白筋症発生牛舎における同居牛の血清トコフェロール, セレンウム,血液グルタチオンペルオキシダーゼ活性

高橋英二^{*1)} 一条 茂^{*1)} 納 敏^{*1)}

星野順彦^{*1)} 山口啓郎^{*2)}

(平成元年 12 月 22 日受理)

Serum Tocopherol, Selenium Levels and Blood Glutathione Peroxidase
Activity of Calves and Cows Kept in Contaminated Barns
with White Muscle Disease

EIJI TAKAHASHI (Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine,
Obihiro, Hokkaido 080), SHIGERU ICHIJO, SATOSHI OSAME,
YUKIHIKO HOSHINO and KEIRO YAMAGUCHI

SAMMARY

Selenium (Se) and tocopherol (Toc) levels in the blood and foodstuffs were examined in 25 calves and 26 cows in nine barns kept together with calves suffering from white muscle disease.

Marked increase of serum CPK activity was observed in 64% of the calves and 27% of the cows. Deficient levels of serum Toc (under $70 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ in calves and $150 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ in cows) were recognized in 12% of the calves and 42% of the cows. All the calves and 92% of the cows showed deficient levels of serum Se, less than 35 ppb, and all the calves and cows showed low activity, less than 30 enzyme units in blood GSH-Px.

Close correlation ($r=0.81$, $p<0.01$) between serum Se levels and blood GSH-Px activities was recognized in all the cattle. α -Toc concentration of foodstuffs in eight barns was low levels less than 3 mg/100 g DM, and Se was also deficient levels less than 50 ppb DM. Close correlation ($r=0.87$, $p<0.01$) between Se concentration in the main foodstuffs and serum Se levels of the cows was also recognized.

From the results described above, there were many suggestive findings for subclinical muscular disorders which were closely related to deficiencies of Toc and Se in the calves and cows kept together with calves suffering from white muscle disease.

———*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 43, 99~103 (1990).

要 約

子牛白筋症が発生した牛舎の同居子牛 25 頭と同居母牛 26 頭の血液と飼料中のトコフェロール (以下, Toc) とセレンウム (以下, Se) を中心に検討を行なった。

血清 CPK は同居子牛の 64%, 同居母牛の 27% に活性値の異常増加がみられた。血清 Toc 値では同居子牛の 12%, 同居母牛の 42% が欠乏値 (子牛 $70 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以下, 母牛 $150 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以下) を示し, 血清 Se 値では同居子牛の全例と同居母牛の 92% が欠乏値 (35 ppb 以下), 血液グルタチオンペルオキシダーゼ (以下, GSH-Px) 活性は全例が低値 (30 eu 以下) であった。また, 血清 Se 値と血液 GSH-Px 活性には強い相関 ($r = 0.81$, $p < 0.01$) が認められた。

飼料の α -Toc は 3 mg/100 g DM 以下の低含量, Se は 50 ppb DM 以下の欠乏値が多数を占めた。また, 飼料の Se 含量と同居母牛の血清 Se 値には強い相関 ($r = 0.87$, $p < 0.01$) が認められた。

以上の成績から, 子牛白筋症の発生牛舎では, 同居牛の大多数に Toc と Se の摂取不足による Subclinical な骨格筋の機能障害が存在することが示唆された。

*1) 帯広畜産大学畜産学部 (北海道帯広市稲田町)

*2) 北海道斜網地区農業共済組合 (網走郡女満別町)

Key Words: 牛, 白筋症子牛との同居牛, 血液と飼料のトコフェロールとセレンウム。

最近、発生増加が注目されているわが国の子牛白筋症の原因は、諸外国での報告^{5,11,22)}とほぼ同様にトコフェロール（以下、Toc）とセレンウム（以下、Se）の欠乏による栄養性ミオパチーであることが明らかになった^{6,7,21)}。われわれは、本病が哺育期の子牛で発生する点から、直接の原因は母牛の給与飼料中の両成分の不足であり、そのため発病牛舎では一見健康な同居子牛にも Subclinical な骨格筋障害が存在することを裏づける所見のあることを報告した⁸⁾。

今回は、同居子牛とその母牛の血液と飼料のトコフェロール、セレンウム値を中心に Subclinical な所見の存在の有無について検討した。

1. 材 料 お よ び 方 法

供試牛は昭和 59 年 1 月から昭和 60 年 6 月にかけて、北海道十勝および北見地方の子牛白筋症の発生した 8 牛舎において、発病子牛と同時飼育されていた臨床的に正常な黒毛和種の子牛 25 頭および母牛 26 頭である（表 1）。これらの母牛のすべては子牛生産を目的とした繁殖用飼育で、いずれも粗飼料主体の舎飼が行われていた。

血液の採取は真空採取管を用いて頸静脈より行い、血

表 1 供 試 牛

牛 舎	種 類	同 居 子 牛		同居母牛
		頭 数	日 齢	頭 数
A	黒毛和種	—	—	2
B	〃	2	30～35	3
C	〃	4	11～102	6
D	〃	6	7～114	4
E	〃	2	3～21	—
F	〃	1	55	3
G	〃	7	41～238	6
H	〃	3	199～474	2
合 計		25	3～474	26

表 2 同居子牛（25 頭）の血清酵素活性値と分布

血清酵素(単位)	酵 素 活 性 値 と 分 布 (%)		
GOT(KU)	<200(84%)	200～400(8%)	400<(8%)
GPT(KU)	<50(72%)	50～100(16%)	100<(12%)
LDH(WU)	<2,500(76%)	2,500～5,000(16%)	5,000<(8%)
CPK(IU)	<100(36%)	100～300(32%)	300<(32%)

表 3 同居母牛（26 頭）の血清酵素活性値と分布

血清酵素(単位)	酵 素 活 性 値 と 分 布 (%)		
GOT(KU)	<200(96%)	200～400(4%)	
GPT(KU)	<50(100%)		
LDH(WU)	<2,500(96%)	2,500～5,000(4%)	
CPK(IU)	<100(73%)	100～300(15%)	300<(12%)

表 4 同居子牛の血清トコフェロール、セレンウム値および血液グルタチオンペルオキシダーゼ活性値

子 牛 No.	血清トコ フェ ロール ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	血清セレン ウム(ppb)	血液グル タ チ オンペ ル オ キシ ダー ゼ(eu)
1	32.6	16.4	—
2	48.8	24.3	—
3	175.7	6.2	—
4	184.9	7.0	—
5	119.3	8.5	—
6	175.7	8.5	—
7	246.8	3.5	—
8	166.5	17.8	—
9	298.5	12.8	—
10	269.8	6.6	—
11	327.2	9.3	—
12	163.6	17.2	—
13	51.9	17.6	33.4
14	109.9	10.9	15.5
15	228.0	8.9	11.2
16	144.6	6.0	—
17	117.5	11.0	12.4
18	161.9	5.2	9.2
19	254.0	5.5	7.7
20	241.3	9.8	10.6
21	358.7	4.5	9.6
22	73.0	6.3	16.8
23	166.2	18.0	19.3
24	254.2	14.3	10.3
25	153.2	12.0	12.1
M $\pm$ sd	181.0 $\pm$ 86.5	10.7 $\pm$ 5.3	14.0 $\pm$ 7.0
対照(N=8)	—	56.3 $\pm$ 12.8	47.8 $\pm$ 6.7

清酵素 (GOT, GPT, LDH, CPK)、血清 Toc (蛍光法)⁹⁾ と Se (蛍光法)^{4,13,14)}、血液グルタチオンペルオキシダーゼ (以下、GSH-Px 活性) (Paglia-Valentine 法)¹⁶⁾ について測定した。また、母牛の給与飼料の

α -Toc (高速液体クロマトグラフ法)¹⁰⁾ と Se (蛍光法)^{4,13,14)} の含量についても測定した。

2. 成 績

1) 血清の酵素活性

(1) 同居子牛 (表 2) : 25 頭の供試子牛のうち、GOT 200 KU 以上が 16% (4/25 頭)、GPT 500 KU 以上が 28% (7/25 頭)、LDH 2,500 WU 以上が 24% (6/25 頭) であり、CPK では 100 IU 以上が 64% (6/25 頭)、300 IU

以上の著明な活性増加例が32% (8/25頭) にもおよんだ。また, GOT, GPT, LDH, CPK の4者が共通して活性増加を示した例は16% (4/25頭) であった。

(2) 同居母牛 (表3) : 26頭の供試母牛のうち, CPK 100 IU 以上が27% (7/26頭), 300 IU 以上の著明の活性増加例が12% (3/26頭) であった。その他では, GOT の増加 (200 ~ 400 KU) と LDH の増加 (2,500 ~ 5,000 WU) が各1頭づつみられた。

2) 血清Toc, Se値および血液GSH-Px活性値

(1) 同居子牛 (表4) : 供試した25頭の血清 Toc 値は $181.0 \pm 86.5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (範囲 32.6 ~ $358.7 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) で, $70 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以下の低値例が12% (3/25頭) にみられた。血清 Se 値は $10.7 \pm 5.3 \text{ ppb}$ (範囲 2.5 ~ 24.3 ppb) で, 全例が35 ppb 以下の著明な低値であり, かつ1頭 (No. 2) を除く他はすべて20 ppb 以下の極度な低値であった。なお, 対照としたホルスタイン種の雌子牛8頭の血清 Se 値は $56.3 \pm 12.8 \text{ ppb}$ であった。次に, 12頭について測定した血液 GSH-Px 活性値は平均 $14.0 \pm 7.0 \text{ eu}$ (範囲 7.7 ~ 33.4 eu) で, 1頭 (No. 13) を除くほかのすべてが30 eu 以下の著明な活性低下を示した。なお, 対照牛8頭の血液 GSH-Px 活性値は $47.8 \pm 6.7 \text{ eu}$ であった。

(2) 同居母牛 (表5) : 供試した26頭の血清 Toc 値は平均 $170.1 \pm 68.4 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (範囲 52.2 ~ $336.5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) で, $150 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以下の低値例が42% (11/26頭) であった。血清 Se 値は平均 $14.3 \pm 9.5 \text{ ppb}$ (範囲 3.6 ~ 41.6 ppb) で, 35 ppb 以下の低値例が92% (24/26頭), 20 ppb 以下の極度な低値例が89% (23/26頭) の多数を占めた。なお, 対照としたホルスタイン種乳牛15頭の血清 Se 値は $66.7 \pm 10.9 \text{ ppb}$ と高値であった。また, 同居母牛10頭の血液 GSH-Px 活性値は平均 $10.7 \pm 1.2 \text{ eu}$ (範囲 8.7 ~ 11.9 eu) で, 全例が30 eu 以下の低い活性値であった。

3) 血清 Se 値と血液 GSH-Px 活性値の相関関係

(図1)

同居子牛12頭, 同居母牛10頭および十勝地方における健康牛81頭を含む合計103頭について血清 Se と血液 GSH-Px 活性値の相関関係について検討したところ, 両者間には強い正の相関 ($r = 0.81$, $p < 0.01$) がみられた。

4) 血清 Toc と Se 値 と の 関 係

供試した同居子牛25頭と同居母牛26頭の血清 Toc と Se 値の関係についてみると, 血清 Se のみが低値 (35 ppb 以下) を示した例 (子牛22/25頭, 母牛15/26頭), 血清 Toc のみが低値 (子牛 $70 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以下, 母牛 $150 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以下) を示した例 (母牛2/26頭), ならびに両成分が低値を示した例 (子牛3/25頭, 母牛9/26頭) に3区分され, とくに血清 Se のみが低値を

表5 同居母牛の血清トコフェロール, セレニウム値および血液グルタチオンペルオキシダーゼ活性値

母 牛 No.	血清トコフェ ロール ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	血清セレニ ウム (ppb)	血液グルタ チオンペル オキシダー ゼ (eu)
1	52.2	15.1	—
2	101.1	14.6	—
3	108.8	33.7	—
4	97.5	41.6	—
5	78.8	40.5	—
6	185.6	16.3	—
7	145.0	9.4	—
8	148.6	3.6	—
9	159.5	11.5	—
10	142.5	8.5	—
11	137.8	8.3	—
12	179.3	13.9	—
13	227.9	16.2	—
14	169.3	13.6	—
15	151.9	10.0	—
16	247.4	12.7	11.3
17	336.5	9.2	11.0
18	336.5	6.7	11.4
19	181.5	10.6	—
20	168.3	10.2	8.7
21	177.8	10.7	9.7
22	250.8	12.1	11.7
23	139.7	9.4	10.1
24	196.8	11.0	9.0
25	192.2	10.3	11.7
26	109.1	12.5	11.9
M $\pm$ sd	170.1 $\pm$ 68.4	14.3 $\pm$ 9.5	10.7 $\pm$ 1.2
対照 (N=8)	—	66.7 $\pm$ 10.9	—

図1 血清 Se 値と血液 GSH-Px 活性値の関係

表6 白筋症発生牛舎の給与飼料中の
 α -トコフェロールとセレンウム含量

牛舎	飼料	α -トコフェロール (mg/100g DM)	セレンウム (ppb DM)
A	乾草	2.1	48.4
B	"	1.0	104.9
B	稲藁	2.3	72.3
B	配合飼料	0.9	71.8
B	豆殻	0.6	17.1
C	乾草	2.5	17.4
C	コーンサイレージ	1.1	33.0
D	乾草	1.2	34.7
D	ビートパルプ	1.0	27.6
E	乾草	2.2	22.9
F	"	3.9	40.9
G	"	1.1	13.2
G	コーンサイレージ	0.3	36.9
G	豆殻	2.0	22.9
H	乾草 (1)	0.7	41.8
H	乾草 (2)	0.4	27.0
H	豆殻	0.6	38.0

示した例が多かった。

5) 給与飼料中の α -Toc と Se 含量 (表6)

供試した8牛舎の給与飼料の主体は乾草と稲藁 (B牛舎) で、その他豆殻、コーンサイレージ、ビートパルプ、少量の配合飼料なども給与されていた。

これら飼料の α -Toc 含量についてみると、乾草 (9点) では平均 1.7 ± 1.1 mg/100 g DM (範囲 0.4 ~ 3.9 mg/100 g DM) で、1牛舎 (F) を除くすべてが 3 mg/100 g DM 以下の低含量であった。また、乾草以外の他の飼料の α -Toc 含量は 0.3 ~ 2.3 mg/100 g DM でいずれも低含量であった。Se 含量では、乾草 (9点) が平均 39.0 ± 27.4 ppb DM (範囲 13.2 ~ 104.9 ppb DM) で、1牛舎 (B) を除く他の8点はすべて 50 ppb DM 以下の極度な低含量であった。乾草以外の飼料では、稲藁 (72.3 ppb DM) と配合飼料 (71.8 ppb DM) の各1点を除いて他はいずれも 50 ppb DM 以下の低含量であった。

6) 飼料中の α -Toc、Se 含量と同居母牛の血清 Toc、Se 値の相関関係

供試した牛舎の主要な給与飼料であった乾草と稲藁 (B牛舎) の α -Toc 含量と同居母牛の血清 Toc 値との間には正の相関 ($r = 0.43$, $p < 0.05$) が認められた。また、同飼料中の Se 含量と母牛の血清 Se 値の間にも強い正の相関 ($r = 0.87$, $p < 0.01$) が認められた。

3. 考 察

供試した子牛白筋症の発生牛舎の同居子牛とその母牛はいずれも臨床的に異常が認められなかったにもかかわらず

らず、先報⁸⁾とほぼ同様に多数例に Subclinical な骨格筋障害の存在を示唆する血清酵素活性の増加がみられ、とくに CPK の活性増加^{1,2)}が同居子牛の 64%、同居母牛の 27% で認められた。このような筋肉由来と考えられる酵素活性の増加の原因が Toc および Se の変化と関連を有するか否かが今回の主な検討課題であった。

供試牛の血清 Se 値についてみると、同居母牛の 92% (24/26 頭) と同居子牛の全例が欠乏値^{17,20)}とされる 35 ppb 以下であり、母牛の飼料からの Se 摂取不足が哺乳期の同居子牛の血清 Se の極度な低値に直接に反映したことがうかがわれた。Se は生体内で GSH-Px の主要な構成成分であり、GSH-Px は Toc と協調して脂質過酸化物の生成抑制および処理作用を通じて生体膜の保護に関与することが知られている。そのため、血清 Se 値と血液 GSH-Px 活性値の間には強い相関関係^{7,12,15,18)}があるといわれているが、今回の成績においても両者間には強い正の相関 ($r = 0.81$) があり、Se の欠乏が血液 GSH-Px 活性著明な低下を招いたことが明らかとなった。

日本は低 Se 地帯であり、とりわけ北海道は顕著な Se 欠乏土壌のため牧草の Se 含量も著しい低値であることが知られている³⁾。今回の給与飼料の分析成績においても、同居母牛の主要な飼料である乾草の Se 含量は 50 ppb DM 以下の欠乏レベルであることが確認され、かつ飼料の Se 含量と母牛の血清 Se 値の間にも相関性がみられて、母牛の Se 摂取不足が子牛の低 Se 血症と血液 GSH-Px 活性値の低下を招いたものと判断された。

つぎに、供試牛の血清 Toc についてみると、同居子牛では欠乏値とされる $70 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以下¹⁹⁾の例が 12% (3/25 頭)、また同居母牛では欠乏値とされる $150 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以下の例が 42% (11/26 頭) であった。このように、同居母牛の約半数近くが低 Toc 血症であったのは給与飼料中の Toc が 3 mg/100 g DM 以下の低含量のものが多かったことを反映したと考えられる。また、同居母牛に比べ同居子牛の血清 Toc の欠乏値例が低率であったのは、出生後に Toc 含量の高い初乳を摂取したためであり、また、その補給により血清 Se が欠乏値でありながらも白筋症の発病が抑制されたものと推察された。しかし、Se の欠乏状態が続くと生体膜の脂質の抗酸化作用に Toc のみが集中的に消費されて欠乏状態となる可能性が多いため、単なる Subclinical な骨格筋障害に止らずに白筋症などの異常へと発展する恐れも十分考えられる。

したがって、白筋症の発病牛舎では、発病子牛の治療のみでなく、同居子牛に対しても Se と Toc の給与を中心とした発病予防対策に留意する必要があることが強調される。

引用文献

- 1) ALLEN, W. H., BRADLEY, R., PARR, W. H., et al.: *Brit. Vet. J.*, 131, 292~308 (1975).
- 2) ANDERSON, P. H., BRADLEY, R., BERRETT, S., et al.: *Brit. Vet. J.*, 133, 160~165 (1977).
- 3) 浅川征男, 串崎光男, 石塚潤爾: 日本土壤肥料誌, 48, 287~292 (1977).
- 4) 浅川征男, 串崎光男, 石塚潤爾: 日本土壤肥料誌, 48, 293~296 (1977).
- 5) BLAXTER, K. L., WATTS, P. S. and WOOD, W. A.: *Brit. J. Nutr.*, 16, 125~144 (1952).
- 6) 一条 茂, 長谷川光弘, 金 徳煥, ほか: 日獣会誌, 34, 573~579 (1981).
- 7) 一条 茂: 臨床獣医, 2, 45~50 (1984).
- 8) 一条 茂, 稲田一郎, 納 敏, ほか: 日獣会誌, 37, 145~150 (1984).
- 9) 勝井五一郎: ビタミン, 54, 449~453 (1980).
- 10) 勝井五一郎: ビタミン, 55, 267~273 (1981).
- 11) LANNEK, N. and LINDBERG, P.: *Adv. Vet. Sci.*

- Comp. Med.*, 19, 127~164 (1975).
- 12) 野口 忠: 栄養生理研究会報, 22, 125~130 (1978).
- 13) OLSON, O. E.: *J. AOAC.*, 52, 627~634 (1969).
- 14) OLSON, O. E., PALMER, I. S. and CARY, E. E.: *J. AOAC.*, 58, 115~121 (1978).
- 15) 押野 臨: 代謝, 17, 2123~2131 (1980).
- 16) PAGLIA, O. E. and VALENTINE, W. N.: *J. Lab. Clin. Med.*, 70, 158~169 (1967).
- 17) PERRY, T. W., CALDWELL, D. M. and PETERSON, R. C.: *J. Dairy Sci.*, 59, 760~763 (1976).
- 18) ROTRUCK, J. T., POPE, A. L., GANTHER, H. E., et al.: *Science*, 179, 588~590 (1973).
- 19) SHARMAN, G. A. M.: *Vet. Rec.*, 66, 275~279 (1954).
- 20) STEVENS, J. B., OLSON, W. G., KRAEMER, R., et al.: *Amer. J. Vet. Res.*, 46, 1556~1560 (1985).
- 21) 高橋良平, 一色貞之, 林 昌利, ほか: 日獣会誌, 37, 779~783 (1984).
- 22) VAN VLEET, J. F.: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 176, 321~325 (1980).

KITASATO

動物用医薬品

□動物用各種ワクチン

- 狂犬病TCワクチン「北研」
- 豚Hpn2型ワクチン「北研」
- 豚Hpn5型ワクチン「北研」
- TGE生ワクチン「北研」
- ARワクチン(豚ポルデテラ感染症予防)
- 豚丹毒生ワクチン「北研」
- 豚コレラ生ウイルス乾燥予防液
- 日本脳炎生ウイルスワクチン(1ml用)
- ニューカッスル病TEND乾燥予防液
- ニューカッスル病不活化予防液
- ニューカッスル病生ウイルス予防液(B1株)
- ND-10混合不活化ワクチン
- 鶏伝染性コリーザ2価ワクチン「北研」
- コリーザワクチン「北研」
- コリーザワクチン「北研」C型
- 穿利用液状鶏痘予防液
- 穿利用鶏痘乾燥予防液

○緑膿菌感染症予防液「北研」

- 牛流行熱生ウイルス予防液
- 牛流行熱組織培養不活化予防液
- アユのジブリオ病不活化ワクチン

□動物用各種診断用製剤

- ブルセラ・カニス凝集反応菌液
- 豚Hpn2型CF抗原「北研」
- 豚Hpn5型CF抗原「北研」
- AR抗原「北研」
- Bb. I相菌免疫家兎血清
- ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集素「北研」
- M.S急速凝集反応菌液
- グルタルアルデヒド固定鶏赤血球浮遊液「北研」
- Hpg-A型(HA-1型)HA抗原「北研」
- Hpg-C型(HA-4型)HA抗原「北研」
- 鶏非動化血清「北研」
- 牛白血病診断用抗原「北研」
- 牛肝経断用抗原「北研」

□血清製剤

- 破傷風血清(動物用)
- 培地
- HP基礎培地

□動物用消毒剤

家畜伝染病予防法指定消毒薬成分含有製剤

動物用医薬品

「北研」セットコンク

●印は要指示医薬品

製造 北里研究所(社団法人)

販売 北里薬品産業株式会社

本社 〒108 東京都港区白金5丁目9-1 ☎03(444)6161代

大阪支店 ☎06(202)7658代 東北出張所 ☎0236(45)0111代