

氏名(本国籍)	宮崎珠子(北海道)		
推薦教員	岩手大学 教授 安田 準		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博乙第99号		
学位授与年月日	平成22年3月15日		
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当		
学位論文題目	超音波画像診断法による哺乳子牛の第四胃内カード形成状態の評価法に関する研究		
審査委員	主査	岩手大学 教授	安田 準
	副査	帯広畜産大学 教授	山田 一孝
	副査	岩手大学 教授	佐藤 繁
	副査	東京農工大学 教授	加茂前 秀夫
	副査	岐阜大学 教授	志水 泰武

論文の内容の要旨

哺乳子牛は、摂取した乳汁を第四胃で凝乳し、固体成分のカード(curd)と液体成分のホエー(whey)に分けて消化する特有の消化機構を有する。哺乳子牛の第四胃カード形成の生理的意義については、効率的な乳汁の消化および栄養素の吸収に重要であるという報告がある一方で、特に生理的利点や病気に対する抵抗力をもたらさないという報告もある。また第四胃の凝乳活性が生まれつき低い子牛がいるという報告もあり、第四胃のカード形成は、生体側の凝乳能にも影響を受ける可能性がある。しかし、これまでの研究は、主に予め調べた乳汁の凝乳性に基づいてカード形成群と非形成群に分類し、その上で生体の消化率や血液成分などの指標を比較しており、実際の第四胃におけるカード形成の有無を評価しながら研究を進めた報告はない。そこで本研究は、超音波画像診断法を用いて、子牛の第四胃のカード形成をリアルタイムに評価する手技の確立を目的とした。

第1章では、子牛の第四胃超音波検査でカードがどのように画像化されるかを検証するために、哺乳後2時間の子牛1頭について第四胃超音波検査を実施し、直後に腹部断層解剖標本作製し、超音波画像と解剖像を照合した。その結果、第四胃超音波検査ではカードは明瞭な輪郭を持つエコージェニックな画像として、またホエーはエコーフリーな画像として描出された。腹部断層解剖像から、第四胃およびカードは正中線に沿って腹底に存在し、第四胃超音波画像との一致が確認できた。超音波検査は非侵襲的であり、無麻酔のまま立位で検査が可能のため、生理的な第四胃のカード形成を観察できる画像診断法であることが示唆された。

第2章では、超音波検査がカードの有無を含めた形成状態の評価に有効であるか検証した。子牛5頭を用いて第四胃穿刺により得られた第四胃内乳汁のSDS-PAGE解析からカードの有無を判断し、同時に実施した第四胃超音波検査で得られた超音波画像が、どのような画像を示すかを検討した。その結果、第四胃でカードを形成しないで乳汁のまま存在する場合、第四胃内乳汁のタンパク組成は、 α -、 β -カゼインと β -ラクトグロブリンが全乳と同様に検出さ

れた。このときの第四胃超音波画像は均一なエコージェニックな画像で、凝乳していない乳汁で充満されている様子が描出された。一方、第四胃内でカード形成された場合は、 α -、 β -カゼインが認められず β -ラクトグロブリンのみが認められた。このときの第四胃超音波画像は、輪郭をもつエコージェニックな部分とエコーフリーな部分を含む画像が描出され、乳汁が凝乳してカードを形成し、ホエーを分離している様子が観察された。第四胃超音波検査は乳タンパク組成によるカード形成の鑑別と同様に、カードの形成時と非形成時を明確に識別できたことから、カードの有無を迅速に評価する手法であることが明らかになった。

第3章では、哺乳後にカード形成状態を評価する上で最も適した時間を検討した。凝乳性の異なる3種類の代用乳を哺乳した子牛15頭を用いて、哺乳後6時間までの経時的な第四胃の超音波検査を行った。試験管内レンネット添加凝乳試験で凝乳する代用乳、凝乳しない代用乳、およびpHによりその凝乳性が変化する代用乳などを哺乳させると、第四胃内においてカード形成、カード非形成、複数の微小カード形成などの様子が、哺乳後1~2時間の超音波画像から評価できた。このことから、第四胃で形成されたカードを評価する最適な時間は、哺乳1~2時間後であることが明らかになった。試験管内レンネット添加凝乳試験では、代用乳が第四胃でカード形成するか否か推測することしかできないが、第四胃超音波検査は第四胃でのカード形成の有無を証明できることが明らかになった。

第4章では、これまでに確立した第四胃超音波検査技術を応用して、野外で飼育されている子牛29頭について第四胃のカード形成状況を調べることを目的に、第四胃超音波検査を実施した。その結果、8頭の子牛では試験管内レンネット添加凝乳試験で凝乳する代用乳を哺乳しても第四胃でカード形成が認められず、また1頭ではカード形成が認められた翌日の検査ではカード形成が認められなかった。よって生体側の何らかの要因でも一時的にカードを形成しない子牛がいることが判明した。

以上の成績により、本研究で確立した第四胃超音波検査により、哺乳後子牛の第四胃内カード形成状態の、迅速かつ非侵襲的なスクリーニングができるので、第四胃超音波検査は子牛におけるカードの生理機能研究に有用な手技であることが示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

これまでの哺乳子牛の第四胃内カード形成の生理的意義に関する研究は、予め調べた乳汁の凝乳性に基づいた検討が多く、実際の第四胃内におけるカード形成の有無を評価しながら研究を進めた報告はない。本研究では、非侵襲的な超音波画像診断法を用いて、子牛の第四胃カード形成をリアルタイムに評価する手技の確立を目指した。

第1章では、子牛の第四胃超音波検査法(A-USG)でカードがどのように画像化されるかを検証した。哺乳2時間後の子牛1頭にA-USGを実施し、直後に腹部断層解剖標本を作製して超音波画像と解剖像を照合した。A-USGではカードは明瞭な輪郭を持つエコージェニックな画像として、ホエーはエコーフリーな画像として描出された。腹部断層解剖標本では、第四胃とカードは正中線に沿って腹底に存在し、A-USG画像と一致するのが確認できたので、A-USGは生理的な第四胃内カードを観察できる画像診断法であることが分かった。

第2章では、A-USGがカード形成状態の評価に有効であるか検証した。哺乳後の子牛5頭を用いて第四胃穿刺による胃内乳汁のSDS-PAGE解析を行い、同時に撮影した第四胃超音波画像と比較検討した。第四胃内カード非形成乳汁の場合、 α -、 β -カゼインと β -ラクトグロブリンが全乳と同様に検出された。第四胃超音波画像は均一なエコージェニックな画像で、凝乳していない乳汁で充満されている様子が描出された。第四胃内カード形成乳汁の場合、 α -、 β -カゼインは認められず

β -ラクトグロブリンのみが認められた。第四胃超音波画像は輪郭をもつエコージェニックな部分とエコーフリーな部分を含む画像が描出された。A-USGは乳タンパク組成によるカード形成の鑑別と同様に、カード形成と非形成を明確に識別でき、迅速な評価手技であると結論付けた。

第3章では、カード形成状態を評価する最適時間を調べた。試験管内レンネット添加凝乳試験 (*in vitro*) で凝乳した代用乳、凝乳しなかった代用乳、および pH によりその凝乳性が変化する代用乳などを哺乳させた子牛 15 頭を用いて、哺乳 6 時間後まで経時的に A-USG を行った。第四胃内におけるカードの形成ないし非形成、複数の微小カード形成などの様子が、哺乳 1~2 時間後の超音波画像で一番明瞭に評価できた。

第4章では、A-USG を臨床応用して、野外飼育の子牛 29 頭について第四胃内カード形成状況を調べた。8 頭では *in vitro* で凝乳する代用乳を哺乳しても、第四胃内カード形成が認められなかった。1 頭ではカード形成が認められた翌日は非形成となり、生体側の要因でもカード形成が変動することを観察した。

以上の成績により、本研究で確立した A-USG により哺乳後子牛の第四胃内カード形成状態の、迅速かつ非侵襲的なスクリーニングができるので、A-USG は子牛におけるカードの生理機能研究に有用であることが示唆された。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Ultrasonographic imaging of abomasal curd in preruminant calves
著 者 名 : Miyazaki, T., Miyazaki, M., Yasuda, J. and Okada, K.
学術雑誌名 : The Veterinary Journal
巻・号・頁・発行年 : 179 (1) : 109- 116, 2009
- 2) 題 目 : No abomasal curd formation in pre-ruminant calves after ingestion of a clotting milk replacer
著 者 名 : Miyazaki, T., Miyazaki, M., Yasuda, J. and Okada, K.
学術雑誌名 : The Veterinary Journal
巻・号・頁・発行年 : In Press
(available from on-line, doi:10.1016/j.tvjl.2008.09.006)

既発表学術論文

- 1) 題 目 : 乳牛の分娩前後におけるルーメン環境の変化と血液および乳成分の推移
著 者 名 : 西森一浩, 石川敦洋, 岡田珠子, 高畑幸子, 深谷敦子, 白石俊哉, 信戸一利, 生田健太郎, 岡田啓司, 安田 準
学術雑誌名 : 日本家畜臨床学会誌
巻・号・頁・発行年 : 26 (1) : 9- 14, 2003
- 2) 題 目 : The evaluation of the curd forming ability of milk replacers
著 者 名 : Okada, K., Kato, J., Miyazaki, T., Ikuta, K., Naito, Y. and Yasuda, J.

学術雑誌名 : Animal Science Journal

巻・号・頁・発行年 : 80 (1) : 12- 18, 2009

3) 題 目 : 牛乳房炎乳汁の保存温度および転倒混和による細菌数の変動と塗布器材の検証

著 者 名 : 宮崎珠子, 角 真次, 河合一洋, 岡田啓司

学術雑誌名 : 日本家畜臨床学会誌

巻・号・頁・発行年 : 32 (3) : 109- 114, 2009

4) 題 目 : Gene delivery to renal tubular epithelial cells using adeno-associated virus
vector in domestic cats

著 者 名 : Miyazaki, M., Yamashita, T., Miyazaki, T., Taira, H. and Suzuki, A.

学術雑誌名 : Research in Veterinary Science

巻・号・頁・発行年 : 87 (3) : 408- 412, 2009