乳牛の分娩前後における臨床検査値の分析

I. 血 液 諸 成 分

吉田宮雄* 宋 文恭* 井上忠恕* 石川 恒*

(昭和 49 年 9 月 12 日受付)

Statistical Analysis on Laboratory Data Associated with Parturition in Dairy Cows

I. Blood Properties

MIYAO YOSHIDA, W. K. SUNG, T. INOUE and T. ISHIKAWA

(Faculty of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo 060)

SUMMARY

Ten blood properties—total protein, cholesterol, zinc turbidity test, leucine amino peptidase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, hemoglobin, hematocrit, and red and white blood cell counts—were measured in primiparous cows at three different stages near parturition, 260 days of pregnancy, 5 days and 35 days after parturition. The measurements for the former 7 properties were undertaken by a rapid blood analyzer-system. Experiments were performed in two seasons, winter (January to April) and summer (June to September), using 11 cows in each seasonal group.

The degree of inclusive variation of the 10 blood properties by discriminant analysis was low in winter

and very high in summer between 260 days of pregnancy and 5 days after parturition. It was high in both seasons between 5 days and 35 days after parturition. In addition, in comparison between the corresponding stages in the two seasonal groups, the degree was higher in summer than in winter. The discrepancy in the seasonal patterns seemed to occur by the differences in environmental factors, such as temperature and feeding conditions, in addition to stresses due to pregnancy, parturition and lactation. It was verified that discriminant analysis, one of the multiple variance analyses, was useful for an inclusive, objective judgment on data of multiple clinical examinations in dairy cows.

乳牛の血液中の無機イオン、蛋白質および糖などの含有量におよぼす飼養、泌乳^{3,6,7)}、分娩^{1,8,9)}ならびに疾病^{2,5,14)}の影響に関してはすでにいくつかの報告がなされている。しかし、相関のある数項目の血液検査値を用いて判断するとき、従来は2, 3項の検査値の相関分析、あるいは個々の検査値の正常範囲を求め、ほとんど経験的、直観的な総合判断をしている状態であった。これに対して、医学ではすでに1952年に鳥居ら¹⁵⁾は6種類の肝機能検査を用い、1次判別関数によって胆石による黄疸と胆道癌による黄疸の鑑別を試み、その後、計量診断学の進歩に伴い、いくつかの手法が診断に応用されている。獣医学においても馬の血清成分の年齢、妊期に伴う変化を判別関数法によって検討した成績が報告⁴⁾されている。今回、同一の乳牛について血液諸成分を測定し、妊娠末期、分娩直後、分娩後約1カ月の検査値を判別関数法により分析して3群の判別を試みたので報告する。

I. 材 料・方 法

1. 検査材料

検査は前期(1973年1～4月)、後期(1973年6～9

月)の2回に初妊乳牛(ホルスタイン種とその種系)それぞれ11頭を用いて行なった。すなわち、同一牛について妊娠260日、分娩後5日、35日(以下それぞれ第1, 2, 3群と略記する)の3回、頸静脈から採血して次項に示す10項目を測定した。なお、妊娠260日における供試牛の月齢の範囲は23～33月であって、いずれも臨床上異常を認められず、正常分娩したものである。

2. 検査方法

検査項目は10種類であって、その測定術式と以下に記述するのに用いた略語は括弧内に示したとおりである。すなわち、血清を材料とした総蛋白(biuret法, TPR), 総コレステロール(Zurkowski変法, CHL), 硫酸亜鉛混濁反応(Kunkel法, ZTT), アルカリ性フォスファターゼ(Kind-King渡辺変法, ALP), 乳酸脱水素酵素(INT法, LDH)の6種と、血液を材料としたヘモグロビン(cyanmethemoglobin法, HGL), ヘマトクリット(microhematocrit法, HTC), 赤血球数(Thoma-Zeiss法, RBC), 白血球数(Bürker-Türk法, WBC)の4種の計10種である。

3. 分析方法

検査値を正規型に近づけるため、それぞれの測定単位

* 北海道大学獣医学部(札幌市北区北18条西9丁目)

乳牛の分娩前後における臨床検査値の分析

による数値 (x) を次のように変換した後、推計学的分析を行なった (以下この値を変換値と記す)。

i) 10 変量：実施した全検査項目の変換値を用いて判別分析した結果、3 群の判別式は次に示すとおりである。

検査項目	測定単位	変換式
TPR	g/dl	$\sqrt{x}$
CHL	mg/dl	$\log(x-50)$
ZTT	Kunkel 単位	$\log x$
LAP	Goldbarg-Rutenburg 単位	$\log(x-0.75)/2$
ALP	King-Armstrong 単位	$\log x$
LDH	Wróblewski 単位	$\log x$
HGL	g/dl	$\sqrt{x}$
HTC	%	$\sin^{-1}\sqrt{x}$
RBC	$10^4/\text{mm}^3$	$\log x$
WBC	$10^2/\text{mm}^3$	$\log x$

- a) 3 群間の判別：前期、後期のそれぞれの変換値について 3 群の 1 次判別関数を求め、3 群の平均ベクトルの有意差を χ^2 検定したのち、誤判別の確率を求めた。
- b) 2 期間の判別：同一の群の前期と後期の変換値について 1 次判別関数を求め、平均ベクトルの有意差を F 検定した。
- 以上の計算はいずれも北海道大学大型計算機センターにおいて行なった。

前期

$$\begin{aligned} \text{第 1 群 } Y_{1.1} &= 1447.3x_1 - 367.6x_2 - 924.3x_3 \\ &\quad + 1590.7x_4 + 552.8x_5 + 987.9x_6 + 187.2x_7 \\ &\quad + 131.7x_8 + 5009.3x_9 + 403.3x_{10} - 9563.6 \\ \text{第 2 群 } Y_{1.2} &= 1463.0x_1 - 378.9x_2 - 932.1x_3 \\ &\quad + 1639.7x_4 + 544.0x_5 + 1001.1x_6 + 162.7x_7 \\ &\quad - 131.1x_8 + 5028.7x_9 + 414.7x_{10} - 9690.6 \\ \text{第 3 群 } Y_{1.3} &= 1474.5x_1 - 355.5x_2 - 941.9x_3 \\ &\quad + 1653.5x_4 + 516.6x_5 + 1027.1x_6 + 174.5x_7 \\ &\quad + 132.5x_8 + 5014.8x_9 + 403.5x_{10} - 974.40 \end{aligned}$$

後期

$$\begin{aligned} \text{第 1 群 } Y_{2.1} &= 885.6x_1 - 224.2x_2 - 74.0x_3 \\ &\quad + 4909.3x_4 + 228.1x_5 + 575.6x_6 + 564.2x_7 \\ &\quad - 298.4x_8 + 14199.5x_9 + 2126.7x_{10} - 23760.0 \\ \text{第 2 群 } Y_{2.2} &= 910.6x_1 - 240.5x_2 - 60.4x_3 \\ &\quad + 4910.3x_4 + 183.1x_5 + 579.3x_6 + 518.9x_7 \\ &\quad - 295.4x_8 + 14345.7x_9 + 2144.5x_{10} - 24212.9 \\ \text{第 3 群 } Y_{2.3} &= 930.2x_1 + 224.5x_2 - 81.6x_3 \\ &\quad + 4908.4x_4 + 200.6x_5 + 556.9x_6 + 532.9x_7 \\ &\quad - 297.7x_8 + 14329.6x_9 + 2136.7x_{10} - 24106.2 \end{aligned}$$

II. 検査結果・分析結果

1. 検査結果

前期と後期にわけて、3 群における 11 例の検査値の範囲は付表に示すとおりである。いずれの検査項目についても範囲から判断するかぎり群間に差を認めない。

2. 分析結果

a) 3 群間の判別

ただし、 $x_1, x_2, \dots, x_{10}$ は分析方法の項で述べた検査項目順の変換値を、 Y はそれぞれの群の判別値を示す。すなわち、前期に得られた変換値を上記の前期の 3 つの判別式に代入したとき、最大値を示した群にその変換値が判別されることとなる。後期においても同様である。3 群の平均ベクトルの差の有意性を χ^2 検定した結果

表 検査値の範囲*

期	群	検 査 項 目									
		TPR	CHL	ZTT	LAP	ALP	LDH	HGL	HTC	RBC	WBC
前 期	<div><div>1</div><div>2</div><div>3</div></div>	g/dl	mg/dl	unit	unit	unit	unit	g/dl	%	10 ⁴ /mm ³	10 ² /mm ³
		5.64 ~7.48	79 ~169	2.7 ~9.9	35 ~53	4.4 ~9.7	1560 ~2270	11.7 ~13.9	30 ~37	579 ~771	42 ~90
		6.24 ~8.69	75 ~137	4.1 ~14.4	39 ~63	4.8 ~8.7	1690 ~2440	11.6 ~13.6	30 ~37	568 ~746	64 ~116
		6.47 ~9.56	129 ~218	3.2 ~19.8	49 ~65	4.7 ~7.6	1750 ~3760	10.1 ~13.0	26 ~35	469 ~711	56 ~94
		5.32 ~7.49	76 ~151	1.7 ~7.6	41 ~61	4.7 ~12.1	1630 ~2250	10.7 ~13.3	28 ~37	576 ~698	56 ~98
		6.48 ~8.08	62 ~118	2.9 ~9.9	43 ~60	5.1 ~9.3	2020 ~2900	10.5 ~14.2	31 ~38	623 ~782	62 ~98
後 期	<div><div>2</div><div>3</div></div>	6.83 ~8.91	85 ~206	3.3 ~13.2	44 ~65	3.8 ~7.9	1710 ~2320	10.0 ~14.0	28 ~40	559 ~779	54 ~98

注) 前期：1973年 1~4 月 後期：1973年 6~9 月 第 1 群：妊娠 260 日 第 2 群：分娩後 5 日
第 3 群：分娩後 35 日 * 前期、後期各 11 頭につき 2 回反復測定した値の範囲を示す。

果、前期、後期ともにその差は著しく有意と認められた ($P < 0.01$).

ii) 8 変量: 変換値の相関性を調べた結果, TPR vs ZTT, HGL vs HTC が前期、後期とも相関係数が大で、著しく有意と認められた ($P < 0.01$). これら 4 つの検査項目を取捨選択して 3 群の判別分析をしたところ、ZTT, HTC の 2 つを除いても判別効率に著しい低下を招かなかった (判別式は省略する).

iii) 誤判別の確率: 3 群について判別分析したとき、ある群に属するデータを他の 2 つの群のいずれかに属すると誤って判別する確率を求める。それには、2 群間の判別効率の平方根 (D_{12} , D_{23} , D_{31}) を 3 辺とする三角形を描き、各辺の垂直二等分線を境界とする平面部分を求めればよい。10, 8 変量により判別したときの誤判別の確率は付図に示すとおりで、前期に比べて後期の方の確率が大きく増加している。

付図 3 群間誤判別の確率

注) P_{1-23} : G_1 (第 1 回目採取材料) を G_2 (第 2 回目) または G_3 (第 3 回目) と誤る確率を示す

b) 2 期間の判別

i) 10 変量: 第 1, 2, 3 群をそれぞれについて前期と後期を判別する式と判別限界値 (Z) はつぎに示すとおりである。

$$\begin{aligned} \text{第 1 群 } Y_1 &= 1.83x_1 - 1.02x_2 + 0.12x_3 - 7.16x_4 \\ &\quad - 0.96x_5 - 2.74x_6 + 5.79x_7 - 0.31x_8 + 2.51x_9 \\ &\quad + 1.41x_{10} \\ Z_1 &= 3.33 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{第 2 群 } Y_2 &= -0.36x_1 + 0.42x_2 + 0.16x_3 - 2.75x_4 \\ &\quad + 0.59x_5 - 0.02x_6 + 1.49x_7 - 0.12x_8 - 1.85x_9 \\ &\quad + 1.54x_{10} \end{aligned}$$

$$Z_2 = -0.35$$

$$\begin{aligned} \text{第 3 群 } Y_3 &= -0.44x_1 + 1.04x_2 - 0.31x_3 - 3.81x_4 \\ &\quad + 0.39x_5 + 1.33x_6 + 2.82x_7 - 0.26x_8 - 2.38x_9 \\ &\quad + 0.58x_{10} \\ Z_3 &= -1.68 \end{aligned}$$

ii) 8 変量: ZTT (x_8), HTC (x_9) の 2 検査項目を除いた 8 変量について、同様に判別する式と判別限界値を求めた結果はつぎに示すとおりである。

$$\begin{aligned} \text{第 1 群 } Y_1' &= -0.87x_1 + 0.69x_2 - 6.05x_4 - 0.91x_5 \\ &\quad - 2.90x_6 + 2.37x_7 - 2.42x_9 + 0.71x_{10} \\ Z_1' &= -12.03 \\ \text{第 2 群 } Y_2' &= -0.14x_1 + 0.41x_2 - 2.79x_4 - 0.06x_5 \\ &\quad - 0.46x_6 + 0.60x_7 - 4.13x_9 + 1.86x_{10} \\ Z_2' &= -5.82 \\ \text{第 3 群 } Y_3' &= -0.62x_1 + 0.75x_2 - 3.25x_4 + 0.01x_5 \\ &\quad + 0.78x_6 + 0.41x_7 - 3.15x_9 + 0.52x_{10} \\ Z_3' &= -5.81 \end{aligned}$$

ただし、 $x_1, x_2, \dots, x_{10}$ の値は 3 群間の判別の場合と同じである。すなわち、10 変量 (8 変量) の前期と後期の第 1 群の変換値を Y_1 (Y_1') 式に代入したとき、その値が Z_1 (Z_1') より大ならば前期、小ならば後期と判別される。第 2, 3 群についても同様である。平均ベクトルの差の有意性を F 検定したところ、10 変量のときは第 1 群が 1% 以下の危険率で、また 8 変量のときは第 1, 2 群が 5% 以下の危険率で有意と認められた。

考 察

今回行なった判別分析は、乳牛の血液成分の変化を検討するのに今まで用いられていない。この方法を用いることにより、今まで個々の成分の変化について検討するのにとどまっていたのを、多くの成分について客観的、総合的に検討したという点で意味があると思われる。臨床検査項目の多様化、精密化が要求される一面、類症鑑別のため必要にして十分な検査項目の設定が望まれている。かかるときに、検査項目 (変量) を取捨選択して、判別効率と検査の能率化を計る判別分析の利用価値はきわめて高いものといえよう。

変換値について 3 群の判別分析を行なった結果では、10 変量と 8 変量のいずれにあってても前期、後期ともによく判別された。平均ベクトルの差の有意性を検定したところ、1% 以下の危険率でいずれも有意と認められたが、前期の χ^2 値より後期の χ^2 値の方が大であった。すなわち、後期 (6~9 月) における牛体への感作は前期 (1~4 月) におけるそれよりも大であった結果、血液成分の変動も著しくなって χ^2 値が大となったものと

考えられる。一般にホルスタイン種は耐寒性に優れ、耐暑性に劣るといわれていることから(岡本ら)^{10,11)}、暑さによる感作が分娩によって増大したものと考えられる。また、RBC, HTC, HGL などの環境温度、あるいは季節による変化に関する報告も多く(岡本ら)^{10,11)}、Youseff & Johnson¹⁰⁾, Olbrich et al.^{12,13)}、それらの生理的機序について検討が加えられている。しかし、個々の血液成分の変化を直接に臓器機能に対応させて考えることは、牛体に加わる感作について一面的な見方をする危険があることを否めない。その意味で今回の結果に示された季節による変化は感作に対する牛体の総合的反応を反映しているものと考えられる。

誤判別の確率は第1種の誤りの確率(α)であることから、一般にいわれている有意水準5%を採用すると、これを下廻るのはわずかである。3群の判別で最小のもので $P_{3,12}=0.04$ であって、前期の8変量にあっては $P_{2,31}=0.164$ という高い値もある。これは供試牛の個体差と、血液成分のみによって判別した結果と考えられる。今後、牛体を総合的に観察できる検査項目を選んで検討してみたい。

結 論

札幌市近郊に飼養されている初妊乳牛 22 頭を用いて、分娩前後3回(1回目:妊娠260日, 2回目:分娩後5日, 3回目:分娩後35日)前期(1~4月)と後期(6~9月)にわたり10項目の血液検査を行ない、その検査値について判別分析を用いて、検査時期の判別を試み、次の知見を得た。

1) 判別分析によって血液成分の総合的变化を検討したところ、妊娠末期から分娩、泌乳初期にかけての感作は前期(冬季)に小、後期(夏季)においては大である

ことが認められた。

2) 家畜の臨床検査においては多くの検査項目による計量診断の導入が予想され、その試みの一つとして判別分析を行なった。これは従来の個々の検査値から総合的な変化を推察する方法に比べて、判断の客観化という面で優れている。したがって今後の診断、予後判定などの応用が期待される。

材料採取に際してご配慮を賜ったサツラク農業協同組合生産課職員各位に感謝の意を表する。

文 献

- 1) 一条, 小西: 日獣会誌, 10, 562~566 (1957).
- 2) 飯塚, 二本柳, 西村: 同誌, 19, 610~611 (1966).
- 3) 飯塚, 野口, 常包, 杉浦, 岩田, 勝屋, 吉田: 獣畜新報, No. 268, 1325~1330 (1959).
- 4) 石川, 野田, 小池: 第76回日本獣医学学会口頭発表, 鹿児島 (1973).
- 5) KELLER, P., MARTIG, J., GERBER, H. and PAULI, B.: *Schweizer Arch. Tierheilk.*, 114, 157~166 (1972).
- 6) 岸, 八田, 工藤, 佐野, 谷口: 新得畜試研究報告, No. 3, 19~23 (1972).
- 7) 元井, 飯塚, 西村: 日獣会誌, 25, 663~668 (1972).
- 8) 村上: 岩手大農報, 5, 123~171 (1961).
- 9) 二本柳, 飯塚, 米村, 西村: 家畜繁殖誌, 13, 別輯, xxi~xxii (1967).
- 10) 岡本, 小山田, 小川, 大坪, 増満: 鹿大農学術報告, No. 5, 9~17 (1956).
- 11) 岡本, 小山田, 大坪: 鹿大農学術報告, No. 4, 16~27 (1955).
- 12) OLBRICH, S.E., MARTZ, F.A., TUMBLESon, M.E., JOHNSON, H.D. and HILDERBRAND, E.S.: *J. Anim. Sci.*, 33, 655~658 (1971).
- 13) OLBRICH, S.E., MARTZ, F.A., TUMBLESon, M.E., JOHNSON, H.D. and HILDERBRAND, E.S.: *Comp. Biochem. Physiol.*, 41A, 255~266 (1972).
- 14) 其田: 北海道しゃくなげ会会報, No. 8 別輯, 1~8 (1973).
- 15) 鳥居, 高橋, 柏木: 最新医学, 7, 138~152 (1952).
- 16) YOUSEFF, M. K. and JOHNSON, H.D.: *J. Dairy Sci.*, 48, 1074~1078 (1965).

<海外文献要録>

免疫不全を伴った持続性乳頭腫

J.R. DUNCAN, L.B. CORBEIL, D.H. DAVIS, R.D. SCHULTY and R.H. WHITLOCK, *Cornell vet.*, 65, 205~211 (1975).

細胞性免疫不全において、ウイルスまたは真菌感染が繰り返したり、腫瘍の発現も高頻度である。ウイルス性腫瘍である牛の乳頭腫は、無治療またはワクチン接種によって消退することがあるが、なかには種々治療しても予後が悪いものがある。本症例は1才齢の雄のアンガスで、頭頸部と肩部に多数の腫瘍がみられたもので、発症は4カ月齢のときであった。体重200kgで発育は十分でないが、一般所見はとくに異常はなかった。血液検査

では、白血球 20,000/cmm と増加し、好中球は62%であった。血清蛋白 6.4g で A/G は 0.5 であった。Mycobacterium tuberculosis と、Campylobacter (Vibrio) fetus との両者を含むワクチンを接種して、ツベルクリン反応と C. fetus 凝集反応を行なった。その結果、ツ反応は陰性であったが、C. fetus 抗体の上昇がみられた。また乳頭腫ウイルスに対する抗体価も上昇した。生検材料の組織所見から乳頭腫症であることが確認されたが、拒否反応を示唆するリンパ球の浸潤はみられなかった。免疫グロブリン値は正常であったが、牛白血球の PHA による H³ 摂取試験によって細胞性免疫能を検討した結果、ワクチン接種前の血清に反応阻止がみられた。また剖検では胸腺に異常がみられた。