

氏名 (本 (国) 籍)	村 山 勇 雄 (宮城県)
推 薦 教 員 氏 名	岩手大学 教授 古 濱 和 久
学 位 の 種 類	博士 (獣医学)
学 位 記 番 号	獣医博乙第127号
学 位 授 与 年 月 日	平成26年3月13日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第3条第2項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岩手大学
学 位 論 文 題 目	ウシでの腎糸球体濾過量(GFR)に関する基礎的研究
審 査 委 員	主査 岩手大学 教授 古 濱 和 久 副査 帯広畜産大学 教授 猪 熊 壽 副査 岩手大学 教授 佐 藤 繁 副査 東京農工大学 教授 下 田 実 副査 岐阜大学 教授 鬼 頭 克 也

### 学位論文の内容の要旨

ウシでは、腎臓疾患時の残存予備能や予後判定に関する報告がほとんどなく、臨床現場では、定型的な腎機能検査が行われているに過ぎない。一方、ヒトでは慢性腎疾患の“gold standard”として腎糸球体濾過量 (GFR) の測定が行われている。本研究では、ウシにおいて、簡便な GFR 測定法を確立することを目的に、GFR に関与する諸因子の影響を基礎的に調べるとともに、臨床現場で応用可能な1回採血法の式の作出を試みた。GFR 測定の tracer としては、微量測定が可能で、inulin とほぼ同等の物理化学的性状を有すると考えられる iodixanol を用いた。

第1章では、健康なホルスタイン種乳牛を用いた。頻回採血法 (全身クリアランス法) による GFR 測定では、iodixanol の投与量を 10 mg I/kg、採血時間を投与 60、90 および 120 分とした。一方、inulin の投与量は 30 mg/kg、採血時間は、投与 30、60 および 90 分後に設定した。両剤を同一牛に同時投与し、GFR 値を求めたところ、ほぼ同一の値が得られた。次に、GFR 値に及ぼす体重、加齢、産次数および泌乳量の影響を調べたが、GFR 値に変動は見られなかった。その後、健康牛と腎機能低下牛を用いて、頻回採血法での GFR 値、採血時間、分布容積 (Vd) および血清 iodixanol 濃度と Jacobsson の 1 回採血法の式を応用して、iodixanol 単回静注・1 回採血法で GFR を求める新たな式を作出し、至適採血時間は投与 60 分後、estimated Vd 値は  $381.76e^{-0.058ct}$  と設定した。頻回採血法と 1 回採血法から求めた GFR 値の間には高い同一性がみられ、健常背景値も既知報告とよく一致していた。これらの結果より、1 回採血法 (以下、ホルスタイン種 1 回採血式) は頻回採血法に代わり利用できると考えられた。

第2章では、黒毛和種肉用牛を用いた。第1章の結果を基に、iodixanol の投与量 (10 mg I/kg) と採血時間 (60、90 および 120 分後)、inulin の投与量 (30 mg/kg) と採血時間 (30、60 および 90 分後) を設定した。両剤を同一牛に同時投与し、頻回採血法で GFR 値を求め、同等性を確認した。その後、GFR 値に及ぼす体重、加齢および産次数の影響を調べたが、GFR に変動は見られなかった。次に、健康牛と腎機能低下牛を用いて、頻回採血法で求めた GFR 値と第1章で作出したホルスタイン

ン種 1 回採血式を用いて得られた GFR 値を比較したところ、ホルスタイン種 1 回採血式は、黒毛和種肉用牛にも共通して適用できることが判明した。したがって、ホルスタイン種 1 回採血式は、黒毛和種肉用牛の GFR 測定にも利用できると判断した。

第 3 章では、Jacobsson の式の妥当性を検証するために、第 1-2 章で得られたデータを基にホルスタイン種乳牛と黒毛和種肉用牛の両品種に共通して使用出来る 1 回採血統合式（以下、統合式）の確立を試みた。その結果、新たに作成した統合式より求めた GFR 値と第 1-2 章における頻回採血法とホルスタイン種 1 回採血式で得られた各 GFR 値には、3 法間で同一の値が得られることを確認した。また、品種差があることも再確認できた。統合式から求めた GFR 値が 70%程度低下すると、血清 creatinine 値が上昇することも確認した。したがって、統合式は、ホルスタイン種乳牛と黒毛和種肉用牛の GFR 測定に共通して利用できると考えられ、Jacobsson の式の妥当性も証明できた。

本研究では、ウシにおいて初めて GFR 測定法を確立し、その健康背景値、体重、加齢、産次数、泌乳量の影響あるいは品種差について明らかにした。また、Jacobsson の式と iodixanol を用いた 1 回採血法は、GFR 測定の簡便法として、臨床学的、臨床薬理学的および薬物動態学的研究に利用できると考えられた。BUN および血清 creatinine が正常範囲内であり、GFR 値のみが低下するような早期腎機能低下の肥育牛に対して応用できることを明らかにした。

以上、1 回採血法による GFR 測定は、ウシの臨床および研究両面において有用な手法となり、今後の利用が期待される。

## 審 査 結 果 の 要 旨

申請者は、ウシの臨床現場において、腎機能評価が不十分であることに着目し、これまで手付かずの状態にあった腎糸球体濾過量(GFR)測定の確立を試みた。まず、健康ホルスタイン種乳牛を用いて、溶解度および測定感度に難点のある標準 tracer の inulin に代わり、造影剤 iodixanol が代替できることを明らかにした。その後、GFR の生理学的変動をみるために、体重増加、加齢変化および産次数の影響を調べたが、これらは変動因子とはならないことを示した。また、泌乳量の変動（乾乳期を含む）も影響しなかったことから、分布容積とともに考え合わせ、乳汁中への iodixanol の移行性はないと判断した。しかし、用いた全身クリアランス法（頻回採血法）は煩雑で、臨床現場では広く応用は難しいと考えられたため、Jacobsson の式を基にして 1 回採血法で GFR を求める新たな式を作出（以下、ホルスタイン種 1 回採血式）した。本式には、iodixanol の投与量、分布容積、血清濃度および採血時間が含まれており、得られた GFR 値は頻回採血法で求めた GFR 値とよく一致していた。

次に、黒毛和種肉用牛での GFR 測定を試みた。Iodixanol の投与量と採血条件は乳牛と一致し、inulin との同一性も確認できたことから、上記ホルスタイン種 1 回採血式が、肉用牛でも応用できるか検討した。ホルスタイン種 1 回採血式で求めた GFR 値は頻回採血法からの GFR 値とよく一致していたことから、本 1 回採血式は、品種を超えて、共通して利用できることを示した。また、同一体重および年齢で背景 GFR 値を比較すると、乳牛に比べ、肉用牛で低値を示すことを明らかにした。

最後に、1 回採血式の基になった Jacobsson の式の妥当性を検証するために、上述のホルスタイン種乳牛 (n = 99) と黒毛和種肉用牛 (n = 66) のデータを合わせ、1 回採血統合式を作出（以下、統合式）した。頻回採血法、ホルスタイン種 1 回採血式および統合式の 3 法間で求めた GFR 値は同一の値であり、また品種差があることも再確認した。さらに、統合式から求めた GFR 値が 70% 程度低下すると、血清 creatinine 値が初めて上昇することも確認した。これらの結果から、Jacobsson の式を基にした 1 回採血式はウシの GFR 測

定に利用できることを証明した。

申請者はウシの GFR 測定において、簡便な 1 回採血法を確立し、ウシの正常背景値と品種差について初めて明らかにした。また、腎機能低下動物の GFR 測定は、腎臓の残存予備能の把握や予後判定にヒト同様、利用できることを示した。

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 : Glomerular filtration rate in Holstein dairy cows estimated from a single blood sample using iodixanol  
著 者 名 : Murayama, I., Miyano, A., Sasaki, Y., Kimura, A., Sato, S. and Furuhashi, K.  
学術雑誌名 : Journal of Dairy Science  
巻・号・頁・発行年 : 96 (8) : 5120-5128, 2013
- 2) 題 目 : Technical note: Use of a simplified equation for estimating glomerular filtration rate in beef cattle  
著 者 名 : Murayama, I., Miyano, A., Sasaki, Y., Hirata, T., Ichijo, T., Satoh, H., Sato, S. and Furuhashi, K.  
学術雑誌名 : Journal of Animal Science  
巻・号・頁・発行年 : 91 (11) : 5240-5246, 2013

#### 既発表学術論文

- 1) 題 目 : Serum clearance of iodixanol for estimating glomerular filtration rate in calves  
著 者 名 : Imai, K., Yamagishi, N., Kim, D., Devkota, B., Sato, S., Murayama, I. and Furuhashi, K.  
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science  
巻・号・頁・発行年 : 73 (12) : 1625-1628, 2011
- 2) 題 目 : Diagnosis of subacute ruminal acidosis (SARA) by continuous reticular pH measurements in cows  
著 者 名 : Sato, S., Ikeda, A., Tsuchiya, Y., Ikuta, K., Murayama, I., Kanehira, M., Okada, K. and Mizuguchi, H.  
学術雑誌名 : Veterinary Research Communications  
巻・号・頁・発行年 : 36 (3) : 201-205, 2012
- 3) 題 目 : A single-blood-sample method using inulin for estimating feline glomerular filtration rate  
著 者 名 : Katayama, M., Saito, J., Katayama, R., Yamagishi, N., Murayama, I., Miyano, A. and Furuhashi, K.  
学術雑誌名 : Journal of Veterinary Internal Medicine  
巻・号・頁・発行年 : 27 (1) : 17-21, 2013
- 4) 題 目 : Application of the single blood sample method to estimate feline glomerular filtration rate in a clinically relevant situation  
著 者 名 : Katayama, M., Sasaki, A., Takayasu, M., Shimamura, S., Uzuka, Y., Murayama, I., Satoh, H. and Furuhashi, K.

学术雜誌名 : Journal of Feline Medicine and Surgery

卷・号・頁・発行年 : 15 (12) : 1119-1122, 2013