

博士学位論文

学位論文内容の要旨および審査結果の要旨

氏 名 塚野 健志

学位の種類 博士（獣医学）

学位授与の条件 酪農学園大学学位規程第3条第3項に該当

学位論文の題目 病態生理学に基づいた下痢症子牛の栄養輸液療法に関する研究

審査委員

主査 教授 鈴木 一由（生産動物外科学）

副査 教授 山下 和人（獣医麻酔学）

副査 教授 樋口 豪紀（獣医衛生学）

副査 准教授 大塚 浩通（生産動物内科学Ⅰ）

## 学位論文要旨

### 病態生理学に基づいた下痢症子牛の栄養輸液療法に関する研究

酪農学園大学大学院獣医学研究科

獣医学専攻博士課程

生産動物外科学 塚野 健志

本研究は下痢症子牛における経口および経静脈内栄養輸液療法において適正な輸液剤とはどのような処方であるかを明らかにすることを目的とした。第1章は緒言として我が国における子牛下痢症に対する輸液療法の現状を論じ、栄養輸液の必要性を記した。第2章では下痢症子牛における栄養管理の必要性を確認する目的で221頭の下痢症子牛の診療記録簿から血液検査所見に基づいた下痢症子牛の死亡率を高めるリスク因子の抽出を試みた。その結果、呼吸性代償不全（オッズ比 2.63; 95% 信頼区間 1.05-6.62;  $p=0.04$ ）および低血糖症（オッズ比 2.63; 95% 信頼区間 1.05-6.62;  $p=0.04$ ）が死亡リスク因子として抽出された。脱水症は嫌気性代謝の原因であり、組織中酸素レベルの低下はブドウ糖の酸化効率を悪化させるため低血糖症における栄養失調は従来のブドウ糖のみによるエネルギー補給に代わる新たな栄養供給方法の必要性を示唆するものである。第3章では子牛の主要疾病である下痢症と呼吸器疾患におけるアミノ酸補給の必要性を確認することを目的とした。その結果、下痢症子牛では血液 pH と血漿中遊離総アミノ酸 (TAA) および分岐鎖アミノ酸 (BCAA) 濃度の間に負の相関が認められた。すなわちアシデミアによるタンパク質異化の亢進が確認された。また、*Mycoplasma* 性気管支肺炎子牛では血清中 TAA、BCAA およびアラニン濃度の有意な低下が認められた。よって下痢症子牛および *Mycoplasma* 性気管支肺炎子牛においては異化を防ぐためにもアミノ酸を中心とした栄養管理を行う必要がある。新生子牛において下痢症は輸液療法適応症として広く周知されている。第4章では病態の異なる下痢症子牛に対する経口または経静脈内栄養輸液について検証した。第4章第1節では下痢症子牛における循環血液量の改善または脂質異化抑制効果に適した経口補液剤の処方を検討するために、処方が異なる4種類の経口補液剤を用いて臨床試験を実施した。その結果、Na : Glu : Gly 比が 1.0 : 0.6 : 0.6 の Na 強化型経口補液剤では Na (100.1 mM) が高濃度に配合されているために循環血液量の改善に優れていた。一方、Glu : Gly 比が約 1.0 : 1.0 で Glu (116.8 mM) が高濃度

に配合された Glu 強化型の経口補液剤は直接エネルギーである糖を付与することにより脂質異化抑制効果が認められた。これらの結果は、下痢症子牛において脱水症に加え消耗が軽度である急性期では Na 強化型、消耗の進行を伴う慢性期とでは Glu 強化型を処方するなど下痢の病態やステージによって経口補液剤を使い分けることが重要であることを示している。重度の脱水症を伴う下痢症子牛においては細胞外液補充剤による経静脈内輸液が必要となるが、糖を配合すべきか否かの判断は難しい。第 4 章第 2 節では酢酸リンゲル液 (AR) に 5% のブドウ糖を配合した 5%ブドウ糖加酢酸リンゲル液 (ARD) を試作し、下痢症子牛におけるブドウ糖補給効果について AR を対照に実験的下痢モデルおよび臨床症例を用いて検証を行った。その結果、実験的下痢モデルおよび臨床症例において AR の静脈内投与では循環血液量の改善は認められたものの、血液中  $\beta$  ヒドロキシ酪酸 (BHBA) 濃度の増加、すなわち異化亢進が認められたが、糖を配合した ARD では血液中 BHBA 濃度の有意な低下が確認された。ARD は AR と同等の循環血液量の改善効果に加えて、血液中 BHBA 濃度の低下で示された脂質異化抑制効果を有することから、消耗性疾患である下痢症子牛に対して糖を添加した細胞外液補充剤は理にかなった輸液剤といえる。第 4 章第 3 節では *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) 下痢症子牛を用いて、腸絨毛の損傷を伴う下痢症に対してブドウ糖およびアミノ酸 (PPN 群) またはブドウ糖のみ (Dex 群) で熱量を付与する経静脈内栄養輸液療法の治療効果を検証した。その結果、PPN 群においてのみ、経静脈内栄養輸液終了時の血漿中 DAO 活性値が有意に増加した。血漿中 DAO 活性値の増加は腸絨毛の再生を示唆するものであり、その結果として PPN 群の治療日数は Dex 群のそれと比較して有意に短縮したと考えられる。この結果は、ブドウ糖にアミノ酸を加えた経静脈内栄養輸液療法はブドウ糖のみで熱量を付与するよりも *C. parvum* 下痢症子牛の腸絨毛修復に有用であることを示唆している。したがって、*C. parvum* 感染症だけでなく腸絨毛の損傷が疑われる栄養不良性下痢症に対しては、ブドウ糖単独でなくブドウ糖にアミノ酸を配合した経静脈内栄養輸液療法が望ましいことが明らかとなった。

本研究は末梢静脈内栄養輸液療法 (PPN) がまだ一般的ではない生産動物医療において、経済的かつ効率的な下痢症子牛の PPN を科学的根拠に基づいて啓蒙普及するものであり、臨床現場ですぐにでも応用すべき内容である。今後は、本研究で触れることができなかった脂質、ビタミンおよび微量元素動態についても子牛下痢症の病態生理学的解明とこれらの栄養素を配合した栄養輸液剤の臨床薬理的検証に基づき、経済性に見合ったより効果的な「牛の栄養輸療法」のあり方について継続的に検証していく必要がある。

# 論文審査の要旨および結果

## 1 論文審査の要旨および結果

審査は、1) 体裁を整え、新規性があり、明確に十分な根拠があるか、2) 科学および獣医学の発展に寄与する内容であるかの2点を重点に行われた。

### 論文の概要について

本研究は下痢症子牛における経口および経静脈内栄養輸液療法において適正な輸液剤とはどのような処方であるかを明らかにすることを目的とした。第1章は緒言として我が国における子牛下痢症に対する輸液療法の現状を論じ、栄養輸液の必要性を記した。第2章では下痢症子牛における栄養管理の必要性を確認する目的で221頭の下痢症子牛の診療記録簿から血液検査所見に基づいた下痢症子牛の死亡率を高めるリスク因子の抽出を試みた。第3章では子牛の主要疾病である下痢症と呼吸器疾患におけるアミノ酸補給の必要性を確認することを目的とした。その結果、下痢症子牛では血液 pH と血漿中遊離総アミノ酸(TAA)および分岐鎖アミノ酸 (BCAA) 濃度の間に負の相関が認められた。第4章では病態の異なる下痢症子牛に対する経口または経静脈内栄養輸液について検証した。第4章第1節では下痢症子牛における循環血液量の改善または脂質異化抑制効果に適した経口補液剤の処方を検討するために、処方が異なる4種類の経口補液剤を用いて臨床試験を実施した。第4章第2節では酢酸リンゲル液 (AR) に5%のブドウ糖を配合した5%ブドウ糖加酢酸リンゲル液 (ARD) を試作し、下痢症子牛におけるブドウ糖補給効果について AR を対照に実験的下痢モデルおよび臨床症例を用いて検証を行った。第4章第3節では *Cryptosporidium parvum* 下痢症子牛を用いて、腸絨毛の損傷を伴う下痢症に対してブドウ糖およびアミノ酸 (PPN 群) またはブドウ糖のみ (Dex 群) で熱量を付与する経静脈内栄養輸液療法の治療効果を検証した。その結果、PPN 群および Dex 群において経静脈内栄養輸液開始後24時間目の血漿中遊離アミノ酸濃度に変化は認めなかったが、PPN 群においてのみ、経静脈内栄養輸液終了時の血漿中 Diamine Oxidase (DAO) 活性値が有意に増加した。本研究は末梢静脈内栄養輸液療法 (PPN) がまだ一般的ではない生産動物医療において、経済的かつ効率的な下痢症子牛の PPN を科学的根拠に基づいて啓蒙普及するものであり、臨床現場ですぐにでも応用すべき内容である。

### 研究の背景と目的

新生子牛における下痢症は依然として死亡率が高く、酪農および畜産業に与える被害は甚大である。下痢症では病原体や発生機序にかかわらず糞便中への水分および電解質喪失量が増加する。さらに下痢症は腸管において水分や電解質だけでなく、炭水化物、タンパク質、脂質の吸収不良を引き起こす。その結果、下痢症子牛は脱水症、電解質異常、酸塩基平衡異常に加えて負のエネルギーバランス (NEB) に陥る。したがって、輸液療法は下痢症子牛の死亡率を低下させるための重要な支持療法と考えられている。しかし、下痢症子牛に関する病態生理学、脱水症の改善および酸塩基平衡異常の補正に関する輸液療法の進歩が認められているにもかかわらず、この数十年にわたり下痢症子牛の死亡率は変わって

いない。このことは下痢症子牛の治療において一般的に行われている輸液療法、抗菌薬療法などの支持療法だけでなく「栄養補給」という見地から次の手段を模索する必要性を示唆している。すなわち本研究では、消耗性疾患である下痢症子牛において（1）栄養輸液療法が必要か否かの検証、（2）栄養輸液療法にアミノ酸を加える必要性およびアミノ酸製剤の処方法の検証、そして（3）病態生理学に基づいた子牛の経静脈内栄養輸液療法の有用性についての検証を行った。

## 研究の成果

本研究により以下のことが明らかとなった。

1. 低血糖症を伴う下痢症子牛では従来のブドウ糖のみによるエネルギー補給に代わる、ブドウ糖の利用効率をも考慮した新たな栄養管理方法が必要である。
2. アシデミアを伴う下痢症子牛および *Mycoplasma* 性気管支肺炎子牛における栄養管理には BCAA を強化したアミノ酸の補給が望ましい。
3. 下痢症子牛の経口補液療法は脱水症に加え消耗が軽度である急性期には Na 強化型、進行性の消耗を伴う慢性期では Glu 強化型の経口補液剤を処方することが望ましい。
4. 5%ブドウ糖加酢酸リンゲル液（ARD）は酢酸リンゲル液（AR）と同等の循環血液量の改善効果に加えて脂質異化抑制効果を有することから、消耗性疾患である下痢症子牛の経静脈内輸液療法に適した輸液剤といえる。

腸絨毛の損傷が疑われる栄養不良性下痢では、ブドウ糖単独でなくアミノ酸を配合した経静脈内栄養輸液療法が望ましい。

## 研究の評価

末梢静脈内栄養輸液療法（PPN）は臨床現場において実践可能であり、従来の体液および酸塩基平衡異常の補正のみを目的とした経静脈内輸液療法と比較して下痢症子牛の治療率を向上させる可能性が高いと思われる。本研究は、臨床現場で実施可能な範疇で下痢症子牛に対してブドウ糖に加えアミノ酸を添加した末梢静脈内栄養輸液療法の有用性を病態生理学および臨床薬理学的見地に基づき証明したものである。一連の研究成果を総括すると、PPN がまだ一般的ではない生産動物医療において、経済的かつ効率的な下痢症子牛の PPN を科学的根拠に基づいて啓蒙普及するものであり、これらの成果はすぐにも臨床現場で応用すべきものである。また、本研究は全ての章において論文公表を行っていることから、研究の妥当性も客観的に担保されている。

## 学位論文の一部を公表した論文

1. 【第 2 章】 *Journal of Veterinary Medical Science*. 80(7):1159-1164. 2018
2. 【第 3 章・第 1 節】 *Veterinary Record Open*. 4(1): e000234 2017
3. 【第 3 章・第 2 節】 *Journal of Veterinary Medical Science*. 77(1):67-73. 2015
4. 【第 4 章・第 1 節】 *Journal of Veterinary Medical Science*. 79(11):1776-1779. 2017
5. 【第 4 章・第 2 節】 *Journal of Veterinary Medical Science*. 79(4):795-800. 2017

その他の論文

英語：主著 1、共著 4（J Vet Med Sci 計 5 編）

邦文：主著 3（家畜診療、北獣会誌、日獣会誌 各 1 編）

以上のことから、塚野 健志 氏は博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有すると審査員一同は認めた。

## 2 最終試験の結果

審査委員 4 名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2018年 9月18日

### 審査委員

|    |     |    |    |
|----|-----|----|----|
| 副査 | 教授  | 鈴木 | 一由 |
| 副査 | 教授  | 山下 | 和人 |
| 副査 | 教授  | 樋口 | 豪紀 |
| 副査 | 准教授 | 大塚 | 浩通 |