

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 前 田 ま り か

潜在性ルーメンアシドーシス(SARA)は高泌乳牛の飼養管理と関連して、近年問題となっている疾病である。その影響は多岐にわたり多大な経済損失をもたらすが、これまで野外農場でのルーメン pH の評価が困難であったために、その実態や代謝性疾病との関連は明らかになっていない。

申請者が勤務した山形県最上地方の酪農場においても SARA が多く発生しており、本研究は、乳牛における SARA の病態解明および予防・低減法確立のために、無線伝送式ルーメン pH センサー（以下、pH センサー）を使用した SARA の実態把握、SARA 発症牛の血液性状の変化およびクラフトパルプ投与による SARA 低減効果を明らかにすることを目的として行われた。

第一章では、SARA の発生状況を明らかにするため、近年新たに開発された pH センサーを用いて山形県最上地方の酪農場における SARA の発生状況を調査するとともに、飼養形態の異なる農場間の前胃液 pH を比較し、牛群の前胃液 pH に影響する飼養管理要因について検討した。調査した 5 農場の分娩を挟んだ 45 日間の SARA 出現率は 29.0～77.4%と農場間で大きく異なり、飼料を分離給与している S 農場が最も高く、他の農場と比較して低いデンプン濃度の TMR 飼料を給与している I 農場が最も低かった。前胃液 pH は採食に伴い日内変動を示すが、最大 pH と最小 pH の差を pH 較差として農場間で比較すると、分娩後 4 日間において農場間で有意差が見られた。分娩前に急激な濃厚飼料の増給を行っていた H 農場は、分娩前後で飼料変化のない I 農場と比較して有意に大きい較差を示した。この結果から、分娩前後の飼料変化がルーメン環境に影響を及ぼす要因の一つであることが示唆された。また、分娩 11 日～20 日後の農場ごとの平均 pH は、5 農場間で有意に異なり、分離給与を行っている S 農場が最も低値を示した。多くのウシは粗飼料よりも濃厚飼料を好むために分離給与では選り食いが起きやすい。飼料給与形態は牛群の pH に影響を及ぼすことが示唆された。以上により、飼料給与形態、飼料中デンプン濃度、移行期

の飼料変化が牛群の前胃液 pH に影響を与える要因であると考えられた。また、同一の飼料を給与されている農場内であっても、個体間で前胃液 pH にばらつきが見られ、それぞれの農場における遺伝的背景やルーメン微生物叢の多様性、長期的な SARA によるルーメン微生物叢の不安定化等の個体要因が関与している可能性が考えられた。

第二章では、SARA が代謝に及ぼす影響を解明するために、SARA が高い割合で見られた S 農場において pH センサーを用いて前胃液 pH をモニタリングし、エネルギー代謝に関係するホルモンや代謝産物の血中濃度を調べた。前胃液 pH を評価するにあたり、SARA の診断基準となる pH 閾値を下回った時間の総計(低 pH 時間)と、SARA と診断された日数 (SARA 日数) の二つのパラメーターを算出し、血液性状との関係性を検討したところ、分娩 4 週後の血中アディポネクチン(ADN)濃度は、分娩後 1 週間の低 pH 時間との関連性が認められた。加えて、分娩 4 週後の血中 ADN 濃度もしくは分娩 1 週間後と 4 週間後の ADN 平均濃度と、分娩後 30 日間の SARA 日数には強い正の相関関係が認められた。この結果から、脂肪細胞から分泌されるアディポカインの一つである ADN は、前胃液 pH を反映する SARA の評価指標として有効であることが示唆された。SARA は LPS の増加とそれに起因した急性相蛋白反応を起こす。また、炎症によりマクロファージから分泌される腫瘍壊死因子はインスリン抵抗性を引き起こす。一方、ADN は糖・脂肪酸代謝に関連し、その機能の一つとしてインスリン抵抗性を軽減する作用が知られている。また、*in vitro* 研究において LPS によって誘導される炎症性サイトカイン TNF α の分泌抑制作用が報告されている。以上により、高頻度の SARA は ADN を上昇させるが、これは LPS に起因する炎症反応の抑制とインスリン感受性の亢進による代償性反応であると考えられた。

第三章では、ADN とルーメン発酵の関係性を明らかにするために血中 ADN 濃度とルーメン性状の相関関係を調査した。また、通常の飼養管理下で発生する SARA が生産性へ与える影響を調査するために、分娩後 30 日間における SARA 発生日数によって高値群と低値群の 2 群に分け、ルーメン性状、乳生産、繁殖成績を比較した。分娩 4 週後の血中 ADN 濃度はルーメン液中酢酸モル比と負の相関関係が認められた。この結果から、ADN がルーメン発酵を反映する

ことが示され、第二章で論じた pH と ADN の関係性を裏付けるものであった。SARA が高頻度であった高値群と比較的低頻度であった低値群においてルーメン性状、乳生産、繁殖成績に有意な差は見られなかったものの、乳中尿素窒素(MUN)は低値群で高い値を示す傾向があり、SARA の罹患し易さと MUN に関連があることを報告した過去の研究論文と類似した結果であった。

第四章では、SARA の低減法確立のために、近年実用化されたクラフトパルプの給与による SARA 低減効果および脂質代謝改善効果について検討を行った。本研究では第一章の調査で SARA が高い割合で見られた S 農場において、オーツヘイをクラフトパルプに代替したパルプ群と、対照群において前述の二つの pH パラメーター、血液性状、胃汁性状、乳データおよび分娩間隔を比較した。パルプ群において pH パラメーターが改善される傾向にあり、分娩 7 日前、7 日後、14 日後の日内変動において pH が高く維持された。クラフトパルプは高栄養価繊維飼料であり、消化開始までのラグタイムが長く急激な発酵が抑えられるという消化特性を持っている。本研究においてはクラフトパルプの代替により増加した総繊維含量はわずかであり、ルーメン中の発酵物組成の変化を生じなかったものの、発酵速度が変化したことにより前胃液 pH の改善効果がもたらされたものと考えられた。また、パルプ群の分娩 4 週間後におけるルーメン液総揮発性脂肪酸(VFA)濃度は、対照群と比較してやや高い傾向にあり、パルプ群の血中総コレステロール(TC)濃度および泌乳最盛期における MUN は対照群と比較して高い傾向があった。血中 ADN 濃度は低い傾向にあった。パルプ群の分娩間隔は対照群と比較して短縮する傾向にあった。これらの理由としてパルプ給与による有機物の発酵性や発酵速度の変化、あるいは乾物摂取量の増加が考えられた。ADN については、ADN が前胃液 pH および SARA の頻度と相関があり、高頻度の SARA における ADN の上昇は SARA によって引き起こされる炎症反応とインスリン抵抗性に対する代償性の反応であると考察した第二章の結論と矛盾しない。一方、パルプ群のルーメン中 LPS 濃度は対照群より高い傾向があり、急性相蛋白反応には大腸内 LPS 濃度の上昇が関連しているとの過去の報告をふまえて、今後詳細な検討が必要である。以上により、クラフトパルプ給与は SARA 低減効果と脂質代謝改善効果を示す可能性があるが、その効果は基礎飼料の成分濃度によって異なると考えられた。

本研究では、SARA の炎症性疾患と代謝性疾患という二つの事象を関連付ける分子として血中 ADN 濃度が重要であることを示した。SARA はそれを引き起こす飼料成分によって炎症の程度に違いが生じ、炎症因子として大腸内のデンプン濃度と LPS 濃度の関与が明らかにされている。今後は炎症マーカーやサイトカインの測定のほか、大腸 LPS の評価も行うことにより、SARA と炎症、ADN の関係を明らかにできると考えられた。本研究で導かれた結論は体重変動の大小や他の炎症性疾患の影響がないということを前提としているため、今後はこれらの影響について検討を行う必要がある。また、SARA 低減の手段としてクラフトパルプによる効果を示したが、パルプと置換する飼料の種類や量、乳量や乳成分に与える影響等を検討することで、効果を最大にするためのパルプ利用につなげることができると考えられた。さらに、SARA と血中 ADN 濃度の関係を解明することは、血中 ADN 濃度を指標としたクラフトパルプの給与効果と代謝改善効果の評価を可能にすると考えられた。

現在、日本国内において乳用牛の供用期間は年々短縮傾向にある。これまで乳量増加と乳質改善を図るために濃厚飼料が多給されてきたものの、ルーメン発酵の異常は代謝性疾患や肢蹄障害に直結し、供用期間の短縮につながっている。したがって、個体の能力を引き出し、長命連産性を高くする飼養管理の鍵はルーメン発酵の健全化にある。本研究では、近年課題となっている SARA の実態を把握するとともに、ルーメン発酵が糖・脂質代謝調節にかかわる ADN 血中濃度と関連していることを明らかにし、またクラフトパルプ給与による SARA 低減の可能性を示した。本研究を基盤として SARA のバイオマーカーとしての ADN の有用性、SARA と代謝性疾患の関連、効果的な SARA の予防・低減法など様々な研究につながっていくことが期待される。よって本研究の結果は、SARA の病態解明および予防・低減法解明に寄与するものと考えられる。

以上のように、本論文は乳牛における SARA の発生実態を調査し、そのメカニズム、低減法を明らかにし、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。