

研究課題：牛における BSE 臨床診断のための聴性脳幹反応の正常値

（牛の脳幹機能解析による農場段階での BSE 生前診断技術の開発）

担当部署：畜試 基盤研究部 病態生理科・遺伝子工学科

協力分担：動物衛生研究所、富士平工業株式会社

予算区分：外部資金（実用技術開発・旧高度化）

研究期間：2006～2008 年度（平成 18～20 年度）

1. 目的

牛海綿状脳症（BSE）罹患牛では、有効な生前診断技術はまだ確立されていないが、ヒトで脳幹障害や聴覚系の診断として利用されている聴性脳幹反応（ABR）を牛に応用することで、BSE 罹患牛に見られる脳幹の機能障害を客観的に診断することができると考えられる。本課題では、BSE 臨床診断として ABR 検査を行う際に必要とされる各種条件下における牛の聴性脳幹反応（ABR）の正常値を明らかにし、併せて BSE 以外の疾病牛における ABR の特性を解析する。

2. 方法

- 1) 品種および月齢の異なる牛における ABR の正常値の検討
 - (1) 黒毛和種における ABR の正常値の検討
 - (2) 月齢の異なるホルスタイン種における ABR の正常値の検討
- 2) 牛への ABR 検査に伴うストレス評価の検討
- 3) BSE 以外の疾病牛における ABR の特性解析

3. 成果の概要

- 1)-(1) 黒毛和種（10 頭）の ABR 波形形状は、ホルスタイン種とほぼ同様であったが、I-III 波および I-V 波の波間潜時は有意に短く（表 1）、品種間で正常値が異なることが示された。
- 1)-(2) ホルスタイン種の 1、3、6 および 12 ヶ月齢（各 10 頭）の ABR は、刺激音圧 75dB 以上で波形が認められ、波形の形状も成牛（2～6 才）と同様であった。しかし、成牛に比べて 6 ヶ月齢までは I 波および III 波の潜時が短く、また、各月齢で III-V 波の波間潜時が長い傾向にあるなど（表 2）、成長に伴う若干の違いがあることが示された。
- 2) ABR 検査前の鎮静剤（キシラジン約 0.05mg/kg、筋肉内注射）投与なし（6 頭）では、投与あり（6 頭）と比べるとストレスの指標とされるコルチゾール濃度が高い傾向にあった（図 1）ことから、検査中のストレス軽減のためには鎮静剤の投与が必要である。
- 3)-(1) ホルスタイン種において、第四胃変位 6 頭、乳熱 2 頭、ケトーシス 2 頭、心疾患 2 頭、神経症状 2 頭、ダウンナー症候群 3 頭の ABR 検査を行ったところ、正常牛と比べて第四胃変位、心疾患および神経症状の牛では ABR 波形と波間潜時に大きな違いは見られなかった。乳熱、ケトーシスおよびダウンナー症候群のうち各 1 頭では、BSE 罹患牛に類似した III-V 波および I-V 波の波間潜時の延長が見られた（表 3）。
- 3)-(2) BSE 罹患牛に類似の波間潜時を示した 3 頭のうち 95dB 以下の検査が実施できたケトーシス牛とダウンナー症候群の牛では、95dB 以下でも ABR 波形が確認された。また、治癒後の再検査が可能であった乳熱牛とケトーシス牛では、症状の改善に伴い ABR の波形と波間潜時の正常化が認められた（図 2, 3）。この 3 頭の結果は、95dB 以下の ABR 波形の消失や I-V 波の波間潜時の進行性遅延が報告されている脳内接種後の BSE 罹患牛の ABR 検査結果とは異なっていた。

以上、黒毛和種成雌牛の ABR とホルスタイン種 1、3、6 および 12 ヶ月齢の ABR の正常値（表 1、2）を明らかにした。また、今までに測定されたことのない BSE 以外の疾病牛について ABR の解析を行い、BSE 類症鑑別のための基礎的な知見を示した。

表1 ホルスタイン種と黒毛和種における
ABR 波間潜時の正常値の比較

	n	波間潜時(1/1000秒)		
		I-III	III-V	I-V
ホルスタイン種	10	2.03±0.07 ^a	1.08±0.08	3.11±0.05 ^c
黒毛和種	10	1.91±0.08 ^b	1.13±0.07	3.04±0.07 ^d

ABR測定の刺激音圧は105dB、加算平均処理回数は2000回
平均±標準偏差
a vs.b : p<0.01, c vs.d : p<0.05
潜時: 音刺激から波形が出現するまでの時間
波間潜時: 各波の間の時間

表2 ホルスタイン種の月齢の違いによる
ABR 波間潜時の正常値の比較

	n	波間潜時(1/1000秒)		
		I-III	III-V	I-V
1ヵ月齢	10	2.03±0.09	1.17±0.11	3.22±0.14 ^c
3ヵ月齢	10	1.93±0.06 ^a	1.12±0.07	3.04±0.08
6ヵ月齢	10	1.97±0.05 ^c	1.15±0.05 ^c	3.12±0.09
12ヵ月齢	10	2.00±0.11	1.16±0.11	3.16±0.14
成牛	10	2.03±0.07 ^{b,d}	1.08±0.08 ^d	3.11±0.05 ^d

ABR測定の刺激音圧は105dB、加算処理回数は2000回
数値は平均±標準偏差
a vs.b : p<0.01, c vs.d : p<0.05 (成牛に対する各月齢の比較)

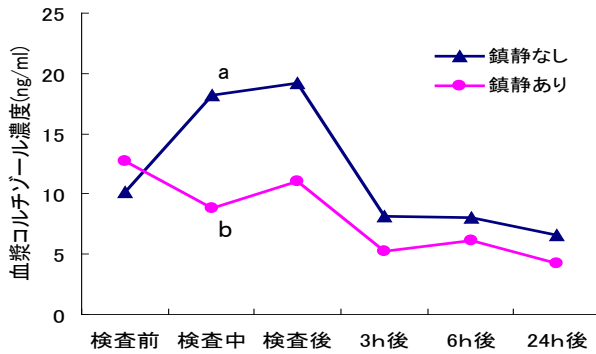


図1 鎮静剤投与の有無によるコルチゾール濃度への影響 (a vs. b ; p<0.01)

表3 ホルスタイン種の疾病牛と正常牛の
ABR 波間潜時の比較

	牛No.	波間潜時(1/1000秒)		
		I-III	III-V	I-V
第四胃変位	279	2.02	1.20	3.22
	704	1.96	1.16	3.12
	1011	2.06	0.96	3.02
	79	2.18	0.99	3.17
	251	1.90	1.12	3.02
乳熱	422	1.87	1.07	2.94
	281	2.04	1.38	3.42
ケトーシス	215	2.06	1.10	3.16
	5299	2.11	1.15	3.26
心疾患	249	2.12	1.34	3.46
	934	2.12	0.94	3.06
神経症状*	445	2.02	1.14	3.16
	862	1.93	1.18	3.11
ダウンナー症候群	1240	2.02	1.16	3.18
	1574	2.08	1.10	3.18
正常牛	5946	2.08	1.26	3.34
	403	2.16	1.04	3.20
BSE牛**	成牛	2.03±0.07	1.08±0.08	3.11±0.05
	3ヵ月齢	1.93±0.06	1.12±0.07	3.04±0.08

ABR測定の刺激音圧は105dB、加算平均処理回数は2000回。
斜体太字はBSE類似の波間潜時を示した牛
*2頭とも3ヶ月齢、**BSE脳内接種24ヶ月後の発症牛(神経症状)

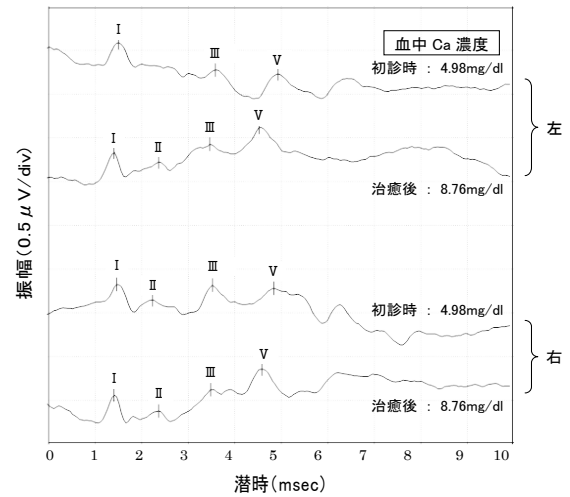


図2 乳熱牛(281)のABR波形の変化
(刺激音圧:105dB、Ca:カルシウム)

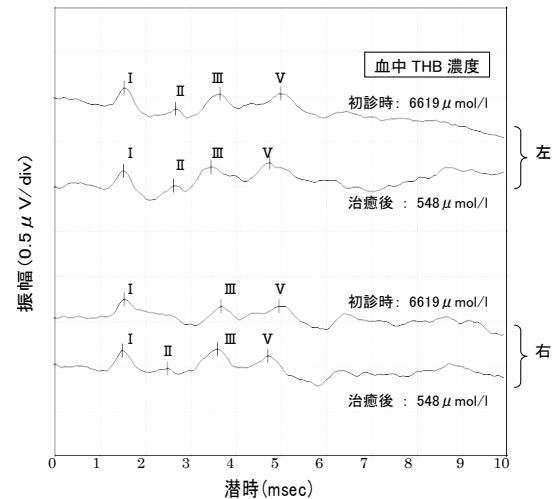


図3 ケトーシス牛(249)のABR波形の変化
(刺激音圧:105dB、THB:3ヒドロキシ酪酸)

4. 成果の活用面と留意点

1) ABR 検査による BSE 臨床診断技術確立のための正常牛の基準値として活用される。

5. 残された問題とその対応

1) 老齢牛の ABR 正常値の検討

2) BSE と各種疾病牛における ABR の特性解析による類症鑑別