原 著

山羊に発生した続発性銅欠乏症

松本裕一^{1)†} 稲見健司¹⁾ 依田真理¹⁾ 市川 優²⁾ 小西美佐子³⁾木村久美子³⁾ 大橋 傳³⁾ 宮本 亨³⁾

1) 福島県中家畜保健衛生所 (〒963-8041 郡山市富田町字満水田2)

2) 栃木県県央家畜保健衛生所 (〒321-0905 宇都宮市平出工業団地6-8)

3) 独農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所 (〒305-0856 つくば市観音台3-1-5)

(2008年1月30日受付・2008年5月1日受理)

要 約

2006年6月、山羊68頭飼養する農場で、子山羊5頭が歩様異常と起立不能を呈した。発症山羊3頭を検索した結果、1頭の末梢白血球から山羊関節炎・脳脊髄炎(CAE)ウイルス特異遺伝子が検出されたが、病理組織学的所見はCAEの特徴的病変とは異なり、共通して脊髓腹根軸索変性と腹角神経細胞体の中心性色質融解が認められた。また肝臓および血清銅濃度は、著しく低値を示したため銅欠乏症と診断した。同居山羊の血清銅濃度も低値であったが、給与飼料中の銅含量は適正であり、続発性の銅欠乏が示唆された。同農場は同年4月に放牧地へ石灰散布しており、この牧草の摂取による影響が考えられたため、石灰散布試験を実施し、牧草中微量元素を測定した。試験区では対照区に比べ、銅吸収阻害作用のあるモリブデンが増加したため、石灰散布が銅欠乏の一因になったと思われる。

——キーワード：起立不能，銅欠乏症，山羊，石灰散布，モリブデン。

----- 日獣会誌 61, 853～857 (2008)

銅は主として色素タンパク質の形で生体内に含まれ、シトクロム酸化系による組織での酸化や、鉄と共同してヘモグロビンを合成し赤血球造血に関与するなど、重要な生物学的役割を担っている [1-6]。そのため銅が欠乏すると、酸化代謝が低下し、吸収不良による下痢、発育不良、被毛の退色、骨の障害、中枢神経障害による歩様蹣跚、貧血など多種多様な臨床症状がみられる。これらの症状は動物種、銅不足が影響した期間、銅の阻害因子の摂取状況などさまざまな要因に影響される [1-3]。銅欠乏症には、飼料中の銅含有量の不足による原発性のもと、阻害因子により銅の吸収が阻害されて結果的に銅欠乏をおこす続発性のものがある [3, 6]。

山羊の運動障害を主徴とする疾病には、山羊関節炎・脳脊髄炎(CAE)や銅欠乏症、腰麻痺などがあり、その鑑別には広範囲な検査が必要となる。わが国において山羊の運動障害を報告する例は少なく、著者らが検索した範囲では山羊の銅欠乏症に関する報告はみられない。

今回、濃厚飼料を給与される家畜においてはまれな

[2, 3] 銅欠乏症を確認したので、その概要を報告する。

材 料 お よ び 方 法

供試動物：歩様異常と起立不能を呈した子山羊3頭 (No. 1; 3カ月齢，雄，死亡後24時間，No. 2; 2カ月齢，雄，No. 3; 2カ月齢，雌) について (発生状況は成績内に記載) ウイルス学的、病理学および生化学的検査を実施した。また同居山羊血清および給与飼料について生化学的に検査するとともに、対照農場として県内外各1農場の山羊血清 (県内：トカラ山羊，シバ山羊，県外：ザーネン種) についても銅濃度測定を行った。

さらに、石灰散布による牧草への影響を調査するため石灰散布試験を別途実施した (後述)。

ウイルス学的検査：CAEウイルス (CAEV) と抗原共通性の高いマエディウイルスの糖蛋白抗原を用いた寒天ゲル内沈降試験により血清中の抗CAEV抗体検出を行った。各臓器乳剤 (No. 1～3) および末梢白血球 (No. 2, 3) よりDNAを抽出しCAEVのgag遺伝子の

† 連絡責任者：松本裕一 (福島県中家畜保健衛生所)

〒963-8041 郡山市富田町字満水田2

☎024-923-4305 FAX 024-923-4555

E-mail: mathumoto_yuithi_01@pref.fukushima.jp

図1 脊髄の腹根軸索の萎縮または消失と軸索領域の拡張。軽度の単核細胞浸潤を伴う(HE染色 Bar = 50 μ m)。挿図：軸索の萎縮，変形および断片化と髄鞘の軽度の剝離と断片化。樹脂包埋，トルイジンブルー染色(Bar = 10 μ m)。

図2 同居山羊の血清銅濃度の推移

表1 給与飼料内容

内 容	区 分	給与量 (kg/頭)
購入乾草 (バミューダグラス)	全 頭	飽 食
濃厚飼料	成山羊	0.8
(そうこう類36%, 穀類34%, 植物性油かす類19%, 他11%)	育成山羊	0.5
	子山羊	0.7
牧草 (生草)	全 頭	自由採食

表2 発症山羊の肝臓中および血清中銅濃度

検体No.	銅 濃 度	
	肝臓 (μ g/g乾物)	血清 (μ g/ml)
1	2.5	NT
2	4.0	0.28
3	3.8	0.15
標準値 ¹⁾	40.0	0.57-1.59

1) 引用文献 [11, 12]

表3 同居山羊および対照農場山羊の血清中微量元素濃度

農 場	品 種	区 分	検査頭数	微量元素濃度 (μ g/ml) ¹⁾		
				Cu	Fe	Zn
発生農場	ザーネン	成山羊	12	0.36 $\pm$ 0.17 ^a	1.34 $\pm$ 0.37	0.57 $\pm$ 0.13
		育成山羊	12	0.29 $\pm$ 0.18 ^a	1.18 $\pm$ 0.37	0.66 $\pm$ 0.13
		子山羊	17	0.51 $\pm$ 0.23 ^a	1.30 $\pm$ 0.28	0.63 $\pm$ 0.09
県内対照農場	トカラ, シバ	混 合	10	1.00 $\pm$ 0.30 ^b	1.74 $\pm$ 0.25	0.79 $\pm$ 0.13
県外対照農場	ザーネン	混 合	30	1.03 $\pm$ 0.26 ^b	1.66 $\pm$ 0.23	0.67 $\pm$ 0.11

1) 平均値 $\pm$ 標準偏差

a, b: 異符号間に有意差 ($P < 0.01$)

一部を特異的に増幅するプライマーを使用したPCRを行った [7]。また、各臓器の10%乳剤を作製し、上清を山羊胎子脈絡叢細胞 (FGC cell) および羊胎子肺細胞 (FLL cell) に接種し、37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 環境下で培養、継代した [7]。また、同居山羊についても、同様の抗体検査およびウイルス遺伝子検出を実施した。

病理学的検査：3頭を剖検するとともに、全身諸臓器から得た検査材料を10%緩衝ホルマリン液で固定し、定法に従いパラフィン包埋切片のHE染色、PAS染色、ボディアン染色標本を作製し、鏡検した。また樹脂包埋切片のトルイジンブルー染色標本の鏡検および透過型電子顕微鏡観察を行った。

生化学的検査：血清中銅、鉄、亜鉛濃度は、血清を1N塩酸で希釈した後トリクロル酢酸で除タンパクし、原子吸光分光光度計で測定した [8]。肝臓中銅濃度は、肝臓を乾熱機で乾燥させた後、湿式灰化し、原子吸光分光光度計で測定した [8]。生草、乾草、配合飼料中銅濃度については、試料を乾燥後、硝酸、過塩酸-硫酸混液による湿式灰化後 [9]、原子吸光分光光度計で測定した。飼料中のモリブデン濃度は、湿式灰化後の試料を用いて比色法で測定した [10]。

石灰散布試験：発生農場内にあり2006年に石灰散布していない放牧地 (牧草：ケンタッキーブルーグラス) に1m²の試験区および対照区を設け、試験区に1kgの消

図3 石灰散布後の牧草中微量元素濃度の推移

石灰を散布し、散布前および散布後1カ月ごとに4カ月後まで牧草を採材した。採材した牧草について銅、亜鉛、鉄、モリブデンの濃度を測定した。

成 績

発生状況：ザーネン種成山羊25頭、育成山羊14頭および子山羊29頭飼養する福島県内の一農場において、2006年4月に放牧地に消毒効果を目的に石灰散布（0.5～1.0kg/m²）を実施した。同年5月中旬より1カ月齢の子山羊5頭において運動障害がみられた。発症子山羊は元気および食欲があり、おもな臨床症状は後肢の運動障害による歩様異常で、障害は次第に前肢におよび起立不能を呈した。給与飼料は、舎内にて濃厚飼料および乾草を給餌されていたが、日中は放牧地で自由に牧草を摂取していた（表1）。

ウイルス学的検査成績：3頭は抗CAEV抗体陰性であり、各臓器の10%乳剤からはウイルスは分離されなかつた。

No. 1のみ末梢白血球よりPCRでCAEVのgag遺伝子が検出された。同農場の同居山羊68頭を用いた検査の結果、68頭中3頭（4.4%）が抗体陽性、16頭（23.5%）がPCR陽性であった。

病理学的検査成績：3頭に共通してみられた主病変は、脊髄の腹根軸索変性（図1）と腹角神経細胞体の中心性色質融解であった。また骨格筋においては神経原性萎縮が認められた。その他、骨髄の低形成、肺の間質におけるリンパ球浸潤、消化管におけるコクシジウム寄生が認められた。

生化学的検査成績：3頭の肝臓中銅濃度および血清中銅濃度はいずれも著しく低値であった（表2）。同農場の同居山羊の平均血清銅濃度は、対照として測定した県内および県外の山羊血清中銅濃度より有意に（*t*検定、*P*＜0.01）に低かった（表3）。農場全体の平均Ht値は30±4.7と正常範囲内であり、その他の血液一般生化学検査結果に異常はなかった。本疾病の発生後3カ月後よ

り同農場の平均血清銅濃度を調査した結果、およそ一年間低値のまま推移した(図2)。給与していた飼料中の銅濃度(乾物重量)は、濃厚飼料が7.99mg/kg、購入乾草が7.44mg/kgであった。また県内の対照農場の給与飼料中銅濃度(乾物重量)は、濃厚飼料が6.66mg/kg、購入乾草が8.02mg/kgであり発生農場と同水準であった。

石灰散布試験：石灰散布試験における試験区の牧草中の微量元素濃度は、銅、鉄、亜鉛は対照区と同様に推移し、モリブデンは試験区のみが上昇した(図3)。

考 察

今回の事例では、歩様異常、起立不能などの臨床症状からCAEが疑われたため、まずウイルス学的検査を行った。その結果、農場内にCAEVが蔓延していたことが判明し、発症した子山羊1頭の末梢白血球からCAEV特異遺伝子も検出された。しかし病理組織学検査ではCAEに特徴的な所見は認められず、3頭に共通して脊髄の腹根軸索変性と腹角神経細胞体の中心性色質融解が認められた。これらの所見は銅欠乏症に認められるものである[13, 14]ため、肝臓および血清中の銅濃度の測定を行ったところ、3頭とも肝臓中銅濃度および血清中銅濃度が著しく低かった。また同居山羊の血清銅も低値であったことから本症例を銅欠乏症と診断した。

今回の症例における臨床症状、病理組織学的所見および血清銅濃度は、Lofstedtら[15]が報告している山羊銅欠乏の症例と一致していた。また、Lofstedtら[15]は胎子期および新生子期の銅不足が起立不能や運動障害の発症に関連すると報告している。今回の発症時期も生後1カ月齢であったことから、同様の機序によるものと考えられる。銅欠乏の場合、貧血を呈する個体がよくみられるといわれているが[2-5]、本症例の場合、農場内に貧血を呈する個体は認められなかった。Lofstedtら[15]の報告においても、発症山羊2頭中1頭が貧血、1頭は正常であり、貧血は銅欠乏症の必発の症状ではないと思われる。

発生農場と対照2農場の母山羊の血清銅濃度を比較すると、正常範囲内である対照農場に対し発生農場では有意に低く、ほとんどが正常範囲外であった[11, 12]。そのため同農場および県内の対照農場における給与飼料中の銅濃度を比較したが、ともに正常範囲内であり[16]、反芻獣の要求量は満たされていたと考えられる。これにより原発性の銅欠乏ではなく吸収阻害因子による続発性の銅欠乏であることが示唆された。銅の吸収阻害因子はモリブデン、鉄、炭酸カルシウム、硫黄、亜鉛など非常に多くまたその機序も複雑で多数の因子が関与している[1-3, 6]。今回血清中の鉄および亜鉛濃度と銅濃度の関係を比較したが、鉄および亜鉛ともに正常範囲であり、

これらの元素が銅吸収に影響を及ぼした可能性は低いと考えられる。

同農場の山羊は、日中は敷地内の放牧地で自由に牧草を摂取していた。同農場では、本事例発生の1カ月前に放牧地に消石灰を散布していたが、石灰散布は土壌pHを上昇させ、牧草のモリブデン吸収を増大させることが知られている[17]。モリブデンは反芻獣の消化管内において、硫酸とともに不溶性の塩を形成し、銅の吸収を阻害する[18]。発生当時の放牧地の牧草の採取ができなかったため、石灰散布試験を実施した。その結果、牧草中の銅濃度は散布前後とも約7mg/kgで変動しなかったのに対し、モリブデン濃度は散布前約0.22mg/kgであったものが、散布後は1.76mg/kgまで上昇した。

これまで山羊における銅欠乏と飼料中モリブデン濃度の関係に関する報告は見あたらないが、一般に反芻獣において銅代謝異常を起こす飼料中モリブデン濃度は10mg/kg以上であるが、飼料中銅濃度が4mg/kg以下の場合はモリブデン濃度5mg/kgでも銅欠乏が発生する[18]。今回の牧草中モリブデン濃度は既知の報告値よりは低かった。しかし銅/モリブデン比は4.0であり、望ましいとされる5.0よりは低い[2, 3]。また放牧地への石灰散布は予期せぬ銅欠乏症の発生を促進するといわれていることから[3, 18]、石灰散布による牧草中のモリブデン上昇が、銅欠乏症発生の一因になったと思われる。

病理組織学的所見から運動障害とCAEV感染の直接的関与は否定された。しかしながら、CAEVが蔓延している農場では血中銅濃度が低いという報告[15]もあり、本事例においてもCAEVの蔓延が銅欠乏に影響を与えた可能性もある。今後この点についても検討していく必要があると思われる。

国内における山羊の重金属代謝障害についての報告は数少なく、本事例により山羊の飼養管理に当たり新たな知見が得られたと考えられる。

稿を終えるに当たり材料採取にご協力いただいた家畜改良センター長野牧場の藤田 優氏、石灰散布試験にご協力いただいた日本全薬工業(株)中央研究所の各位に深謝する。

引 用 文 献

- [1] 長沢成吉：家畜体内における銅、マンガン、および亜鉛の意義、鶏病研究会報、13、163-173 (1977)
- [2] 板橋久雄：栄養障害、家畜衛生学概論、新版、236、文永堂出版、東京 (1994)
- [3] Payne JM : Trace element deficiencies, metabolic and nutritional diseases of cattle, 94-98, Blackwell Science Ltd, U.K. (1989)
- [4] 菅原 伯、志賀瑞郎：無機質、獣医生化学、大木与志雄、久保周一郎、古泉 巖編、93-94、文永堂出版、東京 (1995)
- [5] Draksler D, Nunez M, Apella MC, Aguero G, Gonzales

- lez S : Copper deficiency in Creole goat kids, *Reprod. Nutr. Dev.*, 42, 243-249 (2002)
- [6] 納 敏 : 微量元素の欠乏による障害, 生産獣医療における牛の生産病の実例, 内藤善久, 浜名克己, 元井霞子編, 113-115, 文永堂出版, 東京 (2000)
- [7] Fieni F, Rowe J, Van Hoosear K, Burucoa C, Oppenheim S, Anderson G, Murray J, BonDurant R : Presence of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) infected cells in flushing media following oviductal-stage embryo collection, *Theriogenology*, 57, 931-940 (2002)
- [8] Sunderman FW Jr., Roszel NS : Measurements of copper in biologic materials by atomic absorption spectrophotry, *The American Journal of Clinical Pathology*, 48 (3), 286-294 (1967)
- [9] 栄養診断のための栽培植物分析測定法 : 作物分析法委員会編, 養賢堂, 東京 (1976)
- [10] Christian GD : Catalytic determination of molybdenum in blood and urine, *Analytical Letter* 12 (B1), 11-24 (1979)
- [11] Matthews J : Copper deficiency (enzootic ataxia, swayback), *Diseases of the Goat*, 2nd ed, 54-56, Blackwell Science Ltd, U.K. (1999)
- [12] Matthews J : Appendix 1 Normal Goat, *Diseases of the Goat*, 2nd ed, 328-333, Blackwell Science Ltd, U.K. (1999)
- [13] Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N : *Pathology of Domestic Animals*, THIRD EDITION 1, 270-272, Academic Press, INC, Florida (1985)
- [14] 梅村孝司, 布谷鉄夫, 島田章則 : 脳, 動物病理学各論, 日本獣医病理学会編, 381, 文永堂出版, 東京 (1998)
- [15] Lofstedt J, Jakowski R, Sharko P : Ataxia, arthritis, and encephalitis in a goat herd, *J Am Vet Assoc*, Nov15, 193, 1295-1298 (1988)
- [16] 日本飼養標準肉用牛 : 農林水産省農林水産技術会議事務局編, 中央畜産会, 47, 東京 (2000)
- [17] Allaway WH : *Advan Agron*, 20, 235-274 (1968)
- [18] Nederbragt H, van den Ingh TS, Wensvoort P : Pathobiology of copper toxicity, *Vet Q*, Sep6 (4), 179-185 (1984)

Occurrence of Secondary Copper Deficiency in a Goat Herd

Yuichi MATSUMOTO^{*†}, Kenji INAMI, Mari YODA, Yutaka ICHIKAWA, Misako KONISHI,
Kumiko KIMURA, Tsutai OHASHI and Toru MIYAMOTO

** Fukushima Prefecture Kenchu Livestock Hygiene Service Center, 2 Mansuida, Tomitamachi-Aza, Koriyama, 963-8041, Japan*

SUMMARY

In June 2006, five goat kids showed signs of stumbling and astasia at a farm that kept 68 goats. Three of the five affected animals were submitted for examination. Virologically, the Caprine arthritis-encephalitis (CAE) virus gene was detected from the blood of one kid. The histopathological findings of the three animals, however, were different from those of CAE, and consisted of axonal degeneration of the spinal ventral root and central chromatolysis of the ventral horn neurons. The concentrations of copper in their livers and sera were very low. Based on these results, the disease was diagnosed as copper deficiency. The serum copper concentration survey of the remaining goats on the farm was low overall, but the copper concentration of the feeds was normal, so it was suggested that this disease was secondary disease resulting from copper deficiency. Since this farm applied lime to the pasture soil in April 2006, we conducted a test lime application on the pasture to confirm the effect of liming on soil trace elements. Of the elements measured, the molybdenum concentration, which is known to affect the copper absorption of grazed animals, the limed pasture was higher than the non-limed pasture at the end of the test. We therefore assumed that the 2006 liming might have been the major contributing factor to the present copper deficiency.

—Key words : astasia, copper deficiency, Goat, liming, Molybdenum.

† Correspondence to : Yuichi MATSUMOTO (Fukushima Prefecture Kenchu Livestock Hygiene Service Center)
2 Mansuida, Tomitamachi-Aza, Koriyama, 963-8041, Japan

TEL 024-923-4305 FAX 024-923-4555 E-mail : mathumoto_yuithi_01@pref.fukushima.jp

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 61, 853 ~ 857 (2008)