

重軌馬における産褥熱の早期診断および予防に関する研究

2014 年

岐阜大学大学院
連合獣医学研究科

滄木 孝弘

重軌馬における産褥熱の早期診断および予防に関する研究

滄木 孝弘

目次

緒言	1
----------	---

第1章 周産期の重挽馬における血液学的および血清生化学的性状の解明

1-1. 序論	3
1-2. 材料と方法	
1-2-1. 供試動物	3
1-2-2. 採血	3
1-2-3. 全血球計算と白血球百分比	4
1-2-4. 血清生化学的検査	4
1-2-5. 統計学的解析	5
1-3. 結果	5
1-4. 考察	5
1-5. 小括	10
附) 図表	11

第2章 周産期の重挽馬における産褥熱の臨床病理学的特徴と早期診断法の確立

2-1. 序論	17
2-2. 材料と方法	
2-2-1. 供試動物	17
2-2-2. 採血	18
2-2-3. 全血球計算と白血球百分比	18
2-2-4. 血清生化学的検査	19
2-2-5. 血清アミロイドA蛋白質の測定	19
2-2-6. 統計学的解析	19

2-2-7. 基準値の設定と診断精度の検証	19
2-3. 結果	20
2-4. 考察	20
2-5. 小括	25
附) 図表	26

第3章 周産期の重挽馬における産褥熱のリスク因子に関する疫学的研究

3-1. 序論	36
3-2. 材料と方法	
3-2-1. 供試動物	36
3-2-2. 産褥熱の定義	36
3-2-3. 調査項目	36
3-3-3. 統計学的解析	37
3-3. 結果	37
3-4. 考察	38
3-5. 小括	39
附) 図表	40

第4章 重挽馬の妊娠期間を決める要因の検索

4-1. 序論	41
4-2. 材料と方法	
4-2-1. 供試動物	42
4-2-2. 目的変数と説明変数	43
4-2-3. 統計学的解析	43
4-3. 結果	43
4-4. 考察	44

4-5. 小括	45
附) 図表	46
総括	50
謝辞	53
文献	54

緒言

開拓期の北海道において、馬は人々の生活に無くてはならない存在であった。明治時代、アメリカ人により提言された西洋農法を導入した開拓民は、農機具を牽引するために大型の馬が必要となった（41, 48）。そのため、大型で耐久力のある重挽馬（農用馬）を作るために品種改良が繰り返された。一方で、馬の品種改良の背景には戦争が大きく関与していた。能力の高い軍馬の生産を目的とした国家主導の取り組みは1900年代初頭に始まり、1945年の終戦まで続けられた。終戦後、自動車や農業用機械の本格的な普及に伴い、重挽馬は日常生活の場から姿を消していった。農林水産省の畜産統計調査によると、終戦後、100万頭以上飼養されていた重挽馬は、その後減少を続け、2010年には8000頭を下回るに至った。戦前は大型のペルシュロン種が農耕馬として主に生産されていたが、戦後は催事としての挽馬競争用に品種改良が行われ、ペルシュロン種、ブルトン種およびベルジャン種の混血が進められた（55）。挽馬競争は、北海道開拓期より各地で余興や催事として行われていた。1947年、公式競技として初めての挽馬競争であるばんえい競馬（公営）が行われた（41）。公益社団法人日本馬事協会は、これら3品種の混血馬のうち2003年以降に産まれた産駒を日本独自の挽系品種として正式な登録を始め、日本挽系種と呼ばれるようになった。2011年、重挽馬の繁殖雌馬登録数は、日本挽系種が81.1%で、ペルシュロン種が12.9%と次いでいる（57）。現在、重挽馬生産の主な目的はばんえい競馬用であるが、その他には食肉用として馬肉の主要消費地である九州地方などへ移出されたり、観光や乗馬用などに利用されたりしている。このように、産業動物としての地位を失った重挽馬ではあるが、ばんえい競馬を含む「北海道の馬文化」は、2004年にNPO法人北海道遺産協議会が定める北海道遺産に選定されており、文化的遺産として注目されている。日本独自の歴史を背景に進化を遂げた重挽馬を文化遺産として持続的に保存していくためには、安定した生産を行う獣医畜産技術が必要である。

一方で、馬の臨床医学は世界的に飼養頭数の多い乗用馬や競走馬を含む軽種馬を中心に発展してきた。したがって、重挽馬特有の疾病については報告例が少なく、研究も十分にされていないのが現状である。重挽馬に好発する疾病は様々であるが、生産に大きく関係する疾病の一つに産褥性子宮炎が挙げられる。産褥性子宮炎の継発症

は、子宮修復の遅れ、全身性急性子宮炎（Systemic acute metritis : SAM）や蹄葉炎など様々である（6）。SAM や産褥性蹄葉炎は重挽馬では一般的にみられるのに対して、軽種馬ではあまり起こらないという特徴がある（100）。一般的に SAM は分娩時の不衛生な介助や胎盤停滞に起因すると報告されている（101）。胎盤停滞は重挽馬に起こりやすく（47, 50）、難産の後に好発する（106）という報告もある。したがって、重挽馬は潜在的に軽種馬よりも胎盤停滞や SAM に罹患するリスクが高いと言える。産褥熱（Puerperal fever : PF）は周産期の発熱性疾患の総称であるが、その多くが SAM の症状の一部として認められる（6）。SAM や産褥性蹄葉炎の早期発見のために PF は有用な指標となる。しかし、前述したように、SAM や産褥性蹄葉炎は軽種馬では、ほとんど見られない疾病であるため、臨床病理学および疫学的研究は報告されていない。

本研究の目的は、重挽馬において周産期の血液学および血清生化学的性状の変化や、PF の臨床病理学的な特徴、発症リスク因子を解明することにより、早期診断および予防について新しい方法を確立することである。そこで、第 1 章では、健康な重挽馬において、周産期の血液学および血清生化学的性状を調べ、臨床所見との関連性について考察した。第 2 章では、PF 発症馬と臨床的に健康であった馬において、周産期の血液学および血清生化学的性状を比較し、早期診断に有用な検査項目を調べた。第 3 章では、PF 発症の高リスク雌馬の摘発を目的として、PF 発症に影響を与えるリスク因子の解析を行った。また、第 4 章では、分娩日の予測に応用可能な技術の開発を目的として、重挽馬の妊娠期間に影響を及ぼす要因の検索を行った。

第1章 周産期の重挽馬における血液学的および血清生化学的性状の解明

1-1. 序論

分娩前後の劇的な内分泌学的変化については繁殖学領域において多くの研究がされている（4, 25, 73, 109）。しかし、臨床病理学的診断に必要な血液学的および血清生化学的性状については断片的な情報しか報告されておらず、経時的かつ包括的に調べた報告はない。

周産期の雌馬は、難産や胎盤停滞、産褥性子宮炎、乳房炎などの周産期疾患や高脂血症などの代謝性疾患に罹患するリスクが高い（5, 6, 68）。また、分娩後の母馬は泌乳開始に伴い栄養要求量が急速に増大する（70）。したがって、栄養管理の失宜はときに低栄養を招き、繁殖障害につながることもある（3, 36）。

詳しい血液学的および血清生化学的なパラメーターがあれば、疾病の病態把握を迅速かつ正確に行うことが可能となり、予防医学の研究にも応用できると考えられる。本章の目的は、周産期の重挽馬において、血液学的および血清生化学的性状の経時的な変化を明らかにし、臨床所見との関連性を考察することである。

1-2. 材料と方法

1-2-1. 供試動物

北海道十勝地方の3牧場で飼養され、2010年1月から6月に分娩した重挽馬を試験に供した。採材時に一般身体検査を行い、臨床的に異常が認められなかった23頭の雌馬（日本挽系種18頭とペルシュロン種5頭）から採血を行った。これらの馬の平均年齢は7.5歳（3～14歳）であった。乾牧草は常に採食できるように管理し、分娩後は市販の濃厚飼料を給与した。試験期間中にボディコンディションスコア（37）が大きく変化しないように濃厚飼料の給与量を適宜調整した。

1-2-2. 採血

分娩予定日（最終交配日から11ヶ月）の1ヶ月前から毎週採血を行い、分娩後は、

胎子娩出から 1 時間, 1 日 (24~36 時間), 1, 2, 3, 4 週に採血を行った。分娩日当日から分娩 7 日前の間に採取した血液を分娩 1 週前のサンプル (-1w), 分娩 8 日前から分娩 15 日前の間に採取した血液を分娩 2 週前のサンプル (-2w) と定義した。頸静脈より, 採血針 (21 G × 1 1/2" needle MN-2138MS, テルモ (株), 東京) と 10mI のプレーン真空採血管 (Venoject II VP-P100K, テルモ (株), 東京), 5mI の EDTA 加真空採血管 (Venoject II VP-NA050K, テルモ (株), 東京) を用いて採血した。採血後はすみやかに氷冷下で保存し, 2 時間以内に処理を行った。EDTA 加血液は全血球計算および白血球百分比の測定に用いた。プレーン管は, インキュベート (37°C, 90 分) 後, 遠心した (3000rpm, 12 分)。血清を回収し, 生化学的検査まで -30°C で保存した。

1-2-3. 全血球計算と白血球百分比

全自動血球計数器 (Celltac alpha, MEK-6358, 日本光電工業 (株), 東京) を用いて, 白血球数 (WBC), 赤血球数 (RBC), ヘモグロビン濃度 (Hb), ヘマトクリット値 (Ht), 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH), 平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) を測定した。血液塗抹標本を作製して乾燥固定後, 簡易ギムザ染色キット (Hemacolor staining kit, Merk KGaA, Darmstadt, Germany) を用いて染色した。顕微鏡下 (400 倍率) で 200 個の白血球を計数後, 百分比を求め WBC に乗じて好中球数, リンパ球数を求めた。

1-2-4. 血清生化学的検査

臨床化学自動分析装置 (TBA120FR, 東芝メディカルシステムズ (株), 栃木) を用いて, 血清中のグルコース (Glu), 遊離脂肪酸 (NEFA), 総コレステロール (T-Cho), トリグリセリド (TG), 総蛋白質 (TP), アルブミン (Alb), グロブリン (Glb), 尿素窒素 (BUN), クレアチニン (Cre), アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST), γ-グルタミルトランスフェラーゼ (GGT), アルカリホスファターゼ (ALP), クレアチンキナーゼ (CK), カルシウム (Ca), 無機リン (iP), マグネシウム (Mg), ナトリウム (Na), カリウム (K) およびクロール (Cl) を測定した。

1-2-5. 統計学的解析

採材期間毎の差の比較は対応のある t 検定を用いた。統計学的解析は、Statcel3 (オーエムエス出版, 埼玉) を用い, 危険率 5%未満を有意な差とみなした。

1-3. 結果

末梢血液の RBC, Hb, Ht, MCV, MCH および MCHC は, 試験期間中に有意な変化は認められなかった (図 1-1)。WBC, 好中球数およびリンパ球に対する好中球の比 (Neu/Lym) は分娩時に増加が認められたが, 翌日には分娩前のレベルに戻った。リンパ球数は分娩時に減少が認められた (図 1-2)。血清中の Glu および NEFA 濃度は分娩前に比べて分娩時に有意に高くなり, その後減少した (図 1-3)。血清中の T-Chol および TG 濃度は, 分娩前から分娩直後にかけて変化は認められなかったが, 分娩後 1 日目以降に有意に減少した (図 1-3)。血清中の BUN 濃度は分娩前後で変化は認められなかったが, Cre 濃度は分娩後徐々に減少した (図 1-3)。血清中の TP, Alb および Glb 濃度は分娩時に有意に増加した (図 1-4)。Glb に対する Alb の比 (Alb/Glb) は試験期間中, 変化は認められなかった。血清中の AST, GGT および ALP 活性は分娩前から分娩にかけて上昇し, 分娩後は徐々に低下した (図 1-5)。血清中の CK 活性は分娩後 1 日目に最も高値を示した (図 1-5)。血清中の Ca および Mg 濃度は, 採材期間毎に有意な差が認められたが, 規則的な変化は認められなかった (図 1-6)。血清中の iP 濃度は分娩後 1 日目に有意に低値を示した。血清中の Na および Cl 濃度は分娩時に高値を示し, K 濃度は分娩時に低値を示した (図 1-6)。

1-4. 考察

本研究において, 末梢血液中の白血球の数や構成比は, 大きく変化することが明らかとなった。牛では, 分娩前に母牛の血中コルチゾール濃度が上昇することが報告されているが (44, 76), 周産期の軽種馬やロバでは, ほとんど変化しないという報告がある (62, 69, 107)。一方で, 運動負荷などの身体的ストレスは馬のコルチゾール濃度を上昇させ, リンパ球に対する好中球の比が減少することが知られている

(117)。また、分娩時には母馬の総リンパ球数および CD4 陽性ヘルパーT 細胞数の減少、リンパ球のマイトジェンに対する幼若化反応が低下することが報告されており (2, 88)、これらの免疫学的抑制反応の原因を、著者らは、分娩による身体的ストレスと高コルチゾール血症が原因と推察している。分娩前後に母馬のコルチゾール濃度が変化しないという過去の報告と相反する考察であるが、本研究で認められた白血球の諸変化は、分娩による身体的ストレスが原因と推察された。馬の分娩は、その過程が短く、分娩第 2 期はおよそ 20～30 分で終了する (27)。したがって、血中コルチゾール濃度は、陣痛の開始とともに急激に上昇し、分娩後は速やかに下降するのかもしれない。これらの仮説を証明するためには、分娩前後の詳細かつ定時的な採血を行い、内分泌学的変化と血液学的変化を合わせて考察する必要があると考えられた。

また、分娩後 1 時間でみられた血清 Glu 濃度の上昇は、糖新生の亢進によるものと考えられる。糖新生は主にコルチゾールにより亢進されるが、グルカゴンや成長ホルモンも糖新生の亢進に関与する (21, 98)。周産期の馬において、グルカゴンや成長ホルモンの血中濃度の変化を調べた報告はない。白血球ポピュレーションの変化と同様に、分娩ストレスに関連したコルチゾールの変化による影響と考えられるが、今後精査が必要であろう。

血漿中の総 NEFA 量は他の脂質量より少ないが、その代謝回転は他の脂質よりはるかに速い (30)。血中 NEFA は脂肪組織の脂質分解の指標として使用される。蓄積脂肪よりエネルギーを動員しなければならない状態 (負のエネルギーバランス) になると血中 NEFA は増加する (99)。本研究では、分娩直後に一過性の上昇が認められたが、分娩前から長期的な絶食状態にあったわけではない。馬では運動負荷後に血中 NEFA 濃度の上昇を招くことが報告されている。運動によりカテコールアミンが放出されると、ホルモン感受性リパーゼ (HSL) の活性化を経て、体脂肪における中性脂肪の分解と血中への NEFA の動員が亢進される (1, 18, 81)。同様の機序により、分娩のような身体的ストレスがかかるような状態でも血中 NEFA 濃度は一時的に上昇するのかもしれない。

血中 T-Chol 濃度は、食餌由来の摂取量や吸収量、肝臓における合成量、生体内での利用量などのバランスによって決まる (11)。したがって、臨床的に健康な馬の血

中 T·Cho 濃度が、分娩前から分娩後にかけて低下した本研究の結果は、泌乳の開始に伴う生体内での消費量増大が原因と考えられるが、馬の血中 T·Cho 濃度に関する情報はほとんどないため、今後精査が必要である。

TG は食餌由来の主要な脂質であり、貯蔵カロリー源（脂肪組織）および乳汁の主要成分として重要である（21, 24, 99）。母馬の TG が分娩前に比べて分娩後に低値を示したのは泌乳開始に伴い、体内での消費量が増加したものと考えられた。これは過去に軽種馬（34）やポニー（112）で報告された結果と一致している。Watson ら（112）は妊娠中に比較的高い値を示す TG が分娩後に減少するのは、泌乳の開始に伴いリポ蛋白リパーゼの活性が上昇するためと考察している。リポ蛋白リパーゼは血液中の中性脂肪を遊離脂肪酸とグリセロールに分解して、細胞内へ遊離脂肪酸を取り込ませる酵素である（21）。この酵素の発現が泌乳により増大するのは、乳腺における乳脂肪合成のためと考えられている（112）。高脂血症は、血中の脂質濃度が上昇した状態と定義されており、血中 TG 濃度の測定により診断される（68）。馬の高脂血症は致死率が高いため（113）、迅速な診断が求められる。また、高脂血症は身体的ストレスや負のエネルギーバランスが引き金となるため、周産期は高脂血症の発症リスクが高く（5, 68）、血液生化学検査を用いた早期診断あるいは発症予測への応用は臨床的価値が高いと考えられる。

BUN はタンパク質の代謝最終産物であり、肝臓で合成され腎臓で排泄される（94, 103）。分娩前後で BUN 濃度に変化がないことは、蛋白質の異化作用と腎臓の排泄能のバランスに不均衡が生じなかったことを示唆している。一方、Cre は主に骨格筋に分布するクレアチンリン酸の代謝産物である。クレアチンリン酸はエネルギーの貯蔵物質として知られており、生体活動に必要な ATP を供給している。血中の Cre は腎糸球体から濾過され、尿細管で再吸収されることなく尿中に排泄される（10）。本研究において、血清 Cre 濃度は分娩後に減少した。これは過去に軽種馬において報告された結果と一致している（34）。ハフリンガー種で行われた研究（87）では、初乳中 Cre 濃度は血液中濃度と同レベルであるが、分娩後 4 日目には乳汁中 Cre 濃度は血中濃度より低くなると報告されている。したがって、乳汁への Cre の移行が分娩後の血液中 Cre 濃度低下を招く原因ではないと推察される。胎子が急速に発育する妊娠末期

のエネルギー代謝の変化と関連しているのかもしれない。実際、胎子が筋収縮する過程で **Cre** が産生されるが、その排泄は胎盤を介して母馬の腎からの排泄に依存すると考えられる。これらの仮説を証明するためには更なる検証が必要であろう。

ヒトでは妊娠期間に比例して胎盤由来の **ALP** が高くなることが報告されているが (104)、馬では胎盤性 **ALP** は認められておらず (75)、軽種馬を用いた研究では、妊娠期間を通して血清 **ALP** 活性が上昇する現象は確認されなかった (34)。本研究では分娩前 2 週間から分娩前 1 週間にかけて上昇が認められ、分娩後 1 日目をピークにその後徐々に減少した。軽種馬においても、分娩 1 ヶ月前から分娩にかけて、**ALP** の上昇が認められている (34)。**ALP** はほとんどすべての細胞に存在する加水分解酵素である (40)。**ALP** と **GGT** は乳腺の急速な発達にともない上昇すると考察している研究者もいる (34)。分娩後の血清酵素活性の上昇は、子宮内膜や産道の損傷が原因となった可能性もある。周産期における血清酵素活性の変化の意義については、まだ不明な点が多く、今後精査が必要であろう。

CK は臓器特異性の高い酵素であり、骨格筋に最も多く分布し、心筋や平滑筋、脳に分布する。**CK** は **ATP** によるクレアチンの可逆的リン酸化反応を触媒して、筋肉が必要とする高エネルギーリン酸の主要貯蔵型であるクレアチンリン酸を生成する (40)。**CK** は骨格筋損傷に対する鋭敏な指標になるので、一般に、血清活性値の著増する場合には臨床的意義を有する (64, 97)。**CK** は血清での半減期が短く、馬の血清中の半減期は 2 時間以内とされている (33)。母馬の **CK** が分娩後 1 日目に最も高値を示した原因は、分娩時に骨格筋を損傷した可能性を示唆している。実際、分娩時に横臥時間が長い母馬は一時的に起立困難となる場合もある。半減期が短いことから、分娩後 1 日目の採血時にはすでに血中酵素活性のピーク後の下降期であった可能性もあり、目的に応じて適切な時間に評価する必要性が示唆された。臨床的に健康な個体であっても、分娩後に上昇することを念頭に置き、評価する必要があると考えられた。

血清中の主要な蛋白質は、**Alb** と **Glb** であるため、血清 **TP** 濃度は **Alb** と **Glb** の変化によって決まる (19)。血清 **TP**、**Alb** および **Glb** 濃度は、他の採材時期に比べて分娩時に有意に高い値を示した。血清 **Alb** 濃度を高める要因は、血液濃縮による相対

的な濃度上昇であり、あるいは糖質コルチコイドによる肝臓における Alb の合成促進である (21, 93)。分娩時にストレス性のコルチゾール分泌が亢進している可能性について前述したが、コルチゾールの分泌は分娩開始から分娩直後までの短期的な期間に起こると仮定すると、コルチゾールによる Alb 合成促進が短期間に生じたとは考えにくい。一方で、分娩時の母馬の多くは発汗し、努力性の呼吸をしているため、血液中の水分喪失により血清 Alb 濃度は上昇したものと考えられた。一方、血清 Glb 濃度が上昇する主な要因は、血液濃縮と炎症性疾患である (21, 93)。分娩後は子宮内膜や産道の損傷により、生理的にも炎症が生じると考えられる。しかし、馬における急性相蛋白の血中濃度は、炎症誘発事由の発生後あるいは炎症の実験的誘導後 12~24 時間で上昇が認められることが多い (12, 13, 45, 72, 82, 110)。本研究において Glb 濃度の上昇が認められたのは分娩後 1 時間であり、炎症により肝臓における蛋白質合成が生じたとは考えにくい。また、Alb/Glb 比が実験期間中に変化が認められなかった結果から考えても、Alb や Glb, TP の分娩後 1 時間における上昇は、水分喪失による一時的な血液濃縮が主な原因と推察された。

本研究では、血清 Na および Cl 濃度は分娩時に上昇が認められた。分娩前の馬の乳汁成分は劇的に変化することが知られており、特に電解質は大きく変化する。乳汁中の Na や Cl は減少するのに対して、K は減少する (77)。これは本研究における血清中成分の濃度変化とは一致しなかった。高 Na および高 Cl 血症は、激しく呼吸している動物の呼気からの蒸発など、水分だけの喪失によっても起こる (31, 95)。実際、分娩時に多くの母馬が努力性の呼吸をしているが、飲水する母馬はほとんどいない。血清 K 濃度の低下は、病的な状態を除くと、馬では、発汗などによる皮膚からの喪失によっても起こる (31, 95)。多くの分娩馬は分娩の第一期から発汗がみとめられ、胎子娩出まで続くことから、血清 K 濃度の低下を招いたものと考えられた。

血清 Ca および Mg 濃度については試験期間中、有意な差が認められるポイントはあるものの、一定の変化パターンは認められなかった。分娩後 2 日目の軽種馬において血清 Ca 濃度の低下と副甲状腺ホルモン (PTH) 濃度の低下が認められ、PTH 濃度と Ca 濃度の間に有意な負の相関性が認められたという報告もある (67)。しかし、本研究では血清 Ca 濃度の分娩後の低下は認められなかった。飼料中の Ca が十分摂

取されていたため、泌乳開始に伴う Ca 要求量の増大に適応できたのかもしれない。血中 Ca 濃度の恒常性を保つために様々な内分泌学的制御システムが存在するが、PTH は血中 Ca 濃度を上昇させる働きをもつ。つまり、泌乳の開始により血中 Ca 濃度が低下するような状況下では、たとえ血中 Ca 濃度に変化がなくても PTH の分泌は亢進すると考えられる。一方、PTH は血中 P 濃度を制御する作用も有している(23, 96)。PTH は腎臓の尿細管における P の吸収を抑制するため、尿への P の排泄は亢進し、血中 P 濃度は低下する。本研究で認められた分娩後 1 日目における血中 iP 濃度の低下は PTH による変化である可能性が示唆された。これらの仮説を証明するためには、内分泌学的変化と合わせて考察する必要がある。

1-5. 小括

周産期の雌馬の血液学的および血清生化学的性状は大きく変化することが明らかとなった。変化する原因としては、分娩時の身体的ストレスおよび内分泌学的変化、泌乳の開始に伴う代謝的变化、胎子娩出時の母体損傷、分娩時の一時的な血液濃縮による影響などが考えられた。以上のことから、周産期の重挽馬において、血液検査を臨床診断に応用する際には、分娩からの経過時間を考慮して基準値を設ける必要があると考えられた。

附) 図表

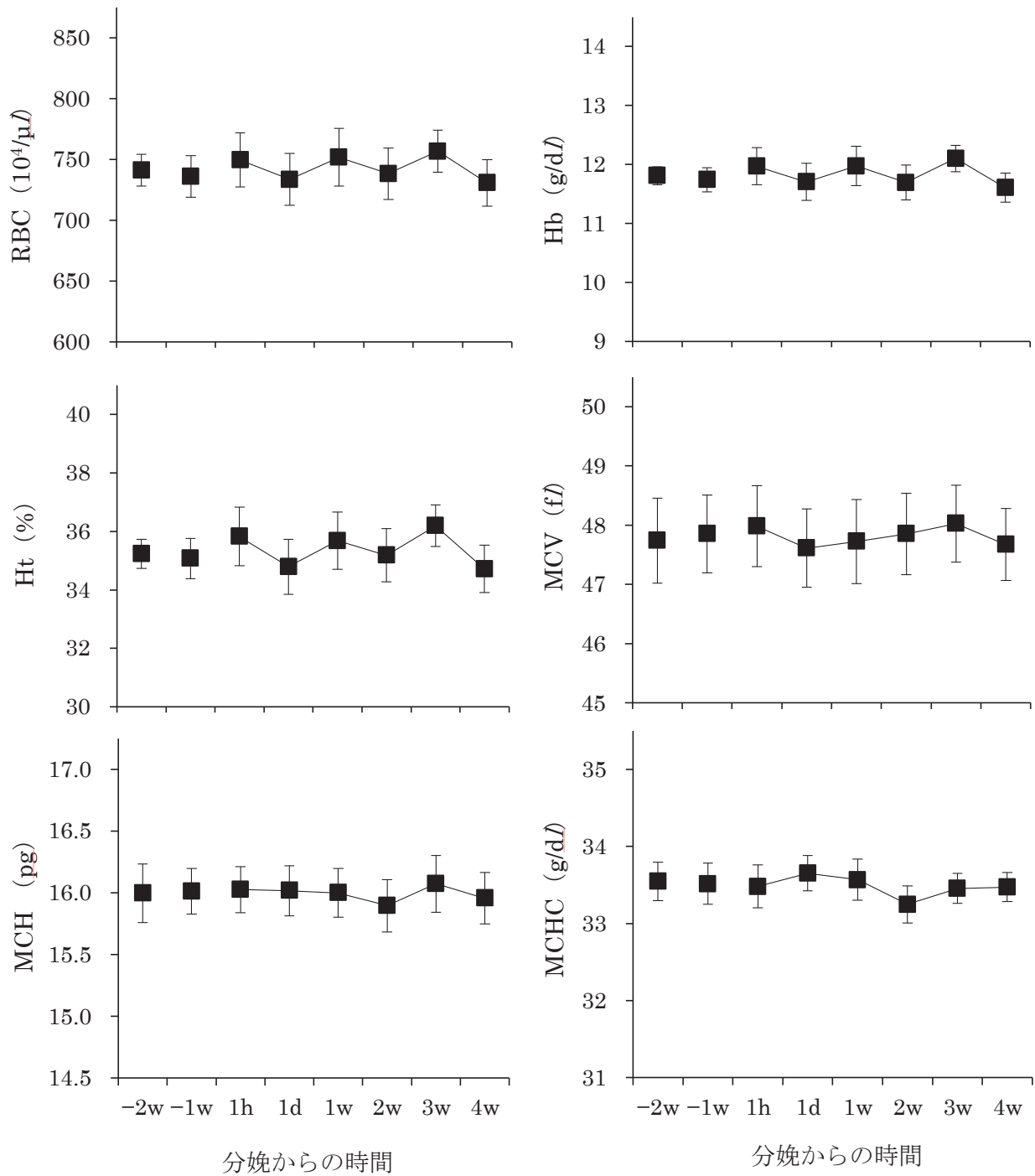


図 1-1. 周産期の重軌馬における末梢血液中の赤血球数 (RBC), ヘモグロビン濃度 (Hb), ヘマトクリット値 (Ht), 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH), 平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) の変化。平均値±標準誤差 ($n = 23$)。-2w: 分娩前 15~8 日, -1w: 分娩前 7 日~分娩日当日, 1h: 分娩後 1 時間, 1d: 分娩後 24~36 時間, 1~4w: 分娩後 1~4 週。

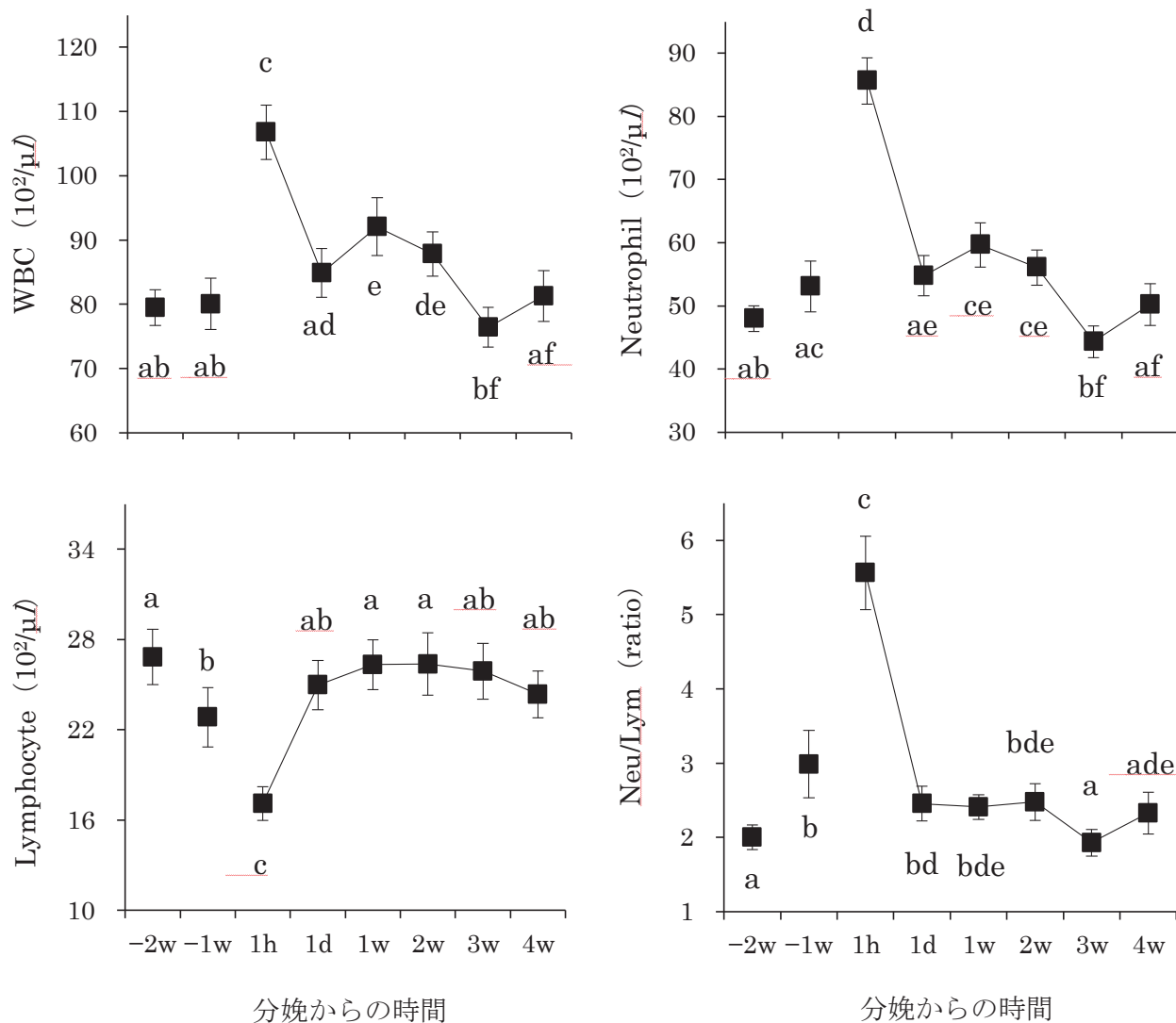


図 1-2. 周産期の重鞍馬における末梢血液中の白血球数 (WBC), 好中球数 (Neutrophil), リンパ球数 (Lymphocyte), リンパ球に対する好中球の比 (Neu/Lym) の変化。平均値±標準誤差 ($n=23$)。-2w: 分娩前 15~8 日, -1w: 分娩前 7 日~分娩日当日, 1h: 分娩後 1 時間, 1d: 分娩後 24~36 時間, 1~4w: 分娩後 1~4 週。異なる文字間で有意差あり ($P<0.05$)。

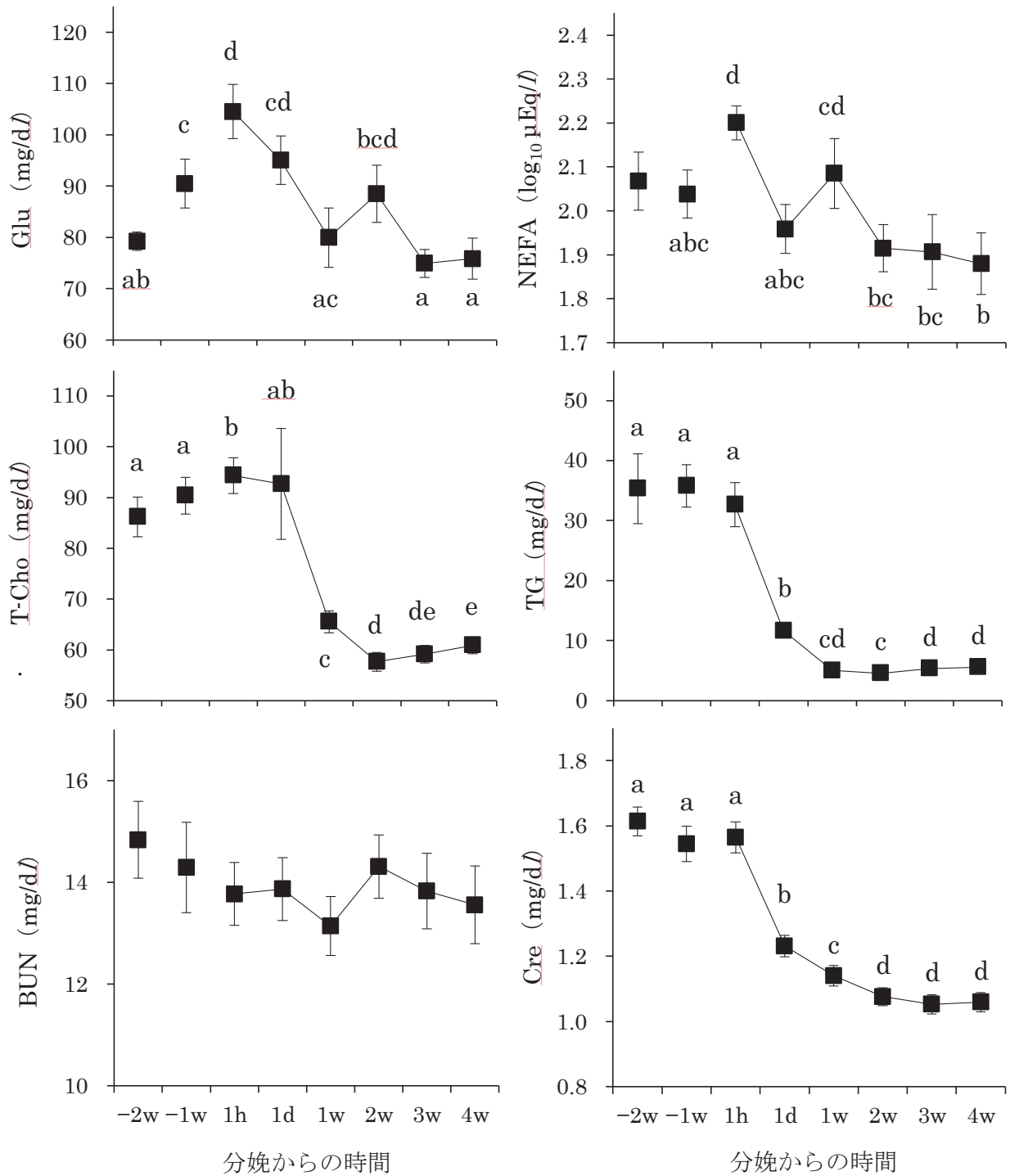


図 1-3. 周産期の重挽馬における血清中のグルコース (Glu), 遊離脂肪酸 (NEFA), 総コレステロール (T-Cho), トリグリセリド (TG), 尿素窒素 (BUN), クレアチニン (Cre) の変化。平均値±標準誤差 ($n = 23$)。-2w: 分娩前 15~8 日, -1w: 分娩前 7 日~分娩日当, 1h: 分娩後 1 時間, 1d: 分娩後 24~36 時間, 1~4w: 分娩後 1~4 週。異なる文字間で有意差あり ($P < 0.05$)。

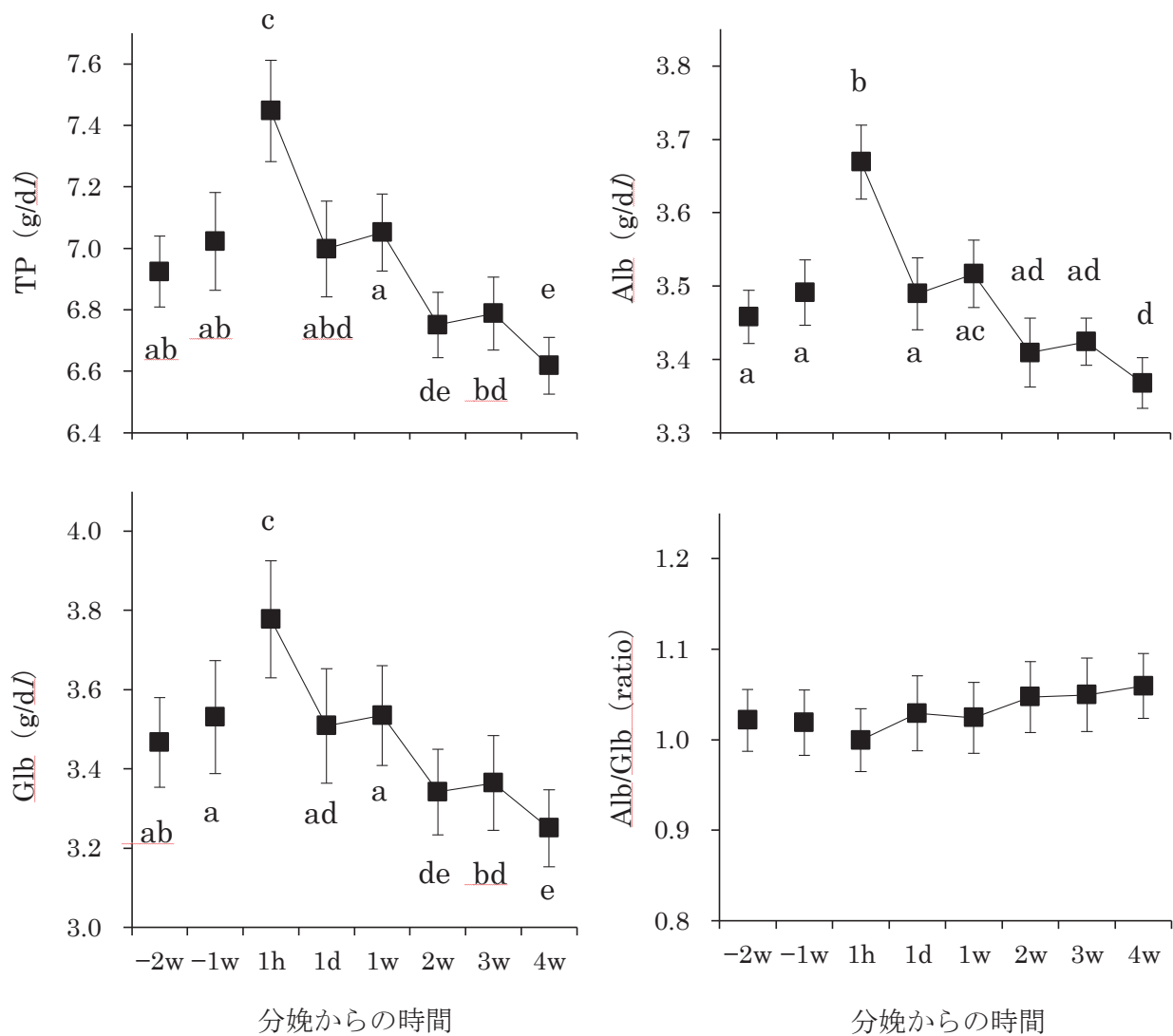


図 1-4. 周産期の重鞍馬における血清中の総蛋白質 (TP), アルブミン (Alb), グロブリン (Glb), グロブリンに対するアルブミンの比 (Alb/Glb) の変化。平均値±標準誤差 ($n = 23$)。-2w : 分娩前 15~8 日, -1w : 分娩前 7 日~分娩日当日, 1h : 分娩後 1 時間, 1d : 分娩後 24~36 時間, 1~4w : 分娩後 1~4 週。異なる文字間で有意差あり ($P < 0.05$)。

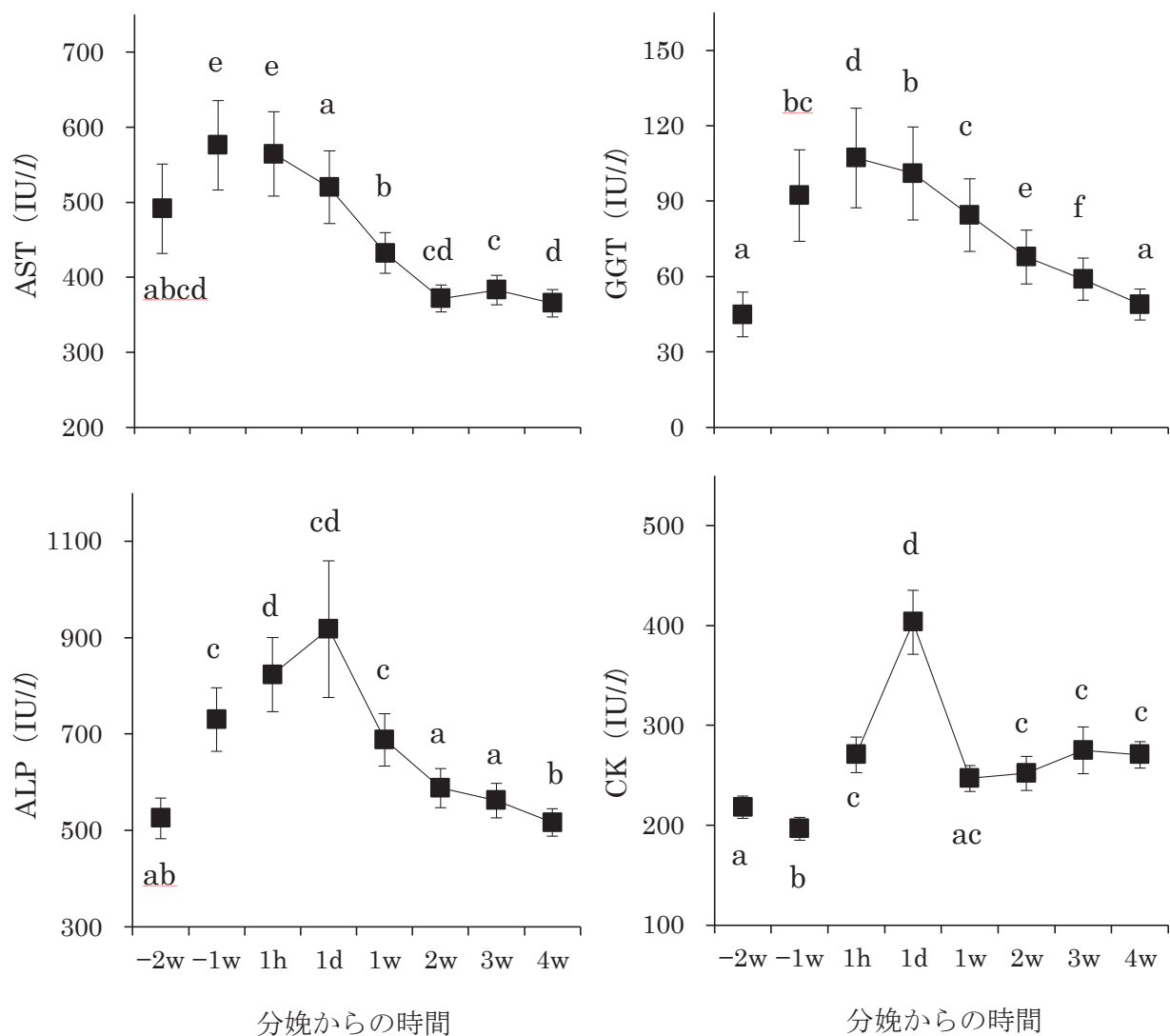


図 1-5. 周産期の重挽馬における血清中のアスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST), γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT), アルカリホスファターゼ (ALP), クレアチンキナーゼ (CK) の変化。平均値±標準誤差 ($n=23$)。-2w: 分娩前 15~8 日, -1w: 分娩前 7 日~分娩日当日, 1h: 分娩後 1 時間, 1d: 分娩後 24~36 時間, 1~4w: 分娩後 1~4 週。異なる文字間で有意差あり ($P<0.05$)。

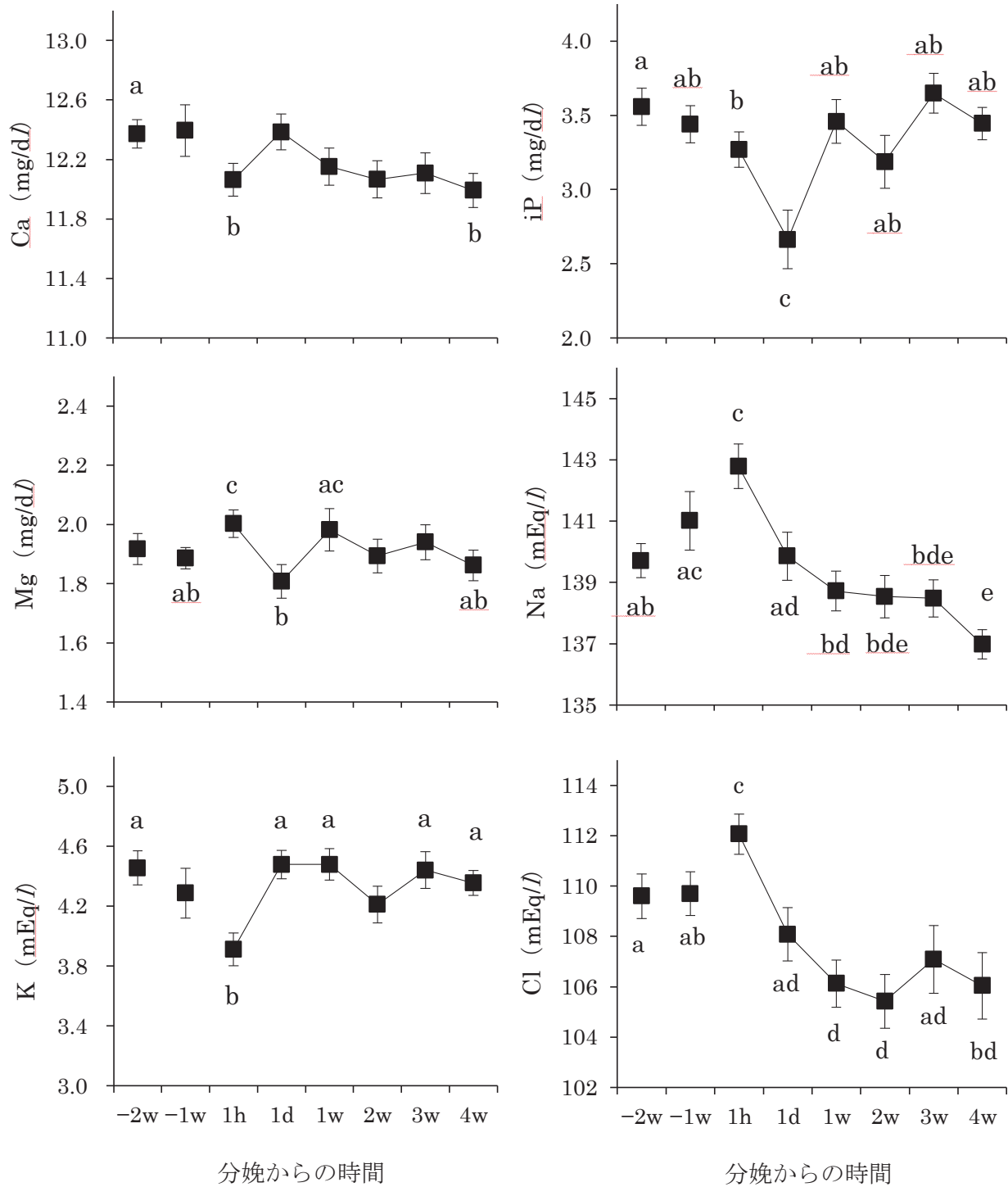


図 1-6. 周産期の重挽馬における血清中のカルシウム (Ca)、無機リン (iP)、マグネシウム (Mg)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl) の変化。平均値±標準誤差 ($n=23$)。-2w：分娩前 15～8 日，-1w：分娩前 7 日～分娩日当日，1h：分娩後 1 時間，1d：分娩後 24～36 時間，1～4w：分娩後 1～4 週。異なる文字間で有意差あり ($P<0.05$)。

第2章 周産期の重挽馬における PF の臨床病理学的特徴と早期診断法の確立

2-1. 序論

分娩後の子宮炎は多くの動物種において一般的な問題である (22, 61, 80)。馬において、産褥性子宮炎の継発症は、子宮修復の遅れ、SAM や産褥性蹄葉炎など様々である。特に SAM や産褥性蹄葉炎は致命的な病態に進行することもあり、緊急性が高い疾病である (6)。SAM はエンドトキシン血症との関連性が示唆されているが (6)、臨床症例において血中のエンドトキシンの存在を証明した報告はなく、あくまで推論とされている。PF は周産期の発熱性疾患の総称であり、その多くが SAM の症状の一部として認められる (6)。

本章では、PF 発症馬と臨床的に健康な馬の血液学的および血清生化学的な特徴を比較することにより早期診断に有用な検査項目を選抜すること、また、健康馬の検査値より各検査項目の基準値を設定し、基準値からの逸脱率および診断精度について検証することを目的とした。

2-2. 材料と方法

2-2-1. 供試動物

北海道十勝地方の3牧場に繋養されている重挽馬（日本挽系種39頭とペルシュロン種9頭）を試験に用いた。2012年から2013年に分娩した48頭、のべ78分娩を試験の対象とした。乳房の腫脹や乳頭内乳汁の存在などの分娩徴候が認められた妊娠馬に対しては、夜間の監視を行い、分娩難易度や胎盤排出時間などの分娩状況を記録した。分娩後1時間以内に胎盤が排出されなかった馬に対しては、胎盤が排出されるまで1時間毎にオキシトシン50IUを筋肉内投与した。これらの処置は馬のオーナーらにより日常的管理の一環として実施された。分娩後の母馬の一般状態と直腸温度は1日2回記録した。分娩後96時間以内に38.5℃以上の発熱が認められた馬を産褥熱群 (PF 群)、発熱、食欲不振、呼吸促迫、異常乳汁および疝痛症状などの臨床的異常が認められなかった馬を健康群 (Clinically healthy : CH 群) と定義した。78頭の

うち、22 頭は以下の理由で本試験から除外した：分娩に立ち会えなかった ($n = 10$)，PF 以外の理由で加療した ($n = 11$)，分娩直後に母馬が死亡した ($n = 1$)。CH 群は 40 頭，PF 群は 16 頭であった。各群の背景情報を表 2-1 に示した。分娩後 12 時間から 1 日の間に 5 頭が発症し，分娩後 1 日から 2 日の間に 11 頭が発症した。すべての発症馬は，分娩後 1 日と 2 日のサンプリングの間に最初の治療が行われた。PF を発症した馬に対する治療には，数十リットルの生理食塩液を用いた子宮洗浄，抗生剤（塩酸クロルテトラサイクリン 1.0 g）の子宮内投与，約 10l の酢酸リンゲル液の輸液，抗生剤（セファゾリンナトリウム 6.0 g）およびステロイド系抗炎症薬（デキサメタゾン 20.0 mg）の全身投与が行われた。

2-2-2. 採血

分娩予定日（最終交配日から 11 ヶ月）の 1 ヶ月前から毎週採血を行い，分娩後は，胎子娩出から 1 時間，12 時間，1 日（24-36 時間），2 日，4 日，7 日に採血を行った。分娩前 1 週間以内に採取したサンプルを分娩前のサンプルと定義した。頸静脈より，採血針（21 G \times 1 1/2" needle MN-2138MS，テルモ（株），東京）と，10ml のプレーン真空採血管（Venoject II VP-P100K，テルモ（株），東京），5ml の EDTA 加真空採血管（Venoject II VP-NA050K，テルモ（株），東京）を用いて採血した。採血後はすみやかに氷冷下で保存し，2 時間以内に処理を行った。EDTA 加血液は全血球計算および白血球百分比の測定に用いた。プレーン管は，インキュベート（37℃，90 分）後，遠心した（3000rpm，12 分）。血清を回収し，生化学的検査まで-30℃で保存した。

2-2-3. 全血球計算と白血球百分比

全自動血球計数器（Celltac alpha，MEK-6358，日本光電工業（株），東京）を用いて，WBC，RBC，Hb，Ht，MCV，MCH，MCHC および血小板数を測定した。血液塗抹標本を作製して乾燥固定後，簡易ギムザ染色キット（Hemacolor staining kit，Merk KGaA，Darmstadt，Germany）を用いて染色した。顕微鏡下（400 倍率）で 200 個の白血球を計数後，百分比を求め WBC に乗じて好中球，好酸球，好塩基球，

単球およびリンパ球の数とリンパ球数に対する好中球数の比を求めた。

2-2-4. 血清生化学的検査

臨床化学自動分析装置（TBA120FR，東芝メディカルシステムズ（株），栃木）を用いて，血清中の Glu，乳酸，NEFA，T-Cho，TG，TP，Alb，Glb，BUN，Cre，AST，GGT，ALP，CK，乳酸脱水素酵素，鉄，Ca，iP，Mg，Na，K および Cl を測定した。

2-2-5. 血清アミロイド A 蛋白質（SAA）の測定

SAA 濃度の測定は市販の ELISA キット（Tridelata Phase Range kit, Tridelata Development, Ltd., Wicklow, Ireland）を使用した。測定方法は製品の取扱説明書に従った。

2-2-6. 統計学的解析

正規分布しない測定項目（NEFA や SAA など）は統計解析の前に，正規分布するように対数変換した。分娩後の連続したデータの 2 群間の比較には反復測定分散分析を用いた。2 群間の水準に有意な差が認められた項目について，採材時期毎の 2 群間の比較にはスチューデントの t 検定を用いた。統計学的解析は，Statcel3（オーエムエス出版，埼玉）を用い，危険率 5%未満を有意な差とみなした。

2-2-7. 基準値の設定方法と診断精度の検証方法

CH 群のデータから算出した平均値と標準偏差 (SD) を用いて，平均値 $\pm 1SD$ (1SD 基準値：集団全体の 70%程度が分布する領域) と平均値 $\pm 2SD$ (2SD 基準値：集団全体の 90%以上が分布する領域) を基準値とした。各血液成分値が基準値の上限値以上であった割合を上限逸脱率，基準値の下限値以下であった割合を下限逸脱率とし，CH 群と PF 群で比較した。さらに，PF 群の基準値逸脱率が 50%以上であった測定項目は，感度，特異度，感度と特異度の平均値，陽性的中率および陰性的中率を用いて診断精度を検証した。

2-3. 結果

分娩前の血液検査では、すべての項目において、両群間に有意な差は認められなかった。分娩後のデータの反復測定分散分析において、グループ間の水準に有意な差が認められた検査項目は、WBC、好中球数、リンパ球数、SAA 濃度、NEFA 濃度および Mg 濃度であった。分娩後 12 時間、1, 2 日の WBC、分娩後 1, 2 日の好中球数、分娩後 12 時間、1, 2 日のリンパ球数および分娩後 1, 2, 7 日の血清 Mg 濃度は、PF 群が有意に低値を示した(図 2-1)。分娩後 2 日の血清 NEFA 濃度および分娩後 1, 2, 4, 7 日の SAA 濃度は PF 群が有意に高値を示した (図 2-1)。

2 群間の水準に有意な差が認められた上記 6 項目について、CH 群のデータから算出した平均値と SD を表 2-2 に示した。各血液成分の基準値からの逸脱率を図 2-2～図 2-7 に示した。分娩後 2 日目以後は PF 群の全供試馬が発症しているため、早期診断のための診断精度の検証には、分娩後 1 日目までの逸脱率を用いた。PF 群の基準値逸脱率が 50%を超えた項目は、分娩後 1 日目の WBC (1SD 下限逸脱率, 2SD 下限逸脱率)、好中球数 (1SD 下限逸脱率, 2SD 下限逸脱率)、リンパ球数 (1SD 下限逸脱率) であった。これらの項目における、感度、特異度、陽性的中率および陰性的中率を表 2-3 に示した。分娩後 1 日目の WBC が 1SD 下限値以下を検査陽性とした場合、検査の信頼性を表す指標となる感度と特異度の平均値が最も高く (93.8%), 陰性的中率は 100%であった。

2-4. 考察

馬は様々な環境微生物の中で分娩しなければならないため、正常な分娩であっても、生殖器が汚染されるリスクは高い。分娩の間、敷き藁や尾により外陰部は汚染され、胎子娩出時は多かれ少なかれ、産道は損傷を受ける。胎盤が排出される過程は環境微生物が産道に侵入する機会を提供する (46)。さらに、難産や胎盤停滞などの異常分娩は、子宮や産道の汚染リスクを増大させる。周産期の母馬は、全身性の免疫機能が抑制されることが知られている。周産期には総リンパ球数、CD4 陽性ヘルパーT 細胞数の減少、リンパ球のマイトジェンに対する幼若化反応が低下する (2, 88)。分

娩時の子宮局所の免疫機能は詳しく知られていないが、全身性免疫反応同様に抑制されているのかもしれない。本研究により、馬において初めて PF の自然発症率が明らかとなったが、この発症率には、各牧場の衛生管理および飼養管理方法が影響を与えていると考えられる。

異物と出会った白血球や微生物の構成成分は、様々なサイトカインの産生を誘導する (13, 53)。そのうち、発熱反応に関与するサイトカインは内因性発熱物質と呼ばれ、インターロイキン (IL) -1 や腫瘍壊死因子 (TNF) - α などが含まれる。しかし、内因性発熱物質の中樞神経系における詳細な作用は未だ不明である。おそらく、脳視床下部に働きかけ、アラキドン酸代謝物、特にシクロオキシゲナーゼ-2 経路を介したプロスタグランジン E₂ の産生を誘発すると考えられている。プロスタグランジンは視床下部の体温調節中枢において、体温のセットポイントを上昇させ、発熱に至ると考えられている (39)。本研究では分娩後 12 時間から 48 時間の間に発熱が認められ、多くの症例 (16 症例中 11 症例) では分娩後 24 時間から 48 時間の間に発熱が認められた。スタンダードブレッド種において、大腸菌の子宮内投与により実験的に子宮炎を誘導した研究では、処置後 6 時間から 12 時間の間に発熱が認められた (13)。重挽馬の PF 自然発生例では、全身症状を伴う子宮炎の成立には分娩後数時間を要することが示唆された。

また、本研究では、分娩後 48 時間以後に発熱が認められなかったことから、分娩後一定時間を経過すると、子宮頸管の退縮および閉鎖や子宮内膜の修復が進み、全身性子宮炎に発展しないことが考えられた。したがって、臨床的な観点からすると、重挽馬の PF のモニタリングには、分娩後 48 時間までは 1 日数回、検温を定期的に行うことが推奨される。

炎症により産生されたサイトカインや化学誘走物質は、好中球の血管内皮への付着 (辺縁趣向) と炎症部位への遊走を刺激する。また、サイトカインは骨髄における好中球の産生を促進させる。好中球減少症は、血管内から炎症部位への遊走量が骨髄での産生量を超えた時に起こる。典型的には、好中球減少症は、全身性あるいは重度の急性炎症性疾患の時に起こる。エンドトキシン血症の際にみられる白血球減少症は、好中球の血管内皮への付着 (辺縁趣向) が主な原因と考えられている (92, 114)。馬

において、分娩後の急性子宮炎とエンドトキシン血症との関係は未だ証明されていない (6)。Blanchard ら (7) は、分娩後 1 および 4 日目のポニーの子宮内に大腸菌性エンドトキシンを投与したところ、エンドトキシン血症を誘導することはできなかったと報告している。おそらく子宮内膜から血中に移行するエンドトキシン量は微量なため、血中エンドトキシンの存在を証明するのは困難と考えられた。本研究において、PF 発症馬でみとめられた白血球減少症については、重度の急性子宮炎による末梢白血球の損傷部位への移動なのか、エンドトキシンによる血管内皮への付着 (辺縁趣向) なのか、区別することはできなかった。したがって、PF とエンドトキシン血症の関係を証明するには、子宮局所のエンドトキシン濃度や他の血液学的および生化学的所見を用いて、総合的に判断する必要があるだろう。PF 群において、WBC、好中球数およびリンパ球数の下限逸脱率は分娩後 1 日目に最大となった。1SD 下限逸脱率は各測定項目において 90%以上となり (WBC : 100%, 好中球数 : 93.8%, リンパ球数 : 93.8%), さらに 2SD 下限逸脱率においても、WBC は 87.5%と高い逸脱率を示した。診断精度の検証においても、WBC の 1SD 下限値以下を検査陽性とした場合、感度と特異度の平均値は最大となり (93.8%), 陰性的中率は 100%であった。つまり、分娩後 1 日目の血液検査において、血中の WBC が平均値-1SD (6367 個/ μ l) より高値であった場合、PF を発症する確率は 0%ということになる。16 頭中 11 頭は、分娩後 1 日目の検査時には臨床症状が発現していないため、分娩後 1 日目の WBC の測定は PF の発症前予測および除外診断に有用であると考えられた。

SAA は急性期タンパク質の一つであり、炎症性疾患の臨床的な診断に利用されている (45)。炎症部位に集積したマクロファージや好中球は、IL-1 や IL-6, TNF- α などの炎症性サイトカインを含む様々なメディエーターを産生する。SAA の肝臓での生合成は、これらの炎症性サイトカインにより上方制御 (アップレギュレート) され、炎症の急性期反応時には、末梢血中濃度は 1000 倍にも達する (51)。SAA は健康な馬の血液中には微量しか存在しないが、炎症性疾患の馬では著増することが知られており、臨床応用されている (72, 78)。また、サラブレッド種やアラブ種で行われた研究 (72) では、健康な馬でも分娩後に SAA 濃度は上昇することが報告されている。本研究においても、臨床的に健康な重挽馬の SAA 濃度は分娩後に上昇が認め

られた。また、外科手術あるいは実験的に誘導された炎症では、処置後 2 日目で血中レベルはピークを迎える (72, 78)。PF 群が分娩後 1 日目以降に CH 群より高い値を示したことは、分娩時により強い炎症性ダメージが生じたものと考えられる。血中 SAA 濃度の分娩後 1 日目における 1SD 上限逸脱率は 31.3%であり、基準値以上の高値を示す個体は少なかったが、分娩後 2 日と 4 日の 1SD 上限逸脱率は 80%以上と高かった。しかし、分娩後 2 日目の検査時には、すべての PF 発症馬は臨床症状が発現していたことから、血中 SAA 濃度の測定は、治療の効果判定や予後判定には応用が可能であると考えられるが、PF の発症予測や早期診断には適していないことが示唆された。

血清 Mg 濃度は食餌からの摂取量に依存しており、鉍質コルチコイドと上皮小体ホルモンにより調整されている。血清中 Mg の 30%はタンパク質と結合しているため、低タンパク血症に併発して低 Mg 血症がみとめられることもある。また、長期にわたる食欲不振や粗雑な給餌内容により消化管からの Mg 吸収量が不足した場合に低 Mg 血症が起こることもある (23, 96)。しかし、本研究では発症に至るまでの間に長期的な食欲不振や低タンパク血症は認められなかった。軽種馬において、実験的に誘導したエンドトキシン血症では、血清 Mg 濃度が低下することが報告されている (102)。血中濃度の変化は急速に起こり、イオン化 Mg が血漿から細胞内に移動するためと考えられている。直接的な関連は証明できなかったが、本研究で認められた低 Mg 血症はエンドトキシン血症との関連性が示唆された。PF 群において、血中 Mg 濃度の逸脱率は試験期間中、最大でも 50% (分娩後 2 日の 1SD 下限逸脱率) であり、臨床症状が発現している馬でも基準値の範囲内に分布した個体が多かった。循環血液中の WBC が減少しているにもかかわらず低 Mg 血症を併発していない症例は、エンドトキシン血症による変化ではなく、子宮や産道の強い炎症により循環血液中の白血球が移動した結果である可能性もあることが示唆された。WBC と Mg 濃度を併せて測定することにより、炎症部位への白血球の遊走なのかエンドトキシンによる白血球の血管内皮への付着なのか区別できるかもしれない。血中のエンドトキシン濃度は微量であるため検出が難しい。今後は子宮や産道のエンドトキシンレベルと循環血液中の WBC および血清 Mg 濃度の関係を明らかにすることにより、PF の病態をより詳しく

分類できる可能性が示された。

炎症性疾患の際にみとめられる食欲不振は、原疾患の症状に付随してみられる一般的な全身症状である (65)。詳細なメカニズムについては未だ不明であるが、末梢で産生された微生物構成体や炎症性サイトカインは、中枢神経系に働きかけ、食欲不振を招くと考えられている (52, 59)。妊娠末期の母馬のエネルギー要求量は、胎子の発育に伴い徐々に増大する。分娩後は、泌乳が開始するため、エネルギー要求量は、雌馬のライフステージ中、最大となる (70)。分娩 1 週目の重軌馬の平均泌乳量は、2.6kg/100kg 体重と報告されている (17)。したがって、分娩後の泌乳馬は、十分な食物エネルギーを摂取できない場合、飢餓に近い状態になると推察される。血中 NEFA 濃度は、体内脂肪組織の脂質分解を表す指標として用いられている。動物が脂肪組織からエネルギーを動員する必要がある場合、血中 NEFA 濃度は上昇する (26)。PF 発症馬では、子宮炎により産生されたサイトカインなどにより食欲不振となり、泌乳に必要なエネルギーを摂取できなくなったと考えられた。PF 群でみとめられた高 NEFA 濃度は、エネルギー源として使用するため脂肪動員が高まったことが示唆された。本研究では脂肪動員は一時的なものであったが、持続的かつ過剰な脂肪動員は高脂血症を招くことが知られており、妊娠や泌乳、肥満は高脂血症の素因である (5, 68)。著しい肥満の馬は本研究中に含まれていなかったが、肥満の馬が PF に罹患した場合、著しい脂肪動員により高脂血症や脂肪肝を続発する可能性も示唆された。実際、著者は、肥満のペルシュロン種において、PF に続発した高脂血症を経験したこともある。馬の高脂血症の致死率は約 70%と報告されている (113) ため、PF の治療に際しては、全身性子宮炎に対する処置に加えて、補助的な高エネルギー輸液剤の投与も考慮する必要があることが示唆された。PF 群において、遊離脂肪酸の正常値からの逸脱率 (1SD 上限逸脱率) は、分娩後 2 日目に最大 (50%) となった。発症前に顕著な食欲不振を呈した個体は確認されなかったことから、臨床症状が発現した後に食欲不振となり、体脂肪の動員が起こったことにより血中 NEFA 濃度は上昇したと考えられる。したがって、発症後速やかに治療が行われ、食欲不振が発現しなかった症例では血中 NEFA 濃度の上昇は起きなかったと推察された。

2-5. 小括

本研究により、臨床フィールドにおける PF 発症例において、臨床病理学的特徴が明らかとなった。PF 発症馬の血液学的および血清生化学的所見から、エンドトキシン血症を示唆する所見（WBC の減少、血清 Mg 濃度の低下）や、強い炎症性変化（血清 SAA 濃度の上昇）、負のエネルギーバランスに伴う脂肪動員（血清 NEFA 濃度の上昇）が示唆された。PF 群において、基準値からの逸脱率が 50%を超えた項目は、分娩後 1 日における WBC と好中球数、リンパ球数であった。これらの項目において、感度と特異度の平均値が最も高かったのは、WBC の平均値-1SD 値（1SD 下限基準値：6367 個/ μ l）以下を検査陽性とした場合であり、陰性的中率は 100%であった。以上より、分娩後 1 日目の WBC の測定は、PF の除外診断に有用であると考えられた。

附) 図表

表 2-1. 臨床的に健康な馬 (CH 群) と産褥熱発症馬 (PF 群) の背景情報

	CH 群 ($n = 40$)	PF 群 ($n = 16$)
母馬の年齢 (歳, 平均値 \pm SD)	9.2 \pm 4.0	10.3 \pm 4.1
母馬の産歴 (産, 平均値 \pm SD)	4.2 \pm 3.1	4.9 \pm 3.0
妊娠期間 (日, 平均値 \pm SD)	338.2 \pm 6.8	339.9 \pm 7.7
難産 (頭数)	8	6
3 時間以上の胎盤停滞 (頭数)	3	1
死産 (頭数)	2	2
産駒の性別比 (雄/雌)	1.2 (22/19)	1.3 (9/7)

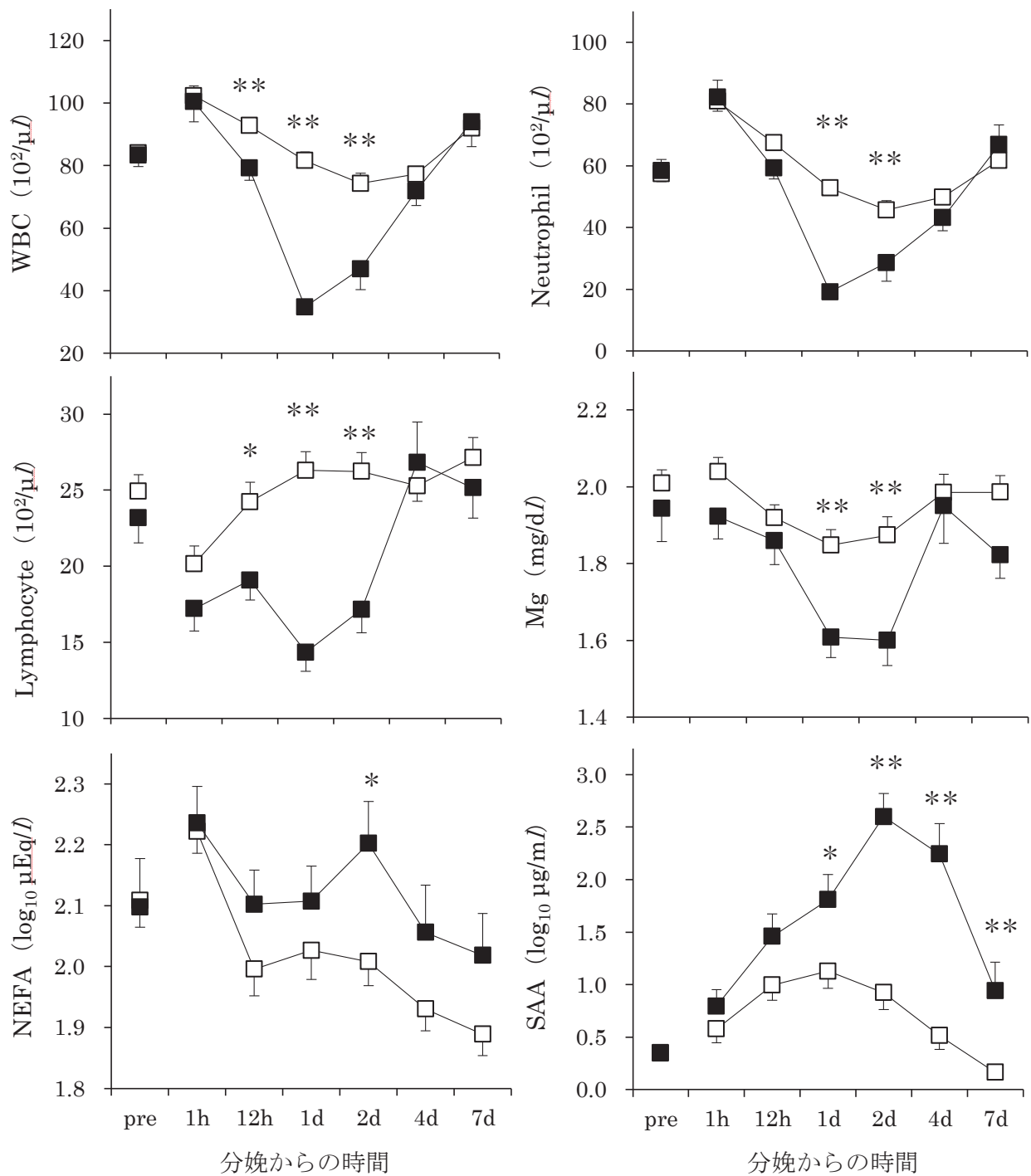


図 2-1. 周産期の重軌馬における白血球数 (WBC), 好中球数 (Neutrophil), リンパ球数 (Lymphocyte), 血清アミロイド A (SAA), マグネシウム (Mg) および遊離脂肪酸 (NEFA) の推移。□: 臨床的に健康な馬 ($n=40$), ■: 産褥熱発症馬 ($n=16$)。平均値±標準誤差。pre: 分娩前 7 日~分娩日当日, 1h: 分娩後 1 時間, 12h: 分娩後 12 時間, 1d: 分娩後 24~36 時間, 2~7d: 分娩後 2~7 日。**: $P<0.01$, *: $P<0.05$ 。

表 2-2. 臨床的に健康な馬 ($n = 40$) のデータから算出した基準値

項目	分娩からの時間						
単位	分娩前	1 時間	12 時間	1 日	2 日	4 日	7 日
WBC	8403	10232	9278	8160	7425	7725	9200
個/ μ l	(1559)	(1930)	(1421)	(1793)	(2092)	(987)	(1346)
好中球数	5732	8084	6733	5272	4568	4981	6169
個/ μ l	(1574)	(1966)	(1495)	(1585)	(1894)	(994)	(1187)
リンパ球数	2493	2016	2423	2630	2623	2528	2715
個/ μ l	(692)	(722)	(818)	(789)	(784)	(645)	(835)
SAA	0.35	0.58	1.00	1.13	0.92	0.52	0.17
$\log_{10} \mu$ g/ml	(0.40)	(0.82)	(0.92)	(1.03)	(1.02)	(0.83)	(0.43)
Mg	2.01	2.04	1.92	1.85	1.87	1.99	1.99
mg/dl	(0.22)	(0.23)	(0.21)	(0.25)	(0.30)	(0.29)	(0.27)
NEFA	2.11	2.22	2.00	2.03	2.01	1.93	1.89
$\log_{10} \mu$ Eq/l	(0.28)	(0.22)	(0.27)	(0.30)	(0.25)	(0.22)	(0.22)

平均値 (標準偏差)

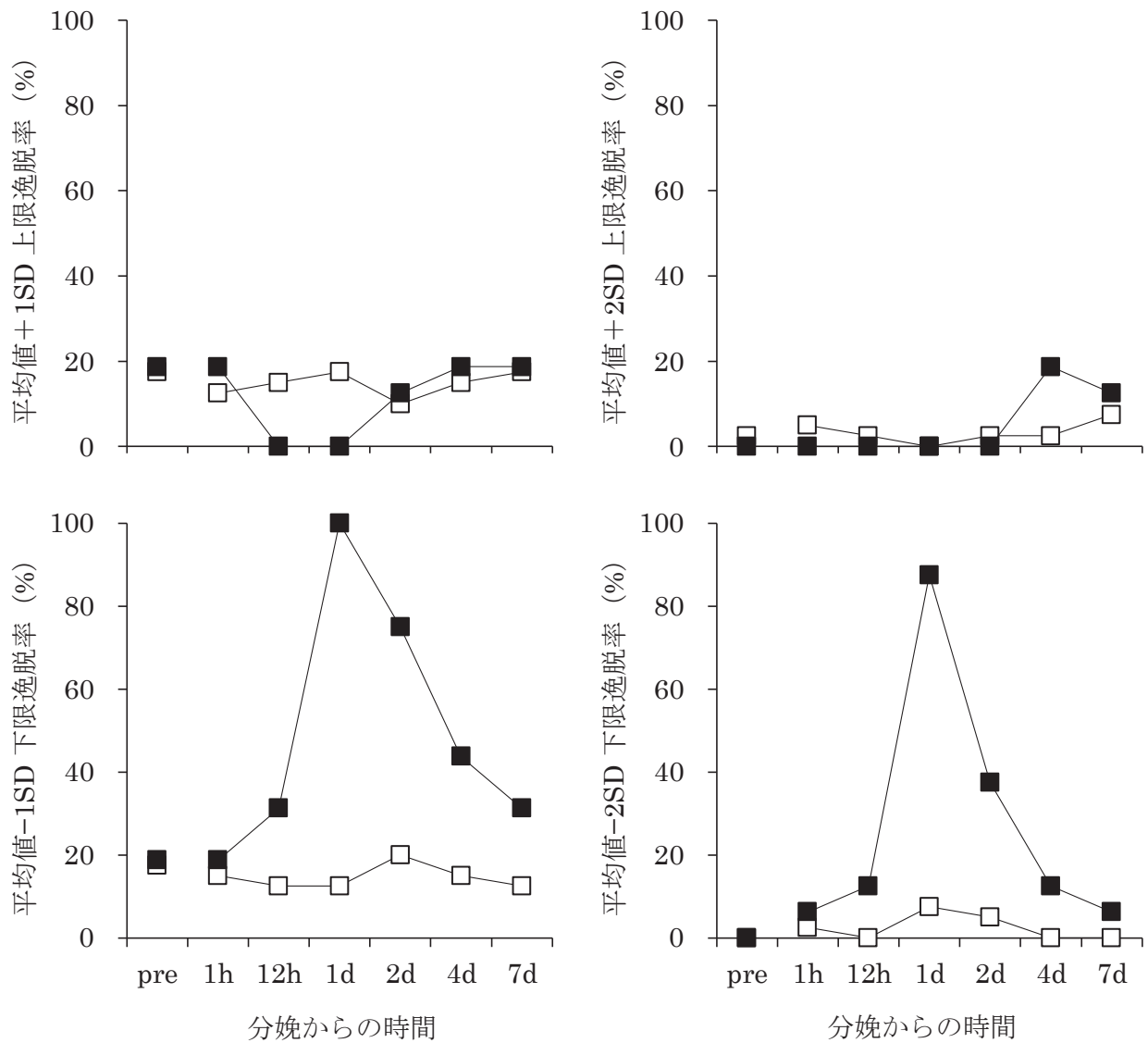


図 2-2. 白血球数の基準値（平均値 \pm 1SD，平均値 \pm 2SD）から逸脱した馬の割合。
 □：臨床的に健康な馬（ $n = 40$ ），■：産褥熱発症馬（ $n = 16$ ）。pre：分娩前 7 日～分娩日当日，1h：分娩後 1 時間，12h：分娩後 12 時間，1d：分娩後 24～36 時間，2～7d：分娩後 2～7 日。

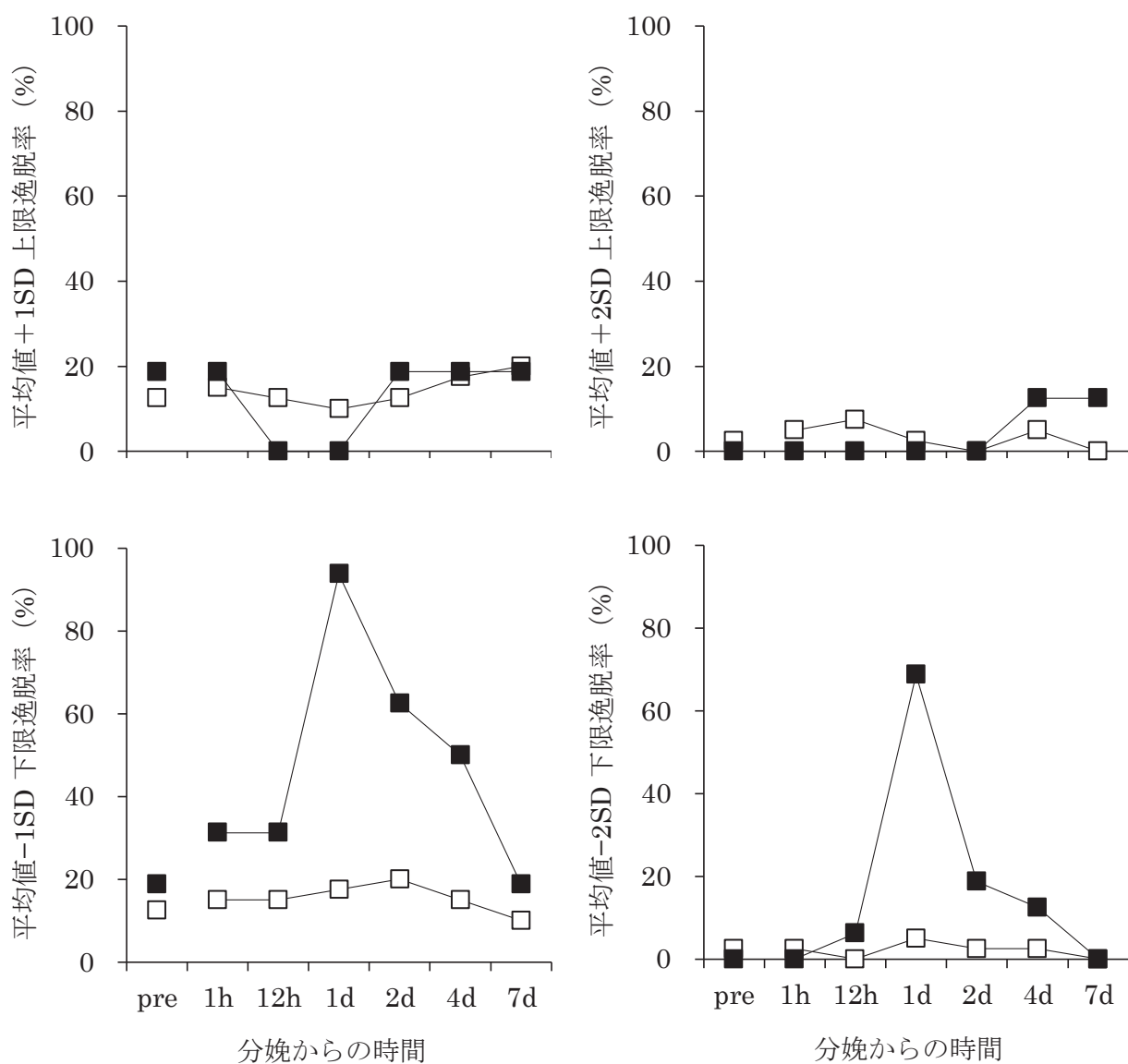


図 2-3. 好中球数の基準値（平均値±1SD，平均値±2SD）から逸脱した馬の割合。
□：臨床的に健康な馬（ $n = 40$ ），■：産褥熱発症馬（ $n = 16$ ）。pre：分娩前 7 日～分娩日当日，1h：分娩後 1 時間，12h：分娩後 12 時間，1d：分娩後 24～36 時間，2～7d：分娩後 2～7 日。

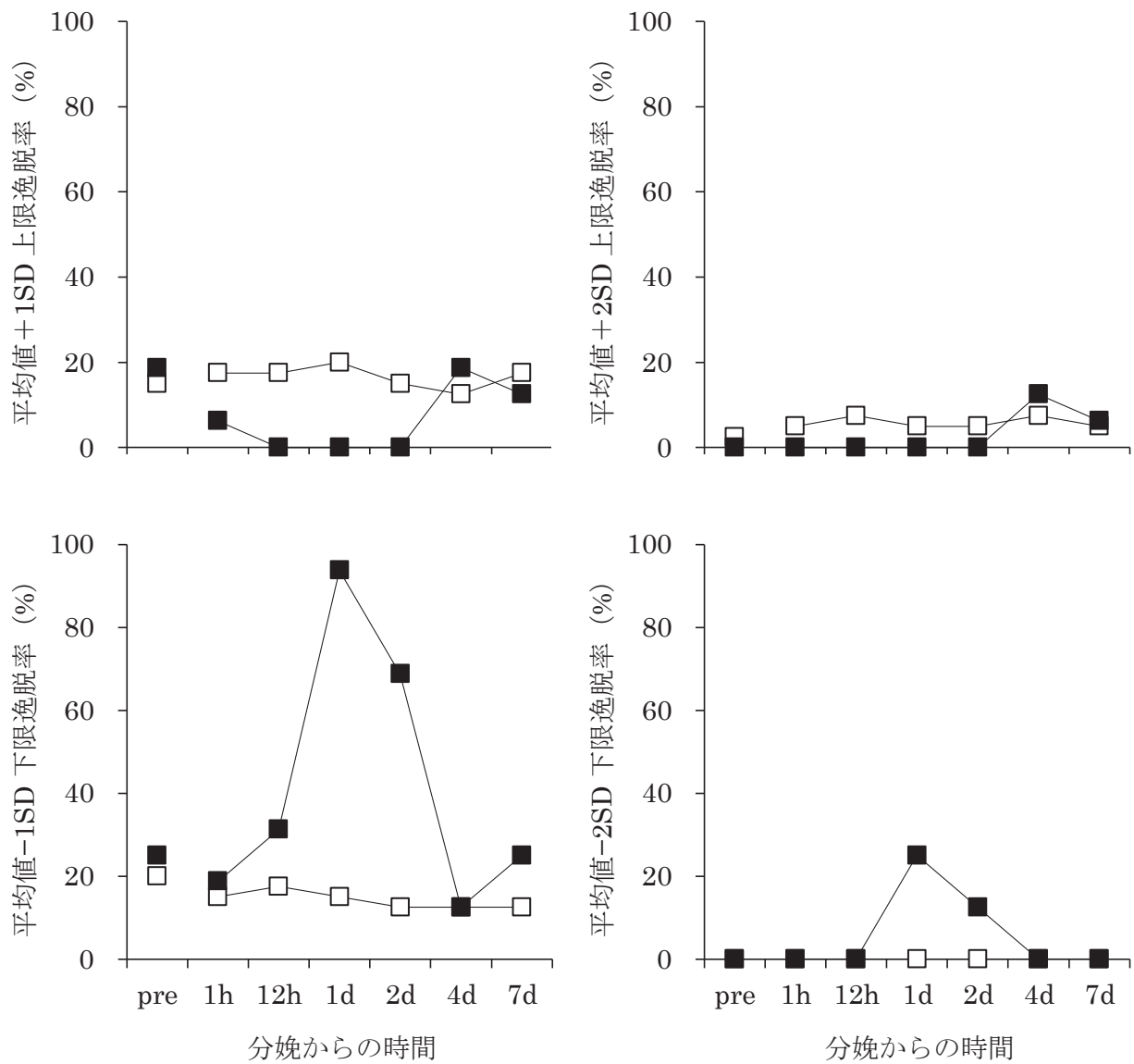


図 2-4. リンパ球数の基準値 (平均値 \pm 1SD, 平均値 \pm 2SD) から逸脱した馬の割合。

□ : 臨床的に健康な馬 ($n = 40$), ■ : 産褥熱発症馬 ($n = 16$). pre : 分娩前 7 日～分娩日当日, 1h : 分娩後 1 時間, 12h : 分娩後 12 時間, 1d : 分娩後 24～36 時間, 2～7d : 分娩後 2～7 日。

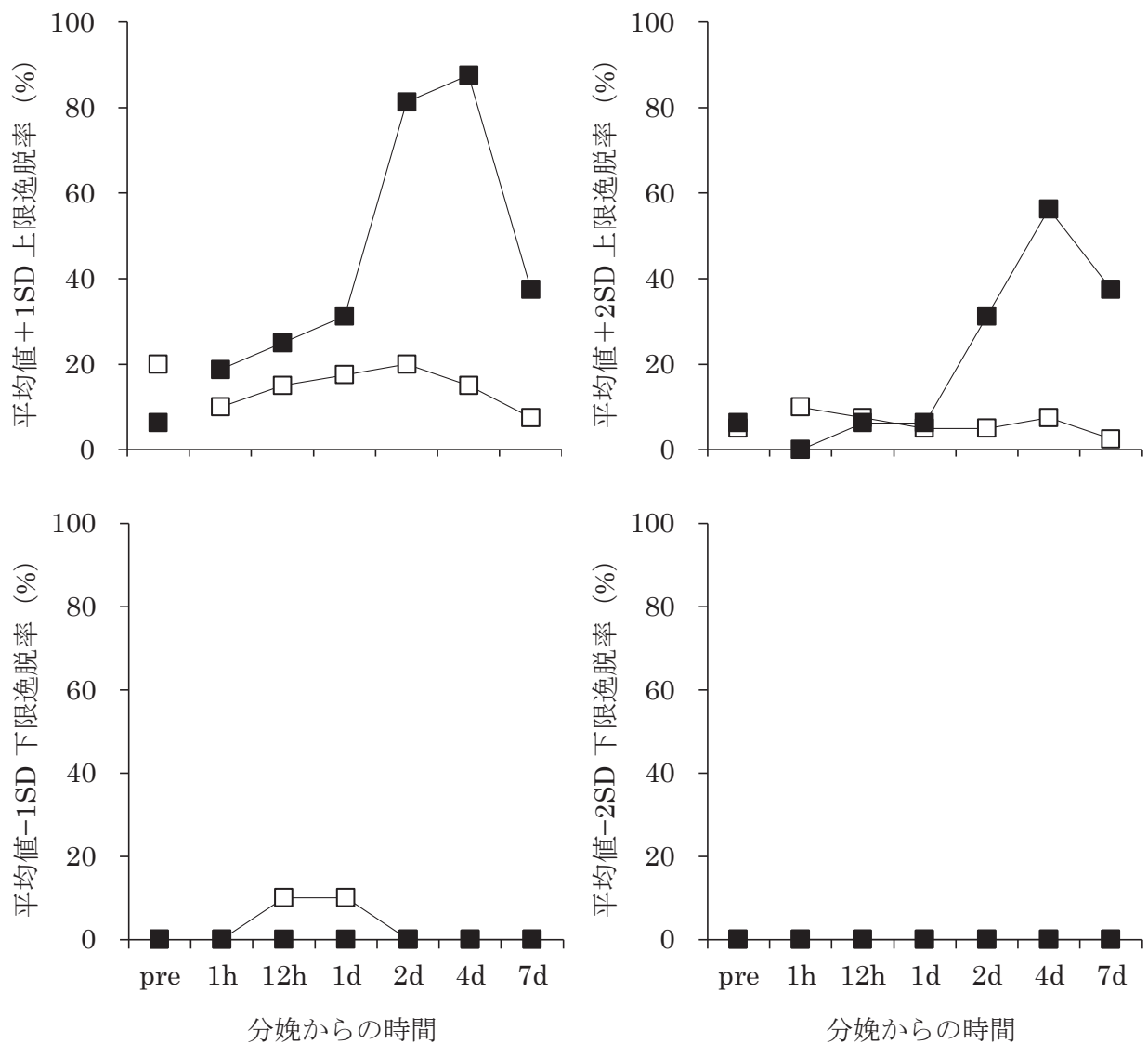


図 2-5. 血清 SAA 濃度の基準値（平均値 \pm 1SD，平均値 \pm 2SD）から逸脱した馬の割合。 \square ：臨床的に健康な馬（ $n=40$ ）， \blacksquare ：産褥熱発症馬（ $n=16$ ）。pre：分娩前 7 日～分娩日当日，1h：分娩後 1 時間，12h：分娩後 12 時間，1d：分娩後 24～36 時間，2～7d：分娩後 2～7 日。

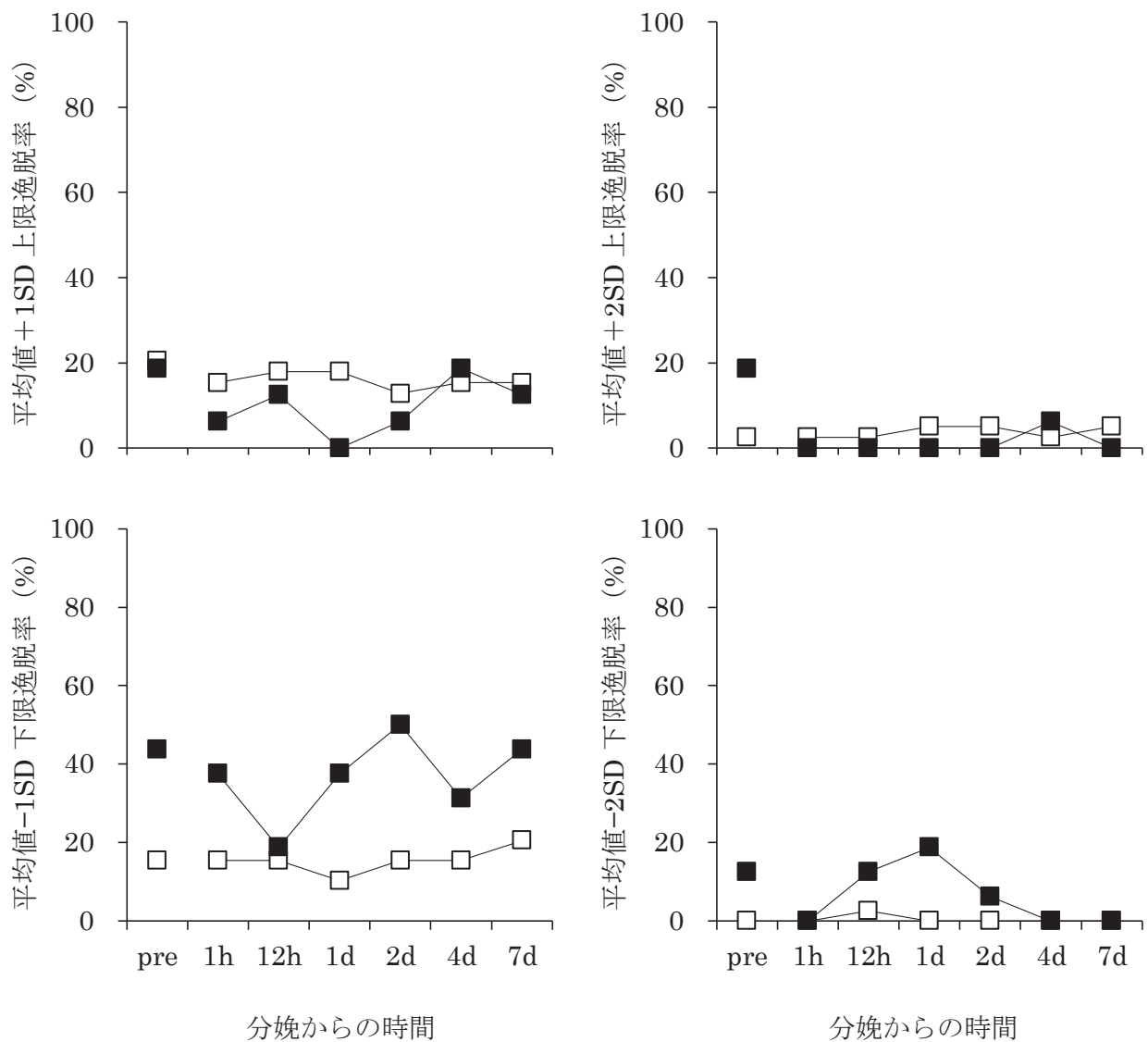


図 2-6. 血清 Mg 濃度の基準値（平均値 \pm 1SD，平均値 \pm 2SD）から逸脱した馬の割合。□：臨床的に健康な馬（ $n=40$ ），■：産褥熱発症馬（ $n=16$ ）。pre：分娩前 7 日～分娩日当日，1h：分娩後 1 時間，12h：分娩後 12 時間，1d：分娩後 24～36 時間，2～7d：分娩後 2～7 日。

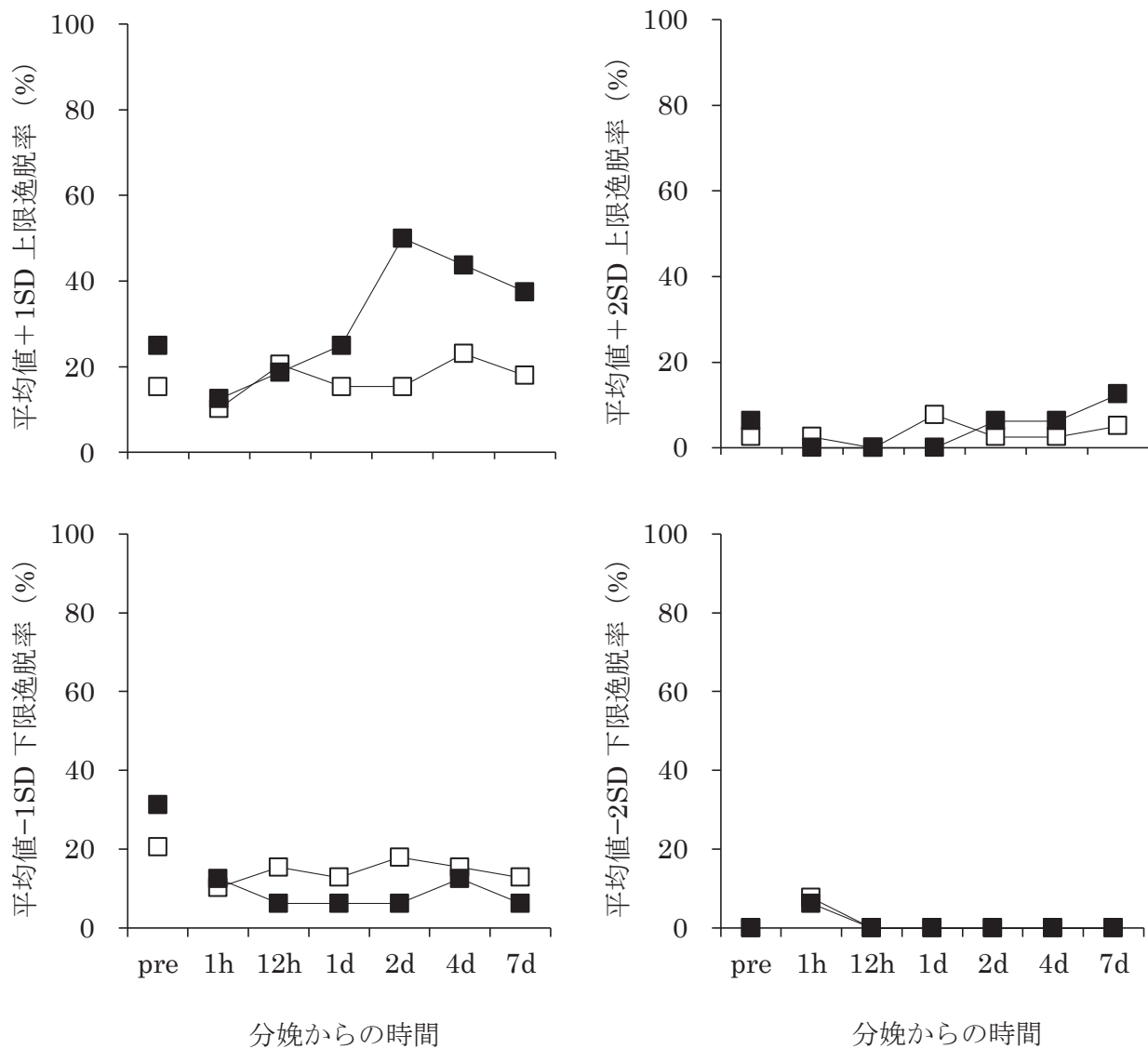


図 2-7. 血清 NEFA 濃度の基準値 (平均値 \pm 1SD, 平均値 \pm 2SD) から逸脱した馬の割合。□: 臨床的に健康な馬 ($n=40$), ■: 産褥熱発症馬 ($n=16$)。pre: 分娩前 7 日~分娩日当日, 1h: 分娩後 1 時間, 12h: 分娩後 12 時間, 1d: 分娩後 24~36 時間, 2~7d: 分娩後 2~7 日。

表 2-3. 血液検査値を用いた産褥熱の診断精度

診断項目 (検査陽性とする条件)	感度 (%)	特異度 (%)	感度と特異度 の平均 (%)	陽性的中率 (%)	陰性的中率 (%)
分娩後 1 日目の白血球数					
(平均値-1SD 以下)	100	87.5	93.8	76.2	100
(平均値-2SD 以下)	87.5	92.5	90.0	82.4	94.9
分娩後 1 日目の好中球数					
(平均値-1SD 以下)	93.8	82.5	88.2	68.2	97.1
(平均値-2SD 以下)	68.8	95.0	81.9	84.6	88.4
分娩後 1 日目のリンパ球数					
(平均値-1SD 以下)	93.8	85.0	89.4	71.4	97.1

第3章 周産期の重挽馬における PF のリスク因子に関する疫学的研究

3-1. 序論

前章において、PF 早期診断のための血液検査の有用性が明らかにされた。しかし、分娩した馬すべてに血液検査を適用することは、労力および費用の面で現実的ではない。PF のリスク因子を明らかにすることができれば、PF の発症リスクの高い馬だけでも血液検査を適用することにより効率的な早期診断が実現できると考えられる。PF のリスク因子として、不衛生な分娩介助や胎盤停滞が報告されている（6, 60, 80, 101）。しかし、多要因の中から発症リスクに影響を及ぼす因子を選抜する重回帰分析を用いた疫学的研究は報告されていない。本章では、分娩状況や母馬の背景情報を調べ、重回帰分析により、PF の発症率を高めるリスク因子を検索した。

3-2. 材料と方法

3-2-1. 供試動物

北海道十勝地方の3牧場において、2009年から2013年の間に分娩した65頭（日本挽系種52頭とペルシュロン種13頭）のべ181分娩を調査の対象とした。帝王切開を適応した症例、早流産した症例（妊娠期間300日未満）、PF以外の理由で加療した症例（乳房炎や急性腹症、発熱は認められないが子宮洗浄を実施した場合など）は本研究から除外した。分娩徴候が認められた妊娠馬は監視を行い、分娩状況を記録した。

3-2-2. PF の定義

分娩後は1日2回、母馬の一般状態および直腸温を記録し、分娩後96時間以内に直腸温38.5℃以上を呈した雌馬をPFと定義した。全181頭の供試馬のうち、PFと診断された馬は30頭（16.6%）であった。

3-2-3. 調査項目

分娩立会人の有無，分娩した月，母馬の品種，母馬の年齢および産歴，分娩難易度，胎盤停滞の有無，産駒の性別を調べた。本研究では，分娩第2期（尿膜の破裂から胎子娩出まで）が30分経過しても完了せず，強度の牽引を必要とした場合および胎子が失位しており整復を必要とした場合を難産と定義した。分娩後1時間以内に胎盤が排出されなかった母馬には，胎盤停滞の予防を目的として，胎盤が排出されるまで1時間毎に50IUのオキシトシンが筋肉内投与された。この処置はオーナーらにより日常的な管理の一環として行われた。胎子娩出から3時間以上経過しても胎盤排出が完了しなかった場合を胎盤停滞と定義した。

3-2-4. 統計学的解析

分娩立会人の有無とPF発症率の関係はフィッシャーの直接確率検定を用いて分析し，有意水準5%未満を有意な差とみなした。分娩立会人の監視により，詳細な分娩状況が明らかな場合，PFの発生を目的変数，前述した複数の調査項目を説明変数として，ステップワイズ変数選択法を用いた重回帰分析を行い， F 値4以上および有意水準5%未満をPFの発生に影響を与える有意な因子とした。選択された因子内における条件別のPF発生率の比較には χ^2 検定を用い，有意水準5%未満を有意な差とみなした。すべての統計学的解析は，Statcel3 および Mulcel（オーエムエス出版，埼玉）を用いた。

3-3. 結果

分娩立会人不在の状態で分娩した症例は，分娩立会人の監視下で分娩した症例に比べて有意にPFの発生率が高かった（ $P < 0.05$ ）。分娩立会人の監視下で分娩した症例において，重回帰分析を行ったところ，母馬の品種と分娩難易度がPFの発生に影響を与える有意な因子として選択された（表3-1）。分娩馬がペルシュロン種であった場合，母馬が日本輓系種であった場合に比べて発症率は有意に高かった。また，分娩が難産であった場合，正常産であった場合に比べて発症率は有意に高かった（表3-2）。

3-4. 考察

馬の分娩は、その多くが夜間に起こる (15)。一般的に、馬の管理者は夜間の監視を行い、分娩の適切な管理を行うことにより、異常分娩の早期発見や分娩介助、胎盤排出のための適切な処置を行っている。しかし、分娩徴候の見逃しや分娩日の予測に失敗した場合、つまり馬が立会人不在の状況下で分娩した場合、適切な分娩管理が行われないため、新生子死や異常分娩の発見遅延を招くおそれがある。立会人不在の分娩では、母子にとって致命的な状態を招く危険性があることは経験的に知られているが、母馬の子宮および産道疾患のリスクが増すという客観的なデータを示した報告はない。本研究の結果から、立会人不在の分娩では、適切な分娩介助が行われないために起こる分娩時間の延長や、オキシトシン投与が遅れることによる胎盤排出時間の延長、およびそれに伴う産道汚染のリスクが増すことにより、PF の発症リスクが高まることが示唆された。

難産症例では、両品種間に PF 発症率の差はなかったが、正常産の症例ではペルシュロン種の方が日本輓系種に比べて PF 発症率は高かった (日本輓系種 vs. ペルシュロン種 : 9.6% vs. 26.9%, $P < 0.05$, χ^2 検定)。ペルシュロン種の母馬は、子宮や産道の局所的な汚染や炎症に対する感受性が高いこと、あるいは体型的な特徴により日本輓系種に比べて子宮内に悪露が蓄積しやすいことなどが原因として推察されるが、ペルシュロン種の発症リスクが高い理由は不明であった。フリージアン種は胎盤停滞の発生が多い品種として知られており、血統維持のための近親交配が原因であると結論づけている報告 (91) もある。本研究中でもペルシュロン種は血統維持のために近親交配が行われていた可能性は否定できず、遺伝学的影響についても精査していく必要がある。

馬の分娩は、通常第一期破水から 20～30 分以内に胎子娩出が完了する (29)。30 分を超えると胎子胎盤が子宮内膜から剥離し始めるため、胎子救命のためには人的介助が必要となる (80)。胎子を牽引介助する場合は、衛生的な産科器具を用いる必要があるが、野外のパドックや馬房内で操作しなければならず、敷き藁や尻尾、糞尿による汚染が少なからずあり、衛生的な操作には限界がある。したがって、胎子の失位

整復や強度の牽引助産を必要とする場合は、産道の汚染や損傷のリスクが増す。本研究の結果は難産が SAM の増悪因子であるという報告 (8, 80) を支持する結果となった。難産の原因は、産道の狭小や胎子過大、胎子の失位など多岐にわたるが (80), 分娩が開始する前に難産の可能性を予測することは困難である。難産であった母馬は、その後、PF を継発する可能性が高いことを念頭に置き、高リスク馬として特別な管理をする必要があると考えられた。

一般的に、胎盤停滞は SAM のリスク因子となることが知られている (60, 80, 100, 101) が、本研究では、胎盤停滞は有意なリスク因子として選択されなかった。胎盤停滞は一般的に、胎子娩出後 3 時間以内に胎盤が排出されない場合と定義されている (28, 60, 90, 100)。胎盤停滞の発生率は、軽種馬では 2~10%程度であるのに対し (106), 重種馬では発生率が高く、50%以上に達する場合もある (85)。分娩後早期のオキシトシン投与は、子宮の収縮を促進することにより胎盤排出時間を短縮させる (84)。本研究では、分娩後 1 時間で胎盤が排出されなかった 35.4% ($n = 56/158$,) の馬にオキシトシンが投与され、3 時間以上の胎盤停滞となった馬は全体の 8.9% ($n = 14/158$) であった。以上のことから、分娩後早期のオキシトシン投与は胎盤停滞の予防のみならず PF の予防にも寄与している可能性が示唆された。

3-5. 小括

本研究の結果から、立会人不在の分娩、牽引介助や失位整復を必要とした場合、および母馬がペルシュロン種であった場合は、PF の発症リスクが高いことを念頭に置き、血液検査の適用を考慮する必要があると考えられた。また、血液検査が実施できない状況であれば、検温回数を増やす等の特別な管理が必要であると考えられた。

附) 図表

表 3-1 分娩立会人の監視下で分娩した症例における産褥熱のリスク因子の解析（ステップワイズ変数選択法）

	<i>F</i> 値	<i>P</i> 値	標準偏回帰係数
母馬の品種	4.42	<0.05	0.17
分娩難易度	4.28	<0.05	0.17
分娩した月	3.26	0.07	
母馬の年齢	1.89	0.17	
胎盤停滞	1.64	0.20	
産駒の性別	0.91	0.34	
母馬の産歴	0.80	0.37	

表 3-2 産褥熱の発症率を高めるリスク因子の解析（フィッシャーの直接確率検定および χ^2 検定）

	発症率 (<i>n</i>)	<i>P</i> 値	オッズ比
分娩立会人の有無			
立会人あり	15.2% (24/158)		1.0
立会人なし	26.1% (6/23)	<0.05	2.0
母馬の品種			
日本輓系種	11.2% (14/125)		1.0
ペルシュロン種	30.3% (10/33)	<0.05	3.4
分娩難易度			
正常産	12.8% (18/141)		1.0
難産	35.3% (6/17)	<0.05	3.3

第4章 重挽馬の妊娠期間を決める要因の検索

4-1. 序論

前章において、分娩後の重挽馬における PF のリスク因子として、母馬の品種、分娩難易度および分娩立会人の有無が選択された。母馬の品種と分娩難易度は、リスク因子として除外することが困難であるのに対し、立会人不在の分娩を減らすことは、PF の予防に大いに貢献すると考えられる。馬の分娩の約 9 割は夜間に起こるため (15)、分娩を見逃さないためには夜間の監視を行う必要がある。いつ分娩するか予測ができなければ、分娩監視は長期にわたり、生産者にとって肉体的、精神的に多大な負担となる。

馬の妊娠期間は他の家畜に比べて個体差が大きい。様々な品種において報告されているが、おおよそ 300～380 日のばらつきがある (9, 14, 16, 20, 32, 35, 66, 79, 83, 90, 105, 108, 116)。

分娩が近づくと、仙坐靱帯の弛緩や外陰部の弛緩、乳房腫脹、乳頭先端に乳分泌液の凝固塊が付着するなどの身体的徴候が現れる (54) が、これらは長期間持続して観察されたり、徴候が見られない馬も存在したりするため、身体的徴候の観察だけでは分娩日の正確な予測は困難である。

分娩前の軽種馬において、乳汁中の Ca や Na 濃度、水素イオン指数 (pH) が変化することが知られている (56, 63, 74, 77)。これらの成分が分娩直前に変化することを利用した分娩予測法は精度も高く、生産現場で普及しつつある。しかし、これらの検査は分娩直前に毎日行わなければならない、いつから乳汁成分をモニタリングすれば良いかという問題や乳汁採取時の安全性などの課題がある。

分娩が始まったことを知らせる分娩監視装置が海外では市販されている。定期的な陣痛が起これば、馬が短時間の横臥を繰り返す習性を利用した馬の姿勢モニタリング装置 (115) は、非侵襲的で比較的安全であるが、誤作動が多いことが短所として挙げられる。妊娠末期の雌馬は夜間寝起きを繰り返すため、そのたびにシステムが作動してしまう。また、一定時間以上横臥位が続いた場合は通常の睡眠行動と判断され装置が作動しないという特徴もあり、分娩を見逃す可能性もある。その他に、分娩第

2 期に胎膜や胎子が外陰部の外に出現することにより、外陰部に設置された装置が外れ、アラームで知らせてくれるシステムも実用化されている (115)。分娩モニタリングの手法としては最も確実性が高いが、麻酔下で外陰部を縫合しなければならないため、獣医師に依頼する必要があること、また子宮捻転や胎位異常などにより、分娩が始まっているにも関わらず外陰部の外に胎膜や胎子が出現しない症例では分娩開始を感知できないことが短所として挙げられる。

以上より、様々な分娩予知法や分娩監視装置が開発されているが、いずれも単独の使用では、正確に分娩を予知することは出来ないのが現状である。また、いつから乳汁検査や分娩監視装置を設置するかが重要な問題となる。おおよそその妊娠期間を予測することができれば、上記の分娩予知技術と併用することにより、分娩日予測の精度はさらに高まり、分娩の見逃しを減らすことができると考えられる。

多くの研究が、内因的および外因的な要因によって妊娠期間が決まると報告している。内因的な要因には、品種 (9, 79, 105), 種牡馬 (66, 86, 90), 産駒の性別 (9, 14, 16, 58, 66, 79, 89, 90, 105), 年齢 (14, 89, 105), 産歴 (83, 89, 105) が含まれる。外因的な要因には、妊娠あるいは出産した月 (14, 16, 43, 66, 79, 89, 90, 105), 天候 (89), 母馬の栄養状態 (38, 43), 妊娠した年 (14, 79, 105) が含まれる。しかし、未だ妊娠期間を決める要因について確証的な報告はない。さらに、重挽馬の妊娠期間に関する情報はほとんど無い。本研究では、重挽馬の妊娠期間の基準値を設けるとともに、複数の外的および内的因子の中から妊娠期間に及ぼす影響の大きい因子を検索することを目的とした。

4-2. 材料と方法

4-2-1. 供試動物

2006 年から 2013 年に北海道十勝地方の 3 牧場において出産した重挽馬 75 頭 (日本挽系種 62 頭, ペルシュロン種 13 頭), のべ 260 分娩を調査の対象とした。双胎妊娠例や死産例は本試験より除外した。供試馬の分娩時の年齢は 3~19 歳で、平均 8.6 歳 (標準偏差: 3.8) であった。

4-2-2. 目的変数と説明変数

妊娠期間の定義は、最終交配日から分娩日までの日数とした。目的変数を妊娠期間とし、説明変数は、牧場、母馬の年齢および産歴、母馬の品種、分娩した月、産駒の性別、前産時の妊娠期間、気象条件とした。解析に必要な気象データは、3 牧場に最も近い観測地点である帯広市のデータを日本気象庁のデータベース (<http://www.jma.go.jp/>) から得た。気象データは最高気温、最低気温、平均気圧、日照時間の分娩前 10 日間の平均値を解析に用いた。

4-2-3. 統計学的解析

複数因子の中から妊娠期間に影響を及ぼす有意な因子を選択する目的でステップワイズ変数選択法を用いた。 F 値 4 以上および有意水準 5%未満の因子を妊娠期間に影響を与える有意な因子とみなした。妊娠期間へ与える影響力の大きさは標準偏回帰係数で比較した。相関関係の検定にはピアソンの積率相関係数を用いた。2 群間の平均値の比較にはスチューデントの t 検定を用いた。分娩日の予測精度の検定には χ^2 検定を用いた。すべての統計学的解析は、Statcel3 および Mulcel（オーエムエス出版、埼玉）を用い、有意水準 5%未満を有意な差、10%未満を有意な傾向とみなした。

4-3. 結果

260 頭の重挽馬の平均妊娠期間は 335.8 日（標準偏差：8.2 日）であり、最小値は 312 日、最大値は 353 日であった。妊娠期間別の頭数分布を図 4-1 に示した。ステップワイズ変数選択法の結果、前産時の妊娠期間と産駒の性別が妊娠期間に影響を与える有意な因子として選択された（表 4-1）。目的変数への影響の強さを示す標準偏回帰係数は前産時の妊娠期間の方が産駒の性別よりも大きかった（前産時の妊娠期間 vs. 産駒の性別：0.42 vs. 0.16）。妊娠期間と前産時妊娠期間の相関関係において、有意な正の相関関係が認められた（ $R = 0.48$, $P < 0.01$ ）（図 4-2）。産駒の性別が雄だった場合（ $n = 132$ ）、雌だった場合（ $n = 128$ ）に比べて有意に平均妊娠期間は長かった（雄 vs. 雌：337.5 日 vs. 333.9 日, $P < 0.01$ ）。また、平均妊娠期間を用いた分娩予

定日に比べて、前産時の妊娠期間を分娩予定日とした場合の方が、予定日±5日以内に分娩する確率は有意に高く ($P<0.05$)、予定日±7日以内に分娩する確率は高い傾向 ($P<0.1$) が認められた (表 4-2)。

4-4. 考察

本研究で得られた重挽馬の妊娠期間は、 335.8 ± 8.2 日 (平均値±標準偏差) であった。重挽馬の妊娠期間に関する報告は少ないが、オランダの重種馬 (Dutch draft horses) の妊娠期間は 343.2 ± 10.1 日 (平均値±標準偏差, $n=2002$) であった (9)。血統や飼養管理, 地理的および気候的要因, 妊娠期間の定義などが影響を及ぼしていると考えられるが, 過去の報告との相違に関する明確な原因は不明であった。馬の精子は雌馬の子宮および卵管内で最大 7 日間生存し受精能力を有していることが知られている (71, 111)。通常, 排卵前 3 日以内に交配した場合の受胎率は比較的高いが, 排卵前 4~6 日に交配した場合でも受胎することが報告されている (118)。また, 超音波画像診断装置を用いて排卵日を確認し, 排卵日を起点とした場合, より正確な妊娠期間を把握できるという報告もある (16)。本研究では, 排卵確認を全供試馬で行っていないため, 最終交配日と実際に排卵した日に誤差が生じている可能性もあり, より正確な妊娠期間を定義するためには, 排卵日を特定する必要があると考えられた。

本研究で調べた複数因子において, 妊娠期間を決める最も強い因子は, 前産時の妊娠期間であった。母馬自身の個体差が生じる原因については今後精査する必要があると考えられた。過去の妊娠期間を確認することにより, 次回の妊娠期間をある程度予測できると考えられた。

サラブレッド種 (16), アラブ種 (14, 105), スタンダードブレッド種 (66) およびフリージアン種 (90) などの品種において, 胎子の性別と妊娠期間との関係が報告されている。本研究で得られた結果は, 雄胎子の妊娠期間の方が雌胎子よりも数日長い, という一般的な見解と同じであった。分娩の内分泌制御に対して, 雄胎子と雌胎子は内分泌的相互作用に違いがあると考えられているが (49), 詳細なメカニズムについては未だ不明である。馬の場合, 超音波診断装置を用いて 55~150 日齢の胎

子の雌雄判別を行うことができる（42）。妊娠初期に雌雄判別を行うことにより、分娩日の予測精度はさらに向上する可能性が示唆された。

他の研究で有意な影響因子として報告されている要因でも、本研究では有意な説明因子として選択されなかった。馬の品種や気象条件、飼養管理、統計学的解析方法の違いなどが関与しているかもしれないが、前産時妊娠期間や産駒の性別に比べて、妊娠期間に及ぼす影響力は小さいことが明らかとなった。

平均値を用いた分娩予定日より、前産時妊娠期間を参考にした分娩予定日の方が予測精度は上がるが、前産時妊娠期間を利用した分娩日予測は精度に限界がある。したがって、乳汁検査や分娩監視装置などを併用することにより、予測精度はさらに向上すると考えられる。特に、妊娠期間が短い傾向を示す母馬は、次産時も早く産む可能性が高いため、前産時妊娠期間を参考にすることにより分娩の見逃し予防につながると考えられる。残念ながら初産馬については、過去の履歴がないこと、また分娩前の泌乳量が極めて少なく、検査に必要な乳汁を採取できない症例が多いことから、経産馬とは異なる分娩日予測法が求められるが、現時点では有用な手法はないため、分娩監視装置を早めに設置するなど、注意深い管理が求められる。

4-5. 小括

重挽馬の平均妊娠期間は 335.8 日（312～353 日）であった。本研究で調べた複数因子の中で、妊娠期間に及ぼす有意な因子は前産時妊娠期間と産駒の性別であった。前産時妊娠期間の確認や胎子の雌雄判別を実施することにより、さらに正確な分娩日予測が可能であると考えられた。

附) 図表

表 4-1. 重挽馬の妊娠期間に影響を与える要因の解析 (ステップワイズ変数選択法)

	<i>F</i> 値	<i>P</i> 値	標準偏回帰係数
前産時の妊娠期間	50.93	<0.01	0.42
産駒の性別	8.41	<0.01	0.16
分娩した月	2.37	0.12	
最高気温	1.80	0.18	
母馬の年齢	1.38	0.24	
母馬の品種	1.33	0.25	
母馬の産歴 (初産 vs. 経産)	1.05	0.31	
母馬の産歴	0.65	0.42	
日照時間	0.64	0.42	
最低気温	0.28	0.60	
牧場	0.07	0.80	
平均気圧	0.02	0.89	

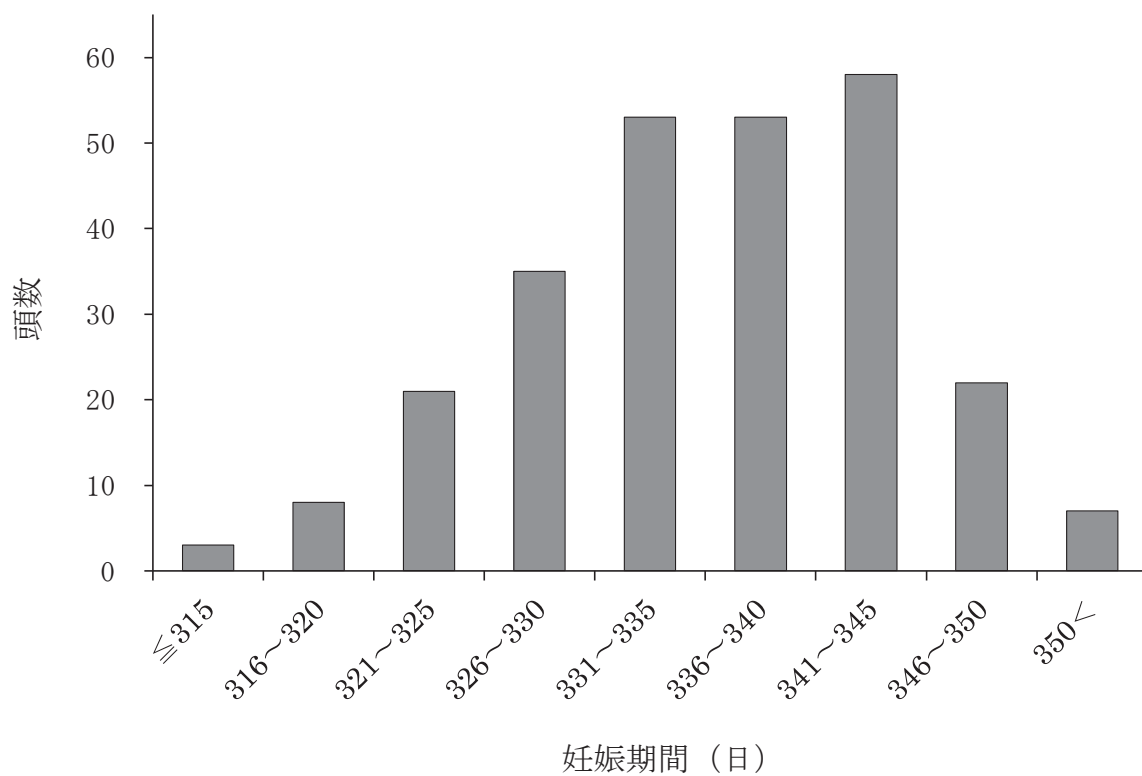


図 4-1. 75 頭の重挽馬（のべ 260 分娩）における妊娠期間別の頭数分布

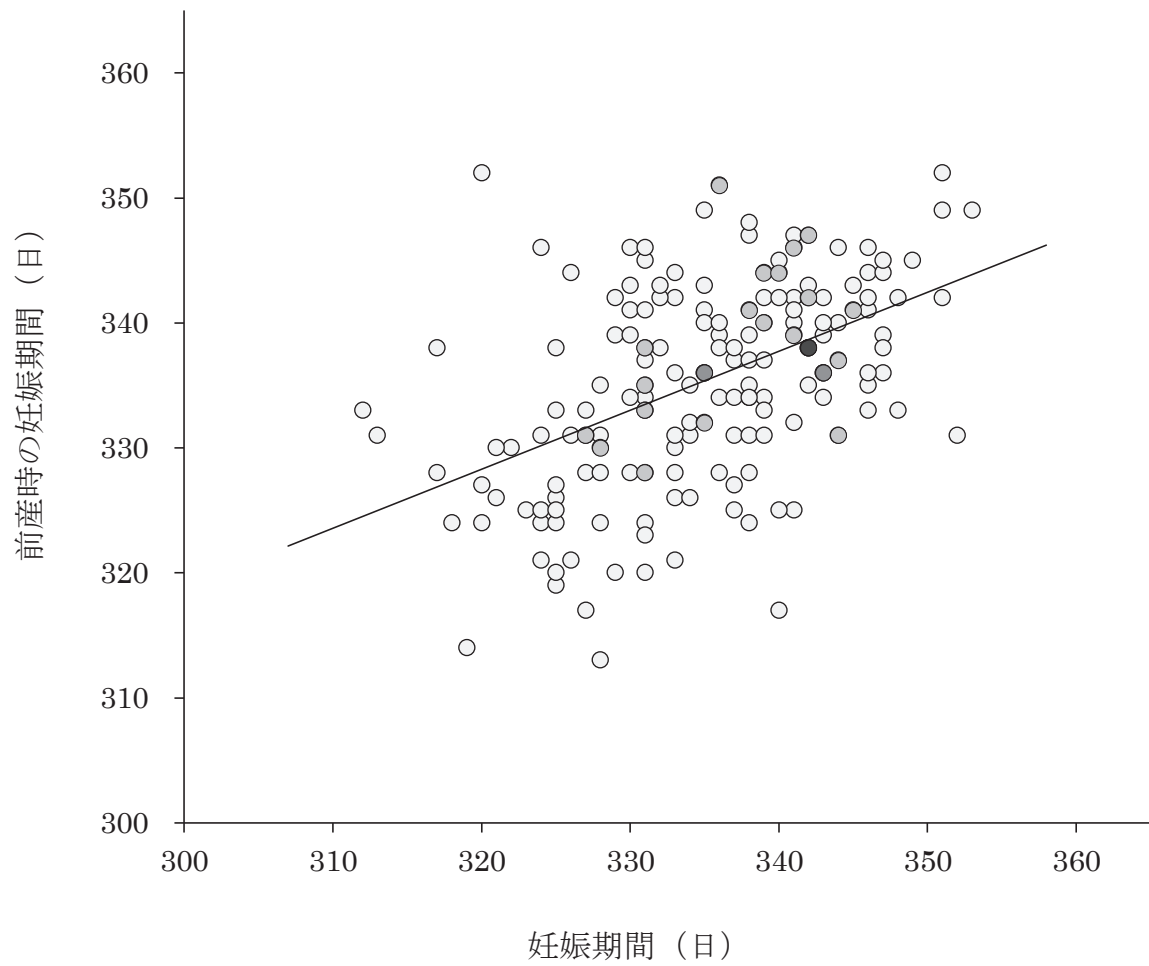


図 4-2. 重挽馬における妊娠期間と前産時妊娠期間の相関関係 ($n = 186$, ピアソンの積率相関係数, $R = 0.48$, $P < 0.01$)

表 4-2. 前産時の妊娠期間を利用した分娩日の予測精度

分娩予定日の設定	予定日範囲内に分娩した確率 % (頭数)		
	±3 日以内	±5 日以内	±7 日以内
平均妊娠期間 (336 日)	29.6 (77/260)	45.8 (119/260) _A	59.6 (155/260) _a
前産時の妊娠期間	34.4 (64/186)	55.4 (103/186) _B	68.3 (127/186) _b

異なる文字間で有意な差あるいは有意な傾向あり。 $A, B : P < 0.05$, $a, b : P < 0.1$
 $(\chi^2$ 検定)

総括

馬の産褥性子宮炎の継発症は、子宮修復の遅れ、SAM や蹄葉炎など様々であり、生産性に大きな損害をもたらす。SAM や蹄葉炎は重挽馬では一般的にみられるのに対して、軽種馬ではあまり起こらないという特徴がある。PF は産褥期の発熱性疾患の総称であるが、その多くが SAM の症状の一部として認められる。馬の PF に関する研究報告はほとんどなく、慣例的な治療のみが行われているのが現状である。そこで本研究では、重挽馬において、PF の臨床病理学的な特徴や発症リスク因子を解明することにより、早期診断法および予防法を確立することを目的とした。

1. 周産期の重挽馬における血液学および血清生化学的性状の解明

周産期の雌馬において、臨床病理学的診断に必要な血液学および血清生化学的性状については断片的な情報しか報告されておらず、経時的かつ包括的に調べた報告はない。そこで、臨床的に健康な周産期の重挽馬において、血液性状の経時的な変化を調べ、臨床的事象との関連性を考察した。血液検査結果から示唆された主な所見は以下のとおりである：1) 分娩に伴う身体的ストレス（WBC，好中球数およびリンパ球に対する好中球の比の増加とリンパ球数の減少），2) 泌乳開始に伴う代謝的变化

（T-Chol および TG 濃度の分娩後の低下），3) 分娩時の発汗と血液濃縮（K 濃度の低下と TP，Alb，Glb，Na および Cl 濃度の上昇），4) 乳腺の急速な発達や胎盤機能の変化など妊娠末期の生理学的変化（分娩前における血清中の各種逸脱酵素の上昇），5) 胎子娩出に伴う母体の損傷（分娩後の血清 CK 活性の上昇）。周産期の雌馬の血液性状は大きく変化することが明らかとなったことから、血液検査を臨床病理学的診断に応用する際には、分娩からの経過時間を考慮して基準値を設ける必要があると考えられた。

2. 重挽馬における PF の臨床病理学的特徴と早期診断法の確立

重挽馬において、PF の臨床病理学的特徴を明らかにするとともに早期診断法の確立を目的として、臨床的に健康な馬と PF 発症馬において、周産期の血液性状を比較

した。PF 発症馬の血液性状から、エンドトキシン血症（WBC の減少と Mg 濃度の低値）、強い炎症反応（SAA 濃度の高値）、負のエネルギーバランスに伴う脂肪動員（NEFA 濃度の高値）が起こっていることが示唆された。臨床的に健康な母馬の検査値から、平均値±標準偏差および平均値±2×標準偏差を基準値として設定し、PF 発症馬の検査値が基準値から逸脱した割合を求め、各検査項目の臨床応用への有用性について検証した。PF 発症馬において、基準値からの逸脱率が 50%を超えた項目は、分娩後 1 日における WBC と好中球数、リンパ球数であった。これらの項目において、感度と特異度の平均値が最も高かったのは、WBC の平均値±標準偏差の下限值以下を検査陽性とした場合であり、陽性的中率は 76.2%、陰性的中率は 100%であった。以上より、分娩後 1 日における WBC の測定は、PF の除外診断に有用であると考えられた。また、分娩後 1 日の時点で 68.8%の馬は発熱などの臨床症状を発現していなかったことから、WBC の測定は、PF の発症前診断に応用できることが示唆された。

3. 重軌馬における PF のリスク因子に関する疫学的研究

前章で明らかにされた PF 早期診断のための血液検査を、分娩したすべての馬に適用することは、労力および費用の面で現実的ではない。PF の発症率を高めるリスク因子を明らかにすることができれば、高リスク母馬だけでも血液検査を適用することにより、効率的な早期診断が実現できると考えられる。そこで、PF 発症のリスク因子を明らかにするために、母馬の背景情報や分娩状況を調べ、統計学的解析を行った。重軌馬における PF の発症リスク因子として、分娩立会人が不在の状況で分娩した場合、母馬がペルシュロン種であった場合および難産であった場合が選択された。これらの条件で馬が分娩した場合は、PF に罹患するリスクが高いことを念頭に置き、産後の注意深いモニタリングや血液検査の適用を考慮する必要があると考えられた。

4. 重軌馬の妊娠期間を決める要因の検索

馬の分娩予測が困難な原因として、妊娠期間の個体差が大きいことが挙げられる。様々な外的および内的要因が妊娠期間の決定因子として報告されているが、複数要因を調べた疫学的研究は少なく、また重軌馬に関する報告はほとんどない。そこで、母

馬の背景情報や分娩状況を調べ、重回帰分析を用いて妊娠期間を決める要因の検索を行った。前産時の妊娠期間と産駒の性別が妊娠期間に影響を与える有意な因子と判定された。妊娠期間と前産時妊娠期間の相関関係において、有意な正の相関関係が認められた。産駒の性別が雄であった場合、雌であった場合に比べて有意に平均妊娠期間は長かった。本研究の結果から、妊娠早期に胎子の雌雄判別を行い、過去の妊娠期間の記録を確認することにより、より精度の高い分娩予測への応用が期待できると考えられた。

以上より、重挽馬における PF の臨床病理学的特徴と発症のリスク因子が明らかとなり、早期診断および予防法の確立につながる知見が得られた。文化的価値の高い日本の重挽馬を持続的に生産していくためには、馬や人にとって、より安全な畜産技術の開発・普及が必要となる。本研究が、その一端を担うことができれば幸いである。

謝辞

本稿を終えるに臨み、終始御懇篤なる御指導を賜りました帯広畜産大学教授 猪熊壽博士に心から拝謝します。本論文作成にあたり有益な御助言と御校閲を頂きました帯広畜産大学教授 南保泰雄博士, 岩手大学教授 佐藤繁博士, 東京農工大学准教授 田中知己博士, 岐阜大学教授 大場恵典博士に深甚なる謝意を表します。本研究を遂行するにあたり終始御懇切なる教授を賜り、御校閲頂きました元帯広畜産大学准教授 石井三都夫博士に深甚なる謝意を表します。

研究の場を快く御提供して下さいました佐々木啓文氏, 加来一氏, 西村正順氏, 西村義治氏, 上見信一氏に心より感謝申し上げます。

文献

- 1) Anderson, M. G. (1975). The effect of exercise on blood metabolite levels in the horse. *Equine Vet. J.* 7, 27~33.
- 2) Aoki, T., Honda, H. and Ishii, M. (2013). Immunologic Profiles of Peripheral Blood Leukocytes and Serum Immunoglobulin G Concentrations in Perinatal Mares and Neonatal Foals (Heavy Draft Horse). *J. Equine Vet. Sci.* 33, 989~995.
- 3) Aoki, T., Inoue, Y., Murase, H., Asai, Y., Nambo, Y. and Ishii, M. (2013). Relationship Between Fertility at Foal Heat and Blood Biochemistry Parameters Monitored During the Peripartum Period in Thoroughbred Mares. *J. Equine Vet. Sci.* 33, 1064~1067.
- 4) Berg, E. L., McNamara, D. L. and Keisler, D. H. (2007). Endocrine profiles of periparturient mares and their foals. *J. Anim. Sci.* 85, 1660~1668.
- 5) Bergero, D. and Nery, J. (2008). Hepatic diseases in horses. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr (Berl)*. 92, 345~355.
- 6) Blanchard, T. L. (2011). Postpartum metritis. *In*: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E. and Varner, D. D. [eds] *Equine reproduction*, 2nd ed., pp. 2530~2533. Wiley-Blackwell, Chichester.
- 7) Blanchard, T. L., Elmore, R. G., Kinden, D. A., Berg, J. N., Mollett, T. A. and Garcia, M. C. (1985). Effect of intrauterine infusion of *Escherichia coli* endotoxin in postpartum pony mares. *Am. J. Vet. Res.* 46, 2157~2162.
- 8) Blanchard, T. L., Orsini, J. A., Garcia, M. C., Elmore, R. G., Youngquist, R. S. and Bierschwal, C. J. (1986). Influence of dystocia on white blood cell and blood neutrophil counts in mares. *Theriogenology* 25, 347~352.
- 9) Bos, H. and Van der Mey, J. W. (1980). Length of gestation period of horses and ponies belonging to different breeds. *Livest. Prod. Sci.* 7, 181~187.
- 10) Braun, J. P. and Lefebvre, H. P. (1989). Kidney function and damage. *In*: Kaneko, J. J., Harvey, J. W. and Bruss, M. L. [eds] *Clinical Biochemistry of*

- Domestic Animals, 4th ed., pp. 485~528. Academic press, Inc., San Diego.
- 11) Bruss, M. L. (1989). Lipids and Ketones. *In*: Kaneko, J. J., Harvey, J. W. and Bruss, M. L. [eds] Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 4th ed., pp. 81 ~ 115. Academic press, Inc., San Diego.
 - 12) Casella, S., Fazio, F., Giannetto, C., Giudice, E. and Piccione, G. (2012). Influence of transportation on serum concentrations of acute phase proteins in horse. *Res. Vet. Sci.* 93, 914~917.
 - 13) Christoffersen, M., Baagoe, C. D., Jacobsen, S., Bojesen, A. M., Petersen, M. R. and Lehn-Jensen, H. (2010). Evaluation of the systemic acute phase response and endometrial gene expression of serum amyloid A and pro- and anti-inflammatory cytokines in mares with experimentally induced endometritis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 138, 95~105.
 - 14) Cilek, S. (2009). The Survey of Reproductive Success in Arabian Horse Breeding from 1976-2007 at Anadolu State Farm in Turkey. *J. Anim. Vet. Adv.* 8, 389~396.
 - 15) Davies, Morel, M. C. G. (1993). Endocrine control of parturition. *In*: Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management, pp. 114 ~ 121. Farming Press Books, Ipswich.
 - 16) Davies, Morel, M. C. G, Newcombe, J. R. and Holland S. J. (2002). Factors affecting gestation length in the Thoroughbred mare. *Anim. Reprod. Sci.* 74, 175~185.
 - 17) Doreau, M., Boulot, S., Bauchart, D., Barlet, J.P. and Martin-Rosset, W. (1992). Voluntary intake, milk production and plasma metabolites in nursing mares fed two different diets. *J. Nutr.* 122, 992-999.
 - 18) Dunnett, C. E., Marlin, D. J. and Harris, R. C. (2002). Effect of dietary lipid on response to exercise: relationship to metabolic adaptation. *Equine Vet. J. Suppl.* 34, 75~80.
 - 19) Eckersall, P. D. (1989). Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. *In*:

- Kaneko, J. J., Harvey, J. W. and Bruss, M. L. [eds] *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 4th ed., pp. 117~155. Academic press, Inc., San Diego.
- 20) El-Wishy, A. B., El-Sayed, M. A. I., Seida, A. A., Ghoneim, I. M. and Serur, B. H. (1990). Some aspects of reproductive performance in Arabian mares in Egypt. *Reprod. Domest. Anim.* 25, 227-234.
 - 21) Evans, E. W. (2011). Proteins, lipids, and carbohydrates. *In*: Latimer K. S. [eds] *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory medicine: Clinical Pathology*, 5th ed., pp. 173~209. Wiley-Blackwell, Chichester.
 - 22) Faro, S. (2005). Postpartum endometritis. *Clin. Perinatol.* 32, 803-814.
 - 23) Ferguson, D. C. and Hoenig, M. (2011). Endocrine system. *In*: Latimer K. S. [eds] *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory medicine: Clinical Pathology*, 5th ed., pp. 295~329. Wiley-Blackwell, Chichester.
 - 24) Forsyth, I. A., Rossdale, P. D. and Thomas, C. R. (1975). Studies on mild composition and lactogenic hormones in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 23, 631-635.
 - 25) Fowden, A. L., Forhead, A. J. and Ousey J. C. (2008). The Endocrinology of equine parturition. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 116, 393-403.
 - 26) Frank, N., Sojka, J. E. and Latour, M. A. (2002). Effect of withholding feed on concentration and composition of plasma very low density lipoprotein and serum nonesterified fatty acids in horses. *Am. J. Vet. Res.* 63, 1018-1021.
 - 27) Frazer, G. (2011). Dystocia management. *In*: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E. and Varner, D. D. [eds] *Equine reproduction*, 2nd ed., pp. 2479~2496. Wiley-Blackwell, Chichester.
 - 28) Frazer, G. S. (2003). Postpartum complications in the mare. Part 2: Fetal membrane retention and conditions of the gastrointestinal tract, bladder and vagina. *Equine Vet. Educ.* 15, 91~110.
 - 29) Frazer, G. S., Perkins, N. R. and Embertson, R. M. (1999). Normal parturition and evaluation of the mare in dystocia. *Equine Vet. Educ.* 11, 41~

46.

- 30) Fredrickson, D. S. and Gordon, R. S. Jr. (1958). The metabolism of albumin-bound C14-labeled unesterified fatty acids in normal human subjects. *J. Clin. Invest.* 37, 1504~1515.
- 31) George, J. W. and Zabolotzky, S. M. (2011). Water, electrolytes, and acid base. *In: Latimer K. S. [eds] Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory medicine: Clinical Pathology*, 5th ed., pp. 145~171. Wiley-Blackwell, Chichester.
- 32) Giger, R., Meier, H. P. and Küpfer, U. (1997). Length of gestation of Freiburger mares with mule and horse foals. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 139, 303-307.
- 33) Hall, R. L. and Bender, H. S. (2011). Muscle. *In: Latimer K. S. [eds] Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory medicine: Clinical Pathology*, 5th ed., pp. 283~294. Wiley-Blackwell, Chichester.
- 34) Harvey, J. W., Pate, M. G., Kivipelto, J. and Asquith, R. L. (2005). Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. *Vet. Clin. Pathol.* 34, 248-254.
- 35) Heidler, B., Auricha, J. E., Pohl, W. and Aurich, C. (2004). Body weight of mares and foals, estrous cycles and plasma glucose concentration in lactating and non-lactating Lipizzaner mares. *Theriogenology* 61, 883~893.
- 36) Henneke, D. R., Potter, G. D. and Kreider, J. L. (1984). Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency of mares. *Theriogenology* 21, 897-909.
- 37) Henneke, D. R., Potter, G. D., Kreider, J. L. and Yeates, B. F. (1983). Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Vet. J.* 15, 371~372.
- 38) Hines, K. K., Hodge, S. L., Kreider, J. L., Potter, G. D. and Harms, P. G. (1987). Relationship between body condition and levels of serum luteinizing hormone in postpartum mares. *Theriogenology* 28, 815~825.
- 39) Hines, M.T. (2010). Changes in body temperature. *In: Reed, S. M., Bayly, W.*

- M. and Sellon, D. C. [eds] Equine Internal Medicine, 3rd ed., pp. 91~96. Saunders, St. Louis.
- 40) Hoffmann WE, Solter PF (1989) Diagnostic enzymology of domestic animals. *In*: Kaneko, J. J., Harvey, J. W. and Bruss, M. L. [eds] Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 4th ed., pp. 351~378. Academic press, Inc., San Diego.
- 41) 北海道馬産史編集委員会 (1983). 蹄跡 つめあと. デーリィマン社, 札幌.
- 42) Holder, RD. (2011) Equine fetal sex determination between 55 and 150 days. *In*: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E. and Varner, D. D. [eds] Equine reproduction, 2nd ed., pp. 2080~2093. Wiley-Blackwell, Chichester.
- 43) Howell, C. E. and Rollins, W. C. (1951). Environmental Sources of Variation in the Gestation Length of the Horse. J. Anim. Sci. 10, 789-796.
- 44) Hudson, S., Mullford, M., Whittlestone, W. G. and Payne, E. (1976). Bovine plasma corticoids during parturition. J. Dairy Sci. 59, 744~746.
- 45) Hultén, C., Grönlund, U., Hirvonen, J., Tulamo, R. M., Suominen, M. M., Marhaug, G. and Forsberg, M. (2002). Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and alpha2-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse. Equine Vet. J. 34, 699-704.
- 46) Hurtgen, J.P. (2006). Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. Theriogenology 66, 560-566.
- 47) Ishii, M., Aoki, T., Yamakawa, K., Magata, F., Gojo, C., Ito, K., Kayano, M. and Nambo, Y. (2013). Relationship between the placental retention time and the reproductive performance at the foal heat in Thoroughbred and a comparison with Heavy Draft. J. Equine Sci. 24, 25-29.
- 48) 岩崎徹 (2012 年). 戦後における北海道馬産の歴史 (上). 経済と経営 43, 83~108.
- 49) Jainudeen, M. R. and Hafez, E. S. E. (2000). Gestation, prenatal physiology and parturition. *In*: Hafez, E. S. E. and Hafez, B. [eds] Reproduction in Farm Animals, 7th ed., pp. 140~155. Lippincott, Williams and Wilkins, Baltimore.

- 50) Jennings, W. E. (1941). Some common problems in horse breeding. *Cornell Vet.* 31, 197～215.
- 51) Jensen, L. E. and Whitehead, A. S. (1998). Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochem. J.* 334, 489～503.
- 52) Kanra, G. Y., Ozen, H. and Kara, A. (2006). Infection and anorexia. *Turk. J. Pediatr.* 48, 279～287.
- 53) Katila, T. (2012). Post-mating inflammatory responses of the uterus. *Reprod. Domest. Anim.* 47 Suppl, 31～41.
- 54) Knottenbelt, D. C., Holdstock, N. and Madigan, J. E. (2004). Risk category of the foal. *In: Equine Neonatal Medicine and Surgery.* pp. 29～64. Saunders, Philadelphia.
- 55) 古林英一 (2008). 北海道の馬と競馬の歴史. 北海道の馬文化と馬の知識. pp. 8～18. 特定非営利活動法人・とかち馬文化を支える会, 帯広.
- 56) Korosue, K., Murase, H., Sato, F., Ishimaru, M., Kotoyori, Y., Tsujimura, K. and Nambo, Y. (2013). Comparison of pH and refractometry index with calcium concentrations in preparturient mammary gland secretions of mares. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 242, 242～248.
- 57) 公益社団法人・日本馬事協会 (2013). 馬関係資料. pp. 41～52. 農林水産省, 東京.
- 58) Kubiak, J. R., Evans, J. W., Potter, J. D., Harms, P. G. and Jenkins, W. L. (1988). Parturition in the multiparous mare fed to obesity. *J. Equine Vet. Sci.* 8, 135～140.
- 59) Langhans, W. (2000). Anorexia of infection: current prospects. *Nutrition.* 16, 996～1005.
- 60) LeBlanc, M. M. (2008). Common peripartum problems in the mare. *J. Equine Vet. Sci.* 28, 709～715.
- 61) LeBlanc, S. J., Osawa, T. and Dubuc, J. (2011). Reproductive tract defense

- and disease in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 76, 1610~1618.
- 62) Lovell, J. D., Stabenfeldt, G. H., Hughes, J. P. and Evans, J. W. (1975).
Endocrine patterns of the mare at term. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 23, 449~456.
 - 63) Ley, W. B., Bowen, J. M., Purswell, B. J., Irby, M., Greive-Crandell, K. (1993).
The sensitivity, specificity and predictive value of measuring calcium carbonate
in mares' prepartum mammary secretions. *Theriogenology* 40, 189~198.
 - 64) Lewis, H. B. and Rhodes, D. C. (1978). Effects of I.M. injections on serum
creatine phosphokinase (CPK) values in dogs. *Vet. Clin. Pathol.* 7, 11~13.
 - 65) Maas, J. and Stratton-Phelps, M. (2009). Alterations in body weight or size.
In: Smith, B. P. [eds] Large Animal Internal Medicine, 4th ed., pp. 147~169,
Mosby, St. Louis.
 - 66) Marteniuk, J. V., Carleton, C. L., Lloyd, J. W. and Shea, M. E. (1998).
Association of sex of fetus, sire, month of conception, or year of foaling with
duration of gestation in standardbred mares. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212, 1743
~1745.
 - 67) Martin, K. L., Hoffman, R. M., Kronfeld, D. S., Ley, W. B., Warnick, L. D.
(1996). Calcium decreases and parathyroid hormone increases in serum of
periparturient mares. *J. Anim. Sci.* 74, 834~839.
 - 68) McKenzie, H.C. 3rd. (2011) Equine hyperlipidemias. *Vet. Clin. North Am.*
Equine Pract. 27, 59-72.
 - 69) Nathanielsz, P. W., Rossdale, P. D., Silver, M., Comline, R. S. (1975).
Studies on fetal, neonatal and maternal cortisol metabolism in the mare. *J.*
Reprod. Fertil. Suppl. 23, 625~630.
 - 70) National Research Council (2007). Energy. *In: Nutrient requirements of*
horses, 6th revised ed., pp. 3~33. The National Academies Press, Washington.
 - 71) Newcombe, J.R. (1994). Conception in a mare to a single mating 7 days
before ovulation. *Equine Vet. Educ.* 6, 27~28.
 - 72) Nunokawa, Y., Fujinaga, T., Taira, T., Okumura, M., Yamashita, K., Tsunoda,

- N. and Hagio, M. (1993). Evaluation of serum amyloid A protein as an acute-phase reactive protein in horses. *J. Vet. Med. Sci.* 55, 1011~1016.
- 73) Ousey, J. C. (2004). Periparturient endocrinology in the mare and foetus. *Reprod. Domest. Anim.* 39, 222~231.
- 74) Ousey, J. C., Dudan, F. and Rossdale, P. D. (1984). Preliminary studies of mammary secretions in the mare to assess foetal readiness for birth. *Equine Vet. J.* 16, 259~263.
- 75) Parkes, R. D. and Blackmore, D. J. (1977). Phosphatase activity of placental extracts and pregnant mare's plasma. *Res. Vet. Sci.* 23, 248~249.
- 76) Patel, O. V., Takahashi, T., Takenouchi, N., Hirako, M., Sasaki, N., Domekis, I. (1996). Peripheral cortisol levels throughout gestation in the cow: Effect of stage of gestation and foetal number. *Br. Vet. J.* 152, 425~432.
- 77) Peaker, M., Rossdale, P. D., Forsyth, I. A. and Falk, M. (1979). Changes in mammary development and composition of secretion during late pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 27, 555~561.
- 78) Pepys, M. B., Baltz, M. L., Tennent, G. A., Kent, J., Ousey, J. and Rossdale, P. D. (1989). Serum amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response. *Equine Vet. J.* 21, 106~109.
- 79) Pérez, C. C., Rodríguez, I., Mota, J., Dorado, J., Hidalgo, M., Felipe, M. and Sanz, J. (2003). Gestation length in Carthusian Spanishbred mares. *Livest. Prod. Sci.* 82, 181~187.
- 80) Perkins, N. R. and Frazer, G. S. (1994). Reproductive emergencies in the mare. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 10, 643~670.
- 81) Piccione, G., Assenza, A., Borruso, M., Fazio, F. and Caola, G. (2009). Daily pattern of some fatty acids in the athletic horse. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr (Berl)*. 93, 7~14.
- 82) Pollock, P. J., Prendergast, M., Schumacher, J. and Bellenger, C. R. (2005). Effects of surgery on the acute phase response in clinically normal and

- diseased horses. Vet. Rec. 156, 538~542.
- 83) Pool-Anderson, K., Raub, R. H. and Warren, J. A. (1994). Maternal influences on growth and development of full-sibling foals. J. Anim. Sci. 72, 1661~1666.
- 84) Provencher, R., Threlfall, W. R., Murdick, P. W. and Wearly, W. K. (1988). Retained fetal membranes in the mare: A retrospective study. Can. Vet. J. 29, 903~910.
- 85) Rapacz, A., Paździor, K., Raś, A., Rotkiewicz, T. and Janowski, T. E. (2012). Retained Fetal Membranes in Heavy Draft Mares Associated with Histological Abnormalities. J. Equine Vet. Sci. 32, 38~44.
- 86) Rollins, W. C. and Howell, C. E. (1951). Genetic sources of variation in the gestation length of the horse. J. Anim. Sci. 10, 797~806.
- 87) Salimei, E., Varisco, G. and Rosi, F. (2002). Major constituents, leptin, and non-protein nitrogen compounds in mares' colostrum and milk. Reprod. Nutr. Dev. 42, 65~72.
- 88) Sanada, Y., Noda, H. and Nagahata, H. (1990). Changes in lymphocyte blastogenic response of mares during the perinatal period. Nihon Juigaku Zasshi 52, 455~460.
- 89) Satué, K., Felipe, M., Mota, J. and Muñoz, A. (2011). Factors influencing gestation length in mares: A review. Livest. Sci. 136, 287~294.
- 90) Sevinga, M., Barkema, H. W., Stryhn, H. and Hesselink, J. W. (2004). Retained placenta in Friesian mares: Incidence, and potential risk factors with special emphasis on gestational length. Theriogenology 61, 851~859.
- 91) Sevinga, M., Vrijenhoek, T., Hesselinks, J. W., Barkema, H. W. and Groen, A. F. (2004). Effect of inbreeding on the incidence of retained placenta in Friesian horses. J. Anim. Sci. 82, 982~986.
- 92) Stockham, S. L. and Scott, M. A. (2008). Leukocytes. *In*: Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2nd ed., pp. 53~106. Blackwell Publishing,

- Ames.
- 93) Stockham, S. L. and Scott, M. A. (2008). Proteins. *In*: Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2nd ed., pp. 369~413. Blackwell Publishing, Ames.
- 94) Stockham, S. L. and Scott, M. A. (2008). Urinary system. *In*: Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2nd ed., pp. 415~494. Blackwell Publishing, Ames.
- 95) Stockham, S. L. and Scott, M. A. (2008). Monovalent electrolytes and osmolality. *In*: Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2nd ed., pp. 495~557. Blackwell Publishing, Ames.
- 96) Stockham, S. L. and Scott, M. A. (2008). Calcium, Phosphorus, Magnesium, and Their regulatory hormones. *In*: Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2nd ed., pp. 593~638. Blackwell Publishing, Ames.
- 97) Stockham, S. L. and Scott, M. A. (2008). Enzymes. *In*: Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2nd ed., pp. 639~674. Blackwell Publishing, Ames.
- 98) Stockham, S. L. and Scott, M. A. (2008). Glucose, ketoamines, and related regulatory hormones. *In*: Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2nd ed., pp. 707~737. Blackwell Publishing, Ames.
- 99) Stockham, S. L. and Scott, M. A. (2008). Lipids. *In*: Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2nd ed., pp. 763~782. Blackwell Publishing, Ames.
- 100) Threlfall, W. R. (2011). Retained fetal membranes. *In*: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E. and Varner, D. D. [eds] Equine reproduction, 2nd ed., pp. 2520~2529. Wiley-Blackwell, Chichester.
- 101) Tibary, A. and Fite, C. L. (2007). Reproductive Tract Infections. *In*: Sellon D. C. and Long, M. T. [eds] Equine infectious diseases, pp. 84~103. Saunders, St. Louis.

- 102) Toribio, R. E., Kohn, C. W., Hardy, J. and Rosol, T. J. (2005). Alterations in serum parathyroid hormone and electrolyte concentrations and urinary excretion of electrolytes in horses with induced endotoxemia. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 223~231.
- 103) Tripathi, N. K., Gregory, C. R. and Latimer, K. S. (2011). Urinary system. *In: Latimer K. S. [eds] Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory medicine: Clinical Pathology*, 5th ed., pp. 253~282. Wiley-Blackwell, Chichester.
- 104) Valenzuela, G. J., Munson, L. A., Tarboux, N. M. and Farley, J. R. (1987). Time-dependent changes in bone, placental, intestinal, and hepatic alkaline phosphatase activities in serum during human pregnancy. *Clin. Chem.* 33, 1801~1806.
- 105) Valera, M., Blesa, F., Dos Santos, R. and Molina, A. (2006). Genetic study of gestation length in Andalusian and Arabian mares. *Anim. Reprod. Sci.* 95, 75~96.
- 106) Vandeplasseche, M., Spincemaille, J. and Bouters, R. (1971). Aetiology, pathogenesis and treatment of retained placenta in the mare. *Equine Vet. J.* 3, 144~147.
- 107) Veronesi, M. C., Panzani, S., Govoni, N., Kindahl, H., Galeati, G., Robbe, D. and Carluccio, A. (2011). Peripartal plasma concentrations of 15-ketodihydro-PGF₂ α , cortisol, progesterone and 17- β -estradiol in Martina Franca jennies. *Theriogenology*. 75, 752~759.
- 108) Villani, M. and Romano, G. (2008). Induction of parturition with daily low-dose oxytocin injections in pregnant mares at term: clinical applications and limitations. *Reprod. Domest. Anim.* 43, 481~483.
- 109) Vivrette, S. (1994). The endocrinology of parturition in the mare. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 10, 1~17.
- 110) Yamashita, K., Fujinaga, T., Okumura, M., Takiguchi, M., Tsunoda, N. and Mizuno, S. (1991). Serum C-reactive protein (CRP) in horses: the effect of aging,

- sex, delivery and inflammations on its concentration. J. Vet. Med. Sci. 53, 1019~1024.
- 111) Watson, E. D. and Nikolakopoulos, E. (1996). Sperm longevity in the mares uterus. J. Equine Vet. Sci. 16, 390~392.
- 112) Watson, T. D., Burns, L., Packard, C. J. and Shepherd, J. (1993). Effects of pregnancy and lactation on plasma lipid and lipoprotein concentrations, lipoprotein composition and post-heparin lipase activities in Shetland pony mares. J. Reprod. Fertil. 97, 563~568.
- 113) Watson, T. D., Murphy, D. and Love, S. (1992). Equine hyperlipaemia in the United Kingdom: clinical features and blood biochemistry of 18 cases. Vet. Rec. 131, 48~51.
- 114) Webb, J. L. and Latimer, K. S. (2011). Leukocytes. *In*: Latimer K. S. [eds] Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory medicine: Clinical Pathology, 5th ed., pp. 45~82. Wiley-Blackwell, Chichester.
- 115) Wessel, M. (2005). Staging and Prediction of Parturition in the Mare. Clinical Techniques in Equine Practice. 4, 219~227.
- 116) Winter, G. H. Z., Rubin, M. I. B., De La Corte, F. D. and Silva, C. A. M. (2007). Gestational length and first postpartum ovulation of Criollo mares on a stud farm in Southern Brazil. J. Equine Vet. Sci. 27, 531~534.
- 117) Wong, C. W., Smith, S. E., Thong, Y. H., Opdebeeck, J. P. and Thornton, J. R. (1992). Effects of exercise stress on various immune functions in horses. Am. J. Vet. Res. 53, 1414~1417.
- 118) Woods, J., Bergfelt, D. R. and Ginther, O. J. (1990). Effects of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic-loss rate in mares. Equine Vet. J. 22, 410~415.