

# 離乳豚の接合菌による側頭骨骨髓炎

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者名	小川,秀治 芝原,友幸 木村,衆 小沼,成尚 石川,義春 門田,耕一 久保,正法
発行元	日本獣医師会
巻/号	62巻1号
掲載ページ	p. 44-48
発行年月	2009年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 離乳豚の接合菌による側頭骨骨髓炎

小川秀治<sup>1)†</sup> 芝原友幸<sup>2)</sup> 木村 衆<sup>1)</sup> 小沼成尚<sup>1)</sup>  
 石川義春<sup>3)</sup> 門田耕一<sup>3)</sup> 久保正法<sup>2)</sup>

- 1) 秋田県中央家畜保健衛生所 (〒011-0904 秋田市寺内蛭根1-15-5)  
 2) ㈱農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所 (〒305-0856 つくば市観音台3-1-5)  
 3) ㈱農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所北海道支所 (〒062-0045 札幌市豊平区羊ヶ丘4)

(2008年1月29日受付・2008年6月9日受理)

## 要 約

秋田県内の肥育農場において、40日齢の去勢子豚が左側側頭部の隆起と発育不良を呈したため安楽殺された。剖検時、左側側頭骨に限局性の腫瘍があり、断面では白色結合組織の増生を伴う多発性の黄白色壊死巣が認められた。病理組織学的には、真菌菌糸を伴う多発性肉芽腫性骨髄炎であった。免疫組織化学的に、この菌糸は抗*Rhizopus arrhizus*モノクローナル抗体で陽性を示した。以上の結果より、接合菌による肉芽腫性骨髄炎と診断された。

——キーワード：骨髄炎，豚，接合菌症。

----- 日獣会誌 62, 44～48 (2009)

豚真菌症の原因には、接合菌 [1-3]、アスペルギルス [4-6]、カンジダ [2] および*Pneumocystis carinii* [7, 8] がある。これらの真菌は、細菌やウイルスへの感染、あるいは栄養状態の悪化によって免疫機能が低下した際に日和見感染を起こす [9, 10]。豚にみられる接合菌症の原因菌としては、*Absidia* [11]、*Rhizopus* [12, 13]、*Mucor*、*Rhizomucor* および *Mortierella* などの報告があるが、原因菌が分離同定された症例は非常に少ない [11-13]。また、牛 [14] では免疫組織化学的検索が実施されているが、豚における報告はわれわれの知る限りない。

哺乳豚における接合菌症としては、胃潰瘍 [2, 12, 15]、出血性胃腸炎 [1] および肉芽腫性肝炎 [1] が報告されている。肥育豚では、下顎部結合組織 [3, 13]、下顎リンパ節 [3, 13] および腸間膜リンパ節 [11, 13] に肉芽腫としてみられることが多く、まれに肝臓 [3, 13] および消化管 [11] にもみられる。消化管粘膜から進入した病原真菌は血流を介して全身の臓器に播種すると考えられている [3, 13]。このように豚の接合菌症は、消化管とその付属リンパ節を中心いくつか報告されているものの、骨組織に限局して病変を形成した報告はない。さ

らに、人においても頭蓋骨の接合菌症は、非常にまれである [16, 17]。

今回、子豚の左側側頭部に限局した肉芽腫性骨髄炎がみられ、臨床的、病理組織学および免疫組織化学的に検討した。

## 材 料 お よ び 方 法

動物：交雑種（ランドレース×ヨークシャー）、40日齢、去勢雄子豚で、繁殖用種豚（雌）を70頭飼養する農場にて正常に分娩された。体格は他の子豚と比べると若干小さかったが、臨床的に著変は認められなかった。離乳時（28日齢）に飼い主が頭部の腫脹を発見した。その後、左側側頭部の膨隆が顕著となり、飼料の採食がやや困難で、発育不良を呈したため、2006年8月に安楽殺された。治療は実施されなかった。

この農場は豚サーコウイルス2型（PCV2）に汚染しており、過去には大腸菌症も発生していたが、病性鑑定を実施した時点では、いずれの豚にも下痢などの症状はみられなかった。なお、種豚（雌）には日本脳炎・豚パルボウイルスワクチン、豚大腸菌ワクチン、豚萎縮性鼻炎ワクチンを、子豚にはマイコプラズマワクチンを接種

† 連絡責任者：小川秀治（秋田県中央家畜保健衛生所）

〒011-0904 秋田市寺内蛭根1-15-5

☎018-864-0401 FAX 018-862-7132

E-mail : Ogawa-Shuji@pref.akita.lg.jp

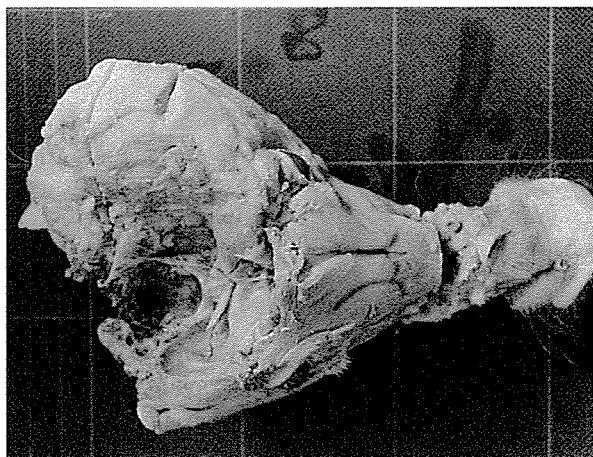


図1 豚の左側頭部腫瘤像。側頭部が著しく膨隆している。

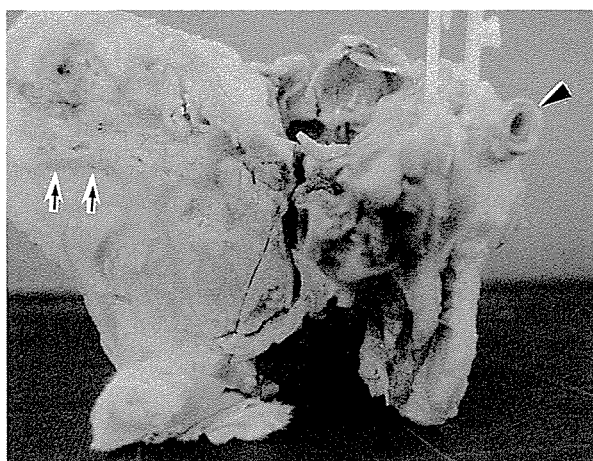


図2 豚の左側頭部腫瘤の断面像。多数の黄白色結節性病巣と顕著な結合組織の増生がみられる。矢印は骨組織、矢頭は右側外耳を示す。

していた。

**病理組織学的検査：**剖検後、検査材料（頭部腫瘤、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、下顎リンパ節、胃、小腸、大腸、腸間膜リンパ節、大脳および小脳）を20%リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィンに包埋した後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を施した。病変部（側頭部腫瘤、肺および腎臓）には過ヨウ素酸シッフ（PAS）、グロコットおよびグラム染色を実施した。

**免疫組織化学的検査：**菌糸のみられた側頭部腫瘤のパラフィン切片に対して、酵素抗体法を実施した [18-20]。一次抗体として、マウス抗 *Rhizopus arrhizus* モノクローナル抗体 (M3565; Dako, U.S.A.) [14]、抗 *Aspergillus fumigatus* モノクローナル抗体 (M3564; Dako) [21]、ウサギ抗 *Candida albicans* ポリクローナル抗体 (1750-5507; Biogenesis, U.K.)、ウサギ抗 *Mycoplasma hyorhinis* ポリクローナル抗体を用いた。0.1%トリプシンで前処理し、以後の操作は免疫組織化学染色キット（ヒスト

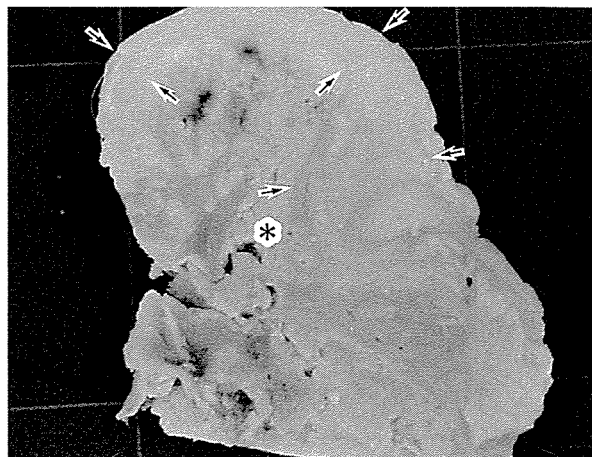


図3 豚の左側頭部腫瘤の断面像。肥厚、変形した骨組織（矢印）に囲まれるように大小さまざまな黄白色結節性病巣がみられる。骨髓（星印）の病理組織像を図4に示す。皮下結合組織内に病変はみられない。

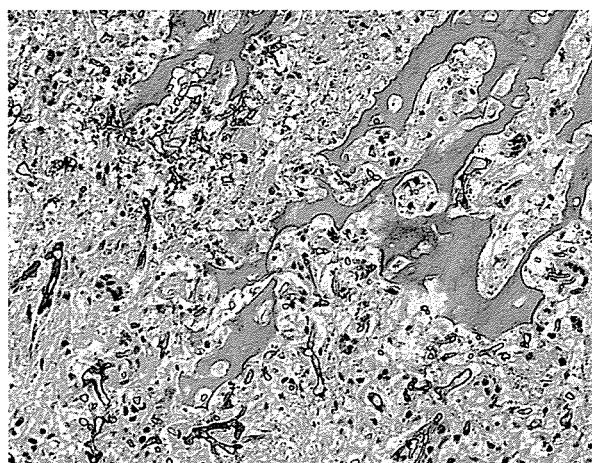


図4 豚の左側頭部腫瘤（図3の星印部分）の病理組織像。骨髓の肉芽腫性病巣に多数の接合菌の菌糸が認められる。（HE染色 ×200）

ファインSAB, (株)ニチレイバイオサイエンス, 東京) の手順に従った。

**ウイルス学的検査：**扁桃を材料として、CPK細胞を用いたウイルス分離を実施した。豚コレラウイルス、オーエスキー病ウイルス、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) およびPCV2について抗体検査を実施した。

**細菌学的検査：**主要臓器（肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、小腸、大腸、腸間膜リンパ節および大脳）を材料とし、5%綿羊血液加寒天培地とDHL寒天培地を用いて、37℃、48時間、好気培養と10%炭酸ガス培養と嫌気培養を行った。なお、分離菌は市販のキット（API20E, ビオメリュー, France）を用いて同定した。

肺乳剤を用いて *M. hyorhinis* および *Mycoplasma hyopneumoniae* のPCR検査を実施した。側頭部腫瘤に

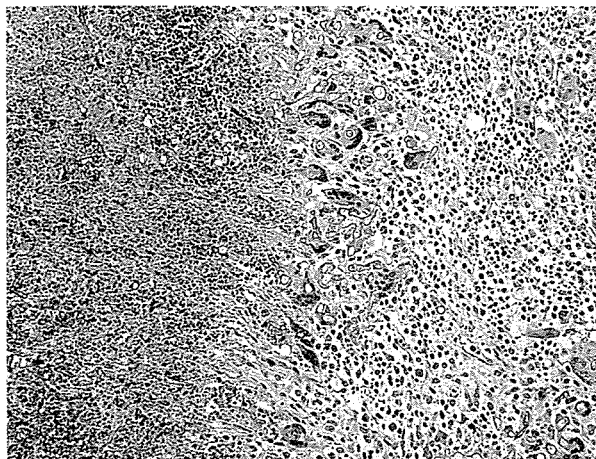


図5 豚の左側頭部腫瘍の病理組織像。マクロファージおよび多核巨細胞の浸潤を伴う肉芽腫性病巣に接合菌の菌糸が認められる。(HE染色 ×100)

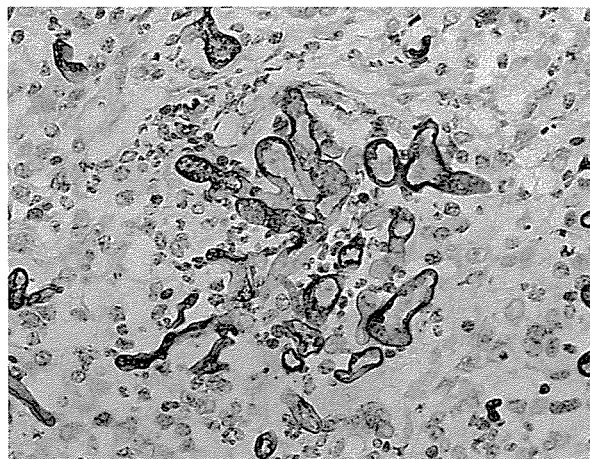


図7 豚の左側頭部腫瘍の免疫組織化学染色像。接合菌の菌糸は、抗*R. arrhizus*モノクローナル抗体に陽性反応を示している。(免疫染色 ×400)

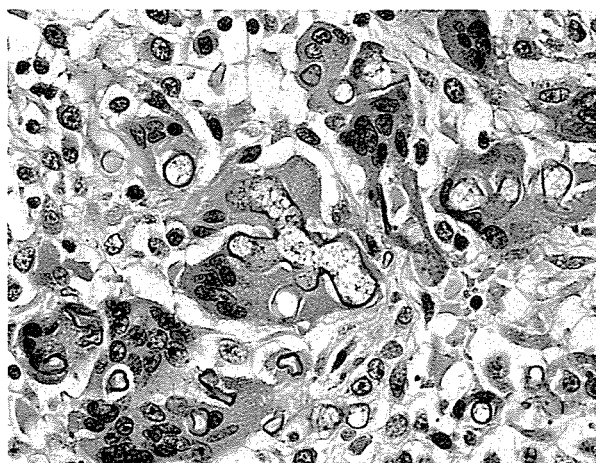


図6 豚の左側頭部腫瘍の病理組織像。多核巨細胞の細胞質内に接合菌の菌糸が認められる。(HE染色 ×400)

病理組織所見：側頭骨，下顎骨，後頭顆に囲まれた領域を中心に多発性の凝固壊死巣と肉芽腫性病変がみられた(図4, 5)。壊死巣中央部は壊死した骨細胞や細胞退廃物，好中球の浸潤がみられ，その周囲をマクロファージ，多核巨細胞，リンパ球および形質細胞が浸潤し，それらを取り囲むように線維性結合組織が顕著に増生していた。また，残存した骨組織では骨膜の線維性肥厚と髓腔内の顕著な肉芽腫性病変がみられた。壊死巣内ならびに多核巨細胞の細胞質内に多数の菌糸がみられた(図6)。これらの菌糸は幅が不均一で，隔壁を欠き，好酸性の細胞壁と淡明な内部構造を持ち，PAS染色とグロコット染色で陽性に染色された。腫瘍部皮下結合組織内には病変はみられなかった。病変に関与するその他の病原体は確認できなかった。

ついて細菌学的検査は実施しなかった。

### 成 績

病理解剖所見：左側の頭部は頬，側頭部および下顎骨にかけて膨隆し，頭蓋骨の顕著な変形がみられた(図1)。この腫瘍塊は硬固感を有していたが，解剖刀で容易に切断できた。外耳孔後方(図2)での頭部横断面では，変形，肥厚した側頭骨，下顎骨，後頭顆など骨組織に囲まれる領域に大小さまざまな黄白色結節病巣がみられた(図3)。腫瘍内部は白色結合組織の増生も顕著にみられた。中耳および内耳に相当する領域は，顕著な結節病変と増生した結合組織に置換され，その構造は不明であった。腫瘍部の皮下結合組織内には病変はみられなかった。

肺では軽度の肝変化がみられ，口腔および鼻腔粘膜と頭部皮膚を含むその他の臓器には著変は認められなかった。

肺では軽度の間質性肺炎病巣が散見され，腎臓では軽度の非化膿性間質性腎炎がみられたが，その他の臓器に著変は認められなかった。また，側頭部腫瘍以外の組織に真菌はみられなかった。

免疫組織化学的所見：菌糸は抗*R. arrhizus*モノクローナル抗体で強い陽性反応を示したが(図7)，その他の真菌に対する抗体では陰性であった。側頭部病変に抗*M. hyorhinae*血清に対する陽性反応は確認できなかった。

ウイルス学的検査：豚コレラウイルス，豚オーエスキー病ウイルス，PRRSV抗体は検出されなかった。PCV2抗体は中和抗体価40倍で，陽性と判断された。

細菌学的検査：肺から*Arcanobacterium haemolyticum*が分離された。肺のPCR検査では，*M. hyorhinae*が陽性で，*M. hyopneumoniae*は陰性であった。

### 考 察

本例は病理組織学的，微生物学的検査結果に基づき，

真菌が主要原因と考えられた。この真菌の同定には至らなかったが、免疫組織学化学的に病巣内の菌糸が抗*R. arrhizus*モノクローナル抗体 [14] のみに陽性反応を示した。この抗体は他の接合菌と交差反応することから [14, 21], 本例の原因菌は*Absidia corymbifera*, *R. arrhizus*, *Rhizomucor pusillus*を含む接合菌と考えられた [14]。さらに、アスペルギルスなどの混合感染 [18] は否定され、接合菌のみによる病変と考えられた。

豚の接合菌症は、下顎部結合組織 [3], 下顎リンパ節 [3, 13], 胃消化管 [1, 11, 12, 15], 腸間膜リンパ節 [11, 13] および肝臓 [1, 3, 13] で確認されているが、今回のような接合菌による骨髄炎の報告はない。また、牛や馬にもこのような症例はみあたらない。いっぽう、人では、本例と非常に類似する病変が、頭蓋骨 [16, 17], 上顎 [22, 23], 下顎 [24, 25] にみられている。これらは骨髄炎と表記され、非常にまれな病態として報告されている。よって、本例の診断名は、病理組織学的所見に基づき、豚の接合菌性肉芽腫性骨髄炎が適切であると考えられた。

豚接合菌症の感染経路や体内動態に関しては、哺乳時に経口摂取された菌が、咽頭粘膜で一次感染を起こし、さらに胃腸にまで達するか、血管またはリンパ管を介して全身のリンパ節や肝臓などの他器官に播種すると推察されている [3]。豚では下顎リンパ節において接合菌の検出率が高いことがこれを裏付けている [3, 13]。人の頭蓋骨骨髄炎の中では、*Pseudomonas aeruginosa* が耳から感染して起こる症例が多い [17]。いっぽう、副鼻腔経由で骨髄炎を起こすと考えられている病原体 (*Aspergillus* [26], *Pseudomonas* [27], *Salmonella* および *Staphylococcus* [28]) もある。症例数は少ないが、接合菌も鼻腔から感染して骨髄炎を起こす [17]。本例のように病変が側頭部に限局している場合、中・外耳の炎症が波及した可能性、あるいは口腔粘膜や鼻腔粘膜や頭部皮膚の損傷部から菌が進入して骨髄炎を起こした可能性が考えられる。本例では、口腔ならびに鼻腔粘膜、下顎リンパ節、頭部皮膚に接合菌による病変がみられなかった。さらに、側頭骨内側から病巣が拡大していることから、接合菌が外・中耳道を介して、側頭骨骨髄に到達し、この骨髄を中心に病変を形成した可能性が高いと考えられた。

接合菌は環境中に広く分布する真菌であり、日和見感染症を起こすが [9, 10], 豚の接合菌症は免疫低下がみられなくても発生する場合がある [2]。本例では中・内耳の構造が破壊され、肉眼的、組織学的に中・内耳の炎症を明確に確認できず、また、豚の中耳炎の病原体の1つと考えられている *M. hyorhinis* [29] に対する抗体を使用した免疫組織学的検査では陰性であった。よって、本病変における *M. hyorhinis* の関与は否定的であった。

また、本例では、PCV2の抗体価が高かったが、病理組織学的にリンパ球の減少などの免疫低下を示唆する所見 [30, 31] は得られなかった。側頭部の病変は慢性的なものであり、離乳前後に形成され始め、1~2週間かけて今回の病変が形成され、接合菌症が本例の発育遅延の原因であると考えられた。したがって、本例の感染や発症には、離乳によるストレスが影響した可能性が高い。

最後に、本症例の病性鑑定を実施するにあたり、ご協力いただいた秋田県中央家畜保健衛生所の関係者、動物衛生研究所の小林 勝検査技術専門員、藤澤俊夫検査技術専門員、嶋田恵美検査技術専門員ならびにウサギ抗*M. hyorhinis*ポリクローナル抗体を分与していただいた動物衛生研究所の今田由美子 席研究員に深謝する。

## 引用文献

- [1] Reed WM, Hanika C, Mehdi NA, Shackelford C : Gastrointestinal zygomycosis in suckling pigs, J Am Vet Med Assoc, 191, 549-550 (1987)
- [2] Abbott SE, van den Ende J, Hickman R, Terblanche J : Gastric mucormycosis and moniliasis in an immunosuppressed pig following renal transplantation, J S Afr Vet Assoc, 47, 47-48 (1976)
- [3] Sanford SE, Josephson GK, Waters EH : Submandibular and disseminated zygomycosis (mucormycosis) in feeder pigs, J Am Vet Med Assoc, 186, 171-174 (1985)
- [4] Lopez Gonzales M, Taylor DC : Cutaneous aspergillo-  
sis in a babirusa (*Babirusa babirusa*), Vet Rec, 143, 568 (1998)
- [5] Nesbit JW : The pathology of pulmonary aspergillo-  
sis in a piglet, J S Afr Vet Assoc, 57, 125-127 (1986)
- [6] Todd JN, Wells GA, Davie J : Mycotic abortion in the pig, Vet Rec, 116, 350 (1985)
- [7] Kondo H, Hikita M, Ito M, Kadota K : Immunohisto-  
chemical study of *Pneumocystis carinii* infection in pigs : evaluation of *Pneumocystis pneumonia* and a retrospective investigation, Vet Rec, 147, 544-549 (2000)
- [8] Nielsen J, Bille-Hansen V, Settnes OP : Experimental corticosteroid induction of *Pneumocystis carinii* pneumonia in piglets, APMIS, 107, 921-928 (1999)
- [9] König H, Nicolet J, Lindt S, Raaflaub W : Some mucormycosis of cattle, swine, cat, deer, and the flamingo, Schweiz Arch Tierheilkd, 109, 260-268 (1967)
- [10] Mehner B : The role of fungi in diseases of young pigs, Zentralbl Veterinarmed B, 13, 201-205 (1966)
- [11] Vitovec J, Vladik P, Fragner P : Disseminated mucormycosis--*Absidia corymbifera*--of lymph nodes in swine, Mykosen, 19, 117-123 (1976)
- [12] Mahanta S, Chaudhury B : Prevalence, pathology and isolation studies on phycomycotic gastric ulcer in neonatal piglets, Sabouraudia, 23, 395-397 (1985)
- [13] Dion WM, Sanford SE : Isolation of *Rhizopus rhizopodiformis* from a case of mucormycosis in a pig, Mycopathologia, 89, 127-128 (1985)

- [14] Jensen HE, Aalbaek B, Lind P, Krogh HV : Immunohistochemical diagnosis of systemic bovine zygomycosis by murine monoclonal antibodies, *Vet Pathol*, 33, 176-183 (1996)
- [15] Sanford SE : Gastric zygomycosis (mucormycosis) in 4 suckling pigs, *J Am Vet Med Assoc*, 186, 393-394 (1985)
- [16] Safaya A, Batra K, Capoor M : A case of skull base mucormycosis with osteomyelitis secondary to temporal bone squamous cell carcinoma, *Ear Nose Throat J*, 85, 822-824 (2006)
- [17] Chan LL, Singh S, Jones D, Diaz EM, Jr., Ginsberg LE : Imaging of mucormycosis skull base osteomyelitis, *Am J Neuroradiol*, 21, 828-831 (2000)
- [18] Yokota T, Shibahara T, Yamaguchi M, Jimma K, Ishikawa Y, Kadota K : Concurrent fatal listeriosis, zygomycosis and aspergillosis in a reindeer (*Rangifer tarandus*) calf, *Vet Rec*, 154, 404-406 (2004)
- [19] Yokota T, Shibahara T, Wada Y, Hiraki R, Ishikawa Y, Kadota K : *Aspergillus fumigatus* infection in an ostrich (*Struthio camelus*), *J Vet Med Sci*, 66, 201-204 (2004)
- [20] Ogawa T, Shibahara T, Sano A, Kadota K, Kubo M : Generalized hyperkeratosis caused by *Scopulariopsis brevicaulis* in a Japanese Black, *J Comp Pathol*, in press (2008)
- [21] Jensen HE, Halbaek B, Lind P, Krogh HV, Frandsen PL : Development of murine monoclonal antibodies for the immunohistochemical diagnosis of systemic bovine aspergillosis, *J Vet Diagn Invest*, 8, 68-75 (1996)
- [22] Islam MN, Cohen DM, Celestina LJ, Ojha J, Claudio R, Bhattacharyya IB : Rhinocerebral zygomycosis : an increasingly frequent challenge : update and favorable outcomes in two cases, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 104, e28-34 (2007)
- [23] Auluck A : Maxillary necrosis by mucormycosis. a case report and literature review, *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 12, E360-364 (2007)
- [24] Brown OE, Finn R : Mucormycosis of the mandible, *J Oral Maxillofac Surg*, 44, 132-136 (1986)
- [25] Salisbury PL, III, Caloss R, Jr., Cruz JM, Powell BL, Cole R, Kohut RI : Mucormycosis of the mandible after dental extractions in a patient with acute myelogenous leukemia, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 83, 340-344 (1997)
- [26] Parker KM, Nicholson JK, Cezayirli RC, Biggs PJ : Aspergillosis of the sphenoid sinus : presentation as a pituitary mass and postoperative gallium-67 imaging, *Surg Neurol*, 45, 354-358 (1996)
- [27] Hoistad DL, Duvall AJ, III : Sinusitis with contiguous abscess involvement of the clivus and petrous apices. Case report, *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 108, 463-466 (1999)
- [28] Grobman LR, Ganz W, Casiano R, Goldberg S : Atypical osteomyelitis of the skull base, *Laryngoscope*, 99, 671-676 (1989)
- [29] Morita T, Ohiwa S, Shimada A, Kazama S, Yagihashi T, Umemura T : Intranasally inoculated *Mycoplasma hyorhinis* causes eustachitis in pigs, *Vet Pathol*, 36, 174-178 (1999)
- [30] Shibahara T, Sato K, Ishikawa Y, Kadota K : Porcine circovirus induces B lymphocyte depletion in pigs with wasting disease syndrome, *J Vet Med Sci*, 62, 1125-1131 (2000)
- [31] Sato K, Shibahara T, Ishikawa Y, Kondo H, Kubo M, Kadota K : Evidence of porcine circovirus infection in pigs with wasting disease syndrome from 1985 to 1999 in Hokkaido, Japan, *J Vet Med Sci*, 62, 627-633 (2000)

## Osteomyelitis of the Temporal Bone Caused by Zygomycetes in a Shoaat

Shuji OGAWA \*†, Tomoyuki SHIBAHARA, Atsumu KIMURA, Narihisa ONUMA, Yoshiharu ISHIKAWA, Koichi KADOTA and Masanori KUBO

\* Chuou Livestock Hygiene Service Center, Akita Prefecture, 1-15-5 Hirune, Terauchi, Akita, 011-0904, Japan

### SUMMARY

On a pig fattening farm in Akita, Japan, a 40-day-old castrated shoaat showed eminence of the left temporal area and growth delay, and was humanely put down. At necropsy, the cut surface of a mass in the temporal bone was composed of multifocal yellowish white necrotic foci and abundant white connective tissue. Histologically, the lesion consisted of multifocal granulomatous osteomyelitis with numerous fungal hyphae. The fungal hyphae were positively immunolabeled with a monoclonal antibody against *Rhizopus arrhizus*. On the basis of these findings, this case was diagnosed as granulomatous osteomyelitis caused by zygomycetes.

— Key words : osteomyelitis, pig, zygomycosis.

† Correspondence to : Shuji OGAWA (Chuou Livestock Hygiene Service Center, Akita Prefecture)

1-15-5 Hirune, Terauchi, Akita, 011-0904, Japan

TEL 018-864-0401 FAX 018-862-7132 E-mail : Ogawa-Shuji@pref.akita.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 62, 44 ~ 48 (2009)