

氏名(本(国)籍)	金 檀 一 (大韓民国)
主指導教員名	岩手大学 教授 山 岸 則 夫
学位の種類	博士(獣医)
学位記番号	獣医博甲第341号
学位授与年月日	平成23年3月14日
学位授与の要件	学位規則第3条第1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	Studies on the Prevention of Postpartum Hypocalcemia in Dairy Cows (乳牛の分娩後低カルシウム血症の予防法に関する研究)
審査委員	主査 岩手大学 教授 佐藤 繁 副査 帯広畜産大学 教授 猪熊 壽 副査 岩手大学 教授 山岸 則夫 副査 岩手大学 教授 古濱 和久 副査 東京農工大学 教授 下田 実均 副査 岐阜大学 教授 北川 均

論 文 の 内 容 の 要 旨

乳牛の分娩後低カルシウム (Ca) 血症の予防法として、活性型ビタミン D₃ であるカルシトリオール(1,25(OH)₂D₃)の投与に関する研究が行われてきたが、注射剤の溶媒や投与量に関する検討は十分でなく、未だ臨床応用に至っていない。一方、骨は生体内の Ca 恒常性維持において重要な役割を果たすが、分娩乳牛の低 Ca 血症における Ca 代謝への関与は明らかでなく、外因性カルシトリオールが骨代謝へ及ぼす影響についても議論の余地がある。申請者は、乳牛の分娩後低カルシウム (Ca) 血症の予防に関する研究の一環として、分娩前後乳牛の骨代謝動態を血漿骨代謝マーカーの推移によって明らかにするとともに、カルシトリオール注射剤の溶媒や投与量ならびに Ca および骨代謝への影響について研究を行った。

1. 分娩前後における血漿骨代謝マーカー値の推移：分娩前後 2 週間の骨代謝動態を明らかにする目的で、臨床的に健康な乳牛を対象に 4 種の血漿骨代謝マーカー値を測定した。その結果、骨吸収マーカーの一つである酒石酸耐性酸フォスファターゼ 5b (TRAP5b) において、初産牛と経産牛の双方で活性値の上昇が認められた。したがって、乳牛の分娩時では骨吸収が活性化し、低 Ca 血症からの回復に関与することが示唆された。

2. 油性溶媒に溶解したカルシトリオール投与が血漿カルシトリオール、Ca およ

び骨代謝マーカーに及ぼす影響：非妊娠牛に対して、油性溶媒に溶解したカルシトリオール（油性試製剤）を $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ で筋肉または皮下投与し、血漿中のカルシトリオールおよび Ca 濃度ならびに各種骨代謝マーカー値の推移を解析した。油性試製剤の投与によって、皮下投与では筋肉投与に比較して明瞭に、血漿カルシトリオール濃度は生理的許容範囲を超え高濃度で推移し、持続性の高 Ca 血症も観察された。骨形成マーカーの一つであるオステオカルシン（OC）値は、投与後 3 日から増加した。骨吸収マーカーは血漿 Ca 濃度上昇のピーク到達後に減少した。一方、投与後 7 日に血漿カルシトリオール濃度の有意な減少が認められ、内因性カルシトリオールの合成抑制が示唆された。

3. 水性溶媒に溶解したカルシトリオール投与が血漿カルシトリオール、Ca および骨代謝マーカーに及ぼす影響：非妊娠牛に対して、水性溶媒に溶解したカルシトリオール（水性試製剤）を $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ で筋肉または皮下投与し、血漿中のカルシトリオールおよび Ca 濃度ならびに各種骨代謝マーカー値の推移を解析した。水性試製剤の筋肉および皮下投与の双方で同様の高 Ca 血症が観察された。骨代謝マーカーでは、血漿中の OC とその前駆体である undercarboxylated OC 値の上昇がそれぞれ投与後 3 日および 1 日に認められ、OC 生合成の促進が示唆された。以上より、水性試製剤は油性試製剤に比べ高 Ca 血症効果は小さいが、分娩後低 Ca 血症予防の応用には有利と考えられた。

4. 血漿カルシトリオール、Ca および骨代謝マーカーならびに糸球体ろ過量に対するカルシトリオール皮下投与の用量反応試験：非妊娠牛に対してカルシトリオール水性試製剤を 4 段階の投与量（ $0.0625 \sim 0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ）で皮下投与した。血漿カルシトリオールの最高濃度ならびにその曲線下面積は、カルシトリオールの投与量と有意な正の相関を示した。いずれの投与量においても糸球体ろ過量の低下は認められず、血漿中 Ca 濃度は増加した。しかし、 0.25 ならびに $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ の投与量では血漿カルシトリオール濃度は生理的範囲を超えて高値を示したため、今後、内因性カルシトリオール合成抑制や他の生理作用への影響について検討が必要と考えられた。これらの成績から、生理的許容範囲内での血漿カルシトリオール濃度の上昇と適度の高 Ca 血症を誘発するためには、皮下投与におけるカルシトリオール水性試製剤の投与量は $0.25 \mu\text{g}/\text{kg}$ 未満が適していると考えられた。

以上より、申請者は、非妊娠牛に対する投与量 $0.25 \mu\text{g}/\text{kg}$ 未満のカルシトリオール水性試製剤の皮下投与が、副作用を伴うことなく、適度の高 Ca 血症を誘発することを明らかにした。また、骨代謝マーカーの解析において、分娩乳牛では血漿 TRAP5b 活性値の観点から骨代謝が低 Ca 血症からの回復に関与すること、非妊娠牛ではカルシトリオール投与後に OC の生合成が促進されることを示した。これらの知見は、乳牛における分娩後低 Ca 血症の予防におけるカルシトリオールの臨床応用に寄与し、Ca 恒常性における骨の役割と外因性カルシトリオールの骨代謝への影響に関する理解を深めるものと考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

申請者は、乳牛の分娩後低カルシウム（Ca）血症の予防に関する研究の一環として、分娩前後乳牛の骨代謝動態を血漿骨代謝マーカーの推移によって明らかにするとともに、カルシトリオール注射剤の溶媒や投与量ならびに Ca および骨代謝への影響について研究を行った。

1. 分娩前後の骨代謝動態を明らかにするため、臨床的に健康な乳牛を対象に 4 種の血漿骨代謝マーカー値を測定した。その結果、骨吸収マーカーのひとつである酒石酸耐性酸フォスファターゼ 5b (TRAP5b) 値が初産牛と経産牛の双方で上昇したため、乳牛の分娩時では骨吸収が活性化することが示唆された。

2. 非妊娠牛に油性溶媒に溶解したカルシトリオールを 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で筋肉内または皮下投与した。皮下投与では、筋肉内投与に比べ、血漿カルシトリオール濃度は生理的許容範囲を超えて持続した。骨形成マーカーのオステオカルシン (OC) 値は、投与後 3 日から増加した。骨吸収マーカーは血漿 Ca 濃度上昇のピーク到達後に減少した。投与後 7 日に血漿カルシトリオール濃度は有意に減少し、内因性カルシトリオールの合成抑制が示唆された。

3. 非妊娠牛に水性溶媒に溶解したカルシトリオール (水性試製剤) を 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で筋肉内または皮下投与した。筋肉および皮下投与の双方で、高 Ca 血症が観察された。骨代謝マーカーでは、血漿中 OC とその前駆体 undercarboxylated OC 値が上昇し、OC 生合成の促進が示唆された。

4. 非妊娠牛にカルシトリオール水性試製剤を 4 段階の投与量 (0.0625~0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) で皮下投与した。血漿カルシトリオールの最高濃度ならびにその曲線下面積は投与量と正の相関を示し、糸球体過量の低下は認められず、血漿中 Ca 濃度は増加した。0.25 ならびに 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与量では血漿カルシトリオール濃度は生理的範囲を超えて推移し、内因性カルシトリオール合成を抑制する可能性があるため、投与量は 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満が適していると考えられた。

これらの知見は、乳牛における分娩後低 Ca 血症の予防におけるカルシトリオールの臨床応用に寄与し、Ca 恒常性における骨の役割と外因性カルシトリオールの骨代謝への影響に関する理解を深めるものと考えられた。

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 : Changes in plasma bone metabolic markers in periparturient dairy cows
著 者 名 : Kim, D., Yamagishi, N., Ueki, A., Miura, M., Saito, F., Sato, S. and Furuhashi, K.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 72 (6): 773 - 776, 2010
- 2) 題 目 : Response of plasma bone markers to a single intramuscular administration of calcitriol in dairy cows
著 者 名 : Kim, D., Kawakami, Y., Yamagishi, N., Abe, I., Furuhashi, K., Devkota, B., Okura, N., Sato, S. and Ohashi, S.
学術雑誌名 : Research in Veterinary Science
巻・号・頁・発行年 : 印刷中
- 3) 題 目 : Effects of an oleaginous calcitriol on changes in plasma calcitriol, calcium and bone metabolic markers in dairy cows
著 者 名 : Kim, D., Yamagishi, N., Abe, I., Furuhashi, K., Devkota, B. and Ohashi, S.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 印刷中

既発表学術論文

- 1) 題 目： 黒毛和種子牛における痙攣性不全麻痺の1例
著 者 名： 三浦 萌, 福田稔彦, 植木淳史, 池ヶ谷あすか, 池田亜耶, 阿南智頭,
竹鼻一也, 山口英一郎, 金 檀一, 佐藤 繁, 山岸則夫
学術雑誌名： 日本家畜臨床学会誌
巻・号・頁・発行年： 32 (1): 8 - 11, 2009

- 2) 題 目： 11ヵ月齢黒毛和種牛における脛骨骨折の1例
著 者 名： 池ヶ谷あすか, 小笠原裕喜, 池田亜耶, 三浦 萌, 阿南智頭, 竹鼻一也,
山口英一郎, 金 檀一, 佐藤 繁, 山岸則夫
学術雑誌名： 日本家畜臨床学会誌
巻・号・頁・発行年： 32 (1): 18 - 21, 2009

- 3) 題 目： Application of a reservoir-type calcitriol transdermal patch in dairy cattle
著 者 名： Yamagishi, N., Namioka, T., Okura, N., Sato, S., Kim, D., Furuhashi, K.
and Naito, Y.
学術雑誌名： The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年： 71 (6): 845 - 848, 2009

- 4) 題 目： 黒毛和種子牛における浅趾および深趾屈腱全断裂の1例
著 者 名： 池田亜耶, 大野千明, 池ヶ谷あすか, 三浦 萌, 阿南智頭, 竹鼻一也,
山口英一郎, 金 檀一, 山岸則夫, 佐藤 繁
学術雑誌名： 日本家畜臨床学会誌
巻・号・頁・発行年： 32 (2): 120 - 123, 2009

- 5) 題 目： Fluorometric method for measuring plasma tartrate-resistant acid
phosphatase isoform 5b and its application in cattle
著 者 名： Yamagishi, N., Takehana, K., Kim, D., Miura, M., Hirata, T.,
Devkota, D., Sato, S. and Furuhashi, K.
学術雑誌名： The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年： 71 (12): 1637 - 1642, 2009