



日本獣医師会学会関係情報



日本産業動物獣医学会・日本小動物獣医学会・日本獣医公衆衛生学会

----- 日本獣医師会学会からのお知らせ -----

平成27年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会（秋田）
地区学会長賞受賞講演（関東・東京地区選出演題）

[日本産業動物獣医学会]

産地区—14

豚の下痢病性鑑定における豚デルタコロナウイルス抗原検索

中原真琴¹⁾，小淵裕子²⁾

1) 群馬県家畜衛生研究所，2) 群馬県東部家畜保健衛生所

はじめに

豚流行性下痢（PED）はコロナウイルスによる水様性下痢と嘔吐を主徴とする感染症で，致死率は日齢とともに低下するが，哺乳豚では100%に達することもあるため，経済的被害は大きい。日本においては平成18（H18）年以降，PEDの流行は確認されていなかったが，H25年9月，沖縄県で国内では7年ぶりとなる発生があり，アジアや北米で流行している株と遺伝学的に近縁なウイルスが検出された。その後，PEDは国内で急速に拡がり，群馬県においてもH26年4月の発生以降，H27年3月末までに173件929検体の豚下痢症の病性鑑定の中から95件（県内269農場中35.3%）の発生が確認された。

また近年，海外ではPEDウイルスと同じコロナウイルス科に属する豚デルタコロナウイルス（SDCV）が，サーベイランスや，PED，伝染性胃腸炎（TGE）と類似した下痢症状を示す豚から検出されている。日本国内の検査機関においてもSDCVの検査が開始され，遺伝子の検出が報告されており，SDCVの下痢発症への関与が示唆されている。

今回，県内でPEDの発生が拡大するなか，発生状況や症状がPEDと類似し，病性鑑定においてもウイルスの関与が疑われたにも関わらず原因究明に至らない病性鑑定事例に遭遇したため，保存検体を用いてSDCVの抗原検索を実施したので，その概要を報告する。

材料及び方法

H24～26年度の豚の下痢に関連した病性鑑定保存検体123農場156検体を用いてSDCVの遺伝子検査を実施した。なお，保存検体は病性鑑定时，あるいは疫学調査時にPEDの遺伝子検査を実施し，H24，25年度の検

体は14検体全て陰性，H26年度は陽性92検体，陰性50検体だった。腸管あるいは糞便の10%乳剤からISOGEN-LS（ニッポンジーン）を用いてRNAを抽出し，デルタコロナウイルスのRNA-dependent RNA polymerase（RdRp）遺伝子領域を検出するRT-PCR法（Woo et al., 2012），及びSDCVに特異的なプライマーを使用したmembrane（M），nucleocapsid（N）各遺伝子領域を検出するRT-PCR法（Wang et al., 2014）を実施後，電気泳動でPCR産物を確認した。得られたPCR産物はシークエンスで塩基配列を決定した。

成 績

H26年度に病性鑑定依頼のあった3農場8検体から，RdRp，M，N各遺伝子領域検出RT-PCR法でバンドを確認した。PCR産物のシークエンス結果は，香港及び米国で報告されているSDCVと99%以上の相同性を示した。3農場はいずれも県東部の養豚密集地域に位置し，うち2農場はPED発生農場だった。稟告では下痢や嘔吐，食欲不振といったPEDが疑われる臨床症状が認められた。SDCV遺伝子が検出された8検体は，豚舎床から採材した糞便1検体（PED陽性）を除き，PED，TGE及びA～C群ロタウイルスの遺伝子検査は全て陰性だった。解剖を実施した個体では胃の膨満，小腸から大腸にかけての水様あるいはクリーム状物の貯留などPEDと類似した所見が認められたが，腸管の菲薄化はPED発症豚と比較し軽度だった。また，組織検査では空腸において絨毛の萎縮や粘膜上皮細胞の空胞形成が認められたが，免疫組織化学染色でその部位にPED及びTGEの陽性反応は認められなかった。

考 察

SDCVは下痢発症への関与が示唆されているが，臨床

症状のない個体からも検出され、下痢の症状が認められた場合においても他のウイルス感染症との混合感染が多く、その病原性については不明な点が多い。今回、豚の下痢に関連した病性鑑定保存検体の抗原検索において、3農場8検体からSDCV遺伝子が検出された。発生状況

や、PED、TGEといった他のウイルス性下痢症の感染が否定されたこと、及び病理組織検査の結果から下痢発症にSDCVが関与した可能性が示唆された。今後はPEDやTGEを疑う病性鑑定において、SDCVの関与も考慮し検査を実施する必要があると思われた。

産地区—19

エストロジェン製剤とプロスタグランディン製剤を併用した難治性豚黄体遺残症の治療効果

鳥海 弘^{1),2)}、大滝忠利²⁾、津曲茂久²⁾

1) とりうみ動物病院・神奈川県, 2) 日本大学獣医臨床繁殖学研究室

はじめに

演者が1983～2011年の28年間に無発情を主訴に診療依頼を受けた繁殖雌豚の中で直腸検査にて卵巢疾患と診断した13,835頭を分析した結果、卵胞発育障害群（卵巢静止、卵巢萎縮、卵巢発育不全）は9,114頭（65.9%）と最も多く、次いで黄体遺残症は4,302頭（31.1%）であり重要な2大卵巢疾患である。黄体遺残症では的確な診断・治療を施しても約1/3以上が黄体退行せず、発情回帰が見られない。その結果多くの繁殖豚が淘汰されている。一方、妊娠末期の黄体では極めて低用量のプロスタグランディン（PG）製剤の投与で容易に退行するが、これは分娩間近ではエストロジェン（E2）により黄体PG受容体の出現しやすい環境になっていると推察される。そこでヒト用持続性E2製剤であるエストラジオールプロピオン酸エステル（EDP）を用い子宮オキシトシン受容体や黄体PG受容体の発現しやすい環境を作り出し、その後PG製剤を投与することで黄体退行を誘発・促進できると仮定し研究を行った。

材料及び方法

直腸検査にて診断した722頭の豚黄体遺残症に対して、PG類似体製剤であるFenprostalene（FNP）1mgとCloprostenol（CLP）0.5mg及び天然型のDinoprost（DNP）15mgの3製剤を頸部筋肉内に1回投与して、発情回帰率を比較検討した。更に1回～複数回投与で黄体退行の見られなかった19頭を供試し、EDP投与後概ね5日にCLPを投与する併用療法により黄体退行効果を比較検討した。またEDPの1回投与量別の効果比較ならびにEDPとCLP製剤の2剤の効果的な投与間隔についても検討した。

性ステロイドホルモンの変動

黄体遺残症豚（5頭）をRIAで測定した血中Progesterone（P）値は、離乳後1週目が $31.5 \pm 7.6 \text{ ng/ml}$ 、2週目が $29.5 \pm 14.6 \text{ ng/ml}$ 、3週目が $10.3 \pm 4.2 \text{ ng/ml}$ 、4週目が $9.8 \pm 2.8 \text{ ng/ml}$ 、5週目が $11.0 \pm 4.1 \text{ ng/ml}$ であった。P値の変動は、離乳直後では正常豚の黄体期

とほぼ同レベルの著しく高値であったが、3週齢で低下し、その後は 10 ng/ml 以上の高値を示した。3週で低下するのは黄体退行には不十分ながら体内で $\text{PGF}_{2\alpha}$ の分泌が起こったものと推察された。一方、E2値は、離乳後1週目が $22.0 \pm 13.7 \text{ pg/ml}$ 、2週目が $21.0 \pm 13.9 \text{ pg/ml}$ 、3週目が $7.8 \pm 8.2 \text{ pg/ml}$ 、4週目が $9.3 \pm 7.9 \text{ pg/ml}$ 、5週目が $22.2 \pm 28.0 \text{ pg/ml}$ であり、正常豚の黄体期に近い低値を5週間推移した。

生殖器触診所見及び超音波画像所見

黄体遺残症豚の生殖器の触診では妊娠していないにもかかわらず、卵巢に8～12mmの多数の充実した黄体がみられ、その径は正常発情黄体よりやや大きかった。黄体の間隙に少数の未熟卵胞が見られる個体が多かった。子宮は扁平で横幅の広い柔軟なバルーン状を呈しており、低P値型卵巢疾患のパイプ状子宮とは明らかに異なった。黄体遺残症豚（10頭）を供試した子宮超音波検査の画像でも正常黄体期の子宮と類似した、低エコーで筋層の薄い扁平で幅の広い子宮像として描写され、低P値型卵巢疾患（27頭）の円柱構造の子宮画像とは異なっていた。

成績

1. 製剤別黄体退行成績ではFNP投与群は68.4%が発情を回帰し、CLP群の54.2%（ $P < 0.01$ ）及びDNP群の41.5%の発情回帰率に比べて、有意（ $P < 0.001$ ）に高かった。
2. EDP投与後の子宮形態変化では、投与後3日以内では子宮筋層は薄く扁平なバルーン状であったが、4～6日では子宮筋層がやや厚みを帯びたパイプ状とバルーン状の中間的状态になっていた。7日以上経過すると子宮筋層の緊縮が4～6日に比較し減退傾向になった。従って、2剤の投与間隔は5日前後が適切と判断された。
3. PG製剤の1～複数回の投与で黄体退行が認められなかった19個体を供試したEDP（5mg/頭）投与群では5/8頭（62.5%）が黄体退行し発情が回帰した。EDP（10mg/頭）投与群では8/11頭（72.7%）が黄

体退行し発情が回帰した。PG 製剤投与による黄体退行後の発情徴候はEDP 5mg, 10mg 投与群ともに自然発情回帰豚と変わらなかった。

考 察

豚黄体遺残症に的確な診断・治療を施しても約1/3以上に黄体退行が認められず、発情回帰に至らない。そこで容易に黄体退行しやすい妊娠末期に類似した内分泌状態に近づける目的で、ヒト用持続性E2製剤(EDP)を用い前感作した後に、PG製剤を投与してその治療効果を検討した。

その結果、EDP(5~10mg/頭)を筋肉内投与することで筋層が薄く横幅の広い扁平であった子宮を、厚みのある子宮構造に導くことができ、その5日後にCLP(0.5mg)を投与することで、CLP単独では黄体退行が困難であった症例に対して高い治療成績を得ることが出来た。この結果は持続性のE2作用により子宮オキシシン受容体や黄体PG受容体の発現しやすい環境を作出できるものと推察する。従って、難治性豚黄体遺残症に対して、EDP製剤による前感作後にPG製剤を投与する併用療法は野外で応用できる効果的な治療法である。

〔参考〕平成27年度 日本産業動物獣医学会(関東・東京地区) 発表演題一覧

〔A 会場〕

- 1 牛糞便サンプルの次世代シーケンシングによるウイルス遺伝子解析 長井 誠(東京農工大学), 他
- 2 リアルタイムPCRを活用した腸管出血性大腸菌検査 吉崎 浩(東京都家畜保健衛生所)
- 3 大規模農場におけるヨーネ病対策の検討 赤上正貴(茨城県北家畜保健衛生所), 他
- 4 展示施設で発生したシラコバトの *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症 北島絵理子(埼玉県中央家畜保健衛生所), 他
- 5 埼玉県初の豚流行性下痢の発生とその防疫対応 武末寛子(埼玉県熊谷家畜保健衛生所), 他
- 6 茨城県内における豚流行性下痢のウイルス動態調査 山下 薫(茨城県北家畜保健衛生所), 他
- 7 豚の下痢病性鑑定における豚デルタコロナウイルス抗原検索 中原真琴(群馬県家畜衛生研究所), 他
- 8 14カ月齢ホルスタイン種で発生した急性Bリンパ球性白血病 菅原久枝(千葉県農業共済組合連合会西部家畜診療所), 他
- 9 管内一酪農場における牛ウイルス性下痢ウイルス持続感染牛の摘発および対策 宮田希和子(群馬県東部家畜保健衛生所), 他
- 10 1酪農場における牛ウイルス性下痢症の早期摘発と清浄化対策 牧野英司(千葉県農業共済組合連合会西部家畜診療所), 他
- 11 ジアルジアとの混合感染を認めたクリプトスポリジウム症の発生状況と対策 松浦 優(千葉県農業共済組合連合会東部家畜診療所), 他
- 12 栃木県で分離された豚由来大腸菌のフルオロキノロン耐性獲得機序 赤間俊輔(栃木県中央家畜保健衛生所), 他
- 13 *Proteus mirabilis*による壊死性化膿性腎盂腎炎を呈した黒毛和種の1例 阿部祥次(栃木県中央家畜保健衛生所), 他
- 14 豚の肺における *Mycoplasma hyorhinis* および *M. hyopneumoniae* 保有状況調査

田邊ひとみ(茨城県鹿行家畜保健衛生所), 他

〔B 会場〕

- 1 エストロジェン製剤とPG製剤を併用した難治性豚黄体遺残症の治療効果 鳥海 弘(とりうみ動物病院・神奈川県), 他
- 2 潜在精巣摘出術の実施時期に関する一考察 山田 裕(日本獣医生命科学大学)
- 3 発情発見を行わない繁殖管理の一例 高井 健(COWOX・埼玉県), 他
- 4 プログラム授精を積極的に用いた繁殖成績改善について 芦沢博道(ROMデーリーア・シスト・群馬県), 他
- 5 膿様心嚢水の貯留により循環障害を呈したホルスタイン種乳牛の1例 佐藤礼一郎(麻布大学), 他
- 6 山梨県内で初めて確認された「IARS異常症」発症事例 清水春菜(山梨県東部家畜保健衛生所), 他
- 7 牛子宮内の内視鏡検査による腫瘍の診断 大島藤太(栃木県畜産酪農研究センター芳賀分場), 他
- 8 全身に出血を認めた子牛の死亡例 駒井 圭(神奈川県湘南家畜保健衛生所), 他
- 9 廃材おがくずを敷料としている肥育農場に多発した化膿性蹄皮炎 伊藤昌範(NOSAI 神奈川)
- 10 黒毛和種にみられた腹膜中皮腫の1症例 水野剛志(群馬県家畜衛生研究所)
- 11 慢性中耳炎を呈した若齢子牛の顔面神経麻痺 関口真樹(千葉県中央家畜保健衛生所), 他
- 12 農場HACCP認証基準の普及における神奈川県畜産会の取り組みについて 萩原茂紀(一社神奈川県畜産会), 他
- 13 プロバイオティクス製剤の長期給与が泌乳牛の免疫機能に与える影響 天辰正秋(東亜薬品工業(株)), 他
- 14 プロバイオティクス製剤を用いた肥育牛の *Clostridium perfringens* 感染症対策について 稲富太樹夫(稲富動物病院・東京都), 他

小地区—2

腎瘻チューブ設置後に腎切開による結石摘出を行った犬の一例

山崎寛文¹⁾, 林 雄平¹⁾, 平尾秀博¹⁾, 松永 悟¹⁾, 小野憲一郎²⁾

1) 日本動物高度医療センター, 2) 日本動物高度医療センター川崎本院

はじめに

単腎症例においては、尿管完全閉塞により無尿となった場合、緊急的な対応が必要となる。今回我々は、単腎症例の腎盂結石による上部尿路完全閉塞に対し、腎瘻チューブを設置することにより緊急的に尿路確保を行い、その後腎切開により結石を摘出した症例を経験したためその概要を報告する。

症 例

症例はMシュナウザー、避妊メス、7歳齢、2年前に当センターで腎膿瘍に対する右側腎臓摘出の既往があり、その頃から左腎盂結石が存在していたが、無症候であったため定期検診を行いながら経過観察していた。2日前からの食欲不振、嘔吐、無尿を主訴に当センターを受診し（第1病日）、血液検査にて高窒素血症（BUN 129.9mg/dl, CRE 7.55mg/dl）、高カリウム血症（K 7.8meq/l）を、超音波検査にて、腎盂結石、腎盂拡張を認めため、上部尿路完全閉塞と診断した。高カリウム血症に対し、GI療法（インスリン、グルコース投与）を行った後、緊急的に腎瘻チューブの設置を行った。腎瘻チューブは8Fr栄養カテーテルを使用した。腎瘻チュー

ブ設置に要した全麻酔時間は35分であった。高窒素血症、高カリウム血症の改善を認め、第6病日に結石摘出手術を行った。近位尿管拡張は認めなかったため腎盂切開による結石摘出は困難と判断し、腎切開を選択した。腎動静脈を確保し、ターニケットを使用し血流を一時的に遮断、腎切開により結石摘出、腎盂内洗浄を行った。腎皮質を含む腎被膜を3-0PDSでマットレス縫合にて閉鎖後、腎動静脈の血流遮断を解除した。血流遮断時間は9分であった。術後高窒素血症は認めず、経過良好であったため、術後4日目に退院となった。摘出した結石は、カルシウム結石であった。術前直近の定期検診時の尿比重は1.006、術後の尿比重は1.013であった。現在術後約半年経過するが、超音波検査では腎臓の梗塞、萎縮などの所見は認めていない。

考 察

腎瘻チューブは短時間で設置可能であり、高カリウム血症、高窒素血症を改善できる有用な方法であった。腎切開は、急性腎不全、腎機能の低下のリスクがあるため、あまり実施されない術式ではあるが、今回の症例においては血流遮断が短時間であったため明らかな腎臓機能の低下を起こさなかったと考えられる。

小地区—9

ラブラドル・レトリバーの運動誘発性虚脱の
遺伝子型頻度調査

鷹栖雅峰, 鷹栖智子

那須野ヶ原アニマルクリニック・栃木県

はじめに

運動誘発性虚脱（Exercise Induced Collapse : EIC）はラブラドル・レトリバーに発症する常染色体劣性形質を示す遺伝性疾患である。EICは激しい運動によって発症する。症状は後肢のふらつきから始まり、重症度が増すにつれて歩行困難、起立不能などを示す。重症例では全般性発作を起こして死亡する例もある。EICが発見された米国では、広い庭を全速力で走り回る、ボール投げを繰り返す、複数の犬と走り回る、というような行動で発症することが知られている。この疾患の特徴は、

虚脱が生じて運動を速やかに停止することで自然回復することである。虚脱から回復すると全く普通の状態に戻る。虚脱が起きた後も運動を継続すると、虚脱の程度は悪化する。

原因遺伝子はダイナミン1遺伝子のミスセンス変異であること同定されている。p. Arg256Leuにより、ダイナミン1の機能の減弱が起こると考えられている。ダイナミン1はシナプスの節前線維に分布しており、シナプス間隙の伝達物質を取り込みに関与している。ダイナミン1の機能減弱によって、シナプス間隙の伝達物質の飽和を起こし、神経伝達に異常を起こすと推測されている。

目 的

EICは米国で発見され、6～10%の発症犬が存在すると報告されている。演者が知る限り、日本国内ではEICの存在は広く知られていない。ラブラドル・レトリバーは国内では人気犬種で、飼育頭数も多いにもかかわらず、EICを知っていたとしても発症犬を目にする機会は少ない。本研究では、EICの分布が国内のラブラドル・レトリバーへの浸透の程度、及び家庭犬と盲導犬集団における遺伝子頻度の差を明らかにすることを目的として、EICの遺伝子型頻度を調査した。

方 法

335頭のラブラドル・レトリバーの末梢全血(EDTA血)あるいは口腔スワブをFlinders Technology Associates (FTA) カードに採取した。335頭のラブラドル・レトリバーのうち、129頭が家庭飼育犬、206頭が盲導犬協会に所属する犬であった。FTAカードからゲノムDNAを調整し、EICの原因遺伝子領域に対してポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を行った。EICの原因変異が*smII*の制限部位を生み出すため、*smII*による制限酵素断片多型により遺伝子型を判定した。

結 果

335頭のラブラドル・レトリバーにおいて、EICの遺伝子型は、優性ホモ(正常)199頭(59.4%)、ヘテロ接合体(キャリア)112頭(33.4%)、劣性ホモ(発症)24頭(7.2%)であった。家庭飼育犬129頭の集団

では、正常80頭(62.0%)、キャリア41頭(31.8%)、発症8頭(6.2%)であった。発症個体が得られた地域は限定的であったが、キャリアは調査した地域の多くに検出された。盲導犬協会所属犬206頭の集団では、正常119頭(57.8%)、キャリア71頭(34.5%)、発症16頭(7.8%)であった。国内全ての盲導犬協会にキャリアあるいは発症個体が検出された。家庭飼育犬集団と盲導犬協会所属集団において、EICの遺伝子頻度はそれぞれ0.221及び0.250であり、家庭犬と盲導犬集団において有意差は認められなかった($P=0.711$)。

考 察

今回の調査で、日本国内のラブラドル・レトリバーにはEICが、家庭飼育犬及び盲導犬の集団を問わず、広く浸透していることが明らかになった。国内のラブラドル・レトリバーにおけるEICの発症頻度は6.2%であるにも関わらず、EICを国内で診断する機会は少ない。その原因として、日本国内の飼育環境においてEICを発症するほどの激しい運動をする機会が無い、発症しても運動の中止によって自然回復するために病院を受診していない、あるいは受診しても正常な状態に回復しているので診断に至らない、という可能性が考えられる。常染色体劣性形質として発症犬の頻度が6.2%は著しく高い。発症型の遺伝子型をもつ犬は状況によってはEICを発症する可能性がある。EICに起因する虚脱は常に運動中に発症するという特徴を念頭におくべきであろう。

〔参考〕平成27年度 日本小動物獣医学会(関東・東京地区) 発表演題一覧

〔A 会場〕

- 1 悪性腫瘍による皮膚潰瘍に対しMohsペーストを使用した3例
福山泰広(小川犬猫病院・神奈川県), 他
- 2 耳道内に中心性骨化を伴う炎症性ポリープ様結節が生じたバグの2例
今井昭宏(どうぶつの総合病院・埼玉県), 他
- 3 ステロイド外用剤によるネコの耳介の脱毛の3例
三木美里(DVMs どうぶつ医療センター横浜・横浜市), 他
- 4 重度の菌周病により貧血を呈したと考えられる2症例
澤田真弓(成城こばやし動物病院・東京都), 他
- 5 犬のT細胞性高悪性度骨格筋型リンパ腫の一例
小野原 望(浦安中央動物病院・千葉県), 他
- 6 過粘稠度症候群および腎不全を呈した多発性骨髄腫の犬に対して血漿交換を行った一例
小林春奈(麻布大附属動物病院), 他
- 7 再発寛解性の慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーが疑われた猫の1例
宇津木真一(日本動物高度医療センター), 他
- 8 ラブラドル・レトリバーの運動誘発性虚脱の遺伝子型頻度

鷹栖雅峰(那須野ヶ原アニマルクリニック・栃木県), 他

- 9 頸部椎間板ヘルニアを伴う脊髄空洞症に対してインソルビドにより良好な経過が得られた犬の一例
中島裕子(DVMs どうぶつ医療センター横浜・横浜市)
- 10 心房中隔欠損症による大動脈血栓塞栓症が疑われた猫の一例
北村 亮(マープル動物医療センター・神奈川県), 他
- 11 感染性心内膜炎を併発した動脈管開存症の犬の一例
鈴木珠未(麻布大附属動物病院), 他
- 12 広範囲な皮膚欠損と馬尾症候群の猫が続発した耐性菌性膀胱炎
高木俊雄(ミュウ動物病院・群馬県), 他
- 13 尿道の蛇行により排尿困難を呈した雄犬の1例
平山業久(溝呂木動物病院・横浜市), 他
- 14 催吐剤としてのトラネキサム酸の有効性と副作用の検証
杉浦洋明(DVMs どうぶつ医療センター横浜・横浜市), 他
- 15 犬における同種間攻撃行動の傾向
永滝春菜(DVMs どうぶつ医療センター横浜・横浜市), 他

- 16 調圧ルームが生体に及ぼす治療効果の検討
越久田活子（おくだ動物病院・横浜市），他
- 17 東京都獣医師会霊園協会会員霊園で埋葬されたイヌ13,951頭の調査
大橋良子（東京都獣医師会霊園協会），他
- 〔B 会場〕
- 1 猫誘導性菌原性腫瘍の一例
岡野久美子（日本動物高度医療センター），他
- 2 消化管内異物摘出術に腹腔鏡を用いた最小切開アプローチの検討
澤村昌樹（沢村獣医科病院・千葉県），他
- 3 ミリプラチンによる肝動注化学療法を行った肝細胞癌の犬の1例
山下傑夫（日本動物高度医療センター），他
- 4 綿状キチンを利用して会陰ヘルニア整復を行った犬の1例
野亦久彌（のまた犬猫病院・栃木県），他
- 5 膀胱尾側に発生した神経内分泌腫瘍の犬の1例
北宮絵里（あさか動物病院・埼玉県），他
- 6 腹腔内に多発する異所性脾臓を認めた犬の1例
金野敏明（どうぶつの総合病院・埼玉県），他
- 7 大網被覆術の変法にて前立腺膿瘍が治癒した犬の1例
白井建太郎（アイリー動物病院・栃木県）
- 8 腎瘻チューブ設置後に腎切開による結石摘出を行った犬の1例
山崎寛文（日本動物高度医療センター），他
- 9 脾臓摘出および腹腔内睾丸摘出の手術後に病理組織検査にて脾臓の髄外造血とセルトリ細胞腫と診断された犬の1例
山下啓吾（麻の葉動物病院・埼玉県），他
- 10 骨盤骨折に対してCortical Pearl Systemを用いて整復した2症例
伏見寿彦（伏見家畜医院・栃木県），他
- 11 横浜地区の犬および猫の骨折391症例に対する検討
小林 聡（ONE for Animals・横浜市），他
- 12 ダックスフントの胸・腰椎椎間板ヘルニアにおける手術後再発症例に関する検討
森 淳和（ONE for Animals・横浜市），他
- 13 X線一般撮影装置を用いた歯科レントゲン撮影の一考察
松本 智（まつもと動物病院・神奈川県）
- 14 CTによる診断が有用であったパグの肺葉捻転の1例
村田佳輝（むらた動物病院・千葉県），他
- 15 CTによる犬猫の肺および呼吸機能の可視化と相対的評価
小野隆之（マーサ動物病院動物医療センター・横浜市）
- 16 イヌ前房内シャント後の被膜切除に関する検討
風間善道（トライアングル動物眼科診療室・東京都），他
- 17 脂肪由来幹細胞移植を行った犬の3例
保坂 敏（ほさか動物病院・神奈川県）

〔日本獣医公衆衛生学会〕

公地区—13

狂犬病ウイルス遺伝子検査の精度向上に関する調査研究

水越文徳¹⁾，畠山 薫²⁾，野口 章³⁾，井上 智³⁾，船渡川 圭次¹⁾

- 1) 栃木県保健環境センター 微生物部，2) 東京都健康安全研究センター 微生物部病原細菌研究科，
3) 国立感染症研究所 獣医科学部

背 景

狂犬病はアジア・アフリカを中心に流行し，世界で毎年5万人以上が犠牲になっている。日本では1950年に狂犬病予防法が制定され，1957年以降に発生した報告はなく，狂犬病の清浄性は保たれている。しかしながら，海外で感染して帰国後に発症する事例や，狂犬病発生国からのコンテナや貨物船に感受性動物が侵入したまま入国されるケースがしばしば報告されている。したがって，清浄国の日本でも徹底した狂犬病対策が必要であり，狂犬病ウイルス（Rabies virus; RaV）の検査体制の確立・維持は地方衛生研究所にとって重要な役割である。

ウイルスなどの病原体検査には，遺伝子増幅（PCRなど）が用いられる。これらの方法は感度も特異性も高いため，偽陽性や偽陰性の危険性を伴う。例えば，検体

に陽性コントロールがコンタミネーションした場合，偽陽性になる。また，検体からの核酸抽出やPCR反応のエラーにより，偽陰性になる。そこで，本研究では，このような危険性を除外するため，参照陽性コントロール（artificial positive control; APC）を作製し，遺伝子検査の信頼性と妥当性を高めることを目的とした。

このAPCは，野生株のRaV遺伝子に外来性遺伝子を挿入して分子量を変えて，電気泳動で視覚的に区別し，陽性コントロールのコンタミネーションを判断できる。また，核酸抽出のエラーによる偽陰性を除外するために，検体からhouse keeping遺伝子を増幅し，その妥当性を確認することが推奨される。そこで，イヌhouse keeping遺伝子をAPCに挿入し，偽陰性の除外にも有用なツールとしてデザインした。

方 法

APCは、RaVのN遺伝子を挿入したプラスミドをもとに作製した。イヌの腎臓由来のMDCK細胞株から抽出したRNAをテンプレートとして、house keeping遺伝子の一部の領域(β -Glucuronidase; BGLR; 103bp, 及びGlyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; GAPDH; 226bp)を増幅した。それらの遺伝子をRaVのPCR増幅領域の間の2カ所に挿入した。

狂犬病ウイルスのPCR検査は、狂犬病検査マニュアル [1] に従って実施した。また、イヌ house keeping 遺伝子であるGAPDHの陽性コントロールとしてAPCが有用であるか否かを確認するため、GAPDHのPCRを実施した。

結果と考察

外来性遺伝子を挿入した場合、伸長反応などのPCR条件に影響を受ける可能性がある。まず、作製したAPCのPCR感度を野生株と比較した。DNA濃度依存的なPCR反応において、野生株のN遺伝子と同様の感度を示し、伸長反応などのPCR条件に影響がないことが示された。さらに、視覚的にもPCR産物は野生株のN遺伝子と十分に区別が可能であった。したがって、APCはRaVの遺伝子検査の陽性コントロールとして有効であることが示された。

また、検体(脳組織)からのRNA抽出やPCR反応系

が正しく実施されていなければ、偽陰性になる。そのような偽陰性の可能性を除外するため、どの細胞にも普遍的に一定量のmRNAが存在するhouse keeping遺伝子を指標にすることが推奨される。このhouse keeping遺伝子がPCRで検出できれば、RNA抽出、cDNA合成とPCR反応が適切に行われていることが示され、偽陰性の可能性が除去できる。このAPCは、イヌのhouse keeping遺伝子を挿入したので、その確認のコントロールとしても有用である。

さらに、このAPCは狂犬病ウイルスを検出するリアルタイムPCR [2] で用いられるプライマー・プローブの領域には、そのままの状態である。したがって、リアルタイムPCRにおいて、コピー数が既知の陽性コントロールとしても有用である。

このように、高感度である遺伝子検査は、些細なエラーが結果に影響するため、このAPCは偽陽性だけでなく偽陰性の危険性も除外できる強力な検査ツールである。

参 考 文 献

- [1] 狂犬病検査マニュアル (第2版; 国立感染症研究所)
- [2] Hatakeyama K, Uchitani Y, Okuno R, Sadamasu K, Hosaka M, Kai A: Improved Genetic Methods for Rabies Diagnosis, Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health, 60, 49-54 (2009)

〔参考〕平成27年度 日本獣医公衆衛生学会 (関東・東京地区) 発表演題一覧

- 1 横浜市食肉衛生検査所に検査依頼のあった苦情食品について 安達博紀 (横浜市食肉衛生検査所), 他
- 2 と畜場の製氷機及び内臓等を冷蔵する氷雪の衛生状況調査 細川結子 (茨城県西食肉衛生検査所), 他
- 3 野生鳥獣処理施設への衛生指導 清水秀樹 (山梨県峡南保健所), 他
- 4 敗血症起因偏性嫌気性菌の同定法の検討 近藤理恵 (神奈川県食肉衛生検査所), 他
- 5 生食用ドッグフードにおける細菌汚染状況の調査 林 弦輝 (東京大学獣医公衆衛生学教室), 他
- 6 山梨県内の食鳥処理場に搬入された地鶏, 銘柄鶏のカンピロバクター汚染の原因解明 藤巻 勤 (山梨県食肉衛生検査所), 他
- 7 千葉県における紅斑熱群リケッチア浸潤状況 平良雅克 (千葉県衛生研究所), 他
- 8 狂犬病ウイルス遺伝子検査の精度向上に関する調査研究 水越文徳 (栃木県保健環境センター), 他
- 9 茨城県内のイノシシにおけるE型肝炎ウイルスの汚染状況調査 本谷 匠 (茨城県衛生研究所), 他
- 10 人畜共通寄生虫猫及び犬回虫の待機動物鶏からのヒトへの感染リスクと予防法の確立 齊藤守弘 (埼玉県食肉衛生検査センター), 他
- 11 食中毒病因物質 *Sarcocystis* 15kDa タンパク質による下痢のメカニズム・腫瘍壊死因子TNF α との関係 齊藤守弘 (埼玉県食肉衛生検査センター), 他
- 12 LC/MSを用いたペニシリン系及びテトラサイクリン系抗生物質の同時分析法の検討 井戸田悠作 (茨城県南食肉衛生検査所), 他
- 13 群馬県内で捕獲された野生動物の筋肉と臓器における放射性セシウム測定結果について 高野裕二 (群馬県食肉衛生検査所), 他
- 14 ゲルマニウム半導体検出器を用いた牛肉の放射性物質検査について 若林和訓 (横浜市食肉衛生検査所), 他
- 15 理容所のシャワーヘッドにおける非結核性抗酸菌等の汚染実態調査および殺菌の検討 齋藤明日美 (栃木県西健康福祉センター), 他
- 16 地域猫の誕生秘話 (横浜市磯子区20年前の行政の取組み) 黒澤 泰 (横浜市神奈川福祉保健センター)
- 17 ペット同行避難訓練を実施して 酒井敬介 (横浜市港南福祉保健センター), 他
- 18 スズメバチの女王バチ捕獲調査結果について 鈴木正弘 (横浜市金沢福祉保健センター), 他

電子投稿・審査システムの導入と 日本獣医師会学会学術誌投稿規程等の一部改正について

このたび日本獣医師会学会学術誌について、原稿の投稿及び審査の簡素化による投稿の推進等を図ることを目的に、4月より電子投稿・審査システム（ScholarOne（株）杏林舎）を導入いたしました。

本システムの導入に伴い、「日本獣医師会学会学術誌投稿規程」及び「日本獣医師会学会学術誌 投稿の手引き」が一部改正されましたので、お知らせします（平成28年2月26日制定）。

本規程等は、平成28年4月1日より施行いたしましたので、新規原稿投稿の際は、本誌第69巻第4号（207～222頁）を参照の上、投稿くださいますようお願い申し上げます。

なお、システムや操作についてのご質問は「ScholarOne」の日本代理店である（株）杏林舎のSIMサポートセンター（03-3910-4311）へお願いします。