

エキゾチックアニマルの疾病解析と病理学的検索に関する研究

研究分担者 宇根 有美 岡山理科大学 獣医学部 教授

1. 飼育下ニホンザル *Macaca fuscata yakui* におけるトキソプラズマ症の流行

研究協力者 嘉手苅 将 岡山理科大学 獣医学部 病理学研究室
研究協力者 下田 宙 山口大学 共同獣医学部 獣医微生物学研究室
研究協力者 金城 輝雄 （公財）沖縄こどもの国

研究要旨： 温血動物に広く感染する *Toxoplasma gondii*（以下 *T. gondii*）は、ヒトにも感染し、国内では毎年1,200件の先天性トキソプラズマ症が発生していると推定されている。*T. gondii*に対する感受性は動物種によって異なり、一般に高感受性動物で致死の流行を起こすことがある。サル類における *T. gondii*への感受性は種によって異なり、一般的に新世界ザルは高感受性で、類人猿、旧世界ザルは低いとされている。今回、1展示施設においてニホンザル16頭中6頭がトキソプラズマ症を発症するという流行例を経験したので報告する。ニホンザルは性別および年齢に関わりなく発症してうち4頭が死亡し、最も顕著な臨床症状は呼吸器障害であった。病理学的には急性トキソプラズマ症の所見を示し、肉眼所見としては肺水腫、組織学的には間質性肺炎で、原虫は全身諸臓器に観察され、これらは2種類の抗 *T. gondii*抗体で陽性となった。また、分子生物学的に *T. gondii*特異遺伝子を検出し、マウス接種実験で *T. gondii*の回収に成功した。トキソプラズマ症の流行は展示施設の従業員や来園者への健康被害にもかかわることから、速やかに飼育施設の消毒（薬剤散布）と発症したサルおよび無症状のサルにも投薬を行い、2頭は回復し、その後の発生はない。以上、早急な感染対策と注意喚起が必須の事例であった。なお、本報告は、世界初の旧世界ザルにおける自然発生性致死のトキソプラズマ症の報告となった。

A. 研究目的

Toxoplasma gondii（以下 *T. gondii*）は、猫科動物を終宿主とするコクシジウム目の原虫で、中間宿主となる動物種は多く、鳥類から哺乳類まで温血動物に広く感染する。しかしながら、動物種によって感受性に差があり、多くの動物は不顕性感染状態になる。発症には、動物の感受性の高さと宿主の免疫状態に深く関連する。展示動物としては、新世界ザルと有袋類は特に感受性が高いことが知られており、致死の感染や流行が報告されている。しかしながら、旧世界ザルにおける流行の報告は見当たらない。この研究では、旧世界ザルにおいても致死のトキソプラズマ症が発生し、かつ流行することを報告し、公衆衛生上のリスクとなることを周知するために、また、確実に診断するための情報と、動物およびヒトへの感染拡大の阻止および衛生管理対策に関する情報の発信を目的とした。

B. 研究方法

1. 病理学的検索： 死亡した4頭は、すべて動物園の管理獣医師により病理解剖され、病理学的検査材料（症例2は肺、症例1は脳を除く諸臓器）、分子生物学的および寄生虫学的検査材料（肺、大脳、小脳）が採取された。

病理学的検査では、諸臓器を常法に従いホルマ

リン固定、パラフィン包埋し、病理組織標本を作製、HE染色および免疫組織化学的検索を行った。

免疫組織化学的検索には、帯広畜産大学五十嵐慎先生より分与された抗Tg 表面抗原抗体（SAG1）および抗Tg brandyzoite抗体（BAG1）を用いた。また、II型肺胞上皮の変化を確認するために、抗Cytokeratin AE1/AE3抗体を用いた。

2. 分子生物学的検索： 分子生物学的に病原体検索を実施した。（1）*T. gondii*特異遺伝子の検出と遺伝子型の決定： 死亡した4頭のサルの肺、大脳および小脳より、DNAを抽出し、W35 primerを用いて *T. gondii*特異遺伝子を増幅した。遺伝子産物をRFLP解析により、検出Tgの10領域の遺伝子型を解析、型別した。（2）その他の病原体検索： 肺病変を惹起する可能性のある病原体の有無を分子生物学的に検索した。ヘルペスウイルス、アデノウイルスおよびコロナウイルスそれぞれに対するコンセンサスプライマーおよびSARSコロナウイルス2型（以下SARS-CoV2）および重症熱性血小板減少症候群ウイルス（以下SFTS-V）のそれぞれ特異プライマーを用いて、特異的遺伝子の増幅を行った。

3. 寄生虫学的検索： サルの新鮮組織をマウスに接種し、*T. gondii*の分離を試み、また、マウスの発症の有無を確認した。

C. 研究結果

(1) 臨床経過

約1ヵ月間に同居していた1群16頭中6頭が発症、4頭（雌3と雄1、成体2、亜成体1、幼体1頭）が死亡した（表1）。発症期間は6日（症例1、2）、9日（症例3）および14日（症例4）で、発症した順に症例1～症例6とした。症状はほぼ同様に、活力低下、沈鬱、嗜眠、振戦、発熱（2頭）、チアノーゼ（2頭）、末期に高度の呼吸困難を呈し、X線検査を行った3頭に肺野の透過性の低下を確認した。流行の初めに発症・死亡したサルは病性鑑定によりトキソプラズマ症と診断されたことから、その時点で発症個体および同居個体に抗原虫薬を投与したところ、流行の後半に発症した症例5と6は回復し、それ以降、新たな発症はみられなかった。

(2) 肉眼所見

死亡したサルに共通して、肺は重量を増し、高度退縮不全で暗赤色を呈し、水腫、出血、ときおり、白色斑を認めた。

その他、脾臓の軽度の腫大以外に、目立った変化は認められなかった。

(3) 病理組織学的所見

間質性肺炎（3頭）、多発性巣状壊死を心筋（3頭）、肝臓（4頭）、脳（3頭）、副腎、脾臓および精巣（各1頭）に認めた。

肺病変は個体によってやや異なり、基本的に間質性肺炎であったが、症例1と3では壊死、出血が主であったのに対し、症例4ではⅡ型肺胞上皮の過形成が顕著であった。

*T. gondii*は4頭すべてに観察された。免疫染色において、肺と脳でSAG1およびBAG1陽性*T. gondii*を観察し、肝臓にSAG1陽性*T. gondii*を認めたが、心臓、脾臓および腎臓にはSAG1、BAG1ともに陽性像は観察されなかった。

(4) 分子生物学的検索結果

*T. gondii*の感染を分子生物学的検索したところ、発症個体すべてから*T. gondii*特異遺伝子を検出した。

RFLP解析では、検出*T. gondii*は、L358およびPK1がそれぞれⅢ型を示す変異株であった（表2）。

ヘルペスウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、SARS-CoV2ウイルス、SFTSの特異遺伝子は増幅されなかった。

(5) 寄生虫学的検索（マウス接種による*T. gondii*分離試験）結果

死亡したサル組織をマウスに接種したところ、発症し、組織から*T. gondii*が回収できた。

D. 考察

以上の所見から、死亡サルを致死性トキソプラズマ症と診断し、本事例をニホンザル群におけるトキソプラズマ症の流行として捉えた。そして、旧世界ザルでは実験例を除いてトキソプラズマ

症の報告はなく、本報告は自然発生性の致死性トキソプラズマ症の世界初の報告となった。

旧世界ザルは、一般的に*T. gondii*への感受性が低いとされており、今まで、自然発生性のトキソプラズマ症の報告はない。今回、16頭中6頭のサルが発症し、4頭が死亡するといった流行が生じた機序として、1）トキソプラズマ原虫の大量曝露、2）トキソプラズマ原虫の病原性の強さ、3）発症したサルの免疫低下などが考えられた。サルの免疫低下に関しては、あらゆる年齢層のサルが比較的短期間に集中して発症していること、病理組織学的に免疫能の低下を示唆する所見がみられないこと、流行の後期に発症し、早期治療が可能であった2頭が回復していることを考慮すると宿主側の要因は低いと考えた。1）と2）に関しては、今回、流行がみられた県は、日本国内で、唯一毎年、と畜検査でトキソプラズマ症による豚の全部廃棄が計上される地域であること（感染源となる猫と豚と接触しやすい環境がある）、そして、病原性との関連が明らかにされていないが、今回検出された*T. gondii*の遺伝子型が新規の遺伝子型であったことから、病原体側の要因が関連している可能性が高かった。なお、本事例の感染源として、猫（オーシストを含む糞便）との接触が考えられ、実際、動物園内への猫の侵入、徘徊が確認されていた。

以上の状況から、*T. gondii*オーシストによる環境汚染などが危惧されたため、サルの展示施設は、ゼクトンなどを用いた土壌消毒を実施し、放し飼い猫の動物園内侵入阻止の対策を検討した。そして、同居サルに対して、発症阻止を目的に抗原虫薬の投与が実施された。

旧世界ザルであっても、トキソプラズマ症の流行が起き得る状況を見ると、動物園という公共性の高い施設を利用する一般人および、動物園従業員の公衆衛生上のリスク軽減を目的とする対策が欠かせない。

なお、本事例を注意喚起のための情報として、サル類の疾病と病理のための研究会 第29回サル疾病ワークショップで発表した。発表後、さらに詳細な検索を実施した結果を含めて、本助成事業の成果報告としてここに記述した。

E. 結論

旧世界ザルであるニホンザルにおいても自然発生性致死性トキソプラズマ症の流行がおきることから、公衆衛生上のリスク軽減の措置が必要である。

F. 健康危険情報

病性鑑定の結果を動物園に連絡するとともに、トキソプラズマ対策に関してアドバイスをを行った。

G. 研究発表等

1. 論文発表等
なし

2. 学会発表等

(1) サル類の疾病と病理のための研究会 第29
回サル疾病ワークショップ、2021年7月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他
なし

表1 症例のプロフィール

番号	性別	年齢	体重	発症 期間	症状	X線検査
症例 1	メス	1ヶ月	531 g	6日	脱水、呼吸促迫・漿液性鼻汁、 体温低下、下痢	透過性低下
症例 2	オス	4歳3ヶ月	7.1kg	6日	沈鬱・動作緩慢、努力呼吸・鼻 汁、発熱、意識混濁	透過性低下
症例 3	メス	7-8歳	7.6kg	9日	体重減少、呼吸促迫・異常呼吸 音、沈鬱、可視粘膜蒼白	透過性低下
症例 4	メス	2歳2ヶ月	3.6kg	14日	嗜眠・沈鬱、振戦、発熱、チア ノーゼ	未実施

表2 遺伝子型の解析結果

Genetic markers	SAG1	Alt. SAG2	SAG3	BTUB	GRA6
Type	I	I	I	I	I

Genetic markers	C22-8	C29-2	L358	PK1	Apico
Type	I	I	III	III	I

2. ブラックバック(*Antelope cervicapra*)におけるシマウマ由来馬ヘルペスウイルスI型感染症の散発的発生

研究協力者 新見 日向 岡山理科大学 獣医学部 病理学研究室
研究協力者 下田 宙 山口大学 共同獣医学部 獣医微生物学研究室
研究協力者 福士 秀人 岐阜大学 応用生物科学部

研究要旨： 馬を自然宿主とする馬ヘルペスウイルスI型 (EHV-1) は、主として死流産や呼吸器疾患を起こすことから、馬生産現場へ多大な経済的被害を及ぼすウイルスとされる。一方、シマウマ由来EHV-1は、神経向性が強く、他の動物に致死感染をおこすとされるが、国内では確認されていなかった。今回、一展示施設で、2週間の間に同一の神経症状を呈して2頭のブラックバック(*Antelope cervicapra*)が死亡し、さらに1年後に、同じく神経症状を呈して、さらに1頭が死亡した。そのうちの2頭(症例2と3)を検索してシマウマ由来EHV-1感染症と診断したので報告する。3頭(症例1～3)に共通して旋回運動、興奮、歯ぎしり、振戦、痙攣などの神経症状がみられ、4日～8日の経過で死亡した。2頭の脳病変は限局的で、症例2では橋部と延髄部、症例3では梨状葉に変性・壊死性変化がみられた。症例2では核内封入体形成を伴う神経細胞壊死がみられた。ウイルス抗原は神経細胞に観察された。ヘルペスウイルス特異プライマーを用いたPCR検査により、ヘルペス特異遺伝子が増幅され、その産物の塩基配列はシマウマ由来EHV-1に最も近縁(99.5%)であった。本事例は、シマウマ由来EHV-1による自然発生性致死感染の国内初の報告となり、ブラックバックにおける初報告である。

A. 研究目的

馬ヘルペスウイルスI型 (EHV-1) およびシマウマ由来EHV-1は α ヘルペス科に分類されるウイルスで、この科に属するヘルペスウイルスは自然宿主以外の動物に感染すると、しばしば激的な病態を惹起するとされ、その例として豚ヘルペスウイルスI型ウイルスによるオーエスキー病 (仮性狂犬病) や、サル B ウイルス感染症が挙げられる。シマウマ由来EHV-1のヒトを含む霊長類への病原性は明らかではないが、本ウイルスと非常に近縁で、血清学的にも交差性のあるEHV-9はサル類にも致死感染を起こすことが知られている。今回、一展示施設で、高度の神経症状を呈して3頭のブラックバック (*Antelope cervicapra*) が死亡し、検査できた2頭がシマウマ由来EHV-1感染症と診断されたことから、他の神経疾患と鑑別が必要となる、注意すべき事例として、その病理学的特徴を明らかにすることを目的として、ここに報告する。

B. 研究方法

1. 材料と方法： 症例はいずれも死亡後、展示施設で剖検され、症例2と3、シマウマ雌と胎児の全身諸臓器の1部が当研究室に送付された (症例3は脊髄、鼻粘膜、三叉神経を含む)。
2. 病理組織化学的検索： 10%ホルマリン固定材料から常法に従ってパラフィン標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE染色) および特殊染色としてクリューバーバレー染色を実施し、脳における病変の特徴・分布を検討した。
3. 免疫組織化学的検索： ウイルス抗原分布を検討するため、EHV-1抗原と交差性のあるウマヘルペスウイルス9型 (EHV-9) 抗体 (岐阜大学福士秀人先生提供、ポリクローナル抗体) を一次抗体として用いた。二次抗体は、ヒストファインシンプルステインキット (シンプルステインMAX-PO, (株) ニチレイ, 東京) を用い、反応の可視化のためにジアミノベンチジン (DAB) を使用した。抗原賦活化の前処理は行わなかった。
4. 分子生物学的検索 (ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) における病原体の検索)： 検体 (肝, 腎, 肺, 心, 脾, 脊髄7部位, 右大脳表面, 右梨状葉, 右嗅球) 計15サンプルを対象として、DNAeasy Blood & Tissue Kitを用いて、DNAを抽出し、TaKaRa Ex Taqとヘルペスウイルス共通プライマー (D R VanDevanter et al., Journal of Clinical Microbiology, 1996) を用いてヘルペスウイルス特異遺伝子を増幅した。併せて、EHV-1特異的プライマーで、EHV-1特異遺伝子を増幅した。そして、増幅産物のヘルペスウイルス糖蛋白質B (gB) とDNAポリメラーゼ (Dpol) 部分の全塩基配列を決定した。
5. 画像診断： ブラックバック症例3の頭部を、死後CT検査及びMRI検査を実施した。
(倫理面への配慮)

動物(死体)の一部臓器の検索のため、倫理面で配慮すべき事項はない。

C. 研究結果

【臨床経過】表1

一展示施設において、2021年11月29日に、ブラックバック (症例1) 1頭が旋回、興奮、振戦などの異常行動を呈して起立困難となり、予後不良と判断されて12月6日に安楽殺された。症例1は妊娠していて、流産と失明の疑いがあった。翌日12月7日に症例1と同居していた症例2に神経症状が発現した。症例2は8ヵ月齢の雄であった。発症時、起立はしていたが、逃避行動を行わず、食欲廃絶、次第に、旋回運動、歯ぎしり、痙攣および振戦を繰り返し、後肢を開脚して、最終的には起立困難となり、衰弱し、第4病日に死亡した。同じ飼育場でシマウマ、キリン、エランド、ラマ、ラクダが飼育されていた。2022年2月15日 ブラックバックと同一飼育場で飼育されていたシマウマ (雌、4歳8ヵ月齢) に振戦と鼻出血が認められ、翌日16日死亡した。このシマウマは2018年3月にアメリカより輸入され、2021年5月より頭部から頸部に間歇的振戦がみられていて、死亡時には妊娠していた。2022年11月26日から、新たにブラックバック (症例3、5ヵ月齢、雄) が発症した。発病初期は沈鬱、11月28日から発熱 (一時的に回復)、振戦、チック様症状、食欲不振、旋回の症状を呈し、徐々に衰弱し、12月4日に死亡した。

【病理学的所見】

肉眼的に、症例2には、特記すべき変化はなかったが、症例3には、左脳を中心に淡褐色の変色部分が観察された。

病理組織学的に、症例2では、病変は橋と延髄部の腹側辺縁部分に限局しており、延髄では神経網の水腫と軟化および囲管性細胞浸潤、橋では橋核の神経細胞は、散発性に壊死に陥り、好酸性から両染色性の核内封入体形成を伴う神経細胞がごく少数認められた (図1、2)。免疫染色では、橋の病変部に一致してウイルス抗原が検出された (図3)。症例3では、病変は症例2よりも広範囲に認められ、特に大脳皮質で高度で、梨状葉部位の大脳皮質では神経細胞壊死および脱落、神経網の水腫がみられたが、明らかな核内封入体は観察されなかった。また、軟化が高度な部位には、多数の小膠細胞が浸潤していた。その他、大脳皮質、視床、延髄、橋、小脳における重度から軽度の神経細胞の変性、グリア結節、囲管性細胞浸潤、神経網の水腫、うっ血の所見を認めた。

その他、No.2とNo.3に共通の所見として、全身性のうっ血と肺水腫があり、膀胱尿は褐色で、血様腹水の貯留があったが、血管炎や内皮細胞の変性は認められなかった。

【分子生物学的検査結果】

症例2および3の神経組織からヘルペスウイルス特異的遺伝子およびEHV-1特異遺伝子の増幅がみられ、EHV-1のgBとDpol部分の全塩基配列を決定した結果、過去にアメリカでアジアノロバから分離されたEHV-1と最も近縁(gB:100%、Dpol:99.97%)であった。なお、他の組織からヘルペスウイルス関連遺伝子は検出されなかった。

【画像診断】

症例3のMRI検査では、大脳皮質および視床においてT2強調画像の高信号を認め、病理組織学的な病変分布と一致した。

【シマウマ】

成体のシマウマでは、大脳皮質における神経細胞の軽度の変性及び水腫が認められた。胎仔はウイルス性脳炎の拡大が認められたが、その他、著変はなく、免疫染色によってもEHV抗原は観察されなかった。また、成体および胎仔のシマウマの脳を用いてPCR検査を実施したが、EHV-1は検出されなかった。

D. 考察

近年、各種動物に致死性感染症を引き起こすヘルペスウイルスとして、シマウマ由来EHV-1とEHV-9が報告されている。この2種のウイルスの宿主域は比較的広く、シマウマ以外の動物では、神経向性の致死性感染を起こすことが知られている。特に、EHV-9はマーモセットといったサル類にも感染し(Kodama A,2007)、病変性も強いとされることから(Saleh AG,2020)、注意すべきヘルペスウイルスとして捉えられており(Schrenzel MD,2008)、両者を識別する必要がある。しかしながら、EHV-9がトムソンガゼルの流行事例から検出された当時、EHV-1とされるほど、近縁で、血清学的にも交差性があり、病理学的所見によって両ウイルスを識別できないとされている(Saleh AG,2020)。今回、検出ヘルペスウイルスのgBおよびDpol部分を解析することによって、ブラックバックのシマウマ由来EHV-1感染症と診断した。

シマウマ由来EHV-1の自然宿主はシマウマで、他の種類の動物への感染源になるとされている(Schrenzel MD,2008)。今回のブラックバックは、シマウマと同居しており、さらに妊娠していたことから、感染源として最も可能性が高かったが、胎仔ともに、ウイルス感染に関連する病変は観察されず、免疫染色でも、分子生物学的にもEHV-1を検出できなかった。よって、感染源を特定することはできなかった。馬由来EHV-1の感染は、呼吸上皮や血管内皮に感染して、ウイルス血症を招来して中枢神経に到達される。しかしながら、シマウマ由来EHV-1の脳への侵入経路として、ハムスターを用いた感染実験(Abas OM,2019)では、神経向性に脳に到達したと考察されている。そして、ブラックバックにおいても、ウイルス抗原は、脳

以外の臓器では観察されず、さらに抗原と病変の分布は限局的であったことから、シマウマ由来EHV-1は神経向性に脳に到達したと考えられた(表2)。国内では、過去、シマウマ由来EHV-1の発症事例の報告はなく、さらに、ブラックバックにおける流行事例もなく、本報告がシマウマ由来神経向性EHV-1感染症の初の事例となる。

参考文献：

- (1) Abas OM, Anwar S, Badr Y, Abd-Ellatieff H, Saleh AG, Nayel M, Rahman AA, Fukushi H, Yanai T. Comparative Neuropathogenesis of Equine Herpesvirus 9 and its Mutant Clone (SP21) Inoculated Intranasally in a Hamster Model. *J Comp Pathol.* 2019 Jul; 170:91-100. doi: 10.1016/j.jcpa.2019.06.002. Epub 2019 Jul 13. PMID: 31375165.
- (2) Kodama A, Yanai T, Yomemaru K, Sakai H, Masegi T, Yamada S, Fukushi H, Kuraishi T, Hattori S, Kai C. Acute neuropathogenicity with experimental infection of equine herpesvirus 9 in common marmosets (*Callithrix jacchus*). *J Med Primatol.* 2007 Dec;36(6):335-42. doi: 10.1111/j.1600-0684.2007.00220.x.PMID: 17976037.
- (3) Sakaguchi K, Kim K, Langohr I, Wise AG, Maes RK, Pirie G, Yanai T, Haridy M, Gaschen L, Del Piero F. Zebra-borne neurotropic equid herpesvirus 1 meningoencephalitis in a Thomson's gazelle (*Eudorcas thomsonii*). *J Vet Diagn Invest.* 2017 Jul;29(4):548-556. doi: 10.1177/1040638717707000. Epub 2017 Apr 20. PMID: 28425387.
- (4) Saleh AG, El-Habashi N, Abd-Ellatieff HA, Abas OM, Anwar S, Fukushi H, Yanai T. Comparative Study of the Pathogenesis of Rhinopneumonitis Induced by Intranasal Inoculation of Hamsters with Equine Herpesvirus-9, Equine Herpesvirus-1 strain Ab4p and Zebra-borne Equine Herpesvirus-1. *J Comp Pathol.* 2020 Oct; 180:35-45. doi: 10.1016/j.jcpa.2020.08.002. Epub 2020 Sep 13. PMID: 33222872.
- (5) Schrenzel MD, Tucker TA, Donovan TA, Busch MD, Wise AG, Maes RK, et al. New Hosts for Equine Herpesvirus 9. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14(10):1616-1619. <https://doi.org/10.3201/eid1410.080703>

E. 結論

ブラックバックにおけるシマウマ由来神経向性EHV-1感染症の初の報告である。

G. 研究発表等

1. 論文発表等

なし

2. 学会発表等

(1) 第10回アジア獣医病理学会学術集会/第10回日本獣医病理専門家協会学術集会 合同学会2023年3月、東京

(Pathological examination of equine herpesvirus type I infection in Blackbuck (*Antilope cervicapra*))

Hinata Niimi, Hironori Shimoda, Sho Kadekaru, Shinichi Nakamura, Hideto Fukushi, Yumi Une)

2. 実用新案登録
3. その他
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

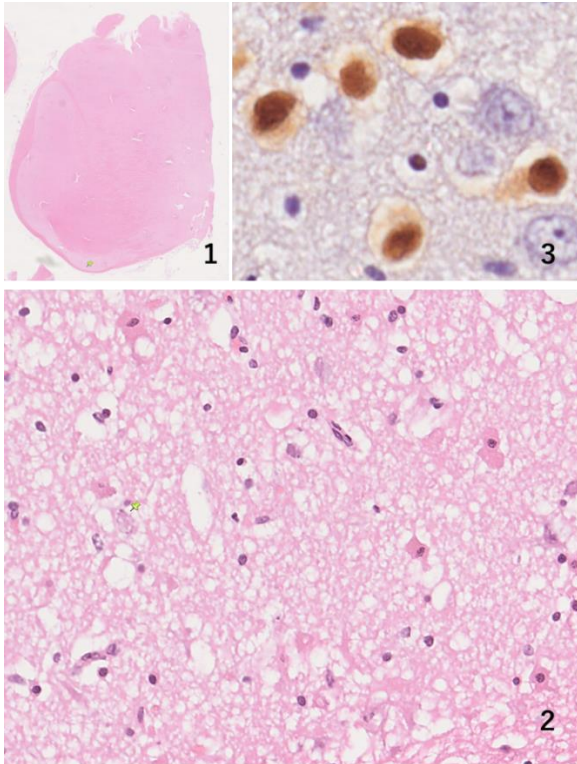


Table 1: Case profiles

Case 1: Ac	Female (pregnant)
Nov 29, 2021	Convolution, excitation, tremor. House and treat Ac→ dysstasia.
Dec 6	Euthanasia due to poor prognosis. (Only necropsy)
Case 2: Ac	Male/ 8 months old /BW19.62 kg
Dec 7	Disappear escape behavior. Anorexia, convolution, bruxism, and cramps.
Dec 8, 9	Dysstasia with anesthesia in hind limbs and bruxism. Continuous anorexia.
Dec 10	Died.
Grant's zebra	Female (pregnant) / 4 years and 8 months / BW 204.8 kg
Jan 5	Tremor from head to cervical region.
Jan 7	Tremor improves but continues.
Feb 15, 2022	Tremor recurs. Rhinorrhagia.
Feb 16	Died.
Case 3: Ac	Male/5 months old/ BW 13.64 kg
Nov 26, 2022	Tendency to leave the herd. Sitting down a lot→anorexia
Nov 28	Tremor, tic-like symptoms, pyrexia→Continues until death
Dec 4	Died.

Table 2: Differences in clinical presentation, route of infection, and pathologic findings between equine EH V-1 and non-horse EHV-1

	EHV-1 in horses	EHV-1 in non-equid species
Clinical signs	abortion, respiratory disease, neurological symptoms and dysstasia in neuropathogenic strain	abortion, seizure, neurological symptoms, death
Route of infection	1. Vascular endothelial cells in nasal mucosa 2. Spread hematogenously 3. Viremia→CNS	1. Epithelial cell in nasal mucosa 2. Transsynaptically propagation to neurotropically→CNS
Pathological findings	1. Vascular endothelial cell necrosis 2. Nuclear inclusion body 3. Vasculitis, hemorrhage, and thrombus 4. Ischemic degeneration of neurons and perivascular cuffing	1. Nonsuppurative encephalitis (perivascular cuffing and gliosis) 2. Nuclear inclusion body 3. Degeneration and necrosis of neurons

3. ワオキツネザルの中枢神経幼虫移行症の1例

研究協力者 原田 峻輔 岡山理科大学 獣医学部 病理学研究室
研究協力者 木村 藍 甲府市遊亀公園附属動物園
研究協力者 秋山 多江 甲府市遊亀公園附属動物園
研究協力者 林 慶 岡山理科大学獣医学部医動物学研究室

研究要旨： 中枢神経幼虫移行症とは、線虫の幼虫が固有宿主以外の動物に感染、全身に移行し、致死的な中枢神経傷害を起こす病態をいい、代表的な寄生虫として、アライグマ回虫や広東住血線虫が挙げられる。今回、展示施設で飼育されていた1頭のワオキツネザル(*Lemur catta*)が中枢神経幼虫移行症で死亡し、広東住血線虫感染が疑われたことから注意喚起を目的にその概要を報告する。

A. 研究目的

1 動物園で飼育されていたワオキツネザル(*Lemur catta*) 1 頭が中枢神経幼虫移行症により死亡した。病理学的に検索したところ、小脳を中心に線虫が観察され、その形態から住血線虫と推定され、さらに広東住血線虫症が疑われた。本寄生虫の国内人体感染例が報告されており、キツネザル飼育環境および飼養方法に感染機会があったと想定されることから、本研究は注意喚起を目的として、症例の臨床経過および病理学的特徴について報告する。

B. 研究方法

高度の神経症状を呈して死亡したワオキツネザルを完全解剖し、病理組織学的に検索するとともに、ホルマリン固定パラフィン切片を用いて分子生物学的に寄生虫の同定を試みた。
(倫理面への配慮)

自然死した動物を対象としたことから、特段の配慮はしなかった

C. 研究結果

1. 症例: ワオキツネザル *Ailurus fulgens* 雌、6歳で、体重2,900gであった。左後肢の跛行から始まり、徐々に不全麻痺が進行して、死亡の1週間前から寝たきりの状態が継続し、血液検査とレントゲン検査を実施したが、原因の特定に繋がらず、6歳と若齢でもあったことから、感染症が疑われた。その詳細な経過は、第1病日(2022年9月18日)に食欲不振を認めた。皮下補液などの治療により食欲はやや改善したものの、採餌不良が継続し、第3病日の血液検査ではヘマトクリット、肝酵素、クレアチンキナーゼが上昇していたため強肝剤の投与を開始した。第10病日に軽度のふらつき、右後肢跛行を認めたため、神経炎を疑い、上記の投薬に追加してNSAIDsの投与を行なったが改善しなかった。第12病日には両後肢不全麻痺が発現し、ステロイド(プレドニゾロン)を投与したが改善せず、第13病日には朝から姿勢維持困難、振戦がみられた。第14病日に左後肢の痛覚反射低下、膀胱麻痺が発現したためレントゲン検査を実施したが、異常は認められなかった。感染性の神経炎を疑い、抗生剤(バイトリル)、抗真菌薬(イ

トラコナゾール)を追加し以降継続した。第17病日水平眼振、振戦があり、第18病日より、低体温(35.8度)となり、保温を開始するも回復せず、翌日死亡した(10月6日)。

2. 病理学的所見: 肉眼的には、小脳表面に出血巣が散在し、蛇行する細い寄生虫が数隻目視できた。組織学的には、大・小脳の脳溝を中心に高度の脳軟化、出血を伴う寄生虫寄生が認められた。虫体の幅が100~150 μ mで、非細胞性の外皮、外皮表面には微細なトゲ状の突起が一部で密集していた。外皮内側には筋層が発達していて、偽体腔を有していた。寄生虫周囲には、一部でマクロファージによる被包化、石灰沈着、顆粒球の浸潤、線維素の析出などが観察された。なお、分子生物学的検索では、寄生虫同定のためのPCR検査に十分量のDNAを確保できなかった。

D. 考察

病理組織標本中の蠕虫は、宿主動物種、寄生部位、寄生虫の大きさ、および蠕虫の構造上の違いによって蠕虫種をある程度、推察することができる(表1)。すなわち、擬体腔、消化管や生殖腺の有無と形状、外皮(クチクラ)の構造・厚さと層構造、表面および内部の構造物(突起など)、筋組織の発達程度と構造、虫卵(含仔虫卵)、石灰小体、柔組織などの有無や形状が鑑別のポイントとなる。また、中枢神経幼虫移行症をおこす線虫として、アライグマ回虫、イヌ回虫、ネコ回虫(トキソカラ症)、広東住血線虫がある。

今回、キツネザルの中枢神経組織に観察された寄生虫は線虫に分類された。体内移行症を引き起こす幼虫の大きさは、イヌ・ネコ回虫では0.5mm以下であるのに対してアライグマ回虫では2.0mm

近くにまで急速に発育するとされる。また、組織標本上の幼虫の直径は、イヌ回虫で18~21 μ m、ネコ回虫はそれより小さいとされる。アライグマ回虫の直径は約65~75 μ m、文献によっては直径50 μ m、外皮の厚さは5 μ mとされる。今回、キツネザルの中枢神経に観察された幼虫の形態は、住血線虫(*Angiostrongylus*)属寄生虫に一致した。

Angiostrongylus 属線虫には、約20種あるが、国内では、1) 広東住血線虫 *Angiostrongylus cantonensis*、2) マレー住血線虫 *A. malaysiensis*

ドブネズミ、3) *A. ten* テンの3種が確認されているが、後者の2種に関しては報告が少なく、流行状況が定かではない。しかしながら、広東住血線虫に関しては、国内では平成9年までに35例の人体感染例が、沖縄を中心に全国各地で報告されている。さらに、最近、アメリカのアカエリマ

キツネザルにおいて、広東住血線虫による好酸性髄膜脳炎の症例が報告され、今回の症例と臨床症状と病理組織学的所見が類似していた。寄生虫として、広東住血線虫*Angiostrongylus cantonensis*を強く疑った。

*Angiostrongylus cantonensis*は、神経向性幼虫期を持ち、東南アジアと太平洋諸島全体に固有の線虫で、齧歯類(*Rattus* spp.)が主な自然(終)宿主で、さまざまな腹足類が中間宿主としている。齧歯類では、脳の損傷を引き起こさず、重度の感染症では一部の肺疾患のみを生じる。しかし、ヒトおよび非ヒト霊長類を含む非好適宿主では、幼虫は重度の好酸性髄膜脳炎を引き起こす。臨床徴候は、幼虫の移動と死んだまたは死にかけている線虫に対する免疫応答に関連してする。治療法としては、特効的な治療法はなく、治療の主体は対症療法である。よって、予防的措置が優先される。広東住血線虫を含む住血線虫は、感染型仔虫の摂食によって感染するため、中間宿主であるカタツムリやナメクジおよびその排泄物を経口摂取したものと考えられ、飼育状況から汚染野菜などの摂取が推察された。そのため、野菜の念入りの水洗、ネズミなどの終宿主の駆除などの対策をとった。併せて、本例のような原因不明の進行性の神経症状が継続した場合、鑑別診断として線虫移行症も念頭に置く必要があると考えた。

E. 結論

国内初の非ヒト霊長類における住血線虫による中枢神経幼虫移行症を発見し、対策をとった。

F. 健康危険情報

当該動物園に本疾患の概要を説明し、早急な予防対策を勧めるとともに、当該動物園が動物園水族館獣医師臨床研究会学術集会で発表して、注意喚起を行った

G. 研究発表等

1. 論文発表等

なし

2. 学会発表等

(1) 2022年度動物園水族館獣医師臨床研究会学術集会 2023年2月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

なし

図1 キツネザルの中樞神経幼虫移行症（広東住血線虫を疑う）

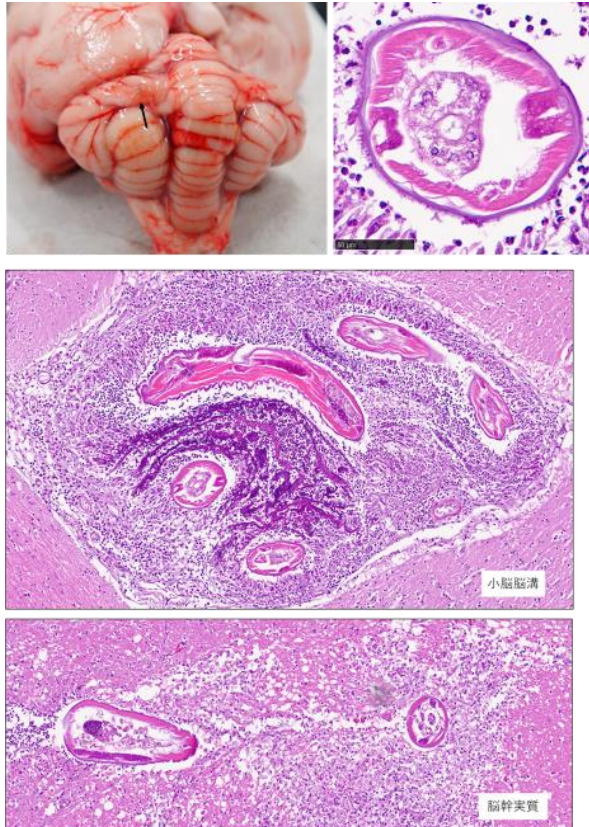


表1 蠕虫の形態の比較

種類		線虫	条虫	吸虫
性		雌雄異体 雄<雌	雌雄同体	雌雄同体(※)
卵形態		一般に卵生（旋毛虫、糸状虫は卵胎生#）	卵生	卵生
擬体腔		あり	なし	なし
体壁	外皮 クチクラcuticle	縞状構造、非細胞性	外皮	外皮 厚く、棘（きょく）
	外皮下層 hydrodermis	幼虫では比較的明瞭	外皮下細胞 外皮微小毛（突起）	—
	筋肉層	筋細胞が配列	柔組織（じゅうそしき） 小筋束、石灰小体	筋層 柔組織、スポンジ状
消化管		あり	なし	あり、消化管盲端
生殖器		あり	幼虫未発達	あり（精巢、子宮）