

平成28年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会（石川）
地区学会長賞受賞講演（九州地区選出演題）

[日本産業動物獣医学会]

産地区—5

抗ミューラー管ホルモンによる黒毛和種育成牛の春機発動の予測

北原 豪¹⁾, El-Sheikh Ali Hossam²⁾, 高橋 透³⁾,
小林郁雄⁴⁾, 邊見広一郎⁴⁾, 大澤健司¹⁾

- 1) 宮崎大学農学部獣医学科産業動物臨床繁殖学研究室
- 2) Theriogenology Department, Faculty of Veterinary Medicine, University of Mansoura
- 3) 岩手大学農学部共同獣医学科繁殖機能制御学研究室
- 4) 宮崎大学農学部附属フィールド科学教育研究センター住吉フィールド

はじめに

哺育牛や未経産牛を含む育成牛は、牛群の増頭、更新及び販売に利用され、農場の経営に影響を及ぼす。育成牛は、初回排卵を特徴とする春機発動（6～12カ月齢）、妊娠可能となる性成熟（6～18カ月齢）を経て、繁殖に供用される（14～22カ月齢）。10カ月齢以下で春機発動がみられる牛では、養畜費の軽減（Wehrmanら、1996）、初回人工授精受胎率の向上（Buskirkら、1995）、空胎日数の短縮（Bagleyら、1993）、農場における在籍年数の向上（Lesmeisterら、1973）が報告されている。

春機発動時期を予測する方法として、子宮及び卵巣の構造と大きさを基にしたスコア（Reproductive Tract Score：RTS、McNeelら、2015）や卵巣における直径3mm以上の胞状卵胞の数（Antral Follicle Counts：AFC）が有用である（Cushman、2009）と報告されている。しかし、これらは超音波検査を必要とするため、施術者の主観や技量に左右される。

抗ミューラー管ホルモン（AMH）は卵胞の顆粒層細胞より特異的に合成、分泌されるTGF- β ファミリーに属する糖タンパク質ホルモンで、生理作用として原始卵胞の動員や胞状卵胞の卵胞刺激ホルモン（FSH）感受性の調節などがある。これまでに、血清中AMH濃度が卵巣にあるAFCと正の相関性があること（Irelandら、2008）、経産牛において血漿中AMH濃度の動態が発情周期による影響を受けないこと（El-Sheikh Aliら、2013）などが報告されている。しかし、育成期におけるAMHの分泌動態や春機発動時期を予測する臨床バイオマーカーとしての有用性に関する報告はほとんどみられない。

本研究では、出生から春機発動におけるAMH及びFSHの分泌動態を明らかにすること、及び春機発動時期の違いによってAMH及びFSHの分泌動態が影響を受けるか否かを明らかにすることを目的として研究を実施した。

材料及び方法

一農場で飼養されている黒毛和種育成牛（ $n=11$ ）を供した。出生後7日以内を0週（W0）とし、W62まで2週間隔で頸静脈より採血し、月1回体重を測定した。W40-W62まで、超音波検査で内部生殖器の観察を行った。W0-W62まで採取した血液サンプルを用い、血漿中プロジェステロン（ P_4 ）濃度を蛍光酵素免疫測定法で測定し、連続もしくは隔回で1.0ng/ml以上となった最初の週を春機発動（WP0）とした。W0-W24及び春機発動前6週（WP-6）-春機発動後4週（WP4）の血漿中AMH、FSH濃度について、それぞれ酵素免疫測定法及び時間分解蛍光測定法で測定した。黒毛和種未経産牛の初回発情月齢は10～13カ月齢（米内ら、1993）であることから、10カ月齢未満に春機発動がみられた群をEP群、10カ月齢以降に春機発動がみられた群をLP群とし、両群間の血漿中ホルモン濃度及び体重を比較した。

成績及び考察

血中FSH濃度は、W0よりW4以降の週で高くなった（ $P<0.05$ ）。血中AMH濃度は、W0とW2、W24、WP-4-WP4以外の週の間及びW10とWP0の間で差があり（ $P<0.05$ ）、FSHの増加に遅れて、平均 12.9 ± 3.9 週（平均 \pm SE、W4-W42、中央値：W10）に最高濃度の 0.43 ± 0.13 ng/ml（ $0.18\sim 1.27$ ng/ml、中央値： 0.28 ng/ml）となった。これは、FSHは卵胞動員を誘起し、その後、動員された卵胞が前胞状卵胞に成長した際にAMHを多く合成、分泌することに起因するかもしれない。卵巣の形態学的な観察からも、出生から2～4カ月齢は胞状卵胞が増加することが報告されている（Evansら、1994、Honaramoozら、2004）。EP群（ $n=4$ ）とLP群（ $n=7$ ）の間において、体重に有意な差はみられなかった。血中AMH濃度において、EP群はLP群より高く推移し、W14において差がみられた（ $P<0.05$ 、それぞれ 0.47 ± 0.23 ng/ml及び 0.13 ± 0.05 ng/ml）。一方で、血中FSH濃度において、EP群はLP群より低く推

移し、W8において差がみられた ($P<0.05$, それぞれ $0.73\pm 0.37\text{ng/ml}$ 及び $1.18\pm 0.44\text{ng/ml}$). AMH と FSH は群間で相反する様相を呈したが、顆粒層細胞での AMH 産生を FSH が抑制すること (Li ら, 2011), AFC と血中 FSH 濃度は相反すること (Ireland ら, 2007) と関係があるかもしれない。

結 論

出生から春機発動までの血漿中 AMH 濃度は一過性に増加する動態を示し、出生後 10～14 週の血漿中 AMH 濃度は春機発動の時期を予測する上で有用な指標となることが示唆された。

産地区—7

乳用牛群における臨床性子宮内膜炎のリスク因子解析と 腔粘液スコアによる診断、治療とその後の繁殖成績

大川洋明¹⁾, 藤倉篤史¹⁾, 高木光博²⁾

1) ふくおか県酪農業協同組合, 2) 山口大学共同獣医学部獣医繁殖学分野

はじめに

繁殖成績は酪農経営にとって極めて重要で、分娩後の子宮疾患は繁殖成績の低下を招く要因の一つとして知られている。臨床性子宮内膜炎は分娩後 21 日以降に全身症状を伴わず、陰部より白濁した膿汁粘液の排泄を認めることと定義されている。子宮疾患に対する検査法では、直腸検査、超音波検査、腔鏡検査、メトリチェック、サイトブラシによる細胞診などが利用され、その簡便性と即応性から臨床現場では直腸検査が頻用されている一方で、異常検出の正確性の低さも報告されている。腔鏡検査は腔鏡を用いて腔内の外子宮口からの排泄粘液の存在とその性状スコア (vaginal mucus score: VMS) をフラッシュライトにより視認、評価する検査法である。我々は、乳用牛群の繁殖成績改善のために、腔鏡を用いた VMS 分類に基づく臨床性子宮内膜炎の罹患率及び診断、治療の効果について調査、検討し、そのリスク因子の疫学的解析を行った。

材料と方法

2013 年 9 月から 2015 年 12 月に分娩したホルスタイン種乳牛 256 頭について調査した。腔鏡検査は分娩後 41.1 ± 13.2 日に実施され、VMS の性状を観察し、同時に直腸検査により卵巣、子宮の状態を触診により評価、記録した。VMS は Williams らの示す以下の 4 つの分類に区分した (0: 粘液を認めないまたは透明粘液, 1: 灰色, または透明粘液に白色片を含む, 2: 50% 未満の膿汁を含む, 3: 50% 以上の膿汁を含む)。罹患率は分娩後 14～28 日, 29～40 日, 41～90 日及び合計 14～90 日において調査し、VMS 分類ごとに総頭数に占めるパーセンテージで示した。リスク因子解析は子宮内膜炎の有無を目的変数とし、農場、産歴、季節、分娩事故の有無、胎盤停滞及び産後疾患の治療歴の有無を説明変数として多変量ロジスティック解析を用いて解析した。また、VMS 分類に基づいて処置を行った牛について、NEM 群 (VMS0: 無処置), NTR 群 (VMS1: 無処置), TEM 群 (VMS2-3: PGF2 α 投与) の 3 群を構成しその

後の繁殖成績を調査した。TEM 群での、PGF2 α 投与時の黄体所見の有無及び分娩後日数の影響についても調査した。

結 果

臨床性子宮内膜炎の罹患率は分娩後 14～28 日, 29～40 日, 41～90 日及び合計 14～90 日について、それぞれ 50.0% (18/36), 25.5% (26/102), 21.2% (25/118) 及び 27.0% (69/256) であった。リスク因子解析では、農場、産歴、季節、分娩の異常はリスク因子と認めなかったが、胎盤停滞 (オッズ比: 4.66), 産後疾患 (オッズ比: 2.23) の治療歴の有ることが有意な因子として抽出された ($P<0.05$)。繁殖成績において、初回授精日数、初回授精受胎率に差はなかったが、受胎に要した授精回数は NTR 群 (2.8 ± 1.8 回) が NEM 群 (2.0 ± 1.3 回), TEM 群 (1.8 ± 0.8 回) と比較して有意に増加した ($P<0.05$)。空胎日数では、NTR 群 (163.9 ± 59.8 日) は NEM 群 (130.9 ± 76.8 日) と比較して延長する傾向がみられた ($P<0.1$)。空胎牛割合でみた生存時間分析では、NTR 群 (空胎日数の中央値: 148 日) が他の 2 群 (NEM 群: 112 日, TEM 群: 125 日) と比較して有意差が認められた ($P<0.05$)。TEM 群の PGF2 α 投与による治癒率は 87% (33/38) であり、黄体所見の有無と分娩後日数の影響はみられなかった。TEM 群の繁殖成績において、分娩後早期 (14～40 日) の PGF2 α 投与は、それ以降 (41～88 日) と比較して初回授精日数を有意に短縮させた (80.6 ± 22.2 日対 101.2 ± 27.2 日: $P<0.05$)。

考察とまとめ

本研究において、分娩後早期の乳牛は約半数が臨床性子宮内膜炎に罹患しており、その後 2 割程度が治癒することなく持続的に発症しているものと考えられた。これまで VMS1 を示す軽度の臨床性子宮内膜炎は繁殖性に影響がなく、そのほとんどが自然治癒に至ることが報告され、我々はこれらのエビデンスに基づき、VMS ≥ 2 を示す牛には PGF2 α 投与による治療を実施し、VMS=0-

1を示す牛には実施しなかった。その結果、治療を実施したTEM群では、NEM群と同等の良好な繁殖成績を認め、より早期(14～40日)のPGF2 α 治療は初回授精日数を短縮させた。一方で、VMS=1を示す軽度の臨床性子宮内膜炎の牛には授精回数の増加、空胎日数の延長などの繁殖成績への負の影響が認められ、臨床現場で

実施する腔鏡検査においては、VMS \geq 2と同様の積極的な治療が必要である可能性が示唆された。以上より、胎盤停滞、産後疾患は子宮内膜炎のリスク因子となり、分娩後早期のVMSに基づく臨床性子宮内膜炎の診断、治療は牛群の繁殖成績改善に貢献し得ることが示された。

産地区—17

シャモンダウイルスの関与を疑う牛異常産の発生とウイルス浸潤状況の遡り調査

平島宜昌¹⁾、北原尚英¹⁾、坂口善二郎¹⁾、岡田大輔¹⁾、
加藤友子²⁾、梁瀬 徹²⁾、他

1) 鹿児島中央家畜保健衛生所、2) 動物衛生研究部門九州研究拠点

はじめに

シャモンダウイルス (SHAV) は、ブニヤウイルス科オルソブニヤウイルス属のアルボウイルスであり、過去の事例から牛異常産への関与が疑われている。2015年9月、鹿児島県内で採集されたヌカカからSHAVが分離され、2002年以来13年ぶりに県内への侵入が確認された。また、2015年12月から翌年4月にかけて体形異常を伴う牛異常産が発生した。今回、これら牛異常産の病性鑑定及びサーベイランスに加え、過去のSHAVの県内浸潤状況等を明らかにするため遡り調査を実施したので報告する。

材料と方法

(1) 病性鑑定及びサーベイランス：体形異常を伴う先天異常子15頭の主要臓器を採取し、ウイルス学的検査及び病理学的検査を実施した。また、先天異常子及び母牛から血清及び体液類を採取し、異常産関連アルボウイルス及びSHAVの中和抗体価を測定した。さらに、2015年6月から11月にかけて県本土の未越夏牛24戸60頭から採取した血清、血漿及び血球を用いて、異常産関連アルボウイルス及びSHAVの中和抗体検査、ウイルス分離及び遺伝子解析を実施した。

(2) 遡り調査：県本土の未越夏牛延べ927頭(1999～2014年)及び母牛延べ1,572頭(2003～2015年)から採取した血清を用いてSHAV中和抗体価を測定した。また、上記期間内に発生した体形異常を伴う牛異常産の病性鑑定のうち、原因不明となっていた事例10件について、SHAVの関与を検討した。

成 績

(1) 病性鑑定及びサーベイランス：先天異常子7頭の脳または脊髄からSHAVの特異遺伝子を検出した。全ての先天異常子の血清からSHAV抗体が検出され(抗

体価2～64倍)、他の異常産関連アルボウイルスの抗体は検出されなかった。剖検では主に脊柱弯曲、四肢の屈曲や伸展、頭部変形、骨格筋の退色を認め、病理組織学的には囲管性細胞浸潤、大脳及び脳幹部の多発性石灰沈着、脊髄腹角神経細胞の減数・消失、骨格筋の脂肪置換等を認めた。2015年8月～10月にかけて13戸25頭でSHAV抗体陽転を確認した。また、未越夏牛の血漿からウイルスが2株分離され、遺伝子解析によりSHAVと同定された。

(2) 遡り調査：過去16年間で5回(2001～2003、2006、2013年)のSHAV抗体陽転を確認した。母牛のSHAV抗体保有率は、2003年(66.7%)以降2014年までに低下し(8.5%)、2015年に再び大きく上昇した(61.3%)。過去の病性鑑定事例10件のうち、2002年12月及び2003年2月に発生した異常産事例3件の先天異常子血清からSHAVの抗体が検出され、2015～2016年の事例に類似した病理所見が認められた。

考察とまとめ

2015年8月以降、SHAVの浸潤が県本土の広域で確認された。また、RT-PCR及び抗体検査成績から、先天異常子はSHAVに感染していたと考えられ、剖検所見及び病理組織学的所見は2003年の宮崎県におけるSHAVの関与を疑う異常産事例に酷似していた。このことから、今回の異常産15件へのSHAVの関与が強く疑われた。また、遡り調査により、少なくとも2001年以降SHAVは県内に度々侵入していたこと、母牛の抗体保有率低下により2015年はウイルス感染時に胎子感染が起りやすい状況であったこと、本県でも過去にSHAVの関与を疑う牛異常産が発生していたことが確認された。今後、更なる解析によりSHAVの病原性、病態及び異常産発生に至る要因を明らかにするとともに、国内外のウイルスの動向監視を継続する必要がある。

一 養豚場でみられたアカバネウイルスによる 異常産の再発生と疫学調査

井上大輔¹⁾, 早島彬美¹⁾, 元村泰彦¹⁾, 川本雄太¹⁾, 梁瀬 徹²⁾

1) 長崎県中央家畜保健衛生所, 2) 国研農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門

はじめに

アカバネウイルス (AKAV) はブニヤウイルス科オルソブニヤウイルス属に分類されるウイルスで、わが国では主にウシヌカカにより媒介され、牛、羊、山羊に異常産 (アカバネ病) を起こすことが古くから知られている。近年、国内では豚の脳脊髄炎や異常産例も小数ながら報告されているが、長崎県でも2013年に一養豚場で異常産例が確認された。しかしながら、養豚場におけるAKAVのベクターについては不明な部分が多く、農場内でのウイルス動態と併せてヌカカの飛来状況や吸血状況を調査していたところ、2015年、当該農場において再び同様な異常産症例が確認されたので、概要を報告する。

方 法

病性鑑定: 2015年11月11日及び16日に娩出された3腹の異常産胎子 (白子) 計13頭及び胎盤3検体について、剖検の後、病理組織学的検査及びウイルス学的検査を実施した。ウイルス学的検査は、諸臓器についてAKAV, 日本脳炎 (JEV), 豚パルボウイルス (PPV), ゲタウイルス (GETV), 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス, 豚サーコウイルス2型の遺伝子検査を実施するとともに、白子11頭の体液について、AKAV, JEV, PPV及びGETVの抗体検査を実施した。

AKAVの感染状況調査: 2012年12月～2015年11月に当該農場で計6回採取された血清120検体 (20検体/回) について、AKAVの中和試験を実施した。

ヌカカの飛来状況調査: 当該農場及び近隣の牛飼養農場で、2014年9月～2015年3月に、ライトトラップにより月1回ヌカカを捕獲し、種の同定と吸血状況の確認を行った。

結 果

病性鑑定: 剖検で、12頭に水無脳症、11頭に四肢の屈曲・伸展、7頭に脊柱彎曲が認められ、病理組織学的検査では、13頭に骨格筋の矮小筋症、2頭に非化膿性脳炎、AKAVの免疫組織化学的染色で2頭の脳幹部で陽性反応が認められた。ウイルス学的検査では、13頭の胎

子の中樞神経系及び2腹の胎盤からAKAV遺伝子が検出され、検出株のM分節の部分配列は、2013年に当該農場で検出された株と99%以上一致した。また、13頭の胎子体液からAKAVの抗体が検出され、その他の異常産関連ウイルスの抗体は検出されなかった。

AKAVの感染状況調査: 抗体陽性率は、2012年12月で5.0%、2013年8月で50.0%、2013年12月で80.0%、2014年3月で90.0%、2014年10月で30%、2015年11月で50%であった。

ヌカカの飛来状況調査: 調査期間中に豚舎で13種4,638匹、牛舎で11種3,397匹のヌカカが捕獲された。このうちAKAVを媒介する可能性あるウシヌカカ、ホシヌカカ、キタオカヌカカ及びシガヌカカの4種すべてが10月まで両農場で捕獲され、吸血も確認されたが、11月以降ウシヌカカは捕獲されなかった。一方、ホシヌカカやシガヌカカは11月以降も少数ながら捕獲され、冬季の吸血も確認された。

考 察

病性鑑定成績から、2015年に発生した本病もAKAVによる豚異常産と診断された。抗体の推移から、2013年には当該農場にAKAVが侵入していたと考えられた。2013年と2015年の検出株はきわめて近縁で、同一由来株による発生と考えられた。当該農場では近隣の牛農場と同時期にAKAVを媒介し得るヌカカ種の飛来及び吸血が認められ、養豚場でも牛農場と同様のベクターによりAKAVの感染が起こりうることが確認された。また、ホシヌカカやシガヌカカといった種は寒冷環境下でも活動しており、冬季でも農場内でAKAVが伝播する可能性が考えられた。2013年発生後の抗体陽性率の高さから、豚舎内で豚-ヌカカ-豚の感染環が成立している可能性が高く、養豚場では感受性個体が年間通して連続的に生産される環境であることから、冬季も活動するベクターが存在することで、AKAVが越冬する可能性も否定できない。また、豚からヌカカへの感染が起こるのであれば、地域内でのウイルス流行に養豚場が一定の役割を果たしている可能性も考えられ、今後牛も含めた被害防止のために豚に関する本病の研究が必要である。

【参考】平成28年度 日本産業動物獣医学会（九州地区）発表演題一覧

【A 会場】

- 1 褐毛和種未経産牛における放牧および舎飼いの血液および卵胞液中のカロテノイド濃度の比較とファシア酵母給与の影響
谷 千賀子（宮崎大・産業動物内科），他
- 2 暑熱期におけるバイパスナイアシン給与下でのAI成績の検討
大坪利豪（佐賀県畜試），他
- 3 搾乳牛に対する生菌剤の投与が乳性状に与える影響
柳 裕子（鹿大・獣医繁殖），他
- 4 バルク乳中体細胞数の変動要因とその改善効果
野満匡祐（（畜酪農リストラクチャー）
サポート・熊本県）
- 5 免疫賦活剤と抗菌薬の連続投与により慢性肺炎から回復した黒毛和種の2症例
石川真悟（鹿大・共同獣医），他
- 6 導入後の肥育素牛の気管支肺胞領域では高率に強い炎症反応が起こっている
溝口隆吾（鹿大・共同獣医），他
- 7 全身投与されたオルビフロキサシンは気管支肺胞領域へ高濃度に移行する
藏前哲郎（藏前動物病院），他
- 8 胸骨の骨髓炎および膿瘍形成がみられた黒毛和種子牛の外科的治験例
竹島大貴（宮崎大・獣医外科），他
- 9 2度の手術を要した肋骨骨折による気管狭窄の子牛1例：術後成績に関する考察
中野紗央里（宮崎大・獣医外科），他
- 10 下腿骨骨折に対して髓内ピンと外固定を併用した黒毛和種子牛の一例
安藤貴朗（鹿大・共同獣医），他
- 11 牛の顆粒膜細胞腫における卵巣の経腔穿刺吸引細胞診の細胞学的特徴
小泉源也（北薩農共組 出水家畜診），他
- 12 乳用牛群における臨床型子宮内膜炎のリスク因子解析と腔粘液スコアによる診断，治療とその後の繁殖成績
大川洋明（ふくおか県酪協），他
- 13 乳牛の雌選別精液を用いた人工授精の受胎率向上に関する研究
倉原貴美（（大分県農林水産研究指）
導センター畜産研究部），他
- 14 黒毛和種経産牛におけるショートシンク法処置時の胞状卵胞数が定時人工授精の受胎性に及ぼす影響
田中大詩（宮崎大・産業動物臨床繁殖），他
- 15 抗ミューラー管ホルモンによる黒毛和種未経産牛の春機発動の予測
北原 豪（宮崎大・産業動物臨床繁殖），他
- 16 種雌豚の妊娠初期におけるアルギニンの給与が生産性に及ぼす影響
鉦谷葉子（宮崎大・産業動物臨床繁殖），他
- 17 初産牛における分娩介助方法の検討

中村 修（中村動物病院・鹿児島県）

- 18 黒毛和種経産牛の分娩後早期における授乳が子宮内環境に及ぼす影響 —子宮内膜細胞診による評価
小塚喜趣（宮崎大・産業動物臨床繁殖），他

【B 会場】

- 1 Vero細胞馴化株を用いた鶏アデノウイルス抗体測定への応用
人見 徹（大分県大分家保）
- 2 採卵鶏農場で発生した腎炎型伝染性気管支炎の1例
福田美津紀（宮崎県宮崎家保），他
- 3 熊本県で発生したシャモンダウイルスの関与を疑う牛異常産
森 将臣（熊本県中央家保），他
- 4 管内に発生した黒毛和種の牛異常産55症例
柴内耕二（宮崎県 NOSAI 西諸）
- 5 シャモンダウイルスの関与を疑う牛異常産の発生とウイルス浸潤状況の廻り調査
平島宜昌（鹿児島県中央家保），他
- 6 アカバネウイルスの関与が疑われる豚の異常産
袈裟丸昇太（福岡県中央家保），他
- 7 アカバネウイルスによる豚の異常産について
山口博之（佐賀県北部家保），他
- 8 一養豚場でみられたアカバネウイルスによる異常産の再発生と疫学調査
井上大輔（長崎県中央家保），他
- 9 黒毛和種胎子に発生した前駆Bリンパ芽球性白血病の一症例
河上 友（大分県大分家保），他
- 10 農家負担軽減を考慮した牛白血病清浄化へ向けた取り組み
北野典子（宮崎県畜試），他
- 11 豚用無針注射器による機械的水平感染の有無の検討
橋口愛乃（鹿大・獣医繁殖），他
- 12 タテ貝殻粉末添加逆性消毒薬の豚舎内噴霧による豚呼吸器疾患への効果
木下耕一（鹿大・産動獣医学），他
- 13 豚流行性下痢発生農場における早期清浄化への取組と効果検証
大城 守（（株）沖縄県食肉センター），他
- 14 *Fusobacterium necrophorum* が分離された牛の小脳膿瘍
古瀬美緒子（福岡県筑後家保），他
- 15 導入後の肥育素牛では気管支肺胞領域における細菌感染が輸送後7日目以降に高率に認められる
林 淳（NOSAIみやざき），他
- 16 呼吸器病罹患豚における鼻咽腔関連リンパ組織および鼻咽腔病変の解析
伊藤宗磨（宮崎大 農・獣医病理），他
- 17 天草諸島の野生イノシシと飼育犬猫の抗トキソプラズマ抗体保有状況
奈良崎孝一郎（（奈良崎動物医療センター）
熊本県），他
- 18 黒毛和種子牛の腹部体表にみられたメラノサイトーマの一例
本川裕介（鹿大・附属動物病院），他

猫の脳幹部に対する経錐体骨アプローチの検討

長井 新

鳥城ペットクリニック・熊本県

はじめに

近年、小動物においてもMRIの普及に伴って脳外科手術が実施される機会が増えているが、人医療に比較して情報や技術は十分でなく、特に難易度とリスクの高い頭蓋底へのアプローチ法の情報はわずかである。実際に、現在の小動物において報告されている手術アプローチでは十分な対応が困難な症例が存在する。その例として錐体部・錐体斜台部の片側に偏った病変で、内耳道やメッケル腔へ進展がみられるような場合である。人であればこのような病変には経錐体骨アプローチによる摘出が行われ、病理検査に基づいて適切な追加治療が選択される。経錐体骨アプローチとは、外耳道直上の側頭骨と後頭骨を外し、三半規管などが収まっている錐体骨を切削することで脳幹部腹側の錐体斜台部に到達する方法である。脳幹部の広く浅い視野を提供することができるが、最も難易度の高い方法である。骨切削の範囲によって、前・後、それを合わせた合併錐体骨アプローチに分類される。人では頭蓋底へのアプローチ法としてさまざまなものが活用されており、小動物ではそれに対応するような方法がいくつか報告されているが、今回取り上げる経錐体骨アプローチについての報告はない。ほかに、犬においては術中・開口を維持して口腔よりアプローチする方法や、尾側の頭蓋底からアプローチする方法も報告されている。しかし、犬や人で選択される口腔内アプローチは、猫では選択できない。猫は内頸動脈が退化し、脳底動脈はWillis動脈輪の血液供給をしないため、顎動脈が唯一の脳への血液供給路になる。長時間の開口は顎動脈の血流を低下させ、重篤な脳虚血を引き起こす。既存の方法であれば、頭蓋底へは後頭骨または側頭骨からのアプローチになり、術野は深く狭いものとなる。

目的

今回の研究の目的は以下の点を確認することにある。

- ①前脳の軸と脳幹の軸が異なる二足歩行の人の方法を四足歩行の猫に外挿した場合に、脳幹部の期待した視野が得られるか。
- ②手術解剖に必要なランドマークと重要構造の位置関係、
- ③猫において本術式が有用か。

材料と方法

神経疾患以外の理由で死亡した猫の剖検時に、飼い主の同意を得て手術手技の確認を行った。方法は、猫の解剖に照らし合わせて脳幹部腹側への到達イメージをもとに、人のアプローチ法を参考にして実施した。右側横臥位に保定し、頬骨付着部よりやや頭側から、耳介を囲む

ように頭頂部を経由して、第一頸椎側方に至るU字型の皮膚切開を加えた。側頭筋を側頭骨から剝離し外耳道側へ反転させ、鎖骨頸筋を項稜から剝離して尾側に牽引し、乳様突起ならびに環椎の吻側側面を露出した。その後、術者は猫の背側に移動して手術を続行した。開頭範囲の腹側ラインは頬骨付着部の側頭骨から外耳道直上を経由して乳様突起まで、背側ラインは後頭骨から側頭骨にかけて円を描くようにラウンドバーで骨切削した。錐体骨と骨性テントから硬膜を剝離し、小脳と側頭葉を分断する骨性テントをロンジュールで除去した。内リンパ嚢を切断し小脳側の硬膜剝離を継続した。三半規管のある骨迷路を残して錐体骨を切削し、錐体骨辺縁に沿って硬膜を切開した。脳神経を取り囲むくも膜を23ゲージ針で切開・剝離し、側頭葉と小脳を牽引して脳底部を観察した。

結果

手術視野の尾側領域では副神経・迷走神経・舌咽神経が確認され、小脳を牽引すると顔面・内耳神経の派生のランドマークとなる脈絡叢も視認できた。錐体骨に向かって顔面・内耳神経が、それよりやや吻側で三叉神経がみられた。舌咽神経と顔面神経の間、顔面神経と三叉神経の間で延髄腹側の正中を超えるアプローチも可能で、脳底動脈も確認できた。小脳と側頭葉の間から滑車神経を同定した。三叉神経の吻側からは腹側錐体静脈洞も視認できた。最後に、脳を除去して神経孔と脳神経の同定を行い、錐体骨内の構造を確認した。三叉神経を切断すると、三叉神経に隠れて外転神経が存在していた。錐体骨内には三半規管の骨迷路が同定され、吻側に中耳腔が位置していた。顔面内耳神経は三半規管に潜り込むような形で走行していた。側頭葉に隠されていた部位で、三叉神経の分枝、動眼神経、視神経を同定した。

考察

今回の研究で、4足歩行の猫において経錐体骨アプローチは片側錐体部・錐体斜台部、第4から11脳神経、頭側延髄の腹側領域の良好な手術視野を提供することが確認できた。過去に小動物で報告された方法では到達が困難であった領域にもアプローチすることが可能で、大変有用な手技であることが示された。本術式が確固たるアプローチ法として確立されるためには、詳細な微手術血管解剖の情報が必須で、今後手術用顕微鏡や血管解剖技術を駆使してさらなる手術解剖の解明と発展がなされ、本術式の臨床例への応用が期待される。

前立腺尿道に発生した移行上皮癌に対して膀胱前立腺尿道全切除を実施し、長期生存中の犬の1例

安藤 溪¹⁾、藤本晋輔¹⁾、中谷圭佑¹⁾、鳥巢至道²⁾、高橋雅弘³⁾

1) 大津動物クリニック・熊本県、2) 宮崎大学附属動物病院、3) 高橋ペットクリニック

はじめに

犬の前立腺腫瘍は上皮由来の悪性腫瘍が多く、腺癌や移行上皮癌の発生が多く報告されている。しかし、前立腺癌と移行上皮癌の組織的な鑑別は難しく、過去の報告では両者が混同されている可能性がある。そのため、前立腺に発生した移行上皮癌は腺癌と比較して治療報告例が少なく、予後に関する情報も少ない。今回我々は、前立腺尿道に発生した移行上皮癌に対して膀胱前立腺尿道全切除術を実施し、500日以上長期生存が認められている犬の1例について報告する。

症 例

症例は、ミニチュアダックスフント、11歳8カ月齢、未去勢雄、体重4.7kg、排便困難を主訴に来院された。初診時の検査で直径約3.5cmの前立腺肥大が認められたため、内科治療を行った後、第7病日に去勢手術を実施した。しかし、第45病日の超音波検査にて前立腺が直径約4cmに増大しており、前立腺腫瘍が疑われた。病理組織検査のため腫大した前立腺のツルーカット生検を実施し、前立腺尿道由来の移行上皮癌と診断された。CT検査では石灰化した前立腺腫瘍が認められたが、領域リンパ節や肺、肝臓に明らかな遠隔転移は認められなかった。そのため完全切除を目的に第70病日に膀胱前立腺尿道全切除術を実施した。手術はまず陰茎尿道から骨盤尿道までを周囲組織と分離し、左右の尿管を離断、膀胱と前立腺を周囲組織から剥離した後、膀胱から前立腺、尿道までを一括で摘出した。離断した左右の尿管は腹壁を貫通して包皮粘膜に開口、吻合した。術後は

左右の尿管にカテーテルを留置した。摘出臓器の病理組織検査では前立腺尿道原発の移行上皮癌で前立腺尿道から陰茎尿道粘膜までび慢性の腫瘍細胞の浸潤が認められた。膀胱への腫瘍細胞の浸潤は認められなかった。手術後3日で尿管に留置したカテーテルを抜去したが、翌日に腎パネルの上昇及び両側の腎盂拡張が認められたため、閉塞解除及び尿管カテーテル再留置処置を実施した。再手術後は経過良好で、再びカテーテルを抜去したが、尿管閉塞所見が見られなかったため退院とした。第100日病日にカルボプラチンとフィロコキシブを用いた化学療法を実施したが、その後胆石症が見つかり、その処置のため腹腔鏡下での胆嚢洗浄手術を行った。これ以降は化学療法を中止した。定期検診にて右側腎臓の腎盂腎炎を発症したが、その後状態は落ち着いている。抄録提出時現在、第625病日経過しており、右側腎臓の萎縮は認められるものの、明らかな再発や転移もなく経過良好である。

考 察

一般的に泌尿器系の移行上皮癌の予後は極めて悪い報告がほとんどだが、今回、前立腺尿道由来の移行上皮癌に対して膀胱、前立腺、尿道の全切除と術後の化学療法の併用にて500日以上長期生存が得られている。特に今回、尿道粘膜にも移行上皮癌の浸潤が認められており、膀胱や尿道を残さず全切除したのが長期生存している要因の1つと考えられた。現在もなお転移所見は認められず、経過良好であることに鑑みると、犬の前立腺由来の移行上皮癌に対して、より早期に積極的な治療を実施することで予後は改善する可能性が示唆された。

犬の胸壁に発生した胎児型横紋筋肉腫の1例

永野慎一¹⁾, 田邊美加²⁾, 大林清幸¹⁾

1) 折尾動物病院・北九州市, 2) 動物病理診断センター

はじめに

横紋筋肉腫は横紋筋細胞やその分化段階の細胞に由来する稀な悪性腫瘍であり、胎児型、ブドウ状型、胞巣型及び多形型といった複数の組織型に分類される。軟部組織肉腫と比較して若齢での発症が多く、病態の進行は急速で予後は総じて悪いとされている。人医領域では組織学的特徴、疫学や生物学的挙動、治療と予後について知見が深い。獣医領域ではコーネル大学の総説(2013年)において心筋と喉頭を除く報告が65例とされるように治療経過や予後に関する情報は未だ少ない。胎児型横紋筋肉腫は頭頸部とりわけ喉頭での報告が多く、2歳以下の発症は47%で他の組織型と比較して中高年齢での発症が多いとされる。今回、若齢犬の胸壁に発生した胎児型横紋筋肉腫を治療する機会を得たので報告する。

症 例

ゴールデン・レトリバー、未去勢雄、2歳2カ月齢、38kg、各種予防済みで既往歴なし。左側胸壁に直径約10cmの半球状に突出した腫瘤を主訴に来院し、3週間弱で急速拡大したとのことで、活動性の減少や多飲多尿、発熱といった炎症性所見がみられた。

検 査

レントゲン検査では第8肋骨肋軟骨結合部付近を中心とし、胸腔内外へ突出する腫瘤陰影を認め、CRPの軽度上昇(1.55mg/dl)を除き他の臨床検査における異常は認めなかった。細胞診において有意な情報は得られず、生検組織では紡錘形細胞が太い束を形成して密に増殖し、比較的強い異型性と高い核分裂指数を呈することから悪性間葉系腫瘍と判断し、強い好酸性の細胞質や複数の核が連なる様子、一部既存の横紋筋線維がみられたことから、横紋筋肉腫を第1鑑別診断とした。

治療及び経過

腫瘤は拡大傾向にあり、確定診断と根治を目的として16病日に摘出手術を行った。腫瘤は第7・8・9肋骨の腹側寄りを含み、腫瘤の背腹側にて当該肋骨を切断して胸壁ごと切離し、心嚢、横隔膜、左肺後葉への癒着に対し肺葉の一部切離や癒着剝離を行い摘出した。胸壁欠損部は二重のポリプロピレンメッシュで補填した上に広背筋と腹直筋を重ねて再建し、問題となる合併症は認めなかった。

腫瘤は生検組織と同様の変化を認め、杉綾模様が増殖パターンを呈していた。第8肋骨では骨浸潤を認め、一

部切除縁において腫瘍細胞がみられたが、大部分で比較的広いマージンが確保されていた。デスミンに対する免疫組織化学染色では大多数の腫瘍細胞で強い陽性反応を認め、組織学的特徴を併せ胎児型横紋筋肉腫と診断した。

胎児型横紋筋肉腫の転移率は50%で転移症例の100%が2歳以下とされているため、補助化学療法として術後27日よりドキシソルピシンの使用を開始し、30mg/m²を約3週間毎に計5回投与した。途中、術創付近に2cm径の腫瘤を発見するも消失し、それを除き術後118日の最終投与まで全身状態の悪化や再発及び転移を疑う所見は認めなかった。その後、食欲などの全身状態が不安定となったが、対症療法を実施しつつシクロフォスファミド(CPA)によるメトロニック化学療法を術後142日から25mg/m²の隔日経口投与にて開始した。

CPA開始約1カ月後、消化器症状に対する画像診断にて脾臓に約4cm径の腫瘤を認め、初回手術後175日に脾臓摘出術を実施した。腫瘍は胸壁腫瘤組織と形態的に類似して悪性度も高く、病歴や発症年齢から転移を疑い、免疫組織化学染色にて約70%でデスミンに対する陽性反応を認めたため、横紋筋肉腫の転移と診断した。

術後は一時復調したが、徐々に悪化する偏食や食欲不振に対症療法を実施し、脾摘後26日にCPAを再開した。当時右前肢の跛行に対するレントゲン検査において第1、2胸椎における転移性病変の可能性が示唆されたが、高度画像診断の了承は得られなかった。加えて、明瞭な再発や転移所見を伴わない食欲不振や発熱、消化器症状が進行し、化学療法の継続は難しく、対症療法の末242病日に自宅にて死亡した。

考 察

コーネル大学による総説以後、ウィスコンシン大学の眼科を除く報告例は4例と有病率は低く、生物学的挙動や治療法、予後について未だ明確な見解は存在しない。しかし、若齢でも発症し得る腫瘍で転移率も高く、速い進行と関連する全身兆候の発現が予想される。今回、脾臓への転移が組織学的に証明されたが、高度画像診断や剖検は未実施であり、一過性の腫瘤発現や治療後期の症状が腫瘍に起因したものか未確認ながらもその関連性は否めず、進行の末の腫瘍死と推測された。しかしながら、本症例は積極的な外科療法が可能であり、術後の化学療法も比較的奏功したと考えられ、初診から約8カ月の生存期間ではあるが末期に至るまで比較的良好なQOLを維持できた。本報告が今後の本疾患に対する治療の一助となれば幸いである。

超小型犬でみられた喉頭麻痺に対し、左側披裂軟骨側方化術を実施した治療成績

末松正弘¹⁾，福島隆治²⁾，平尾大樹¹⁾，平川 篤³⁾，山城識子⁴⁾，末松弘彰¹⁾，他

1) AMC 末松どうぶつ病院・大分県，2) 東京農工大学 獣医外科，

3) ペットクリニックハレルヤ，4) 山城動物病院

はじめに

喉頭麻痺は喉頭内筋の神経支配が障害されることで披裂軟骨や声帯ひだの正常な運動性が阻害される疾患である。大型犬で発生が多く、小型犬、超小型犬での発生は非常にまれである。重症例ではQOLが著しく低下し、吸気困難、チアノーゼ、陰圧性肺水腫、誤嚥性肺炎から死に至る。小型犬での披裂軟骨側方化術は軟骨が脆く小さいことから手技上困難とされており、報告されている治療成績は良くない。術後合併症としては、軟骨の断片化、縫合糸の断裂、不適切な側方化、喉頭血腫及び喉頭浮腫などが報告されている。また、犬種問わず誤嚥性肺炎が術後10～18%の症例で認められている。今回、超小型犬でみられた喉頭麻痺に左側披裂軟骨側方化術を実施し、全例で呼吸状態の改善とQOLの向上、良好な経過を得ることができたのでその概要を報告する。

症 例

症例は、鎮静下で披裂軟骨の動的評価を行い喉頭麻痺と診断した体重1.5kg～4.2kg（平均3.8kg）の超小型犬5例とした。内訳はチワワ3例、ダックス1例、雑種犬1例であった。また、オス3例、避妊メス2例、年齢は4歳～11歳（平均7.8歳）であった。全例で吸気時ストライダー及び吸気困難が確認でき、運動不耐性4例、誤嚥性肺炎2例、咳2例、失神が1例で認められた。術前レントゲン検査では3例で食道拡張が確認できた。臨床症状とレントゲン所見から喉頭麻痺と仮診断し、麻酔下で目視あるいは内視鏡による披裂軟骨の動的評価を行い喉頭麻痺（両側性）と確定診断した。外科治療は左側披裂軟骨側方化術のみ実施した。披裂軟骨と輪状軟骨を3-0 Polypropylene で2糸単純結紮にて縫合固定し、喉頭を広げすぎないように注意した。また縫合固定後に一度抜管し、側方化の程度、自発呼吸下で呼吸状態を確認した。術後は酸素室管理下でピペラシリンナトリウム、プレドニゾロン、マロピタント、メトクロプラミド、ブプレノルフィンを投薬した。

結 果

術後、全例で吸気困難、QOLは改善した。入院期間は平均5日間であり、全例で退院可能であった。入院中は披裂軟骨の断片化や縫合糸の断裂を避けるため、興奮させない、吠えさせないように十分に注意して酸素室管理下にて治療を行った。運動不耐性や咳、失神も消失した。現在、術後183日から1,217日経過しており、合併症は認められていない。チワワ2例では誤嚥防止のため、術後間もなくは水を単独で与えず、食事中的水分量を徐々に増やしていくように心がけた。その他の3例は通常通りの食餌を与えた。術前に認められた食道拡張及び肺炎は退院時、改善していた。術後2例では時折軽度のストライダーが認められたが、臨床上問題にはならなかった。

考 察

喉頭麻痺は大型犬で一般的にみられる呼吸器疾患であり、大型犬における披裂軟骨側方化術の治療成績は良い。しかし、10kg以下の小型犬に対してはオーナーの満足度は低く、5kg未満の症例における片側披裂軟骨側方化術についての報告はみられない。小型犬では大型犬より合併症の発現が多く、超小型犬では披裂軟骨が非常に脆く小さいため、披裂軟骨側方化術の手技が困難である。しかし、出血を抑え、甲状軟骨、輪状軟骨、披裂軟骨を丁寧に剝離し、披裂軟骨の側方化を必要最小限にとどめ（2～3mmの側方化）、術後に喉頭の状態を確認するように心がけることで治療成績の向上が期待できると示唆された。今回の治療成績から、超小型犬の喉頭麻痺においても披裂軟骨側方化術が治療の第一選択になると考えられる。しかし、術後の飲水管理について検討する必要があるため、術式の改良とともに解決していきたい。今回、治療するにあたり、麻酔管理でご尽力いただいた高橋ペットクリニックの薬戸由樹先生、症例をご紹介いただいた松山ほうじょう動物クリニックの三好紀彰先生にこの場をお借りして深謝いたします。

〔参考〕平成28年度 日本小動物獣医学会（九州地区）発表演題一覧

【A 会場】

- 1 胆嚢切除で治療した胆嚢腫瘍の犬の2例
矢吹 淳（小倉動物病院・北九州市），他
- 2 犬の肝臓腫瘍の予後不良症例に関する回顧的検討
金子泰之（宮崎大・農学部附属動物病院），他
- 3 犬の閉塞性黄疸時の低酸素と酸化ストレスの関連
橋本千晶（宮崎大・農学部附属動物病院），他
- 4 犬における歯石除去が酸化ストレスに与える影響の検討
岩本希生（宮崎大・獣医外科），他
- 5 犬と猫の周術期における血中アンモニア値と血中乳酸値に関する検討
高橋愛美（宮崎大・農学部附属動物病院），他
- 6 画像診断結果と病理組織検査結果が乖離した犬の肝腫瘍の1例
古川彰宏（古川動物病院・佐賀県），他
- 7 犬の骨盤腔内腫瘍8例におけるCT検査所見
小山泰史（高橋ペットクリニック・福岡県），他
- 8 血漿リパーゼ値・CRP値の上昇を伴って消化器症状が認められた犬14例の超音波所見と治療反応
串間清隆（晴峰動物病院・宮崎県），他
- 9 外科療法と局所化学療法で治療した硬口蓋の悪性黒色腫の犬の1例
岡 栞璃（宮崎大・獣医外科），他
- 10 外科的摘出を行った胸腺嚢胞腫瘍の犬の1例
西川豪重（宮崎大・獣医外科），他
- 11 犬猫の耳道腫瘍25例の発生傾向と手術成績
伊東輝夫（青葉動物病院・宮崎県），他
- 12 両側の中耳炎と外耳炎を呈したウサギに対して両側全耳道切除術ならびに外側鼓室胞切開を実施した1例
周本剛大（琉球動物医療センター・沖縄県），他
- 13 犬糸状虫寄生犬におけるイベルメクチン毎週投与／ドキシサイクリン併用療法の成虫駆除効果
藤岡崇伯（ASAP動物病院・福岡県），他
- 14 犬糸状虫に起因した肺高血圧症に対するシルデナフィルの効果
上村利也（かみむら動物病院・鹿児島県），他
- 15 患肢血および全身血K濃度を比較した猫の大動脈血栓塞栓症7例
平川 篤（ペットクリニック・ハレルヤ・福岡県），他
- 16 術中急性脳梗塞が強く疑われた犬の1例
蔵元智英（鹿大・動物病院），他
- 17 超小型犬でみられた喉頭麻痺に対し、左側披裂軟骨側方化術を実施した治療成績
末松正弘（AMC末松どうぶつ病院・大分県），他
- 18 猫の脳幹部に対する経錐体骨アプローチの検討
長井 新（鳥城ペットクリニック・熊本県）
- 19 減圧開頭術が難治性発作の軽減につながった猫の1症例
杉山伸樹（海の中道動物病院・福岡県），他
- 20 外科手術を実施したグレード1胸腰部椎間板ヘルニアの犬の7例
東田周三（ベル動物病院・福岡県）
- 21 長期間経過した犬のレッグ・カルベ・ベルテス病を大腿骨頭回転術により完治させた1治療例

- 樋口雅仁（動物整形外科病院・大分県），他
- 22 犬肘関節後方アプローチの肘頭骨切りをセブロン骨切り術にて行った上腕骨顆間骨折の5治療例
樋口雅仁（動物整形外科病院・大分県），他
- 23 多方向からのレントゲン撮影が有用であった犬の骨折2例
中里 泰（さくら動物クリニック・福岡県），他
- 24 肩関節脱臼に対して内側肩甲上腕靭帯再建，上腕二頭筋腱転移術変法を併用した犬の1例
酒井康二（ライト動物病院・北九州市）
- 25 犬の先天性肘関節脱臼における治療経過について
藤木 誠（鹿大・獣医外科），他

【B 会場】

- 1 血清アミロイドAの測定を行った全身性アミロイドーシスの猫1例の長期経過報告
横山聖子（八仙会・宮崎県），他
- 2 エタノールによる経皮的上皮小体焼絡術が著効した原発性上皮小体機能亢進症の犬の1例—内科療法，外科療法との比較を交えて
安藤崇則（ハートウィル動物病院・北九州市）
- 3 副腎皮質機能亢進症に併発して眼障害を呈した犬の1例
吉野信秀（大分小動物病院・大分県），他
- 4 犬における毛球症の3例
高橋雅弘（高橋ペットクリニック・福岡県），他
- 5 ゴニサミドによる薬剤誘発性肝障害を疑う犬の1例
福留広子（宮崎大・獣医臨床放射線学），他
- 6 雑種猫家系に認められたグロボイド細胞白質変性症（クラッペ病）：新規病原性変異の同定
神山萌子（鹿大・臨床病理），他
- 7 ペルゲル・フェット異常のノルウェージャンフォレストキャットの1例
酒井秀夫（諫早ペットクリニック・長崎県），他
- 8 若齢猫の両側性腎周囲偽嚢胞の1例
西 洋志（にし動物病院・鹿児島県），他
- 9 DSBの尿管閉塞による急性腎不全を呈した猫2例の治療的治療
磯江源太郎（こば獣医科クリニック・熊本県）
- 10 膀胱頭側に発生したポリープにより尿道閉塞を起こした犬の1例
鍛冶伸光（かじ動物クリニック・福岡県），他
- 11 前立腺尿道に発生した移行上皮癌に対して膀胱前立腺尿道全切除を実施し，長期生存中の犬の1例
安藤 溪（大津動物クリニック・熊本県），他
- 12 腎腺癌の犬3例と猫2例
石川周平（高橋ペットクリニック・福岡県），他
- 13 犬のインスリノーマと診断した6症例
山本集士（宮崎大学農学部附属動物病院研究室），他
- 14 肝臓カルチノイドの犬の1例
福満志乃（ふくみつ動物病院・鹿児島県），他
- 15 犬の胸壁に発生した胎児型横紋筋肉腫の1例
永野慎一（折尾動物病院・北九州市），他

- 16 椎体に発生した孤立性形質細胞腫に放射線治療を行った猫の1症例
橋本砂輝 (砂輝動物病院・福岡県), 他
- 17 犬における胸腺腫の2例
藁戸由樹 (高橋ペットクリニック・福岡県), 他
- 18 脾摘を行った脾リンパ腫の猫の2例
酒井秀夫 (諫早ペットクリニック・長崎県), 他
- 19 硬化性肥満細胞腫を伴った猫の消化管好酸球性硬化性線維増殖症の1例
富永博英 (福岡中央動物病院・福岡県), 他
- 20 猫の肥満細胞腫24例の治療成績
柑本敦子 (青葉動物病院・宮崎県), 他
- 21 多血小板血漿療法により改善した猫の慢性副鼻腔炎の1例
田中巧一 (ホサナ動物病院・沖縄県)
- 22 多発性色素性プラークからパピローマウイルスが検出された犬の一例
古川恵子 (古川動物病院・佐賀県), 他
- 23 犬および猫におけるA型インフルエンザウイルス感染状況についての血清学的調査
松鶴 彩 (鹿大・TADセンター), 他
- 24 CT検査が有用であった犬の肺吸虫症の2例
十川 英 (鹿大・動物病院), 他
- 25 血液培養が有用であった犬と猫の感染症4例
平川 篤 (ペットクリニックハレルヤ・福岡県), 他

[日本獣医公衆衛生学会]

公地区—2

長崎県で分離された日本脳炎ウイルスの性状解析

吉川 亮, 斎藤佳子

長崎県環境保健研究センター

はじめに

日本脳炎は日本脳炎ウイルス (JEV) を病原体としたコガタアカイエカを主な媒介動物とするアルボウイルス感染症である。多くの場合が不顕性感染であるが、発症した場合、20～40%が死亡に至る公衆衛生上最も留意すべき急性ウイルス性脳炎である。現在、日本脳炎患者は1990年半ばから10名以下の報告数を推移し、長崎県においても2001～2009年まで患者報告がなかった。しかしながら、2010年、2011年及び2013年に重篤な患者発生があったことに加え、演者らは長崎大学熱帯医学研究所との共同研究から長崎県ではJEV株の入れ替わりが頻繁にあり、大陸からJEVが飛来している可能性を強く示唆する結果をえたことから、長崎県で分離されたJEV株の性状を明らかにすることは患者発生要因を探索するうえで重要と考えた。そこで当所にて保管された2007～2014年のJEV分離株について性状解析を行った。

材料及び方法

材料は2007～2014年までに長崎県で飼育された豚の血清から分離されたJEV17株及び長崎県で捕集された蚊から分離されたJEV9株の計26株を用いた。方法はJEVのエンベロップ領域 (1,500塩基) を用いた分子

疫学解析及びプラーク形成能、抗原性等のウイルス性状の比較解析を行った。

結 果

2007～2014年までに長崎県で分離されたJEVはすべて遺伝子型1型であり、系統樹解析の結果、3つのグループに分類された。このうち2つのグループは中国で近年多く報告のあるJEV株を含むものであった。2007～2014年までのJEV分離株はφ2mm前後のプラークを形成し、分離株間での差はみられなかった。マウスの抗JEV血清を用いた中和試験の結果、すべての株が抗JEV血清で中和された。

ま と め

長崎県は種々の面で大陸の影響を受けているが、JEVについても分子疫学解析の結果から大陸からの影響が強くみられた。長崎県の分離株はすべて遺伝子型1型であるが、患者の多いインドや中国では1型3型ともに患者発生しており、遺伝子型は発生要因ではないと考えられる。また、ウイルス性状の比較解析の結果から長崎県で分離されたJEVはプラーク形成能や抗原性において患者発生を誘発する要因はみつからなかった。今回、ウイルス側からの患者発生要因は明らかにできなかったが、引き続き病原因子の探索を続けていきたい。

食鳥処理工程中に起こる *Campylobacter jejuni* の ブロイラーと体汚染に関与する菌体及び 皮膚に存在する付着因子の分離と同定

大木万由子¹⁾, 佐々木賢美¹⁾, 谷口喬子^{1),2)}, 三澤尚明^{1),2)}

1) 宮崎大学・獣医公衆衛生学講座, 2) 宮崎大学・産業動物防疫リサーチセンター

はじめに

Campylobacter jejuni/coli は世界各国において人の主要な食水系感染症の起因菌として重要視されており, 疫学調査の結果から, 鶏肉とその関連調理食品が主な感染源と考えられている. 近年, カンピロバクター食中毒事件の約20%が鶏肉の生食によって発生しており, 鶏肉のカンピロバクター制御が重要な課題となっている. カンピロバクターを保菌した食鳥が処理場に搬入されると, 処理場内では容易に交差汚染が起こる. 特に, 脱羽処理後では, いずれの部位からも高い菌数のカンピロバクターが分離されることから, 脱羽処理によると体の物理的な圧迫により糞排泄腔から腸内容物が漏出し, と体表面にカンピロバクターが付着したためと考えられている. 当研究室では, 食鳥と体皮膚上皮をアルカリ処理すると本菌の皮膚への付着能が低下すること, 皮膚上皮面を0.1M NaOHで処理した抽出液(皮膚アルカリ抽出画分)に本菌と結合する複数の因子の存在を確認しているが, その付着機序を明らかにするまでには至っていない. そこで本研究では, ブロイラー皮膚と *C. jejuni* がそれぞれの付着因子を介して特異的に結合しているとの作業仮説を立て, 両者に存在する付着因子を分離, 同定することを試みた.

材料及び方法

ブロイラーの中抜きと体の背部から25cm²の皮膚を採取し, 皮膚上皮面を0.1M NaOHで処理した抽出液(皮膚アルカリ抽出画分)を収集し, 2次元電気泳動法により蛋白を分離した後, ニトロセルロース膜に転写した. スキムミルクにてブロッキングを行った後, これに *C. jejuni* 81-176株の超音波処理外膜蛋白画分を添加し, 抗 *C. jejuni* 81-176株抗体及び酵素標識2次抗体を用いたオーバーレイアッセイ法により, 皮膚アルカリ抽出画分中に存在する菌体外膜蛋白との付着因子を検出した. 陽性を示したスポットと一致する蛋白を2次元電気泳動ゲルから切り出し, トリプシンによるゲル内消化後, 液体クロマトグラフィー質量分析法(Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry: LC/MS/MS)を用いて蛋白を同定した. また, 同定した蛋白のうち, 入手可能な精製蛋白については, ELISA法により *C. jejuni* 外膜蛋白との結合性を確認した. さらに同様の手法で, *C. jejuni* 81-176株の外膜蛋白画分を2次元電気泳動法により分離し, 皮膚由来結合蛋白精製

物を添加し, この精製物に対する抗体及び酵素標識2次抗体を用いたオーバーレイアッセイ法により, *C. jejuni* 外膜蛋白画分中に存在する付着因子を検出した. 同様に, 陽性スポットについてゲル内トリプシン消化後, LC/MS/MSにより蛋白を同定した.

結 果

オーバーレイアッセイ法によるブロイラー皮膚アルカリ抽出画分と菌体外膜蛋白との結合試験では, *C. jejuni* と結合する複数のスポットが検出され, LC/MS/MS解析により, 鶏血清アルブミンをはじめとする5種類の蛋白が同定された. この中から, 入手可能であった精製鶏血清アルブミンを選択し, *C. jejuni* 外膜蛋白との結合性をELISA法により確認したところ, SDS非存在下においても両者の結合性が濃度依存的に確認された. さらに, オーバーレイアッセイ法を用いた同様の手法により, *C. jejuni* 外膜蛋白画分中に, 精製鶏血清アルブミンとの結合因子を検出し, LC/MS/MS解析により分離・同定したところ, 2種類の *C. jejuni* 外膜蛋白を同定した.

考 察

以上の結果から, ブロイラーの皮膚アルカリ抽出画分には *C. jejuni* の外膜蛋白と結合する複数の因子が存在することが示唆され, その中の鶏血清アルブミンとの特異的結合が確認された. さらに, *C. jejuni* 外膜蛋白画分中に, 鶏血清アルブミンと結合する2種類の蛋白質の存在が示唆された. よって, 食鳥処理工程で起こる本菌のと体への汚染は, 物理的な付着だけでなく, 特異的な付着機序の存在が強く示唆された.

今回検出されたブロイラー皮膚のアルカリ抽出画分に存在する *C. jejuni* との付着因子の存在は, われわれが知る限り過去に報告がないものである. さらに, 細菌のアルブミン結合性について過去に報告があるものは, *Streptococcus* 属及び *Fingoldia magna* などのグラム陽性菌についてのみであり, グラム陰性菌である *Campylobacter* 属菌と血清アルブミンとの結合性を確認した報告も今回が初めてである. 今後は本菌の鶏皮膚への付着機序を精査するとともに, アルブミンとの結合が *C. jejuni* にとってどのような生物学的意義を持つのかを明らかにすることが課題である.

研究協力者: 浦田彩香, 大城昇太郎, 新木泰輔(元 宮崎大・獣医公衆衛生学研究室)

〔参考〕平成28年度 日本獣医公衆衛生学会（九州地区）発表演題一覧

- 1 TNRに持ち込まれた野良猫の実態
徳田竜之介（竜之介動物病院・熊本県），他
- 2 地域猫対策モデル事業の取り組み
谷口美津子（宮崎県日向保），他
- 3 口永良部島での噴火における動物救護活動の報告と一考察
河野友紀（鹿児島県屋久島保），他
- 4 遠隔転移をとまなう豚の腎癌の1例
福家直幸（宮崎県小林食肉衛検），他
- 5 縦隔部に最大腫瘤を形成していた2症例の比較および検討
加藤都久実（大分県食肉衛検），他
- 6 鶏の後肢にみられた線維腫
黒木 愛（宮崎県高崎食肉衛研），他
- 7 大規模食鳥処理場における死鳥発生の要因と対策
岩下 修（宮崎県日向食肉衛検）
- 8 大規模食鳥処理場における HACCPに関する意識調査と今後の課題
竹内僚子（宮崎県日向食肉衛検），他
- 9 *Mycoplasma bovis*が関与した牛の心内膜炎
神田卓弥（鹿児島県阿久根食肉衛検），他
- 10 *C. septicum*と*C. perfringens*の混合感染が推察された悪性水腫の事例報告
指宿明星（宮崎県都農食肉衛検）
- 11 BLV陰性牛でみられたB細胞性リンパ腫
岡 佐由利（鹿児島県末吉食肉衛検），他
- 12 LC/MS/MSによるキノロン系薬剤一斉分析の妥当性評価
池田有希（長崎県諫早食肉衛検），他
- 13 プロイラー由来サルモネラにおける血清型および抗菌剤耐性率の推移
阿井隆之介（鹿大・獣医公衆衛生），他
- 14 食鳥処理場で分離された大腸菌の薬剤感受性
柴沼拓矢（鹿児島県鹿屋食肉衛検），他
- 15 人および犬由来*Helicobacter cinaedi*株の薬剤感受性
永井康紀（宮崎大・獣医公衆衛生），他
- 16 食用となる野生シカ，イノシシからの志賀毒素産生性大腸菌の分離および分離株の性状解析
富野由通（鹿大共同獣医・獣医公衆衛生），他
- 17 鹿児島県内で市販される生食用鶏肉のカンピロバクター汚染状況
堀内雄太（鹿大・獣医公衆衛生），他
- 18 由来の異なる*Campylobacter jejuni*の好気耐性能の比較
谷口喬子（宮崎大・産業動物防疫リサーチセンター），他
- 19 プロイラー皮膚に存在する*Campylobacter jejuni*の付着因子の分離と同定
大木万由子（宮崎大・獣医公衆衛生），他
- 20 関節炎型の豚丹毒菌の性状解析と関係機関の連携による発生抑制への取り組み
藤野直子（福岡県食肉衛検），他
- 21 脳損傷の著しい個体における脊髄を用いた狂犬病検査
喜屋武向子（沖縄県衛研），他
- 22 異なる遺伝子型が検出されたツツガムシ病の症例について
大迫英夫（熊本県保環研），他
- 23 豚インフルエンザウイルスの遺伝的的特性の解明
奥谷公亮（鹿大・動物衛生学），他
- 24 長崎県で分離された日本脳炎ウイルスの性状解析
吉川 亮（長崎県保環研・保健科），他
- 25 大腸菌を指標とした豚解体処理における汚染要因の検討と対策
柳 美樹（宮崎県都城食肉衛研）