

第 8 章

兵庫県におけるツキノワグマにみられた *Hepatozoon ursi*

および *Dirofilaria ursi* の感染と乳腺癌事例

大田 康之^{1*}・石川 修司¹・野口 和人¹・片山 淳之介¹

¹兵庫県森林動物研究センター

要 点

- ・ 兵庫県に生息するツキノワグマの肺で、原虫 *Hepatozoon ursi* の感染が確認された。
- ・ *Hepatozoon ursi* の感染は、年齢、性別に特異性はなく、兵庫県内の東中国地域個体群、近畿北部地域個体群で感染が確認されたおそらく初めての事例である。
- ・ *Dirofilaria ursi* は、全ての個体で寄生しており、肺の血管内に多数のミクロフィラリアがみられた。
- ・ 乳腺癌（単純癌）を形成している個体が 1 例みられた。
- ・ ツキノワグマの肝臓で、ラングハンス巨細胞を伴う肉芽腫性炎がみられたが、抗酸菌、細菌、カビの関与は否定されたが原因の特定には至らなかった。

Keywords: 単純癌、肉芽腫性炎、原虫、線虫、ミクロフィラリア、ラングハンス型巨細胞

Case reports on *Hepatozoon ursi* and *Dirofilaria ursi* infections and breast adenocarcinoma in Japanese black bear from Hyogo Prefecture, Japan

Yasuyuki Ohta¹, Shūji Ishikawa¹, Kazuhito Noguchi¹, Junnosuke Katayama¹

¹ Wildlife Management Research Center, Hyogo

Abstract: We reported *Hepatozoon ursi* infections in the lungs of Japanese black bears from Hyogo Prefecture, Japan. The infections did not show age- or sex-specificity. This may be the first report of *H. ursi* infections in the eastern Chūgoku and northern Kinki populations of Japanese black bear in Hyogo Prefecture. All 10 bears were infected by *Dirofilaria ursi*, and many microfilariae were observed in the pulmonary blood vessels. Granulomatous inflammation with Langhans giant cells in the liver was observed in two bears. The factor causing inflammation was not determined, and tests for acid-fast bacterium, bacterium, and fungi were negative. Breast adenocarcinoma was observed in one bear.

受付日: 2022 年 2 月 14 日、受理日: 2022 年 3 月 3 日

* 責任著者: 大田 康之 ✉ Yasuyuki_Oota@pref.hyogo.lg.jp

〒669-3842 兵庫県丹波市青垣町沢野 940 兵庫県森林動物研究センター

Keywords: granulomatous inflammation, Langhans giant cells, microfilaria, Nematoda, Protozoa, simple carcinoma

1. はじめに

兵庫県に生息するツキノワグマ (*Ursus thibetanus japonicus*、以下クマ) は、絶滅が危惧されていたことから、1996 年から県によって狩猟捕獲が禁止されてきた。2015 年当初の推定生息数が中央値で 800 頭を超え、絶滅の危機を脱するまでに増加したと判断されたことから、条件付きで狩猟が 20 年ぶりに解除された (野口ほか 2022)。その後、2019 年当初の推定生息数が 800 頭未満に減少したことを受けて 2020 年度から狩猟を再び禁止しているが (野口ほか 2022)、狩猟による捕獲が許可されていた間、捕獲個体の一部が食肉として利用された可能性がある。一方、クマによる人身被害等を防除するため有害鳥獣捕獲許可に基づき捕獲された個体については、2019 年まで全て研究材料として県が回収し調査する体制となっていたが、オスのモニタリングデータが十分に蓄積したことと捕獲数の増加を受けて 2019 年 9 月より捕獲個体の回収・解剖をメスに限定することとなり、オスについては捕獲現場での計測などの後、捕獲者による有効活用が可能となった (横山ほか 2022)。2020 年から捕獲個体の一部が食肉として利用されている。

野生鳥獣の肉は、ジビエ料理として観光の目玉になるなど食肉としての利用が盛んになっている反面、飼料や健康状態を管理して衛生的に生産される家畜の肉とは異なる。野外で生息するために採食物が一定ではないことや、人獣共通伝染病を保有している可能性がある。消費者の知識不足により適切な処理をしないまま食すことで、旋毛虫 (トリヒナ) や肺吸虫などの寄生虫をはじめ、病原性大腸菌、サルモネラ属菌などによる食中毒事例等が全国的に発生している (厚生労働省 2016)。野生鳥獣の食肉利用について、国は「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針」 (厚生労働省 2014; 以下、ガイドライン) を、県では「鳥獣処理加工指導要領」 (兵庫県 1983; 以下、県要領) を制定し、捕獲から運搬、処理、加工、調理、販売、消費の各過程で、衛生的な取り扱いの推進を図っている。

本章では、有害捕獲された個体に対して、解剖時に異常のみられた組織の病理組織検査を実施したところ、ガイドラインでの異常や廃棄対象となる所見がみられたので報告する。

2. 材料と方法

2020 年 6 月から 2021 年 10 月までに有害捕獲後に殺処分された 10 個体 (表 1) を対象に、解剖時に主要臓器である肝臓、心臓、腎臓、肺、脾臓を中心に付属リンパ節、腫瘍などの病変を目視で検索した。肉眼所見がみられた場合はその部位を、見られなかった場合は臓器の実質、間質が入るように組織を採材した。20%中性緩衝ホルマリン溶液で組織を固定後、パラフィン包埋し、定法により連続切片を作製、ヘマトキシリン・エオジン染色 (以下、HE 染色) を実施し光学顕微鏡で観察した。病原体の確認のために、細菌の関与が疑われた事例につい

ては、細菌の菌体を染めるメチレンブルー染色（以下、MB 染色）、抗酸菌を得意的に染めるチールネルゼン染色（以下、TN 染色）、カビなどの真菌を染める過ヨウ素酸シッフ反応（以下、PAS 反応）、腫瘍病変に対しては、転移の可能性や良性悪性などの性質を調べる必要があるために、線維素を染めるマッソントリクローム染色（以下、MT 染色）、リンタングステン酸ヘマトキシリン染色（以下、PTAH 染色）を実施した。染色の方法は月刊 **Medical Technology** (1988) に従った。なお原虫が確認された場合は、哺乳類に広く感染し、人獣共通伝染病であるトキソプラズマかどうかを、虫体を得意的に染色する免疫染色（酵素抗体法）で確認した。

表 1. 検体としたツキノワグマの詳細

検体番号	捕獲 場所	捕獲 年月	性別	推定年齢 ※1	体重(kg)	全長(mm)	個体群名 ※2
1	養父市	2020/6	オス	9	47.3	1180	H
2	養父市	2020/8	メス	1	7.4	640	H
3	養父市	2020/8	オス	8	64.9	1230	K
4	豊岡市	2020/9	メス	8	86.4	1430	K
5	朝来市	2020/9	オス	12	42.6	980	H
6	養父市	2020/9	オス	5	54.6	1180	K
7	豊岡市	2020/9	メス	12	84.0	1280	K
8	豊岡市	2020/9	メス	8	70.9	1140	H
9	養父市	2021/7	メス	24	41.9	805	H
10	香美町	2021/10	メス	11	53.1	1110	H

※1 年齢査定は第一小白歯の歯根部位を薄切、ヘマトキシリン染色を実施し、年輪をカウントした

※2 H：東中国地域個体群 K：近畿北部地域個体群

3. 結果と考察

検体としたツキノワグマのうち 1 個体については幼獣（1 歳）であるが、他は 5 歳以上の成獣であり、最も老齢のものは 24 歳であった（表 1）。病理解剖・組織所見の概要を表 2 に示す。

表 2. 病理解剖・組織所見

検体 番号	解剖所見			病理組織所見			
	外貌	頸部～胸部	肝臓	腫瘍	肺		肝臓
					線虫	原虫	
1	著変なし	線虫＋	鋸屑肝	—	幼虫＋	＋	肉芽腫性炎
2	著変なし	線虫＋	著変なし	—	幼虫＋	＋	著変なし
3	著変なし	線虫＋	著変なし	—	幼虫＋	＋	著変なし
4	著変なし	線虫＋	鋸屑肝	—	幼虫＋	＋	肉芽腫性炎
5	著変なし	線虫＋	著変なし	—	幼虫＋	＋	著変なし
6	著変なし	線虫＋	著変なし	—	幼虫＋	＋	著変なし
7	著変なし	線虫＋	著変なし	—	幼虫＋	—	著変なし
8	著変なし	線虫＋	著変なし	—	幼虫＋	＋	著変なし
9	著変なし	線虫＋	著変なし	—	幼虫＋	＋	著変なし
10	胸部腫瘍	線虫＋	著変なし	乳腺癌	幼虫＋	＋	著変なし

異常のみられなかった臓器は省略。鋸屑肝は、肝臓表面に形成した微小で多数の白斑の総称で、病理組織検査では多発性巣状壊死等。

（1）ヘパトゾーン *Hepatozoon ursi* 感染事例

解剖所見では 10 個体すべてにおいて肺に顕著な異常はみられなかったが、病理組織検査において 10 個体中 9 個体で原虫様の寄生虫を確認した（図 1a,b）。食肉に利用することを想定し、トキソプラズマを否定するために免疫染色を実施したところ陰性であった。確認されたシizontの形状と大きさ（ $46.5 \pm 14.9 \times 43.5 \pm 14.2 \mu\text{m}$ ；長径×短径，平均±SD）、組織への病変形成が乏しい点が、ヘパトゾーンの一種 *Hepatozoon ursi* と一致したことから、同寄生虫の感染事例と考えられた（Kubo et al. 2008）。

ヘパトゾーンは、マダニなどの吸血動物が媒介する原虫であり、哺乳類や鳥類など様々な

動物を中間宿主とする。一般的にはイヌに感染した場合の犬ヘパトゾーン症が知られている。ヘパトゾーン症の症状は、ヘパトゾーンの発育によって生じる組織侵襲に対する発熱、疼痛などである。ただし、ヘパトゾーンの種により病原性が異なる。人への感染は起こらないと考えられている。クマに感染するヘパトゾーンである *H. ursi* は、感染するとシizontからメロゾイトを放出し、増殖する。シizontの大きさは $45.7 \pm 4.6 \times 42.7 \pm 4.5 \mu\text{m}$ (長径×短径, 平均±SD) であり (Kubo et al. 2008)、東日本で広く分布していることが確認されている (Masatani et al. 2021)。今回、兵庫県内の両地域個体群においてはおそらく初めて *H. ursi* が確認された。

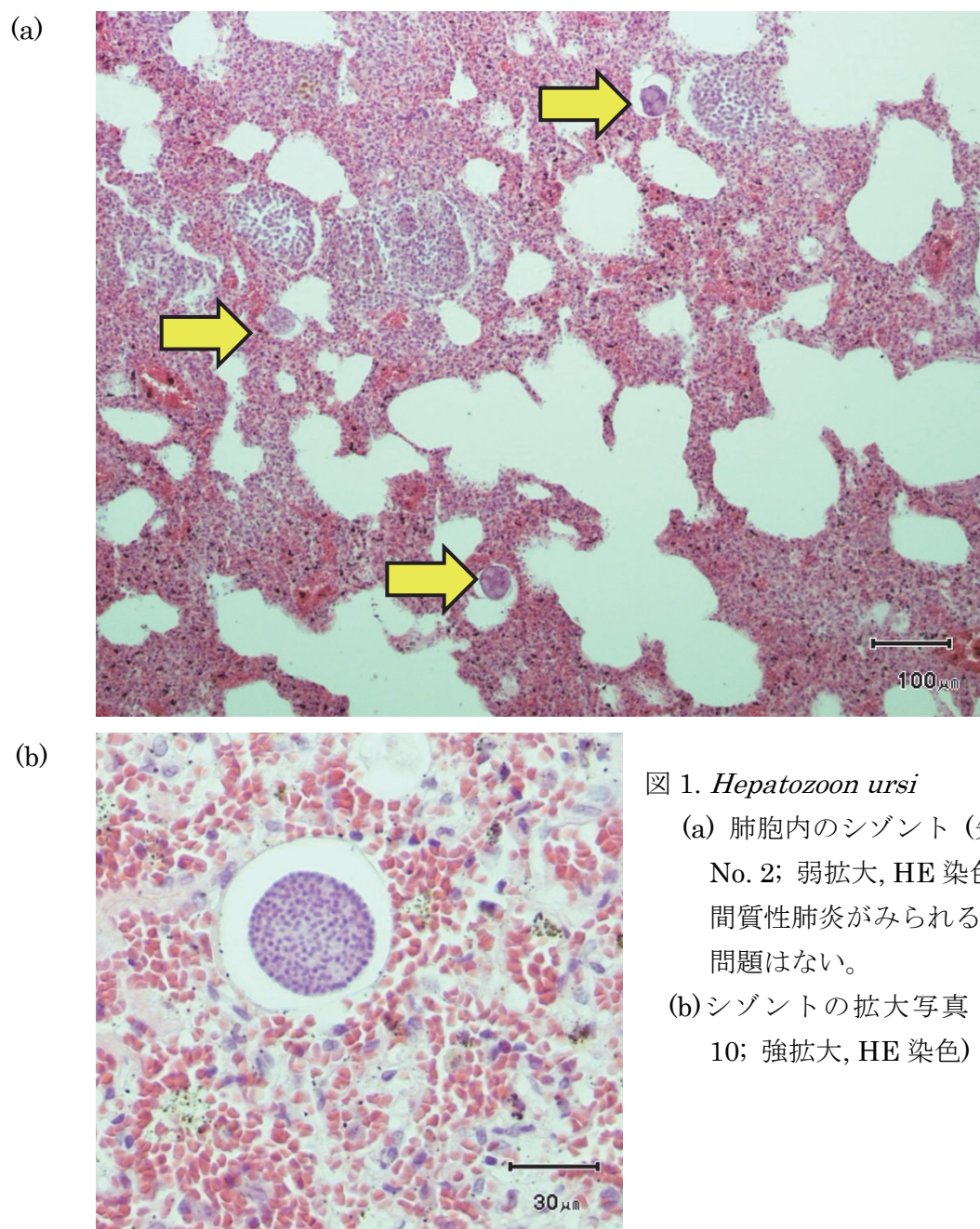


図 1. *Hepatozoon ursi*

(a) 肺胞内のシizont (矢印) (検体 No. 2; 弱拡大, HE 染色)。軽度の間質性肺炎がみられるが、生活に問題はない。

(b) シizontの拡大写真 (検体 No. 10; 強拡大, HE 染色)

(2) クマフィラリア症 *Dirofilaria ursi* 感染事例

10 個体全ての解剖所見で糸状虫 *Dirofilaria ursi* を頸部、胸部に確認した。肺の病理組織検査においても、10 個体全ての肺の血管内、あるいは血管から脱出した幼虫であるマイクロフィラリア（以下、mf）を確認した（図 2a,b）。

D. ursi は、1941 年に日本のツキノワグマでの感染報告がある糸状虫であり、サシバエが中間宿主である。サシバエの吸血時に、mf がクマの血管内に侵入、発育に適した皮下組織や脂肪組織等に移動後、発育、産卵をするが、クマへの病原性は乏しいと考えられている（石井 1998）。人への感染も知られているが（Yamada et al. 2017）、フィラリア症は一般的に吸血昆虫による媒介によるものであり、食肉を通じた感染は認められていない。

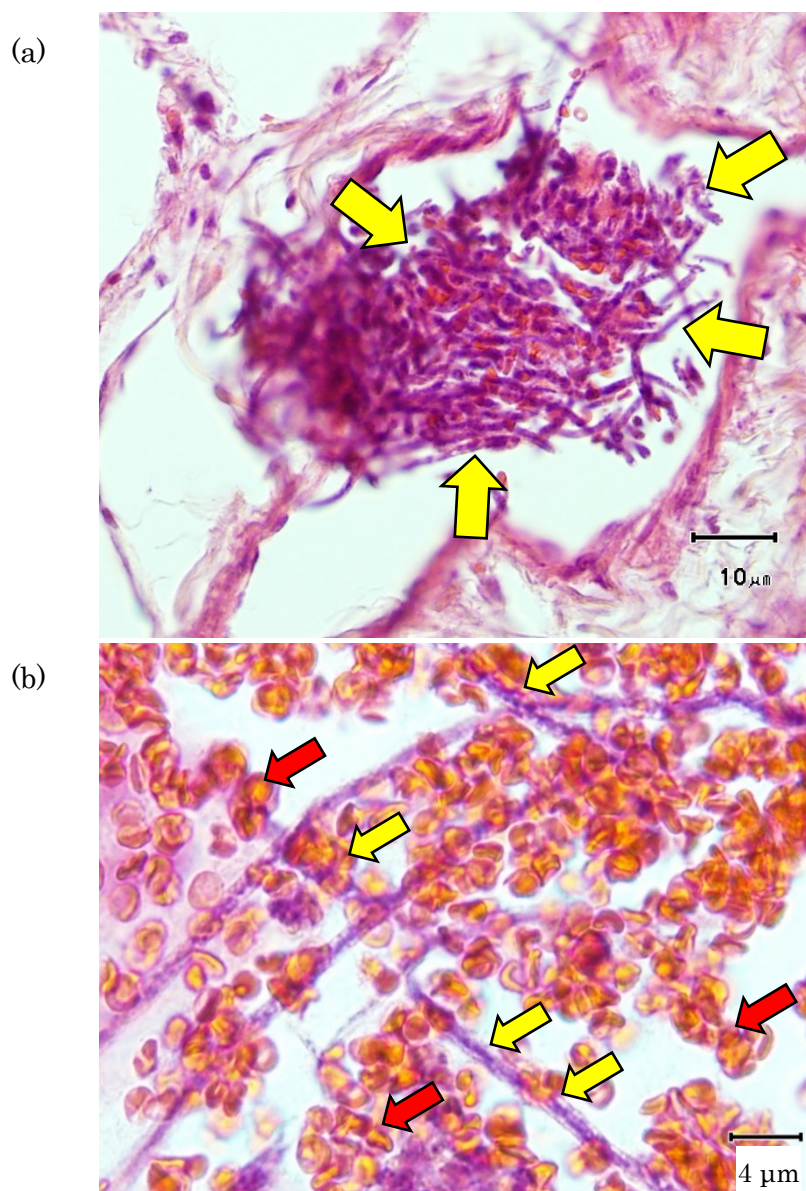


図 2. *Dirofilaria ursi* (a) 肺の血管内腔内にある多数のマイクロフィラリア（黄色矢印；検体 No. 10；強拡大, HE 染色）。(b) 血管内の複数のマイクロフィラリア（黄色矢印、赤矢印は赤血球；検体 No. 10；強拡大, HE 染色）。

(3) 肝臓における肉芽腫性炎

10 検体のうち 2 例（検体 No. 1 および No. 4）の肝臓において、解剖所見で肝臓表面に多数の小型の白斑、いわゆる「鋸屑肝」がみられた。病理組織検査を実施したところ、ラングハンス型巨細胞を伴う多発巣状性の肉芽腫性炎を確認した（図 3a-c）。

肉芽腫性炎は、家畜伝染病では、抗酸菌の原因による牛の結核病やヨーネ病、豚の抗酸菌症や、サルモネラ症など、一般的に病原性の強い病原体に対する反応性の炎症像である。ラングハンス型巨細胞は、白血球の一つであるマクロファージが融合し核が馬蹄形に配列したもので、肉芽腫性炎などで出現する（日本獣医病理学専門家協会 2010; 日本獣医病理学会 2013）。今回、炎症の原因となる病原体を特定するために MB 染色、TN 染色、PAS 反応を実施したところ、全て陰性であり、細菌、カビなどの病原体の関与は否定されたが、病変形成している原因の特定には至らなかった。

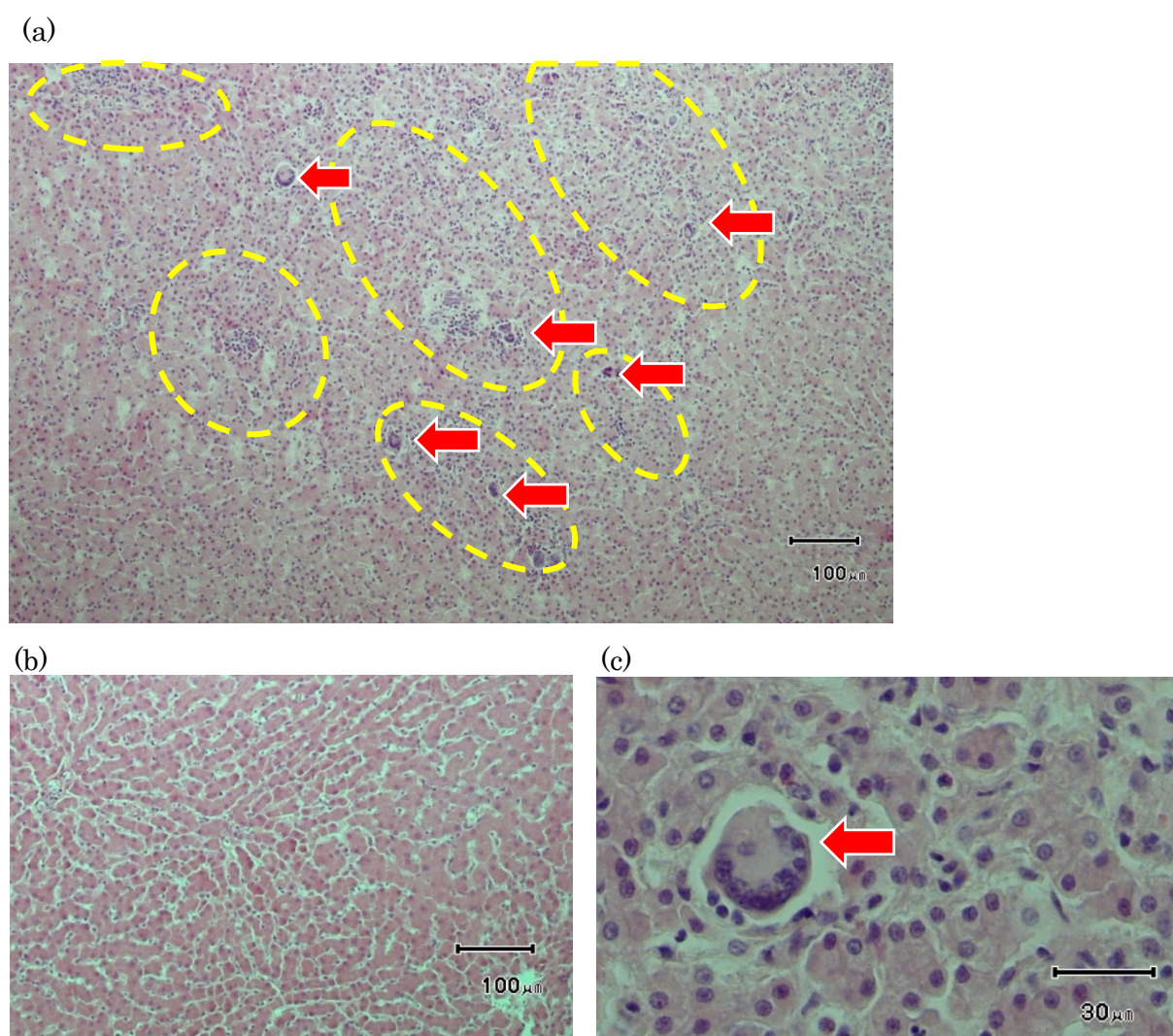


図 3. (a) 多発巣状性の肉芽腫性炎（黄色破線内：炎症反応，赤色矢印：ラングハンス型巨細胞；検体 No. 1）。(b) 炎症の見られない正常な肝臓（対照；検体 No. 5）。(c) ラングハンス型巨細胞（検体 No. 1；強拡大，HE 染色）

今回は、肉芽腫性炎が人獣共通伝染病の病原体が引き起こしたものかを、肝臓、心臓、腎臓、脾臓、肺などの主要臓器を中心に検索した（農林水産省消費・安全局 2016）。その結果 2 例の肉芽腫性炎は肝臓に局限し、下痢がみられなかったことから、既知の人獣共通伝染病の関与はないと考えられた。病理組織所見で異常のみられた 2 例は、年齢、全長、体重から発育に問題がなかったと考えられること、病変が肝臓に首座し限局性であることから、肝臓の病変が病原体による死の転帰をとるものではなく、加齢などの免疫の低下によるものである可能性が疑われた。

（４）右胸部にみられた孤発性の乳腺癌

検体 No. 10 の外貌所見で胸部の体表面に腫瘍がみられた（図 4a,b）。右側前方の乳頭付近において、直径 10 cm 程度の円形腫瘍を形成し、皮膚は開裂し、内側は白色～赤褐色の組織で構成されていた。内部は乳白色の液体が軽度に着着していた。

解剖したところ、腫瘍は皮膚まで浸潤性に増成しており、皮膚との剥離は困難であったが、胸腔側の組織とは癒着もなく、容易に剥離できた。内腔は乳頭状から人差し指大状の複数の組織で構成されていた（図 4b）。他の乳頭には異常はみられなかった。腫瘍に近接する乳房上リンパと思われるリンパ節は約 $6 \times 6 \times 12$ cm（短径×長径×太さ）で限局性に腫大しており、断面は充実性であった。他の主要臓器に著変は見られなかった。

腫瘍は、乳腺組織の著しい増成がみられた（図 5a,b）。乳腺細胞では有糸分裂増が多数みられ、浸潤性に化生している部分や、表面では潰瘍を形成しているところもみられた。結合組織の顕著な増成はなかったことから（図 5c,d）、本症例は乳腺癌（単純癌）と診断した。乳腺癌は乳腺組織にみられる腫瘍で、コンパニオンアニマルであるイヌ、ネコではよく見つかる腫瘍であるが、家畜や野生動物での報告は少ない（日本獣医病理学会 2007）。

本事例の乳腺癌は限局性であったが、異形成が高く悪性腫瘍と考えられた。隣接する著しく腫大したリンパ節をはじめ、腹腔臓器、胸腔臓器を調べたところ、転移巣はみられなかったことから、リンパ節の腫大は、連続的な腫瘍に対する反応性変化と考えられた。



図 4. (a) 外貌所見（検体 No.10）



(b) 腫瘍表面（腫瘍切除、洗浄後）

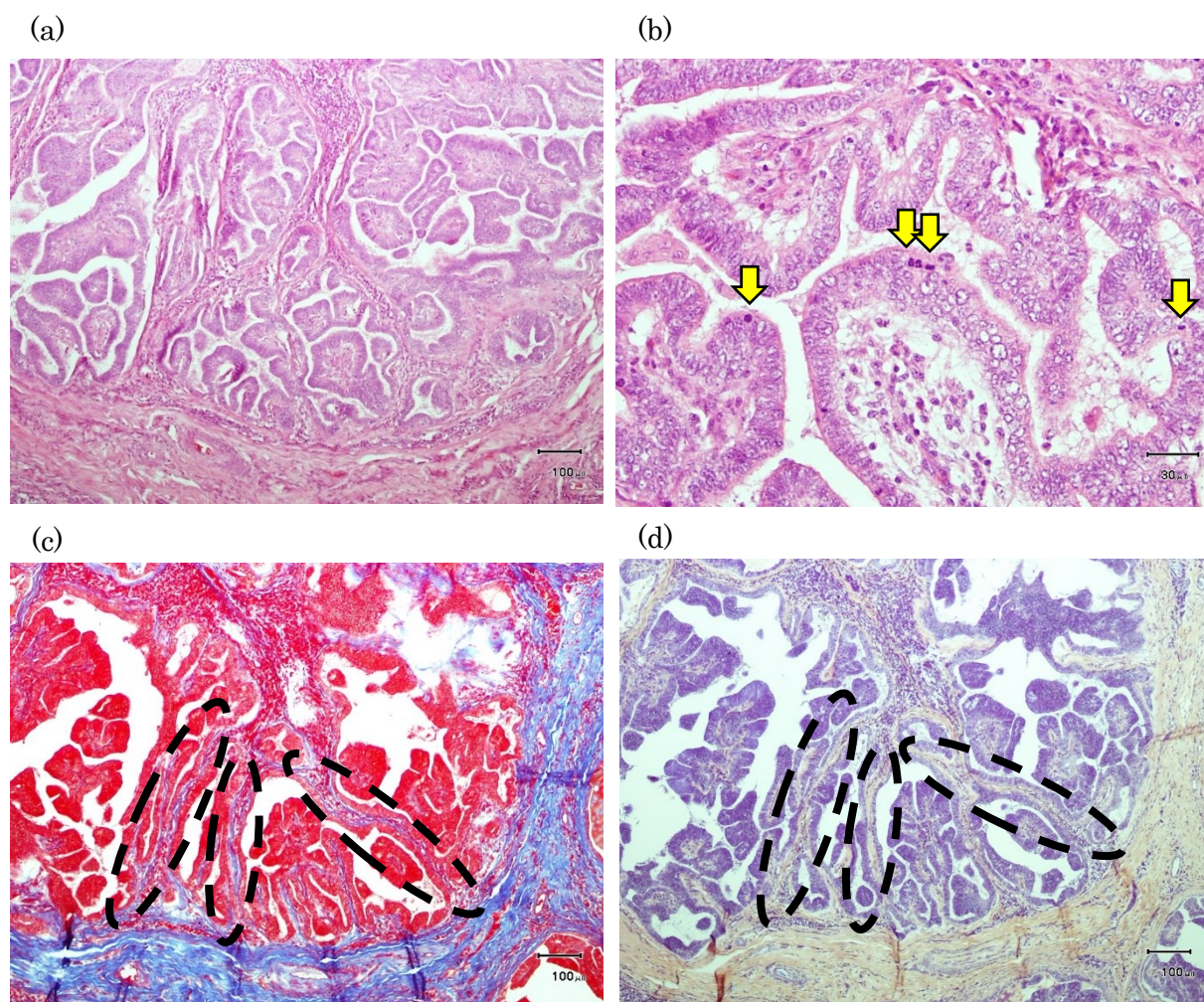


図 5. 乳腺癌

- (a) 乳腺細胞が腫瘍性に増殖しているため不均一な配列になっている (検体 No.10; 弱拡大, HE 染色)
- (b) 腫瘍細胞の活発な細胞分裂のために出現した多数の有糸分裂像 (矢印)。正常ではほとんど観察されない (図 4a の別視野; 強拡大, HE 染色)
- (c) 腫瘍化した乳腺周囲の線維化は乏しい (破線部)。 (図 4a と同部位; 弱拡大, MT 染色)
- (d) 腫瘍化した乳腺周囲の線維化は乏しい (破線部)。 (図 4a,c と同部位; 弱拡大, PTAH 染色)

4. クマ肉の処理に関する注意点

H. ursi は、本調査の 10 検体中 9 例で確認されたため、感染率が高いと考えられる。しかし、肺の解剖所見をみると、特異的な病変はみられないことから、食肉業者がガイドラインに沿って実施する解体前後の検査で *H. ursi* 寄生を疑い、排除することが困難であると考えられた。また、*D. ursi* はすべての個体で確認され、感染率が高いと考えられ、成虫、幼虫を含めた寄生虫のみの排除は困難であると考えられた。ガイドラインにおける内臓廃棄の判断は「内臓に異常が認められない場合も、微生物及び寄生虫の感染のおそれがあるため、可能な限り、内臓については廃棄することが望ましい」としている。今回確認した *H. ursi* および *D. ursi* は、食肉を介した人への感染はないと考えられるが、人への影響が不明であることから、肺は廃棄すべきであると考えられた。家畜の肺では切り分けて焼いて食べたり、コロッケなどへの増量材としての利用されている。クマの肺は食用に利用する機会が少ないと考えられるが、万一、クマ肉を食用として利用する場合は十分な加熱処理が必要であると考えられた。

1 例で乳腺癌を確認した。ガイドラインでは、「筋肉内の腫瘍について、肉眼的に全身性の腫瘍との区別が困難であることから、筋肉を含めた全部廃棄すること」となっていることから、今回の乳腺癌の事例は、個体全てを食肉利用しない全部廃棄に該当すると考えられた。

国は牛肉の生食の規格基準を 2011 年に設けるとともに（厚生労働省 2011）、牛肝臓および豚肉について生食用としての提供を禁止する規格基準を設定し（厚生労働省 2012, 2015）、食肉や内臓を生食することの危険性の周知、加熱処理について指導を進めている。これに関連し、野生鳥獣肉を食する場合も十分な加熱処理の必要性和、加熱前の食肉からの他の食材への交差汚染防止のために、調理器具を使い分けるなどの管理についても注意を呼びかけている。今回報告した寄生虫は、食肉を介した感染の可能性は低いと考えられたが、人への病原性は不明であった。野生鳥獣の肉は、未知のさまざまな病原体に汚染されている可能性があるため、生食はせずに、加熱処理を徹底する必要があるとともに、処理についてもガイドライン、県要領の順守が必要であると考えられた。

謝辞

本検査を実施するにあたり、*H. ursi* および *D. ursi* の同定、トキソプラズマの免疫染色と助言をいただきました東京大学大学院農学生命科学研究科の播谷亮先生、特殊染色を実施していただいた姫路家畜保健衛生所の寺一美奈子氏に深謝いたします。

引用文献

- 月刊 Medical Technology(編) (1988) 染色法のすべて：カラー版. 医歯薬出版, 東京
- 兵庫県 (1980) と畜検査員必携 (I).
- 兵庫県 (1983) 鳥獣処理加工指導要領.
- 石井俊雄 (1998) 獣医寄生虫学・寄生虫病学. 講談社, 東京
- 厚生労働省 (2011) 生食用食肉 (牛肉) の規格基準設定に関する Q & A. https://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/dl/110928_01.pdf
- 厚生労働省 (2012) 牛の肝臓の基準に関する Q & A. https://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/dl/120627_01.pdf
- 厚生労働省 (2014) 野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針 (ガイドライン).
- 厚生労働省 (2015) 豚の食肉の基準に関する Q & A. <https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzenshu/150602hp.pdf>
- 厚生労働省 (2016) クマ肉による旋毛虫 (トリヒナ) 食中毒事案について. <https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzenshu/0000150377.pdf>
- Kubo M, Uni S, Agatsuma T, Nagataki M, Panciera RJ, Tsubota T, Nakamura S, Sakai H, Masegi T, Yanai T (2008) *Hepatozoon ursi* n.sp. (Apicomplexa: Hepatozodidae) in Japanese black bear (*Ursus thibetanus japonicus*). Parasitology International, 57: 287–294
- Masatani T, Kujima I, Tashiro M, Yamauchi K, Fukui D, Ichikawa M, Harasawa R (2021) Molecular detection of filarial nematode parasites in Japanese black bears (*Ursus thibetanus japonicus*) from Iwate Prefecture, Japan. Journal of Veterinary Medical Science, 83(2): 208–213
- 日本獣医病理学専門家協会(編) (2010) 動物病理学各論第 2 版. 文英堂出版, 東京
- 日本獣医病理学会(編) (2013) 動物病理学総論第 3 版. 文英堂出版, 東京
- 日本獣医病理学会(編) (2007) 動物病理カラーアトラス. 文英堂出版, 東京
- 野口 和人, 廣瀬 泰徳, 石川 修司, 高木 俊, 横山 真弓 (2022) 兵庫県におけるツキノワグマの生息・被害状況と管理政策の概要. 兵庫ワイルドライフモノグラフ, 14: 30–48
- 農林水産省消費・安全局(監修) (2016) 病性鑑定マニュアル第 4 版. 全国家畜衛生職員会, 東京
- Yamada M, Shishito N, Nozawa Y, Uni S, Nishioka K, Nakaya T (2017) A combined human case of *Dirofilaria ursi* infection in dorsal subcutaneous tissue and *Anisakis simplex sensu stricto* (ss) infection in ventral subcutaneous tissue. Tropical Medicine and Health, 45: 1–6
- 横山真弓, 野口和人, 廣瀬泰徳 (2022) ツキノワグマの捕獲個体モニタリング体制の構築. 兵庫ワイルドライフモノグラフ, 14: 49–62