

子牛の臍帯炎から波及した多発性壊死性肝炎

中央家畜保健衛生所
○島田 果歩 後藤 花菜
東部家畜保健衛生所
綿村 崇宏
畜産課
橘 美奈子

要 約

約 330 頭を飼養する酪農家で、10 日齢双子の子牛 1 頭が虚脱、起立困難、哺乳活力低下、褐色泥状下痢及び脱水を呈したため加療された。哺乳活力及び下痢は回復したが、起立困難は継続し加療 10 日後に死亡したため病性鑑定を実施した。剖検では臍静脈に乾酪壊死、肝臓は腹壁及び横隔膜と癒着し壊死巣が散在していた。病理組織学的検査では、臍静脈に層状壊死、肝臓において辺縁部に炎症細胞の変性像を伴う大型不定形の乾酪壊死巣、比較的小型の被包化された類円形乾酪壊死巣及び小型の膿瘍が認められた。細菌学的検査では、肝臓から *Trueperella pyogenes* 及び *Fusobacterium necrophorum* subsp. *necrophorum* が分離された。臍静脈から肝臓に及ぶ乾酪壊死が認められたことから、未消毒の臍帯から肝臓へ病原体が侵入したと推察された。多胎出産及び低体重で出生し、胸腺も未発達であったことから、抗病性低下により高度の病変形成に至ったと考察した。

はじめに

胎子期に母体との栄養供給及び排泄を担う臍帯は、分娩と同時に離断し、外部の露出部分は乾燥後脱落、腹腔内を走行している臍静脈、臍動脈、尿管を含む臍帯遺残構造物は成長とともに退縮していき、離断した臍帯は、完全に乾燥するまで細菌が付着及び増殖しやすい状態にあり、管腔も閉鎖していないため上向性に感染しやすい¹⁾。

臍帯で増殖した細菌が上行性に感染した場合、臍静脈、臍動脈を通り肝臓に膿瘍を形成する²⁾。

子牛の肝膿瘍は臍帯炎からの継発が主である。根治療法はなく、予後不良となる症例がほとんどである³⁾。また、子牛の細菌性臍帯炎では *Trueperella pyogenes*、*Escherichia coli*、*Fusobacterium necrophorum*、*Streptococcus* spp. 等が主要な原因菌であると報告されている⁴⁾。

今回、臍帯炎から波及した多発性壊死性肝炎において、免疫組織学的に病変形成について検討を行った。

発 生 概 要

当該農場は、搾乳牛を約 330 頭飼養しているフリーストール牛舎である。2 月 5 日に双子で出生した自家産の子牛 1 頭に 2 月 15 日に虚脱、虚脱・起立困難・哺乳活力低下、褐色泥状下痢、脱水の症状が認められ、補液、抗生物質により治療された。翌日回復傾向が認められたものの、起立困難

は継続し、26 日に死亡したため病性鑑定を実施した。

材料及び方法

1 材料
乳用牛、ホルスタイン種、雌、22 日齢の死体 1 例。

2 病理学的検査

(1) 病理組織学的検査

剖検後、10%中性緩衝ホルマリンで固定、常法に従いパラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、グラム染色、ワーチン・スターリー染色、マッソン・トリクローム染色を実施し、光学顕微鏡下で観察した。

(2) 免疫組織化学的検査

肝臓、心臓、臍動脈、臍静脈を材料として、抗 *T. pyogenes* 家兔血清 (千葉県) 及び抗 *F. necrophorum* 家兔血清 (動衛研) を用いてポリマー法による検査を実施した。

3 細菌学的検査

主要臓器及び右前膝関節液、臍帯を 5%馬血加トリプトソイ寒天培地及び DHL 寒天培地に直接塗抹し、37°C 48 時間好気下で培養した。分離された菌は生化学的性状検査によって菌種を同定し

た。心臓、肝臓、臍帯を 5%馬血液加変法 GAM 寒天培地に画線塗抹し、37℃嫌気下で培養した。好気培養及び嫌気培養分離株についてそれぞれアルカリボイル法で DNA を抽出し、*T. pyogenes* 及び *E. necrophorum* subsp. *necrophorum* の特異的遺伝子の検出を目的とした PCR 検査を実施した。

成 績

1 病理学的検査

(1) 病理解剖検査

肝臓は腹壁及び横隔膜と癒着し、癒着面及び割面に 1~5mm 大の乾酪壊死が多数認められた（写真 1）。臍動脈及び臍静脈においても乾酪壊死が認められた。心臓では心室中隔に 1cm 大の白色病巣、胸腺では低形成が認められた。



写真 1 肝臓。断面において多数の大小不同の乾酪壊死巣が認められる。

(2) 病理組織学的検査

肝臓では高度に大型不定形の乾酪壊死巣、比較的小型の被包化された類円形乾酪壊死巣、小型の膿瘍が認められた（写真 2）。大型壊死巣の辺縁部では中等度の線維素析出、炎症細胞の変性像が認められ（写真 3）、類円形乾酪壊死巣は中等度の線維芽細胞の浸潤、線維化により被包化されていた（写真 4）。マッソン・トリクローム染色では周囲の線維性結合組織が青染された。グラム染色では病変部においてグラム陰性桿菌及びグラム陽性桿菌、ワーチンスターリー染色ではフィラメント状の長桿菌が多数認められた。病変部周囲の実質では軽度の肝細胞索の乱れ、クッパー細胞の増数、好中球の浸潤及びうっ血が認められた。

臍動脈及び臍静脈では内膜から中膜において高度の層状壊死が認められ、辺縁部では中等度の線

維素析出、炎症細胞の変性像が認められた（写真 5）。心臓では心室中隔において辺縁部に炎症細胞の変性像を伴う大型の凝固壊死が認められ、周囲に中等度の線維芽細胞の浸潤、線維化が認められた。マッソン・トリクローム染色では線維性結合組織が青染された。

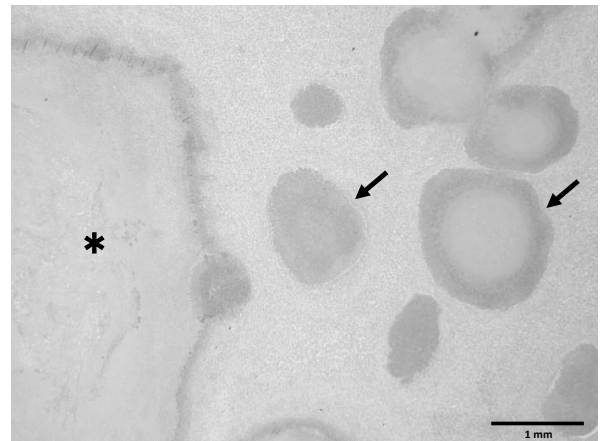


写真 2 肝臓。炎症細胞に囲まれた大型不定形乾酪壊死巣（*）、被包化された小型類円形乾酪壊死巣及び小型膿瘍が多数認められる。周囲の実質は小葉構造が不明瞭となる。HE 染色

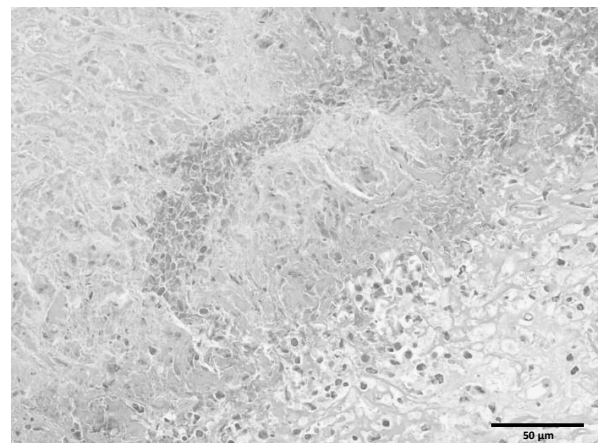


写真 3 肝臓。大型壊死巣辺縁部において線維素析出、炎症細胞浸潤、炎症細胞の変性像が認められる。HE 染色

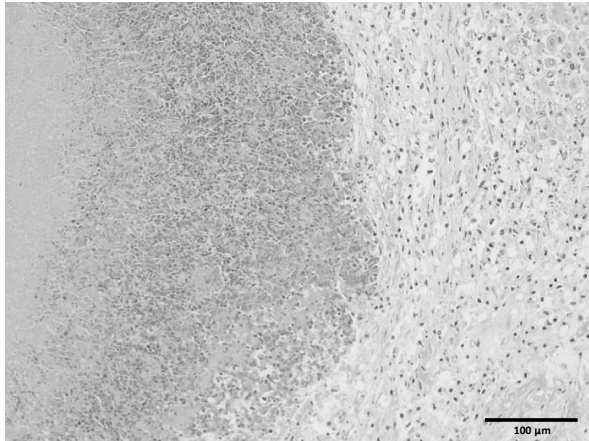


写真 4 肝臓。類円形乾酪壊死巣辺縁部において単核細胞、線維芽細胞の浸潤、周囲の線維化が認められた。HE 染色

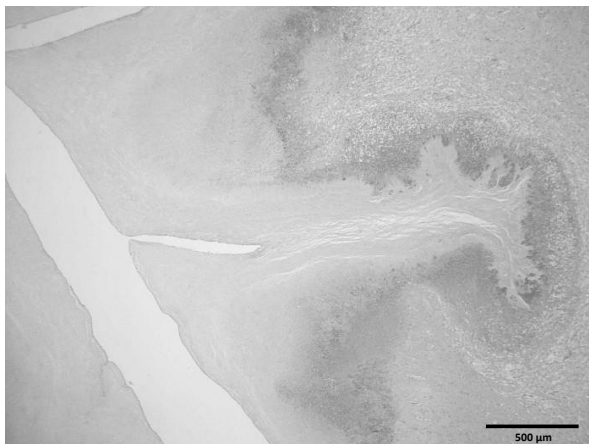


写真 5 臍静脈。内膜から中膜における層状壊死が認められる。HE 染色

(3) 免疫組織化学的検査

肝臓において抗 *F. necrophorum* 家兎血清（動衛研）を用いた免疫染色では、大型の壊死巣辺縁部から中心部及び小型の壊死巣中心部に陽性反応が認められた（表 1）。抗 *T. pyogenes* 家兎血清（千葉県）を用いた免疫染色では、小型の壊死巣辺縁部から中心部及び大型の壊死巣中心部に陽性反応が認められた（表 2）。臍静脈においても両菌の陽性反応が認められ、心臓では抗 *F. necrophorum* 家兎血清のみ陽性反応が認められた。

表 1 肝臓における大型乾酪壊死巣の免疫染色結果

	<i>F. necrophorum</i>	<i>T. pyogenes</i>
辺縁部	++	+
中心部	+	+

表 2 肝臓における類円形乾酪壊死巣の免疫染色結果

	<i>F. necrophorum</i>	<i>T. pyogenes</i>
辺縁部	+	++
中心部	+	+

2 細菌学的検査

好気培養下では肺及び右前関節液から *T. pyogenes* が分離され、PCR 検査では *T. pyogenes* の特異遺伝子が検出された。嫌気培養下では肝臓及び臍帯から *F. necrophorum* が分離され、PCR 検査では *F. necrophorum* subsp. *necrophorum* の特異遺伝子が検出された。

考 察

本症例は臍帯炎が認められ、剖検時には臍静脈から肝臓に及ぶ乾酪壊死、肝臓剖面においても大小不同の壊死巣が多発していたことから、臍帯炎から波及した多発性壊死性肝炎と診断された。

F. necrophorum は人や動物の口腔内に常在する日和見細菌であり、白血球の変性・壊死に関わるロイコトキシンをはじめとする病原因子を保有する⁵⁾。*F. necrophorum* subsp. *necrophorum* 及び *F. necrophorum* subsp. *funduliforme* の 2 亜種に分類され、今回分離された *F. necrophorum* subsp. *necrophorum* の方が分離頻度や病原性が高いとされている⁶⁾。肥育牛の肝膿瘍、子牛のジフテリア、趾間腐爛や肺炎などの原因菌であり、子牛の臍静脈炎、成牛の第 I 胃炎から肝臓に病変形成をすることが多いとされる⁵⁾。

T. pyogenes も動物の皮膚、上部気道、消化管、泌尿生殖器の粘膜に常在する日和見細菌であり、*F. necrophorum* を含むグラム陰性嫌気性菌との混合感染から分離されることが多い⁷⁾。子宮内膜炎、乳房炎、趾間腐爛、肝膿瘍、肺炎等の原因菌であり諸臓器に膿瘍を形成することが知られている⁷⁾。

本症例でも分離された *T. pyogenes* と *F. necrophorum* の混合感染は一般的によく認められ、両者の間に相乗作用が働く可能性についていくつかの報告がある。*F. necrophorum* がロイコトキシンを産生しその濃度に応じて白血球を溶解したり、アポトーシスを誘導することで宿主の食食から *T. pyogenes* を保護する⁷⁾。一方、*T. pyogenes* の代謝産物である乳酸は *F. necrophorum* がエネルギー基質として利用可能であり、*T. pyogenes* は酸素を利用し、*F. necrophorum* の増殖に最適な嫌

気性環境を作り出すという仮説がある⁸⁾。

免疫組織学的検査において、辺縁部にも陽性反応が認められたのは大型の乾酪壊死巣では *F. necrophorum*、比較的小型の類円形乾酪壊死巣では *T. pyogenes* と分布差が認められ、中心部では両者の陽性反応が認められた。前述した通り、両者に相乗作用が働く可能性があることから、それぞれの細菌が病変を一次形成した後に、他方の細菌が二次的に増殖した可能性がある。

不適切な初乳給与や不十分な臍帯消毒、難産で出生した子牛や臍帯出血を呈した子牛も臍帯炎を併発していたと報告されている⁹⁾。また、虚弱体質の子牛は起立時間が短く伏臥することが多く、腹部が乾燥しにくいいため臍帯炎のリスクが高くなるとされている²⁾。

本農場では臍帯未消毒であったことから、臍帯から感染したこと、また双子で出生し低体重であり、解剖時に胸腺未発達が認められたことから、本症例は抗病性が低く増悪したと推察された。

臍帯炎の予防には、分娩房を衛生的に保つこと、受動免疫低下を防ぐ適切な初乳の給与、臍帯の消毒、難産など分娩時のストレスがないよう子牛を管理することが必要である²⁾。子牛の肝膿瘍に対する根治治療はなく、予後不良となる症例がほとんどであることから、予防が重要であると考えられる。

参 考 文 献

- 1) 小岩政照, 田島誉士: 主症状を基礎にした牛の臨床 3, デーリィマン社 (2020)
- 2) 家畜感染症学会: 新しい子牛の科学 胎生期から初産分娩まで, 緑書房 (2021)
- 3) 家畜感染症学会: 新しい子牛の医学 胎生期から出生・育成期まで, 緑書房 (2014)
- 4) 木村久美子ら: 子牛の潜在性臍帯炎に起因する肝病変の病理組織学的検索, 日本獣医師会雑誌, 73 (2), 96 - 100 (2019)
- 5) Nagaraja, T. G., *et al.*: *Fusobacterium necrophorum* infections in animals: pathogenesis and pathogenic mechanisms. *Anaerobe*, 11(4), 239-246 (2005)
- 6) Pillai, D. K., *et al.*: Leukotoxin production by *Fusobacterium necrophorum* strains in relation to severity of liver abscesses in cattle. *Anaerobe*, 69, 102344 (2021)
- 7) Rzewuska, M., *et al.*: Pathogenicity and Virulence of *Trueperella pyogenes*: A Review. *Int J Mol Sci.*, 20(11), 2737 (2019)

- 8) Aguiar Veloso, V., *et al.*: On the Potential Role of Dietary Lysine as a Contributing Factor in Development of Liver Abscesses in Cattle. *Front Vet Sci*, 7, 576647 (2020)