

發育不良を示した子牛の血液生化学的所見と肝機能検査値

上村 俊一・後藤久仁子・浜名 克己

(家畜臨床繁殖学研究室)

平成8年8月10日受理

Blood Biochemistry Profiles and Liver Function in Calves with Retarded Growth

Shunichi KAMIMURA, Kuniko GOTO and Katsumi HAMANA

(Laboratory of Veterinary Reproduction)

緒 言

牛の異常産の発生では、外見的に高度の異常、奇形を示したり、障害があった場合、早期に淘汰される。しかし、一見、虚弱で元気がない程度ではそのまま飼育され、最終的に發育不良で淘汰され、畜産農家の経営に損失を与えている。成長期の異常は、本来後天的なものであるが、先天的に虚弱なため疾病に罹患しやすくなり、治療に反応せず、慢性に経過して發育不良になることがある^{10, 14)}。これらの子牛では、出生後しばらくは正常で、生後2-3週齢で白痢をはじめとする新生子下痢や肺炎に罹患したり、3-4カ月齢の離乳時から發育が徐々に停滞し、子牛市場への出荷時期になっても標準体重に達せず、出荷できない症例が少なくない^{3, 4, 10)}。このため、農家では出荷までの飼養管理に要する経費のみでなく、生き物を処分するという精神的打撃も大きく、早期における發育不良子牛の適切な診断法が求められている。近年、成牛では生産病を含む代謝性疾患の予防のため、牛群毎の血液生化学的所見を調査する代謝プロファイルテストが行われている^{5, 12)}。また、血液生化学的検査と合わせてBSP色素排泄能試験を実施することで、肝機能全般を評価する試みも行われている^{6, 7)}。今回、特に顕著な理由がなく發育不良となった子牛の臨床血液生化学的所見を調査するとともに、体内代謝の中心である肝臓機能について色素負荷試験を行い、發育不良子牛の代謝プロファイルを検討した。

材料および方法

供試牛として、1994年から1995年にかけて鹿児島県の繁殖農家で生産された黒毛和種子牛のうち、特に形態的な異常がなく發育不良となった子牛112頭、骨折と肺炎で淘汰された4頭および閉塞性黄疸と診断された1頭の計117頭を用いた。

検査項目として、生前に臨床検査を行うとともに体重を測定し、日本飼養標準の發育曲線¹¹⁾を基準とした体重充足率を求めた。さらに、頸静脈より採血し、血液生化学的検査を行った。血液の検査項目は、蛋白成分として血清総蛋白質(TP)、アルブミン(ALB)、A/G、尿素窒素(BUN)、脂質成分としてトリグリセライド(TG)、総コレステロール(T-Chol)、遊離型コレステロール(F-Chol)、コレステロール/エステル比(E/F)、遊離脂肪酸(NEFA)、リン脂質(PL)、肝機能検査として総ビリルビン(T-Bil)、グルタミンオキサロ酢酸トランスアミラーゼ(GOT)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(γ -GTP)、無機成分としてカルシウム(Ca)、無機リン(IP)、マグネシウム(Mg)を血液自動分析装置(20R, 東芝, 東京)で測定した。また、脂溶性ビタミンとしてビタミンA(レチノール)と β カロチンを高速液体クロマトグラフ(L-6000, 日立, 東京)により測定した。

發育の著しい遅延を認めたと子牛12頭(体重充足率 $37.9 \pm 11.1\%$; 平均 \pm 標準偏差)と骨折の3頭、肺炎の1頭並びに閉塞性黄疸の1頭の計17頭につき、Brumosulphalein(BSP)色素排泄能試験による肝臓機能検査を行った。BSP排泄試験は既報⁶⁾に従

い、体重あたり BSP 2 mg/kg を右側頸静脈より投与し、投与前、投与後 5, 10, 30 分後に左側頸静脈より採血し、BSP 濃度を測定した。そして、BSP 濃度の半減時間 ($T_{1/2}$) およびクリアランス値 (K) を求め、また 30 分血中停滞率を求めた。

その後、剖検し、肉眼的観察を行った。肝臓については組織を採取し、組織中の脂溶性ビタミン濃度の測定を行うとともに、一部は固定染色し、病理組織学的検査を行った。組織は 10% リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、包埋し、2 μ m で薄切した。組織標本は全例 HE 染色および PAS 染色を施し、一部凍結切片を作製して Sudan III 染色を行った。

発育不良の 112 頭は、通常離乳の目安となる生後 90 日齢を境に 2 群に分け、それぞれについて下痢症の経過がまったく認められなかったもの、軽度の下痢症並びに重度で慢性化している 3 群に分けて検討した。得られた結果は、下痢症の既往歴で分けた各群の平均値について Student's *t*-test により推計学的に処理した。

結 果

1. 生前における臨床検査

調査した発育不良子牛 112 頭の性別は雄 56 頭、雌 56 頭で、体重充足率はそれぞれ $55.3 \pm 23.9\%$ 、 $64.6 \pm 25.3\%$ で雄が有意に低かった ($P < 0.05$)。一方、

下痢症の既往歴で体重充足率を比較したところ、90 日齢未満では既往歴なし $78.8 \pm 25.9\%$ 、軽度 $65.7 \pm 14.0\%$ 、重度 $45.2 \pm 17.9\%$ で有意差があり ($P < 0.05$)、90 日齢以上ではそれぞれ $58.9 \pm 21.4\%$ 、 $40.8 \pm 12.0\%$ 、 $42.9 \pm 13.0\%$ で、なしは軽度 ($P < 0.05$) および重度 ($P < 0.01$) との間に有意差がみられた。

2. 血液生化学的所見

血液中ビタミン A 濃度の平均は $19.9 \pm 10.8 \mu\text{g}/\text{dl}$ で、うち 15 例は $7 \mu\text{g}/\text{dl}$ 以下の欠乏値¹⁾を示した。TG は $19.4 \pm 13.8 \text{mg}/\text{dl}$ とばらつきが大きく、T-Cho ($85.1 \pm 47.6 \text{mg}/\text{dl}$)、F-Cho ($18.4 \pm 11.0 \text{mg}/\text{dl}$) は正常値^{1, 5, 13)}と比べ低い傾向にあった。NEFA はばらつきが大きく ($381.5 \pm 257.9 \text{mg}/\text{dl}$)、TP は $5.54 \pm 0.98 \text{g}/\text{dl}$ と低く、GOT は $77.5 \pm 57.0 \text{IU}$ と高い傾向にあった。BUN はやや高く ($12.9 \pm 9.4 \text{mg}/\text{dl}$)、IP は $6.28 \pm 1.26 \text{mg}/\text{dl}$ と低い傾向にあった。測定値間の単純相関係数では、日齢と体重充足率の間に極めて高い相関関係があり (-0.523 , $P < 0.001$)、また日齢とビタミン A (0.359)、T-Bil (-0.361)、TP (0.338)、 γ -GTP (-0.319) ともそれぞれ高い相関関係が得られた ($P < 0.01$)。

下痢症の既往歴で比較した血液生化学的所見を Table 1-a, b に示す。90 日齢未満では NEFA は軽度の下痢症で既往歴なしより高く ($P < 0.05$)、ま

Table 1-a. Serum biochemical values characterized by the experience of diarrhea in calves with retarded growth (less than 90 days of age)

	Non diarrhea (42hd)		Mild diarrhea (5hd)		Severe diarrhea (8hd)	
	mean	sd	mean	sd	mean	sd
Vit. A ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	16.8	11.2	16.3	10.3	18.2	14.1
TP (g/dl)	5.07	0.95	5.24	0.76	5.21	0.6
Albumin (g/dl)	2.85 ^b	0.45	3.3 ^b	0.45	3.05	0.31
A/G	1.42	0.44	1.74	0.28	1.48	0.32
TG (mg/dl)	23.2	4.8	19.5	7	25.4	25
T-Cho (mg/dl)	71.4	38.6	71.4	45.9	61.9	35.5
F-Cho (mg/dl)	16.1	9.4	12.9	7.2	12.9	7.2
E/F	3.51	0.71	3.82	0.31	3.83	0.59
NEFA (mg/dl)	359.7 ^a	193	612 ^a	463.9	328.8	154.9
PL (mg/dl)	80.5	42.3	80.2	54.6	80.3	48.9
T-Bil (mg/dl)	0.57	0.5	0.31	0.1	0.29	0.14
GOT (IU)	67.7	64.3	70.6	16.1	90.6	49
γ -GTP (U/l)	14.9	13.9	20	11.9	26.1	14.7
BUN (mg/dl)	12.9	10.8	9.7	4.6	19.8	21
Mg (mg/dl)	1.92	0.44	2	0.45	1.71	0.17
IP (mg/dl)	6.07	1.02	6.13	2	6.2	1.1
Ca (mg/dl)	9.94	1.21	10.11	0.48	9.2	1.09

Significant difference in the albumin and NEFA concentrations, a: $p < 0.05$, b: $p < 0.01$

Table 1-b. Serum biochemical values characterized by the experience of diarrhea in calves with retarded growth (more than 90 days of age)

	Non diarrhea (22hd)		Mild diarrhea (17hd)		Severe diarrhea (14hd)	
	mean	sd	mean	sd	mean	sd
Vit. A (μg/dl)	20.9	8.4	25.2	9.9	22.1	11.4
TP (g/dl)	5.97	0.61	6	1	5.46	0.9
Albumin (g/dl)	3.23	0.75	3.07	0.45	2.86	0.62
A/G	1.35	0.46	1.18	0.43	1.17	0.41
TG (mg/dl)	15	5.5	12.8	6.7	21	16.9
T-Cho (mg/dl)	118.1	38.2	91.8	41.4	77.7	55.9
F-Cho (mg/dl)	25	9	19.5	9.5	16.9	11.3
E/F	3.8	0.4	3.8	0.6	3.5	1.3
NEFA (mg/dl)	402.7	253	362.6	233.5	295.6	252.6
PL (mg/dl)	124.5	42.6	96.4	36.4	84.7	53.7
T-Bil (mg/dl)	0.21	0.01	0.26	0.12	0.31	0.28
GOT (IU)	81.8	60.7	80.5	31.6	95.5	77.5
γ-GTP (U/l)	14	5	16	16	19.6	27.8
BUN (mg/dl)	11.6	5.8	12.2	4.3	12.8	6.2
Mg (mg/dl)	1.99	0.35	1.96	0.39	1.95	0.34
IP (mg/dl)	6.77	1.23	6.11	1.36	6.36	1.45
Ca (mg/dl)	9.65	0.67	9.15	0.88	8.52	1.5

た、有意差は見られないものの T-Cho, F-Cho, T-Bil, γ-GTP で下痢症が重度であるほどその血中濃度が低下する傾向にあった。TP, ALB, A/G, NEFA, Mg は軽度の下痢症では高いが、重度では逆に低下する傾向が見られた。ビタミン A, TG, BUN は軽度では低下するが、重度では上昇する傾向が見られた。90日齢以上では下痢症が重度であるほど PL, Ca 濃度が有意に低下した (P<0.05)。また、有意差は見られないものの ALB, A/G, T-Cho, F-Cho, NEFA, Mg は下痢症が慢性化するほど血中濃度が低くなる傾向が見られた。また、逆に T-Bil, γ-GTP, BUN は高くなる傾向にあった。TP とビタミン A は、下痢症が軽度では高いが、重度の慢性群では低くなる傾向にあった。

3. BSP 色素負荷試験

測定した17頭では、T½が9.57±7.66分、30分停滞率が11.0±10.9%と上昇し、クリアランス値 (K) が0.092±0.018と低下していた。閉塞性黄疸と診断された子牛は30分停滞率が89.3%、入院9日目が62.3%と高く、治療により食欲が改善され、黄疸が減少した12日目の退院時には30.3%まで低下した。BSP の試験結果と血液中および肝臓中のビタミン濃度の相関関係では、特に有意差はないものの肝臓中ビタミン A と T½, 30分停滞率, K 値は相関係数が-0.314, -0.312, 0.362と高い傾向にあった (Table 2)。BSP 試験と血液検査値との相関関係では、特に TG とγ-GTP で有意な負の関係が得られた (P<0.01)。

Table 2. Simple correlation matrix between bromsulphalein test and vitamin A and β-carotene contents in the serum and liver tissue in calves with retarded growth

	T½	Retention	K	Serum Vit. A	Liver Vit. A	Serum β-carotene	Liver β-carotene
T½		0.779	-0.837	0.107	-0.314	-0.145	-0.172
30 min retention	a		-0.758	0.159	-0.312	-0.174	-0.226
K (clearance)	a	a		-0.118	0.362	0.031	0.162
Serum Vit. A					0.737	-0.196	0.062
Liver Vit. A	c	c	c	b		-0.146	0.104
Serum β-carotene							0.13
Liver β-carotene							

Significant differences in the correlation coefficients, a:p<0.001, b:p<0.01, c:p<0.05



Fig. 1. Venous congestion and swelling hepatic cells in the liver tissue. (H.E. ×400)

4. 病理組織学的検査

BSP 試験を実施した症例について、肝臓の病理組織学的検査を行った。30分停滞率が18.5%と高かった症例では肝細胞板の軽度な不整、微小出血の散在、中心性に肝細胞の腫大、空胞変性等が見られた (Fig. 1)。しかし、30分停滞率が3.68%と正常な症例にも軽度の肝細胞の腫大、空胞変性が見られた。

考 察

正常発育を示す子牛の推定体重¹¹⁾に対する体重充足率は、下痢症の既往歴により有意な違いが認められ、今回の症例では下痢症が発育遅延の主要な要因となっていた。子牛下痢症の感受性の違いには多くの要因があるが^{2, 3, 9)}、黒毛和種子牛は種特異的に他のホルスタインやヘレフォード、アンガス種に比べ下痢症感受性が高い品種であるとされている^{3, 4)}。血液生化学的所見では、90日齢未満の子牛で下痢症の慢性化に伴って T-Cho, F-Cho が減少していた。コレステロールは脂肪の消化吸収に関連する胆汁酸合成に関与することから¹³⁾、低コレステロール血症も下痢慢性化の誘因になると思われた。一方、90日齢以上の慢性下痢症では血清蛋白質成分、脂質成分が低下する傾向にあり、低栄養状態が推察された。

これには GOT, γ -GTP, T-Bil が下痢症の慢性化に伴い上昇する傾向にあり、肝機能不全による蛋白質合成能、脂肪合成能、脂肪貯蔵能の低下が推察された。また、A/G 比が慢性化に伴い減少していることから免疫能の低下も考えられた。Ca の減少は、IP 濃度も軽度に低下していることから、慢性下痢に伴う糞中への排泄量の増加、腸管粘膜での吸収不全並びに腎臓での再吸収不全が考えられた。

ビタミン A は生体の上皮組織を正常に保ち、免疫機能を維持するのに必須の物質である^{1, 8)}。子牛の血液中ビタミン A レチノールは 7 μ g/dl 以下が欠乏状態にあるとされ¹⁾、その欠乏症は気道、消化管、尿路などの感染症に対する抵抗力を減退させ、消化吸収障害を引き起こす。今回の症例では、剖検時にチュウザン病に特徴的な小脳形成不全や水無脳症を認めた症例は特になく、目の異常として毛様体炎 1 例、角膜潰瘍 1 例が見られたのみであった。一方、高度の虚弱、発育不良を示した牛群では血液中のビタミン A 濃度が低く、ビタミン A 欠乏による発育不全が疑われた。ビタミン A 欠乏の牛群では、血液中の TG, T-Cho, F-Cho, PL 濃度が低下するものの、他の血液成分に一定の傾向が見られなかった。このため肝臓機能の低下は軽度であり、腸粘膜から

の脂質の吸収能の低下、腸管内での消化不良、あるいは膵臓機能低下に関連した脂質代謝異常による低栄養^{1, 13)}が考えられた。

BSP 排泄能試験は、多くの肝機能検査法のなかでも定量性を持つ数少ない検査法として、家畜でも近年利用されるようになった^{6, 7)}。今回、閉塞性黄疸と診断された子牛では、臨床的に黄疸の消失に伴う形で30分血中停滞率や T_{1/2}が改善され、胆汁鬱滞による胆汁中への BSP 排泄障害が推察された。T_{1/2}が8.53分と延長した症例では肝臓中心性の鬱血と肝細胞の腫大が見られ、30分停滞率が4.20%と高い症例では肝細胞の壊死、周辺性の空胞変性が見られた。しかし、30分停滞率が18.5%と高いにもかかわらず病理組織では著変が認められない症例では、血液所見で TG が3.8mg/dl と低値を示したことから他の内分泌的な異常が推察された。

下痢症は發育遅延の主要な要因であり、特に90日齢以上で下痢症が慢性化し、顕著な發育遅延を示す子牛では軽度ながら脂肪肝の組織像を示し、血中 T-Bil, GOT, γ -GTP が上昇した。これらの結果から、著しい發育遅延の原因の1つとして、慢性の下痢症による低栄養状態を起因とした肝臓の脂肪化、それに伴う肝機能不全による蛋白質代謝異常、並びに脂質代謝異常が示唆された。

要 約

1994年から1995年に鹿児島県の農家で生産された子牛のうち、特に形態的な異常がなく發育不良として淘汰された子牛112頭について、その血液生化学的所見を調査した。農家で離乳が行われる90日齢を境に牛群を分け、下痢症の既往歴の有無（重度、軽度、なし）で比較したところ、90日齢未満では重度群で NEFA が有意に減少し (P<0.05)、T-Cho, F-Cho, T-Bil, γ -GTP が低値を示す傾向が見られた。TP, Alb, A/G 比, Mg は軽度群で高いが、重度群で低下する傾向が見られた。ビタミン A, TG, BUN は軽度群で低下するが、重度群では上昇する傾向が見られた。90日齢以上では重度群で PL と Ca が有意に減少し (P<0.05)、Alb, A/G 比, T-Cho, F-Cho, NEFA, Mg が低値を、T-Bil, γ -GTP, BUN は高値を示す傾向にあった。TP とビタミン A は軽度群で高値を示すが、重度群では低値を示した。BSP 色素排泄能試験と肝臓の生検では、半減時間が軽度に延長する症例の肝細胞の壊死、空胞変性が認められた。また、血清 TG および γ -

GTP と BSP 試験結果には高い負の相関が得られた。これらの結果から、著しい發育遅延の原因の1つとして、慢性の下痢症による低栄養状態を起因とした肝臓の脂肪化、それに伴う肝機能不全による蛋白質代謝異常、並びに脂質代謝異常が示唆された。

謝辞 血液自動分析装置による血液生化学的測定を担当していただいた北海道立根釧農業試験場 扇 勉 研究員に謝意を表するとともに、本論文の校閲を頂いた鹿児島大学農学部阿久沢正夫教授に深謝する。

文 献

- 1) Benjamin, M.M.: 獣医臨床病理, 友田 勇監訳. p.5-431, 学窓社, 東京 (1981)
- 2) Corah, L.R.: Effect of pre-calving energy, protein, and trace minerals on calf vigor and survival. *Agri-Practice*, **15**, 30-32 (1994)
- 3) Inokuma, H. and Okamoto, T.: Susceptibilities to diarrhea in Japanese black calves in beef herd. *Anim. Sci. Technol. (Jpn.)*, **66**, 244-246 (1995)
- 4) Ishikawa, H., Serizawa, A., Ahiko, K., Asai, Y. and Seike, N.: Changes in the chemical composition of clostrum from Japanese black cows. *Anim. Sci. Technol. (Jpn.)*, **63**, 1153-1156 (1992)
- 5) Johnson, J.L., Campbell, J. B. and Knott, M. J.: Bovine serum chemistry profiles in Nebraska Sandhills Cattle. *Agri-Practice*, **13**, 5-11 (1992)
- 6) 上村俊一・八田忠雄・扇 勉: 乳牛における BSP 色素排泄機能と分娩後の疾病、繁殖成績の関係. *日獣会誌*, **41**, 316-320 (1988)
- 7) 川村清市・酒井喜義・渡辺尚子・渡辺義正・伊藤直之・樋口誠一: 正常牛ならびに四塩化炭素投与障害牛における BSP 試験について. *日獣会誌*, **42**, 763-769 (1989)
- 8) 元井霞子: 生理・生化学的正常値. 清水高正・稲葉右二・小沼 操・金川弘司・藤永 徹・本好茂一編. *牛病学*, 第2版, p. 63-66, 近代出版, 東京 (1988)
- 9) Murakami, H., Hirano, N., Inoue, A., Tsuchiya, K., Chitose, K., Ono, K., Naito, Y. and Yanagihara, T.: Prevention of calf diarrhea with an immunoglobulin diet in beef herds. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **48**, 879-885 (1985)
- 10) 中尾継幸・吉川若枝・川本真知子・上村俊一・浜名克己: 虚弱および發育遅延を示した先天異常子牛の血中サイロキシン濃度. *日獣会誌*, **45**, 757-760 (1992)
- 11) 農林水産省農林水産技術会議事務局編: 日本飼養標準, 肉用牛, 1987年版, p. 1-153, 中央畜産会, 東京 (1995)
- 12) 扇 勉・前田善夫・伊藤季春・梶野清二・岸 昊司・松田信二・安里 章・臼井 章: 北海道における乳牛群の代謝プロファイルテスト. *日獣会誌*, **42**, 306-311 (1989)
- 13) 佐藤 博: 乳牛における血液成分とその栄養生理的意義. *日畜会報*, **57**, 959-970 (1986)
- 14) Smyth, J.A., Goodall, E.A., McCoy, M.A. and Ellis, W.A.: Stillbirth/perinatal weak calf syndrome: a study of calves with an abnormal thyroid gland. *Vet. Rec.*, **139**, 11-16 (1996)

Summary

In the 112 calves, discharged as the growth-retarded ones, without any definite outward abnormalities, determinations were made on the respective blood biochemical profiles. Making "the age of 90 days old" as the criterion, the calves were divided into two categories. And then, based on the suffering experiences of calf diarrhea ("severely", "mildly" and "negligibly" suffered individuals), the calves were divided into three groups, and the blood profiles were compared among these three. In the category less than 90 days old, the calves suffered from severe diarrhea showed not only significantly decreased NEFA concentration ($p < 0.05$), but also considerably decreased T-Cho, F-Cho, T-Bil and γ -GTP. Concentrations of TP, Alb, A/G ratio and Mg were increased in the calves suffered from mild diarrhea, while those of TG and BUN were increased in the calves suffered from severe diarrhea. In the category of more than 90 days old, the calves suffered from severe diarrhea showed significantly decreased concentrations of PL and Ca ($p < 0.05$), and tended to show decreased Alb, A/G, T-Cho, F-Cho, NEFA, Mg, TP and vitamin A; and increased T-Bil, γ -GTP and BUN, respectively. The BSP retention percentages at 30 minutes were larger in the calves in which hepatic necrosis and vacuole degeneration were apparent in the liver tissue. There were significantly negative correlation between the concentrations of TG and γ -GTP in case of the BSP function test. The results indicated that the primal factor for the retarded growth in calves might be the degeneration derived from the malnutrition caused through the chronic diarrhea, together with the accompanied metabolic disorder of protein and lipid.