

# 17 グラム陰性フィラメント状桿菌による牛の頭蓋内に形成された Splendore-Hoeppli 物質を伴う化膿性肉芽腫の病理組織学的検索

中央家畜保健衛生所

寺山 好美

県北家畜保健衛生所

鈴田 史子

Splendore-Hoeppli 物質とは、生体内で観察される、桿状、星状の好酸性物質であり、真菌、寄生虫、細菌や異物等によって引き起こされる局所的な免疫応答によって形成されると考えられている<sup>1)</sup>。牛では放線菌症やアクチノバチルス症などの細菌感染症において、Splendore-Hoeppli 物質を伴う肉芽腫病変が報告されており、主に頸部顔面領域や口腔、鼻部、時に局所リンパ節や腹膜に、腫瘤又は結節状の病変が形成される<sup>2), 3), 4)</sup>。その他、*Corynebacterium ulcerans* 感染事例や *Mannheimia granulomatis* 感染事例では、鼻部や舌において同様に Splendore-Hoeppli 物質を伴う病変が形成されたとの報告がある<sup>5), 6), 7)</sup>。しかしながら、これまで細菌感染症によって牛の頭蓋内に Splendore-Hoeppli 物質を伴う肉芽腫病変が形成されたという報告はない。

今回、牛の頭蓋内で確認された腫瘤について、病理学的検査を実施したところ、グラム陰性フィラメント状桿菌によって形成された Splendore-Hoeppli 物質を伴う化膿性肉芽腫であることが判明し、稀な症例と考えられたので報告する。

## 1 発生状況

平成 30 年 3 月 18 日、14 歳の黒毛和種繁殖雌牛が、発熱と起立困難を呈し、抗生剤と消炎沈痛剤で加療したものの症状の改善はみられず、4 月 19 日には、眼球振盪、四肢の強直等の神経症状を呈したため、予後不良と判断され、鑑定殺により病理解剖を実施した。

## 2 材料及び方法

病理組織学的検査では、主要臓器、器官を 10% 中性緩衝ホルマリン液固定後、定法に従い HE 染

色を実施した。加えて腫瘤については、グラム染色、グロコット染色を実施した。また、一次抗体として抗 *Actinobacillus lignieresii* 家兔血清及び抗 *Mannheimia granulomatis* 家兔血清（いずれも動物衛生研究部門）を用いて、免疫組織化学的検査（IHC）を実施した。

透過型電子顕微鏡検査（TEM）では、ホルマリン固定後の腫瘤を細切し、1% 四酸化オスミウムで後固定してエポキシ樹脂に包埋し、超薄切した切片を、酢酸ウラン及び酢酸鉛で染色して検査に供した。

走査型電子顕微鏡検査（SEM）では、腫瘤の切片を脱パラフィン処理後、凍結乾燥して試料台に固定し、オスミウム蒸着して検査に供した。

細菌学的検査では、肝、脾、腎、心、肺、脳を 5% 馬血液寒天培地、DHL 培地を用いて、微好気培養及び好気培養を実施した。また、病変部における細菌の遺伝子を検出するため、ホルマリン固定材料からの DNA を抽出し、原因菌の 16S rDNA 遺伝子について、PCR 検査を実施した。

## 3 成績

剖検所見では、頭蓋内の舌下神経周囲に 5 × 8 cm 大の腫瘤がみられ、小脳と延髄を圧迫していた（図-1）。なお、小脳硬膜下には出血が認められた。右肺前葉及び中葉と胸壁が軽度、線維素性に癒着していたが、その他の臓器に著変はみられなかった。

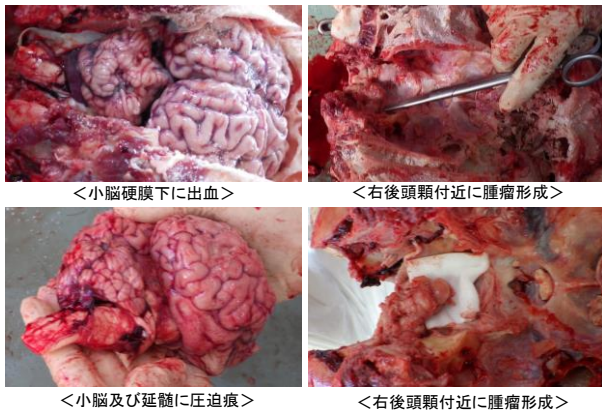


図-1 剖検所見

病理組織学的検査で、腫瘍は、多発性、融合性の化膿性肉芽腫及び神経束で構成され、厚い線維性結合組織で覆われていた（図-2、3）。

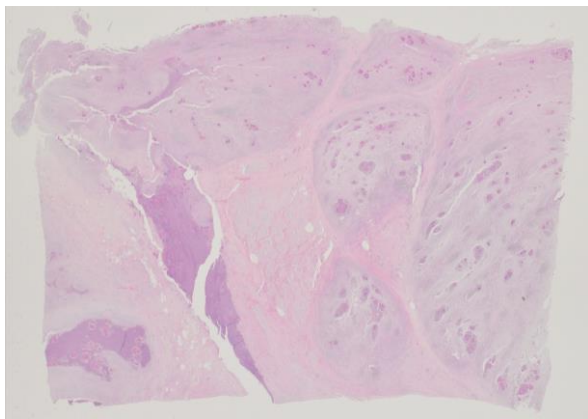


図-2 腫瘍の構成1

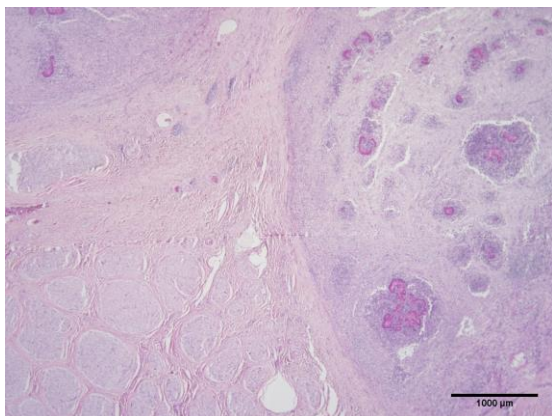


図-3 腫瘍の構成2

肉芽腫は、中心部に細菌塊を取り囲むように Splendore-Hoeppli 物質が存在し、周囲を多数の好中球、マクロファージ、類上皮細胞に、さらに外層をリンパ球、形質細胞及び線維芽細胞に囲まれていた（図-4、5）。

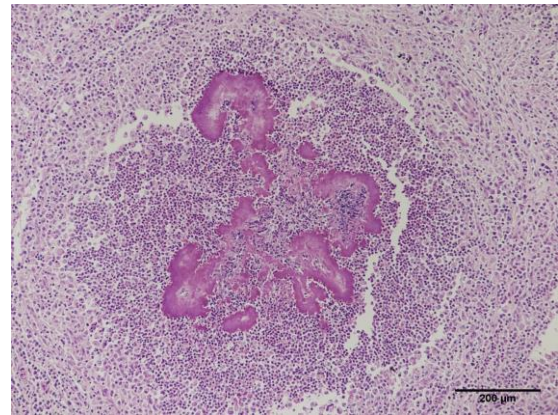


図-4 Splendore-Hoeppli物質を伴う化膿性肉芽腫

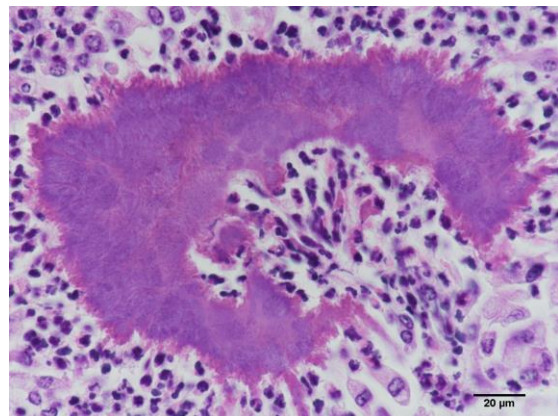


図-5 細菌塊周囲のSplendore-Hoeppli物質

細菌塊は、グラム染色でグラム陰性桿菌であり、グロコット染色でフィラメント状桿菌であると判明した（図-6）。

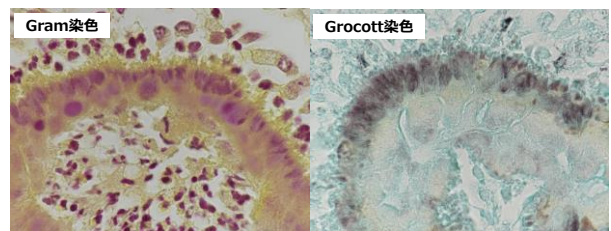


図-6 特殊染色の結果

IHC では、抗 *A. lignieresii* 家兎血清及び抗 *M. granulomatis* 家兎血清に対する特異的な陽性反応は認められなかった。

TEM の結果、原因菌は、グラム陰性菌の特徴と一致して、3層の細胞壁が確認された（図-7）。



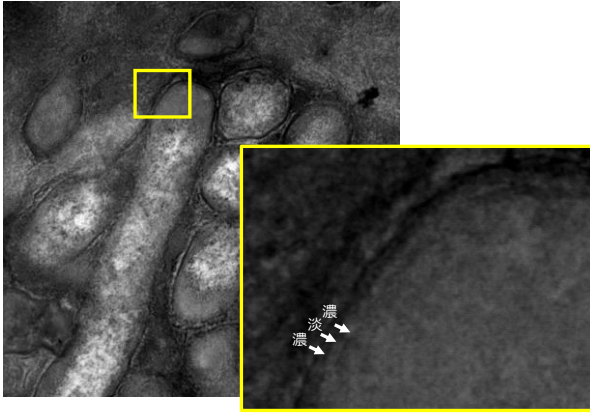


図-7 TEMで確認された細菌

SEMでは、Splendore-Hoeppli物質に無数の細菌が埋め込まれるように存在しており、とがし、また、原因菌の形態は、幅 $0.2\sim 0.3\mu\text{m}$ 、長さ $4\sim 5\mu\text{m}$ の直線的なフィラメント状の桿菌であることが確認された(図-8、9)。

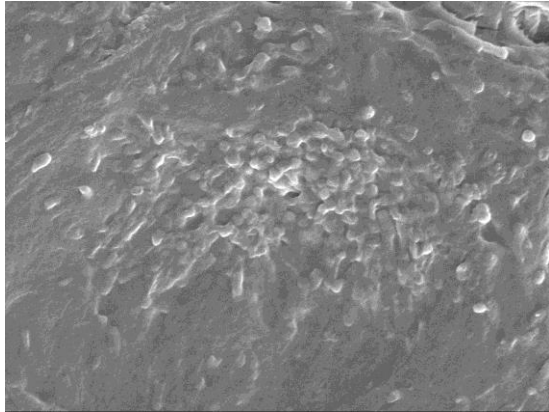


図-8 SEMで確認された細菌1

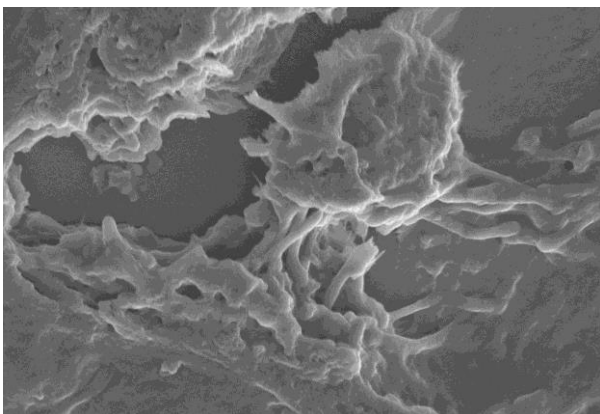


図-9 SEMで確認された細菌2

細菌検査では、供試した臓器からの菌分離陰性であり、細菌の遺伝子は検出されなかった。

#### 4 まとめ及び考察

牛の頭蓋内腫瘍については、これまでに髄芽腫、希突起膠細胞腫、星状膠細胞腫、上衣

腫、脈絡叢腫瘍、髄膜腫や末梢神経鞘腫瘍等の新生物や下垂体膿瘍等の報告がある。

本症例でみられた腫瘍は、その肉眼的特徴から非感染性の腫瘍と考えられたが、病理組織学的検査から、グラム陰性フィラメント状桿菌によって形成された Splendore-Hoeppli 物質を伴う化膿性肉芽腫であることが確認された。牛において細菌が原因となって頭蓋内に Splendore-Hoeppli 物質を伴う肉芽腫が形成された事例はこれまでに報告がなく、稀な事例であると考えられた。

中枢神経に Splendore-Hoeppli 物質を伴う肉芽腫あるいは化膿性感染症を形成する疾病として、人、ヤギそして犬の放線菌症が報告されている<sup>8), 9), 10), 11)</sup>。人の放線菌症では、頭部膿瘍の発生が多く、肉芽腫の報告は少ないものの一定数報告されている。ヤギの *A. naeslundii* による放線菌症では右脳の前頭葉及び側頭骨に化膿性肉芽腫が形成され、犬の *Actinomyces* sp. による放線菌症では、化膿性及び肉芽腫性髄膜脳炎がみられている。これらの発生報告において中枢神経系への感染経路は、他の化膿性病変から血行性に炎症が波及したのものや、口腔細菌叢から口腔の創傷等によって感染し、頸顔面領域から炎症が波及したものの、あるいは、植物性異物や咬傷によるものと考えられている。

今回の事例では、病変は片側の舌下神経周囲のみに単在し、頭蓋骨や髄膜に炎症は認められず、また他の臓器においても感染を疑う所見はみられなかったことから、遠隔部位からの血行性、あるいは隣接部位からの炎症の波及は否定的であると考えられた。したがって、当該牛の口腔内には明確な傷は確認されなかったものの、グラム陰性フィラメント状桿菌は口腔の創傷等から侵入し、神経行性に感染して頭蓋内まで到達して病変を形成した可能性が高いものと考えられた。

腫瘍からの病原検索を実施しなかったこと、また他の臓器には同様の細菌による病変が確認されなかったことから、本肉芽腫の原因菌を特定することはできなかった。また、細菌

に対するユニバーサルプライマーを用いてパラフィン切片から抽出した遺伝子から病原体の特定を試みたが、原因菌の遺伝子は検出できなかった。これは、ホルマリン固定による影響、あるいは SEM で観察されたように多くの細菌が Splendore-hoeppli 物質に埋没していたため、抽出キットによる遺伝子抽出が困難だったからかもしれない。

本症例のように、発生部位にかかわらず、腫瘍が認められたときには、腫瘍のみならず、感染性の病変を考慮して検索することが重要であると考えられた。

## 5 参考文献

- 1 ) Hussein MR : Mucocutaneous Splendore-Hoeppli phenomenon, J Cutan Pathol, 35, 979-988 (2008)
- 2 ) Kubo M *et al* : A histological and ultrastructural comparison of the sulfur granule of the actinomycosis and actinobacillosis, Natl Inst Anim Health Q, 20, 53-59 (1980)
- 3 ) Caffarena RD *et al* : Natural lymphatic ( "atypical" ) actinobacillosis in cattle caused by *Actinobacillus lignieresii*, J Vet Diagn Invest, 30(2), 218-225 (2018)
- 4 ) Kasuya K *et al* : Multifocal suppurative granuloma caused by *Actinobacillus lignieresii* in the peritoneum of a beef steer. J Vet Med Sci 79(1), 65-67 (2017)
- 5 ) Murakami K *et al* : Eosinophilic granuloma with Splendore-Hoeppli material caused by toxigenic *Corynebacterium ulcerans* in a heifer, J Vet Med Sci, 76(6), 931-935 (2014)
- 6 ) Kawashima Y *et al* : Eosinophilic granuloma with Splendore-Hoeppli material caused by *Mannheimia granulomatis* in a calf, J Vet Med Sci, 78(6), 1075-1078 (2016)
- 7 ) Sato T *et al* : Granulomatous glossitis caused by *Mannheimia granulomatosis* in a steer, the first case in Japan, Conference Paper (2016)
- 8 ) Suk HH *et al* : Imaging of Actinomycosis in Various Organs: A Comprehensive Review, RadioGraphics, 34, 19-33(2014)
- 9 ) Hirai T *et al* : Actinomycosis of the brain and temporal bone in a goat, J Vet Med Sci, 69(6), 641-643 (2007)
- 10) Anvik JO *et al* : *Actinomyces encephalitis* associated with hydrocephalus in a dog, Can Vet Jour, 17, 2 (1976)
- 11) Couto SS *et al* : Pyogranulomatous meningoencephalitis due to *Actinomyces* sp. in a dog, Vet pathol, 37, 650-652 (2000)