 131, 39 (1992)
- [3] Britt JS, Gaska J, Garrett EF, Konkle D, Mealy M : J Am Vet Med Assoc, 209, 1134-1136 (1996)
- [4] Cheli R, Mortellaro CM : Proceeding of 8th International Congress on Diseases of Cattle, Milan, Italy, 208 (1974)
- [5] Choi BK : Int J Syst Bacteriol, 47, 175-181 (1997)
- [6] Hanna P : Can Vet J, 35, 657 (1994)
- [7] 木村容子, 高橋正博, 松本尚武, 佃 秀明, 佐藤雅彦, 大河原 潔, 鹿江雅光, 後藤直彰, 久保正法, 青木 修, 幡谷正明 : 獣畜新報, 46, 899-906 (1993)
- [8] Mclennan MW, Mckenzie RA : Aust Vet J, 74, 314-315 (1996)
- [9] Rebbum WC, Payne RM, King JM, Wolf M, Begg SN : J Am Vet Med Assoc, 177, 437-440 (1980)
- [10] Read DH, Walker RL, Castro AE, Sundberg JP, Thurmond MC : Vet Rec, 130, 59-60 (1992)
- [11] Sauvageau R, Higgins R, Jacques M, Bouchard E : Can Vet J, 35, 522-523 (1994)
- [12] van Amstel SR, van Vuuren S, Tutt CL : J S Afr Vet Assoc, 66, 177-181 (1995)
- [13] Walker RL, Read DH, Loretz KJ, Nordhausen RW : Vet Microbiol, 47, 343-355 (1995)

Mass Outbreak of Verrucous Dermatitis and Digital Papillomatosis Caused by *Treponema*-like Spirochetes in Dairy Cattle

Fuminori NAGAI*, Hiroyoshi OTA, Katsuhisa FUJIMOTO, Hideo ABE, Takumi MUNAKATA, Tatehiko ABE, Minoru TANAKA, Atsushi ITO, Yasuro YAMAMOTO, Tatsuya ANDO, Masateru KOIWA, Hiroyuki TANIYAMA, Naoya KIKUCHI and Nobuyuki KUSABA

* Veterinary Clinical Center, Ishikari Agricultural Mutual Aid Association, 401-4 Shinotsu, Ebetsu 067-0055, Japan

SUMMARY

Verrucous dermatitis and digital papillomatosis caused by *Treponema*-like spirochetes occurred in 43 dairy cattle on a farm in the Ishikari district, Hokkaido. Located mainly on the hind limb, the almost circular, raised lesions encrusted the plantar aspect of the pastern. Inflicted animals frequently demonstrated signs of lameness in the hind limb. The lesions were malodorous and very painful when touched. In the keratinized outer layer of the epidermis, histopathological examination revealed hyperkeratosis and parakeratosis with multiple foci of bacterial infection associated with perivascular infiltration of mononuclear cells in the dermis. Levadi-silver impregnation and Warthin-Starry staining of histological sections detected organisms with spirochete morphology in the shallower region of the epidermis. In terms of immunohistochemistry, the organisms reacted positively to the anti-*Treponema pallidum* polyclonal antibody. The ultrastructural morphology of the spirochetes resembled that of the *Treponema* sp. Though they responded strongly to antibiotic treatment with tetracycline, cefazolin, and chloramphenicol, in many cases, the lesions recurred in from 1 to 3 months after therapy. We failed to isolate the pathogen from the lesions.

— Key words : dairy cattle, digital papillomatosis, spirochete, *Treponema pallidum*, verrucous dermatitis.

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 53, 577 ~ 581 (2000)



高単位総合ビタミン剤

リケビタン

高単位VA特殊調整 1000万IU 100ml

エクセレントA-1000液

投与量：200cc

総合強壮・強肝内服液

パラゲンロ-ヤル

投与量：〈分娩時〉500cc

高単位ビタミンAD3E内服薬1ℓ

ビタオイル2液

投与量：〈分娩時〉200cc

マイシリン製剤20g

乾乳用ホ-ミングDC

〈乾乳時〉1容器全量注入

マイシリン製剤20g

ホ-ミングMC

〈泌乳時の乳房炎治療〉1容器全量注入

ジクロキサシリン製剤20g

ホ-ミングDX

〈泌乳時の乳房炎治療〉1容器全量注入



理研畜産化薬株式会社

本社／東京都杉並区高円寺南2-41-12
工場／埼玉県川口市元郷4-1-8

TEL 048 (224) 8451 (代)

FAX 048 (224) 1079