乳牛の潜在性ケトosisにおける β ヒドロキシ酪酸と 血糖、遊離脂肪酸およびASTとの関係

佐藤 繁 河野充彦¹⁾ 小野秀弥²⁾

NOSAI宮城事業部、¹⁾県南家畜診療センター、²⁾家畜診療研修所

Relation between blood β -hydroxybutyric acid and glucose, non-esterified fatty acid and aspartate aminotransferase in dairy cows with subclinical ketosis

S. Sato, M. Kohno¹⁾, H. Ono²⁾

The Operation Division, ¹⁾Ken-nan Livestock Animal Hospital and
²⁾Training Center for Livestock Medicine,
Miyagi Prefectural Federated Agricultural Mutual Aid Association

要 約 乳牛の潜在性ケトosisは分娩後の負のエネンルギーバランス (NEB)、臨床型ケトosisや第四胃変位の発生と関連があるが、潜在性ケトosisの発生状況や発生要因、ケトン体以外の血中成分については不明な点が多い。乳牛の潜在性ケトosisの病態を明らかにする目的で、潜在性ケトosis牛 (52頭)、臨床型ケトosis牛 (23頭) および対照牛 (75頭) の血中成分を比較検討した。潜在性ケトosis牛では対照牛に比べて血糖 (GLU) が低値、 β ヒドロキシ酪酸 (BHB)、遊離脂肪酸 (NEFA)、トリグリセライド (TG)、 β リポタンパク、総タンパク、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) および γ グルタミルトランスペプチダーゼが高値を、また、臨床型ケトosis牛に比べてGLU、HDLコレステロール、総コレステロールおよびリン脂質が高値、BHB、NEFA、TGおよびASTが低値を示した。さらに、潜在性ケトosis牛ではBHBとNEFA、BHBやNEFAとASTとの間に正の相関、BHBとGLU、GLUとASTとの間に負の相関が認められた。これらのことから、潜在性ケトosisはNEBと密接な関連があり、潜在性ケトosis牛は対照牛に比べてNEBに起因した体脂肪動員や肝機能低下の程度が重度で、臨床型ケトosis牛に比べてNEBの程度や持続時間および肝機能低下が軽度であることが示唆された。

——キーワード: β ヒドロキシ酪酸、臨床型ケトosis、乳牛、負のエネンルギーバランス (NEB)、
潜在性ケトosis

.....家畜臨床誌 28(1):7-13, 2005

Received 26 January 2005 / Accepted 7 April 2005

*Correspondence to S.Sato, Miyagi Prefectural Federated Agricultural Mutual Aid Association, 1-8-10 Kamishugi, Aoba-ku, Sendai 980-0011, Japan. (〒980-0011 宮城県仙台市青葉区上杉1-8-10)

ABSTRACT Subclinical ketosis in dairy cattle is associated with postpartum negative energy balance (NEB) and displaced abomasum, and it may develop into clinical ketosis. However, its incidence, causative factors and blood profiles other than ketone bodies are not well defined. We examined various blood parameters in 150 dairy cattle (52 with subclinical ketosis, 23 with clinical ketosis and 75 in good condition) in order to understand the pathophysiology of subclinical ketosis. Cows with subclinical ketosis showed lower blood glucose (GLU) and higher β -hydroxybutyric acid (BHB), non-esterified fatty acid (NEFA), triglyceride (TG), β -lipoprotein, total protein, aspartate aminotransferase (AST) and γ -Glutamyl transferase (GGT) compared to healthy cows. In contrast, they showed higher GLU, HDL-cholesterol, total cholesterol and phospholipids and lower BHB, NEFA, TG and AST compared to cows with clinical ketosis. In cows with subclinical ketosis, BHB was positively correlated with NEFA and AST, while a negative correlation was found between BHB and GLU and between GLU and AST. These data suggest that cows with subclinical ketosis have extensive mobilization of body fat and decreased liver function due to NEB compared to healthy cows, although their duration of NEB is shorter and NEB and liver dysfunction are milder than those in cows with clinical ketosis.

—Key Words : β -hydroxybutyric acid, clinical ketosis, dairy cows, negative energy balance (NEB), subclinical ketosis.

.....Jpn. J. Vet. Clinics 28(1):7-13, 2005

緒 言

乳牛の潜在性ケトosisは分娩後の負のエネルギーバランス (NEB) のためにケトン体が血中に増加しているにもかかわらず、明らかな臨床症状が認められない状態 [1] である。潜在性ケトosisの発生には牛群、産歴、ボディコンディション、遺伝および季節などの要因が関与 [5, 6] しており、潜在性ケトosisは臨床型ケトosisのほか第四胃変位や子宮炎の発生とも関連 [5-7, 18] がある。最近、乳牛の改良や栄養管理技術が進歩し、泌乳量が飛躍的に増加した結果、潜在性ケトosisなどのNEB関連疾病が多発し、これら疾病は生産阻害要因として重視されている [6]。すでに著者ら [16, 19] は、臨床型ケトosis牛や健康牛ではNEB状態を示すものが多いことを明らかにした。しかし、潜在性ケトosisの発生状況や発生要因については不明な点が多く、ケトン体以外の血中成分を検討した報告 [3, 13] も少ない。

今回、乳牛の潜在性ケトosisの病態を明らかにする目的で、潜在性ケトosis牛、臨床型ケトosis牛および対照牛の血中成分、特に β ヒドロキシ酪酸 (BHB) と血糖 (GLU)、遊離脂肪酸 (NEFA) およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) との関係を検討した。

材料および方法

供試牛：供試牛は宮城県内の酪農家に飼養されていた分娩後2ヶ月以内のホルスタイン種経産乳牛である (表1)。いずれもタイストール繋留で飼料は分離給与が行われていた。潜在性ケトosis牛は畜主によって臨床的異常が認めなかったが、簡易試験紙法により尿ケトン体陽性を呈した14牛群の52頭である。臨床型ケトosis牛は畜主によって明らかな臨床症状が認められ、食欲の減退 (13頭) ないし廃絶 (10頭)、第一胃運動の低下 (10頭) ないし廃絶 (2頭) などを示した患畜で、尿ケトン体陽性を呈した19牛群の23頭である。なお、対照牛としては臨床的異常が認められず尿ケトン体陰性を呈した25牛群の75頭を用いた。

採血および血液生化学的検査：採血は血清分離用のブレイン採血管と血糖測定用のフッ化ナトリウム加採血管を用い、臨床型ケトosis牛では初診日の治療前に実施した。採取した血液は2時間以内に血清や血漿を分離し、 -20°C で凍結保存後に血中成分の測定に供した。血液生化学検査は自動分析装置 (ディメンションRxL, デイドベリング, 東京) を用いて、BHB、GLU、NEFA、総コレステロール (TCHO)、HDLコレステロール (HDL-CHO)、トリグリセライド (TG)、 β リポタンパク (β LIPO)、リン脂質 (PL)、尿素窒素 (BUN)、総タンパク (TP)、アルブミン (ALB)、ASTおよび γ グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT) を測定した。

表1. 供試牛の産歴、分娩後日数、乳量、ボディコンディションスコア(BCS)および尿ケトン体所見

	潜在性 ケトーシス牛 (n=52)	臨床型 ケトーシス牛 (n=23)	対照牛 (n=75)
産歴	2.4±1.1	2.2±1.2	2.4±1.5
分娩後日数	25±15	17±1.2	35±17
乳量 ¹⁾	31.0±9.7	N D	31.4±9.2
BCS	2.88±0.28	N D	2.77±0.28
尿ケトン体 ²⁾			
陰性 (-)	0 (0)	0 (0)	75 (100)
弱陽性 (+)	24 (46.2)	2 (8.7)	0 (0)
陽性 (++)	16 (30.8)	6 (26.1)	0 (0)
陽性 (+++)	12 (23.1)	15 (65.2)	0 (0)

¹⁾Kg/日、²⁾頭数 (頭数比)

図1. 潜在性ケトーシス牛(n=52)、臨床型ケトーシス(n=23)および対照牛(n=75)におけるβヒドロキシ酪酸、血糖および遊離脂肪酸値の分布

統計処理：データは潜在性ケトーシス牛、臨床型ケトーシス牛および対照牛別に、また、潜在性ケトーシス牛では尿ケトン体の陽性程度別に区分し、平均±標準偏差で表現した。平均値の有意性はStudentのt検定により、また、相関係数と有意性についてNEFAとASTはSpearman検定、他の項目はPearson検定により行った。

結果

潜在性ケトーシス牛では対照牛に比べてBHBとNEFAが高値、GLUが低値を示す症例が多く認められた(図1)。潜在性ケトーシス牛では対照牛に比べてGLUが低値、BHB、NEFA、TG、βLIPO、TP、ASTおよびGGTが高値を、また、臨床型ケトーシス牛に比べてGLU、HDL-CHO、TCHOおよびPLが高値、BHB、NEFA、TGおよびASTが低値を示した(表2)。潜在性ケトーシス牛において尿ケトン体強陽性牛では弱陽性牛に比べてGLUが低値、BHB、NEFAおよびASTが高値を示した(図2)。

一方、潜在性ケトーシス牛ではBHBとGLUとの間に負の相関、BHBとNEFA、TG、βLIPOおよびASTとの間に正の相関が認められた(表3)。また、潜在性および臨床型ケトーシス牛では、BHBとAST(0.350および0.517; $P<0.05$)、NEFAとAST(0.499および0.496; $P<0.01$ および $P<0.05$)との間に正の相関、GLUとAST(-0.307および-0.704; $P<0.05$ および $P<0.01$)との間に負の相関が認められた(図3)。

考察

今回、潜在性ケトーシス牛は尿ケトン体出現の有無によって対照牛と、また、臨床症状の有無によって臨床型ケトーシス牛と区分した。潜在性ケトーシス牛と臨床型ケトーシス牛の区分は畜主の稟告に基づいたため、畜主の観察能力によって異なると考えられた。潜在性ケトーシス牛では尿ケトン体強陽性牛のBHBが平均2.16mmol/Lと臨床型ケトーシス牛の平均2.64mmol/Lに近い高値を示したことから、臨床型ケトーシス牛の一部が潜在性ケトーシス牛に区分された可能性がある。

表2. 潜在性ケトosis牛、臨床型ケトosis牛および対照牛における血中成分

項目	単位	潜在性 ケトosis牛 (n=52)	臨床型 ケトosis牛 (n=23)	対照牛 (n=75)
β ヒドロキシ酪酸	(mmol/L)	1.49 $\pm$ 0.83 ^{b,d)}	2.64 $\pm$ 1.10 ^{b)}	0.77 $\pm$ 0.46
血糖	(mg/dl)	51 $\pm$ 11 ^{b,d)}	43 $\pm$ 11 ^{b)}	64 $\pm$ 6
遊離脂肪酸	(μ Eq/L)	621 $\pm$ 325 ^{b,d)}	1183 $\pm$ 555 ^{b)}	306 $\pm$ 233
総コレステロール	(mg/dl)	165 $\pm$ 64 ^{d)}	124 $\pm$ 46 ^{b)}	174 $\pm$ 62
HDLコレステロール	(mg/dl)	152 $\pm$ 48 ^{d)}	102 $\pm$ 29 ^{b)}	144 $\pm$ 42
トリグリセライド	(mg/dl)	16.3 $\pm$ 7.7 ^{b,c)}	21.6 $\pm$ 7.7 ^{b)}	7.4 $\pm$ 3.0
β リポタンパク	(mg/dl)	9.4 $\pm$ 4.7 ^{b)}	8.9 $\pm$ 1.9 ^{b)}	4.0 $\pm$ 3.2
リン脂質	(mg/dl)	211 $\pm$ 77 ^{d)}	148 $\pm$ 52 ^{b)}	191 $\pm$ 61
尿素窒素	(mg/dl)	11.8 $\pm$ 4.3	11.0 $\pm$ 3.7	12.5 $\pm$ 4.9
総タンパク	(g/dl)	8.1 $\pm$ 0.7 ^{a)}	8.0 $\pm$ 1.0	7.8 $\pm$ 0.7
アルブミン	(g/dl)	3.9 $\pm$ 0.4	4.1 $\pm$ 0.4	4.0 $\pm$ 0.4
AST ¹⁾	(IU/L)	94 $\pm$ 34 ^{b,d)}	147 $\pm$ 69 ^{b)}	78 $\pm$ 22
GGT ²⁾	(IU/L)	28 $\pm$ 24 ^{b)}	27 $\pm$ 15 ^{b)}	20 $\pm$ 4

¹⁾ アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、²⁾ γ グルタミルトランスペプチダーゼ

^{a)} P<0.05、^{b)} P<0.01(対照牛との有意差)、^{c)} P<0.05、^{d)} P<0.01(臨床型ケトosis牛との有意差)

図2. 潜在性ケトosis牛における尿ケトン体別の β ヒドロキシ酪酸、血糖、遊離脂肪酸およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)値

*P<0.05、**P<0.01

潜在性ケトosisの発生率は牛群ごとに異なり、分娩後2ヵ月以内の乳牛では8.9~34% [5, 14]、また、潜在性ケトosisの持続期間は牛群の発生状況によって異なるが、約16日間 [5] と報告されている。今回、潜在性ケトosis全体の発生率は検討しなかったが、同一時期に調査した25牛群の92頭中17頭 (18.5%) で潜在性ケトosisが摘発された。潜在性ケトosisの発生状況や

持続期間については、さらに多くの牛群を対象として検討する必要がある。

潜在性ケトosisの発生は分娩後のNEBと関連がある [7, 10-13] と報告されているが、今回、潜在性ケトosis牛ではBHBとGLUおよびNEFAとの間に相関が認められたことから、潜在性ケトosisの原因となるBHBはNEBと密接な関連のあることが確認された。ま

表3. 潜在性ケトーシス牛、臨床型ケトーシス牛および対照牛におけるβヒドロキシ酪酸と他の血中成分との相関係数

項目 (βヒドロキシ酪酸 vs)	潜在性 ケトーシス牛 (n=52)	臨床型 ケトーシス牛 (n=23)	対照牛 (n=75)
血糖	-0.728 ^{b)}	-0.676 ^{b)}	-0.364 ^{b)}
遊離脂肪酸	0.394 ^{b)}	0.284	0.035
総コレステロール	0.066	-0.275	-0.034
HDLコレステロール	0.155	-0.276	-0.098
トリグリセライド	0.357 ^{b)}	-0.085	-0.312 ^{b)}
βリポタンパク	0.311 ^{a)}	-0.295	-0.040
リン脂質	0.081	-0.231	-0.158
尿素窒素	-0.052	0.142	0.046
総タンパク	0.088	0.168	-0.133
アルブミン	-0.059	-0.175	-0.031
AST ¹⁾	0.350 ^{a)}	0.517 ^{a)}	0.239 ^{a)}
GGT ²⁾	0.032	0.189	0.019

¹⁾ アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、²⁾ γ グルタミルトランスぺプチダーゼ

^{a)} P<0.05、^{b)} P<0.01

図3. 潜在性ケトーシス牛(n=52)、臨床型ケトーシス牛(n=23)および対照牛(n=75)におけるβヒドロキシ酪酸、血糖および遊離脂肪酸値とアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)値の関係。回帰直線と回帰式は潜在性ケトーシス牛

た、潜在性ケトーシス牛の尿ケトン体強陽性牛では弱陽性牛に比べてGLUが低値、BHBとNEFAが高値を示したことから、尿ケトン体の出現程度はNEBの程度を反映すると考えられた。

潜在性ケトーシス牛と健康牛の血中BHB濃度の境界値は1.0mmol/Lあるいは1.4mmol/L [15,20] で、分娩後2週に1.4mmol/L以上を示す乳牛では、その後の臨床型ケトーシス、第四胃変位および子宮炎発症のリスクが高い [5, 7, 18] と報告されている。今回、潜在性ケトーシス牛でBHBが1.0mmol/Lあるいは1.4mmol/L以上を示したものは、52頭中34頭 (65.4%) あるいは24頭 (45.8%) 認められたが、いずれも分娩後2ヵ月以内に疾病の発生がみられなかった。一方、GLUやNEFAの境界値については報告がみられないが、今回得られた対照牛と潜在性ケトーシス牛のBHBとAST、ASTとGLUおよびNEFAとの回帰直線から、潜在性ケトーシス牛と対照牛の境界値は、BHBが1.0 (1.4) mmol/L [15,20] の場合、GLUは57-58 (53-56) mg/dl、NEFAは263-475 (552-663) μEq/Lの範囲にあると推察された。しかし、潜在性ケトーシス牛におけるBHB、GLUおよびNEFAの境界値や疾病発生リスクについては、臨床症状を呈するBHB濃度の個体差の問題 [6] を含めて検討する必要がある。

肝臓はエネルギー産生のためにグルコースやケトン体の産生、血中からのNEFA取り込みなど重要な機能を果たしている [12]。すでに著者ら [16, 19] は、臨床的異常がみられない健康牛では分娩後のNEBと肝機能との間に密接な関連のあること、また、臨床型ケトーシス

の発生や治癒機転に肝機能低下が関与していることを認めた。今回、潜在性および臨床型ケトosis牛では、対照牛に比べてASTとGGTが高値を示し、また、ASTとBHB、GLUおよびNEFAとの間に相関が認められたことから、潜在性および臨床型ケトosisと肝機能との間に密接な関連のあることが示唆された。ASTやGGTは肝機能の一部を評価しているに過ぎないが、今回得られたASTとGGTの平均値から、潜在性ケトosis牛と対照牛の境界値は、ASTが78-94IU/L、GGTが20-27IU/L、また、潜在性ケトosis牛と臨床型ケトosis牛の境界値は、ASTが94-147IU/L、GGTが20-28IU/Lの範囲にあると推察された。潜在性ケトosis牛におけるASTやGGTの高値は、脂肪肝〔2, 9, 12, 13〕に起因したものと考えられるが、その実態については、さらに検討する必要がある。

今回、潜在性ケトosis牛では対照牛に比べてGLUが低値、BHB、NEFA、ASTおよびGGTが高値を示したことから、NEBに起因した体脂肪動員や肝機能低下の程度が重度であり、TG、 β LIPOおよびTPも高値を示したことから、脂質を含む濃厚飼料が過剰給与された可能性のあることが示唆された。また、潜在性ケトosis牛では臨床型ケトosis牛に比べて、BHBやNEFAが低値でGLUが高値を示したことから、NEBに起因したケトン体産生や体脂肪動員が軽度であり、ASTが低値、TCHO、HDL-CHOおよびPLが高値を示したことから、肝機能低下や摂取エネルギー低下が軽度であることが示唆された。このことから、潜在性ケトosis牛は臨床型ケトosis牛に比べて乾物摂取量低下や食欲低下によるNEBの程度や持続時間および肝機能低下が軽度であると考えられた。潜在性ケトosisの状態が持続すると食欲低下によってNEBがさらに悪化し、臨床型ケトosisに移行する可能性が高いと考えられるが、潜在性ケトosisの発生については、NEB自体よりもNEBに対する牛の代謝応答に問題がある〔12〕と指摘されている。潜在性ケトosisあるいはNEBと臨床型ケトosisの関係は、牛の代謝応答の問題を含めて今後の検討課題である。

潜在性ケトosisやNEBの予防では、脂肪組織からの過剰な脂肪動員を減少させるために移行期と泌乳初期のエネルギー摂取量を最大にすることが基本となる〔11〕。そのうえで、補助的な対策としてグリセロール〔4, 16〕やプロピレングリコール〔8, 17〕など各種薬剤の応用を検討することになる。泌乳量のコントロールによるNEB関連疾病の事故低減は、現実的な対策でないと考

えられることから、現在の泌乳量水準を維持した状態での潜在性ケトosisあるいはNEBに対する新たな予防対策の確立が期待される。

文 献

1. Andersson, L. (1988). Subclinical ketosis in dairy cows. *Vet. Clin. North. Am.* 4: 233-248.
2. Bertics, S.J., Grummer, R.R., Cadorniga-Valin, C. and Stoddard, E.E. (1992). Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J. Dairy Sci.* 75: 1914-1922.
3. Bobe, G., Young, J. W. and Beitz, D. C. (2004). Pathology, etiology, prevention and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 3105-3124.
4. DeFrain, J. M., Hippen, A. R., Kalscheur, K. F. and Jardon, P. W. (2004). Feeding glycerol to transition dairy cows: Effects on blood metabolites and lactation performance. *J. Dairy Sci.* 87: 4195-4206.
5. Dohoo, I. R. and Martin, S. W. (1984). Subclinical ketosis: Prevalence and associations with production and disease. *Can. J. Comp. Med.* 48: 1-5.
6. Duffield, T. (2000). Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet. Clin. North. Am.* 16: 231-253.
7. Duffield, T., Bagg, R., DesCoteaux, L., Bouchard, E., Brodeur, M., DuTremblay, D., Keefe, G., LeBlanc, S. and Dick, P. (2002). Prepartum monensin for the reduction of energy associated disease in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 397-405.
8. Formigoni, A., Cornil, M.-C., Prandi, A., Mordenti, A., Rossi, A., Portetelle, D. and Renaville, R.B. (1996). Effect of propylene glycol supplementation around parturition on milk yield, reproduction performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows. *J. Dairy Res.* 63: 11-24.
9. Gerloff, B.J. (2000). Dry cow management for the prevention of ketosis and fatty liver in dairy cows. *Vet. Clin. North. Am.* 16: 283-292.
10. Green, B.L., McBride, B.W., Sandals, D., Leslie, K.E., Bagg, R. and Dick, P. (1999). The impact of a monensin controlled-release capsule on subclinical ketosis in the transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 333-342.
11. Grummer, R.R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition

- dairy cow. J. Anim. Sci. 73: 2820-2833.
12. Herdt, T. H. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. Vet. Clin. North. Am. 16: 215-230.
 13. Katoh, N. (2002). Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. J. Vet. Med. Sci. 64: 293-307.
 14. Kauppinen, K. (1983). Correlation of whole blood concentrations of acetaacetate, β -hydroxybutyrate, glucose and milk yield. Acta Vet. Scand. 24: 337-348.
 15. Kelly, J. M. (1977). Changes in serum β -hydroxybutyrate concentrations in dairy cows kept under commercial farm conditions. Vet. Rec. 101: 499-502.
 16. 河野充彦, 村山勇雄, 澤向共子, 佐藤 繁 (2004). グリセロール経口投与による乳牛の血中成分の変化とケトーシスの治療効果. 日獣会誌 57:165-169.
 17. Pickett, M. M., Piepenbrink, M. S. and Overton, T. R. (2003). Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition and production of dairy cows during the periparturient period. J. Dairy Sci. 86: 2113-2121.
 18. Reist, M., Erdin, D. K., Euw, D., Tschumperlin, K. M., Leuenberger, H., Mammon, H. M., Kunzi, N. and Blum, J. W. (2003). Use of threshold serum and milk ketone concentrations to identify risk for ketosis and endometritis in high-yielding dairy cows. Am. J. Vet. Res. 64: 188-194.
 19. 佐藤 繁, 小野秀弥, 植松正巳, 畠山直一郎, 角田元成 (2003). 周産期疾患の発症乳牛における乾乳期の血中成分. 家畜臨床誌 26:1-26.
 20. Whitaker, D. A., Kelly, J. M. and Smith, E. J. (1983). Subclinical ketosis and serum beta-hydroxy-butyrate levels in dairy cattle. Br. Vet. J. 139: 462-463.