

ランチョンセミナー講演要旨

第1日（9月7日）12：00～12：55

会 場：C1号館101

テーマ：牛の局所免疫活性のための天然由来物質の可能性－特にキチン・キトサンについて－

講 師：酪農学園大学 大塚浩通先生

協 賛：Meiji Seika ファルマ(株)

会 場：C1号館201

テーマ：次亜塩素酸によるパルボウイルスの抑制について、

講 師：大阪府立大学大学院 田島朋子先生

協 賛：パナソニックエコシステムズ(株)

会 場：C1号館301

テーマ：犬の慢性心不全治療アップデート

講 師：酪農学園大学 堀 泰智先生

協 賛：DS ファーマーアニマルヘルス(株)

会 場：B1号館101

テーマ：新しい牛のコクシジウム症対策のご提案

講 師：エランコジャパン株式会社 加藤慎治先生

協 賛：日本全薬工業(株)

第2日（9月8日）12：00～12：55

会 場：C1号館101

テーマ：牛呼吸器病対策における細菌性不活化ワクチンの応用

講 師：(株)微生物化学研究所 久保田修一先生

協 賛：(株)微生物化学研究所

会 場：C1号館201

テーマ：牛の炎症性子宮疾患に対する客観性診断とポピドンヨードによる治療

講 師：宮崎大学 大澤健司先生

協 賛：DS ファーマーアニマルヘルス(株)

会 場：C1号館301

テーマ：適切なホルモン製剤の使用による乳牛の受胎率改善の可能性

講 師：日本獣医生命科学大学 三浦亮太郎先生

協 賛：ゾエティス・ジャパン

会 場：B1号館101

テーマ：乳牛の周産期の血中アミノ酸動態（北海道家畜アミノ酸研究会第5回研修会）

講 師：酪農学園大学 大塚浩通先生

協 賛：あすかアニマルヘルス(株)

第1日(9月7日)C1号館101 12:00~12:55

牛の局所免疫活性のための天然由来物質の可能性—特にキチン・キトサンについて—

大塚浩通(酪農学園大学獣医学類 生産動物医療分野)

免疫活性とは生態を守るための免疫機能が高まることであり、その結果、免疫の恒常性が効果的に維持されて病原体の感染から生体を守る。漢方薬で用いられる天然由来の生薬は免疫細胞を活性化させて抗病性を高めたり、干渉して炎症を軽減させることは以前から知られており、現在でも我々の生活に根付いている。また近年では粘膜免疫の研究が進み、特に消化管粘膜免疫における発酵食品の効果が明らかにされてきている。ヨーグルトや味噌、納豆などの発酵食品にある乳酸菌や納豆菌、酵母などの菌体には多糖性物質であるペプチドグリカンを含んでおり、これが腸管免疫を刺激し、さらに全身の免疫活性化に貢献するとされる。この他、シイタケ、アガリクス、サルノコシカケなどのキノコ類にも免疫賦活効果のあることが分かっている。これらの天然由来物質は、摂取すると消化管局所あるいは消化管を介して全身の免疫活性を促すことが古くから知られ、近年の研究によって効果が科学的に証明されている。家畜の生産においても生菌剤の他、卵白、クマザサ、甘草、アガリクスなど、いくつかの天然由来物質の給与による免疫への効果が報告されている。

一方、消化管を介さない局所の免疫活性を促す天然由来物質の一つにキチン・キトサンがある。エビやカニなどの甲殻類や昆虫類、菌類の外骨格を形成する天然の素材であるキチン、またキチンをアルカリで処理してアセチル基が除かれたムコ多糖類であるキトサンには、生体内消化性や抗腫瘍活性、蛋白質吸着性や抗菌性など様々な効果があるとされ、医療分野では鎮痛効果、止血効果、肉芽形成、治癒の促進などを目的に、外傷や火傷の治療に臨床応用されている。

キトサン分子は免疫細胞に対して刺激性をもっており、マクロファージを活性化させてコロニー刺激因子やインターロイキン(IL)-1などのサイトカインの産生を促す。IL-1はヘルパーT細胞に働きかけて、IL-2などを産生させてT細胞を活性化させたり、免疫グロブリンの産生を促進する。キチン・キトサンの免疫活性に関わる仕組みは未だ完全には解明されていないものの、キチン・キトサンが白血球の貪食能の増強、T細胞の活性化、好中球の集簇、表皮細胞の増殖促進など複数の経路に働いて、免疫応答性を高めることは間違いない。

牛の診療に対する臨床応用においては、外傷や化膿巣に対して綿状キトサンおよびキトサン懸濁液を適用し、良好な成果を得たとする報告がある。また液状キトサン液を用いた開放性骨折の治療成果や牛の裂傷の止血効果について報告されており、キトサンには牛の化膿性疾患の患部に対して良質な肉芽増生する効果があるものと示唆されており、牛の局所免疫活性のための天然由来物質としてキトサンの応用が期待される。

キチン・キトサンの臨床応用については外傷治療などの外科診療以外にも成果が報告されている。液状キトサン製剤を泌乳牛の子宮内に注入することにより、無発情牛の発情・排卵同期化後の受胎率が向上した報告がある。子宮内への好中球の遊走や子宮粘膜の上皮細胞への刺激効果が受胎率に影響した可能性はあるものの、メカニズムについては未だ不明な点が多く残されている。また飼料中にキトサン粒子を添加して飼育した子牛に実験的に腸管出血性大腸菌を摂取させたところ、糞便中の大腸菌の排出量が減少したとの報告がある。培養系の試験においては、キトサン粒子が大腸菌と結合することを確認しており、キトサンによる抗菌作用を応用した有用な効果として期待される成績である。一方、低粘度キトサンヒドロゲルを用いて内部乳頭シーリング剤を開発し、乾乳期の乳房・乳頭に処置したところ、新たな乳房内感染を得るリスクを低減したという報告もあり、今後、創傷治癒以外にもキチン・キトサンの臨床応用の可能性がある。

キチン・キトサンは固形で水に溶けにくいことから希釈しにくく、創傷の治療を目的にした場合には適当な濃度での処置材料として臨床応用しづらい欠点がある。しかし液状製剤であれば、これらの不利を満たすことから、今後のキトサン製剤の開発が期待される。

第1日(9月7日) C1号館201 12:00~12:55

次亜塩素酸によるパルボウイルスの抑制について

田島朋子(大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科 獣医微生物学教室)

はじめに

次亜塩素酸水は塩酸または塩化ナトリウム溶液を電気分解して産生される次亜塩素酸(HOClまたはHClO)の水溶液で、わが国では平成14年に食品添加物として指定されている。次亜塩素酸は受動拡散によって細菌の細胞壁を透過し、必須酵素や抗酸化性物質の-SH基の酸化、ヌクレオチド塩基の塩素化誘導体を生成することによるDNAの損傷ならびに活性酸素種の発生によって殺菌するものと推定されている¹⁾。一方、市販の消毒薬や漂白剤に含まれる次亜塩素酸ナトリウム液の主成分は次亜塩素酸イオン(OCl⁻)で細菌の細胞壁を透過することはできず、細胞壁の外側からのみ酸化作用を及ぼして損傷を与えることになる。その結果、HOClの殺菌効果はOCl⁻に比べて著しく大きくなるとともに、短時間で殺菌が可能である。このようなHOClを産生する空間除菌脱臭機Ziaino(Panasonic)を用いて猫汎白血球減少症ウイルス(猫パルボウイルス;FPV)を不活化できるかどうかを調べた。

猫汎白血球減少症ウイルスの不活化試験

23 m³チャンバー内の1 m³チャンバーの中にZiainoを置き、床にFPV PLI-IV株を付着、乾燥させたシャーレを置いた。有効次亜塩素酸濃度を13 mg/lに調整したZiainoを運転し、開始後1時間目までは10分ごとに、その後は1時間ごとに4時間目までシャーレを2枚ずつ回収した。シャーレのウイルス付着各部位に0.03%チオ硫酸ナトリウム添加DMEM培地を10μlずつ滴下し、ウイルスを回収した。回収したウイルスはCRFK細胞に接種し、FPVワクチン接種ネコ血清とFITC標識抗ネコIgGヤギ血清を用いた間接蛍光抗体法で感染の有無を判定して50%組織培養感染量(TCID₅₀/ml)を求めた。

Ziaino処理ウイルスは、処理開始後1時間で検出限界値以下まで力価が低下した。未処理のウイルス力価が10⁶ TCID₅₀/ml、対照としてチャンバー内に静置したウイルス力価が10^{5.4} TCID₅₀/mlであり、検出限界値は10² TCID₅₀/mlである。我が国では消毒薬についての独自の評価基準はなく、欧州または米国の評価基準が推奨されているが、European Norm(EN試験法)では4 log₁₀以上の力価現象が認められた際に有効とされており、今回の結果はこれを満たすものであった。Ziainoは室内の湿度を上げるため、付着したウイルスを核として水滴が生じており、HOClと直接接触することでウイルスを不活化したものと考えられる。

本結果から、Ziainoから揮発するHOClは付着のパルボウイルスを不活化し、動物の感染対策に有効であることが証明された。今回はネコパルボウイルスで評価したが、他のパルボウイルスでも同様の効果が得られるものと推定できる。パルボウイルスは物理化学的な抵抗性が非常に強く、消毒には次亜塩素酸ナトリウム溶液が推奨されている。次亜塩素酸ナトリウム溶液は刺激臭、皮膚への刺激、酸との混合で塩素ガスが発生するなど安全性に問題があるほか、金属を腐食するなど実用面でも問題がある。それに対して、次亜塩素酸水にはこのような問題はない。さらに、次亜塩素酸水には殺菌作用だけでなく、消臭作用も認められている。

参考文献

- 1) 福崎智司:次亜塩素酸による洗浄・殺菌機構と細菌の損傷、日食微誌、26、76-80(2009)

第1日(9月7日) C1号館301 12:00~12:55

犬の慢性心不全治療アップデート

堀 泰智(酪農大伴侶動物内科学)

ピモベンダンの最新情報

ピモベンタンはフォスフォジエステラーゼIII(PDE III)阻害薬に属し、細胞内cAMPの分解を抑制することで細胞内Ca濃度を調節し、血管拡張作用と強心作用を発揮する強心性血管拡張薬である。2016年に公表された大規模臨床試験は「僧帽弁閉鎖不全症(MVD)犬においてピモベンダンの単独投与がうっ血性左心不全の発生や心不全死を遅らせるのか?」という疑問を解決すべく実施された臨床研究であり、無徴候性MVD犬(360頭)を対象にピモベンタン単独投与群と無治療群に分け、本剤の臨床的有効性を前向きに調査した^[2]。この研究からは、ピモベンタン単独投与によってprimary endpoint(うっ血性左心不全の発生、心不全死・安楽死)までの中央生存期間が対照群と比べて有意に延長することが明らかとなった(ピモベンタンvs対照:1228日vs766日)。また、2017年のACVIM ConsensusではACVIM stage B2のMVD犬にはピモベンタンを推奨するという見解で一致したことを受け、今後は心拡大を伴う無徴候性のMVD犬にはピモベンタンが第1選択薬となることが予想される。

ピモベンタンを臨床応用する際のポイント

●ACVIMガイドラインのStage B2とは

ピモベンタンの大規模臨床試験ではACVIMガイドラインのStage B2(心拡大を伴う無徴候性MVD)を対象とし、さらにLA/Ao比、LVIDDN、VHSを指標としてクライテリアを設定した。本邦では発咳、運動不耐、失神、などをうっ血性心不全の徴候として判断している獣医師も多いが、Stage B2における無徴候とは、「心原性肺水腫を発症していない」という意味であり、その他の心不全徴候(発咳、運動不耐、失神、など)は一切考慮されていない。このため「無徴候性MVD」というイメージが先行して、心拡大の全くみられないMVDにおいてもピモベンタンが闇雲に処方される可能性がある。2017年のACVIM ConsensusではStage B1(心拡大を伴わない無徴候性MVD)では内科治療の必要性はないと判断されており、演者も心拡大を伴わない無徴候性MVD(発咳、運動不耐、失神、などもない)でのピモベンタンは推奨しない。

●ピモベンダンの適応基準(LA/Ao比 \geq 1.6、LVIDDN \geq 1.7、VHS $>$ 10.5)について

ある臨床試験では上記の基準を基にピモベンダンの適応基準を設定しているが、現実的に、臨床現場でこの基準を正確に評価できる獣医師は多くないはずである。演者は胸部X線検査で左心房領域の拡大を伴う心陰影の拡大や心エコー図検査で重度な左心房拡大が認められる症例をピモベンダンの適応と判断している。また、心不全に続発している発咳、運動不耐、失神、などが認められる際にもピモベンタンを処方している。

●ACE阻害薬の位置付け

これまで、ACE阻害薬はCOVE StudyやIMPROVE Studyなど様々な臨床研究において有効性が示されており^[3,4,8]、心不全治療の第1選択薬と考えられてきたが、ピモベンダンの臨床試験を受けACE阻害薬の位置づけが大きく変化しつつある。この根拠としてはベナゼプリル群に比べてピモベンタン群の方がMVDに伴うイベントの発生を遅らせることが根拠となっている^[5,6]。また、2000年以降に発表された臨床研究では、ベナゼプリルやエナラプリルはMVD犬の生存期間を延長しないことが示されている^[1,7]。しかし、ACE阻害薬の未だ解明されていない臨床的有効性が解明されることで、新たなACE阻害薬の使用法が見いだされるかもしれない。演者らは、Stage B2のMVD犬においてアラセプリルは発咳を抑制する効果の高いことを明らかにした。また、心拡大が軽度なMVD犬では発咳の改善率はさらに高くなることから、QOLの改善を目的にLA/Ao比 \geq 1.6、LVIDDN \geq 1.7、VHS $>$ 10.5に合致しないMVD犬に対するアラセプリルの臨床応用に期待している。

参考文献

- Atkins CE, et al.: Results of the veterinary enalapril trial to prove reduction in onset of heart failure in dogs chronically treated with enalapril alone for compensated, naturally occurring mitral valve insufficiency. J Am Vet Med Assoc. 231: 1061-1069. (2007)
- Boswood A, et al.: Effect of Pimobendan in dogs with preclinical myxomatous mitral valve disease and cardiomegaly, The EPIC study-A randomized clinical trial. J Vet Intern Med. 30, 1765-1779. (2016)
- Group TCS.: Controlled clinical evaluation of enalapril in dogs with heart failure, results of the cooperative veterinary enalapril study group, The COVE study group, J Vet Intern Med, 9, 243-252. (1995)
- Group. TIS.: Acute and short-term hemodynamic, echocardiographic, and clinical effects of enalapril maleate in dogs with naturally acquired heart failure, results of the invasive multicenter PRO spective veterinary evaluation of enalapril study. The IMPROVE study group, J Vet Intern Med. 9, 234-242. (1995)
- Haggstrom J, et al.: Effect of pimobendan or benazepril hydrochloride on survival times in dogs with congestive heart failure caused by naturally occurring myxomatous mitral valve disease: the QUEST study, J Vet Intern Med, 22, 1124-1135. (2008)
- Haggstrom J, et al.: Longitudinal analysis of quality of life, clinical, radiographic, echocardiographic, and laboratory variables in dogs with myxomatous mitral valve disease receiving pimobendan or benazepril: the QUEST study, J Vet Intern Med. 27, 1441-1451. (2013)
- Kvart C, H, et al.: Efficacy of enalapril for prevention of congestive heart failure in dogs with myxomatous valve disease and asymptomatic mitral regurgitation, J Vet Intern Med. 16, 80-88. (2002)
- Pouchelon JL, et al.: Effect of benazepril on survival and cardiac events in dogs with asymptomatic mitral valve disease, a retrospective study of 141 cases, J Vet Intern Med. 22, 905-914. (2008)

第1日(9月7日) B1号館101 12:00~12:55

新しい牛コクシジウム症対策のご提案

加藤慎治(エランコジャパン株式会社 畜産営業部)

牛コクシジウム症は、アピコンプレックス門胞子虫綱に属するアイメリア属コクシジウムの感染により引き起こされる病態であり、日本を含む世界各国でその被害が報告されている。日本国内では10種以上のアイメリア属コクシジウムが検出されているが、その中でも病原性の高いものとして *Eimeria zuernii* および *Eimeria bovis* の2種があげられる。罹患牛の栄養状態や免疫レベル、飼養環境、感染したアイメリア属コクシジウムの種・感染度合いなどのさまざまな要素により、その症状の重篤度が左右される。また、輸送・離乳・飼料などの変更やペン間の移動などの各種ストレスも発症要因とされている。

一般的に、まだ十分な免疫・体力の備わっていない子牛の時期での感染が重篤化しやすいとされている。この時期に *E. bovis* や *E. zuernii* の大量感染を受けると、血便などの重篤な下痢症を呈するとともに、脱水・しぶり・貧血・沈鬱・削瘦などの諸症状を認め、また7~20%という高い斃死率も報告されている。一方、ほとんどの場合の感染或いは低レベルの感染時には、不顕性感染或いは軽度の下痢症を引き起こすことが多いが、その場合、臨床症状は軽微であるものの、増体重・飼料効率などの生産性に悪影響を及ぼすとされている。国内では、トルトラズリル製剤の登場により、牛コクシジウム症の事故頭数は以前よりは減少しているものの、未だ報告件数は多く、畜産業界におけるその被害は大きいといえる。

コクシジウムの発育環は、オーシストとして存在する外界期と、牛の体内に侵入・感染してオーシストを形成する体内期とに大別される。外界期での牛コクシジウム対策、つまり環境対策については、コクシジウム・オーシスト自体の機械的・化学的刺激に対する強い抵抗性、また牛の飼養環境による継続的対策の困難さを考慮すると、それのみでの十分な牛コクシジウム症対策は難しいと考えられる。

一方、コクシジウム感染後の体内期に対しては、現在は有効な薬剤を感染後・臨床症状発症前に予防的に投与し、その臨床症状を制御する「発症防止」の観点からの対策、或いは臨床症状発現後に有効な薬剤の投与による治療が実施されている。発症防止については、実際に感染した状態を想定した対策であり、免疫の付与も期待できる。特に子牛の時期での牛コクシジウム症制御には、初感染時の臨床症状の低減とともに、その後のコクシジウム感染に対応するための免疫獲得・維持が重要である。しかし、農場ごとに飼養管理・コクシジウム汚染度合いなどが異なるため、各農場での最適な投薬タイミングが違ってくること、また現行の薬剤の特徴からも、免疫の獲得・維持も含めた完全な「発症防止」対策を行えている農場がどれほどあるのかは疑問の余地が残る。

また、牛コクシジウム症発症時には、速やかな治療効果が期待できる薬剤の投与に併せて、病原性細菌などの二次感染を考慮した抗菌剤の投与、或いは罹患牛の状態によっては補液などの維持療法も検討すべきである。実際に、牛を用いた試験により、牛コクシジウム症発症時には他の病原性細菌(特に *Clostridium perfringens*) の関与が指摘されており、またマウスを用いた試験では、コクシジウム感染により、罹患動物の臨床症状を悪化させる、さまざまな要因の発現を示唆する結果が報告されている。

本セミナーでは、上記でも触れた牛コクシジウム症に関する概要及び最新の知見と共に、新規抗牛コクシジウム製剤「ベコクサン®」の特長をご紹介します、本製剤を活用した新しい牛コクシジウム症対策についてご提案する。

第2日(9月8日) C1号館101 12:00~12:55

牛呼吸器病対策における細菌性不活化ワクチンの応用

久保田修一(株式会社 微生物化学研究所)

肉用牛の子牛市場価額高騰が続くなか、一頭でも多く素牛を生産するため、栄養管理とワクチンを中心とした疾病予防が行われている。特に、下痢や肺炎による死亡事故が多い生後3カ月齢以下の若齢牛においては、呼吸器病対策として牛ヘルペスウイルス1型(BHV-1)、牛RSウイルス(BRSV)および牛パラインフルエンザウイルス3型(BPIV3)などの含有ワクチンの接種、下痢対策としてロタウイルス、コロナウイルスおよび大腸菌由来抗原含有ワクチンを母牛に接種する母子免疫技術が普及してきている。しかし、異なる環境で出生した子牛が集められ、多頭化飼育が行われる施設においては、呼吸器病のコントロールが難しい状態にある。これらの施設においては、導入時の輸送と環境の変化を経験した6~10日後に呼吸器症状を発症することが多く、その後細菌の関与が中心となり肺炎に移行する。その原因病原体であるマンヘミア・ヘモリティカ(Mh)、パストレラ・ムルトシダ(Pm)およびヒストフィルス・ソムニ(Hs)は、いずれも子牛の鼻咽頭に常在する細菌であるが、BHV-1、BRSVおよびBPIV3の関与で、呼吸器内環境に変化をもたらし、粘膜表面における増菌と組織への障害が促進されると考えられている。また、アンモニアなどの化学物質や過度のストレスも関与するとされる。ウイルス感染では、細胞の性状変化で細菌の付着が促進され、びらんした粘膜ではコロニーの形成速度が速まる。さらに、肺泡マクロファージの機能変化、リンパ球の増殖抑制とアポトーシス誘導、さらに産生されるサイトカインの変化が病態に大きく影響する。Mhは複数の病原性因子を産生し、リポ多糖(LPS)は血管炎を、反芻動物特異的TRX毒素であるロイコトキシンは好中球などの白血球に形態学的変化を与え、最終的にその白血球は溶解する。肺炎で死亡した牛の肺から分離される原因菌の中でMhの分離時期が最も早く、海外における調査では多頭飼育移行後平均19日目頃の報告がある。それゆえ複数存在する肺炎原因菌の中で、Mhが生産現場で最も問題視されている。一方、Pmでは同定されている病原性因子の数はMhよりも少ないものの、LPSによる炎症性サイトカインの誘導能は高く、病変形成に強く関与している。また、Hsの病原性因子ではリポオリゴ糖(LOS)の影響が大きい。LOSは血管内皮細胞のアポトーシスを誘導し、炎症と組織の破壊に関わるほか血栓を形成する。また、Hsはヒスタミンの産生を促し、臨床症状を悪化させる。最終的には化膿性気管支肺炎、繊維索性肺炎または胸膜肺炎へと移行する。

国内で販売されている細菌性肺炎のワクチンにはMhの単味不活化ワクチン、Mh、PmおよびHsの3種混合不活化ワクチン、呼吸器病の5種混合生ワクチンにHsの不活化抗原が加わった混合ワクチンがある。これらのワクチンは、ウイルス病の予防と合わせて使用することで呼吸器病の予防効果が高いとされる。肺炎発症時の治療に要する労力と費用に対する生産者の理解、および乳幼児のヒブ(インフルエンザ菌b型)ワクチンの普及から、牛でも細菌性肺炎予防ワクチンに対する理解が進み、毎年接種頭数は増加傾向にある。一方、これらの細菌性ワクチンの使用に関しては、正しい理解が必要である。グラム陰性菌の抗原を用いたワクチンに含まれるLPSは不活化ができない。よって、ごくまれに微量なLPSの影響が接種牛に現れることがある。少量のLPSの接種では発熱と頻脈を、さらに多量の接種になるとショックを起こす。LPSにおいて生物活性の中心となるリピドAは菌種間で構造が保たれているため、同じ菌種によるLPSに複数回感作されることでアナフィラキシー様症状の発現リスクは上がる。通常ワクチンに含まれる微々たる量では健康牛に対する影響は少ない。通常LPSは細菌性肺炎、ルーメンアシドーシスおよびLPSの代謝(解毒)臓器である肝機能障害を示した牛の血清などから検出される場合がある。これらの牛では微量なLPSの注射においても影響が表れやすいので、接種時には注意が必要である。

今日、哺育センター等の集合哺育施設において1カ月齢程度の子牛に対して細菌性肺炎予防ワクチンを接種し、肺炎の発症率低下を経験した農場が増える一方で、期待した改善効果が見られない農場も存在する。本講演ではこれらの事例紹介と、その違いについて考察する。

第2日(9月8日) C1号館201 12:00~12:55

牛の炎症性子宮疾患に対する客観的診断とポビドンヨードによる治療

大澤健司(宮崎大学農学部獣医学科 産業動物臨床繁殖学研究室)

牛の炎症性子宮疾患が適切に診断されていないことによる生産者の機会費用損失は小さくない。特に潜在性子宮内膜炎の診療指針は長年改善されていない。臨床現場で潜在性子宮内膜炎の実用的な診断ツールがないことも課題である。

分娩後早期には子宮腔内には多数の細菌と多形核好中球(PMN)が存在しているが、健康牛であれば分娩後5週目までには細菌は排除され、炎症が治まっているはずである。ところが分娩後に必要な免疫反応がない、若しくは弱い場合、子宮内の炎症が持続する結果、分娩後6週以降でもPMNが浸潤する状態となる。分娩後7日までは子宮から細菌が分離される個体の割合は92%であるのに対し、その割合は分娩後35日までに30%、49日までに25%に低下する。これら25~30%の個体が問題となる。最近私達が実施した調査において、子宮内膜炎罹患牛における細菌分離率が16.7%だったのに対し、サイトブラシにて診断された子宮内膜炎罹患牛における細菌分離率は56.5%(オッズ比6.5、95%信頼区間2-22)と有意に高いという結果を得た。また、分娩後5週、7週ともに *Trueperella pyogenes* 感染がなかった個体における子宮内膜炎罹患率は9.4%だったのに対し、分娩後5週、7週ともに *T. pyogenes* 感染が認められた個体における子宮内膜炎罹患率は90%であった。これらのことから子宮内における細菌感染と炎症との関連は明らかである。分娩後20日から60日において子宮内膜細胞診により子宮内膜炎と診断された個体では子宮内に炎症が認められなかった個体と比較して受胎に要する日数が延長することが知られている。この時期に実施するフレッシュチェックでは、卵巣機能の回復の有無をみるだけではなく、子宮内の炎症の有無も判断すべきである。ヒトおよび馬の生殖器疾患の診断ツールとしてサイトブラシがあるものの、牛では長くそのような器具は存在しなかった。最近になり漸く牛用サイトブラシが市販されるようになり、人工授精や子宮内薬液注入と同程度の所要時間で採材できることから、現場で普及することで潜在性子宮内膜炎の実態が明らかになり、早期発見早期治療が可能となることが期待できる。

的確な診断が可能になったとして、次に解決すべき問題は治療指針の確立である。数ある子宮内投与薬のなかで、ポビドンヨード(ポリビニルピロリドン-ヨウ素複合体)液は従来使用されているものの一つであり、特に乳牛では休薬期間が不要であることから好んで選択する獣医師も多い。ただ、その効果についてはこれまでエビデンスが少なかった。これまで客観的な診断方法が普及していなかったこともその理由の一つであろう。そこで今回、サイトブラシにより子宮内膜炎と診断された個体に対するポビドンヨード液の子宮内投与の有効性について検討した。

宮崎県内の一酪農場におけるホルスタイン種経産牛の分娩後5週あるいは8週で子宮内膜炎あるいは子宮蓄膿症の罹患率を算出したところ、子宮内膜炎は37%、子宮蓄膿症は5%であった。まず子宮蓄膿症に着目し、子宮腔内に貯留している膿汁を排出させた直後の個体のみを供試した。直腸検査および超音波検査において子宮蓄膿症と診断されたホルスタイン種経産牛19頭を供試し、黄体を有している場合(18頭)にはPGF_{2α}製剤を投与、黄体を認めない個体(1頭)には子宮洗浄を実施、その1週後に再診して子宮腔内に膿汁が排出されていることを確認した上で任意の2群に分け、ポビドンヨード2%液あるいは0.5%液を50 ml子宮内に注入、注入直前と注入1週間後および2週間後における子宮内膜PMN%ならびに細菌分離成績をモニターしたところ、処置時に両群ともに約45%だったPMN%は処置2週間後に0.5%投与群では7%だったのに対し、2%投与群では1.2%と有意($p < 0.01$)な低値を示した。また、投与後の繁殖成績を比較したところ、受胎時の分娩後日数が2%投与群において短縮する傾向($p = 0.06$)が認められた。

以上より、中~重度の子宮内膜炎に対してはポビドンヨード2%液がより高い治療効果を有することが示唆された。今後は潜在性を含め、より軽度の子宮内膜炎に対するポビドンヨード液の子宮内注入の有効性を、子宮内環境およびその後の受胎性の両面において検証していく必要がある。

第2日(9月8日) C1号館301 12:00~12:55

適切なホルモン製剤の使用による乳牛の受胎率改善の可能性

三浦亮太郎(日本獣医生命科学大学 獣医学科 産業動物臨床学)

乳牛の繁殖管理において適切なホルモン製剤の使用は、効率的な妊娠牛確保という点で重要である。今回は、乳牛の繁殖管理における、腔内留置型プロジェステロン(P₄)製剤(商品名:シダー1900、ゾエティス・ジャパン、東京)とプロスタグランジン(PG)F_{2α}製剤(商品名:プロナルゴンF、ゾエティス・ジャパン、東京)の臨床使用について改めて見直していく。

人工授精後の受胎率向上のための腔内留置型P₄製剤の使用法

P₄をシリコン製ゴムに含ませた腔内留置製剤を一定期間留置した後に抜去し、発情を同期化する方法が実施されている。さらに、PGF_{2α}製剤、GnRH製剤またエストラジオール製剤等と併用することで排卵同期化することも可能である。また、人工授精後の14日目にシダーを挿入し21日目に抜去し、抜去時に黄体退行している不受胎牛であれば抜去後の2~3日に発情を集中的に発現させるFast Back Program(FBP)が開発されている。FBPは不受胎牛の早期摘発のためには非常に有効な方法であるが、受胎率を向上させるまでには至らなかった。過去の報告から、受胎牛は不受胎牛に比較して、人工授精後5日目頃から血中P₄濃度が高く推移すること、また人工授精後の5~9日にシダーを挿入し血中P₄濃度を上昇させることで、胚の発育が向上し、胚からのインターフェロン-τ分泌も増加すると報告されている。そこで人工授精後早期の受胎率向上と不受胎牛の早期摘発を目的に、人工授精後の5日目から2週間シダーを挿入し19日目に抜去する方法が開発された(Modified Fast Back Program:MFBP)。泌乳牛に対して、MFBP処置を行なったところ、無処置牛に比較して受胎率は有意に向上した(無処置:MFBP処置=30.7%:50.3%)。また、不受胎牛の発情回帰の状況を調べたところ、シダー抜去から2~3日に発情発現が集中していることが示された。本講演では、さらに再発情での受胎率およびMFBP処置の有効な条件についても紹介する。

卵巢所見を基にした発情周期の推定とPGF_{2α}製剤の使用とその後の受胎性

臨床現場では、直腸検査により開花期黄体が観察される個体に対してPGF_{2α}を投与して発情誘起することが多い。また、牛の発情周期期間中には卵巢内で2~3回の卵胞群の発育(卵胞ウェーブ)が観察され、それぞれの卵胞ウェーブから排卵に至らない卵胞が1~2個発育することが知られている。そのため、PGF_{2α}投与後に発情を起こす主席卵胞は第1卵胞ウェーブ主席卵胞または第2卵胞ウェーブ主席卵胞のどちらかとなるが黄体の検査のみではその判断がつかないことが多い。しかし、定時人工授精において、第1卵胞ウェーブ主席卵胞に対する人工授精は、第2卵胞ウェーブ主席卵胞と比較して受胎率が低下することが示されている。以上のことを踏まえると効率的に妊娠牛を確保することを目的とした繁殖管理業務においては、第2卵胞ウェーブ主席卵胞を狙ったPGF_{2α}投与の処置が求められると考える。発情周期を通して卵巢内構造物の発育動態を超音波画像診断装置を用いて観察すると、卵胞ウェーブを2つ持つ牛に関しては、発情周期の5-12日では10mmを超えた卵胞の個数が1個(第1卵胞ウェーブ主席卵胞)であり、発情周期の14-17日では10mmを超えた卵胞が2個(閉鎖した第1卵胞ウェーブ主席卵胞と第2卵胞ウェーブ主席卵胞)観察されると考えられる。そのため、黄体の有無のみならず10mmを超えた卵胞の数を観察することで第2卵胞ウェーブ主席卵胞が発育している個体を選抜できると推測され、PGF_{2α}投与後に第2卵胞ウェーブ主席卵胞を狙って発情誘起させることができると考えられる。本講演では、黄体の有無に加えて、卵胞の個数を計測することで発情周期(第1卵胞ウェーブ発育期間中または第2卵胞ウェーブ発育期間中)を予測可能か、またこの指標を基にしてPGF_{2α}投与の効果について議論していく。

第2日(9月8日)B1号館101 12:00~12:55(北海道家畜アミノ酸研究会第5回研修会)

乳牛の周産期の血中アミノ酸動態

大塚浩通(酪農大生産動物医療分野)

周産期における乳牛は胎子成長や泌乳の準備と急激な泌乳開始のため大量にエネルギーを消費することから、ダイナミックな代謝の変化が起こる。このエネルギー消費を維持するために必要な栄養は、採食か蓄積栄養に依存するので、十分な採食量が確保できない乳牛では蓄積栄養を利用することとなるため、負のエネルギーバランス(NEB)に至るリスクが高まる。乾乳後期においては胎子のエネルギー源としてグルコース(エネルギー要求量として約33%)よりもアミノ酸(エネルギー要求量として約56%)を利用するが、分娩直前は受胎産物など胎盤組織由来の要求量や泌乳のための乳腺組織の発達も最大となるため、アミノ酸を主体とした要求量は膨大となる。母牛の採食量が不足すると、負のアミノバランス(NAB)となるが、アミノ酸の供給源は筋肉組織、特に骨格筋組織が重要と考えられ、長期間カロリー不足が続くと、筋肉重量が大幅に減少するとされる。筋肉重量の減少は骨格筋や消化管の運動性に影響する可能性があり、周産期疾病の発生リスクを高めるかもしれない。

乳牛の発育や泌乳などのためのアミノ酸要求として不足しやすいアミノ酸は制限アミノ酸であるが、成長中の羊や牛において最も不足しやすいアミノ酸はメチオニンであり、次にリジンであるとされる。乳生産においてはこれらのほかにヒスチジン、スレオニン、フェニルアラニンや側鎖アミノ酸などが制限的であることが明らかにされてきた。アミノ酸の中でも特にメチオニンは脂質代謝促進作用を持つことから抗脂肪肝因子としてあげられ、肝臓でのリポ蛋白質合成を促進し、肝臓に蓄積した中性脂肪を血中に放出する作用がある。周産期の代表的な代謝障害であるケトーシス、脂肪肝、第四胃変位あるいは乳熱や起立不能は、過剰に動員されたFFAが大きく影響していると考えられているが、メチオニンは肝臓におけるこれらの脂質代謝を改善し、疾病の発生率を低下させると考えられている。健康な乳牛であっても分娩日は最も血中遊離アミノ酸濃度が低下するが、特にメチオニン、リジン、スレオニンや分岐鎖アミノ酸などの必須アミノ酸が低下することが知られており、これを補うために既に生産現場ではバイパスメチオニンやバイパスリジンを投与して、アミノ酸不足を予防する飼養管理が実践されている。

近年、アミノ酸がタンパク質の基材や糖新生などエネルギー源としての役割以外にも、様々な生理作用を持つことが明らかにされている。免疫機能の活性においてもアミノ酸は必須の栄養素であり、リンパ球の増殖において特定のアミノ酸が必要であるとされている。ヒトでは、アルギニンやグルタミンなど13種類のアミノ酸がリンパ球の増殖に利用されることが報告されている。なかでもグルタミンはリンパ球の主要なエネルギー源であり、リンパ球が急増する際にヌクレオチド合成の基質として必要となる。非必須アミノ酸であるグルタミンは体内で必要量を合成することができるが、外傷、手術や感染症など代謝ストレスが加わる状況下では基質の利用が制限されるためグルタミン濃度が減少する。グルタミンの不足によりCD8⁺T細胞の機能が低下する。また、ヒトではトリプトファンの欠乏によりCD4⁺T細胞が減少することが知られている。リンパ球の機能にはタンパク質合成に必要な遊離アミノ酸の利用能が大いに影響しており、アミノ酸不足により細胞性免疫機能が抑制されるといえる。特に周産期における乳牛では生理的なアミノ酸濃度の低下が見られることから、この低下を避けることが周産期における乳牛の感染症予防の一助になるものと期待される。

乳牛の健康管理のために今後のアミノ酸に関する研究が一層展開することを期待する。