

平成30年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会（神奈川）
地区学会長賞受賞講演（近畿地区選出演題）

[日本産業動物獣医学会]

産地区—1

子牛のマイコプラズマ性肺炎に対するワクチン開発：
Mycoplasma bovis 抗原封入カチオニックリポソーム
点眼ワクチンの免疫誘導効果

渡未 仁¹⁾，塔 娜¹⁾，樋口豪紀²⁾，小岩政照²⁾

1) 大阪府立大学 生命環境科学研究科，2) 酪農学園大学 獣医学群・獣医学類

はじめに

子牛の多頭飼育農場において発生する集団的な呼吸器病の中で、*Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) 感染によるマイコプラズマ性肺炎が大きな問題となっている。本病に対しては薬剤による対策が行われているものの、耐性菌出現の問題が危惧されている。そのため、本症予防のために *M. bovis* の感染部位である呼吸器粘膜に感染防御に有効な粘膜免疫応答を誘導できるワクチン開発が望まれている。

目 的

本研究では、我々が開発した陽性荷電脂質修飾リポソーム（カチオニックリポソーム）に不活化 *M. bovis* 破碎抗原を封入した試作ワクチンの点眼投与による免疫誘導効果について子牛を用いて調べ、子牛のマイコプラズマ性肺炎に対するリポソーム点眼ワクチン開発の可能性を検討した。

材 料 と 方 法

ジバルミトイルホスファチジルコリン (DPPC)、ジオレオイルホスファチジリエタノールアミン (DOPE) の脂質組成に陽性荷電脂質を修飾したカチオニックリポソームに不活化 *M. bovis* 破碎抗原を封入し、試作ワクチンとした。2週齢の子牛を6頭準備し、Control群（3頭）、点眼ワクチン群（3頭）とした。Control群はワクチン非投与とした。点眼ワクチン群には試作ワクチンを2週間間隔で2回点眼投与（0.5mg (*M. bovis* 破碎抗原タンパク量）/200 μ l/頭）し、ワクチン投与後の免疫応答（血清、唾液ならびに肺胞洗浄液における抗体産生）についてELISA法で解析した。

結 果

点眼免疫による血清抗 *M. bovis*-IgG 抗体価の推移に

ついて解析した結果、点眼ワクチン群においては免疫の回数に依存して血清抗 *M. bovis*-IgG 抗体価の上昇が確認され、初回免疫後4週目と6週目の抗体価は初回免疫時の抗体価と比べて有意に高かった。一方、Control群においては抗体価の上昇は確認されなかった。さらに、点眼免疫による粘膜局所への免疫誘導を確認するために、唾液抗 *M. bovis*-IgA 抗体価の推移について解析した。その結果、Control群においては、唾液中に抗 *M. bovis*-IgA 抗体の誘導は確認されなかったが、点眼ワクチン群では、初回の免疫後2週目において有意な抗体価の上昇が認められ、2回免疫後2週目と4週目では更に抗体価が上昇していた。また、肺胞洗浄液中の抗 *M. bovis*-IgA 抗体価について解析した結果、点眼ワクチン群では抗体の誘導が認められないControl群に比べ有意に高い抗 *M. bovis*-IgA 抗体の誘導が確認された。これらの結果から、本試作ワクチンの点眼投与により、子牛において *M. bovis* に対する全身免疫応答のみならず *M. bovis* の感染防御に重要な呼吸器粘膜に免疫応答を誘導できることが明らかとなった。

考 察

今回、不活化 *M. bovis* 破碎抗原を封入した試作リポソームワクチンの点眼投与が、*M. bovis* の感染部位である呼吸器粘膜に免疫応答を誘導できることが子牛で明らかとなり、マイコプラズマ性肺炎に対するリポソーム点眼ワクチン開発の可能性が示された。今後、リポソーム点眼ワクチンを接種した子牛に対して *M. bovis* の攻撃試験を行い、誘導される免疫応答による感染防御効果を明らかにし、子牛のマイコプラズマ性肺炎に対するリポソーム点眼ワクチンの開発を進めていきたいと考えている。

ウシ卵子成熟培養初期のMAPKK阻害剤添加による卵子における グルタチオンの増加と活性酸素種の減少

青山桃子¹⁾, 坂上信忠²⁾, 川手憲俊¹⁾, 玉田尋通¹⁾

1) 大阪府立大学 獣医繁殖学教室, 2) 神奈川県畜産技術センター

背景と目的

食肉処理場で得られたウシ卵巣や優良雌牛から卵子を採取して体外培養を行い、移植可能胚の作製が行われている。しかし、体外培養によるウシ胚の作製効率は体内受精と比較して低い。当研究室では、ウシ卵子の体外成熟 (IVM) 初期に分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) キナーゼ (MAPKK) の活性阻害剤である U0126 を添加すると、卵子と卵丘細胞の GAP 結合の崩壊が遅延し、胚盤胞発生率が増加することを報告した (Reprod Dom Anim, 2018)。また、この U0126 処置で得られた胚の移植により、正常な子ウシが産出された (第 160 回日本獣医学会)。しかし、その胚盤胞発生能向上機序は明らかでない。

GAP 結合を介した卵丘細胞から卵子への各種因子の供給は、卵子の成熟に重要な役割を担っており、正常な受精や胚発生に必要な機能的変化を起こす。排卵前の黄体形成ホルモンサージは MAPK 経路を介して GAP 結合を崩壊させるが、IVM では培養液中の成分による MAPK 活性化作用により、GAP 結合の崩壊が生体内よりも早期に起こる。一方、卵子の成熟を阻害する要因のひとつに酸化ストレスが挙げられる。IVM 卵子は生体内に比較して活性酸素種 (ROS) による強い酸化ストレスにさらされる。GAP 結合を介して卵丘細胞から卵子へ流入する物質のひとつに、卵子内の重要な抗酸化物質であるグルタチオン (GSH) がある。

そこで本研究では、U0126 添加による胚盤胞発生率の向上が、卵丘細胞からの GSH 流入・蓄積が増加することによる卵子内の ROS 減少が要因であるという仮説を立て、IVM 過程における卵子内の GSH と ROS の含量ならびに卵子の抗酸化関連因子遺伝子発現について調べた。

材料と方法

食肉処理場から交雑種及び黒毛和種のウシ卵巣を採取

し、直径 2～6mm の卵胞から卵子を吸引した。卵丘細胞が緻密で 3 層以上あり、細胞質が均質な卵子を選抜して対照群と試験群に分けた。試験群には U0126 を 5 μ M の濃度で IVM 培養液に添加し、対照群には U0126 の溶媒 (DMSO) を添加して 2 時間培養した。その後、卵子を通常の培養液に移し、21～22 時間 IVM を継続した。培養開始から 4 時間及び 24 時間時点で回収した卵子から卵丘細胞を除去した。GSH 含量：卵子を monochlorobimane で染色し、蛍光強度により卵子内 GSH 含量を測定した。ROS 含量：卵子を 2',7'-dichlorodihydro-fluorescein diacetate を用いて染色し、蛍光強度により卵子内 ROS 含量を測定した。RT-PCR：卵子から mRNA を抽出し、逆転写後、リアルタイム PCR で抗酸化因子である Cat, Sod1, PRDX1, NRF2 の遺伝子発現を定量的に解析した。

結果

IVM 開始 4 時間後の U0126 添加群の GSH 蛍光強度は対照群と比べて有意に増加した ($P < 0.05$) が、24 時間後の値は 2 群間で差はなかった。IVM 開始 4 時間後の ROS 蛍光強度は 2 群間で差はなかったが、24 時間後の U0126 添加群の値は対照群と比べて有意に低下した ($P < 0.05$)。IVM 開始 4 時間後の mRNA 発現量は、すべての因子について 2 群間で差はなかった。IVM 開始 24 時間後では Sod1 と PRDX1 の mRNA 発現量に差はなかったが、U0126 添加群の Cat 及び NRF2 の値は対照群に比べ減少傾向 ($P < 0.08$) が認められた。

考察

IVM 初期の U0126 添加が、卵丘細胞から卵子内への GSH 流入・蓄積を増加させ、IVM 終了までにより多くの ROS が除去されることが示唆された。また、この ROS 減少に伴い、卵子の抗酸化関連因子 (Cat, NRF2) の遺伝子発現に減少傾向がみられたものと考えられる。

〔参考〕平成 30 年度 日本産業動物獣医学会 (近畿地区) 発表演題一覧

〔A 会場〕

- | | |
|---|---|
| 1 仔牛のマイコプラズマ性肺炎に対するワクチン開発： <i>Mycoplasma bovis</i> 抗原封入カチオニックリポソーム点眼ワクチンの免疫誘導効果
渡末 仁 (大阪府大), 他 | 3 大規模肥育農場における呼吸器病事故低減への取り組みとその効果
湯本森矢 (兵庫県農共連三原家畜診), 他 |
| 2 肥育素牛農場における事故低減対策の効果 | 4 淡路地域におけるピートンウイルスが関与した牛の異常産発生とワクチン接種の変更
廣瀬春菜 (兵庫県農共連淡路基幹家畜診), 他 |

- 梶河紗代 (兵庫県淡路家保), 他
- 5 京都府内のピートンウイルス抗体保有状況調査
久保田直樹 (京都府中丹家保), 他
 - 6 定量PCRを取り入れた牛白血病清浄化対策
入江拓也 (三重県南瀬家保), 他
 - 7 地方病性牛白血病 (EBL) 汚染農場清浄化への歩み
大東真太郎 (奈良県家保), 他
 - 8 ヨーネ病スクリーニング遺伝子検査の有用性
小松 希 (和歌山県紀北家保)
 - 9 1酪農場のBVD-MD清浄化への取り組み
川島 豪 (三重県中央家保伊賀支所), 他
 - 10 管内酪農家における牛RSウイルス病と牛マイコプラズマ感染症の発生と対応
折原 詳 (京都府中丹家保), 他
 - 11 乳房炎ワクチン接種牛における乳房炎防除に関する調査
西田寿代 (京都府中丹家保(現:南丹家保)), 他
 - 12 肉用鶏における伝染性気管支炎の発生例
坂元一夏 (奈良県家保), 他
 - 13 鉄骨鶏舎のネズミ侵入防止対策
西井真理 (京都府農技セ畜セ), 他

[B会場]

- 1 酪農家における飼養衛生管理基準遵守状況と生産性との関連
松倉大樹 (朝来家保), 他
- 2 分娩後ステージ別の乳蛋白質率を用いた繁殖管理指標の検討
石川 翔 (兵庫県淡路技セ), 他
- 3 周産期乳牛における多変量解析による脂肪肝の間接

診断法

- 生田健太郎 (兵庫県農総セ淡路農技セ), 他
- 4 自家配合・野草・自給飼料等利用和牛農家への繁殖成績向上の取組
岩尾 基 (和歌山県紀南家保)
 - 5 黒毛和種繁殖経営農場におけるフレッシュチェックに重点を置いた繁殖検診の効果
畠中勝範 (NOSAI滋賀)
 - 6 A地域の黒毛和種繁殖農場における超音波画像診断装置を用いた有料定期繁殖検診の普及と効果
林 小夏 (兵庫県農共連淡路基幹診), 他
 - 7 濃厚飼料中の非繊維性炭水化物 (NFC) 濃度が黒毛和種去勢牛の産肉性, 第一胃液性状および枝肉性状に及ぼす影響
岩本英治 (兵庫県農技総セ), 他
 - 8 黒毛和種雄子ウシの血中精巣ホルモン濃度と精巣容積に及ぼすGnRHワクチン剤の効果
木伏雅彦 (兵庫県朝来家保), 他
 - 9 成乳牛の中手骨骨折に対する即時重合レジンを用いた貫通固定ピンキャスト法
坂田 学 (兵庫県農共連阪神家畜診), 他
 - 10 黒毛和種肥育牛における断角法の検討
飯塚恭平 (兵庫県農共連東播家畜診), 他
 - 11 リンパ球増多症を呈し肝蛭症と診断した黒毛和種肥育牛の1例
山本逸人 (滋賀県家保)
 - 12 ウシ卵子の体外成熟培養時におけるMAPKK阻害剤(U0126)添加が卵子胚発生能関連因子の遺伝子発現におよぼす影響
青山桃子 (大阪府大), 他
 - 13 黒毛和種雌牛における高栄養状態下でのOPU-IVFによる胚生産成績
富田健介 (三重県畜研), 他

[日本小動物獣医学会]

小地区—17

スコアリング方式を用いた犬のベッドサイドDIC診断基準の臨床的有用性の検討

福岡 玲¹⁾, 畑 隆介¹⁾, 中田美央¹⁾, 築澤寿栄¹⁾, 米富大祐²⁾, 安田和雄¹⁾

1) 安田動物病院・兵庫県, 2) よねとみ動物病院・兵庫県

はじめに

播種性血管内凝固症候群 (DIC) は, 死亡率の高い病態であり, 早期の診断及び治療が必要であるが, 全身に多発した微小血栓を画像検査等で直接検出することは困難である. そのため, DICの診断にゴールドスタンダードは存在しない. 人医学領域におけるDIC診断基準は, さまざまな科学的検証に基づいて改訂が繰り返されている. 一方獣医学領域におけるDIC診断基準は, これまで複数報告されているものの, コンセンサスの得られているものは無い. 菅原ら (2018, JCVIM) は, 6項目 (Plt, Dダイマー, PT, AT, Fib, TAT) のスコアリングを用いた新たな犬のDIC診断基準 (東大6項目基準)

の確立を試み, その診断精度が高いことを示した. その一方で, これまで臨床現場において汎用されてきた3項目 (Plt, FDPまたはDダイマー, PTまたはAPTT) を用いたCarrらの報告した診断基準 (ベッドサイド基準) は, 診断精度が低く, 特に感度について不十分であるとも報告している. 東大6項目基準は, その診断精度の高さから獣医学領域における犬のDIC診断基準として科学的根拠を伴った信頼性の高い基準と考えられるが, 臨床現場において全ての検査項目を測定することが困難であることも多く, 臨床適用という点において制限がある. その一方で, 診断精度が低いと報告されたベッドサイド基準は, 3種類の検査項目の異常が有るか無いかに基づく診断基準であるが, その異常値を細分化したスコ

ア化を行っていない。そのため診断精度が低くなっている可能性が想定される。

目 的

ベッドサイド基準に用いられる検査項目について数値に応じたスコアリング方式を採用することで、DIC診断基準としての診断精度が向上可能であるか検討を行った。また、人医学領域においてDIC診断基準は患者の生命予後を反映しているものをより優れた基準としているが、獣医学領域ではDIC診断基準と生命予後の関連性について検討を行った報告は無い。そこで、各種DIC診断基準と生命予後との関連性について検討を行うことで、診断精度以外の観点からもDIC診断基準の評価を行った。

方 法

凝固系検査を実施した、様々な基礎疾患を持つ犬31例について、東大6項目基準を最も診断精度の高い基準と仮定し、ベッドサイド基準、及び今回のスコアリング方式を用いたベッドサイド基準（ベッドサイドスコア基準）の診断精度を、ROC解析を用いて評価した。ベッドサイドスコア基準におけるスコアリングは、東大6項目基準で用いられているものに準じて設定した。また、対象とした31症例の中でDICに関連して死亡した症例（n=9）のDICスコアを基に、各基準のDICスコア毎の死亡のオッズ比を算出し、診断基準と生命予後との関連性について検討を行った。

結 果

ベッドサイドスコア基準では、DIC診断のカットオフ値6点でROC曲線下面積（AUC）0.973、感度87.5%、特異度95.7%、DIC/pre-DIC診断のカットオフ値4点でAUC0.994、感度93.8%、特異度100%であった。AUCの比較を行った結果、ベッドサイドスコア基準と東大6項目基準との間に統計学的有意差は認められなかった。その一方でベッドサイド基準によるDIC診断のAUCは、東大6項目基準と比較して有意に低かった（ $P<0.05$ ）。各診断基準のDICスコアと死亡のオッズ比を比較した結果、東大6項目基準及びベッドサイド基準では、DIC/preDIC診断及びDIC診断のカットオフ値と死亡のオッズ比との明らかな関連性は認められなかった一方で、ベッドサイドスコア基準では、DIC/pre-DIC診断のカットオフ値である4点以上で死亡のオッズ比が増加し、DIC診断のカットオフ値である6点以上ではさらに増加していた。

考 察

ベッドサイドスコア基準の診断精度は高く、さらに検査項目も3種類と少ないため、臨床的有用性は高いと考えられた。また、ベッドサイドスコア基準のDIC/pre-DIC診断及びDIC診断の各カットオフ値において、死亡のオッズ比の増加が顕著であったことから、ベッドサイドスコア基準はより生命予後を反映し得る基準となる可能性が示された。

小地区—18

CT検査にて血栓症が疑われた犬56頭における回顧的調査

望月俊輔，宇根 智，川田 睦

ネオバッツ VRセンター・大阪市

はじめに

血栓症は小動物臨床分野において種々の疾患の合併症として認識されつつあるが、得られている情報は限られており、特にCT検査を用いた大規模な調査は我々が知る限りない。今回血栓症の臨床的特徴を明らかにするため、CT検査にて血栓症が疑われた犬56頭において回顧的調査を行った。

材料及び方法

2008年7月16日から2018年7月15日までにCT検査にて血栓症が疑われた犬56頭を対象に、性別、犬種、年齢、臨床症状、血液検査、血栓部位、基礎疾患を調査した。

結 果

造影CT検査を実施した犬10,005頭のうち血栓症と

診断した症例は56頭であった（0.56%）。そのうちCT検査前に血栓症が疑診されていたものは21頭であった。年齢中央値は10歳、雄（n=21）雌（n=35）であり、柴犬（n=8）、ミニチュアダックスフント（n=6）、雑種（n=5）で多く認められた。臨床症状として後肢不全麻痺、麻痺；17頭（30.4%）、食欲不振；15頭（26.8%）、嘔吐；6頭（10.7%）、下痢；5頭（8.9%）、元気消失；5頭（8.9%）に認められた。血液検査では貧血；16/32頭（50%）、白血球数増加；17/32頭（53.1%）、血小板数低下；15/32頭（46.9%）、Alb低下；10/23頭（43.5%）、ALT上昇；14/23頭（60.9%）、BUN上昇；9/24頭（37.5%）、CPK上昇；5/6頭（83.3%）、PT延長；2/23頭（8.7%）、APTT延長；2/23頭（8.7%）、FDP上昇；4/4頭（100%）、D-dimer上昇；5/5頭（100%）に認められた。血栓部位は動脈（肺動脈を除く）25頭、門脈16頭、肺動脈7頭、静脈4頭、心臓3頭、複数部位（動脈、門脈、肺動脈、静脈）1頭

であった。基礎疾患では腫瘍（15/56頭）、副腎皮質機能亢進症、副腎腫大（13/56頭）、特定されず（11/56頭）、蛋白漏出性腸症（9/56頭）が多く認められた。

礎疾患を有する症例においては、特異的な臨床症状がみられない場合においても血栓症が存在しうることを認識することが重要と考えられた。

考 察

腫瘍、副腎皮質機能亢進症、蛋白漏出性腸症などの基

〔参考〕平成30年度 日本小動物獣医学会（近畿地区）発表演題一覧

【A会場】

- 1 猫の角膜黒色壊死症の9例
佐々木隆博（おり動物病院・大阪府），他
- 2 肝細胞特異性MR造影剤を用いたMRIによる肝機能評価の可能性
田中利幸（近畿動物医療研修センター・大阪府），他
- 3 椎間孔外型の椎間板ヘルニア（far lateral extrusion）を認めた犬の1例
白根陽介（奈良動物医療センター・奈良県），他
- 4 日本におけるボーダーコリーの突発性虚脱の発生状況についての調査報告
今本成樹（新庄動物病院・奈良県），他
- 5 強風に対する恐怖症および音恐怖症を併せ持つ犬の1例
近藤悦子（神戸いぬ・ねこ問題）行動診療・神戸市
- 6 環軸椎不安定症におけるX線診断基準
王寺 隆（ネオベッツVRセンター・大阪府），他
- 7 新たな外耳炎治療法「外耳道炎用医療スポンジ」を用いて緑膿菌感染が改善した犬の1例
河口祐一郎（ひまわり動物病院・神戸市），他
- 8 動脈血栓症による四肢の虚血壊死が認められ、その原因として動脈の石灰化が疑われた猫の1例
中田美央（安田動物病院・兵庫県），他
- 9 スコアリング方式を用いたベッドサイドDIC診断基準の臨床的有用性の検討
福岡 玲（安田動物病院・兵庫県），他
- 10 髄膜腫の犬32例、猫10例のグレード分類に関する調査
坪居穏佳（アツキ動物医療センター・滋賀県），他
- 11 ビデオオトスコープで診断と治療を実施した原発性分泌性中耳炎の1例
村田裕史（京都中央動物病院・京都市），他
- 12 プレドニゾロンの長期投与が血液凝固に及ぼす影響
宮 豊（みや動物病院・兵庫県），他
- 13 腹膜心膜横隔膜ヘルニアのヘルニア嚢に異所性肝組織を認めたネコの1例
芦田千奈（大阪府大），他
- 14 *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* 感染症と診断し、治療が奏功した猫の1例
金城綾二（大阪府大），他
- 15 臨床的に進行性脊髄軟化症が疑われた症例に対する広範囲の片側椎弓切除術および硬膜切開術の有用性
中本裕也（KyotoAR 獣医神経病）センター・京都府，他

- 16 反射性ミオクロースてんかんの犬の1例
長谷川裕基（KyotoAR 獣医神経病）センター・京都府，他
- 17 ウサギの耳根部に皮下膿瘍を伴う慢性中耳炎の3例
立岩 想（北須磨動物病院・神戸市）
- 18 フィプロニルの滴下投与用液剤の投与を受けた犬の生活環境に生息するハウダストマイトの死滅
中村有加里（葛城生命研・京都府），他
- 19 リーシュマニア症による鼻出血を認めた犬の1例
馬縹智之（まつおか動物病院・大阪府），他

【B会場】

- 1 多発性関節炎を同時に発症した脂腺炎のトイ・プードルの1例
池 順子（吉田動物病院・奈良県），他
- 2 腹膜炎による機能性イレウスを示した肝臓型リンパ腫の犬の1例
山田昭彦（西京極どうぶつ病院・京都市），他
- 3 慢性期脊髄損傷症例の機能回復訓練における尾刺激と垂直位姿勢の有用性
植村隆司（KyotoAR 獣医神経病）センター・京都府，他
- 4 家族構成の変化により攻撃行動を呈した犬の二例
中野あや（動物行動クリニックなかの・神戸市）
- 5 猫の骨髄腫関連疾患（MRD）の2例
田端克俊（やまびこ動物病院・神戸市）
- 6 オクラシチニブマレイン酸塩を用い、良好なQOLを維持できた皮膚型リンパ腫の1例
大谷祐介（いちご動物病院・京都府）
- 7 辺縁部切除および補助的化学療法を実施した硬口蓋悪性黒色腫の犬の1例
伊藤敏生（泉南動物病院・大阪府），他
- 8 リンパ球形質細胞性腸炎の犬10例のCT検査所見に関する検討
山城徳之（奈良動物医療センター・奈良県），他
- 9 腸間膜裂離の診断にCT検査が有用であった犬の1例
市橋くみこ（奈良動物医療センター・奈良県），他
- 10 後天性の硬口蓋欠損に閉鎖手術を行った犬の1例
児玉竜成（おり動物病院・大阪府），他
- 11 コリネバクテリウム・ウルセランスが持続感染した猫の1例
勝川千尋（大阪府大，大安研），他
- 12 CT検査にて血栓症が疑われた犬56頭における回顧的調査

- 望月俊輔 (ネオベッツVRセンター・大阪市), 他
 13 深部静脈血栓症 (エコノミークラス症候群) から回復した犬の一例
 尾形真佑 (加古川動物病院・兵庫県), 他
 14 嗅神経芽細胞腫と診断されたミニチュアダックス2例
 井尻篤木 (アツキ動物医療センター・滋賀県), 他
 15 急性膀胱炎の犬における血漿 TAT 濃度の上昇と重症度の関連性

- 築澤寿栄 (安田動物病院・兵庫県), 他
 16 口腔内悪性黒色腫の治療による寛解後, 同領域に肉腫の発生を認めた犬の1例
 畑 隆介 (安田動物病院・兵庫県), 他
 17 重複癌を認めた犬4例
 大道嘉広 (兵庫ペット医療センター・兵庫県), 他
 18 生体内組織形成術を用いた犬の横隔膜における新規修復材の検討
 長谷健吾 (大阪府大), 他

[日本獣医公衆衛生学会]

公地区—11

サルコシステイス属が寄生していた鹿を生で喫食したことによる 食中毒事例

山本 薫¹⁾, 前島 圭¹⁾, 中田純子¹⁾, 赤坂安司¹⁾, 奥田祐亮¹⁾,
 和田安彦¹⁾, 寺杣文男²⁾, 大西貴弘³⁾

1) 和歌山県田辺保健所, 2) 和歌山県環境衛生研究センター,
 3) 国立医薬品食品衛生研究所

はじめに

平成23年6月より馬の *Sarcocystis fayeri* が寄生虫性食中毒として扱われることとなったが, それ以外のサルコシステイス属については, 食中毒病因物質に指定されていない。国内の鹿におけるサルコシステイス属の保有率は極めて高く, 85%以上寄生しているとの文献が多くみられる。また, 平成23年12月と平成27年12月に滋賀県で平成29年1月に茨城県において, 鹿肉のサルコシステイスが原因と疑われる有症事例が発生している。平成30年6月2日に和歌山県において, 和歌山県田辺市内で捕獲された鹿を解体し, 刺身として生で喫食したことによる食中毒事件が発生した。

目的

潜伏時間及び症状が *S. fayeri* に類似していることから, サルコシステイス属の関与を疑い, 詳細を明らかにするため調査を行うとともに, 行政的な課題について考察することを目的とする。

方法

患者への聞き取り調査を行うとともに, 残品の鹿刺し(背身, 肝臓)について「*Sarcocystis fayeri* の検査法について」(平成28年4月27日付け生食監発0427第4号)に準じた方法により顕微鏡検査による虫体の確認及び定性PCR法による虫体DNAの確認を行った。また, 国立医薬品食品衛生研究所の協力を得て, 18S rDNAの解析による種の同定と馬のサルコシステイスが産生している15kDaタンパク質に対する抗体のウエスタンブロットを行った。15kDaタンパク質は, ブラディゾイト

の膜の構成成分であり, 腸管毒性の病因物質である可能性が報告されており, 加熱や冷凍で失活する。

結果

喫食した男性3名(60代2名, 70代1名)全員が喫食後4時間から4時間30分で発症し, 1~2日で回復していた。患者の症状は, 嘔気(3人), 嘔吐(3人, 5~20回, 平均10回), 下痢(3人, 2回~数えられないほど頻回), 倦怠感(3人), 脱力感(3人), 発熱(2人), 頭痛(2人), 臥床(2人), 悪寒(1人)であった。共通食は鹿刺し以外に無く, 全員が背身と肝臓の両方を喫食していた。鹿刺しは, 解体後すぐに喫食しており, 冷凍はしていなかった。顕微鏡検査では, 背身と肝臓の両方から, 実体顕微鏡によりシストが確認され, 光学顕微鏡によりシスト内のブラディゾイトが確認された。背身では多数のシストが確認できたが, 肝臓ではなかなか見つからず, 寄生数に差があった。定性PCRでも, 背身と肝臓でサルコシステイス属が陽性であった。この時点で, この属による食中毒と推定し, 広く消費者に注意喚起をするため公表した。その後, 18S rDNAの解析により, *Sarcocystis truncata* と同定された。ウエスタンブロットでは, 約15kDa付近にバンドが確認でき, 今回寄生していた *S. truncata* について, 15kDaタンパク質が発現していることが分かった。

考察

共通食は背身と肝臓の鹿刺しのみであること, *S. fayeri* による食中毒と類似した症状であること, 鹿刺しから *S. fayeri* と同様の15kDaタンパク質を持った *S. truncata* が検出されていることから, 本事例は鹿刺

しに寄生していた *S. truncata* が、*S. fayeri* と同様の機序で食中毒を引き起こした可能性が非常に高い。しかしながら、*S. fayeri* 以外の種による食中毒は、行政機関では病因物質が不明として処理されることとなる。これは、15kDa タンパク質には、細胞内アクチンフィラメント脱重合活性を有するタンパク質と相同性があり、実験室内においてウサギの腸管ループ内に液体貯留を誘発し、下痢を発症させることが確認されているものの、疑問点が残っていることにより、ヒトへの病原性については、未だ確立されていないとの結論となるからである。よって、今回の食中毒については、鹿刺しが原因食品と断定できるが、行政の事務処理上、食中毒病因物質は不明となる。今後、実験を行うとともに、症例を集めて病

原性を確立する必要がある。更に、鹿肉が原因と疑われた有症事例では、今回寄生していた種とは異なる種が検出されている。鹿に寄生する他の種や鹿以外の動物に寄生する種についても病原性を有する可能性があるため、食中毒病因物質の指定範囲を拡大し、毒性物質を持つサルコシステイス属を食中毒病因物質とすることを検討する必要があると考える。また、サルコシステイス属は筋肉中に寄生することが知られているが、今回の調査では肝臓にもサルコシステイス属が寄生することが分かったことから、寄生部位についても今後調査を行う必要がある。今回の食中毒事件から、保健所として、鹿を食べる際には十分に加熱するよう啓発していく必要性が改めて示唆された。

〔参考〕平成30年度 日本獣医公衆衛生学会（近畿地区）発表演題一覧

- | | |
|--|---|
| 1 三重県における日本脳炎抗体保有状況調査
赤地重宏（三重県保環研），他 | 8 食肉処理業者との協創により実現した衛生意識改革
佐々木友美（三重県松阪食肉衛検），他 |
| 2 和歌山県内の野良猫における SFTS ウイルスに対する抗体保有状況
友居瑞栄（和歌山県動愛セ），他 | 9 心理学的手法を用いた対馬産イノシシ肉の食味イメージ解析
星 英之（大阪府大），他 |
| 3 SFTS 死亡事例を受けたダニ予防啓発チラシを利用した猫の屋内飼養啓発方法
河野通大（京都府生活衛生課），他 | 10 食品等を基材とした蛍光溶液作成とその利用方法の検討
砂津恵里（京都府丹後保），他 |
| 4 牛枝肉衛生状態の微生物学的評価：対米輸出認定要綱に基づくサルモネラ検査を通じて
白井達哉（姫路市食肉衛検），他 | 11 宿泊施設における HACCP 制度化に向けた取り組みについて
三木田宗紀（和歌山県橋本保），他 |
| 5 サルコシステイス属を原因とする鹿刺しによる食中毒事例
山本 薫（和歌山県田辺保），他 | 12 県職員に実施した動物愛護管理に関するアンケート調査
和田優子（滋賀県長浜保） |
| 6 と畜検査で認めた肝細胞癌が全身に転移した牛の症例
笹野憲吾（奈良県食品衛研） | 13 公社神戸市獣医師会が行う学校飼育動物に関する事業と経過について
赤松真一（神戸市獣医師会） |
| 7 牛舎内粉じんが食品の病原細菌汚染を引き起こす可能性の評価
三宅真実（大阪府大），他 | 14 奈良県うだ・アニマルパークにおける「いのちの教育」小学生プログラムの評価
大月 翼（奈良県うだ・アニマルパーク振興室），他 |