

第 59 回 競走馬に関する調査研究発表会

(平成 29 年度)

プログラム・講演要旨

日時：平成 29 年 11 月 27 日 (月)

10 時 20 分～17 時 20 分

会場：KFC Hall & Rooms (3F : KFC Hall)



日本中央競馬会

■ 参加者へのご案内

参加者の皆様へ

- JRA 職員は JRA 発行の身分証明書を着用してください。
- JRA 職員以外の参加者は、受付（3F）にて手続きを済ませてから、名札を付けて会場にお入りください。なお、日本ウマ科学会学術集会にも参加される方は、学術集会の参加証を着用してください（両方で受付する必要はありません）。
- 講演順序は都合により変更することがあります。あらかじめご了承ください。
- 質問・討議される方は、通路に設置したマイクスタンドまでお越しいただき、必ず「所属・氏名」を述べてから発言して下さい。
- 質問・討議の採択・時間などは、座長に一任させていただきます。
- 講演中の会場の出入りはご遠慮ください。講演の合間の出入りは後方 2 ヶ所のドアからお願いします。
- 会場内での呼び出しはいたしません。
- 会場内での写真・ビデオ等の撮影はご遠慮ください。
- 会場内は飲食可ですが、会場で提供された物以外は持ち込みできません。
- 喫煙は所定の場所（3F と 11F に喫煙室があります）をお願いいたします。
- クロークスペース（受付横）は自己責任でご利用ください（受付に番号札を用意してあります）。
- 事前配布されている方は、当日、このプログラムを持参してください。

演者・座長の皆様へ

- 講演時間は 7 分以内、討論は 3 分以内です。持ち時間（10 分）を厳守して下さい。
- 講演開始 7 分後に青ランプ、10 分後に赤ランプを点灯します。
- スライド送り・スライド説明には、舞台上に用意したレーザーポインターをお使い下さい。
- 演者・座長の方は、講演開始 10 分前までに次演者席・次座長席にお着きください。交代は速やかにお願いいたします。

■ 日本中央競馬会（JRA）・日本ウマ科学会 合同懇親会

- 【日時】 11 月 27 日（月） 18:00～20:00
【会場】 KFC Hall：3F（JRA 調査研究発表会と同会場です）
【参加費】 5,000 円（日本ウマ科学会受付にてお支払いください）

■ 第 30 回 日本ウマ科学会学術集会のご案内

同会場にて「第 30 回日本ウマ科学会学術集会」を同時開催していますので、ぜひご参加ください。

【会期】 平成 29 年 11 月 27 日（月）～ 11 月 28 日（火）

【参加費】

会員 5,000 円（年会費 5,000 円も合わせてお支払いください）

非会員 7,000 円

学生 2,000 円（学生証をご提示ください）

※ 事前登録はありません。当日、受付（KFC Hall：3F）にてお支払いください。

■ 企業展示（日本ウマ科学会提供）

【日時】 11 月 27 日（月） 12:00～18:00

11 月 28 日（火） 9:10～15:00

【会場】 企業展示会場（KFC Hall 2nd：2F）

※ 「第 30 回日本ウマ科学会学術集会」に参加されていない方でも、ご覧いただけます。

■ ランチョンセミナー（日本ウマ科学会提供）

① 11 月 27 日（月） 12:20～13:10 第 1 会場（KFC Hall: 3F）

② 11 月 28 日（火） 12:00～12:50 第 1 会場（KFC Hall: 3F）

● ランチョンセミナー ① 提供企業：EBM トレーディングジャパン株式会社

「Unique nutritional needs of young racehorses in training」

（調教中の若い競走馬に特有な栄養必要量）

Dr. Stephen Duren（PHN・LLC）

● ランチョンセミナー ② 提供企業：バレックスイメージングジャパン株式会社

「CR から DR へ <ウマのレントゲンをもっときれいに>」

姉崎 亮（つくばレースホースクリニック）

※ 「第 30 回日本ウマ科学会学術集会」に参加されていない方でも、ご聴講いただけます。

会場案内

2F



3F



11F



開催日程 11月27日（月）

	第1会場	第2会場	展示会場
	KFC Hall 3F	Room 115 11F	KFC Hall 2nd 2F
	第59回JRA競走馬に関する 調査研究発表会	日本ウマ科学会 第30回学術集会	
8:30			
9:00			
30			
10:00	受 付		
30			
10:20-12:00		10:30-11:00 一般講演 I (No.1-3)	
11:00			
30			
11:10-12:00		Hippophile 編集委員会	
12:00			
30			
12:20-13:10	ランチョンセミナー ① 提供：EBMトレーディングジャパン株式会社	12:20-13:10 理事会・評議員会	
13:00			
30			
13:30-15:30		記念シンポジウム 「日本の馬の歴史と利活用からみた 将来展望」	12:00-18:00 企業展示
14:00			
30			
13:30-17:20			
15:00			
30			
15:40-17:40		一般講演 II (No.4-15)	
16:00			
30			
17:00			
30			
18:00			
30			
18:00-20:00			
19:00			
30			
20:00			
	JRA・日本ウマ科学会 合同懇親会		

開催日程 11月28日 (火)

	第1会場	第2会場	展示会場
	KFC Hall 3F	Room 115 11F	KFC Hall 2nd 2F
	日本ウマ科学会 第30回学術集会		
8:30		8:30-9:00 臨床委員会	
9:00			
9:30	9:10-10:00 一般講演 III (No.16-20)	9:10-10:50 臨床委員会企画 症例検討会	9:10-15:00 企業展示
10:00	10:00-10:50 一般講演 IV (No.21-25) 優秀発表賞候補講演	「馬の歯牙疾患」	
10:30			
11:00	11:00-11:50 定時総会		
11:30			
12:00	12:00-12:50 ランチョンセミナー ② 提供：バレックスイメージングジャパン株式会社	12:00-12:50 JES 編集委員会	
12:30			
13:00	13:00-13:30 奨励賞受賞講演	13:00-14:00 一般講演 V (No.26-31)	
13:30	13:30-14:00 学会賞受賞講演		
14:00			
14:30	14:10-16:30 臨床委員会企画 招待講演	14:10-16:30 一般講演 VI (No.32-45)	
15:00	「Dental care to improve a horse performance」 講師：Dr. Raymond Hyde (American School of Equine Dentistry)		
15:30			
16:00			
16:30			
17:00			
17:30			
18:00			
18:30			
19:00			
19:30			
20:00			

第 59 回 競走馬に関する調査研究発表会 プログラム

開 会 10 : 20

10 : 30～

座長：草野寛一（美浦）

1. 浅指屈腱炎発症馬の競走復帰に影響する因子の検討

○ 山崎洋祐¹⁾ 荒木成就¹⁾ 藤木亮介¹⁾ 小平和道²⁾ 田村周久³⁾ 関 一洋¹⁾ 笠嶋快周³⁾

1) 美浦 2) 栗東 3) 総研

2. 屈腱炎の旧リハビリテーションとの比較から現行リハビリを評価する試み

○ 飯森麻衣¹⁾ 田村周久²⁾ 島津徳人³⁾ 坂口南斗³⁾ 大木滉次郎³⁾ 笠嶋快周²⁾ 小林 稔¹⁾

1) 常磐 2) 総研 3) 麻布大学

3. 腱内血管とエラストグラフィを用いた浅屈腱炎早期診断の試み

○ 浅野寛文¹⁾ 飯森麻衣²⁾ 溝部文彬¹⁾ 田村周久³⁾ 加藤智弘⁴⁾ 石川裕博¹⁾

1) 栗東 2) 常磐 3) 総研 4) 美浦

4. 腱組織内に移植されたウマ骨髄由来間葉系幹細胞の動向～第 3 報～

○ 笠嶋快周 田村周久 黒田泰輔 福田健太郎 富田篤志

総研

— 休 憩 —

11 : 20～

座長：笠嶋快周（総研）

5. GPS 調査に基づいた競走馬のトレーニングプログラムがサラブレッドの有酸素能力や骨格筋特性に与える影響

○ 向井和隆¹⁾ 大村 一¹⁾ 高橋佑治¹⁾ 江口諒太²⁾ 宮田浩文²⁾ 高橋敏之¹⁾

1) 総研 2) 山口大学

6. 3 軸加速度計を用いた哺乳期子馬の休息行動に関する研究

○ 村瀬晴崇 松井 朗 遠藤祥郎 佐藤文夫 羽田哲朗

日高

7. 蹄底充填材アドバンスクッションサポート（ACS）による蹄負面および蹄底にかかる負重の変化

○ 福藤 豪¹⁾ 諫山太郎¹⁾ 高橋敏之²⁾ 高橋佑治²⁾ 光田健太¹⁾ 石川裕博¹⁾

1) 栗東 2) 総研

座長：立野大樹（美浦）

8. 2015年および2016年の美浦トレーニング・センターにおけるゲタウイルス感染症の発生状況と分離ウイルスの解析

○ 根本 学¹⁾ 坂内 天¹⁾ 越智章仁¹⁾ 眞下聖吾²⁾ 岡野 篤²⁾ 関 一洋³⁾ 美浦防疫課³⁾

辻村行司¹⁾ 山中隆史¹⁾ 古角 博¹⁾

1) 総研 2) 馬事部 3) 美浦

— 昼休み —

13：30～

座長：眞下聖吾（馬事部）

海外研修報告 1. 米国のサラブレッド競走馬の調教・獣医療

○ 遠藤祥郎（日高）

海外研修報告 2. メルボルン大学における腺疫抗体検査法の習得

○ 坂内 天（総研）

海外研修報告 3. 米国コーネル大学における上気道外科手術の実際

○ 東樹宏太（美浦）

海外研修報告 4. 米国における歯科治療の現状

○ 大塚健史（美浦）

— 休憩 —

14 : 40～

座長：村中雅則（函館）

9. 競走馬の腸炎における治療薬の成績について

- 黒田泰輔 田村周久 福田健太郎 富田篤志 笠嶋快周
総研

10. 腸炎に伴う血液凝固異常に血漿輸液療法を適用した6例

- 野村基惟¹⁾ 新崎裕太¹⁾ 前 尚見¹⁾ 村瀬晴崇²⁾ 石川裕博¹⁾
1) 栗東 2) 日高

11. オールアウト運動がサラブレッド腸内フローラに与える影響

- 高橋佑治 丹羽秀和 向井和隆 大村 一 高橋敏之
総研

12. マルボフロキサシンの静脈内単回投与が競走馬の腸内フローラに与える影響

- 丹羽秀和¹⁾ 木下優太¹⁾ 内田英里¹⁾ 富成雅尚²⁾ 水上寛健²⁾ 片山芳也¹⁾
1) 総研 2) 日高

座長：石川裕博（栗東）

13. ウマのエンドトキセミアモデルに対するメロキシカムの疼痛軽減効果

- 浦山俊太郎¹⁾ 長島剛史¹⁾ 福田一平¹⁾ 藤澤千尋¹⁾ 佐藤宏昭¹⁾ 草野寛一¹⁾
田中あかね²⁾ 松田浩珍²⁾
1) 美浦 2) 東京農工大学

14. ウマ腸管粘膜の器官培養法に関する基礎的検討

- 上野孝範 越智章仁 片山芳也
総研

— 休憩 —

16 : 00～

座長：鹿内英登（施設部）

15. クレグインパクトソイルテスターを用いたクッション性の調査及び多角的分析

- 田村陽輔 今泉信之 施設部馬場土木課 重岡真司

施設部

座長：滝澤康正（栗東）

16. 現役競走馬の立位 MRI 検査における BMO 型信号変化の診断的意義

- 溝部文彬¹⁾ 野村基惟¹⁾ 新崎裕太¹⁾ 岡田 淳¹⁾ 石川裕博¹⁾ 山田一孝²⁾ 栗本慎二郎¹⁾

¹⁾ 栗東 ²⁾ 麻布大学

17. 超音波で診断した喉頭軟骨奇形の 4 症例

- 佐藤正人 樋口 徹 井上 哲 後藤忠広

NOSAI みなみ 日高支所 家畜高度医療センター

18. 反回喉頭神経障害における背側輪状披裂筋の超音波検査の有用性について

- 酒井哲志¹⁾ 東樹宏太¹⁾ 前田益久²⁾ 菊地拓也²⁾ 石川裕博²⁾ 草野寛一¹⁾

¹⁾ 美浦 ²⁾ 栗東

19. サラブレッドの脛骨遠位外果骨折に対する関節鏡手術

- 田上正明 加藤史樹 鈴木 吏 山家崇史 木原清敬

社台ホースクリニック

座長：高橋敏之（総研）

20. 乳酸値を用いた育成馬の調教効果判定およびミオスタチン遺伝子型別特徴

- 水上寛健¹⁾ 羽田哲朗¹⁾ 胡田悠作¹⁾ 琴寄泰光¹⁾ 秋山健太郎²⁾ 富成雅尚¹⁾

¹⁾ 日高 ²⁾ 馬事部

21. 競走馬の遺伝子ドーピングおよび遺伝的健全性の毀損への対策に関する研究（第一報）

- 戸崎晃明¹⁾ 菊地美緒¹⁾ 梶 裕永¹⁾ 廣田桂一¹⁾ 永田俊一¹⁾ 眞下聖吾²⁾ 草野寛一³⁾

¹⁾ 競理研 ²⁾ 馬事部 ³⁾ 美浦

閉会 17 : 10

講演要旨

演題 1~21

浅指屈腱炎発症馬の競走復帰に影響する因子の検討

○ 山崎洋祐¹⁾ 荒木成就¹⁾ 藤木亮介¹⁾ 小平和道²⁾ 田村周久³⁾ 関 一洋¹⁾ 笠嶋快周³⁾

1) 美浦 2) 栗東 3) 総研

【背景と目的】

浅指屈腱炎は両トレーニング・センターにおいて年間 500 頭以上が発症しており、休養後も容易に再発することからいわゆる“不治の病”と認識されている。浅指屈腱炎の予後判定に広く用いられる指標として、超音波診断（B モード）における MIZ%がある。MIZ%は最大傷害部位（MIZ）での腱横断面積（MIZ-CSA）に占める低エコー部面積の割合であり、MIZ%が大きいほど競走復帰率が低くなることが報告されている。しかし、MIZ%は腱損傷の 1 断面から算出される数値にすぎないことから、MIZ%に加え、病態を多角的に評価できる指標を用いることが、浅指屈腱炎のより正確な予後判定につながると考えられる。そこで本研究では、浅指屈腱炎症例の回顧的調査から予後に影響を及ぼす因子を検討した。

【材料と方法】

平成 20 年から 24 年の期間に、美浦トレーニング・センターにおいて初めて浅指屈腱炎と診断された 1,743 頭について性別、年齢、患肢、馬体重、MIZ%、MIZ-CSA、MIZ の位置（近位:1A,1B、中位:2A,2B、遠位:3A,3B,3C）、1A~3C の 7 部位のうち損傷が認められた部位の数、および復帰後の出走回数を調査した。ここから、診断後 30 日以内に競走馬登録を抹消した馬、上述した因子が欠けている馬、および損傷の形態が Core 型以外である馬を除外した 346 頭を調査対象とした。まず、既報を参考に、復帰後の出走回数が 5 走以上の症例を「順調な復帰」と定義し、「順調な復帰」と各因子との関連を単変量解析した。次に関連があった因子については、その関連の強さを解析するためにステップワイズ法を用いて多変量モデルを作製した。この際、損傷部位数は 3 部位以下、4 部位および 5 部位以上の 3 群に分けて解析した。

【結果と考察】

競走に復帰した症例は 57.5%（199 頭）であり、5 走以上は 14.2%（49 頭）であった。単変量解析の結果、MIZ-CSA、MIZ%および損傷部位数の 3 因子が「順調な復帰」に関連していた。これらの因子に関する多変量解析の結果、「順調な復帰」に強い影響を及ぼす因子として選択されたのは損傷部位数であった。一方、これ以外の因子については「順調な復帰」との関連は認められなかった。

MIZ-CSA、MIZ%および損傷部位数は浅指屈腱炎の病態を示す指標であり、なかでも長軸方向の損傷範囲を表す損傷部位数が競走復帰に強い影響を及ぼすことが明らかとなった。このことから、浅指屈腱炎の予後の診断には MIZ%に加え、腱損傷の長さを考慮して、損傷を立体的に評価することが必要であると考えられた。

屈腱炎の旧リハビリテーションとの比較から現行リハビリを評価する試み

○ 飯森麻衣¹⁾ 田村周久²⁾ 島津徳人³⁾ 坂口南斗³⁾ 大木滉次郎³⁾ 笠嶋快周²⁾ 小林 稔¹⁾

¹⁾ 常磐 ²⁾ 総研 ³⁾ 麻布大学

【背景と目的】

浅屈腱炎発症馬（屈腱炎馬）のリハビリテーションは組織修復の程度を越える運動負荷によって容易に再発を引き起こすため、正確な組織修復の評価とそれに合わせた運動負荷のコントロールが重要となる。組織修復の評価としては、以前は超音波 B モード法でしか評価できず、発症からの経過日数を指標にリハビリメニューを選択してきた。しかし、2010 年以降は超音波パワードップラー（PD）や超音波エラストグラフィ（RTE）を導入し、より正確な組織修復の評価が可能となり、組織修復に合わせてより早期から負荷を掛けるとともに、適切なリハビリメニューを選択できるようになった。運動負荷のコントロールとしては、ウォータートレッドミル（WT）に加え、近年ではトレッドミル（TM）を導入し、安全かつ早期復帰を目指してきた。そこで、現行リハビリを評価するためにリハビリ変更前後で屈腱炎馬の予後を比較・検討した。また、現行リハビリが屈腱炎馬の予後の改善に貢献しているのかを、重症度の異なる 2 群に分けて考察した。

【材料と方法】

調査対象馬は 2007 年～2015 年（移行期である 2010 年を除く）に常磐支所へ入所し、入所直後に実施した超音波検査で Core 型の損傷形態かつ最大損傷部位における低エコー部面積（MIZ%）が 10～40%の屈腱炎馬 41 頭とした。リハビリ変更前の旧リハビリ群 20 頭は、B モードでの評価のみで日数を指標としリハビリを進め、リハビリ変更後の現行リハビリ群 21 頭は、PD や RTE で評価を行い、WT を早期から開始すると共に、組織修復に合わせたメニューの選択を行いながらリハビリを進めた。旧リハビリ群と現行リハビリ群間で復帰率、再発率、出走までの日数、出走回数を比較した。さらに、現行リハビリ群の 21 頭を重症度の指標である MIZ%が 25%以上（重症群）10 頭および 25%未満（軽症群）11 頭に分け、リハビリメニュー（WT、騎乗運動、馬場調教[速歩・駈歩]）の開始および出走までの日数、復帰・再発率を比較した。

【結果と考察】

旧リハビリ群および現行リハビリ群の平均 MIZ%はそれぞれ 22.4%、22.5%で、復帰率は 45.0%、61.9%、再発率は 55.0%、42.9%、出走までの日数は 509 日、557 日（中央値）、出走回数は 3 回、2 回（中央値）であった。また、現行リハビリにおけるリハビリメニューの開始日数（平均）は重症群および軽症群で発症より、騎乗運動 84、76 日、WT155、143 日、馬場調教[速歩] 269、240 日、[駈歩]306、300 日（※TM 使用馬は 7 頭、200 日前後から約 1～2 ヶ月間使用）で、出走までの日数は 550 日、557 日（中央値）、復帰率は、60.0%、63.6%となり重症度によって差はなかった。しかし、再発率は重症群 70.0%、軽症群 18.2%となり重症群が有意に高かった。WT を早期から開始したことは早期復帰には寄与しなかった。しかし、組織修復の程度に合わせた安全なリハビリを実施したことは復帰率および再発率の改善に貢献していることが示唆された。今後は TM を活用し、早期復帰や重症例の再発防止に資するリハビリの確立に取り組んでいきたい。

腱内血管とエラストグラフィを用いた浅屈腱炎早期診断の試み

○ 浅野寛文¹⁾ 飯森麻衣²⁾ 溝部文彬¹⁾ 田村周久³⁾ 加藤智弘⁴⁾ 石川裕博¹⁾

¹⁾栗東 ²⁾常磐 ³⁾総研 ⁴⁾美浦

【背景と目的】

近年、超音波パワードップラー法を用いた腱内血管推移の評価が、浅屈腱炎治癒過程の指標として用いられている。さらに、第 56 回本研究発表会において田村らは、組織の硬さを画像化する超音波エラストグラフィ (RTE) を用いて腱損傷部の硬さを経時的に評価することが、安全なリハビリを実施する上で重要であると報告した。栗東 TC 競走馬診療所では、屈腱部に異常を認めるものの、B モードで浅屈腱に低エコーを認めない症例に対し、腱ドックと称して腱内血管と RTE を同時に実施し、腱損傷を判断する検査を開始した。本研究では、腱ドックの結果が、その後の浅屈腱炎の発症とどのように関連するのか調査し、腱ドックによって浅屈腱炎の早期診断が可能か検討した。

【材料と方法】

対象馬は、2015 年 10 月～2017 年 4 月に屈腱部に異常を感じるとの稟告で、腱ドックを実施した競走馬で、浅屈腱炎既往歴がなく、B モードで低エコーが確認できなかった 33 頭とした。腱内血管は重症度に基づき 5 段階 (スコア 0 : 血管なし～スコア 4 : 複数の大血管) に分類し、RTE は腱組織の硬さを色調で評価する色調評価法を用いて 4 段階 (スコア 1 : 青色・硬い、2 : 緑色、3 : 黄色、4 : 赤色・柔らかい) に分類した。さらに、腱内血管スコア 2 以上かつ RTE スコア 2 以上の症例を高スコア群、それ以外の症例を低スコア群とし、これら 2 群間で 2017 年 9 月末までの浅屈腱炎の発症率を比較した。

【結果】

浅屈腱炎発症率は、高スコア群 (12 頭) は 41.7% (5 頭)、低スコア群 (21 頭) は 4.8% (1 頭) であり、高スコア群で有意に高い値であった (Fisher's exact test : $p < 0.05$)。また、発症までの日数は、高スコア群の 5 頭が 36～239 日 (中央値 91 日) であり、そのうち 4 頭が未出走、239 日で発症した 1 頭が 2 走後の発症であった。一方、低スコア群の 1 頭は 294 日で、5 走後の発症であった。さらに、高スコア群の非発症馬 7 頭うち、1 頭は短期で出走したが、残り 6 頭は放牧休養後に競走復帰しており、その復帰までの日数は 128～258 日 (中央値 234.5 日) であった。

【考察】

B モードで低エコーを認めない症例について、腱内血管および RTE スコアが高い症例は、その後の浅屈腱炎発症率が高いことが明らかになり、腱ドックによって、B モードでは確認できない微細な損傷を検出できる可能性が示された。このことから、浅屈腱炎の早期診断において、腱ドックは有用であると考えられた。また、高スコア群のうち、調教を継続した 6 頭中 5 頭が浅屈腱炎を発症したのに対し、放牧休養後に復帰した 6 頭に発症は認めなかった。このことから、高スコア群においても、適切な休養期間を取ることでその後の浅屈腱炎の発症リスクが低下すると考えられた。

腱組織内に移植されたウマ骨髄由来間葉系幹細胞の動向～第3報～

○ 笠嶋快周 田村周久 黒田泰輔 福田健太郎 富田篤志

総研

【背景と目的】

ウマの屈腱炎に対する幹細胞移植治療の効果のさらなる向上を図るため、本研究では「移植された幹細胞が腱組織に定着・生存しているのか？」という基本的な疑問の解明に取り組んだ。また、「急性期と慢性期のどちらの病態で移植することが良いのか？」について幹細胞の定着性という観点から検討した。

【材料と方法】

移植した幹細胞を追跡するために蛍光色素標識 (CM-DiI) あるいは蛍光タンパク質 (Ds-Red) 合成遺伝子を導入したウマ幹細胞を作製し、両標識法が分化能へ及ぼす影響を検討した。幹細胞の追跡実験では、屈腱炎の自然発症例 14 頭と外科的に作製した腱損傷モデル馬 6 頭を用いた。急性期 (自然発症例 10 頭とモデル馬 4 頭) あるいは癒痕組織を有する慢性期 (自然発症例 4 頭とモデル馬 2 頭) に上記の標識幹細胞を 2×10^7 個移植した。移植は超音波検査下で実施し、急性期の損傷組織あるいは慢性期の癒痕組織内に確実に移植した。移植から 1, 3, 7, 14, 28 日後に腱組織を採取し、移植時の超音波動画で標識細胞が分布していることを確認した部位を中心に概ね同数の標本 (パラフィン切片・凍結切片) を作製した。また、遺伝子導入済み幹細胞を移植した例では、蛍光タンパク質に対する抗体を用いた免疫染色を実施し、“蛍光の消失”を生化学的にも確認した。移植後の経過日数の異なる腱組織の間で蛍光を放つ細胞や免疫染色陽性細胞が観察された位置や標本数を比較することで、移植された幹細胞の動向を形態学的に考察した。

【結果と考察】

標識した幹細胞の骨・軟骨・脂肪への分化を確認できたことから、いずれの標識法も分化能へは影響を及ぼさないと判断した。いずれの標識法、いずれの病態 (急性期および慢性期) においても移植された幹細胞は移植 1 日後や 3 日後の腱組織でも腱内膜を中心に観察され、損傷部の腱束内ではほとんど認められなかった。また、いずれの標識法、いずれの病態においても移植 3 日後までは全馬において蛍光ならびに免疫染色陽性細胞は腱内膜を中心に認められたが、7 日後には見える部位や数は極めて僅かとなり、14 日後ではほとんど認められなくなった。

本成績から、移植された幹細胞は移植 3 日後から急速に死滅あるいは腱組織外へ流出し、7 日後以降にはほとんど損傷部には存在していないことが示唆された。興味深いことは、病態に係わらず移植直後から幹細胞が腱内膜を中心に存在していたことであった。このことから、移植された幹細胞は腱内膜を經由して腱組織内を縦横に拡散していると推察され、移植時の超音波動画でもこれを裏付けるような記録があった。また、急性期の損傷部への移植に比較して癒痕組織への移植時の超音波動画では、移植と同時に針穴や組織破綻部から腱周囲へ流出している例が多かった。このことから、慢性期での幹細胞移植治療は抗炎症作用を期待する時期では無いことに加えて、移植時の幹細胞の流出のリスクが高いことからデメリットが多いと思われた。

GPS 調査に基づいた競走馬のトレーニングプログラムが サラブレッドの有酸素能力や骨格筋特性に与える影響

○向井和隆¹⁾ 大村 一¹⁾ 高橋佑治¹⁾ 江口諒太²⁾ 宮田浩文²⁾ 高橋敏之¹⁾

¹⁾総研 ²⁾山口大学

【背景と目的】

GPS を用いて収集した調教メニューのデータに基づいて成績上位厩舎と下位厩舎の調教をシミュレートした急性運動の実験において、上位群は下位群に比べて、駈歩以上の速度における走行距離が少ないにも関わらず、有酸素エネルギー系により強い運動負荷がかかっており、中殿筋におけるミトコンドリアや毛細血管に関連する遺伝子が下位群より強く発現していることを報告している (Mukai *et al*, Biomedical Basis of Elite Performance 2016)。4 週間のトレーニングを负荷した際にも、上位群のトレーニングプログラムは、より大きなトレーニング効果があるという仮説を検証するためにトレーニング実験を実施した。

【材料と方法】

トレーニングしていないサラブレッド 7 頭 (去勢雄 3 頭、雌 4 頭) をランダムに 2 群に分け、上位厩舎の調教を参考に作成したプログラム (60% $\dot{V}O_2\max$ 90 秒+85% $\dot{V}O_2\max$ 90 秒+110% $\dot{V}O_2\max$ 60 秒, 週 1 回 ; 60% $\dot{V}O_2\max$ 120 秒+85% $\dot{V}O_2\max$ 60 秒+110% $\dot{V}O_2\max$ 30 秒, 週 4 回) および下位厩舎のプログラム (60% $\dot{V}O_2\max$ 90 秒+85% $\dot{V}O_2\max$ 180 秒+110% $\dot{V}O_2\max$ 30 秒, 週 1 回 ; 60% $\dot{V}O_2\max$ 60 秒+85% $\dot{V}O_2\max$ 180 秒+110% $\dot{V}O_2\max$ 5 秒, 週 4 回) で 4 週間トレッドミルトレーニングを行った (10 週間のウォッシュアウト期間を設定したクロスオーバー試験)。トレーニング前後にトレッドミル漸増負荷テストを実施し、走行時間、最大酸素摂取量、心拍出量などを測定した。各テスト前の安静時には中殿筋バイオプシーを行い、組織学的解析およびリアルタイム PCR を実施した。統計解析には paired *t*-test を用い、有意水準は $P < 0.05$ とした。

【結果と考察】

トレーニング 1 週目において、週 4 回実施している運動後の血漿乳酸濃度は上位群が下位群より 49%高かったが、4 週目には差が認められなかった。トレーニング後の運動負荷テストにおいて、両群ともトレーニング前に比べて、走行距離 (上位 vs 下位 ; +23 vs +24%)、最大酸素摂取量 (+8.6 vs +7.1%)、心拍出量 (+8.4 vs +9.1%) および 1 回拍出量 (+4.6 vs +6.7%) が増加したが、両群間に有意な差はなかった。下位群においてのみトレーニング後の Type IIx 線維の横断面積 (+18%)、Type IIa および IIx 線維の筋サテライトセル数が増加した (Type IIa, +32% ; Type IIx, +39%)。また、トレーニング後に上位群においてサテライトセル活性化に関連する因子 (Pax7, MyoD, Myogenin) の mRNA が増加する傾向があり、下位群では Myogenin mRNA が増加した。

仮説とは異なり、運動パフォーマンスや有酸素能力に関するトレーニング効果に両群間の差はなく、これには 4 週間のトレーニング期間内に両群の運動能力が向上したため、トレーニングが及ぼす運動負荷が同等になったことが関連している可能性が考えられた。一方、下位群でのみ速筋線維の横断面積や筋サテライトセル数が増加しており、筋肥大や筋サテライトセル活性化には、ある程度の継続した運動時間が必要である可能性が示唆された。

3 軸加速度計を用いた哺乳期子馬の休息行動に関する研究

○ 村瀬晴崇 松井 朗 遠藤祥郎 佐藤文夫 羽田哲朗

日高

【背景と目的】

馬の放牧管理は客観的評価が難しく、経験的な判断に基づいて行われることが多い。近年、馬においてポータブル GPS を用いた運動量調査が行われ、頭絡などに GPS を取り付けることで放牧地内での運動量（移動距離）を手軽に知ることができるようになった。しかし、GPS では馬の詳細な行動（採食や休息）を調べることができず、より適切な放牧管理を行うには別の方法を検討する必要がある。3 軸加速度計は機器の向きや角度を記録することができ、下肢部や頭絡に取り付けることで馬の姿勢の変化を知ることができる。本研究は、哺乳期子馬の成長に伴う休息行動の変化を明らかにすることを目的に、3 軸加速度計を子馬の下肢部に装着して評価した。

【材料と方法】

供試馬：2017 年生産馬 6 頭（3/17～5/19 生まれ）を用いた。生後 1 週間程度はパドック放牧とし、その後放牧地に移した。また 5 月上旬に昼放牧（7 時間）から昼夜放牧（17 時間）に移行した。この時点で 1 ヶ月齢未満の子馬については 1 ヶ月齢を目処に昼夜放牧に移行した。

計測・評価方法：休息行動は後肢管部に 3 軸加速度計（HOBO ペンダント G ロガー、Onset 社）を装着し、10 秒毎に 3 軸に対する傾きを記録した。後肢軸が地面に平行となる姿勢を休息行動とし、1 日における休息時間、休息回数を解析した。これらについて日齢、放牧と馬房内の違い、放牧時間および天候の影響について検討した。また頭絡に GPS（747Pro、Transystem 社）を装着し、5 秒毎に位置情報を記録することで運動量を評価した。これらを離乳日（8/17,24）まで毎週、連続した 2 日間実施した。

【結果】

新生子期の休息時間は 10-11 時間であった。昼放牧期間中、成長に伴って放牧地での休息時間および休息回数は減少する一方、馬房では休息時間が延長、回数は減少した。運動量は成長に伴って増加した。雨天時には放牧地における休息は認められなかった。昼夜放牧への移行に伴って、総休息時間は減少したが、その後離乳まで大きな変化は認められなかった。

【考察】

本調査の結果、新生子期の休息は 10-11 時間にも及ぶことが明らかになった。昼放牧期、成長に伴い放牧地における休息時間が減少した。これは子馬の体力が発達したためと考えられる。一方、馬房においては 1 回休息時間が延長した。これは成長に伴って吸乳間隔が延長したことに起因すると考えられる。また、雨天時には放牧地における休息行動が大きく制限されることから、特に休息時間の長い新生子期における放牧管理には留意する必要性が示唆された。

蹄底充填材アドバンスクッションサポート（ACS）による 蹄負面および蹄底にかかる負重の変化

○ 福藤 豪¹⁾ 諫山太朗¹⁾ 高橋敏之²⁾ 高橋佑治²⁾ 光田健太¹⁾ 石川裕博¹⁾

¹⁾栗東 ²⁾総研

【背景と目的】

蹄底充填材アドバンスクッションサポート（以下 ACS）は、蹄骨支持と負重分散を目的に使用され、蹄葉炎による疼痛を軽減する効果があると考えられている。ACS により蹄負面の負重は蹄底へと分散し、蹄骨を支持する力になると推察されるが、蹄負面および蹄底にかかる負重の変化について調査した例は無い。そこで我々は、ACS 装着効果の検証を目的として、ACS の有無および充填量（高さ）の相違による蹄負面および蹄底にかかる負重の変化を調査した。

【材料と方法】

サラブレッド種 6 頭の左前肢 6 蹄を対象とした。負重圧の計測には力測定センサーを使用し、蹄負面 4 点（内外蹄尖部 2 点、内外蹄踵部 2 点）、蹄底 1 点（蹄叉尖部）を計測した。計測時の蹄鉄および ACS の装着状態は以下のとおりとした。まず、蹄鉄のみを装着（ノーマル）した。続いて、ACS を蹄鉄接地面に対しフラット（高さ 0mm）に装着し、2mm 厚の ACS シートを用いて高さを 2mm、4mm、6mm と調整しながら、各状態について計測した。その際、右前肢についても左前肢と同様の装着状態とした。静止駐立時に各状態を 3 回ずつ計測し、その平均値を算出した。この値を用いて統計学的に比較検討した。

【結果】

蹄負面の負重については、どの部位においても ACS を装着することで大きく減少し、ACS の高さが上昇するにつれて減少する傾向がみられた。特に、減少の幅は 2mm までが大きく変化し、ノーマルを 100% とし比較すると、0mm では約 50%、2mm では約 70%まで減少した。一方、蹄底の負重はノーマルより 0mm が、0mm より 2mm が有意に増加したが、4mm および 6mm では増加の幅は小さかった。

【考察】

ACS は従来考えられていたとおり、蹄負面の負重を減少させ、蹄底に負重を分散することが明らかとなった。充填量（高さ）については、0mm でも蹄負面の負重が大きく減少するが、高さを設けることでより負重を減少できると考えられた。また、蹄底では蹄負面の負重の減少にあわせて負重が増加することがわかり、高さを増すことで蹄骨への支持力をより強くできると考えられた。一方、過度な高さは、蹄の踏着の不安定さや蹄底への圧力が過度に増すことによる疼痛の原因となる懸念もある。以上のことから、「高さ 2mm」が十分な効果を得られる ACS 充填量の基準として活用できる可能性が示唆された。今後は、本研究結果を活用することで、より効果的な ACS 装着法の検討を行いたい。

2015年および2016年の美浦トレーニング・センターにおける ゲタウイルス感染症の発生状況と分離ウイルスの解析

○ 根本 学¹⁾ 坂内 天¹⁾ 越智章仁¹⁾ 眞下聖吾²⁾ 岡野 篤²⁾ 関 一洋³⁾

美浦防疫課³⁾ 辻村行司¹⁾ 山中隆史¹⁾ 古角 博¹⁾

¹⁾ 総研 ²⁾ 馬事部 ³⁾ 美浦

【背景と目的】

ゲタウイルスは蚊が媒介し、馬に発熱、四肢の浮腫および発疹を引き起こす病原体である。1978年に美浦トレーニング・センター（TC）で初めて流行したが、1979年にワクチンが開発されてから、ワクチン接種馬群においてゲタウイルス感染症の発生報告はなかった。しかし2014年美浦TCにおいて、9月中旬から10月末にワクチン接種馬群で突然流行が確認され、計33頭の発熱馬がゲタウイルス陽性と診断された。詳細な発生状況については第57回本発表会で坂内らが報告しているため、本演題では2015年および2016年の美浦TCにおけるゲタウイルス感染症の発生状況と、分離ウイルスの遺伝子および抗原性解析について報告する。

【材料と方法】

蚊が活動する6月から11月上旬に発熱した馬の全血を用いて、ゲタウイルス遺伝子を検出するRT-PCR法を行い、陽性検体についてはウイルス分離を実施した。分離ウイルスについては、次世代シーケンサーであるIon PGMシステムにて全ゲノムを解読し、遺伝子解析を実施した。またワクチン株であるMI-110株の馬免疫血清を用いて、2015年および2016年分離株に対する中和抗体価を測定し、ホモウイルスであるMI-110に対する中和抗体価と比較した。

【結果と考察】

2015年は8月中旬から10月末にかけてゲタウイルス感染症の発生が確認され、発熱馬106頭中29頭（27.4%）がRT-PCR法にてゲタウイルス遺伝子陽性であった。一方、2016年は8月上旬から10月上旬にかけて発生が確認され、53頭中6頭（11.3%）がRT-PCR法にて陽性であり、2016年の陽性率は2015年と比較して有意に低かった。なお、6月から10月の発熱馬頭数は2015年が159頭、2016年が80頭であった。これはゲタウイルス感染症の流行が2016年は小規模であったため、2015年と比較して発熱馬頭数が減少したと考えられた。全ゲノムを用いた遺伝子解析の結果、2015年および2016年分離株は2014年分離株と非常に相同性が高く（99.9%）、2014年以降ほぼ同じウイルスが美浦TCで循環していたことが明らかとなった。ワクチン株であるMI-110株の免疫血清を用いた中和試験の結果、2015年および2016年分離株とMI-110株の間で中和抗体価に有意差はなかった。すなわちワクチン株と近年流行株の間に抗原性の変化はなく、現在のワクチン株は近年流行株に対して有効であると考えられた。2016年の流行が小規模であった明らかな理由は不明であるが、TCにおける蚊の駆除の推進等の基本的な防疫作業が流行を小規模にした要因かもしれない。

競走馬の腸炎における治療薬の成績について

○ 黒田泰輔 田村周久 福田健太郎 富田篤志 笠嶋快周

総研

【背景と目的】

腸炎はウマにとって時に致死的な疾患となり、その治療薬として輸液、非ステロイド系抗炎症薬、抗エンドトキシン療法、毒素吸着剤などが推奨されている。いずれの治療薬もヒト医療やエンドトキシン投与モデル馬を用いた研究報告を基にしているが、腸炎を発症した臨床症例馬における薬物の治療効果を検証した報告は極めて少ない。そこで、競走馬の腸炎に対する治療法の確立を目指し、成書で推奨されてきた治療薬の有用性について本会症例馬の治療成績から検討した。

【材料と方法】

2004 から 2017 年の期間に JRA 施設内で治療を行った腸炎症例 213 頭を対象とした。臨床症例では重症例ほど多くの治療を行うため、投与群と非投与群を比較する際に、投与群に重症例が偏り致死率が高くなるバイアスが生じる。そこで、予後との相関が高い発症時の PCV を基に、PCV60%以上を重症(52 頭:致死率 51.9%)、50~60%を中等症(83 頭:致死率 22.9%)、50%以下を軽症(78 頭:致死率 12.8%)として重症度を分類し、各重症度において投与群と非投与群の致死率をカイ 2 乗検定で比較することによりバイアスの影響が小さくなるように調整した。解析可能なサンプル数があった膠質輸液剤ヒドロキシエチルデンプン(HES)、エンドトキシン吸着剤ポリミキシン B、3 種のプロバイオテクス(ヒト由来乳酸菌製剤、ウマ由来乳酸菌製剤、サッカロマイセス製剤)、毒素吸着剤 DTO スメクタイト、抗菌薬セファロチンについて有用性を検討した。

【結果】

HES は軽症から重症までいずれにおいても投与群の致死率が有意に高かった(重症 HES 投与群致死率 66.8%:非投与群 31.8%、中等症群 HES 投与群 45.5%:非投与群 8.0%、軽症 HES 投与群 66.8%:非投与群 5.8% $P<0.05$)。ポリミキシン B と 3 種のプロバイオテクスは投与群の致死率が高い場合が多かったが、有意な差は認めなかった。DTO スメクタイトは軽症と中等症で、セファロチンは軽症から重症までいずれにおいても投与群の致死率が低く、特に中等症では低い傾向を認めた(中等症 DTO スメクタイト投与群致死率 10.0%:非投与群 27.0%、中等症セファロチン投与群 17.7%:非投与群 38.1% $P<0.1$)。

【考察】

本調査では HES、ポリミキシン B、プロバイオテクスは生存に繋がる治療効果は認められなかったが、DTO スメクタイトとセファロチンは PCV の上昇が進行していない症例では治療効果を有する可能性が示唆された。しかし、本調査は PCV のみに基づく重症度分類であるため投与群と非投与群の病態が完全に一致しているとは言えず、同程度の PCV 症例の中でも投与群に重症例が偏るバイアスが残存している可能性もある。今後、より正確な治療効果を検証するには、画一的な治療データの収集方法を確立し、詳細な病態分類による解析やランダム化比較試験などの前向き研究が必要と考えられた。

腸炎に伴う血液凝固異常に血漿輸液療法を適用した6例

○ 野村基惟¹⁾ 新崎裕太¹⁾ 前 尚見¹⁾ 村瀬晴崇²⁾ 石川裕博¹⁾

¹⁾ 栗東 ²⁾ 日高

【背景と目的】

競走馬の腸炎は、治療に難渋する内科疾患で、併発する病態の1つに全身性の血液凝固異常がある。一昨年演者らは、血液凝固異常を評価する検査項目において、特に生体の抗凝固因子であるアンチトロンビン(AT)活性の持続的な低下を認めた場合、予後が悪化することを報告した。このような病態への対処の1つに、血漿輸液療法があるが、競走馬の腸炎への適用については報告が少ない。そこで本研究では、AT活性が一定水準値以下に低下した症例を対象に、凝固因子の補充を目的とした血漿輸液を適用し、若干の知見を得たため報告する。

【材料と方法】

血漿輸液の適用基準は、演者らが報告した腸炎の予後とAT活性との関連調査に基づき、AT活性が正常(176 – 214%)の50%以下に低下した場合とし、確認したその日のうちに血漿を投与した。AT活性値の測定にはSysmex社製自動測定装置を使用し、初診時から継続してモニタリングした。ドナーには、日高育成牧場で繋養するユニバーサルドナー(UD)および健常なサラブレッドを用い、血漿は投与時まで冷凍保存した。血漿の投与量は、1頭のドナーから1回に採血可能な血液量を考慮し、3 – 4 Lとした。改善が得られない場合など、主治医の判断で2回目の投与を実施した。これらの適用基準により、2017年の栗東TCにおける腸炎発症馬のうち6例に血漿輸液が実施されたため、血漿輸液前後のAT活性値の推移、および最終的な予後について調査した。

【結果と考察】

計10回の投与が実施され、投与日は初診日から起算して2 – 6日、投与量の平均は3.4 Lであった。このうち1例では、2回目の投与時に蕁麻疹を発症したため、投与を中断した。投与前後2日間のAT活性の推移を比較すると、投与前は6例とも同様の低下傾向を示したのに対し、投与後は全体として上昇傾向へ転じた。血漿輸液直前と直後のみのAT活性に注目すると、投与を中断した1回を除く計9回のうち8回で、平均96%から106%への上昇を認めた。また、6例のうち4例は投与後もAT活性の上昇傾向が維持され、1例は腎不全が改善せず安楽死となったものの、他3例は治癒に至った。6例のうち2例は投与翌日には再びAT活性が低下傾向へ転じ、安楽死に至った。

これらの結果から、本研究で試行した血漿輸液療法により、一定のAT活性改善効果、および予後改善が得られることが明らかとなった。一方、AT活性の上昇は一時的に留まり、凝固異常の改善には至らない症例も存在し、腸炎に伴う凝固因子の消費や血管透過性亢進が改善していないためと推測された。また、凝固異常が改善されても、予後は他の病態進行にも大きく左右されることが明らかとなった。今後、他の治療法との組合せや、投与方法について更なる検討が必要と考えられた。

オールアウト運動がサラブレッド腸内フローラに与える影響

○ 高橋佑治 丹羽秀和 向井和隆 大村 一 高橋敏之

総研

【背景と目的】

草食動物であるウマは、消化管内の腸内細菌の働きにより多くのエネルギーを得ている。消化管内には複雑な腸内フローラが形成されており、抗生物質や全身麻酔などがウマの腸内フローラに影響を与えることが示唆されている (Schoster *et al.*, *Equine Vet J* 2015)。腸内フローラの変化は重篤な疝痛につながるという報告もあり (Weese *et al.*, *Equine Vet J* 2015)、各種ストレスが疾病を引き起こす要因になる可能性があると考えられる。サラブレッドは、競馬や追い切りなどの運動によるストレスも受けていると推察されるが、高強度運動がサラブレッドの腸内フローラに与える影響に関する報告はわずかである (Almeida *et al.*, *PLoS One* 2016)。そこで、本研究では、疲労困憊するまで走行するオールアウト運動が腸内フローラに与える影響を網羅的に解析した。

【材料と方法】

健康なサラブレッド種 7 頭 (去勢雄 3 頭、雌 4 頭) を用い、トレッドミル上にて漸増負荷試験を実施し、オールアウトするまで走らせた。運動時の測定項目はオールアウト 1 分後の血漿中乳酸濃度、最高心拍数とした。糞便は、運動負荷試験直前 (Day 0)、1 日後 (Day 1)、3 日後 (Day 3)、5 日後 (Day 5) に、用手にて直腸より採材した。次世代シーケンサーによる腸内フローラの解析では、糞便から菌 DNA を抽出した後、PCR によって 16S rRNA の V4-V5 領域を増幅し、その増幅産物の配列とデータベース上の既知の配列を比較して腸内フローラを構成する細菌種の比率を決定した。各サンプルの科レベルにおいて、各菌の占める相対的な割合、および腸内細菌多様性の指標となる Simpson index を算出した。Simpson index に関しては、繰り返しのある一元配置分散分析を実施した。採取日間の多重比較には Bonferroni 法を用い、有意水準は 5% とした。さらに、各採材日のサンプルの腸内フローラ構成細菌の類似性を視覚的に評価するため、主座標分析により各サンプルを 2 次元上に配置した。

【結果および考察】

血漿乳酸濃度、最高心拍数は、それぞれ 24.8 ± 7.9 mmol/l、 209 ± 8 bpm であり、この強度は追い切りや競馬並みの運動強度であったと推察された。Simpson index は Day 0 に比べて Day 3 で有意に増加していた。Day 0 の主な各菌の相対的な割合 (上位 3 位まで) は Streptococcaceae 54%、Lachnospiraceae 10%、Ruminococcaceae 4% であり、Day 3 においてはそれぞれ 42%、13%、6% であった。最優先種であった Streptococcaceae の減少と他科に属する菌の増加により、Simpson index が増加したと考えられる。しかし、主座標分析では運動前と運動後は異なる位置に配置しておらず、運動前後で腸内フローラ構成細菌の類似性は変化していないと推察された。以上の結果からサラブレッドにおいて、高強度のオールアウト運動は、一部の菌に影響を与えている可能性はあるが、その影響は極めて限定的であると考えられた。

マルボフロキサシンの静脈内単回投与が競走馬の腸内フローラに与える影響

○ 丹羽秀和¹⁾ 水上寛健²⁾ 富成雅尚²⁾ 木下優太¹⁾ 内田英里¹⁾ 片山芳也¹⁾

1) 総研 2) 日高

【背景と目的】

近年、競走馬では重篤な腸炎が増加傾向にあり、この腸炎の発症には抗菌薬投与や長距離輸送が関連している可能性が指摘されている（藤木ら，第 56 回本発表会）。ヒトでは腸内フローラの変化が一部の消化器疾患の発症に関与していることが知られており、馬の腸内フローラも抗菌薬や全身麻酔などの各種ストレス要因により影響を受けることが示唆されている。これまでに輸送熱予防の目的でマルボフロキサシン（MBFX）が単回投与された長距離輸送馬において腸内フローラの変化が認められたことが報告（丹羽，第 28 回日本ウマ科学会）されているが、予防的抗菌薬投与や長距離輸送が、それぞれどのように腸内フローラに影響を与えるかについては明らかになっていない。そこで本研究では、輸送熱予防として実施される MBFX の単回投与が腸内フローラに与える影響を調査した。

【材料と方法】

調査には健康で同一環境において飼育されたサラブレッド 6 頭（2 歳，雄 3 頭，雌 3 頭）を供試した。材料として MBFX の単回投与（2 mg/ml）の前（1 日前）、後（1，3，7 日後）の直腸便を用手により採取した。腸内フローラの解析は、次世代シーケンサー（NGS）による網羅的解析法を使用した。すなわち、糞便から細菌の DNA を抽出、PCR 法により全ての細菌が保有する 16S rRNA 遺伝子の V4-V5 領域を増幅した後、増幅産物の塩基配列を NGS で解読した。得られた塩基配列をデータベースの既知の細菌の配列と照合し、腸内フローラを構成する細菌種の比率を決定した。得られたデータについては各種統計解析を行った。さらに、主座標分析を用いて腸炎により死亡または安楽死となった馬の結腸の腸内フローラと比較した。

【結果と考察】

供試した 6 頭は、いずれも MBFX の単回投与後の健康状態に異常は認められなかった。腸内フローラの多様性を示す指標である Simpson index は、投与前後では優位な差は認められず、MBFX の投与は腸内フローラ全体には大きな影響は与えないと考えられた。一方、腸内フローラを構成する個々の菌に注目すると、大腸菌などが含まれる Gammaproteobacteria の比率が投与 1 および 3 日後に減少することが明らかとなった。また、主座標分析の結果、供試馬の MBFX 投与後の腸内フローラは腸炎症例のものとは明らかに異なっており、供試馬に認められた腸内フローラの変化は疾病に直接つながるものではないと推察された。

以上の結果から、MBFX の単回投与は競走馬の腸内フローラに与える影響は限定的であると考えられた。しかし、一部の腸内フローラ構成細菌では投与後に腸内フローラ全体に占める割合が低下したことから、MBFX の予防的投与は個体の健康自体には影響はないが、影響を受ける一部の菌では耐性菌の選択に関与する可能性が考えられた。

ウマのエンドトキセミアモデルに対するメロキシカムの疼痛軽減効果

○ 浦山俊太郎¹⁾ 長島剛史¹⁾ 福田一平¹⁾ 藤澤千尋¹⁾ 佐藤宏昭¹⁾ 草野寛一¹⁾

田中あかね²⁾ 松田浩珍²⁾

¹⁾ 美浦 ²⁾ 東京農工大学

【背景と目的】

エンドトキセミア (Et) においてはlipopolysaccharide (LPS) が全身性炎症反応を惹起し、特に腸炎を続発すると致死率が高くなることが知られている。本病態に対してはフルニキシンメグルミンがエビデンスに基づき用いられているが、本薬物のようなcyclooxygenase (COX) 非選択的抗炎症薬の投与には消化管障害のリスクが伴うことが知られている。一方、COX-2選択的抗炎症薬では投与後の消化管障害の発症が少ないことが近年ウマにおいて報告されているが、ウマのEtに対するCOX-2選択的抗炎症薬の効果に関する報告はない。そこで本研究では、Etモデルを用いてCOX-2選択的抗炎症薬であるメロキシカム (MX) のEtに対する疼痛軽減効果を検討した。

【材料と方法】

サラブレッド種5頭に、生理食塩水に溶解したLPS (30 ng/kg bwt) を静脈内投与してEtモデルを作成し、MX群と対照群の2群に分けてクロスオーバー試験を実施した。すなわち、LPS投与60分前にMX群にはMX (0.6 mg/kg, Metacam, Boehringer Ingelheim社) を、対照群には生理食塩水 (20 ml/500kg bwt) を経口投与した。同一個体における両試験間には、最低6週間の休薬期間を設けた。LPS投与60分前から投与420分後まで経時的にペインスコア (Pritchett et al, 2003) を評価するとともに、直腸温、心拍数、呼吸数、蹄壁表面温度、白血球数、血漿tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) 濃度およびコルチゾール濃度を測定し、両群間で比較検討した。

【結果と考察】

MX群ではLPS投与60分後からペインスコアが上昇し、LPS投与前と比較して投与後240、300、360分に有意な高値を示した ($p < 0.05$)。一方、対照群ではLPS投与後30分から上昇し、投与後60分以降のすべての時点で有意に高かった ($p < 0.01$)。LPS投与後60、90、120、180分におけるペインスコアは、MX群では対照群に比べて、有意に低かった (60、90分後: $p < 0.01$, 120、180分後: $p < 0.05$)。また、全測定時点におけるペインスコアの積算の平均を群間比較すると、MX群 (10.1 ± 0.1 点) は対照群 (13.8 ± 0.4 点) に比べ有意な低値を示した ($p < 0.05$)。直腸温、心拍数、呼吸数、蹄壁表面温度、白血球数、血漿TNF- α 濃度およびコルチゾール濃度は、群間に有意差を認めなかった。本研究では、MXの前投与がウマEtモデルにおいて疼痛を軽減することを初めて明らかにした。MXは、ウマのEtにおける治療薬となる可能性があると考えられた。

ウマ腸管の器官培養法に関する基礎的検討

○ 上野孝範 越智章仁 片山芳也

総研

【背景と目的】

重篤な腸管感染症の病態解明あるいは予防・治療法の検討を行う上で、腸管粘膜における病変形成機序、特に感染初期病変の理解は重要である。しかしながら、死亡症例を用いた病理学的検査では病態の終末像しか見ることができず、病変形成初期の事象を類推することは難しい。また、研究馬を用いた感染モデルの作出においても、発症始期を明確に判断できない場合には、粘膜に生じた初期病変の採取適期を特定することが困難となる。そこで本研究では、病原微生物が腸管粘膜に及ぼす影響の再現ならびに感染初期の組織病変の観察を可能にするため、ウマ腸管粘膜を用いた器官培養法について基礎的技術の検討を行った。

【材料と方法】

安楽死直後のウマ空腸および結腸 18 検体を用いて、既報を参考に材料採取方法、培養組織片作製法、培養条件、および標本作製技術について検討した。形態保持性に優れた培養方法を選択するため、培養開始後 24 時間および 48 時間のサンプルについて病理組織学的観察を行い、腸粘膜上皮の経時的な変化を評価した。

【結果と考察】

以下の手法において比較的良好な結果が得られた。[サンプル採取・培養組織片作製] 腸組織は、摘出後速やかに 10 cm 角のシート状に整形し、温 PBS による洗浄後に抗菌薬を含む冷却ハンクス平衡塩溶液中で腸壁の平滑筋層および漿膜を分離・除去した。培養用組織片の大きさは直径 5 mm とし、同サイズの生検用トレパンを用いて前記粘膜シートより切り出した。[培養条件] 組織片は細胞培養用 6 穴プレートに固定したセルストレーナー (100 μm メッシュ) 上に静置し、培地を添加後に回転振盪台上 (傾斜角 5°、毎分 5 回転) で組織片が露出と浸漬を繰り返すよう液量を調整した。Senior ら (1986) の方法を基本としたウシ胎子血清添加培地を用い、37°C、95% O₂、5% CO₂ 条件下に維持された密閉式チャンバー内で培養を行った。なお、培地交換は 24 時間毎に実施した。これらの手法で、大結腸は培養終了時まで粘膜上皮細胞の連続性を維持することができた。しかし、時間経過に伴い粘膜上皮細胞の軽度な萎縮や腸陰窩開口部の拡張が観察され、特に陰窩底部では上皮の扁平化や壊死も認められた。また空腸では絨毛ヒダの消失、絨毛の短縮、および中心リンパ管の著しい拡張が観察されたものの、絨毛表面の粘膜上皮の連続性は保たれていた。その一方で空腸陰窩深層においては、大結腸より顕著な粘膜上皮の変性・脱落が培養 48 時間後までに観察された。走査型電子顕微鏡による培養組織片観察において空腸陰窩開口部は狭小であったことから、表層上皮に比し深層上皮は新鮮な培地を介した栄養供給が乏しくなっているものと推察された。以上の結果より本手法は、暴露後短時間で粘膜表層の上皮傷害を招来する化学物質や細菌産生毒素による組織病変の再現に適しているが、ウイルスあるいは細胞内寄生菌など、暴露・感染後から病変形成に至るまでに一定の時間を要す実験には不向きであると考えられた。

クレッグインパクトソイルテスターを用いた クッション性の調査及び多角的分析

○ 田村陽輔 今泉信之 施設部馬場土木課 重岡真司

施設部

【背景と目的】

芝馬場のクッション性を測定する方法として平成元年より硬度測定車を使用し、測定結果を管理にフィードバックさせるなど一定の成果を得てきた。しかし、車両の重量が大きいため、芝馬場の損傷を考慮すると測定は良馬場に限定され、年間でも最大で5回程度の限定的なデータしか測定できない状況であった。本研究では、クレッグインパクトソイルテスター（以下、クレッグ）という不良状態でも馬場への損傷が無く多数回の測定が可能な軽量の測定機器を使用してクッション性を測定し、①含水率との関連性、②硬度測定車の測定値との関連性、について調査した。

【材料と方法】

函館・新潟・中山・東京の4競馬場において、1m×2mの調査区を5区画設けた。その内3区画についてはクレッグのみで測定し、2区画はクレッグと硬度測定車にて同時に測定した。手順は、(1)調査区に対して人為的に降水量5～10mm相当の水を散水、(2)クレッグ及び硬度測定車でクッション性を測定、(3)土壌の含水率を測定、これらを1セットとし、馬場状態が不良になるまで10セット程度を繰り返して行った。1セットにおける測定回数は、硬度測定車は1回、クレッグは3回とし、クレッグは3回の平均値をデータとして採用した。

【結果と考察】

全ての調査区において含水率の上昇に伴ってクレッグ値が低下する傾向が見られ、特に相関係数が函館0.73、中山0.83と高い相関を示したことから、土壌の含水率が芝馬場のクッション性の一要因であることが明らかとなった。また、高含水率の状態におけるクレッグ値の最小値が55～65G程度（最低値49G）であったことから、芝馬場を測定する上でのクレッグ値には下限があることが示唆された。

クレッグ値と硬度測定車の測定値を様々な含水率の条件下で比較した結果、全ての競馬場で含水率に関わらず高い相関を示した。また、硬度測定車に対しクレッグは低い測定値を示す傾向が見られ、「クレッグ/硬度測定車」の数値は71%～100%の範囲にあり、90%での出現頻度が最も高かった。以上のことから、クレッグは馬場状態を問わず芝馬場のクッション性を簡易に測定する機器として有用であることが示され、補正值を使用することで過去の硬度測定車の測定値との比較が可能であると示された。

今後は継続してデータを蓄積することで分析の精度を高めるとともに、さらに多角的に測定を実施し、土壌特性や草種、競馬開催による馬場の損傷等の要素とクレッグ値との関連性について検証していきたい。

現役競走馬の立位 MRI 検査における BMO 型信号変化の診断的意義

○ 溝部文彬¹⁾ 野村基惟¹⁾ 新崎裕太¹⁾ 岡田 淳¹⁾ 石川裕博¹⁾ 山田一孝²⁾ 栗本慎二郎¹⁾

¹⁾ 栗東 ²⁾ 麻布大学

【背景と目的】

BMO (Bone Marrow Oedema) 型信号変化は、海綿骨内の水腫様変化を示した画像所見として、主にヒト整形外科領域の MRI 検査において用いられる用語である。馬における表現方法は今のところ確立されてはいないが、同様の画像所見が認められることが知られており、臨床上問題となる X 線検査など既存の画像診断法で異常を検出できない症例の診断手段の 1 つとして有用な可能性がある。しかしながら、現役競走馬における BMO 型信号変化についての報告は未だ限られ、その発現状況については不明な点が多い。そこで今回我々は、下肢部の運動器疾患が疑われ、立位 MRI (sMRI) 検査を実施した競走馬 31 頭において、BMO 型信号変化の診断的意義について検討した。

【材料と方法】

装置は Hallmarq Equine LimbScanner®を使用し、立位鎮静下で検査を実施した。X 線検査において骨折線を認めなかった症例を対象に、臨床所見に基づいて球節部 (16 頭)、腕節部 (8 頭) あるいは繋靭帯起始部 (7 頭) の sMRI 検査を実施した。なお、BMO 型信号変化については、既報に基づき次の通りに定義した：海綿骨内における T1 強調画像での低信号ならびに T2*強調画像での等～高信号と周囲の無信号あるいは脂肪抑制画像での高信号領域の出現。

【結果】

BMO 型信号変化を認めた症例は、球節部の異常が疑われた 16 頭のうち、8 頭 (第 1 指 (趾) 骨 : 5 頭、第 3 中手骨遠位部 : 3 頭)、腕節部の異常が疑われた 8 頭のうち、4 頭 (橈骨遠位部 : 3 頭、第 3 手根骨 : 1 頭)、繋靭帯起始部の異常が疑われた 7 頭のうち、1 頭 (第 3 中手骨近位掌側部) であった。sMRI 検査を実施した 31 頭のうち、24 頭が競走に復帰した。このうち、BMO 型信号変化を認めた馬は 11 頭であり、復帰までには 134 日以上を要した。なお、これらの 11 頭のうち、3 頭に対して競走復帰前に再 sMRI 検査を実施し、BMO 型信号変化の改善を確認した。

【考察】

sMRI 検査においては、海綿骨内の水分量の変化に基づいて診断が可能であり、球節部および腕節部で BMO 型信号変化を認めた症例については、微細骨折あるいは骨挫傷が疑われた。また、繋靭帯起始部の異常が疑われたが、X 線検査での診断が困難であった症例についても、sMRI 検査によって起始部の骨炎症像を描出できた。さらに、この BMO 型信号変化を認めた症例では、競走復帰までに一定期間を要することが示唆された。一方、BMO 型信号変化は、適切な休養によって経時的に改善する可能性があり、治癒過程における病態評価のための有用な指標として利用できると考えられた。以上から、競走馬の sMRI 検査において、BMO 型信号変化は診断的意義のある所見と考えられた。

超音波で診断した喉頭軟骨奇形の4症例

○ 佐藤正人 樋口 徹 井上 哲 後藤忠広

NOSAI みなみ 日高支所 家畜高度医療センター

【背景と目的】

当センターでは2010年以降、喉頭片麻痺の症例において背側輪状披裂筋（CAD）の超音波による評価を実施している。CADの評価の際、喉頭を形成する3つの特徴的な軟骨（披裂軟骨、甲状軟骨、輪状軟骨）を正確に描出することは必要不可欠である。検査を開始するためのランドマークも軟骨の描出であり、その際に喉頭軟骨奇形と診断した1例、およびCAD横断像描出の際に輪状軟骨の奇形と診断した2例、さらに披裂軟骨筋突起の奇形と診断した1例についてその概要を報告する。

【症例1】

2歳の入厩前のサラブレッドであり、喘鳴を主訴に喉頭形成術の手術依頼で来院した。安静時内視鏡検査で右側の喉頭片麻痺（G4）と診断し、超音波検査の実施により甲状軟骨と輪状軟骨の位置関係の異常を認めた。右側喉頭片麻痺の原因の一つと報告されている4th branchial arch defect (4BAD)と診断した。手術不適合であり経過観察とした。喘鳴は続いたが、競走馬登録され、地方競馬において、24戦1勝であった。

【症例2】

2、3歳で各1戦のみ喘鳴を発症しながら出走したが、凡走であった。来院時の安静時内視鏡検査ではG2bであった。超音波検査では、CAD横断像で輪状軟骨矢状稜の欠損を認めた。喉頭形成術は可能であり、術後も順調に経過したが、運動器の障害で競走馬登録されなかった。

【症例3】

入厩前の2歳で、喘鳴を認め喉頭形成術依頼で来院した。来院時の安静時内視鏡検査では左右ともにG3cであった。超音波検査では、症例2同様CAD横断像で輪状軟骨矢状稜の欠損を認めた。喉頭形成術は実施しなかった。その後の経過は不明である。

【症例4】

入厩前の2歳で、1歳調教時から喘鳴を認めていた。来院時の安静時内視鏡検査ではG4であった。超音波検査では、CADの描出は可能であり、左右比率はL/R: 0.83であった。披裂軟骨筋突起の描出が困難であり、それまでの症例と比較し明らかな違いを認めたが、喉頭形成術を実施した。手術中、披裂軟骨筋突起の確認が不可能であり、手術は中止した。現在経過観察中である。

【考察】

我々は、昨年のウマ科学会症例検討会で体表からのCADの超音波描出とその診断的価値に関してDr.Ducharmeから評価を得た。現在はCAD描出のみならず各軟骨の評価も可能となった。症例4に関してはこれまで遭遇したことのないケースであり、手術適応外との診断には至らなかった。馬の喉頭疾患に関しては未知の部分もあると考えられる。今後も症例とデータ集積を重ね、エビデンスの確立を目指したい。

反回喉頭神経障害における背側輪状披裂筋の超音波検査の有用性について

○ 酒井哲志¹⁾ 東樹宏太¹⁾ 前田益久²⁾ 菊地拓也²⁾ 石川裕博²⁾ 草野寛一¹⁾

¹⁾ 美浦 ²⁾ 栗東

【背景と目的】

反回喉頭神経障害（RLN）は、喉頭筋（背側輪状披裂筋：CAD および外側輪状披裂筋：CAL）の萎縮に伴う左披裂軟骨の虚脱を引き起こす疾患であり、競走馬における上気道狭窄の主要な原因の一つである。RLN の診断においては運動時内視鏡検査（OGE）が一般的であるが、近年、超音波検査における CAL のエコー輝度との関連性が報告されている。しかし、内転筋である CAL は披裂軟骨の虚脱に直接的に関与しないため、RLN の病態を正確に把握するためには、披裂軟骨の外転筋である CAD の評価がより重要であると考えられている。本研究では、RLN を有する競走馬において CAD の超音波検査所見と運動時の喉頭機能の関連性について調査を行い、本検査法の有用性について検討した。

【材料と方法】

運動時の呼吸障害を主訴として安静時内視鏡検査（グレード(Gr)I~IV）および OGE（Gr.A~C）を実施したサラブレッド種競走馬 21 頭（雄 16 頭・雌 5 頭、年齢：3.2±1.0 歳、体重：498.8±27.4kg）を、OGE の結果に基づいて RLN 群（Gr.B/C・13 頭）および非 RLN 群（Gr.A・8 頭）に分類した。それぞれの安静時 Gr は低い順に RLN 群（0/3/6/4）頭、非 RLN 群（4/3/1/0）頭であった。すべての馬に対して、鎮静下にて経皮的に CAD の超音波検査を実施し、輪状軟骨背側稜直下における CAD の断面積を計測して、左 CAD 断面積および左右比（左／右）について RLN 群と非 RLN 群で比較検討した。また左右比を指標とする RLN の診断精度について ROC（Receiver Operating Characteristic）解析を行った。

【結果および考察】

左 CAD 断面積の平均値（平均±標準偏差）は RLN 群 1.90±0.38 cm² および非 RLN 群 2.43±0.35 cm²、CAD 左右比の中央値（四分位範囲）は RLN 群 0.71（0.65-0.77） および非 RLN 群 0.97(0.91-0.98) でいずれも有意差があった（t 検定および Mann-Whitney、p<0.05）。ROC 解析による CAD 左右比を指標とした RLN の診断精度は、左右比 0.8 をカットオフ値とした場合、感度 92.3%、特異度 87.5%、正診率 90.5%（AUC=0.91、p<0.001）となり、安静時内視鏡検査による診断精度（それぞれ 76.9%、87.5%、80.9%）を上回った。また RLN 群のうち安静時 Gr.II であった 3 例では、いずれも左 CAD の萎縮（左右比<0.8）が認められたのに対し、非 RLN 群のうち安静時 Gr.III であった 1 例では CAD の萎縮を認めなかった（左右比>1）。RLN の診断においては、安静時と運動時で所見が異なるケースが一定数あることが知られているが、本研究では安静時検査と OGE の結果が異なるこれらの症例においても、CAD の超音波検査所見と運動時の喉頭機能には相関が認められた。以上のことから、超音波検査による CAD の評価は、RLN の正確な病態を把握する上で有用な検査法であると考えられた。

サラブレッドの脛骨遠位外果骨折に対する関節鏡手術

○ 田上正明 加藤史樹 鈴木 吏 山家崇史 木原清敬

社台ホースクリニック

【背景と目的】

山家は平成29年度産業動物獣医学会(北海道)において「脛骨遠位外果骨折に対して外科手術を実施したサラブレッド73頭に対する回顧的調査」を報告した。脛骨遠位外果骨折の骨片摘出手術は、関節切開(AT)により行っていたが、2010年(O'NEILL)と2011年(SMITH)に関節鏡視下摘出手術の報告があり、2012年以降に関節鏡視下摘出手術(AS)を実施した22頭について、手術方法の概要とその有用性を検討したので報告する。

【症例と関節鏡手術】

症例は22頭のサラブレッドで、性別は雄13頭・雌9頭、手術時の年齢は当歳8頭・1歳6頭・2歳3頭・3歳の競走馬が2頭・6/8/21歳の繁殖雌馬が3頭であった。罹患関節は右14・左7・両側1であった。すべての症例は臨床症状とレントゲン検査により診断された。患部の炎症や腫脹が強い場合には、局所の消炎処置、消炎鎮痛剤の投与を行い、症状の改善を待ってから手術を行うことも多かった。

ASは常法通り、イソフルラン-酸素吸入麻酔(IPPV)下仰臥位で行い、飛節を軽く曲げた状態で保定し飛節全体を外科的に消毒した。灌流液により拡張させた背外側腔のやや遠位(上)を小切開し関節鏡を挿入した。針の刺入により位置を確認し近位に鉗子口を作成した。骨片の確認のための軟部組織の除去と骨片に強く付着した側副靭帯の分離ならびに摘出後の靭帯などの軟部組織のトリミングなどにはシェーバー(シノベーター)を、止血と軟部組織の処置にはヴァルカンプローブ®(高周波電気メス)も使用した。分離した骨片(大きい骨片は分割して)は背外側あるいは底外側の鉗子口から摘出した。背内・背外側と底内・底外側の四つの関節腔をくまなく観察し必要な外科処置を行い、10頭ではジョイントマウスを摘除しレントゲン検査を行った。4~5か所のポータルの皮膚縫合、しっかりした圧迫包帯を行い通常通り覚醒させた。

【結果とまとめ】

いずれの症例においても関節鏡視下で、様々な大きさの骨片の摘出が可能であった。麻酔・覚醒に問題なく、術後合併症はほとんど認められなかった。術後の患部の状態はASのほうがATよりも良好に経過する傾向が認められた。麻酔時間はASが平均128(78~190)分で、ATの平均85.7分より長かった。飛節の背外側腔は狭く、ポータルどうしが近いためにトライアングレーションが難しかった。シェーバーとヴァルカン®はそれぞれの目的に対して非常に有用であったが、操作にはある程度の習熟を要し手技には時間がかかった。ASによりジョイントマウスやフィブリンの除去(多量の症例も)が可能となり、関節全域の滑膜・関節軟骨の評価と異常滑膜の除去と軟骨のトリミングや十分な関節洗浄などの外科処置が実施できた。

ASはATに比較して手術手技により習熟を要し、手術時間が長くなったが、上述したようにATでは不可能な鏡視下での骨片と側副靭帯との分離・ジョイントマウスの摘除・関節全域の構造物の観察と異常に対する外科処置などが可能となることから、メリットが大きくより有用な手術方法であると考えられた。

乳酸値を用いた育成馬の調教効果判定およびミオスタチン遺伝子型別特徴

○ 水上寛健¹⁾ 羽田哲朗¹⁾ 胡田悠作¹⁾ 琴寄泰光¹⁾ 秋山健太郎²⁾ 富成雅尚¹⁾

¹⁾ 日高 ²⁾ 馬事部

【背景と目的】

乳酸は無酸素性エネルギー産生を伴う強調教時に筋肉内で産生される糖の代謝物であり、走行後の血中乳酸値は馬の調教負荷を評価する上で簡便かつ有効な指標である。また、乳酸値と調教時の走行速度との関係からデータを評価することで、馬の心肺機能の変化を知ることが出来る。今回我々は、JRA育成馬において坂路調教後に血中乳酸値を測定し評価することで、日高育成牧場で行っている育成調教の効果判定を実施したので報告する。合わせて、競走馬の距離適正との関連性が示されているミオスタチン遺伝子多型について、調教時の乳酸産生に関する遺伝子型別特徴を検討した。

【材料と方法】

対象馬は、2016-17年度に日高育成牧場で育成調教を行ったJRA育成馬56頭（雄32頭、雌24頭）とした。1歳12月から2歳4月まで1000m屋内坂路馬場で調教を実施した直後に採血を行い、ラクテートプロ2を用いて乳酸値を測定した（延べ789データ）。なお、12月と1月は坂路1本走行後、2月から4月は坂路2本走行後に採血を実施した。坂路走行時の走行速度は、赤外線計測システムを用いて測定した。統計解析として、月別の比較には共分散分析を、ミオスタチン遺伝子型別の比較には分散分析を用いた。

【結果】

①月別の比較

雄雌別に坂路走行後の乳酸値を比較したところ、雄では12月・1月よりも2月で有意に低く2月と3・4月との間には差を認めなかった。雌でも同様の傾向が認められた。

②ミオスタチン遺伝子型別の比較

結果①を基に2-4月の乳酸値と走行速度との関係から標準直線（回帰直線）を引き、標準直線と各データとの差から ΔLA を算出した。ミオスタチン遺伝子型別に比較したところ、CC型（短距離型）ではCT型（中間型）・TT型（長距離型）よりも ΔLA が有意に高く、CT型とTT型との間に差は認めなかった。一方、2月以降に2本坂路調教を行った回数と ΔLA との関係を調べたところ有意な負の相関関係があり、調教回数の増加と共に ΔLA が減少する傾向が認められた。

【考察】

2016-17年に日高育成牧場で行った育成調教において、1歳12月から2歳2月にかけて坂路走行時の乳酸産生量が減少し有酸素性運動能力が向上したこと、またミオスタチン遺伝子型別ではCC型よりもCT型およびTT型で調教中の乳酸産生量が少なく有酸素性運動能力が高いことが示唆された。ただし、調教が順調に進み坂路調教の回数が増加すると調教後の乳酸値が低くなる傾向が認められたことから、育成期の有酸素性運動能力は調教進度に影響されることが示唆された。

競走馬の遺伝子ドーピングおよび遺伝的健全性の毀損への 対策に関する研究（第一報）

○ 戸崎晃明¹⁾ 菊地美緒¹⁾ 梶 裕永¹⁾ 廣田桂一¹⁾ 永田俊一¹⁾ 眞下聖吾²⁾ 草野寛一³⁾

¹⁾ 競理研 ²⁾ 馬事部 ³⁾ 美浦

【背景と目的】

競技・競走能力を向上させる不正な遺伝子操作は、スポーツ分野のみならず競馬産業においても脅威となりつつある。競馬産業においては、遺伝子導入法などによる遺伝子ドーピング（遺伝子治療の不正利用）、受精卵あるいは胚のゲノム改変による遺伝的健全性の毀損（遺伝子組換え競走馬）が、「生産、競馬および賭事に関する国際協約（パリ協約）」で規制の対象になっており、これらの不正な遺伝子操作の検出法を確立することは喫緊の課題である。我々は、遺伝子ドーピング対策として、定量 PCR 法に基づく導入遺伝子の高感度検出法の開発、遺伝的健全性の対策として、全ゲノムシーケンス（WGS）情報に基づく改変ゲノム領域の検出について検討したので報告する。

【材料と方法】

ウマ血液 10mL（EDTA およびヘパリン）に、ヒト EPO 遺伝子をクローニングしたプラスミドベクター（p.hEPO）を添加し、血漿を分離した後、磁性ビーズ法によって血漿中から p.hEPO を抽出・回収した。p.hEPO の定量には、絶対定量が可能な ddPCR（ドロップレッド・デジタル PCR）を使用した。

また、3 頭（父・母・子）のウマの WGS 解析（30×以上）を実施し、トリオ（父・母・子）間における一塩基多型（SNP）の遺伝継承の一致率を調査した。なお、解析パイプラインとして、BWA（Burrows-Wheeler Aligner）および GATK（The Genome Analysis Toolkit）を使用した。

【結果】

導入遺伝子の ddPCR 検出においては、血漿中に添加した p.hEPO は、ヘパリン血漿に比べて EDTA 血漿を使用した際に高率で検出された。EDTA 血漿を使用して ddPCR を実施することで、導入遺伝子が血液 1 mL 中に概ね 200 コピー存在すれば、導入遺伝子を検出できることが示唆された。

WGS 情報に基づく調査においては、シーケンス深度（depth）および繰り返し配列の影響から、トリオ間で SNP の矛盾する遺伝継承（不一致率：0.83%）が確認された。

【考察と展望】

今回検討した遺伝子ドーピング検出法を基に、モデル生物（ミニブタ）、また、サラブレッド種へ AAV（アデノ随伴ウイルス）およびプラスミドの接種実験を実施し、接種量に対する検出可能期間や検出可能量（コピー数）などを調査する予定である。また、WGS 解析においては、繰り返し配列の影響を考慮した解析パイプラインを構築・設定する必要があると考えられた。

【謝辞】

本研究は、日本中央競馬会特別振興事業の一環で実施している。

