

Prototheca による動物の感染症について

加納 壘

Prototheca は、藻類の一種であるが、二次的に葉緑体を退化させているため光合成を行わない。そのため外部からエネルギー源を摂取する従属栄養生物であるので、腐生または寄生により栄養を得ている。世界中の土壌、植物表面、動物の消化管内、湖沼や汚水中など湿潤な環境下に生息しているが、ヒトや動物に感染する人獣共通病原体でもある。

1894年に Wilhelm Krüger が *Prototheca* の特徴的な形態や生理、発育環の様相から *Chlorella* に近い新たな一属として報告 (Krüger 1894, Pore 2011) し、藻類として分類されているが、ヒトや動物のプロトテカ感染症として医真菌学で扱われてきている。著者は主に動物の真菌症について研究を行っているが、以上の理由から *Prototheca* についても調査をしている。そこで今回、動物のプロトテカ感染症について紹介する。

動物のプロトテカ症

Prototheca は、植物表面や土壌および湖沼などに生息するため (Pore 2011)、人や動物は環境から感染すると考えられているが、一方で動物の消化管にも常在していることから、日和見感染症の病原体でもある (Pressler 2012)。そのため動物のプロトテカ症は、犬・猫のような愛玩動物への感染症や酪農牛における乳房炎として本邦を含め世界各地で報告されている (Möller *et al.* 2007, Marques *et al.* 2008, Osumi *et al.* 2008, Ricchi *et al.* 2010, Pieper *et al.* 2012)。

犬・猫のプロトテカ感染症は、ヒトのプロトテカ感染症と同様に稀な疾患である。症状として皮膚の急性～慢性の炎症病変を引き起こすが (図 1)、さらに中枢神経を含

めた全身の臓器へひろがることもある致死的な疾患でもある (Pressler 2012)。病巣からヒトの疾患と同様に *P. zopfii* および *P. wickerhamii* が分離されることから、人獣共通感染症として危惧されている (Pressler 2012)。感染経路としては、自然環境中に生息する *Prototheca* の創傷部位からの侵入や、犬および猫の糞便から分離されるため、消化管からの日和見感染が考えられている (Pressler 2012)。下痢症に対する抗菌剤投与による菌交代症 (抗菌剤の使用による微生物叢の変化) が原因の一つとして考えられているが、免疫抑制剤や抗ガン剤の使用頻度の増加も、本疾患の発症増加の原因となると考えられている。

プロトテカ感染症の診断は、病巣部の病理組織検査で桑実状または車軸状の *Prototheca* の母細胞を確認するか (図 2)、病巣から分離同定によって行う (図 3)。治療は、あまり殺藻類活性は高くないが、抗真菌剤および一部の抗菌剤の投与により行う (Pressler 2012)。医薬品で藻類に対する薬剤が無いためである。

一方、牛のプロトテカ乳房炎は、*Prototheca* が乳房内へ感染して炎症を引き起こすため、乳汁の質の低下および人獣共通感染症の原因となり、同時に酪農業の経済的損失および動物性タンパク質の安定供給にとって深刻な問題となる。臨床症状は、病態の進行により、乳質が低下するだけで他に臨床所見の乏しい潜在型乳房炎となる場合や、乳房に熱感や腫れを認める場合、時には脳や脊髄にまで感染して神経症状を発症するまで重篤になる場合もある。抗菌剤などの治療に反応しない慢性の乳房炎から見つかることが多い。

牛のプロトテカ乳房炎の診断は、乳汁からの分離培養によって行う。ドイツからの報告や我々の調査では、

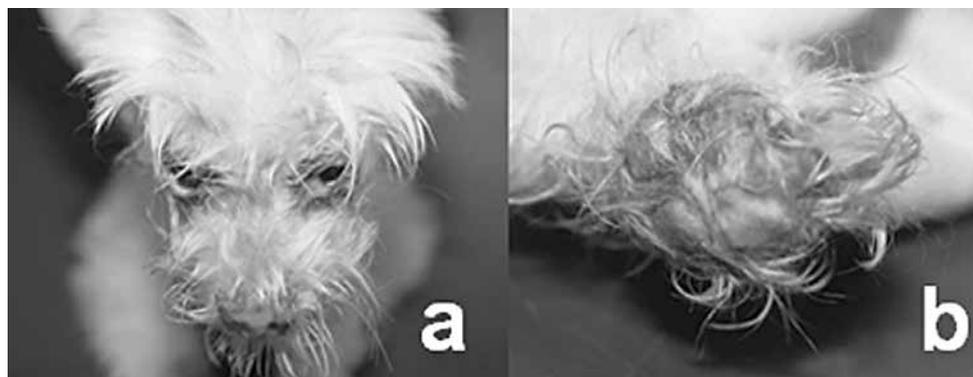


図 1. 犬のプロトテカ症による足底部のびらん (a) および顔面 (b)。

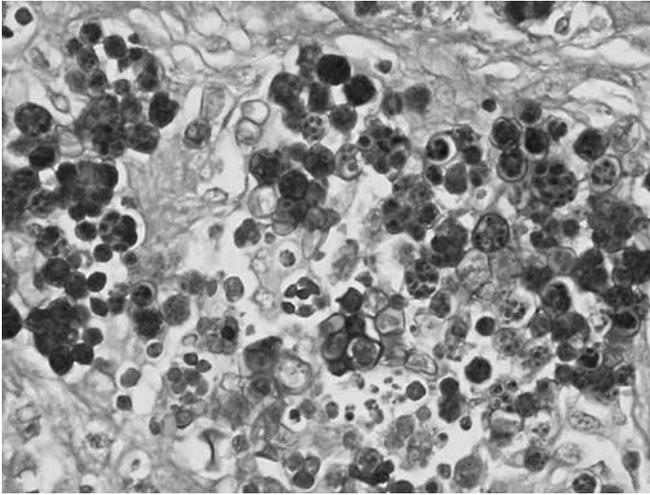


図2. 犬の脾臓に感染した組織像。肉芽腫性炎症とともに、多数の車軸状の *P. wickerhamii* が散見される (PAS 染色)。

Prototheca に対する乳汁中または血清中の特異抗体を測定する ELISA 法も診断に有効であるが (Roesler *et al.* 2001, Roesler & Hensel 2003, Kano *et al.* 2016), 検査受託機関までは普及されていない。治療は、乳汁へ薬剤が移行してしまうため、投薬は行うことができず、感染源や汚染源の消毒・洗浄と感染牛の隔離・淘汰しか対策が無いのが現状である。そのため、一度牛舎内でプロトテカ乳房炎が蔓延すると、清浄化するのが難しく、酪農家にとって経済的打撃となる。安全で質の良い乳製品を国民へ供給するためにも、効果的な予防法・防除法の確立が必要である。

牛のプロトテカ乳房炎の疫学

牛のプロトテカ乳房炎の主な原因藻種である *P. zopfii* は、生化学的あるいは分子生物学的に少なくとも2つの遺伝子型 (*P. zopfii* genotype 1 および genotype 2) に分類される (図4)。欧米および日本においてプロトテカ性乳房炎から分離された株 (図5) のほとんどが genotype 2 と同定されていることから、同遺伝子型が乳房炎の主要原因藻類であると考えられている (Möller *et al.* 2007, Marques *et al.* 2008, Osumi *et al.* 2008, Ricchi *et al.* 2010, Pieper *et al.* 2012)。一方で、genotype 1 は湖沼、汚水、土壌、植物の表面などの自然環境中から分離されている。この様に同じ *P. zopfii* でも、遺伝子型によって牛に対する病原性の有無がはっきり分かれることが最近の研究によって明らかになった。両遺伝子型についてプロテオーム解析を行うと、牛の乳房炎から分離される genotype 2 は発現する酵素などの蛋白発現の種類数が genotype 1 よりも少ない。恐らく genotype 2 は、牛に共生・寄生するように進化したため、不必要になった蛋白を発現しなくなったと考えられている (Murugaiyan *et*

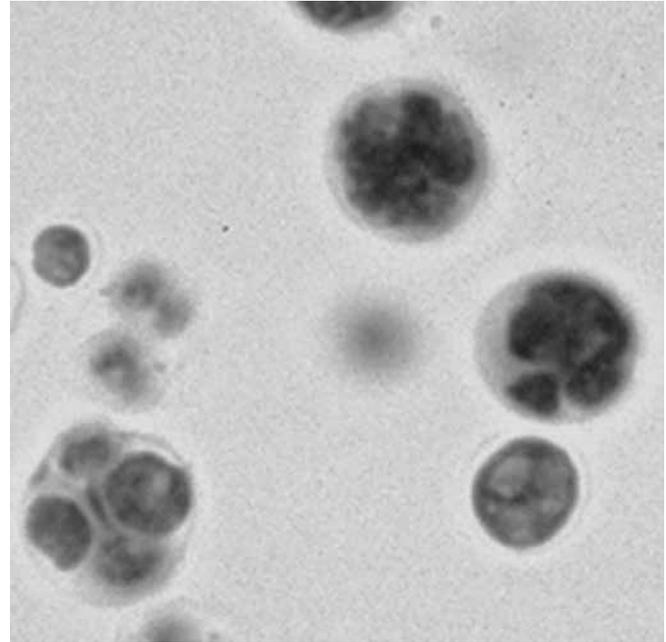


図3. *Prototheca wickerhamii* の顕微鏡所見。大型車軸状の母細胞 (孢子嚢) と娘細胞 (孢子嚢胞子) を認める。

al. 2013)。そのため自然環境中では、genotype 2 は、1 よりも生存能力が低く、自然環境からは分離されにくいと考えられる。

以上の結果をもとに、感染経路を特定するために、プロトテカ乳房炎発症牛舎について我々が行った調査では、感染牛乳汁の他に genotype 2 が検出されるのは、牛糞およびそれに汚染されたと考えられる牛舎の床と飲水カップからであった (Sobukawa *et al.* 2012)。*Prototheca* は牛の消化管内に生息するため、排泄された糞便は感染源となる可能性が高い。また糞便に汚染された床や飲水も牛への二次感染源となると考えられる。これらの感染源から乳頭への汚染が感染経路の一つだと考えられる。

Prototheca はヨード剤、クロルヘキシジン、塩素などの消毒剤によって、死滅する (Sobukawa *et al.* 2011)。そのため、二次感染への対策としては、感染源や汚染源の消毒・洗浄と感染牛の隔離・淘汰を行う。また *Prototheca* は感染牛の乳汁中に排泄されることから、次世代牛への伝搬を防ぐため、子牛へは凍結保存を行って *Prototheca* を死滅させた乳汁を供給すべきである。

一方で、乳汁中へ *Prototheca* を排出しているものの、あまり臨床症状を示さない感染牛も多いことから、プロトテカ乳房炎の発見が遅れてしまい、気が付いた時には牛舎内で感染が広がってしまい清浄化が困難となる場合がある。我々の調査でも、発症牛舎において健常牛も含めて全頭から乳汁を分離培養した結果、10～20%の牛から *Prototheca* が分離されたことがある。このようにプロトテカ乳房炎は、他の乳房炎と比較しても、高い感染率であ

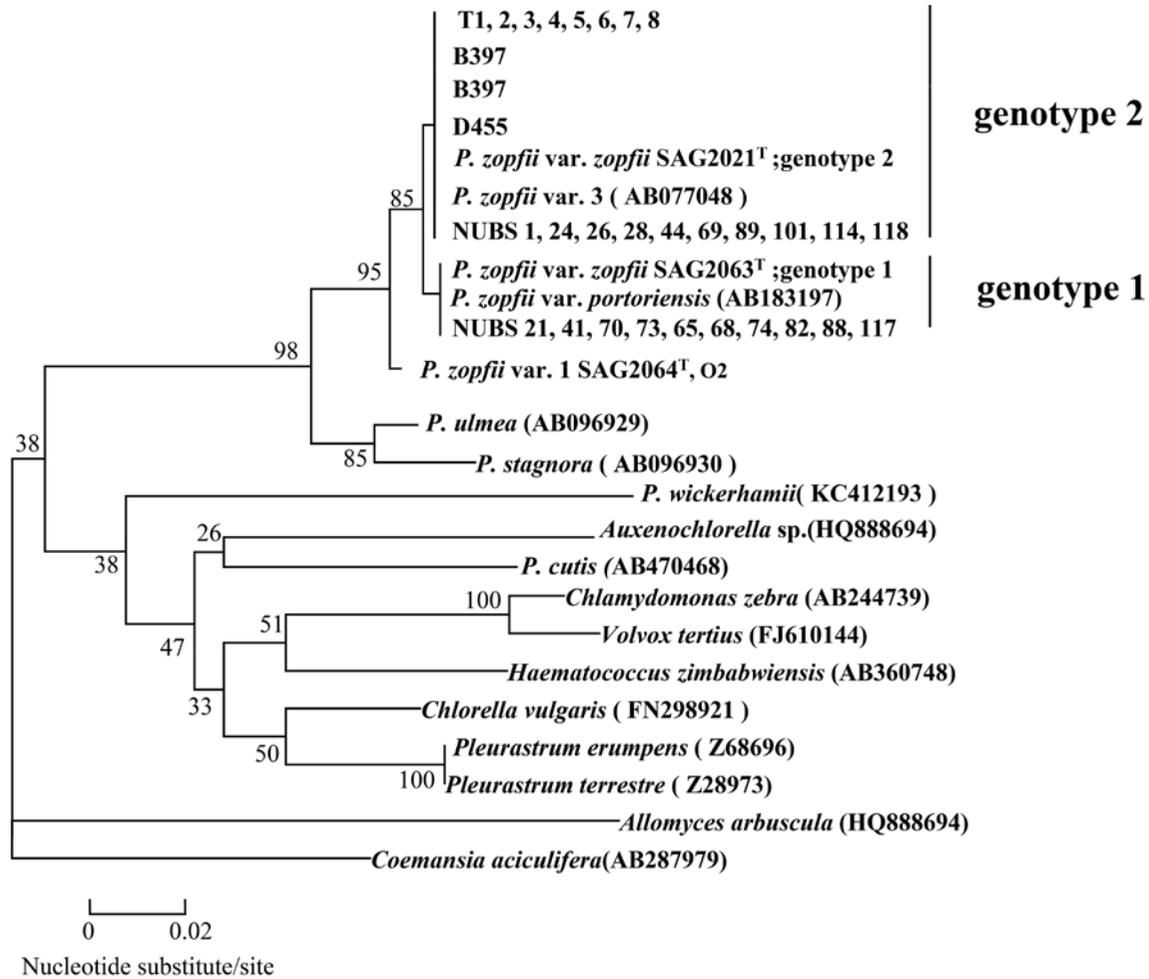


図4. 近隣接合法を用いた *Prototheca* 属および近縁藻類のリボゾーム 18S 領域にもとづく系統樹。*Prototheca zopfii* 牛プロトテカ乳房炎分離株は、全て genotype 2 に属した。一方、牛舎環境からの分離株は全て genotype 1 に属した。

る。場合によっては乳質の異常がほとんど認められない潜伏感染をしている個体が多く見つかることもあるため、感染牛が見つかった場合は、面倒でも全頭検査が必要である。

Prototheca 研究および Working Group について

Prototheca 属の微生物学およびプロトテカ症についての研究報告は、年々増加しており、PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) 上で、“*Prototheca*”を検索すると、過去 10～5 年迄に掲載された報告数 (70 報) と比べ、過去 5 年～2015 年までの報告数 (101 報) は 1.5 倍近い。このことは国際的にプロトテカ症が、ヒトおよび動物において新興感染症として問題視されている疾患であり、研究の必要性が重要視されていることを意味している。そのため、International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM, HP: [\[www.isham.org/\]\(http://www.isham.org/\)\) の Working Group として、2014 年に ISHAM Medical Phycology: Protothecosis and Chlorellosis Working Group \(ISHAM-MPWG\) が発足され、シンポジウムを毎年開催している。この ISHAM-MPWG に興味をお持ちの方は HP \(<http://medicalphycology.org/>\) を一読し、WG member として参加ご希望の方は、加納 \(WG secretary <\[kanou.rui@nihon-u.ac.jp\]\(mailto:kanou.rui@nihon-u.ac.jp\)>\) へご連絡頂きたい。](http://</p>
</div>
<div data-bbox=)

引用文献

- Kano, R., Sato, A., Sobukawa, H., Sato, Y., Ito, T., Suzuki, K., Hasegawa, A. & Kamata, H. 2016. ELISA system for screening of bovine mastitis caused by *Prototheca zopfii*. J. Dairy Sci. 99: 6590–6593.
- Krüger, W. 1894. Kurze Charakteristik einiger niedriger Organismen im Saftflusse der Laubbäume. Hedwigia. 33: 241–266.
- Marques, S., Silva, E., Kraft, C., Carvalheira, J., Videira, A., Huss,

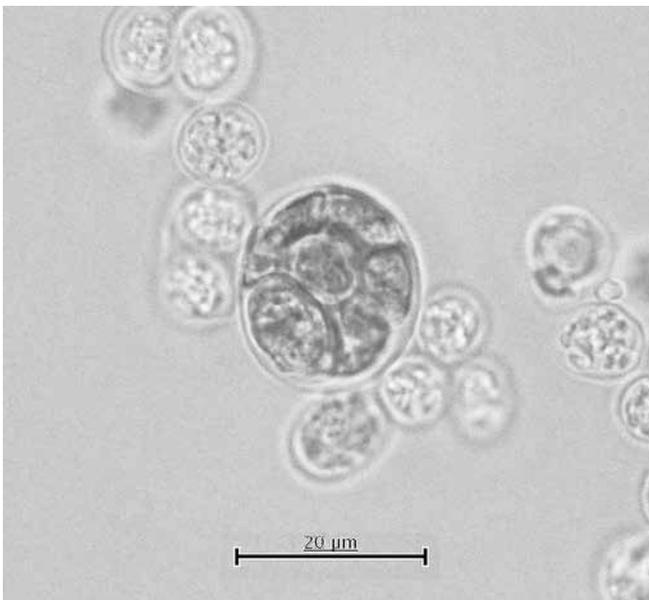


図5. *Prototheca zopfii* genotype 2 の鏡検像。中央の大きい細胞が母細胞（孢子囊）で、その中で多数の娘細胞が生育している。娘細胞が成長すると、母細胞の細胞壁が壊れ中から娘細胞を放出させる。母細胞の周囲に有る小型の細胞が、放出された娘細胞（孢子囊孢子）である。

- V. A. & Thompson, G. 2008. Bovine mastitis associated with *Prototheca blaschkeae*. *J. Clin. Microbiol.* 46: 1941–1945.
- Möller, A., Truyen, U., Roesler, U. 2007. *Prototheca zopfii* genotype 2—The causative agent of bovine protothecal mastitis? *Vet. Microbiol.* 120: 370–374.
- Murugaiyan, J., Weise, C., von Bergen, M. & Roesler, U. 2013. Two-dimensional proteome reference map of *Prototheca zopfii* revealed reduced metabolism and enhanced signal transduction

- as adaptation to an infectious life style. *Proteomics.* 13: 2664–2669.
- Osumi, T., Kishimoto, Y., Kano, R., Maruyama, M., Onozaki, M., Makimura, K., Ito, T., Matsubara, K. & Hasegawa, A. 2008. *Prototheca zopfii* genotypes isolated from cow barns and bovine mastitis in Japan. *Vet. Microbiol.* 131: 419–423.
- Pieper, L., Godkin, A., Roesler, U., Polleichtner, A., Slavic, D., Leslie, K. E. & Kelton, D. F. 2012. Herd characteristics and cow-level factors associated with *Prototheca mastitis* on dairy farms in Ontario, Canada. *J. Dairy Sci.* 95: 5635–5644.
- Pore R. S. 2011. *Prototheca Kruger* (1984). In: Kurtzman, C. P., Fell, J. W. & Boekhout, T. (eds) *The yeasts, A taxonomic study*: 5th ed. vol. 3, pp. 2071–2080. Elsevier, London, England.
- Pressler, B. M. 2012. Protothecosis and chlorellosis. In: Green, C. E. (ed.) *Infectious diseases of the dog and cat*, 4th ed. pp. 696–701. Elsevier, London.
- Ricchi, M., Goretti, M., Branda, E., Cammi, G., Garbarino, C. A., Turchetti, B., Moroni, P., Arrigoni, N. & Buzzini, P. 2010. Molecular characterization of *Prototheca* strains isolated from Italian dairy herds. *J. Dairy Sci.* 93: 4625–4631.
- Roesler, U., Scholz, H. & Hensel, A. 2001. Immunodiagnostic identification of dairy cows infected with *Prototheca zopfii* at various clinical stages and discrimination between infected and uninfected cows. *J. Clin. Microbiol.* 39: 539–543.
- Roesler, U. & Hensel, A. 2003. Longitudinal analysis of *Prototheca zopfii*-specific immune responses: Correlation with disease progression and carriage in dairy cows. *J. Clin. Microbiol.* 41: 1181–1186.
- Sobukawa, H., Watanabe, M., Kano, R., Ito, T., Onozaki, M., Hasegawa, A. & Kamata, H. 2011. In vitro algacide effect of disinfectants on *Prototheca zopfii* genotypes 1 and 2. *J. Vet. Med. Sci.* 73: 1527–1529.
- Sobukawa, H., Yamaguchi, S., Kano, R., Ito, T., Suzuki, K., Onozaki, M., Hasegawa, A. & Kamata, H. 2012. Molecular typing of *Prototheca zopfii* from bovine mastitis in Japan. *J. Dairy Sci.* 95: 4442–4446.

(日本大学)