

論文審査の結果の要旨

氏名：種村 高一

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

論文題名：乳牛の脂肪肝と卵胞嚢腫に関する研究

審査委員：（主査） 教授 津曲 茂久

（副査） 教授 佐藤 常男

教授 堀北 哲也

本研究では、乳牛の卵胞嚢腫の発症時期と脂肪肝の発症時期が重複することが多いことに着目して、両疾患の密接な関連性とその治療法について研究を行った。即ち、乳牛の分娩後に発症した脂肪肝の脂肪沈着度とその後発症した卵巣疾患の予後との関係性、卵胞嚢腫発症牛における肝 UDP-グルクロン酸転移酵素活性と肝疾患との関連性、肝脂肪沈着度と牛胆汁中エストロジェン濃度との関連性、脂肪肝牛における肝賦活剤・チオプロニン(MPG)の治療効果、卵胞嚢腫牛における MPG とヒト絨毛性性腺刺激ホルモン(hCG)の治療効果の比較などについて検討したので、以下に概要を述べる。

第1章 乳牛における脂肪肝の発症と予後に関する研究

本章では、臨床症状および尿中ケトン体により分娩後ケトosisと診断された乳牛 417 頭の中で脂肪肝と診断された 284 頭について、その治療成績および継発症の検討を行った。脂肪肝の診断は、肝生検による病理組織学的検査により肝臓実質に 10%以上の脂肪沈着を認めたものとし、脂肪肝牛全頭に肝臓賦活剤である MPG を 1 日 1 回、5 日間連用を原則として静脈内投与した。脂肪肝牛 284 頭中 233 頭が最終的に治癒したが、その後治癒した牛の 188 頭には各種継発症が認められた。軽度脂肪沈着度(10~30%)の脂肪肝牛における継発的卵巣疾患の発生率とその廃用率は 20.2%と 25.0%、中度脂肪沈着度(30~60%)の脂肪肝牛では 25.0%と 64.2%、重度脂肪沈着度(60%以上)の脂肪肝牛では 35.8%と 82.1%であったことから、肝脂肪沈着度と卵巣疾患の発生率およびその廃用率の間には高い相関性が見られた。この肝脂肪沈着度と各疾患における継発症発生率およびその死廃率の傾向は肝疾患や乳房炎等においても同様であった。

以上の結果から、脂肪肝牛における継発的卵巣疾患の発生率と廃用率は肝脂肪沈着度が増加するにつれて高くなり、特に 60%以上の肝脂肪沈着の重度群では廃用率が著しく増加することが判明した。

第2章 卵胞嚢腫牛の肝 UDP-グルクロン酸転移酵素活性と脂肪肝との関係

本章では、生殖器疾患の中で廃用率の最も高い卵胞嚢腫を対象として、ステロイドホルモンなどを抱合代謝する肝 UDP-グルクロン酸転移酵素(UGT)活性値を測定し、脂肪肝との関連性について検討した。肝 UGT 活性値は放射性エストラジオール-17 β を基質とする基質代謝法により測定した。卵胞嚢腫牛 62 頭と正常発情周期牛 8 頭の肝 UGT 活性値は 2.19 ± 0.15 pM/min/mg protein と 4.28 ± 0.22 pM/min/mg protein であり、卵胞嚢腫牛の肝 UGT 活性値は正常発情周期牛の値より有意に低値であった(P<0.01)。卵胞嚢腫牛 62 頭の肝臓の病理組織学的検査を行ったところ、62 頭中 30 頭(48.4%)に肝疾患（脂肪肝や肝炎）が観察され、残り 32 頭には肝疾患は見られなかった。それらの肝 UGT 活性

値は肝疾患群で 1.57 ± 0.12 pM/min/mg protein、非肝疾患群で 2.78 ± 0.23 pM/min/mg protein であり、正常発情周期牛に比べ有意に低値であった ($P < 0.01$)。一方、正常発情周期牛のステージである分娩後 60~90 日に限定して検討したところ、肝疾患群と非肝疾患群の肝 UGT 活性値はそれぞれ 1.27 ± 0.20 と 3.10 ± 0.51 pM/min/mg protein であり、正常発情周期群と肝疾患群との間には有意差を認めたが、非肝疾患群との間には有意差は見られなかった。肝 UGT 活性値を低値群、中間値群、高値群の 3 群に区分して、肝疾患との関係性を検討したところ、肝 UGT 活性値の低値群 (2.0 pM/min/mg protein 以下) では肝疾患が 78.1% 含まれたのに対し、中間群 (2.0~3.0 pM/min/mg protein) では 22.2%、高値群 (3.0 pM/min/mg protein 以上) では 8.3% であった。

これらの結果からは、肝 UGT 活性値と肝疾患率との関係性は非常に高く、乳牛の卵胞嚢腫発症に密接な関連性を有することが示唆された。しかしながら、分娩後 60~90 日に限定した場合の非肝疾患群と正常発情周期群との間における肝 UGT 活性値には有意差はなく、非肝疾患群における卵胞嚢腫発症には他の要因が関与することが示唆された。

第 3 章 脂肪肝牛における胆汁中ステロイドホルモンに関する研究

本章では、脂肪肝牛におけるステロイドホルモンの肝臓代謝機能を間接的に知る目的で脂肪肝牛と正常肝牛の胆汁中の非抱合型エストロジェン値およびコルチゾール値を比較検討した。肝臓の病組織学的検査により正常群 56 頭 (肝脂肪沈着度 10% 以下)、軽度群 41 頭 (肝脂肪沈着度 10~30% 未満)、中・重度群 31 頭 (肝脂肪沈着度 30% 以上) に区分した。乳牛の胆汁中非抱合型エストロジェン 3 分画値を測定したところ、正常肝、軽度脂肪肝、中・重度脂肪肝において何れもエストロンが最高値で、エストリオールが最低値であった。正常肝群、軽度群、中・重度群との比較において胆汁中エストロジェン 3 分画値は中・重度群で最も高く、正常肝群では最も低く、両者の間に有意差が認められた ($P < 0.01$)。胆汁中非抱合型コルチゾール値は軽度群と正常肝群間では差異は見られなかったが、中・重度群の値は正常群より有意に高かった ($P < 0.01$)。

以上のことから、肝脂肪沈着度の上昇に伴い肝臓のステロイドホルモンの抱合酵素活性が低下する結果として、胆汁中の非抱合型エストロジェンおよびコルチゾール濃度の増加することが示唆された。

第 4 章 脂肪肝牛におけるチオプロニンの治療効果と予後

本章ではケトosis発症牛を対象として肝生検により肝実質に脂肪沈着 10% 以上を認めた 63 頭の乳牛に、肝賦活剤である MPG を投与し、治療効果と予後について検討した。これら 63 頭の脂肪肝牛に対して、MPG 剤を 1 日 1 回 50ml (2.5g) から 100ml (5g) を単用で使用したところ、34 頭中 30 頭 (88.2%) に治療効果が認められた。また、他剤 (25% ブドウ糖、胆汁酸製剤、メチオニン製剤、プロピレングリコールなど) 無効例に対して MPG 剤を使用した群においても 29 頭中 19 頭 (65.5%) が治癒した。全体的に MPG 投与群 63 頭中 49 頭 (77.7%) において食欲、乳量の回復、臨床症状の改善、終診時の肝生検 (一部) により肝脂肪沈着の消失を認め、脂肪肝において MPG 剤は高い治療効果を有することが判明した。しかしながら、脂肪肝における MPG 剤 6 回以下の治癒率は 61.9% であり、ケトosis 牛における治癒率 95.8% に比較すると、脂肪肝はケトosis より MPG 剤投与開始から回復まで治療回数と経過日数を多く要することが伺えた。MPG 剤の脂肪肝に対する治療効果は肝脂肪沈着度が 30% 未満で 84.2%、30% 以上では 75% であり、有意な差異は認められず、さらに症例を重ねて検討する必要がある。

初診および終診後に測定した血液生化学的所見では、臨床症状の改善した予後良群において血清

NEFA、TG、ALP、T-Bil(P<0.01)、BUN(P<0.05)の低下を認めた。一方、臨床症状の改善しなかった予後不良群ではGOT、GPT、 γ -GTP (P<0.05)の上昇を認めた。また、MPG投与後のGOT、ALP、T-Bil、ZTT、BUNが初診時に較べ上昇し高値となったものや、GOTが100 IU以上で脂肪肝沈着度が30%以上を示した多くの脂肪肝牛は予後不良であり、死産の指標となることが判明した。

第5章 チオプロニンによる卵胞囊腫牛の治療効果

本章では卵胞囊腫牛に肝賦活剤のMPGを単独投与したものとhCG治療後に再発した卵胞囊腫牛にMPGを投与して、その治療効果を比較検討した。卵胞囊腫の診断は7日間隔で2回の直腸検査を行い直径25mm以上の卵胞が継続し、黄体の存在を認めない卵胞囊腫牛53頭を供試した。卵胞囊腫の発情徴候区分では無発情型33頭(62.2%)、持続発情型15頭(28.3%)、思牡狂型5頭(9.4%)であった。

卵胞囊腫初診牛にMPG剤を投与した15頭中13頭(86.7%)に黄体形成が見られ、初診時hCG治療に無効であった卵胞囊腫牛にMPG剤を投与した場合でも16頭中9頭(56.3%)に黄体形成が認められた。さらに、卵胞囊腫初診牛にhCGとMPGを同時投与したところ、12頭中7頭(58.3%)に黄体形成が見られ、初診のhCG無効例にhCGとMPGを同時投与した場合でも10頭中7頭(70%)に黄体形成が認められた。治療効果の見られたMPG群(22頭)における黄体形成は治療後1, 2週間で多くの例で黄体形成が認められ、MPG・hCG同時投与群(14頭)でも同様であった。卵胞囊腫の発情徴候区分における治療効果は無発情型で最も高く、持続発情型ではやや低く、思牡狂型では全例が無効であった。

以上の結果から卵胞囊腫牛への肝賦活剤MPG剤投与は従来から使用されているホルモン剤hCGと同等の治療効果があり、hCG無効例にも効果を有することが証明された。

本研究では、周産期疾患の基礎疾患となる牛脂肪肝が卵胞囊腫発症の原因になる可能性を探り、脂肪肝を治療することで卵胞囊腫が治癒する可能性を検討した。その結果、卵胞囊腫牛における肝UGT活性値が正常発情周期牛の値と比較して有意に低く、肝UGT活性値の低値群では肝疾患(多くは脂肪肝)併発率が高いことを証明した。胆汁中非抱合型エストロゲンおよびコルチゾール値が中・重度脂肪肝において有意に高かったことから脂肪肝牛ではステロイドホルモンが十分に抱合化されないことが示唆された。以上の結果から脂肪肝の肝UGT活性低下は胆汁中非抱合型ステロイドホルモンを増加させ、さらに脂肪肝による食欲不振が肝血流量を低下させる結果として血中プロゲステロン値を増加させ、両者が相まって卵胞囊腫の原因とされる視床下部エストロゲンレセプターを低下させる可能性が示唆された。但し、肝疾患を持たない卵胞囊腫牛では別の要因によるプロゲステロン値増加の機序が存在するものと考えられた。一方、肝賦活作用のあるMPGは脂肪肝に高い治療効果を有するが、卵胞囊腫へのMPG投与は従来のホルモン剤と同等もしくはそれ以上の治療効果のあることが証明された。

本研究は、分娩後に多発する乳牛の卵胞囊腫が脂肪肝と密接に関連しており、脂肪肝に高い治療効果を有する肝賦活剤投与が卵胞囊腫にも高い治療効果を有することを明らかにした。

よって本論文は、博士(獣医学)の学位を授与されるに値するものと認められる。

以上

平成29年 2月 21日