アルギニンおよびデキサメサゾン負荷後のケトosis 牛の血漿脂質と関連ホルモンの変動

木村容子^{*1)} 若松脩継^{*2)} 関根淳仁^{*2)} 元井霞子^{*3)} 本好茂一^{*4)}

(昭和 59 年 1 月 20 日受理)

Responses of Hormones Related to Glucose Metabolism and Lipid Components in
Cows Affected with Ketosis after Treatment with Arginine or Dexamethazone
YOHKO KIMURA (Institute of Animal Health, Prefecture of Gumma, Gumma 371-01) et al.

SUMMARY

Arginine treatment was performed on four cows with ketosis and two healthy cows. Other cows were treated with dexamethazone. Each cow received 320 g of arginine or 20 mg of dexamethazone into the jugular vein. After infusion, blood samples were collected 9-13 times from this vein to determine pancreatic insulin (IRI) and glucagon (IRG), and blood glucose and lipid components.

Low responses of IRG and IRI were observed on two of the four cows affected with ketosis. They were also observed in the healthy cows and the other two affected cows after having recovered from ketosis. One of the affected cows showed extremely high levels of IRG and IRI after arginine treatment. Response of IRI was later than a rise in glucose in the affected cows treated with dexamethazone, as compared with the healthy ones.

From the results mentioned above it seemed that ketosis might be related to hormonal disturbance in glucose metabolism.

要 約

搾乳牛に発生するケトosisの病態を内分泌面より検討する目的で、糖代謝に関与するホルモンの変動を調査した。

初診時に尿中ケトン体が(++)から(++)検出されたホルスタイン種搾乳牛を供試牛として、アルギニン塩酸塩 (Arg.) を4頭に、デキサメサゾン (Dex.) を2頭に負荷し、注入直後を中心に9~13回採血して経時的にホルモン、グルコース (Glu.) と血漿脂質成分の変動を測定し、健康対照牛の値と比較した。

Arg. 負荷後の病牛のホルモン応答は、インスリン (IRI) と膵グルカゴン (IRG) の上昇が著明でなかったタイプ2例、IRG と 11-OHCS が過剰応答を示したタイプ1例と健康牛に類似して負荷直後に IRI と IRG が著明に上昇したタイプ1例が認められた。前者2例についてケトosisが治癒した時点で Arg. を再度負荷したところ、健康牛と同様な応答パターンを示した。Dex. 負荷試験では、健康牛は Glu. が24時間目をピークとする変動を示し、Glu. の増加に伴って IRI の上昇が観察されたが、病牛は、健康牛と同様の Glu. の変動パターンを示したものの IRI の反応が遅れる傾向にあった。

以上の結果から、ケトosisは中間代謝過程における糖源物質の不足に加えて、糖代謝に関係あるホルモンの失調が関与しているものと推察された。

搾乳牛に発生するケトosisは典型的な production

disease の一種で、エネルギーの需要と供給の不均衡に由来するといわれている^{4,5,8,10,20}。ケトosisに関する研究^{6,7,19}や報告^{13,17,18}は数多く、現在までのところ乳牛の栄養とケトosisの発生の関連については明確にされている^{1-3,10}。しかし、ケトosisの適確な病態の分類法と治療法については不明な点が多く、さらに検討の余地がある。筆者らは、ケトosisの牛の糖代謝に関与す

*1) 群馬県家畜衛生研究所 (群馬県勢多郡富士見村小暮2416)

*2) 群馬県経済連邑楽牛乳処理場 (群馬県邑楽郡邑楽町赤堀151)

*3) 農林水産省家畜衛生試験場 (茨城県筑波郡谷田部町観音台3-1-1)

*4) 日本獣医畜産大学 (東京都武蔵野市境南町1-7-1)

るホルモンの変動を観察することによって、ケトosisの病態を内分泌面より検討し、これに基づいてより適切な治療法を開発するために、調査を行っている。

今回は、ケトosisの牛にアルギニンおよびデキサメサゾンを負荷し、糖質および脂質代謝に関連するホルモン、グルコースおよび血漿脂質成分の応答について検討したので、その概要を報告する。

1. 材料および方法

1) 供試牛と供試薬剤

供試牛は一般農家に飼養されていたホルスタイン搾乳牛で、1981年7月から1982年3月までの間に、初診時、食欲不振等の臨床症状のほかに、尿中ケトン体が(++)~(++) 検出されたものを用いた。アルギニン負荷試験は、アルギニン塩酸塩(以下、Arg. と略) 320gを4頭(K1~K4)に、デキサメサゾン負荷試験は、デキサメサゾン(以下、Dex. と略) 20mgをリンゲル液 500ml

に溶解したものを1頭(K5)に、Dex. 20mgをプロピオン酸ソーダ、ソルビット等を含む製剤プロチオン 500mlに溶解したものを1頭(K6)にそれぞれ頸静脈から負荷した。Arg. 負荷試験の対照として2頭の健康牛(C1, C2)に、Dex. 負荷試験(K6)の対照として1頭(C4)にそれぞれ試験牛と同様の薬剤を投与し、K5の対照1頭(C3)にはリンゲル液 500mlのみを投与した(表1)。各試験区の採材時間は表2に示したとおりで、負荷直前、負荷後10分、20分、30分、60分、90分、120分の注入直後を中心に9~13回採材を行った。また、K1およびK2には、ケトosisが完全に治癒した分娩後3カ月目に再度 Arg. 負荷試験を行った。

2) 検査項目と方法

インスリン(以下、IRIと略)と膵グルカゴン(以下、IRGと略)はラジオイムノアッセイ・チャコール法、ハイドロコーチゾン(以下、11-OHCSと略)は蛍光法による倉田氏変法で測定した。グルコース(以下、Glu.と

表1 供試牛と供試薬剤

供試牛 No.	最終分娩月日 (産次)	尿ケトン体	供試薬剤 (負荷量)
C 1	1981. 5. 29 (初産)	—	アルギニン塩酸塩 (320g)
C 2	1982. 1. 10 (3産)	—	" (")
K 1*	1981. 6. 17 (4産)	+++	" (")
K 2*	1981. 6. 12 (初産)	++	" (")
K 3	1982. 3. 9 (3産)	+++	" (")
K 4	1982. 2. 12 (4産)	++	" (")
C 3	1982. 1. 2 (2産)	—	リンゲル液 (500ml)
K 5	1982. 1. 16 (3産)	+++	デキサメサゾン (20mg)+リンゲル液 (500ml)
C 4	1982. 2. 10 (4産)	—	" (")+プロチオン (")
K 6	1982. 2. 28 (3産)	+++	" (")+ " (")

注) *: K1, K2 はケトosisが完全に治癒した分娩後3カ月目にアルギニン負荷試験を再度実施した

表2 試験区分と採材時間

試 験 区 分	供 試 牛	採 材 回 数												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
アルギニン負荷試験	C1, C2, K1, K2, K3, K4	負荷直前	負荷後10分	20分	30分	60分	90分	120分	360分	24時間				
デキサメサゾン負荷試験 (デキサメサゾン+ リンゲル液投与区)	C3*, C5	負荷直前	負荷後10分	20分	30分	60分	90分	120分	360分	24時間				
デキサメサゾン負荷試験 (デキサメサゾン+ プロチオン投与区)	C4, K6	負荷直前	負荷後10分	20分	30分	60分	90分	120分	360分	12時間	24時間	48時間	72時間	96時間

注) *: C3 はリンゲル液のみ投与

略), 総コレステロール(以下, T-chol. と略), HDL-コレステロール(以下, HDL-chol. と略)は酵素法, 遊離脂肪酸(以下, NEFA と略)は ACS-POP 法, 中性脂肪(以下, TG と略)は酵素法で測定し, アセト酢酸(以下, Acac. と略)および β -ヒドロキシ酪酸(以下, β -OHBA と略)は簡易分別定量法で測定した。

2. 成 績

1) 健康牛およびケトosis牛に対するアルギニン負荷試験

(1) 健康牛のホルモンと血液成分の変動パターン: C1およびC2の Arg. 投与後の血中 IRG, IRI および Glu. は3成分とも負荷後10分ないし30分をピークに急激な上昇を示し, その後減少して IRG と IRI は90分から120分にかけて負荷前値にもどった。Glu. も漸減し, C1は90分, C2は120分でそれぞれ最低値(C1は50.1mg/dl, C2は38.1mg/dl)を示したが, 24時間目には負荷前値まで回復した。C1の11-OHCSは負荷直後, 他のホルモンと同様に一過性の上昇がみられたが, C2では著変は認められなかった(図1)。

健康牛の血漿脂質成分は, いずれも Arg. 注入直後に一過性の減少が認められた(図2)。

(2) ケトosis牛のホルモンと血液成分の変動パターン: 分娩後10~37日の間に供試した K1~K4

図1 健康牛, ケトosis治療後のアルギニン負荷によるグルコースとホルモンの応答

図2 健康牛, ケトosis治療後のアルギニン負荷による血漿脂質の応答

に対する Arg. 負荷後のホルモンと Glu. の応答を図3に示した。K1 および K2 は、負荷直後の血中 IRI の値がきわめて低く、血中 IRI と Glu. は上昇したものの、健康牛に比較するとその値は低かった。両者の Glu. の最低値 (K1 は負荷後 360 分, K2 は 120 分) は K1 32.7 mg/dl, K2 39.3 mg/dl であったが、健康牛のように負荷前値以下には減少しなかった。K3 は Arg. 負荷後、血中 IRI と 11-OHCS が著しく上昇し、IRI は 20 分と 60 分に 2 峰性のピークを有する応答が認められ、11-OHCS は負荷直後から 360 分まできわめて高い値を維持した。K3 は負荷直後、血中 Glu. の増加がほとんど認められず、他の 3 症例とは異なって、負荷後 24 時間目に負荷前値 (25.3 mg/dl) の 2 倍以上の値 (57.4 mg/dl) になった。血中 IRI は負荷前から 24 時間目までほとんど変動しなかった。K4 の Arg. 負荷による血中 IRI, IRI および Glu. の応答は、健康牛のパターンに類似していた。

ケートーシス牛に対する Arg. 負荷後の血漿脂質成分は、健康牛のような一定の変動パターンがみられず、かつ個体による変動が著しかった。とくに血中 IRI と 11-OHCS が著明に上昇した K3 の NEFA は、負荷直後から急激に増加した。また、Acac. は負荷直後に一過性の減少が認められたものの、その後は顕著な増加を示した。β-OHBA は負荷直後より異常な高値を示し、6 時間後までその値を維持し

図3 ケトーシス牛のアルギニン負荷によるグルコースとホルモンの応答

図4 ケトーシス牛のアルギニン負荷による血漿脂質の応答

た。しかし、Glu. が負荷前値の2倍以上にまで上昇した24時間後にはAcac., β -OHBAとも負荷前値の約1/2の濃度に低下した(図4)。

(3) ケトーシス治癒後のホルモンと血液成分の変動パターン：ケトーシスが治癒した後のK1およびK2に、再度Arg.を負荷したところ、各成分の変動カーブは治癒前と異なり健康牛の変動パターンに近くなり、とくに治療前に応答がきわめて低かったIRGは上昇した(図1)。

ケトーシス治癒後の血漿脂質成分ではK1とK2の間の個体差がほとんどなくなり、健康牛のパターンと同様にArg.負荷直後、いずれの成分においても一過性の減少が認められた(図2)。K1, K2とも、治癒後のArg.に対する応答パターンを健康牛と比較する意味で図1および図2に示した。

(4) アルギニン負荷時の膝ゲルガゴン/インスリン比：Arg.負荷時の健康牛のIRG/IRI比は74~2,000の範囲にあった。IRGの応答が低かったK1とK2の比は0.13~156の範囲にあり、健康牛に比較するとその値は低く、また、IRIが無応答であったK3では40~38,000の範囲できわめて大きな変動を示した。比較的健康牛に近いパターンを示したK4の比は、20~1,200の範囲で

あった。Arg.負荷時のIRG/IRI比とGlu.の相関は-0.320で、 β -OHBAとの相関は0.771であった。

2) 健康牛およびケトーシス牛に対するデキサメサゾン負荷試験

(1) 健康牛のホルモンと血液成分の変動：Dex.負荷試験の対照として用いたC3にはリンゲル液のみを投与したが、この時のIRG, IRIおよびGlu.はほぼプラトーな値で推移し、11-OHCSは投与直後に一過性の上昇

図5 ケトーシス牛のデキサメサゾン負荷によるグルコースとホルモンの応答(1)

図6 ケトーシス牛のデキサメサゾン負荷による血漿脂質の応答(1)

を示した (図5)。

C3 の血漿脂質成分の変動は図6に示したとおり, T-chol. と TG に各々一過性の減少と増加が認められた。

同一薬剤を投与したK6の対照のC4は, Glu. が Dex. 負荷後20分と24時間に2峰性のピークを示し, 負荷直後の Glu. の増加に一致して IRI の上昇が認められた。IRI は60分には負荷前値にもどったが, Glu. の2回目の増加に伴って120分後から再び上昇を示し, 12時間目にピークに達してから漸次減少し, 72時間目に負荷前値にもどった。C4のIRGは, Glu. の増加に一致してわずかな上昇がみられた (図7)。

C4 の血漿脂質成分では, TG と β -OHBA が Glu. の2回目のピークと同一時期に一過性の増加が認められた (図8)。

(2) ケトシス牛のホルモンと血液成分の変動: Dex. 負荷によるK5のIRG, IRI はほとんど変動がなく, 11-OHCS は負荷後2峰性の上昇を示した。また, Glu. は, Dex. 負荷後24時間目に負荷前値 (26.0 mg/dl) の3倍にも達する顕著な増加 (73.4 mg/dl) が認められた (図5)。

K5 の血漿脂質成分は, NEFA,

Acac. および β -OHBA において Dex. 投与後一過性または持続的な上昇がみられ, Arg. 負荷時のK3の変動パターンに類似していた (図6)。

K6 では, Dex. 投与後 Glu. が C4 と同一パターンで変動した。しかし, IRI は負荷直後の Glu. の上昇に伴う応答は認められなかったが, 24時間後の Glu. の増加に対する IRI の応答は48時間後にみられた。K6のIRGは, 負荷直前から負荷後96時間までほとんど変動がなかった (図7)。

図7 ケトシス牛のデキサメサゾン負荷によるグルコースとホルモンの応答(2)

図8 ケトシス牛のデキサメサゾン負荷による血漿脂質の応答(2)

K6の血漿脂質成分は、TGがC4と同様な変動をし、NEFAは負荷後20分および120分に2峰性の上昇を示した。 β -OHBAは12時間後に一過性の上昇を示したが、96時間後には負荷前値の60%にまで減少した。この時点で、尿中ケトン体はほとんど検出されなくなった(図8)。

3. 考 察

近年、ケトosisの牛に対する内分泌学的研究は、グルコース負荷時のインスリンの動態を中心に盛んに行われ、グルコース負荷後の応答パターンは健康牛と異なることが示唆されている^{11,12,14,19,25}。また、分娩前後におけるグルコースやホルモンの変動も観察^{4,22}されており、健康牛でも分娩を契機にこれらの成分が生理的な変動を示すことが確認されている。ヒトでは種々の内分泌失調の診断法の一つとして、アルギニン負荷によるホルモンやグルコースの応答パターンが利用されている²⁴。この方法が牛に応用できるかを試験する目的で、今回、ケトosisの牛について実施した。

ケトosis牛におけるArg.負荷による各成分の応答パターンは、元井¹⁵の脂肪壊死牛のArg.負荷時の応答パターンと同様に、健康牛とは異なるパターンを示すものが多かった。しかし、ケトosisの治療後では健康牛と類似のパターンが観察されたことから、小野¹⁹も示唆しているように、ケトosis牛では脾の α および β 細胞の機能に異常のあることが推察された。FELIG⁹、PARRILLA²¹は肝におけるケトン体産生や糖新生能は、IRIとIRGの絶対量によるのではなく、両者の比によると報告している。今回、Arg.負荷試験牛の血中IRG/IRI比を求めたところ、ケトosis牛は健康牛に比較してその変動幅が極端に偏っていた。IRG/IRI比とGlu.および β -OHBAとの相関を求めたところ、Glu.についてはPARRILLA²¹の成績と逆の結果が得られ、*in vivo*における糖新生は*in vitro*の実験よりもさらに複雑な機構が関与しているためではないかと考えられた。しかし、 β -OHBAは過去の報告²¹と同様にIRG/IRI比が高いほど産生能が高まる傾向にあることが確認され、ケトン体生成の抑制にはインスリンの鋭敏な反応が必要であることが推察された。

つぎに、ケトosisの一治療剤として用いられている、Dex.を利用した負荷試験において、血漿成分の応答パターンを観察したところ、Dex.のみの負荷では佐藤²³の報告と同様に、Glu.は負荷後24時間目に著しい増加を示したが、IRIの応答は認められなかった。また、Dex.と糖前駆体の同時負荷試験ではGlu.の増加に伴って健康牛ではIRIが鋭敏に反応を示したが、ケトosis牛ではIRIの応答が遅れ、これらの所見からもArg.負荷時の結果と同様に、脾分泌能になんらかの異常のあることが

推察された。

現在、Arg.負荷による異常パターンの分類とケトosisの病態との関連、および各病態に対する治療法の選択等について例数を重ねて検討中である。

文 献

- 1) AMSTUTZ, H. E.: *Bovine Medicine and Surgery*, 539~565, American Veterinary Publication Inc. (1980).
- 2) 安保佳一: 牛病学, 763~776, 近代出版, 東京 (1980).
- 3) 安保佳一: ふおーなす, 3, 1~7 (1983).
- 4) ATHANASIOU, V. N. and PHILLIPS, R. W.: *Amer. J. Vet. Res.*, 953~956 (1978).
- 5) ATHANASIOU, V. N. and PHILLIPS, R. W.: *Amer. J. Vet. Res.*, 957~960 (1978).
- 6) BAIRD, G. D., HEITZMAN, R. J., HIBBITT, K. G., et al.: *Br. Vet. J.*, 130, 214~220 (1974).
- 7) BAIRD, G. D., HEITZMAN, R. J., HIBBITT, K. G., et al.: *Br. Vet. J.*, 130, 318~326 (1974).
- 8) BAIRD, G. D.: *J. Dairy Sci.*, 65, 1~10 (1982).
- 9) FELIG, P., GUSBERG, R., HENDER, R., et al.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 147, 88~90 (1974).
- 10) FRONK, T. J., SCHULTS, L. H. and HARDIE, A. R.: *J. Dairy Sci.*, 63, 1080~1090 (1980).
- 11) HOVE, K. and HALSE, K.: *Acta. Vet. Scand.*, 19, 215~228 (1978).
- 12) HOVE, K.: *J. Dairy Sci.*, 61, 1407~1413 (1978).
- 13) 香本頤利, 鈴木慶信, 星野邦夫: 第93回日本獣医学会講演要旨集, 255 (1982).
- 14) 香本頤利, 鈴木慶信, 星野邦夫, ほか: 家畜診療, 240, 23~27 (1983).
- 15) 元井腹子, 新林恒一, 浅野元生, ほか: 第93回日本獣医学会講演要旨集, 237 (1982).
- 16) 本好茂一: 家畜診療, 228, 36~40 (1982).
- 17) 奥田 勝, 石井巖宏, 星野邦夫, ほか: 第93回日本獣医学会講演要旨集, 256 (1982).
- 18) 奥田 勝, 武石昌敬: 第95回日本獣医学会講演要旨集, 238 (1983).
- 19) 小野憲一郎: 栄養生理研究会報, 24, 184~196 (1980).
- 20) PAYNE, J. M.: *Metabolic Disease in Farm Animals*, 156~164, International Ideas Inc., Philadelphia (1977).
- 21) PARRILLA, R., GOODMAN, M. N. and JONES, C. J.: *Diabetes*, 23, 725~731 (1974).
- 22) 酒井健夫, 小倉喜八郎, 早川 徹, ほか: 第94回日本獣医学会講演要旨集, 190 (1982).
- 23) 佐藤七三郎: 日本獣医畜産大学紀要, 21, 154~178 (1972).
- 24) 島 健二: 内科, 37, 特集「臨床検査法の進歩—その意義と解釈—」, 1337~1344 (1976).
- 25) 矢部光広, 小倉喜八郎, 三好志郎, ほか: 家畜診療, 226, 7~11 (1982).