

目 次

総 説

広島県の産業動物診療の現状と課題

山崎 一男 ..... 1

産業動物

ホルスタイン雌牛における胎児日齢とエコーで測定した胎盤直径の関連

秋田 真司 ..... 5

乳牛の大腸菌性乳房炎における初診時非抗生物質療法の検討

篠塚 康典, 平田 晴美, 中谷 啓二, 石橋 一郎, 大川 雄三 ..... 9

重度喘鳴音と呼吸困難を伴った黒毛和種の一症例

市場 聖治 ..... 15

顆粒膜細胞腫を発症した黒毛和種成牛の受胎例

玉川 朋治, 明見 高三, 上川 美鶴, 篠塚 康典 ..... 19

牛ウイルス性下痢ウイルス遺伝子型1型および2型の抗体調査

恵谷 美江, 山本 武 ..... 23

ウシ体外受精胚のガラス化保存

尾形 康弘, 日高 健雅, 松重 忠美, 前田 照夫 ..... 27

黒毛和種牛群におけるミトコンドリア DNA の多様性

日高 健雅, 福馬 敬紘, 辻 紗弥香, 松重 忠美, 尾形 康弘 ..... 33

小 動 物

$\beta$ ブロッカーが有効であった猫の閉塞性肥大型心筋症の1例

園田 康広, 長谷川孝寿 ..... 37

脛骨異形成症に対するプレート法を用いた矯正骨切り術の5症例8肢

櫻田 晃, 板本 和宏, 大村 齊, 大村 琴枝, 伊藤 雄吾, 和田 安弘 ..... 41

エラスティックチェーンによって矯正をおこなったクラスI不正咬合の一例

麻生 暁秀 ..... 45

LigasureSystemを使った犬の去勢・避妊手術に対する検討

大杉真由子, 麻生 暁秀, 麻生 摂子, 田内 利樹, 久保田 誠 ..... 49

姿勢・運動異常を主訴とした犬の39症例について

谷浦 督規, 谷浦 直美, 谷浦 倉之 ..... 53

---

---

## 公衆衛生

動物取扱責任者研修実施後に行ったアンケート調査の結果について

兼重裕美子, 田原 彰敏, 木戸 照明, 城仙 哲宣…………… 61

内臓処理工程における牛肝臓の衛生実態調査

長澤 元…………… 65

ニワトリの皮膚扁平上皮癌の1例

山下 和子…………… 69

と畜場における豚赤痢判定の一考察

古田 喜美, 坂本 綾, 児玉 実, 佐伯 幸三, 迫田 望…………… 73

消毒剤としての酸性電解水の使用実態について

中島 敏浩, 西岡 達彦, 岩井 徹, 重東 和宏, 三宅 伸子, 山根 伸久…………… 77

## 他誌投稿

タイストール牛舎で飼育される乳用牛の削蹄後の蹄形状変化の観察と、牛床環境、蹄病発生率との関連

大下 克史 NOSAI広島 廿日市家畜診療所…………… 81

## 会 報

関連学会案内

投稿規程

---

# 広島県の産業動物診療の現状と課題

山 崎 一 男

(受付：平成 20 年 3 月 1 日)

## Present status and problems of livestock treatment in Hiroshima Prefecture

KAZUO YAMASAKI

Hiroshima Prefectural Federation of Agricultural Mutual Aid Association  
1-2-23, Hikarimachi, Higashi-ku, Hiroshima, Hiroshima, Japan 732-0052

### はじめに

NOSA I の家畜診療所が産業動物診療を行うため、一元化してから 35 年が経過し、当初の目的であった広島県の畜産振興における家畜衛生の役割の一翼を担い、今日に至っています。今回、この誌に投稿の機会を与えていただいたことに対しお礼を申し上げ、広島県の産業動物診療の現状と今後の課題について、ご報告とお願いをさせていただきます。

#### 【産業動物診療体制の整備】

農耕用に飼育されていた家畜は、昭和 40 年代に入り多頭飼養・専門化が加速すると共に、家畜の疾病も多発する傾向がみられ、疾病要因も複雑になってきた。産業動物診療獣医師は、高度な診療技術と診療活動の強化が求められるようになりました。

当時、産業動物の診療は県(家畜保健衛生所)、市町村、農協、共済団体等で実施していましたが、経営主体が多岐であり、運営基盤が零細で収支も悪く、獣医師の確保が困難で、高度な診療技術と広範囲な診療活動ができない等の問題点が提起され、その対策が課題となってきました。

そこで、昭和 43 年度に県の指導のもとで「脆弱な経営基盤にたつ産業動物診療施設を整備統合して、近代畜産に対応できる診療体制を確立する」とした基本方針が立てられ「その経営主体は県農業共済組合連合会〔以下連合会〕の直営家畜診療施設に一元化する」ことが関係者総意で合意されました。

この方針に基づき、当時、県内に 84 ケ所あった市町村や共済組合等の家畜診療施設は昭和 47 年度に連合会

家畜診療所 14 ケ所、獣医師数 46 人をもって、一元化が実現しました。

#### 【家畜診療所運営協議会の発足】

家畜診療施設の一元化と同時に円滑な家畜診療所運営を図るため、連合会家畜診療所運営協議会が各地域に組織され、その会員である市町村は統合により免減された獣医師人件費等の経費の一部を家畜診療所運営地元負担金として拠出することが決定されました。また、県、各農業共済組合、農業協同組合等畜産関係団体も連合会家畜診療所の運営に全面的支援をしていただくこととなりました。

#### 【畜産を取り巻く環境の変化】

県内の家畜飼養頭数は、一部に規模拡大や大規模経営農家の参入が見られるものの、畜主の高齢化、後継者不足により漸次減少しています。さらには牛乳の生産調整、外国産牛肉の輸入拡大、飼料の高騰などで経営不振に陥り、廃業に追い込まれる農家も発生しており、厳しい状況が続いています。

家畜の飼養頭数は、乳用牛は昭和 45 年 5,110 戸 25,100 頭、平成 7 年 480 戸 15,800 頭、平成 20 年 229 戸 10,500 頭と減少しています。肉用牛についても同様に昭和 45 年 38,800 戸 67,300 頭、平成 7 年 2,880 戸 34,100 頭、平成 20 年 975 戸 24,700 頭と減少しています。

#### 【家畜共済加入状況】

平成 19 年度家畜共済の引受は乳用牛(成乳牛、育成乳牛、乳用子牛、乳用胎児の合計)約 19,000 頭、共済

金額 23 億円の加入。肉用牛（肥育用成牛，肥育用子牛，他肉成牛，他肉子牛，他肉胎児の合計）約 2 万 9,000 頭，共済金額約 34 億円の加入。豚を加えた総頭数 84,000 頭（前年比 98.1%），総共済金額約 63 億円（前年比 100.8%）となりました。

【家畜の事故発生状況】

平成 19 年度の死亡・廃用事故は頭数約 8,400 頭（内豚約 6,300 頭），支払共済金約 3 億 2,300 万円（内豚約 5,600 万円）（前年比 102.8%），病傷事故は頭数約 25,000 件（内豚約 540 件），支払共済金約 3 億 5,100 万円（内豚約 280 万円）（前年比 99.4%）となっています。

病類別家畜事故発生状況は，成乳牛では周産期の疾病，乳用子牛・胎児は分娩時死亡や消化器病等，肥育牛は呼吸器病や消化器病，他肉牛は繁殖障害や消化器病が大半を占めています。飼養形態は多頭化・高能力化が進み，死亡・廃用事故は依然として高い水準にあり，損害防止の強化や飼養管理指導をより充実する必要が求められています。

【産業動物の診療体制】

現在，広島県の家畜の診療は連合会家畜診療所獣医師 37 名，N O S A I 指定獣医師 18 名，2 市獣医師 6 名，開業獣医師 2 名等で行われており，診療割合で見ると連合会が約 80%となっています。

家畜共済制度に合わせ設置された連合会の家畜診療所は，現在県下に 9ヶ所あり，家畜の診療及び損害防止はもとより，予防衛生から飼養管理指導に至るまで幅広く，農家に密着した畜産施設としてその役割を果たしています。

代謝プロファイルテスト等の手法を用いて家畜を群単位で生理状態などを捉えて，疾病を未然に防止し，生産性を高めていく，いわゆる生産獣医療や，家畜畜産物衛生指導協会が行う予防接種の実施をはじめ，平

成 13 年に我が国で初めての B S E（牛海綿状脳症）患者の発見を契機に，安全・安心な食の提供と信頼確保に向けた体制づくりの取組みにも積極的に携わってきております。さらには口蹄疫や B S E，鳥インフルエンザなどの家畜法定伝染病に対する危機管理体制の整備が重要となっている中で，行政機関が行う初期防疫措置の支援活動に組織的に対応できる機関としての役割も担っています。

【連合会家畜診療所運営上の課題】

\* 獣医師職員の年齢構成

連合会家畜診療所は過去一時的に獣医師採用が集中し，年齢別人員構成の逆ピラミッド化が顕著になっています。長期的展望に基づき，随時獣医師の採用を行っていますが，平均年齢は 46.3 才と高く，人件費率も高い状態になっています。また，産業動物の臨床を仕事として希望する学生が極少で，獣医師の確保も大きな課題となっています。

\* 診療効率の悪化

前述のように，県内の家畜飼養頭数は，漸次減少しているため，畜産農家は散在・点在化となり往診時間の延長等診療の効率が悪化，特にその傾向は沿岸部において顕著となっています。

\* 多岐にわたる業務

従来，県内各地には県や各畜産関係団体等の獣医師が配置され，予防接種，人工授精，飼養管理指導等の獣医療業務がなされていましたが，近年，地域の獣医師はほとんど撤退し，また，J A 等の畜産指導事業も縮小，その業務のほとんどは連合会の家畜診療所に移行してきております。これら一般の家畜診療以外の多岐にわたる業務は，採算性の取れないものが多く，家畜診療所の収支にも影響を与えています。

\* 365 日・24 時間対応の診療体制

連合会家畜診療所では夜間は自宅において，休・祝

平成 19 年度家畜共済畜種別 引受・支払い状況

共済目的	引 受 (加入補償金額)		死・廃事故支払 (死亡または廃用)		病傷事故支払 (診療費)	
	頭数	共済金	頭数	共済金	頭数	共済金
成乳牛	9,312 頭	1,932,514,571 円	934 頭	188,394,631 円	12,378 頭	225,147,600 円
育成乳牛	943 頭	91,274,603 円	24 頭	2,274,436 円	363 頭	3,877,450 円
乳子牛	757 頭	47,033,682 円	23 頭	1,338,945 円	133 頭	1,100,950 円
乳胎児	7,984 頭	247,628,292 円	532 頭	21,236,377 円	1,413 頭	9,804,080 円
肥育用成牛	15,270 頭	1,476,411,554 円	146 頭	16,091,832 円	1,521 頭	18,826,570 円
肥育用子牛	1,196 頭	49,816,600 円	79 頭	4,670,052 円	1,261 頭	12,604,940 円
他肉成牛	6,038 頭	1,330,550,917 円	73 頭	13,663,397 円	4,681 頭	53,245,290 円
他肉子牛	1,209 頭	127,242,743 円	18 頭	1,827,353 円	514 頭	4,597,560 円
他肉胎児	5,521 頭	477,316,417 円	193 頭	17,047,408 円	1,994 頭	19,333,620 円
一般馬	12 頭	720,000 円	2 頭	147,029 円	3 頭	13,670 円
種豚	3,900 頭	287,850,500 円	267 頭	19,543,080 円	540 頭	2,795,570 円
特定包括肉豚	31,705 頭	228,276,000 円	6,071 頭	36,852,232 円	---	---
計	83,847 頭	6,296,635,879 円	8,362 頭	323,086,772 円	24,801 頭	351,347,300 円

祭日には県内9ヶ所の診療所に9名が当番制で勤務し、365日・24時間対応の診療体制をとっています。これを年間に換算すれば延べ1,230人役となり、獣医師5名分の雇用に相当します。

このように家畜診療所の運営上の問題・課題は多くあります。また、求められる要望も社会情勢の変化とともに変わってきており、連合会は家畜診療所の運営について、県や地元の家畜診療所運営協議会の助言等を考慮し、組織整備・改革を繰り返し、運営改善に努めてまいりました。

広島県の現在の家畜診療に従事する獣医師は連合会が大半を占めていますが、今後、家畜診療所の経営はさらに困難な状況になると予想され、本県の畜産振興上、この診療体制の見直しを論議すべき時期が来ていると考えます。しかし、これらは連合会のみで解決できることばかりではありません。県・市町と畜産関係団体の指導と支援をいただきながら、今後も地域に密着した家畜診療体制を構築してまいりたいと考えておりますので、よろしくお願い申し上げます。

# ホルスタイン雌牛における 胎児日齢とエコーで測定した胎盤直径の関連

秋 田 真 司

(受付：平成 19 年 11 月 6 日)

## Association between fetal age and the diameter of the placenta measured using an ultrasound system in Holstein cows

SHINJI AKITA

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

### SUMMARY

Due to portable diagnostic ultrasound systems, techniques for the early detection of pregnancy have markedly improved. On the other hand, the numbers of cows in which the day of impregnation cannot be determined have been increasing. Estimation of the fetal age based on its body length is possible, but is difficult after day 60 of pregnancy because the fetal body becomes larger than the screen of the ultrasound system. We investigated the association between the fetal age and diameter of the placenta, which increases with fetal growth. Their correlation was marked, and the range of the fetal age allowing measurement was also wider using the diameter of the placenta than using the fetal body length. Though there was also a marked correlation between the fetal head length and fetal age, the measurement of the diameter of the placenta was easier and applicable to a wider fetal age range. Therefore, estimation of the fetal age based on the diameter of the placenta may be practical.

### 要 約

携帯式超音波診断機により牛の早期妊娠診断技術が飛躍的に伸びている。一方で受精日が特定できない乳牛も増えてきている。胎児の体長から胎齢を推測することは可能であるが、胎児の成長により超音波診断機の画面を越えるため 60 日以降は困難となる。今回は胎児とともに成長する胎盤の直径と胎齢の関連性について調査した。胎盤直径と胎齢の相関性は非常に高く、測定できる胎齢の範囲も胎児体長よりも広く測定が簡便だった。胎児頭部長と胎齢の相関も高かったが、胎盤直径の測定が簡易で、胎齢範囲も広がったため、胎盤直径から胎齢を推測することは実用的であると考えられた。



## 序 文

早期妊娠診断法は直腸検査により受精後40日前後から、プロゲステロン測定により受精後22日目で行われてきた。しかし、直腸検査では直腸壁の緊張や脂肪沈着などにより診断が困難な場合もあるが、超音波診断機（以下エコー）ではこの欠点を補ったうえ受精後25日前後から可能である<sup>1), 2), 7)</sup>。さらにエコーの特性として、従来の方法ではできなかった双胎判定や雌雄鑑別が可能となり、妊娠診断技術の格段の飛躍に結びついている<sup>1), 4), 5)</sup>。一方、乳牛において高能力化などの影響により、性周期の中間時点で発情が回帰したり、21日目での偽発情が起こるなど、胎齢が確定できないことも増えてきている<sup>6)</sup>。また、酪農家の大型化に伴い、いわゆる牧牛による受精のため最終受精日が特定できないことも多くなっている。このような胎児の日齢を推定するために直腸検査では妊娠子宮の太さから間接的に推定するしかないが、胎水の量は個体差が大きく確定できない。確定診断のためにはエコーにより胎児の体長を測定する必要があるが、胎齢が進むにつれ写真3のように次第に胎児の全体像がつかみにくくなるため、2ヶ月を越える頃から胎齢が確定できなくなる<sup>3), 5)</sup>。また、胎齢が若い頃は写真4の様に胎児全身の断層図が保持しにくい。今回は、胎児とともに成長する胎盤の大きさに注目し、その直径を測定することで胎齢の推測を可能にするために、胎齢と胎盤直径の関連について調査した。

## 材料と方法

### 1.) 調査期間

平成18年10月から平成19年8月

### 2.) 調査対象

東広島市、呉市、三原市、世羅町に飼養されているホルスタイン種雌牛151頭で、受精後35日から131日までの妊娠牛

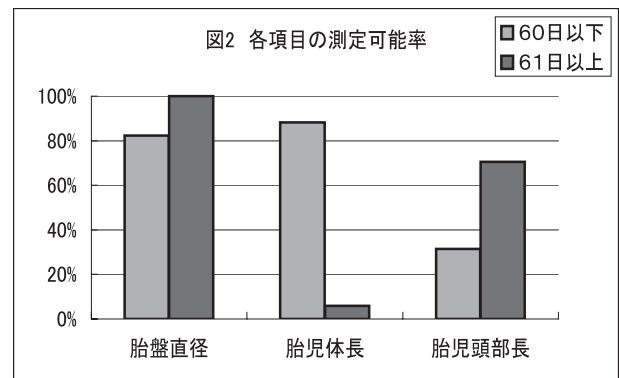
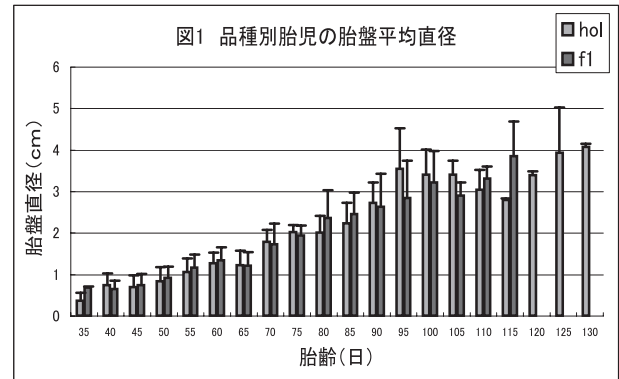
### 3.) 調査方法

胎児の体長（以下、体長）と胎児頭部の長さ（以下、頭部長）および胎盤の直径を携帯式超音波診断機（パイメディカル社50S Tringa）により測定した。胎盤は楕円形をしており、存在場所によって大きさに差があるため、胎盤直径は胎児付近に存在する最大のものを測定した。胎児胎齢、胎盤直径、胎児体長、胎児頭部長についてそれぞれの関連性を検討した。

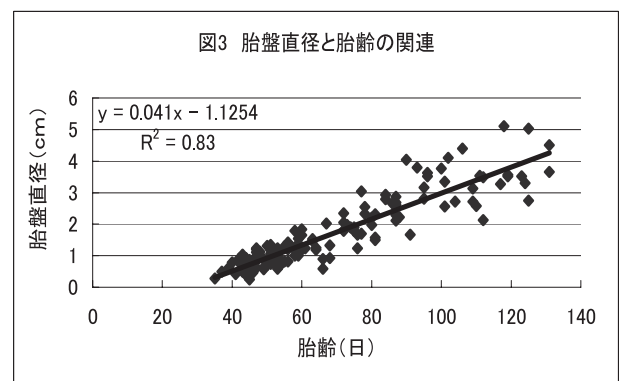
## 成 績

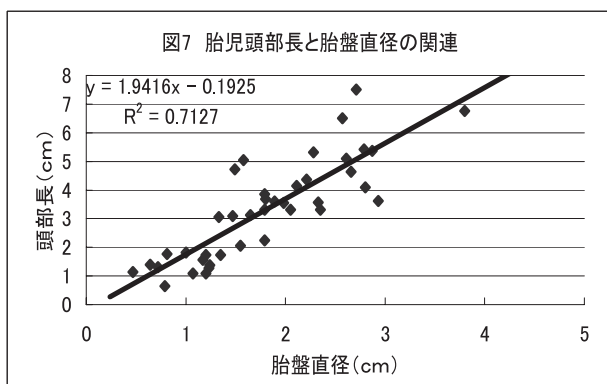
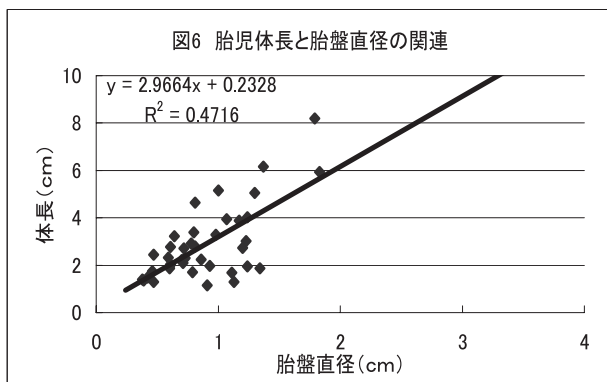
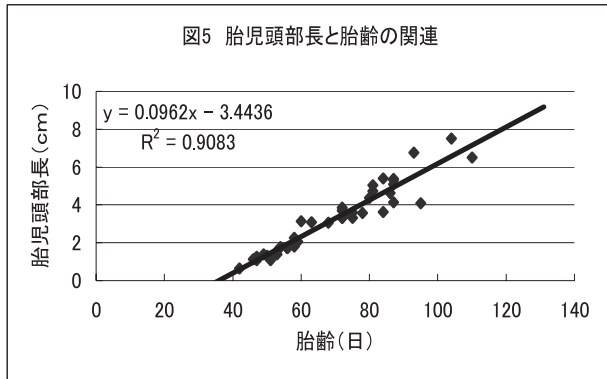
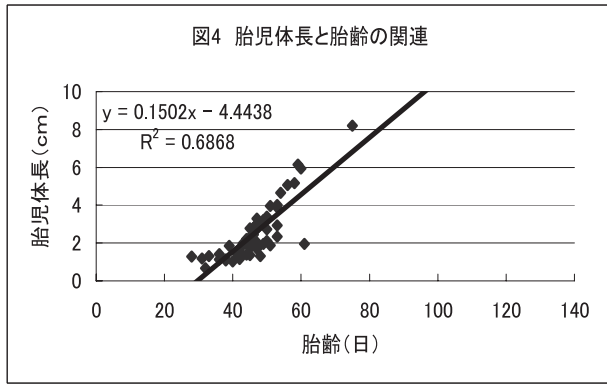
胎児の品種はホルスタインが75頭、ホルスタインと黒毛和種のF1（以下F1）が73頭、品種不明が3頭であった。胎児の品種間での胎盤直径の差は認められなかった（図1）。胎盤直径が測定出来たのは胎齢

60日以下で82.4%、体長が88.2%、頭部長が31.4%、胎齢61日以上でそれぞれ、胎盤直径が100%、体長5.9%、頭部長が70.6%であった（図2）。また、体長が測定できた範囲は36日から75日で、頭部長が測定できたのは46日から110日だった。胎盤直径は40日以上で全て測定可能であった。平均胎盤直径は35日で約0.5cm、50日で1cm、75日で2cm、95日で約3cm、130日で4cmと推移していた。体長は30日で1cm、45日で2cm、50日で4cm、60日で6cmと成長していた。頭部長は45日で1cm、55日で2cm、75日で4cm、100日で6cmと発育していた。



相関係数は胎齢と胎盤直径で0.8326（図3）、胎齢と体長で0.6868（図4）、胎齢と頭部長で0.9083だった（図5）。また、胎盤直径と体長の相関係数は0.4716（図6）、胎盤直径と頭部長の相関係数は0.7127であった（図7）。





## 考 察

近年、乾乳期間の短縮が勧められている現状で、受精日が特定できないのは乾乳時期が最も重要な乳牛にとって致命的である。乾乳時期を誤ると、実際の分娩時に栄養不足になるなど周産期疾病に陥りや

すくなる<sup>4), 8)</sup>。こういった意味からも胎齢を正確に推定することは臨床上大きな意義がある。

本研究では、胎盤直径および頭部長は胎齢との間に強い相関を認めた。体長についても胎齢と相関があったが、胎盤や頭部長ほどではなかった。これは胎児をエコーの断層面に挿えることが難しく、体長測定の誤差が大きかったためと考えられた。胎齢を推定するうえで体長を測定することが最も確実な方法であるが、体長を測定できる範囲がおおよそ胎齢60日以下であり、これを超える場合は胎児の全体像が画面からはみ出すなどの理由で困難となる。頭部長は46日から110日までの広範囲の胎齢で測定可能で、相関も高いが、体長同様に測定に時間がかかり、測定できない個体もあった。これに対して胎盤直径の測定は40日以上であれば比較的短時間で容易に行うことができ、胎齢との相関も高いため、胎盤が楕円形をしていることを考慮しても、胎盤直径による胎齢の推測が可能であると考えられた。胎盤直径の分布から、胎齢の推定式を近似式として次のように表せた。胎齢 (日) = 25 × 胎盤直径 (cm) + 27。また、胎齢60日以下では体長と、60日以上では頭部長と見比べることで胎齢の推測をさらに正確に出来ると考えられた。

## 参 考 文 献

- 1) tabor EH : Now That I've got My Ultrasound, How Do I Pay for It, The AABP Proceedings, 39, 8 ~ 12 (2006)
- 2) 黒澤 隆 : 総論 超音波画像診断装置の選定のポイントと観察対象 JCVM (臨床獣医), 274, 10 ~ 17 (2005)
- 3) 日笠喜朗 : 平成16年度農水省委託 NOSAI 中四国地区講習会テキスト (2004)
- 4) 石井一功 : 乳牛の双子診断, JVM, 59, 5, 387 ~ 392 (2006)
- 5) 上村俊一 : 雌牛の繁殖障害カラーアトラス (獣医繁殖学教育協議会編 : チクサン出版), (2005)
- 6) 豊 伸吾 : 繁殖検診における超音波診断技術の活用, JCVM (臨床獣医), 24, 5, 10 ~ 20 (2006)
- 7) 大澤健司 : 繁殖管理に利用する超音波検査の基礎, JCVM (臨床獣医), 24, 5, 22 ~ 27 (2006)
- 8) 上村俊一 : 積極的な繁殖管理プログラムにおけるエコーの利用, JCVM (臨床獣医), 24, 5, 22 ~ 27 (2006)



# 乳牛の大腸菌性乳房炎における初診時非抗生物質療法の検討

篠塚 康典<sup>1)</sup> 平田 晴美<sup>1)</sup> 中谷 啓二<sup>2)</sup> 石橋 一郎<sup>1)</sup> 大川 雄三<sup>1)</sup>

(受付：平成 19 年 11 月 27 日)

## Evaluation of non-antibiotic treatment at the first consultation in cows with acute coliform mastitis

YASUNORI SHINOZUKA<sup>1)</sup>, HARUMI HIRATA<sup>1)</sup>, KEIJI NAKATANI<sup>2)</sup>, ICHIRO ISHIBASHI<sup>1)</sup>, YUZO OKAWA<sup>1)</sup>

1) Yamagata Veterinary Clinical Center, Hiroshima Agricultural Mutual Relief Association, Haruki 461-1, Kitahiroshima, Hiroshima 731-1531

2) Hatsukaichi Veterinary Clinical Center, Hiroshima Agricultural Mutual Relief Association, Honmachi 10-14, Hatsukaichi, Hiroshima 738-0015

### SUMMARY

We classified 56 cows diagnosed as having coliform mastitis into a cured group and a group that died/was culled, and evaluated the association between treatment contents at the first consultation and outcomes. In addition, an interview survey on the recovery of milk production was performed in farmers, and its association with the treatment contents was evaluated. There were associations between outcomes and systemic non-antibiotic treatment as well as intramammary steroid administration at the first consultation and between the recovery of milk production and intramammary steroid administration as well as intramammary irrigation. These results suggested that the adverse effects of antibiotics at the first consultation due to endotoxin outweigh their favorable sterilizing effects, affecting the prognosis. For a more effective cure including the recovery of milk production, it is important to minimize injury to the mammary glands, and the physical removal of endotoxin by intramammary irrigation and anti-inflammatory intramammary steroid administration are effective.

### 要 約

大腸菌性乳房炎と診断された乳牛 56 頭を治癒群と死亡・廃用群に分け、初診時の治療内容と予後との関連を調べた。さらに、その後の乳量回復度について農家より聞き取り調査を実施し、治療内容との関連を調べた。初診時の全身非抗生物質療法および乳房内ステロイド投与が予後との関連が認められ、乳房内ステロイド投与および乳房内洗浄が泌乳量回復と関連が認められた。これらの結果から、初診時の抗生物質の使用は、殺菌という正の作用よりも

1) 広島県農業共済組合連合会山県家畜診療所 (〒 731-1531 広島県山県郡北広島町春木 461-1)

2) 広島県農業共済組合連合会廿日市家畜診療所 (〒 738-0015 広島県廿日市市本町 10-14)

その結果遊離されるエンドトキシンによる負の作用が大きいことが示唆され、予後に影響しているものと考えられた。また、泌乳量の回復までを含めたよりよい治療のためには乳腺組織の損傷を最小限に抑えることが重要で、乳房内洗浄によるエンドトキシンの物理的除去と乳房内ステロイド投与の消炎作用の効果が示唆された。

## 序 文

大腸菌性乳房炎の臨床症状は甚急性から潜在性まで多様であるが、全身症状をとまなう牛臨床型大腸菌性乳房炎(以下本症)は酪農家にとって特に被害が大きい。本症は免疫力の低下しやすい高泌乳牛や周産期、老齢牛などでリスクが高く<sup>1-3)</sup>、重症のケースではショック症状を呈し半日から一日で瀕死状態に陥る。本症は敗血症様症状を呈するが、この病態発現にはエンドトキシンが関与していることが示唆されている<sup>4)</sup>。エンドトキシンはグラム陰性桿菌の構成成分であり、自然免疫系を動かす代表的な因子で、それによる生体反応によって臨床症状はもたらされている。すなわち、感染巣でエンドトキシンに刺激された単球・マクロファージが産生したサイトカインが好中球などの炎症細胞を活性化し、それらの反応が過剰になり SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome: 全身性炎症反応症候群) という状態を招来し、臓器組織傷害を引き起こしている<sup>5)</sup>と考えられている。罹患牛は局所症状(乳房の腫脹、硬結、水様性乳汁、ブツの排泄)、全身症状(発熱、食欲廃絶、第一胃運動停止、沈うつ、心拍数増加、泌乳停止、脱水、起立不能、ショック)など多様な症状を示すが本症の病態の進展がきわめて早いため定型的なものはない。現在行われている治療は、臨床症状に応じた対症療法とともに有効な抗生物質による原因療法を実施しているが治癒率は高くない。

一方、人医では抗生物質使用時の副作用としてエンドトキシン遊離が指摘され、医原性エンドトキシンの宿主への影響を検討する臨床研究が報告されており<sup>6,7)</sup>、本症においても殺菌によるエンドトキシン放出の影響が考えられる。使用する抗生物質の種類によって本症の治癒率に影響がある報告もあり<sup>8)</sup>、実際、著者らの臨床例で一定の重症度以上の症例において、抗生物質使用によるエンドトキシン放出現象が予後にまで影響する症例は複数確認されている。抗生物質のエンドトキシン放出量は菌体死亡数よりも抗生物質のクラスや種類、つまり作用部位に係る<sup>9)</sup>と考えられ、結合親和性の高い PBP (ペニシリン結合蛋白: penicillin-binding protein) の種類によりエンドトキシンの放出パターンや量が規定されるという理論は現在ほぼ受け入れられている。本症のような感染をとまなう SIRS の治療にはエンドトキシン放出を考慮した抗生物質の選択使用が求められるが、いずれの場合も

抗生物質の使用による放出は避けられない。

そこで我々は、予後を大きく左右する初診時治療にあえて抗生物質を使用しないことにより医原性エンドトキシンの問題を回避し、SIRS からの脱却を目指すためエンドトキシンに着目した治療を試みた。この報告では、大腸菌性乳房炎の初診時の治療内容と予後を比較検討することによって本症の病態を推察し、本症の効果的な治療法について考察する。

## 材料と方法

2005 年から 2007 年までに当家畜診療所管内で大腸菌性乳房炎と診断された乳牛 56 頭を調査対象とし、カルテを用いて治療法と予後について調査した。予後による内訳は治癒 29 頭、死亡・廃用群(以下死廃群) 27 頭であった。症状の軽重に関与すると思われる月齢や分娩後日数、初診時の体温は両群の間に有意差はなかった。〔表 1〕

表 1 治療内容調査対象牛 (2005 年～2006 年)

予後	頭数	発症月齢	分娩から発症までの日数	初診時体温
治癒	29	54.1 ± 20.6	132.1 ± 127.8	40.1 ± 0.8
死廃	27	64.0 ± 22.5	103.6 ± 97.7	39.8 ± 0.8
合計・平均	56	58.9	118.4	39.9

いずれも群間に有意差なし

初診時の治療法との関係を検討するため、初診時における全身または局所での抗生物質の使用・非使用、ステロイド剤の全身または局所での使用・非使用、乳房内洗浄の実施・非実施についてそれぞれ Fisher の正確確率検定を行った。乳房内洗浄液はオゾン水、5% ブドウ糖液、生理的食塩水などを使用した。洗浄液を 500mL から 1 L 乳房内に注入した後搾りきるという作業を複数回実施し、乳房内の洗浄を実施した。

また、死亡例以外の牛については、その後の泌乳量回復度を農家から聞き取り調査した。乳量回復度を I) 局所および全身症状が完全に消失し正常に泌乳する、II) 全身症状は完全に消失するが罹患乳房の泌乳が停止する、III) 全身症状の回復が遅れ泌乳が全乳房とも停止する、の 3 段階に分類し各治療法との関係を Wilcoxon Rank Sum Test により検定を行った。いずれの検定においても P 値が 0.05 未満で有意差有りとした。

成 績

治療法と予後の関係：初診時での抗生物質全身使用群、及び局所ステロイド使用群において有意差が認められ、これらの治療は治癒と関連があった。その他の治療法は予後と関連はみられなかったが、乳房内洗浄は治癒とやや関連があった。〔表2〕

表2 予後と治療内容

予後	頭数	抗生物質		ステロイド剤		乳房内洗浄
		全身	局所	全身	局所	
治癒群	29	17	20	1	16	10
死産群	27	24	21	2	5	4
<i>P</i>		0.02	0.55	0.60	< 0.01	0.13

Fisherの正確確率検定

抗生物質の初診時使用群は全体の73.2% (41/56)で、使用抗生物質はCEZが最も多く53.7% (22/41)であった。CEZを全身投与した場合の死産率は77.3% (17/22)と高い傾向にあった。その他の抗生物質の死産率はKM 35.7% (5/14), AM 33.3% (1/3), ERFX 50.0% (1/2)であった。一方、初診時の抗生物質非使用群は全体の26.8% (15/56)で治癒率は80.0% (12/15)であった。当家畜診療所を管内とする家畜保健衛生所に病性鑑定を依頼した本調査同時期の大腸菌・クレブシエラ属の感受性試験結果と比較したところ、薬剤感受性と初診時投与抗生物質別死産率は同様の傾向を示した〔図1〕。

ステロイド剤の乳房内局所投与は治癒率76.2% (16/21)で、非投与の37.1% (13/35)を大きく上回った。

治療法と乳量の改善度との関係：罹患牛の治癒後泌乳能力改善度調査の結果、乳量回復度Ⅰは10頭、回復度Ⅱは13頭、回復度Ⅲは11頭であった。治療法と改善度との関係は、局所ステロイド治療および乳房内洗浄治療において有意差が認められた。全身抗生物質療法は有意差が認められなかった。〔表3〕

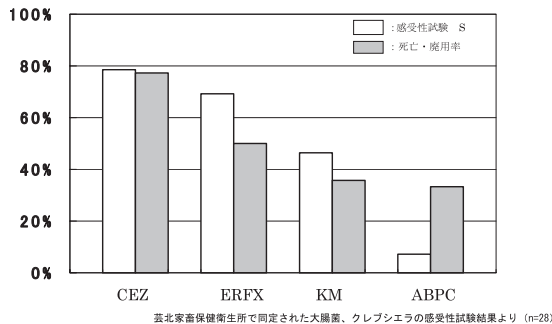


図1 薬剤感受性試験結果および使用抗生物質別死産率

表3 予後と治療内容

治療内容		乳量回復度			<i>P</i>
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	
全身抗生物質	投与	4	9	8	0.14
	非投与	6	4	3	
局所ステロイド	投与	7	7	2	< 0.05
	非投与	3	6	9	
乳房内洗浄	実施	5	3	1	< 0.05
	非実施	5	10	10	

Wilcoxon Rank Sum Test

考 察

過去の大腸菌性乳房炎の治療法と予後を比較検討した。初診時に全身に抗生物質を使用しないこと、局所でステロイド剤を使用することが治癒と関連があり、今後の治療方針が示された。また、治癒後の泌乳能力の改善は局所でのステロイド治療および乳房内洗浄と関連があり、これらを実施することでよりよい治癒に結びつくものと推察された。

大腸菌性乳房炎はグラム陰性桿菌による乳房内感染により発症する感染症であるが、その病態は菌体そのものではなく菌体が破壊されたときに遊離されるエンドトキシンによって形作られている<sup>4)</sup>。エンドトキシンは菌体の構成成分の一部であり、菌の分裂、増殖の過程でも遊離される。生体に対するエンドトキシンの多彩な作用はエンドトキシンの直接的な作用によるものではなく、エンドトキシンの刺激を受けた種々の細胞の活性化をもたらす<sup>10)</sup>。その結果産生されるメディエーターを介して炎症反応を惹起する。一定レベルの炎症反応は感染制御に有用であり、局所反応のみで終息にむかうものと思われる。しかし、何らかの理由により炎症反応が過剰となってしまった場合、いわゆる大腸菌性乳房炎として全身症状をともなった病態が成立するものと考えられる。本症は分娩後に多く発症するが生体反応の個体差があり、症状はマイルドなものからシビアなものまで様々である<sup>11)</sup>。甚急性の症状とはエンドトキシンという菌体成分に対する生体の純粋な反応が過剰となり、生体の持つ防御反応が自己傷害的に働いている状態である。すなわち、エンドトキシンによって刺激を受けたマクロファージや単球から放出された大量のサイトカインが全身に放出され高サイトカイン血症となっていて、もはや自己コントロールは不可能となっている状態だと思われる。この時点で、治療として抗生物質を使用することは、大量の医原性エンドトキシン遊離をまねき、さらなる免疫細胞の活性化を加速しエンドトキシンショックへと発展させる危険性がある。今回の調査結果で初診時の抗生物質非使用の予後が良かったが、臨床現場における初診時はエンドトキシンショック直前の準備状態であることが多かったためではないかと推察された。すなわち、抗生物質を用いて感染症の原因菌を死滅させるという効



果より、その結果招来されるエンドトキシン遊離による副作用の方が大きい状態といえると考えられた。また、乳腺組織で活性化したマクロファージや好中球などの免疫担当細胞は過剰に反応している状態であるので、局所においては免疫抑制することが重要だと考えられる。ステロイドのもつ免疫抑制作用が予後に影響したと考えられた。しかし、大腸菌性乳房炎はまぎれもなく感染症であり、感染の制御は生体の炎症反応の制御と同様重要である。著者らは初診時においては抗生物質を使用しないが、高サイトカイン血症から脱却したと思われる時期を待って抗生物質を使用している。乳牛は経済動物であり、畜主らは治癒だけでなく泌乳能力の回復も求めている。本症の病初は罹患分房だけでなく他の分房まで泌乳量が激減することが多い。これは一般的な全身症状によるものでなくエンドトキシンの作用が泌乳量を激減させていると考えられている<sup>12-14)</sup>。この泌乳量低下機序はエンドトキシンの乳腺細胞に対する直接作用によるものではなく、血流を遮断するためだという報告がある<sup>15)</sup>。また、急性期を凌ぐことができたとしても炎症反応が長引くことによって2次的に泌乳量が激減し経済価値が大きく損なわれることが多い。これは乳腺組織の傷害が泌乳能力の著しい低下を引き起こすもので、この損傷は乳腺内に浸潤した好中球が産生する活性酸素などが考えられている<sup>16-18)</sup>。泌乳は乳腺細胞で行われるので、炎症による乳腺組織損傷を最小限に抑えることによって泌乳能力の喪失を防がなければならない。今回の調査では局所でのステロイド療法が乳腺組織の損傷を軽減させ、泌乳量の回復に有効であった。これはステロイドの持つ薬理作用、すなわちサイトカインやアラキドン酸代謝産物などの炎症性メディエーター産生抑制作用や炎症細胞機能に対する直接作用によってエンドトキシンへの過剰な生体反応を軽減あるいは抑制したためだと考えられた。一方、鉄キレート剤の乳房内投与が乳腺組織のダメージを軽減させるという報告もあり<sup>19)</sup>、増殖のための高い鉄要求性を持つ大腸菌のコントロールの観点からも治療への応用の可能性がある。また、乳房内洗浄は原因菌や遊離したエンドトキシン、好中球などの浸出細胞などを物理的に除去することで補助的にその効果を発揮したものと考えられた。

臨床現場において本症の正確な診断と病態ステージの把握は非常に困難である。本研究によって大腸菌性乳房炎の初診時における病態ステージは抗生物質使用が禁忌であるステージであることが多いことが示された。すなわち、初診時の病態は局所感染の存在するSIRS（全身性炎症反応症候群）でありエンドトキシンショックの準備状態ともいえる。したがって、本症が疑わしい場合は抗生物質を使用せず、いずれの原因菌であっても副作用のない治療法である乳房内洗浄療法を実施すべきである。また、SIRSの概念にてらせば過剰な免疫反応をコントロールするためにステロイドの

使用も考慮すべきだと考える。臨床獣医師として本症を治療する時は、病初においては感染症としてよりも自己免疫疾患としての側面からとらえる方が理解しやすいかもしれない。病勢の進行がきわめて早い本症の診断・治療には迅速性が求められるが、裏を返せば6時間後に再診することによって初診時の治療内容の是非を知ることができる。炎症反応は時間軸にそった動的な現象であるので、そのことを念頭において病態を把握することは効果的な治療のために不可欠なことであり、そしてよりよい治癒に結びつくものと確信している。

## 参 考 文 献

- 1) Smith, K. L., et al.: Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention, *J. Dairy Sci*, 68, 1531-1553 (1985)
- 2) Hill, A.W., et al.: The pathogenesis of experimental *Escherichia coli* mastitis in newly calved dairy cow, *Res. Vet. Sci*, 26, 97-101 (1979)
- 3) Menzies, F.D., et al.: Clinical and laboratory findings in cases of toxic mastitis in cows in Northern Ireland, *Vet. Rec*, 147, 123-128 (2000)
- 4) Morrison D. C. and Ryan J. L.: Endotoxins and disease mechanisms. *Annu. Rev. Med*, 38, 417-432 (1987)
- 5) Moore, F. A.: Evolving concepts in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure, *Surg. Clinical. North. Am*, 75, 257-277 (1995)
- 6) Prins JM, et al: Antibiotic-induced endotoxin release in patients with gram-negative urosepsis: A double-blind study comparing imipenem and ceftazidime, *J Infect Dis*, 172:886-891 (1995)
- 7) Mock CN, et al: Clinical significance of antibiotic endotoxin-releasing properties in trauma patients, *Arch Surg*, 130, 1234-1241 (1995)
- 8) 萩原精一, 岡田洋之: 北海道の農業共済組合直営診療所における乳牛臨床型大腸菌性乳房炎の抗菌性物質療法と治癒した牛の割合の関連, *日獣会誌*, 57, 170-174 (2004)
- 9) Shenep JL, et al.: Role of antibiotic class in the rate of liberation of endotoxin during therapy for experimental gram-negative bacterial sepsis, *J Infect Dis*, 151, 1012-1018 (1985)
- 10) Chow JC, et al: Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *J Biol Chem*, 274, 10689-10692 (1999)
- 11) Van de putte-Van Messom G., et al.: Classification of newly calved cows into moderate and severe responders to experimentally induced *Escherichia coli* mastitis, *J. Dairy Res*, 60, 19-29

- (1993)
- 12) Bouchard L., et al.: Nitric oxide production during endotoxin-induced mastitis in the cow, *J.Dairy Sci*, 82, 2574-2581 (1999)
  - 13) Hirvonen J., et al.: Acute phase response in dairy cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis, *Acta.Vet. Scan*, 40, 35-46 (1999)
  - 14) Hoeben D., et al.: Role of endotoxin and TNF- $\alpha$  in the pathogenesis of experimentally induced coliform mastitis in periparturient cows, *J. Dairy Res*, 67 503-514 (2000)
  - 15) Shuster D.E., et al.: Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis, *J.Dairy Sci*, 74 3746-3774 (1991)
  - 16) Weiss, S. J.: Tissue destruction by neutrophils, *N. Engl. J. Med*, 320, 365-376 (1989)
  - 17) van Asbeck, B. S.: Oxygen toxicity: role of hydrogen peroxide and iron. *Adv. Exp. Med. Biol*, 264, 235-246 (1990)
  - 18) Mehrzad, J., et al.: Proteases involved in mammary tissue damage during endotoxin-induced mastitis in dairy cows, *J. Dairy Sci*, 88, 211-222 (2005)
  - 19) K. Lauzon, et al.: Deferoxamine Reduces Tissue Damage During Endotoxin-Induced Mastitis in Dairy Cows, *J. Dairy Sci*, 89, 3846-3857 (2006)



# 重度喘鳴音と呼吸困難を伴った黒毛和種の一症例

市 場 聖 治  
(受付：平成 19 年 12 月 14 日)

## A Japanese black calf with severe wheezing accompanied by dyspnea

ICHIBA SHINJI

Miyoshi Veterinary Clinical Center, P.F.A.M.A.A.  
3-6-36, Tokaichi-higashi, Miyoshi, Hiroshima 728-0013

### SUMMARY

We encountered a 93-day-old Japanese black calf with severe wheezing accompanied by dyspnea as major symptoms. Medical treatment with an antiphlogistic and antibiotic was performed 11 times, but the symptoms did not improve. Healing was not expected due to emaciation, and a disease diagnosis was requested. Fracture of the bilateral ribs and compression of the left subclavian artery and trachea by the fractured ribs were observed. Tracheal collapse due to the compression may have produced the above symptoms.

### 要 約

主要症状として、重度喘鳴音と呼吸困難を伴った生後 93 日齢の黒毛和種子牛に遭遇した。消炎剤、抗生剤等による 11 回の内科療法を試みるも、症状の改善なく消瘦のため治癒見込みないと診断、病性鑑定を実施依頼した。その結果、左右肋骨骨折を認め、その骨折により左鎖骨下動脈と気管の圧迫が認められた。これにより気管虚脱に陥り、本症状を発症したものと診断した。

### は じ め に

重度喘鳴音と呼吸困難を伴う疾病として、鼻腔内腫瘍、咽頭炎、喉頭炎、マイコプラズマ性肺炎などがある。

今回、本症状を主徴とする症例に遭遇したので、以下報告する。

### 材料および方法

#### 1. 患畜の概要

三次市 K 農家、黒毛和種子牛、雄、平成 18 年 2 月 20 日に尾位下胎向、過大胎児のため整復介助にて娩出

される。出生時は、両前肢突球、犬肩（脇がゆるい）を認め両後肢にも軽度突球を認めた。起立不能のため自力哺乳できず、出生 9 日目に両前肢ギブス処置にて改善、出生 38 日目に一般症状良好のため治癒とした。

#### 2. 発症から経過治療

稟告：咳がひどく異常音を出す。特に寝ているとき生後 93 日目より加療：発育良好、体温 38.8～39.8℃、喘鳴音および発咳著明（喘息様）呈し呼吸困難、肺胞音粗励認め抗生剤、消炎剤等にて 11 回にわたり診察加療する。

生後 127 日目：発症より 34 日目，症状改善なく消瘦のため治療見込みないと診断，病性鑑定実施依頼する。

## 成 績

### 1. 病性鑑定

#### 1) 病理解剖所見

左第一肋骨の骨折，右第一肋骨から第四肋骨に骨折が認められた。左第一肋骨の骨折部は仮骨形成を伴い，ピンポン球状の捻珠状を呈し，これにより左鎖骨下動脈の圧迫変形と気管の変形を認めた（写真1）。同時にこの変形は右第一肋骨の，くの字状の陥没骨折により，右側からの圧迫も認めた（図1）。右第二・三肋骨も陥没骨折を認め（写真2），これら気管の持続的圧迫より，気管は虚脱を呈していた（写真3）。右第四肋骨は完全骨折し，断端は胸腔内に突出を認めた（写真4）。その他，鼻腔内，諸臓器，消化器等の肉眼的異常病変は，認められなかった。

### まとめ及び考察

今回の症例は，娩出時の難産により肋骨骨折を発症し，成長と共に骨折部の仮骨形成が進行，これにより左鎖骨下動脈及び気管が持続的に圧迫され，そのため気管虚脱に陥り，喘鳴音と呼吸困難を発したものと診断した。過去の類似症例としては，運天らの報告<sup>1)</sup>がある。

肋骨骨折の原因は，過大胎児と産道狭窄，それと同時に急激な過度の牽引により，一過性の強大な負荷が胸部にかかり，骨折したものと考えられた。これらのことから，今後は，過大胎児で産道狭窄を伴う場合は，本症を誘発させないためにも人工羊水を使用し，産道を十分湿潤させた状態で慎重に助産を開始すべきで，娩出困難と思われる場合は，早急に帝王切開を実施すべきであると考えられた。

現在では，娩出後の子牛及び新生子牛の診察にあたっては，左右肋骨の触診，圧診を実施し骨折の有無を確認している。また第一肋骨の骨折が疑われる場合は，安静加療と同時に，仮骨形成に伴う炎症を最小限に抑える目的で消炎剤，抗生剤の継続加療を試みるべきと

考えている。また気管虚脱様疾患にたいしての治験報告として，松下らは気管支拡張剤と粘液溶解剤の同時経口投与にて，有効性を確認したと報告<sup>2)</sup>している。

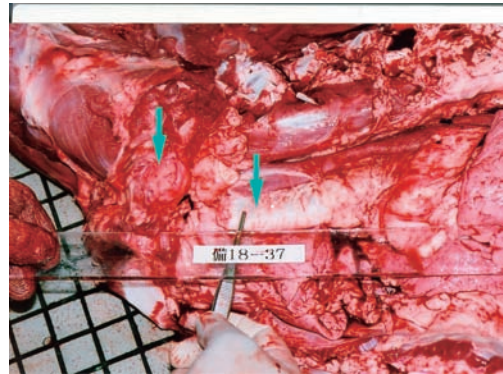


写真1 左肋骨のピンポン球状の捻珠状病変と変形した気管

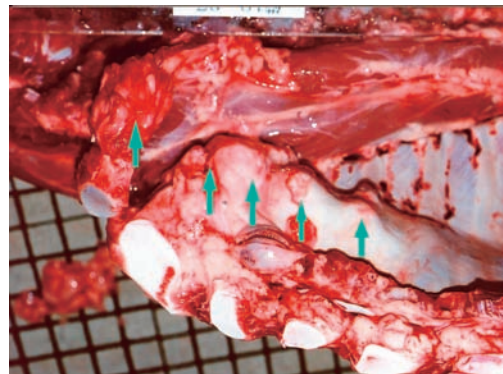


写真2 左第一肋骨と右第一～四肋骨の骨折病変



写真3 持続的圧迫により気管虚脱呈する

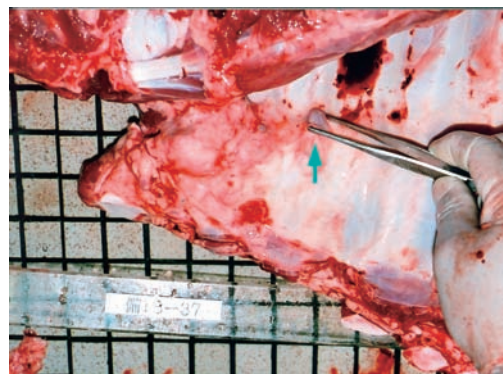


写真4 骨折端が胸腔に突出した右第四肋骨



図1 第一胸椎・胸部断面模式図

謝 辞 文 献

稿を終わるにあたり、病性鑑定を実施していただき、貴重なご助言いただきました備北家畜保健衛生所の諸先生方に深謝いたします。

- 1) 運天朝哉ら：家畜診療, 488, 124 (2004)
- 2) 松下俊彦ら：家畜診療, 321, 35 ~ 38, (1990)

# 顆粒膜細胞腫を発症した黒毛和種成牛の受胎例

玉川 朋治<sup>1)</sup> 明見 高三<sup>1)</sup> 上川 美鶴<sup>1)</sup> 篠塚 康典<sup>2)</sup>

(受付：平成 19 年 12 月 12 日)

## Conception in a Japanese black cow after resection of a granulosa cell tumor

TOMO HARU TAMAGAWA<sup>1)</sup>, TAKAMI MYOKEN<sup>1)</sup>, MITSURU KAMIKAWA<sup>1)</sup>, YASUNORI SHINOZUKA<sup>2)</sup>

1) Akitakata Veterinary Clinical Center Hiroshima P.F.A.M.A.A. 1775, Hongo,  
Midori-cho, Akitakata, Hiroshima 731-0612

2) Yamagata Veterinary Clinical Center Hiroshima P.F.A.M.A.A. 461-1, Haruki,  
Kitahiroshima-cho, Yamagata-gun, Hiroshima 731-1531

### SUMMARY

We surgically resected a granulosa cell tumor in a Japanese black cow, and observed normal estrus after 32 days. Artificial insemination was performed, and conception was confirmed. In this cow, neither swelling/congestion of the external genital organs nor abnormal estrous behavior was observed, and the blood progesterone and estrogen concentrations were low. The resected tumor was histologically benign and appeared to have developed in the ovary. The proliferation pattern of tumor cells resembled that of a Sertoli cell tumor, and a diagnosis of granulosa cell tumor (Sertoli cell type) was made.

### 要 約

黒毛和種成牛に発症した顆粒膜細胞腫を外科的に摘出。その後 32 日目には正常な発情が認められ人工授精を実施し受胎を確認した。本症例は、外陰部の腫大や充血、異常な発情行動が無く、血中プロゲステロンおよびエストロゲン濃度も低値であった。摘出した顆粒膜細胞腫は、組織学的に良性の腫瘍で卵巣を原発とするものと思われる。腫瘍細胞の増殖パターンがセルトリ細胞腫に類似しており、顆粒膜細胞腫（Sertoli 細胞型）と診断した。

### はじめに

顆粒膜細胞腫は牛の卵巣腫瘍で最も多く認められる<sup>1)</sup>。一般に片側性で、腫瘍からホルモンを分泌し異常発情を示す機能的なもの、無症状のまま経過する非機能的なものに分けられる。発生は比較的高齢

牛に多く、罹患卵巣の摘出により生殖機能を回復した例も報告されている<sup>2)</sup>。

今回、黒毛和種成牛に発症した卵巣腫瘍を、直腸検査および超音波検査の所見より診断し、外科的に摘出した後、早期に生殖機能の回復を認めたので報告する。

1) N O S A I 広島 安芸高田家畜診療所 (〒 731-0612 広島県安芸高田市美土里町本郷 1775)

2) N O S A I 広島 山県家畜診療所 (〒 731-1531 広島県山県郡北広島町春木 461-1)



## 材料と方法

症例は、1998年11月24日生まれの黒毛和種繁殖牛で、産歴は7産、最終分娩2006年2月23日と繁殖成績は良好であったと推察された。

2006年4月21日、分娩後2ヶ月で自然発情による人工授精を実施。同年6月14日、直腸検査により不受胎を確認した。その際に、右卵巢周辺に弾力性があり表面がわずかに凸凹した小児頭大の腫瘤を触診した。左卵巢および子宮には特に異常は認められなかった。

その後6月21日に超音波検査を実施。超音波検査による腫瘤の断層像が境界明瞭で充実感を示した。そのため直腸検査と超音波検査の所見から卵巢腫瘍と診断した。一般的な臨床症状は無く、4月の人工授精から無発情のまま経過していたため、卵巢腫瘍の発育が早いと判断し、直ちに腫瘍の摘出手術を実施した。摘出した卵巢腫瘍は病理組織学的検索を行った。また、腫瘍摘出手術前後の血中プロゲステロンおよびエストロゲン濃度の測定も行った。

## 成 績

### 1. 卵巢腫瘍摘出手術

本症例は右卵巢の腫瘍であったため右臍部切開による摘出を行った。創外に腫瘍を誘導し(写真1)、血管・卵管・靱帯等を結紮した後切除した(写真2)。

写真3は、摘出した卵巢腫瘍を示す。大きさは横19.7cm×縦15cm×幅9cm卵円形で表面はわずかに凹凸し、ゴム様の硬さを呈していた。表面には小濾胞が認められた。

写真4は、腫瘍の割断面を示す。断面は淡黄色で充実感のある実質が認められた。



写真1 右臍部切開により創外に誘導された腫瘍。

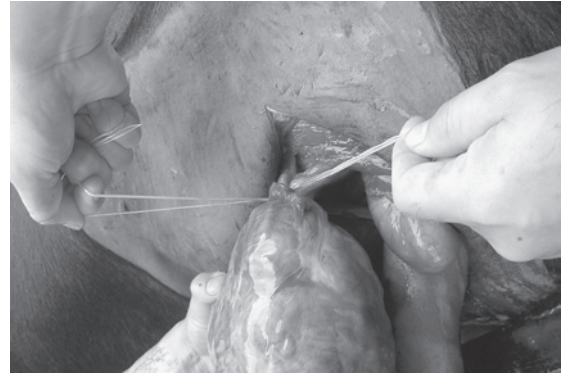


写真2 創外にて血管・卵管および靱帯等の結紮を行った。



写真3 摘出した腫瘍;表面はわずかに凹凸し、小濾胞を認める。

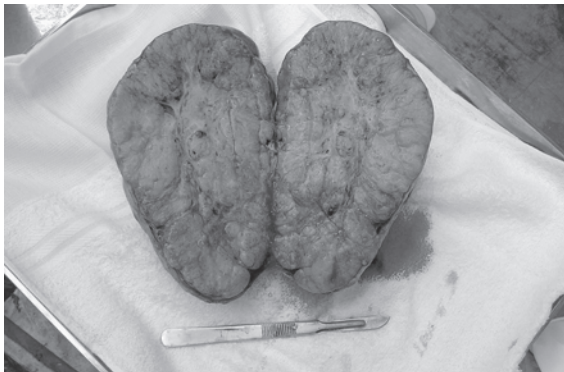


写真4 腫瘍の割断面;淡黄色で充実した実質を認める。

### 2. 病理組織学的所見

腫瘍組織は全体を厚い結合組織に被われ、小葉状構造を形成しながら内部へ充実性に増殖していた(図1)。右下に小濾胞、腫瘍組織内には微小出血と石灰沈着が認められた。

本腫瘍に見られる腫瘍細胞の増殖パターンは管状であり、柵状に結合組織で隔てられ増殖が認められた。これはセルトリ細胞腫に類似した形状で本腫瘍の見られる特徴的な病理組織像であった(図2)。

腫瘍細胞は紡錘形で、細胞質は空砲化し境界の不明瞭なものが多く認められた。核は大きな卵円形で明瞭な核仁を有し、核の異型性や核分裂像は認められていない<sup>3)</sup>(図3)。



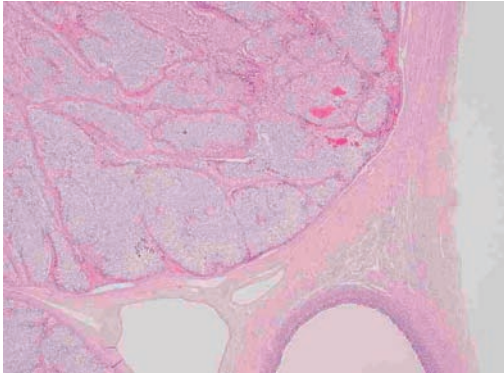


図1 本腫瘍の腫瘍組織像；小葉状構造を形成、内部へ充実性に増殖  
図の右下に小濾胞、腫瘍組織内には微小出血と石灰沈着を認める。(H-E染色, ×50)

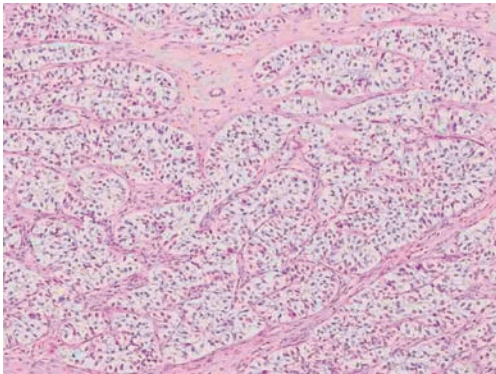


図2 本腫瘍に認められた腫瘍細胞の増殖パターンを示した病理組織像  
セルトリ細胞腫に類似している。(H-E染色, ×200)

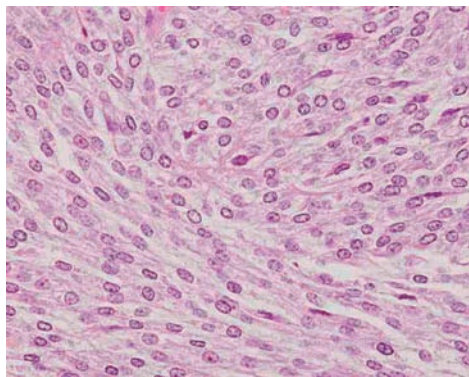


図3 本腫瘍の腫瘍細胞；細胞質は空胞化し、境界は不明瞭。  
核は大きな卵円形で核の異型性や核分裂像は見られない。(H-E染色, ×400)

### 3. 血中ホルモン濃度

血中プロゲステロン (P<sub>4</sub>) 濃度は、腫瘍摘出前で 1.4ng/ml、腫瘍摘出後の左卵巣に黄体が存在した状態で 4.2ng/ml と上昇を認めた。また、血中エストロゲン (E<sub>2</sub>) 濃度は卵巣腫瘍摘出前後ともに 8pg/ml 以下であった。

### 4. 術後経過

手術翌日、切除部位がソフトボール大に腫大していた。これは結紮した部位に一時的に血腫が生じたためと推察された。しかしながら、手術後9日目にはゴル

フボール大に縮小した。術後21日目に子宮内に粘液感を認めたため、イソジンの子宮内注入を実施。術後32日目に正常な発情が認められ人工授精を行った。術後94日目には、直腸検査により受胎を確認した。

2007年5月5日正常分娩(♀)し、その後に異常は認められていない。2007年8月1日には自然発情により人工授精を実施、その後卵巣腫瘍摘出後2子目も受胎を確認した。

## 考 察

今回摘出した腫瘍は、病理組織学的所見から顆粒膜細胞腫 (Sertoli 細胞型) と診断した<sup>1), 3)</sup>。

組織学的には、腫瘍細胞の自己融解像や外被膜への浸潤像が無く、核の異型性や核分裂像も認められないため、良性の腫瘍で卵巣を原発とするものと思われた<sup>3), 4)</sup>。

本腫瘍は淡黄色で充実した実質が一見黄体様であったが、腫瘍摘出前の血中プロゲステロン濃度は低値を示した。また外陰部の腫大や充血、異常な発情行動が認められず、腫瘍摘出前の血中エストロゲン濃度も低い値を示したことから、本腫瘍からはプロゲステロンおよびエストロゲンの産生は無かったと推察された。しかし、顆粒膜細胞腫からは、インヒビンが分泌され血中濃度が上昇するという報告がある<sup>5)</sup>。今回は測定に至らなかったが、本腫瘍からもインヒビンの分泌は存在し、腫瘍摘出により血中のインヒビン濃度が低下したことで、下垂体前葉のFSH分泌抑制作用が無くなり、速やかな生殖機能の回復へ導かれたと考えられた。

牛の顆粒膜細胞腫はこれまででも数多く報告されている<sup>2), 5)</sup>。しかし、異常な発情兆候の乏しい卵巣腫瘍の発見は遅く、臨床的に診断される際に巨大な腫瘍を形成し摘出困難となる罹患牛が多い<sup>6)</sup>。本症例は発見が比較的早く、腫瘍摘出も即座におこなわれたため、速やかに正常な発情が回帰し、受胎に至ったものと考えられた。

## 文 献

- 1) 本胖, 藤原公策ほか: 家畜病理学各論, 第14版 196-197, 朝倉書店出版, 東京 (1995).
- 2) 清沢岩水, 川上治夫: 乳牛の卵巣顆粒膜細胞腫の外科的治験例について, 家畜診療, 212, 25-27 (1981).
- 3) Donald J, Meuten, et: Tumor in Domestic Animals, Third Edition, 504-506, Iowa State Press (2002).
- 4) 板倉智敏, 後藤直彰ほか: 獣医病理組織カラーアトラス, 第3版, 122, 文永堂出版, 東京 (1994).
- 5) 猪熊道仁, 大澤健司ほか: 顆粒膜細胞腫に罹患した黒毛和種牛2例の内分泌学的検索, 日獣雑誌, 59,

- 746-749 (2006).  
6) 菊池薫, 岡田啓司ほか: 乳牛の分娩直後に認められた顆粒膜細胞腫, 日獣雑誌, 48, 541-543 (1995).

# 牛ウイルス性下痢ウイルス遺伝子型 1 型および 2 型の抗体調査

恵谷 美江 山本 武

(受付：平成 19 年 12 月 14 日)

## Survey of antibodies against bovine viral diarrhea virus types 1 and 2

MIE EYA, TAKESHI YAMAMOTO

Higashi-Hiroshima Livestock Health & Hygiene Service Center Hiroshima  
Prefecture 1-15, Saijogojo-cho, Higashi-Hiroshima, Hiroshima

### SUMMARY

We performed a survey on the prevalence of antibodies against bovine viral diarrhea virus (BVDV) gene type 1 (type 1 hereafter) and type 2 (type 2) in Hiroshima Prefecture. As a result, the titers of both types 1 and 2 antibodies were less than 1 : 2 in 47.5% (57/120 animals), and type 1 antibody was present in 46.7% (56/120 animals). There were animals with a risk of infection and those with type 1 or 2 antibody alone, showing that both types 1 and 2 had entered the prefecture.

To prevent the spread of BVDV, the production of antibodies by vaccination to prevent infection and the development of the disease may be the most important step.

### 要 約

広島県内における牛ウイルス性下痢ウイルス（以下、BVDV）の BVDV 遺伝子型 1 型（以下、1 型）および遺伝子型 2 型（以下、2 型）の抗体保有状況を調査した。その結果、1 型および 2 型とも、抗体価 2 倍未満の検体が 47.5%（57/120 頭）、1 型の抗体を保有する検体が 46.7%（56/120 頭）であり、感染の危険性のある検体が認められた。また、1 型および 2 型抗体のみを保有している検体が認められ、1 型、2 型とも県内に侵入していることが明らかとなった。

今後、BVDV まん延防止対策として、ワクチン接種により抗体を賦与させ、感染、発症予防することが最重要と考えられた。

### 序 文

牛ウイルス性下痢粘膜病（以下、BVD-MD）は、牛ウイルス性下痢ウイルス（以下、BVDV）によって引き起こされる疾病である。その症状は軽度の呼吸器症状および下痢から死亡率の高い粘膜病および異常産な

ど、多様な形態が認められる<sup>1)</sup>。現在、BVDV は生物型で細胞病原性と非細胞病原性に、また、遺伝子型で BVDV1 型（以下、1 型）と BVDV2 型（以下、2 型）に分類されている<sup>1)</sup>。従来、県内では 1 型の分離報告がされていた<sup>4) 8)</sup>。しかし、近年、北米において出血性病変を特徴とする高死亡率を示す 2 型の存在が明ら

かとなっており<sup>2)</sup>、日本国内でもこのウイルスの分離報告がされている<sup>5)</sup>。

広島県内では過去に1型による集団発生事例<sup>3)</sup>や持続感染牛の摘発事例の報告<sup>4)</sup>がなされており、1型は県内に広く浸潤していると考えられる。

今回、県内におけるBVDVの実態を把握する目的で、1型および2型の抗体保有状況を調査したので報告する。

### 材料および方法

平成16、17年度家畜伝染病予防事業（牛発生子察事業）で採材した6月分余剰血清、各60検体、計120検体を用いた。調査した検体120頭の品種および月齢の内訳は図1に示したとおり、両年度とも、品種では乳用牛が6割を占め、月齢では9ヶ月齢までの牛が9割以上を占めた。

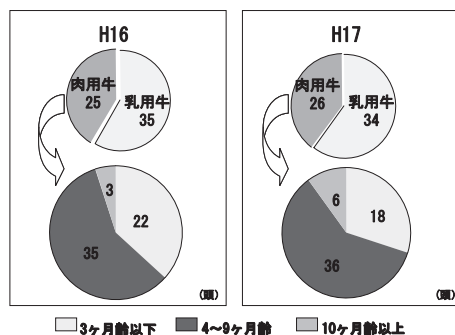


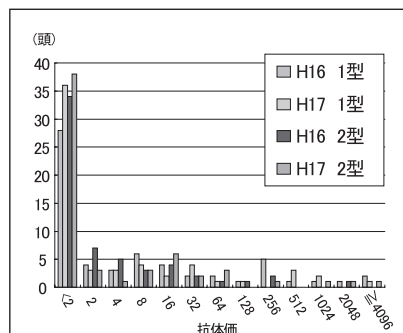
図1 品種・月齢の内訳

BVDVの抗体検査は、牛胎子筋肉細胞（BFM細胞）を用いた中和試験で行い、血清は最高希釈倍率4096倍まで行った。使用ウイルスは、1型はワクチン株であるNose株、2型は石川県で分離されたKZ91CP株<sup>5)</sup>を用い、実施後、37℃7日間の静置培養を行った後、判定した。

### 成績

平成16年及び平成17年度別の抗体価の分布を表1に示した。両年度とも遺伝子型にかかわらず2倍未満から4096倍以上までの抗体価が認められた。抗体価

表1 抗体保有状況



分布は、1型、2型とも抗体価2倍未満の検体が半数以上を占め、2倍以上においては特異的な抗体分布は認められなかった。

検体別の1型と2型の抗体保有状況を表2に示した。1型、2型ともに抗体価2倍未満の検体は、平成16年度で40.0%（24頭）、平成17年度で55.0%（33頭）であった。

一方、抗体が認められた検体では1型の抗体を保有する検体は平成16年度で53.3%（32頭）、平成17年度で40.0%（24頭）で、2型の抗体を保有する検体は、平成16年度で43.3%（26頭）、平成17年度で36.7%（22頭）であった。また、1型、2型を同時に保有する検体が平成16年度で36.7%（22頭）、平成17年度で31.7%（19頭）と全体の約3分の1を占め、残りの1～2割がいずれかの抗体を保有する検体であった。

1型、2型を同時に保有する検体の抗体価を比較したところ、平成16年度では1型が高い検体がほとんど占められていたが、平成17年度では1型が高い検体と2型が高い検体がほぼ同数となった。

2型の抗体のみを保有する検体は、平成16年度で6.7%（4頭）、平成17年度で5.0%（3頭）であった。

表2 検体別の1型と2型の保有抗体の比較

	H16	H17
1, 2型共に<2	24 (40.0)	33 (55.0)
1型抗体のみ	10 (16.7)	5 (8.3)
2型抗体のみ	4 (6.7)	3 (5.0)
1型, 2型共に保有	22 (36.7)	19 (31.7)
1型>2型	19 (31.7)	9 (15.0)
内訳		
1型<2型	2 (3.3)	8 (13.3)
1型=2型	1 (1.7)	2 (3.3)

単位：頭 (%)

### 考察

BVD-MDについては、様々な病態があるにもかかわらず、粘膜病以外の症状は顕著に認められないことから、この疾病対策を重要視する畜産農家は少ない。しかしながら、BVDVは妊娠期間中に感染することにより、胎仔が持続感染牛となって生まれ、この持続感染牛は常時ウイルスを排出するために農場汚染を拡大させ、経営に損失を及ぼす事から、全国的に撲滅疾病として取り組んでいる<sup>6)</sup>。

今回我々は平成16年度及び平成17年度家畜伝染病予防事業（牛発生子察事業）により広く県内から採材された血清を用い、同県におけるBVDVの浸潤状況を調査した。その結果、抗体価にばらつきはあるものの、従来の1型の抗体を保有する検体が約半数を占めた。一方、筆者らが行った県内のBVDV抗体保有状況<sup>7)</sup>の調査から、平成12年度から平成16年度にかけては1型の抗体保有率が年々上昇し、県内に広く浸潤していると危惧され、このことから、今後BVDVに感染をする危険性が高まっていると考えられる。2型抗



体のみを保有している検体が認められたことや1型、2型の抗体を保有した検体においても1型に比べ2型の抗体が高い検体が認められたことから、広島県内へも2型が侵入している事が示唆された。

県内におけるBVDVまん延防止対策としては、1型および2型を含むワクチン接種を乳用牛、肉用牛ともに徹底し、抗体を賦与させる事が最重要と考えられるが、粘膜病を発症する事以外の症状が顕著に認められないことから、畜産農家にこの疾病対策についての理解が低い傾向にある。しかし、BVD-MDは様々な病態があるために顕在化した時には対策が困難なため、事前対応型の対策を講じていく事が必要である。

今後もスクリーニング検査を継続して情報の収集と、現状分析を行い、畜産農家へのBVDVの侵入予防、持続感染牛の摘発、淘汰指導に活用できるよう努めたい。

## 引用文献

- 1) 亀山健一郎他：持続感染牛により撒播される牛ウイルス性下痢・粘膜病，臨床獣医 Vol.22, No. 2：10～12 (2004)
- 2) Pellerin, C. et al.:Virology 203, 260～268 (1994)
- 3) 山下秀之他：牛ウイルス性下痢—粘膜病の集団発生例，日獣会誌 45, 919～923 (1992)
- 4) 日高英子他：乳用牛におけるBVD-MD持続感染牛の摘発，広島県獣医学会雑誌第20号, 31～33 (2006)
- 5) Nagai M, Sato M, Nagano H, et al.:Vet Microbiol, 60, 271～276 (1998)
- 6) 安富一郎他：北海道湧別町における牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) に対する取り組み，臨床獣医 Vol. 24, No. 2：14～18 (2006)
- 7) 恵谷美江他：牛呼吸器病に関与するウイルスの県内抗体保有状況，第42回広島県畜産業績発表会収録 (2004)
- 8) 井口かおり他：肥育牛に認められた牛ウイルス性下痢ウイルス1持続感染例，第43回広島県畜産業績発表会収録 (2005)



# ウシ体外受精胚のガラス化保存

尾形 康弘<sup>1)</sup> 日高 健雅<sup>1)</sup> 松重 忠美<sup>1)</sup> 前田 照夫<sup>2)</sup>

(受付：平成 19 年 12 月 18 日)

## Cryopreservation of *in vitro*-produced bovine embryos by vitrification

YASUHIRO OGATA<sup>1)</sup> TAKEMASA HIDAKA<sup>1)</sup> TADAMI MATSUSHIGE<sup>1)</sup> TERUO MAEDA<sup>2)</sup>

1) Hiroshima Prefectural Technology Research Institute Livestock Technology  
Research Center 584, Nanatuka-cho, Shobara, Hiroshima 727-0023

2) Hiroshima University 1-4-4, Kagamiyama, Higashi-hiroshima, Hiroshima  
739-8528

### SUMMARY

*In vitro*-derived bovine embryos are more sensitive to freezing than *in vivo*-derived embryos. Therefore, for the wide-spread use of *in vitro*-derived embryos, their method of preservation should be improved.

We compared the survival rate, changes in cell number, and conception rate after preservation/thawing of *in vitro*-derived embryos in the blastocyst stage between the conventional slow-cooling and vitrification (microdroplet) methods.

Vitrification increased the survival rate of embryos after thawing. The total number of cells, the number of inner cell masses, and that of trophoblasts 24 hours after thawing were higher using the vitrification method. Due to these increases in the embryo survival rate and cell number, the conception rate also markedly increased.

These results suggest the practical usefulness of the cryopreservation of *in vitro*-derived bovine embryos by the microdroplet method.

### 要 約

ウシ体外受精胚は、体内受精胚に比較して凍結に対する感受性が高い。

広く普及させるためには、胚の保存方法を改善する必要がある。

従来の緩慢凍結法とガラス化法（マイクロドロプレット）で、ウシ体外受精由来胚盤胞期胚の保存・融解後の生存性や細胞数の変化及び受胎性を比較した。

ガラス化保存法の利用により、融解後の胚の生存性が高まった。

融解後 24 時間目の総細胞数とそれを構成する内細胞塊及び栄養膜細胞ともにガラス化保存区の細胞数が増加した。

1) 広島県立総合技術研究所 畜産技術センター（〒 727-0023 広島県庄原市七塚町 584）

2) 広島大学大学院生物圏科学研究科（〒 739-8528 広島県東広島市鏡山 1-4-4）

胚の生存性と細胞数が増加したことにより、受胎性も大きく改善された。

以上のことより、ウシ体外受精胚のマイクロドロプレット法による保存は十分実用化可能なことが示された。

## 序 文

超音波画像診断装置と経膈用プローブを用い、生きたウシから反復して卵胞内卵子を採取する経膈採卵<sup>1)</sup>と体外受精・培養技術の利用によって個体識別可能な体外受精胚の生産とその産子が数多く誕生している。

しかしながら体外で生産された受精胚は、体内受精胚と比較すると、細胞数が少ないこと<sup>2)</sup>や細胞質内の脂肪酸組成の違い<sup>3)</sup>から、凍結保存を行ったときの耐凍性が低く<sup>4)</sup>、結果的に受胎率も体内受精胚より10%程度低く<sup>5)</sup>なっている。高濃度の耐凍剤と超急速冷却を組み合わせたガラス化保存法は細胞質内の氷晶形成がないため<sup>6)</sup>、胚の生存性が格段に改善される可能性が高い。今回、我々は、従来の緩慢凍結法からガラス化保存法の1つであるマイクロドロプレット法<sup>7)</sup>を胚盤胞期胚に適した処理方法に改良して、ウシ体外受精胚の保存・融解後の生存性や受胎性をどの程度改善できるか実験を行い良好な成績が得られた。

## 材料と方法

### 【卵子採取と成熟培養】

実験に用いたウシ未成熟卵子は、当センターに繋養している黒毛和種経産牛10頭からの経膈採卵もしくは、と体卵巣からの吸引採取によって集めた。

経膈採卵は、超音波画像診断装置（アロカ社 SSD-1200）に経膈穿刺用コンベックス探触子（アロカ社 UHT-9106-7.5）を装着し、ダブルルーメンニードル（クック社 K-OPSD-1760）及び卵子吸引システム（クック社 K-MAR-5115）を用いて行った。

生体内卵子の回収は3%ウシ胎児血清（FCS）及び1.8ユニット/mlのヘパリンを添加した乳酸加リンゲル液を用いた。

卵子は吸引圧115mmHg、吸引速度0.10ml/minの条件で卵胞液を吸引した。

採取した卵子は、10%FCS添加M2液で3回以上洗浄した後、体外成熟培地に移した。

体外成熟は、TCM-199（GIBCO）に10%FCS（三光純薬 KPH21772）、0.12mg/ml卵胞刺激ホルモン（川崎三鷹製薬：FSH）と50ng/ml上皮性成長ホルモン（Sigma E-1264:EGF）を添加した培地で38.5℃、5%CO<sub>2</sub>、95%airの条件下で22～24時間培養を行った。

### 【体外受精】

体外受精は、当センターの常法に従い、凍結精液を

用いて、精子濃度を6～12×10<sup>6</sup>/mlに調整して媒精を6時間行った。媒精後72時間目までmSOF培地+3mg/mlウシ血清アルブミン（Sigma A-4378:BSA）+0.25mg/mlリノール酸アルブミン（Sigma L-8384）で38.5℃、5%CO<sub>2</sub>、5%O<sub>2</sub>、90%N<sub>2</sub>の低酸素条件下で培養し、それ以降は、mSOF培地+10%FCS（三光純薬 KPH21772）+0.25mg/mlリノール酸アルブミンで38.5℃、5%CO<sub>2</sub>、95%airの条件下でVero細胞との共培養を行った。

媒精日を0日として7日目に胚盤胞期胚以上に発生したものを実験に用いた。

### 【受精胚の保存】

緩慢凍結は、ダルベッコPBS溶液に5%エチレングリコール（和光純薬 054-00983）、6%プロピレングリコール（和光純薬 164-04996）、0.1モルサッカロース（和光純薬 196-00015）に20%FCSを添加したものに受精胚を浸漬し、5分間平衡した後、-3℃のアルコールバス式プログラムフリーザーにセットし、-7℃までを-1.0℃/minで冷却し、-7.0℃で植氷を行い、10分間維持した後-0.3℃/minの冷却速度で-30℃まで緩慢冷却した。-30℃で10分間維持した後、液体窒素にストローを浸漬し凍結保存を行った。

融解は、エアースウイングを7秒間行った後、37℃に保たれたウォーターバスにストローを投入し融解し、37℃に暖めた20%FCS添加TCM-199溶液に保存液と胚を流し込んだ。3回以上洗浄した後、mSOF培地+10%FCS+0.25mg/mlリノール酸アルブミン（Sigma L-8384）で38.5℃、5%CO<sub>2</sub>、95%airの条件下でVero細胞との共培養を行った。

ガラス化保存は、胚盤胞期胚を10%エチレングリコールと20%FCS添加TCM-199の前平衡液に5分間静置した後、ガラス化保存液30%エチレングリコールと20%FCS及び1.0モルサッカロースを添加した、M2液に30秒間浸漬した後、液体窒素内に胚とともに滴下し、約5μlのドロップにした。

融解は、0.3モルサッカロース添加M2液に90秒静置した後、20%FCS添加M2液で3回以上洗浄し、mSOF培地+10%FCS+0.25mg/mlリノール酸アルブミンで38.5℃、5%CO<sub>2</sub>、95%airの条件下でVero細胞との共培養を行った。

### 【受精胚移植】

胚移植は、発情日を0日として7日後に新鮮、緩慢凍結とガラス化保存した胚を融解後、生後13～20ヶ

月齢の未経産ホルスタイン種の黄体側子宮角に頸管經由法で行った。

妊娠診断は、妊娠 30 日齢（移植後 23 日目）に超音波画像診断装置を用いて、胎仔心拍の確認をもって妊娠と判定した。

## 成 績

体外受精胚を凍結及びガラス化保存し、融解 24 時間後の生存率は、新鮮胚で、100% (43/43)、緩慢凍結区 84.3% (102/121) とガラス化区 97.1% (34/35) でガラス化区は、緩慢凍結区より有意に高い生存性を示していた (表 1)。

表 1 ウシ体外受精胚の保存・融解後の生存性

試験区	供試胚数	24h 生存数	生存率 (%)
新鮮胚	43	43	100.0 <sup>a</sup>
緩慢凍結	121	102	84.3 <sup>b</sup>
ガラス化	35	34	97.1 <sup>a</sup>

※異符号間で有意差あり (p<0.05)

融解後 24 時間目の体外受精胚の総細胞数は、新鮮胚で 163.4 ± 63.5 細胞 (43 胚)、緩慢凍結区 116.5 ± 41.9 細胞 (70 胚)、ガラス化区 145.0 ± 27.1 細胞 (32 胚) で新鮮胚に比べ、他の 2 区は有意に細胞数が少なかった (表 2)。また、ガラス化区は、緩慢凍結区と比較して有意に細胞数が多かった。

表 2 保存胚融解 24h 後の総細胞数

試験区	供試胚数	総細胞数
新鮮胚	41	163.4 ± 63.5 <sup>a</sup>
緩慢凍結	70	116.5 ± 41.9 <sup>b</sup>
ガラス化	32	145.0 ± 27.1 <sup>c</sup>

※異符号間で有意差あり (p<0.05)

融解後 24 時間目の内細胞塊は、新鮮胚で 52.6 ± 23.4 細胞 (43 胚)、緩慢凍結区 34.4 ± 20.7 細胞 (70 胚)、ガラス化区 48.8 ± 18.8 細胞 (32 胚) でガラス化区は緩慢凍結区と比較して有意に細胞数が多くなっていた。

融解後 24 時間目の栄養膜細胞数は、新鮮胚で 110.8 ± 24.5 細胞 (43 胚)、緩慢凍結区 82.1 ± 27.6 細胞 (70 胚)、ガラス化区 96.1 ± 20.2 細胞 (32 胚) でガラス化区は緩慢凍結区と比較して有意に細胞数が多かった (図 1)。

融解後 24 時間目の総細胞数に対する内細胞塊の割合 (内細胞塊比率) は、新鮮胚、32.1%、緩慢凍結区 29.5%、ガラス化区 33.7% でガラス化区が高い傾向にあった (表 3)。

保存した体外受精胚の受胎率は、新鮮胚 68.4% (13/19 頭)、緩慢凍結区 38.9% (7/18 頭)、ガラス化区 83.3% (10/12 頭) でガラス化区が緩慢凍結区に比較して有意に高い受胎率であった (表 4)。

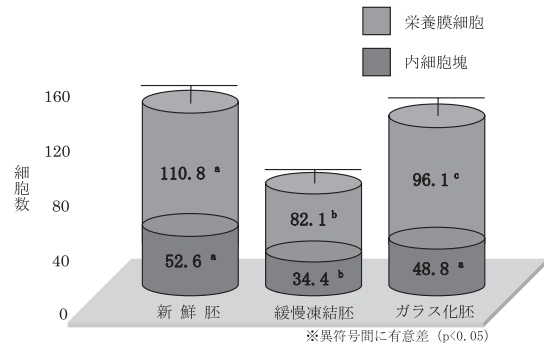


図 1 保存胚の融解後 24 時間目の細胞数

表 3 保存胚融解 24h 後の総細胞数に占める内細胞塊の割合

試験区	供試胚数	平均総細胞数	平均内細胞塊	内細胞塊比率
新鮮胚	41	163.4	52.6	32.1%
緩慢凍結	70	116.5	34.4	29.5%
ガラス化	32	145.0	48.8	33.7%

※内細胞塊比率 = (平均内細胞塊 / 平均総細胞数) × 100

表 4 保存したウシ体外受精胚の受胎性

試験区	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
新鮮胚	19	13	68.4 <sup>a</sup>
緩慢凍結	18	7	38.9 <sup>b</sup>
ガラス化	12	10	83.3 <sup>a</sup>

※異符号間で有意差あり (p<0.05)

## 考 察

エチレングリコールを用いたダイレクト移植液が報告<sup>8) 9)</sup>されてから、それまでグリセリン中心だった受精胚の凍結保存液は大きな変革を遂げた。

しかしながらそれは、耐凍性の比較的高い体内受精胚では有効であったが、体外で生産された受精胚の受胎性は体内胚に比較して一般的に劣る傾向にあった<sup>10)</sup>。

胚の保存法そのものではなく、培養方法を改善することで、胚の耐凍性向上に対する試みがいくなされてきている<sup>11) 12) 13)</sup>。

胚を構成する脂肪酸量を変化させるため培養後期にリノール酸アルブミンを添加すること<sup>11)</sup>や脂肪顆粒の大きさやその質を変化させるため、子牛血清を添加せず血清フリーの培地で培養することや<sup>12)</sup>、活性酸素を抑制するためにメルカプトエタノールを加えること<sup>13)</sup>は効果的な方法である。今回我々も、これらを添加したり、共培養により体外受精胚の品質改善を行っているが、完全に克服することはできなかった。

これらと平行してウシ胚の保存方法も新しい手法が開発され、哺乳動物ではじめて Rall ら<sup>14)</sup>がガラス化保存に成功して以来、1991 年に桑山ら<sup>15)</sup>がウシ体外受精胚での報告を行い、ガラス化保存法は広く行われるようになってきている。

ガラス化法は、耐凍剤の濃度を 50% 以上に高めるこ



とで、氷晶形成が起きない状態にし、保存する液量を限界まで少量化することにより、冷却速度を超速にすることで無結晶構造の保存を可能にしている<sup>16)</sup>。

ガラス化法には、マイクロドロプレット法の他にオープンブドストロー法<sup>17)</sup>、ゲルローディングチップ法<sup>18)</sup>及びクライオループ<sup>19)</sup>など多くの方法が考えられている。

今回、我々が使用したマイクロドロプレット法も1999年にPapisら<sup>7)</sup>が報告している方法を胚盤胞期胚に適合するように改良したものであり、前処理液と保存液の耐凍剤濃度を変化させて、胞胚腔を形成した胚の耐凍性を高めている。

我々の行った緩慢凍結は、保存液に0.1モルのサッカロースを添加することで、体外受精胚の予備脱水を促進させ、氷晶形成を抑制させても融解後24時間目の胚の生存性は84.3%であった。

福島ら<sup>20)</sup>は、グリセリンで凍結した体外胚では体内胚と同様に、冷却過程の脱水に伴う溶液効果や加温時の浸透圧衝撃に対する抵抗性が低いため、体外受精由来胚盤胞期胚の生存性が低下したと示しており、グリセリンより細胞透過性の高いエチレングリコールを用いても抵抗性は大きく変わらないと考えられる。

特に胞胚腔を形成した胚盤胞期胚は、脱水が十分にできないため、生存性が高くならず、融解後の細胞数も少なくなったと考えられる。

実際、今回の実験でも、総細胞数は、緩慢凍結区116.5 ± 27.1細胞、ガラス化区145 ± 41.9細胞と29ポイントほど有意に低下していた。

これに対し、ガラス化保存した胚盤胞期胚の生存性は、97.1%とほぼ100%に近く、他のガラス化法と同様に高い生存性<sup>21)</sup>を示していた。

10%のエチレングリコールによる前処理と30%のより少ないエチレングリコールによるガラス化保存で、細胞の予備脱水が促進され、エチレングリコールの細胞毒性も弱められた結果、生存性とその後胚細胞数の減少抑制が実現できたと考えられる。

移植する胚盤胞期胚の細胞数、その中でも特に内細胞塊の細胞数が受胎性と特に関係していると岩崎ら<sup>22)</sup>も示唆しているように、今回の我々の実験でも、ガラス化保存された胚盤胞期胚の内細胞塊は、ガラス化区48.8 ± 18.8細胞、緩慢凍結区34.4 ± 20.7細胞と14.4ポイント多く、総細胞数に占める内細胞塊比率は、緩慢凍結区29.5%と比べ新鮮胚32.2%、ガラス化区33.7%となっており、これが受胎性を向上させる要因のひとつになっていると考えられる(写真1)(写真2)。

しかし、ガラス化保存法は、直接移植が難しく、いくつかの方法<sup>23)</sup>を除いては、実験室内で融解後、ストローに充填しなおして移植する必要がある。

これらの問題点を解決しようと、いくつか試みられているが、実用化レベルまでは到達しておらず、今後この分野の研究の発展が期待されている。

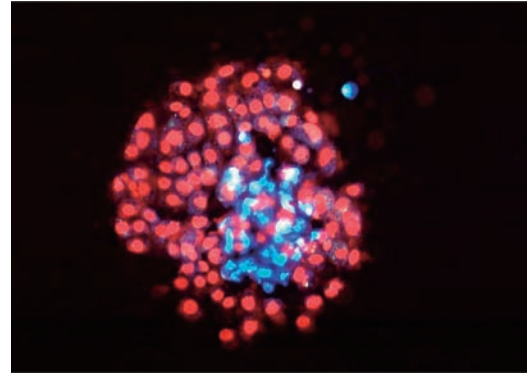


写真1 緩慢凍結融解胚の二重染色像

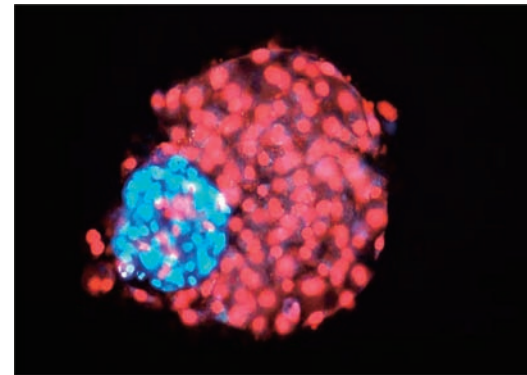


写真2 ガラス化融解胚の二重染色像

今回用いたマイクロドロプレット法でも新鮮胚と同様の受胎性を確認することができ、ウシ体外受精由来の胚盤胞期胚も新鮮胚と同様に利用できることがわかり利便性も大きく前進した(写真3)。

今後これらに直接移植可能な技術を組み合わせ、人工授精と同じように利用できればさらに実用性が増すと考えられる(写真4)。

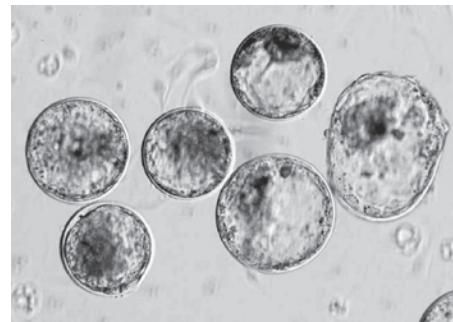


写真3 ガラス化保存・融解後の体外受精胚



写真4 ガラス化保存胚由来産子

文 献

- 1) Pieterse, M.C.et.al.:Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*, 35, 19-24(1991)
- 2) 岩崎説雄:体外受精由来ウシ胚の品質に関する研究, *J. Reoprod. ev.* 38, 109-119(1992)
- 3) Abe. H. et al.:Fine structure of bovine morulae and blastocysts in vivo and in vitro. *Anat. Embryol*, 199, 519-527(1999)
- 4) Pollard. J. W. and Leibo. S. P.:Comparative cryobiology of in vitro and in vivo derived bovine embryos. *Theriogenology*, 39, 287(1993)
- 5) 農林水産省生産局畜産部ホームページ家畜生産 ET チャレンジ 50 達成機関 (平成 17 年度)
- 6) 葛西孫三郎:受精卵の凍結保存—緩慢法とガラス化法—, *家畜人工授精*, 183, 12-21(1997)
- 7) Papis, K. et al.:Factors affecting the surviability of bovine oocytes vitrified in doroplets. *Theriogenology*, 54, 651-658 (2000)
- 8) 堂地修ら:ウシ胚の Direct Transfer 法による移植. *北海道牛受精卵移植研究会会報*, 10, 36-40 (1991)
- 9) Voelkel, S, A and Hu, Y, X,:Direct transfer of frozen-thawed bovineembryos. *Theriogenology*, 37, 23-37 (1992)
- 10) Hasler, J. F. et al.:Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Threogenology*,, 43, 141-152 (1995)
- 11) 保地眞一:リノール酸アルブミンによる体外受精由来ウシ胚の耐凍性増強効果. *日本胚移植学雑誌*, 21, 101-104 (1999)
- 12) Abe, Y.:Ultrastructure of development embryos developed from in vitro - matured and - fertilized oocytes : Comparative morphological evaluation of embryos cultured either in serum-free medium or serum-supplemented meduim. *Mol. Reprod. Dev.* 53, 325-335 (1999)
- 13) Takahashi, M, et al : Effect of tiol compounds in vitro development and intracellular gulutathione content of bovine embryos. *Biol Reprd* 49, 228-232 (1993)
- 14) Rall, W. F. and Fahy, G. M.:Ice free cryopreservation of mouse embryos at -196℃ by vitrification. *Nature*, 313, 573-575 (1985)
- 15) Kuwayama. M. et. al.:Vitrification of bovine blastocysts obtained by in vitro culture of oocytes matured and fertilized in vitro. *J. Reprod. Fert*, 96, 187-193 (1992)
- 16) 葛西孫三郎:哺乳動物における卵子及び胚のガラス化保存. *日本胚移植学雑誌*, 23, 12-17 (2001)
- 17) Vajta, G., et al.:Open pulled straw (OPS) vitrification : a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. *Mol Reprod, Dev*, 51, 53-58 (1998)
- 18) Tominaga. K. and Hamada, Y.:Gel-loading tip as container for vitrification of in vitro produced bovine embryos. *J, Reprod, Dev.* 47, 267-273 (2001)
- 19) Lane, M.,et. al : Vitrification of mouse and human blastocysts using a novel cryoloop container-less technique. *Fertil. Steril.*, 72, 1073-1078 (1999)
- 20) 福島護之ら:ウシ体外受精由来胚盤胞の凍結能についての特性. *J. Reprod. Dev.* 38, 49-54 (1992)
- 21) 窪田力ら:牛胚のガラス化凍結法の検討, *鹿児島県肉用牛改良研究所研究報告書*, 5, 15-18 (2000)
- 22) Iwasaki S, et. al : Morphology and propotion of inner cell mass of bovine blastocysts fertilized in vitro and in vivo. *J, Reprod, Fertil*, 90, 279-284 (1990)
- 23) Ishimori. H. et. al.:Factors affecting survival of mouse blastocysts vitrified by a mixture ofetylenglycol and dimethilsulufoxide. *Theriogenology*, 38, 1175-1185 (1992)



# 黒毛和種牛群におけるミトコンドリア DNA の多様性

日高 健雅<sup>1)</sup> 福馬 敬紘<sup>2)</sup> 辻 紗弥香<sup>3)</sup> 松重 忠美<sup>1)</sup> 尾形 康弘<sup>1)</sup>

(受付：平成 19 年 12 月 18 日)

## Diversity of mitochondrial DNA of Japanese black cattle

TAKEMASA HIDAKA<sup>1)</sup> TAKAHIRO FUKUMA<sup>2)</sup> SAYAKA TSUJI<sup>3)</sup>

TADAMI MATSUSHIGE<sup>1)</sup> YASUHIRO OGATA<sup>1)</sup>

- 1) Hiroshima Prefectural Technology Research Institute Livestock Technology Research Center 584, Nanatuka-cho, Shobara, Hiroshima 727-0023
- 2) Hiroshima Prefectural Technology Research Institute Hiroshima Cattle Improvement Center 2188, Otsu, Yuki, Jinnsekikougenn-cho, Hiroshima, 720-1812
- 3) Hiroshima Prefectural Technology Research Institute 1-6-29, Minami-cho, Minami-ku, Hiroshima, 734-0007

### SUMMARY

As part of a survey of the influences of the mtDNA of recipient ova on cloned cattle, we investigated the distribution of the mtDNA types of female Japanese black cattle in Hiroshima Prefecture. Blood samples were obtained from 350 Japanese black calves on the market, and the D-loop region of mtDNA was analyzed and classified into types. There were 44 D-loop variants in the base sequence of this region and 41 haplotypes. These haplotypes were further classified into 6 types. Type I was observed in 209 calves (59.7%), type II in 37 (10.6%), type III in 6 (1.7%), type IV in 38 (10.9%), type V in 36 (10.3%), and type VI in 24 (6.9%). This type distribution differed from that in other prefectures and also among regions with Hiroshima Prefecture. It is possible that differences in the mtDNA type distribution are associated with the characteristics of female cattle in each region. In addition, since some mtDNA types were confirmed in Japanese black cattle, there is a possibility that the arrangement of the same mtDNA type between donor cells and the recipient cytoplasm can prevent abnormalities due to differences in the mtDNA type in clone production.

---

1) 広島県立総合技術研究所 畜産技術センター (〒 727-0023 広島県庄原市七塚町 584)  
2) 広島県立総合技術研究所 広島牛改良センター (〒 720-1812 広島県神石郡神石高原町油木乙 2188)  
3) 広島県立総合技術研究所 保健環境センター (〒 734-0007 広島県広島市南区皆実町 1-6-29)

## 要 約

レシピエント卵子の mtDNA がクローン牛へ及ぼす影響調査の一環で、県内和牛繁殖雌牛の mtDNA のタイプとその分布状況を調査した。市場出荷された黒毛和種子牛 350 頭の血液を採材し、mtDNA の D-loop 領域の解析とタイプ分けを行った。mtDNA の D-loop 領域の塩基配列に 44 ヶ所の変異を認め、41 種類のハプロタイプが判明した。このハプロタイプは 6 タイプに分けられ、タイプ I が 59.7% (209 頭) と最も多く、タイプ II が 10.6% (37 頭)、タイプ III が 1.7% (6 頭)、タイプ IV が 10.9% (38 頭)、タイプ V が 10.3% (36 頭)、タイプ VI が 6.9% (24 頭) であった。タイプの分布割合は、他県と比較して異なり、県内においても地域差が認められた。mtDNA タイプの分布割合の違いが、地域の雌牛の特性に現れている可能性が示唆された。また、黒毛和種に複数の mtDNA タイプが確認されたことから、ドナー細胞とレシピエント細胞質の mtDNA タイプを揃えることにより、mtDNA タイプの相違によるクローン生産における異常を予防できる可能性が示唆された。

## 序 文

広島県では、経膈採卵・体外受精と核移植技術を組み合わせたクローン検定による種雄牛造成システムを開発<sup>1)</sup>し、種雄牛造成の効率化を図っている。クローン検定は、体外受精した 2 細胞期胚を人為的に分割して、一方を胚盤胞まで発生させた後移植し、産子を種雄牛候補とするとともに、もう一方は桑実期胚まで発生させた時点で核移植のドナー細胞として用い、複数頭のクローン牛を生産して産肉能力検定に供するものである。クローン検定では通常種々の牛から採取したレシピエント卵子を用いるため、核 DNA は同一であっても、細胞質は異なるクローン牛が生産される。

細胞質内にはミトコンドリアが存在し、細胞核の DNA とは別に独自の DNA (ミトコンドリア DNA : mtDNA) を持っている。mtDNA はエネルギーの生産に関わる情報を有しており、個体の経済形質等に及ぼす影響が示唆されている。Boettcher ら<sup>2)</sup>は、乳牛において生乳生産量に細胞質が影響しているとし、万年<sup>3) 4)</sup>は肉用牛において mtDNA のタイプに分けた群間に脂肪交雑などの経済形質に有意な差が認められたと報告している。クローン牛の mtDNA はレシピエント細胞質の mtDNA を受け継ぐため、その mtDNA がクローン牛に影響を及ぼす可能性があり、クローン検定の精度への影響が懸念される。そのため、我々はレシピエント細胞質の mtDNA がクローン胚及びクローン牛へ及ぼす影響を調査中である。今回は、県内和牛繁殖雌牛の mtDNA のタイプ、タイプごとの分布状況を調査した。

## 材料および方法

### 1 DNA サンプル

mtDNA 解析用の DNA サンプルは子牛市場に出荷さ

れる牛の血液とした。統計的に母集団のデータ解析に必要なサンプル数を計算し、年間に市場出荷される子牛約 3000 頭の 1 割に当る 350 頭から血液を採取した。

### 2 DNA の調整

血液から採取した白血球に ProteinaseK (20mg/ $\mu$ l) 10  $\mu$ l, 2% SDS16  $\mu$ l, 10  $\times$  PCR Buffer 40  $\mu$ l, 蒸留水 318  $\mu$ l を加え、50 度で 1 晩加温した。その後 95 度で 15 分加熱後クロロホルム処理、エタノール沈殿を行い DNA を抽出した<sup>5)</sup>。得られた DNA は吸光度を測定し 20ng/ $\mu$ l に希釈調整した。

### 3 塩基配列の決定

塩基配列の解析は安部らの報告<sup>6)</sup>によって実施した。Anderson ら<sup>7)</sup>によって決定されたウシ mtDNA の塩基配列の番号に基づき、D-loop 領域 15792bp から 354bp の領域を対象に行った。領域の増幅は PCR 法により行い、プライマーの塩基配列はフォワードを ATATCACCATCGGACAAC, リバースを CCTAGATGAGTCTCCAAC とした。反応産物は QuickStep2 PCR purification kit (Edge Biosystems) を用いて精製し、シーケンス反応のテンプレート DNA とした。シーケンス反応は、Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit ver.3.1 (Applied Biosystems) を用いてプロトコルに従って行った。プライマーは Bmit01F (GAAACTGCA GTCTACC), Bmit04F (TATGCCCATGCA TATAAGCAA), Bmit06F (TGGCTAATCAGC CCATGCTCA) を使用した。塩基配列は ABIPRISM377DNA Sequencer (Applied Biosystems) で電気泳動し、Sequencing Analysis 3.1 (Applied Biosystems) により解析し、それを基に UPGMA 法により系統樹を作成した。

## 成 績

### 1 mtDNA の D-loop 領域の塩基配列

突然変異の箇所と内容を表1に示した。表はAndersonら<sup>7)</sup>が報告したウシのmtDNAの塩基配列番号、変異内容を示し、わかりやすいようにそれぞれの変異にアルファベットで記号をつけた。この記号をもとにD-loopのハプロタイプを表2に示した。

D-loop領域の変異を調べたところ44カ所で突然変異を認め、これらの変異から41のハプロタイプが判明した。このハプロタイプの塩基配列に基づき系統樹を作成したところ、これらのハプロタイプは大きく6つのタイプに区分できた(図1)。タイプIは表1における変異B・I・Uを持つ個体からなる群で、タイプIIはI・Uを持つがBは持たない群、タイプIIIはD、タイプIVはM、タイプVはf、タイプVIはRを持つ群となっている。

表1 変異箇所と変異名

変異箇所	変異	変異名	変異箇所	変異	変異名
16019	T→C	A	15910	T→C	a
16042	T→C	B	16142	T→C	b
16050	C→T	C	16197	G→A	c
16055	T→C	D	16260	C→T	d
16057	G→C	E	106	T→C	e
16058	C→T	F	221	★→C	f
16088	A→G	H	16231	C→T	g
16093	G→A	I	350	G→★	h
16104	C→T	J	15847	★→A	i
16112	T→C	K	16049	C→T	j
16116	T→C	L	16084	C→T	l
16119	T→C	M	16057	G→A	p
16122	T→C	N	16146	A→G	q
16185	G→A	O	16125	A→G	r
16200	G→A	P	16247	C→T	s
16250	A→G	Q	16296	T→C	t
16255	T→C	R	190	C→T	u
16294	T→C	S	16072	T→C	y
16302	G→A	U	16196	G→A	α
16308	T→C	V	328	A→G	γ
8	G→A	W	16138	T→C	σ
166	A→G	X			
169	A→G	Y			

変異箇所の数字はAnderson et al(1982)に基づいたミトコンドリアDNAの塩基配列番号

表2 ミトコンドリアD-loop領域のハプロタイプと頭数

ハプロタイプ	頭数	ハプロタイプ	頭数
BILUY	2	IUY	5
BIUWY	11	qIUY	1
BIUY	146	afDKNY	6
BUY	1	IMY	1
eBINUY	3	MY	31
eBIUY	6	sMY	1
efBIUVY	13	bcMY	1
fBIUVY	2	tMY	2
fBIUY	5	MUY	2
fhBIUY	1	ef	6
gBIUY	1	efNY	3
hBIUY	8	efNY	12
hyBIUY	1	efW	1
hσBIUY	1	f	1
iBIUY	3	fNY	13
pBIUY	1	eCRY	18
sBIUY	1	ejCRY	1
uBIUY	2	EORY	2
γBIUY	1	erCRY	1
dIUY	5	eαCRY	2
fIUY	26	合計	350

タイプIが59.7% (209頭)と最も多く、タイプIIが10.6% (37頭)、タイプIIIが1.7% (6頭)、タイプIVが10.9% (38頭)、タイプVが10.3% (36頭)、タイプVIが6.9% (24頭)であった。

## 2 地域間の比較

万年ら<sup>7)</sup>が報告した宮崎県、兵庫県、岩手県におけるmtDNAタイプの分布を比較したものを表3に示した。万年らの報告ではタイプは5つに分類されているが、広島県では6つに分類された。広島県では他県と比較し、タイプIIが10.6%と多く、タイプIVが10.9%と少ない傾向を示した。県平均と県内の黒毛和種繁殖雌牛の飼養が盛んな地域であるS市、M市、J町を比較した場合、S市においてタイプIIが県平均より有意に多く、M市ではタイプV、VIが多い傾向を示した(表4)。

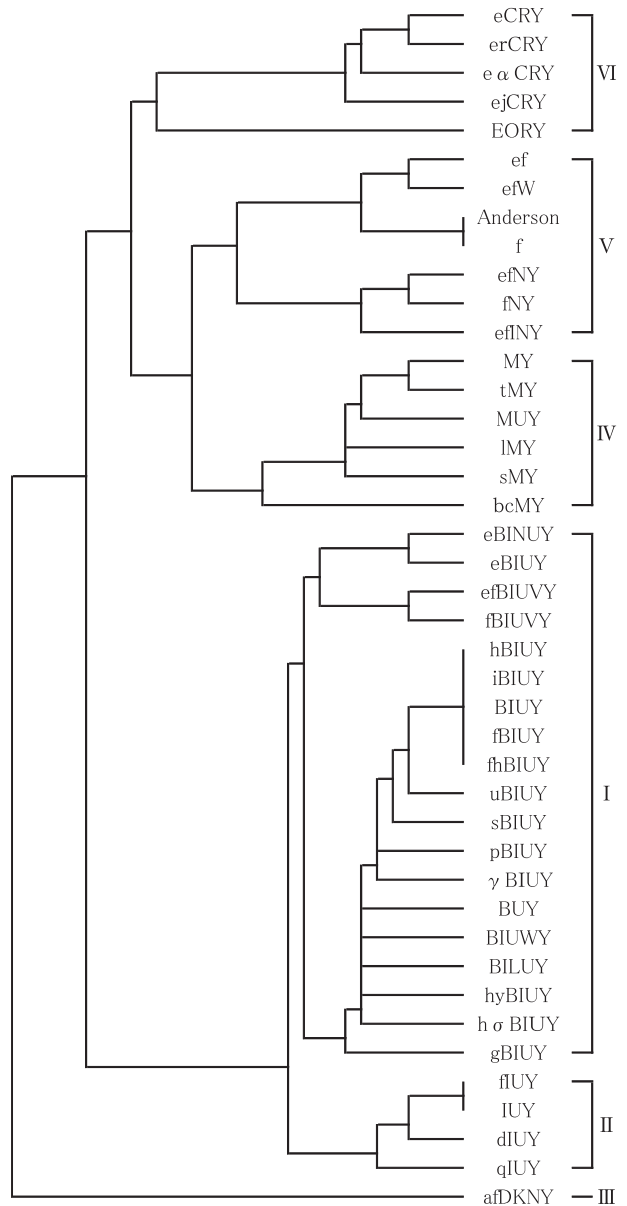


図1 系統樹

表3 タイプ別分布割合の比較 (%)

	広島県	宮崎県*	兵庫県*	岩手県*
Iタイプ	59.7	64.4	61.8	63.2
IIタイプ	10.6	2.9	4.1	2.9
IIIタイプ	1.7	1.0	0.8	0.6
IVタイプ	10.9	10.7	23.6	18.4
Vタイプ	10.3	20.9	9.8	14.9
VIタイプ	6.9			

\*:Mannen et al.,2000

表4 県平均と主要地域のタイプ別分布割合の比較 (%)

	県	S市	M市	J町
Iタイプ	59.7	60.0	55.3	65.8
IIタイプ	10.6 <sup>a</sup>	18.1 <sup>b</sup>	5.3	7.9
IIIタイプ	1.7	2.9	2.6	0.0
IVタイプ	10.9	7.6	2.6	7.9
Vタイプ	10.3	5.7	18.4	5.3
VIタイプ	6.9	5.7	15.8	13.2

異符号間に有意差あり(P<0.05)

## 考 察

クローン検定は従来の育種選抜手法に比べ検定期間の大幅な短縮化など検定効率の向上並びに省力化を可能にする手法として期待されている。また、近年の核移植技術の進展により核移植産子の生産効率も体外受精由来胚の成績に近いものになり、クローン検定の実用化が可能になっている。しかし、核移植胚作出において、ドナー細胞とレシピエント卵子に由来が異なる卵子を用いる場合があるため、核DNAと細胞質の由来が異なる核移植胚や核移植産子が作出されることになり、胚の発生や産子の発育等への影響が懸念される。

また、クローン作出時には流死産や過大子などの異常が発生することがある。ミトコンドリアの機能に必要な多くのタンパク質は、核にコードされた遺伝情報に依存しているため、クローン作出時の異常の要因の一つとしてドナー細胞とレシピエント細胞質のmtDNAの相違が考えられている。今回、黒毛和種における複数のmtDNAタイプの存在が確認されたことから、ドナー細胞とレシピエント細胞質のタイプを揃えmtDNAの正確に複製されるようにすることによりクローン作出時に認められた異常を予防できる可能性が示唆された。

広島県内で飼養される黒毛和種繁殖雌牛のmtDNA

タイプは6タイプに分類され、他県と比較して異なる分布割合を示した。また県内においてもタイプごとの分布割合に地域差が認められた。mtDNAタイプの分布割合の違いが、地域の雌牛の特性に現れている可能性があり、牛の育種改良においてmtDNAのような雌の遺伝情報の活用が有効である可能性が示唆された。

今後、mtDNAタイプと育種価データを比較検討するとともに、核DNAは同一でmtDNAが異なるクローン牛間の表現型を比較検討することにより、クローン作出時の異常発生の予防法やmtDNAの影響について明らかにしたい。

## 文 献

- 1) 尾形ら：クローン技術を利用した種雄牛造成の効率化，広島県獣医学会雑誌，20，11-15(2005)
- 2) Boettcher, P.J, et. al.: Relationships between Polymorphism for mitochondrial deoxyribonucleic acid and yield traits of holstein cows. Journal of Dairy Science, 79, 647-654, (1996)
- 3) Mannen, H, et. al.: Effect of mitochondrial DNA variation on Carcass traits of Japanese black cattle. Journal of Animal Science, 76, 36-41, (1998)
- 4) Mannen, H, et. al.: Identification of mitochondrial DNA substitutions related to meat quality in Japanese Black cattle. Journal of Animal Science, 81, 68-73, (2003)
- 5) 古川ら：DNAマーカーを指標とした牛の育種手法の開発に関する研究(第1報)，岡山県総合畜産センター研究報告，15, 34-38 (2004)
- 6) 安部ら：体細胞核移植技術によって作出された黒毛和種種雄牛のミトコンドリアDNA D-loop領域多型による個体識別，島根畜試研報，36, 38-41 (2003)
- 7) Anderson, S., et. al.: Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. Journal of molecular biology, 156, 683-717 (1982)
- 8) 万年ら：黒毛和種集団におけるミトコンドリアDNAの多様性，日本畜産学会報，71, J470-J474 (2000)



# $\beta$ ブロッカーが有効であった猫の閉塞性肥大型心筋症の 1 例

園田 康広<sup>1)</sup> 長谷川 孝寿<sup>2)</sup>

(受付：平成 19 年 10 月 22 日)

## A cat with hypertrophic obstructive cardiomyopathy in which a $\beta$ -blocker was effective

YASUHIRO SONODA<sup>1)</sup>, TAKAHISA HASEGAWA<sup>2)</sup>

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

2) Misasa Animal Hospital 8-11, Misasakita-mati, Nisi-ku, Hiroshima-si 733-0066

### SUMMARY

A 9-year-old crossbred cat was brought to our hospital due to cardiac murmur detected at another hospital. Since echocardiography showed outflow tract stricture due to thickening of the septal base in the left ventricular outflow tract and systolic anterior motion (SAM), a diagnosis of hypertrophic obstructive cardiomyopathy (HOCM) was made. The administration of a Ca channel blocker improved the hemodynamics but reduced the QOL. The drug was changed to a  $\beta$ -blocker, which improved both the hemodynamics and QOL.

### 要 約

9 歳齢雑種猫が、他院にて診察の際に心雑音があるとのことで来院した。心エコー検査により心筋の左室流出路中隔基部肥厚による流出路狭窄、収縮期前方運動 (SAM) が確認されたため、閉塞性肥大型心筋症 (HOCM) と診断した。治療薬として Ca チャネルブロッカーを用いたが血行動態に改善は認められたものの、QOL の低下をきたした。次に、 $\beta$  ブロッカーに変更したところ、血行動態、QOL 共に改善された。

### 序 文

人の肥大型心筋症 (HCM) は左心室の自由壁、乳頭筋および中隔壁が求心的に肥大することで心内腔は狭小化し、心拍量の低下をきたす疾患である。そのうち、左室流出路障害が認められる心臓病疾患を HOCM と称し心室中部狭窄症とは区別されている。猫においても人と同様に HCM が存在し、HOCM と心室中部狭窄

症があることが報告されている。人の場合 HOCM の治療は外科・内科等様々な治療法が検討されている。一方、猫の HOCM の治療はほとんどが内科の薬物治療であり  $\beta$  ブロッカー、Ca チャネルブロッカー、ACE 阻害剤、利尿剤等が用いられている<sup>1) 2) 3)</sup>。

今回、無症候性 HOCM と診断した猫に Ca チャネルブロッカーと  $\beta$  ブロッカーを投与し、それぞれの有効性を比較検討した。

1) 園田動物病院 (〒 731-0101 広島県広島市安佐南区八木 2-19-50)

2) 三篠動物病院 (〒 733-0066 広島県広島市西区三篠北町 8-11)

## 症 例

雑種猫，9才，雄，去勢済みで，過去に他院にて会陰尿道瘻設置術を受けていた。他院にて診察を受ける際に心雑音を指摘され当院を紹介。体重6.4 kg 体温38.7 心拍数240で左室胸壁よりLevine (Ⅲ/Ⅵ)の収縮期心雑音が聴取された。また血圧140mmHgで臨床状は特に認められなかったことでISACHC (International Small Animal Cardiac Heart Council) Iと判断した。

## 検 査

### 1. 血液検査

血液検査ではTP8.0g/dl, カリウム3.3mmol/lと若干増減あったが，特に大きな変化は認められなかった。また，猫白血病ウイルス抗原と猫免疫不全ウイルス抗体は陰性であった。総血清サイロキシシン (T4) は2.17 μg/dlと正常であった。

### 2. 胸部X線検査

胸部レントゲンではラテラル像においてと心臓の卵円形の拡大，VD像において両房の拡大から猫のHCMでしばしば認められるバレンタインハートが観察された。また，肺動静脈については特に異常は認めなかった (写真1)。

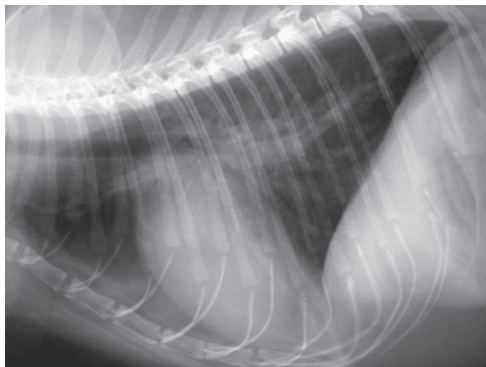
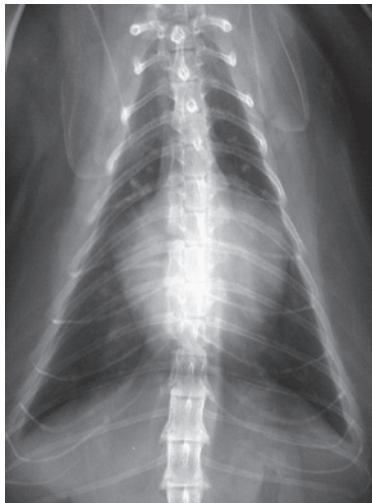


写真1 胸部X線検査  
ラテラル像において心臓の卵円形の拡大 (VHS11)，VD像においてバレンタインハート (CTR80%) が観察される

### 3. 心電図検査

心拍は洞性調律でPR間隔が0.1秒と第1度房室ブロックが認められた。平均電気軸は+30°であった。

### 4. 心エコー検査

拡張期の心室中隔基部壁厚 (IVSd) は0.86cm，左室後壁厚 (LVPWd) は0.65cmで，非対称性中隔肥大が認められた。また，左室流出路をふさぐように心室中隔基部が肥厚しているのが観察された。その他，左房の拡張も認められた (写真2)。

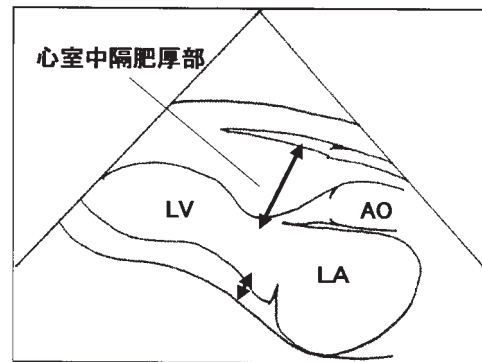
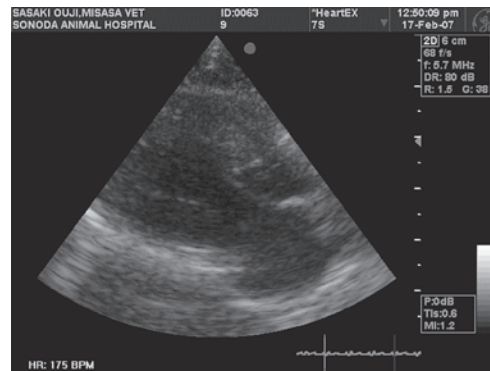


写真2 心エコー検査 Bモード左室長軸像検査  
LA:左心房 LV:左心室 AO:大動脈  
左室流出路をふさぐように心室中隔基部が肥厚しているのが観察される

僧房弁の前尖は収縮期に心室中隔側に前尖が引き寄せられる収縮期前方運動 (SAM) が確認された (写真3)。

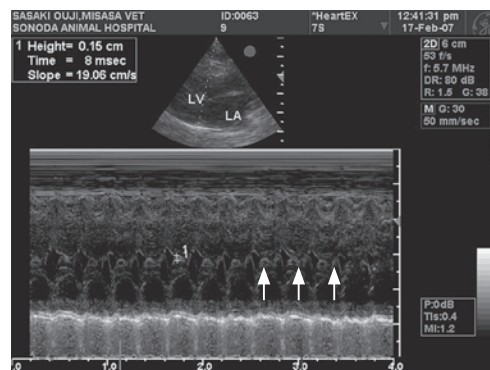


写真3 心エコー検査 Mモード検査  
左室流出路をふさぐように前尖 (矢印) が引き寄せられる収縮期前方運動 (SAM) が観察される

心エコーカラードップラー検査では中等度の僧房弁逆流と左室流出路狭窄が観察された (写真4)。

治 療

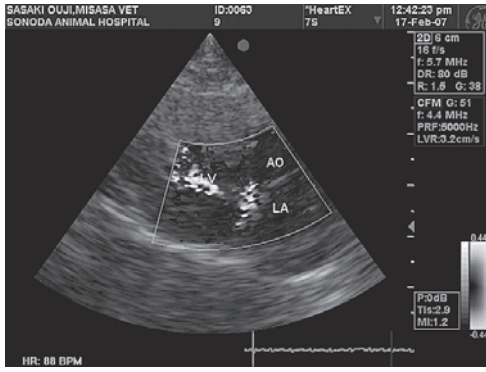


写真4 心エコー検査 カラードップラー検査  
大動脈(AO)左心房(LA)それぞれにモザイクパターンが観察され、SAMによって引き起こる流出路狭窄の出現時期と一致した。

連続波ドップラー法で測定した左室流出路狭窄最大流速は毎秒4.5mで、圧較差は81mmHgと推定された。またその波形のピークは収縮後期であった(写真5)。

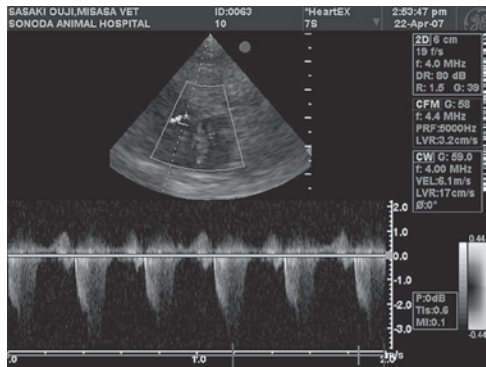


写真5 心エコー検査 左室流出路連続波ドブラ検査  
左室流出路狭窄最大流速は毎秒4.5mで、圧較差は81mmHgと推定された。

以上、聴診上で収縮期雑音、レントゲンで心臓拡大、エコーで左房拡張(左房径/大動脈径の増大)、僧房弁閉鎖不全、SAMと心筋の非対称性肥大(左室流出路中隔基部肥厚)による流出路狭窄が認められることから、無症候性のHOCMと診断した。

第1病日より心筋の収縮力抑制を期待しCaチャンネルブロッカーであるアムロジピン、その他、心筋低酸素状態の改善にジピリダモール、代謝物質不足予防にタウリンを処方した。第7病日には臨床症状的に特に変わらないとの事であったが、エコー検査にて少量の心嚢水貯留が認められたためフロセミドを追加した。第10病日では心嚢水は認められず血液検査よりBUN上昇、カリウム低下によりフロセミドからトラセミドに変更し、第25病日では体重減少、食欲低下、BUN上昇が認められたためアムロジピン、トラセミドのみとした。第35病日ではさらに体重減少・BUN・Creの上昇が認められた(図1)。

左室流出路血流速(LV outflow)については毎秒4.5mあったものが第7病日には3.5mと低下したが、その後第35病日までほぼ一定状態となった。心拍数は第7

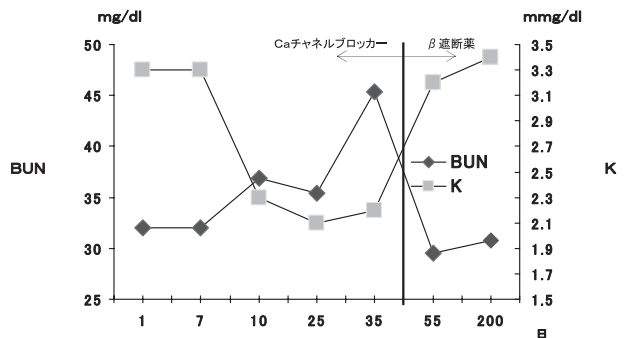
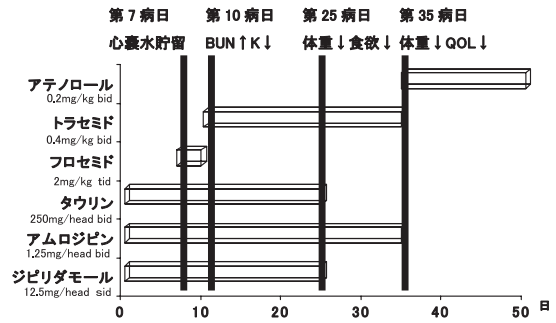
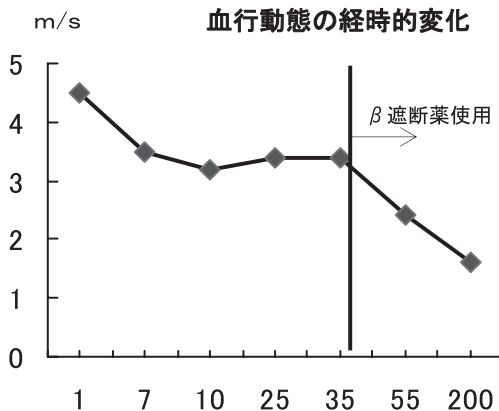


図1 治療と経過

左室流出路血流速(LV outflow)



心拍数(HR)の経時的変化

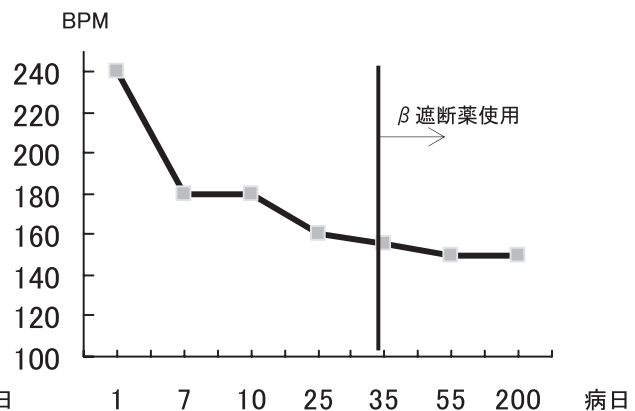


図2 左室流出路血流速(LV outflow) 血行動態と心拍数(BPM)の経時的変化

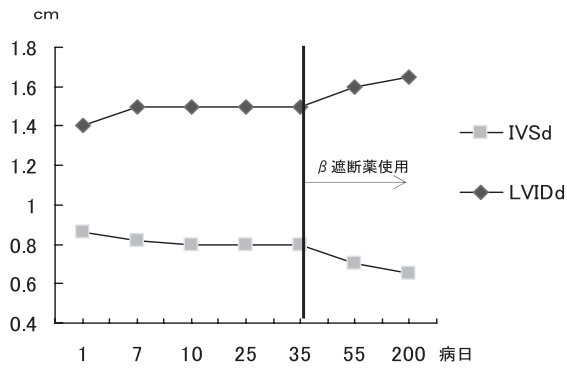


図3 治療による拡張末期心室中隔厚 (IVSd) と拡張末期左室径 (LVIDd) の経時的変化

病日までは順調に低下した (図2)。

拡張末期心室中隔厚 (IVSD), 拡張末期左室径 (LVIDd) とともに第7病日まで若干の改善はみられたが、それ以後はほぼ一定であった (図3)。

以上、第35病日までに LV outflow, IVSd, LVIDd, 心拍数、血圧は改善されたが、明らかな QOL の低下が認められたため、土井口らの  $\beta$  ブロッカーを使用し改善が認められた HOCM の報告<sup>3)</sup> に基づき、全てを中止し  $\beta$  ブロッカーであるアテノロールに変更した。

アテノロールを 0.2mg/kg で処方始めたところ、第35病日以降、LV outflow の大幅な改善がみられた。心拍数も 150 台と安定しているのが認められた (図2)。

平行線をたどっていた IVSD・LVIDd は、共に緩やかな改善が見られた (図3)。

第35病日より Ca チャネルブロッカーから  $\beta$  ブロッカーに変更することで食欲の改善、狭窄血流速の更なる減少、心筋厚の減少が認められた。また、体重減少もなくなり、日常の生活においても、QOL の改善が認められるようになった。

## 考 察

初診時には無症状であったにも関わらず、Ca チャネルブロッカー投与後、心嚢水を認め利尿剤を追加することでさらに QOL の悪化をきたした。Ca チャネルブロッカーの種類として 1. パパベリン誘導体 2. ジヒドロピリジン誘導体 3. ベンゾサイアゼピン誘導体 4. ピペラジン誘導体の 4 種類に分類される。そのうちアムロジピンの属するジヒドロピリジン誘導体は強い血管拡張作用を有しており、静脈系、動脈系に作用するため前後負荷を軽減させる働きがある。しかし、一方では血圧が低下するため心拍出量が低下し左

室周期拡張期圧は上昇し、肺水腫、肺うっ血、心の薄い貯留などを併発する場合がある。また、心拍出量の低下と、その結果として腎血流量が低下すれば RAA 系が活性化し、交感神経が活性化する。これらの作用は、HCM より HOCM に強く現れやすい。本症例では、左室流出路血流の低下は血管拡張効果と推測され、一方の心拍数の低下はアムロジピンの直接の効果と考えられた。また、低 K 血症、高窒素血症は利尿剤使用による血圧の低下 (GFR の低下) または水分減少、あるいはその両方が考えられた。血圧が一定になったのはその時点で Ca チャネルブロッカーの作用と交感神経作用が拮抗し、交感神経がかなり亢進していた可能性が考えられた。よって、Ca チャネルブロッカーを HOCM に使用すると通常の HCM 治療に比べ、より以上に交感神経を亢進させる可能性が強いと思われる。それゆえ、交感神経亢進状態において  $\beta$  ブロッカーの持つ交感神経抑制作用により症状が改善したものと考えられた。また、仮に HCM の治療に推奨されている Ca チャネルブロッカーを投与する場合、HOCM に対しては使用しないほうが良いか、投与量を少なめにする必要があると考えられた。また、 $\beta$  ブロッカーの使用で IVSd が減少し、LVIDd が増加したことは 1 回拍出量の増加を意味し臨床症状の改善に有効であった。

最後に本症例は無症状であることを考えると、ぎりぎりの線で循環血行動態を維持しているものとも考えられる。これは薬の選択を誤ると逆効果であることを示唆しているといえた。

幾つかの論文では無症状の HCM の猫に対して治療が必要か否か議論されているが、本症例では心筋圧肥厚や重度の狭窄があるので、不整脈や血栓および突然死の防止のために薬物治療が必要と考えられた。

## 謝 辞

今回の発表に際し、ご指導頂きました熊本動物病院院長 土井口修先生ならびに御意見を頂いた諸先生方に深謝いたします。

## 参 考 文 献

- 1) BonaguaJD, StepienRL, LehmkuhlLB: A Doppler echocardiographic study, J Vet Intern Med, 5, 123 (1991)
- 2) BoonJA: Manual of Veterinary-Echocardiography, 304-320, Williams & Willkins, Baltimore (1998)
- 3) 土井口修 土井口勝:  $\beta$  ブロッカーが有効であった猫の閉塞性肥大型心筋症の 1 例: 日本獣医師会雑誌: 第 56 巻 第 4 号: P261 ~ 264 (2003)



# 脛骨異形成症に対するプレート法を用いた 矯正骨切り術の5症例8肢

櫻田 晃<sup>1)</sup> 板本 和宏<sup>2)</sup> 大村 斉<sup>3)</sup>  
大村 琴枝<sup>3)</sup> 伊藤 雄吾<sup>4)</sup> 和田 安弘<sup>5)</sup>

(受付：平成19年12月11日)

## Corrective osteotomy with plating in 5 dogs (8 legs) with tibial dysplasia

AKIRA SAKURADA<sup>1)</sup>, KAZUHIRO ITAMOTO<sup>2)</sup>, HITOSHI OMURA<sup>3)</sup>  
KOTOE OMURA<sup>3)</sup>, YUGO ITOU<sup>4)</sup>, and YASUHIRO WADA<sup>5)</sup>

- 1) Sakurada Animal Hospita 11-6-17-1, Senzoku, Hesaka, Higashi-ku, Hiroshima 732-0009
- 2) Itamoto Animal Hospital 2-2613-2, Fukuda, Higashi-ku, Hiroshima 732-0029
- 3) Pal Animal Hospital 4-13-1F, Hjiyama-cyou, Minami-ku, Hiroshima 732-0817
- 4) Hirano Animal Hospital 2-8-29, Aosaki, Minami-ku, Hiroshima 734-0053
- 5) Wada Animal Hospital 3-1-19, Doyomaru, Saijyou, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-0007

### SUMMARY

We performed corrective osteotomy with plating (6 holes, T plates) in miniature (M) dachshunds with tibial dysplasia. After plate fixation, observation of the union, the tibial form, and gait showed good results.

### 要 約

ミニチュア (M)・ダックスフントの脛骨異形成症に対してプレート法 (6穴・T字プレート) を用いて矯正骨切り術を実施した。これらの方法による固定について、癒合・脛骨形態・歩様を観察したところ良好な結果が得られた。

---

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) いたもと動物病院 (〒732-0029 広島県広島市東区福田2丁目2613-2)  
3) パル動物病院 (〒732-0817 広島県広島市南区比治山町4-13)  
4) 平野動物病院 (〒734-0053 広島県広島市南区青崎2-8-29)  
5) わだ動物病院 (〒739-0007 広島県東広島市西条土与丸3-1-19)

## 序 文

脛骨異形成症はダックスフント種に特異的にみられる脛骨遠位が彎曲（内反もしくは内旋）する疾患である（写真1）。彎曲は脛骨遠位成長板の内側部分だけが何らかの原因で成長を停止し、脛骨遠位成長板の内外の均一な成長が障害されることにより起こる<sup>1)2)</sup>。近年、M・ダックスフントの飼育頭数の増加により日常診察でも度々遭遇するようになった疾患であるが手術適応についてのガイドラインは存在せず<sup>3)</sup>、治療法についてもいくつかの変形矯正法が紹介されているが症例報告数が少なく、手術手技や成績については不明な点が多い。今回、脛骨異形成症の5症例8肢（両側性3症例、片側性2症例）に対してプレート法（6穴またはT字プレート）による矯正骨切り術を実施し、治療成績について検討したので報告する。



写真1 症例1の両側性の外観

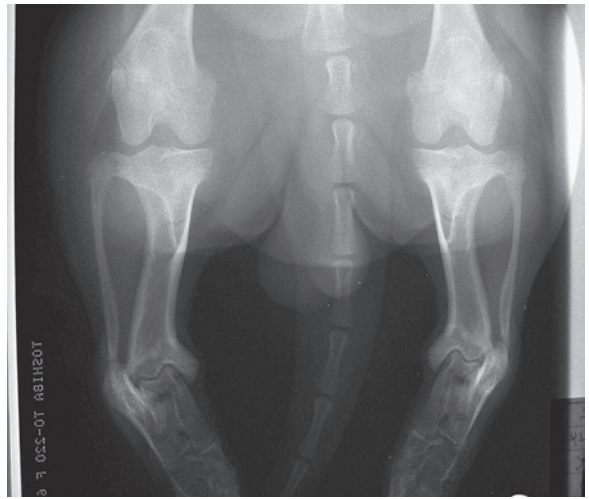


写真2 症例1の両側性のX線写真 術前

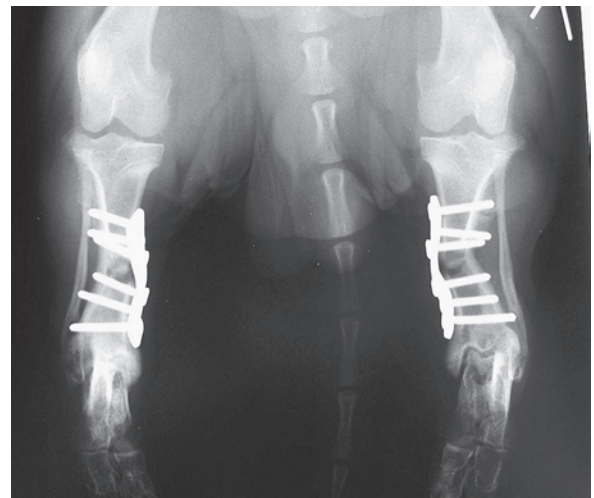


写真3 症例1の両側性のX線写真 術後

## 症 例

M・ダックスフント、5症例（雄3、雌2）8肢、体重2.9～5.2kg（平均4.58kg）、6～11ヶ月齢（平均8.2ヶ月齢）（表1）。主訴は両側性の症例（写真2）では「ヨチヨチ歩く」「歩き方がおかしいと他人から指摘された」など外観に対してのものがほとんどであったが、片側性の症例（写真3）では「歩きたがらない」「すぐに疲れる」など歩行障害を示すものが多かった（表2）。症例は全症例ともM・ダックスフントでその構成は表1に示した通りである（表1）。また、その来院時の主訴は表2に示した通りである（表2）。

身体検査およびレントゲン検査から全症例脛骨異形成症と診断した（写真1および2）。

表1 症例

No	犬種	性別	年齢	体重	手術肢
1	M・ダックス 部谷	オス	11ヶ月齢	4.9kg	両側
2	M・ダックス 中司	オス	11ヶ月齢	5.1kg	両側
3	M・ダックス 中越	メス	7ヶ月齢	5.2kg	両側
4	M・ダックス 大田	メス	6ヶ月齢	4.8kg	右側
5	M・ダックス 前田	メス	6ヶ月齢	2.9kg	左側

表2 主訴と手術肢

No	主訴	手術肢
1	歩き方がおかしいと他人から指摘された。	両側
2	ヨチヨチ歩く。	両側
3	歩き方がおかしいと他人から指摘された。	両側
4	歩き方がおかしい。歩きたがらない。	右側
5	歩き方がおかしい。すぐに疲れる。	左側

## 方 法

両側性の3症例（症例1・2・3）はいずれも両側同時手術を実施しており脛骨骨幹中央部に電動鋸にて骨切りを行ない、1.5mmのビットで下穴を開け6穴プレートを遠位・近位にそれぞれ3穴ずつφ2mmのスクリウムにて固定した（写真4）。矯正角度は脛骨近位関節面と遠位関節面が平行になるようにトレーシングペーパーを用いて骨切り計画図を作成し決定した。

片側性の2症例（症例4・5）は脛骨遠位の最大彎曲部に電動鋸にて骨切りを行ない、樋口が報告した正面・側面天蓋角<sup>4)</sup>を元に矯正角度を決定し、1.5mmのビットで下穴を開けT字プレート<sup>4)</sup>（近位の不要な部分

をカットし4穴を3穴とした)をφ2mmのスクリ  
ュウにて固定した(写真5)。骨切りの方は全肢におい  
て骨髄まで切断し開放骨切り術を用いた。海綿骨の充  
填は全症例とも行なっていない。



写真4 症例5の片側性のX線写真 術前

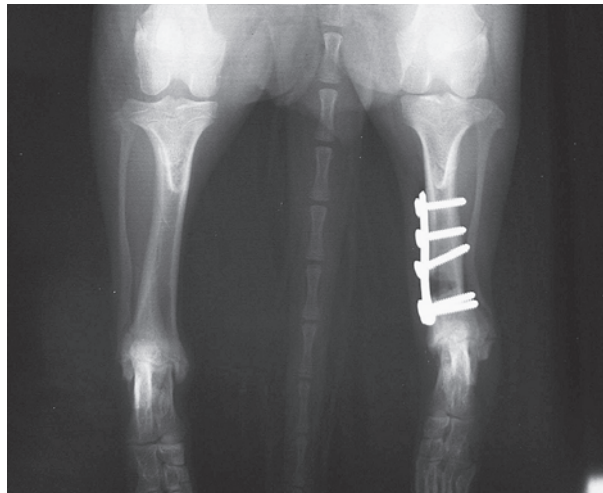


写真5 症例5の片側性のX線写真 術後

## 結 果

両側性の3症例、片側性の2症例の5症例とも固定  
状態は良好で外貌・歩様ともに正常であった。両側同  
時手術に創外固定法<sup>4)</sup>を用いた場合、術後の固定具に  
よる一時的なQOLの低下が懸念されるがプレート法  
では問題にならなかった。プレート除去時期と手術月  
齢の関係は表3の通りである(表3)。

膝蓋骨外脱臼は二次的な病態と考えられたためアラ  
イメントの矯正のみで無処置としたが自然治癒した。

表3 プレート除去時期と手術月齢

No	プレート除去時期	手術月齢	手術肢
1	2.5ヶ月後	11ヶ月齢	両側
2	2.5ヶ月後	11ヶ月齢	両側
3	1.5ヶ月後	7ヶ月齢	両側
4	1.5ヶ月後	6ヶ月齢	右側
5	1.5ヶ月後	6ヶ月齢	左側

## 考 察

今回我々が実施した6穴プレートによる両側同時手  
術とT字プレートによる片側手術において矯正角度は  
近位・遠位の関節面は平行になるよう作成した骨切り  
計画図もしくは正面・側面天蓋角より決定したが、こ  
れらはいくまでも「計画」であり旋変形や足根関節の  
変形が重度な症例では術中に患肢を屈伸させ関節の動  
きを確認し、スムーズに稼動するラインに矯正するこ  
とが重要であると考えられた。合併症として懸念され  
る癒合不全、癒合遅延、プレートの破損、スクリ  
ュウの緩みは全肢で認められず、十分安全に行なえる手術  
法であると考えられた。6穴プレートを使用した場合、  
脛骨骨幹中央部で骨切りを行なうため解剖学的に正常  
な脛骨形態に矯正することが不可能であるが、樋口に  
よるT字プレートを用いた足根関節に近い最大湾曲部  
での骨切り術の報告<sup>5)</sup>以来、これを取り入れたところ  
片側性の2症例のみではあるが脛骨遠位の最大湾曲部  
での骨切りが可能となり解剖学的に正常に近い脛骨形  
態に矯正可能であった。

両側同時手術を実施する場合、解剖学的に正常に近い  
脛骨形態に矯正可能であり、術後固定具による一時  
的なQOLの低下がみられないT字プレートによる固  
定法は有用と考えられ、次の症例で実施し予後を確認  
する予定である。

## 参 考 文 献

- 1) Yoneji K, Yoneji W, Okamura T : Incidence and inheritable character of Dachshund Tibial Displasia in Japan. Vet Orthop Society : 89, 2007
- 2) 米地謙介 : ダックスフンドの脛骨異形成症, CLINIC NOTE No. 3, 15-21, インターズー東京(2005)
- 3) 米地謙介 : 脛骨異形成症についての最新情報, CLINIC NOTE No. 23, 16-24, インターズー東京(2007)
- 4) Yoneji K, Higuchi M, Kawata M : Corrective osteotomy for tibial displasia in dachshund. 2nd World Vet Orthop Cong : 215, 2006
- 5) 樋口雅仁 : 骨幹端形成不全, CLINIC NOTE No. 10, 37-41, インターズー東京(2006)

# エラスティックチェーンによって矯正をおこなった クラス I 不正咬合の一例

麻 生 暁 秀

(受付：平成 19 年 12 月 18 日)

## A dog with class I malocclusion treated using elastic bands

TOSHIHIDE ASOU

Aso Animal Hospital 330-3, Imazu-cho, Fukuyama, Hiroshima, 729-0111

### SUMMARY

We performed orthodontic treatment using elastic bands in a dog with class I malocclusion of the maxillary permanent canines due to residual deciduous teeth, and obtained favorable results without complications.

### 要 約

乳歯遺残が原因の上顎永久犬歯のクラス I 不正咬合にエラスティックチェーンを用いた歯科矯正を行い、大きな問題を起こすことなく良好な結果が得られた。

### 序 文

犬の不正咬合はクラス I からクラス IV に分類される<sup>1) 2)</sup>。そのうちクラス I 不正咬合は上下顎の顎関係は正常で単数歯あるいは複数歯に頬舌方向の位置異常や傾斜異常を認めるものをいう。一般的には乳歯遺残などに伴って発生するケースが多い。

永久犬歯の根尖が閉じていない場合は乳歯抜歯による抑制矯正や外科的矯正で短期間に改善するものが多いが、根尖の閉鎖してきている、あるいはすでに閉鎖しているケースは本格矯正の適応となる<sup>2) 3)</sup>。

今回、乳歯遺残に伴う上顎犬歯のクラス I 不正咬合に対して、エラスティックチェーンを用いた本格矯正を行い、良好な結果が得られたので報告する。

### 症 例

症例はミニチュアダックスフンド、11ヶ月齢、オ

ス、体重 4.2kg で軽度食欲低下、乳歯の遺残を主訴に来院した。症例は上顎の乳歯が左右ともに遺残しており、それに伴う上顎永久犬歯の近心転位と下顎永久犬歯の舌側転位が両側に認められた(写真 1, 2)。また、両側の下顎永久犬歯舌側転位に伴い、下顎永久犬歯の上顎軟部組織への接触が認められた。また、レントゲンで根尖が閉鎖してきていることが観察された(写真 3, 4, 5)。

### 方法および結果

左右ともに上顎の遺残した乳歯を抜歯し、キルシュナーワイヤーを用いて自作したブラケット(写真 6)を上顎の犬歯、および上顎第四前臼歯にレジンで固定した。固定したブラケットにエラスティックチェーン(写真 7)を 12 穴の距離を 9 穴にするようにテンションをかけ固定した(写真 8)。

エラスティックチェーン装着後 2 週間で犬歯の移動が認められなかったため、第 14 病日にエラスティック



チェーンのテンションを8穴に変更した。3週間目におもちゃを咬んでしまい、ブラケットが脱落したため、再度装着が必要だったが、その後順調に犬歯は移動し、装着後7週目ではほぼ正常位置まで移動した。この時点で装置を外すと歯が元の方向に移動する可能性があるため、テンションを落としてさらに1週間装着した後、装置を除去した(写真9, 10)。

装置の装着によって、上顎口唇粘膜の潰瘍形成が認められたが、これは装置の除去で速やかに改善した(写真11)。また、アンカーに使った上顎第四前臼歯の前方への移動が認められた(写真12)。

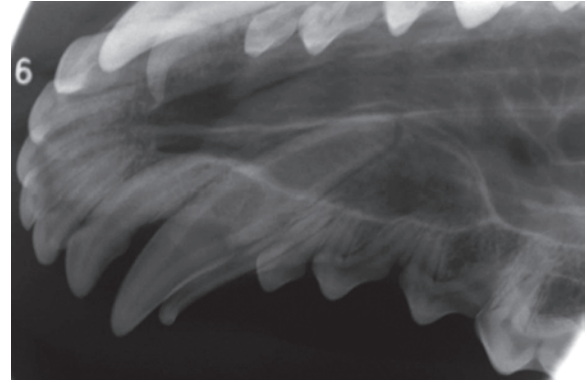


写真4 永久犬歯の根尖の確認(右上顎)



写真1 遺残乳歯(右上顎)

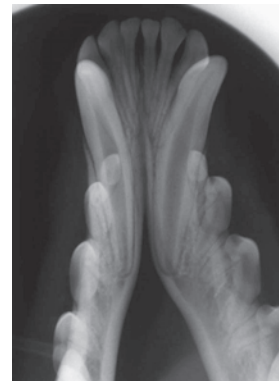


写真5 永久犬歯の根尖の確認(下顎犬歯)

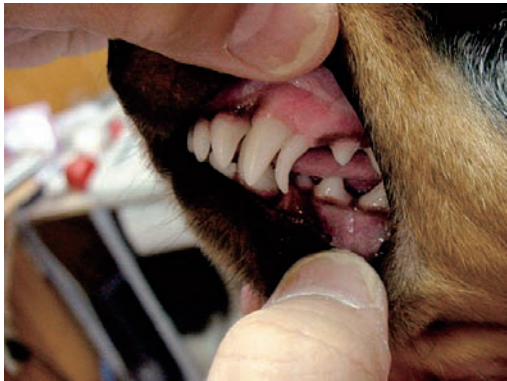


写真2 遺残乳歯(左上顎)

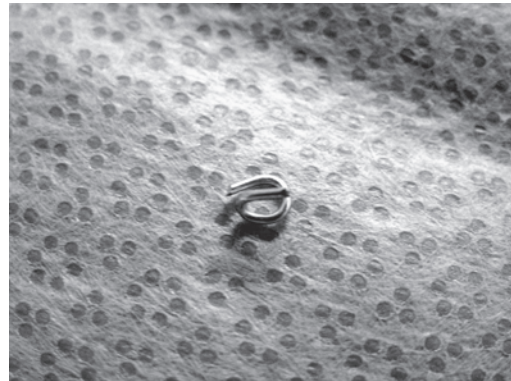


写真6 自作したブラケット

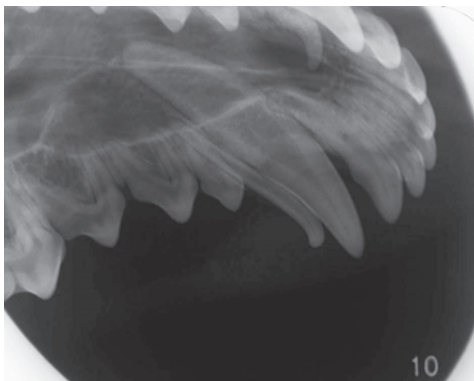


写真3 永久犬歯の根尖の確認(左上顎)



写真7 エラスティックチェーン



写真8 装置の装着後

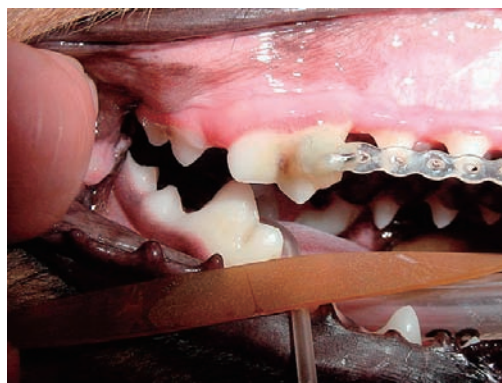


写真12 第4前臼歯の移動



写真9 矯正終了時 (右側)



写真10 矯正終了時 (左側)



写真11 ブラケットにより生じた潰瘍

## 考 察

今回乳歯遺残に伴うクラスI不正咬合に対してエラスティックチェーンを用いた歯科矯正を行い、満足の結果が得られた。根尖の閉鎖した不正咬合に対しては歯冠短縮術がよく用いられるが、エラスティックチェーンを用いた矯正も有用な治療法と考えられた。アンカーに使った上顎第四前臼歯の前方への移動が認められたため、上顎第一後臼歯も同時にアンカーとして用いるべきだったと思われた。

当院で行った1歳未満の避妊、去勢手術の約20%に乳歯遺残が認められた。そのため乳歯列の時期から定期的に歯科検診を行い、不正咬合を起こす前に、乳歯抜歯による予防矯正を行うことも重要と思われた。

## 文 献

- 1) 奥田綾子：獣医歯科矯正学の基礎，獣医歯科学レベル4（講義編），日本小動物歯科研究会編：25～31. 2000
- 2) 奥田綾子：犬と猫の不正咬合の分類と治療計画～治せる不正咬合と治せない不正咬合～. 動物臨床医学会プロシーディング No.1：89～91. 2001
- 3) 松本光晴：犬における永久犬歯の不正咬合とその矯正法について. 山口獣医学雑誌第29号：31～34. 2002



# LigasureSystem を使った犬の去勢・避妊手術に対する検討

大杉 真由子<sup>1)</sup> 麻生 暁秀<sup>1)</sup> 麻生 摂子<sup>1)</sup> 田内 利樹<sup>1)</sup> 久保田 誠<sup>1)</sup>

(受付：平成 19 年 12 月 18 日)

## Castration and spaying using the Ligasure system in dogs

Mayuko Oosugi<sup>1)</sup>, Toshihide Asou<sup>1)</sup>, Setsuko Asou<sup>1)</sup>

Toshiki Tanai<sup>1)</sup>, Makoto Kubota<sup>1)</sup>

Aso Animal Hospital 330-3, Imazu-cho, Fukuyama, Hiroshima, 729-0111

### SUMMARY

We performed castration and spaying using the Ligasure™ vessel sealing system (Tyco Healthcare Japan) in dogs. Good vessel sealing was possible, and the operative time was reduced. This system may be useful for castration and spaying.

### 要 約

血管シールシステムである Vessel Sealing System Ligasure™ (タイコ・ヘルスケア・ジャパン) を用いて犬の去勢・避妊手術を行った。その結果、良好な血管シールが可能であり、手術時間の短縮にもなったことから、犬の去勢・避妊手術には有効なシステムだと考えた。

### 序 文

近年、手術を行った際に体内に残した縫合糸に対して生体が過剰に反応したことで起こる縫合糸反応性肉芽腫や皮膚炎が、特に犬で多く見られるようになってきた。今回 Vessel Sealing System™ Ligasure (タイコ・ヘルスケア・ジャパン) を用いて、犬の去勢・避妊手術を行い、その有用性や使用感について検討した。使用した Ligasure™ は電気メスのバイポーラを応用したものである(写真 1)<sup>1)</sup>。Ligasure™ は、剥離操作なしで血管を含む組織束ごとシール可能であり、高電流(4A)で数秒で血管壁内のコラーゲンやエラスチンを融合、血管内腔を完全に一体化し、血流を遮断する。この点が血液の凝固や血栓によって止血するために血管内腔は閉鎖できないバイポーラと異なる。通電の際にハンドピースが組織の種類や電気的抵抗値を診断し、出力を自動調整・停止を行い、部分に適したシールを

作る。シールが完了すると半透明になり、肉眼で確認できる。強度の高いシールを作ることができ、患者自身の体内コラーゲンを利用しているため炎症反応や癒着を抑え治癒が早いことが報告されて<sup>2)</sup>いる。また、ハンドピースで組織を挟みロックすることで常に目的組織に適正な圧力がかかるように設計されており、術者の熟練に関わらず一定したばらつきのない止血が可能である。その他の凝固器具や結紮方法の耐性圧と比較すると、Ligasure™ は耐性圧のばらつきが少なく、平均耐性圧が超音波凝固器具やバイポーラよりも高く、クリップや糸による結紮と同等であることがわかる(図 1)<sup>3)</sup>。また、血管の種類による比較では、直径 7 ミリ以下の動脈がより適しており、出力はレベル 2 が最適であった(図 2)<sup>4)</sup>。

去勢・避妊手術は日頃我々が最も多く行う手術であり、本来は病気の予防として行う手術であるため、その手術が原因で新たな他の病気を招くことを出来る限

り予防したいと考え今回適用した。

## Ligasureシステム

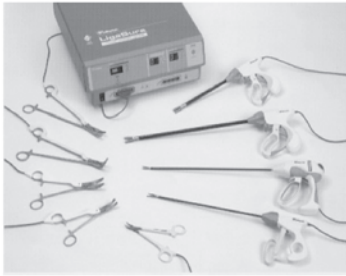


写真 1

### 破裂圧強度の比較

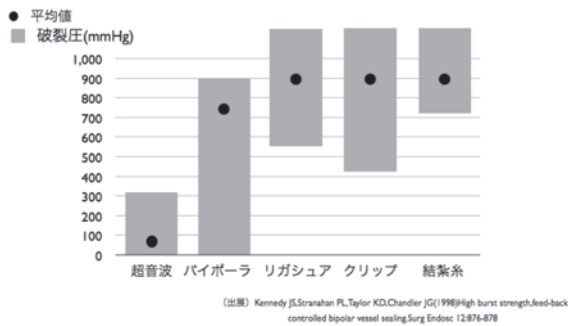


図 1

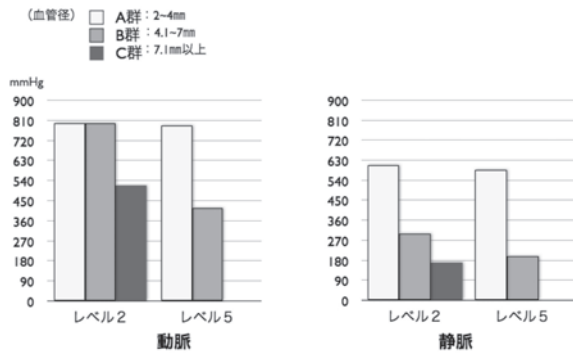


図 2

## 材料と方法

材料：犬を対象とし、2007年1月～9月9日に行った去勢手術41例、避妊手術35例の、合計76例について検討した。

方法：去勢手術では精巣を陰茎側に出来るだけ押し寄せ固定して正中切開し、総鞘膜を切開して精管と血管を露出したら専用の鉗子であるハンドピースで血管と精管を一度に挟み通電する。この時万一の断裂に備えてピンセットで精管を保持しておく。通電が完了したら鉗で切断し、出血の有無を確認して皮内に戻す。避

妊手術では腹部正中切開し、常法どおり卵巣を引き出す。卵巣間膜に穴を開けハンドピースを通し、卵巣提索を挟み通電する。このとき全体を挟めない場合は数回に分けて端からシーリング、切断を繰り返す。シーリングが完了したら出血の有無を確認して切断し腹腔内に戻す。子宮間膜もシーリングして切断する。子宮頸管は先に全周を吸収糸で結紮した後、左右の子宮動脈、頸管部全体の順にシーリングする。完了したら切断し、出血の有無を確認して腹腔内へ戻す。ハンドピースは数種あるので当院では大小2種のハンドピースを血管の太さ、犬の体重によって使い分けた。出力は5段階設定が可能であり、レベル2を使用した。

## 結 果

ほとんどの症例で良好な血管シールが可能で、止血強度も十分だった。手術時間も約10～15分短縮された。犬種による差異はなかった。去勢手術においては、シーリングの際1例のみ通電途中で断裂してしまった。避妊手術においては、頸管部全体をシーリングする際にはじけたように断裂してしまうことが度々あった。

## まとめ及び考察

去勢・避妊手術に対してLigasure™は縫合糸の使用を最小限に抑えられること、手術時間の短縮、術者の熟練に関わらず一定したシールが可能であることから有効なシステムであると考えた。去勢手術で1例断裂した理由は、大型犬だったので大型ハンドピースを選択したが、周囲組織が少なく出力が強すぎたためと考えた。以後犬の大きさに関わらず去勢手術には小型ハンドピースを使用するようにしたところ、断裂は起こらなかった。避妊手術では2kg以下の超小型犬以外は大型ハンドピースを使用したが無問題なかった。

避妊手術において、頸管部ではじけるように断裂してしまうのは発情を何度も繰り返した高齢犬や経産、また子宮内膜が変性していたり妊娠中の犬に特に多かった。これはこのような犬では、頸管部が硬く太く分厚くなっており、ハンドピースで挟んだ際に均一な平面に出来ず一定の出力が全体に伝わらないためだと考えた。予め吸収糸で全周を結紮した理由は、上記のように断裂したり、また、断裂しなくても頸管の閉鎖が不十分になるためである。頸管部は管腔組織で厚みが一定になりにくいことや、血管に比べコラーゲンやエラスチンといったシーリングに必要な物質が少ないことが原因と考える。同様の理由で同じ血管でも静脈より動脈のほうがシーリングの耐性圧が高い。このことからコラーゲンなどの膠原線維が乏しい、粘膜や筋層などの様々な組織が複合した管腔組織や分泌組織への使用は適さないことが、欠点の一つと考えられる。また、



ハンドピースがディスプレイで高価なことも欠点である。使用する際の注意点としては、平坦になるように挟むこと、断裂を防ぐため強く牽引しないこと、ハンドピースは電極面をきれいにした状態で使用することがあげられる。子宮頸管部においては吸収糸とはいえ縫合糸を使用しているため、Ligasure<sup>TM</sup> Systemだけで反応性肉芽腫を完全に予防することはできない。その点が今後の重要な課題となった。血管の結紮においては迅速に確実に行えるので、脾臓摘出術や腹腔内腫瘍摘出、腸管切除術などにも有効に使えと考えられ、今後適用しながら検討していく予定である。

## 文 献

- 1) タイコヘルスケア ジャパン (株) パンフレット
- 2) 浅野安生: Veseel sealing system Ligasure のメカニズム・使用法, 日鏡外雑誌, 第8巻, 第5号 (2003)
- 3) Kennedy JS, et al.: High burst strength, feedback controlled bipolar vessel sealing. Surg Endosc 12: 876-878 (1998)
- 4) 長谷川博俊・他: Ligasure Atlas を用いた腹腔鏡下大腸全摘術, 日鏡外雑誌, 第8巻, 第5号 (2003)

# 姿勢・運動異常を主訴とした犬の 39 症例について

谷浦 督規<sup>1,2)</sup> 谷浦 直美<sup>1)</sup> 谷浦 倉之<sup>1)</sup>

(受付：平成 20 年 1 月 30 日)

## Thirty-nine dogs with posture/movement abnormalities as chief symptoms

TOKUNORI TANIMURA<sup>1,2)</sup> KURAYUKI TANIMURA<sup>1)</sup>, and NANOMI TANIMURA<sup>1)</sup>

- 1) Department of Radiology, Division of Medical Intelligence and Informatics, Programs for Applied Biomedicine, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University 1-2-3, Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-0037
- 2) Taniura Animal Hospital 1-3-30, Kairouen, Saeki-ku, Hiroshima 731-5135

### SUMMARY

Among diseases characterized by posture/movement abnormalities or claudication as chief symptoms, when intervertebral disc diseases and brain/intramedullary tumors were excluded, tumors were most frequently observed. The definite diagnosis of a tumor cannot be made only by radiography and myelography since some tumors are present in non-palpable areas or directly compress the nerves. In particular, cases that are progressive or do not respond to treatment require close examination even if the clinical symptom is claudication. Tumor metastasis to other areas or invasion should be evaluated to determine treatment principles.

### 要 約

姿勢・運動異常や跛行などを主訴とする疾患の中で、椎間板疾患や脳・脊髄内腫瘍などを除外した結果、最も多かったのが腫瘍であった。触診の不可能な部位の腫瘍や神経を直接圧迫している場合などがあるため、X線や脊髄造影だけの診断で確定診断はできない。特に進行性や、治療に反応しない場合などでは、臨床症状が跛行であっても精査が必要であり、腫瘍の他の部位への転移や浸潤の確認などは治療方針を決定するためには必要な検査であると思われる。

### 序 文

飼い主も概観から見て症状が分かりやすいためか一般的に姿勢・運動異常を主訴として来院するケースは多く、跛行程度の症状であれば運動過剰や室内外での

ジャンプによる捻挫や老齢になるほど骨関節疾患などを来院前に自己診断してくる場合もある。症状として抱き上げることなどや階段の上り下りが難しくなると椎間板ヘルニアの可能性も出てくるが、軟骨異栄養性犬種などで見られる急な両後肢麻痺などを示す場合は、

---

1) 谷浦動物病院 (〒 731-5135 広島市佐伯区海老園 1-3-30)  
2) 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 (〒 734-0037 広島市南区霞 1-2-3)

ヒト場合における一般的概念からは想像しかねる光景で発見される場合があるため、他の疾患を疑い椎間板ヘルニアではなく違う病気ではないかと飼い主は考え来院するケースが多い。痛みに関しては骨関節疾患、骨肉腫等さまざまな疾患を来院前にインターネットで調べてくる患者が近年増加していると思われる。まず一般的に来院した場合、画像診断においてはX線検査が第一選択になり、その診断のもとで加療をするが、その中で治療効果が低い場合や悪化傾向を示す場合には他の疾患も考慮し、脊髄造影検査やCT検査、MRI検査などによる精査が必要になってくる。

現在当院でのCT検査は紹介率70%を超え、検査前に紹介病院での病歴・仮診断や治療等の情報を確認し、更に治療経過や臨床症状などからある程度検査前に疾患を推測し検査方法のプログラムを各罹患動物に合わせてオーダーメイド化しているが、その中であって検査後前の予想を超えるような疾患は年々増加してきている。

今回、跛行や運動行動異常を主訴とした症例の中でX線検査と脊髄造影検査単独では疾患の診断率が低く、より精査が必要と思われた39症例を前肢歩行異常(麻痺・不全麻痺・跛行)、後肢歩行異常(麻痺・不全麻痺・跛行)、疼痛(頸部・腰腹部)の3つに分類し、それぞれについて病態を紹介する。

## 材料および方法

2年間(2006-2007)の中でCT検査を実施した約1500症例の中で、姿勢・運動異常を主訴とし、神経椎間板ヘルニア、脳、脊髄内腫瘍、関節疾患、骨肉腫(X線で確認できる長骨に発生したもの)を除いた39症例中の9症例について概要を紹介する。

**症例1.** シーズー, 3歳オス, 5kg, ジャンプをしなくなり、椎間板ヘルニアの診断でステロイドの投与とケージレストを実施した。排尿・排便にはケージから出したが、3日目ごろから散歩に行くと座り込み、抱くと噛み付くほどの疼痛症状を示し、しだいに歩くことへの増悪傾向を示すようになった。

**症例2.** ゴールデン・レトリバー, メス, 8ヶ月, 15kg, 発熱, 小学生の子供が庭から散歩へ連れ出し、帰宅後親が跛行に気づき徐々に増悪傾向。伏臥位が難しく、呼吸も頻回になり元気消失した。

**症例3.** ゴールデン・レトリバー, メス, 5歳, 35kg, 右前肢跛行。足裏を拭こうとすると右前肢は嫌がりバランスがとれない。

**症例4.** ゴールデン・レトリバー, 10歳, オス, 34kg, 背湾姿勢になり散歩に行きたがらなくなる。抱えて散歩に行こうとすると痛みがひどく投薬では改善が見られなかった。

**症例5.** ゴールデン・レトリバー, 8才, メス, 28kg, 徐々に歩行を嫌がるようになり、両後肢跛行、削瘦傾

向となった。触診可能な腫瘍が認められ、切除範囲と転移の可能性の有無のための精査を行った。

**症例6.** ゴールデン・レトリバー, 10歳, メス, 33kg, 右後肢の跛行が進行性にひどく、投薬での改善無し。触診は膝関節などの異常はなかった。

**症例7.** シーズー, 10歳, オス, 8.25kg, 左後肢の跛行。紹介病院で膝蓋骨脱臼・十字靭帯などの疾患をルールアウトし、非ステロイド系消炎鎮痛剤による治療を開始したが2週間目ぐらいから跛行が顕著になった。セカンドオピニオンで診察してもらおうと左後肢の腫張が認められ、出血斑が確認された。内出血によるものと考え止血剤を処方されたが増悪傾向のため当院紹介になった症例である。

**症例8.** ゴールデン・レトリバー, 9歳, 27.2kg, 左後肢跛行のため麻酔下での膝関節の検査を行ったが異常は認められなかったが、徐々に患肢が萎縮し、麻痺が発生したため2週間後に精査目的で当院紹介となった。

**症例9.** ゴールデン・レトリバー, 10歳, メス, 30kg, 右股関節異常のため跛行がみられ、非ステロイド系消炎鎮痛剤による治療を開始するにも次第に同部位の浮腫が認められるようになり当院に精査依頼のあったものである。

## 結 果

**症例1.** 誤飲した竹串が、胃壁・腹膜・肋間を穿孔し、皮下に穿孔していた(写真1)。

**症例2.** 肋軟骨の骨折により左腋下部から皮下にかけて広範囲の血腫を形成していた(写真2)。

**症例3.** 右肩甲骨下に腫瘍(線維肉腫)が確認され、腋窩リンパ節への転移による腫大が見られた(写真3)。

**症例4.** L2-6付近に巨大腫瘍(脂肪肉腫)が認められ、右背部から後腹膜周囲に浸潤が見られ、領域リンパ節の転移が認められた。また、肺への転移像も確認された。(写真4)。

**症例5.** 筋肉内や大腿骨周囲にも多数の腫瘍(線維肉腫)を確認した。また、肺にも転移が認められた(写真5)。

**症例6.** 右後肢大腿部内に巨大脂肪腫が認められた(写真6)。

**症例7.** 左大腿部に浸潤性の強い混合型の造影パターンを示す脂肪肉腫が認められ、骨盤腔内にも浸潤していた(写真7)。

**症例8.** 坐骨神経を取り囲むように繊維肉腫が存在し骨盤腔内を80%占有する腫瘍が認められ、内側腸骨リンパ節の腫大が明瞭である(写真8)。

**症例9.** 副腎癌が確認され、内側腸骨リンパ節の右側に腫瘍塊が発生し、側副血行路が形成されていた(写真9)。

姿勢運動異常を主訴とした39症例中、腫瘍が確認されたものは31症例、リンパ節の腫大が見られたも

のは10症例、後肢内の腫瘍が確認されたものは4症例、骨転移があったものは4症例、骨折があったがX

線検査では判断不可能だったものが5症例であった(表1, 2, 3).

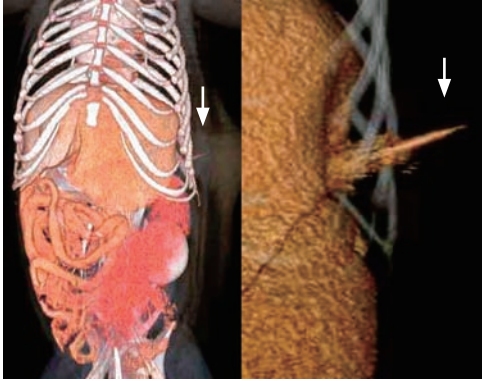


写真1 左胸部皮下に血腫の形成が見られ、腹腔内より、先鋭な竹串が穿孔していた。

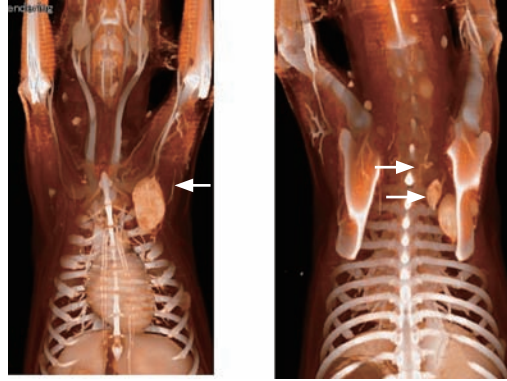


写真3 右肩甲骨下の腫瘍と、腋窩リンパ節の著しい腫大が見られた。

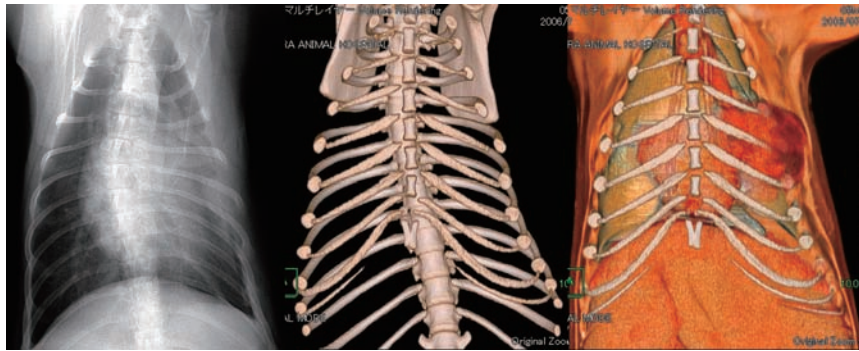


写真2 肋軟骨の骨折と、左腋下部から皮下にかけて血腫が形成されていた。

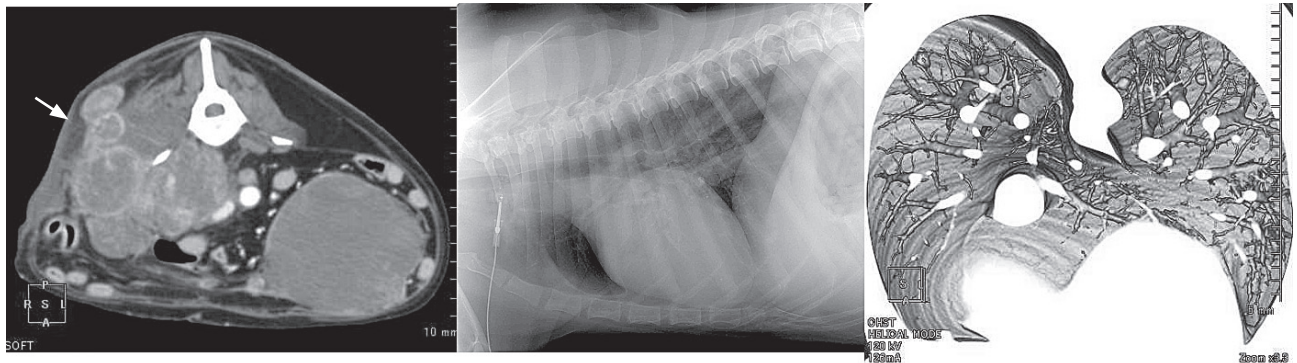


写真4 L2-6に発生した巨大な腫瘍が右背部から後腹膜周囲に浸潤していた。肺への転移も確認された。



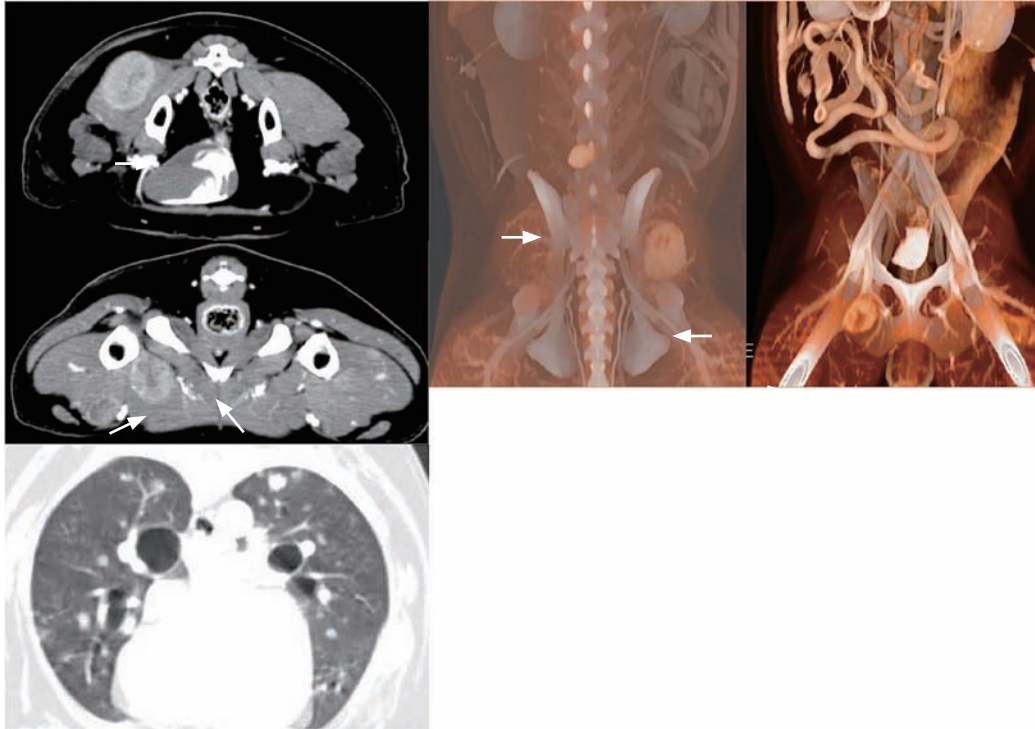


写真5 筋肉内や大腿骨周囲にも多数の腫瘍があった。肺への転移が見られた。

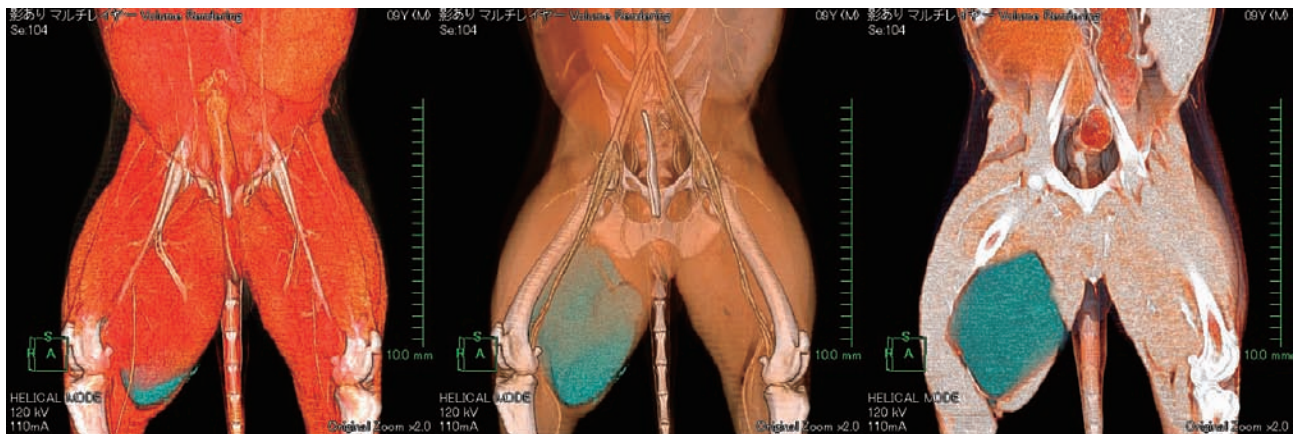


写真6 右大腿部内に巨大脂肪腫が認められた。

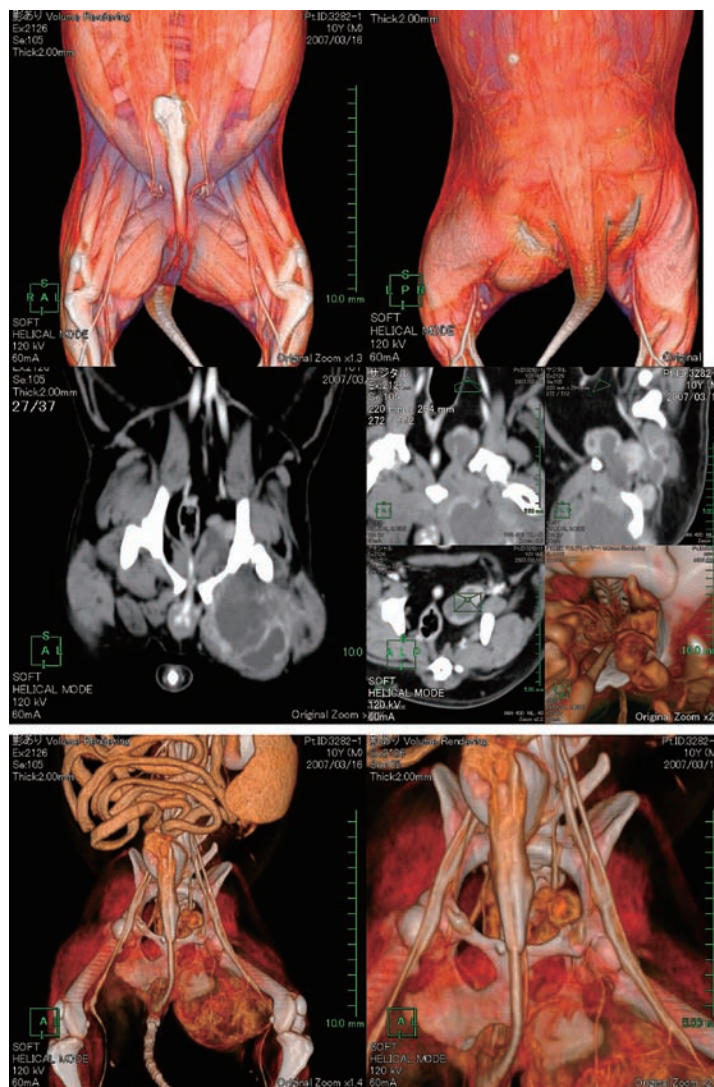


写真7 左大腿部に浸潤性の激しい混合型のパターンを示す脂肪肉腫が認められた。

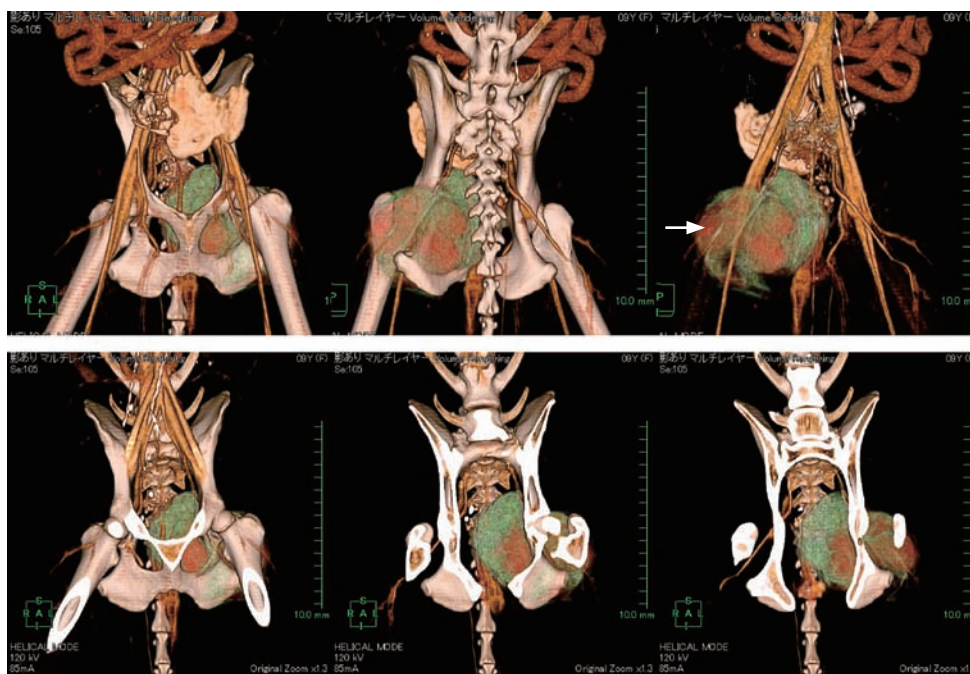


写真8 坐骨神経を取り囲むように線維肉腫が認められた。



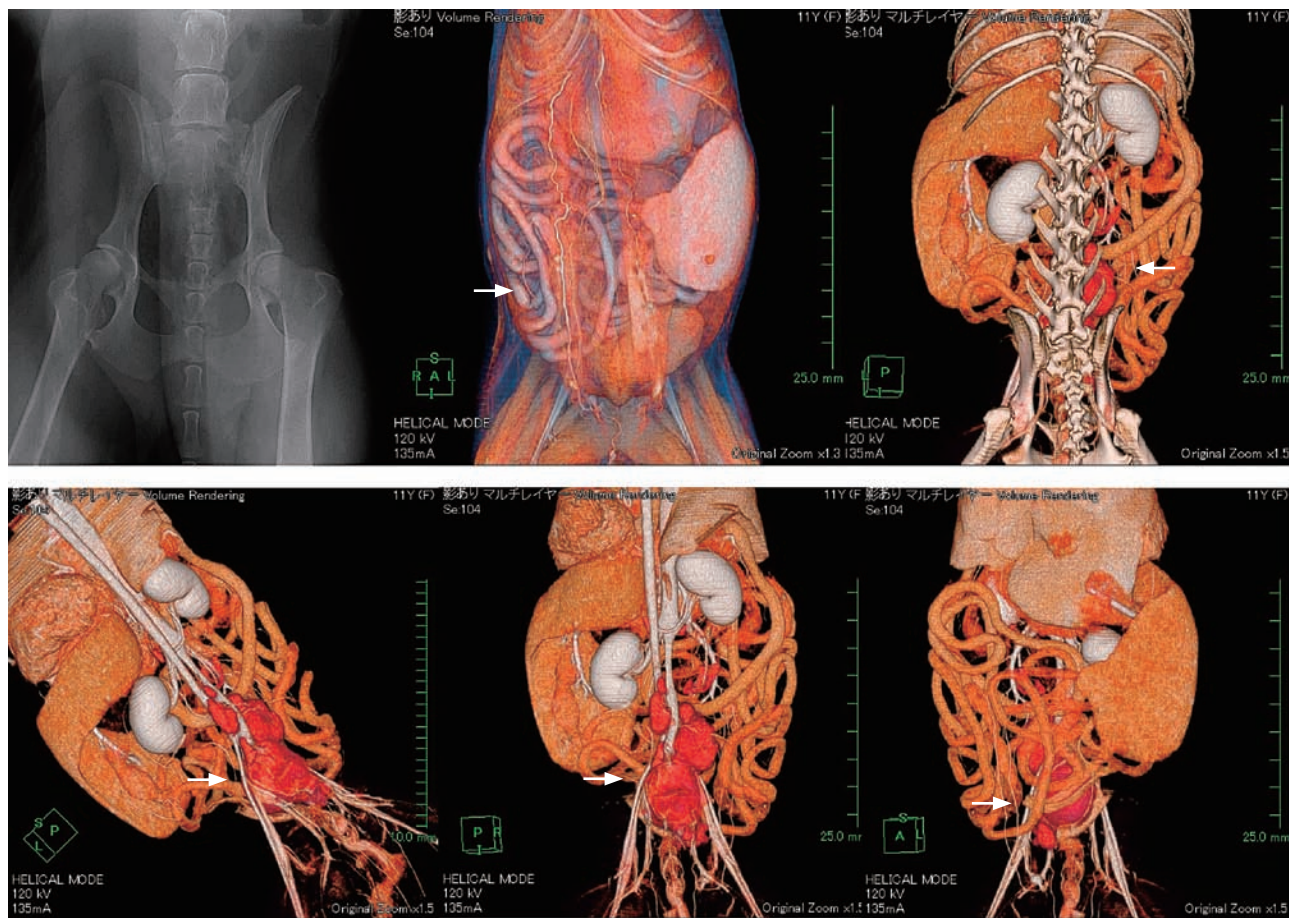


写真9 副腎癌と内側腸骨リンパ節の右側に腫瘤塊が発生し、側副血行路が形成されていた。

表1 前肢歩行異常（麻痺・不全麻痺・跛行）

	種類	症状	診断	転移
1	フラット・コーテット・レトリバー	右前肢跛行	線維肉腫	腋下リンパ節
2	ゴールデン・レトリバー	右前肢跛行	肋骨骨折	なし
3	ゴールデン・レトリバー	右前肢跛行	線維肉腫	腋下リンパ・肺
4	アイリッシュ・セッター	左前肢跛行	棘突起骨折	なし
5	ドーベルマン	右前肢不全麻痺	神経鞘腫	なし
6	ゴールデン・レトリバー	左前肢跛行	肋骨骨折・血腫	なし
7	ゴールデン・レトリバー	右前肢不全麻痺	リンパ肉腫	肺
8	シーズー	左前肢跛行	脂肪腫	なし
9	雑種犬	左前肢跛行	線維肉腫	なし
10	雑種猫	左前肢跛行	肩甲骨骨折	なし
11	ボルゾイ	左前肢跛行	線維肉腫	腋下リンパ
12	ラブラドル・レトリバー	右前肢不全麻痺	線維肉腫	なし

表2 後肢歩行異常 (麻痺・不全麻痺・跛行)

	種類	症状	診断	転移
1	ポメラニアン	両後肢麻痺・浮腫	前立腺癌	肺・腫瘍栓
2	ゴールデン・レトリバー	両後肢麻痺	副腎癌・腫瘍栓	腸骨下リンパ節
3	雑種犬	両後肢麻痺・浮腫	脂肪肉腫	骨盤腔内浸潤
4	ゴールデン・レトリバー	左後肢不全麻痺	骨膜線維肉腫	肺
5	ゴールデン・レトリバー	両後肢不全麻痺	線維肉腫	鼠径リンパ節
6	ヨークシャー・テリア	両後肢麻痺	リンパ腫瘍	腸骨下リンパ節
7	ゴールデン・レトリバー	左後肢不全麻痺	大腿筋内脂肪腫	なし
8	シェパード	左後肢跛行	筋断裂	なし
9	ウェルシュ・コーギー	両後肢麻痺	腰椎の骨肉腫	なし
10	ラブラドル・レトリバー	両後肢麻痺	腎癌	肺・腫瘍栓
11	雑種犬	両後肢麻痺	乳腺癌	腸骨下リンパ節
12	シーズー	右後肢跛行	脂肪腫	なし
13	ビーグル	両後肢麻痺	血管肉腫	なし
14	ミニチュア・ダックスフンド	起立不能	腰椎圧迫骨折	なし
15	シェットランド・シープドック	起立不能	子宮頸癌	骨盤腔内浸潤
16	ビーグル	両後肢麻痺	副突起骨折	なし
17	ウェルシュ・コーギー	両後肢麻痺	前立腺癌	腸骨下リンパ節
18	シーズー	右後肢跛行	大腿筋内脂肪肉腫	骨盤腔内浸潤

図3 疼痛 (頸部・腰腹部)

	種類	症状	診断	転移
1	シーズー	腹部疼痛	乳腺癌	骨
2	グレートデン	腹部疼痛	胃内異物	なし
3	ゴールデン・レトリバー	腰部疼痛	胃癌	腹膜
4	ヨークシャー・テリア	腰部疼痛	神経鞘腫	骨
5	ヨークシャー・テリア	背部疼痛	乳腺癌	骨
6	ミニチュア・ダックスフンド	背部疼痛	腎細胞癌	肺・腰部浸潤
7	ラブラドル・レトリバー	背部圧痛・背弯姿勢	脂肪肉腫	なし
8	ウェルシュ・コーギー	背部疼痛	神経鞘腫	骨
9	シーズー	腹部疼痛	胃内異物	なし

## 考 察

姿勢・運動異常や跛行などはあらゆる犬・猫種で見られるが、X線検査で異常が認められないで臨床症状が存在する場合、第一選択として内科的治療が実施されると思われる。特に 獣医領域では疾患によれば特発し易い犬種などがあるため、それらをX線検査でルーアアウトすれば様子観察となる場合もある。

今回、約2年間のCT検査の中で姿勢・運動異常や跛行などを主訴とする疾患の中で、椎間板疾患や脳・脊髄内腫瘍などを除外した結果、最も多かったのが腫瘍であった。CT検査で全身精査を実施することで、他臓器への浸潤も確認される症例も多数を占めていた。X線・超音波検査で直接原発部位を探し当てたとしても遠隔転移などの存在診断が不可能な症例もあり、難治症例では短時間で撮像が可能なCT検査を実施し3DCTとして観察することなどで、あらゆる角度からの罹患動物の情報を得ることができ、他臓器への浸潤も確認される症例も多数認められていた(39症例中19例)。

腫瘍の内でも筋肉内腫瘍や筋肉内転移など様々なバ

ターンが存在し、リンパ節転移による血行阻害<sup>1)</sup>の浮腫、腫瘍栓・触知不可能な深部リンパ節などの情報を得ることが可能であった<sup>2)</sup>。特に触診が難しい部位や体格での有用性は明らかであり、その周囲の領域リンパ節も同時に描出できるため予後判定には非常に有用性が高いと思われる。

飼主も早期診断・早期治療を望み、手術や治療に立ち向かい、どんなに小さな病変でも知る権利があり、さまざまな画像検査の中でも他の画像診断装置よりも客観性・検出率が高く他の画像診断で得ることのできない情報を利用できるため、治療や術前情報におけるCTの有用性は高いと思われる。

## 謝 辞

情報の提供を頂いた、アイラ動物病院、あさ動物病院、沖動物病院、小田動物病院、木村愛犬病院、下江動物病院、下河内動物病院、瀬戸田動物病院、寺園動物病院、利田動物病院、浜村動物病院、ペットドクター動物病院、前田動物病院、和田動物病院のご協力に深謝します。



参 考 文 献

- 1) Brasmer, T. H., Lumb, W. V. : Lumbar vertebral prosthesis in the dog. American Journal of Veterinary Research 33, 493-500. (1972)
- 2) 原康監修: 犬と猫の脊椎・脊髄疾患—診断と外科手技— 255-259, 株式会社インターズー, 東京 (2006)

# 動物取扱責任者研修実施後に行った アンケート調査の結果について

兼重 裕美子 田原 彰敏 木戸 照明 城仙 哲宣

(受付：平成 19 年 10 月 24 日)

## Results of a questionnaire survey performed after a training course for persons responsible for animal handling

YUMIKO KANESHIGE, AKITOSHI TAHARA, TERUAKI KIDO, and TETSUNOBU JOSEN

Hiroshima City Animal Control Center 11-27, Fujimi-cho, Naka-ku, Hiroshima 730-0043

### SUMMARY

Due to the revision of the Act on Welfare and Management of Animals in June 2006, our city held the first training course for persons responsible for animal handling ("training course" hereafter) in June 2007. A questionnaire survey performed after the training course revealed that animal handling operators hope the training course to provide not only lecture contents prescribed by the act but also new annual topics and information useful for daily practice. Therefore, to perform effective and rich training courses, self-governing bodies providing such a training course should make further efforts and improvements.

### 要 約

平成 18 年 6 月の動物の愛護及び管理に関する法律（以下、「動愛法」という。）の改正により、本市では本年 6 月に第 1 回目の動物取扱責任者研修会（以下、「研修会」という。）を開催した。研修会実施後に行ったアンケート調査の結果、動物取扱業者は研修会に、法律で定められた講義内容だけでなく、毎年新しく社会的に話題性の高い、実務に役立つ情報の提供を望んでいることが判明した。よって、効果的で充実した研修会を実施するためには、開催自治体の一層の努力と工夫が必要となることを実感した。

### はじめに

平成 18 年 6 月 1 日から改正された動愛法が施行され、動物取扱業者は、事業所ごとに動物取扱責任者を配置し、自治体が開催する研修会を、年 1 回以上受講させることが義務付けられた。また、研修会では、①動愛

法令に関すること②飼養施設の管理に関する方法③動物の管理に関する方法④その他動物取扱業の業務の実務に関する事、について講義するよう動愛法に定められている。本市では平成 19 年 6 月 20 日に第 1 回目の研修会を開催し、受講者を対象にアンケート調査を実施したので、その結果を報告する。

## 調査方法

第1回目の研修会受講者68名を対象に、後日研修内容に関するアンケート用紙を郵送した。

1. 調査期間：平成19年6月22日～平成19年7月13日
2. 調査対象：第1回目研修会受講者68名(表1)
3. 調査内容：
  - 1) 研修会の開催案内通知の送付時期
  - 2) 研修会の内容について
  - 3) その他の意見、要望等
4. 回答方法：郵送またはFAX

表1 出席者の業種内訳 ※重複あり

販売	保管	貸出し	訓練	展示
45	42	0	7	0

## 結果

### 1. アンケート回答率：73.5%

回答者の業種内訳は表2のとおり、出席者の割合とほぼ同様に販売業と保管業が大半を占めた。(表2)

表2 アンケートの業種内訳 ※重複あり

販売	保管	貸出し	訓練	展示
35	30	0	3	0

### 2. 研修会の案内通知の送付時期

本市では研修会を、平日の午後に開催予定であるが、受講者は店舗経営されている方が多いため、定休日などのスケジュール調整の都合を考慮し、開催案内通知を第1回目の研修日の1ヶ月前に送付し、併せて計4回分の研修会日程の案内を行った。送付時期については表3のとおり9割以上がちょうど良いとの回答だった。(表3)

表3 開催案内通知の送付時期について

項目	割合
ちょうど良い	96%
早すぎる	4%
遅すぎる	0%

### 3. 研修会で有意義であった内容

研修内容のうち、受講者が有意義であったと感じた研修内容の内訳は図1のとおり、「動物と人の共通感染症」が35%、「動物取扱業に関するよくある質問の解説」が34%、「動愛法に定められた遵守基準」が20%、「化製場法に関する許可について」が9%であった。

法律用語の多い遵守基準の説明よりも、よくある質問の解説のほうが言葉も容易で、実務に沿っており分かりやすかった、との意見があった。(重複回答有り)(図1)

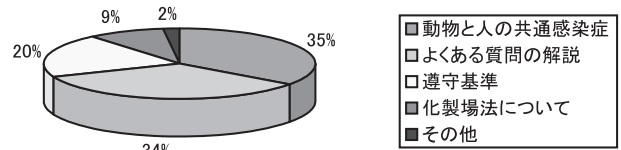


図1 研修会で有意義であった内容

### 4. 講義方法について

研修会はテキストや参考資料を中心に、スライドを使用して講義を行った。配布した参考資料の量が多く、どの資料の説明を行っているのかが分かりづらかった、との意見があった。(図2)

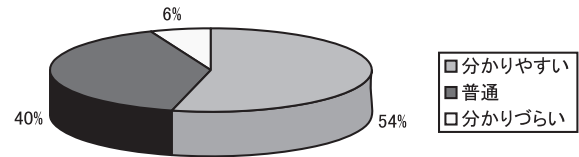


図2 講義の方法について

### 5. 研修会で得られた知識について

今回の研修会で得られた知識について、9割を超える方が今後の実務に役立つとの回答であった。一方で、「内容が物足りなかった」「実務に則した具体的な話が少なかった」との意見があった。(表4)

表4 研修会で得られた知識について

項目	割合
非常に役に立つ	18%
役に立つ	76%
あまり役に立たない	6%
全く役に立たない	0%

### 6. 研修会全体の感想

研修会全体を通しての感想は表5のとおりであるが、毎年同じ研修会を受講しなければならないということもあり、「来年度以降の研修内容は代わり映えがあるものになるのか?」といった意見もあった。(表5)

表5 研修会全体の感想

項目	割合
満足	20%
ほぼ満足	44%
普通	36%
不満	0%

### 7. 新たに研修会に取り入れて欲しい内容

新たに研修会に取り入れて欲しい内容として、アンケートに記入があった意見のうち、主なものは以下のとおりである。

- 1) 質問時間、同業者同士のディスカッション時間を設けて欲しい
- 2) 業者の良い事例、悪い事例
- 3) 犬猫以外の小動物(ハムスター、小鳥、ヘビなど)についての詳しい情報

- 4) ペットがよくかかる病気, その初期症状や対処法
- 5) 最近のペット事情 (事件や話題)
- 6) 動物管理センターの日々の業務, 安楽殺処分される犬猫の現状
- 7) 犬の登録, 予防注射やしつけに関すること

## 考 察

動愛法では, 5 業種 (販売, 保管, 貸出し, 訓練, 展示) ごとに, 法に定められた遵守基準の内容が異なる。また, 対象となっている動物種も, 哺乳類, 鳥類, は虫類と

非常に幅広い。さらに, 動愛法の規定により, 動物取扱業者は研修会を毎年受講することが義務付けられており, 来年度以降は, 研修会に初めて参加する業者や, 参加経験のある業者が混在するため, 業者が研修会に望む内容は, 今後多岐にわたることが予想される。

より効果的で, 充実した研修会を実施するためには, 動愛法で定められた講義内容以外にも, 毎年新しく, 社会的に話題性の高い実務に役立つ情報の提供や, 動愛法以外の専門的な知識を有する講師を招へいするなど, 開催自治体のより一層の努力と工夫が必要となることを実感した。



# 内臓処理工程における牛肝臓の衛生実態調査

長 澤 元

(受付：平成 19 年 12 月 18 日)

## Survey of the present sanitary status of bovine livers in internal organ processing

HAJIME NAGASAWA

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

### SUMMARY

The livers of cattle slaughtered in slaughterhouses within our jurisdiction in June and July 2007 were wiped before and after trimming, after washing with water, and before and after disinfection with sodium hypochlorite (before and after disinfection) during processing, and the standard plate (SPC) and coliform bacteria (cf) counts were surveyed.

Based on the results, sanitary measures were taken. Subsequently, livers were wiped after trimming, after washing with water, and before and after disinfection, and a survey after taking measures was performed.

Before sanitary measures were taken, both SPC and cf increased after trimming and slightly decreased after washing with water, but markedly increased before disinfection and decreased after disinfection.

After sanitary measures were taken, both SPC and cf decreased after trimming and washing with water but increased before disinfection.

These results suggest the importance of temperature control from the completion of washing until the initiation of disinfection.

### 要 約

平成 19 年 6 月～7 月に、管内と畜場においてと畜された牛の肝臓を、整形前、整形後、水洗後、次亜塩素酸ナトリウムによる消毒前（消毒前）及び消毒後の各処理工程において拭き取りを行い、一般生菌数（SPC）及び大腸菌群数（cf）について衛生状況の調査を実施した。

また、結果に基づいて衛生対策を実施した後に、整形後、水洗後、消毒前及び消毒後において肝臓を拭き取り、対策後の調査を実施した。

SPC 及び cf とも整形後で増加し、水洗後ではわずかに減少した。しかし、消毒前ではどちらも大きく増加し、消毒後では減少した。

衛生対策後は、両者とも整形後及び水洗後で減少したが、水洗後と比較すると消毒前では

増加した。

これらのことから、菌数を増加させないためには、水洗後から消毒前にかけての温度管理が重要であることが考えられた。

## 序 文

平成 18 年に発生した腸管出血性大腸菌による食中毒事例（速報値 24 件，患者数名）では，焼肉店が原因施設となった事例が 18 件（75%），患者数 158 名（88%）の発生をみており，その原因食品の多くが牛肉及び牛レバーの喫食であった<sup>1)</sup>。当所管内の A と畜場では生食用牛肝臓の出荷は行っていないが，衛生的な肝臓を提供するため，日ごろから衛生指導を行っている。

しかし，肝臓の衛生状態が把握できていないのが現状である。そこで，今後の衛生指導の参考とするため，A と畜場の内臓処理工程における肝臓の拭き取り検査を実施し，処理工程ごとの細菌汚染の状況及び汚染要因の把握を行い，衛生管理の方法について検討した。

## 材料と方法

1 調査期間：平成 19 年 6 月～7 月

2 調査検体

1) 衛生状況調査（図 1）

処理工程における整形前，整形後，水洗後，消毒前及び消毒後の牛肝臓の横隔面の拭き取り検体各 3～21 検体の計 87 検体

2) 衛生対策後の調査（図 2）

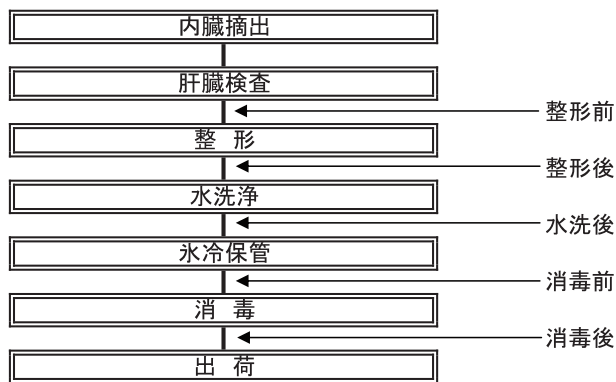


図 1 肝臓処理工程（衛生対策前）

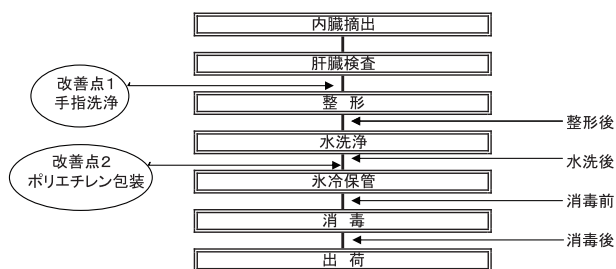


図 2 肝臓処理工程（衛生対策後）

処理工程における整形後，水洗後，消毒前及び消毒後の牛肝臓の横隔面の拭き取り検体各 6 検体の計 24 検体

3 検査項目：一般生菌数（SPC），大腸菌群数（cf）

4 検査方法：「食品衛生検査指針」<sup>2)</sup> に準じて実施した。

## 結 果

### 1 衛生状況調査結果（図 3，4）

各処理工程別の SPC は，それぞれの中央値（図中\*）が，整形前  $2.2 \times 10^1/\text{cm}^2$ ，整形後  $2.5 \times 10^2/\text{cm}^2$ ，水洗後  $1.9 \times 10^2/\text{cm}^2$ ，消毒前  $8.2 \times 10^3/\text{cm}^2$ ，消毒後  $8.3 \times 10^1/\text{cm}^2$  であった。SPC は，整形後に増加し，水洗後に減少するものの，消毒前で再び増加し最も高い値を示したが，消毒後には減少した。（図 3）

各処理工程別の cf は，それぞれの中央値が，整形前陰性，整形後  $1.4 \times 10^0/\text{cm}^2$ ，水洗後  $6.0 \times 10^{-1}/\text{cm}^2$ ，消毒前  $4.2 \times 10^0/\text{cm}^2$  であったが，消毒後は陰性であった。

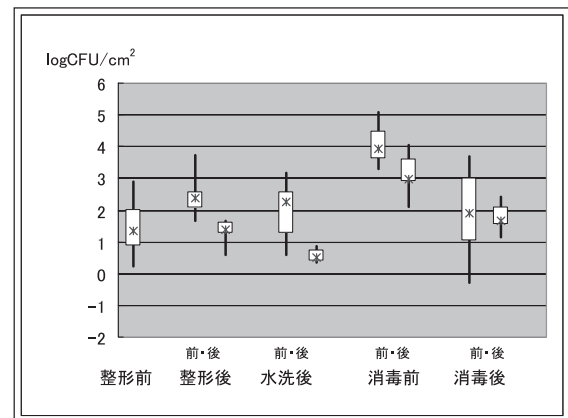


図 3 衛生対策前・後の一般生菌数

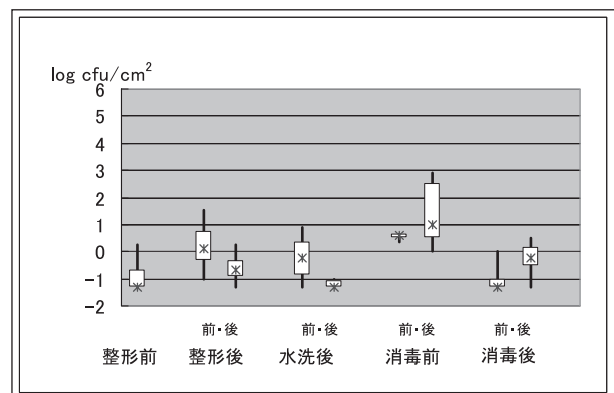


図 4 衛生対策前・後の大腸菌群数

cfは、整形後に検出され、水洗後に減少するものの、消毒前で最も高い値を示したが、消毒後には検出されなかった。(図4)

## 2 衛生対策

1の結果に基づいてSPC及びcf値は、整形後に増加していることから整形中の汚染が考えられ、整形前において、従事者の手指洗浄の励行を指導した。

また、同様にSPC及びcf値が水洗後～消毒前の間に増加していることから、他臓器と混載し保管している肝臓を、ポリエチレン袋で包装し、他臓器との混合汚染を防止した。

## 3 衛生対策後の調査結果(図3, 4)

SPCは、整形後では中央値が、対策前 $2.5 \times 10^2/\text{cm}^2$ 、対策後 $2.5 \times 10^1/\text{cm}^2$ 、水洗後では対策前 $1.9 \times 10^2/\text{cm}^2$ 、対策後 $3.3 \times 10^0/\text{cm}^2$ 、消毒前では対策前 $8.2 \times 10^3/\text{cm}^2$ 、対策後 $9.1 \times 10^2/\text{cm}^2$ 、消毒後では、対策前 $8.3 \times 10^1/\text{cm}^2$ 、対策後 $4.5 \times 10^1/\text{cm}^2$ であった。整形後のSPCは手指洗浄の励行によって大きく減少し、また、水洗後についても同様に減少していた。

消毒前については、対策前後で減少していたが、水洗後と比較すると増加していた。消毒後はやや減少していた。(図3)

cfは、整形後では中央値が、対策前 $1.4 \times 10^0/\text{cm}^2$ 、対策後 $0.2 \times 10^0/\text{cm}^2$ 、水洗後では対策前 $0.6 \times 10^0/\text{cm}^2$ 、対策後陰性、消毒前では対策前 $4.2 \times 10^0/\text{cm}^2$ 、対策後 $1.5 \times 10^1/\text{cm}^2$ 、消毒後では対策前陰性、対策後 $0.6 \times 10^0/\text{cm}^2$ であった。cfは元々の菌数がほとんど検出されていなかったため、あまり変動はなかったが、SPCと同様に消毒前は水洗後と比較して増加していた。消毒後もわずかに増加していた。(図4)

## 考 察

今回の調査結果では、SPC、cfとも整形後及び消毒前で増加した。このことから、整形中の作業員の手指による汚染と水洗後から消毒前における肝臓の保管状態の不備(他臓器との接触及び冷却に使用した氷の融解水)による汚染が考えられた。そのため、整形前に作業員の手指洗浄の励行及び水洗後の肝臓をポリエチレン袋で包装するといった衛生対策を講じた。

その結果、手指洗浄の効果は顕著であった。ポリエチレン包装の効果については、他臓器及び融解水による汚染は防止できたと考えられるが、菌数減少にはあまり効果がなかった。

この原因として、水洗後の肝臓が、氷を入れているとはいえ、数時間常温で保管されるため、氷融解後、保管温度の上昇により、肝臓の滲出液中の菌が増加したためと考えられた。

平成11年に他自治体が調査した報告<sup>3)</sup>によると、水洗後のSPCは平均値(対数)で0.79、保管後1時間で1.20であり、当所の結果では、対策後の水洗後において中央値(対数)が0.52であり、また最大で0.88、最小が0.34であった。平均値と中央値の違いはあるが、Aと畜場の肝臓が特に汚染されているとは考えにくい。

保管後1時間について、当所は検査をしていないが、消毒前で2.96となっている。しかし、消毒後で1.65と消毒前と比較して菌数は減少しており、消毒の効果は表れているので、今後は整形後の肝臓について、速やかに10℃以下の冷蔵庫内で保管するよう温度管理を徹底し、消毒までの菌の増加防ぐことが重要であると考えられた。

また、包膜のない肝臓実質面は細菌汚染を受け易く、洗浄の効果が少ないとの報告<sup>4)</sup>があることから、内臓摘出時、包膜を傷つけないようにすること及びと畜検査員が肝臓に不要な切開を加えることのないよう注意をすることが必要である。

## 参 考 文 献

- 1) 厚生労働省：飲食店における腸管出血性大腸菌食中毒対策について(平成19年5月14日(2007)医薬食品局食品安全部監視安全課長通知)
- 2) 厚生労働省：食品衛生検査指針(微生物編), 116-145, 社団法人日本食品衛生協会, 東京(2004)
- 3) 稲垣陽子ら：食肉センターにおける牛レバーの衛生管理に関する検討, 平成11年度食肉衛生技術研修会・衛生発表会資料, 142(2000)
- 4) 小林典章ら：牛肝臓の衛生対策について, 平成11年度食肉衛生技術研修会・衛生発表会資料, 138(2000)

# ニワトリの皮膚扁平上皮癌の1例

山下 和子

(受付：平成19年12月18日)

## A chicken with dermal squamous cell carcinoma

KAZUKO YAMASHITA

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

### SUMMARY

We encountered a chicken showing a crater-like skin lesion at the time of examination after defeathering in the S poultry processing plant in our jurisdiction. The lesion was localized in the skin. Histological examination showed the keratinization of tumor cells, cancer pearl formation, and intercellular bridges among tumor cells. The immunostaining of tumor cells with human-derived anti-keratin/cytokeratin antibody was positive, confirming cells in the epithelial system. Based on these findings, a diagnosis of dermal squamous cell carcinoma was made.

### 要 約

当所管内のS食鳥処理場において脱羽後検査時に皮膚にクレーター状の病変が認められた症例に遭遇した。病変は皮膚のみに限局し、組織学的所見において腫瘍細胞の角化、癌真珠の形成、腫瘍細胞間に細胞間橋が認められ、腫瘍細胞がヒト由来抗ケラチン/サイトケラチン抗体を用いた免疫染色で陽性反応を示し、上皮系の細胞であることが確認されたことから、皮膚扁平上皮癌と診断した。

### 序 文

ニワトリの皮膚病変の原因としては鶏痘、マレック病をはじめ、細菌、真菌や寄生虫の感染症等が考えられる。また、皮膚の腫瘍性病変の可能性も示唆される。

今回、当所管内のS食鳥処理場において脱羽後検査時に皮膚にクレーター状の病変が認められた症例に遭遇した。S食鳥処理場では機械的な創傷が見られるが、皮膚病変に遭遇することは少ない。当初はこの症例について細菌性皮膚炎の疑いで検査を行ったが、検査の

結果、皮膚扁平上皮癌と診断したのでその概要を報告する。

### 材料及び方法

検査材料は、平成19年5月7日S食鳥処理場に搬入された3,115羽中の1羽で、品種はチャンキー、55日齢の性別はオスであった。肉眼検査後、病変部位を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、定法に従いパラフィン切片を作製した。その後、ハマトキシリン・エオジ



ン (H・E) 染色, グラム染色, 免疫組織化学染色を実施した。

免疫組織化学染色は一次血清として抗ケラチン/サイトケラチン抗体(ニチレイ, 東京)を使用しヒストファインシンプルステイン MAX-PO (MULTI) キット(株式会社ニチレイバイオサイエンス, 東京)を用いて行った。

また, 細菌検査は皮膚, 肝臓及び脾臓を検体として5%羊血液寒天培地(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社, 福島)で37℃ 48時間好気及び嫌気培養し, 菌の同定検査を行った。

## 成 績

### 1. 肉眼所見

全身の皮膚にクレーター状の病変が散発していた。病変は直径0.6~1.5cmの円形の形状をし, 病変部位は腹部より背部の方が多かった。(写真1)

病変部の底部は黄白色を呈していた。(写真2)

内臓には著変を認めなかった。

### 2. 組織学的所見

脱羽処理により表皮は欠損していたが, クレーター内には表皮が認められ, 胚芽層は正常に比べ増殖していた。(写真3)

表皮層内には類円形から紡錘形の核を持ち, やや塩基性の細胞質を有する腫瘍細胞が索状, 島状に認められた。(写真4)

腫瘍細胞が層状に集簇し, その中心部が角化した癌真珠の形成も見られた。(写真5)

また, 腫瘍細胞間には細胞間橋も認められた。

(写真6)

真皮層内でも表皮層内と同様の所見が認められた。また, 結合組織が増生し, リンパ球, 偽好酸球を中心とした炎症細胞の浸潤も認められた。

免疫組織化学的所見では, 真皮層内の腫瘍細胞に陽性反応が認められた。(写真7)

このことから腫瘍細胞は, 上皮系の細胞であることが確認された。また, 表皮層内の腫瘍細胞にも同様の陽性反応が認められた。

当初, 細菌性皮膚炎を疑っていたため, グラム染色を行ったが病変部に細菌は確認できなかった。

### 3. 細菌検査所見

皮膚及び脾臓から *Bacillus* 属菌を検出した。

## 考 察

今回の症例は, 肉眼所見から皮膚に病変を認め, 組織学的所見から腫瘍細胞の角化, 癌真珠の形成及び腫瘍細胞間に細胞間橋が認められ, 腫瘍細胞はヒト由来抗ケラチン/サイトケラチンポリクロナール抗体を用いた免疫染色に陽性反応を示し, 上皮系の細胞である



写真1 クレーター状の病変が散発している



写真2 病変の拡大写真, 病変の底部は黄白色を呈していた

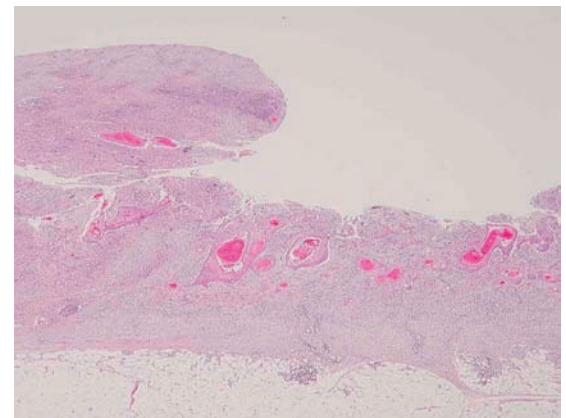


写真3 クレーター状の病変部 (H・E染色×20)

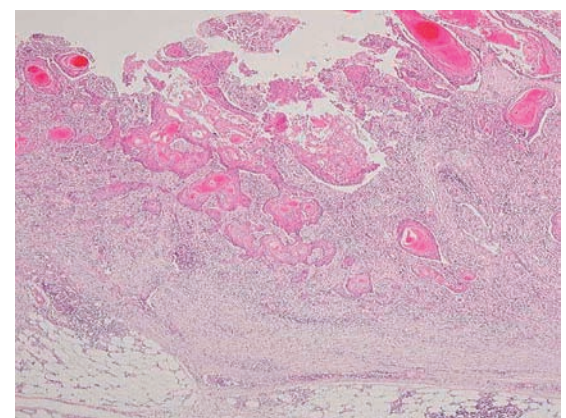


写真4 扁平上皮様の腫瘍細胞が索状, 島状に認められる (H・E染色×40)

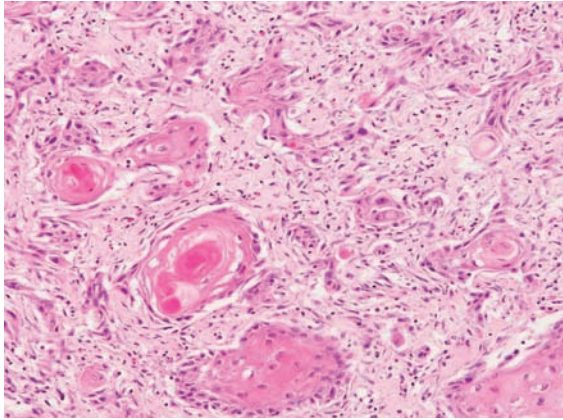


写真5 腫瘍細胞の中心部が角化した癌真珠の形成が見られた (H・E染色×200)

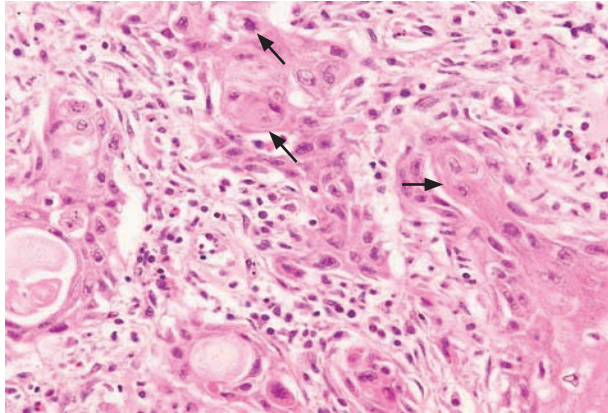


写真6 腫瘍細胞間に細胞間橋(矢印)が認められる (H・E染色×400)

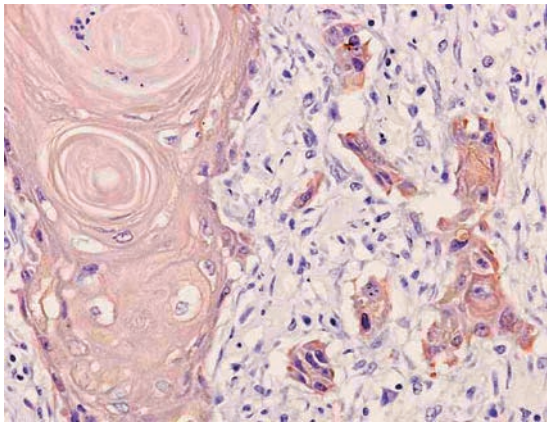


写真7 腫瘍細胞に陽性反応が認められる (抗ケラチン染色×400)

ことから皮膚扁平上皮癌と診断した。

細菌検査結果から検出された *Bacillus* 属菌は自然界に広く分布されていることから、今回の症例の原因菌ではなく、常在菌ではないかと推測した。

扁平上皮癌は表皮に由来する悪性腫瘍の代表的なもので、牛では眼瞼に多発し、キャンサーアイという名で知られており、小動物では皮膚に多発する腫瘍の上位を占めている<sup>1)</sup>。鶏では日本での報告例<sup>2,3)</sup>が少なく、当所のS食鳥処理場においては初めて認められた症例であった。しかしながら、Turnquest<sup>4)</sup>やHafner<sup>5)</sup>によると、ブロイラーの扁平上皮癌は食鳥検査において脱羽後と体に0.01%～0.04%の発生率をもって広範に検出される疾病であると報告している。

このことから、扁平上皮癌も今回の症例のように細菌性皮膚炎が疑われ、現場で処理されている可能性もある。そのため、本症の正確な診断が必要であると考える。

発生要因については、人では定期的に日光または他の紫外線にさらされること、遺伝的な素質、化学汚染、X線または他の放射線への過剰被爆等により起こるといわれている<sup>6)</sup>が、今回の症例においても何らかの皮膚刺激があったのではないかと考える。今後もこのような症例に対して知見を深めていきたいと思う。

## 謝 辞

診断にあたり、ご助言、ご指導いただいた東広島家畜保健衛生所病性鑑定グループに深謝します。

## 参 考 文 献

- 1) 板倉智敏・後藤直彰編：獣医病理組織カラーアトラス，194，文永堂，東京（1990）
- 2) Masahiro SUGIYAMA et al: Dermal Squamous Cell Carcinoma in a Laying Hen, Jpn. J. Vet. Sci, 49 (6), 1129-1130 (1987)
- 3) 清水俊夫ほか：ブロイラーの皮膚扁平上皮癌の3例，日本獣医師会雑誌，49，117-119(1996)
- 4) Turnquest RV : Am j Vet Res, 40, 1628-1633 (1979)
- 5) Hafner S et al: Vet Pathol, 30, 265-270 (1993)
- 6) 清水宏：あたらしい皮膚科学，中山書店，392-393 東京（2007）



# と畜場における豚赤痢判定の一考察

古田 喜美 坂本 綾 児玉 実 佐伯 幸三 迫田 望

(受付：平成 19 年 12 月 18 日)

## A discussion on evaluation criteria for swine dysentery in slaughterhouses

KIMU FURUTA, AYA SAKAMOTO, MUNORU KODAMA, KOZOU SAIKI, NOZOMU SAKODA

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

### SUMMARY

To determine evaluation criteria for swine dysentery in slaughterhouses in Hiroshima City, we examined 117 colon specimens of pigs transported to slaughterhouses in Hiroshima City, including 35 colon/rectal specimens. Of the 117 colon specimens, 60.7% were positive for *Brachyspira hyodysenteriae* (*Bh*). Of the 35 colon/rectal specimens, the *Bh* detection rate was 40.0% in both the colon and rectum, showing no difference. The *Bh* detection rate according to the fecal properties was evaluated. *Bh* was positive in 75.0% of pigs with abnormal feces such as diarrhea and bloody feces but 40.7% in those with normal feces. These results suggested a difference between clinical symptoms in the places of stockbreeding and the *Bh*-positive rate in the colorectal mucosa. Therefore, in the diagnosis of swine dysentery, evaluation of both the colon and rectum, not the colon alone, is useful on inspection in slaughterhouses.

### 要 約

広島市と畜場での豚赤痢判定基準について検討するために、平成 18 年 5 月から平成 19 年 7 月までに広島市と畜場に搬入された豚について、豚赤痢様大腸炎の所見が認められた大腸 117 検体、そのうち 35 検体については直腸を含めて検査を実施した。検査した大腸 (117 検体) では、60.7% が豚赤痢菌陽性であった。直腸も含めて検査した例 (35 検体) では、大腸および直腸からの検出率は、いずれも 40.0% で、差が見られなかった。しかし、それら 35 検体の検出率を便の性状により比較したところ、下痢、血便などの異常便では 75.0%、正常便では 40.7% が豚赤痢菌陽性だったことから、生産現場での臨床症状と大腸粘膜における保菌状況の間には、開きがあると思われた。以上のことから、豚赤痢の判定において、大腸病変部のみで判定するのではなく、直腸を含めての判定が、と畜場の検査では有用ではないかと思われた。

## 序 文 成 績

豚赤痢は *Brachyspira hyodysenteriae* (以下, *Bh*) が原因で発生する豚の腸管感染症で, 家畜伝染病予防法の届出伝染病に指定されている。現在, 広島市と畜場では, 豚赤痢の特徴である重度の出血性腸炎は減少傾向であるが, 腸間膜の浮腫を主徴とする水腫性大腸炎から豚赤痢菌様の菌体を確認する例が見られる。依然として豚赤痢菌は養豚農家に広く浸潤しており, それが, 潜在的な経済損失を招いているものと推測される。平成 18 年に全国食肉衛生検査所協議会で統一的な豚赤痢の検査法<sup>1)</sup> が示されたことから, 当検査所においてもこの方法で検査できるように現在準備を進めている。今回, これまでの広島市と畜場での豚赤痢様大腸炎の検査状況を整理し, その判定基準について検討したので報告する。

### 材料及び方法

#### 1 材料

平成 18 年 5 月から平成 19 年 7 月までに広島市と畜場に搬入され内臓検査で豚赤痢様大腸炎の所見を認めた豚の大腸 117 検体, そのうち 35 検体については直腸を含めて検査した。

#### 2 方法

平成 18 年 11 月に全国食肉衛生検査所協議会微生物部会で示された「豚赤痢の判定基準」の判定基準Ⅱ<sup>1)</sup> に準じて実施した。すなわち, 分離培養には BJ 培地を使用し, 検出された菌体を, PCR 法により同定した。BJ 培地は, トリプチケースソイ寒天培地に 20% 豚糞便抽出液を加え 121℃ 15 分の高圧蒸気滅菌後, コリスチン, バンコマイシン, スペクチノマイシン, リファンピシン, およびスピラマイシンの 5 種類の抗生物質と羊脱線血液を加えたものである。培養は, 大腸および直腸の病変部をサフラニンによる単染色で鏡検した後, BJ 培地に接種し, 42℃ 48 時間の嫌気培養を行った。培養後, BJ 培地に発育した  $\beta$  溶血性灰白色膜状コロニーを鏡検し, スピロヘータ状の菌形態を認めたものを菌体陽性とした。PCR 検査には, 菌液を 10 分間煮沸溶菌した後, 12,000rpm, 5 分遠沈した上清をテンプレートとして使用した。PCR 反応液は, 判定基準Ⅱ<sup>1)</sup> に準じて調製した。プライマーは, *Bh* の NADH オキシダーゼ遺伝子 (nox gene) 領域を標的として設計された<sup>2)</sup> ものである。PCR 反応条件は, 判定基準Ⅱ<sup>1)</sup> に示されているとおり, 初期変性 95℃ 10 分の後, サイクル反応では, 94℃ 30 秒 (変性反応), 52℃ 30 秒 (アニーリング), 72℃ 1 分 (伸張反応) を 31 回繰り返した後, 72℃ 10 分の伸張反応を行った。電気泳動は, 2% アガロースゲルを使用し, 泳動後 354bp の特異バンドを確認できたものを, *Bh* と同定した。

#### 1 大腸からの *Bh* 検出結果

写真 1 に示すような豚赤痢様大腸炎を示した 117 例のうち, 鏡検によりスピロヘータ状の菌形態を認めたものは 85 検体 (72.6%), BJ 培地に発育したものが 80 検体 (68.4%), PCR 検査が陽性になったものが 71 検体 (60.7%) であった。また, 117 検体のうち, 内臓検査で下痢・血便等の臨床症状を確認できたものは, 23 検体 (19.7%) であった。(表 1)

表 1 供試豚 117 例の大腸からの検査法別 *Bh* 検出状況

検査法	陽性数 (%)
直接鏡検	85 (72.6%)
BJ 培地分離	80 (68.4%)
PCR 同定	71 (60.7%)
下痢等臨床症状	23 (19.7%)



全体像



大腸部拡大像

写真 1 豚赤痢様大腸炎の肉眼的所見  
腸間膜浮腫と充血・出血の伴った水腫性大腸炎

#### 2 直腸を含めた *Bh* 検出結果

直腸を含めて検査した 35 検体のうち, 鏡検によりスピロヘータ状の菌形態を認めたものは, 大腸で 28 検体 (80.0%), 直腸で 27 検体 (77.1%), BJ 培地に発育したものは, 大腸で 19 検体 (54.3%), 直腸で 20 検体 (57.1%), PCR 検査が陽性になったものは, 大腸で 14 検体 (40.0%), 直腸で 14 検体 (40.0%) であった(表 2)。



また、直腸 35 検体のうち、粘膜に著しい充血・出血の病変を認めて血便を排出しているような状況のもの(写真 2) は、8 検体 (22.9%) であった。

表 2 大腸及び直腸の両者から検出を行った 35 例の検出法別 *B.h* の検出状況

検査法	大腸 (%)	直腸 (%)
直接鏡検	28 (80.0%)	27 (77.1%)
BJ 培地分離	19 (54.3%)	20 (57.1%)
PCR 同定	14 (40.0%)	14 (40.0%)



写真 2 直腸粘膜の肉眼的所見  
粘膜に著しい充血・出血と血便を排出している

### 3 糞性状別による大腸および直腸の *B.h* 検出結果

直腸を含めて検査した 35 検体の糞性状別検出状況は、表 3 に示した (表 3)。大腸、直腸を問わずに *B.h* が検出されたものは、異常便を示した 8 検体のうち、6 検体であった。正常便を示した 27 検体では、16 検体が陰性であった。

表 3 糞便の性状別による大腸および直腸からの *B.h* 検出状況

糞性状 (検体数)	大腸	大腸・直腸	直腸	陰性
異常 (8)	2 (25%)	4 (50%)	0	2 (25%)
正常 (27)	1 (3.7%)	7 (25.9%)	3 (11.1%)	16 (59.3%)

## 考 察

豚赤痢様大腸炎は、と畜現場でも少なからず目にする病変で、広島市と畜場でもしばしば見かけるものである。平成 16 年 2 月のと畜場法の改正により、豚赤痢は全部廃棄の対象疾病と規定された。しかし、動物衛生研究所のホームページからその発生頭数は、平成 10 年 319 件、11 年 528 件、12 年 1564 件、13 年 462 件、

14 年 133 件、15 年 31 件、16 年 306 件、17 年 148 件、18 年 159 件と、平成 12 年を除くと年間に 100 頭から 500 頭の発生で推移しており、平成 16 年 2 月のと畜場法の改正による届出数の変化はみられていない。このことから、現在、多くの検査機関でも豚赤痢の判定に苦慮していることがうかがえる。

平成 18 年に、全国食肉衛生検査所協議会で統一的な豚赤痢の検査法<sup>1)</sup>が示された。当所においても、その方法で豚赤痢の検査ができるように準備を進めてきているが、その「豚赤痢の判定基準」には、精密検査法の詳細は示されているものの、と畜現場での判定基準については示されていない。そこで今回、当所における豚赤痢の判定基準の作成を目的として、豚赤痢様症状を示した大腸炎の検査を実施した。豚赤痢を疑った 117 検体の大腸を検査したところ、鏡検で菌を確認できたものは 72.6%、BJ 培地により菌を分離できたものが 68.3%、最終的に PCR 検査で *B.h* と同定できたものは 60.7% であり、大腸の水腫性肥厚・充血などの肉眼的な所見を呈していたもののうち 60.7% は、豚赤痢に罹患していたことが確かめられた。しかし、これらのうち、大腸内容物の状況から下痢等の異常を確認できたものは、23 検体で全体のわずか 19.7% にしか過ぎなかった。このことから、畜産現場において臨床症状として下痢等の異常を確認できるものは、*B.h* 保菌豚のおよそ 1/3 と推測され、と畜現場での内臓所見と、大きく差があると思われた。また、と畜場での生体検査では、下痢等の異常を確認することは難しく、内臓検査で大腸を切開して内容物の確認を行うことは、糞便や菌による検査台の汚染等の観点から、衛生上問題がある。そのため、大腸を傷つけずに判定できないかと考え、直腸に着目し、直腸も含めての検査も実施した。大腸と直腸を合わせて検査した結果、*B.h* の検出率は両方とも 40.0% で、両者に違いはみられなかった。このことから、大腸、直腸のいずれを検査しても、*B.h* 検出率に変化が無いと考えられた。また、便性状による *B.h* 検出率についても検討してみると、異常便では 75% が *B.h* 陽性であったが、正常便では約 60% (59.3%) が陰性であり、菌の検出と便の性状には大きく相関があることが伺えた。

今回のと畜場法の改正により、豚赤痢は単に届出伝染病のみならず、と畜検査では全部廃棄措置が必要となった。しかし、と畜現場での検査の実情や、個体による病勢の差、畜産農家での処分を防ぐための過剰な薬物投与の懸念を考慮すると、実態に即した判定基準の作成が必要となる。また、下痢等の異常がある場合、と畜場を介しての場外への汚染拡大防止も欠かせない視点であり、直腸粘膜の状況を確認し、充血、出血および血便を排しているものを豚赤痢の判定対象とすることが、と畜場の検査では有用ではないと思われた。

今後は、豚赤痢を疑った大腸炎が出た場合や、豚赤痢の兆しである大腸炎を発見した場合、家畜保健所と

の連絡を密にして畜産農家現場へのフィードバックが円滑にできるような体制を整えるとともに、検査面ではより迅速な判定ができるような培養法と、下痢や腸の粘膜異常をレベル分けし、臨床症状と菌量の関係についても追究していきたいと考えている。

## 文 献

- 1) 全国食肉衛生検査所協議会微生物部会：第26回微生物部会総会・研修会資料，資料2（2006）
- 2) Tom L et al: Development of a duplex PCR assay for detection of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli* in pig feces, J Clin Microbiol, 41, 3372-3375 (2003)

# 消毒剤としての酸性電解水の使用実態について

中島 敏浩 西岡 達彦 岩井 徹 重東 和宏 三宅 伸子 山根 伸久  
(受付：平成 19 年 12 月 21 日)

## Present status of the use of acidic electrolyzed water as a disinfection agent

TOSHIHIRO NAKASHIMA, TATSUHIKO NISHIOKA, TORU IWAI, KADUHIRO SHIGETO,  
NOBUKO MIYAKE, NOBUHISA YAMANE

Fukuyama City Public Health Center  
2-11-22, Miyoshi-cho-minami, Fukuyama, Hiroshima 720-8512

### SUMMARY

For disinfection with drug solution, sodium hypochlorite is commonly used. In recent years, institutions introducing acidic electrolyzed water instead of sodium hypochlorite have been increasing. Acidic electrolyzed water can be readily used, but requires appropriate management. Depending on the status of its use, improvement may be necessary. Therefore, to clarify the present status of the use of acidic electrolyzed water, survey was performed.

As a result, the pH of acidic electrolyzed water varied among institutions. The awareness of its appropriate use markedly differed among the institutions. Management is insufficient in some institutions, but the pH and effective chlorine concentration were mostly appropriate. Acidic electrolyzed water in each institution appeared to have adequate bactericidal effects, but further studies on the effectiveness of its bactericidal action are necessary.

This survey suggested the necessity of guidance in the appropriate use of acidic electrolyzed water as well as sodium hypochlorite.

### 要 約

薬液による消毒として一般的なものに次亜塩素酸ナトリウムがあるが、近年これに代わり酸性電解水を導入する施設が急速に増加している。酸性電解水は使いやすい利点もあるが、適正な管理が必要であり、使用実態により放置できない状況も考えられる。そこで福山市内での現状を把握するため、使用状況の実態調査を行った。

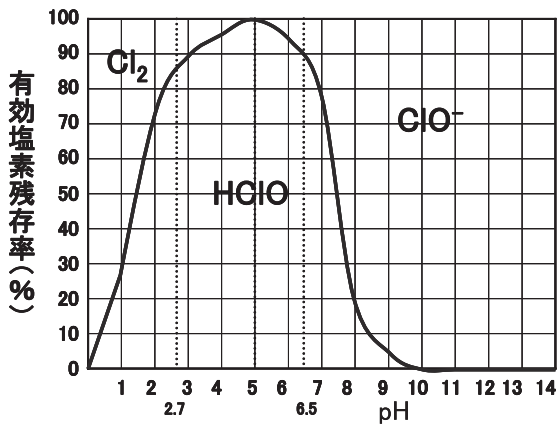
調査の結果、各施設でさまざまな pH 領域の電解水等の使用が認められた。また各施設での使用意識に大きな相違が見られ、管理が不適正な施設もあったが、pH と有効塩素濃度はほぼ適正な濃度で使用されていた。また、それぞれ十分な殺菌力を保有している可能性が示唆

されたが、殺菌力については更なる有効性の検証が必要である。

今回の調査を通じ、酸性電解水についても次亜塩素酸ナトリウムと同様、適正な使用についての指導が必要であると考えられた。

## 序 文

消毒を適切に行うことは、食中毒及び感染症を予防するうえで大変重要である。薬液による消毒として一般的なものに次亜塩素酸ナトリウムがあるが、近年これに代わり酸性電解水を導入する施設が急速に増加している。酸性電解水は、低濃度の食塩水や塩酸水を電気分解し生成される。使用感覚が水道水とほぼ同じであること、また使用時の希釈操作が不要なため使用者による希釈のばらつきがない等の利点がある。さらに、電解水のうち強酸性電解水や微酸性電解水は、食品衛生法で平成 14 年 6 月に次亜塩素酸水として食品添加物に指定され、食品分野でも使用されはじめている。しかし、電解水は、温度、pH 等によってその有効塩素の形態が変化するため(図 1)<sup>1) 2)</sup>、適正な管理が必要であり、使用実態により放置できない状況も考えられる。そこで、福山市内での現状を把握するため、酸性電解水を使用している食品営業施設および医療施設等を対象に使用状況の実態調査を行い、若干の知見を得たので報告する。



次亜塩素酸 (HClO) は pH により状態が変化する。pH が酸性電解水領域 (2.7 以下) では、塩素 ( $Cl_2$ ) と HClO が約 2 : 8、微酸性電解水領域 (5 ~ 6.5) ではほぼ HClO のみ、さらに高い次亜塩素酸ナトリウム溶液の領域 (10) では、ほぼ次亜塩素酸イオン ( $ClO^-$ ) のみである。

図 1 様々な pH 領域における次亜塩素酸の存在比率

## 材料と方法

### 1 調査期間

2007 年 (平成 19 年) 7 ~ 8 月

### 2 対象施設

事前に聞き取り調査を行い、酸性電解水の使用実態のある市内の食品営業施設及び医療施設 (調理場を含む) 等を選定した (表 1)。

表 1 調査施設

施設分類	件数
食品営業施設	3
医療施設	5
老人ホーム及びグループホーム	3
保育所	1
合計	12

### 3 検査法

施設で生成使用される酸性電解水を容器に採水し、直ちに以下の測定を行った。

- 1) 水温：アルコール棒状温度計 (明治計量器)
- 2) pH：pH 試験紙 (MACHEREY-NAGEL, Duotest)
- 3) 残留塩素濃度：残留塩素測定器 (HACH, TEST KIT CN-66F 型)

サンプルを蒸留水により 10 倍 ~ 100 倍希釈後、DPD (*N,N*-diethyl-*p*-phenyldiamine) 法により測定した。

## 結 果

### 1 分類

調査の結果、さまざまな pH 領域の電解水が使用されていた。また、殺菌剤 (次亜塩素酸ナトリウム又はさらし粉) と pH 調整剤を使用前に混和し、HClO や  $ClO^-$  を生成する方式もあった。施設での使用量に応じ、製造装置の形状や大きさも多岐にわたっていた。

医療施設での使用が多く認められたが、機器導入の理由は他の厨房設備とともにメーカーに勧められた場合が多かった (図 2)。

### 2 水温及び pH

水温の実測定値は 11 ~ 36℃ と室温の範囲であり適正であった。

pH の実測定値は 3.7 ~ 6.8 であった。施設 J では食品添加物として使用しているが、基準 (pH > 7.5) に合致していなかった (表 2)。

### 3 残留塩素濃度

残留塩素濃度測定値は、10 ~ 50 ppm であり (表 2)、使用用途に応じて業者が設定した濃度でほぼ使用されていた。しかし、施設 C は使用時に臭気の強さが異なる時があり、使用毎に濃度が異なる可能性が示唆された。

### 4 殺菌力の試算

通常、細菌やウイルスには、市販の次亜塩素酸ナトリウム 0.02% (200 ppm pH ≒ 10) であれば十分効果があるとされている。また、*E.coli* を殺菌するために、



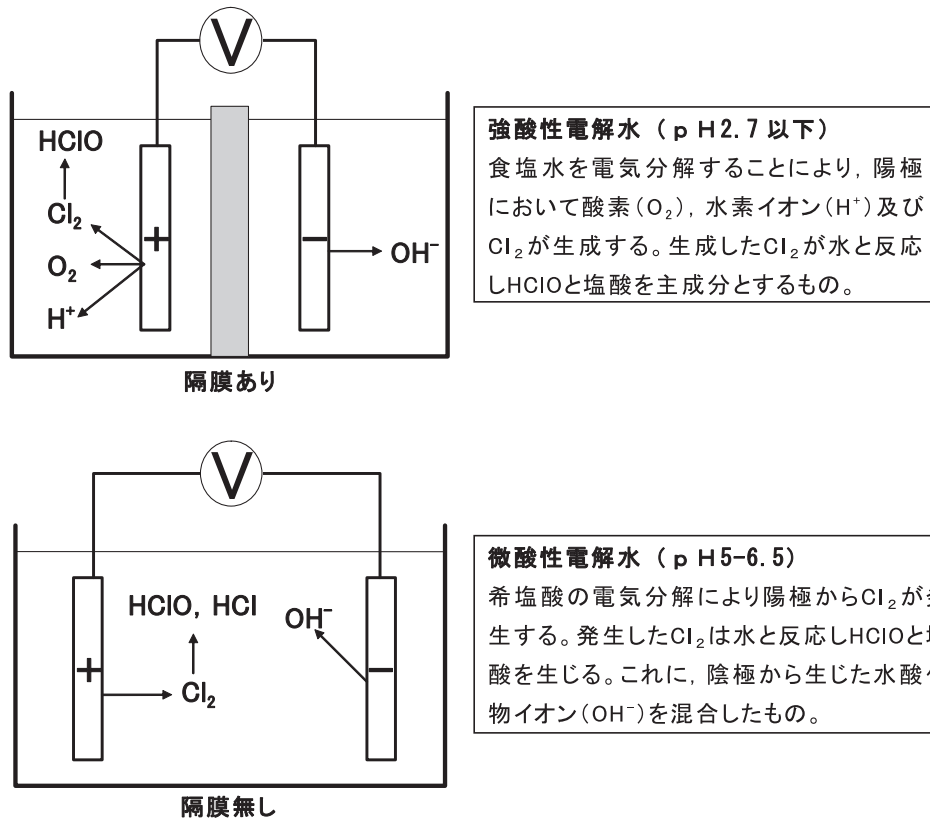


図2 酸性電解水の生成

表2 電解水等検査結果

施設	電解水生成法		施設分類	水温	pH	残留塩素濃度 (ppm)
A	電気分解	隔膜あり	医療施設	22.5	3.7	40
B			老人ホーム	28	3.8	30
C			グループホーム	28.5	3.8	50*
D			医療施設	28	4.1	20
E			食品関連施設	30	4.7	20
F		隔膜なし	医療施設	28	6.2	20
G			医療施設	27	6.4	15
H			保育所	25	6.5	10
I			食品関連施設	11	6.5	50
J			医療施設	27	6.8*	32.5
K	化学反応		食品関連施設	32	3.8	25
L	化学反応		老人ホーム	36	5.9	50

ClO<sup>-</sup>はHClOより80倍の時間を要するといわれている。<sup>2)</sup>そこで、図1を参考に、ClO<sup>-</sup>の殺菌力の強さを1、HClOの強さを80とし、測定したpH、HClO、ClO<sup>-</sup>の存在比及び残留塩素濃度から計算上の殺菌力を比較した(図3)。結果、市販の次亜塩素酸ナトリウム0.02%に相当する十分な殺菌力を有する可能性が示唆された。

### 5 聞き取り結果

#### 1) pHの使用前確認の有無

12施設中7施設(58%)が使用時に全く確認を行っていないかった(図4)。

また、実施施設でも頻度は毎日や1ヶ月に一度等、施設ごとに相違が見られた。

測定方法はpH試験紙や簡易測定器で行われてい

た。

#### 2) 残留塩素濃度の使用前確認の有無

12施設中8施設(67%)が使用時に全く確認を行っていないかった(図5)。

また確認の頻度は施設により相違が見られた。毎日や1ヶ月に1度等様々であり、その測定方法は簡易試験紙や公定法に従った検査方法等であった。

#### 3) 消毒方法としての位置付け

多くの食品取扱施設(医療施設や老人ホーム等を含む)では、十分消毒効果が得られないと考え、生鮮野菜の洗浄や床・器具等の清掃など補助的な消毒として使用されていた。また、酸性電解水には漂白作用がないため、まな板等には従来の次亜塩素酸ナ

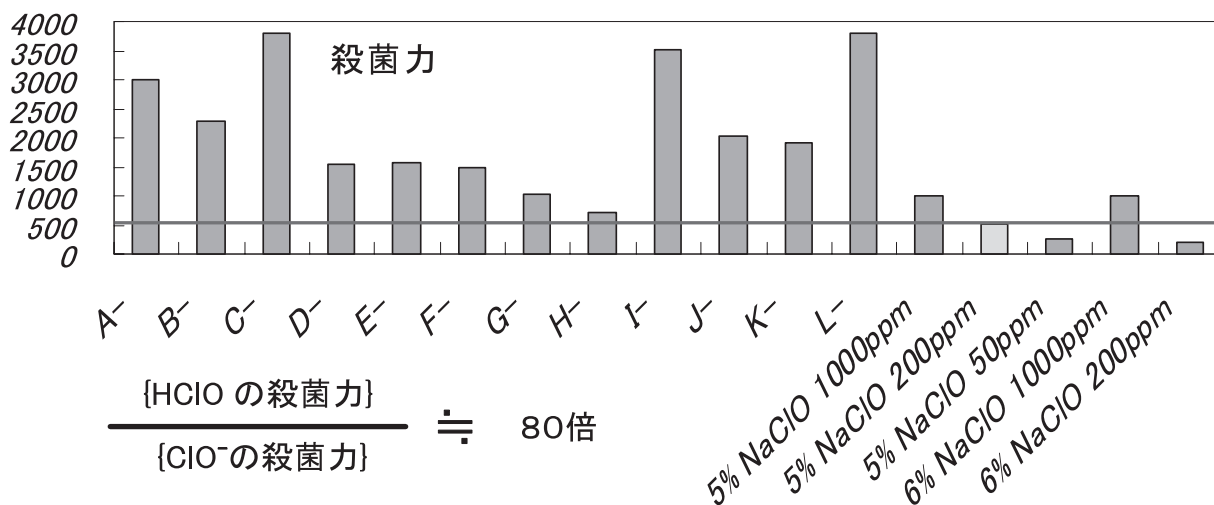


図3 使用 pH における HClO, ClO<sup>-</sup> の存在比をもとに殺菌力に換算したグラフ

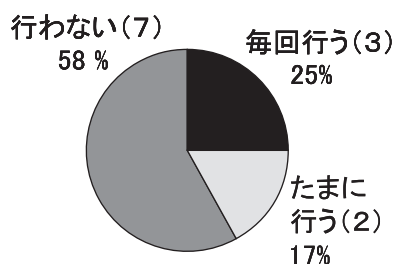


図4 使用前確認の有無 (pH)

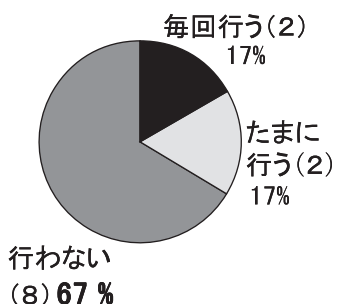


図5 使用前確認の有無 (残留塩素濃度)

的に見て理論上、殺菌効果があると判断できるが、実用性についてはバイオアッセイ（生物検定法）での評価等のデータも必要であり、更なる検証が必要である。

pH や残留塩素濃度は、十分な殺菌効果の指標となるが、使用時に確認を毎日行っている施設は少なかった。確認には専門的な技術が必要と考え、業者によるメンテナンスのみの施設が多かった。しかし、残留塩素試験紙を使用すれば、pH 同様簡易に測定できることを理解してもらった。

以上の調査結果から各施設により、電解水に対する認識に大きな差異があることが認められた。

最後に、通常多くの施設で、特にノロウイルス対策を主眼として次亜塩素酸ナトリウムによる薬液消毒法が利用されているが、施設の監視時、次亜塩素酸ナトリウム水溶液の希釈が不適切な施設も多く見られる。薬液消毒は、使用方法を誤ると適切な殺菌効果が得られないため、逆に被害拡大のおそれもある。今回の調査を通じ、酸性電解水についても次亜塩素酸ナトリウムと同様、適正な使用についての指導が必要であると感じた。

## 文 献

- 1) 厚生労働省医薬局食品保健部基準課添加物係：新しい殺菌料・酸性電解水，食と健康，544，12～17（2002）
- 2) 丹保憲仁，小笠原絃一：浄水の技術，第1版，101～104，技報堂出版株式会社，東京都（1985）
- 3) 佐藤瑞絵ほか：ノロウイルスによる急性胃腸炎の集団発生と施設消毒方法の一考察，平成18年度全国食品衛生監視員研修会研究発表等抄録，23～26（2006）

トリウム含有の塩素系漂白剤が使用されていた。

医療施設や老人ホーム等の食品取扱施設以外での使用は、感染症予防の殺菌方法としての利用が多かった。また、口腔ケアや傷口の洗浄にも使用されていた。

## 考 察

今回の調査の結果、さまざまな pH 領域の電解水等が使用されており、次亜塩素酸ナトリウムの希釈液 0.02%（200 ppm）に相当する十分な殺菌力を保有している可能性が示唆された。また、次亜塩素酸ナトリウム溶液を塩酸により pH 調整することでさらに殺菌効果があったとの報告<sup>3)</sup>もある。しかし、今回は科学

# タイストール牛舎で飼育される乳用牛の削蹄後の蹄形状変化の観察と、牛床環境、蹄病発生率との関連

大 下 克 史

Observation of changes in the claw shape after hoof trimming in dairy cattle housed in a tie-stall system and their association with the cattle bed environment or the incidence of hoof disease

OSHITA KATSUSUFUMI

add

## SUMMARY

We performed follow-up measurements of the toe length and heel height of the inner and outer claws after hoof trimming in 5 dairy farms. The difference in toe length between the inner and outer claws immediately after hoof trimming did not differ from that after 6 months, whereas the difference in heel height between the inner and outer claws immediately after hoof trimming significantly differed from that after 6 months. There was a moderate negative correlation between the difference in heel height between the inner and outer claws 6 months after hoof trimming in the 5 dairy farms and the mat hardness. The incidence of hoof disease was not associated with changes in the claw shape. However, the cleanness score was markedly correlated with the incidence of skin disease.

— Key words: cleanness score, difference in heel height between the inner and outer claws, mat hardness, livestock treatment 54, 491-495 (2007)

## 要 約

酪農家5戸において、削蹄後の後肢の外蹄、内蹄の蹄尖長と蹄踵高を追跡測定した。蹄尖長の内外蹄差は削蹄時と6ヵ月後で差は認めなかったが、蹄踵高の内外蹄差は削蹄時と6ヵ月後で有意な差を認めた。

削蹄6ヵ月後の5農家の蹄踵高の内外蹄差はマット硬度とやや強い負の相関が認められた。蹄病発生率と蹄形状の変化の関連は認められなかったが、清潔度スコアとCHDおよび皮膚疾患の発生率とは強い相関が認められた。

—キーワード 清潔度スコア 蹄踵高の内外蹄差 マット硬度

家畜診療 54,491-495 (2007)