

Pythium gracile による馬の顆粒性皮膚炎について

雨宮淳三

(獣医公衆衛生学研究室)

昭和56年8月7日受理

Granular Dermatitis in the Horse, Caused by *Pythium gracile*

Junzo AMEMIYA

(Laboratory of Veterinary Public Health)

緒 言

著者¹⁻³⁾らは従来馬の顆粒性皮膚炎から真菌を分離し、また、分離菌について家兎および馬で接種試験を行い、その病原性を確認してきた。それにより広義の顆粒性皮膚炎の中に藻菌類に属する真菌による皮膚炎が含まれること、すなわち馬の皮膚 Phycomycosis の存在を明らかにした。しかし、分離真菌の分類学上、属の位置づけを明確にするにいたらなかった。ところで著者ら³⁾は1977年鹿児島県国分市で発生した馬の顆粒性皮膚炎の症例より分離した真菌を *Pythium gracile* と同定した。そこでこの症例の報告をするともに分離菌株について動物接種試験を行いその病原性を検討した。

材料と方法

材料は1977年夏鹿児島県国分市真谷で飼養されていたせん馬(鹿毛5歳中半血種農用)で臨床的に顆粒性皮膚炎と診断され手術により除去されたものである。供試菌はこれより分離され *Pythium gracile* と同定された菌である。

動物接種試験は家兎を用い、皮下(第1群)、筋肉および腹腔内(第2群)、筋肉内(第3群)、腹腔内(第4群)、心臓内(第5群)に接種した。なお、筋肉内接種部位は背、中央胸最長筋第6胸椎部附近とした。接種菌量は乾燥重量に換算して皮下接種、筋肉内接種では約5mg、腹腔内接種では約3mgとした。菌の培養方法、動物接種方法ならびに病理学的検索方法については前報³⁾に従った。(菌は大阪醸酵研 IFO 30819)

結 果

I. 供試病変部の病理学的観察

病変部は下腹部中央白線に近い部位にあり、その大きさは直径6~7cm、厚さ1.7cm、ほぼ円形腫瘤で潰瘍面はざくろ状を呈し、創面及び切断面にいわゆる顆粒が認められた。Fig.1はホルマリン固定した病変部であるが、顆粒は菌検索に供したため除かれ、また組織検索の材料を採取したものである。病理組織学的検索では、表皮および真皮の大部分は欠損し、病変部は皮下織にわたっていた。一般には大小不整形の壊死巣が散在し、それを囲んで崩壊細胞および好酸球等の浸潤がみられ、菌糸は壊死巣の周囲またはその中に存在している。

なお、菌糸を含む壊死部があり、好酸球が少なくリンパ球の浸潤が認められる像もみられる。これらの病巣をつつんだ形で新生毛細血管、線維芽細胞の増生、少数の巨細胞などが認められ、いわゆる、肉芽の形成がみられる。Fig.2は菌糸を含む組織像である(PAS染色)。この症例の菌はH-E染色でもみられた。

なお、ハプロネマ幼線虫体は認められない。

II. 動物接種試験

1. 皮下接種

皮下接種群では接種部位にのみ病巣が形成された。Table 1に示すごとく接種部位には触診により硬い結

Table 1. Subcutaneous inoculation of the tested fungus in rabbits

Rabbit No.	Interval from inoculation to death (days)	Lesion	Isolation of fungus from lesion
1	10(killed)	+	+
2	30(")	+	-
3	34(")	+	+
4	15(")	+	+
5	18(")	+	-

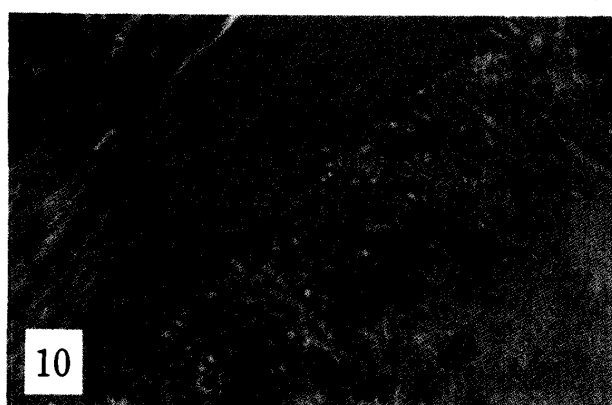
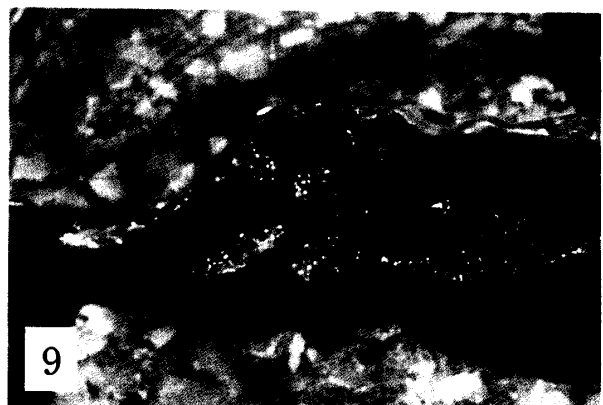
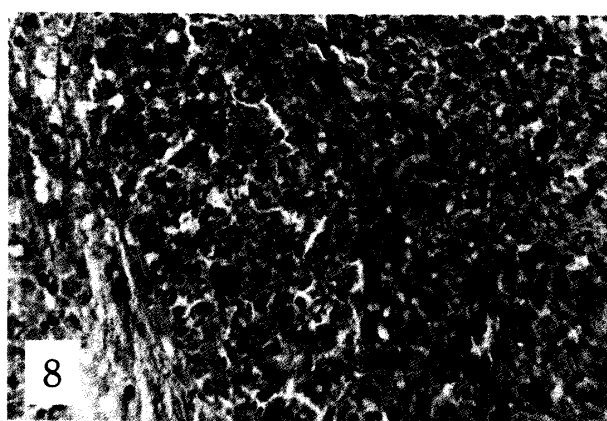
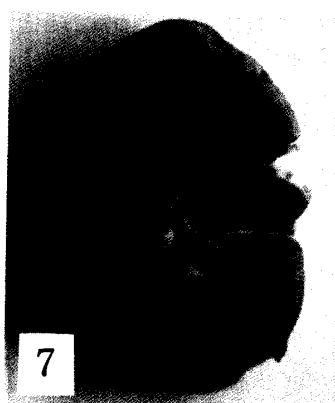
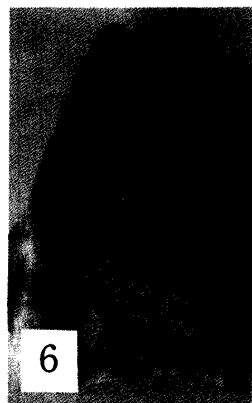
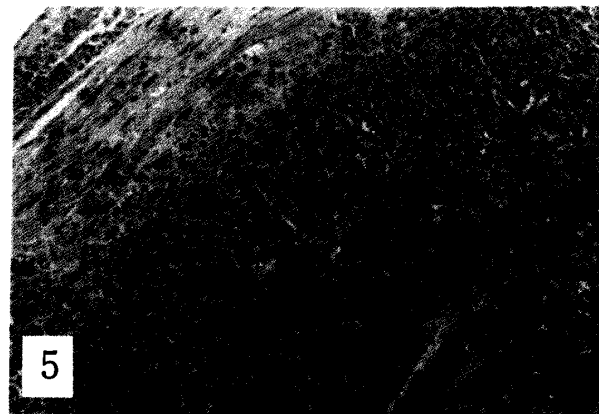


Table 2. Intramuscular and intraperitoneal inoculation of the tested fungus in rabbits

Rabbit No.	Interval from inoculation to death (days)	Location of lesions		Remarks
		Inoculated muscles	Extramuscular	
1	22 (died)	+	liver, stomach	Cortisone
2	20 (died)	+	aorta, stomach, spleen	Cortisone
3	32 (died)	+	liver, intestine	
4	33 (died)	+	aorta, kidneys	
5	21 (died)	+	liver, intestine	

節が認められ、その大きさは、大型のもので約 5cm×3cm×3cm、小型のもので約 2cm×2cm×1cm であった。結節は化膿性炎症の像で膿瘍と認められた。また、壊死部が内部に存在する膿瘍像もある。結節内より採取した膿様物を培養し、5 例中 3 例より菌糸を回収し得た。他の 2 例からは菌を回収し得なかったが、膿様物の直接鏡検により菌糸片が認められた。

2. 筋肉内および腹腔内接種

Table 2 の示すごとくのデータである。病巣は接種部はもとより接種部外にも形成された。接種部外での病巣の形成は肝臓、胃、腸、腎臓、脾臓、大動脈等である。接種部筋肉の病変は肉眼的にワックス様変性のものまた、肉芽腫様病変である (Fig. 3 参照)。大型のものは約 4.5cm×2.5cm×1.7cm、最小型が 3cm×2.7cm×1cm であった。病変の断面に抵抗を感じる米粒大の顆粒様のものを認めた例がある。また、病変部が皮膚に及んでいるもの、骨膜に達したものが認められる。大動脈の病変は、顕著で接種部位に近い部位に認められる。灰白色を呈し、大きいもので長さ 9cm、最大幅 1.5cm (No. 4)、小型のもので長さ 1.0cm、最大幅 0.7cm (No. 2) であった。病変部 (No. 4) を切開したのが Fig. 9 である。肝臓、胃、腸については下記腹腔接種の場合と同様であり、脾臓は灰白色円形 (0.2~0.3cm) の結節が複数でみられた。腎臓については、包膜の剝離は容易であり、病変部は灰白色を呈し、境界明瞭で、形はほぼ円形のものや不整形のものがある (Fig. 7)。なお、接種部および他の病変部の培養で菌糸を回収し得た。

3. 筋肉内接種

Table 3 の示すごとくのデータである。病巣は接種部のみに形成される例と接種部および接種部外に形成される例がある。接種部位に形成された病巣の大きさは、大型のものは約 4cm×2.5cm×1.5cm、最小型は約 2cm×2cm×1cm であった。接種部のみに病巣を形成した 3 例 (No. 1, No. 4, No. 5) の中 2 例は、膿瘍様で、他の 1 例および接種部外にも病巣を形成した

Table 3. Intramuscular inoculation of the tested fungus in rabbits

Rabbit No.	Interval from inoculation to death (days)	Location of lesions	
		Inoculated muscles	Extramuscular
1	18 (killed)	+	
2	7 (died)	+	aorta, kidneys
3	13 (died)	+	aorta
4	60 (killed)	+	
5	29 (killed)	+	

2 例 (No. 2, No. 3) の接種部位の肉眼的所見は、第 2 群の例と同様である。接種部外での病巣の形成は、大動脈および腎臓であった。大動脈の所見は 2 群と同様である。2ヶ所に病変のある例の大きさは、長さ 3cm 最大幅 0.8cm と長さ 0.7cm 幅 0.7cm で、他の例の大きさは、長さ 2.4cm 最大幅 0.8cm であった。腎臓の所見も 2 群と同様である。No. 1, 2, 3 の 3 例の病変部を培養し 3 例とも菌の回収をし得た。

4. 腹腔内接種

Table 4 に示すごとくのデータで全例で腹腔内臓器に病巣の形成をみる。それらは肝臓、胃、腸、腸間膜、

Table 4. Intraperitoneal inoculation of the tested fungus in rabbits

Rabbit No.	Interval from inoculation to death (days)	Location of lesions
1	10 (died)	liver, stomach, intestine, mesentery, omentum majus
2	34 (killed)	liver, intestine
3	70 (died)	stomach
4	30 (died)	liver, mesentery
5	30 (died)	liver
6	15 (died)	liver, intestine, peritoneum
7	73 (died)	intestine
8	74 (died)	liver, mesentery, bladder

大網、膀胱等である。肝臓の病変部は灰白色で変形しており比較的大型で肝臓全体の $\frac{1}{3}$ を占める例もあった。

病巣は左葉、右葉、方形葉とにわたって内臓面の鋭縁に認められる例が少なくない。また、肝胃間膜とゆ着している例があった。Fig. 6 は肝臓の肉眼的病変の断面である。胃、腸の病巣は結節、膿瘍様また肉芽腫様のものと種々あり、大きさも約 4cm×3cm×2.5cm のものから径 0.3~0.2cm の円型のものまで病変部に複数で形成されている (Fig. 4 参照)。腸間膜、大網の病巣は灰白色の径 0.3cm 位のほぼ球状の結節が数多くみられる。膀胱体外面の病変は灰白色結節である。培養した下記の病変部のいずれの例でも菌を回収し得た。(肝臓 5 例) (腸 2 例 No. 1, No. 2) (腸間膜 No. 4) (大網 No. 1)

5. 心臓内接種

Table 5 の示すごとくのデータで、接種部位附近の部位 (心膜、心筋、肺) と遠隔の腎臓、肝臓に認められた。心膜に膿様物、または灰白色の結節が認められ、胸膜とゆ着していた。心筋には灰白色の病巣がみられた。肺は灰白色膿瘍様であり、腎臓の病変は Table 2 の例と同様のものであるが、表面黒褐色の不整形の斑紋状のものもあった (No. 1)。肝臓には大豆大より 2cm³ までの灰白色病変が各葉に多発した。菌の回収については No. 3, No. 4 で行いそれぞれの病変から菌を回収し得た。

Table 5. Inoculation of the tested fungus in rabbits by cardiocentesis

Rabbit No.	Interval from inoculation to death (days)	Location of lesions
1	3 (died)	pericardium, kidneys
2	15 (died)	myocardium, lung, pleura
3	14 (died)	myocardium, pericardium, kidneys
4	7 (died)	myocardium, kidneys
5	6 (died)	pericardium, kidneys, liver

上記 (第 2~第 5 群) の病巣の代表的病理組織像を記す。

接種部位筋肉一筋組織は壊死強く、その周囲の筋線維も萎縮、崩壊し、わずかしか残存せず、肉芽組織が認められる。正常な部位との境目は不明瞭で筋線維が変性して H-E 染色で桃色を呈する部位も認められる。壊死部の中央部および周辺に菌糸を確認し得る。

壊死部に近く種々の細胞の浸潤がみられるが、好酸球、偽酸球の浸潤が著明である。また巨細胞の存在を

確認し得る。

大動脈一病変部が中膜のみ、また、中膜と外膜の両部位、それと外・中・内膜すべてにわたるものが認められた。代表的病変の像を記すと、外・中膜、とくに、中膜に中心部壊死を伴う肉芽の形成で壊死部に細胞の破砕物、変性した核の残渣がみられ、菌糸も認められる。壊死部に近い部位に巨細胞の出現も認められる例もある。肉芽の発達はよく、形質細胞、好酸球等の浸潤を認める。大動脈中の菌糸は Fig. 10 である。

肝臓一病変部肝細胞の壊死著明で、肝細胞の崩壊したもの、壊死部をかこみ好酸球、リンパ球等の浸潤が認められる。肉芽の増殖があり、病巣に菌糸の存在が確認された (Fig. 8)。また、病変は周囲と明らかな境界なく、びまん性に周囲に移行する部位もみられる。

腎臓一病理組織学的には病巣は皮質に多く、腎実質細胞の壊死がみられ、好酸球を含む細胞浸潤も著明であり、病巣に菌糸が認められる。一部膿瘍の像を呈するものも認められる。心臓接種で形成された病変の中には梗塞によるとみられるものがあった。

その他一脾臓、腸、腸間膜、大網等の結節状の病変は、上記の臓器のものと大要同じものとみられる。腸の病理組織像での菌糸の様相は Fig. 5 の如くである。

考 察

馬の症例の臨床および病理組織像は先に報告した真菌性顆粒性皮膚炎^{1,2)}のそれと比較してほぼ同様である。

本菌の病原性を検討するため家兎を用いて動物接種試験を行った。同一家兎について腹腔内および筋肉内接種を同時に行うことにより病巣の形成の有無を検討した。その結果いずれにも病変部が認められたので以下の実験は筋肉内、腹腔内接種を主に行い、あわせて皮下および心臓内接種を行った。

実験の結果で皮下接種の場合、病巣は接種部位に限局し、病変は膿瘍の形成が主たるものである。筋肉内接種では、病巣は接種部筋肉にとどまるケースと接種部位と接種部位外に及ぶものがあり、接種部位外では大動脈、腎臓であった。大動脈の病巣形成は第 2 群でもみられたが第 4 群のデータを考察するとこれらは筋肉内接種によるものと推定される。大動脈の病巣の形成は特徴のあることで、前報³⁾の大動脈の病変は中膜であったが、本報告の病変は中膜のみでなく、中膜と外膜、内膜・中膜・外膜全部に病変が及んでいた例がみられた。大動脈の病巣形成は前報³⁾のごとく *Vasa*

vasorum に由来したものとみられる。大動脈に病巣の形成をみた例はすべて病死している。

腹腔内接種では肝臓への病巣形成と胃、腸、腸間膜、大網等に病巣形成が顕著である。漿膜面より実質に菌が侵入するものとみられる。心臓内接種—静脈接種が普通にとられる方法であるが菌糸接種のため静脈接種のかわりに心臓内接種にした。接種時の漏出によるものとみられる接種部位付近臓器への病巣形成と腎臓の病巣形成が著明である。

実験の結果より全般的に観察すると、皮下および筋肉内接種で接種部位に限局されて病巣の形成された家兎では、殺処分するまでの期間に長短があるが、病死する例がなかった。しかし、接種部外に病巣が形成された家兎のほとんどが病死した。殊に、心臓内接種のケースでは全例15日以内に病死した。

個々の病巣の肉眼的所見は全般的に明瞭であった。家兎の病巣は皮下、筋肉、腸間膜、大動脈壁等コラーゲンに富む組織に形成される傾向が認められた。また2, 3, 5 群のデータより血行性とみられ、全群にリンパ節の病変が認められず、リンパ径由でないと思われ。

病変の組織像には中心部壊死を伴うよく発達した肉芽の形成が認められ、好酸球の浸潤がみられる。一部巨細胞の出現がみられた。菌糸は、通常壊死または類壊死部に認められるが、また細胞浸潤の間にも認められる場合もある。菌糸は単体の場合が多いが多数塊をなしてみられることもある。これらの壊死像を有する病変は筋肉、肝臓、大動脈等にみられた。

他の病変の主なもの、皮下等にみられる膿瘍の像で、その中に菌糸の存在が認められるものと認められないものがある。なお、壊死部が内部に存在する膿瘍像もある。本菌と病変との関係についての考察は前報³⁾の考察と同様とみられ、菌の代謝産物あるいは酵素様のものが壊死をおこすものと考えられる。さらに壊死組織が細胞浸潤をおこし、また膿瘍を形成させるのであろう。本試験のデータは前報告³⁾の家兎での接種試験データに類似し、同様な病変が認められた。以上病理組織学的検討および培養による真菌の回収の結果より、人工接種による家兎の病変は、真菌による特殊性炎の像と認められる。また、その組織像は本報告の馬の症例の組織像と本質的に同じものと認められ、本菌は病原性を有することが証明せられたと考える。なお、馬への皮下接種試験も数例行った(未発表)。接種部位の著明な腫脹、その後の硬結が認められる。前報とほぼ同様な所見である。

わが国の馬の顆粒性皮膚炎の病名は臨床上の言葉に由来したものとみられるが、病因についてはハプロネマ幼虫によるものと真菌によるものが報告されている。真菌によるとみられる本症の病変と同様な病変をもつ疾病について Miller ら¹⁰⁾は Subcutaneous phycomycosis としその起因として少なくとも *Hyphomyces destruens*, *Entomophthora coronata*, *Basidiobolus* sp. の3種の真菌があるとしている。Ainsworth と Austwick⁴⁾はその著書で Subcutaneous phycomycosis とし *Hyphomyces destruens* による) と Equine Nasal Granuloma (*Entomophthora coronata* による) をあげている。Bridges と Emmons⁸⁾ は病原菌を *Mortierella* に属すものと推定したが確定し得ず一応 *Hyphomyces destruens* としている。*Hyphomyces destruens* については分類上不確定なものと思われてきている。ところで Austwick⁵⁾ は1974年 Papua New Guinea の症例より分離したものを *Pythium* sp. と同定し、*Pythium* sp. が哺乳動物に病原性があることを初めて発表した。その後 Austwick^{6,7)} は雨宮が1974年わが国で分離した菌株も同種のものでありともに *Pythium monospermum* に非常に近似したものであるとし、さらに、*H. destruens* とされていたものは (*Mortierellaceae* と推定されているものを含め) *Pythium* sp. に属するものとの見解を発表した。しかし、*Pythium* sp. とされた菌株についての動物接種試験による病原性の確認は行われていない。このような現況の中で分離菌が種まで同定され、その病原性が動物接種試験により確認されたことは意義のあるものと考えられる。

要 約

馬の顆粒性皮膚炎の症例より分離され *Pythium gracile* と同定された菌の動物接種試験を行い第1群で皮下、第2群で筋肉内および腹腔内、第3群で筋肉内、第4群で腹腔内、第5群で心臓内に接種した。第1群では主に膿瘍の形成がみられたが、他のいずれの群でも真菌性の中心部壊死を伴う肉芽性病巣を接種部位および遠隔の臓器に認めた。

病巣は組織学的に中心部の滲出性の壊死部とそれを囲む肉芽組織からなり、特殊性炎の像を示した。真菌は主に中心壊死部に認められた。また、大動脈における肉芽形成は本実験に特徴的なことであり、第2群、第3群に認められた。その他、肝臓、胃、腸、腎臓等にも真菌による病変がみられた。よって *Pythium gracile* が単独で家兎に病原性を示すことが実験的に

確かめられた。そしてこの家兎の病理組織像は自然発生の馬の皮膚炎の組織像に極めてよく類似していた。以上より広義の馬の顆粒性皮膚炎の中に *Pythium gracile* による皮膚炎が存在することが確認された。それはまた *Pythium gracile* を起因菌とする馬の Subcutaneous phycomycosis の存在することを示したものである。

謝 辞

研究材料採取で国分市農業共済本田親澄氏に、また病理組織標本作成で本学部安田宣紘教官に協力していただいたので謝意を表します。

また助言して下さった東大農学部長谷川篤彦助教授に謝意を表します。

文 献

- 1) 雨宮淳三・西山実光：病巣に真菌の認められる馬の顆粒性皮膚炎について。鹿大農学術報告 No. 17, 215-224 (1966)

- 2) 雨宮淳三・西山実光：病巣に真菌の認められる馬の顆粒性皮膚炎についてⅡ。鹿大農学術報告。No. 18, 185-191 (1968)
- 3) 雨宮淳三：病巣に真菌の認められる馬の顆粒性皮膚炎についてⅢ。鹿大農学術報告。No. 19, 31-50 (1969)
- 4) Ainsworth, G.C. and Austwick, P.K.C.: Phycomycosis. in *Fungal Diseases of Animals*. p. 53-62, Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, England (1973)
- 5) Austwick, P.K.C. and Copland J.W.: Swamp Cancer. *Nature*, 250, 84 (1974)
- 6) Austwick, P.K.C.: *Proceeding of Tampa meeting of the second International Mycological Congress* (1977)
- 7) Austwick, P.K.C.: Personal Communication (1974)
- 8) Bridges, C.H. and Emmons, C.W.: A Phycomycosis of horses caused by *Hyphomyces destruens*. *J. Ame. Vet. Med. Ass.*, 138, 579-589 (1961)
- 9) Ichitani, T. and Amemiya, J.: *Pythium gracile* isolated from the foci of granular dermatitis in the horse. *Trans. mycol. Soc. Japan*, 21, 263-265 (1980)
- 10) Miller, R. and Pott, B.: Phycomycosis of the horse caused by *Basidiobolus haptosporus*. *Aust. Vet. J.*, 56, 224-227 (1980)

Summary

After having isolated a sort of fungus from the foci of granular dermatitis detected in a five-year-old half-bred bay gelding (bred at Kokubu City, Kagoshima, 1977), the authors identified this as *Pythium gracile* Shenk.

Animal inoculations were carried out on this fungus, with the results summarized as in the following:

- 1) Subcutaneous inoculations of hyphae carried into rabbits resulted in abscess at the site of inoculation.
- 2) Intramuscular and intraperitoneal inoculations of hyphae carried into rabbits resulted in inflammatory masses. The formation of these masses was noted not only in all the muscles injected but also in aorta, liver, stomach, spleen, intestine and kidneys.
- 3) Intramuscular inoculations of hyphae carried into rabbits resulted in inflammatory masses. The formation of these masses was noted in aorta and kidneys as well as in all the muscles injected.
- 4) Intraperitoneal inoculation of hyphae carried into rabbits resulted in inflammatory masses. The formation of these masses was noted in and on the following organs, liver, stomach, intestine, mesentery and bladder.
- 5) Inoculations by cardiocentesis into rabbits resulted in inflammatory masses. The formation of these was noted in kidneys, pericardium, myocardium, pleura, lung and liver.

These masses formed by the above-mentioned test-inoculations excepting the one made by subcutaneous route, usually consisted of necrotic tissues, surrounded by zones of polymorphonuclear leucocytes (especially eosinophils), and fibroblasts. Another type of lesion is abscess-formation. And the hyphae were proved in lesions by microbiological and histological examinations. Besides, it seemed to be of not a small interest that mycotic lesions were developed in aorta.

From the above-mentioned results, it was recognized that this fungus was pathogenic for rabbits. The characteristic histopathological findings of lesions of rabbits were similar to those of a horse with granular dermatitis. Therefore, this investigation suggests conclusively that *Pythium gracile* is one of the etiologic agents of phycomycosis of the horse.

Explanation of figures

- Fig. 1 Lesion of granular dermatitis of this case, fixed by 10% Formol solution. ('Kunkers' were removed for microbial examination.)
- Fig. 2 A mass of hyphae in a necrotic area in corium of this case. (PAS-stain) × 40
- Fig. 3 Lesion in muscle. (Table 2-No. 3)
- Fig. 4 Lesions in intestine. (Table 2-No. 3)
- Fig. 5 Hyphae in a necrotic area in intestine. (PAS-stain) × 40 (Table 2-No. 3)
- Fig. 6 Lesion in liver fixed by 10% Formol solution. (Table 2-No. 3)
- Fig. 7 Lesion in kidney fixed by 10% Formol solution. (Table 2-No. 4)
- Fig. 8 Hyphae in a necrotic area in liver. (PAS-stain) × 40 (Table 2-No. 3)
- Fig. 9 Lesion in aorta. (Table 2-No. 4)
- Fig. 10 Hyphae in a necrotic area in aorta. (PAS-stain) × 60 (Table 2-No. 4)