

原 著

食肉検査で食用不適とされた牛における
アミロイド症の発生状況鈴木竹彦^{1)†} 斉藤幸子²⁾ 山澤伸二³⁾ 斉藤啓吾⁴⁾

- 1) 北海道帯広食肉衛生検査所 (〒080-2465 帯広市西25条北2丁目)
 2) 愛知県 開業 (りんごの樹動物病院: 〒446-0053 安城市高棚町蛭田52-2)
 3) 北海道日高振興局保健環境部保健行政室 (〒057-0007 浦河郡浦河町東町ちのみ3-1-8)
 4) 北海道オホーツク総合振興局保健環境部北見地域保健室 (〒099-0872 北見市豊田193)

(2013年3月8日受付・2014年4月3日受理)

要 約

食肉検査で食用不適と判断した牛431頭より無作為に抽出した19例の心臓・肺・肝臓・腎臓・脾臓及び舌を病理組織学的及び免疫組織化学的に検索した。これらの19例中10例(52.6%)で、いずれかの臓器にAAアミロイドの沈着を認めた。全部廃棄理由では、「高度の水腫」で5例中4例(80.0%)に、「敗血症」で13例中6例(46.1%)に沈着が認められ、「膿毒症」1例では沈着を認めなかった。沈着例は37～130カ月齢のホルスタイン種雌であった。また、肝臓及び腎臓に沈着を認める例が多く、舌に沈着を認める例もあった。沈着臓器の肉眼的変化について、高度沈着のあった腎臓2例で腫大や黄色化を認めたが、他の症例では著変を認めなかった。本調査よりと畜場搬入牛におけるアミロイド症の発生状況等についてさらに調査が必要であると考えられた。

——キーワード：アミロイド症，牛，食肉検査，敗血症，高度の水腫。

-----日獣会誌 67, 691～696 (2014)

アミロイド症は、繊維性異常蛋白であるアミロイドが臓器または組織の細胞外に沈着し、機能障害を発生させる病態の総称である [1]。牛では、乳房炎などの慢性化膿性疾患や結核、ヨーネ病等の慢性感染症に続発するAAアミロイド症がよく知られている。臨床症状としては慢性水様性下痢や極度の消瘦の他、胸垂や下腹部、四肢末端等の浮腫が見られ、予後不良となる。成牛に発症し、根本的な原因は不明で、予防法、治療法がないとされている [2]。と畜場搬入牛について食肉検査で観察される牛のアミロイド症は、腫大と黄色調への変化が著しいいわゆる「アミロイド腎」が知られているが [3]、著者らの経験では、そのような顕著な所見を示す症例にはごくまれにしか遭遇しない。

今回、食肉検査により全部廃棄処分とした牛の臓器について、アミロイドの沈着を病理組織学的及び免疫組織化学的に検索し、牛のアミロイド症の発生状況に関して若干の知見を得たので報告する。

材料及び方法

2009年6月～2010年1月に(株)北海道畜産公社道東事業所十勝工場十勝総合食肉流通センター(北海道帯広市)に食肉用として搬入された牛58,832頭のうち、食肉検査により食用不適と判断し全部廃棄処分とした431頭の中から19例を無作為に抽出した。これら19例のと畜場法上の全部廃棄理由は、「高度の水腫」が5例、「膿毒症」が1例、「敗血症」が13例であった。品種はホルスタイン種18例と黒毛和種1例、月齢は15～130カ月齢、性別は雌18例と去勢1例であった。

この19例から、心臓7検体、肺9検体、肝臓17検体、腎臓16検体、脾臓14検体、舌9検体を採取し、10%ホルマリンで固定後、常法により組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色(HE染色)、コンゴレッド染色(CR染色)、CR染色蛍光法及び抗ウシSAA抗体(岐阜大学、25BF12 [4])を用いた免疫組織化学染

† 連絡責任者(現所属)：鈴木竹彦(北海道帯広食肉衛生検査所)

〒080-2465 帯広市西25条北2丁目

☎ 0155-37-5168 FAX 0155-37-5624

E-mail: suzuki.takehiko@pref.hokkaido.lg.jp

食用不適牛におけるアミロイド症の発生状況

表1 全部廃棄牛 19 例の生体と解体後の肉眼所見

No	性別	月齢	全部廃棄理由	生体所見	解体後の肉眼所見						
					肝臓	腎臓	脾臓	心臓	肺	他部位	脂肪組織の 膠様委縮
アミロイド沈着例											
2	雌	96	高度の水腫	+ 削瘦	+ 鬱血	+ 梗塞	-	-	-	-	+ (重度)
3	雌	101	高度の水腫	+ 削瘦	+ 混濁	+ アミロイド腎	-	-	-	-	+ (中度)
4	雌	110	高度の水腫	+ 削瘦	-	-	-	-	-	-	+ (重度)
5	雌	114	高度の水腫	+ 削瘦	+ 混濁	+ アミロイド腎	-	-	-	-	+ (重度)
9	雌	37	敗血症	-	+ 鬱血 血栓	-	-	-	+ 血栓	-	+ (軽度)
12	雌	56	敗血症	-	+ 混濁	+ 梗塞 点状出血	-	+ 疣状心内膜炎	+ 出血	-	+ (中度)
13	雌	71	敗血症	+ 跛行	+ 混濁	+ 点状出血	-	+ 疣状心内膜炎	+ 血栓	+ 第四胃炎	+ (軽度)
14	雌	78	敗血症	-	+ 混濁	+ 梗塞 点状出血	-	+ 疣状心内膜炎	+ 膿瘍 梗塞	-	+ (軽度)
18	雌	124	敗血症	-	+ 混濁	+ 梗塞, 膿瘍, 点状出血	-	+ 疣状心内膜炎	+ 血栓 肺炎	-	+ (軽度)
19	雌	130	敗血症	+ 削瘦	+ 混濁	+ 梗塞 点状出血	+ 膿瘍	+ 疣状心内膜炎	-	+ 筋肉膿瘍	+ (中度)
アミロイド未沈着例											
1	雌	52	高度の水腫	+ 削瘦	+ 混濁	-	-	-	-	-	+ (重度)
6	雌	77	膿毒症	+ 削瘦 背部膿瘍	+ 混濁	+ 膿瘍 点状出血	-	+ 膿瘍	+ 膿瘍	+ 筋膿瘍	+ (軽度)
7	雌	15	敗血症	+ 両臀部腫脹	+ 混濁	-	-	+ 疣状心内膜炎	+ 血栓	+ 腸炎, 筋炎	-
8	去勢	21	敗血症	-	+ 混濁	+ 梗塞	+ 梗塞	+ 疣状心内膜炎	+ 肺炎	-	-
10	雌	38	敗血症	-	+ 暗赤色	-	-	+ 疣状心内膜炎	+ 血栓	-	+ (中度)
11	雌	53	敗血症	-	+ 混濁	-	-	+ 疣状心内膜炎	-	+ 関節炎 第四胃炎	-
15	雌	84	敗血症	+ 右大腿部腫脹	+ 混濁	+ 梗塞 点状出血	-	+ 疣状心内膜炎	-	+ 胃腸炎 筋膿瘍多発	-
16	雌	87	敗血症	-	+ 混濁	+ 梗塞 点状出血	-	+ 疣状心内膜炎	+ 血栓	-	+ (軽度)
17	雌	100	敗血症	-	+ 混濁	+ 梗塞, 膿瘍, 点状出血	-	+ 疣状心内膜炎	+ 肺炎	-	+ (軽度)

表2 アミロイド沈着を確認した10例の各臓器におけるアミロイド沈着状況

No	月齢	全部廃棄理由	アミロイド沈着					
			肝臓	腎臓	脾臓	舌	心臓	肺
2	96	高度の水腫	+	+	-	NE	NE	-
			小葉辺縁～中心性	糸球体軽度				
3	101	高度の水腫	+	+	+	-	-	-
			び慢性	糸球体全節性	濾胞中心動脈壁 赤脾髄			
4	110	高度の水腫	+	+	NE	NE	NE	NE
			小葉間動脈壁 小葉辺縁性	糸球体分節性				
5	114	高度の水腫	NE	+	NE	NE	NE	NE
				糸球体全節性 皮質間質動脈壁 髓質間質				
9	37	敗血症	+	-	-	-	NE	NE
			中心静脈周囲					
12	56	敗血症	+	-	-	+	-	-
			小葉辺縁軽度			舌腺間質		
13	71	敗血症	+	-	NE	-	-	-
			小葉間動脈壁					
14	78	敗血症	+	+	+	NE	NE	NE
			小葉辺縁性	糸球体軽度	赤脾髄			
18	124	敗血症	+	-	-	+	NE	NE
			小葉辺縁性			舌腺間質		
19	130	敗血症	+	NE	-	NE	NE	NE
			小葉間動脈壁 小葉辺縁性					
アミロイド沈着の発生率 (沈着例数 / 検索例数)								
		【高度の水腫 4 例】	3/3 (100%)	4/4 (100%)	1/2 (50%)	0/1 (0%)	0/1 (0%)	0/2 (0%)
		【敗血症例 6 例】	6/6 (100%)	1/5 (20%)	1/5 (20%)	1/4 (25%)	0/2 (0%)	0/2 (0%)
		【沈着 10 例】	9/9 (100%)	5/9 (55.6%)	2/7 (28.6%)	2/5 (40%)	0/3 (0%)	0/4 (0%)
		【全部廃棄 19 例】	9/17 (52.9%)	5/16 (31.3%)	2/14 (14.3%)	2/9 (22.2%)	0/7 (0%)	0/9 (0%)

NE：検索せず

色 (免疫染色, ダコ, ENVISION キット /HRP) を施し鏡検した。

成 績

19 例の生体時と解体後の肉眼所見を表 1 に, 臓器別のアミロイド沈着状況を表 2 に示した。

生体時の所見:「高度の水腫」5 例については, 削瘦の他に所見は認めなかった。「膿毒症」1 例は, 削瘦し背部に膿瘍を認めた。「敗血症」13 例のうち 4 例では, おのおの両臀部腫脹, 両後肢跛行, 右大腿部腫脹, 削瘦と褥創多発を認めた。

解体後の肉眼所見:「高度の水腫」5 例では, 心冠部, 縦隔, 腸間膜及び枝肉の筋間脂肪織に膠様萎縮が共通し

て認められ, その他の所見として, 肝実質混濁や鬱血の他, 「アミロイド腎」(図 1) が 2 例に確認された。「膿毒症」1 例では, 心室中隔, 肺実質, 腎臓, 筋肉内に多発性膿瘍が認められた。「敗血症」13 例のうち 12 例では心臓の左右房室弁, 大動脈弁, 肺動脈弁のいずれかに疣状心内膜炎が認められ, 1 例では後大静脈内に血栓が認められた。その他の所見として, 脂肪織の膠様萎縮, 肺では血栓や肺炎, 肝臓では実質混濁や鬱血, 腎臓では梗塞や点状出血, 消化管では胃腸炎, 枝肉では膿瘍や関節炎などが認められた。

病理組織学的及び免疫組織化学的所見:いずれかの臓器にアミロイドの沈着を認めたのは, 全部廃棄牛 19 例中 10 例 (52.6%) であった。全部廃棄の理由別には, 「高

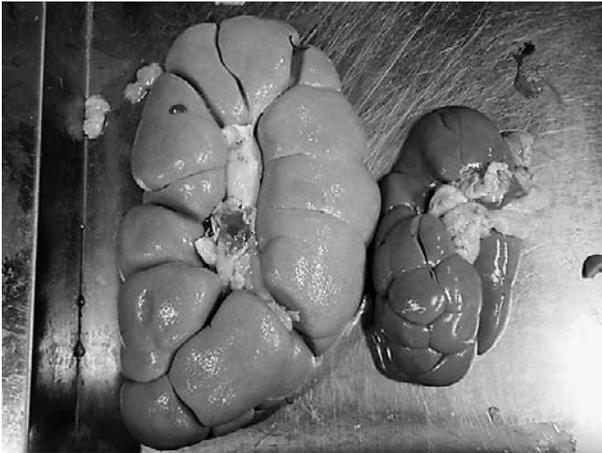


図1 正常腎(右側)より著しく腫脹したいわゆるアミロイド腎(左側)

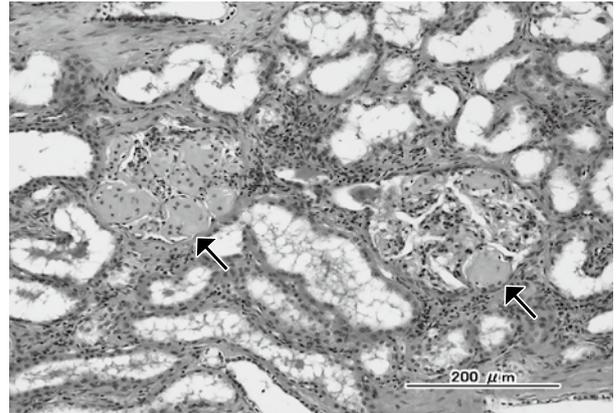


図3 糸球体は沈着したアミロイド(矢印)により膨化している(No. 3:腎臓 HE 染色)

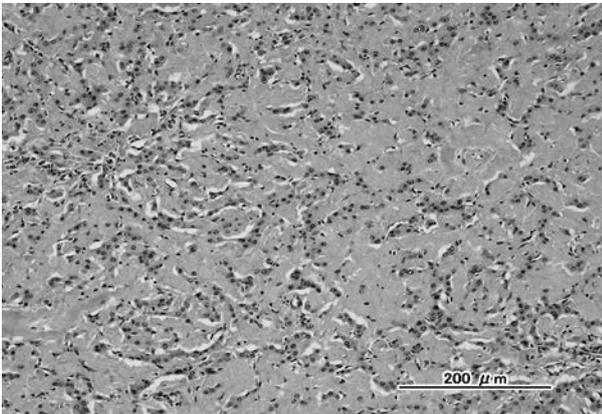


図2 び漫性に沈着したアミロイド(No. 3:肝臓 HE 染色)

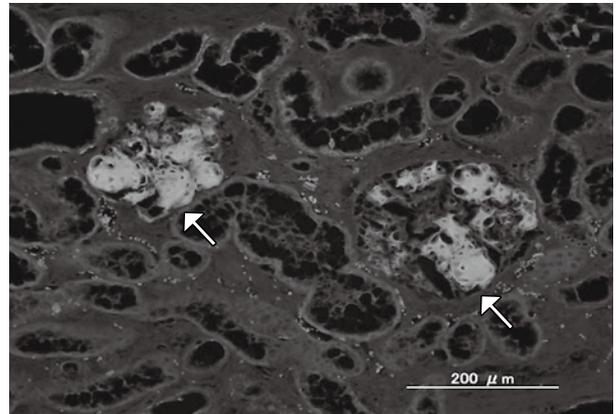


図4 蛍光を発するアミロイド(矢印)(No. 3:腎臓 CR 染色蛍光法)

度の水腫」では5例中4例(80.0%)に、「敗血症」では13例中6例(46.1%)に沈着が認められ、「膿毒症」1例では沈着は認められなかった(0%)。臓器別のアミロイド沈着は、肝臓では17例中9例(52.9%)に、腎臓では16例中5例(31.3%)に、舌では9例中2例(22.2%)に、脾臓では14例中2例(14.3%)に沈着が認められ、心臓及び肺では沈着が認められなかった(0%)。いずれかの臓器にアミロイド沈着を認めた10例についてみると、肝臓では採材した9例すべてに(100%)、腎臓では採材した9例中5例(55.6%)に、脾臓と舌ではおのおの7例中2例(28.6%)と5例中2例(40.0%)に沈着が認められた。肝臓では小葉辺縁や中心静脈周囲のディッセ腔、小葉間動・静脈壁などにアミロイドの沈着を認め、高度沈着例ではアミロイドにより肝細胞が圧迫され萎縮する像が観察された(図2)。腎臓では、糸球体や髄質の間質、舌では舌腺周囲の間質、脾臓では赤脾髄脾索や濾胞中心動脈壁にアミロイドの沈着が認められた(図3)。採材した臓器のうち肝臓のみに沈着が認められた例は3例、腎臓のみは1例、脾臓、

舌のみに沈着を認めた例はなく、複数の臓器にわたって沈着を認めた例が6例であった。これら各臓器に沈着したアミロイドは、HE染色では好酸性で均質無構造、CR染色では橙赤色に染色され、蛍光顕微鏡下で橙色蛍光を発し(図4)、偏光顕微鏡下では緑色蛍光を示した。また、抗牛SAA抗体を用いた免疫染色で陽性を示した。

考 察

藤永[5]は、と畜場に搬入された6歳以上の雌牛3,000頭(ホルスタイン種1,800頭、黒毛和種1,200頭)について、腎臓を材料にヨード反応でアミロイド沈着をスクリーニングし、陽性となった牛の心臓・肺・肝臓・脾臓・腎臓・副腎及び腸管の病理組織学的検索を行った結果、23例(ホルスタイン種22例(1.2%)、黒毛和種1例(0.08%))にアミロイド沈着を確認したと報告している。一方、Tojoら[6]は、国内のと畜場でと殺解体された4歳以上の雌牛302頭(ホルスタイン種235頭、和牛67頭)の腎臓を免疫組織化学的に調べ、15例(ホルスタイン種13例(5.5%)、和牛2例(3.0%))と、

藤永 [5] に比べて高率にアミロイド沈着を認め、それらの症例では、肝臓表面の小出血や消化管の広範なび爛性病変など内臓器官の病理所見が得られたと報告している。今回、食用不適と判断し全部廃棄処分とした牛 19 例を無作為に抽出し、主要臓器と舌を採取して病理組織学的に検索した。その結果、半数を超える 10 例 (52.6%) において、単一あるいは複数以上の臓器にアミロイド沈着を認めた。この検出率は、上記の報告 [5, 6] に比べてきわめて高かった。

アミロイド症は、アミロイドを形成する前駆蛋白成分により分類されている [1]。牛では、急性期炎症蛋白である血清アミロイド A 蛋白 (SAA) を前駆蛋白とする AA アミロイド症がほとんどといわれ [2]、藤永 [5] 及び Tojo ら [6] の調査でも AA アミロイドの沈着を認めている。本調査で観察されたアミロイドについても、抗ウシ SAA 抗体を用いた免疫染色で陽性を示したことから、AA アミロイドと考えられた。このことから、と畜場搬入牛のうち「高度の水腫」や「敗血症」として全部廃棄される牛に AA アミロイド症が高率に発生していることが推察された。

AA アミロイドの沈着と慢性炎症性疾患等の存在との関係について、藤永 [5] はと畜場搬入牛 3,000 頭の調査で、アミロイド沈着を認めた 23 例のうち 13 例 (56.6%) に肝蛭の寄生を認め、慢性胆管炎が沈着の原因と推察したが、6 例では肉眼的に全臓器に病変を認めず、乳房炎等を認めた 1,682 例にはアミロイド沈着を認めなかったと報告している。Yamada ら [7] は、全身性 AA アミロイド症と診断した 25 例のうち 5 例では調査した臓器等に肉眼的に慢性炎症性病変はなかったと報告している。本調査において、「敗血症」症例では 13 例中 6 例 (46.1%) でアミロイド沈着が認められ、これらの症例における心内膜炎やその他の炎症性所見がアミロイド沈着と関係しているものと推察されたが、残りの 7 例では同様の所見が認められるものの沈着は認められなかった。「高度の水腫」症例では 5 例中 4 例 (80%) と高率に沈着が認められたが、今回の調査で顕著な慢性炎症性病変は把握できなかった。このように、牛におけるアミロイド沈着と慢性炎症性疾患等の関係は不明確なことが多い。食肉検査において「高度の水腫」や「敗血症」と判断される牛におけるアミロイド沈着のメカニズムや病態については、今後検討すべき事項と考えられた。

牛においてアミロイド沈着が高率に認められる臓器としては、腎臓がよく知られている [5, 6]。Yamada ら [7] は、全身性アミロイド症と診断された牛 25 例のアミロイド沈着臓器の分布について免疫組織化学的に調査し、広範な臓器に沈着が起こること、特に肝臓、腎臓、脾臓に高率に沈着を認め、骨格筋にも沈着があったことを報告している。本調査においても、肝臓で最も高率に沈

着を認め、次いで腎臓、舌、脾臓の順にアミロイド沈着の発生率が高かったことから、食肉検査において牛のアミロイド沈着を検索する場合は、肝臓と腎臓を用いることが効果的であると考えられた。

アミロイド沈着と臓器の肉眼的変化について、藤永 [5] はアミロイド沈着を認めた 23 例の腎臓のうち 13 例の大きさは正常と変わらなかったと報告している。本調査においても、いわゆる「アミロイド腎」が認められた「高度の水腫」症例 2 例の腎臓では肉眼的に異常を把握できたが、肝臓では高度沈着例でもアミロイド沈着を肉眼的な変化として把握できなかった。このように、アミロイド沈着を肉眼的に把握できない症例が多いことは、食肉検査において牛のアミロイド症を調査する上で留意すべき事項と考えられた。

AA アミロイド症は、人を含め多くの動物種で発生が確認されているが [8]、発生機序の詳細については不明な部分が多い。しかし近年では、牛の AA アミロイド線維を経口投与することによりマウスやウサギに AA アミロイド症が誘発されることが報告され [9, 10]、AA アミロイド症の種を越えた伝搬性も示唆されている [11]。このようにアミロイドが経口摂取で伝播する可能性を考慮すると、牛由来のアミロイドが人のアミロイド症の誘発因子となるおそれもある。牛のアミロイド症についてはいまだに不明な部分が多い。最近の研究動向もふまえると、と畜場に搬入される牛における AA アミロイド症の発生状況についてさらに詳しく調査する必要があると考えられた。

引用文献

- [1] 山田正仁：アミロイドーシスとは？一定義と分類—アミロイドーシス診療のすべて、山田正仁編、第 1 版、3-9、医歯薬出版、東京 (2011)
- [2] 安田 準：アミロイドーシス、主要症状を基礎にした牛の臨床、前田吉光、小岩政照監修、新版、319-321、デーリマン社、札幌 (2002)
- [3] 片岡達雄：アミロイド症、食肉・食鳥肉衛生検査マクロ病理学カラーアトラス、全国食肉衛生検査所協議会編、189、学窓社、東京 (1997)
- [4] Taira Y, Inoshima Y, Ishiguro N, Murakami T, Matsui T: Isolation and characterization of monoclonal antibodies against bovine serum amyloid A1 protein, *Amyloid*, 16, 215-220 (2009)
- [5] 藤永良博：高齢の雌牛におけるアミロイドーシスの頻度とその病理組織学的所見、*山口医学*, 39, 293-303 (1990)
- [6] Tojo K, Tokuda T, Hoshii Y, Fu X, Higuchi K, Matsui T, Kametani F, Ikeda S: Unexpectedly high incidence of visceral AA-amyloidosis in slaughtered cattle in Japan, *Amyloid*, 12, 103-108 (2005)
- [7] Yamada M, Kotani Y, Nakamura K, Kobayashi Y, Horiuchi N, Doi T, Suzuki S, Sato N, Kanno T, Matsui T:

- Immunohistochemical distribution of amyloid deposits in 25 cows diagnosed with systemic AA amyloidosis, *J Vet Med Sci*, 68, 725-729 (2006)
- [8] Jakob W : Spontaneous Amyloidosis of Mammals, *Vet Pathol*, 8, 292-306 (1971)
- [9] Cui D, Kawano H, Takahashi M, Hoshii Y, Setoguchi M, Gondo T, Ishihara T : Acceleration of murine AA amyloidosis by oral administration of amyloid fibrils extracted from different species, *Pathol Int*, 52, 40-45 (2002)
- [10] Horiuchi N, Kotani Y, Koga M, Yamada M, Kobayashi Y, Matsui T : Experimental induction of amyloidosis by bovine amyloid fibrils in sore hock rabbits, *Amyloid*, 15, 84-88 (2008)
- [11] 樋口京一 : プリオン病以外のアミロイドーシスは伝搬するか?—全身性アミロイドーシス—, アミロイドーシス診療のすべて, 山田正仁編, 第1版, 197-204, 医歯薬出版, 東京 (2011)

Occurrence of Amyloidosis in Cattle Which Were Judged Unfit for Consumption Through Veterinary Meat Inspection

Takehiko SUZUKI^{1)†}, Sachiko SAITOU²⁾, Shinji YAMAZAWA³⁾ and Keigo SAITOU⁴⁾

- 1) *Obihiro Meat Inspection Center, Tokachi General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, North 2 West 25, Obihiro, 080-2465, Japan*
- 2) *Ringono-ki Animal Hospital, 52-2 Hiruta, Takatana-cho, Anjo, 446-0053, Japan*
- 3) *Office of Health Administration, Department of Health and Environment, Hidaka Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, 3-1-8 Chinomi Higashimachi, Urakawa-cho, Urakawa-gun, 057-0007, Japan*
- 4) *Office of Kitami Regional Health Center, Department of Health and Environment, Okhotsk General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, 193 Toyota, Kitami, 099-0872, Japan*

SUMMARY

Among 431 cattle which were judged as unfit for human consumption through veterinary inspection, visceral organs including the heart, liver, kidneys, spleen and tongue of 19 randomly selected cattle were examined histopathologically and immunohistochemically. Of these 19 cases, Ten (52.6%) had AA amyloid deposits. According to details of condemnation, the amyloid deposition was observed in four of five cases with severe edema (80.0%), six of 13 cases with sepsis (46.1%), and none of one case with pyemia. Those cases were all female Holsteins 37-130 months of age. The amyloid deposition was often observed in the liver and kidney, and some cases had the deposition in the tongue. In macroscopic findings, although two cases of the kidneys with significant amyloid deposition were swollen and yellowish in color, noteworthy pathological changes were not observed in the other cases. We consider that it would be necessary for further surveillance of amyloidosis during veterinary inspection of cattle in abattoir.

— Key words : amyloidosis, cattle, meat inspection, sepsis, severe edema.

† Correspondence to : Takehiko SUZUKI (*Hokkaido Obihiro Meat Inspection Center*)

North 2 West 25, Obihiro, 080-2465, Japan

TEL 0155-37-5168 FAX 0155-37-5624 E-mail : suzuki.takehiko@pref.hokkaido.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 67, 691 ~ 696 (2014)