

山口獣医学雑誌

山口県獣医師会創立50周年記念号

第 27 号

2000年12月

山口県獣医学会

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

Special Number Issued in Commemoration of the 50th
Anniversary of the Establishment of the Association.

No. 27

December 2000

THE
YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION
OF
VETERINARY MEDICINE

山 口 県 獣 医 学 会

編 集 委 員 会

網本 昭輝 鹿江 雅光 鹿島 毅之
富永 潔 中間 實徳 山縣 宏*

(A B C 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、公衆衛生学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 754-0002 山口県吉敷郡小郡町下郷東蔵敷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

Akiteru AMIMOTO Masamitsu KANOE Takeyuki KASHIMA
Kiyoshi TOMINAGA Sanenori NAKAMA Hiroshi YAMAGATA*

(*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, 1080—3, Higashikurashiki, Shimogo, Ogori Town, Yoshiki County, Yamaguchi Prefecture, 754 - 0002 Japan.

山口獣医学雑誌 第27号 2000年

山口県獣医師会創立50周年記念号

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine No.27 December 2000

Special Number Issued in Commemoration of the 50th
Anniversary of the Establishment of the Association

目 次

総 説

- アルボウイルスによる牛の異常産
津田知幸…………… 1～18

原 著

- Trypanosoma evansi*の外被の蛋白融解酵素処理に伴う超微細構造学的変化
比留木武雄…………… 19～32
- Vero毒素産生性大腸菌0121：H19が分離された仔牛の急死例
川戸彰弘・小川賀雄・西本清仁…………… 33～36
- 黒毛和種における早期除角の労力性および牛への増体性、行動、生理に及ぼす影響
白尾大司・澤井利幸・藤井宏志…………… 37～42

資 料

- アジアの伝承獣医療法 Ⅲ. 豚
牧田登之…………… 43～54
- 内モンゴ遊牧民の羊の解体方法の一例
牧田登之・芒來…………… 55～58
- 牛療治書々写体の系譜
白水完児…………… 59～66

附 録

- 投稿規定…………… 67
- 山口県獣医師会学会規則…………… 68
- 山口獣医学雑誌編集内規…………… 68
- 会関係事業・刊行物…………… (奥付登載ページ)

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

総説

アルボウイルスによる牛の異常産

津田知幸*

[受付：2000年11月30日]

REVIEW

CONGENITAL ABNORMALITIES OF CATTLE CAUSED BY THE ARBOVIRAL INFECTION

Tomoyuki TSUDA

*National Institute of Animal Health, Kyushu Research Station,
2702 Chuzan, Kagoshima 891-0105, Japan*

[Received for publication : November 30, 2000]

Arthropod-bone (arbo-) viruses are transmitted by the blood sucking insects and they are causative of epidemic disease of domestic animals. Many cases of the epidemic or sporadic arboviral disease, the so-called abnormal deliveries in cattle, such as abortion / stillbirth, premature birth and calf deformities, have been reported in Japan and Australia. The diseases cause considerable economic losses in beef and dairy cattle, owing to fetal death, premature disposal and disruption of reproduction or milking plan. The vigorous investigations revealed that Akabane and Aino viruses, belonging to the Simbu group of the genus *Bunyavirus* in the family *Bunyaviridae*, and Chuzan virus, belonging to the palyam group of the genus *Orbivirus* in the family *Reoviridae*, were associated with the syndrome, designated as Akabane disease, Aino virus infection and Chuzan disease, respectively. The intra-uterine infection with the viruses brings about non-purulent encephalomyelitis of fetus causing the fetal death or congenital disorders, such as arthrogryposis, hydranencephaly and cerebellar hypoplasia.

Since the epidemic of the viruses is closely related to the distribution and activity of vector insects, the diseases are characterized by seasonal and geographical occurrence. In Japan, the outbreak of the diseases was limited in the southern part, and occurred from the late summer to the next spring at an interval of 5 to 10 years until 1990. However, the epidemic of Aino virus infection, Ibaraki disease and Akabane disease have been frequently reported in the 1990's [1995-96, 1997 and 1998-99]. In the last case, the disease spread to a wide area of the northern part of the country. Thus a threat of the diseases has increased in recent years, and the preventive efforts will be more important than before.

In order to prevent the diseases, it is essential to have the correct comprehension of the disease nature. This article reviews the abnormal deliveries caused by arboviruses, including virology, epidemiology, pathogenesis, diagnosis, as well as some preventive measures of the diseases.

はじめに

牛の流産、死産および早産に加え、先天異常子牛の分娩などの妊娠および分娩時の異常はいわゆる牛の異常産と呼称されている。この異常産という用語は胎子の異常に加えて出産過程における分娩異常も含む用語であり、学術的には正確な表現とはいえない。医学領域では出生時の異常は先天異常として定義され、家畜および牛の先天異常全般についても他の総説に詳しく紹介されている^{21,60)}。しかし、1972年から1975年にかけて流行したアカバネ病では、当初その原因が不明であったことに加え、流・早・死産および先天異常子牛の分娩といった症候群が連続して発生し、その頃から病気の発生状態をよく表現した異常産という言葉が使われるようになった。

異常産は子牛の死亡や発育不良などによる直接的な被害をもたらすばかりでなく、発情遅延や無発情によって育種改良計画の遅延や停滞をもたらす。さらに、母牛の分娩間隔の長期化や流産による搾乳計画の狂いなどの間接的な影響を含めた経済的損失は甚大なものになる。異常産の原因は遺伝、栄養障害、内分泌障害、物理的作用あるいは薬物や化学物質などの非感染性要因と病原微生物の感染による感染性要因に大別される。個々の異常産についてその原因を特定することは困難であるが、一般的に非感染性要因による異常産は散発的な発生にとどまり、その発生形態も多様である。しかし、感染性要因による異常産は時に大きな流行を起こすこともある。関与する微生物には細菌、原虫、クラミジアおよびウイルスが明らかにされているが、ウイルス以外の微生物による異常産はいずれも発生は小規模で散発的にすぎない。

日本での牛の異常産の原因ウイルスには牛ウイルス性下痢・粘膜病 (BVD) ウイルス、牛パラインフルエンザ 3 型 (BPI-3) ウイルス、牛のエンテロウイルス、牛伝染性鼻気管炎 (IBR) ウイルス、牛のバルボウイルスなどのほか、節足動物媒介ウイルス (アルボウイルス) と総称される一連のウイルスが知られている。BVD, BPI-3, 牛のエンテロ, IBRおよび牛のバルボの各ウイルスは日本の牛の間に広く分布しており、これらによる異常産は局地的あるいは散発的に発生している。一方、アルボウイルスによる異常産は、条件が整った場合には広範な地域に季節性をもって発生するという特徴があり、日本では最も被害が大きい病気である。また、ウイルス感染時の妊娠日齢によって流・早・死産および体形異常や中枢神経異常を示す異常子牛の分娩という一連の症候群が発現するという特徴がある。こうした異常産と呼称せざるを得ない発生形態がアルボウイルスによるものの特徴であり、他の原因や他の動物種で起こるいわゆる異常産については死・流産あるいは先天異常と呼称すべきであろう。

本稿ではアカバネ病、チュウザン病およびアイノウイルス感染症を中心にわが国で多発するアルボウイルスによる牛の異常産について、病性、診断および防疫について概説する。

1. 病因

アルボウイルスは蚊やヌカカなどの節足動物によって媒介され、脊椎動物に伝播するウイルスの総称である。したがって、アルボウイルスは脊椎動物に感染すること、感染脊椎動物を吸血することにより節足動物に感染すること、および脊椎動物・節足動物・脊椎動物といったウイルスの生態環が自然界で観察されることの疫学的特徴を持っている。アルボウイルスにはウイルス分類学的には異なる科に分類される多種のウイルスが含まれ (Table 1)、その媒介節足動物も多種にわたる。節足動物は極地帯を除く地球上のほとんどの陸地に生息しており、これによって媒介されるアルボウイルスもまた多くの地域に分布している。しかし、分布する媒介節足動物や脊椎動物の種類の違い、あるいはその密度や感受性の違いによって、地域によって分布しているアルボウイルスは異なっている。また、脊椎動物に疾病を引き起こすことが判明しているウイルス種は少なく、多くのアルボウイルスの病原性は不明であることから、既知あるいは未知のウイルスも含めて新興、再興感染症を引き起こす可能性も残されている。

日本でこれまで牛の異常産の原因としてウイルス学のおよび血清学的に明らかにされているウイルスはアカバネウイルス、アイノウイルスおよびチュウザンウイルス (カスバウイルス) であり、ブルータンゲウイ

Table 1 主なアルボウイルスの分類学的位置

科	属	代表的ウイルス
Togaviridae	Alphavirus	Western equine encephalitis virus (WEEV)
		Venezuelan equine encephalitis virus (VEEV)
		Getah virus (GETV)
Flaviviridae	Flavivirus	Japanese encephalitis virus (JEV)
		West Nile virus (WNV)
		Negishi virus (NEGV)
Bunyaviridae	Bunyavirus	Akabane virus (AKAV)
		Aino virus (AINOV)
		Peaton virus (PEAV)
		Ibaraki virus (IBAV)
Reoviridae	Orbivirus	Kasba virus (KASV) (Chuzan virus)
		Bluetongue virus (BTV)
		African horse sickness virus (AHSV)
Rhabdoviridae	Ephemerovirus	Bovine ephemeral fever virus (BEFV)
Nodaviridae	Nodavirus	Nodamura virus (NoV)
African swine fever virus		African swine fever virus (ASFV)

ルスおよびイバラキウイルスもその可能性を持つと考えられている。

1) アカバネウイルスおよびアイノウイルス

アカバネウイルスは1959年に群馬県でキンイロヤブカ (*Aedes vexans*) およびコガタアカイエカ (*Culex tritaeniorhynchus*) から⁷⁰⁾、アイノウイルスは1964年に長崎県でコガタアカイエカから最初に分離され⁸⁵⁾、分離地の地名から名付けられたウイルスで、いずれも *Bunyaviridae* (科) *Bunyavirus* (属) の Simbu 群に属するウイルスである。Simbu 群のウイルスは補体結合反応で互いに交差がみられるが、中和試験および赤血球凝集抑制試験で区別され、現在24種のウイルスが知られている^{30,62)}。アカバネウイルスは日本以外ではオーストラリア^{77,79)}、台湾^{7,49)}およびケニア^{52,79)}で、アイノウイルスはオーストラリア⁷⁹⁾で分離されている。

ウイルス粒子は直径90~100nmのほぼ球形で、表面に突起を持つエンベロープで包まれている (Fig. 1)。アカバネウイルスはエーテルやクロロホルムに感受性で、pH 3 といった酸性域でも急速に不活化される。また、温度に対しても抵抗性が弱く、37℃では1時間あたり0.3logの感染価の低下がみられる⁸⁴⁾。アカバネウイルスはまたガチョウ、アヒルおよびハトの赤血球を凝集するが、その凝集活性はpH6.0~6.2でNaCl濃度が0.4Mまでの範囲で濃度依存的である¹³⁾。この凝集性は抗血清によって特異的に抑制され、抗体検査にも利用されている¹⁴⁾。アカバネウイルスは牛、豚、モルモットおよびハムスターの初代培養細胞やHmLu-1、BHK21およびVero細胞などの株化細胞で細胞変性効果 (CPE) を伴ってよく増殖する^{38,39,40,53)}。これらの生物学的性状はアイノウイルスもほぼ同様と考えられる。

ウイルスはL (large)、M (medium) およびS (small) の3分節のマイナス1本鎖RNAを持ち、G1 およびG2の2つの糖蛋白とN蛋白およびL蛋白の4種類の蛋白質から構成される⁷⁰⁾。ウイルスの糖蛋白G1 およびG2はM RNAにコードされ、ウイルス粒子表面のスパイクを形成する。またM RNAは同時に非構成蛋白のNSmもコードしている。G1蛋白はウイルスの血清型特異抗原であり、アカバネウイルスおよびアイノウイルスともにG1蛋白上に中和エピトープが存在している^{3,94,95)}。中和モノクローナル抗体を用いた競合結合試験では両ウイルスとも中和エピトープは7ヶ所存在することが判明している^{94,95)}。アカバネウイルスの中和モノクローナル抗体は赤血球凝集抑制活性も同時にもっていることから、中和エピトープに近接して赤血球結合部位が存在すると考えられる³⁾。ウイルスのN蛋白はもう一つ非構成蛋白であるNSsと共にS RNAにコードされる。N蛋白は補体結合反応の抗原蛋白であり、Simbu群のウイルス間には共通抗原性が認められている³⁰⁾。アカバネウイルスとアイノウイルス

のS RNAは73.5%の相同性を持ち、N蛋白領域のアミノ酸配列でも82.4%の一致を見る⁴⁾。さらに、N蛋白領域のS RNAの塩基配列にはアカバネウイルス、アイノウイルスおよびTinarooウイルスの間にはアカバネウイルスとTinarooウイルスで95%、アイノウイルスとTinarooウイルスで77.3%の相同性が認められ、ウイルス間で遺伝学のおよび地域的な近縁関係があると推察されている⁵⁾。

Simbu群のウイルスの中で牛やめん羊を用いた実験感染によって異常産を起こすことが確認されているのは、アカバネウイルス^{41,42,43,77)}、アイノウイルスおよびPeatonウイルスである^{77,78)}。実験動物では発育鶏卵の卵黄嚢内にアカバネウイルスを接種すると、鶏胎の水無脳症、発育不全および関節彎曲症などの異常が起こる^{36,51)}。また、アイノウイルスも同様に発育鶏卵の胎子で水無脳症、関節彎曲症および小脳形成不全を起こすことが明らかにされている^{32,33,34)}。アカバネウイルスは家畜のうち牛、めん羊および山羊で病原性を示すが^{41,42,43,77)}、抗体はこれらの動物の他、水牛、馬、ラクダ、豚、猿などからも検出されている^{1,12,23,28,54)}。一方、アイノウイルスに対する抗体は牛のほか馬や豚でも検出されている^{11,54,55)}。

2) チュウザンウイルス (カスバウイルス)

チュウザンウイルスは1985年に鹿児島県で牛の血液およびウシヌカカ (*Culicoides oxystoma*) から分離されたウイルスで、*Reoviridae* (科) *Orbivirus* (属) のPalyam群に属するウイルスである。イバラキウイルスやブルータングウイルスなど他群に属するウイルスとは血清学的な交差反応は認められない。同じPalyam群のウイルスとはゲル内沈降反応で交差するが、中和試験ではD.AguilarウイルスおよびCSIRO Villageウイルスとの交差は認められず、分離当初はPalyam群に属する新しい血清型のウイルスと考えられていた⁵⁶⁾。その後、チュウザンウイルスが1984年に鹿児島でウシヌカカから分離されたKagoshimaウイルス^{47,48)}とともに、1956年にインドで蚊から分離されたKasbaウイルスと中和試験および血球凝集抑制試験で交差することが報告された²⁹⁾。

チュウザンウイルスは10分節からなる2本鎖RNAおよび内外二層のカプシドから構成される。ウイルス粒子は直径約60nmの球形で、1個から複数個の粒子が偽膜に包まれている⁵⁶⁾。エーテルやクロロホルムに抵抗性であるが、pH3の酸性域では完全に不活化される⁵⁶⁾。ウイルスは牛、めん羊、馬、ウサギおよびマウスの血球を凝集し、その凝集活性は0.6Mまでの範囲でNaCl濃度依存的である。この血球凝集性は免疫血清で特異的に抑制され、抗体検査にも利用可能である¹⁸⁾。チュウザンウイルスは豚、モルモットおよびハムスターの初代培養細胞やMDBK、ESK、HmLu-1、

BHK21およびVero細胞などの各種動物種由来の株化細胞でCPEを伴ってよく増殖するが、BHK21細胞は最も感受性が高い¹⁷⁾。

最近Yamakawaら^{91,92)}によってチュウザンウイルス遺伝子の全塩基配列が決定され、ウイルスの分子生物学的性状や他の血清群との間の遺伝学的関連性が明らかにされた。RNA分節1, 2, 3, 4, 6, 7および9はそれぞれウイルス構成蛋白VP1, VP2, VP3, VP4, VP5, VP7およびVP6を、分節5および8はそれぞれウイルスに取り込まれない非構成蛋白NS1およびNS2を、さらに分節10はNS3およびNS3Aの2つのタンパク質をコードしている (Table 2)。VP3およびVP7は酵素機能を持つVP1, VP4およびVP6とウイルスRNAを取り込んで内殻カプシド (コア) を形成し、VP2およびVP5で構成される外殻カプシドに覆われて感染性粒子となる。VP2は中和抗原として重要な血清型決定基であり、VP5も同時にウイルスの抗原的多様性を担っていると考えられる。一方、VP3とVP7は群特異的な抗原決定基を含むと推察されている。VP2は*Orbivirus*属の中で多様性に富んでいるものの、他の構成蛋白は比較的良好に保存されており、チュウザンウイルスはアフリカ馬疫ウイルスに遺伝的に近縁であるとされている⁹¹⁾。また、日本、オーストラリアおよびジンバブエで分離されたチュウザンウイルスを含むPalyam群のウイルスについて、分節5, 7および9の塩基配列を比較した結果から、これらのウイルスは血清型に関係のない地域型 (topotype) に分類され、地域特異的な遺伝子プール内で独自の進化を遂げていると考えられている⁹²⁾。血清学的交差性からチュウザンウイルスの名称をカスバウイルスにする提唱がなされているが、遺伝子情報を加味したウイルスの再分類が行われつつある今日、同一名のウイルスとすべきか否か遺伝子レ

ベルでの比較も必要であろう。

チュウザンウイルスを胎齢120日の妊娠牛に接種すると、水無脳症および小脳形成不全といった先天異常を起こすことが確認されている^{57,58)}。

3) ブルータングウイルスおよびイバラキウイルス

ブルータングウイルスは*Reoviridae* (科) *Orbivirus* (属) に属するウイルスで1から24までの血清型をもった独立した群として分類されている。イバラキウイルスも同様に*Orbivirus* (属) に属するが、流行性出血熱 (EHD) ウイルスの10血清型と共にEHDウイルス群に分類され、EHDウイルス2型に含まれる。これらのウイルスの理化学的性状は*Orbivirus*に共通でありチュウザンウイルスで述べたとほぼ同様である。

ブルータングウイルスは鼻、口腔、舌などの粘膜部に潰瘍形成を主徴とする疾病を起こすウイルスで、めん羊、山羊、牛およびシカなどの反芻獣が感受性を示すが、特にめん羊の感受性が高い。牛はほとんどが不顕性感染であり、ウイルスの感染源 (レゼルポア) として重要視されている。牛では時としてめん羊と同様の症状を示すが、胎子感染によって水無脳症を起こした例も報告されている^{6,50,80)}。

イバラキウイルスは牛に嚥下障害を主徴とするイバラキ病を起こすウイルスで、異常産への関与はこれまで認められていなかったが、1997年のイバラキ病流行時に流産胎子からウイルスが分離され本ウイルスの関与が疑われている。

2. 疫学

1) 日本での発生状況

日本におけるアルボウイルスによる牛の異常産の発生をTable 3に、九州地方におけるその発生状況をFig.

Table 2 チュウザンウイルスの遺伝子とコードする蛋白

分節	サイズ (bp)	蛋白質	位置	機能
1	3090	VP1	inner core	putative RNA polymerase
2	3055	VP2	outer capsid	neutralizing antigen
3	2774	VP3	core	major structural protein
4	1967	VP4	inner core	putative guanylyl transferase
5	1764	NS1	non-structural	
6	1610	VP5	outer capsid	major structural protein
7	1151	VP7	core surface	serogroup-specific antigen
8	1059	NS2	non-structural	possibly binds viral mRNA
9	877	VP6	inner core	putative RNA helicase
10	728	NS3	non-structural	integral membrane protein
		NS3A	non-structural	

(Yamakawaら⁸⁸⁾より引用)

Table 3 日本における牛の異常産の発生

発生年	発地域	発生時期	発生頭数	症状	原因
1949-50 (S21-25)	中国, 近畿, 中部 北陸, 東北	秋～春	不明	流死産, 脳水腫	不明
1959-60 (S34-35)	九州, 中国, 四国 近畿, 東海, 北陸	夏～春	約4,000	流産, 脳奇形, 骨格異常	アカバネ病 (血清疫学)
1972-75 (S47-50)	九州, 中国, 四国 近畿, 東海, 関東 北陸, 東北	夏～春	約42,000	流早死産 関節彎曲症・水無脳症症候群 (AH症候群)	アカバネ病
1979-80 (S54-55)	北関東	秋～春	約3,800	流死産, 奇形	アカバネ病
1985-86 (S60-61)	東北	秋～春	約7,000	死産, AH症候群	アカバネ病
	九州	秋～春	約2,400	水無脳症・小脳形成不全 症候群 (HCH症候群)	チュウザン病
1995-96 (H7-8)	九州, 中国, 四国 近畿	秋～春	700以上	死産, 関節彎曲症, 水無脳症, 小脳形成不全	アイノウイルス 感染症
1997 (H9)	九州	秋	約1,000	流死産	イバラキ病?
1998-99 (H10-11)	北海道を含む全国	夏～春	1,085 (確定)	流早死産, AH症候群	アカバネ病
	九州, 中国, 四国 近畿	秋～春	148 (確定)	流早死産, 関節彎曲症 水無脳症, 小脳形成不全	アイノウイルス 感染症

2に示した。流行性異常産の古い記録としては、1949～50年の秋から春にかけて中国、近畿、中部、北陸および東北地方で流産、死産および子牛の神経症状を主徴とする異常産の発生報告がある。この異常産の正確な発生頭数や原因は不明であったが、新生子牛には高率に脳水腫あるいは水腫性小脳症といわれる所見が認められた^{82,83)}。

ついで、1959～60年には夏から春にかけて西日本、東海および北陸地方で流産および新生子牛の脳奇形、骨格異常を示す異常産が報告された²⁴⁾。流産は1959年10月をピークに胎齢2～6ヶ月に多く発生し、11月の流産終息時には胎子の脳奇形が観察された。翌2～4月には新生子の脳奇形と骨格異常、あるいは哺乳不能などが認められ、西日本一帯で最終的には流産3,052頭、脳奇形の子牛993頭の発生であった²⁴⁾。当時、原因は確定されなかったが、その後の調査で、異常産発生時の保存血清にアカバネウイルスに対する中和抗体が検出され、当時アカバネウイルスの流行があったことが推測されている。

1972～75年には北海道、青森県および岩手県を除く全国規模で流・早・死産および先天性の関節彎曲症・水無脳症症候群 (Arthrogryposis-Hydranencephaly Syndrome; AH症候群) を特徴とする異常産が多発した。この発生は1972年8月から南九州で始まり^{19,20,64,75)}その後中国、四国から9月には南関東に流行し、1973年5月に終息した^{37,72)}。この異常産の発生状況については当時の九州家畜保健衛生技術研究会で取り上げられ、家畜保健衛生技術研究会会報1973年21号に詳細に述べ

られている。また、これより規模は小さいが同様の流行は1973～74年に関西、北陸地方に広がり、1974～75年には東北地方にまで拡大した。この一連の異常産の発生は1975年5月末までに31都府県で合計約42,000頭に達し、損害は50億円を越すといわれた^{22,65)}。この異常産の原因究明のため精力的な研究が行われ、異常産の流行とアカバネウイルスの抗体保有状況が疫学的に一致したこと、初乳未摂取子牛の血清中にアカバネウイルスに対する抗体が高率に検出されたこと、おとり牛および野外流産例からアカバネウイルスが分離されたこと、そしてこのウイルスによって異常産が再現されたことから、異常産がアカバネウイルスに起因する新しい病気であり、アカバネ病と呼ばれるようになった²⁴⁾。また、病原体が判明したことでワクチンの開発が行われ、1978年に不活化ワクチン⁴⁹⁾が1981年には生ワクチン⁴⁰⁾が実用化された。

1979～80年には北関東地方を中心に11月頃からアカバネ病が散発的に発生し、この年度の全国での発生頭数5,832頭 (死流産3,625頭および奇形2,207頭)のうち関東、東北地方の8都県で約7割を占めていた⁶⁶⁾。この発生はワクチン接種が行われていない地域で抗体保有のない牛に発生したと判断された。

さらに、1985年10月から翌年5月までの間に、これまで発生しなかった青森県、岩手県を中心とする東北部で牛の異常産が多発し、岩手県だけで約6,500頭に達した。病性鑑定を受けたものはほとんどがアカバネ病であり、この異常産はアカバネ病によるものと考えられた。この発生では流産の発生割合が低く、死産

および奇形の発生が3月をピークとした1峰性の発生経過を示した。また、岩手県の発生の多くは日本短角種に集中し、季節繁殖が行われていたためと考えられた^{67,73)}。この異常産もまた清浄地域としてワクチン接種が行われていなかった牛群での発生が主体であった。また、青森県ではわが国で初めてめん羊のアカバネ病の発生が報告された⁶⁸⁾。

一方、1985～86年には九州地方で虚弱、盲目または神経症状を示す子牛の分娩を起こす、新たな異常産の発生が認められた。異常子牛は高率に水無脳症と小脳形成不全を起こしていたが、アカバネ病にみられる体形異常はまったく認められず水無脳症・小脳形成不全症候群 (Hydranencephaly cerebellar hypoplasia Syndrome ; HCH症候群) と呼ばれた。異常産は1985年11月頃から鹿児島県に始まり1月には宮崎県、熊本県、および大分県の九州各県に拡大した。異常産は沖縄県や中国・四国地方でも発生し、最終的には発生頭数約2,400頭に達した^{15,69)}。この異常産はアカバネワクチン接種牛にも起こり、新たな原因によると推定された。そして、当時飼養中の牛の血液やウシヌカカから分離され、チュウザンウイルスと命名されたウイルスが疫学的にも異常産の流行と関連することが判明し⁴⁰⁾、さらにこのウイルスによって異常産が再現されたことから、新たな病気としてチュウザン病と呼ばれるようになった。チュウザン病の発生もウイルスの流行もこの発生以降は報告されていないが、1997～98年に鹿児島県の一部地域でチュウザン病が確認された。

最近では1995～96年に九州地方を中心に中国、四国、近畿地方でアカバネ病に非常によく似た異常産が多発した。この異常産では流産はあまり顕著でないものの、分娩予定日直前の死産が多く、異常子牛は四肢の関節彎曲や脊柱彎曲に加えて水無脳症および小脳の低形成を起こしていた。この異常産では初乳未摂取子牛血清中にアイノウイルスに対する抗体が高率に検出され、さらにアイノウイルスの流行地域および時期が異常産の発生と密接に関連しており、この異常産はアイノウイルスによって起こったと考えられた⁶⁷⁾。この異常産では最終的に約700頭の発生が報告された。また、1997年には約10年ぶりに九州地方を中心にイバラキ病が発生し、その頭数は242頭に及んだ。このイバラキ病の発生と同じ地域で9月をピークとした牛の流産が多発しその頭数は約1,000頭に達した⁶⁸⁾。流産胎子からイバラキウイルスが分離されたことや、一部の胎子で神経細胞にイバラキウイルス抗原が検出されたことから、イバラキウイルスが原因と考えられたが、アカバネ病やチュウザン病でみられる異常子牛の増加は認められなかった⁹⁰⁾。

1998～99年には流・早・死産、および体形異常や水無脳症を示す子牛の分娩といった異常産が発生し、北海道を含むほぼ全国に流行する大発生となった。異常

産は1998年8月初旬から九州地方に始まり、当初、流産や虚弱子牛の分娩が相次ぎ、中旬以降は関東地方でも同様の異常産が発生した。その後は体形異常や中枢神経異常を示す子牛の分娩が翌年5月頃まで続いた。これらの異常産はアカバネ病と診断されたものが多かったが、近畿、中国、四国および九州地方ではアイノウイルスによる異常産と診断されたものも多数報告された。異常産のうち確定診断に至った頭数は最終的に40道府県436市町村でアカバネ病が1,085頭、アイノウイルス感染症が148頭に達した。子牛がすでに初乳を摂取していたり、診断に至らなかったものを含めるとその数は数十倍になると考えられ、1972年以来の大流行であろう。

2) 伝播

アルボウイルスという名の通り原因ウイルスは節足動物によって媒介される。アカバネウイルスやアイノウイルスはキンイロヤブカやコガタアカイエカから最初に分離された^{76,85)}が、コガタアカイエカの体内ではアカバネウイルスの増殖がみられないことから、蚊からの分離ウイルスはウイルス血症を起こした動物から吸血した血液に由来すると考えられている⁴⁴⁾。オーストラリアではオーストラリアヌカカ (*Culicoides brevitarsis*) から *Bunyavirus* 属の各種ウイルスに加え *Orbivirus* 属の Palyam, ブルータングおよび EHD の各種ウイルスおよび牛流行熱ウイルスが分離され、またこのヌカカの生息域がこれらアルボウイルスに対する抗体陽性地域に一致することなどから、このヌカカが牛のアルボウイルスの主要なベクターと考えられている⁶¹⁾。日本ではこれまで九州地方を中心にヌカカからのウイルス分離が試みられ、ウシヌカカ (*Culicoides oxystoma*) からアカバネウイルス、チュウザンウイルスおよびアイノウイルスが非常に高率に分離されており^{27,44,56)}、本ヌカカがアルボウイルスの主要なベクターであると考えられる。

九州地方でのおとり牛を配置した抗体調査によれば、アカバネウイルスやアイノウイルスに対する抗体の陽転は異常産の発生に関わらずしばしば認められており^{26,55)}、こうした地域では牛とベクターの間でウイルスの感染環が成立し、ウイルスが常在化していると思われる。一方、チュウザンウイルスやイバラキウイルスでは抗体の陽転は不連続的であり、これらのウイルスはおそらく外来性と考えられる^{8,61)}。1985～86年のチュウザン病発生では、その後に実施された溯り疫学調査において発生数年前に西南諸島の牛で抗体保有が認められたことから、チュウザンウイルスがこれらの地域を経由して侵入したと考えられている¹⁰⁾。これらのことは、ウイルスによってベクターへの親和性あるいは定着性が違うことを伺わせるものであり、今後、ベクターに関する研究も必要であろう。

3) アカバネウイルス, アイノウイルス流行株の抗原性

これまでおとり牛や媒介昆虫から多数のアカバネウイルスが分離されている。なかでも、1984年には非化膿性脳炎を起こして神経症状を示した子牛からアカバネウイルスが分離された。このウイルスは従来のアカバネウイルスに比較して強い神経病原性を示し、中和試験によってアカバネウイルス標準株と片側交差を示したことからIriki株と名付けられ、アカバネウイルスの変異株と考えられている³⁹⁾。日本のアカバネウイルス流行株はS RNAのRT-PCR増幅産物のRFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism: 制限酵素断片長多型) によって、オーストラリアの分離株ときわめて異なることが明らかにされ、国内分離株21株はPCR-RFLPで大きく4つに分けられている²⁾。さらに、アカバネウイルスのN蛋白領域RNAは分子系統樹で大きく3つのクラスターに分けられるとされる⁴⁾。このようにアカバネウイルスの分離株間には遺伝学的多様性があると考えられるが、その抗原性についてはモノクローナル抗体を用いた比較が行われている⁴⁰⁾。アカバネウイルスの7つの互いに異なる中和エピトープを認識するモノクローナル抗体を用いて、それぞれのエピトープに対する反応強度パターンの比較ではアカバネウイルス分離株63株はオーストラリア分離株を含めて5つのグループに分類されている (Fig 3)。これらのパターンの中で前記Iriki株のものは1985年の分離株すべてに共通しており、1984-85年に同じ抗原性のウイルスが流行していたと考えられている。しかし、こうした分析では日本で流行しているアカバネウイルスの抗原性の差はわずかであると考えられ、1998年の流行ウイルスも1959年に初めて分離された株とほとんど同じである³⁹⁾。一方、アイノウイルスでも1964年から1995年までに日本国内およびオーストラリアで分離された21株の分離株について、中和モノクローナル抗体パネルを用いた同様の抗原性分析が行われた³⁹⁾。その結果、日本で分離されたウイルス株は3つのグループに分けられるものの、相互に大きな抗原性の差異は認められず、オーストラリアの分離株とは明確に異なっていることが明らかにされている。

3. 症状

1) 病理発生と病理所見

ウイルス感染による異常産の発生は感染母牛の障害によるものばかりでなく、ほとんどはウイルスが胎子に感染することによっておこる。その発生機序はいずれも同様と考えられ、最も詳細な研究が行われているアカバネ病を例にあげる。ウイルスを保持したヌカカが感受性の牛を吸血するときに感染が起こる。感染牛は一過性の白血球減少症とウイルス血症を起こす。妊娠牛ではウイルスは血流によって胎盤に感染し、さら

に胎盤を通過して胎子に感染する (Fig. 4)。流行地における新生子牛の初乳未摂取血清と母牛の血清のウイルスに対する抗体調査によると、アカバネウイルスではウイルスに感染した母牛の約1/3で胎子感染が起こると考えられている³⁹⁾。アカバネ病ではウイルス感染時の原発病変は非化膿性脳脊髄炎と多発性筋炎であり、その程度が重篤な場合は胎子は死亡し流産、死産あるいはミイラ変性を起こす。胎子が死亡しないまでも脳脊髄ではさらに二次的な病変が生じ、水無脳症や神経組織内に空隙を形成したり、脊髄腹角の神経細胞が著しく減少したりする。これらの二次的病変の形成には、原発病変の強さや分布あるいは感染時の妊娠日齢などが影響する。中枢神経系のこれらの病変はさらに関節彎曲症などの原因となる。また、多発性筋炎も関節彎曲症や筋肉の変化の重要な原因となる。紺野³⁹⁾は異常産の発生時期と特徴的病変に着眼して、①非化膿性脳脊髄炎相、②矮小筋症相および③水無脳症 (大脳欠損症) 相の3相に分けている。また、一見正常であっても発育遅延や運動障害などの後遺症を残すこともある。以下にそれぞれの病気の特徴を述べ、Table 4にまとめて示す。

Table 4 アルボウイルスによる牛の異常産の特徴

	アカバネ病 (病原ウイルス) アカバネウイルス	チュウザン病 チュウザンウイルス (カスウイルス)	アイノウイルス感染症 アイノウイルス
(媒介昆虫)	ヌカカ, (蚊)	ヌカカ	ヌカカ, (蚊)
(疫学)			
発生時期	夏~春	秋~春	夏~春
牛の品種	多品種	主に和牛	多品種
流早死産	あり	少ない	あり
(臨床所見)			
起立困難	あり	あり	あり
自力哺乳力	弱い	なし	弱い
盲目	あり	あり	あり
体形異常	あり	なし	あり
(病理所見)			
非化膿性脳脊髄炎	あり	あり	あり
水無脳症	あり	あり	あり
小脳形成不全	なし	あり	あり
関節彎曲症	あり	なし	あり
矮小筋症	あり	なし	あり
多発性筋炎	あり	なし	あり

2) アカバネ病

アカバネウイルスは牛、めん羊および山羊に病原性を示すが、日本での異常産の発生は牛が主体であり、肉用牛、乳用牛を問わず発生する。実験感染では妊娠初期 (2~4ヶ月齢) にウイルスを接種した牛で、野外でみられるような異常産が再現されている⁴¹⁾。アカバネ病では流・早・死産とともに、先天異常子牛の分娩が起こる (Fig. 5)。

子牛の異常は体形と中枢神経に認められ、関節彎曲症・水無脳症症候群 (Arthrogryposis Hydranencephaly

Syndrome；AH症候群）と呼ばれる。中枢神経系の病変は非化膿性脳脊髄炎、嚢胞状空隙形成および神経組織の変性変化で起こる水無脳症である（Fig. 6）。また、脊髄膜角の神経細胞の減数（Fig. 7 a, b）や多発性筋炎による矯小筋症が観察される。こうした障害によって子牛は頭骨の変形および四肢の関節や脊柱の彎曲を示すほか、起立不能、哺乳力不足、発育不良および盲目などの機能的異常を示す。

3) チュウザン病

チュウザン病はこれまで牛のみに発生がみられているが、主に肉用牛（和牛）で多発し、乳用牛での発生がきわめて少ない特徴を持っている。また、本病はアカバネ病に比べ流・早・死産の発生が少なく、関節彎曲や脊柱彎曲などの体形異常はまったく認められない。妊娠牛はウイルス感染時も妊娠期間中にも臨床的な異常はほとんど認めないが、ウイルスに感染すると白血球減少症と4～8週間続くウイルス血症を起こす。感染実験および発生状況の調査によって、妊娠約4ヶ月齢でウイルス感染を受けた場合に異常産が発生しやすいことが明らかにされている⁵⁷⁾。

病変は中枢神経系のみ認められ、水無脳症・小脳形成不全症候群（Hydranencephaly cerebellar hypoplasia Syndrome；HCH症候群）と呼ばれる^{58,60)}。大脳では脳脊髄液の貯留が顕著で、非薄化した大脳外套を通して脳幹部が観察される。また、小脳形成不全も多く例で認められる。子牛は通常の妊娠期間を経て正常な体重と体形で娩出されるが、虚弱であったり、自力哺乳不能や起立困難を示す例が多い（Fig. 8）。また、神経症状を示す例も認められ、間欠的なてんかん様発作、四肢の回転あるいは後弓反張などがみられる。こうした異常子牛の中には眼球の白濁、盲目などがみられるものもある。

4) アイノウイルス感染症

この異常産では、アカバネ病と同様に流早死産と子牛の関節彎曲症および水無脳症が認められる。アイノウイルスによる異常産は1990年代前半までは散発的な発生がほとんどであり^{9,10,25,31,63)}、アカバネ病のような流行は起こさないと考えられていたが、1995～96年および1998～99年にそれぞれ数千～数百頭規模の流行を起こしている。

子牛の異常はアカバネ病と同様に体形と中枢神経に認められ、臨床的に原因を特定することは困難である。しかし、アカバネ病で特徴的な関節彎曲および水無脳症に加えて、小脳形成不全が高率に認められるのも本病の特徴である（Fig. 9）。また、四肢や脊柱の関節彎曲が認められるが、特に頸部から胸部にかけての脊柱彎曲がしばしば観察される⁶⁷⁾（Fig. 10）。

5) イバラキウイルスによると思われる死流産

1997年のイバラキ病流行時に、流行地域で牛の死流産が多発したが、アカバネ病、チュウザン病あるいはアイノウイルス感染症にみられるような異常子牛の分娩は観察されていない。この流死産では母牛のほとんどがイバラキウイルスに対する抗体を保有していたことや、死流産胎子からイバラキウイルスが分離されたこと、および死産胎子がイバラキウイルスに対する抗体を保有していたことなどからイバラキウイルスが原因と考えられている^{88,89,90)}。この流行時にはイバラキ病症例および死流産例から数十株の同一のイバラキウイルスが分離され、ウイルスRNA分節3のRFLP分析によってこのウイルスが過去に国内で分離されたウイルスと異なる外来性のウイルスであると推測されている⁷⁹⁾。おそらく、こうした例ではイバラキウイルスが胎子に致死性の感染を起こし、死流産が発生したと思われる。

4. 診断

異常産の診断は流死産の発生などの、ウイルスの感染から間がない時期であればウイルス検出などの病原学的診断が可能であるが、多くはウイルス感染から時間が経過している場合がほとんどであり血清学的検査が主体となる。しかし、アルボウイルスによる異常産ではウイルスの流行は広範に及び、異常産が地域性と季節性をもって発生することから、疫学調査も重要な診断の方法となる。

1) ウイルス学的診断

流産や死産の発生、あるいは非化膿性脳炎を起こした子牛の分娩などのウイルス感染から時間が経過していない場合は、胎子の血液や脳脊髄乳剤あるいは臓器乳剤や腹水、胸水などの材料をもちいてウイルス分離を行う。新鮮な材料を乳のみマウスの脳内あるいはHmLu-1細胞、BHK21細胞あるいはVero細胞に接種して、マウスでは脳炎症状の出現、細胞では細胞変性効果の出現を観察する。また、胎子の脳あるいは筋肉の凍結切片から蛍光抗体法によりウイルス抗原の検出を行う。最近ではホルマリン固定した材料から抗血清を用いた免疫組織化学的染色により、神経細胞内のウイルス抗原の検出も可能になっている（Fig. 11）。

2) 血清学的診断

異常子牛の分娩では、初乳未摂取血清中にウイルスに対する抗体を検出することで診断できる。一般に子牛は初乳摂取によって母牛からの移行抗体を獲得し、感染等の抗原刺激を受けずに誕生した子牛の初乳摂取前の血清中には抗体は存在しない。しかし、約3ヶ月齢以降の胎子は抗原刺激に対する抗体産生能を獲得することから、これ以降にウイルス感染を受けた場合

は血清中に抗体を産生する。したがって、初乳未摂取血清中にウイルスに対する抗体が存在すれば、ウイルスの胎子感染があったことが証明される。初乳未摂取であるかどうか不確実な場合は、母牛の分娩時の血清でパラインフルエンザ3型あるいは牛アデノウイルスなどに対する抗体を同時に測定し、子牛血清では特定のウイルスのみに対する抗体が検出され、母牛はそれ以外の抗体も保有すれば初乳未摂取であると判断される。血清学的検査にはアカバネ病では中和試験、血球凝集抑制試験、補体結合試験などが、アイノウイルス感染症では中和試験が、チュウザン病やイバラキ病では中和試験やゲル内沈降反応が、ブルータンクではゲル内沈降反応が用いられる。

3) 疫学的診断

夏から春にかけて比較的類似した異常産が地域性をもって発生した場合はアルボウイルスによる異常産が疑われる。また、母牛の年齢、産歴およびワクチン接種の有無も重要な判断材料となる。さらに、異常産を起こした牛の同居牛から採血して、血清学的検査を行ってウイルスの流行の有無を調べる。特にワクチン接種歴のない1歳未満の牛で抗体が検出された場合は、ウイルスが最近流行したと考えられる。流行が予想される地域に抗体陰性のおとり牛を配置して、抗体の陽転を確認するとともに、定期的に採血した血液を保存しておきウイルス分離を行ってウイルスの流行を把握することも重要な意味を持つ。

5. 防疫

アルボウイルス感染症ではウイルスの流行に媒介節足動物が関与するため、ウイルスの清浄化は不可能である。また、ワクチンの感受性動物への全頭接種や媒介節足動物の駆除による防圧も、費用対効果の観点から实际的でない。病気の発生は妊娠牛に限られ、妊娠牛の感染を予防することが唯一の効果的な手段となる。

媒介節足動物の妊娠牛への接触を防ぐため、殺虫剤

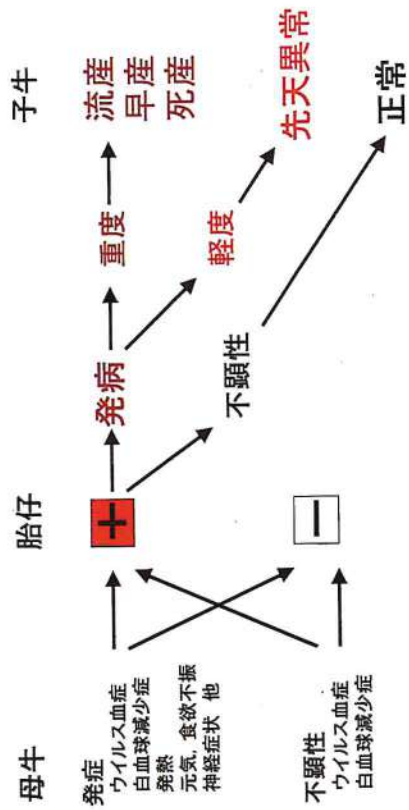
あるいは忌避剤の牛体散布や防虫網による牛舎内への侵入防止策も行われるが、ウイルス感染の予防効果は完璧とはいえない。唯一の効果的な方法は、市販されているワクチンを妊娠牛あるいは妊娠前の牛に接種して、人工的に免疫を付与する方法である。ワクチン接種によって抗体が産生され、ウイルスを保持した媒介節足動物の吸血があってもウイルス感染を防御することができる。また、免疫効果が弱く感染防御が不十分な場合でも、ウイルス血症の期間が短縮され結果的に胎子感染を抑える効果がある。現在、アカバネ病に対しては生ワクチンと不活化ワクチンが市販されているほか、アカバネ病、チュウザン病およびアイノウイルス感染症の3種混合不活化ワクチンが、さらにアカバネ病とチュウザン病にイバラキ病および牛流行熱を加えた4種混合不活化ワクチンが市販されている。ワクチンは所定量を生ワクチンでは1回、不活化ワクチンでは4週間間隔で2回接種するが、いずれのワクチンもウイルスが流行する前に接種を終えておくことが重要である。また、不活化ワクチンは年1回の追加注射によって、ワクチンの効果をさらに高めることができる。

おわりに

アルボウイルスによる異常産は、いったん発生した場合は広い地域で甚大な被害をもたらす。しかし、病原が特定されているものについてはワクチンが市販されており、これによって予防可能な病気でもある。近年の異常産の発生をみると、長期間発生がないことでワクチン接種がおろそかになり、結果的に感受性をもった牛の割合が増加したために大きな発生になった例が多い。また、近年の温暖化によって媒介節足動物の活動が活発になり、その活動域も拡大傾向にある。こうした状況下では従来発生しなかった地域で異常産が発生したり、発生頻度も高くなると考えられ、従前にもまして予防の努力が必要である。

附 図 説 明

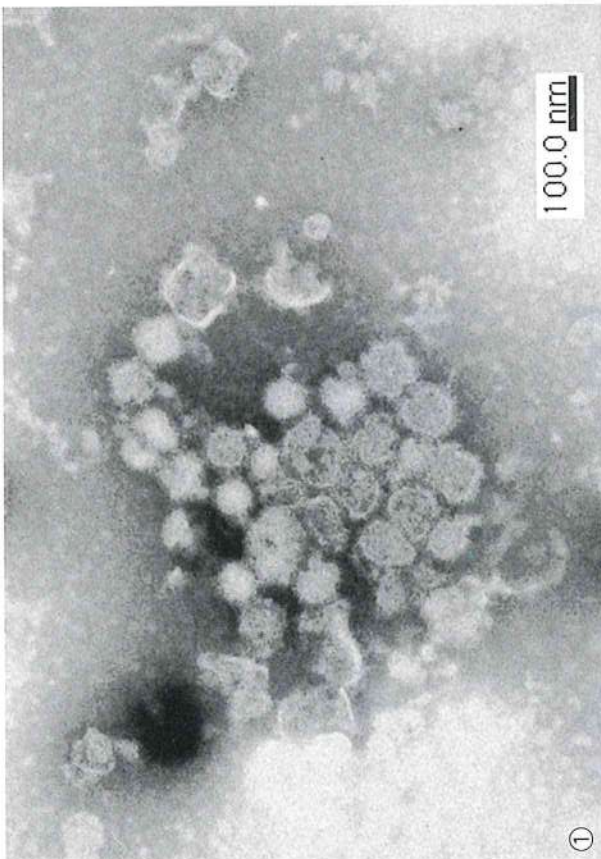
- Fig. 1 アカバネウイルスの電子顕微鏡像.
- Fig. 2 九州地方における牛の異常産の発生状況. (各県畜産課調べ)
- Fig. 3 アカバネウイルス分離株の抗原性.
(中和エピトープA~Eを認識するモノクローナル抗体の反応パターン)
- Fig. 4 ウイルス感染による異常産の発生機序.
- Fig. 5 アカバネ病による先天異常.
前肢の関節彎曲が観察される.
- Fig. 6 アカバネ病にみられる水無脳症. (大脳欠損)
脳幹部を残して大脳がほとんど欠失し、代償性に脳脊髄液の貯留がみられる.
- Fig. 7 脊髄の組織病変.
a : 正常な子牛の脊髄. (L.F.B.染色)
b : アカバネ病の子牛の脊髄 : 脊髄腹角の神経細胞の減数が認められる. (L.F.B.染色)
- Fig. 8 チュウザン病の子牛 : 体形は正常であるが起立や歩行が出来ない場合が多い.
- Fig. 9 アイノウイルス感染症にみられる水無脳症.
大脳の欠損と同時に小脳の矮小化が観察される.
- Fig. 10 アイノウイルス感染症による先天異常.
四肢の関節彎曲と同時に脊柱の彎曲が観察される.
- Fig. 11 免疫組織化学的染色により神経細胞内に検出されるアカバネウイルス抗原.



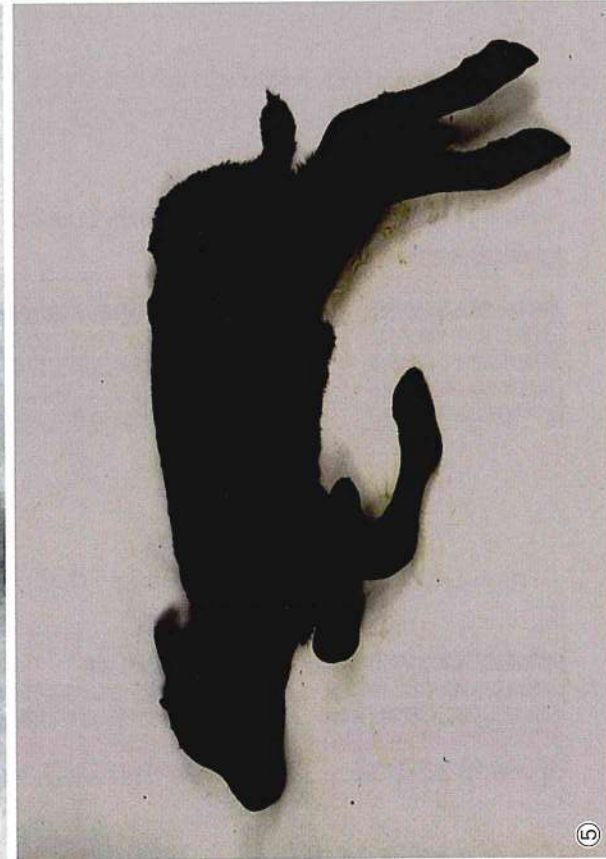
④



⑥



①



⑤

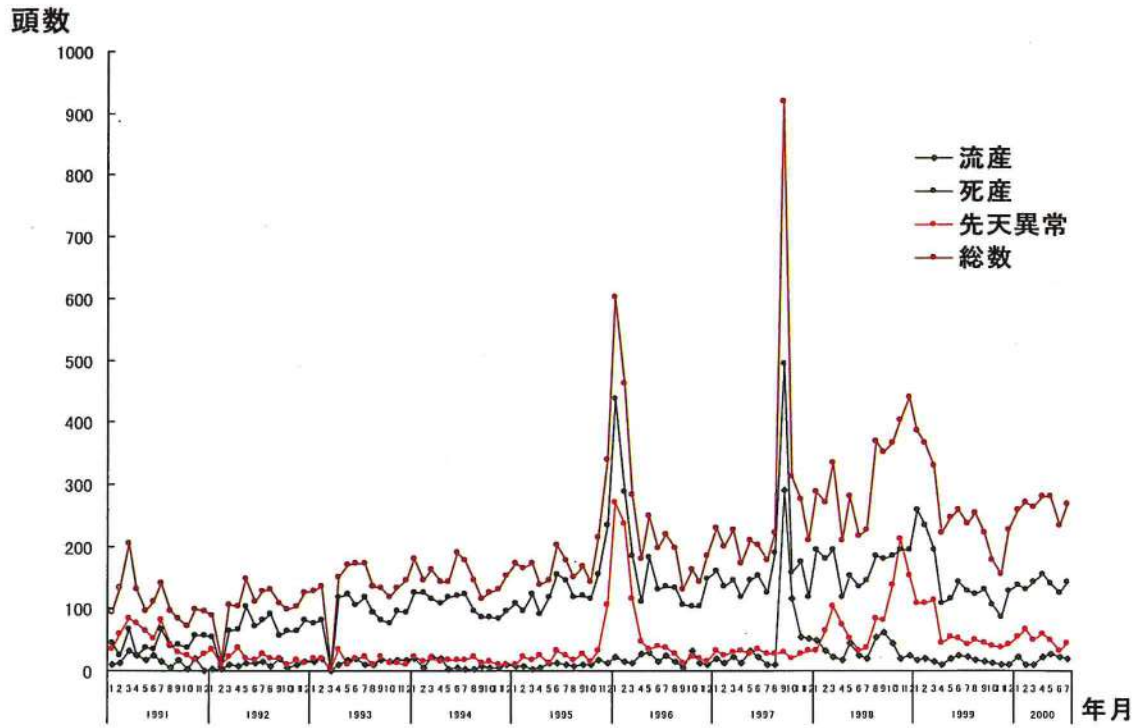


Fig. 2

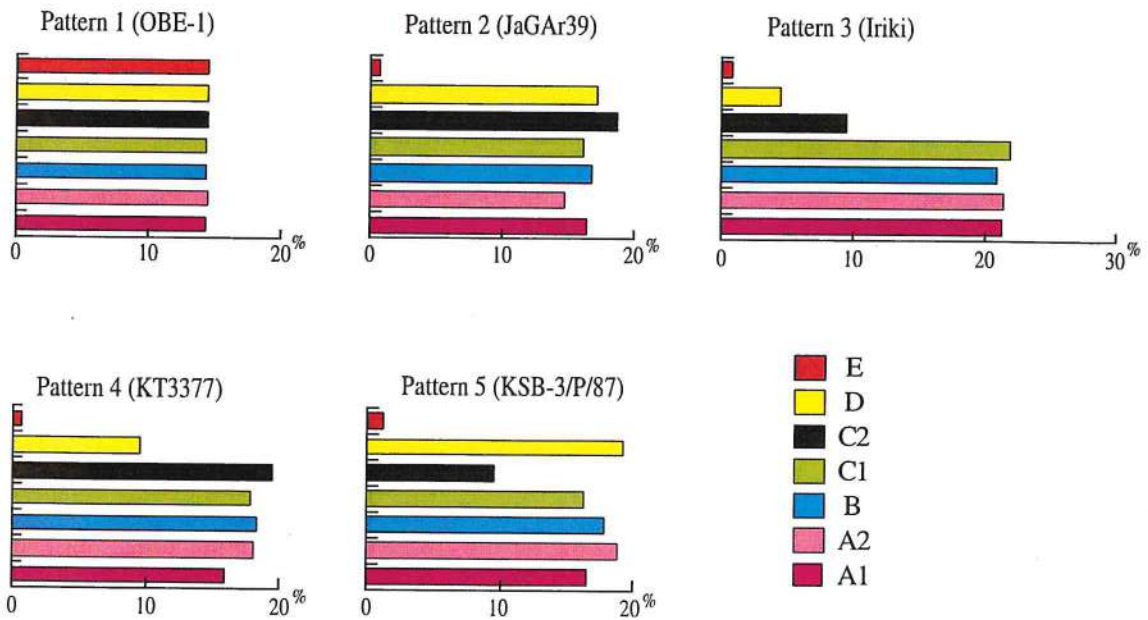
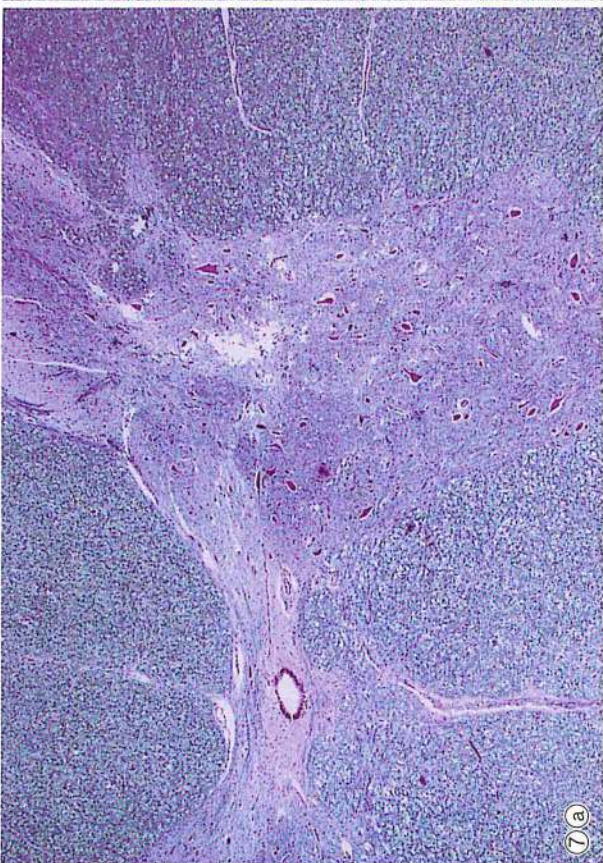


Fig. 3





参考文献

- 1) Al-busaigy, S., Hamblin, C. and Taylor, W.P. : Neutralizing antibodies to Akabane virus in free-living wild animals in Africa. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 19 : 197-202. 1987.
- 2) Akashi, H., Nakamura, K. and Murakami, T. : Restriction fragment length polymorphism analysis of Akabane virus nucleoprotein gene. *J. Vet. Med. Sci.*, 59 : 837-840. 1997.
- 3) Akashi, H. and Inaba, Y. : Antigenic diversity of Akabane virus detected by monoclonal antibodies. *Virus Res.*, 47 : 187-196. 1997.
- 4) Akashi, H., Kaku, Y., Kong, X. and Pang, H. : Sequence determination and phylogenetic analysis of the Akabane bunyavirus S RNA genome segment. *J. Gen. Virol.*, 78 : 2847-2851. 1997.
- 5) Akashi, H., Kaku, Y., Kong, X. and Pang, H. : Antigenic and genetic comparisons of Japanese and Australian simbu serogroup viruses : evidence for the recovery of natural virus reassortants. *Virus Res.*, 50 : 205-213. 1997.
- 6) Barnard, B.J. and Pienaar, J.G. : Bluetongue virus as a cause of hydranencephaly in cattle. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 43 : 155-158. 1976.
- 7) Chang, C.W., Liao, Y.K., Su, V., Farh, L. and Shiuan, D. : Nucleotide sequencing of S-RNA segment and sequence analysis of the nucleocapsid protein gene of the newly isolated Akabane virus PT-17 strain. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 45 : 979-987. 1998.
- 8) Daniels, P. W., Sendow, I., Soleha, E., Sukarsih, Hunt, N. T. and Bahri, S. : Australian-Indonesian collaboration in veterinary arbovirology-a review. *Vet. Microbiol.*, 46 : 151-174. 1995.
- 9) 江頭達介, 市丸浩昭, 吉永直哉, 江永直樹, 打越律男, 南川禮次 : アイノウイルスが関与したと思われる乳牛の異常産. *日獣会誌*, 42 : 94-96. 1989.

- 10) 福富豊子, 大内紀章, 奥田宏健, 丸野史郎, 田林宏一: 岡山県におけるアイノウイルス感染によると思われる牛の異常産の一症例. 日獣会誌, 44: 17-19. 1991.
- 11) Fukuyoshi, S., Takehara, Y., Takahashi, K. and Mori, R. : The incidence of antibody to Aino virus in animals and humans in Fukuoka. *Jpn.J.Med.Sci.Biol.*, 34:41-43. 1981.
- 12) Furuya, Y., Shoji, H., Inaba, Y. and Matsumoto, M. : Antibodies to Akabanevirus in horses, sheep and goats in Japan. *Vet. Microbiol.*, 5: 239-242. 1980.
- 13) Goto, Y., Inaba, Y., Kurogi, H., Takahashi, E., Sato, K., Omori, T., Hanaki, T., Sazawa, H. and Matsumoto, M. : Improved hemagglutination of simbu group arboviruses with higher sodium chloride molarity diluent. *Vet. Microbiol.*, 1: 449-458. 1976.
- 14) Goto, Y., Inaba, Y., Miura, Y., Kurogi, H., Takahashi, E., Sato, K., Omori, T., Hanaki, T., Sazawa, H. and Matsumoto, M. : Hemagglutination-inhibition test applied to the study of Akabane virus infection in domestic animals. *Vet. Microbiol.*, 3: 89-99. 1978.
- 15) 後藤義之, 三浦康男, 甲野雄次: 九州地方を中心に発生した牛の流行性異常産. 臨床獣医, 4: 54-59. 1986.
- 16) Goto, Y., Miura, Y. and Kono, Y. : Epidemiological survey of an epidemic of congenital abnormalities with hydranencephaly-cerebellar hypoplasia syndrome of calves occurring in 1985/86 and seroepidemiological investigations on Chuzan virus, a putative causal agent of the disease, in Japan. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 50: 405-413. 1988.
- 17) Goto, Y., Miura, Y. and Kono, Y. : Preliminary study for development of an inactivated Chuzan virus vaccine. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 50: 673-678. 1988.
- 18) Goto, Y., Miura, Y. and Kono, Y. : Hemagglutination and hemagglutination inhibition with Chuzan virus. *J. Vet. Med. Sci.*, 53: 29-32. 1991.
- 19) 浜名克己, 大塚宏光, 加世田雄時朗, 野坂大, 薄井萬平, 幡谷正明: 1972-73年わが国に多発した牛の流早死産および子牛のArthrogryposis-hydranencephaly syndromeに関する調査研究 第2報 異常子牛の臨床所見および検査成績. 宮崎大学農学部研究報告, 20: 293-310. 1973.
- 20) 浜名克己, 片山英美, 村田浩一: 1972-73年わが国に多発した牛の流早死産および子牛のArthrogryposis-hydranencephaly syndromeに関する調査研究 第4報 高発生牧場と無発生牧場の比較調査. 宮崎大学農学部研究報告, 21: 135-143. 1974.
- 21) 浜名克己: 牛の先天異常と日本での発生, 日獣会誌, 42: 29-38. 1989.
- 22) 稲葉右二: 牛の異常産とアカバネウイルスについて. 日獣会誌, 28: 457-463. 1975.
- 23) Inaba, Y. and Matsumoto, M. : Akabane virus. p467-480, *Virus infections of ruminants*, Z. Dinter and B. Morein, eds, Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 1990.
- 24) 乾純夫, 円山八十一: 牛の先天性奇形(脳水腫症・無脳症)における頭骨と中枢神経系の病理学的研究. 家畜衛生研究報告, 55: 63-73. 1967.
- 25) 石橋和樹, 富下義文, 白川ひとみ, 高谷正治, 渡邊諱: アイノウイルスの関与が疑われた子牛の先天性脊柱側弯症. 日獣会誌, 47: 87-90. 1994.
- 26) Ishibashi, K., Shirakawa, H., Uchinuno, Y. and Ogawa, T. : Seroprevalence survey of Aino virus infection in dairy cattle of Fukuoka, Japan in 1990. : *J. Vet. Med. Sci.*, 57: 1-4. 1995.
- 27) 岩崎充祐, 後藤義之, 三浦康男, 長友盛雄, 甲野雄次: 宮崎県に発生したイバラキ病とその疫学. 日獣会誌, 43: 244-248. 1990.
- 28) 出水田昭弘, 安原寿雄, 久保田道雄, 吉木研一, 平原正, 児玉和夫, 佐々木文存: 豚における各種のアルボウイルスに対する抗体保有状況. 日獣会誌, 43: 646-649. 1990.
- 29) Jusa, E. R., Inaba, Y., Kadoi, K., Kurogi, H., Fonseca, E. and Shope, R. E. : Identification of Kagoshima and Chuzan viruses of Japan as Kasba virus, an orbivirus of the palyam serogroup. *Aust. Vet. J.*, 71: 57. 1994.
- 30) Kinney, R. M. and Calisher, C. H. : Antigenic relationship among simbu serogroup (bunyaviridae) viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 30: 1307-1318. 1981.
- 31) 北野良夫, 山下静馬, 古川雅浩, 牧野田勝志: 鹿児島県で発生したアイノウイルスの関与が疑われた牛異常産. 日獣会誌, 46: 469-471. 1993.
- 32) Kitano, Y., Ohzono, H. and Shimizu, T. : Prolifacation and teratogenicity of Aino virus in Chick embryos. *Microbiol. Immunol.*, 40: 85-88. 1996.
- 33) Kitano, Y., Ohzono, H., Yasuda, N. and Shimizu, T. : Hydranencephly, cerebeller hypoplasia, and myopathy in

- chick embryos infected with Aino virus. *Vet. Pathol.*, 33 : 672-681. 1996.
- 34) Kitano, Y., Yasuda, N., Shimizu, T., Ohzono, H. and Iwamoto, T. : Teratogenicity of Aino virus in the chick embryos. *Res. Vet. Sci.*, 62 : 195-198. 1997.
- 35) 紺野悟 : 昭和47年以降本邦に多発した牛の異常産. *家畜繁殖誌*, 22 : 39-55. 1977.
- 36) Konno, S., Toeda, T., Madarame, H., Ikeda, S., Sasaki, T., Satoh, H. and Nakano, K. : Myopathy and encephalopathy in chick embryos experimentally infected with Akabane virus. *Vet. Pathol.*, 25 : 1-8. 1988.
- 37) Kurogi, H., Inaba, Y., Goto, Y., Miura, Y., Takahashi, E., Sato, K., Omori, T. and Matsumoto, M. : Serologic evidence for etiologic role of Akabane virus in epizootic abortion-arthrogryposis-hydranencephaly in cattle in Japan, 1972-1974. *Arch. Virol.*, 47 : 71-83. 1975.
- 38) Kurigi, H., Inaba, Y., Takahashi, E., Sato, K., Omori, T., Miura, Y., Goto, Y., Fujiwara, Y., Hatano, Y., Kodama, K., Fukuyama, S., Sasaki, N. and Matsumoto, M. : Epizootic congenital arthrogryposis-hydranencephaly syndrome in cattle : isolation of Akabane virus from affected fetuses. *Arch. Virol.*, 51 : 67-74. 1976.
- 39) Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E., Satoda, K. and Omori, T. : Development of Akabane virus and its immunogen in HmLu-1 cell culture. *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 17 : 27-28. 1977.
- 40) 黒木洋, 稲葉右二, 高橋英司, 佐藤邦彦, 里田一幸, 大森常良 : HmLu-1細胞培養におけるアカバネウイルスの増殖. *家畜試研究報告*, 74 : 6-9. 1977.
- 41) Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E., Sato, K., Satoda, K., Goto, Y., Omori, T. and Matsumoto, M. : Congenital abnormalities in newborn calves after inoculation of pregnant cows with Akabane virus. *Infect. Immun.*, 17 : 338-343. 1977.
- 42) Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E., Sato, K., Goto, Y. and Omori, T. : Experimental infection of pregnant goats with Akabane virus. *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 17 : 1-9. 1977.
- 43) Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E., Sato, K., Akashi, H., Satoda, K. and Omori, T. : Pathogenicity of different strains of Akabane virus for mice. *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 18 : 1-7. 1978.
- 44) Kurigi, H., Inaba, Y. and Matsumoto, M. : Isolation of Akabane virus from the biting midge *Culicoides oxystoma* in Japan. *Vet. Microbiol.*, 15 : 243-248. 1987.
- 45) Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E., Sato, K., Goto, Y., Satoda, K., Omori, T. and Hatakeyama, H. : Development of inactivated vaccine for Akabane disease. *Natl. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 18 : 97-108. 1978.
- 46) Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E., Sato, K., Akashi, H., Satoda, K. and Omori, T. : An attenuated strain of Akabane virus : a candidate for live virus vaccine. *Natl. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 19 : 12-22. 1979.
- 47) Kurogi, H., Suzuki, T., Akashi, H., Ito, T., Inaba, Y. and Matsumoto, M. : Isolation and preliminary characterization of an orbivirus of the Palyam serogroup from biting midge *Culicoides oxystoma* in Japan. *Vet. Microbiol.*, 19 : 1-11. 1989.
- 48) Kurogi, H. and Matsumoto, M. : Serological comparison of Kagoshima and Chuzan viruses of palyam serogroup orbivirus isolated in Japan. *Kitasato Arch. Exp. Med.*, 62 : 199-201. 1989.
- 49) Liao, Y. K., Lu, Y. S., Goto, Y. and Inaba, Y. : The isolation of Akabane virus (Iriki strain) from calves in Taiwan. *J. Basic. Microbiol.*, 36 : 3-39. 1996.
- 50) McKercher, D. G., Saito, J. K. and Singh, K. V. : Serologic evidence of an etiologic role for bluetongue virus in hydranencephaly of calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 156 : 1044-1047. 1970.
- 51) McPhee, D. A., Parsonson, I. M., Della-Porta, A. J. and Jarrett, R. G. : Teratogenicity of Australian simbu serogroup and some other bunyaviridae viruses : the embryonated chicken egg as a model. *Infect. Immun.*, 43 : 413-420. 1984.
- 52) Metselaar, D. and Robin, Y. : Akabane virus isolated in Kenya. *Vet. Rec.*, 99 : 86. 1976.
- 53) Miura, Y., Hayashi, S., Ishihara, T., Inaba, Y., Omori, T. and Matsumoto, M. : Neutralizing antibody against Akabane virus in precolostral sera from calves with congenital arthrogryposis-hydranencephaly syndrome. *Arch. Ges. Virusforsch.*, 46 : 377-380. 1974.
- 54) Miura, Y., Inaba, Y., Hayashi, S., Takahashi, E. and Matsumoto, M. : A survey of antibodies to arthropod-borne viruses in Japanese cattle. *Vet. Microbiol.*, 5 : 277-282. 1980.
- 55) Miura, Y., Inaba, Y. and Hayashi, S. : A survey of neutralizing antibody against Aino virus in bovine serum in Kagoshima, Japan. *Natl. Inst. Anim. Health Q.*, 20 : 34-35. 1980.
- 56) Miura, Y., Goto, Y., Kuba, M. and Kono, Y. : Isolation of Chuzan virus, a new member of the palyam subgroup

- of the genus orbivirus, from cattle and *Culicoides oxystoma* in Japan. *Am. J. Vet. Res.*, 49:2022-2025.1988.
- 57) Miura, Y., Goto, Y., Kubo, M. and Kono, Y. : Pathogenicity of Chuzan virus, a new member of the palyam serogroup of genus orbivirus for cattle. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 50:632-637. 1988.
- 58) Miura, Y., Kubo, M., Goto, Y. and Kono, Y. : Hydranencephaly-cerebellar hypoplasia in a newborn calf after infection of its dam with Chuzan virus. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 52:689-694. 1990.
- 59) Miyazato, S., Miura, Y., Hase, M., Kubo, M., Goto, Y. and Kono, Y. : Encephalitis of cattle caused by Iriki isolate, a new strain belonging to Akabane virus. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 51:128-136. 1989.
- 60) 望月宏, 橋本善之: 家畜における先天異常, 先天異常, 21:25-52. 1981.
- 61) Muller, M. J. : Veterinary arbovirus vectors in Australia-a retrospective. *Vet. Microbiol.*, 46:101-116. 1995.
- 62) Murphy, F. A., Fauquet, C. M., Bishop, D. H. L., Ghabrial, S. A., Jarvis, A. W., Martelli, G. P., Mayo, M. A. and Summers, M. D., *Virus Taxonomy, Sixth report of the international committee on taxonomy of virus.*, Springer-Verlag, Wien. 1995.
- 63) 永野博明, 清松邦章, 高本一義, 岩松茂, 吉野久信, 森尾篤, 三浦徳明: アイノウイルスによると思われる牛の異常産について. *臨床獣医*, 3:81-86. 1985.
- 64) 野坂大, 立山晋, 芦沢広三, 中村憲雄, 家後紘子, 清水高正, 村上隆之: 1972-73年わが国に多発した牛の流早死産および子牛のArthrogryposis-hydranencephaly syndromeに関する調査研究 第3報 異常子牛の病理学的所見. *宮崎大学農学部研究報告*, 20:311-344. 1973.
- 65) 農林省畜産局衛生課: 牛異常産のその後の状況, *家畜衛生週報*, 1363:287. 1975.
- 66) 農林省畜産局衛生課: アカバネ病ウイルスによると思われる異常産の発生について, *家畜衛生週報*, 1597:130. 1980.
- 67) 農林省畜産局衛生課: アカバネ病の発生状況について. *家畜衛生週報*, 1910:227-228. 1986.
- 68) 農林省畜産局衛生課: めん羊のアカバネ病の発生について. *家畜衛生週報*, 1889:52. 1986.
- 69) 農林省畜産局衛生課: 九州地方に発生した牛の異常産に関連したウイルスの抗体調査成績について. *家畜衛生週報*, 1920:304-305. 1986.
- 70) Objeski, J. F. and Murphy, F. A. : Bunyaviridae : Recent biochemical developments. *J. Gen. Virol.*, 37:1-14. 1977.
- 71) Ohashi, S. Yoshida, K., Watanabee. Y. and Tsuda, T. : Identification and PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of a variant of the Ibaraki virus from naturally infected cattle and aborted fetuses in Japan. *J. Clin. Microbiol.*, 37:3800-3803. 1999.
- 72) 大橋義光: 牛の流早死産と異常子牛の発生. *畜産の研究*, 27:1313-1316. 1973.
- 73) 大池祐治, 吉田欣哉, 南野久晃: 1985年から1986年にかけて岩手県に多発したアカバネ病. *日獣会誌*, 41:246-250. 1988.
- 74) 大森常良: 昭和47年以降本邦に多発した牛の異常産. 異常産の病原, *家畜繁殖誌*, 22:25-38. 1977.
- 75) 大塚宏光, 浜名克己, 幡谷正明, 大平和男, 松形良正: 1972-73年わが国に多発した牛の流早死産および子牛のArthrogryposis-hydranencephaly syndromeに関する調査研究 第1報 宮崎県における発生状況. *宮崎大学農学部研究報告*, 20:273-291. 1973.
- 76) Oya, A., Okuno, T., Ogata, T., Kobayashi, I. and Matsuyama, T. : Akabane, a new arbor virus isolated in Japan. *Jap. J. Med. Sc. Biol.*, 14:101-108. 1961.
- 77) Parsonson, I. M., Della-Porta, A. J. and McPhee, D. A. : Pathogenesis and virulence studies of Australian simbu serogroup Bunyaviruses. p644-647, *Viral disease in south-east asia and the western pacific*, J. S. Mackenzie ed. Academic press, Sydney. 1982.
- 78) Parsonson, I. M., McPhee, D. A. : Bunyavirus pathogenesis. *Adv. Virus Res.*, 30:279-316. 1985.
- 79) Porterfield, J. S. and Della-Porta, A. J. : Bunyaviridae : infections and diagnosis. p479-508, *Comparative diagnosis of viral disease*, Vol. IV, E. Kurstak, and C. Kurstak, eds, Academic Press, New York. 1981.
- 80) Richards, W. P. C., Crenshaw, G. L. and Bushnell, R. B. : Hydranencephaly of calves associated with natural bluetongue virus infection. *Cornell Vet.*, 61:336-348. 1971.
- 81) Sellers, R. F. and Mellor, P. S. : Temperature and the persistence of viruses in *Culicoides* spp. during adverse conditions. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 12:733-755. 1993.
- 82) 須川章夫, 望月宏, 椿原彦吉: 所謂犢脳水腫の病理学的研究. *家畜衛試研究報告*, 23:187-198. 1951.
- 83) 田島正典, 山極三郎, 岩森秀夫: 犢の水腫性小脳症Hydro-micrencephaliaに関する病理組織学的研究. *日本獣*

- 医学会雑誌, 13:43-54. 1951.
- 84) Takahashi, E., Inaba, Y., Kurogi, H., Sato, K., Goto, Y., Ito, Y., Omori, T. and Matsumoto, M. : Physicochemical properties of Akabane virus : A member of the simbu arbovirus group of the family bunyaviridae. *Vet. Microbiol.*, 3:45-54. 1978.
 - 85) Takahashi, K., Oya, A., Okada, T., Matsuo, R., Kuma, M. and Noguchi, H. : Aino virus, a new member of simbu group of arbovirus from mosquitoes in Japan. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 21:95-101. 1968.
 - 86) Tateyama, S., Yamaguchi, R., Uchida, K., Nosaka, D., Murakami, T. and Otsuka, H. : An outbreak of congenital hydranencephaly and cerebellar hypoplasia among calves in south Kyushu, Japan : a pathological study. *Res. Vet. Sci.*, 49:127-131. 1990.
 - 87) 津田知幸 : アイノウイルス感染による牛の異常産. *動生協会会報*, 30:3-10. 1997.
 - 88) 津田知幸 : イバラキ病と牛異常産の発生とその対策. *家畜診療*, 45:250-255. 1998.
 - 89) 内布幸典, 石橋和樹, 岸原圭一郎, 川鍋真里, 横山敦史, 高木英二 : イバラキウイルスの関与が疑われた牛の異常産. *日獣会誌*, 52:565-569. 1999.
 - 90) 渡邊洋一郎, 牧内浩幸, 今藤豊重, 山崎嘉都夫, 鬼塚剛, 大橋誠一 : 1997年に鹿児島県で発生したイバラキ病と流死産胎子から分離されたウイルスの性状. *日獣会誌*, 53:302-306. 2000.
 - 91) Yamakawa, M., Kubo, M. and Furuuchi, S. : Molecular analysis of the genome of Chuzan virus, a member of palyam serogroup viruses, and its phylogenetic relationships to other orbiviruses. *J. Gen. Virol.* 80:937-941. 1999.
 - 92) Yamakawa, M., Furuuchi, S. and Minobe, Y. : Molecular characterization of double-stranded RNA segments encoding the major capsid proteins of a palyam serogroup orbivirus that caused an epizootic of congenital abnormalities in cattle. *J. Gen. Virol.*, 80:205-208. 1999.
 - 93) Yamakawa, M., Ohashi, S., Kanno, T., Yamazoe, R., Yoshida, K., Tsuda, T. and Sakamoto, K. : Genetic diversity of RNA segment 5, 7 and 9 of the Palyam serogroup orbiviruses from Japan, Australia and Zimbabwe. *Virus Res.*, 68:145-153. 2000.
 - 94) Yoshida, K. and Tsuda, T. : Rapid detection of antigenic diversity of Akabane virus isolates by dot immunobinding assay using neutralizing monoclonal antibodies. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 5:192-198. 1998.
 - 95) Yoshida, K., Ohashi, S., Kubo, T. and Tsuda, T. : Comparison of intertypic antigenicity of Aino virus isolates by dot immunobinding assay using monoclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.*, 38: in press 2000.

原 著

Trypanosoma evansi の外被の蛋白融解 酵素処理に伴う超微細構造学的変化

比留木 武 雄*

〔受付：2000年11月30日〕

ORIGINAL PAPER

THE ULTRASTRUCTURAL ALTERATIONS OF TRYPANOSOMA EVANSI ASSOCIATED WITH PROTEOLYTIC REMOVAL OF THE SURFACE COAT.

Takeo HIRUKI

Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University.
89-1 Izumo-shi, Shimane-ken 693-8501 Japan.

〔Received for publication : November 30, 2000〕

Summary

This work was designed to investigate, with a transmission electron microscope, whether proteolytic removal of the surface coat of Trypanosoma evansi by exposure to proteases (trypsin and pronase) at various concentrations might result in flagellar internalization into the cytoplasm and flagellar syncytium formation or not.

Consequently flagellar internalization into the cytoplasm was confirmed to be in the cytoplasm of former posterior end of the so-called "stumpy form" induced from the slender form of this trypanosome by exposure to proteases. Flagellar syncytium formation was also observed around the stumpy cells.

As observing that *macula adherens* (*m.a.*) was located in situ at the moment of flagellar detachment from the cytoplasm and also soon after the fusion of one flagellar membrane to another flagellar membrane, the author suggests that the complete removal of *m.a.* by proteolysis may not be the essential condition for the flagellar detachment from the cytoplasmic membrane and that the continuous maintenance of *m. a.* structure may facilitate the adhesion of membranes at the next chance of cell contact.

緒 論

Trypanosoma evansi (T. evansi) は世界に汎く分布するスルラ病 (surra disease) の病原体であり, 地方により種々の名前でよばれている²⁸⁾ 《for example; debab (Algeria), moborl (Sudan), guifar or dioufar (Chad) in camel/murrina (Panama), derrengadera (venezuela) in horse》. 特に東南アジアでは反芻動物 (労役に従事するBuffalo等の牛³²⁾) において最も重要な疾病の原因の一つである. この病原体の形態は,

いわゆるSubgenus Trypanozoonに属する他のTrypanosoma gambiense (T. gambiense) やTrypanosoma rhodesiense (T. rhodesiense) やTrypanosoma brucei (T. brucei) とは区別出来ないと言われている^{45&47)}. T. evansiはT. bruceiとは近縁であるが, 唯一の相違は媒介昆虫であるツェツェ蠅 (tsetse fly) の中での生活環を前者が持たないことであるとされている³⁵⁾. 従って, この原虫の血液型 (Trypomastigotes) が直後に虻 (Genus Tabanus) によって, 媒介される²⁸⁾. このT. evansiに感受性のある宿主域は非常に広く, 駱駝, 馬,

乳牛、野牛、水牛、羊³⁴⁾、豚鹿 (hog deer)、水豚 (capybara)、兎、犬、マウスやラット等が感染する。T. evansiを含めたこれらのトリパノゾーマ細胞には細胞膜の外側に外皮 (surface coat: SC) と呼ばれる多糖体蛋白 glycoprotein の厚い (about 22nm thick in T. evansi) 集積層がある^{2,20,45&48)}。宿主体内で血中の抗体価が上昇する度に、この原虫は生き延びる方策として、産生された抗体とは適合しない別の抗原型を持った SC を作ることが知られている^{6,12,13,22,33&39)}。その細胞表面の抗原は非常に多様な抗原遺伝子⁷⁾が存在する結果として、アミノ酸組成とその配列に大変な多様性を示す^{7,11,16,33&40)}。これまで研究されてきた変異抗原はすべて多糖化されており^{1,26,29&41)}、それ故、Variant Surface Glycoprotein (VSG) と呼ばれている。VSG はトリパノゾーマの病原性、感染性、感染動物の臨床症状とも密接に関係し今日も、尚、精力的に生化学的、分子遺伝学的⁴⁴⁾に研究されている。VSG の内、oligosaccharides (OLGO) と amino acids との間の連鎖は、C-terminal 部分において ethanolamine²⁷⁾ を介するものもあるが、一般には N-glycosidic type^{6&43)} である。C-terminal domain の OLGO は形質膜の方をむいており、細胞の外側からは接近出来ず、多くの VSG に対する交差反応性^{3&14)}に関係しており、VSG 分子を細胞形質膜に定着する機構に関係すると考えられている。C-terminal domain の OLGO は細胞形質の脂肪酸と共有結合するのであろうと考えられる^{17&19)}。N-terminal domain の OLGO は細胞の外側に近い表層部にある。T. equiperdum^{4&18)} と T. congolense³⁶⁾ のいくつかの clones では N-linked OLGO は細胞表面に暴露されていることが分かっている。OLGO は mannose 含量が多く複雑で、交雑型があり、各々の群内で、小さな相違 (microheterogeneity) はあるものの、普通に認められない OLGO の存在は示唆されていない。その構造は他の動物細胞の glycoproteins の構造と良く似ているか同一である。それ故、この曝露されている VSG の構造が抗原変異の間に、トリパノゾーマの抗原性の変化に関係するとは考えられない。宿主と寄生体の OLGO が良く似ていることは、分子の蛋白部分を覆い隠し、保護する機能があることを意味すると考えられている³⁹⁾。そんな訳で、N-glycosylation を阻止する tunicamycin を用いて、作製した deglycosylated VSG と VSG を trypsin で分解して VSG の糖の生科学的性状をしらべることでトリパノゾーマの VSG の OLGO の役割を調べる試み³⁹⁾が一方でなされ、また、他方では形態変化を伴う生活環のうち動物の血液を吸血したツェツェ蠅 (tse tse fly) での中腸 (midgut) に移行した血液型の slender form (sl-form) から procyclic form (pc-form) へ形態転換 (Transformation) と生理学的変化が精力的に研究されている^{9,15&42)}。何故、生活環の内、この段階のみ集中的に研究されているかといえば、この段階が最も容易

に in vitro での実験系を組立てやすいからである。この系においては、幾つかの培地が "pleomorphic form" (ple-form) か "monomorphic form" (mono-form) である血液型の trypanosomes を培養する為に改良されており、mono-form の血液型の T. burucei としては MITat1.4(114)¹⁵⁾ が均質な slender 細胞形態を持つ培養株として確立されており、T. gambiense では "Wellcome strain"^{5&49)} が確立され、血液型の sl-form の trypanosomes を pc-form の細胞に transformation するメカニズムについて、概ね transform inducer として trypsin や pronase を用いた生化学的な実験が為されてきている。Yabe & Takayanagi (1988)⁴⁹⁾ は哺育細胞 feeder cells として astrocytoma cell line である生きた GA-1 cells が sl-form から pc-form への trypanosomes の transformation を誘発するためには必要であることを、trypsin の作用を抑制する soybean inhibitor の存在の下に、明らかにしている。他方、trypanosomes の感染した動物体内の血中でも sl-form から stumpy form (st-form) への形態変化があることが光学顕微鏡の古い時代から知られており、これ以上分裂することのない細胞型として、形態変化後も分裂を続ける昆虫体内での pc-form とは明白に区別されている。そこで pc-form への形態変化を "transformation"^{15&49)} と呼び st-form への形態変化を "morphological alterations"²⁰⁾ とか "morphological changes"²⁵⁾ とか呼んで区別している。Frevort U. 等²⁰⁾ は trypsin と protease を形態変化の inducer として用いて、rat の血液から分離した血液型の sl-form の trypanosomes に適用し穏やかな濃度での、それら蛋白融解酵素が SC の剥脱を起こすだけでなく st-form への細胞の形態的变化を起こすことを電子顕微鏡で観察した。形態が変化した細胞 (st-form cells) の元の細胞後端部 (Former Posterior End: FPE) には殆ど全ての細胞内小器官が集積し、それらの中には、鞭毛の内化 (Flagellar Internalization: FI) のあることを観察した。彼女らは、鞭毛の根部である基底小体 (Basal Body: BB) が元々、細胞の後端部にあることから、鞭毛の接着部位である macula adherens (m.a.) が用いた蛋白融解酵素により完全融解した後で、鞭毛が細胞表面から遊離し、遊離した鞭毛が BB を基部にして巻あがる為に、細胞の形態変化が起こるのであろうと考えている。著者はこの論文で、T. congolense と同様に T. evansi が pronase と trypsin の作用で形態的变化をおこすことを紹介し、更に、鞭毛の細胞表面からの剥脱は観察した消化過程の全段階で (SC が完全剥脱した後にさえ) m.a. が認められ、しかも鞭毛が鞭毛合体 (Flagellar Syncytium: FS) を形成する際にも鞭毛相互の接合面の相対する位置に m.a. を認めたので、消化酵素による細胞体からの鞭毛の剥脱には m.a. が完全融解する必要がないことをこの論文で指摘したい。

材料と方法

供試した trypanosoma cells : *Trypanosoma evansi* (K strain) は、平成5年8月25日、農林水産省家畜衛生試験場(筑波)より分与を受けた。この原虫を BALB/c CrSlc系のマウスの血中で増殖させ、Parasitemiaの極期に心臓穿刺術により採血し、遠心分離(3000r.p.m., 10min.) して、この実験に用いた。

Proteases処理：このtrypanosomesは分離の直後に0.15 MのNa-K燐酸緩衝液(Na-K phosphate buffered saline : PBS) pH 7.2に移し、 5×10^7 cells/mlの細胞密度となるように原虫浮遊液を調整し、同一量のproteases溶解液を加えた。

尚、0.8% potassium ferricyanide (PF) を glutaraldehyde (GLA) ・ osmic acid (OsO_4) 二重固定法に適用するために、別途5 mM CaCl_2 を含む0.05M カコジル酸緩衝液(cacodylate buffered saline : CBS) pH 7.4を作成して使用した³¹⁾

(I) 500 $\mu\text{g/ml}$ pronase (最終濃度, Boelinger-Mannheim社製, Germany)の処理：前述のNa-K PBSを用いて細胞浮遊液を作成し、同一量の1000 $\mu\text{g/ml}$ のpronase溶解液を混合して室温で10及び30秒、そして1, 2, 4, 8, 16及び20分間処理した。同様に前述のCBSを用いて、別の機会に感染マウスから採血分離し調整した細胞浮遊液をCBSを使って作成した同一量の1000 $\mu\text{g/ml}$ のpronase溶解液と混合し、PFを用いたオスミック酸(osmic acid : OsO_4) 固定を行う為に使用した。PF固定は膜系のcontrastをあげて観察するために実施した。

このCBSを使用して調整した細胞浮遊液は室温で30秒, 1, 2, 4そして8分の間, 処理された。

(II) 4000 $\mu\text{g/ml}$ (最終濃度) のpronaseの処理：Na-K PBSを用いて8000 $\mu\text{g/ml}$ のpronase溶解液を作成し、細胞浮遊液の同一量と混合して室温で5, 10, 25及び30分作用させた。

(III) 40 $\mu\text{g/ml}$ trypsin (最終濃度, type XI, Sigma, Deisenhofen, Germany) 処理：同様に倍濃度のtrypsin溶解液が作成され、細胞浮遊液と同一量に混合され、30°Cで10分間及び氷上で1時間の処理が行われた。

光学顕微鏡観察：proteases処理後の細胞の運動能力が全乾燥暗視野顕微鏡下³²⁾で観察された。

走査電子顕微鏡及び透過電子顕微鏡による観察：細胞浮遊液は処理後直ちに氷上で冷却され、Na-K PBSで調整された2% GLA液(Nakarai Chemicals Ltd, Kyoto) 2% OsO_4 solution (Wako Chemical Industries, Ltd, Osaka) を用いて2時間、後固定された。その後、epon-812 resin (TAAB Laboratories Equipment Ltd, Berks) に包埋された。超薄切片作成にはUltracut microtome MT-5000 & MT-6000 (Sorvall, USA) を

使用した。超薄切片はuranyl acetate と lead citrate を用いて電子染色された。Gridsは支持膜なしにIon-coater Eiko IB-3 (Eiko Engineering Co., Ltd., Japan) で親水処理して使われた。PS 溶解液 OsO_4 液と等量混合して、電顕試料を作成する方法は成書³³⁾に詳しいのでここでは省略する。走査電子顕微鏡の試料作製法については著者等の報告³⁴⁾があるのでそちらを参照されたい。今回使用した走査電子顕微鏡はHitachi-450S, 20 KV a.v.である。透過電子顕微鏡はJEM-1200EX, 80 KV a.v.を使用した。

結果

細胞の運動性：電子顕微鏡の試料調製の直前に蛋白融解酵素処理を受けた*T. evansi*を全乾燥系暗視野顕微鏡を用いてその運動性を調べた。最終濃度40 $\mu\text{g/ml}$ trypsinで10分処理したものでは、細胞の形態と運動性に未処置のものとは比べて著変は認められなかった。最終濃度40 $\mu\text{g/ml}$ trypsinで一時間処理したものは、sl-formの中にst-formのものが多数混じっていた。電顕試料の調製中であり、時間的余裕がない為に定量的数値として示すことが出来なかった。このst-formのものには鞭毛が細胞体から剥離してプロペラの如く回転する異常な運動をするものが認められた。活発な、その運動からその細胞の生命力(viability)は落ちていないと考えられた。最終濃度500 $\mu\text{g/ml}$ pronase処理した細胞はその形態に4分後まで大きな変化は認められなかった。細胞の運動は処理時間が増すに従い、その活性を失っていた。鞭毛の剥脱による前述のプロペラ運動をする細胞は4分後から最終処理時間の20分まで認められた。細胞同士が凝塊を形成する傾向が16分頃から甚だしくなり、この頃から細胞の運動が微弱となった。だが、細胞のst-formへの変化は最終濃度trypsin40 $\mu\text{g/ml}$ on ice, 1時間で処理した試料と比べると多くは無かった。最終濃度4000 $\mu\text{g/ml}$ pronaseを室温で処理した細胞はどの処理時間でも形態の変化は認められず、5分処理で細胞の約半数が全く動かず、動いている細胞の運動は微弱であった。10分以降は全部の細胞が運動を示さなかった。

走査電子顕微鏡による観察：確実にst-formの*T. evansi*が認められたtrypsin40 $\mu\text{g/ml}$ on iceで一時間処理した試料とproteases無処置のsl-formの細胞を走査電子顕微鏡で観察した。Fig. 1はproteases無処置のsl-formの*T. evansi*の走査電子顕微鏡像である。鞭毛(Flagellum : F) (arrowheads) は虫体(parasite Body : PB)の周りを螺旋状に取り囲み、細胞の前端部分(Anterior End : AE)と共に伴走している。PEは後端部(Posterior End)と呼ばれる部位である。Fig. 2はst-formの*T. evansi*である。鞭毛は細胞のPEではsl-formと同様に螺旋状の走行を呈している。この細胞の前にPEであった部分(Former Posterior End : FPE)は蛙

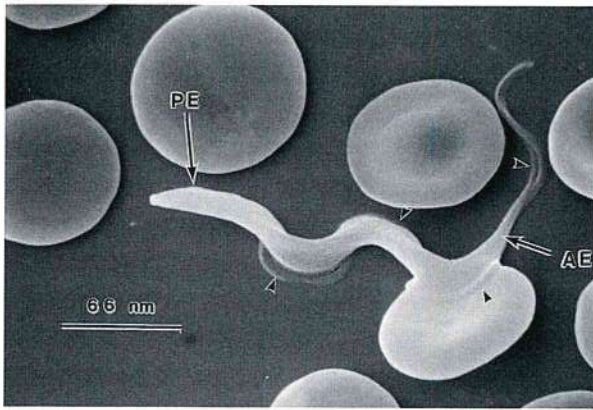


Fig. 1

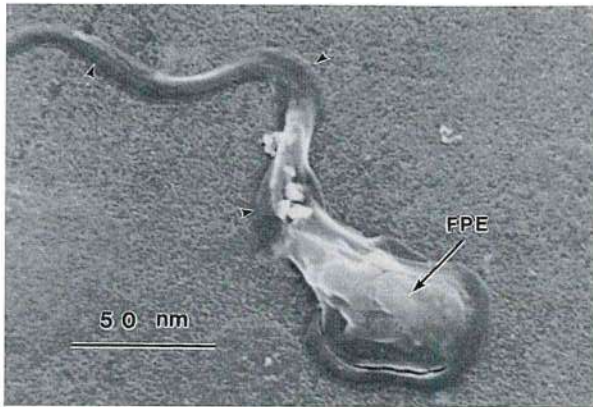


Fig. 2

のお玉杓子の頭のような形をしており、この写真からも細胞の内部に多くの細胞内小器官を容れているであろうことが推測される。AE部分の表面には残存した何らかの血液中の成分が載っている。

透過電子顕微鏡による観察：Fig. 3aとFig. 3bはtrypsin40 μ g/mlをon iceで一時間処理した試料を透過電子顕微鏡試料として作製し、超薄切片として観察した像である。Fig. 3aには傍鞭毛軸糸桿 (Paraflagellar Rod : PFR) の特徴的なFilamentsの網目構造と軸糸 (Axoneme : A) の構造が明らかに細胞質の中に認められる。Fig. 3bはその細胞の周辺部に存在している同じ鞭毛膜 (Flagellar Membrane : FM) に二本のAが包まれている像が観察される。これらのAを構成してい

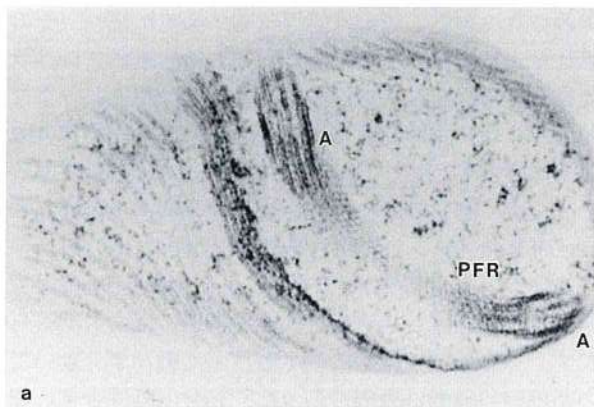


Fig. 3a

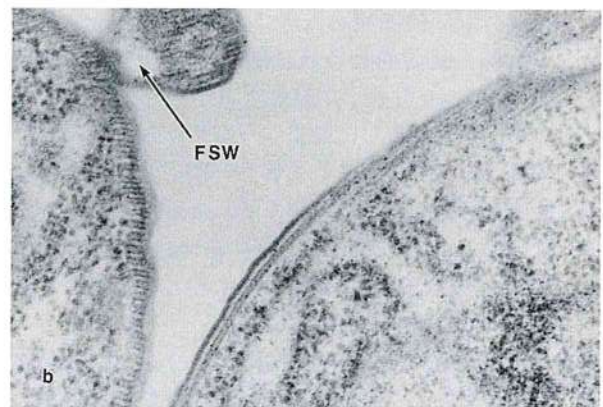


Fig. 4b

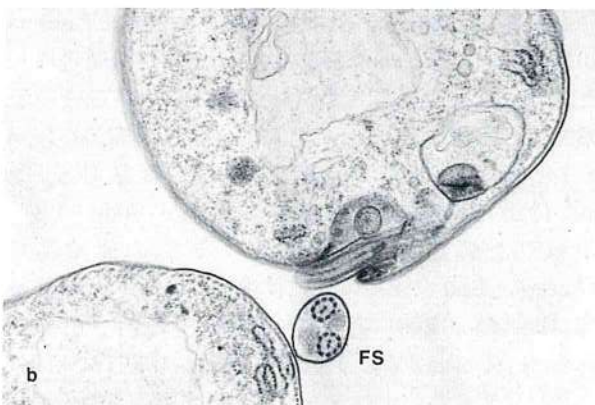


Fig. 3b

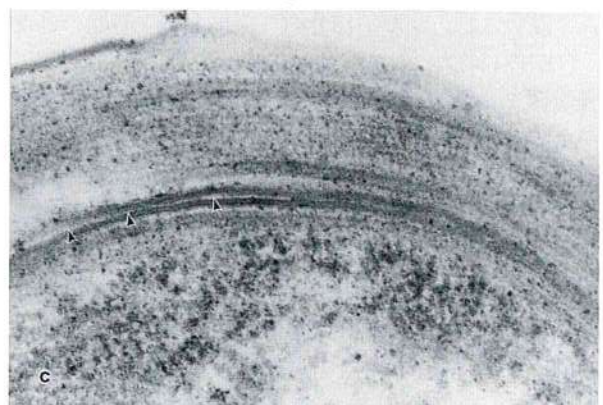


Fig. 4c

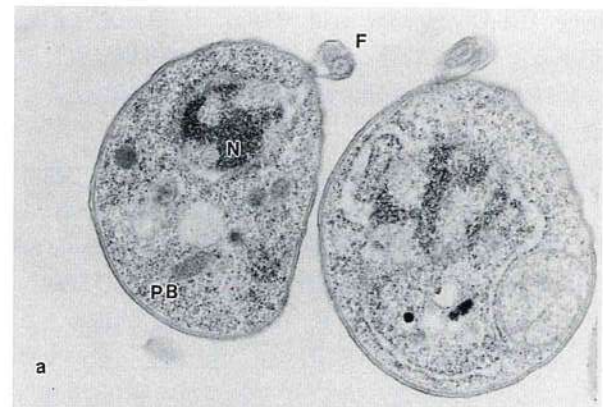


Fig. 4a

るA-subfiber及びB-subfiberの内、B-subfiberに着目してAの外周における配列を検討してみると、これら二本のAの配列は片方が時計回りである場合には必ず他方は反時計まわりであった。この図からはPFRの位置がAに対して逆の位置であるのが分かる。Fig. 4aはproteases非処置のPBの超薄切片の横断像である。この切片像にはFig. 5aとFig. 5bに認められるような皺壁形成 (Fold Formation : FF)は認められない。Fig. 4bはFig. 4aの部分拡大像である。PBの細胞形質は三層構造である形質膜に包まれ、さらにその上にはglycoproteinよりなる厚い外被 (Surface Coat : SC) と呼ばれる集積層がある。この層はGLAの後固定にpotassium ferricyanideをOsO₄と混合して固定すると限界明瞭な

膜としてより観察が容易になる。Fig. 9a-9fはこの方法を用いて染色した超薄切片像であるが、Fig. 9aにproteases非処置の細胞膜 (この原虫では海外の研究者はpellicleと言いつわしている) が示してある。それを併せて参照するとproteases非処置の場合にはSCの表面は毛羽だつていず、SC自体はぎつちりとしっかりした構造で、その厚さは約22nmとかなり厚い。Fig. 4cはproteases非処置の細胞において、*m.a.*を認めないFとPBの間の隙間の状態を示した。その膜は無傷intactであつて、如何なる膜相互の癒合も認められない。これ以降の電子顕微鏡写真は全て最終濃度500 µg/ml pronaseを室温で作用させた処理時間だけが異なる細胞から撮影されたものである。Fig. 5a, Fig. 5b及

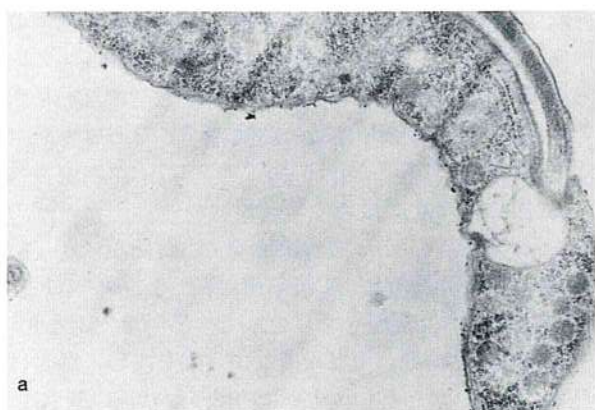


Fig. 5a

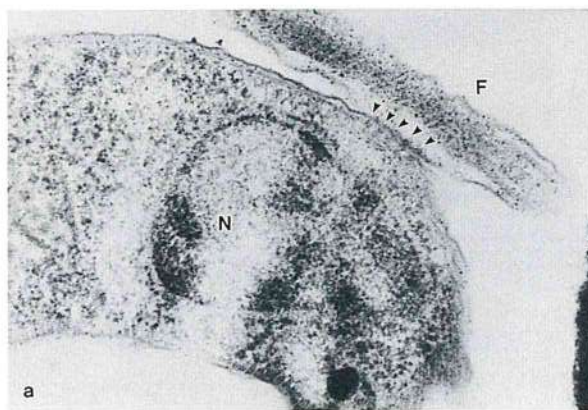


Fig. 6a

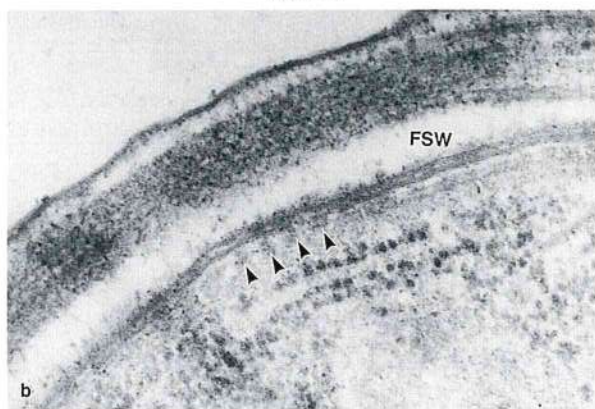


Fig. 5b

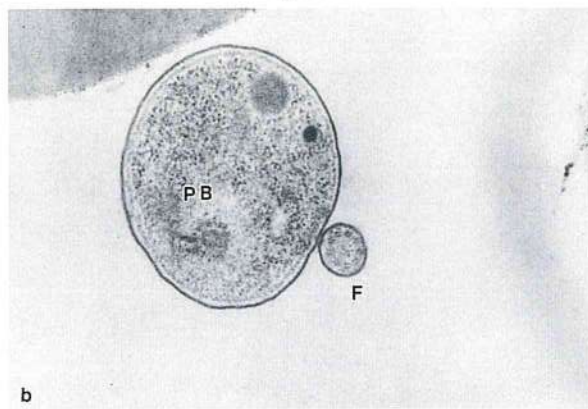


Fig. 6b

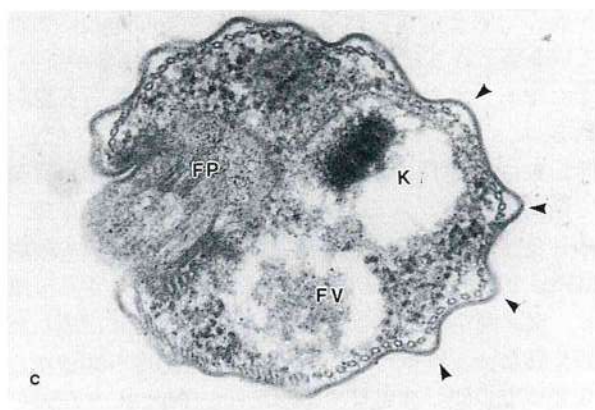


Fig. 5c

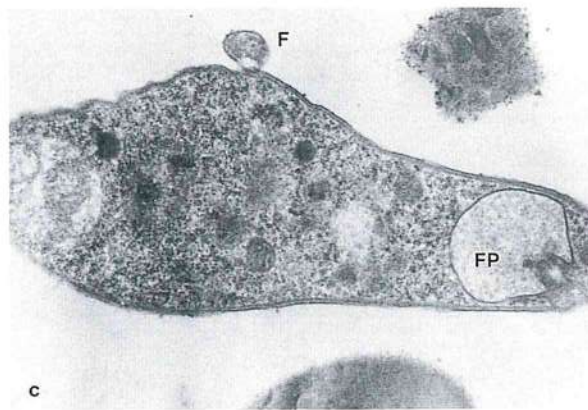


Fig. 6c

びFig. 5cは10秒間 pronaseを作用させたものである。この濃度では、膜表面の凹凸 (unevenness) 或いは皺壁形成 (Fold Formation : FF) とでも表現されるような細胞の形態が認められた。Fig. 5aはその縦断面であり、Fig. 5cはその横断面である。m.a.はFig. 5aとFig. 5bに認められる。FMとpellicleの接触面に沿って存在している。Fig. 6aは1分処理後の細胞の形態を示す。FFは10秒と30秒後に認められた如く激しくはなかったが、尚、若干のFFが認められた。SCの状態とpellicleの状態はFig. 9cでより鮮明に観察される。ここでは毛羽立ち (Fluffiness) の状態が30秒後のFig. 9bより進んでいることが理解される。だが、SCの厚さは殆ど変わらない。

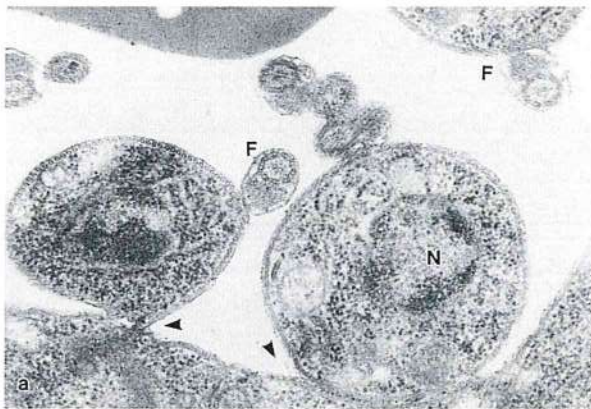


Fig. 7a

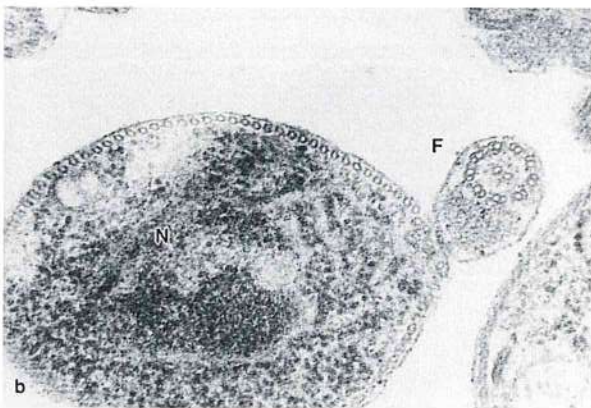


Fig. 7b

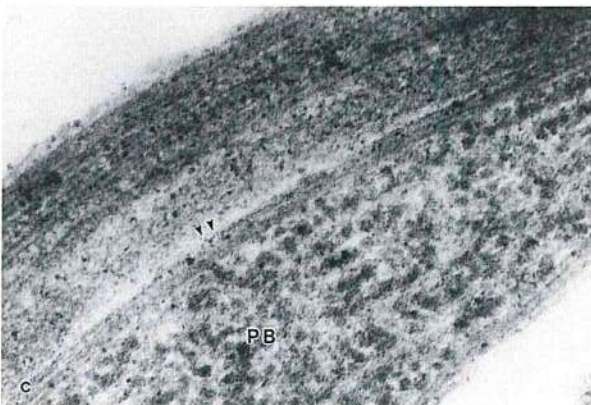


Fig. 7c

Fig. 6b及びFig. 6cは2分処理後の写真である。細胞の形態はFig. 9dに見る如く毛羽立ちの状況が更に進んでいる訳であるが、低倍率での所見はFig. 6b及びFig. 6cに見る如く非処置の細胞の所見と差異がない。Fig. 6cに認められる鞭毛嚢 (Flagellar Pocket : FP) はやや拡大 (expansion)の傾向にある。4分後及び8分処理後の細胞については、Fig. 9e及びFig. 9fに認める如く、SCが剥脱し、細胞への損傷がpellicleに及ぶ段階であったが、鞭毛の内在化 (Flagellar Internalization : FI)、鞭毛の合胞体 (Flagellar Syncytium : FS) の形成は認められなかった。Fig. 7a-7c及びFig. 8a-8cは16分処理の細胞からのものである。Fig. 7aに見るarrowheadsは異なる同志の細胞相互での粘着の状態を示している。Fig. 7bはFig. 7aの一部拡大であり、細胞表面のSCが完全に剥脱され、pellicleは外部環境に直に曝されていることが分かる。FMとpellicleの接触面積は拡大している。Fig. 7cのm.a.を認めない場所で、本来FMとpellicleの間の隙間 (slit) である場所 (Fig. 3c参照) であるがpronaseの処理でSCが剥脱されたpelliclesが相互に接着して河川に於ける三日月潮の如く、接着面の、かつて外部環境であった場所が小胞vesicles (arrowhead)として接着面に沿って認められる。Fig. 8aは只今、剥離しようとしている鞭毛であるか、一旦剥離した鞭毛が再び接着しようとしているのかは判然としないが、ともかくもこのような状況の鞭毛に、SCが完全に剥脱した16分後でさえ、尚、m.a.が良く保持されていることが確認された。Arrowheadsは認められたm.a.を示す。Fig. 8cは二本の鞭毛がm.a.の介在で接着され、その接着面にそってvesiculationが認められることを示している。Arrowheadsはm.a.に挟まれて存在する小胞vesiclesを示した。このようなFS形成初期の像が出現する以上、FSのcross section像も必ず存在する筈である。そのように考えて鋭意探した結果、処理20分後の切片でそれを得ることが出来た。Fig. 8dはFSの横断像である。この濃度で20分たっても尚、細胞が生きていたことは、ghost化せず、染色されているこの切片像からも判断出来る。鞭毛膜の内部のarrowheadは9組以上存在するdoublet microtubulesの内の一個を示している。はすかい (oblique)に切れている為にきちんとした9+2構造のAが認めがたい。それでも、これがFSであることは間違いのないと思われる。

Fig. 9aは非処理の細胞であり、Fig. 9b-9fは順に室温で最終濃度500 μ g/ml pronaseを30秒、1分、2分、4分及び8分処理した細胞である。Fig. 9a-9fの細胞はFig. 8までの細胞とは異なる時期にマウスから分離し、又、固定に用いる緩衝液も固定法も既に記述した如く異なっている。Fig. 9bからFig. 9d即ち30秒から2分までの間、非処理であったFig. 9aと比べてSCの表面は徐々にfluffinessの度合いが進行していた。4分

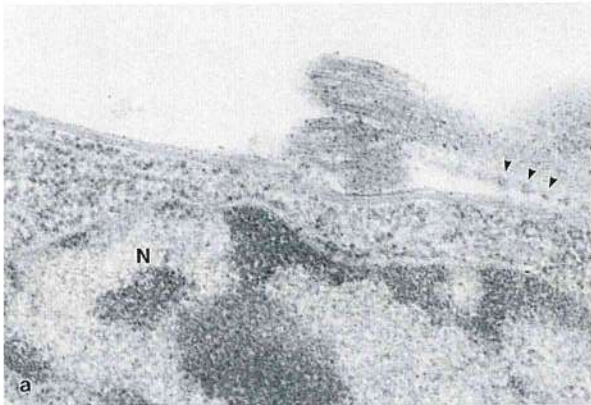


Fig. 8a

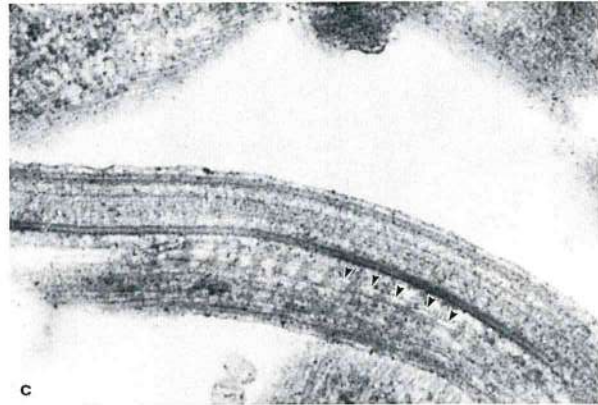


Fig. 8c

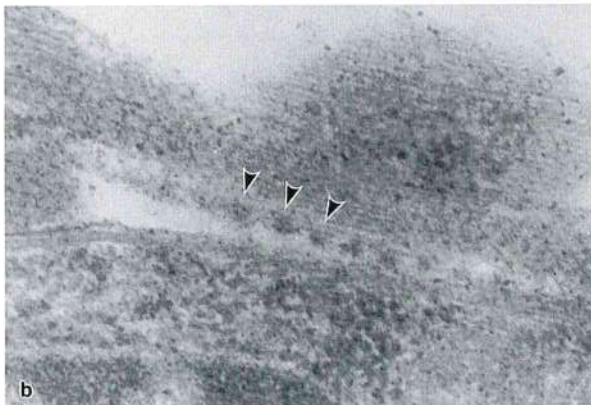


Fig. 8b

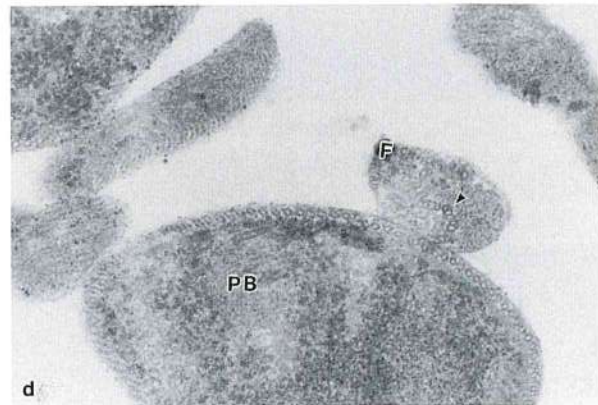


Fig. 8d

後 (Fig. 9e)にはSCの直下にあるpellicleが外部環境に暴露されていた。この時、消化されたと思われる微小な局所的融解 (focal lysis) を思わせる像が出現していた。そのpellicleの上には尚、残存するSCがみとめられたが、pellicleには若干、FFが生じ始めていた。8分後 (Fig. 9f)にはlysisの箇所も範囲も広がりpellicleのFFの度合いは一層激しくなっていた。

議 論

Na-K PBSを細胞の浮遊液や500 μ g/ml pronaseの溶媒として用いた場合には10秒から1分の間で、FFが認められた。これはおそらくNa-K PBSを5%蔗糖を添加せずに用いた為に浸透圧ショックを起こしたものと考える。これはsl-formからst-formへの形態変化を報告したものがFrevert²⁰⁾のものしかなく、取りあえず彼女らの方法を踏襲した為である。他方、CBSを細胞浮遊液やpronaseの溶媒として使用した場合のFFの発生はpellicle上のSCの消失とpellicleに微小局所的融解 (focal lysis) が認められており、これは本来のpronaseによる細胞の損傷を示すものとする。この結果は今後proteaseによるこの原虫の形態変化を電子顕微鏡で観察する場合はCBSを用いる方がより適切であることを示唆するものとする。又、protease (trypsin and pronase)の使用濃度についても、先行するT. congolenseを用いた実験²⁰⁾に準拠することにし

た。細胞への薬剤適用の通則として、濃度が濃すぎれば細胞は使用した薬剤に対して細胞の種々の応答を示す以前にダイレクトに死への変化をとるであろうし、濃度が少なければ、細胞の応答は緩慢であり、初期には認めがたい程の応答しか示さない可能性が考えられる。この場合がまさにそれであり、用いた最終濃度4000 μ g/ml pronaseを室温で用いた細胞では細胞の形態変化を現わす間もなく早急な細胞死への経過を辿り、細胞の経時的な形態変化を電顕下で調べる濃度として不適であることを呈した。逆に最終濃度40 μ g/mlのtrypsinを30°Cで用いた場合は10分を経過するもSCは殆ど intactのまま保持され、全くと言って良いほど細胞の形態変化が認められなかった。だが、氷上で1時間の処理の場合はこの濃度でも細胞形態の上に大きな変化が認められ (Fig. 2)、変化したst-formの細胞質内にはFI (Fig. 3a) 及びその細胞の周辺ではFSが形成されていた (Fig. 3b)。だが、形態の変化を観察するためには処理時間がかかりすぎるので著者は経時的な観察のためにSC剥脱過程の合理的な変化が認められ、妥当と考えられるpellicleの変化を呈した500 μ g/ml pronaseで室温処理した細胞を中心にして記載することにした。500 μ g/ml pronaseを室温処理した場合、T. evansiではSCの完全剥脱は4分から8分を要することが分かった (Fig. 9e & Fig. 9f)。SCの剥脱によって、ますます酵素の作用を受けた細胞は細胞膜のthree-la

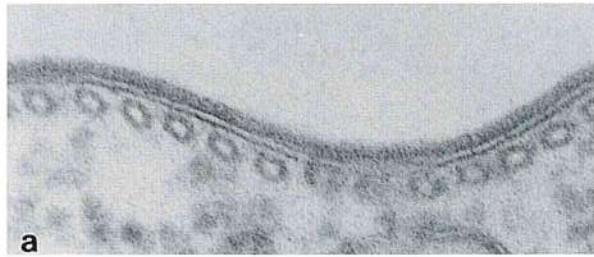


Fig. 9a

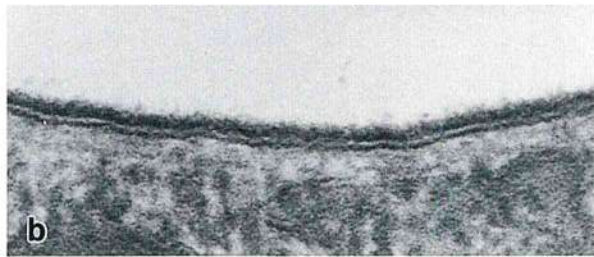


Fig. 9b

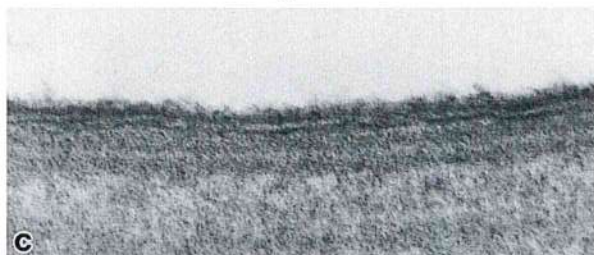


Fig. 9c

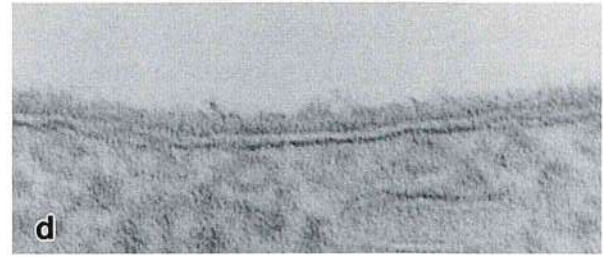


Fig. 9d

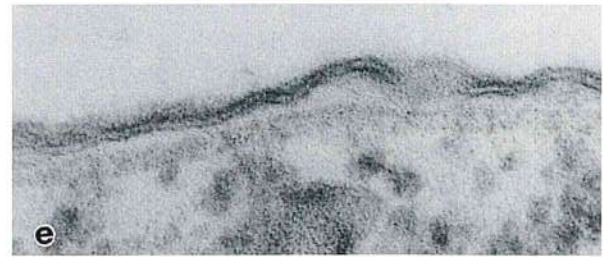


Fig. 9e



Fig. 9f

mellar layersの中間にある疎水層の暴露により、細胞が粘着性を増大し、16分後には細胞相互 (Fig. 7a) のみならず、細胞から一旦剥離した鞭毛との間 (可能性として, fig. 8a&8b) 或いは剥離した鞭毛相互の間での粘着 (Fig. 8c) を生ずるに至る。膜の粘着はやがて、鞭毛相互の粘着の場合には、相互のFMが癒合し、細胞形質部分のFMは消化吸収されて同一の膜内に二体のAを有するFSを形成するのであろう (Fig. 3a)。

この場合二本の鞭毛が同一のFMに収まっている根拠はB-subfibersの9個の配列がお互いに時計回り (clockwise) と反時計回り (counterclockwise) となっていることである。そして、これらの粘着面にそって認められる*m.a.*の規則的配列と*m.a.*に挟まれて生じた小胞化 vesiculationは二つのことを示唆するので意味深い。第一に二本の鞭毛の接触面に沿ってvesiclesが出てくることは、このvesiclesが細胞の粘着後、まもないことを意味している。そして第二にこの粘着を主導しているものは間違いなく*m.a.*が関係する機能であろうと考えられる。それ故、先にpronaseを*T. congolense*に用いて細胞の形態変化を観察したFrevet等²⁰⁾が、鞭毛の細胞からの剥脱には*m.a.*が完全融解することが前提条件であると考えたことに対して、少なくとも*m.a.*が完全に溶解する必要はないという対象的なデータを示し得た訳である。Reinwald等³⁷⁾は*T. congolense*を

用いて機械的な振蕩でSCの収量を増加させる要因について研究している。これはVSGの生化学的実験をする為には、VSGの収量を増加させなければならないという必然性があり、材料に選んだ*T. congolense*がproteaseに高い感受性をもつ為にtrypanosome homogenatesの中のVSGの収量が悪いことを研究の動機として記載してある。それ故、*T. congolense*ではSCがproteaseによって早く剥脱される為に*m.a.*も早くから消失するであろうと考えられる。著者の用いた*T. evansi*を最終濃度500 μ g/ml pronaseを室温で作用させた場合は20分までの全観察時間に*m.a.*が観察されている。*m.a.*は動物ではdesmosomeとして知られる細胞間を粘着する構造^{10&30)}である。desmosomeでは細胞の粘着とcalciumの結合に関係するdesmocollinsとdesmogleinと言うglycoproteinがdesmosome部分の形質膜にあることが知られている。おそらく、trypanosomeにも同様な機能をもったglycoproteinが*m.a.*部分の形質膜上には存在すると考えられる^{10&30)}。Hemphill²³⁾はdetergentを用いて*T. brucei*形質膜を融解して細胞を凍結割断してdeepetchingとrotary shadowingを施し、FPからPEに向かうskeletal microtubules (=subpellicular microtubules: SM) の間にFilamentsによる連結のあることを観察している。観察した細胞はdetergent処理でpellicleを失っているため、これらの構造は本来はpellicleを突き抜けてSMとPFRの間を連結していることになる。

これらの事実は鞭毛がPBから剥脱する為には*m.a.*部分のpellicleのouter surfaceに存在するglycoproteinの中に存在するであろうdesmocollinやdesmoglein等の類似蛋白が溶解される必要があることと、Hemphill等²³⁾が観察したFilamentsが少なくとも細胞外の部分で溶解されることが必要であることを示唆する。

細胞膜からSCが剥脱し、細胞が形態変化を起こすという事実はこの原虫がGenus Glossinaに属するツエツエ蠅のmidgutでpc-formにmorphological transformationするという事実を思い起こさせる。だが、pc-formとst-formの間には前述の差異の他にも決定的な差異がある。即ち、sl-formでは細胞のPEにあったKinetoplastの位置がpc-formでは核よりAEに近い部分に変位(displacement)するという事、mitochondrionが網状化⁴⁷⁾するという事、だが鞭毛の付着構造の変化はないこと⁴⁸⁾等が分かっている。更にT. rhodesienseとT. congolenseのcoat-less culture formsで*m.a.*構造が保持されていることが明らかとされている。このような決定的な差異がある以上、これらは現時点では区

別して考えるべきであろう。Filopodiaの存在²¹⁾はこの原虫が宿主の免疫機能に対抗する戦略として、極めて興味深いものと言わなくてはならない。Vanhamme⁴⁹⁾はT. bruceiのVGS遺伝子の転写にcompetentな染色体のtelomereからRNA polymeraseによるRNAへの加工が最初の内は全部のtelomeresのgene expression sitesからRNAへの転写が開始されるのだが、結局終いには一個のtelomereからの転写しか起こらず、他のRNA elongationは途中で停止されると報告している。この仕組みが沢山あるVSG遺伝子の中から一個分だけのVSGアミノ酸配列しか選択的に表現されない仕組みを説明するものとして注目される。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、電子顕微鏡試料の作成や写真の現像焼き付けに技術的協力を頂戴した島根医科大学医学部付属実験実習機器センターの大下誠、米山綱雄両専門技術職員に厚く感謝して本稿を終えたい。

Explanation of Pictures

Fig. 1. The morphology of Trypanosoma evansi hown by scanning electron microscopy.

This photograph shows the blood stream slender form observed normally in the peripheral blood in the infected mice PE means "posterior end" of the parasite body. AE means "anterior end" of the parasite body. Arrowheads show a flagellum spirally running around the prasite body. Scale bar shows 66 nm.

Fig. 2. The morphology of Trypanosoma evansi shows by scanning electron microscopy.

This photograph shows the stumpy form which resulted in as the consequence of 1 hour treatment of 40 μ g/ml trypsin on ice. Arrow represents the former posterior end (FPE) of the parasite body. Arrowheads show a flagellum spirally running around the parasite body. Scale bar shows 50 nm.

Fig. 3a. The photographs of Fig.3a and 3b were obtained from the thin sections of the parasite bodies treated with 40 μ g/ml trypsin on ice for one hour. Remark the well-defined paraflagellar rod (PFR) consisting of filament hexagonal meshworks and axoneme (A) consiting of 9+2 microtubules in the cytoplasm. 20000 x mag.

Fig. 3b. The photograph showing a flagellar syncitium (FS) observed around the parasite body treated with 40 μ g/ml trypsin on ice for 1 hour B subtubules of one anoneme were situated at clock-wise direction, but those of another axoneme, within the same flagellar membrane, were situated at counter-clockwise direction. The cause that the direction of subfibers arrangement is reverse can be explained by the different axonemal origin, perhaps from different cells.. Therefore, idea that membranous fusion, as the consequence of protease digestion, would occur between two flagellar membranes of different parasite bodies can be accepted as possible explanation. 10000 x mag.

Fig. 4a. This photograph shows the cross-sectioned parasite body. The cytoplasm in the protease-untreated parasite body, was covered with not only the pellicle but also the thick (about 22 nm), compact and rigid surface coat (sc) consisting of glycoprotein. The fold formation (FF) of the SC spreading to the

pellicle was not seen in these proteases-untreated cells, and the cell surface was smooth.
9600 x mag.

- Fig. 4b. The large magnification of a part of Fig 4a. The pellicle (unit membrane : three lamellar structure) is also seen in this picture as well as in the sharply defined pictures obtained from the thin-sections fixed with potassium ferricyanide fixation method (see also Fig.9a-f). FSW means so called "flagellar swelling". The expansion of FSW was not so vigorous as the proteases (trypsin and pronase)-treated cells. 32000 x mag.
- Fig. 4c. In the part not possessing *maculae adherens (m.a.)*, there was seen the well-defined exterior slit and the membrane was smooth and any fusion between the parasite body and the flagellum was not observed in the proteases-untreated cells (arrowhead).
40000 x mag.
- Fig. 5a, 5b and 5c were obtained from the trypanosome treated with 500 μ g/ml pronase for 10 seconds at room temperature.
- Fig.5a shows the morphology of longitudinally sectioned parasite body. The strong unevenness of the cell surface (fold formation : FF) was seen in this section as well as in the cross section of Fig.5c.
9600 x mag.
- Fig. 5b. This photograph shows the vigorously expanded FSW.. The filaments in this FSW space were seen, but something indefinite in this resolution. Arrowheads show well-defined *m.a.* located in the tandem arrangement along the adhesive site of flagellum and parasite body. See also Fig.5a in which the same structures are observed. 40000 x mag.
- Fig. 5c. This photograph shows FF in the cross section. Not only the pellicle but also the surface coat was involved in FF.
Arrowheads show the convex part of the pellicle. K means Kinetoplast.; FV means food vacuoles.; FP means flagellar pocket. 30800 x mag.
- Fig. 6a. Photograph shows the morphology of *T. evansi* treated with 500 μ g/ml pronase for 1 minute at room temperature.
The SC have slightly fluffy surface but its thickness was retained well. See also Fig.9b for detail observation. 20000 x mag.
- Fig. 6b. Photograph showing the morphology of *T. evansi* treated with 500 μ g/ml pronase for 2 minutes. SC increased the fluffiness as the consequence of pronase digestion but its thickness was still retained. The FF, seen until 1 minute, disappeared. 16000 x mag.
- Fig. 6c. Photograph showing the longitudinal sectioned *T. evansi* treated with 500 μ g/ml pronase for 2 minutes. Except for the fluffiness of the surface, any changes were not seen in comparison with protease-untreated cells. F means Flagellum.; FP means flagellar pocket. 9600 x mag.
- Fig. 7a. Fig. 7a-c and 8a-c were obtained from *T. evansi* treated with 500 μ g/ml pronase for 16 minutes at room temperature. Only 8d was one from the treated at the same concentration of pronase for 20 minutes.
- Fig. 7a. shows the complete removal of SC. Arrowhead reveals adhesion between the different parasite bodies. N means nucleus.; F means Flagellum. 16000 x mag.

- Fig. 7b is large magnification of a part of Fig 7a. Complete removal of SC was observed on the cell membrane but the parasite was still viable and motile. 32000 x mag.
- Fig. 7c shows the adhesion between the flagellar membrane and the pellicle of parasite body. Arrowheads show vesicles resulted in between the adhesive faces of the flagellar membrane and the pellicle. PB means parasite body. 50000 x mag.
- Fig. 8a shows either detachment of the flagellum from the parasite body or re-adhesion of the flagellum to the same cell after once detaching. Arrowheads show well-defined *m.a.* structures which were observed even after 16 minutes of complete removal of SC by pronase digestion. 24000 x mag.
- Fig. 8b shows large magnification of a part of Fig 8a. Arrowheads show the *m.a.* arrangement of the detachment or re-adhesive site of the flagellum 40000 x mag.
- Fig. 8c shows probably early stage of vesiculation. The slit between two flagellar membranes, perhaps from different cells, seems to be changed into the numerous vesicles (arrow-heads) lying between *m.a.* by fusion. Obviously the existence of *m.a.* was observed even after complete removal of SC, connecting one site of flagellar membrane to another opposite site of flagellar membrane. 32000 x mag.
- Fig. 8d. Photograph showing the flagellar syncytium (FS). Fusion of flagellar membranes, even in different cells, can be initiated via the process as seen in Fig 8c. This photograph was obtained from the specimen, which was treated with pronase for 20 minutes. Arrowhead shows one of 9 doublet microtubules of axoneme. More than 9 doublet microtubules was seen. PB means parasite body.; F means flagellum. 26700 x mag.
- Fig. 9a shows the intact surface coat (SC) of pronase-untreated *T. evansi*. As the result of potassium ferricyanide, contrast of the pellicle (unit membrane) increased and became well-defined. Note compact, rigid SC having smooth surface. 70900 x mag.
- Fig. 9b shows the condition of SC treated with 500 μ g/ml pronase for 30 seconds at room temperature. The SC became to possess fluffy surface comparing to Fig.9a but was well retained well thickness. 67000 x mag.
- Fig. 9c shows the condition of SC treated with 500 μ g/ml pronase for 1 minute at room temperature. The SC became to have more fluffier surface than Fig.9b but was still retained the thickness. 67000 x mag.
- Fig. 9d shows SC treated with 500 μ g/ml pronase for 2 minute at room temperature. The SC became to have most fluffiest surface among Fig.9a-9d. 85000 x mag.
- Fig. 9e shows the SC treated with 500 μ g/ml pronase for 4 minute at room temperature. Most of glycoprotein component was removed from SC. The pellicle lying underneath of SC became to be exposed to the exterior environment. The FF, then, was observed at this step in this specimen. The finding such as membranes focal lysis was noted in this picture. 65000 x mag.
- Fig. 9f shows the SC treated with 500 μ g/ml pronase for 8 minute at room temperature. The glycoprotein component was removed completely from SC at this time, the pellicle was observed to be exposed directly to the exterior environment. The extent of FF became more vigorous than Fig.9d, and disruption on some points of the pellicle became to be more severe than Fig.9d. 50000 x mag.

文 献

- 1) Allsopp, B. A. and Njogu, A. R. : Monosaccharide Composition of the Surface Glycoprotein Antigens of Typanosoma brucei. Parasitol., 69(3), 271-281, 1974.
- 2) Anderson, W. A., Ellis, R. A. : Ultrastructure of Typanosoma lewisi : Flagellum Microtubules and Kinetoplast. J. Protozool., 12, 483-499, 1969.
- 3) Barbet, A. F. and Mcguire, T. C. : Crossreacting Determinants in Variant-specific Surface Antigens of African Trypanosomes. Proc. Nat. Aced. Sci. USA, 75(4), 1989-1993, 1978.
- 4) Baltz, T., Baltz, D. and Pautrizel, R. : Affinity of Concanavallin A for Trypanosoma equiperdum : Purification of the Antigenic Type Specific Glycoprotein Fraction (in French), Ann. Immunol., 127(5), 761-774, 1976.
- 5) Böhringer, S. and Hecker, H. : Quatitative Ultrastructural Differences between Strains of Typanosoma brucei Subgroup During Transformation in Blood. J. Protozool., 21, 694-698, 1974.
- 6) Borst, P. and Cross G. A. : Molecular Basis for Trypanosome Antigenic Variation. Cell, 29(2), 291-303, 1982.
- 7) Bridgen, P. J., Cross, G. A. and Bridgen, J. : N-terminal Amino Acid Sequences of Variant-specific Surface Antigens from Typanosoma brucei Nature, 263(5578), 613-614, 1976.
- 8) Brun, R., Jenni, L., Schönenberg, M. and Schell, K-F. : In Vitro Cultivation of Blood Stream Form of Typanosoma brucei, Typanosoma rhodiense and Typanosoma gambiense. J. Protozool. 28, 470-479, 1981.
- 9) Brun R., Shönenberger, M. : Stimulating Effect of Citrate and Cis-aconitate on the Transformation of Typanosoma brucei Bloodstream Forms to Procyclic Forms in vitro. Z. Parasitenkd., 66, 17-24, 1981.
- 10) Chidgey, M. A. : Desmosomes and Diseases. Hist. HistoPathol., 12(4), 1159-1168, 1997.
- 11) Cross, G. A. : Identification and Purification of a Class of Soluble Surface Proteins from Typanosoma brucei. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 67, 261, 1973.
- 12) Cross, G. A. : Identification, Purification and Properties of Clone-specific Glycoprotein Antigens Constituting the Surface Coat of Typanosoma brucei. Parasitol., 71, 393-417, 1975.
- 13) Cross G. A. : Antigenic Variation in Trypanosomes. Pro. Roy. Soc. Lond. B, 202(1146), 55-72, 1978.
- 14) Cross, G. A. : Crossreacting Determinants in the C-terminal Region of Trypanosome Variant Surface Antigens. Nature, 277(5694), 310-312, 1979.
- 15) Czichos, J., Nonnenengaesser, C. and Overath, P. : Typanosoma brucei : Cis-aconitate and Temperature Reduction as Triggers of Synchronous Transformation to Procyclic Trypomastigotes in Vitro. Exp. Parasitol., 62, 283-291, 1986.
- 16) Duvillier, G., Aubert, J. P., Balts, T., Richet, C. and Degand, P. : Variant Specific Surface Antigens from Typanosoma equiperdum : Chemical and Physical Studies. Biochem. Biophys. Res. Com., 110(2), 491-498, 1983.
- 17) Duvillier, G., Nouvelot, R., Richet, C., Baltz, T. and Degand, P. : Presence of Glycerol and Fatty Acids in the C-terminal End of a Variant Surface Glycoprotein from Typanosoma equiperdum. Biochem. Biophys. Res. Com., 114(1), 119-125, 1983.
- 18) Duvillier, G., Richet, C., Briant, G., Baltz, T. and Degand, P. : Partial Determination of the Primary Structure of a Variant Surface Glycoprotein from Typanosoma equiperdum. Composition and Location of a Carbohydrate Moiety. Mol. Biochem. Parasitol., 8(1), 17-30, 1983.
- 19) Ferguson, M. A. and Cross, G. A. : Myristylation of the Membrane Form of a Typanosoma brucei Variant Surface Glycoprotein. J. Biol. Chem., 259(5), 3011-3015, 1984.
- 20) Frevert, U., Herzberg, F., Reinwald, E., and Risse, H.-J. : Morphological Changes in Typanosoma congolense after Proteolytic Removal of the Surface Coat. J. Ultrast. Mol. Res., 94, 140-148, 1986.
- 21) Frevert, U. and Reinwald, E. : Formation of Filopodia in Typanosoma congolense by Crosslinking the Variant Surface Antigen. J. Ultrast. Mol. Str. Res., 99, 124-136, 1988.
- 22) Gray, A. R. and Luckins, A. G. : Antigenic Variation in Salivarian Trypanosomes. In : Biology of the Kinetoplastida, volume 1, pp. 493-542, Lumsden, W. H. R. and Evans, D. A.(eds), Academic Press, New York, 1976.
- 23) Hemphill, A., Lawson, D. and Seebeck, J. : The Cytoskeletal Architecture of Typanosoma brucei. J. Parasitol., 77(4), 603-612, 1991.

- 24) 比留木武雄：全乾燥系暗視野用菌数計算板による Borrelia duttonii 数の算定について山口医学, 26(1), 7-14, 1976.
- 25) 比留木武雄：Trypanosoma evansi の外被の蛋白融解酵素処理に伴う形態学的変化, 原生動物学雑誌, 33(1), 68, 2000.
- 26) Holder, A. A. and Cross, G. A. : Glycopeptide from Variant Surface Glycoproteins of Trypanosoma brucei. C-terminal Location of Antigenically Cross-reacting Carbohydrate Moieties. Mol. Biochem. Parasitol., 2(3-4), 135-150, 1981.
- 27) Holder, A. A. : Carbohydrate is Linked through Ethanolamine to the C-terminal Amino Acid of Trypanosoma brucei. Variant Surface Glycoprotein. Biocnem. J., 209, 261-262, 1983.
- 28) 猪木正三監修, 原生動物学図鑑, 第二刷, 講談社, 1982.
- 29) Johnson, J. G. and Cross, G. A. : Carbohydrate Composition of Variant-Specific Surface Antigen. Glycoproteins from Trypanosoma brucei. J. Protozool., 24(4), 587-591, 1977.
- 30) Kowalczyk, A. P., Bornslaeger, E. A., Norvell, S. M., Palka, H. L. and Green, K. J. : Desmosomes : Intracellular Adhesive Junctions Specialized for Attachment of Intermediate Filaments. Internat. Rev. Cytol., 185, 237-302, 1999.
- 31) 村上 悟：細胞・組織の固定, 包埋法 In : 電子顕微鏡試料作製法, 改訂二版, 日本電子顕微鏡学会関東支部編, 丸善株式会社, 東京86.
- 32) My, L., Wuyts, N., Luckins, A. G., Dung, N. G. A., Thanh, N. T. A. : Drug Sensitivity of Trypanosoma evansi and the Use of Immunoassays in Diagnosing Infections with T. evansi in Buffaloes in Vietnam. Ann. NY Acad. Sci., 849, 188-194, 1998.
- 33) Olafson, R. W., Clarke, M. W., Kielland, S. L., Pearson, T. W., Barbet, A. F. and Mcguire, T. C. Amino Terminal Sequence Homology among Variant Surface Glycoproteins of African Trypanosomes. Mol. Biochem. Parasitol., 12(3), 287-298, 1984.
- 34) Onah, D. N., Hopkins, J. and Luckins, A. G. : Changes in Peripheral Blood Lymphocytes Subpopulations and Parasite-specific Responses in Trypanosoma evansi Infection of Sheep. Parasitol Res., 85, 263-269, 1999.
- 35) Ormerod, W. E. : Development of Trypanosoma brucei in the Mammalia Host. In : Biology of the Kinetoplastida, volume 2, pp339-393, Lumsden, W. H. R. and Evans, D. A. (eds), Academic Press, 1979.
- 36) Rautenberg, P., Reinwald, E. and Risse, H. J. : Evidence for Concanavallin A Binding Sites on the Surface Coat of Trypanosoma congolense. Parasitol., 80(1), 113-122, 1980.
- 37) Reinwald, E., Rautenberg, P. and Risse, H.-J. : Trypanosoma congolense : Mechanical Removal of the Surface Coat in Vitro. Exp. Parasitol., 48, 384-397, 1979.
- 38) Reinwald, E., Heidrich, C. and Resse, H. J. : In vitro Studies on the Biosynthesis of the Surface Glycoprotein of Trypanosoma congolense. J. Protozool., 31(2), 300-306, 1984.
- 39) Reinwald, E. : Role of Carbohydrates within Variant Surface Glycoprotein of Trypanosoma congolense. Protection against Proteolytic Attack. Eur. J. Biochem., 151(2), 385-391, 1985.
- 40) Rice-Ficht, A. C., Chen, K. K., and Donelson, J. E. : Point Mutation during Generation of Expression-linked Extra Copy of Trypanosome Surface Glycoprotein Gene. Nature, 298(5875), 676-679, 1982.
- 41) Rovis, L. and Dube, D. K. : Studies on the Biosynthesis of the Variant Surface Glycoproteins of Trypanosoma brucei. : Sequence of Glycosylation. Mol. Biochem. Parasitol., 4(1-2), 77-93, 1981.
- 42) Simpson, A. M., Hughes, D., and Simpson, L. : Trypanosoma brucei : Differentiation in Vitro-grown Bloodstream Trypomastigotes into Procyclic Forms. J. Protozool., 32, 672-677, 1985.
- 43) Stricker, J. E. and Patton, C. L. : Trypanosoma brucei brucei : Inhibition of Glycosylation of the Major Variable Surface Coat of Glycoprotein by Tunicamycin. Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 77(3), 1529-1533, 1980.
- 44) Vanhamme, L., Poelvoorde, P., Pays, A., Tebabi, P., Van Xong, H. and Pays, E. : Differential RNA Elongation Controls the Variant Surface Glycoprotein Gene Expression Sites of Trypanosoma brucei. Molecular Microbiology, 36(2), 328-340, 2000.
- 45) Vickerman, K. : The Fine Structure of Trypanosoma congolense in its Blood Stream Phase. J. Protozool., 16(1), 54-69, 1969.
- 46) Vickerman, K. : On the Surface Coat and Flagellar Adhesion in Trypanosomes. J. Cell Sci., 5, 163-193, 1969.
- 47) Vickerman, K. and Preston, T. M. : Comparative Cell Biology of the Kinetoplasted Flagellates in : Biology of

- Kinetoplastide, vol 1, pp35-130, Lumsden, W. H. R. and Evans, D. A. (eds), Academic Press, New York and London, 1976.
- 48) Vickerman, K. : Antigenic Variation in Trypanosomes. *Nature*, 273(5664) : 613-617, 1978.
- 49) Yabu, Y. and Takayanagi, T. : Trypsin-stimulated Transformation of *Trypanosoma brucei gambiense* Bloodstream Forms to Procyclic Forms in Vitro. *Parasitol. Res.*, 74, 501-506, 1988.
- 50) Yoshii, Z., Konishi, H., Tanaka, S., Hiruki, T., Takamura, A., Takao, K., Sugiyama, J., Ejima, T., Ito, T. and Kamata, M. : Studies on Specimen Preparation Method for Scanning Electron Microscopy Part V. Special Treatment for Specimen Preparation. 1. Preparation on the Specimen for Observing of the Same and Fixed Optical Field by Light Microscope and Scanning Electron Microscope. (in Japanese) *Yamaguchi-Igaku*, 28(1), 85-96, 1979.
- 51) Warner, F. D. : Macromolecular Organization of Eukaryotic Cilia and Flagella. *Adv. in Cell. Mol. Biol.*, 2, 193-235, 1972.

Vero毒素産生性大腸菌O121:H19が分離された 子牛の急死例

川戸 彰 弘*・小川 賀 雄**・西本 清 仁**

〔受付：2000年11月30日〕

A PRESUMPTIVE CASE OF FATAL ACUTE ENTERITIS DUE TO VTEC 0121 : H19 IN CALF

Akihiro KAWATO, Yoshio OGAWA and Kiyohito NISHIMOTO

North and Middle District Livestock Hygiene Service Center of Yamaguchi Prefecture, 683-1,
Ninowari, Kagawa, Yamaguchi City Yamaguchi Prefecture, 754-0897 Japan

〔Received for publication : November 30, 2000〕

On a certain beef cattle farm, an eight-day-old calf, which had looked normal until the day before, developed symptoms of diarrhoea and died suddenly about noon.

A postmortem examination was performed. By the findings of pathoanatomical and pathohistological examinations, the case was diagnosed as fatal acute enteritis catarrhalis. In the bacteriological and virological examinations VTEC 0121 : H19, ETEC 0116 : H28, Rotavirus, etc. were detected in the ileum of the calf. It was confirmed that VTEC 0121 : H19 produced VT2 (Stx 2). *Salmonella* was not detected.

Judging from the synthetic result of experimental data about the cause of the sudden death, it was presumed that the main causative agent of the fatal acute enteritis catarrhalis was VTEC 0121 : H19, which produced VT2 (Stx 2). It is unknown how VTEC 0121 : H19 was brought into the farm.

要 約

管内肉用牛一貫経営農場において、平成11年5月21日、8日齢雄子牛1頭が下痢を呈して急死した。剖検所見で、第4胃の点状出血、盲腸・結腸の菲薄化や血様泥状内容物の貯留を認め、病理組織所見では、HE染色で結腸・回腸に絨毛の軽度萎縮、粘膜上皮細胞の剥離、小桿菌の付着を認め、カタル性腸炎と診断し、細菌検査で、回腸からのみVT2を産生しeaeA遺伝子を保有するVero毒素産生大腸菌O121:H19を 1.8×10^5 CFU/g、STを産生し線毛抗原陰性の毒素原性大腸菌O116:H18を 3.0×10^5 CFU/g分離した。EIA法で回腸内容物からのみロタウイルス抗原を検出した。免疫染色でO121の陽性反応を結腸・回腸で、ロタウイルスの陽性反応を結腸・回腸で認め、O116はすべて陰性で

あった。検査成績からVero毒素産生大腸菌O121:H19とロタウイルスの関与を推察し、同農場に定期消毒、飼養管理の徹底を指示した。

以後、3回35検体の菌検索でも本菌は分離されず、発生も認められない。

結 言

管内肉用牛一貫経営農場において発生した、VT2を産生するVero毒素産生大腸菌（以下VTEC）O121:H19が関与したと思われる、下痢を主徴とする子牛の急死例について報告する。

1 発生の概要

発生は繁殖牛68頭などを飼養している、無角和種一貫経営農場で認められた。

発症牛は、平成11年5月13日生まれの8日齢雄子牛で、生後順調に発育していたが、5月21日朝、飼養者が下痢に気づき12時頃共済獣医師が往診したが、子牛はすでに死亡しており、当所に病性鑑定依頼があった。なお、母牛は平成3年2月16日生まれで、今回が7産目であるが、過去、異常は認められていない。また、同農場へは平成7年に移動してきた。

2 検査材料

検査材料は、死亡子牛の主要臓器、脳、腸管、腸間膜リンパ節、腸管内容物を用いた。

3 検査方法

1) 細菌学的検査

主要臓器、腸間膜リンパ節及び腸管内容物について、DHL寒天培地などの培地を用いて培養し菌種同定を行った (Table 1)。

Table 1 細菌学的検査方法

主要臓器、腸間膜リンパ節	
DHL寒天培地	37°C24時間好気培養
5%羊血液加コロンビア寒天培地	37°C48時間5%CO ₂ 培養
SKIRROW寒天培地	37°C72時間混合ガス培養
5%卵黄加GAM寒天培地	37°C72時間嫌気培養
腸管内容物	
1 定量培養	
嫌気性菌用希釈液で希釈後、	
DHL寒天培地	37°C24時間好気培養
SKIRROW寒天培地	37°C72時間混合ガス培養
5%卵黄加GAM寒天培地	37°C72時間嫌気培養
2 サルモネラ検査	
ハーナテトラチオン酸塩培地で37°C48時間培養後	
DHL寒天培地に塗抹	

また、分離された大腸菌は血清型別などの検査を行った (Table 2)。

Table 2 分離大腸菌の検査方法

血清型別
農林水産省家畜衛生試験場へ依頼
付着因子
線毛抗原K88, K99, 987Pのスライド凝集反応
毒素産生性
LT, VT; 逆受身ラテックス凝集反応
ST; 競合EIA法
毒素産生遺伝子検出
LT, STp, VT; PCR法
eaeA遺伝子検出
PCR法

2) 病理学的検査

病理組織学的検査は、常法に従ってパラフィン切片を作成し、HE染色を施して、鏡検した。また、免疫

組織学的検査は、家畜衛生試験場から分与された、抗O121およびO116家兔免疫血清を用いた。免疫組織化学染色 (以下SAB法) を、空腸、回腸、結腸で実施し、抗ロタウイルス家兔免疫血清を用いたSAB法を空腸、回腸で行った。

3) ウイルス学的検査

ウイルス学的検査については、EIA法による腸管内容物中のロタウイルス抗原検出を実施した。

4 検査成績

1) 剖検所見

剖検所見では、第4胃の点状出血や盲腸・結腸の部分的な菲薄化や血様物の混じった泥状内容物の貯留が認められた。

2) 細菌検査成績

肝臓、脾臓、腎臓や脳などから *Enterococcus durans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus bovis* が分離されたが、病理組織所見から、これらの細菌が、本症例に関与した可能性は、極めて低いものと推察された (Table 3)。

Table 3 細菌分離成績

部位/菌種	Ed	Pa	Sb
肺	—	—	—
心臓	—	—	+
肝臓	++	++	+++
脾臓	+++	++	+++
腎臓	+	+	++
脳	++	+	+++
腸間膜リンパ節	++	—	—

Ed: *Enterococcus durans*
Pa: *Pseudomonas aeruginosa*
Sb: *Streptococcus bovis*
菌数スコア コロニー数 +; 1~9, ++; 10~49, +++; 50~99

また、腸管内容物の細菌検査成績では、表-4で示すように回腸のみから、STを産生する毒素原性大腸菌 (以下ETEC) が 3.0×10^5 CFU/g VT2を産生するVTECが 1.8×10^5 CFU/g分離され、サルモレラは分離されなかった (Table 4)。

分離されたVTECの性状では、血清型はO121:H19で、Vero毒素のうち、志賀抗毒素によっても活性を中和されないVT2を産生しており、凝集価は128倍以上と高値を示した。また、VT2遺伝子ならびに、VTECの付着因子の一つである外膜蛋白intimin産生遺伝子の一つであるeaeA遺伝子を保有していた。また、ETECは、血清型はO116:H28、線毛抗原は陰性で、毒素産生性としては、ETECの産生する下痢原毒素エンテロトキシンのうち、耐熱性毒素であるSTを産生しており、競合EIA法でのODは0.15を示した。また、毒素産生遺伝子については、STp遺伝子を保有してい

た。分離された両血清型の生化学的性状では、両血清型とも、特に特徴的な性状は認められなかった。(Table 5)。

Table 4 腸管内容物の細菌分離成績

部位	菌種	菌数(CFU/g)
十二指腸	<i>Escherichia coli</i>	2.7×10 ³
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.0×10 ³
空腸	<i>Escherichia coli</i>	4.0×10 ⁷
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.0×10 ⁵
回腸	ETEC (ST産生)	3.0×10 ⁵
	VTEC (VT2産生)	1.8×10 ⁵
	<i>Escherichia coli</i>	2.3×10 ⁵
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.0×10 ⁴

ETEC：毒素原性大腸菌
VTEC：Vero毒素産性大腸菌

Table 5 生化学的性状(IDテスト, EB-20使用)

	O116	O121		O116	O121
H ₂ S	-	-	URE	-	-
ESC	-	-	MALO	-	-
PPA	-	-	ADO	-	-
IND	+	+	INO	-	-
VP	-	-	RAFF	-	-
CIT	-	-	RAH	+	+
LDC	+	+	SOR	+	+

3) ウイルス学的検査成績

ウイルス検査成績では、回腸内容物のみにロタウイルス抗原が認められた。

4) 病理組織学的検査成績

病理組織所見として、結腸・回腸では、絨毛の軽度萎縮、粘膜上皮細胞の剥離や小桿菌の付着像などが認められ、その他、空腸にほぼ同一の所見が認められ、脾臓で細網細胞の活性化、肺に褐色色素の沈着などが

Table 6 病理所見

剖検所見	
第4胃の点状出血、結腸、盲腸し部分的菲薄化	
病理組織所見	
結腸、回腸	絨毛の軽度萎縮、粘膜上皮細胞の変性、剥離 一部の粘膜上皮細胞に小桿菌の付着
空腸	絨毛の軽度萎縮、粘膜上皮細胞の変性、剥離
脾臓	細網細胞の活性化
肺	肺胞上皮細胞に部分的な褐色色素沈着

認められたが、その他の著変は認められなかった (Table 6)。

以上の所見から、病理組織学的には、カタル性腸炎と診断した (Fig. 1)。

また、結腸に、抗O121家兔免疫血清によるSAB法を実施してみたところ、粘膜上皮細胞に沿って、O121に対する陽性反応が認められ、回腸でも同様の陽性反応が認められた。なお、O116については、結腸、空腸ならびに回腸とも、陽性反応は認められなかった。

また、抗ロタウイルス家兔免疫血清によるSAB法では、空腸及び回腸で陽性反応を認めた (Fig. 2)。

5 対 策

本菌の同農場への進入経路などは不明であったが、従来から牛の移動や敷料交換時などに行っていた畜舎消毒の徹底を図ることや、出入口の踏み込み消毒槽を効果的に活用すること、飼養管理を徹底することなどにより、以後の発生は認められていない。また、同農場において、本症例発生以降、表-7に示すとおり、下痢を呈した子牛5検体や、当該牛の母牛を含めた同居牛の糞便、計3回35検体について検査したが、VTEC O121:H19は分離されなかった (Table 7)。

Table 7 農場のVTEC O121:H19検査成績

採材月日	対象	頭数	等	成績
7月14日	下痢子牛	4頭	(30~80日齢)	-
9月3日	下痢子牛	1頭	(24日齢)	-
10月28日	子牛	16頭		-
	繁殖牛	14頭		-

考 察

以上の成績から、今回の下痢、急死の原因としては、ロタウイルス、VTEC O121:H19の関与が考えられたが、ロタウイルス抗原が回腸のみでしか検出されなかったこと、ならびに回腸、結腸におけるSAB法の成績などからO121:H19関与の可能性が示唆された。しかし、本症例発生以降3回行った菌検索でもO121:H19が分離されないことから、同農場内に常在化はしていないものと考えられる。なお、我が国で、牛の下痢症に関与したと考えられるVTECとしてVT2を産生するO121:H19が分離されたのは、本症例が初めてであった。これまで、牛の下痢症に関与したと考えられるVTECは、VT1産生性のものがほとんどであったが¹⁾²⁾、今後はVT2産生性VTECの、牛に対する下痢原性についても、検討していくことが必要と推察された。

終わりに、VTEC、ETECの血清型別、遺伝子検査を実施していただき、かつ、貴重な血清を分与していただきました農林水産省家畜衛生試験場ブーノーシス研究室中澤宗生先生に深甚なる謝意を表します。

引用文献

- 1) 中澤宗生：獣医畜産新報, 50, (3) : 233~236. (1997)
- 2) 富永 潔, 竹谷源太郎, 國吉佐知子
平成9年度山口県家畜保健衛生業績発表会集録,
133~137. (1998)

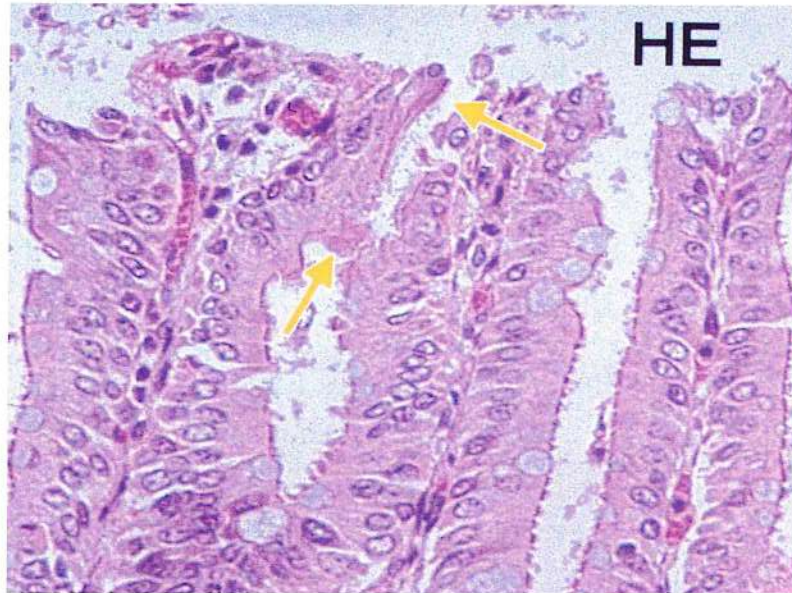


Fig. 1 病理組織所見 (結腸)
絨毛の軽度萎縮, 粘膜上皮細胞の剥離. 小桿菌の付着 (←)

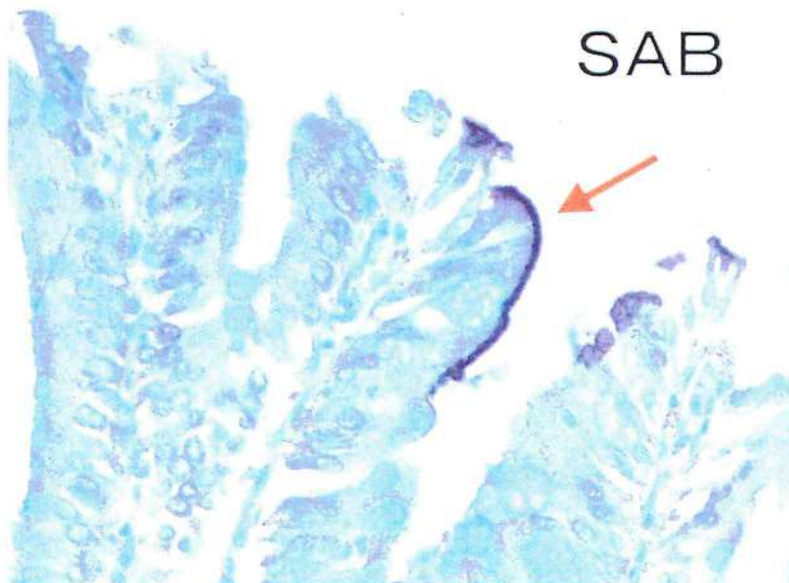


Fig. 2 病理組織所見 (結腸)
O121免疫血清を用いた免疫組織化学染色：陽性反応 (←)

黒毛和種における早期除角の労力性および牛への増体性, 行動, 生理に及ぼす影響

白尾大司・澤井利幸・藤井宏志

[受付: 2000年11月30日]

A STUDY OF DEHORNING EARLY STAGE JAPANESE BLACK CALVES AND ITS INFLUENCE ON THE WEIGHT GAINS, BEHAVIORAL PATTERNS AND PHYSIOLOGY OF THE CALVES.

Daishi SHIRAO, Toshiyuki SAWAI and Kouji FUJII

Yamaguchi Prefectural Livestock Experiment Station, Isa-cho, Mine-Shi,
Yamaguchi-ken.759-2221 JAPAN

[Received for publication : November 30, 2000]

Labor of dehorning, weight gains, behavioral patterns and haemogram of the dehorned Japanese black calves were investigated. Dehorning was carried out on a two-week-old, a two-month-old, a five-month-old, and a nine-month-old.

It was possible to dehorn the two-week-old in more labor and time saving than the others. No inflammation was noticed. In their early stages stress response and escape response were little changed from those before dehorning. It is considered that the early stage dehorning detects no adverse influence. Consequently, the early stage dehorning possibly saves labor and enhances the safety for beef cattle administration, and entails the early improvement of the relationships between humans and cattle.

1. はじめに

近年、肉用牛経営は多頭化の傾向にあり、群飼育管理を円滑に行うため除角を実施する農家が増えてきている。しかし、角と肉質には関連があるという認識が未だ強く、除角を行うにしても子牛導入後が一般的である。祝前らの報告⁹⁾によると角(質、色)と肉質の相関性は低いとされ、逆に除角を行うことで、競合緩和による損傷(俗にあたり)の減少、肉質の向上、群管理の効率化などの経済効果が確認されている^{4,5,11,13)}。

そこで、生後間もない早期(2週齢~2カ月齢内)に除角することによって、高齢者や女性においても肉用牛管理の安全性が期待できると考えられる。また、牛にとっても早期除角の方が発育に及ぼす影響が少ないと考えられる。従って早期除角における除角にかかる労力性、除角牛の増体性、行動型、血液性状への影響について調査を行った。

2. 材料方法

(1)試験期間

2000年6月5日~9月2日の期間で実施した。

(2)供試牛

黒毛和種放牧飼養の子牛17頭を供試し、2週齢、2、5、9カ月の除角区と無処置の対照区に分け試験を行った(Table.1)。

Table. 1 供試牛の概要

週, 月齢	除角区		対照区	
	雄	雌	雄	雌
2週齢	1	1	2	-
2カ月齢	2	1	2	1
5カ月齢	2*	-	1*	-
9カ月齢	4*	-	-	-

注) *は去勢牛

(3)除角方法

除角にはガス式焼烙器、烙鉄、除角器、除角鋸等を使用し、無麻酔で実施した。2週齢子牛では横臥位保定で焼烙のみ、2カ月齢子牛では横臥位保定で除角器を使用し、焼烙により止血した。5カ月齢子牛は保定枠に入れ、除角鋸で切断後に焼烙を実施した。9カ月齢牛はスタンション枠に入れ、除角鋸で切断後に焼烙を行った (Table. 2)。除角後の焼烙部にはセファゾリン150mg (力価) / 3g含有抗生物質軟膏を塗布した。(Table. 2)。

Table. 2 除角方法

週,月齢	保定	除角	止血
2週齢	横臥位	ガス式焼烙器又は烙鉄	
2カ月齢	横臥位	除角器	ガス式焼烙器
5カ月齢	保定枠	除角鋸	ガス式焼烙器
9カ月齢	スタンション枠	除角鋸	ガス式焼烙器

(4)調査項目及び方法

a 除角の労力性

除角にかかる労力性は所要時間及び作業人数を各処置項目 (保定, 除角, 止血) ごとに各週, 月齢別の除角牛で比較した。

b 処置前後の増体性

除角14日前, 除角日, 除角14, 28日後に体重測定を実施し, 各週, 月齢別に14日間隔で1日当たりの増体量 (DG) を求めた。

c 子牛の行動

①逃避反応性

逃避反応は除角前日, 除角2日後, 除角8日後に除角牛3頭, 無処置牛5頭について1頭当たり各5回ずつ実施し, その平均を比較した。反応は, 試験者が毎回同一人物, 同じ作業着, 同じ時間帯とし, 佇立している牛に前方から静かに近づき, 牛の逃避を見た。牛が逃避開始した地点と試験者の足の位置との距離を巻き尺で計測し, それを逃避反応距離とした。

②行動型

調査は2カ月齢除角の子牛1頭について実施した。除角3日前, 除角当日, 除角7日後の13時から17時の間に実施した。行動型は哺乳 (哺乳回数, 平均哺乳所要時間, 平均頭突回数), 採食 (採食時間), 休憩 (横臥時間), 異常行動 (搔く, 擦り付ける等) 及び群行動の項目について1分単位で調査した。

d 血液, 血清成分の生理的変化

除角前, 除角直後, 2, 4, 6時間後, 1,

3, 7, 14, 28日後に採血を行った。炎症反応として, 白血球数および血清 α 1 酸性糖蛋白 (α 1 AGP) を, ストレス反応としてコルチゾール濃度を代謝障害や栄養障害等の健康状態についてTP, ALB, TCHO, TG, GGT, BUN, GOT, GLUを検査した。血液は真空採血管を用い頸静脈より採取し, 全血と遠心分離後の血清を用いて調べた。白血球数の分布には自動血球計数装置 (sysmex, F-520) を, TP, ALB等8項目には血清生化学測定装置 (FUJIFILM, DRI-CHEM, 3030) を用いた。また, α 1 AGPは牛 α 1 AG定量用キット (細菌化学研究所, 牛 α 1 AGプレート) を用いて血清より定量した。コルチゾールの検査はRIA (Radio immuno assay : 放射性免疫測定法) のチューブ固相法によって測定した。

e 処置部位の回復状況

除角直後, 4週間後, 8週間後に除角部の痂皮の形成と剥離の状況により, 除角後の回復状況を調査した。

3. 成績及び考察

a 除角の労力性

除角時の労力については, 9カ月齢牛の除角に4人役で1頭あたり平均, 保定時間5分23秒, 除角及び止血時間6分14秒, 延べ作業時間11分37秒, 1人役では45分40秒を要し, 出血も多かった。また豊田ら¹⁰⁾は15~23カ月齢牛の除角に3人役で平均, 保定2分30秒, 除角及び止血14分16秒, 延べ作業時間16分46秒, 1人役では50分18秒としており, 今回の9カ月齢除角とはほぼ同じ時間を要した。これに対して, 2週齢では2人役で平均, 保定1分5秒, 除角及び止血1分55秒, 延べ作業時間3分, 1人役では6分26秒と最も短時間で省力的に行え, 出血もなかった (Table. 3)。

Table. 3 週, 月齢別での除角に要した労力

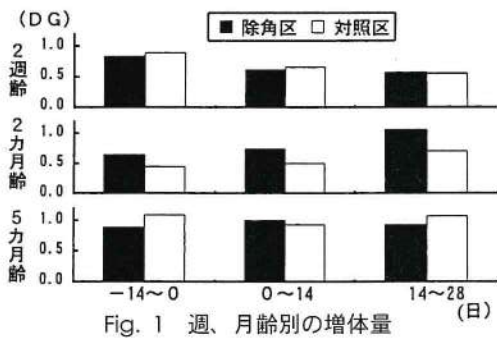
週, 月齢 (n)	作業時間 (分)			人数 (人)	作業時間 (1人役)
	保定	除角 止血	計		
2週齢 (2)	1'18"	1'55"	3'13"	2.0	6'26"
2カ月齢 (3)	1'12"	3'29"	4'41"	2.7	12'39"
5カ月齢 (2)	2'50"	4'29"	7'19"	4.0	29'16"
9カ月齢 (4)	5'25"	6'00"	11'25"	4.0	45'40"

注) 1頭当たりの平均作業時間, 人数及び1人役の作業時間

b 処置前後の増体性

2週齢除角区の1日当たりの増体量 (DG) については, 除角前14日間は0.83kg, 除角後14日間は0.61kg, 除角14~28日後までの14日間は0.57

kgであり、対照区のDGはそれぞれ0.89, 0.66, 0.55kgと差がなかった。2カ月齢及び5カ月齢除角区においても同様に対照区と比較して特に除角による影響は認められなかった(Fig. 1)。これに対して9カ月齢除角区のDGはそれぞれ1.00, 0.48, 0.79kgであった。また処置1日後に平均5kgの減量があり3日後に解消した。玉城ら⁹⁾によると、13カ月齢～20カ月齢牛の除角では、除角後5日目で1頭当たり8kgの減量があり、20日目で解消し、40日目で増体の標準偏差が少なくなったとしており、従って2週～5カ月齢の除角は9カ月齢以上と比較し増体性に影響を与えないと考えられた。



c 子牛の行動

①逃避反応性

逃避反応調査では、除角牛の逃避反応距離が2日後に延長したが8日後には除角前に近い値となった。この除角前の値は安部らの報告^{1,2)}による1カ月齢牛の逃避反応距離とほぼ同値であった。また、対照区の牛においても逃避反応距離の延長傾向が認められた。これは対照区の近くで除角を行ったため人間を恐れたのではないかと考えられた (Fig. 2)。

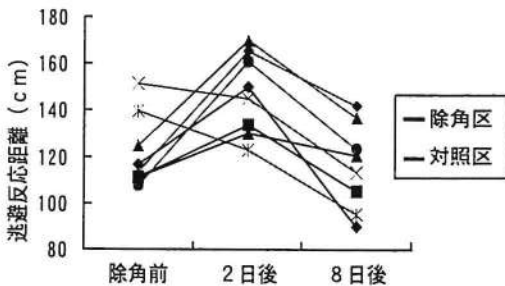


Fig. 2 逃避反応

②行動型

2カ月齢子牛1頭についての調査では、哺乳行動及び哺乳時の頭突は除角直後においても観察され、哺乳1回当たりの平均哺乳時間と平均頭突回数に変化はなかった (Fig. 3)。採食及

び横臥行動は除角日において除角3～4時間後まで殆ど観察されなかったが、両者とも除角7日後には除角3日前とほぼ同様の行動をとった (Fig. 4, 5)。除角後に見られる特徴的な行動として、後肢で頭部を掻く行動、頭部を左右に回転させる行動が観察された。また1週間後にも若干ではあるが同様の行動が認められた (Table. 4)。除角前では他の牛と共に群行動をとっていたが、除角日に群から離れる行動が一時的に観察された。

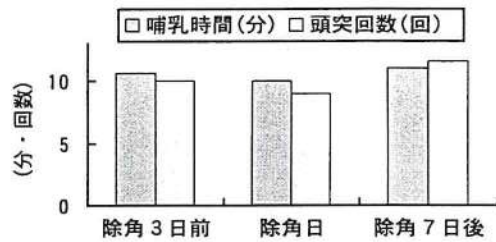


Fig. 3 2カ月齢除角牛の哺乳1回当たりの平均哺乳時間及び平均頭突回数

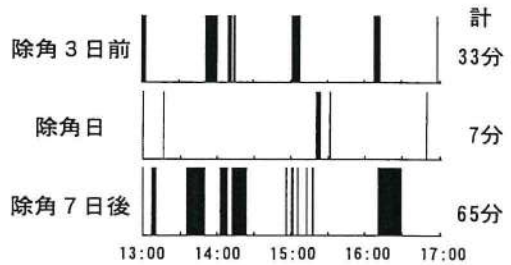


Fig. 4 2カ月齢除角牛の採食行動

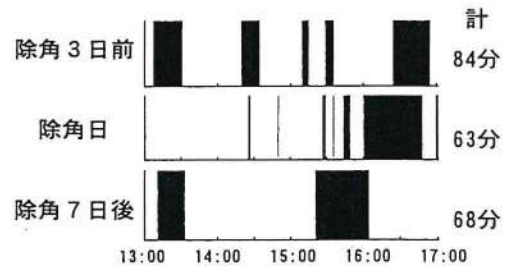


Fig. 5 2カ月齢除角牛の横臥行動

Table. 4 除角による異常行動

	(回数)		
	除角3日前	除角日	除角7日後
後肢で頭部を掻く	2	12	1
頭部を左右に回転させる	0	49	4

注) 2カ月齢除角牛1頭について

d 血液, 血清成分の生理的变化

除角による炎症反応や除角後の化膿等に影響する白血球数とα1AGPについては, 両者とも対照区と比べて差が無く, 特にα1AGPについては伊藤らが報告^{3,12)}している健康牛の正常上限値450μg/dlを全頭下回っていたことから, 炎症反応や化膿等はなかった(Fig. 6, 7).

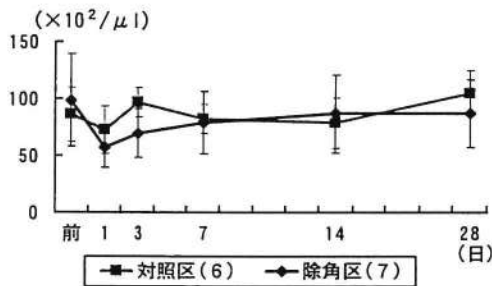


Fig. 6 白血球数の推移

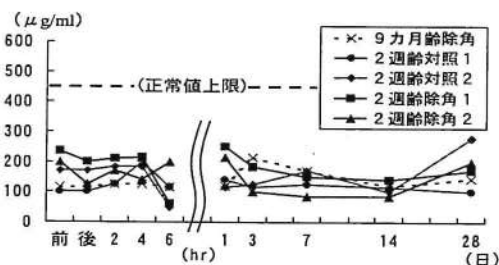


Fig. 7 α1AGP濃度の推移

ストレス反応の指標としてのコルチゾール濃度の推移は, 対照区と比べ除角区において除角直後及び14日後に上昇が見られた. 除角直前, 直後においては, 2週齢に対し9カ月齢除角がより高値を示した. この9カ月齢除角の処置前後の値は, 佐藤ら⁹⁾の重症火傷時の濃度とほぼ同じであり, 重度のストレスを与えていると思われた. 14日後の上昇の要因は, 除角1, 2週間目で痂皮が形成され, それが剥がれた為ではないかと思われた. また除角前の時点で2週齢と9カ月齢除角の値に差があることは, 保定の違い(枠場保定, 横臥位保定), 月齢の違い等が考えられた(Fig. 8). TP, ALB等の8項目に

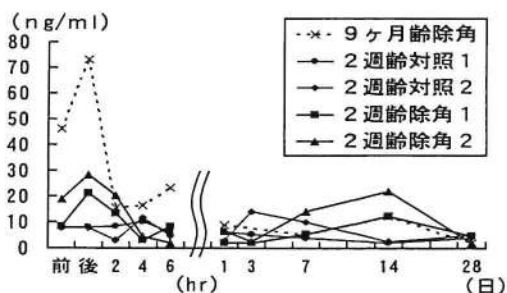


Fig. 8 コルチゾール濃度の推移

については, いずれも対照区と差はなく, 佐藤ら⁹⁾や白井ら⁷⁾の報告と比較しても除角による影響は認められなかった(Fig.9,10,11).

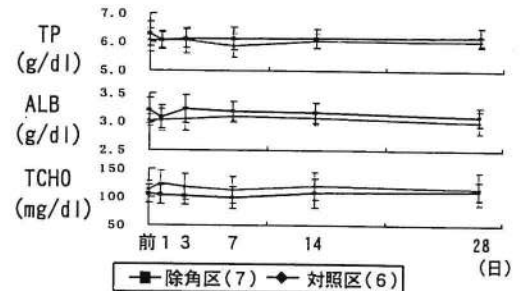


Fig. 9 血清生化学検査(1)

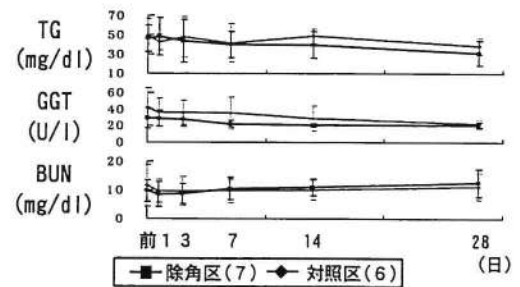


Fig. 10 血清生化学検査(2)

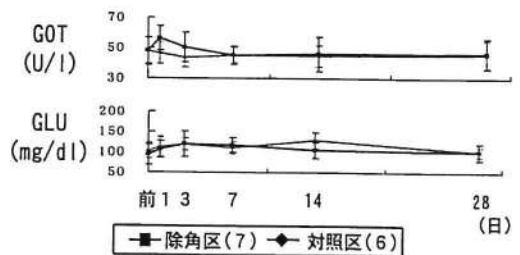


Fig. 11 血清生化学検査(3)

e 処置部位の回復状況

処置部位の回復状況については, 2週齢除角牛で処置後1週間までに痂皮を形成し, 2週目に一部の牛で痂皮が剥離し, 4週後においても痂皮が認められた. その後痂皮は剥離, 縮小し, 2カ月後には除角部を被毛が覆い, わずかに除角痕を残すのみとなった. 9カ月齢除角牛では処置2カ月後においても痂皮が認められ, 2週齢除角が早期に回復した.

要約

子牛の早期除角, 特に2週齢除角においては非常に省力的かつ短時間に処置が可能で, また炎症反応も変

化なく、ストレス反応、逃避反応が早期に除角前とほぼ同じになることは、牛体への影響が少ないと思われた。このことから、肉用牛農家で早期除角を行えば省力的で肉用牛管理においても、安全性が期待でき、人と牛との関係も早く改善されると考えられた。

参考文献

- 1) 安部直重・久保田義正・大宮正博・石井 幹：哺乳期及び育成期における愛撫処理が牛の逃避反応性に及ぼす影響。日本家畜管理研究会誌, 29(1): 42~43. 1993.
- 2) 安部直重・高崎宏寿・久保田義正：育成牛の管理者に対する逃避反応性と牛群内での社会的行動およびオープンフィールド行動との関係。日本家畜管理研究会誌, 30(1): 16~17. 1994.
- 3) 伊藤 博・元井葎子・田村啓二・村田英雄・千葉 伝・武田 哲：牛白血病における血清 $\alpha 1$ 酸性糖蛋白質とそのリンパ球幼弱化反応に対する影響。日獣会誌, 42: 39~43. 1989.
- 4) 前原俊浩・提 知子：肉用牛黒毛和種肥育における除角の効果。鹿児島県畜産試験場研究報告, 25: 83~87. 1993.
- 5) 前原俊浩・提 知子：肉用牛の除角について, I 肉専用種繁殖雌牛に対する除角の効果, II 油圧式断角器等の開発。鹿児島県畜産試験場研究報告, 22: 1~9. 1990.
- 6) 佐藤敦男・渋川孝人・中村政幸・高橋正義・池森秀行：乳牛の火傷による血液性状の変化について。家畜診療, 253(7): 17~22. 1984.
- 7) 白井健康・加藤三郎：肥育素牛の損耗防止に関する試験, 褐色毛和種肥育素牛の長距離輸送が血液諸成分に及ぼす影響。静岡県畜産試験場試験調査報告, 9: 78~86. 1983.
- 8) 祝前博明・野村哲朗・佐々木義・並河 澄：黒毛和種における外貌および枝肉記載形質の遺伝性について。和牛, 34(4), 19: 56~65. 1984.
- 9) 玉城政信・千葉好夫・石垣 勇：肥育牛における除角効果試験。沖縄県畜産試験場研究報告, 28: 37~44. 1990.
- 10) 豊田博水・久保田博二・原田昭郎・藤井 毅：牛の除角とその方法。畜産の研究, 22(10): 48~50. 1968.
- 11) 安田三郎：除角の効果—肥育成績を上げるために—。養牛の友, 1: 59~62. 1990.
- 12) 横山亮一・大橋義信・中川正裕・岸田忠政・粕谷光・田村啓二：各種疾病時における牛血清 $\alpha 1$ 酸性糖蛋白質。日獣会誌, 42: 90~93. 1989.
- 13) 吉田正三郎・寺田隆慶・黒崎順二・渡辺昭三・小沢 忍・宮重秀一ほか：開放牛舎における繁殖雌牛(和牛)の採食競合とその緩和法について。中国農業試験場報告, B(17): 1~26. 1969.

アジアの伝承獣医療法

Ⅲ. 豚

牧田登之*

〔受付：2000年11月30日〕

ETHNOVETERINARY MEDICINE IN ASIA

III. SWINE

Takasi MAKITA

Former Prof. of Dept. Veterinary Anatomy at Yamaguchi University.

〔Received for publication : November 30, 2000〕

This is part 3 of a series of four Proceedings of a participatory workshop held at the International Institute of Rural Reconstruction in July 1994.

The topics in this report include the whole spectrum of "conditions" which a field practitioner may encounter in the care and management of livestock.

Like the other parts of the manual, this piece describes a disease or a condition with (1) symptoms by which the disease can be identified (2) primary causes of the disease, (3) prevention and (4) description of the treatments. After each treatment, the countries where the treatment is validated by the workshop participants are added.

For the convenience and the interest of Japanese readers, mostly veterinarians, the sections of symptoms, causes, and prevention were largely abbreviated while those of treatments and housing were translated into Japanese in detail, with illustrations attached.

The author appreciates the International Institute of Rural Reconstruction (IIRR) at Silang, Caving 4118, the Philippines, for their open policy to encourage the translation, adaptation and copying of their publications.

はじめに

本稿は前報^{2,3)}につづき、IIRR (The International Institute of Rural Reconstruction, Caving 4118, Philippines) が1994年に開催したワークショップの第3部の議事録(図1)の抄訳である。¹⁾ IIRRはこの出版物の著作権を取らずに、翻訳、部分コピー、などいずれの利用も勧めるとしている。この第3部¹⁾は豚篇であるが、全体の構成、凡例、薬用植物の名称、等々はすべて第1部の総論²⁾に準じている。食欲不振、発熱、咳と風邪、下痢と脱水、便秘、中毒、内部寄生虫、条虫、疥癬あるいはダニの感染、しらみ、感染症、眼疾患、外傷、捻挫、畜舎、飼料、繁殖、新生仔の取扱い、乳房感染、仔豚の貧血、の各項目について、症状、病因、予防方法、治療方法、を現場に役立つように説明してある。ただ本稿では、主として治療の項目と、アジアの畜産についての関心のある「畜舎」について重点的に紹介する。

なお各項目ごとにワークショップに参加した6名の画家によるイラストが添えてある。そのうち紙数の関係で15点を紹介することにした。引用文献については総説篇²⁾を参照していただきたい。

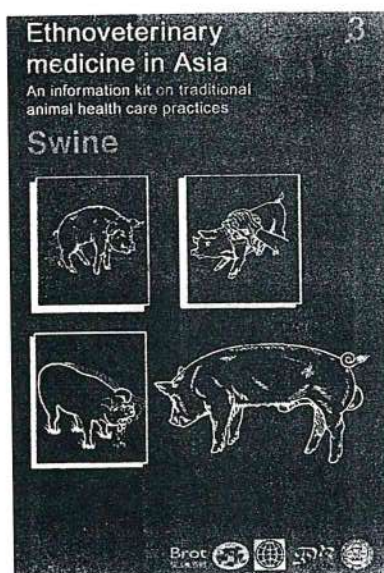


Fig. 1 原書の表紙

*前山口大学農学部獣医解剖学教室教授

1. 食欲不振 (図2)

症状：①たべ残した餌がある。

②豚の元気がない。

病因：①疼痛

②感染による発熱

③ストレス

④腸のリングウオームや、しらみ、などの寄生虫が重度に感染している。

⑤口の傷。

これらのいずれにも該当しなければ、飼料をかかえてみる。

Lack of appetite



Fig. 2 第一項目「食欲不振」のタイトルとイラスト

予防：①餌の配合を急に変えないこと。

②定期的に駆虫すること。

③衛生と清浄を維持する。

④よい畜舎を備える。

⑤その地域によくある疾病に対するワクチンを定期的に行うこと。

治療：①通常の配合飼料1kgに糖蜜を½カップ入れる。これを3等分にする。2～3日間1日に2～3回投与する。

糖蜜の替りに、通常の配合飼料1kgに、塩を茶さじ1杯、赤砂糖（ブラウンシュガー）をテーブルスプーン2杯もしくはフィッシュソースをテーブルスプーン2杯加えてこれを3等分する。これが3回分の投与量である。2～3日つづけて1日に3回投与する。

（カンボジア、フィリピン、タイ、1. 2. 3. 4. 5）

②糖蜜½カップと生卵子3ヶをまぜる。これを2日間つづけて1日2～3回飲ませる。（インドネシア、タイ、1. 2. 3. 4）

③さつま芋のつるの小束を生のままを、2日間、1日に2～3回、餌として与える。カンボジア、フィリピン1. 2. 3. 4）

④茶さじ1杯の塩と、茶さじ1杯のセリ科の *Trachyspermum ami* (bishop's weed) の乾燥した種を混ぜてすりつぶす、これを2～3日間、1日に2～3回茶さじ1

～2杯分強制給餌する。

（インド、フィリピン、1. 2. 3. 4）

⑤以下の乾燥した植物のいずれかの粉末2g（茶さじ½）。

Swertia chirata（全植物）（注：センブリ類）

Alstonia scholaris（樹皮、葉、幹）

しょうが（根茎）

と以下の乾燥した植物のいずれかの粉末0.75g（茶さじ¼）

Picrorhiza kurrooa（根）

Veronica anthelmentica（葉、種又は全植物）

Trachyspermum ami（種）

Peucedenum graveolens（種）

Trigonella foenum-graecum（コロハ）（種）

Brassica nigra（カラシ）（種）

と、1つまみの食塩と1つまみのふくらし粉をよくまぜる。この混合物を3～5g（茶さじ1杯）1日に2回強制給餌する。5～6日あるいは食欲が戻るまでつづける。上記の植物が2～3種入手できない場合でも効力は変わらない。

2. 発熱

症状：①豚の元気がない

②しばしば水を飲み身振いする。

③便秘している。

頰または耳のつけ根に触れて体温が高いか触診する。

予防：①適正な豚舎に換気を確認する。

②環境を清潔にする。

③その地域によくある疾病に対するワクチンをする。

治療：以下の処置は熱を下げるが原因となる病気の治療ではない。

①土製のポットで500mlの酢を3分間加温する。（煮沸しない）体温程度の酢を清潔な布にひたして全身をやさしくこすってやる。これを20分毎にくりかえし行う。微温の酢が皮膚の小孔を次第に抜け体温の放散をたすける。（フィリピン1. 2. 3. 4）

②5リットルの水に2つかみの食卓塩をとく。布にひたして全身をやさしくこすってやる。熱が下がるまでくりかえす。（インド、1. 2. 3. 4）

その他の治療法は次表に示す。

Table. 1 発熱の治療薬

<i>Blumea balsamifera</i> .	生又は乾燥した葉。
（タカサゴギク）	葉を10枚すりつぶして葉汁をとる。

この汁を茶さじ2杯ずつ、下熱するまで1日3回のませる。
(カンボジア、インド、フィリピン、1. 2. 3. 4. 5)

Citrus madorensis 生葉.

2リットルの水に2つかみの葉をいれて煮沸する。
豚をこれで水浴させる。
(カンボジア、フィリピン、1. 2. 3. 4. 5)

Hiscus rosa-siensis 生の葉と花.

(ハイビスカス) 葉1kgと花1kgをすりつぶして水と混ぜる。
下熱するまで全身にやさしく塗布する。(カンボジア、インド、フィリピン、タイ、1. 2. 3. 5)

Picrorhiza karrooa 乾燥した根.

1リットルの水に10gの根をいれて煮沸する。
これを1日2回10mlずつ2日間のませる。(インド、1. 2. 3. 4. 5)

Swertia chirata 生のまま全植物.

(チレッタセンブリ) 1リットルの水に10gのこの植物をいれて煮沸する。
これを1日2回10mlずつ2日間のませる。(インド、1. 2. 3)

3. 咳と風邪

症状、病因、予防、を省略。

治療：①Diospyros mollis の果実をすりつぶして、100mlの果汁をとる。これに50mlの蜂蜜を加える。体重5kg当り1ml(茶さじ1/4)を毎朝2～3日間のませる。少量の餌にまぜて1日1回2～3日間たべさせてもよい。寄生虫による咳をしずめるのに効く。(カンボジア、タイ、1. 2. 3. 4. 5)

②茶さじ4杯のAlbizzia myriophyllaの樹皮と、茶さじ4杯のTamarindus indicaの熟した果実と、茶さじ4杯のAcacia rugataの莢を火にかけてやわらかくなるまで炒る。これに10gの塩を加える。この4点を3リットルの水に加えて、2リットルになるまで煮沸する。冷やしてから、その1リットルずつを毎朝2～3日間飲ませるか、餌にまぜてたべさせる。これは感染による咳と風邪に効く。(フィリピン、タイ、1.3.4.5)

4. 下痢と脱水.

症状、病因、予防を省略。

治療：下痢に対応して

①(1)野生のginger rhizome (Zingiber zerumbet)

(ピタージンジャー)、

(2)Eugenia caryophyllusの根と樹皮、丁子、

(3)ザクロの生葉

(4)ケシの実からの液汁.

(5)ショウガ

(6)石灰(親指大)

(7)タイでKrasarnといわれる植物の根茎を用いる。

以上の各植物を粉にして、各々茶さじ1杯ずつ等量に混ぜる。この混合物テーブルスプーン1杯を1リットルの水と石灰粉に加える。これを煮沸してから冷やす。仔豚にこの液を2～3日間、朝、夕2回茶さじ1杯(5ml)ずつのませる。(タイ、1. 3. 4)

②ザクロの生葉1kgを3リットルの水の中に入れて2リットルになるまで煮沸する。これを冷やして、葉が入ったまま2～5日間1日3回0.5リットルずつのませる。

(カンボジア、フィリピン、1. 2. 3. 4)

③グワバの生葉1kgを3リットルの水にいれ2リットルになるまで煮沸して冷やしたものを、2～3日間1日3回0.5リットルずつのませる。インドネシアではグワバの成熟した実も同様に用いる。(カンボジア、フィリピン、タイ、1. 2. 3. 4)

④カイニット(star apple)の生葉0.5kgを1リットルの水で煮沸。冷やしてから1～3日間毎日3回コップに1杯ずつのませる。(カンボジア、フィリピン、1. 2. 3. 4. 5)

⑤成熟したココナツの殻と皮を火の中で一部もやして、燃え出したら火を消す。これを粉末にして、1リットルの清浄な水によくまぜる。それを2日間1日3回コップに1杯ずつのませる。(カンボジア、1. 2. 3. 4)

⑥米を上記のように炭化させて粉にする。その粉茶さじ5杯と蜂蜜茶さじ1杯を0.5リットルの水にとかず。3～5日間1日3回0.5リットルずつのませる。(カンボジア、タイ、1. 2. 3. 4)

脱水に対して

①1リットルの水に茶さじ1杯の塩、砂糖茶さじ3杯をとかして、3～5日間1日3回0.5リットルずつのませる。(アジアで広範囲に用いられている。1. 2. 3. 4)

②粗製の赤砂糖(ブラウンシュガー)3つかみと、茶さじ5杯の塩を若いココナツ3ヶの果汁にまぜる。脱水がなおるまで1日3回これをのませる。(カンボジア、フィリピン、タイ、1. 2. 3. 4)

5. 便秘

症状, 病因, 予防は省略.

治療: ①成熟したチョウセンモダマ (タマリンド) の莢を半分にして, 実と線維 (スジ) をとって, 莢を巻いて肛門に挿入する. 一部は肛門から外に出る. 2~3日間あるいは便秘がなおるまで6時間おきにこれをくりかえす. (カンボジア, タイ, 1. 2. 3. 4)

②さつまいもの生葉の小束を2~3束を3日間1日2~3回たべさせる.

Amaranthus gracilis, *Amaranthus spinosus* 又は *Ipomoea aquatica* (swamp cabbage) でもよい. (カンボジア, フィリピン, タイ, 1. 2. 3. 4. 5)

③蓖麻子油 (castor oil) をテーブルスプーン1杯ずつ1~3日間1日に2回のみせる. 毎回そのあとに水をコップ1杯のみせる. 大豆油やゴマ油も用いることができる. (カンボジア, タイ, 1. 2. 3. 4)

④成熟したパイヤの実1ヶの浸出液を1リットルの水を加え, 回復するまで1日2回のみせる. (カンボジア, 1. 2. 3. 4)

⑤棒石けんの小片を座薬のように整形して水に浸して肛門に挿入する. 必要であれば12時間後にこれをくりかえす. (カンボジア, 1. 2. 3. 4. 5)

注意: 以上は簡単な便秘の療法である. 3日間行って効果がみられなければ専門職の助けを求めること.

6. 中毒

症状, 病因, 予防, は省略

治療: ①キャッサバの皮をたべさせた後に中毒症状がみられたときは, 成豚でグラス1杯のココナツ油をのみせる. 皮の排出をたすけ, 毒性物質の吸収を減らす. (フィリピン, 1. 2. 3)
②もし中毒の病因が判らないときは, 5~6個の生卵とコップ1杯の砂糖をのみせる. この用量は体重70kgの豚用である.

7. 内部寄生虫

症状: 予防, は省略.

病因: 蛔虫と肺虫は汚染した餌と水によって媒介される. 蛔虫はすべての年令の雌雄ともに感染する. ヒトには手に虫卵がつくことで拡がる. また, 豚糞を肥料に使った野菜にも卵がついているのでこれをたべたヒトに拡がる.

治療: できれば朝に行うのが望ましい. そうすれば

その日のうちに糞中に駆虫できたか確認できる.

肺虫に対して: ① *Diospyros mollis* の成熟した生果を300gほどすりつぶして, ふきんでこして液をとる. エプソム瀉利塩 ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) をテーブルスプーン3杯この液に加える. 水をビン1本分加える. 体重5kg当り茶さじ1杯のみせる. 治療は1回のみでよい.

回虫に対して.

① Sugar apple (*Anona squamosa*)

風乾した葉に少量の水を加えてのみせる. 体重50kg当り15g. 21日後に再度のみせ, その後3ヶ月毎にのみせる. (カンボジア, インド, フィリピン, タイ, 1. 2. 3. 4. 5)

② Betel nut (*Areca catechu*) (ピンロウジュ) 成熟した風乾した実をすりつぶして少量の水を加え飲ませる. 体重50kg当り15g. 21日後に再度のみせ, その後は3ヶ月毎にのみせる. (カンボジア, インド, インドネシア, フィリピン, スリランカ, タイ, 1. 2. 3. 4. 5)

③ *Artemisia vulgaris* (ヨモギ)

風乾した葉をすりつぶして少量の水を加え, 手でしぼって汁をとり飲ませる. 体重1kg当り0.1~1.0ml (小動物), 体重1kg当り1.0~1.5ml (大動物). 21日後に再度のみせてその後3ヶ月毎にのみせる.

④ *Leucaena*

風乾した熟した種をくわいて飼料に加える. 体重10kg当り30gの粉を与える. 3ヶ月後に再度投与する.

⑤ 同上.

種子をくわいて少量の水を加えてのみせる. 体重1kg当り15gをのみせ21日後に再度のみせる. その後3ヶ月毎にのみせる.

⑥ Bitter gourd (*Momordica charantia*) (ツルレイシ)

風乾した葉を2倍の水で煮沸する. これをココナツミルクと1:1にうすめてのみせる. 体重10kg当り6ml. 3ヶ月後に再度のみせる.

⑦ Horseradish tree (*Moringa oleifera*) (ワサビノキ)

風乾した成熟した種を粉にして餌に混ぜる. 体重10kg当り30g. 3ヶ月後に再度たべさせる.

⑧ *Plumeria acuminata* (temple flower)

風乾した樹皮
樹皮60gに水30を加えて砕く.

これを15～20分間煮沸して、静置して液をとり、これをのませる。

体重1kg当り0.2～0.5ml。21日後に再度のませ、その後3ヶ月毎にのませる。

⑨Tamarind (Tamarindus indica) (チョウセンモダマ)

風乾した葉または樹皮。

30gにコップ4杯の水を加えてすりつぶし、15～20分煮沸する。静置して液をとり、これをのませる。

体重1kg当り5～10ml。21日後に再度飲ませ、その後3ヶ月毎にのませる。

8. 豚条虫

症状、病因、予防は省略。

治療：コップ1杯の水にSpondias piunata (Indian wild mango)の若葉5～10杯をいれて5～10分間煮沸する。この液を一週に2～3回、体重10kg当り、茶さじ1杯(3～5ml)のませる。7日後にシストが消失しているか調べる。治るまで週に2～3回この治療をくりかえす。(フィリピン1.2.3.4)

9. 介せん、ダニの感染

症状、病因、予防は省略。

警告：人にもよくうつるので患部に直接さわらないよう、棒やバナナの葉を用いること。手にはビニール袋を手袋がわりに用いる。処置後は石けんと水で手をよく洗うこと。

治療：

①ココナッツの殻を燃やしてその灰をコップ1杯のココナッツ油とまぜ、これを患部に一日2回3～5日間ぬってやる。(カンボジア、1.2.3)

②薬用植物をつけるときは、油性又はアルコール性の塗擦剤を用いること。その作り方は以下のとおり。

A. 油性。

石灰(水酸化カルシウム)と水で石灰水をつくる。上澄を「石灰水」という。

植物油1容又は使用済のエンジン油1容と石灰水3容と以下の表のハーブといずれか1容を急速に混ぜる。これを患部に部分的にぬる。一時に全身にぬってはいけない。10日後にまたくりかえす。

B. アルコール性。

9リットルの希釈活性剤液(9リットルの水に棒石けん1本をとかしたものと2リットルの希釈したリカー(例えばジン)と以下のハーブ1容をまぜる。急速にかきまぜる。患部に局所的にぬってやる。一時に全身にぬってはいけない。10日後

にまたくりかえしてやる。

豚の介せん用のハーブ：

- ①Annona squamosa (Sugar apple, sweet sop) の乾いた種、(カンボジア、フィリピン、タイ、1.2.3.4.5)
- ②Artemisia vulgaris (Worm wood) の生葉、根、茎、(カンボジア、フィリピン、1.2.3.4.5)
- ③Cassia alata (ringworm bush) の生葉、茎、樹皮、砕いた根、(カンボジア、フィリピン、1.2.3.4.5)
- ④Chrysanthemum indicum (菊) の砕いた生葉、(フィリピン、1.2.3.4.5)
- ⑤Gliricidia sepium (gliricidia) の生葉、樹皮、根、(カンボジア、フィリピン、タイ、1.2.3.4.5)
- ⑥Tinospora spp.の生の全植物(フィリピン、タイ、1.2.3.4.5)

10. シラミ

症状、病因、予防は省略。

- 治療：①Annona squamosa, Annona reticulata, Annona muricata, の成熟した風乾した実2kgをすりつぶして、5リットルの水に24時間浸しておく。荒い布(例えばカヤ)でこれをこして使用前にこの液1容と水5容で希釈する。一日に一回ブラシかココナッツの殻で豚の全身にぬってやる。すべてのシラミと虫卵が除去するまでやる。希釈前の液はフタをして涼しい、乾燥した場所に保存すれば20日位保存できる。(インド、タイ、1.2.3.4.5)
- ②Premna odorata, Gliricidia sepium.のいずれかの生葉の小束を2～3束すりつぶす。(平均的成豚にこれで十分である)。これを全身にこすりつける。シラミと虫卵がいなくなるまで、1日に2～3回行う。(フィリピン、1.2.3.4.5)
- ③重症の場合は、全身の毛をそってシラミと虫卵を除去する。

11. 感染症

1. Enteric colibacillosis, (腸大腸菌症)
通常斃死する、接触感染による。
治療：「下痢と脱水、(P3)」を参照。
2. 口蹄疫。
空気感染、接触感染、ヒトも物理的なキャリアーとなる。
治療：「外傷」P10. を参照
3. 豚コレラ。

死亡率が高く、若い仔豚では100%に達することもある。

治療：特定の治療法はない。

4. Pasterellosis.

治療：「咳と風邪 (p 3)」を参照。

12. 眼疾患

症状, 病因, 予防は省略。

治療：①野生アーモンドの一莢を炒って、ひとつか

みのカタツムリの殻と親指大の赤石灰石と共に砕く。茶さじ半分の明ばんを非常に細く砕く。十分に両者を混ぜあわせ、この粉を眼にふきつける。症状が消失するまで毎朝かかるとふきつける。(タイ, 1. 2. 3. 4)

②Leptadenia veticulatr (corkswallow) の若葉500gを水に入れて煮沸する。症状が消失するまでこの葉と煮汁を1日2回のませる。(インド, 1. 2. 3. 4. 5)

③1kgのMorifoliumの葉を3リットルの水に入れ、2リットルになるまで煮沸する。冷ましてから、コップに2杯ずつ、1日3回3日間のませる。中部および北部カンボジアでは、結膜炎、咳と風邪の治療に用いられていた。(カンボジア, 1. 2. 3. 4)

④Annona sguamosa (custard apple) (ギューウシンリ) の生葉をもんで、タバコのように巻いて親指と人差し指の間にもつ。動物の眼から約10cmはなれたところからこの葉巻の中を吹いてやる。毎朝これをつづける。カンボジアでは角膜炎の治療に用いられた。(カンボジア, 1. 2. 3. 4)

洗眼用に用いる処方：

- ①症状が消失までミルクで毎日洗眼する。(カンボジア, インド, 1. 2. 3. 4)
- ②症状が消失するまで海水で毎日洗眼する。海水の替りに、1リットルの水に、茶さじすりきり1杯の食塩をとかして用いてもよい。(インド, 1. 2. 3. 4)
- ③メギ (ophthalmic burberry) の乾燥した葉と茎から粉をつくる。茶さじ1杯この粉をコップの水1杯で煮沸して、こして冷ます。1日3回、7日間これを点眼する。(インド, 1. 2. 3. 5)

13. 外傷

予防は省略。

治療：1) アブセスに対して、

- ①10~15分間、Spondias pinnataの全植物を煮沸する。この煎じ汁をゆっくりと傷の周辺部にす

りこむ。(フィリピン, タイ, 1. 2. 3. 4)

②ニシキヘビ (Python) の皮を油が抽出されるまで煮沸する。約1時間静置してワックス状になるのを待つ。それからこれをアブセスにぬって、膿を除去する。(カンボジア, ラオス, タイ, 1. 2. 3. 4. 5)

③250mlの水と茶さじ1杯の茶葉で煎じ汁をつくり、一晚静置する。茶をこして、この液を症状が消失するまで毎日洗眼してやる。(インド, 1. 2. 3. 4)

④茶さじ2杯 (10g) の生のginger rhizomeを砕いて液をしぼり、一晚静置する。朝これで眼を洗ってやる。治るまで2~3日間つづける。(北部インド, 1. 2. 4)

⑤キンマの生葉3杯を3リットルの水で2リットル残るまで煮沸する。これを冷やして、症状が消失するまで毎日洗眼してやる。(カンボジア, タイ, 1. 2. 3. 4)

⑥ココナツの水で毎日洗眼する。(フィリピン, タイ, 1. 2. 3. 4)

⑦ザクロの生の実から1~2滴の液をしぼって直接眼に注ぐ、これを1日3回、3日間つづける。(タイ, 1. 2. 3. 4. 5)

2) 出血をとめる。

①Chromolaena odorataの全植物をすりつぶして液を抽出する。止血するまでハップ (湿布) のように用いる。(フィリピン, 1. 2. 3. 4)

②ヒヨドリの葉5~10枚をすりつぶして、茶さじ1杯の塩とませる。これを傷にぬる。(カンボジア, ラオス, タイ, 1. 2. 3. 4)

③ヒヨドリの葉と明ばんをませ、傷口を乾かすためにぬる。(タイ, 1. 2. 3. 4)

④赤砂糖と石灰石の粉を1:1で混ぜ、これを出血がとまるまでつける。(乳房感染(P10)参照)

3) 滲出性の傷に対して。

(収斂剤または殺菌剤として)

①Chromolaena odorataの葉をすりつぶして抽出する。水とこの液を1:1にませる。この液を収斂剤として傷につける。(フィリピン, 1. 2. 3. 4. 5)

②以下のものから煎じ汁もつくられる。(投与量は、「反すう動物篇の外傷」を参照のこと) パナナの葉、インドセンダンの葉、グワバの葉、ウコンの根茎、ピヤクダンの軟膏。

④去勢の傷

(1. 総論を参照²⁾)

14. 捻挫

症状, 病因, 予防は省略。

治療：豚を保定して動かなくさせて捻挫を治療さ

せる。一週間以内に改善しなければ専門職を呼ぶことを考えること。

①成熟し風乾した*Gliricidia sepium*の葉、樹皮、あるいは根をひとつかみ1リットルの水で15~20分煮沸する。これを3等分し、 $\frac{1}{3}$ ずつを1日1回3日間のませる。(フィリピン, 1. 2. 3. 4. 5)

②ひとにぎりの成熟し風乾した、ツリフネソウの葉、樹皮、または根を1リットルの水で15~20分煮沸する。静置してこれを3等分して、 $\frac{1}{3}$ ずつを一回投与量とする。1日に1回飲ませる。注意：ツリフネソウは、中毒を起こすミモシンを含んでいるので、指示した量のみ飲ませること。(フィリピン, 1. 2. 3. 4. 5. 6)

③ひとにぎりの成熟し風乾した大豆を500mlの水に一晩浸し、次の日、静置しておいた液をのませる。(フィリピン, 1. 2. 3. 4. 5)

15. 豚舎 (Fig. 3~9)

出来れば豚舎は水源のそばの高台に建てるのがよい。豚舎は東西方向にたてると太陽がいつも豚舎に射し、床を乾かしてくれる。

低価格の建材

- 1) 屋根ふき材：竹、ココナツの葉、木のタイル、チガヤの草、Palmyraヤシの葉、ニッパヤシの葉、古いトタン板、Betelナツの葉、その他その地方で入手できる屋根ふき材。
- 2) 壁、仕切材：竹、木材の厚板、石材。



Fig. 3 貯蔵庫の下に豚を飼育する場合

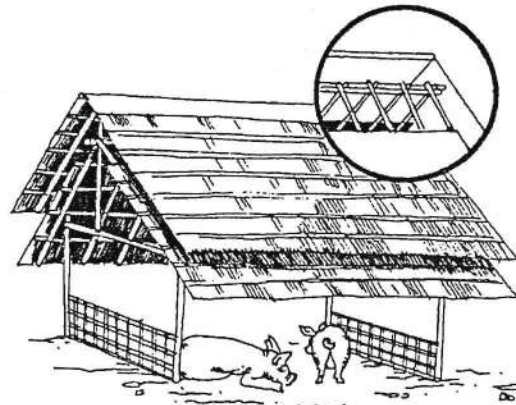


Fig. 4 タイでみられる囲いのない豚舎で、二重の屋根の間に吹き抜ける間隙がつけられている例。

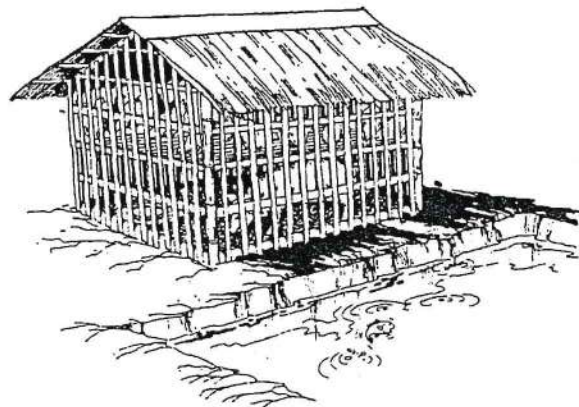


Fig. 5 二階に鶏を飼い、一階の豚はその糞をたべ、またその豚の糞を隣接する池の魚がたべる。



Fig. 6 フィリピンの豚舎の例、竹製の日よけを設けたオープンスペースがある。

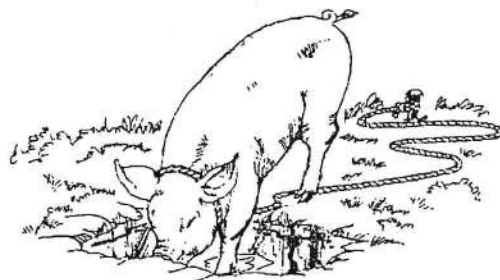


Fig. 7 豚を飲料水と涼しい穴に到達できるようにつないでおく。

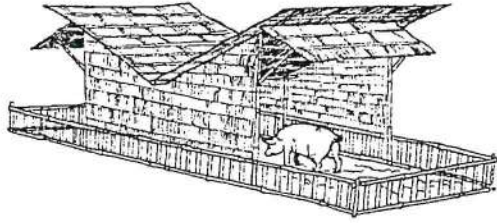


Fig. 8 タイでは竹でふいた背中合わせの小屋と柵で囲まれた豚舎をたてる。

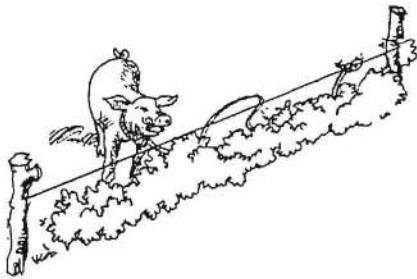


Fig. 9 2本の木の杭に針金や網をはって、豚をつないで草をたべさせる。草をたべつくしたら坑を移動させる。

16. 餌料, (Fig. 10, 11)

豚の配合飼料は市販品は高価である。台所のクズだけでも飼うことはできる。栄養的には6項目(水分, 炭水化物, 脂肪, 蛋白, ビタミン, ミネラル)に分類される。

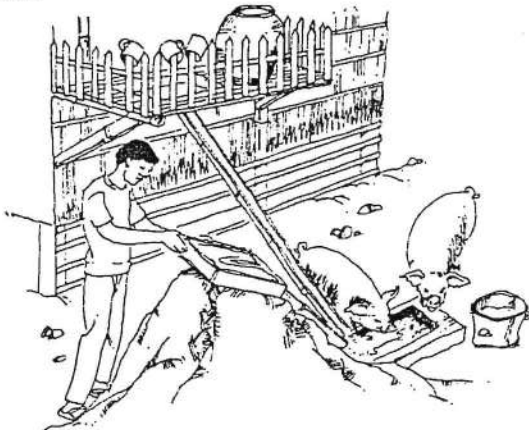


Fig. 10 フィリピンでは昆虫や鶏の残渣を豚にたべさせる。木製の箱を白蟻 (tenmite) の推積の上において、時々豚の餌箱に直接ふるい落とししてやる。竹を割ったとゆで鶏の残渣を注ぎこむ。

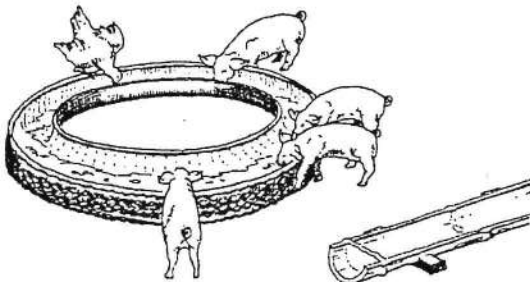


Fig. 11 仔豚の餌箱はタイヤを切ってつくったり、竹を割ってつくることできる。

(1)水分

通常豚は乾燥飼料 1 kg 当り 2 ~ 5 kg の水を消費する。

毎日体重 100 kg 当り 7 ~ 20 リットルの水をのむ。

水分の源: パナナの幹, サツマイモの葉, ザゼンソウの葉, 西瓜の皮。

地方で入手できる安い飼料。

(2)蛋白源: (A)植物性: すりつぶしたココナツ, *Leucaena leucocephala* の葉, *glicindia* の葉, そら豆など, ワサビノキの葉, キマメ, ピーナツの搾油した残渣, インドアズキもやしの種皮, とうふの残渣 (液状), むか, (B)動物性: 魚の廃棄物, 蛙, エビ, 蛇, カタツムリ, ミミズ, うじ, 甲虫の幼虫などの昆虫, 水田でとれるカニ。

(3)炭水化物源:

タロイモの球茎, ヤマイモ (greater yam, leaer yam) の根塊, サツマイモの根, キャツサバの根, クズウコンの根, 米ヌカ, トウモロコシの種。

(4)ビタミン源とミネラル源:

砕いた骨, ワサビノキの葉, 食塩, 糖蜜, 果物の皮や廃棄物, ザゼンソウ, ホテイアオイ, 緑野菜,

17. 繁殖

発情の検知

- ・発情の 2 ~ 3 日前から雌豚の外陰部が発赤し, 膨張する。
- ・腔液が水様性になる。
- ・雌豚が落ちつかない。
- ・発情すると, この雌豚が他の豚にのったり, のせたりする。完全な発情ではないと動いて逃げる。
- ・背中に圧力を感じるとじっとして立っている。

発情は約 24 時間つづく, その後は雄のためにじっとしていない。発情期の後に外陰部から出血する雌豚もいる。

発情の誘発

経産豚では発情がおくることがある。発情を促進するために次のようなことをすることがある。

- ①新しく切ったパイヤの茎で雌豚の腔を 3 ~ 5 日間毎朝しずかにたたいてやる。
- ②毎朝雄豚の尿を雌豚の仕切りに 3 ~ 5 日間散布する。
- ③蓮の実の生または乾かしたものを 1 kg 砕いて乾燥飼料 20 kg と混ぜ, 雌豚に 1 日 2 回 3 ~ 7 日間たべさせる。
- ④雌豚を雄豚のところへつれてゆくか, 雄豚の隣りの仕切りにいれてやる。

交配

発情の24時間の間に、12時間の間隔で2回交配させる。日中の暑い時間帯をさけること。

受胎率を上げるために：

- ①蓮の種1kgを砕いて豚の餌にまぜ、1日2回、3～5日間たべさせる。
- ②肥った雌豚は受胎しにくいので、肥りすぎているらば、餌を減量する。

妊娠豚の餌：

- ①清潔な飲料水を十分にのませる。
- ②濃厚飼料をやる場合は、分娩一週間前から配合を徐々にへらす。
- ③緑飼料をたべさせる。
- ④妊娠中ずっと米のとぎ汁を与える。(タイ, 1.2)
- ⑤Amaranthus gracilisとAmaranthus spinosusを餌に添加する。妊娠中ずっと体重の2%を毎日たべさせる。(タイ, 1.2.3.4)
- ⑥ザンソウの生の葉または茎を毎日たべさせる。(タイ, 1.2.3.4)
- ⑦出産前7日間日に1回、米とうなぎのスープをのませる。これは分娩をやさしくするといわれている。(カンボジア, 1.2.3.4)
- ⑧妊娠中ずっと毎日3～5匹のミミズをたべさせる。ミミズは良い蛋白源である。ミミズの細長い形が出産を軽くするのに役立つと考えている農民もいる。(カンボジア, 1.2.3.4)
- ⑨便秘しているときは大量の米ぬかかサツマイモの葉をたべさせる。(フィリピン, 1.2.3.4)

分娩

出産一週間前に分娩室に入れてなれさせる。

分娩室は2m×2.5m位の大きさがあり、仔豚を守るガードレールが必要である。それは、床上20～25cmはなれた棒や厚板で側壁から約30cmまで達していること。これによって仔豚は母豚にふみつぶされないですむ。

北部タイのある地域では、村落の中で豚が出産するのは悪運とみなされ、母豚と仔豚は殺されるので、村の外で産むようにしてやる。

出産：

正常では最初の陣痛から30分以内に仔豚が出てくる。正常では10～15分おきに出産し、全仔豚は通常3時間以内に出る。後産は20～30分後に出る筈である。後産停滞の手当：(「反芻類」の妊娠と出産の項を参照のこと)。

- ①7個の乾燥したニンニク片、7粒の黒ゴマ、7切(5mmの厚さ)の生のショウガと、7本の本綿の上葉7枚を一緒にすりつぶす。これをウイスキーコップ半分とまぜて、これをこさずにのませる。一回で効かなければ、くりかえす。(北部タイ, 1.2.3.4)

- ②キンマの葉3枚をすりつぶして、コップ一杯の水とまぜる。これをこして、1回のませる。一回で効かなければ、2時間間隔でくりかえしてのませる。(カンボジア, 1.2.3.4)

18. 新生仔の手当て

産まれたての仔豚は、湿れており、薄い粘膜でおおわれている。この粘膜はすぐに乾き消失する。たいの仔豚は特別な処置が必要ではないが、なかには手当が必要なものがある。

(1)息をしない新生仔

- ①鼻と口から粘液をふきとってやる。
- ②仔豚を逆さにしてゆっくりと振り、粘液を排出する。
- ③仔豚の背中を布でごしごしこすってやる。
- ④ゆっくりと鼻に空気をふきこむ。あるいはあお向けに寝させて、後股をゆっくりリズムをとって仔豚が息をするまでポンプのように前後させる。
- ⑤バケツいっぱいの中につけて、乾いた布でこすってやる。(ショックで死ぬこともある)。
- ⑥息をしていないときは、大きい料理用のポットであおってやる。すきま風から仔豚をまもり、体温保持をたすける。(カンボジア)

(2)仔豚の保温：(図12, 13, 14)

- ①植物油で仔豚をこすってやる。
- ②新生仔を箱の中に入れてやる。
- ③保温灯(ランプ)をつけてやる。(電気がある場合)。
- ④床敷に乾して切り刻んだワラやバナナの葉をひいてやる。
- ⑤空のジュート袋を床敷にする。
- ⑥もみガラ、ワラ、炭をバケツの中で燃やして加温してやる。(注意：ワラが長いと仔豚がもつれて母親の下に倒れこみつぶされることがある。バケツの位置に注意して豚が火傷しないようにする。)

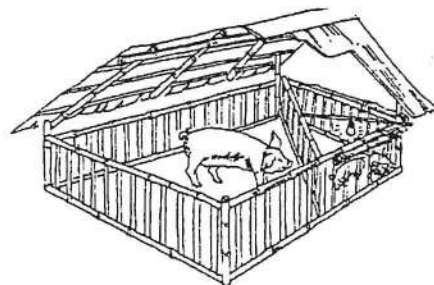


Fig. 12 新生仔をふみつぶさせないための仕切り、電灯で保温し、ジュートをカーテンのように外壁につけておく、仕切りは産後2週間で除去できる。

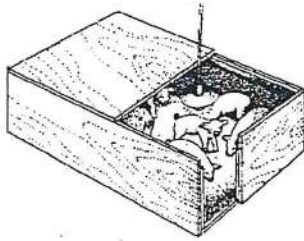


Fig. 13 仔豚の保育箱，出口と屋根の一部を開けておくこと。この開いているところに電球をつけてあたためる。

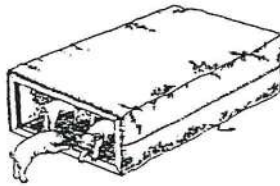


Fig. 14 仔豚の保育箱は，木製の四角の低い枠をつくり，それをジュートでしっかりと包んでつくることができる。

19. 乳房の感染

症状，病因，予防は省略

治療：いかなる治療をするにもまず乳房を石けんかできれば過マンガン苛里と清潔なぬるま湯でよく洗う。感染した母豚の乳はのませない。感染した乳房から乳を搾ってこれをすてる。

傷をなおす：母豚と仔豚をわけて，一時に2～3頭の仔豚しか乳をのませないようにする。仔豚への人工授乳をはじめ。仔豚を泌乳中の他の豚へつける。

外傷の手当 (Fig. 15)

以下の植物からハップ（湿布）剤をつくり，感染した乳房に一日に一回，発赤が消えるか傷がなおるまで
 以て湿布を
 保定



Fig. 15 乳房の外傷の手当て。バナナの茎や古着の紐を用いて，ハップを保定する。乳房の発赤や傷が消失するまでこれをつづける。

(1)キンマ (*Piper betle*) の生葉5～10枚をすりつぶして液を採る。それを切りぎんだグワバの葉5～10枚と，切りぎんだタバコの生葉5～10枚と混ぜる。(フィリピン，1.2.3)

(2)*Ficus minahassae*の生葉5～10枚をすりつぶして液をとり，ココナツオイル茶さじ3～5杯とまぜる。(フィリピン，1.2.3)

(3)グワバの生葉5～10枚をすりつぶして液を抽出してこれを *Stachyta jamaicensis* の生葉3～5枚を切り刻んだものと混ぜる。(フィリピン，1.2.3)

これらの療法はフィリピンのレイテ島西部でよく行われている。

(4)新生仔がふみつぶされないための工夫。

図12のような仕切りをつけ，母親と仔豚を分ける。この仕切りは最初の1～2週間後には取り除いてもよい。

(5)仔豚を乳房につける。

母豚によって，立ったまま，あるいは横になって授乳する。1～2日のうちに仔豚は自分の飲む乳房をかくとくする。同腹の仔が少ないときは，余分な乳房は共同で分け合う。弱い仔豚ほど後位の乳房をとる。乳房の数よりも仔豚の数が多くても養うことができるが，そういう場合は通常，最近出産した別の母豚につけるか，牛乳で育てる。

母豚はしばしば自分の仔豚でないを排除したり，殺したりすることがあるが，里子をうけいれることもある。里親の尿か，酢酸で仔豚と里親の鼻をこすってやる。また里仔と実仔を同じ箱に入れて嗅いを混ぜてやる。里子に出す前に，実母の初乳をのませることを忘れないように。

20. 仔豚の貧血

症状は省略

病因：栄養的な貧血は豚の一生のうちでいつでも起こるが，鉄分不足による貧血は通常土壌に接近できない豚舎で飼育している一週令位の仔豚に起きる。新生仔は鉄分の供給が少ない状況で生まれ，3～4週令以前は乾燥飼料をほとんどたべない。仔豚には鉄分の投与が通常必要である。これらの仔豚の餌の大部分もしくは一部であるミルクは極めて鉄分が少ない。予防と治療：仔豚の貧血は鉄分の補給で予防できる。鉄分の源として赤土をたべさせるとよいという人もいる。通常鉄分に富む植物を貧血の予防と治療に用いる。

(1)40gのツルレイシまたはワサビノキを5～10mlの水と共にすりつぶし，手ですりつぶした葉をしぼって汁をとる。それを布（チーズクロス）でこして，蓋のない容器に入れて日光にあてるか，蓋

をした箱の中に入れて、濃縮する。生後4日目と5日目に1回ずつ仔豚にのませる。残りは瓶や適当な容器に入れてふたをして、涼しい場所に保存する。(フィリピン, タイ, 1. 2. 3. 4. 5)

(註) 農民はワサビノキの方をよく使う。それは、ツルレイシには殺虫剤をかけることがあるが、ワサビノキには滅多に殺虫剤をかけないからである。

(2)新鮮なツルレイシの実を妊娠中の豚に鉄分の源としてたべさせる。(タイ)

(2) 牧田登之 アジアの伝承獣医学, I 総論, 山口獣医学雑誌26: 45~62, 1999.

(3) 牧田登之 アジアの伝承獣医学, IV 家禽篇, 山口獣医学雑誌26: 63~70, 1999.

謝 辞

Interunational Instiute of Rural Reconstruction (IIRR), Silang, Caving 4118, Philippines に対し、このような形で抄訳を出版することを認められたことを深く感謝する。

文 献

- (1) IIRR. Ethnoveterinary Medicine in Asia, III Swine, P 1-71, 1994.

内モンゴル遊牧民の羊の解体方法の一例

牧 田 登 之*・芒來**

〔受付：2000年11月30日〕

A CASE OF DISSECTION OF SHEEP AT A NATIVE FAMILY OF INNER MONGOLIAN AUTONOMOUS DISTRICT

Takashi MAKITA*¹ and Dugorjaniin Manglai*²

* 1 Former Prof. of Dept. Veterinary Anatomy at Yamaguchi University.

* 2 Port. of Animal Genetics at Inner mongolian Agriculture University.

〔Received for publication : November 30, 2000〕

On the occasion of visiting a grassland at shilingo highland, approximately 620km northwest of Fufuhoto, the capital city of Inner Mongolian Autonomous District of the People's Republic of China, we were invited to a formal dinner in a Pao or a traditional movabultent. As a ceremonial treat, the formally dressed family of that tent began to prepare dishes from a sheep. Thanks to the interpretation of our host researcher, Prof. Manlai, who himself is a native Mongolian inhabitant in that district, we could record the whole process of dissecting a sheep which lasted for 25-30 minutes, for the preparation of dishes.

First, the master of the family opened a small hole at the upper center of abdomen just caudal to diaphragm of the sheep, through which he inserted fingers into hiatus aorta to pinch off or cut thoracic aorta. Secondly he cut the skin with a small knife and then he peeled off the skin from the body mostly by his hands.

Thirdly, all abdominal and thoracic viscera were dissected. The content of rumen was discharged by hands. The blood in the thoracic cavity, some of which was already coagulated, was moved to metallic containers.

After cleaning the intestinal content by pushing down pieces of lung, the empty intestine was filled with the coagulating blood for making sausage.

Dissection between cranial to atlas, between lumbar to sacral, between both sides of pelvis and also joints, such as elbows, knees and tarsals, was conducted not always with a knife but by force.

Finally all the meat and bones were cut into blocks and they were boiled with salt. They were served in metallic bowls and dishes accompanied with small knives.

The family did not prepare the trachea, spleen, and omasum when we were there. But it was not clear if they always discard those parts of sheep when they prepare a sheep for their home cooking.

資 料

「内モンゴル遊牧民の羊の解体方法の一例」
中華人民共和国内蒙古自治区呼和浩特市（フフホト

市、北京より約440km）にある内モンゴル農業大学動物遺伝学のManglai（マンライ）教授の案内で、フフホト市の東北方約620kmにある錫林郭勒阿巴嘎旗の草原の中にある包で、東京大学、ヒトと動物の関係学会、

* 前山口大学農学部獣医解剖学教室・教授

** 内モンゴル農業大学動物医学系家畜遺伝学教室・教授



Fig. 1 放血直後の羊, 腹部の穴から手をさしこんで胸大動脈を指で破った。



Fig. 2 腹部正中線沿いに切皮し, 次にこれに交叉して左右の前肢に延びる切断と, 図左端にみる左右の後肢にのびる切断面をつくる。



Fig. 3 剥皮をはじめたところ. 本図にみる小刀で切断をつくるが, 皮をはがすのは殆ど手のみを皮下にさしこんで行う。

などの関係者7人と共に接待の宴に臨んだ。客人に御馳走する羊をまずみせて, すばやく(約30分)正装の主人が, 長男に手伝わせながら解体するのをつぶさに見せてもらうことができたので, Manlai教授の通訳・解説をもとにここに紹介することにしたい。

1. 解剖用具: Fig. 3. 4. 5. 6. にみるような小刀一本のみである。
2. 放血: Fig. 1. 2. 3. にみられるように, 腹腔中央の横隔膜直下に右手首をいれて, 大動脈裂孔から指を差し込んで, 胸大動脈を破る。
3. 正中線に沿って腹部に切り口をつけ (Fig. 2) 次いで胸部を横断して両前肢の先まで切り口を拡げる (Fig. 3)。腹部後位を横断して, 両後肢にも



Fig. 4 蒙古羊の尾部の脂肪塊。



Fig. 5 蒙古羊の尾部にある大きな脂肪塊. この部分を主賓に先に供するらしい。

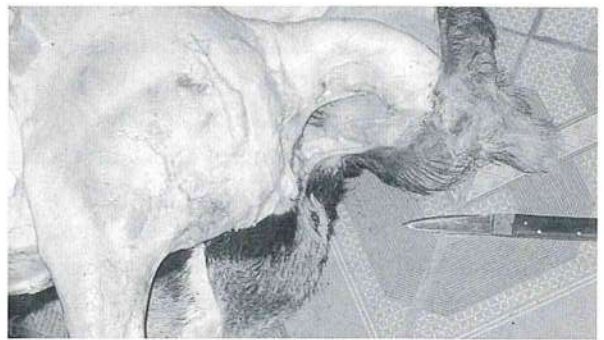


Fig. 6 服をぬがすように皮をはぐところ。

切皮した切り口を拡げる。(Fig. 3の左端)

4. 蒙古羊の特色の一つである尾部の脂肪の塊を切り出す。(Fig. 4. 5)。(この脂肪は料理する)。
5. 皮下に手のひらをいれて, 衣服を脱がせるように皮をはぎとってしまう。毛根, 足根の関節から先は皮革の方につけて切断する。(Fig. 6)
6. 腹腔臓器をとり出す。消化管, 肝, 膵, 腎, 脾, 生殖器などは別々にとり出す。(今回は第三胃と, 脾臓は料理をしなかった。)
7. 胸腔にたまった血液, 血餅は, 手やひしゃくですくいで出して, バケツや金だらいにためる。(後でソーセージの原料になる)。

8. 肺, 心臓を取り出す. 肺の小片を作り (スポンジ替りのように), 腸管の中に入れ, 腸管の内容物をぬぐってから, 前項の血液を腸管につめる. (これをポイルしてソーセージとする).
9. 前肢, 後肢をはずした後で, 後頭骨と環推 (第一頸椎), 腰堆と仙骨を切断する. 腰椎と仙骨の切断は腰を腹側に折れ曲げて, 半ば強引に割る.
10. 寛骨 (骨盤) を縦に割る
11. 胸骨, 肋骨, 胸堆もブロック状に小分けする.
12. 肩甲骨, 上腕, 前腕の区分も, 大腿と下腿の区分も大まかで, 決ずしも肘関節, 膝関節で分けていない.
13. 骨つき肉を塩ゆでにしたものをボウルに入れて食卓に出し, 各人がナイフで切った肉に調味料をつ

けながらたべる.

以上が今回の羊の解体の概要である. 時と場所によって変わるものであろうから, いつでもこうしているとは限らないが, 家族中が総出で正装して客人をもてなす場合にこういうやり方でやったという記録である. 最後の料理方法も, かつて新疆ウイグル自治区では主賓にまず右の耳を切らせ, 肉を大きい金属のクシにさして焼肉にして辛い香辛料をふんだんにかけたものをパオの敷物の上に並べて勧められたものであったが, 今回は低いテーブルにボールを並べて, 上記のように塩ゆでした肉が供せられた. 所かわればということであろうか.

いずれにしても, 案内された内蒙古農業大学の関係者, たいていはその同窓生である市長, 村長, など行政当局の方々, それに何よりもパオに居住する一家の方々 (Fig. 7) にこのような貴重な見聞をさせていただいたことに厚く感謝する次第である.



Fig. 7 正装したパオの住民. 右端が執刀したこの家族の御主人.

牛療治書々写本の系譜

白水完児*

〔受付：2000年11月30日〕

A GENEALOGICAL RECORD OF TRANSCRIPTION OF MEDICAL TREATMENT OF CATTLE

Kanji SHIRAMIZU*

*Animal Hospital, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture,
Yamaguchi University, Yamaguchi 753-8515, JAPAN.*

**(Members of the Society of Veterinary History of Japan)*

〔Received for publication : November 30, 2000〕

The writer studied the books of medical care of cattle in the recent period (Edo period, that is, 1600~1867). They are kept in the Umeno Family, Oaza Matsuki, Kuju Town, Kuju County, Oita Prefecture. The style of the handwritten copy is the one of a *yokohon*, a book of oblong bookbinding. The paper of *minoban* size was cut into half and bound into a book in Japanese style. They consist of twenty-two volumes. On the covers are written the names of the books which are thought to be the sources of the handwritten books. Checked up with the books printed by engraved wood in China and Korea in the recent period, it became evident that these handwritten books were based on the folkloric medical treatment which was inherited in Japan for a long time. Furthermore, judging from the description on a piece of paper presumably left by the owner of these books, it is presumed that the books were used by the people called horse doctors, as late as to the middle of Meiji period, when the modern veterinary license system was established. To help understand the folkloric medicine of the recent period better, the *Byomei Zokusho* (popular names of diseases) was attached in the end of this article. It is a revision of the supplement of Zennosuke Harashima, *Saishin Jui Hoten* (a thesaurus of the most recent veterinary science) published in the 9th year of Taisho period (1920).

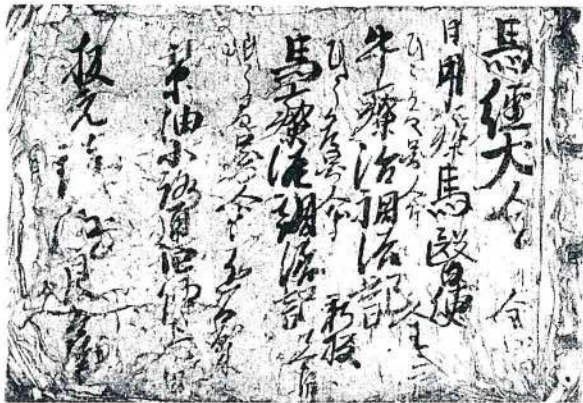
はじめに

先日、大分県玖珠郡九重町大字松木、梅野家に伝わる近世の牛の療治書を調査する機会を得た。実を言うと筆者は書写本は苦手である。理由はカナ文字が読み難いからである。かつて、歴史学の専門家と『下シホ』の文字を解読するのに半日以上もの時間を費やし苦労した経験がある*。読んでしまえば『下シホ』は、『一トシホ』で『・・・』を用いれば治る事ひとしお速やか也・・・』と書かれてあったのだが、似たような例は最近でもしょっちゅうである。その上、病の名が東洋医学用語で解り難い。獣医の資格試験がなかった時の事²⁾であるから、牛を診てある者は『たち』と言ひ、別の者は『こし』と称し、三人目は『ないら』と見立てる。これではどうにも治療が出来ないと評判の牛医者に見立ててもらおうと、曰く「この牛は『こし気』『ないら』で『たち』が悪い」と。理解のため文末に近世²⁶⁾と現代をつなぐ『病名俗称』を掲げておいた。『最新獣医宝典』原島善之助著・大正九年刊の付録を更に改編したものである。

(・岸 浩「研究余滴」日本獣医史学雑誌8号1976年にも同様の苦労話がある)

書写本の体裁と構成

今回調査の書写本は横本で、大きさは五寸三分・六寸九分、つまり美濃判の紙を半分に切り和本に仕立てたものである。全二十二丁、表紙に相当する部分には書写の種本*と考えられる書名が書かれている。(図版1参照)

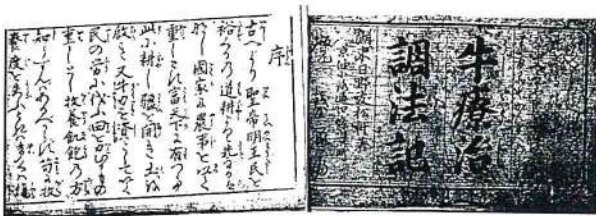


図版1 牛療治書々写本の表紙

(*種本：複写の場合は原本となるが、書写の際にはしばしば勝手な改編が行なわれるため、書誌学にはない俗な呼称を用いた、ネタ本のこと)

『馬経大全』全四冊、『日用療馬医便』全二冊、『牛療治調法記』新版(版)、『馬療治調法記』の四書の名と、『京油小路通四条上ル町板元口口良兵口』の文字が読み取れる。これらの書の内、『日用療馬医便』と『馬療治調法記』の二書は馬専門の療治書であるから、牛の療治と直接には関係が無い。また、『馬経大全』の四冊本も、わが国で版行されたものには牛の療治を欠くので種本との関係は薄い。従って、書写の種本は殆どを新版の『牛療治調法記』に頼った事になる。

版本の『牛療治調法記』は、『湖東 日野友松軒著 京油小路通四条上ル町板元 藤屋三良兵衛』『實暦六(1756)年丁子屋九良右衛門』、123丁の小型本である。日本獣医史学会会員・勝山脩氏所蔵本の複写を図版2に示した。



図版2 版本『牛療治調法記』・勝山脩氏蔵本

『牛療治調法記』の構成は最初が『序』で『古へより聖帝明王民を裕くるの道・・・』とあり、次が『耕夫織婦の讀』、さらに『相牛法』『脈診法』『鍼灸』『薬法』『採葉』『処方』と一般的な牛の保健衛生へと続く。

実は、このような『牛療治調法記』の構成は『元亨療馬牛駝経全集』³⁴⁾(1960年農業出版社)の丁賓序本『療牛集』(1608年)と同一で、広島・浅野文庫所蔵、

伝朝鮮本・賓善堂梓行『新刻京陵原板參補針医牛經大全・新刻京陵原板參補針医牛經指南卷之下³⁵⁾』とも同じである。そこで、最初に種本とされたかもしれない『牛療治調法記』等の版本系牛療治書の系譜をたどって見た。(図版3参照)



図版3 『牛療治調法記』阮明山人書写本

版本系牛療治書の系譜

版本の牛療治書の多くは一般に『牛經大全』と呼ばれるもので、元は丁賓改亭氏序本『元亨療馬牛駝経』の一部分である。言い換えれば馬の療治書『元亨療馬集』の付録である。1547年元亨兄弟によって著された古今療馬方の集大成『療馬集』(通称『馬経大全』)の付録として、1608年太僕寺卿*・丁賓序文の『元亨療馬集・療牛集・駝経』刊行の時から加えられたと見られる**。

(*太僕寺卿：中国における官名。輿・馬及び牧畜の事を掌る。清光緒年間陸軍部に併入。『明史職宿志』に『太僕寺、卿一人、小卿一人、寺丞四人』とあり。)

(**：最も初期の『元亨療馬集』の様式は『無序』『療馬集』に『医駝方』を足しただけの簡単な構成と『四庫全書総目提要』の記録にある)

この時太僕寺卿が『牛療治書』として加えたものは朝鮮本(図版4)『新編集成牛医方』で、その成立は、南陽の房士良序によれば『建文元(1399)年』である。以下、図表に版本改編刊行の大略を示した。

さて、図表のように官吏・太僕寺卿の業績作りのために整然と序文を足し、記録を残して行く改編が行なわれたならば、後世に何ら問題は生じないが、その書を勝手に削除と補足して刊行される民間版『オウが馬牛經大全』の場合は、肝心の序文が改編されると種・元本が丁序本か許序本かの考証は著しく困難になるのである。

そこで最近刊の全集本の校記を検索して、序文以外、以下に示した四点の薬方の名前に違いのあることを見付け出した。ただし、ここでお断わりしておきたいのは丁序本は全て明刊本とは限らないということである。

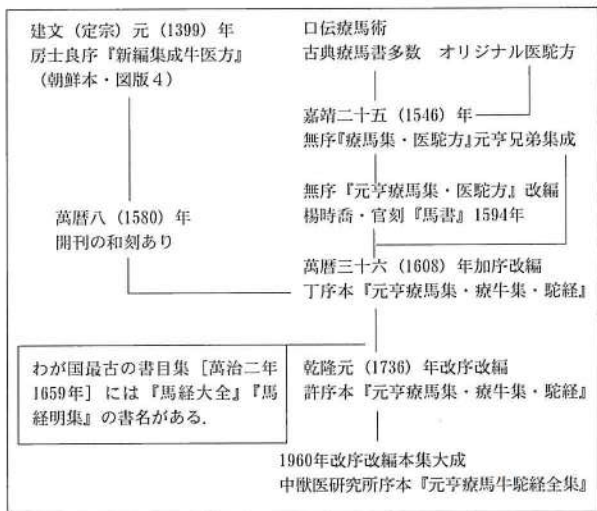


図版4 朝鮮本『新編集成牛医方』



図版5 『牛經大全』・広島浅野文庫蔵本

版本改編刊行の大略



清期許序本の明刊はあり得ないが清期の丁序本はいくらでも刊行が可能である。中国では付録の親本『元亨療馬集』さえ書名と刊記を改変して、『政府刊行物オラが馬經大全・官刻馬書』を上梓した歴史がある*だけに、油断はならない。(図版5・浅野文庫蔵『牛經大全』)

(*：『元亨療馬集』の書誌学的刊記については参考文献4)を参照されたい。太僕寺卿は元亨兄弟の著した『療馬集』にそれぞれ序文を付けて『官刻・馬書』や丁序本『元亨療馬集』・許序本『元亨療馬集』を発行したのである。更に民間ではこれら官版・準官版の書を改編して様々な馬療治書や牛療治書を刊行した。著作権の無い時代の官民一体海賊出版事業である)

丁・許序本の薬方名の違い

証名	丁序本	許序本
氣吼喘病方	心効散	難効方
心風狂病方	人參散	鎮心散
木舌病牛方	牙硝散	牙消散
仙伝海上方	軒脚方	軟脚方

版本牛療治書の構成

『元亨療牛集』丁序・許序の違いが明らかになったところで、広島・浅野文庫所蔵、寶善堂梓行『新刻京陵原板參補針医牛經大全・新刻京陵原板參補針医牛經指南卷之下*』と、『牛療治調法記』の構成を比較して調べてみた。

(*：版の体裁が同じな広島・浅野文庫所蔵、寶善堂梓行『新刻參補針医馬經大全』は翻刻覆刻されて、国師・馬師問編、書林寶善堂梓行『新刻參補針医馬經大全』となり、わが国のいくつかの版元から出版された。上村次郎右衛門版、西村市郎右衛門版、北尾八兵衛版は版元名を差し換えた同版、河内屋喜兵衛版はさらにこれの復刻版である。また、杏雨書置蔵『新刻馬經大全』は朝鮮活字本と伝えられているが、竹紙と覚しき紙に刷られた四針眼釘の書物で、『元亨療馬集』の一部にレ点・仮名文字を書き込んだものである)

『牛經大全』の構成は『元亨療牛集』とほぼ同じであるが『難効方』『鎮心散』『牙消散』、仙伝海上方は『軟脚方』と、薬方は明らかに清刊許序本のそれである。次に版本の『牛療治調法記』を照合してみると、構成は『元亨療牛集』ほぼ同じ、薬方は明らかに明刊丁序本のものである。古書の世界には昭和李朝の例が

元亨療牛集序		
論牛保耕牛係養民之道第一	牧牛論	序
天子藉田勸農第二	天子勸農論	耕夫織夫の説
論古来有異相牛第三	相牛異論	牛経綱目
弁牛将来有黄並相牛法第四	弁牛相法	弁牛相法
相耕田牛第五	相耕牛論	相耕牛論
木刻耕夫織夫説第六	耕夫織夫説	
頌美歌納牛皮榜示	論審人用針審症用薬法	
相牛方	牛病治療図方	牛病治療図方
牛病治療図方	相牛方	
専治四時牛津加減十三方並雑方	此数方四時牛瘰加減方	
仙伝海上方		治諸雜方
牛病分類治療図歌方	採薬選擇吉日	
	図入り治療方	
	仙伝海上方	仙伝海上方

ある故、断定は避けるが、『牛経大全』は乾隆元(1736)年改序改編許序本『元亨療馬集・療牛集・駝経』を元に刊行されたものであり、『牛療治調法記』はそれ以前の萬曆三十六(1608)年加序改編丁序本『元亨療馬集・療牛集・駝経』を元に刊行されたものである。

牛経大全	調法記	牛経大全	調法記
杏仁散	杏仁散	瓜婁散	杏仁散
四順散	四順散	青塩散	牙消散
五積散	五積散	爵金散	消黄散
三黄天竹散 許	天竹黄	杏仁散	温脾散
菖蒲散	烏金散	牙消散 許	麻黄散
芍薬散	菖蒲散	消黄散	烏蛇散 丁
人参散	人参散	麻黄散	金錢草散
衷心散	衷心散	烏蛇散	濱榔散
茯苓散	三聖散	白各散	黄雀丸
定風散	白礬散	滑石散	温脾散
三聖散	爵金散	金錢草散	行気散
穿腸散	穿腸散	濱榔散	骨碎散
白礬散	難効方	黄雀丸	南礬砂散
当帰散	当帰散	大戟散	◎焮烙散
難効方 許	青皮散	補黄散	半夏散
青皮散	白愧散	白愧散	芍薬散
大戟散	大戟散	骨碎補	
猪膏散	猪膏散	南礬砂散	
爵金散	靈応散	芍薬散	
神經散	五如散	◎焮烙散	
靈応散	爵金散	麝香散	
行気散	通靈散	白朮散	
三黄散	天麻散	治肺散	
五如散	追風散	半夏散	
清石散	瓜婁散		
鎮心散 許	人参散 丁	◎=夫百夫	
乳香散	爵金散	(許・丁とあるのはそれぞれ	
人参散	青塩散	の序本にだけ見られる処方)	

以下に『牛経大全』と『調法記』の薬方を一覧にして見た。結局『牛経大全』は許序本『元亨療牛集』の

ことであり、『調法記』は丁序本の『元亨療牛集』である。

さらにこれらの照合を通して新たな事実が気付いた。いずれの書も前半上巻部の治療図方には個々の薬剤名と配合割合はあっても、ほとんど方剤名が無いのである。しかし、その代わり後半下巻部のものには『〇〇散』の方剤名がある。これはどんな理由によるものであろうか?。おそらく漢方療治の方剤理論が体系化される李時珍の『本草綱目』以後に書かれたからであろうと想像している*。因みに朝鮮本『新編集成牛医方』を調べてみると、これの記述様式は前半上巻部と同様『療牛〇〇方』で、方剤名は記されていない。

(* : この考察にあたっては昭和33年・日本学術振興会発行『明治前日本薬物学史第一巻・第二巻』を参考にした)

写本の内容と方剤名

写本には序文が無く、いきなり牛の鍼灸図と思われるものから始まる。この中に『きつけさん』(気付け散)の文字が見られ、版本との関連を窺わせるが、版本にはこのような方剤名は無いから、書写者の勝手な命名であろう。内容は牛の図と簡単な症状の説明、治療薬の処方である。以下に写本の処方を書き出してみた。

書写本にある薬の名称は殆どが『漢方薬名』である。しかもその薬は漢方の療治原則に則って処方されている。例外は『たち』の処方中の『ふなくろやき うなきのくろやき いなくろやき いハひは こけころも』くらいのものである。(図版6~9に書の始めの部分を示した)

針のツボ図

きつけさん (気付け散) どりう (土龍)
とへら (海桐花) ごはつさう (五八草)
ほきい (不明) びやくじゆつ (白朮)
たうき (当帰) きこく (枳殼) せんきう (川芎)

はい (肺)

いハひは こけころも ごはつさう きりんけつ
ききやう きやうくかつ は (く) もんとう
わうれん かつこん やうはいひ

たち (夕子)

ごはつさう とりう と遍ら きりんけつ
ふなくろやき うなきのくろやき
いなくろやき いハひは こけころも

きも (肝)

ごはつさう とりう ふわに ふくりやう
かんさう ふくりやう わうこん しくん
わうれん かんきやう
きのふ (気の腑)

大わう ひやくしゆつ ききやう しゆくしや
さんしし ふくりやう さいしん せうま

いんしやう (陰証)

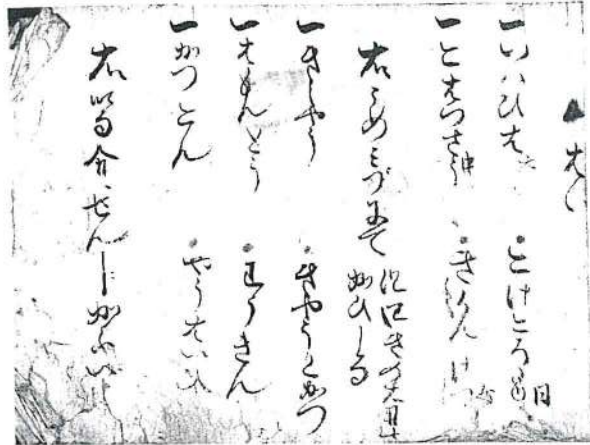
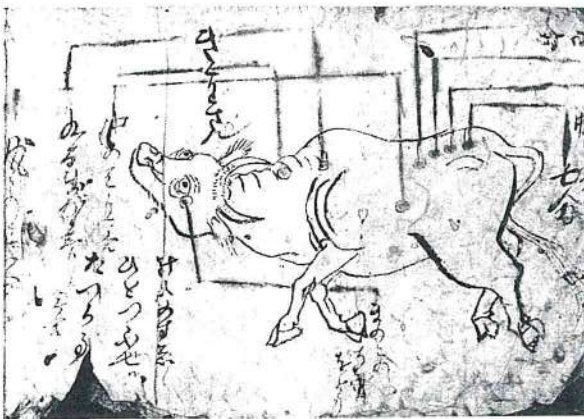
ひやくしやつ たうき わうこん しゃくやく
ふくりやう きこく かんざう

いんしやうのかぜ (陰証の風邪)

びやくじゆつ たうき きこく せうひ
ひんらうし わんき

たんのふの事 (胆の腑の事)

かんきやう たうき ききやう しくんし
かつこん しくしや



図版6~9 牛療治書々写本・始めの部分

大ねつさます事 (大熱解す事)

びやくじゆつ ふくりやう たうき さいしん
わうこん かんきやう わうれん びんらうし
ちわう かじゆつ かんざう

いのふのわづ (ら) ひ (胃の腑の患)

がじゆつ もつかう こわうれん わうこん
わうき びやくじゆつ ききやう

かんのふいたみ (肝の腑痛み)

わうこん びやくじゆつ わうぎ せうひ
里ろ ぱくもどう しゆくしや

しんざうのいたむ事 (心臓の痛む事)

かんざう こうほく ぱくもどう ごしつ
にんしん 大わう

そろのわづらひ (ソロの患)

せんきう わうれん たくしや ごかひ わうこん
きこく ちんひ

四つのふいたみ (四つの腑痛み)

ひやくじゆつ たうき しゆくしや てんしやう
ちわう かんざう ぶし

かのわづらひ (力の患)

ふくりやう さいしん 大わう たうき もつこう
やうばいひ

ひのざういたむ事 (脾の腑痛む事)

わうはく きこく せうひ びらうじ しそ
かんざう わうぎ 大わう

うめきやまひの事 (呻き病の事)

わうはく かうほく かんざう せんきう
もくつう ひやくしゆつ くしん かつこん
わうはくひ

しんのさうのかせ里へおちる事

(心の臓の風邪裏へ落ちる事)

しそ かんきやう ちんひ せうま ひんらうし
ごかひ せうひ びやくじゆつ かんざう
わうれん かつこん ねきく

種本と書写本使用期の推定

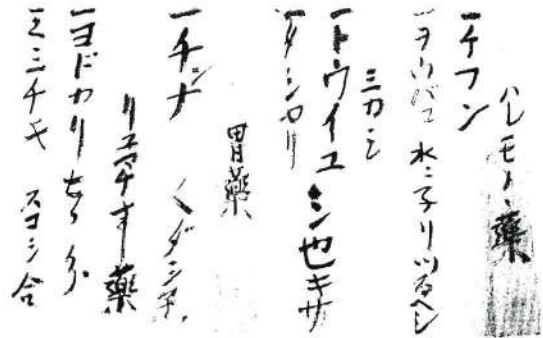
先の内容からして今回調査の写本の種本は、『牛療治重宝記』や『牛経大全』のような漢方獣医学書でないことは明らかである。この写本には付録『病名俗称』に示したように、西洋獣医学でも漢方獣医学でもない独特の用語が使用されている。陰陽・五臓六腑の語を用い、漢方薬名を持つ生薬を使って療治をしており、一見漢方獣医学のようにも見えるが、その療治体系は「〇〇やまいに〇薬」式の、日本民間伝承療法の枠を出ない。例えば先にも述べた『タチ』の療治処方、五八草(反鼻・マムシ)に動物の黒焼きを加えたもので、有名な『伯州散*を真似たものである。

(*マムシ・津蟹・鹿角の黒焼きを等量混和した散剤。デキモノ・ハレモノの内服薬。別名『東洞の外科倒し』。江戸中期の古方派がよく用いて人気を博した)

おそらく、梅野宇作氏は『牛書』や『牛医一流之秘伝書』のような大陸獣医学の知識を元に編み出した、日本民間伝承療法服一子相伝秘伝の書を種本にしたのであろう。しかし、なぜに漢方獣医学系の『牛療治重宝記』や馬療治書の書名を表紙の部分に書き残したのであろうか？

この書写本には一枚の紙片が挟み込まれていた。(図版10) 梅野宇作氏によって書かれたメモのようなもので、冒頭に述べた通り本人には分かり易く書いたつもりでも、後の世代にはなかなかやっかいな代物である。この内注目すべきは最後の三行『リユマチす薬』である。これはどう読んでも『リユーマチス薬』、『神経痛痺麻質斯の薬』となれば語源はオランダ語、由来は蘭学である。『リユーマチの薬はヨドカリと◎シチキ・・・』とある。『ヨドカリ』が海藻から作られるヨードカリウムらしい事は理解されるが、『◎シチキ』とは一体何物か？もしやと思いカタカナでない変体仮名を充ててみると、『久三チキ』→『くミチキ』→『苦味チキ』の『苦味丁幾』である。『苦味チンキ』は生薬の苦み成分をアルコールに抽出したもので、健胃・食欲増進剤としてごく最近まで用いられていた。さらに、西洋でヨードカリが医薬に使われたのは1821(文政四)年(出典・工業薬品大辞典明治四十三年刊 文部大臣序)、わが国で製造され一般に使用されるのは、ずっと後の明治中期頃からであるから、この紙片は明治中期以降に書いて挟み込んだものである。

以上の状況証拠からこの書写本は、賓暦六(1756)年



図版10 牛療治書々写本に挟み込まれた紙片

には紙として確かに存在している。従って刊年はそれ以前、おそらく近世の中期と推測される。さらに、梅野宇作氏がこの書写本を使用した時期は明治中～後期の、まだ伯楽獣医が生き残っていた時代の事と思われる。

おわりに

「それにしても梅野宇作さん、なんでこんな紙きれに薬をメモしたんだ？」ぶつぶつ言いながら書物を閉じた時にはと閃いた、和紙は両面から墨で文字を書くに滲んでどちらも読めなくなる。見ると書写本の最後は半丁紙である！

「なんだ！梅野宇作さんは新しい情報を別紙に記録したのか！」

この書物に残された唯一の余白、表紙には既に新刊書の名前が墨で書かれていた。

追記

梅野宇作書写の原本は版本の『牛科提要』享保第五龍集庚子仲冬念日攝陽元野人・桃林子、梅林堂梓、京東六條下珠数屋町丁字屋九良右衛門版であることが判明した。

(平成十三年四月二十日記)

引用文献

- 1) 白水完児・牧田登之『近代獣医免状史』山口獣医学雑誌第24号 43～54頁 1997年
- 2) 拙稿『牛書』日本農書全集六十巻 農山漁村文化協会 1996年
- 3) 拙稿『為御褒美銀三枚被下置馬療書』WVA講演要旨集 197 1995年
- 4) 拙稿『馬経大全の書誌的研究(その二)』日本獣医史学雑誌27: 9-17, 平成3年
- 5) 拙稿『馬経大全の書誌的研究』日本獣医史学雑誌23: 16-33, 昭和63年
- 6) 拙稿『牛医一流の秘伝書の「たち」と「こし」の証の解析』日本獣医史学雑誌 17: 22-34, 昭和58年

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、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2,400字）以内とし、当学会所定の原稿用紙（24字×25行）に記述する。ワープロ原稿は、1ページ24字×25行とする。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文抄録（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. 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、初校は著者も行うものとし、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（1979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（1979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、地域社会の畜産と公衆衛生の発達に寄与するとともに、獣医業医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

1962年第1回開催、毎年1回開催、2000年現在第39回学会を終了。

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5～6回実施。

刊行物

山口県獣医師会会報

1961年6月創刊、毎月1回発行、現在（2000年12月）第475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

1974年1月創刊、毎年1回発行、現在（2000年12月）第27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。

ACKNOWLEDGEMENT

The Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine appreciates the services of Mr. & Mrs. Masaharu Ano for proofreading the manuscripts in English.

謝辞

山口獣医学雑誌に登載される英文論文は、阿野政晴並びに阿野メリアン両先生御夫妻の御校閲を賜りました。山口県獣医学会として深甚な謝意を呈上申し上げます。

山口獣医学雑誌	第27号	2000年
The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine	No.27	2000
2000年12月25日印刷	2000年12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
	山口県吉敷郡小郡町下郷東蔵敷1080-3
	郵便番号 754-0002 電話 小郡 (083) 972-1174番
	FAX (083) 972-1554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) 33-0100番
	FAX 防府 (0835) 32-2514番

(毎年1回発行)

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 27 DECEMBER 2000

Special Number Issued in Commemoration of the 50th
Anniversary of the Establishment of the Association

CONTENTS

REVIEW

- Congenital Abnormalities of Cattle caused by the Arboviral Infection.
Tomoyuki TSUDA 1 ~ 18

ORIGINAL ARTICLES

- The Ultrastructural Alterations of *Trypanosoma evansi* Associated with Proteolytic Removal of the
Surface Coat.
Takeo HIRUKI 19 ~ 32

- A Presumptive Case of Fatal Acute Enteritis due to VTEC 0121 : H19 in Calf.
Akihiro KAWATO, Yoshio OGAWA and Kiyohito NISHIMOTO 33 ~ 36

- A Study of Dehorning Early Stage Japanese Black Calves and Its Influence on the Weight Gains,
Behavioral Patterns and Physiology of the Calves.
Daiji SHIRAO, Toshiyuki SAWAI and Kouji FUJII 37 ~ 42

MATERIALS

- Ethnoveterinary Medicine in Asia. III. Swine
Takashi MAKITA 43 ~ 54

- A Case of Dissection of Sheep at a Native Family of Inner Mongolian Autonomous District.
Takashi MAKITA and Dugorjaniin Manglai 55 ~ 58

- A Genealogical Record of Transcription of Medical Treatment of Cattle.
Kanji SHIRAMIZU 59 ~ 66

ADDENDA

- Rules of Contribution to the Official Journal. 67
Rule of the Association 68
Bylaw for the Arrangement of the Official Journal. 68
Outline of the Enterprises and the Publications (*colophon page*)

THE OFFICIAL JOURNAL OF
THE YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION OF VETERINARY MEDICINE