

哺乳子牛における臨床スコアシステムを指標とした
静脈内輸液療法に関する研究
(Study on intravenous fluid therapy using
clinical scoring system as an index in suckling calves)

中川 巳津英

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科
獣医学専攻博士課程

(指導教員：鈴木浩悦)

哺乳子牛における臨床スコアシステムを指標とした
静脈内輸液療法に関する研究
Study on intravenous fluid therapy using
clinical scoring system as an index in suckling calves

中川 巳津英

目次

序章	・・・	1
第1章	身体一般検査によるスコアリングシステムを用いた 輸液計画のために必要な子牛下痢症の病態評価	・・・5
1.1	下痢症子牛における脱水症の生化学指標と身体一般検査所見	・・・7
1.1.1	材料および方法	
1.1.2	統計解析	
1.1.3	結果	
1.1.4	考察	
1.2	下痢症子牛の酸塩基平衡異常の生化学指標と身体一般所見	・・・11
1.2.1	材料および方法	
1.2.2	統計解析	
1.2.3	結果	
1.2.4	考察	
1.3	小括	・・・14
第2章	下痢症子牛における酸塩基平衡異常の補正を目的とした 酢酸リンゲル液の有効性の評価	・・・30
2.1	材料および方法	
2.2	統計解析	
2.3	結果	
2.4	考察	
2.5	小括	
第3章	低ナトリウム血症を伴う下痢症子牛における 2.16%高張食塩液の 臨床応用	・・・38
3.1	材料および方法	
3.2	統計解析	
3.3	結果	
3.4	考察	
3.5	小括	
総括	・・・	47

謝辞	・ ・ ・ 53
利益相反	・ ・ ・ 55
引用文献	・ ・ ・ 56
成績の公表	・ ・ ・ 67
略語一覧	・ ・ ・ 68

序 章

子牛、特に哺乳期の子牛の下痢症は発生率だけでなくその斃死率の高さから畜産業において問題視されている。近年、多頭化飼育によりこの問題は一層深刻化している。例えば、農林水産省統計調査によると、死産事故分類における乳用胎子・出生子牛および肉用胎子・出生子牛において新生子異常事故について下痢を含む消化器病は平成 15 年より今日に至るまで死産率の上位を占めている[56]。同様に、前述の統計による病傷事故においても乳用子牛および肉用子牛において下痢症を含む消化器病は平成 15 年より今日に至るまで病傷事故の 1 位を占めている。この傾向は、長野県でも同様であり、長野県の家畜共済統計において同様な結果が得られている[67]。

下痢症の原因については、質の悪い代用乳の給与、ウイルス、細菌および原虫疾患などの微生物感染により発生することが知られている[36]。下痢の原因の如何によらず、共通の病態として脱水症、血液量の減少、高窒素血症、細胞外液中重炭酸および電解質の喪失が挙げられる[76]。特に、下痢に伴う腸管からの水分、重炭酸および電解質喪失により脱水症や代謝性アシドーシスを生じることが周知されている[24, 25, 67, 68]。

近年、生産者の衛生意識の向上に伴い、畜舎の消毒など衛生管理、初乳の十分な給与、初乳製剤の給与および大腸菌製剤のワクチン接種が積極的に取り入れられているものの、哺乳子牛の下痢症の発生は依然として高く推移している[57]。したがって、生産現場における喫緊の課題として子牛の衛生管理のさらなる向上と、下痢を発症した子牛に対する適切な治療方法の開発が挙げられる。これまでの子牛下痢症の治療としては抗生物質療法および輸液療法が主であったが、輸液療法においては脱水および酸塩基平衡異常の補正に主眼を置いたものであり軽症例では高い治癒率が得られるものの、重度の電解質異常、とりわけナトリウム異常を生じているような重篤症例に対して十分な治癒効果が得られていないのが現状である。

本研究では、子牛の下痢症発生時に最も有効な治療法であると考えられる輸液治療について、脱水および酸塩基平衡異常の病態だけでなく、血液中ナトリウム濃度に着目した輸液療法または輸液計画について検証することとした。つまり、本研究では、第 1 章では下痢症子牛の病態評価、第 2 章では血液中ナトリウム濃度の補正を目的とした子牛輸液療法の提案、そして第 3 章では 2.16%

高張食塩液 (HSS : Hypertonic Saline Solution) を活用した子牛下痢症の輸液療法の有用性について検証した。詳述すると、第 1 章の病態評価では子牛下痢症の主たる病態である脱水症に着目し、第 1 節では脱水評価、第 2 節では酸塩基平衡異常の評価を目的とした臨床スコアリングシステムが血液生化学項目を反映しているか否かを検証した。すなわち、生産動物医療が行われているのは生産現場であることから、十分な検査機器を活用することが物理的に困難である。よって、身体一般検査項目からなる臨床スコアリングシステムを用いて脱水症および酸塩基平衡異常、特に代謝性アシドーシスの程度を把握し治療を行うことが必要となる。したがって、第 1 節では脱水、第 2 節では酸塩基平衡異常を身体一般検査に基づいた臨床スコアで評価を行い、この臨床スコアリングシステムが血液生化学およびそれぞれの病態を反映しているか否かを検証した。

第 2 章では代用乳の吸収不全による代謝性アシドーシスを誘発することで軽度の酸血症モデルを作出し、我が国で市販されている等張電解質輸液剤 (生理食塩液 [ISS]、DL 型乳酸リンゲル液 [DLR]、L 型乳酸リンゲル液 [LR] および酢酸リンゲル液 [AR]) の酸塩基平衡異常の補正効果を比較した。

牛医療で緊急蘇生用として 7.2% HSS が汎用されているが、これは主に甚急性乳房炎による分布異常性ショックや第四胃変位による低クロール血症の治療に用いられており、子牛への臨床応用は限られている。よって、第 3 章では高張ナトリウム輸液剤である 7.2% HSS の子牛への臨床応用について検証した。7.2% HSS は成乳牛の脱水症を補正するため簡便に使用できる特性があり、成牛においてはその有効性および各種疾病に対する効果の評価がなされている [19]。特に成乳牛の脱水補正には大量の輸液量が必要となるが、臨床現場においてそのような大量輸液を行うことは非現実的である。一方、7.2% HSS は 4~5 mL/kg の低用量で脱水の補正が可能であることから利便性および経済性から生産動物獣医療で広く普及している [99]。しかし、7.2% HSS は生理食塩液や酢酸リンゲル液などの等張液に比較して製剤浸透圧濃度が 8 倍と極めて高浸透圧であり、これを心肺および泌尿排泄系が未熟な子牛に適応することについては極めて情報が少ないことから効果のみならず安全性が担保されていない。特に、腎臓機能が未発達の子牛に 7.2% HSS を急速投与すると高ナトリウム血症を生じるリスクが高いことが想定される。高ナトリウム血症で問題となるのは脳浮腫であ

り[53, 55, 56, 96]、これは生命に危険を及ぼす重篤な有害事象である。高ナトリウム血症による急激な脳脊髄液浸透圧の上昇はミエリン鞘の脱鞘を生じて不可逆的な神経症状を呈する[88]。高ナトリウム血症の主な原因は水欠乏症であるが[30, 52, 75, 88]、5%ブドウ糖液などで急速補正するのではなく緩徐に補正をしなければならない[88]。すなわち、HSS を単独投与するだけでなく低ナトリウム液の経口投与などが推奨される。したがって子牛に適した HSS 療法の検証が必要となる。その1つの解決法として我々はHSSの濃度を7.2%から2.16%に下げた新しい処方提案する。これはヒト医療において低ナトリウム血症の補正液として推奨されていることと[7, 39, 59, 69, 78, 80, 98]、既存の生理食塩液 1 L に 7.2%HSS を 250 mL 添加するだけで簡便に調整することが可能であり、往診療中心の生産動物医療での汎用性を考慮したものである。したがって第3章では軽度の低ナトリウム血症を呈する下痢症子牛のナトリウム補正において2.16%高張食塩液の有用性および安全性について検証した。

本研究では、発症および死亡率が高いために経済的損失が大きい子牛下痢症において従来の抗生物質および輸液療法で治療が奏功しないナトリウム異常を呈する症例に対して農場で実施可能な輸液療法を構築することを目的とした。すなわち、(1) 子牛下痢症において身体一般所見をスコア化することによってより正しく病態を評価し情報を共有すること、(2) 子牛下痢症でよく見られる軽度の代謝性アシドーシスを補正するのに最も適した等張輸液剤の検証、ならびに(3) 生産動物医療において汎用されている7.2%HSSを用いて簡便に調整できる2.16%HSSを低ナトリウム血症を伴う子牛下痢症に適応するために効果と安全性についての検証を行った。本研究は、子牛下痢症の診療において臨床現場で応用可能な臨床スコアリングシステムの構築および各種ナトリウム濃度の輸液製剤を用いた輸液治療戦略の有用性を実際の臨床症例を用いて病態解析に基づき証明するものである。

第1章

身体一般検査によるスコアリングシステムを用いた
輸液計画のために必要な子牛下痢症の病態評価

哺乳子牛において下痢症により起こる脱水症は常に死亡原因の上位を占めている [67, 68]。哺乳子牛に脱水症が多い原因として体液および電解質の特徴がある。哺乳子牛は体内の水分総量が体重の 75%で、細胞外液量が体重の 45%と成牛に比較していずれも高い。また、哺乳子牛の体は成牛に比較して代謝が速く水分の貯水槽として働かないため、水の出納バランスに大きく影響される [76]。さらに、水分や電解質の調節の要である腎臓が未発達のため、哺乳子牛では腎臓における尿濃縮力が成牛の半分程度であると考えられる。水様性下痢症において、糞便より喪失する水分量は、1日あたり体重の 13~18%に達する [11]。これらの特徴により、哺乳子牛は下痢症により消化管からの水分の喪失が起こると重度脱水症を起こしやすい [53, 94]。

子牛の下痢症は発生の原因に関わらず、前述の通り脱水症によるショックはもちろんのこと、尿から大量の重炭酸および電解質を喪失する [46]。その結果、子牛は下痢の進行に伴い脱水症だけでなく代謝性アシドーシスを呈する [62, 63, 91]。生産動物医療では酸塩基平衡異常を呈している下痢症子牛に対しては、ヒト、ウマおよび伴侶動物医療で汎用輸液剤として用いられている乳酸リンゲル液よりも [41, 48, 49, 81, 84]、7%ないし 8.3%重炭酸ナトリウム注射液が汎用されている [40, 45, 81, 84]。しかし、重炭酸ナトリウムの急速および過剰投与は可逆的な脳脊髄液アシドーシス [61]、酸化ヘモグロビンの消失による低酸素血症、細胞外から細胞内へのカリウムイオンの移動に伴う低カリウム血症およびカルシウムのイオン化率の低下に起因する痙攣が生じる [3, 37]。したがって、重炭酸ナトリウムを投与する際には極めて適切な酸塩基平衡異常の評価が必要である。そのため、重炭酸ナトリウムによる代謝性アシドーシスの補正を行う際には、血液ガス分圧を測定し酸塩基平衡異常を正しく評価するべきである [46]。しかし、往診が主体であり経済動物を対象とする生産動物医療では経済性、利便性からヒトおよび伴侶動物医療のように血液生化学検査および血液ガス分圧の測定を潤沢に行うことは現実的ではない。よって、病態評価を行う上でも身体一般検査が最も有用な手段となる。本章では第 1 節で脱水、第 2 節で酸塩基平衡異常を身体一般検査で得た情報を基にスコア化し、その総合評価を持って病態評価が出来るか否かについて検証した。

1.1 下痢症子牛における脱水症の生化学指標と身体一般検査所見

子牛下痢症は病原微生物の感染や飼養管理の不適によって発症するがその臨床症状は主に脱水と酸塩基平衡異常によるものである。KasariおよびNaylor[46, 48]、そして Garcia[31]は下痢症子牛に対して重炭酸必要量を適切に評価する臨床スコアリングシステム、いわゆる沈うつスコアをシャロレーとシンメンタール種に対して確立した。しかしながら、これらのスコアリングシステムが黒毛和種およびその交雑種子牛に適応できるか否かについて検証した報告はない。本節では、黒毛和種において Kasari の沈うつスコア [1, 48, 49]に基づいた臨床スコアリングシステムが子牛下痢症における脱水症の程度を正しく評価しているか否かについて検証した。

1.1.2 材料および方法

本研究は Care and Use Laboratory Animals of National Research (National research Council)が示す動物試験の指針を遵守して行われた。本研究で用いた Kasari の沈うつスコア[44-46, 48, 49]を表 1.1.1 に示した。長野県農業共済組合北信および中信家畜診療所管内における健常黒毛和種哺乳子牛 76 頭および下痢症哺乳子牛 114 頭を供試した。すべての供試子牛に対して表 1.1.1 に示した Kasari の沈うつスコアに基づき、(1) 眼球陥没、(2) 吸乳反射、(3) 威嚇反射、(4) 触知反射、(5) 起立能力、(6) 口腔内の温かさ、および (7) 四肢端の暖かさについて身体一般所見をスコア化した[44-46, 48, 49]。本研究では統計学的解析にスコアの合計を用いた[44-46, 48, 49]。沈うつスコアの合計は最小値が 0 であり、最高値は 15 であった[44-46, 48, 49]。すべての供試子牛の頸静脈から採血を行った。採血はヘパリン添加シリンジを用い、採血後速やかに密閉した。血液サンプルを血液自動分析装置 (i-STAT200A、i-STAT Co., East Windsor, NJ, U.S.A.) を用いてヘマトクリット値 (Hct) および血液中カリウム (K) 濃度を測定し、残った血液サンプルは定法に従い 1,200 ×g、15 分室温で遠心分離し血漿を得た。得られた血漿は全自動生化学分析器 (フジドライケム 7000V、フジフィルム、東京) を用いて脱水症に関する生化学項目である血漿総蛋白質 (TP) および無機リン (iP)、そして腎機能に関連した項目である血液尿素窒素 (BUN) およびクレアチン (CREA) 濃度を測定した。各測定項

目の測定方法を表 1.1.2 に示した。

1.1.3 統計学的解析

データは平均値±標準偏差にて表した。沈うつスコアと各検査項目の相関係数は Spearman's rank test を市販統計ソフトウェア (Stat View Japanese Edition, Ver.5, Hulinks Japan, Tokyo, Japan) を用いて求め、 $p<0.05$ を有意とした。次に沈うつスコアと有意な相関性を示した各測定項目において、対照群から得られた平均値±2SD を参照値とし、その参照値上限と Spearman's rank test で得られた回帰式との交点を逸脱スコアとして算出した。

1.1.4 結果

表 1.1.3 に健常子牛における各測定項目の参照値上限およびそれに対応した逸脱スコアを要約した。脱水症子牛における脱水の指標である Hct ($r^2=0.285$ 、 $p<0.05$ 、図 1.1.1) および TP 濃度 ($r^2=0.319$ 、 $p<0.05$ 、図 1.1.2) は Kasari の沈うつスコアと有意な相関関係を示し、それぞれの参照値上限値に対応した逸脱スコアは 11.7 (Hct=49.3%) および 10.3 (TP=7.1 g/dL) であった。血液中 K 濃度は Kasari の沈うつスコアの合計数の増加に伴い高値を示す有意な正の相関 ($r^2=0.219$ 、 $p<0.05$ 、図 1.1.3) が認められた。血液中 K 濃度の参照値上限は 6.4 mM でありそれに対応した逸脱スコアは 9.4 であった。脱水の指標となる血液中 iP 濃度 ($r^2=0.282$ 、 $p<0.05$ 、図 1.1.4)、BUN 濃度 ($r^2=0.416$ 、 $p<0.05$ 、図 1.1.5) および CREA 濃度 ($r^2=0.267$ 、 $p<0.05$ 、図 1.1.6) はそれぞれ Kasari の沈うつスコアと有意な相関関係が認められた。また、iP、BUN および CREA 濃度の参照値上限値は 11.5 mg/dL、27.1 mg/dL および 2.2 mg/dL であり、それらに対応した逸脱スコアはそれぞれ iP で 10.4、BUN で 4.9 および CREA で 8.3 であった。

これらの参照値上限に対応した逸脱スコアは、Hct、TP、K および iP で 10 前後のスコアに集約された。しかしながら、腎機能の指標である BUN および CREA 濃度は Kasari の逸脱スコアが 10 に至る前に参照値上限を示していた。

1.1.5 考察

本研究において、Kasari の沈うつスコアは黒毛和種子牛の下痢症子牛において、脱水の指標となる血液生化学項目である Hct、TP、K および iP 濃度と有意な相関関係を有し、それぞれの項目に対して健常子牛の平均値+2SD として設定した参照値上限に対する総合スコアが 11.7、10.3、9.4 および 10.4 と概ねスコア 10 で対応することが明らかとなった。また、腎臓機能の指標である BUN および CREA 濃度は、上述の脱水症の指標よりも早く参照値上限に対応することから、脱水の臨床徴候が顕在化する前に尿濃縮の亢進と糸球体濾過の低下に対応することが示唆された。

子牛下痢症において電解質異常として血液中 K 濃度は重要である。なぜなら血液中 K 濃度が 8 mM に至るまで心拍数は直線的に増加することが知られている [18]。しかし、血液中 K 濃度が 8 mM 以上になると下痢症子牛では心拍数は増加せずに 90 回/分未満の徐脈となるため [64]、脱水症のある症例において頻脈等の不整脈が聴診できれば、高 K 血症の存在が考えられる [100]。細胞外液の酸性化に伴いカリウムイオンが細胞内から細胞外へ移動するため Kasari の沈うつスコアの合計と血液中 K 濃度の間で有意な正の相関が見られたことと、対照群の参照値上限である 6.4 mM に対応するスコアが 9.4 ということから、脱水症の評価と同様に合計スコア 10 を超えた時点で積極的な経静脈輸液療法が必要になることが示唆された。

これらの知見から、Kasari の沈うつスコアが 10 を超えた時点で脱水症の指標となる Hct および TP が逸脱スコアを超えているため、再水和を目的とした経静脈輸液を実施するべきであること、スコアが 5 で BUN 値が参照値上限を超えるために経口輸液剤の適応を考慮するべきであるといえる。

脱水症は末梢循環の低下により耳および四肢等の末端の皮温低下がよく認められる [23, 40, 42, 48, 57, 89]。一方で、生体において酸産生抑制のため細胞活動量が低下することで低深部体温を示すことから、直腸温度の低下も認められる。このことは子牛では直腸温と末端皮膚温度との間に正の相関が認められたとする Dupe ら [26] および Phillips と Lewis [71] の報告からも支持される。Kasari の沈うつスコアでは一般的な脱水症の指標である眼球陥没に加えて、口腔内温および四肢末端温も取り入れられているため総合スコアと脱水の指標と

なる血液検査値との間で有意な正の相関関係が示されたと考えられる。以上より、Kasari の沈うつスコアはシャロレーとシンメンタール種を主体としたスコアリングシステムであるが、黒毛和種子牛およびその交雑種においても脱水症の評価に応用可能であると考えられた。

1.2 下痢症子牛の酸塩基平衡異常の生化学指標と身体一般検査所見

往診が主体で経済性を重視する生産動物医療において、血液ガス分析機器を容易に使える状況でないことから、身体一般検査から下痢症子牛の酸塩基平衡異常を可能な限り適切に評価する客観的な方法が必要である。この命題に対して Kasari および Naylor[46, 48]、そして Garcia[31]は下痢症子牛において重炭酸必要量を適切に評価する臨床スコアリングシステム、いわゆる沈うつスコアをシャロレーとシンメンタール種に対して確立した。しかしながら、これらのスコアリングシステムが黒毛和種およびその交雑種子牛に適応できるか否かについて検証した報告はない。したがって、本研究の目的は黒毛和種およびその交雑種子牛において、Kasari [44-46, 48, 49]によって確立された沈うつスコアが下痢に伴う酸塩基平衡異常の病態を正しく反映しているのか否か、また反映しているのであれば逸脱スコアの目安を明らかにすることであった。

1.2.2 材料および方法

本研究は Care and Use Laboratory Animals of National Research (National research Council)が示す動物試験の指針を遵守して行われた。供試動物は黒毛和種子牛およびその交雑牛子牛で日齢上限を生後 30 日齢とした。その結果、本研究は日齢 20.4 ± 8.0 日で 42 頭の黒毛和種および 42 頭の黒毛和種とホルスタイン種の交雑種 (F1) を供試した。84 頭の子牛の内訳は 56 頭が下痢を発症しており、残り 28 頭は下痢症状を伴わず身体一般所見に異常の認められない子牛であったことから健常子牛とした。

採血は 1 mL ヘパリン添加シリンジを用い、採血後速やかに密閉した。血液サンプルを血液ガス自動分析装置 (i-STAT200A あるいは 300F、i-STAT Co., East Windsor, NJ, U.S.A.) を用いて 37°C の機器設定条件下で血液 pH、二酸化炭素分圧 (pCO_2) を測定し、直腸温度を用いて pH および pCO_2 値を体温で自動補正した。重炭酸 (HCO_3^-)、過剰塩基濃度 (BE) および総二酸化炭素 (TCO_2) 濃度は実測した pH および pCO_2 値を用いて i-STAT に組み込まれた演算式により自動算出した[8]。それぞれの測定方法は表 1.2.1 に示した。

すべての供試牛の沈うつスコアは採血前に Kasari の沈うつスコアに従って、脱水 (眼球陥没)、神経症状 (吸乳反射、威嚇反射、触知反射、起立反射) およ

び循環器症状（口腔内の温かさ、四肢端の温かさ）の7項目を表1.1.1の基準に従いスコア化し、その合計をスコアとして算出した[44-46, 48, 49]。沈うつスコアの合計は範囲が0~15であり、臨床症状が最も重篤な子牛はスコア15となる[44-46, 48, 49]。

1.2.3 統計解析

データは平均値±標準偏差にて表した。沈うつスコアと各検査項目の相関係数は Spearman's rank test を市販統計ソフト（Stat View Japanese Edition, Ver.5, Hulinks Japan, Tokyo, Japan）を用いて求め、 $p < 0.05$ を有意とした。次に慣例的に用いられている重度代謝性アシドーシスの指標である $BE < -10$ mM を参照値とし、Kasari の沈うつスコアによる重度代謝性アシドーシスへの予後診断能を Receiver Operating Characteristic (ROC) 解析により評価した。理想的カットオフ値、感度および特異度は J インデックスに基づいて算出した。 J インデックスとは ROC 曲線と対角線の距離と定義され、 $J = \text{maximum} [\text{sensitivity} + \text{specificity} - 1]$ により計算される。 J インデックスに対応する ROC 曲線のカットオフ点を理想的カットオフ値とした。

1.2.4 結果

下痢症子牛における血液 pH ($r^2 = 0.536$, $p < 0.001$, 図 1.2.1)、 TCO_2 ($r^2 = 0.406$, $p < 0.001$, 図 1.2.2)、 HCO_3^- ($r^2 = 0.444$, $p < 0.001$, 図 1.2.3) および BE ($r^2 = 0.484$, $p < 0.001$, 図 1.2.4) は Kasari の沈うつスコアと有意な負の相関関係を示した。

重度代謝性アシドーシスにおける Kasari の沈うつスコアの ROC 曲線下面積 (AUC: area under the curve) は 0.921 となり、本病態を診断するためのスコアのカットオフ値は 6.5 であった (図 1.2.5)。なお、その際の感度 (Se: sensitivity) および特異度 (Sp: specificity) はそれぞれ 88.4% および 82.1% であり、尤度比は 4.86 であった。

1.2.5 考察

下痢症子牛において吸乳反射が弱い牛は $BE = -10$ mM で重度代謝性アシドーシスの状態にあると考えられる[31]。生産動物医療では慣例的に重度の代謝性

アシドーシスに対して汎用輸液剤である乳酸ナトリウム液を用いても十分なアシドーシスの補正が出来ないために、1.4%、7%または8.4%重炭酸ナトリウム液を適応するが[2]、重炭酸ナトリウムの急速および過剰投与は可逆的な脳脊髄アシドーシス[61]、酸化ヘモグロビンの消失による低酸素血症、細胞外から細胞内へのカリウムイオンの移動に伴う低カリウム血症、およびカルシウムのイオン化率の低下に起因する痙攣が生じるため[3, 37]、血液ガス分析によりアシドーシスの程度を正しく評価することが望ましい。しかし、往診が中心で経済動物を扱う生産動物医療では、常時血液ガス分析を行うことは困難である。この問題を解決したのが Kasari と Naylor[48, 49]であり、身体一般検査から酸塩基平衡異常の程度を推察する沈うつスコアを開発した。しかし、彼らは12頭のシャロレーとシンメンタール種を用いてこの沈うつスコアのシステムを構築したため[48, 49]、我が国で主に飼養管理されている黒毛和種、ホルスタイン種およびそれらの交雑種について適応が出来るか否かは不明であった。本研究では黒毛和牛子牛および交雑種子牛においても Kasari と Naylor と同様の結果であるか否かの検証を行った。その結果、沈うつスコアは黒毛和種およびその交雑種子牛においてもアシドーシスの病態を的確に評価することが可能であること、重度の代謝性アシドーシス (BE=-10 mM) では沈うつスコア 6.5 以上で評価が可能であることが明らかになった。

1.3 小括

往診が中心で経済性が重視される生産動物医療において脱水および酸塩基平衡異常を評価するために検査機器を用いた生化学検査を行うことは必ずしも現実的ではない。よって、生産動物医療ではこれらの病態評価において身体一般検査所見から推察することが重要となる。12頭のシャロレーとシンメンタール種を用いて Kasari と Naylor が構築した沈うつスコアシステムを黒毛和種および黒毛和種とホルスタインの交雑種に応用することが可能であれば子牛下痢症の輸液療法を計画する上で極めて有効な情報となり得る。よって第1章では第1節で脱水、第2節で酸塩基平衡異常を身体一般検査で得た情報を基にスコア化し、その総合評価を持って病態評価が出来るか否かについて検証した。その結果、以下の知見が得られた。

- ① 沈うつスコアは Kasari が検証したシャロレーおよびシンメンタール子牛だけでなく黒毛和種およびその交雑種子牛においても脱水およびアシドーシスの病態を的確に評価することが可能である。
- ② Kasari の沈うつスコアは黒毛和種子牛の下痢種子牛において、脱水の指標となる Hct、TP、K および iP 濃度と有意な相関関係を有し、概ねスコア 10 を超えるとこれらの測定項目の参照値上限から逸脱する。
- ③ Kasari の沈うつスコアが 10 を超えた時点で脱水症の指標となる Hct および TP が参照値上限を超えているため、再水和を目的とした経静脈輸液を実施するべきであること、スコアが 5 で BUN 値が参照値上限を超えるために経口輸液剤の適応を考慮するべきである。
- ④ 黒毛和種およびその交雑種子牛においてもアシドーシスの病態を的確に評価することが可能であること、重度の代謝性アシドーシスの指標である $BE = -10\text{mM}$ は沈うつスコア 6.5 以上で評価が可能である。

これらの結果を要約すると、子牛下痢症において脱水の補正には沈うつスコアが 10 よりも高値であれば経静脈輸液を積極的に行い、スコアが 6.5 よりも高値であれば代謝性アシドーシスの補正に重炭酸ナトリウムを適応するべきであることが示された。

表1.1.1 代謝性アシドーシスにおける臨床兆候を数量化するためのKasariの沈うつスコア

項目	評価方法	スコア	考え方
眼球陥没	視診	0	なし
		1	眼球および瞬膜が眼瞼からわずかに離れている
		2	眼球および瞬膜が眼瞼から著しく離れている
吸乳反射	舌の上に人差し指を乗せる	0	強い協調吸乳
		1	弱い協調吸乳
		2	顎の吸引運動
		3	反応なし
威嚇反射	手を素早く目の方向に動かす	0	強く瞬間的に眼瞼を閉じる
		1	遅れてゆっくりと眼瞼を閉じる
		2	反応なし
触知反射	腰部皮膚をつかむ	0	皮膚がピクッと動き、頭を側腹部へ向ける
		1	皮膚がピクッと動くが、頭を側腹部へ向けない
		2	皮膚をピクッととも動かさず、頭を側腹部へ向けない
起立能力	ペンで胸部を突く	0	介助なしに起立できる
		2	介助なしには起立できない
口腔内の温かさ	指で硬/軟口蓋粘膜を触れる	0	正常な粘膜の温かさである
		1	ひんやりしている
		2	冷たい
四肢端の温かさ	手で球節周囲を握る	0	正常な皮膚の温かさである
		1	ひんやりしている
		2	冷たい

表1.1.2 臨床スコアシステムによる下痢症子牛における病態評価の検証に
 用いた各測定項目の測定方法

検査項目	測定方法
ヘマトクリット値 (Hct)	電気抵抗法
血清総蛋白質 (TP, g/dL)	Biuret法
カリウム (K, mM)	電極法
無機リン (iP, mg/dL)	モリブデン酸直接法
血液尿素窒素 (BUN, mg/dL)	ウレアーゼGLDH(アンモニア消去)法
クレアチン (CREA, mg/dL)	酵素法

表1.1.3 下痢症子牛における脱水症および腎血流量低下の参照値上限と逸脱スコア

検査項目	参照値上限	逸脱スコア	指標
ヘマトクリット値 (Hct)	49.3%	11.7	
血清総蛋白質 (TP)	7.1g/dL	10.3	脱水症の指標
カリウム (K)	6.4 mM	9.4	
無機リン (iP)	11.5 mg/dL	10.4	
血液尿素窒素 (BUN)	27.1 mg/dL	4.9	腎機能の指標
クレアチン (CREA)	2.2 mg/dL	8.3	

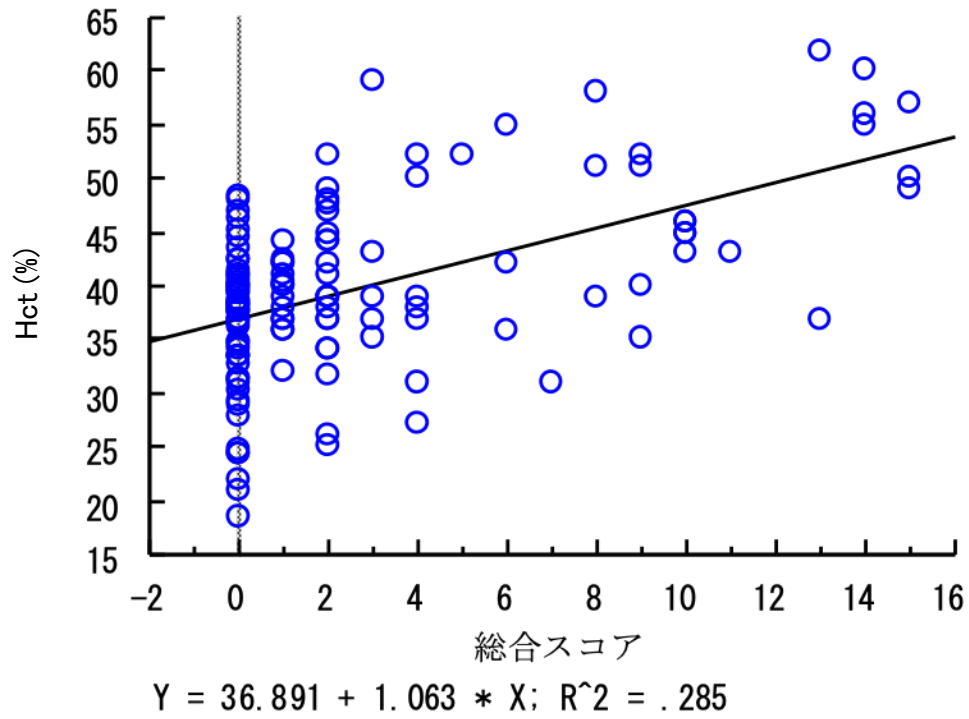


図 1.1.1 哺乳子牛における Kasari の沈うつスコアとヘマトクリット値(Hct)の
回帰グラフ

逸脱スコア：11.7

健常哺乳子牛 n=76、下痢症哺乳子牛 n=114

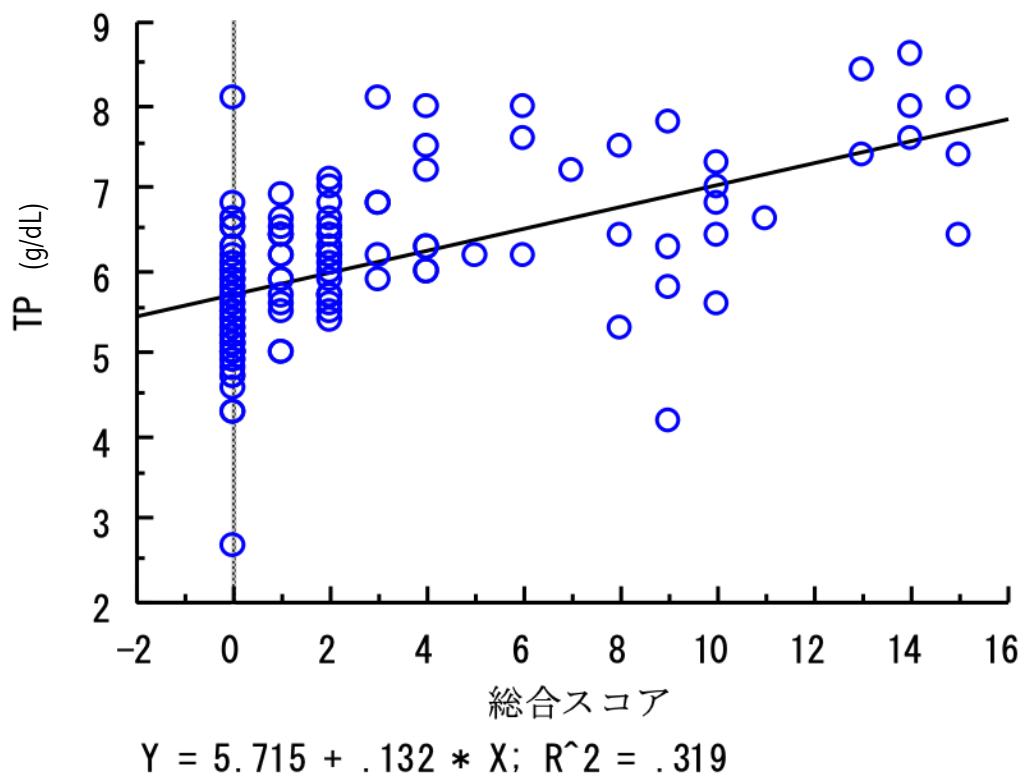


図 1.1.2 哺乳子牛における Kasari の沈うつスコアと血漿総蛋白質(TP)の回帰
グラフ

逸脱スコア:10.3

健常哺乳子牛 n=76、下痢症哺乳子牛 n=114

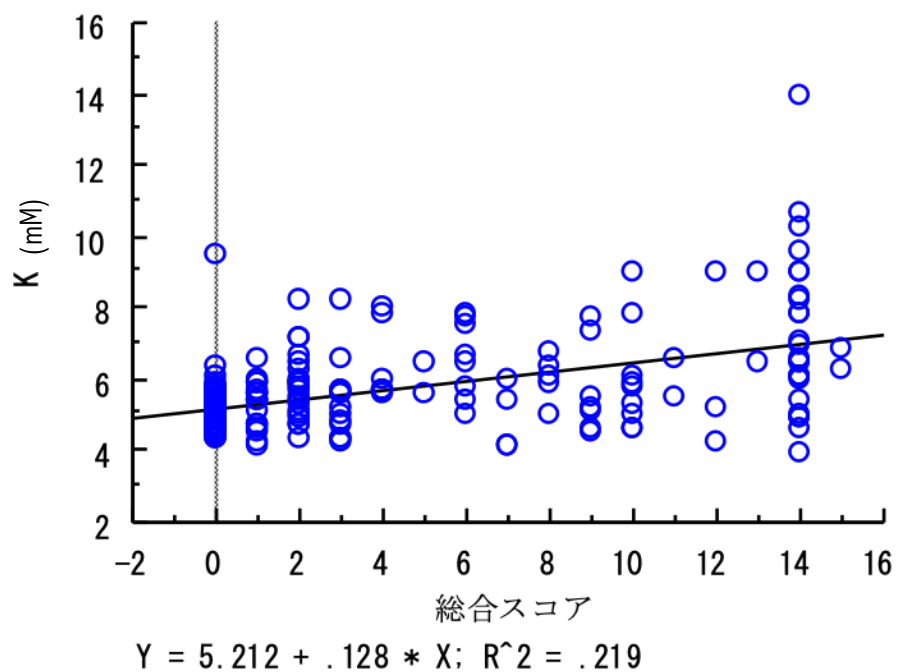


図 1.1.3 哺乳子牛における Kasari の沈うつスコアとカリウム濃度(K)の回帰グラフ

逸脱スコア:9.4

健常哺乳子牛 n=76、下痢症哺乳子牛 n=114

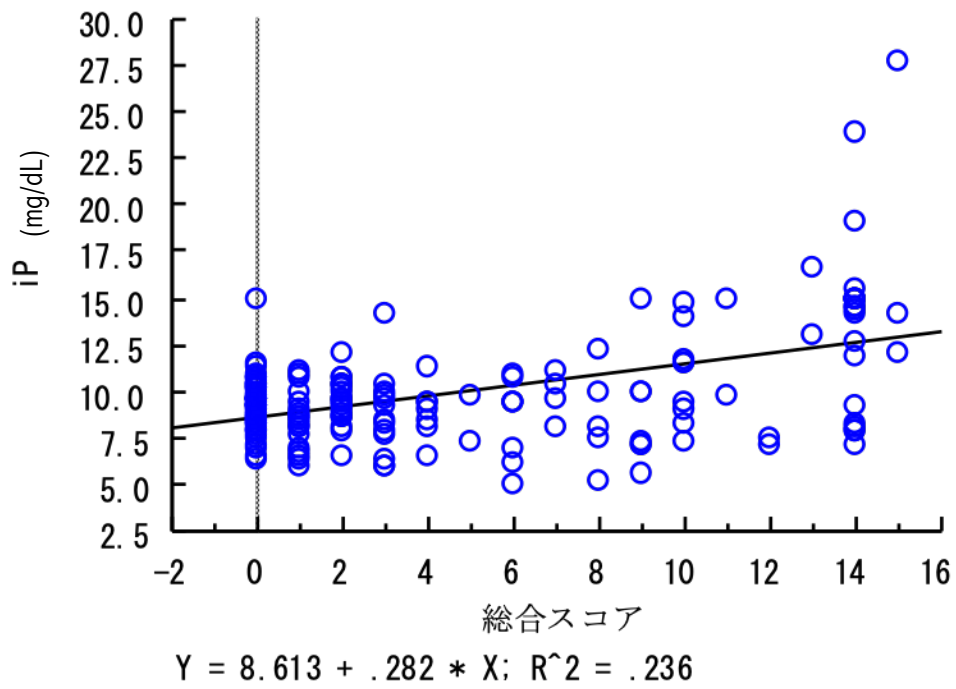


図 1.1.4 哺乳子牛における Kasari の沈うつスコアと無機リン濃度(iP)の回帰グラフ

逸脱スコア:10.4

健常哺乳子牛 n=76、下痢症哺乳子牛 n=114

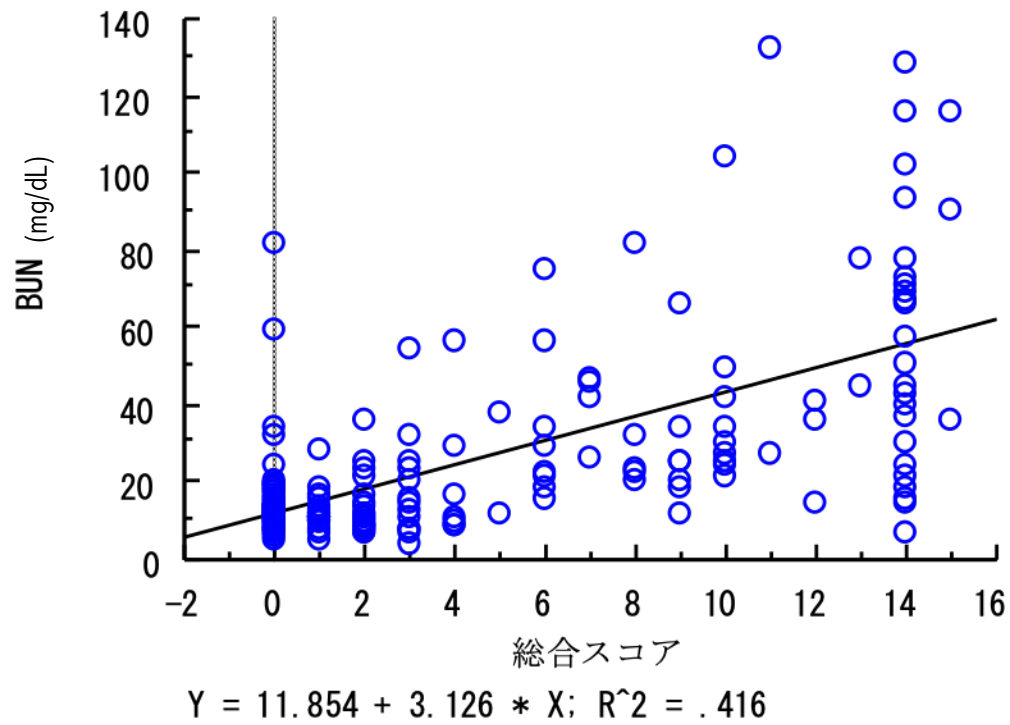


図 1.1.5 哺乳子牛における Kasari の沈うつスコアと尿素窒素量(BUN)の回帰グラフ

逸脱スコア:4.9

健常哺乳子牛 n=76、下痢症哺乳子牛 n=114

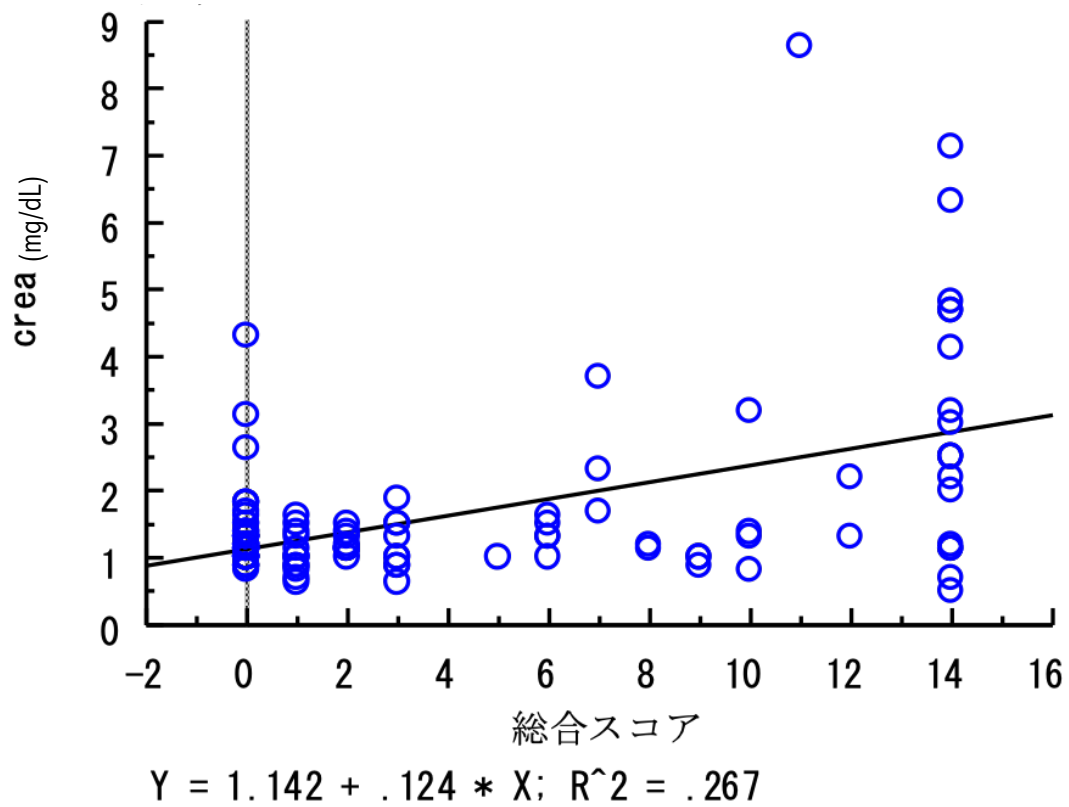


図 1.1.6 哺乳子牛における Kasari の沈うつスコアとクレアチン濃度(CREA)の
回帰グラフ

逸脱スコア:8.3

健常哺乳子牛 n=76、下痢症哺乳子牛 n=114

表1.2.1 代謝性アシドーシスを伴う哺乳子牛における沈鬱スコアの検証に用いた各測定項目の測定方法

検査項目	測定方法
血液pH	水素イオン濃度をイオン電極にて測定し、その濃度の逆数の常用対数を求めることより算出
重炭酸塩 (HCO_3)	炭酸ガスが炭酸ガス透過膜を透過し、膜中の電解質液内で炭酸となり、遊離水素イオン濃度をイオン選択電極で測定
過剰塩基 (BE)	重炭酸と血液PHの計算より算出
総二酸化炭素 (TCO_2)	重炭酸と二酸化炭素分圧の測定値より算出
ナトリウム濃度	イオン選択電極で電位差法により測定
カリウム濃度	イオン選択電極で電位差法により測定
塩素濃度	イオン選択電極で電位差法により測定

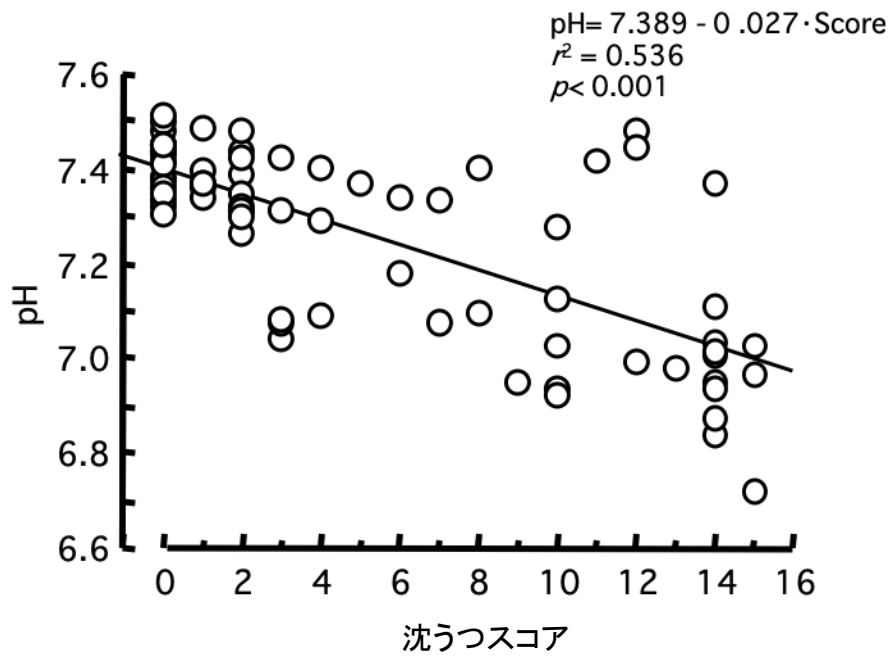


図 1.2.1 哺乳子牛のアシドーシス評価における Kasari の沈うつスコアと pH の回帰グラフ

健常哺乳子牛 n=28、下痢症哺乳子牛 n=56

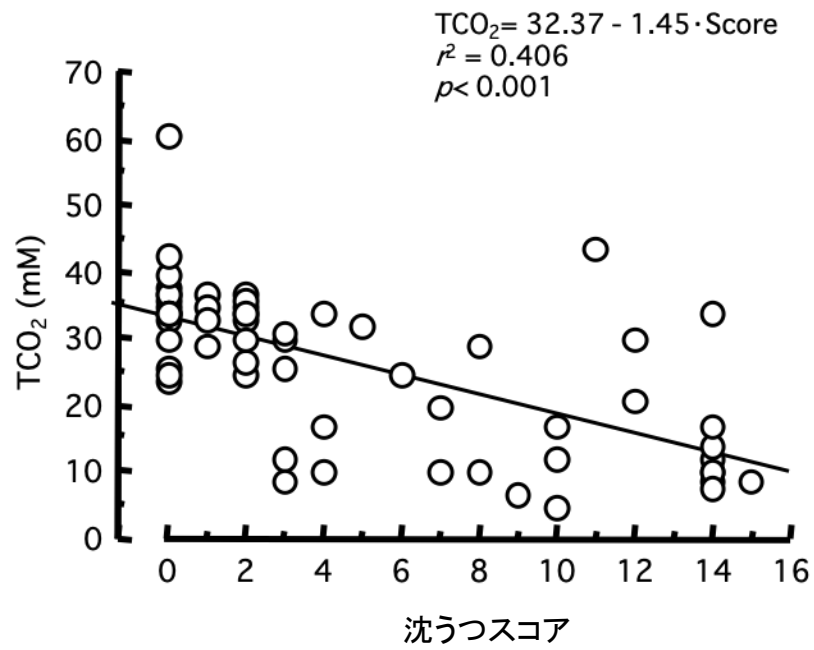


図 1.2.2 哺乳子牛のアシドーシス評価における Kasari の沈うつスコアと総二酸化炭素 (TCO₂) の回帰グラフ

健常哺乳子牛 n=28、下痢症哺乳子牛 n=56

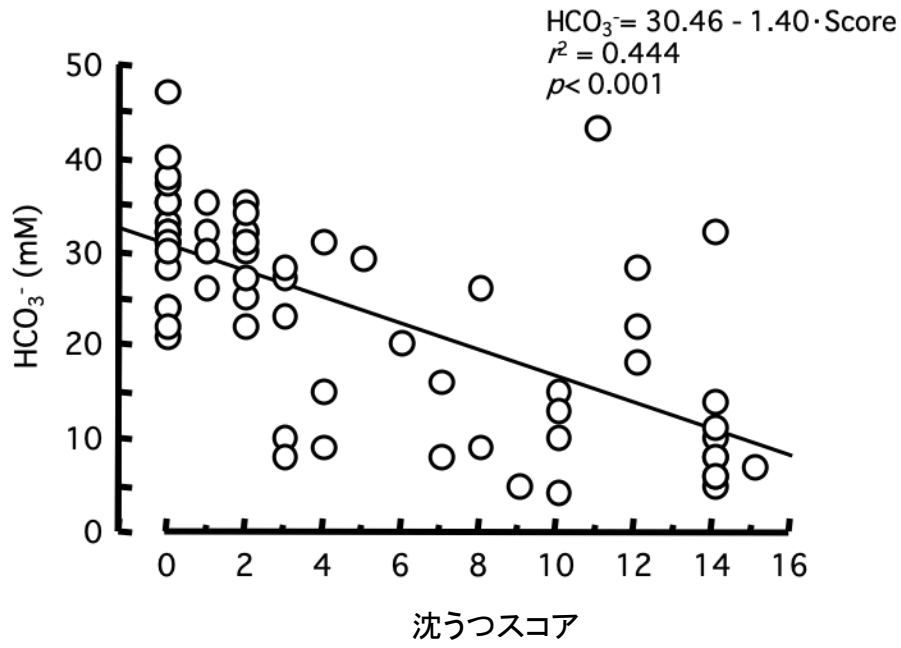


図 1.2.3 哺乳子牛のアシドーシス評価における Kasari の沈うつスコアと重炭酸ナトリウムの回帰グラフ
 健常哺乳子牛 n=28、下痢哺乳子牛 n=56

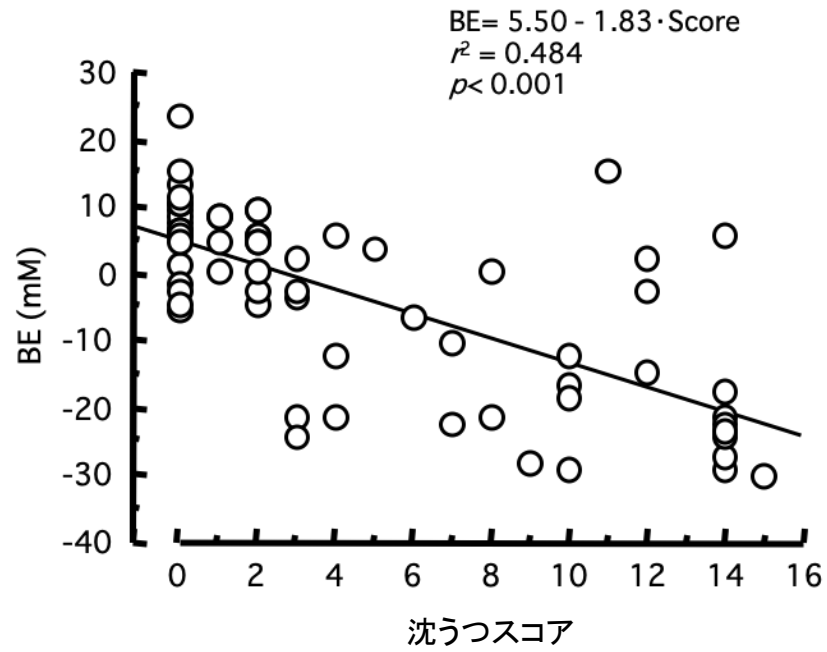
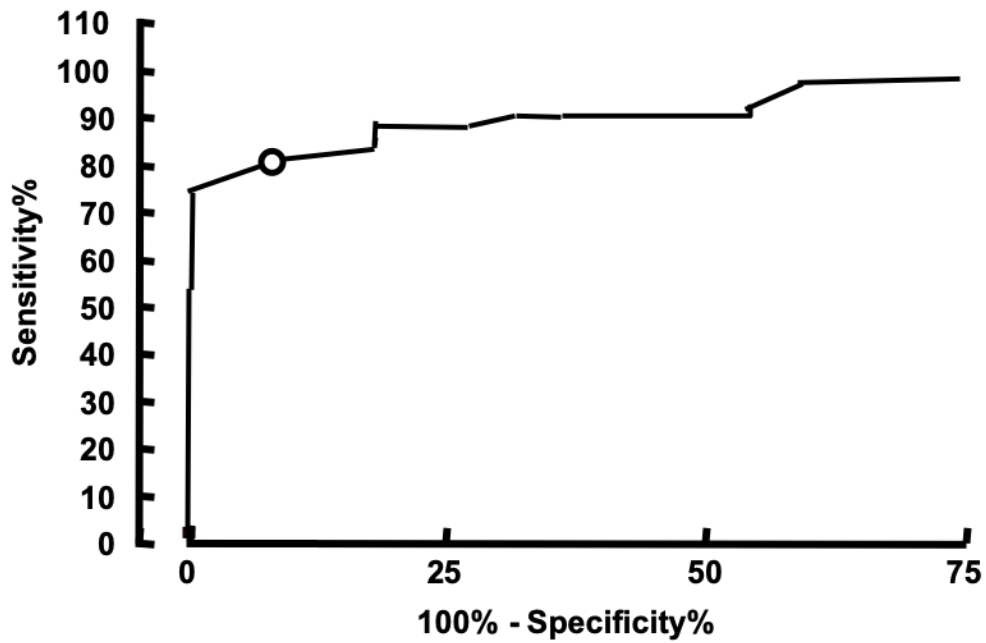


図 1.2.4 哺乳子牛のアシドーシス評価における Kasari の沈うつスコアと BE 濃度の回帰グラフ

健常哺乳子牛 n=28、下痢哺乳子牛 n=56



Area under the ROC curve : 0.921 ($p < 0.001$)
 (95%CI 0.858 to 0.985)

Cut off Score : 6.5
 Sensitivity% : 88.4%
 Specificity% : 81.2%

Likelihood ratio : 4.86

図 1.2.5 ROC 曲線における重度代謝性アシドーシスの診断としての沈うつスコアの評価

カットオフポイント (BE < -10) スコア 6.5

第2章

下痢症子牛における酸塩基平衡異常の
補正を目的とした酢酸リンゲル液の有効性の評価

2. 下痢症子牛における酸塩基平衡異常の補正を目的とした酢酸リンゲル液の有効性の評価

重炭酸ナトリウムは急性かつ重篤な代謝性アシドーシスの治療において BE の値を急速に改善させるため極めて有用である [37, 46-49, 65, 82]。しかし、重炭酸ナトリウム液の急速および過剰投与は細胞外液の有効浸透圧の急激な上昇、逆説的脳脊髄液アシドーシス、脳内出血と細胞内低酸素化のリスクが高いため慎重に使用することが推奨されている [37]。そのため、酸塩基平衡異常の補正には細胞外液 pH が 7.200 未満の重篤例を除き、重炭酸イオンの前駆物質である乳酸イオンや酢酸イオンなどを利用すべきである [11]。さらに、Kasari ら [48] は 50 mM の酢酸ナトリウムは 50 mM の乳酸ナトリウムに比較してアルカリ化効果が優れていることを証明しているが、我が国で市販されている酢酸リンゲル液あるいは乳酸リンゲル液は重炭酸前駆物質をわずか 28 mM 含んでいるだけである。すなわち、本研究の目的は、子牛における軽度代謝性アシドーシスの治療において、市販の酢酸リンゲル液が市販の乳酸リンゲル液と比較してアルカリ化能が優れているか比較することである。

2.2 材料および方法

本研究は National Research Council が発刊した Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press) の指針を遵守して実施した [60]。健常雄ホルスタイン子牛 20 頭(日齢 50.0 ± 4.1 日、体重 58.3 ± 4.9 kg)を本研究に供試した。すべての子牛に対して軽度のアシドーシス状態を作出するための前処置として市販の代用乳 (モートクミルク 02 子牛用、株式会社科学飼料研究所、東京) を 3L の冷水 (4°C 以下) で溶解し 1 日に 2 回経口チューブを用いて 2 日間給与した。引き続き、ステアリン酸の入った温ミルクを 2 日間にわたり給与した。ステアリン酸ミルクは、市販の代用乳 200 g と 100 g のステアリン酸に 1.5 L の温湯を加えて約 36°C に調整したものであり、1 日 2 回与えた。

前述の酸血症モデルを作製後、4 種類の市販の輸液剤のいずれか 1 つを用いて輸液量 80 mL/kg、輸液速度 40 mL/kg/hr で静脈内輸液を実施した。各群 5 頭を用いた。本研究に用いた市販の輸液剤は、生理食塩液 (ISS, 日本全薬工業)、

DL 型乳酸リンゲル液 (DLR, 日本全薬工業)、L 型乳酸リンゲル液 (LR, テルモ株式会社、東京) および酢酸リンゲル液 (AR, テルモ株式会社) の 4 種類であった。Berchtold [11] は脱水症と軽度のアシドーシスを併発した哺乳子牛の輸液療法に用いる輸液量を数理的に算出したところ、平均体重 50 kg の牛に対して 4 L (80 mL/kg) となることを示している。各種輸液剤の組成は表 2.1 に示した。

輸液開始前、輸液開始後 15、30、45、60、90 および 120 分目、翌日および翌々日に左の頸静脈から 1 mL のヘパリン添加シリンジを用いて空気に触れることなく採血した。このヘパリン添加血液サンプルは 37°C の温度条件で自動血液ガス分析装置 (model 248, Bayer Medical, 東京) を用いて血液 pH および二酸化炭素分圧 ($p\text{CO}_2$) を測定した。得られた測定値はそれぞれの子牛の直腸温度により体温補正した [18, 33]。残りの血液サンプルは循環血漿量指数 (rPV) を算出するために自動血球計算器 (MEK-6248, 日本光電、東京) を用いてヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値を測定した。

2.3 統計学的解析

データは平均値±標準偏差にて示した。それぞれの時間ごとに採血および検査を実施し各群間での比較を行った。群内変動は輸液開始前の数値と比較し統計ソフトを用いて一元配置の分散分析により分散を評価した後、post-hoc テストとして Bonferroni 検定を実施した。 $p < 0.05$ の場合に有意差ありとした。

2.4 結果

代謝性アシドーシスの作製において、血液 pH を 7.346 ± 0.030 から 7.245 ± 0.039 ($p < 0.001$)、BE 濃度を 2.9 ± 1.5 から -8.9 ± 2.8 mM ($p < 0.001$) にまでそれぞれ減少させ酸血症とした。一般的に、子牛において $\text{pH} < 7.20$ 、 $\text{BE} < -10$ mM は重度代謝性アシドーシスと診断される [11]。すなわち、本法により軽度の代謝性アシドーシス子牛を作製することが出来た。

各種輸液剤の投与試験において、輸液中および輸液終了後に臨床的な異常所見である肺の湿性音、湿性発咳、頸静脈のうっ血、眼瞼の麻痺、唾液の分泌など顕著な異常は認められなかった。それぞれ 80 mL/kg の ISS、DLR、LR およ

び AR の輸液において、投与開始後 90 分目の rPV は輸液開始前を 100%としたとき、それぞれ 136.0 ± 9.9 、 136.0 ± 7.7 、 144.0 ± 21.4 および $140.4 \pm 9.4\%$ となり開始前と比較し有意に上昇したが ($p < 0.05$)、各群間の有意差は認められなかった。図 2.1 および図 2.2 は 4 種類の市販輸液剤を酸血症モデル子牛に投与したときの血液中 HCO_3^- および BE 濃度の経時的变化を示した。ISS を投与された子牛の血液中 HCO_3^- 濃度は開始前の $17.0 \pm 2.9 \text{ mM}$ から投与終了時の 120 分目には $15.2 \pm 2.0 \text{ mM}$ まで減少し、同様に BE 濃度も開始前の $-8.9 \pm 2.6 \text{ mM}$ から 120 分目の $-11.1 \pm 2.3 \text{ mM}$ までわずかに変化したが有意ではなかった。DLR は輸液剤を投与しても投与前後で血液中 HCO_3^- および BE 濃度の有意な変動は認められなかった。

LR は ISS および DLR とは異なり輸液前の血液中 HCO_3^- および BE 濃度は投与前値に対して輸液開始後 60 分目まで変化は認められなかったものの、90 分目以降有意に増加した ($p < 0.001$)。一方、酢酸リンゲル液は輸液開始直後から輸液開始 90 分目まで重炭酸および BE 濃度が有意に上昇し ($p < 0.05$)、120 分目の BE 濃度は開始前に比較して $2.4 \pm 0.9 \text{ mM}$ の増加が認められた。

2.5 考察

輸液実施中の血液中 HCO_3^- および BE 濃度の経時的变化量は AR 群において ISS および DLR と比較して有意に大きかった ($p < 0.05$)。子牛において DLR が LR に比較してアルカリ化能が低い理由として、子牛は D 型乳酸脱水素酵素をわずかしか持っていないことが挙げられる [44, 46]。一方、AR は子牛において LR よりも代謝が速やかであるが [58]、それは乳酸が肝臓で代謝 [28, 29, 32] されるのに対して酢酸は肝臓だけでなく筋肉でも代謝されるためである [9, 10, 77]。さらに、酸血症の子牛の乳酸イオン濃度はすでに増加しているため、乳酸代謝速度はさらに遅延することが知られている [15, 48, 77]。以上より、酢酸リンゲル液は DL 型乳酸リンゲル液および L 型乳酸リンゲル液よりも子牛の軽度代謝性アシドーシスの治療において優れたアルカリ化能を有することが本試験により明らかになった。

2.6 小括

本章では代用乳の吸収不全による代謝性アシドーシスを誘発することで軽度の酸血症モデルを作出し、我が国で市販されている等張電解質輸液剤（生理食塩液[ISS]、DL型乳酸リンゲル液[DLR]、L型乳酸リンゲル液[LR]および酢酸リンゲル液[AR]）の酸塩基平衡異常の補正効果を比較した。その結果、酢酸リンゲル液はDLおよびL型乳酸リンゲル液と比較して速やかなアルカリ可能を持つことが確認された。このことは、乳酸が肝臓で代謝されるのに対し、酢酸では肝臓だけでなく筋肉でも代謝されることに起因すると考えられた。本試験において、酢酸リンゲル液は子牛の軽度の代謝性アシドーシス補正に有用な輸液剤であることが明らかとなった。

表2.1 各種輸液剤の組成

	記号	Na ⁺ (mEq/L)	K ⁺ (mEq/L)	Ca ⁺ (mEq/L)	Cl ⁻ (mEq/L)	乳酸 (mEq/L)
生理的食塩水	ISS	154	-	-	154	-
DL型乳酸リンゲル液	DLR	130	4	3	109	28
L型乳酸リンゲル液	LR	131	4	3	110	28
酢酸リンゲル液	AR	131	4	3	109	28

注) 酢酸リンゲル液は 28mM の酢酸イオンが乳酸イオンの代わりに配合されている。

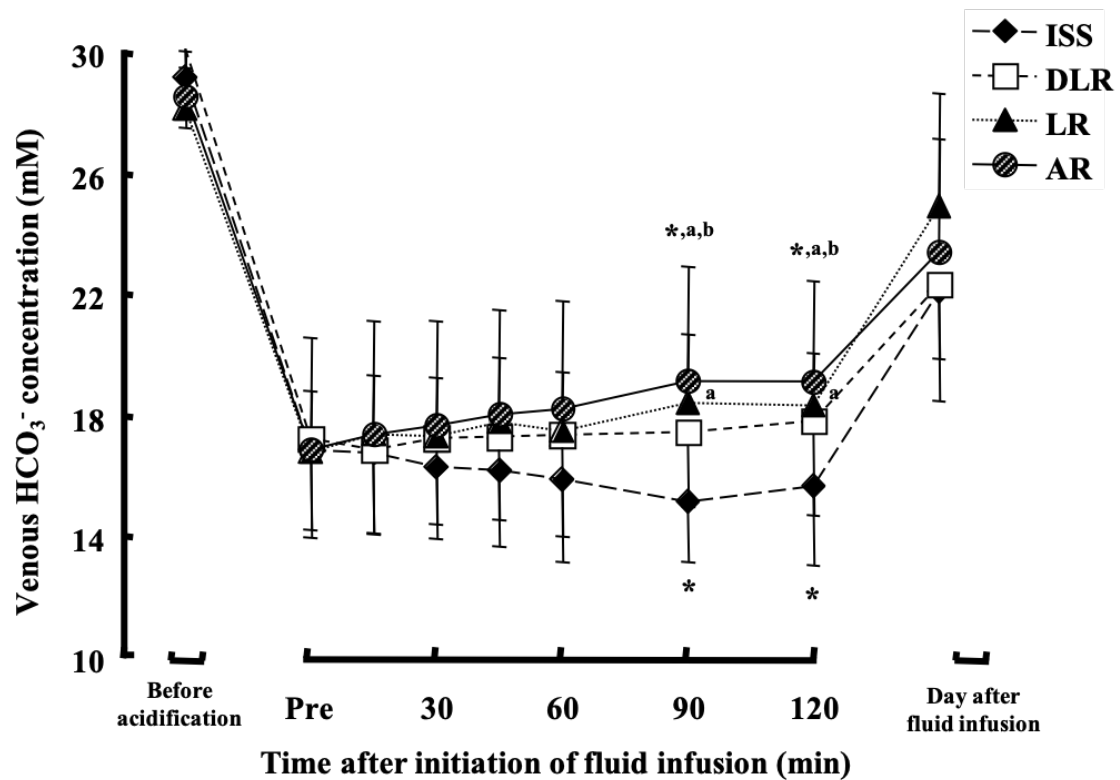


図 2.1 下痢症子牛における各種輸液剤投与後の重炭酸の経時的変化

酢酸リンゲルを投与した子牛においては開始前に比較し 90 分後に重炭酸ナトリウム濃度が有意に改善をしたが他の薬剤を投与した子牛では改善が見られなかった。

ISS: 生理食塩液

DLR: DL 型乳酸リンゲル液

LR: L 型乳酸リンゲル液

AR: 酢酸リンゲル液

* : $p < 0.05$ vs Pre 値、 a : $p < 0.05$ vs ISS、 b : $p < 0.05$ vs DLR

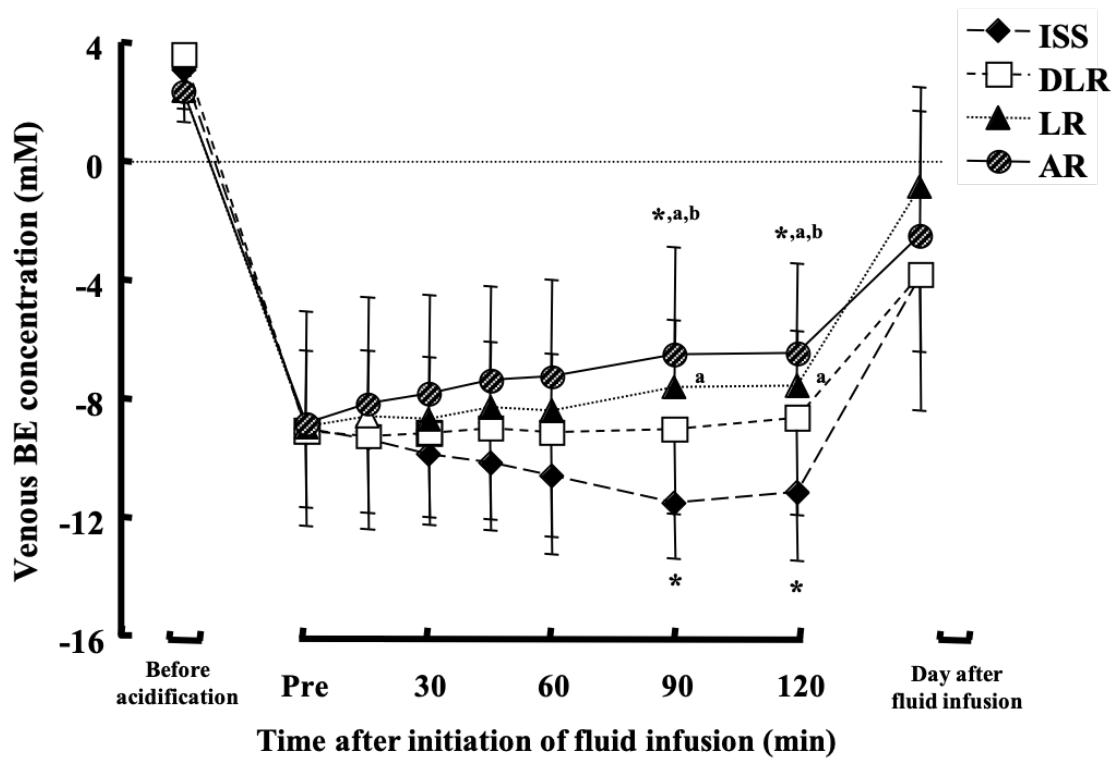


図 2.2 下痢症子牛における各種輸液剤投与後の BE の経時的変化

酢酸リンゲルを投与した子牛において、開始前に比較して 90 分後に BE が有意に改善したがその他の薬剤を投与した子牛では改善が見られなかった。

ISS: 生理食塩液

DLR: DL 型乳酸リンゲル液

LR: L 型乳酸リンゲル液

AR: 酢酸リンゲル液

* : $p < 0.05$ vs Pre 値、 a : $p < 0.05$ vs ISS、 b : $p < 0.05$ vs DLR

第3章

低ナトリウム血症を伴う下痢症子牛における 2.16%高張食塩液の臨床応用

肉用および乳用子牛の双方において、下痢症は依然として主要な死亡原因である[21, 54]。子牛の下痢症は感染や不適切な給餌により引き起こされるが、その主な病態は脱水、代謝性アシドーシス、腎前性尿毒症、低ナトリウム (Na) 血症である。子牛の下痢症による死亡率を低下させるためには、静脈内輸液療法が重要であることは広く受け入れられている。Smith および Berchtold [79] によれば、下痢、脱水、中等度から重度のアシドーシスを呈した子牛に生理食塩液 5 L と 8.4%高張性炭酸水素ナトリウム水溶液 250 mL (NaCl を合計 66g 含む) を静脈内投与することが推奨されている。この際、水の過剰投与と肺炎を避ける目的で輸液速度を 30~50 mL/kg/hr とすることが一般的である。したがって、40 kg の子牛が 10%の脱水状態にある場合、上記の方法では 2.5~4 時間の静脈内輸液が必要となる[79]。一方、少量の高張性生理食塩液 (HSS : Hypertonic Saline Solution) の投与は、大量の等張性細胞外液の投与に比較してより効果的であり、下痢症の子牛に対する治療として推奨されている[19, 54, 99]。HSS による治療は静脈内カテーテル留置や定期的なモニタリングを必要としないため、現場での使用に適している。さらに、HSS は前負荷の急速な増加と後負荷の一過性の減少を生じる利点がある[20, 21]。Constable ら[20, 21] がエンドトキシンショックモデルにおける 7.5% HSS の血行動態および生化学的パラメータに対する有効性と安全性を実証してから、7.2%または 7.5%の HSS が生産動物医療において下痢症子牛の治療に使用されるようになった[19, 50, 80, 99]。そのため、子牛の治療目的で市販されている HSS の濃度は 7.2% または 7.5%である。これまでの研究で、中等度の脱水と代謝性アシドーシスを呈する下痢症子牛において、従来の等張性細胞外液ではなく少量の 7.2% HSS の静脈内投与と経口電解質液の組み合わせがより短時間で脱水および酸塩基平衡異常を改善できることが示唆されている[6, 19, 54, 93]。しかし、Suzuki ら[85]は、循環血液量に異常のない未經産牛 (体重 260 ± 7.0 kg) に 7.2% HSS を添付文書で推奨されている投与方法 (5 mL/kg、15 分以上) に従って静脈内投与した場合に、血清中 Na 濃度が 157 ± 3.5 mEq/L まで上昇したことを報告した。

高 Na 血症とは、血清中 Na 濃度が 160 mEq/L 以上の状態と定義されている[3]。下痢症子牛においては稀な合併症であるが[3, 34, 93]、過剰な Na 含有塩

類を摂取した場合に高 Na 血症を発症する[1, 74]。特に添付文書に示された投与量の 3 倍量に相当する 7.2% HSS の投与(15 mL/kg)は、高 Na 血症の閾値である 160 mEq/L を上回ることが報告されている[82]。したがって、HSS 投与時には、血中 Na 濃度の急激な変化による有害事象の発現に注意を払うべきである。

近年、米国[98]や欧州ではヒトにおける低 Na 血症の治療ガイドライン[39, 80]が作成された。重度症例には、低 Na 血症の持続期間にかかわらず、2 mL/kg の 3% HSS の静脈内投与により治療が行われる[69]。3% HSS は、有害事象や急激な血行動態の変化を伴わずに血中 Na 濃度異常や脱水を補正するための安全な輸液剤であることが実証されている[7, 59, 69, 70, 78]。しかし、ヒトでは 3% HSS の投与でもその方法、特に投与速度によって高 Na 血症を引き起こす場合もある[5]。

重度の高 Na 血症はヒト[13]のみならず、子牛でも高死亡率を示す重篤な疾患であることから[74, 93]、低 Na 血症を伴う下痢症子牛の治療には、急激な血行動態の変化を引き起こす 7.2% HSS よりも 3%未満の HSS の投与がより安全であると考えられる。下痢症子牛に対する 7.2%または 7.5% HSS の治療効果については多くの報告があるが[6, 50, 54, 79, 85, 99]、筆者の知る限りでは 3%未満の HSS の有効性についての報告は少ない。さらに、市販の食塩液の濃度は 0.9%または 7.2%であるため、現場で容易に入手できるこれらの食塩液を用いて簡便に調剤できることが重要である。そこで、我々は市販の 0.9%生理食塩液と 7.2% HSS を 4:1 の比率、すなわち 1 L の生理食塩液に 250 mL の 7.2% HSS を混合することで、簡便に調剤できる 2.16% HSS に着目した。本研究では、市販の 0.9%生理食塩液と 7.2% HSS を用いて簡便に調製できる 2.16% HSS が、下痢を伴う子牛の低 Na 血症を安全に改善できるか否かを検討した。

3.1 材料および方法

本研究は、長野県農業共済組合北信家畜診療所管内の農場において治療目的で実施した。平均日齢 21.4 ± 10.9 日で中等度の下痢と沈うつ症状を呈した 13 頭のホルスタイン種雌子牛を対象とした。臨床指標である姿勢、行動、眼瞼反射は、それぞれ血中過剰塩基(BE)、d-乳酸塩濃度と密接に関連していた[92]。

特に、子牛の低 Na 血症の臨床所見として起立能力は重要である[4]。本研究では、13 頭の子牛を、起立能力に応じて軽症群 (n=6: 介助なしで起立可能)、中症群 (n=5: 介助により起立可能)、重症群 (n=2: 起立不能) に分け、初診日に治療を実施した。

初診日にカテーテル (サーフロー®留置針 14G 2 1/2、テルモ株式会社、東京都) を右頸静脈に経皮的に留置し、2.16% HSS を輸液した。2.16% HSS は、市販の 0.9%生理食塩液 (日本全薬工業株式会社) 1 L と 7.2% HSS (日本全薬工業株式会社、福島県) 250 mL を混合して作成した。重症群の 2 頭を除く 11 頭の低 Na 血症の子牛には、体重に関係なく 1,250 mL (NaCl を合計 27g 含む) の 2.16% HSS を 15 分以上かけて投与した。重症群の 2 頭の子牛には、初診日に 2,500 mL の 2.16% HSS を 30 分以上かけて静脈内投与した (NaCl を合計 54g 含む)。すべての子牛において、2.16% HSS にセファゾリンナトリウム 20 mg/kg (セファゾリン注「フジタ」、フジタ製薬株式会社、東京都) を添加したが、24 時間後までは経口電解質液以外の支持療法は行わなかった。採血ポイント間に市販の経口電解質液 (カーフライト S、日本全薬工業株式会社) を 1 日 2 回経口投与した。

1 mL ヘパリン添加シリンジを用いて、輸液治療前(pre)と輸液治療翌日(post)に採血および各項目の測定を行った。採血後直ちに、血液 Na、カリウム (K)、塩素 (Cl) および血液尿素窒素 (BUN) 濃度、および血液 pH を、i-STAT 200A および EC8+カートリッジ(Abbott Lab. North Chicago, IL, U.S.A.)を用いて測定した。なお血液 pH は、直腸温によって自動補正された値を用いた。血清総蛋白質 (TP) 濃度は定法に従い屈折計を用いて定量した。

ヒトの医療ガイドライン[39]では、血清 Na 濃度が 136 mEq/L 未満の場合に低 Na 血症と定義され、さらに 125 mEq/L 未満の場合には米国のガイドライン[98]では「severe hyponatremia (重度の低 Na 血症)」、欧州のガイドライン[39, 80]では「marked hyponatremia (著しい低 Na 血症)」と定義されている。牛では、血清 Na 濃度が 132 mEq/L 未満のものを低 Na 血症、120 mEq/L 未満のものを重度の低 Na 血症と定義されている[4]。本研究でも、血中 Na 濃度が 132 mEq/L 未満であるものを低 Na 血症と診断した。

3.2 統計学的解析

統計解析には市販の統計ソフトウェア(SPSS® Statistics version 25., Armonk, IBM Corp., NY, U.S.A.)を使用した。正規分布を示すデータは、平均±標準偏差(SD)として示した。各子牛の2.16% HSS投与前後の各測定値の差の検定は、対応のあるt検定を用いて評価した。起立能力により分類した軽症および中症群の各測定値の差は、分散を評価した後に Student の t-検定または Mann-Whitney の U 検定を用いて評価した。

さらに、Receiver Operating Characteristic (ROC) 曲線を用いて起立能力に関連する各パラメータの感度および特異度を評価した。ROC 解析により得られた曲線下面積(AUC)は精度の指標であり、対照群に対する疾患群の分類において有意義である[35]。理想的カットオフ値、感度および特異度は、*J*インデックス[2]を用いて算出した。*J*インデックスに対応するROC曲線上のカットオフ点を理想的カットオフ値とした[1]。*J*インデックス(*J*)はROC曲線と対角線の距離と定義され、 $J = \text{maximum} [\text{sensitivity} + \text{specificity} - 1]$ により計算される。すべての統計学的解析は有意水準5%未満を有意とした($p < 0.05$)。

3.3 結果

本研究において、すべての子牛は血中Na濃度が132 mEq/L未満であったことから、すべての症例は低Na血症と診断された。

起立能力により軽症群と中症群に分類した結果、血中Na濃度を除くすべての測定項目において両群間に有意差は認められなかった。中症群の子牛の血中Na濃度は 121.2 ± 3.8 mEq/Lであり、軽症群の 127.2 ± 4.2 mEq/Lよりも有意に低値を示した($p < 0.05$)。ROC解析に基づき、血中Na濃度が121 mEq/L未満を示した低Na血症の子牛は、感度100%、特異度80%で「介助により起立可能(=中症群)」と診断できることが示された(AUC=0.937、 $p < 0.05$)。

重症群の子牛は生後30日齢の子牛が2頭のみであったため、他群との比較のための統計解析は実施しなかった。しかし、血中Na、KおよびCl濃度がそれぞれ 110.0 ± 0.0 、 6.8 ± 0.3 および 75.5 ± 3.2 mEq/Lであったため、重度の低Na血症、高K血症および低Cl血症を複合的に呈していた。

2.16% HSSを投与した13頭の低Na血症の子牛のうち、1頭は重度の低K

血症により死亡したが、その他の 12 頭は全て予後良好であり、治癒に至った（治癒率 92.3%）。死亡した子牛は 2.16% HSS 投与中に昏睡状態となった。しかし、2.16% HSS 投与中および投与後において、死亡した子牛を除くすべての個体で不整脈、頸静脈怒張、肺水腫および虚脱などの臨床症状は認められなかった。

2.16% HSS を投与した低 Na 血症の下痢症子牛の血中 Na、K および Cl 濃度の変化を表 3.1 に示した。2.16% HSS 投与により、低 Na 血症の子牛の血中 Na ($p<0.01$) および Cl ($p<0.01$) 濃度が有意に上昇し、血中 K ($p<0.01$) および BUN ($p<0.05$) 濃度が有意に低下した。特に、死亡子牛を含むすべての下痢症子牛の血中 Na 濃度は、2.16% HSS の投与により、投与前の 122.2 ± 7.0 mEq/L から投与後の 134.8 ± 3.7 mEq/L へ有意に上昇し、低 Na 血症の閾値である 132 mEq/L を超えていた。2.16% HSS 投与後 24 時間の血中 Na 濃度は軽症群のうちの 1 頭 (128 mEq/L) および重症群の 2 頭 (いずれも 130 mEq/L) とともに 132 mEq/L を超えていなかったが、死亡した個体を除いたすべての子牛が自力で起立可能 (=軽症) であった。

一方、死亡した重症群の低 Na 血症子牛 (14 日齢) の初診日における血中 Na および Cl 濃度はそれぞれ 119.0 および 87.0 mEq/L と低値を示したが、K 濃度は 4.4 mEq/L と正常範囲内であった。2.16% HSS 投与後、血中 Na 濃度は 138.0 mEq/L まで回復したものの、血中 K 濃度は 1.9 mEq/L であり、重度の低 K 血症を呈した。2.16% HSS 投与翌日 (post) の採血時には、子牛は起立不能と重度の沈うつを呈し、採血から数時間後に死亡した。

3.4 考察

本研究では、起立能力に関連する臨床所見が軽度および重度の低 Na 血症を診断できることが示唆された。また、低 Na 血症の子牛において、起立能力に関連する臨床所見は、ヒトの低 Na 血症ガイドラインに基づく血中 Na 濃度の範囲と一致していた [39, 80, 98]。

さらに、2.16% HSS は静脈内投与により 92.3% の高い治癒率を示し、低 Na 血症の下痢症子牛の Na 濃度補正に有用であることが示された。

Jafari ら [43] は、HSS のヒト無作為化臨床試験において低 K 血症は有害事象

として最も高頻度で生じると報告している。浸透圧勾配を伴う循環血漿量の急激な増加は、血漿の著しい希釈による血液成分濃度の低下を引き起こす。通常、細胞外 Na 濃度の急激な上昇は、細胞外 Na と細胞内 K の交換による細胞外 K 濃度の急激な低下を招かない[43]。しかし、死亡した子牛は慢性的な下痢により総 K 濃度が低下し、低 K 血症に陥っていた可能性がある。したがって、低 Na 血症の下痢症子牛に 2.16% HSS を使用する際には、慢性下痢や急性下痢による低 K 血症に注意する必要がある。

本臨床試験は、陽性対照および陰性対照が設定されていなかった。今後の研究では 2.16% HSS の安全性および有効性を、重炭酸塩を含むか否かに関わらず、等張性電解質液を用いた一般的な輸液療法により治療した対照群と比較する必要がある。さらに、脱水状態にある子牛への 2.16% HSS の最適投与量を明らかにするための研究が望まれる。Berchtold[12]は、80 mL/kg/hr での静脈内投与が、静水圧を有意に上昇させることなく投与できる最大輸液速度であることを示唆している。本試験では、2.16% HSS 投与中および投与直後に過水和、高血圧および肺水腫等の輸液療法による副作用は認められなかったが、輸液速度が 100 mL/kg/hr であった子牛もあり、Berchtold [12]が示した最大輸液速度を上回る速度であった。

結論として、血中 Na 濃度と起立能力に相関性が認められたことから、臨床所見により低 Na 血症の重症度を推定することができた。また、本研究では、市販の 0.9%生理食塩液 1L に市販の 7.2% HSS を 250 mL 添加することで、2.16% HSS を容易に調製でき、下痢を伴う子牛の低 Na 血症を改善できることが明らかになった。2.16% HSS を用いた低 Na 血症の治療は、約 15~30 分で行うことができるため、従来の等張性複合電解質輸液剤を用いた輸液療法に比べて、時間的、労力的ならびに経済的にアドバンテージがある。また、2.16% HSS は 7.2% HSS に比較して製剤中 Na 濃度が低いため、成牛と比較して腎機能や心機能が未発達である子牛において安全性が高いと考えられている。2.16% HSS を投与する際には副作用として低 K 血症を起こす可能性を考慮する必要があるものの、低 Na 血症の下痢症子牛において静脈内治療に簡便かつ有用な微高張性輸液剤であることが示唆された。

3.5 小括

第3章では、低 Na 血症を伴う下痢症子牛における 2.16% HSS の臨床応用を目的として、起立能力による低 Na 血症の重症度の推定が可能か否かおよび 2.16% HSS が低 Na 血症を呈した子牛の治療に有効であるか否かを評価した。その結果、血中 Na 濃度と起立能力との間に相関性が認められたことから、臨床所見により低 Na 血症の重症度を推定することが可能であった。また、市販の 0.9% 生理食塩液 1L に市販の 7.2% HSS を 250 mL 添加することで 2.16% HSS を容易に調製でき、かつ治療を約 15~30 分で行うことができるため、従来の等張性複合電解質輸液剤を用いた輸液療法に比べて簡便に下痢症子牛の低 Na 血症を改善できることが明らかになった。さらに、2.16% HSS は 7.2% HSS に比較して製剤中の Na 濃度が低いため、腎機能や心機能が未発達である子牛に対して安全性が高いと考えられた。2.16% HSS を投与する際には副作用として低 K 血症を起こす可能性を考慮する必要があるものの、低 Na 血症の下痢症子牛において静脈内治療に簡便かつ有用であることが示唆された。今後、脱水状態にある子牛への 2.16% HSS の最適投与量が明らかになれば、下痢症子牛の低 Na 血症に対するより安全で効果的な輸液戦略を立てる一助となる。

表3.1 低ナトリウム血症を伴う下痢子牛における2.16%高張食塩液（HSS）投与前および24時間後の血中Na、KおよびCl濃度の比較

検査項目	単位		全例 (n=13)	軽症 (n=6)		中等症 (n=5)	重症 (n=2)
日齢	日		21.4 ± 10.9	17.0 ± 10.5		22.2 ± 11.2	30
ナトリウム (Na)	mEq/L	pre	122.2 ± 7.0	127.2 ± 4.2	a	121.2 ± 3.8	b
		post	134.8 ± 3.7 **	134.7 ± 3.8 **		133.4 ± 3.4 **	
カリウム (K)	mEq/L	pre	5.1 ± 1.5	4.8 ± 1.4		4.9 ± 1.6	6.8 ± 0.3
		post	3.8 ± 1.0 **	4.1 ± 0.6 **		3.7 ± 1.4 **	3.6 ± 0.2
クロール (Cl)	mEq/L	pre	87.2 ± 7.3	90.7 ± 6.3		87.8 ± 3.6	75.5 ± 3.2
		post	95.9 ± 5.6 **	96.3 ± 4.8 **		94.2 ± 7.6 **	99.0 ± 0.0
血液pH	1	pre	7.357 ± 0.034	7.346 ± 0.038		7.363 ± 0.033	7.376 ± 0.012
		post	7.388 ± 0.031 *	7.388 ± 0.032 *		7.392 ± 0.035 *	7.375 ± 0.013
血清総蛋白質 (TP)	g/dL	pre	5.9 ± 0.8	6.0 ± 0.8		5.9 ± 1.4	5.9 ± 0.4
		post	6.0 ± 1.7	5.9 ± 1.5		6.7 ± 3.0	5.3 ± 0.2
血液尿素窒素 (BUN)	mg/dL	pre	28.5 ± 22.9	18.3 ± 10.1		23.0 ± 15.6	72.6 ± 6.6
		post	16.3 ± 13.5 *	11.3 ± 6.4 *		13.2 ± 11.3 *	39.1 ± 7.7

軽症（起立可能）、中等症（介助により起立可能）、重症（起立不能）群は起立能力により分類した。

Pre vs Post; 対応のあるt検定により* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

軽症 vs 中等症; a、b間はStudent t検定により $p = 0.038$

重症群は2例のみであったため統計解析は実施しなかった。

総括

哺乳子牛の下痢症は肉用種および乳用種において最も一般的な死亡原因であり [67, 68]、その治療法として輸液療法が汎用される。下痢の原因については様々であるが、小腸内の水分吸収が阻害されることにより、ナトリウム、クロール、重炭酸イオンおよび水分が腸管腔に分泌される。つまり、結腸での分泌が吸収に勝ることで水様性下痢が生じる [24, 25, 57, 61]。哺乳子牛の下痢症では末梢循環の低下に伴って細胞内液量のわずかな増加と細胞外液量の著しい減少をもたらす [22, 28, 72]。すなわち、下痢による哺乳子牛の死亡率を低減させるためには細胞外液量の確保が最も重要であり、この目的に合った適切な経口および静脈輸液療法を実施することが肝要である [36, 94]。

輸液の最終的目的は (1) 循環血漿量の回復、(2) 代謝性アシドーシスの補正により沈うつ状態を改善させることである [17, 27, 38, 66, 73, 86, 97]。産業動物の臨床獣医師は主に往診による診療を行っているため、現場において生化学的検査を実施してそれに基づいて治療を行うのではなく牛の病態を身体一般検査所見によって把握して治療を行うことがほとんどである [22]。哺乳子牛が重度の沈うつ、衰弱、昏睡、起立不能を呈し、24 時間以上にわたり吸乳が認められず、直腸温が 38°C 以下のときには著しい脱水、特に循環血液量の減少をきたしているために輸液療法は必須である [64]。これらの身体一般所見は臨床獣医師の経験に基づいて判断されることが多いが、Kasari や Garcia は臨床診断の客観性を担保する目的で臨床スコアシステムを構築し [87]、このスコアに基づいて輸液計画を考えることを推奨している。

本研究において、第 1 章では哺乳期子牛における下痢症に伴う脱水症およびアシドーシスの程度を身体一般所見から推察するための客観的方法を確立することを目的とした。我々が着目した子牛下痢症の病態評価に用いるスコアリングシステムは、Kasari および Naylor が構築した臨床スコアリングシステム [46, 48]、いわゆる沈うつスコアシステムであった。しかし、Kasari と Naylor の沈うつスコアはシャロレーとシンメンタール種に対して確立したものであり、これらのスコアリングシステムが黒毛和牛子牛に適応できるか否かについては明らかではなかった。したがって、第 1 章では黒毛和種子牛において、Kasari [44-46, 48, 49] によって確立された沈うつスコアが黒毛和種子牛の下痢症に伴う酸塩基平衡異常の病態を正しく反映しているのか否か、また反映しているの

れば逸脱スコアの目安を明らかにすることであった。その結果、Kasari の沈うつスコアは黒毛和種下痢症子牛において、脱水の指標となる血液生化学項目であるヘマトクリット (Hct)、血清蛋白 (TP)、K および無機リン (iP) 濃度と有意な相関関係を有し、概ねスコア 10 を超えるとこれらの測定項目の参照値上限から逸脱することが明らかとなった。それ故に、Kasari の沈うつスコアが 10 を超えた時点で脱水症の指標となる Hct および TP が逸脱スコアを超えているため、再水和を目的とした経静脈輸液を実施するべきであること、スコアが 5 で血液尿素窒素 (BUN) 値が参照値上限を超えるために経口補液剤の適応を考慮するべきである。また、黒毛和種およびその交雑種哺乳子牛の下痢による酸塩基平衡異常においても、Kasari の沈うつスコアは重度の代謝性アシドーシスの指標である $BE = -10\text{mM}$ は沈うつスコア 6.5 以上で評価が可能であることを明らかにした。以上の結果から、沈うつスコアシステムは Kasari が検証したシャロレーおよびシンメンタール子牛だけでなく黒毛和種およびその交雑種子牛においても脱水およびアシドーシスの病態を的確に評価することが可能であり、以下の結論を導き出すことが出来た。

子牛下痢症において脱水の補正には沈うつスコアが 10 よりも高値であれば経静脈輸液を積極的に行い、沈うつスコアが 6.5 よりも高値であれば代謝性アシドーシスの補正に重炭酸ナトリウムを適応するべきである。

我々は黒毛和種およびその交雑種哺乳子牛の下痢症に対して、Kasari の沈うつスコアが 6.5 以上であれば重度の代謝性アシドーシス ($BE < -10\text{mM}$) である可能性が高いことを明らかにし、代謝性アシドーシスの治療をはじめるときであると第 1 章で結論した。重炭酸ナトリウム液は代謝性アシドーシス症例において生じているプロトンを直接中和するために代謝性アシドーシスの補正において極めて有用である [37, 46-49, 65, 83]。しかし、重炭酸ナトリウム液の急速および過剰投与は細胞外液の有効浸透圧の急激な上昇、逆説的脳脊髄液アシドーシス、脳内出血と細胞内低酸素化のリスクが高いために慎重に使用することが推奨されている [37]。そのため、ヒト医療では細胞内 pH である 7.200 よりも細胞外液 pH が低い場合には緊急措置として重炭酸ナトリウム液の静脈内投

与を推奨するが、細胞外液 pH が 7.200 よりも高値であれば重炭酸イオンの前駆物質である乳酸イオンや酢酸イオンなどを利用して酸塩基平衡異常を補正した方が安全である[11]。したがって、第 2 章では、子牛における軽度代謝性アシドーシスの治療において、市販の酢酸リンゲル液が市販の乳酸リンゲル液に比較して酸塩基平衡異常の補正に優れているか否かを比較検証した。この命題を解決するために、第 2 章では代用乳の吸収不全による軽度の代謝性アシドーシスを誘発することで軽度の酸血症モデルを作出し、我が国で市販されている等張電解質輸液剤（生理食塩液[ISS]、DL 型乳酸リンゲル液[DLR]、L 型乳酸リンゲル液[LR]および酢酸リンゲル液[AR]）の酸塩基平衡異常の補正効果を比較した。そもそも、子牛は D 型乳酸脱水素酵素をわずかししか持っていないため[40, 42]、D 型乳酸と L 型乳酸をそれぞれ 14 mM 配合している DLR は、28 mM の乳酸イオンのすべてが L 型である LR に比べて十分なアルカリ化能は期待できない。本研究でも DLR は代謝性アシドーシスを実験的に作出した子牛の酸塩基平衡異常を補正することはなかった。例え LR は DLR に比べて酸塩基平衡異常を補正する効果が認められたとしても、肝臓での代謝に依存しているために肝血流量が十分に増加した輸液療法の後半でのみ効果が得られている。一方、酢酸イオンは乳酸イオンよりも BE 濃度を肝臓代謝だけに頼らないため、本研究においても AR は最も速やかに代謝性アシドーシスの補正効果が得られた。これらの結果をまとめると以下のように結論することが出来る。

酢酸イオンは肝臓だけでなく筋肉でも代謝を受けアルカリ化能を発揮するため、酢酸リンゲル液は DL 型乳酸リンゲル液および L 型乳酸リンゲル液よりも子牛の軽度代謝性アシドーシスの治療において優れている。

子牛において DLR が LR に比較してアルカリ化能が低い理由として、子牛は D 型乳酸脱水素酵素をほとんど持っていないことが挙げられる[44, 46]。一方、AR は子牛において LR よりも代謝が速やかであるが[58]、それは乳酸が肝臓で代謝[28, 29, 32]されるのに対して酢酸は肝臓だけでなく筋肉でも代謝されるためである[9, 10, 77]。さらに、酸血症の子牛の乳酸イオン濃度はすでに増加しているため、乳酸代謝速度はさらに遅延することが知られている[15, 48,

77]。結果として酢酸イオンは乳酸イオンよりも BE 濃度を肝臓代謝だけに頼らないために速やかに上昇させるため、酢酸リンゲル液は DL 型乳酸リンゲル液および L 型乳酸リンゲル液よりも子牛の軽度代謝性アシドーシスの治療において優れていることが示唆された。

産業動物臨床獣医師は往診療が主であり、また対象が経済動物であることから時間、経費、労力において制約があり、成牛の輸液療法において他の動物とは異なり適量の体液の補充を行うことは困難である。しかし、HSS の静脈内投与により血漿浸透圧が 25~30 mOsm/L 上昇することで血漿と細胞内液との間で浸透圧較差が生じ、これを緩和するために細胞内液および間質液が血管内へ移動することで循環血漿量が増加する[16, 51, 90, 95]。反芻動物の場合、この“浸透圧の是正”はいわゆる“細胞内”だけにとどまらず、第一胃壁を介してルーメン液の一部も細胞内液や間質液と同様に血管内へ移動する[14]。この急激な体液移動、循環血液量の増加は循環器および腎泌尿器系が十分発達していない子牛にとって安全か否かについては議論はなされても一定の見解は得られない。ましてや、第一胃が未発達な子牛では成牛のように飲水により第一胃内に水分を貯蓄させてそれを利用させることが出来ない。そのため、下痢による重度脱水症子牛に対して HSS を適用するべきか否かについては議論がなされているが、有効であることを証明した報告は少なく[19, 99]、いずれの報告においても HSS の単独ではなくデキストランなど高分子の膠質を配合したデキストラン加 HSS (HSD: 2400 mOsm/L, HSS+6%デキストラン 40) を使用するか、経口補液剤による水分補給を併用している。第 3 章では HSS の下痢症子牛への応用として低ナトリウム血症を併発している症例に対する 2.16%HSS の有用性を明らかにした。

第 3 章において、1L の生理食塩液に 250 mL の 7.2%HSS を混合して 2.16% HSS を調剤し[11]、脱水症を伴う低ナトリウム血症を改善する目的で静脈内投与したところ、13 症例中 1 症例は死亡したものの残りの 12 症例は概ね下痢による低ナトリウム血症の治療が奏功した。よって、2.16%HSS は低ナトリウム血症を併発した下痢症子牛の脱水補正に有効であることを明らかにした。

2.16%HSS はカリウムの動態には注意が必要であるものの低ナトリウム血症を伴う下痢症子牛の脱水および低ナトリウム血症の改善に極めて有効である。

本研究を総括すると、哺乳子牛の下痢症による病態を臨床現場において時間の変化と共に的確に掴み、それにあった輸液剤を選択することこそ最も重要で早期に治癒する方法と考えられる。産業動物の臨床において往診を主体に治療を行うため、現場において常時血液検査を併用し的確に治療することは困難である。それに代わる方法として、今回用いたスコアリングシステム、ポータブル血液検査測定器、簡易血糖値測定器、体温、心拍数、呼吸数および稟告などの多くの情報を得て総合的に診断し、酢酸リンゲル液や 2.16%高張食塩液などの適切な輸液剤を選択することが最も治癒への近道と考えられた。

謝 辭

稿を終わるに臨み、本研究に当初よりご指導ご助言を賜りました日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科 鈴木浩悦 教授(主査)、ならびに研究の機会を提供していただきました酪農学園大学 田口 清 名誉教授、長野県農業共済組合 北信センター 家畜診療所 西村 亨所長に心から感謝いたします。本研究の遂行に多大なご協力とご助言を賜りました日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科小山秀一教授(副査)、竹村直之教授(副査)、松本浩毅准教授(副査)および酪農学園大学大学院獣医学研究科 鈴木一由教授(副査)に感謝いたします。

本研究において採材、サンプル測定、論文制作、校閲、学会発表など終始にわたりご協力をいただいた群馬県開業 清水大樹院長、長野県農業共済組合北信センター・家畜診療所 榊原太郎所長代理ならびに所員、東信センター・北部家畜診療所 岩下政克所長ならびに所員、中央家畜診療所 宇佐美祐基所長ならびに所員、協同乳業佐久家畜診療所 古川寿郎所長、北薩農業共済組合 園中 篤先生、北海道みなみ農業共済組合 塚野健志係長、酪農学園大学大学院獣医研究科 大塚まりな氏に心より感謝いたします。そして、本研究を遂行する上で多大なご協力を賜りました長野県農業共済組合の鎌倉正和先生、白井睦雄先生、酪農学園大学獣医学群獣医学類生産動物医療分野生産動物外科ユニット所属学生諸氏、臨床症例を提供していただきました長野県農業共済組合管内の生産者諸氏に心より感謝いたします。

最後に、長期に渡り経済的ならびに精神的に支えてくれた妻 初子、娘 郁野、息子 琢登に親愛の念を込めて謝意を表します。

利益相反

本主論文で開示すべき利益相反（COI : Conflict of interest）はありません。

引用文献

1. Abutarbush, S. M. and Petrie, L. 2007. Treatment of hypernatremia in neonatal calves with diarrhea. *Can. Vet. J.* 48:184-187.
2. Akobeng, A. K. 2007. Understanding diagnostic test 3: receive operating characteristic curves. *Acta paediatrica.* 96:644-647.
3. Angelos, S. M., Smith, B. P., George, L. W., House, J. K., Van Metre, D. C., Fecteau, G., Thacker, V. C. and Angelos, J. A. 1999. Treatment of hypernatremia in an acidotic neonatal calf. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214:1364-1367.
4. Angelos, S. M. and Van Metre D. C. 1999. Treatment of sodium balance disorders. Water intoxication and salt toxicity. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 15:587-607.
5. Arambewela, M. H., Somasundaram, N. P. and Garusinghe, C. 2016. Extreme hypernatremia as a probable cause of fatal arrhythmia: a case report. *J. Med. Case Rep.* 10:272.
6. Aydogdu, U., Yildiz, R., Guzelbektes, H., Naseri, A., Akyuz, E. and Sen, I. 2018. Effect of combinations of intravenous small-volume hypertonic sodium chloride, acetate Ringer, sodium bicarbonate, and lactate Ringer solutions along with oral fluid on the treatment of calf diarrhea. *Pol. J. Vet. Sci.* 21:273-280.
7. Ayus, J.C. and Moritz, M. L. 2019. Misconceptions and barriers to the use of hypertonic saline to treat hyponatremic encephalopathy. *Front Med. (Lausanne).* 6:47.
8. Bailey, J.E. and Pablo, L.S. 1998. Practical approach to acid-base disorders. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 28:645-662.
9. Ballard, F.J. 1972. Supply and utilization of acetate in mammals. *Am. J. Clin. Nutr.* 25:773-779.
10. Barth, C., Sladek, M. and Decker, K. 1971. The subcellular distribution of short-chain fatty acyl-CoA synthetase activity in rat tissues. *Biochim Biophys Acta.* 248:24-33.
11. Berehtold, J.B. 1990. Intravenous fluid therapy of calves. *Vet. Clin. North Am.*

- Food.Anim.Pract.* 15:505-531.
12. Berchtold J. 2009. Treatment of calf diarrhea: intravenous fluid therapy. *Vet. Clin.North Am. Food. Anim. Pract.* 25:73-99.
 13. Braun, M. M., Barstow, C. H. and Pyzocha, N. J. 2015. Diagnosis and management of sodium disorders: hyponatremia and hypernatremia. *Am. Fam. Physician.* 91: 299-307.
 14. Carter, R.R. and Grovum, W.L. 1990. A review of the physiological significance of hypertonic body fluids on feed intake and ruminal function: salivation, motility and microbes. *J.Anim.Sci.* 68:2811-2832.
 15. Case, G.L., Phillips, R.W. and Cleek, J.L. 1980. Lactic acid and glucose metabolism in healthy, lactic acid-infused, and diarrheic calves. *Am.J.Vet.Res.* 42:1035-1038.
 16. Constable, P.D. 1999. Hypertonic saline. *Vet.Clin.North Am.Food Anim. Pract.* 15:559-585.
 17. Constable, P.D. 2004. Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. *J. Vet.Intern.Med.* 18:8-17.
 18. Constable, P.D., Berchtold, J.F., Walker, P.G., et al. 1999. Effect of serum potassium concentration on heart rate in dehydrated calves with diarrhea. *Am J.Vet.intern.Med.* in press.
 19. Constable, P.D., Gohar, H.M., Morin, D.E. and Thurmon, J.C. 1996. Use of hypertonic saline-dextran solution to resuscitate hypovolemic calves with diarrhea. *Am.J.Vet.Res.* 57:97-104.
 20. Constable, P. D., Schmall, L. M., Muir, W. W. 3rd, Hoffsis, G. F. and Shertel, E. R.1991. Hemodynamic response of endotoxemic calves to treatment with small-volume hypertonic saline solution. *Am. J. Vet. Res.* 52:981-989.
 21. Constable, P. D., Schmall, L. M., Muir, W. W. 3rd. and Hoffsis, G. F. 1991. Respiratory, renal, hematologic, and serum biochemical effects of hypertonic saline solution in endotoxemic calves. *Am. J. Vet. Res.* 52:990-998.
 22. Constable, P.D., Walker, P.G., Morin, D.E. and Foreman, J.H. 1998. Clinical and laboratory assessment of hydration status in neonatal calves with

- diarrhea. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 212:991-996.
23. Constable, P.D., Walker, P.G., Morin, D.E., Foreman, J.H. and Thurmon, J.C. 1998. Use of peripheral temperature and core-peripheral temperature difference to predict cardiac output in dehydrated calves housed in a thermoneutral environment. *Am.J.Vet.Res.* 59:874-880.
 24. Dalton, R.G., Fisher, E.W. and McIntyre, W.I. 1965. Changes in blood chemistry, body weight and haematocrit of calves affected with neonatal diarrhoea. *Br.Vet.J.* 121:34-41.
 25. Demigne, C., Chartier, F. and Ramesty, C. 1980. Evidence of different types of acidosis associated with diarrhea in the neonatal calf. *Ann.Rech.Vet.* 11:267-272.
 26. Dupe, R.J., Goddard, M.E. and Bywater, R.J. 1989. A comparison of two oral rehydration solutions in experimental models of dehydration and diarrhoea in calves. *Vet.Rec.* 133:585-590.
 27. Ewaschuk, J.B., Naylor, J.M. and Zello, G.A. 2003. Anion gap correlates with serum D- and DL-lactate concentration in diarrheic neonatal calves. *J.Vet. Intern.Med.* 17:940-942.
 28. Fayet, J.C. 1971. Plasma and faecal osmolality, water kinetics and body fluid compartments in neonatal calves with diarrhoea. *Br. Vet.J.* 127:37-44.
 29. Fullton, R.B. and Hauptman, J.G. 1991. In vitro and in vivo rates of fluid flow through catheters in peripheral veins of dogs. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 198:1622-1624.
 30. 深川雅文. 2005. 輸液・水電解質異常. pp.73-76. 中外医学社, 東京都.
 31. Garcia, J.P. 1999. A practitioner's views on fluid therapy in calves. *Vet.Clin. North Am.Food Anim.Pract.* 15:533-543.
 32. Garry, F. 1993. Subcutaneous fluid administration for scouring calves. *Bovine Practitioner.* 27:202-203.
 33. Greenleaf, J.E., Convertino, V.A. and Mangseth, G.R. 1979. Plasma volume during stress in man: osmolality and red cell volume. *J.Appl.Physiol.Respir.Environ.Exerc.Physiol.* 47:1031-1038.

34. Groutides, C. P. and Michell, A. R. 1990. Changes in plasma composition in calves surviving or dying from diarrhoea. *Br. Vet. J.* 146: 205-210.
35. Hajian-Tilaki, 2013. K. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation. *Caspian J. Intern. Med.* 4:627-635.
36. Hartman, H., Finsterbusch, L. and Lesche, R. 1984. Fluid balance in calves. 2. body fluid compartments depending on the age of the animal and changes caused by diarrhea. *Arch.Exp. Veterinarmed.* 38:913-922.
37. Hartsfield, S.M. 1981. Sodium bicarbonate and bicarbonate precursors for treatment of metabolic acidosis. *J.Am. Vet. Med. Assoc.* 179:914-916.
38. Haschek, B., Klein, D., Benetka, V., Herrera, C., Sommerfeld-Stur, I., Vilcek, S., Moestl, K. and Baumgartner, W. 2006. Detection of bovine torovirus in neonatal calf diarrhoea in lower Austria and Styria (Austria). *J. Vet. Med. B .infect. Dis. Vet. Public Health.* 53:160-165.
39. Hoorn, E. J. and Zietse, R. 2017. Diagnosis and treatment of hyponatremia: Compilation of the guidelines. *J. Am. Soc. Nephrol.* 28:1340-1349
40. Iwabuchi, S., Suzuki, K., Abe, I., et al. 2003. Comparison of the effects of isotonic and hypertonic sodium bicarbonate solutions on acidemic calves experimentally induced by ammonium chloride administration. *Vet. Med. Sci.* 65:1369-1371.
41. Iwabuchi, S., Suzuki, K., Sakemi, Y., Imayoshi, K., Kuwahara, E. and Asano, R. 2003. Effects of intravenous infusion of hypotonic lactated Ringer's solution on calves with diarrhea. *J. Vet. Med. Sci.* 65:1033-1036.
42. 飯野靖彦. 2003. 目でわかる輸液, 第2版. pp.64-65. メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京都.
43. Jafari, M., Ala, S., Haddadi, K., Alipour, A., Mojtahedzadeh, M., Ehteshami, S., Abediankenari, S., Shafizad, M., Salehifar, E. and Khalili, F. 2018. Cotreatment with furosemide and hypertonic saline decreases serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and serum creatinine concentrations in traumatic brain injury: A randomized, single-blind clinical

- trial. *Iran J Pharm Res.* 17:1130-1140.
44. Kasari, T.R. 1990. Metabolic acidosis in diarrheic calves: the importance of alkalinizing agents in therapy. *Vet.Clin.North Am.Food.Anim.Pract.* 6:29-43.
 45. Kasari, T.R. 1994. Weakness in the newborn calf. *Vet.Clin.North.Am.Food Anim.Pract.* 10:167-180.
 46. Kasari, T.R. 1999. Metabolic acidosis in calves. *Vet.Clin.North.Am.Food Anim.Pract.* 15:473-486.
 47. Kasari, T.R. and Naylor, J.M. 1984. Metabolic acidosis without clinical signs of dehydration in young calves. *Can. Vet.J.* 25:394-399.
 48. Kasari, T.R. and Naylor, J.M. 1985. Clinical evaluation of sodium bicarbonate, sodium L-lactate, and sodium acetate for the treatment of acidosis in diarrheic calves. *J.Am. Vet.Med.Assoc.* 187:392-397.
 49. Kasari, T.R. and Naylor, J. M. 1986. Further studies on the clinical features and clinicopathological findings of a syndrome of metabolic acidosis with minimal dehydration in neonatal calves. *Can.J. Vet.Res.* 50:502-508.
 50. Koch, A. and Kaske, M. 2008. Clinical efficacy of intravenous hypertonic saline solution or hypertonic bicarbonate solution in the treatment of inappetent calves with neonatal diarrhea. *J. Vet. Intern. Med.* 22:202-211.
 51. 上片野一博, 酒見蓉子. 2002. 成牛における高張食塩液の応用(第四位変位に対する効果). 獣医輸液会誌. 2:13-15.
 52. 北岡健樹. 1987. 腎臓の働きとその検査. pp.102-104. 最新医学文庫, 東京都.
 53. 北岡健樹. 1995. チャートで学ぶ輸液療法の知識. pp.277-279. 南山堂, 東京都.
 54. Leal, M. L, Fialho, S. S., Cyrillo, F. C., Bertagnon, H. G., Ortolani, E. L. and Benesi, F. J. 2012. Intravenous hypertonic saline solution (7.5%) and oral electrolytes to treat of calves with noninfectious diarrhea and metabolic acidosis. *J. Vet. Intern. Med.* 26:1042-1050.
 55. Lee, J.H., Arcinue, E. and Ross, B.D. 1994. Brief report: organic osmolytes in the brain of an infant with hypernatremia. *N.Engl.J.Med.* 331:439-442.

56. Lein, Y.H., Shapiro, J.I. and Chan L. 1990. Effects of hypernatremia on organic brain osmoles. *J.Clin.Invest.* 85:1427-1435.
57. Lewis, L.D. and Phillips, R.W. 1972. Water and electrolyte losses in neonatal calves with acute diarrhea. A complete balance study. *Cornell Vet.* 62:596-607.
58. Lundquist, F. 1962. Production and utilization of free acetate in man. *Nature.* 193:579-580.
59. Mesghali, E., Fitter, S., Bahjri, K. and Moussavi, K. 2019. Safety of peripheral line administration of 3% hypertonic saline and mannitol in the emergency department. *J. Emerg. Med.* 56:431-436
60. National Research Council. 1996. Guide for the care and use of Laboratory Animals. pp.1-70. National Academy Press, Washington, D.C., USA.
61. Narins, R.G., Maxwell, M.H. and Kleeman, C.R. 1987. Diabetic acidosis and coma. pp.643. *In: Clinical Disorders of Fluid and Electrolyte Metabolism.* 4th ed. (Maxwell, M.H., Kleeman, C.R. and Narins, R.G. eds.). McGraw-Hill, New York City, NY, USA.
62. Naylor, J.M. 1987. Evaluation of the total carbon dioxide apparatus and pH meter for the determination of acid-base status in diarrheic and healthy calves. *Can. Vet.J.* 28:45-48.
63. Naylor, J.M. 1987. Severity and nature of acidosis in diarrheic calves over and under one week of age. *Can. Vet.J.* 28:168-173.
64. Naylor, J.M. 1996. Neonatal ruminant diarrhea. pp.396-436. *In: Large animal Internal Medicine,* 2nd ed. (Smith BP ed.). Mosby, St. Louis, MO, USA.
65. Naylor, J.M. and Forsyth, G.W. 1986. The alkalinizing effects of metabolizable bases in the healthy calf. *Can.J. Vet. Res.* 50:509-516.
66. Naylor, J.M., Zello, G.A. and Abeysekara, S. 2006. Advances in oral and intravenous fluid therapy of calves with gastrointestinal disease. pp.139-150. *In: Proceedings of the 24th World Buiatrics Congress Nice, France.*
67. 長野県農業共済組合連合会家畜共済統計表：平成 20～21 年
68. 農林水産省. 2017 年. 家畜共済統計表：平成 15～28 年. 農林水産省経営局保

險課.

69. Overgaard-Steensen, C. and Ring, T. 2013. Clinical review: practical approach to hyponatraemia and hypernatraemia in critically ill patients. *Crit. Care.* 17:206.
70. Paterna, S., Di Pasquale, P., Parrinello, G., Amato, P., Cardinale, A., Follone, G., Giubilato, A. and Licata, G. 2000. Effects of high-dose furosemide and small-volume hypertonic saline solution infusion in comparison with a high dose of furosemide as a bolus, in refractory congestive heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* 2:305-313.
71. Phillips, R.W. and Lewis, L.D. 1973. Viral induced changes in intestinal transport and resultant body fluid alterations in neonatal calves. *Ann.Rech. Vet.* 4:87-98.
72. Phillips, R.W., Lewis, L.D. and Knox, K.L. 1971. Alterations in body water turnover and distribution in neonatal calves with acute diarrhea. *Acad.Sci.* 176:231-243.
73. Prechtel, J., Berchtold, J. and Brunner, B. 2002. Simplified intravenous (IV) fluid therapy of calves in practice [abstract 538]. pp.171-172. *In: Proceedings of the 22nd World Buiatrics Congress.* Hanover, Germany.
74. Pringle, J. K. and Berthiaume, L. M. 1988. Hypernatremia in calves. *J. Vet. Intern. Med.* 2: 66-70.
75. Ross, L.A. 1990. Disorder of serum Sodium Concentration: Diagnosis and on continuing Education for the practicing veterinarian. 12:1277-1289.
76. Roussel, A.J. 1998. Fluid Therapy, transfusion and shock therapy. pp.1-7 *In: Current Veterinary Therapy 4: Food animal Practice*, 4th ed. (Howard, J.L. ed.). W.B. Saunders Ltd, Philadelphia, PA, USA.
77. Sabine, J.R. and Johnson, B.C. 1964. Acetate metabolism in the ruminant. *J.Biol.Chem.* 239:89-93
78. Smart, L., Macdonald, S. P. J., Bosio, E., Fatovich, D., Neil, C. and Arendts, G. 2019. Bolus therapy with 3% hypertonic saline or 0.9% saline in emergency department patients with suspected sepsis: A pilot randomised

- controlled trial. *J. Crit. Care*.52:33-39.
79. Smith, G. W. and Berchtold, J. 2014. Fluid therapy in calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 30:409-427
 80. Spasovski, G., Vanholder, R., Allolio, B., Annane, D., Ball, S., Bichet, D., Decaux, G., Fenske, W., Hoorn, E. J., Ichai, C., Joannidis, M., Soupart, A., Zietse, R., Haller, M., van der Veer, S., Van Biesen, W. and Nagler, E. 2014. Hyponatraemia Guideline Development Group. Clinical practice guideline on diagnosis and treatment of hyponatraemia. *Nephrol. Dial. Transplant.* 29 Suppl 2:i1-i39.
 81. Suzuki, K., Abe, I., Iwabuchi, S., Tsumagari, S., Matsumoto, T. and Asano, R. 2002. Evaluation of isotonic sodium bicarbonate solution for alkalizing effects in conscious calves. *J. Vet. Med. Sci.* 64:699-703.
 82. Suzuki, K., Ajito, T. and Iwabuchi, S. 1998. Effect of a 7.2% hypertonic saline solution infusion on arterial blood pressure, serum sodium concentration and osmotic pressure in normovolemic heifers. *J. Vet. Med. Sci.* 60:799-803.
 83. Suzuki, K., Ajito, T., Kadota, E., Ohashi, S. and Iwabuchi, S. 1997. Comparison of commercial isotonic fluids intravenously administered to rehydrate fasted bullocks. *J. Vet. Med. Sci.* 59:689-694
 84. Suzuki, K., Kato, T., Tsunoda, G., Iwabuchi, S., Asano, K. and Asano, R. 2002. Effect of intravenous infusion of isotonic sodium bicarbonate solution on acidemic calves with diarrhea. *J. Med. Sci.* 64:1173-1175.
 85. Suzuki, K., Suzuki, T., Miyahara, M., Iwabuchi, S. and Asano, R. 2005. Comparison of a small volume of hypertonic saline solution and dextran 40 on hemodynamic alternations in conscious calves. *J. Vet. Sci.* 6:111-116.
 86. Svensson, C., Linder, A. and Olsson, S.O. 2006. Mortality in swedish dairy calves and replacement heifers. *J. Dairy Sci.* 89:4769-4777.
 87. Szenci, O. 1982. Correlations between muscle tone and acid-base balance in newborn calves: experimental substantiation of a simple new score system proposed for neonatal status diagnosis. *Acta. Vet. Acad. Sci. Hung.* 30:79-84.
 88. 鈴木一由, 山田裕. 2016. 牛の輸液. pp.126-129. 緑書房, 東京都.

89. 鈴木一由, 浅野隆司, 岩淵成紘. 2002. 高張食塩水 1-産業動物分野での現状. 臨床獣医. 20:48-51.
90. 鈴木一由, 大塚誠, 萩原祥樹ら. 1997. 7.2%高張食塩液が有効であったエンドトキシン血症を伴った急性乳房炎の1例. 家畜診療. 411:43-47.
91. Tennant, B., Harrold, D. and Reina-Guerra, M. 1972. Physiologic and metabolic factors in the pathogenesis of neonatal enteric infections in calves. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 161:993-1007.
92. Trefz, F. M., Lorch, A., Feist, M., Sauter-Louis, C. and Lorenz, I. 2012. Metabolic acidosis in neonatal calf diarrhea-clinical findings and theoretical assessment of a simple treatment protocol. *J. Vet. Intern. Med.* 26:162-170.
93. Trefz, F. M., Lorenz, I., Lorch, A. and Constable, P. D. Clinical signs, profound acidemia, hypoglycemia, and hypernatremia are predictive of mortality in 1,400 critically ill neonatal calves with diarrhea. *PLoS. One.* 12: e0182938.
94. Tromp, A.M. 1990. A practitioner's view on fluid therapy in calves. *Vet.Clin. North Am.Food.Anim.Pract.* 6:103-110.
95. 橘泰光, 安富一郎, 森安一郎ら. 1995. 乳牛の第四胃捻転手術時の高張食塩液による治療効果. 家畜診療. 389:15-21.
96. 田口清, 鈴木一由. 2003. 牛の輸液. pp.198-205. 輸液研究会, 北海道.
97. United States Department of agriculture. 2002. Dairy 2002: Changes in the United States dairy industry, 1991-2002. National Animal Health Monitoring System, Fort Collins, CO, USA.
98. Verbalis, J. G., Goldsmith, S. R., Greenberg, A., Korzelius, C., Schrier, R. W., Sterns, R. H. and Thompson, C. J. 2013. Diagnosis, evaluation, and treatment of hyponatremia: expert panel recommendations. *Am. J. Med.* 126:S1-42.
99. Walker, P.G., Constable, P.D., Morin, D.E., Foreman, J.H., Drackley, J.K. and Turmon, J.C. 1998. Comparison of hypertonic saline-dextran solution and lactated Ringer's solution for resuscitating severely dehydrated calves with diarrhea. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 213:113-121.

100. Weldon, A.D., Moise, N.S. and Rebhun, W.C. 1992. Hyperkalemic atrial standstill in neonatal calf diarrhea. *J.Vet.Inter.Med.* 6:294-297.

成績の公表

- 第1章 **Nakagawa M**, Suzuki K, Taguchi K: Relation between Depression score and Acid - Base Status in Japanese Black Calves with Diarrhea. J Vet Med Sci., 69(5) :549 - 552, 2007
- 第2章 **Nakagawa M**, Suzuki K, Takahashi F, Kamikatano K, Koiwa M, Taguchi K, Comparison of the Alkalizing Effects of Bicarbonate Precursors in Calves with Experimentally Induced Metabolic Acidosis. J Vet Med Sci., 71(6):807-809, 2009
- 第3章 **Nakagawa M**, Tsukano K, Murakami Y, Otsuka M, Suzuki K, Suzuki H: Clinical application of 2.16% hypertonic saline solution to correct the blood sodium concentration in diarrheic calves with hyponatremia. J Vet Med Sci., 82(11): 1585-1588, 2020.

略語一覧

Alb	血清アルブミン値
AnGap	Anion Gap
AR	酢酸リンゲル液
BE	Base Excess
BUN	血液尿素窒素
CREA	クレアチン濃度
CPK	クレアチンキナーゼ
DLR	DL型乳酸リンゲル液
ET	受精卵より分娩した黒毛和牛
F ₁	黒毛和牛とホルスタイン種の交雑種
Glu	Glucose
GGT	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GOT	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
H	ホルスタイン種
Hct	ヘマトクリット値
HCO ₃	重炭酸
Hgb	ヘモグロビン値
HSS	高張食塩液
HSD	デキストラン加7.2%高張食塩液
ISS	生理的食塩液
LR	L型乳酸リンゲル液
PCO ₂	Partial CO ₂ pressure (二酸化炭素分圧)
Plt	血小板濃度
RBC	血液中赤血球数
T-Bil	総ビリルビン濃度
T-Chol	総コレステロール値
TCO ₂	総二酸化炭素濃度
TG	中性脂肪値

TP

血清蛋白濃度

WBC

血液中白血球数