

臍帯出血を主徴とする黒毛和種牛の出血性疾患

杜 杰憲 池谷昌久 和田 猛 後藤美文 野中いずみ
三川和博 伊東輝夫 内田和幸 山口良二 村上隆之
加世田雄時朗 小川博之 大塚宏光

宮崎大学農学部 (〒889-21 宮崎市学園木花台西 1-1)

要 約

南九州の黒毛和種牛に散発する出血牛のうち、Chediak-Higashi 症候群 (C-HS) や血友病様疾患では観察されない重篤な臍帯出血を示した 33 例について検討したところ、①発生状況、血統調査および試験交配の結果から、遺伝性疾患の可能性が高く、②大部分が臍帯出血や血腫による多量出血で死亡し、③止血スクリーニング検査では、血小板 ADP 凝集 (中等度の低下) 以外に異常を示さないことが判明した。本症は C-HS や第Ⅷ因子の著減を示す血友病様疾患とは異なる遺伝性出血性疾患と推測された。——キーワード：出血性疾患、黒毛和種牛、臍帯出血。

日獣会誌 49, 237~240 (1996)

牛の先天性出血性疾患に関する報告は少なく、Chediak-Higashi 症候群 (ヘレフォード種 [9]、黒毛和種 [10]、ブルガス種 [1]) 第Ⅺ因子欠乏症 (ホルスタイン種 [5]) ならびに第Ⅷ因子の著減を示す血友病様疾患 (黒毛和種 [8]) が知られているのみである。人、動物のいずれにおいても、先天性出血性疾患はその原因により異なる症状を呈するが、臍帯出血を認めることはまれである。いっぽう、近年南九州の黒毛和種牛に、重篤な臍帯出血を呈し、多くが致死経過をとる出血牛が散見されるようになった。そこで、これらの臍帯出血を主徴とする出血牛について、その発生状況、症状、病理所見、止血スクリーニング検査所見について検討した。

材料および方法

対象牛：1986年8月から1991年12月までに、本学に上診された出血牛 107 頭のうち重篤な臍帯出血が認められた黒毛和種牛 33 頭 (雄 17 頭、雌 16 頭) を調査 (生前検査 21 例、死亡後搬入 8 例、聞き取り調査 4 例) した。

採血：生前に診察し得た 21 例については、18 ゲージの注射針を取り付けたディスプレイシリンジを用い、頸静脈より鬱血を避けて血球検査用の血液を採取したのち、針を血管内に残したままシリンジを付け替えて、血小板凝集能および凝固検査用血液を採取した。抗凝固剤には血球検査用に EDTA、また血小板凝集能用には 4.6%、凝固検査用には 3.8% のクエン酸ナトリウムをそれぞれ血液の 1/9 量使用した。血液は注射筒のまま、4℃で保存運搬し、採血後 10 時間以内にはすべての検査を完了した。採血や検査にはすべてプラスチック製の器具を使用した。

止血スクリーニング検査：血小板数 (Bretcher-Kronkite 法あるいは自動血球カウンター^{a)})、血小板凝集能、プロトロンビン時間 (Prothrombin Time; PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (Activated Partial Thromboplastin Time; APTT)、および血漿フィブリノゲン量を測定した。

血小板凝集能の測定には採取した血液から 900rpm (約 150G)、15℃、10 分遠心して得られた多血小板血漿を用いた。凝集惹起物質はコラーゲン (Hormon Chemie) および ADP (Sigma) とし、それぞれ終濃度 50μg/ml、10μM で加え、血小板凝集メーター^{b)}を用いて、最大凝集率を求めた [6]。

凝固検査には採取した血液を 3,000rpm (約 1,700G)、4℃、15 分遠心して得られた乏血小板血漿を用いた。プロトロンビン時間 (PT) と活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) はそれぞれ市販試薬^{c)}を用いて用手法で、血漿フィブリノゲン量は重量法で測定した。また、凝固因子の定量には市販の凝固因子欠乏血漿^{d)}を使用した。

出血時間は牛を梓場に保定し、尾根部腹側を剃毛したのち、マンシエットを装着し、40mmHg の圧を加えながら、Simplate II^{d)}を用いて Ivy 変法により測定した。

病理学的検査：死後搬入された 8 例と経過観察中に死亡した 9 例、計 17 例について肉眼的検査を行った。

血統調査：すべての例について、母牛の血統書を収集し分析した。

^{a)} Sysmex F-800, 東亜電子, 神戸.

^{b)} HEMA TRACER Model PAT-2A, 二光バイオサイエンス, 東京.

^{c)} Dade, U.S.A.

^{d)} ワーナーランバート・三共, 東京.

結 果

発生状況：臍帯出血を呈する出血牛の発生は宮崎県の中部以南に広範囲に認められ、それらの患牛の種雄牛は4頭であった。また、種雄牛A（17例）とその子の種雄牛B（13例）が合わせて30例と全症例の90%以上を占めた。これら出血牛は種雄牛Bの供用開始とともに増加し、C-HSや血友病様疾患の発生と時期が異なっていた（図1）。

症状：全例（33例）で臍帯からの持続出血（滴下）、臍部の腫脹（ゴルフボール大～ソフトボール大）（図2）、腹部膨満や虚脱が認められ、うち10例は急性出血で1週齢までに、また、4例は臍帯出血に継発した腹膜炎、臍炎で1カ月齢までに死亡あるいは廃用となった。生存した19例のうち経過を追跡できた17例では、1～3カ月後から波動感を有する皮下血腫（特に臀部、大腿部に認められ、拳大から人頭大）を繰り返し、一時的には血

漿輸血による治療に反応したが、12例が1年以内に死亡した。1年以上生存した5例も、食滞で死亡した1例を除き、全例が4年以内に出血で死亡した。このうちの1例は3歳時に種雄牛Aとの交配で臍帯出血牛を出産した後出血を繰り返し、産後7カ月目に死亡した。

病理解剖所見：1週齢までに死亡した8例では、腹腔



図2 ソーセージ様に腫脹した臍部の写真

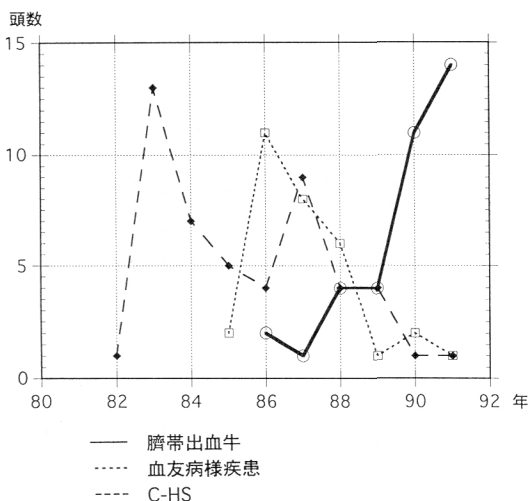


図1 宮崎大学に上診された出血牛の年度別頭数。

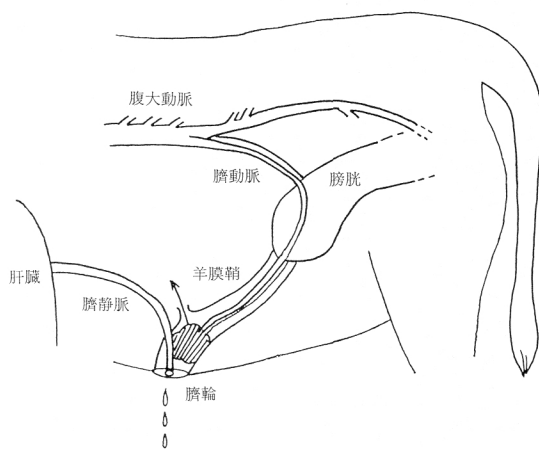


図3 臍帯出血のメカニズムを示す模式図

表1 臍帯出血牛における止血スクリーニング検査成績

測定項目 / 牛群	臍帯出血牛	C-HS牛	血友病様疾患牛	対照牛
血小板数($\times 10^3/\mu\text{l}$)	772 \pm 108 ^{a)} (n=20)	479 \pm 39 (n=28)	601 \pm 46 (n=29)	512 \pm 87(n=10)
血小板凝集能(%)				
コラーゲン(50 $\mu\text{g/ml}$)	88.9 \pm 3.2** (n=18)	43.3 \pm 4.2*(n=30)	ND	86.4 \pm 2.6(n=15)
ADP(10 μM)	52.1 \pm 3.6*** (n=19)	62.4 \pm 3.1*(n=31)	ND	76.9 \pm 3.4(n=15)
APTT(sec)	48.9 \pm 3.1*** (n=16)	50.3 \pm 2.9 (n=27)	71.9 \pm 3.3*(n=27)	52.2 \pm 2.1(n=5)
PT(sec)	23.9 \pm 1.6 (n=16)	18.8 \pm 0.8*(n=27)	20.9 \pm 1.4 (n=27)	24.8 \pm 0.4(n=5)
フィブリノゲン(mg/dl)	550 \pm 66 (n=17)	421 \pm 28 (n=23)	470 \pm 34 (n=27)	437 \pm 24(n=10)
出血時間(min)	4.7 \pm 0.4* (n=4)	9.2 \pm 2.2 (n=12)	ND	6.4 \pm 0.2(n=15)

a) 平均 \pm 標準誤差

* t-検定で対照牛と有意差あり。(P<0.05); ** t-検定でC-HS牛と有意差あり。(P<0.05); *** t-検定で血友病様疾患牛と有意差あり。(P<0.05); ND:測定データなし

表2 臍帯出血牛の凝固因子量

患牛(No.)	凝固因子(%)*							
	II	V	VII	VIII	IX	X	XI	XII
17	80	110	130	150	110	82	70	125
24	90	110	160	180	160	84	90	176

* 正常牛を100%として算出.

内に退縮した臍動脈断端からの出血が羊膜鞘内から腎臓後部腹膜下にまで及び、腹腔内には羊膜鞘の破裂部位から流出した多量の血液が認められた(図3)。また、臍動脈の収縮は正常牛と差を認めなかった。血腫例(11例)では、皮下または筋間出血を呈し、関節内出血や血友病様疾患の出血牛に特徴的な筋肉内出血は認められなかった。

止血スクリーニング検査所見：血小板数は230~1930×10³/μlと変動幅が大きかったが、重度の低下を示す例は認められなかった。また、血液塗抹上で白血球や血小板の形態に異常は観察されなかった。血小板凝集能では出血牛のコラーゲン最大凝集率(88.9±3.2%)は対照牛と比較して差はなく、C-HS牛で認められる低下は観察されなかった。また、ADP凝集率(52.1±3.6%)は、対照牛、C-HS牛と比較して、中等度ではあるが有意な低下が認められた。

血液凝固検査では3例でPT, APTTの著明な延長が認められたが、測定した16例の平均では対照牛、C-HS牛と比較して差は認められなかった。また、血友病様疾患牛に認められるAPTTの延長も観察されなかった。血漿フィブリノゲン量においては、対照牛、C-HS牛、血友病様疾患牛のいずれと比較しても、差は認められなかった。

4例で実施した出血時間には、対照牛と比較して延長は認められなかった。

また、2例で定量した第II, V, VII, VIII, IX, X, XIおよびXII因子にも著明な差は認められなかった(表2)。

考 察

臍帯出血を主徴とする出血牛33例には、いずれについても後天的な要因は見当たらなかった。これら出血牛の種雄牛は4頭と少なく、中でも2頭が90%以上を占め、さらにこの種雄牛の使用状況と発生の地域や時期が一致していた。また、発症牛と種雄牛Aの交配によって生まれた子牛は同様の出血性疾患を発症したことから、本疾患は先天性の出血性疾患と推測される。

本症の主たる症状、病理所見は臍帯動脈断端からの大量出血と皮下や筋間にできる体表血腫で、出血は重篤であり、33例中、経過観察ができなかった2例を除く全例が死亡した。臍動脈出血の止血には血管の収縮が大きな役割を果たすと推測されているが、剖検時の肉眼所見

からは収縮に差は認められなかった。また、本例で観察される血腫は軟らかく、時間の経過とともに皮下を伝って下方に下がってくること、さらに、一次止血異常を疑わせる紫斑や斑状出血あるいは注射部位からの出血などの症状が認められなかったこと、症状の軽減に血漿輸血が有効であったことから判断して、本疾患にはフィブリン形成異常あるいは線溶亢進が関与しているものと推測される。

いっぽう、止血スクリーニング検査の結果から、一次止血の検査のうち血小板数では5例で著明な増多が認められた。この増多は出血に対する反応と考えられた。また、本例で認められたADP凝集の中等度の低下は血小板無力症で認められるADP受容体異常ではなく、増加した血小板の性状に起因する可能性が高い。しかし、本例における出血は、ADP凝集能低下の著しい他の疾患で観察される出血と比較して重篤で、凝集能低下が出血の原因とは考えにくい。二次止血の検査であるPT, APTTには対照牛と差は認められず、APTTの延長を特徴とする血友病様疾患とは異なっている。また、凝固因子についても、低下は認められなかった。

人では止血スクリーニング検査で異常を示さない疾患として、一次線溶の亢進、第XIII因子欠乏症、α₂-PI欠乏症などが[7]、また、臍帯出血の原因として無フィブリノゲン血症、第II, X, XIII因子欠乏症、von Willebrand病が知られている[3, 4]。線溶の亢進時にはフィブリノゲンの低下が認められるが、本疾患ではフィブリノゲンの低下が認められず、高度の線溶亢進があるとは考えられない。また、無フィブリノゲン血症、第II, X因子欠乏症、出血時間の延長を特徴とするvon Willebrand病は、上記スクリーニング検査の結果から本疾患の原因ではない。

いっぽう、人の第XIII因子欠乏症は新生児期の臍帯出血、頭蓋内出血、外傷後の重篤な出血、創傷治癒の遅延を特徴とする。また、本症は安定化フィブリン形成障害によりルーズな凝血塊をつくり、この凝血はプラスミンによる分解を受け易く、相対的な線溶亢進を示す[2, 3]。したがって、本疾患は、その臨床症状、止血スクリーニング検査などから考えて、動物では報告されていない第XIII因子欠乏症である可能性が高いものと考えられる。また、定性的ではあるが、2例で第XIII因子欠乏症のスクリーニング検査を実施したところ、安定化フィブリン形成障害を示す酸可溶性フィブリンを認めた(未発表データ)。

本症例中には数例ではあるが種雄牛の異なる例あるいは凝固時間の延長した例も含まれ、全例を同一疾患とするには多少問題も残されており、今後さらに詳細に検討する必要がある。しかし、南九州の出血性疾患にはC-HS、第VIII因子の低下を示す血友病様疾患の他に、第XIII因子欠乏症が存在する可能性があるものと推測される。

出血牛の収集，調査に多大なご協力をいただいた山元敏進，由地裕之，川野智賀夫，上野浩史，中村茂美，宮田逸郎，隈元啓文，篠原真一，園田勝美，古川英幸，立山和文，山元哲朗，桐木康充，川越久徳，林 淳，亀島政範，吉原信一，菊田幹雄，高橋善博，川越保志，馬場俊二，宮田正人，釜崎 誠，海蔵俊一，福元 薫，下別府 功，山之口公浩，薄窪郁郎，遠目塚安広，前田由郎，上甲正志，椎 信義，矢野安正，土屋 護，河野 宏，柏木 勲，池亀康雄の各氏を初め多くの方々に感謝する。

引用文献

- [1] Ayers JR, Leipold HW, Padgett GA : Vet Pathol, 25, 432-436 (1988)
- [2] Colman RW, Hirsch J, Marder VJ : Hemostasis and Thrombosis, 1-704, JB Lippincott, Philadelphia (1994)
- [3] Dodds WJ : Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Kaneko JJ ed, 4th ed, 209-212, Academic Press, Inc., San Diego (1989)
- [4] Fogh JM, Fogh IT : Vet Clin N Am Sm Anim Pract, 231-244, WB Saunders Company, Philadelphia (1988)
- [5] Kociba GJ, Ratnoff OD, Loeb WF : J Lab Clin Med, 74, 37 (1969)
- [6] Meyers KM, Katz JB, Clemons RM : Thromb Res, 20, 13-24 (1980)
- [7] 野村武夫，古沢新平，長尾 大：血小板，76-97，中学医学社，東京（1994）
- [8] 小川博之，鏡園 仁，曾木幸三，他：家畜診療，318，19-25（1989）
- [9] Padgett GA, Leader RW, Gorham JR, et al : Genetics, 49, 505-512 (1964)
- [10] Umemura T, Katsuta O, Goryo M, et al : Jpn J Vet Med, 45, 241-246 (1983)

Bleeding Disorder in Japanese Black Cattle with Umbilical Cord Bleeding as a Major Clinical Sign

Chieh-Hsien TU, Masahisa IKEYA, Takeru WADA, Mifumi GOTO, Izumi NONAKA, Kazuhiro MIKAWA, Teruo ITO, Kazuyuki UCHIDA, Ryozi YAMAGUCHI, Takayuki MURAKAMI, Yuzirou KASEDA, Hiroyuki OGAWA and Hiromitsu OTSUKA

Faculty of Agriculture, Miyazaki University. 1-1, Gakuen-Kibanadai, Miyazaki 889-21, Japan

SUMMARY

Bleeding from umbilical cord stump, which had been a rare symptom in the Chediak-Higashi syndrome (C-HS) or hemophilia-like disease, has been found in 33 Japanese Black cattle in the South Kyusyu area, Japan. We found that 1) the disease could be inherited by the enzootic study, the pedigree analysis and the result of a test mating; 2) most of those affected animals died within an year due to umbilical cord bleeding or recurrent hemorrhage; 3) the results of screening tests had no prominent abnormalities except the moderately low ADP-induced platelet aggregation. According to the results above, the hemorrhagic disease characterized by umbilical bleeding was considered to be a new inherited bleeding disorder which is totally different from the C-HS and the hemophilia-like disease.

—Key words : bleeding disorder, Japanese Black cattle, umbilical bleeding.

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 49, 237~240 (1996)