

## 【はじめに】

豚の代表的な中毒として、硝酸塩中毒、殺鼠剤中毒があげられる。中毒事例は、時に農場全体に被害を及ぼし、経済的損失が大きくなることがある。

近年、畜産領域におけるコリスチンの飼料添加が禁止になったこともあり、酸化亜鉛などの亜鉛化合物の飼料添加が注目されている。酸化亜鉛は文献では、1500～2500ppmの飼料添加を2週間程度行うことで、豚大腸菌症や豚伝染性胃腸炎に効果があるとされている<sup>1), 2), 3)</sup>。一方、日本飼養標準により亜鉛の中毒量は2000ppmとされており<sup>4)</sup>、現在日本では2000ppm以下の濃度で飼料添加していることが多い。文献では2500ppmの飼料添加では中毒の発生はないとされているものの、欧米では高濃度の亜鉛を含むスラリーによる土壌汚染が懸念されている<sup>5), 6)</sup>。

今回、酸化亜鉛が起因となった中毒事例に遭遇したため、その概要を報告する<sup>7), 8)</sup>。

## 【材料及び方法】

### (1) 発生の概要

- ・ 県内の一貫経営農場
- ・ 酸化亜鉛は、離乳後～出荷前まで2000ppm飼料添加
- ・ 平成28年9月～：誤って通常添加量の4倍量である8000ppmの酸化亜鉛を飼料添加
- ・ 平成28年11月：軟便が発生
- ・ 平成29年1月：農場の豚の約9割に強い発育不良が発生
- ・ 平成29年4・5月：各2頭、合計4頭の病性鑑定を実施  
(2頭・200日齢：40kg 2頭・240日齢：50kg)

### (2) 微生物学的検査

#### ① ウイルス学的検査：

豚流行性下痢ウイルス (PEDV)・豚伝染性胃腸炎ウイルス (TGEV)・ロタウイルス・豚繁殖呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV)・豚サーコウイルス2型 (PCV2) の遺伝子検査

#### ② 細菌学的検査：

各種臓器・糞便・小腸粘膜を用いた細菌分離検査、マイコプラズマの遺伝子検査

(3) 病理組織学的検査

① 各種臓器及び組織：HE染色、ジチゾン染色（亜鉛）

② 膵臓：エラスチカ・ワンギーソン染色（膠原線維・弾性線維）、グリメリウス染色（ $\alpha$ 細胞）、アルデヒド・フクシン染色（ $\beta$ 細胞）、ヘルマン・ヘルストローム染色（ $\delta$ 細胞）

③ 腎臓：ロダニン染色（銅）

(4) 生化学的検査

肝臓・腎臓・脾臓・心臓・肺・十二指腸について、亜鉛・銅・鉄の含有量の測定を動物衛生研究部門に依頼した。また対照豚として、1500ppmの炭酸亜鉛を飼料添加していた豚4頭も同様に測定した。有意差比較はt検定で実施した。

【結果】

(1) 剖検：

共通して、膵臓の萎縮が見られた（図1、2）。肺の前葉に限局的に肝変化が見られた。

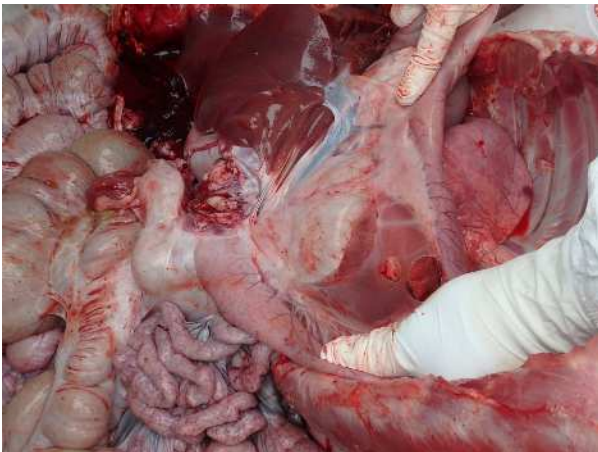


図1 (Komatsu et al. JVDI 2020)<sup>7)</sup>

図2 (小松ら 日本豚病研究会報 2020)<sup>8)</sup>

(2) 微生物学的検査：

① ウイルス学的検査：病原ウイルスの遺伝子は検出されなかった。

② 細菌学的検査：5月に剖検した2頭の肺から *Mycoplasma hyorhinis*, *M. hyopneumoniae* の遺伝子が検出された。

(3) 病理組織学的検査：

膵臓は高度に萎縮し、脂肪織に置換されていた（図3）。腺房細胞は著減し導管様細胞が著増しており、これらの細胞は少数のリンパ球浸潤を伴う

膠原繊維により島状に分断されていた（図 4）。一部の導管細胞内腔には、壊死した上皮細胞が充満していた（図 4）。膵島細胞は膨化、減数していた。膵島間質は水腫を呈していた。アルデヒド・フクシン染色で、膵島の大部分は $\beta$ 細胞であった（図 5）。また膵島以外の部位でも $\beta$ 細胞が複数確認された。グリメリウス染色及びヘルマン・ヘレルストローム染色で $\alpha$ 細胞や $\delta$ 細胞は膵島内全体に少数確認され、分布の異常が見られた（図 6、7）。ジチゾン染色では、膵臓を含め各種臓器に赤色の亜鉛顆粒は認められず、十二指腸管腔にのみ確認された（図 8）。

ロダニン染色で腎臓に銅は認められなかった。他の臓器では、肺で気管支周囲リンパ小節の発達が見られた。

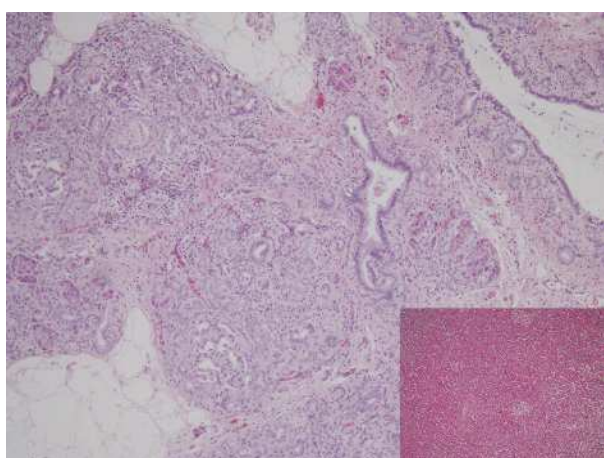


図 3

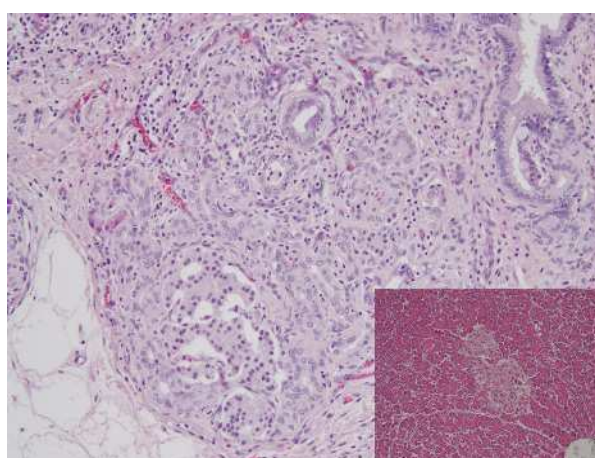


図 4

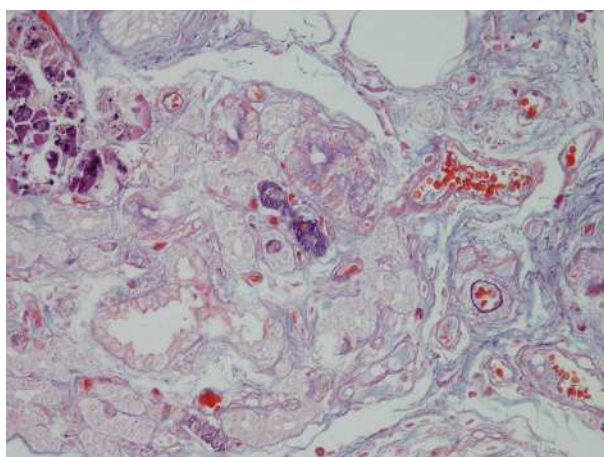


図 5

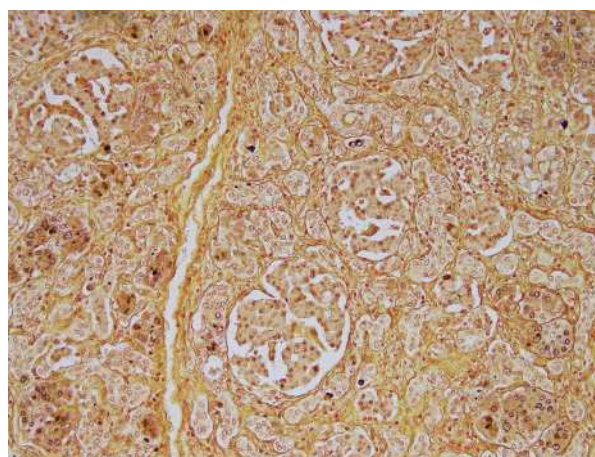


図 6

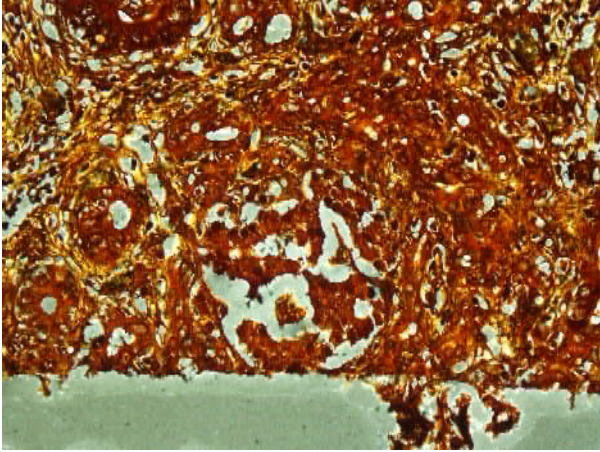


図 7

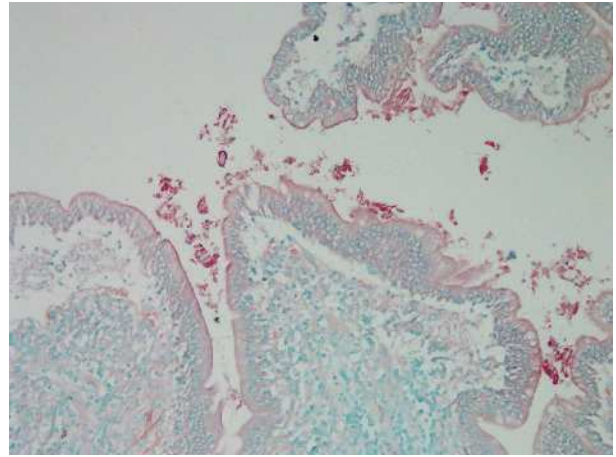


図 8

(4) 生化学的検査：

亜鉛（図 9）：症例豚では特に肝臓（ $788 \mu\text{g/g}$ ）腎臓（ $613 \mu\text{g/g}$ ）に高度に亜鉛が検出され、対照豚（肝臓： $158 \mu\text{g/g}$  腎臓： $24.3 \mu\text{g/g}$ ）と比較して有意に高かった。また文献上の正常値<sup>7)</sup>と比較すると、症例豚では、肝臓・腎臓が有意に高く、心臓（症例豚： $16 \mu\text{g/g}$ ）は有意に低かった（文献値；肝臓： $82.9 \mu\text{g/g}$  腎臓： $30.7 \mu\text{g/g}$  心臓： $20.7 \mu\text{g/g}$ ）。対照豚では文献値より肝臓は有意に高く、腎臓・心臓（ $15.8 \mu\text{g/g}$ ）は有意に低かった。

銅（図 10）：症例豚（肝臓： $5.6 \mu\text{g/g}$  腎臓： $165.7 \mu\text{g/g}$  心臓： $2.3 \mu\text{g/g}$ ）・対照豚（肝臓： $5.1 \mu\text{g/g}$  腎臓： $5.6 \mu\text{g/g}$  心臓： $1.3 \mu\text{g/g}$ ）の含有量のうち、症例豚の腎臓以外の臓器では、文献値と比較して低く、特に肝臓・腎臓では有意に低かった（文献値；肝臓： $10.6 \mu\text{g/g}$  腎臓： $8.9 \mu\text{g/g}$  心臓： $4.9 \mu\text{g/g}$ ）。一方症例豚の腎臓の銅の値は非常に高く、対照豚・文献値と比較して有意に高かった。

鉄（図 11）：症例豚の心臓の鉄の含有量（ $66.9 \mu\text{g/g}$ ）は対照豚の心臓（ $50.5 \mu\text{g/g}$ ）よりも有意に高く、心臓・肝臓（ $354.1 \mu\text{g/g}$ ）・腎臓（ $76.2 \mu\text{g/g}$ ）の含有量は、文献値よりも有意に高かった（文献値；肝臓： $126 \mu\text{g/g}$  腎臓： $33.2 \mu\text{g/g}$  心臓： $33.7 \mu\text{g/g}$ ）。対照豚の腎臓（ $70.2 \mu\text{g/g}$ ）・心臓の鉄の含有量は、文献値と比較して有意に高かった。

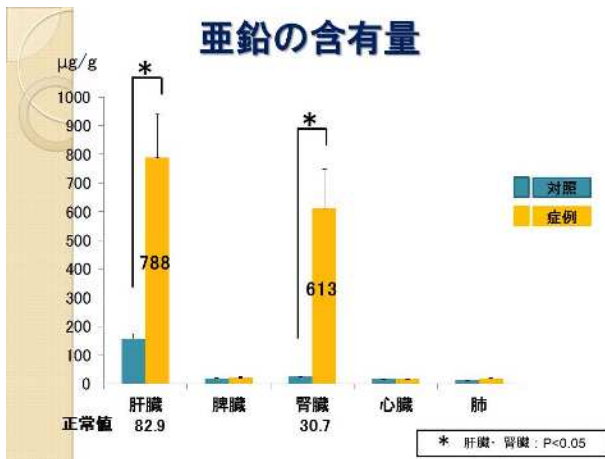


図 9

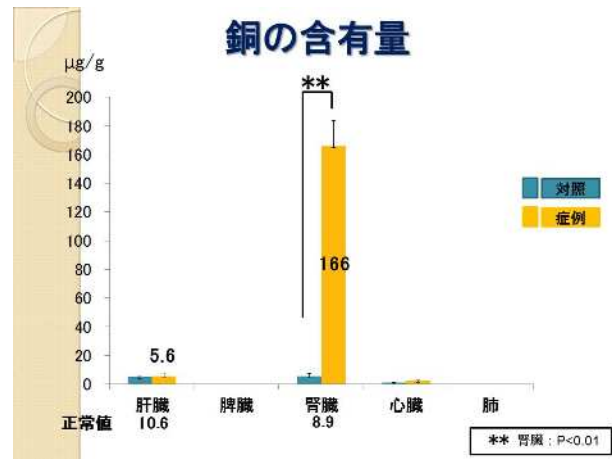


図 10

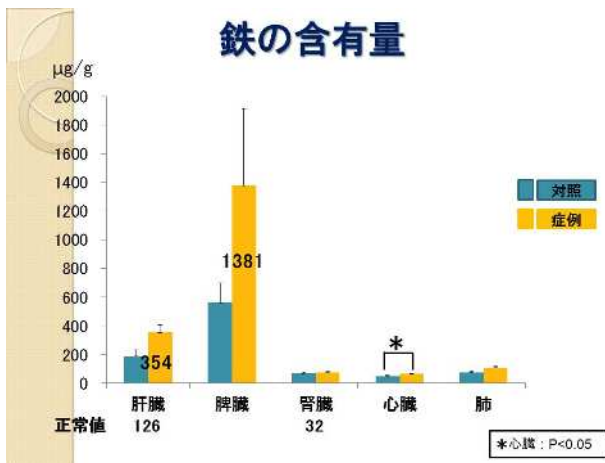


図 11

## 【まとめ及び考察】

病理組織学的検査で脾臓に慢性脾炎が見られ、生化学的検査で各種臓器の亜鉛含有量が高かったことから、本症例を亜鉛中毒と診断した。平成 29 年 8 月以降に、酸化亜鉛の飼料添加量を 2000ppm に戻したところ、下痢や発育不良は沈静化した。よって疫学的事実から、原因は 8000ppm という高濃度で、長期にわたり（離乳後から出荷前まで）飼料添加していた酸化亜鉛であると考えられた。

酸化亜鉛をはじめとした亜鉛化合物は、1500～2000ppm の飼料添加を 2 週間実施することで離乳後の豚大腸菌症などを抑制すると報告がある。一方で実験的な亜鉛中毒は、豚<sup>10)</sup>、反芻類<sup>11)</sup>、マウス<sup>12)</sup>、鶏<sup>13)</sup>などで報告があるものの、農場で飼養されている豚での中毒事例はなく、本症例が世界初の報告である。

本症例の最も大きな特徴は、強い発育不良である。過去の実験的な中毒事例では、発育不良は認められていない<sup>10)</sup>。水鳥で発生した亜鉛中毒の事例<sup>14)</sup>では、

発育不良が認められているが、亜鉛の種類や濃度、暴露期間は不明である。本症例では平成 29 年 9 月に飼料添加量を増やし、平成 29 年 11 月には軟便や発育不良が見られていることから、少なくとも 8000ppm の酸化亜鉛の 2 か月間の投与で、発育不良になる可能性があることが分かった。

病理組織学的検査では、膵臓の腺房細胞が高度に萎縮していた。これは過去の亜鉛中毒の事例と同様であり<sup>10)</sup>、膵外分泌機能が低下していると思われた。膵外分泌機能が低下すると、脂肪の吸収が阻害され、脂肪便を伴う発育不良となる。本症例も強い発育不良の原因は膵臓の機能低下によるものと推察された。

一方、過去の文献では膵島の変化は報告されていないが、本症例では膵島細胞の減数や膨化、分布の異常が認められた。本症例での膵島細胞の変化の理由の一つとして、高濃度で長期間にわたる亜鉛による膵島の障害が考えられた。また亜鉛はβ細胞内で、インスリンの合成、貯蔵、分泌に関与していることが知られている<sup>15)</sup>。膵島細胞の減少β細胞は膵島以外に孤在性に存在していたことから、β細胞の再生が早く進んでいる可能性があり、再生速度が速いβ細胞が膵島内でも多く再生し、それに伴い他の細胞の分布異常が引き起こされた可能性が考えられた。

生化学的検査より、症例豚の臓器には亜鉛が非常に高く蓄積していた。一方で銅の含有量は腎臓で高度であったが、その他の臓器では低値であった。銅は亜鉛に拮抗的に吸収されるため、一般的に亜鉛を過剰摂取すると銅欠乏となる。腎臓で銅は高い値であったが、これは腎臓で金属の結合タンパクであるメタロチオネインの発現が増え、銅代謝酵素である Atox1 が減少していたためと思われた<sup>16)</sup>。また亜鉛過剰投与は、膵臓や肝臓、腎臓でメタロチオネインの発現を高める報告があり<sup>16),17),18)</sup>、結合タンパクの増加がより銅欠乏を助長する。ジチゾン染色及びロダニン染色で亜鉛や銅が組織内で検出できなかったのも、メタロチオネインの過剰発現のためと推察された。

また本症例の脾臓・肝臓で鉄が多く蓄積していた。銅欠乏になると赤血球のスーパーオキシドジスムターゼ（銅依存性酵素）の活性が低くなり<sup>19)</sup>、活性酸素が増加し、細胞膜が不安定となり寿命の低下や溶血を引き起こし<sup>20)</sup>、これらの赤血球は脾臓や肝臓で処理される。本症例での脾臓や肝臓での鉄の高値は、銅欠乏にともなう溶血を示唆していると考えられた。

本症例では、非常に高濃度の酸化亜鉛を長期間与えていたために、強い発育不良が発生した。亜鉛は一般的に毒性が低く、亜鉛中毒はあまり知られていない。そのため本症例の原因の特定までに長い期間を要し、経済的被害が拡大した。また EU では亜鉛化合物は抗生物質の代替品として使用されてきているが、近年高濃度の亜鉛による土壌汚染も報告されている<sup>5),21)</sup>。さらに高濃度の酸化

亜鉛の使用により、多剤耐性大腸菌や MRSA が増えると言う報告もある<sup>22), 23)</sup>。次の中毒事例を出さないために、また土壌汚染や耐性菌の出現を最小限に抑えるためにも、適切な使用濃度、使用期間を啓発する必要がある。なお本研究は The Journal of Veterinary Diagnostic Investigation<sup>7)</sup>及び日本豚病研究会報<sup>8)</sup>に誌上発表されている。

最後に、各種検索にご協力、ご助言いただきました国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門の澤田浩先生、山中典子先生及び芝原友幸先生、北里大学獣医学部獣医学科獣医病理学研究室の小山田敏文先生に深謝いたします。

## ○参考文献

- 1) Jensen-Waern M., Melin L., Lindberg R., Johannisson A., Petersson L. and Wallgren P. 1998. Dietary zinc oxide in weaned pigs--effects on performance, tissue concentrations, morphology, neutrophil functions and faecal microflora. *Res. Vet. Sci.* **64**: 225-231.
- 2) Miller H. M. 2011. Effect of rearing environment and dietary zinc oxide on the response of group-housed weaned pigs to enterotoxigenic *Escherichia coli* 0149 challenge. *Animal.* **5**: 1170-1178.
- 3) Chai W., Zakrzewski S. S., Günzel D., Pieper R., Wang Z., Twardziok S., Janczyk P., Osterrieder N. and Burwinkel M. 2014. High-dose dietary zinc oxide mitigates infection with transmissible gastroenteritis virus in piglets. *BMC Vet. Res.* **10**: 75.
- 4) 日本飼養標準・豚（2013年版），（独）農業・食品産業技術総合研究機構。
- 5) Dębski B. 2016. Supplementation of pigs diet with zinc and copper as alternative to conventional antimicrobials. *Pol. J. Vet. Sci.* **19**: 917-924.
- 6) Jensen J., Larsen M. M. and Bak J. 2016. National monitoring study in Denmark finds increased and critical levels of copper and zinc in arable soils fertilized with pig slurry. *Environ. Pollut.* **214**: 334-340.
- 7) Komatsu T, Sugie K, Inukai N, Eguchi O, Oyamada T, Sawada H, Yamanaka N, and Shibahara T. Chronic pancreatitis in farmed pigs fed excessive zinc oxide. *J Vet Diagn Invest.* 2020. **32**: 689-694.
- 8) 小松徹也，杉江建之介，犬養尚子，小山田敏文，澤田浩，山中典子，芝原友幸. 2020. 豚の亜鉛中毒の病態と診断 愛知県における中毒事例の紹介. 日本豚病研究会報. **76**: 24-31.

- 9) Anderson R. A., Bryden N. A., Evock-Clover C. M. and Steele N. C. 1997. Beneficial effects of chromium on glucose and lipid variables in control and somatotropin-treated pigs are associated with increased tissue chromium and altered tissue copper, iron, and zinc. *J. Anim. Sci.* **75**: 657-661.
- 10) Gabrielson K. L., Remillard R. L. and Huso D. L. 1996. Zinc toxicity with pancreatic acinar necrosis in piglets receiving total parenteral nutrition. *Vet. Pathol.* **33**: 692-696.
- 11) Allen J. G., Masters H. G., Peet R. L., Mullins K. R., Lewis R. D., Skirrow S. Z. and Fry J. 1983. Zinc toxicity in ruminants. *J. Comp. Pathol.* **93**: 363-377.
- 12) Zhang M. Y., Wang J. and Zhang B. H. 2018. Long-Term Effects of Unmodified 50 nm ZnO in Mice. *Biol. Trace Elem. Res.* 15. [Epub ahead of print]
- 13) Dewar W. A., Wight P. A., Pearson R. A. and Gentle M. J. 1983. Toxic effects of high concentrations of zinc oxide in the diet of the chick and laying hen. *Br. Poult. Sci.* **24**: 397-404.
- 14) Sileo L., Nelson Beyer W. and Mateo R. 2003. Pancreatitis in wild zinc-poisoned waterfowl. *Avian Pathol.* **32**: 655-660.
- 15) Maret W. 2017. Zinc in Pancreatic Islet Biology, Insulin Sensitivity, and Diabetes. *Prev. Nutr. Food. Sci.* **22**: 1-8.
- 16) Zetzsche A., Schunter N., Zentek J. and Pieper R. 2016. Accumulation of copper in the kidney of pigs fed high dietary zinc is due to metallothionein expression with minor effects on genes involved in copper metabolism. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **35**: 1-6.
- 17) Pieper R., Martin L., Schunter N., Villodre Tudela C., Weise C., Klopffleisch R., Zentek J., Einspanier R. and Bondzio A. 2015. Impact of high dietary zinc on zinc accumulation, enzyme activity and proteomic profiles in the pancreas of piglets. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **30**: 30-36.
- 18) Garla R., Kango P., Gill N. K. and Garg M. L. 2017. Induction of metallothionein in rat liver by zinc exposure: A dose and time dependent study. *Protein J.* **36**: 433-442.
- 19) Bertinato J., Iskandar M. and L'Abbé M. R. 2003. Copper deficiency induces the upregulation of the copper chaperone for Cu/Zn superoxide dismutase in weanling male rats. *J. Nutr.* **133**: 28-31.
- 20) Lenartowicz M., Starzyński R. R., Krzeptowski W., Grzmil P., Bednarz A., Ogórek M., Pierzchała O., Staroń R., Gajowiak A. and Lipiński P. 2014.



Haemolysis and perturbations in the systemic iron metabolism of suckling, copper-deficient mosaic mutant mice - an animal model of Menkes disease. *PLoS One*. **9**: e107641.

21) Jensen J., Larsen M. M. and Bak J. 2016. National monitoring study in Denmark finds increased and critical levels of copper and zinc in arable soils fertilized with pig slurry. *Environ. Pollut.* **214**: 334-340.

22) Ciesinski L., Guenther S., Pieper R., Kalisch M., Bednorz C. and Wieler L. H. 2018. High dietary zinc feeding promotes persistence of multi-resistant *E. coli* in the swine gut. *PLoS One*. **13**: e0191660.

23) Jensen J., Kyvsgaard N. C., Battisti A. and Baptiste K. E. 2018. Environmental and public health related risk of veterinary zinc in pig production - Using Denmark as an example. *Environ. Int.* **114**: 181-190.