

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（四国地区選出演題）

[日本産業動物獣医学会]

産地区—10

フィブリノゲン封入体形成を特徴とする肉用牛の
びまん性肝細胞変性6症例

山本由美子

徳島県徳島家畜保健衛生所

はじめに

フィブリノゲンはフィブリンの前駆体蛋白であり、肝細胞で産生される。フィブリノゲン封入体は、フィブリノゲンが肝細胞質の粗面小胞体に蓄積することにより形成され、ヒトではfibrinogen storage diseaseという遺伝的疾患において発生する。今回、当所において2014年7月～2018年7月に病理組織学的検査を行った肉用牛196頭のうち、肝臓にフィブリノゲン封入体のみられた6症例について病理組織学的検討を行ったので概要を報告する。

材料及び方法

- 症例1：黒毛和種，53日齢，雄
症例2：黒毛和種，6歳，雌
症例3：肉用交雑種，114日齢，雄
症例4：黒毛和種，64日齢，雄
症例5：黒毛和種，23日齢，雄
症例6：黒毛和種，14カ月齢，雄

各症例とも、病理解剖学的検査、病理組織学的検査、免疫組織化学的検査、細菌培養検査を行い、血液が採材可能であった検体（3/6頭）については血液生化学的検査を実施した。病理組織学的検査では、定法に従いHE染色を行ったほか、PAS染色、PTAH染色、アザン染色を行った。免疫組織化学的検査では、抗ウシフィブリノゲン抗体（Bovine Fibrinogen Polyclonal Antibody, Bioss社）及び抗 $\alpha 1$ アンチトリプシン抗体（alpha 1 Antitrypsin antibody, GeneTex社）を用いて免疫染色を行った。

結 果

肉眼所見では、肝臓は著変なし～軽度腫大。病理組織学的検査では、肝臓全域において肝細胞索の不整と肝細胞の膨化がみられた。肝細胞の細胞質内には弱好酸性で均質無構造のスリガラス状封入体が形成され、核は封入体の圧迫により偏在していた。封入体は全症例において全域でびまん性にみられたが、その形成度合は症例により様々であった。封入体はPAS反応及びPTAH染色に陰性を示し、アザン染色では淡青色に染色された。免疫組織化学的検査では抗フィブリノゲン抗体陽性を示し、

抗 $\alpha 1$ アンチトリプシン抗体陰性を示した。肝臓以外の諸臓器において封入体形成はみられなかった。6頭の共通所見としては、肺において中等度から重度の化膿性炎症が確認された。細菌培養検査では、肺でパスツレラ属菌、マイコプラズマ、真菌など種々の病原体が分離されたが、6症例に共通する病原体は分離されなかった。血液生化学的検査では、フィブリノゲン、GOT、LDHが高値であった。6症例の疾病診断は、化膿性気管支肺炎が4例、骨格筋変性1例、真菌性肺炎1例であった。

考 察

今回肝臓にみられた封入体は、スリガラス状を呈し、各種の染色結果についてはこれまで報告されているフィブリノゲン封入体と同様の組織所見を呈していた。フィブリノゲン封入体と同様の淡明封入体を形成する疾患としてLafora病が挙げられるが、6症例の封入体はPAS反応陰性であることから否定された。また、フィブリノゲンを含む数種の血清蛋白による封入体形成の報告例もあるが、今回の6症例では抗 $\alpha 1$ アンチトリプシン抗体陰性を示し、フィブリノゲン封入体であると考えられた。ヒトにおけるfibrinogen storage diseaseという遺伝的疾患では、先天性フィブリノゲン低下症を示し、さらに異常フィブリノゲンが肝細胞に蓄積し始めると、肝障害、肝硬変を引き起こし、致命的な経過をたどる。対して今回の6症例はいずれも肝臓以外に何らかの疾患を有しており、肝不全が死亡原因ではなく、肺炎などその他の疾患による死亡と考えられた。また、フィブリノゲン値が上昇していた点では、ヒトにおける遺伝性疾患とは病態が異なっていた。6頭中5頭が黒毛和種であったことから、その血統について調査したが、遺伝的要因が関与しているかどうかは不明であった。今回の6症例では共通して肺に化膿性炎症がみられ、炎症性蛋白であるフィブリノゲンが炎症病態において産生亢進していた可能性が示唆されたが、細胞質内に蓄積した原因については不明であった。炎症病態とフィブリノゲン封入体形成との関与を明らかにすることや、同様のHE所見でありながら、フィブリノゲン以外の血清蛋白が蓄積しているものとの病態の違いについての解明が今後の課題であり、さらなる症例の蓄積が必要である。

[参考] 平成30年度 日本産業動物獣医学会 (四国地区) 発表演題一覧

- | | |
|--|--|
| 1 血餅を利用した牛白血病ウイルスの検査手法の検討
片山進亮 (香川県東部家保), 他 | まん性肝細胞変性6症例
山本由美子 (徳島県徳島家保) |
| 2 リアルタイムPCRを用いた牛白血病検査に関する一考察
森木 啓 (高知県中央家保) | 9 簡易繁殖マッピング評価による繁殖成績改善に向けた試み
可児宏章 (徳島県農水総技支セ), 他 |
| 3 黒毛和種去勢牛の尿の <i>Proteus mirabilis</i> 検査
中下弘子 (徳島県徳島家保), 他 | 10 受精卵移植時のhCG投与効果
安藝秀実 (高知県中央家保), 他 |
| 4 <i>Mannheimia haemolytica</i> 血清型2型が関与した牛の腹膜炎/胸膜炎
片山進亮 (香川県東部家保), 他 | 11 肺移植技術の積極的な活用により繁殖成績が向上した酪農家の一例
岩田裕美 (徳島県徳島家保), 他 |
| 5 牛パストレラ (マンヘミア) 症の集団発生例
上村圭一 (香川県東部家保), 他 | 12 自然哺育牛における騒音問題を解消する離乳方法の検討
三好里美 (香川県畜試), 他 |
| 6 頭蓋底内耳孔部に形成された腫瘤 (膿瘍) により神経症状を呈した牛のマイコプラズマ感染症1症例
阿部敏晃 (徳島県農水総技支セ) | 13 肥育豚の線維軟骨塞栓症による後駆麻痺の一症例
藤原理央 (高知県中央家保) |
| 7 細菌モニタリング検査を活用したマイコプラズマ対策
西 明仁 (高知県西部家保), 他 | 14 高病原性鳥インフルエンザと鶏大腸菌症疑いの複合感染事例
土佐 進 (香川県東部家保), 他 |
| 8 フィブリノゲン封入体形成を特徴とする肉用牛のび | 15 愛媛県で発生した鶏大腸菌症3症例
彦田夕奈 (愛媛県家畜病性鑑定所) |

[日本小動物獣医学会]

小地区—9

後肢温存・片側骨盤頭側1/2切除術を実施した猫の1例

入江充洋¹⁾, 三好拓馬¹⁾, 藤原万里子¹⁾, 栗谷川優子¹⁾, 平本 彰¹⁾,
来田千晶²⁾, 山上哲史²⁾

1) 四国動物医療センター・香川県, 2) 四国細胞病理センター・香川県

はじめに

腰部に発生した骨肉腫 (注射部位肉腫) に対して, 後肢を温存し骨盤を含む拡大切除術を実施した. 後肢を温存した骨盤切除術の報告は少なく, 術後の歩様が可能か否かなど情報は不明である. 今回, 後肢温存・片側骨盤頭側1/2切除術を実施した症例において, 術後の歩行状態は良好に推移しており有用な手術法と考えられたので報告する.

材料及び方法

雑種猫, 避妊雌, 5歳8カ月齢, 体重4.3kg (BCS 3/5). 1年前, 右側下腹部に米粒大の腫瘤を発見. 近医を受診し経過観察していたところ, 2カ月前より腫瘤が急激に増大したとの主訴で当センターを受診した. 腫瘤は, 右側側腹部から腸骨頭側に位置し6.2×6.6×5.4cm大で腫瘤の底部は固着していた. 腫瘍の浸潤を確認する目的でCT検査を実施したところ脊椎への浸潤は認められなかった. Trucut生検にて骨肉腫と診断された. 生検から1週間後の手術日には腫瘍は更に増大しており, 8.1×7.8×6.5cm大を呈した. 切除範囲として, 尾側は右大腿骨頭切除術と右寛骨臼中心部までと判断した.

L4, L5から分岐している大腿神経を切断し, 外腹斜筋, 内腹斜筋, 一部の腹直筋, 最長筋, 腸肋筋ならびに大腿筋膜張筋, 浅殿筋, 中殿筋を含め, 右後肢骨頭切除した上で寛骨臼中央部より骨切り術を実施し, 右側骨盤頭側1/2を腫瘍ごと切除したが右後肢は温存した. 露出した腹腔を合成非吸収性組織代用繊維布 (PROLENE Mesh, ジョンソン・エンド・ジョンソン株) を用いて被服し前進皮弁と有形皮弁法を組み合わせ皮肉を閉鎖した. 摘出した腫瘍の病理組織学的検査は線維肉腫と診断され, 完全切除と判断された.

成績

手術後, 右後肢の挙上は数カ月持続したが, 術後2週間後より右後肢の負重がはじまり, 徐々に歩行可能と推移した. 術後7カ月経過した現在, 膝関節の動きは鈍いが踵関節を可動させ支障なく歩行している.

考察

片側骨盤切除術は骨盤腫瘍などで用いられる手術法であるが, 後肢を温存した骨盤切除術の報告は少ない. 今回の術式は, 前肢を温存した肩甲骨全摘出術を参考としたが, 前肢温存肩甲骨全摘出では前肢の筋群を支配する

神経はほぼ温存する。しかし、本術式は大腿神経を切断する手術であることが異なる。大腿神経は、L4、L5、L6脊椎から分岐し、縫工筋や大腿四頭筋ならびに膝関節筋などを支配する。今回の術式は、L6から分岐する大腿神経と坐骨神経、閉鎖神経を温存した。術後の歩行

は予想不能であったが、上記の神経を温存することで、猫は支障なく歩行可能である可能性が高いと考えられた。本術式の欠点として、断脚術に比較して長い手術時間を要することが欠点と考えられた。

〔参考〕平成30年度 日本小動物獣医学会（四国地区）発表演題一覧

- | | |
|--|--|
| 1 猫の腫瘍におけるトセラニブの投与例
井出直樹（ロビンス動物病院・徳島県），他 | たタイプードルの1例
井野寛之（にはま動物病院・愛媛県），他 |
| 2 トイプードルにおける肩関節脱臼の3症例
東条吉晃（東条動物病院・香川県） | 10 感染を伴う橈尺骨骨折癒合不全に対しAdvanced Locking Plate System（ALPS）を使用した犬の1例
船橋めぐみ（すぎき動物病院・香川県），他 |
| 3 若齢時に生活歯髄切断を受けた犬の経過
大林杏子（KOKO どうぶつ病院・香川県），他 | 11 犬におけるⅢ型モンテジア骨折の1症例
田邊貴史（セントラルシティ動物病院・愛媛県），他 |
| 4 非再生性免疫介在性貧血の治療中に著しい血小板増加症を認めた犬の1例
西森大洋（木村どうぶつ病院・高知県），他 | 12 後肢温存・骨盤頭側1/2切除術を実施した猫の1例
入江充洋（四国動物医療センター・香川県），他 |
| 5 右大動脈弓遺残症による食道狭窄を認めた猫の1例
宇野理恵（セントラルシティ動物病院・愛媛県），他 | 13 ヨツユビハリネズミの腎芽腫の3例
来田千晶（四国細胞病理センター・香川県），他 |
| 6 長期間生存している膀胱尿道移行上皮癌の犬の1例
合田直樹（セントラルシティ動物病院・愛媛県），他 | 14 ヨツユビハリネズミにおける組織球性肉腫の2例
高田有基（アシル動物病院・香川県） |
| 7 ネコのイソフルラン麻酔下の外科手術におけるメデトミジン，ミタゾラム及びアルファキサロン前処置がストレス関連性神経内分泌と代謝に及ぼす影響
蒲原裕和（かもはら動物病院・高知県），他 | 15 アトパコンによる犬バベシア症への治療戦略
山崎裕之（やまさきペットクリニック・香川県） |
| 8 バベシア症既往歴を持つ犬に脾臓全摘出術を行った2症例
三谷 聡（あけほの動物病院・徳島県），他 | 16 高塩分食により心不全を発症した心筋症の猫の1例
大林浩二（KOKO どうぶつ病院・香川県），他 |
| 9 極めて重度の骨変形と歩行障害を伴ったグレード「超4度」の膝蓋骨内方脱臼に対して外科治療を行っ | 17 対症療法により長期間生存した下垂体巨大腺腫の犬の1例
樋笠正晃（セントラルシティ動物病院・愛媛県），他 |

〔日本獣医公衆衛生学会〕

公地区—7

スクリーニングPCRによる豚のコリスチン耐性遺伝子検出

川西郁馬¹⁾，福田千恵美²⁾，渡邊 仁²⁾，薦田博也¹⁾

1) 香川県食肉衛生検査所，2) 香川県環境保健研究センター

はじめに

近年、世界的に薬剤耐性菌が問題となっており、日本でも多くの耐性菌が検出されている。医療分野では多剤耐性緑膿菌の抗菌剤としてコリスチンが重要視されているが、畜産分野では1976年に飼料添加物として硫酸コリスチンが指定され、生産量の約7割が豚で使用されてきた。2015年にコリスチン耐性菌から耐性に関与する遺伝子 *mcr-1* を保有する *Escherichia coli* が報告され、2017年1月に食品安全委員会は硫酸コリスチンの飼料添加物としての利用は人の健康に悪影響を及ぼす恐れがあると評価し、硫酸コリスチンの飼料添加物としての使

用は2018年7月以降禁止されている。今回、と畜場に搬入された豚糞便中のコリスチン耐性菌及び耐性遺伝子保有状況を調査し、若干の知見を得たので報告する。

目 的

管内と畜場に出荷された豚の直腸便を検体として、コリスチンの耐性に関与する遺伝子 (*mcr-1*～5) についてスクリーニングPCRを実施し、陽性となった検体から薬剤指標菌である *E. coli* を分離後、薬剤感受性試験を実施し、各農場のコリスチン耐性菌の検出状況を調査し、食肉衛生の啓発活動の一助とすることを目的とする。

材料及び方法

平成30年5月～6月に管内Sと畜場に搬入された健康豚80頭（県内産32頭，県外産48頭）の直腸便を検査材料とした。滅菌綿棒で採取した直腸便を10mlのEC培地に接種後42℃ 24時間増菌培養し，スクリーニングPCRとしてMultiplex PCRで*mcr-1*～5の各遺伝子を検出した。遺伝子が検出された増菌培地を0.5%コリスチン加DHL平板培地に塗布し，37℃ 24時間培養後コロニーを形成した菌を釣菌し，Multiplex PCRで耐性遺伝子の保有を確認した。PCR陰性の場合，再度増菌培地から同様の手順にて耐性遺伝子を持つコロニーの分離を実施した。分離された耐性遺伝子保有菌はBD BBLCYSTAL E/NF 同定検査試薬（BD）を用いて菌の同定を行い，*E. coli*と判定されたものをコリスチン耐性遺伝子保有菌株とした。分離菌株に対して薬剤感受性試験として，最少発育阻止濃度（MIC）の測定を行った。MIC測定は微量液体希釈法を用い，96穴マイクロプレートに各ウェルに菌液とコリスチン溶液を分注し，37℃ 24時間培養した。菌量は約 2.0×10^4 CFU/ウェルに調整した。コリスチン耐性の判定基準は，欧州医薬品庁（EMA）の報告書において*E. coli*に対するコリスチンのMICが4 μ g/ml以上を耐性としていること，標準菌株*E. coli* ATCC25922のMICが2 μ g/ml以下であること，今回の感受性試験でのMIC分布域を勘案して，MIC 4 μ g/ml以上のものをコリスチン耐性菌とした。

結 果

80検体中37検体，46.2%からコリスチン耐性遺伝子が検出された。検出した耐性遺伝子は，37検体で*mcr-1*が検出され，*mcr-2*～5遺伝子は検出されなかった。また，*mcr-1*遺伝子陽性菌株37検体は全て*E. coli*と同

定された。耐性遺伝子が検出されなかった43検体についても*E. coli*の分離，同定，MICの測定を行った。うち6検体では*E. coli*が分離されなかった。農場別では全36農場（県内14農場，県外22農場）中24農場66.7%（県内8農場57.1%，県外16農場72.7%）で耐性遺伝子が検出された。コリスチン耐性菌はコリスチン耐性遺伝子保有菌37検体中21検体56.8%であった。農場別では全36農場中16農場44.4%（県内7農場50%，県外9農場40.9%）でコリスチン耐性菌が検出された。コリスチンに対する*E. coli*のMIC分布は2峰性分布を示した。

考 察

「家畜由来細菌の薬剤モニタリング」（JVARM, 2015）の調査では，豚のコリスチン耐性菌の検出率は2.5%で，耐性遺伝子保有率は1.8%であったが，今回の調査結果では健康畜からの耐性菌検出率，*mcr-1*遺伝子保有率ともに高値を示し，ヒトへのコリスチン耐性菌の暴露リスクは，従来考えられている以上に高いと考えられた。また，今回の調査ではコリスチン耐性遺伝子保有菌の半数以上が耐性を持っていたことから，従来のコリスチン耐性菌を分離し，その菌株から耐性遺伝子の有無を確認する方法と比較して，スクリーニングPCRと分離培地を併用して分離された菌株についてコリスチン耐性の有無を確認する本方法は，より効率的にコリスチン耐性菌を分離できる方法であると考えられる。更に農場別の検査結果から，コリスチン耐性菌の地域偏在は確認されず，広くコリスチン耐性菌が蔓延していることが示唆された。今後は過去のコリスチン使用状況，農場ごとの耐性菌保有率の変化等を継続調査し，硫酸コリスチンの飼料添加物としての使用が禁止されたことの影響を調査したい。

〔参考〕平成30年度 日本獣医公衆衛生学会（四国地区）発表演題一覧

- | | |
|---|--|
| 1 HPLCによる動物用医薬品の一斉試験法の検討
大竹祐蔵（香川県食肉衛研） | 5 四国で初めて検出されたシカにおける槍型吸虫の遺伝子系統解析について
井上圭子（徳島県食肉衛研），他 |
| 2 公衆衛生獣医師としてのワンヘルス・アプローチの視野に立った薬剤耐性対策の重要性の認識
木村俊也（愛媛県八幡浜保），他 | 6 徳島県の狂犬病モニタリング調査における関係機関との連携及び調査結果について
辻 恵利華（徳島県動愛セ），他 |
| 3 豚のコリスチン耐性菌保有率
川西郁馬（香川県食肉衛研），他 | 7 台所用洗剤における雑菌の挙動
松本一繁（高知県食肉衛研），他 |
| 4 徳島県において検出されたE型肝炎ウイルスの遺伝子解析（続報）
山本瑞希（徳島県食肉衛研），他 | |