

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 福田 達也

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 血液中ジアミンオキシダーゼ活性値を客観的指標として用いた
下痢症子ウシに対する抗菌薬代替療法の評価法の検討

審査委員

主査 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 教授 岩野 英知（獣医生化学）

学位論文要旨

下痢症子ウシに対する抗菌薬代替療法における血液中ジアミンオキシダーゼ活性値を

客観的指標とした評価法の検討

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 福田 達也

本研究は、「食の安全・安心」および薬剤耐性菌対策の観点から求められている子ウシ下痢症に対する抗菌薬代替療法について、従前から行われている主観的指標に加え血液中ジアミンオキシダーゼ (DAO) 活性値を客観的指標として用いることで抗菌薬代替療法の評価が可能か否か検討した。本研究で着目した血液中 DAO 活性値は、ヒトにおいてさまざまな腸疾患のバイオマーカーとして利用されている。しかし、子ウシにおいてもヒトと同様に血液中 DAO 活性値が腸粘膜の状態を反映する客観的指標として利用可能か否かは明らかではない。そこで本研究では、はじめに (1) 下痢症子ウシにおける血液中 DAO 活性値の低下と重症度との関係性を評価し、(2) 健常子ウシの日齢が血液中 DAO 活性値に与える影響と下痢症が血液中 DAO 活性値および血液中銅 (Cu) 濃度に与える影響を調査した。その結果、血液中 DAO 活性値がウシにおいても腸粘膜の状態を反映する客観的な指標として利用可能であることを明らかにした。次に、(3) 血液中 DAO 活性値を客観的指標として下痢症に対する抗菌薬代替療法の客観的評価が行えるか否かを市販のプロバイオティクス製剤を用いて検討した。

すなわち第 1 章第 1 節では、黒毛和種子ウシを用いて下痢により血清中 DAO 活性値が低下するか否か調査したところ、下痢症子ウシの血清中 DAO 活性値は 71.9 ± 16.0 IU/dl と健常子ウシの 170.2 ± 78.8 IU/dl と比較して有意に低値を示した ($p < 0.01$)。また、血清中 DAO 活性値はカットオフ値 < 107.23 IU/ml のとき感度 84.6 % および特異度 100.0 % と優れた診断能を有することを明らかにした。第 1 章第 2 節では、子ウシ下痢症の重症度を糞便性状および血液 pH に基づいて分類し、血漿中 DAO 活性値が下痢の重症度を反映するか否かを調査した。その結果、血漿中 DAO 活性値と下痢の重症度との間に有意な相関が認められた。したがって、血液

中 DAO 活性値はウシにおいてもヒトと同様に下痢の重症度、おそらく腸粘膜の障害の程度を反映していることを明らかにした。

第 2 章第 1 節では黒毛和種健常子ウシを用いて血清中 DAO 活性値および血漿中 Cu 濃度の出生後の日齢変化を調査した。その結果、日齢変化に伴う血漿中 Cu 濃度と血清中 DAO 活性値に関連性は認められず、どちらも 7 日齢以降で安定して推移することを確認した。よって、子ウシにおける血液中 DAO 活性値は 7 日齢以降であれば日齢を考慮せず評価可能であることを明らかにした。第 2 章第 2 節では、低 Cu 血症で血液中 DAO 活性が低下する可能性があるため、7 日齢以降の黒毛和種下痢症子ウシの血漿中 Cu 濃度が低値を示すか否か、またその血漿中 Cu 濃度と血清中 DAO 活性値の関係を調査した。その結果、子ウシの下痢では血漿中 Cu 濃度が欠乏値の基準である $0.50 \mu\text{g/ml}$ 未満を示すことはなく、血清中 DAO 活性値との相関もなかったため、子ウシの下痢において血清中 DAO 活性値は血漿中 Cu 濃度の影響を考慮する必要が無いことを明らかにした。

第 3 章では、下痢症治療における抗菌薬の代替療法の有効性を従前の主観的指標（治療日数、治癒率および糞便スコア）に加えて血清中 DAO 活性値を客観的指標として検証した。その結果、抗菌薬の代替療法であるプロバイオティクス療法の有効性は主観的指標では過去の報告と同様に抗菌薬療法に対して優位性を示すことができなかつたが、血清中 DAO 活性値を客観的指標として加えたことでプロバイオティクス療法の抗菌薬代替療法としての優位性を明確に示すことができた。

本研究は、腸絨毛の損傷や機能低下を反映するバイオマーカーとして血液中 DAO 活性値がヒトと同様に下痢症子ウシに対しても利用可能か否かを評価し、その結果をふまえて血液中 DAO 活性値を客観的な指標として下痢症に対する抗菌薬代替療法の評価が可能か否か検証したものである。その結果、これまで糞便性状や全身状態などの主観的指標でしか評価できなかった子ウシの下痢症治療の効果判定を、血液中 DAO 活性値を客観的指標として加えることで明確な優位性を示すことが可能となった。すなわち本研究の成果は子ウシ下痢症に対する新たな代替療法および治療薬の開発などを可能とするため、畜産業界への貢献は極めて高い。今後、プロバイオティクス以外の様々な代替療法について従前の臨床所見といった主観的評価に腸粘膜の状態と密接な関係のある血液中 DAO 活性値を客観的指標として加えることでその有用性を科学的に証明することができれば、子ウシ下痢症の治療のみならず畜産界全体において抗菌薬の使用量削減に寄与するであろう。

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、「食の安全・安心」および薬剤耐性菌対策の観点から求められている子ウシ下痢症に対する抗菌薬代替療法について、従前から行われている主観的指標に加え血液中ジアミンオキシダーゼ(DAO)活性値を客観的指標として用いることで抗菌薬代替療法の評価が可能か否かを検討したものである。学位論文は3章構成となっている。

第1章では、子ウシを用いて下痢により血清DAO活性値が低下するか否か、また重症度と関連があるか否かを調査した。その結果、下痢症子ウシの血清DAO活性値は 71.9 ± 16.0 IU/mlと健常子ウシの 170.2 ± 78.8 IU/mlと比較して有意に低値を示し($p < 0.01$)カットオフ値 < 107.23 IU/mlのとき感度84.6%および特異度100.0%と優れた診断能を有することを明らかにした。また、子ウシ下痢症の重症度を糞便性状および血液pHに基づいて分類したところ、血漿DAO活性値と下痢の重症度との間に有意な相関が認められた。したがって、血液中DAO活性値はウシにおいてもヒトと同様に下痢の重症度、おそらく腸粘膜の障害の程度を反映していることを明らかにした。

第2章では黒毛和種健常子ウシを用いて血清DAO活性値に影響を及ぼす可能性がある血漿Cu濃度と出生後の日齢変化との関係を調査した。その結果、日齢変化に伴う血漿Cu濃度と血清DAO活性値に関連性は認められず、どちらも7日齢以降で安定して推移することを確認した。また、低Cu血症で血液中DAO活性値が低下する可能性については、(1)子ウシの下痢では血漿Cu濃度が欠乏値の基準である $0.50 \mu\text{g/ml}$ 未満を示すことはない、(2)血清DAO活性値と血漿Cu濃度との間に有意な相関がなかったことからこれらを考慮する必要が無いことを明らかにした。

第3章では、下痢症治療における抗菌薬の代替療法の有効性を従前の主観的指標(治療日数、治癒率および糞便スコア)に加えて血清DAO活性値を客観的指標として検証した。その結果、抗菌薬の代替療法であるプロバイオティクス療法の有効性は主観的指標では過去の報告と同様に抗菌薬療法に対して優位性を示すことができなかったが、血清DAO活性値を客観的指標として加えたことでプロバイオティクス療法の優位性を明確に示すことができた。以上の結果から、今後、プロバイオティクス以外の様々な代替療法について血液中DAO活性値を指標として評価が行われることで、臨床現場における新たな子ウシ下痢症の治療法が確立され、抗菌薬の投与量や使用量を削減させることに寄与することになるであろう。

研究の背景と目的

本研究は、「食の安全・安心」および薬剤耐性菌対策の観点から求められている子ウシ下痢症に対する抗菌薬代替療法について、従前から行われている主観的指標に加え血液中

DAO 活性値を客観的指標として用いることで抗菌薬代替療法の評価が可能か否か検討した。本研究で着目した血液中 DAO 活性値は、ヒトにおいてさまざまな腸疾患のバイオマーカーとして利用されている。しかし、子ウシにおいてもヒトと同様に血液中 DAO 活性値が腸粘膜の状態を反映する客観的指標として利用可能か否かは明らかではない。そこで本研究では、はじめに(1)下痢症子ウシにおける血液中 DAO 活性値の低下と重症度との関係性を評価し、(2)健常子ウシの日齢が血液中 DAO 活性値に与える影響と下痢症が血液中 DAO 活性値および血液中銅(Cu)濃度に与える影響を調査した。その結果、血液中 DAO 活性値がウシにおいても腸粘膜の状態を反映する客観的な指標として利用可能であることを明らかにした。次に、(3)血液中 DAO 活性値を客観的指標として下痢症に対する抗菌薬代替療法の客観的評価が行えるか否かを市販のプロバイオティクス製剤を用いて検討した。

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. 血液中 DAO 活性値は子ウシの下痢症において腸絨毛の状態を反映し低下する。
2. 子ウシの下痢症における血液中 DAO 活性値は、血液 pH および糞便性状を基に分類した重症度、おそらく腸粘膜の障害の程度を反映して低下する。
3. 血液中 DAO 活性値は、7 日齢以降の子ウシにおいて血液中 Cu 濃度の影響を考慮せずに利用可能である。
4. 急性下痢における血清 DAO 活性値は血漿 Cu 濃度の影響を考慮することなく、腸粘膜の状態を評価するバイオマーカーとして利用可能である[30]。
5. 血液中 DAO 活性値はこれまで困難であった抗生物質代替療法の有効性評価を可能にすることができる。

研究の評価

本研究は、腸絨毛の損傷や機能低下を反映するバイオマーカーとして血液中 DAO 活性値がヒトと同様に下痢症子ウシに対しても利用可能か否かを評価し、その結果をふまえて血液中 DAO 活性値を客観的な指標として下痢症に対する抗菌薬代替療法の評価が可能か否か検証したものである。一連の研究成果を総括すると、血液中 DAO 活性値を客観的指標として加えることで、これまで効果が曖昧であった子ウシ下痢症に対する新たな代替療法および治療薬の開発に必要な有用性評価を可能とするため、畜産業界への貢献は極めて高い。これらの成果はすぐにで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 1 章】 *Res. Vet. Sci.* 126: 127-130. 2019.
2. 【第 2 章】 *J. Vet. Med. Sci.* 82: 1488-1491. 2020.
3. 【第 3 章】 *Jpn. J. Vet. Res.* 67: 305-311. 2019.

その他の論文

英語：共著 2 (J Vet Med Sci 計 2 編)

以上のことから、福田 達也 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3名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2021年 2月 9日

審査委員

主査 教授 鈴木 一由

副査 教授 樋口 豪紀

副査 教授 岩野 英知