

第52回競走馬に関する調査研究発表会
(平成22年度)

プログラム・講演要旨

日時:平成 22 年 11 月 29 日(月)

午前 9 時 45 分～午後 5 時

会場:東京大学 農学部 弥生講堂

日本中央競馬会

ご 注 意

参加者へ

1. 本会職員は予め本会発行の身分証明書を装着して下さい。
2. 本会職員以外の参加者は、受付で出席者名簿にご記入のうえ、名札を受け取り

会期中は胸にさげて下さい。
3. 講演順序は都合により変更することがあります。
4. 追加・討論は必ず「所属・氏名」を述べてから発言して下さい。

なお、追加・討論の採択・時間などは座長に一任させていただきます。
5. 講堂内はテラスも含め、禁煙です。外の喫煙所を利用ください。
6. ホール内は飲食禁止です。また、昼食は用意しておりません。
7. 駐車場は用意致しかねますのでご承知おき下さい。
8. 当日、このプログラムを持参していただくようご協力下さい。

演者へ

1. 講演時間は7分以内、追加・討論は3分以内とします。時間は厳守願います。
2. 講演開始7分後に青ランプ、10分後に赤ランプを点燈します。
3. 次演者は指定の次演者席にて待機して下さい。
4. 講演中止、演題および演者の変更などは進行係へ申し出て下さい。

第 23 回日本ウマ科学会学術集会のお知らせ

同会場にて「第 23 回日本ウマ科学会学術集会」を開催しますのご案内いたします。

1. 日 時：平成 22 年 11 月 29 日（月）午後 1 時 40 分から
 11 月 30 日（火）午前 8 時 30 分から
 ※「競走馬に関する調査研究発表会」と一部同じ時間帯に開催されます。
2. 参加費：会員 3,000 円 非会員 5,000 円 学生 1,000 円

<競走馬に関する調査研究発表会および日本ウマ科学会学術集会の予定表>

時間帯	11月29日(月)			11月30日(火)		
	弥生講堂(一条ホール)	3号館教授会室	弥生講堂(アネックス)	弥生講堂(一条ホール)	3号館教授会室	弥生講堂(アネックス)
AM				臨床WG症例検討会 (8時30分～9時30分)	一般口演 (9時～12時)	業者展示 (昼休みに 軽食サービスあり)
			業者展示 (昼休みに 軽食サービスあり)	臨床WG Dr.Richardson 招待講演 (9時30分～12時)		
PM	JRA競走馬 に関する 調査研究発表会 (9時45分～17時)		理事会・評議員会 (会場:アネックスエンゼル研究棟) (12時30分～13時20分)	昼休み		
		一般口演 (13時40分～)	業者展示	WEVA特別講演 (13時～18時)	シンポジウム (13時～15時30分)	
		定時総会 (17時～)		講演1. Dr.Greet 特別講演	一般口演 (15時40分～17時)	
				講演2. Dr.Norwood 特別講演		
	JRAとの合同懇親会(生協第2食堂) (18時～20時)					

※演題の都合により時間が前後することがあります。

日 程

9:15	開 場
9:45 ~	開 会 式
9:55 ~	演題 1~4 (運動生理) 座長:川崎 和巳 演題 5~6 (馬 場) 座長:永野 圭
10:55 ~	休 憩
11:05 ~	演題 7~10 (臨 床 1) 座長:儘田 雅行 演題 11~14 (臨 床 1) 座長:松田 芳和
12:25 ~	昼 食
13:30 ~	演題 15~16 (帰朝報告) 座長:滝澤 康正 演題 17~20 (臨 床 2) 座長:古角 博
14:30 ~	休 憩
14:40 ~	演題 21~23 (麻 酔) 座長:和田 信也 演題 24~26 (装 蹄) 座長:桑野 睦敏
15:40 ~	休 憩
15:50 ~	演題 27~28 (生 産) 座長:間 弘子 演題 29~32 (感 染 症) 座長:奥 河寿臣
16:50 ~	閉 会 式
17:00	終 了 ・ 解 散

18:00 ~20:00	合同懇親会(日本ウマ科学会と合同)
-----------------	-------------------

第52回競走馬に関する調査研究発表会 プログラム

開 会

9 : 4 5

【運動生理】

座長：川崎 和巳（美浦）

1. 休養条件の違いがサラブレッドの有酸素能力および乳酸代謝に与える影響
○向井和隆・高橋敏之・大村 一・松井 朗・間 弘子（総研）・平賀 敦（日高）
2. 競走馬の距離別成績・年齢と最高心拍数・VHRmax との関係
○国井博和・塩瀬友樹・岩本洋平・儘田雅行（栗東）・高橋敏之（総研）
3. 栗東トレーニング・センターのニューポリトラック馬場と他の馬場における事故発生の可能性についての比較（2009年12月－2010年6月）
○高橋敏之・間 弘子・森 芸・和田信也（総研）・儘田雅行（栗東）
4. 競走中事故と調教履歴との関連性調査
○琴寄泰光・高橋敏之・和田信也・間 弘子（総研）

【馬場】

座長：永野 圭（中京）

5. 簡易的な馬場硬度測定方法の検討
○小畑篤史・今泉信之・三品次郎・森 芸（総研）
6. 地下部形態的特徴の異なるノシバ系統のウィンターオーバーシードに対する適性について
○今泉信之・小畑篤史・三品次郎・森 芸（総研）・美濃又哲男（(有)エル・エス研究室）

— 休憩 —

10:55～11:05

【臨床1】

座長：儘田 雅行（栗東）

7. 胸膜炎に対する胸腔ドレナージの有用性
○南 卓人・黒田泰輔・山本真弘・宮田健二・石川裕博・古角 博・帆保誠二（栗東）
8. 全身投与されたテトラサイクリン系抗菌薬のウマ涙液への移行性
○黒田泰輔・石川裕博・古角 博・帆保誠二（栗東）・田村周久（美浦）・
丹羽秀和・奥 河寿臣（栃木）・永田俊一（競理研）

9. 抗真菌薬ボリコナゾールの角膜真菌症に対する有効性について

○田村周久・岡野 篤(美浦)・永田俊一(競理研)・
丹羽秀和(栃木)・黒田泰輔(栗東)・松田芳和(美浦)

10. 2種の耐性菌感染により発症・再発した喉嚢蓄膿症の一例

○前田昌也・宮越大輔・池田寛樹・佐藤和茂 (HBA 静内支所)・中川 亮 (JBBA 静内種馬場)
沖田正憲 (オキタ獣医科医院)・澤邊順子・枝松弘樹 (北海道日高家畜保健衛生所)

座長：松田 芳和 (美浦)

11. JRA 育成馬における胃潰瘍の発生状況とオメプラゾールの予防および治療効果

○遠藤祥郎・村瀬晴崇・大村昂也・土屋 武・頃末憲治・石丸睦樹 (日高)・
秋山健太郎・内藤裕司 (宮崎)・宮田健二・成田正一 (栗東)・
吉田年伸・坂本浩治 (馬事部)・柴 成宏・松本 哲 (メリアル・ジャパン)

12. 育成後期の軽種馬における浅指屈腱の肥大とその将来

○日高修平・小林光紀・安藤邦英・吉原豊彦 (軽種馬育成調教センター)・富成雅尚 (馬事部)

13. 開腹術後に短期間で高強度の調教に復した JRA 育成馬の一症例

○大村昂也・石丸睦樹・土屋 武・遠藤祥郎 (日高)・樋口 徹 (NOSAI 日高)

14. サラブレッドにおける外科手術の術後成績に関する回顧的調査

109 頭の骨折に対する内固定手術

○ 田上正明・加藤史樹・鈴木 吏・仙波尚之・橋本裕充・角田修男 (社台コーポレーション)

— 昼 食 —

12 : 25 ~ 13 : 30

【帰朝報告】

座長：滝澤 康正 (馬事部)

15. 北米における立位 MRI 診断法について

○岡田 淳 (馬事部)

16. 新素材の重層培地を用いたウマインフルエンザウイルスのブラック法の
検討および最近のウマインフルエンザウイルス株の性状

○山中隆史 (栃木)

【臨床 2】

座長：古角 博（栗東）

17. ウマ角膜上皮再生の試み（第二報）

○守山秀和・笠嶋快周・桑野睦敏・和田信也（総研）

18. ウマ多血小板血漿（PRP）作製法とその活性化に関する検討

○岡田裕二・笠嶋快周・上野孝範・琴寄泰光・和田信也（総研）・上野雄二（美浦）

19. 重度の運動機能障害を伴う悪性リンパ腫罹患馬の1例

○上野孝範・桑野睦敏・和田信也（総研）・片山芳也・村中雅則（栃木）・眞下聖吾（栗東）

20. 扁平上皮癌に対するシスプラチン局所投与の応用

○上野雄二・田村周久・小林 稔・草野寛一・松田芳和（美浦）・
村中雅則（栃木）・遠藤祥郎（日高）

— 休 憩 —

14:30～14:40

【麻 酔】

座長：和田 信也（総研）

21. セボフルラン吸入麻酔下におけるドブタミンとフェニレフリンの循環改善効果

栗本慎二郎・太田 稔・○石川裕博・徳重裕貴・前 尚見・儘田雅行（栗東）・永田俊一（競理研）

22. セボフルラン吸入麻酔下におけるロクロニウムの筋弛緩効果について

小平和道・○柿崎 将・大出浩隆・岡野 篤・田村周久・溝部文彬・松田芳和（美浦）・
栗本慎二郎（栗東）・間 弘子（総研）

23. Bispectral index (BIS) モニターによる催眠レベルの評価

○徳重裕貴・太田 稔（栗東）・和久野 愛（公苑）・岡田 淳（馬事部）・儘田雅行（栗東）

【装 蹄】

座長：桑野 睦敏（総研）

24. 1歳馬狭窄蹄へのHinge Spring Shoeの応用と結果

○田中弘祐（JBBA 静内種馬場）・大池武則・藤本勝幸・赤石孝一郎（北海道日高装蹄師会）・
平賀 敦（日高）・高橋敏之（総研）・青木 修（日本装蹄師会）

25. 装蹄法の違いが蹄の生長へ与える影響

○工藤有馬・津田佳典・大瀬摩利子・兒玉聡太・藤木亮介・伊藤 幹（学校）

26. セットバック装蹄法が屈腱および繋靭帯に及ぼす影響について

○田中美希子・諫山太郎・小林 稔・渡辺吉男・松田芳和（美浦）・
高橋敏之（総研）・富山拓磨（日本装蹄師会）

— 休 憩 —

15:40~15:50

【生産】

座長:間 弘子（総研）

27. 乳汁中の pH 値および Brix 値の測定による馬の分娩予知方法

○頃末憲治・村瀬晴崇・佐藤文夫・石丸睦樹・南保泰雄（日高）・辻村行司（栃木）

28. 非分娩馬への泌乳誘発および乳母としての導入

○村瀬晴崇・頃末憲治・佐藤文夫（日高）・Pramod Dhakal・原田健弘・渡辺 元・
田谷一善（東京農工大学）・石丸睦樹・南保泰雄（日高）

【感染症】

座長:奥 河寿臣（栃木）

29. ヒト用ロタウイルス診断キットによるウマロタウイルスの検出

○根本 学・今川 浩・山中隆史・丹羽秀和・坂内 天・辻村行司・近藤高志・
松村富夫（栃木）・秦 秀明・樋口 徹（NOSAI 日高）

30. ウマヘルペスウイルス 1 型国内分離株の遺伝子マーカー解析

○辻村行司・坂内 天・根本 学・山中隆史・近藤高志・松村富夫（栃木）・戸崎晃明（競理研）

31. IgG プロファイル ELISA 法によるウマヘルペスウイルス 1 型弱毒生ワクチン接種馬の免疫応答の測定

○坂内 天・辻村行司・近藤高志・根本 学・山中隆史・杉浦健夫（栃木）・
前田 健（山口大学）・松村富夫（栃木）

32. ウマに対するウマインフルエンザウイルスおよびイヌインフルエンザウイルスの病原性

○村中雅則・根本 学・山中隆史・片山芳也・奥 河寿臣（栃木）

閉 会

17:00

講演要旨

演題 1～32

休養条件の違いがサラブレッドの 有酸素能力および乳酸代謝に与える影響

○向井和隆・高橋敏之・大村 一・松井 朗・間 弘子（総研）・平賀 敦（日高）

【背景と目的】

競走馬が放牧休養を行う際に、近年では運動を継続しながら放牧されることが増えている。その際の運動強度は各馬の状態に適合させる必要があるが、この運動強度の違いが休養による運動能力の低下にどのように影響するのかはあまり報告がない。そこで、本研究ではよくトレーニングされたウマを3種類の休養条件に分け、その休養条件の違いがサラブレッドの有酸素能力および乳酸代謝に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

サラブレッド21頭（雄11頭、雌8頭、去勢雄2頭）に18週間トレーニング（75-110% $\dot{V}O_2\max$ 3分/日）を負荷し、その後キャンター（C）群（70% $\dot{V}O_2\max$ 3分/日）、ウォーキング（W）群（ウォーキングマシン1時間/日）、馬房内休養（S）群の3群に分け、それぞれの運動メニューで12週間休養させた。休養前後にトレッドミル漸増負荷試験および中殿筋バイオプシーを実施し、最大酸素摂取量（ $\dot{V}O_2\max$ ）、心拍数、血漿乳酸濃度、テスト走行時間、1回拍出量、血液ガス、乳酸トランスポーター（MCT）などの測定を行った。得られたデータは二元配置分散分析後にTukey's testを用いて多重比較検定を行い、有意水準は $p<0.05$ とした。

【結果および考察】

12週間休養後の $\dot{V}O_2\max$ の減少率は、S群で14.1%、W群で12.7%、C群で9.7%であり、C群の減少率が低い傾向にあった。総合的なパフォーマンスの指標であるテスト走行時間は、C群はS群に比べて有意に減少率が低く、W群はその中間に位置した。有酸素能力の指標であるV200（心拍数が200 bpmのときの速度）はC群およびW群で維持されており、その要因としては、1) 全群において筋での酸素利用量は保たれたこと、2) 1回拍出量がS群では15.8%減少しているのに比べ、C群は8.4%、W群は6.9%しか減少していなかったことから、S群に比べ運動中の心拍数増加が抑制されたことが考えられた。一方、VLA4（乳酸濃度が4mmol/lのときの速度）はC群では維持できたが、他の2群では約15%低下した。筋への乳酸の取り込みに関与するMCT1タンパク質量もVLA4と同様にC群において維持されたのに対し、WおよびS群では約15%低下した。

結論として、C群では、 $\dot{V}O_2\max$ やテスト走行時間などは低下するが、心拍数・乳酸代謝に関する指標は比較的維持されることが示された。これに対し、W群では、乳酸代謝やテスト走行時間などではS群と同様に低下したが、1回拍出量やV200などの指標ではS群よりもその低下が抑制される傾向があった。これらのことから休養中に実施する運動の強度によって維持される機能が異なることが示唆された。

競走馬の距離別成績・年齢と最高心拍数・VHRmax との関係

○国井博和・塩瀬友樹・岩本洋平・儘田雅行（栗東）・高橋敏之（総研）

【背景と目的】

両トレーニングセンターでは、競走馬のコンディションあるいは体力測定的手段として、有酸素能力の指標のひとつである VHRmax（最高心拍数に達した時点でのスピード）の測定が行われており、第 50 回調査研究発表会において、競走条件別、年齢別の VHRmax の値を比較検討し報告した。その中で、群全体の VHRmax の平均値が高いオープン群(31 頭)の中に低い値を示す競走馬が 3 頭存在し、それらはいずれも 1600m 以下の競走で好成績を収めていた。また、競走条件を限定しない年齢別（3 歳、4 歳、5 歳以上）の比較では、加齢に伴う最高心拍数、VHRmax の変化は認められなかった。そこで、本研究では、今後のコンディション判定をより詳細に行うために、オープンクラスの長距離・短距離勝利馬の最高心拍数、VHRmax を比較し、距離適性との関連性を調査した。また、より高齢馬における加齢性変化を検討するために、競走条件をオープンクラスに限定した上で 3 歳、4 歳、5 歳、6 歳、7 歳以上と群数を増やし、年齢別に最高心拍数、VHRmax を比較検討した。

【材料と方法】

距離と最高心拍数・VHRmax：ウッドチップコースで追い切り調教を行った 3 歳以上（3～11 歳）のオープンクラスの競走馬のうち、中央競馬で勝利した競走の最長距離が 1600m 以下の馬を短距離勝利群（14 頭）、2200m 以上を長距離勝利群（14 頭）とし、両群の最高心拍数および VHRmax について比較検討した。年齢と最高心拍数・VHRmax：ウッドチップコースで追い切り調教を行った 3 歳以上のオープンクラスの競走馬 54 頭を年齢別（3 歳:8 頭、4 歳:13 頭、5 歳:15 頭、6 歳:12 頭、7 歳以上:6 頭）に分類し、各群の最高心拍数および VHRmax を比較検討した。

解析には、t 検定または一元配置分散分析を用い、年齢群と最高心拍数との関係はノンパラメトリックなスピアマンの相関係数により評価した。有意水準は 5%以下とした。

【結果】

最高心拍数は、長距離勝利群（ 217.29 ± 8.14 ）と短距離勝利群（ 220.14 ± 6.10 ）の間には有意な差は認められなかった。VHRmax は、長距離勝利群の平均値（ 15.85 ± 0.76 ）が短距離勝利群（ 15.17 ± 0.89 ）と比較して有意に高かった。各年齢における最高心拍数は、3 歳（ 223.00 ± 7.41 ）、4 歳（ 220.62 ± 6.95 ）、5 歳（ 219.13 ± 6.29 ）、6 歳（ 217.92 ± 8.99 ）、7 歳以上（ 214.83 ± 8.54 ）であり、年齢と最高心拍数との間には有意な負の相関が認められた。VHRmax は各年齢間に有意な差は認められなかった。

【考察】

競走馬では、競走中のエネルギー供給に占める有酸素的供給の割合は競走距離が延びるほど高くなる、すなわち長距離競走にはより高い有酸素能力が求められる。そのため、高い有酸素能力が求められるオープンクラスの中でも、長距離勝利群において VHRmax が高くなったと考えられた。また、最高心拍数は、ヒトと同様に加齢性の低下が、3 歳以降徐々に現れてくると考えられた。一方、年齢別の VHRmax に明らかな差が認められなかったことから、現役競走馬には年齢群間に有酸素能力の差はないと考えられた。今回得られた結果を今後に生かしていきたい。

栗東トレーニング・センターのニューポリトラック馬場と他の馬場における事故発生の可能性についての比較 (2009年12月－2010年6月)

○高橋敏之・間 弘子・森 芸・和田信也 (総研)・儘田雅行 (栗東)

【背景と目的】

ニューポリトラック馬場は、2007年に美浦トレーニング・センター(美浦TC)に導入され、これまでの研究により、ダート馬場よりも事故の可能性が低く、ウッドチップおよび坂路馬場と同程度だと報告してきた。昨年、栗東トレーニング・センター(栗東TC)にも同様のニューポリトラック馬場が導入された。そこで、栗東TCにおいても、ニューポリトラック馬場における事故の可能性を他の馬場と比較、検討した。

【材料と方法】

症例馬は2009年12月1日から2010年6月30日の間に、角馬場を除く栗東TCの調教馬場において見舞金対象の運動器損傷を発症した事故馬107頭とした。さらに、6ヶ月以上見舞金対象となった事故馬71頭についても解析を行った。対照馬は、上記期間中に栗東TCに在厩した4,689頭から無作為に抽出した2,000頭とし、これらの馬の調教データを競馬ブックWebより収集した。これらのデータの中から、最後の1ハロンが14秒以下であったデータを追い切りと規定して実施頭数を集計し、各馬場、各月における追い切り実施頭数に対する事故馬の割合を算出した。解析では、多変量ロジスティック解析により、年齢や性別などによる影響を取り除いて、各馬場における事故の可能性を比較した。

【結果および考察】

調査期間中のニューポリトラック馬場における事故馬および6ヶ月以上事故馬の割合は、ウッドチップおよび坂路馬場とほぼ同等であり、ダート馬場よりも低い月が多かった。しかし、追い切り実施頭数の少なかったダート馬場では事故馬が発生しない月があり、ニューポリトラック馬場における事故馬および6ヶ月以上事故馬の割合を下回った。一方、多変量ロジスティック解析の結果では、事故馬および6ヶ月以上事故馬を対象とした場合ともに、ニューポリトラック馬場における事故の可能性は、ダート馬場よりも有意に低く、ウッドチップおよび坂路馬場と同程度であることが分かった。

栗東TCのニューポリトラック馬場における事故発生の可能性は、ダート馬場よりも低く、ウッドチップおよび坂路馬場と同等であった。この結果は、美浦TCにおける2007年12月から2008年6月までの追い切りデータを使用した解析結果と同様であった。

競走中事故と調教履歴との関連性調査

○琴寄泰光・高橋敏之・和田信也・間 弘子（総研）

【背景と目的】

競走中に起こる事故には、馬場、距離、馬場状態、馬齢、性別、競走条件などの様々な要因が関係しているが、事故を予防するために変更できるものは少ない。一方、日々行われる調教に関連する要因は、事故を予防するために変更や調整が可能なものも多い。そこで、調教馬場および調教頻度と競走中の事故との関係について解析を行った。

【材料と方法】

解析対象は、2009年の競走中に見舞金対象となる運動器疾患を発症した馬（症例馬 759頭）、および同一競走の出走馬から、症例馬1頭につき無作為に抽出した2頭（対照馬）とした。解析した項目は、1)最後の1ハロタイムが15秒以下の強め調教に主として用いた馬場（50%以上使用していた馬場）、2)出走前365日間の強め調教実施回数、3)出走前30日間のプール調教の有無、4)出走時馬体重、5)所属トレーニング・センター（トレセン）、6)性別および7)馬齢とした。調教データは、競馬ブックwebから収集した。解析には、多変量ロジスティック解析を用い、事故の相対危険度を算出し、各要因と事故との関連について検討した。

【結果】

1) 強め調教に主に使用した馬場の種類は、競走中事故の発生と有意に関係していた。競走中に事故を起こす可能性が最も低かった、主に坂路馬場を使用していた馬を基準とすると、主にウッドチップ馬場を使用していた馬が事故を起こす危険性は、1.421倍であった。2) 出走前365日間の強め調教実施回数は、競走中事故の発生と有意な負の関係を示した。3) 出走前30日間のプール調教の有無は、競走中事故の発生と有意に関係した。プール調教の未実施馬を基準とすると、実施馬が競走中に事故を起こす危険性は1.382倍であった。4) 出走時馬体重は競走中事故の発生と有意な正の関係を示した。5) 所属トレセン、6) 性別および7) 馬齢は、競走中事故との関連性は認められなかったため、多変量解析の因子に含めなかった。

【考察】

強め調教に主にウッドチップ馬場を使用している馬は、他の馬場での強め調教を組み合わせることにより、競走中の事故の危険性を低減できる可能性があると考えられた。また、出走前365日間の強め調教実施回数と、競走中事故の発生との間の負の相関により、出走前に順調に調教を行ってきた馬は、事故を起こす可能性が低いことが示唆された。さらに、出走前30日間にプール調教を行った馬が競走中に事故を起こす可能性が高かったことから、プール調教自体またはプール調教を行わざるを得なかったことが、競走中事故の発生に関連していると考えられた。出走時馬体重と競走中事故の発生との有意な正の相関は、既報と同様であった。一方、所属トレセン、馬齢および性別については、これまで事故の危険性に差があると報告されてきたが、本調査では、症例馬と対照馬を同一競走から選択したことから、差が出にくかったものと推察された。

簡易的な馬場硬度測定方法の検討

○小畑篤史・今泉信之・三品次郎・森 芸（総研）

【背景と目的】

競馬場やトレーニング・センター(T・C)での馬場硬度測定の際には馬場硬度解析システム(浅野ら、1986)の馬場硬度測定車(測定車)が用いられているが、芝馬場では、走行により轍ができるため、良馬場以外では使用していないのが現状である。また、測定車は開催場とT・Cをローテーションするように配置されているため、競馬場では、開催時期以外の測定はできない。そこで、必要に応じて簡易的に馬場硬度を測定するために、グラウンドなど一般競技場の表面硬度を測定するための機器であるクレッグ・インパクト・ソイル・テスター(CIST)を用いて、各種馬場の硬度測定を実施し、測定車による値と比較することで、CISTの信頼性を確認した。

【材料と方法】

測定箇所は、美浦T・C南馬場の芝コース、ダートコース、ウッドチップコース、ニューポリトラック(NP)コースの4コースで、CISTと比較対象である測定車による測定を行った。CISTの測定方法は加速度センサーを内蔵した円筒形の錘(直径5cm、重量2.25kg)を45cmの高さから自由落下させ、表面に着地した際の最大加速度(最大減速時に記録される)を測定するというものである。一般的な競技場などでは、同じ箇所に錘を4回落下させ、4打目の値を測定値としているため、上記4種類の馬場についても同様の測定方法を採用し、4打目の値を測定値とした。

【結果と考察】

芝コースでの結果を比較すると、CISTと測定車の測定値は同程度となった。CISTの錘は軽く、測定車と比較すると錘の落下高さも低いため、1打目は表面の芝の影響を受け、小さい値となるが、徐々に芝の影響が緩和されることにより、4打目では測定車と同程度の値になったと考えられる。また、NPコースにおいても両機器の測定値は同程度であった。NPについては、CISTの錘を複数回落下させることで表面が徐々に転圧されるため、4回目の測定時には測定車と同程度の値となったと思われる。しかし、ダートコースでは、CISTの値が測定車の値を上回り、ウッドチップコースでは、CISTが測定車を下回る結果となった。ダートコースについては、錘を落下させるごとにクッション砂が測点外に流動してしまい、4回目の測定時には路盤に近い箇所まで沈んだ状態で測定する形になること、また、ウッドチップについては、CISTの軽い錘では複数回の落下でも転圧されにくいことから、測定車の測定値と一致しないものと思われる。この結果から、あくまでも簡易的な測定方法ではあるが、芝、NPについてはCISTでの馬場硬度測定値が活用できることが示唆された。

地下部形態的特徴の異なるノシバ系統の ウィンターオーバーシードに対する適性について

○今泉信之・小畑篤史・三品次郎・森 芸(総研)・美濃又哲男((有)エル・エス研究室)

【背景と目的】

イタリアンライグラス（以下 IR）を用いたウィンターオーバーシード（以下 WOS）は 1991 年秋に本馬場に導入されて以来、冬期の芝馬場を緑化できる画期的な方法として現在、札幌、函館、新潟競馬場を除く全ての本会競馬場で採用されている。昨年の本発表会では WOS に対するノシバの適性について、単年度（2008 年）の成績報告を行ったが、本報告では 2008、2009 年のデータを総合的に評価し、特にノシバほふく茎の分布状態に着目して、IR の生育状態とノシバ夏期回復状態について評価した。

【材料と方法】

2009 年に供試したノシバ系統は、昨年報告したノシバ 30 系統の中から特にほふく茎の地下部分布状態を考慮して選択した 20 系統を用いて調査した。なお、2008 年の調査は植え付け後 5 年を経過したノシバ圃場、2009 年は植え付け後 3 年を経過した圃場を使用した。各系統それぞれ正方形（約 2m²）のターフを形成しており、その半面に調査前年 9 月末に IR を播種した。生育した IR に対し 5 月末に除草剤散布、低刈り作業によりトランジション（IR の消去作業）を行った。IR および各ノシバの生育状態は刈りカス葉重量測定、サンプリングによる各器官の本数や乾燥重量の測定により評価した。

【結果及び考察】

2009 年調査において、20 系統に絞り込んだ条件は筑波産ノシバよりターフとしての評価が高いことを第一条件として、ほふく茎の形態的特徴（密集型、中間型、分散型）を考慮して選択した。密集型は地表から地下 3cm にほふく茎の 90%以上が存在する系統（12 系統）、中間型は地下 3cm にほふく茎の 60~90%が存在する系統（5 系統）、分散型は地下 3cm にほふく茎の 60%以下が存在する系統（3 系統）である。すなわち、これらは全ほふく茎重量が同じであっても、その密度は大きく異なり、この違いが WOS 期間中の IR 生育状態、またトランジション後のノシバの生育状態にどのような影響を及ぼすのかを調査した。

その結果、IR の生育はいくつかの例外を除くと地下 3cm のほふく茎密度と負の相関があり、分散型系統において IR の生育量が多いことが分かった。しかし、トランジション後のノシバの生育では密集型系統の回復が早い傾向にあることが分かった。そこで、2008 年のデータと共に統計処理（主成分分析）を行い、WOS に対してバランスの取れた優良系統を選抜したところ、密集型 3 系統（No.11、No.254、No.442）と分散型 1 系統（No.3）を選ぶことが出来た。

胸膜炎に対する胸腔ドレナージの有用性

○南 卓人・黒田泰輔・山本真弘・宮田健二・石川裕博・古角 博・帆保誠二（栗東）

【背景と目的】

胸膜炎は肺炎に続発することが多く、その悪化により生命を失う症例も少なくない。肺炎の主要原因菌である *Streptococcus zooepidemicus* は、ウマに肺炎を発症させた後、極めて短時間のうちに臓側胸膜を通過し、胸膜炎を発症させることが知られている。多くの抗菌薬は、胸水中へも移行することが知られているが、胸水が増量した場合には、胸水自体が細菌増殖の温床となることに加えて、胸水中の抗菌薬が数十倍に希釈された結果、その有効性が消失する。これらのことから、積極的に胸水を排液することが治療上重要であると考えられる。一方、胸膜炎の診断は、胸部の聴打診により行われるが、その確定診断にはエコー検査が必要である。しかし、胸水の貯留量とエコー所見との関連性については不明な点も多い。

そこで本研究では、胸水の貯留量とエコー所見との関連性を調査するとともに、胸膜炎あるいは胸膜肺炎を発症した症例に対して胸腔ドレナージを臨床応用したのでその概要を報告する。

【材料と方法】

胸水の貯留量とエコー所見との関連性：研究馬 4 頭を用いて、右胸腔内に無菌的に生理食塩水を注入し、その注入量とエコー所見との関連性について調査した。

胸腔ドレナージの臨床応用：胸膜炎あるいは胸膜肺炎を発症した競走馬 4 頭に対して、エコー検査により胸水の貯留を観察するとともに、胸腔ドレナージを実施した。

症例 1, 2：初診時から重度の化膿性胸膜肺炎

症例 3：輸送性肺炎から胸膜肺炎を併発

症例 4：肺炎から胸膜炎を併発

【結果】

胸水の貯留量とエコー所見との関連性：全供試馬において、右胸腔内に注入した生理食塩水が左胸腔内においても観察されたことから、左右の胸腔が交通していることが明らかとなった。また、右胸腔内に注入した生理食塩水が約 2 L に達した時点で、左右の胸腔内における胸水の貯留が確認され、その所見は注入量の増量に伴って顕著となった。

胸腔ドレナージの臨床応用：症例 1 は、積極的な胸腔ドレナージを実施した結果、延命はできたものの、予後を考慮し安楽殺された。症例 2 は、胸腔穿刺により胸膜炎は治癒したものの、重度の化膿性肺炎のために安楽殺された。症例 3, 4 は積極的な胸腔ドレナージを継続した結果、胸膜炎および胸膜肺炎は治癒した。

【考察】

健常馬を用いたエコー検査の結果、片側の胸腔内に約 1 L の胸水が貯留することにより、はじめてエコー所見が観察されることが示された。このことは、エコー所見が観察された時点では、既に比較的多量の胸水が貯留していることを示しており、今後の診断および治療指針に有益な情報であると考えられた。また、肺炎あるいは胸、膜炎発症馬に対しては、積極的にエコー検査を行い、必要に応じて胸腔ドレナージを早期かつ積極的に実施することが、胸膜炎を治癒させる有効な手段であると考えられた。

全身投与されたテトラサイクリン系抗菌薬のウマ涙液への移行性

○黒田泰輔・石川裕博・古角 博・帆保誠二（栗東）・田村周久（美浦）・
丹羽秀和・奥 河寿臣（栃木）・永田俊一（競理研）

【背景と目的】

競走馬に頻繁に発生する細菌性角膜炎の治療には、抗菌薬の1日6回以上の点眼が推奨されているが、頻回の点眼が出来ず、重症化する症例も少なくない。一方、ヒトや小動物医療では、点眼薬に加えてテトラサイクリン系抗菌薬を全身投与することで、長時間にわたり涙液中に薬物を移行させ、角膜融解を防ぐ治療法が臨床応用されている。しかし、ウマにおけるテトラサイクリン系抗菌薬の涙液移行性に関する報告は少なく、細菌性角膜炎に対する有効性は確認されていない。本研究では、テトラサイクリン系抗菌薬による細菌性角膜炎の治療法を検討する目的で、オキシテトラサイクリン(OTC)、ミノサイクリン(MINO)およびドキシサイクリン(DOXY)について、全身投与による涙液への移行性を調査した。

【材料と方法】

実験には、サラブレッド研究用馬2頭を用いた。各抗菌薬の投与は、ウマの感染症に対する一般的な用量および投与方法(OTC:7mg/kg, 静脈内投与、MINO:2.2mg/kg, 静脈内投与、DOXY:10mg/kg, 経口投与)により行った。投与後1, 2, 4, 8, 12 および 24 時間に濾紙を下眼瞼と第3眼瞼間に挿入して涙液を採取した。また、各薬物の血漿中濃度と涙液中濃度との関係を調べるために、薬物投与後、経時的に血液を採取した。なお、涙液および血漿中の薬物濃度は、液体クロマトグラフ質量分析法により測定した。

【結果】

各抗菌薬の涙液中濃度は、投与後1時間でOTCが2.61 μ g/mL、MINOが0.14 μ g/mL、DOXYが0.24 μ g/mLであり、投与12時間後の涙液中濃度はそれぞれ1.22 μ g/mL、0.09 μ g/mL、0.10 μ g/mLであった。各抗菌薬の最高涙液濃度はOTCが投与後1時間、MINOおよびDOXYが投与後2時間（それぞれ0.21 μ g/mL、0.29 μ g/mL）であった。各抗菌薬の血漿中濃度に対する涙液中濃度の比率は2~6割程度であり、投与後2~24時間では血漿中濃度と涙液中濃度との間に高い相関関係(相関係数0.88~0.98)が認められた。

【考察】

今回検討したテトラサイクリン系抗菌薬の涙液濃度は、投与後1~2時間でいずれもウマにおける主要な細菌性角膜炎である *Streptococcus* 属および *Staphylococcus* 属の最小発育阻止濃度(MIC)に達しており、投与後12時間においてもほぼ同程度の濃度を維持していた。このことから、これら抗菌薬の全身投与が、細菌性角膜炎に対し有効であることが示唆された。また、テトラサイクリン系の抗菌薬は、抗コラーゲナーゼ作用を持つことも報告されており、角膜融解の著しい細菌性角膜炎への応用が期待される。

抗真菌薬ポリコナゾールの角膜真菌症に対する有効性について

○田村周久・岡野 篤(美浦)・永田俊一(競理研)・
丹羽秀和(栃木)・黒田泰輔(栗東)・松田芳和(美浦)

【背景と目的】角膜真菌症は角膜上皮欠損部に真菌が感染することで発症し、長期の治療が必要とされる眼疾患である。主な治療法は抗真菌薬の点眼投与であるが、頻回投与や薬剤の角膜刺激性によりウマが拒否行動を示し、点眼投与が困難となることがある。一方、経口投与は容易であるが、これまでの経口投与薬は副作用や角膜分布が乏しいためにあまり用いられてこなかった。新世代のトリアゾール系抗真菌薬であるポリコナゾールは、幅広い抗真菌スペクトラムを持ち、その抗真菌作用が高い上、ウマにおいて経口投与後に優れた体内分布を示すことが報告されている。しかし、経口投与時における涙液中の薬物濃度や、有効濃度の持続時間に関する詳細は明らかでなく、角膜真菌症に対する有効な投与量も検証されていない。そこで本研究では、(Ⅰ)経口投与後の涙液中薬物濃度と血中薬物濃度を経時的に測定すること、(Ⅱ)ウマ角膜真菌症例から分離された真菌株を用い、その最小発育阻止濃度(MIC)を測定することにより、ウマ角膜真菌症に対するポリコナゾールの経口投与量と有効性を検討した。

【材料と方法】(Ⅰ). 健康なサラブレッド種5頭に対し、ポリコナゾール(ブイフェンド錠、ファイザー株式会社) 4.0mg/kg を水 1L に溶解し、経鼻チューブを用いて投与した。投与 5、10、20、30、40、50、60、75、90 分後、2、3、4、8、12、24 および 30 時間後に採血を実施し、血清分離した。また、経口投与 1、2、4、8、12 および 24 時間後に下眼瞼と第3眼瞼の間に濾紙を挿入し、涙液吸収後に遠心する方法で採涙した。各検体の薬物濃度は液体クロマトグラフ質量分析法にて測定した。併せて、副作用の有無を調べるために臨床検査および血液生化学検査を実施した。(Ⅱ). 本年9月に発症した競走馬の角膜真菌症例から分離された真菌株(*Aspergillus flavus*)を寒天培地上で、25℃にて48時間培養し、Etest(シメックス・ビオメリュー)を用いてポリコナゾールの感受性試験を実施した。

【結果】(Ⅰ). 血中薬物動態は吸収相のある1コンパートメントモデルの推移を示し、最高血中濃度は $3.30 \pm 0.10 \mu\text{g/ml}$ 、最大濃度時間は 1.5 ± 0.37 時間後、半減期は 16.0 ± 1.33 時間であった。採取した涙液量は平均 $1.17 \pm 0.34\text{ml}$ であった。最高涙液中濃度は $1.9 \pm 0.26 \mu\text{g/ml}$ 、最大濃度時間は 1.6 ± 0.55 時間後、半減期は 25.2 ± 9.19 時間であった。平均涙液中濃度は、投与24時間後において $1.0 \mu\text{g/ml}$ 以上であった。また、投与後に一般状態や血液生化学検査値に異常は認めなかった。(Ⅱ). 分離真菌株に対するポリコナゾールのMICは、 $0.5 \mu\text{g/ml}$ であった。

【考察】本研究によりポリコナゾールは経口投与後、速やかに涙液中に移行し、涙液中の半減期は24時間以上であることが示された。症例からの分離真菌株に対するMICは $0.5 \mu\text{g/ml}$ であり、海外の *in vitro* 実験においても、ウマの角膜真菌症の主要な原因真菌に対するMICは $1.0 \mu\text{g/ml}$ 以下と報告されている。今回の実験で、ポリコナゾール 4.0mg/kg の経口投与では、投与24時間後においても平均涙液中濃度が $1.0 \mu\text{g/ml}$ 以上であり、その間、真菌に対する有効濃度を維持できることが明らかとなった。また、投与による副作用も認められなかった。

以上のことから、ウマ角膜真菌症の治療に対するポリコナゾールの経口投与量は1日1回4.0mg/kgであり、その有効性は高いと考えられた。

2種の耐性菌感染により発症・再発した喉嚢蓄膿症の一例

○前田昌也・宮越大輔・池田寛樹・佐藤和茂（HBA 静内支所）・中川 亮（JBBA 静内種馬場）・
沖田正憲（オキタ獣医科医院）・澤邊順子・枝松弘樹（北海道日高家畜保健衛生所）

【背景と目的】

喉嚢蓄膿症は *Streptococcus equi* 感染を主とする上部気道疾患に継発することが多く、鼻漏に加えて喉嚢の拡張が機械的な嚥下障害をもたらすこともある。今回、初診時より鼻漏を主徴とし、膿汁より多剤耐性菌 *Stenotrophomonas maltophilia* の感染が確認された喉嚢蓄膿症に遭遇し、*Streptococcus equi* ssp. *zoepidemicus* の感染により再発し再治療中のため、その概要を報告する。

【材料と方法】

症例はサラブレッド種の繁殖雌、15歳。発熱と鼻漏を主訴に抗生物質投与（ペニシリン・ストレプトマイシン、ミノサイクリン・ゲンタマイシン）を開始したが第3病日より食欲不振により輸液療法を併用、第7病日には嚥下困難を示した。カナマイシン・セフォペラゾン・イミペネムなど種々の抗生物質投与にも反応がなく、第25病日本所に来院。内視鏡検査にて咽喉頭・気管内の泡沫様膿汁停滞、持続性の軟口蓋背方変位、咽頭腔背側の沈下がみられ、嚥下反射（-）であった。内視鏡の喉嚢挿入時に多量の白色膿汁が排泄され、採材後ヨード希釈液による局所洗浄を実施した。第27病日の検査時には喉嚢の拡張および膿汁蓄積が良化傾向ながらも依然として嚥下反射（-）、軟口蓋背方変位がみられ、喉嚢蓄膿症に極稀な神経障害に伴う嚥下麻痺を起していると示唆された。

【結果】

採材した膿汁から *S. maltophilia* の分離が報告された。薬剤感受性試験（ディスク法）では ABPC・GM・PCG・SM・ST 耐性を示し、第28病日よりエンロフロキシサシンの全身投与およびセフチオフルによる局所洗浄を実施した。経鼻胃挿管留置に成功した第39病日以降は流動食給餌を併用し、以後全身状態が次第に回復、嚥下反射も戻り第74病日以降は定期検査による経過観察とした。この間に種付けを実施し、受胎も確認されている。

第191病日、再び多量の鼻漏を示し翌日来院。前回同様の処置・検査により *S. equi* ssp. *zoepidemicus* が分離され、薬剤感受性試験（ディスク法）にて ABPC・GM・OTC・SM・ST 耐性、ENR（+）が確認された。重度の嚥下障害はみられず、ペニシリンによる局所洗浄を継続し第236病日時点で良化傾向にあり、妊娠も維持されている。

【考察】

ヒトで院内感染原因菌の一つであり、ウマでは下部気道疾患に少数例のみ報告がある *S. maltophilia* の感染が喉嚢蓄膿症の本例で確認され、さらに再発時分離された *S. equi* ssp. *zoepidemicus* も薬剤耐性を示している。これらの細菌による本例での感染経路は不明であるが、今後の軽種馬臨床現場でも耐性菌感染による疾病が問題化すると危惧され、我々も尚一層抗生物質治療の選択に慎重を期すべきである。

JRA 育成馬における胃潰瘍の発生状況と オメプラゾールの予防および治療効果

○遠藤祥郎・村瀬晴崇・大村昂也・土屋 武・頃末憲治・石丸睦樹（日高）・
秋山健太郎・内藤裕司（宮崎）宮田健二・成田正一（栗東）・
吉田年伸・坂本浩治（馬事部）・柴 成宏・松本 哲（メリアル・ジャパン）

【背景と目的】

競走馬の胃潰瘍罹患率は高いと報告されているが、育成馬についての報告は少ない。また、昨年わが国で胃潰瘍の治療薬として販売されたプロトンポンプ阻害薬であるオメプラゾールの経口ペースト剤は、海外では競走馬に対して治療効果のみならず予防効果もあることが報告されているが、国内での治験例および応用例はない。

今回、JRA 育成馬における胃潰瘍の発生状況を調査するとともに、オメプラゾール経口ペースト剤の予防および治療効果を検討したので、概要を報告する。

【材料と方法】

2008年に生まれ、2009年7月から2010年の4月までJRA日高および宮崎育成牧場で育成されたサラブレッド85頭（雄42頭・雌43頭）について、2月に胃内視鏡検査（pre）を実施し、Andrewsら（1999）の分類に基づき評価した。これらのうち胃潰瘍が認められなかった馬を投薬群および対照群の2群に分け、投薬群にはガストロガード[®]（メリアル・ジャパン）をオメプラゾールとして1mg/kgBWの用量で1日1回28日間投与した。また、胃内視鏡検査（pre）にて胃潰瘍が認められた馬の一部を治療群として、オメプラゾールを4mg/kgBWの用量で1日1回28日間投与した。これらの馬に対して通常どおり調教を実施し（F18まで）、3月～4月に胃内視鏡検査（post）を実施した。試験期間中に投薬群の3頭は、ガストロガード投与と関連しない有害事象が発生したために胃内視鏡検査（post）を実施しなかった。

【結果】

1) 胃内視鏡検査（pre）において、胃潰瘍が認められた馬は27.1%（23/85）であり、その内訳はスコア2が13%（3/23）、スコア1が87%（20/23）と、いずれも軽度であった。なお、胃潰瘍の発生に雌雄差は認めなかった。

2) 胃内視鏡検査（post）において、投薬群は3.6%（1/28）、対照群は38.7%（12/31）に胃潰瘍が認められた。胃潰瘍のスコアは、投薬群はスコア1が100%（1/1）であったのに対し、対照群ではスコア2が33.3%（4/12）、スコア1が66.7%（8/12）であった。

3) 胃内視鏡検査（pre）において、胃潰瘍が認められ治療した18頭の馬はすべて治癒した。

【考察】

今回の調査により、育成後期にある育成馬の胃潰瘍罹患率は約30%と考えられたが、いずれも軽度であった。また、オメプラゾール1mg/kgの投与は胃潰瘍の予防に効果があり、4mg/kgの投与は治療に効果があることがわかった。

ガストロガード[®]はアストラゼネカ社の所有登録商標

育成後期の軽種馬における浅指屈腱の肥大とその将来

○日高修平・小林光紀・安藤邦英・吉原豊彦（軽種馬育成調教センター）・富成雅尚（馬事部）

【背景と目的】

育成後期の軽種馬における浅指屈腱の肥大は、屈腱部の帯熱や違和感を主訴とし、超音波検査において浅指屈腱断面積の全域的な増大が認められるため、トレーニングを進める上でしばしば問題となっている。しかし、この浅指屈腱の肥大が競走馬としての将来に与える影響に関する報告は海外でも少なく、国内では皆無に等しい状況にある。本研究では、育成後期において浅指屈腱の肥大が認められた馬に対し、各種調査項目を設けて将来について検討したので、その概要を報告する。

【材料と方法】

対象は、BTC診療所で2004年1月～2008年12月の5年間に浅指屈腱全域が肥大していると診断された育成後期のサラブレッド種（82頭）である。調査項目は、それらの個体情報、出走率、初出走時期、初出走から1年間の出走回数および勝ち上がり率で、それらの調査結果はその母系兄弟（372頭）と比較した。また、腱肥大の程度により調査項目に差があるか調べるため、対象馬82頭を浅指屈腱の最大断面積が1.30以上1.80cm²未満および1.80cm²以上の2群に区分し比較した。

【結果】

浅指屈腱の肥大が認められた馬は、両前肢33頭（40.2%）、左前肢26頭（31.7%）、右前肢23頭（28.0%）であった。全体の89.0%の馬が、中央または地方競馬に出走し、そのうちの28.8%が2歳時に出走した。初出走時期の中央値は3歳時の3月で、初出走から1年間の出走回数は8.4±4.8回、勝ち上がり率は65.2%（中央・地方含む）であった。これらのうち、母系兄弟と差が認められたのは2歳時での出走率（兄弟：53.7%）および初出走時期（兄弟：2歳時の12月）であった。また、腱肥大の程度による比較では各項目において2群間に差は認められなかった。

【考察】

育成後期における浅指屈腱の肥大は、2歳時での出走率が低く、初出走時期が遅れる傾向にあることが明らかとなった。しかし、その後の出走率、初出走から1年間の出走回数および勝ち上がり率に差がなかったことから、その後の競走馬として活躍の可能性は十分に期待できることが示唆された。また、浅指屈腱の最大断面積の大きさによる検討では、今回調査した各項目に有意差を認めなかったことから、最大断面積の大きさは将来に大きな影響を与えないことが示唆された。

開腹術後に短期間で高強度の調教に復した JRA 育成馬の一症例

○大村昂也・石丸睦樹・土屋 武・遠藤祥郎（日高）・樋口 徹（NOSAI 日高）

【背景と目的】

開腹術後の一般的な術後管理として、術後 12～14 日で抜糸を行い、60 日程度の休養が必要とされている。また、術後の運動管理は、厩舎内の常歩運動を 30 日間行った後、小パドックで放牧を 30 日間行うことが推奨されている。疝痛を発症した JRA 育成馬の開腹術実施後、治癒がきわめて良好であったため術後 18 日で騎乗トレーニングを再開し、合併症等を発症せずにトレーニングセールに上場することができた症例について、その概要を報告する。

【症例】

症例は、サラブレッド種、牝、2 歳の JRA 育成馬であり、第 1 病日、午前中に坂路にてスピード調教を実施し、夕方軽度の疝痛症状を呈した。その際、フルニキシシ 1mg/kg を投与し状態は落ち着いたが、4 時間後再度強い疝痛症状を呈した。直腸検査と超音波検査にてガスで充満した小腸ループを認めたため開腹手術を実施、正中を約 15cm 切開した。空腸下位は収縮し、空腸中位に砂を含む食塊があり、その部より吻側は膨満し色調の充血がみられ、腸間膜附着部に膠様浸潤があった。腸間膜根部捻転様を呈していたため捻転を整復し、空腸最上部までたどり内容を盲腸へ推送した。空腸の色調と蠕動の回復を確認し、腹壁、皮下織、皮膚をモノフィラメント吸収糸の連続縫合にて閉腹した。手術時間は 53 分であった。

【術後経過】

第 2 病日より給餌を再開した。第 3 病日まで外科的侵襲による高体温が見られたが、血液性状に異常所見はなかった。第 4 病日には元気や食思が回復し、その後の一般状態はきわめて良好であったことから、第 9 病日に抜糸し、第 10 病日よりウォーキングマシンによる常歩運動と小パドックによる放牧を開始した。創周囲には軽度の浮腫が認められたが、滲出や疼痛はなく、超音波検査において腹壁の離開を疑う所見が認められなかったことから、第 18 病日に騎乗運動を再開した。その後運動強度を漸増し、第 67 病日には坂路で F15-15 を実施、その後週 1 回のスピード調教（トラックコースにて F13-12）を行い、第 88 病日に行われたトレーニングセールにて、ラスト 2F を 13.4-11.0 のタイムで走行することが可能であった。術後、トレーニングセールまで疝痛症状を発症したことは 1 度もなかった。なお同馬は、第 190 病日に初出走した。

【考察】

本症例は、手術時に小腸のダメージが軽度で腸管切除を行わなかったことや、手術が 53 分と短時間であったことから、術後イレウスや感染が起きなかったと考えられた。また、腹壁の切開創が 15cm と小さかったことや、超音波検査等を含めた術創の定期的なモニタリングを実施しながら、トレーニング強度を漸増していったことで、腹壁ヘルニアの発症を防止できたと考えられた。以上のことから、腸管切除を伴わない小腸捻転の開腹術において、早期のトレーニングの再開、競走復帰が可能であることが示唆された。

サラブレッドにおける外科手術の術後成績に関する回顧的調査

109頭の骨折に対する内固定手術

○田上正明・加藤史樹・鈴木 吏・仙波尚之・橋本裕充・角田修男（社台コーポレーション）

【背景と目的】サラブレッドにおける骨折に対する治療は、馬の獣医外科医療の中で古くからそして将来的にも主要なテーマの一つである。我々は1998年から2009年に175頭の骨折症例に対して内固定手術を実施したのでその内容と、その内109頭の術後成績を客観的に評価することにより適切なインフォームドコンセントに資する目的で回顧的調査を行ったのでその概要を報告する。

【材料と方法】症例はサラブレッド種で、手術時の年齢は当歳13頭、1歳4頭、2歳88頭(50.2%)、3歳44頭(25.1%)、4歳11頭、5歳以上15頭であった。骨折部位は第1指骨48頭(27.4%)、第3足根骨35頭(20.0%)、第3中手骨21頭(12.0%)、第3中足骨18頭(10.3%)、第1趾骨14頭、尺骨・近位種子骨各10頭、第3手根骨8頭、中心足根骨・脛骨遠位外果各3頭、第4手根骨2頭、副手根骨・第4中足骨・中間手根骨各1頭であった。何れの手術もイソフルラン-酸素吸入麻酔下にて実施され、尺骨骨折など15頭ではプレートと螺子による内固定手術を行い、他のすべての症例は螺子による内固定手術を行った。

症例数が多く、2008年までに手術を行った第1指骨の矢状骨折(以下P1)41頭(2歳24頭)、第3足根骨の板状骨折(以下T3)34頭(2歳13頭)、第3中手(足)骨の顆状骨折(以下M3)34頭(2歳5頭)についてJBIS Search®を用いて術後の競走成績を調査した。調査項目は、2010年5月末の時点での出走率・術後初出走までの日数・出走回数・取得賞金であった。

【結果と考察】術後の出走率は、P1では78.0%、T3とM3では85.3%であった。術後初出走までの日数は、P1(1200日を超えた2頭を除外)では164~871日(2歳/平均404.3日・競走馬/平均317.1日)で、T3では206~484日(平均312.7日)、M3では162~686日(平均316.0日)であった。

出走回数はP1では1~74回、T3では1~30回、M3では1~53回であった。

術後取得賞金は、P1では0~13,152.8万円(中央値:65.5万円)、T3では0~29,012.7万円(中央値:177.9万円)、M3では0~18,466.4万円(中央値:295.0万円)であった。術後競走出来た症例の比率はいずれも高かったが、出走までには平均で約10ヵ月以上を要しており、P1の2歳馬で特に長かった。術後取得賞金は症例による差が大きかったが、P1の半数は100万円以下であり2歳馬ではパフォーマンスが低い症例が多く認められた。

しかし、様々な困難を伴うサラブレッドの骨折に対する内固定手術後にも多くの馬が競走に出走することが可能で、高い能力を発揮出来た症例が相当数いたことは意義深いことと思われた。

北米における立位 MRI 診断法について

○岡田 淳（馬事部）

近年、欧米のウマ獣医学領域では運動器疾患を高い精度で診断するために、核磁気共鳴装置（MRI）が利用されている。MRIは軟部組織の形態を断層像として観察でき、従来の検査法では診断が困難な筋、腱および靭帯の詳細な病態把握が可能である。しかしながら、ヒト医療で使用されているMRI装置をウマに応用するには全身麻酔が必要であり、倒馬時や覚醒時の事故発生リスクから日本での普及は進んでいない。そのような中、ウマのMRI検査を安全に実施することを目的として、英国のHallmarq社が、立位で検査可能な装置（Equine Standing MRI System）を開発し、注目を集めている。本装置は立位鎮静下で蹄～腕節・飛節間を撮影でき、欧米ではその使用実績が報告されている。そこで今回、平成21年11月14日から1ヶ月間、北米における立位MRI診断法の実態調査を目的とし、University of California DavisおよびB.W. Furlong & Associates（ニュージャージー州）において研修を実施した。

MRIは『体内の水素原子の分布を画像化する検査』である。動物の体の2/3は水で構成され、体内の水素原子は通常ランダムに配列している。しかし、静磁場下では一定方向に整列する。そこに外部から強力な電磁波（RFパルス）を照射すると、水素原子はそのエネルギーを吸収して方向を変化させる（共鳴現象）。その後、照射を停止すると、水素原子は吸収したエネルギーを電磁波（MR信号）として放出しながら、静磁場状態下へと戻る（緩和現象）。この信号をコンピューターで画像化したものが、MRIである。

現在、本装置を導入している施設は、北米14箇所、欧州30箇所であり、今後も各地で導入が計画されている。撮影はromifidine 1.0%溶液（状況に応じてブトルファノールを混合）による鎮静下で実施され、主にT1強調、T2強調およびSTIRの3画像を用いて診断が行われていた。現在、本会では診断が困難な遠位深屈腱炎や骨浮腫の診断も容易であった。一方、MRIの欠点とされる騒音はなく、撮影中にウマが驚くことはなかったが、1部位1画像あたりの撮影時間は約3分間であり、すべての撮影を終えるには早い症例でも60分を要した。そのため、体動による再撮影が必要となる症例もあり、撮影時間の短縮は課題の一つと考えられる。今回の研修先では蹄、navicular および深屈腱に疾病が多いジャンピングホース等の競技馬での利用が主であり、本研修中に競走馬での症例に遭遇することはなかった。今後は、競走馬で発症の多い球節疾患への応用についての検証を実施する必要もある、と考えられる。

新素材の重層培地を用いたウマインフルエンザウイルスのブラック法の検討および最近のウマインフルエンザウイルス株の性状

○山中隆史（栃木）

血球凝集抑制（HI）試験は、インフルエンザウイルスに対する抗体価を測定する血清学的診断法の一つである。その長所として、HI 抗体価は感染の防御レベルを直接的に表す中和抗体価と良好な相関を示すことや、手技が簡便で多検体処理が可能ながあげられる。一方、中和抗体は HI 抗体よりも高い特異性および感度を有するものの、測定手技が煩雑であり多検体処理が困難である。以上のことから、インフルエンザウイルスの検査には HI 試験が汎用されている。しかし、HI 抗体価はウイルスのヘマグルチニン（HA）の性状の変化により測定不可能になることや、一部の亜型のウイルスでは感度が非常に低いなどの欠点が知られている。このことから、簡便な中和試験法の開発が望まれる。演者の留学先であった National Institute for Medical Research（英国）では新素材（アビセル、Avicel™）を重層培地に使用したブラック法、および同法を応用した中和試験法が開発されている。アビセルは、その比重に比して粘ちょう性が低く 96 ウェルプレートに重層することが可能であり多検体処理に向けた長所を有している。今回、演者はアビセルを用いた中和試験法のウマインフルエンザウイルスへの応用を試みたので、その概要を報告する。

また、演者は 2010 年 2 月 2 日に行われた Meeting of the Equine Influenza Expert Surveillance Panel 2010（ESP）に出席し、2009 年における馬インフルエンザの分離ウイルス株の性状に関する情報を収集してきた。2009 年は、英国、米国、フランス、インド、ウルグアイ、スイス、フィンランドおよびアイルランドで発生報告があった。それらの流行中に分離された全てのウイルス株は、遺伝学的にフロリダ亜系統に属するものであった。フロリダ亜系統は、2003 年に英国に侵入して以降、ユーラシア大陸で独自に進化していることから、現在ではフロリダ亜系統クレード 1（Fc1）およびクレード 2（Fc2）の 2 つに分類されている。Fc1 は主に北米大陸を中心に流行しており、Fc2 は英国、アイルランドおよびユーラシア大陸全域で流行している。

2009 年の ESP のワクチン推奨株は、Fc1 の South Africa03-like（SA03）のみであった。しかし、2008-2009 年に分離された Fc1 と Fc2 の間では抗原性が異なることが明らかとなり、SA03 のみでは Fc2 への防御効果が危惧されることから、2010 年のワクチン推奨株には Fc2 株（Richmond07-like）が加えられることとなった。一方、フロリダ亜系統に分岐する前の旧アメリカ系統株（Newmarket1/93 および Kentucky98）は、Fc2 と抗原性状が酷似していた。このことから、現在でも旧アメリカ系統株をワクチンに含んでいる場合には、Fc2 への防御効果が期待される。発表では、日本製ワクチンに含まれている旧アメリカ系統株（La Plata93）の Richmond07 への交差反応性についても述べる予定である。

ウマ角膜上皮再生の試み（第二報）

○守山秀和・笠嶋快周・桑野睦敏・和田信也（総研）

【背景と目的】

昨年の本発表会で我々は、ウマ角膜に移植可能な培養角膜上皮細胞シートの作製を目的に、角膜輪部組織よりウマ角膜輪部上皮細胞（ELECs）の分離と *in vitro* での増殖に成功したことを報告した。しかし、増殖させた培養細胞を移植片として用いるには、これらの細胞を培養皿から細胞間結合が残存したシート状で回収する必要がある。そこで今回、ヒトで応用されている温度応答性培養皿を用いた手法で、培養 ELECs のシート状での回収を試みた。さらに、培養細胞の配列をより生体内でのそれに近づけることを目的に、上皮細胞の角化を誘導する空気暴露培養法が培養 ELECs の重層化に及ぼす影響についても検討したので併せて報告する。

【材料と方法】

眼疾患以外の理由で病理解剖されたサラブレッド種成馬 4 頭から、既報に準じて ELECs を分離した。分離した細胞を温度応答性培養皿（株CellSeed）上でフィーダー細胞と液相培養条件下で共培養し、19（コンフルエント直後）、24、42 日後に細胞シートとして回収を試みた。得られた細胞シートは、HE 染色後に重層化の程度を形態学的に観察した。また、同様に分離した細胞を Duplex Feeder System (Miyashita et al., 2008) を用いて気相-液相（空気暴露）および液相のみ（非空気暴露）の条件下で 33 日間培養した。これらの培養細胞はシート状での回収ができないため、細胞が接着した培養皿の一部を含めて固定・包埋し、HE および免疫染色により重層化と上皮化の程度を比較した。

【結果と考察】

温度応答性培養皿上で培養した ELECs は、コンフルエント直後においてのみシート状に回収できたが、この細胞シートは単層構造であった。これ以降に回収を試みた培養 ELECs においては、細胞シートの強度不足からシート状での回収が困難であった。このことから、ELECs の温度応答性培養皿を用いた単純培養ではヒトでみられる重層化は誘導されず、シート状での回収は困難であると考えられた。

一方、Duplex Feeder System を用いた空気暴露培養法では ELECs の重層化が誘導され、角膜上皮細胞に特異的なサイトケラチン 3 の発現を認めたことから、生体角膜上皮組織に類似した細胞配列が構築されたと考えられた。

ウマ多血小板血漿（PRP）作製法とその活性化に関する検討

○岡田裕二・笠嶋快周・上野孝範・琴寄泰光・和田信也（総研）・上野雄二（美浦）

【背景と目的】

血小板の α 顆粒中には、創傷治癒や組織再生に効果的な成長因子（PDGF、TGF- β 、VEGF、EGFなど）が多く含まれ、近年では血小板を濃縮した多血小板血漿（Platelet Rich Plasma; PRP）の局所投与による組織再生法が注目されている。PRPは、骨および軟部組織の治癒を促進することが報告され、ヒトでは皮膚再生や口腔外科領域をはじめとする分野で応用されている。一方、欧米のウマ医療では、重篤な皮膚欠損を伴う挫創、腱・靭帯炎などに対するPRP移植治療の臨床応用が始まっている。ウマPRPの作製には野外での利用に適した濾過フィルターを用いた専用キットが販売されているが、国内での入手は困難である。今回我々は、既存の遠心機を用いた2回遠心法（ダブルスピン法）によるウマ血小板濃縮のための最適な遠心条件を検討した。さらに、培養細胞を用いて、作製したPRPから放出される成長因子の細胞増殖活性効果について検討を行った。

【材料と方法】

I. 頸静脈から採取した静脈血45mlに、ACD液（テルモ）5mlを添加し、転倒混和後10mlに分注し、遠心した。1回目遠心時160g、400g、900g、2000g、2回目400g、2000gによる遠心・分注を行った。1回目の遠心後Buffy coat上まで血漿成分を回収したものをP-PRP、下3mmまで回収した物をL-PRP、2回目遠心後上部血漿（Platelet Poor Plasma; PPP）を除去した底部1mlをそれぞれのPRPとし、全自動血球計算機（Sysmex）を用いてそれぞれの遠心条件の血小板数を測定した。

II. 頸部および腰部の皮膚片からアウトグロース法により得た線維芽細胞（n=4, P2以下）、および骨髓液のプレート接着法にて回収した間葉系幹細胞（n=4, P3以下）を、96wellマイクロプレートに 5×10^3 cell/well播種し、DMEM、10%FBS (Fetal Bovine Serum)、活性化後の10%PRP、5%PRP、2.5%PRP、10%PPP、5%PPP、2.5%PPPを添加し37°C CO₂5%の条件下で72時間培養し、MTS Assay (Promega社)にて細胞増殖活性を測定した。

【結果と考察】

I. 最終的な血小板濃縮倍率は、400g×2000gの遠心条件においてP-PRPが 7.4 ± 0.33 、L-PRPが 7.24 ± 0.26 倍で最も高かった。ヒトではPRPとして認められる有効濃縮倍率は4倍以上とされていることから、400g×2000gでの遠心条件でPRPとして有効なウマ血小板濃縮が行えると考えられた。

II. 10%FBSと10%PRP群において線維芽細胞、間葉系幹細胞ともに10%PPPと比較して有意に高い細胞増殖活性を示した（ $P < 0.01$ ）。10%PRPで10%FBSと同様な高い細胞増殖活性が認められたことは、PRPの活性化に伴い、上清中に α 顆粒からPDGFやTGF- β をはじめとする成長因子が放出されたことによるものと推察された。

既存の診療設備を応用した400g×2000gのダブルスピン法により十分な血小板の濃縮と活性化が得られたことから、臨床現場において簡便にウマPRPを作製できることが明らかとなった。

重度の運動機能障害を伴う悪性リンパ腫罹患馬の1例

○上野孝範・桑野睦敏・和田信也（総研）・片山芳也・村中雅則（栃木）・眞下聖吾（栗東）

【背景】

感覚情報や刺激伝達の経路として重要な脊髄は、椎骨脊柱管を走行し頸部より尾部に至る。脊柱管は骨組織に囲まれた腔であり構造および管内の容積を容易に変えることができないため、管内の血腫や膿瘍などの形成は脊髄を圧迫して神経障害を引き起こす。一方、脊髄外に生じた腫瘍も脊髄圧迫の一因であるが、ウマにおける発生報告は少ない。今回、脊髄硬膜外に形成された悪性リンパ腫により運動機能障害を生じた乗用馬1例を経験したため病変の概要を報告する。

【症例】

症例馬はKWPN種、セン、15歳であり、2007年10月、急激に腰萎歩様を呈し起立が不安定になった。経過を観察するも症状は進行し、回復の兆しが見られないため安楽死され病理解剖に供された。なお、腰萎発症の4ヶ月前に右上眼瞼、2ヶ月前に左上眼瞼と右第3眼瞼に形成された不整形充実性腫瘍を切除されており、いずれの組織も当研究室にてリンパ腫と診断されていた。また、この後にも胸部、耳介および鼻前庭部の皮下に腫瘍形成が確認された。

【肉眼所見】

第1頸髄から第7胸髄までの脊髄硬膜外には硬膜に付着した脂肪組織に混じるように黄白色ないし赤褐色髄様の腫瘍が認められた。腫瘍は主として脊髄腹側に位置し、特に第1頸髄および第7胸髄付近では、脊髄実質が圧迫され大きく変形していた。同様の腫瘍は肩関節、肘関節、股関節および膝関節内の脂肪組織中、眼瞼、声帯部粘膜下および鼻前庭部皮下でも認められ、全身の主要なリンパ節では顕著な腫大も観察された。

【組織学的所見】

腫瘍は増殖した小型ないし中型のリンパ球様細胞と微細な網状の間質により構成され、マクロファージおよび多核巨細胞の浸潤を伴っていた。リンパ球様細胞は、複数の明瞭な核小体、円形ないし多角形の外形、好塩基性の細胞質を有し、免疫組織化学的に抗CD3抗体陽性、抗CD20抗体陰性を示した。また、グラム染色、PAS染色、抗酸菌染色を実施したが、いずれにおいても微生物の存在は確認できなかった。腫大したリンパ節では腫瘍と同様の特徴を有す細胞群が実質の大半を占め、正常の濾胞構造は不明瞭となっていた。脊髄白質では変形部位を中心に神経軸索の膨化、消失ならびにミクログリアによる髄鞘の清掃反応が観察された。脊髄から分岐し末梢へ向かう脊髄神経の一部は増殖する腫瘍組織内に埋没しており、著しい軸索変性を伴っていた。

【考察】

本症例は、眼瞼部の腫瘍により腫瘍の存在が明らかとなり、脊髄硬膜外にて増殖した腫瘍組織の圧迫により運動障害を生じた多中心型のTリンパ球由来悪性リンパ腫であった。一般に、ウマの悪性リンパ腫は胸腔臓器、腹腔臓器、リンパ節および皮下に広く分布が見られる多中心型のものが多数を占め、初期には眼やその周囲にのみ限局する例も少なくないが、関節内や脊髄腔内に腫瘍増殖の見られる報告は殆どなく、本例は貴重な症例であると考えられた。

扁平上皮癌に対するシスプラチン局所投与の応用

○上野雄二・田村周久・小林 稔・草野寛一・松田芳和（美浦）・
村中雅則（栃木）・遠藤祥郎（日高）

【背景と目的】

扁平上皮癌は、ウマでは比較的良好にみられる腫瘍の一つである。好発品種はアパルーサ種やペイントホース種であり、好発部位は粘膜皮膚移行部や外部生殖器である。主な原因は紫外線への暴露や恥垢の蓄積と考えられている。治療法としては、外科的切除、凍結療法および免疫療法等が代表的であるが、近年になり諸外国においては白金化合物の抗癌剤であるシスプラチンを用いた局所化学療法の高い有効性が報告されている。今回、我々は東京競馬場の繋養馬に発生した扁平上皮癌症例に対して、シスプラチン局所投与を実施したので、その概要を報告する。

【症例】

症例馬はアパルーサ種、騏、12歳、2007年秋頃より下腹部、右頬部および左下眼瞼に腫瘍を認めるようになった。スプレーフリーザーを用いた凍結療法とBCGワクチンを用いた免疫療法を実施するも奏効せず、並行して行った病理組織学的検査により扁平上皮癌と診断した。下腹部の腫瘍は徐々に腫大し、2008年夏には排尿障害を認めた。同年10月に下腹部および右頬部の初回外科的切除を実施したが根治できず、その後も腫瘍の再発および内股部への転移を認めたため、外科的切除をさらに2回実施した。しかし、2010年3月に再び悪化したため、4回目の外科的切除時にシスプラチンを用いた局所化学療法を切除箇所に対して実施した。シスプラチン局所投与は2～3週間間隔で4回実施した。各回におけるシスプラチン合計投与量は、それぞれ55 mg、50 mg、60 mg、90 mgであった。その後、局所投与部の腫瘍再発は認められなかった。しかし、同年6月に包皮の腫瘍が著しく腫大したため安楽死とした。

【病理学所見】

包皮の腫瘍は扁平上皮癌であった。シスプラチンを投与していた腫瘍既発部位では、腫瘍の再発が認められなかった。また、他の臓器には転移を疑う所見は認めなかった。

【結果と考察】

本症例は、シスプラチン局所投与を実施した部位における腫瘍の再発を投与後3ヶ月間認められなかった。シスプラチンによる局所化学療法は、扁平上皮癌に対して有効であり、また、全身投与と比較して低用量であるため副作用も少ないことが確認された。一方で、包皮の腫瘍は、最後の外科的切除時には認められなかったが、その後急速に腫大し、最終的には安楽死の原因となった。この部位は腫瘍発生初期での発見が困難であるが、好発部位でもあるため、術中・術後の精査が必要であったと推察される。腫瘍発生初期での発見が可能となれば、シスプラチンによる局所化学療法は、より有効性の高い治療法になると考えられた。

セボフルラン吸入麻酔下における ドブタミンとフェニレフリンの循環改善効果

栗本慎二郎・太田 稔・○石川裕博・徳重裕貴・前 尚見・儘田雅行（栗東）・永田俊一（競理研）

【背景と目的】

吸入麻酔中の循環改善薬には、ドブタミンが第1選択薬として広く用いられている。しかしながら、吸入麻酔薬の作用により末梢血管が著しく拡張した症例では、ドブタミンを高用量で投与しても十分な血圧上昇が得られないことが多く、また高用量により心拍数増加や不整脈をはじめとした副作用が認められる症例も少なくない。このことから、安全でより効果の高い循環改善法の検討が必要である。そこで、セボフルラン吸入麻酔下におけるドブタミン（Dob）とフェニレフリン（Phe）の循環改善効果について比較検討し、フェニレフリンが循環改善薬として有用であるか検討した。

【材料と方法】

サラブレッド研究馬6頭を用い、キシラジン1.0 mg/kgによる鎮静後、5%GGE1,000 mLとチオペンタールナトリウム4 mg/kgの静脈内投与で倒馬・導入し、セボフルラン1.2 MACにて無侵襲下で維持した。麻酔開始45分からDobを0.5, 1.0, 2.0 µg/kg/minの順に各15分間連続投与した。次に30分の投薬休止時間の後、Pheを0.25, 0.5, 1.0 µg/kg/minの順に各15分間連続投与した。心拍数（HR）、平均動脈圧（MAP）、収縮期圧（SAP）、拡張期圧（DAP）一回拍出量（SV）、心拍出量（CO）、全身血管抵抗（SVR）、血漿中Phe濃度を測定した。

【結果と考察】

Pre値および各投与量（以下同順）でのMAPは、Dob群で50.7, 67.2, 77.3, 89.7 mmHg、Phe群で53.7, 65.0, 71.2, 95.8 mmHgと、両群とも用量依存性に有意に上昇した。SAPとDAPにおいても、MAPと同様に両群ともに有意に上昇したが、SAPとDAPの差で示される脈圧はDob群でのみ有意に上昇した。Dob群におけるSVは、723.8, 791.9, 930.0, 1100.5 mLと有意に上昇し、COも21.7, 21.4, 24.0, 30.7 mLと有意に上昇した。SVRは、163.3, 225.6, 228.6, 204.2 dynes・sec/cm⁵と有意な変化は認めなかった。このことからDob群では主にSVの増加に起因してMAPが上昇した。一方、Phe群のSVは、878.4, 743.6, 644.1, 594.1 mLと減少し、COは28.0, 21.6, 18.6, 16.2 mLと高用量ではPre値に比較し有意に減少した。SVRは、132.2, 215.5, 258.3, 412.3 dynes・sec/cm⁵と用量依存性に有意に上昇した。このことからPhe群では主にSVRの増加に起因して血圧が上昇した。また、Phe各投与量終了時点の血漿中Phe濃度は、6.2, 17.0, 37.9 ng/mLであった。

Pheは、Dobとは異なる機序でMAPを上昇させることが可能であるが、Phe群の高用量においてはSVRの増加によりSVおよびCOが減少した。以上のことから、吸入麻酔下において安全でより効果的な循環改善を行うためには、SVの改善を目的としてDobを第1選択薬として使用し、循環動態が改善されない症例に対しては低用量のPheをDobと併用することが望ましいと考えられた。

セボフルラン吸入麻酔下におけるロクロニウムの筋弛緩効果について

小平和道・○柿崎 将・大出浩隆・岡野 篤・田村周久・溝部文彬・松田芳和（美浦）・
栗本慎二郎（栗東）・間 弘子（総研）

【背景と目的】

全身麻酔下での眼部手術や離開した骨折の整復手術においては、手術手技を円滑に行うために厳密な筋弛緩状態を得る必要がある。しかし、目的とする筋弛緩状態を吸入麻酔薬のみで得るためには、麻酔濃度を高く維持する必要がある、術中の低血圧症や覚醒遅延などの副作用が発生しやすい。一方、海外では、吸入麻酔時における筋弛緩薬投与の有用性が報告されており、臨床現場においてもすでに応用されている。また、近年国内で発売された非脱分極性の筋弛緩薬であるロクロニウムは、他の筋弛緩薬と比較して十分な効力があり、副作用も少ないなど利点が多いことから、ヒトの医療現場での使用頻度が急速に高まっている。そこで、セボフルラン吸入麻酔下のウマに対して無侵襲下でロクロニウムを静脈内投与し、その効果について検証した。

【材料と方法】

健康なサラブレッド種 4 頭を用い、セボフルラン吸入麻酔下においてロクロニウムを 0.2 mg/kg (L 群) および 0.4 mg/kg (H 群) で静脈内投与した。同一馬の実験間隔は最低 2 週間とした。両群ともに、キシラジン 0.75 mg/kg による鎮静後、ケタミン 2.5 mg/kg で倒馬し、呼気中セボフルラン濃度が 3.0 % となるように無侵襲下で維持した。麻酔中は、筋弛緩モニタリング装置 (TOF ウォッチ SX ; シェリング・ブラウ社) を使用し、浅腓骨神経に電気刺激 (2Hz の電流を 4 回連続刺激、15 秒間隔) を与えて伸筋の収縮運動を惹起させ、蹄先端に取り付けた加速度トランスデューサでその運動の振幅を測定することにより、筋弛緩レベルをモニタリングした。吸入麻酔開始後約 45 分でロクロニウムをボーラス投与し、投与後の臨床所見および副作用の有無を観察した。覚醒は暗所での自由起立とし、必要に応じてメドトミジンで再鎮静を行った。また、TOF ウォッチ SX によりロクロニウムの作用持続時間を記録して、Wilcoxon 検定を用いて群間の比較を行った。

【結果】

両群において、ロクロニウムの投与後約 2 分までに、電気刺激に対する反応が消失し、完全な筋弛緩状態が得られた。また、眼球は中央の位置に固定されていた。ロクロニウムの投与直後には、一過性の血圧上昇を認めたが、いずれのウマにおいてもその変化は軽微であった。作用持続時間は、L 群では 43.5 ± 4.9 分、H 群では 73.8 ± 11.5 分であり、両群に有意な差が認められた。覚醒期においては、H 群の 1 頭で起立までに 92 分を要したが、その他は 60 分以内に 1 回から数回の試みで起立した。

【考察】両群ともに、ロクロニウム投与後の筋弛緩作用の発現は迅速で、得られた筋弛緩レベルも十分であった。また、投与後に観察された一過性の血圧上昇は、臨床上大きな問題となる変化ではなかった。さらに、覚醒期において H 群の 1 頭に起立の遅延がみられたが、筋弛緩作用の遷延の目安となる筋力の低下や自発呼吸再開の遅延などの所見は観察されなかったことから、ロクロニウムの副作用である可能性は低いと考えられた。以上のことから、ロクロニウムはウマにおいて臨床応用が可能であることが示唆された。また、ロクロニウムの投与量に関しては、本研究で得られた臨床所見や作用持続時間を考慮すると 0.2 mg/kg で十分であると考えられた。

Bispectral index (BIS) モニターによる催眠レベルの評価

○徳重裕貴・太田 稔 (栗東)・和久野 愛 (公苑)・岡田 淳 (馬事部)・儘田雅行 (栗東)

【背景と目的】競走馬では、主に心拍数、血圧、呼気ガス濃度、眼瞼反射をモニタリングし、手術中の麻酔深度を評価している。しかし、麻酔深度を客観的に評価する指標はなく、麻酔深度の調節は麻酔医の経験に依存する部分が多い。麻酔中の予期せぬ覚醒は、馬にストレスを与えるだけでなく、人馬の危険にもつながりかねないことから、客観的に麻酔深度を評価できる指標が求められている。BIS モニターは、脳波を bispectral analysis により解析し、0 (脳波がフラット) ~100 (覚醒状態) で中枢抑制作用を数値化 (BIS 値) する装置であり、ヒトや小動物領域では催眠レベルを評価するために幅広く臨床応用されている。しかし、馬での報告はほとんど見当たらないことから、本研究では、キシラジン鎮静下およびセボフルラン吸入麻酔下において BIS 値を測定し、馬の催眠レベルの評価が可能であるかを検討した。

【材料と方法】実験には臨床的に健康な研究馬 7 頭 (3.4±1.1 歳、460±18kg) を用いた。BIS センサ クワトロあるいはスパイラル電極を額部に装着し、BIS モニター Vista A-3000 を用いて経時的に BIS 値を測定した。

<実験 1> 立位でのキシラジン投与下における BIS 値測定

供試馬 7 頭から無作為に抽出した 5 頭を用いた。枠場内に保定し、キシラジン 1.0mg/kg あるいは 2.0mg/kg をそれぞれ投与し、投与前値 (安静時) および投与 5~10 分後の BIS 値を測定した。

<実験 2> セボフルラン吸入麻酔下および回復期における BIS 値測定

供試馬 7 頭から無作為に抽出した 5 頭を用いた。キシラジン 1.0mg/kg による前処置後、5%GGE (1000ml/頭) とチオペンタール Na (2.0g/頭) の混合投与により倒馬後、セボフルラン-酸素による吸入麻酔で維持した。導入後は速やかに呼気終末濃度が 2.8±0.1% (約 1.2MAC) に達するよう調節した。吸入麻酔開始 45 分までは 2.8±0.1% で維持し、40~45 分の BIS 値を測定した。その後、60 分まで 3.5±0.1% (約 1.5MAC) で維持し、55~60 分の BIS 値を測定した。麻酔終了後は回復室内に移動し、体動が認められるまでの間の BIS 値を測定した。

【結果】

<実験 1> 安静時の平均 BIS 値は 98.0±0.0 であった。キシラジン 1.0mg/kg あるいは 2.0mg/kg 投与下での平均 BIS 値は、それぞれ 90.3±8.0、80.0±20.7 であった。また、最低値 (43.4) を示した 1 頭 (キシラジン 2.0mg/kg 投与 10 分後) では、重度のふらつきが認められた。

<実験 2> 呼気終末セボフルラン濃度 1.2MAC および 1.5MAC 下での平均 BIS 値は、それぞれ 59.2±8.4、65.8±13.1 であり、両者に有意差は認められなかった。回復期では、BIS 値が経時的に上昇していく傾向が認められた。

【考察】キシラジン投与下およびセボフルラン吸入麻酔下では、いずれも安静時と比較して BIS 値は低下したことから、馬においても BIS 値による催眠レベルの評価が可能であると考えられた。また、回復期においては、自発呼吸、眼振、体動の出現に伴い BIS 値は上昇したことから、麻酔中の予期せぬ覚醒を防止するうえで有用な指標となることが期待された。しかし、セボフルランの濃度上昇に伴う BIS 値の変化は認められなかったことから、一定レベルより深い催眠レベルは正確に評価できない可能性も残された。

1歳馬狭窄蹄への Hinge Spring Shoe の応用と結果

○田中弘祐 (JBBA 静内種馬場)・大池武則・藤本勝幸・赤石孝一郎 (北海道日高装蹄師会)・
平賀 敦 (日高)・高橋敏之 (総研)・青木 修 (日本装蹄師会)

【背景と目的】

肢蹄の疾患や運動不足によって蹄への荷重が減少すると、一般的に蹄踵が狭窄し、蹄叉が萎縮する。狭窄蹄は、片側の蹄だけに発生することもあるが、左右肢ともに発生することもある。同じ蹄の内外一側だけが狭窄する場合もあるが、内外両側に起きることもある。子馬の狭窄蹄は、肢勢や歩様に異常がなくても、将来、肢蹄トラブルの誘因になることもあり、馬の価値を低下させる。そこで近年、米国で注目されている Hinge Spring Shoe (以下 HSS) を1歳馬の狭窄蹄に応用し、その効果を検討したので概要を報告する。

【材料と方法】

平均13カ月齢の12頭を対象に検討した。そのうち両前が狭窄蹄の2頭は、両前にHSSを装着し、他の10頭は、狭窄した蹄にのみHSSをエクイロックスにて装着し、健常な対側蹄には通常の兼用蹄鉄を釘で装着した。削蹄後、装着時と装着3カ月後の蹄の最大横径部幅をデジタルノギスで計測し、X線写真により蹄骨を観察して、HSSの装着効果を比較検討した。

【結果】

最大横径部幅の変化

	装着時(mm)	3カ月後(mm)	増幅量(mm)
HSS群(n=14)	88.36±3.28	105.61±2.86	17.2±2.0
兼用蹄鉄群(n=10)	95.9±3.86	104.23±4.57	8.3±2.3

前望X線写真の観察から、HSS群では14蹄中10蹄に蹄骨両側面が、また残りの4蹄にも外側の狭窄に良化が認められた。

【考察】

今回、狭窄蹄の新たな矯正用蹄鉄であるHSSを12頭の症例に応用したところ、装着約3カ月後には、多くの症例で蹄の最大横径部幅と蹄骨の狭窄が健常蹄群とほぼ同じレベルまで回復したことから、HSSの装着は、子馬の狭窄蹄矯正に有効であることが判った。しかしながら、良化した蹄の一部には、つま先がやや尖った三角状の蹄形が残存し、本来の正常な蹄形にまで矯正できなかったわけではなかった。子馬の狭窄蹄が、蹄骨の狭窄から始まるのか、蹄踵壁の狭窄から始まるのか判然としないが、HSSによって蹄鞘と蹄骨の狭窄は矯正できても、それらの間に介在する知覚部や葉状層への圧迫や牽引などの物理的な負荷がかかっていることを考えると、それらの介在組織への影響についても検討する必要があると思われる。いずれにせよ、今回の症例馬の多くは、クラブフットを罹患した結果、蹄への荷重バランスが崩れ、蹄の狭窄が生じたものであることを考えると、蹄骨にまで狭窄が及ぶ前に、狭窄蹄の原因となりえる肢蹄の疾患やトラブルを早期に発見し、適切な処置を講じることが肝要であろう。

装蹄法の違いが蹄の生長へ与える影響

○工藤有馬・津田佳典・大瀬摩利子・兒玉聡太・藤木亮介・伊藤 幹（学校）

【背景と目的】

近年、蹄に多くの問題を抱える馬に対し、接着装蹄や蹄底に緩衝材を充填する装蹄法が行われている。接着装蹄は脆弱蹄や蹄壁欠損など釘付困難な蹄に有効な装蹄法であるが、蹄踵部をエクイロックスにより強固に固定するため、蹄機作用が抑制される可能性があることが第 50 回本研究発表において大塚らにより報告され、蹄の生長への影響も考えられている。一方で弱踵蹄や蹄底が浅い蹄に対し蹄底に緩衝材を充填し、蹄下面全体で負重させる装蹄療法は蹄の生長に良好な方法であるとされている。

今回我々は、蹄釘を使用した装蹄（以下釘付）、蹄釘を使用しない接着装蹄（以下接着）および接着＋蹄底に緩衝材を充填した装蹄（以下接着緩衝）で蹄の生長を調査検討した。

【材料と方法】

供試馬には競馬学校で繋養されているサラブレッド種を用い、蹄の生長が左右均一な 20 頭を 2 群に分け、接着群は右前接着と左前釘付、接着緩衝群は右前接着緩衝と左前釘付とした。改装ごとに蹄の生長を計測するため、蹄尖部蹄冠下約 1cm の部位に針金を埋め込み、X 線撮影をした。撮影した X 線像を用いて蹄の生長を計測し、計測値は競走馬の一般的な改装間隔である 21 日に補正して算出した。

【結果】

装蹄法による 21 日間隔での生長値に差は認められなかった。開始から 105 日後（最終測定日）の生長値は、接着群釘付が $34.21\text{mm} \pm 3.90\text{mm}$ 、接着が $32.21\text{mm} \pm 3.63\text{mm}$ であり、接着緩衝群釘付が $33.74\text{mm} \pm 3.98\text{mm}$ 、接着緩衝が $33.23\text{mm} \pm 4.63\text{mm}$ であった。生長値は、接着群では接着が釘付よりも有意に小さく、接着緩衝群では接着緩衝と釘付に有意差は認められなかった。

【考察】

接着装蹄は、蹄踵部をエクイロックスにより強固に固定するため、蹄内部の軟部組織の機能を抑制し、蹄の生長に影響を与えられたと考えられた。また接着緩衝装蹄では、蹄底に緩衝材を充填する事により蹄下面全体で負重することが可能となり、抑制された蹄内部の軟部組織の機能を接着による影響から緩和できたと考えられた。

接着装蹄は生長を低下させる要因となる事から、釘付困難な蹄にのみ実施し必要最低限の期間に控え、長期間接着が必要な場合は、装蹄療法として緩衝材を充填し生長の低下を抑える事が必要であると考えられた。

セットバック装蹄法が屈腱および繋靭帯に及ぼす影響について

○田中美希子・諫山太朗・小林 稔・渡辺吉男・松田芳和（美浦）・
高橋敏之（総研）・富山拓磨（日本装蹄師会）

【背景と目的】

セットバック装蹄法は通常装蹄法よりも蹄の縦径を短くして装着する事により、蹄の反回を容易にして浅指屈腱に対する負担を減らすと考えられており、主に屈腱炎予防を目的として、近年使用する機会が増加している。

昨年の本研究発表会で北澤らにより、セットバック装蹄法が走行フォームに及ぼす影響は非常に小さいことが報告され、浅指屈腱への影響については更なる検討の必要性が示された。そこで今回我々は、セットバック装蹄法が速歩走行時における浅指屈腱、深指屈腱および繋靭帯に及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】

供試馬はサラブレッド種 6 頭（体重 448-513kg）であり、左前肢を測定対象とした。両前肢の蹄鉄および装蹄方法は昨年度の研究と同様に、通常装蹄法ではプレーンタイプ兼用蹄鉄を使用し、セットバック装蹄法では鉄頭部に下狭加工を施した一文字鉄頭蹄鉄を装着した。蹄鉄適合方法は通常では蹄形に合わせて装着し、セットバック装蹄法では鉄頭部外縁を蹄尖部白帯に合わせて装着した。

無作為に選択したどちらかの装蹄法により装蹄後、フォースプレート上を引き馬による速歩で通過させて 4 歩分のデータを測定した。同時に関節中心（腕関節、第一指関節、第三指関節）および蹄負面の最大横径部の計 4 ヶ所にマーカーを装着し、高速度ビデオによる動作解析を実施した。その後、異なる装蹄を行い、同様の測定と動作解析を実施した。これらのデータを基に高橋らの逆動作力学法により、浅指屈腱にかかる力の最大値、反回時に深指屈腱および繋靭帯にかかる力を算出した。

【結果と考察】

左前肢の着地期間中に浅指屈腱にかかる力の最大値は、通常装蹄法では 417 ± 87 kg 重（平均値 \pm 標準偏差）、セットバック装蹄法では 434 ± 64 kg 重であった。また反回時に深指屈腱にかかる力は、通常装蹄法では 339 ± 76 kg 重、セットバック装蹄法では 341 ± 62 kg 重であった。反回時に繋靭帯にかかる力は通常装蹄法では 336 ± 177 kg 重、セットバック装蹄法では 420 ± 116 kg 重であった。通常装蹄法とセットバック装蹄法の全ての結果において有意差は認められなかった。

これらの結果から、セットバック装蹄法が屈腱及び繋靭帯にかかる力に及ぼす影響は非常に小さいことが示唆された。北澤らの報告でも走行フォームの差は非常に小さいことが示唆されており、セットバック装蹄法による走行フォームへの影響や屈腱および繋靭帯に及ぼす影響は、極めて小さいものと思われた。

乳汁中の pH 値および Brix 値の測定による馬の分娩予知方法

○頃末憲治・村瀬晴崇・佐藤文夫・石丸睦樹・南保泰雄（日高）・辻村行司（栃木）

【背景と目的】

経済的価値の高い競走馬の分娩時には、事故を防ぐために、人的な分娩介助が行われている。諸外国においては、簡易測定キットを使用して、乳汁中のカルシウム濃度を測定する分娩予知方法が、牧場現場で普及しているため、夜間の分娩監視に伴う労力の削減が可能となっている。しかしながら、わが国では、この簡易測定キットの入手が困難であるため、分娩予定日の少なくとも1週間前からの夜間の分娩監視が余儀なくされている現状である。そこで、今回、牧場現場での応用を目的として、乳汁中の pH 値および Brix 値の測定による分娩予知方法について、カルシウム濃度の測定値と比較することによって、その有用性を検討した。

【材料と方法】

4歳から19歳のサラブレッド妊娠馬27頭に対し、分娩予定日の10日前から1日に1~2回乳汁を採取し、カルシウム濃度は水質検査用カルシウム硬度ドロップテスト、pH値はpH試験紙、Brix値は糖度計によりそれぞれ測定した。なお、カルシウム濃度は炭酸カルシウムで換算された濃度を測定値として評価した。また、各測定法を客観的に評価するために、それぞれの基準値を設定し、その値に達してから72、48、24時間以内の分娩予知の精度について、感度、特異度、陽性反応的中度および陰性反応的中度を用いて検討した。

【結果と考察】

カルシウム濃度は、分娩5日前で $1,779 \pm 1,145$ ppm、分娩当日で $4,775 \pm 646$ ppmと、分娩が近づくにつれ上昇し、4,000ppmを超えてから分娩に至るまでの日数は 0.9 ± 1.1 日であった。pH値は、5日前で 7.21 ± 0.35 、分娩当日で 6.39 ± 0.10 と、分娩が近づくにつれて低下し、6.4以下になってから分娩に至るまでの日数は 1.0 ± 1.0 日であった。また、Brix値は、5日前で $12.0 \pm 6.9\%$ 、分娩当日で $23.1 \pm 3.9\%$ と分娩が近づくにつれ上昇し、20%を超えてから分娩に至るまでの日数は 2.1 ± 2.4 日であった。各測定法の基準値を、カルシウム濃度は4,000ppm、pH値は6.4、Brix値は20%に設定し、客観的な評価を行ったところ、pH値が6.4に達してから24時間以内に分娩する感度は96.3%と高かった。また、陽性反応的中度は、炭酸カルシウム濃度が4,000ppmに達してから72時間以内に分娩する確率が93.8%、pH値が6.4以下になってから72時間以内に分娩する確率が97.9%と高く、陰性反応的中度は、炭酸カルシウム濃度が4,000ppm未満であれば、24時間以内に分娩しない確率が98.3%、pH値が6.4以下でなければ、24時間以内に分娩しない確率が99.4%、そしてBrix値が20%未満であれば、24時間以内に分娩しない確率が96.5%とそれぞれ高い結果となった。以上の結果から、Brix値による分娩予知方法は、他の方法と比較して予知の確率がやや劣り、一方、pH値は、カルシウム濃度と同等かそれ以上の確率での分娩予知が可能であることが示唆された。さらにpH値による分娩予知は、72時間以内に分娩が起こるという予測よりも、24時間以内に分娩が起こらないという予測、すなわち牧場現場での夜間分娩監視の必要性の有無の判断基準としての有用性が高いことが示唆された。

非分娩馬への泌乳誘発および乳母としての導入

○村瀬晴崇・頃末憲治・佐藤文夫（日高）・Pramod Dhakal・原田健弘・渡辺 元・
田谷一善（東京農工大学）・石丸睦樹・南保泰雄（日高）

【背景と目的】軽種馬生産において、分娩事故による母馬の死亡や育子放棄が起こった際、生産者は乳母を導入するか代用乳による人工哺乳を行うかの判断を迫られる。しかし、前者は高額な費用を、後者は昼夜を問わない労働負担を要するなど、軽種馬生産の上で大きな問題となっている。近年、非分娩馬に対してホルモン処置によって泌乳を誘発する試みが報告されている。本研究では、20歳サラブレッド非分娩馬に対して泌乳を誘発し、育子拒否された子馬の乳母として適応させることに成功した過程について、内分泌学および生化学的に検討した。

【材料と方法】本年、日高育成牧場にて育子放棄が発生したため、その子馬を対象とした。母馬は初産であり、生後3日目から徐々に授乳を嫌い始め、泌乳誘導処置を試みたものの、良化しないため乳母の導入を決断した。

乳母は前年に出産後未交配の20歳サラブレッド種であり、合成黄体ホルモンと安息香酸エストラジオールを14日間継続投与した。投与から8日目のみ高用量の安息香酸エストラジオールおよびPGF 2α 製剤ジノプロストを投与した。また、8日目から21日目までドパミンD2受容体拮抗薬であるスルピリドを投与した。12日目から1日4~5回の搾乳刺激を与え、搾乳量が5リットル/日を乳母導入の目安とした。

1) 乳量は用手にて搾乳した日量を、乳性状の指標としては現場で手軽に測定できるpH値およびBrix値を測定した。2) 血中ホルモン濃度については、24時間毎に採血し、プロジェステロン(P4)はTR-FIA法、エストラジオール(E2)、プロラクチン(PRL)、黄体ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、インヒピン(INH)はRIA法により測定した。適時直腸検査にて卵巣の観察も行った。3) 子馬は毎日体重を測定した。

【結果】1) 乳量は12日目に日量900ml、13日目に1900mlと増加し、14日目の朝に1回で900mlを得られたことからこの日に子馬に導入した。この時子馬は23日齢であった。Brix値は8日目3.5%であったが、12日目には11.9%まで上昇し、以後正常乳と同程度の12~13%で安定した。pH値についても正常乳と同程度である6.4~6.6であった。2) P4濃度は、8日目には11.3ng/mlに達し、その後急激に低下した。E2濃度は9日目に60.6pg/mlまで上昇し、以後徐々に低下した。PRL濃度は8日目には1.6ng/mlであったが、9日目から上昇を認め、14日目に54.8ng/mlとピークに達し、投与を中止した翌日に急激に低下した。処置後のLH、FSH、INH、P4、E2は正常な発情周期と同様の変化を示した。また24日目には排卵を認め、以後数回の排卵を確認後、84日目の排卵時に交配を試みたところ受胎した。3) 子馬の1日あたりの増体量は、生後1週目が0.33kg(健康馬平均1.85kg)であったのに対して、導入した3週目1.29kg(平均1.04kg)、4週目1.71kg(平均1.18kg)、6週目1.29kg(平均1.08kg)、10週目1.0kg(平均0.96kg)と正常な成長を認めた。

【考察】本研究はサラブレッド種非分娩馬に泌乳処置を行い、乳母として導入に成功した本邦初の報告であり、処置中の内分泌学的変化を明らかにしたものである。十分なPRL濃度の上昇を認め、正常乳と考えられる乳の分泌が認められた。処置後の卵巣ホルモンの推移および排卵状況が概ね正常であること、労働負担は軽く、費用も安価であること、また子馬の増体も問題なかったことなどから、臨床応用が可能であると考えられた。

ヒト用ロタウイルス診断キットによるウマロタウイルスの検出

○根本 学・今川 浩・山中隆史・丹羽秀和・坂内 天・辻村行司・近藤高志・松村富夫（栃木）・
秦 秀明・樋口 徹（NOSAI 日高）

【背景と目的】

ウマロタウイルス (EqRV) は子馬の急性下痢症の原因となり、毎年多数の子馬が下痢を発症している。現在、臨床現場ではヒト用ロタウイルス (RV) 診断キットを用いて EqRV 感染症の診断を行っている。これらの診断キットは特別な機器を必要とせず、簡便な手技により抗原の検出が可能である。近年、様々なヒト用 RV 診断キットが人医療において迅速診断に用いられている。本研究では、これらヒト用 RV 診断キットの EqRV 検出感度を比較検討し、臨床現場における迅速診断法として最も有用な診断キットの検索を実施した。

【材料と方法】

6 社から市販されている 7 種類の診断キットを用いた。RT-PCR 法は VP7 遺伝子を検出するプライマー (Gouvea et al., 1990) を用い、RT-LAMP 法は演者らの方法 (Nemoto et al., 2010) に従った。試験には、現在流行している血清型である G3P[12] (H0-5 株) および G14P[12] (JE77 株) の EqRV を用いた。その他に消化器疾患に関係するウイルスを 1 種類、細菌を 6 種類用いて特異性の確認を行った。臨床検体として 2006 年から 2009 年に日高地方で採材された子馬の下痢便 249 検体を用いた。

【結果と考察】

H0-5 および JE77 株に対する検出感度は、ディップスティック栄研ロタ (Dip、栄研化学) が 7 種類の診断キットの中で最も高く、検出限界はともに $10^{3.0} \text{TCID}_{50}/100 \mu\text{l}$ であった。EqRV 以外の病原体との交差反応性は確認されなかった。Dip では下痢便 249 検体中 71 検体、RT-PCR 法では 83 検体、RT-LAMP 法では 148 検体から EqRV を検出することができた。以上の結果から、Dip は RT-LAMP 法と比較すると感度が劣るが、RT-PCR 法とほぼ同等の検出感度を有することが示された。Dip は、EqRV 感染症の臨床現場における迅速診断法として有用であることが示された。

ウマヘルペスウイルス 1 型国内分離株の遺伝子マーカー解析

○辻村行司・坂内 天・根本 学・山中隆史・近藤高志・松村富夫（栃木）・戸崎晃明（競理研）

【背景と目的】

ウマヘルペスウイルス 1 型 (EHV-1) は、わが国における馬の感染性呼吸器疾患と流産の主要な病原体の 1 つである。一方、EHV-1 感染による脊髄脳症 (Equine Herpesvirus Myeloencephalopathy; EHM) は、これまで非常に稀な症例と考えられてきた。しかし、近年欧米では、EHM の発生が増加傾向で、その際に分離されるウイルス株の大半に、DNA ポリメラーゼ遺伝子 (ORF30) の 1 塩基変異が存在することが明らかとなり、EHV-1 神経病原性変異株と呼ばれている。同株の国内での詳細な浸潤状況は知られていない。ところで、海外での研究によれば、EHV-1 は ORF68 塩基配列の多型によって 6 グループに分類され、同配列を分子疫学遺伝子マーカーとして使用できる可能性が示されている。そこで、国内における EHV-1 感染症の疫学監視体制を強化するために、国内で分離された EHV-1 株について神経病原性および分子疫学遺伝子マーカー解析を実施した。

【材料と方法】

2001 年度から 2008 年度にかけて、日高家畜保健衛生所において馬鼻肺炎と診断された流産胎子 133 例の肺または胸腺乳剤から抽出した DNA を試料とした。神経病原性遺伝子マーカーの型別はリアルタイム PCR 法を用いて実施した。分子疫学遺伝子マーカーについては、目的遺伝子を PCR 増幅してダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定し、グループ分けを行った。

【結果】

神経病原性遺伝子マーカーの型別により、133 例中 3 例に神経病原性変異株の感染が認められた。また、分子疫学遺伝子マーカーの解析により、133 例中 121 例について、感染した EHV-1 株の ORF68 塩基配列が決定され、その内訳は、Group 1: 73 例 (60.3%)、Group 2: 14 例 (11.6%)、Group 3: 9 例 (7.4%)、Group 5: 23 例 (19.0%) で、残り 2 例 (1.7%) は 6 グループのいずれにも属さなかった。

【考察】

米国では、2000 年から 2006 年の間に流産胎子から分離された EHV-1 株の 19.4% が神経病原性変異株であったことが報告されている。一方、今回の調査での変異株の感染率は 2.3% と低値であったことから、日本の生産地における同株の浸潤は限局的であると推察された。分子疫学遺伝子マーカーについては、ヨーロッパでは Group 3、北米では Group 2 および 5 に属する株が多く分離されている。一方、国内分離株の大半は、欧米ではあまり分離されない Group 1 に属するものであった。今後は、呼吸器疾患から分離された株等も両検査対象に加え、日本国内における EHV-1 株の神経病原性および分子疫学について、さらに詳細な調査を進めたい。

IgG プロファイル ELISA 法によるウマヘルペスウイルス 1 型 弱毒生ワクチン接種馬の免疫応答の測定

○坂内 天・辻村行司・近藤高志・根本 学・山中隆史・杉浦健夫（栃木）・
前田 健（山口大学）・松村富夫（栃木）

【背景と目的】

ウマヘルペスウイルス 1 型 (EHV-1) は、本会トレーニング・センターでの冬季発熱の主要な原因である。現在、2~3 歳馬で不活化ワクチンが使用され、一定の予防効果を挙げているが、栃木支所では、より高い予防効果が期待されるものとして、弱毒生ワクチンを開発し導入に向けた準備を進めている。EHV-1 感染に対しては細胞性免疫が特に重要であるため、ワクチン効果をより詳細に評価するためには、細胞性免疫応答の測定系を確立する必要がある。ウマの IgG は IgGa、IgGb、IgGc、IgG(T) の 4 種類のサブクラスから成り、病原体等への反応時のその構成 (IgG プロファイル) から免疫バランスを推測できる。すなわち、IgGa や IgGb が主体の場合は細胞性免疫が強い Th1 タイプ応答、IgGc や IgG(T) が主体の場合は液性免疫が強い Th2 タイプ応答とされている。本研究では、弱毒生ワクチンに対する免疫応答の測定のために、EHV-1 特異的 IgG プロファイル ELISA 法を確立し、弱毒生ワクチン接種馬での免疫応答測定を試みた。

【材料と方法】

ELISA 抗原として大腸菌発現の EHV-1 gG 蛋白質 C 末端領域を用い、各 IgG サブクラス抗体価を測定した。被検血清を階段希釈し、OD 値が 0.1 以上を示す最高希釈倍率をサブクラス抗体価とした。また、被検血清の等希釈倍率での OD 値から、IgGa/IgG(T) (a/T 比) および IgGb/IgG(T) (b/T 比) を算出した。過去に行った初乳非摂取仔馬での EHV-1 感染実験経過血清の中から、弱毒生ワクチン接種馬と対照の非接種馬の血清を選び、検体とした。ワクチン群 (n=11) は、弱毒生ワクチンを 3 週間隔で 2 回接種し、その 4 週後に EHV-1 攻撃を行った。非接種群 (n=6) はワクチン接種を行わず、EHV-1 攻撃を行った。

【結果と考察】

非接種群の EHV-1 感染後 21 日目の IgG プロファイルでは、IgGa、IgGb が全頭で上昇したのに加え、IgGc は 6 頭中 4 頭で、IgG(T) は 6 頭中 5 頭で上昇が認められた。ワクチン群では、IgGa、IgGb が全頭で上昇したのに対し、IgGc の上昇は 11 頭中 2 頭、IgG(T) の上昇は 11 頭中 6 頭といずれも割合が減少した。IgG(T) の上昇が見られた個体の a/T 比、b/T 比の平均は、いずれもワクチン群で非接種群より高値を示した。以上より、弱毒生ワクチン接種馬では、IgGa や IgGb を中心とした IgG の上昇が見られ、非接種馬と比べ Th1 側へシフトしたことが示された。これは、弱毒生ワクチン接種馬で細胞性免疫がより強く誘導されている可能性を示している。

本研究で確立した IgG プロファイル ELISA 法では、IgGc・IgG(T) 上昇の有無、および a/T 比・b/T 比の比較によって、弱毒生ワクチン接種馬と非接種馬での EHV-1 感染に対する免疫応答の違いを検出することができた。本法は、血清材料のみから細胞性免疫応答を測定することが可能であるため、弱毒生ワクチン導入後の評価系の一つとして有用だと考えられる。

ウマに対するウマインフルエンザウイルスおよび イヌインフルエンザウイルスの病原性

○村中雅則・根本 学・山中隆史・片山芳也・奥 河寿臣（栃木）

【背景と目的】

ウマインフルエンザウイルス（EIV）はウマに急性呼吸器症状を引き起こすウイルスで、伝播力が強いことから競馬産業にとって莫大な損失を引き起こす。一方、2004年に初めて分離されたイヌインフルエンザウイルス（CIV）は、遺伝子学的性状がEIVと非常に近縁なことから、EIVがイヌに異種間伝播したウイルスであると考えられている。このCIVは実験的にウマに感染し、軽度の呼吸器症状を引き起こすことが報告されているが、感染時の詳細な病理学的解析はなされていない。したがって、本研究ではウマに対するEIVおよびCIVの病原性を病理学的に比較した。

【材料と方法】

12頭の供試馬を用い、EIV（A/equine/Ibaraki/07 $1 \times 10^{8.3}$ EID₅₀）ないし CIV（A/canine/Colorado/06 $1 \times 10^{8.3}$ EID₅₀）をそれぞれ6頭ずつに超音波吸入器で20分間吸入接種した。これら6頭中3頭は接種2ないし3日後（急性期）に、残り3頭は接種14日後（慢性期）に病理解剖を実施し、4群各3頭ずつ（EIV急性期群、EIV慢性期群、CIV急性期群、CIV慢性期群）について病理組織学的検索を中心に比較した。

【結果】

EIV感染馬では全頭が接種1～2日後に発熱（38.5℃以上）し、CIV感染馬では4頭が接種2日後に発熱した。鼻汁スワブを用いたPCRでは、発熱が認められなかった2頭を含む全頭で陽性が確認されたが、CIV感染馬のほうがウイルス排泄期間は短かった。剖検時の肺は、EIV急性期群の2頭で気管支粘膜に点状出血と乳白色粘液の滲出がみられ、EIV慢性期群の全頭で前葉を中心とした肺の肝変化が観察された。一方、CIV急性期群では1頭で気管支粘膜の点状出血がみられたが、CIV慢性期群では肉眼的にほぼ正常であった。また、上部および下部気道における病理組織学的検索において、両急性期群では線毛上皮細胞の変性・壊死や線毛の脱落、扁平上皮化生、杯細胞の減数が特徴的で、両慢性期群では線毛上皮細胞の増生が特徴的であったが、いずれの変化もCIV感染馬のほうが軽度であった。さらに、両急性期群の気管における超微形態学的検索では、線毛上皮細胞の線毛辺縁や細胞質内の小胞内に直径50～80nmのウイルス様粒子が観察された。

【考察】

以上の結果より、ウマはCIVに感染しEIVと同質の病変を形成するが、その程度はCIVのほうがEIVよりも軽度であることが病理学的に示された。