

Aspergillus felis による猫の副鼻腔—眼窩内 アスペルギルス症の1例

樋笠正晃^{1)†} 宇野理恵¹⁾ 宇野雄博¹⁾ 山田茂夫²⁾ 安澤教史³⁾

1) 愛媛県 開業 (セントラルシティ動物病院: 〒799-0113 四国中央市妻鳥町 2014-1)

2) 福井県 開業 (山田動物病院: 〒918-8116 福井市大町 2-1112)

3) 金沢医科大学医学部 (〒920-0293 河北郡内灘町大学 1-1)

(2018年1月5日受付・2018年6月25日受理)

要 約

慢性鼻炎として長期治療していた猫が、進行性の瞬膜及び眼球突出を呈し、鼻腔や眼窩を中心として、壊死組織を伴う炎症性肉芽の浸潤性増殖を認めた。病理組織学的検査により真菌感染が原因と診断され、抗真菌剤などによる内科治療や、壊死組織及び肉芽組織のデブリードマン等の外科治療を実施した。しかし、真菌感染は浸潤性に進行し、死亡した。本症例の起病菌の培養形態と高温発育試験及びβチューブリンとカルモジュリン遺伝子の塩基配列は近年分類された *Aspergillus felis* と一致していた。また、分離株は多くの抗真菌薬に対して高い最少発育阻止濃度を示し、感受性が低いことが示唆された。——キーワード: *Aspergillus felis*, 猫, 侵襲性アスペルギルス症。

-----日獣会誌 71, 649~653 (2018)

猫の上気道感染症において、アスペルギルス症はまれな疾患である [1]。しかしながら、猫の上気道アスペルギルス症には致死性の高いものがあることから [2, 3]、近年 Barrs ら [4] は猫のアスペルギルス症を新興感染症の1つと提唱している。

猫の上気道アスペルギルス症は、副鼻腔アスペルギルス症 (sino-nasal aspergillosis: SNA) と副鼻腔—眼窩内アスペルギルス症 (sino-orbital aspergillosis: SOA) の2病態に分類される。SNAでは予後良好な例もあるが、SOAでは鼻腔あるいは前頭洞から眼窩へ感染が拡大する侵襲性アスペルギルス症 (Invasive aspergillosis) の病態をとり、クロトリマゾール等の抗真菌剤を鼻腔内へ注入する局所療法や抗真菌剤の全身投与による治療を行っても治療効果が得られない致死性の疾患である [2]。これに対し犬における病態はほとんどが SNA であり、予後は比較的良好で、特徴的兆候や治療法についても検討されている。また、犬では早期発見に有用なアスペルギルス抗体検査が可能である [1, 5]。猫、犬ともに SNA からは原因菌として、*Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) が多く分離されるのに対し、猫の SOA では *A. fumigatus* 以外の *Aspergillus section*

Fumigati に属する種が分離されるのが特徴であり [2]、中でも近年提唱された *Aspergillus felis* (*A. felis*) が猫の SOA の主要な原因菌であるとの報告がある [2, 4]。

今回われわれは、症状が鼻炎から始まり、その後感染が副鼻腔、前頭洞、眼窩、軟口蓋と浸潤性に拡大し、その原因菌として *A. felis* が分離された猫の SOA の1例を報告する。

症 例

症例はブリティッシュ・ショートヘア、未避妊雌、3歳5カ月齢、体重3.6kg、3種混合ワクチン接種済み、猫免疫不全ウイルス抗体及び猫白血病ウイルス抗原陰性。既往歴なし。

治 療 と 経 過

くしゃみと鼻汁を主訴に来院。ウイルス性上気道感染症による鼻炎と仮診断し、抗生剤の内服、点鼻・点眼薬を処方した。その後抗生物質を変更しながら治療を継続していたが鼻炎症状は改善や悪化を繰り返した。初診から9カ月後(第1病日)に左眼、第28病日には右眼の瞬膜が突出し、第40病日には瞬膜は両眼ともに著し

† 連絡責任者: 樋笠正晃 (セントラルシティ動物病院)

〒799-0113 四国中央市妻鳥町 2014-1

☎ 0896-22-3815 FAX 0896-22-3816

E-mail: c.city.ah@unoanimal.co.jp



図1a 第40病日の顔面の様子
瞬膜の突出と肥厚を認め、眼球が外眼角側へ変位していた。



図1b 第89病日の顔面の様子
瞬膜、結膜及び眼球がさらに突出していた。

く腫大した(図1a)。これらの症状から腫瘍や炎症性の疾患を疑い、プレドニゾロン(プレドニゾロン錠, マイラン製薬(株), 大阪, 1mg/kg, PO, SID)を開始したが炎症の軽減は一過性であったため、後述の各種検査を実施した。そのうちのCT検査及びMRI検査から真菌感染症を疑い, Feline aspergillosis: ABCD guidelines [3] に準拠して観血的局所療法と抗真菌剤の全身療法を開始した。第59病日に前頭洞, 第71病日に眼窩にドレイン(ペンローズドレインAR A-No. 4, 富士システムズ(株), 福島)を設置し, 連日洗浄を行った。全身療法として第71病日からイトラコナゾール(イトラコナゾール錠, 日医工(株), 富山, 5mg/kg, PO, SID), 第82病日からはテルピナフィン(テルピナフィン錠, 田辺製薬販売(株), 大阪, 30mg/kg, PO, SID)を用いた。しかし, 病状が悪化したため(図1b)第89病日には両側の眼球摘出及び前頭洞から背鼻甲介までの骨を切除し, 鼻腔及び眼窩のチーズ様の肉芽組織や壊死組織を超音波乳化吸引装置を用いながら可能な限り除去した。術後は眼窩及び鼻腔にアムホテリシンB(ファンギゾン®注射用50mg, プリストル・マイヤーズスクイブ(株), 東京), セフメノキシム(ベストロン点眼用®0.5%, 千寿製薬(株), 大阪), ジベカシン(パニマイシン®点眼液0.3%, Meiji Seika ファルマ(株), 東京)を浸透させた不織布ガーゼや給水スポンジを設置し, 1日2回交換した。拡大した口腔内病変は随時切開し, デブリードマンと洗浄を繰り返した。その後病変部は両側上顎後臼歯内側及び上口唇内頬側に拡大し, 一般状態も徐々に悪化して第131病日に死亡した。なお, 死亡するまで明らかな神経症状は認めず, 死亡直後のMRI検査において病変の脳への明らかな浸潤は認められなかった。

血液・免疫学的検査所見: 血清蛋白濃度の上昇(10.1g/dl)と γ グロブリン分画の上昇を認めた(第43病日)。

以下各種免疫学的検査は第55病日から第70病日間に実施した。血清中クリプトコックス抗原陰性, 脳脊髄液の猫コロナウイルス抗原陰性, 結膜スワブ材料における, 猫ヘルペスウイルス, 猫カリシウイルス, クラミドフィラ・フェリス, マイコプラズマ・フェリス, ボルデテラ・ブロンキセプティカ, H1N1 インフルエンザ抗原はすべて陰性であった。

画像検査所見: 第55病日に実施した。CT検査(8列マルチスライスCT: ECLOS, (株)日立メディコ, 千葉)では, 両側鼻腔内, 両側前頭洞及び両側眼窩の正中側に占拠性病変が認められ, 占拠性病変周囲の鼻骨や上顎骨には虫食い状の骨融解を認めた。MRI検査(永久磁石型0.4TオープンMRI APERTO Inspire, (株)日立メディコ, 千葉)でも同様に, 鼻腔, 前頭洞及び眼窩内にT2強調画像(T2WI)にて低信号, T1強調画像(T1WI)にて等信号を示す占拠性病変を認めた, また造影T1WIにおいて, 占拠性病変辺縁の造影増強が認められ, 腫瘍もしくは炎症産物の貯留が疑われた(図2)。

病理組織学的検査所見: 第71病日に採取した内眼角尾側の組織中に隔壁や分岐を有する多数の菌糸が認められた(図3)。瞬膜組織では非特異的炎症が認められたが菌要素は認められなかった。

培養検査所見: 第83, 90病日に実施した内眼角肉芽組織の真菌培養(マイコセル寒天培地, 栄研化学(株), 東京)ではともに白色の糸状菌が生育した。両株ともに集落から一部採取し, 顕微鏡下での観察で菌糸の先端に単列のアスペルジラを少数認め(図4a), *Aspergillus* 属菌種と考えた。巨大培養では, 27°Cで中央部のみがわずかに緑色を呈す白色の集落を形成し(図4b), 45°Cではわずかに生育がみられたが50°Cでの生育は認められなかった。両株について決定した β チューブリン, カルモジュリン遺伝子及びリボソームRNA遺伝子のITS領域の塩基配列(DDBJ Accession No. LC333383,



図2 MRI 検査所見 (造影 T1WI, 横断像)

両側鼻腔内, 両側前頭洞及び両側眼窩の正中側に占拠性病変が認められ, 占拠性病変辺縁に造影増強を認めた。

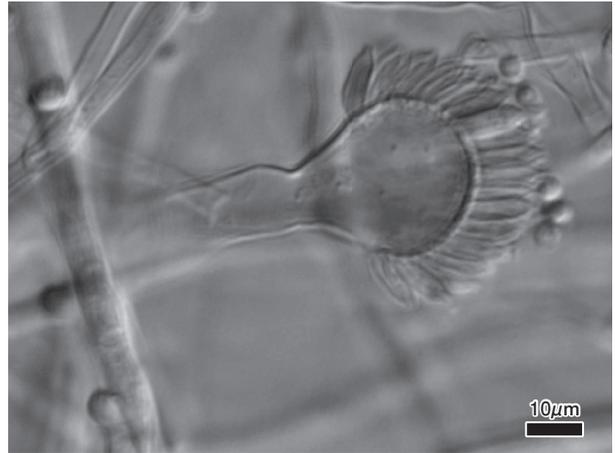


図4a 分離株の分生子頭の所見

単列のフィアライドを有するフラスコ型の頂のう及び球形で淡い緑色の分生子が認められた。

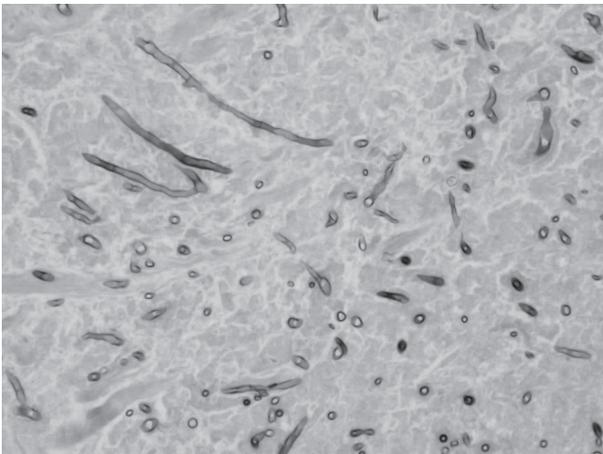


図3 内眼角尾側組織肉芽組織 (グロコット染色)

隔壁と分岐を有す菌糸が多数認められた。

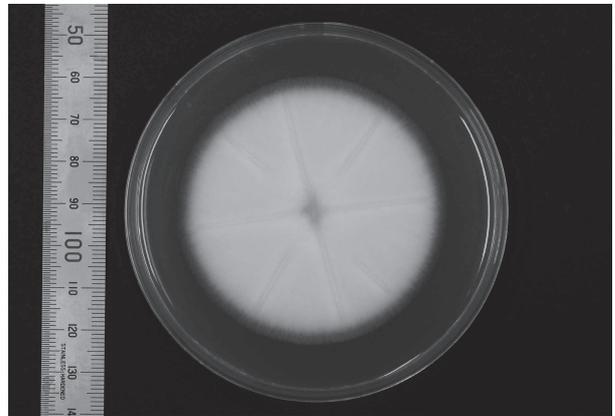


図4b 巨大培養所見 (Czapek Yeast Extract Agar, 27°C, 6d)

表面は白色羊毛状で放射状の溝を形成し, 中央部が遅れてわずかに緑色を呈した。

LC333384, LC337231) は Barrs ら [4] が提唱した *A. felis* との高い相同性を示した。以上の所見から本菌を *A. felis* と同定した。

薬剤感受性検査: 死後に分離菌株に対する抗真菌剤の最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) を測定した (CLSI M38-A2, (株)ビー・エム・エル, 東京)。MIC は, ミカファンギン (MCFG) は $\leq 0.015 \mu\text{g/ml}$, イトラコナゾール (ITCZ) は $0.5 \mu\text{g/ml}$, ボリコナゾール (VRCZ) 及びアムホテリシン B (AMPH) は $2 \mu\text{g/ml}$, ミコナゾール (MCZ) は $8 \mu\text{g/ml}$, フルコナゾール (FLCZ) は $>64 \mu\text{g/ml}$ であり, MCFG と ITCZ 以外は $2 \mu\text{g/ml}$ 以上の高値を示した。

考 察

本症例は, 症状が鼻炎から始まり, 9 カ月後に瞬膜が突出し, その後, 病変部は両側眼窩内と硬口蓋に達し,

原因菌として *A. felis* が分離された。SOA を発症した猫には先行する鼻炎症状や副鼻腔内の損傷が認められることから, SOA は SNA から移行すると考えられている [2, 3]。本症例は抗生剤に反応を示さず, 画像検査において両副鼻腔内の損傷及び骨融解を認めたことから, 病変部は副鼻腔から前頭洞へと進行し最終的に眼窩, 硬口蓋へ浸潤性に拡大したと推測され, SNA から SOA へと移行した典型的な侵襲性上気道アスペルギルス症の 1 例であると考えられた。品種も好発性が報告されている [2, 3] 短頭種に近いブリティッシュ・ショートヘアであった。犬や猫のアスペルギルス症は本症例と同様に免疫不全でない個体においても発症し, その病態は犬では 99% 以上が非侵襲性の SNA であるのに対し, 猫では侵襲性の SOA が 65% と優位である [2]。このように猫のアスペルギルス症は致死的な病態へ移行する症例が多いことから注意が必要である。

本症例は眼異常が発生した SOA の段階での確定診断であった。過去の SOA の報告 [2, 3] でも、本症例と同様に、眼異常が認められた段階から治療を開始しているが、いずれの症例も死亡している。このことは、SOA に移行する前の早期診断が必要であることを示唆している。真菌感染症の診断法は、鼻腔内視鏡による病変確認と組織採取及び病理組織検査であるが [2, 3]、猫では技術的に困難な場合が多く、その検出率は十分に検討されていない。検査の容易さからは、血液検査による診断が期待される。本症例では特徴的検査所見として高グロブリン血症が認められた。また Kano ら [6] は *Aspergillus fischeri* (*A. fischeri*) に感染した猫の血清中のガラクトマンナン抗原検査が陽性であったと報告している。抗体検査の報告もある [2] が、これら3種類の検査における感度及び特異度の評価は限定的である [2, 6]。SOA の CT 検査及び MRI 検査の既存の報告では、鼻腔の占拠性病変と、鼻腔や眼窩の点状もしくは完全な骨融解と鼻腔周囲組織への浸潤性の増殖を認めている [7, 8]。しかし、CT 検査及び MRI 検査の報告は少ないことから、今後は、早期検査における特徴的画像所見の有無について検討が必要と考える。このようにいまだ早期診断が可能な検査方法が確立されていないことから、診断は各種検査所見から総合的に判断しなければならない。

A. fumigatus には形態的に鑑別が困難な多くの隠蔽種が知られているが、その一つである *Aspergillus viridianutans* (*A. viridianutans*) について種の再評価が行われてきた [9]。その過程で *A. felis* は 2013 年に分子系統解析と 45°C で生育可能である特徴などに基づいて提唱され、侵襲性アスペルギルス症の新しい原因菌であると報告された [4]。本邦の猫の SOA では *A. fischeri* [6]、*Aspergillus udagawae* [10, 11]、*A. viridinutans* [11] と、いずれも section *Fumigati* に属する種が原因菌として報告されているが、これまでに *A. felis* の報告はなく、*A. felis* が本邦における猫の SOA の原因菌の1つであることが示された。これまでに *A. felis* に感染した猫の報告は 19 例あり [4, 12] その内 SOA が 17 例、SNA が 2 例で、すべてがオーストラリアの猫から分離されている。また、*Aspergillus felis-clade* もアメリカとイギリスにおいて SOA がそれぞれ 1 例ずつ報告されている [12]。

本症例株では *A. fumigatus* 様の分生子頭が観察されたがその数は少なく、50°C での生育もみられなかったことから *A. fumigatus* の隠蔽種を疑った。現在 *A. felis* はさらに狭義の *A. felis* を含む 4 つの種に細分されている [13] が、今回のデータからそこまでの同定はできなかった。

アスペルギルス属における隠蔽種は、その存在ととも

に薬剤感受性の違いが重要視されている。section *Fumigati* では、*A. fumigatus* が通常アゾール系薬剤やアムホテリシン B に感受性を示すのに対し、隠蔽種では種によって異なった薬剤感受性を示す [14]。今回の薬剤感受性試験は、The Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) の提唱する検査方法に準じて実施した。CLSI では *Aspergillus* 属に対する抗真菌剤のブレイクポイントは公表されていないが、MIC 分布から薬剤感受性が低下している一群を選択するためのカットオフ値である epidemiological cutoff values (ECV) がトリアゾール系抗真菌剤等で設定されている [15]。ECV 以上の MIC を示す株は非野生株と呼ばれ、耐性化に関与する遺伝子変異を有しない野生株と区別されている。しかし、現在のところ *A. felis* に対する ECV は定められていないため、*A. fumigatus* で推奨されている値を参考に評価すると、ITCZ と VRCZ の ECV は 1 µg/ml であり [16]、本分離株は VRCZ において ECV より高い MIC を示しており、VRCZ に対する感受性が低いことが示唆された。一方、本分離株の ITCZ の MIC は ECV より低値を示していたが、本症例は ITCZ を使用したものの改善を認めず、進行した SOA の治療が難しいことを認識した。また、13 株の *A. felis* を用いた Barrs ら [4] の解析と本分離株の MIC を比較すると、MCFG、ITCZ 及び VRCZ ではほぼ同様の MIC を示したが、Barrs らの報告では AMPH の MIC がすべての株で 1 µg/ml 以下であったのに対し、本分離株の MIC は 2 µg/ml とやや高値を示した。

猫の上気道アスペルギルス症では種によって致死的な病態へ進行する危険性が高まることが推測されることから、早期診断とともに *A. fumigatus* との鑑別を含めた正確な原因菌同定が治療及び予後にとって重要であると考えられた。

引用文献

- [1] Hawkins EC: 鼻腔の疾患, スモールアニマル・インターナルメディシン, 長谷川篤彦, 辻本 元監訳, 第4版, 246-260, インターズー, 東京 (2011)
- [2] Barrs VR, Talbot JJ: Feline aspergillosis, Vet Clin N Am-Small, 44, 51-73 (2014)
- [3] Hartmann K, Lloret A, Pennisi MG, Ferrer L, Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hosie MJ, Lutz H, Marsilio F, Möstl K, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC: Aspergillosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management, J Feline Med Surg, 15, 605-610 (2013)
- [4] Barrs VR, van Doorn TM, Houbraken J, Kidd SE, Martin P, Pinheiro MD, Richardson M, Varga J, Samson RA: *Aspergillus felis* sp. nov., an emerging agent of invasive aspergillosis in humans, cats, and dogs,

- Plos One, 8, e64871 (2013)
- [5] Peeters D, Clercx C : Update on canine sinonasal aspergillosis, *Vet Clin N Am-Small*, 37, 901-916, (2007)
- [6] Kano R, Takahashi T, Hayakawa T, Yamaya Y, Hasegawa A, Kamata H : The first case of feline sinonasal aspergillosis due to *Aspergillus fischeri* in Japan, *J Vet Med Sci*, 77, 1183-1185 (2015)
- [7] Barrs VR, Beatty JA, Dhand NK, Talbot JJ, Bell E, Abraham LA, Chapman P, Bennett S, van Doorn T, Makara M : Computed tomographic features of feline sino-nasal and sino-orbital aspergillosis, *Vet J*, 201, 215-222 (2014)
- [8] Barachetti L, Mortellaro CM, Di Giancamillo M, Giudice C, Martino P, Travetti O, Miller PE : Bilateral orbital and nasal aspergillosis in a cat, *Vet Ophthalmol*, 12, 176-182 (2009)
- [9] 松澤哲宏 : *Aspergillus* section *Fumigati* の系統分類と最近の動向, *日本微生物資源学会誌*, 31, 63-68 (2015)
- [10] Kano R, Itamoto K, Okuda M, Inokuma H, Hasegawa A, Balajee SA : Isolation of *Aspergillus udagawae* from a fatal case of feline orbital aspergillosis, *Mycoses*, 51, 360-361 (2008)
- [11] Kano R, Shibahashi A, Fujino Y, Sakai H, Mori T, Tsujimoto H, Yanai T, Hasegawa A : Two cases of feline orbital aspergillosis due to *Aspergillus udagawae* and *A. viridinutans*, *J Vet Med Sci*, 75, 7-10 (2013)
- [12] Talbot JJ, Houbraken J, Frisvad JC, Samson RA, Kidd SE, Pitt J, Lindsay S, Beatty JA, Barrs VR : Discovery of *Aspergillus frankstonensis* sp. nov. during environmental sampling for animal and human fungal pathogens, *Plos One*, 12, e0181660 (2017)
- [13] Sugui JA, Peterson SW, Figat A, Hansen B, Samson RA, Mellado E, Cuenca-Estrella M, Kwon-Chung KJ : Genetic relatedness versus biological compatibility between *Aspergillus fumigatus* and related species, *J Clin Microbiol*, 52, 3707-3721 (2014)
- [14] Alastruey-Izquierdo A, Alcazar-Fuoli L, Cuenca-Estrella M : Antifungal susceptibility profile of cryptic species of *Aspergillus*, *Mycopathologia*, 178, 427-433 (2014)
- [15] Pfaller MA, Diekema DJ, Ghannoum MA, Rex JH, Alexander BD, Andes D, Brown SD, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Fowler CL, Johnson EM, Knapp CC, Motyl MR, Ostrosky-Zeichner L, Sheehan DJ, Walsh TJ, Clinical and Laboratory Standards Institute Antifungal Testing Subcommittee : Wild-type MIC distribution and epidemiological cutoff values for *Aspergillus fumigatus* and three triazoles as determined by the Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution methods, *J Clin Microbiol*, 47, 3142-3146 (2009)
- [16] Espinel-Ingroff A, Diekema DJ, Fothergill A, Johnson E, Pelaez T, Pfaller MA, Rinaldi MG, Canton E, Turnidge J : Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for the triazoles and six *Aspergillus* spp. for the CLSI broth microdilution method (M38-A2 document), *J Clin Microbiol*, 48, 3251-3257 (2010)

Case of Feline Sino-orbital Aspergillosis Due to *Aspergillus felis*

Masateru HIGASA^{1)†}, Rie UNO¹⁾, Takehiro UNO¹⁾, Shigeo YAMADA²⁾ and Kazushi ANZAWA³⁾

1) *Central City Animal Hospital, 2014-1 Mendoricho, Shikokucyuo-shi, 799-0113, Japan*

2) *Yamada Animal Hospital, 2-1112 Oo-machi, Fukui-shi, 918-8116, Japan*

3) *School of Medicine, Kanazawa Medical University, 1-1 Daigaku, Uchinada-machi, Kahokugun, 920-0293, Japan*

SUMMARY

A cat undergoing long-term treatment for chronic rhinitis presented with progressive protrusion of the nictitating membrane and eyeball. The lesions consisted of infiltrative inflammatory granuloma with partial necrosis in the nasal cavities and orbit. Pathological examination revealed fungal infection in the lesions. Treatment consisted of antifungal drugs and surgical resection for the necrotic and granulated tissues. However, the fungal infection progressed invasively and the animal died. The culture morphology of the causative agent, the results of a high-temperature growth test, and the nucleotide sequences of the beta-tubulin and calmodulin genes were consistent with *Aspergillus felis*, a recently classified species. The isolate also showed high minimum inhibitory concentration for multiple antimycotics, suggesting low susceptibility to antifungal chemotherapy. — Key words : *Aspergillus felis*, feline, invasive aspergillosis.

† Correspondence to : Masateru HIGASA (Central City Animal Hospital)

2014-1 Mendoricho, Shikokucyuo-shi, 799-0113, Japan

TEL 0896-22-3815 FAX 0896-22-3816 E-mail : c.city.ah@unoanimal.co.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 71, 649~653 (2018)