

平成30年6月27日現在

機関番号：30109

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26450431

研究課題名(和文) エンドトキシン活性値を指標とした牛の炎症性疾患の病態生理解明と迅速予後診断の確立

研究課題名(英文) Study on Pathophysiology of cattle inflammatory diseases as an indicator of endotoxin activity value and establishment of rapid prognostic diagnosis

研究代表者

鈴木 一由 (SUZUKI, KAZUYUKI)

酪農学園大学・獣医学群・教授

研究者番号：30339296

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：甚急性乳房炎の予後判定においてエンドトキシン(ETX)活性値の評価は有用であるが実用的ではない。近年、携帯用ETX測定器(PTS)が市販されたのでCow Side Test(CST)として牛の炎症性疾患の予後診断に有効か評価した。65頭の生乳を用いた。100倍希釈生乳ではPTSおよび標準法であるリムルス比濁時間法(KTA)の測定値間で有意差が認められた。200または400倍希釈生乳では両測定方法ともにPTSおよびKTA法の測定値間で有意な相関が認められた。PTSは実験室法であるKTA法と比較して、同等の正確度、感度、相関が認められた。本法はCSTとして生乳中ETX活性値の測定が可能である。

研究成果の概要(英文)：The aim of the present study was to compare endotoxin activities detected in raw milk samples obtained from cattle by a commercially available portable test system (PTS) and traditional microplate limulus amoebocyte lysate (LAL) kinetic turbidimetric (KT) assay. Raw milk samples were obtained from 65 dairy cattle without and with clinical mastitis, respectively. The endotoxin activities detected in 200- or 400-fold diluted milk samples were similar between PTS and KT assay. The results obtained from 200- ( $r^2=0.778$ ,  $p<0.001$ ) and 400-fold diluted milk samples ( $r^2=0.945$ ,  $p<0.001$ ) using PTS correlated with those using KT assay. The median milk endotoxin activities in Gram-positive and Gram-negative clinical mastitis cows were 0.655 and 11,523.5 EU/ml, respectively. The results of the present study suggest that PTS as a simple and easy test to assess endotoxin activity in raw milk is efficient, simple and reproducible.

研究分野：生産動物外科学

キーワード：エンドトキシン ウシ Cow Side Test 予後判定 甚急性乳房炎 牛呼吸器病症状候群

### 1. 研究開始当初の背景

1970年代にリムルス試験法が開発されたが、牛の血中エンドトキシン活性値の測定はプロテアーゼインヒビターの不活化など前処理方法が未だに確立されておらず、十分な精度、正確度、感度、特異度が得られていない。申請者は、これまでに **グルカンと交差しないエンドトキシンに特異的な生体外試料測定用 kinetic-LAL 試薬を生体試料測定用に応用し、適切に牛の血液中プロテアーゼインヒビターを失活させる前処理法を開発した** (第158回日本獣医学会)。その結果、米国食品医薬局 (FDA) および日本薬局方の推奨基準で牛の血漿および生乳中エンドトキシン活性値の測定が可能となった。今後は健常および各種炎症性疾患について参照値を確立するとともに、臨床徴候、画像診断所見との整合性を評価する必要がある。

甚急性乳房炎の予後および治療効果の判定においてエンドトキシン活性値のモニタリングは有用と思われる。予備検討において、高張食塩液 (HSS) 療法で治癒 (n=57) した甚急性乳房炎症例の初診時における血清中エンドトキシン活性値は健常牛のそれと有意な差は認められなかった。しかし、**発症後1週間以内に死産した予後不良牛 (n=12) の初診時血清中エンドトキシン活性値は健常および治療群よりも有意に高値**を示した。また、初診時に重度のショック症状を呈した20頭の甚急性乳房炎症例において、HSS 療法で治癒した14頭は血漿中エンドトキシン活性値の有意な変動は認められなかったが、1週間以内に死産した6頭は第2病日で活性値が著増した。従って、**血漿中エンドトキシン活性値のモニタリングは甚急性乳房炎の予後および治療効果の判定に有用である**ことが示唆された。

しかし、血液サンプルは前処理が煩雑であり、エンドトキシン活性値は極めて低いため実験室内での測定が前提となる。よって、迅速な予後判断が求められる疾病には不適である。一方、罹患乳房乳中エンドトキシン活性値は予後にかかわらず著高を示すが、その**反対側乳房乳中エンドトキシン活性値は予後不良症例で治療および健常動物よりも有意に高値**を示すことを明らかにした (第158回日本獣医学会)。

近年、医薬品製薬およびワクチン製造の品質管理において、携帯型簡易エンドトキシン測定器によるエンドトキシン活性値測定がウサギを使った発熱性試験の代替法として広く普及している。しかし、本器は15分で生体外試料中エンドトキシン活性値の測定が可能であるが、生体内試料測定は担保されていない。従って、本課題では医薬品の品質管理に用いられている携帯型エンドトキシン測定器を用いて、乳中エンドトキシン活性値を指標に甚急性乳房炎の予後診断を簡便かつ迅速にできるかを検討する。

### 2. 研究の目的

生産動物医療において、大腸菌群に由来する成牛の甚急性乳房炎、*Pasteurella multocida* (PA) や *Mannheimia haemolytica* (Mh) に由来する子牛の牛複合性呼吸器疾患 (BRDC) はいずれもエンドトキシン由来の重篤な全身および局所性炎症性疾患であり、その動物の死産、生産物の損失、治療経費による経済的損失が大きい。従って、生産動物医療ではエンドトキシン関連性疾患において生体試料中エンドトキシン活性値や炎症サイトカインを指標とした (1) 適切な炎症病態の評価、および (2) 初診時での予後診断が求められている。本課題では、甚急性乳房炎、BRDC、子宮の炎症が原因で不受胎となる症例を対象とする。これらの疾病動物の血漿、肺胞洗浄液、生乳および子宮洗浄液などの生体試料中エンドトキシン活性値を指標に、(1) 臨床徴候、画像情報および炎症サイトカインを組み合わせた炎症病態の評価、(2) 初診時における予後診断法の確立を目的とする。また、経済性の観点から甚急性乳房炎は救命措置を行うか否かを迅速に判断しなければならない。従って、(3) 生体外試料測定用の携帯型エンドトキシン測定器を Cow Side Test として予後診断に臨床応用可能かを評価し、実用化を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) 血清中 Fe 濃度を指標とした大腸菌性乳房炎の予後診断  
循環血液中トランスフェリン結合 Fe<sup>3+</sup> に対して代謝抑制遺伝子であるヘプシジン (Hepc) は、インターロイキン 6 (IL-6) により発現誘導される。しかし、人ではエンドトキシンにより IL-6 が産生されると循環血液中の Fe 濃度が低下することが知られているが、牛のエンドトキシン性疾患との関連性は不明である。今回、牛のエンドトキシン関連疾患である大腸菌性乳房炎と血清 Fe<sup>3+</sup> 濃度の関係について調査した。

**エンドトキシンチャレンジモデル**: 健常子牛6頭に2.5 μg/kg の O-111:B4 由来 LPS を静脈内投与し、投与前、15 および 30 分、1、2、4、8、12、24 および 48 時間目に血清サンプルを得て血清中のトランスフェリン結合 Fe<sup>3+</sup> 濃度を Fe<sup>2+</sup> に還元キレート化して測定した。統計は一元配置分散分析により分散を評価した後、Dunnnett-t 検定により投与前値と比較した。

**臨床試験**: 乳房炎に罹患していない30頭の搾乳牛を対象に、47頭の *Echerichia coli* もしくは *Klebsiella pneumoniae* 感染によって全身性炎症徴候を示す牛の血清中 Fe<sup>3+</sup> 濃度を測定した。症例は生産性に復帰した予後良好群に対し、死産または発症後30日以内に淘汰されたものを予後不良群とした。各群間の差は一元配置分散分析により分散を評価した後、post-hoc として Kruskal-Wallis 検定を、診断能は ROC 解析により評価した。

(2) 血清アミロイドA濃度を指標とした大腸菌性乳房炎の予後診断

急性期反応タンパクの1つである血清アミロイドA(SAA)は人医療において感染症、炎症性疾患、組織破壊による非特異的炎症の指標として用いられるが、牛の大腸菌性乳房炎の炎症評価については明らかでない。今回、SAAが牛の大腸菌性乳房炎の予後診断能を有するか否かを明らかにするため、(1)エンドトキシンチャレンジモデルを用いて測定適期を予測し、(2)臨床症例を用いて予後診断能を評価した。

**エンドトキシンチャレンジモデル**：健常子牛6頭に2.5 µg/kgのO-111:B4由来LPSを静脈内投与し、投与前、15および30分、1、2、4、8、12、24および48時間目に血清サンプルを得てSAAをラテックス凝集免疫比濁法(LATIA法)で測定した。統計は一元配置分析により分散を評価した後、Dunnett-t検定により投与前値と比較した。**臨床試験**：乳房炎に罹患していない46頭の搾乳牛を対象に、54頭の*Echerichia coli*もしくは*Klebsiella pneumoniae*感染によって全身性炎症徴候を示す牛のSAAを測定した。症例は生産性に復帰した予後良好群に対し、死廃または発症後30日以内に淘汰されたものを予後不良群とした。各群間の差は一元配置分散分析により分散を評価した後、post-hocとしてKruskal-Wallis検定を、診断能はROC解析により評価した。

(3) *Mycoplasma* 感染による牛呼吸器複合病(Bovine Respiratory Disease Complex)における肺胞洗浄液および血漿中エンドトキシン活性値  
重度の牛の複合性呼吸器疾患(BRDC)はヒトの炎症性呼吸器疾患症候群に類似したエンドトキシン由来の全身性炎症反応を伴うが、エンドトキシンの関与は不明である。本研究ではLimulus Amebocyte Lysate (LAL)カインティック法を用いて*Mycoplasma*感染の認められたBRDC子牛の肺胞洗浄液(BALF)および血漿中エンドトキシン動態を評価した。

*Mycoplasma* 陰性の健常なホルスタイン子牛17頭を対照群とした。また、呼吸器症状を主訴に来院した呼吸器疾患子牛17頭をBRDC群とした。BRDC群の子牛は全て*Mycoplasma bovis*陽性であった。BALFは200倍希釈して発色合成基質法、血漿は20倍希釈した後80°C、10分間加温処理して比濁時間分析法によりエンドトキシン活性値を測定した。二群間の平均値の差はStudent's tまたはMann Whitney U検定、エンドトキシン活性値によるBRDCの診断能はROC解析、BALFと血漿中エンドトキシン活性値の相関性はSpearman's rank testにより評価した。

(4) エンドトキシンチャレンジ子牛における血清中のエンドトキシン活性値の経時的变化  
エンドトキシン血症の病態解明において生体内

エンドトキシン動態の評価は重要であるが報告は極めて少ない。本研究ではLimulus Amebocyte Lysate(LAL)-カインティック比色法(KCA)を用いてエンドトキシンチャレンジ子牛健常なジャージー種泌乳牛34頭と子牛9頭を用いた。泌乳牛の血清サンプルはLAL-KCA法の変動係数(CV)を指標に正確度・精度を評価するために用いた。子牛に2.5 µg/kgのO-111:B4LPSを静脈内投与し、投与前、投与後0.5、1、1.5、2、3、4、6、12、16、24、48、72および96時間目に頸静脈から採血した。遠心分離後に得られた血清を20倍希釈し、80°C、10分間熱処理し、エンドトキシン活性値を測定した。投与前値に対する各時点における平均値の差は一元配置分散分析で分散を検定した後、post-hoc testとしてDunnettまたはDunnett-C検定によって評価した。

(5) エンドトキシンチャレンジ子牛を用いたCow-Side Portable Test Systemによる血清中エンドトキシン活性値測定法の評価  
血清及び血漿中エンドトキシン活性値はエンドトキシンショックの重症度評価、予後判定に有用であるが、これは実験室内機器で測定しなければならず、そして煩雑かつ時間を要するため必ずしも実用的ではない。近年、携帯用エンドトキシン測定システム(PTS™)がCharles River社より市販されている。従って、本研究では、PTS™を用いて血清中エンドトキシン活性値の測定が可能か否かを正確度及び精度評価、および標準法であるLimulus Amebocyte Lysate(LAL)-カインティック比色法(KCA)およびカインティック比濁法(KTA)と比較した。

健常なジャージー種子牛6頭を用いた。これらの子牛に2.5 µg/kgのO111:B4LPSを静脈内投与した。投与前、投与後0.5、1および12時間後に頸静脈から採血し、遠心分離後に得られた血清を供試した。Endotoxin free waterで20倍希釈した血清を80°C、10分間熱処理し、LAL-KCA、LAL-KTAおよびPTS™法により活性値を測定した。得られたデータの比較はFriedman検定を、相関性はPearson product-moment correlation coefficientを用いて評価した。

(6) Cow-Side Portable Test Systemによる生乳中エンドトキシン活性値測定法の評価

甚急性乳房炎の予後判定においてエンドトキシン活性値の評価は有用だが、測定が煩雑かつ時間を要するため実用的ではない。近年、携帯用エンドトキシン測定システム(PTS™)がCharles River社より市販されている。従って、本研究ではPTS™を用いて生乳中エンドトキシン活性値の測定が可能か否かを正確度および精度評価し、標準法であるLimulus Amebocyte Lysate(LAL)-カインティック比濁法(KTA)と比較した。

乳房炎および乳房炎罹患乳牛65頭由来生乳を用いた。生乳をendotoxin free waterを用いて100、200または400倍希釈し、PTS™およ

び KTA 法によりエンドトキシン活性値を測定した。PTS™ 法は LAL-カイネティック比色法であり、LAL 試薬と既知の標準エンドトキシンが充填されたカートリッジにサンプルを用いて測定した。得られたデータの比較は Friedman 検定を、相関性は Pearson product-moment correlation coefficient を用いて評価した。

#### 4. 研究成果

(1) 血清中 Fe 濃度を指標とした大腸菌性乳房炎の予後診断

**エンドトキシンチャレンジモデル**：投与前値に対して、血清中 Fe<sup>3+</sup>濃度は投与後 12 時間で下降し ( $p < 0.05$ )、24 および 48 時間で有意に低値を推移した ( $P < 0.001$ )。臨床試験：47 頭の症例のうち 30 頭が予後良好、17 頭が予後不良であった。健常牛の血清中 Fe<sup>3+</sup>濃度は 150.5 μg/dL であったのに対して、予後良好および予後不良牛はそれぞれ 54.0 および 15.0 μg/mL と有意に低値を示した ( $p < 0.001$ )。また、ROC 解析により、血清中 Fe<sup>3+</sup>濃度が 31.5 μg/dL よりも低値であれば予後不良と診断できることが示唆された ( $p < 0.001$ , Se : 73.3%, Sp : 94.1%)。

エンドトキシンチャレンジにおいて血清中 Fe<sup>3+</sup>濃度は投与後 12 ~ 48 時間で低値を維持し、また大腸菌性乳房炎症例では血清中 Fe<sup>3+</sup>濃度は健常牛よりも有意に低値であり、特に予後不良症例では顕著であった。従って、血清中 Fe<sup>3+</sup>濃度は牛の大腸菌性乳房炎の予後診断において有用なマーカーであることが示唆された。

(2) 血清アミロイド A 濃度を指標とした大腸菌性乳房炎の予後診断

**エンドトキシンチャレンジモデル**：投与前値に対して、投与後 8 時間で上昇し ( $p < 0.05$ )、12、24 および 48 時間で有意に高値を推移した ( $p < 0.001$ )。臨床試験：54 頭の症例のうち 35 頭が予後良好、19 頭が予後不良であった。健常牛の SAA は 23.3 μg/mL であったのに対して、予後良好および予後不良牛はそれぞれ 85.6 および 159.5 μg/mL と有意に高値を示した ( $p < 0.001$ )。また、ROC 解析により、SAA が 100.6 μg/mL よりも高値であれば予後不良と診断できることが示唆された ( $p < 0.001$ , Se : 81.0%, Sp : 74.3%)。

エンドトキシンチャレンジにおいて SAA は投与後 8 ~ 48 時間で高値を維持することが明らかとなった。また臨床例を用いた調査では、大腸菌性乳房炎で SAA は健常牛よりも有意に高値であっただけでなく、SAA により予後不良の診断が可能であった。したがって、SAA は牛の大腸菌性乳房炎の予後診断において有用な炎症マーカーであることが示唆された。

(3) *Mycoplasma* 感染による牛呼吸器複合病 (Bovine Respiratory Disease Complex) における肺胞洗浄液および血漿中エンドトキシン活性値

BRDC 群の BALF および血漿中エンドトキシン活性値の中心値は 105.8 および 0.334 EU/mL であり、対照群よりも有意に高値を示した。BALF (Se=81.3%, Sp=84.6%) および血漿 (Se=92.9%, Sp=100%) においてエンドトキシン活性値による BRDC の診断能は有意であり、それぞれの閾値は 6.05 および 0.078 EU/mL 以上であった。また、BALF と血漿中エンドトキシン活性値は有意な正の相関を示した ( $r^2=0.916$ )

*Mycoplasma* 感染した BRDC 重症例では、気道内でエンドトキシンが著増しており、その一部が血漿中へ移行していることが示唆された。従って、BALF 中エンドトキシン活性値が高いと血中移行が多く、また血中移行したエンドトキシンによって全身徴候が増悪すると思われる。

(4) エンドトキシンチャレンジ子牛における血清中のエンドトキシン活性値の経時的変化  
泌乳牛における血清中エンドトキシン活性値の中心値は 0.089 EU (0.016-0.219 EU) であり、CV 値は 2.4% (0.3%-9.6%) であった。投与前値の血清中エンドトキシン活性値は  $0.31 \pm 0.11$  EU/ml であった。LPS 投与後、0.5 時間目に  $1.32 \pm 0.66$  EU/ml の最高値を示す有意な増加が認められ、その後 3 時間目まで有意に高値を維持した ( $p < 0.01$ )。

血清を 20 倍希釈、80°C、10 分間の加熱処置をしてエンドトキシン活性値を測定したところ、すべての検体で測定が可能であった。また、2.5 μg/kg の O-111:B4 LPS を静脈内投与すると投与前値に対して投与後 3 時間は血清中エンドトキシン活性値が高値を維持することを示した。本法によりエンドトキシン動態が明らかになったことから、今後はエンドトキシン活性値と臨床所見、各種炎症マーカーとの関連性を評価する。

(5) エンドトキシンチャレンジ子牛を用いた Cow-Side Portable Test System による血清中エンドトキシン活性値測定法の評価

KCA および KTA 法は正確度及び精度が高く、両測定間で有意な正の相関が認められた ( $r^2 = 0.980, p < 0.001$ )。PTS™ 法も同様に正確度および精度が高く、KCA ( $r^2 = 0.963, p < 0.001$ ) および KTA 法 ( $r^2 = 0.982, p < 0.001$ ) に対して有意な正の相関が認められた。

20 倍希釈、80°C、10 分の加熱処置をして測定に用いたとき、PTS™ は KCA および KTA 法と測定値間で差は認められず、有意な正の相関が認められた。また、PTS™ は携行可能であり、少量の血清サンプルで血清中エンドトキシン活性値を測定可能なことから、Cow Side Test として実用的である。

(6) Cow-Side Portable Test System による生乳中エンドトキシン活性値測定法の評価

100 倍希釈生乳では PTS™ および KTA の測定値間で有意差が認められた ( $p < 0.001$ )。一方、200 または 400 倍希釈生乳では両測定方法ともに満足のいく正確度および精度が得られ、また両測定法間で有意な差は認められなかった。

200倍 ( $r^2 = 0.778$ ,  $p < 0.001$ ) および 400倍希釈生乳 ( $r^2 = 0.945$ ,  $p < 0.001$ ) ではPTS™ およびKTA法の測定値間で有意な相関が認められた。健常牛および甚急性乳房炎牛の乳中エンドトキシン活性値はそれぞれ0.655および11,523.5 EU/mlであった。

PTS™ は実験室法であるKTA法と比較して、生乳を200または400倍希釈して用いたとき同等の正確度、感度および相関が認められた。また、PTS™ は携行可能で少量の生乳サンプルで迅速診断が可能なことから、本法はCow Side Testとして生乳中エンドトキシン活性値の測定が可能であることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

### [雑誌論文](計16件)

1. Kurumisawa T, Kano R, Nakamura Y, Hibana M, Ito T, Kamata H, Suzuki K. (2018) Is bovine protothecal mastitis related to persistent infection in intestine? J Vet Med Sci. in print
2. Tsukano K, Sarashina S, Suzuki K. (2018) Hypoglycemia and failure of respiratory compensation are risk factors for mortality in diarrheic calves in Hokkaido, northern Japan. J Vet Med Sci. in print
3. El-Hawari S, Sakata H, Oyama N, Tamura J, Higuchi C, Endo Y, Miyoshi K, Sano T, Suzuki K., Yamashita K. (2018) Anesthetic and cardio-respiratory effects of single bolus intravenous alfaxalone with or without intramuscular xylazine-premedication in calves. J Vet Med Sci. 80(2): 361-367.
4. Tsukano K, Suzuki K., Noda J, Yanagisawa M, Kameda K, Sera K, Nishi Y, Shimamori T, Morimoto Y, Yokota H, Asakawa M. (2017) Plasma Lead, Silicon and Titanium Concentrations are much higher in Green Sea Turtle from Suburban coast than those from Rural Coast in Okinawa, Japan. J Vet Med Sci. 79(12): 2043-2047.
5. Tsukano K, Ajito T, Abe I, Sarashina S, Suzuki K. (2017) Rehydration and catabolic preventive effects depend on the composition of oral electrolyte solutions for diarrheic calves. J Vet Med Sci. 79(11): 1776-1779.
6. Tsukano K, Inoue H, Suzuki K. (2017) Increase in branched chain amino acids due to acidemia in neonatal calves with diarrhea. Vet Rec Open. 4: e000234.
7. Sotohira Y, Suzuki K., Otsuka M, Tsuchiya M, Shimamori T, Nishi Y, Tsukano K, Asakawa M. (2017) Plasma Endotoxin Activity in Eastern Grey Kangaroos (*Macropus giganteus*) with Lumpy Jaw Disease. J Vet Med Sci. 79(6): 1138-1141.
8. Sotohira Y, Suzuki K., Sano T, Arai C, Asakawa M, Hayashi H. (2017) Stress Assessment using Hair Cortisol of Kangaroos affected by Lumpy Jaw Disease. J Vet Med Sci. 79 (5): 852-854.
9. Tsukano K, Kato S, Sarashina S, Abe I, Ajito T, Ohtsuka H, Suzuki K. (2017) Effect of Acetate Ringer 's Solution with or without 5% Dextrose Intravenously Administered to Diarrheic Calves. J Vet Med Sci. 79 (4): 795-800.
10. Shimamori T, Noda J, Tsukano K, Sera K, Yokota H, Koiwa M, Suzuki T, Suzuki K. (2017) Particle-Induced X-ray Emission Analysis of Serum Trace and Major Elements in Cattle with Acute Coliform Mastitis. Jap J Vet Res. 65 (1): 29-37.
11. Kano R, Sato A, Sobukawa H, Soto Y, Ito T, Suzuki K., Hasegawa A, Kamata H. (2016) ELISA system for the screening of bovine mastitis due to *Prototheca zopfii*. J Dairy Sci. 99(8): 6590-6593.
12. Sotohira Y, Suzuki K., Sasaki H, Sano T, Tsuchiya M, Suzuki Y, Shimamori T, Tsukano K, Sato A, Yokota H, Asakawa M. (2016) Plasma Endotoxin Activity in Kangaroos with Oral Necrobacillosis (Lumpy Jaw Disease) using an Automated Handheld Testing System. J Vet Med Sci. 78(6): 971-976.
13. Suzuki Y, Suzuki K., Shimamori T, Tsuchiya M, Niehaus A, Lakritz J. (2016) Evaluation of a portable test system for assessing endotoxin activity in raw milk. J Vet Med Sci. 78(1): 49-53.
14. Suzuki K., Shimamori T, Sato A, Tsukano K, Tsuchiya M, Lakritz J. (2015) Detecting Endotoxin Activity in Bovine Serum using an Automated Testing System. J Vet Med Sci. 77(8): 977-979.
15. Tsukano K, Suzuki K., Shimamori T, Sato A, Kudo K, Asano R, Ajito T, Lakritz J. (2015) Profiles of Serum Amino Acids to Screen for Catabolic and Inflammation Status in Calves with *Mycoplasma* Bronchopneumonia. J Vet Med Sci. 77(1): 67-73.
16. Yamaya Y, Suzuki K., Watari T, Asano R. (2014) Bronchoalveolar Lavage Fluid and Serum Canine SP-A Concentrations in Dogs with Chronic Cough by Bronchial and Interstitial Lung Diseases. J Vet Med Sci. 76(4): 593-596.

### [学会発表](計8件)

1. Tsukano K., Inoue H., Nishi Y., Sarashina S., Suzuki K. (2017.09.14-16. CenturyLink Center Omaha Convention Center, Omaha, NE, USA) Relationship between branched chain amino acids and blood pH in diarrheic calves. 50<sup>th</sup> Annual American Association of Bovine Practitioners Conference (Omaha). 50<sup>th</sup> Annual Conference Proceedings: pp 240.

2. Fukuda T., Tsukano K., Suzuki K. (2017.09.14-16. CenturyLink Center Omaha Convention Center, Omaha, NE, USA) Probiotic therapy as an alternative to antibiotics in calves with moderate diarrhea. 50<sup>th</sup> Annual American Association of Bovine Practitioners Conference (Omaha). 50<sup>th</sup> Annual Conference Proceedings: pp 241.
3. Tsukano K., Kato S., Suzuki K., Nishi Y., Sarashina S., Shimamori T. (2016.09.15-17. Charlotte Convention Center, Charlotte, NC, USA) Effect of Acetate Ringer ' s solution with or without dextrose intravenously administered to diarrheic calves. 49<sup>th</sup> Annual American Association of Bovine Practitioners Conference (Charlotte). 49<sup>th</sup> Annual Conference Proceedings: pp187-188.
4. Shimamori T., Suzuki K., Nishi Y., Tsuchiya M., Szuuki T. (2016.09.15-17. Charlotte Convention Center, Charlotte, NC, USA) Serum iron concentration in dairy cattle with acute coliform mastitis. 49<sup>th</sup> Annual American Association of Bovine Practitioners Conference (Charlotte). 49<sup>th</sup> Annual Conference Proceedings: pp 188-189.
5. Nishi T., Suzuki K., Shimamori T., Tsukano K., Tsuchiya M. (2016.09.15-17. Charlotte Convention Center, Charlotte, NC, USA) Endotoxin activities in bronchoalveolar lavage fluids from calves with mycoplasma bronchopneumonia. 49<sup>th</sup> Annual American Association of Bovine Practitioners Conference (Charlotte). 49<sup>th</sup> Annual Conference Proceedings: pp189-190.
6. Tsukano K., Suzuki K., Asano R., Sarashina S., Niehaus A., Lakritz J. (2015.09.17-19. New Orleans Conference Center, New Orleans, LA) Profiles of Serum Amino Acids to Screen for Catabolic and Inflammation Status in Calves with Mycoplasma Bronchopneumonia. 48<sup>th</sup> Annual American Association of Bovine Practitioners Conference (New Orleans). 48<sup>th</sup> Annual Conference Proceedings: pp258-259.
7. Shimamori T., Suzuki K., Tsuchiya M., Suzuki T., Niehaus A., Lakritz J. (2015.09.17-19. New Orleans Conference Center, New Orleans, LA) Particle-Induced X-ray Emission Analysis of Trace and Major Elements in Serum of Acute Coliform Mastitis in Cattle. 48<sup>th</sup> Annual American Association of Bovine Practitioners Conference (New Orleans). 48<sup>th</sup> Annual Conference Proceedings: pp267-268.
8. Suzuki K., Tsukano K., Shimamori T., Tsuchiya M., Niehaus A., Lakritz J. (2015.09.17-19. New Orleans Conference Center, New Orleans, LA) Detecting Endotoxin Activity in raw milk using an Automated Testing System. 48<sup>th</sup> Annual American Association of Bovine Practitioners Conference (New Orleans).

48<sup>th</sup> Annual Conference Proceedings: pp 268-269.

〔図書〕(計2件)

1. 鈴木一由、山田 裕 (編著者)(2016)病態からみた牛の輸液. 緑書房 ISBN978-4-89531-266-0. 発行年月日: 2016/07/01
2. 日本獣医内科学アカデミー編 (分担執筆)(2014) 第1章 総説 5.基本的な予防法と治療法(1)輸液療法 pp25-27. 文永堂出版 ISBN 978-4-8300-3252-3. 発行年月日: 2014/5/31

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等  
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 一由 (SUZUKI Kazuyuki)  
酪農学園大学・獣医学群・教授  
研究者番号: 30339296

(2)研究分担者

樋口 豪紀 (HIGUCHI Hidenori)  
酪農学園大学・獣医学群・教授  
研究者番号: 00305905