

原 著

## 牛尿石症の発生要因の解析ならびにビタミンA欠乏症との関連

奥村亮子<sup>1)</sup>, 木戸口勝彰<sup>1)</sup>, 村上満喜子<sup>1)</sup>  
佐藤 敦<sup>1)</sup>, 三浦 潔<sup>2)</sup>, 瀬川俊夫<sup>3)</sup>, 小野泰司<sup>3)</sup>

### 要 約

と畜場に搬入された98頭の肥育牛の膀胱から得た尿および結石を生化学的に分析するとともに、1肥育農場におけるビタミンA欠乏症と尿石症との関連を検討した。98頭について65頭の膀胱結石を有する尿石群および33頭の結石を有さない対照群に分類された。尿石群のpHは対照群より有意に高い値を示した ( $P < 0.05$ )。尿石群の尿蛋白質陽性率 (43.1%) と対照群 (30.4%) とでは有意差は得られなかった。46頭中45頭 (97.8%) の結石が、リン酸マグネシウム塩を主成分あるいは主成分の一部としていた。尿石の基質成分の分析により、酸性ムコ物質および多糖類が検出された。肥育農場のビタミンA欠乏症を改善させたところ、尿石症の発生が減じた。得られた結果から、検出された尿蛋白質は結石の基質となるムコプロテインであろうと推察され、リン酸マグネシウム塩が関与する尿石症の形成には尿pHの上昇に加えて基質の存在も重要であり、ビタミンA欠乏が基質の形成に関与し得ることが示唆された。

岩手県農業共済実績書 [4 - 8] による2000年から2004年までの当所管内における肥育牛の原因別死廃件数の割合は、鼓張症 (18.7%)、肺炎 (16.7%)、心不全 (15.4%) および尿石症 (10.4%) の順序で高く、牛の肥育農場において尿石症は現在も重要な生産阻害要因として位置づけられる。また、岩手県食肉検査所による同5年間のと畜牛における膀胱結石発生率は、雌では1.1%、去勢では6.8%であり、品種別にはホルスタイン種で3.7%、交雑種で4.2%および黒毛和種で6.8%であり、尿石症が黒毛和種の去勢牛に多発し易いことが伺える。

さまざまな要因が尿石症の発生に関与するが、

ビタミンA欠乏症も関連し得る [3, 10]。すなわち、ビタミンA欠乏症は呼吸器や消化器の上皮細胞の抵抗力を減弱させ、しばしばさまざまな感染症を招き、その際には急性期反応物質 (ムコプロテイン) が血中に増加し、尿中への排泄が亢進する [1]。同物質は結石形成を促進する基質 (粘着作用物質) となることから、ビタミンA欠乏症の予防は尿石症の発生率を低下させ得る [3, 10]。

この報告では、肥育牛の尿および結石を生化学的に分析するとともに、1肥育農場におけるビタミンA欠乏症と尿石症との関連を検討した。

1) 岩手県南家畜保健衛生所 2) 胆江地域農業共済組合 3) 岩手県食肉衛生検査所

## 材料および方法

2004年6月から12月までに、と畜場（岩手畜産流通センター）に搬入された98頭の肥育牛（黒毛和種37頭、交雑種21頭、ホルスタイン種38頭、日本短角種2頭）を、65頭の膀胱結石を保有する尿石群および33頭の結石を有さない対照群に分類した。さらに尿石群を膀胱内に貯留した結石の総重量により+区（～10g）、2+区（11～20g）および3+区（21g～）に細分した。各牛から得られた膀胱内の尿および結石を生化学的に分析して、両群または細区分間で比較した。得られた結石および本症の治療薬であるウラジロガシ製剤を用いて溶解作用試験を実施した。また、1肥育農場でビタミンA欠乏症の予防措置を施し、対策前後における同症と尿石症の発生状況を比較した。

尿検査：98頭からの尿のpH値および蛋白質をウロペーパー<sup>a)</sup>により測定した。無機リン(iP)濃度はFiske-Subbarow法、マグネシウム(Mg)濃度を原子吸光法<sup>b)</sup>によりそれぞれ測定した。

結石の主成分分析：尿石群のうち、46頭から得た結石の主成分組成を分析した。小林[9]の方法に準じ、乳鉢で粉碎した各材料の100mgを5%トリクロル酢酸で溶解後、遠心した上清の無機リン(ip)およびマグネシウム(Mg)濃度を尿成分に準じて市販キット<sup>c, d)</sup>で、アンモニアおよび尿酸濃度をドライケミストリー法<sup>e)</sup>により測定した。

結石の化学的組成および結石を構成する化合物：主成分がリン酸Mg塩である3頭からの結石を用い、エネルギー分散型X線分光法<sup>f)</sup>により構成元素の質量比率(%)を、またX線回折

装置を用いた広角集中法<sup>g)</sup>により結石を構成する化合物を検索した。

結石の基質成分：主成分がそれぞれ硅酸、リン酸Mg塩、リン酸Mg+尿酸+硅酸塩、リン酸Mgアンモニウム塩あるいは尿酸+硅酸塩である5種類の結石を用いBoyceら[2]の方法により組織化学的検査を実施した。1.5%寒天に包埋後、5%EDTA液で脱灰し、ホルマリン固定後、脱水、パラフィン包埋し、薄切した標本をヘマトキシリン・エオジン、アルシアン青、トルイジン青あるいは過ヨウ素酸シッフで染色し、鏡検下で基質構造を確認するとともに、その染色結果から成分を特定した。

ウラジロガシ製剤による溶解作用試験：主成分がリン酸Mg塩である6頭からの結石をそれぞれ乳鉢で粉碎し、160メッシュのふるいを通した後混合して試料とした。また、1gのウラジロガシ製剤（ウロストン、科研製薬株式会社）に100mlの蒸留水を加え室温で30分間攪拌して溶解し、東洋ろ紙No.6でろ過し1%ウラジロガシ溶液とした。ウラジロガシ溶液の濃度とpHによる影響を検索した。

ウラジロガシ溶液濃度による影響には、200mgの試料を100ml三角フラスコにとり、0.01～0.2%に調整したウラジロガシ溶液20mlを加え、37℃で30分間の作用後、溶液中のiPおよびMg濃度を測定した。pHによる影響には、20mMリン酸緩衝液を用い、pH5.5～8.0の水溶液で0.1%ウラジロガシ溶液を調整後、前者と同様に試料に作用させた後、溶液中のMg濃度を測定した。

ビタミンA欠乏症の予防による尿石症予防効果：ビタミンA欠乏症と尿石症が高頻度で発生

a) ウロペーパー II 栄研, 栄研化学(株), 東京  
b) Z-5310偏光ゼーマン原子吸光光度計, 日立製作所, 東京  
c) ホスファCテストワコー, 和光純薬工業(株), 大阪.  
d) マグネシウムBテストワコー, 和光純薬工業(株), 大阪.  
e) 富士ドライケム3500V, 富士フィルムメディカル(株), 京都.  
f) JSM-5900LV, JED-2200, 日本電子(株), 東京.  
g) RINT-2200V, (株)リガク, 東京.

している管内の1肥育農場では、約100頭の黒毛種去勢牛を導入時の10ヶ月齢から32ヶ月齢まで肥育していた。ビタミンA欠乏症の予防対策として、2004年1月からの1年間にわたり、①肥育前期（10～14ヶ月齢）の乾草給与量を1日あたり0.3から2.0kg以上に増量させ、②肥育後期（23～32ヶ月齢）にビタミンAが添加された配合飼料を給与し、③導入時と肥育中期に各1度の頻度で30万IUのビタミンAを経口投与した。

対策前の2003年5月および対策後の2004年12月に20ヶ月齢以上の約10頭の牛から得た血清のビタミンA濃度、ならびに対策前後の各1年間に尿石症の治療を施された牛の頭数および尿石症により淘汰された牛の頭数を比較した。血中ビタミンA濃度は液体クロマトグラフィー<sup>h)</sup>により測定した。

統計処理：尿石群と対照群の尿pHおよび尿蛋白質の陽性率をMann-Whitney's U testで検定した。5%以下の危険率を統計的有意差とした。

## 成 績

尿のpH値、蛋白質、iPおよびMg濃度：尿石群を構成する65頭中13頭（20%）の尿がpH6であり、各26頭（40%）がpH7および8であった。対照群の33頭では14頭（42.4%）の尿がpH6、10頭（30.3%）がpH7および9頭（27.3%）がpH8であった。統計学的に、両群間のpH値の分布に有意差が認められ、尿石群が有意に高い値を示した（ $P < 0.05$ ）（表1）。尿石群の尿蛋白質（+）と（±）とを合わせた陽性率は28頭（43.1%）であり、対照群の10頭（30.4%）と比べて有意差は得られなかった（表2）。

iP濃度は対照群が $52.3 \pm 44.3 \text{ mg/dl}$ 、尿石群の+区が $47.7 \pm 48.3 \text{ mg/dl}$ 、2+区が $59.1 \pm 34.6 \text{ mg/dl}$ および3+区が $42.1 \pm 28.9 \text{ mg/dl}$ であった。Mg濃度は同順序で $67.7 \pm 59 \text{ mg/dl}$ 、 $83.1 \pm 61.3 \text{ mg/dl}$ 、 $128.6 \pm 42.6 \text{ mg/dl}$ および $66.5 \pm 47.2 \text{ mg/dl}$ であった。対照群および尿石群の各区における両成分の濃度はいずれも牛の標準値より高い値を示した（表3）。

結石の主成分：リン酸Mg塩を主成分とする

表1 尿のpH

区分 pH	対 照 群	尿 石 群
6	14頭 (42.4%)	13頭 (20.0%)
7	10頭 (30.3%)	26頭 (40.0%)
8	9頭 (27.3%)	26頭 (40.0%)

\* 両群間に有意差有り ( $p < 0.05$ )

表2 尿の蛋白質陽性率

区分 尿蛋白	対 照 群	尿 石 群
+	5頭 (15.2%)	21頭 (32.3%)
±	5頭 (15.2%)	7頭 (10.8%)
-	23頭 (69.7%)	37頭 (56.9%)

表3 尿のiPおよびMg濃度

(mg/dl)	対 照 群	尿 石 群		
		+区 (~10g)	2+区 (11~20g)	3+区 (21g~)
iP	$52.3 \pm 44.3$	$47.7 \pm 48.3$	$59.1 \pm 34.6$	$42.1 \pm 28.9$
Mg	$67.7 \pm 59.0$	$83.1 \pm 61.3$	$128.6 \pm 42.6$	$66.5 \pm 47.2$

h) 800シリーズ, 日本分光, 東京.

表4 結石の主成分

成分	頭数 (%)
リン酸Mg	37 (80.4%)
リン酸Mg+硅酸	3 ( 6.5%)
リン酸Mg+	2 ( 4.3%)
リン酸Mgアンモニウム	
リン酸Mg+尿酸+硅酸	1 ( 2.2%)
リン酸Mg+尿酸	1 ( 2.2%)
リン酸Mgアンモニウム	1 ( 2.2%)
硅酸	1 ( 2.2%)
合計	46 (100%)

結石は検索した46頭中37頭 (80.4%)、リン酸Mg塩+硅酸は3頭 (6.5%)、リン酸Mg塩+リン酸Mgアンモニウムは2頭 (4.3%) であり、リン酸Mg塩+尿酸、リン酸Mg塩+尿酸+硅酸、リン酸Mgアンモニウムおよび硅酸はそれぞれ1頭 (2.2%) であった。すなわち、45頭 (97.8%) の結石にリン酸Mg塩が主成分あるいは主成分の一部として関与していた (表4)。

結石の化学的組成および結石を構成する化合物：3頭の結石を構成する元素およびそれらの質量比 (%) を表5に示した。炭素 (C)、Mg、P、カリウム (K) およびカルシウム (Ca) が検出され、それらの質量比は同順序で49.6~78.9%、8.8~24.0%、9.1~23.3%、0.9~1.5%および1.9~2.8%であった。すなわち、結石はCで示される有機物 (基質) および多量のMgとPに少量のKとCaを混じた晶質物質により構成されていた。

結石は $Mg(PO_3)_2$ 、 $Mg_2P_2O_7$ および  $Mg_3(PO_4)_2$  より成るPとMgの結合比が異なる化合物ならびに $Ca_7Mg_2P_6O_{24}$ 、 $K_4P_2O_4$ 、 $Ca_3(PO_4)_2$ 、 $Ca_{10}K(PO_4)_7$ 等の少量の構成元素から成る化合物により構成されていた。

基質の構造および成分：5種類の結石のうち硅酸、リン酸Mg塩+尿酸+硅酸結石は脱灰できず観察できなかつた。リン酸Mg塩、リン酸Mgアンモニウム塩および尿酸+硅酸塩の3

表5 X線解析によるリン酸マグネシウム塩結石の科学的組成

元素	結石		
	牛No.1	牛No.2	牛No.3
C	56.1*	49.6	78.9
Mg	19.9	24.0	8.8
P	19.6	23.3	9.1
K	1.5	1.3	0.9
Ca	2.8	1.9	2.3

\*質量比 (%)

結石の基質構造が観察できた。前2者は網状、後者は層状の構造を示した。3者の基質成分は同様であり、酸性ムコ物質および多糖類が確認された。

ウラジログシ剤による溶解作用試験成績：ウラジログシ溶液濃度が0.01、0.05、0.1および0.2%の際のiP濃度はそれぞれ7.7、7.9、8.6および8.8mg/dlであり、Mg濃度は同順序で4.4、4.6、5.4および5.6mg/dlであった。すなわち、ウラジログシ溶液濃度が高まるに従い溶液中のiPおよびMg濃度が上昇し、溶解作用が増強した。

ウラジログシ溶液のpH値を6.0、7.0および8.0に調整した際の溶液中のMg濃度はそれぞれ19.2、16.8および13.2mg/dlであり、pH値が低下するに従い溶解作用が増強した。

ビタミンA欠乏症の予防による尿石症予防効果：黒毛和種の欠乏症の目安となる30IU/dl以下 [11] の血中ビタミンA濃度を示す牛の頭数は、対策前の11頭中10頭 (90.9%) から対策後の10頭中1頭 (10%) に、尿石症の治療頭数も同順序で100頭中27頭 (27%) から100頭中8頭 (8%) にそれぞれ減少した。淘汰頭数は5頭 (5%) から3頭 (3%) に減少した。

## 考 察

尿石群における尿のpHは対照群より有意に高い値 (P<0.05) を示した。尿蛋白質は両群間で有意差は得られなかつたが、結石の基質とな

るムコプロテインであろうと推察された。得られた成績から、肥育牛において尿のアルカリ性化および蛋白質の検出が結石の存在あるいは結石が形成され易い飼養管理を推察する指標になると考えられた。

尿iPおよびMg濃度は尿石群、対照群ともに高い値を示し、尿結石の重要な要素である両成分が高い濃度で肥育牛の尿中に排泄されていることが示唆された。

結石の構成成分により結石形成の至適pH値は異なるが、リン酸Mg塩の結石形成はアルカリ性下で促進する [9, 10]。検索した46頭中45頭 (97.8%) の結石が、リン酸Mg塩を主成分あるいは主成分の一部としていた。得られた結果は既報と合致し [12]、フスマやヌカ類を主体とした濃厚飼料に依存した飼養形態に由来したと思われた。結石構成元素の解析により、結石は質量比で49.6~78.9%のCで示される基質ならびにPとMgに代表される晶質物質により形成されていた。結石の主成分がリン酸Mg塩であったことから、尿石群では尿pH値の上昇により結石形成が促進されたと考えられた。また結石を構成するCの高い質量比は、結石形成に多量の基質の存在が必要であろう。

ウラジログシ製剤は濃度が上昇するに伴い、また、pH値が低下するに従い溶解作用が増強した。同剤を本症の治療や予防に活用する際には、適正濃度を維持し、尿pH値を低下させる飼養管理により治療効果が高められることが示唆された。

ビタミンA欠乏症と尿石症が高頻度で発生していた肥育農場のビタミンA欠乏症を改善させたところ、尿石症の発生が減じた。得られた結果から、ビタミンA欠乏の改善により尿中に排泄されて基質となるムコプロテイン量が減少したので、結石形成が低下したと考えられた。

終わりに、結石の成分分析にご指導ならびに

ご助言を賜った元山形県農業研究研修センターの小林正人氏、結石の化学的組成および化合物分析にご協力頂いた元岩手県環境保健研究センターの小野正文氏および岩手県工業技術センターの小野元氏に深謝する。

## 引用文献

- [1] 安里 章, 板橋久雄, 大竹 修, 加茂前秀夫, 小林好作, 酒井淳一, 酒井健夫, 清水実嗣, 鈴木慶信, 平 詔亨, 萩尾光美, 星野邦夫, 元井葎子, 本好茂一: 臨床病理検査要領, 農林水産省経済局編, 121-125, 全国農業共済協会, 東京(1997)
- [2] Boyce WH, Garvey FK: J Urol, 76, 213-226 (1956)
- [3] 一条茂: 牛の臨床, 前出吉光, 他監修, 353-356, デイリーマン, 札幌 (2002)
- [4] 岩手県農業共済組合連合会: 平成12年度岩手県農業共済実績書, 岩手県農業共済組合連合会, 盛岡 (2000)
- [5] 岩手県農業共済組合連合会: 平成13年度岩手県農業共済実績書, 岩手県農業共済組合連合会, 盛岡 (2001)
- [6] 岩手県農業共済組合連合会: 平成14年度岩手県農業共済実績書, 岩手県農業共済組合連合会, 盛岡 (2002)
- [7] 岩手県農業共済組合連合会: 平成15年度岩手県農業共済実績書, 岩手県農業共済組合連合会, 盛岡 (2003)
- [8] 岩手県農業共済組合連合会: 平成16年度岩手県農業共済実績書, 岩手県農業共済組合連合会, 盛岡 (2004)
- [9] 小林正人: 家畜診療, 352, 29-34(1992)
- [10] 元井葎子: 牛病学, 清水高正, 他編, 第2版, 494-497, 近代出版, 東京 (1988)
- [11] 岡 章生: 臨床獣医, 17, 16-18 (1999)
- [12] 浦島隆利: 家畜診療, 280, 5-18(1986)