

山口獣医学雑誌

第 43 号

2016年12月

山口県獣医学会

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 43

December 2016

THE
YAMAGUCHI VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION

山 口 県 獣 医 学 会

編 集 委 員 会

藤田 亨 中市 統三 野村 恭晴
澤井 利幸 白永 伸行 度会 雅久*

(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、獣医学と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、英文のいずれでも受理するが、この場合、日本文原稿には英文要約を、英文原稿には日本文要約を添付すること。

原稿は、郵便番号 754-0002 山口県山口市小郡下郷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 VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION

EDITORIAL COMMITTEE

Tohru FUJITA Munekazu NAKAICHI Yasuharu NOMURA
Toshiyuki SAWAI Nobuyuki SHIRANAGA Masahisa WATARAI*

(in alphabetical order : *Editor in chief)

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine is published annually by the Yamaguchi Veterinary Medical Association. The Journal provides original articles, reviews, notes, reports, and materials, which deal with all aspects of veterinary medicine and related fields. *The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine* assumes no responsibility for statements made by authors or other contributors.

NOTES TO CONTRIBUTORS

Manuscripts written in Japanese or English are accepted. The manuscripts in Japanese should be accompanied by summaries in English. All the manuscripts should be sent to the Editorial Office : *The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine*, The Yamaguchi Veterinary Medical Association, 1080-3, Ogorishimogo, Yamaguchi - shi, Yamaguchi - ken 754 - 0002, Japan

山口獣医学雑誌 第43号 2016年

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine No.43 December 2016

目 次

総 説

- 野生鳥獣肉（ジビエ）食に原因する寄生虫症
佐藤 宏・松尾加代子 1～11
- 牛白血病ウイルス感染症と農場における感染対策
目堅博久 13～20

原 著

- ダイレクト PCR 法による牛白血病ウイルスの簡易同定法の開発と、本法を用いた疫学調査
小林朋子・綿貫園子・菊池柚衣・竹嶋伸之輔・間 陽子・村上覚史 21～27

症 例

- トセラニブが奏功した消化管間質腫瘍（GIST）の犬の1例
大黒屋 勉・大黒屋有美 29～32

平成28年度 獣医学術中国地区学会賞受賞演題（山口県）

- IMP-1メタロ-β-ラクタマーゼ産生 Acinetobacter 属菌の感染が確認された犬猫2症例
木村 唯・宮本 忠・青木弘太郎・石井良和・原田和記・
度会雅久・鳩谷晋吾 33

The table of contents in English may be found on the back cover.

総 説

野生鳥獣肉（ジビエ）食に原因する寄生虫症

佐藤 宏¹⁾・松尾加代子²⁾ ³⁾ *

〔2016年11月28日受付・2017年1月10日受理〕

REVIEW

Possible parasitic diseases after consumption of wild animal products, so-called 'gibier', in Japan

Hiroshi SATO¹⁾ and Kayoko MATSUO²⁾ ³⁾

1) *Laboratory of Parasitology, Joint Faculty of Veterinary Medicine,
1677-1 Yoshida, Yamaguchi 753-8515, Japan.*

2) *Hida Regional Livestock Hygiene Service Center, Gifu Prefecture, 7-468 Kamiokamoto-machi,
Takayama, Gifu 506-8688, Japan.*

3) *Invited Associated Professor, Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University.*

ABSTRACT

In the last decade, markets of so-called 'gibier' or 'wild game' have been increasingly developed in Japan. For the basic hygienic control of natural products and their safe supply, municipalities and Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan have prepared own guidelines and manual for safe processing of wild animal products. Possible pathogens and risk of infectious diseases in consumers of natural animal products, however, have not been surveyed yet at present. In the present review, main focuses are on toxoplasmosis, sarcocystosis, gnathostomiasis, toxocariasis, trichinellosis, paragonimiasis, fasciolosis, dicrocoeliasis, sparganosis mansoni, and scabies. To prevent the disease acquisition, controlled processing and preservation as well as well-done cooking with adequate heating/boiling must be substantiated as in cooking of domestic animal products.

Key words : zoonosis, parasitic disease, food poisoning, gibier, wild game, Japan.

要 旨

近年、野生鳥獣肉がジビエとして広く流通し利活用が進められてきている。地方自治体ならびに厚生労働省の下で衛生管理のあり方が議論され、ガイドラインやマニュアルが作成されて安心・安全な食としての流通態勢が整いつつある。野生鳥獣は自然からの恵みであるが故に感染症に関わる実態がよく分かっておらず、突発的な食中毒問題が消費段階で起こり得ることが懸念される。ここでは寄生虫症に焦点を当てて、いくつかの起こり得る問題を概説してみたい。取り上げる話題はトキソプラズマ症、住肉胞子虫症、顎口虫症、トキソカラ症、旋毛虫症、肺吸虫症、肝蛭症、槍形吸虫症、マンソン孤虫症、疥癬である。これら寄生虫症予防は家畜肉の消費と基本的に同様で、野生鳥獣肉の保存と取り扱いに注意を払い、加熱食品の喫食を心懸けることに尽きる。

キーワード：人獣共通感染症、寄生虫症、食中毒、ジビエ、日本。

1) 山口大学共同獣医学部寄生虫学教室（〒753-8515 山口市吉田1677-1）

2) 岐阜県飛騨家畜保健衛生所（〒506-8688 岐阜県高山市上岡本町7-468）

3) 岐阜大学客員准教授（応用生物科学部）併任

はじめに

狩猟されたイノシシやシカなどの野生鳥獣肉の一般消費拡大の気運が盛り上がっている。これまで「ぼたん」や「もみじ」と呼ばれて時折口にする機会もあったが、フランスの貴族料理をイメージさせる「ジビエ」と呼ばれて新たな流通経路の開拓と消費者へのイメージ戦略を通しての販売拡大が図られている。1つには、狩猟対象動物が同時に有害鳥獣として、その増加した個体数管理のために積極的な駆除が行われているなかで、自然資源の有効利用が考えられたことも契機であろう。伝統的な流通経路に加えて新規の流通が急速に増えてきたことで、平成18年以降、北海道や島根県をはじめとした道府県単位で野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針が策定されてきたが⁸⁾、平成26年5月30日公布の「鳥獣の保護及び狩猟の適正化に関する法律の一部を改正する法律」に対する参議院環境委員会附帯決議において、「捕獲された鳥獣を可能な限り食肉等として活用するため、国において最新の知見に基づくガイドラインを作成するとともに、各都道府県におけるマニュアル等の作成を支援するなど衛生管理の徹底等による安全性の確保に努めること」とされたことで、「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針(ガイドライン)」(食安発1114号第1号、平成26年11月14日)が厚生労働省医薬品食品局食品安全部長名で自治体に通知された²⁾。家畜肉や家禽肉では、解体時に適用となる「と畜場法」あるいは「食鳥検査法(食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律)」、また加工・販売時に適用となる「食品衛生法」によって食肉の衛生管理が行われてきたところを、野生鳥獣肉については解体から加工・販売に至るすべての段階を「食品衛生法」の下で食品としての衛生管理を図ることになった。狩猟地から解体作業地までの運搬、剥皮や内臓摘出など解体作業や加工、流通に関わる衛生管理、加えて安全に喫食するための十分な加熱の徹底を事業者として食品衛生管理の徹底を図ることを求めている。

過去に発生した問題、すなわち野生鳥獣肉の喫食を原因としたE型肝炎ウイルス^{9, 17, 32, 36, 51, 59)}、腸管出血性大腸菌^{12, 38)}、サルモネラ^{46, 52)}などによる集団人獣共通感染症事例や、昨今散発する家畜肉喫食に原因する集団食中毒事例を念頭に、感染リスクを減らすための工夫が盛り込まれている。同様に、1974年に青森県で発生したクマ肉喫食による旋毛虫症集団発症事例に代表されるように、野生鳥獣肉に原因する寄生虫症の発生も散発していることから^{18, 31, 34, 54, 58, 63, 64)}、こちらにも十分な注意が払われねばならない。本稿では野生鳥獣肉の喫食やその前処理時に発生が懸念される寄生虫症として、トキソプラズマ症、住肉胞子虫症、顎口虫症、トキソカラ症、旋毛虫症、肺吸虫症、肝蛭症、槍形吸虫症、マンソン孤虫症、疥癬を取り上げ、その生物としての概要と現在の国内での分布状況や患者発生可能性について簡単な解説をした。いずれの寄生虫症も、生肉の適切な取り扱いと食肉の十分な加熱により、その発生は防げることを前もって断っておきたい。

1. 原虫症

単細胞性の寄生虫を原虫(protozoon)と呼んで、多細胞性の寄生虫である蠕虫(helminth)や節足動物(arthropod)と区別している。野生鳥獣の消化管には多数の原虫類の寄生があるが、これらが食肉を汚染することによる人獣共通寄生虫症はこれまでのところ知られていない。食肉となる筋肉に寄生するトキソプラズマと住肉胞子虫をここでは取り上げる。

1-1. トキソプラズマ症

ネコの小腸上皮に寄生するトキソプラズマ(*Toxoplasma gondii*)は、その上皮内でシゾゴニー(無性増殖)とガメトゴニー(有性増殖)を行い、その糞便中に受精したオーシストを排出する。排出直後には単細胞性であるが、外界環境中で感染性

をもつオーシストへと成育するスポロゴニーが起こる。完成したオーシストには、次の宿主への感染を担う4つのスポロゾイトが入ったスポロシストが2つ形成されて、ネコをはじめ、ヒトを含めたさまざまな動物へ感染することができる。ネコを除く動物に感染したトキソプラズマは、その体内組織でタキゾイト(急増虫体)として虫体数を増やし、宿主動物が特異免疫を発達させるとブラディゾイト(緩増虫体)として被嚢して、免疫機構による傷害を免れて生涯感染することになる⁶⁸⁾。タキゾイトの感染期には急性感染症として発熱や局所リンパ節の腫脹等がヒトでもみられるが、ブラディゾイトの感染期はまったくの潜伏感染であり、医原性(がん治療や臓器移植に伴う免疫機能低下や抑制)あるいは病原性(AIDS発

症等)の免疫機能の低下がない限りは症状がない。言い換えれば、免疫機能が低下しブラディゾイトがタキゾイトへと移行する再活性化が起こると、脳炎や網脈絡膜炎といった劇的な発症を招いて顕在化する。ネコ、ヒトを含めたさまざまな鳥獣はオーシストだけでなく、動物の組織に局在するブラディゾイトを経口的に取り込むことから感染することから、生肉や加熱の不十分な食肉の喫食を通じたトキソプラズマ感染は警戒されなければならない。

本来の奥山に棲息する野生鳥獣はネコ糞で汚染された自然環境とは無縁であるが、人里近くに出没する野生鳥獣では、その食肉部にトキソプラズマがブラディゾイトとして被囊している可能性が高い。ヒトのトキソプラズマ症としては、上記の急性期感染を後天性トキソプラズマ症として発症する危険性と、妊娠中に初感染が起こった場合に、胎盤を通じた胎児期の感染、すなわち先天性トキソプラズマ症の発生可能性を考えることになる^{62, 68)}。妊娠までにトキソプラズマに感染し体内にブラディゾイトをもつ慢性感染期にある妊婦は、胎児への胎盤感染の危険性をもたないが、最近の国内のヒトでのトキソプラズマ保有率は過去に比べ大きく減少していることから、母体の妊娠中における初感染機会、延いては胎児の先天性感染のリスクは大きく増加していることになる。妊娠早期の先天性感染は流産、死産の原因となり、中期～後期では小頭症や大頭症、脳内石灰化、視力障害の原因となる。また、出生時に発症がなくとも安心はできない。思春期に網脈絡膜炎を起こし視力障害を発症する潜在感染の危険性がある。家畜肉、野生鳥獣肉を問わず生肉の喫食は本症の感染リスクが高いことを自覚し^{27, 57)}、特に、妊娠までのところで感染経歴のない女性は、自身だけでなく胎児への感染危険性があることを考えた喫食行動が必要である。ネコ糞で汚染された土壌にも感染機会があるので、土いじりの際は手袋の着用、手洗いも徹底したい。妊娠時に感染状態を知る抗体検査は自費診療で行えるので、個人レベルでのリスク把握と行動管理には有用である。

実際に国内のイノシシやシカでの感染状況はどうだろうか。前述したように、ネコ糞(オーシスト)によって汚染された自然環境に出没する機会との因果関係があるので、検査対象がどのような育成環境にあったが決定的な重要性をもつ。野生動物と私たちの生活圏の共有が起こり、ジビエとしての利活用が推奨されていることを考えると、感染リスクは高いと考えた方が無難である。

以上のような状況であるから、具体的な感染率はほとんど意味をもたないとも言えるが、神戸市近郊のイノシシでは52.9% (9/17)の抗体陽性率を示し³³⁾、群馬県での血清学的検査では、イノシシの抗体陽性率は6.3% (11/175)、シカの抗体陽性率は1.9% (2/107)であった²⁴⁾。繰り返しになるが、家畜肉あるいは野生鳥獣肉を問わず加熱調理はすべきである^{27, 57, 62)}。

1-2. 住肉孢子虫症

平成23年6月17日付食安0617第3号「生食用生鮮食品による病因物質不明有症事例への対応について」において、生食用のヒラメの*Kudoa septempunctata*ならびに馬刺しの*Sarcocystis fayeri*が原因として考えられる有症事例を食中毒として扱うよう通知が出された^{14, 19, 41, 53)}。住肉孢子虫*Sarcocystis* spp.はさまざまな動物の筋肉の筋細胞内にシスト(隔壁構造が伸びるシスト壁に囲まれて多数のブラディゾイトが充満することから、特にサルコシストと呼ぶ)を作って寄生し、肉眼的に容易に見出されるものから光学顕微鏡レベルでの観察によって寄生が見出されるものまで、さまざまな種が区別されている(Fig. 1)。筋肉にサルコシストをもつ動物が中間宿主であり、その動物を捕食して、サルコシストが胃内消化で壊れて放出されたブラディゾイトが腸上皮内に侵入してシゾゴニーとガメトゴニーを起こす動物が終宿主である。後者はイヌやネコをはじめとした肉食動物である。ウマ寄生の住肉孢子虫*S. fayeri*による食中毒は、原虫がもつアクチン脱重合因子が下痢原性をもつことによるもので¹⁵⁾、冷凍や加熱などで死滅したサルコシストが胃液に暴露されると本蛋白質因子も不活化・分解されるが、そう



Fig.1 水牛の食道筋肉に寄生する *Sarcocystis fusiformis* のサルコシスト。このように肉眼でも容易に見つかる住肉孢子虫もいれば、光学顕微鏡レベルでの検査でないと見つからない種も多い。シカやイノシシに寄生する種は、しっかり見れば肉眼でも見つけれなくはないが、かなり難しいと考える方が無難である。

でない生存ブラディゾイトが詰まったサルコシストの場合には胃液を超えて腸管に到達して下痢原性を示すようになる⁴¹⁾。発症には閾値を超える一定数の生存ブラディゾイトが必要であり、上記の馬刺しの場合には、国内需要の急激な増加を受けて輸入馬が増え、かつ、その輸入馬に重度の住肉胞子虫寄生があったことで、広く国内で最近になって顕在化したと説明される¹⁴⁾。

これまでに調べられた国内産のウシ、シカ、イノシシに寄生する住肉胞子虫のいずれも、上記の下痢原性因子であるアクチン脱重合因子をもっていることから^{4, 28)}、獣肉喫食に伴う発症機会があるとすれば、重度の感染肉を生あるいは調理不十分で提供を受けた場合である。ウシでの感染率は品種により異なり、32.3% (交雑種)、53.8% (黒毛和種)、ホルスタイン種 (94.3%) であったが²⁵⁾、

この感染率の違いは動物としての感染感受性の違いというより、飼育期間を大きく反映していると推測できる。すなわち、終宿主が飼育環境を汚染すること、すなわちオーシストへの暴露機会を反映した数字であろう。生の牛肉喫食に伴う住肉胞子虫を原因とする食中毒事例の発生は報告がない。感染度が低く、発症に必要な閾値を超えたブラディゾイトが腸まで到達できていないか、あるいは、冷凍・加熱が十分に行われているか、いずれかであろう。イノシシ肉やシカ肉にも複数種の住肉胞子虫の感染が確認され^{5, 23, 26, 28, 42-44)}、また、牛肉と同様の高い感染率が確認されている。肉眼的に確認できない大きさではないが、食肉ブロックとして入手した場合には見逃してしまう大きさである。生肉での喫食は避けることが肝要である。

2. 線虫症

蠕虫のうち、雌雄異体で雄虫と雌虫が区別され、また、消化管が口から始まり肛門 (雄虫では生殖器系と同一の開口部となることからクロアカもしくは総排泄口と呼ぶ) まで貫通していることは、吸虫類や条虫類と異なっている。ここでは、顎口虫症、トキソカラ症、旋毛虫症について取り上げる。

2-1. 顎口虫症

国内のイノシシの胃壁には、肉眼でも観察できるドロレス顎口虫 (*Gnathostoma doloresi*) が多数寄生し、寄生部位が瘤となっていることが多い³⁰⁾。1つの瘤には、複数の雄虫と雌虫が頭端部を埋めている (Fig. 2)。イノシシを終宿主とするこの線

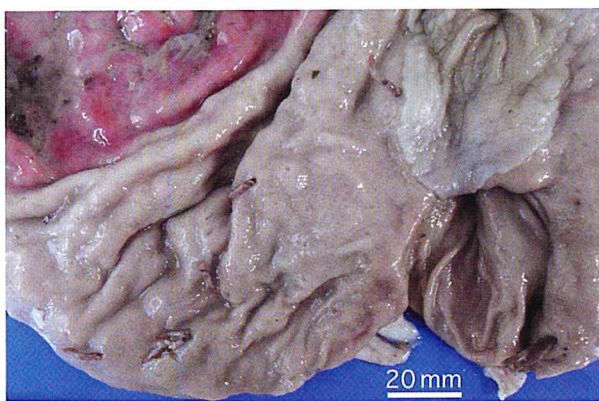


Fig.2 イノシシの胃粘膜に寄生するドロレス顎口虫。たくさんの棘を備えた頭球を粘膜深くに穿孔させることから、寄生部位の粘膜は瘤状に厚く固くなる。非固有宿主であるヒトでの寄生は幼虫移行症で、皮膚に線状爬行疹が見られる。

虫は、ケンミジンコを第1中間宿主とし、ヤマメなどの溪流魚を第2中間宿主としており、また、第2中間宿主を食べたヘビなどが待機宿主 (成虫には発育できないが、幼虫が生残できる宿主) となっている。ヒトでの感染は、第2中間宿主もしくは待機宿主の生肉の喫食で引き起こされ、皮膚に幼虫の移動に伴う好酸球性炎あるいはその名残である褐色化が線状に連なる発疹病変 (線状爬行疹) が出現する⁶⁸⁾。イノシシの感染も第2中間宿主もしくは待機宿主の経口摂取で起こるが、時に、幼虫の一部が最終寄生部位である胃壁から離れた筋肉組織内に迷入して生存することがあり、ヒトでの顎口虫症、すなわち皮膚爬行症の原因となる可能性がある。国内にはイヌ、ネコを終宿主とする有棘顎口虫 (雷魚などが第2中間宿主)、イタチを終宿主とする日本顎口虫 (ドジョウや他の淡水魚が第2中間宿主) も分布し、患者の発生が報告されている^{1, 3, 11, 37, 48)}。

2-2. トキソカラ症、

イヌ回虫 (*Toxocara canis*) やネコ回虫 (*Toxocara cati*) は、その寄生虫名にもあるようにイヌおよびネコをそれぞれの終宿主とする腸管寄生虫である。糞便と共に外界に出た受精卵は25℃程度の適温適湿で3~4週間かけて幼虫形成卵となって感染性をもつようになる。終宿主に入った幼虫形成卵は、胃液に曝されて卵殻が割れ、幼虫は腸壁から血流に乗って肝臓に入り、さらに心臓を通過して肺へと移動すると、肺胞に出て呼吸器系を

上行して再嚥下され(気管型移行と呼ぶ)、最終寄生部位である小腸腔内で成虫へと成長する。感染を繰り返して宿主に獲得免疫が発達してくると、肝臓や肺あるいは他の臓器において肉芽応答で捕捉される結節病変が主となり気管型移行ができなくなる。また、イヌやネコといった固有宿主以外の動物、すなわちヒトを含めた非固有宿主に幼虫形成卵が経口的に取り込まれると、肝臓や肺あるいは他の全身臓器に結節病変をつくるトキソカラ症となる^{2, 13, 20, 35, 56, 65, 67}。ヒトの眼球内に幼虫が入ることで虫道や炎症による網膜の破壊が起こり、視力障害を引き起こされるトキソカラ症はよく知られている^{2, 47}。国内でのトキソカラ症患者の発生は、実は、生活環境中の幼虫形成卵の経口的取り込みというより、地飼い鶏の生刺しとの関係が深い⁶⁵。一時期、幼稚園や市街地の公園の砂場がイヌやネコの排便場所となってトキソカラ虫卵に高度に汚染されている事実が判明し、夜間にはシートで被覆したり、砂の熱処理が取り組まれたが⁶⁰、患者の発生実態を考えた場合には、家畜家禽肉の喫食に際しての適正な加熱の必要性が認知されることも重要であった。トキソプラズマの項でも述べたが、野生鳥獣においてイヌ・ネコによるトキソカラ虫卵汚染環境への暴露機会は如何ほどであろうか。人里近くに出没する機会のある野生鳥獣は十分に待機宿主となって、その生肉の喫食は感染リスクをもつ。また、キツネのイヌ回虫寄生、タヌキのタヌキ回虫(*Toxocara tanuki*)寄生はよく知られており、これらの幼虫が野生鳥獣の筋肉に潜りこんでいる可能性もある。



Fig.3 旋毛虫の筋肉被囊幼虫の組織像(実験感染マウス, HE染色)。写真では、宿主由来のナースセルの中の幼虫1隻がいくつかの断面として観察される。本例では、被囊した幼虫周囲に炎症細胞の浸潤はない。

2-3. 旋毛虫症(トリヒナ症)

旋毛虫はさまざま動物を宿主とし、その小腸上皮細胞層に成虫が寄生して産み出された新生幼虫は血流やリンパ流に乗り全身へ播種されて、筋細胞に侵入するとそこで幼虫として被囊する(Fig. 3)。言い直せば、宿主細胞の筋細胞を寄生に都合のよいナースセルとして再分化させ、宿主の免疫攻撃を避ける防壁へと仕立てる。主要な種としては、世界中の家畜での寄生が問題となる*Trichinella spiralis*、広く世界の野生鳥獣などでの寄生が確認されている*Trichinella pseudospiralis*(被囊化傾向が弱い)、北海道を含めた北極圏の動物、典型的にはシロクマやセイウチなどに寄生がみられる*Trichinella nativa*、アフリカ大陸に分布する*Trichinella nelsoni*、欧州から西アジアの温帯地帯の野生動物に寄生する*Trichinella britovi*などが知られている⁶⁸。それぞれの分布地での伝播が効率よく行われるように適応が起こっており、例えば北極圏に分布する*T. nativa*は冷凍肉の中でも死滅せずに感染性を維持できる。

1974年、国内で初となる旋毛虫症の集団発症が青森県岩崎村であったことが報告された。狩猟したツキノワグマ肉を加熱不十分なまま喫食した20名のうち15名が悪心、発熱、腹痛、眼瞼浮腫や皮疹といった症状を呈した⁶⁴。その後、1980年の札幌定山溪における旅館での集団発症(クマ肉喫食者94名中12名が発症)、1982年の三重県における飲食店での集団発症(クマ肉喫食者6名中4名が発症)、また、1985~86年には石川県、鳥取県、山形県で各1名の疑似症例の発生が続いた^{58, 63}。本州での確実な旋毛虫分布の南限は現在のところ山形県のタヌキでの確認であり⁴⁵、北海道では、1957年に札幌市内の野犬での確認、小樽近郊の手稲山のキツネでの高頻度の感染(13.8% [44/319])、エゾタヌキ(7.8% [6/77])やヒグマ(3.2% [4/126])での感染が報告されている^{16, 66}。世界的にみれば家畜、特にブタの旋毛虫寄生とその獣肉を調理不十分なまま喫食することによる旋毛虫症の発生が大きな問題となってきたが、近年は家畜肉を原因食とする感染は激減し、欧州ではイノシシ肉、東南アジアではイヌ肉や野生鳥獣肉が原因食となっている。

3. 吸虫症

吸虫と条虫は扁形動物に分類され、基本的に背

腹方向に扁平である。吸虫はしばしば木の葉や竹

の葉などに例えられ、多くの種では口吸盤と腹吸盤を備える雌雄同体（雄性生殖器と雌性生殖器が同一虫体内に備わる。例外は住血吸虫類。）である。吸虫は巻貝が第1中間宿主、甲殻類やその他の動物が第2中間宿主、時に待機宿主が生活環の維持に関わっており、鳥獣肉喫食に伴うヒトでの発症は、成虫の寄生に伴う終宿主としての病態になる。

3-1. 肺吸虫症

肺吸虫はコーヒー豆のような形態をもつ肉厚な虫体をもち、終宿主の肺に虫嚢を作ってその中で受精、産卵する³⁰⁾。虫嚢は気管支に瘻管で繋がっており、産出された虫卵は呼吸器系を上行して喀痰として、あるいは嚥下されて便として外界に出ることになる。国内に分布し人獣共通感染症の原因となる肺吸虫は、ウェステルマン肺吸虫 (*Paragonimus westermani*)の単為生殖系（3倍体）と有性生殖系（2倍体）、宮崎肺吸虫 (*Paragonimus miyazakii*)で、ウェステルマン肺吸虫3倍体を例に取れば、第1中間宿主はカワニナ、第2中間宿主はモクズガニであり、イノシシやシカが待機宿主となる^{18, 31, 34, 40, 54, 55)}。終宿主はヒト、イヌ、ネコである。ヒトでの患者発生がないとその分布が忘れられがちであるが、野生化したイヌやネコが保虫宿主となるので寄生虫症の浸淫地としては維持される⁴⁹⁾。ヒトでの感染はモクズガニ調理に際してのまな板や包丁のメタセルカリア（被囊幼虫）汚染、あるいはイノシシ肉の不完全調理肉（筋肉組織内に幼虫が潜む）の喫食による^{30, 68)}。サワガニに被囊するメタセルカリアはウェステルマン肺吸虫2倍体や宮崎肺吸虫の感染源となり、前述したようなまな板や包丁などの調理器具の汚染がヒトへの感染機会をつくる。ウェステルマン肺吸虫3倍体のヒトでの感染は虫嚢形成に伴う血痰を伴う発咳、同2倍体や宮崎肺吸虫症では血胸や胸水貯留などが症状として現れやすい傾向がある⁶⁸⁾。

3-2. 肝蛭症

肝蛭類としては有性生殖を行う *Fasciola hepatica* と *Fasciola gigantica* が世界的には広く分布するが、東アジア一帯には単為生殖型で精子形成が見られない *Aspermic Fasciola* sp.（遺伝子型としては *F. hepatica* と *F. gigantica* のハイブリッドが起源）が分布している¹⁰⁾。日本や韓国には専ら *Aspermic Fasciola* sp. が分布し、本州以南ではヒメモノアラガイが、北海道ではコシダカモノアラガイが中間宿主となり、そこで幼生生殖して産出

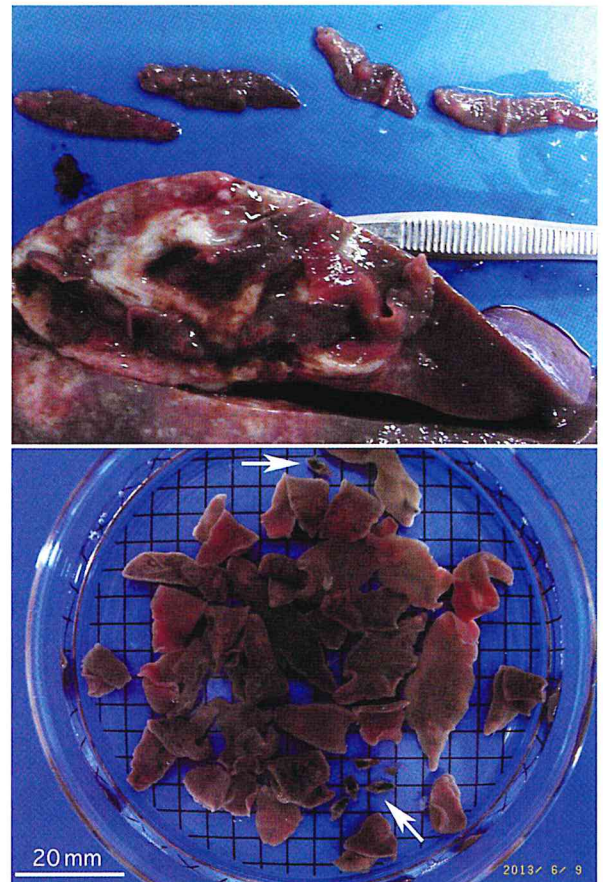


Fig.4 日本産肝蛭 (*aspermic Fasciola* sp.) が寄生するシカ肝臓。(A) 断面を入れると、肥厚拡大した胆管の中にたくさんの成虫が寄生していた。(B) 取り出した多数の肝蛭と、同じ胆管に混合感染していた5隻の楕形吸虫 (矢印) を示す。

されるセルカリアは貝から湧出して水草などに付着して被囊する。このステージをメタセルカリアと呼んでいる。メタセルカリアが付着する水草や稲ワラを食べたヒトや偶蹄類（ウシ、シカ、ヤギ、イノシシ等）では、空腸で脱囊し幼虫は腸管粘膜を貫通して腹腔に出て、肝臓被膜から肝臓実質に入って発育し、最終的には総胆管内に移行して成虫となる。ヒトでの病害は、肝臓被膜を貫通して肝臓実質に入る際の出血を伴う被膜炎、肝臓実質内の移動に伴う物理的組織破壊などがあげられる⁶⁸⁾。固有宿主である偶蹄類では、成虫寄生による胆管上皮の剥離、小胆管増生を伴う胆管壁の強度の炎症、石灰沈着などがある (Fig. 4)。シカやウシ、イノシシの肝臓を生レバーとして喫食するような場合、寄生がまだ初期であると肝臓実質内に入った肝蛭の若虫の存在に気づくことは難しい。慢性になって、肝内胆管の肥厚や石灰化など肉眼的にも顕著な病変が現れて注意されることになるが、病変部分だけでなく、肝臓全体として危険性が潜んでいる。生レバーの喫食はしないことが基本である。

3-3. 槍形吸虫症

槍形吸虫には *Dicrocoelium dendriticum* と *Dicrocoelium chinensis* が区別されるが、両者の違いは2つの精巢が竹の葉状の虫体の中で縦に並んで配置されるか、横に並んで配置されるかにあり、少なくとも実体顕微鏡下で観察しないと両種の違いは気づかない。両種は国内各地のシカやカモシカの胆管に寄生しているが、肝蛭症のような胆管病変は見られない³⁹⁾。このことで、実際の感染を見落としがちであるが、肝臓に剖面を入れ、バケツに溜めた水の中で肝臓を圧すると、胆管から多数の虫体が押し出されて来て驚くこともある (Fig. 5)。第1中間宿主は陸棲貝のヤマホタルガイ、第2中間宿主はクロヤマアリなどのアリ類である。感染したアリ類は草の先に登り、草と共に経口的に摂食されることで反芻動物に感染するが、国内で報告のある11例の人体例がどのようなかたちで槍形吸虫に感染する機会があったのかは判然としない⁶⁸⁾。なお、経口的に体内に入ったメタセルカリアは空腸までのところで脱囊し、胆管口から最終寄生部位の胆管に入り成育する点は肝蛭とは対比的である。鳥獣肉喫食自体が槍形吸虫症感染を引き起こす要因となるとは単純

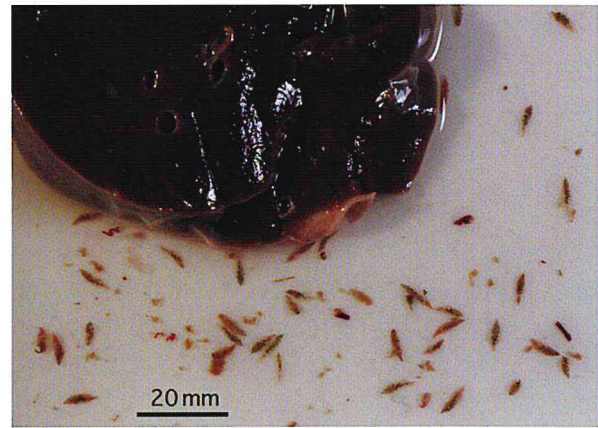


Fig.5 槍形吸虫単独感染のシカ肝臓。槍形吸虫単独感染では、胆管の肥厚などの所見はなく、一見したところ健常な肝臓と見える。肝臓に剖面を入れ、水の中で洗うと、時に多数の槍形吸虫の寄生が見つかる。

化できないが、シカの胆管に入ったばかりの幼若虫は再度胃液をめぐりヒトの胆管に入るかもしれない。一見すると健常に見える肝臓の不適切な取り扱いによっては、すなわち食肉部との直接的あるいは間接的な接触があると、喫食の際に前述のような感染可能性を秘め、あるいは異物として指摘されることになる。

4. 条虫症：マンソン孤虫症

吸虫と共に扁形動物を構成する条虫は、頭節とストロビラ (片節と呼ぶ雌雄生殖器官を備えた構成単位が接続する) から構成され、頭節に備わる宿主組織への吸着器官は吸盤 (円葉類) あるいは吸溝 (擬葉類) である。生殖孔の開口が側方か (円葉類) 腹側か (擬葉類)、子宮が袋状で産卵口をもたないか (円葉類)、管状で産卵口に続くか (擬葉類) など、両者を分ける基準はいくつかある。北海道で人獣共通寄生虫症を引き起こすエキノコックスやイヌの瓜実条虫、ネコの猫条虫は円葉類であり、田園風景の広がる自然豊かな環境で屋外飼育されるイヌやネコでしばしば感染しているマンソン裂頭条虫は擬葉類である。ここで取り上げるマンソン孤虫症 (*Spirometra erinaceieuropaei*) は、マンソン裂頭条虫の幼虫期 (プレロセルコイド) 寄生であり、ヒトなどの非固有宿主 (肉食動物が終宿主となり固有宿主と呼ばれる) では、皮下の移動性腫瘍として、あるいはその他の臓器に局在して問題化する。中枢神経系への迷入も起こる点が問題を深刻化させる⁶⁸⁾。

マンソン裂頭条虫はイヌやネコといった家畜、タヌキやキツネなど野生肉食動物の小腸で成虫と

なり、便と共に外界に排出された虫卵は水中で細胞分裂してコラシジウムを形成し、孵化すると第一中間宿主 (ケンミジンコ) に捕食されてその体内でプロセルコイドへと発育する。ヒトを含めたさまざまな動物 (両生類、爬虫類、鳥類、哺乳類) がプロセルコイドに汚染された水を飲むことで感染して第二中間宿主となり、その体内、特に皮下や筋肉でプレロセルコイドとして発育して体内移行を続ける。プレロセルコイドをもつカエルを捕食したヘビの体内でもプレロセルコイドは生き延び待機宿主となり、終宿主に捕食されて伝播される機会を待つこともよく知られる。第二中間宿主あるいは待機宿主となる動物はさまざま、野生鳥獣も捕食行動により感染しており、その食肉利用がヒトでの感染を引き起こす機会となり得る。すなわち、ヒトでのマンソン孤虫症 (プレロセルコイド寄生) は、第二中間宿主としての感染でもあり得るし (プロセルコイドをもつケンミジンコを含んだ水が感染源)、待機宿主としての感染かもしれない (プレロセルコイドをもつ動物肉の喫食)。プレロセルコイドは長い紐状になって組織に紛れていたり、米粒状に丸まっていたりして、

その感染は見落とされかねない。鳥獣肉の冷凍もプレロセルコイドの失活に有効であるが、しっか

りと加熱することを心懸けたい。

5. 節足動物寄生：疥癬（カイセン）

疥癬は、皮膚でのセンコウヒゼンダニ(*Sarcoptes scabiei*)寄生により引き起こされ、皮膚組織での虫道形成に伴う発赤や搔痒、重症化による角化亢進などが発症の特徴となる。ヒトでの感染とともに、さまざまな動物での感染、特に現在、世界中の野生動物での疥癬の拡がりが問題化している^{6, 7, 61)}。国内でも同様に、過去には局所的であった野生動物(キツネ、タヌキ、イノシシ、シカ、カモシカなど)での発症個体の目撃が、国内各地において地域全体のさまざまな動物を巻き込んだ流行として見られるようになってきている^{22, 29, 50)}。センコウヒゼンダニは宿主特異性が高く、動物種ごとに寄生する株に違いがあるとされてきたが、近年の野生動物での流行は動物種を超えた寄生が可能な株によって引き起こされている可能性を示唆している。和歌山県のタヌキでの疥癬に注目した研究では、少なくとも2系統のセンコウヒゼンダニが地区単位で流行的伝播をしつつ、獲得免疫が発達していない処女地に感染を拡げることで、県南部全域として野生動物での疥癬流行の大きなピークをつくっていた²²⁾。野生動物での疥癬は、免疫機能が低下した人体での全身性の重度の疥癬(ノルウェー疥癬)に似て、体表は脱毛して、皮膚の肥厚と角化亢進が激しく皮膚表面は蛻殻のようであ



Fig.6 センコウヒゼンダニ寄生による疥癬が見られるタヌキ。重度の疥癬で脱毛し皮膚の肥厚と角化亢進が激しい。山口県美祢市の民家近くで撮影された。

る(Fig. 6)。この鱗屑には多数の虫体がパックされており、接触機会をもつと新たな感染機会となる。動物からヒトへの感染は一時的であり、持続感染へとは発達しないが、皮膚に虫道をつくり発赤と搔痒の原因となる。鳥獣肉喫食に際しての問題を引き起こすわけではないが、食肉処理場へ疥癬を持ち込むことは作業員の健康に影響する懸念がある。また、一般生活の中でも、疥癬をもつことが明らかな野生動物との接触機会をもたないようにするようにしたい。

おわりに

2016年12月3日に山口県獣医師会主催の公衆衛生講習会で「ジビエ(野生鳥獣の肉)料理を楽しむ前に知っておくこと」と題した講演を行い、その内容を本稿に織り込んだ。私たち著者2人の北海道大学(大林正士教授, 神谷正男教授)あるいは弘前大学の恩師たち(山口富雄教授, 神谷晴夫教授)が深く関わりをもってきた旋毛虫症は「万が一」と断り書きの上で敢えて講演でも触れたが(限りなく発生可能性は低い、リスクとしては認知され注意されるべきところと考えた)、同月の中旬になり、11月下旬から12月上旬にかけて水戸市内の飲食店で不完全調理のクマ肉を食べた15名が旋毛虫症を発症とのニュースが巷間の話題となっていた。この35年ぶりの国内感染事例は、野生鳥獣肉喫食に伴う寄生虫症の集団発症の機微を垣間見せてくれる。自然の中で生活する野生鳥獣の寄生虫をはじめとした感染症の動向は把握が難しく、また、多くの場合、食肉は適切に調理されて、例え寄生虫の存在があっても何事も気づかれぬままに美味しい食肉の1つとして記憶されるに過ぎない。通常ではあり得ない小さな行き違いが重なると、重大な人獣共通感染症事例が何処でも現実となる可能性がないわけではない。本稿でも繰り返し強調したが、野生鳥獣肉喫食に際しての加熱調理が重要な理由は「万が一」があり得るからである。流通と消費の拡大があれば、全体としては何らかの問題事例発生の可能性は高くなる。野生鳥獣肉消費者の感染リスクの回避は「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針」や野生鳥獣肉処理マニュアルですべてが尽くされているわけではなく、消費者自身の自覚と確実な加熱調理があればこそ達成できるものである。このことを今一度強調しておきたい。

謝 辞

平成28年度獣医公衆衛生講習会を市民公開講座として準備いただいた山口県獣医師会（山野洋一会長，中越一郎副会長，田中尚秋常務理事，度会雅久公衆衛生部会長）の皆様には厚く御礼申し上げます。講習会にご参加いただいた方々との有意義な意見交換の機会をもつことができました。

参考文献

- 1) 赤羽啓榮：顎口虫症 (1)剛棘顎口虫・ドロレス顎口虫：475-495. 日本における寄生虫学の研究7, 目黒寄生虫館, 東京, 1999.
- 2) Akao, N., and Ohta, N. : Toxocariasis in Japan. *Parasitol. Int.*, 56: 87-93, 2007.
- 3) 安藤勝彦：顎口虫症 (2)日本顎口虫：497-509. 日本における寄生虫学の研究7, 目黒寄生虫館, 1999.
- 4) 青木佳代・石川和彦・林 賢一・斎藤守弘・小西良子・渡辺麻衣子・鎌田洋一：シカ肉中の *Sarcocystis* が原因として疑われた有症苦情. 食品微生物誌, 30: 28-32, 2013.
- 5) 新井陽子・田中成幸・斎藤守弘: 野生のホンシュウジカにみられた *Sarcocystis sybillensis* と *S. wapiti*. 動物の原虫病, 25: 13-16, 2010.
- 6) Arlian, L. G. : Biology, host relations, and epidemiology of *Sarcoptes scabiei*. *Ann. Rev. Entomol.*, 34: 139-161, 1989.
- 7) Currier, R. W., Walton, S. F. and Currie, B. J. : Scabies in animals and humans: History, evolutionary perspectives, and modern clinical management. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1230: e50-e60, 2012.
- 8) 捕獲鳥獣食肉利用促進検討委員会 (平成22年度、委員長羽山伸一)：野生鳥獣被害防止マニュアル：捕獲獣肉利活用編 シカ、イノシシ: 1-160. 捕獲鳥獣食肉利用促進協議会発行, 農林水産省生産局 (農業生産支援課鳥獣被害対策室) 監, 2011. [http://www.maff.go.jp/j/seisan/tyozyu/higai/h_manual/h23_03/]
- 9) Hara, Y., Terada, Y., Yonemitsu, K., Shimoda, H., Noguchi, K., Suzuki, K. and Maeda, K. : High prevalence of hepatitis E virus in wild boar (*Sus scrofa*) in Yamaguchi Prefecture, Japan. *J. Wildl. Dis.*, 50: 378-383, 2014.
- 10) 市川まどか・板垣 匡：アジアにおける単為生殖型肝蛭の伝播. 獣医寄生虫誌, 71-79, 2013.
- 11) Ishida, K., Kubota, T., Matsuda, S., Manabe, M. and Yoshimura, K. : A human case of gnathostomiasis nipponica confirmed indirectly by finding infective larvae in leftover largemouth bass meat. *J. Parasitol.*, 89: 407-409, 2003.
- 12) 壁谷英則・佐藤真伍・丸山総一：野生動物の食用利用と人獣共通感染症. 日獣会誌, 69: 277-283, 2016.
- 13) 釜井莉佳・松尾加代子・後藤判友・高島康弘・吉田彩子・丸山治彦・平 健介・赤尾信明：牛におけるトキソカラ属回虫およびブタ回虫幼虫に対する抗体保有状況調査. 獣医寄生虫誌, 13: 1-6, 2014.
- 14) 鎌田洋一： *Sarcocystis fayeri* を含んだ馬肉による食中毒. 食品衛研, 61: 21-27, 2011.
- 15) Kamata, Y., Saito, M., Irikura, D., Yahata, Y., Ohnishi, T., Bessho, T., Inui, T., Watanabe, M. and Sugita-Konishi, Y. : A toxin isolated from *Sarcocystis fayeri* in raw horsemeat may be responsible for food poisoning. *J. Food Prot.*, 77: 814-819, 2014.
- 16) Kanai, Y., Inoue, T., Mano, T., Nonaka, N., Katakura, K. and Oku, Y. : Epizootiological survey of *Trichinella* spp. infection in carnivores, rodents and insectivores in Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Vet. Res.*, 54: 175-182, 2007.
- 17) Kawamura, K., Kobayashi, Y., Takahashi, K., Souda, K., Sumiyoshi, S., Kawata, K., Takahashi, Y., Makino, S., Noritake, H., Nakamura, H., Abe, N. and Arai, M. : Three cases of hepatitis E after eating deer meat or wild boar liver in West Shizuoka, Japan. *Kanzo*, 51: 418-424, 2010.
- 18) Kawanaka, M., Sugiyama, H. and Kato, K. : Paragonimiasis acquired by eating boar meat: current status in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 52: -49, 1999.
- 19) 小西良子：病因物質不明有症事例：提言までの道のり. 食品衛研, 61: 21-27, 2012.

- 20) 近藤力王至：トキソカラ感染症：465-474. 日本における寄生虫学の研究7, 目黒寄生虫館, 1999.
- 21) 厚生労働省医薬食品局食品安全部：野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針（ガイドライン）について. 食安発1114号1号, 厚生労働省, 2014. [<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzendu/0000065509.pdf>]
- 22) Makouloutou, P., Suzuki, K., Yokoyama, M., Takeuchi, M., Yanagida, T. and Sato, H. : Involvement of two genetic lineages of *Sarcoptes scabiei* in a local mange epizootic of wild mammals in Japan. *J. Wildl. Dis.*, 51: 69-78, 2015.
- 23) 成澤昭徳・横井 智・河合和枝・作井睦子・菅原憲治：野生エゾシカにみられた *Sarcocystis*. 日獣会誌, 61: 321-323, 2008.
- 24) Matsumoto, J., Kako, Y., Moria, Y., Kabeya, H., Sakano, C., Nagai, A., Maruyama, S. and Nogami, S. : Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild boars (*Sus scrofa leucomystax*) and wild sika deer (*Cervus nippon*) in Gunma Prefecture, Japan. *Parasitol. Int.*, 60: 331-332, 2011.
- 25) 松尾加代子・佐藤 宏：岐阜県内でと畜された牛の住肉胞子虫調査. 日獣会誌, 65: 791-794, 2012.
- 26) Matsuo, S., Morita, T., Imai, S. and Ike, K. : Prevalence of *Sarcocystis* in Japanese sika deer (*Cervus nippon centralis*) in Hyogo Prefecture, Japan. *J. Vet. Epidemiol.*, 18: 124-129, 2014.
- 27) 松尾加代子・上津ひろな・高島康弘：生食ブームに潜むトキソプラズマ症のリスク：食肉におけるトキソプラズマ汚染の現状. 獣医寄生虫誌, 14: 93-96, 2015.
- 28) 松尾加代子・上津ひろな・高島康弘・阿部仁一郎：ホンシュウジカ *Cervus nippon centralis* およびニホンイノシシ *Sus scrofa leucomystax* における住肉胞子虫の高寄生率とそれらの筋肉より分離された *Sarcocystis* spp. と *Hepatozoon* sp. の遺伝子解析. 野生動物医誌, 21: 35-40, 2016.
- 29) 松山亮太・浅野 玄・鈴木正嗣：センコウヒゼンダニ (*Sarcoptes scabiei*) 集団における多座位マイクロサテライト解析. 獣医寄生虫誌, 14: 102-109, 2014.
- 30) 宮崎一郎・藤 幸治：図説人畜共通寄生虫症：1-816. 九州大学出版会, 福岡, 1988.
- 31) Miyazaki, I. and Hirose, H. : Immature lung flukes first found in the muscle of the wild boar in Japan. *J. Parasitol.*, 62: 836-837, 1976.
- 32) 三代俊治：E型肝炎ウイルスに関する最近の話題：我国に於いて近頃目覚ましき動物から人への感染. ウイルス, 54: 243-248, 2004.
- 33) 村田浩一：神戸市近郊の野生イノシシのトキソプラズマ抗体保有状況. 日獣会誌, 41: 811-813, 1988.
- 34) Nagayasu, E., Yoshida, A., Hombu, A., Horii, Y. and Maruyama, H. : Paragonimiasis in Japan: a twelve-year retrospective case review (2001-2012). *Intern. Med.*, 54: 179-186, 2015.
- 35) 中村 (内山) ふくみ：国内におけるトキソカラ症の実態. モダンメディア, 61: 374-382, 2015.
- 36) 中根邦彦・伊藤寛将・磯谷健治・板倉裕子・糟谷慶一・小林慎一：2010年4月から2014年11月の岡崎市におけるジビエ (イノシシおよびシカ) のE型肝炎ウイルス感染状況. 食衛誌, 56: 252-255, 2015.
- 37) Nawa, Y., Maruyama, H. and Ogata, K. : Current status of gnathostomiasis dorolesi in Miyazaki Prefecture, Japan. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 28 (Suppl.): 11-13, 1997.
- 38) 大谷勝美：鹿肉の生食による腸管出血性大腸菌 (O157:H7) 感染事例について—山形県. IASR, 18: 87, 1997.
- 39) Ohtori, M., Aoki, M. and Itagaki, T. : Distinct distribution of *Dicrocoelium dendriticum* and *D. chinensis* in Iwate Prefecture, Japan, and a new final host record for *D. chinensis*. *J. Vet. Med. Sci.*, 76: 1415-1417, 2014.
- 40) 大内政嗣・井上修平・尾崎良智・藤田琢也・上田桂子・花岡 淳：シカ生肉が感染源と考えられたウエステルマン肺吸虫の1例. 日呼外会誌, 28: 170-176, 2014.
- 41) 斉藤守弘： *Sarcocystis fayeri* 感染馬肉による食中毒. モダンメディア, 58: 351-358, 2012.
- 42) 斉藤守弘・柴田 穰・東 久・板垣 博： *Sarcocystis cruzi* シストの牛筋肉における寄生分布. 日獣会誌, 51: 453-455, 1998.
- 43) 斉藤守弘・柴田 穰・久保正法・板垣 博：野生イノシシにおける *Sarcocystis* 感染. 日獣会誌, 51: 679-682, 1998.
- 44) 斉藤守弘・柴田 穰・久保正法・板垣 博：野生ホンシュウジカおよびエゾシカにみられた住肉胞子虫. 日獣会誌, 51: 683-686, 1998.

- 45) Saito, S. and Yamaguchi, T. : *Trichinella spiralis* in a raccoon dog, *Nyctereutes procyonoides viverrinus*, from Yamagata Prefecture, Honshu, Japan. *Jpn. J. Parasitol.*, 34: 311–314, 1985.
- 46) Sasaki, Y., Goshima, T., Murakami, M., Haruna, M., Ito, K. and Yamada, Y. : Prevalence and antimicrobial susceptibility of foodborne bacteria in wild boars (*Sus scrofa*) and wild deer (*Cervus nippon*) in Japan. *Foodborne Pahtog. Dis.*, 10: 985–991, 2013.
- 47) 佐藤 宏. 2005. 人獣共通感染症としての回虫症—アライグマ回虫症を中心に, モダンメディア 51: 177–186, 2005.
- 48) Sato, H., Kamiya, H. and Hanada, K. : Five confirmed human cases of gnathostomiasis nipponica recently found in northern Japan. *J. Parasitol.*, 78: 1006–1010, 1992.
- 49) Sato, H., Suzuki, K., Osanai, A. and Aoki, M. : *Paragonimus westermani* and some rare intestinal trematodes recovered from raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*) introduced recently on Yakushima Island, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 68: 681–687, 2006.
- 50) 柴田明子・神田栄次・今井壯一: 疥癬—とくに野生動物における疥癬の現状. 獣医寄生虫誌, 2: 1–12, 2003.
- 51) Shimizu, Y., Yamada, M., Tatematsu, H., Ishihara, M., Morita, K., Ishiguro, Y., Katano, Y., Goto, H., Takahashi, M. and Okamoto, H. : Four cases of hepatitis E after eating wild boar meats in Aichi, Japan. *Kanzo*, 47: 465–473, 2006.
- 52) 須藤京子: 鹿肉のさしみによるサルモネラ食中毒. 食品衛生誌, 29: 346–347, 1988.
- 53) Sugita-Konishi, Y., Sato, H., and Ohnishi, T. : Novel foodborne disease associated with consumption of raw fish, olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Food Safety*, 2: 141–150, 2014.
- 54) Sugiyama H., Shibata, K., Kawakami, Y., Arakawa, K., Morishima, Y., Yamasaki, H., Gokuden, M., Iwakiri, T. and Fukumori, J. : Paragonimiasis due to the consumption of wild boar meat in Japan: contamination levels of lung fluke larvae in muscle samples of wild boars caught in Kagoshima Prefecture. *Jpn. J. Inf. Dis.*, 68: 536–537, 2015.
- 55) 杉山 広・柴田勝優・荒川京子・森嶋康之・山崎 浩・川上 泰・御供田睦代: シカ肉を介したウエステルマン肺吸虫症の感染リスク. *IASR*, 37: 36, 2016.
- 56) 平 健介: 鶏肉に寄生するネコ回虫幼虫の人への感染リスク. 獣医寄生虫誌, 13: 27–32, 2014.
- 57) 高島康弘: 反芻家畜におけるトキソプラズマ感染率と感染経路. 獣医寄生虫誌, 13: 80–85, 2014.
- 58) 手林明雄・村越敏雄・箭原 修・相川忠弘・阿部庄作・村尾 誠・神谷晴夫・神谷正男・大林正士: 長期間冷凍された熊肉によって集団発生した旋毛虫症. 医事新報, 2971: 46–49, 1981.
- 59) Tei, S., Kitajima, N., Takahashi, K. and Mishiro, S. : Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*, 362: 371–373, 2003.
- 60) 宇賀昭二: 人獣共通寄生虫症の疫学. 獣医寄生虫誌, 14: 47–57, 2015.
- 61) Walton, S. F., Holt, D. C., Currier, B. J. and Kemp, D. J. : Scabies: new future for a neglected disease. *Adv. Parasitol.*, 57: 309–377, 2004.
- 62) 渡邊智美・永宗喜三郎: トーチの会とその活動: 母親たちの願いから啓発活動へ. 獣医寄生虫誌, 13: 110–114, 2014.
- 63) 山口富雄: 日本における旋毛虫ならびに旋毛虫症: 1-560. 南江堂, 東京, 1989.
- 64) 山口富雄・高田伸弘・八木沢誠・稲葉孝志・小山内春己・花田勝美・村上芳郎・佐々木義樓・後藤昭平・大淵宏道・遠藤尚和・照井良彦: わが国で初めて発症をみた旋毛虫症について. 医事新報, 2668: 16–21, 1975.
- 65) 山本徳栄: 食品媒介によるトキソカラ症. 食品微生物誌, 31: 1–12, 2014.
- 66) Yimam, A. E., Oku, Y., Nonaka, N., Sakai, H., Morishima, Y., Matsuo, K., La Rosa, G., Pozio, E., Yagi, K. and Kamiya, M. : First report of *Trichinella nativa* in red foxes (*Vulpes vulpes schrencki*) from Otaru City, Hokkaido, Japan. *Parasitol. Int.*, 50: 121–127, 2001.
- 67) 吉田彩子・丸山治彦: 人獣共通感染症としての動物由来回虫症. 獣医寄生虫誌, 13: 21-25, 2014.
- 68) 吉田幸雄・有園直樹: 図説人体寄生虫学, 第7版: 1–312. 南山堂, 東京, 2006.

総 説

牛白血病ウイルス感染症と農場における感染対策

目堅博久¹⁾

[2016年11月21日受付・受理]

REVIEW

Bovine leukemia virus infection and control measures in the field

Hirohisa MEKATA

Organization for Promotion of Tenure Track, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan

ABSTRACT

Bovine leukemia virus (BLV) is the etiological agent of enzootic bovine leukosis (EBL), which is characterized by fatal lymphosarcoma. According to a recent survey, approximately 30% of dairy and beef cattle in Japan are infected with BLV. Although many BLV-infected cattle remain asymptomatic carriers of the virus, approximately 30% suffer from persistent lymphocytosis (PL), and 5% develop EBL several years after infection. Food products from EBL cattle are prohibited by the Japanese government, and PL cattle tend to have a suppressed immune response. Therefore, BLV infection results in a huge economic loss to the farmer. Countermeasures against BLV infection on a farm include preventing new infections as well as reducing and increasing the number of BLV-infected and uninfected cattle, respectively. The various routes, such as blood-sucking insects, uninterrupted use of a needle and sleeve, dehorning and maternal milk transmit the virus. BLV can also be transmitted to a calf through the placenta or birth canal of an infected dam. High proviral load cattle are the primary source of horizontal and vertical infection. Therefore, culling, segregating and separating infected cattle, especially high proviral load cattle, are effective measures for preventing the transmission of BLV. This study introduces the BLV infection and the control measures for preventing BLV transmission in the field.

Key words : BLV, EBL, proviral load

キーワード : EBL, BLV, 感染ウイルス量

1) 宮崎大学テニュアトラック推進機構

* 連絡責任者・目堅博久

〒889-2192 宮崎県宮崎市学園木花台西1-1 TEL / FAX 0985-58-7881

E-mail : mekata@cc.miyazaki-u.ac.jp

はじめに

牛白血病は、家畜伝染病予防法の監視伝染病における届出伝染病に指定されている牛の白血病および悪性リンパ腫である。体表や腸管リンパ節の腫脹を特徴とし、元気消失や消瘦、起立不能、脱水、便秘、下痢など様々な症状を示す。牛白血病を発症した牛は回復することが決してないうえに、法律によって乳や肉が全廃棄処分となるために農家の経済的損失は大きい。牛白血病は、牛白血病ウイルス(bovine leukemia virus: BLV)の感染を原因とする地方病型牛白血病と、感染性病原体を原因としない散发型牛白血病に分類される。近年の日本においては、地方病型が牛白血病の多くを占めるため、本稿では、地方病型牛白血病とその原因病原体であるBLVに焦点を当てて解説する。

牛白血病ウイルスと BLV 感染症

牛白血病ウイルス(bovine leukemia virus: BLV)はレトロウイルス科デルタレトロウイルス属(*Retroviridae Deltaretrovirus*)に分類される一本鎖プラス鎖RNAウイルスである。自然界における感受性動物は牛および水牛であり^{22, 25)}、感染から発症に至るまでの期間が短いことから、羊が感染実験モデルとして使われることがある³⁹⁾。BLVは感染牛の血液や体液、乳汁中に含まれる感染Bリンパ球を介して伝播し、Bリンパ球の染色体にproviral DNAの形で組み込まれることで感染が成立する¹⁾。BLV感染症はリンパ球の数や状態を基準に3つに分類される(表1)。感染牛の60-70%は症状のない無症候性キャリアとなる。感染牛の約30%は感染リンパ球が増殖し、リンパ球数が恒常的に多い状態の持続性リンパ球増多症(persistent lymphocytosis: PL)となる。そして、約5%の感染牛が感染から数年後に地方病型牛白血病(enzootic bovine leukosis: EBL)を発症する。

発症牛の多くがPL期を経てEBLに至るが、リンパ球数の異常に気が付かないままEBLを発症することもある。

BLV感染症による被害はEBLだけに限らない。長い間、PL牛はリンパ球数の異常増加以外の臨床症状はないと考えられてきた。しかし近年の研究で、末梢血中の各種リンパ球に発現するPD-1やPD-L1などの免疫抑制因子の発現上昇と、それに伴う抗ウイルス作用に関わるサイトカインの産生能低下が明らかになった^{10, 11, 18, 31)}。また、乳腺における各種免疫細胞の機能低下も報告されている²⁰⁾。これらの報告から、PL牛は健康牛と比較して、容易に各種病原体に感染しやすいことが想定されるほか、ワクチン接種に伴う免疫反応が弱いことも報告されている³⁴⁾。つまり、BLV感染症による被害はEBLだけでなく、PL牛によってもたらされている。

表1 BLV 感染症における3つの病態

病態名	無症候性キャリア		PL	EBL
BLV 感染牛の割合	60-70%		約 30%	約 5%
リンパ球数 (/ μ l)	<10,000*		>12,000*	-
感染ウイルス量	少ない	多い	多い	多い
感染源リスク	低い	高い	高い	高い
発症リスク	低い	高い	高い	-
免疫機能	正常	やや低下	やや低下	不全

*月齢や品種などによって異なる

BLVの疫学

近年に行われた全国規模の調査で、国内の乳牛、肉用牛の約30%がBLVに感染していることが明らかになった^{26, 27)} (表2)。農林水産省が発表する年間の牛白血病届出数も右肩上がりに増加している(図1)。一方で、日本国内においてもBLV感染率が著しく低い地域があり、宮崎県の西臼杵地区(五ヶ瀬町, 高千穂町, 日之影町)では行政・民間企業・大学の積極的な取り組みの結果、地域全体での清浄化目前の段階まで来ている⁴⁾。

BLVは世界各国で流行しており、北米やアルゼンチン、アジア諸国では日本と同様に常在化している^{8, 14, 19, 28, 29, 33, 38)}。一方、英国やフランス、ドイツなどの西ヨーロッパ諸国、オーストラリアやニュージーランドなどのオセアニア地域では国・州政府主導によるBLV対策の結果、完全に清浄化、もしくは限られた地域を除いた清浄化が達成されている^{21, 30)}。

表2 全国における抗BLV抗体陽性率

実施年	乳牛(%)	肉用牛(%)	合計(%)	参考文献
2007	34.7	11.9	28.6	27)
2009-2011	40.9	28.7	35.2	26)

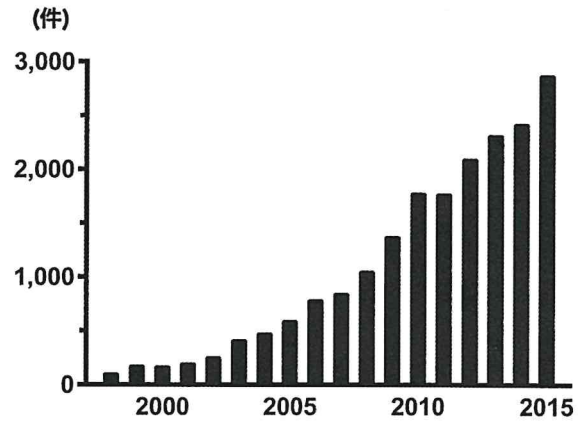


図1 牛白血病届出数の推移

1998年に99頭であった牛白血病の届出数が2015年には2869頭まで増加している。

BLVの感染経路

BLVは水平および垂直感染で伝播する。水平感染には吸血昆虫による感染、直検手袋や注射針などの使い回し、感染牛からの輸血による感染がある。また、除角や去勢などの出血を伴う作業も衛生管理の程度によっては感染リスクがあると考えられる⁴⁾。垂直感染には、出生前および出生時

に感染する胎盤および産道感染と、出生後における母乳を介した感染がある。農場における感染を防ぐためには、感染経路とそのリスクを把握することが重要である。そこで、BLVの主要な感染経路と対策について解説する(表3)。

表3 農場におけるBLVの感染経路と対策

	感染経路	対策
水平感染	吸血昆虫	感染牛の分離飼育 昆虫忌避剤の利用, 昆虫発生源対策 感染ウイルス量が多い牛の飼養を控える
	注射針の使い回し	1頭1針
	直腸検査, エコープローブ	1頭1袋
	除角	出血を伴わない除角, 熱を利用した止血
	去勢, 削蹄, 耳標装着	器具の洗浄と消毒
垂直感染	胎盤・産道感染	感染ウイルス量が多い牛の繁殖供用を控える 非感染牛への受精卵移植
	母乳感染	母乳の凍結・加温処理, 初乳製剤・代用乳の利用

吸血昆虫による感染

BLVは昆虫の吸血活動を介して機械的に伝播する⁶⁾。BLVを媒介するのはアブ、サシバエであり、蚊やブユ、ダニは吸血量、吸血頻度、吸血方法などの理由からウイルスを伝播しない、もしくは伝播しても感染が成立しないと考えられている。春から秋の方が秋から春に比べて陽転率が高く、防虫ネット設置などの吸血昆虫対策で陽転率が低下する³²⁾。また、疫学解析の結果からも、国内では主要な感染経路と考えられている¹⁵⁾。感染牛と非感染牛間の距離が重要なリスク因子であり、感染牛と隣接した牛の感染リスクが隣接していない牛と比べて高いことが報告されている¹⁶⁾。感染を完全に防ぐためには直線距離で200 Mが必要という報告もあるが³⁷⁾、筆者らがある地域内で流行するBLVの遺伝子配列を解析したところ、農場間の距離に依らず、農場毎にBLVの遺伝子配列が異なった。この結果から、BLVは吸血昆虫などを介して周囲の農場には伝播しないと考えられ

る²⁴⁾。

サシバエなどの吸血昆虫は媒介する血液量が少ない。また、昆虫体内でBLVは増殖しないため、感染源となるのは、感染ウイルス量が多い牛である^{24, 32)}。実際、感染ウイルス量が著しく少ない牛を農場に導入しても感染が起きないことが報告されている^{12, 24)}。吸血昆虫を介した感染を防止するには、感染牛と非感染牛を把握し、それぞれを分離して飼育すること、感染牛と非感染牛間での吸血昆虫の移動を防ぐことが基本となる。そこで、感染牛と非感染牛を異なる牛舎で飼養するのが最も効果的であるが、同一の牛舎で飼養する場合は間隔をあけるとともに、物理的な障害物や防虫ネットで隔てることで吸血昆虫の移動を妨げる方法が有効である。また、各種昆虫忌避剤の使用や牛舎周囲の除草といった吸血昆虫発生源対策も合わせて行なうと、より効果的である。

獣医療行為による感染

HIVなどの人のレトロウイルス感染症の拡大には、注射針の使い回しや輸血などの医療行為が大きく関わった。BLVでも同様であり、注射針の使い回しをしている農場ほど感染率が高い²⁸⁾。輸血も同様であり、これらは、ウイルスを含む血液を直接体内に注入することになるため、最もBLV伝播リスクが高いと考えられる。また、直検手袋

の使い回しでもBLVが伝播することが証明されている¹⁷⁾。同様の原理で、未洗浄のエコープローブの連続使用も、感染のリスクがあると考えられる。これらによるウイルス伝播は限定的であるにしても、診療コストや作業負担の大小に依らず、獣医療行為によるBLV感染は必ず防がなければならない。

日常の作業を介した感染

感染牛の血液が非感染牛の傷口や粘膜と触れる作業はすべて感染リスクがある。日常の作業では、除角や削蹄、耳標や鼻環の装着、去勢などが該当する。削蹄やアプリケーションによる耳標や鼻環の装着については出血がない、もしくは少量のため、一頭ごとに器具を消毒薬につける、付着した血液を確実に洗い落とすなどの一般的な使用器具の衛生管理で十分に感染を防げられると思われる。一方、除角については、切断方法によっては出血量が多いことから感染リスクがある³⁾。出血

を伴わない除角法を選択すること、もしくは高熱に曝されることによってウイルスが感染性を失うために、デホーナーなどの熱を利用した止血法が有効である。去勢については、器具の連続使用による水平感染を検討した報告は筆者が知る限りはない。しかし、血液や体液が付着することから感染リスクは比較的高いと想定される。そのため、使用する器具を複数セット用意し、1頭ごとに交換して洗浄液に漬けるなどの方法を薦める。

胎盤・産道感染

癌発症を伴う人のウイルス感染症の多くは、乳幼児期の感染と発症の間に相関関係がある⁴⁰⁾。そのため、BLV感染症においても胎盤・産道感染および母乳感染対策の実施は、EBLのコントロールにつながると考えられる。筆者らが行った研究では、BLV感染母牛から生まれた子牛が胎盤および産道でBLVに感染する確率は18.6%であった²³⁾。また、母牛の感染ウイルス量が産道・胎盤感染のリスク因子であり、母牛の感染ウイルス量が400

copies/10 ngを超えると48.6%の子牛が胎盤・産道感染したのに対し、400 copies/10 ng未満では9.6%であった。つまり、感染ウイルス量の多い牛を可能な範囲で繁殖に用いないことが胎盤・産道感染のリスクを下げるためには重要である。BLVは受精卵を介して子牛に垂直感染しない^{5, 9)}。そのため、感染ウイルス量の多い牛から採卵し、非感染母牛に移植することも有効な対策である。

母乳を介した感染

BLV感染母牛の乳汁中には感染リンパ球とBLVに対する移行抗体が含まれる。移行抗体がない子牛に感染牛の母乳を与えた際の感染率は27.3%であった³⁶⁾。一方、移行抗体がある子牛に感染牛の母乳を与えた際の感染率は8%程度であることが報告されている。この結果から、移行抗体が含まれていても母乳を介しての感染リスクがあることがわかる。初乳では、母牛由来のリンパ球が子牛の血中に取り込まれることから³⁵⁾、感染牛の初乳摂取時のBLV感染率は8%より高いと考えられる。筆者らが関わっている農場でも、母乳感染対策を行っている農場ほど陽転率は低い傾向がある。母乳中のウイルス量は母牛の感染ウイルス量に比例する一方、乳中の移行抗体の抗体価は感染ウイルス量に比例しない⁸⁾。そのため、母

牛の感染ウイルス量が多いほど、母乳を介した感染リスクが高くなると想定される。母乳感染対策は、感染牛の母乳を与えないこと、もしくは感染牛の母乳を凍結、加温処理することである。母乳を凍結もしくは一定時間加温することでBLV感染リンパ球は感染性を失う^{2, 13)}。この手法は、子牛の健全な成長に必要な母乳中の移行抗体を子牛に与え、かつBLVの感染リスクを防止するためにもっとも理想的な方法である。一方で、肉用牛繁殖農家、加温や凍結に必要な機器を所有していない農家では、母乳を搾乳して凍結、加温処理することは難しい。こういった農場では、初乳製剤と代用乳を利用することで、母子感染のリスクを下げるのが重要である。

おわりに

BLV感染症は一度感染が成立すると治ることがないため、BLV汚染農場では、対策を行わない限りBLV感染症による損失がなくなることはない。しかし、高汚染農場ほどBLV清浄化までの道のりは長く、畜主の対策への意欲と対策に伴う労力や経済的負担に対する理解が重要になってくる。近年、子牛価格の高騰が続いており、子牛を

購入する側のEBLによる経済的損失のリスクは高まっている。そのため、これまで以上にBLVフリーの牛を求める農家は増えてくると予想する。BLVフリーの外国産牛に対抗するためにも、研究機関、行政、現場が協力し、一丸となって積極的なBLV感染症対策を進める必要がある。

引用文献

- 1) Aida, Y., Murakami, H., Takahashi, M. and Takeshima, S.: Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. *Front. Microbiol.*, 4: 328. 2013.
- 2) Baumgartener, L., Olson, C. and Onuma, M.: Effect of pasteurization and heat treatment on bovine leukemia virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 169 (11): 1189~1191. 1976.
- 3) DiGiacomo, R. F., Darlington, R. L. and Evermann, J. F.: Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy calves by dehorning. *Can. J. Comp. Med.*, 49 (3): 340~342. 1985.
- 4) DiGiacomo, R. F., Hopkins, S. G., Darlington, R. L. and Evermann, J. F.: Control of bovine leukosis virus in a dairy herd by a change in dehorning. *Can. J. Vet. Res.*, 51 (4): 542~544. 1987.
- 5) DiGiacomo, R. F., Studer, E., Evermann, J. F. and Evered, J.: Embryo transfer and transmission of bovine leukosis virus in a dairy herd. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 188 (8): 827~828. 1986.
- 6) Foil, L. D., Seger, C. L., French, D. D., Issel, C. J., McManus, J. M., Ohrberg, C. L. and Ramsey, R. T.: Mechanical transmission of bovine leukemia virus by horse flies (*Diptera: Tabanidae*). *J. Med. Entomol.*, 25 (5): 374~376. 1988.
- 7) Gutiérrez, G., Alvarez, I., Politzki, R., Lomónaco, M., Dus Santos, M. J., Rondelli, F., Fondevila, N. and Trono, K.: Natural progression of bovine leukemia virus infection in Argentinean dairy cattle. *Vet. Microbiol.*, 151 (3-4): 255~263. 2011.
- 8) Gutiérrez, G., Lomónaco, M., Alvarez, I., Fernandez, F. and Trono, K.: Characterization of colostrum from dams of BLV endemic dairy herds. *Vet. Microbiol.*, 177 (3-4): 366~369. 2015.
- 9) Hare, W. C., Mitchell, D., Singh, E. L., Bouillant, A. M., Eaglesome, M. D., Ruckerbauer, G. M., Bielanski, A. and Randall, G. C.: Embryo transfer in relation to bovine leukemia virus control and eradication. *Can. Vet. J.*, 26 (8): 231~234. 1985.
- 10) Ikebuchi, R., Konnai, S., Okagawa, T., Yokoyama, K., Nakajima, C., Suzuki, Y., Murata, S. and Ohashi, K.: Blockade of bovine PD-1 increases T cell function and inhibits bovine leukemia virus expression in B cells in vitro. *Vet. Res.*, 44 (1): 59. 2013.
- 11) Ikebuchi, R., Konnai, S., Shirai, T., Sunden, Y., Murata, S., Onuma, M. and Ohashi, K.: Increase of cells expressing PD-L1 in bovine leukemia virus infection and enhancement of anti-viral immune responses in vitro via PD-L1 blockade. *Vet. Res.*, 42 (1): 103. 2011.
- 12) Juliarena, M. A., Barrios, C. N., Ceriani, M. C. and Esteban, E. N.: Bovine leukemia virus (BLV)-infected cows with low proviral load are not a source of infection for BLV-free cattle. *J. Dairy Sci.*, 99 (6): 1~4. 2016.
- 13) Kanno, T., Ishihara, R., Hatama, S., Oue, Y., Edamatsu, H., Konno, Y., Tachibana, S. and Murakami, K.: Effect of freezing treatment on colostrum to prevent the transmission of bovine leukemia virus. *J. Vet. Med. Sci.*, 76 (2): 255~257. 2014.
- 14) Khudhair, Y. I., Hasso, S. A., Yaseen, N. Y. and Al-Shammari, A. M.: Serological and molecular detection of bovine leukemia virus in cattle in Iraq. *Emerg. Microbes Infect.*, 5 (6): e56. 2016.
- 15) Kobayashi, S., Tsutsui, T., Yamamoto, T., Hayama, Y., Kameyama, K., Konishi, M. and Murakami, K.: Risk factors associated with within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairy farms in Japan. *BMC Vet. Res.*, 6 (1): 1. 2010.
- 16) Kobayashi, S., Tsutsui, T., Yamamoto, T., Hayama, Y., Muroga, N., Konishi, M., Kameyama, K. and Murakami, K.: The role of neighboring infected cattle in bovine leukemia virus transmission risk. *J. Vet. Med. Sci.*, 77 (7): 861~863. 2015.
- 17) Kohara, J., Konnai, S. and Onuma, M.: Experimental transmission of Bovine leukemia virus in cattle via rectal palpation. *Jpn. J. Vet. Res.*, 54 (1): 25~30. 2006.
- 18) Konnai, S., Murata, S. and Ohashi, K.: Immune exhaustion during chronic infections in cattle. *J. Vet. Med. Sci.*, in press.
- 19) Lee, E., Kim, E., Ratthanophart, J., Vitoonpong, R., Kim, B., Cho, I., Song, J., Lee, K. and Shin, Y.: Molecular epidemiological and serological studies of bovine leukemia virus (BLV) infection in

- Thailand cattle. *Infect. Genet. Evol.*, 41: 245~254. 2016.
- 20) Libera, Della, A. M. M. P., de Souza, F. N., Batista, C. F., Santos, B. P., de Azevedo, L. F. F., Sanchez, E. M. R., Diniz, S. A., Silva, M. X., Haddad, J. P. and Blagitz, M. G.: Effects of bovine leukemia virus infection on milk neutrophil function and the milk lymphocyte profile. *Vet. Res.*, 46 (1): 2. 2015.
 - 21) Maresca, C., Costarelli, S., Dettori, A., Felici, A., Iscaro, C. and Feliziani, F.: Enzootic bovine leukosis: report of eradication and surveillance measures in Italy over an 8-year period (2005-2012). *Prev. Vet. Med.*, 119 (3-4): 222~226. 2015.
 - 22) Meas, S., Seto, J., Sugimoto, C., Bakhsh, M., Riaz, M., Sato, T., Naeem, K., Ohashi, K. and Onuma, M.: Infection of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in water buffalo and cattle populations in Pakistan. *J. Vet. Med. Sci.*, 62 (3): 329~331. 2000.
 - 23) Mekata, H., Sekiguchi, S., Konnai, S., Kirino, Y., Honkawa, K., Nonaka, N., Horii, Y. and Norimine, J.: Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus. *Vet. Rec.*, 176 (10): 254~254. 2015a.
 - 24) Mekata, H., Sekiguchi, S., Konnai, S., Kirino, Y., Horii, Y. and Norimine, J.: Horizontal transmission and phylogenetic analysis of bovine leukemia virus in two districts of Miyazaki, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 77 (9): 1115-1120, 2015b.
 - 25) Mingala, C. N., Konnai, S., Cruz, L. C., Onuma, M. and Ohashi, K.: Comparative molecul-immunological analysis of swamp- and riverine-type water buffaloes responses. *Cytokine*, 46 (2): 273~282. 2009.
 - 26) Murakami, K., Kobayashi, S., Konishi, M., Kameyama, K. and Tsutsui, T.: Nationwide survey of bovine leukemia virus infection among dairy and beef breeding cattle in Japan from 2009-2011. *J. Vet. Med. Sci.*, 75 (8): 1123~1126. 2013.
 - 27) Murakami, K., Kobayashi, S., Konishi, M., Kameyama, K., Yamamoto, T. and Tsutsui, T.: The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle. *Vet. Microbiol.*, 148 (1): 84~88. 2011
 - 28) Nekoei, S., Hafshejani, T. T., Doosti, A. and Khamesipour, F.: Molecular detection of bovine leukemia virus in peripheral blood of Iranian cattle, camel and sheep. *Pol. J. Vet. Sci.*, 18 (4): 703~707. 2015.
 - 29) Nekoei, O., VanLeeuwen, J., Sanchez, J., Kelton, D., Tiwari, A. and Keefe, G.: Herd-level risk factors for infection with bovine leukemia virus in Canadian dairy herds. *Prev. Vet. Med.*, 119 (3-4): 105~113. 2015.
 - 30) Nuotio, L., Rusanen, H., Sihvonen, L. and Neuvonen, E.: Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland. *Prev. Vet. Med.*, 59 (1-2): 43~49. 2003.
 - 31) Okagawa, T., Konnai, S., Ikebuchi, R., Suzuki, S., Shirai, T., Sunden, Y., Onuma, M., Murata, S. and Ohashi, K.: Increased bovine Tim-3 and its ligand expressions during bovine leukemia virus infection. *Vet. Res.*, 43 (1): 45. 2012.
 - 32) Ooshiro, M., Konnai, S., Katagiri, Y., Afuso, M., Arakaki, N., Tsuha, O., Murata, S. and Ohashi, K.: Horizontal transmission of bovine leukemia virus from lymphocytotic cattle, and beneficial effects of insect vector control. *Vet. Rec.*, 173 (21): 527~527. 2013.
 - 33) Polat, M., Moe, H. H., Shimogiri, T., Moe, K. K., Takeshima, S. and Aida, Y.: The molecular epidemiological study of bovine leukemia virus infection in Myanmar cattle. *Arch. Virol.*, in press
 - 34) Puentes, R., De Brun, L., Algorta, A., Da Silva, V., Mansilla, F., Sacco, G., Llambí, S. and Capozzo, A. V.: Evaluation of serological response to foot-and-mouth disease vaccination in BLV infected cows. *BMC Vet. Res.*, 12 (1): 119. 2016.
 - 35) Reber, A. J., Lockwood, A., Hippen, A. R. and Hurley, D. J.: Colostrum induced phenotypic and trafficking changes in maternal mononuclear cells in a peripheral blood leukocyte model for study of leukocyte transfer to the neonatal calf. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 109(1): 139~150, 2006.
 - 36) Romero, C. H., Cruz, G. B. and Rowe, C. A.: Transmission of bovine leukaemia virus in milk. *Trop. Anim. Health Prod.*, 15 (4): 215~218. 1983.

- 37) Shettigara, P. T., Samagh, B. S. and Lobinowich, E. M.: Control of bovine leukemia virus infection in dairy herds by agar gel immunodiffusion test and segregation of reactors. *Can. J. Vet. Res.*, 53 (1): 108~110. 1989.
- 38) Trono, K. G., Pérez-Filgueira, D. M., Duffy, S., Borca, M. V. and Carrillo, C.: Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. *Vet. Microbiol.*, 83 (3): 235~248. 2001.
- 39) Van den Broeke, A., Oumouna, M., Beskorwayne, T., Szynal, M., Cleuter, Y., Babiuk, S., Bagnis, C., Martiat, P., Burny, A. and Griebel, P.: Cytotoxic responses to BLV tax oncoprotein do not prevent leukemogenesis in sheep. *Leuk. Res.*, 34 (12): 1663~1669. 2010.
- 40) Vedham, V., Verma, M. and Mahabir, S.: Early-life exposures to infectious agents and later cancer development. *Cancer Med.*, 4(12): 1908-1922. 2015.
- 41) 工藤寛：牛白血病フリー地域を目指して～地域の熱い挑戦～ 臨床獣医、34 (6)：14~17. 2016

原 著

ダイレクト PCR 法による牛白血病ウイルスの 簡易同定法の開発と、本法を用いた疫学調査

小林朋子¹⁾・綿貫園子¹⁾・菊池柚衣¹⁾・竹嶋伸之輔²⁾・間 陽子²⁾・村上覚史¹⁾

[2016年9月16日受付・受理]

ORIGINAL ARTICLE

FASTER AND ECONOMICAL DETECTION OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS DIRECTLY FROM BLOOD FOR THE ROUTINE DIAGNOSIS

Tomoko KOBAYASHI¹⁾, Sonoko WATANUKI¹⁾, Yui KIKUCHI¹⁾, Shin-nosuke TAKESHIMA²⁾,
Yoko AIDA²⁾ and Satoshi MURAKAMI²⁾

1) *Laboratory of Animal Health, Department of Animal Science, Faculty of agriculture, Tokyo University of Agriculture,
1737 Funako, Atsugi, Kanagawa 243-0034, Japan*

2) *Viral Infectious Diseases Unit, RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama, 351-0198, Japan.*

[Received for publication : September 00, 2016]

*Corresponding Author: Tomoko Kobayashi

A single-step direct PCR system using whole blood without DNA extraction was developed to detect Bovine leukemia virus provirus (BLV). This assay yields a specific amplicon of 657 bp of the BLV polymerase gene. The limit of detection was as low as 6363 copies / 10⁵ cells. This novel single-step direct PCR system could provide a cost-effective, faster, and sensitive method for the detection of BLV for the routine diagnosis.

本研究では、簡易かつ迅速に牛白血病ウイルス (bovine leukemia virus : BLV) 感染を検査できる方法として、直接牛の血液をテンプレートとして用いるダイレクト PCR法を確立した。本方法における検出限界は6363コピー/10⁵ 細胞、所要時間は約3時間、検査費用は22.4円/検体であった。本方法を用いて、農場におけるBLV浸潤調査を行ったところ、49検体のうちダイレクト PCR法にてBLV遺伝子が検出されたのは18検体であった。ELISA法による抗BLV抗体検出結果と比較すると、感度は75%、特異度は100%と算出された。今回実施したダイレクト PCR法は、①所要時間が短い、②操作手順が少ない、③検査コストが安価であることから、BLV伝播リスクの高い牛の簡易迅速診断方法として有用である。

1) 東京農業大学農学部畜産学科家畜衛生学研究室 〒243-0034 神奈川県厚木市船子1737

2) 国立研究開発法人理化学研究所分子ウイルス学特別研究ユニット 〒351-0198 埼玉県和光市広沢2番1号

緒 言

牛白血病ウイルス (bovine leukemia virus : BLV) は、レトロウイルス科、オルトレトロウイルス亜科、デルタレトロウイルスに属する、地方病性牛白血病の原因ウイルスである^{1, 2)}。BLVは日本の乳牛及び肉用牛に広く浸潤しており、2013年に報告された日本全国調査の結果では、抗BLV抗体陽率は乳牛において40.9%、肉用牛において28.7%と報告されている³⁾。

BLVの感染経路は、吸血昆虫や感染血液に汚染された器具の共有による水平感染と、感染牛の初乳を摂取すること等による垂直感染が挙げられ^{4, 5, 6, 7)}、一度BLVに感染すると、感染牛は生涯ウイルスを保有し続け、非感染牛への感染源となる⁸⁾。

近年、ヨーロッパの多くの国ではBLV感染に起因する地方病性牛白血病の清浄化を宣言している²⁾。これらの国では、BLV感染牛の摘発淘汰を徹底することにより清浄化が達成されてきた。日本においてもBLVの感染制御は喫緊の課題であるが、現状では乳牛、肉牛の平均抗体陽性率が35.2%と高いため³⁾、陽性牛の摘発淘汰を適用することは経済的側面から不可能である。2014年に農林水産省により策定された牛白血病に関する衛生対策ガイドラインでは、BLV感染牛を摘発後、隔離あるいは分離飼育することにより水平感染を抑制する方法が推奨されている。しかしながら、隔離あるいは分離飼育によるBLV感染制御を成功させるためには、BLV感染牛の定期的かつ正確な摘発が極めて重要である。

現在、日本において使用されているBLVの感染同定方法には、抗体検出方法として、ELISA法 (牛白血病エライザキット, (株) JNC社, 東京) 及び受身赤血球凝集法 (牛白血病抗体アッセイキット: 日生研, 東京) がある。また、BLV遺伝子の検出方法として、nested-PCR法^{8, 9)}及びリアルタイムPCR法^{10, 11, 12, 13)}が用いられている。これらの方法は特異性及び感度が非常に高いことが特徴であるが、煩雑な手技や高価な試薬及び設備の使用が必要であり、定期的な感染モニタリングに使用することは難しい。

今回、DNA抽出を行わず血液をそのままテンプレートとして用いるダイレクト PCR法を確立し、BLV検査の操作手順の単純化と短縮、検査費用の低コスト化の検討を行った。また、開発した方法を用いて疫学調査を行い、ELISA法を用いた抗体検査結果と比較し、感度及び特異度を検討した。

材料及び方法

抗体検査: 2015年9月に神奈川県A農場において飼養されていた乳牛13頭 (Table 1) 及び、2015年12月に神奈川県B農場において飼養されていた乳牛49頭について、採血後血清を分離し、市販のELISAキット (牛白血病エライザキット, (株) JNC社, 東京) を用い、BLV抗体の有無を検査した。

BLVプロウイルス量の定量: 2015年9月に神奈川県A農場において飼養されていた乳牛13頭 (Table 1) から採血した血液を用いて検査を行なった。フィコールハイパック比重遠心法により末梢血リンパ球分画を単離し、市販のDNA抽出キット (QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN, Holland) を用いてDNAを抽出した。各検体のDNA濃度を30ng/ μ lに調整し、市販のキット (CoCoMo-BLV Primer/probe, Positive control/Negative control, Plasmid DNA / Dilution Solution, (株) 理研ジェネシス, 神奈川県) 及び、(TaqMa[®] Gene Expression Master Mix, Thermo Fisher Scientific, USA) を用いてBLVプロウイルス量の定量を行った。サーマルサイクラー (Thermal Cycler Dice Real Time System,

タカラバイオ, 滋賀県) を用いて、BLVプロウイルスのLTR領域を増幅し、BLV遺伝子の検出を行なった。

全血を用いたダイレクト PCR法: 本法を確立するため、プライマーの検討を行った。プライマーはMoratorioら及び井上らにより報告された配列を参照し、変異頻度の比較的低いLTR, gag, pol, tax領域にそれぞれ設定された8セットのプライマーペアを用いた (Table 2, Fig. 1)。PCR反応には、市販の酵素 (KOD FX Neo, TOYOBO, 東京都) を用い、添付のプロトコールに従いKOD Fx Neo 1 μ l, 2 \times PCR Buffer for KOD Fx Neo 25 μ l, 2mMdNTPs 10 μ l, primer (10mM) 1 μ l, DEPC Water 12 μ lの反応溶液を調整し、ここに採材した牛血液 1 μ lを加え全量50 μ lに調整した。また、同様にハウスキーピング遺伝子としてGAPDHの増幅を行った。PCRの反応条件は、まず初めに94°C120秒で熱変性を行い、98°C10秒、60°C30秒、68°C60秒を1サイクルとし、計40サイクル行った後、最終伸長反応は68°C7分で実施した。PCR産物は1.5%アガロースゲルに、PCR産物 18 μ lを用いて100 Vで30分電気泳動を行った。

Table 1. A農場において飼養されている牛のBLV感染状況

牛番号	年齢	白血球数 (個/ μ l)	Direct PCR	ELISA	realtime PCR	BLV コピー数 (/ 10^5 細胞)
1	2	23200	+	+	+	101808
2	3	14900	+	+	+	80820
3	4	10400	+	+	+	68817
4	5	11000	+	+	+	67356
5	4	9000	+	+	+	62106
6	4	10400	+	+	+	49601
7	5	9600	+	+	+	47687
8	2	12600	+	+	+	46588
9	3	9600	+	+	+	45890
10	2	9100	+	+	+	24712
11	6	8800	-	+	-	107
12	2	9500	-	-	-	N. D.
13	3	10900	+	+	-	N. D.

N. D. 検出限界以下

ダイレクト PCR法の検出限界の検討：BLV遺伝子陽性血液をBLV遺伝子陰性血液にて二段階希釈した標準血液を作成した。これらを用いて上記の方法によりダイレクト PCR反応を行い、電

気泳動にてバンドの有無を確認した。そして、定量PCRにより算出したBLVコピー数の値から、ダイレクト PCRにて検出可能な最小コピー数（検出限界値）の算出を行った。

Table 2. 本研究において使用したプライマー配列

プライマー番号	配列	増幅産物の長さ (bp)	増幅領域	参考文献
1	tgtatgaaagatcatgccgac agcctttgcccgtttgVVgaR	712	<i>LTR</i>	[15] [15]*
2	attgatcaccgggaacccta ggagatTTTTCCAGGCCTGAAGCC	779	<i>LTR-gag</i>	[15] [15]
3	atgaccagcctaaccggcagca ctaattcggYcYcactaagag	717	<i>gag-pol</i>	[15] [15]
4	ttccattggaaacgagactg atTTGTTTCCGTACCgggaa	691	<i>pol</i>	[15] [15]
5	cgagccacattggattagaac aattgggatgagatctgcaa	732	<i>pol</i>	[15] [15]
6	caagtgttgttggTTGGGGGCC tcaagggcagggtcggagg	918	<i>tax</i>	[15] [15]
7	tgtatgaaagatcatgccgac ctctcctggccgctagagggc	520	<i>LTR</i>	[15] [15]
8	agccccagcagagacattcc ttctctggcagctgacgtYt	1213	<i>tax</i>	[14] [14]

※配列の一部に改変を加えた

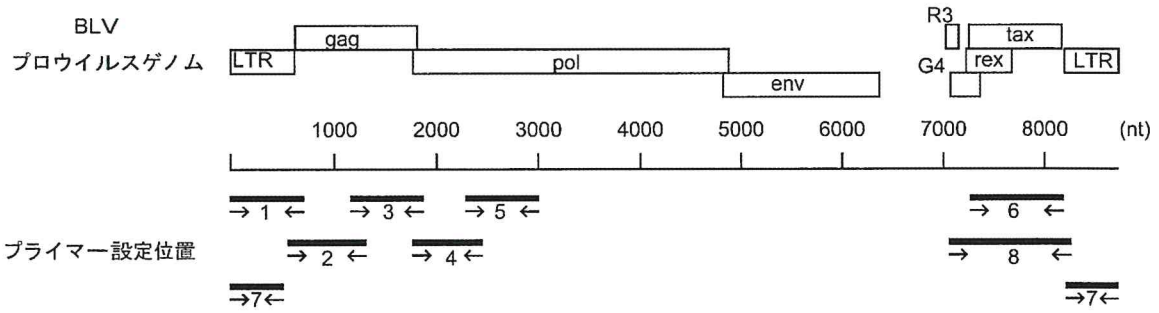


Fig.1 本研究において使用したプライマーの設定位置

成 績

BLV全長配列約9000bpのなかから、ダイレクトPCRに使用する8種類のプライマーセット (Fig. 1) を設定した^{14, 15)} (Table 2). ELISA法により抗BLV抗体陽性あるいは陰性と判定された牛の血液それぞれ1検体を用いて、BLV遺伝子の増幅を行った。抗BLV抗体陽性牛の血液をテンプレートとした場合では、プライマーセットNo.2, 4及び5において目的サイズの特異的かつ明瞭な増幅産物が電気泳動にて観察された。またプライマーセットNo.1, 6, 7及び8については不明瞭あるいは非特異的な増幅産物が観察された (Fig.2)。プライマーセットNo.3においては増幅産物が検出されなかった。抗BLV抗体陰性牛の血液をテンプレートとした場合では、プライマーセットNo.2, 6, 8において非特異的な増幅産物が観察された。これらの結果より、抗体陽性牛の検体において特異的な増幅産物が検出され、抗体陰性牛の検体において増幅産物がみられなかつ

た、プライマーセットNo.4及び5がダイレクトPCRに適用可能であることが示された。

そこで、この2つのプライマーセットについて、様々な血中BLVコピー数を示す乳牛の血液を用いて、さらに詳細に検討を行った。農場Aにおいて飼養されている牛13頭について、ELISA法により抗BLV抗体を検査したところ、13頭中12頭 (92.3%) が陽性であった (Table 1)。また、 10^5 細胞中のBLVプロウイルスコピー数の定量を行った。その結果、13頭中11頭 (84.6%) においてBLVプロウイルスが検出され、そのコピー数は、 10^5 細胞中107コピーから101808コピーまで様々であった (Table 1)。

これらの牛13頭の血液を用いて、プライマーセット4及び5を用いたダイレクトPCRを行った (Fig.3)。

その結果、どちらのプライマーセットを用いても、プロウイルス量が 10^5 細胞中24712コピー以上であれば明瞭で特異的な増幅産物が検出された。また、プロウイルスコピー数が検出限界以下と算出されたもののうち、抗体陽性を示す牛の血液 (No.13) については、プライマーセット5を用いた場合のみ不明瞭ながら特異的な増幅がみられた。よって、定量PCRの検出限界以下ながら

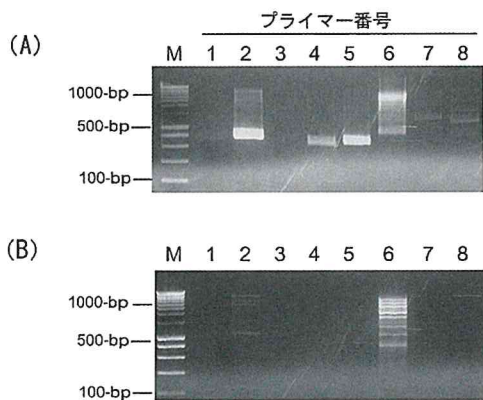


Fig.2 プライマーの検討結果
(A) 抗BLV抗体陽性牛から採血した血液を使用
(B) 抗BLV抗体陰性牛から採血した血液を使用

Table 3 農場BにおけるBLV感染疫学調査

		ELISA 法		
		陽性	陰性	合計
ダイレクト PCR 法	陽性	18	0	18
	陰性	6	25	31
合計		24	25	49

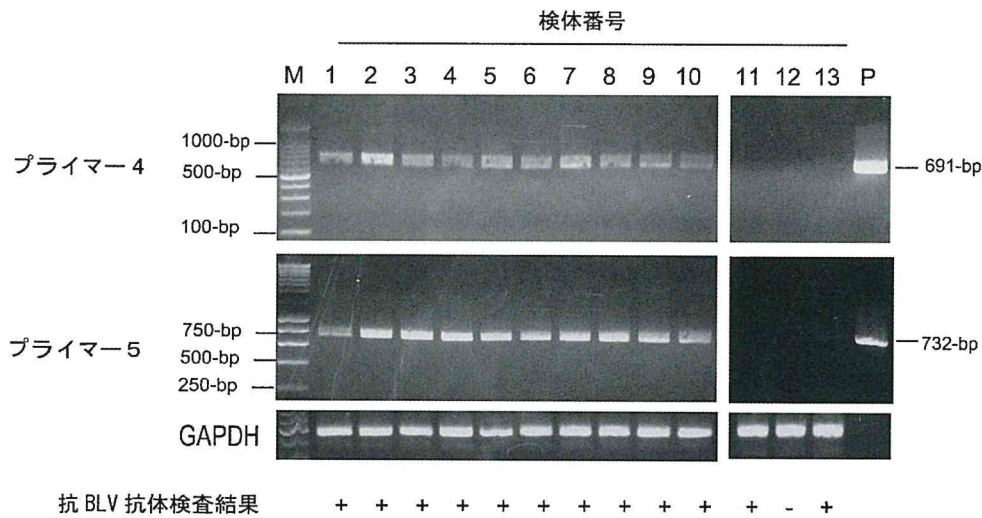


Fig. 3 A農場において飼養されている牛の血液を用いたダイレクトPCRプライマーの検討 (M=DNA マーカー、P=陽性対照 BLV分子クローンpBLV-IF)

プロウイルスが存在する可能性を考え、ダイレクトPCRにはELISA法との一致率が高いプライマーセット5を適用することとした。BLV遺伝子陽性血液 (Fig. 3, レーン1) をBLV遺伝子陰性血液 (Fig. 3, レーン12) にて二段階希釈した標準血液を作成し、ダイレクトPCR反応を行った。電気泳動にて増幅産物の有無を確認したところ (Fig. 4), 16倍希釈した標準血液 (レーン5) まで、バンドが検出された。No.1のウイルスコピー数は101808.9コピー/10⁵細胞であることから (Table 1), ダイレクトPCRにて検出可能な最小コピー数 (検出限界値) は6363コピー/10⁵細胞

胞以上と算出された。

神奈川県A農場において飼養されている6ヶ月齢以上の乳牛49頭から採血を行い、ELISA法による抗BLV抗体の検出とダイレクトPCR法によるBLV遺伝子の検出を行った。その結果、49検体中18検体 (36.7%) において本法陽性であった (Table 3)。ダイレクトPCR法陽性の18検体は、ELISA法による抗BLV抗体も陽性であり、ダイレクトPCR陰性かつ抗BLV抗体陽性の検体は、6検体あった。これらの結果より、ダイレクトPCR法の感度は75%、特異度は100%であった。

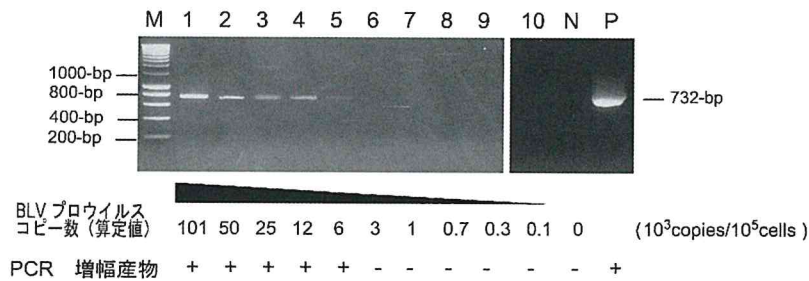


Fig. 4 ダイレクトPCR法の検出限界の検討 (M= DNA マーカー、P=陽性対照 BLV分子クローンpBLV-IF、N=BLV陰性牛の血液)

考 察

本研究では、BLV感染をより簡便迅速に検出できるダイレクトPCR法を確立した。この方法の検出限界は6363コピー/10⁵細胞であり、ELISA法による抗BLV抗体検出結果との比較では、感度は75%、特異度は100%であった (Table 3)。

BLVの重要な感染経路として、昆虫や汚染血液を介した機械的伝播による水平感染が挙げられる。これらの伝播リスクは感染牛の血中BLVプロウイルス量と相関することが報告されており、これまでに、

3000コピー/10⁵ 細胞未満では伝播リスクが低いという報告がある¹⁶⁾。今回確立されたダイレクト PCR法のBLV検出限界値は6363コピー/10⁵ 細胞であり、かつ、3181コピー/10⁵ 細胞では電気泳動の結果増幅産物が検出されなかった。これらの結果より、本方法は伝播リスクの高い牛（血中BLVコピー数が6363コピー/10⁵ 細胞以上の牛）のスクリーニングに寄与すると考える。

すでに、竹嶋ら¹⁷⁾ 及び西森ら¹⁸⁾ により、ダイレクト PCR法によるBLV検出方法に関する論文が発表されているが、竹嶋らは、PCR反応に使用するプライマーに、LTR領域に設定した多数の配列を含む特殊な縮重プライマー (CoCoMo primer, 理研ジェネシス, 神奈川県, 約266円/検体) を使用している点が本方法と相違している。本方法にて使用しているForward プライマーとReverseプライマーはデータベースに登録されているBLV配列上の保存性が高い位置に設定されていることから、多数のプライマーが不必要であり、汎用性が高く、1検体あたりの価格も約1円と安価である。また、PCR反応条件は、アニーリング温度を66度から62度まで5サイクルごとに2度ずつステップダウンし、さらに60度にて50サイクル繰り返すことから、所要時間が約4時間と、本研究方法と比較して約一時間程度長い。西森らは、LTR領域に設定したプライマーを使用し、その所要時間は本研究とほぼ同程度であるが、相違点としてテンプレートとして使用する血液の希釈が必要となる。

本研究において確立したダイレクト PCR法は、①所要時間が約3時間と従来法より短く、②採血時の血液を直接PCR反応液に加えて迅速な検査が可能であり、操作が簡便で、③1検体あたりの消耗品にかかる諸経費は22.4円と安価であることから、BLVの簡易迅速診断方法として有用である。本方法は、野外における定期的な感染モニタリング及び伝播リスクの高い個体の摘発に適しており、BLV陽性牛の隔離や分離飼育によってBLVの感染拡大を制御できる検査法として活用できるものと考えられる。

謝 辞

本研究に使用した血液検体の採取にご協力いただいた農場及び家畜保健衛生所の方々に感謝する。

文 献

- 1) Aida, Y., H. Murakami, M. Takahashi, and S. N. Takeshima. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. *Front. Microbiol.*, 4:328.2013.
- 2) Barez, P. Y., A. de Brogniez, A. Carpentier, H. Gazon, N. Gillet, G. Gutierrez, M. Hamaidia, J. R. Jacques, S. Perike, S. Neelature Sriramareddy, N. Renotte, B. Staumont, M. Reichert, K. Trono, and L. Willems. Recent Advances in BLV Research. *Viruses* 7(11):6080-6088.2015.
- 3) Murakami, K., S. Kobayashi, M. Konishi, K. Kameyama, and T. Tsutsui. Nationwide survey of bovine leukemia virus infection among dairy and beef breeding cattle in Japan from 2009-2011. *J. Vet. Med. Sci.*, 75(8):1123-1126.2013.
- 4) Kohara, J., S. Konnai, and M. Onuma. Experimental transmission of Bovine leukemia virus in cattle via rectal palpation. *Jpn. J. Vet. Res.*, 54(1):25-30.2006.
- 5) Kobayashi, S., T. Tsutsui, T. Yamamoto, Y. Hayama, K. Kameyama, M. Konishi, and K. Murakami. Risk factors associated with within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairy farms in Japan. *BMC Vet. Res.*, 6:1.2010.
- 6) Mekata, H., S. Sekiguchi, S. Konnai, Y. Kirino, K. Honkawa, N. Nonaka, Y. Horii, and J. Norimine. Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus. *Vet. Rec.*, 176(10):254.2015.
- 7) Ohno, A., S. N. Takeshima, Y. Matsumoto, and Y. Aida. Risk factors associated with increased bovine leukemia virus proviral load in infected cattle in Japan from 2012 to 2014. *Virus Res.*, 210:283-290.2015.
- 8) Tajima, S., Y. Ikawa, and Y. Aida. Complete bovine leukemia virus (BLV) provirus is conserved in BLV-infected cattle throughout the course of B-cell lymphosarcoma development. *J. Virol.*, 72(9):7569-7576.1998.

- 9) Ikebuchi, R., S. Konnai, T. Okagawa, K. Yokoyama, C. Nakajima, Y. Suzuki, S. Murata, and K. Ohashi. Blockade of bovine PD-1 increases T cell function and inhibits bovine leukemia virus expression in B cells in vitro. *Vet. Res.*, 44:59.2013.
- 10) Jimba, M., S. N. Takeshima, K. Matoba, D. Endoh, and Y. Aida. BLV-CoCoMo-qPCR: Quantitation of bovine leukemia virus proviral load using the CoCoMo algorithm. *Retrovirology* 7:91.2010.
- 11) Jimba, M., S. N. Takeshima, H. Murakami, J. Kohara, N. Kobayashi, T. Matsuhashi, T. Ohmori, T. Nunoya, and Y. Aida. BLV-CoCoMo-qPCR: a useful tool for evaluating bovine leukemia virus infection status. *BMC Vet. Res.*, 8:167.2012.
- 12) Takeshima, S. N., Y. Kitamura-Muramatsu, Y. Yuan, M. Polat, S. Saito, and Y. Aida. BLV-CoCoMo-qPCR-2: improvements to the BLV-CoCoMo-qPCR assay for bovine leukemia virus by reducing primer degeneracy and constructing an optimal standard curve. *Arch. Virol.*, 160(5):1325-1332.2015.
- 13) Yuan, Y., Y. Kitamura-Muramatsu, S. Saito, H. Ishizaki, M. Nakano, S. Haga, K. Matoba, A. Ohno, H. Murakami, S. N. Takeshima, and Y. Aida. Detection of the BLV provirus from nasal secretion and saliva samples using BLV-CoCoMo-qPCR-2: Comparison with blood samples from the same cattle. *Virus Res.*, 210:248-254.2015.
- 14) Inoue, E., K. Matsumura, N. Soma, S. Hirasawa, M. Wakimoto, Y. Arakaki, T. Yoshida, Y. Osawa, and K. Okazaki. L233P mutation of the Tax protein strongly correlated with leukemogenicity of bovine leukemia virus. *Vet. Microbiol.*, 167(3-4):364-371.2013.
- 15) Moratorio, G., S. Fischer, S. Bianchi, L. Tome, G. Rama, G. Obal, F. Carrion, O. Pritsch, and J. Cristina. A detailed molecular analysis of complete bovine leukemia virus genomes isolated from B-cell lymphosarcomas. *Vet. Res.*, 44:19.2013.
- 16) Mekata, H., S. Sekiguchi, S. Konnai, Y. Kirino, Y. Horii, and J. Norimine. Horizontal transmission and phylogenetic analysis of bovine leukemia virus in two districts of Miyazaki, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 77(9):1115-1120.2015.
- 17) Takeshima, S. N., S. Watanuki, H. Ishizaki, K. Matoba, and Y. Aida. Development of a direct blood-based PCR system to detect BLV provirus using CoCoMo primers. *Arch. Virol.*, 161(6):1539-1546.2016.
- 18) Nishimori, A., S. Konnai, R. Ikebuchi, T. Okagawa, A. Nakahara, S. Murata, and K. Ohashi. Direct polymerase chain reaction from blood and tissue samples for rapid diagnosis of bovine leukemia virus infection. *J. Vet. Med. Sci.*, 78(5):791-796.2016.

症 例

トセラニブが奏功した消化管間質腫瘍 (GIST) の犬の1例

大黒屋 勉¹⁾・大黒屋有美¹⁾

[2016年11月30日受付・受理]

CLINICAL CASE

Efficacy of toceranib for gastrointestinal stromal tumor (GIST) in a dog

Tsutomu DAIKOKUYA and Yumi DAIKOKUYA

Toceranib is a molecularly targeted drug that affects specific tumor cells which expresses particular molecules. A male 13-year-old toy poodle showed body weight loss and a movable large abdominal mass. Ultrasonography detected a low echogenic mass that involved a part of small intestine. Although a celiotomy was performed to remove the mass on Day 24, part of the mass could be removed as the mass adhered to a major intestinal artery. Pathologic examination revealed that the mass was a gastrointestinal stromal tumor (GIST); genetic analysis showed a mutation of c-KIT. The dog received toceranib phosphate 2.5mg/kg every other day, starting from Day 45. At Day 53, ultrasonography showed the mass to be reduced in size, and it was no longer palpable by Day 117. The dog showed side effects, including continuous anorexia. We extended the dosage term to every 3 days and the dog's appetite and body weight recovered. The tumor has not recurred for 13 months. More studies are needed to identify optimal dosage and medication intervals for toceranib in dogs.

要 約

トセラニブは癌細胞に特異的に過剰発現、機能亢進して腫瘍化させる特定の分子に作用する、犬用の分子標的薬のひとつである。症例はトイ・プードル、未去勢オス、13歳齢、体重減少と腹腔内の可動性腫瘍を主訴に来院。腹部超音波検査において、小腸の一部を巻き込む低エコー原性で直径4cmの硬性腫瘍病変が認められた。第24病日に外科的切除を目的とした開腹手術を行ったところ、腫瘍病変は腸間膜動脈に密着しており、完全切除は困難な状況であった。病理組織検査の結果は消化管間質腫瘍 (GIST) であった。第45病日よりトセラニブリン酸塩2.5mg/kgの隔日投与を開始した。第58病日には腫瘍に若干の縮小が見られ、その後も徐々に縮小し、第117病日に腫瘍は触知されなくなった。投薬中、明らかな副反応は認められなかったが、食欲むらは持続的に認められた。食欲不振と体重減少が顕著となったため、投薬間隔を3日毎としたところ、食欲・体重ともに回復した。本症例では遺伝子検査においてc-KIT遺伝子に変異が認められた。投薬開始より13か月が経過した現在まで、腫瘍の再発は確認されていない。これらのことから、適切な投薬量および投薬間隔の決定には更なる知見が必要と考えられた。

キーワード：消化管間質腫瘍 (gastrointestinal stromal tumor : GIST)、分子標的薬、トセラニブ

1) みさお動物病院：〒740-0022 山口県岩国市山手町3-2-12 1F

はじめに：トセラニブは癌細胞に特異的に過剰発現し、細胞の増殖機能を亢進して腫瘍化させる特定の分子に作用する、犬用の分子標的薬のひとつである。トセラニブが標的とする分子すなわち受容体型チロシンキナーゼの一つに幹細胞成長因子受容体 (KIT) が挙げられる。KITの遺伝子c-KITの変異は犬においては肥満細胞腫と消化管間質腫瘍 (gastrointestinal stromal tumor : GIST) で確認されている¹⁾。今回、外科的摘出が困難であったGISTの犬において、トセラニブの長期投与により腫瘍塊が消失する著効が認められた症例に遭遇したため、その概要を報告する。

症例：症例はトイ・プードル、未去勢オス、13歳6ヵ月齢。体重減少と腹腔内の可動性腫瘍を主訴に来院。初診時の体重3.7kg (BCS 2/5) と削瘦していた。中腹部の腹腔内に鶏卵大の硬く可動性のある腫瘍が触知された。血液検査において異常値は認められなかった。レントゲン検査において腹部のディテイルは低下しており、消化管のガス陰影は腫瘍のマス効果によって頭背側に変位していた (図1)。腹部超音波検査において、中腹部に低エコー源性の塊状病変が認められた。病変は腸管のガス陰影を含んでおり、また腸管の層構造が不明瞭であったことから、腸壁から生じた腫瘍または腸管を巻き込んだ腫瘍が示唆された (図2)。

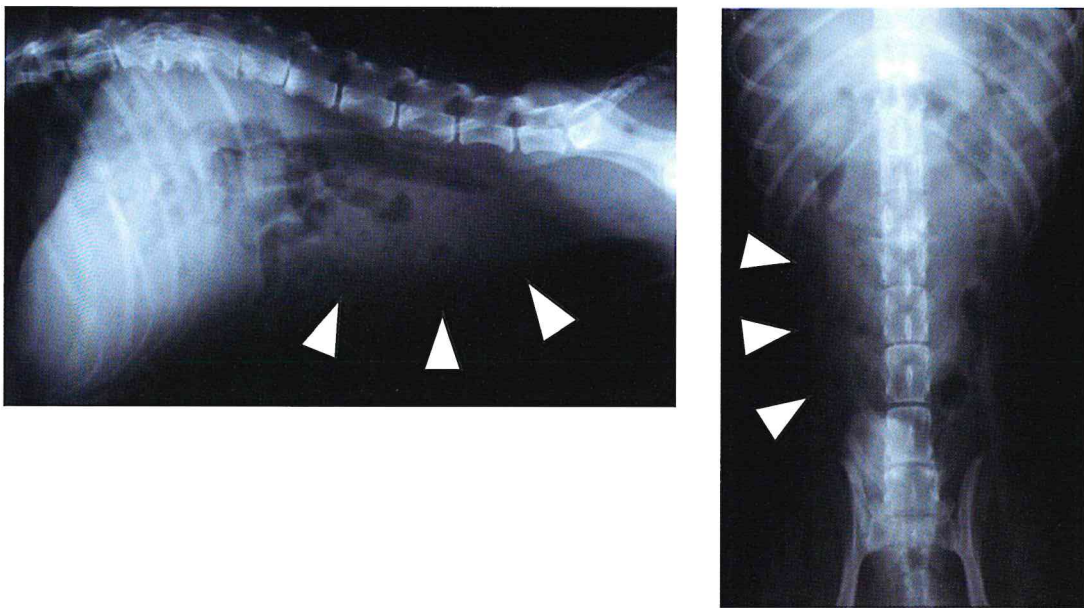


図1. 腹部X線写真. 中腹部の塊状病変により消化管のガス陰影は頭背側へ変位していた。



図2. 腹部超音波画像. 塊状病変は腸管のガス陰影を含み、また腸管の層構造が不明瞭であった。

手術：第24病日に外科的切除を目的とした開腹手術を行った。腫瘍は回盲結腸部付近の腸管に癒着していた。一部は腸間および間膜からの剥離が可能であったものの、腸間膜動脈に癒着した部分は剥離に伴う出血の危険性が高いと考えられた(図3)。また血管を結紮した場合、広範囲の腸管に虚血が生じる恐れがあったことから完全切除は断念し、生検を行って閉腹した。

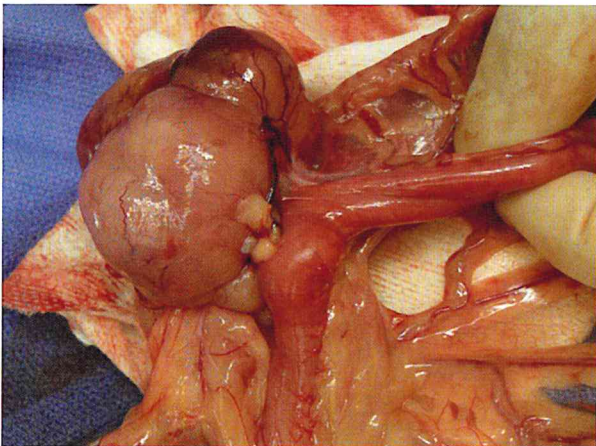


図3. 腫瘍の肉眼像。病変の一部は腸間膜動脈に癒着していた。

病理組織検査：生検材料の病理診断結果は、GISTであった。GISTは消化管の間葉系細胞であるカハール細胞に由来する悪性腫瘍であり、免疫染色において幹細胞成長因子受容体(KIT)陽性を示すことによって診断される²⁾。本症例は免疫染色においてKIT陽性を示し、また遺伝子検査においてc-KIT遺伝子に変異が認められた(図4)。

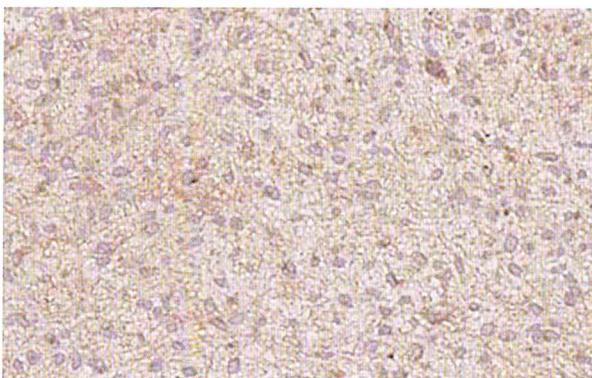


図4. c-KIT免疫染色。腫瘍細胞はc-KITに陽性を示した。(写真提供 アマネセル)

治療と経過：第42病日よりトセラニブリン酸塩2.5mg/kg、隔日の経口投与を開始した。投与開始より13日目の第58病日には腫瘍に若干の縮小が認められ、その後も徐々に縮小した。72日目の第117病日に腫瘍は触知されなくなり、腹部超音波

検査においても病変は検出されなかった。投薬中に重篤な副反応は認められなかったものの、食欲むらと体重減少が認められた。このためメトクロプラミド0.3mg/kg、12時間毎、経口投与またはプロナミド0.5mg/kg、12時間毎、経口投与を追加したが、いずれにおいても食欲および体重は回復しなかった。第181病日に投与間隔を3日毎としたところ、食欲および体重ともに回復した。また再度の食欲不振と体重減少が認められた際にはファモチジン1mg/kg、24時間毎の経口投与で明らかな改善が認められた。

考察：GISTは過去の文献において平滑筋由来でない消化管の間葉系腫瘍と記載されており、転移率が高くないことから平滑筋肉腫との臨床的な鑑別は重要ではないとする報告もあった³⁾。しかし、近年これらの分類は症例の予後に影響することが知られている。小腸の平滑筋肉腫と診断されていた症例の半数以上がKIT染色でGISTと判明したとの報告もある⁴⁾。KITは消化管筋層に分布するカハール細胞などで認められる。KITの遺伝子c-KITに変異が生じると細胞増殖の制御が破綻し、細胞が腫瘍化すると考えられている。このためc-KIT遺伝子に変異が認められた場合、KITを標的とした分子標的薬が有効である可能性が高いと考えられる。犬のGISTに対する分子標的薬の使用は、イマチニブを用いた症例が報告されている^{5) 6)}。本症例においてはトセラニブの長期投与により、腫瘍塊が消失する奏効が認められた。犬のGISTの75%がc-KIT遺伝子変異陽性を示すと報告されている¹⁾。本症例は遺伝子検査においてc-KIT遺伝子変異陽性であったため、KITを標的とするトセラニブが効果的であったものと考えられた。また、トセラニブはKITの他にも複数の受容体型チロシンキナーゼを阻害することからマルチキナーゼ阻害薬と呼ばれている⁷⁾。トセラニブの血小板由来成長因子受容体(PDGFR)や血管内皮細胞増殖因子受容体(VEGFR)の阻害作用も、腫瘍への血管新生を抑制し、腫瘍細胞の増殖を抑制したのと考えられた。トセラニブの副作用として、食欲不振、体重減少、嘔吐、下痢などの消化器症状が挙げられる⁸⁾。本症例においては添付文書に記載されている投与量の最低用量に近い量を投与したものの、副作用と考えられる食欲不振が認められた。このため、投与間隔を隔日から3日毎に広げたところ食欲が回復し、また腫瘍の縮小効果も継続的に認められた。投与開始より14か月が経過した時点で、トセラニブ2.5mg/kg、4日毎の投与で再発はなく良好に維持されている。このことから、投与量および投与間隔については更

なる検討が必要と考えられた。本症例の食欲不振に対しては、メトクロプラミドやモサプリド投与時よりもファモチジン投与時に改善が認められ

たことから、トセラニブ投与時の食欲不振に対しては投与量の調整に加え、ファモチジンの併用が効果的である可能性が示唆された。

参考文献

- 1) London CA : Tyrosine kinase inhibitors in veterinary medicine. *Top. Companion Anim. Med.*, 24(3):106-112 (2009)
- 2) Coindre JM: Gastrointestinal stromal tumors: definition, histological, immunohistochemical, and molecular features, and diagnostic strategy. *Ann Pathol. Oct;25(5):358-385(2005)*
- 3) 桃井康行監訳：犬の腫瘍 Managing the Canine Cancer Patient. A Practical Guide to Compassionate Care. インターズー, 東京, ; 413 (2008)
- 4) Russell KN : Clinical and immunohistochemical differentiation of gastrointestinal stromal tumors from leiomyosarcomas in dogs: 42 cases. *J Am Vet Med Assoc.*, May 1 ;230(9):1329-1333 (1992)
- 5) Kobayashi M : Imatinib-associated tumor response in a dog with a non-resectable gastrointestinal stromal tumor harbouring a c-kit exon 11 deletion mutation. *Vet J.*, Oct;198(1):271-274 (2013)
- 6) Irie M: Imatinib mesylate treatment in a dog with gastrointestinal stromal tumors with a c-kit mutation. *J Vet Med Sci.*, Nov;77(11):1535-1539(2015)
- 7) Liao AT: Inhibition of constitutively active forms of mutant kit by multitargeted indolinone tyrosine inhibitors. *Blood.*, Jul 15;100(2):585-593(2002)
- 8) London CA: Multi-center, Placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. *Clin Cancer Res.*, 15:3856-3865(2009)

平成28年度 獣医学術中国地区学会賞受賞演題 (山口県)

IMP-1メタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Acinetobacter* 属菌の感染が確認された犬猫2症例

木村 唯^{1) 2)}・宮本 忠²⁾・青木弘太郎³⁾・石井良和³⁾・
原田和記⁴⁾・度会雅久¹⁾・鳩谷晋吾⁵⁾

[2016年8月26日受付・2017年1月15日受理]

1. はじめに：近年、愛玩動物と人との関係はより密接となり、これにより各種薬剤耐性菌の人-動物間の共有化が懸念されている。*Acinetobacter*属菌は、自然環境中に存在するが、人医療分野において日和見感染や院内感染を起こす薬剤耐性菌として注目されており、特にカルバペネム耐性株は人医療上深刻な問題となっている。犬や猫においても、*Acinetobacter*属菌は尿路感染症、呼吸器感染、皮膚感染症などから低率ではあるが分離され、耐性菌の出現も報告されている。

β-ラクタマーゼはβ-ラクタム系薬に存在するβ-ラクタム環のペプチド結合を切断する酵素である。β-ラクタマーゼはそのアミノ酸配列の保存されたモチーフをもとに4クラス(A, B, C, D)に分類されている。このうちクラスBに属する酵素は活性中心に亜鉛イオンを有することからメタロ-β-ラクタマーゼ(MBLs)とも呼ばれ、カルバペネム系薬を含む広い基質特異性を有する酵素であり、遺伝子型としては bla_{NDM-1} 、 bla_{VIM-1} 、 bla_{IMP-1} などが知られている。人の医療機関ではMBLs産生菌が1990年代以降から分離されるようになり、菌種も*Pseudomonas aeruginosa*、*Klebsiella pneumoniae*、*Acinetobacter*属菌など多岐にわたっている。一方、犬や猫においてはこれまでMBLs産生菌の分離報告例はわずかであり、当院では2011年にはじめてMBLs産生*A. lwoffii*の分離を報告し、2013年と2015年にはアメリカと中国でそれぞれ犬と猫から bla_{NDM-1} が検出されている。

今回、犬と猫からカルバペネム耐性を示すMBLs産生*Acinetobacter*属菌が分離されたので、その菌種および耐性遺伝子型などについて精査した。

2. 症例および方法：症例1は、犬、ヨークシャー・テリア、去勢雄、9歳齢、基礎疾患として糖尿病があり、インスリン治療中であった。血尿と頻尿が認められたため、膀胱炎を疑い、カテーテル尿を遠心分離後、沈渣を採取した。症例2は猫、マンチカン、未去勢雄、8か月齢、他の動物病院で結膜炎の治療を行うも治癒しないとの主訴で来院され、細菌性結膜炎を疑い、膿性眼分泌物を採取した。いずれの検体においても細菌分離および薬剤感受性検査は、(株)日本医学臨床検査研究所に依頼した。さらに次世代シーケンシングによる全ゲノム解析を行い、*rpoB*遺伝子全長配列の相同性による菌種同定と、薬剤耐性遺伝子の網羅的検索を行った。

3. 結果：いずれの症例の検体からも単一の菌株が分離され、これら2株の*rpoB*遺伝子配列は共に*A. radioresistens*に99.4%の相同性を示したことから、本菌種と同定した。また、これらの検体から、他の細菌および真菌は分離されなかった。薬剤感受性検査では、両株ともカルバペネム系薬を含む調査したすべてのβ-ラクタム系薬に耐性を示したが、症例1由来株ではミノサイクリンに感性であり、症例2由来株ではミノサイクリンとレボフロキサシンに感性であった。全ゲノム解析の結果、両株ともに薬剤耐性遺伝子が複数検出され、中にはMBLs遺伝子の bla_{IMP-1} が含まれていた。以上の原因菌の性状を踏まえて、

1) 山口大学連合獣医学研究科 2) みやもと動物病院・山口県 3) 東邦大学医学部 4) 鳥取大学農学部
5) 大阪府立大学生命環境科学研究科

症例1ではテトラサイクリン系内服薬、症例2ではテトラサイクリン系内服薬とフルオロキノロン系点眼薬を併用し、治療を行ったところ、2症例ともに20日後に治癒を確認した。

4. 考察：これまでに犬と猫から分離が報告されたMBLs遺伝子は bla_{NDM-1} のみであり、 bla_{IMP-1} の検出は今回の症例が世界で初めてとなる。今回の分離株ではこの bla_{IMP-1} がカルバペネム耐性の責任遺伝子であると考えられた。なお、いずれの感染症例にもカルバペネム系薬の投与歴はないことから、少なくとも選択圧は本耐性菌の発生に関与していないと考えられ、その他の獲得経路や感染源は特定できなかった。MBLsはほぼすべての β -ラクタム系薬を分解するため、 β -ラクタマーゼ産生菌の中でも特に注意すべきであり、薬剤感受性検査に基づいた適切な抗菌薬の選択が必要である。また、MBLs遺伝子がプラスミド上に存在する場合、菌種を越えて伝達する可能性があり、さらに bla_{IMP-1} は国内の人医療では分離頻度の高い遺伝子型であるため、人と愛玩動物との間で伝播・拡散する可能性が考慮される。今後、動物病院内外におけるMBLs産生菌の動向には注意し、分離された場合には確実な治療と拡散防止対策が必要であると考えられる。

出典：平成28年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会（石川）講演要旨集（88頁）

山口獣医学雑誌 投稿規程

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、この規程による。
 2. 原稿は2部（正本1部、コピー1部）を学会事務局あて送付する。
 3. 原稿は、編集委員会において審査し、原稿の採否及び掲載の順位は、編集委員会が決定する。
但し、編集委員会は、内容に応じて専門家に原稿の審査を依頼することができる。また、審査の過程で著者への修正を求め、再審査を行うことがある。
 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、A4版の用紙を用い、1ページ24字×25行とする。
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・英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、著者実費負担とすることがある。但し、編集委員会の依頼による総説論文の原稿は、この限りではない。
 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、英文抄録は刷り上がり1ページ以内とする。英文原稿は、A4版の用紙にダブルスペースで印字するとともに、別に簡潔に要約した和文抄録（刷り上がり1ページ以内）を添付する。
なお、要約の最下段には、原著で5語以内、短報では3語以内のキーワードを記載する。
 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. 表の天とじ掲載を必要とする場合は、その旨原稿に明記する。
 10. カラー写真をトリミングする場合はコピー（白黒で可）について記入指定する。
 11. 凸版の原図は、黒インク等でA4版の青色方眼紙または白紙に明記する。原図および写真の送付にあたっては、折・汚損に留意し、台紙に仮付する。
 12. 引用文献は、本誌、本文に引用したものに限り、著者名、論文表題、掲載誌、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.
13. 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よる。
 14. 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。
 15. 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。
 16. 掲載論文の著作権及び電子的形態による利用も含めた包括的な著作権は、公益社団法人山口県獣医師会に帰属する。
 17. この規程の改廃は、編集委員会の議を経て、理事会で決定する。

附 則

1. この規程は、平成24年12月13日から施行する。（3項, 16項, 17項改正）

山口獣医学雑誌編集内規

- 第1条 雑誌は、原則として毎年12月に定期刊行する。
- 第2条 編集は家畜衛生、小動物医療、獣医公衆衛生及び関連領域の総説、原著、短報、資料等で会員等の寄稿原稿及び学会の依頼原稿について行う。
- 但し、会員外の者が筆頭著者の場合は、投稿料20,000円を徴収する。
- 第3条 学会長は、学会運営委員の中から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、配付、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、学会長が必要に応じて招集する。
 - (2) 委員長並びに副委員長は、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の議を経て、理事会で決定する。

附 則

1. この内規は、昭和54年（1979年）10月13日から実施する。
2. 平成22年11月18日一部改正（第1条、2条、8条）
3. 平成24年12月13日一部改正（第2条、3条、6条、8条）

山口県獣医師会関係事業および刊行物

事業概要

獣医学術の振興・普及・獣医療技術の向上，獣医事の適正化，動物愛護精神の高揚を基調として，畜産の振興，公衆衛生の向上並びに動物保健衛生の向上に関する事業を行い，人と動物による健全かつ豊かな生活と公共福祉の増進に寄与する。

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，2016年現在，第54回学会を終了。

講習会・研修会

産業動物，小動物，獣医公衆衛生並びに同関係の講習・研修会を県獣医師会主催で開催するほか，中国地区獣医師会連合会，公益社団法人日本獣医師会，農林水産省，厚生労働省等との共催，後援等により年5～6回実施。

刊行物

[定期刊行物]

・山口県獣医師会会報

1961年6月創刊，毎月1回発行，現在（2016年12月）第667号を発刊。機関事業・方針，提言・要望，学会・学術情報・広報・行事開催，一般公開情報，関連統計等を登載，県内会員，関連機関および全国都道府県獣医師会等へ配布。

・山口獣医学雑誌

1974年1月創刊，毎年1回発行，現在（2016年12月）第43号を発刊。和文，英文の総説，原著，症例報告，短報等，論文を登載。山口県獣医学会の機関誌として内外の学術誌と交換。

・山口県獣医学会抄録

毎年8月発刊

・研修・講習会テキスト

[不定期刊行物]

・技術マニュアル

・事業実施マニュアル

・創立記念号

30年の歩み，50年の歩み等

山口獣医学雑誌

第43号

2016年12月発行

編集委員長	度会雅久	編集委員	澤井利幸
副編集委員長	白永伸行		野村恭晴
			藤田 亨
			中市統三

発行責任者 公益社団法人 山口県獣医師会
会長理事 山野 洋一
〒754-0002
山口県山口市小郡下郷1080番地3
TEL (083) 972-1174
FAX (083) 972-1554
E-mail yama-vet@abeam.ocn.ne.jp
http://www.yamaguchi-vet.or.jp

印刷所 株式会社マルニ
山口県山口市道祖町 7-13

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 43

DECEMBER

2016

CONTENTS

REVIEW

- Possible parasitic diseases after consumption of wild animal products, so-called 'gibier', in Japan
Hiroshi SATO and Kayoko MATSUO 1 ~ 11
- Bovine leukemia virus infection and control measures in the field
Hirohisa MEKATA 13 ~ 20

ORIGINAL ARTICLE

- Faster and economical detection of bovine leukemia virus directly from blood for the routine diagnosis
Tomoko KOBAYASHI, Sonoko WATANUKI, Yui KIKUCHI, Shin-nosuke TAKESHIMA,
Yoko AIDA and Satoshi MURAKAMI 21 ~ 27

CLINICAL CASE

- Efficacy of toceranib for gastrointestinal stromal tumor (GIST) in a dog
Tsutomu DAIKOKUYA and Yumi DAIKOKUYA 29 ~ 32
- Infection with IMP-1 type metallo- β -lactamase-producing *Acinetobacter* in companion animal
Yui KIMURA, Tadashi MIYAMOTO, Kohtaro AOKI, Yoshikazu ISHII, Kazuki HARADA,
Masahisa WATARAI and Shingo HATOYA 33