

学 位 論 文 要 旨

氏名 林 淳

題 目：牛輸送熱の病態解明ならびに輸送熱治療法に関する研究

論文要旨：

牛の呼吸器病，特に農場へ導入された牛の呼吸器病は，様々な外的要因が体内の浄化機構の低下や免疫機構の攪乱を引き起こし，ウィルスや鼻咽頭部の常在細菌が気管支肺胞領域へ侵入，定着することによって発症する．牛体に影響を及ぼす外的要因として，飼養環境の変化，給与飼料の変化，離乳，除角，牛の集合，離散をはじめとした要因が挙げられるが，特に輸送は大きな要因となり得る．輸送を伴って導入された牛の呼吸器病の病態を調査することは重要である．並びに，細菌感染を原因とする牛呼吸器病の治療にあたっては，使用する抗菌薬の選択及び使用に関して慎重な注意が必要である．また，抗菌薬の使用にあたっては，十分な根拠をもとに使用する抗菌薬の選択が求められる．

本研究では，野外における導入牛の輸送が生体に与える影響，特に長距離輸送が牛体に与える影響を調査した．また，導入後の呼吸器病の発生状況を調査し，導入後の牛に気管支内視鏡を用いて気管支肺胞洗浄液（BALF）を得ることにより気管支肺胞領域における呼吸器病起因菌の存在を確認した．さらに近年，家畜においての使用が認められ広く臨床応用されているフルオロキノロン系の抗菌薬であるマルボフロキサシン（MBFX）についての薬物動態について調査した．

黒毛和種育成雌牛において，長距離・長時間輸送の影響を調査した．黒毛和種育成雌牛 10 頭を用い，家畜輸送専用車で宮崎県から北海道まで，2,078 km（陸路 1,130 km，海路 948 km）を 62 時間かけて長距離輸送し，輸送前後における体重及び血液性状を測定した．輸送前の体重は 283.5 ± 29.6 kg（平均値 \pm 標準偏差）で，輸送後は 256.2 ± 26.5 kg と有意に減少した（ $p < 0.001$ ）．輸送前に対する輸送後の体重の平均減少率は 9.6 ± 1.3 %（7.0～11.0 %）であり，10 頭すべての個体で体重の減少が認められた．血液性状においては，輸送後の赤血球，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値，平均赤血球ヘモグロビン濃度及び遊離脂肪酸濃度の有意な上昇，並びに総コレステロール濃度，血中尿素窒素濃度，グルコース濃度，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性値，ビタミン A 濃度，マグネシウム濃度及び HDL コレステロール濃度の有意な低下（ $p < 0.05$ ）を認めた．血液性状の変化より，輸送中に乾物摂取量の低下による摂取エネルギーの不足及び飲水量の不足が生じていると考えられた．以上のことから，黒毛和種育成雌牛の長距離・長時間輸送による体重の減少の要因の一つに，乾物摂取量及び飲水量の低下が関係していることが考えられた．

市場導入肥育素牛の牛呼吸器病症候群の治療状況を調査した．また，BALF，気管洗浄液，鼻腔スワブを採取し細菌学的に解析した．調査期間中に 408 頭の肥育素牛が導入され，導入後 2 週間以内に治療された牛は 64 頭であった．治療頭数割合は冬季で多くなり，発症に至る日

(別紙様式第 3 号)

数は春季で短くなる傾向があった。BALF からは、2013 年の 6 頭による調査では非発熱供試牛（対象牛）では 1 頭のみから *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) が検出されたが、発熱供試牛（発熱牛）では全頭から *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*), *P. multocida* あるいは *Histophilus somni* のいずれかが分離された。2014 年の 8 頭による調査では、調査対象牛の 1 頭のみから *P. multocida* を検出し、発熱牛からは *M. haemolytica*, *P. multocida* を検出した。全供試牛から *Mycoplasma* 属菌は検出されなかった。これらの知見は、導入後に発熱を呈する牛の気管支肺胞領域に肺炎原因菌が存在することを示しており、治療指針の決定に重要であると考えられた。

MBFX の子牛の気管支肺胞領域への移行性を明らかにすることを目的に研究を実施した。臨床的に健康な 4 頭の子牛に MBFX を筋肉内に投与 (2 mg/kg) し、投与前、投与 1 時間後、2 時間後、6 時間後及び 24 時間後に採血及び気管支肺胞洗浄を実施し MBFX 濃度を測定した。試験は、2 週間後に同一子牛を用いて再度実施した。その結果、投与後 2 時間後での肺胞上皮被覆液 (ELF) 中の MBFX 濃度は、血漿及び BALF の細胞中濃度より有意に高かった ($p < 0.05$)。投与後 0~24 時間の時間枠で計算された MBFX 濃度曲線下平均面積においては、ELF 内の MBFX の濃度は、血漿よりも有意に高かった ($p < 0.05$)。これらの結果から、子牛の筋肉内に投与された MBFX は気管支肺胞領域へ良好に移行していることが明らかにされた。

以上の結果は肥育農場へ導入された牛の牛呼吸器病の病態把握の根拠となるとともに、牛呼吸器病に対する治療法の一助となり得るものである。

(和文 2,000 字又は英文 800 語程度)

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	林 淳
審査委員	主 査：鹿児島大学 教授 帆保 誠二
	副 査：鹿児島大学 教授 三角 一浩
	副 査：山口大学 教授 高木 光博
	副 査：鹿児島大学 教授 三浦 直樹
	副 査：鳥取大学 准教授 原田 和記
題 目	牛輸送熱の病態解明ならびに輸送熱治療法に関する研究

審査結果の要旨：

牛の呼吸器病，特に農場へ導入された牛の呼吸器病は，様々な外的要因が体内の浄化機構の低下や免疫機構の攪乱を引き起こし，ウィルスや細菌が気管支肺胞領域へ侵入，感染することによって発症する．牛体に影響を及ぼす外的要因として，輸送は特に大きな要因となり得る．よって，輸送を伴って導入された牛の呼吸器病の病態を調査することは重要である．また，細菌感染を原因とする牛呼吸器病の治療にあたっては，使用する抗菌薬の選択及び使用に関して慎重な注意が必要である．さらに，抗菌薬の使用にあたっては，十分な根拠をもとに使用する抗菌薬の選択が求められる．

本研究では，野外における導入牛の輸送が生体に与える影響，特に長距離輸送が牛体に与える影響を調査した．また，導入後の呼吸器病の発生状況を調査し，導入後の牛に気管支鏡を用いて気管支肺胞洗浄液を得ることにより気管支肺胞領域における呼吸器病起因菌の存在を確認した．さらに近年，家畜においての使用が認められ広く臨床応用されているフルオロキノロン系の抗菌薬であるマルボフロキサシンについての薬物動態について調査した．

第 1 章において黒毛和種育成雌牛において，長距離・長時間輸送の影響を調査した．黒毛和種育成雌牛を用い，家畜輸送専用車で宮崎県から北海道までの 2,078 km を 62 時間かけて長距離輸送し，輸送前後における体重及び血液性状を測定した．輸送前の体重は 283.5 ± 29.6 kg (平均値 \pm 標準偏差) で，輸送後は 256.2 ± 26.5 kg と有意に減少した．輸送前に対する輸送後の体重の平均減少率は 9.6 ± 1.3 %であった．血液性状においては，輸送後の赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値，平均赤血球ヘモグロビン濃度及び遊離脂肪酸濃度の有意な上昇，並びに総コレステロール濃度，血中尿素窒素濃度，グルコース濃度，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性値，ビタミン A 濃度，マグネシウム濃度及び

HDL コレステロール濃度の有意な低下を認めた。以上のことから、黒毛和種育成雌牛の長距離・長時間輸送による体重の減少の要因の一つに、乾物摂取量及び飲水量の低下が関係していることが示された。

第 2 章において市場導入肥育素牛の牛呼吸器病症候群の治療状況を調査した。また、気管支肺胞洗浄液、気管洗浄液、鼻腔スワブを採取し細菌学的に解析した。治療頭数割合は冬季で多くなり、発症に至る日数は春季で短くなる傾向があった。気管支肺胞洗浄液からは、2013 年の調査では非発熱供試牛（対照牛）では 1 頭のみから *Pasteurella multocida* が検出されたが、発熱供試牛（発熱牛）では全頭から *Mannheimia haemolytica*, *P. multocida* あるいは *Histophilus somni* のいずれかが分離された。2014 年の調査では、調査対象牛の 1 頭のみから *P. multocida* を検出し、発熱牛からは *M. haemolytica*, *P. multocida* を検出した。全供試牛から *Mycoplasma* 属菌は検出されなかった。これらの知見は、導入後に発熱を呈する牛の気管支肺胞領域に肺炎原因菌が存在することを示しており、治療指針の決定に重要であると考えられた。

第 3 章においてマルボフロキサシン（MBFX）の子牛の気管支肺胞領域への移行性を明らかにすることを目的に研究を実施した。臨床的に健康な 4 頭の子牛に MBFX を筋肉内に投与（2 mg/kg）し、経時的に採血及び気管支肺胞洗浄を実施後 MBFX 濃度の測定に供した。その結果、投与 2 時間後での肺胞上皮被覆液（ELF）中の MBFX 濃度は、血漿及び気管支肺胞洗浄液（BALF）の細胞中濃度より有意に高かった。投与後 0～24 時間の時間枠で計算された MBFX 濃度曲線下平均面積においては、ELF 内の MBFX の濃度は、血漿よりも有意に高かった。これらの結果から、子牛の筋肉内に投与された MBFX は気管支肺胞領域へ良好に移行することが明らかになった。

これらの研究成果は、「黒毛和種育成雌牛における長距離・長時間輸送における体重および血液性状の変化」、「市場導入肥育素牛における牛呼吸器病症候群の治療状況の調査並びに発症に関与する細菌の同定」及び「Distribution of marbofloxacin in the bronchoalveolar region in healthy calves」として獣医学分野の学術雑誌に公表された。

以上のように、本研究によって長距離・長時間輸送は牛体にさまざまな影響を与えることが判明し、市場導入牛の治療状況、気管支肺胞領域から牛呼吸器病原菌の特定がなされた。さらに投与された MBFX は気管支肺胞領域へ良好に移行していることを明らかになった。これらの結果は、農場へ導入された牛の牛呼吸器病の病態把握の根拠となるとともに、牛呼吸器病に対する治療法の一助となり得るものである。

以上により、本論文は博士（獣医学）の学位に値するものと判定された。