

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 外平 友佳理

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4項に該当

学位論文の題目 Semi-Free Ranging 下の有袋類における感染症のストレス評価
と病態生理

審査委員

主査 教授 浅川 満彦（獣医寄生虫学）

副査 教授 鈴木 一由（生産動物外科学）

副査 教授 樋口 豪紀（獣医衛生学）

副査 准教授 佐野 忠士（動物集中管理学）

副査 准教授 林 英明（獣医生理学）

Semi-Free Ranging 下の有袋類における感染症のストレス評価と病態生理

酪農学園大学大学院獣医学研究科研究生／到津の森公園 外平友佳理

飼育下カンガルー類の Lumpy Jaw Disease (LJD) を含めた日和見感染症の疾病管理を目的に、疫学調査を始め LJD とストレス負荷との関連性や病態解明について解析を行った。

内部寄生虫保有状況調査では、全サンプルから内部寄生虫が認められ、優占的な寄生虫種なども解明し新宿主記録もあった。オオカンガルーの全サンプルからは、致命的腸炎が惹起される *Eimeria* 属オーシスト得られ感染が証明され、調査時の宿主の症状との関係性は認められなかった。しかし、これら内部寄生虫感染は潜在的な負荷があるものとしてモニタリングが重要であることが示唆された。ストレス負荷と LJD との関連性については、LJD 群では血漿中コルチゾール濃度が対照群よりも有意に高値を示した。BAP は有意な差は認められなかったが、d-ROMs は対照群よりも有意に高値であった。つまり LJD 群では相対的に BAP/d-ROMs が有意に減少し、酸化バランス防御系におけるホメオスタシス機構が破綻していることが示唆された。また、それと比較して被毛中のコルチゾール含有量測定調査を行ったところ、血漿中コルチゾール濃度は上昇しない軽症な LJD 罹患個体でも、慢性例であれば腹部被毛中コルチゾール含有量が増加していたことが分かった。よって症状の重症化に伴って血漿中コルチゾールが増加することと慢性経過の判断には被毛中のコルチゾールを測定することが有効であることが分かった。また、腹部と背部でそれぞれ結果が異なっており、部位や被毛の色など様々な要因によって評価が異なることが示唆された。また被毛という生体サンプルを用いたストレス評価方法は動物園動物という特殊性を考慮した極めて有用な方法であることを示すことが出来た。血漿中エンドトキシン活性値の調査では、まず LAT-KT アッセイを用いて LJD 群の症状との関連性についての評価を行った。その結果、全身徴候の見られない軽度 LJD 群では対照群と有意な差は見られなかったものの、全身徴候の見られる重度 LJD 群では対照群及び軽度 LJD 群のものと比較して血漿中エンドトキシン活性値が有意に上昇していた。さらに ROC 曲線の分析結果に基づき重度の LJD 症状を同定するための数値も明らかとなった。また、携帯型測定器である PTSTTM を用いて調査したところ、LJD 群の血漿中エンドトキシン活性値は、LAL-KT アッセイで測定した時と同様に対照群と比べて有意に高値を示した。よって、カンガルー類の血漿中エンドトキシン活性値の判定において PTSTTM を用いることで動物園などでも迅速にエンドトキシン活性値が測定出来、LJD の診断及び予後判定における有望なツールとなり得ることが明らかとなった。今回確立した被毛や PTSTTM を用いた測定方法は臨床現場に適した新たな方法であり、さらに研究を続けカンガルー類を始め動物園動物の疾病管理の発展に努めていきたい。

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

本論文は飼育下有袋類の日和見感染症、特に、カンガルー病（LJD）とストレス負荷との関連性や病態解明について解析を行ったものである。まず、内部寄生虫保有状況調査により、高病原性を示す種も含め感染が常態化していたことが明らかになった。このような感染は潜在的な負荷があるものとしてモニタリングが重要であると実証され、そのために被毛という採集時に個体にストレスを与えないサンプルを用いた評価方法と PTS™ による血漿中エンドトキシン活性値による方法を提案するという動物園動物医療面で有益な内容であった。

研究の背景と目的

飼育下有袋類、特に、カンガルー類では LJD を含めた日和見感染症が大きな問題となっている。そこでこの疾病管理を最終目標に、実相を示す疫学調査から LJD とストレス負荷との関連性や病態解明について解析を行い、動物園動物医療に資する手法を提示することを目的に一連の研究が実施された。

研究の成果

本論文成果は3つの章で披瀝され、まず、第2章では内部寄生虫保有状況調査の結果が記されていた。調べた全サンプルから内部寄生虫が認められ、優占的な寄生虫種なども解明し、新宿主記録もあった。オオカンガルーの全サンプルからは、致死性の腸炎が惹起される *Eimeria* 属のオーシストが得られ感染が証明された。調査時の宿主の症状との関係性は認められなかったが、これら内部寄生虫感染は、今後、潜在的な負荷があるものとしてモニタリングが重要であることが示唆された。

次いで第3章では、ストレス負荷と LJD との関連性について論考された。その結果、LJD 群では血漿中コルチゾール濃度が対照群よりも有意に高値を示し、BAP においては有意な差は認められなかったが、d-ROMs は対照群よりも有意に高値であったことから相対的に対照群よりも BAP/d-ROMs が有意に減少し、LJD 群では酸化バランス防御系におけるホメオスタシス機構が破綻していることが示唆された。被毛中のコルチゾール含有量測定結果では、血漿中コルチゾール濃度は LJD 群と対照群に有意な差は認められず、症状の重症化に伴って血漿中コルチゾールが増加することが示

唆され、LJD 群では腹部被毛中コルチゾール含有量が対照群よりも有意に高値を示していたことから、血漿中コルチゾール濃度は上昇しない軽症な LJD 罹患個体でも、慢性例であれば両群間に有意な差として現れることが示唆された。また、LJD 群の腹部被毛中コルチゾール含有量は、対照群よりも有意に高値を示したものの、背部のそれでは対照群の間に有意な差は認められなかったことから、部位や被毛の色など様々な要因によって評価が異なることが示唆された。注目すべきことに、被毛という生体サンプルを用いたストレス評価方法は動物園動物という特殊性を考慮した極めて有用な方法であることを示すことが出来た。

さらに、第 4 章で展開された血漿中エンドトキシン活性値の調査では、まず、LAL-KT アッセイを用いて LJD 群の症状との関連性についての評価を行った結果、全身徴候の見られない軽度 LJD 群では対照群と有意な差は見られなかったものの、全身徴候の見られる重度 LJD 群では対照群及び軽度 LJD 群のものと比較して血漿中エンドトキシン活性値が有意に上昇しており、ROC 曲線の分析結果に基づき重度の LJD 症状を同定するための数値も明らかとなった。また、PTS™ で測定した LJD 群の血漿中エンドトキシン活性値は、LAL-KT アッセイで測定した時と同様に対照群と比べて有意に高値を示したため、カンガルー類の血漿中エンドトキシン活性値の判定において、PTS™ を用いることで動物園などの臨床現場において迅速にエンドトキシン活性値が測定出来、LJD の診断及び予後判定における有望なツールとなり得ることが明らかとなった。

今回確立された被毛を用いたストレスマーカー測定法および PTS™ での血漿中エンドトキシン活性値測定法は、多様で多数の動物を飼養する動物園の臨床現場で適した手法で、具体的には飼育環境改善の指標、重症度と性別年齢その他の要因との関連性の分析などの面で応用が期待された。

研究の評価

これまで述べたように、本研究は現状把握から予防手法確立という非常に広汎な内容であったが、明確な論旨のもと、各章が有機的に関連、構成された卓越した論文であり、本研究によって、これらの簡易なモニタリング方法は動物園動物にとどまらず、多種多様な動物種を対象とする臨床獣医師にとっても有用なツールとなり得るものであり、今後の飼育管理や感染症予防に貢献できるものである。

以上のことから、外平 友佳理 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 5 名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2017年6月14日

審査委員

主査	教授	浅川	満彦
副査	教授	鈴木	一由
副査	教授	樋口	豪紀
副査	准教授	佐野	忠士
副査	准教授	林	英明