



畜産技術ひょうご

第 129 号 (発行: 2018 年 2 月)

目 次

【衛生情報】 肉用牛にみられたピートンウイルスの関与を疑う異常産について……………2 淡路家畜保健衛生所 大田 康之
【普及情報】 耕作放棄地解消に向けた集落ぐるみの和牛放牧……………5 北淡路農業改良普及センター 沼田 浩一
【家畜診療所だより】 黒毛和種肥育牛にみられた化膿性髄膜炎の一例……………8 兵庫県農業共済組合連合会 但馬基幹家畜診療所 是枝 明博
【食肉衛生検査センターだより】 ブロイラーにみられた浅胸筋変性症の多発事例……………11 兵庫県食肉衛生検査センター 淡路食肉衛生検査所 嶋田 亮太
【研究情報】 乳牛の脂肪肝と関連する生体指標と肝臓内脂肪沈着程度の推定式……………13 兵庫県立農林水産技術総合センター 淡路農業技術センター 生田 健太郎



カウバンク制度を活用した和牛放牧の風景

(淡路市)

巻 頭 言

喉元過ぎれば・・・口蹄疫対策の強化を！

新年早々の観光庁の発表によると、昨年(2017年)の訪日外国人数(推計値)が2,869万900人、訪日客が滞在中に買い物などに使った旅行消費額(速報)が4兆4,161億円と、いずれも5年連続で過去最高を更新したとのこと。政府目標として、2020年に訪日客4,000万人、消費額8兆円を掲げており、目標達成はそう難しい数字ではないようだ。

高齢化の進行と人口減少で経済活動が縮小する中で、日本経済にとってはありがたい話である。しかし、なぜか、両手を挙げてよろこべず、むしろ何か不安に感じるのは私だけだろうか。

悪夢のような、2010年(H22)の宮崎県における口蹄疫の発生から今年の春で9年目を迎えようとしている。幸い、その後、国内での発生がないものの、世界的には猛威を振るっており、特に近隣諸国での発生が気になるところである。今年、韓国・平昌オリンピック・パラリンピックの開催に加え、春節などにより、海外渡航者や東アジア地域からの訪日客が増加したことだろう。

さらに、今後、2020年の東京オリンピック・パラリンピックの開催、EUとの経済連携協定(EPA)や11か国による環太平洋経済連携協定(TPP11)の発効に向けた手続きが進められるなど、人、物の移動が益々盛んになる。

まさに、新しい時代の幕明けである。

「今まで発生がなかったから、今後も発生することがないだろう。」何の根拠もない妄想である。

喉元過ぎれば・・・ではないが、原点に立ち返り対策を点検する必要があるのではないかと。畜産関係者のなかで、口蹄疫等に関する情報の共有を通じ、改めて飼養衛生管理基準の遵守事項を再確認し、畜産農家、関係者が一丸となって取り組もう。

(K. N)

本紙は、インターネットを利用して配布しております。またメールによるファイル送信も受付しております。

事務局:(社)兵庫県畜産協会 URL <http://hyougo.lin.gr.jp> E-mail info@hyougo.lin.gr.jp

衛 生 情 報

肉用牛にみられたピートンウイルスの関与を疑う異常産について

淡路家畜保健衛生所 大田 康之

ピートンウイルス (PEAV) は昭和 51~52 年にオーストラリアで初めて分離され、日本では平成 11 年に長崎県で初めて分離された。PEAV はアカバネ病ウイルスやアイノウイルスと同属でヌカカによって媒介されるアルボウイルスのひとつだが、知見の少ないウイルスである。牛での研究は進行中であるが、羊での異常産がおこることが確認されており、妊娠動物の胎盤を介して胎子にウイルスが感染し、流産や体型異常、神経症状等の異常産を引き起こすと考えられている。

PEAV の関与を疑う牛の異常産は平成 11 年以降、九州・沖縄地域で散発している。本県では発生はないものの、中国地方をはじめ本州でも PEAV が浸潤しており被害の拡大が危惧されていた中、PEAV の関与を疑う異常産があったので概要を報告する。

1 材料と方法

死産胎子は胎齢 285 日の黒毛和種で体重 13.1kg であった。母牛は平成 24 年生まれの 4 産目で、例年異常産 3 種混合ワクチンを接種し



図 1 死産胎子

ており、これまで問題なく子牛を生産していた。その母牛が平成 29 年 3 月下旬に難産、診療獣医師が分娩介助したところ、死産胎子が著しい体型異常を呈していた (図 1)。そこで表 1 の方法で胎子の病理、ウイルス、骨格検査を実施し、母牛はウイルス検査を実施した。また農場内での感染状況を調べるために、母牛および同居牛 12 頭の合計 13 頭の血液を用いて PEAV の中和抗体価を測定した。

2 結果

胎子の解剖検査を実施したところ、脊柱の S 字状湾曲、矮小筋症、小脳低形成、筋肉の散在性の脂肪化がみられた。湾曲した腰椎では左翼突起が著しく前方に屈曲しており、左側の筋肉の張力が強くなり、物理的圧迫によって変形したことが推察された (図 2)。病理組織所見では筋肉細胞の脂肪置換、脊髄では頸部~腰部での広い範囲で腹角の大型神経細胞の減数、石灰沈着、側索・腹索での脱髄がみられた (図 3)。以上のことから、胎子は神経原性の矮小筋症がおこり、脊柱周辺の筋肉脂肪置換の部位および程度によ

表 1 方 法

種 類	種 類	備 考
病 理	一般染色	HE
	特殊染色	LFB-HE, Cossa
ウイルス	遺伝子検査	RNA抽出: Rneasy Mini Kit RT-PCR: PrimeScript High Fidelity RT-PCR Kit
	中和抗体	マイクロプレート法 : HmLu-1細胞 { AKA (JaGAR39株) Aino (JaNAr28株) { CHU (KA47株) PEA (KSB-1/P/06株) { EHD7 (HG-6株)
	酵素抗体法	BVD-MD
骨格検査	化学的手法	炭酸ナトリウム水溶液で浸漬、煮沸

って、左右の牽引力が異なったことで脊柱がS字状に湾曲したと考えられた。小脳は脊髄と同様に神経細胞数の減少によって小型化したと推察された。これらの所見はアカバネ病などと同様の所見であったことから、胎子と母牛のアルボウイルスの抗体検査を実施したところ、PEAV抗体のみ上昇が確認された(表2)。しかし胎子と母牛のPEAV遺伝子検査は陰性であり、ウイルスはすでに消失していたと考えられた。母牛を含む同居牛の検査の結果、牛群での抗体陽性率は54%(13頭中、陽性7頭)であった。

表2 中和抗体検査

	アカバネ	アルボウイルス	ブーバウイルス	ヒトエンテロウイルス	EHDV 2型	EHDV 7型
母牛	<2	2	<2	8	<2	<2
死産胎子	<2	<2	<2	8	<2*	<2*

(* 脳脊髄液で測定)

3 浸潤状況調査

PEAVの浸潤状況を調べるために、管内に配置した未越夏子牛21頭と、平成28年11月から平成29年6月までに当所で病性鑑定を実施した解剖牛のうち、飼養地がC市の3~10か月齢の子牛11頭(黒毛和種7頭 ホルスタイン種4頭)の血液を用いて中和抗体価を測定した。その結果、11月にA市とB市で未越夏子牛の抗体上昇が確認された。さらに平成29年1月に解剖を実施した7か月齢の子牛の抗体が上昇しておりC市でも侵入していたことが判明し、島内3市全てで流行が確認された。PEAVは秋ごろ

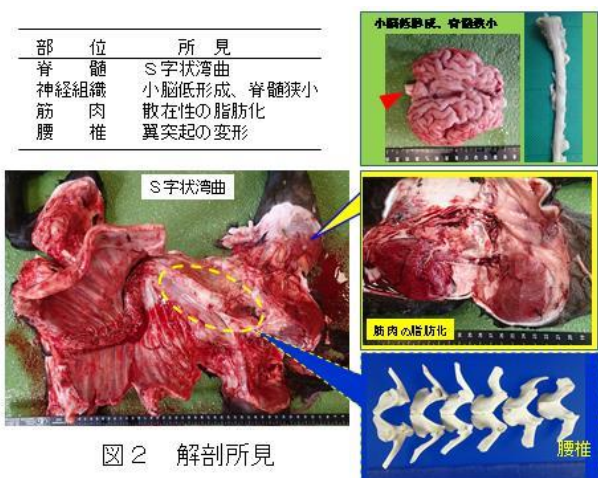


図2 解剖所見

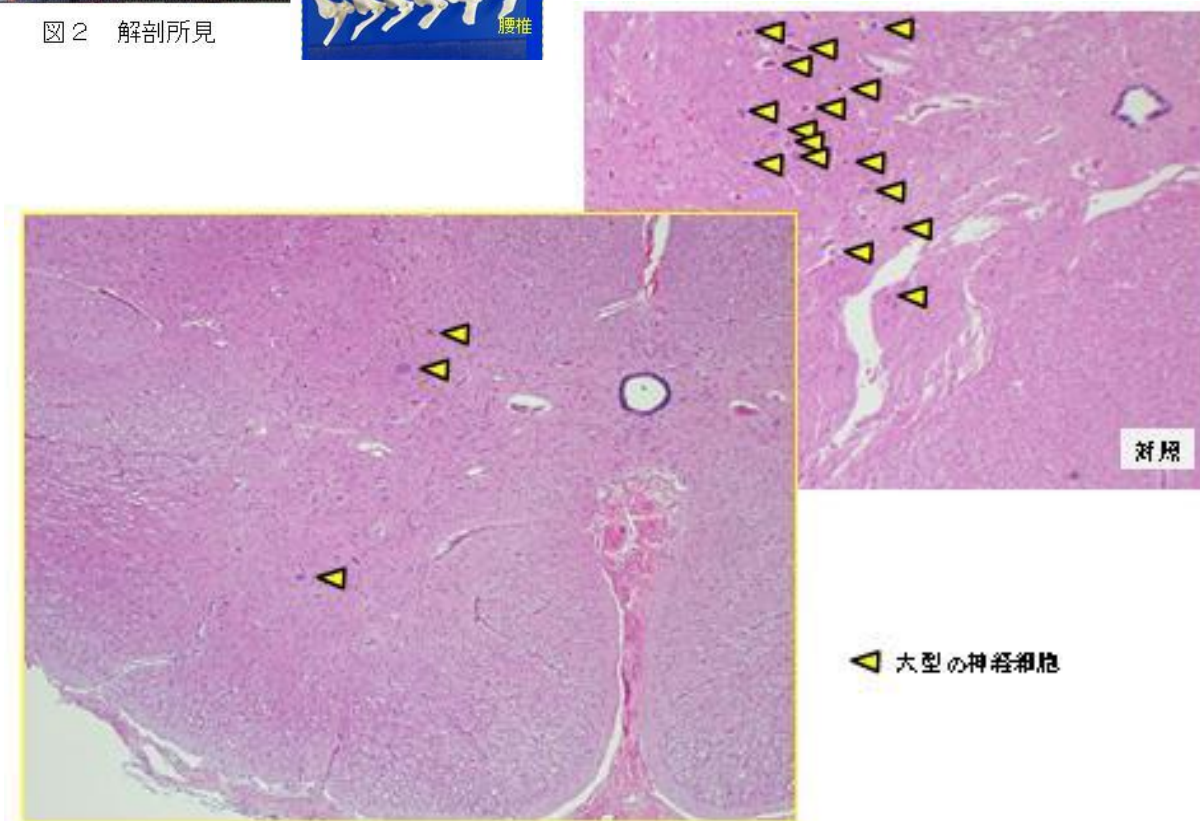


図3 脊髄(腰膨大部)における大型神経細胞の減数

に島内に侵入したと考えられた (表 3)。

4 対策

PEAV はアカバネ病ウイルスなどと近縁であるが、免疫の交差反応がほとんどなく、予防には PEAV を含有した牛異常産 4 種混合ワクチンの接種が有効である。淡路島内では今回の PEAV の流行を受けて、平成 29 年度春から牛異常産 4 種混合ワクチンに変更、同年 8 月までに接種を完了し、現在まで PEAV を含めたアルボウイルスの異常産の発生はみられていない。

今回、県内初および国内最東部での PEAV の関与が疑われる異常産を確認した。今回の症例では、子牛の経済的損失だけでなく、母牛の難産による損耗もみられ、農家の経営安定、計画的な牛群改良のためにも、本ウイルスに対する予防対策は不可欠である。

一方、アカバネ病やアイノウイルス感染症の場合、ウイルスの胎子感染時期によって流産、体型異常 (骨・筋肉変性等)、神経病変 (水頭症等) といった病変が異なることが判明しているが、PEAV に関する既報では、体型異常と神経病変が混在する事例や、娩出後のウイルス検出事例など、これまでのアルボウイルスの動向と比較して、病理発生、病態が不明な点がある。本病の被害を低減に向け、事例数を重ねるとともに、詳細な試験研究に基づく効果的な対策の構築が必要である。

表 3 PEAV の浸潤状況調査

時 材 結 果	期：	平成 28 年 6 月～平成 28 年 11 月			
	料：	未越夏牛 21 頭 血清			
		市 名	A	B	C
		6 月	0/8	0/6	0/7
		8 月	0/8	0/6	0/7
	9 月	0/8	0/6	0/7	
	11 月	5/8	2/6	0/7	

普及情報

耕作放棄地解消に向けた集落ぐるみの和牛放牧

北淡路農業改良普及センター 沼田 浩一

1 和牛放牧の取組のはじまり

淡路市では、平成 8 年頃から農地の有効利用と飼料コストの低減を進めるために、繁殖和牛の放牧が始まった。平成 13 年には、北淡路国営開発農地を中心に 10 戸の繁殖農家が放牧に取り組み、省力的な草地管理と放牧地の牧養力を高めるために、「野シバ」を用いたシバ草地の導入や電力のない所でも放牧が可能なソーラータイプの電気牧柵器の設置を推進した。

平成 17 年には、放牧面積の増加が鈍くなり、原因を分析すると、広い面積がなければ放牧できないなど固定観念だけが先行していた。そこで、遊休農地での放牧を先駆的に実施している山口県の方式を研究した。そして、あえて幹線道路から見える遊休化している棚田 60a で昼夜放牧を開始した。

この取組みが、繁殖農家はもちろんのこと地域の農家の注目を浴びようになり、耕作放棄地を解消する手段の一つとして放牧が取り入れられるようになった。

2 「淡路市放牧研究会」の設立

平成 20 年までに放牧農家及び放牧面積は年々増加し、19 戸の繁殖農家が 18ha、190 頭の放牧を行っていた。

しかし、当時、淡路市全体で 520ha の耕作放棄地があったため、淡路市内の放牧実施農家が放牧技術の向上や耕作放棄地等への放牧の推進を図る目的で、平成 20 年 12 月に「淡路市放牧研究会」を立ち上げた。その後、淡路市が放牧推進に補助事業を導入し、これに国の補助事業なども活用し、放牧面積及び頭数は、さらに急激に増加していった。

平成 23 年 3 月には、「淡路市放牧研究会」

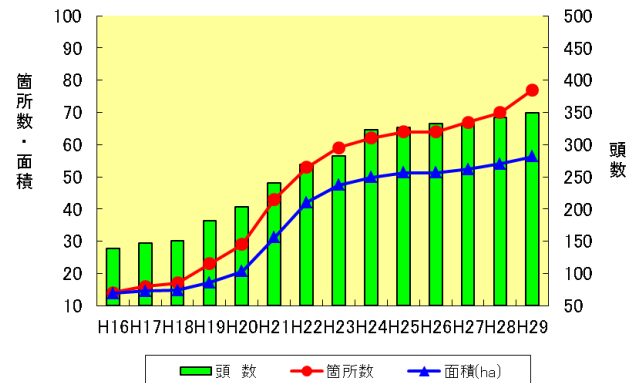


図 淡路市全体の放牧面積と頭数の推移

が「カウバンク制度：繁殖和牛農家から牛を貸し出す仕組み」を創設し、平成 26 年に淡路市尾崎東集落がこの制度を活用した放牧を初めて実施した。

平成 29 年 12 月末現在で、淡路市内の放牧面積は 56.3ha で約 350 頭が放牧されている。

3 「淡路和牛舌刈り活用推進協議会」の設立

放牧面積の増加に伴い、繁殖農家単独では農地集積が困難なことや放牧場が遠方で繁殖農家の増頭につながらないなどの課題が表面化してきた。一方、耕作放棄地の解消に向けて、集落営農組織や中山間直接支協協議会は、草刈りなどを実施しているが、多くの労力を費やす必要があった。そこで、平成 28 年 5 月に集落営農組織や繁殖農家、関係機関などで協議会を設立し、集落営農組織等と繁殖農家が連携し放牧の推進を図る「淡路和牛舌刈り活用推進協議会」が設立した。

その結果、平成 29 年 11 月には、放牧研究会会員の繁殖和牛の貸出を受け、繁殖農家と集落組織が連携したモデル放牧地を 4 集落に設置した。

4 モデル放牧地による効果実証

当センターは、モデル放牧地で研修会や調査などを行い、耕作放棄地の解消などの効果を明らかにするとともに、放牧を活用した農地管理の省力化、繁殖農家の作業省力化や低コスト化を進めるための放牧の拡大に向けた効果を集落営農組織などに PR した。

表 平成 29 年度のモデル放牧地の実績

放牧地	設置場所	放牧面積	箇所数	放牧頭数
A 集落	耕作放棄地	120a	3	4
B 集落	水田牧草地	150a	2	5
C 集落	耕作放棄地	30a	2	4
D 集落	耕作放棄地	30 a	1	2

モデル放牧地の設置場所は、耕作放棄地や牧草を栽培している水田などで、目的も農地管理の省力化、耕作放棄地の解消、景観の整備など集落によって様々であった。

モデル放牧にあたり、ポイントとしたのが役割分担の明確化である。集落営農組織が電気柵や飼槽・水飲み場、日陰の設置、放牧後の牛の健康チェックやエサの給与、脱柵時の保険の加入を担い、繁殖農家が放牧牛の運搬、家畜共済の加入、補助飼料の提供などを行った。当センターは、事前に集落営農組織と繁殖農家が話し合い、この役割分担を決定するよう提案した。また、放牧牛の貸出は、淡路市放牧研究会が集落組織からの貸出依頼を受けて、放牧予定地の近隣の繁殖農家を選定し、マッチングした。

放牧開始当初、集落営農組織は、脱柵や事故の発生など放牧牛の管理に不安を抱いていたが、時間が経つにつれて不安が解消し、牛に愛着をもつようになった。放牧期間中、脱柵や事故は一度もなく、臭いやハエの発生、畦の崩壊もなかった。集落営農組織の役員は、飼料作物や耕作放棄地の野草が放牧牛によって見る見なくなる状態をみて、放牧の効果を実感した。

また、放牧をしてから、イノシシの目撃回数

が減るなど、獣害対策にもつながることが明らかになった。



集落組織と繁殖農家の話し合いが重要

繁殖農家の方も、牛を預けることに不安があり、放牧当初は頻繁に放牧地に足を運んでいた。しかし、定期的に牛の管理方法などについて、繁殖農家と集落営農組織が話し合いを持つことで、安心して預けられると感想が聞けた。

結果、ある集落では、30 年来の耕作放棄地が放牧によって元の姿を現し、放牧後、耕うんして飼料作物を播種することによって、農地として再利用でき、耕作放棄地の解消につながった。また、将来は復元した農地を放牧に限らず、観光果樹園など新たな構想も描いている。



放牧の効果で再生された農地

5 今後の取り組み

当センターは、モデル放牧地の効果をパンフレットにし、集落営農組織等に PR することで、放牧の拡大を図る。また、冬期に入ると草が少なくなり、下牧をせざるを得なかったため、飼料作物の品種選定、集落組織と連携した稲 WCS 栽培・流通を進め、周年放牧の確立を進める。さらに、数集落でモデル放牧地を増やし、放牧面積の拡大、放牧期間の延長を目指し、集落と繁殖農家が連携した放牧が、淡路地域の各地でみられるように放牧の箇所数及び面積の拡大を図っていききたい。

家畜診療所だより

黒毛和種肥育牛にみられた化膿性髄膜脳脊髄炎の一例

兵庫県農業共済組合連合会 但馬基幹家畜診療所 是枝 明博

県内産黒毛和種肥育農場において、マイコプラズマ感染を疑う中耳炎にて治療中の牛が、神経症状を呈し死亡した。病性鑑定の結果、脳底部に化膿性病変が認められた。脳底部膿瘍、脳脊髄液からは *Streptococcus mitis* が分離され、化膿性髄膜脳脊髄炎と診断した。

材料および方法

症例

症例は 2014 年 7 月 31 日生の去勢牛、県内産の黒毛和種但馬牛を 350 頭飼養する農場に 2015 年 4 月 18 日県内 A 市場より 262 日齢、288kg で導入された。4 月 22 日に除角とワクチン接種（牛呼吸器 5 種混合生ワクチン、*Histophilus somni*・*Pasteurella multocida*・*Mannheimia haemolytica* 3 種混合不活化ワクチン）を実施した。

臨床経過

2015 年 5 月 6 日右耳介下垂にて求診、初診時、体温 40.7℃、右耳介下垂、耳道内膿を認めオキシテトラサイクリン、フルニキシンを投与し外耳洗浄を実施した。翌日よりエンロフロキサシンを投与し、5 月 8 日よりステロイドを併用した。5 月 9 日（第 4 病日）小康を得たため経過観察した。5 月 20 日（第 15 病日）体温 39.5℃、中耳炎再発のためオキシテトラサイクリンを投与し、耳道洗浄を実施した。翌日よりチアンフェニコールを投与し耳道洗浄を継続し、5 月 25 日（第 20 病日）症状回復のため経過観察した。6 月 10 日（第 36 病日）体温 39.0℃、右耳耳漏、右眼瞼腫脹を認めチアンフェニコールを投与した。症状改善見られず 6 月 15 日（第 41 病日）よりエンロフロキサシン

を投与したが、6 月 19 日（第 45 病日）転倒し、後肢振戦、起立不能となった。翌日より、昏睡状態となり遊泳運動、眼球の転位などの神経症状が見られた。6 月 24 日（第 50 病日）に死亡のため病性鑑定を実施した。診療回数は 27 回であった。

検査項目

6 月 19 日（第 45 病日）に血球計数装置並びに血液化学検査機器にて血液検査を実施した。6 月 24 日の病性鑑定時には剖検、病理組織学的検査および細菌学的検査を実施した。

結果

血液検査

白血球数、ヘマトクリット値、A/G 比の低下、クレアチンキナーゼ（CK）の上昇が認められた（表 1）。

剖検所見

脳底部の下垂体窩から後頭蓋窩には 4×4cm の膿塊が認められた（図 1）。大脳腹側の第 IV 脳室、頸髄周辺にはフィブリンが付着し（図 2）、大脳側脳室の拡張が認められた（図 3）。右鼓室の粘膜は赤色を呈していたが膿の貯留等の

表1 血液検査

項目	単位	値	項目	単位	値
WBC	/ μ L	3,800	GLU	mg/dL	54
RBC	$\times 10^4$ / μ L	898	AST	U/L	88
HGB	g/dL	11.0	GGT	U/L	53
Ht	%	29.3	TBIL	mg/dL	< 0.1
TP	g/dL	5.8	BUN	mg/dL	18
ALB	g/dL	2.2	CREA	mg/dL	1.5
GLOB	g/dL	3.6	CK	U/L	580
A/G		0.61	Ca	mg/dL	8.7
CHOL	mg/dL	87	PHOS	mg/dL	6.9

異常は認められなかった。除角面および角内部に膿の貯留や炎症病変は見られなかった。肺炎病変はなく、その他の主要臓器に著変は見られなかった。

病理組織所見

頸髄および小脳髄膜においてグラム陽性球菌が見られ、線維素が析出し、マクロファージ、好中球が浸潤していた（図4、5）。

小脳の *M. bovis* 免疫組織化学染色像では陽性反応が認められた（図6）。

細菌検査

M. bovis のPCR検査において肺、気管スワブ、大脳、小脳、脳底部膿瘍および脳脊髄液で陽性。鼓室スワブは陰性であった。また、脳底部膿瘍、脳脊髄液から *S. mitis* を分離した。

薬剤感受性試験

分離された *S. mitis* の薬剤感受性試験では、

セファゾリンに感受性あり、アンピシリンに中間、ストレプトマイシン、カナマイシン、オキシテトラサイクリンおよびエンロフロキサシンには感受性はなかった。

考察

今回、マイコプラズマ感染を疑う中耳炎にて治療中の牛が神経症状を呈し死亡した。病性鑑定の結果、脳底部に膿瘍が認められた。脳底部膿瘍および脳脊髄液から *S. mitis* が分離され化膿性髄膜脳脊髄炎と診断した。

起立不能となった日の血液検査において、白血球数の低下などが見られたが、他の報告と同様に診断を裏付けるような特徴的な結果は見られなかった。

本症例に見られた遊泳運動や眼球の転位などの神経症状は、大脳側脳室の拡張、脳底部膿瘍

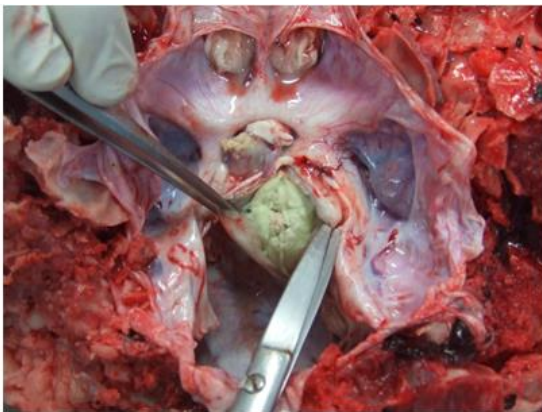


図1 脳底部膿瘍



図3 大脳側脳室の拡張

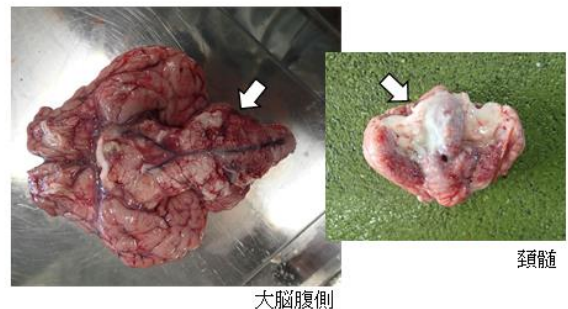


図2 大脳腹側・頸髄のフィブリン付着（↑）

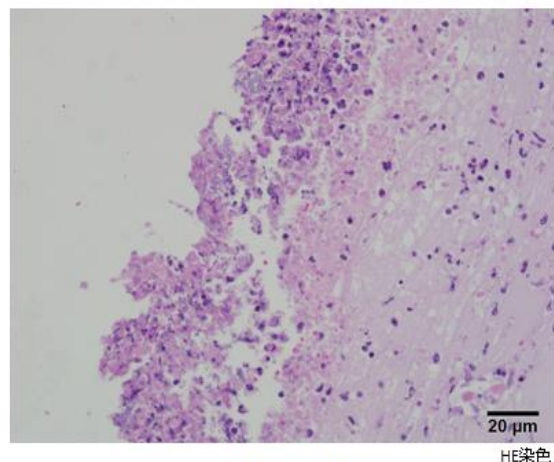


図4 頸髄

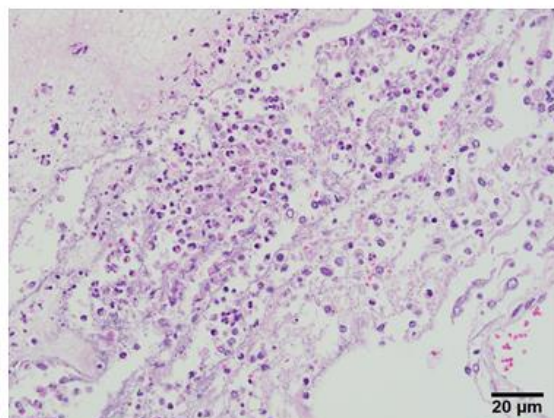
による小脳の圧迫および感染に起因したと考えられた。

除角後の *A. pyogenes* 感染によって脳下垂体膿瘍を形成したのではないかという報告もある。本症例は、導入時に除角は実施しているが、除角部位からの排膿は見られなかった。また剖検時も角内部に膿の貯留や炎症病変は見られなかったことから、本症例の脳底部膿瘍の形成は除角によるものではないと考えた。

M. bovis による化膿性髄膜脳脊髄炎の報告もあり、膿瘍形成部位は症例によって様々である。本症例の脳底部の化膿性病変は、*S. mitis* が分離されたこと、*M. bovis* が PCR 検査で陽性だったことから、これらの病原体によるものと考えられる。しかし、肺炎病変はなかったこと、鼓室は *M. bovis* の PCR 検査は陰性であったことから感染経路の特定はできなかった。

S. mitis は常在菌であるため、今回の感染は個体の免疫機能の低下が *S. mitis* 感染を引き起こしたと考えられる。

今後は、農場の衛生管理の徹底、呼吸器病対策などの飼養管理によるストレス軽減を目的とし、個体の免疫機能の低下を防ぐことが重要であると考えられる。



HE染色

図5 小脳

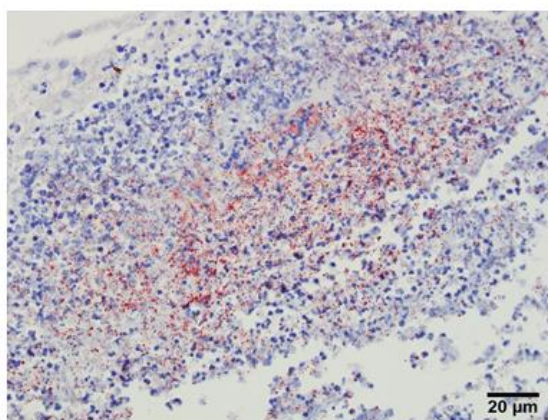


図6 小脳 免疫染色

食肉衛生検査センターだより

ブロイラーにみられた浅胸筋変性症の多発事例

兵庫県食肉衛生検査センター 淡路食肉衛生検査所 嶋田 亮太

近年、ブロイラーにおいて鶏の筋変性症の1つである浅胸筋変性症による胸肉廃棄量が増加しており、経済的損失の原因として問題となっている。本症は浅胸筋の退色や硬化を特徴としているがその病態や発症要因については未だ不明な部分が多く、その解明と対策が課題である。今回、管内大規模食鳥処理場において浅胸筋変性症が多発した事例に遭遇したので、その概要を報告する。

1 症例概要

(1) 材料及び方法

管内大規模食鳥処理場で処理されたA農場のブロイラー(チャンキー種)50日齢で、4,439羽中220羽(5.0%)において浅胸筋変性症を認めた。このうち4羽の浅胸筋を採取し10%中性緩衝ホルマリンで固定後、定法に従いパラフィン切片を作製した。その後、切片はヘマトキシリン・エオジン染色(HE染色)、アザン染色及びリンタングステン酸ヘマトキシリン染色(PTAH染色)を実施し、病理組織学的に検索した。

(2) 肉眼所見

発育は非常に良好で、平均体重3.4kg、大きなもので4.0kg近くあった。胸部は顕著に肥大かつ扁平化し(図1)、浅胸筋の頭側部位を中心に退色及び硬化しており、筋線維の走行に一致して白色線条病変が認められた(図2)。白色線条病変は浅胸筋深層に比べて浅層で多く認められ、体表に近い部分でより顕著であった。また、重症例では、浅胸筋表面に水腫、出血及び炎症性産物を認めた。その他内臓、皮膚等に異常は見られなかった。

(3) 病理組織学的所見

HE染色では、浅胸筋筋線維の融解及び膨化などの硝子様変性のほか(図3)、筋線維の塊状崩壊、空胞形成、マクロファージによる変性した筋線維の貪食像が認められた。筋線維間ではアザン染色で濃青色に染まる膠原線維が増生しており(図4)、PTAH染色では横紋が消失した筋線維を認めた。これらの病変は肉眼所見と同様に浅胸筋深層よりも浅層で多く認められた。



図1 胸部の肥大



図2 浅胸筋の白色線条病変(矢印)

(4) 平均体重及び発症率

本症例の A 農場は、同一の種鶏場から雛を導入している別の 3 農場 (B、C、D 農場) の同一日齢と比較して、平均体重は重く浅胸筋変性症の発症率は高くなる傾向があった (表 1)。

2 考察

本症例の肉眼所見及び病理組織学的所見は、過去に報告されている浅胸筋変性症の所見と一致するものであった。病理組織学的所見は、筋線維の硝子様変性と筋線維間の膠原線維増生を主徴としており炎症反応は乏しく、病変にウイルスや細菌が関与している可能性は低いと考えられた。また、ビタミン E 等の欠乏による栄養性筋症の肉眼所見や深胸筋変性症の組織学的所見と類似しているものの発症部位が異なるため、これらの疾病とは発症要因が異なると推察された。

浅胸筋変性症の発症要因として、増体時における浅胸筋の急激な発達と考えられており、これには発育が早く、胸肉重量が大きくなるよう改良されてきた種鶏の遺伝的要因が疑われている。今回、同一種鶏場から雛を導入している別農場の同日齢のロットと比較して、本症例の平均体重は重く浅胸筋変性症の発生率が高くなる傾向があったことから、浅胸筋変性症の発症には個体の遺伝的要因に加えて増体量が大きく関与することが疑われた。

過去の報告では、浅胸筋変性症の発症要因には異常に肥大した浅胸筋に血管新生が追いつかないことによる虚血状態や、浅胸筋の物理的圧迫による局所的な循環障害が指摘されているが、その機序については不明な点が多い。今後、浅胸筋の血管分布及び血行動態、飼養時の温度条件等の環境ストレスについてもさらなる検討が必要と思われた。

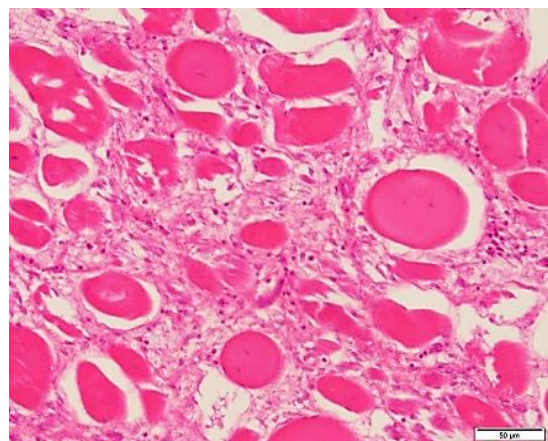


図 3 浅胸筋横断 (HE 染色 × 200) 筋線維の硝子様変性

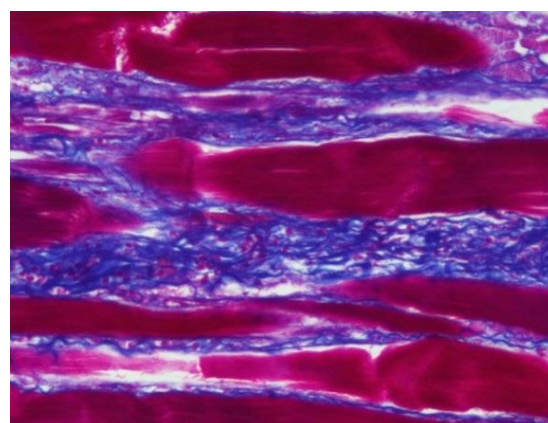


図 4 浅胸筋縦断 (アザン染色 × 200) 筋線維間に膠原線維の増生

表 1 平均体重及び発症率

生産者	平均体重 (kg)	発症率 (%)
A 農場	3.40	5.0
B 農場	2.84	0.1
C 農場	2.85	0.1
D 農場	3.04	0.3

研究情報

乳牛の脂肪肝と関連する生体指標と肝臓内脂肪沈着程度の推定式

兵庫県立農林水産技術総合センター淡路農業技術センター 生田 健太郎

1 背景・目的

乳牛は分娩後のエネルギー不足を補うため、体脂肪を動員し、肝臓での代謝を経てエネルギーを産生するが、生理的に肝臓からの脂肪排出が苦手な動物であるため、肝臓内に中性脂肪が蓄積し、脂肪肝になりやすい。脂肪肝は周産期疾病や繁殖障害の素因となることから、効果的に予防する必要がある。

予防法開発とその効果検証には脂肪肝の程度を把握する必要があるが、従来から脂肪肝の確定診断には生検による組織診断（顕微鏡検査：鏡検）が不可欠とされてきた。しかし、生産現場での生検実施は困難であることに加え、組織診断にも多大な時間と労力を要することから、脂肪肝を間接的に把握する手法が必要である。

2 研究の方法と内容

(1) 肝臓の生検組織画像解析

37頭の経産牛から分娩後2週に生検により採取した肝臓を、ホルマリン固定後、凍結切片を脂肪染色し、鏡検で病理学的に脂肪滴沈着程度を5段階(0：沈着なし、1：極少量、2：中心静脈周辺に局在、3：小脂肪滴がびまん性

に沈着、4：大脂肪滴への融合が認められる)にスコア化（脂肪肝スコア）した（図1）。

一方、顕微鏡画像（RGB画像）を撮影・分解して得られたB画像を基に、二値化、ノイズ除去、境界抽出、脂肪滴の輪郭抽出などの画像処理を経て、脂肪滴の総面積、被覆率（組織切片全体に占める脂肪滴の面積割合）、個数および大きさ（1個当たりの平均面積）を数値化した（図2）。

(2) 脂肪肝群と正常群における生体指標値の比較

3名による鏡検で脂肪肝スコアの平均が2を超えた個体を脂肪肝群とし、分娩後1と2週時の飼養成績（乾物摂取量、乳量、乳成分）、血液成分および第一胃液性状などの生体指標値を正常群（鏡検スコア2以下）と比較した。

(3) 肝臓内脂肪沈着程度の推定式

血液成分と乳中脂肪酸組成を説明変数とし、脂肪滴の各画像解析値を目的変数とした重回帰分析により、脂肪沈着程度の推定式を作成した。なお、1週時については血液成分と乳中脂肪酸組成のデータが37頭分あったので、両指標を一括して解析すると共に、血液成分または乳中脂肪酸組成のみでの解析も行った。2週時

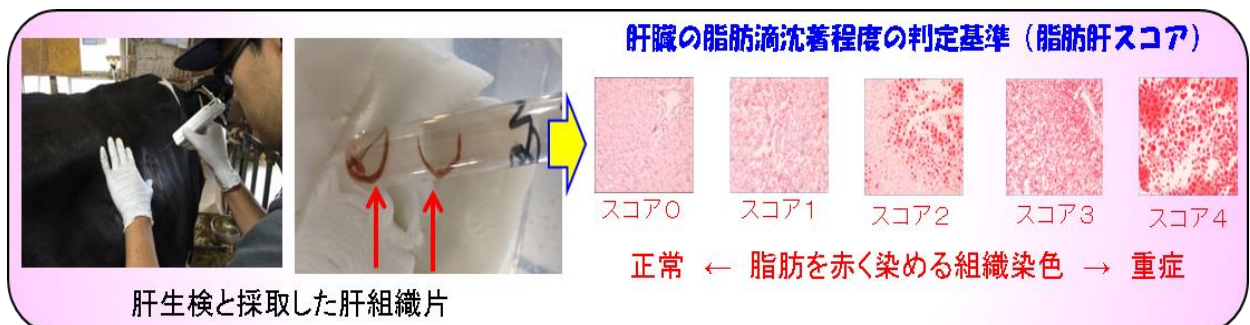


図1. 肝生検と脂肪肝スコア判定基準

については乳中脂肪酸組成のデータが 24 頭分で両指標を一括して解析するにはデータが不足していたため、血液成分または乳中脂肪酸組成のみでの解析を行った。

3 主な研究成果

(1) 肝臓の生検組織画像解析

鏡検による脂肪肝スコアと画像解析値とのスピアマンの順位相関係数 (ρ) はそれぞれ総面積と被覆率($\rho=0.94$)、個数($\rho=0.91$)及び大きさ($\rho=0.59$)で、強い相関が認められた (表 1)。このことから、肝臓の生検組織標本を画像解析

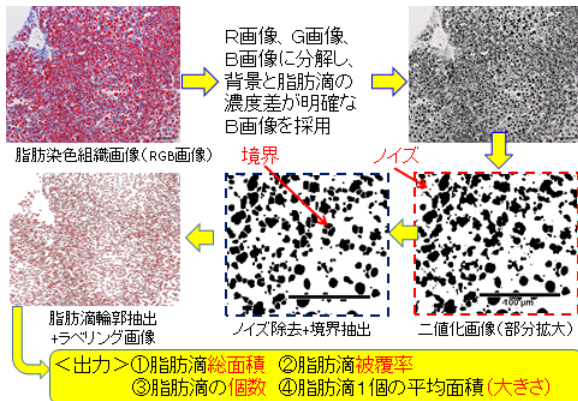


図2. 肝組織顕微鏡画像の解析手順

表2. 正常群と脂肪肝群で差のあった乳中脂肪酸組成(%)

脂肪酸名	採材週次	正常群	脂肪肝群	有意水準
カプロン酸(C6:0)	1週	1.29 ± 0.05	> 1.01 ± 0.08	P<0.01
	2週	1.65 ± 0.06	> 1.20 ± 0.12	P<0.01
カプリル酸(C8:0)	1週	0.74 ± 0.04	> 0.52 ± 0.06	P<0.01
	2週	1.02 ± 0.05	> 0.67 ± 0.10	P<0.01
カプリン酸(C10:0)	1週	1.48 ± 0.11	> 0.96 ± 0.18	P<0.01
	2週	2.24 ± 0.14	> 1.39 ± 0.27	P<0.01
ラウリン酸(C12:0)	1週	1.67 ± 0.14	> 1.08 ± 0.21	P<0.01
	2週	2.52 ± 0.17	> 1.55 ± 0.32	P<0.01
ミリスチン酸(C14:0)	1週	7.30 ± 0.33	> 5.72 ± 0.51	P<0.01
	2週	9.64 ± 0.42	> 6.61 ± 0.78	P<0.01
パルミトレイン酸(C16:1)	1週	1.98 ± 0.08	< 2.34 ± 0.12	P<0.01
	2週	1.68 ± 0.10	< 2.26 ± 0.18	P<0.01
オレイン酸(C18:1)	1週	30.5 ± 0.80	< 34.2 ± 1.24	P<0.01
	2週	25.8 ± 1.00	< 33.2 ± 1.84	P<0.01
アラキドン酸(C20:4n6)	1週	0.21 ± 0.01	> 0.17 ± 0.01	P<0.01
	2週	0.20 ± 0.01	> 0.16 ± 0.02	P<0.01
De novo脂肪酸	1週	14.7 ± 0.68	> 11.4 ± 1.05	P<0.01
	2週	19.5 ± 0.86	> 13.7 ± 1.60	P<0.01
Preformed脂肪酸	1週	49.0 ± 0.97	< 53.0 ± 1.51	P<0.05
	2週	42.5 ± 1.22	< 50.6 ± 2.24	P<0.01

することで、乳牛の脂肪肝を数値化することが

できた。

(2) 脂肪肝群と正常群における生体指標値の比較

乳量は 1、2 週時とも脂肪肝群が有意に多かった。乳成分では乳脂率が 2 週時のみ脂肪肝群で有意に高かった。乳中脂肪酸組成では、ルーメン発酵由来の脂肪酸(カプロン酸からミリスチン酸までの個別脂肪酸と C4~C14 の脂肪酸グループである De Novo 脂肪酸) とアラキドン酸は脂肪肝群で有意に低く、パルミトレイン酸と体脂肪由来の脂肪酸(オレイン酸と C18~C20 の脂肪酸グループの Preformed 脂肪酸) は脂肪肝群で有意に高かった (表 2)。

血液成分では、血糖(Glu)が脂肪肝群で有意に低く、遊離脂肪酸(FFA)、β ヒドロキシ酪酸

表1. 脂肪滴沈着スコアと画像解析値の相関性

スピアマンの順位相関係数	有意水準
総面積	0.94 P<0.001
被覆率	0.94 P<0.001
個数	0.91 P<0.001
大きさ	0.59 P<0.001

(BHB)、アスパラギン酸トランスフェラーゼ

(AST) が脂肪肝群で有意に高かった (図 3)。

また、アラニンアミノトランスフェラーゼについては 1 週時のみ脂肪肝群が有意に高かった。

第一胃性状では両群間に有意差の認められた調査項目はなかった。

(3) 肝臓内脂肪沈着程度の推定式

重回帰式は、増減法による説明変数の選択により、決定係数（式の精度）が 0.5 以上で選択された説明変数の各偏回帰係数が有意かつ目的変数との単相関と偏相関の正負符号が一致し、多重共線性が認められない場合に有用な推定式が得られたものとした。また、組織画像解析の実測値と平方根それぞれで有用な推定式が得られた場合、決定係数の高い方を選択した。

1 週時の血液成分と乳中脂肪酸組成の両方を説明変数とした場合、脂肪滴の総面積、被覆率、個数（平方根）、大きさ（平方根）に対する有用な推定式が得られた（表 3-1）。選択された説明変数は血液成分からはヘマトクリット (Ht)、アルブミン(Alb)、無機リン(iP)、中性脂肪(TG)、AST、インスリン様成長因子 1 (IGF-

1)で、乳中脂肪酸組成からはミリストレイン酸 (C14:1)、パルミチン酸(C16:0)、共役リノール酸(CLA)、アラキン酸(C20:0)、アラキドン酸 (C20:4n6)であった。

この表から例として脂肪滴の総面積に対する推定式は以下のようになる。

$$\begin{aligned} \text{総面積 (pixel)} = & 2055 \times \text{AST(IU/L)} + \\ & 13170 \times \text{IGF-1(mg/dL)} + \\ & 2093508 \times \text{C14 :1(\%)} - 106792 \times \text{C16:0(\%)} - 220 \\ & 9822 \times \text{CLA(\%)} + 2771827 \end{aligned}$$

1 週時の血液成分を説明変数とした場合、脂肪滴の総面積、被覆率（平方根）、個数（平方根）、大きさに対する有用な推定式が得られた（表 3-2）。選択された説明変数は Alb、血清総蛋白質(TP)、尿素窒素(BUN)、リン脂質(PL)、BHB、TG、AST および IGF-1 であった。

1 週時の乳中脂肪酸組成を説明変数とした場合、脂肪滴の総面積、被覆率（平方根）、大きさ（平方根）に対する有用な推定式が得られた（表 3-3）。選択された説明変数は C14:1、

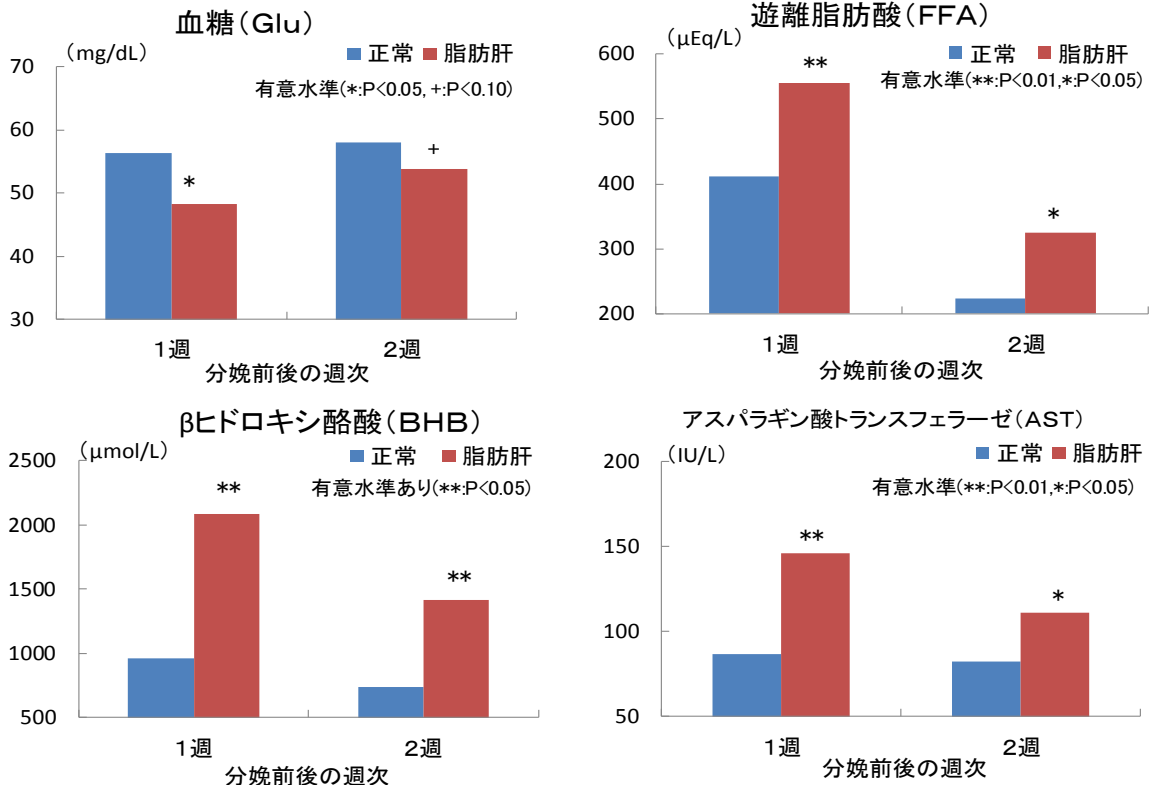


図3. 正常群と脂肪肝群で差のあった血液成分

C16:0、CLA および C20:4n6 であった。

2 週時の血液成分を説明変数とした場合、被覆率（平方根）と個数（平方根）に対する有用な推定式が得られた（表 3-4）。選択された説明変数は Alb、BUN、総コレステロール(Tcho)および AST であった。

2 週時の乳中脂肪酸組成を説明変数とした場合、被覆率と個数（平方根）に対する有用な推定式が得られた（表 3-5）。選択された説明変数は C6:0、C16:1 および C20:4n6 であった。

推定式の精度は 1 週時の血液成分と乳中脂肪酸組成の両方を説明変数とした場合が最も高く、次いで、1 週時の血液成分のみ、1 週時の乳中脂肪酸組成のみ、2 週時の乳中脂肪酸組成のみ、2 週時の血液成分のみの順に低下した。

4 今後の展望

今回紹介した脂肪肝の画像解析技術や推定式を用いて、現在開発中の新たな添加資材による脂肪肝予防技術の効果検証を行っていく予定である。

また、乳中脂肪酸組成の分析は従来法のガスクロマトグラフィーでは膨大な手間と時間を要するため、今後酪農現場での活用のため、乳成分分析装置を用いて一般乳成分と同時に把握できるよう分析体制を構築していく予定である。

表3-1. 分娩後1週時の血液成分と乳中脂肪酸組成による脂肪肝画像解析値の推定式

画像解析値	決定係数	Ht	Alb	iP	TG	AST	IGF-1	C14:1	C16:0	CLA	C20:0	C20:4n6	定数項	
総面積(pixel)	0.784	RC				2055	13170	2093508	-106792	-2209822			2771827	
		SRC				0.409	0.244	0.473	-0.419	-0.248				
被覆率(%)	0.737	RC	10.41			0.07		68.95	-3.40				39.66	
		SRC	0.208			0.439		0.493	-0.422					
個数(平方根)	0.704	RC	11.97	2.59	-2.28						-141.66	-66.25	-5.19	
		SRC	0.396	0.364	-0.328						-0.339			
大きさ(平方根)	0.766	RC	0.68			-1.16	0.02	26.28	-1.06				-59.30	24.63
		SRC	0.196			-0.201	0.234	0.378	-0.265				-0.368	

RC:偏回帰係数, SRC:標準回帰係数

表3-2. 分娩後1週時の血液成分による脂肪肝画像解析値の推定式

画像解析値	決定係数	Alb	TP	BUN	PL	BHB	TG	AST	IGF-1	定数項
総面積(pixel)	0.628	RC		57005	-11379			3259		81002
		SRC			0.296	-0.373			0.649	
被覆率(平方根)	0.635	RC	2.011	0.217	-0.052			0.013		-5.398
		SRC	0.298	0.264	-0.402			0.614		
個数(平方根)	0.625	RC	7.103			-0.166	0.004	-2.100		-0.249
		SRC	0.235			-0.284	0.424	-0.299		
大きさ(pixel)	0.679	RC		-140.18		-6.19		1.70	8.60	1179.80
		SRC		-0.261		-0.366		0.610	0.288	

RC:偏回帰係数, SRC:標準回帰係数

表3-3. 分娩後1週時の乳中脂肪酸組成による脂肪肝画像解析値の推定式

画像解析値	決定係数		C14:1	C16:0	CLA	C20:4n6	定数項
総面積(pixel)	0.614	RC	2779788	-128771	-2331375		3721343
		SRC	0.628	-0.505	-0.262		
被覆率(平方根)	0.608	RC	7.745	-0.484		-17.727	16.819
		SRC	0.411	-0.445		-0.406	
大きさ(平方根)	0.651	RC	29.45	-1.29		-82.61	51.85
		SRC	0.423	-0.323		-0.513	

RC:偏回帰係数, SRC:標準回帰係数

表3-4. 分娩後2週時の血液成分による脂肪肝画像解析値の推定式

画像解析値	決定係数		Alb	BUN	Tcho	AST	定数項
被覆率(平方根)	0.507	RC	2.449		-0.045	0.028	-6.101
		SRC	0.379		-0.399	0.552	
個数(平方根)	0.577	RC	15.60	-0.82	-0.16	0.07	-28.83
		SRC	0.539	-0.347	-0.316	0.320	

RC:偏回帰係数, SRC:標準回帰係数

表3-5. 分娩後2週時の乳中脂肪酸組成による脂肪肝画像解析値の推定式

画像解析値	決定係数		C6:0	C16:1	C20:4n6	定数項
被覆率(%)	0.529	RC		3.70	-51.75	3.26
		SRC		0.428	-0.484	
個数(平方根)	0.559	RC	-11.13		-80.35	37.32
		SRC	-0.457		-0.384	

RC:偏回帰係数, SRC:標準回帰係数

表 紙 写 真

カウバンク制度を活用して耕作放棄地の解消ため和牛放牧に取り組む。

畜産技術ひょうご 第 129 号

平成 30 年 2 月 28 日発行

編集・発行 公益社団法人兵庫県畜産協会

〒650-0024

神戸市中央区海岸通 1 番地 農業会館 7 階

TEL (078) 381-9362・FAX (078) 331-7744

本紙は、インターネットを利用して配布しております。またメールによるファイル送信も受付しております。

事務局: (社) 兵庫県畜産協会 URL <http://hyougo.lin.gr.jp> E-mail info@hyougo.lin.gr.jp
