肥育ホルモン剤移植去勢肥育牛における血清中ならびに組織中の Estradiol-17 β および Progesterone の残留性

水上敏昭* 河田啓一郎* 中尾敏彦* 角田修男*

(昭和 58 年 11 月 18 日受理)

Residual Levels of Estradiol-17 β and Progesterone in Serum
and Tissues of Steers Implanted with Anabolic Steroids
TOSHIAKI MIZUKAMI et al. (Department of Veterinary Obstetrics
and Gynecology, School of Veterinary Medicine, College of Dairying,
Rakuno Gakuen University, Ebetsu-shi, Hokkaido 069-01)

SUMMARY

Ten Holstein-Friesian steers 12-16 months old were implanted subcutaneously at the base of the ear with 20 mg of estradiol benzoate and 200 mg progesterone. They were slaughtered 1, 2, 3, 4 and 5 months after implantation, two at a time. The concentrations of these steroids in blood and tissues were measured by enzyme immunoassay. They serum level of estradiol-17 β increased, reaching a peak 2 months after implantation, and decreased thereafter to the basal level. No significant changes were observed in progesterone levels. The concentrations of estradiol-17 β in liver, kidney and muscle increased significantly 2-4 months after implantation, but not in any other tissue. The tissue concentrations of progesterone did not increase significantly.

The residual levels of estradiol-17 β and progesterone in all the tissues and blood were lower than the physiological levels in cows during estrus or the late stage of pregnancy. The recommended doses of estradiol benzoate and progesterone implanted caused no harmful residual levels of these steroids in blood or tissues for human consumption.

要 約

ホルスタイン種去勢肥育牛の耳翼皮下に estradiol benzoate 20mg と progesterone 200mg を含有する肥育ホルモン剤を移植し、5カ月間にわたり血清中と組織中の estradiol-17 β (E₂-17 β) および progesterone (P) の残留性を調べ、次の結果を得た。

血清中 E₂-17 β は移植後増加し、2カ月後に最高となったのち減少した。血清中 P は増加の傾向を示さなかった。組織中 E₂-17 β は肝臓で2カ月後、腎臓と筋肉で3カ月後、脂肪で4カ月後に最高となり以後減少した。組織中 P は増加の傾向を示さなかった。これらの値は雌牛における生理的濃度よりも低かった。

近年、肉用肥育牛の増体率および飼料効率を向上させる目的で肥育ホルモン剤が広く用いられている。この際投与されたホルモンの大部分は肝臓や腎臓で代謝あるいは抱合され活性のない形で糞または尿中に排泄されるが、一部は食用とされる組織に長期間残留する可能性がある。したがって、肥育牛の生産物を食用に供する場合、活性のあるホルモンが一定量以上残留していないことが確認されなければならない。肥育ホルモン剤の残留性についてはこれまでにいくつかの報告^{5,6)}があるが、長期

間にわたり血液中和組織中の残留性について継続的に詳細に追跡調査したものはほとんど見当たらない。そこで、著者らはホルスタイン種去勢肥育牛に肥育ホルモン剤を移植し、効果が持続するといわれている5カ月間にわたり血液中和組織中の濃度を enzyme immunoassay (EIA) により測定し、その残留性について検討した。

1. 材料および方法

1) 材料採取 (表1)

生後12~16カ月齢のホルスタイン種去勢肥育牛10頭

* 酪農学園大学酪農学部 (北海道江別市西野幌582)

表1 試験区分および材料採取時期

区分	頭数	血液採取時期	組織採取時期
A	2	移植前1回 移植後0.5カ月ごと計3回	移植後1カ月
B	2	移植前1回 移植後0.5カ月ごと計5回	移植後2カ月
C	2	移植前1回 移植後0.5カ月ごと計7回	移植後3カ月
D	2	移植前1回 移植後0.5カ月ごと計9回	移植後4カ月
E	2	移植前1回 移植後0.5カ月ごと計11回	移植後5カ月
対照	2	と殺時	と殺時

に対し, estradiol benzoate 20 mg と progesterone (P) 200mg を含有する肥育ホルモン剤を移植し, 0.5 カ月ごとに頸静脈または尾静脈より血液を採取し, 3 時間以内に遠心分離して得られた血清を -20°C に凍結保存した. また, 1 カ月ごとに2頭ずつと殺して肝臓, 腎臓, 筋肉, 第四胃, 小腸, 脂肪の各組織を約 500g ずつ採取し, -20°C に凍結保存した.

なお, 対照として同月齢の無処置ホルスタイン種去勢肥育牛2頭からと殺時に血清および上記各組織の材料を採取した. また, 発情中の雌牛および妊娠末期の雌牛各5頭の血清中 estradiol-17 β (E_2 -17 β) についても測定し, 供試牛と比較した.

2) ホルモン測定法

血清中 E_2 -17 β については TAMAMURA らの方法¹⁰⁾により, また血清中 P については NAKAO の方法⁶⁾によりともに EIA により測定した. 脂肪以外の組織は HENRICKS らの方法⁹⁾に基づいて, 蒸留水を加えてブレンダーと BRANSON の超音波処理機でホモジナイズし, E_2 -17 β はエチルエーテルで, P は石油エーテルでそれぞれ抽出・乾固後, Sephadex LH-20 カラムを用いクロマトグラフィーを行い, それぞれ血清と同様に EIA に供した. 脂肪の場合は HARWOOD らの方法²⁾を一部改良して, エチルエーテルを加えて BRANSON の超音波処理機を用いてホモジナイズし, エーテルを乾固後 80% メタノールで再溶解したのち石油エーテルで脱脂し, メタノールを蒸発乾固させた. E_2 -17 β についてはエチルエーテルで, P については石油エーテルで抽出・乾固後, 他の組織と同様に EIA により測定した.

2. 成績

1) 血清中 E_2 -17 β 濃度

血清中 E_2 -17 β 濃度は肥育ホルモン剤移植後 15 日目頃から上昇傾向を示し, 60 日目に 30 pg/ml とピークに達したのち徐々に減少して, 150 日目においては移植前の値まで減少した (図1).

この 60 日目にみられた E_2 -17 β の最高値は, 今回5

図1 肥育ホルモン剤移植後の血清中 estradiol-17 β 値の推移

図2 肥育ホルモン剤移植後60日目の発情期および妊娠末期の牛の血清中 estradiol-17 β 値の比較

図3 肥育ホルモン剤移植後の血清中 progesterone 値の推移

頭の発情牛について EIA で測定した値よりは高かったが, 妊娠末期の牛より低かった (図2).

2) 血清中 P 濃度

血清中 P 濃度については, E_2 -17 β のような上昇傾向はみられず 0.2~0.4 ng/ml の低値を推移した (図3).

3) 組織中 E_2 -17 β 含量

組織中 E_2 -17 β 含量は, 各組織のうち脂肪で最も高かった. 肝臓では移植2カ月後 (71 pg/g), 腎臓と筋肉で3カ月後 (81 pg/g および 110 pg/g), 脂肪で4カ月後 (185 pg/g) にそれぞれ最高値を示したあと減少する傾向がみられた. 第四胃と小腸についてはきわめて低く (7~16 pg/g および 8~25 pg/g), 対照例とはほとんど差がなかった (図4).

注) 各個体ごとの値を棒グラフで示し、平均値の推移を折れ線グラフで示した

図4 肥育ホルモ剤移植後の組織中 estradiol-17 β 値

注) 各個体ごとの値を棒グラフで示し、平均値の推移を折れ線グラフで示した

図5 肥育ホルモ剤移植後の組織中 progesterone 値

4) 組織中 P 含量

組織中P含量は、各組織のうち脂肪で最も高かったが、肝臓、腎臓、第四胃、小腸ではE₂-17 β のような増加はみられず、対照例との差も2倍以内であった。筋肉と脂肪では移植2カ月後から上昇し、5カ月後も高値(1.5ng/g および 7.4 ng/g) のままであった(図5)。

3. 考 察

牛の肥育ホルモ剤としては、estrogen, P, androgenあるいはこれらと類似した作用を有する合成ホルモ剤が単独またはいろいろな組み合わせで使用されている^{2,3,5,6)}。これらの製剤は、一般に食用に供されない耳翼

皮下に移植され、ホルモンの大部分は代謝・排泄されるが一部は食用とされる組織に残留することになる。今回著者らは肥育ホルモン剤を移植後5カ月間にわたり、血清中および種々の組織におけるその残留性について検討したところ、血清中 $E_2-17\beta$ については妊娠末期の牛における値よりも低く、また血清中Pについても黄体期の牛における値 (1ng/ml 以上)⁶⁾よりも低かった。

組織中 $E_2-17\beta$ については、移植5カ月後の値は対照例にくらべ肝臓で1.8倍、腎臓で4.4倍、筋肉で4.8倍、脂肪で1.1倍高かったが、その量は微量であり、飲用に供される分娩3週間後の乳汁中の濃度 (200pg/ml)⁷⁾よりも低いものであった。また組織中Pについては、移植5カ月後の対照例にくらべ筋肉で7.3倍、脂肪で2.6倍高かったが、黄体期の乳脂肪中の値 (400 ng/ml)¹⁾とくらべると著しく低かった。

以上のように、肥育ホルモン剤を移植した牛における血中および肝、腎、腸、脂肪中の $E_2-17\beta$ およびPの残留は5カ月経過後においても牛の生理的濃度以下であり、食品衛生上まったく問題がないものと考えられた。

稿を終わるにあたり、ステロイドのEIAについて基礎的な面でご指導をいただいた前帝國臓器製薬株式会社主任研究員の神戸川明博士、本学獣医衛生化学教室の湯浅

亮教授、ならびに実験材料採取にあたり便宜を与えられたデンカ製薬株式会社に深謝する。

文 献

- 1) GÜNZLER, O., RATTENBERGER, E., GÖRLACH, A., et al.: *Br. Vet. J.*, 135, 541~549 (1979).
- 2) HARWOOD, D. J., HEITZMAN, R. J. and JOUQUEY, A.: *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 3, 245~254 (1980).
- 3) HEITZMAN, R. J. and HARWOOD, D. J.: *Br. Vet. J.*, 133, 564~571 (1977).
- 4) HENRICKS, D. M. and TORRENCE, A. K.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 61, 1280~1283 (1978).
- 5) HOFFMANN, B.: *FAO/WHO Symposium on Use of Anabolic Agents in Animal Production.*, 181~191 (1976).
- 6) NAKAO, T.: *Acta Endocrinol.*, 93, 223~227 (1980).
- 7) NARENDHAN, R., HACKER, R. R., SMITH, V. G., et al.: *J. Dairy Sci.*, 62, 1069~1075 (1979).
- 8) REYNOLDS, I. P.: *Vet. Rec.*, 18, 367~369 (1980).
- 9) RUMSEY, T. S. and BEAUDRY, N.: *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 23, 405~411 (1979).
- 10) TAMAMURA, F., NAKAO, T., TSUNODA, N., et al.: *Steroids*, 39, 657~666 (1982).

公衆衛生

住肉孢子虫シストの新簡易直接検査法の検討と応用

斉藤守弘^{*1)} 鉢須桂一^{*2)} 岩崎一弥^{*1)} 中島 董^{*1)} 渡辺昭宣^{*1)} 守屋英樹^{*3)} 板垣 博^{*4)}

(昭和58年12月19日受理)

A New Simple Method for Detection of Bovine Sarcocystis Cysts

MORIHIRO SAITO (Meat Inspection Office, Prefecture of Saitama, Yono, Saitama 336) et al.

SUMMARY

A new detection method of bovine *Sarcocystis* cysts (sarcocysts) was devised. In it, a small piece (about 2×5×0.5cm in size) of cardiac muscle was cut out at right angles to the fibers and examined by a binocular dissecting microscope with illumination from above. Sarcocysts could be observed as minute whitish bodies. The new method was superior to the conventional one in the following points: Fresh sarcocysts could easily be removed from muscle with a dissecting needle. They could be used for morphological examination in order to identify the species and for experimental infection of final hosts, such as dogs.

The new method was applied to 104 healthy cattle slaughtered. It revealed that the incidence rate of sarcocysts increased with the advance in age, that it was 100% among cattle more than 5 years old, and that the larger the cyst, the larger the number of bradyzoites contained.

*1) 埼玉県食肉衛生検査センター (埼玉県与野市上落合 846-18)

*2) 埼玉県深谷保健所 (埼玉県深谷市田谷 11)

*3) 山梨県食肉衛生検査所 (山梨県東八代郡石和町唐柏 1028)

*4) 麻布大学獣医学部 (神奈川県相模原市淵野辺 1-17-71)