

産地区—4

ウマ顆粒膜細胞腫に対する AMH 診断基準値の設定

村瀬晴崇¹⁾, Tangyuenyong Siriwan²⁾, 渡辺 元²⁾, 佐藤文夫¹⁾,
羽田哲朗¹⁾, 南保泰雄³⁾, 他

1) 日本中央競馬会 日高育成牧場, 2) 東京農工大学, 3) 帯広畜産大学

一般的な卵巣腫瘍であり、顆粒層細胞からホルモンの産生異常により不妊となる。自然治癒はないため、繁殖性の回復には卵巣摘出術が

必要となる。卵巣疾患において他に手術を要する疾患はないため、確実な診断が求められる。診断方法は血中インヒビン濃度測定がゴールドスタンダードであるが、国内において測定できる施設は限られており、臨床応用されていない。近年、抗ミュラー管ホルモン (Anti-Müllerian hormone, AMH) が GCT 診断に有用であることが報告されており、その診断基準値は正常範囲に基づいて 4ng/ml 以上と設定されている。しかしながら、臨床現場において獣医師は正常卵巣と GCT 卵巣との鑑別に悩むわけではなく、GCT 卵巣と GCT ではないものの疑わしい異常な卵巣 (擬 GCT) との鑑別に悩む。擬 GCT ウマにおける血中 AMH 濃度に関する報告はない。そこでわれわれは実際に臨床獣医師が GCT の可能性を疑った症例について、GCT 馬と擬 GCT 馬を比較することでより臨床的意義の高い診断基準値の設定を試みた。また、その診断精度を検証するため、従来の診断マーカーであるとインヒビンと比較した。

材料及び方法

臨床獣医師が GCT を疑い当研究室に AMH 測定を依頼した症例を、病理組織学的に GCT と診断した馬 (GCT 群) と、手術せずに繁殖性が回復したことから GCT を否定した馬 (擬 GCT 群) に分類した。両群の血中ホルモン濃度について、AMH は AMH GenII ELISA (Beckman Coulter, U.S.A.)、インヒビンは放射免疫測定法 (Radioimmunoassay, RIA) にて測定し、ROC 解析によりそれぞれカットオフ値を算出した。インヒビンについてはウマインヒビンではなく、immunoreactive-inhibin (ir-inhibin) を測定した。さらに算出されたカットオフ値に基づいて判定した際の感度、特異度、診断率を比較し、その診断精度を検証した。また、AMH と ir-inhibin の特性を検討するため、両ホルモンの決定係数 (R²) を算出した。

結 果

2005～2015 年にかけて当研究室に検査依頼された 67 症例のうち、GCT 馬は 25 例、擬 GCT 馬は 42 例であった。GCT 群における AMH 濃度は中央値 72.6ng/ml (四分位 20.6-458.5)、ir-inhibin 濃度 2.36ng/ml (四分位 1.65-3.79) であり、擬 GCT 馬においては AMH 濃度 0.70ng/ml (同 0.26-1.44)、ir-inhibin 濃度 0.93ng/ml (同 0.69-1.46) であった。算出されたカットオフ値は AMH 4.70ng/ml、ir-inhibin 1.65ng/ml であった。算出されたカットオフ値に基づく感度、特異度及び診断率は AMH が 1.00, 0.95, 97.0%、ir-inhibin が 0.79, 0.65, 83.3% であった。GCT 群、擬 GCT 群における両ホルモンの決定係数はそれぞれ 0.41, 0.03 であった。

考 察

AMH のカットオフ値は 4.7ng/ml で従来値 4.0ng/ml より若干高いものの、ほぼ同等であった。一方 ir-inhibin のカットオフ値は従来値 0.7ng/ml より大きく高かった。擬 GCT 群における約 75% が 0.7ng/ml を上回っていたことから、この原因は対照群の違いというよりウマインヒビンと ir-inhibin の測定系の違いが大きいと考えられた。また、AMH と ir-inhibin における相関性は低いことから、両ホルモンはいずれも顆粒層細胞から分泌されるにもかかわらず、その分泌動態が異なることが示唆された。

ま と め

GCT 診断において、臨床的に意義の高い AMH 診断基準値を統計的に算出したところ 4.7ng/ml であり、従来のインヒビンよりも優れた診断精度であることが明らかとなった。

平成 29 年度 日本獣医師会獣医学術賞 小動物部門「獣医学術学会賞」

小地区—8

犬の副腎腫瘍の鑑別診断における造影超音波検査の有用性

南雲隆弘, 石垣久美子, 吉田織江, 掘切園 裕, 飯塚恵悟, 浅野和之, 他

日本大学生物資源科学部獣医学科獣医外科学研究室

はじめに

医学領域において、造影超音波検査は肝臓腫瘍の鑑別診断に臨床応用されており、肝臓腫瘍以外にもさまざまな部位や疾患においてその有用性が検討されている。また、小動物医療においても造影超音波検査を用いた肝臓腫瘍の鑑別診断の研究などが行われている。

原発性副腎腫瘍は皮質由来と髄質由来に分類されるが、犬では皮質由来として腺腫及び腺癌、髄質由来とし

て褐色細胞腫が一般的である。発生由来によって腫瘍の性質が異なり、治療成績や周術期管理も異なることから、皮質由来か髄質由来かを術前に鑑別しておくことは臨床的に重要であるものの、現状では十分に確立されていない。そこで、本研究の目的は犬の副腎腫瘍の鑑別診断として超音波診断用造影剤ソナゾイド (第一三共) を用いた造影超音波検査の有用性を検討することである。

方 法

2016年2月から2017年9月にかけて日本大学動物病院外科に来院し、副腎腫瘍摘出術を行った犬29症例を対象とした。手術前日にソナゾイド0.015ml/kg静注し、Aplio400（東芝メディカル）を用いて造影超音波検査を行った。6MHzコンベックス型プローブにて副腎腫瘍の矢状断面像を描出し、Contrast harmonic imagingの条件下で5分間観察を行った。集積した画像データから直径8mmの関心領域を置き、Time intensity curve (TIC) を描出してGraphPad Prism6 (エムデーエフ) を用いて近似曲線を作成した。この曲線からPeak signal intensity (PI), Time to peak signal intensity (TPI), Mean transit time (MTT), Up slope, Down slopeを腫瘍ごとに算出した。PIを最高輝度、TPIを立ち上がりからPIまでの時間、MTTをPIの50%輝度に達した時間から50%輝度にまで減弱する時間、Up slopeはPIの10%輝度から85%輝度の傾き、Down slopeはPIの85%から40%輝度の傾きと定義した。摘出腫瘍は病理組織学的検査に供し、造影超音波所見と比較検討した。統計学的分析において腫瘍群間における各パラメータの比較にはKruskal-Wallis検定を行い、p値が0.05未満のものを有意差ありと判断した。

結 果

29症例から摘出された腫瘍は合わせて30結節であり、副腎皮質腺腫5結節、副腎皮質腺癌7結節、褐色細胞腫18結節と診断された。褐色細胞腫1結節では検査中における体動が激しく、副腎皮質腺癌1結節では腫瘍の破裂があり、それら2症例ではTICが描出できなかったため、解析に用いることができなかった。TICが描出できた残りの28結節のうち、2結節（副腎皮質腺腫及び腺癌が各1結節）では肉眼的に染色が認められなかった。染色された26結節を解析したところ、特徴的な造影超音波所見として褐色細胞腫では急速に増強され、急速に減少していったのに対し、副腎皮質腺腫及び腺癌では造影

の減少速度が緩徐であった。PIでは統計学的有意差は認めなかったが、褐色細胞腫において高い傾向が認められた。TPIでは褐色細胞腫と副腎皮質腺癌で有意差を認め、MTT及びDown slopeでは褐色細胞腫と副腎皮質腺癌、及び褐色細胞腫と副腎皮質腺癌の間でそれぞれ有意差を認めた。Up slopeにおいて統計学的有意差は認められなかったが、褐色細胞腫で大きい傾向が認められた。

考 察

今回、犬の副腎腫瘍における特徴的な造影超音波所見が明らかとなり、特に褐色細胞腫では急速に染色され、急速に減少していく傾向が認められたことから、褐色細胞腫の術前鑑別診断として造影超音波検査は有用であることが示唆された。術中において、褐色細胞腫ではカテコラミン分泌が促され、高血圧、頻脈、不整脈などが生じ、心停止に陥ることもあるため、 α 遮断薬や β 遮断薬による周術期管理が重要である。一方、副腎皮質腫瘍では cortisol 分泌が多いと感染や治癒遷延だけでなく、血栓が塞栓して多臓器不全に陥る危険性があるため、ヘパリンなどの周術期管理が考慮される。したがって、周術期の投薬管理を計画する上において、術前に無麻酔で実施できる造影超音波検査の臨床的意義は高いものと考えられた。しかし、今回の研究から造影超音波検査単独では副腎皮質由来の腺腫と腺癌を鑑別することは困難であった。また、症例の体動が激しい場合には鎮静や麻酔が必要であると考えられた。また、腫瘍の破裂から出血を生じてTIC描出が困難であった2結節及び十分な染色が得られずにTIC解析ができなかった2結節では、病理組織学的検査で広範囲に壊死が認められたことから、出血や壊死領域が大きい場合には造影超音波検査による診断には限界があると考えられた。以上のことから、犬の副腎腫瘍に対する造影超音波検査は、褐色細胞腫の術前鑑別診断には有用であり、臨床的意義は大きいことが示めされた。造影超音波検査による術前鑑別診断を精度良く実施するためには、造影剤の投与量や染色パターン、観察時間、鎮静や麻酔の影響などさらなる検討が必要であると考えられた。

平成29年度 日本獣医師会獣医学術賞 公衆衛生部門「獣医学術学会賞」

公地区—10

牛枝肉の冷却工程における管理基準 (CL) の設定 —冷却曲線と多変量解析—

葛岡功弥子¹⁾、北山信二²⁾、河辺純平³⁾、山本浩之⁴⁾、
松井伸道⁵⁾、山内俊平¹⁾

- 1) 豊橋市食肉衛検, 2) 豊橋食肉事業協同組合, 3) (株)東三河食肉流通センター,
4) 愛知県経済連畜産部東三河食肉市場, 5) 愛知県経済連食肉部豊橋営業所

はじめに

国際的に認められている食品衛生管理手法に HACCP

(Hazard Analysis and Control Point) がある。これは食品製造工程で発生するおそれのある危害を分析し、重要管理点を定めて、その危害をコントロールする食品安

全マネジメントシステムのことで、国連食糧農業機関 (FAO) 及び世界保健機関 (WHO) の合同機関である食品規格委員会 (CODEX) によりガイドラインが定められた [1]。HACCPでは分析した危害について管理基準 (以下、CL) を定め、全製品でその基準を満たす必要がある。

しかし、微生物的危険については培養に時間を要するため、その汚染状態を直ちに把握することは困難である。そのため、微生物増殖に影響する枝肉温度の管理、すなわち冷却工程の管理が重要となる。

と畜場での枝肉の冷却工程のCLについて、厚労省の手引書では作業終了後24時間以内に枝肉表面温度10℃以下としている。一方、欧州規則853/2004では深部温度7℃未満 [2] (英国食品基準庁の手引書では牛枝肉の場合48時間以内 [3]) とされ、欧州安全機関による科学的意見書も公表されている [4]。

そこで、当所所管のと畜場における牛枝肉の冷却工程のCLを設定するため、冷却室の庫内温度と牛枝肉の表面及び深部温度の関連性について検討した。

材料及び方法

1. 配置場所による深部温度の差の検討

2016年9月6日午前にと畜し、正午までに肥育牛50頭 (通常運用格納容量の100%) を入庫し終えた冷却室において、四隅及び中央の5群 (A～E群) 各3頭計15頭について、右側大腿部尾側面の深さ7cmに肉用温度計を設置し、各々正午～20:00まで1時間毎に温度計測した。SAS社の統計解析ソフトJMP5.1 (以下、JMP) を用い、各群の観測値について初めにLeveneの検定で等分散性を確認し、等分散の場合はTukey-Kramerの検定を、等分散でない場合はKruskal-Wallisの検定を行った ($P<0.05$)。

2. 冷却曲線のモデル式及び信頼限界の算出

2017年1月10日午前にと畜し、正午までに肥育牛49頭 (同98%) を入庫し終えた冷却室 (設定温度-7.2℃) において19時間、さらに翌朝8:00以降の保管先である保管室 (設定温度-1.0℃) において29時間の計48時間、庫内温度、並びに、1.で最も冷えにくいと判定した群の各3頭の表面及び深部温度を自動記録計にて連続計測した。これらについてJMPを用い、最小二乗法により最適となるモデル式を算出した。さらに庫内温度については個別についての信頼限界上限を算出した。

結 果

1. 配置場所による深部温度の差の検討

20時間経過時で中央群 (C群) が最も冷却状態が悪かった。

2. 冷却曲線のモデル式及び信頼限界の算出

表面温度10℃以下には8時間後、深部温度7℃以下には36時間後に到達した。冷却曲線として、S次式が最も当てはまりが良かった。庫内温度の信頼限界上限は次のS次式で示された。

$$Y = Y_{\min} + (Y_{\max} - Y_{\min}) / (1 + \exp(-b(X - X_{50})))$$

$$[Y_{\min} = -3.84, Y_{\max} = 9.42, b = -0.24, X_{50} = 7.84]$$

考 察

HACCPは国際流通上必須の手法であり、日本では平成30年度に食品衛生法が改正される予定で、これによりHACCPによる食品衛生管理が義務化されるため、その対策は急務である。

枝肉温度の推移を調査した報告は多くあるが [5]、国内と畜場の実際の運用を考慮した場合、個々の枝肉温度を測定することは困難である。よって、庫内温度から枝肉温度を推定する必要がある。

得られた冷却曲線では、冷却開始後7時間で厚労省通知の表面温度10℃に到達し、34時間後には欧州規則の深部温度7℃に到達していた。なお、観測値では霜取による庫内温度の一時的上昇がみられたが、表面及び深部温度への影響はわずかではあり冷却曲線の算出に影響はなかった。

施設管理者は24時間通して庫内温度の自動記録をとっているが、その確認を勤務時間終了前の16:30及び出庫時の翌朝8:00に実施している。よって、この2点をモニタリングの定点観測時刻とし、庫内温度の信頼限界の式にこの定点時刻における冷却経過時間を当てはめて得られた温度を、管理上限温度すなわちCLとした。

畜産物の流通拡大には畜産部局推進の農場GAPと衛生部局推進のと畜場HACCPが不可欠なため、今後も関係機関との協働を図りたい。

参 考 文 献

- [1] Hazard analysis and critical control point (HACCP) system and guidelines for its application: Annex to CAC/RCP 1-1969, Rev.4-2003, 21-31 (2003)
- [2] Regulation (EC) No 0853/2004: Official J EU, EN ed. 47, L139/55 (2004)
- [3] Food Standards Agency: Meat Industry Guide, Chap.10, 12-13 (2015)
- [4] European Food Safety Authority: EFSA J, 12 (3) 3601, 1-81 (2014)
- [5] Beef carcass chilling: Current understanding, future challenges: Research R & KM knowledge management, 1-12 (2012)