

***Streptobacillus moniliformis* 検出法の確立と国内野生ラットにおける保有状況
およびクマネズミ咬傷により鼠咬症が疑われた症例からの同定に関する研究**

分担研究者	今岡 浩一	国立感染症研究所 獣医科学部	第1室長
協力研究者	木村 昌伸	国立感染症研究所 獣医科学部	研究員
協力研究者	鈴木 道雄	国立感染症研究所 獣医科学部	研究員
協力研究者	中込 大樹	山梨大学医学部附属病院皮膚科	
協力研究者	出口 順啓	山梨大学医学部附属病院皮膚科	
協力研究者	矢ヶ崎 晶子	山梨大学医学部附属病院皮膚科	
協力研究者	原田 和俊	山梨大学医学部附属病院皮膚科	
協力研究者	柴垣 直孝	山梨大学医学部附属病院皮膚科	
協力研究者	島田 眞路	山梨大学医学部附属病院皮膚科	教授
協力研究者	谷川 力	イカリ消毒(株)技術研究所	所長

研究要旨： 鼠咬症原因菌の1つである *Streptobacillus moniliformis* の特異的検出法として特異的 PCR 法を確立した。本 PCR 法を用いて、国内野生ラット（ドブネズミおよびクマネズミ）の口腔内における *S. moniliformis* 保有状況の調査を行ったところ、ドブネズミで 92%、クマネズミで 58%が保菌していた。また、得られた野生分離株と ATCC 株を比較したところ、生化学性状は、全ての株間において良く一致していたが、16S-rRNA 遺伝子配列は、ドブネズミ株は ATCC 株とよく一致していたものの、クマネズミ株では変異が認められた。

クマネズミに咬まれた後、発熱、発疹等の症状を呈した鼠咬症が疑われる患者を検査する機会を得た。血液培養および患部からの菌の分離は出来なかったが、我々の開発した PCR 法により咬傷部痂皮から *S. moniliformis* 特異的遺伝子を検出した。また、患者サンプルおよび患者宅捕獲クマネズミの口腔スワブから増幅された *S. moniliformis* 特異的 16S-rRNA 遺伝子配列も一致していた。クマネズミ保有株による鼠咬症が確認された初めての報告である。

A. 研究目的

鼠咬症の原因菌の1つである *Streptobacillus moniliformis* (グラム陰性、多形性桿菌、好気性もしくは通性嫌気性) は主にラットの口腔内に存在する。ヒトにおける感染は、アメリカ大陸ほか、世界中で報告されている。ヒトへの感染経路は、感染ラットによる咬傷、接触、その他

汚染したものによる経口感染である。発熱、悪寒、筋肉痛、関節痛、四肢の斑状丘疹状発疹、敗血症性関節炎などが主な症状であり、治療を行わない場合の致死率は 10 %とされる。診断は、血液、関節液、発疹滲出液の培養によりおこなうが、栄養要求の厳しい細菌であり、培養には一般的な組成の培地による培養は困難である。感染時に有効とされる薬剤としては、ペ

ニシリン、アンピシリン、テトラサイクリンなどがある。

かねてより国内における鼠咬症の危険性の確認と診断法を確立する目的から、*S. moniliformis* 検出法の検討、および屋外と屋内の野生ラットにおける保菌状況の調査を行っている。今回、我々が野生ラットより分離した株と ATCC 株の生化学性状および 16S-rRNA の遺伝子配列を比較・検討した。

また、国内で発生した鼠咬症が疑われた 1 症例について、我々の開発した PCR 法の臨床診断における有用性を検証する機会を得た。

B. 研究方法

1. サンプル (口腔内スワブ) : 野生ラットを捕獲し、口腔・咽喉頭スワブを、BD BBL カルチャースワブ・プラス (#212553) を用いて採取した。屋外捕獲ラットは、いずれもドブネズミ (*Rattus norvegicus*) であった。屋内捕獲ラットは、2 匹がドブネズミであったが、ほかはすべてクマネズミ (*Rattus rattus*) であった (表 1)。

2. サンプル処理と培養 : スワブを ATCC medium 488 broth 1 ml に希釈し、10 μ l を ATCC medium 488 agar で、37°C、5% CO₂ 存在下および微好気下で培養し、残りは ATCC488 broth 8 ml を用いて 37°C、5% CO₂ 存在下で培養した。その後の分離培養は、colistin-nalidixic acid と sulfamethoxazole-trimethoprim を含む ATCC488 agar を用いて、嫌気条件下で行った。陽性対照菌株には、*S. moniliformis* ATCC14647 (Type strain)、ATCC49567、ATCC49940 株を用いた。

3. DNA の検出 : 培養後の ATCC488 broth および ATCC488 agar 上のコロニーから S5/AS2 プライマーを用いた PCR により *S. moniliformis* 特異的 16S-rRNA 遺伝子の検出を行った。分離株は、16S-rRNA のユニバーサルプライマー (27f、

1492r) と S5、AS2 を適宜組み合わせ、遺伝子解析を行った。

4. 分離株の生化学性状試験 : ATCC 株 (3 株)、ラット分離株 (ドブネズミ由来 4 株、クマネズミ由来 3 株) について API20 (API Laboratory Products)、IDtest NF-18 (日水製薬株式会社)、BACTOLABO oxidase test (和光純薬工業株式会社) を用いて表 2 に示す検査項目について生化学性状の検査・比較を行った。

5. 鼠咬症例の解析 :

患者 : M 市在住、74 才、女性

経緯 : 自宅にて鼠 (頭胴長 15 cm) に右手の第 2、3 指を咬まれた。

症状 : 咬傷後 5 日より発熱、関節痛、筋肉痛、全身倦怠感、10 日より四肢に紅斑が出現し病院を受診。血液培養は陰性。

PCR : 急性期の患者血清、血清培養上澄、咬傷部痂皮から抽出した DNA をテンプレートとして S5/AS2 プライマーを用いた *S. moniliformis* 特異的 PCR を実施した。さらに患者宅においてトラップによりクマネズミ 2 頭を捕獲し、口腔スワブサンプルを採取し ATCC488 broth にて培養後、上澄から DNA を抽出し、同じく PCR を実施した。

16S-rRNA 遺伝子のシーケンス : PCR 陽性であった患者咬傷部痂皮および患者宅捕獲クマネズミ口腔スワブ培養から *S. moniliformis* 特異的 16S rRNA 遺伝子断片を増幅しシーケンス解析を実施し、2 つの遺伝子断片の配列を比較した。さらに ATCC 株、野生ラット分離株の 16S rRNA 遺伝子配列と比較検討を行った。

C. 研究結果

1. 野生ラットにおける保菌率 : 我々の開発した PCR 法によるドブネズミおよびクマネズミの口腔内における *S. moniliformis* 保有状況は、ドブネズミで 92%、クマネズミで 58% と高率で

あった (表 1)。

2. 遺伝子解析： 分離株の 16S-rRNA の遺伝子配列を比較したところ、ドブネズミは ATCC14647 株 (Z35305) と高い相同性を示した。一方、クマネズミはドブネズミと異なる配列を示し、またクマネズミの中でも 2 種類の株があった。

3. 生化学的性状の比較： エスクリン加水分解性において ATCC49940 株に不一致がみとめられたが、それ以外の検査項目では、ATCC3 株と野生ラット分離 7 株の全ての株間で良く一致した結果を示した (表 2)。

4. 患者からの検出： 患者咬傷部痂皮より *S. moniliformis* 特異的遺伝子が検出された (図 1)。血清その他の検体からは検出されなかった。また、患者咬傷部痂皮および患者宅捕獲クマネズミの口腔スワブ培養から増幅された *S. moniliformis* 特異的 16S-rRNA 遺伝子のシーケンスは 100%一致した。さらに、それら 2 つの遺伝子断片と ATCC 株、野生ラット分離株の配列を比較したところクマネズミ分離株の 1 亜系と 100%一致した。

D. 考察

ヒトの *S. moniliformis* 感染は世界中で知られ、米国だけでも 200 例以上の報告があり 2003 年には、2 例の死亡例が発生している。今回の調査により国内の野生ラットが *S. moniliformis* を高率に保菌していることが確認された。近年では、これら野生ラットが都市の住宅地、飲食店街等へ侵入することによる衛生被害が問題になってきている。そのため、我が国でも、今後、野生ラットによる咬症、飲食物の汚染を原因とするヒトの *S. moniliformis* 感染が懸念される。

今回の症例では血液培養が、陰性であっても患者生体サンプルの PCR により鼠咬症の診断

がなされた。本研究において開発した *S. moniliformis* 特異的 PCR は鼠咬症の臨床診断に有効であることが示された。

ドブネズミとクマネズミそれぞれの分離株の生化学的性状は、ATCC 株とよく一致していたが、16S rRNA 遺伝子シーケンスの検討からドブネズミとクマネズミでは保菌している *S. moniliformis* 株が異なっていることが明らかとなった。ドブネズミ咬傷及びドブネズミ保有株によると考えられる鼠咬症例は、近年も複数報告があるが、クマネズミおよびクマネズミ関連株による発症例は報告されておらず、クマネズミ保有株の病原性は不明であった。今回、患者と患者宅捕獲クマネズミより増幅された *S. moniliformis* 特異的遺伝子断片のシーケンスが一致し、さらにクマネズミ分離株の 1 タイプのシーケンスとも一致した。患者はクマネズミ咬傷によりクマネズミ関連株に感染し鼠咬症を発症したと考えられる。屋外が主であるドブネズミの生息域に対し、クマネズミは、家屋内に棲んでおり、より人との接触機会が多いと考えられる。しかし鼠咬症例の原因ラットとしてはドブネズミのみ報告がある。今回の症例は鼠咬症原因菌としてクマネズミ関連株が確認された最初の鼠咬症例であり、今後、鼠咬症原因動物としてドブネズミだけでなくクマネズミにも注意する必要があるだろう。

E. 結論

国内の野生ラット (ドブネズミおよびクマネズミ) の *S. moniliformis* の保菌状況の調査を行い、高率に保菌していることを明らかにした。

また、今回の症例検討より、血液培養による菌検出が陰性であっても、われわれの開発した PCR による診断が有効であることが示された。ドブネズミとクマネズミでは、保菌している *S. moniliformis* 株が異なっており、またクマネズミ関連株による鼠咬症例は未報告で病原性についても不明であった。今回の症例の原因となっ

た *S. moniliformis* がクマネズミ関連株であることが確認されたことから、クマネズミ関連株も鼠咬症原因菌となることが明らかになった。ドブネズミよりも家屋内に生息することが多く、人と接触機会が多いクマネズミにも鼠咬症原因動物としての注意が必要である。

F. 健康危害情報

なし。

G. 研究発表等

1. 論文発表等

(1) Kimura, M., Tanikawa, T., Suzuki, M., Koizumi, N., Kamiyama, T., Imaoka, K. and Yamada, A. Detection of *Streptobacillus* spp. in feral rats by specific polymerase chain reaction.

Microbiol. Immunol., 52:1-7, 2008

(2) 中込大樹, 出口順啓, 矢ヶ崎晶子, 原田和俊, 柴垣直孝, 島田眞路, 木村昌伸, 今岡浩一. 痂皮のPCRにより *Streptobacillus moniliformis* を検出した鼠咬症の一例. in: 病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 28(8):226-227, 2007

2. 学会発表等

(1) 中込大樹, 出口順啓, 矢ヶ崎晶子, 原田和俊, 柴垣直孝, 島田眞路, 今岡浩一, 木村昌伸. 鼠咬熱の1例. 第59回日本皮膚科学会山梨地方会, 甲府, 2007年9月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表1) 国内野生ラットにおける *S. moniliformis* 保菌状況

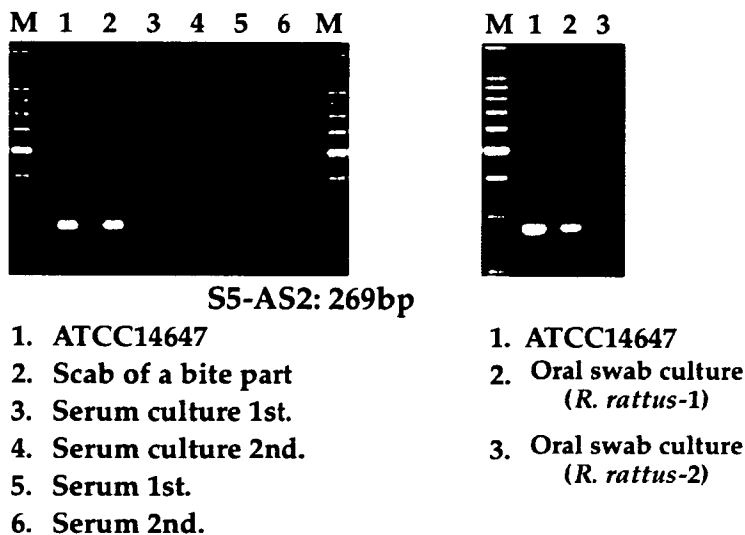
Feral rats	n	PCR Positive	%
Norway rat (<i>Rattus norvegicus</i>)	66	61	92
Black rat (<i>Rattus rattus</i>)	52	30	58
Total	118	91	77

表2) 野生ラットから新たに分離された *S. moniliformis* と ATCC 株の生化学的性状

Test	ATCC strains			<i>Rattus norvegicus</i> isolates				<i>Rattus rattus</i> isolates		
	14647	49567	49940	1	2	3	4	1	2	3
Oxidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ S production	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetoin production	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amygdalin fermentation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin in hydrolysis	-	-	+	-	-	W	W	-	-	-
Urea hydrolysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrate utilization	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginin dihydrolase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Beta-galactosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelatinase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lysine decarboxylase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornithine decarboxylase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tryptophane deaminase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid produced from:										
Arabinose	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose	W	+	+	W	+	+	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

W=weak reaction

図1) 鼠咬症が疑われた患者および患者宅クマネズミからの *S. moniliformis* 特異的遺伝子の検出



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

国内生息ダニにおける野兎病菌保菌調査

分担研究者	棚林 清	国立感染症研究所	獣医科学部	室長
協力研究者	藤田 修	国立感染症研究所	獣医科学部	主任研究官
	堀田明豊	国立感染症研究所	獣医科学部	研究員
	宇田晶彦	国立感染症研究所	獣医科学部	研究員

研究要旨：国内のダニ類における野兎病菌 (*F. tularensis*) の保菌状況を知るために捕獲ノウサギに付着していたダニ 85 プール (317 匹) およびノウサギ捕獲地域で採集した自由生活ダニ 67 匹について本菌のゲノム DNA の検出を試みた。*fopA* 及び *tul4* 遺伝子領域のリアルタイム PCR ではノウサギ付着ダニの 70.1% 及び 71.8%、自由生活ダニの 55.2% 及び 67.2% に少量の DNA が検出された。しかし、菌分離はできなかったこと、過去に野兎病の発生がなかった地域のダニにも検出されること、また、検出率が非常に高いことなどから、今回検出された DNA 断片は *F. tularensis* あるいはダニに共生する本菌に非常に類似した菌由来の可能性が考えられ、今後、このような類似菌を確実に区別する方法を検討し精査する必要がある。

A. 研究目的

野兎病は、国内においてはノウサギを主な感染源とする典型的な動物由来感染症である。過去には関東地方から東北地方において患者の発生が認められたが、近年ほとんど発生の報告がない。起因菌である野兎病菌 (*Francisella tularensis*) は自然界においては吸血性節足動物、主にマダニ類を介して野生動物の間で維持されているものと考えられている。しかしながら、今日、本菌がノウサギやげっ歯類などの哺乳類、鳥類等の動物やダニ等の節足動物、また湖

沼河川等の環境でどのように存在するのかほとんど不明である。

本研究では日本国内で捕獲されたノウサギに付着していたダニ及び自由生活ダニにおける *F. tularensis* の保有状況を明らかにすることにより本菌の自然環境における存在状況を明らかにし、それらから直接またはノウサギ等の野生動物を介してヒトへ感染するリスクを評価するための基礎的情報を得ることを目的とした。

B. 研究方法

(1) ダニの収集

2005年から2007年に大日本猟友会の協力により捕獲されたノウサギの体表に付着していたダニを収集した。秋田県、新潟県、高知県、宮崎県及び鹿児島県において捕獲されたノウサギから合計317匹のダニを得た(表1)。また、新潟県において実際にノウサギが捕獲された場所及びその周辺の森林や藪で旗振り法による自由生活ダニ67匹を採取した。

(2) PCR及びリアルタイムPCRによる野兔病菌の検出及び塩基配列の解析

個々のダニまたは2から7匹をプールしたダニからのDNAの抽出は、液体窒素で凍結後粉碎し、DNeasy Tissue Kit (QIAGEN社)により行った。

(a)各種細菌の16S rRNA遺伝子を増幅するユニバーサルプライマーを用いてPCRを行い細菌由来DNAの増幅を行った。増幅されたDNAについてはTOPO TA cloning Kit (Invitrogen)を用いて大腸菌にクローニングし挿入DNA断片の塩基配列を決定しBLASTサーチして増幅されたDNAの由来菌の同定を行った。

(b) *F. tularensis*の高感度特異的ゲノム検出を行うために *fopA*, *tu14*, 16S rRNA遺伝子領域を増幅するリアルタイムPCRをライトサイクラーにより行った。

(c)リアルタイムPCRで増幅されたダニ抽出DNA検体についてその塩基配列を詳細に調べるために、*fopA*, 16S rRNA遺伝子領域のnested-PCRを行い、増幅断片を大腸菌にクローニングした。挿入DNAの塩基配列を

決定し、*F. tularensis* subsp. *holarctica*の塩基配列と比較した。また、RD1(region of difference 1)領域のnested-PCR増幅断片については直接塩基配列の決定をして既報の塩基配列と比較した。

(3) ダニからの *F. tularensis* の分離培養

旗振り法により採取したダニについては体表を消毒後、二分割し、破碎後PBSを加えユーゴン・チョコレート寒天培地に接種し、37°Cで10日間培養した。

B. 結果

(1)PCRによるダニからの *F. tularensis* の検出

捕獲ノウサギ付着ダニ抽出DNAについてユニバーサルプライマーを用いた16S rRNA遺伝子を増幅およびその塩基配列の解析を行った。15検体について、各検体12クローンの塩基配列をBLAST解析した。しかしながら、いずれのダニからも *Francisella* 属に分類される細菌は検出されなかった(表2)。また、*F. tularensis* 特異的PCRでも陽性となるバンドは認められなかった。

(2)リアルタイムPCRによる *F. tularensis* の高感度特異的ゲノム検出

高感度、特異的リアルタイムPCR(*fopA*, *tu14*, 16S rRNA遺伝子領域)により捕獲ノウサギ付着ダニ抽出DNAについて検出を試みた。*fopA*遺伝子では85検体中60検体(70.1%)、*tu14*遺伝子では61検体(71.8%)に陽性シグナルが検出された。また、16S rRNA遺伝子領域では2年間の検

体すべてでシグナルが検出された(表3、図1)。採取年度により陽性率は異なった。*fopA*については増幅DNAのメルティングカーブ解析でも陽性対照と同一であった。しかし、検出されたDNA量は少量であった。

fopA、16S rRNA、RD1領域を増幅するnested-PCRを行い、その塩基配列をクローニングまたは直接決定し、登録されている塩基配列と比較した。16S rRNA遺伝子領域(996塩基対)では11検体を調べたところ99.5%一致していた。また、11検体の*fopA*領域(404塩基対)、7検体のRD-1領域(1056塩基対)増幅DNAの塩基配列は既知の菌株の配列と完全に一致していた。

(3) 自由生活ダニでの *F. tularensis* ゲノムの検出及び分離培養

ノウサギ捕獲周辺林野において夏季に旗振り法によるダニの捕獲し、そのダニからの抽出DNAについてリアルタイムPCRによる検出を試みた。67匹のダニのうち*fopA*遺伝子領域では37匹(55.2%)、*tu14*遺伝子領域では45匹(67.2%)で陽性だった。両遺伝子領域ともに検出された検体は33匹(49.3%)だった。これらのダニからの菌分離はできなかった。

C. 考察

野兔病菌 *F. tularensis* の生態系における存在状況を調べるために捕獲ノウサギに付着したダニおよび自由生活のダニについてPCRおよびリアルタイムPCRによる *F. tularensis* ゲノムDNAの検出並びに増幅DNA断片の塩基配列解析を行った。通常のPCR

法では、調べたすべてのダニまたはそのプールのダニからは検出することができなかったが、高感度のリアルタイムPCR法では、検出されるDNA量は少ないながらも非常に高頻度に検出された。本研究で捕獲したダニは、過去に多くの野兔病が発生した秋田県も含まれるが、少数の発生しかない新潟県や全く発生報告がない高知県、宮崎県、鹿児島県において採取されたダニも含まれることは、本研究で用いたゲノム検出用のプライマーやプローブでは、ヒトや野生動物に野兔病を起こす *F. tularensis* あるいは本菌に類似するダニ寄生細菌を検出している可能性が考えられた。米国においてKugelerら(2005)は、ダニに寄生する *Francisella* 属類似菌 (*Francisella*-like endosymbionts) の存在を示しており、*ISFtu2*, *tu14*, および *iglC* 領域を増幅するマルチターゲットリアルタイムPCRを行うことで *F. tularensis* とこれらの類似菌を区別できると報告している。この報告のプライマーとプローブで少数の国内ダニ抽出DNAの増幅を実施したところ *tu14* 領域ではDNA増幅は見られるもののサイズが異なることが認められ、*Francisella* 属類似菌の存在が示唆された。

今後、日本国内の他の遺伝子領域の塩基配列解析をするとともに、日本各地の多数のダニについて解析し、*F. tularensis* と類似菌との鑑別可能な手法を確立してダニにおける *F. tularensis* の保有状況を精査する必要があるものと考えられた。

D. 結論

日本国内の捕獲ノウサギに付着していたダニおよびノウサギ捕獲地域で採集した自由生活ダニについて野兔病菌 (*F. tularensis*) のゲノム DNA の検出を試みた。 *fopA* 及び *tuI4* 遺伝子領域のリアルタイム PCR ではノウサギ付着ダニ自由生活ダニに少量ではあるが DNA が検出された。しかし、菌分離はできなかったこと、過去に野兔病の発生がなかった地域のダニにも検出されること、また、検出率が非常に高いことなどから、今回検出された DNA 断片は *F. tularensis* あるいはダニに共生する本菌に非常に類似した菌由来の可能性が考えられた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1) Uda, A., Tanabayashi, K., Fujita, O., Hotta, A., Yamamoto, Y., and Yamada, A. Comparison of whole genome amplification methods for detecting pathogenic bacterial genomic DNA using microarray. Jpn. J. Infect. Dis. 60: 355-361 (2007)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 野兔病菌検出に用いたダニの数およびプール検体数

Collection place	H.16 (No. ticks)	H.17 (No. ticks)	H.18 (No. ticks)
Akita	2 (3)	1 (1)	-
Niigata	19 (86)	15 (67)	7 (23)
Kochi	-	11 (35)	7 (33)
Miyazaki	-	2 (2)	4 (19)
Kagoshima	-	11 (19)	6 (19)
Total	21 (99)	40 (124)	24 (94)

表2 16s rRNA遺伝子ユニバーサルプライマーで増幅された菌の種類

Clade and family	Closest BLAST match (accession no.)a	No. identical/total (% identity)b		NIIGATA				AKITA			MYA ZAKI			KOCHI		
		12	20	26	32	17	24	45	13	19	20	21	90			
Alphaproteobacteria																
Rickettsiales																
Rickettsiaceae	<i>Rickettsia monacensis</i> (DQ100164)											1				
	<i>Wolbachia endosymbiont</i> (DQ412085)							1								
Burkholderiales																
Oxalobacteraceae	<i>Janthinobacterium lividum</i> (Y08846)											1				
Legionellales																
Coxiellaceae	<i>Coxiella burnetii</i> (AY342037)									11						
Pseudomonadales																
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (AF094730)								4				1	2		
	<i>Moraxella osloensis</i> (AY545637)												1			
Moraxellaceae	<i>Acinetobacter lwoffii</i> (DQ144736)															
	<i>Psychrobacter pulmonis</i> (EF101551)															
Entrobacteriales																
Enterobacteriaceae	<i>Enterobacter ludwigii</i> (EF175735)															
	<i>Rahnella aquatilis</i> (AY253920)															
Mollicutes																
Entomoplasmatales																
Spiroplasmataceae	<i>Spiroplasma</i> sp. (AM087471)													1		
Bacilli																
Bacillales																
Bacillaceae	<i>Bacillus cereus</i> (DQ207729)															
	<i>Staphylococcus delphini</i> (AB009938)															
Actinobacteria																
Actinomycetales																
Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i> sp. (AJ504424)															
Sphingobacteria																
Sphingobacteriales																
Sphingobacteriaceae	<i>Sphingobacterium</i> sp. (AY635870)															

a Blast analysis was done using BLAST 2.2.15 at <http://blast.ddbj.nig.ac.jp/top-j.html>.

b Where more than one clone was obtained, the longest sequence run is reported in the percent identity.

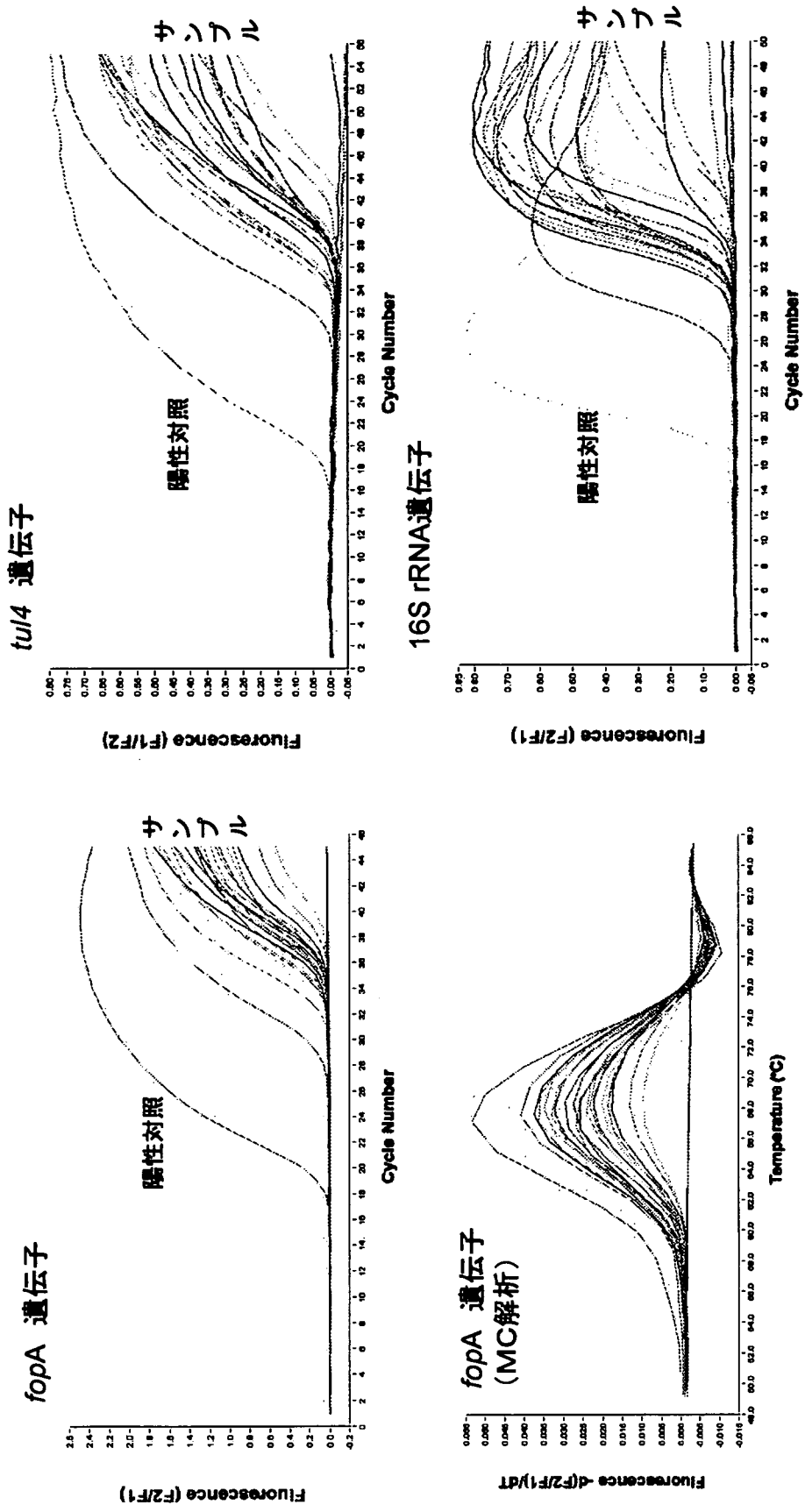


図1 ダニ抽出DNAにおけるリアルタイムPCRによる野兔病原菌fopA, tul4, 16S rRNA遺伝子の検出及びメルティングカーブ(MC)解析例

表3 野兔病菌 *fopA*, *tuA* および 16S rRNA 遺伝子のリアルタイムPCRでの陽性検体数(プール)

Real-time PCR Target gene	<i>fopA</i>			tul4			16S rRNA		
	H16 (21)	H17 (40)	H18 (24)	H16 (21)	H17 (40)	H18 (24)	H16 (21)	H17 (40)	H18 (24)
Akita	1	1	-	1	1	-	2	1	-
Niigata	17	14	2	19	14	0	19	15	3
Kochi	-	11	0	-	10	0	-	11	3
Miyazaki	-	1	1	-	1	1	-	2	1
Kagoshima	-	10	2	-	11	3	-	11	3
Semi Total (%)	18 (85.7)	37 (92.5)	5 (20.8)	20 (80.0)	37 (92.5)	4 (16.7)	21 (100)	40 (100)	10 (41.7)
Total (%)	60 (70.1)			61 (71.8)			71 (61.8)		

平成 19 年度

動物由来感染症の生態学的アプローチによるリスク評価等に関する研究

分担研究報告書

野生動物の感染症に関する研究

分担研究者：柳井 徳磨 岐阜大学応用生物科学部

獣医病理／野生動物感染症センター 教授

協力研究者：斉藤 勇太，辻 一 岐阜大学応用生物科学部 獣医病理

I. 猛禽類の死因と背景病変に関する病理学的研究

要約

2007 年熊本にてクマタカに鳥インフルエンザ H5N1 陽性例が検出されたことから、猛禽類も同ウイルスの拡散に関与する可能性が示唆された。そのため猛禽類での H5N1 株感染を想定し、病理学的な早期検出のために必要な、猛禽類の死因を含めた情報、すなわち背景病変を retrospective に検討した。

全身あるいはホルマリン固定材料として送付された猛禽類 200 例（タカ目 16 種 149 例；フクロウ目 20 種 51 例）について検索した。

死因の検索では、多い順に外傷、敗血症、アスペルギルス症、肝炎および熱中症であった。その他、種々の疾患が単発性に認められ、35 例では死因が明確でなかった。背景病変としては、多い順に、肝臓の壊死巣、肉芽腫形成、肺炎、消化管寄生虫、外傷、心筋炎、敗血症、腎炎および壊死、腎原虫症、アスペルギルス症、肝炎、肺の寄生虫症、心臓の住肉胞子虫、腎臓の尿酸塩沈着および趾瘤症であった。アスペルギルス症がみられた 9 例のうち 8 例が飼育個体であった。

外傷が大きな割合を占めていた。野生個体に中毒や感染症を示唆する病変はなかった。趾瘤症やアスペルギルス症は飼育下の個体にのみ認められた。肺、消化管および心臓における寄生虫症では、一部は腸管壁を穿孔し腹膜炎を惹き起こしていた。

以上のことから、猛禽類では肺炎を含めた、種々の背景病変が認められことから、鳥インフルエンザ被疑例の確定には遺伝子診断だけでなく、種々の要因を考慮する必要がある。

A. 研究目的および背景

2007 年 1 月から 2 月にかけて、宮崎県および岡山で相次ぎ鳥インフルエンザ H5N1 ウイルスの集団発生が養鶏場で発生し、そのウイルスの特徴は韓国で発生している鳥インフルエンザウイルスと極めて類似していることから、疫

学的にも野鳥を介したウイルスの拡散が疑われた。同年、熊本県で採取されたクマタカに鳥インフルエンザ H5N1 が証明されたことから、野鳥と同ウイルスの関連が強く示唆された。これらの検索は、主として分子生物学的な手法で検索されており、鳥インフルエンザがクマタカ

に感染していたのか、病原性を示していたのか、死因は何だったのかなど疑問は尽きない。死因を解明するためには、自然界での野鳥がどのような背景病変を示すかの情報を予め保持する必要がある。本研究では、鳥インフルエンザ H5N1 の野鳥への侵入を想定して、特に感染した水鳥などの野鳥を捕食し二次的な感染を起こす可能性が高い猛禽類の背景病変と死因の調査を優先して実施した。

一方、タカおよびフクロウ目からなる猛禽類では、多くの種が絶滅の危機に瀕している。猛禽類は食物連鎖の高次に位置することから、その生存には生息地の生態系が正常に機能している必要がある。また、寿命が長いために生物濃縮の結果、有害物質が蓄積されやすい。今回、猛禽類の保全のための基礎データやその生息地の環境汚染についても併せて検討した。

B. 研究方法

全身材料あるいは主要臓器のホルマリン固定材料として、岐阜大学獣医病理学講座に送付された猛禽類 200 例（タカ目 16 種 149 例；フクロウ目 20 種 51 例）について検索した。検体については、性別、年齢、産地、生活環境および臨床経過を調査した。性別、年齢については外見または組織学的に評価した。組織学的に、精子形成や卵胞形成がみられたものや、ファブリキウス嚢が退縮していたものを成鳥とし、それ以外を幼鳥とした。産地、生活環境および臨床経過については、添付されていた依頼書などの記載に従った。記載のないものは不明とした。捕獲または死体が発見された都道府県を産地とした。生育環境については、野生、保護飼育、人工飼育、動物園飼育および不明に分類した。

1. 動物

①タカ目(16種149例)

トビ(*Milvus migrans*; 75 例)、カンムリワシ(*Spilornis cheela perplexus*; 26 例)、

オオタカ(*Accipiter gentilis*; 17 例)、ハヤブサ(*Falco peregrinus*; 9 例)、チョウゲンボウ(*Falco tinnunculus*; 4 例)、オジロワシ(*Haliaeetus albicilla*; 3 例)、クマタカ(*Spizaetus nipalensis*; 3 例)、オオワシ(*Haliaeetus pelagicus*; 2 例)、ミサゴ(*Pandion haliaetus*; 2 例)、イヌワシ(*Aquila chrysaetos*; 1 例)、クロハゲワシ(*Aegypius monachus*; 1 例)、コンドル(*Vultur gryphus*; 1 例)、ツミ(*Accipiter gularis*; 1 例)、ノスリ(*Buteo buteo*; 1 例)、ハイタカ(*Accipiter nisus*; 1 例)、ミナミハイタカ(*Accipiter badius*; 1 例)、種不明のタカ(1 例)。

②フクロウ目(20種51例)

フクロウ(*Strix uralensis*; 11 例)、シロフクロウ(*Nyctea scandiaca*; 7 例)、アオバズク(*Ninox scutulata*; 5 例)、オオコノハズク(*Otus lempiji*; 5 例)、ホンドフクロウ(*Strix uralensis hondoensis*; 3 例)、アメリカワシミミズク(*Bubo virginianus*; 2 例)、オオスズメフクロウ(*Glaucidium cuculoides*; 2 例)、ケープワシミミズク(*Bubo capensis*; 2 例)、コノハズク(*Otus scops*; 1 例)、トラフズク(*Asio otus*; 2 例)、オナガフクロウ(*Surnia ulula*; 1 例)、コミミズク(*Asio flammeus*; 1 例)、コキンメフクロウ(*Athene noctua*; 1 例)、シマフクロウ(*Bubo blakistoni blakistoni*; 1 例)、チャバラオオコノハズク(*Otus watsonii*; 1 例)、ニュージーランドアオバズク(*Ninox novaeseelandiae*; 1 例)、ベンガルワシミミズク(*Bubo bengalensis*; 1 例)、マレーウオミミズク(*Ketupa ketupu*; 1 例)、ヨーロッパコノハズク(*Otus scops*; 1 例)、ワシミミズク(*Bubo bubo*; 1 例)、種不明のフクロウ(1 例)。

2. 病理学的検査

全身材料として提供された検体は、剖検に

て肉眼観察を行い、下記の臓器および組織を採材した。脳、肺、心臓、食道、嚙嚢、腺胃、筋胃、小腸、大腸、肝臓、脾臓、腎臓、膀胱、生殖器、甲状腺、副腎、さらに必要に応じて骨、眼球、気嚢および皮膚。

採材した臓器および組織は、10%緩衝ホルマリン液にて固定、その後切り出した後、パラフィン包埋後、4 μ mに薄切し、定法に従いヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施し、組織学的検索に供した。一部の症例については必要に応じて、下記に示した特殊染色を施した。

3. 電子顕微鏡学的検査

組織学的検査にて、ポックスウイルス感染症と診断された1例のオジロワシ(No. 21)において、電子顕微鏡学的検査を行った。標本は、2.5% glutaraldehydeにより固定し、1% osmium tetroxide solutionにて後固定し、エポン包埋を行った後、超薄切片を作製した。切片に対して、uranyl acetateおよびlead citrateによる二重染色を施し、透過型電子顕微鏡(日立H-8100, 東京)を用いて、加速電圧100kVにて観察した。

C. 結果

剖検例を中心に死因の検索を行ったところ、多い順に外傷、敗血症、アスペルギルス症、肝炎および熱中症であった。その他、種々の疾患が単発性に認められ、35例では死因が明確でなかった。

背景病変としては、多い順に、肝臓の壊死巣、肉芽腫形成、肺炎、消化管寄生虫、外傷、心筋炎、敗血症、腎炎および壊死、腎原虫症、アスペルギルス症、肝炎、肺の寄生虫症、心臓の住肉孢子虫、腎臓の尿酸塩沈着および趾瘤症であった。アスペルギルス症がみられた9例のうち8例が飼育個体であった。

1. 検索例の由来

今回の研究に用いた検体の生活環境は、140例が野生、25例が動物園飼育、8例が人工飼育、

19例が保護飼育、8例は不明であった。性別は、雄95例、雌83例、22例は性別不明であった。年齢は、成鳥が91例、幼鳥が57例、52例が不明であった。

2. 死因

死因については、斃死体として提供された検体98例を対象とした。

死因は様々であった。骨折など、外傷によるものが15例(15.3%)であった。敗血症、アスペルギルス症、寄生虫感染を含めた感染性疾患が27例であった。全身性の石灰沈着症や痛風、熱中症などの全身性疾患が7例でみられ、肝細胞の変性や肺における病原体の感染以外の病変をはじめとする変性性または炎症性疾患が5例でみられた。心筋の壊死や僧帽弁の閉鎖不全を惹き起こしたと考えられた弁膜硬化など、循環器疾患が5例において認められ、新生物がみられた個体は2例であった。その他に、薬物中毒が疑われる肝炎、腎臓における尿酸塩沈着症がそれぞれ1例ずつみられ、35例の死因は不明であった。

3. 背景病変

1. 外傷

肉眼検査が行われた121例のうち、35例(28.9%)において、上腕骨や大腿骨、頭蓋骨などの骨折が認められた。また、全例(200例)のうち、16例(8.0%)において、肉眼的あるいは組織学的に、硬膜下出血、皮下出血、胸腹腔内出血、外傷性肺炎など、外傷を示唆する病変が認められた。骨折がみられた33例のうち、全てが野生個体であった。外傷が示唆される病変を有する16例のうち、12例(75.0%)が野生個体であった。

骨折や、外傷が示唆される病変を有していた個体は、ノスリ(1/1;100%)、ハイタカ(1/1;100%)、ワシミミズク(1/1;100%)、ツミ(1/1;100%)、コムミズク(1/1;100%)、肉眼所見がとられたトビ(6/7;85.7%)、オオタカ(10/17;58.8%)、カンムリワシ(15/26;57.7%)、

フクロウ(6/11;54.5%)などで高率に認められた。

フクロウの1例(No. 191)において、臨床的に起立不能がみられた。頭部の外傷が疑われ、治療を行うも改善せず、野生復帰困難と判断されたため安楽殺された。剖検時には、第2, 3胸椎において脱臼が認められ、同部位の脊髄は圧迫され、損傷を受けていた。損傷がみられた脊髄は、組織学的には広範囲にわたる軸索の変性・壊死がみられ、主病変部の前後においては、軸索が好酸性を増し腫大、軸索変性の像を呈していた。この標本に対して、ルクソールファストブルー染色を施したところ、病変部において髄鞘が青緑色に染色されず、明らかな変性変化が認められた。

2. 敗血症

12例(6.0%: カンムリワシ5例;オオタカ;クマタカトビ;ハヤブサ;ミナミハイタカ;コキンメフクロウ;シロフクロウ各1例ずつ)において、敗血症が病理学的に確定診断されるか、または疑われた。9例において肝細胞の変性や巣状壊死およびこれに対するマクロファージや偽好酸球などの炎症細胞の浸潤が認められた。これらには、臓器あるいは血管内にしばしば桿菌や球菌が認められた。また、脾臓や脾臓、大脳、小脳、腸間膜脂肪織、心筋、肺、気嚢および腎臓などにおいて、しばしば菌塊を混じる膿瘍や壊死巣が散見された。このように全身において、菌塊やそれに対する生体反応が認められたものは、敗血症と確定診断された。一方、3例においては、菌塊がいずれの臓器にも認められなかったが、肝臓における偽好酸球浸潤を伴う多発性の壊死巣や大腸粘膜固有層における膿瘍形成、感染脾など、全身性の細菌感染を示唆する生体反応が認められたことから、敗血症の発生が強く疑われた。

2. 趾瘡症

2例の雌の成鳥のハヤブサ(No. 113, 114)において、両後肢において趾瘡症が認められた。

同部位は、組織学的には、膿瘍の形成がみられた。これらは2例とも、もともとは野生個体であったが、保護され、1年間または2年間にわたり長期間保護飼育された個体であった。

3. 消化器疾患

1) 消化管における寄生虫の寄生

55例(27.5%)において、肉眼検査と組織検査、または、どちらか一方の検査にて、消化管(食道、腺胃、筋胃、小腸および大腸)内において線虫あるいは蠕虫など、寄生虫の寄生が認められた。大腸漿膜面や、小腸と脾臓間における寄生虫(線虫)の寄生が、フクロウでそれぞれ1例ずつ認められた。

消化管内において寄生虫の寄生が認められた個体は、ノスリ(1/1;100%)、ハイタカ(1/1;100%)、チャバラオオコノハズク(1/1;100%)、オオコノハズク(4/5;80%)、クマタカ(2/3;66.7%)、フクロウ(6/11;54.5%)、オオズメフクロウ(1/2;50%)、トラフズク(1/2;50%)などで感染率が高かった。

55例中49例(89.1%)は野生個体であり、1例は6ヶ月間保護飼育した個体であった。

2) 肝臓における病変

64例(32.0%)において、多発性の巣状壊死や、グリソン氏鞘周囲において、マクロファージやリンパ球、まれに偽好酸球を混じる炎症細胞の集簇(肉芽腫)が認められた。壊死は、小さなものから、広範囲にわたるものまで様々であった。しばしば偽好酸球の浸潤がみられたことから、細菌感染の関与が考えられ、また、これらは組織学的な形態が類似していたことから、このうちから無作為に選択した9例について、PAS反応、グラム染色を行った。しかし、いずれの検体においても病変形成に関連した細菌は検出されず、PAS反応に陽性を示すような真菌や寄生虫などは認められなかった。

肝臓において壊死や肉芽腫の形成が認められた個体は、オジロワシ(3/3;100%)、クマタカ

(3/3;100%), オオワシ(2/2;100%), アメリカワシミミズク(2/2;100%), コンドル(1/1;100%), ハイタカ(1/1;100%), オナガフクロウ(1/1;100%), コキンメフクロウ(1/1;100%), コノハズク(1/1;100%), ペンガルワシミミズク(1/1;100%), マレーウオミミズク(1/1;100%), ヨーロッパコノハズク(1/1;100%), オオスズメフクロウ(1/2;50%), トビ(25/75;33.3%), ハヤブサ(3/9;33.3%), ホンドフクロウ(1/3;33.3%), シロフクロウ(2/7;28.6%), フクロウ(3/11;27.3%), カンムリワシ(7/26;26.9%), アオバズク(1/5;20%) および オオタカ(3/17;17.6%)であった。

動物園飼育下のマレーウオミミズクの1例(No. 197)においては、大部分の肝細胞が空胞変性および壊死に陥っていた。残存する肝細胞は腫大し、細胞質内において好酸性の球状物が認められたことから、薬物による中毒が疑われた。

5例(2.5%; チャバラオオコノハズク, ミナミハイタカ, オオタカ, ハヤブサ, ホンドフクロウ)の肝臓において、肉眼的な変化は認められなかったが、組織学的に、肝細胞が腫大し変性を示し、核内には両染色性封入体が認められたことから、ウイルスの感染が示唆され、封入体の形態からはアデノウイルス感染症が疑われた。さらに、これら5例中ホンドフクロウを除く4例は、同一のブリーダーにて輸入、飼育されていた個体であり、同時期に斃死していたことから、ウイルス感染症が強く示唆された。1例のツミ(No. 148)の肝臓において、多中心性に線虫の寄生が認められ、周囲において、結合織の増生や多中心性の膿瘍が認められた。

1例の輸入飼育されていたヨーロッパコノハズク(No. 198)の肝細胞内において、多数の原虫様の構造物が認められ、多発性の壊死が認められた。PAS染色を行ったところ、病巣の血管内および間質において、虫卵様の構造物が多数確認された。

4. 呼吸器疾患

46例(23%)において、死戦期の肺うっ血が認められ、肺出血が15例(7.5%)において認められた。5例(2.5%)の肺において寄生虫(線虫, 種類不明)の寄生が認められた。10例(5%)において真菌など顕微鏡下で確認できる真菌の感染が認められた。寄生虫や真菌以外の原因による、気嚢, 気管・気管支周囲, 肺胞壁および肺胞腔内における炎症細胞の浸潤が63例でみられた。その炎症像は、血管周囲におけるリンパ球の浸潤や微小な肉芽腫の形成から、広範囲にわたる膿瘍まで、さまざまであった。25例において、細菌感染を示唆する化膿性肺炎または気管支炎や線維素性気管支炎または肺炎がみられ、そのうち7例において細菌塊が確認された。残りの34例においては、巣状のマクロファージ浸潤や、まれに中央部に壊死巣の形成を伴う小型の肉芽腫が認められ、リンパ球や形質細胞の浸潤も伴われていた。2例において、気管支周囲においてリンパ濾胞の形成が認められたことから、マイコプラズマの感染が疑われた。

肺炎を示した個体としては、ケープワシミミズク(2/2;100%), コキンメフクロウ(1/1;100%), シマフクロウ(1/1;100%), ハイタカ(1/1;100%), ミナミハイタカ(1/1;100%), ツミ(1/1;100%), アメリカワシミミズク(1/2;50%), オオスズメフクロウ(1/2;50%), フクロウ(5/11;45.5%), シロフクロウ(3/7;42.9%), アオバズク(2/5;40%), カンムリワシ(10/26;38.5%), トビ(26/75;34.7%), オジロワシ(1/3;33.3%), クマタカ(1/3;33.3%), オオタカ(5/17;29.4%)およびハヤブサ(1/9;11.1%), であり、それらの生活環境は、44例が野生個体, 14例が飼育個体(人工飼育:2例, 動物園飼育:7例, 保護飼育:5例), 5例は不明であった。

1) 呼吸器における寄生虫の寄生

5例(2.5%; オオタカ2例, トビ, フクロウ, 種不明のフクロウ各1例ずつ)において、肺や

気管、気嚢など、呼吸器において寄生虫の寄生が認められた。これらすべては、成鳥の野生個体であった。3例においては寄生虫の周囲においてマクロファージや異物型巨細胞など、炎症反応が認められたが、1例においては、寄生虫の寄生している肺胞の周囲間質においてリンパ球やマクロファージの軽度な浸潤が認められるのみであり、また、1例において炎症反応はほとんど認められなかった。

2) 真菌感染症

① アスペルギルス症

9例(4.5%)の肺や気嚢において、アスペルギルス様の真菌の感染が認められた。肉眼検査において、肺や胸壁における白色から黄白色の小結節が多数みられ、一部の検体では、気嚢の高度な肥厚が認められた。組織学検査では、真菌の周囲において、偽好酸球、マクロファージおよび異物型巨細胞の集簇が認められ、さらにその周囲において広く壊死巣が認められた。また、重度の例では感染が気嚢におよび気嚢炎を示すと共に、肺における真菌性ボール(Fungus ball)の形成が認められた。PAS反応にて、菌体を観察したところ、アスペルギルスに特徴的な分生糸が確認されたことから、アスペルギルス症と確定診断された。

9例の内訳は、シロフクロウ(4/7;57.1%)、アオバズク(1/5;20%)、ミサゴ(1/2;50%)、オオタカ(1/17;5.9%)およびカンムリワシ(1/26;3.8%)および種不明のタカであった。

これら9例中8例が飼育個体であった(保護飼育;4例、動物園飼育;3例、人工飼育;1例)。1例についての生活環境は不明であった。

② ムコール症

1例の野生のイヌワシ(No. 1;1/1;100%)において、組織学的に、肺における広範囲な壊死がみられ、病巣の周囲において、偽好酸球、マクロファージおよび少数の真菌が認められた。この標本に対するPAS反応にて、中壁を有さないムコールが検出されたため、ムコール症と確定

診断された。

5. 循環器疾患

50例(25%)の心臓において種々の病変が認められた。うっ血が2例において認められた。

5例(トビ4例、オジロワシ1例)の心筋間において、標本上で1箇所において、住肉胞子虫が認められたが、これらに対する炎症反応はほとんど認められなかった。いずれも野生個体であり、4例は成鳥、1例のトビは幼鳥であった。

37例(18.5%)において、心臓における炎症が認められた。そのうち32例において、心外膜、心筋、心内膜、腱索および弁膜において、一部で少数の偽好酸球を混じり、マクロファージやリンパ球などの炎症細胞浸潤や、線維化、一部では石灰化がみられた。これらの病変は疾患の慢性経過を示す。残りの5例においては、心外膜や心筋、心内膜および弁膜において、細菌感染を示唆する化膿性炎の形成が認められ、これらのうち4例においては、桿菌や球菌などの菌塊が認められた。

心臓における炎症がみられた個体は、クロハゲワシ(1/1;100%)、コンドル(1/1;100%)、オナガフクロウ(1/1;100%)、コミミズク(1/1;100%)、チャバラオオコノハズク(1/1;100%)、オジロワシ(2/3;66.7%)、クマタカ(2/3;66.7%)、オオオオワシ(1/2;50%)、ミサゴ(1/2;50%)、アメリカワシ(1/2;50%)、オオスズメフクロウ(1/2;50%)、トラフズク(1/2;50%)、タカ(5/17;29.4%)、シロフクロウ(2/7;28.6%)、ハヤブサ(2/9;22.2%)、フクロウ(2/11;18.2%)、カンムリワシ(4/26;15.4%)、トビ(7/75;9.3%)および種不明のタカであった。

また、9例において、炎症細胞の浸潤がみられない、新鮮な出血や、心筋の壊死が衝突、銃撃などの外傷に関連して認められた。

6. 泌尿器疾患

6例(ホンダフクロウ2例、オオスズメフクロウ、トラフズク、マレーウオミミズク、キンメフクロウ各1例)の腎臓の尿細管、集合管

あるいは腎盂において、原虫の寄生が認められた。集合管の壊死および基底膜からの脱落は認められたが、原虫に対する炎症反応は認められなかった。

17例において、出血やうっ血が認められた。8例において、間質におけるリンパ球、形質細胞およびマクロファージの浸潤が認められた(間質性腎炎)。3例(オオワシ2例、オジロワシ1例)において、尿細管の変性が認められ、2例(トビ、カンムリワシ)においては、細菌を混じた壊死巣の形成が認められた。3例(オオタカ、オオズメフクロウ、シロフクロウ)において、尿酸塩の沈着がみられ、そのうち2例においては尿酸塩の周囲において、マクロファージの集簇巣が認められた。1例のシロフクロウ(No. 172)においては、アスペルギルスを混じた壊死巣が認められた。

7. ウイルス感染症

1) 鳥ポックス感染症

オジロワシの1例(No. 21)において、ポックスウイルス感染症が認められた。剖検時の肉眼検査では、嘴周囲、眼瞼および肢無羽部において、粟粒大から小豆大の黄色または黒色結節が多数認められた。また、口腔粘膜においても結節が少数認められた。その他に、腹水の貯留、肝臓の退色、脆弱化、脾腫、腎臓の退色などが観察された。組織学的には、口腔内および皮膚において、有棘細胞の増生が認められ、細胞質内において、ポックスウイルスに特異的なボリソゲル小体に相当する封入体が確認された。肝臓においては、肝細胞の弥漫性の顆粒状変性が認められ、間質においてリンパ球、形質細胞、偽好酸球の浸潤が認められた。肝包膜や心外膜において、リンパ球、形質細胞の中等度な浸潤と、フィブリンの高度な析出が認められた(腹膜炎)。

電子顕微鏡学的検査では、変性した上皮細胞の細胞質内において、ウイルス粒子からなる封入体が認められた。直径350~450nmの大型の

ウイルス粒子は外膜に包まれ、ダンベル型のコアと側体を有していた。ウイルス粒子の形態より、ポックスウイルスと同定された。

2) 不明のウイルス感染症

輸入飼育のヨーロッパコノハズクの1例において、脾臓およびファブリキウス嚢におけるリンパ濾胞壊死、胸腺髄質における壊死や肝細胞の多発性巣状壊死が認められた。明らかな封入体やウイルス感染と確定できるような特徴的な病変は認められなかったが、全身のリンパ組織の壊死がみられたことから、リンパ組織を標的としたウイルス感染症が疑われたが、封入体など、ウイルス感染症に特徴的な組織所見は得られなかったため、確定診断はできなかった。

8. その他の疾患

1) 全身性脂質沈着症

1例の雌の成鳥で、動物園で飼育されていたハヤブサにおいて、解剖時の肉眼検査にて、肝臓や脾臓の腫大が認められ、組織検査にて、肝細胞、脾臓細網細胞および腎臓糸球体メサンギウム細胞と思われる細胞の細胞質が泡沫様あるいは風船様を呈していた。このことから、全身性の脂質沈着症が疑われたため、肝臓、腎臓および肺に対して、脂肪を特異的に染色するズダン黒染色およびオイル赤染色を行った結果、陽性反応が得られた。よって、全身性の脂質沈着症と診断された。

2) 多発性石灰沈着症

1例のカンムリワシ(No. 145)において、肺胞上皮、心筋、腎臓尿細管、腺胃腺上皮および粘膜固有層において、多発性の石灰化が認められた。このことから全身性の石灰沈着症と診断された。転移性の石灰化症が疑われたが、上皮小体の採材がなされておらず、精査はできなかった。

3) 内蔵型痛風

オオズメフクロウの1例(No. 163)の腎臓の間質において、好酸性放射状を呈する構造物