

サラブレッド種牡馬における
突然死の誘因となる交配時の
心仕事量に関する研究

山口大学大学院連合獣医学研究科

畠添 孝

2012年9月

目 次

緒 論	1
-----------	---

第1章 サラブレッド種牡馬の死亡原因に関する回顧的調査 ...	10
---------------------------------	----

緒言

材料と方法

結果

考察

小括

図表

第2章 サラブレッド種牡馬における交配時の

心仕事量の評価 27

緒言

材料と方法

結果

考察

小括

図表

総合考察 47

謝辞 58

参考文献 59

緒 論

サラブレッドは、18世紀初頭にイギリスでアラブ馬やハンター一等から競走用に品種改良された軽種馬で、競馬で勝つことのみを目的として日々交配と淘汰とが繰り返され、人が創り出した最高の芸術品とも呼ばれている。これらの馬は、競走時には、騎手を乗せて数分間持続して毎時60～70kmの速さで走ることができる。また厳格な血統登録が行われており、1頭1頭に必ず血統書が存在し、父系の血統を遡るとゴドルフィンアラビアン、バイアリーターク、ダーレーアラビアンのいずれか3頭にたどり着く。血統的または競走成績が優秀な馬は高額で取引されることがある。2010年の国別サラブレッド生産頭数[図A]をみると、日本はアメリカ合衆国、オーストラリア、アルゼンチン、アイルランドに次ぎ、世界第5位に位置しており、日本のサラブレッド生産頭数は景気の低迷や地方競馬の廃止等の影響により年々減少しているが、世界的にみると現在でも日本はサラブレッド生産大国であることがわかる。

サラブレッドの交配は次に示すような特徴がある。①季節繁殖動物で通常3月～6月に交配を行う。ただし近年、人工照明を繁殖牝馬に用い、発情を人為的に誘起する方法が一般的になり2月の交配も増えてきている。②人工授精などの人為的な受精は認められていないため、すべて自然交

配が行われている。③妊娠期間は約 11 ヶ月間で、分娩後約 10 日目前後で交配が可能である。④繁殖牝馬の発情周期は約 3 週間で、発情期間は 3～5 日間である。⑤繁殖牝馬は 1 発情期間中に 1 頭の種牡馬と交配することができる。

本研究の対象としたサラブレッド種牡馬に関しても次に示すような特徴がある。①血統または競走成績が優秀な牡馬しかなることができない。②種牡馬導入時には多額な費用がかかる。しばしば、導入時に数十億円のシンジケートが組まれる程である。③このため必然的に、種付料が 1,000 万円を超える人気種牡馬も存在する。④日本のサラブレッド種牡馬頭数は 1991 年の 676 頭から大幅に減少し、2011 年では 289 頭となっている[図 B]。これは景気の低迷等のため、サラブレッド生産頭数が減少傾向であることが関連していると考えられる。⑤近年になり人気種牡馬に交配が集中し、200 頭以上の繁殖牝馬と交配する種牡馬が増えてきている[図 C]。実際 200 頭以上の繁殖牝馬と交配している種牡馬は、1995 年は 0 頭、2000 年は 2 頭、2010 年は 10 頭と増えてきている。⑥人気種牡馬に交配が集中するようになったため、1 日における交配回数 4 回が連日継続する場合もある。⑦北半球と南半球の季節のずれを利用し、1 年に 2 シーズン分の交配を行う種牡馬(シャトルスタリオン)も存在する。このように、サラブレッド種牡馬は 1 頭の価値が血統的および経済的にも非常に高いと認識されているにも係わらず、非常に過酷

な交配環境におかれている。

日本の近代競馬は150年の歴史があり、サラブレッド競走馬の生産についても明治時代から脈々と受け継がれている。この長いサラブレッド生産の歴史の中で、繁殖牝馬，子馬，1歳馬，2歳馬，現役競走馬の死亡につながる疾病に関する調査・研究は，様々な観点から行われている。特に日本中央競馬会に所属する競走馬については，多くの疾患についての詳細な調査記録[競走馬保健衛生年報]があり，安楽殺を含む死亡原因は骨折のような運動器疾患が圧倒的に多いことが示されている。また子馬では虚弱，感染症，運動器損傷による死亡が多いことや，繁殖牝馬では受胎から分娩までの期間に発生する難産，子宮動脈破裂，子宮捻転，子宮破裂が主な死亡原因であることも知られている[1, 2, 3, 4]。競走馬においては，心血管系の疾患がパフォーマンスの原因になっていることが示されており[10]，競走馬における調教中の心電図測定では，運動負荷による心拍数の増加だけでなく，運動前後における運動誘発性不整脈の発現も検出されている[10, 12]。このような不整脈をはじめとする心血管系の疾患は，サラブレッド競走馬の調教中やレース中に生じる突然死の原因となることが示唆されている[7]。

軽種馬生産地では，人気のある種牡馬が交配活動等に関連して突然死したことが報じられることは稀なことではない。事実，日本軽種馬協会において繋養され，交配に供されて

いた種牡馬においても、1991年から2008年の間に7頭が突然死し、これらのうち4頭は交配直後に死亡している。前述のように競走馬では運動誘発性不整脈が突然の心臓死を招くことは知られているが、種牡馬においては交配活動が心臓の機能異常をきたし、活動直後の心臓突然死に至る可能性について説明するデータはない。その理由は、研究・調査が介入することによる種牡馬としての経済的損失にある。種牡馬によっては、種付交配料が1千万円以上と高額で、かつ年間200頭以上の繁殖牝馬と交配するものもある。健康上の欠陥は、種牡馬の評価として好ましくなく、また調査行為による不慮の事故、あるいは交配活動に対するマイナスの影響も危惧される。

我が国における種牡馬の飼養頭数が少ないことも(2011年現在、繁殖牝馬9,373頭に対して種牡馬289頭)、調査・研究対象とされにくい理由の一つである。数少ない研究の中でも、種牡馬の生殖器及び内分泌器機能に関する報告はみられるが、交配時の循環器機能、あるいは交配に伴って誘発される心機能異常と突然死の因果関係を示唆する研究報告はない。

競走馬にみられる循環器疾患には、不整脈と弁膜症がある。競走馬のパフォーマンスを損なう代表的な不整脈として心房細動や頻発する心室性期外収縮があり、キニジンの投与といった治療が行われている。また不整脈を生じる心臓の器質的な変化として、洞房結節周囲における心筋線維

症，房室・洞房結節動脈の血管硬化性変化，心室中隔上部における刺激伝導系の房室束や束枝の線維症病変が報告されている[7]。

競走馬における心疾患の診断法には，心電図と心エコー検査が用いられている。いずれも，日常活動や運動が負荷された状態で観察するホルター心電計による負荷心電図や，トレッドミル運動と組合せて行われる負荷心エコーとして診断に使用される。いずれも，競走馬においてはルーチン検査として適用されているものの，種牡馬においては，機器の装着やトレッドミルへの馴致等に伴う不慮の事故や交配活動に支障をきたすリスク等があるため，適用されにくい。

このように，競走馬では一般的に行われる臨床検査法が必ずしも，種牡馬の心疾患の診断には適用されていない。したがって種牡馬では心疾患の適切な評価がされないまま経過し，突然の死に至るケースも少なくないのではないかと考えている。種牡馬の突然死に心疾患が関与している可能性は高く，とりわけ交配活動に関連した死亡例では交配活動が心仕事量の高まりを来たし，潜在化する心疾患を憎悪させる要因となっているという仮説を立てるに至った。

本研究では，種牡馬における死亡原因の実態を調査するとともに，交配活動が種牡馬の心臓の仕事量に及ぼす影響について検討することを目的とした。その目的のために，第1章では，公益社団法人日本軽種馬協会において過去45年間に繋養された種牡馬の管理データを基に，死亡時

の状況や病理学的検査の記録を回顧的に解析した。第 2 章では、交配時における種牡馬の心仕事量の変化をホルター心電図記録から得られる不整脈，心拍数，及び血液学的生化学的検査項目の変化をもとに，評価・解析した。

サラブレッド国別生産頭数(2010年)

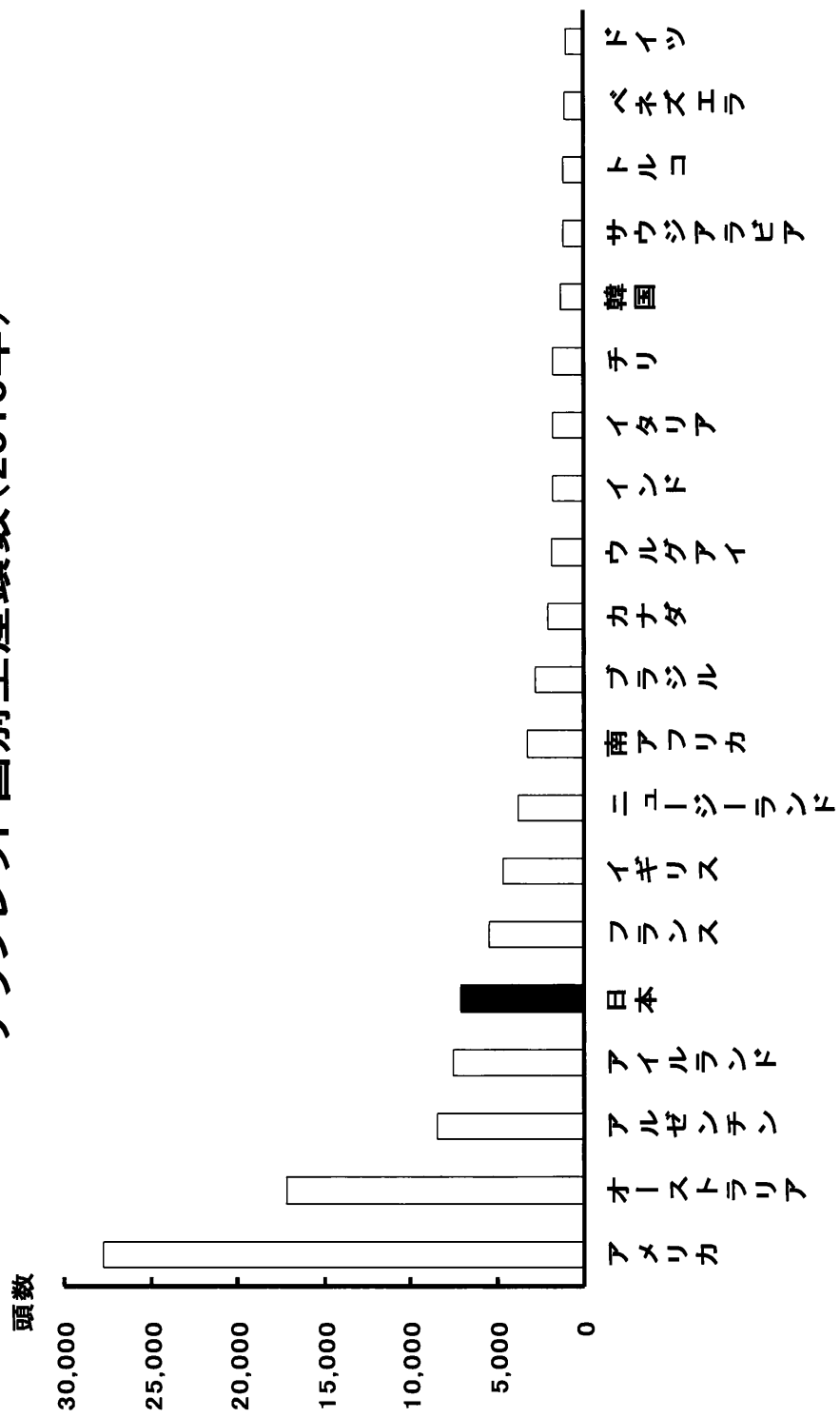


図 A. サラブレッド国別生産頭数(2010年度)。 ジャパン・スタッドブック・インターナショナル, 世界の競馬および生産統計より。

サラブレッド種牡馬頭数の推移

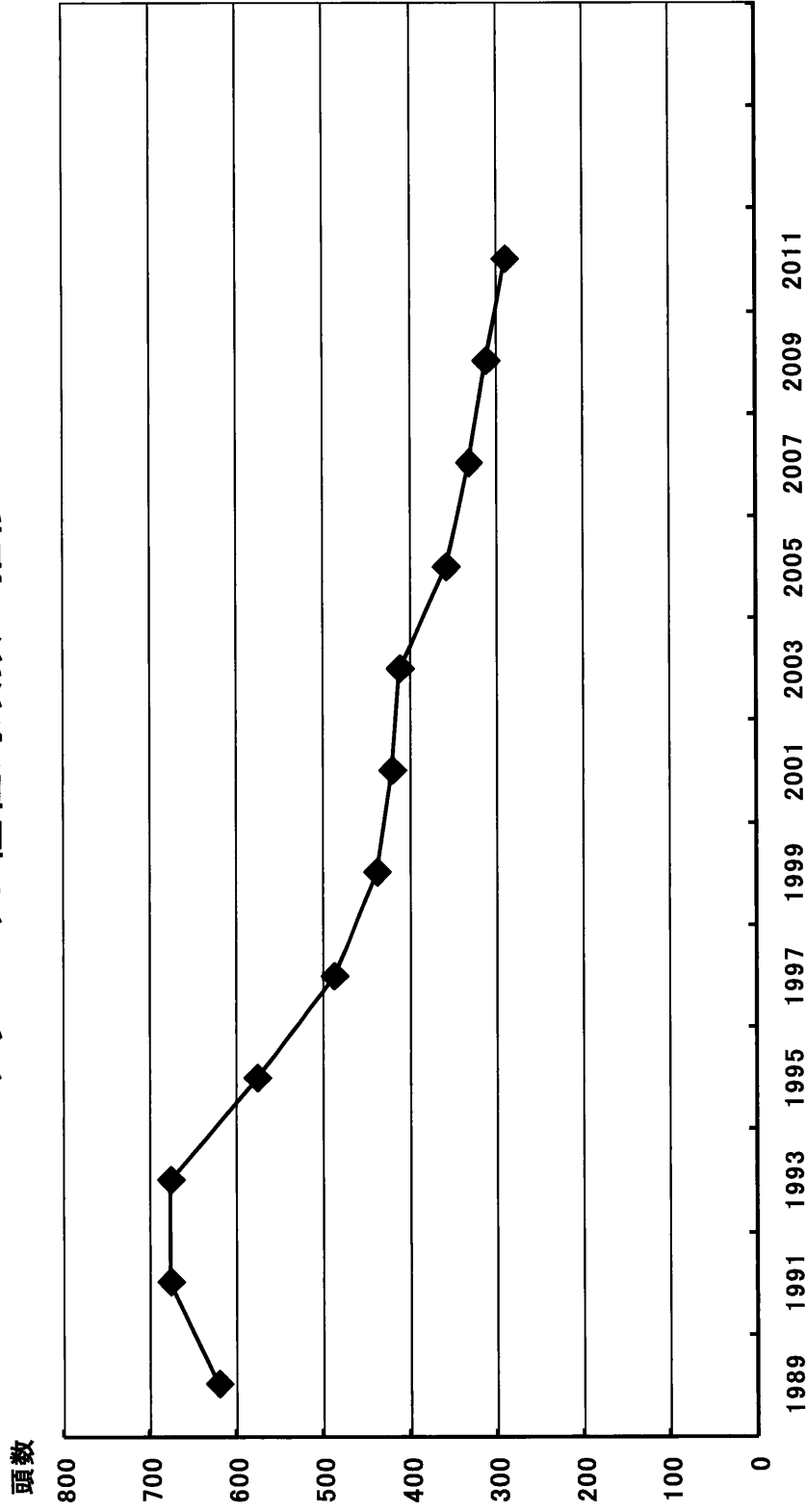


図 B. サラブレッド種牡馬頭数の推移 (日本国内)。ジャパン・スタッドブック・インターナショナル, 統計データベースより。

種牡馬1頭毎の種付頭数

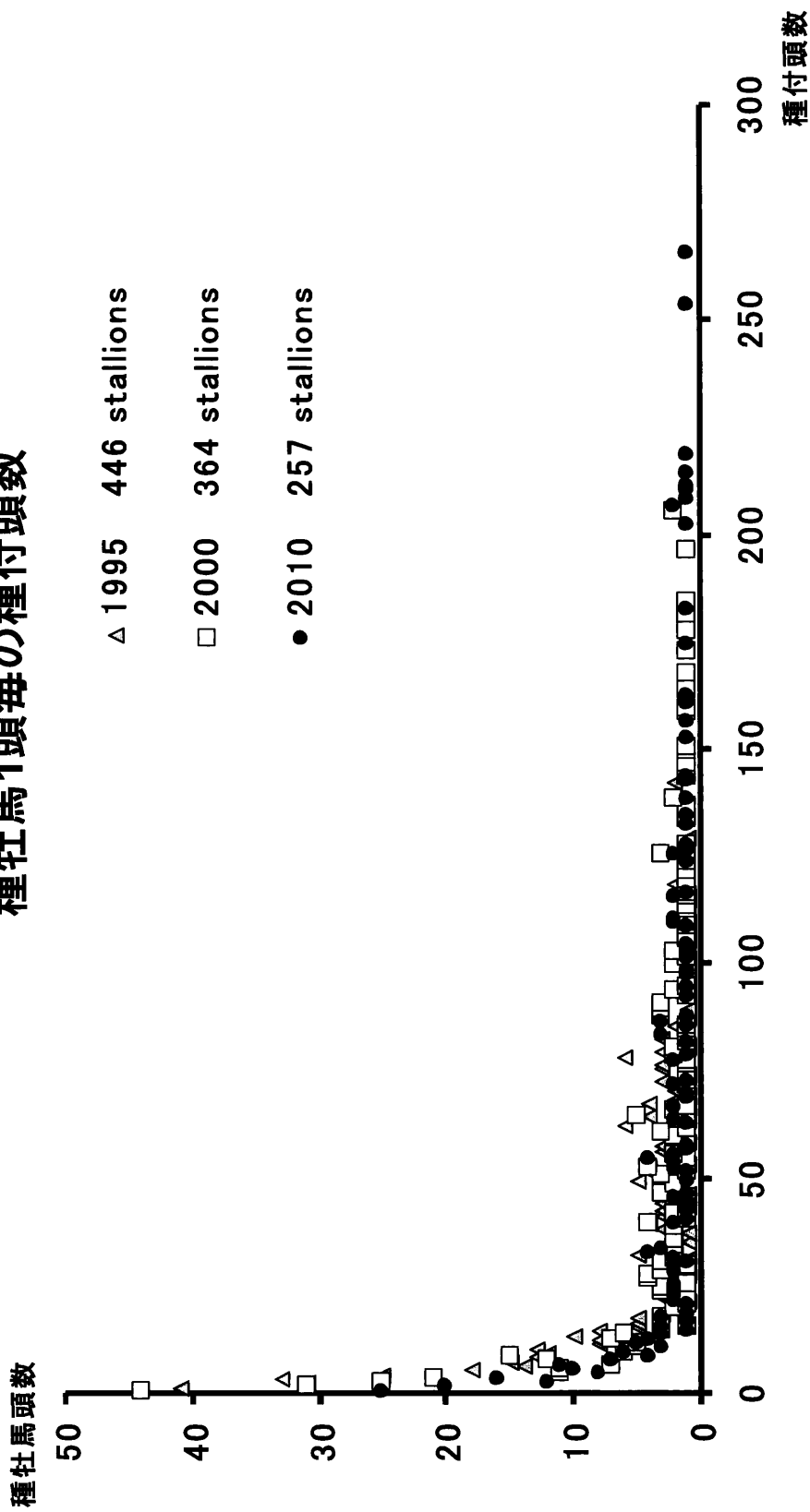


図 C. サラブレッド種牡馬 1 頭毎の種付頭数の推移 (日本)。ジャパン・スタッドブック・インターナショナル, 日本軽種馬協会, 軽種馬統計より。

第 1 章

サラブレッド種牡馬の 死亡原因に関する回顧的調査

緒 言

日本中央競馬会に所属する競走馬を対象とした平成22年競走馬保健衛生年報に記載の資料によれば、競走中の死亡例（安楽殺を含む）は、2006～2010年の間に年間84～122例発生している。それらの90%以上が骨折、脱臼、腱・靭帯断裂などの運動器疾患を原因とするものであり、心不全による死亡例は年間1～5例と少ない。また、レースに向けたトレーニング調教中の死亡例（安楽殺を含む）も同様に年間63～104例発生しているが、そのうちの40～67例が運動器疾患、5～15例が変位疝や腸炎などの消化器疾患で、心不全による死亡例は4～10例である。すなわち、現役の競走馬の死亡あるいは安楽殺の原因としては、運動器疾患が飛び抜けて多く、それ以外の疾患が原因で死に至るこ

とは比較的少ない。

このように日本中央競馬会に所属している競走馬の死亡原因に関しては、十分な検証がなされているものの、軽種馬の生産に重要な役割を担っている種牡馬に関しては、その損耗についての詳細はまったく不明である。特に死亡の原因や死亡した際の状況等の実態について、多数の症例を系統的かつ詳細に調査・解析した報告は、わが国を含め海外においてもまったくみられない。種牡馬以外では、生後1年未満の子馬の死亡原因として、虚弱、呼吸器系を主体とする敗血症性感染症、運動器損傷の多いことが、繁殖牝馬では、外傷等による死亡に加えて、受胎から分娩までの期間に発生する難産、中子宮動脈破裂、子宮捻転、子宮破裂等による死亡が多いことが、海外において報告されているのみである[1,2,3,4]。

第一章では、わが国で交配活動を行ったサラブレッド種牡馬における死亡の原因および発生状況を明らかにする目的で、公益社団法人日本軽種馬協会（以下、公益社団法人日本軽種馬協会：JBBA）において過去45年間に繋養された種牡馬の管理データを基に、死亡時の状況や病理学的検査の記録を回顧的に解析した。これら実態の解明は、高価で優秀な遺伝形質を有する種牡馬の安全かつ長期にわたる交配活動を維持するために、非常に有用かつ重要な知見を与えてくれるものと考えられる。

材料と方法

種牡馬に関する様々な情報は、わが国をはじめ諸外国でも厳重に管理されている。JBBAは1955年に全国の軽種馬生産者が、「サラブレッド生産を民間の力で盛り上げ、競馬の繁栄に生産者の立場から貢献する」という理念のもとに発足させ、多くの優秀な種牡馬を繋養して、繁殖牝馬との交配に供してきた。これら多数の管理種牡馬の蓄積データの中から、1966～2010年までの45年間に死亡したサラブレッド種牡馬53例の管理および病理学的検査の記録を用いて今回の調査を行った。

これら種牡馬は、例年2月中旬～7月中旬の約5ヵ月間、繋養地周辺の軽種馬生産牧場の繁殖牝馬との交配に供用された。実際には、種牡馬は繁殖牝馬へ直接乗駕する自然種付を、繁忙期には1日の交配上限3回、少なくとも4時間以上の間隔で行うことを原則としていた。またこれらの種牡馬には、交配行為を安全かつ継続して行わせるために、筋力維持とストレス解消を目的として、放牧による自由運動や軽い騎乗運動を様々なメニューで毎日実施していた。

検索対象とした種牡馬53例の死亡時年齢は6～33歳（平均値、中央値ともに19歳）で、種牡馬としての供用期間は3～24年（平均値、中央値ともに11年）であった。この間に32～1,097回（平均377±245回、中央値314回）に

わたって交配に供していた。これら 53 例の中には、死亡時にはすでに種牡馬としての仕事を引退して 1～11 年経過したものの 12 例（以下、退役馬）が含まれていた。死亡した種牡馬については所管の家畜保健衛生所，日本中央競馬会競走馬総合研究所あるいは獣医系大学にて病理学的検査が実施された。

結 果

JBBA に繋養され，過去 45 年間に死亡または安楽殺となったサラブレッド種牡馬の病理解剖の結果では，循環器疾患が 18 例で[表 1-1]，そのうちの 16 例が突然死であった。なお，残りの 2 例は内科的原因による起立不能で安楽死とされ，病理学的検査で心筋壊死と大動脈弁の線維性肥厚が認められた症例であった。次いで多いのが，変位疝，有茎脂肪腫による消化管絞扼，大腸炎等による急性腹症を伴う消化器疾患で 13 例，さらに骨折や腰萎等の運動器疾患が 11 例であった。その他の死因として，寄生虫症（5 例），腫瘍（2 例），呼吸器疾患（1 例）および感染症（1 例）がみられた。また調査対象とする 1966 年からの 45 年間を 15 年間ごとに区切って各疾病発生比率の推移をみると，循環器疾患と消化器疾患の割合は増加傾向を示し，それら以外の運動器疾患，寄生虫症，腫瘍，呼吸器疾患，感染症は減少傾向を示した。また各 15 年間において死亡した種牡

馬の平均死亡年齢は、増加傾向にあった[表 1-1]。

突然死した 16 例の種牡馬の死亡時年齢は 7~30 歳 (平均年齢 17 ± 6 歳, 中央値 15 歳) であり, 種牡馬としての供用期間は 3~24 年 (平均値, 中央値ともに 9 年) であった。

突然死の発生は冬期に多い傾向があり[表 2], 1 月は 4 例, 12 月は 3 例で, 交配時期の 3~6 月は各月 2 例, 8 月に 1 例であった。突然死の発生と発見時の状況については, パドックや走路等の運動場で発症した症例が 5 例, 種付場で交配終了直後に後肢から崩れるように倒れこみ死亡した症例が 4 例, 厩舎内で死亡しているのを発見された症例が 7 例であった。

表 2 に示したように, 突然死症例の病理学的検査の結果では, 16 例中 13 例 (81.3%) で心臓あるいは大口径の血管に病変が観察された。心臓にみられた病変は心筋線維間の出血, 線維化, 梗塞などで, 計 7 例に認められた。これらのうち 3 例では房室結節が存在する領域の心筋に出血が [図 1-1], また別の 3 例では心筋の線維化が認められ, このうち, 1 頭では心筋線維化病変が心臓刺激伝導系の重要な部分を構成する房室接合部領域に観察された [図 1-2]。一方, 大口径の血管にみられた病変としては, 大動脈起始部の破裂により心膜腔内へ大量出血したことによる心不全死 (心タンポナーデ) が 4 例 [図 1-3], 前腸間膜動脈や門脈など腹腔内の大口径の血管の破裂により失血死したもの

が 2 例であった。大動脈起始部の破裂により死亡した 4 例ではいずれも大動脈弁直上に 1～5 cm の裂孔が形成されていた。裂孔形成部位の病理組織学的検索では、破裂部断端の平滑筋細胞の変性・壊死や消失、弾性線維の断裂および細片化が観察された[図 1-4]。なお 3 例の突然死例では、死因に直結するような顕著な病変は見いだされなかった。

考 察

第一章では JBBA がこれまで保管していた死産種牡馬の死亡時状況と病理検査記録を基に、日本の種牡馬に特有の死亡原因や発生状況を明らかにするための調査と解析を行った。過去 45 年間に死亡または安楽殺となった種牡馬の病理学的診断では、循環器疾患が全体の 3 分の 1 を占め、それに次いで消化器疾患、運動器疾患が多くみられた。競走馬の死亡ないし廃用原因として最も多い骨折や腱の断裂など運動器傷害の発生頻度は、競走から引退して疾走する機会がなくなり、繁殖シーズンに集中して繁殖牝馬に交配を行うことが役務となった種牡馬では明らかに減少していた。また子馬や繁殖牝馬で頻繁にみられる死亡原因とも大きく異なり、種牡馬特有の死亡原因がクローズアップされる結果となった。

調査対象とした 45 年間における 15 年間ごとの各疾病の

比率では、運動器疾患が徐々に減少する傾向にあったことから、わが国における種牡馬の厩舎、運動場および種付場等の施設改善が運動器損傷の発生を減じた可能性が推察された。一方、循環器疾患と消化器疾患については増加傾向にあった。循環器疾患では心筋線維化の症例、また消化器疾患では比較的高齢の馬に多いとされる有茎脂肪腫による消化管絞扼の症例が観察された。これらの症例では死亡時年齢の増加を認めたことから、疾患の発現には加齢性変化が影響している可能性が考えられた。

種牡馬の死亡原因で最も多かった循環器疾患に区分された18例のうち、16例(全体比30.2%)が突然死であった。突然死例のうち、7例(43.8%)が心筋病変、4例(25%)が大動脈起始部の破裂、2例(12.5%)が大動脈以外の血管破綻が死因となっていたが、残りの3例(18.6%)については死因に関連する病理所見は得られなかった。Platt[5]は、1966～1981年に剖検した10日齢以上の様々な馬において、突然死または予期されなかった死は69例(繁殖牝馬27例、種牡馬1例、競走馬21例、1歳馬3例、子馬14例、その他3例)で、全体比7.6%であり、その原因内訳は循環器疾患が22例(31.9%)、消化器疾患が20例(29.0%)、外傷が15例(21.7%)、感染症が3例(4.3%)、原因不明が9例(13.0%)であったと報告している。先に記載した我々の種牡馬の結果と比較すると、日本の種牡馬における突然死の発生率は約4倍(30.2%:7.6%)高

く、その原因としての循環器疾患の割合も約 2.5 倍 (81.3% : 31.9%) 高いことが示された。

突然死の 3 例では、心筋出血が房室接合部領域に観察された。この部位には心臓刺激伝導系の主要な部分を構成する房室結節とヒス束が走行しており、Pascoe ら[6]がすでにサラブレッド種牡馬の突然死例で指摘している病変部位と一致している。また心筋出血以外にも心筋の線維化が 3 頭に観察された。Kiryu ら[7]は心臓突然死した競走馬の病理所見と心電図所見とを検討し、全例に心筋や刺激伝導系の線維化等の病変を認め、いずれも不整脈に起因する心臓突然死として位置付けている。今回解析した種牡馬の心臓においても同様の所見が観察され、不整脈が突然死の引き金になっていた可能性があるものと考えられた。

大動脈起始部の破裂により突然死した種牡馬 4 例の血管破綻部位に観察された平滑筋細胞の変性・壊死や消失ならびに弾性線維の断裂・細片化は、Imaizumi ら[8]のサラブレッド競走馬における形態学的検索結果と類似していた。当該報告では、すでに存在している大動脈中膜の退行性あるいは硬化性変化が、大動脈破裂と密接に関連しているものと考えられている。第一章においても、種牡馬の日常の運動や交配時の性的興奮による心臓への負荷の増大が、血管破裂の誘引となった可能性が示唆された。

種牡馬の突然死は、12月と1月に合わせて7例(全体比

43.8%)、さらに交配に供用される3～6月の間には各月2例発生していた。交配を行わない夏期における突然死の発生は、45年間で1例のみであった。ちなみにこの夏期の1例は、門脈系血管破裂による腹腔内出血死と診断されたものであり、他の血管起因の突然死例5例に共通してみられた動脈破裂とは異なる機序により発生したものであった。突然死の発生場所については、日常的に運動を行う施設や種付場での死亡例を合わせると9例であった。これらのうちパドックや走路等の運動場での死亡例が5例、種付場で交配終了直後に後肢から崩れるように倒れこみ死亡した例が4例であった。このことから、日常の運動や交配活動が心臓・血管系の異常を介して種牡馬における突然死の誘因になっている可能性が推察された。なおこれらの症例についてはいずれも生前に何の症状もなく、安静時に実施する定期的な聴診や心電図検査でも異常が認められていなかったことから、安静時には検出しえない心臓・血管系の異常が、運動負荷時あるいは日常の活動によって顕在化した可能性が考えられた。

我々は第2章で、実際の交配活動における種牡馬の心拍数の変化について解析している。この際の種牡馬の心拍数は繁殖牝馬の待機する種付場に種牡馬が入場する頃より増加し、射精するまでの間、駈歩運動と同程度の心拍数に上昇することを確認している。さらに一部の種牡馬では、交配終了後に房室ブロックや心室性期外収縮が発生する

場合があることも見いだしている[9]。特に心室性期外収縮は、安静時の心電図検査では観察されていない。一方、調教後に心臓性突然死をきたした競走馬の心電図を記録した報告[7]によれば、運動終了直後に心室性期外収縮が確認され、房室ブロックや心房性頻拍を伴いながら、やがて心室細動から心停止に至る過程が詳細に記載されている。種牡馬の一部で観察される運動や交配活動後の心室性期外収縮も、心室頻拍や心室細動へと進展し、突然死に至る可能性があることは否定できない。したがって、交配活動中の種牡馬の心電図や心エコー図によるモニタリングは心機能の異常を早期に発見するために有用な方法の一つと考えられるが、それら検査用の電極やプローブの装着は種牡馬の交配行動を抑制するなど悪影響を与えることが懸念され、さらなる検査機器や手法改善が望まれる。しかし日常の運動中の不整脈モニタリングに対しては、ホルター心電計を用いれば馬への負担もきわめて軽微である。まずはこの検査法を汎用してデータを蓄積することにより、種牡馬の突然死に密接にかかわっていると考えられる循環器疾患の早期発見と予防に向けた展開が期待される。

本調査の結果、種牡馬の突然死は、心臓・血管系の異常を主因とし、特に冬期から繁殖供用期間中に、日常の運動や交配活動と関連して多く発生することが明らかになった。

小 活

種牡馬の死亡原因や発生状況等に関して詳細に調査・解析した報告は見あたらない。そこで過去 45 年間に死亡したサラブレッド種牡馬 53 例の死亡状況について回顧的な調査を実施した。死亡状況としては突然死が 16 例と最も多く、消化器疾患による急性腹症死が 13 例、骨折等の運動器損傷後の安楽殺が 11 例と続いた。突然死の発生は 1 月と 12 月がそれぞれ 4 例と 3 例、3～6 月は各月 2 例であった。またその発生場所は、運動場と種付場がそれぞれ 5 例と 4 例、厩舎が 7 例であった。突然死例の死因は、心筋の出血、線維化あるいは梗塞に伴う心不全が 7 例、大動脈起始部破裂による心不全が 4 例、腹腔内の大血管破裂による失血死が 2 例であった。一方、3 例では死因が特定されなかった。このように種牡馬の突然死の主因は心臓・血管系の異常であり、冬期から繁殖供用期間に多く発生していた。

表1-1. 過去45年間(1966~2010年)に死亡した53例のサラブレッド種牡馬の疾患分類

病 種	1966 ~ 1980 年			1981 ~ 1995 年			1996 ~ 2010 年			全 体		
	例数	全体比 (%)	平均 年齢	例数	全体比 (%)	平均 年齢	例数	全体比 (%)	平均 年齢	例数	全体比 (%)	平均 年齢
循環器疾患	4	26.6	15.8	6	35.3	17.2	8(3)	38.1	18.5	18(3)	34.0	17.4
消化器疾患	3	20.0	17.3	4	23.5	20.3	6(3)	28.6	18.8	13(3)	24.5	18.9
運動器疾患	5	33.3	12.2	3	17.6	19.3	3(3)	14.3	27.3	11(3)	20.7	18.3
寄生虫症	1	6.7	19.0	2	11.8	19.0	2	9.5	17.0	5	9.4	18.2
複合(老衰)	0	0		0	0		2(2)	9.5	32.0	2(2)	3.8	32.0
腫瘍	1	6.7	21.0	1	5.9	21.0	0	0		2	3.8	21.0
呼吸器疾患	1	6.7	12.0	0	0		0	0		1	1.9	12.0
感染症	0	0		1(1)	5.9	29.0	0	0		1(1)	1.9	29.0
計	15		15.2	17(1)		19.4	21(11)		20.6	53(12)		18.7

*例数の()は退役馬を示す。

表1-2. 突然死した16例のサラブレッド種牡馬の死亡時の状況と剖検所見

No.	死亡時 年齢	死亡月	死亡場所	心血管系の 主要所見	剖検所見
1	23	1	厩舎	心筋出血	冠状溝及び縦溝に沿った外膜下点状出血
2	15	12	走路	心筋出血	洞房結節及び心房結節部における新鮮出血, 右心室の拡張および凝固不良血液の中等量貯留
3	7	6	パドック	心筋出血	房室結節近在領域における新鮮出血, 右心室の著しい弛緩拡張並びに肺の出血巣の密在
4	11	3	種付場	心筋出血	右心室の弛緩および拡張並びに房室結節近在の水腫および新鮮出血
5	14	12	厩舎	心筋混濁腫脹	心筋の混濁腫脹
6	22	1	厩舎	心筋線維化	心筋の線維化
7	21	5	厩舎	心筋梗塞・線維化	左側心尖部内膜下梗塞巣形成, 左心乳頭筋大型線維化散乱
8	13	3	種付場	大動脈破裂	心臓の大動脈起始部における破綻と心膜腔内出血, 心タンポナーテ
9 (退役馬)	22	4	競馬場 展示場	大動脈破裂	大動脈基部の動脈輪に沿う長さ5cmの裂孔形成
10 (退役馬)	30	4	厩舎	大動脈破裂	大動脈基部および心房中隔心筋の限局性壊死による心膜血腫, 心筋の線維化
11	14	5	種付場	大動脈破裂	大動脈弁直上部の大動脈基部における長さ5cmの裂孔形成
12	11	1	運動場	前腸間膜動脈破裂	前腸間膜内大出血, 十二指腸粘膜炎の小潰瘍形成
13	14	8	厩舎	門脈破裂	門脈系の破綻, 十二指腸・回腸漿膜面に小指大へモメラズマ散見・腹腔内に馬糸状虫
14	12	6	種付場	特になし	
15	17	12	厩舎	特になし	肺実質性気腫
16	22	1	パドック	特になし	

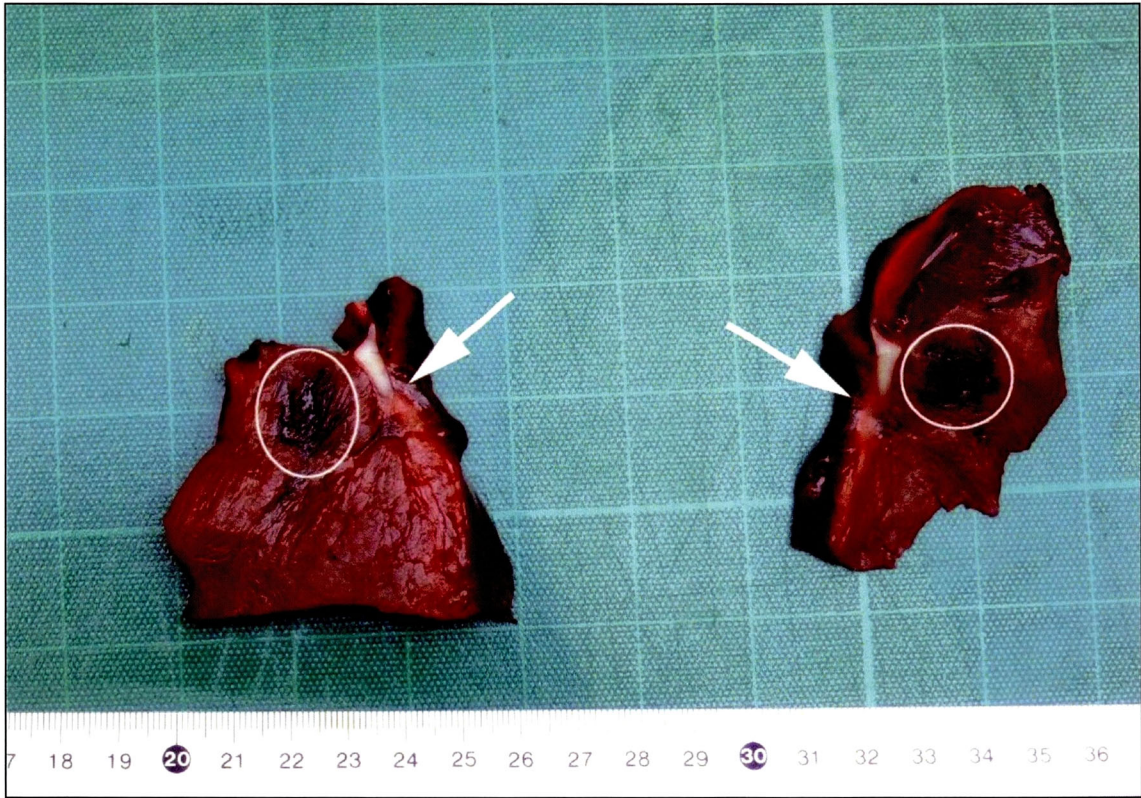


図 1-1. 突然死した馬の心臓病変。房室結節(矢印)近傍の心室中隔に認められた母指頭大の新鮮出血(白い円の内側)。

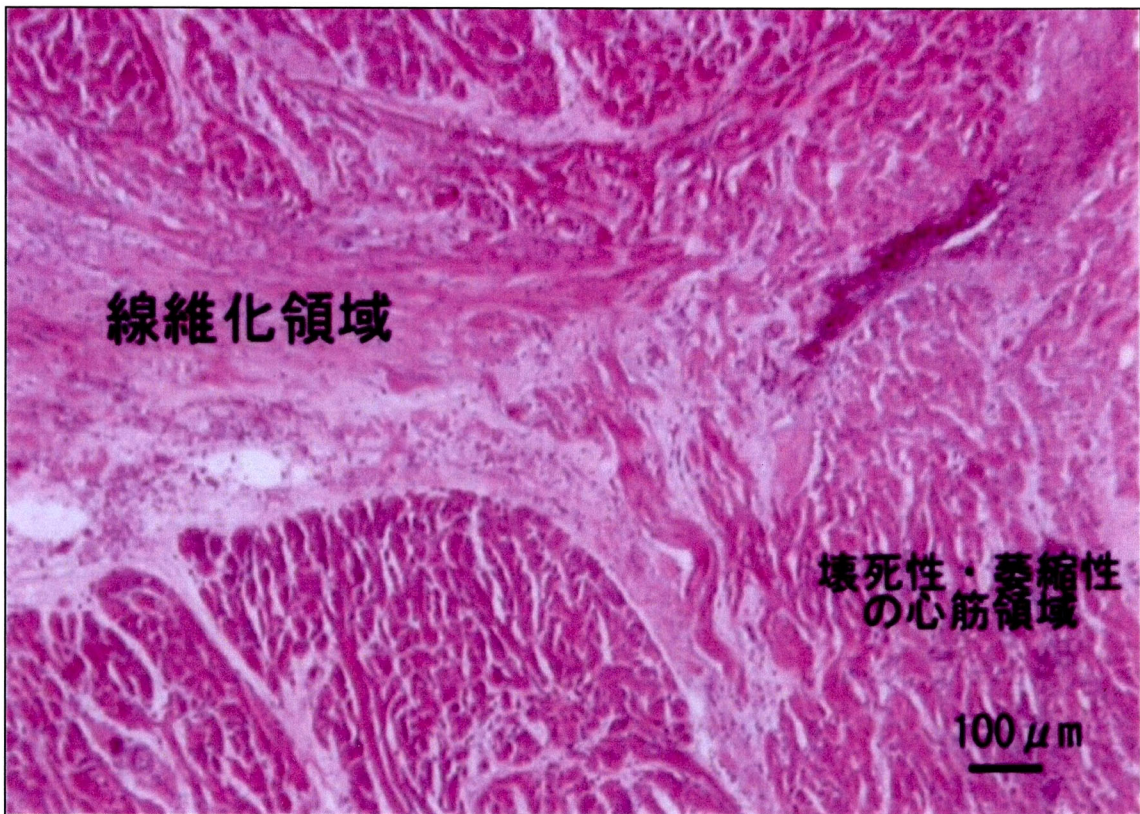


図 1-2. 突然死した馬の房室接合部に観察された心筋線維化病変。

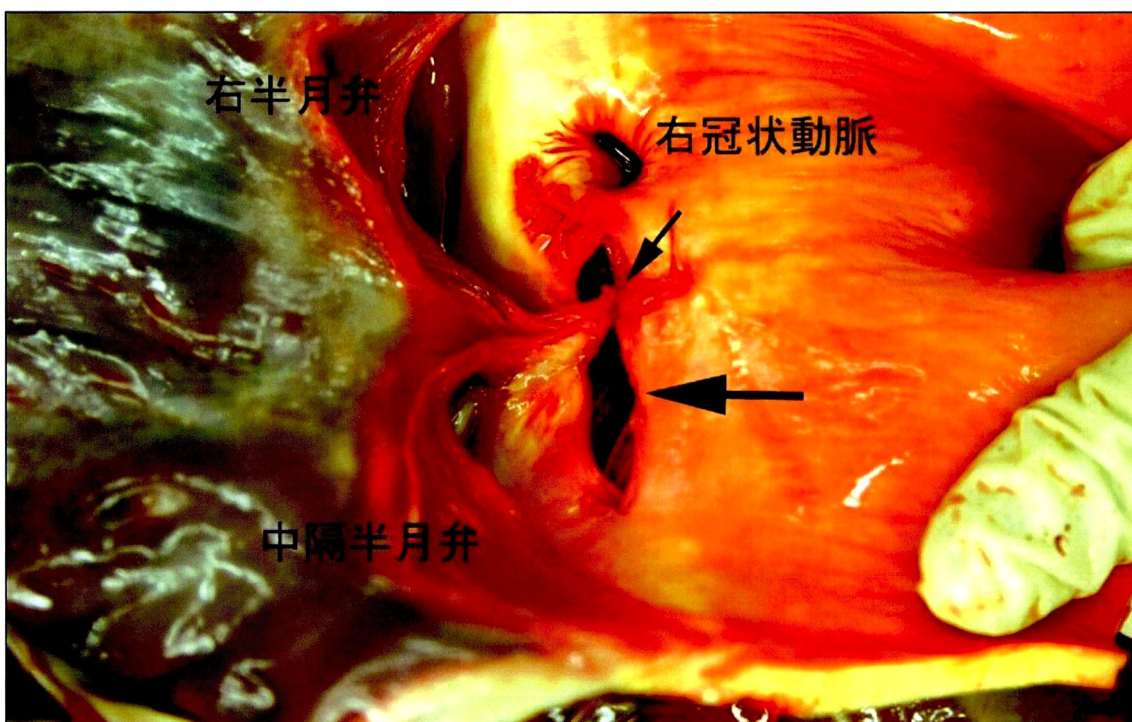


図 1-3. 突然死した馬の大動脈起始部の病変。大動脈弁の上方, 右冠状動脈の隣接部に横方向に約 5cmの裂孔形成(大矢印)。右半月弁と中隔半月弁付着部の断裂(小矢印)。

破裂部低倍像

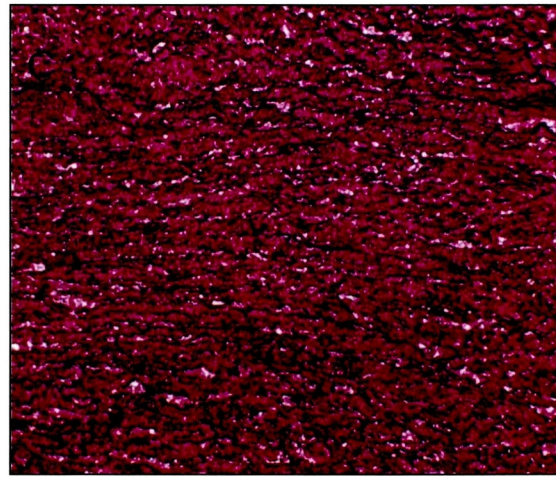
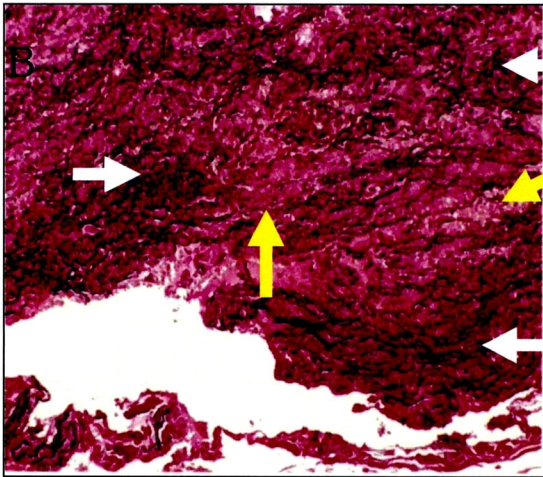
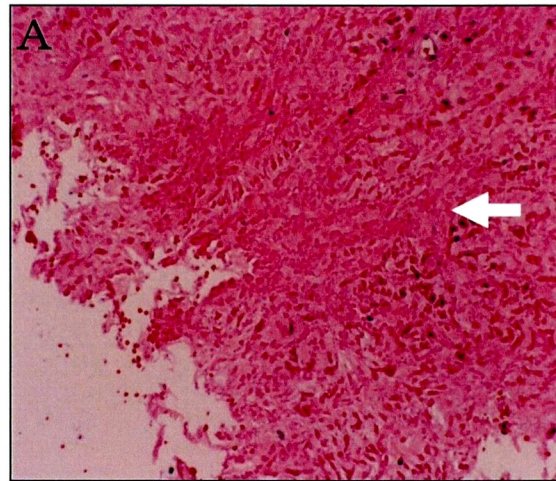
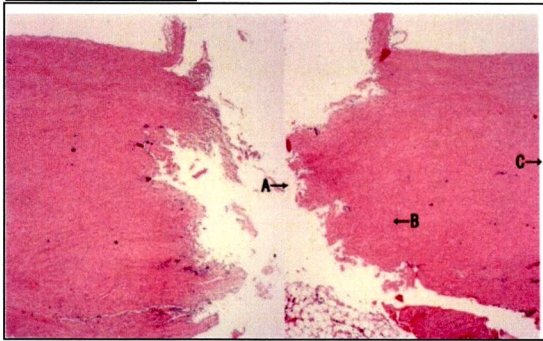


図 1-4. 左上:大動脈破裂部の組織低倍像(HE染色)。

右上:低倍像Aの部位(断端部)の拡大像(HE染色)。

平滑筋細胞の消失(白矢印)。

左下:低倍像Bの部位(断端隣接部)の拡大像(エラスチカ・ワングィン染色)。

弾性線維の増生(白矢印), 弾性線維の減少(黄矢印)。

右下:低倍像Cの部位(断端非隣接部)の拡大像(エラスチカ・ワングィン染色)。

弾性線維が均等に分布。

第2章

サラブレッド種牡馬における 交配時の心仕事量の評価

緒言

馬の心血管系の疾患は、競走馬では筋骨格疾患や呼吸器疾患に次ぐプアーパフォーマンスの原因とされている[10]。種牡馬においても、心血管系の疾患が交配中の死亡事故の原因となることは広く知られているものの、交配活動に及ぼす影響についてはあまり研究されていない。第一章の結果に示したように、JBBAにおいて繋養されていた種牡馬で、近年においても(1991年から2008年の間)、7頭(サラブレッド種6頭、アングロアラブ種1頭)が心不全により突然死している。そのうち4頭は交配直後に死亡している。これらの馬は前兆となる臨床症状を認めないまま交配に供用されており、生前の定期的な安静時心電図検査においても死亡原因と結びつく不整脈等は一度も観察されていない。一

方競走馬では、臨床的に健康な馬の24時間連続心電図測定を行った研究[20]において、安静時に全ての馬で洞性不整脈が観察されたことが報告されている。負荷心電図検査や負荷心エコー検査は、馬の運動時に発生する心血管系の疾病を診断するためにますます重要になっている[10, 12]。競走馬における調教中の心電図測定では、運動強度による心拍数の増加だけではなく、運動前後の運動誘発性不整脈も検出される[10, 12]。このような不整脈はサラブレッド競走馬の調教中やレース中に生じる心臓突然死との関連性が示唆されている[7]。

我々は、交配活動が種牡馬における運動誘発性不整脈の誘因の一つであり、心臓への負担増加から心疾患の病態を一時的に悪化させるという仮説を立てている。しかしながら、種牡馬は経済価値が高く、さらに希少であるため、交配時の種牡馬の心機能の変化を記録した調査はない。交配中の心拍数をはじめとする血行動態の変化のみならず、運動中に血中濃度が増加する心房性ナトリウムペプチド(ANP)のような心機能の生化学マーカーの変化[17-19]についても興味深い、これまでに報告されていない。

このように、種牡馬の心機能に対する交配活動の影響は、ほとんど知られていない。そこで第2章の目的は、交配時における種牡馬の心拍数変化と血液学的及び生化学的検査項目の変化を評価・解析することとした。

材料と方法

供試動物

第 2 章では、7～16 歳（平均 ± 標準偏差：12.7 ± 3.2 歳）のサラブレッド種牡馬 10 頭を調査対象とした。これらの種牡馬は心臓弁膜疾患や心筋症の兆候がなく、2009 年には 3～98 頭、2010 年には 0～87 頭の繁殖牝馬との交配を行った。調査は 2009 年と 2010 年にそれぞれ実施した精液検査のための精液採取時の疑似交配（1 頭種牡馬につき 1 回）に合わせて実施した。疑似交配には、発情兆候を示している繁殖牝馬を使用し、精液採取のためにコンドームまたは人工膈を用いた以外は、通常の交配活動と全く同じであった。

検査手技

まず、ヘマトクリットと血清 ANP の安静時基準値を測定するため、交配前の安静時に厩舎で頸静脈より採血を行った。採取した血液は、ヘパリン採血管及び血清分離管に分注した。交配前中後における心電図記録には、ホルター心電計（QR2500、フクダエム・イー工業株式会社、東京、日本）を用いた。心電図測定の前極は A-B 誘導に従い、正極を左心尖部上、負極を肩甲骨上に接着した。心電図記録機は左胸部上に粘着性バンテージにて固定した。ホルター心電計に内蔵された時計と時間記録者の時計を同調させ

た後，記録を開始した。時間記録者は心電図を記録している間の以下の項目について，その時間を記録した（厩舎を出た時間，種付場に入場した時間，乗駕した時間，射精した時間，種付場を退場した時間）。交配時間（Mating time, MT:種付場に入場してから射精に要した時間）と乗駕回数（Mounting repeats, MR:射精までに乗駕した回数）についても記録した。射精から3分以内に頸静脈より採血（ヘパリン採血管，血清分離管）し，ホルター心電計と電極を取り外した。ヘパリン採血管に分注した血液ではヘマトクリット値を測定し，血清分離管の血液は遠沈し血清分離後，生化学検査のために -30°C で冷凍保存した。

心電図記録からの計測項目

ホルター心電計のメモリーカードに記録された心電図記録データは，専用解析プログラム（HS1000vet system, フクダエム・イー工業株式会社，東京，日本）を用いて，不整脈の発現，心電図波形の間隔および振幅，及び心拍数（HR）を解析した。まず，10秒間に記録されたR波に基づきHRを算出し10秒毎のHRの変化を折線グラフで表した。心電図検査中の行動の時間記録に従って，検査中の最小心拍数（HRmin），最大心拍数（HRmax），入場時心拍数（HRe_{nt}），射精時心拍数（HRe_{jc}）を決定した。種付場への入場から最大心拍数に至るまでの時間（dtHRmax）も計測した。

Alpha-心 房 由 来 ナトリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic peptide, ANP)

Alpha-ANP の血清濃度は、蛍光免疫測定キット(EK-005-06, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., Burlingame, CA, U.S.A.)を用い測定した。このキットは、ヒト、ブタ、イヌの Alpha-ANP における特定のペプチド(1-28 アミノ酸)、及び関連ペプチドを競合的酵素免疫測定法の原理に基づいて関連ペプチドを検出するようにデザインされている。このペプチドは馬を含む他の哺乳類と基本構造がほぼ一致しており、馬の検体におけるそのペプチドの交差反応性は100%であるとされている[21]。このキットのイムノプレートは、二次抗体でプレコートされ、非特異的結合部位はブロックされている。この二次抗体は、付属の一次抗体(ペプチド抗体)のFcフラグメントに結合する。一次抗体のFabフラグメントはビオチン化ペプチドと標準ペプチド(範囲:0.04~25ng/ml)、またはサンプル中の標準ペプチドと競合的に結合する。ビオチン化ペプチドは streptavidin-horseradish peroxidase(SA-HRP)と反応し、基質(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine;TMB)を触媒する。波長450nmのときの吸光度を測定するが、黄色強度はビオチン化ペプチド-SA-HRP複合体の量に直接比例する一方、標準溶液または試料中のペプチド量に反比例することになる。この測定系は、ペプチド抗体(一次抗体)に対して、標準液のペプチ

ドまたは試料中のペプチドが、ビオチン化ペプチドと競合結合することによるものである。検量線に基づき、サンプル中のAlpha-ANP濃度(ng/ml)を求めた。

統計

すべてのHRの測定項目、Hct、Alpha-ANPは、平均±標準偏差で示し、それぞれの項目の測定値の差は、paired t-testにて解析した。 $P < 0.05$ の差を統計学的に有意とした。すべてのHRの測定項目、時間項目の関係を解析するため、回帰分析を用い、相関係数についても調査した。

結果

交配の前後において観察された不整脈(図2-1)として、まず洞房ブロック(sino-atrial block:S-A block)が1頭の種牡馬(No.7)に2年連続で射精から40秒後に1回観察された。第2度房室ブロック(atrio-ventricular block:A-V block)も1頭の種牡馬(No.3)に2年連続で交配前に多数回、観察された。また心室性期外脱分極(ventricular premature depolarization:VPD)が、3頭の種牡馬(No.4, No.8, No.10)に観察された。No.4の馬では、2009年の調査で射精から30秒後及び35秒後に2回のVPDが、No.8では2009年の調査で交配前の安静時に1回、そしてNo.10では2009年の調査で射精から192秒後と207秒後の2回及び2010年での調査で厩舎を出る時、種付場に入場する

40秒前，1回目と2回目の乗駕時のそれぞれ10秒前，計4回記録された。

HRの全項目計測値，時間計算値，交配前後におけるHctとAlpha-ANP濃度を表2-1に示した。項目ごとに，2009年と2010年の調査で得られた値との間で行った回帰分析では，HRmin ($r=0.67$)，HREnt ($r=0.77$)，dtHRmax ($r=0.90$)，MT ($r=0.96$)，交配後 Hct ($r=0.72$)，交配前 Alpha-ANP ($r=0.85$)，及び交配後 Alpha-ANP ($r=0.88$)において有意な高い相関係数を認めた(表2-1，図2-2)。一方，HRmax，HRejc，交配前 Hctにおける相関係数に有意性はなかった。HRmin，HRmax，HREnt 及び HRejc はそれぞれ 34.2 ± 3.7 ， 168.9 ± 14.2 ， 141.8 ± 35.3 及び 142.6 ± 27.3 beats/min であり，HRは種付場に入場する際に，有意に安静時より上昇した。また HREnt は HRejc に近似しており，ほとんど差はなかった(図2-3)。HRmax は，種付場に入場前または入場後1分以内に(2009年には10頭中8頭，2010年では10頭中4頭)に観察された。HctとAlpha-ANPについても，交配前(各々 $46.9 \pm 4.4\%$ ， 1.40 ± 0.60 ng/ml)と比較して交配後(各々 $60.0 \pm 3.2\%$ ， 1.54 ± 0.61 ng/ml)に有意な上昇を示した(図2-3)。HRmax は，交配前後のAlpha-ANPの濃度差に対して有意な正の相関($r=0.48$)を示したが(図2-4)，交配前後におけるHctの変動値に対して有意な相関はなかった。MTはdtHRmaxと正の有意な相関($r=0.87$)を，一方HREntとは負の有意

な相関 ($r=-0.82$) があった (図 2-5)。また、交配前の HRent と Hct は、MT が 5 分以内の馬 ($158.4 \pm 25.6 \text{ beats/min}$, $49.3 \pm 3.8\%$, $n=5$) が、MT が 5 分以上の馬 ($125.2 \pm 36.8 \text{ beats/min}$, $44.4 \pm 3.6\%$, $n=5$) に比べて有意に高かった (図 2-6)。

考 察

第 2 章は、ホルター心電計と血液解析を用いることにより、現役の種牡馬の交配行為時の心機能に関する新しい知見を示している。この結果は、精液採取のための疑似交配前後にかけて得られたものであるが、種牡馬は実際に発情がみられる牝馬に乗駕し、通常交配と同等の性的興奮を伴い人工膾またはコンドーム内に十分量射精した。このことより、我々は疑似交配にて得られた今回の結果は、通常交配に相当するものであると考えている。実際、生産地でのサラブレッド種牡馬の通常交配時の心電図測定は、交配活動に何らかの影響を及ぼす可能性があるため、繁殖牝馬の畜主には承認されない。つまり、疑似交配で得られた本研究中のデータは、交配時の心機能を知るうえで、非常に価値あるものといえる。しかしながら、本実験デザインは、通常交配を優先させるため、少し制限もあった。つまり、年 1 回の精液検査のための精液採取時にしかデータを得る機会がなかった。したがって、調査結果の再現性を確認するためには、それぞれの種牡馬は、2009 年と 2010 年にそれぞれ 1 回実験に供

さなくてはならなかった。結果の再現性は2009年と2010年の値に有意な相関があることを基に評価した。HRの測定項目において、2回の調査で得られたHRmin, HRent および dtHRmax の値はいずれも有意な高い相関を示し、交配時心電図測定の際に再現性を有する規定HR測定項目になると考えられた。またMT(交配時間)は最も高い相関を示した。このことは2回にわたる測定が、測定手技および心電計、その電極、粘着性テープ、コンドーム、人工膺等の関連用具により馬が不快と感じたことから生じる何らかのトラブルを併発せずに、適切に実行されたことを示唆している。よって、本研究での疑似交配は、種牡馬に通常の交配と同等の反応や行動を引き起こしたと考えている。

本研究では、臨床症状を伴う深刻な不整脈は記録されなかったが、洞房ブロック(S-A block:No.7)、第2度房室ブロック(2nd degree A-V block:No.3)、心室性期外脱分極(ventricular premature depolarization:No.4, 8 and 10)が交配の前後に観察された。不整脈が観察された5頭のうち3頭(No.3, 7 and 10)では、2年連続で同じ不整脈が観察された。この結果から、不整脈の発生についても再現性があるように考えられた。Jose-Cunillerasらは、安静時では重大な心疾患あるいは不整脈がないと判定された88頭の成績不振のサラブレッド競走馬において、55頭の馬において少なくとも1回の心室性早期脱分極:VPDあるいは上室性早期脱分極:SVPDが規定化したトレッドミル運動増加負

荷試験からの回復期1分間に観察されたと報告している[14]。また、身体的に健康とみなされた105頭の馬を用いた他の研究によると、運動中というよりむしろウォームアップ期、回復期、運動後に、68頭に洞性不整脈、17頭に第2度A-Vブロック、30頭にVPD、24頭にSVPDが観察されたと報告している[22]。これら過去の競走馬における研究結果を参考にして、我々は、心不全を引き起こす不整脈の危険性は交配中や射精中というよりも種付場に入場する前や交配後に増加する可能性があると考えた。ただし運動中はもちろん交配中においても、激しい動きから生じるノイズがあり、ホルター心電計での不整脈の診断が難しい場合もある。不整脈が観察された5頭の種牡馬と不整脈が観察されなかった5頭の種牡馬との間に、HRの測定項目、時間項目、交配前後のHct及びAlpha-ANP濃度に有意な差はなかった。交配に何らかの問題を抱えている種牡馬のホルター心電計で観察される不整脈の解釈や臨床症状との関連性については、さらに評価する価値があると考えられる。

図2-3に示してあるように、HRは種付場に入った時には有意に上昇しており、HR_{ent}とHR_{ejc}はほぼ同じレベルであった。HR_{max}は乗駕や射精時に達するであろうという我々の想定に反して、20回の交配のうち12回で種付場に入場する前あるいは入場後1分以内に観察された。交配におけるHR_{max}(135-194 beats/min)は、調教運動していないサラブレッド去勢馬の6度傾斜のトレッドミルを6~8 m/secの速

歩～駆歩時の HR に相当していた[16]。本研究で交配中に増加した HR は約 6 m/s のトレッドミル上での走行時と同等であり、30～2,103 継続した。興味深いことに、本研究で測定した Alpha-ANP の血清レベルもまた、安静時の基準値と比較すると交配後に増加していた。血清 Alpha-ANP 濃度は運動に反応して増加することが報告されている[17-19]。また、Alpha-ANP の安静時基準値と交配後測定値の差は、HRmax とは有意な相関を認めしたが、ヘマトクリットの交配前後の増加量とは相関がなかった。つまり、血液濃縮が影響している可能性は完全には否定できないが、血清 Alpha-ANP 濃度の増加は、Alpha-ANP の産生と放出の主因である右心房圧と右心房の伸展が交配活動に関連して上昇したことを示唆していた。Hct は交配後有意に上昇していた。運動による Hct の上昇は、脾臓血管の収縮により脾臓血が全身循環内に入ったことによる赤血球の増加を表している[23]。我々は交配で増加した酸素運搬能は走行中に生じている現象と似ていると考えている。しかし今回観察された Hct の上昇は交配に伴う身体運動というより、主に性的・精神的興奮によるものと考えられる。この点は走行中に生じている状況と異なるように思われた。

HRent と dtHRmax は有意に MT と相関していた。これは以下の仮説を示唆しているように考えている。交配をより適切に行う種牡馬の HR は、種付場に入場する直前または入場時にすでに最高値とほぼ同じレベルに上昇している。この交配

前の HR の敏感な増加は、種牡馬の性的興奮を表しており、これは原則的に交配時間の短縮という結果につながっている。興味深いことに、交配前の Hct は MT が 5 分以上であった種牡馬に比べて、MT が 5 分以下であった種牡馬で有意に高かった。人における研究では過度の赤血球増加に関連して血清テストステロンレベルが高値となることが報告されている。我々は種牡馬においてもより高い Hct 値をもつ種牡馬は男性ホルモンがより優位であると推測した。しかしながら、Hct とテストステロンレベルの間の関係を示す研究は馬では報告がなく、本研究においても Hct と血清テストステロンの間に有意な相関は認められなかった。

本研究の結論として、交配に伴う心拍数上昇は駈歩の時の心拍数上昇と同程度であり、その状態が数分継続する。不整脈は走行運動の開始前後でよく観察されることと同じように、交配の前後に出現した。交配に関連して増加した心拍数と血清 Alpha-ANP 濃度は、交配中の心臓への負荷の増大を示唆している。過去に我々が遭遇した交配直後の突然死の原因として、このことは関連していると考えられた。

小 活

心機能への交配行為の影響を評価するため、心拍数 (HR)、心電図 (ECG)、ヘマトクリット (Hct)、 α -心房性ナ

トリウム利尿ペプチド(alpha-ANP)の血清濃度の交配前後における変化を10頭の臨床的に健康な種牡馬で評価した。これらの種牡馬に対し2009年と2010年の同じ月にそれぞれ1回実験的偽交配を行った。測定と血液サンプルは交配前の厩舎, 交配前後の種付場にて収集した。ECGはホルター心電計を用い記録した。5頭の種牡馬で交配の前または後に不整脈が検出された。最小心拍数(HRmin), 最大心拍数(HRmax), 種付場へ入場した時の心拍数(HRent), 射精時心拍数(HRejc)はそれぞれ, 34.2 ± 3.7 , 168.9 ± 14.2 , 141.8 ± 35.3 , 142.6 ± 27.3 beats/minであった。種付場に入場してから射精に至るまでの時間(mating time; MT)は, 30~2,103秒であり, HRent($r=-0.82$)および入場からHRmaxまでに要した時間(dTHRmax)($r=0.87$)に対して高い相関を示した。Hctと血清alpha-ANP濃度は, 交配前の基準値($46.9 \pm 4.4\%$, 1.40 ± 0.60 ng/ml)に比べて, 射精後($60.0 \pm 3.2\%$, $P<0.0001$, and 1.54 ± 0.61 ng/ml, $P=0.0353$)に有意に上昇した。HRentとHctはMTが5分以上の種牡馬($n=5$)に比べてMTが5分以下の種牡馬($n=5$)は有意に高かった($P=0.0324$ and $P=0.0082$)。以上より, 交配行為はサラブレッド種牡馬の心臓への負荷を増大させることが分かった。

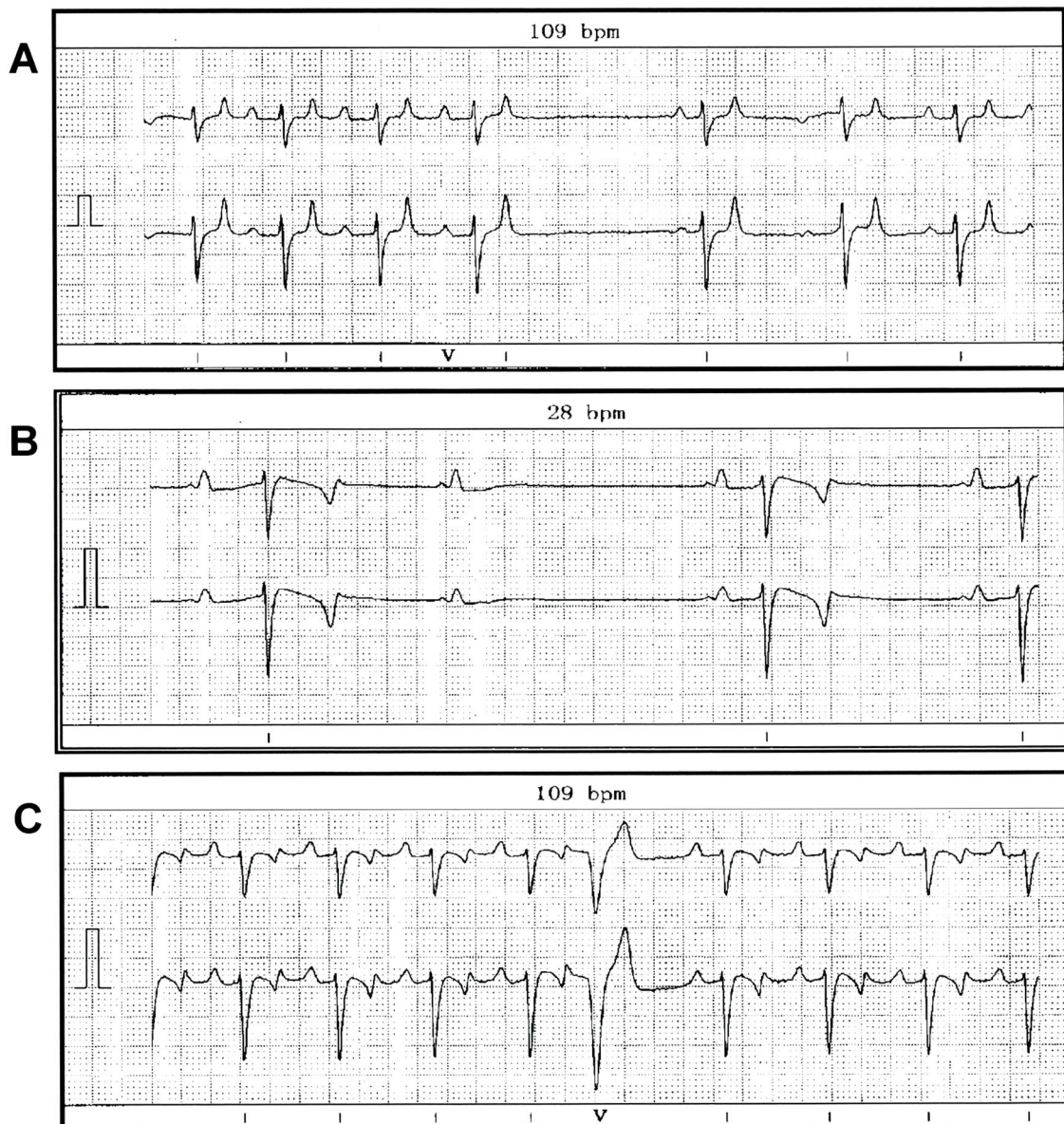


図 2-1. 交配活動前後に出現した不整脈。洞房ブロック (A): No.7 の 1 回目の調査にて射精後 40 秒に記録された波形。房室ブロック (B): No.3 の 1 回目の調査にて交配前の安静時に記録された波形。心室性早期脱分極 (C): No.10 の 1 回目の調査で射精後 192 秒に記録された波形。

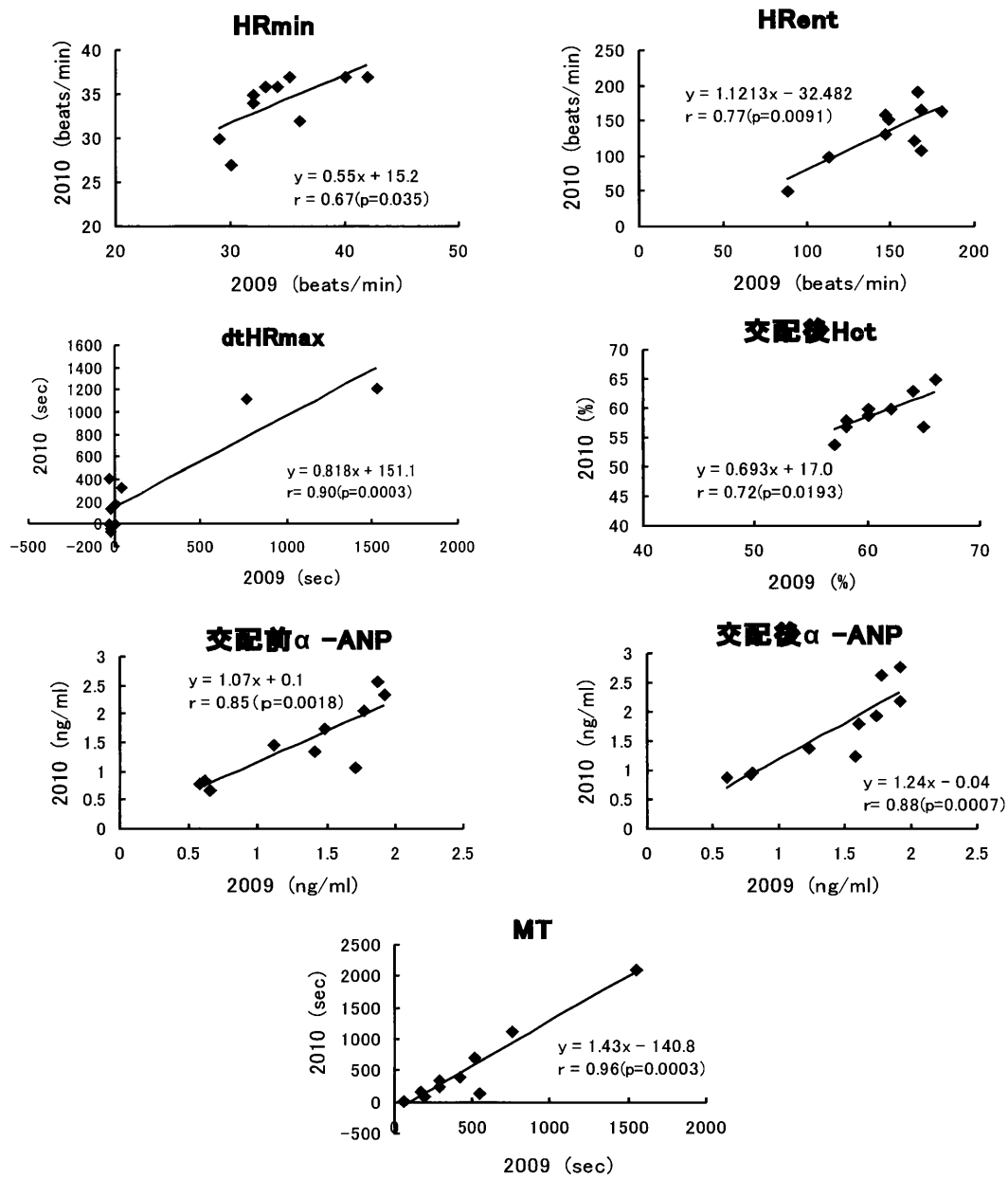


図 2-2. 2009 年と 2010 年の測定値間の回帰分析。全 10 項目中 7 項目 (HRmin, HRent, dtHRmax, 交配後 Hct, 交配前 α-ANP, 交配後 α-ANP, MT) で有意な相関があった。

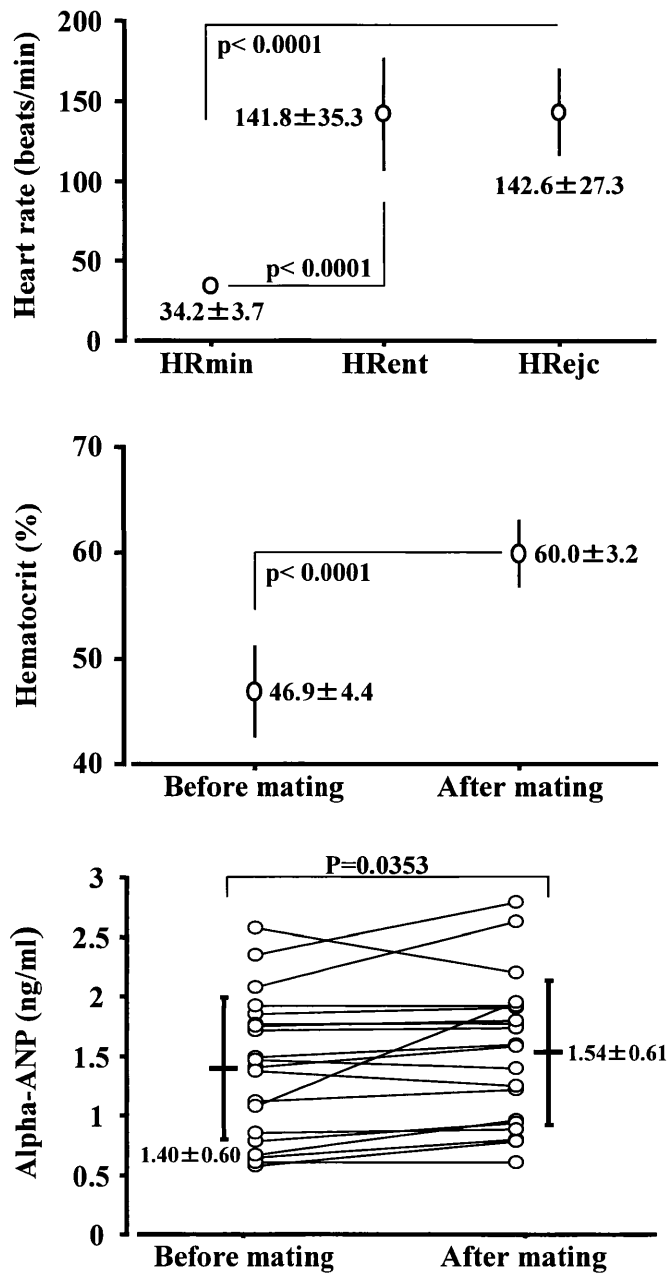


図 2-3. 種牡馬における交配活動中の心拍数 (HR), ヘマトクリット (Hct) 及び alpha-ANP 濃度の変化。HR は種付場に入場する時点で有意に上昇しており, HRejc は HRejc と同等であった。Hct と alpha-ANP は交配活動前の値に比べて射精後は有意に高かった。

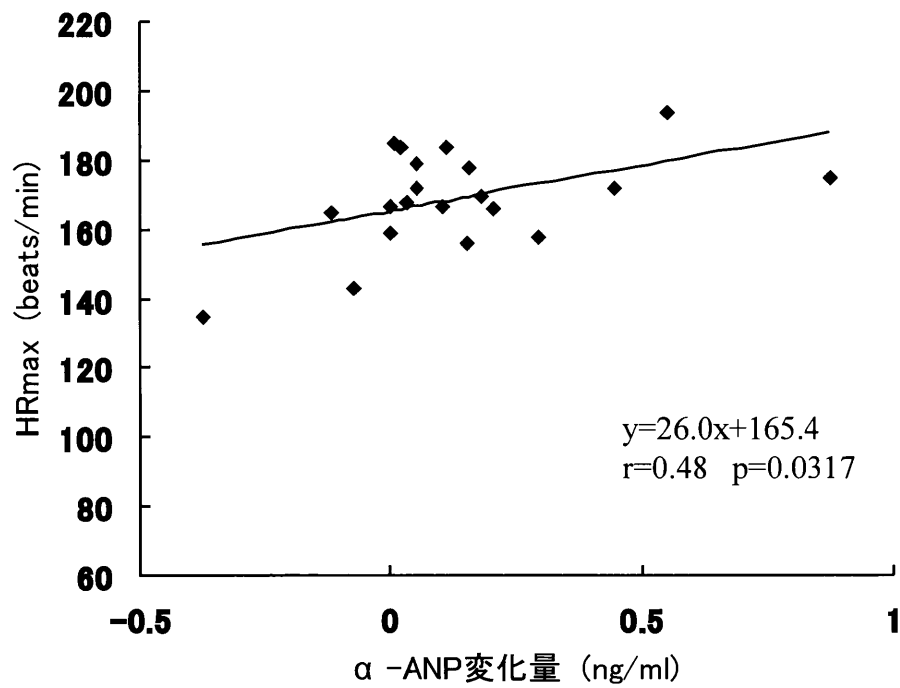


図 2-4. HRmax に対する交配活動前後の α-ANP 変化量データの散布図。有意な正の相関を示した。

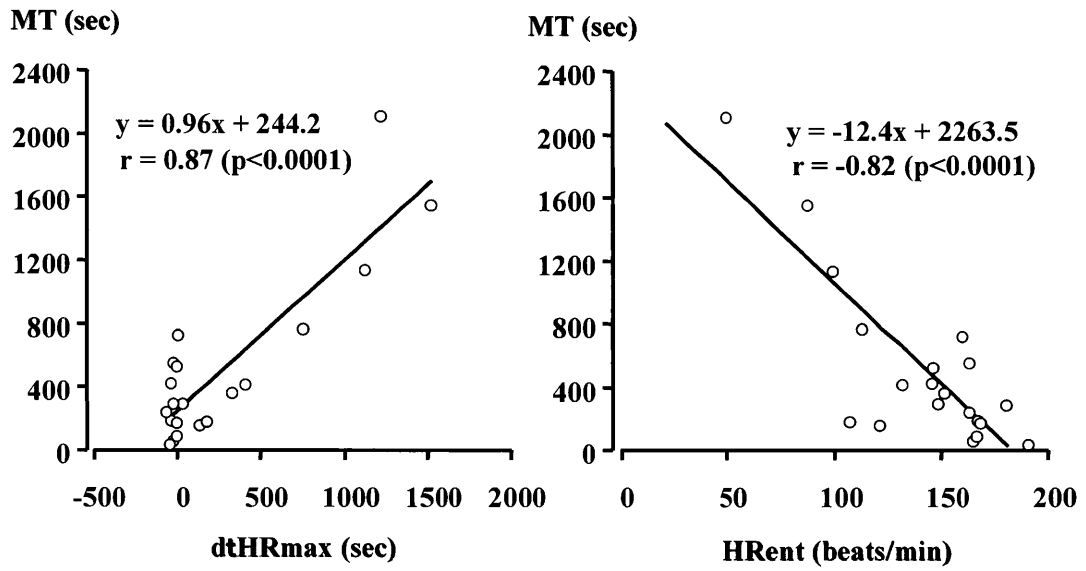


図 2-5. 交配時間に対する dtHRmax および HRent のデータの散布図。交配時間 (MT) に対して、いずれも有意な相関を示した。

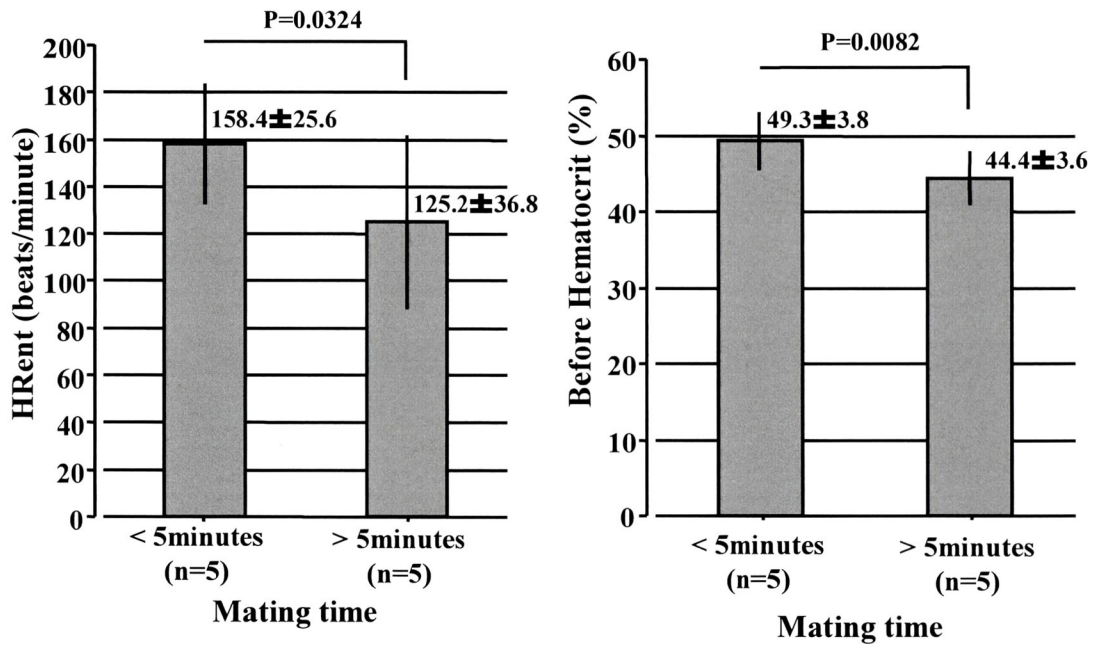


図 2-6. MT が 5 分以下群と 5 分以上群間の HRent と Hct の相違。HRent と交配前 Hct は、交配時間 (MT) が 5 分以下であった種牡馬は、MT が 5 分以上であった種牡馬に比べて有意に高かった。

表2-1. 交配活動に関連した心拍数、時間および血液学的、生化学的測定項目一覧表

Year	Stallion No.	Heart rate (beats/min)				Time (sec)			Hematocrit (%)		ANP (ng/ml)	
		HRmin	HRmax	HRent	HRrej	dtHRmax	MT	Before	After	Before	After	
2009	1	32	179	163.7	152.7	-20	546	48	60	1.86	1.91	
	2	34	185	165.7	155.3	-20	50	46	58	1.77	1.77	
	3	30	156	149.0	65.7	40	290	52	64	0.65	0.80	
	4	42	167	113.3	153.3	760	763	47	62	1.92	1.92	
	5	36	167	88.0	147.0	1520	1545	44	58	1.11	1.22	
	6	35	184	167.7	124.7	-30	185	52	60	1.71	1.73	
	7	32	184	180.7	159.7	-20	285	46	58	1.48	1.60	
	8	33	170	168.7	155.7	0	164	52	66	1.40	1.58	
	9	40	166	146.7	93.3	0	521	36	65	0.57	0.78	
	10	29	159	146.3	146.7	-30	418	46	57	0.61	0.60	
2010	1	34	135	122.0	127.3	140	150	46	59	2.57	2.20	
	2	36	194	191.0	178.3	-40	30	43	57	2.08	2.63	
	3	27	158	151.7	133.7	330	356	47	63	0.67	0.96	
	4	37	172	99.7	164.7	1120	1130	46	60	2.35	2.79	
	5	32	143	50.0	105.7	1215	2103	45	58	1.47	1.39	
	6	37	175	167.3	151.3	0	85	49	60	1.08	1.95	
	7	35	172	164.0	162.7	-60	238	53	58	1.75	1.80	
	8	36	165	107.7	160.3	185	175	54	65	1.37	1.25	
	9	37	178	160.3	156.7	10	720	44	57	0.78	0.94	
	10	30	168	132.0	158.0	410	410	41	54	0.86	0.89	
Mean	34.2	168.9	141.8	142.6	275.5	508.2	46.9	60.0	1.40	1.54		
S D	3.7	14.2	35.3	27.3	483.5	533.5	4.4	3.2	0.60	0.61		
r	0.67*	0.27	0.77*	0.22	0.90*	0.96*	0.48	0.72*	0.85*	0.88*		

r: 2009年と2010年の測定項目間の相関係数

総合考察

サラブレッド競馬の世界では、繁殖牝馬，子馬，1歳馬，2歳馬，現役競走馬の死亡につながる疾病に関する調査・研究は，様々な観点からなされており，競走馬では運動器疾患による死亡が圧倒的に，子馬では虚弱，感染症，運動器損傷による死亡が，繁殖牝馬では受胎から分娩までの期間に発生する難産，子宮動脈破裂，子宮捻転，子宮破裂による死亡が多いことが示されている[1, 2, 3, 4]。しかしながら，種牡馬における死亡原因の実態調査はなされていない。

第一章では，サラブレッド種牡馬における死亡の原因および発生状況を明らかにする目的で，公益社団法人日本軽種馬協会において過去45年間に繋養された種牡馬の管理データを基に，死亡時の状況や病理学的検査の記録を回顧的に解析した。45年間を15年ずつ3期に分けて検討したところ，最初の15年間で多かった運動器疾患をはじめとする疾病や事故死は次第に少なくなった一方で，消化器疾患と循環器疾患による死亡は次第に増え，ここ最近の15年間では循環器疾患による死亡事故が多く認められた。近年における種牡馬の飼養管理や施設環境が改善されていることが良くわかった。全死亡数53例のうち，循環器疾患による死亡が18例と全体の3分の1を占め，1966年からの15年間（4例）から1,996年からの15年間（8例）では増加し

ている。種牡馬の管理状況が良くなったにもかかわらず、このような傾向であれば、種牡馬の平均寿命が伸びたことによるとも想定されるが、未だ改善すべき点が飼養管理にあると考えられる。消化器疾患（13例）や運動器疾患（11例）よりも循環器疾患が主因であることが多くの例で確認されたが、その傾向は、競走馬（運動器疾患による死亡例が圧倒的に多い）や、繁殖牝馬（外傷等による死亡に加えて、難産等の繁殖に関連する死亡が多い）、さらには子馬（虚弱や感染症による死亡が多い）に認められる結果と、傾向が大きく異なるものであった。この種牡馬の死亡原因で最も多かった循環器疾患に区分された18例のうち、16例（全体比30.2%）が突然死であった。突然死例のうち、7例に心筋病変、4例に大動脈起始部の破裂、2例に大動脈以外の血管破綻が確認され、いずれも死亡原因と推察された。Platt [5]は、1966～1981年に剖検した10日齢以上の様々な馬において、突然死または予期されなかった死は69例（繁殖牝馬27例、種牡馬1例、競走馬21例、1歳馬3例、子馬14例、その他3例）で、全体比7.6%であり、その原因内訳は循環器疾患が22例（31.9%）、消化器疾患が20例（29.0%）、外傷が15例（21.7%）、感染症が3例（4.3%）、原因不明が9例（13.0%）であったと報告している。様々な馬における死因を調査した報告と比較すると、日本の種牡馬における突然死の発生率は、約4倍高く、その原因としての循環器疾患の割合も約2.5倍高いことが示された。その

背景として、心血管系の加齢性変化や第二章で示した種牡馬特有の交配活動による心仕事量の増大が関係していることが考えられた。

心筋病変が観察された7例のうち、3例では心筋出血が房室接合部領域に観察され、心筋の線維化も3例に確認された。Kiryuら[7, 15]は心臓突然死した競走馬の病理所見と心電図所見とを検討し、全例に心筋や刺激伝導系の線維化等の病変を認めた。また、その病変は心房細動や運動誘発性心室性期外収縮や心臓突然死の病理所見と一致しており、いずれの症例も不整脈に起因する心臓突然死として位置付けている。今回解析した種牡馬の心臓においても同様の所見が観察され、不整脈が突然死の引き金になっていた可能性があるものと考えられた。

大動脈起始部の破裂により突然死した種牡馬4例の血管破綻部位に観察された平滑筋細胞の変性・壊死や消失ならびに弾性線維の断裂・細片化は、Imaizumiら[8]のサラブレッド競走馬における大動脈と肺動脈の形態学的検索結果と類似していた。当該報告では、すでに存在している大動脈中膜の退行性あるいは硬化性変化が、大動脈破裂と密接に関連しており、さらに病変の激しさは年齢というより、競走の出走回数に関連しているように考えられるとしている。第一章においても、種牡馬の日常の運動や交配時の性的興奮による心臓への負荷の増大が、血管破裂の誘引となった可能性が示唆された。

種牡馬の突然死は、12月と1月に合わせて7例（全体比43.8%）、さらに交配に供用される3～6月の間には各月2例発生していた。また突然死の発生場所については、日常的に運動を行う施設や種付場での死亡例を合わせると9例であった。これらのうちパドックや走路等の運動場での死亡例が5例、種付場で交配終了直後に後肢から崩れるように倒れこみ死亡した例が4例であった。サラブレッド種牡馬の死亡原因は循環器疾患（主に突然死）が多く3分の1を占めており、突然死は心臓・血管系の異常を主因とし、特に冬期から繁殖供用期間中に、日常の運動や交配活動と関連して多く発生することが明らかになった。

このような発生状況を鑑みると、種牡馬における心血管系の異常を主因とする突然死には、交配活動あるいは運動が引き金となっている可能性を考えずにはいられない。繁殖シーズン期間中（2月から6月）、日常繰り返される交配活動による身体的なストレスや疲労が蓄積し、突然死の原因となる心疾患を成立させるという仮説が立つ。しかし、例えば交配回数との間に関係を見出せておらず、精神的及び肉体的なストレスが及ぼす影響については検討しなかった。死に至るまでの生涯における交配回数等との関係についても検討が必要かもしれない。

しかしながら、種牡馬において潜在化している原因疾患、とりわけ循環器疾患を生前診断できていないところが最大の課題と思われる。突然死した種牡馬16頭中、13頭におい

て剖検時に少なくとも死につながる原因が確認されている。これらを生前に診断できるシステムを構築する必要がある。かといって、現在、種牡馬の普段の健康チェックが全くされていない訳ではない。安静時心電図検査、血液検査等が定期的に行われている。しかしながら、それらの検査において検出される異常は極めて少ない。循環器疾患を原因とする種牡馬の突然死の引き金が運動や交配活動であるとなると、安静時よりもむしろ負荷時の心電図検査、より長時間、例えば馬の1日を通じたホルター心電図を用いた検査が適切と考えられる。また大動脈破裂等につながる前駆病変を検出するために、心エコー法による評価は検査性能・技能を向上させ、さらには負荷心エコー法のような技術も開発して解離性動脈瘤等の病変検出を可能とする研究が早急に行われる必要がある。種牡馬の経済的価値が高く、疾病の発見は商品価値を下げることを危惧されるが、種牡馬の疾病診断に遅れを生じないように、潜在する疾病を明らかにし、動物の福祉に資する交配活動の制限や疾病コントロール等、種牡馬に対する適切な生前ケアが必要と考える。

第1章の結果を踏まえ、第2章では交配活動がサラブレッド種牡馬の心仕事量に与える影響を評価するため、公益社団法人日本軽種馬協会が保有するサラブレッド種牡馬10頭を用い、2009～2010年に1回ずつ、交配活動の心電図を測定するとともに、交配前後に採血を行いヘマトクリット値とAlpha-ANPの血清濃度を測定した。

その結果，臨床症状を伴う深刻な不整脈は記録されなかったが，洞房ブロック(S-A block:No.7)，第2度房室ブロック(2nd degree A-V block:No.3)，心室性期外脱分極(ventricular premature depolarization:No.4, 8 and 10)が交配の前後に観察された。調教後に心臓突然死をきたした競走馬の心電図を記録した報告[7]によれば，運動終了直後に心室性期外収縮が確認され，房室ブロックや心房性頻拍を伴いながら，やがて心室細動から心停止に至る過程が詳細に記載されている。安静時では重大な心疾患あるいは不整脈がないと判定された88頭の成績不振のサラブレッド競走馬において，55頭の馬において少なくとも1回の心室性早期脱分極:VPDあるいは上室性早期脱分極:SVPDが規定化したトレッドミル運動増加負荷試験からの回復期1分間に観察されたと報告している[14]。身体的に健康とみなされた105頭の馬を用いた他の研究においても，運動中というよりむしろウォームアップ期，回復期，運動後に，68頭に洞性不整脈，17頭に第2度A-Vブロック，30頭にVPD，24頭にSVPDが観察されたと報告している[22]。種牡馬の一部で観察された交配活動後の心室性期外脱分極も，心室頻拍や心室細動へと進展し，突然死に至る可能性があることは否定できない。これらの種牡馬は，交配シーズンにおいても定期的な心電図評価を行っているがこのような不整脈は検出されていない。いずれの不整脈も交配活動や運動といった負荷が心仕事量を増加させたときに誘発さ

れて顕在化したものである。本研究で実施したような交配中の心電図検査は、神経質なサラブレッド種牡馬にとっては、交配活動に支障をきたす要因となる可能性があり、種牡馬管理者も容易には受入れできない検査法かもしれない。しかしながら、死につながる不整脈の検出のためにホルター心電図検査は適当であることが実証されたことから、交配活動以外に、放牧や乗り運動の前中後にあわせた記録を行い、種牡馬の日常活動において心仕事量が増える事項を捉える必要があるかもしれない。また、我々は2012年において交配活動後の危険な不整脈（2症例）に遭遇した。1症例目は、第2章で洞房ブロックが観察された種牡馬で、通常の交配活動直後に突然呼吸速拍となり横臥した。突然死には至らなかったが、心音心電図検査にて頻脈と頻発性心室性早期脱分極さらには拡張期心雑音が確認された。その後、不整脈は改善したものの、頻脈と心雑音は改善しなかったため、交配活動は中止となった。2症例目は、本研究対象馬ではなかったが、2012年の精液検査終了後1時間30分馬房内で休養してから行った定期安静時心電図検査で、連発性心室性早期脱分極が観察された[図 D]。臨床症状は何もなく、30分後には不整脈は消失した。この馬は安静時心電図検査では異常を示したことがない馬であった。このように安静時では把握できなかった不整脈が、交配活動に関連して観察されたことから、負荷心電図の重要性が示唆された。

HR は種付場に入った時には有意に上昇しており、射精時の心拍数とほぼ同じレベルであった。交配活動に伴う心拍数の最高値は、乗駕や射精時に達するであろうという我々の想定に反して、20回の交配のうち12回で種付場に入場する前あるいは入場後1分以内に観察された。この心拍数の最高値は、調教運動がされていないサラブレッド去勢馬の6度傾斜のトレッドミルを6~8 m/secの速歩~駈歩時のHRに相当していた[16]。つまり、本研究において交配中に増加したHRは約6m/secのトレッドミル上での走行時と同等であり、30~2,103秒間持続していた。一方、Hctは交配後、 $60.0 \pm 3.2\%$ まで有意に上昇していた。運動によるHctの上昇は、脾臓血管の収縮により脾臓血が全身循環内に入ったことによる赤血球の増加を反映している[23]。我々は交配で増加した酸素運搬能は走行中に生じている現象と似ていると考えている。しかし今回観察されたHctの上昇は交配に伴う身体運動というより、主に性的・精神的興奮によるものと推察している。

交配と走行を比較すると、身体的な運動量としては明らかに交配活動が少ないと考えられることから、一度の交配活動に伴う心拍数の上昇、すなわち心仕事量の増加にはおそらく性的興奮が主体であると考えられる。運動負荷時には、心拍数の上昇とあわせて、血管収縮による脾臓血の全身への動員等による心臓後負荷の増大を生じる結果、心臓への負担はさらに増大する。本研究では、交配にかかるHctの

上昇は運動時に見られるレベル(運動後 Hct は、60~70%)よりもやや低かった。このことは、運動に見る全身的な心血管系の反応はドラスティックであるが、交配活動ではより低く、コンサーバティブなレベルにとどまっている可能性を示唆している。しかし、交配活動が心仕事を有意に増大させることは明らかであり、負荷によって誘発される心機能異常を潜在的にもつ種牡馬では、最悪の場合死に至るケースを招いても不思議ではない。

本研究で測定した Alpha-ANP の血清レベルもまた、安静時の基準値に比較すると交配後に増加していた。血清 Alpha-ANP 濃度は運動に反応して増加することが報告されている[17-19]。この血清 Alpha-ANP 濃度の増加は、Alpha-ANP の産生と放出の主因である右心房圧と右心房の伸展が交配活動に関連して上昇したことを示唆している。すなわち、alpha-ANP の血中濃度は、身体に関わる運動負荷の多少にかかわらず、心臓に課せられた仕事量の変化を反映していると考えている。すなわち、運動でなくとも性的興奮によって生じる心拍数の上昇、それによる心仕事量の増大を表わす指標と考えている。本研究においても供試馬の多くが交配後に値の上昇を認めており、少なからず交配活動が心臓の仕事量を増大させることが明らかとなった。また Alpha-ANP の安静時基準値と交配後測定値の差は、HRmax とは有意な相関を認めたことから、種牡馬の交配活動に伴う心仕事量の変化の程度を知るための有用なパラ

メータであると考えられた。

第2章の結果から、「①交配に伴う心拍数上昇は駈歩の時の心拍数上昇と同程度であり、その状態が数分継続する。②不整脈は、走行運動の開始前後でよく観察されるのと同様に、交配活動の前後に出現する。③交配に関連して増加した心拍数と血清 Alpha-ANP 濃度は、交配中の心臓への負荷の増大を示唆している。」、ということが明らかとなった。

本研究では、サラブレッド種牡馬の死亡原因を調査するとともに、交配活動時の心仕事量を評価した。その結果、サラブレッド種牡馬の死亡原因は循環器疾患（主に突然死）が多く3分の1を占めており、突然死は心臓・血管系の異常を主因とし、特に冬期から繁殖供用期間中に、日常の運動や交配活動と関連して多く発生することが明らかになった。交配活動時の心拍数は駈歩運動と同程度であり、不整脈は交配活動前後に発生することが確認された。また、交配活動に関連して増加したHRや血清 Alpha-ANP 濃度から、交配活動は心臓負荷を増大させることがわかった。以上より、過去に我々が遭遇した種牡馬の交配直後の突然死は、心臓・血管系の異常により生じ、交配活動により増大した心臓負荷が引金になっている可能性が示唆された。

今後の展望として、循環器疾患の早期診断のため、負荷心電図検査および心エコー検査を種牡馬の定期検査としていきたい。

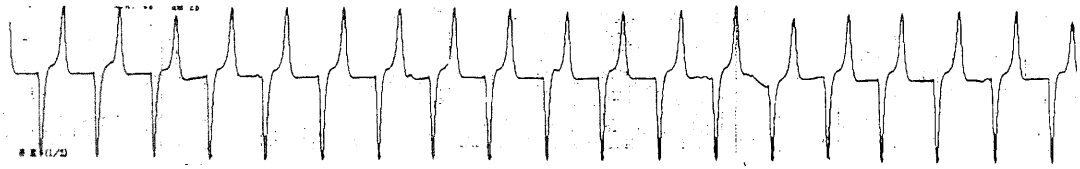


図 D. 2012年の精液検査1時間半後に観察された連発性心室性早期脱分極。

謝辞

本稿を終えるに臨み、終始懇切なるご指導をいただきました鹿児島大学 共同獣医学部 臨床獣医学講座 外科学研究室 三角一浩 教授に心から感謝の意を表します。

また、本研究を遂行するにあたり、御助言、御協力いただきました鹿児島大学 共同獣医学部 臨床獣医学講座 外科学研究室 藤木 誠 准教授、獣医繁殖学研究室 窪田 力教授、公益社団法人日本軽種馬協会 業務部 木村慶純部長、静内種馬場 中西信吾場長、ならびに鹿児島大学 共同獣医学部そして公益社団法人日本軽種馬協会の諸先生方に心から感謝の意を表します。

さらに、本研究に御協力いただきました公益社団法人日本軽種馬協会の皆様、鹿児島大学 共同獣医学部 臨床獣医学講座の皆様、そして家族に謝意を表します。

最後に、今後の日本における競走馬生産界において、種牡馬の循環器の検査の重要性が広く認識され、優秀な種牡馬の心臓突然死が少なくなることを心より念願いたします。

参考文献

- [1] Morley PS, Townsend HGG : A survey of reproductive performance in Thoroughbred mares and morbidity, mortality and Athletic potential of their foals, *Equine vet J*, 29, 290-297 (1997)
- [2] Cohen ND : Causes of and farm management factors associated with disease and death in foals, *J Am Vet Med Assoc*, 204, 1644-1651 (1994).
- [3] Leblond A, Villard I, Leblond L, Sabatier P, Sasco AJ : A retrospective evaluation of the causes of death of 448 insured French horses in 1995, *Vet Res Commun*, 24, 85-102 (2000)
- [4] Story M : Prefoaling and Postfoaling Complications, *Current Therapy in Equine Reproduction*, Samper J.C, Pycocock J.F, McKinnon A.O, eds, 458-464, Saunders, St Louis (2007)
- [5] Platt H : Sudden and unexpected deaths in horses: a review of 69 cases, *Br vet J*, 138, 417-429 (1982)
- [6] Pascoe RR, O'Sullivan BM : Sudden death in a Thoroughbred stallion, *Equine vet J*, 12, 211-212 (1980)
- [7] Kiryu K, Machida N, Kashida Y, Yoshihara T, Amada A, Yamamoto T : Psthologic and electrocardiographic findings in sudden cardiac death in racehorses, *J Vet Med Sci*, 61, 921-928 (1999)
- [8] Imaizumi K, Nakamura T, Kiryu K, Kanemaru T, Kaneko M : Morphological changes of the aorta and pulmonary artery in thoroughbred racehorses, *J. Comp. Pathol*, 101, 1-9 (1989)
- [9] Hatazoe T, Kubota C, Fujiki M, Misumi K : Mating behavior increases in workload

of heart in Thoroughbred stallions, *J Vet Med Sci*, 71, 423-428 (2011)

- [10] Bonagura, J. D. and Reef, V. B. 2004. Disorders of the cardiovascular system. pp. 355-395. *In: Equine Internal Medicine*, 2nd ed. (Reed, S. M., Bayly, W. M. and Sellon, D. C. eds.), Saunders, Philadelphia.
- [11] Darby, E. and Anawalt, B. D. 2005. Male hypogonadism (an update on diagnosis and treatment) *Treat. Endocrinol.* 4: 293-309.
- [12] Durando, M. M. and Young, L. E. 2003. Cardiovascular examination and diagnostic techniques. pp. 572-585. *In: Current Therapy in Equine Medicine 5* (Robinson, N. E. eds.), Saunders, Philadelphia.
- [13] Gonzales, G. F., Gasco, M., Tapia, V. and Gonzales-Castañeda, C. 2009. High serum testosterone levels are associated with excessive erythrocytosis of chronic mountain sickness in men. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 296: E1319-1325.
- [14] Jose-Cunilleras, E., Young, L.E., Newton, J.R. and Marlin, D. J. 2006. Cardiac arrhythmias during and after treadmill exercise in poorly performing thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J. Suppl.* 36: 163-170.
- [15] Kiryu, K., Nakamura, T., Kaneko, M., Oikawa, M., Yoshihara, T. 1987. Cardiopathology of sudden cardiac death in the racehorse. *Heart. Vessels. Suppl.* 2: 40-46.
- [16] Knight, P. K., Ray, S. P. and Rose, R. J. 1999. Effects of phlebotomy and autologous blood transfusion on oxygen transport in the racehorse. *Equine Vet. J. Suppl.* 30: 143-147.
- [17] Kokkonen, U. M., Hyypä, S. and Pösö, A. R. 1999. Plasma atrial natriuretic peptide during and after repeated exercise under heat exposure. *Equine Vet. J. Suppl.* 30: 184-189.

- [18]Kokkonen, U. M., Pösö, A. R., Hyyppä, S., Huttunen, P. and Leppäluoto, J. 2002. Exercise-induced changes in atrial peptides in relation to neuroendocrine responses and fluid balance in the horse. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* **49**: 144-150.
- [19]McKeever, K. H. and Malinowski, K. 1999. Endocrine response to exercise in young and old horses. *Equine Vet. J. Suppl.* **30**: 561-566.
- [20]Raekallio, M. 1992. Long term ECG recording with Holter monitoring in clinically healthy horses. *Acta Vet. Scand.* **33**: 71-75.
- [21]Richter, R., Mägert, H., Mifune, H., Schulz-Knappe, P. and Forssmann, W. 1998. Equine cardiodilatin/ atrial natriuretic peptide. Primary structure and immunohistochemical localization in auricular cardiocytes. *Acta Anat. (Basel)* **162**: 185-193.
- [22]Ryan, N., Marr, C. M. and McGladdery, A. J. 2005. Survey of cardiac arrhythmias during submaximal and maximal exercise in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J.* **37**: 265-8.
- [23]Thomas, D. P. and Fregin, G. F. 1981. Cardiorespiratory and metabolic responses to treadmill exercise in the horse. *J. Appl. Physiol.* **50**: 864-8.