

第 26 回 日本獣医生命科学大学学術交流会 (平成 22 年 11 月 13 日)

一 般 演 題

【獣医 基礎・応用系】

1. 日獣大オリジナルのトランスジェニックマウス作製記録：GFP マウスの系統化と特性解析
○丸山基世¹・五十嵐遥¹・藤澤正彦¹・吉本真衣¹・高橋香織¹・野中菜々美¹・平井 翠¹・蛭田那津子¹・中垣和英²・羽山伸一²・福田孝一³・三好一郎⁴・田中 実⁵・袴田陽二¹) (1日獣大・獣医保健看護学科・2日獣大・獣医学科・3防衛医科大学医学部・4名古屋市立大学医学部・5日獣大・動物科学科)
2. ニホンザルの父系解析に有効な Y 染色体特異的 DNA 多型解析技術の開発
○市東正幸¹・河上 剛¹・杉山 将¹・鄭 英和¹・宇田川智野¹・名切幸枝²・羽山伸一³・土田修一⁴・近江俊徳¹ (1日獣大・獣医保健看護学基礎部門・2LLC まかく堂・3日獣大・2野生動物教育研究機構・4日獣大・比較細胞生物学教室)
3. 生物モニタリングの新技术—鉛汚染を把握するための新たな指標とその有用性の検証
○奥富 幸¹・高野貴士²・山本昌美¹・竹本麻里子¹・梶ヶ谷博¹・湯本典夫¹・植田富貴子²・望月真理子¹ (1日獣大・保健看護・応用・2日獣大・公衆衛生)
4. 生物モニタリングの新技术—水銀汚染を把握するための新たな指標とその有用性の検証
○小峯朋美¹・森 誠²・貝塚千博¹・落合由嗣³・本藤 良³・植田富貴子³・望月真理子¹ (1日獣大・保健看護・応用・2静大・農学部・3日獣大・公衆衛生)
5. ブタ虹彩括約筋における高濃度 K⁺ 収縮の好氣的代謝への依存性について
○神田秀憲¹・加藤安紗美¹・金田剛治¹・余戸拓也²・田島 剛¹・浦川紀元¹・清水一政¹ (1日獣大・獣医学部・獣医薬理学教室・2獣医外科学教室)

【獣医 臨床系】

1. 無症状の心室肥大ネコにおける血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義の評価
○富永芳昇・宮川優一・戸田典子・竹村直行 (日獣大・獣医高度医療学教室)
2. 尿中への精液混入がイヌの尿中タンパク・クレアチニン比に与える影響
○北村鮎美・宮川優一・竹村直行 (日獣大・獣医高度医療学教室)
3. 雄犬 3 頭への GnRH 抗原液 (Improvac) 投与後の精液性状、血中テストステロン濃度および精巣・前立腺の組織学的所見の変化
○近藤美菜香・小西裕子・八木智子・河上栄一 (日獣大・臨床繁殖学教室)
4. 犬の卵管灌流液中 Catalase と Superoxide dismutase 活性値および犬精子培養液へのそれら抗酸化酵素添加による精子運動性への影響
○横山麻菜・安達美帆・渡邊 謙・河上栄一 (日獣大・臨床繁殖学教室)
5. 猫の経表皮蒸散水分量 (TEWL) 測定時における被毛処理方法の検討
○高見秋奈・島田健一郎・赤荻晴美・渋谷葉菜・高崎真理子・皆上大吾・石岡克己・左向敏紀, 百田豊 (日獣大・獣医保健看護学科・臨床部門)

【応用生命科学系】

1. 乳用5大品種からの性判別胚作出の試み
○加藤みなみ・永山亮子・岸野友香・長田雅宏・安藤孝雄・岡田幸之助・牛島 仁・吉村 格（日獣大・富士アニマルファーム・動物科学科動物生殖学教室）
2. 経日的な細胞分裂回数の推移に基づいた牛体外培養条件の評価
○市毛優美・疋田優二・熊谷明日香・岡田幸之助・牛島 仁（日獣大・応用生命科学部・動物科学科・動物生殖学教室）
3. ハタネズミ属精子の凍結保存：生存性、精子DNA損傷レベルおよび卵活性化能の評価
○岡田幸之助・岡野桃子・益田幸枝・佐藤聡季・若井葉子・松田ゆかり，牛島 仁（日獣大・応用生命科学部動物科学科 動物生殖学教室）
4. ハエ類の誘引・捕獲数に及ぼす色彩の影響
○長田雅宏¹・村上昌康²・森口彦弥²・水谷 尚¹・吉村 格¹（¹日獣大・富士アニマルファーム・²大協技研工業株式会社）

教 育 講 演

1. 「わが国における動物看護専門職の現状と課題」
松原孝子（日獣大・保健看護 臨床部門）
2. 「小動物の内視鏡検査の基本編～スコープの構造と操作の基本～」
石岡克己（日獣大・保健看護 臨床部門）
3. 「腸内の細菌～プロバイオティクスの整腸作用～」
藤澤倫彦（日獣大・食品衛生学教室）
4. 「消化管におけるグレリン受容体ファミリーの遺伝子解析」
山本一郎（日獣大・獣医生理化学教室）

一般講演

1. 日獣大オリジナルのトランスジェニックマウス作製記録： GFP マウスの系統化と特性解析

○丸山基世¹・五十嵐遥¹・藤澤正彦¹・吉本真衣¹・高橋香織¹・
野中菜々美¹・平井 翠¹・蛭田那津子¹・中垣和英²・羽山伸一²・
福田孝一³・三好一郎⁴・田中 実⁵・袴田陽二¹

(¹日獣大・獣医保健看護学科,²日獣大・獣医学科,³防衛医科大学医学部,
⁴名古屋市立大学医学部,⁵日獣大・動物科学科)

【背景と目的】生体における遺伝子の機能解析のための研究ツールとして、受精卵への遺伝子導入技術により作製されたトランスジェニック動物が広く利用されている。しかし、その作製には熟練した技術と高額な機器が必要なため、作製は一般に普及していない。今回、日獣大のオリジナルのトランスジェニックマウスの作製を目指して、GFP トランスジェニックマウス（以下、GFP マウスという）の作製を試みた。

【材料と方法】定法に従って、3週齢のBDF1雌マウスをPMSGおよびhCGを投与し、12週BDF1雄マウスと交配させ、受精卵を得た。導入遺伝子には、全身性にGFP発現が期待できるように、CAGプロモーターの下流にEGFPを連結した遺伝子を構築した。ライカ社製マイクロマニピュレーターを用いて受精卵の前核に遺伝子を注入し、2細胞期胚まで培養発育した卵を偽妊娠雌マウスの卵管膨大部に移植した。出産した新生子を蛍光実体顕微鏡で観察し、GFPマウスの有無を確認した。GFPマウスを正常BDF1マウスと交配してF1個体の作出を行った。F1個体の中から雌雄GFPマウスを選抜してF2個体を作成し、real-time PCRにより各個体の遺伝子型を判定し、系統化

を図った。GFPマウスF1個体を全身解剖し、各臓器におけるGFPの発現プロファイルを作製した。

【結果】250個の受精卵にインジェクションし、230個が2細胞期胚まで発育し、そのすべてを移植した。25匹の新生子が生まれ、1匹にGFPの発現個体が確認された。GFP個体を正常マウスと交配し、系統化を行った。51番目に生まれたF1個体にGFP発現個体が見つかり、後代へのGFP遺伝子の伝達を確認された。GFP陽性F1個体同士の交配からF2世代を作成した。F1個体の各臓器におけるGFPの発現は、膵臓、骨格筋、皮膚で特に強かった。末梢白血球のFACS解析によると、GFP陽性率は約88%と高率であった。

【考察】今回、日獣大初のオリジナルなトランスジェニックマウスの作製に成功した。今回作製に成功したGFPマウスの特性は、従来報告されているGFPマウスとほぼ同様の結果となった。GFPは、その発現を可視化するためには特別な基質や酵素を必要とせず、特定の波長の励起光を照射するのみで、その発現を確認ができる。本GFPマウスも移植細胞の遊走あるいは分化増殖を追跡するよいモデルとなることが期待される。

2. ニホンザルの父系解析に有効な Y 染色体 特異的 DNA 多型解析技術の開発

○市東正幸¹・河上 剛¹・杉山 将¹・鄭 英和¹・宇田川智野¹・
名切幸枝²・羽山伸一³・土田修一⁴・近江俊徳¹

(¹日獣大・獣医保健看護学基礎部門,²LLC まかく堂,
³日獣大・野生動物教育研究機構,⁴日獣大・比較細胞生物学教室)

【目的】我々は、ニホンザルによる農業被害対策の一助となるべく、ニホンザルの集団遺伝学的背景の解明を目指して

いる。一般にニホンザルにおける遺伝的モニタリングは母系遺伝するmtDNA調節領域の多型解析が行われている。

しかし集団の遺伝子構成を明らかにするには父系の解析も必須と考えられているが現在のところ、父系解析に応用可能な DNA 多型マーカーの報告はあまりない。そこで今回、1) ニホンザルゲノムバンクの構築 2) Y 染色体特異的 DNA 多型解析技術の開発を試みたので報告する。

【材料および方法】ニホンザル検体は、本学野生動物教育研究機構と福島市および新潟県農業協同組合との研究協力協定に基づき収集された標本を用いた。DNA は当教室にて筋肉または肝臓より常法により抽出した。Y 染色体特異的 DNA 多型解析マーカーの探索はヒト DYS 座位 80 種類のプライマーを準備し雌雄各 5 検体で PCR 増幅を行い電気泳動法により雄特異的座位を同定した。雄特異的座位で増幅された PCR 産物は、ダイレクトシーケンス法により構造解析および多型性解析を実施した。

【結果および考察】1) ニホンザルゲノムバンクの構築：平成 22 年 9 月現在福島市のニホンザル由来のゲノム DNA 290 個体を収集した。2) Y 染色体特異的 DNA 多型解析

マーカー探索：ニホンザルゲノム DNA を用い 80 種類のヒト DYS 座位の増幅を試みた結果、雄特異的バンドが増幅された 5 座位を同定した。次に群れの異なる雄 21 例で雄特異的 5 座位の塩基配列を解析したところ、すべて STR 配列を包含しかつヒトの塩基配列と高い相同性を示し、さらに 2 座位については多型が見出された。この 2 つの Y-STR 座位の対立遺伝子数は両遺伝子座とも 4 種類で、2 座位で構成されるハプロタイプ数は 7 種類であった。ハプロタイプ多様度は 0.835 と高い多様性を示した。以上、今回ニホンザルに有効な Y-STR 2 座位を同定し、その応用により調査集団に Y 染色体多型が存在する事を明らかとした。今後、新規遺伝子座の同定および未解析個体のタイピングを進めニホンザル集団の形成・維持・分裂過程を考察したい。なお本研究の一部は、2008 年度住友環境助成研究および 2009 年度文部科学省研究補助金（研究課題番号 21590748）の助成を得て行った。

3. 生物モニタリングの新手法—鉛汚染を把握するための新たな指標とその有用性の検証

○奥富 幸¹・高野貴士²・山本昌美¹・竹本麻里子¹・梶ヶ谷博¹・
湯本典夫¹・植田富貴子²・望月眞理子¹
(¹日獣大・保健看護・応用,²日獣大・公衆衛生)

【目的】野生動物における有害汚染物質の汚染状況を調査し、ヒトへのリスク評価を行う生物モニタリングの研究は、獣医公衆衛生学における重要な課題の一つである。しかし、野生動物を用いた研究においては、対象とした動物の年齢、性、詳細な食性や生息する環境の汚染状況など、疫学的な解析をする上で重要と思われる様々な情報が欠如したことが多い。従って、実験動物を用いた研究とは異なり、対照を設定できない状況にある。この問題点を解決するために我々は、正常な動物の代謝を示す指標をカドミウム (Cd) において作成し、現在では、これを用いて様々な報告をおこなうとともに、鉛 (Pb) に関しても同様の指標を作成するに至った。本研究では最初に、望月らが開発した Pb の指標に例数を加え、詳細に検討した。次いで、実験下でマウスに Pb を投与し、その成績を Pb の指標と比較し、この指標の有用性を検討するとともに、病理組織学的解析を行った。

【材料と方法】既に報告されている 41 文献より、合計 98 例の動物の腎臓と肝臓中 Pb 含量の平均 (一例のものも含む) を引用して用いた。この他、比較のために汚染域に棲息あ

るいは実験下で Pb を投与された動物の成績を引用して用いた。他方、合計 20 例の ICR 系の雄マウスに、酢酸鉛 (200, 2000, 20000, 40000 ppm) を腹腔内投与 (0.1 ml/週) し、最長 4 週間まで飼育した。実験終了後、臓器を摘出し、常法に従って前処理をおこなった。一部の試料に関しては、ホルマリンで固定後、パラフィン切片を作成し HE 染色をおこなった。

【結果と考察】論文より引用した腎臓と肝臓の含量を対数変換後、有意な回帰直線が得られたが、等確率楕円法により棄却検定を行ったところ 9 例が外れ値として棄却された (棄却後の回帰直線 ; $\log (Y) = 0.9721 \times \log (X) - 0.0828$, $R^2 = 0.8271$, $P < 0.01$)。得られた指標に、Pb に汚染あるいは Pb を投与された動物の成績を挿入したところ指標から外れる傾向が得られた。従って、この指標は対象動物の Pb 汚染の状況を把握するのに有用であることが示唆された。現在、マウスの腎臓と肝臓中 Pb 含量の測定およびその病理解析を行っているところである。

4. 生物モニタリングの新技术—水銀汚染を把握するための新たな指標とその有用性の検証

○小峯朋美¹・森 誠²・貝塚千博¹・落合由嗣³・本藤 良³・
植田富貴子³・望月眞理子¹・

(¹日獣大・保健看護・応用,²静大・農学部,³日獣大・公衆衛生)

【目的】最近、様々な方面で、野生動物体内における環境汚染物質の蓄積量を調査することで、その棲息域における当該汚染物質の汚染を把握しようとする試みが行われている。しかし、野生動物では、疫学的情報が欠損していることが多いことから、得られた成績を有効に活用できない場合がある。例えば、加齢とともに増加するカドミウム(Cd)、ニッケルなどによる汚染状況を調べるためには、対象とした動物の年齢査定が必要であるが、野生動物では多くの場合、年齢の査定は困難である。これらの問題点に対処するため我々は、疫学的な欠損が存在した場合でも、対象とした動物の汚染状況を把握することを可能にする新たな指標をCdで開発した。この指標は、腎臓と肝臓のCd含量間から得られた回帰直線を、Cdに関して正常な代謝が保たれている状況であるとし、これから逸脱するものを汚染と考えるものである。これは、金属結合タンパクであるメタロチオネイン(MT;通常亜鉛(Zn)を結合した形で存在)の代謝を基礎とした考え方であり、鉛(Pb)についても類似した指標を確立することに成功した。従って本

研究では、CdおよびPbと同様にZnと置換してMTと結合する水銀(Hg)を取り上げ、指標の作成を検討した。

【材料と方法】既に報告されている文献より、動物の腎臓と肝臓中Hg含量の平均(n=40,一例のものも含む)を引用し対数変換して用いた。

【結果と考察】腎臓と肝臓のHg含量の間で、有意な回帰直線($R^2=0.905, P<0.01$)が得られた。次に、CdおよびPbの指標と合わせて、異なる棲息域を持つ動物の成績を比較した。結果、海棲哺乳類および海鳥のCd含量は、回帰直線上の高濃度領域で観察された。他方、海棲哺乳類のPb含量は、回帰直線上の低濃度領域で観察され、淡水魚の成績が比較的高濃度の領域で観察されている。以上のことから動物と元素の種類により、回帰直線上で分布する位置が異なる可能性が示唆された。現在、指標に用いる引用論文の数を増やすために各種論文の収集と解析をおこなっている。また、汚染域に棲息していた動物およびHgを実験下で投与された動物の成績を、指標と比較することで指標の有用性を検討している。

5. ブタ虹彩括約筋における高濃度K⁺収縮の好氣的代謝への依存性について

○神田秀憲¹・加藤安紗美¹・金田剛治¹・余戸拓也²・田島剛¹・
浦川紀元¹・清水一政¹

(¹日獣大・獣医学部 獣医薬理学教室,²日獣大・獣医外科学教室)

【目的】ブタ虹彩括約筋において高濃度K⁺誘発性収縮の好氣的代謝への依存性について他の平滑筋のそれと比較検討した。

【材料と方法】ブタ虹彩、膀胱およびウシ気管は屠畜場より入手した。栄養液は修正Tyrode液を使用し、高濃度K⁺は65mM KClを高浸透圧性にTyrode液に添加したものを使用した。張力実験は張力トランスジューサー(日本光電, TB-611T)を用いて等尺性に測定し、2ペン型記録計に記録した。酸素消費量はクラーク型酸素電極を用いて、生物学的モニター(model53, YSI)に接続して、その変化を

記録計で記録した。また、ホスホクレアチン(PCr)およびATP含量は各組織(湿重量約20mg)をホモジナイズし、過塩素酸を用いて抽出し、HPLCにより測定した。

【結果と考察】1)ブタの虹彩括約筋、膀胱およびウシ気管において高濃度K⁺はいずれの筋においても収縮張力および酸素消費量の増加を示したが、ウシ気管は、ブタ虹彩括約筋および膀胱に比べ、少ない酸素消費量の増加でより大きな収縮張力を発生した。2)ブタの虹彩括約筋、膀胱およびウシ気管の高濃度K⁺誘発性収縮は酸素通気を窒素通気に置換することによる低酸素状態によりいずれも抑制され

たが、その抑制はウシ気管で著しく小さかった。同様に好氣的代謝阻害剤である NaCN は今回実験に用いた3つの筋の高濃度 K⁺ 誘発性収縮をいずれも抑制したが、その抑制はウシ気管で著しく小さかった。3) NaCN (1 mM) はブタの虹彩括約筋、膀胱およびウシ気管平滑筋の高濃度 K⁺ による酸素消費量の増加をいずれも静止レベル以下まで抑制した。4) 高濃度 K⁺ 存在下において窒素通気および

NaCN はブタの虹彩括約筋、膀胱およびウシ気管の PCr 含量をいずれも抑制したが、その抑制の程度はウシ気管で小さかった。以上を要するに、ブタ虹彩括約筋における高濃度 K⁺ 誘発性収縮は気管平滑筋と異なり酸素消費量が高く、膀胱平滑筋と同様に好氣的代謝への依存性が高いことが示唆された。

【獣医臨床系】

1. 無症状の心室肥大ネコにおける血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義の評価

○富永芳昇・宮川優一・戸田典子・竹村直行
(日獣大・獣医高度医療学教室)

【背景および目的】

血漿中 N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) 濃度は、慢性心疾患に罹患しているイヌで上昇することが報告されている。しかし、ネコにおける血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義はあまり評価されていない。そこで、ネコにおいて無症状の段階での診断が困難である心室肥大に対する血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義を評価した。

【材料および方法】

供試動物として、本学医療センターおよび一般動物病院に来院した21頭の臨床的に健康なネコ（対照群）および67頭の無症状の心室肥大ネコ【拡張期心室中隔壁厚 (IVSd) および/または拡張期左室後壁厚 (LVPWd) >0.6 cm】（肥大群）を用いた。供試動物から採血し、EDTA 添加した後に、血漿を採取し-30℃にて冷凍保存した。血漿中 NT-proBNP 濃度の測定は IDEXX LABORATORIES 株式会社に依頼した。各群の血中 NT-proBNP 濃度を比較し、X線検査、心エコー検査を行ったネコに関しては、各

計測値と血漿中 NT-proBNP 濃度の相関関係も調査した。

【結果および考察】

対照群および肥大群の血漿中 NT-proBNP 濃度の中央値（範囲）は、それぞれ 24 (24-95) および 662 (24-2449) pmol/L と、肥大群は有意に高値を示した (p<0.001)。また血漿中 NT-proBNP 濃度は椎骨心臓スケール (p<0.001)、左房径/大動脈径比 (p<0.05)、IVSd (p<0.001) および LVPWd (p<0.001) と有意に相関した。血漿中 NT-proBNP 濃度による心室肥大の鑑別能を受信者動作特性曲線で評価したところ、感度および特異度はそれぞれ 88.7 および 100% で、カットオフ値は 95 pmol/L であった。

以上の結果から、無症状の心室肥大のネコでは血漿中 NT-proBNP 濃度は正常なネコより有意に高値を示し、さらに血漿中 NT-proBNP 濃度による無症状心室肥大の鑑別能は臨床応用に十分に耐えられると考えられた。すなわち、血漿中 NT-proBNP 濃度には、無症状の心室肥大のスクリーニング検査としての意義があると思われた。

2. 尿中への精液混入がイヌの尿中タンパク-クレアチニン比に与える影響

○北村鮎美・宮川優一・竹村直行
(日獣大・高度医療学教室)

【目的】

イヌおよびネコの慢性腎臓病は増加傾向にあり、その早期診断法の1つとして尿中タンパク-クレアチニン比 (UPC) が測定されている。しかし、UPC の変動要因は数

多く、その1つとして未去勢オスの尿サンプル中への精液混入が挙げられる。これは逆行性の射精や精子運動が原因と考えられており、膀胱穿刺で採取した尿中にも精子は認められる。しかし、精子または精液の尿中への混入が UPC

に与える影響は検討されていない。そこで本検討では精液を混入させた尿を作成し、種々の観察を行った。

【材料と方法】

尿サンプルは健康な雌のビーグル犬からカテーテル法により採取した。精液は健康な雄のビーグル犬から採取した。尿中の精液濃度が1, 2, 3, 4および5%になるよう、精液混入尿を作成し、各サンプルに関して尿試験紙法で尿中タンパクを評価し、尿沈渣中の精子数を測定し、そして尿中タンパク、アルブミンおよびクレアチニンを含む尿生化学検査を行った。これらの測定は本学動物医療センター検査室にて実施された。

【結果および考察】

尿試験紙法による尿中タンパクの評価では、精液を混入しなかった対照尿で陰性、精液原液で2+, 1~4%混入尿で±, そして5%で1+を示した。尿生化学検査では、尿中タンパク濃度およびUPCのみが精液濃度に依存して上昇した。このうち、UPCは精液濃度2%以上のサンプルで顕

性タンパク尿とされる0.5を超えた。尿沈渣中の精子数は精液濃度が高いほど増加する傾向が認められ、UPCがカットオフ値を超えた2%混入尿では7/HPFだった。

以上の結果から、尿中への精液混入はUPCを上昇させ、場合によっては顕性タンパク尿と誤診される可能性があることが明らかになった。尿沈渣中の精子数から精液の混入量を予想できることが期待されたが、実際には尿中に混入する精液の分画が明らかでないこと、精液中タンパク濃度に個体差がある可能性を否定できないこと、そして今回の検討では尿サンプル量および尿沈渣の作成手技が統一されていないといった問題から、現段階では沈渣中の精子数は明確な指標とはなりえないと考えられた。このいっぽうで、尿中アルブミン-クレアチニン比(UAC)は尿中への精液混入による影響を受けなかった。したがって、尿沈渣中に精子が認められた症例ではUACを用いて尿中タンパクを評価すべきだと考えられた。

3. 雄犬3頭へのGnRH抗原液(Improvac)投与後の精液性状、血中テストステロン濃度および精巣・前立腺の組織学的所見の変化

○近藤美菜香・小西裕子・八木智子・河上栄一
(日獣大・臨床繁殖学教室)

【目的】Improvacは、豚の外科的去勢の代替として開発された動物用医薬品である。本製剤は、血中のGnRHを免疫中和し、下垂体におけるLHとFSHの産生量を顕著に減少させて免疫学的去勢効果を示す。本実験目的は、GnRH抗原製剤(Improvac, ファイザー製薬社)の雄犬への注射投与による免疫学的去勢効果および前立腺肥大症、前立腺癌といった前立腺疾患などへの治療効果を検討する事にある。

【材料と方法】7歳~10歳の3頭(ビーグル2頭, 雑種1頭)に、薬剤(0.5ml)を、2週間間隔で5回皮下注射した。1回目投与4週間前と5回目最終投与後4週で、左右精巣と前立腺サイズの計測および精巣・前立腺バイオプシーを行い、採取した組織をブアン液で固定後、パラフィン包埋、薄切し、PAS・ヘマトキシリン染色を行った。用手法による精液採取および橈側皮静脈からの採血を、第1回投与前4週から2週間ごとに行い、第5回目投与後24週まで続した。採取した精液の総精液量、総精子数、精子活力および精子奇形率を調べた。また、血液サンプルのテストステロン濃度をEIAキットを用いて測定した。

【結果】Improvac投与開始後2週目から、全頭において総精液量・総精子数(Fig. 1)・精子活力における顕著な減少や精子奇形率の顕著な増加および血中テストステロン濃度の顕著な減少が認められた。投与終了後10週目から3頭中2頭で血中テストステロン濃度の上昇が見られ、高値

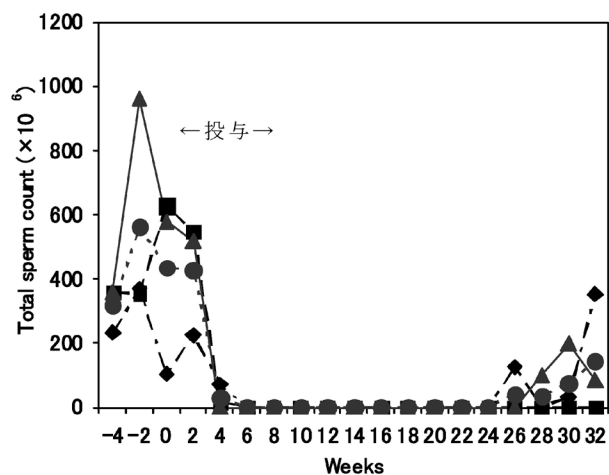


Fig. 1. 射精総精子数の変化

を示した 18 週目および 20 週目から精液の射出が認められるようになったが、精液性状は全般的に投与前より悪かった。投与後の精巣・前立腺サイズは顕著に縮小し、精巣では精子形成が認められず、精細管の直径の縮小および精細細胞の減少が認められた。

【考察】Improvac の反復投与後、雄犬における精巣およ

び前立腺の萎縮、血中テストステロン濃度の顕著な低下および精子形成の阻止効果が得られた。従って、雄犬への Improvac 投与により、免疫学的去勢効果および前立腺縮小効果が得られることが判明した。Improvac がもつ前立腺縮小効果は、前立腺肥大症や前立腺癌の治療に応用できる可能性が示唆された。

4. 犬の卵管灌流液中 Catalase と Superoxide dismutase 活性値 および犬精子培養液へのそれら抗酸化酵素添加による 精子運動性への影響

○横山麻菜・安達美帆，渡邊 謙・河上栄一
(日獣大・臨床繁殖学教室)

【目的】

哺乳動物の精液中に存在する活性酸素は高濃度に存在すると、精液性状を悪化させることが報告されている。Catalase, Superoxide dismutase (以下 SOD) 等の抗酸化酵素は、この酸化ストレスから精子を保護する働きがある。哺乳雄動物の生殖器内でもこれら酵素の活性が認められ、精子の生存性や精液性状に関与していると考えられている。本実験では、発情期および無発情期の犬の卵管灌流液における両抗酸化酵素の活性値を比較するとともに、両抗酸化酵素が培養精子に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

1~6 歳の雌犬 4 頭 (発情期 2 頭, 無発情期 2 頭) から摘出された卵管の灌流液中 Catalase および SOD 活性値を、kit を用いて測定した。また、当研究室で飼育している 1~2 歳の雄犬 7 頭を用いて精液の採取および性状検査を実施し、その後、MEM 培養液で精子濃度 10×10^6 /ml となるように調整し、Catalase 50U 添加群, SOD 50U 添加群, 両抗酸化酵素 50U 添加群および無添加の Control 群に分けて、

38°C, 5% CO₂ 条件下で培養を行った。培養開始後 6 時間および 24 時間で精子の活力 (%) および Hyperactivation (以下 HA) 誘起率 (%) を観察した。

【結果および考察】

発情期の犬の卵管灌流液中の Catalase および SOD 活性値の平均は、無発情期より有意に高値であった ($p < 0.01$)。また Catalase 活性値は、SOD より高値を示した。精子の培養実験において、Catalase および SOD 群の精子活力および HA 誘起率の平均は、培養開始後 6 時間, 24 時間ともに Control 群より有意に高値を示した ($p < 0.01$)。とくに、Catalase 添加群のそれらの値は、SOD 添加群と比較して高値を示した。従って、両抗酸化酵素は、精子活力の維持や HA 誘起率を高める効果があると考えられた。さらに、これらの効果は、SOD より Catalase の方が優れていることが判明した。以上の成績から、これら抗酸化酵素は、発情期の犬の生殖器内における精子の生存性の維持および精子の受精能獲得現象において重要であると推察された。

5. 猫の経表皮蒸散水分量 (TEWL) 測定時における被毛処理方法の検討

○高見秋奈・島田健一郎・赤荻晴美・渋谷葉菜・高崎真理子・
皆上大吾・石岡克己・左向敏紀・百田 豊
(日獣大・獣医保健看護学科 臨床部門)

【目的】経表皮蒸散水分量 (Transepidermal Water Loss ; TEWL) 測定は、非侵襲的に皮膚バリア機能を評価する方法として知られている。近年、犬における TEWL に関する

報告がなされ、獣医学領域においても皮膚バリア機能と皮膚疾患との関連が注目されている。しかし、猫の TEWL に関する研究報告は極めて少なく不明な点も多い。そこで

本研究では、猫の被毛処理方法が TEWL 値に影響を与えるかどうか調べる目的で以下の実験を行った。

【材料と方法】日本獣医生命科学大学看護臨床部門で飼育されている健常猫 4 頭を実験に用いた。気温 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $56 \pm 4\%$ に保たれた気流に影響されない測定環境に供試猫を 30 分以上前から馴化させた。鼠径部の皮膚を 3 箇所に分け、被毛処理方法（バリカン処理、毛刈り剪刃処理および未処理）の違いにより TEWL 値を比較した。TEWL 測定にはポータブル水分蒸散計（VapoMeter, Delfin Technologies Ltd 製）を使用し、測定値は同一部位を 5 回計測後、その平均値 \pm 標準偏差にて算出した（単位： $\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ ）。処理直後、1 時間後、3 時間後、6 時間後、12 時間後、24 時間後および 48 時間後に TEWL 測定を行

い、経時的な変動を調べた。

【結果と考察】バリカンによる処理部位の最大値は 8.54 ± 1.20 、最低値は 5.51 ± 1.14 、毛刈り剪刃による処理部位の最大値は 10.55 ± 2.17 、最低値は 6.90 ± 1.45 、無処置部位の最大値は 16.78 ± 3.16 、最低値は 9.39 ± 2.15 であった。また、バリカン処理部位の TEWL 値は毛刈り剪刃および未処理部位と比較して有意に低値であった（Tukey-Kramer 法、 $p < 0.05$ ）。以上より、皮膚に残る被毛の量が多いほど TEWL 値が高値を示す可能性が示唆され、このことから、猫においては被毛の有無が TEWL 値に影響すると考えられた。また、バリカンによる被毛処理方法が他の 2 つに比べてばらつきが最も小さく、安定した測定が可能であると推察された。

【応用生命科学系】

1. 乳用 5 大品種からの性判別胚作出の試み

○加藤みなみ・永山亮子・岸野友香・長田雅宏・安藤孝雄・
岡田幸之助・牛島 仁・吉村 格

（日獣大・応用生命科学部 富士アニマルファーム 動物科学科動物生殖学教室）

【目的】現在の乳用雄牛牛価格は輸入牛肉自由化の煽りを受け低迷し、生産された雄牛牛は酪農業の副産物になっている。当場にはジャージー・ガンジー・エアシャー・ブラウンスイスが繋養されており、これらの品種を計画的に繋留・維持していくために雌牛だけを生産できる技術導入が望まれている。ホルスタインを除く品種では性判別精液は生産されていないので、受精卵の性判別技術が利用される。

受精卵移植技術を用いて性判別を効率良く実施するには、品質が優れた胚の確保が条件となるが、ホルスタイン種以外の胚の採取方法は明らかにされていないので、検討を要する。また、性判別した胚は凍結に対する感受性が高いので、性判別胚を高率に保存する技術開発も必要になる。そこで、一連の胚移植技術と性判別技術導入の検討を行った。

【材料と方法】腔内留置型黄体ホルモン製剤を挿入した供胚牛に卵胞刺激ホルモンと黄体退行因子を投与することにより多排卵処置を施した。発情時に人工授精を行い、7 日目に非外科的に子宮から胚を回収した。対照区として黒毛

和種を用い、採卵成績を比較した。変性細胞が 10% 未満の胚から微細なナイフを用いて細胞の一部を採取後、この細胞の性をランプ法を用いて判定することで、性判別胚を作出した。また、性判別胚は移植するまで最少容量ガラス化法を用いて保存した。

【結果と考察】9 頭の牛にホルモン処置を行い、3 頭から 6 個の正常胚を採取した。これは、泌乳感作を受けにくい黒毛和種の成績（6 頭のうちの 5 頭から 11 個の正常卵採取）に比べて低い傾向を示した。正常胚 6 個を性判別し、このうちの 3 個が雌と判定された。ガラス化保存した性判別胚 2 個を受胎牛に移植し、経過を観察中である。

一連の受精卵技術と性判別により、雌胚を生産することが可能であった。しかし、安定的に正常胚を生産すること、および場内で受卵牛を効率良く同期化する技術が安定せず、現時点で性判別産子を獲得するには至っていない。

供卵牛の繁殖管理は、静岡県農業共済組合連合会 後藤洋先生の指導を仰いだ。本研究は平成 22 年度森永奉仕会の助成を受けて実施されている。

2. 経日的な細胞分裂回数の推移に基づいた牛体外培養条件の評価

○市毛優美・疋田優二・熊谷明日香・岡田幸之助・牛島 仁
(日獣大・応用生命科学部動物科学科動物生殖学教室)

【目的】食肉センターから採取されるウシ卵巣から未成熟な卵胞卵を採取し、体外成熟/体外受精/体外培養によって体外受精胚を生産することが可能になり、年間6000頭もの肥育素牛が生産されている。しかしながら、生産された体外受精胚は、生体から回収される胚に比べて品質や産子生産性が低く、改良が求められている。ウシ生体回収胚の細胞分裂はほぼ1日に1回起こるのに対して、IVF胚では体外成熟培養後4-5日目と8日目以降で発達遅延が起こる。一方、ウシ体外受精卵の体外培養には各種培養液が開発され、従来の方法と同等以上の発生成績が得られている。そこで、各種培養液が胚の体外発生にもたらす効果を経日的な細胞分裂回数の推移に基づいて調べた。

【材料と方法】体外受精胚は常法に従って作出された。作出された体外受精胚50-60個の胚を1ロットとして、38.5°Cで3%CO₂、97%空気、飽和水蒸気の条件下で1-10日間培養した。培養液には、①卵丘細胞を播種した5%胎仔血清加TCM199(対照区)、②20%胎仔血清加CR1aa(CR1)、および③対照区の培養液中で6日間培養後、100μMβメルカプトエタノール添加の5%胎仔血清加TCM199

(BME)を用いた。細胞数の計測には、変性・退行した胚は除外して、品質に優れ発達段階がより進んだ胚をロットあたり5%を限度として用いた。これらの胚を空気乾燥法を用いて固定・ギムザ染色後、その細胞数を計測するとともに、算出される分裂回数から回帰式を求め、共分散分析による検定を行った。

【結果】体外受精胚の発生率は、各試験区間に有意差を認めなかった(27-30%)。CR1における日令と分裂回数の回帰は、対照区回帰($y=0.83x+0.19, n=98, r=0.95$)との間に有意差を認めなかった。BMEの回帰の傾斜はCR1に比べて大きくなる傾向を認めたが、有意差には至らなかった。これに対し、BMEの傾斜は対照区に比べ有意($P<0.01$)に大きく、後期培養においては生体回収胚の分裂と同等であった。このことから、BMEは従来の体外培養後期における胚の発達遅延を緩和する培養法になると考えられる。

卵巣の採取にご協力いただいた(株)千葉県南畜産処理事業共同組合南総食肉センターならびに千葉県南総食肉衛生検査所の方々に感謝いたします。

3. ハタネズミ属精子の凍結保存：生存性、精子DNA損傷レベルおよび卵活性化能の評価

○岡田幸之助・岡野桃子・益田幸枝・佐藤聡季・若井葉子・松田ゆかり・牛島 仁
(日獣大・応用生命科学部 動物科学科 動物生殖学教室)

【目的】ハタネズミ属には64種が分類されており、のうち10種類が絶滅危惧種としてレッドリストに記載されている。国内にも日本固有種であるホンダハタネズミ(*Microtus montebelli*)が生息しているが、一部地域では準絶滅危惧種に指定されている。ハタネズミは複胃を有し、草食に適応した前胃発酵消化機構を有するため、他の草食性動物の栄養生理に関する研究のためのモデル動物としての有用性が期待されている。これらの観点から動物遺伝資源としてのハタネズミ属の保全が必要となる。本研究では、ハタネズミ属における個体再生/増殖法の確立を目的として、ユーラシアハタネズミ(*Microtus arvalis*)およびホンダハタネズミの精子凍結保存を試みるとともに凍結-融解

後のDNA損傷レベルを調べた。また、凍結-融解精子が卵活性化能を維持しているか否かを異種間顕微授精法により評価した。【材料と方法】当研究室で系統維持している13~27週齢雄のユーラシアハタネズミおよびホンダハタネズミ(各5頭)を実験に用いた。精管および精巢上体尾部より精子を採取し、凍結保護剤(18%ラフィノース5水和物、3%スキムミルク)中に浮遊させた。その後凍結チューブに分注し、液体窒素中で少なくとも1週間保存して実験に供した。凍結前後の精子生存性およびDNA損傷レベルについて、エオシン-ニグロシン染色およびアルカリコメットアッセイ法を用いてそれぞれ調べた。次に、過剰排卵処理したBDF1雌マウスから採取した体内成熟卵

母細胞にハタネズミの凍結・融解精子を顕微授精して卵活性化能を検討した。【結果と考察】新鮮精子の平均生存率は、95%（ユーラシア）および92%（ホンド）であり、凍結・融解後には62%（ユーラシア）および65%（ホンド）へとハタネズミ精子の生存性は有意に低下した。DNA損傷率については新鮮精子で1.8%（ユーラシア）および8.9%（ホンド）であり、凍結・融解後に有意にDNA損傷率が上昇した（ユーラシア：2.5%，ホンド：15.2%）。次に、

マウス卵母細胞にハタネズミの凍結・融解精子を顕微注入したところ、95.5%（ユーラシア）および78.0%（ホンド）の卵母細胞が減数分裂を再開した。ホンドハタネズミにおけるDNA損傷レベルはやや高いものの、凍結前後の生存性はユーラシアハタネズミおよび対称区のマウスと同等であった。また、凍結・融解後もハタネズミ精子は卵活性化能を十分に有していることが示された。

4. ハエ類の誘引・捕獲数に及ぼす色彩の影響

○長田雅宏¹・村上昌康²・森口彦弥²・水谷 尚¹・吉村 格¹

(¹日獣大・富士アニマルファーム ²大協技研工業株式会社)

【緒言】ハエ類による乳牛への被害は、忌避行動による体力消耗やストレスによる反芻の阻害など経済的損害を誘引している。特に、イエバエ科サシバエ属のような吸血性のハエ類は、吸血ストレスのみならず、病原体の媒介など衛生面においても大きな問題となっている。現在、イエバエに対する防除策として誘引物質を用いた殺虫法が普及しているが、サシバエに有効な誘引物質が明らかにされていないため、誘引殺虫法は利用できない。本稿は、サシバエおよびイエバエのどちらにも有効で、安全かつ低コストである防除方法として捕獲用粘着シートに着目し、その色彩によってハエ類の誘引・捕獲数に影響があるかどうかを検討した。

【材料及び方法】試験1 ハエ類の視覚誘引性を確認するため本学富士アニマルファームの搾乳牛舎において、淡黄色シート（光サイエンス社）、橙黄色シート・青色シート・黒色シート（大協技研工業株式会社）、および白色シート（ニチバン株式会社）を各145mm×340mmずつ用いて牛舎内に設置した。併せて、淡黄色の乱反射する資材と平面状の資材（大協技研工業株式会社）を設置して、誘引昆虫の種類と捕獲数を記録した。期間は、イエバエが発生する8月25日から9月1日までの7日間とした。試験2 2010年8月28日に栃木県北酪農地域の5戸の酪農家において、本学の試験で捕獲数が優れていた青色シート・淡黄色シート

・橙黄色シートを5時間設置して、100cm²当たりの誘引昆虫の種類と捕獲数を記録した。試験3 本学搾乳牛舎において、イエバエで十分な捕獲効果が認められた淡黄色シート、青色シートおよび白色シートを用い、サシバエが発生する9月17日から24日までの7日間設置して捕獲数を記録した。

【結果及び考察】試験1において、イエバエの各色彩における捕獲数は青色および黄色が多く、優れた誘因性があるものと推察された。黄色においては淡いものとやや橙色がかかったもの間に有意な相違は認められなかった。また、白色は青色に比較して有意に捕獲数が少なかったが、黄色との間に有意な差は認められなかった。更に黒色の捕獲数は他の色に比較して有意に少なく、忌避性を持つ可能性が疑われた。表面処理の違いでは、乱反射する資材は平面状のものより捕獲数が有意に高かった。以上の試験結果を参考に5戸の酪農家においてイエバエの捕獲数を調査したところ、本学以外の農場においても青色、淡黄色および橙黄色の3種のシートの捕獲数に有意な差はなく、イエバエにおいては青色・黄色のいずれのシートも有効であると考えられた。一方、サシバエにおいては、青色が有意に多く、次いで黄色、白色となった。アブ類は、青色に誘引されるという報告があり、吸血性のハエ類に対して青色粘着シートによる捕獲方法が有効であることが示唆された。

教 育 講 演

わが国における動物看護専門職の現状と課題

松原孝子

(日獣大・獣医学部獣医保健看護学科 臨床部門講師)

【はじめに】

わが国の動物病院の大半が、犬猫を中心とする小動物診療による業務により収益を確保している。国内にはおよそ1万人を超える獣医師が小動物医療に携わり、9000件を超える小動物医療施設が存在している¹⁾。獣医師という職業は、従来国民の食生活を支える畜産振興に大きな役割を果たしてきた。高度経済成長に伴い、1980年頃よりペットを飼う家庭が増えはじめ、その後、「小動物診療」と呼ばれる家庭で飼育される動物に特化した動物病院が急増し、小動物診療需要の増加とペットに対する社会的認識が変化するなかで、診療現場においても欧米の先進的な獣医学が適用されるようになった²⁾。

ペットの飼い主の意識変化と小動物診療の高度化のなかで、近年では動物病院において獣医師のほかに、診療の補助行為をはじめとする種々の動物医療関連業務と飼い主に対する適切な動物診療を提供するため支援する従事者、いわゆる動物看護師が不可欠な存在となっている。

【動物看護職】

▶ 動物病院における獣医師とそれ以外の職種の割合
(総務省 国勢調査)

	獣医師	その他職種
1990年	60.7%	39.3%
1995年	51.7%	48.3%
2000年	48.6%	51.4%
2005年	40.3%	59.7%

このことは、「獣医業」全体の従業者規模の拡大と「獣医業」に占める従業者の職域別割合で、獣医師が1990年から15年間で6割から4割へと減少へ転じたこと、つまり、現在の獣医療が、国家資格をもつ獣医師だけではなく、それ以外の職種と言われる人達とも一緒に支えているという現状から解釈できる³⁾。これに加えて動物看護師の重要性が増しているにもかかわらず、これに係わる法制度は未整備であり、教育、資格認定が統一されていないため、その技術・知識水準のばらつきが大きく、いわゆる「質の保証された」人材の安定確保が困難な状況にある⁴⁾。

このような状況から動物看護職の職域環境の整備ならびに動物医療における獣医師以外の専門職の資格制度の創設をふまえたチーム動物医療提供体制の整備が望まれる。これらを推進する取り組みにより、ひいては動物看護職に対する社会的評価の高まりを経て、ペットとその飼い主へのよりよい良質な獣医療の提供につながる事となる。このような背景から動物看護に関する学術及び教育の発展、動物医療における動物看護職の職域の確立を図ることが必要であり、動物の健康と福祉の増進及び国民の健康と福祉の向上に寄与することを目的に、平成21年4月、わが国における初めての動物看護職の全国団体として、一般社団法人日本動物看護職協会が発足した。現在、筆者は立ち上げの第1期(2年)の副会長を務めさせていただいている。

以上のように、ペットブームの高まりにともない、動物病院の重要性が叫ばれ、その資質が問われるなかで、獣医師以外の専門職、つまり、動物看護職は、何が専門なのか、現状と課題を明らかにすると共に、私見ではあるが、動物病院における動物看護者の専門性と存在の重要性を一考してみたい。

【日本動物看護職協会の発足】

協会発足に至るまでを紹介する。平成17年度に農水省の諮問により開催された「小動物獣医療に関する検討会」において、獣医療補助者の重要性に鑑み、社会的にも安定した職業として確立するためには、現在の教育機関、認定団体及び獣医師団体が協調し、早急に教育水準や認定基準を平準化することが必要であること、また、獣医療補助職の公的資格化は現状(当時)においては時期尚早であることが提言された。その後、平成18年12月に、日本獣医師会に小動物臨床部会動物診療補助専門職検討委員会が設置され、多方面にわたる関係者を交えた協議検討を重ねた結果、平成20年2月10日に日本獣医師会学会年次大会(香川)において動物看護職全国協議会(仮称)設立準備会が立ち上がった。同年3月27日に、動物看護職認定団体の代表者が一堂に会して懇談会を開催し、9月1日には、動物看護職養成学校(施設)関係者、動物看護職全国協会(仮称)設立準備会、民間資格認定団体、日本獣医師会、その他関係者が100名以上集って動物看護職の今後に関する意見交換会が行われた。そして、平成21年1月24日に、日



【毎日新聞 2009.07.01】

本獣医師会学会年次大会（岩手）において、日本動物看護職協会関係者合同会議の開催と準備会の解散を経て発起人会が正式に発足し、動物看護職の全国組織である日本動物看護職協会が設立される運びとなった。平成21年4月20日付けで一般社団法人として登記完了し、5月10日には東京大学弥生講堂において設立総会が開催された。日本動物看護職協会を発足させた目的は、①動物看護学にかかわる学術活動の推進（教育・研修）、②動物看護業務の位置づけの明確化、③動物病院における受け入れと業務分担（雇用環境の整備）などの基盤づくりである⁵⁾。また、現在日本獣医師会の小動物臨床部会の「動物看護職制度在り方検討委員会」において、動物看護職制度の確立に向けて、動物看護職の就業環境整備の方向、動物看護職の高位準化対策（民間養成・認定の統一的実施に向けて）、動物医療のチーム医療体制の整備（動物診療パラメディカル専門職としての公的資格制度化）などについて協議を行っている⁶⁾。その中で、今年7月16日、日本獣医師会による「第2回認定斉一化検討小委員会・統一カリキュラム策定検討小委員会合同会議」の討議の結果、平成25年3月までに統一試験を実施し、同年4月から統一資格を授与することが最終的に確認された。まさに今動物看護職を取り巻く世界が動いているといえるであろう。

【動物看護の本質を明らかに】

現状の獣医療において、獣医師以外の職種の存在が明らかになりながら、現行の獣医師法や獣医療法では、動物の看護のあり方は規定されておらず、現行の法律内で、「動物看護師」という名称で職域を分担していくことが困難であ

る。しかしながら、そのような背景のなか、「動物看護職の倫理綱領」が公表され、専門職業人として働く上での基本的理念及び倫理規定が明らかにされた。今こそ、動物看護という本質を明らかにしなければならないであろう。現在、多くの動物看護師は動物病院に雇用されている。まず、動物病院における動物看護の本質を明らかにする必要があるだろう。

つまり、動物看護師は、動物病院という組織の一員として、病院におけるあらゆる仕事もしなければならないが、動物看護師でなければできない仕事、専門性ということを考えていかなければならない。動物看護師が行うことが、動物看護実践であるためには、動物看護の本質つまり動物看護を成立させている看護独自の性質が、備わっていなければならない。

この独自の性質を考えていく上で、まず「動物看護の目的」「動物看護の対象」「目的を達成するための具体的な方法」を明らかにしていく必要がある。人の看護の場合、多くの看護理論家達による理論は、看護の目的は同様だが、対象の理解や方法論が異なる。看護をどのようにとらえているのかに触れることによって、自己の考える看護を確かめ、発展させることにつながっていく。しかし、動物看護にはこの理論がなく、学問としても成り立っていないのが現状である。そこで、私見ではあるが、人の看護過程を参考にしながら、動物看護過程を考案し、動物看護を明らかにしようとしている。

【動物看護師の倫理綱領】

日本動物看護職協会が、職能団体として、自らの行動を律する職業倫理規定を持つことは、「動物看護職が専門職といえる大切な証」であると考え、そこで、専門職業人として働く上での基本的理念及び倫理規定を明らかにすることを目的に、2009年4月の設立当初から「動物看護師の倫理綱領」の作成に着手した。そして、2009年12月には、その倫理綱領を公表し、意見を求めた。ここに、そうした約10カ月の作業を経て、「動物看護師の倫理綱領 ポケット版」(パスポートサイズ)が完成した。以下、前文・条文を明記する⁸⁾。

この『動物看護師の倫理綱領』の構成は、1～6条は動物看護提供に際して守られるべき価値や義務について、7～11条は動物看護師として責任を果たすために求められる努力であり、12～15条は動物看護師のヒトとしての土台である個人的徳性と組織的取り組み付いて記されている。つまり、動物看護師の価値・義務・徳という3つ要素が組み込まれているものになっている。このような職業倫理は、動物看護を実践の中心にある心である。よりよい動物看護へ、よりよい動物看護師へ、人として守り行うべき道を示

動物も人も同様に、自らの存在を尊重され、健やかな生活を送ることを願っている。しかし、動物たちには言葉はなく、直接人間に訴えることはできない。人間は、動物たちが人間に何を望んでいるかを常に考え、動物たちの思いに応えなければならない。

動物看護者は、動物の看護を業務として動物医療の最前線で活動する専門職である。

動物の看護は、多様な環境に生存する多様な動物種を対象として動物の健康の保持と増進、病気の予防と動物医療の補助に勤め、動物たちが健やかな一生を全うするように援助することを目的としている。

日本動物看護職協会の『動物看護者の倫理綱領』は、動物医療施設における患者対象となる家庭動物のみならず、学校飼育動物、教育、研究用実験動物、産業動物、さらに野生動物等を対象とするあらゆる場で動物看護を実践する専門職の行動指針であり、自己の実践を振り返る際の基盤を提供するものである。また、動物看護について専門職として引き受ける範囲を社会に対して明示するものである。

- 第1条 動物看護者は、動物の生命、動物の権利を尊重し、動物福祉の向上に努める
- 第2条 動物看護者は、看護の対象となる動物および看護動物の飼育者に対して等しく誠意をもって対応する
- 第3条 動物看護者は、看護動物の飼育者との間に信頼関係を築き、その信頼関係に基づいて看護を提供する
- 第4条 動物看護者は、動物看護の飼育者の知る権利及び決定権を尊重する
- 第5条 動物看護者は、守秘義務を遵守し、業務上知り得た飼育者並びに看護動物の情報の保護に努め、
また、これを他者と共有する場合には十分な配慮のもとに行う
- 第6条 動物看護者は、対象となる動物の看護を行う状況が阻害されているときや危険にさらされているときは、
その動物を保護し安全を確保する
- 第7条 動物看護者は、自己の意志を持ち、自己の責任と能力を的確に認識し、自らの看護に責任を持つ
- 第8条 動物看護者は、個人の責任として学習を継続し、動物看護に必要な知識と技能の維持と開発に積極的に努める
- 第9条 動物看護者は、他の動物看護者及び動物医療関係者と協働して、良質な動物看護を提供する
- 第10条 動物看護者は、より質の高い動物看護を行うために、看護実践、看護管理、看護教育及び看護研究に
必要な基準を設定し、それを実施する
- 第11条 動物看護者は、看護実践を通して、専門的知識・技術の創造と開発に努め、動物看護学の構築と発展に
寄与する
- 第12条 動物看護者は、社会の信頼を得るように、個人としての品行を常に高く維持する。
また、動物看護者は、より質の高い動物看護を行うために、自らの健康の保持に努める。
- 第13条 動物看護者は、動物の看護と共に、人と動物の共通疾病にも配慮し、人の健康及び公衆衛生に貢献する
- 第14条 動物看護者は、より良い社会づくりのために、環境問題について社会的認識を深め、その改善に努める
- 第15条 動物看護者は、日本動物看護職協会を通じて、動物看護職の社会的認知と評価を
高め、動物医療と動物看護の発展に寄与し、より良い社会づくりに貢献する

し、綱領という形で社会と約束することが、動物看護職への信頼につながるであろう。この倫理綱領は、動物看護者の思考と行為を導き、内容を理解し、実践することで、社会への信頼にこたえることになるだろう。「動物看護職の倫理綱領」を公表したことは、協会の設立年度の大きな事業となった。そして、同時に、動物看護職という職業を明らかにするものとなった。

【動物看護の対象】

動物看護者が働く小動物医療の現場である動物病院において、来院する飼い主と動物を対象に、動物看護が実践されている。まさしく、動物医療の中心は、飼い主と動物であり、それを取り巻くように、獣医師がリーダーシップをとりながら、獣医療チームの一員として動物看護者も存在し、役割を分担しているのだと考える。つまり、まず、飼

い主や動物から私たちの存在はどのように映っているのか？そのことが今後の動物病院の動物看護師の存在を考える上で一番重要なことではないかと考えた。

ホームドクターとしての動物病院の役割の中での動物看護職の位置づけを明らかにするために、2008年11月に、「地域に根ざしたホームドクター」である一動物病院において、来院した飼い主100名に「動物看護師に対する期待度アンケート」を実施した。動物看護師スタッフが関わっている業務内容を中心に、飼い主がその業務に対する期待度を調査した。その結果、その中でも、「大いに期待する」としている項目の多いものから「その病気の日常生活の注意事項の説明について 94名」「入院動物に対する看護 92名」「動物の健康な日常生活（病気を予防する）に対する説明 90名」「薬の投薬方法や保管方法の説明 87名」「親しみやすい人柄 86名」「薬に関する説明 84名」「退院時の過ごし方に関する説明 83名」と続いた。「大いに期待する」の上位の項目より考えられることは、単なる診療の補助だけでなく、病気の時の療養上の生活は、もちろんのこと健康な場合の生活指導など動物のすべて生活に対する支援を求めていることも明らかになった⁹⁾。

社会の情勢に目を転じると、「2000年動物愛護に関する世論調査」（内閣府）における「今後、少子高齢化や核家族化が進むなかで、人とペットの関係はようになっていくと思うか」という将来展望についての質問では、「家族の一員同様に共に生活する世帯が増える」が43.3%、「老後のパートナーとしてのペットの重要性が増す」が39.8%となっている。「2001年度国民生活選好度調査」（内閣府）において「ペットは家族の一員である」と思う割合は60%を超えており、「2003年 動物愛護に関する世論調査」（内閣府）におけるペット飼育率は36.6%となっている。実際にはペットを飼育していない人々も含め、社会全体にこの意識が広がってきていることが明らかになった。そして、「2005年家計調査年報」（総務省）における動物病院における治療費をみると、通院の頻度を年齢階級別にみても、支出額の大きさと同様に、最も頻度が高いのは50歳代で次に40歳代、60歳代と続き、中高年世帯の飼い主が頻繁に動物病院を訪れていることが確認できた¹⁰⁾。

つまり、ここ10年小動物獣医療の発展は、飼い主のペットに対する意識の変化が大きく影響していることが考えられ、このことは、飼い主の獣医療への意識の変化とも言える。そして、獣医療者への期待や要望も大きいことが明らかである。

その結果、飼い主は、私たちが動物病院の看護師として、認識しているのであろう。人の看護師が、国民の生活の多くの場面に浸透しているので、おのずと動物医療における

看護師の役割を期待されてもしかたがないと考えられる。単に、診療の補助者としての役割のみならず、「動物と共に暮らすことで豊かな人生の日々を送りたいという気持ち」このような飼い主の気持ちへも動物看護師としてアプローチしていくことも大切な役割であり、専門性につながるのだと考える。

だからこそ、私は「動物看護師」という呼称で、飼い主の横に寄り添いたい。動物看護の本質を明らかにし、動物看護学を確立し、加えて、動物看護師法のような法律が立法されることが、安心して獣医療が受けられるという飼い主・社会の要望ではないかと考える。

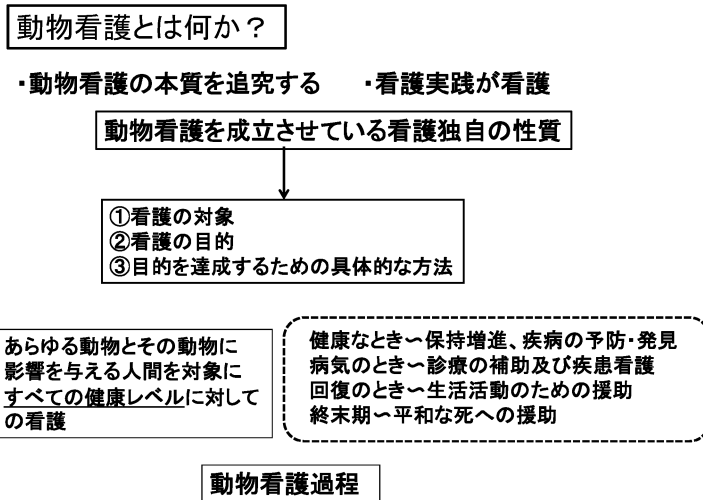
【動物看護の目的】

看護は人が生きていくことそのものを支える実践であるならば、動物看護はその動物がその動物らしく生きていくことそのものを支える実践であろう。私見ではあるが、「動物看護者の倫理綱領」を基本理念とし、動物病院における看護をいわゆる臨床動物看護は、来院するあらゆる動物とその飼い主を対象に、すべての健康レベルに対しての看護である。健康レベルとは、①健康なとき：保持増進、疾病の予防・発見、②病気の時：治療及び看護、③回復のとき：生活活動のための援助、④終末期：平和な死への援助」と定義づけた。診療時のみならず、あらゆる場面で対象（動物と飼い主）の前に立つときは、動物看護師としての介入が必要であるかどうかをアセスメントする。動物看護の目的は、実在あるいは潜在する健康問題に対する動物や飼い主の反応を看護上の問題と判断し介入していくことである。

【動物看護過程】

「賢者は歴史に学び、愚者は経験に学ぶ」という言葉がある（ドイツ初代宰相・ビスマルク）。人医療の看護の発展を見るとき、このまま応用することは出来ないが、そこから学べる部分は多くある。私、動物看護の本質を明らかにするための方法論として、人医療の「看護過程」（人々の健康にかかわる個別の問題を解決するために、「情報収集→看護上の問題→計画→実施→評価」の5つの段階を経て、看護を展開していく方法）における考え方と手法を基に、これに独自の解釈を加えて作成した「動物看護過程」に沿って動物看護を実践・考察している。

人の看護の過渡期の時代に「看護とは何」、「看護師とは専門職であろうか」などの一つ一つの問題に対して真剣に取り組み、看護について考えることに突き進んでくださった諸先輩方のおかげで、いまでは社会も看護職の重要性も認め、看護大学の数も190校になろうとしている（2010.8月現在）。「看護を実践するためには、看護者の豊かな人間



性が求められる」という志が発展してきたように思われる。

人医療の看護師と動物看護師では、絶対数があまりにも違いすぎるが、逆に言えば、動物看護師一人の力や行動が、獣医療に与える影響も大きいとも言える。したがって、一人一人が行っている動物看護の事例を各自が語ることは、大変重要であると考えられる。

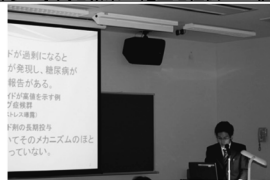
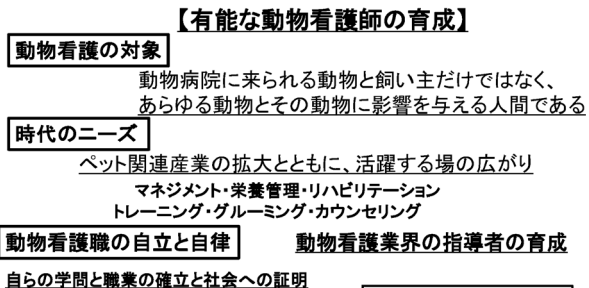
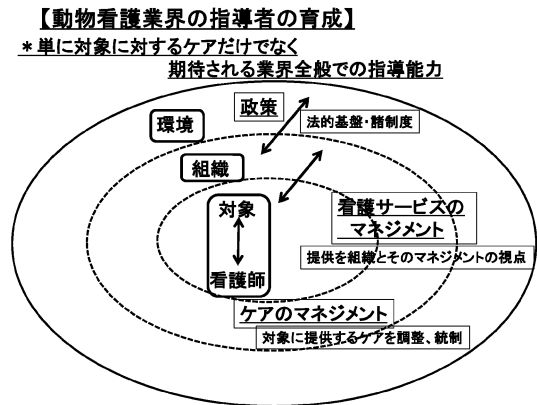
そもそも看護業務における事例研究は、他分野の学問の研究とは少し意味合いが異なるかもしれない。事例研究はあくまでも一例の事実にすぎない。その中で用いられた方法や結果を、そのまま一般化してすべての対象に当てはめることはできない。

看護は、実践的科学と言われている。対象と全体の関連で、個々のニーズについて研究し、様々な条件を持つ個人にどのような援助が有効であるかを探る研究、すなわち個別事例的アプローチがなくてはならない。このことが日々の看護実践をよりよくすることに通じる。

今行っている看護実践を言語化し、看護記録という手段によって残すこと、つまり、この看護記録を記載することそのものが研究であり、学習であること。このことが、自分の実践している動物看護の本質を追究することになるであろう。

【終わりに】

諸外国に目を転じてみると、英国における動物看護職の実情は、英国獣医師協会認定の獣医看護師として登録され、診療の現場でおこなうことができる処置が明記されている。さらに、上級獣医看護師免許（内科・外科・皮膚科・馬）を取得し、その称号をつけることが許される。また、2001年より「獣医看護学の学位取得」ができる動物看護師養成の学科が、特定の大学で開設されている。この他



- 動物看護学研究者
- 動物看護教育者
- 動物看護管理者

に、「英国獣医看護協会」では、歯科・動物行動学・馬の看護・薬学などの分野の資格認定を行っている。また、動物病院内に「ナース・クリニック」という動物看護師が中心になって行う、高齢動物への生活指導・歯科・術後の生活援助について・幼犬のしつけなどの相談や爪切り・グルー

ミングなどができるカウンセリングルームを持つところも増えている¹¹⁾。さらには2007年、ロンドンで初めて獣医看護師による独立したナース・クリニックも開設されている¹²⁾。診療行為以外の部門での動物看護者の動物のきめ細やかな観察や看護の中の専門性を持ち適切な対応をすること、及び、懇切丁寧な飼い主への説明は、信頼感と安心を得ることができる。換言するならば、飼い主は、病気を治療する獣医業＝動物病院としての認識ではなく、予防獣医学としての動物病院のあり方を、第一義的なものとして訴求し、認識し始めているとは考えられないだろうか。

2004年までの5年間の動物病院の成長率が鈍化している。また、飼い主による動物病院の選択志向の強まりが考えられる¹³⁾。このような状況の中だからこそ、動物医療における動物看護者の役割を評価していただける機会ではないか。つまり、来院される飼い主・動物を対象に、動物のあらゆるすべての健康レベルに対して看護を提供する動物看護者、一挙一動一言すべてが看護となれるように人間的にバランスのとれた動物看護者の存在が、飼い主が動物病院を選択するときの一要因となれるように、そして、動物病院の経営をも支える人材としてなれるように試すときであるのではないか。

そのためにも、動物看護師自身が、常に高い看護を提供できるように、個人の責任において継続学習に努めること、何より、看護実践の水準を高め、よりよい看護ケアのために動物看護研究に努めること、を心に思い、日々邁進してほしい。

まずは、動物看護職の専門性と存在を社会へアピールすること。このことを証明するには、明文化し、つまり、動物看護におけるエビデンスを持つことが大切である。そのことは、同じ職業に従事している仲間の意見や考え、思いを聞きながら、ますます、動物看護師一人一人が、自分自身の職業について考える機会をもち、人間としての成熟につながることを期待する。

そして、動物看護の対象への理解とともに、及び、ペット関連産業の拡大とともに、活躍する場の広がりつつある社会と時代のニーズに答えるためにも、何より有能な動物看護師の育成が急がれる問題であろう。動物看護職の自らの学問と職業の確立と社会への証明のために、『自立と自律』ができる動物看護業界の指導者の育成が必要であろう。

【参考文献】

- 1) 中川秀樹 (2005) 小動物医療の在り方, 日本獣医師会雑誌, 58, 775-776.
- 2) 細井戸大成 (2006) 欧米における動物看護職制度, 日本獣医師会雑誌, 59, 69-72.
- 3) 桜井富士朗 (2002) 飼い主の意識の変化と飼育費用増加, 最新動物病院経営指針, 47-49.
- 4) 大森伸男 (2006) 動物診療補助専門職の位置づけを考える, 本獣医師会雑誌, 59, 353-354.
- 5) 森祐司 (2009) わが国における動物看護職の現状と課題, 平成21年度獣医事審議会計画部会 第1回小動物分野ワーキンググループ資料.
- 6) 細井戸大成 (2010) 欧米における動物看護職制度, 日本獣医師会雑誌, 63, 242-250.
- 7) 太田光明 (2010) 動物看護職の統一認定に向かって, 日本動物看護職協会ニュースレター, 4, 4.
- 8) 一般社団法人日本動物看護職協会 (2009) 動物看護者の倫理綱領, 1-5.
- 9) 西谷孝子 (2008) 動物看護師に対する期待度アンケート, 日本動物看護学会関西例会にて発表
- 10) 桜井富士朗 (2006) 飼い主の意識の変化と飼育費用増加, 最新動物病院経営指針, 42-46.
- 11) Jo Scott (2004) 「英国における動物看護師の実情」 *Animal Nursing*, 9, 1.
- 12) Emma Dahm (2007) *Veterinary Times*, 7, 4.
- 13) 西川芳彦 (2006) 動物病院経営の実情と開業・廃業動向, 最新動物病院経営指針, 68-82.

2. 消化管内視鏡検査の基本編 ～スコープの構造と操作の基本～

石岡克己

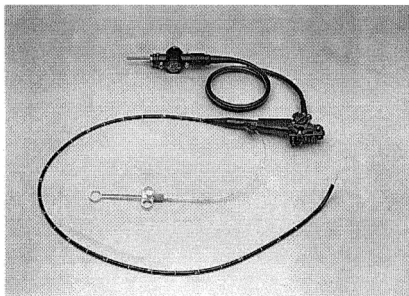
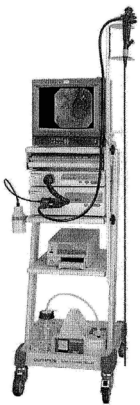
(獣医保健看護学科臨床部門)

はじめに

内視鏡は獣医臨床領域において近年普及が進み、炎症性腸疾患（IBD）や消化器型リンパ腫のような慢性的な消化器疾患の診断に威力を発揮している。この講演では、消化管内視鏡の基本的な使用方法について概説する。

1. 内視鏡の分類とスコープの選択

内視鏡は、構造上変形しない硬性鏡と屈曲可能な軟性鏡に分類される。また、使用する部位によって気管支鏡、消化器内視鏡、膀胱鏡、関節鏡などに分類される。消化管の観察には、一般的に挿入部が1,400 mm から1,000 mm の軟性鏡が使用される。直径は7.9 mm くらいであれば大型犬から猫まで広く使用が可能であるが、市販品としては8.6 mm のものや6.0 mm のものがよく使われる。

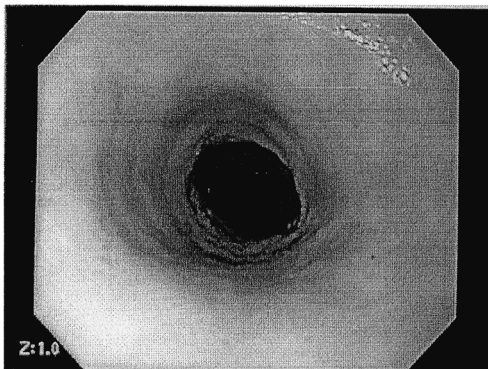


2. 内視鏡検査 vs 消化管造影

消化管検査法として、以前よりバリウムやヨード系造影剤（ガストログラフィン等）を用いた造影 X 線撮影が行われてきた。消化管造影は無麻酔でできることが利点であるが、誤嚥を引き起こす可能性がある点において、必ずしも内視鏡よりも安全な検査ではない。また、慢性消化器疾患では異常所見を見つけ出せる場合はあっても、多くの場合確定診断に至らないのが実情である。しかし、食道から直腸に至るまで全域の通過状態を調べるには有用性が高く、特に開腹手術を前提とした腸閉塞の診断・部位特定には威力を発揮する。一方、内視鏡は空腸・回腸の大部分を見ることができないという欠点はあるものの、組織を採材することによって病理組織検査が可能であり、確定診断に結びつけられることが最大の利点である。いずれにせよ、患者の症状に合わせて適切な検査法を選択することが重要である。

3. 内視鏡検査の適用症例

内視鏡検査を実施するのは、他の一般的な臨床検査（血液検査、糞便検査、単純 X 線検査等）で診断できない慢性の消化器症状を示す患者である。昨日からの嘔吐や下痢など、いわゆる急性疾患の診断には通常は用いない。このような状況では、症状が軽ければまず食事変更や対症的な薬物で対処を試みるのが一般的である。通常の臨床検査で診断がつかず、簡単な治療に反応しないまま数週間経過しているような患者は、内視鏡検査の適用となる。



スコープを口から入れる（上部消化管検査）か、肛門から入れる（下部消化管検査）かは、症状をもとに判断する。小腸と大腸の両方に病変があることも少なくないので両方同時に見るに超したことはないが、明らかに状況から病変部位を推定できる場合は検査部位を絞ることで時間の節約になる。大腸の内視鏡検査にはより長い絶食時間と浣腸が必要であるが、検査目的によっては無麻酔で実施できる場合もある。

4. 除外しておくべき疾患

慢性消化器症状を示す患者であっても、必ずしも消化器の問題とは限らない。例えば、よく知られているように肝不全や腎不全は消化器症状の原因となりうる。麻酔が必要な検査を行う前に、これらを除外しておくことはとても重要である。慢性消化器症状を示す見落としやすい疾患として、以下のようなものがあげられる。1) 膵外分泌不全 (EPI)。慢性的な小腸性の下痢を示す症例（主に犬）では、TLIを測定する。2) 副腎皮質機能低下症（アジソン病）。電解質バランスが崩れている場合は見当を付けやすいが、非定型アジソンではグルココルチコイドのみが不足しているため Na/K は正常である。軽度の非再生性貧血、好酸球数の増加（または長期のストレスを受けているにもかかわらず正常値）が見られるときは ACTH 刺激試験を実施する。3) 甲状腺機能亢進症。中高年以上の猫が慢性嘔吐を示しているときは、必ず T_4 を測定する。 T_4 の値は数週間周期で変動するという報告もあるので、怪しい場合は 1, 2 週間空けてもう一度測定するとよい。4) 膵炎。特に猫では特徴的な症状を欠く場合があるので、PLI を測定するようにする。内視鏡検査は、これらの可能性を除外した上で実施すべきである。

5. 内視鏡検査の禁忌

内視鏡に限らず麻酔下で行う検査は、麻酔のリスクが高

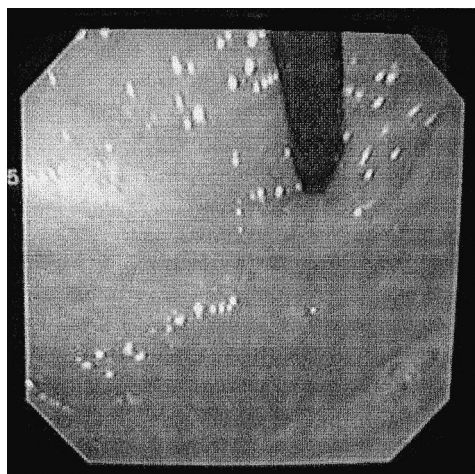
い患者では当然実施困難である。この場合、麻酔の禁忌症例が内視鏡の禁忌症例となる。腸閉塞患者に対して、内視鏡で異物の摘出を試みるべきではない。消化管が壊死している可能性があり、術中・術後の穿孔が予想されるためである。同様に、腹膜炎や消化管穿孔の疑いがある患者に対しても内視鏡検査は禁忌である。消化管の手術を行ってから日数があまり経っていない場合も、内視鏡検査は行うべきでない。腸管の端々吻合術を行った患者は、状況にもよるが少なくとも 2 週間以上空ける必要がある。腹部腫瘍の摘出など、消化管が周囲と癒着している可能性がある場合も注意が必要である。最悪の場合、スコープを入れることによって癒着がはがれて腹腔内出血を引き起こす可能性がある。

6. 上部消化管検査の手順

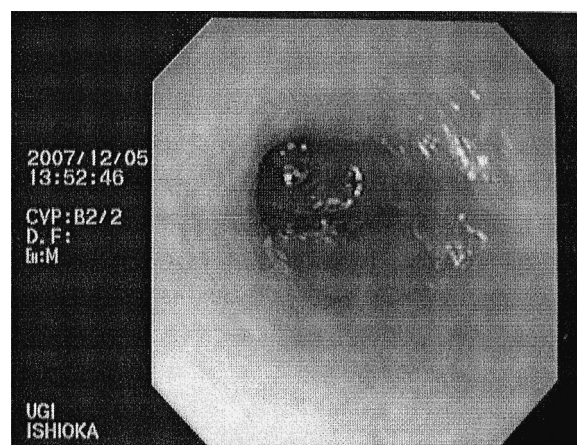
上部消化管検査では、口腔、食道、胃、小腸の各部位を系統的に観察する。重要なポイントは、1) 必ず小腸まで見ること、2) 必ず組織を採材すること、の 2 点である。症状



幽門洞



胃底部の観察



十二指腸

が嘔吐のみでも小腸だけに病変が見つかる場合もあるし、肉眼的に正常でも組織レベルでは異常なことがあるからである。食道では、狭窄や憩室、腫瘍、異物などが無いかを確認する。スコープが胃に入ったらまずランドマークである胃角を確認し、胃のカーブする向きから自分が見ている部位を特定する。胃底部の観察には、先端部をUターンさせる必要がある。

幽門洞へスコープを進めるときは、先端をカーブに合わせて屈曲させながら幽門洞に挿入し、先端を元に戻しながら幽門と向き合うようにする。軽く送気しながら、幽門が開くのにタイミングを合わせてスコープを十二指腸に挿入する。

十二指腸内部では、絨毛の見え方や粘膜面の状態（出血や潰瘍、浮腫の有無、脆弱性など）を観察・記録する。

7. 下部消化管検査の手順

下部消化管検査の前には、通常の麻酔前の絶食時間より長めの絶食が必要である。教科書的には24～48時間の絶食が必要とされるが、多くの場合は24時間の絶食後に十分な浣腸、洗浄を行えば観察可能である。直腸から下行結腸、横行結腸と順番に観察を行い、患者によっては回腸下部までスコープを進めることが可能である。結腸内の異物は閉塞する心配はないので、一般的に無理に摘出しなくてもよい。組織採取が重要な点は、上部消化管検査と同様である。

3. 腸内の細菌

—プロバイオティクスの整腸作用—

藤澤倫彦

(日獣大・食品科学科食品衛生学教室 教授)

21世紀に入り、医学の分野においては治療医学に加えて予防医学の重要性が示されてきており、これまでの抗生物質に代わってプロバイオティクスやプレバイオティクスといった腸内細菌叢に関与しながら宿主の健康の維持増進を図ろうとする物質が開発されてきている。これも近年における高度嫌気性細菌の培養技術の確立や分子生物学ならびに免疫学などの研究が進展し、その結果として腸内細菌叢の機能（存在意義）が徐々に解明されてきたからに他ならない。腸内細菌叢を構成する多くの菌種や菌群の中で *Bifidobacterium* ならびに *Lactobacillus* は有用作用を示す細菌であることが示されている。これら細菌の投与が整腸作用におよぼす影響に関してはこれまでに多くの研究報告が見られ、多くの場合において有用作用が示されている。整腸作用の本来の意味するところは下痢や便秘の改善といった便性改善であるが、腸内環境の改善もその範疇に含まれると思われる。これは、近年、腸内環境の改善と便性改善が密接に関連することが示されてきたことによる。ここでは *Bifidobacterium* や *Lactobacillus* などのプロバイオティクスの整腸作用について主な研究報告を紹介しながら概説する。

1 腸内環境改善作用

a) 腸内細菌叢の正常化および病原細菌の排除におよぼす影響

プロバイオティクス投与により腸内細菌叢を構成する

Bifidobacterium や *Lactobacillus* などの有用細菌が増加し、有害細菌である *Clostridium perfringens* および *Enterobacteriaceae* などの菌数が低下することが示されている。健康成人への *L. casei* および市販牛乳の投与により *Bifidobacterium* 菌数が増加することや健康な幼児および成人に *B. breve* および市販牛乳を経口投与し、総菌数、*Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae* が減少することが報告されている。さらに、腸内細菌叢の形成が遅れる低出生体重児に *B. breve* を投与することで *Bifidobacterium* 優位の菌叢の形成が促進されることが確認されており、生後早期の感染症防御にプロバイオティクスの投与が有用であることが示唆されている。一方、腸内における *Bifidobacterium* の増殖に伴う pH の低下による *Salmonella*, 赤痢菌, *Campylobacter* および *Escherichia coli* などの病原菌の増殖抑制も知られている。生菌剤として投与した乳酸菌や *Bifidobacterium* が腸内細菌叢を正常化させるメカニズムとしては、腸内有用菌の増加に伴う有機酸産生量の増加と腸内 pH の低下ならびに有機酸自体による直接的な作用によるものであることが示唆されているが、さらに乳酸菌の投与により有害菌との栄養素の競合や投与菌が腸管粘膜上皮に定着することによる有害菌の増殖の場の減少なども挙げられている。また、*Lactobacillus* や *Bifidobacterium* のある種の菌種、菌株が抗菌性物質であるバクテリオシン産生能を有することも知られており、これら

バクテリオシン産生性の *Lactobacillus* や *Bifidobacterium* が腸内に存在した場合、腸内細菌叢の構成に影響をおよぼす可能性も考えられる。他方、*B. breve* の投与によって本菌がアジュバント作用を示し、乳幼児下痢症の起因ウイルスであるロタウイルスに対する IgA 産生が増強され、ロタウイルス感染を防御することが明らかにされており、プロバイオティクスの投与と宿主の免疫力の増強が密接に関連して感染症を防御することも示されている。

b) 糞便 pH, 有機酸ならび有害物質の濃度ならびに活性におよぼす影響

腸内において、タンパク質やアミノ酸などから腸内細菌の代謝によりアンモニア、アミン類、フェノール類、インドール、硫化水素などの腐敗物質が産生される。これらの物質は細胞毒性を有し、老化や生活習慣病の発症に関与するとされている。一方、炭水化物が分解されると各種有機酸が産生され、腸内 pH、腸内細菌の発育ならびに酵素活性に影響をおよぼす。プロバイオティクス投与がこれら物質の糞便内における濃度におよぼす影響については多くの報告がある。健康な幼児および成人に *B. breve* を市販牛乳とともに投与し、糞便アンモニア含量の減少が認められている。同様に、*B. breve* と転移オリゴ糖を投与し、糞便アンモニア含量の減少を認める報告もある。また、健康成人に *L. casei* を投与することにより尿中インディカンおよび p-クレゾールが減少することが認められている。さらに *Bifidobacterium* 製剤ならびに *Bifidobacterium* を含む発酵乳の摂取により糞便 pH の低下傾向が示されている。また、*B. longum*、*L. acidophilus*、*Streptococcus thermophilus* ならびに *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* を用いて調製した発酵乳の投与により糞便内乳酸が増加傾向を示すこと、および健康な乳児に *B. bifidum* 含有粉乳を投与し、短鎖脂肪酸の増加傾向と酢酸の有意な増加が認められることがそれぞれ報告されている。このように *Bifidobacterium* や *Lactobacillus* などのプロバイオティクスの投与が腸内における有機酸量の増加および腐敗物質の減少と関連することが多くの報告で示されている。これらの作用機序としてプロバイオティクス投与により腸内の *Bifidobacterium* や *Lactobacillus* が増加し、これに伴って腸内 pH が低下することによる有害物質産生細菌の増殖阻止などが挙げられている。

一方、プロバイオティクスの投与により腸内 *Bifidobacterium* の増加と *Clostridium* の減少ならびに糞便 pH の低下とこれに伴う β -グルコシダーゼや β -グルクロニダーゼといったある種の腸内細菌が産生する発ガン関連酵素の活性低下が示されている。このうち肝臓で抱合され無毒化した有害物質を再度脱抱合する β -グルクロニダーゼは主と

して *C. perfringens* や *E. coli* によって産生されるが、本酵素は高脂肪食の摂取で腸内での活性が高まることが示されており、これには胆汁酸の存在が関与しているものと考えられる。すなわち、高脂肪食の摂取で腸内の胆汁酸濃度が高まり、これによって細菌の細胞壁の透過性が上昇して菌体内に存在する酵素が菌対外に排出され、腸内での活性が高まるものと考えられている。プロバイオティクスの摂取による *Bifidobacterium* などの増加に伴う pH の低下によって胆汁酸が不溶化し、その結果として胆汁酸の界面活性作用が低下して菌体細胞に対する透過作用が減弱し、菌体の酵素活性が低下することが考えられる。なお、この界面活性作用は一次胆汁酸よりも二次胆汁酸で一層強いことも示されている。また、*E. coli* や *C. perfringens* の菌体浮遊液中の β -グルクロニダーゼの活性が酸性側で低下することも示されており、プロバイオティクス投与による *Lactobacillus* や *Bifidobacterium* の増加に伴う pH の低下が腸内におけるこれら酵素活性の低下の一要因と考えられると同時に大腸ガンや乳ガン発生の危険率の低下とも密接に関係するものと推察される。他方、その他の有用作用として、*Lactobacillus* などの乳酸菌にコレステロールやヘテロサイクリックアミンなどの有害物質を吸着して対外に排泄する有害物質吸着排除作用のあることが示されている。

2 便性改善作用

a) 下痢の改善作用

通常、正常な糞便は 70~80% の水分含量であるが、下痢の状態になると水分含量は増加し、液状あるいは液状に近い状態となる。下痢の発生には様々な原因が考えられるが、主として大腸運動の異常な亢進、病原微生物の感染、小腸粘膜上皮へのエンテロトキシンの作用、化学物質の作用、異常発酵に伴う水分や電解質輸送の異常ならびに腸内細菌叢の乱れなどが挙げられている。*Lactobacillus* ならびに *Bifidobacterium* の生菌剤やこれらを含んだ発酵乳の投与によって下痢が軽減される報告は多々ある。一方、ヒトに限らず、ブタやウシなどの家畜においても *Bifidobacterium* 製剤の投与が下痢の発生率を低下させることが報告されている。また、下痢の見られるこれら動物では *Bifidobacterium* と *Lactobacillus* の菌数が低いことならびに *Enterobacteriaceae* の菌数が高いことが示されている。さらに、下痢症状のイヌにおいて糞便中の *Bifidobacterium*、*Streptococcus* および *Lactobacillus* の減少と *E. coli* の増加が示されている。また、下痢症状のイヌにおいて *E. coli* の検出率ならびに *C. perfringens* の菌数が増加することも報告されている。一方、ヒトにおいて輸液療法や食餌療法においても改善の見られない難治性下痢患者に *Bifidobacterium* や *Lactobacillus* の生菌剤や生菌剤飲料を投

与したところ、菌叢の正常化とともに便性の改善が見られたとする報告がある。抗生物質の投与はアンバランスな腸内細菌叢の状態を惹起し、特殊な内因性細菌の増殖状態を発生させ、下痢や腸炎を発生させるが、抗生物質投与に伴う下痢に対してもプロバイオティクス投与により下痢の発症率が低下するようである。下痢における腸内細菌叢の異常は下痢の治癒に伴って正常化することが示されており、プロバイオティクスの投与によって腸内 *Bifidobacterium* や *Lactobacillus* が増加し、*Enterobacteriaceae* や *Clostridium* が減少するといった腸内細菌叢の正常化と下痢の改善とが密接に関係しているものと思われるが、これら腸内細菌叢の正常化と下痢改善との関係の直接的な証明は見られない。乳酸菌の整腸作用の発現機序として乳酸菌の腸内への定着、乳酸菌の持つ抗菌性および発酵乳中における腸内細菌叢の正常化に働く因子の存在が挙げられているが、その中で発酵乳中に存在する乳糖の分解産物である各種オリゴ糖の影響でこれらの摂取によって腸内の *Bifidobacterium* が増加し、下痢の抑制作用を発揮する可能性が示唆されている。同様に納豆の摂取による腸内 *Bifidobacterium* の菌数増加の報告があるが、これについても大豆中に存在するオリゴ糖がその一要因として考えられている。一方、比較的最近の知見としてプロバイオティクスが腸管免疫を活性化して下痢を引き起こす病原体を排除し、下痢の予防効果を示すことが報告されている。

b) 便秘の改善作用

便秘は下痢とは逆に糞便水分含量が低下して硬化し、排便が困難な状態になることである。慢性便秘では *Bifidobacterium*、*Bacteroides*、*Clostridium* などの嫌気性菌数、ならびに総菌数が減少することが報告されている。一方、*Lactobacillus* や *Bifidobacterium* の菌末を慢性便秘症の患者に与えることで便通が改善することが知られており、また、*B. longum*、*L. acidophilus*、*S. thermophilus* ならびに *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* を用いて調製した発酵乳の投与により排便回数の比較的少ないヒトの排便回数が増加し、便秘の軽減化が見られることも示されている。また、健康人に *B. breve* を市販牛乳とともに5週間連続投与したところ市販牛乳のみの投与と比較して糞便の水分含量が増加することが報告されている。さらに、*B. lactis*、*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* および *S. thermophilus* で調製されたヨーグルトの投与によりボランティアの排便回数が増加することや *Bifidobacterium* 製剤を用いた臨床試験においても便秘改善効果が示されている。大腸内で腸内細菌によって産生される短鎖脂肪酸が結腸の運動を亢進することや低濃度の乳酸が大腸平滑筋の運動を亢進することも知られており、*Lactobacillus* や *Bifidobacterium* の増加に

伴って腸内で酢酸や乳酸などの有機酸の産生量が増し、これらが腸管の蠕動運動を促進させたことおよび腸内細菌叢が正常化したことがこれらの効果につながっていると推察されている。また、下痢の項でも述べたが発酵乳中に存在する乳糖の分解産物である各種オリゴ糖の影響で、発酵乳の摂取により大腸内の *Bifidobacterium* が増加して整腸作用を示した可能性もある。

c) 糞便臭、糞便色、排便量および糞便の形状改善作用

B. longum や *L. acidophilus* など4菌種で調製された発酵乳の投与により便の臭気の低減化が見られることが確認されている。便臭の主な原因はアンモニアやスカトールなどの腐敗産物であり、これらは *Clostridium* や *E. coli* などの腸内腐敗細菌が産生するが、*Bifidobacterium* を含む発酵乳の投与による *Bifidobacterium* の増加とこれにともなう腸内有機酸量の増加および pH の低下によりこれら物質を産生する細菌の菌数や活性が低下したことが要因と考えられる。一方、糞便色は胆汁色素（ビリルビン）などにより影響され、pH がアルカリ性になると茶褐色に、低 pH では黄色になると知られている。従って、低 pH である健康な乳児の糞便では黄色系色であり、このことから黄味を帯びた色が理想の糞便色とされている。発酵乳の投与によって糞便色が理想の糞便色（健康な乳児の糞便色である黄色がかった茶系色）に近づくことが複数の研究で示されている。*B. longum* や *L. acidophilus* など4菌種を用いて調製した発酵乳の摂取により糞便の色調が暗褐色から黄色系へ移行することおよび *B. longum* を含むヨーグルトを成人ボランティアに飲用させ、糞便色が好転したことが報告されている。これらの現象は *Bifidobacterium* や *Lactobacillus* ならびにその発酵産物の投与により糞便内菌叢が改善されて腸内有機酸の濃度が高まり、pH が低下したことと関連するものであると思われる。また、*B. longum* や *L. acidophilus* など4菌種を用いて調製した発酵乳の投与により *Bifidobacterium* の増加と排便量が増加することが示されている。これらの作用はプロバイオティクスの投与による腸内 *Bifidobacterium* の増加に伴う有機酸の増加によって大腸の蠕動運動が亢進されたことも一要因と推察される。一方、糞便の形状は水分含量に左右され、低水分含量ではカチカチ状、高水分含量では泥状～水様便となる。理想的な便の形状は半練状のパナナ型とされているが、プロバイオティクスの摂取により糞便の形状が理想に近づくことが示されている。*B. longum* など4菌種を用いて調製した発酵乳をヒトボランティアに投与したところ、糞便の理想的な形状である半練り状の出現頻度が増加し、カチカチ状あるいは泥状の形状が減少することが認められている。これらの効果は下痢や便秘の改善と同様、投与さ

れた有用細菌や発酵乳中の成分の影響によって腸内細菌叢のバランスが正常化したことと関連があるものと考えられる。

以上、プロバイオティクスの投与が整腸作用におよぼす影響について、これまでに報告されている主な事柄の概略を示した。プロバイオティクスに下痢や便秘などの改善作用が存在することを示唆する多くの知見が得られており、近年問題化している耐性菌出現の心配がないこれらプロバイオティクスの使用頻度が今後一層高まることが予想される。また、プロバイオティクスとオリゴ糖などのプレバイオティクスの併用による効果の検討も活発になされ、腸内細菌叢のバランスを正常化するなどの有用性を示す成績が数多く示されている。これら有用作用を示すより詳細なメカニズムの検討やより一層の整腸作用を有する菌株のスクリーニングなど、今後の研究に期待するところは大きい。

参考文献

- 1) 阿部文明：“乳酸菌の科学と技術”，乳酸菌研究集談会編，学会出版センター，p. 336 (2003).
- 2) 荒木和子ら：感染症学雑誌，73, 305 (1999).
- 3) Fujisawa, T. & Mori, M. : *Lett. Appl. Microbiol.* 22, 271 (1996).
- 4) Fujisawa, T. & Mori, M. : *Lett. Appl. Microbiol.* 25, 95 (1997).
- 5) Fujisawa, T. *et al.* : *Biosci. Microflora*, 22, 51 (2003).
- 6) Fukushima, Y. *et al.* : *Biosci. Microflora*, 16, 65 (1997).
- 7) Ishikawa, H. *et al.* : *Jpn. J. Vet. Sci.*, 44, 343 (1982).
- 8) Jufferie, M.(田代靖人 訳) : 腸内細菌学雑誌，16, 31 (2002).
- 9) Kimura, N. *et al.* : *Bifidobacteria Microflora*, 2, 41 (1983).
- 10) 松本光晴ら：腸内細菌学雑誌，14, 97 (2001).
- 11) 三木宏：薬理と治療，7, 217 (1979).
- 12) Mitsuoka, T. : *Bifidobacteria Microflora*, 19, 15 (2000).
- 13) 老川忠雄ら：治療学，14, 589 (1985).
- 14) Reddy B.S. *et al.* : *Cancer Res.*, 37, 3533 (1977).
- 15) 佐藤吉壮ら：治療学，14, 682 (1985).
- 16) 下山孝ら：実験医学，2, 473 (1984).
- 17) 鈴木邦彦：“プロバイオティクス・プレバイオティクス・バイオジェニックス” 光岡知足編，日本ビフィズス菌センター，p. 218 (2006).
- 18) 高野俊明：“乳酸菌の科学と技術”，乳酸菌研究集談会編，学会出版センター，p. 316 (2003).
- 19) 瀧口隆一ら：腸内細菌学雑誌，11, 19 (1997).
- 20) 瀧口隆一ら：腸内細菌学雑誌，11, 117 (1998).
- 21) 田中隆一郎ら：小児科臨床，33, 2483 (1980).
- 22) 田中隆一郎ら：“腸内フローラと発癌”，光岡知足編，学会出版センター，p. 79 ((1981).
- 23) Terada, A. *et al.* : *Jpn. J. Food Microbiol.*, 16, 221 (1999).
- 24) Yaeshima, T. *et al.* : *Biosci. Microflora*, 16, 73 (1997).
- 25) 八重島智子：“プロバイオティクス・プレバイオティクス・バイオジェニックス”，光岡知足編，日本ビフィズス菌センター，p.98 (2006).
- 26) Yasui, H. *et al.* : *J. Infect. Dis.*, 172, 403 (1995).
- 27) 保井久子：“発酵乳の科学”，細野明義編，アイ・ケイコーポレーション，p. 136 (2002).

4. 消化管におけるグレリン受容体ファミリーの遺伝子解析

山本一郎

(日獣大・獣医生理化学教室 助教)

グレリンは遺伝子から転写・翻訳され，翻訳後修飾として前駆体タンパク質から切り出され，GOATにより脂肪酸修飾を受けて活性型グレリンとなる。グレリンは動物が食物を食べることにより胃が刺激されて血中に分泌される。分泌されたグレリンは各組織の細胞膜上に存在するグレリン受容体に結合して様々な生理作用を発揮する。下垂

体からの成長ホルモンの分泌，摂食行動の亢進，脂肪蓄積作用，血管弛緩および平均動脈血圧減少等の循環調節作用，胃酸分泌および胃運動亢進作用，膵臓β細胞からのインスリン分泌調節作用，精巣におけるステロイド産生に関わる遺伝子群の発現抑制などが知られている。

グレリンが特異的に放出を促進する成長ホルモンは様々

な生理作用を有することで知られ、以前からその合成分泌機構について研究者の興味的となっていた。この中でまず成長ホルモン産生細胞を刺激して成長ホルモンを血中に放出する GHS（化学合成物）の受容体、すなわち GHS-R（後のグレリン受容体）の構造が 1996 年に報告された。この GHS-R を培養細胞に強制発現させ、リガンド候補物質を投与し細胞内の変化（cAMP あるいはカルシウム濃度上昇など）をスクリーニングすることにより生理活性物質選定を行ういわゆる逆薬理学的手法は 1990 年代後半に急発展し、グレリンをふくめモチリン、ニューロメジン U およびニューロテンシンなど脳腸ペプチドと呼ばれるホルモンの受容体の同定が進展した。

グレリン受容体はその構造および性質からスーパーファミリーを形成しており（図 1）、モチリン受容体（GPR38/MTL-R）、ニューロメジン U 受容体（GPR66/FM3, FM4/NMUR1, NMUR2）、ニューロテンシン受容体（NTSR1, NTSR2）および GPR39 はすべて G タンパク質共役型で 7 回膜貫通型構造を有する。このうちグレリン受容体 GHS-R1a、モチリン受容体 GPR38/MTL-R および GPR39 は我々の研究グループが既にニワトリおよびウシで解析を終えている。疎水性アミノ酸残基が多く含まれる特徴的な膜貫通領域が 7 領域存在し、N 末端領域は細胞外に、C 末端領域は細胞内に存在している。特徴的なのは第 3 と第 4 膜貫通領域に挟まれた細胞内領域に D/ERY モチーフと呼ばれる G タンパク質共役に重要な部位が存在している。それぞれのリガンドが結合する際に重要とされる第 1, 第 2 および第 3 細胞外ループ領域は比較的保存性が低い、第 1 細胞外領域のグレリン受容体とモチリン受容体は保存性がある。

ニワトリ GHS-R1a は Tanaka らと Geelissen らの研究グループにより同時に cDNA がクローニングされた結果、347 アミノ酸残基をコードし、7 回膜貫通型の G タンパク

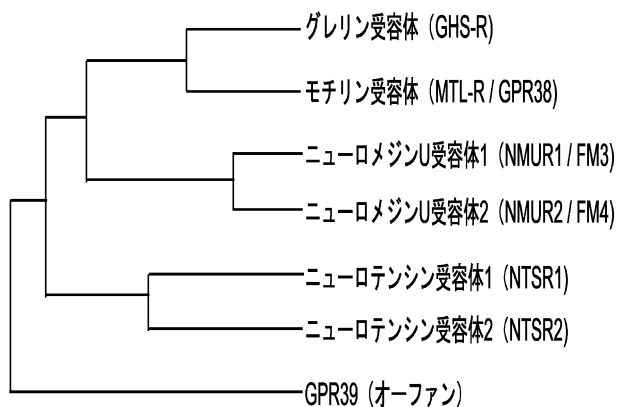


図 1. グレリン受容体ファミリーの系統樹

質共役型受容体であることが明らかにされた。また発現量は少ないが第 6 膜貫通領域を欠く mRNA スプライシングバリエーションとして GHS-R1aV が存在することも明らかとなった。GHS-R1a および GHS-R1aV を発現ベクターにサブクローニングした後、強発現させた培養細胞系を構築し、ニワトリグレリンによる細胞内カルシウム応答を調べたところ GHS-R1a を発現させた細胞ではカルシウム濃度が上昇したが、GHS-R1aV を発現させた細胞ではカルシウム濃度に変化が見られなかったことから GHS-R1a がグレリンの特異的受容体である事が証明された。また哺乳類では報告されていないが、ニワトリ GHS-R1a は親和性が低いながらも後述するモチリンと結合し作用する特異な現象が見られたが、これは第 1 細胞外領域の相同性が関与しているものと考えられる。mRNA 発現解析、すなわちリアルタイム PCR によれば GHS-R1a mRNA は種々の組織において発現が見られたが、特に下垂体、脳、肝臓、十二指腸での発現が高い様式を呈していた。また GHS-R1a の C 末端部に対するポリクローナル抗体を作成し、下垂体切片の免疫染色を行ったところ、Cephalic lobe よりも Caudal lobe に多くの免疫陽性の細胞群が検出された。これはリアルタイム PCR による結果と一致していたことから、体内で最も成長ホルモンを産生する器官である下垂体において Caudal lobe における成長ホルモンの分泌はグレリン/GHS-R1a により促進されることが推測される。

ニワトリ MTL-R は cDNA クローニングの結果、349 アミノ酸残基よりなる 7 回膜貫通型の構造を有していたが、ヒト及びウサギ MTL-R に比べモチリンの作用に重要とされる第 2 細胞外ループが短い特徴を有していたことから、動物種によるリガンドの特異性は同部位が重要であることが推察される。ニワトリ MTL-R を発現ベクターにサブクローニングした後、強発現させた培養細胞系を構築し、ニワトリモチリンによる細胞内カルシウム応答を調べたところ、グレリン同様、高親和性に細胞内カルシウム濃度が上昇したことからクローニングされた MTL-R はモチリンの特異的受容体である事が証明された。リアルタイム PCR によるニワトリ各組織における発現解析により、MTL-R mRNA は 3 週齢では腺胃、十二指腸で高い発現が見られた。発育による変動を調べたところ、腺胃および十二指腸では孵化前（19 日齢）に最も高い発現が見られ、孵化後減少し、8 週齢以降 51 週齢に至るまで発現が低下した。したがって MTL-R は孵化前からの消化管機能の調節に関与していると考えられる。

GPR39 は GHS-R1 に高い相同性を有するリガンド不明の G タンパク質共役型受容体として報告され、最近、グレリン前駆体 C 末部位のオベスタチンと呼ばれる 23 アミノ

酸残基の特異的受容体であるとの報告がなされたが、依然としてそのリガンドは不明であると我々は考察している。ニワトリ GPR39 およびウシ GPR39 の cDNA クローニングの結果、それぞれ 462 および 454 アミノ酸残基をコードし、他動物種 GPR39 とも高い相同性を有していた。特に第 1 および第 2 細胞内領域は哺乳類と高い相同性を有していたことから、リガンドが結合した際の細胞内応答は哺乳類と同様でカルシウム濃度の上昇を誘導するものと考えられる。リアルタイム PCR による 3 週齢ニワトリ各組織における発現解析により、肝臓、腎臓、腺胃、十二指腸および卵管で高い発現が見られた。最も高い発現があった十二指腸において GPR39 は MTL-R とは異なり、孵化後急

激に上昇していた。また成鶏における mRNA 発現は消化器および卵管に高い発現が見られた。GPR39 はノックアウトマウスの解析により食物の消化速度を調節する機能が示唆されているが、ニワトリの mRNA 発現解析からも消化管及び卵管の蠕動運動に GPR39 が関与していることが予想される。その他ファミリー、すなわちニューロメジン U 受容体およびニューロテンシン受容体については研究継続中である。近年ではこれら GPCR が二量体を形成してシグナル伝達を行うことが知られているが、グレリン受容体がそれぞれホモ、ヘテロの二量体を形成した時にシグナル伝達に影響があるかに興味を持たれる。