

山口獣医学雑誌

第 14 号

昭和 62 年 11 月

山口県獣医学会

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 14

November 1987

THE
YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION
OF
VETERINARY MEDICINE

山 口 県 獣 医 学 会

編 集 委 員 会

阿部 敬一 鹿江 雅光 牧田 登之
山縣 宏* 山下 武彦
(ABC順: *編集委員長)

寄 稿 者 へ

山口獣医学雑誌は、山口県獣医学会の機関誌として、毎年1回発刊される。雑誌は、獣医学、人医学、生物学、公衆衛生およびこれらの関連領域のすべての問題について、原著、総説、短報、記録および資料、等々を登載する。

原稿は、正確に書かれた日本文、英文、独文のいずれでも受理するが、この場合、英文と独文の原稿は、簡潔に要約した日本文抄録を添付すること。

原稿は、郵便番号 754 山口県吉敷郡小郡町下郷東蔵敷3-1080-3, 山口県獣医師会館内, 山口県獣医学会事務局あてに送付すること。

THE YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION OF VETERINARY MEDICINE

EDITORIAL COMMITTEE

Keiichi ABE Masamitsu KANOE Takashi MAKITA
Hiroshi YAMAGATA* Takehiko YAMASHITA

(in alphabetical order: *Editor in chief)

NOTICE TO AUTHORS

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine is an official publication of the Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine.

The Journal is published annually. The Journal publishes original articles, reviews, notes, reports and materials, dealing with all aspects of veterinary medicine, human medicine, biology, public health and related fields.

Manuscripts written in correct Japanese, English or German are accepted; those in English or German should be accompanied by Japanese summaries.

Manuscripts should be sent to the Editorial Office, *The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine*, The Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine, 3-1080-3, Higashikurashiki, Shimogo, Ogori Town, Yoshiki County, Yamaguchi Prefecture, 754 Japan.

目 次

総 説

反射電子走査電子顕微鏡 (WET - SEM) の医・生物学への応用
牧田登之…………… 1 ~ 16

原 著

ネコ子宮内膜腺癌細胞株に及ぼすプロゲステロンの影響 [英文]
井上 誠・佐藤昭夫…………… 17 ~ 20

山口県におけるエンテロウイルスの疫学的研究 その4. 1986年の無菌性髄膜炎の流行, 特に
新生児集中治療室における流行について
岡田雅裕・岩崎 明・板垣国昭・中尾利器・山縣 宏
田中一成・金原洋治・山口洋一郎・鈴木英太郎…………… 21 ~ 26

山口県におけるA群溶血レンサ球菌の菌型推移 (1984~1986)
片山 淳・山縣 宏・田中一成・鈴木英太郎・松岡和人
磯村三津子…………… 27 ~ 30

牛の肝蛭症防除に関する研究 3. 肝蛭自然感染牛のトリクラベンダゾール投薬
駆虫後のEPG推移の検討
白水完治・阿武雅夫…………… 31 ~ 36

山口県山間畜産地帯における乳牛の体腔内金属異物及び胃内存置磁石の検診成績
白水完治・阿武雅夫…………… 37 ~ 40

山口県におけるインフルエンザの流行疫学 (2) 1985年から1987年にかけての山口県における
ヒトインフルエンザウイルスの動向
板垣国昭・中尾利器・岡田雅裕・岩崎 明・山縣 宏…………… 41 ~ 44

家畜の日本脳炎ウイルス抗体調査——1985年5月~1986年5月——
板垣国昭・中尾利器・藤永良博・富田正章・吉和 鴻・平田真一…………… 45 ~ 48

豚の局所解剖 V. 脳の断面図 (その1) [英文]
牧田登之・富永正哉…………… 49 ~ 66

症 例

血球内に多数の封入体が見られた犬のジステンパーの1症例
網本昭輝・神代 宏…………… 67 ~ 72

湖草 *Phragmites communis* Trin が原因とみられる牛の食道梗塞症例について
白水完治・阿武雅夫…………… 73 ~ 76

犬の上顎及び下顎の複雑骨折の1治験例
神代 宏・網本昭輝…………… 77 ~ 82

附 録

投稿規定…………… 83
山口県獣医師会学会規則…………… 84
山口獣医学雑誌編集内規…………… 85
会関係事業・刊行物…………… (奥付掲載ページ)

English contents are available in a reverse cover in this issue.

総 説

反射電子走査電子顕微鏡 (WET - SEM) の 医, 生物学への応用

牧 田 登 之*

〔受付：1987年9月20日〕

REVIEW

BIOMEDICAL APPLICATION OF BACKSCATTERED ELECTRON MICROSCOPE (WET - SEM)

Takashi MAKITA

*Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677 - 1,
Yoshida, Yamaguchi City, 753 Japan*

〔 Received for publication : September 20, 1987 〕

Advantageous specification of backscattered electron image (BEI) include to be practically free from charging effect under low vacume (0.3~0.5 torr) and it opens the way to observe hydrated (wet) and non - coated biological samples with SEM without any preparative skill.

Starting from observation of unfixed, hydrated and non - coated bulk specimens of biopsy, variable examples of WET - SEM, i. e. combination of backscattered electron detector (Robinson 1973) and low vacume scanning electron microscope were introduced here. They include combination of WET - SEM to Cryo - SEM, application of WET - SEM to X - ray microanalysis, survey of non-coated replica casting of blood vessels, examination of a part of whole body sections, direct observation of vertebrate fossils, observation of live fertilized ova, detection of cytochemical and immunohistochemical reaction products by backscattered electron, and analysis of serial sections.

Despite the recognition of limitation of WET - SEM, i. e. inferior resolution power of BS to that of ordinary secondary electron (SE), promising perspective of advantageous usage of WET - SEM includes dual application of WET - CRYO and cathodoluminescence SEM in the same SEM, and direct observation of cultured cells, cell fractions, or tissue homogeneate. Extension of the range of its application to botany, marine biology, parasitology, microbiology so forth is also available.

* 山口大学農学部獣医学科家畜解剖学教室・教授

I. WET-SEM とは何か

かつては電子顕微鏡といえば格別に特殊な道具の一つとして受取られていたが、現在では普及してどこでも設置してある単に大型の顕微鏡というに過ぎない。数が多くなったばかりでなく、電顕の性能もまた使い易さも格段の改良がみられ、1986年、京都で開催された第11回国際電顕学会の特別展示に並べられた新旧の電顕を観ても、ここ10年間で隔世の感がするほど電顕の進歩が顕著である。しかし、試料の作製法については、1986年代後半から本質的な改良がなく、強いていえば免疫組織化学の応用や急速凍結法などに限られてく

るようである。

ここで念のため、電子顕微鏡には大別して透過電顕 (TEM) と走査電顕 (SEM) の二種類があり、前者は透過電子、後者は二次電子を主として利用していることを断っておきたい、両者とも透過しながら走査する電子線を利用するSTEM (scanning transmission electron image) 像をとられるので、その点だけからいえば TEM と SEM の区別が無くなるが、本論ではそこまで立入らない。ここでは (Fig. 1) にも示すように、反射電子というのが発生するのでそれを利用した走査電顕に焦点を絞って、どうしてそれが臨床電顕として有利であるかを詳説したい。電顕として

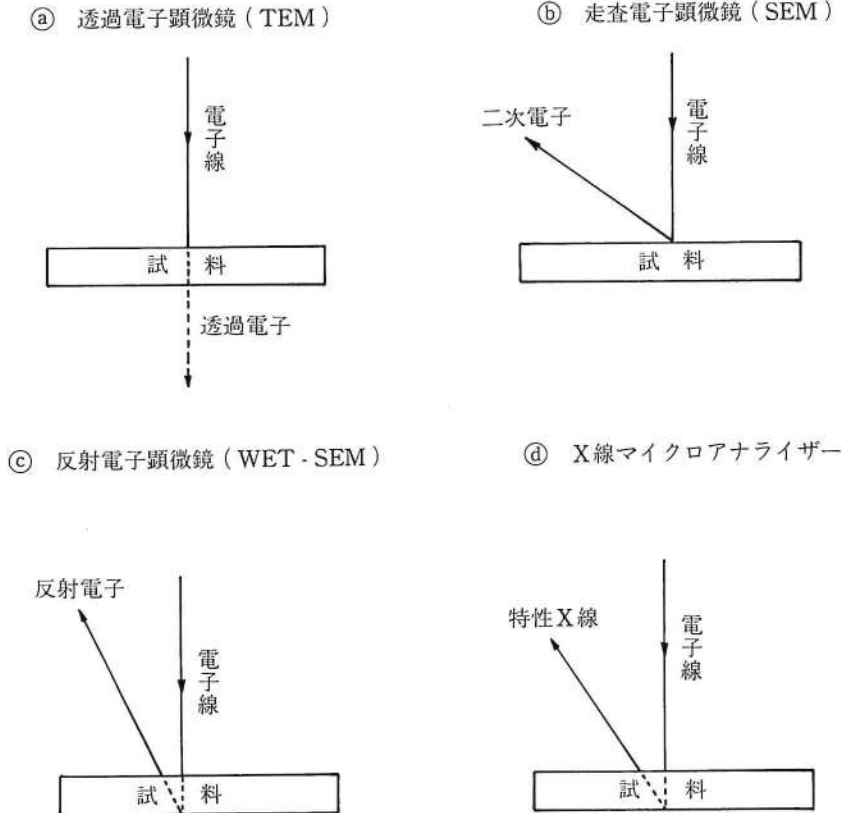


Fig. 1

はこの他にも、特性X線、吸収電子、オージェ電子など試料に電子線が当たると発生する様々な情報を利用して、X線マイクロアナライザーとの組

合わせを分析電顕 (analytical electron microscope) と呼んだり、オージェ電子顕微鏡という機種があったり、将来は臨床面に応用されるかも

しれないものが数多くあるが本文では一部X線マイクロアナライザーについて(III-3項)触れるに止める。ノーベル賞で関心と呼んだストロボ電顕や、最近学会で注目されているトンネル電顕についても、現状では医学・生物学方面の利用がないので本論では割愛する。

走査電顕の臨床応用例については別にまとめたことがあり^{6,38)}興味のある読者は日本臨床電顕学会誌やその学会号をみれば我国における医学面でのSEMの利用についておよその理解は得られるであろう。また最近では、免疫電顕の創始者の一人である中根一穂教授が中心になって、光学的顕微鏡と反射電子を専らとする走査電顕を組合わせた機種を開発された^{3,25)}。しかし本論で述べようとしているWET-SEMの臨床面への応用というのは、その何れとも異なり、手術中の、あるいはbiopsy(生検)材料を、そのまま反射電子で観察したり(III-1項)、あるいはそういう検体内の元素分析(III-3項)のことを指している。従って以下に論ずる応用とその限界については通常の走査電顕とは別種の電顕のこととして受取っていただきたい。WET-SEMは商品名と化してはいるが、Cryo-SEMと同様に実体を適格き表現しているので敢えてそのままの名称にしておく。

反射電子像の生物学的な利用は、かなり以前からよく知られていることより目新しいことではない。殊に原子番号が高くなると反射電子(BSE)がよく発生することを利用して、銀染色を施した神経線維と、その周辺にみられる結合線維を区別するなどは賢明なやり方として注目されてきた(III-8項参照)。しかし、反射電子の検出方法の優劣については現在でも議論が続いており、本論でとりあげるWET-SEMというのは、オーストラリアのRobinsonの開発したwide-angle型の検出器を使用している^{29,30,31,32)}。このいわゆるRobinson型BES検出器は単品としても市販されており、海外ではAEI(イギリス)の電顕にも取りつけられていたが、我国では明石ビームテクノロジー(ABT)社の前身である明石製作所(国際精工)の走査電顕に装備したものが唯一の機種でW-40とか、WET-SEMと呼ぶものが市場に出た。(現在WS-250)。

筆者はこれを医学生物用に一般機種と同様に用いることが出来ると考えて、このWET-SEMに

についての基礎実験と、若干の応用データを明石製作所の好意でとらせてもらって、これを1982年のアメリカでの走査電顕の学会(SEM/1982)で発表した。このディズニーランドの地(Anaheim, California)で行われた学会には当のRobinson自身が出席されて居り、明石製作所の小池氏に個人的に紹介していただいた、おかげでRobinsonの好意的なコメントを添えてこの発表は活字となったが⁸⁾、これはWET-SEMの生物試料への応用、X-線マイクロアナリスへの応用については最初の報告である。

その後、試料の乾燥の度合^{7,13)}、その際の試料の温度低下の問題¹³⁾、X線マイクロアナリスとの結合^{8,10,11)}(III-3項参照)、凍結試料の観察すなわちcryo-SEMとの結合^{18,22)}(III-2項参照)、連続切片の観察¹²⁾、(III-10項参照)、免疫組織化学への応用、などの他、試料の大きさや真空度の程度といった基礎的な問題⁴⁾についても検討してきた。この小論はそれらを集成した、いわばmini-reviewである。

II. WET-SEM 使用の技術

WET-SEMでは、試料をバラホルムアルデヒド(即ちホルマリン)、グルタルアルデヒド、オスミック酸などいわゆる電顕用の固定をする必要がない。(勿論固定した方が細胞や組織の構造の保存が良好であるから、固定をする必要がないからといって、固定を避けた方が良いのではない。)次にWET-SEM用の試料は乾燥させる必要がない。即ち生のぬれた(WETな)ままでよい。WET-SEMと呼ばれるのはその為である。しかしこれも程度の問題であって、ピシヨピシヨにぬれているウエットな状態よりも、多少濾紙の上でころがせて表面の過剰な水分を除去しておいた方が良い。いずれにしても、乾燥を殆どしないので臨界点乾燥や、凍結乾燥や、凍結置換法による場合のような試料の収縮、変形の問題が大幅にさけることができる。臨界点乾燥法では、はなはだしい時には20~30%も試料が収縮してしまうということが知られている。またWET-SEMでは二次電子像(SEM)ではなく反射電子像(BSE)を用いているのでいわゆるチャージが殆ど起こらない。しかしチャージが全くないわけではないので導電性を良くするために試料台と試料をシルバーペース

トまたはカーボンペーストで良く接着してやるのが良い。最近ではカーボンを付着した両面テープも市販されている(日新EM社)ので両面テープの使用も可能である。加速電圧は15~25KVで使用可能である。低加速電圧ほどチャージが出にくいので最近では1KV以下の低加速で無蒸着試料を観察する方法^{14,15,17)}が注目されているが、加速電圧を上げた方が解像力が良いのもまた事実であるのでWET-SEMの場合は上記のように15~25KVが妥当のようである。真空度について言うと、0.3~1.0Torr程度(現在はTorrよりもPascalという単位が用いられるが本論では慣用的なTorrを用いる)が実用可能な範囲である。

以上、固定、脱水(乾燥)、導電、加速電圧、真空度について融れたが、要はWET-SEMの試料作製にはとりたてて言うような特殊な技術がないということである。染色については先に融れたように銀染色をして神経線維を観察するなどの事例があるが、通常は無染色である。最後に、しかし最も大切なことは、WET-SEMの試料は無蒸着であるという点にある。SEMの試料は、蒸着機によるにせよ、ion sputterによるにせよ、乾燥または凍結したサンプルの表面をカーボンや金属(金、白金、プラチナ等)でコーティングしなければならない。(WET-SEMの場合も出来ればcoatingした方が像は鮮明になる²²⁾。III-2項のcryo-SEMとの組み合わせ¹⁹⁾参照。)この金属coatingは、SEMが解像力をあげ、高倍率が可能になるほど邪魔になる。反射電子像の話ではないが、高分解能ESMで何十万倍の像をみるにはnon-coatingが良いとされている³⁶⁾。この点で地肌をみることのできるWET-SEMは大きな利点を備えているということが出来る。勿論WET-SEMは後述のように分解能が悪いので無蒸着であることが超高倍率の観察に利用できない。しかし無蒸着であることは少なくとも表面構造が熱に弱い試料や、表面を汚すことを許されない試料の観察には無二の武器である。

以下に、サンプルの大きさ、真空度、試料の乾燥度合、試料の温度低下、についての基礎データを参考までに列記する。(Table 1, Fig. 2及びTable 2)。詳しくは各項の引用文献を参照。

Table 1 WET-SEMで観察中の試料の脱水の程度^{7, 13)}

(例: マウス腎臓, 未固定, n = 4, 単位: g)

経過時間	0.5 torr	1.0 torr
5分	0.233±0.038 → 0.210±0.032 (9.9%減)	0.148±0.043 → 0.140±0.010 (5.7%減)
10分	0.273±0.029 → 0.243±0.024 (11.0%減)	0.183±0.043 → 0.158±0.011 (13.7%減)
30分	0.263±0.015 → 0.235±0.021 (10.7%減)	0.215±0.030 → 0.190±0.030 (11.6%減)

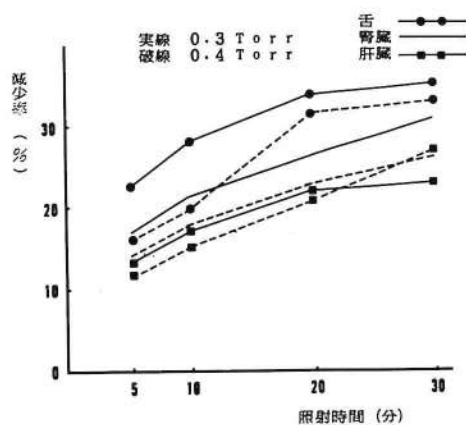


Fig. 2 真空度と照射時間別の組織片重量減少率⁴⁾

Table 2 試料台の温度変化¹³⁾

時間	0分	0.5分	1分	1.5分	2分	2.5分
A)	15.00	11.79	4.78	0.13	1.28	15.25 °C
B)	17.76	15.25	8.95	8.95	10.23	9.72 °C
C)	18.27	15.75	9.72	6.39	6.91	8.70 °C

時間	3分	3.5分	4分	5分	7分
A)	15.75	16.26	16.26	17.26	17.76 °C
B)	9.72	10.23	10.48	10.98	11.73 °C
C)	9.72	10.73	11.48	12.24	12.99 °C

- A) 試料の載っていない試料台を電子線で照射しつづけた場合
 B) Wet な試料を載せて、電子線照射をしていない場合
 C) Wet な試料を載せて電子線照射をしつづけた場合

III. WET-SEM の応用例

III-1. 生のままの組織をみる

手術中の試料や biopsy した試料を早急に鏡検しようという場合には、クリオスタットや、炭酸ガスを用いた凍結切片が常用されている。これを WET-SEM で観ることにすれば、前章で述べたように試料作製に殆ど技術を要さないものであるから非常に便利である。

またこの様に直接臨床試料でなくとも、生物試料一般では植物、昆虫、細菌など生のままで観ると都合がいいものが数限りなくある。電顕というとか何か大がかりな装置という印象を与えるが、簡便な顕微鏡として、丸ごと生のある試料を観る道具として評価されるべきである。

直接生物試料とはいえないが、医療に関連した研究への応用例を二つ挙げておく。

薬剤の生体内での徐放化 (slow releasing) は抗ガン剤、鎮痛剤、ホルモン剤などの長期投与や局所への大量投与を目的として様々な工夫がされているが、当教室の実験でも、グリコールメタクリレート系の樹脂に薬剤を混入して、低温で重合させたものを針状にして局所に挿入したりボタン状にして縫いつける試み⁹⁾、或最近では人工臓器に用いられているシリコン系エラストマーに混入したものを動物の皮下にぬいつけておくという試みがある^{20,23)}。何れの場合も多少とも多孔質の素材の小孔に薬剤がはいっていて、経時的にそれが放出してゆくことが期待されている。従って生体内や、リングル内に静置して放出試験の途中、あるいは終了時にこのような針状、ボタン状、膜状、ブロック状の薬剤含有物の構造を観察しなければならぬ。それには通常走査電顕 (SEM) が使われて来たが、臨界点乾燥をしたり、金属薬着膜をかけたものでは、実際の性状をみているとはいえない。それで、当教室では専ら WET-SEM でそのような構造物の表面や断面を検査することになっている。^{20,23)}

また血管を一時的に閉塞させて薬剤の滞留をさせるという目的で、アミラーゼで消化される澱粉小球 (直径40 μ 前後, Spherex) の臨床的な応用が試みられている¹⁶⁾。このような澱粉小球の non-coated surface すなわち素肌を観察するためには、

非常に低加速電圧 (1 KV 以下) でみるか¹⁵⁾、WET-SEM で無蒸着なサンプルをみるしかない⁷⁾。これも広い意味での医学、生物学への応用と言えよう。

III-2. Cryo-SEM との結合

いわゆる Cryo-SEM というのは、走査電顕の試料台を液体窒素で冷却しておいて、外で別に冷却したサンプルをそこへ載せてみる方法であって、このような装置は1970年代前半から既に市販されていた。当然のこととして、チャージしやすいので低加速度 (5 KV 程度) でみることになり、その後凍結標本に鏡体内で coating するなどの工夫がはかられた。(山口大学農学部の農学科にもこのような SEM が設置されている)。それはそれなりに、熱にいたみやすい試料や、通常の乾燥の過程で変形や破損がはなはだしい試料の観察 (例えば菌の胞子や植物の葉、花卉昆虫の体表、花粉など) には重宝されて来た。しかし、外部で凍結した試料を内部に持ちこむに際して霧がつくとか、一部融解するなどするためにこれを防止する transfer device の工夫が更に必要であった。1984年頃からこの Cryo-SEM が再評価される気運が出て、1985年には全米の電顕学会 (EMSA) でもアンケートを配布して低温電顕の開発を重点項目としてとりあげるようになった。これに呼応したかのように、新しい transfer device や、鏡体と付置した coating の装置が市場に出はじめた。そのうちの一つである Hexland 社のシステムを WET-SEM につないで利用してみることを考え、当実験室と、ABT のセンターとで初歩的な実験を行ってみた。Fig. 3 はその一例である。これらは1987年度のアメリカ電子顕微学会 (EMSA, バルチモア) のシンポジウムの席上発表したもので¹⁸⁾、日本電顕学会でも発表した²²⁾

Cryo-SEM が二次電子像を用いるのに対して WET-SEM では反射電子像を用いているので、本来カーボン蒸着も金属蒸着も不要であるが、凍結切断を鏡体内で行い観察するいわゆる micro-dissection の予備実験として、カーボン蒸着と金の sputtering も併せて実験した。^{18,22)}

このように WET-SEM は、生の試料を観る道具としては格段の利点を持っているが、試料を破断する等に際しては試料を硬くできる cryo-



Fig. 3 Cryo-WET SEMによるマウス腎臓皮質の断面。(非脱水(WET), 無蒸着, 0.5 Torr, 500×)

SEMの利点を採り入れる方が良いでしょう, また付随してカーボン蒸着の装置を利用した方が得策のようである。ただし cryo-SEM の cryo-stage は, 高真空下での使用を想定して作られているので, WET-SEM に用いる場合に液体窒素の消費量が大きく, ジャーに霜がつく他, 補給を頻りに行わねばならない。^{18,22)}

前記のアメリカ電顕学会のアンケートなどでは SEMばかりでなく通常の電顕(TEM)の低温試料台についても開発を目指しており, これもフィリップス社, 日本電子^{26,39)}, などから市販されはじめているが, WET-SEM との直接の関連がないのでここでは割愛する。

何れにしても低温装置付きの電顕というのが一つの話題の中心となっている以上, WET-SEM の cryo-stage も早急に開発されるべきであろう。

III-3. X線マイクロアナリシスとの結合

X線マイクロアナライザーにも波長分散型

(WDX)とエネルギー分散型(EDX)があり, 一方電顕の方も TEM と SEM の違いがあるのでその組み合わせも多様である。一般に TEM+EDX が分析電顕とよばれており, TEM+WDX はかつては EMMA-4 といって英国で生産されていたが現在は市販されていないようである。SEM+WDX は EPM と通称されて金属, 鉱物などの分散型 X 線分析として活用されているが生物試料用にはあまり用いられていない。SEM+WDX (例, ABT 社 WDX-125A) に更に EDX を装置としてつけた機種(SEM+WDX+EDX)もあるがここでは SEM+EDX のことに重点をさぼる。

いずれの場合も, 電子ビームの径と, 検出する範囲がアナライザーの感度と解像力(分解能)をきめてゆくが, SEM の場合は TEM よりもビームが絞れない上に, 試料の厚みがあるので, 実質上マイクロアナリシスに値いするほどのマイクロな点分析が出来ないという批判が強い。例えばビーム径を $0.2\mu\text{m}$ に絞っているとしても, サンプルの厚みが 5mm もあれば, この分析の分解能は何 10μ あるいは mm の単位まで落ちてしまうと言われる。

そのような制約下にあることを十分認識した上で, 生の組織ブロックや, 凍った生物試料の X 線マイクロアナリシスを敢えて行くと Fig. 4 のよ

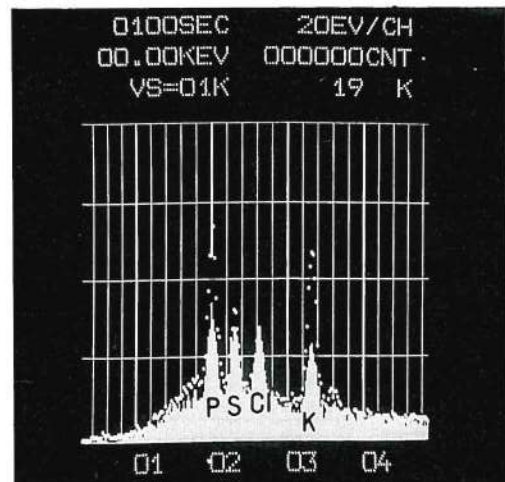


Fig. 4 生の試料(マウス腎臓片)の X 線マイクロアナリシスの例
100秒間検出, 15KV.
(左から P, S, Cl, P, の特性 X 線のピークがみられる.)

うに、P、S、Cl、Kの4元素が十二指腸、心臓、筋肉、腎臓、など殆どの主要臓器から検出される。通常の分析電顕では、Clは包埋剤から出るものとされており、またKの値も非常に低い。しかしWET-SEMでは、ClもKも明確に検出することが出来る。またオスミウム固定をしていないのでOs-MラインとPのピークが紛らわしいなどの問題もなく、はっきりと生体内にはPが多いことを示している。

本来のX線マイクロアナリシスの目的は、未知の元素の検出であるが、臨床面の応用としては、石灰沈着部分からCaを検出したり、封入体からSiや、想定できる金属元素を同定するというのも重要である。即ち、手術時に得られた封入体や、生検材料から、微小な局部は不明ながら、Ca、Si、Cu、Fe、などを同定することが即座に出来るならば、WET-SEMが診断上非常に有効な道具とみなされよう。これは組織片に限らず、血液、体液、唾液などの液状、ゲル状の検査対象物にも応用することが出来る。勿論マイクロアナリシス全般の弱点として、検出限界が低いので1,000ppm程度はないと検出できないということがある。一方、

局部(スポット)にそれ位の濃度で集中してさえいれば、サンプル全体として濃度がはるかに低くても検出することができるという特長がある。従ってWET-SEMにEDXを組合わせて生物試料の迅速な検査に用いるということは十分に可能なことである。

III-4. 血管鑄型標本の観察

血管に樹脂やラテックスゴムを注入しておいて、重合(硬化)した後に周囲の組織を苛性ソーダや苛性カリで溶解させて、いわばへちまのように血管の網工だけを残すことを血管鑄型標本という。樹脂に染料油絵具などを混入させておくと、動脈を赤、静脈を青、リンパ管を黄、というように脈管系を区別して立体構築を概観することが出来る。

これをSEMでみて、かなり微細な血管の配列を理解するようになったことは、SEMの応用例でも特に成果をあげた分野であるといえる^{24,27)}。事実その報告例は枚挙にいとまがないほどである。

ただこの技法を実際にやってみると、鑄型標本の観察は、いかに上手に細部をこわすかにかかっている。ところが素材の樹脂は通電性をよくする



Fig. 5 無蒸着血管鑄型標本のWET-SEM像(仔犬の腎臓の血管の分岐部)

ような物質を混入すると重合不良となる。従って鋳型標本は必ず金属コーティングをしなければならず、それも細部をこわせばまたしなおさなければならぬ。

そこで究局的には鏡体内で観察しながら細部をこわしてゆくいわゆる microdissection を行うことを目的として、無蒸着の血管鋳型標本を SEM で観察することを企てた。その一つの方式は、低加速 (0.7~1.0KV) のフィールドエミッション型 SEM で見る方式で、この場合は二次電子像を観察する^{14,21)}。第二の方式は WET-SEM で反射電子像をみる方式である^{21,19)} (Fig. 5)。いずれの場合も現段階では期待しているような成果をあげておらず、microdissection のための装置もまだ入手していない段階であるが、化粧をしていない血管鋳型標本をじっくりと観察することが近年中に可能になると見込んでいる。また鋳型標本のように周囲の組織を消化してしまうことなく、血管腔に充満した物質の反射電子像をみることを期待して医用エラストマー (ダウコーニング社 Silastic382) に活性炭を多量に混入したものを注入してみた。例えば肝臓の凍結断面で、血管の反射電子像が浮び上って来るが、細部の血管と周囲の組織との関係を詳細に観察するまでには到っていない。¹⁹⁾

III - 5. 全身切片の観察

スウェーデンの獣医学者 Ulberg (1954) の開発した全身凍結切片法 (whole-body sectioning) は、オートラジオグラフィ用として薬理学の世界で重宝がられてきた。一方最近では IC 観察用ということもあって、SEM の試料台が 8 インチ径にまで大型化されているので、ラット、マウスの全身切片などは問題なく載せられる。

これまで SEM によるオートラジオグラムの観察ということも一部の研究者によって試みられてはいるが、通常は全身切片なり、ミクロの切片をレントゲンフィルムやトリチウム専用のフィルムに圧着させるか、写真用感光乳剤 (エマルジョン) を dipping 法によってかぶせた後、一定期間の露出をしてから現像するので、SEM 用に金属を蒸着しては困るわけである。そこで、WET-SEM で whole-body 切片を観察することが考えられた。

技術的には未固定の動物を液体窒素で凍結し

て、切片は -20℃ で数日放置して乾燥したものであるから、高倍率に耐える像でないということと、一方全身像を一枚の写真にする程の極低倍も現在の機種では不可能であるという問題を抱えている。

これとは別に、whole-body 切方を切削した台の側の whole-body そのままを凍結状態で WET-SEM で観測することも可能なわけで、これに X 線マイクロアナライザーを連結すれば、重金属を含んだプラチナ製剤の一つである制ガン剤のシスプラチンや、リウマチ用の金製剤などの分布をオートラジオグラフィなしでも検出が可能になる。

III - 6. 貴重標品の観察

表面を金属コーティングで汚しては困るという全身切片の場合の延長上に、他の研究に使用しなければならないサンプルとか、他人から借用したものの分析、貴重な物品、考古学的な出土品³⁾、博物館などの収蔵品など、一度は観察したり分析することが許可されても、coating は絶対に許されない試料が多様多様にある。

電子線による損傷という問題が残されているものの、例えば化石の観察や出土品のなかの獣骨の分析などは、WET-SEM だからこそ可能となる場合が考えられる。一般の化石標本を当教室の WET-SEM で観察した限りにおいては、電子線による損害は全く気付かなかった。

III - 7. 受精卵の観察

最近では、獣医界でも受精卵の移植 (ET) が盛んになって来ている (山口大学出身の鈴木達行氏の業績もこの分野で広く知られている: 酒井 昭編「凍結保存」朝倉書店、P 113-118 参照, 1987)。そこで電子線による radiation damage について敢えて目をつぶって、受精卵の初期発生の段階で WET-SEM で観察し、その後これを受精させることができれば、WET-SEM が文字通り生きた細胞を観察できる道具ということになる。差し当っては、多量に同腹の卵が入手できる蛙の卵などでどの程度奇型や死亡率が出るかを検討してみたいと思っている。Fig. 6, 7 は家兔の受精卵を WET-SEM でみたものである。(ただしこの写真はカーボン蒸着をした卵である。)

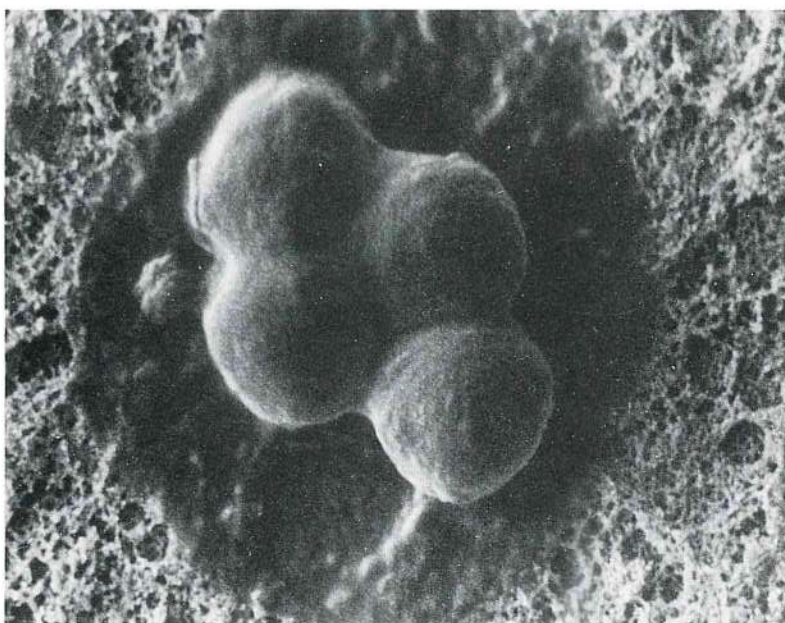
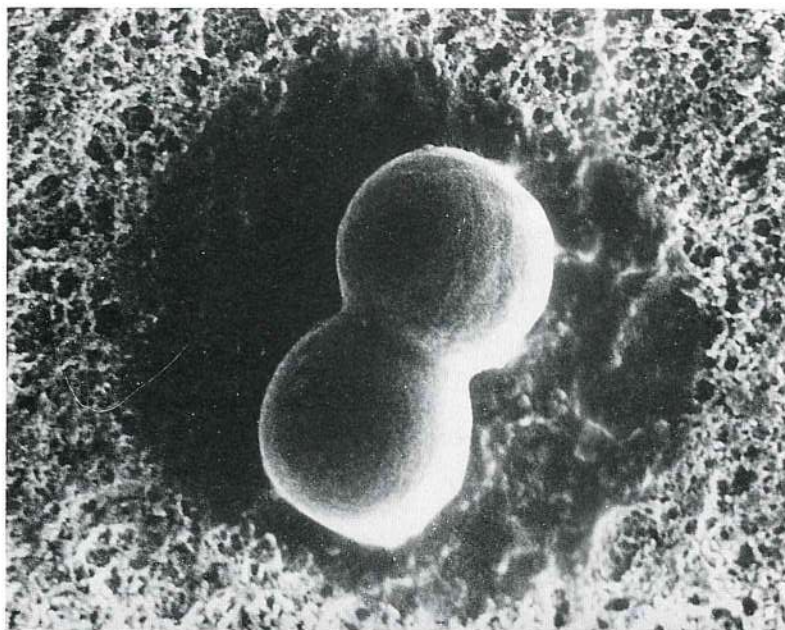


Fig. 6 家兎卵管内より採取した受精卵。ミリポアフィルター上に載せてある。
2細胞期。

Fig. 7 同上、4細胞期。

III - 8 細胞組織化学への応用

既に銀染色をした神経線維を反射電子像で同定することについては触れた。これは反射電子像の利用法としては非常に良いアイデアであった。してみると酵素組織化学（例えばホスファターゼでは、P、Pb というように燐酸鉛の形で反応産物を局在

させる）の金属塩法などは、WET-SEM によってより明瞭に局在がみえるようになるのかもしれない。

既述のようにたまたま免疫組織学の大家である中根一穂教授が反射電子像の応用について開発をすすめられたこと²⁵⁾と、他にも反射電子による免疫組織化学という論文³⁾が目にとまったことがき

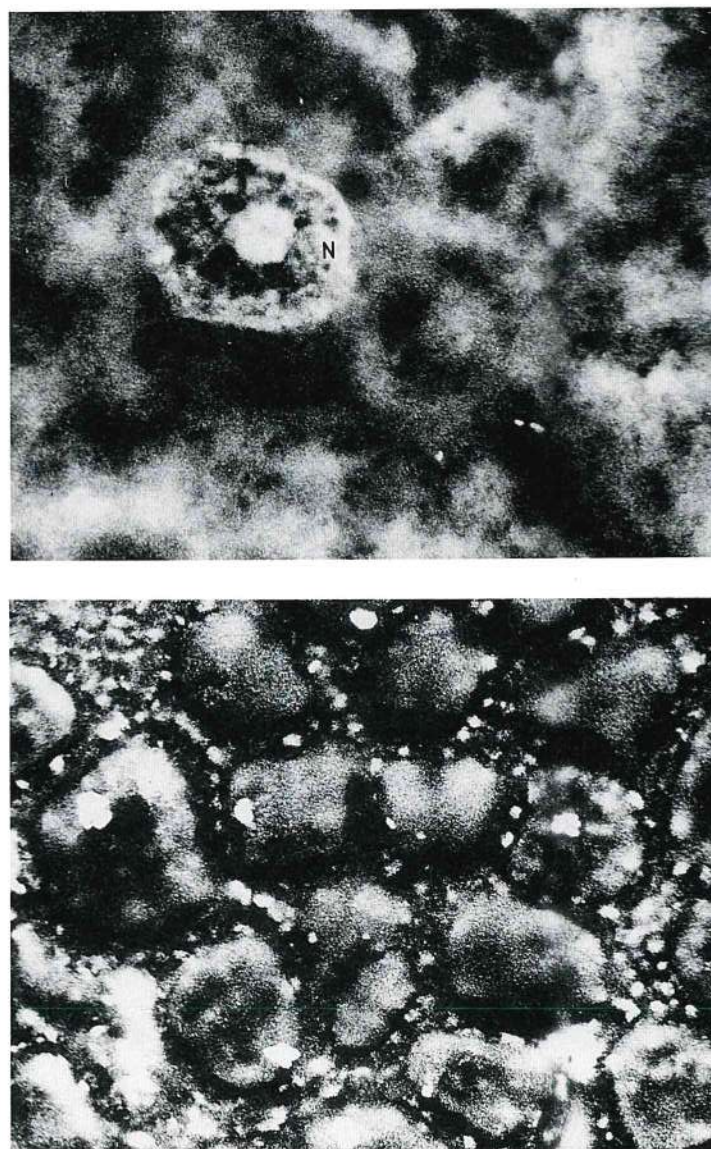


Fig. 8 免疫組織化学切片のWET-SEM像

- (A) ヒト-Cu-Zn-SODの抗原の局在をサルの肝細胞でみたもの（細胞質にびまん性に分布し、核内にも局在する）。N：核。
- (B) 抗T-細胞抗体によって、形質膜に局在（点状に明るくみられる部分）する抗原部分を示す。豚の脾臓。

っかけて、反射電子によるペルオキシダーゼ反応の観察をはじめることになった。Fig. 8はその一例である。これは、現在はやりのトピックスの一つであるフリーラジカル（この場合活性化酸素O⁻）のスカベンジャー（Scavenger）の一つとしてのスーパーオキシドジスムターゼ（SOD）の局在を通常のABC法で染色してから、WET-SEMで反射電子像をとったものである。ペロキシダーゼの反応産物にオスミウムが結合している部分が、反射電子像となって見られる。パラホルムアルデヒド固定の切片であるので微細構造の保持が良くないが、光学顕微鏡ではSODの細胞核への局在、細胞質へのびまん性の分布が確信をもてなかったのに対し、WET-SEMの観察で確認することができた。またFig. 9は胸腺依存性のいわゆるT細胞を認識する抗体で染めたものの例で、細胞膜に局在する抗体が観察できた。

なるべく手を加えず自然のままの試料をみるのがWET-SEMの未来の利点という立場からすると、染色や反応をさせた広義の人工産物である組織化学標本を観るのはWET-SEMにとって名誉なことではないかもしれない。しかしX線マイクロアナキシスの生物への応用でも、組織化学への応用⁴⁰⁾が大きい比重を占めたように、WET-SEMの組織化学への効用はますます多彩に発展し、認められて行くように思われる。

以上の応用例は、多少とも既に試みたことを中心に述べて来たが、次の3項目は、現在ではまだとうてい実用化の域に達していないが近い将来にという段階の応用例である。

III - 9. カソードルミニセンスの検出

カソードルミニセンスは、核酸をはじめ生体成分から検出され、生物試料の重要な情報を知らせるものとして、かなり以前から注目されているものの、その検出器の性能が向上しない限り現状では有効な利用が期待できない。当研究室でのデータ¹²⁾でも、カソードルミニセンスを検出できているのかどうか確証がない。このように検出器に問題があるので、切片を蛍光色素で切片を染めてから観るという苦肉の策もあるが、これは本質的にカソードルミニセンスを見たことにならない。次の手としてはCryo Stageにすることで、事実低温にするとカソードルミニセンスが増強される

ことが知られている。いずれにしてもWET-SEMにはなじむ構想であるので、WET-SEMの広々とした試料室とCryo-Stageを生かしてカソードルミニセンス検出器が装着されることが余り遠くない将来に起きてほしいものである。

III - 10. 連続切片の観察

最近では、連続切片からの立体構造の構築をコンピュータの手を借りて行うことが流行のきざしをみせている。将来は切片をつくらずにCTスキャンのような手法を極小のサンプルに応用するような方式が出て来るのではないと思われるが、ここでは大きい試料台に厚切切片を連続に並べて、その反射電子像を逐一とって、これの積み重ねをするようなことを想定してみる¹²⁾、すでに樹脂包埋した試料についての一つの試行モデルをここに示した（Fig. 10）。この例ではすでに固定、脱水、包埋、薄切をできてしまっているのでWET-SEMの長所の大半は失われているが、金属コーティングをしないことと、幸いオスミウム固定によるオスミウムの局在部位から反射電子が強く出て、それが絵になっていること、が利用されている。

III - 11. 細胞分画、ホモジネートの観察

既述のように30万倍～80万倍というような超高倍率のSEM像では、無蒸着の微小サンプル（T-ファージや抗体など）をカーボンの試料台にのせて観察することが成功をおさめている³⁰⁾。もしWET-SEMにそれに匹敵するような解像力があれば、更に非脱水でミトコンドリアなどの細胞小器官をもっと自然な状態で観察することができよう。これに匹敵するような試みとしては、いわゆるWET-cell³⁹⁾というような湿気を保持した試料室を用いて高圧の透過電顕で細胞分画をみる方法があり、筆者も第10回の国際電顕学会（1982年：ハンブルグ）で発表したことがある³⁹⁾が、この方法では数秒間のうちに試料が煮えてしまうか干物になってしまうので、現段階ではやはり未来の技法に属していると言わざるを得ない。

IV WET-SEMの問題点

WET-SEMの応用範囲について前章で列挙したが、短所、それも致命的ともいふべき弱点についてここで触れておかなければならない。それは、

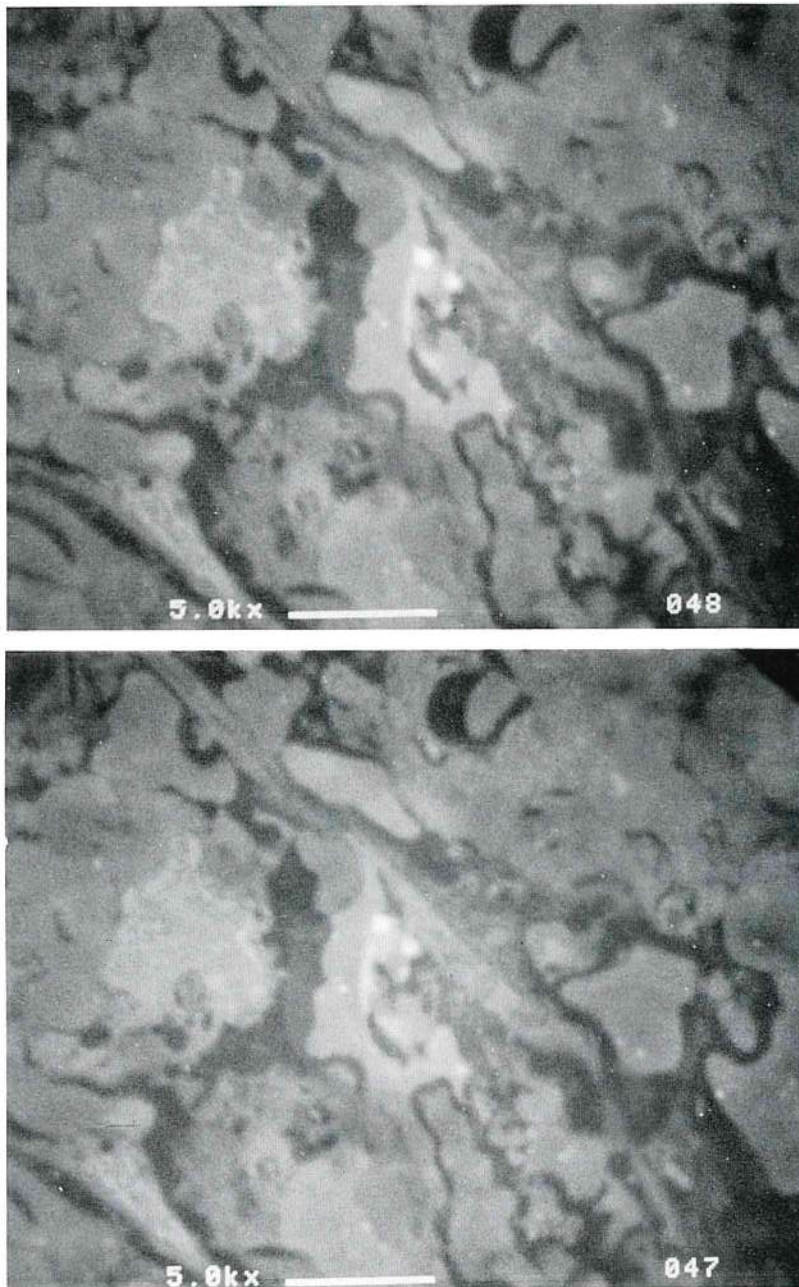


Fig. 9 連続切片のWET-SEM像。コーディングなしで、カーボンの試料台にのせた連続切片(ラット脾臓)をつづけて撮ったもののうちの二コマ。
5,000×

解像力 (spacial resolution power) が $10\sim 15\text{nm}$ (ナノメートル) という電顕としては非常に悪いことである。因みに現在の透過電顕の解像力は $1\sim 5\sim 2\text{\AA}$ (オングストローム) でこれは $0.15\sim 0.2$

nm ということであり、走査電顕の解像力も、 $2\sim 5\text{nm}$ に到達している。従って $10\sim 15\text{nm}$ の解像力というのは走査電顕でいうと1970年代前半の時代の機種に匹敵する。想像力すなわち倍率とい

うわけではないが、実用上は倍率をあげても像がボケては意味がなく、解像力が悪ければ倍率をあげることができなくなる。WET-SEMについていえば、観察上は約1万倍位まで拡大できるが、写真にするには約3,000倍どまりである。もちろんそのフィルムから2~3倍は引伸してとることは出来るが、これは直接倍率には数えない。WET-SEMの機器自体(WS-250)は勿論何万倍の拡大も出来るようになってきているが、生物試料では上述のように1万倍以上にしてみてもボケてしまうということである。幸いにして、Robinsonの反射電子検出量が最近では改良されて来て、WET-SEMの解像力がもう少し改善されたといわれているが、それにしても、この程度の解像力ではさほど高倍率が認めない。ということは、細胞の内部の微細構造を観察するというにはほど遠い。光学顕微鏡より少し良い程度というのが残念である。電顕としては問題にならないほどの低倍率の世界での応用を考えざるを得ないというのが問題点である。

V WET-SEMの展望

WET-SEMでは高倍率が望めないことや、低真空とはいえ試料の表面が乾燥することなど現状では避け得ない制約があることを十分に認識した上で、殆ど事前の処理を必要とせず、急速にかつ最も自然に近い条件で観察できるという、これまたかけがえのない長所を生かして、臨床面すなわち診断用にSEMを導入することが差し当たっての展望である。技術面からいうと、前述のように反射電子の検出器の性能を一層向上させなければならない。また低真空を一層押しすすめて、大気圧下での観察を可能にしなければならない。即ち真空にしない試料室の開発であって、environmental chamberとかwet cell⁹⁾とか言われて、既に試作段階にはいつている研究室³⁹⁾もある。Robinsonの共同研究者の一人であったDanilatosの設計になる装置もその一つである。²⁾

このように、もし大気圧下で生の試料を観察が出来るのであれば、試料表面の乾燥や、気化熱を奪われれことによる試料温度の低下(時として凍結にいたれば試料の構造を破壊する)、などの諸問題が根本的に解決するばかりではなく、もっと手軽にサンプルを出し入れ出来るようになって、

一層臨床検査の機器として利用されるようになるであろう。

以上の利点、展望を要約してTable 3にまとめた。

Table 3 要 約

I. WET-SEMの長所
・脱水、金属コーティング不要
・チャージ、エッジ効果が少ない
・低真空(0.3~0.5 torr)で観察可能
II. WET-SEMの問題点
・分解能 100~200Å, 微細構造不明
・倍率 ~3,000×(撮映) ~10,000×(観察)
・加速電圧 2, 15, 30KV
・二次電子の像と混在?
・X線微量分析……ブロック試料のみ
III. 今後の改良方向
・水分を補給できる試料台(wet stage)の開発
・凍結試料台の応用(cryo stage)の改良
・カソードルミネセンス検出器の改良
・冷却試料移送装置の開発
・反射電子像のコンピューター画像処理

〔謝 辞〕

1981年にWET-SEMを山口大学獣医学科家畜解剖教室に導入する以前から、明石ビームテクノロジーの技術陣各位(島倉昌二, 井手籠隆, 広瀬治子, 他)の御協力を得てきた。またWET-SEMを当教室に設置後は矢本 敬, 安食 隆, 平原和美, 大上美穂, 渡辺 求, 石田哲也, 朝比奈暁, 他の大学院学生, 学部学生がこれを大いに活用。学会発表, 論文発表を盛んに行って来た。これ等の他, コロンビア貿易社の技術員の協力によるcryo-systemの基礎実験を含め, 大勢の人間のエネルギーな研究活動を下敷にして本小論をまとめることが可能になった。ここに特筆して謝辞としたい。

文 献

- 1) Becker, R. P. and Geoffroy, J. S. (1981): Backscattered electron imaging for the life sciences: Introduction and index to applications—1961 to 1980. *Scanning Electron Microscopy IV*: 195~206.

- 2) Danilatos, G. D. (1985) : Design and construction of an atmospheric or environmental SEM (Part 3) *Scanning* 7 : 26~42.
- 3) Hartman, A. L. and Nakane, P. K. (1981) : Intracellular localization of antigens with backscatter mode of SEM using peroxidase - labelled antibodies. *Scanning Electron Microscopy* II : 33~44.
- 4) 平原和美・万場光一・牧田登之 (1986) : WET - SEM の試料の大きさと照射時間による乾燥の度合について, 医生物走査電顕 15 : 56~58.
- 5) Kaetsu, H. Yoshida, M., Yamada, A., Sakurai, Y., Nakamura, K., Hanyu, F., Yasui, H., Takara, M and Sakatoku, J. (1980) : Effect of shapes and structures of chemotherapeutic anti cancer - polymer composite on release functions. *Artificial Organs* 9 : 1128~1131.
- 6) Makita, T. (1980) : A bibliography of application of SEM to clinical research in Japan since the foundation of clinical electron microscopy society of Japan. *Scanning Electron Microscopy* IV : 209 - 215.
- 7) 牧田登之・小川和重・初岡政典・井手籠隆・広瀬治子 (1982) : 非脱水・無蒸着の生物試料の backscattered electron image. 医生物走査電顕 : 11 : 31~34.
- 8) Makita, T., Ueda, H., Hirose, H. and Idegomi, T. (1982) : X - ray microanalysis of hydrated biological specimen. *Scanning Electron Microscopy* III : 1215 - 1220.
- 9) Makita, T. and Hatsuoka, M. (1982) : Application of a closed wet cell for use in a 200KV electron microscope as routine work. *Proc. 10th. Int. Cong. Electron Microscopy*, II : 493~494.
- 10) Makita, T., Hatsuoka, M. and Sugi, Y. (1983) : Calcium Detection in Secretion Granules of Avian Oviduct by Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy - dispersive X-Ray Microanalysis (EDX). *J. histochem. cytochem.*, 31 : 219~221.
- 11) Makita, T. (1983) : WET - SEM observation and X - ray microanalysis of hydrated, unfixed, non-coated and unstained cardiac walls and aorta of experimental animals. *J. Clin. Electron Microscopy*, 16 : 741~742.
- 12) 牧田登之・小林経子・矢本 敬 (1984) : WET - SEM による厚切切片の観察, 医生物走査電顕 13 : 17~20.
- 13) Makita, T. (1984) : Conditions of WET - SEM application to hydrated biological samples and X - ray microanalysis. *Proc. 8 th European Congress of Electron Microscopy* 3 : 1689~1690.
- 14) Makita, T., Ohtsuki, M., and Coates, V. J. (1986) : Low accelerating voltage field emission scanning electron microscopy : uncoated, non-conducting plastic replica of blood vessels of rat gastric mucous epithelium. *Proc. 12th Int. Congress of Electron Microscopy*. III : 2375~2376.
- 15) Makita, T., Ohtsuki, M. (1986) : Observation of uncoated biodegradable starch microspheres by a high resolution, low accelerating voltage field emission SEM. *Proc. 12th Int. Congress of Electron Microscopy* III : 2353~2354.
- 16) Makita, T., Ohokawa, T. and Lindbrom, R. (1986) : Interaction of degradable starch microspheres (DSM) with endothelium of blood vessels in the liver, kidney and lung of rats visualized with FITC - DSM and Iron - DSM. *Proc. 14th Int. Cancer Congress* 3 : 1191.
- 17) 牧田登之・杉浦康博・大槻三男 (1986) : 低加速電圧フィールドエミッション SEM による無蒸着生物試料の観察, 医生物走査電顕 : 15 : 53~55.
- 18) Makita, T., Hirabara, K. and Hirose, H. (1987) : Combination of Cryo - SEM and WET - SEM. *Proc. 45th. Electron Microscopy Society of America*. 568~569.
- 19) 牧田登之・渡辺 求 (1987) : 無蒸着血管鑄

- 型標本の走査電顕による観察, 医生物走査電顕, 16 : 64~66.
- 20) Makita, T., and Okawa, T. (1987) : Slow release tests of anti-tumor drugs in disc, film and plate of medical grade silicone elastomer (Silastic). *Proc. Jap. Cancer Assoc.* p. 437.
- 21) 牧田登之・平原和美 (1987) : 低加速電圧フィールドエミッション SEM と WET-SEM による無蒸切血管鑄型標本の観察, 第104回日本獣医学会講演要旨, p. 29.
- 22) 牧田登之・平原和美・万場光一 (1987) : Cryo-SEM 前室における凍結未固定, 固家試料のカーボン蒸着および金スパッタコーティングについて, 第43回日本電子顕微鏡学会講演要旨, p. 208.
- 23) Makita, T. (1987) : Backscattered electron (WET-SEM) images of a medical grade elastomer containing anti-cancer drugs, growth hormone, or analgesic anodyne after 1 day to 3 weeks of slow release experiments of those drugs into rats. *J. Clin Electron Microscopy* 20 : 813-814.
- 24) Murakami, T. (1971) : Application of the Scanning Electron Microscope to the Study of the Fine Distribution of the Blood Vessels, *Arch. Histol. Jpn.* 34 : 87-107.
- 25) 中根一穂・和泉伸一 (1987) : 走査型電子顕微鏡-反射電子像による免疫組織化学 第28回日本組織細胞化学会 p. 30.
- 26) 大崎光明・渡部智美・平出由美 (1987) : クライオトランスホルダーの開発とその応用 第43回日本電子顕微鏡学会講演要旨 p. 122.
- 27) Ohtani, O. and Murakami, T. (1987) : Peribiliary Portal System in Rat Liver as Studied by the Injection Replica Scanning Electron Microscope Method. *Scanning Electron Microscopy II* : 241-244.
- 28) Ohtsuki, M., Sugiura, Y., Coates, V. J. and Makita, T. (1986) : Applications of low accelerating voltage field emission scanning electron microscope to an uncoated, non-conducting biological specimen. *Proc. XI th Int. Cong. on Electron Microscopy III* : 2377-2378.
- 29) Robinson, V. N. E. (1973) : A re-appraisal of the complete electron emission spectrum in scanning electron microscopy. *J. Phys. D. Appl. Phys.* 6 : L105-107.
- 30) Robinson, V. N. E. (1974) : The construction and uses of an efficient backscattered electron detector for SEM. *J. Phys. E. Sci. Instrum.* 7 : 650-652.
- 31) Robinson, V. N. E. (1975) : Backscattered Electron Imaging. *Scanning Electron Microscopy. I* : 51-60.
- 32) Robinson, V. N. E. (1978) : The SEM Examination of Wet Specimens. *Scanning* 1 : 149-156.
- 33) 島倉昌二・井上貴央 (1985) : WET-SEM とその応用, 電子顕微鏡 19 : 172-176.
- 34) Tanaka, K. (1981) : Demonstration of intracellular structures by high resolution scanning electron microscopy. *Scanning Electron Microscopy II* : 1-8.
- 35) Tanaka, K., Mitsushima, A., Kashima, Y. and Osatake, H. (1986) : A new high resolution scanning electron microscope and its application to biological materials. *Proc. XI th Int. Cong. on Electron Microscopy. III* : 2097-2100.
- 36) Tanaka, K., Mitsushima, A. and Takayama, H. (1987) : Some biological materials observed by a new high-resolution SEM. *Proc. 45th EMSA* 554-555.
- 37) Ulberg, S. (1954) : Studies on the distribution and fate of S³⁵-labelled benzylpenicillin in the body. *Acta. Radiologica, Suppl.* 118 : 1-110.
- 38) Ying, G. H., Li, W. Z. and Makita, T. (1980) : A bibliography of biomedical application of SEM in the Peoples Republic of China. *Scanning Electron Microscopy IV* : 217-218.
- (文献追補)
- 39) Fukami, A., Fukushima, K., Ishikawa, A. and Ohi, K. (1987) : New side-entry environmental cell equipment for dynamic obser-

vation. *Proc. 45th EMSA* : 142~143.

- 40) 牧田登之 (1979) : 分析電子顕微鏡の細胞組織化学への応用. 化学の領域 33 : 11~21.

GROWTH INHIBITION OF A NEWLY ESTABLISHED FELINE ENDOMETRIAL ADENOCARCINOMA CELL LINE BY PROGESTERON

Makoto INOUE and Akio SATO

*Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677 - 1
Yoshida, Yamaguchi City, 753, Japan*

[Received for publication : September 6, 1987]

INTRODUCTION

The endometrium is a target tissue for sex steroid hormones being regulatory upon tissue growth and regression. It has been known that progesterone is inhibitory to the growth of endometrial carcinoma cells. Usually feline uterine carcinoma arises from the endometrial gland,^{3,4)} but effects of progesterone on feline uterine carcinoma cells have not been investigated. This report is to describe the effects of progesterone on a newly established feline endometrial adenocarcinoma cell line *in vitro*.

MATERIALS AND METHODS

Cell cultures : A 13-year-old female cat with uterine tumor was necropsied. Histologically, the tumor was diagnosed endometrial adenocarcinoma (Fig. 1).

The culture specimen obtained from a abdominal lymph node with metastatic lesion was minced and trypsinized. The cells were incubated at 37°C in Fisher's medium supplemented with 10% calf serum. The cells were subcultured by treatment of 0.1% EDTA. Progesterone (E. Merck, Germany) dissolved in ethanol was diluted with culture medium before use.

Electron microscopy : Monolayer-culture cells were fixed in 2% glutaraldehyde, suspended and centrifuged into pellets. The pellets were postfixated with 1% OsO₄ and embedded in Epon. Ultrathin sections were stained with uranyl acetate and lead citrate.

Heterotransplantation : Approximately 5×10^6 cells were subcutaneously injected into female BALB/cA athymic nude mice, 5 weeks of age.

RESULTS

The cultured cells mainly consisted of epithelial cells after the transfer at the third generation and subsequently showed continuous growth. The cultured cell line, designated as feline endometrial adenocarcinoma cell (FeEA) grew rapidly (doubling time, 24 hr) and consisted of loosely adherent epithelial cells. The FeEA cells showed pile-up and formation of glandular structure in monolayer-culture (Fig. 2). Ultrastructurally, the FeEA cells had

large round nuclei with prominent nucleoli. The nuclei existed eccentrically, and mitochondria, free ribosomes and glycogen granules were abundant in the cytoplasm (Fig. 3). The cells were tightly connected to each other and desmosomal junctions were developed. Some cells had microvilli on the cell surface.

After injection of the FeEA cells into two nude mice, tumors measuring 1 to 2 cm in diameter were seen at the injected site in both mice after four weeks and no metastasis were seen. Histological examination revealed the tumors as adenocarcinoma resembling the original tumor.

The growth of FeEA cells was prominently suppressed by progesterone at concentration of 9 $\mu\text{g}/\text{ml}$, when $6.5 \times 10^4/\text{ml}$ cells were incubated, and the doubling time was prolonged to 48 hr. The cell growth was closely inhibited with addition of 18 $\mu\text{g}/\text{ml}$ progesterone. After administration of 9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ progesterone, the FeEA cells were strongly adherent and flattened (Fig. 4), and showed pavement-like arrangement. Large vacuoles appeared frequently in cytoplasm.

DISCUSSION

Present results showed that progesterone suppressed the growth of FeEA cells and induced their morphologic alterations *in vitro*.

The effects of progesterone on human^{1,2,8)} and rat^{5,6,7)} endometrial carcinoma cells *in vitro* have been reported. Progesterone was involved in the regulation of cellular proliferation and differentiation of endometrial carcinoma cells. The cultured rat uterine adenocarcinoma cells, HTP/C1 were transplantable into the newborn rat and the cells grown in the presence of progesterone showed the decrease of tumorigenicity for the newborn rat⁶⁾. It is supported that Progesterone acts specifically on endometrial carcinoma cells *in vitro*.

The metastatic endometrial carcinoma cells had more resistance to progesterone *in vitro*.^{1,8)} The FeEA cells derived from metastatic lesion were well responsive to progesterone. The FeEA cells were useful to study the mechanisms of cellular differentiation by progesterone and especially to evaluate the quantitative effect of hormone on feline uterine carcinoma.

REFERENCES

- 1) Ishiwata I., Udagawa Y., Okumura H. and Nozawa S. : Effects of progesterone on human endometrial carcinoma cells *in vivo* and *in vitro*. *J. Natl. Cancer Inst.* 60 : 947 ~ 954, 1978.
- 2) Nishida M., Kasahara K., Kaneko M. and Iwasaki H. : Establishment of a new human endometrial adenocarcinoma cell line, Ishikawa cells, containing estrogen and progesterone receptors. *Acta Obstet. Gynecol. Jpn.* 37 : 1103 ~ 1111, 1985.
- 3) O' Rourke M. D. and Geib L. W. : Endometrial adenocarcinoma in a cat. *Cornell Vet.* 60 : 598 ~ 604, 1970.
- 4) Preiser H. : Endometrial adenocarcinoma in a cat. *Path. Vet.* 1 : 485 ~ 490, 1964.
- 5) Sekiya S., Kikuchi Y. and Takamizawa H. : The effects of hormones and

chemotherapeutic agents on the rat uterine adenocarcinoma cells in tissue culture. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 119 : 675 ~ 680, 1974.

- 6) Sekiya S., Kamiyama M. and Takamizawa H. : Cellular differentiation of rat uterine adenocarcinoma cells by Progesterone *in vitro*. *Cancer Res.* 35 : 1713 ~ 1717, 1975.
- 7) Sekiya S., Takayama N. and Takamizawa H. : Effects of progesterone on rat uterine adenocarcinoma cells *in vitro* : An electron microscopic study. *Europ. J. Cancer* 12 : 493 ~ 496, 1976.
- 8) Tanaka K., Higuchi M., Hando T., Yoshiya N., Tanaka K., Honma S., Motani N. and Kanazawa K. : Establishment and characterization of histological differentiated human uterine endometrial carcinoma cell lines from the same patient : A correlation between grade of morphological differentiation and HLA antigens. *Acta Obstet. Gynecol. Jpn.* 38 : 1975 ~ 1981, 1986.

ネコ子宮内膜腺癌細胞株に及ぼすプロゲステロンの影響

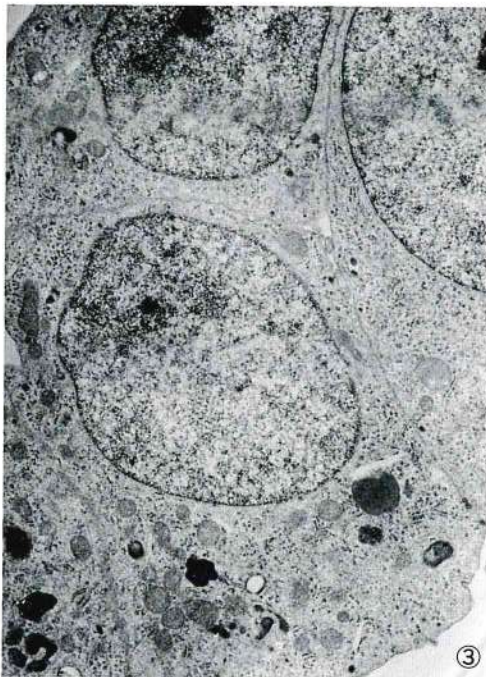
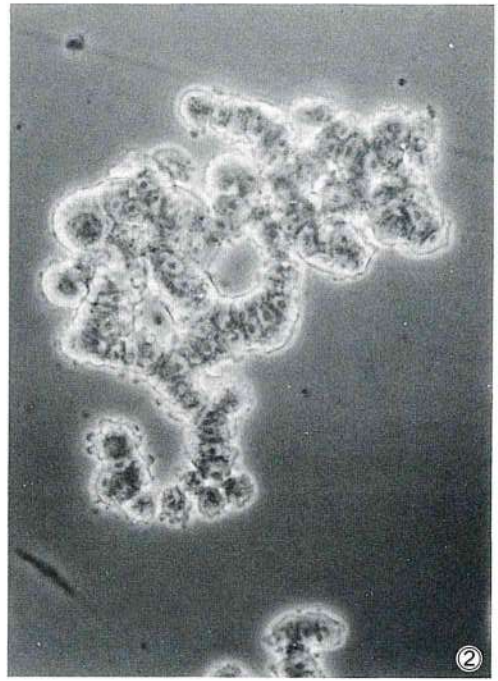
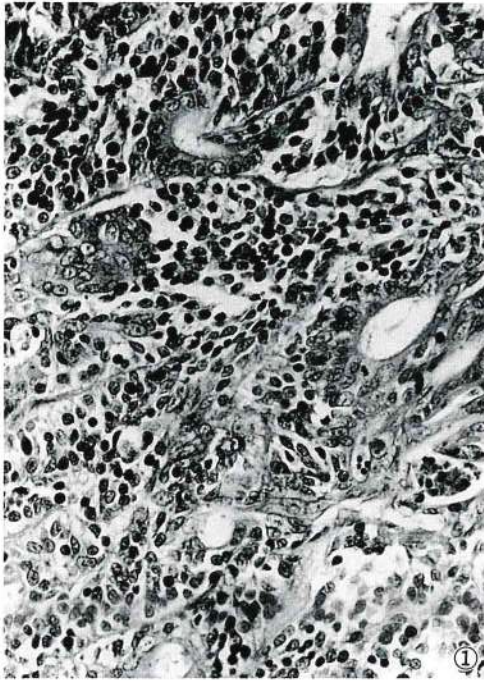
井上 誠・佐藤昭夫 (山口大学農学部獣医学科家畜病理学教室)

(受付: 1987年9月6日)

ネコ内膜腺癌細胞株 (FeEA 細胞) を新しく培養樹立した。リンパ節転移巣に由来する FeEA 細胞は形態的に上皮性細胞の特徴を有し、単層培養において、pile-up と浮遊増殖の傾向を示した。FeEA 細胞はヌードマウスに移殖が可能で、増殖した腫瘍は腺癌の組織像を示した。9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ プロゲステロンの添加によって、FeEA 細胞の増殖は著しく抑制され、また細胞は附着性を増し、密な敷石状配列に変化して、細胞内には空胞の形成が認められた。

EXPLANATION OF PHOTOPLATES

- Fig. 1 Histological appearance of lymph node with metastatic lesion. (hematoxylin - Eosin stain, $\times 66$)
- Fig. 2 The cultured FeEA cells. (Phase-contrast micrograph, $\times 100$)
- Fig. 3 Electron micrograph of the cultured FeEA cells. ($\times 4,800$)
- Fig. 4 The cultured FeEA cells at 3 days after administration of 9 g/ml progesterone. (Phase-contrast micrograph, $\times 100$)



山口県におけるエンテロウイルスの疫学的研究

その4. 1986年の無菌性髄膜炎の流行, 特に新生児
集中治療室における流行について

岡田雅裕*1・岩崎 明*1・板垣国昭*1・中尾利器*1・山県 宏*1
田中一成*1・金原洋治*2・山口洋一郎*2・鈴木英太郎*3

(受付: 1987年8月31日)

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES ON ENTEROVIRUSES IN YAMAGUCHI PREFECTURE

PART 4. EPIDEMICS OF ASEPTIC MENINGITIS, INCLUDING AN OUTBREAK AT NEONATAL INTENSIVE CARE UNIT IN 1986

Masahiro OKADA, Akira IWASAKI, Kuniaki ITAGAKI, Toshiki NAKAO
Hiroshi YAMAGATA and Kazushige TANAKA

*Division of Microbiology, Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health,
2-5-67, Aoi, Yamaguchi City, Yamaguchi Prefecture, 753 Japan*

Yoji KANEHARA and Yoichiro YAMAGUCHI

*Saiseikai Shimonoseki General Hospital, 3-4-1, Kifunemachi,
Shimonoseki City, Yamaguchi Prefecture, 751 Japan*

Eitaro SUZUKI

Suzuki Pediatric Clinic, Nishikiwa, Ube City, Yamaguchi Prefecture, 755 Japan

(Received for publication : August 31, 1987)

In 1986, a total of 206 cases of meningitis was observed in Yamaguchi Prefecture. The dominant and causative agents of meningitis were identified to be *Echovirus 7* (E7) and *Coxsackievirus B1* (CB1) in laboratory studies.

In the present study we have reported the age group distribution of the E7-neutralizing antibody after and before the epidemic of meningitis. Before the epidemic, the positive rates from the age ten and under, and 20 years were 16.0% and 40.9%, respectively. After the epidemic, these rates were 57.0% and 81.1%, respectively. However, no significant difference was observed in other age groups. These results suggest that the triggered age group of this infection were ten and under, and 20 years.

Also, the meningitis infection was observed in the neonatal intensive care unit (NICU) of general hospital in Shimonoseki City in the period of July -

* 1 山口県衛生公害研究センター

* 2 済生会下関総合病院

* 3 鈴木小児科医院

October, 1986. This infection was due to CB1 in July and E7 in August. However, unidentified viruses were isolated from the cases infected in October. Every patient had a mild clinical sign and a fever as a main symptoms.

I. 緒 言

主としてエンテロウイルスに起因する無菌性髄膜炎は毎年流行をくり返している。近年、この感染症は全年令層のうち新生児に最も好発する事実が明らかになり¹⁾、とりわけ、“エンテロウイルスによる新生児髄膜炎の神経学的予後”については、識者の関心を強く惹きつつある^{2,3)}。山口県における本症の流行に関して、著者ら^{4,5)}はすでにその一部を報告しているが、1986年にエコーウイルス7型(以下E7)による無菌性髄膜炎の全国的な流行⁶⁾があり、当県内でもこのウイルスによる患者が発生し、同時にコクサッキーウイルスB1型(以下CB1)による流行も確認された。

著者らは1986年7～10月に下関市の総合病院新生児集中治療室(以下NICU)において発生流行した無菌性髄膜炎がE7、CB1および型別不能ウイルスに起因することを解明したので、山口県の流行状況と併せて概括する。

II. 材料と方法

1. 材 料

1) ウイルス分離材料：患者については済生会下関総合病院および周東総合病院入院患者材料として糞便、髄液、咽頭ぬぐい液および血清を、また、無症状児材料はポリオ流行予測感染源調査の糞便を用いた。

2) 血清疫学材料：E7流行前の血清としては1983年に伝染病流行予測事業のために山口県内で採取されたものを、また、流行後の血清としては1986年に同事業で採取された血清を用いた。

2. 検査方法

1) ウイルス学的検査：ウイルス分離はMA104、LおよびHeLaの各細胞を用い、マルチプレート法で検体接種後2週間にわたって培養および観察をおこない、CPE陽性のものを定量後、メルニック・プール抗血清(デンカ生研)で中和試験によって同定した。

2) 血清学的検査：中和抗体価は、著者らが分離、継代保存中の下記ウイルスを抗原として、マ

イクロプレート法により測定した。

E7：86Y32K株(ポリオ流行予測感染源調査由来)

CB1：86S2K株(無菌性髄膜炎患者由来)

3) 疫学調査：山口県下の無菌性髄膜炎患者発生状況は山口県感染症サーベイランス情報に拠った。

III. 結 果

1. 1986年の山口県における無菌性髄膜炎患者発生状況とエンテロウイルスの分離状況

1) 山口県および下関地区における患者発生状況：1986年の流行は中規模で、患者総数206名(山口・防府74、下関46、周南34、宇部・小野田24、岩国16、柳井12)である。月別には(Fig. 1)、1～4月の間に34名と非流行時期としては比較的多くの患者が発生しており、5月17名、6月20名、そして7月の62名をピークに8月46名と続き、9月、10月がそれぞれ12名で、その後患者の発生はほぼ終息している。患者の病因ウイルス検索の結果、E7およびCB1が主流であることが判明した。

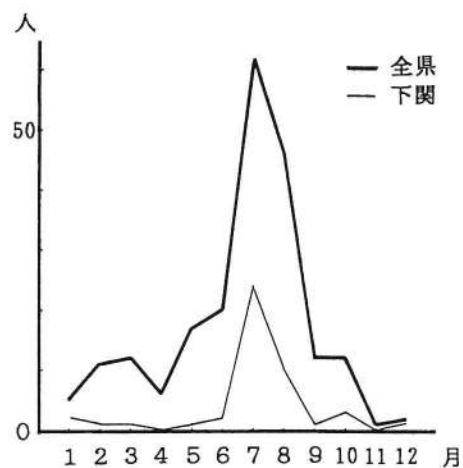


Fig. 1 山口県および下関地区の月別無菌性髄膜炎患者発生状況 (1986年)

2) エンテロウイルス分離状況：ポリオ流行予測感染源調査 (Table 1) におけるエンテロウイルスの分離状況は、0～6才の121検体から86株 (71.1%) を検出しており、その型別はCB 1：33株、CB 4：5株、CB 5：4株、E 7：32株、E 14：7株、型別不能5株である。同定不能株はメルニック・プール抗血清で中和されず、混合感染を疑って1986年分離株の混合抗血清による同定も試みたが、中和されなかった株である。

なお、参考として、宇部地区の急性へんとう炎からコクサッキーウイルスA 9型、急性咽頭炎およびヘルパンギーナ患者からコクサッキーウイルスB 3型を分離したことを付記する。

2. E 7の1986年流行前後の中和抗体保有状況とその推移

1986年のE 7に起因する無菌性髄膜炎は全国的規模で流行したが、山口県の発生事例もその一環と考えられる。このことからE 7流行の様相をさらに詳しく知るために、流行前の1983年に採取された血清および流行後の1986年9月に採取された血清を用いて年齢別中和抗体保有状況を調査した (Fig. 2)。

流行前では0～3才はほとんど抗体を保有しておらず、0～1才の3名の抗体保有児も生後2～4ヵ月であり、母親からの移行抗体である可能性が高い。4才以上では年齢とともに抗体保有率は上昇し、15～19才で64.0%であるが、20才代では40.9%と低く、30才以上では70～90%の抗体保

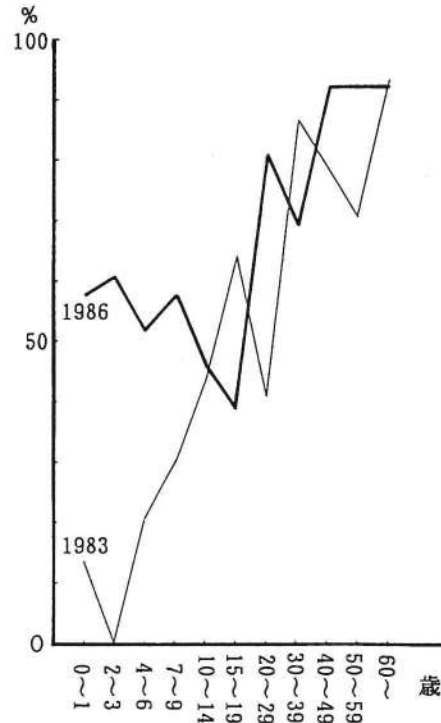


Fig. 2 山口県におけるエコーウイルス7型流行前後の中和抗体保有状況(1:4)

Table 1 ポリオ流行予測感染源調査, 年齢・地区別ウイルス分離状況* (1986年 山口県)

年齢	柳井市					防府市					合計										
	CB1	CB4	CB5	E7	? (-)	計	CB1	CB4	E7	E14	(-)	計	CB1	CB4	CB5	E7	E14	? (-)	計		
0			1		1	2	10			1		11	10		1		1	1		13	
1	1	3	1	4	3	12	4	3	6	2	15	4	1	3	4	6	4	5	27		
2			5			5	4	2		3	9	4	2		5			3	14		
3	1		10		4	15	7	1		4	12	8	1		10			8	27		
4		1	6		3	10	1			3	4	1	1		6			6	14		
5			6		5	11	4			4	8	4			6			9	19		
6			1		2	3	2			2	4	2			1			4	7		
計	1	2	4	29	5	17	58	32	3	3	7	18	63	33	5	4	32	7	5	35	121

CB:コクサッキーウイルスB型, E:エコーウイルス, 数字:型;

(-):ウイルス分離陰性。?:未同定。

* ポリオウイルスは全く分離されなかった。

有率である。流行直後では0～9才の抗体保有率が50～60%に上昇しているが、10才代は40%前後と低く、20才代は81.1%と上昇が認められる。

3. 下関市の総合病院 NICU における無菌性髄膜炎の流行

1986年における表記医療機関の流行事例について調査した。

1) 患者の発生状況と検査成績 (Table 2) : 7月7日に発症した患者 (C-1) が院外より NICU に入院し、これが感染源となって7月12～22日にかけて5名の患者 (C-2～6) が発生し、検査の結果、これらの患者はすべて CB 1 に起因することが判明した。NICU 内の未発症児11名についても糞便からウイルス分離をおこない、このうち5名から CB 1 が分離され、かなり室内感染のあることが判明した。その後7月19日 (E-1)、22日 (E-2) および8月4日 (E-3) に発症した無菌性髄膜炎患者3名が院外から入院したが、このうち2名は E 7 に起因するものであった。さらに8月20日 (E-4) 24日 (E-5) および9月4日 (E-6) に E 7 による患者3名が発生しているが、期間的にみて院外患者からの室内感染かどうかははっきりしない。さらに10月下旬に2名の患者からウイルスが分離されているが、メルニック・ブール抗血清による中和の結果、同定不能であった。

2) 患者の臨床症状 (Table 3) : 全例症状は軽

Table 3 NICU で発生した無菌性髄膜炎患者の初発症状

症 状	頻 度
発 熱	14/14
お う 吐	1/14
腹 満	1/14
ほ乳力低下	2/14
易 刺 激 性	2/14
Shivering	3/14
不 機 嫌	3/14
網状チアノーゼ	3/14

度であり、発熱が主体で重症化したものはなかった。

3) 妊婦および従事職員の抗体保有調査と新生児への移行抗体 : 9～10月に採血された血清について中和抗体を調べたところ、妊婦は CB 1 で42.7%, E 7 で56.2%であり、従事職員は CB 1 で54.2%, E 7 で68.8%であった。また、母親から新生児への移行抗体調査の結果 (Table 4)、ほぼ同じ抗体価で移行している。これらの持続期間についての調査はおこない得なかった。

IV. 考 察

1. 1986年における無菌性髄膜炎の起因ウイルスとその流行の様相

1986年における無菌性髄膜炎の全国的流行の主

Table 2 NICU 内で発生した無菌性髄膜炎患者の検査成績

患 者 No.	生 年 月 日	発 病 月 日	ウイルス検査		血清検査		判 定	備 考
					急性期	回復期		
C-1	7. 2	7. 7	(-)	CB1	128	128	CB1?	院外より
C-2	6. 23	7. 12	(+)CB1	CB1	64	64	CB1	
C-3	6. 7	7. 13	(+)CB1	CB1	32	-	CB1?	
C-4	7. 3	7. 15	(+)CB1	CB1	256	-	CB1	
C-5	6. 7	7. 16	(+)CB1	CB1	4	-	CB1?	
C-6	7. 16	7. 22	(+)CB1	CB1	8	128	CB1	
E-1	6. 12	7. 19	(+)E 7	E 7	64	512≤	E 7	院外より
E-2	7. 3	7. 22	検体なし	E 7	4	512≤	E 7	院外より
E-3	7. 26	8. 4	検体なし	E 7	-	256	E 7?	院外より
E-4	5. 5	8. 20	(+)E 7	E 7	< 4	512≤	E 7	
E-5	5. 5	8. 24	(+)E 7	E 7	256	512≤	E 7	
E-6	6. 23	9. 4	(+)E 7	E 7	512≤	512≤	E 7	

(注) CB1 : コクサッキーウイルス B 1 型 E7 : エコーウイルス 7 型

Table 4 母親から新生児への抗体移行状況(CB1, E7)

	母	児	CB1	E7
No.1	母		8	< 4
	児		8	< 4
No.13	母		8	< 4
	児		4	< 4
No.19	母		8	< 4
	児		8	< 4
No.34	母		8	< 4
	児		8	< 4
No.35	母		16	32
	児		16	16
No.46	母		8	< 4
	児		4	< 4

な起因ウイルスは既に述べたようにE7によるものである。山口県においても著者らが下関市および柳井市の無菌性髄膜炎患者がE7に起因することを確認し、さらにポリオ流行予測感染源調査で防府市および柳井市の無症状児より多数のE7を分離していることから、県下にこのウイルスの広汎な浸淫のあったことが判明した。E7について流行の様相をいまいし詳しく知るために血清疫学的調査をおこなったが、今回の流行では抗体保有率の特に低かった10才未満と比較的保有率の低かった20才代を中心に感染がおり、10才代および30才以上では感染者が少なかったものと思われる。

CB1の流行に関して1986年に全国的な流行は認められなかったが、山口県においては下関市でCB1による無菌性髄膜炎患者を確認し、無症状児からも防府市を中心に多数のCB1を分離していることから、県内ではかなりの浸淫のあったことが判明した。

以上のことから、1986年の山口県における無菌性髄膜炎の流行は、全国的な流行の一環としてのE7の流行と山口県内での地域的なCB1による流行の二つが主流をなしていたと言える。

例年、流行予測調査におけるウイルス分離率は4~10%程度であるが、1986年は70%以上にもおよんだ。施設内での遊戯中の濃厚な接触が高感染

率の原因のひとつと考えられるが、これだけでは説明しがたく、あるいはウイルスそのものの感染力の強さも関与しているかもしれない。

2. NICUにおける流行の様相とその感染予防について

NICU内で流行がおこったバック・グラウンドとして、低年齢層と妊娠適齢期を含む20才代の中和抗体保有率が低く、母子ともに感染の可能性の高いことがあげられる。産科外来の妊婦の中和抗体保有率が流行末期にCB1で42.7%、E7で56.2%の低率であったこともこのことを裏付けている。このような抗体レベルのもとで、母子感染によると思われる日令6日で発症した外来患者の入院により室内にCB1が持ち込まれ、オムツ交換などの機会を通してウイルスが伝播したものと考えられる。E7については外来よりの入院患者を介しての感染が潜伏期などを考慮しても期間的にズレがあり、その因果関係は明らかではないが、CB1の場合のように未発症児も含めてその感染が室内で持続したのち、患者発生につながった可能性も否定できない。感染経路の把握と患者の病因確定には鳥居²⁾も指摘しているように、母親の検査を並行しておこなうことの必要性を痛感している。今回の流行例で患者の血清がシングルであったが、母親の抗体価より有意に高いことから、最近の感染であることを確定できた例もある。病院内の流行では従事者のウイルス学的、血清学的検査の必要なケースもあろう。

10月の同定不能ウイルスによる患者発生については、血清が採取できなかったために病因決定が難しいが、再度別の抗血清を用いてウイルス同定をおこなうことと、全国的な無菌性髄膜炎の病因ウイルスを探ることによってこれを推定することができる可能性はある。

今回のCB1およびE7による無菌性髄膜炎は、今までのNICU流行事例報告⁷⁾に見当たらない新しいウイルスによる事例であるが、1986年に他のNICUでもこれらによる流行の起きている可能性の大きいことが推測される。

以上のことから、今回のNICUにおける無菌性髄膜炎の流行は、7月にCB1、8~9月にE7、10月に同定不能の三つのウイルスの感染によってつぎつぎに室内感染がおこっている点で、その感染予防を考えるうえでの問題を提起しているとも

言えよう。また、従事職員の中和抗体保有調査で、妊婦に比して保有率の高いことや抗体価の高いものの多いことから、バイオハザードについても注意する必要がある。

NICUにおけるエンテロウイルスの感染経路に関して鳥居²⁾は「水平感染では家族ないし病院従業員であり、垂直感染は母体初感染による。近年、新生児室内での流行が著増しており、著者のおこなった全国調査でも過去14年間に40回にもおよぶ無菌性髄膜炎を伴う新生児室内ウイルス感染の流行が見出されたが、病院従事者が感染源とみなされた場合は少なく、むしろ母親または家族を重視すべき結果が得られている」と述べている。また、その予防に関しては、①散発例の早期発見と隔離、②発生時の分娩室よりの新しい新生児の移入の中止、③ウイルスに効果のある消毒剤の使用、④オムツの取り扱いの注意、⑤家族のNICUへの入室に際して、手洗い、マスク着用などでウイルスの持ち込みを厳重に阻止すること、をあげている。

下関市の総合病院NICUは1980年に創設されたが、今回のようなウイルス感染による流行は今まで認められなかった。流行に際しての感染予防対策としては、①外来者の入室禁止、②授乳時の感染防止のための母親の入室制限、④患児の隔離、⑤病院従事者の消毒剤使用による感染防禦、などの対策を採った。しかし、感染防禦は非常に困難で、流行の完全阻止にいたらなかった。NICU従事者の場合、一日の手洗い回数はかなり多く、消毒剤による手荒れを防ぐ方法など現実に合ったきめ細かい対策も必要であろう。いずれにしても新生児学会を中心に研究が進められ、早急な予防対策の改善が望まれる。

新生児無菌性髄膜炎の神経学的予後に関しては頭囲、IQの発達低下や言語の発達遅滞⁹⁾、脳萎縮や脳波異常⁹⁾などが報告されているので、今回の患児については追跡調査をおこなっていく予定である。

V. まとめ

1. 1986年の山口県における無菌性髄膜炎の流行は主としてエコーウイルス7型およびコクサッキーウイルスB1型によるもので、患者数は206名におよぶ。県としては中規模の流行であった。

2. 血清疫学的調査の結果、エコーウイルス7型については中和抗体保有率の低い低年齢層と妊

娠適齢期を含む20才代が主として感染した。

3. 7月から10月にかけて、新生児集中治療室における流行事例としては初めてのウイルス型であるコクサッキーウイルスB1型、エコーウイルス7型および同定不能のウイルスによる無菌性髄膜炎の流行があった。全例症状は軽度であり、発熱が主体で重症化したものはなかった。

感染防止については可能なかぎり予防対策を講じたが防禦は困難を伴った。

今後の研究により早急な対策が望まれる。

謝 辞

稿を終わるにあたり、御助言と文献の恵与をいただいた田附興風会医学研究所 北野病院小児科部長 鳥居昭三博士に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Center for Disease Control: Enteric and neurotropic viral disease surveillance. Enterovirus infections. Public Health Service, 1977.
- 2) 鳥居昭三: 新生児無菌性髄膜炎. 周産期医学 15(11): 226~231, 1985.
- 3) 鳥居昭三: 新生児・乳児初期の無菌性髄膜炎 小児科, 27(2): 131~139, 1986.
- 4) 岡田雅裕他4名: 山口県におけるエンテロウイルスの疫学的研究. その2. 1964~1967年の無菌性髄膜炎の流行とその血清疫学. 山口県衛生研究所業績報告, (4): 67~79, 1967.
- 5) 岡田雅裕他4名, 山口県におけるエンテロウイルスの疫学的研究. その3. 1983~1984年の無菌性髄膜炎の流行とその血清疫学. 山口獣医学雑誌, (12): 67~74, 1985.
- 6) エコー7による無菌性髄膜炎: 1986. 病原微生物検出情報, 8(1): 1&24, 1987.
- 7) 鳥居昭三: 新生児ウイルス性中枢神経系感染症に関する全国実態調査報告. 厚生省心身障害研究新生児管理班, 昭和59年度.
- 8) Sells, C. J., Carpenter, R. L., et al.: Sequelae of central nervous system Enterovirus infections. *N. Engl. J. Med.*, 293: 1~4, 1975.
- 9) 中野省三・石丸啓郎: 乳幼児無菌性髄膜炎の長期予後. 日小児会誌, 85: 1686~1690, 1981.

山口県におけるA群溶血レンサ球菌の 菌型推移(1984~1986年)

片山 淳*1・山縣 宏*1・田中一成*1・鈴木英太郎*2
松岡和人*3・磯村三津子*4

(受付:1987年10月15日)

TREND OF DISTRIBUTION OF THE TYPE OF GROUP A *STREPTOCOCCI* IN YAMAGUCHI PREFECTURE FROM 1984 TO 1986

Atsushi KATAYAMA, Hiroshi YAMAGATA and Kazushige TANAKA

*Division of Microbiology, Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health,
2-5-67, Aoi, Yamaguchi City, Yamaguchi Prefecture, 753 Japan*

Eitaro SUZUKI

Suzuki Pediatric Clinic, Nishikiwa, Ube City, Yamaguchi Prefecture, 755-01 Japan

Kazuto MATSUOKA

Matsuoka Pediatric Clinic, Konan, Ube City, Yamaguchi Prefecture, 759-02 Japan

Mitsuko ISOMURA

Ube Kosan Central Hospital, Nishikiwa, Ube City, Yamaguchi Prefecture, 755-01 Japan

(Received for publication : October 15, 1987)

Despite remarkable progress in modern chemotherapy, the infectious disease of *Streptococci* is not under control. It is still one of the routine common diseases. Currently *Streptococci* have been recognized as a causative agent of neonatal meningitis and also septicaemia.

From November 1984 to December 1986, a total of 415 samples of group A *Streptococci* were isolated from patients of acute angina and acute tonsillitis of a children's hospital in Ube City of Yamaguchi Prefecture. The following results are indicated by T - typing test of those samples.

- 1) Of all the patients 48.9% belonged to the age group of 4 to 6 years.
- 2) The maximum number of samples was recorded from November to December while the minimum was in the period of August to September.

* 1 山口県衛生公害研究センター * 2 鈴木小児科医院 * 3 松岡小児科医院
* 4 宇部興産中央病院

- 3) The main types of *Streptococci* were T-3 (30.6%), T-12 (27.7%), and T-4 (23.4%) of the three, T-3 was maximum in January 1986 and gradually decreased thereafter. T-3 is not the main type any more.
- 4) One of significant findings was that a given patient was repeatedly infected with identical or / and different types of *Streptococci*. Causative types of those instances were T-12 and T-4.

1. はじめに

溶血レンサ球菌（溶連菌）感染症の重要性は単に、しょうこう熱（法定伝染病）のみならず、この菌が全身各臓器組織に親和性をもち、上気道感染（扁桃炎、咽頭炎）を初めとする多彩な病像を発現する日常的頻発感染症であることであろう。近年、この菌が新生児髄膜炎、敗血症の起病因菌として改めて関係者の関心をひくようになってきた。

現在、レンサ球菌は、菌の細胞壁表層に存在する多糖体抗原によって20に群別（Group）され、このうちβ型溶血を示すA群は病原的意義が際立って大である。このA群は凝集反応（T型別）または沈降反応（M型別）によって型（Type）に細分される。実際問題として、検出分離した溶連菌の群別、型別調査は感染、流行に関連する疫学的背景の解明と防疫に際して不可欠である。

今回、宇部市内の調査客体（主として小児）から検出分離したA群溶連菌の菌型とその推移を調査した。

2. 材料および方法

供試菌株：1984年11月～1986年12月にかけて宇部市内のSおよびM小児科医院の急性咽頭炎、急性扁桃炎患者から分離したA群溶連菌415株。

T型別検査：デンカ生研製の型別抗血清を使用

3. 成績

1) 年齢、性別

患者の年齢分布は5才児（17.1%、71名）をピークに、4～6才児が全体の48.9%（203名）、1～13才児では96.2%（399名）を占め、その他は14～16才0.7%（3名）、成人1.2%（5名）、年齢不明1.9%（8名）である（Fig. 1）。

なお、患者構成比（♂209, ♀206）において性

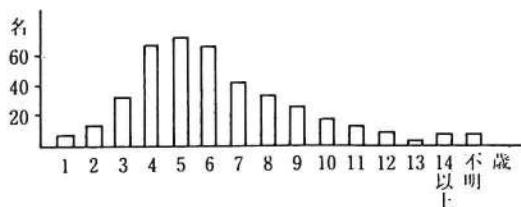


Fig. 1 溶連菌検出者の年齢分布

差は認められない。

2) 月別検出状況

分離菌株数は8～9月が最も少く、11～12月が最も多い（Fig. 2）。

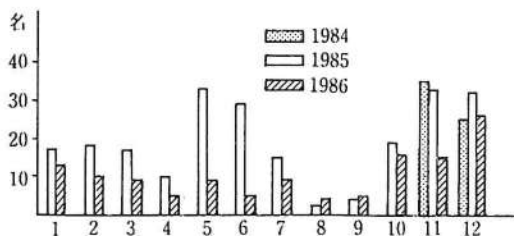


Fig. 2 月別検出状況

3) 菌型分布

分離菌415株中405株は11種類の型に分類され、残りの10株は型別できなかった。最多検出菌型は3型（30.6%）、ついで12型（27.7%）、4型（23.4%）である。この三菌型が全体の81.7%（339株）を占め、その他に1型、28型、22型、11型、13型、B3264型、8型および6型が検出された。

3型は1984年11月（調査開始）～1985年12月の間、各月とも検出頻度が高かったが、1986年1月からは減少傾向を示したのに対して、12型あるいは4型はほぼ毎月高率に検出され、なおまた、1型、11型は秋から冬にかけて、28型は1985年12月まではほぼ連続検出中であつたが、その後1986年7月を除いて消失し、22型は毎年冬期のみ

に、13型は散発的に出現している。その他、B3264型は1986年11月初検出、8型は1985年8月～翌年2月にかけてのみ、6型は1985年2月以降完全に消息を絶っている (Table 1)。

同一患者から検出分離される溶連菌 (25名) の経時的菌型変遷とその推移は、初回分離株と13

～16日後分離株の菌型が全く同一であること、また、これ以後の分離株は当初の菌型と異なることが多い事実が判明した。しかしながら同一菌型 (4型, 12型) を再分離する症例も認められる (Table 2, 3)。

Table 1 T型別検出状況

菌型	'84		'85												'86												月計	%	
	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
3	14	8	7	7	14	4	15	8	5		1	8	10	13	2	1	2		4	1					1	2	127	30.6	
12	11	6	4	4	2	5	8	14	8	1	2	1	7	8	3	4	4	1	2	1		2	3	3	3	8	115	27.7	
4	4	8	4	4	1		5	5					2	9	6	6	2	3	2	2	3	8	2		9	2	10	97	23.4
1												4	3	1		1									1	4	6	20	4.8
28	1		2	1		1	4	1	1					1	2						1							15	3.6
22	4														2											1		7	1.7
11											1	3	2												1			7	1.7
13				1		1	1					1													1			5	1.2
B3264																										3	2	5	1.2
8										1		1	1	1														4	1.0
6	1	1		1																								3	0.7
型別不能		2							1					1	1		2	1						2				10	2.4
計	35	25	17	18	17	10	33	29	15	2	4	19	33	32	13	10	9	5	9	5	9	4	5	16	15	26	415		

Table 2 同一患児再分離例 (1)

検出間隔	菌	型
1カ月	4 → 4	12 → 12
	1 → 1	12 → 12
2カ月	UT → 4	
3カ月	12 → 4	4 → 4
5カ月	3 → UT	4 → 4
6カ月	12 → 4	
8カ月	4 → 28	
9カ月	12 → 12	
10カ月	28 → 12	
13カ月	3 → 12	
14カ月	12 → 12	12 → B3264
15カ月	4 → 3	
16カ月	3 → 4	
19カ月	12 → 4	
23カ月	28 → 4	

Table 3 同一患児再分離例 (2)

菌型	検出間隔	菌型	検出間隔	菌型
4 → (1カ月) → 4	(1カ月) → 4	4 → (1カ月) → 4		
4 → (〃月) → 4	(11カ月) → 3			
28 → (〃月) → 12	(12カ月) → 3			
28 → (11カ月) → 12	(14カ月) → 4			
3 → (13カ月) → 12	(9カ月) → 12			

4. 考 察

小児上気道感染症の起因体には、ウイルス、細菌、マイコプラズマ、等々、多様なものが挙げられているが⁵⁾、A群溶連菌感染症は、法定伝染病 (しょうこう熱) としてのみならず、日常的多発呼吸器感染症の面からも重要度において筆頭に位置する。事実、本症は古くて常に新しい問題であり、防疫上の見地から不断かつ永続的な起因菌の菌型の動向、推移を把握することが不可欠である。

月別分離菌株数は、8～9月が最も少ない。ち

なみに、山口県感染症サーベイランス事業の資料によると、溶連菌感染症の月別患者数は8～9月が最少で、冬期11月から翌年2月にかけて最も多い。これは明らかに、宇部市内の小児科医院からの溶連菌分離状況と山口県内の患者発生状況とよく一致することを示している。このことは菌型分布とも連動し、分離菌株の多い時期は菌型の種類も多彩であるが、少ない時期は2～3の主要菌型のみでの検出となる。すなわち、冬期に出現し、夏期には消失するパターンが繰り返され、菌型の推移と気候との関連も注目しなければならない。

菌型は3型、12型、4型の検出頻度が高い。全国的な主要流行菌型は12型、4型、等々であるが、これらは地域⁴⁾、年度⁵⁾によって必ずしも一定かつ恒常的なものではないから、地域ごとの常時、永続的な調査が必要である。なお、検出頻度が最も高かった3型は1985年の終りまでは優勢菌型であり、他県⁶⁾でも増加傾向を示している。しかしながら、本県では以後減少傾向を示し、流行菌型の変動が認められたことから全国レベルでの3型の動向に興味もたれる。

同一患者が菌型を異にして再感染を反復することを確認したが、さらにまた、12型、4型は同一菌型の再感染の可能性が濃厚である。“可能性”の根拠として、今回の調査がT型別法のみで換り、感染防禦の解釈に不可欠のM型別は併施していないことが挙げられる。TとM型別はよく一致する型としないものがあり、村井³⁾は12型の一致率は79.9%と報告していることから、あるいは感染時期によってM型が異なることや、早期治療によって抗体が産生されなかった場合等が考えられる。

5. まとめ

1984年11月～1986年12月にかけて宇部市内2ヵ所の小児科医院の急性咽頭炎、急性扁桃炎患者から分離したA群溶連菌415株の菌型とその推移

を調査した。

1. 患者の年齢は5才児(17.1%)をピークに4～6才児(48.9%)が最も多く、月別分離菌株数は8～9月が少なく、11～12月が多い。

2. 主要検出菌型は3型(30.6%)ついで12型(27.7%)、4型(23.4%)である。その他、1、28、22、11、13、B3264、8および6型を検出した。

3. 3型は1984年11月(調査開始)～1985年12月の間は検出頻度が高かったが、以後衰退し、主要菌型から脱落した。

4. 同一患者でも菌型を異にして、あるいは同一菌型(特に12型、4型)で再感染が繰り返されることを明らかにした。

文 献

- 1) 飯村 達・永瀬金一郎：猩紅熱患者分離A群レンサ球菌菌型23年間の変遷。感染症学雑誌, 56(11):1092～1102, 1982.
- 2) 児玉博英・徳満尚子・安井伊津子・刑部陽宅・柏木義勝：臨床材料由来溶血レンサ球菌の群・型別分布——特に富山県における1985年のA群3型菌の増加傾向——。感染症学雑誌, 61(4):482～488, 1987.
- 3) 村井貞子・稻積温子・野上和加博・懸 俊彦・徳丸 実・村田篤司：小児科外来診療における溶血性連鎖球菌感染症の長期的研究——患者の概要、診断、分離菌株について——。感染症学雑誌, 61(4):471～481, 1987.
- 4) 中島邦夫・奥山道子・奥田 清：全国的にみた溶血レンサ球菌の疫学的研究——7府県の小・中学生の咽頭分離の溶血レンサ球菌を対象にして——。感染症学雑誌, 59(9):905～913, 1985.
- 5) 上田 泰 編集：感染症学 基礎と臨床, 582～614. グロビュー社, 東京, 1983.

牛の肝蛭症防除に関する研究

3. 肝蛭自然感染牛のトリクラベンダゾール投薬駆虫後の EPG 推移の検討

白水完治*・阿武雅夫*

(受付 : 1987年9月20日)

THE PREVENTIVE INVESTIGATION OF *BOVINE FASCIOLIASIS*

3. EFFECT OF ANTITREMATODAL ANTIHELMINTHICS, *TRICLABENDAZOLE*, ADMINISTRATION TO EPG OF NATURAL INFECTION OF *BOVINE FASCIOLIASIS*

Kanji SHIRAMIZU and Masao ABU

The Veterinary Hospital, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677 - 1,
Yoshida, Yamaguchi City, 753 Japan

(Received for publication : September 20, 1987)

Triclabendazole, one of antitrepatodal drugs, was administered to 18 Japanese cattle to examine their EPG of *Fasciola spp.* They were fed rice straw at different initial time from one farmer to another. After administration of the drug, all examined animals were devoid of eggs more than 55 days, establishing the antitrepatodal efficaciousness of *Triclabendazole*. Cows fed with fresh rice straw increased their EPG, which indicated their infection with *metacercaria*. Longer period of EPG negative was found in animals that were fed rice straw from January, three months after the harvest of rice. It was implicative that preservation of rice straw for a certain period before feeding cows could be an incomplete but preventive procedure for *bovine fascioliasis*.

牛に感染した肝蛭に対する *Benzimidazole* 系化合物トリクラベンダゾールの駆虫効果については、阿武ら³⁾のほか、^{5,7,18,15,16,20)}によって、良好な成績が報告されている。

肝蛭の駆虫時期については、主感染源である稲藁給与開始期や稲藁被囊メタセルカリア (*Mc*) の感染力保持期間などを考慮して設定が必要である^{9,10,11,12,13,18)}。また予防策として、収穫した新しい稲藁 (新藁) の給与を避ける方法も知られている^{9,12)}。

今回山口県山間畜産地域の農家で飼育されている繁殖和牛について、新藁を異った時期に給与開始した場合におけるトリクラベンダゾール投薬駆虫後の肝蛭 EPG の推移を検討した。

材料及び方法

1. 実験期間
昭和61年10月から昭和62年3月まで
2. 農家別の稲藁給与状況と供試牛及び投薬時期
農家3戸の繁殖成雌和牛18頭を使用した。そ

* 山口大学農学部付属家畜病院

Table 1 農家別新薬給与及びトリクラベンダゾール投薬

農家	稲薬給与状況	牛 No	投薬日
S	9月中旬より 新薬給与開始	{ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8,	10月9日
			1月9日
F	10月上旬より 新薬給与開始	{ 2, 3, 4, 1, 5,	10月9日
			1月9日
K	12月末まで前年 稲薬(旧薬)、1月 より新薬給与開始	{ 1, 2, 3, 4, 5,	10月23日

の区分を〔Table 1〕に示した。

- トリクラベンダゾール投薬量及び投薬方法
10%懸濁液を12mg/kg 1回、経口投薬した。
- 糞便採取及びEPG算定
投薬前から2～4週間隔で、午前9時より3時間以内の新鮮な糞便を採取し、ビーズ法によって1検体につき5回繰り返し算定した。

成 績

S農家8頭のEPGの推移を〔Table 2〕に示した。牛No.1～5は10月9日に投薬後EPG 0で推移したが、12月18日4/5頭が虫卵陽性となり、1月9日以後は5頭すべてEPG 1以上が認められた。牛No.6～8は、10月23日から11月5日に虫卵陽性となり以後EPGは増高したが、1月9日投薬後は3月19日の実験終了までEPG 0で推移した。

F農家5頭のEPGの推移を〔Table 2〕に示した。牛No.2～4は10月9日投薬後EPG 0で推移し、1月9日に2/3頭が虫卵陽性となり、1月23日以後3月19日まで3頭ともEPGの増加を示した。牛No.1及び5は10月23日又は11月5日以後EPG 1～7で推移し、1月9日投薬後は3月19日までEPG 0を示した。

K農家5頭のEPGの推移を〔Table 3〕に示した。牛No.1～5は投薬前にEPG高値を認めたが、10月23日投薬後2月19日までEPG 0で推移し、3月19日には2/5頭がEPG最小値を示した。

考 察

トリクラベンダゾール投薬後のEPGの推移は、供試牛18頭全頭が55日以上EPG 0を持続し、

良好な駆虫成績が認められた。

肝蛭自然感染牛に対するトリクラベンダゾールの駆虫効果について、河野ら⁸⁾、渡辺ら²⁰⁾は6 mg/kg及び12mg/kgの投薬後8週まで虫卵は陰性であったとしている。しかし、阿武ら³⁾は6 mg/kgの投薬後5/13頭に虫卵陽性を認め、本実験と同様の12 mg/kgの投薬によって8週後まで虫卵陰性の持続を確認し、有効と判定している。

10月9日に投薬したS及びF農家の8頭について、投薬時はすでに9月中、下旬より給与を開始した新薬の被囊Mcによる感染期であり、感染未成熟虫が存在していたと思われる。このことは1月9日に投薬したS及びF農家の5頭における10月23日から1月9日までのEPG増加の推移から推察される。

実験動物の肝蛭感染未成熟虫に対するトリクラベンダゾールの駆虫効果について、羊の人工感染後2週～6週に10mg/kg投薬して87.5%～100%の駆虫率^{6,14,17,21)}、また羊の感染後1日に12.5mg/kg投薬で90.4%、15mg/kg投薬で98%、感染後1, 2及び4週の10mg/kg投薬でそれぞれ92.5%、100%、100%、の駆虫率が報告されている⁴⁾。肝蛭の感染から排卵開始までの日数はおよそ75日～85日¹⁹⁾とされていることから、感染開始後に投薬してその後55日以上EPG 0持続の推移は、未成熟虫駆虫の有効性を示している。

またその投薬後に虫卵陽転した時期と以後のEPGの推移から、投薬後も感染が始まったことが推察され、薬剤残留による感染阻止はほとんどなかったと思われる。

収穫直後から新薬を給与するS及びF農家において、感染子虫を殺滅して虫卵陰性を夏季まで持続するためには、10月9日及び1月9日の投薬前後のEPGの推移から、新薬感染期におよそ1.5か月間隔で投薬が必要と思われる。

投薬前EPGが高値であったK農家は、投薬後119日までEPG 0で推移したが、駆虫効果とともに12月末まで新薬を給与しない予防方法の有効性を示している。3月19日にK農家の2/5頭でEPG 1が認められたことについて、当地域では稲薬の各種の保管環境²⁾と関連して4月の感染も推測され¹⁾、1月以後に給与した新薬による感染と考えることができる。

新薬給与開始時期の異なる農家の牛について、ト

Table 2 トリクラベンダゾール投薬前後のEPGの推移 (S及びK農家飼育牛)

農家牛No	投薬前 (月/日)	投薬 (月/日)	投薬後 10/23	EPG・EPG・月/日											
				11/5	11/20	12/4	12/18	1/9	1/23	2/5	2/19	3/19			
S	1	3,2,1,1,1, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	2,1,0,0,0, (10/9)	2,2,1,1,0, (10/9)	5,3,2,1,1, (10/9)	5,3,2,1,1, (10/9)	5,3,2,1,1, (10/9)	2,2,1,1,1, (10/9)	2,2,1,1,1, (10/9)	6,6,4,1,1, (10/9)	
	2	3,3,2,1,1, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	4,3,1,1,1, (10/9)	3,1,1,0,0, (10/9)	3,2,1,0,0, (10/9)	3,2,1,0,0, (10/9)	3,2,1,0,0, (10/9)	4,2,2,1,0, (10/9)	4,2,2,1,0, (10/9)	4,3,3,1,1, (10/9)	
	3	12,11,11,9,7, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	1,0,0,0,0, (10/9)	3,2,2,1,1, (10/9)	3,2,2,1,1, (10/9)	3,2,2,1,1, (10/9)	2,2,1,1,0, (10/9)	2,2,1,1,0, (10/9)	2,2,2,1,1, (10/9)	
	4	3,3,2,1,1, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	2,0,0,0,0, (10/9)	4,2,1,0,0, (10/9)	2,1,1,1,0, (10/9)	2,1,1,1,0, (10/9)	2,1,1,1,0, (10/9)	4,1,1,1,1, (10/9)	4,1,1,1,1, (10/9)	2,2,1,1,1, (10/9)	
	5	1,1,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	1,0,0,0,0, (10/9)	1,0,0,0,0, (10/9)	1,1,1,0,0, (10/9)	1,1,1,0,0, (10/9)	1,1,1,0,0, (10/9)	2,1,1,1,0, (10/9)	2,1,1,1,0, (10/9)	3,3,1,1,1, (10/9)	
	6	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	1,1,0,0,0, (1/9)	3,2,0,0,0, (1/9)	4,3,3,1,1, (1/9)	5,3,2,0,0, (1/9)	6,5,5,3,2, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)
	7	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	1,1,1,0,0, (1/9)	2,2,0,0,0, (1/9)	3,0,0,0,0, (1/9)	4,3,2,2,1, (1/9)	3,3,1,1,1, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)
	8	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	1,0,0,0,0, (1/9)	1,0,0,0,0, (1/9)	2,2,1,1,0, (1/9)	3,3,1,1,0, (1/9)	4,4,3,3,1, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)
F	2	1,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	2,0,0,0,0, (10/9)	2,2,1,1,0, (10/9)	5,3,2,1,1, (10/9)	5,3,2,1,1, (10/9)	2,2,1,1,1, (10/9)	2,2,1,1,1, (10/9)	2,2,1,1,1, (10/9)	6,6,4,1,1, (10/9)	
	3	2,1,1,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	4,3,1,1,1, (10/9)	3,1,1,1,0, (10/9)	3,2,1,1,1, (10/9)	3,2,1,1,1, (10/9)	4,2,2,1,1, (10/9)	4,2,2,1,1, (10/9)	4,3,3,1,1, (10/9)		
	4	2,2,1,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	0,0,0,0,0, (10/9)	1,1,0,0,0, (10/9)	3,2,2,1,1, (10/9)	3,2,2,1,1, (10/9)	2,1,1,1,0, (10/9)	2,1,1,1,0, (10/9)	2,2,2,1,1, (10/9)		
	1	0,0,0,0,0, (1/9)	3,2,2,1,1, (1/9)	5,5,4,2,1, (1/9)	4,2,1,1,1, (1/9)	5,5,2,1,0, (1/9)	3,2,2,1,1, (1/9)	7,7,4,4,3, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	
	5	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	1,1,1,1,0, (1/9)	4,2,2,1,1, (1/9)	5,5,2,2,2, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	0,0,0,0,0, (1/9)	

EPG:ヒーズ法, 糞便1検体5回繰り返し算定

Table 3 トリクラベンダゾール投薬前後のEPGの推移 (K農家飼育牛)

農家牛No	投薬前 10/23	投薬 (月/日)	投薬後 11/5	EPG・月/日										
				11/20	12/4	12/18	1/9	1/23	2/5	2/19	3/19			
K	1	3,2,1,1,1, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	1,0,0,0,0, (10/23)
	2	8,5,4,4,3, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	1,0,0,0,0, (10/23)
	3	6,5,3,3,2, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)
	4	6,2,1,1,1, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)
	5	13,12,11,10,9 (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)	0,0,0,0,0, (10/23)

EPG:ヒーズ法, 糞便1検体5回繰り返し算定

リクラベンダゾールの投薬時期を変えて EPG の推移を検討したが、感染未成熟虫に有効な駆虫薬を投薬しても、その後まもなく感染が繰り返されて、成熟し排卵することが確認された。投薬を1.5ヵ月間隔で数回実施すれば虫卵陰性での推移が推察されたが、感染が持続する状態では感染子虫による肝損傷の防止などの防除に限界があることが示された。

同一地域内で飼育されている乳用牛では、投薬時期の制約もあってその損害は大きいものと推察される。

K農家が実施した新薬の給与開始時期の遅延をさらに延長する予防方法は、稲藁被囊 *Mc* の感染力保持期間^{9,12,13,18})を考慮すれば極めて有効であるが、旧・新薬の確保、旧薬の品質保持と嗜好性低下の防止及びその保管場所設置などの諸条件の検討が必要と思われる。

文 献

- 阿武雅夫, 白水完治, 田中幹郎, 原 行雄, 中間實徳, 大塚宏光: 牛肝蛭 EPG 推移の成績, 獣医畜産新報, (742): 253~257, 1983.
- 阿武雅夫, 白水完治: ウシの肝蛭症防除に関する研究, 1. 山口県山間地域における稲藁保管環境(温度・湿度)の検討, 山口獣医学雑誌, (12): 89~96, 1985.
- 阿武雅夫, 白水完治: 肝蛭自然感染牛に対するトリクラベンダゾールの駆虫効果, 日本獣医師会雑誌, 40.
- Boray, J. C., Crowfoot, P. D., Strong, M. B. and Allison, J. R., : Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infection in sheep with *triclabendazole*. *Vet. Rec.*, 113, 315~317, 1983.
- Craig, T. M, and Huey, R. L., : Efficacy of *triclabendazole* against *Fasciola hepatica* and *Fascholoides magna* in naturally infected calves. *Am. J. Vet. Res.*, 45, 1644~1645, 1984.
- Dorchies, P., Franc, M. and Ducos DE Lahit T, E. J., : Study on activity of *triclabendazole* (DC 1) against *Fasciola hepatica* in lambs. *Rev. Med. Vet.*, 134. 231~234, 1983.
- Eckert, J., Schneiter, G. and Wolff, K., : FASINEX (*triclabendazole*) a new fasciolicide. *Berl. Munch. Tieraerztl. Wochenschr.*, 91 : 349~356, 1984.
- 河野 宏, 矢野安正, 馬場 崇, 押川洋一: トリクラベンダゾールを用いた牛の肝蛭駆虫試験と血液性状の変化, 家畜診療, (280) : 37~40, 1986.
- 中島一男, 吉岡 豊, 青山 譲, 小山方玄, 吉原 忍: 牛肝蛭病防除のプログラム作成に関する基礎的研究, 第2報 稲藁の保存と肝蛭メタセルカリアの生存期間, 畜産の研究, 35 (2) : 71~72, 1981.
- 中島一男, 青山 譲, 吉岡 豊, 小山方玄, 吉原 忍: 牛肝蛭病防除のプログラム作成に関する基礎的研究, 第3報 駆除に関する調査および試験, 畜産の研究, 35 (5) : 67~68, 1981.
- 大脇雄三, 矢光 潤, 星野邦夫: 糞便中に排泄される肝蛭虫卵消長の長期観察. 家畜診療, (190) : 41~46, 1979.
- 佐藤裕一, 川村芳夫, 伊藤四郎, 早川 薫, 長山雄一: 稲わら付着肝てつメタセルカリアの感染力保持期間とその殺滅効果, 畜産の研究, 34 (1) : 73~75, 1980.
- 佐藤裕一, 早川 薫, 平詔 享, 上野 計: 仙台市における稲わらに付着した肝蛭メタセルカリアの感染力保持期間, 日本獣医師会雑誌, 32 : 145~148, 1979.
- Smeal, M. G. and Hall, C. A., : The activity of *triclabendazole* against immature and adult *Fasciola hepatica* ingestion in sheep. *Aust. Vet. J.*, 60 : 329~331, 1983.
- 平詔 享, 草野健一, 金子 進, 鈴木 恭, 伊藤進午: 肝蛭実験感染動物における *Triclabendazole* の効果, 1. 肝蛭成虫に対する駆虫効果. 第96回日本獣医学会講演要旨, 88 : 1983.
- 平詔 享, 草野健一, 金子 進, 鈴木 恭, 伊藤進午: 肝蛭実験感染動物における *Triclabendazol* の効果, 2. 肝蛭幼虫に対する駆虫効果. 第96回日本獣医学会講演要旨, 88 : 1983.
- Turner, K., Armour, J. and Richards, R.

- J., : Anthelmintic efficacy of *triclabendazole* against *Fasciola hepatica* in sheep. *Vet. Res.*, 114 : 41~42, 1984.
- 18) 上野 計, 平詔 享, 吉原 忍 : 稲わらに被
囊した肝蛭メタセルカリアの感染力保持期間,
家畜衛試研究報告, (76) : 5~9, 1978.
- 19) 上野 計 : 獣医臨床寄生虫学, 125, 文永堂,
東京, 1979.
- 20) 渡辺昭夫, 早坂雅孝, 熊谷 克 : 管内K町に
おける牛肝蛭症の防除対策, 家畜診療,
(288) : 7~12, 1987.
- 21) Wolff, K., Eckert, J., Schneiter, G. and
Lutz, H., : Efficacy of *triclabendazole* aga-
inst *Fasciola hepatica* in sheep and goats.
Vet. Parasit., 13 : 145~150. 1982.

山口県山間畜産地帯における乳牛の体腔内金属異物 及び胃内存置磁石の検診成績

白水完治*・阿武雅夫*

〔受付：1987年7月20日〕

DETECTION OF METALIC FOREIGN BODIES IN BODY CAVITY AND GASTRIC MAGNET IN MILK COWS IN MOUNTAINOUS DISTRICT OF YAMAGUCHI PREFECTURE

Kanji SHIRARIZU and Masao ABU

*The Veterinary Hospital, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1,
Yoshida, Yamaguchi City, 753 Japan*

〔Received for publication : July 20, 1987〕

Metalic foreign bodies in the body cavity and magnet in the reticulum of 198 milk cows raised in a mountainous area of Yamaguchi Prefecture were surveyed. Of those 198 cows, 80 had metalic foreign bodies in or in the vicinity of their reticulum. Fifteen others of those cow had such metalic foreign bodies apart from the magnet. The magnet was confirmed in 107 cows and the retention rate of the magnet varied from 0 to 100 % from one breeder to another. Natural loss of the magnet was seen in three cows.

金属異物の摂取に起因するウシの創傷性疾患については広く熟知され、予防処置として各種の胃内存置磁石の投与^{1,2,4)}が実施されている。近年輸入飼料の中の金属片混入なども関連して、多くの発症例が報告されている^{2,8,9)}。

今回山口県山間畜産地帯で飼育されている乳牛の体腔内金属異物及び胃内存置磁石について検診をしたので、その成績を報告する。

2. 検診期間：昭和61年4月17日～7月3日
3. 金属異物検知器：アニロケータ（フジタ製薬 NY-83）
4. マグネット検知器：SA-1及びSA-2⁵⁾。
5. 記録：金属異物検知用投影図³⁾を一部変更した図（Fig. 1）によって、検知位置を記録した。隣接臓器との辺縁部の位置は、臓器番号を「一」で併記した。

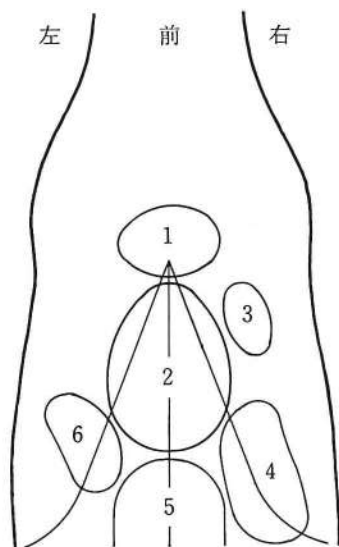
材料及び方法

1. 検診対象牛：山口県山間地の酪農家19戸で飼育されている1.5～9才の乳牛189頭。

成 績

金属異物の検知及び磁石存置の成績を（Table. 1）に示した。198頭のうち86頭 43.5%に金属異物を検知し、磁石の非存置は71頭 35.9%であった。

* 山口大学農学部付属家畜病院



- ※1: 心臓, 横隔膜領域
 2: 第2胃領域
 3: 肝臓領域
 4: 第4胃領域
 5: 第1胃領域
 6: 脾臓領域

Fig. 1 体腔内金属異物及び胃内存置磁石の検知記録用図

他の15頭7.6%は存置磁石と別の位置で金属異物が検知された。

金属異物非検知は112頭 56.5%であった。そのうち磁石非存置は20頭 10%, 磁石存置は92頭 46.5%に認められたが, 磁石に付着している金属異物についての成績は含まれていない。

金属異物を検知し磁石は非存置の71頭の検知位置を (Table. 2) に示した。1ヵ所で検知は44頭 62%, 2ヵ所以上での検知は26頭 38%で, 第2胃及びその辺縁部で多く検知された。

存置磁石とは別の位置で金属異物を検知した15頭の検知位置を (Table. 3) に示した。第2胃の辺縁部で検知された。

磁石存置別農家戸数を (Table. 4) に示した。19戸のうち80~100%存置は7戸であったが, 存置0%が5戸にみられた。

磁石非存置91頭の年齢別の金属異物検知成績を (Table. 5) に示した。金属異物検知は調査牛の全年齢層にみられたが, 非検知は7才以下に認められた。

Table 1 体腔内金属異物検知及び胃内存置磁石の成績

区分	頭数	%	
検知	磁石非存置	71	35.9
	磁石存置	15	7.6
	小計	86	43.5
非検知	磁石非存置	20	10
	磁石存置	92	46.5
	小計	112	56.5
合計	198	100	

Table 2 体腔内金属異物(磁石非存置)の検知位置

検知位置数	検知位置	頭数
1	2	18
	2-1	2
	2-3	4
	2-4	1
	2-5	5
	2-6	4
	4	2
	5	6
	5-6	1
	6	1
小計		44 (62%)
2	2, 1-2	1
	2, 2-3	2
	2, 2-5	3
	2, 2-6	1
	2, 4-5	2
	2, 5	9
	2, 5-6	1
	1-2, 2-3	1
1-2, 2-5	3	
2-4, 2-5	1	
小計		24 (33.8%)
3	2, 2-6, 2-6	2
	1-2, 1-2, 2-6	1
小計		3 (4.2%)
合計		71

磁石存置についての飼育者の稟告と、検査成績を (Table. 6) に示した。存置の稟告の99頭中3頭に磁石は存在しなかったが、存置不明の稟告では26頭のうち15頭に磁石は確認されなかった。磁石が存置していた107頭は、すべて第2胃底部で確認された。

考 察

体腔内金属異物検知器による検査について、胃内に砂鉄が存在した場合には創傷性疾患の原因物探索に不利との見方がある²⁾が、使用した機器は、指向性を考慮した操作法によって砂鉄と金属物との判別が可能となっている。

創傷性疾患の原因は、主として牛舎周辺及び自家産粗飼料に混在する金属片の摂取によると考えられてきたが⁶⁾、輸入飼料のヘイキューブの中に種々の金属片が混入していることが判明し、この給与による発症が報告されている²⁾。また最近ではアジア地域から輸入されている多くの粗飼料にも夾雑物が多く、本病の予防は益々困難と思われる。

本病の予防方法として、磁石の胃内存置が有効であることが知られているが^{1,2)}、検査した198頭のうち107頭 54%に胃内存置磁石が確認された。磁石の存置率は、北海道の北部及び東部で42%⁷⁾、また一地区で48.3%⁹⁾、千葉県の一地区では64.1%²⁾の報告とほぼ同率の成績で、その普及率は比較的低いことが判明した。農家によって存置率が0%から100%までみられ、予防効果の啓蒙普及が必要と思われた。

金属異物を検知した86頭のうち71頭は磁石が存置せず、他の15頭は磁石と別位置で検知された。金属異物非検知で磁石存置の92頭の磁石に付着している金属異物の有無は、使用した機器の特性上判別はできなかった。山田ら⁷⁾はX線による診断で、2037頭中1705頭 83.7%に金属異物を認めている。そのうち磁石の非存置は957頭 47%で、磁石に付着していた金属異物を含め97.8%は鋭性物であったと報告している。本調査の成績は、磁石に付着した金属異物を除外しているため単純に対比できないが、創傷性疾患の原因物あるいはそれによる不顕性病変が高率に存在することが推察される。

磁石非存置での金属異物検知位置は、第2胃及

Table 3 胃内磁石存置牛の体腔内金属異物検知位置

検知位置数	検知位置	頭数
1	1 - 2	1
	2 - 5	7
	2 - 6	1
	4 - 5	2
	5	3
2	1 - 2, 2 - 4	1
		合計 15

Table 4 異内磁石存置率別農家戸数

磁石存置率%	農家戸数
100	3
80 - 99	4
60 - 79	2
40 - 59	4
20 - 39	1
1 - 19	0
0	5
計 19	

Table 5 胃内磁石非存置牛の年齢別体腔内金属検知成績

牛年齢 (才)	金属検知頭数	金属非検知頭数
1.5 - 2	5	3
2 - 3	10	4
3 - 4	12	3
4 - 5	9	5
5 - 6	17	1
6 - 7	8	4
7 - 8	4	0
8 - 9	4	0
9 - 10	2	0
合計	71	20

Table 6 胃内磁石存置について稟告と検査成績

稟告	頭数	検診成績	
		磁石存置	磁石非存置
磁石存置	99	96	3
磁石非存置	73	0	73
磁石存置不明	26	11	15
合計	198	107	91

びその辺縁部が最も多かったが、71頭中27頭は2ヵ所又は3ヵ所に分離して検知された。また存置磁石とは別位置に金属異物を検知した例が15頭14%確認されたが、これらの多くは第2胃粘膜の刺入あるいは胃壁穿孔が疑われる。このことは金属異物を検知し、磁石は非存置の47.8%⁷⁾、46.5%⁹⁾に、また磁石存置の6%⁷⁾、11.5%⁹⁾に第2胃粘膜の刺入又は胃壁穿孔を確認した報告によって推察される。とくに第2胃辺縁部や隣接臓器近くで検知した例では、嚴重な経過観察及び処置が必要と思われる。

磁石非存置で金属異物検知は、7才未満に多く5～6才では17頭 23.9%を示したが、若齢の2～3才でも10頭 14.3%を認め、年齢別頭数に有意の差のないことが確認された。また金属異物の非検知は7才以上にはなく、加齢に従って金属片摂取の機会が増すことが考えられるが、7才未満の20頭では年齢別の頭数に有意の差は認められなかった。

存置磁石の自然損失は、21%⁹⁾、30.6%²⁾と報告されているが、96頭中3頭 3.1%と低率の成績であった。存置磁石の種類の間定はできなかったが、1983年以後胃内定着性の良い大型の各種マグネット¹⁾が普及されたため、損失が減少したものと考えられる。また稟告の不明確な牛では26頭中15頭57.7%に存置磁石が確認されなかったが、本病の予防のために、正確な記録保存と定期的検査の必要性を示している。

存置磁石に付着している金属異物については、72.8%に付着があり、そのうち50.6%の例では磁石の短軸又は長軸よりの突出がみられたと報告されている⁷⁾。また磁石に付着した金属異物による第2胃粘膜刺入の例^{2,4,7,9)}も認められているため、

磁石を存置していてもその予防効果の限界を再認識する必要があると考えられる。

文 献

- 1) 小形芳美, 安藤健弥, 齊藤博水, 奥山隆一: 牛の創傷性疾患の発生状況とケージマグネットの予防効果について, 家畜診療, (238): 45～49, 1983.
- 2) 松下俊彦, 可世木藏人, 谷峰人, 後藤治: 金属異物による牛の創傷性疾患の予防について, 家畜診療, (238): 10～16, 1983.
- 3) Rosenberger. G., (其田三夫, 河田啓一郎訳): 牛の臨床診断, 244, 近代出版, 東京, 1981.
- 4) 佐藤基佳, 宮原和郎, 渡辺大成, 遠藤祐之, 他: 獣医臨床における画像診断に関する研究, 第93回日本獣医学会講演要旨集, 253, 1982.
- 5) 白水完治, 阿武雅夫: 牛の胃内マグネット検知器の試作と応用について, 家畜診療, (256): 31～32, 1984.
- 6) 竹内健児, 伊東孝二, 伊賀上祐一良: 家畜診療, 最近の草地型酪農地帯における創傷性胃疾患についての考察, (197): 26～28, 1979.
- 7) 山田明夫, 佐藤基佳, 宮原和郎, 広瀬恒夫: 集団検診による乳牛の第二胃内異物の存在率と性状, 日本獣医師会雑誌, 37(10): 649～655, 1984.
- 8) 山本貞司: パーネットの第二胃内存置の調査について, 家畜診療(207): 22～23, 1980.
- 9) 米山広次: 宗谷地区における乳牛のX線集団検診所見について, 2, 日本獣医師会雑誌, 36, 学会特集号, 17～18, 1983.

インフルエンザウイルスの流行疫学 (2)

1985年から1987年にかけての山口県における
ヒトインフルエンザウイルスの動向

板垣国昭*・中尾利器*・岡田雅裕*・岩崎 明*・山縣 宏*

〔受付：1987年9月10日〕

EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF HUMAN INFLUENZA VIRUSES IN YAMAGUCHI PREFECTURE IN THE PERIOD OF 1985 TO 1987

Kuniaki ITAGAKI, Toshiki NAKAO, Masahiro OKADA,
Akira IWASAKI and Hiroshi YAMAGATA

*Division of Microbiology, Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health,
2-5-67, Aoi, Yamaguchi City, Yamaguchi Prefecture, 753 Japan*

〔Received for publication : September 10, 1987〕

Based on the survey of antibody of influenza viruses (April 1984 to March 1986) and typing of viruses (Jan 1985 to Jan 1987) among inhabitants of Yamaguchi Prefecture, the following patterns of change of type of causative virus were proposed.

Type B → H3N2 → H1N1 → Type B → H3N2 → H1N1
(Nov. 1981) (Jan. 1987)

This implies that survived virus in reservoir invaded whenever antibody activity was decreased among patients.

Provided that the transformation pattern of viruses mentioned above would not be greatly changed, it is highly probable that type B virus will be a causative agent of influenza during early winter of 1987 to late spring of 1988.

I. はじめに

前報¹⁾に於いて、1981～1984年の山口県下のヒトインフルエンザの流行と病原ウイルスについて疫学的検討を加えたが、引きつづき、今回は1984～1986年度の成果を集約し、併せて、我々の1981年以降現時点までの成果を加味して、仮に1987年初冬～1988年晩春に本症の発生流行がある場合、

その Causative agent の型の予測解析を試みた。

II. 材料及び方法

1) 住民の抗体保有状況調査
健康人血清821件 (1984年度: 297, 1985: 287, 1986: 237) を供試した点を除いては、調査客體分別、使用抗原、抗体測定法、等々、前報¹⁾と同一である。

* 山口県衛生研究所

- 2) 患者からのウイルス分離, 抗体調査
件数〔うがい液226件(1984年度:102, 1985:
73, 1986:51)〕を除いては前報¹⁾と同一である。
- 3) 患者関連事項調査
前報¹⁾と同一である。

III. 調査成績

1) 住民の抗体調査

3ヵ年を通じて, ワクチン集団接種群(5~19才)は, 他の年齢群に比して明らかに抗体保有率が高く, また, 当該年度の流行型抗体保有率は明らかに非流行の他の二型に比較して低い。ワクチ

ン接種率は3ヵ年を通じて, 27~39%の範囲に止どまっている (Table 1)。

- 2) 患者のウイルス分離及び抗体保有調査
年月別のうがい液, 血清供試数は (Table 2) に集約した。
- 3) 患者関連事項

ワクチン接種率と症状発現率を (Table 3) に流行型に対する患者の感染前の抗体価分布を (Fig. 1) に集約した。ちなみに, 1987年1月流行の H3N2ウイルスの抗原分析 (予研実施) では, 当山口県の分離株6株すべてが, 東北地方 (山形県), 関東地方で早期に分離された株 (A / 山

Table 1 年齢群別抗体保有率およびワクチン接種率

年 (A, D.)	年齢(才)	客体数	抗体価16×≤			抗体価128×≤			抗体価512≤			接種率 (昨年度)
			H1N1	H3N2	B	H1N1	H3N2	B	H1N1	H3N2	B	
'84	0~4	62	19.4*	25.8	9.7	1.6	0	0	0	0	0	1.6
	5~9	45	88.9	82.2	73.3	48.9	48.9	28.9	0	0	0	82.2
	10~14	26	92.3	88.5	84.6	80.8	11.5	30.8	7.7	7.7	0	85.5
	15~19	26	100	84.6	92.3	80.8	23.1	50.0	3.9	3.9	0	80.8
	20~29	26	88.5	15.4	65.4	57.7	0	19.2	7.7	7.7	0	0
	30~39	27	77.8	14.8	48.1	25.9	0	3.7	7.4	7.4	0	3.7
	40~49	30	86.7	20.0	13.3	23.3	0	0	0	0	0	0
	50~59	29	62.1	24.1	34.5	15.4	0	0	0	0	0	3.5
60~	26	53.8	46.2	34.6	19.2	7.7	7.7	0	0	0	0	
	計	297	68.7	44.1	46.5	34.7	11.1	14.1	2.4	2.4	0	27.6
'85	0~4	58	25.9	20.7	6.9	0	17.2	1.7	0	6.9	0	10.4
	5~9	46	82.6	100	71.7	40.0	95.7	19.6	2.2	56.5	0	82.6
	10~14	28	100	100	89.3	53.6	92.6	21.4	0	32.1	0	85.7
	15~19	26	100	100	92.3	46.2	88.5	15.4	0	15.4	0	65.4
	20~29	27	88.9	100	51.9	22.2	14.8	0	0	0	0	11.1
	30~39	25	96.0	96.0	36.0	4.0	20.0	0	0	0	0	0
	40~49	24	54.2	62.5	25.0	4.2	16.7	0	0	0	0	4.2
	50~59	27	55.6	92.6	33.3	0	14.8	0	0	0	0	0
60~	26	30.8	96.2	42.3	0	19.2	0	0	0	0	3.9	
	計	287	66.6	79.4	47.0	18.1	43.6	7.0	0.3	15.0	0	31.4
'86	0~4	25	12.0	76.0	20.0	0	28.0	4.0	0	0	0	0
	5~9	25	72.0	100	80.0	16.0	52.0	24.0	0	4.0	0	88.0
	10~14	26	88.5	100	100	20.0	50.0	61.5	0	3.9	7.0	92.3
	15~19	26	92.3	100	96	11.5	38.5	46.2	0	0	0	84.6
	20~29	26	80.8	96.2	100	0	15.4	50.0	0	0	7.7	30.8
	30~39	26	76.9	96.2	92.3	7.7	19.2	19.2	0	0	0	30.8
	40~49	26	61.5	88.5	80.8	15.4	19.2	3.9	0	0	0	34.6
	50~59	26	76.9	80.8	69.2	3.9	7.7	3.9	0	0	0	3.9
60~	31	64.5	74.2	61.2	3.2	12.9	6.5	3.2	0	3.2	0	
	計	237	72.2	89.0	78.1	8.4	26.2	24.5	0.4	0.8	2.1	39.7

(注) 各年度とも採血はワクチン接種前の7~9月の期間

形 / 120 / 86 及び A / 横浜 / 4 / 86) と同一若しくは近縁のウイルスであることが判明した (Table 4)。なお、1981年以降6ヵ年間の県下流行ウイルスの型の変遷を (Table 5) に集約した。

IV. 考 察

各年度の抗体保有率を、抗体価128× \leq のレベルを尺度としてみた場合 (Table 1) 年、1984年はB型が低く同年冬期B型流行、1986年はH1N1が低く同型ウイルスに因る流行があり、個体集団の低抗体保有率、低抗体価と発症流行は明らかに連動し、このパターンは前報⁴⁾と同様である。

1985年のH3N2抗体価は0~19才間で、16、

128、512× \leq のいずれにおいても異常に高いが、これは前年接種ワクチンの残留抗体と言うよりも、むしろ、被検血清の採取が8~9月に実施されている点を考慮すべきであろう。すなわち、山口県下では既に8~9月時点で、H3N2ウイルスが個体集団に拡散浸淫していたが、夏季高気温、症状軽微、等々で罹患者自身自覚、他覚症状を殆んど欠如するうちに推移しつつあった時期と推定される。事実、山口県では1985年の11月中旬にH3N2

Table 2 インフルエンザ月別検査数

年月	'84												'85			計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
うがい液										18	58	26		102		
										(12)	(13)			(25)		
血清										17	45	25		87		
										(30)	(21)			(57)		
年月	'85												'86			計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
うがい液										30	43			73		
										(7)	(12)			(19)		
血清										10	63			73		
										(7)	(41)			(48)		
年月	'86												'87			計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
うがい液													51	51		
													(14)	(14)		
血清													47	47		
													(33)	(33)		

() インフルエンザと判定した件数

Table 3 症状・発症率・ワクチネーション

感染者諸元	ウイルス型		
	B型	H3N2	H1N1
患者数	57	48	33
接種率	94.7*	68.8	84.9
熱 (37℃以上)	100	89.6	84.9
せき	93.0	83.3	78.8
上気道炎	60.0	54.2	75.6
はきけ	24.6	27.1	21.2
筋肉痛	8.8	27.1	18.2
下痢	24.6	27.1	12.1
発しん	3.5	0	0
症状持続日数平均	4.0	5.4	3.5

* 百分率

Table 4 分離ウイルス同定試験成績

	A/Brazil/11/78 No995	A/Bangkok /10/83 No1327	A/山形/120/86 No1416	A/横浜/4/86 No1413	
抗 原	A/Brazil/11/78 (MDCK-E-8)	512	128	<32	32
	A/Bangkok/10/83 (MDCK-E-9)	256	512	<32	32
	A/山形/120/86 (MDCK-E-5)	64	64	2,048	1,024
	A/横浜/4/86 (MDCK-E-3)	32	32	2,048	1,024
	A/山口/1/87 (MDCK-E-3)	<32	<32	512	512
	A/山口/2/87 (MDCK-E-3)	<32	32	512	512
	A/山口/3/87 (MDCK-E-3)	<32	32	1,024	512
	A/山口/6/87 (MDCK-E-3)	<32	32	1,024	512
	A/山口/8/87 (MDCK-E-3)	<32	32	1,024	1,024
	A/山口/11/87 (MDCK-E-3)	<32	33	1,024	512
A/山口/14/87 (MDCK-E-3)	<32	32	1,024	512	

(国立予防衛生研究所 ウイルス・リケッチャ部 ウイルス第3室 実施)

Table 5 過去6年間冬期における分離ウイルス型

年月	Dec.'81	Dec.'82	Jan.'84	Jan.'85	Nov.'85	Jan.'87	'88
ウイルス	B	H3N2	H1N1	B	H3N2	H1N1	?
株数	5	13	20	25	19	14	?

ウイルスの初検出分離（全国順位4～5番目）と、11～12月の流行発生を確証しているが、この時点の接種率68.8%、殆んどの方が1回接種者であったことが注目される（Fig. 1）。症状も発熱、

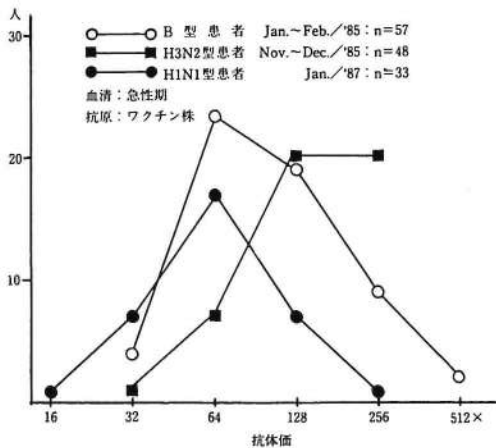


Fig. 1 流行型に対する患者の感染前の抗体価分布

せき、上気道炎に加えて、吐き気、筋肉痛、下痢、等々、多彩な症状で、持続日数も他型感染に比して長かった。このことは、症状の軽重とワクチン効果の関連を類推する“ひとつの資料”として、また、近年のインフルエンザワクチンの有効、無効、両論の解釈上参考となろう⁵⁻⁶⁾。ちなみに、1987年1月のH1N1の流行では、当初ワクチン株がA/福岡/C29/85 (H3N2)、A/バンコク/10/83 (H1N1)、B/茨城/2/85 (B)と決定していた。しかし、1987年早期にバンコク株と抗原性のズレの大きいA/山形/120/86が出現したため、この株が追加された⁷⁾。この年、冬期、山形株が流行し、山口県もそうであったが、流行が小規模に局限したことは、この措置が有効であったことを示唆するものであろう。このような“ワクチン株既決定後の追加”措置は当1987もB型について採られた(1987年7月15日)⁸⁾、1981年12月以降、現在まで山口県におけるインフルエンザ流行の起因ウイルスの型は、次のパターンで変遷推移している

Type B (1981年11月) → H3N2 → H1N1 →
Type B → H3N2 → H1N1 (1987年1月)

これは、Reservoir体内の生残ウイルスが、感受性集団の感染防禦抗体の低下時期を狙って侵入することを示唆している¹⁻⁴⁾。したがって、推定ではあるが、上記の“変遷パターンによほどの狂いが生じない限り”、1987年初冬～1988年晩春にインフルエンザの発生、流行が有る場合、その流行はB型ウイルスを *Causative agent* とするものとなる可能性が高い。

御懇切な御指導と御校閲を賜った所長田中一成博士に謹謝申し上げます。

文 献

- 1) 板垣国昭：山口県における野性鳥獣のインフルエンザ抗体調査、山口県獣医学雑誌、(8)：55～60. 1981.
- 2) 板垣国昭・中尾利器・岡田雅裕・岩崎 明：A型インフルエンザウイルスに関する研究、動物血清中のヒト型インフルエンザウイルスに対する抗体、山口獣医学雑誌、(9)：1～6. 1982.
- 3) 板垣国昭・中尾利器・岡田雅裕・岩崎 明：A型インフルエンザウイルスに関する研究〔第3報〕、動物血清中のヒトA型インフルエンザウイルスに対する抗体、山口獣医学雑誌、(10)：47～52. 1983.
- 4) 板垣国昭・中尾利器・岡田雅裕・岩崎 明：インフルエンザウイルスの流行疫学、1981年から1984年にかけての山口県におけるヒトインフルエンザウイルスの動向、山口獣医学雑誌、(11)：45～52. 1984.
- 5) 園口忠男：インフルエンザワクチンの予防効果、日本医事新報、(3008)：14～22. 1981.
- 6) Dawdle, W. R. : Influenza immunization policies and practices in Japan. : J. Inf. Dis., 14 : 258～264. 1980.
- 7) 国立予防衛生研究所ウイルスリケッチア部第3室：1986/87シーズン用インフルエンザワクチン組成の変更、A/山形/120/86 (H1N1) が追加されるまで、病原微生物検出情報、7 (6)：2. 1986.
- 8) 国立予防衛生研究所ウイルスリケッチア部第3室：1987/88シーズン用インフルエンザワクチン組成の一部変更について、病原微生物検出情報、8 (8)：2. 1987.

家畜の日本脳炎ウイルス抗体調査

— 1985年5月～1986年5月 —

板垣国昭*1・中尾利器*1・藤永良博*2・富田正章*2
吉和 鴻*2・平田真一*2

〔受付：1987年8月15日〕

SURVEY OF ANTIBODY OF *JAPANESE ENCEPHALITIS VIRUS* IN LIVESTOCKS FROM MAY 1985 TO MAY 1986

Kuniaki ITAGAKI and Toshiki NAKAO

*Division of Microbiology, Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health,
2-5-67, Aoi, Yamaguchi City, Yamaguchi Prefecture, 753 Japan*

Yoshihiro FUJINAGA, Masaaki TOMITA, Hiroshi YOSHIWA
and Shinichi HIRATA

Hofu Health Center of Yamaguchi Prefecture, Hofu City, Yamaguchi Prefecture, 747 Japan

〔Received for publication : August 15, 1987〕

For these several years the pattern of outbreak of *Japanese encephalitis* has changed. The so-called "pig - mosquito cycle" has not always been followed. It could be due to changes in the style of agriculture, social structure, life style, administration of vaccine and so forth. This change requires year-round surveys of antibody response, not limited to the summer season when mosquitoes develop.

The following results were derived from the survey of HI antibodies in swine and bovine serum collected at the slaughter house of Hofu City, Yamaguchi Prefecture from May 1985 to May 1986.

- 1) Swine showed higher response and positive titer of antibody than cattle.
- 2) The peak of antibodies response (100%) and positive titer (1280×) were recorded in swine serum from July 1985 to February 1986.
- 3) Negative titer rate, low response rate, and low titer rate of swine were recorded from April to June and those of cattle were from February to June.
- 4) The maximum positive rate (91.7%) and high titer rate of cattle serum were recorded from July to October in 1985.

Despite significant decrease of outbreak of *Japanese encephalitis* in these ten years, the distribution of causative virus of it is still in progress in nature.

* 1 山口県衛生研究所 * 2 山口県防府保健所

はじめに

ここ十年余、日本脳炎患者発生のパターンに変化が生じ、いわゆる“Pig - mosquito - cycle”の定説⁵⁻⁷⁾が必しも適合しなくなった。その原因として、農業形態の変容、社会構造、生活様式の変化、Vaccinationの普及、等々、いくつか挙げられているが未だ明らかでない。原因解明は短時日のうちに容易ではないが、そのひとつに、恒例行事として毎年晩春～初秋に限定して実施されている抗体調査を、蚊の発生しない秋、冬、春季を含む通年

調査によって、ウイルスの動向を把握することが不可欠であろう。

著者らは日本脳炎について一連の調査研究を継続実施中¹⁻⁴⁾であるが、上記の見地から、今回は、1985年5月から1986年5月まで、防府市と畜場で収集したブタ、ウシ血清中のHI抗体を調べた。

I. 調査方法

防府市と畜場において1985年5月～1986年5月の間に解体されたウシ217、ブタ152より収集した血清について既報¹⁾と同一方法に拠ってHI抗

Table 1 ウシ・ブタの月別抗体保有状況

	1985												1986					計
	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5					
ウシ	5/34 (14.7)	2/14 (14.3)	6/13 (46.2)	11/12 (91.7)	15/17 (88.2)	8/11 (72.7)	10/12 (83.3)	11/16 (68.8)	16/27 (59.3)	1/12 (8.3)	2/13 (15.4)	2/22 (9.1)	2/14 (14.3)	91/217 (41.9)				
ブタ	6/22 (27.3)	2/8 (25.0)	15/16 (93.8)	13/13 (100)	4/4 (100)	17/18 (94.4)	7/7 (100)	8/8 (100)	12/13 (92.3)	12/14 (85.7)	2/3 (66.7)	6/16 (37.5)	2/10 (20.0)	106/152 (69.7)				

() : %

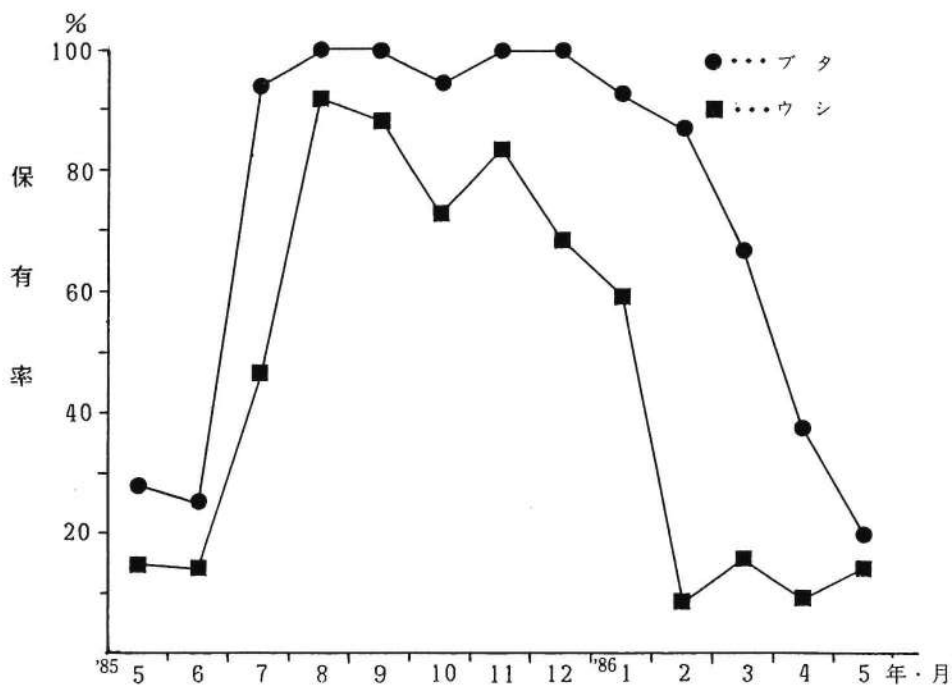


Fig. 1 ウシ・ブタの抗体保有率

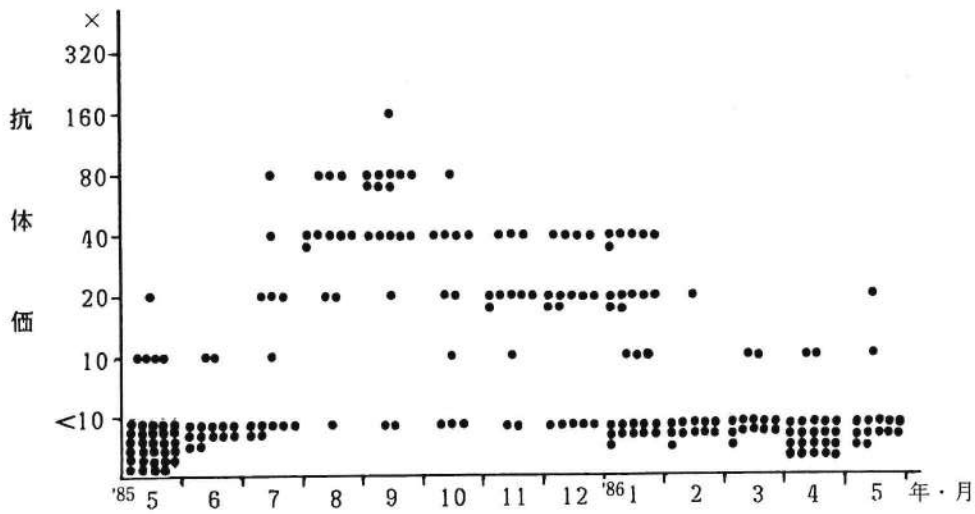


Fig. 2 ウシの保有抗体価

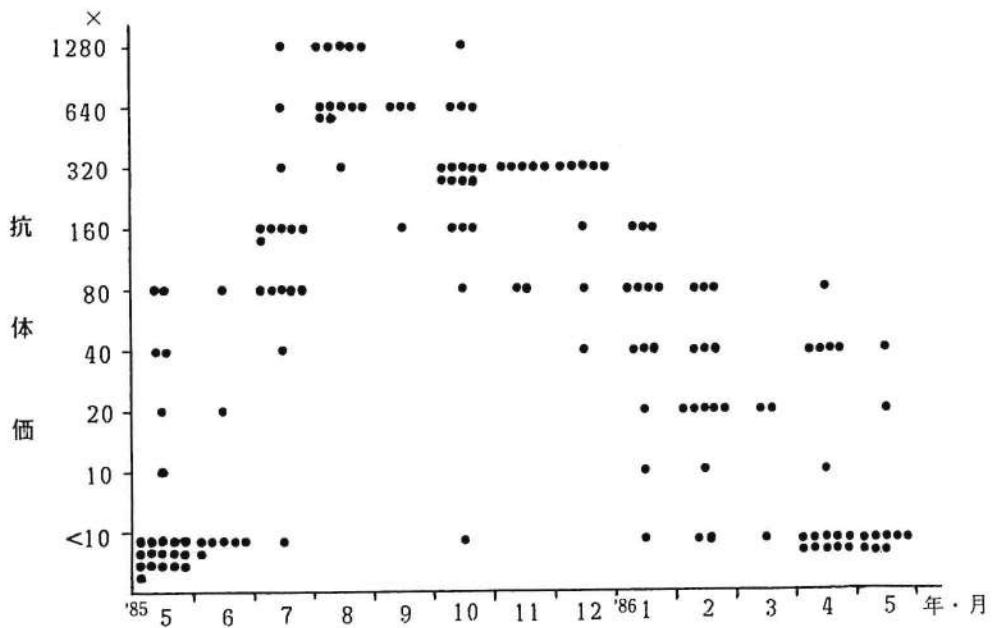


Fig. 3 ブタの保有抗体価

体を調べた。

II. 成 績

月別の抗体保有動向は (Table 1), (Fig. 1) に、また抗体価の分布は (Fig. 2) 及び (Fig. 3) に概括した。陽性抗体保有率はウシ、ブタいずれも7月に急上昇するが、ウシは翌年1月、ブタは3月まで50%を越える保有率を保持し、それ以後6月にわたって低下漸減のパターンをとることが判明した。

抗体価の分布においてウシは20～40×の抗体価保有個体が多く、ブタは80～640×の個体が多い。両者とも高い抗体価をもつ個体は7～10月に多く存在し、これ以後両者とも翌年6月にかけて低抗体価、無抗体の個体が増加する。

III. 総 括

緒言において指摘したように“定説⁵⁻⁷⁾”が患者発生のパターンと適合しない点を解明する一助として、当県下において、過去、非実施の“冬期に主眼を置いた抗体の通年調査”に拠る、いとぐちの把握を企画した。しかしながら率直に言って、原因解明につながる成果は得られなかったが、調査の概要は下記に要約できる。

- 1) 陽性抗体保有率及び陽性抗体価のいずれにおいても、ブタがウシより高い。
- 2) 7月から翌年2月にかけて、ブタで最高陽性率(100%)と最高抗体価(1280×)が認められた。
- 3) 抗体陰性、低抗体陽性率及び低抗体価、等々はブタは4～6月に、ウシは2～6月の間に認められる。
- 4) ウシでは、8月10月に高陽性率(91.7%)と高抗体価(160×)が9月に認められた。

いずれにしても、過去10年余、日本脳炎患者発生が激減し、これに関連する疫学的背景について、論考はあるものの、それらはすべて推測の域を出ないものである。現段階、明快な説明可能な成果は皆無と言って過言ではない。それは

それとして、今回の著者らの通年抗体調査によると、県下の自然界において病原ウイルスはCarrier 或は Reservoir の間を、一連のサイクルにおいて、例年、遅速の差はあっても、確実に拡散と浸淫を反復していることを改めて確認したが、これ以上の新知見は何ら得られなかった。“定説”不適合の原因解明は、別視点、別次元での発想、研究手法、等々の採択が不可欠であると思われる。

稿を終るに臨み、御指導いただいた当所田中一成博士、山縣 宏博士に深謝を表します。

文 献

- 1) 板垣国昭、遠藤隆二、中尾利器：日本脳炎の疫学的研究、家畜および野生動物の血液中の日本脳炎抗体について。山口獣医学雑誌、(8)：15～28, 1981.
- 2) 板垣国昭・遠藤隆二：日本脳炎の疫学的研究(1)、実験動物における日本脳炎ウイルス感染実験。獣医畜産新報。(727)：68～71, 1982.
- 3) 板垣国昭・遠藤隆二：日本脳炎の疫学的研究(II)、日本脳炎媒介蚊の気象学的、血清学的調査。獣医畜産新報。(728)：13～19, 1982.
- 4) 板垣国昭・遠藤隆二・岩崎 明ほか：山口県における日本脳炎の疫学的研究、患者発生(1965—1985年)に関与した諸要因の検討。獣医畜産新報。(794)：49～51, 1987.
- 5) 今野二郎・遠藤好喜・我妻 仁ほか：日本脳炎の疫学、昭和39年度宮城県における調査成績。医学のあゆみ。53(3)：101～118, 1975.
- 6) OYA, A. : The Role of Mammals as Primary and Supplementary Host. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 20 : 26～30, 1976.
- 7) 奥野 剛・角田孝穂・平石克平：日本脳炎患者監視事業初年度の成果。日本医事新報。(2256)：17～28, 1967.

REGIONAL ANATOMY OF SWINE

V. CROSS SECTION OF BRAIN OF SWINE (PART I)

Takashi MAKITA and Masaya TOMINAGA

*Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1,
Yosida, Yamaguchi City, 753 Japan*

(Received for publication : October 5, 1987)

INTRODUCTION

As a series of studies of the anatomy of swine(pig),¹¹⁾ a comparison of swine and wild boar, including the survey of inner structure of their brain is in progress in this laboratory, using computer tomography scanning (CT scan), (to be published separately). This is a part of that project to confirm the macroscopic structure in several planes of whole cross and horizontal sections of swine to establish coordination with CT scan of it.

Not a few atlases of the brain of humans,^{5,18,19,28)} monkey,^{3,4,16,21)} domestic animals including horse,²⁷⁾ cattle,²⁷⁾ goats,²⁷⁾ sheep,²⁷⁾ swine,²⁷⁾ dogs,^{9,12,20)} and cats,^{6,22,23,24,25)} and also the brain of experimental animals such as rabbits,^{12,15,26)} rats,^{8,11,17)} guinea pigs,¹⁰⁾ domestic fowl²⁷⁾ and pigeon⁷⁾ are already available, but most of them are for stereotaxic studies and not directed to brain slice - CT scan correlations except for some recently published textbooks of the human brain.⁵⁾

MATERIALS AND METHODS

Adult swine brains were perfused with paraformaldehyde and also immersed within this fixative for several weeks. Each slice of the brain was stained, taking the following three steps.

- 1° One minute in the mixture of 40g of carbolic acid, 5g of copper sulfate, 1.2 ml of conq. HCl, in 1,000 ml of water.
Wash in water for 1 min.
- 2° One minute in the 2% tannic acid.
Wash in water for 1 min.
- 3° 10 to 15 sec in 2% iron alum.
Wash well in running water.

RESULTS

I. A series. The brain of swine in coronal plane.

Ten transverse (cross) sections were made at levels indicated in diagram A to observe the inner structure of the swine brain. Since intervals of each slice are much wider than that of CT scan, which is usually 5 or 10 mm, these figures (A1 to A10) are not always guide maps of the CT scanning pictures. Identifiable

structures are labeled in illustrations that correspond to photographs.

II. B series. The brain of swine in horizontal (CT scan) plane.

As shown in diagram B, a series of 4 slices of brain in horizontal planes (B1 to B4) show cut surface of each level of the swine brain. Owing to staining of Mulligan (1931), grey matter and white matter can be clearly distinguished. Major regions identified were labeled in these illustrations. Photographs correspond to the illustrations. The size of the specimen was indicated by a scale attached to the illustration.

DISCUSSION

Using Weigert - Pal staining, Yoshikawa²⁷⁾ illustrated elaborate figures of swine brain. His atlas included 24 transverse and 9 sagittal sections. Although those figures included meninges, ventricles and internal structures of the swine brain, the whole area was not included in each section except for cerebellum.

The present study was to correlate brain slice to CT scan observation, and only major structures were illustrated but every illustration included a whole area of slices. As mentioned already, the thickness of each slice and the direction of cutting of each plane had to be adjusted more directly to the condition of CT scan observation.

REFERENCES

- 1) Angevine, J. B., Mancall, E. L., and Yakovlev, P. I. (1961) : *The human cerebellum*, an atlas of gross topography in serial sections. Little Brown, Boston.
- 2) Briggs, E. A. (1964) : *Anatomy of the sheep's brain*. Angus and Robertson, Sydney and London.
- 3) Delucchi, M. R., Dennis, B. J. and Adey, W. R. (1965) : *A stereotaxic atlas of the chimpanzee brain (Pan satyrus)* Univ. California Press, Berkeley and Los Angeles.
- 4) Emmeres, R. and Akett, K (1962) : *A stereotaxic atlas of the brain of the squirrel monkey (Saimiri sciureus)*. Univ. of Wisconsin Press. Madison.
- 5) Hainess, D. E. (1983) : *Neuroanatomy. An atlas of structures, sections and system*. Urban and Schwarzenberg, Baltimore, Munich.
- 6) Jasper, H. H. and Ajimone-Marsan, C. (1960) : *A stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat*. National Research Council of Canada, Ottawa.
- 7) Karten, H. J. and Hodos, W. (1967) : *A stereotaxic atlas of the brain of the pigeon (Columba livia)*. Johns Hopkins Press, Baltimore.
- 8) König, J. F. R. and Klippel, R. A. (1963) : *The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem*. Williams and Wilkins. Baltimore.
- 9) Lim, R. K. S., Liu, C. and Moffitt, R. L. (1960) : *A stereotaxic atlas of the dog's brain*. C. C. Thomas, Philadelphia.
- 10) Luparello, T. J. (1967) : *Stereotaxic atlas of the forebrain of the guinea pig*. S. Karger, Basel.
- 11) Makita, T. Saito, Y. and Watanabe, M. (1985) : *Regional Anatomy of Swine IV. Lymph nodes*. *Yamaguchi J. Vet. Med.* 12 : 33-58.

- 12) Massopust, L. C. (1956) : *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Ant. Rec. 124 : 463 ~ 464.
- 13) Messen, H. and Olszewski, J. (1949) : *A cytoarchitectonic atlas of the rhombencephalon of the rabbit*. S. Karger, Basel.
- 14) Meyer, H. (1979) : The brain. In : "*Miller's Anatomy of the Dog*." eds. Evans, H. E. and Christensen, C. A. B. Saunders, Philadelphia.
- 15) Monnier, M. and Bangloff, H. (1961) : *Rabbit brain research*. vol. I. *Atlas for stereotaxic brain research on the conscious rabbit*. Elsevier, Amsterdam.
- 16) Olszewski, J. (1952) : *The thalamus of the macaca mulata*. S. Karger, Basel.
- 17) Paxinos, G. and Watson, C. (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 2nd ed. Academic Press, Sydney.
- 18) Rasmussen, A. T. (1951) : *Atlas of cross section anatomy of the brain, guide to the study of the morphology and fiber tracts of the human brain*. Blakiston Division, McGraw-Hill, New York.
- 19) Singer, M. and Yakovlev, P. I. (1964) : *The human brain in sagittal section*. C. C. Thomas, Springfield.
- 20) Singer, M. (1962) : *The brain of the dog in section*. W. B. Saunders. Philadelphia.
- 21) Snider, R. S. and Lee, J. C. (1961) : *A stereotaxic atlas of the monkey brain (Macaca mulatta)* Univ. of Chicago Press, Chicago.
- 22) Snider, R. S. and Niemer, W. T. (1961) : *A stereotaxic atlas of the cat brain*. Univ. of Chicago Press, Chicago.
- 23) Verhaart, W. J. C. (1964) : *A stereotaxic atlas of the brain of the cat*. Van Gorcum, Assen.
- 24) Voogd, J. (1964) : *The cerebellum of the cat*. Van Gorcum, Assen.
- 25) Winkler, C. and Potter, A. (1911) : *An anatomical guide to experimental researchers on the cat's brain*. W. Versluys, Amsterdam.
- 26) Winkler, C. and Potter, A. (1914) : *An anatomical guide to experimental researchers on the rabbit's brain*. W. Versluys, Amsterdam.
- 27) Yoshikawa, T. (1967) : *Atlas of the brain of domestic animals*. Univ. of Tokyo Press, Tokyo.
- 28) Zuleger, S. and Staubesand, J. (1977) : *Atlas of the central nervous system in sectional planes*. Urban and Schwarzenberg. Baltimore.

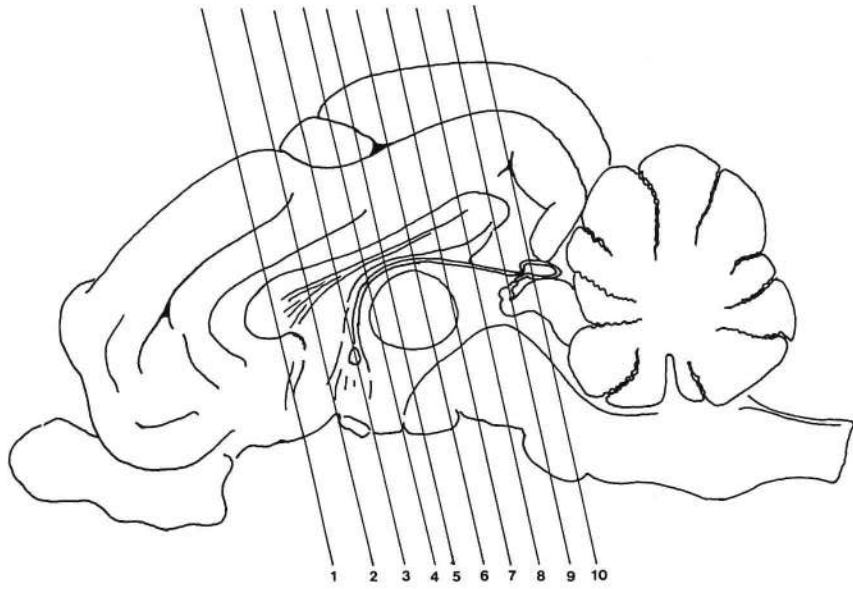
豚の局所解剖 V. 脳の断面図 (その1)

牧田登之・富永正哉 (山口大学農学部獣医学科家畜解剖学教室)

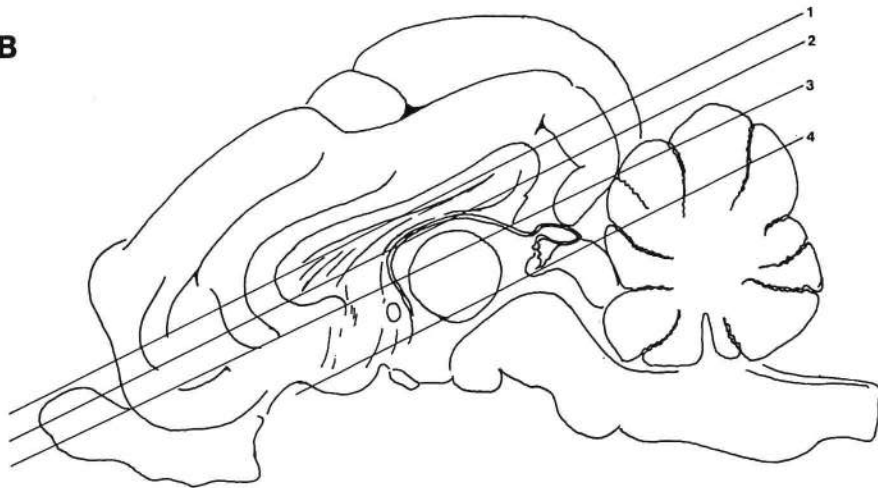
〔受付：1987年10月5日〕

豚の解剖の一環として、続報のCTスキャンによる脳の観察の基礎資料も兼ねて、豚の脳をホルマリン固定したものを横断面で10段階、水平断面で4段階のスライスとし染色をほどこしたもののマクロ写真をとった。これに併わせて、およその縮尺をつけて図示した。染色はMulliganの方法により、その概略は、石炭酸40g、硫酸銅5g、濃塩酸1.2mlを1lの水にとかした第1液と、2%のタンニン酸液(第2液)と、第3液の2%鉄ミョウバンに各々1分、1分、10~15秒、浸漬するもので、各液の染色の間に約1分ずつ水洗する。第3液後はよく水洗して肉眼的に観察した。

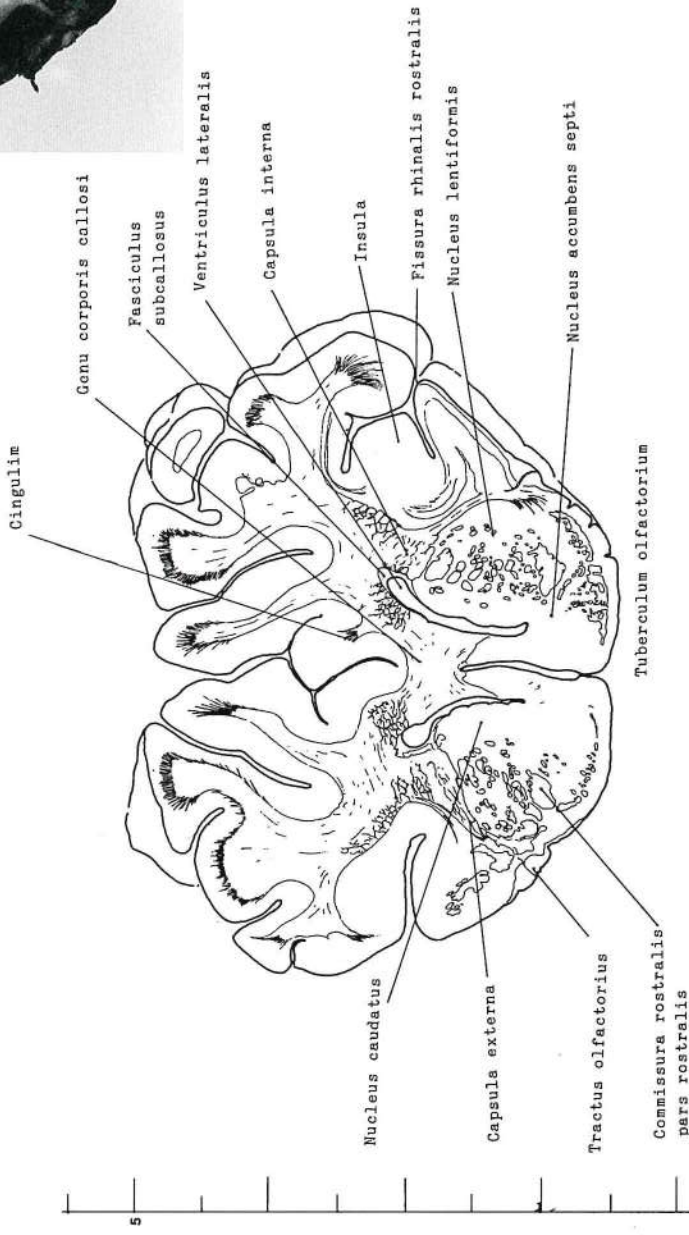
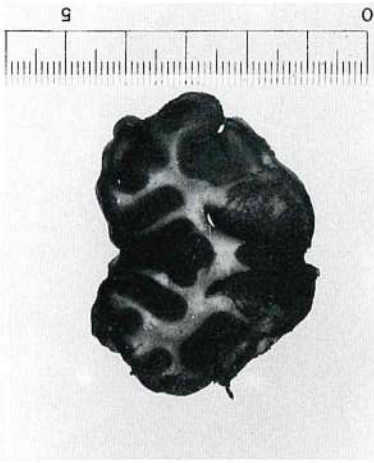
A

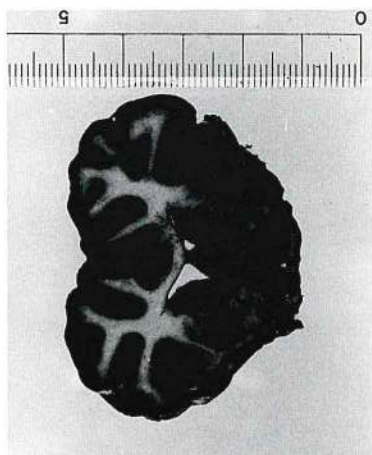


B

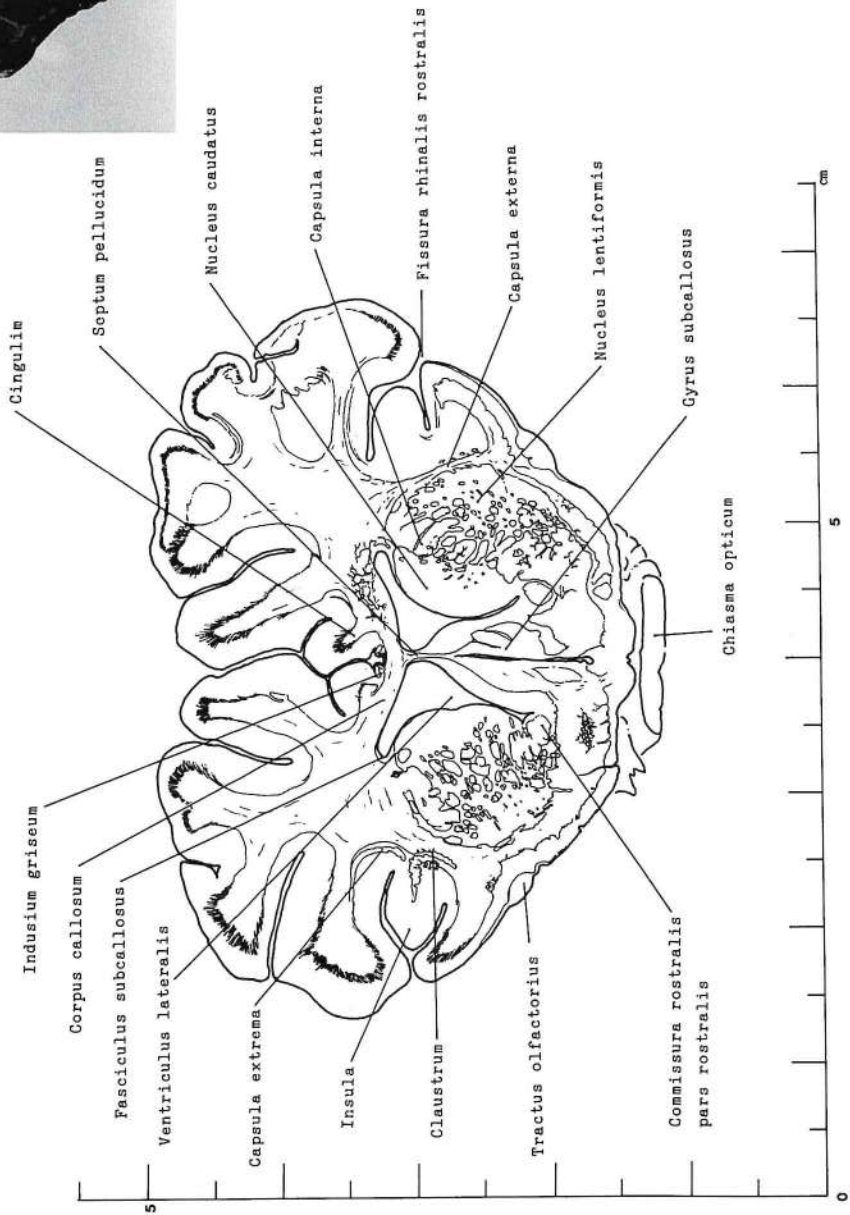


A 1

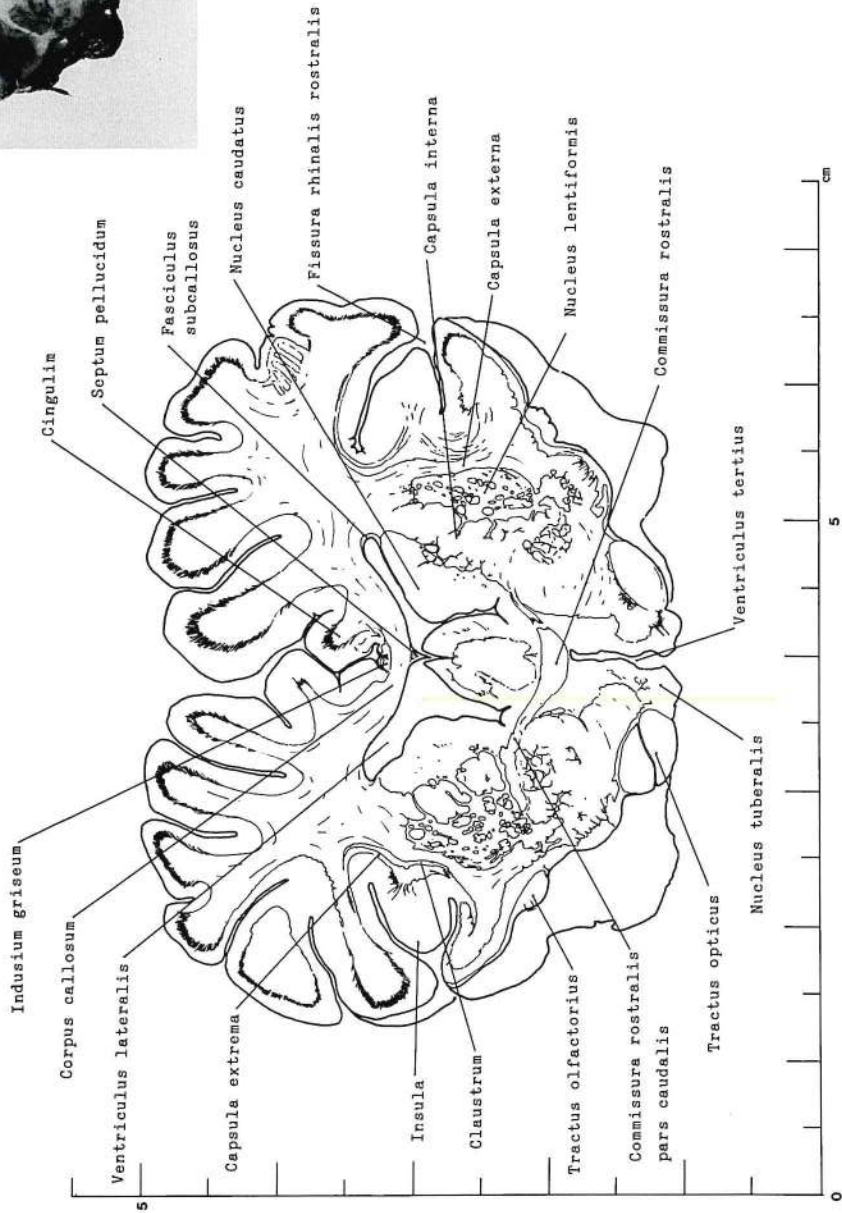
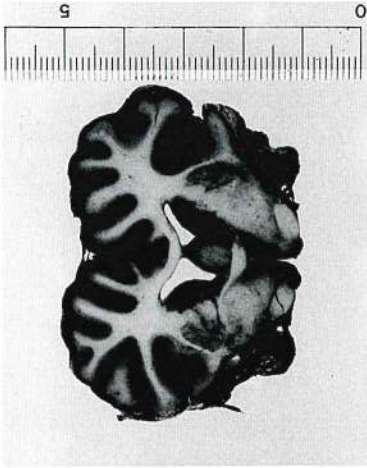


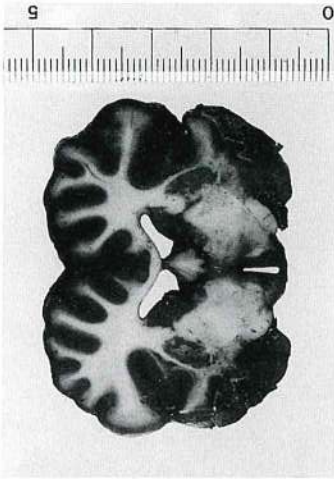


A 2

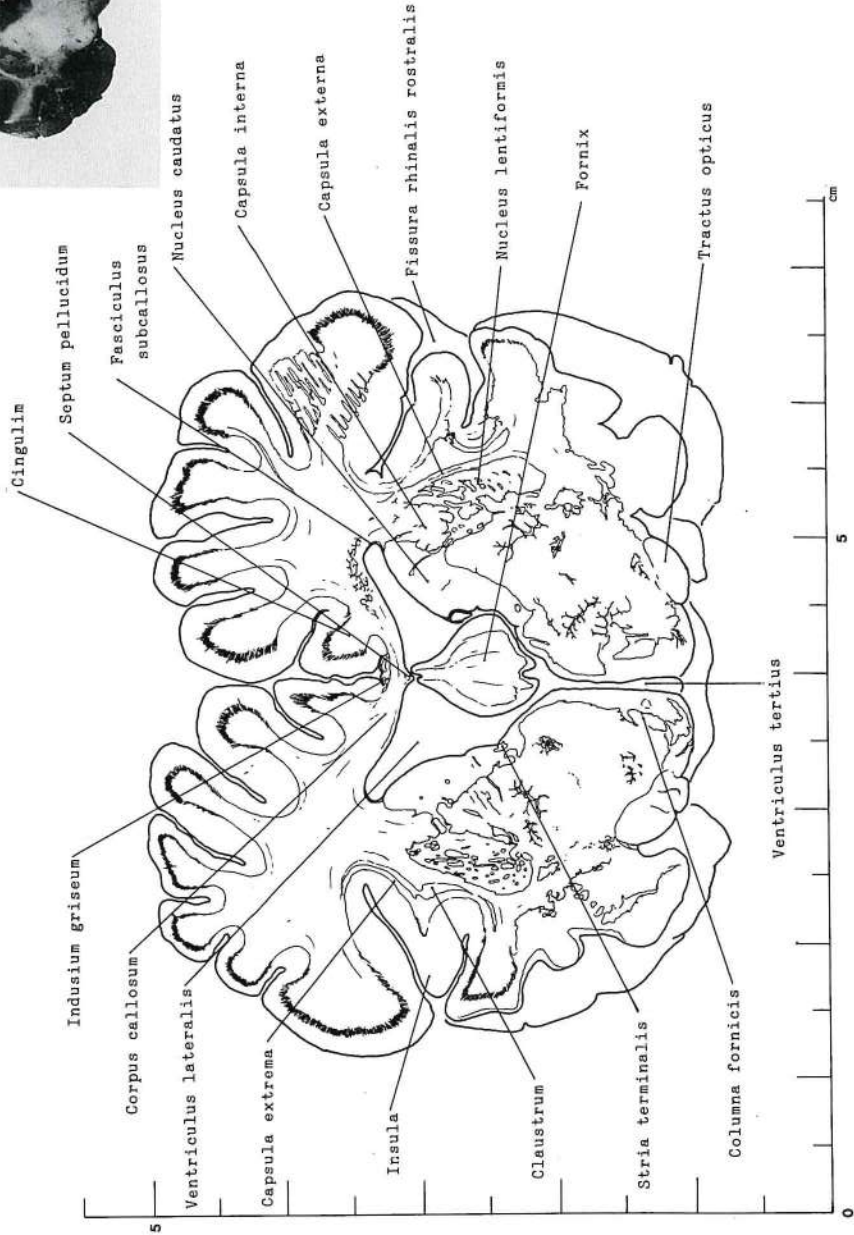


A 3

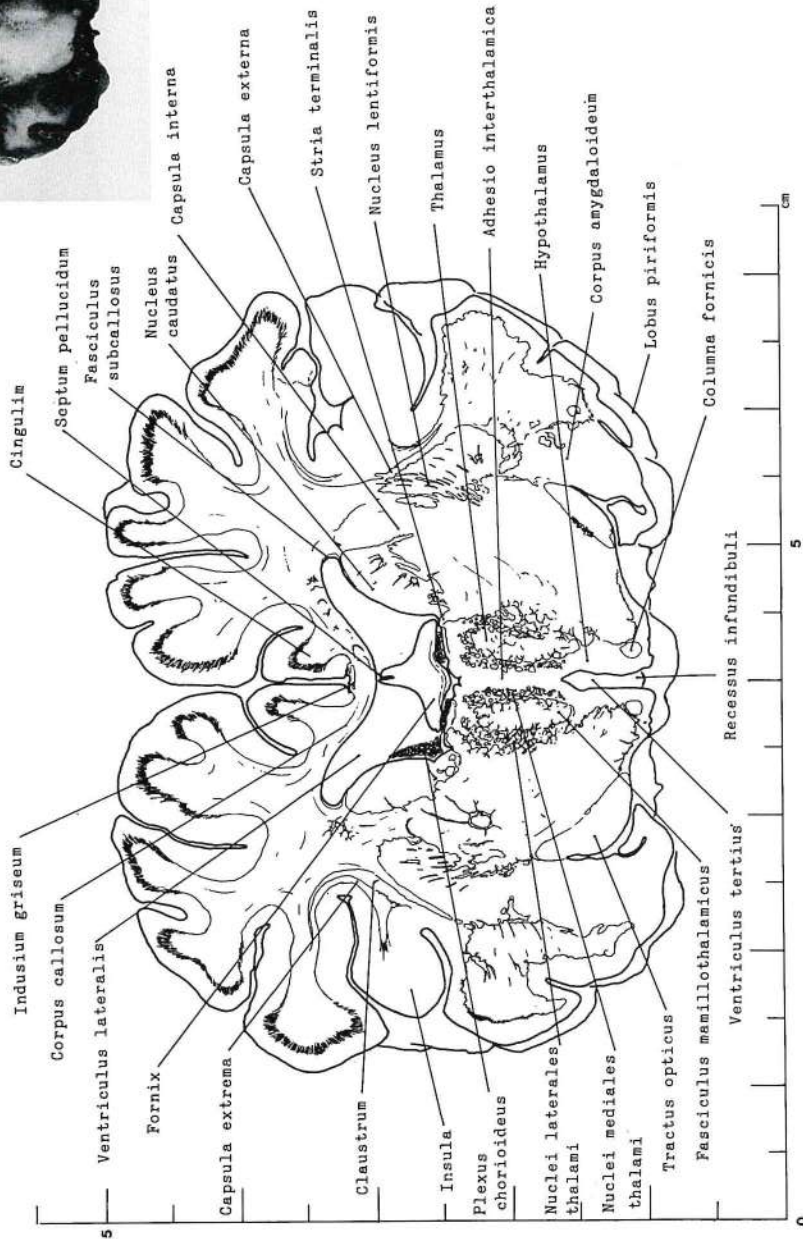
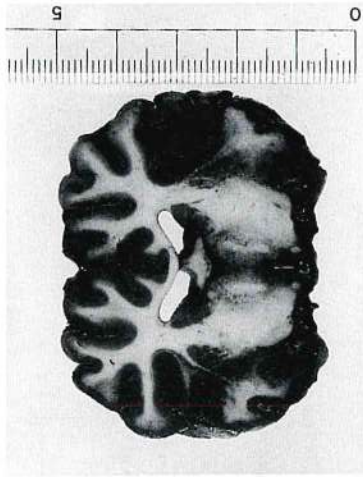




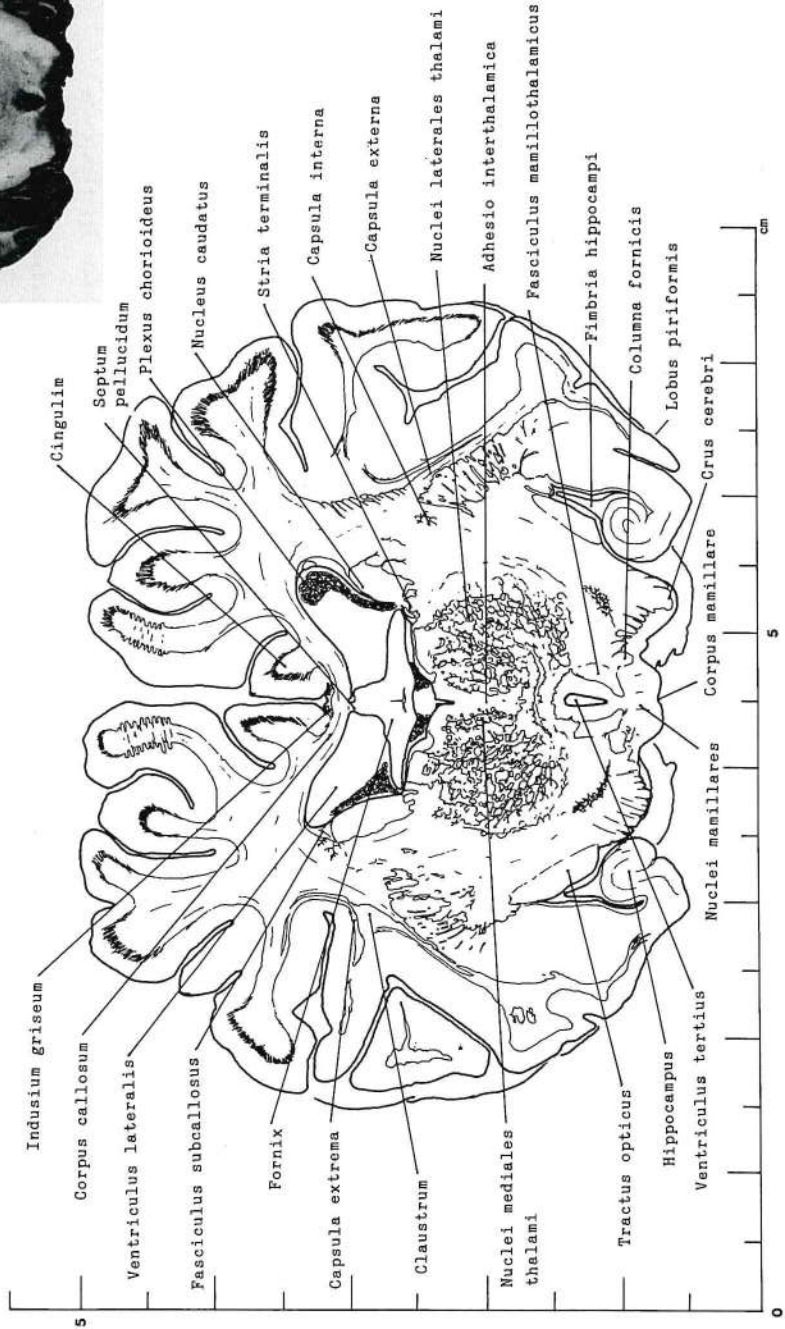
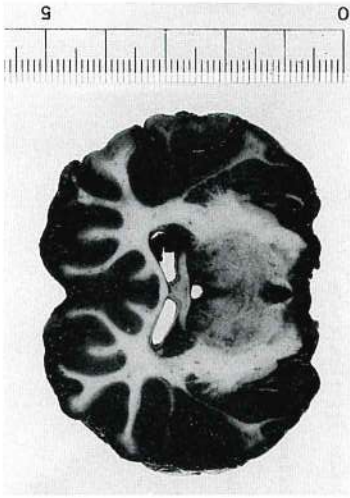
A4



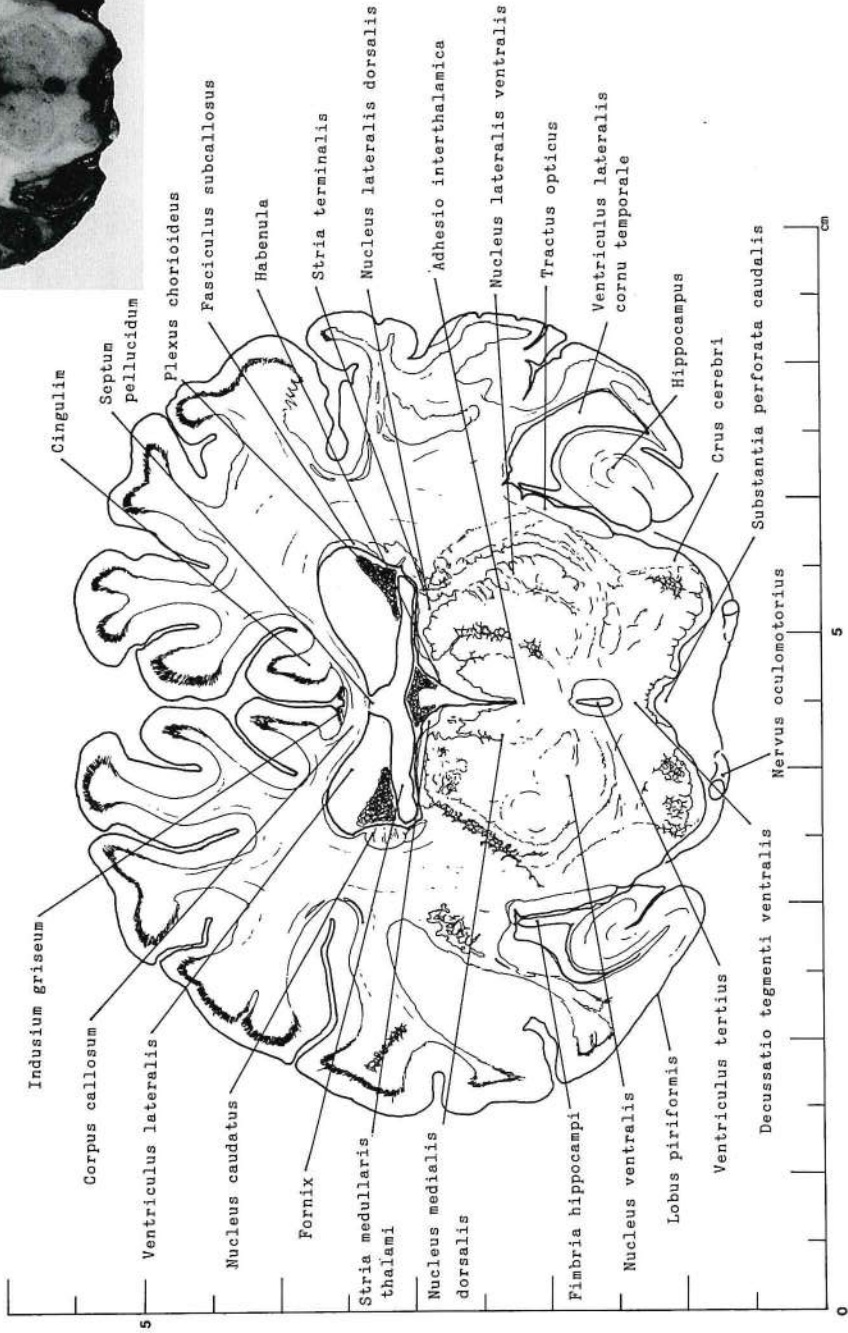
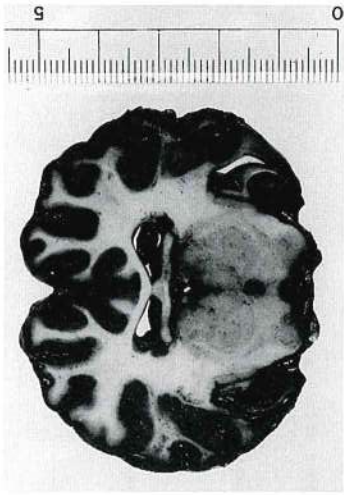
A 5

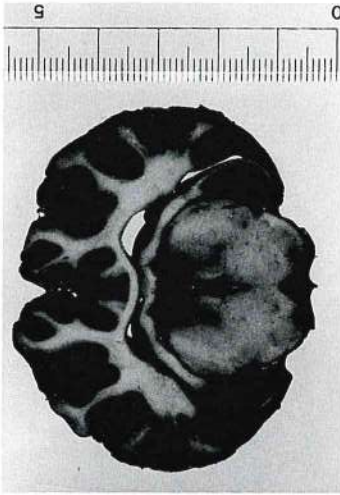


A6

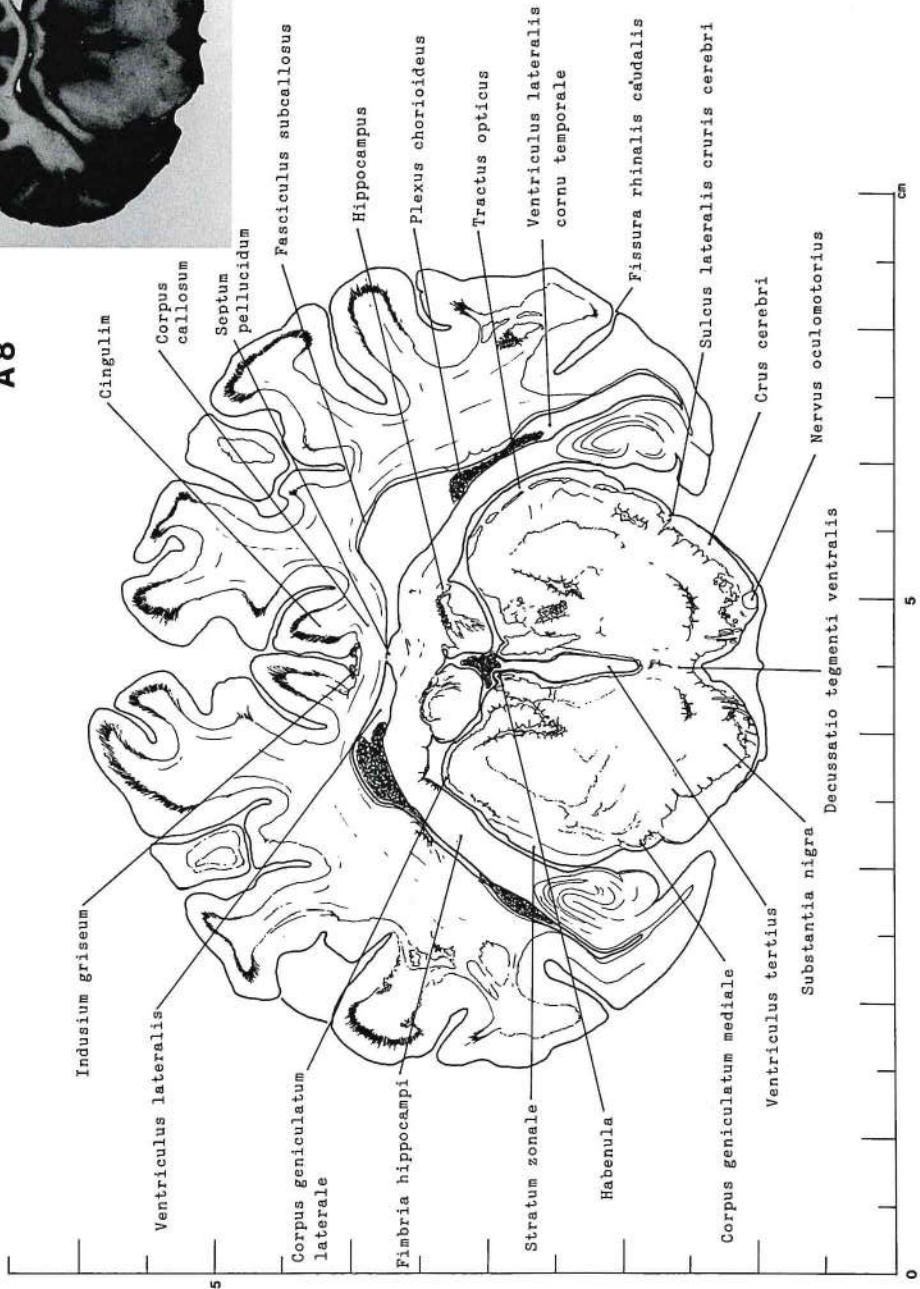


A7



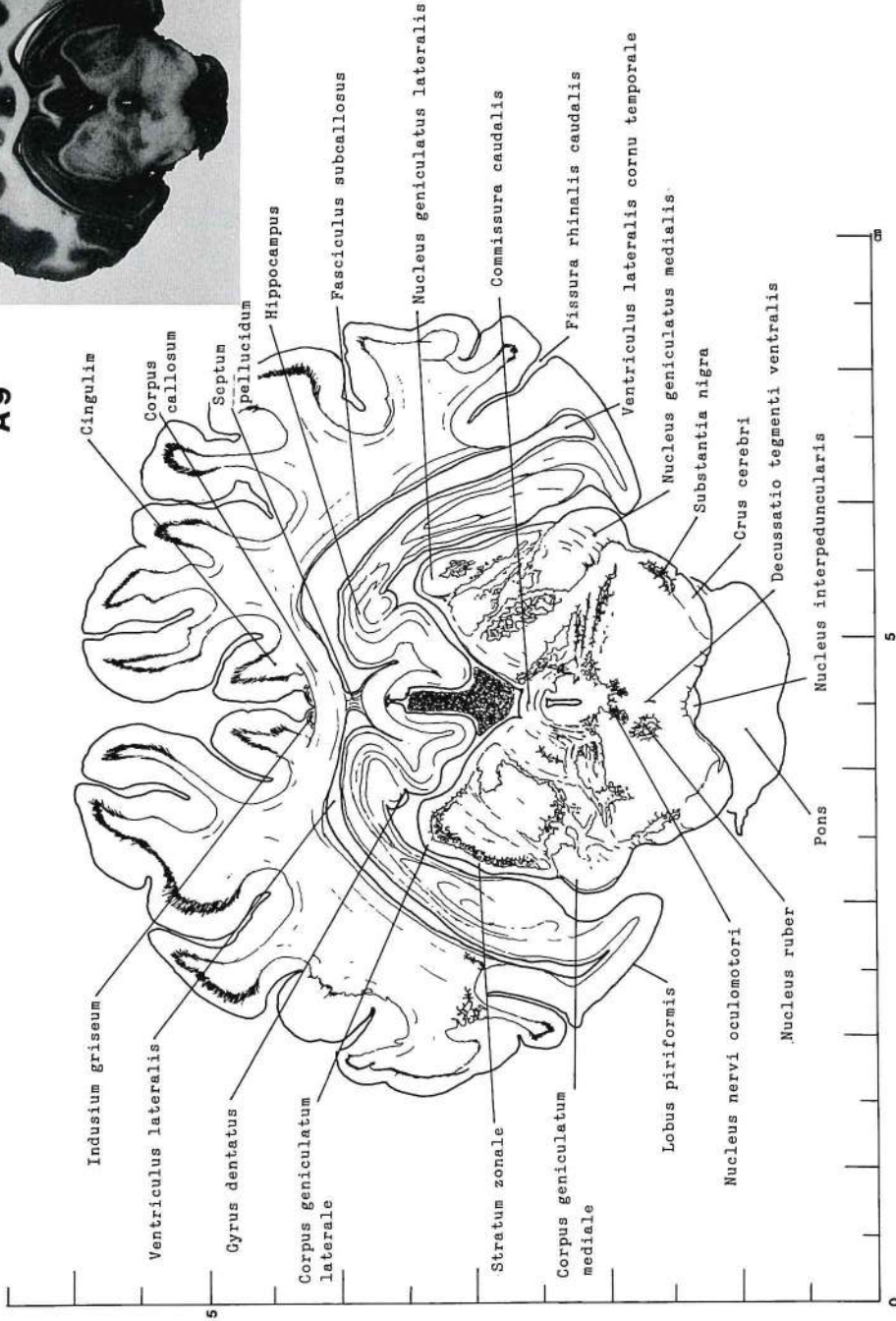


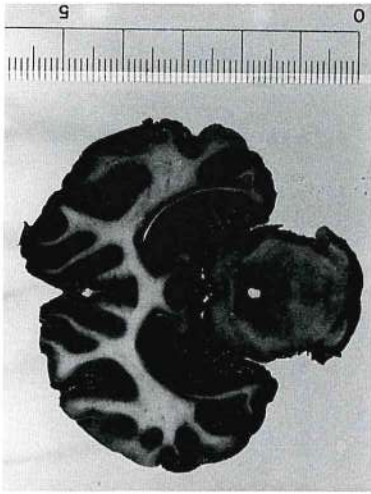
A 8



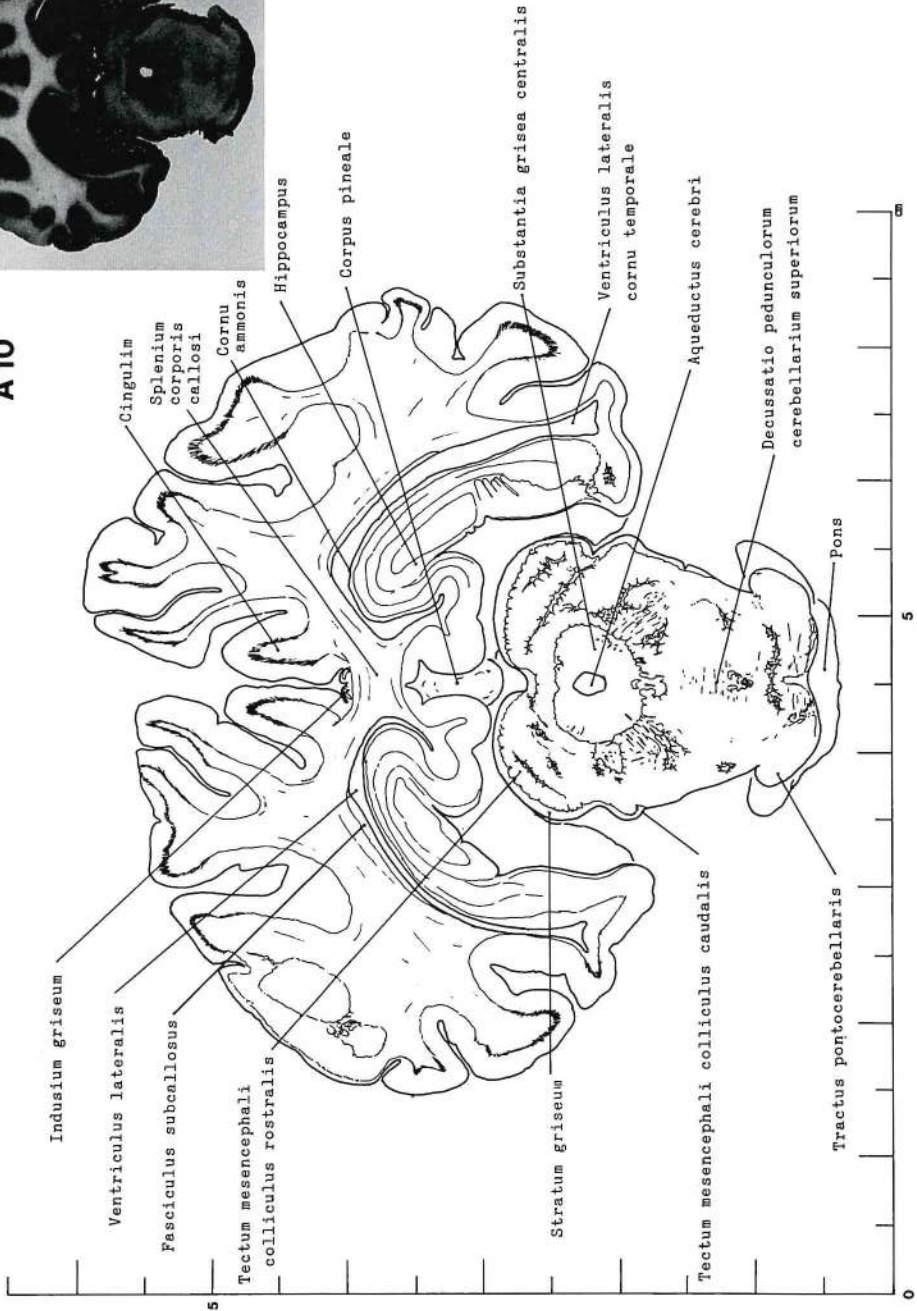


A9



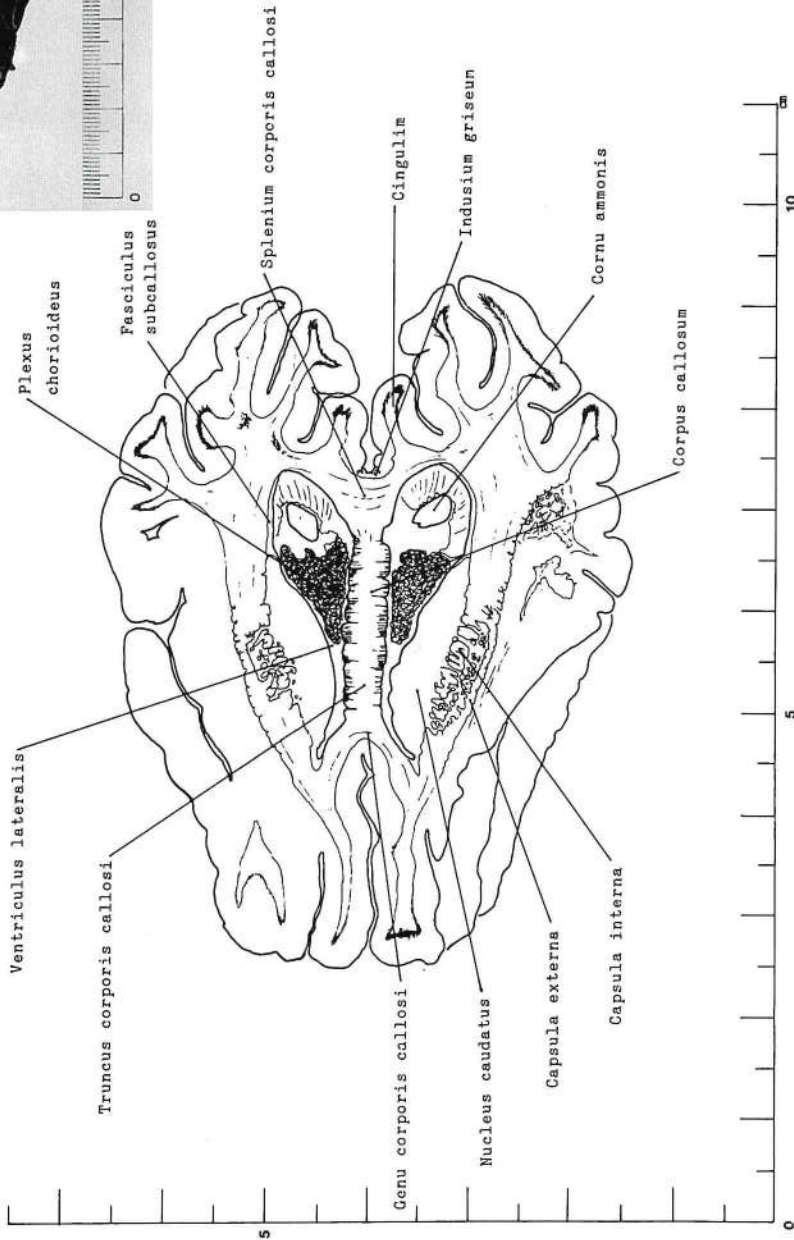


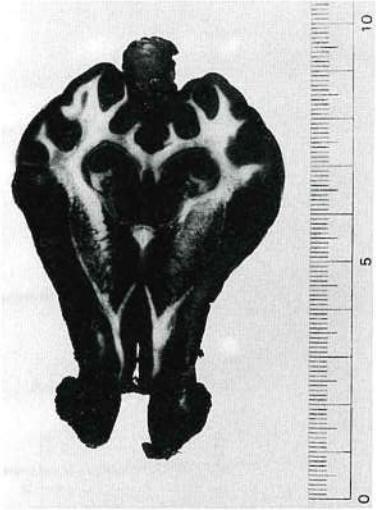
A 10



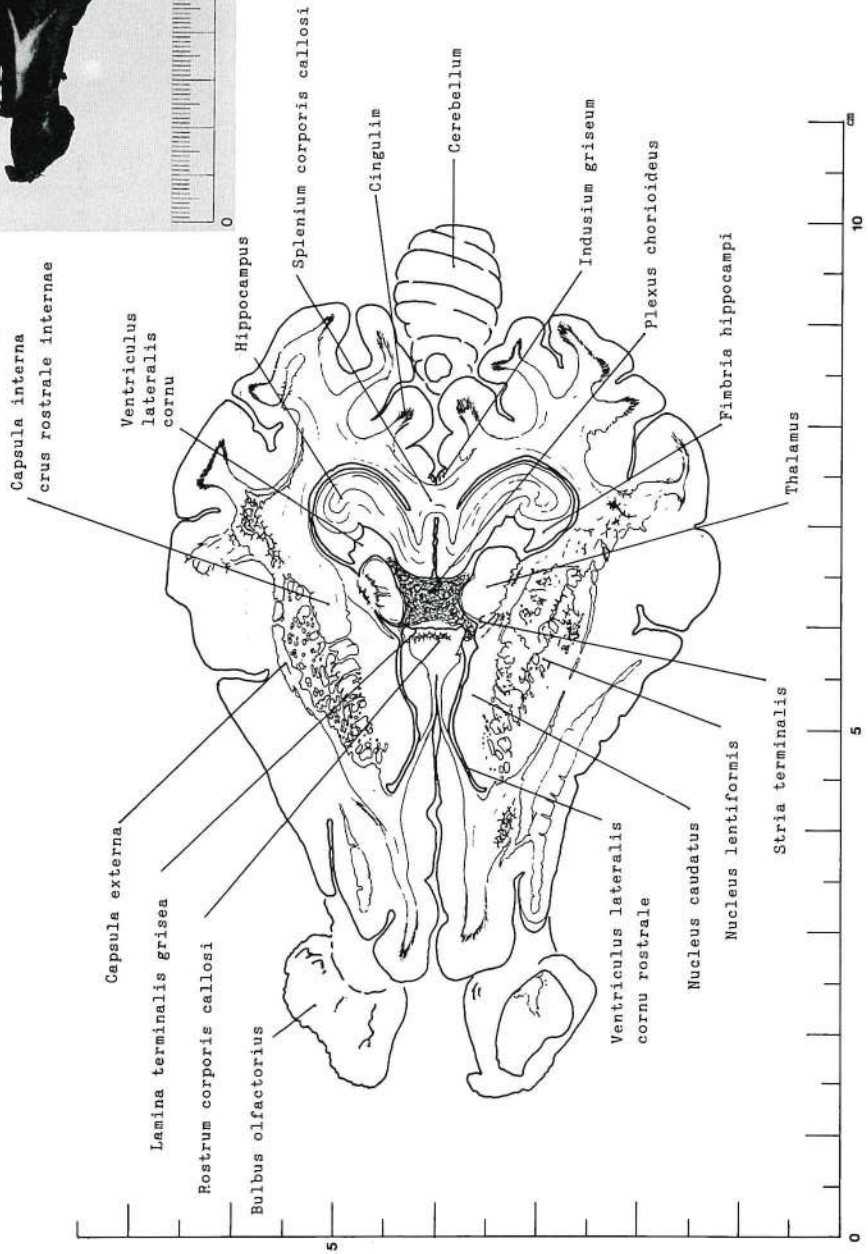


B1

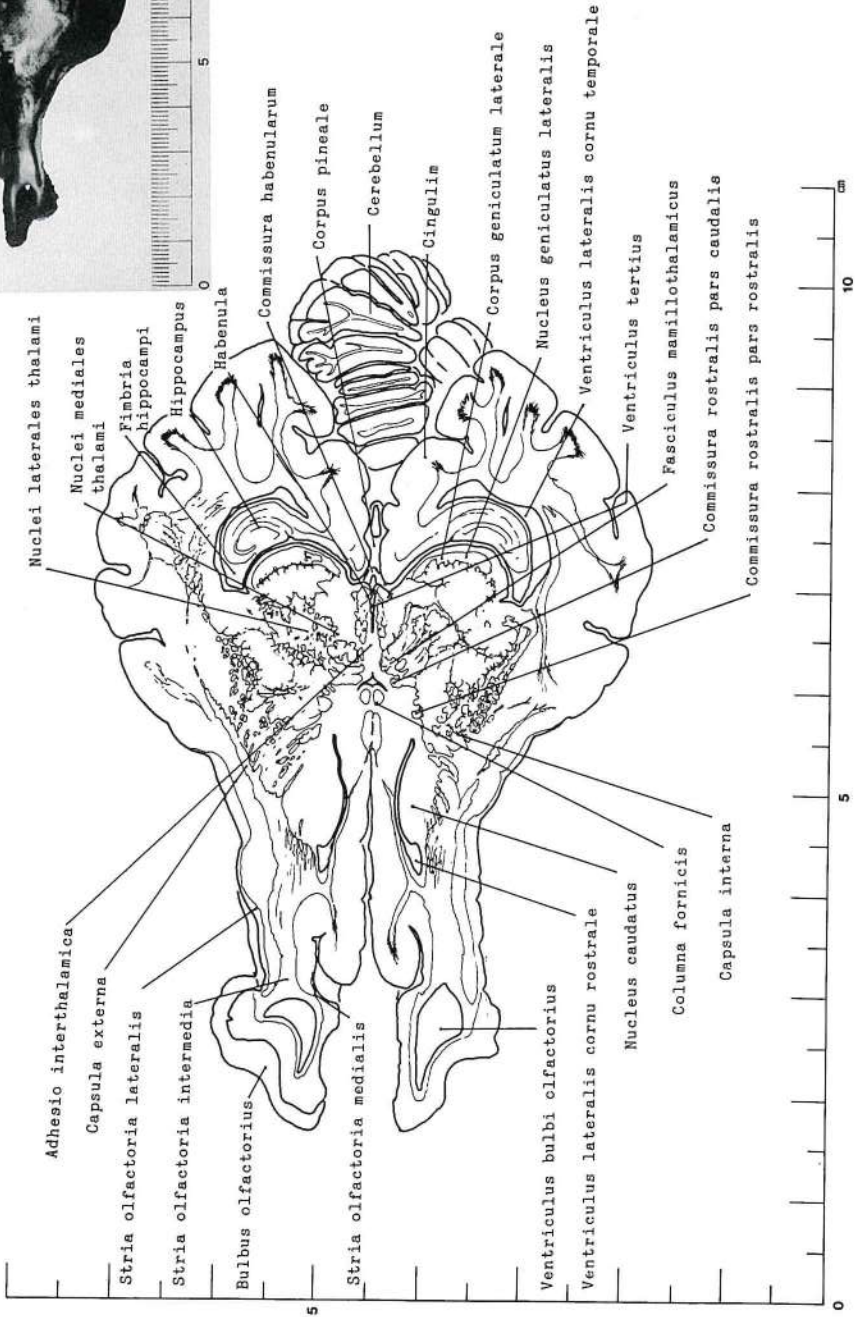
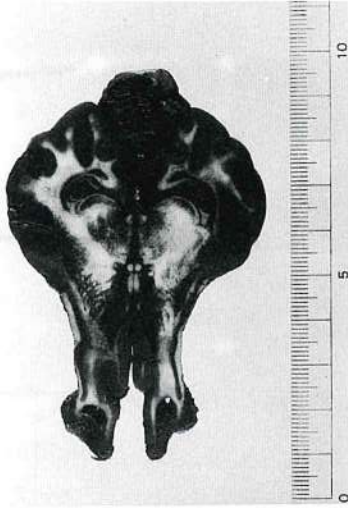


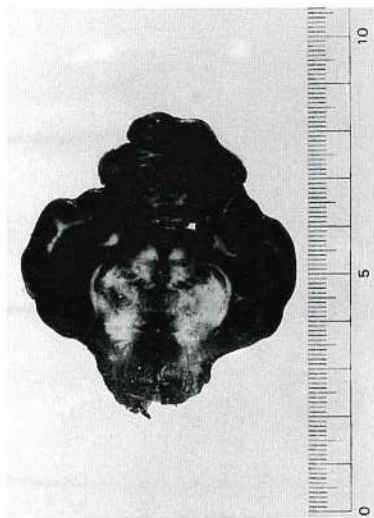


B2

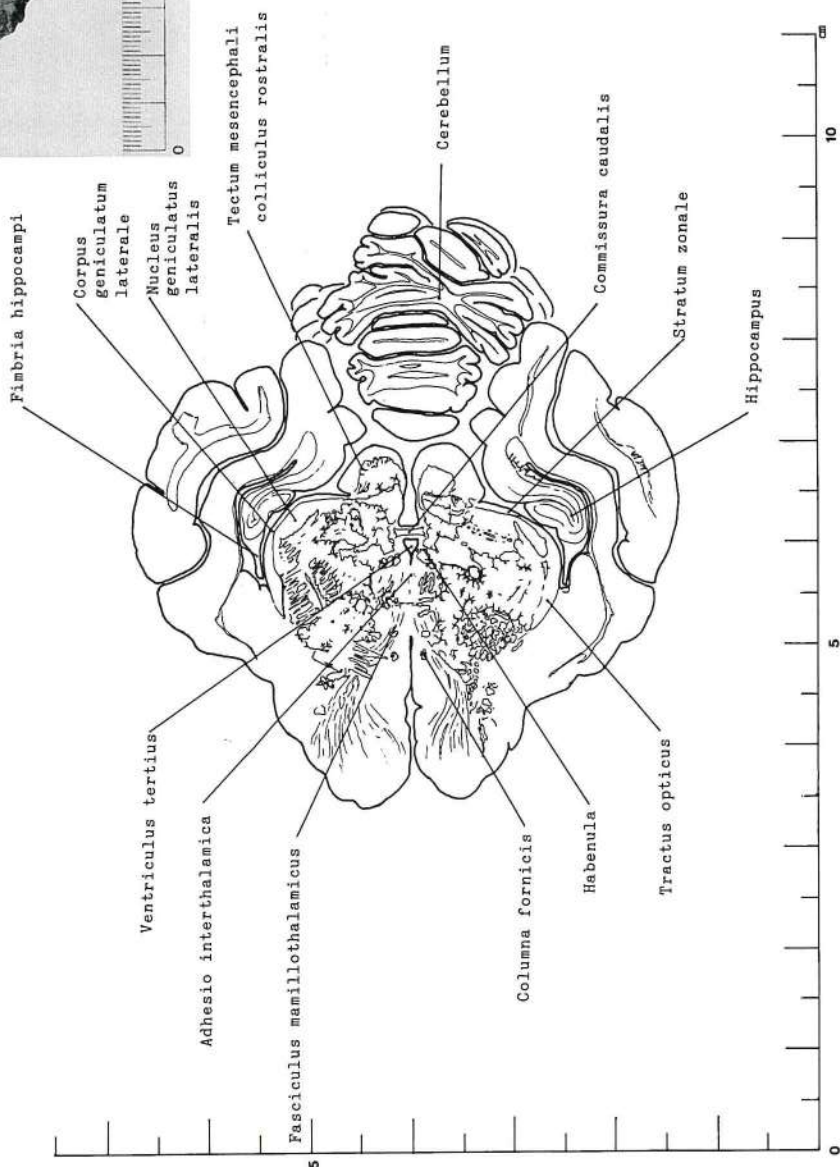


B3





B4



症 例

血球内に多数の封入体が見られた犬の
ジステンパーの1症例

網本昭輝*・神代 宏*

〔受付：1987年10月20日〕

CLINICAL CASE

A CASE OF *CANINE DISTEMPER* WITH MANY
INCLUSION BODIES IN THE BLOOD CELLS

Akiteru AMIMOTO and Hiroshi KUMASHIRO

Amica Pet Clinic, 3-2-3, Onda-cho, Ube City, Yamaguchi Prefecture, 755 Japan

〔Received for publication : October 20, 1987〕

A three-year-old female siberian husky weighing 12.7 kg was suffering from poor appetite, depression and weight loss. She had been delivered of 4 puppies 10 days before. No good effect of treatment was seen, and many inclusion bodies in the red and white blood cells and liver dysfunction were seen also in the blood examination on the 17th day. The examination on the 26th day showed aplastic anemia with no change of liver dysfunction. Blood transfusions were performed three times but her condition was not improved. On the 40th day, neurological signs such as paralysis of both legs were recognized. On the 42nd day, euthanasia was done because she couldn't move herself at all due to extreme weakness.

Histological examination showed a typical canine distemper. It is very rare case that many inclusion bodies in the blood cells are seen in the early stages of canine distemper. As in this case the discovery of inclusion bodies in the blood cells may become a useful technique of examination to determine canine distemper in the early stages.

犬のジステンパーは、*Paramyxovirus* 科 *Morbivirivir* 属の *Canine distemper virus* に起因する疾患で、病原性や伝染性の強い事が知られている。感染に対する宿主の反応は変化に富んでおり、殆ど症状を示さないものから全身臓器に激しい症状を示すものまで様々である^{2,3,7)}。

今回、著者らは食欲不振、体重減少、肝障害、

再生不良性の貧血などが見られ、血球内に種々のタイプの封入体が見られた極めてまれな犬のジステンパーの症例に遭遇したのでその概要を報告する。

症 例

患犬は3才3ヵ月の雌のシベリアンハスキー、

* アミカ ペット クリニック〔山口県宇部市恩田町3-2-3〕

体重12.7kg.

稟告

10日前に4頭の子犬を出産し、子犬の調子は良いが、ここ1週間ぐらい母親の元気・食欲がないとのことで昭和61年7月26日に来院した。

治療及び経過

経過の概要は (Table 1) に示すとおりで、初診時患犬は元気がなく、体温は39.2℃でわずかに痩せていた。出産の影響が考えられたため対症処置を施し様子を見た。しかし、その後も症状は変

Table 1 臨床症状の変化

病日 (日目)	1	17	26	32	34	40	42
BW (kg)	12.7	10.5	9.9	9.9	9.5	9.2	8.9
体温 (℃)	39.2	39.0	39.4	39.2	39.3	39.0	39.1
臨床症状							
元気消失		←	←	←	←	←	←
食欲不振		←	←	←	←	←	←
食欲廃絶						←	←
肝障害			←	←	←	←	←
貧血			←	←	←	←	←
神経症状						←	←
輸血 (ml)			200	170	170		
血液型 (患犬はDEA1・2型)			DEA1・1	DEA1(-)	DEA1(-)		
血球内封入体		(H+)	(+)	(+)	(-)	(-)	
子犬 (生後28~37日目で死亡)							+

わらず食欲不振で体重がさらに減少したとのことで17日目に再び来院した。

血液検査を行ったところ (Table 2) に示すように GOT, GPT が高値を示し、肝障害が疑われ、また血液塗抹標本で (Fig. 1~4) に示すような種々のタイプの血球内封入体が認められた。肝障害の治療を行ったが症状は特に好転せず体重はさらに減少した。そしてその間に4頭いた子犬のうち3頭が次々と死亡し、残りの1頭も調子が悪いとのことで親と共に26日目に来院した。再び検査を行ったところ肝障害の所見は前回と特に変化はなく、新たに PCV 値が17.6%と重度の貧血が見られた。しかしながら網状赤血球数は4%。で多染性、大小不同、赤芽球などは殆ど見られず、

再生像は極めて不良であった。

子犬の PCV 値は35%で貧血は殆ど見られなかったが、親と同様の血球内封入体が見られ、翌日痙攣を起こし死亡した。

母親はその後も貧血がさらに進行し、32日目には PCV 値が13%となったため、約200mlの輸血を行った。翌日の PCV 値は22.7%に上昇したが、全身状態に好転が見られなかったため、さらに34日目と40日目にそれぞれ約170mlづつの輸血を行った。しかし、症状の改善は見られず40日目の午後食欲がなくなり、後肢のふらつきが始まり、42日目には後駆麻痺が起り便や尿が失禁状態となり衰弱もひどかったため安楽死を行った。

1回目の輸血後の血液の検査で患犬の血液型は DEA 1, 1型であることが判明した。したがって1回目の輸血は不適合輸血ということになるが、患犬は輸血を受けるのは初めてで、この時点での副作用は認められなかった。また2回目、3回目の輸血は DEA 1, (-) 型のものを選んで行い、その後も輸血によるものと思われる副作用は見られなかった。

経過中の封入体の数の変化及び形状の変化については (Table 3) に示すとおりである。封入体の分類にあたっては小林らが報告した方法を用いて行った。封入体の数は17日目がI型18個、II型10個、III型3個、合計31個でI型が最も多かった。そして26日目には22個、32日目は4個、34日目は1個と次第に減少し、数が少なくなるにつれてI型からII型、II型からIII型の占める割合が多くなった。また白血球では好中球、リンパ球などにII型、III型のものが見られた。

病理組織学的所見

肺では肺胞壁内にリンパ球や形質細胞などの浸潤が見られ、肺胞壁は肥厚し、ジステンパーによる特徴的な間質性肺炎像が認められ、また細胞質内に封入体も見られた。小脳には白質に脱髄巣が認められ、また神経細胞の変性壊死、細胞質内封入体などが見られた。肝臓ではグリコーゲンの異常蓄積、グリソン周囲の肝細胞の腫大、船風状変化、肝臓細胞の変性壊死などの軽度の変化が見られた。その他大脳、小腸、腎臓、脾臓などには著名な変化は見られなかった。

Table 2 血液検査所見

病日 (日目)	17	26	32	34	40	42
輸血 (ml)			200	170	170	
RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	528	264	207	364	350	370
PCV (%)	36.7	17.6	13.0	22.0	22.0	23.0
		*	(22.7)	(28.0)	(25.0)	
Reti (%)		4	5	4		
WBC ($/\text{mm}^3$)	7,100	6,200	4,500	6,800	7,000	8,000
Plate ($\times 10^4/\text{mm}^3$)			15.4	7.6		
TP (g/dl)	6.5	5.4			6.3	
Alb (%)	51.5	48.4			56.9	
$\alpha 1$ (%)	4.6	5.6			4.5	
$\alpha 2$ (%)	8.3	16.1			20.1	
β (%)	24.9	24.3			10.1	
γ (%)	10.7	5.6			8.4	
A/G	1.06	0.93			1.31	
T-Bil (mg/dl)	0.3	0.2			0.4	
GOT (Karm-u)	157	138			96	
GPT (Karm-u)	676	689			667	
LDH (Wrob-u)					431	
ALP (KA-u)	8.1	29.7			17.3	
γ -GTP (IU/I)	9.0	57				
ChE (ΔpH)	0.67				0.45	
BUN (mg/dl)	11.5	11.1			11.7	
Crea (mg/dl)		0.3				
K (mEq/l)	4.0					
Ca (mg/dl)	8.7	7.6			8.3	
P (mg/dl)	3.1	3.2				
CPK (IU)	71				92	
Amy (Somo-u)					128	
TG (mg/dl)					59	
Cho (mg/dl)	135	118			128	
BS (mg/dl)	100	90			90	
封入体 (%)	32	22	4	1	0	0

* () 内は輸血翌日のPCV値

考 察

4頭の子犬が生後28~37日目で次々と死亡した事については、4頭目の子犬に母親と同様の封入体が血球内に認められた事から、同様にジステンパーに感染し死亡したものと考えられる。母親はジステンパーのワクチンの接種を受けておらず、子犬にも十分な受動免疫が得られなかったためと推察される。ジステンパー罹患犬の血球内封入体についてはいくつかの報告がされている^{4,5,6)}。今

回の染色は全て簡易法のヘマカラーにより行ったがこれまでの報告に見られたギムザ染色やライト染色などと同様に封入体は明瞭に染色され鑑別は容易であった。今回の症例では数種類の封入体が多数見られ、分類は小林らが報告した方法を用いて行い、殆どその方法で分類できたが、わずかにI型とII型、II型とIII型の間にそれぞれ移行形が見られた。今回はどちらか優位な方に入れて分類した。封入体の消長については小林らが報告したものと同様の傾向が見られた。また初診から17日

Table 3 封入体数の変化

病 日 (日 目)	17	26	32	34	
封 入 体	赤血球内	I 型	18	6	2
		II 型	10	12	1
		III 型	3	4	1
		合計	31	22	4
	※赤血球1,000個のうち封入体を有する数				
白血球内	好中球	4 (II, II, III, III)	3 (II, III, III)	2 (II, III)	
	リンパ球	2 (III, III)	1 (III)		
	単 球			1 (III)	
	合計	6	4	3	
※白血球100個のうち封入体を有する数 ()内は型					

※ I 型：染色性がやや弱い赤紫色の封入体で、糸状物が連結して網目状に見えるもの。
 II 型：I 型よりも強い赤紫色で、不整形あるいは策状に見えるもの。
 III 型：最も強く染色され、円形あるいは楕円形をしているもの。
 (小林らの分類による)

目の検査時に最も多くの封入体が見られたことから、もっと早い時期に検査を行ってればより早い時期に封入体が発見されたものと推察される。封入体の意義について色々と議論があるが、本症例の場合、種々の形態をした封入体が多数認められたことは極めて珍しく、また早期に封入体の出現するものでは、これがジステンパーの早期診断の一つの手段になるものとも考えられる。

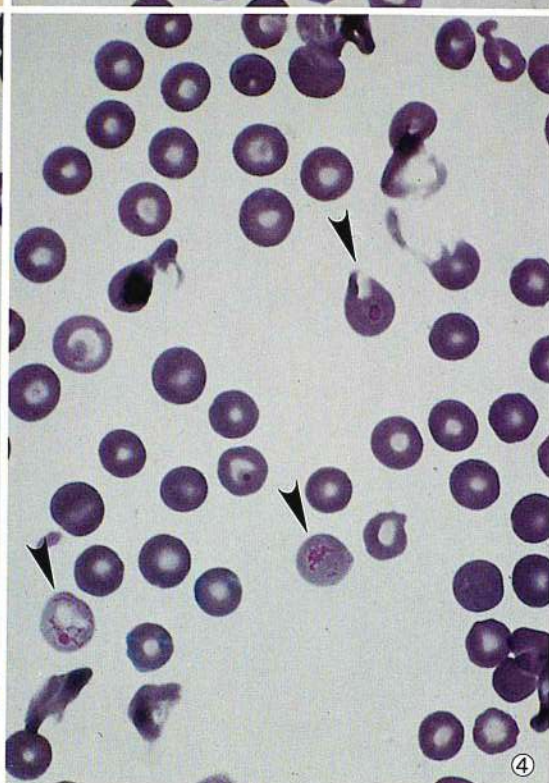
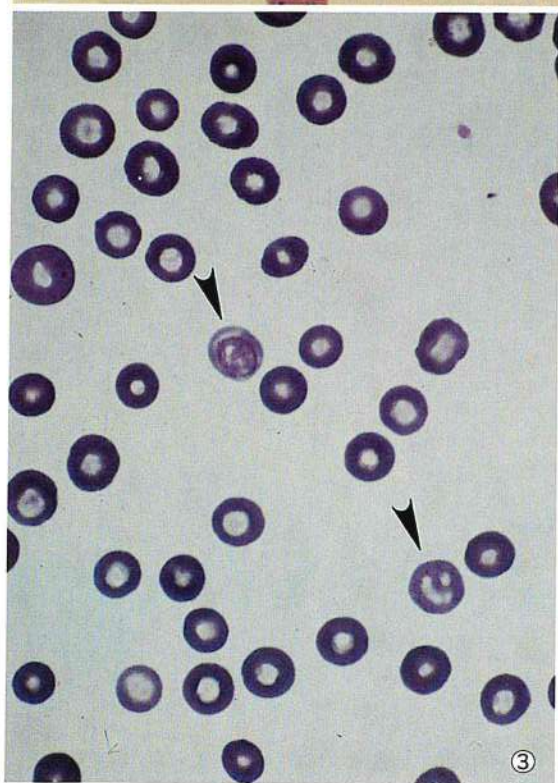
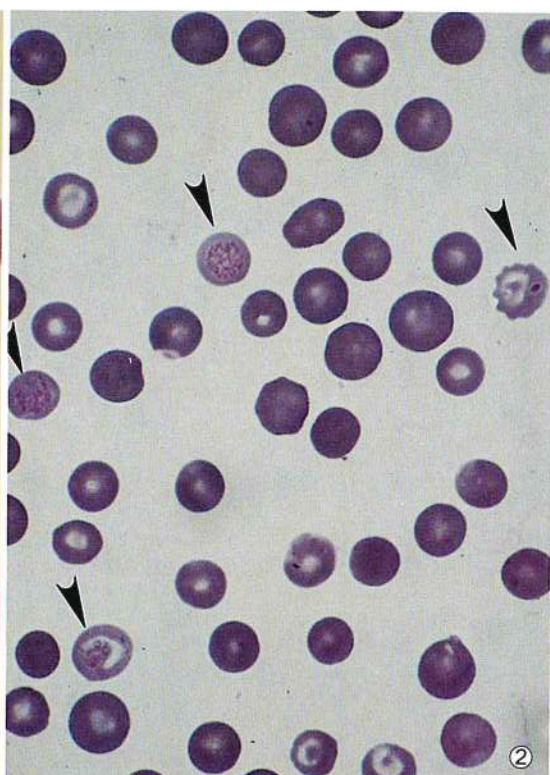
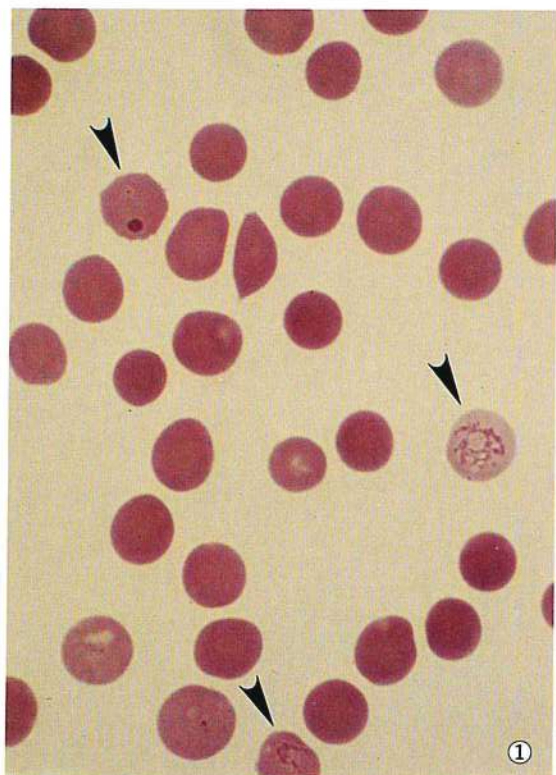
以上稿を終るにあたり御指導を頂いた山口大学農学部獣医学科家畜外科学教室の中間實徳教授、田中幹郎助教授に感謝致します。

文 献

- 1) 池本卯典・江島博康・黒川和雄：小動物の輸血と輸液，80～109，藤田企画出版，埼玉，1987.
- 2) 加藤 元 監訳：小動物臨床の実際VII, 1240～1241, 医歯薬出版，東京，1983.
- 3) 加藤 元 監訳：小動物臨床の実際VIII, 1196～1197, 医歯薬出版，東京，1985.
- 4) 小林弘之 他：犬ジステンパー血球内封入体の研究，自然感染犬における観察，小動物臨床，4 (2)：16～21, 山水書房，東京，1985.
- 5) 黒川和夫・長谷川篤彦訳：犬猫の血球形態学，24, 学窓社，東京，1979.
- 6) Schalm, O. N., Jain, N. C., Carroll, E. J.: *Veterinary Hematology*, 3rd ed., 456, Lea & Febiger, Philadelphia, 1975.
- 7) 其田三夫 監修：主要症状を基礎にした犬の臨床，340～343, 興国印刷，札幌，1983.

附 図 説 明

- Fig. 1 赤血球内の I 型, II 型および III 型封入体。
 Fig. 2 同上
 Fig. 3 赤血球内の I 型および II 型封入体。
 Fig. 4 赤血球内の II 型および III 型封入体。



症 例

「湖草」が原因とみられる牛の食道梗塞症例について

白水完治*・阿武雅夫*

〔受付：1987年7月6日〕

CLINICAL CASE

A CASE REPORT OF BOVINE ESOPHAGEAL INFARCTION
POSSIBLY CAUSED BY FEEDING OF "KOSO"

(*Phragmites communis* Trin)

Kanji SHIRARIZU and Masao ABU

The Veterinary Hospital Faculty, of Agriculture, Yamaguchi University, 1677 - 1,
Yoshida, Yamaguchi City, 753 Japan

〔Received for publication : July 6, 1987〕

A milk cow caused esophageal infarction and died 4 days later in June 1986. For etiology, infarction by gross knot of imported "KOSO", which had been fed just before the outbreak of esophageal infarction, was considered to be one of the causative factors. Experimentally it was found that "Koso" had strong character of water suction potentiality. After immersion of it in water for 3 minutes at 20°C, the "Koso" increased 5.1 times in weight and 2.5 times in volume. This result indicated that knot of the grass could cause esophageal infarction. It would be incurable. Preventive precaution for it should be considered.

昭和61年6月17日山口県山間酪農地域において、成乳牛1頭が食道梗塞を発症し、4日後に死亡した。梗塞原因物について調査した結果、断定はできなかったが、稟告から「湖草」による梗塞が疑われた。

湖草は、1950年頃から当該地域に導入されはじめた輸入粗飼料で、牛の嗜好性は中等度であるが植物繊維量が大きいため、広く使われている。

症例の概要

病例は昭和51年9月生まれのホルスタイン雌で

妊娠8ヵ月、体重約650kg、7代高等登録の資質優良な乳牛である。他の搾乳牛16頭と共に係留飼育されていた。

発症までは食欲、挙動に異常なく、妊娠末期の健康な状態であった。当日朝搾乳後、午前10時に乳牛用配合飼料、圧扁大麦、ヘイキューブ及びビートパルプを給与し、その採食終了を確認後稲藁及び湖草を追加して与えた。午前10時40分、当該牛の食道梗塞発症を発見した。

症状は、頭頸を伸長し泡沫を含む多量の流涎、急速な第一胃内ガス貯留など定型的な食道梗塞の

* 山口大学農学部附属家畜病院

状態を示していた。とくに飼育者は頸部食道の下1/3部位の異常な膨大を確認している。

当時給与した飼料には、梗塞の原因物となりやすい根菜類、野菜屑などは無く、その他梗塞の可能性がある物品なども飼槽近辺に存在する環境ではなかった。

獣医師によって食道梗塞推送治療が行われたが、推送に強い抵抗がみられた。治療終了後胃内ガス

の吐出が数回認められたが、以後食欲飲欲共に廃絶、頸部及び胸前部の強度の腫脹（Fig. 1）、高熱持続して、6月21日午後2時30分死亡した。死亡後頸部食道の下部及び胸部食道に重度の食道炎などが認められたとのことであるが、死体処理場の作業中の観察であるため詳細は不明である。また胃内容に含まれる梗塞物の十分な探索はされていない。

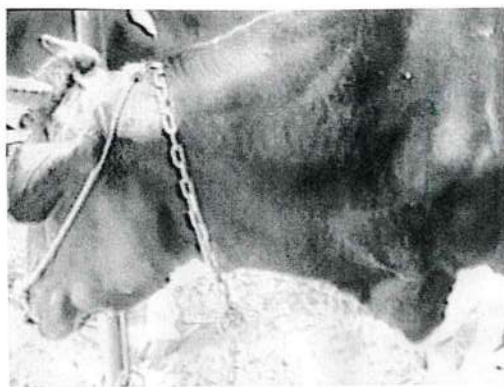


Fig. 1 食道梗塞発症24時間後、頸部の著明な腫脹がみられる

調査結果及び考察

牛の食道梗塞の主な原因物は、馬鈴薯、蕪などの根菜類やリングその他の果実類、トウモロコシやキャベツの芯などの野菜屑などであるが^{1,2,4)}、時にはガラス片などの異物^{1,2)}の場合も認められている。

本症例では、採食できる根菜や果実がほとんど無い季節であり、早堀の馬鈴薯も未収穫で給与することはありえない。飼育者は牛の飼料急変に細心の注意を払っていて、野菜屑などは与えていない。とくに発症牛は高泌乳能力をもち分娩1ヵ月前であるため、大切に管理されていた。また係留飼育のため、異物の盗食は不可能であった。

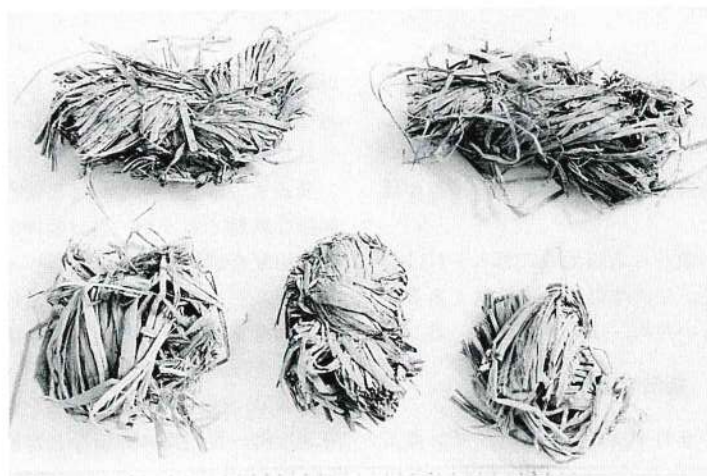


Fig. 2 湖草の梱包に入っている結び目

湖草の梱包には、稈長20～50cmに切断したものと切断せずに折り曲げたものの2種類あるが、どちらにも収穫時に結束したとみられる湖草の塊状の結び目 (Fig. 2) が混入している。この結び目にも緩い結合と堅い結合があるが、圧縮乾燥梱包のため、牛も咀嚼できない堅い塊状になっているのが多い。著者らの調査では、湖草を給与したすべての飼育者は、飼槽内に牛が採食せず残留した塊状の結び目を度々確認している。

本症例は朝飼給与が午前10時であることから、牛は空腹の状態では採食を開始し、比較的大型の結び目でも嚙下したことが考えられる。

湖草の50kg梱包20個を調査した結果、12個に緩い結合を含む結び目3～10を確認した。

著者らが調査した湖草は中国より輸入されたもので、採取した穂、茎葉及び根の鑑別の結果、中国植物名 芦荻 *Phragmites communis* Trin が大部分をしめていた。芦荻は中国高等植物図鑑³⁾によると、禾本科多年生で稈高1～2 m、温帯地域の池、沼、湖及び川岸に自生し、飼料やむしろ及

び紙の原料として利用されている。

飼料価値は、現時点では詳細不明であるが、遠路輸入される他の粗飼料と同様に、肉眼的に品質が均一ではなく、梱包によっては枯死状のものもみられるため、乾物量以外の栄養価は稲藁と大差はないものと思われる。

湖草の特性を調べたところ、著明な吸水性を有することが判明した。堅い結び目1個の大きさ14×11×3.5cmについて、3分間20℃の水道水中に漬けた成績を (Table 1) に示したが、重量5.1倍、体積2.53倍の増加が認められた (Fig. 3)。この特性は牛の食道梗塞の原因物として、極めて重要な

Table 1 輸入飼料“湖草”の結び目*の吸水性**

	吸水前	吸水後
重量	52.1 g	266 g
体積	146 cm ³	376 cm ³

* 結び目の大きさ 14×11×3.5 cm

** 水道水 (20℃) に3分間浸す。

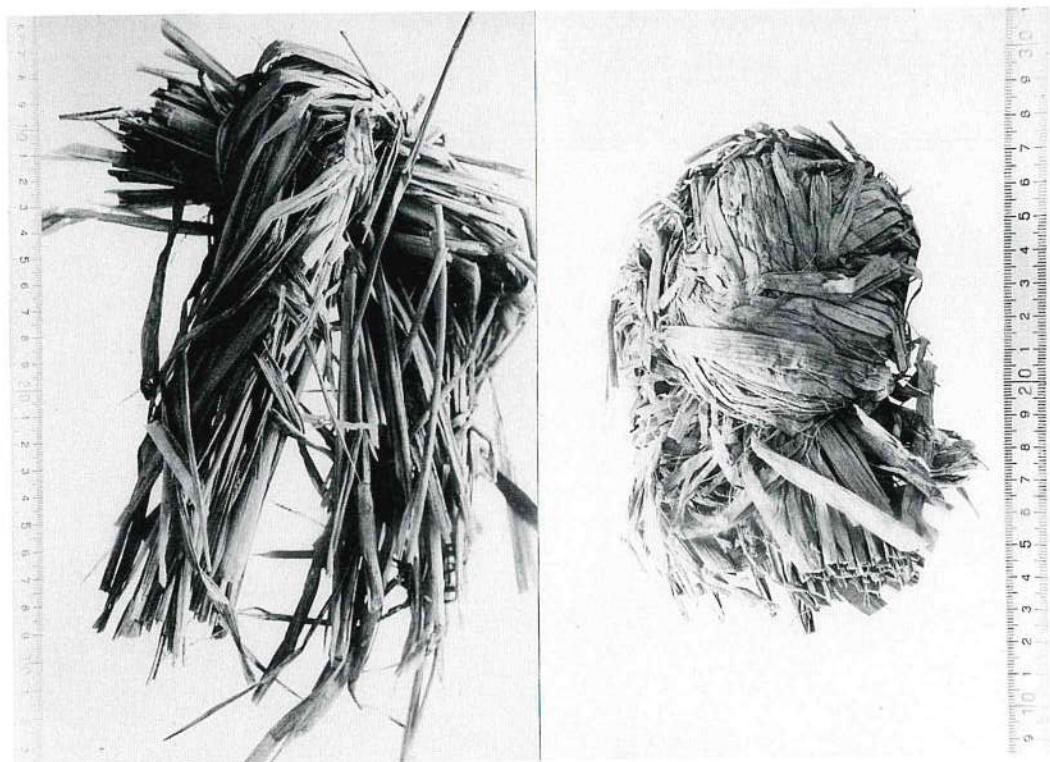


Fig. 3 湖草の結び目の吸水膨張。20℃の水中に3分間浸漬。
右：吸水前， 左：吸水後。

所見と考えられる。梗塞後唾液などを吸水して、短時間で体積は増大し重量も増加して、食道を強度に拡張し移動困難な異物となることが推察される。本症例における食道梗塞部の異常な膨大の稟告と推送困難の状態は、この特性によると考えることができる。

本症例は梗塞物の正確な視認がされていないので、推測の域をでないが、食道梗塞の原因として知られている根菜、果実類又は異物の採食は無く、飼育者が発症直前に給与した湖草の梱包に、複数の堅い結び目を確認記憶していたことから、湖草が原因である疑いは極めて濃厚である。

食道梗塞の原因又は誘因として、各種の梗塞物以外に食道周囲の病変あるいは食道炎などがあるが⁽⁴⁾、本症例では過去の健康状態から、これらを除外して考察した。

湖草の結び目によって食道梗塞を発症した場合は、極めて短時間で食道の拡張、拡張による患部の血行障害、食道粘膜の損傷などが発現し、種々

の治療法によっても治癒は困難と思われる。予防のため結び目を給与しないように注意が必要と考える。

湖草の植物学分類をお願いした山口大学農学部宇都宮講師に謝意を表します。

文 献

- 1) Amstutz, H. E., : *Bovine Medicine and Surgery*, 659 ~ 661, Drawer, Santa Barbara (1980)
- 2) Anderson, N. V., : *Veterinary Gastroenterology*, 381, Lea and Febiger, Philadelphia (1980)
- 3) 科学出版社：中国高等植物図鑑 5, 48, 北京, (1976)
- 4) Jennings, P. B., : *The Practice of Large animal surgery*. 1 : 504 ~ 505, S. W. B. Company. Philadelphia (1984)

症 例

犬の上顎及び下顎の複雑骨折の1治験例

神代 宏*・網本 昭輝*

〔受付：1987年10月20日〕

CLINICAL CASE

SUCCESSFUL TREATMENT OF CANINE COMPOUND
FRACTURES OF MAXILLA AND MANDIBLE

Hiroshi KUMASHIRO and AKiteru AMIMOTO

Amica Pet Clinic, 3-2-3, Onda-cho, Ube City, Yamaguchi Prefecture, 755 Japan

〔Received for publication : October 20, 1987〕

A one-year-old female mongrel dog weighing 10 kg was suffering from instability of the upper and lower jaws because of a traffic accident. The step of the upper jaw and the dangling of the lower jaw were seen because of compound fractures of Maxilla and Mandible.

Bone screws and wires were applied for the fixation of Maxillary and Mandiblar fractures. The oral mucosa was incised to expose the bone, and one or two screws were placed on anterior and posterior to each fracture site. Then the wires wrapped around the head of each screw and tightened to stabilize the fractures. After that, the screws and wires were covered with oral mucosa. Tube feeding was done for 7 days after the operation.

Bone plate, wire, splint and the other materials have been applied for the fixation of Maxillary or Mandiblar fractures. In the past the surgical treatment was complicated and it took a long time. In our method, the surgical treatment was simple and good fixation was obtained. The course of recovery was satisfactory. It may be a useful technique to fix the Maxillary or Mandiblar fractures.

上顎あるいは下顎の骨折は臨床においてしばしば遭遇する。骨折部の固定はプレート、ワイヤー、外副子などを用いて行われているが^{1)~6)}、手術が複雑で長時間を要することが多い。

遭遇し、スクリューとワイヤーを用いて固定したところ、手術が比較的簡単でしっかりした固定が得られ、良好な回復を示したのでその概要を報告する。

今回、我々は犬の上顎および下顎の複雑骨折に

* アミカ ペット クリニック〔山口県宇部市恩田町3-2-3〕

症 例

患犬は年齢約1才、体重10kg、雌の雑種で、交通事故により上顎、下顎がぐらぐらしているとのことで来院した。来院時、患犬は興奮しており、上顎・下顎の骨折が認められた(photo. 1)。また上顎骨折のため呼吸時にズーズーという音が聴取された。

上顎は右の第2前臼歯から左の第2前臼歯にかけて、および左右の第1切歯間で骨折しており、鼻背側には段差が見られ、吻側はぐらぐらしていた。また右の第2前臼歯は抜け、左の第2前臼は上顎骨の骨片と共に遊離していた(Fig. 1)。

下顎は、右が犬歯と第1前臼歯間、左が第2・第3前臼歯間で骨折しており、吻側は垂れ下がり骨折部の断端が露出していた(Fig. 2, Photo. 2)。

術 式

上顎の固定は骨折部の口腔粘膜をメスや骨膜剥離子等を用いて剥離した後、左右とも骨折線の前方と後方にドリルで穴を開け、長さ14mm、直径2mmのスクリューをそれぞれ1本ずつ挿入し、前方のスクリューの頭部に22Gのワイヤーを1周まきつけ、また後方のスクリューの頭部にもワイヤーを1周まきつけて、それぞれの端を締結して行った。なお左側の遊離骨片はワイヤー固定の間にあり、前後から圧迫するようにし、また裂けた口腔粘膜を縫合することにより固定した。また左右第1切歯間の骨折は左右の第2、第3切歯間の粘膜切開後、ドリルで穴を開け22Gのワイヤーを通し吻側で結紮し固定した。なお結び目は粘膜面を刺激しないように歯科用レジンでおおった(Fig. 3)。

下顎の骨折に対しては、左側は骨折線の前方に2本、後方に2本のスクリューを四角形になるように挿入して、ワイヤーで上同志、下同志および対角で結紮し固定した。右側は骨折線より前方に2本のスクリューを挿入するスペースがなかったため前方は1本とし、後方は2本のスクリューを三角形になるように挿入して、同じようにワイヤーで締結し固定した(Fig. 4, Photo. 3)。

上顎・下顎とも固定後、粘膜を2-0 cat gut で縫合し、スクリューとワイヤーを粘膜下に埋没した。

なお骨折部の固定終了後、給餌のため経咽頭チューブを装着した。

給 餌

手術後6日目まで経咽頭チューブによる給餌を行った。体重が10kgなので1日に水分は約800ml、エネルギーは約800calとなるように、ハチミツ、砂糖、犬用ミルク、犬用ペビーフード、卵黄、サラダオイルなどをぬるま湯に溶いて2~3回に分けて与えた。

なお7日目からはこれらにドッグフードをふやかしてどろどろにしたものや犬用の缶詰を加え約1ヵ月間流動食を与えた。その後は普通の食餌に戻し、平常に復した。

術後の経過

本症例では手術後骨折部の可動性はなく、咬合も臨床上問題なかった。また左上顎の遊離骨折の一部が吸収され歯根部が少し露出したものの肉芽組織がおおい、その後の経過も良好で、6週目のレントゲン写真でも良好な回復像が認められた(Photo. 4, 5)。またスクリューが歯髄に当たっている可能性があるが7ヵ月後現在では臨床上の問題はでていない。今後も経過を観察し必要があればスクリューを抜いたり、歯根の治療も考えている。

考 察

上顎あるいは下顎の骨折の整復にはプレート、ワイヤー、外副子あるいはこれらの方法の組み合わせなどにより行われているが¹⁻⁶⁾、手術が複雑となり長時間を要することが多い。また適当な大きさ、形状のプレート、外副子がなかったり、ワイヤーを通すのが困難な場合もある。しかし、今回のスクリューとワイヤーによる固定法では比較的手術が簡単であり、時間もかからずしっかりした固定が得られた。

上顎、下顎の骨折は四肢などの骨折に比べ機能、形状などの面で手術あるいは手術後の管理に困難の伴うものであるが、今回の方法では骨折面の可動性もなく、6日間の経咽頭チューブによる給餌とその後約1ヵ月間の流動食の給餌により良好な回復が得られた。したがって上顎・下顎の骨折に対するスクリューとワイヤーによる固定は、スク

リューの長さや直径など考慮しなければならない点はあるが、有効な手段の一つと思われる。

最後に御指導いただいた山口大学農学部獣医学科家畜外科学教室の中間實徳教授、田中幹郎助教授に謝意を表します。

文 献

- 1) 小林 一彦, 幅田 功, 幅田慶子 訳: 獣医歯科学, 131~151. 学窓社, 東京, 1984.
- 2) 一木彦三 訳: 小動物の整形外科, 335~366. 学窓社, 東京, 1987.
- 3) 加藤 元 監訳: 犬と猫の臨床歯科学, 143~158. 医歯薬出版, 東京, 1986.
- 4) 松原哲舟 監訳: 小動物の内固定法, 210~218. LLLセミナー: 姫路, 1986.
- 5) 酒井 保, 加藤 元 監訳: 小動物外科臨床の実際, 353~365. 興仁舎, 東京, 1981.
- 6) 高橋 貢 監訳: 犬と猫の整形外科臨床, 113~122. 医歯薬出版, 東京, 1986.

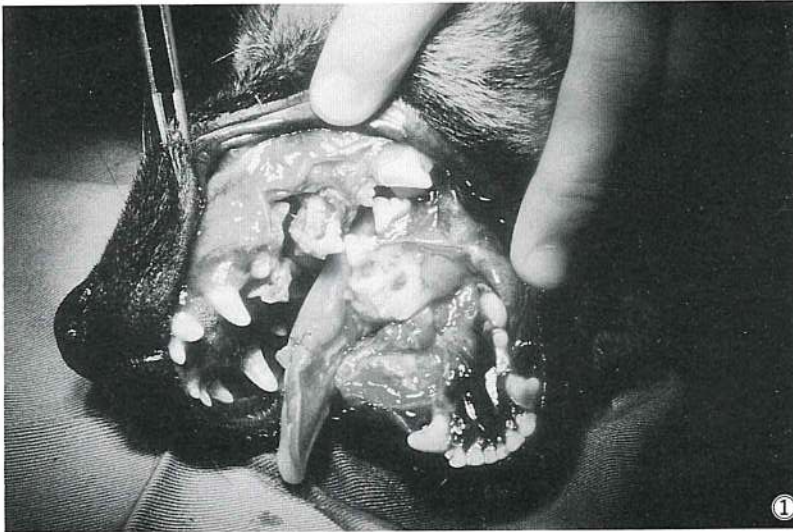


Photo. 1 手術前の上顎と下顎

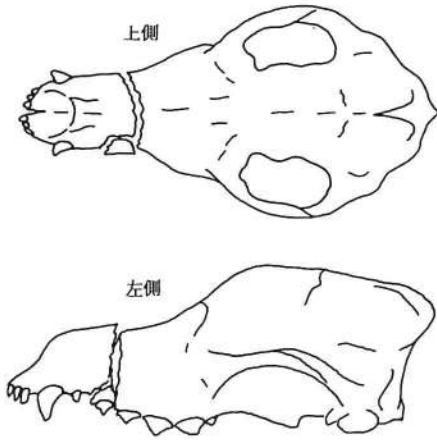


Fig. 1 上顎の骨折部

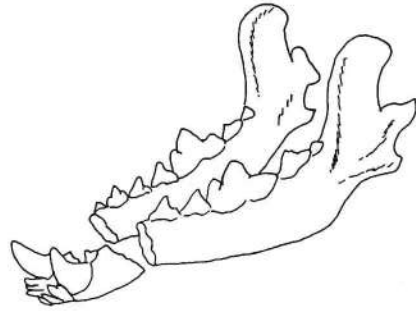


Fig. 2 下顎の骨折部

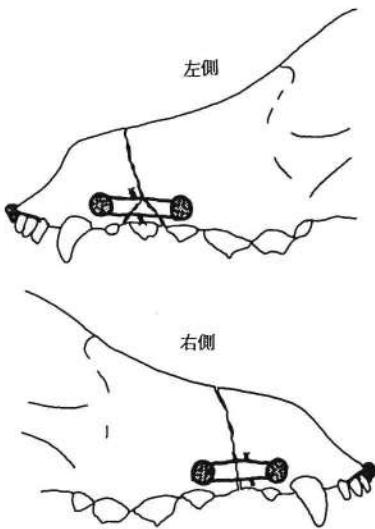


Fig. 3 スクリューとワイヤーによる上顎の固定

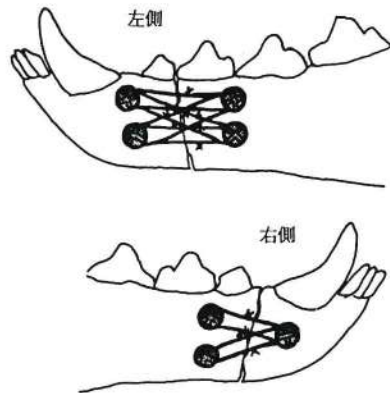


Fig. 4 スクリューとワイヤーによる下顎の固定

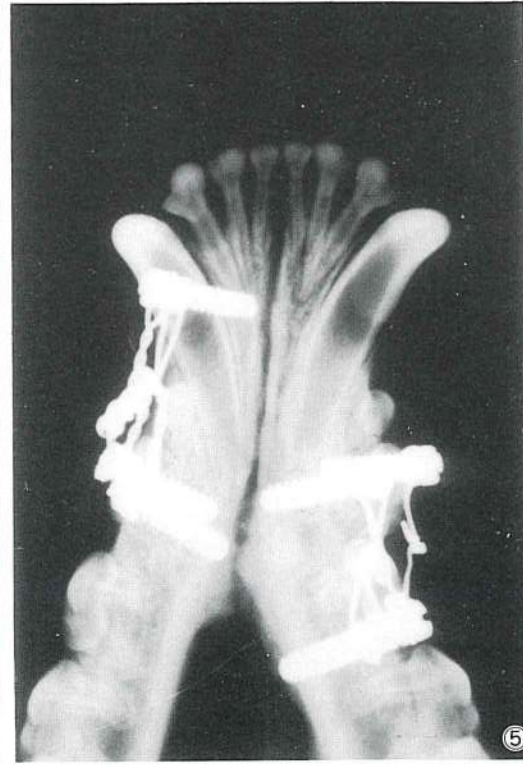
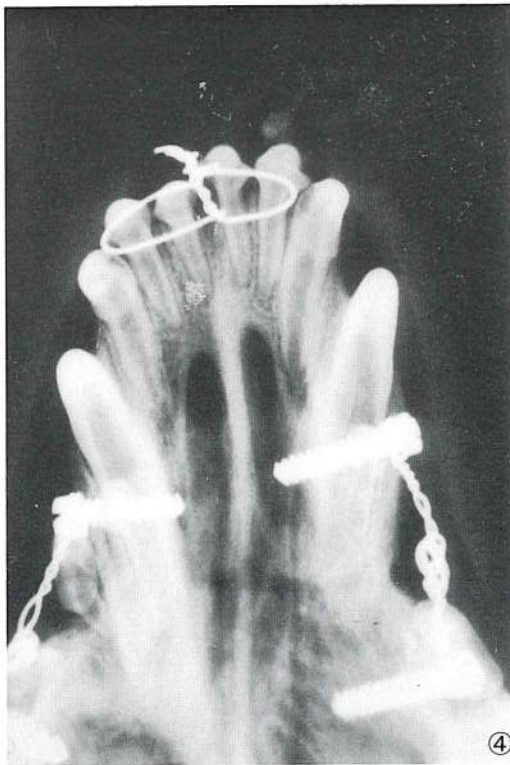
レントゲン写真説明

Photo. 2 手術前 (側面像)

Photo. 3 手術後 (側面像)

Photo. 4 手術後6週間目の上顎

Photo. 5 手術後6週間目の下顎



山口獣医学雑誌 投稿規定

1. 山口獣医学雑誌（以下、雑誌という）に関する原稿の取り扱いは、この規定に拠る。
2. 原稿は2部〔正本1部、コピー1部（ゼロックス、リコピー、等々）〕を学会事務局あて送付する。
3. 原稿は、編集委員において審査し、原則として、受付順に登載する。
4. 審査の結果、採用と認められた原稿は、雑誌の印刷発刊後においても、原則として著者へ返却しない。
5. 審査の結果、不採用と認められた原稿は、原則として、受付3か月以内に返却する。但しこの場合、不採用の理由を明らかにする義務を負わない。
6. 原稿は、原則として、刷り上がり6ページ（1ページ約2,000字）以内とし、当学会所定の原稿用紙（22字×44行）に記述する。原稿用紙は、申し出があれば、無償で分与する。
なお、制限紙数には、論文表題、著者名、所属機関名、図表、文献、写真など一切を含む。抄録は和文、欧文のいずれにおいても、制限紙数に含まれる。制限紙数を超過した分およびカラー写真については、原則として、著者実費負担とする。
7. 和文原稿は、現代かなづかい、平仮名、横書き、楷書で記述し、欧文抄録は刷り上がり1ページ以内とする。欧文（英文または独文）原稿は、厚手のタイプライター用紙にダブルスペースでタイプライティングするとともに、別に簡潔に要約した日本語抄録（刷り上がり1ページ以内）を添付する。
8. 図表並びに写真は、まとめて原稿の最後につけ、論文の中に、それらを置く位置を明確に指定する。写真は原則として「手札判」以上の大きさとし、番号をつける場合は直接写真に記入せず台紙に位置と番号を記入する。必要に応じて、天地左右を指定する。
9. カラー写真をトリミングする場合はコピー（ゼロックス等々、白黒で可）について記入指定する。
10. 凸版の原図（図版、体温表など）は、必ず、墨汁、黒インキなどで青色方眼紙または白紙に明記する。凸版原図および写真の送付にあたっては、折・汚損に留意し、台紙に仮付し、その表面を硫酸紙、セロファン紙などで覆う。
11. 引用文献は、直接、本文に引用したものに限り、著者名、論文表題、登載誌、巻（号）、始頁～終頁、西暦年を明記し、原則としてアルファベット順に配列し、番号をつけ、下記の様式で記載する。特に句読点に注意し、イタリック字体は赤線のアンダーラインで指定する。

例 雑誌

和 文： 5) 松本正弘・中村一夫：人および動物血液中の日本脳炎ウイルス中和抗体の分布と推移について。熱帯医学, 15(6)：272～285, 1975.

英 文： 18) Lawrence J. E. and Clark, D. H. : The Lysis of Leptospire by Antiserum. Amer. J. of Trop. Med. Hyg., 24(2) : 250～260. 1975.

単行本

和 文： 7) 山村雄一・石坂公成：免疫化学概論，2版：15～18。朝倉書店，東京，1973.

英 文： 15) Smith, H. A., Jones, T. C. and Hunt, R. D. : Veterinary Pathology. 4th ed. Lea & Febiger Pub., Philadelphia. U.S.A. 1972.

12. 外国人名、地名などは、原語のまま大文字を用いて記述し、数字は算用数字、度量衡はメートル法に拠る。
13. 印刷の校正は編集委員が行う。但し、初校は著者が行うものとし、この場合、原則として、内容の訂正は認めない。
14. 別刷は、100部まで無償で贈呈する。それ以上の部数については、著者実費負担とする。必要部数については、初校（著者校正）のとき、原稿の右上端に朱書すること。

山口県獣医師会学会規則

- 第1条 学会は、山口県獣医師会定款第2条及び第3条の目的を達するため、学術研究業績発表事業を行い、山口県獣医学会と称する。
- 第2条 学会長は山口県獣医師会長とする。
- 第3条 会の公正円滑な運営を図るために学会運営委員会を設置する。
- 第4条 運営委員は16名以内とし、理事会に諮り会長これを委嘱し、任期は2か年とする。
- 第5条 学会は年1回以上開催する。
- 第6条 学会は機関誌「山口獣医学雑誌」を年1回以上発刊し、会員及び関係機関に配布、寄贈及び交換を行うものとする。
- 第7条 機関誌の編集は、別に定める「山口獣医学雑誌編集内規」による。
- 第8条 規則に定めない事項は運営委員会においてこれを決定する。
- 第9条 規則の改廃については理事会の議決を要する。

付 則

この規則は昭和54年10月13日から実施する。

山口獣医学雑誌編集内規

- 第1条 雑誌は、原則として毎年8月に定期刊行する。
- 第2条 編集は獣医学、医学、生物学、公衆衛生学及び関連領域の総説、原著、短報、資料等で、会員の寄稿原稿及び学会の依頼原稿について行う。
- 第3条 学会長は、編集委員若干名を委嘱し、委員会を設置する。
- 第4条 学会長は、学会事務局に、発刊、配布・寄贈・交換・広告取得等の事務を担当させる。
- 第5条 委員の任期は2年とする。ただし再任を妨げない。
- 第6条 編集委員会
- (1) 委員会は、会長が必要に応じて招集する。
 - (2) 委員長は、委員の互選による。
 - (3) 委員会は、寄稿原稿の採否について審査する。
 - (4) 委員会は、発行部数を決定する。
- 第7条 内規に定めのない事項は、編集委員会において決定する。
- 第8条 内規の改廃については、編集委員会及び学会運営委員会において決定する。

付 則

この内規は、昭和54年10月13日から実施する。

山口県獣医師会関係事業および刊行物

事業概要

獣医学術の発達普及と獣医業務の公正円滑な発展を図り、地域社会の畜産の興隆と公衆衛生の発達に寄与するとともに、獣医業術倫理に基づく獣医師の学識、技術、教養、品性、等々の向上を図るための諸種の事業を行う。

学会・講習会・研修会

山口県獣医学会

昭和37年第1回開催、毎年1回開催、昭和61年現在第25回学会を終了

榎村 浩博士記念賞

昭和42年、榎村博士から寄贈された芳志を基金として設定された。この記念賞は、毎年開催される山口県獣医学会における優秀研究発表者へ授与される

講習会・研修会

臨床（大動物、小動物、鶏病）、公衆衛生、等々の講習、研修会を県獣医師会、中国地区連合獣医師会、日本獣医師会、山口県、農林水産省、厚生省、等々の単独開催、共催、後援によって年3～4回実施

刊行物

山口県獣医師会会報

昭和36年（1961年）6月創刊、毎月1回発行、現在（昭和62年11月）第318号を発刊。会報、公文、広報、雑報、随筆、消息、等々を登載。県内会員および全国都道府県獣医師会へ配布

山口獣医学雑誌 The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine

昭和49年（1974年）1月創刊、毎年1回発行、現在（昭和62年11月）第14号を発刊。邦文、英文、独文の総説、原著、等々論文を登載。山口県獣医学会の機関誌として内外の学術誌と交換

山口獣医学雑誌 第14号 昭和62年

The Yamaguchi Journal
of Veterinary Medicine

No.14 1987

昭和62年11月25日印刷

昭和62年11月30日発行

山口県獣医学会

学会事務局 山口県獣医師会館内

山口県小郡町下郷東蔵敷3-1080-3

郵便番号 754 電話 小郡 (08397) 2-1174番

印刷所 コロニー印刷 山口県防府市台道長沢 522番地
電話 防府 (0835) 32-0069番

(毎年1回発行)

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No.14 NOVEMBER 1987

CONTENTS

REVIEW

- Biomedical Application of Backscattered Electron Microscope (WET - SEM).
Takashi MAKITA1~16

ORIGINAL ARTICLES

- Growth Inhibition of a Newly Established Feline Endometrial Adenocarcinoma Cell Line by
Progesteron.
Makoto INOUE and Akio SATO17~20
- Epidemiological Studies on *Enteroviruses* in Yamaguchi Prefecture.
Part 4. Epidemics of *Aseptic Meningitis*, Including an Outbreak at Neonatal Intensive Care Unit
in 1986.
Masahiro OKADA, Akira IWASAKI, Kuniaki ITAGAKI, Toshiki NAKAO,
Hiroshi YAMAGATA, Kazushige TANAKA, Yoji KANEHARA,
Yoichiro YAMAGUCHI and Eitaro SUZUKI21~26
- Trend of Distribution of the Type of Group A *Streptococci* in Yamaguchi Prefecture from 1984 to
1986.
Atsushi KATAYAMA, Hiroshi YAMAGATA, Kazushige TANAKA,
Eitaro SUZUKI, Kazuto MATSUOKA and Mitsuko ISOMURA27~30
- The Preventive Investigation of Bovine *Fascioliasis*.
3. Effect of Antitrematodal Anthelmintics, *Triclabendazole*, Administration to EPG of Natural
Infection of Bovine *Fascioliasis*.
Kanji SHIRAMIZU and Masao ABU31~36
- Detection of Metallic Foreign Bodies in Body Cavity and Gastric Magnet in Milk Cows in
Mountainous District of Yamaguchi Prefecture.
Kanji SHIRAMIZU and Masao ABU37~40
- Epidemiological Analysis of Human *Influenza Viruses* in Yamaguchi Prefecture in the Period of
1985 to 1987.
Kuniaki ITAGAKI, Toshiki NAKAO, Masahiro OKADA, Akira IWASAKI and
Hiroshi YAMAGATA41~44
- Survey of Antibody of *Japanese Encephalitis Virus* in Livestocks from May 1985 to May 1986.
Kuniaki ITAGAKI, Toshiki NAKAO, Yoshihiro FUJINAGA,
Masaaki TOMITA, Hiroshi YOSHIWA and Shinichi HIRATA45~48
- Regional Anatomy of Swine. V. Cross Section of Brain of Swine (Part I).
Takashi MAKITA and Masaya TOMINAGA49~66

CLINICAL CASES

- A Case of *Canine Distemper* with Many Inclusion Bodies in the Blood Cells.
Akiteru AMIMOTO and Hiroshi KUMASHIRO67~72
- A Case Report of Bovine Esophageal Infarction Possibly Caused by Feeding
of "KOSO (*Phragmites communis* Trin)".
Kanji SHIRAMIZU and Masao ABU73~76
- Successful Treatment of Canine Compound Fractures of Maxilla and Mandible.
Hiroshi KUMASHIRO and Akiteru AMIMOTO77~82

ADDENDA

- Rules of Contribution to the Official Journal.83
- Rule of the Association.84
- Bylaw for the Arrangement of the Official Journal.84
- Outline of the Enterprises and the Publications (*colophon page*)

THE OFFICIAL JOURNAL OF
THE YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION OF VETERINARY MEDICINE