

目 次

総 説

狂犬病を知っていますか？忘れてはいませんか？

井上 智 国立感染症研究所 獣医科学部第二室

佐藤 克 佐藤獣医科病院

1

産業動物

乳牛におけるイオン化カルシウムの動態

桧山 尚子

4

多変量解析を用いた子牛下痢症における臨床症状と血液性状との関連性

黒瀬 智泰

8

牛のルーメン発酵状況のグラフ化の試み

篠塚 康典, 桧山 尚子

13

黒毛和種成牛に発生した毛球形成による十二指腸閉塞症の一例

玉川 朋治

18

Gn-RH 製剤を用いた経膣採卵法の検討

尾形 康宏, 日高 健雅, 松重 忠美, 堀内 俊孝

20

広島県で過去20年間に発生した牛の膿瘍と *Helcococcus ovis* との関連

久保田泰徳, 森本 和秀

24

豚増殖性腸炎の発生と *Lawsonia intracellularis* の浸潤状況

川本千恵実, 河村美登里, 森本 和秀, 久保田泰徳

28

小 動 物

イヌの尿道断裂の1例

伊藤 雄悟, 福万 朋子, 塚根 美穂, 竹内 良成, 角田 睦子, 角田 利一,

平野 健

32

眼底異常を呈したミニチュア・ダックスフンドの29症例

上岡 尚民, 上岡 孝子, 利田 堯史, 古川 敏紀

35

ゴールデン・レトリバーの皮膚に発生した肥満細胞腫の一例

南場 里美, 西谷 利文

39

高蛋白質血症を示しアリュシャン病が疑われたフェレットの12症例

角田 睦子, 塚根 美穂, 福万 朋子, 竹内 良成, 伊藤 雄悟, 角田 利一,

平野 健

42

獣医での Vapor Pulse Coagulation の臨床応用について

谷浦 督規, 谷浦 倉之, 谷浦 直美

50

公衆衛生

2004年中国・四国地区で分離された腸管出血性大腸菌 O157:H7 の分子疫学的解析

古田 喜美, 下村 佳, 石村 勝之, 吉野谷 進, 谷口 正昭, 萱島 隆之,

笠間 良雄, 松本 勝, 荻野 武雄

55

鶏肉におけるカンピロバクター及びサルモネラの感染状況	
坂本 裕敬, 井原 光紀, 藤本 美香, 久保 盛恵, 佐々木敏之, 北原 明生, 舟越 敦司, 古田 喜美, 下村 佳, 国井 悦子	61
ノロウイルス集団発生事例の分子疫学的解析	
福田 伸治, 高尾 信一, 桑山 勝, 宮崎佳都夫	64
プロイラーで認められた腹腔内腫瘍	
山下 和子	69
動物取扱業者に配布した適正飼養啓発チラシの結果について	
城仙 哲宣, 坂本 綾, 平野 政敏	73
飲食店における <i>Salmonella</i> Enteritidis 及び <i>Campylobacter jejuni</i> による食中毒事件について	
西岡 達彦, 小野 高明, 井上 圭祐, 佐藤 千絵, 岩井 徹, 中島 敏浩, 藤井千香子, 重東 和宏, 三宅 伸子, 箱田 泰二, 濱岡 敬	77
と畜場に搬入された牛クロードイン16欠損症の症例比較	
仲宗根智彦, 赤木 雅彦, 辻 正康, 山根 伸久, 田口 和史, 瀬尾 豊記	80
他誌掲載論文要約	
猫におけるフサリウム症の1例	
上岡 尚民, 上岡 孝子, 日笠 喜朗, 村瀬 敏之, 小菅 旬子, 坂井 聡, 後藤 義孝	86
高病原性鳥インフルエンザ発生時の殺処分および発酵消毒法の検討	
五反田桃子, 清水 和, 児玉 幸子, 酒井 久明, 岸本 一郎	87
脳内にクリプトコッカスとボルナ病ウイルスが重複感染した猫の1例	
田村 慎司, 田村由美子, 鈴岡 宣孝, 大岡 恵, 長谷川孝寿, 内田 和幸, 渡邊 洋平, 朝長 啓造	88
会 報	
関連学会案内	
投稿規定	

新しいマダニ類媒介感染症 「重症熱性血小板減少症候群（SFTS）」の現状について

島津 幸枝

広島県立総合技術研究所保健環境センター

(受付：平成 26 年 3 月 27 日)

New Tick-borne Disease, The Current Status of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS) in Japan

YUKIE SHIMAZU

Hiroshima Prefectural Technology Research Institute, Public Health and
Environment Center, Minami-machi 1-6-29, Minami-ku, Hiroshima 734-0007

はじめに

2013 年 1 月、日本国内で初めて、マダニ類媒介感染症である重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の患者が確認された。この疾患は、2011 年に中国から報告された新しいウイルス感染症であり、死亡率が高く特異的な治療薬やワクチンが存在しないことから、大きく問題視されることとなった。現在国内では、発生患者の把握、マダニ類の調査や野生動物の抗体保有状況調査などの疫学情報の収集、検査診断や治療法についての検討が進められている。

本稿では、新しい感染症である SFTS の概要と、集まりつつあるその知見について述べる。

1. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の発見から現在までの概要

重症熱性血小板減少症候群（Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome：SFTS）は、マダニ類により媒介される SFTS ウイルスにより引き起こされる、新しいマダニ類媒介感染症である。2009 年に中国の湖北省と河南省の山岳地帯で、発熱や血小板減少、胃腸症状、白血球減少を主症状とする患者が多数発生し、致死率 30% を示した¹⁾。当初は同じくマダニ類媒介感染症である、ヒト顆粒球アナプラズマ症

であると考えられていたが、患者の血液からウイルスが分離され、2011 年に、この疾患が新種のブニヤウイルス科フレボウイルス属の SFTS ウイルス感染により引き起こされる、新しい感染症であることが報告された¹⁾。その後、中国では 12 省で患者の発生が報告されており、2011 年から 2012 年の調査では、2,047 名の患者（内死亡 129 名、致死率 6.3%）が確認され²⁾、その後も患者の発生は続いている。

日本国内では、2013 年 1 月に、2012 年の秋に死亡した患者の血液から SFTS ウイルスが分離されたことが報告され³⁾、このウイルスによる疾患が日本国内でも発生していることが、初めて明らかとなった。その後は、過去の症例の確認や新規患者の発生が続き、2014 年 2 月末現在、国内では、兵庫県以西の 13 県（図 1）で 54 名の患者が確認されている^{4, 5)}。その他、2013 年は韓国でも SFTS 患者の発生が確認され⁶⁾、この新しいマダニ類媒介感染症が、中国、韓国、日本と広く分布していることが明らかとなった。なお SFTS は、2013 年 3 月に、感染症及び感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）における四類感染症（全数報告対象）に指定され、患者を診断した医師は、ただちに保健所へ届出を行わなければならないこととなった。



図1 日本国内で SFTS 患者の発生が確認されている県 (2014年2月末現在)^{4, 5)}

2. SFTS の病原体

SFTS の病原体である SFTS ウイルスは、3 分節のマイナス鎖 RNA をゲノムとして持ち、エンベロープを保有する、ブニヤウイルス科フレボウイルス属の RNA ウイルスである¹⁾。節足動物により媒介されるブニヤウイルス科のウイルスとしては、マダニ類により媒介されるナイロウイルス属のクリミア・コンゴ出血熱ウイルスや、蚊により媒介される同じフレボウイルス属のリフトバレー熱ウイルスなどがよく知られている。SFTS ウイルスはエンベロープを保有することから、消毒薬やアルコール、熱水 (80℃ 10 分) や紫外線などで、失活させることができる。

現在、SFTS ウイルスは中国、日本、韓国で確認されている。国立感染症研究所で、国内患者から分離された 8 株のウイルスゲノムの塩基配列を、中国で報告されているウイルスゲノムの配列と系統的に解析したところ、国内株については、中国株と明確に異なるクラスターを形成した⁷⁾。このことから、国内のウイルスは中国から近年に伝播したものではなく、古くから土着ウイルスとして、日本国内で独自に維持されて来たと考えられる。

3. SFTS ウイルスの感染経路

SFTS は、患者に関する疫学情報、マダニ類からのウイルスの分離・検出、動物の抗体保有状況の調査結果、近縁ウイルスの自然界における動態等から、SFTS ウイルスを保有するマダニ類に吸着、吸血されることにより感染する、マダニ類媒介感染症とされている^{1, 4, 8, 9)}。ウイルスを媒介する種であるが、中国で実施されたマダニ類の調査では、採集されたフタト

ゲチマダニの 4.9%⁸⁾ や 5.4%¹⁾、オウシマダニの 0.6%⁸⁾ がウイルス陽性となった報告があり、中国国内での主要な媒介種はフタトゲチマダニであると考えられている^{1, 8)}。一方、日本国内の媒介種であるが、2014 年 2 月末までの全国の調査で、フタトゲチマダニ (図 2) やタカサゴキララマダニ等、6 種以上のマダニ類からウイルス遺伝子が検出されており⁹⁾、患者発生には複数の種が関与していると考えられている。しかし、これらの遺伝子陽性となったマダニ類が、実際にどの程度人や動物へのウイルス媒介能力を有しているのかは、現時点では不明である。また、自然界でマダニ類が保有しているウイルスは、親ダニから卵へと垂直感染して維持されているのか、あるいはウイルス感染を起こしたりザーバー動物を吸血することにより水平感染して維持されているのか、その両方なのかについても、今後の調査研究の成果が待たれる。なお、SFTS ウイルスの感染経路については、媒介動物による感染以外に、患者の体液との接触による感染が中国で報告されている¹⁰⁾。このため、患者家族や医療従事者は、患者のケアにおいて十分な感染防御措置を講じる必要がある。

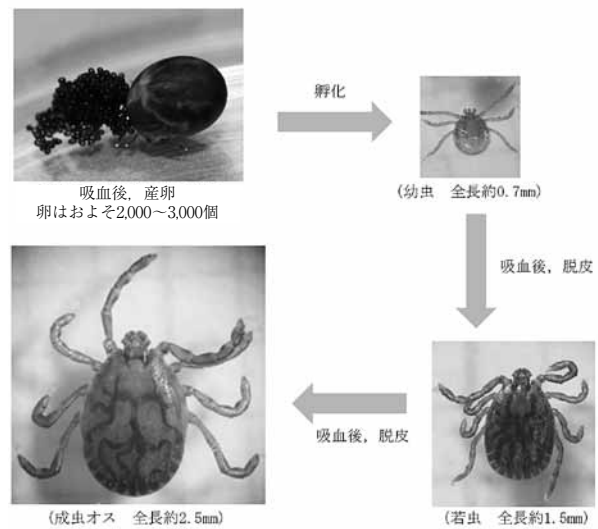


図2 フタトゲチマダニの生活環

4. SFTS ウイルスの国内分布状況

2014 年 2 月末現在、国内では兵庫県、鳥取県を除く中国 4 県、香川県を除く四国 3 県、福岡県及び大分県を除く九州 5 県の計 13 県で 54 名の患者が確認されている^{4, 5)}。マダニ類の調査では、北海道から九州まで広い範囲で、SFTS ウイルス遺伝子陽性のマダニ類が確認されている^{9, 11)}。また、野生のシカ及びイノシシ、猟犬の抗体保有状況調査でも、患者発生県以外で広く、陽性を示す個体が確認されている^{9, 11)}。これらのことから、SFTS の患者発生については、主要な発生地域は西日本が中心となると予想されるが、発生の可能性自体は全国に広く存在すると考え、日本全

域で注意が必要な感染症として対処していかなければならないと考える。なお、人以外の動物については、中国での家畜動物の調査結果¹²⁾などから、ウイルスに感染はするが発症はしないと考えられている。また、ウイルスに感染している動物を解体するなどして人が感染した例は、報告されていない¹¹⁾。

5. SFTS の発生時期、患者の概要

現在国内では、年間を通してすべての月で患者の発生が確認されている。発生が多いのは4月から11月と、国内でマダニ類の活動が活発な暖かい時期に一致している(図3)^{4, 5)}。

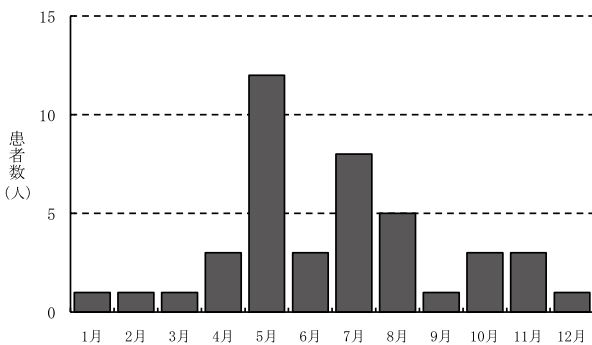


図3 日本国内のSFTS患者の発症月 (2013年1月～2014年2月末)^{4, 5)}

患者の年齢は40代から90代が確認されているが、多くは50代以上であり、死亡例は80代以上が多く、高齢者のリスクが高い感染症と言える(図4)⁴⁾。

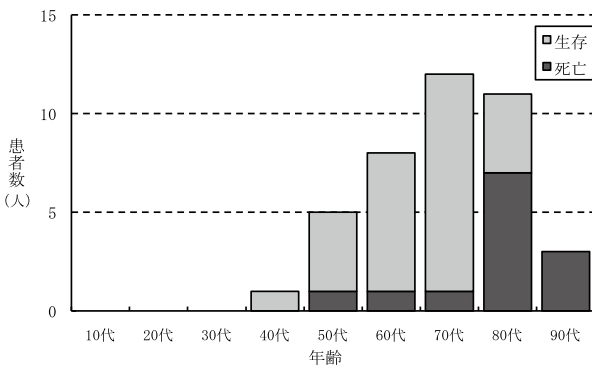


図4 2013年に日本国内で発生したSFTS患者の年齢と転帰⁴⁾

致死率については、中国では6.3%～30%など幅の広い報告がある^{1, 2, 13)}。国内では、2013年中に発生した患者40名のうち死亡は13名であり⁴⁾、致死率32.5%と高い値となっている。これは現時点での数値であり、今後報告される症例数が増えていけば、中国のように10%前後まで下がるのではないかと考えられる。なぜなら、日本国内ではSFTSの発生当初、情報提供を求めた厚生労働省の症例定義¹⁴⁾が死亡を含む重症例を想定して設定、周知されたため、重篤感の薄い軽症例や非典型例が、SFTSを疑われることな

く潜在している可能性が考えられるからである。このため致死率については、今後の症例の集積を待って、改めて議論すべきであると考えられる。

6. SFTS の臨床症状・検査所見

確認されている潜伏期間は、国内の患者でダニの吸着が確認された18例については、3～7.5日(中央値5日)である⁴⁾。主症状は発熱、血小板減少、白血球減少、肝酵素の上昇、消化器症状(下痢、嘔気、消化管出血等)で、重症例では血球貪食症候群や多臓器不全を起し死亡に至ることもある。なお、ウイルス感染症であるため、CRPの上昇は軽度か陰性である場合が多い¹⁵⁻¹⁷⁾。

7. SFTS の病原診断

患者の病原診断は、まず各自自治体の地方衛生研究所において実施される。患者の急性期の血液検体等から、SFTSウイルスの遺伝子検出(RT-PCR)を行い、結果が陽性となれば、検体は国立感染症研究所へ送付される。さらにゲノムシーケンス等の確認検査が行われ、陽性となればSFTS確定となる。その他、ELISAや間接蛍光抗体法等による血清抗体検査も、国立感染症研究所や一部の地方衛生研究所等で実施されている¹⁸⁾。

8. SFTS の治療・予防

治療については、有効な特異的治療薬がないため、対症療法となる。全身状態が悪化する前の早期に処置することで、重症化を防いだり、予後を良くできると考えられるため、ダニに咬まれた等疑わしい場合は、発熱など不調が現れた時点で血液検査を実施し、経過を観察するのが望ましい。現在、抗ウイルス薬のリバビリンの投与が有効であるか検討されているが、感染早期の投与でなければウイルスを抑制できないと考えられるため、患者の治療用ではなく、医療従事者の針刺し事故等、ウイルス曝露後の予防措置への活用が考えられている。

一般の感染予防については、ワクチンが存在しないため、媒介動物のマダニ類に刺されないようにする以外に方法はない。マダニ類は動物を吸血している間に運ばれて移動するため、山地だけでなく、集落周辺の草地や住居の庭など、身近な場所の植生上などでも普通に見られる。このため、森林作業や農作業、登山やレジャー以外にも、庭仕事や散歩等野外で行動する際にはダニ対策を行う必要がある。ダニに付着・吸着されないためには、肌の露出を最小限にし、衣服へのダニの入り込みを防ぐため開口部をガードし、防虫スプレー(ディートに忌避効果があるので、濃度の濃いものを選択)¹⁹⁾を使用する等の対策を取る必要がある。また、ダニに吸着されたとしても、早期に発見して摘除すれば、体内へのウイルスの注入を阻止あるいは最

小限にできるため、着替えや入浴時に体表面のチェックをよく行うことが重要である。その他、屋外から屋内へのダニの持ち込みを防ぐために、ペットのダニ予防、ペットや人の体のチェックを、屋内に入る前に実施する必要がある。

9. 広島県内の SFTS 発生状況

広島県では現在までに、2012年1名(死亡)、2013年4名(生存)の、計5名のSFTS患者が確認されている。発生時期は5月から10月と、マダニ類の活動が活発な時期に一致している。患者の年齢は60代～70代であり、高齢の患者が多い全国の状況と一致している。

今後の患者発生の予測であるが、2013年中の県内のSFTS患者は4名、同じマダニ類媒介感染症である日本紅斑熱は27名である。日本紅斑熱は1984年に、国内で初めて患者の発生が報告された新しい感染症である²⁰⁾。広島県では1999年に初めて患者が確認されて以降、当初は患者の報告が少なかったが、その後認知が進んだことにより、患者の報告が増えた経緯がある²¹⁾。このことから、SFTSについても疾患に対する認知が進み、検査数が増えていけば、患者数も増えると推測される。なお、2013年に我々のセンターで実施した県内のイヌの抗体保有状況調査では、検査を実施したイヌの7.7% (311頭の内24頭)が、SFTSウイルスに対する抗体陽性であり、陽性個体は県内に広く分布していたことから²²⁾、広島県では県の全域でSFTS浸潤の可能性があると考えて、マダニ類の防御など必要な対策を講じて行かなければならないと考える。

10. 広島県内のその他のダニ類媒介感染症

広島県では従来から、SFTSと同様に感染症法の四類感染症(全数届出対象)であるマダニ類媒介性の日本紅斑熱と、ダニの仲間であるツツガムシ媒介性のつつが虫病が発生している。両疾患の主症状は、発熱、白血球減少、血小板減少、肝酵素の上昇等。SFTSと似た部分が多く、また患者発生時期も、日本紅斑熱は4月～10月、つつが虫病は春と秋～初冬と、SFTSの発生時期と重なっている²¹⁾。このため我々のセンターでは、SFTSの検査を実施する際には、鑑別が必要な疾患として、必ずこれらの2疾患についても同時に検査を実施している。実際に、SFTSが疑われて検査を実施した結果が、つつが虫病や日本紅斑熱であった例がある。このため、患者の病原を明らかにするとともに、県内のダニ類媒介感染症の発生状況を的確に捕捉するためにも、鑑別のための検査は重要であると考えられる。なお、日本紅斑熱とつつが虫病は、細菌の仲間であるリケッチアによる感染症であり、患者の多くにCRPの上昇が見られるため、臨床症状によるSFTS鑑別の目安として、CRP値の確認は有効である。

おわりに

2013年初頭に、国内初のSFTS患者が確認された。当初は新しい感染症であり、死亡率が高く特異的な治療薬が無いことから、社会的に大きな関心を集めた。先行して中国での知見が報告されていたこと、報道で頻繁に取り上げられ話題になったこと、厚生労働省が迅速に過去の患者の情報収集を行ったこと、国立感染症研究所を中心に早期に国内の検査体制が整備されたこと、各地域自治体や医療関係者が情報収集や情報提供に努めたことなどから、新規に発生した感染症の対応状況としては、概ね順調に推移していると考えている。昨年1年間の患者発生状況を見ると、SFTSはごく希な感染症ではなく、古くから日本で発生していたが、その存在が認知されていなかった疾患であると考えられる。今後も患者発生は続くとして、患者への対応、国内の感染リスクを明らかにするための種々の調査研究を行うとともに、一般への情報発信を積極的に行い、マダニ類感染症に対する知識を広め、感染予防の啓発についても推進していくことが重要である。

文 献

- 1) Yu, X.J., et al: Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China, *N Engl J Med.*, 364, 1523-1532 (2011)
- 2) 下島昌幸, 西條政幸: 中国での重症熱性血小板減少症候群の発生状況, *IASR*, 35, 33-34 (2014)
- 3) 西條政幸ほか: 国内で初めて診断された重症熱性血小板減少症候群患者, *IASR*, 34, 40-41 (2013)
- 4) 山岸拓也ほか: 2013年に発症した重症熱性血小板減少症候群40例のまとめ—感染症発生動向調査より, *IASR*, 35, 38-39 (2014)
- 5) 国立感染症研究所感染症疫学センター: 9週のデータ, *感染症週報*, 16 (9), 24 (2014)
- 6) Kim, K.H., et al.: Severe fever with thrombocytopenia syndrome, South Korea, 2012, *Emerg Infect Dis.*, 19, 1892-1894 (2013)
- 7) 吉河智城, 西條政幸: 日本における重症熱性血小板減少症候群(SFTS)患者から分離されたSFTSウイルスゲノム配列による系統学的解析, *IASR*, 35, 35-37 (2014)
- 8) Zhang, Y.Z., et al.: The Ecology, genetic diversity, and phylogeny of huaiyangshan virus in China, *J Virol.*, 86, 2864-2868 (2012)
- 9) 森川茂ほか: <速報>重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスの国内分布調査結果(第二報), *IASR*, <http://www.nih.go.jp/niid/ja/2014-02-19-09-27-24/2242-disease-based/sa/sfts/idsc/iasr-news/4428-pr4094.html> (2014)
- 10) Bao, C.J., et al.: A family cluster of infections by

- a newly recognized bunyavirus in Eastern China, 2007: Further evidence of person-to-person transmission, *Clin Infect Dis.*, 53, 1208-1214 (2011)
- 11) 森川 茂ほか：＜速報＞重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスの国内分布調査結果（第一報），IASR, <http://www.nih.go.jp/niid/ja/sfts/sfts-iasrs/3864-pr4043.html> (2013)
 - 12) Niu, G., et al.: Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus among domesticated animals, China, *Emerg Infect Dis.*, 19, 756-763 (2013)
 - 13) Zhang, Y.Z., et al.: Hemorrhagic fever caused by a novel tick-borne Bunyavirus in Huaiyangshan, China, *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 32, 209-220 (2011)
 - 14) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知：重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の国内での発生について（情報提供及び協力依頼），健感発 0130 第 1 号（平成 25 年 1 月 30 日）
 - 15) 西條政幸ほか：＜速報＞国内で初めて確認された重症熱性血小板減少症候群（SFTS）患者に続いて後方視的に確認された 2 例，IASR, <http://www.nih.go.jp/niid/ja/sfts/sfts-iasrs/3298-pr3981.html> (2013)
 - 16) 井内 新ほか：フタトゲチマダニ刺咬後に早期診断され良好な経過をたどった重症熱性血小板減少症候群の 1 例，IASR, 34, 207-208 (2013)
 - 17) 本間義人ほか：家族内発症 2 名の重症熱性血小板減少症候群（SFTS）患者を含む SFTS 患者 5 名の臨床的特徴，IASR, 34, 312-313 (2013)
 - 18) 福士秀悦ほか：重症熱性血小板減少症候群の検査法，IASR, 35, 40-41 (2014)
 - 19) Kirby, C.: Tick Management Handbook, The Connecticut Agricultural Experiment Station, 40 (2007)
 - 20) 馬原文彦：紅斑と高熱を主徴とし Weil-Felix 反応 OX2 陽性を示した 3 症例について，阿南医報, 68, 4-7 (1984)
 - 21) 島津幸枝ほか：広島県におけるリケッチア症（日本紅斑熱及びつつが虫病）の発生状況（2007 年～2011 年），広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告, 20, 11-16 (2012)
 - 22) 高尾信一ほか：広島県内の犬における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルス抗体の保有状況，広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告, 21, 15-18 (2013)

山県家畜診療所管内における 第四胃変位の疫学的調査についての一考察

伊藤 暢彦

(受付：平成 25 年 12 月 20 日)

A Study on the epidemiological studies of abomasal displacement in jurisdiction of Yamagata livestock clinic

NOBUHIKO ITO

Yamagata Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A. 461-1, Haruki,
Kita-hiroshima-cho, Yamagata-gun, Hiroshima 731-1531

SUMMARY

That there are so many is known that the contributory factor in one of perinatal diseases typical in dairy cows abomasal displacement (DA). We report the outline and has performed an epidemiological survey for DA occurrence in Yamagata livestock clinic jurisdiction within fiscal year 2012. As a result of investigation for the primary disease of them in 128, about 9 % of milk fever, about 35% liver dysfunction of fatty liver (liver function disorders), such as ketosis, DA onset number of fiscal year 2012 is placental retention, about 38% (at the first visit DA), (mastitis, arthritis, etc.) other was about 13% that about 5% of postpartum uterine disease such as fever, was diagnosed with DA during the initial visit. Odds ratio is as high as 10.36 was carried out a detailed investigation with respect to what was developed after suffering from DA liver function disorders, especially in these, which is consistent with previous reports. Further, when in connection with what had developed liver function disorders morbidity after DA, and were compared dead cases and cure patients, 31.5 ± 64.73 in the healing case the average number of days to delivery onset : SD, dead cases 6.2 ± 15.9 : There was a significant difference in SD ($p < 0.01$). In addition, 2.91 ± 2.18 in the healing case average number of times of practice to first visit ~ DA onset : SD, dead cases 4.08 ± 3.42 : was a significant difference in SD ($p < 0.05$). In addition, Examination of the DA incidence due DA incidence, liver function disorders morbidity, liver function disorders in farmers each, it was found that the pattern of onset is different for farmers each. It is believed that by performing measures ready-to-run, that it might be able to reduce the dead cases feeding management even more than in the farmers DA incidence of liver function abnormalities derived from high, likely to lead to dead cases were.

— Key words: abomasal displacement, epidemiology

要 約

第四胃変位 (DA) は乳牛における代表的な周産期疾病の一つで、その発症要因は多岐に渡ることが知られている。平成 24 年度に山県家畜診療所管内における DA 発生状況について疫学的調査を行ったのでその概要を報告する。平成 24 年度の DA 発症件数は 128 件でこれらの原発疾患について調査したところ、乳熱が約 9%、ケトーシスや脂肪肝等の肝機能障害 (肝機能異常症) が約 35%、胎盤停滞・産褥熱等の子宮疾患が約 5%、初診時に DA と診断されたもの (初診時 DA) が約 38%、その他 (乳房炎、関節炎等) が約 13% であった。これらの中で特に肝機能異常症に罹患後 DA を発症したものに関して詳細な調査を行ったところ odds 比は 10.36 と高く、これは過去の報告とも一致した。また肝機能異常症罹患後 DA を発症したものに関して、治癒症例と死廃症例を比較したところ、分娩～発症までの平均日数は治癒症例において 31.5 ± 64.73 日、死廃症例が 6.2 ± 15.9 日で有意差を認めた ($p < 0.01$)。また、初診から DA 発症までの平均診療回数は治癒症例で 2.91 ± 2.18 回、死廃症例が 4.08 ± 3.42 回で有意差を認めた ($p < 0.05$)。また、農家毎に DA 発症率、肝機能異常症罹患率、肝機能異常症に起因する DA 発症率を調査したところ、農家毎に発症パターンが異なることが分かった。肝機能異常症由来の DA 発症率が高く、死廃事故につながりやすい農家においては飼養管理もさることながらすぐに実行可能な対策を行うことにより、死廃事故を低減できるのではないかと考えられた。

—キーワード：第四胃変位，疫学調査

はじめに

第四胃変位 (以下 DA) は、乳牛における代表的な周産期疾病の一つで、その発症要因は多岐に渡ることが知られている¹⁾。近年の報告によると、DA を発症した牛は発症時期にもよるが平均 300kg 乳量が減少し、さらには次の乳期に 42～50% が、淘汰されるリスクが高まると言われている²⁾。そのため DA 発症率を制御することは、酪農経営上非常に重要であると言えることが出来る。平成 23 年度にも調査を行ったが、その時の調査では過去の DA 発症件数及び発症時期のみの調査で、横断的研究しか行えていなかった。そこで、平成 24 年度は山県家畜診療所管内における DA の発生状況について調査を行い、若干の知見を得たので概要を報告する。

材料及び方法

調査期間は平成 21 年～24 年度にわたり、平成 24 年度は症例対照研究を行った。調査項目と方法は DA 罹患牛の発症数、発症までの日数、原発疾患、診療回数及び予後について診療記録簿を用いて集計した。統計分析には F 検定および決定係数 (R^2) を用いて行い、F 検定に関しては危険率 5% 未満を有意差ありとした。

結 果

DA 発症率は平成 21 年度において 6.64%、平成 22 年度では 6.64%、平成 23 年度は 6.36%、平成 24 年度は 6.20% となっており、やや減少傾向ではあるものの、高い発症率が続いていることが明らかとなった。平成 24 年度において DA を発症した個体 ($n=128$) の原発疾患について調査したところ、乳熱が約 9% ($n=12$)、ケトーシスや脂肪肝等の肝機能障害 (以下 肝機能異常症) が約 35% ($n=45$)、胎盤停滞・産褥熱等の子宮疾患が約 5% ($n=6$)、初診時に DA と診断されたもの (以下 初診時 DA) が約 38% ($n=49$)、その他 (乳房炎、関節炎等) が約 13% ($n=16$) であった (図 1)。これらの中で割合の高い肝機能異常症に罹患後 DA を発症したものに関して詳細な調査を行ったところ、肝機能異常症罹患後の DA 発症に関する Odds 比は 10.36 と高かった¹⁾。また、肝機能異常症罹患後 DA を発症した症例の転帰は治癒症例が約 73% ($n=33$)、死亡もしくは廃用 (以下 死廃症例) が約 27% ($n=12$) であった。この治癒症例と死廃症例を比較したところ、分娩～発症までの平均日数は治癒症例において 31.5 ± 64.73 日、死廃症例が 6.2 ± 15.9 日で有意差を認めた ($p < 0.01$) (図 2)。また、初診～DA 発症までの平均診療回数は、治癒症例で 2.91 ± 2.18 回、死廃症例が 4.08 ± 3.42

回で有意差を認めた ($p < 0.05$) (図3). また, 農家毎の DA 発症率を求め発症率の低い順に並び変え, そこに農家毎の肝機能異常症罹患率及び肝機能異常症罹患後の DA 発症率をプロットしたグラフを作成した (図4). このグラフを元に DA 発症率と肝機能異常症罹患率及び肝機能異常症罹患後の DA 発症率についての決定係数を算出したところ, DA 発症率と肝機能異常症罹患率の間の決定係数 (R^2) は 0.34 であり, ある程度の相関を認めた. また DA 発症率と肝機能異常症罹患後の DA 発症率の間の決定係数 (R^2) は 0.23 と弱い相関が認められた. また, 肝機能異常症罹患率と肝機能異常症罹患後の DA 発症率の間は決定係数 (R^2) は 0.43 と中程度の相関を認めた (表1).

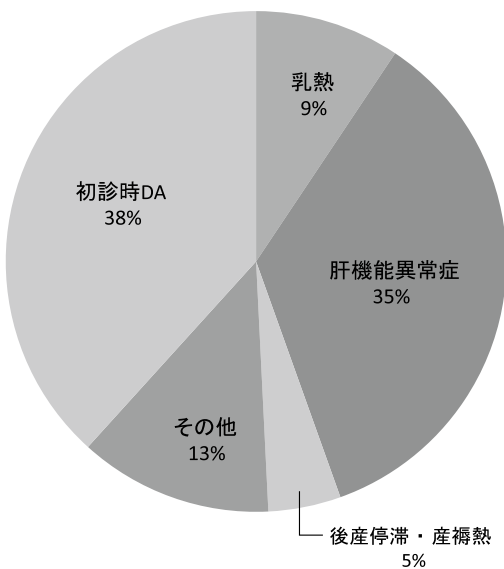


図1 平成24年度山県家畜診療所管内で発生したDAの原発疾患 (n = 128)

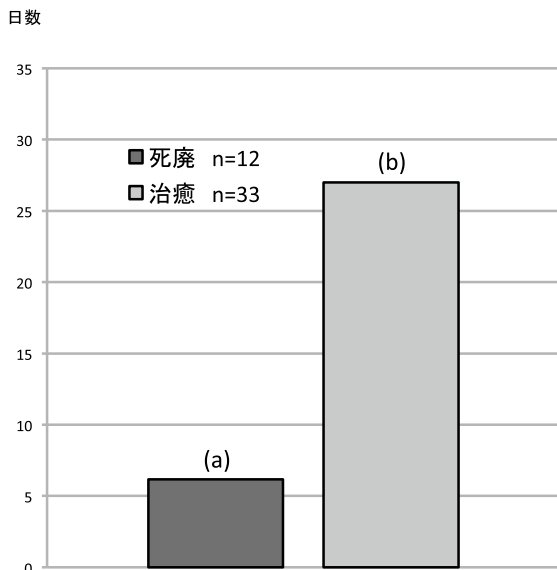


図2 分娩日から発症日までの死廃症例と治癒症例の比較 a, b 間に有意差あり ($p < 0.01$)

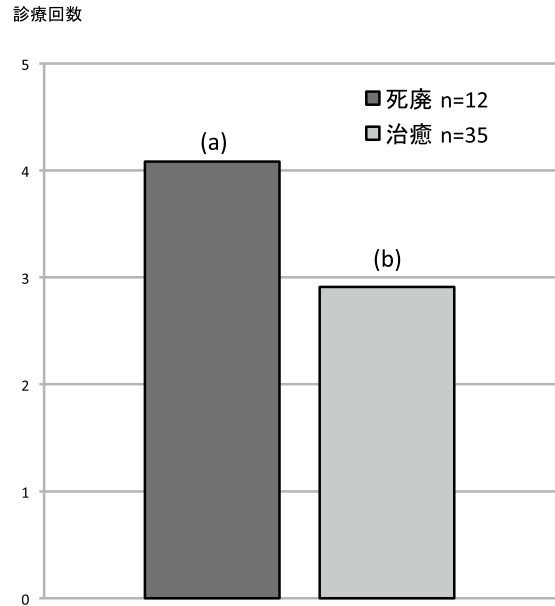


図3 死廃症例と治癒症例の発症までの平均診療回数の比較 a, b 間に有意差あり ($p < 0.05$)

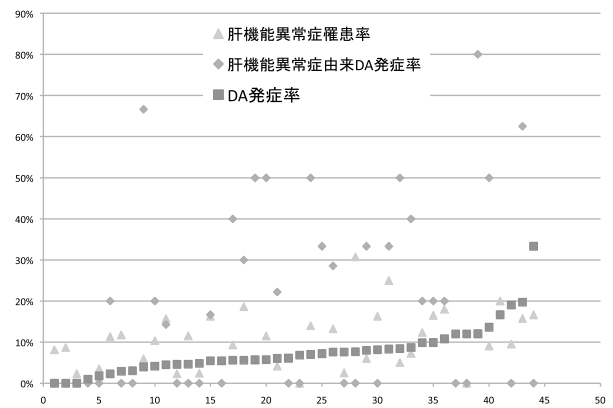


図4 DA 発症率, 肝機能異常症罹患率及び肝機能異常症由来 DA 発症率の関係

表1 DA 発症率, 肝機能異常症罹患率及び肝機能異常症由来 DA 発症率の決定係数 (R^2)

	DA 発症率	肝機能異常症罹患率	肝機能異常症由来 DA 発症率
DA 発症率	1		
肝機能異常症罹患率	0.336511	1	
肝機能異常→DA 発症率	0.229511	0.427822	1

考察およびまとめ

平成24年度の山県家畜診療所管内における DA 発症要因は初診時 DA, ケトーシスや脂肪肝等の肝機能異常症によるものが多く, 肝機能異常症の DA 発症に対する Odds 比は 10.36 と高く, これは過去の報告とも一致した²⁾. また, 肝機能異常症罹患後に DA 発症をした症例を治癒したものと死廃事故に陥った症例に分

けて比較してみると、死産症例は治癒症例に比べ、分娩から発症までの期間が有意に短いこと、初診時からDAを発症するまでの平均診療回数が多いことが分かった。このことは、分娩直前後に肝機能異常症に罹患し、DA発症リスクの高い症例については十分な注意が必要であると考えられた。

また、農家毎のDA発症率、肝機能異常症罹患率及び肝機能異常症罹患後のDA発症率を比較したところ、農家毎のDA発症率と肝機能異常症罹患率の間に正の相関はあるが強くはない ($R^2=0.34$)。また、肝機能異常症とそれに由来するDA発症率の間には中程度の正の相関が存在した ($R^2=0.43$)。しかし、農家毎のDA発症率と肝機能異常症由来DA発症率の間には弱い相関しか認められなかった ($R^2=0.23$)。これらをまとめると、肝機能異常症はDA発症のリスクファクターではあるが、その危険度は農家毎によって異なる。言い換えれば農家毎にDAの発症要因は異なることがわかった。

これらのことから農家毎によってDA発症要因は異なるが、肝機能異常症罹患後のDA発症率及びそれに付随する死産事故率も高い農家には、飼養管理もさることながらすぐに実行可能な対策を講じることも必要であると考えられた。また、農家毎の疾病調査を行い、これを分析することによって農家毎の対策を講じられるのではないかと考えられた。

文 献

- 1) 工藤克典他：経産牛における第四胃変位発生のカウ・ファクター（牛側因子）の解析：北海道獣医師会雑誌，45（8），42（2001）
- 2) 田口清：総合臨床学Ⅶ講義資料

症例報告

重度膀胱炎により尿道閉塞を発症した乳用牛の一症例

堀 香織¹⁾ 酒井 亮¹⁾ 伊藤 暢彦²⁾
石橋 朝子¹⁾ 前田 陽平³⁾
(受付：平成 25 年 12 月 26 日)

The Frisian calf which urethra obstruction developed in by severe cystitis

KAORU HORI¹⁾, RYO SAKAI¹⁾, NOBUHIKO ITOU²⁾,
ASAKO ISHIBASHI¹⁾ and YOHEI MAEDA³⁾

- 1) Yamagata Veterinary Clinic Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A., 461-1, Haruki, Kita-Hiroshima-cyo, Yamagata-gun, Hiroshima 731-1515
- 2) Hatsukaichi Branch of Yamagata Veterinary Clinic Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A., 10-14, Honmachi, Hatsukaichi, Hiroshima 738-0015
- 3) Higashihiroshima Veterinary Clinic Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A., 284-1, Inaki, Takaya-cyo, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-2106

SUMMARY

A first-lactation Holstein cow developed urethral obstruction with the necrosis and loss of the bladder and urethral mucosa due to severe cystitis 20 days after delivery. At the first visit, the urethral obstruction precluded natural urination. On day 3 after hospitalization, the obstructor was removed from the urethral meatus, and urination was recovered. *Arcanobacterium pyogenes* was detected in the urine.

The obstructor was shown to be a cylindrical structure of 20 cm long and 5 cm wide, with internal calcification. Histopathologically, connective tissue, mucosa, and muscularis mucosa were observed, suggesting necrosis and loss of the bladder and urethral mucosa.

On day 5 after hospitalization, bladder mucosal thickening, pseudomembranous and mucosal inflammation, necrosis, and detachment were noted by echocardiography and endoscopy. Thus, the cow was diagnosed with severe pseudomembranous cystitis. In the early stage of treatment, antibiotics were continuously administered. A liquid chitosan formulation was continuously administered intravesically in the late stage of treatment. On day 27 after hospitalization, the pseudomembrane in the bladder disappeared, the mucosa regenerated, and cystitis resolved.

This cow had been susceptible easily to infection because of the absence of the

1) NOSAI 広島 山県家畜診療所 (〒 731-1515 広島県山県郡北広島町春木 461-1)
2) NOSAI 広島 山県家畜診療所甘日市支所 (〒 738-0015 広島県甘日市市本町 10-14)
3) NOSAI 広島 東広島家畜診療所 (〒 739-2106 広島県東広島市高屋町稲木 284-1)

suburethral diverticulum in the urethral meatus which is defensive structure against infection. Severe bacterial infection developed in the bladder during delivery, suggesting the development of cystitis.

— Key words: cystitis, pseudomembranous cystitis, urethral obstruction, chitosan

要 約

重度膀胱炎のため分娩 20 日後に膀胱・尿道粘膜の壊死・脱落が起こり、尿道閉塞を発症したホルスタイン種初産牛に遭遇した。初診時は尿道閉塞を起こしており、自力排尿は不可能であった。第 3 病日に尿道口から閉塞物が抜去され、自力排尿可能となった。尿中からは *Arcanobacterium pyogenes* が検出された。

閉塞物は長さ 20cm、直径 5cm の円筒状の構造をしており、内側には石灰沈着が認められた。病理組織検査により結合組織・粘膜・粘膜筋層が見られ、壊死・脱落した膀胱・尿道粘膜であることが分かった。

第 5 病日に実施したエコー検査・内視鏡検査により、膀胱粘膜の肥厚、偽膜の造成、粘膜の炎症・壊死・剥離が認められ、重度の偽膜性膀胱炎と診断した。治療前期には抗生剤の連続投与、治療後期には液状キトサン製剤の連続膀胱内投与を行った。第 27 病日には膀胱内の偽膜は消失し、粘膜の再生が進み、膀胱炎は治癒した。

当該牛は尿道下憩室が消失しており尿道口に外部からの感染防御構造がなく、易感染の状態であった。分娩時に膀胱内の重度の細菌感染が起こり、膀胱炎を発症したものと考察した。

— キーワード：膀胱炎、偽膜性膀胱炎、尿道閉塞、キトサン

はじめに

膀胱炎は通常、膣、尿道などの下部尿路に外部から細菌が上行性に感染し発症する。分娩時に起こる産道や尿道の損傷、導尿時のカテーテルによる損傷等は膀胱内の細菌感染を誘発し、膀胱炎の原因となる場合がある。膀胱に炎症が惹起されると膀胱壁の収縮性が低下する。軽症や慢性型は、異常尿の排泄以外は全身症状を呈さない場合が多い。急性型は、排尿時の疼痛、背湾姿勢、発熱、食欲低下などの全身症状を伴う¹⁾。

今回、重度膀胱炎のため、分娩 20 日後に膀胱・尿道粘膜の壊死・脱落が起こり、尿道閉塞を発症したホルスタイン種初産牛が、その後の治療により治癒に至った症例に遭遇したので、その概要を報告する。

症例の概要

症例は、平成 22 年 10 月 10 日生まれのホルスタイン種の雌、タイストールにて飼養。平成 25 年 1 月 14 日に分娩し、逆子で胎児過大のため難産となり、牽引により娩出させた初産牛である。初診日は、分娩

20 日後の平成 25 年 2 月 3 日、前日から挙尾し疝痛症状を示すという稟告であった。初診日までは、特異的な症状は認められなかった。

現象・治療経過

- ①第 1 病日 体温 38.8 度、挙尾、背湾姿勢、疝痛症状を示し、直腸検査にて著しく膨満した膀胱を触知した。陰鏡で膣内を観察したところ、尿道口が肉芽状の腫瘤により完全に閉塞されていた(写真 1)。自力での排尿は不可能であり、カテーテルを腫瘤の隙間から押し込み排尿させたところ、血尿が排泄された。全身と膀胱内に抗生剤(セファゾリン 3g)を投与した。
尿中細菌は *Arcanobacterium pyogenes* が検出された。
- ②第 2 病日 自力での排尿は不可能であったため、カテーテルで排尿させたのち生理食塩水で膀胱洗浄を行い、全身と膀胱内に抗生剤を投与した。腫瘤の触診により、腫瘤が尿道の奥まで続いており筒状構造であることが判明し、尿道下憩室の粘膜の炎症に

よるものか、難産時の傷が起因の炎症により肉芽が形成されているのか、と推察した。この時点ではカテーテルの留置、または腫瘤の切除という治療案を考察した。

③第3病日 前日と比較し腫瘤が尿道口より大きく突出していた(写真2)。カテーテル挿入時腫瘤をつかむと腫瘤が抜去された(写真3)。腫瘤は長さ約20cm、直径約5cmの円筒状であり、内側面には著しい石灰沈着が認められた(写真4)。腫瘤抜去後直径約3cmの尿道口が開口し、自力で多量の尿を排泄した。尿は血尿であり、膿や粘膜片を混入していた。直腸内からのエコー画像では、約1.5cmに肥厚した膀胱壁と、膀胱粘膜表面に造成している偽膜が認められた(写真8)。抜去直後から食欲飲水欲が出現した。

病勢鑑定の結果、腫瘤は結合組織、粘膜、粘膜筋層からなることが判明した。

④第5病日 膀胱内の内視鏡検査を実施。尿道の尿道口側は正常粘膜であり、膀胱へ向かう途中から粘膜の壊死・炎症が認められた(写真5)。膀胱内では壊死・剥離粘膜・灰白色の偽膜の造成が認められた²⁾(写真6)。

⑤第6-10病日 引き続き膀胱洗浄、全身と膀胱内への抗生剤投与を行った(表1)。尿は膿や粘膜を混入した血尿の排泄が続いた。

⑥第11-26病日 尿中細菌は検出されなくなったため、粘膜の再生を目的とし液状キトサン製剤の膀胱内注入を行った³⁾(表1)。粘液を混入した尿を排泄。



写真1 第1病日の尿道口の閉塞物

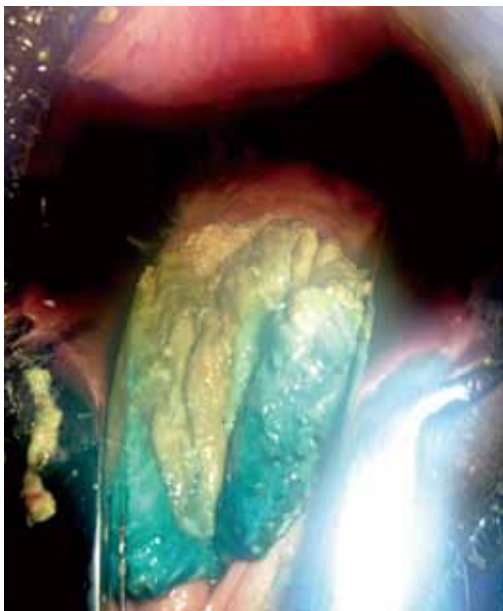


写真2 第3病日のさらに突出した閉塞物



写真3 抜去された閉塞物

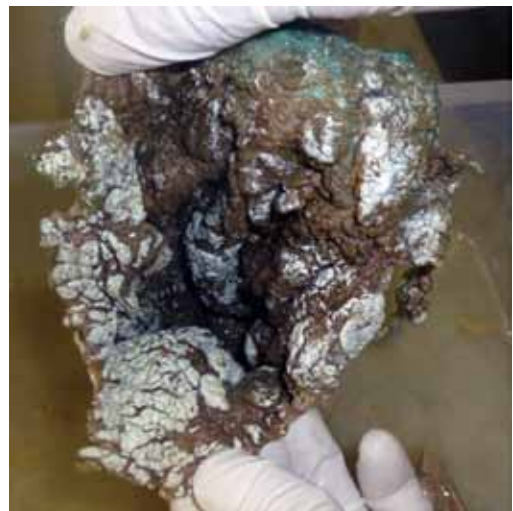


写真4 内側の石灰沈着

⑦第 27 病日 膀胱内の内視鏡検査を実施。尿道口には剥がれかけの壊死粘膜を確認したが、尿道壁は正常粘膜が確認された。膀胱内には剥離していない壊死粘膜が一部残っているが、膀胱粘膜は全体的に再生が進み正常粘膜となっているのが確認された (写真 7)。

直腸内からのエコー画像では、膀胱壁の厚みは約 0.5cm であり肥厚は改善されていた (写真 8)。偽膜の造成は認められないが、微動する剥がれかけた壊死粘膜が観察できた。

⑧第 81 病日 直腸内からのエコー画像により膀胱壁の正常化が認められたが、膀胱粘膜にはわずかな不整な部分が観察された (写真 8)。

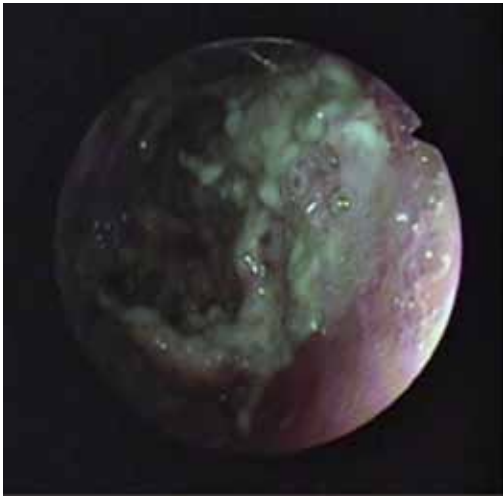


写真 5 尿道粘膜の炎症・壊死



写真 7 第 27 病日の再生された膀胱粘膜

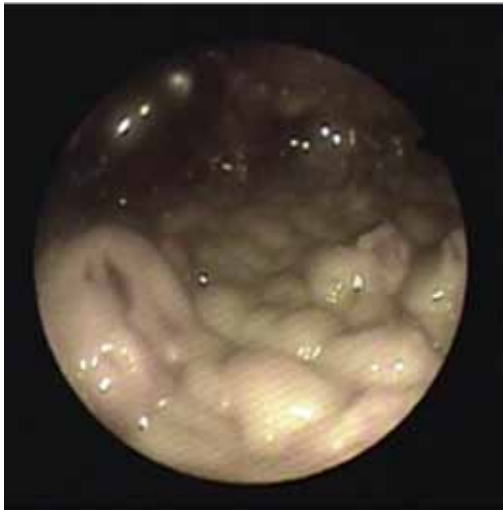


写真 6 膀胱内に造成された灰白色の偽膜

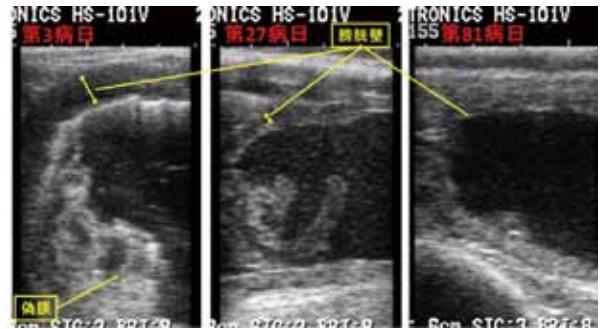


写真 8 第 3 病日・第 27 病日・第 81 病日の膀胱エコー画像

表 1 治療内容

病日	薬剤	治療	BUN濃度	Cre濃度	病日	薬剤	治療
1	アンピシリン	薬剤筋注・膀胱内注入			12	キトサン	膀胱内注入
2	セファゾリン	膀胱洗浄, 薬剤筋注・膀胱内注入	61.1mg/dl	5.6mg/dl	13	キトサン	膀胱内注入
3	セファゾリン	膀胱洗浄, 薬剤筋注・膀胱内注入	78.9mg/dl	6.5mg/dl	16	キトサン	膀胱内注入
4	セファゾリン	膀胱洗浄, 薬剤筋注・膀胱内注入	24.3mg/dl	1.2mg/dl	17	キトサン	膀胱内注入
5	セファゾリン	膀胱洗浄, 薬剤筋注・膀胱内注入	9.1mg/dl	0.7mg/dl	18	キトサン	膀胱内注入
6	セファゾリン	膀胱洗浄, 薬剤筋注・膀胱内注入			19	キトサン	膀胱内注入
7	セファゾリン	膀胱洗浄, 薬剤筋注・膀胱内注入			20	キトサン	膀胱内注入
8	セファゾリン	膀胱洗浄, 薬剤筋注・膀胱内注入			23	キトサン	膀胱内注入
9	セファゾリン	膀胱洗浄, 薬剤筋注・膀胱内注入			26	キトサン	膀胱内注入
10	セファゾリン	膀胱洗浄, 薬剤筋注・膀胱内注入			27	キトサン	膀胱内注入

まとめ及び考察

今回の、分娩 20 日後に重度膀胱炎のため尿道閉塞を発症した症例に対する治療として、初診時の尿から *Arcanobacterium pyogenes* が検出されたことから、前半は長期にわたり膀胱内と全身への抗生剤投与を行った。後半は、崩壊した膀胱粘膜の再生を目的とし、液状キトサン製剤を連日膀胱内注入した。

血中 BUN 値と CRE 値は、尿道閉塞中は高値であったが、腫瘍除去 2 日後には速やかに低下し基準値範囲内となった。

病勢鑑定の結果、腫瘍は結合組織・粘膜・粘膜筋層からなると判明し、膀胱内膜が脱落したものと考えられた。

本症例は分娩時に膀胱内への細菌感染が起り、膀胱粘膜が増殖・肥厚した後に壊死・崩壊し、最終的に膀胱壁から尿道壁の粘膜表面の大部分が脱落したことにより、尿道閉塞を起こしたと推察した。尿道の狭

窄・閉塞がさらなる細菌の増殖を招き、重度で壊死性変化が強い偽膜性膀胱炎になったと推察した。

本牛は尿道下憩室が欠損しており、そのため尿道口に外部からの感染防御構造がなく、易感染性となり、分娩時に重度の膀胱内感染を起こしたと推測した。

症状の進行が急激であり、また、治療前期に抗生剤の投与を徹底したことにより細菌の上行感染を防止できた。第27病日以降治療を行うことはなく、第81病日時点で膀胱炎は完全に治癒しており、日量30kg以上の産乳を認めるようになった。

参考文献

- 1) 河村清市ほか：獣医内科学（大動物編），日本獣医内科学アカデミー編，122-123，文永堂出版（2005）
- 2) 日本獣医病理学会編：動物病理カラーアトラス，150，文永堂出版（2007）
- 3) Usami,Y.,et al.:Chitin and chitosan induce migration of bovine polymorphonuclear cells. The journal of veterinary medical science, 56 (4), 761-762 (1994)

黒毛和種の受胎に及ぼすフルニキシメグルミンの影響

伊達麻衣子¹⁾ 平田 晴美²⁾ 大田 哲夫⁴⁾

岡本 誠³⁾ 堀 香織⁵⁾ 酒井 亮⁵⁾

(受付：平成 25 年 12 月 30 日)

Effect of Flunixin Meglumine on Conception of Japanese Black Breed of Cattle

MAIKO DATE¹⁾, HARUMI HIRATA²⁾, TETUO OTA⁴⁾,
MAKOTO OKAMOTO²⁾, KAORU HORI⁵⁾ and RYOU SAKAI⁵⁾

- 1) Shoubara Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A, 2-21-20, Nishihonmachi, Shoubara, Hiroshima 727-0013
- 2) Miyoshi Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A, 3-6-36, Toukaichi-higashi, Miyoshi, Hiroshima 728-0013
- 3) Fukuyama Branch of Fuchu Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A, 546-10, Simoyamamori, Ekiya, Fukuyama, Hiroshima 720-1143
- 4) Domestic Animal Department, Hiroshima P.F.A.M.A.A, 1-2-23, Hikari, Higasi, Hiroshima 732-0052
- 5) Yamagata Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A, 461-1, Haruki, Kita-hirosima, Yamagata, Hiroshima 731-1531

SUMMARY

The conception rate following artificial insemination in cows has declined annually. Effective conception-promoting methods for cows with conception problems have been actively investigated. In the present study, we examined the effects of a novel NSAID (flunixin meglumine) administration method on the conception rates of Japanese black cattle. As a result, the conception rates were 55, 57, and 12.5% in the flunixin, CIDR, and control groups, respectively. The conception rates with the flunixin method tended to be higher than those in the control group, and were comparable to those with the CIDR method, with which high conception rates have already been obtained. High plasma progesterone levels were maintained in the flunixin group, suggesting the strong conception-promoting effects of this method. Thus, the flunixin method is effective for

1) 広島県農業共済組合連合会 庄原家畜診療所 (〒 727-0013 広島県庄原市西本町 2-21-20)
2) 広島県農業共済組合連合会 三次家畜診療所 (〒 728-0013 三次市十日市東 3-6-36)
3) 広島県農業共済組合連合会 府中家畜診療所福山支所 (〒 720-1143 福山市駅家町下山森 546-10)
4) 広島県農業共済組合連合会 (〒 732-0052 広島市東区光町 1-2-23)
5) 広島県農業共済組合連合会 山県家畜診療所 (〒 731-1531 山県郡北広島町春木 461-1)

conception promotion through a direct mechanism of action, and should exert strong therapeutic effects when combined with other promotion methods.

— Key words: flunixin meglumine, conception promotion, prostaglandin $F_{2\alpha}$, corpus luteum maintenance

要 約

牛の人工授精受胎率は年々低下しており、受胎困難牛に対する効果的な受胎促進方法が積極的に考案されている。今回、我々は新しく考案された NSAID (フルニキシンメグルミン) 投与法の黒毛和種における受胎に対する影響を検討した。その結果、受胎率はフルニキシン群 55%、CIDR 群 57%、対照群 12.5%であり、フルニキシン法の受胎率は対照群よりも高い傾向が認められ、すでに高い効果を示すデータが多い CIDR 法と同等の受胎率が得られた。またフルニキシン群では処置後の血漿プロジェステロン濃度は高確率に維持されており、フルニキシン法の高い受胎促進作用が示された。以上よりフルニキシン法は直接的な作用機序で受胎促進を狙った現場でも有効な方法であり、他の受胎促進方法と併用することでより高い治療効果を期待できると考えられる。

— キーワード：フルニキシンメグルミン、受胎促進、プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ 、黄体維持

序 文

近年、日本では牛の分娩後初回人工授精による受胎率の低下とそれに伴う空胎日数の延長が問題となっている。現場では発情徴候の発見率が低下し、繁殖障害により治療する牛の数が増加している傾向にある。現在、繁殖障害牛に対し様々な治療方法が考案されており、特に受胎困難牛に対しては人工授精前後に積極的に処置が行われている。例えば、授精前の処置として定時人工授精を目的としたオブシンク法・シダーシンク法、授精後の処置として授精後の子宮注入、hCG やプロジェステロン投与が代表としてあげられる。しかし、実際にはこれらの処置を施しても十分な効果が得られない受胎困難牛がいるのが現状である。これらの牛に対するより効果的な方法が研究されており、近年 NSAID (フルニキシンメグルミン) がアラキドン酸カスケード内 COX 阻害作用によりプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ の産生を抑制することで受胎率を向上させるという報告がなされた¹⁾。しかし、NSAID 投与方法による報告はホルスタイン種によるもののみであり、黒毛和種での効果は明らかになっていない。そこで我々は黒毛和種において NSAID 投与が受胎にどのような効果をもたらすのかを検討することにした。すでに報告の多い CIDR 挿入法を同時に行い、本法との効果の比較を行った。これにより若干の知見を得たので報告する。

材料と方法

平成 24 年 10 月から平成 25 年 2 月までに 1 回以上の人工授精で受胎しなかった黒毛和種 26 頭を対象とし、フルニキシン群、CIDR 群及び対照群の 3 群に分け、検討を行った。試験牛の条件を揃える為、シダーシンク法による定時人工授精を条件とした。

非妊娠牛では発情後 16～18 日でオキシトシンが誘発した $PGF_{2\alpha}$ の子宮内膜からの分泌により黄体が退行する²⁾。このことからフルニキシン群では $PGF_{2\alpha}$ 分泌に先立つ授精後 14・15・16 日目をフルニキシンの投与時期として選んだ。また、今回フルニキシン法と効果を比較検討するため、CIDR 法を平行して行った。CIDR 法は黄体ホルモンの低下による早期胚死滅を防ぐことで受胎促進効果を示す方法で、高い効果を示唆する既存研究データが多く、現場でもすでに活用されている。CIDR の挿入は最も既存データで多い授精後 5～19 日で行った。さらに授精後の黄体機能の評価を行う為、すべての群で授精後 14、19 日目に採血を行い、血漿プロジェステロン濃度を測定した (図 1)。

成 績

受胎率はフルニキシン群が 11 例中 6 例受胎で 55%、CIDR 群が 7 例中 4 例受胎で 57%、対照群が 8 例中 1 例受胎で 12.5%となった。3 群の間に T 検

定 ($p < 0.05$) で有意差はなかったもののフルニキシン群及び CIDR 群の受胎率は対照群より高い傾向にあった (図 2)。血漿プロゲステロン濃度においてはフルニキシン群では 11 例中受胎牛を含む 9 例で授精後 19 日目まで濃度が維持されており, そのうち 7 例では授精後 14 日から 19 日目にかけて濃度の上昇が見られた (表 1)。CIDR 群では CIDR の作用により全例でプロゲステロン濃度が維持されていたが, 7 例中 6 例で授精後 14 日から 19 日目の間で濃度が低下していた (表 2)。対照群では受胎牛と他 1 例でプロゲステロンが維持されていた (表 3)。

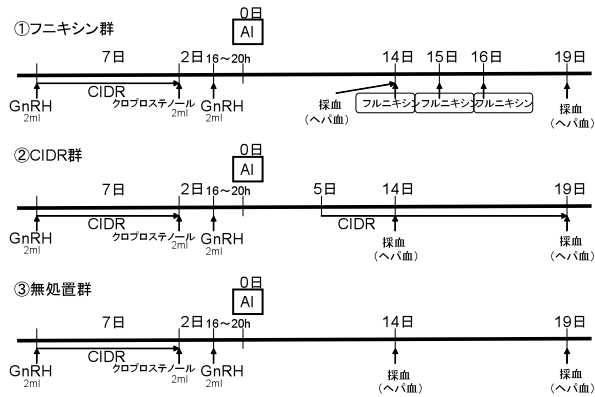


図 1 処置の行程

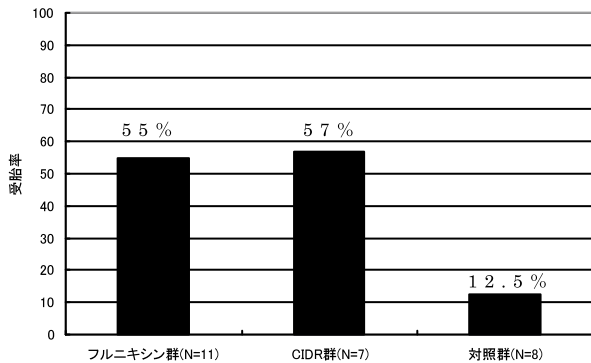


図 2 3 群の受胎率

表 1 フルニキシン群血漿プロゲステロン濃度と妊否

検体 No	14 日目	19 日目	妊否
1	1.01	0.95	+
2	1.66	1.81	+
3	1.26	1.97	+
4	1.55	2.68	+
5	1.31	1.44	+
6	2.21	2.00	+
7	1.01	1.30	-
8	2.20	2.71	-
9	2.71	2.96	-
10	1.20	0.30	-
11	2.60	0.32	-

表 2 CIDR 群血漿プロゲステロン濃度と妊否

検体 No	14 日目	19 日目	妊否
1	3.78	3.04	+
2	4.32	4.79	+
3	2.45	1.76	+
4	2.35	2.09	+
5	2.55	1.82	-
6	1.70	0.95	-
7	2.69	1.10	-

表 3 対照群血漿プロゲステロン濃度と妊否

検体 No	14 日目 P4 値	19 日目 P4 値	妊否
1	1.93	2.24	+
2	0.62	0.27	-
3	1.90	0.93	-
4	1.14	0.35	-
5	1.27	0.21	-
6	1.47	0.29	-
7	0.16	0.08	-
8	0.34	2.26	-

考 察

フルニキシン群の受胎率は対照群に比べ高い傾向にあり, その傾向は CIDR 群と同等のものであった。すでに高い効果を示すデータが多く現場でも活用されている CIDR 法と同等の効果があつたことでフルニキシン法の受胎促進作用が示された。また, 血漿プロゲステロン濃度は, CIDR 群では CIDR が挿入されているにも関わらず受胎牛を含む多くの例で授精後 14 日から 19 日目の間に低下していたのに対し, フルニキシン群では受胎牛だけでなく不受胎牛においても処置後高確率に維持又は上昇していた。この結果によりフルニキシンは処置後の黄体機能を維持する作用が高いことが示唆された。

実際, フルニキシンは CIDR に比べると価格が高い。しかし CIDR 法が人工的にプロゲステロン濃度を高めてその間の受胎を狙った方法であるのに対し, フルニキシン法は PGF_{2a} の産生を抑制することで黄体を維持するという CIDR 法とは異なる, より直接的な作用機序で受胎促進を狙った方法である。今後, フルニキシン法は CIDR 法で十分な効果が得られなかった症例にも有用であり, CIDR 法と併用することによりさらに高い治療効果を期待できる。以上のことからフルニキシン法は現場でも有効に活用できる受胎率向上の一助となる方法であると考えられる。

謝 辞

血漿プロゲステロン濃度測定に御協力頂いた広島大学磯部直樹准教授, 試供品を提供して頂いたイン

ターベツト株式会社・家畜改良事業団に深謝致します。

文 献

- 1) Guzeloglu, A., et al: *Reproduction, Fertility and Development*, 18, 183 (2006)
- 2) 大地隆温：最新家畜臨床繁殖学，山内亮一監修，朝倉書店，東京（2007）

乳牛の繁殖障害に対する 0.5%ポビドンヨードの 子宮内注入の効果

秋田 真司

(受付：平成 25 年 12 月 25 日)

Effect of 0.5% Povidone Iodine Intrauterine Infusion for Reproductive Difficulties in Milk Cows

MASASHI AKITA

Fuchu Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A. 687-3, Fukae,
Jyoge-cho, Fuchu, Hiroshima 729-3421

SUMMARY

Povidone-iodine has strong bactericidal activity and cytotoxicity, and may cause endometriosis when infused into the uterus. In the present study, commercial 2.0% povidone-iodine was diluted to 0.5% to reduce cytotoxicity, and was applied to treat reproductive disorders in dairy cattle. An injection test after artificial insemination for conception promotion demonstrated a higher conception rate in the 0.5% povidone-iodine group than in the 2.0% povidone-iodine and antibiotic groups. In an endometritis treatment test, the 0.5% povidone-iodine group showed the same effects as those of the 2.0% povidone-iodine, antibiotic, and 50% glucose groups. Reproductive disorder treatment test results and pain-relieving effects demonstrated that 0.5% povidone-iodine was effective for reproductive disorders, particularly conception promotion by injection after artificial insemination.

— Key words: 0.5% povidone iodine, intrauterine infusion after artificial insemination,
cytotoxicity of povidone iodine

要 約

ポビドンヨードの殺菌力は強いが、細胞毒性も強いため、子宮内注入を行った場合に子宮内膜に障害を起こすことがあるといわれている。本研究では細胞毒性を抑えるために市販の2.0%ポビドンヨードを0.5%に希釈して乳牛の繁殖障害に応用した。受胎促進のための人工授精後注入試験では0.5%ポビドンヨード群が2.0%ポビドンヨード群と抗生物質群に比べて受胎率が高かった。子宮内膜炎治療試験では、0.5%ポビドンヨード群は2.0%ポビドンヨード群、抗生物質群、50% Glucose 群と同等の効果が見られた。繁殖障害治療試験結果と疼痛軽減効果から0.5%ポビドンヨードは繁殖障害、特に人工授精後注入による受胎促進に有効であると考えられた。

—キーワード：0.5%ポビドンヨード，人工授精後子宮内薬液注入，
ポビドンヨード細胞毒性

序 文

乳牛の受胎率低下が問題視されてから様々な治療方法が報告されてきている。携帯型超音波画像診断装置の発達に伴い、後期胚死滅に対しては臨床現場で徐々に対応してきている¹⁾。前期胚死滅については臨床上判断が困難で、その可能性が疑われた場合に様々な方法が試されてきた。その1因である乳牛の子宮内膜炎の治療は、子宮内薬液注入を主体として行われている。乳牛においては生乳の出荷制限のため、注入薬剤は抗生物質よりも高張ブドウ糖液やポビドンヨード（以下PI）剤を選択することが多い。しかし、PIの子宮内注入の評価は分かれており、効果無しとする報告²⁾や子宮内膜への悪影響を懸念する報告³⁾もある。PIの殺菌力は遊離ヨウ素濃度に比例するが、細胞毒性はPI濃度が0.01%でも残存しているといわれている（表1）。実際にPIを子宮内に注入した場合、注入後に牛が尾を挙上し、疼痛を示すことが多々ある。細胞毒性が低く、遊離ヨウ素濃度が最も高い、つまり殺菌力の最も高い濃度の0.1%を選択すべきであるが、本研究では子宮内に存在する粘液などの夾雑物による殺菌力の減弱を考慮して、従来の2.0%PIよりも刺激の低い0.5%PIを用いた。低刺激性の0.5%PI剤を繁殖障害治療に応用し、その効果を確認したので報告する。



写真1 2.0%PI子宮内注入後に疼痛を示して尾を挙上する乳牛

材料及び方法

1. 供試薬剤：0.5%PIは市販の2.0%PI 15mlに生理食塩水45mlを加えて60mlとし、2.0%PIは市販の製剤50mlを用いた。抗生物質は市販の子宮注入用アンピシリンまたはカナマイシン500mg、50%GlucoseはB1加50%ブドウ糖液50mlを用いた。
2. 試験期間：2012年3月から2013年3月
3. 試験対象：山県及び東広島家畜診療所で繁殖検診と人工授精（以下AI）を実施している酪農家のホルスタイン種経産牛。調査方法：繁殖カルテから子宮内薬液注入を実施した個体の状況、人工授精台帳からAI実施と受胎状況を調査した。3試験の実施前にあらかじめ0.5%と2.0%のPI子宮内注入が牛にどの程度の疼痛を示すか調査した。2.0%PI子宮内注入が10頭中4頭に尾挙上などの疼痛を示したのに対し、0.5%PIは10頭中1頭のみであり、その刺激性が低

表1 ポビドンヨードの殺菌力と細胞毒性

PI濃度	細胞毒性	殺菌力	遊離ヨウ素濃度
10%	+++	+	2ppm
1%	+++	+	10ppm
0.1%	++	++	25ppm
0.01%	+	-	10ppm

岩沢 篤他による

いことを確かめた。

試験1 (AI翌日のPI子宮注入後のプロジェステロン濃度に対する影響調査) : AI後に0.5%及び2.0%PIを各々3頭に子宮内注入し, AI後15日までの血中プロジェステロン(以下P₄)濃度を経時的に測定した。

試験2 (人工授精後子宮内薬液注入試験; 受胎促進試験) : リピードブリーダーの個体に対してAI翌日に排卵確認と0.5%PI, 2.0%PIまたは抗生物質の子宮内薬液注入を行った。AIの前14日以内とAI後にホルモン剤処置がないことを条件とした。子宮内薬液注入をした薬剤によって0.5%PI群, 2.0%PI群, 抗生物質群の3群に区分けした。

試験3 (子宮内膜炎治療試験) : 子宮内膜炎に対して子宮内薬液注入を行い, AI可能な発情回帰の有無を調査した。子宮内注入後3週間以内に繁殖障害治療が無いことを条件とし, 注入した薬剤によって0.5%PI群, 2.0%PI群, 抗生物質群及び50%Glucose群の4群に区分けした。

成績

試験1 (PI子宮注入後のP₄に対する影響調査) : 薬剤注入後の血中P₄は0.5%PI群の3頭全てと2.0%PI群3頭中2頭がAI後8日目で0.8ng/ml以上となり, 15日目まで上昇した。2.0%PI群の1頭はP₄が

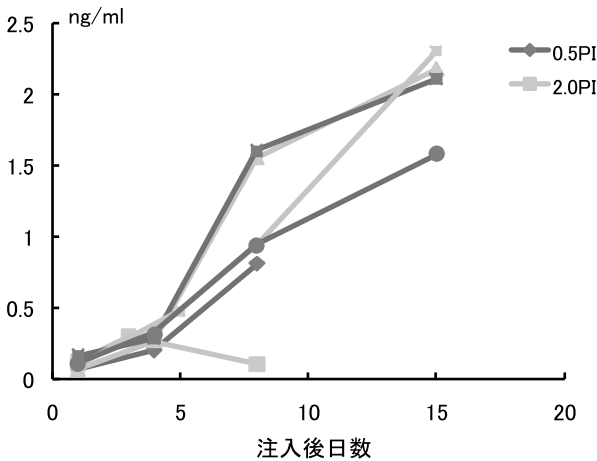


図1 PIのAI後注入におけるP₄濃度の推移

全く上昇しなかった(図1)。

試験2 (AI後子宮内薬液注入試験) : 供試牛は0.5%PI群が19頭, 2.0%PI群14頭及び抗生物質群20頭であった(表2)。各群の平均産次数, 平均分娩後日数及び平均AI回数はそれぞれ0.5%PI群で2.9産, 219.9日及び3.6回, 2.0%PI群で2.0産, 187.2日及び4.1回, 抗生物質群で2.6産, 275.6日及び5.1回であった。受胎率は0.5%PI群で47.4%, 2.0%PI群35.7%及び抗生物質群30.0%であった(図2-5)。

試験3 (子宮内膜炎治療試験) : 供試牛は0.5%PI

群が37頭, 2.0%PI群127頭, 抗生物質群7頭, 50%Glucose群16頭だった(表3)。各群の平均産次数と平均分娩後日数はそれぞれ0.5%PI群で3.2と166.2日, 2.0%PI群で3.3と173.4日, 抗生物質群で3.1と227.6日, 50%Glucose群で3.1と104.3日であった。処置後のAI可能な発情回帰率とその受胎率は0.5%PI群で35.1%と8.1%, 2.0%PI群で33.9%と13.4%, 抗生物質群で31.3%と14.0%, 50%Glucose群で42.9%と14.3%であった。50%Glucose群は分娩後比較的早い時期に子宮注入されており, 検体数は少ないが発情回帰率が高い傾向を示した(図6-8)。

表2 AI後注入試験の結果

群	サンプル数	受胎率
0.5%PI	19	47.4%
2.0%PI	14	35.7%
抗生物質	20	30.0%

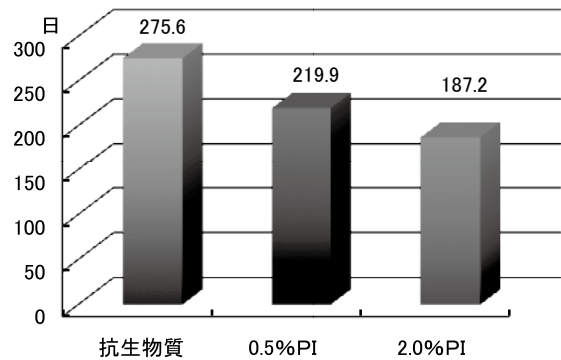


図2 AI後子宮注入試験における薬剤別平均分娩後日数

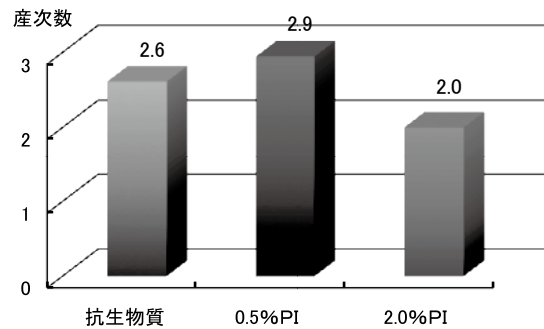


図3 AI後子宮内注入試験における薬剤別平均産次数

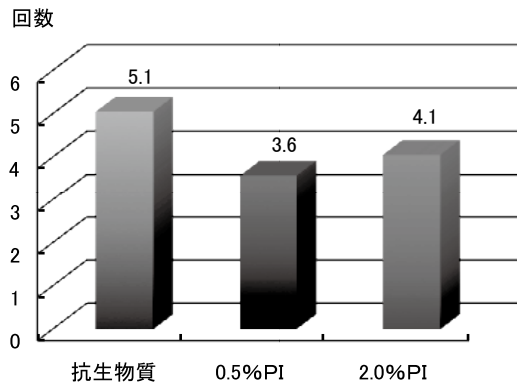


図4 AI後子宮注入試験における平均AI回数

表3 子宮内膜炎治療試験の結果

群	サンプル数	発情回帰率
0.5% PI	37	35.1%
2.0% PI	127	33.9%
抗生物質	16	42.9%
50% Glucose	7	31.3%

考 察

PI 子宮注入後の P₄ に対する影響調査において 0.5% PI 注入後の P₄ が AI 後 15 日まで上昇したことから、0.5% PI は子宮に悪影響がないと考えられた。これまで常用してきた 2.0% PI に比べ、0.5% PI は疼痛が無く、低刺激性が確認された。このことは 0.5% PI の最大の利点と考えられた。一方、2.0% PI を注入した 3 頭のうち 1 頭は P₄ が全く上昇せず、高濃度 PI による子宮内膜への悪影響の可能性が示唆された。このことは中尾らが述べているように従来から使用されている 2.0% PI の細胞毒性が高い³⁾と推察された。AI 後注入試験において、受胎率が 0.5% PI 群は抗生物質群に比べて有意に高く、2.0% PI 群に比較しても高い傾向を示した。これは岡部が報告した 0.5% PI 注入が 1 酪農場で繁殖成績を向上させたという報告⁴⁾とも一致した。子宮内膜炎治療試験では 0.5% PI 群は AI 可能な発情回帰において他の群と同等の成績を認めた。試験 2 で 0.5% PI の有効性が認められたのに対して、試験 3 では 0.5% PI は 2.0% PI と差が無かった。これは子宮内膜炎を発症している子宮内には通常よりも多くの夾雑物が存在したことでポビドンヨードがより多く結合し、細胞毒性も減弱した結果であると推察された。また、抗生物質注入が受胎促進試験と子宮内膜炎治療試験において有効な結果を認めなかったことは、殺菌することだけが繁殖に好影響を及ぼすとは限らないと考えられた。今後は子宮内膜への栄養や刺激についても検討していく必要があると考えられた。本研究の治療試験の結果から、また、ペインコントロールの観点からも 0.5% ポビドンヨード剤は繁殖障害治療、特に AI 後子宮注入による受胎促進効果に有効であると考えられた。

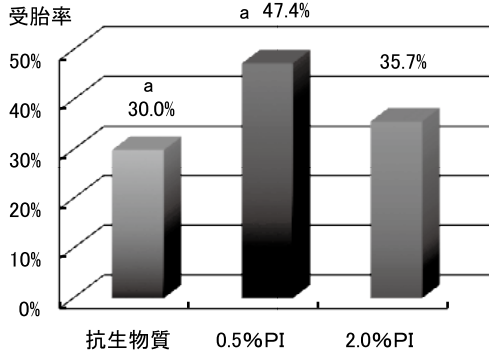


図5 AI 後子宮注入試験における薬剤別受胎率
a: p<0.05

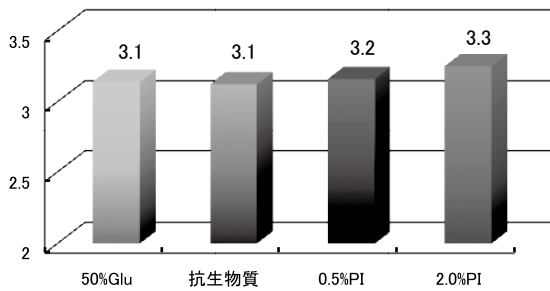


図6 子宮内膜炎治療試験における薬剤別平均産次数

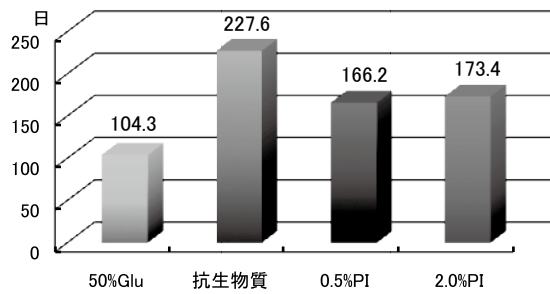


図7 子宮内膜炎治療試験における薬剤別平均分娩後日数

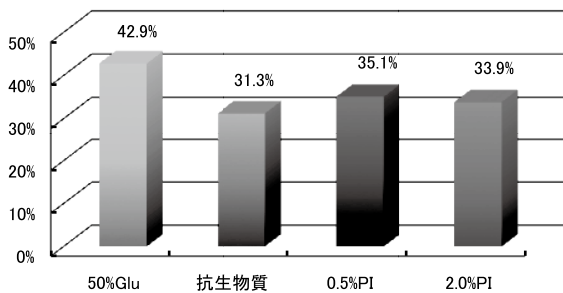


図8 子宮内膜炎治療試験における薬剤別の子宮注入後 21 日以内の発情回帰率

謝 辞

プロゲステロン測定ならびに助言をいただいた広島大学生物生産学部 磯部直樹准教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 秋田真司：ホルスタイン種における後期胚死滅の発生状況とプロゲステロン製剤による防止効果，広島県獣医学会雑誌，26，7-10 (2011)
- 2) 金子一幸：低受胎牛に対する 2% ポビドンヨード溶液の子宮内注入効果について，家畜診療，307 (1)，43-45 (1989)
- 3) 中尾敏彦：生産獣医療における牛の生産病の実際，152-158，文永堂出版株式会社，東京，(2000)
- 4) 岡部卓馬：管内 1 酪農場における人工授精後の 0.5% ポビドンヨード子宮内注入の効果，紫葉，55，33-37 (2010)

肉用鶏農場における伝染性喉頭気管炎の発生事例

中光 務¹⁾ 部屋 智子²⁾ 佐々木栄美子¹⁾

藤田 敦子²⁾ 清水 和²⁾

(受付：平成 26 年 2 月 12 日)

Outbreak of infectious laryngotracheitis in a meat-type chicken farm

TSUTOMU NAKAMITSU¹⁾, TOMOKO HEYA²⁾, EMIKO SASAKI¹⁾,
ATSUKO FUJITA²⁾ and MADOKA SHIMIZU²⁾

- 1) Eastern Center of Livestock Hygiene Service, Hiroshima Prefecture 1-1-1, Miyoshi-cho, Fukuyama, Hiroshima 720-8511
- 2) Western Center of Livestock Hygiene Service, Hiroshima Prefecture 1-15, Saijogojo-cho, Higashi-hiroshima, Hiroshima 739-0013

SUMMARY

In early June 2012, unusual vocalizations, coughing, and increased deaths were noted in chickens (48-day-old female chickens) in one poultry house in a meat-type chicken farm. Subsequently, similar symptoms spread throughout all poultry houses. Pathologically, the tracheal mucosae were bleeding, blood-like exudates accumulated in the tracheae, and syncytia and intranuclear inclusion bodies formed in tracheal mucosal epithelial cells. Infectious laryngotracheitis (ILT) virus-specific genes were detected by PCR in the lungs and tracheae in six of seven chickens. ILT virus was isolated in three of the six chickens. Restriction fragment length polymorphism analysis demonstrated that the digestion patterns of the isolated viruses were different from those of vaccine strains. Thus, the chickens were diagnosed with infectious laryngotracheitis due to a field ILT virus strain. Subsequently, the relevant organizations took the following measures: (1) daily spray disinfection of poultry houses, (2) increase in management personnel, isolation of poultry houses, and installation of dedicated protective clothing in each poultry house, (3) tightening health checks of shipped chickens and prevention of contact with other farms, and (4) disinfection of poultry houses after shipment and strict feeding and hygiene management. No ILT occurred in chickens introduced from late June.

— Key words: infectious laryngotracheitis, meat-type chicken farm, restriction fragment length polymorphism analysis, feeding and hygiene management criteria

1) 広島県東部家畜保健衛生所 (〒 720-8511 広島県福山市三吉町一丁目 1-1)
2) 広島県西部家畜保健衛生所 (〒 739-0013 広島県東広島市西条御条町 1-15)

要 約

平成 24 年 6 月初旬、肉用鶏農場の 1 鶏舎において、飼養する鶏（48 日齢、雌）に奇声、発咳及び死亡羽数の増加が認められ、その後同様の症状は、全ての鶏舎へまん延した。病性鑑定を実施した結果、病理学的検査では、気管粘膜の出血及び気管内へ血様滲出物が貯留し、気管粘膜上皮細胞に合胞体形成及び核内封入体が確認された。PCR 法により 7 羽中 6 羽の肺、気管から伝染性喉頭気管炎（ILT）ウイルスに特異的な遺伝子が検出され、うち 3 羽から ILT ウイルスが分離された。分離ウイルスは制限酵素断片長多型解析によりワクチン株とは異なる切断パターンが示された。以上の成績から今回の発生を ILT ウイルス野外株によるものと診断した。診断後、関係機関により対策を協議し、①鶏舎内噴霧消毒を毎日実施、②管理者の増員と鶏舎の固定化、各鶏舎専用防護服等の設置、③出荷鶏の健康確認の厳格化と他農場との接触防止、④出荷後の鶏舎消毒を指導し、飼養衛生管理の徹底を図った。6 月下旬以降に導入した鶏に ILT の発生は認められなかった。

——キーワード：伝染性喉頭気管炎、肉用鶏農場、制限酵素断片長多型解析、飼養衛生管理基準

序 文

伝染性喉頭気管炎（ILT）は、呼吸器症状を呈する鶏の届出伝染病であり、ヘルペスウイルス科に属する ILT ウイルスによって引き起こされる。ILT ウイルスは鶏群での伝播速度は比較的遅いが、一度農場内に侵入すると常在化するため、清浄化まで長期間を要すると言われている¹⁾。平成 24 年 6 月、管内の肉用鶏農場において、広島県で 13 年ぶりとなる ILT の発生が認められたので、その概要を報告する。

発 生 概 要

1. 発生農場の概要

発生農場は 149,000 羽を飼養する肉用鶏農場で、開放式平飼鶏舎（以下 A 鶏舎）12 棟と無窓式平飼鶏舎（以下 B 鶏舎）の各 12 棟が設置され、1 鶏舎あたり 6,000～7,000 羽を飼養している。農場出入口には消毒ゲートが 1ヶ所設置されている。また、鶏舎毎に、初生雛を 0 日齢で導入し 45～55 日齢で出荷している。

2. 発生状況

平成 24 年 6 月 3 日、A 鶏舎 1 棟の死亡羽数が増加し、2 日後には死亡羽数が過去 21 日の平均死亡羽数の 3 倍となったことから、家畜保健衛生所へ通報があった。農場へ立入りし、鳥インフルエンザについて簡易検査で陰性を確認した後、同鶏舎において奇声を発する鶏が認められ、気管スワブに血痰が確認された

ことから ILT を疑い、病性鑑定を実施した。

材料及び方法

1. 材料

平成 24 年 6 月 5 日に採材の生鶏 3 羽（48 日齢）、6 月 19 日に採材の生鶏 4 羽（41、58 日齢）及び 7 月 2 日に採材の死亡鶏 6 羽（38、41、44 日齢）を検査材料とした。

2. 方法

1) 疫学調査

農家から、発生状況、臨床症状、ワクチン接種状況等の聞き取り調査を実施した。

2) 病性鑑定

i) 病理学的検査：主要臓器を 20% 中性緩衝ホルマリンで固定後、常法に従いパラフィン包埋切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色（HE 染色）を行った。また、迅速診断法として、気管粘膜の塗抹標本を Gendre 液で固定し HE 染色を行った。

ii) 細菌学的検査：脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、肺の乳剤を 5% 羊血液加寒天培地、DHL 寒天培地を用いて培養をした。培養条件は、5% 羊血液加寒天培地で 37℃、24 時間、好気培養、DHL 寒天培地で 37℃、48 時間、嫌気培養とした。

iii) ウイルス学的検査：気管および肺の乳剤を用いて、Alexander ら²⁾の方法により ILT ウイルスに特異的な遺伝子の検出を実施した。また、気管、肺及び腎臓の 10% 乳剤を作成し、初代鶏腎（CK）細胞及び

発育鶏卵の尿腔内接種によりウイルス分離を行った。分離ウイルスについては、ILTのTK、TK II及びICP4遺伝子を標的として、特異的なプライマーを用いて各領域の遺伝子を増幅した。その増幅産物を3種類の制限酵素 (*Msp* I, *Hae* III, *Hha* I) で切断し、遺伝子の切断パターンをワクチン株と比較した (RFLP解析)³⁾。インフルエンザウイルスについては、気管スワブを用いて、ニワトリ用インフルエンザ迅速診断キット (エスプラインAインフルエンザ, 富士レジオ株) による検査を実施した。

成 績

1. 疫学調査

初発生鶏舎以外の鶏舎では、6月13日にA鶏舎3棟で、6月15日にB鶏舎の1棟で同様の症例が確認された (図1)。以降、初発から約1ヶ月の間に、全24鶏舎のうち19鶏舎で同様の症状を認めた。

農場では鶏舎毎で日齢を管理、飼養していたが、死亡日齢の羽数を比較すると、35日齢以降に死亡羽数の上昇が認められた (図2)。なお、雄については雌に比べて出荷日齢が早いので、47日齢以降については比較できないが、総体的に雌の死亡羽数が多く認められた。また死亡羽数を鶏舎別に比較すると、A鶏舎

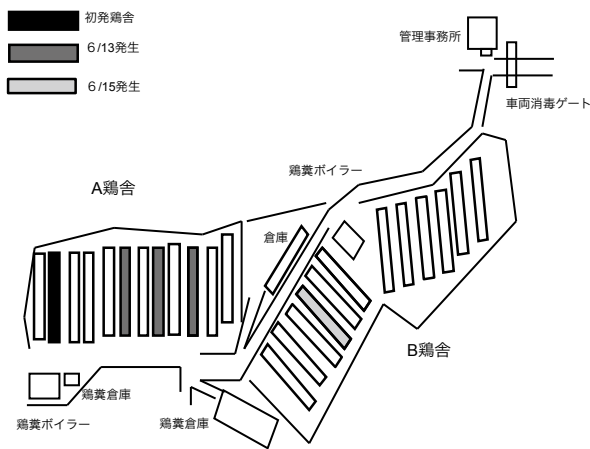


図1 農場配置図

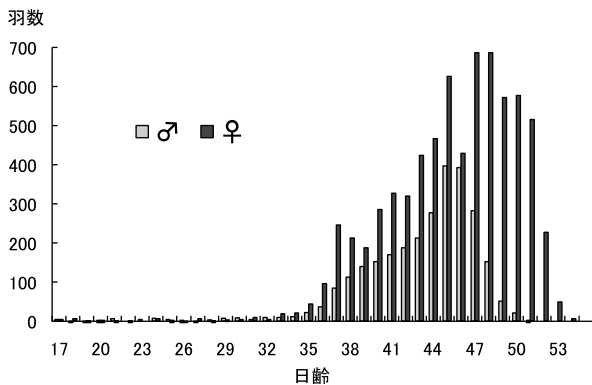


図2 日齢別 死亡羽数 (性別)

とB鶏舎の収容羽数は、ほぼ同規模であったが、A鶏舎3,572羽の死亡に対し、B鶏舎の死亡羽数6,316羽と約2倍の死亡羽数が確認された (図3)。

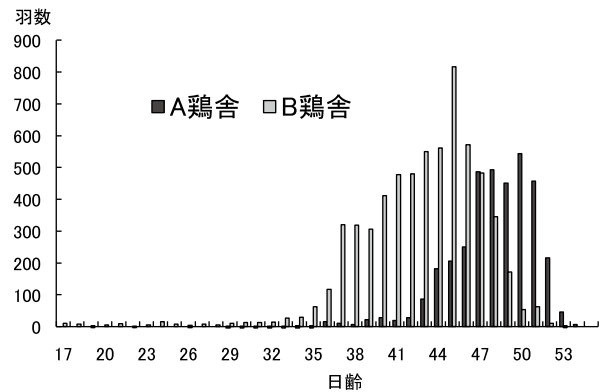


図3 日齢別 死亡羽数 (鶏舎別)

農場におけるワクチンプログラムは、14日齢に伝染性ファブリキウス嚢病及びニューカッスル病のワクチンを飲水投与していた。

2. 病性鑑定

1) 病理解剖学的検査: 全検体とも外貌には異常を認めなかった。剖検所見では気管粘膜に出血 (13/13羽) 及び、気管内へ血様滲出物が貯留し (13/13羽)、喉頭に粘液増量 (1/13羽) を認めた (図4)。



図4 気管内血様滲出物貯留

2) 病理組織学的検査: 肺の二次気管支から傍気管支粘膜には、粘膜上皮細胞の合胞体及び核内封入体の形成が認められ (図5, 6)、気管支腔内には剥離した合胞体、上皮細胞、マクロファージ、偽好酸球及び出血を認めた (12/13羽)。

3) 細菌学的検査: 全羽で有意菌は認められなかった。

4) ウイルス学的検査: 気管において7羽中6羽、肺で3羽中2羽からILTウイルスに特異的な遺伝子が検出された。気管及び肺の乳剤を接種したCK細胞において7羽中3羽でシンシチウム形成を伴う細胞

変性効果を認めた。この培養上清を材料とし、PCR法により分離ウイルスをILTウイルスと同定した。なお、発育鶏卵尿腔内への気管乳剤の接種では、分離陰性であった(表1)。検体4の気管から分離されたウイルスをRFLP解析したところ、検索した全ての標的遺伝子のRFLPパターンが既存のワクチン株とは一致しなかったため、今回分離されたILTウイルスは野外株と判定した(表2)。また、インフルエンザ迅速診断キットでは、全羽陰性であった。

防疫対策及び衛生指導

検査結果の判明後、農家、管理獣医師及び家畜保健衛生所の三者により対策を協議し、場内消毒の徹底、飼養管理の改善及び出荷方法の検討を行った。

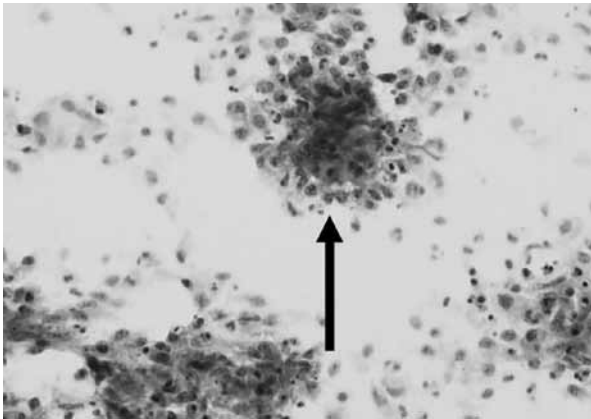


図5 気管支粘膜上皮細胞の合胞体形成

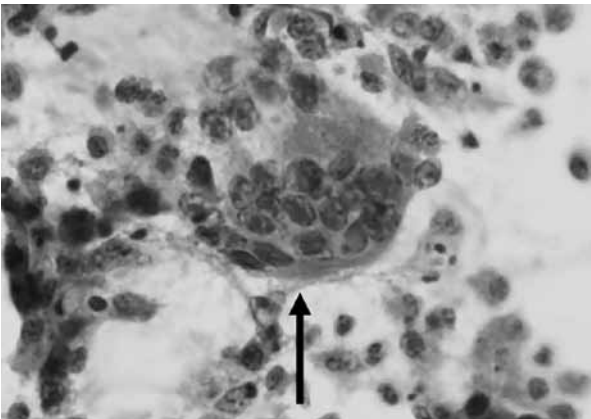


図6 気管支粘膜上皮細胞の核内封入体

表1 病理及びウイルス学的検査

検体No.	病理組織学的検査				ウイルス学的検査		
	合胞体, 核内封入体				PCR		ウイルス分離
	肺	喉頭, 気管	鼻腔		肺	気管	肺, 気管
1	+	-	+	-	+	-	
2	+	-	+	+	+	-	
3	+	-	+	+	+	-	
4	+	-	+	NT	+	+	
5	+	+	+	NT	+	+	
6	-	+	+	NT	-	-	
7	+	-	+	NT	+	+	

表2 制限酵素断片長多型解析結果

標的遺伝子	制限酵素	分離ウイルス	ワクチン株				標準株	
			CE	エルティパックス	SPL	C7	NS-175	
TK	<i>Msp</i> I	A	A	A	B	B	B	
	<i>Hae</i> III	A	A	A	B	B	B	
	<i>Hha</i> I	A	A	A	A	A	A	
TK II	<i>Msp</i> I	A	A	A	B	B	B	
	<i>Hae</i> III	A	A	A	B	B	B	
	<i>Hha</i> I	A	A	A	A	A	A	
ICP4	<i>Msp</i> I	A	C	C	B	A	A	
	<i>Hae</i> III	A	A	A	B	C	C	
	<i>Hha</i> I	A	A	A	B	C	D	

1. 場内消毒の徹底

ILT発生以降、緊急消毒として場内の敷地に消石灰を散布し、鶏舎周囲及び空気口への逆性石けんによる消毒を実施した。特に排気口周辺の消毒を重点的に実施し、塵芥除去を徹底した。鶏体消毒は、休業期間のないヨード系消毒薬を用いて毎日実施した。飲水は、水道水を貯留する200Lタンクに70%塩素を添加し、二次感染の予防を行った。車両消毒については、消毒ゲートに使用する逆性石けんの濃度が正確に500倍となるよう調整し、消毒液が車両全体に噴霧されるように水量を再設定した。

出荷後の鶏舎は、敷料を含めて綿密に除糞し、次回の入雛までに苛性ソーダ、逆性石けん、ヨード系消毒薬、消石灰、ゾール剤、アルデヒド系消毒薬を用法上の最高濃度により順次消毒を行った。また、ILT発生前は床のみを消毒していたが、指導により壁も床と同様な方法で実施した。

また、発生前は鶏糞及び敷料を堆肥舎に集積後、ボイラーで焼却していたが、指導後には鶏舎内で消石灰と混合し、逆性石けんを噴霧した後に堆肥舎へ移送、堆肥舎で消石灰を再度混合のうえ、ブルーシートで被覆し順次ボイラーで焼却することとした(図7)。



図7 鶏糞処理

2. 飼養管理の改善

発生前は2名の管理者が全鶏舎を管理していた。各鶏舎専用の長靴は設置していたが、衣服の交換は行われていなかった。指導後は、管理者を4名に増員し、管理する鶏舎を固定化、各鶏舎専用の着衣を設置し、鶏舎入口には逆性石けん、オルソ剤及び消石灰の3種類の踏込み消毒槽を設置した。

発生前、死亡鶏の処理は鶏舎の前室に集積し出荷トラックで運搬していたが、指導後は農場専用の金属箱に詰め、消毒実施後、死亡鶏処理会社のトラックにより処理場へ運搬する方式とした。

3. 出荷方法の検討

臨床症状を認めた鶏については早期に淘汰し、食鳥処理場へのお荷にあたっては、健康な鶏のみ出荷することを徹底した。鶏舎内の鶏体への消毒は毎日実施したが、出荷時にも出荷用ケージの上から噴霧消毒を実施した。

食鳥処理場の搬入は、他農家への感染拡大防止対策として、農場専用ケージ使用を徹底し、他農家のトラックが退場した後に当農家の鶏を搬入、処理場から場外へ退場する前に敷地内にて再度消毒を徹底した。

まとめ及び考察

今回分離されたILTウイルスは、ワクチン株と異なるRFLP切断パターンを示したことから野外株と考えた。この切断パターンは平成17～19年に九州地方で分離された株と同一であったが³⁾、今回の調査ではILTウイルスが、どのような経路で農場内に侵入したか特定することはできなかった。

また、発生状況を調査したところ、無窓式のB鶏舎において死亡が多く認められたのは、開放式のA鶏舎と比較して気密性が高く、ILTウイルスが侵入すると鶏舎内にまん延しやすい状況であったためと考えられた。

今回の発生の対策後、新たに導入したロットにはILTの発生は認められていない。これは、肉用鶏であったためオールアウト後に、鶏舎の床等に出来たひび割れに入り込んだ敷料等を徹底的に除去し、更に複数の消毒薬の使用並びに消石灰による封じ込めによって環境中に残存するILTウイルスの撲滅を図ることができたと考えられた。

また、通常、ILTは冬季に発生するが、今回の発生が6月であり、気候的にも寒冷ストレスがなかったため、早期終息が可能であったと考えられた。

通常、一度ILTが発生した農場ではILTウイルスが常在化しやすく、清浄化までかなりの期間を要する。しかし、今回、ワクチンを使用せず終息できたこと、また、他農場へのまん延防止が図られたことは、農場での定期的な消毒及び衛生管理の徹底が、効果的

であったと推察された。また、再発防止として、飼養衛生管理基準を遵守し、これを維持することが重要と考えられた。

謝 辞

制限酵素断片長多型解析検査にご協力頂いた財団法人化学及血清療法研究所の諸先生方に深謝致します。

文 献

- 1) 井上俊郎：鳥の病気，鶏病研究会編，第6版，22-25，創文印刷，東京（2006）
- 2) Alexander, H. S. and Nagy, E.: Polymerase chain reaction to detect infectious laryngotracheitis virus in conjunctival swabs from experimentally infected chickens, *Avian Dis*, 41, 646-653 (1997)
- 3) 山崎憲一ほか：2005～2008年に九州5県の鶏伝染性喉頭気管炎（ILT）発症鶏から分離されたILTウイルスの性状，鶏病研究報告，46（2），100-106（2010）

伝染性喉頭気管炎と伝染性気管支炎の同時検出法の検討

桑山 勝 清水 和

(受付：平成 25 年 12 月 15 日)

Development of one-step multiplex reverse transcription PCR for simultaneous detection of infectious laryngotracheitis and infectious bronchitis

MASARU KUWAYAMA and MADOKA SHIMIZU

Western Center for Livestock Hygiene Service 1-15, Saijogojo-cho, Higashi-
hiroshima, Hiroshima, 739-0013

SUMMARY

Infectious bronchitis virus (IBV, RNA virus) and avian infectious laryngotracheitis virus (ILT, DNA virus) were simultaneously detected using an extraction kit and reverse transcription (RT-) multiplex (multi-) PCR. Nucleic acid was extracted using the QIAamp viral RNA Mini Kit. The amounts of extracted DNA and RNA were comparable with those extracted using a DNA extraction kit. The detection sensitivity of RT multi-PCR was comparable with or about 10 times lower than that of monoplex (mono) PCR for both IBV and ILTV. The amplified products showed a difference of less than 50 bp in length between IBV and ILTV, and could be easily separated on a >2% gel.

— Key words: DNA virus, RNA virus, multiplex PCR, infectious laryngotracheitis, infectious laryngotracheobronchitis

要 約

RNA ウイルスである伝染性気管支炎ウイルス (IBV) と、DNA ウイルスである鶏伝染性喉頭気管支炎ウイルス (ILTV) の同一抽出キット及び逆転写 (RT-) マルチプレックス (マルチ) PCR 法による同時検出法を検討した。核酸抽出に QIAamp viral RNA Mini Kit を用いたところ RNA に加えて ILTV の DNA 抽出量も DNA 抽出キットを用いた場合とほぼ同等であった。また、RT- マルチ PCR 法の検出感度は、IBV 及び ILTV とともにモノプレックス (モノ) PCR 法と比較し同等か 10 倍程度低かった。今回の増幅産物は IBV と ILTV の 50bp 足らずの違いしかなかったが、ゲル濃度を 2% 以上にすることによりこれらの増幅産物の区別は容易となった。

—キーワード：DNA ウイルス，RNA ウイルス，マルチプレックス PCR 法，
伝染性喉頭気管支炎，伝染性喉頭気管支炎

はじめに

平成 24 年と 25 年に伝染性喉頭気管支炎 (ILT) が各 2 農場で発生した。平成 24 年の発生は 2 農場とも奇声や血痰など典型的な ILT の症状が認められた^{1, 2)} のに対して、平成 25 年の 2 農場では、明瞭な臨床症状を示さず突然死を認めるのみだった (未発表)。また、平成 23 年には、死亡率の上昇に伴う病性鑑定で、大腸菌症と診断した鶏から伝染性気管支炎ウイルス (IBV) が分離されたが³⁾、他県でも同様に死亡率の上昇に伴う病性鑑定で IBV 検出事例が報告されている⁴⁾。これらのことから、死亡率の上昇に伴う鶏の病性鑑定依頼があった場合には、両ウイルスを視野に入れた検査が必要であると考えられた。

ILT ウイルス (ILTV) は DNA ウイルス (DNAV)、IBV は RNA ウイルス (RNAV) であり、PCR 法で両ウイルスの遺伝子検出を実施する場合には、通常同じ検体から DNA と RNA それぞれ専用の核酸抽出試薬を用いて核酸抽出を行い、PCR 反応も別々に実施している。そこで今回、我々は核酸の異なる ILTV と IBV を同じ抽出キットで核酸抽出を行い、サーマルサイクラー 1 台により RT- マルチプレックス (マルチ) PCR 法で同一条件での遺伝子増幅による検出を検討したのでその概要を報告する。

材料と方法

1. ウイルス株：ILTV は NS-175 株、IBV は H-120 株で、ウイルス力価はともに 10^6 TCID₅₀/mL のものを使用した。
2. 陽性検体 (陽性模擬検体)：PCR 法で ILTV が検出された鶏気管乳剤 5 検体 (平成 25 年発生事例)、IBV は陽性検体がなかったため ILTV と IBV が陰

性の鶏気管乳剤に IBV H-120 株を最終ウイルス力価 10^5 TCID₅₀/mL を添加したものの 3 検体を模擬陽性検体として使用した。

3. 核酸抽出キット：QIAamp viral RNA Mini Kit (RNA 抽出キット、キアゲン) と QIAamp DNA Mini Kit (DNA 抽出キット、キアゲン) により、説明書どおりの抽出を実施した。なお、どちらのキットの説明書にも DNA と RNA の両方が回収できると記載されている。
4. 遺伝子増幅キット：RT-PCR 法及び RT- マルチ PCR 法は 1 チューブで RT と遺伝子増幅ができる EZ rTth RNA PCR 法 Kit (Roche) を、PCR 法は TaKaRa Ex Taq (タカラバイオ) を使用した。
5. プライマー：ILTV は Alexander らが報告⁵⁾ したものを、IBV は Lin らが報告⁶⁾ し、Mase らが改良⁷⁾ したものを使用した。
6. 遺伝子増幅条件：ILTV の PCR 反応は熱変性を 94℃ 30 秒、アニーリング反応は 55℃ 30 秒、伸長反応は 72℃ 1 分で行い、これを 35 回実施した。IBV の RT-PCR 反応は逆転写反応を 60℃ 30 分、94℃ 10 分実施した後、熱変性反応は 94℃ 30 秒、アニーリング反応は 50℃ 30 秒、伸長反応は 72℃ 1 分で行い、これを 35 回実施した。また、RT マルチ PCR 反応は ILTV と IBV の反応条件から IBV の方が ILT に比べてアニーリング反応温度が低かったため、IBV の反応条件で実施した。
7. 電気泳動：増幅産物の確認は、アガロースゲル電気泳動で実施した。ゲル濃度は通常 1.5% で行い、ゲル濃度の検討は 1.5、2 及び 3% で実施した。

成 績

1. 核酸抽出キットの検討

まず初めに、DNA 抽出キット及び RNA 抽出キットを用いて ILTV と IBV の抽出を各々行ったところ、DNA 抽出キットを用いて IBV の抽出を行った場合のみ遺伝子の増幅が認められず、RNA 抽出キットを用いた場合、ILTV、IBV ともに遺伝子の増幅が認められた(図なし)。このことから、今回の核酸抽出は RNA 抽出キットを用いて検討した。

次に、RNA 抽出キットを用いて ILTV の DNA 抽出量の検討を行ったところ、DNA 抽出キットを用いた場合と DNA 抽出量はほぼ同じだった(図1)。

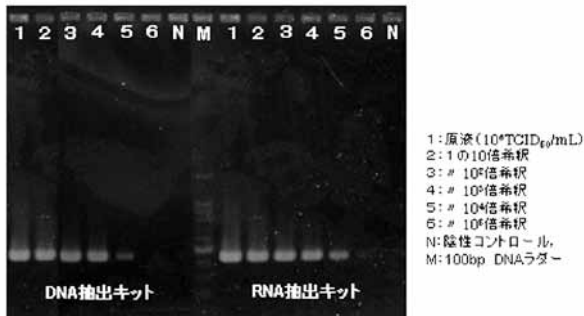


図1 RNA抽出キットによるILTV DNA抽出の検討(Mono-PCR法)

2. RT- マルチ PCR 法による検出感度の検討

IBV と ILTV の RT- マルチ PCR 法による検出感度を検討するため、両ウイルスを RNA 抽出キットで抽出後、各々 RT- マルチ PCR 法を実施し、モノ PCR 法の検出感度と比較したところ、IBV は RT- マルチ PCR 法とモノ PCR 法はほぼ同等だったが、ILTV はモノ PCR 法の方が 10 倍程度感度が良かった(図2)。

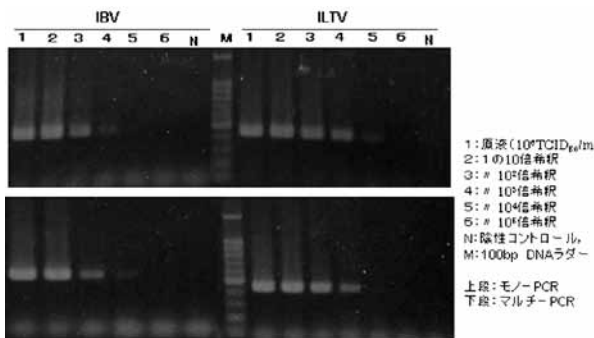


図2 IBV、ILTV RT-Multi-PCR 法の検出感度

3. 陽性(模擬)検体の検出

鶏気管乳剤を用いて RT- マルチ PCR 法を行ったところ、IBV 陽性模擬検体と ILTV 陽性検体は全て検出可能だった(図なし)。

4. 電気泳動用ゲル濃度の検討

今回用いたプライマーの増幅産物は ILTV が 443bp、IBV が 490bp と産物サイズが 50bp と近似するため、アガロースゲル濃度が 1.5% では両ウイルスの増幅産物のバンドが一部重複する。この解決法としてゲル濃度 1.5% から 2% 及び 3% に変更し電気泳

動を実施したところ、2%以上では増幅産物はほとんど重複することなく容易に判別できた(図3)。

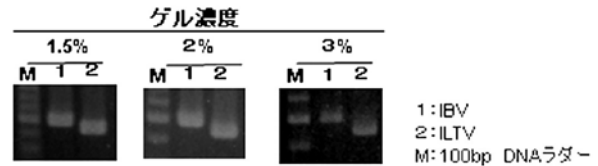


図3 アガロースゲル濃度の検討

まとめ及び考察

今回の結果から、RNA 抽出キットを用いても ILTV の DNA は DNA 抽出キットを用いた場合とほぼ同等に抽出でき、RT- マルチ PCR 法の検出感度も、ILTV 及び IBV ともモノ PCR 法と比較し同等か 10 倍程度低いだけであり、これまで ILTV と IBV の遺伝子検査に核酸抽出から判定まで 6 時間程度(核酸抽出 70 分、PCR 反応 3 時間半、電気泳動・染色 60 分)かかっていたのが、4 時間程度(核酸抽出 30 分、PCR 反応 2 時間、電気泳動・染色 70 分)で判定可能となった。

IB は養鶏農場では通常ワクチンが使用されているが、抗原性が多岐にわたり、ワクチンの種類も多いため、すべての IBV 感染を完全に防御することは困難である。また、死亡率の増加事例や大腸菌症と診断された鶏から分離される報告もある^{3, 4)}。

また、ILT も広島県では平成 25 年に死亡率の増加は認められたものの、典型的な臨床症状を呈しない事例に遭遇しており(未発表)、本法は同様の事案に遭遇した場合に省力的かつ迅速に両ウイルスの検査が可能になった。

今後は、蛍光標識プライマーや新たなプライマーの設計など ILTV と IBV の遺伝子産物のより容易な判別に向けた検討や、本法を用いた他のウイルスでの検出法についても検討してゆきたい。

文 献

- 1) 五反田桃子, 上川真希佳: 採卵鶏飼養農場に発生した伝染性喉頭気管炎, 第 50 回広島県畜産関係業績発表会集録集, 39-43 (2013)
- 2) 部屋智子, 佐々木栄美子: 肉用鶏農場における伝染性喉頭気管炎の発生事例, 第 50 回広島県畜産関係業績発表会集録集, 41-53 (2013)
- 3) 清水 和ら: 鶏大腸菌症を発症した肉用鶏における伝染性気管支炎ウイルス分離事例, 広島県獣医師会雑誌, 28, 33-37 (2013)
- 4) 村山和範ら: 伝染性気管支炎の発生と分離ウイルスの遺伝子解析, 平成 22 年度新潟県家畜衛生業

續発表会集録 (2011)

- 5) Alexander, H.S. and Nagy, E.: Polymerase chain reaction to detect infectious laryngotracheitis virus in conjunctival swabs from experimentally infected chickens, *Avian Dis.*, 41, 646-653 (1997)
- 6) Lin, Z., et al.: A new typing method for the avian infectious bronchitis virus using polymerase chain reaction and restriction enzyme fragment length polymorphism, *Arch. Virol.*, 116, 19-31 (1991)
- 7) Mase, M., et al.: Genetic diversity of avian infectious bronchitis viruses in Japan based on analysis of S2 glycoprotein gene, *J. Vet. Med. Sic.*, 71, 287-291 (2009)

広島県内で流行した牛RSウイルス病

清水 和¹⁾ 小林 弘明¹⁾ 秋山 昌紀²⁾ 桑山 勝¹⁾

(受付：平成25年12月15日)

Analysis of Bovine respiratory syncytial virus infections have occurred in Hiroshima Prefecture

MADOKA SHIMIZU¹⁾, HIROAKI KOBAYASHI¹⁾, MASANORI AKIYAMA²⁾ and MASARU KUWAYAMA¹⁾

- 1) Western Center for Livestock Hygiene Service, Hiroshima Prefecture, 1-15, Saijogojo-cho, Higashi-Hiroshima, Hiroshima, 739-0013
- 2) Eastern Center for Livestock Hygiene Service, Hiroshima Prefecture, 1-1-1, Miyoshi-cho, Fukuyama, Hiroshima, 720-8511

SUMMARY

Between January and April 2012, cows developed a respiratory disease with fever and watery nasal discharge as the major symptoms on 15 farms (six dairy and nine beef cattle farms) in the prefecture. A simple test with a human RS virus antigen rapid detection kit, genetic test targeting the G protein region of BRSV, antibody test, and virus isolation were conducted using nasal swabs and paired sera. The virus isolation and antibody test demonstrated the occurrence of bovine RS virus disease on 13 farms. Of these farms, 11 were positive on simple and genetic tests. The results of the simple and genetic tests were highly consistent with those of the virus isolation and antibody test, suggesting that the combination of simple (20 minutes) and genetic (7 hours) tests was effective for rapid diagnosis. Seven BRSV isolates showed 98.4-100% homology in genetic analysis, and belonged to the same genogroup III, as recent domestic isolates. As previously reported, no difference was noted in antigen properties between the domestic isolates and vaccine strains. Thus, appropriate vaccination with existing vaccines may be effective for prophylaxis in the prefecture. The homologies between the isolates and reference strain in the present study were lower than those for isolates in Hiroshima between 1980 and 2006 (Yamamoto et al.). Thus, the epidemic situation in the prefecture remains important in consideration of possible mutations in the gene of the G protein region.

— Key words: BRSV, genogroup III, rapid diagnosis, prophylaxis

1) 広島県西部家畜保健衛生所 (〒739-0013 広島県東広島市西条御条町 1-15)

2) 広島県東部家畜保健衛生所 (〒720-8511 広島県福山市三吉町 1-1-1)

要 約

平成 24 年 1 月から 4 月に県内の酪農家 6 戸，肉用牛飼養農家 9 戸の計 15 戸で発熱，水様鼻汁漏出等を主症状とする呼吸器病が発生した。鼻腔スワブ及びペア血清を材料とし，ヒト RS ウイルス抗原迅速検出キットを用いた簡易検査，BRSV の G 蛋白領域を標的とした遺伝子検査，ウイルス分離及び抗体検査を実施した。ウイルス分離及び抗体検査により 13 戸で牛 RS ウイルス病の発生を認め，このうち，簡易検査または遺伝子検査で陽性であった農家は，11 戸であった。簡易検査及び遺伝子検査結果と，ウイルス分離及び抗体検査結果は高率に一致したことから，検査の所要時間が 20 分の簡易検査と 7 時間の遺伝子検査の併用が迅速診断に有効と考えられた。また，分離した BRSV のうち 7 株を遺伝学的解析した結果，株間の相同性は 98.4%～100%で，近年の国内分離株と同様に genogroup III に属していた。既報ではこれらの国内分離株とワクチン株には，抗原性状の差を認めなかったことから，本県でも，発症予防には既存のワクチンの適切な接種が有効と推測された。一方，今回の分離株と比較対照株との相同性は，山本らの報告（1980～2006 年広島県分離株）と比べ低下していたことから，G 蛋白領域の遺伝子の変異の可能性を考慮し，引き続き本県における流行状況の把握が重要と考えられた。

—キーワード：BRSV, genogroup III, 迅速診断, 発症予防

序 文

牛 RS ウイルス（以下 BRSV）病は，単独で発熱と呼吸器症状を主徴とし，泌乳量の低下，妊娠牛では流産などの症状を示し¹⁾，牛飼養農家にとって経済的損失が大きい疾病である。また，呼吸器病症候群（BRDC）の一次要因の一つともなり，他のウイルスや細菌等と複合感染を引き起こす²⁾ことから，迅速な原因究明によるまん延防止と予防対策が重要になる。今回，県内で流行した BRSV 病について，各種診断方法の有効性を検証するとともに，現行ワクチンの有効性を検討するために分離株の遺伝学的解析を実施したので，その概要を報告する。

材料と方法

1. 発生状況及び材料

平成 24 年 1 月から 4 月に県内の酪農家 6 戸，肉用牛飼養農家 9 戸の計 15 戸で発熱，水様鼻汁漏出等を主症状とする呼吸器病が発生した。発症牛の鼻腔スワブ 59 検体及びペア血清 42 検体を材料とした。

2. 方法

鼻腔スワブは，発症牛から採材後，Earle's 液³⁾に浸漬した。ペア血清は，発症期と回復期の血清を用いた。簡易検査は，ヒト RSV 迅速抗原検出キット「Binax NOW RSV テスト」（栄研化学株式会社）による抗原検索を実施した。遺伝子検査は，鼻腔スワブ

から ISOGEN-LS 試薬（株式会社ニッポンジーン）を用いて RNA を抽出し，桐沢らの報告した G 蛋白領域を標的としたプライマー⁴⁾（表 1）を用いて RT-nested PCR 法による遺伝子検査を，次の反応条件で実施した。TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver.3.0（タカラバイオ株式会社）を使用し，42℃ 30 分間の逆転写反応により cDNA を合成した後，94℃ 30 秒，60℃ 30 秒，72℃ 45 秒を 30 サイクルで 1st PCR 反応を行い，その後，TaKaRa Ex Taq（タカラバイオ株式会社）を使用し，同様の条件で 2nd PCR 反応を行った。PCR 産物は 1.5% アガロースゲルで電気泳動し，エチジウムブロマイド染色の後，目的とする遺伝子の増幅の有無を確認した。

ウイルス分離は，鼻腔スワブを，Vero 細胞に接種，34℃で 10～14 日間回転培養，3 代継代した。抗体検査は，NMK7 株を用い中和試験を実施した。分離した BRSV について，Valarcher らの報告した G 蛋

表 1 遺伝子検査に使用したプライマー

primer	塩基配列 (5' → 3')	産物 サイズ
1st PCR	RSF3 ATC ACT CGT CAT CAC AGC CA RSR1 AGA GGA TGC CTT GTT GTG GA (reverse)	580bp
2nd PCR	RSF2 AAA GCA CCA CAC TGT CCC AA RSR2 TTT GAG GGT GAT TGT AGG GG (reverse)	300bp

桐沢らの報告したプライマー⁴⁾

白領域を標的としたプライマー⁵⁾を用いて遺伝子を増幅し、得られたPCR産物について、Big Dye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit (Applied Biosystems)を用いダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列について、解析ソフトMEGA5 ver5.10 (megasoftware)を用い、既報の国内分離株及び比較対照株との相同性を比較し、系統樹を作成後、Valarcherらの報告⁵⁾に従いサブグループに分類した。なお、比較対照株には、1968年の国内分離株NMK7株、ワクチン株rs-52株及び米国分離株236-652株を用いた。また、発症牛について、これらの検査結果と合わせて、個別別に臨床症状、体温及び白血球数について、発生状況を集計した。

成 績

1. 各種診断方法の比較

各種検査法により陽性と判定した農家戸数は、簡易検査：10/15戸、遺伝子検査：10/15戸、ウイルス分離：9/15戸、抗体検査：11/15戸（未検査を除く）であり、ウイルス分離及び抗体検査の結果、陽性であった13/15戸の発生をBRSV病によると診断した（表2）。このうち、簡易検査または遺伝子検査が陽性であった農家は、11/13戸であった。残る2/15戸のうち、1戸（農家No.14）は遺伝子検査が陽性であったが、抗体検査が未実施であったことから、BRSV病と確定に至らなかった。他の1戸（農家No.15）は簡易検査のみ陽性であったが、血液検査で白血球数の増加を認め、細菌学的検査で鼻腔スワブから*Pasteurella trehalosi*、*Moraxella*属菌を有意に分離したため除外した。

BRSV病と診断した13戸54頭において、簡易検査

表2 各種検査結果

農家No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
簡易検査 (9/15)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
遺伝子検査 (10/13)	+	+	+	+	+	NT	+	+	+	+	+	+	NT	-	-
ウイルス分離 (9/15)	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-
抗体検査 (11/12)	+	NT	+	+	+	NT	+	+	+	+	+	+	+	+	NT

() : 陽性戸数/検査戸数
NT : 未検査, ■ : 酪農家, 網かけなし : 肉用牛飼養農家

表3 個別発生状況

簡易検査	鼻汁漏出	水様鼻汁	体温 (°C)	白血球数 (個/μl)	遺伝子検査	ウイルス分離	抗体検査
陽性	19/21* (91%)	14/21 (67%)	39.0 41.0	7,830 16,117	16/19 (84.2%)	16/21 (76.2%)	14/15 (93.3%)
陰性	26/33 (79%)	11/33 (33%)	38.4 41.4	4,900 20,700	8/26 (30.7%)	3/33 (9.1%)	16/22 (72.7%)

*合計 54 検体

査とその他の検査及び臨床症状を比較したところ、簡易検査が陽性であった個体は、水様鼻汁を呈している割合が高く、遺伝子検査、ウイルス分離、抗体検査でも高率に陽性であった（表3）。また、簡易検査が陰性であった個体には、体温の上昇を認めない個体や、BRSV病感染初期に認められる軽度の白血球減少症⁶⁾と異なり、白血球数が正常値⁷⁾よりも異常に高い、または異常に低い個体が散見された。

2. 遺伝学的解析

ウイルス分離により得られたBRSV分離株のうち7株（HS1～HS7）の遺伝学的解析を実施した。7株が分離された農家の概要と場所は表4及び図1のとおりであった。

表4 分離された農家の概要

農家No.	飼養形態	飼養頭数	導入元	発生年月日
1	肉用/肥育	150	県内市場	24.1.23
2	肉用/肥育	20	県内市場	24.1.25
3	酪農	40, 育20	自家産	24.2.9
4	酪農	30, 育15	自家産	24.2.20
5	酪農	40, 育20	自家産	24.3.9
6	肉用/肥育	150	県外市場	24.3.14
7	肉用/繁殖	10, 子7	自家産	24.4.17



図1 分離された場所

遺伝子解析により分離株7株のうち、6株（HS1～HS6）間の相同性は99.8%～100%であり、1株（HS7）と他6株との相同性は98.4%～98.6%（表5）、系統樹解析により分離株は全て subgroup IIIに属した（図2）。比較対照株のうち subgroup IIに属するNMK7株及びrs-52株と分離株との相同性は90.4%～91.0%、subgroup IIIに属する236-652株と分離株との相同性は93.6%～94.3%であった。

表5 分離株の塩基配列の相同性

農家No.	株No.	HS1	HS2	HS3	HS4	HS5	HS6	HS7
1	HS1							
2	HS2	100						
3	HS3	100	99.8					
4	HS4	100	100	99.8				
5	HS5	99.8	100	100	100			
6	HS6	99.8	100	99.8	100	100		
7	HS7	98.4	98.6	98.5	98.6	98.6	98.6	
比較 対照株	NMK7	90.4	90.6	90.5	90.7	90.6	90.8	90.9
	rs-52	90.4	90.5	90.4	90.5	90.6	90.7	91.0
	236-652	93.6	93.6	93.6	93.6	93.6	93.6	94.3

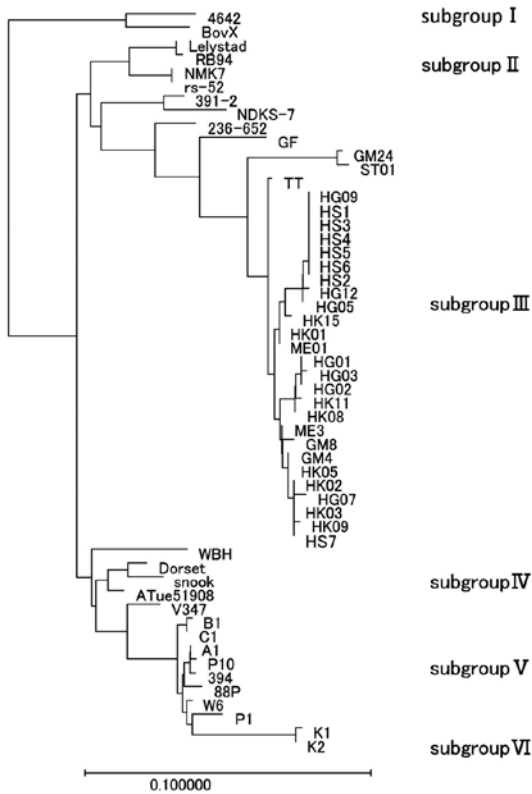


図2 系統樹解析結果
右に Valacher による subgroup を示す。

まとめ及び考察

今回、15例の発生事例を検討したところ、簡易検査及び遺伝子検査結果と、ウイルス分離及び抗体検査結果は高率に一致した。検査の所要時間は、簡易検査が20分、遺伝子検査が7時間であるが、ウイルス分離は長期間の継代培養が必要であり、抗体検査は発症期及び回復期血清を必要とすることから、診断に時間を要する。また、遺伝子検査は特殊な検査器材等が必要であるが、簡易検査は発生現地で簡便に実施が可能であることから、簡易検査と遺伝子検査の併用が迅速診断に有効と考えられた。

簡易検査のみ陽性であった1例は、細菌学的検査

結果から細菌性呼吸器病によるものと推測され、簡易検査における非特異反応が疑われた。非特異反応を防止するためには、膿性鼻汁を呈するなど症状が重篤化し、二次感染を疑う個体は採材しないことに留意が必要である。加えて、検体別の成績から、簡易検査を実施する際は、鼻汁の状態及び臨床症状を良く観察し、体温を測定後、発症初期から極期と思われる個体を採材することが再確認された。これらのことから、簡易検査の有効性と採材上の注意点について、各畜産事務所に対して、病性鑑定日より第77号(平成24年10月号)により周知し(図3)、検証した期間において19例のウイルス性呼吸器病を疑う病性鑑定の依頼があった。このうちBRSV病と診断した事例は13例と半数以上を占め、迅速な原因究明による発生現地でのまん延防止対策が重要であることから、今後も引き続き迅速診断技術の向上に向けた取り組みが必要と考えられた。

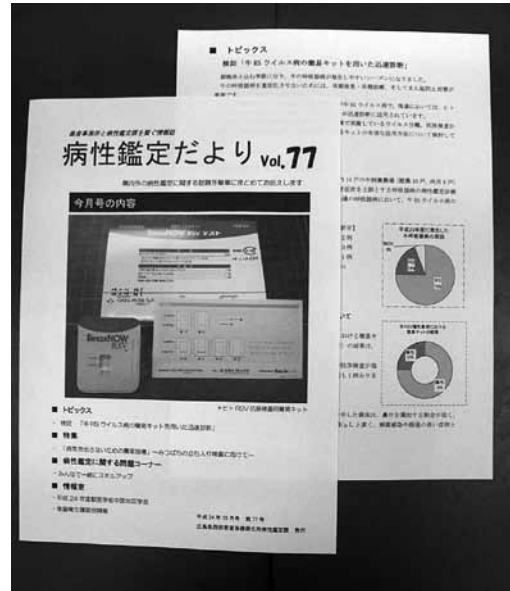


図3 病性鑑定だより第77号

G蛋白はウイルス粒子を構成する最も大きな表面の糖蛋白であり、宿主細胞への吸着に関与することから、抗原性の決定に重要な役割を担っている⁸⁻¹⁰⁾。ValacherらはG蛋白領域の系統樹解析により subgroup I からVIに分類しており⁸⁾、今回の分離株は subgroup III に属し、既報の国内分離株と近縁であった¹¹⁻¹³⁾。これらの国内分離株はワクチン株と抗原性状の差を認めなかったという報告^{12, 13)}があることから、本県においても、既存のワクチンの適切な接種が発症予防に有効と推測された。

分離株7株のうち、HS1～HS6株とHS7株では遺伝子の配列がわずかに異なった原因として、HS7株を分離した農家では、他地域から牛の導入が無い点があげられる。他県における分離事例でも地域によって遺伝子の配列がやや異なる株が分離されていること¹²⁾

から、農家の飼養形態または地域による差異を反映している可能性が考えられた。また、分離株と比較対照株との相同性は、山本らの報告¹⁴⁾における1980～2006年の広島県分離株(96.0%から91.1%の相同性)と比較し低下していた。G蛋白領域は遺伝子の保存性が比較的高い部分とされるが¹⁵⁾、今回、G蛋白領域の遺伝子の変異の可能性が考えられたことから、引き続き本県における野外株の流行状況を把握していくことが、ワクチンによる防御効果を検討する上で重要と考えられた。

謝 辞

最後に、遺伝子解析及び系統樹解析を実施していただいた独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所の小西美佐子先生に深謝します。

文 献

- 1) 小沼 操ら：牛RSウイルス病，動物の感染症，第2版，近代出版，112-113 (2009)
- 2) 田中 伸一ら：牛呼吸器病症候群 (BRDC) の現状と対策 (前編)，臨床獣医，24 (9)，12-18 (2006)
- 3) 北村 敬：細胞培養の基本技術，第1版，近代出版，30-63 (1976)
- 4) 桐沢 力雄ら：ウシパラインフルエンザウイルス3型，ウシRSウイルスおよびウシウイルス性下痢・粘膜病ウイルス感染のPCRによる検出，J. Rakuno Gakuen Univ., 19 (1), 225-237 (1994)
- 5) Valarcher, F., et al.: Evolution of bovine respiratory syncytial virus, J. Virol., 74, 10714-10728 (2000)
- 6) 其田 三夫ら：牛RSウイルス感染症，牛の臨床，改訂増補第6版，デーリイマン社，170-171 (1993)
- 7) 安里 章ら：血液一般検査，家畜共済における臨床病理検査要領，改訂版，全国農業共済協会，103 (1997)
- 8) Valarcher, F., et al.: Bovine respiratory syncytial virus infection, Vet. Rec., 38, 153-180 (2007)
- 9) Langedijk, J.P.M., et al.: Antigenetic structure of the central conserved region of protein G of bovine respiratory syncytial virus, J. Virol., 71 (5), 4055-4061 (1997)
- 10) Karger, A., et al.: Recombinant bovine respiratory syncytial virus with deletions of the G or SH genes: G and F protein bind heparin, J. Gen. Virol., 82, 631-640 (2001)
- 11) 佐藤岳彦：千葉県牛RSウイルス流行株遺伝子解析，全国家畜保健衛生業績抄録，22 (2011)
- 12) Yaegashi, G., et al.: Genetic and antigenic

analyses of bovine respiratory syncytial virus detected in Japan, J. Vet. Med. Sci., 67 (2), 145-150 (2005)

- 13) 酒井 芳子ら：長崎県下における牛RSウイルス流行株の分子学的および抗原学的解析，全国家畜保健衛生業績抄録，16 (2010)
- 14) 山本 武ら：県内で分離された牛RSウイルス野外株の解析，広島県獣医師会雑誌，25，21-23 (2010)
- 15) Valentova, V., et al.: Genetic and antigenic analyses of bovine respiratory syncytial virus with emphasis on the G protein, Vet. Med. Sci., 48, 254-266 (2003)

羊の仮性結核症の発生事例

久保由美子 植松 和史 田村 和穂

(受付：平成 25 年 12 月 10 日)

Pseudotuberculosis in sheep

YUMIKO KUBO, KAZUFUMI UEMATU and KAZUO TAMURA

Western Center for Livestock Hygiene Service, Hiroshima Prefecture, 1-15,
Saijogojo-cho, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-0013

SUMMARY

In 2012, in an integrated farm with about 70 sheep, one autogamous 31-month-old Suffolk breeding sheep suddenly developed anastasia, and died the next morning. The sheep was examined. Pathologically, many abscesses were noted in the thoracic cavity and pulmonary parenchyma. Microbiologically, *Corynebacterium pseudotuberculosis* (C.P) was isolated. The sheep was diagnosed with pseudotuberculosis. C.P generally infects sheep through contaminated soil and wounds during shearing. As countermeasures, environmental cleanup and the order of sheep to be sheared were considered, and instructions on the disinfection of equipment, prevention of wounds, and thorough disinfection with an iodine preparation were given. C.P also infects horses. Thus, it should also be considered in pathological tests.

— Key words: pseudotuberculosis, caseous lymphadenitis, sheep,
Corynebacterium pseudotuberculosis

要 約

平成 24 年、羊約 70 頭を飼養する一貫経営農家で、自家産、31 ヶ月齢のサフォーク種繁殖雌羊 1 頭が突然起立不能となり、翌朝死亡したため病性鑑定を実施した。病理解剖で胸腔及び肺実質に多数の膿瘍形成を認め、細菌検査で *Corynebacterium pseudotuberculosis* (C.P) を分離し、羊の仮性結核症と診断した。C.P は一般的に土壤の汚染から毛刈り時等の創傷を介し感染するため、対策として、環境浄化や毛刈り時の順番の考慮、器具の消毒、創傷への注意及びヨード剤による消毒の徹底等を指導した。C.P は馬等にも感染するため、今後病性鑑定時は本菌についても留意する必要がある。

——キーワード：仮性結核症、乾酪性リンパ節炎、羊、*Corynebacterium pseudotuberculosis*

序 文

羊の仮性結核症は *Corynebacterium pseudotuberculosis* (C.P) が原因で起こる乾酪性リンパ節炎で、主に毛刈り時等の創傷から感染し¹⁾、身体各部のリンパ節及び臓器、特に肺に膿瘍を形成する²⁾慢性疾患である。

平成 24 年 9 月、管内の羊約 70 頭を飼養する一貫経営羊農家において、繁殖用雌羊 1 頭が突然起立不能を呈し死亡した。病性鑑定の結果、羊の仮性結核症と診断し、併せて再発防止対策についても指導したので、その概要について報告する。

材 料

死亡したサフォーク種、約 31 ヶ月齢（平成 22 年 2 月生、自家産）の繁殖雌羊について、病性鑑定を実施した。

方 法

1. 疫学調査

発生状況、飼養状況、毛刈り及び放牧地の状況について、農場に立入りし、畜主から聞き取り調査した。また、当該農場から出荷され、食肉処理場で処理された羊の食肉衛生検査成績により、出荷羊の疾病発生状況を調査した。

2. 細菌学的検査

肺の乳剤を Trypticase soy broth で 10 倍階段希釈したものを 37℃ 24 時間増菌培養後さらに分離培養として、5% 羊血液寒天培地によるローソク培養及び嫌気培養、並びに DHL 寒天培地による好気培養を 37℃ 24 時間実施した。

また、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、脳及び下顎リンパ節を採材し、直接塗抹法により 5% 羊血液寒天培地を

用いてローソク培養及び嫌気培養、並びに馬血液寒天培地及び DHL 寒天培地を用いて好気培養を 37℃ 24 時間実施した。

分離した菌については、一濃度ディスク拡散法により、ペニシリン、アンピシリン、ジクロキサシリン、セファゾリン、セファロキシム、セファピリン、カナマイシン、ゲンタマイシン、ストレプトマイシン、オキシテトラサイクリン、エリスロマイシン及びホスホマイシンの 12 薬剤について薬剤感受性試験を実施した。

3. 病理学的検査

死亡羊を剖検し、肺及び下顎リンパ節をホルマリン固定後、定法を用いて切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色及びグラム染色し、鏡検した。

また、伝染性海綿状脳症 (TSE) 検査対応マニュアル（平成 15 年 6 月 17 日作成付け 15 生畜第 1337 号農林水産省生産局畜産部長通知）に従って、延髄・扁桃を独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所に送付し、ウエスタンブロット法及び免疫組織化学的検査による TSE 検査を依頼した。

4. 対策検討及び指導

病性鑑定の結果を踏まえ、農場における対策を検討し、農場に立入り指導した。

5. 追跡調査

平成 25 年 6 月、再び農場に立ち入り、農場の現状や対策実施状況等について調査した。

成 績

1. 疫学調査

1) 飼養状況

発生農家はサフォーク種の種雄羊 2 頭、繁殖用雌羊 34 頭、肥育羊約 30 頭を飼養する一貫生産農家で、平成 19 年から飼養を開始し、平成 21 年から肥育した羊を広島市食肉市場に出荷してい

た。初代繁殖雌羊及び種雄羊は北海道から導入しているが、その後は自家生産していた。子羊は晴天時の日中は放牧、その他は羊舎で飼養し、親羊は初夏から秋は放牧地で昼夜放牧、冬から春は羊舎で飼養していた。

2) 発生状況

平成 24 年 9 月 5 日 15 時頃、平成 22 年 2 月生まれの繁殖用雌羊が 1 頭、放牧地にて起立不能を呈しているところを畜主が発見し、羊舎に収容した。セファゾリン 3ml 及び補液剤 500ml を投与し一時は回復の傾向を見せたが、翌朝、死亡を確認した。

3) 毛刈りの状況

農場では年に 1 度春に繁殖用雌羊の毛刈りを実施している。死亡した羊は、平成 23 年及び 24 年の春に各 1 回、計 2 回の毛刈りを経験していた。毛刈りは羊毛刈り用のバリカン及びハサミを用いて行われていた。毛刈りの順序に決まりはなく、捕まえた羊から実施していた。慎重に毛刈りを実施しても必ず創傷は発生するため、創傷部にはヨード剤の噴霧による消毒を実施していた。しかし、毛刈りに使用する器具は 1 頭ごとの消毒を実施していなかった。

4) 放牧地の状況

農場は山に囲まれた木陰の多い約 1.5ha の 2 か所の放牧地を有しており、草の生育状況により交互に放牧を行っている (図 1)。

しかし、主に使用されている放牧地②において、羊は入り口付近の日よけのない盛り土部分に



図 2 泥濘化した土壌



図 3 腹部の汚れた羊群

密集しており、真夏の炎天下においても殆ど移動することなく同場所で過ごしていた。この傾向は放牧開始当時にはみられなかったが、2～3年前からみられるようになった。このため、密集部の土壌は泥濘化しており、羊の腹部は常に泥で汚れていた (図 2, 3)。

5) 出荷成績調査

平成 24 年に出荷した 12 ヶ月齢未満の羊 7 頭において、臓器・筋肉等に異常は認められなかった。

2. 細菌学的検査

1) 細菌分離

肺実質から 10³cfu/g のオキシダーゼ陽性・カタラーゼ陰性のグラム陽性短桿菌を分離した。また、下顎リンパ節からも同様の菌を分離し、API CORYNE により、*Corynebacterium pseudotuberculosis* (C.P) と同定した。その他の臓器については、細菌分離陰性だった (表 1, 2)。

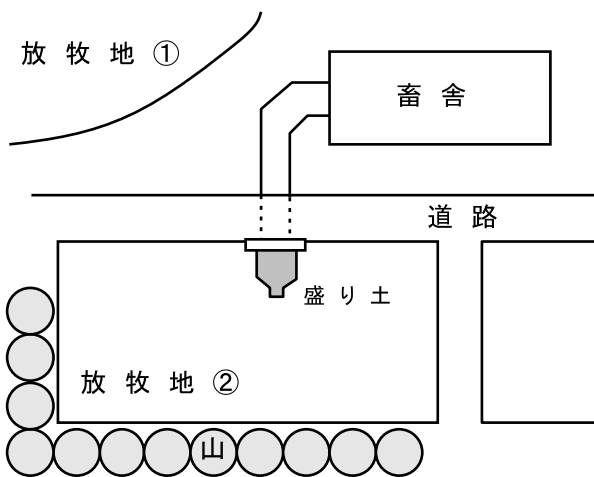


図 1 農場見取り図

表 1 API COTYNE V3.0 判定結果

NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	GEL	O	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG
-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-
菌種名			%ID	T															
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>			99.5	1.0															

表2 細菌分離結果

部位	菌量
肺	10 ³ cfu/g
下顎リンパ節	∞
心臓	—
腎臓	—
肝臓	—
脾臓	—
脳	—

2) 薬剤感受性試験

ペニシリン系及びアミノグリコシド系, ホスホマイシンに耐性がみられた (表3).

表3 薬剤感受性試験結果

薬剤	感受性判定
ペニシリン	I
アンピシリン	I
ジクロキサシリン	R
セファゾリン	S
セファロキシム	S
カナマイシン	R
ゲンタマイシン	R
ストレプトマイシン	R
オキシテトラサイクリン	S
エリスロマイシン	S
ホスホマイシン	R

S:感受性 I:中間 R:耐性

3. 病理学的検査

1) 剖検所見

下顎, 顔面及び腹部等に皮下浮腫を認め, 心嚢膜には線維素が析出しており, 肺と癒着していた。さらに, 肺は胸膜に癒着し, 横隔膜表面に薄緑色を呈する胡桃大の膿瘍形成を認めた (図4)。胸腔内には著しい線維素の析出を認め, 肺は胸壁と癒着し, 全体に薄緑色を呈する拇指頭大から胡桃大の膿瘍を多数形成していた (図5)。



図4 胸腔内に形成された膿瘍

2) 病理組織学的検査

肺では, 肺胞壁に軽度のうっ血, 肺胞腔内に中程度の漿液の貯留及び軽度のマクロファージの浸潤が認められ, 膿瘍部においては, グラム陽性桿菌を伴う退廃物を中心に周囲を好中球及びマクロファージが取り囲み, さらにその周囲にリンパ球の浸潤を伴う結合組織の形成が認められた (図6, 7)。下顎リンパ節でも同様に, 膿瘍とそれを取り囲む結合組織の形成と, グラム陽性桿菌を認めた。



図5 多数の膿瘍が形成された肺

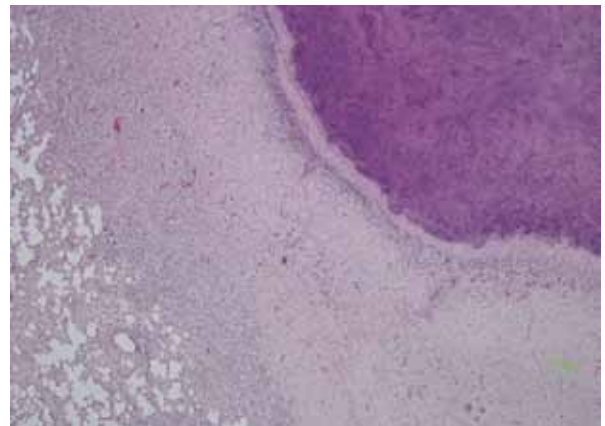


図6 肺に形成された膿瘍及び結合組織 (ヘマトキシリン・エオジン染色)

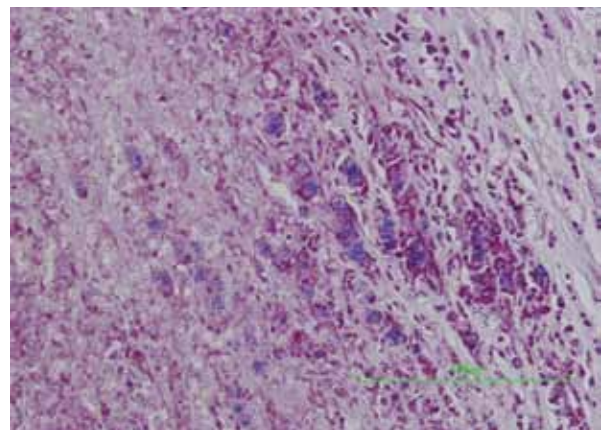


図7 境界部にみられたグラム陽性桿菌 (グラム染色)

3) 伝達性海綿状脳症 (TSE) 検査

ウェスタンブロット法, 免疫組織化学的検査を実施したところ, 陰性だった。

4. 対策検討及び指導

C.P は長期間土の中に棲息する土壌菌³⁾であり皮膚の傷等を介して体内に侵入するため, 本症の予防は, 清潔な飼養環境と創傷を介した感染及びまん延の防止が重要となる^{6, 7)}。そのため, ①毛刈りは清潔な環境・器具で保菌の可能性の低い若い羊から実施する, ②釘や有刺鉄線の使用を避け羊に傷を作らない, ③創傷時はヨード剤を塗布し丁寧に消毒, ④清潔な飼養環境で飼養するため放牧地の浄化を図り密飼を避ける, ⑤発症を防ぐため羊にストレスを与えない環境を作る, 等の対策を検討し指導した。

5. 追跡調査

指導後, 農場では冬季の放牧中止期間中に泥濘化した土壌部分に石灰をまき, 消毒を実施した。毛刈り時の対策として, 翌5月の毛刈り時には, ヨード剤による消毒を徹底した。

平成25年春の放牧においては羊が特定の場所に密集することはなく, 木陰等に分散する様子が見られた。その後, 当該疾病と推察される続発はない。

また, ストレス対策として, 土壌部分に屋根等を設置し日除けの対策をとることを検討している。

まとめ及び考察

今回の羊は, C.P の感染により肺に膿瘍が形成され, 慢性の呼吸器不全に陥っていたところに暑熱等のストレスが加わり, 肺の機能不全から呼吸困難を呈したものと考えられた。感染経路は, 初期に導入された羊が無症状ながら本菌を保有しており, 毛刈り等による創傷から外部へ本菌を排出したため, 放牧地を汚染し, 羊同士が密着すること及び毛刈り器具の汚染等から当該羊の創傷部を介して感染が成立したものと推測した。さらに, 羊が密集する盛り土部分の周囲には日除けはなく, 暑熱等のストレスも受けやすい状態にあったと考えられた。

当該農場は現在も C.P に汚染されていると考えられるため, 新たな感染を予防することが重要である。本症は抗生物質等による予防は十分な効果は期待できず^{2, 4)}, 最も重要な予防方法は, 創傷を作らないことと創傷時のヨードによる適切な消毒である^{3, 4)}。したがって, 対策を適切に実施し, 感染を防止する必要がある。

また, ここ数年放牧地の特定の場所に密集するという, 放牧開始当時にはなかった傾向が見られたことは, 羊が警戒するような野生動物が周辺に出没した可能性が考えられる。周辺の環境に留意する, 日よけを設置する等, 羊のストレスを軽減することも発症の予防に重要であると考えられる。

これまで本県では, 本症に関する報告は殆どみられず, あまり認識されていなかったが, C.P は羊のみならず, 馬に感染すると胸部や腹部側面に膿瘍を形成するいわゆる「ハト熱」や潰瘍性リンパ節炎を引き起こし^{2, 5)}, また, まれではあるが牛にも化膿性リンパ節炎などの症状を引き起こす⁶⁾, 感受性動物の多い菌であるため, 今後 C.P についても留意した病性鑑定を行っていく必要がある。

文 献

- 1) Serizawa, S., et al.: Seroepidemiological evidence that shearing wounds are mainly responsible for corynebacterium pseudotuberculosis infection in sheep, *The journal of veterinary medical science*, 55 (4), 691-692 (1993)
- 2) Bruner, D.W, and Gillespie, J.H.: 家畜感染症 上, 浪岡茂郎, 大島慧監訳, 第1版, 310-313, 医歯薬出版株式会社, 東京 (1976)
- 3) Alessandro, S.G., et al.: caseouslymphadenitis: epidemiology, diagnosis, and control, *The IIOAB Journal*, 2, 33-43 (2011)
- 4) 芹川 慎: めん羊の *Corynebacterium pseudotuberculosis* 感染症の予防に関する研究, 北海道立農業試験場報告, 第84号, 10-13 (1994)
- 5) Reed, S.M., et al.: EQUINE INTERNAL MEDICINE 3rd Ed., Saunders, 515-516 (2009)
- 6) Fernanda, A.D., et al.: *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. *Vet. Res*, 37, 201-218 (2006)

症例報告

外科的矯正手術を行った気管虚脱の犬の1例

園田 康広 鈴木 知行 椋代祐美子

(受付：平成25年10月27日)

One example of the dog of tracheal collapse which performed surgical remedial surgery

YASUHIRO SONODA, TOMOYUKI SUZUKI and YUMIKO MUKUDAI

Sonoda Animal Hospital 2-19-50, Yagi, Asaminami-ku, Hiroshima 731-0101

SUMMARY

He visited the hospital by the thing that the cough became severe from three-day before by the papillon, a castrated male, 15 years old, the weight of 5.1 kg, and BCS4.

The inside tracheal collapse of the cervical trachea atrophy (G4) thorax (G2) was accepted from the chest X-ray.

What blurred from the 1st day and diluted prednisone and a butorphanol injection with physiological saline was used as the cough remedy, and was prescribed for ten days. The improvement under medication was not accepted, but in the medical treatment, since the reaction was scarce, an owner's consent was obtained and it became a surgical reform way of the serious cervical trachea.

Although progress of postoperative that day was good, breathing difficulty was presented, from the chest X-ray, a chest tracheal gill and bronchus atrophy more critical than before an operation were accepted, and the turning point of death was taken by a respiratory failure on the next day.

— Key words: tracheal collapse, surgical remedial surgery

要 約

パピヨン、去勢済み雄、15歳、体重5.1kg、BCS4で、3日前より発咳が酷くなったとのことで来院された。胸部レントゲン検査より頸部気管虚脱（G4）胸腔内部気管虚脱（G2）が認められた。第1病日よりプレドニゾロン、ブトルファノール注射液を生理食塩水で希釈したものを鎮咳薬として10日間処方した。投薬中の改善は認められず、内科療法では反応が乏しかったため、飼い主の了承を得て重度な頸部気管の外科的矯正術となった。術後当日の経過は良好であったが、翌日、呼吸困難を呈し胸部レントゲン検査より術前より重篤な胸部気管・気管支虚脱が認められ呼吸不全により死の転機をとった。

— キーワード：気管虚脱、外科的矯正手術

序 文

気管虚脱とは膜性壁の下垂または気管軟骨の脆弱化により、気管が扁平化し、呼吸困難を起す疾患である。脆弱化の原因としては伴侶動物の高齢化によるものと考えられ、運動不耐時に咳が認められるものから安静時に呼吸困難になるまでさまざまな症状を呈する。診断は臨床症状・発咳テスト・レントゲン検査・気管支鏡検査等で行い、治療方法は症状やグレード分類することで鎮咳薬やステロイドなどの内科療法から気管内ステントなど外科的療法まで多種多様である。今回、気管虚脱による呼吸不全に外科的矯正手術を行った犬の症例に遭遇したので、その概要を報告する。

症 例

パピヨン，去勢済み雄，15歳で，3日前より呼吸の喘鳴が酷く，だるそうとの事で来院。

各種検査

1. 血液検査

血液検査では一般血液検査では特に問題は認められなかったが，生化学血液検査ではALPの上昇が認められた。(表1)

表1 血液検査結果

PCV	52.0	%	AST	57	IU/l
RBC	810 × 10 ⁴	/dl	ALT	186	IU/l
Hb	18.9	g/dl	ALT	1,222	IU/l
TP	6.4	g/dl	BUN	9.5	IU/l
II	2		Ca	10.0	mg/dl
WBC	12,500	/μl	Glu	104	mg/dl
Band	0	/μl	CPK	94	IU/l
Seg	10,500	/μl	Cho	252	IU/l
Lym	1,500	/μl	Alb	3.9	g/l
Eo	250	/μl	Na	141	mmol/dl
Mon	0	/μl	K	4.3	mmol/l
Bas	0	/μl	Cl	103	mmol/l
NRBC	250	/μl			
PLT	18.9 × 10 ⁴	/dl			

2. 超音波検査

胸部ならび腹部超音波検査では，心臓，肝臓，胆嚢，両副腎等の異常は認められなかった。

3. 胸部X線検査

胸部X線検査では気管の挙上を伴う右心拡大ならびに，気管直径の25～50%の狭窄を伴ったG2の胸腔内部気管虚脱・気管支虚脱，50～75%の狭窄を伴ったG3の頸部前部気管虚脱，頸部中間部気管虚脱，気管内腔の完全狭窄を伴ったG4の頸部中間部気管虚脱・胸郭入口部気管虚脱が認められた。(写真1)

治療と経過

第1病日より頸部気管虚脱だけでなく気管支虚脱も確認されたため，気管支軟化症も疑われることから，オーナは手術を望まれず内科療法を希望された。ゲンタマイシン 2mg/kg・チロキサポール（吸入用溶解剤）1.0ml/head・水性デキサメサゾン 5mg/kg・滅菌生食 5mlを含むネブライジングを当日のみ行い，プレドニゾロン（1.0mg/kg）・ブトルファノール（0.05～0.5mg/kg 注射用ベトルフェールを単シロップで希釈したもの）経口投与薬・エンロフロキサシン（10mg/kg）の3剤を10日間処方した。

第10病日，ほとんど改善が認められず発咳が悪化し寝ているときは良いが，動くとき必ず発咳するとの報告があり，内科療法の限界と判断し外科療法に踏み切った。当日はネブライジング（第1病日同様）を行い，ブトルファノールの経口投与薬・エンロフロキサシンの2剤を6日間処方した。

外科的矯正術には気管外プロテーゼ（Parallel Loop Line Prostheses；以下 PLLP）を使用した。(写真2)

第17病日，13mmの PLLP を使用した外科的矯正術を行った。腹側正中切開により左右反回咽頭神経・後甲状腺動脈・迷走交感神経幹・総頸動脈に注意しながら剥離を進める。剥離後，PLLPを気管腹側から装着し，180度反転させる。背側を12時とし，12時，1時，2時，4時，8時，10時，11時と気管と PLLP の牽引縫合を行った。(写真2)

術後，速やかに覚醒し，手術当日は全く咳など呼吸困難を呈することはなかった。(写真3)

しかしながら，翌日から吸気時呼気時とも重度な呼吸困難を呈していた。レントゲンにて呼気吸気それぞれ撮影したところ，吸気相では頸部気管の気道確保はあるものの胸部気管は狭窄し気管支はさらに虚脱して認められず，呼気相では胸部気管・気管支は完全に虚脱しているのが観察された。なおその時の甲状腺ホルモン値は低値を示していた (FT4 < 1.00pmol/l)。(写真4)

術前に懸念していた胸部気管・気管支の虚脱が，顕著に認められるようになり飼主と相談したところ，これ以上の治療を希望されず死の転機をとった。

考 察

初診時より頸部気管虚脱以外にも，胸部気管虚脱・気管支虚脱もあったため，飼主の意向もありできる限り内科でコントロールできないか試みたが，期待した反応は得られなかった。飼主の了承を得て，重度な頸部気管の矯正術となった。一時的には改善がみられたものの，その後の呼吸状態は不安定のままであった。胸部気管・気管支へ負担が増大した理由として



吸気相
G3 頸部前部気管虚脱
G3 頸部中間部気管虚脱
G4 胸郭入口部気管虚脱



呼気相
G2 胸郭入口部気管虚脱
G2 気管支虚脱

写真1 胸部X線検査

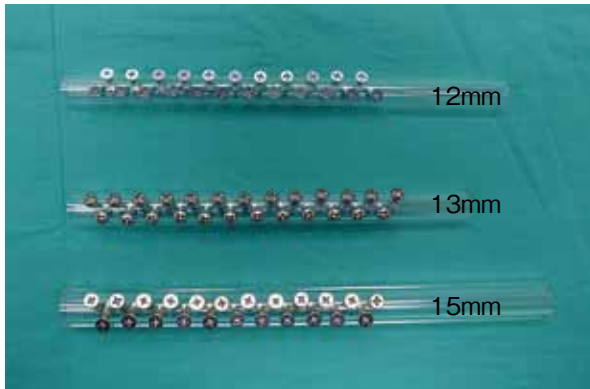


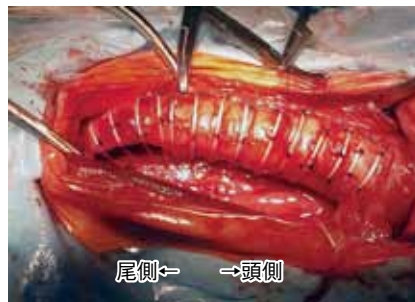
写真2 PLLP (Parallel Loop Line Prostheses) の外観

アクリルパイプに木ねじを左右交互に2列打ち込みこれに線状アクリル材をまきつける

太さ0.75mmの光ファイバー用線状アクリル材をまきつけた後のもの



尾側← →頭側
尾側頸部気管が虚脱し
気管径が短縮している



尾側← →頭側
PLLPを装着した尾側の気管が
虚脱している



尾側の気管虚脱が装着後
改善されている

写真2 術中所見

は、飼い主の都合があったとはいえ、手術まで16日というタイムラグがあった事、気管チューブが胸部気管まで達していなかったために、呼気時に気管への圧較差が増大したためさらに胸部気管が扁平化した事、胸部気管の矯正を施術しなかった事、甲状腺機能低下症により気管軟骨の軟化や感染を伴っていた可能性があったなどの事から、努力性呼吸により気管内外の圧

力差が増大し、脆弱化した胸部気管・気管支がさらに扁平化したのではないかと推察した。一般的にグレード3以上の気管虚脱が外科治療の適応¹⁾とされるが、今回の症例の様に、グレード2の胸部気管虚脱であっても早い段階で手術に踏み切り、PLLP法に限らず、ステント法によるより侵襲性の低い方法も考慮する必要を感じた。



写真3 術後1日目レントゲン検査

術前 頸部気管の虚脱が認められる

術後 頸部気管虚脱が改善し気管が拡張しているのが観察される



写真4 術後2日目レントゲン検査

吸気相 頸部気管の気道確保あるものの胸部気管は狭窄し気管支は虚脱して認められない

呼気相 胸部気管・気管支は完全に虚脱している

謝 辞

ご指導いただきました大分 末松どうぶつ病院 末松正弘先生に感謝いたします。

参考文献

- 1) 米澤 覚：気管・縦隔・肺の外科 気管虚脱，14-29 SURGEON66 インターズ (2007)

症例報告

体表の自壊した腫瘍に対する Mohs ペーストの有用性

黒川 大介 佐野 博子 瀬戸林政宜 平野 健

(受付：平成 25 年 11 月 6 日)

Usefulness of Mohs paste for superficial disintegrated mass

DAISUKE KUROKAWA, HIROKO SANO, MASANORI SETOBAYASHI and TAKESHI HIRANO

Hirano Animal Hospital 2-8-29, Aosaki, Minami-ku, Hiroshima, 734-0053

SUMMARY

We tried to treat superficial disintegrated mass with Mohs paste to control bleeding, exudation and odor for patients cannot be accepted surgical operation by several reasons. Mohs paste improved owners and patients quality of life.

— Key words: Mohs paste, disintegration, breeding, exudation, odor

要 約

種々の理由により体表の自壊した腫瘍に対して外科的処置が適用できなかった症例に、自壊部からの出血・滲出液・悪臭などの管理を目的として Mohs ペーストによる処置を試みた。管理は概ね良好にでき、飼い主や患者の QOL を向上させることができた。

— キーワード：Mohs ペースト，腫瘍自壊，出血，滲出液，悪臭

序 文

Mohs ペーストとは、1930 年代に米国の外科医 Mohs FE が考案した軟膏製剤であり Mohs' Chemosurgery といわれる治療法の中で用いられる。Mohs' Chemosurgery は Mohs ペーストにより皮膚癌等を化学的に固定して削り取り、腫瘍残存時には Mohs ペーストを追加塗布し、組織学的に腫瘍の残存が否定されるまで繰り返す方法である。近年、本邦の医学領域ではこのペーストの化学的固定作用を利用して、腫瘍からの出血、滲出液、悪臭、疼痛を抑制し、QOL の改善を目的として主に末期患者に対する緩和的治療目的で応用されており¹⁻⁶⁾、獣医学領域でも乳腺腫瘍の自壊の治療などに使用されている⁷⁾。

日々の診療の中では体表にできた腫瘤に自壊がみられるものの、動物の健康状態や年齢、飼い主の希望などにより麻酔下での外科的処置が行えない状況も多々存在する。今回、われわれはそれぞれ異なる自壊した腫瘤を持ち、種々の理由により外科的処置を適用できなかった 6 症例に対して Mohs ペーストによる管理を試みる機会を得たのでその概要を報告する。

材料と方法

注射用水に塩化亜鉛を溶解し、さらに亜鉛華デンプンを加えて攪拌しペースト状にする。そこに少しずつグリセリンを加えることで粘度を調節して Mohs ペーストを作成した。報告されている調製法を参考にし^{1, 2, 7)}、ペーストは使用のたび調製した (表 1)。

表 1 Mohs ペースト調製量

	一般的調製量	当院調製量
塩化亜鉛	100g	5g
亜鉛華デンプン	50g	2.5g
蒸留水	50ml	2.5ml
グリセリン	5ml	1 ~ 1.5ml

処置の際は患部を洗浄したのち、Mohs ペーストによる接触性皮膚炎を防ぐために自壊した部分以外の正常な皮膚にワセリン等を塗布し保護した。自壊した部分を覆うように Mohs ペーストを塗布し、10 分程そのまま放置したのちガーゼで拭き取るか生理食塩水で洗い流した。

症 例

〔症例 1〕雑種犬、17 歳、未去勢オス、体重 8.3kg。僧帽弁閉鎖不全症による肺水腫歴あり。肛門右にできた直径 2cm 程の肛門周囲の腫瘤が自壊。固定した部分が痂皮となって脱落し出血するたびに計 5 回 Mohs ペーストによる処置を繰り返した。第 21 病日には肉眼的に腫瘤が消失したため、ワセリンの塗布による湿

潤療法に切り替え第 33 病日には上皮化が完了し治療終了とした (写真 1-4)。



写真 1 〔症例 1〕第 1 病日処置前



写真 2 〔症例 1〕第 1 病日処置 3 時間後



写真 3 〔症例 1〕第 3 病日



写真 4 〔症例 1〕第 21 病日

〔症例2〕雑種犬，17歳，未去勢オス，体重16kg. Levine III / VIの心雑音，慢性の呼吸器疾患あり．右前肢橈骨部にできた直径2cmの腫瘤が自壊した（写真5）．Mohsペーストによって腫瘤は徐々に縮小したが，第28病日の処置の翌日に肢端が腫れ，肘から遠位は全体的に浮腫をおこし処置部周囲の皮下から多量の滲出液がみられた（写真6，7）．しかし，その後第33病日には腫れもひきその後はワセリンの塗布により正常に上皮化がすすみ，第53病日には上皮化が完了したため治療終了とした．

〔症例3〕トイプードル，13歳，未避妊メス，2.6kg. 直径5cm程度の乳腺部の腫瘤が自壊，自壊部からの出血により重度の貧血を呈していた．計2回のMohsペースト処置により，出血は抑制され第20病日には貧血の改善がみられたため，第26病日に腫瘤の摘出手術を行った．



写真5 〔症例2〕第1病日処置後



写真6 〔症例2〕第28病日処置前

〔症例4〕雑種犬，11歳，未去勢オス，13.4kg. 慢性の発咳あり．左耳の垂直耳道内に腫瘤があり，強い悪臭を放っていた．耳道内を洗浄後，腫瘤の見えている部位に綿棒で丁寧にMohsペーストを塗布した．処置により滲出液は明らかに減少したが，悪臭の消失にはいたらなかった．



写真7 〔症例2〕第29病日

〔症例5〕シーズー，14歳，未避妊メス，5.5kg. Levine VI / VIの心雑音あり．右耳介にイボ状の複数の腫瘤ができており強い悪臭を放っていた．計3回のMohsペーストによる処置で第46病日には腫瘤は消失した（写真8-10）．

〔症例6〕雑種猫，17歳，避妊済メス，4.4kg. 右前肢第1指基部の腫瘤が自壊し，病理検査では扁平上皮癌と診断された．滲出液が多くペーストがうまく付着せず，第10病日には患部より遠位の肢端は壊死しており，硬結して冷たくなっていた．その後壊死部位は近位にも広がり，食欲も消失したため飼い主の希望により安楽死とした．

考 察

Mohsペーストの効果は，主成分である塩化亜鉛が潰瘍面の水分によってイオン化し，亜鉛イオンのタンパク凝集作用によって腫瘍細胞や腫瘍血管，および二次感染した細菌の細胞膜が硬化して，止血，殺菌効果が得られると考えられている^{1,3)}．ペーストの調製の際は，亜鉛華デンプンを加えるとペーストが硬くなり，グリセリンを加えるとペーストは軟らかくなる．調製してから時間がたつとペーストは硬くなるため，使用の直前にグリセリンを適量加えて粘度を調節するのがよいと考えられた．

Mohsペーストは1mmの厚さで塗布すると24～48時間で約5mm，72時間で約10mmの深さまで組織が硬化するといわれている^{1,3)}．報告ではペーストを塗布したあと2時間程度接触させたものが多い⁴⁾．今回は獣医臨床においてより扱いやすいよう10分程度の接触時間で処置を実施した．



写真8 [症例5] 第1病日処置前



写真11 第1病日



写真9 [症例5] 第1病日処置4時間後



写真12 第13病日



写真10 [症例5] 第46病日

[症例1] では処置の回数を重ねる度に出血や滲出液は減少し、腫瘍の消失に至った。[症例2] ではMohsペーストによる組織の収斂作用により静脈にダメージを与えたか周囲を絞扼したため患部より遠位に浮腫を引き起こしたと考えられた。[症例3] では、出血や浸出液の管理は良好にできたが、腫瘍サイズの縮小はみられなかった。[症例4] では自壊しているのが見えている部分だけとは限らないので、Mohsペーストによる処置の限界であると考えられた。[症

例5] では処置が効果的であり悪臭と腫瘍の消失に至った。[症例6] では[症例2]と同様の理由で患部より遠位が壊死をおこし、Mohsペーストによる効果もみられなかった。

ペーストの接触時間が短かったためか、固定した部分は時間経過とともに痂皮となって脱落した。可能な限り長い時間ペーストを接触させた方が処置の回数は少なくてすむ可能性があると考えられた。

Mohsペーストの使用において腫瘍の部位や滲出液の量などによってその効果は左右される。腫瘍が大きく自壊部に張力がかかっている場合などは、処置により自壊部が拡大することもある(写真11, 12)。[症例2・6]のように四肢端など処置により血流が阻害される可能性のある部位では、皮下浮腫や壊死が起こりうるので特に注意が必要である。また、処置には疼痛を伴うので鎮痛管理は必ず行うべきである。このようなことをふまえて、Mohsペーストによる管理をおこなう際には、頻回の処置が必要になる可能性も含めて十分なインフォームドコンセントが必要になる。

以上のように適用する際のいくつかの問題点および改善が必要な点はあるものの、従来良い管理法がなかった腫瘍の自壊に対して出血や滲出液の抑制という点でMohsペーストの有用性は高い。また処置の回数は必要であったが患者および飼い主のQOLは十分に改善することができた。今後はMohsペーストの調製法や処置法などについてさらなる検討が必要である。

参考文献

- 1) 大井裕子ほか：緩和ケア領域におけるMohsペーストの有用性, *Palliative Care Research*, 4 (2), 346-350 (2009)
- 2) 新 康憲ほか：モーズ軟膏によりQOLの改善が得られた悪性黒色腫の1例, *Skin Cancer*, Vol.23, No.3 (2008)
- 3) 竹内有城：Mohsペーストが出血・浸出液コントロールに有効であった進行癌皮膚浸潤・転移の2例, *日臨外会誌*, 71 (7), 1909-1915 (2010)
- 4) 南 和彦ほか：緩和治療におけるMohs法の応用, *頭頸部外科*, 22 (2), 247-253 (2012)
- 5) 南 和彦ほか：Mohs軟膏を用いた頭頸部腫瘍の出血、疼痛制御, *日耳鼻*, 112, 550-553 (2009)
- 6) 中西敏博ほか：Mohsペーストの塗り方を改良したMohsガーゼ法が有用であった転移性皮膚腫瘍の1例, *Palliative Care Research*, 6 (1), 324-329 (2011)
- 7) 山田雅人：自壊した乳がんの出血・浸出液コントロールにMohsペーストが有効であった犬の1例, *第32回動物臨床医学会*, 241-242 (2011)

症例報告

多発性に骨格筋転移をきたした犬の乳腺癌の1例

秋田咲樹子 秋田 征豪

(受付：平成25年12月17日)

Multiple skeletal muscle metastases from mammary gland adenocarcinoma in a dog

SAKIKO AKITA, MASAHIDE AKITA

Hachi Pet Clinic, 11-55, nakayamanaka-machi, higashi-ku, Hiroshima
732-0026

SUMMARY

A 9-years-old female, Yorkshire terrier dog was brought to our hospital for subcutaneous masses size of 5 mm in her thigh, flank and mammary gland. The staging of TNM system was 1 (T1N0M0) according to physical examination and thoracic radiograph. The masses of thigh and flank revealed epithelial tumor by fine needle aspiration. But those nodules were shown to be in intramuscular masses on surgery and the possibility of skeletal muscle metastases. Restaging procedure again disclosed no lesion except mammary gland tumor as primary lesion. The pathological examination revealed mammary adenocarcinoma and adenocarcinoma metastases to muscle derived from mammary gland.

The number of metastases to muscle progressed rapidly after surgery. She died the day 125 (three months after the surgery) due to cachexia. Skeletal muscle metastases from malignant mammary gland tumor are rarely encountered in clinical practice. This is a rare observation could easily be overlooked. Metastatic tumor must thus be considered when a skeletal muscle is seen.

— Key words: dog, malignant mammary gland tumor, skeletal muscle metastases

要 約

9歳齢、未避妊雌のヨークシャテリアが、乳腺部、体幹部および大腿部の皮下腫瘍に気づき来院した。一般身体検査、胸部レントゲン検査にて転移を疑う所見は見られず、TNM分類による臨床ステージは1と分類した。

体幹部と大腿部の腫瘍は、細胞診にて上皮系の形態を呈していたため皮膚由来の腫瘍を疑い、乳腺部腫瘍と同時に摘出術を実施した。術中所見にて、大腿部および体幹部腫瘍は皮下組織ではなく骨筋肉内に発生していることが判明したため、上皮系腫瘍の骨格筋内転移の可能性が疑われた。そのため、再度原発巣の確認を行ったが乳腺腫瘍以外の病変は確認することができなかった。病理学的検索の結果、乳腺腫瘍は乳腺癌、骨格筋の腫瘍はいずれも乳腺癌転移と診断され、臨床ステージは5であったことが判明した。経過は、術後速やかに全身の骨格筋へ多発性に転移を認め、第125病日癌性悪液質のため死亡した。

——キーワード：犬、乳腺癌、多発性骨格筋転移

序 文

犬の未避妊雌では、乳腺腫瘍はよく認められる腫瘍疾患の1つであり、雌犬全体の腫瘍の罹患率の50～70%を占める¹⁾。避妊手術の時期と乳腺腫瘍の発症率には関連性があり、乳腺腫瘍の発生リスクは未避妊雌では7倍高い²⁾。プードル種、テリア種、コッカー・スパニエル、ジャーマン・シェパードに多く発生が見られるとの報告があるが、近年では発生率の高い犬種についての統一した見解は特になく、比較的小型犬種で多い傾向があると報告されている²⁾。乳腺腫瘍が悪性である割合は約50%であり、さらにその約半数では初診時に遠隔転移を認める^{1, 2)}。乳腺癌ではリンパ節、肺への転移が多く、その他には肝臓、骨などの臓器への転移が見られる^{1, 2)}。また、乳腺腫瘍の犬の50%では、多発性に腫瘍が発生するが腫瘍の数や位置は予後に影響しない²⁾。予後に関わる因子としては、腫瘍のサイズ、ステージ、転移、組織学的グレード、食事内容などが挙げられている²⁾。

乳腺癌の臨床ステージ1の術後1年生存率は97.9%、中央生存期間17カ月に対し、ステージ5の術後1年生存率は13.6%、中央生存期間は3カ月となっている²⁾。

乳腺癌の骨格筋への転移は稀で、国内外ともに報告例は殆どない。今回我々は、大腿部、頭部、体幹部の骨格筋へ多発性に転移を伴った犬の乳腺癌の症例を経験した。稀な症例ではあるが、常に転移の可能性を念頭において置く必要があると考えられた。

症 例

ヨークシャテリア、9歳齢、未避妊雌、体重3.8kg。左側第3乳腺部および左側大腿部に1個、左側最後肋軟骨付近に1個、いずれも約5mmの皮下腫瘍があることに気づき来院した。腫瘍部位に疼痛はなく、来院時の一般状態は良好であった。細胞診では、腫瘍はいずれも上皮系細胞の形態を呈しており、皮膚由来の腫瘍を疑った(図1)。術前の一般身体検査、胸部X線検査では明らかな肺野への転移像は認められず、血液学的検査でも異常所見は見られなかった。(表1、図2)そのため、TNM分類による臨床ステージ1と想定し乳腺腫瘍と同時に左側大腿部および左側最後肋軟骨部付近腫瘍を外科的に摘出することとした。

表1 初診時血液検査

CBC 検査		生化学検査	
項目	測定値	項目	測定値
WBC	5,100 /ul	GLU	112 mg/dl
RBC	854 × 10 ⁴ /ul	BUN	9.6 mg/dl
HGB	18.5 g/dl	CRE	0.6 mg/dl
HCT	54.20%	GPT	30 U/l
MCV	63.5 fl	ALP	127 U/l
MCH	21.7 pg	TP	7.6 g/dl
MCHC	34.1 g/dl		
PLT	33.3 × 10 ⁴ /ul		

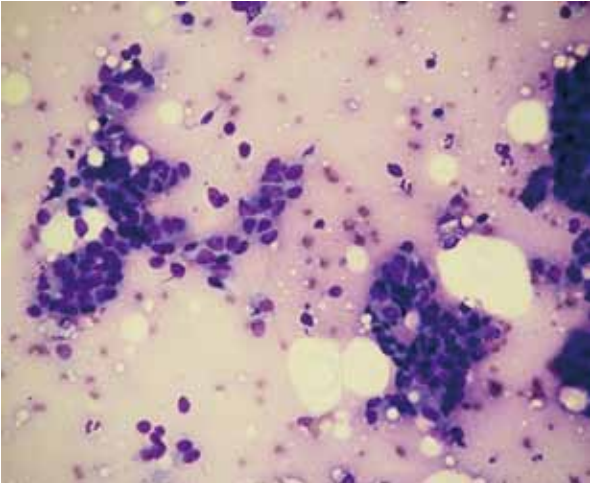


図1 大腿部腫瘍より細胞診にて得られた上皮系細胞集塊。好塩基性細胞質を有する多角形細胞が集塊している。Diff-Quick 染色, × 100 倍



図2 初診時, 触知された腫瘍存在部位

経 過

1) 術中所見

左側大腿部と左側最後肋軟骨付近に見られた腫瘍は、いずれも直径約 5mm, 固着性で正常組織との境界は不明瞭, 白色, 充実性, 硬度を有し, 骨格筋肉内(大腿筋膜張筋, 外腹斜筋)に存在していた。左側第 3 乳腺部に発生した乳腺腫瘍は皮下組織内に存在し, 直径約 5mm, 孤立性で固着性は無く, 同乳腺部分ごと切除した。左側第 5 乳腺部にも粟粒大腫瘍が 2 個触知されたため, 腫瘍のみを切除した。また, 同時に子宮・卵巣の摘出を行った。

2) 病理組織学的所見

左側第 3 乳腺部腫瘍は, 脈管浸潤を伴う乳腺癌(組織学的グレード 1)と診断された(図 3)。骨格筋肉内の腫瘍はいずれも乳腺癌転移病変であった(図 4)。左側第 5 乳腺部腫瘍は, 2 個ともに過形成であり非腫瘍性病変であった。

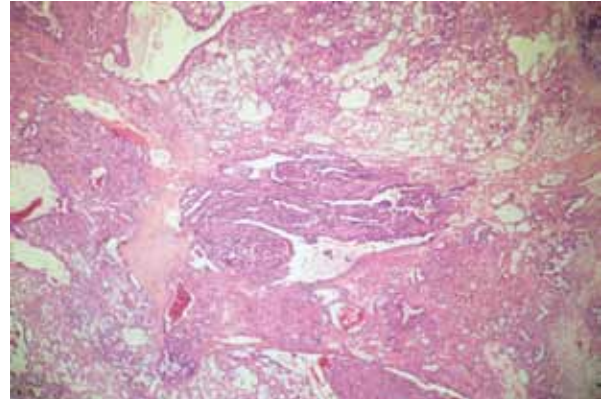


図3 病理組織写真
左側第 3 乳腺部腫瘍, 乳腺癌
腺腔を形成する部位や腺腔を形成せず自由な浸潤増生を示す部位が見られる。間質には豊富に血管新生を認める。H & E 染色, × 200 倍

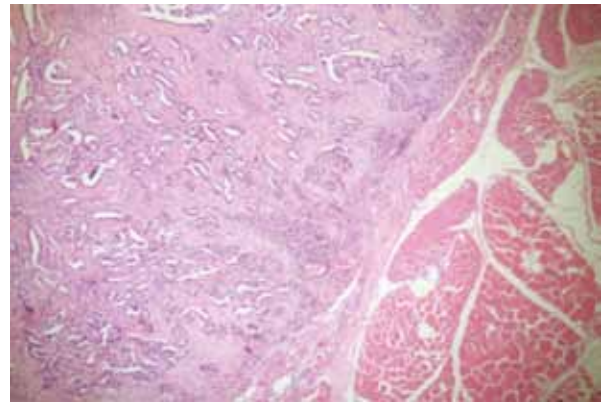


図4 大腿部腫瘍 乳腺癌の骨格筋転移
骨格筋線維内に周囲を線維性被膜に覆われない結節状腫瘍を認める。腫瘍内には, 大小の腺腔構造が観察される。H & E 染色, × 200 倍

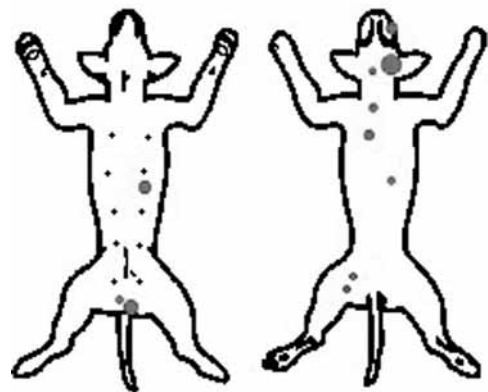


図5 第 92 病日, 触知された腫瘍存在部位

3) 経過

術後抜糸までの 10 日後に, 頭部側頭筋や体幹(最長筋, 背鋸筋)の複数箇所にも粟粒大の腫瘍が触知された。第 62 病日には舌にも粟粒大の腫瘍が観察され, 体幹部のほか, 後肢(大腿二頭筋)にも腫瘍が発生した。第 92 病日には胸水貯留により呼吸困難を生じ癌

性胸膜炎を併発した。しかし、明らかな肺野への転移か胸壁筋肉への転移であるかは判定出来なかった。また、腹腔内臓器への転移は認められなかった(図5)。週に1度胸水除去を行っていたが、第125病日悪液質にて死亡した。

考 察

悪性腫瘍は各々固有の転移散布パターンを有し、その転移臓器特異性が認識されている。乳腺腫瘍の好発転移臓器は、リンパ節、肺、肝臓、骨などであり、骨格筋への転移は極めて稀である¹⁻³⁾。我々が文献的に調べ得た範囲では、犬において腫瘍の骨格筋転移が見られた症例の報告は殆ど認められない。これまでに犬で骨格筋に転移が見られた乳腺癌は一症例のみであり、肝臓、心臓、脳を含めた多臓器にも転移があった⁴⁾。大腿部と体幹部の腫瘍は、初診時には乳腺腫瘍とは別の皮下組織に発生した上皮系腫瘍の可能性を考えていた。しかしながら、術中所見および病理組織検査にて乳腺癌の骨格筋内への転移病変と診断された。術後も頭部側頭筋、舌、後肢(大腿二頭筋)、体幹部(最長筋、背鋸筋など)の骨格筋を選択的とした多発性転移が認められた。ヒトでの骨格筋転移はステージの進行した腫瘍の末期に比較的多いと報告されるが、骨格筋へのみ選択的に転移する症例も稀には認められた⁵⁾。CT等の検査や剖検を実施できなかったことから、癌性胸膜炎については肺転移なのか胸壁筋転移か判定することは出来ず、多臓器への微小転移の確認など詳細を明らかにできなかったことが悔やまれる症例であった。

骨格筋は体重に占める重量が多いにも関わらず、転移を生じることは極めて稀である。その理由を説明する仮説としては、PagetのSeed-Soil説、EwingのAnatomical-Mechanical説がある。これらの仮説では、1. 骨格筋の運動、血流変動、高代謝活性が腫瘍細胞の生着を阻害する。2. 筋肉内の乳酸、タンパク酵素、pHが腫瘍の増殖を阻害することなどが挙げられている⁶⁾。

リンパ節転移を疑う所見が無かったこと、転移骨格筋の栄養血管内に腫瘍細胞浸潤が見られたことから、血行性転移の可能性が疑われた。しかしながら、リンパ管経路あるいは血行性のいずれの経路にせよ、多臓器への転移を伴わず選択的に骨格筋への多発性転移を生じた説明を行うことは困難を極める。癌細胞の増殖にはこれを取りまく微小環境(線維芽細胞、炎症細胞や免疫担当細胞、血管、リンパ管)が極めて重要であることが指摘されている⁷⁾。癌の増殖、浸潤、転移の生じ安さは、癌細胞自体のもつ特性のみならず、癌細胞と微小環境との相互関係が深く関わっている⁷⁾。その点からも、明らかな多臓器転移を伴わず選択的に骨格筋に多発性転移が認められる傾向を示したことは、癌微小環境を考える上でも興味深い症例と考えられる。

臨床ステージ1と考えていた症例であったが、実際はすでにステージ5で極めて進行が速い悪性の挙動をとる乳腺癌であった。病理組織学的にはグレード1と悪性度は低かったが、実際の挙動とは一致せず初診時より転移を伴っていた。骨格筋転移症例における確立された治療は存在せず、予後は現時点では予想し得ない部分もあるが、本例では多発性に転移を認め術後約4ヶ月で死亡する結果と極めて悪い転機をとった。近年、ヒトの悪性腫瘍の0.03~17.5%で死後検査により骨格筋転移が認められたとの報告がある⁸⁾。転移部位としては、腸腰筋、傍脊椎筋、臀筋に多く、ついで胸壁および腹壁筋、手足に認められた⁸⁾。原発腫瘍としては、消化器腫瘍、泌尿器腫瘍、肺癌、甲状腺癌、悪性黒色腫、乳癌と多岐に及んでいた^{8,9)}。

触知できない場合や疼痛を伴わない場合には、動物においては骨格筋転移の存在は見逃されてしまう可能性もある。近年、MRIやCT検査の普及が進み、今後骨格筋への転移率が上昇することも予想される。そのため、悪性腫瘍の骨格筋転移は稀少なケースではあるが、常に転移の可能性について考えておく必要があると考えられた。

文 献

- 1) Stephen, J. W., et al.: Small Animal Clinical Oncology 5th, 538-556, Saunders Philadelphia (2013)
- 2) Gregory, K. O. and Antony, S. M.: 犬の腫瘍, 第1版, 504-514, インターズー (2008)
- 3) Donald, J. M.: TUMORS in Domestic Animals 4th, 575-606, Blackwell publishing (2002)
- 4) Jae-Yeon, L., et al.: Longissimus lumborum muscle metastasis from mammary gland adenocarcinoma in a dog. Korean J. Vet. Res., 52 (4), 281-283 (2012)
- 5) 上岡 博: 選択的ともいふべき多発性骨格筋転移を来した肺扁平上皮癌の1例. 肺癌 30, 1055-1060 (1990)
- 6) Willis, R.A.: The spread of tumors in the human body. Butterworth's, London, 281-282 (1973)
- 7) Mina, J. B. and William, C. H.: Why don't we get more cancer? A proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression. Nature Medicine, 17 (3), 320-329 (2011)
- 8) Surv, A., et al.: Skeletal muscle metastases: primary tumors, prevalence, and radiological features. Eur Radiol., 20 (3), 649-658 (2010)
- 9) Haygood, T.M., et al.: Skeletal muscle metastases: a three-part study of a not-so-rare entity. Skeletal Radiol., 41 (8), 899-909 (2012)

症例報告

恒久的ペースメーカーの植え込みを実施した犬と猫の2例

荒蒔 義隆¹⁾ 平川 篤²⁾ 長谷川孝寿³⁾ 大村 齊⁴⁾
大村 琴枝⁴⁾ 田村 慎司⁵⁾ 荒蒔すぐれ¹⁾
(受付：平成24年12月24日)

Two cases of a dog and a cat which enforced pacemaker implantation

YOSHITAKA ARAMAKI¹⁾, ATSUSHI HIRAKAWA²⁾, TAKAHISA HASEGAWA³⁾, HITOSHI OMURA⁴⁾,
KOTOE OMURA⁴⁾, SHINJI TAMURA⁵⁾ and SUGURE ARAMAKI¹⁾

- 1) Bay Veterinary Hospital, 5-6-7 Ujinanishi, Minami-ku, Hiroshima, Hiroshima 734-0014, Japan
- 2) Petclinic Halleluya Guide of Kasuya Hospital, 2544-1, Nakahara, Oaza, Kasuya-cyou, Kasuya-gun, Fukuoka 811-2304, Japan
- 3) Misasa Animal Hospital, 8-11, Misasakitamachi, Nishi-ku, Hiroshima, Hiroshima 733-0066, Japan
- 4) Pal Animal Hospital, 4-13-1F, Hijiyama-cyou, Minami-ku, Hiroshima, Hiroshima 732-0817, Japan
- 5) Tamura Animal Hospital, 7-16, Yoshimien, Saeki-ku, Hiroshima, Hiroshima 731-5132, Japan

SUMMARY

We carried out pacemaker implantation (PMI) for a dog of complete atrioventricular block (CAVB) and a cat of paroxysmal atrioventricular block (PAVB). We chose endocardium pacing for the dog of CAVB, and chose epicardium pacing for the cat of PAVB. In both cases, the improvement of exercise intolerance and the attack. We thought that the enforcement of PMI was effective in progress.

— Key words: Endocardium pacing, epicardium pacing, pacemaker

1) ベイ動物病院 (〒734-0014 広島市南区宇品西 5-6-7)
2) ペットクリニックハレルヤ (〒811-2304 福岡県粕屋郡粕屋町大字仲原 2544-1)
3) 三篠動物病院 (〒733-0006 広島市西区三篠北町 8-11)
4) パル動物病院 (〒732-0817 広島市南区比治山町 4-13-1F)
5) たむら動物病院 (〒731-5132 広島市佐伯区吉見園 7-16)

要 約

完全房室ブロック (CAVB) の犬および発作性房室ブロック (PAVB) の猫に対してペースメーカー植え込み (PMI) を実施した。CAVB の犬に対しては、心内膜ペースングを選択し、PAVB の猫に対しては、心外膜ペースングを選択した。両症例において、運動不耐ならびに発作の改善がみられ、経過良好であることから、PMI の実施は有効であったと考えられた。

—キーワード：心内膜ペースング，心外膜ペースング，ペースメーカー—

序 文

失神は全脳虚血による一過性の意識障害であり、血圧の一過性の低下により脳虚血状態に陥り、一過性に意識を失う^{1, 2)}。不整脈が原因でおこる失神として、完全房室ブロック (CAVB)、発作性房室ブロック (PAVB)、洞停止などが挙げられる。このような失神を誘発する徐脈性不整脈は、突然死の危険性が高いことが知られている。治療としてペースメーカー植え込み (PMI) がある。PMI は高価であり、デバイスの入手が困難であることや、基礎疾患の併発による適合性の可否など、適合の判断に悩むことがある。しかし、獣医療においても専門性が持たれるようになり、適切な診断が行われれば、PMI が極めて有効な治療であることが証明されてきた。今回我々は、犬のCAVBならびに猫のPAVBに遭遇し、PMI を実施したのでその概要を報告する。

症 例

(症例1) 雑種犬，12歳齢，避妊メス，体重12.1kg。不整脈が認められるとのことで紹介来院した。胸部レントゲン検査ではVHS:10.0v, CTR:60.5%と正常範囲

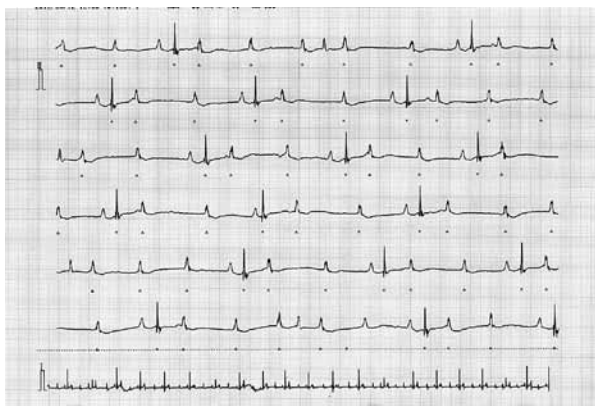


図1 (症例1) 初診時心電図検査所見：P波に続かないQRS波が観察され、第Ⅲ度房室ブロック (CAVB) と診断された。ペーパースピード：50mm/sec, 心拍数：57bpm。

であり、肺陰影の異常も認められなかった。心電図検査にて心拍数57bpmのCAVBが認められた(図1)。また、ホルター心電図検査を実施したところCAVBと確定診断され、総心拍数は40,098回/日と極めて少なかった(図2)。心エコー検査では、軽度の僧帽弁逆流が観察され、左心房および左心室腔の軽度拡大がみられたが、左室内径短縮率は正常範囲であった。

(症例2) 雑種猫，6歳齢，去勢オス，体重4.3kg。1日に5～10回程失神するとのことで紹介来院した。胸部レントゲン検査ではVHS:7.1v, CTR:53%と正常範囲であり、肺陰影の異常も認められなかった。心電図検査にて心拍数220bpmで不整脈は観察されなかった(図3)。ホルター心電図検査を実施したところ持続性(6～10秒)のPAVBが頻繁に観察された

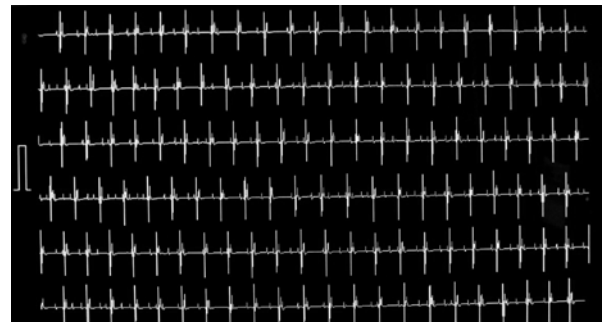


図2 (症例1) ホルター心電図検査所見：CAVBが認められ、一日あたりの総心拍数は40,098回であった。

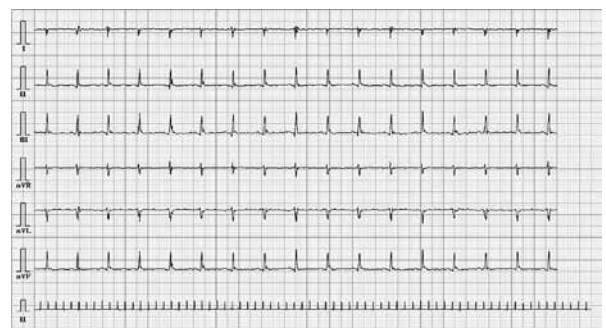


図3 (症例2) 初診時心電図検査所見：心拍数は220bpmで心電図波形に異常は認められなかった。ペーパースピード：50mm/sec。

(図4). 心エコー検査では、左室腔に軽度の過剰調節帯が観察されたが、心筋の動きは正常で、心室腔内血流の乱流も認められなかった。

手術および経過

(症例1) 第7病日にPMIを実施した。ペースメーカーのジェネレータ (Medtronic社製, EnPulse E2DR01) を頸部皮下に留置する心内膜ペースティングを選択した。左側頸静脈経由で心内膜専用リードを右心室内に誘導し、右心室心尖部に引っ掛けるように設置した。ジェネレータは頸部皮下ポケットに留置した

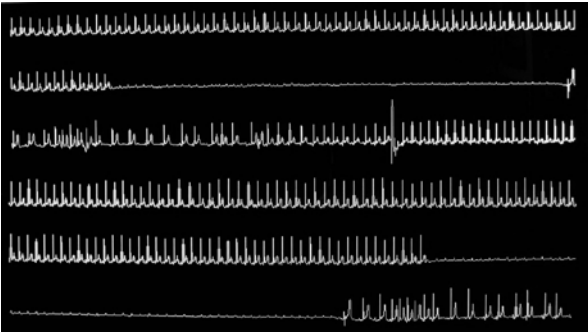


図4 (症例2) ホルター心電図検査所見: 6~10秒の発作性(持続性)房室ブロックが、多数確認された。P波は認められるがP波に続くQRS群が欠如している。

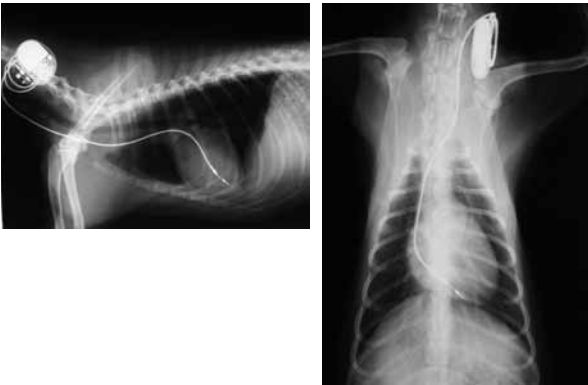


図5 (症例1) 術後胸部レントゲン検査所見: 左側頸部にジェネレータを留置。右心室にペースティング電極を留置。

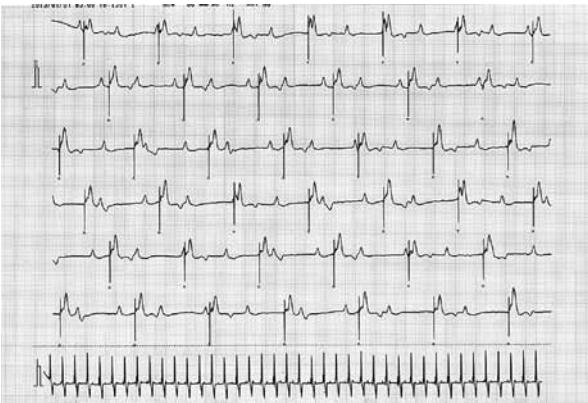


図6 (症例1) 術後心電図検査所見: ペースングレートを80bpmに設定し、100% ペースングが確認された。

(図5). ペースングレートは80bpm, ペースング方式はVVIとした。VVIとは、ペースングモードのコード分類であり、ペースング部位V (ventricle: 心室), センシング部位V (ventricle: 心室), 応答形式I (inhibited: 抑制型) の略である。医療においては、リードを心房および心室に設置し、ペースング部位とセンシング部位をそれぞれ設け、応答形式を同期型と抑制型を組み合わせ、生理的なペースングを行うDDDまたはDDDR (レート応答機能あり) が広く使われている。しかし、リードを2本入れなければならないことや、獣医療でのDDDR方式の有効性が報告されていないことから、本例ではVVI方式で行った。1ヶ月後のペースング率はほぼ100%であった(図6)。術後3日間心室性期外収縮が観察されたが、その後は消失し、運動不耐も改善し経過は良好である。

(症例2) 発作の頻度が改善しないことから、第40病日にPMIを実施した。PMIに際しては、体格が小さく、頸静脈経由のリード挿入が困難なことや、ジェネレータ (Medtronic社製, Adapta L ADDR1) を頸部皮下に留置することが難しいことから、心外膜ペースングを選択した。腹側縦切開から、一部胸骨縦切開を行い、心尖部を露出した。心膜切開を行い、左心室心尖部へ5-0 ナイロン糸にて電極を縫合した。本体は左側腹壁にポケットを作成し留置した(図7)。

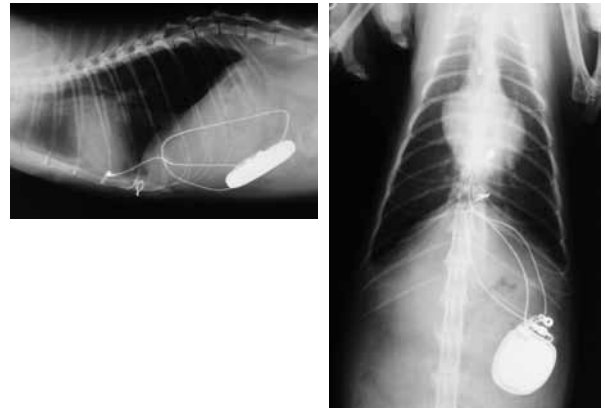


図7 (症例2) 術後胸部レントゲン検査所見: 左側腹壁にジェネレータを留置。ペースング電極は心尖部に留置。



図8 (症例3) 術後2週間の心電図検査所見: 第三度房室ブロックに移行していることが確認された。

ペースングレートは70bpm, ペースング方式はVVIとした。術後2週間でCAVBに移行したが(図8), 心拍数70bpm以下でペースングが行われていることが確認され, 発作も起こらなくなった。その後も経過は良好である。

考 察

著しい一過性の血圧低下によって全脳虚血がおこると, 失神が誘発されるが, 血圧が低下してから失神するまでにかかる時間は6~8秒と報告されている。また, 犬において一日あたりの総心拍数が50,000回を下回ると突然死の可能性が高くなると報告されている³⁾。症例1においては, 以前より運動不耐がみられたが失神は起きていなかった。しかし, ホルター心電図検査を実施した際に総心拍数が50,000回を下回っていたため, 突然死を回避するためにPMI実施は必要であったと考える。また, 症例2においては, 外来時の心電図検査では不整脈を見つけることはできなかったが, ホルター心電図検査によって, 6~10秒のQRS群の欠如が多数確認され, 失神の原因はPAVBであることがわかった。猫においては, CAVBに陥っても心拍数が80~110bpm前後維持されることが多く, 失神が起こらないことが多い。このため, PAVBからCAVBに移行すると症状が改善したように見られることが多い。症例2においてもCAVBに移行することを期待して, PMI実施の時期を伸ばしてみたが, 症状が改善する兆候が見られなかったためPMI実施に踏み切った。術後2週間目にCAVBに移行したことが確認されたが, 心拍数70bpm以下によりペースメーカーが作動している割合を示すペースング率が1.6%であったことから, CAVBで引き起こされる突然死の回避には, PMIは有効であったと考える。VVIは応答形式が抑制型であるため, 設定心拍70bpm以下ではペースングされないことを意味しており, ペースング率が1.6%であるということは, 発作性房室ブロックが起こる以外は, 生理的心拍で生活していることがわかった。

過去の報告において, PMIにおける合併症や制限事項⁴⁾, 経済的問題などがあるため, 治療の選択肢としては挙げられるが, 積極的なPMIの実施には繋がっていないのが現状であった。しかし, 近年はジェネレータの小型化および軽量化が進み, さらに術者の技術向上により, リードのずれ, ジェネレータの移動, 感染ならびに漿液腫などの合併症は回避できるようになったと考える。また, 本体の軽量化により, 症例2で示したように猫においても, 心外膜ペースングを用いれば, 生活の質を落とすことなく維持できることが示された。

これらのことから, 失神の原因がCAVBやPAVBの症例に対してPMIを行うことは, 突然死の危険の

回避, 運動不耐の改善ならびに発作消失に有効な治療であると思われ, もっと積極的にPMI実施を進めていく必要があるのではないかと考えた。

文 献

- 1) 福島隆治: Veterinary Circulation. 1 (2), p27-46 (2012)
- 2) Strickberger, S.A and Benson, D.W.: AHA/ACCF Scientific statement on the evaluation of syncope: from the American heart association councils on clinical cardiology, cardiovascular nursing, cardiovascular disease in the young, and stroke, and the quality of care and outcomes research interdisciplinary working group; and the american college of cardiology foundation: in collaboration with the heart rhythm society: endorsed by the american autonomic society. circulation, 113, 316-327 (2006)
- 3) 内野富弥: 第9回日本臨床獣医学フォーラム年次大会 (2007)
- 4) Sisson, D., Thomas, W. P., et al.: Permanent transvenous pacemaker implantation in forty dog. J.Vet.Inter.Med., 5, 322-331 (1991)

症例報告

スプリントプレート法を用いて治療した 小型犬橈尺骨骨折 25 症例 25 肢の成績

櫻田 晃¹⁾ 大村 琴枝²⁾ 田丸 尚道¹⁾ 大村 齊²⁾

(受付：平成 26 年 1 月 6 日)

Results of sprint plating for fractures of the radius and ulna in 25toy-breed dogs

AKIRA SAKURADA, KOTOE OMURA, NAOMICHI TAMARU and HITOSHI OMURA

- 1) Sakurada Animal Hospital 1-6-17-1, Senzoku, Hesaka, Higashi-ku, Hiroshima 732-0009
- 2) Pal Animal Hospital 4-13-1F, Hjiyama-cyou, Minami-ku, Hiroshima 732-0817

SUMMARY

The fracture of the radius and ulna in 25toy-breed dogs, we examined by sprint plate, this plate can heal contact with relative stability.

— Key words: Small animal fracture of radius and ulna, sprint plate, double plate

要 約

小型犬橈尺骨骨折に対して、相対的安定から間接的癒合を可能にするスプリントプレート法を用いて治療したところ良好な経過と結果が得られたので報告する。

—キーワード：小型犬橈尺骨骨折，スプリントプレート，ダブルプレート

1) さくらだ動物病院（〒732-0009 広島県広島市東区戸坂千足1丁目6-17-1）

2) パル動物病院（〒732-0817 広島県広島市南区比治山町4-13）

序 文

「ソファから飛び降りて骨折した。」などの些細な原因による小型犬橈尺骨骨折を多く経験する。治療法として様々な方法が報告されているが、いずれの方法においても何らかの合併症が発生し、万能な方法は無い。術後の代表的な合併症として癒合不全、変形癒合、ストレスシールドリング、ストレスプロテクションなどが挙げられるが、最終的に解剖学的整復、機能回復と抜プレート後の再骨折を最小限にするために試行錯誤を繰り返していると言っても過言ではない。

近年、橈尺骨骨折治療に対する新しい考え方で樋口らが提唱している「強度が弱く長さの異なる2枚のプレートを橈骨頭側面と外側面に並列する方法」である「ダブルプレート法（背側プレート法）」のデザインを改良し、骨折端からの架橋距離をより長く設定し、応力を分散することで適度な撓りを与える方法である「レバーアームの長いダブルプレート法」＝「スプリントプレート法」が、相対的安定から間接的癒合を達成する新しい小型犬橈尺骨骨折の治療法として注目されている^{1, 2, 3)} (写真1)。しかし、有効性の高い手術法でありながら新しい治療法であるため、適切なプレートの長さ、プレートサイズ、抜プレート時期など、治療指針となるものがまだ少ないのが現状である。

今回、我々は2012年第32回動物臨床医学会年次大会において川田らが報告したプレートスパン比およびプレートスクリュウ密度に則した値でプレートを適応したところ、その報告を支持する良好な経過と結果が得られたので報告する^{4, 5)}。



写真1 レバーアームを長くすることで応力を分散できる。

症 例

2011年9月から現在までに橈尺骨骨折で来院したトイプードル19頭（雄4頭、雄去勢済3頭、雌12頭）、パピヨン1頭（雌）、チワワ1頭（雄）、ポメラニアン2頭（雄）、イタリアングレーハウンド1頭（雄去勢済）、トイプードル×マルチーズ1頭（雄）、体重は平均3.27kg（1.95～8.80kg）、年齢は平均1歳6ヵ月齢（4.5ヵ月齢～5歳2ヵ月齢）の25症例25肢を対象とした。25肢はいずれも新鮮骨折であり、骨折部位は様々であるが概ね遠位1/3～1/2の範囲であった（表1, 2）。

表1 動物種

犬種	頭数	性別
トイ・プードル	19	雄4頭・雄去勢済3頭 雌3頭・雌避妊済12頭
パピヨン	1	雌 1頭
チワワ	1	雌 1頭
ポメラニアン	2	雄 2頭
イタリアン・G・H	1	雄去勢済 1頭
トイ・プードル×マルチーズ	1	雄 1頭

表2 動物の体重と年齢

体 重	平均3.27kg (1.95～8.80kg)
年 齢	平均1歳6ヵ月齢 (4.5ヵ月齢～5歳2ヵ月齢)

治療および経過

鎮痛剤としてメロキシカム0.2mg/kg (sc)を術前より使用した。グリコピオレート0.01mg/kg (iv)、スタドール0.1mg/kg (iv)で前処置し、プロポフォル5～10mg/kg (iv)を目安に麻酔状態を見ながら麻酔導入し、気管チューブを挿管後、イソフルレン(OI)にて麻酔維持した。

術部は毛刈り消毒後、Vi-Drape®を噴霧し、プラスチックドレープを貼り付けた。アプローチは前腕の橈側皮静脈をランドマークとし、その外側を切皮し、橈側手根伸筋と総指伸筋の筋間より橈骨頭側面に露出した。解剖学的に正常となるよう骨折端を整復後、橈骨頭側面にメインプレートを適応し、続いて橈骨外側面に長さの違うサブプレートを適応した。スクリュウはメインプレートでは遠位近位にそれぞれ2本ずつ計4本使用し、サブプレートでは遠位近位にそれぞれ1本ずつ計2本使用した（写真2・3）。プレートの適応は体重・骨幅・骨折部位によって選択した。適応したメインプレートのプレートスパン比は平均12.01（5.63～17.14）、川田らが平均12.23。プレートスクリュウ密度はメインプレートで平均0.40（0.33～0.44）、サブプレートで平均0.23（0.18～0.29）であり、これらは川田らと同値であった^{4, 5)}。

適応したプレートと体重について、20/25肢でメインプレート：1.2mm厚3.8mm幅ミニ・ストレート・カッタブル・プレートとサブプレート：0.9mm厚3.8mm幅カッタブル・リコンストラクション・プ

表3 適応プレートの種類と適応頭数

メインプレート	サブプレート	適応頭数
1.2mm厚3.8mm幅ミニ・ストレート・カッタブル	0.9mm厚3.8mm幅カッタブル・リコン	20/25
1.2mm厚4.5mm幅ミニ・ストレート・カッタブル	0.9mm厚5.0mm幅カッタブル・リコン	3/25
1.2mm厚3.8mm幅T字型カッタブル	0.9mm厚3.8mm幅カッタブル・リコン	1/25
0.9mm厚3.8mm幅ミニ・ストレート・カッタブル	0.9mmカッタブル・リコン	1/25
抜去時期4～14週 (川田ら4～7週)	抜去時期8～25週 (川田ら8～12週)	—
メインプレートのプレートスパン： 平均12.01 (5.63～17.14) (川田ら12.23)		—
スクリュウ密度： 平均0.40 (0.33～0.44)		スクリュウ密度： 平均0.23 (0.18～0.29)

参考症例：

トイプードル，雌，6ヵ月齢，3.4kg

左側橈尺骨骨幹部斜骨折

メインプレート：1.2mm厚 3.8mm幅ミニ・カッタブル・ストレートプレート

サブプレート：0.9mm厚 3.8mm幅カッタブル・リコンストラクションプレート



VD 像

ラテラル像

写真2 手術前



VD 像

ラテラル像

写真3 手術直後



VD 像

ラテラル像

写真4 術後4週 抜メインプレート



VD 像

ラテラル像

写真5 術後8週 抜サブプレート

プレートを使用した。3/25肢でメインプレート：1.2mm厚 4.5mm幅ミニ・ストレート・カッタブル・プレートとサブプレート：0.9mm厚 5.0mm幅カッタブル・リコンストラクション・プレートを使用した。1/25肢でメインプレート：1.2mm厚 3.8mm幅T字型カッタブル・プレートとサブプレート：0.9mm厚 3.8mm幅カッタブル・リコンストラクション・プレートを使用した。1/25肢でメインプレート：0.9mm厚 3.8mm幅ミニ・ストレート・カッタブル・プレートとサブプレート：0.9mmカッタブル・リコンストラクション・

プレートを使用した（表3）。

術後、抜プレートまでの期間はメインプレートで4～14週（川田らが4～7週）で、サブプレートで8～25週（川田らが8～12週）であり、川田らの報告に比べ大幅に遅れた。抜プレートは全症例においてメインプレートから実施した。プレートの最遠位および最近位を抜スクリュー操作できる最小限（5～10mm程度）切皮し、抜スクリュー後、プレートをいずれかの切皮部より引き抜き、骨の露出を最小限にした（写真4・5）。

考 察

今回、治療において重要な要素の1つである抜プレート時期が川田らの報告に比べ大幅に遅れた。これは依頼症例が多くを占めたためタイムリーに抜プレート出来なかったのが理由であり、反省すべき点である。しかし、それにもかかわらず、従来法で問題とされる骨硬化像は最小限で、髓腔は保持され、異常骨萎縮は見られていないこと、また、2枚のプレートを時期をずらして抜プレートすることで再骨折のリスクを最小限にでき、最長で約2年2ヵ月が経過しているが再骨折は経験していないことは評価すべき点である。

これらのことからスプリントプレート法は内仮骨重視で癒合過程が管理しにくい従来法に比べ、「解剖学的整復が可能」で「計画的に相対的安定から間接的癒合を可能にする」また、「抜プレート時期の遅れを許容できる」、非常に有効な小型犬橈尺骨骨折の治療法の1つであると確認できた。

プレートの適応に関しては、川田らが設定したプレートスパン比およびプレートスクリュー密度は共に信頼性が高く、今後の治療指針となり得る値であることが示唆された。実際に適応したプレートの長さ(穴数)で示すと、メインプレートに関しては、使用穴数は9～14穴の範囲であり、11/25肢で10穴を適応していることから骨折部位や体重などを考慮する必要はあるが、概ね10穴が適応の指標穴数になると思われる。使用プレートに関しては今回の25症例の平均体重が3.27kgであり、20/25肢でメインプレート：1.2mm厚3.8mm幅ミニ・ストレート・カットダブルプレートとサブプレート：0.9mm厚3.8mm幅カットダブル・リコンストラクション・プレートを使用していることから、体重約3.0kgでこのサイズのプレートを選択の指標に出来ると考えられた。

スプリントプレート法は元々、樋口らにより再骨折症例や癒合不全症例に対して「後遺症を残さずに完治させる」ことを目指し、試行錯誤の結果、考案された方法である³⁾。新鮮骨折に対する有効性は症例の集積により認知されつつあるが、再骨折症例や癒合不全症例に対する有効性の報告の多くは、まだ樋口らによるもののみである。小型犬橈尺骨骨折の治療に苦慮する獣医整形外科医にとって特異な手技ではなく、様々なケースに適応でき、安定した結果を提供してくれる手術法であることを証明すべく、今後は、新鮮骨折症例以外の症例の集積と検討も行って行きたい。

参 考 文 献

- 1) Schutz, M., et al.: Less invasive stabilization system (LISS) in the treatment of distal femoral fractures. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*, 70 (2), 74-78 (2003)
- 2) Kolb, W., et al.: Fixation of periprosthetic femur fractures with the less invasive stabilization system (LISS) —a new minimally invasive treatment with locked fixed-angle screws. *Zentralbl Chir*, 128 (1), 53-59 (2003)
- 3) 樋口雅仁：ブードルの橈骨、尺骨の再骨折症例に対して、背側プレート法 (double plating 法) を用いた1治験例, 第81回 獣医麻酔外科学会抄録, 192 (麻外-15) 福岡 (2010)
- 4) Rozbruch, S.R., et al.: The evolution of femoral shaft plating technique. *Clin Orthop Reumat Res*, 354: 195-208 (1998).
- 5) 橋礼欧奈ほか：小型犬橈尺骨骨折に対するスプリントプレート法の検討, 第32回動物臨床医学会プロシーディング, No.2, 267-268, 大阪 (2011)

獣医領域での Volume Navigation の臨床応用について

谷浦 督規¹⁾ 石村 球²⁾ 谷浦 直美¹⁾

(受付日：平成 26 年 1 月 8 日)

Clinical applications of volume navigation in veterinary medicine

TOKNORI TANIURA¹⁾, MARI ISHIMURA²⁾ and NAOMI TANIURA¹⁾

1) Taniura Animal Hospital, 1-3-30, Kairouen, Saeki-ku, Hiroshima 731-5135

2) GE Healthcare Japan, 8-38-29-3, Nishihara, Asaminami-ku, Hiroshima
731-0113

SUMMARY

Volume navigation (V-nav) software, a magnetic sensor device for ultrasonograph LOGIQ S8, reads and displays CT and MR images in combination with ultrasound images. Tumors can be located by ultrasonography with reference to CT images using V-nav on lesions that can be detected by CT, but cannot be clearly visualized on ultrasound.

— Key words: volume navigation, magnetic sensor

要 約

超音波診断装置 LOGIQ S8 の磁気センサー対応装置である Volume Navigation (以下 V-nav) ソフトは、CT や MRI などの画像を読み込んで、超音波画像とリンクさせて表示する。CT で検出されるが超音波では明瞭に描出することができない病変に V-nav を用いると、CT 画像を参照しながら超音波断層上で腫瘍の位置を確認できる。

— キーワード：Volume navigation, 磁気センサー

1) 谷浦動物病院 (〒 731-5135 広島市佐伯区海老園 1-3-30)

2) (株) GE ヘルスケア・ジャパン (〒 731-0113 広島市安佐南区西原 8-38-29-3)

はじめに

超音波検査は、スクリーニング検査としては良いが、得られる画像の質は検者の技量によってばらつきがあり客観性に欠ける。現在CTのダイナミック撮像では、短時間で肝全域の腫瘍が検出でき、さらに高精細な血行動態パターンによる質的診断が可能である¹⁻²⁾。CT検査で病変を検出できても、超音波検査では検出できない症例では、CTガイド下の生検が不可能である。

LOGIQ S8は磁気センサー対応装置でVolume Navigation (以下V-nav)ソフトが搭載されている。V-nav機能は、CTやMRIなどの画像を読み込んで、超音波画像とリンクさせて表示する技術で、CTで検出されるが超音波では明瞭に描出することができない病変にV-navを用いると、CT画像を参照しながら超音波断層上で腫瘍の位置を確認できる。今回、獣医領域の超音波検査でGPSを使用したV-navの臨床例を報告する。

材料および方法

超音波装置はLOGIQ S8 (GE社製)、V-nav、磁気センサー、トランスミッター (図1)、プローブ、ポジションセンサー対応マルチ用穿刺ホルダ、CT装置はOptima CT660 128スライス (GE社製)、造影剤注入装置はA-300 (Nemoto)を使用した。ダイナミックCT撮像後、ワークステーションから超音波装置に必要な時相の画像データを選択転送しV-navを



図1 磁器トランスミッター
XYZ軸方向の地場が時間的に切り替わられて放射される。



図2 ポジションセンサー対応マルチ用穿刺ホルダを装着したプローブ
2個の磁気センサーによってXYZの位置と軸と回転を検知し、プローブの空間的な位置と向きを検出する。

起動させる。プローブにセンサーとポジションセンサーホルダを装着し (図2)、CTのボリュームデータを取り込み、位置あわせ・水平だし・ポイント合わせをし、CTと超音波画像を連動させ使用した。

当院でのV-nav適応症として、CTで描出されても超音波画像で検出不可能な5症例、不明瞭な8症例、部分的に検出困難な5症例 (横隔膜辺縁部等) の計18症例に使用した。

成績

CT検査の動脈相で高吸収の腫瘍が認められたが、超音波検査では検出されなかった症例では、V-navを使用し、CT画像と連動させることで、FNAが可能となった (図3)。また、肝臓辺縁部の肝臓の腫瘍に対しては超音波検査では家出が困難で、CT検査より

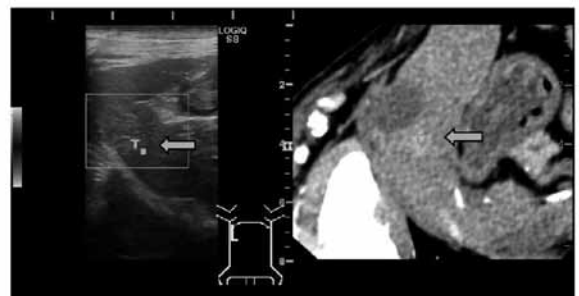
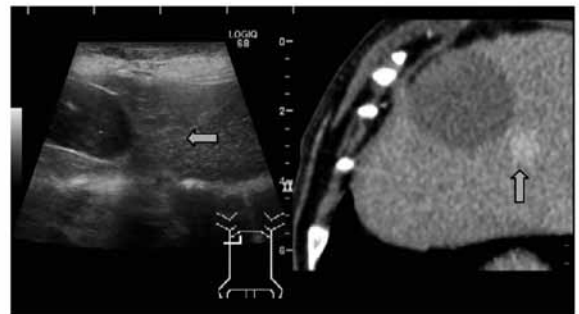
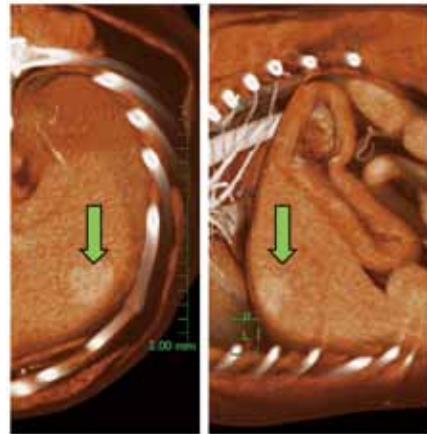


図3 超音波検査で未検出の症例
CT検査の動脈相で高吸収の腫瘍が認められたが超音波検査では検出されなかった。V-navを使用することで、CT画像と連動させることで、FNAが可能であった。

肝臓内の腫瘍と血管との位置関係を確認することができた(図4)。カラードプラーやパワードプラーでは腫瘍内の血管は不明瞭なので、超音波だけではFNAの最適部位の判定はできなかった(図5)。V-navで超音波画像とCT画像比較することで、最適ポイントでのFNAを行った(図6)。

超音波装置にワークステーションから患者のCTのデータを転送する時間が必要で、その間は超音波検査が実施できなかった。

GPSを起動させセンサーとCT画像のポイントと超音波画像のランドマークを合わせることに慣れる時間が必要であった。

超音波ガイド下生検では、超音波上で確認できない腫瘍もCT画像と同時に比較可能であった。

考 察

磁気センサーを用いたV-navを使用することで、超音波装置で抽出困難な部位の病変や腫瘍内の血管をCT画像と比較することで同断面で評価することができ、最適部位でのFNAが可能であった。逆のパターンでは、超音波画像では描出可能でCTで描出できないものも評価できるため、CT読影能の向上になると推測された。今後、獣医療でも病変検出や超音波ガイド下生検など診断面で多く利用されると推測された。V-navを搭載する超音波検査は、従来法と比べ穿刺や治療効果判定などの客観性が向上し、より安全で正確な精密検査が可能になると推測された。

参考文献

- 1) 八町 淳：CT造影技術，262-270，メディカルアイ，東京（2013）
- 2) 山口 功，市川勝弘：放射線技術学シリーズCT撮影技術学，日本放射線技術学会，改訂2版，122-123，158-159，オーム社，東京（2013）

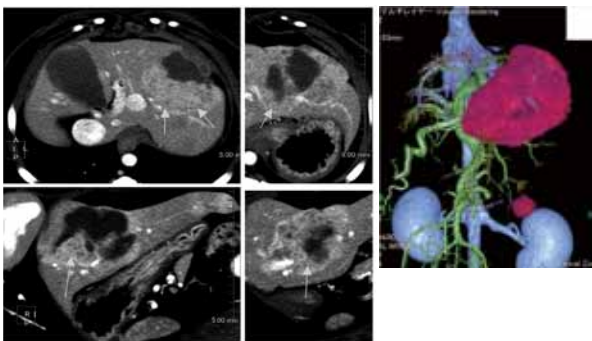


図4 CT検査より肝臓内の腫瘍と血管との位置関係を確認した

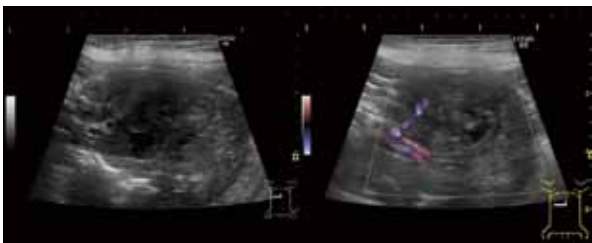


図5 超音波検査での、カラードプラー(左:9L-D)とパワードプラー(右:9L-D BFLOW)の画像
カラードプラーやパワードプラーでは、腫瘍内の血管が不明瞭なので、FNAの最適部位の特定はできなかった。

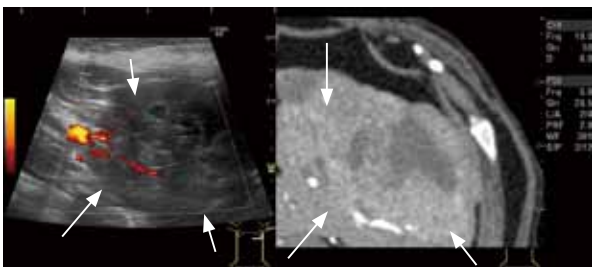


図6 V-navによる腫瘍の抽出
V-navで超音波画像とCT画像を比較しながら、最適ポイントでのFNAを行った。

無麻酔 CT 検査の検討

谷浦 督規¹⁾ 渡邊 香恵²⁾ 谷浦 直美¹⁾

(受付：平成 26 年 1 月 8 日)

CT examination of unanesthetized animals

TOKUNORI TANIURA¹⁾, KAE WATANABE²⁾ and NAOMI TANIURA¹⁾

1) Taniura Animal Hospital, 1-3-30, Kairouen, Saeki-ku, Hiroshima 731-5135

2) GE Healthcare Japan, 67-4, Takakura-cho, Hachioji, Tokyo 192-0033

SUMMARY

Anesthesia is basically required for CT examinations in veterinary medicine. Some level of risk should be accepted in some examinations to obtain useful data. The 128-slice computed tomography employed in our hospital takes several seconds to scan the whole body of a medium-sized dog. In addition, to immobilize the animal, restraints were created for the limbs and trunk to examine the traction of the limbs. High-quality images could be quickly obtained with or without anesthesia.

— Key words: unanesthetized, CT examination, restraint

要 約

獣医での CT 検査には基本的に麻酔が必要である。有益な情報を得るために時としてリスク覚悟の検査が実施される。当院の 128 スライス CT は、中型犬の全身撮像でも 1 回の撮像時間は数秒程度である。その間動物を不動化するため、四肢・体幹部のポジショナーを作成し四肢の牽引法を検討した。無麻酔下でも麻酔下と同等の高画質な情報を安全に速く収集することが出来た。

— キーワード：無麻酔下，CT 検査，ポジショナー

1) 谷浦動物病院 (〒 731-5135 広島市佐伯区海老園 1-3-30)

2) GE ヘルスケア・ジャパン株式会社 (〒 192-0033 東京都八王子市高倉町 67-4)

はじめに

獣医でのCT検査には、基本的に麻酔が必要であった¹⁾。他の診断装置を上回る有益な情報を得るために時としてリスク覚悟の検査が実施される。当院の128スライスCTは、中型犬の全身撮像でも1回の撮像時間は数秒程度である。撮像時間は短縮したが、動物を不動化し、麻酔下と同等の画像情報の収集するため、導入当初から四肢・体幹部のポジショナーを作成し四肢の牽引法を3年間試行錯誤してきた。今回当院で実施している無麻酔下でのCT検査法について報告する。

材料および方法

CT装置はOptima CT660 128スライス(GE)、造影剤注入装置はA-300(Nemoto)を使用した。動物の固定には、体幹部はポジショナーにはPEライト(A8 1m×1m×5mm, 10mm, 15mm)を使用し2種類作成した。四肢用は発砲ポリエチレンシートを使用し、円柱状に作成し、エリザベスカラー、タオル、イーザーラッピングベルトを用いて四肢を保定し、全身ポジショナーへ設置して、スカウト像でXYZ軸の方向を確認後撮像を開始した。

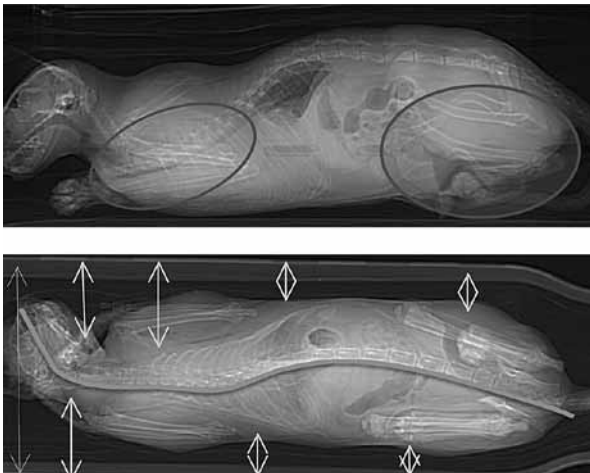


図1 固定なしでボックスに入れた場合の姿勢
無麻酔では四肢を縮めるので、胸・腹部の臓器が圧迫される。
Z軸は保定具と体との空間が問題になる。

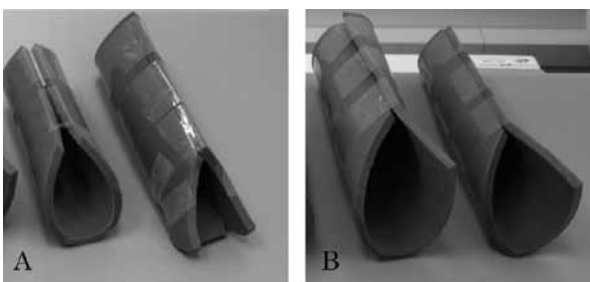


図2 A:前肢用ポジショナー B:後肢用ポジショナー

成績

無麻酔では、動物は四肢を屈曲させてしまうが(図1)、四肢の関節を保定して(図2)、テープと併用して伸ばすことで胸部・腹部への屈曲が無くなった。Z軸方向の固定は頭頸部と保定具との空間が問題であったが(図1)、体幹部のポジショナーを作成することで補正ができた(図3)。頭部が動くと体全体が動きやすくなるので、頭部ポジショナーを作成し前肢を頭部ポジショナーの下に保定した(図4, 5)。頭部のポジショナーは保定だけでなく視野を制限することで移動時の動きを制止することができた。

適応は猫から大型犬まで可能であった。症例では音に敏感であったり、四肢の保定ができない性格、過換気状態等では困難であった。

沈静・麻酔に対してリスクの高い症例、レントゲン撮影でリスクがあるような胸部疾患、緊急を要する交通事故などでも適応した。肘関節や膝関節に疾患がある場合は、引っ張り過ぎると疼痛で動き出す場合があ

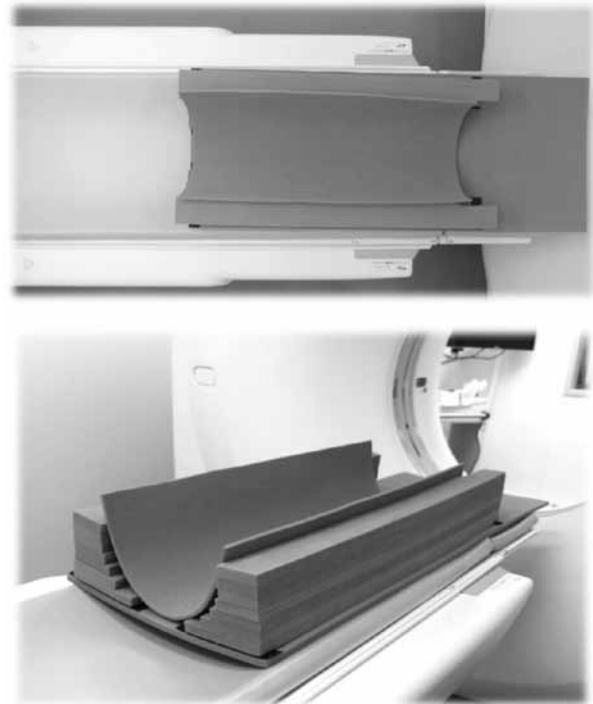


図3 体幹部ポジショナー
側壁は大きさに応じて調整が可能である。

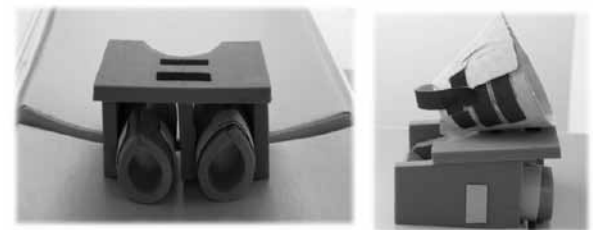


図4 頭部ポジショナー
前肢を頭部ポジショナーの下に保定可能

り、胸部疾患では、胸部の圧迫が強いと呼吸速拍になる事があった。呼吸速拍状態はモーションアーチファクトを発生させ横隔膜周囲のブレが発生するために安定した呼吸状態での保定が必要であった。無麻酔でも画像精度が低下することなく麻酔下同様の満足できるCT画像が得られた(図6)。



図5 それぞれのポジショナーとタオルを使用して保定を行う

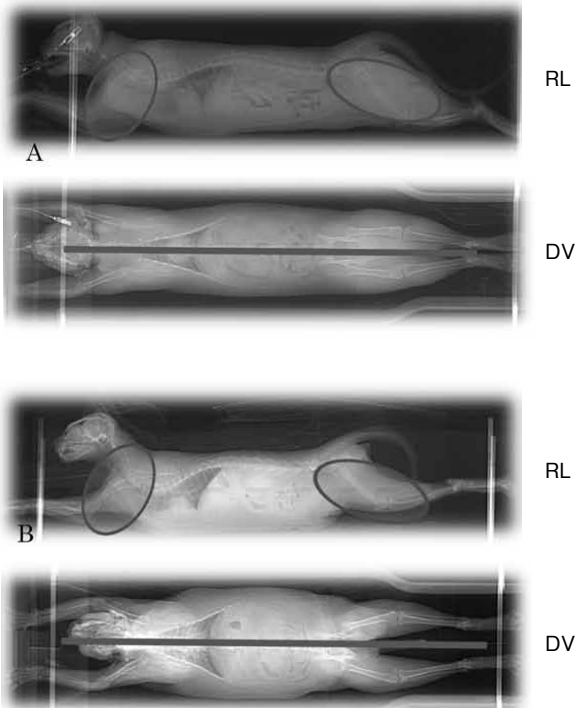


図6 麻酔下と無麻酔下のスカウト像の比較
A: 麻酔下でのポジショニング
B: 無麻酔下でのポジショニング
ポジショナーを装着することによって、麻酔下と同様な水平な姿勢を維持することができた。

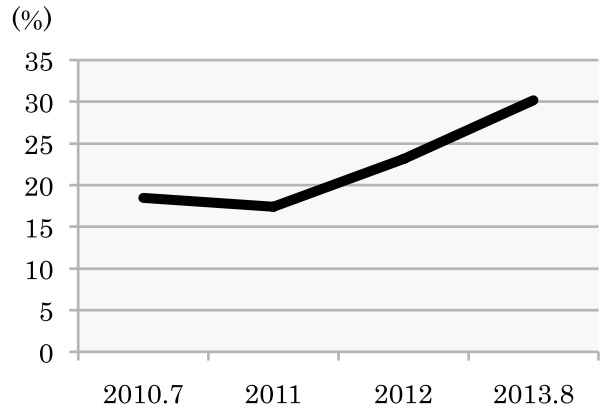


図7 CT検査における無麻酔検査の年間の割合

考 察

導入当初は、無麻酔でのCT検査はほとんど動かない症例が対象であった。手足を伸ばすことができない状態でも無麻酔での検査を行ったが、丸まった手足が腹部が圧迫し、正確な臓器や細部の読影が難しくなった。現在は四肢の保定具と牽引法の改良により検査対象が広がり、無麻酔CT検査総数200症例を超え、全CT検査における割合は30%を超えている(図7)。CT検査は短時間で終了するが、無麻酔検査では、それに加えて動物を保定する事に時間が必要である。しかし、習熟すれば短時間でポジショナーの装着が可能である。今後はCT施設でこの方法を実践することで、CT検査も検査対象であれば麻酔等のリスクのない安全かつ有用な画像情報を利用する機会が増え、診断治療に貢献するものと推測される。

参考文献

- 1) 谷浦督規:CT診断の有用性② 検査手順と画像処理, PRO VET 112, 50, インターズー, 東京(1997)

症例報告

小さな髄膜腫から広範な出血を呈した犬の1例

土井 翔子¹⁾ 田村 慎司¹⁾ 田村由美子¹⁾ 内田 和幸²⁾

(受付：平成25年12月15日)

A dog with extensive hemorrhage from a small meningioma

SHOKO DOI¹⁾, SHINJI TAMURA¹⁾, YUMIKO TAMURA¹⁾ and KAZUYUKI UCHIDA²⁾

- 1) Tamura Animal Clinic, 7-16, Yoshimien, Saeki-ku, Hiroshima 731-5132
- 2) Department of Veterinary Pathology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657

SUMMARY

A 12-year-old Welsh Corgi Pembroke presented with first cluster of clonic seizures. The animal was somnolent in recumbent posture. MRI revealed a small mass enhanced by contrast media on the surface of right frontal lobe, and an extensive lesion of hyperintense on T1-weighted images, T2-weighted images, FLAIR images and T2* weighted images, along vault of skull ipsilateral to the mass. Because of foramen magnum herniation was observed, immediately the treatment for reduction of intracranial pressure was performed, however the animal was died. The animal was diagnosed with transitional meningioma and hemorrhage in the area by histopathological examination. It was suspected that this animal had hemorrhagic diathesis, because of intracranial hemorrhage from benign meningioma is very unusual.

— Key words: dog, hemorrhage, meningioma

要 約

12歳齢、雌のウエルシュ・コーギーが初発の間代性発作を起こし、傾眠、横臥状態で来院した。MRI検査において右側前頭葉に造影効果を有する腫瘍性病変が認められ、同側円蓋部硬膜下にT1強調像、T2強調像、FLAIR像、T2*強調像で高信号を呈する病変が広範囲に認められた。大孔ヘルニアが認められ、頭蓋内圧降下治療をただちに実施したが、まもなく死亡した。病理解剖の結果、移行型髄膜腫および同部位からの出血と診断された。小さな良性髄膜腫からの頭蓋内出血は一般的ではないことから、本症例が出血性素因を有していた可能性も考えられた。

— キーワード：犬，出血，髄膜腫

1) たむら動物病院（〒731-5132 広島県広島市佐伯区吉見園7-16）

2) 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医病理学研究室（〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1）

はじめに

髄膜腫は中高齢に多く発生する犬猫で最も一般的な原発性脳腫瘍であり、髄膜組織が存在する脳表層部から発生し、脳実質を圧迫することで神経症状を発現する¹⁾。病理組織学的には多彩な組織像を示し、動物神経腫瘍のWHO分類ではその組織像に応じて、良性髄膜腫を髄膜上皮型、線維性(線維芽細胞様)型、移行型(混合型)、砂粒体型、血管腫型、乳頭型、顆粒細胞型、粘液型の8亜型に分類し、さらに、脳実質に浸潤性増殖を示す異形髄膜腫を悪性型として区別している^{1, 2)}。良性髄膜腫の増大は緩慢であることが多く、臨床経過は一般的に慢性進行性であり、特に前頭葉にできた初期の小さな髄膜腫は臨床症状を示さないか、または、非常に軽い症状であることが多いとされている^{3, 4)}。しかし、今回良性であるとされる移行型髄膜腫からの出血によって形成された硬膜下血腫により、頭蓋内圧が亢進し大孔ヘルニアを引き起こしたことで急性経過を呈した症例に遭遇したので報告する。

症 例

症例は12歳齢、雌のウエルシュ・コーギーで、当院来院7日前に初発の間代性発作が認められた。来院2日前に再びてんかん発作が認められ、他院にて抗てんかん薬が投与された。しかし、翌日再度てんかん発作が起り、座薬にて発作は止まったものの以後横臥状態となり、当院来院時には意識レベルは低下し、呼吸速迫であった(写真1)。直ちに血管確保を行った後、血液検査、レントゲン検査、MRI検査を実施した。



写真1 初診時外観。意識レベルは低下しており横臥状態であった。

各種検査所見

1. 血液検査所見

来院日に実施した血液検査所見ではBUN, GPT, ALP, T-cho, GLUの上昇が認められた(表1)。

表1 血液検査所見

RBC	654	$\times 10^4/\mu\text{l}$	BUN	37.8	mg/dl
Hb	15.3	g/dl	Cre	0.7	mg/dl
PCV	44	%	GOT	28	IU/l
P.Prot.	7.4	g/dl	GPT	120	IU/l
MCV	68.8	fl	ALP	1197	IU/l
MCH	23.4	pg	TP	7	g/dl
MCHC	34	g/dl	Alb	3.2	g/dl
WBC	8,200	/ μl	TCHO	327	mg/dl
Plat	39.2	$\times 10^4/\mu\text{l}$	NH3	11	$\mu\text{g/dl}$
Na	147	mmol/l	Glu	170	mg/dl
K	3.4	mmol/l	Ca	10	mg/dl
Cl	113	mmol/l	CRP	0.2	mg/dl

犬糸状虫成虫抗原(-)

2. レントゲン検査所見

胸部レントゲンでは異常所見は認められなかったが、腹部レントゲン検査において肝臓の腫大が認められた。

3. MRI 検査所見

右側前頭葉に造影効果を有する腫瘍性病変が認められた。同側円蓋部脳実質外にT1強調像(T1WI)、T2強調像(T2WI)、FLAIR像、T2*強調像(T2*WI)

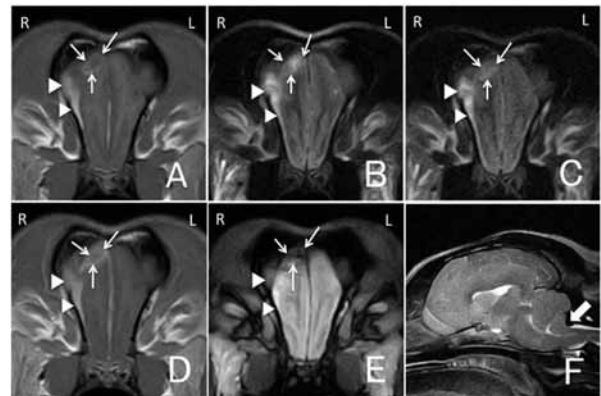


写真2 MRI所見。右側前頭葉に造影効果を有する腫瘍性病変が認められた(矢印)。同側円蓋部にT1強調像(A)、T2強調像(B)、FLAIR像(C)、T2*強調像(D)、造影T1強調像(E)で高信号を呈する病変(矢頭)が認められた。T2強調横断像(F)において大孔ヘルニア(太い矢印)が認められた。

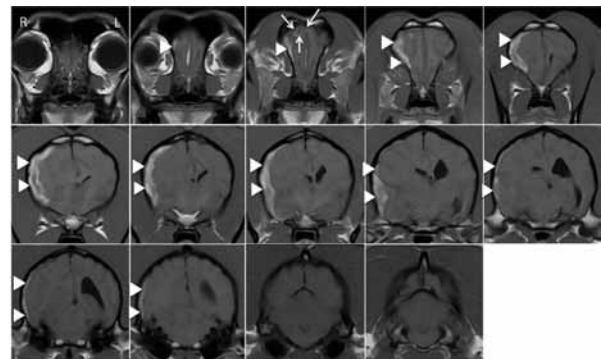


写真3 MRI所見。T1強調横断像を吻側から尾側の順に並べている。腫瘍性病変(矢印)と同側の円蓋部に高信号病変(矢頭)が広範囲にわたり認められた。左へのミッドラインシフトや脳回の不明瞭化も認められた。

において高信号を呈する病変が広範囲にわたって認められ、腫瘍からの出血による硬膜下血腫が疑われた。左へのミッドラインシフトや脳回の不明瞭化といった頭蓋内圧亢進の所見に加えて大孔ヘルニアが確認されたため、グリセオールによる頭蓋内圧降下治療を実施したが、呼吸が不整となり間もなく心停止した(写真2, 3)。

4. 病理解剖検査所見

飼い主の了解を得て同日病理解剖を実施したところ、肉眼的に硬膜下の出血と、右側前頭葉に暗赤色の腫瘍を認め、髄膜には血腫が付着していた(写真4)。また開腹して観察したところ肝臓および脾臓に肉眼的な腫瘍性病変は認められなかった。レントゲン検査において腫大が確認された肝臓の一部と、大網に付着していた血腫様組織を採取し、これらを脳組織と共に病理組織検査に供したところ、脳組織は移行型髄膜腫および同部位からの出血と診断された(写真4)。また肝臓は中程度の肝細胞変性および軽度胆管肝炎、血腫様組織は軽度髄外造血を呈する副脾と診断され、共に腫瘍性病変ではなかった。

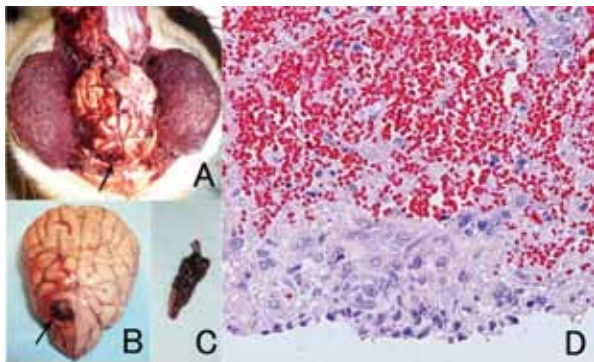


写真4 病理解剖所見。硬膜下の出血と暗赤色の腫瘍(矢印)を認めた(AおよびB)。髄膜には血腫が付着していた(C)。病理組織検査において移行型髄膜腫と同部位の出血と診断された(D)。

考 察

脳腫瘍の臨床経過はその発生部位⁵⁾、侵襲性や増殖速度などの性質、脳浮腫、閉塞性水頭症、脳ヘルニア、出血などの二次的な病態に影響されることが知られている⁶⁾。本症例は初期には臨床症状を示しにくいとされる前頭葉の良性髄膜腫⁴⁾でありながら、二次的に出血を呈したことで急性進行性の経過となったと考えられた。

犬の頭蓋内腫瘍からの出血発生率はほとんど検証されていない⁷⁾。ヒトでは頭蓋内腫瘍の約3.9%で出血が認められるとされているが⁸⁾、その多くは転移性腫瘍、悪性グリオーマなどであり、髄膜腫からの出血は非常に稀であるとされている⁹⁾。出血は豊富な血管形成をとまなう腫瘍や、増殖速度の速い腫瘍の壊死部、

浸潤性の高い腫瘍の血管浸潤などで起こり得るとされている^{7, 9)}。また、凝固異常や高血圧は出血を増強させる可能性が示唆されている⁷⁾。本症例はMRI検査の所見から腫瘍からの出血が疑われたが、比較的小さな腫瘍にも関わらず出血が重度であったことから血管豊富な腫瘍であり、転移性脳腫瘍の中では最も発生頻度の高い血管肉腫^{10, 11)}の可能性がまず疑われた。しかし、病理組織検査の結果、移行型髄膜腫および同部位からの出血であると診断された。移行型髄膜腫は増殖性、浸潤性に乏しい良性髄膜腫であるとされており^{1, 2)}、出血を引き起こしやすいタイプの腫瘍ではないと考えられた。本症例の血小板数は正常であり、出血傾向を示唆する皮下出血などの身体的所見は認められなかったが、凝固系検査を実施しておらず、血圧測定もまた実施していなかった。以上より本症例の出血性素因についての評価は不十分であり、出血が稀であるとされる移行型髄膜腫から出血した原因として出血性素因の存在を評価できていない。

本症例の血腫はT1WI, T2WI, およびT2*WIにおいていずれも高信号を呈していた。頭蓋内出血のMR画像は赤血球内のヘモグロビンの酸化に伴い経時的に変化することが知られており、T1WIおよびT2WIにおいて共に高信号を呈するのは出血から3~14日が経過した亜急性期の血腫であるとされている¹²⁾。さらに、出血に鋭敏な撮像法とされるT2*WIでは血腫は低信号病変として検出されることが多いが¹³⁾、出血後7~14日が経過した亜急性期後期では、ヘモグロビンの酸化産物であるメトヘモグロビンが、赤血球の融解により細胞外に流出することで高信号を呈することがあるとされている^{14, 15)}。以上より、本症例の血腫は出血から7~14日が経過した亜急性期後期である可能性が高いと考えられ、初発のてんかん発作が認められた際に出血が起こった可能性が考えられた。その5日後に再びてんかん発作が認められ、翌日には横臥状態となり、意識レベルの低下が認められた。これらの神経症状の増悪は血腫による脳の圧迫に起因する脳浮腫の拡大、もしくは腫瘍からの出血の持続により引き起こされた可能性が考えられた。このため、初発のてんかん発作が認められた時点でMRI検査および早期治療を実施することができれば、予後をよりよいものにすることができた可能性があると考えられた。

硬膜下血腫の治療は、早急な外科的処置による頭蓋内圧の減圧が必要とされ、高血圧や凝固異常などの出血性素因が存在する場合、それらへの対処も必要とされている⁷⁾。本症例の場合、腫瘍からの出血であったことから、出血性素因の調査および対処に加え、出血源である腫瘍の摘出も必要であったと考えられた。また、頭蓋内圧の亢進により大孔ヘルニアが起こり、脳幹の呼吸中枢が障害されることで死に至ったと考えられたが、グリセオールよりも即効性の高い脳圧降下剤であるマンニトールの方が、より効果的であった可能

性が考えられた。頭蓋内出血におけるマンニトールの使用は出血を増悪させるため禁忌とする意見もあるが、根拠に乏しいともされ、医学領域でも頭蓋内出血時の脳圧降下治療に使用される場合もあることから¹⁶⁾、本症例のように頭蓋内圧上昇が生命を脅かすような場合には、選択肢となり得たのではないかと考えられた。

本症例は初期の良性髄膜腫であったにも関わらず、腫瘍からの出血により硬膜下血腫を併発し、急性経過となり死亡した。医学領域においても髄膜腫に起因する硬膜下血腫の発生は非常に稀であり⁹⁾、本症例は極めて稀なケースであると考えられたが、このように二次的な病態により致死的な経過となる可能性があるため、頭蓋内腫瘍は早期発見、早期治療が重要であると考えられた。

一般的に6歳以上で初発のてんかん発作が起こった場合、特発性てんかんではなく、何らかの異常を背景とする症候性てんかんの可能性が高いとされており、特に脳腫瘍はその原因の多くを占めるとされている¹⁷⁾ことから早期発見のためにMRI検査などを実施する必要があると考えられた。また、脳腫瘍は中高齢で発生することが多いため¹⁷⁾、脳腫瘍が疑われる犬ではそれ以外にも併発疾患を持つ可能性があると考えられる。腎不全や内分泌疾患など、高血圧や凝固異常を引き起こす可能性のある疾患も少なくないことから、併発疾患にも留意し、血圧測定や凝固系検査を含めた各種検査を実施する必要があると考えられた。

文 献

- 1) Motta L., et al.: Canine and feline intracranial meningiomas: An updated review. *The Veterinary Journal.*, 192, 153-165 (2012)
- 2) Sturges, B.K.: Magnetic resonance imaging and histological classification of intracranial meningiomas in 112 dogs., *J. Vet. Intern. Med.*, 22 (3), 586-595 (2008)
- 3) Foster, E.S., et al.: Clinical signs of tumors affecting the rostral cerebrum in 43 dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, 2 (2), 71-74 (1988)
- 4) Snyder, J.M., et al.: Canine intracranial primary neoplasia: 173 cases (1986-2003). *J. Vet. Intern. Med.*, 20 (3), 669-675 (2006)
- 5) Rossmeisl, J.H., Jr., et al.: Survival time following hospital discharge in dogs with palliatively treated primary brain tumors. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 242 (2), 193-198 (2013)
- 6) Moore, M.P., et al.: 頭蓋内腫瘍, 中市統三訳, 獣医臨床シリーズ 1998年版 Vol.26/No.4, 71, 学窓社, 東京 (1997)
- 7) Bagley, R.S.: 頭蓋内疾患の病態生理学的続発(症), 竹内崇訳, 獣医臨床シリーズ 1998年版

- Vol.26/No.4, 33-49, 学窓社, 東京 (1997)
- 8) Rim, N.J., et al.: "benign" sphenoid ridge meningioma manifesting as a subarachnoid hemorrhage associated with tumor invasion into the middle cerebral artery. *Korean. J. Radiol.*, S10-13 (2008)
- 9) Kanamori, M., et al.: Subarachnoid hemorrhage in a patient with a meningioma and an unruptured aneurysm. *Neurol. Med. Chir.*, 53, 343-346 (2013)
- 10) Dennler, M., et al.: Imaging diagnosis metastatic hemangiosarcoma causing cerebral hemorrhage in a dog. *Vet. Radiol. Ultrasound.*, 48 (2), 138-140 (2007)
- 11) Snyder, J.M., et al.: Secondary intracranial neoplasia in the dog: 177 cases (1986-2003). *J. Vet. Intern. Med.*, 22 (1), 172-177 (2008)
- 12) Tamura, S., et al.: Sequential magnetic resonance imaging of an intracranial hematoma in a dog. *Vet. Radiol. Ultrasound.*, 47 (2), 142-144 (2006)
- 13) Silke, H. and Willam, H.: MRI of brain disease in veterinary patients part1. *Vet. Clin. North. Am.*, 40, 21-38, Elsevier, Philadelphia (2010)
- 14) Lowrie, M., et al.: Concurrent medical conditions and long-term outcome in dogs with nontraumatic intracranial hemorrhage. *Vet. Radiol. Ultrasound.*, 53 (4), 381-388 (2012)
- 15) Kang, B.K., et al.: Diffusion-weighted MR imaging of intracerebral hemorrhage. *Korean. J. Radiol.*, 2 (4), 183-191 (2001)
- 16) Thomas, W.B.: 脳血管疾患, 岡本芳晴, 獣医臨床シリーズ 1998年版 Vol.26/No.4, 207, 学窓社, 東京 (1997)
- 17) Podell, M., et al.: Seizure classification in dogs from a nonreferral-based population. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 206 (11), 1721-1728 (1995)

眼球突出を呈した犬のリンパ腫および髄膜腫の2症例

上岡 尚民¹⁾ 上岡 孝子¹⁾ 金岡めぐみ¹⁾

谷浦 督規²⁾ 谷浦 直美²⁾ 川野 悦生³⁾

(受付：平成26年1月25日)

Two cases of canine exophthalmos with lymphoma and meningioma

NAOTAMI UEOKA¹⁾, TAKAKO UEOKA¹⁾, MEGUMI KANAOKA¹⁾,
TOKUNORI TANIURA²⁾, NAOMI TANIURA²⁾ and ETSUO KAWANO³⁾

- 1) Ueoka Animal Clinic, 2-18-11 Yoshijimahigashi Naka-ku, Hiroshima, Hiroshima 730-0822, Japan
- 2) Taniura Animal Hospital, 1-3-30, Kairouen, Saeki-ku, Hiroshima, Hiroshima 731-5135, Japan
- 3) Kawano Veterinary Hospital, 17-2, Minamikanoncho, Nishi-ku, Hiroshima, Hiroshima 733-0034, Japan

SUMMARY

Various examinations were conducted in two dogs who visited our clinic with chief complaints of conjunctival injection and we confirmed intraocular and orbital tumor involvements in each dog. In both cases, exophthalmos became sever during treatments. The case with intraocular tumor had other tumor involvements in the liver and digestive tract and also the progression of the exophthalmos was quick. In two weeks after enucleation, this dog deceased and we suspected the metastasis from lymphoma to the eye out of the course of the symptoms and the result of tissue examination. Meanwhile, the progression was slow in the case with the orbital tumor, with tacking 10 months to the orbital evisceration. After the operation, the meningioma was diagnosed from the result of the tissue examination.

— Key words: dog, exophthalmos, lymphoma, meningioma

1) うえおか動物病院 (〒730-0822 広島県広島市中区吉島東 2-18-11)

2) 谷浦動物病院 (〒731-5135 広島県広島市佐伯区海老園 1-3-30)

3) 川野獣医科 (〒733-0034 広島県広島市西区南観音町 17-2)

要 約

結膜充血を主訴に来院した犬2頭について各種検査を実施し、それぞれ眼内と眼窩に腫瘍病変を確認した。両症例とも治療中眼球突出が進行した。眼内に腫瘍を呈した症例では、肝臓や消化管にも腫瘍病変が存在し、眼球突出の進行も早かった。眼球摘出後2週間ほどで斃死し、症状の経過と組織検査の結果からリンパ腫の眼内転移と考えられた。一方、眼窩に腫瘍を呈した症例は、眼窩内容摘出に至るまで10カ月と進行が遅かった。眼窩内容除去手術後の組織検査の結果、髄膜腫と診断された。

—キーワード：犬，眼球突出，リンパ腫，髄膜腫

序 文

眼球突出は炎症や腫瘍等によって眼球を含めた眼窩内容積が増加することで引き起こされる。今回、眼球内腫瘍と眼窩の腫瘍により眼球突出を呈し、眼球摘出を行った臨床経過の異なる犬の2症例に遭遇したので、その経過を報告する。

症 例

【症例1】チワワ，去勢オス，7歳齢，体重1.96kg。他院にて右眼の結膜炎との診断で治療をするものの改善なく来院。

1) 初診時検査所見：来院時，浅頸リンパ節の腫大をみとめ，下痢，軟便の消化器症状を数カ月繰り返していた。右眼鼻側の強膜膨隆，毛様充血，浅前房，眼圧は20mmHgで網膜剥離を認めた(写真1)。エコーで眼内下方に血流を伴った腫瘤病変を確認。同時に行った全身の精査で肝臓，消化管に腫瘤病変を確認。眼球摘出の術前評価のためCT検査を実施したとこ



写真1 症例1の右眼初診時所見。毛様充血および鼻側の強膜膨隆を示す。眼圧は20mmHgで網膜剥離を認めた。

ろ，眼内に浸潤する腫瘍性病変に加え，肝臓，消化管の腫瘍病変，腸管リンパ節や左浅頸リンパ節の腫大を認めた(写真2)。一般ラボでの病理組織検査の結果，組織球肉腫と診断された。

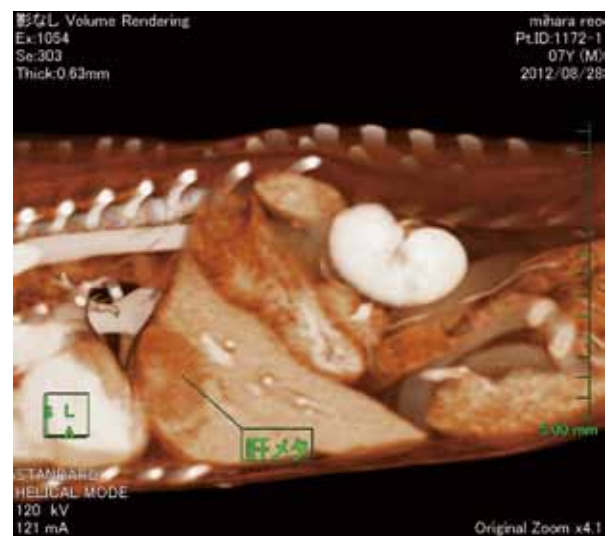


写真2 頭部および腹部CT検査所見。眼内に浸潤する腫瘍性病変を認める。同時に肝臓，消化管にも腫瘍病変を認めた。

2) 治療および経過：確定診断前にリンパ節の増大を呈してきたため第14病日、L-アスパラギナーゼ (10000U/m² sc) の投与を行い、プレドニゾン (1 mg/kg sid) の内服を開始した。投与後数日で下顎、浅頸リンパ節の縮小と全身状態の著しい改善を認めるものの、眼球突出は進行し化膿してQOLの低下を招いたため、第38病日眼球摘出を実施。しかし、第55病日、食餌中に突然呼吸停止し死亡した。治療期間中の肝臓、消化管の腫瘍病変には変化がみられなかった。死後、眼球の免疫組織化学染色を行ったところ、組織球マーカー、TおよびBリンパ球マーカー、形質細胞マーカー、肥満細胞マーカーは全て陰性で組織球肉腫は否定的だが、Lアスパラギナーゼの治療反応と細胞の形態からリンパ腫が疑われた (写真3)。

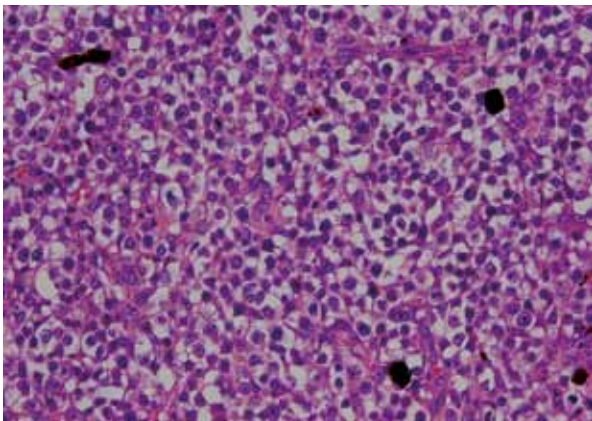


写真3 症例1の病理組織検査所見。乏しい好酸性細胞質を有した大小不同を呈する独立円形細胞がびまん性に増殖する。核は類円形、淡明で大小不同。核小体は1~複数個で明瞭。核分裂像は多見される。

【症例2】 フレンチ・ブルドッグ、メス、8歳齢、体重10kg。左眼の充血を主訴に来院。既往歴として、4か月前に突発性慢性角膜上皮欠損 (以下 SCCEDs) の治療を行っていた。

1) 初診時検査所見：強膜のうっ血と眼球突出、視神経乳頭の腫脹を認め、エコーで眼窩に高エコー病変を確認した (写真4)。



写真4 症例2の左眼初診時所見。強膜のうっ血と眼球の突出を認める。

2) 治療および経過：CT検査および眼窩内容摘出を勧めるも同意が得られず、以後4か月間無治療で経過。兎眼性角膜炎の悪化をきたし再来院。検査や手術、抗がん剤治療に対する同意が得られなかったため、話し合いの結果、角膜炎の点眼とピロキシカム (0.3mg/kg sid) 投与のみ開始した。ピロキシカム投与開始後6か月 (初診より10か月)、眼球の突出は悪化の一途をたどり、この時点で眼窩内容摘出術の同意が得られた。術前評価のためCT検査を実施。眼球を後方から圧迫する巨大な腫瘍が眼窩を埋め尽くし、眼窩骨への浸潤を疑わせる所見も得られた (写真5)。



写真5 頭部CT検査所見。眼球を後方から圧迫する眼窩を埋め尽くす腫瘍病変を認める。

眼窩内容摘出術を実施したところ、一般ラボでの病理組織検査の結果は組織球肉腫であり、マージンは一部不明瞭であった。マージンが取れていないため、術後CCNUの投与を提案するものの同意が得られず、以後、ピロキシカムの投与のみを続けていた。術後3か月目に血尿を呈するとの稟告で調べたところ、膀胱内に腫瘍病変を確認。組織球肉腫の転移を疑いCCNU (60mg/m²) を3週おきに計5回投与するも膀胱内腫瘍は増大傾向であり、血尿、頻尿がひどくなってきたため眼球摘出の5ヶ月後に膀胱腫瘍摘出術を実施した。病理検査結果は移行上皮がんであり、組織球肉腫の転移ではなかった。また、眼球摘出後1年以上経過の現在に至るまで眼窩の局所再発は認められておらず、眼球を含む眼窩内容の免疫組織化学染色を追加検査で行ったところ、組織球マーカー陰性、E-Cadherin陽性、N-Cadherin陰性、サイトケラチンAE1/AE3陰性、S100陰性の結果から、組織球肉腫ではなく髄膜腫と診断された (写真6)。現在はピロキシカムの投与を続けて経過観察中である。

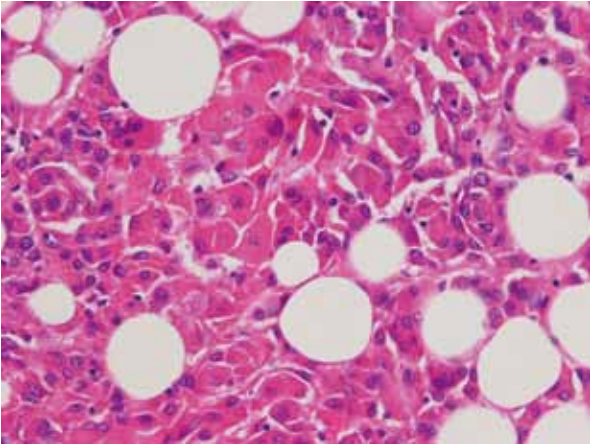


写真6 症例2の病理組織検査所見。眼球後方に多角形細胞がシート状もしくは列隙を形成しながら索状に増殖。一部で同細胞の渦巻き状配列を認める。核は類円形で淡明，大小不同。核小体は一部明瞭で，核分裂像はまれである。

考 察

今回の2症例は当初病理組織検査の結果が組織球肉腫であった。症例1に関しては，組織球肉腫の病理組織検査結果が判明する前に症状が進行したため，L-アスパラギナーゼとプレドニゾロンの投与を試験的に行ったところ，眼病変には効果がなかったものの，全身状態の著しい改善がみられた。眼球内に発生する原発腫瘍には，悪性黒色腫，腺癌，血管肉腫などに加え組織球肉腫も報告があり^{1, 2)}，本症例は当初，播種性組織球肉腫の眼内転移と判断した。しかし今回，免疫染色でT, Bリンパ球マーカーが陰性であったが，各種検査結果および治療に対する反応，細胞の形態学的所見よりリンパ腫（ヌル細胞腫瘍）の眼内転移の可能性が高いと考えられた³⁾。肝臓や消化管にも腫瘍病変があり，最終的な予後は良いものではないと予想されるのだが，初めからリンパ腫の診断がついて治療を行っていただければ違った結果であった可能性も否定できない。

症例2では，病態の進行が非常に遅く，数ヶ月前にSCCEDsの治療を行っていた頃から病変は，既に存在していたとも推察される。眼球突出の初診時から10カ月目に眼窩内容の摘出をした際には眼窩骨への浸潤もあり，組織球肉腫であれば予後は非常に悪いものと予想された。しかし，一向に局所再発する兆候もなく，他臓器への転移も認められず，組織球肉腫ではない可能性を疑い免疫染色を実施した。結果，髄膜腫であり，眼窩に発生する腫瘍で最初に疑うべきものであった⁴⁾。病理結果を元にCCNUの投与を行ったが，早い段階で免疫染色を行い，組織球肉腫を否定していれば，患者に身体的また経済的にも余計な負担をかけずに済んだものと反省される。

いずれにせよ，組織球肉腫はHE染色だけで診断することは非常にリスクを伴うことであり，他の腫瘍

が疑われる場合には，追加試験として積極的に免疫組織学的検索を行うべきである。また，眼球突出を認めただけには術前評価だけではなく，腫瘍であった場合の全身転移の有無も評価できるため，可能な限りCT検査を実施すべきである。

謝 辞

稿を終えるにあたり，今回の2症例に対してのセカンドオピニオンおよび免疫組織化学染色の実施をして頂いた，東京大学大学院農学生命科学研究科，獣医病理学研究室 内田和幸先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) Richard, R. D., et al.: Histiocytic sarcoma and related tumors. *Veterinary Ocular Pathology*, 9, 303-308 (2010)
- 2) Naranjo, C., et al.: Canine ocular histiocytic sarcoma. *Vet Ophthalmol.*, 10 (3), 179-185 (2007)
- 3) Ogilvie, G.K. and Moore, A.S. (桃井康行 監訳): リンパ腫，犬の腫瘍 (日本語版), 305-331, インターズー, 東京 (2008)
- 4) Montoliu, P., et al.: Histological and immunohistochemical study of 30 case of canine meningioma. *J Comp Pathol.*, 135 (4), 200-207 (2006)

猫の両側大腿骨粉碎骨折に Clamp Rod Internal Fixator (CRIF) を実施した一例

宮下 勝幸 村川 大輔 前田 克志 宮下 聡子
(受付：平成 25 年 12 月 17 日)

Clamp Rod Internal Fixator (CRIF) for repair of bilateral femur comminuted fracture in a cat

KATSUYUKI MIYASHITA, DAISUKE MURAKAWA, KATSUSHI MAEDA and SATOKO MIYASHITA

Miyashita Animal Hospital, 5-8-29, Kegoya, Kure, Hiroshima 737-0012

SUMMARY

A clamp rod internal fixator (CRIF) was applied for a cat with bilateral femoral shaft comminuted fracture due to a traffic accident, resulting in excellent bone union. The advantages, disadvantages, and techniques of CRIF should be understood for broad application to indirect fracture healing in small dogs and cats, for which insufficient data have been collected.

— Key words: cat, bilateral femoral shaft comminuted fracture, CRIF

要 約

交通事故による両側大腿骨骨幹部粉碎骨折の猫に遭遇し、Clamp Rod Internal Fixator (以下 CRIF) を実施したところ良好な骨癒合が得られた。CRIF の利点や欠点およびテクニックを理解することで、データの少ない小型犬や猫において幅広い応用の可能性があり、間接的骨折治癒を可能とすることが示唆された。

— キーワード：猫、両側大腿骨骨幹部粉碎骨折、CRIF

序 文

Clamp Rod Internal Fixator (CRIF) は、1998 年に AO にて開発され 2004 年に米国などで販売がはじまり、国内では 2009 年に Synthes VET にて販売されたばかりの比較的新しい骨折修復システムである。CRIF は内固定装置に分類され、いわゆる創内固定器の意味合いを持つシステムでもある。CRIF の構成は、従来からのプレートなどで使用されているスタンダードスクリュー、創外固定器で使用するようなロッド、およびそのロッドを通しスクリューにより骨に固定されるクランプの 3 つから成り立っている。現在のところ大型犬の骨折における使用の報告はあるが、小型犬および猫の報告は数少ない²⁾。今回、交通事故による両側大腿骨骨幹部粉碎骨折の猫に遭遇し Clamp Rod Internal Fixator (CRIF) を実施したところ良好に経過したので報告する。

材 料

1. 症例

日本猫、雄 (未去勢)、約 3 歳齢、体重 4.35kg、完全室外飼育、ワクチン未接種、病歴なし。主訴は、道端で両後肢の起立不能となっているところを発見、保護し来院した。



写真 1 後肢単純 X 線検査 (DV 像)。両側大腿骨骨幹部粉碎骨折を確認した

2. 各種検査

1) 一般臨床検査所見

意識レベルは正常、体温 35.9℃、呼吸状態は浅速呼吸であった。両大腿部に腫脹を確認した。

2) 血液検査所見

左方移動を伴った好中球数の増加 (34,592/ μ L) および BUN(47.9mg/dl)、GPT(>1,000U/l)、GOT(710U/l)、CPK (>2,000U/l) の高値を確認した。

3) 胸部単純 X 線検査所見

DV 像にて左後葉に陰影の増強を認めたことから肺挫傷を疑った。

4) 後肢単純 X 線検査所見

VD 像およびラテラル像にて両側大腿骨骨幹部粉碎骨折を確認した (写真 1、写真 2、写真 3)。

方 法

初診時より ICU にて保温、酸素吸入、静脈内輸液およびエンロフロキサシン 5mg/kg、トラネキサム酸 10mg/kg、ジプロフィリン 5mg/kg、メロキシカム 0.3mg/kg の投薬を行った。呼吸状態の安定が得られたことから第 5 病日に大腿骨整復術を実施した。ア



写真 2 後肢単純 X 線検査 (LLA 像)



写真 3 後肢単純 X 線検査 (RLA 像)

アプローチは左側の大転子から脛骨粗面までを切皮し、大腿筋膜を切開後、大腿二頭筋を牽引し外側広筋を大腿骨より分離した。膝関節包を膝蓋骨に沿って切開し大腿骨遠位を露出した。本症例で適用した CRIF の規格は体重をもとに Mini サイズを選択した。骨幹部の骨片は周囲の軟部組織の剥離を最小限とし、大転子と膝蓋骨の位置関係から大腿骨のアライメントを合わせ、あらかじめ術前に X 線写真や骨モデルより大腿骨尾側縁の形状に合わせカントゥアーリングしておいたロッドを設置し、大腿骨遠位および近位にそれぞれ 2 個のスタンダードクランプと 1 個のエンドクランプを設置した。プレート法と同様に骨にドリルスリーブを使用しドリリングを行い、デプスゲージにて測定しタッピングした後 2.0mm コーテックススクリューをそれぞれのクランプに挿入し締結した。手術中に心室性期外収縮が頻発したことから左側だけの整復とした。その後、ECG や心臓超音波検査にて異常がなかったことから、第 9 病日に同様の方法で右側大腿骨を整復した。

結 果

第 6 病日（術後 1 日）より左側後肢の負重を始めた。第 9 病日の X 線検査にて左側大腿骨のロッドの湾曲が認められたがアライメントに異常はなかった。両側の大腿骨整復後より両側後肢による負重を始めた。第 195 病日（術後 186 日）では、左側のロッドの湾曲は認められたもののアライメントは問題なく両



写真 4 第 195 病日（術後 186 日）における後肢単純 X 線検査（VD 像）。矢印は左側大腿骨の湾曲したロッドを示す



写真 5 第 195 病日（術後 186 日）における後肢単純 X 線検査（LLA 像）



写真 6 第 195 病日（術後 186 日）における後肢単純 X 線検査（RLA 像）

側の大腿骨とも良好な骨癒合を確認した（写真 4、写真 5、写真 6）。右側大腿骨のロッドは湾曲しなかった。第 195 病日に抜釘を行い現在も良好に経過している。

考 察

現在、国内で販売されている CRIF の規格は 3 つあり、本症例で使用した Mini、その他 Small、Medium である。それぞれ使用するロッドの直径は 2mm、3mm、5mm となっており、長さのバリエーションがいくつか存在する。推奨されているスクリューサイズは、それぞれ 2.0mm、2.7mm、3.5mm である。大腿骨における適応体重はそれぞれ～5kg、～18kg、～56kg となっており、この中から選択する。実際の手技は、骨の形状に合わせてライアルロッドあるいは筆者は K-wire を使用しロッドの仮形状を作成する。それに合わせロッドをカントゥアーリングする。術前にレントゲン写真や骨モデルを元にカントゥアーリングして準備しておく手術時間の短縮ができる。カントゥアーリングしたロッドにクランプをすべて通し骨に合わせ、おおよそのクランプの位置を決定する。あとは通常のプレート法と同様にドリリング、デプスゲージにより測定しタッピングを行う。ス

クリューを挿入しクランプを骨に締結することでロッドも締結され摩擦力により固定される。基本的には骨折近位と遠位にそれぞれ2個のスタンダードクランプと1個のエンドクランプの合計6個のクランプを設置する。

本症例の骨折の原因は交通事故による高エネルギー外傷であった。言うまでもなく生命の危険を回避することが先決となるため初診において、まず病態の把握および出血や外傷性ショックなどに対する処置が必要となる。病態の安定が得られて、はじめて骨折の整復手術を検討するべきである。本症例のような大腿骨骨幹部粉碎骨折に選択する骨折整復システムには、架橋プレート、ロッドアンドプレート、Locking Compression Plate (LCP) などのロッキングプレート、創外固定およびCRIFなどが挙げられる。本症例にCRIFが選択された理由は、まず粉碎骨折であることから生物学的な間接的骨折治癒を目標としたこと。オーナーの要素から経済的な問題と術後の通院があまりできないことが挙げられた。また、高エネルギー外傷後に行われる手術であることや早期の負重を目標に両側の大腿骨を一度に整復することを考えると、できるだけ短時間で可能な術式が必要であると考えられた。CRIFは簡便なシステムであり、術前にレントゲン写真や骨モデルを用いてロッドのカントゥアーリングをしておくことで手術時間の短縮ができ、遠位と近位の骨片のアライメントを合わせて固定するだけの簡素な術式である。

本症例の第5病日の手術時に、心室性期外収縮が頻発したことが原因で左側大腿骨の整復のみに終わった。心室性期外収縮の原因は、交通事故による心筋へのダメージがあったものと推察される。このようなことから高エネルギー外傷後の手術には注意が必要と考えられた。左側大腿骨整復直後より左側後肢の負重を確認したが、第9病日の右側大腿骨整復手術までに左側に設置したロッドに湾曲が認められた。これは早期に負重をはじめた左側後肢のみ負重することで左側大腿骨に大きな屈曲の負荷が加わったことが原因と推察される。第5病日に両側の大腿骨を整復できていればロッドの湾曲は起こらなかったと考えられる。しかしながら、左側大腿骨の整復しかできないと判断した時点で、術後の左側のロッドにかかる屈曲負荷への対策をしなかったことが反省点である。その対策としてCRIFのロッドを2本設置することや髄内ピンあるいは創外固定を補助的に設置することがあげられる。本症例で使用したMiniサイズは2.0DCPプレートに比べ屈曲負荷に対する強度が弱いとの報告がある^{1, 3)}。

CRIFの特徴は、従来からあるスタンダードスクリューを使用できることである。コーテックススクリューやキャンセラスクリューおよびセルフタッピングスクリューも使用可能である。したがって、

CRIFを導入する際に新しく購入する機器が少なく導入しやすい。

CRIFは、通常のプレートやLCPなどのロッキングプレートに比べスクリューの位置を自由に決めることができる。スタンダードクランプはロッドに沿って移動でき、ロッドを軸に回転させることも可能である。創外固定と比較すると、ロッドの位置が骨軸により近くなるため安定性および強度に優れており、術後の消毒管理が不要である。そしてCRIFは通常のプレート法に比べて骨との接触面が小さく骨膜および周囲の軟部組織の剥離を最小限にできる。したがって、骨への血流障害が少ないため良好な間接的骨折治癒に優れている。また、CRIFは柔軟な固定でありロッドが撓ることで応力が分散され、柔軟な固定でありながら早期の負重が可能な強度を持ち合わせている。ロッドのカントゥアーリングを正確に行うことや2本設置することで屈曲や剪断および旋回の負荷に対する強度を上げることができる。

以上のことからCRIFの利点や欠点およびテクニックを理解することでデータの少ない小型犬や猫において幅広い応用の可能性があり、間接的骨折治癒を可能とすることが示唆された。

文 献

- 1) Zahn, K., et al.: Mechanical properties of 18 different AO bone plates and the clamp-rod internal fixation system tested on a gap model construct. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 21 (3), 185-194 (2008)
- 2) Zahn, K. and Matis, U.: The clamp rod internal fixator-application and results in 120 small animal fracture patients. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 3, 110-120 (2004)
- 3) Haerdi-Landerer, C., et al.: Comparison of double dynamic compression plating versus two configuration of an internal veterinary fixation device: Results of in vitro mechanical testing using a bone substitute. *Vet Surg*, 31 (6), 528-588 (2002)

簡易 DNA 抽出キットを用いた牛白血病ウイルスの DNA 調整に関する検討

兼重裕美子 堀 敬太 国井 悦子

太田垣 寧 田原 彰敏 鈴木 裕子

(受付：平成 25 年 11 月 1 日)

Examination about the DNA adjustment of the bovine leukemia virus using the simple DNA extraction kit

YUMIKO KANESHIGE, KEITA HORI, ETSUKO KUNII,
YASUSHI OTAGAKI, AKITOSHI TAHARA and YUKO SUZUKI

Hiroshima City Meat Inspection Office, 1-11-1, Kusatsuko, Nishi-ku,
Hiroshima 733-0832

SUMMARY

Bovine leukemia is classified into a local type (adult cattle type) caused by bovine leukemia virus (BLV) and sporadic type (calf, thymus, skin types) not caused by BLV. Of these types, all cows with local-type bovine leukemia should be disposed of according to the slaughterhouse law, causing a significant economic loss to farmers. The incidence of local-type bovine leukemia has recently increased throughout Japan. The prevalence of BLV is a serious problem. The number of diagnoses in our laboratory has also rapidly increased. To reduce the burden on PCR diagnoses, DNA extraction kits conventionally used in our laboratory (conventional kits) were compared with simple DNA extraction kits that allow rapid DNA preparation (simple kits), demonstrating the usefulness of the simple kits. The results are summarized.

— Key words: local-type bovine leukemia, PCR, DNA extraction

要 約

牛白血病は、牛白血病ウイルス (BLV) が関与する地方型 (成牛型) と、BLV が関与しない散発型 (子牛型, 胸腺型, 皮膚型) に分類される。このうち, 地方型牛白血病は, と畜場法に基づく全部廃棄の対象疾病であるため, 畜産農家の経済的損失は大きい。近年, 全国的に地方型牛白血病の発生数が増加しており, BLV の蔓延が重要視されている。当所における診断頭数も急増しており, 診断方法の一つである PCR 検査にかかる負担を軽減するため, 当所で従来から使用している DNA 抽出キット (従来キット) と, 短時間で DNA の調整が可能な簡易 DNA 抽出キット (簡易キット) とを比較検討した結果, 簡易キットの有用性が検証できたので概要を報告する。

—キーワード: 地方型牛白血病, PCR, DNA 抽出

序 文

牛白血病は、牛白血病ウイルス (BLV) が関与する地方型 (成牛型) と、BLV が関与しない散発型 (子牛型, 胸腺型, 皮膚型) に分類される¹⁾。このうち, 地方型牛白血病は, と畜場法に基づく全部廃棄の対象疾病であるため, 畜産農家の経済的損失は大きい。近年の全国的な地方型牛白血病の多発²⁾に伴い, 当所における診断頭数も急増している³⁾。(図1)

地方型牛白血病の診断法の一つである PCR 検査にかかる負担を軽減するため, 当所で従来から使用している DNA 抽出キット (従来キット)⁴⁾と, 短時間で DNA の調整が可能な簡易 DNA 抽出キット (簡易キット) とを比較検討した結果, 簡易キットの有用性が検証できたので概要を報告する。

DNA の調整には, 従来キットと簡易キット「SimplePrep™ reagent for DNA (TaKaRa)」の2種類を使用した。

各検査材料から, BLV プロウイルス DNA の調整後, gag 遺伝子⁵⁾を検出するプライマーを用いて Nested PCR を行った。1st PCR は 94℃ で 5 分 BLV プロウイルスインキュベート後, 95℃ 1 分, 45℃ 1 分, 60℃ 2 分を 25 サイクル行った。2nd PCR は 1st PCR と同じ条件で実施した。

PCR 後, 2.5% アガロースゲルを用いて電気泳動を実施し, DNA バンド (227bp) の検出の有無を確認した。

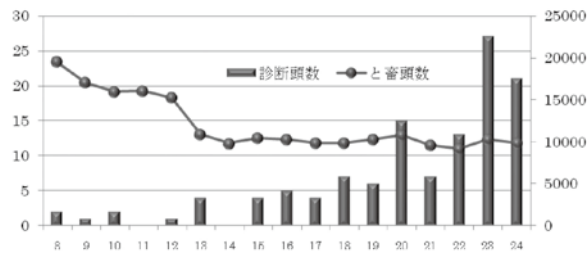


図1 広島市と畜場におけると畜頭数と地方型牛白血病診断頭数の推移

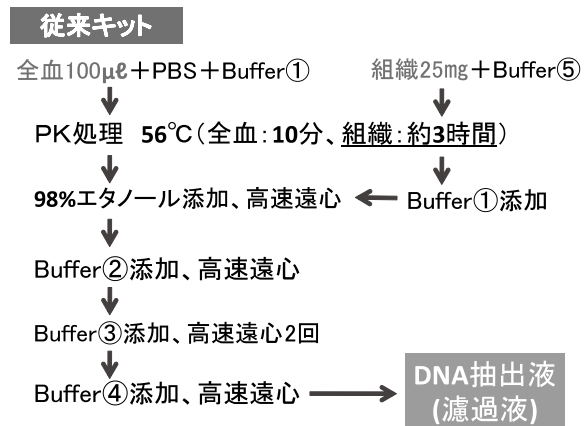


図2 従来キット作業フロー図

材料と方法

検査材料は平成 24 年度に広島市と畜場に搬入され, と畜検査において牛白血病と診断された牛 21 頭の全血及び肉眼所見を認めた病変部組織 (リンパ節, 心臓, 子宮, 脾臓など) を用いた。

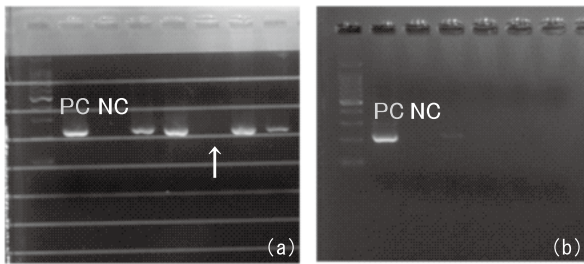
表1 従来キットの DNA バンド検出頭数

全てのバンドを検出	バンド欠如	
	一部	全て
8 頭	6 頭	7 頭

成 績

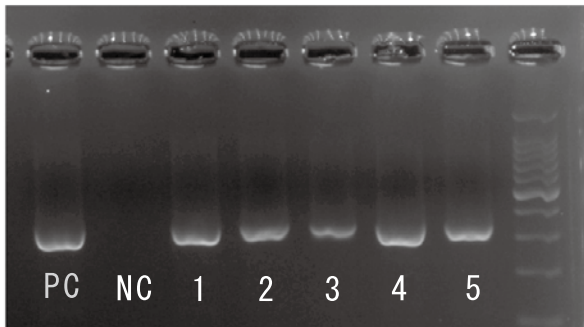
従来キットは、4種類のバッファート、プロテイナーゼK、PBS、エタノールを用い、DNA調整作業に約4時間を要する(図2)。PCR後、ゲル電気泳動を実施し、DNAバンドの一部または全て検出できなかった個体が13頭であった。(写真1、表1)

簡易キットは2種類の試薬(A、B)を用い、DNA調製作業は約15分で終了する(図3)。PCRに持ち込むテンプレート量を5 μ lとすると、組織からは全個体、全血からは17個体のDNAバンドを検出した。(写真2)



(a)部分的にバンドが欠如した一例(矢印) (b)バンドを全て欠如した一例

写真1 従来キットで抽出したDNAのゲル電気泳動



全てのバンドを検出した一例(1:全血 2:脾臓
3:腎臓腫瘍 4:内腸骨リンパ節 5:第4胃リンパ節)

写真2 簡易キットで抽出したDNAのゲル電気泳動

簡易キット

試薬mix調整(試薬A+試薬B+滅菌水)

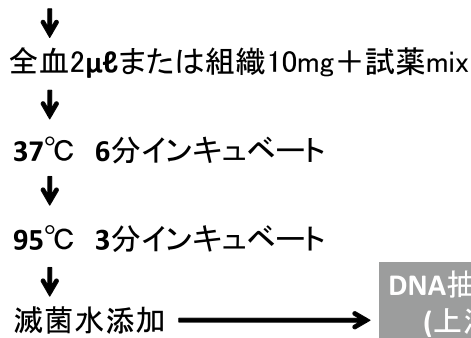


図3 簡易キット作業フロー図

全血はタンパク質、糖類、色素などのPCR阻害物質を多く含む^{6,7)}。PCRに持ち込まれる阻害物質の総量を減らし、円滑なDNA増幅を促すことを期待して、全血のみPCRテンプレート量を2 μ lとし、再度PCRを実施したところ、21頭全てのDNAバンドを検出した。(表2)

表2 簡易キットのDNAバンド検出頭数

テンプレート量	5 μ l	2 μ l
組 織	21頭/21頭中	
全 血	17頭/21頭中	21頭/21頭中

考 察

従来キットは複数回の遠心分離作業によって、純度の高いDNA精製が可能であるが、検査過程が非常に煩雑であり、酵素処理や遠心分離作業に伴うDNA調整作業に約4時間を要した。また、検査員が調整手技に不慣れな場合、DNAの回収率が低くなる可能性もあり、試験の再現性に課題が残った。

今回新たに採用した簡易キットは、高温処理によりDNAを調整する方法⁸⁾、試料に試薬を添加し、インキュベートするだけの簡易な手技であり、高速遠心分離機のような特殊な機器を使用しないため、誰でも容易に実施できる。また、わずか2 μ lの血液からDNAを精製することができ、ごく少量の「と体残血」からのPCRが可能となる。さらに、最大3時間に及ぶ酵素処理と、複数回の遠心分離作業が省略されたことにより、DNA調整が約15分で完了する。購入価格は従来キットに比べて安価であり、低価格でのDNA調整が可能である。DNA調整力にも優れており、従来キットでDNAバンドを検出できなかった全ての個体において、DNAバンドを検出することができた(表3)。特にPCR阻害物質を多く含み、DNAバンド検出率の低かった全血についても、PCRテンプレート量を減量することで解決に至った。

以上の結果より、簡易キットの有用性を実証することができた。

表3 キット比較表

	従来キット	簡易キット
検体量	全血:100 μ l 組織:25mg	全血:2 μ l 組織:10mg
時 間	約4時間	約15分
試 薬	8種類	2種類
機 器	恒温槽、高速遠心機	恒温槽
作 業	煩雑	簡易
費 用	460円/1検体	170円/1検体
結 果	不安定	良好

文 献

- 1) 莊村明彦：新・食肉衛生検査マニュアル，全国食肉衛生検査所協議会，171~177，中央法規出版株式会社，東京（2011）
- 2) 小沼 操：BLV 伝播とその清浄化，臨床獣医，22（3），15-19（2004）
- 3) 阿部恵子ら：地方病性牛白血病の発生状況と抗体保有状況の推移，広島市食肉衛生検査所平成 17 年度事業概要（2005）
- 4) 坂本 綾ら：牛白血病の診断に関する一考察，広島市食肉衛生検査所平成 21 年度事業概要（2009）
- 5) Kelly, E.J., et al.:Early detection of bovine leukemia virus in cattle by use of the polymerase chain reaction., *Am J Vet Res.*, 54（2）, 205-209（1993）
- 6) Akane, A., et al.:Identification of the heme compound copurified with deoxyribonucleic acid (DNA) from bloodstains, a major inhibitor of polymerase chain reaction (PCR) amplification., *J. Forensic Sci.*, 39, 362-372（1994）
- 7) Al-Soud, W.A., et al.:Identification and characterization of immunoglobulin G in blood as a major inhibitor of diagnostic PCR., *J Clin Microbiol.*, 38, 345-350（2000）
- 8) Holdes, D. S., et al.: A rapid boiling method for the preparation of bacterial plasmids., *Anal. Biochem.*, 114, 193-197（1981）

広島湾北部地域で育成されたカキの栄養成分分析からみた 養殖環境と公衆衛生

新田由美子¹⁾ 高橋佐恵子¹⁾ 峠 恭雄²⁾

網崎 宗雄³⁾ 原田 俊英⁴⁾ 石崎 文子⁵⁾

(受付：平成 25 年 12 月 3 日)

Culture environment and public sanitation judging from the nourishment ingredient analysis of the Hiroshima-oyster

YUMIKO NITTA¹⁾, SAEKO TAKAHASHI¹⁾, YASUO TAO²⁾,
MUNEO AMISAKI³⁾, TOSHIHIDE HARADA⁴⁾ and FUMIKO ISHIZAKI⁵⁾

- 1) Suzugamine Women's College, Inokuchi 4-6-18, Nishi-ward, Hiroshima 733-8623
- 2) Hiroshima City Agriculture, Forestry and Fisheries promotion center, Shoukou-center 8-5-1, Nishi-ward, Hiroshima 733-0833
- 3) Hiroshima Oyster Farming Liaison Council, Deshio 2-3-1, Minami-ward, Hiroshima 734-0001
- 4) Hiroshima Prefecture University, gakuennmachi 1-1, Mihara, Hiroshima 723-0053
- 5) Hiroshima Cosmopolitan University, Ujina-nishi 5-13-18, Minami-ward, Hiroshima 734-0014

SUMMARY

The oyster bears the Hiroshima-Setouchi local cuisine culture. The quantity of its production in Hiroshima prefecture occupies 58.9% of the amount of gross domestic product. The water temperature, salinity concentration, and plankton of culturing space in the Seto Inland Sea influence the quantity of the Hiroshima-oyster, while the food safety of it influences the human health of all over Japan. Expecting contributions to the production, consumption and environmental hygiene, we analyzed the nutritional components of the Hiroshima-oyster and monitored the cultivation environment at the

1) 鈴峯女子短期大学 (733-8623 広島市西区井口 4 丁目 6-18)
2) 公益財団法人広島市農林水産振興センター (733-0833 広島市西区商工センター 8 丁目 5-1)
3) 広島市かき養殖連絡協議会 (734-0001 広島市南区出汐 2 丁目 3-1)
4) 県立広島大学 (723-0053 三原市学園町 1 丁目 1)
5) 広島都市学園大学 (734-0014 広島市南区宇品西 5 丁目 13-18)

northern part of Hiroshima bay from November in 2012 to May in 2013. Not only adult but also immature oysters were used for examinations. The content of moisture, protein, lipid, and ash, zinc, iron and taurine was measured. The seawater temperature, salinity concentration and weather situation were recorded every week. The total energy of the adult oyster was 88.3 kcal/100g, which exceeded the standard value by 47.2%. Taurine occupied 8.9% of the protein content, which could represent the adaptive capability of oysters to salinity concentration change. Zinc exceeded the standard value by 69.4%. Concentration movements of zinc and iron showed synchronization during the observation period. The low concentration of zinc in the immature oyster indicated existence of its selectively accumulated mechanism during growth. The oysters showed a high carbohydrate, low protein, and low lipid compared to the values of the 2 kinds of fish. We believe that information disclosure contributes to produce and consume the Hiroshima-oyster, to control environmental hygiene and to improve the health of whoever eats oyster.

— Key words: oyster, nutritional information, taurine, zinc, culture environment

要 約

広島県のカキ生産量は国内総生産量の58.9%を占める。養殖海域の水温、塩分濃度、プランクトンは生産量へ、衛生環境は食材の安全性へそれぞれ影響する。瀬戸内地域食文化を担うカキの栄養成分を経時的に分析し、養殖環境との関係を考察した。材料には2012年11月～2013年5月に広島湾の津久根島周辺で養殖された通常出荷用カキとその幼若カキを用いた。対象には別海域で養殖されたカキと瀬戸内海産魚類を用いた。水分、蛋白質、脂質、灰分の含有量を常圧加熱乾燥法、ケルダール法、ソックスレー法、直接灰化法で、亜鉛、鉄、タウリンの含量をICP発光分析法とアミノ酸自動分析法で各々測定した。その結果、①通常出荷用カキの総エネルギーは88.3 kcal/100gで、日本食品標準成分表2010の値を47.2%上回った。タウリンは含硫アミノ酸を含む総アミノ酸量の8.9%を占め、カキの塩分濃度変化への適応能を示す値として評価できると考えた。亜鉛は日本食品標準成分表2010の値を69.4%上回った。亜鉛、鉄量は月別増減に同調性を示した。②幼若カキは総エネルギー、蛋白質、灰分、炭水化物、鉄で高値を示したが、亜鉛含有量は低かった。亜鉛含量の季節変動と養殖環境との関係が検討課題となった。③広島湾北部で養殖された通常出荷用カキは2魚種より高炭水化物、低蛋白質、低脂質であるが、総エネルギーでは同等であった。これらの情報を開示することが広島かきの生産と消費、地域社会の環境衛生および健康増進に寄与する、と考える。

— キーワード：カキ、栄養成分、タウリン、亜鉛、養殖環境

序 文

カキは中緯度海域に分布する軟体動物斧足類の一種で、潮間帯の海底に固着し、植物プランクトンを捕食して生活する。この採集容易なカキを、ヒトは有史来重要なエネルギー供給源として食してきた。日本では、固着性を利用したカキ養殖法が室町時代に開発され、改良を重ねて冬期の安定供給を可能にした。農林水産省の2012年度漁業・養殖業生産統計によれば、広島県が国内総生産量の58.9%を占める。

2012年に公開されたカキ全ゲノム情報で、カキは環境変化への適応に係る遺伝子群を多く発現するゲノム構造をもつことが明らかになった¹⁾。空気曝露により4,865個の固有遺伝子のうち4,420個の遺伝子を発現上昇させ、熱ストレスに対し2,000個程度の固有遺伝子とユビキタス遺伝子群の発現量を増大させた。以上のことは、乾燥や熱の曝露がカキにとって大きなストレスで、進化の過程でストレス適応遺伝子群を増幅・分化させたことを示す。このゲノム情報を踏まえ2013年には、カキを用いて水温ストレスを計測し、地球温暖化の沿岸部生態系への影響をみる実験が報告された²⁾。高温への適応に前述のストレス遺伝子群とは異なる遺伝子を発現させる経路があること、地球環境モニタリングにカキの遺伝子発現検索が有用であることが示された。

週1回の頻度で魚介類を摂取すると認知症発症リスクが低い、との疫学調査データは興味深い³⁾。認知症との関連が報告されている栄養素にはビタミンB群、抗酸化ビタミン類、n-3系脂肪酸および微量元素があるが⁴⁾、中でも亜鉛は生体内で各種酵素の構成元素として存在し、酵素の触媒作用や解毒機能に必須である。ヒトでは血中濃度80 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 以下を亜鉛欠乏診断の目安とする⁵⁾。亜鉛不足は経管栄養補給者や高齢者にみられることがあり⁶⁾、視力低下や皮膚炎を発症する⁷⁾。他方、中枢神経系において、シナプス外亜鉛イオンがアミロイド β タンパク質(A β)の神経細胞内沈着を促進するとの報告もある⁸⁾。カキ摂食で亜鉛欠乏症や認知症の予防を期待できるのか、脳内遊離亜鉛イオンがA β の沈着を促進し認知症を進展させるのか、明らかでない。実は、日本人の亜鉛代謝データはなく、厚生労働省はアメリカ・カナダのデータを日本人にあてはめたものを公表しているにすぎない⁹⁾。

カキが微量元素のうちの亜鉛、銅、鉄を多く含む食材であることは広く知られるところであり¹⁰⁾、カキを含む魚介類は日本人の健康を左右する生物資源である。本研究では、広島湾北部海域で養殖されたカキの出荷月毎の栄養成分分析を出荷シーズンの7ヶ月間実施した。成果をヒトの健康増進と環境評価へ利用することを目的とした。

材料と方法

1. 材料

カキの出荷シーズンにおける月ごとの栄養成分の変化を調べる材料として、広島湾北部の津久根島周辺で養殖されたカキ(マガキ *Crassosrea gigas*)を使用した(図1)。このカキは2011年7月に植苗、6ヶ月間の抑制育成と9ヶ月間の直吊育成を経て出荷期を迎えたもので、2011年11月から2012年5月まで毎月入手し、材料とした(以下広島湾カキとする)。成熟度と産地間の栄養成分差異を調べるため、2012年6月に同海域で植苗、2ヶ月間の抑制育成と7ヶ月間直吊育成したものを、2013年3月に採取して広島湾幼若カキとして用いた。他産地のものとして、広島湾外の海域にて育成された2検体と北海道産1検体を用いた。加えて、瀬戸内海に棲息するイカナゴ、マアジの成魚も栄養成分分析の対象とした(表1)¹¹⁾。



図1 広島湾北部海域

表1 供試検体

検体呼称	産地	特徴	採取時期
広島湾カキ	広島湾北部	通常出荷用カキ	2012年11月~2013年5月
広島湾幼若カキ	広島湾北部	2012年6月植苗の育成中カキ	2013年3月
湾外カキ1	広島湾外海域1	通常出荷用カキ	不明*
湾外カキ2	広島湾外海域2	通常出荷用カキ	不明
北海道産カキ	北海道産	通常出荷用カキ	不明
イカナゴ	瀬戸内海産	成魚	不明
マアジ	瀬戸内海産	成魚	不明

*通信販売にて購入

2. 栄養成分の分析方法

カキはむき身、イカナゴとマアジは丸ごとを材料として、タンパク質、脂質および灰分の含量を測定した。水分は常圧加熱乾燥法、タンパク質はケルダール法、脂質はソックスレー抽出法、灰分は直接灰化法で分析した。炭水化物は全量から水分、タンパク質、脂質および灰分を除いた値とした。検体100g当たりのエネルギー量を算出し、換算計数にはタンパク質:4.22、脂質:9.41および炭水化物:4.11を用いた。

カキむき身の亜鉛、鉄およびタウリンの含量を測定した。亜鉛と鉄はICP発光分析法で、タウリンはア

ミノ酸自動分析法 (JLC-500/V AminoTac, 日本電子) で、それぞれ測定した。

成 績

1. 月別変動

広島湾カキの総エネルギーのシーズン平均は 88.2kcal/100g で、日本食品標準成分表 2010 にあるカキ (以下食品標準カキとする) の値を 47.2% 上回った (表 2)。成分別のシーズン平均では、広島湾カキの脂質、炭水化物、タンパク質の値が食品標準カキの各値を上回った。月別に比較すると、2月の総エネルギー量、脂質含量、炭水化物含量が最も高かった (図 2)。炭水化物の含有量は1月以降に経時的増加がみられたが、脂質含有量はシーズンをとおして変動がなかった。また、タウリンの含有量には月毎の変動がなく、含硫アミノ酸を含む総アミノ酸量の $8.9 \pm 0.2\%$ を占めた。

亜鉛、鉄の含有量を食品標準カキと比較したところ、亜鉛で広島湾カキがシーズンを通して高い含有量を示した (図 3)。鉄の含有量は月別に変動があり、1, 2, 3 月値は食品標準カキの値より高かったが、その他の月は下回った。

表 2 広島湾カキ 100g 当りの栄養成分含有割合

項目	広島湾カキ (n=7)	食品標準カキ*
エネルギー (kcal)	88.30 ± 6.30	60
水分 (%)	80.39 ± 1.04	85
タンパク質 (g)	8.33 ± 0.40	6.8
脂質 (g)	2.37 ± 0.20	1.4
灰分 (g)	1.43 ± 0.14	2.3
炭水化物 (g)	7.49 ± 0.78	4.7
タウリン (g)	0.74 ± 0.04	NT**

* 日本食品標準成分表 2010 ** not tested

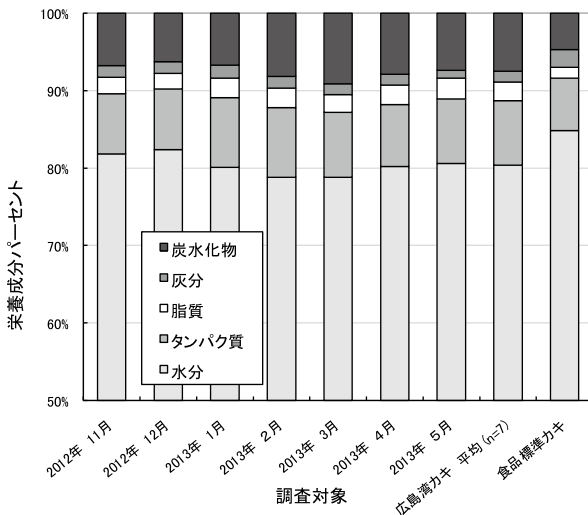


図 2 カキの栄養成分の推移

2. 産地比較

亜鉛含有量は広島湾カキが最大であった (図 4)。一方、鉄含有量は北海道産カキで最も高かった (図 5)。

3. 年齢比較

広島湾幼若カキは広島湾カキより、総エネルギー、タンパク質、灰分、炭水化物、鉄で高い値を示した。一方、亜鉛含有量は少なく、脂質含有量に差はなかった (図 4, 5, 6)。

4. 魚介類間での比較

広島湾カキの栄養成分をイカナゴ、マアジと比較した (図 7, 8)。広島湾カキが炭水化物を含有するもタンパク質及び脂質含量で低い点という栄養成分構成が、2 魚種の栄養成分構成との相違点であった。一方、総エネルギーでは成分構成差は相殺され、三者間に差がなかった。

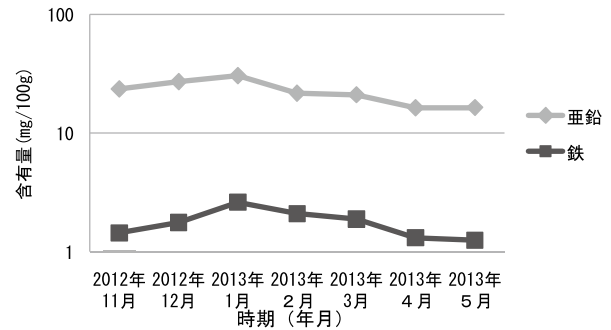


図 3 広島湾カキの亜鉛、鉄含有量の推移

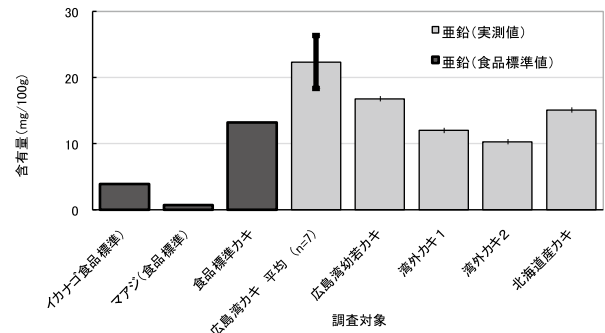


図 4 魚介類の亜鉛含有量の比較

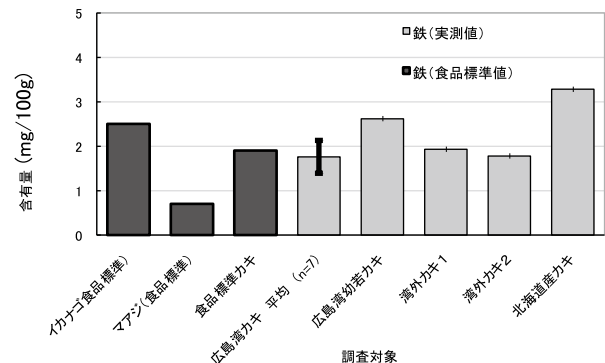


図 5 魚介類の鉄含有量の比較

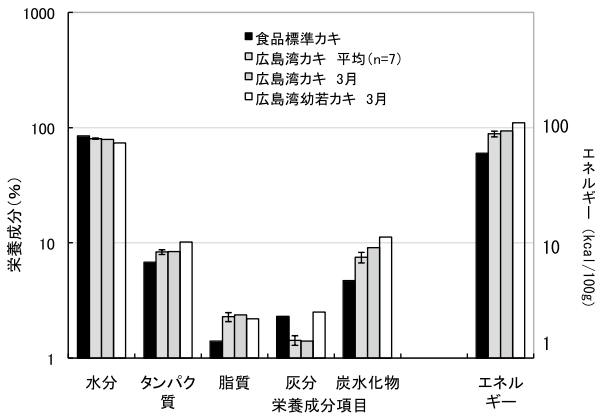


図6 幼若カキの栄養成分

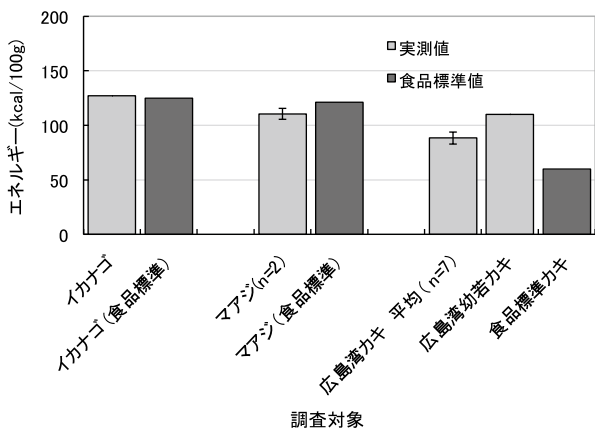


図8 魚介類のエネルギー比較

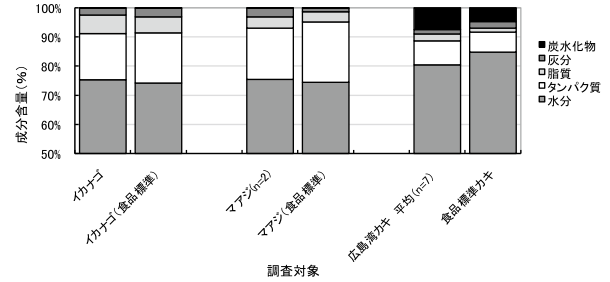


図7 魚介類の栄養成分比較

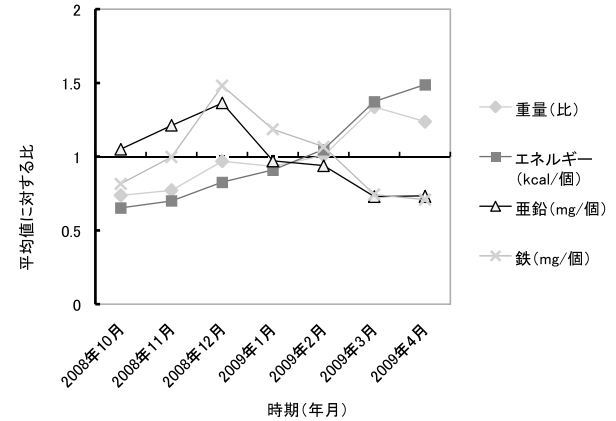


図9 広島湾カキ1個 (20.2 ± 3.4g) 当りの栄養成分の推移

5. 広島カキの栄養評価

広島湾カキの栄養成分について、シーズン平均値を基準として月別変動を求めた(図9)。シーズン前半では亜鉛と鉄の含量が、終盤ではエネルギーがそれぞれ高かった。広島湾カキは1個(20.2 ± 3.4g)当り 18.5 ± 4.8kcal のエネルギー、4.4 ± 0.5mg の亜鉛および 2.4 ± 0.4mg の鉄を含有した。日本人の亜鉛と鉄の摂取必要量はそれぞれ 4 ~ 8mg/日と 3.5 ~ 10mg/日であることから⁹⁾、広島湾カキの1 ~ 2個が両元素の一日摂取必要量の目安となることがわかった。

考 察

広島湾カキはなぜ亜鉛を多く含有するのだろうか。瀬戸内海の亜鉛濃度は高いが¹²⁾、本解析で幼若カキより成熟カキに高い亜鉛含有率が得られたことから、成熟カキには能動的亜集積機構の存在することが示唆された。近年その使用量が増加する微細亜鉛化合物(ZnO)について、ムラサキイガイ(イガイ)を用いた安全性実験が報告された¹³⁾。高濃度 ZnO 液ではイガイの寿命は短縮した。幼若イガイでは低濃度 ZnO 液から酸素要求量が増大し、成熟イガイでは殻の成長

抑制が顕著であった。Zn 集積量を比較すると、幼若イガイは中等濃度 ZnO 液下で、成熟イガイは高濃度 ZnO 液下でそれぞれ高かった。この結果は、広島湾カキの高い亜鉛濃度を一部支持する。また、亜鉛は細胞外スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)の構成元素であり、SOD 遺伝子のゲノム上の重複増幅がカキの環境適応を進化させたことを、全ゲノム解析データは示した³⁾。広島湾カキの亜鉛含有量が高い理由を養殖の方法と環境に対する適応であると、一部説明できる。

ヒトの食事を介した亜鉛吸収効率は、低亜鉛含有量食品の場合に70%、高亜鉛含有量食品では20%である¹⁴⁾。また、小腸粘膜細胞の亜鉛吸収は銅により阻害される¹⁵⁾。そこで、現在流通する加工食品(調整粉乳や流動食等)は、銅による吸収阻害を考慮した亜鉛含有比率(亜鉛:銅 = 10 ~ 20 : 1)で供給されている。カキの亜鉛含有量(13.2mg/100g)は、魚介類中最高値のイカナゴの値(3.9mg/100g)を上回った¹⁰⁾。カキの銅含有量(0.89mg/100g)とイカナゴの値(0.08mg/100g)を考慮しても¹⁰⁾、カキの比率(亜鉛/銅 = 14.8)はイカナゴの比率(亜鉛/銅 = 48.8)より低いことから、銅による亜鉛吸収阻害はカキの方がイカナゴより低いと推測できた。

亜鉛の1日推奨摂取量は成人男性:12mg、成人女性:9mgであるが⁹⁾、2010年の国民健康・栄養調査

報告では男性：8.7mg、女性：7.2mgの亜鉛摂取であり、推奨摂取量を下回る値に留まっていた¹⁶⁾。亜鉛欠乏は低栄養の高齢者で問題となる場合がある⁶⁾。老人介護施設入所者へ亜鉛サプリメントを投与して血清亜鉛濃度を経時的に観察すると、3ヶ月間の継続投与では血清亜鉛濃度は上昇しなかった⁸⁾。なお、サプリメントとして用いる亜鉛の摂取目安量は3～15mg/日とある¹⁷⁾。高齢者の亜鉛欠乏の改善には長期間を要することが推察できた。また、亜鉛の主要供給源は穀物(32%)、肉(17%)、魚介(12%)であるので¹⁶⁾、季節を問わず摂取できる食形態のカキを供給することで、高齢者の低栄養状態を予防できる可能性がある。

結 語

本研究は、地域にある課題を産学官が共同して解決する取り組みである。また、産学官連携研究の成果を地域住民へわかりやすく情報提供するシステム構築の試みでもある。このたびの成果が広島かき[®]の生産と消費、環境衛生および人々の健康増進に寄与するよう、多くの方々に利用されることを希望する。

謝 辞

広島市かき養殖連絡協議会(中前光照、米田康平、網岡一師、網崎宗雄、谷迫淳二、黒田直樹)より広島かき[®]を提供いただきました。広島市水産振興センター職員の皆様が本事業の統括と推進事務を担当してくださいました。感謝します。

文 献

- Zhang, G., et al.: The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation, *Nature*, 490 (7418), 49-54 (2012)
- Clark, M.S., et al.: Identification of molecular and physiological responses to chronic environmental challenge in an invasive species: The Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Ecol Evol.*, 3 (10), 3283-3297 (2013)
- Barberger-Gateau, P., et al.: Fish, meat, and risk of dementia: cohort study. *B.M.J.*, 325 (7370), 932-933 (2002)
- Morris, M.C., et al.: Associations of vegetable and fruit consumption with age-related cognitive change, *Neurology*, 67 (8), 1370-1376 (2006)
- 駒井三千夫：血清亜鉛値の基準下限値に関する提言について、日本微量元素学会 栄養ならびに毒性評価委員会・栄養評価部会(編), *Biomed. Res. Trace. Elem.*, 21, 43-48 (2010)
- 小坂和江ほか：施設入所高齢者における血清亜鉛濃度の検討, *栄養学雑誌*, 64, 115-124 (2006)
- Grahn, B.H., et al.: Zinc and the eye. *J. Am. Coll. Nutr.*, 20 (Suppl), 106-118 (2001)
- Sensi, S.L., et al.: The neurophysiology and pathology of brain zinc. *J. Neurosci.*, 31, 16076-16085 (2011)
- 森田明美他：ポケット食事摂取基準, 独立行政法人国立健康・栄養研究所(監修), 建帛社, 初版, pp142-145, 東京, (2011)
- 文部科学省科学技術・学術審議会(2010): 日本食品標準成分表2010 魚介類, http://www.mext.go.jp/component/b_menu/shingi/toushin/_icsFiles/afieldfile/2011/05/30/1299012_10.pdf (参照2014-02-01)
- 橋本博明：日本産イカナゴの資源生態学的研究, *J. Fac. Appl. Biol. Sci.*, Hiroshima Univ., 30, 135-192 (1991)
- 海と陸の地球科学図：独立行政法人産業技術総合研究所地質調査総合センター(編集・発行), pp157-170, 東京, (2007)
- Hanna, S.K.: Impact of engineered zinc oxide nanoparticles on the individual performance of *Mytilus galloprovincialis*. *PLoS One*, 8, e61800, (2013)
- Hunt, J.R.: Adaptation in human zinc absorption as influenced by dietary zinc and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, 87, 1336-1345 (2008)
- Troost, F.J.: Iron supplements inhibit zinc but not copper absorption *in vivo* in ileostomy subjects., *Am. J. Clin. Nutr.*, 78, 1018-1023 (2003)
- 厚生労働省健康局(2012): 平成22年厚生労働省国民健康・栄養調査報告, 栄養素等摂取状況調査の結果, <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou/dl/h22-houkoku-07.pdf> (参照2014-02-01)
- 厚生労働省医薬局食品保険部企画課新開発食品保健対策室(2002): 保健機能食品制度企画基準等, <http://www.mhlw.go.jp/topics/2002/03/tp0313-2c.html> (参照2014-02-01)

広島県における犬のツツガムシ病リケッチアの 浸潤状況調査について

山内英理子¹⁾ 坂田 佳英¹⁾ 河村美登理¹⁾ 山下 和子¹⁾ 井上 香織¹⁾
土井 章三¹⁾ 松本 修¹⁾ 島津 幸枝²⁾ 高尾 信一²⁾

(受付：平成 25 年 12 月 20 日)

Serological survey of Tsutsugamushi disease Rickettsia infection in dogs in Hiroshima Prefecture

ERIKO YAMAUCHI¹⁾, KAE SAKATA¹⁾, MIDORI KAWAMURA¹⁾, KZUKO YAMASITA¹⁾, KAORI INOUE¹⁾,
SHOSO DOI¹⁾, OSAMU MATSUMOTO¹⁾, YUKIE SHIMAZU²⁾ and SHINICHI TAKAO²⁾

- 1) Hiroshima Prefectural Animal Management and Welfare Center 8915-2,
Minamigata, Hongo-cho, Mihara, Hiroshima 729-0413
- 2) Health and Environment Center, Hiroshima Prefectural Technology
Research Institute 1-6-29, Minami-machi, Minami-ku, Hiroshima 734-0007

SUMMARY

To examine invasion by the scrub typhus Rickettsiae by investigating its infection of dogs in Hiroshima Prefecture, an antibody test was conducted using sera from 311 dogs housed in our center between September 2008 and April 2013. As a result, 21 dogs (6.8%) were antibody-positive; two types of scrub typhus rickettsia (Kawasaki and Karp types) were detected, as reported in patients in Hiroshima Prefecture. Antibody-positive rates were 6.0% (5 of 85 dogs) in the western region, 2.7% (2 of 74 dogs) in the central region, 13.5% (7 of 52 dogs) in the northern region, and 7.0% (7 of 100 dogs) in the eastern region. Thus, antibody-positive dogs were found in various regions of the prefecture. Therefore, Trombiculidae carrying scrub typhus Rickettsiae have extensively spread throughout the prefecture. The antibody-positive rate of domestic dogs was 11.2% (10 of 89 dogs), a higher rate than the 5.0% in stray dogs (11 of 222 dogs), suggesting that scrub typhus Rickettsiae have invaded the area surrounding human living environments. Thus, care should be exercised regarding clothing before visiting green areas or water sources around living environments, as well as mountains, as previously reported, in order to prevent human infection. In the future, we will raise the public's awareness of mite-borne infectious diseases.

— Key words: Rickettsia, mite-borne infection, prevention of infection

1) 広島県動物愛護センター（〒729-0413 広島県三原市本郷町南方 8915-2）

2) 広島県立総合技術研究所保健環境センター（〒734-0007 広島市南区皆実町 1-6-29）

要 約

広島県内の犬におけるツツガムシ病リケッチアの浸潤状況を把握するため、平成20年9月から平成25年4月に当センターに収容された犬311頭の血清を用い、抗体調査を実施した。その結果、21頭(6.8%)が抗体陽性であり、県内の人(患者)から報告されているKawasaki型、Karp型の2種のツツガムシ病リケッチア抗体が検出された。地域別の抗体陽性率は、西部地域85頭中5頭(6.0%)、中部地域74頭中2頭(2.7%)、北部地域52頭中7頭(13.5%)、東部地域100頭中7頭(7.0%)、県内各地域で抗体陽性個体が確認された。このことから、ツツガムシ病リケッチアを保有するツツガムシが県内広範囲に分布していると考えられた。また、飼い犬では89頭中10頭(11.2%)が抗体陽性であり、放浪犬222頭中11頭(5.0%)と比べ高かったことから、ツツガムシ病リケッチアが人の生活環境近くに浸潤している可能性が考えられた。そのため、人への感染予防としては、これまで考えられていた山間部に入る際だけでなく、生活環境近くの草叢・河川敷等に近づく際にも、服装に十分に注意するなどの予防対策が大切である。今後も、ダニ類媒介性感染症の正しい知識の普及啓発に努めていきたい。

—キーワード：リケッチア，ダニ類媒介感染症，感染予防

序 文

ツツガムシ病は *Orientia tsutsugamushi* を保有するツツガムシによって媒介される感染症であり、人において高熱、発疹、刺し口の硬結を主な症状とする。本県では、1989年から2011年9月末までに、県内広範囲にわたり、計212名の患者の発生が確認されており、特に、県西部で多く報告されている。また、患者からはKawasaki型、Karp型2種の血清型のツツガムシ病リケッチアが検出されている。人以外では、過去に、島津らが広島県内の野鼠を対象とした調査を行い、県西部を中心に県内各地域で抗体陽性個体が多く確認されたことを報告している¹⁾。今回、ツツガムシ病リケッチアの県内の地域別浸潤状況を推定するために、人により近い環境下で生息する犬の抗体保有状況調査を実施した。また、今回の結果をもとに、野鼠の調査結果及び、人のツツガムシ病の発生状況と比較を行い、知見を得たので報告する。

調査方法

1. 検査対象

平成20年9月から平成25年4月に当センターに、収容された成犬311頭(内訳は飼い犬89頭、放浪犬222頭)。

2. 検査方法

犬の血清を検査材料とし、抗原にはツツガムシ病リケッチアのKarp株、Kawasaki株の2種類を用いて、

間接蛍光抗体法により抗体価を測定した。抗体陽性基準は、抗体価が20倍以上のものを抗体陽性とした。

結 果

1. ツツガムシ病リケッチアに対する抗体保有状況

311頭中21頭(6.8%)が抗体陽性であり(図1)、陽性抗体価は20倍から80倍までの範囲であった。

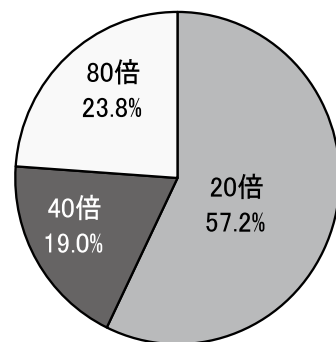


図1 収容犬の抗体陽性状況 (n=21)

2. 生育環境別結果

飼い犬89頭中10頭(11.2%)、放浪犬222頭中11頭(5.0%)が抗体陽性であった。飼い犬の抗体陽性率が若干高い結果となった。(図2)

3. 地域別結果

犬の市町別の結果では、20市町中9市町で抗体陽性個体が認められた。患者の発生状況と比較したとこ

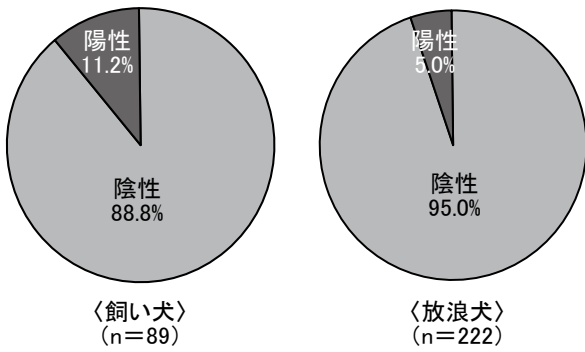


図2 生息環境別抗体陽性状況

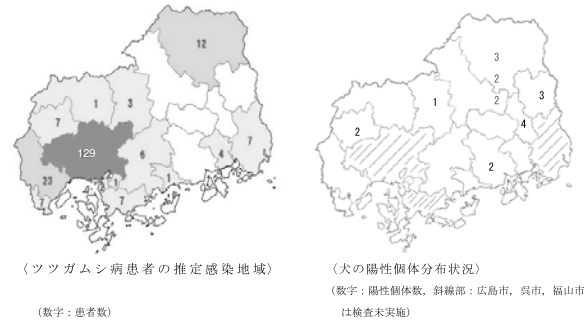


図3 ツツガムシ病患者の推定感染地域と犬の抗体陽性個体分布地域との比較 (*左図は、広島県保健環境センターホームページの「ツツガムシ病患者の推定感染地域と患者数」の図を使用したものである。)

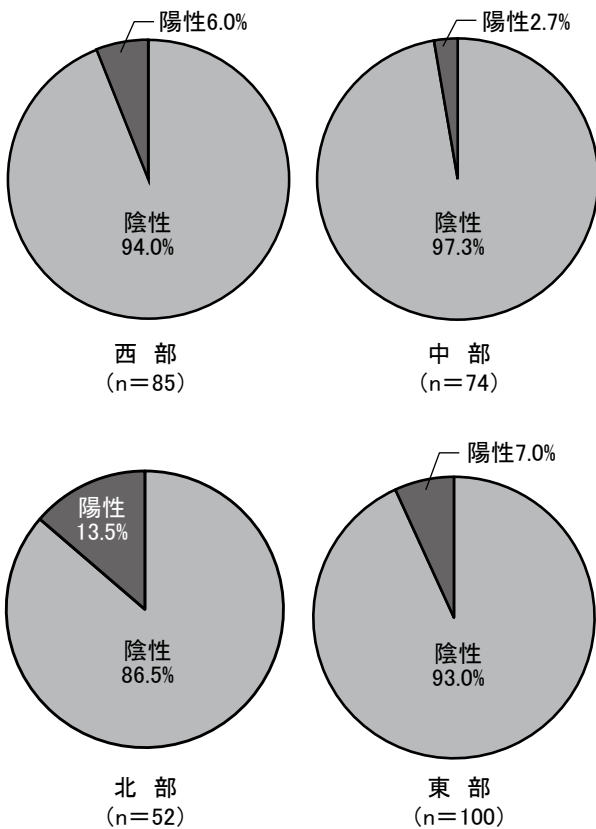


図4 地域別抗体陽性状況

ろ、犬の抗体陽性個体分布地域と患者の発生地域とは、重複している地域が数ヶ所あった。一方、犬の抗体陽性個体が確認され、患者の発生が確認されていない地域は3市町あり、また、犬の抗体陽性個体が確認されず、患者の発生が確認されている地域は、6市町あった(図3)。県内を西部・中部・北部・中部の4地域に分けた場合、各地域での抗体陽性率は、西部地域85頭中5頭(6.0%)、中部地域74頭中2頭(2.7%)、北部地域52頭中7頭(13.5%)、東部地域100頭中7頭(7.0%)、県内各地域で抗体陽性個体が認められた(図4)。

表1 犬と野鼠の血清型別陽性頭数の比較(地域別)

	血清型(単位:頭)		
	Karp型	Kawasaki型	両型に反応
犬			
西部(6.0%:85)	5	3	3
中部(2.7%:74)	2	1	1
北部(13.5%:52)	7	6	6
東部(7.0%:100)	7	6	6
計(6.8%:311)	21	16	16
*野鼠			
西部(75.0%:28)	17	4	1
中部(44.8%:29)	10	4	1
北部(25.5%:51)	9	4	1
東部(29.0%:31)	7	0	0
計(25%:139)	43	1	23

*鳥津らの文献から抜粋。広島市、呉市、福山市の調査結果を含む。

4. 血清型別結果

犬の血清型別では、Karp型は抗体陽性犬21頭中21頭(100%)、Kawasaki型は21頭中16頭(67%)で検出され、両血清型ともに反応したものが21頭中16頭(67%)であった。犬では、野鼠の調査結果と同様、Karp型において、県内広範囲に分布していることが確認された。一方野鼠では、両血清型に反応したものは少数と報告されており、この点において犬と野鼠とで異なる結果となった(表1)。

考 察

今回、放浪犬より人に近い所で生活している飼い犬の抗体陽性率が高いという結果となり、ツツガムシ病リケッチアを保有するツツガムシの生息が人の生活環境に近い領域に分布している可能性が考えられた。

地域別での野鼠と犬の調査結果を比較したところ、犬の抗体陽性率は、県北部で高い傾向にあったが、野鼠では、県西部で最も高い傾向にあった。また、犬の調査結果と人の発生状況を比較したところ、犬と野鼠を比較した場合と同様、発生状況に関連性はみられなかった。また、野鼠と人の発生状況の比較では、ともに県西部で陽性率が高く、両者において関連性がみられたが、犬と両者との比較においては、関連性がみら

れなかった。また、患者の発生が確認されていない地域で、抗体陽性の犬が確認されたことから、今後この地域においても、患者が発生するおそれがあると考えられた。

血清型別結果では、犬においても島津らの野鼠の調査結果と同様 Karp 型が多く、県内広範囲に分布していた。また、犬では、Kawasaki, Karp の両血清型に反応したものが多かったが、野鼠では両血清型に反応したものは少数であった。この理由として、犬の血清では、抗原に対し交差反応を示す等、両血清型に反応した可能性が考えられた。

これまで、ツツガムシ病の人への感染は、山間部など自然環境で感染するものと考えられていた²⁾。しかし、今回の結果から、生活環境周辺においても本疾病に感染するリスクがあることが、判明した。そのため、日常生活においても、野外で活動する際には、ツツガムシに吸着されないよう服装に注意するなど、十分な予防が必要である。また、飼い犬を介して人の生活環境にダニ類を持ち込ませない対策も重要と考えられた。今回の結果を踏まえ、ダニ類媒介性感染症予防の正しい知識の普及・啓発に努めていきたい。

文 献

- 1) 島津幸枝 他：広島県内の野鼠におけるつつがむし病リケッチア侵淫状況，広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告，No.17, p15-20, (2009)
- 2) 西篠和芳他：徳島県における犬の紅斑熱群リケッチア抗体保有状況，第 63 回日本衛生動物学会西日本支部大会公演要旨 (2007)

広島市で発生したクドア粘液胞子虫による 食中毒事例の検査対応

鈴木 康仁¹⁾ 上原 彩花¹⁾ 佐藤 真帆²⁾ 池田 伸代¹⁾

坂本 綾¹⁾ 児玉 実¹⁾ 石村 勝之¹⁾

(受付：平成 25 年 12 月 20 日)

The examination of a food poisoning case by *Kudoa septempunctata* that occurred in Hiroshima city

YASUHIITO SUZUKI¹⁾, AYAKA UEHARA¹⁾, MAHO SATO²⁾, NOBUYO IKEDA¹⁾,
AYA SAKAMOTO¹⁾, MINORU KODAMA¹⁾ and KATSUYUKI ISHIMURA¹⁾

- 1) Hiroshima City Institute of Public Health, 4-1-2, Syoko-Center, Nishi-ku, Hiroshima Hiroshima 733-8650
- 2) Hiroshima City University, 3-4-1, Otukahigasi, Asaminami-ku, Hiroshima Hiroshima 731-3166

SUMMARY

In April 2013, some people who dined at a restaurant in Hiroshima City developed diarrhea and vomiting, as the major symptoms. No causative bacteria of food poisoning were detected in food samples and patients' stools. However, *Kudoa septempunctata* spores were detected at 3.0×10^6 spores/g (flounder fillet), and the *K. septempunctata* 18S rDNA gene was identified. The *Kudoa* gene was also detected from patients' stools. Thus, this case was considered to be food poisoning due to *K. septempunctata*. The *K. septempunctata* 18S rDNA gene was also detected in great amberjack fillet. This was considered to be caused by cross-contamination from flounder during cooking, as suggested by a detailed examination.

— Key words: *Kudoa septempunctata*, food poisoning case, 18SrDNA

1) 広島市衛生研究所 (〒 733-8650 広島市西区商工センター四丁目 1-2)
2) 広島市立大学 (〒 731-3166 広島市安佐北区大塚東三丁目 4-2)

要 約

平成 25 年 4 月、広島市内飲食店において会食した 1 グループから、下痢、嘔吐を主症状とした患者が複数発生した。飲食店の食品検体および患者便等を検査した結果、それらから食中毒起因菌は検出されなかったが、喫食したヒラメの残品から *Kudoa septempunctata* の胞子が 3.0×10^6 個/g 観察されるとともに *K. septempunctata* 18SrDNA 遺伝子が検出された。さらに患者便からもクドア遺伝子が検出された。以上の結果から、本事例は *K. septempunctata* を原因とした食中毒事例と断定された。一方、本事例では残品のカンパチからも *K. septempunctata* 18SrDNA 遺伝子が検出されたが、詳細な検討結果から調理時におけるヒラメからのクロスコンタミネーションと考えられた。

—キーワード：*Kudoa septempunctata*, 食中毒, 18SrDNA

序 文

食中毒の原因物質となる寄生虫は、クリプトスポリジウム等の原虫類によるものと、アニサキス等の蠕虫類によるものに大別される。クドアは原虫類に分類される 4 つ以上の極嚢をもつ粘液胞子虫の一種である。主に海産魚類に寄生し、筋肉部に外観異常を起こすため商品上問題となっていたが、人への病原性は無いと考えられていた。しかし、生のヒラメを喫食することによる食中毒に、新種の粘液胞子虫である *Kudoa septempunctata*¹⁾ が関与していることが判明した²⁾。平成 23 年 6 月、ヒラメに寄生するクドア属粘液胞子虫の一種である *Kudoa septempunctata* が食中毒病因物質として新たに追加された³⁾。この寄生虫は胞子内に 6～7 つの極嚢を保有するのが特徴¹⁾ で、他の粘液胞子虫と違いヒラメの筋肉に外観異常を起こさないことが知られている。症状は食後数時間で発症し激しい下痢、嘔吐を主症状とし、発熱がみられる場合もあるが、一過性であり一日程度で軽快する。今回、広島市内でクドア粘液胞子虫を原因とする食中毒が発生したのでその検査概要を報告する。

事件の概要

平成 24 年 4 月、市内飲食店で喫食した 1 グループ 27 名のうち 8 名が嘔吐、下痢、腹痛、発熱等の症状を呈した。広島市保健所の調査の結果、喫食から発症までは 4～11 時間、平均潜伏時間は 7 時間であった。当該店舗での喫食メニューは刺身（ヒラメ、カンパチ）、サラダ、鶏ステーキであり、グループの共通食はその飲食店での食事のみであった。

材料と方法

1. 材料

当日提供された刺身の残品（ヒラメ、カンパチ）、及び発症者 8 名のうち 5 名の便を検査に使用した。

2. 方法

1) 顕微鏡検査

ヒラメからの *K. septempunctata* 暫定通知法⁴⁾ に基づき刺身残品（ヒラメ、カンパチ）の顕微鏡検査を実施した。またヒラメ残品を広島市食肉衛生検査所に依頼し、10%中性緩衝ホルマリンで固定後、常法に従いパラフィン包埋切片を作成し、HE 染色したのち当所で顕微鏡検査を実施した。

2) 食中毒起因菌検査

患者便 5 検体について食中毒起因菌（黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、サルモネラ、病原性大腸菌、セレウス、ウェルシュ、カンピロバクター）の検査を常法により実施した。

3) 遺伝子検査

i 虫体 DNA の抽出

刺身残品は QIAamp[®] DNA Mini Kit(QIAGEN) を使用し、そのマニュアルに従って DNA を抽出し精製した。便は QIAamp[®] DNA Stool Mini Kit (QIAGEN) を使用し、そのマニュアルに従って DNA 抽出し精製した。

ii リアルタイム PCR

刺身残品、および患者便ともに国からの通知による方法⁴⁾（以下通知法）と大阪府立公衆衛生研究所の方法⁵⁾（以下大阪法）の 2 種類でリアルタイム PCR を実施した（表 1）。リアルタイム PCR 反応試薬は Premix EX Taq (TAKARA) を使用した。PCR 反応は、CFX96 Real time system BIORAD を用いた。

表1 リアルタイム PCR 条件

方法	primer		増幅 size	PCR 反応
通知法	forward	CATGGGATTAGCCCGGTTTA	F-primer	95℃ 15 秒 } 60℃ 1 分 } 45cycles
	reverse	ACTCTCCCAAAGCCGAAA	R-primer	
	probe	(FAM) -TCCAGGTTGGGCCCTCAGTGA- (TAMRA)		
大阪法	forward	CGGTCATATCAGCCATGGATAAC	F-primer	95℃ 5 秒 } 60℃ 31 秒 } 50cycles
	reverse	CTATCGACAAATTAATGTTTCGATATGC	R-primer	
	probe	(6-FAM) -TCACCATGTAAATGGTGGGAGCATTT- (Iowa Black)		

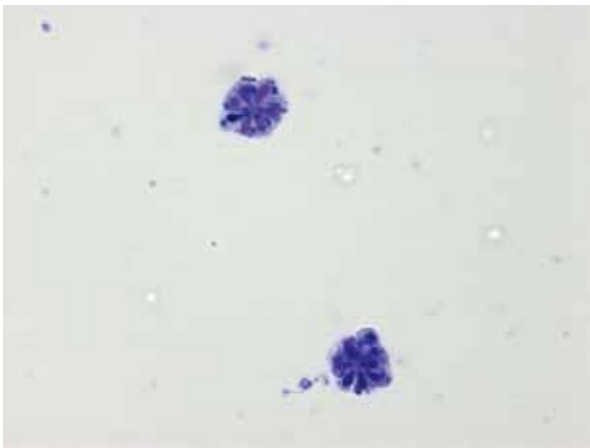


写真1 6～7つの極囊を持つ孢子 (× 1000 トリパンブルー染色)

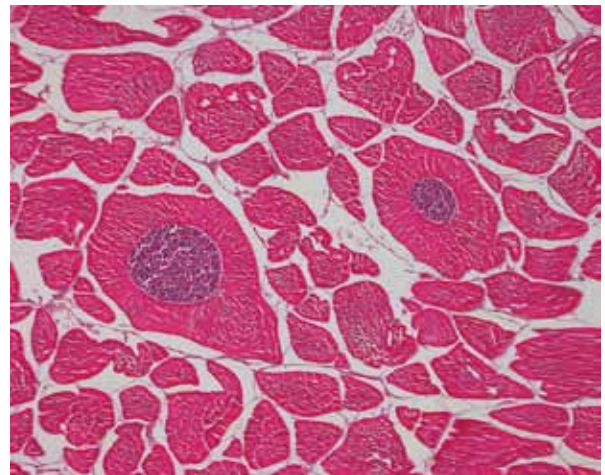


写真2 筋肉内の偽シスト (× 100 HE 染色)

iii シークエンス

リアルタイム PCR により得られた PCR 産物を QIAquick Gel Extraction kit (QIAGEN) を用いて精製し、ダイターミネーター法でサイクルシーケンスを実施した後、3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) で遺伝子配列を決定した。

iv カンパチからのヒラメミトコンドリア DNA, クドア DNA の検出

残品のうちカンパチについては大阪府立公衆衛生研究所に依頼し、ヒラメミトコンドリア DNA と、*K. septempunctata* DNA の遺伝子検査を行った。

表2 食品残品の Kudoa 遺伝子検査結果

	ヒラメ		カンパチ	
	通知法	大阪法	通知法	大阪法
Ct 値	18.5	20.4	33.1	33.3
コピー数/g	6.8×10 ¹⁰	2.1×10 ¹⁰	1.3×10 ⁷	1.2×10 ⁷

表3 患者便の Kudoa 遺伝子検査結果

検査法	通知法				
	検体	A	B	C	D
Ct 値	37.5	37.8	34.7	ND	ND
コピー数/g	9.3×10 ⁵	7.7×10 ⁵	5.1×10 ⁶	—	—
検査法	大阪法				
	検体	A	B	C	D
Ct 値	ND	40.3	39.5	ND	ND
コピー数/g	—	1.7×10 ⁵	2.8×10 ⁵	—	—

ND = 検出限界以下

成 績

1. 顕微鏡検査

刺身残品のうちヒラメからは6～7個の極囊を持つ孢子を3.0×10⁶個/g検出された(写真1)。HE染色ではヒラメ筋肉内に偽シストが散見された(写真2)。一方、カンパチには孢子は認められなかった。

2. 食中毒起因菌

患者便5検体からは、検査対象とした食中毒起因菌は検出されなかった。

3. 遺伝子検査

1) ヒラメ及びカンパチ残品の検査結果(表2)

通知法、大阪法のどちらからもクドア遺伝子が検出された。ヒラメではCt値(cycle threshold値; 閾値と増幅曲線の交点から求められるサイクル値)20以下、コピー数10¹⁰/gの遺伝子が検出され、*K. septempunctata*が高濃度に寄生していることが推察された。カンパチからもCt値33、コピー数10⁷/gが検出された。両方法による差異は認められなかった。一方、大阪府立公衆衛生研究所に依頼した遺伝子検査の結果では、カンパチ表面から*K. septempunctata* DNAがコピー数10⁶/g得られたが、内部の筋肉部からは検出されなかった。また、カンパチ表面からヒラメミトコンドリ

ア DNA が検出された。

2) 患者便の検査結果 (表 3)

患者便からは 5 検体のうち通知法では 3 検体、大阪法では 2 検体から *K. septempunctata* 遺伝子が検出されたが、その量は、Ct 値では 34-40、コピー数では $10^6 \sim 10^5/g$ 程度と、残品と比較するとかなり低い値であった。なお、通知法の方が大阪法と比較してより多くの遺伝子量が検出された。

3) シーケンス結果

通知法で検出された遺伝子は 70bp と短いため遺伝子の解析が困難であったため出来なかったが、大阪法により検出した遺伝子 (170bp) を Genbank に登録されている *K. septempunctata* と比較した結果、*K. septempunctata* の 18SrDNA と 100%一致した。

考 察

平成 23, 24 年の通知^{3, 6)}により *K. septempunctata* 対策は種々行われるようになったが、いまだヒラメによる本寄生虫食中毒は発生している。厚生労働省の通知では、ヒラメから 1.0×10^6 個/g を超える場合、食品衛生法第 6 条違反として扱うこととされている。今回の事例は喫食した残品が残っており、残品から 6~7 つの極嚢を持つ胞子を 3.0×10^6 個/g 検出したことから、原因物質が *K. septempunctata* であると特定することができた。しかし、一般的には喫食残品が残っていることは少ない。その際は患者便や嘔吐物からクドア遺伝子を検出することが原因を推定する上で有意義であると考えられる。今回、患者便からクドア属の遺伝子を検出することが可能であったが、便の検査結果は方法により結果が異なった。この原因が感度によるものか、特異度によるものかが明らかでないためどちらの検査法が優れているとは言えない。当所での別の実験の結果から当所で両検査法にて検出できる限界は、便中に胞子が 10^3 個/g、コピー数で 10^4 コピー/g 程度であると考えている。しかし、大阪府公衆衛生研究所では便中の胞子 10^1 個/g で検出が可能であると報告していることから、便の検査に関して今後より感度・特異度の高い方法を模索していく必要があると考えている。また、発症から 3 日以上の上では検出率が低下するとの報告もあることから、検査に供する便の採取日も重要である。

一方、カンパチ表面からクドア遺伝子が検出され、内部からは検出されなかったこと、カンパチ表面からヒラメミトコンドリア遺伝子が検出されたことから、今回の食中毒事例では、調理時にヒラメから *K. septempunctata* がクロスコンタミネーションした可能性が示唆された。このことから遺伝子検査を実施する際は、検体の採取や搬送についても細心の注意が必要であると考えられる。

謝 辞

本検査にご協力いただきました大阪府立公衆衛生研究所の原田哲也先生、及び食中毒調査に当られた広島市保健所、広島市食肉衛生検査所の諸氏に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Matsukane, Y., Sato, H et al.: *Kudoa septempunctata* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida) from an aquacultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) imported from Korea. Parasitol. Res. 107, 865-872 (2012)
- 2) Kawai, T., Sekizuka, T et al.: Identification of *Kudoa septempunctata* as the causative agent of novel food poisoning outbreaks in Japan by consumption of *Paralichthys olivaceus* in raw fish. Clin. Infect. Dis., 54, 1046-1052. (2012)
- 3) 厚生労働省通知：生食用生鮮食品による病因物質不明有症事例への対応について、平成 23 年 6 月 17 日、食安発 0617 第 3 号
- 4) 厚生労働省通知：Kudoa septempunctata の検査法について (暫定版)、平成 23 年 7 月 11 日、食安監発 0711 第 1 号
- 5) Harada, T., Kawai, T et al.: Detection of *Kudoa septempunctata* 18S rDNA in patient fecal samples from novel foodborne outbreaks caused by consumption of raw olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). J. Clin. Microbiol., 50, 2964-2968. (2012)
- 6) 水産庁通知：養殖ヒラメに寄生した *Kudoa septempunctata* による食中毒の防止対策について、平成 24 年 6 月 1 日、水推第 374 号

高齢者における乗馬の効果に関する生理心理学評価について

田丸 政男¹⁾ 積山和加子²⁾ 柿原 美紀¹⁾ 平木 悠子¹⁾
高橋 憲子³⁾ 神原 浩⁴⁾ 出羽 信広⁴⁾ 大塚 彰²⁾

(受付：平成 26 年 2 月 3 日)

Effects of equine-assisted activities on physiological and psychological changes of elderly with disabilities

MASAO TAMARU¹⁾, WAKAKO TSUMIYAMA²⁾, MIKI KAKIHARA¹⁾, YUKO HIRAKI¹⁾,
NORIKO TAKAHASHI³⁾, HIROSHI KANBARA⁴⁾, NOBUHIRO DEBA⁴⁾ and AKIRA OTSUKA²⁾

- 1) Department of Occupational Therapy, Faculty of Health Sciences and Welfare, Prefectural University of Hiroshima, Gakuen-cho 1-1, Mihara, Hiroshima 723-0053.
- 2) Department of Physical Therapy, Faculty of Health Sciences and Welfare, Prefectural University of Hiroshima, Gakuen-cho 1-1, Mihara, Hiroshima 723-0053.
- 3) Specified Nonprofit Organization, Therapeutic Horse Riding, Kannabe-cho, Fukuyama, Hiroshima 720-2103.
- 4) Kanbara Hospital, Akasak-cho, Fukuyama, Hiroshima 720-0843

SUMMARY

The aim of this study was to assess the effects of equine-assisted activity (EAA) on physiological and psychological changes in elderly patients. Four aged people, consisting of two males who suffered from myasthenia gravis or hydrocephalus without motility disturbance (65 and 70 years old) and a female (69 years old) and a male (70 years old) with hemiplegia by stroke, attended a 4-time EAA program. Twenty-minute biweekly EAA sessions in which natural horse walks were led by the professional EAA therapist accompanied with side walkers were held for eight weeks.

Levels of biochemical markers for relaxed or stressed state, such as IgA, NK cell or cortisol and MHPG in serum, to assess physiological effects by EAA intervention measured before the first riding and after the fourth riding at the end of this program had no changes.

1) 県立広島大学保健福祉学部・作業療法学科 (〒 720-0053 広島県三原市学園町 1-1)
2) 県立広島大学保健福祉学部・理学療法学科 (〒 720-0053 広島県三原市学園町 1-1)
3) NPO 法人セラピー乗馬の会 (〒 720-2103 広島県福山市神辺町西中条 1277-1)
4) 社会医療法人定和会 神原病院 (〒 720-0843 広島県福山市赤坂町赤坂 1313)

Scores of trait anxiety in the State Trait Anxiety Inventory (STAI) after the end of EAA program to assess psychological effects by the intervention were reduced, but not significantly, by 18% of initial scores before the first session of the program. Meanwhile, scores of state anxiety in the STAI after riding at each session had not changed in comparison with that before riding.

Autonomic nervous activity was assessed by heart rate variability (HRV) with spectral analysis. In the analysis of HRV, levels of high-frequency components (HF) reflecting parasympathetic nervous activity were significantly reduced ($p<0.05$) at riding periods, although they were not observed after ridings. Meanwhile, the ratio of low-frequency component (LF) to HF (LF/HF) reflecting sympathetic nervous activity had not changed.

The concentrations of cortisol and s-IgA in saliva collected three times at each riding session were measured to assess stressed or relaxed state. Cortisol levels just after ridings were reduced to 63% (not significant) of those before riding and 40% ($p<0.05$) at 30 minutes after riding. On the other hand, approximately 20-40% increases in s-IgA concentrations after riding were observed (not significant) over those before riding.

It was concluded that an EAA program might refresh the subjects by reducing their physiological and psychological stress and increasing relaxation.

— Key words: equine-assisted activity, cortisol, elderly, STAI, HRV

要 約

馬介在活動は諸外国に比べるとその認知度がまだ低い現状である。本研究では、補完代替医療の一つの手段としての乗馬が、高齢者の心身にどのような影響を及ぼすかについて生理心理学的に検討した。研究協力に同意した高齢者4名(脳梗塞/脳出血の男女1名で何れも片麻痺、重症筋無力症で運動障害のない男性、水頭症で運動障害のない男性)を対象者(平均年齢74歳)とし、福山ホースクラブにおいて、2か月間、隔週で4回の曳き馬による乗馬(20分間)を実施した。乗馬介入前後の長期的な変化として血液中のストレス及び免疫指標物質を定量したが、介入前後では大きな変化はなかった。特性不安検査(STAI)を介入前後2回実施したところ、有意差はないが介入前に比し約20%の低下を示した。乗馬前後の経時的な変化としては、唾液中のストレス指標物質であるコルチゾール濃度が、乗馬30分後に有意な低下を示した。自律神経活動の指標の心拍変動は、乗馬中において副交感神経活動が有意に抑制された。高齢者の4回の乗馬により、特性不安において改善の傾向があり、また、乗馬当日の乗馬後においてストレス指標物質の唾液中のコルチゾール量が有意な低下を示したことから、乗馬が高齢者のストレスや不安を軽減させる生理心理学的な効果が示された。

— キーワード：馬介在活動、コルチゾール、心拍変動、STAI、s-IgA

はじめに

コンパニオン・アニマルによる動物介在活動 animal-assisted activity (AAA) あるいは療養 animal-assisted therapy (AAT) の効果は、一般的に心理面を中心としたもので、そこから間接的に波及した生理学的な作用である。しかし、馬を用いた介在活動又は療養は、馬に乗れるという大きな特徴があることから、身体への直接的な効果を含んだ心身両面の効果があることが認められている。この乗馬セラピーは AAT / AAA のなかでも最も歴史があり、治療方法について基準が確立されている¹⁾。

乗馬の効用を人の QOL の向上に利用する治療的な乗馬 Therapeutic riding には、その目的がスポーツあるいはレクリエーション的な要素の強い障害者乗馬 Riding for the disabled, 教育的あるいは矯正的な乗馬 Remedial riding 及び医療的な乗馬療法 Hippotherapy の3つに分けて定義されているが、いずれの領域も重なりあう目的設定をされることがあるので、厳密に定義分けされているものではない¹⁾。

なかでも乗馬療法は、ドイツやアメリカで盛んに行われている方法で、馬を用いて身体機能の障害を持つ患者の治療を目的としたものである。この治療は、医師の他に、理学療法士、作業療法士などとインストラクター（乗馬指導者）を兼任した乗馬セラピー士が加わり、患者の馬上の姿勢などを観察して、馬の動きをコントロールして実施される。治療目標としては、患者の姿勢、平衡性、筋力あるいは可動性などの機能を改善することとされている¹⁾。

また、歴史的に乗馬セラピーが治療を目的としたものでなく、いわゆるレクリエーションを目的として始まったケースが多いことから、治療の臨床的評価を科学的に行っている報告は非常に少ない。現在まで報告されている馬介在療法に関する質的な研究は、多くは事例報告であり、得られた結果はそれらの対象者に限った結果であると結論できる¹⁾。

現在の日本では、戦前に比べて馬は一般的な家畜ではなくなっていることから、馬介在療法に関する研究は、他の一般の医学分野に比べて進んでいないのが現状と報告されている²⁾。この領域に関する科学的な研究報告は、海外³⁻⁸⁾において近年増加傾向にあるが、作業療法あるいは理学療法の分野からの研究成果が多く、客観的な評価方法を採用入れた知見が報告されている²⁾。日本国内においても同様の傾向が認められており科学的な研究報告⁹⁻¹³⁾も散見されるが、まだ、馬介在活動あるいは療養が、一般的に広く認知されるまでには至っていない。

馬は昔話や絵本・映画などをとおして、親しみのある動物として描かれることが多い。また乗馬クラブが一定の人気を保ち、都市周辺部から中山間地域において存続している。更に、馬を介在した療法及び活動に

関しては、高齢者を対象とした内外の研究が散見^{2-8, 14)}されるが非常に少ない状況である。

そこで本研究では、高齢者を対象として、馬介在活動を実施し、乗馬の介入前における高齢者の免疫機能やストレスあるいは不安などの心身の状態が、介入後にどのように変動するかについて長期的な側面より科学的に検討することを目的とした。更に、乗馬当日における生理心理学的な指標の経時的な変動についても同時に検討し、補完代替医療の一つとしての乗馬の効用を更に広く地域社会に啓発することも目的とした。

方法と材料

1. 対象者

県内の病院に通院又は入院中の高齢者で、乗馬の経験のない4名を対象とした。その内訳は、脳梗塞による右片麻痺で外来リハビリテーション中の70歳男性、重症筋無力症で運動障害はない70歳男性、脳出血による左片麻痺で入院中の69歳代女性、水頭症で運動障害はない64歳男性とした。

なお、本研究は、本学部の研究倫理委員会の承認を得て、上記の対象者に研究について十分な説明と同意を得て行った。また、介入前において全ての対象者に内科的検診を実施し、乗馬が可能と判断された後に実施した。

2. 乗馬プログラム

乗馬は、福山市の福山ホースクラブ（日本障害者乗馬協会広島支部）の馬場において、隔週で4回の乗馬を実施した。各乗馬は、毎回決まったコースにおいて曳き馬（常歩）で20分間実施した。乗馬には、おとなしい友好的な馬を使用し、乗馬にあたっては、日本障害者乗馬協会認定のインストラクター及び理学療法士などのサイドウォーカーの介助者を随伴させた。

3. 乗馬の介入前後の検査（図1）

1) 血液中のリラックス及びストレスの指標物質の定量

リンパ球の一つであるNK細胞の活性及び体液性抗体の一つであるIgA量は、何れもリラックス状態では増加し¹⁵⁾、また、副腎皮質ホルモンであるコルチゾールやノルアドレナリンの代謝物の3-methoxy-4-hydroxyphenyl-ethylene glycol (MHPG)量は、ストレス環境下において増加することが知られている¹⁶⁾。このことから、これらをそれぞれの指標物質として、乗馬介入の開始時と終了時の2回測定した。測定は何れも外注委託検査としたが、NK細胞活性は⁵¹Cr遊離法、IgAは化学発光酵素免疫測定法、コルチゾールはELISA法及びMHPG量は高速液体クロマトグラフィー法で定量した。

2) 特性不安検査（図1）

介入前後に State-Trait Anxiety Inventory (STAI) 特性不安検査を実施した。この特性不安は、ストレス

状況で不安を喚起しやすいことを示し、比較的安定した個人内特性を捉えることができる。評価は STAI の計算方法に準じて行い (得点範囲: 20 ~ 80 点), 値が小さいほど不安が少ないことを示している¹⁷⁾。



図1 実験プロトコル

4. 乗馬前後の経時的な検査 (図1)

1) 自律神経活動の変化

乗馬前後の自律神経活動の変動を検討するために、乗馬前から連続的に心電図 (アクティブトレーサー: GMS 社製) を採取し、心電図の R-R 間隔の変動 (心拍変動) について周波数解析 (MemCalc/Tarawa, GMS 社製) を行った。この R-R 間隔の変動には周期性があり、周波数分析から約 0.1Hz と約 0.25Hz 付近にパワーのピークが現れるが、0.04 ~ 0.15Hz を LF (Low Frequency), 0.15 ~ 0.4Hz を HF (High Frequency) と呼び、LF は交感神経と副交感神経の両方の指標であり、HF は副交感神経の指標と解釈される。従って、LF/HF 比は交感神経活動指標と考えられている¹⁸⁾。

2) 唾液中の cortisol 及び分泌型 IgA (s-IgA) 量の定量 (図1)

乗馬前、乗馬直後及び乗馬 30 分後におけるストレス又はリラックス状態について検討するために、唾液中の cortisol 量及び s-IgA 量を測定した¹⁹⁾。唾液は、唾液吸収用のコットン入りのチューブ (サリベット: ザルスタット社製) を用いて 3 分間採取し、-85℃ において定量まで凍結保存 (凍結融解処理は 1 回実施) した²⁰⁾。cortisol の定量は、酵素免疫測定法 (Enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA) による Cortisol EIA キット (Salimetrics 社製) を用いて実施した。s-IgA の定量も、同様に ELISA 法による測定キット (MBL 社製) を用いて実施した。なお、女性の被験者は唾液の採取が不可能であったので、男性 3 名で実施した。

3) STAI 状態不安検査 (図1)

State-Trait Anxiety Inventory (STAI) 特性不安検査は、同時に自律神経の興奮などを伴う一時的、状況的な不安状態の検出も可能であり、この状態不安については毎回、乗馬前後の 2 回実施した。特性不安と同様に、値が小さいほど不安が少ないことを示している¹⁷⁾。

5. 統計処理

被験者 4 名の 4 回の乗馬のデータにおける有意差検定は、一元配置分散分析 (Kruskal-Wallis 検定) 後、Post-hoc テストとして多重比較検定 (Steel-Dwass 法) を行い、有意水準は 5% とした。

結果

1. 介入前後の変化

1) 血液中のリラックス及びストレスの指標物質

今回の実験の介入前後においては、リラックス指標物質の IgA 量、NK 細胞活性及びストレス指標物質である cortisol 量及びノルアドレナリンの代謝物の MHPG などの血中ストレス指標物質には大きな変化はなかった。

2) STAI 特性不安検査 (図2の左)

乗馬介入前の 4 名の特性不安の得点平均値は、39.8 ポイントで、介入後では、32.7 ポイントとなり、有意差はないが介入前に比べて約 20% 減少した。

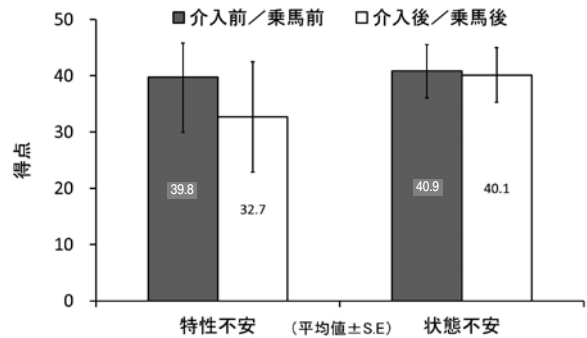


図2 STAI 特性及び状態不安得点

2. 乗馬前後の経時的な変化

1) 自律神経活動の変動

乗馬中はいずれの被験者とも、副交感神経系の指標である HF 値が、有意 ($p < 0.05$) に乗馬前の約 55% に低下し、乗馬後には乗馬前の値まで回復していた。一方、交感神経系の指標とされる LF/HF 値は、乗馬中において僅かな上昇がみられたが、大きな変動は示されなかった (図3)。

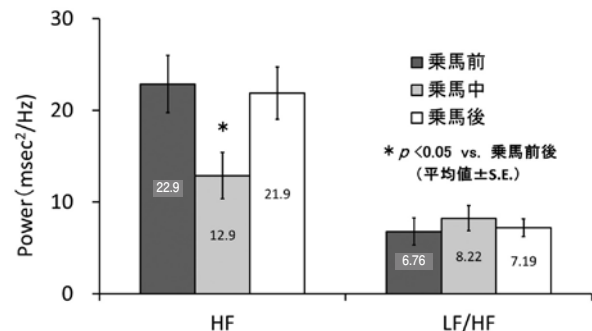


図3 乗馬における心拍変動 (4 回分の平均値)

2) 唾液中のストレス指標物質の変動

唾液中のコルチゾール濃度は、乗馬直後においては乗馬前の約 60% に低下し、乗馬 30 分後には更に低下し、乗馬前の約 40% の有意 ($p < 0.05$) な低下を示した (図 4)。

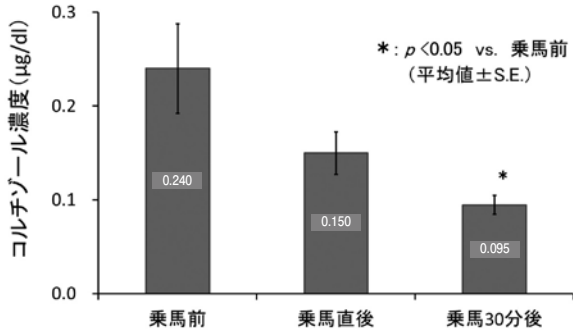


図 4 唾液のコルチゾール濃度の変動 (4 回分の平均値)

3) 唾液中のリラックス指標物質の変動

唾液中の s-IgA 濃度は、有意差はないものの乗馬直後においては乗馬前の約 1.4 倍に増加し、乗馬 30 分後においても約 1.2 倍の増加がみられた (図 5)。

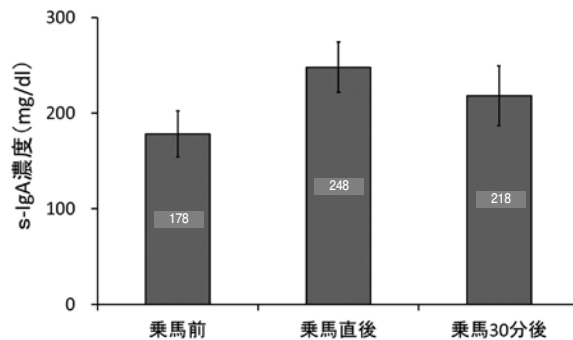


図 5 唾液の s-IgA 濃度の変動 (4 回分の平均値)

4) STAI 状態不安検査

乗馬前後における状態不安尺度の変化はみられなかった (図 2 の右)。

考 察

今回の高齢者を対象とした隔週で実施した 2 ヶ月間で 4 回の馬介在活動では、生化学的に検討した IgA 量や NK 細胞活性などの免疫能力やストレス指標物質であるコルチゾール量も、介入前後で大きな変化はなく、馬介在活動において免疫機能の増強及びストレス軽減効果は示されなかった。このことは、乗馬回数が 4 回と少なく、馬に対する慣れの期間であり効果発現に至っていない可能性がある。

しかし、有意差はないものの STAI 特性不安得点が、乗馬の介入後において、介入前に比して約 14%

の低下を示したことは (図 2 の左)、心理的には日頃の不安の軽減の傾向が示唆され、今後、更に継続的な乗馬の介入により顕著な不安軽減の効果が期待される。

これまでの馬介在活動の報告では、乗馬前後の経時的な身体又は心理的な変化を検討したものが多く、長期間の介入実験の報告は少ない²⁾。特に、高齢者を対象とした長期間の検討には、金田と太田ら¹⁴⁾が、65 歳以上の高齢者を対象とした月 3 回で 5 ヶ月間の乗馬による基本体力の増強効果を報告している。

海外では、高齢者に対して 8 ~ 16 週間の乗馬により運動能力、バランス能力及び QOL などの改善が報告³⁻⁸⁾されているが、本研究で試みた免疫能力やストレスの指標物質の検討および不安等の心理検査を検討した報告は少ない。

乗馬中は副交感神経系の指標の HF 値が、乗馬前の約 45% の有意差な抑制がみられたが、乗馬後にはこの抑制は見られなかった (図 3)。また、交感神経の指標の LF/HF 値には大きな変化は示されなかった。測上ら⁹⁾も、初心者の乗馬中において、本研究と同様に HF 値の減少を、乗馬後にはこの低下が見られないことを報告している。また、LF/HF 値には大きな変化は示されないことも報告しており、本研究の乗馬未経験者における検討と同じような結果であった。

Berntson ら²²⁾は、精神性ストレスにおける HF 値の低下を報告しており、測上ら⁹⁾も被験者が乗馬未経験者であり、精神的な緊張を反映している可能性を示唆している。本研究における自律神経変動の結果は、精神的な影響を受けた可能性も示唆される。

また松浦ら^{11, 12)}は、20 歳前後の乗馬初心者に対して 30 分間のホーストレッキングによる馬介在活動の心拍変動を解析し、トレッキング 2 時間後において、HF 値が乗馬前に比べて約 2 倍に増加したことから、副交感神経の活性化、すなわちリラックス効果を報告している。この報告では、対照として乗馬シミュレータ (Joba) を用いているが、この 2 時間後 (両群の乗馬後の時間は、仰臥や居眠りはさせないで読書による統制を課している) の HF 値の有意な上昇は、Joba や森林浴・森林散歩では見られないことから、ホーストレッキングの効果と推測している。本研究では、乗馬 30 分後までしか心電図のサンプリングを行っていないため、乗馬 2 時間後の時点での変化は不明であるが、今後はこの点も考慮に入れて実験プロトコルを再検討する必要がある。

また局は²⁾、発達障害などを含む 6 名の幼児・児童に対して実施した 5 分間のポニー乗馬の前後で、指尖脈波の記録による心拍変動解析において、自律神経活動は乗馬後に交感神経の緊張が相対的に低下することを示している。これらの結果により、乗馬プログラムは身体運動能力の改善だけでなく、自律神経機能に対してもリラックス効果など良い刺激を与え、日常生

活を改善させることが示唆されたと報告している。

また、倉恒ら¹⁰⁾による常歩騎乗前後の加速度脈波の周波数解析による自律神経系の評価では、騎乗1時間後にはLF/HF値が騎乗前に比し有意に低下し、脈拍の揺らぎも有意に増加しており、常歩騎乗は交感神経系の緊張を緩和し、自律神経系のバランスを改善させる効果があることを明らかにしている。しかし、本研究及び測上らの結果では、交感神経系に及ぼす乗馬の効果はなく、この点は異なった結果であったが、乗馬用の馬の種類や実験環境の違いによることも要因の一つと示唆される。

また、千葉県における高齢者（男女37名、平均年齢76.7歳）を対象とした3回の乗馬の効果をもとめた報告²⁾では、乗馬（引き馬、常歩）によって、身体ぬくもり、柔軟性、呼吸機能、満足感などが多くの被験者で高まることが示されている。この報告では、各乗馬の被験者数が7～16名と多いことから、乗馬回数ごとの結果がまとめられている。本研究においても、データの検討を乗馬回数ごとに処理する方法が望ましいが、被験者数が4名と少ないことから、今回は4回分をまとめた結果とした。

血液中のコレステロールの大部分は、蛋白質に結合して存在しているが、唾液中のコレステロールのほとんどは遊離型であり、その濃度は血液中の遊離型コレステロール濃度との相関関係が認められている¹⁹⁾。高齢者に対するコンパニオン・アニマルによる動物介在活動において、活動後30分で唾液中のコレステロール濃度の有意な低下が報告²¹⁾されているように、今回の馬介在活動においても、唾液中のコレステロール濃度が、乗馬直後では有意差はないが乗馬前の約40%の低下、乗馬後30分においては乗馬前の約60%に有意($p<0.05$)な低下を示し(図4)、馬介在活動が高齢者のストレスを軽減することが示された。

一方、唾液中のs-IgAは、唾液腺細胞より分泌されるもので局所の免疫を担っているが、リラックス時において増加することが報告¹⁹⁾されている。本研究では、有意差はないものの、乗馬直後及び乗馬30分後において乗馬前に比べて約1.4～約1.2倍の上昇が示されたことから(図4)、リラックス効果が示唆された。

STAI状態不安検査では、乗馬前後における状態不安尺度の変化はみられなかった(図2の右)。一方、本多と山崎¹³⁾らは、4回の乗馬運動及び馬との接触が気分の改善と心拍数に及ぼす効果について検討したが、状態不安得点が1回目の乗馬前に比べて4回目の乗馬後において有意に低下したと報告している。この研究は2日間の短期的に集中した乗馬方法であった。また、30分のホーストレッキングにおいては、Jobaを使用したシュミュレーション運動に比べて、不安得点の低下が著しいことを報告¹²⁾している。本研究の結果との相違は、これらの報告^{12, 13)}の被験者

が、20歳前後であることや、乗馬環境の違いが影響したものと考えられた。

以上のことから、高齢者の隔週の2か月間の4回の乗馬により、特性不安において改善の傾向があり、また、当日の乗馬後においてストレス指標物質の唾液中のコレステロール量が有意な低下を示したことから、乗馬が高齢者のストレスや不安を軽減させる生理心理学的な効果が示された。今後、高齢者の健康維持の啓発を図るためにも、更に継続的な乗馬を取り入れた場合の長期的な心身及ぼす影響について生理心理学的に検討したい。

謝 辞

本研究にご協力頂いた被験者の皆様、社会医療法人定和会神原病院リハビリテーション科スタッフの皆様及びNPO法人「セラピー乗馬の会」の皆様に感謝致します。なお、本研究は平成23年度県立広島大学重点研究事業地域課題解決研究の助成費により行われた。

文 献

- 1) 田丸政男, 戸塚裕久: 補完・代替医療 アニマルセラピー, 金芳堂, 京都 (2006)
- 2) 局 博一: 馬介在療法健康効果に関するオーバerview, 動物介在教育・療法学 4 (1・2), 9-16 (2013)
- 3) Kim, S., et al.: Effects of the horse riding simulator and ball exercises on balance of the elderly, *J Phys Ther Sci.*, 25 (11), 1425-8 (2013)
- 4) Beinotti, F., et al.: Effects of horseback riding therapy on quality of life in patients post stroke, *Top Stroke Rehabil*, 20 (3), 226-32 (2013)
- 5) Homnick, D.N., et al.: Effect of therapeutic horseback riding on balance in community-dwelling older adults with balance deficits, *J Altern Complement Med*, 19 (7), 622-6 (2013)
- 6) Han, J.Y., et al.: Therapeutic effects of mechanical horseback riding on gait and balance ability in stroke patients. *Ann Rehabil Med*, 36 (6), 762-9 (2012)
- 7) de Araújo, T.B., et al.: Effects of hippotherapy on mobility, strength and balance in elderly, *Arch Gerontol Geriatr*, 56 (3), 478-81 (2013)
- 8) Muñoz-Lasa, S.: Effect of therapeutic horseback riding on balance and gait of people with multiple sclerosis, *G Ital Med Lav Ergon*, 33 (4), 462-7 (2011).
- 9) 測上真帆ほか: 初心者乗馬における精神的・生理的变化に関する研究, 東京農大農学集報 57

- (3), 160-166 (2012)
- 10) 倉恒弘彦ほか：馬介在療法の科学的効果－関西福祉科学大学での取り組みを中心に－，畜産の研究, 65 (1), 15-22 (2011)
 - 11) 松浦晶央：乗馬運動が人体に及ぼす好影響，畜産産の研究, 65 (1), 29-31 (2011).
 - 12) Matsuura, A., et al.: Comparison of the short-term effects of horse trekking and exercising with a riding simulator on autonomic nervous activity, ANTHROZOÖS, 24 (1), 65-77 (2011)
 - 13) 本多麻子, 山崎勝男：乗馬運動および馬との接触が気分の改善と心拍数に及ぼす効果, 健康心理学研究, 19 (1), 48-55 (2006)
 - 14) 金田宏佳, 太田光明：乗馬が及ぼす高齢者への効果, ヒトと動物の関係学, 34, 32 (2013)
 - 15) 松本徳子, 森谷潔：総説・身体運動と免疫機能との関連, 北海道大学教育学部紀要, 75, 149-158 (1998)
 - 16) 加藤みわ子ら：大学生の長期に渡る試験ストレスが唾液中 MHPG 濃度, HVA 濃度におよぼす影響, 生物試料分析, 30 (5), 409-414 (2007)
 - 17) 水口公信ら：日本版 STAI 状態・特性不安検査使用手引, 三京房, 京都, 10-11 (1991)
 - 18) 清水 遵ほか：感情喚起ビデオ視聴による唾液中 Free Cortisol レベルの変動, 藤田学園医学会雑誌, 23, 117-121 (1999).
 - 19) 田中喜秀, 嶋石奈穂子：マイクロチップ電気泳動技術を用いたオンサイト唾液ストレス計測システムの開発, 薬学雑誌, 128 (11), 1595-1604 (2008)
 - 20) 井澤修平ら：唾液中コルチゾールによるストレス評価と唾液採取手順, 労働安全衛生研究, 3 (2), 119-124, (2010).
 - 21) 田丸政男：アニマルセラピー, 医学のあゆみ, 197 (8), 622-623 (2001)
 - 22) Berntson, G.G., et al. : Autonomic cardiac control. III. Psychological stress and cardiac response in autonomic space as revealed by pharmacological blockades, Psychophysiology, 31 (6), 599-608 (1994)

周産期疾病多発牛群に対するルーメンフィルスコア を用いた牛群検診の一事例

黒瀬 智泰

(受付：平成 24 年 12 月 20 日)

Herd screening for cows with a high incidence of peripartum diseases using the rumen fill score

TOMOYASU KUROSE

Higashi-Hiroshima Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A, 284-1,
Inaki, Takaya-cho, Higashi-Hiroshima 739-2106

SUMMARY

The rumen fill score (RFS) is an index of the dry matter intake within 12 hours through evaluating tension of the left flank. Since 6 of 11 cows which delivered in June-July 2011 developed peripartum diseases in a herd consisting of 72 separate tie-stall housed cows, we performed herd screening using RFS on July 20. We started countermeasures based on the screening results, and performed herd screening again about 6 months later on February 28 to investigate the effect of the measures. Before taking the measures, the dry matter yield (DM) in the late dry period was 10.9 kg, being markedly insufficient, and RFS (2.2 ± 0.4) was also markedly below the standard score (4) for the dry period. Based on these findings, measures to improve the insufficient DM in the dry period and transition of the feeding pattern to frequent feeding early after delivery were performed. DM in the late dry period increased to 14.4 kg, and the incidence of peripartum diseases decreased to 17.2 from 44.4%. RFS in the dry period significantly increased, although it was still low (2.7 ± 0.5), Glu, Alb, and Mg increased in the dry period on blood testing, and the NEFA increase was reduced in the early lactation period. Although no data on the dairy herd performance test were available, herd screening performed based on RFS, BCS, and feed calculation led to achieving not only the objective of the screening, the reduction of peripartum diseases, but also the promotion of recovery after delivery. RFS is easy to understand, useful to increase awareness of problems and motivation for improvement, and rapidly applicable because no device is required. Countermeasures could be smoothly adopted.

— Key words: Herd screening, metabolic profile test, fullness of the rumen, rumen fill score (RFS)

要 約

ルーメンフィルスコア（以下 RFS）は左臍部の張り具合を評価し、およそ 12 時間以内の乾物摂取量の指標とされる。今回、経産牛 72 頭、分離給与タイストール形態で飼養されている牛群で、2011 年 6～7 月に分娩した 11 頭中 6 頭が周産期疾病を発症したため、7 月 20 日に RFS を用いた牛群診断を行った。その結果をもとに対策を開始し、およそ半年後の 2 月 28 日に再度牛群検診を行い、対策前後の効果を検証した。対策前は乾乳期乾物量（以下 DM）が後期 10.9kg と顕著な不足が見られ、RFS も 2.2 ± 0.4 と乾乳期の基準スコア 4 を大きく下回っていた。診断結果から乾乳期の DM 不足の改善と産後早期の多回給餌への移行を対策として実施した。対策後、乾乳期 DM が後期 14.4kg と改善され、周産期疾病発生率も対策前の 44.4% から 17.2% に減少した。乾乳期 RFS は 2.7 ± 0.5 と低値だが有意に上昇し、血液検査による検証において乾乳期で Glu, Alb, Mg の上昇が見られ、泌乳初期では NEFA の上昇が軽減された。本事例は牛群検定等のデータがない状況下であったが、RFS, BCS および飼料計算を利用して牛群検診を行うことで、検診目的であった周産期疾病の低減だけでなく、産後の回復を早めることができた。RFS は農家にも理解しやすく、問題意識の高揚や改善意欲の醸成に役立った。さらに、道具が必要ないため迅速な対応ができ、本事例もスムーズに対策を立てることができた。

— キーワード：牛群診断、代謝プロファイルテスト、第一胃充満度、ルーメンフィルスコア（RFS）

家畜診療, 60 (6), 381-385 (2013)

呼吸器疾患に罹患した子牛の病態指標と発育との関係

黒瀬 智泰

(受付：平成 25 年 12 月 21 日)

The relationship between growth and pathology index of calves suffering from respiratory disease

TOMOYASU KUROSE

Veterinary Clinical Training Center, Hiroshima, P.F.A.M.A.A, 284-1 Inaki
Takaya-cho, Higashi Hiroshima-shi, Hiroshima 739-2016

SUMMARY

Respiratory diseases of calves cause indirect economic losses, such as poor development and delayed breeding, necessitating early prognoses. For this purpose, the body temperature, blood gases, and acute phase proteins were examined as pathological markers in calves suffering from respiratory diseases, and their relationships with growth were statistically examined. At the first visit and 14 days after treatment, body temperatures, arterial blood gas partial pressures, serum haptoglobin concentrations (Hp), and α 1-acid glycoprotein concentrations were determined. At the first visit and two months after treatment, body weights and heights were determined. The daily weight gains (DG) and daily increases in the body height of tested cows were lower than those of healthy cows. At the first visit, the body temperature increased to $40.1 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$, and Hp increased to $1,285.5 \pm 852.1 \mu\text{g/ml}$. On day 14, they decreased. The relationships between the pathological markers and growth demonstrated a significant influence of Hp variation on the daily increases in body height and a slight influence of Hp and body temperature variations on DG. Variations in PaO_2 and A-aDO_2 , important indicators of respiratory dysfunction, have a slight influence on growth, and were considered to be unsuitable for long-term monitoring. Hp indicates the severity of inflammation, which causes a significant difference in growth two months later regardless of whether or not it decreases 14 days after detection. The daily increases in body heights of cows with decreased Hp were comparable to those of healthy cows. However, both DG and daily increases in body heights of cows with no decrease in Hp were lower than those of healthy cows, necessitating measures, such as early culling and nursing care. Monitoring Hp in calves suffering from respiratory diseases allows the early prediction of

developmental delay, providing an objective selection method.

— Key words: respiratory disease of calves, early prognosis, development, haptoglobin, Hp

要 約

子牛の呼吸器疾患は発育不良や繁殖供用の遅延など間接的な経済的損失の大きな疾病であり、早期の予後診断が必要とされる。今回、その判定手段を知る目的で、呼吸器疾患に罹患した子牛において病態指標とされる体温や血液ガス、急性期蛋白を調査し発育状況との関連性を統計学的に検討した。治療初診時と14日後に体温、動脈血ガス分圧、血清中ハプトグロビン濃度 (Hp) および α_1 酸性糖蛋白濃度を、初診時と2ヶ月後に体重と体高を測定した。供試牛の日増体量 (DG) と一日当たりの体高増加量 (日体高増加量) は健康牛に比べて低かった。初診時は体温の上昇 ($40.1 \pm 0.6^\circ\text{C}$) と Hp の増加 ($1285.5 \pm 852.1 \mu\text{g/ml}$) を認め、14日後には低下傾向がみられた。病態指標と発育との関係は日体高増加量に Hp の変動が有意に強い影響を与えており、DG には Hp と体温の変動がやや影響を与えていた。呼吸器機能障害の重要な指標とされる PaO_2 と A-aDO_2 の変動は発育への影響度が低く、長期的なモニターには適さないと考えられた。本来炎症の強さの指標とされる Hp は、14日後に減少するか否かで2ヶ月後の発育に大きな差がでることが分かった。Hp が減少した群は日体高増加量が健康牛と同等であったが、減少傾向のない群は DG、日体高増加量ともに低く、早期淘汰や要看護などの対応が必要と考えられた。呼吸器疾患に罹患した子牛における Hp のモニターは、早期に発育の遅れを予測し、客観的に選別する手段となると示唆された。

— キーワード：子牛の呼吸器疾患、早期予後判定、発育、ハプトグロビン (Hp)

日本獣医師会雑誌投稿中

去勢手術および向精神薬物療法が効果的であった 自咬症を呈したフクロモモンガの1例

秋田 征豪 秋田咲樹子

(受付：平成 25 年 12 月 23 日)

Effective treatment of castration and psychoactive medication for self-mutilation in a sugar glider

MASAHIDE AKITA and SAKIKO AKITA

Hachi Pet Clinic, 11-55, nakayamanaka-machi, higashi-ku, Hiroshima
732-0026

SUMMARY

Sugar gliders are often diagnosed with self-mutilation of the tail, limbs, and genitalia. Severe damage may cause death or require long-term treatment, precluding the elimination of self-mutilation. In the present study, castration and psychotropic drug (fluoxetine) treatment were conducted to treat self-mutilation in sugar gliders.

— Key words: sugar glider, self-mutilation, castration, psychotropic drug treatment

要 約

フクロモモンガの診療では尾、手足、生殖器などの自咬症にしばしば遭遇する。損傷が重度で死に至るケースや、治療が長期にわたることもあり、治療が困難な疾患である。今回、フクロモモンガの自咬症の治療に去勢手術および向精神薬（フルオキセチン）を投与して良好な経過が得られたので報告する。

— キーワード：フクロモモンガ、自咬症、去勢手術、向精神薬治療

インターズー、エキゾチック診療 19号 2014 掲載予定

広島湾北部地域で育成されたカキの栄養成分と養殖環境

新田由美子¹⁾ 福泉 拓²⁾ 古矢健一郎²⁾ 島津 哲也²⁾
網岡 一師³⁾ 網崎 宗雄³⁾ 原田 俊英⁴⁾ 石崎 文子⁵⁾

(受付：平成 26 年 10 月 27 日)

Nourishment of the oyster cultured in the northern part of Hiroshima bay with high concentration of zinc

YUMIKO NITTA¹⁾, HIROMU FUKUIZUMI²⁾, KENICHIRO FURUYA²⁾, TETSUYA SHIMAZU²⁾,
KAZUSHI AMIOKA³⁾, MUNEO AMISAKI³⁾, TOSHIHIDE HARADA⁴⁾ and FUMIKO ISHIZAKI⁵⁾

- 1) Suzugamine women's college, Inokuchi 4-6-18, Nishi-ward, Hiroshima 733-8623
- 2) Hiroshima City Agriculture, Forestry and Fisheries Promotion Center, Shoukou-center 8-5-1, Nishi-ward, Hiroshima 733-0833
- 3) Hiroshima oyster farming liaison council, Deshio 2-3-1, Minami-ward, Hiroshima734-0001
- 4) Hiroshima Prefecture University, Gakuenmachi 1-1, Mihara 723-0053
- 5) Hiroshima Cosmopolitan University, Ujina 5-13-18, Minami-ward, Hiroshima 734-0014

SUMMARY

The Hiroshima-Oyster bears the Hiroshima-Setouchi local cuisine culture. Expecting contributions to its production, consumption and environmental hygiene, we analyzed the nutritional components of the Hiroshima-oyster and monitored the cultivation environment at the northern part of Hiroshima bay from November in 2012 to May in 2014. Not only adult but also immature oysters grown up there were used. The content of moisture, protein, lipid, ash and zinc was measured every month, while the seawater temperature, salinity concentration and plankton concentration were recorded every week. The total energy and the zinc concentration of the adult oyster were higher than those of the two databases in Japan and USA. Lower concentrations of zinc in the immature oyster indicated the age dependency for the selective accumulation mechanism. We firstly measured the concentration of zinc in the mud below oyster rafts, and the value, 275 ± 25 mg/kg was found too high to keep biological diversity on the sea bed.

— Key words: oyster, nutritional information, zinc, culture environment, risk communication.

1) 鈴峯女子短期大学 (〒 733-8623 広島市西区井口 4 丁目 6-18)
2) 公益財団法人広島市農林水産振興センター (〒 733-0833 広島市西区商工センター 8 丁目 5-1)
3) 広島市かき養殖連絡協議会 (〒 734-0001 広島市南区出汐 2 丁目 3-1)
4) 県立広島大学 (〒 723-0053 三原市学園町 1-1)
5) 広島都市学園大学 (〒 734-0014 広島市南区宇品西 5 丁目 13-18)

要 約

瀬戸内地域食文化を担うカキのうち、広島湾北部海域で育成したカキの栄養成分を経時的に測定し、同時に記録した養殖環境との関係を考察した。【材料と方法】①2012年11月～2014年5月に広島湾の津久根島周辺で養殖された、通常出荷用マガキとその幼若マガキを用いた。水分、蛋白質、脂質、灰分の含有量を常圧加熱乾燥法、ケルダール法、ソックスレー法、直接灰化法で、亜鉛、鉄の含量をICP発光分光分析法で各々測定した。②養殖地点の海水温、塩分濃度、プランクトン量を測定するとともに、過去11年分のデータを利用した。【結果】①通常出荷カキの総エネルギーは2012および2013年シーズン平均で各々 88.3 ± 5.0 , $91.0 \pm 1.4 \text{ kcal/100g}$ となり、両シーズンとも2月が最高値を示した。炭水化物とZnが高値で推移した。②カキの亜鉛含有量は幼若より成熟カキで高く、その集積に年齢依存性を認めた。③養殖環境：筏直下底質のZnは $275 \pm 25 \text{ mg/kg}$ で、底質からの溶出Znは $3 \pm 1 \mu\text{g/L}$ であった。【考察】総エネルギー、炭水化物、Znの含有量が両シーズンを通して国内、国際栄養データベースの値を上回り、広島湾北部海域で養殖された広島かきの食品栄養学的特徴として位置づけられた。②カキのZn集積性には年齢依存性を再度確認した。これらの情報を開示することが、広島かきの生産と消費、環境衛生および健康増進に寄与する。

——キーワード：カキ、栄養成分、亜鉛、養殖環境、リスクコミュニケーション

序 文

地元の豊かな食材と多様な産業を活かし、食の産業振興に取り組む地域が増加している。その方策として、生産者から加工製造、流通業者、大学が協同する食クラスター形成が注目される。広島県における地域資源の代表はカキで、その生産量は2011年度に国内総生産量の69.5%を占めた¹⁾。一方で、「広島かき」の栄養価と養殖環境を月別に継続して定点観察した報告はない。本研究では、カキ生産者、行政と大学が協働してこの情報を継続収集するとともに、健康増進に寄与するカキ摂食に係る情報をグローバルに公開し、地域振興に貢献することを目指す。

亜鉛 (Zn) はヒトの必須微量元素の一つで、Zn代謝異常は成長抑制、免疫機能不全、生殖腺成長障害、神経感覚器機能異常等の健康問題をおこし、それにはZn受容体の構造あるいは機能の変異が関係する²⁾。糖尿病患者の乳がん、小児の白血病あるいは前立腺がんと血清Zn濃度との相関が報告され、血清Zn値や尿中Zn値を疾患の進行度指標に用いる場合もある³⁻⁵⁾。このように、疾病診断においてもZnが注目されている。

著者らは、広島湾北部海域で養殖したカキのZn含有量を他食材と比較して報告した⁶⁾。広島湾北部海域で養殖されたカキの高いZn含有という特徴が、ヒトの健康増進に貢献することを期待し、カキのZn含有量と養殖環境中のZn量とを2シーズンにわたり定点観察したので、報告する。

材料と方法

1. 材料

2012および2013年度のカキの出荷シーズン(2012年11月～2014年5月)に、広島湾にて養殖されたマガキ(カキ)を材料とした。このカキは、2010および2011年の7月に広島湾北部海域にて採苗、広島湾南部海域の黒神島で15ヵ月間の抑制育成、その後広島湾北部海域にて9ヵ月間の直吊育成を経て出荷を迎えるスケジュールで養殖された(通常出荷カキ)。幼若カキには、2012および2013年の7月に広島湾北部海域にて採苗、広島湾北部海域にて7ヵ月間直吊育成したものを用いた。

2. 方法

1) **栄養成分分析**：カキむき身を、重量測定後に実験に供した。水分、タンパク質、脂質、灰分および炭水化物の含量を測定した。水分は常圧加熱乾燥法、タンパク質はケルダール法、脂質はソックスレー抽出法、灰分は直接灰化法を用い、炭水化物は全量から水分、タンパク質、脂質および灰分を除いた値とした。カキむき身100g当たりのエネルギー量を算出した。エネルギー換算係数にタンパク質：4.22、脂質：9.41および炭水化物：4.11を用いた。Znと鉄はICP発光分光分析法で測定した。

2) **環境調査**：カキ養殖地点のプランクトン量を測定した。プランクトンを北原式プランクトンネットによ

る鉛直曳き法で採集し、10%ホルマリン溶液に調整して固定した。沈殿管に移して静置し、24時間後の目盛を読み取りプランクトン量とした。水深10mの温度と塩分濃度を、CTD (Conductivity Temperature Depth profiler) で測定した。

結 果

1. 広島湾北部海域のカキ養殖環境

過去11年間の塩分濃度および水温に著明な変化はなかった(図1)。2009～2013年の北部海域におけ

るプランクトン量は、それ以前より増加した(図2)。筏直下底質のZn濃度は $275 \pm 25 \text{mg/kg}$ で、底質から溶出するZnは $3 \pm 1 \mu\text{g/L}$ であった。

2. 牡蠣の栄養成分

通常出荷カキの総エネルギーの2012および2013年シーズン平均は、100g当たり88.3および91.0 kcal、幼若カキでは110.0および103.0kcalであった(表1)。通常出荷カキのZn含有量は、日本食品標準成分表および米国農務省データベース値より高値であった。幼若カキは成熟カキより炭水化物含有量が高

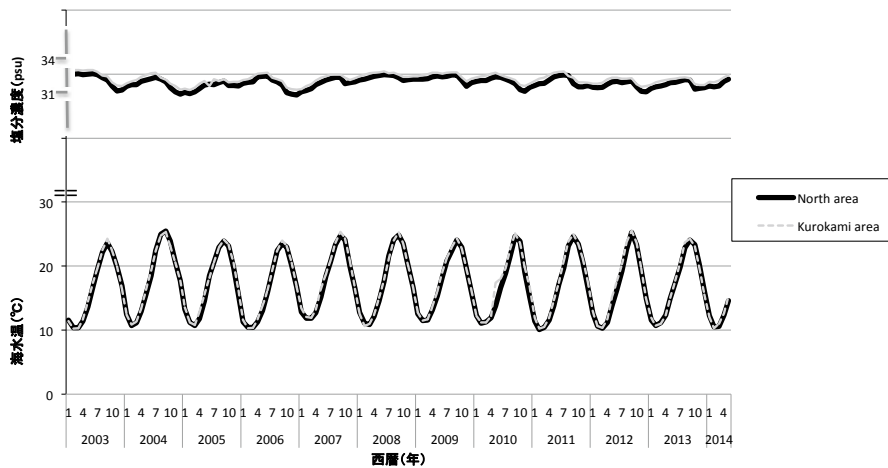
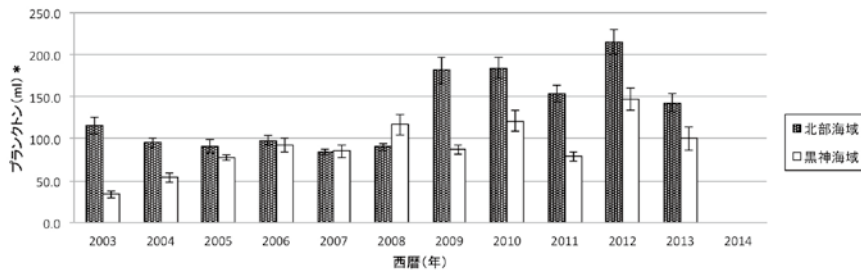


図1 広島湾の水温と塩分濃度の年次推移



*: 毎週測定したプランクトン量から月別平均プランクトン量を得た。月別平均プランクトン量を加算し、年間プランクトン量(平均±標準偏差)とした。このため、2014年の値は記載していない。

図2 広島湾のプランクトン量の年次推移

表1 カキの栄養成分の比較(100g当たり)

カキ	エネルギー (Kcal)	水分	蛋白質	脂質	炭水化物	灰分	食塩相当量(g)									
							Na	K	Ca	Mg	P	Fe	Zn	Cu	Mn	
日本食品標準成分表2010 a)	60	85.0	6.6	1.4	4.7	2.3	520	190	88	74	100	1.9	13.2	0.9	0.4	1.3
USDA Mollusks, Pacific, raw b)	81	82.1	9.5	2.3	5.0	nt c)	106	268	8	22	162	nt	16.6	nt	nt	nt
広島かき2012シーズン 通常出荷	88.3	80.4	8.3	2.4	7.5	1.4	nt	nt	nt	nt	nt	1.8	22.4	nt	nt	nt
広島かき2013シーズン 通常出荷	92.0	79.0	9.0	2.4	8.4	1.3	nt	nt	nt	nt	nt	2.3	24.4	nt	nt	nt
広島かき2012シーズン 幼若	110.0	73.9	10.2	2.2	11.2	2.5	nt	nt	nt	nt	nt	2.6	16.8	nt	nt	nt
広島かき2013シーズン 幼若	103.0	74.4	10.4	2.1	10.5	2.6	nt	nt	nt	nt	nt	1.7	15.0	nt	nt	nt

a): 文部科学省

b): United States Department of Agriculture, National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27

c): not tested

く、Zn含有量が低かった。

通常出荷カキは出荷シーズンの進行に伴い重量を増すことを、2シーズンともに認めた(図3)。一方、月別栄養成分含有率の推移では、2シーズンとも炭水化物が2月をピークとする山型を示した(図4)。Zn含有率の月別変動では、12月をピークとするS字型を示した(図5)。

考 察

通常出荷カキを、足掛け3年間、11月～翌年5月の7ヵ月間を1シーズンとする2シーズン、14ヵ月間にわたり栄養成分分析に供した。その結果、シーズンを通して炭水化物とZnの含有量が高いことを、広島湾北部海域で育成したカキの特徴と位置づけることができた。同海域の養殖環境データとともに栄養成分情報を、地域のみならず全国へ、リアルタイムで発信

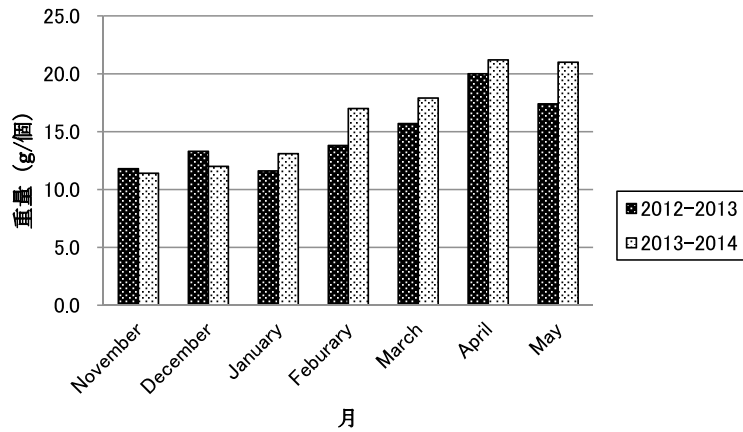


図3 カキむき身重量のシーズン内推移

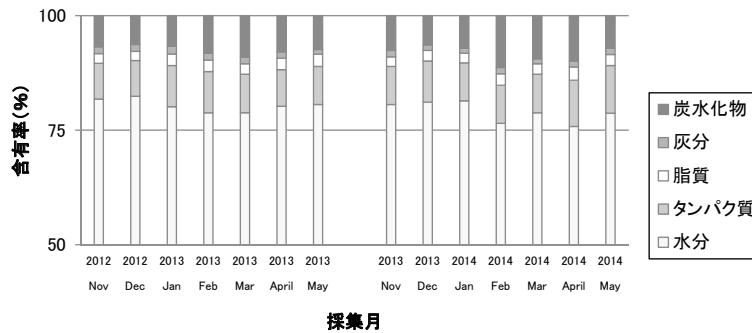


図4 通常出荷カキの栄養成分の月別変動

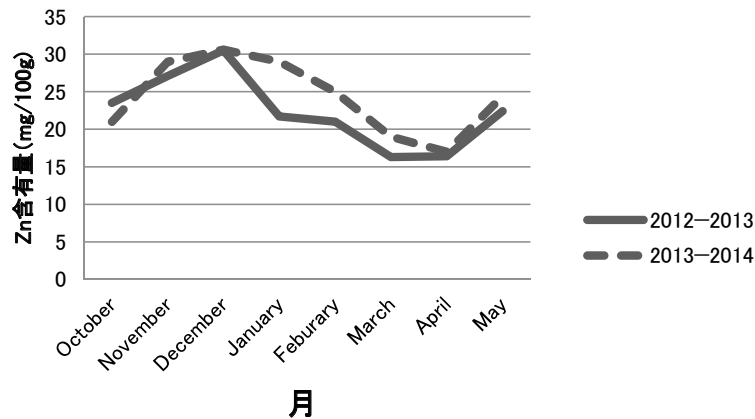


図5 カキ亜鉛含有量のシーズン内推移

可能となった。一方、養殖環境データの分析から近年のプランクトン量の増加傾向が明らかになった。2009年以降、広島湾北部海域の植物性プランクトンは倍増し、この増加は南部海域へ波及し、広島かきの抑制養殖場である黒神海域におけるプランクトンの漸増を認めた。プランクトン量が倍増しても、カキむき身1個あたりの重量は増加していない。餌となる植物プランクトンの種類に原因があるのかもしれない⁷⁾。

カキの高いZn含有量は、どのようなメカニズムによりもたらされるのだろうか。まず、環境要因として、瀬戸内海水域の高Zn濃度を挙げることができる^{8,9)}。筏直下の底質のZn濃度は $275 \pm 25 \text{mg/kg}$ で、底質に生息する生物種の多様性を著しく損なうとされる 150mg/kg 以上であった¹⁰⁾。環境中の亜鉛化合物源として自動車タイヤの占める割合が最も高い、との報告もある¹¹⁾。

次に、生物学的要因が考えられる。著者らは本研究で、100g当たりのZn含有量が幼若カキより成熟カキで高いことを、2シーズンに亘る測定で示した。カキでは、Zn蓄積性に年齢依存性があると示唆された。

三つ目に、カキゲノムは進化の過程で、抗酸化機能をもつSOD遺伝子を増幅させ¹²⁾、亜鉛を構成要素に持つ酵素群を獲得した¹³⁾。これらは、カキのZn要求性が進化的に高いことを一部説明する。

謝 辞

広島市かき養殖連絡協議会(中前光照, 米田康平, 谷迫淳二, 黒田直樹)より、研究用カキを提供していただきました。広島市より、環境調査データの引用を許可していただきました。公益財団法人広島市農林水産振興センター職員各位が本事業の統括と推進事務を担当してくださいました。著者一同、感謝いたします。

文 献

- 1) 農林水産省 (2012): 平成 23 年漁業・養殖業生産統計 <http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/eStatTopPortal.do?lid=000001104479> (参照 2014-10-27)
- 2) Fukuda, T., et al.: Zinc homeostasis and signaling in health and diseases. *J Biol. Inorganic. Chem.*, 16 (7), 1123-1134 (2011)
- 3) Takatani-Nakase, T, et al.: High glucose level promotes migration behavior of breast cancer cells through zinc and its transporters PLoS One. 9, e90136, doi: 10.1371/journal.pone.0090136. eCollection (2014)
- 4) Sgarbieri, U.R., et al.: Nutritional assessment

- and serum zinc and copper concentration among children with acute lymphocytic leukemia: a longitudinal study. *Sao Paulo Med J.*, 124 (6), 316-320 (2006)
- 5) Medarova, Z.I., et al.: Risk stratification of prostate cancer patients based on EPS-urine zinc content. *Am J Cancer Res.*, 4 (4), 385-393 (2014)
- 6) 新田由美子ほか: 広島湾北部海域で育成されたカキの栄養成分分析からみた養殖環境と公衆衛生. *広島県獣医学会雑誌*, 29, 93-95 (2014)
- 7) 新田由美子ほか: 広島湾北部海域で育成されたカキの栄養成分分析からみた養殖環境. 平成 26 年度獣医学術中国地区学会くにびきメッセ 10 月 18, 19 日, 要旨, 116 (2014)
- 8) 産業技術総合研究所地質調査総合センター編: 陸と海の地球化学図. 157-170, 東京 (2007)
- 9) 中西準子ほか: 環境中濃度の把握, 亜鉛, 丸善, 81-97, 東京 (2008)
- 10) 内藤了二ほか: 港湾域の底泥中化学物質濃度と底生生物叢の関係. 港湾空港技術研究所資料, No.1174, 1-32 (2008)
- 11) 中西準子ほか: 発生源の同定と環境排出量の推定, 亜鉛, 丸善, 43-80, 東京 (2008)
- 12) Clark, M.S., et al.: Identification of molecular and physiological responses to chronic environmental challenge in an invasive species: the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Ecol Evol.*, 3 (10), 3283-3297 (2013)
- 13) Zhang, G., et al.: The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature*, 490 (7418), 49-54 (2012)

広島県内の犬における重症熱性血小板減少症候群（SFTS） ウイルス抗体の保有状況

高尾 信一¹⁾ 島津 幸枝¹⁾ 東久保 靖¹⁾ 西川 英樹²⁾ 河村美登里³⁾

(受付：平成 25 年 12 月 15 日)

Seroepidemiological survey of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV) infection in dogs, Hiroshima Prefecture

SHINICHI TAKAO¹⁾, YUKIE SHIMAZU¹⁾, YASUSI TOUKUBO¹⁾, HIDEKI NISHIKAWA²⁾ and MIDORI KAWAMURA³⁾

- 1) Center for Health and Environment, Hiroshima Prefectural Technology Research Institute, 1-6-29, Minami-machi, Minami-ku, Hiroshima 734-0007
- 2) Hiroshima Prefectural Center for Disease Control and Prevention, Hiroshima Prefectural Government, 1-6-29, Minami-machi, Minami-ku, Hiroshima 734-0007
- 3) Hiroshima Prefectural Animal Mngement and Welfare Center, 8915-2, Minamigata, Hongo-cho, Mihara, Hiroshima 729-0413

SUMMARY

To estimate the geographical distribution of ticks that carry severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV), we examined the prevalence of serum antibodies to SFTSV in 311 dogs that had been bred or captured in Hiroshima Prefecture. The seroprevalence rate to SFTSV antigens was 7.7% (24 of 311) in the dogs. The antibody positive dogs were confirmed in 9 cities or towns in Hiroshima Prefecture. In the antibody positive dogs, no correlation was observed between the antibody titer against SFTSV antigen and Japanese Spotted Fever antigen.

— Key words: SFTS, dog, antibody

1) 広島県立総合技術研究所保健環境センター（〒734-0005 広島市南区皆実町一丁目6-29）
2) 広島県健康福祉局 感染症・疾病管理センター（〒734-0005 広島市南区皆実町一丁目6-29）
3) 広島県動物愛護センター（〒729-0413 三原市本郷町南方8915-2）

要 約

重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) を保有するマダニ類の広島県内における分布状況を推定するために、県内で飼育・保護された犬 311 頭について SFTS 患者から分離された SFTSV に対する抗体保有状況を調査した。その結果、全体の 7.7% (24/311) の犬で抗体陽性が確認された。抗体陽性犬は広島県内の複数の市町 (9 市町) で確認された。各犬別にみた SFTSV に対する抗体保有と、日本紅リケッチアに対する抗体保有との間には相関は認められなかった。

——キーワード：重症熱性血小板減少症候群, SFTS, 犬, 抗体

広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告, 第 21 号, 15-18, 2013 年掲載

A 食鳥処理場における衛生管理と カンピロバクター検出状況

増田加奈子 湯藤 亜里

(受付：平成 25 年 12 月 19 日)

Hygienic management and detection status of *Campylobacter* at an abattoir

KANAKO MASUDA and ARI YUTOH

Hiroshima Prefectural Meat Sanitation Inspection Station 1911-1, Awaya-cho,
Miyoshi, Hiroshima 728-0025

SUMMARY

The *Campylobacter* carrier rate of chickens slaughtered in large-scale slaughterhouses and hygiene management of the slaughterhouses in Hiroshima Prefecture were examined. *Campylobacter* was detected from the ceca at a rate of 12.0% (13/108) in 6 of 15 poultry houses on 3 of 7 farms. *Campylobacter* was not detected from chickens with *Campylobacter* undetected from the ceca (non-carriers) during slaughtering and other processes. However, *Campylobacter* was detected from slaughtered chickens and chiller water during the slaughtering of chickens with *Campylobacter* detected from the ceca (carriers). *Campylobacter* was detected from all slaughtered non-carriers (10/10) after the slaughtering of carriers, suggesting cross-contamination in slaughtering processes. *Campylobacter* was also detected from slaughtered chickens after cooling, suggesting that *Campylobacter* cannot be completely eliminated by current methods of hygiene management. Subsequently, survey results were fed back to the slaughterhouses. The carriers with *Campylobacter* detected were slaughtered after the non-carriers to examine the effects of sectioned slaughtering. *Campylobacter* was not detected from the slaughtered non-carriers. Thus, sectioned slaughtering seemed to be effective for preventing cross-contamination in slaughterhouses.

— Key words: Abattoir, *Campylobacter*, chicken, cross-contamination,
sectioned slaughtering

要 約

広島県内の大規模食鳥処理場で処理される鶏のカンピロバクター保菌状況及び食鳥処理場の衛生管理状況を調査した。盲腸からの検出率は12.0% (13/108) で、7農場15鶏舎のうち、3農場6鶏舎から検出された。盲腸からカンピロバクターが検出されなかった鶏（以下、非保菌鶏群）の処理時にはと体及び各処理工程からカンピロバクターは検出されなかったが、盲腸からカンピロバクターが検出された鶏（以下、保菌鶏群）の処理時にはと体及びチラー水等から検出された。また、保菌鶏群処理後の非保菌鶏群のと体から100% (10/10) 検出されたことから食鳥処理工程内で交差汚染を受けている可能性が示唆された。また、冷却後のと体から検出されたことから、現在の衛生管理ではカンピロバクターの完全排除は期待できないと考えられた。その後、調査結果を食鳥処理場にフィードバックし、カンピロバクターが検出された保菌鶏群を非保菌鶏群の後に処理し、区分処理による効果を調査したところ、非保菌鶏群のと体からカンピロバクターは検出されなかった。よって、食鳥処理場における交差汚染を未然に防止するためには、区分処理を行うことが効果的であると考えられた。

——キーワード：食鳥処理場，カンピロバクター，鶏，交差汚染，区分処理

日本獣医師会雑誌 投稿中 (2014)

〈学会開催のご案内〉

1) 第57回広島県獣医学術学会

日 時：平成26年 8月10日（日） 10時より
場 所：ホテルグランヴィア広島
広島市南区松原町1-5 TEL：082-262-1111
演題申し込み：6月23日

2) 平成26年度獣医学術中国地区学会（松江）

ならびに第47回中国連合獣医師大会
日 時：平成26年10月18日（土）～19日（日）
場 所：くにびきメッセ
松江市学園南1丁目2-1 TEL：0852-24-1111

3) 平成26年度獣医学術年次大会（岡山）

日 時：平成27年 2月13日（金）～15日（日）
場 所：岡山コンベンションセンター
岡山市北区駅元町14-1 TEL：086-214-1000

編 集 後 記

広島県獣医学会雑誌第29号をお届けします。本誌は昭和61年に第1号が創刊されました。瀧口次郎県獣医師会会長（当時～現在）、岸本敬之県獣医学会長（当時）をはじめ、多くの役員や会員の方々の多大なご尽力によって創刊にこぎつけたと聞いています。掲載論文の内容については、創刊当時から現在に至るまで全国紙に引けをとらないレベルにあることは言うまでもありません。加えて、本誌では数年前から、図や写真も必要に応じてカラーで印刷することが可能となっています。本号や、過去のバックナンバーを改めて見直してみると、白黒では決して表現できない病理組織像やCT画像、エコー画像などが数多く掲載されています。通常の専門雑誌ではカラー印刷を希望すると、かなり高額な実費が必要な場合が多いですが、本誌はもちろん無料です！そういった観点からも、本誌への積極的な投稿をお願い致します。

ところで、われわれ獣医師に直接的、間接的に関連する話題については、ほとんど毎日のように新聞等で報道されていますが、中でも感染症に関する話題は事

欠きません。口蹄疫や高病原性鳥インフルエンザ（H5N1）については、国内での発生は一応の終息をみっていますが、潜在的脅威は依然として残っています。狂犬病についても、世界各国の発生状況をみると、いつ日本国内に侵入しても不思議のない状況にあります。家禽に対しては高病原性ではないものの、ヒトの新たな新型インフルエンザの起源となる可能性がある鳥インフルエンザ（H7N9）の動向にも目が離せません。また、SARS コロナウイルスは世界中から消滅？しましたが、新たな MARS コロナウイルスによる新型肺炎のパンデミックも現実味を帯びてきています。広島県内では、MARS コロナウイルスは未だ直接的な脅威ではありませんが、近年、新たに見つかった感染症としては、重症熱性血小板減少症候群（SFTS）があります。この疾患は、2013年1月に日本国内で初めて患者が確認された疾患です。今回、広島県立総合技術研究所の島津幸枝先生に本疾患に関する最新情報についての総説を執筆して頂きました。SFTSについては、われわれ獣医師が知っておくべき疾患の1つであるので、本総説も是非参考にしていただけたらと思います。

（高尾信一 記）