

研 究

濃厚飼料多給で飼育されている黒毛和種肥育牛に対する Calcium montmorilloniteの持続投与が血液生化学性状 および枝肉成績に及ぼす影響

松田敬一¹⁾ 前田洋佑²⁾ 佐藤真由美¹⁾ 高橋史昭²⁾

1) 宮城県農業共済組合 家畜診療研修所

2) 北里大学 獣医学部

要 約

鉱物系吸着剤であるCalcium montmorillonite (CMN) を、濃厚飼料多給で飼育されている黒毛和種肥育牛に投与し、その血液生化学性状および枝肉成績に及ぼす影響を調査した。調査開始から出荷するまでの10か月間、給与飼料にCMNを40 g/日/頭を投与した投与群 (12頭) とCMN非投与の対照群 (12頭) を設けた。20ヶ月齢から28ヶ月齢まで2か月毎に血液検査を行い、出荷時の枝肉成績を調査した。血液検査結果では、総コレステロール (TC) は両群で有意な交互作用を認め、28ヶ月齢で投与群が対照群に比べ有意な高値を示した。ビタミンE (VE) は両群で有意な交互作用を認め、24、26、および28ヶ月齢で投与群が対照群に比べ有意な高値を示した。アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、およびインターロイキン-6 (IL-6) は投与群が対照群に比べ有意な低値で推移した。他の項目に両群間で有意な差は認められなかった。枝肉成績では、枝肉重量は投与群が対照群に比べ重い傾向 ($p=0.071$) があった。IL-6は、免疫応答を引き起こすタンパク質 lipopolysaccharide (LPS) の刺激により産生される炎症性サイトカインである。投与群でIL-6およびASTが低値で推移したことから、CMN給与によりLPS吸収量が減少し、肝臓への影響が軽減されたものと考えられる。そのため、肥育終盤での食欲が維持 (TC, VEの高値) され、枝肉重量の増量につながったものと考えられた。

Key words : 黒毛和種肥育牛, 濃厚飼料多給, calcium montmorillonite

緒 言

黒毛和種肥育牛は、効率的な生産と枝肉成績の向上を目的として、濃厚飼料を多給して飼育される。通常11ヶ月齢から18ヶ月齢までの間に段階的に濃厚飼料の給与割合を増やしていき、18ヶ月齢以降は約85%の濃厚飼料と約15%の粗飼料で飼育される¹⁾。濃厚飼料の多給は、反芻獣においてアシドーシスを引き起こすことが知られており²⁾、黒毛和種肥育牛においても、濃厚飼料の多給によりルーメン液pHが低下することが報告されている³⁾。肥育中の濃厚

飼料多給によるルーメン液pHの持続的な低下は亜急性第一胃アシドーシス (SARA) と呼ばれる⁴⁾。SARAは、飼料摂取量の低下⁵⁾ や繊維成分の消化率の低下⁶⁾ を引き起こすだけでなく、ルーメン内バクテリア由来のlipopolysaccharide endotoxine (LPS) を増加させる⁷⁾。試験的に穀物を多給して誘発したSARAにおいて、ルーメン内のLPS濃度が増加し急性期反応が引き起こされること⁸⁾、および全身性の炎症反応が活性化されること⁹⁾ などから、ルーメン内LPSが全身循環に移行すると考えられている^{8,9)}。全身循環に移行したLPSは、下痢や蹄葉炎¹⁰⁾、およ

び肝炎¹¹⁾などの原因となり牛の生産性を低下させる。そのため、濃厚飼料多給で飼育される黒毛和種肥育牛においてLPSの影響を少なくすることが求められている。ブロイラー生産農場において、成長促進剤として用いられた抗生物質により誘引された消化管内エンドトキシンの増加に対して、珪酸塩鉱物であるクリノプチロライド (CLI) と水和ナトリウムカルシウムアルミノケイ酸塩 (HSCAS) を主成分とした製剤がトキシンバインダーとして有効であるとの報告がある¹²⁾。

そこで、我々はHSCASの一種であるcalcium montmorillonite (CMN) を、濃厚飼料多給で飼育されている黒毛和種肥育牛に投与して、その血液生化学性状および枝肉成績に及ぼす影響を調査した。

材料および方法

調査期間は2018年6月～2019年4月の10か月間とした。管内1肥育農場に飼育されていた20ヶ月齢の黒毛和種肥育去勢牛24頭を供試牛とした。試験農場では、10ヶ月齢で子牛を導入し、その後20か月間肥育管理を行い30ヶ月齢で出荷していた。

CMNは、疎水性結合能力を高めるように精製されたCMN¹³⁾が成分のカビ毒吸着剤 (カリブリン-Z, エランコジャパン株式会社) を用いた。

調査開始から出荷するまでの10か月間、給与飼料にCMNを1頭につき1日40gを投与した12頭を投与群、CMNを非投与の12頭を対照群とした。試験農場では4頭を1つの牛房で飼育しており、本試験では投与群に3牛房および対照群に3牛房を用いた。これらの牛房は、環境等の影響が出ないように一つの牛舎内で、隣り合わせで各群交互に配置した。給与飼料は、両群ともに同一の飼料を与えた。粗飼料には稲ワラ、濃厚飼料には調査期間を通して同一の配合飼料 (現物中%: DM 88%, TDN 70%, CP 11.5%, NDF 21.0%) を用いた。給与量は、稲わら2kg、および配合飼料10kgとした。本農場の濃厚飼料の給与量は、肥育前期が終了する13ヶ月齢の5kgから徐々に増加させ、20ヶ月齢で最大の10kgに到達するように調整されていた。給与飼料全体の飼料養分含量は、現物中の割合でDM 87.9%, TDN 73.5%,

CP 11.8%, NDF 31.4%であった。2018年8月 (1回目)、および2019年2月 (2回目) の計2回、給与飼料からサンプルを抽出し、朝陽科技大学アジアカビ毒分析センターに依頼して、液体クロマトグラフィー質量分析法を用いたカビ毒 (アフラトキシン、ゼアラレノン、フモニシン、およびデオキシニパレノール) の検査を行った。

投与群においてCMNを投与する直前の調査開始時に、両群ともに頸静脈より血清分離用凝固促進剤入真空採血管 (ベノジェクト II VP-AS109K, テルモ株式会社) を用いた採血および胸囲測定を行った。調査開始時 (20ヶ月齢) に加え、22ヶ月齢、24ヶ月齢、26ヶ月齢、および28ヶ月齢においても、同様に採血および胸囲測定を行った。血液は採血直後に冷蔵保存を行い、血清分離用凝固促進剤入真空採血管では、採血後1時間以内に遠心分離 (2000G 10分) し、得られた血清を血液生化学検査の解析に供した。

加えて、調査期間中の疾病発生率、および出荷時の枝肉成績 (A5率、BMSナンバー、枝肉重量、ロース芯面積、およびバラ厚) を調査した。

供試牛の取り扱い「宮城県農業共済組合における産業動物を用いた研究等に関する基本指針」に基づいて適切に行った (承認番号: 第nm20180006)。

血液化学検査

得られた血清からは、ビタミンA (VA) としてレチノール濃度、ビタミンE (VE) として α -トコフェノール濃度、総タンパク質 (TP) 濃度、アルブミン (Alb) 濃度、総コレステロール (TC) 濃度、尿素窒素 (BUN) 濃度、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 活性値、 γ グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) 活性値、lipopolysaccharide binding protein (LBP)、およびインターロイキン-6 (IL-6) 濃度を測定した。血清VAおよびVE濃度は、高速液体クロマトグラフ (Prominence, 島津製作所) を用い、逆相高速液体クロマトグラフィー法を用いて測定した。血清TP濃度はBiuret法、血清Alb、TC、BUN、AST、およびGGT濃度は酵素法で、生化学自動分析装置 (Dimension RL Max, シーメンス株式会社) を用いて測定した。血清LBP濃度は、Proteins antibodies

assay kits (Lipopolysaccharide Binding Protein ELISA Kit, SEB406BO, Cloud-Clone Corp.) を用いて、Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay法で測定した。血清IL-6濃度は、全自動化学発光酵素免疫測定装置 (Access2, ベックマン・コールター株式会社) を用いて、化学発光酵素免疫法で測定した。

統計解析方法

結果は平均値±標準偏差 (SD) で示した。各検査項目における群間の比較は反復測定二元配置分散分析を用いた。また、要因間において交互作用が認められた項目についてはBonferroniの方法による単純主効果検定を行い同一月齢における2群間の比較を実施した。疾病発生率およびA5率の比較は、Fisherの直接確率計算法を用いた。枝肉成績は、各群の平均値の差の検定をStudentのt検定を用いて行った。各統計結果において、危険率5%未満となったものを有意差ありとした。

結果

給与飼料中のカビ毒検査

給与飼料中のカビ毒検査結果は表1に示した。アフラトキシンB1は、2回の検査ともに、濃厚飼料および稲わらで定量下限未満であった。ゼアラレノンは、2回の検査とも稲わらで定量下限未満であったが、濃厚飼料からは1回目で0.0065ppm、2回目で0.0067ppm検出された。フモニシン類は、2回の検査とも濃厚飼料および稲わらで定量下限未満であった。デオキシニバレノールは、濃厚飼料からは

1回目で0.0598ppm、2回目で0.0721ppm検出され、稲わらからは1回目で0.0121ppm、2回目で0.0143ppm検出された。

胸 囲

胸囲の推移は表2に示した。胸囲は2群間で有意な交互作用が認められ (p=0.010)、22ヶ月齢以降で投与群が対照群に比べ有意な高値を示した。

血液生化学検査

血液生化学検査の結果は表2に示した。血清VE濃度は、2群間で有意な交互作用が認められ (p<0.001)、24ヶ月齢以降で投与群が対照群に比べ有意な高値を示した。血清TC濃度は、2群間で有意な交互作用が認められ (p=0.003)、28ヶ月齢で投与群が対照群に比べて有意な高値を示した。血清AST濃度は月齢により変化し、投与群が対照群に比べ有意な低値で推移した (p=0.012)。血清LBP濃度は、投与群が対照群に比べ低値で推移する傾向が認められた (p=0.085)。血清IL-6濃度は月齢により変化し、投与群が対照群に比べ有意な低値で推移した (p<0.001)。血清VA, Alb, BUN, およびGGT濃度は月齢により変化した。2群間に有意な差は認められなかった。血清TP濃度に有意な変化は認められなかった。

疾病発生率

両群ともに、調査期間中の疾病発生は認められず、疾病発生率は0%であった。

表1 飼料中のマイコトキシン濃度

	定量下限値	2018年8月 (1回目)		2019年2月 (2回目)		規制値 [*]
		濃厚飼料	稲わら	濃厚飼料	稲わら	
アフラトキシン B1 (ppm)	0.0010	<0.0010	<0.0010	<0.0010	<0.0010	0.02
ゼアラレノン (ppm)	0.0045	0.0065	<0.0045	0.0067	<0.0045	1
フモニシン (ppm)	0.0035	<0.0035	<0.0035	<0.0035	<0.0035	4
デオキシニバレノール (ppm)	0.0045	0.0598	0.0121	0.0721	0.0143	4

*: 農林水産省による規制値

表2 2群における胸囲と血液生化学性状の推移

		月齢					p-value		
		20	22	24	26	28	群	月齢	交互作用
胸囲 (cm)	対照群	219.2 ± 5.5	225.6 ± 5.4*	232.7 ± 5.8**	242.5 ± 4.9**	250.7 ± 5.4**	0.001	<0.001	0.01
	投与群	222.1 ± 5.1	232.8 ± 6.9	240.2 ± 6.1	251.0 ± 7.0	259.3 ± 7.3			
VA (IU/dl)	対照群	35.9 ± 8.2	36.6 ± 5.5	39.1 ± 5.2	55.2 ± 7.7	42.4 ± 4.2	0.341	<0.001	0.644
	投与群	42.2 ± 15.6	37.9 ± 9.8	42.8 ± 9.2	55.0 ± 14.8	43.5 ± 6.5			
VE (IU/dl)	対照群	322.8 ± 51.2	309.4 ± 35.9	336.5 ± 32.1*	364.1 ± 63.2*	366.3 ± 63.5*	0.001	<0.001	<0.001
	投与群	337.1 ± 44.1	348.2 ± 44.4	410.2 ± 71.4	439.0 ± 82.3	490.5 ± 59.9			
TP (mg/dl)	対照群	6.81 ± 0.45	6.77 ± 0.36	6.91 ± 0.22	6.94 ± 0.28	7.04 ± 0.31	0.484	<0.001	0.153
	投与群	6.73 ± 0.30	6.83 ± 0.75	7.14 ± 0.33	7.05 ± 0.38	7.13 ± 0.36			
Alb (mg/dl)	対照群	3.48 ± 0.15	3.35 ± 0.18	3.72 ± 0.18	3.83 ± 0.16	3.83 ± 0.19	0.853	<0.001	0.56
	投与群	3.46 ± 0.14	3.33 ± 0.18	3.78 ± 0.16	3.85 ± 0.24	3.83 ± 0.15			
TC (mg/dl)	対照群	164.7 ± 24.1	155.6 ± 21.8	168.2 ± 21.1	189.2 ± 28.8	188.3 ± 32.1*	0.022	<0.001	0.003
	投与群	169.3 ± 11.3	173.7 ± 18.8	191.5 ± 24.3	218.9 ± 26.3	220.3 ± 28.8			
BUN (mg/dl)	対照群	13.7 ± 2.7	12.0 ± 2.5	12.4 ± 3.1	17.6 ± 2.7	14.6 ± 2.7	0.25	<0.001	0.105
	投与群	13.7 ± 1.8	12.3 ± 2.5	15.2 ± 2.2	17.7 ± 2.1	15.0 ± 1.4			
AST (IU/l)	対照群	69.2 ± 14.8	82.2 ± 17.5	76.0 ± 13.5	67.2 ± 11.2	61.6 ± 9.4	0.012	<0.001	0.203
	投与群	65.6 ± 16.1	65.9 ± 9.4	64.2 ± 6.5	60.9 ± 6.1	55.8 ± 10.6			
GGT (IU/l)	対照群	21.6 ± 4.7	22.6 ± 4.0	24.0 ± 3.9	21.9 ± 4.0	21.4 ± 5.3	0.611	0.028	0.925
	投与群	22.8 ± 4.2	23.6 ± 4.8	24.8 ± 3.7	22.8 ± 4.4	20.9 ± 5.5			
LBP (μg/ml)	対照群	10.7 ± 2.4	10.9 ± 2.7	11.2 ± 2.0	12.2 ± 3.8	10.8 ± 3.1	0.085	0.368	0.364
	投与群	10.6 ± 2.3	10.4 ± 2.1	10.4 ± 2.2	9.8 ± 2.2	8.6 ± 2.4			
IL-6 (pg/ml)	対照群	0.52 ± 1.08	1.33 ± 0.88	1.07 ± 1.17	1.50 ± 1.83	3.22 ± 3.53	<0.001	0.02	0.055
	投与群	0.45 ± 0.55	0.36 ± 0.34	0.26 ± 0.27	0.28 ± 0.41	0.54 ± 1.29			

平均値±標準偏差 対照群：n=12 投与群：n=12

交互作用が認められた項目の同一月齢における2群間の比較 **：p < 0.01, *：p < 0.05

表3 2群における出荷時の枝肉成績

	対照群	投与群	p-value
A5率	75.0%	91.7%	0.590
BMSナンバー	9.5 ± 2.1	9.9 ± 0.6	0.668
枝肉重量 (kg)	623.7 ± 27.5	645.5 ± 48.1	0.071
ロース芯面積 (cm ²)	79.8 ± 17.4	81.8 ± 7.7	0.718
バラ厚 (cm)	9.5 ± 0.7	9.8 ± 0.9	0.343

枝肉成績

出荷時の枝肉成績は表3に示した。枝肉重量は、対照群に比べて投与群で重い傾向が認められた(p=0.071)。A5率、BMSナンバー、ロース芯面積、およびバラ厚に有意な差は認められなかった。

考察

本試験の結果より投与群は対照群に比べて、血清VE濃度の24ヶ月齢以降および血清TC濃度の28ヶ月齢で有意な高値を示し、血清AST、およびIL-6濃度が有意な低値で推移した。血清LBP濃度は、給与群

が対照群に比べて低値で推移する傾向が認められた。加えて、胸囲は22ヶ月齢以降で有意な高値を示し、枝肉重量が重い傾向が認められた。

採血月齢の影響では、血清TP濃度を除くすべての血液検査項目で、月齢による変化が認められた。牛は暑さや寒さをストレスと感じる動物であり¹⁴⁾、暑熱ストレスは肥育牛の白血球割合を変化させること¹⁵⁾や、低温は肥育牛の成長成績を変化させない程度の血液パラメーターの変動を引き起こすこと¹⁶⁾が報告されている。本試験の調査期間は6月から4月の10か月間であり、調査期間中に真夏と真冬を含んでいる。そのため、本試験で認められた月齢ごとの血液検査項目の変化は、季節毎の環境温度等の違いが影響しているものと考えられた。

健康な牛から得られた全血にLPSを添加して培養すると、TNF- α およびIL-6のmRNA発現量が増加すること¹⁷⁾、および牛に細菌由来のLPSを長期低用量注入すると血清TNF- α 、IL-1 β およびIL-6濃度が増加すること¹⁸⁾などから、TNF- α 、IL-1 β およびIL-6は牛がLPSに反応して産生される炎症性サイトカインと考えられている。濃厚飼料の多給によりSARAを呈した牛は、第一胃内のLPS濃度が高くなり、第一胃上皮におけるTNF- α 、IL-1 β およびIL-6のmRNA発現量およびタンパクレベルが増加すること、血清TNF- α 、およびIL-6濃度が増加することが報告されている¹⁹⁾。本試験において、投与群が対照群に比べ血清IL-6濃度が低値で推移したのは、濃厚飼料多給により第一胃内で発生したLPSが引き起こす生体反応を、CMNの給与により軽減した可能性がある。

LBPは、体内でLPSと結合して免疫応答を引き起こす急性相タンパク質 (APP) である²⁰⁾。LBPは、haptoglobin等の他のAPPに比べ、素早く血中濃度が増加するため、LPSが関係する感染症の診断マーカーとして活用される²¹⁾。牛は、呼吸器感染症に罹患すると臨床症状とリンクして血清LBP濃度が増減すると報告されている²²⁾。本試験の調査対象牛に疾病の発生は無く、呼吸器感染症を疑わせる症状も認められなかったことから、本試験の血清LBP濃度の推移には感染症の影響はなかったものと考えられる。肥育牛において、基礎飼料に加え大麦主体の濃厚飼

料を増給するとLBPが徐々に増加し、増給3週間後にピークの値になると報告されている²³⁾。本試験と同様に、濃厚飼料多給で飼育された牛では、第一胃のpHが低下し、第一胃内および血中LPS濃度が増加するとともに、血中LBP濃度が増加することが報告されている²⁴⁾。LPSは、体内でLBPの媒介を経てCD14に結合し、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、およびIL-8等の炎症性メディエーターを放出させる²⁵⁾。LPSは、LBPと相互作用するため、末梢血中のLBPの増加はLPSの第一胃から血液への移行の証拠となる²⁶⁾。これらの報告と、本試験で投与群が対照群に比べ血中LBP濃度が低値で推移する傾向が認められたことより、投与群は対照群に比べて血中LPS濃度が低値であったことが推察される。

CMNはアルミノケイ酸ナトリウム的一种であり、アルミノケイ酸ナトリウムは犬に経口投与しても、ケイ素およびアルミニウムの吸収にかかわる測定値に影響はなかったとの報告²⁷⁾、montmorilloniteは、腸管内でマイコトキシンを吸着する非栄養吸着剤であるとの報告²⁸⁾等から、CMNが牛に吸収されて、LPSに対する生体反応を変化させた可能性は低い。鶏において、CLIとHSCASを主成分とした製剤が、抗生物質により誘引された消化管内エンドトキシンの増加に対して、トキシンバインダーとして有効であり¹²⁾、鉍物系の吸着剤であるCLIは、LPSと結合して安定した複合体を作成し、胃腸管からのLPSの吸収を減少させる²⁹⁾ことから、鉍物系の吸着剤はLPSを結合して腸管からの吸収を抑制する可能性がある。montmorilloniteは、大きい表面積、高いイオン交換能力、および流動学的性質を持ち薬物輸送キャリアとして用いられている³⁰⁾。CMNは、カビ毒^{13, 31)}だけでなく、除草剤の毒性成分であるグリホサートおよびパラコートに対して高い親和性と結合能力をもつ有効な吸着剤であるとの報告があり³²⁾、同様にLPSに対しても結合能力がある可能性がある。そのため、CMNが牛の第一胃および腸管内でLPSと結合して、胃腸管からのLPSの吸収量を減少させた可能性が示唆される。このLPS吸収量の減少が、血中LPS濃度の増加を抑制し、その結果血中LBP濃度が低値で推移したものと考えられる。また、豚へのmontmorilloniteの給与がLPSによって引き起こされ

る腸粘膜のバリア機能障害を緩和する保護作用があるとの報告³³⁾もあり、本試験で認められたCMN投与群における血清IL-6濃度の低値は、CMNによる胃腸管内でのLPS吸着作用や、腸粘膜の保護作用等が複合的に作用したことによるものと考えられた。しかし、本試験では第一胃液中や血中のLPS濃度を測定していないため、実際にCMNがLPSの吸収量を減少させたかどうかは明らかではない。そのため、今後は第一胃液および血液中のLPS濃度を測定する等のさらなる検討が必要と考えられる。

ASTは、牛において肝障害時に増加する^{34, 35)}逸脱酵素である³⁶⁾。牛は、濃厚飼料多給によりSARAが発生すると、第一胃由来のLPSが門脈を通過して肝臓に達して、肝臓に炎症性の障害を与える³⁷⁾。実際にSARAが原因の肝障害でASTは増加する³⁸⁾。本試験の結果において、血清AST濃度が対照群に比べ投与群で有意な低値で推移したのは、濃厚飼料多給で引き起こされたSARA状態の牛に対して、持続的にCMNを投与したことにより肝臓に対するLPSの影響が軽減されたことによるものと考えられた。

黒毛和種牛において、VE^{39, 40)}およびTC⁴¹⁾は、飼料摂取量に影響を受けて増減するために、食欲の指標として用いられている。本試験で血清VE、およびTC濃度が対照群に比べ投与群で有意な高値を示したのは、CMNの投与により牛に対するLPSの影響が軽減され、食欲が維持された結果と考えられた。

胸囲は、牛において体重の予測因子の一つであり⁴²⁾、胸囲の測定は牛の体重を推定するために一般的に活用されている⁴³⁾。本試験で投与群の胸囲が22ヶ月齢以降で対照群に比べ有意な高値を示したのは、CMNの投与により牛の肝臓等に対するLPSの影響が軽減され、食欲が維持されたために、投与群の増体量が対照群に比べて多くなった事によると考えられた。その結果、投与群の体重が増加して枝肉重量が重くなる傾向が認められたものと考えられた。加えて、枝肉重量以外の枝肉成績に群間で差がなかったことから、CMNの給与は肉質に影響を与えないものと考えられた。

本試験では給与飼料からカビ毒として、ゼアラレノンおよびデオキシニバレノールが検出された。日本では農林水産省において、カビ毒を一定期間家畜

に給与した場合でも、家畜及び人の健康に悪影響を与えない濃度を基準値として設定している⁴⁴⁾。本試験で検出された飼料中のカビ毒濃度の最高値は、基準値⁴⁵⁾と比較してゼアラレノンで1/154、デオキシニバレノールで1/55と非常に微量であり、本試験の結果に影響を与えていないと考えられる。しかし、CMNはカビ毒吸着剤として用いられており、投与群の結果に良い影響を与えた可能性は否定できない。そのため、カビ毒が全く検出されない飼料を用いる等の、カビ毒の影響を排除した試験により、再検証を行う必要があると考えられる。

濃厚飼料多給で飼育されている黒毛和種肥育牛へのCMNの投与は、血清LBP濃度が低値で推移する傾向があること、血清IL-6濃度が低値で推移すること、および安定的な食欲により増体量が増え、枝肉重量が増量する傾向があることから、濃厚飼料多給で飼育されている黒毛和種肥育牛の損耗軽減対策として活用できる可能性がある。

参考文献

- 1) Gotoh T, Nishimura T, Kuchida K, Mannen H: The Japanese wagyu beef industry: current situation and future prospects, *Asian-Australas J Anim Sci*, 31, 933-950 (2018)
- 2) Owens FN, Secrist DS, Hill WJ, Gill DR: Acidosis in cattle, *J Anim Sci* 76, 275-286 (1998)
- 3) Ogata T, Kim Y, Masaki T, Iwamoto E, Ohtani Y, Orihashi T, Ichijo T, Sato S: Effect of an increased concentrate diet on rumen pH and the bacterial community in Japanese black cattle at different fattening stages, *J Vet Med Sci*, 81, 968-974 (2019)
- 4) Maeda Y, Nishimura K, Kurosu K, Mizuguchi H, Sato S, Terada F, Kushibiki S: Effect of feeding wood kraft pulp on the growth performance feed digestibility, blood components, and rumen fermentation in Japanese black fattening steers, *Anim Sci J* 90, 523-532 (2018)
- 5) Enemark JM: The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA), *Vet J*, 176, 32-43 (2008)
- 6) Guo Y, Xu X, Zou Y, Yang Z, Li S, Cao Z: Changes in feed intake, nutrient digestion, plasma metabolites, and oxidative stress parameters in dairy cows with subacute ruminal acidosis and its regulation with pelleted beet pulp, *J Anim Sci Biotechnol*, 4, 31 (2013)
- 7) Plaizier JC, Khafipour E, Li S, Gozho GN, Krause DO: Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences, *Anim Feed Sci Technol*, 172, 9-21 (2012)
- 8) Khafipour E, Krause DO, Plaizier JC: A grain-based subacute

- ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation, *J Dairy Sci*, 92, 1060-1070(2009)
- 9) Gozho GN, Plaizier JC, Krause DO, Kennedy AD, Wittenderg K M: Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response, *J Dairy Sci*, 88, 1399-1403(2005)
 - 10) Attia NE: Subacute ruminal acidosis in feedlot: Incidence, clinical alterations and its sequelae, *Adv Anim Vet Sci*, 4, 513-517(2016)
 - 11) Guo J, Chang G, Zhang K, Xu L, Jin D, Bilal SM, Shen X: Rumen-derived lipopolysaccharide provoked inflammatory injury in the liver of dairy cows fed a high-concentrate diet, *Immunol*, 8, 46769-46780(2017)
 - 12) Sathya Sooryan AM, Senthil Murugan S, Biju Chacko, Surej Joseph B, Rajani CV: Evaluation of endotoxin binder as growth promoter in broiler production, *Ind J Pure App Biosci*, 7, 238-244(2019)
 - 13) Jiang SZ, Yang ZB, Yang WR, Wang SJ, Broomhead J, Johnston SL, Chi F: Effect on hepatonephric organs, serum metabolites and oxidative stress in post-weaning piglets fed purified zearalenone-contaminated diets with or without calibrin-z, *J Anim Physiol Anim Nutr*, 96, 1147-1156(2012)
 - 14) Chen Y, Arsenault R, Napper S, Griebel P: Models and methods to investigate acute stress responses in cattle, *Animals*, 5, 1268-1295(2015)
 - 15) Mitlöchner FM, Galyean ML, Mcglone JJ: Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers, *J Anim Sci*, 80, 2043-2050(2002)
 - 16) Kang HJ, Piao MY, Park SJ, Na SW, Kim HJ, Baik M: Effects of ambient temperature and rumen-protected fat supplementation on growth performance, rumen fermentation and blood parameter during cold season in Korean cattle steers, *Asian-Australas J Anim Sci*, 32, 657-664(2019)
 - 17) Adams JL, Collins MT, Czuprynski CJ: Polymerase chain reaction analysis of TNF- α and IL-6 mRNA levels in whole blood from cattle naturally or experimentally infected with *mycobacterium paratuberculosis*, *Can J Vet Res*, 60, 257-262(1996)
 - 18) Werling D, Sutter F, Arnold M, Kun G, Tooten PC, Gruys E, Kreuzer M, Langhans W: Characterisation of the acute phase response of heifers to a prolonged low dose infusion of lipopolysaccharide, *Res Vet Sci*, 61, 252-257(1996)
 - 19) Zhao C, Liu G, Li X, Guan Y, Wang Y, Yuan X, Sun G, Wang Z, Li X: Inflammatory mechanism of rumenitis in dairy cows with subacute ruminal acidosis, *BMC Vet Res*, 14, 135(2018)
 - 20) Kopp F, Kupsch S, Schromm AB: Lipopolysaccharide-binding protein is bound and internalized by host cells and colocalizes with LPS in the cytoplasm: Implications for a role of LBP in intracellular LPS-signaling, *Biochim Biophys Acta*, 1863, 660-672(2016)
 - 21) Schroedl W, Fuerll B, Rinhold P, Krueger M, Schuett C: A novel acute phase marker in cattle: lipopolysaccharide binding protein (LBP), *J Endotoxin Res*, 7, 49-52(2001)
 - 22) Prohl A, Schroedl W, Rhode H, Reinhold P: Acute phase proteins as local biomarkers of respiratory infection in calves, *BMC Vet Res*, 11, 167 doi 10.1186/s 12917-015-0485-7(2015)
 - 23) Ametaj BN, Koenig KM, Dunn SM, Yang WZ, Zebeli Q, Beauchemin KA: Backgrounding and finishing diets are associated with inflammatory responses in feedlot steers, *J Anim Sci* 87, 1314-1320(2009)
 - 24) Bilal MS, Abaker JA, Aadbin Z, Xu T, Dai H, Zhang K, Liu X, Shen X: Lipopolysaccharide derived from the digestive tract triggers an inflammatory response in the uterus of id-lactating dairy cows during SARA, *BMC Vet Res*, 12, 284 doi 10.1186/s 12917-016-0907-1(2016)
 - 25) Radon K: The two side of the endotoxin coin, *Occup Environ Med*, 63, 73-78(2006)
 - 26) Sriskandan S, Altmann DM: The immunology of sepsis, *J Pathol*, 214, 211-213(2008)
 - 27) Cefali EA, Nolan JC, McConnell WR, Walters DL: Pharmacokinetic study of zeolite A, sodium aluminosilicate, magnesium silicate, and aluminum hydroxide in dogs, *Pharm Res*, 12, 270-274(1995)
 - 28) Ramos AJ, Hernandez E, Pla-Delfina JM, Merino M: Intestinal absorption of zearalenone and in vitro study of nonnutritive sorbent materials, *Int J Pharm* 29, 129-137(1996)
 - 29) Wu QJ, Wang QY, Wang T, Zhou YM: Effect of clinoptilolite (zeolite) on attenuation of lipopolysaccharide-induced stress, growth and immune response in broiler chickens, *Ann Anim Sci*, 15, 681-697(2015)
 - 30) Rapacz-Kmita A, Bucko MM, Stodolak-Zych E: Characterisation, in vitro release study, and antibacterial activity of montmorillonite-gentamicin complex material, *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 70, 471-478(2017)
 - 31) Jiang SZ, Yang ZB, Yang WR, Yao BQ, Zhao H, Liu FX, Chen CC, Chi F: Effects of feeding purified zearalenone contaminated diets with or without clay enterosorbent on growth, nutrient availability, and genital organs in post-weaning female pigs, *Asian-Aust J Anim Sci*, 23, 74-81(2010)
 - 32) Wang M, Orr AA, He S, Dalajiamts C, Chiu WA, Tamamis P, Phillips TD: Montmorillonites can tightly bind glyphosate and paraquat reducing toxin exposures and toxicity, *ACS Omega*, 4, 17702-17713(2019)
 - 33) Jiao L, Wang CC, Wu H, Gong R, Lin FH, Feng J, Hu C: Copper/zinc-loaded montmorillonite influences intestinal integrity, the expression of genes associated with inflammation, TLR4-MyD88 and TGF- β 1 signaling pathways in weaned pigs after LPS challenge, *Innate Immun*, 23, 648-655(2017)
 - 34) Macdonald AGC, Bourgon SL, Palme R, Miller SP, Montanholi YR: Evaluation of blood metabolites reflects presence or absence of liver abscesses in beef cattle, *Vet Rec Open*, 4, e000170. doi:10.1136/vetereco-2016-000170(2017)
 - 35) Mudron P, Rehage J, Qualmann K, Sallmann HP, Scholz H:

- A study of lipid peroxidation and vitamin E in dairy cows with hepatic insufficiency, *Zentralbl Veterinarmed A*, 46, 219-224(1999)
- 36) Renner EL, Dallenbach A: Increased liver enzymes: What should be done? *Ther Umsch*, 49, 281-286(1992)
- 37) Guo J, Chang G, Zhang K, Xu L, Jin D, Bilal MS, Shen X: Rumen-derived lipopolysaccharide provoked inflammatory injury in the liver of dairy cows fed a high-concentrate diet, *Oncotarget*, 8, 46769-46780(2017)
- 38) Mori A, Urabe S, Asada M, Tanaka Y, Tazaki H, Yamamoto I, Kimura N, Ozawa T, Morris T, Hickson R, Kenyon PR, Blair H, Choi CB, Arai T: Comparison of plasma metabolite concentrations and enzyme activities in beef cattle raised by different feeding systems in Korea, Japan and New Zealand, *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 54, 342-345(2007)
- 39) Matsumoto D, Takagi M, Fushimi Y, Okamoto K, Kido M, Ryuno M, Imura Y, Matsunaga M, Inokoshi M, Shahada F, Deguchi E: Effects of gamma-aminobutyric acid administration on health and growth rate of group-housed Japanese Black calves fed using an automatic controlled milk feeder, *J Vet Med Sci*, 71, 651-656(2009)
- 40) Katamoto H, Yamada Y, Nishizaki S, Hashimoto T: Seasonal changes in serum vitamin A, vitamin E and beta-carotene concentrations in Japanese Black breeding cattle in Hyogo prefecture, *J Vet Med Sci*, 65, 1001-1002(2003)
- 41) Otomaru K, Shida H, Kanome J, Yanagita L: Blood biochemical values in Japanese Black breeding cows in Kagoshima Prefecture, Japan, *J Vet Med Sci*, 77, 1021-1023(2015)
- 42) Hewitt A, Olchoway TWJ, James AS, Fraser B, Ranjbar S, Soust M, Alawneh J: Linear body measurements and productivity of subtropical Holstein-Friesian dairy calves, *Aust Vet J*, 21, doi: 10.1111/avj.12950(2020)
- 43) Heinrichs AJ, Erb HN, Rogers GW, Cooper JB, Jones CM: Variability in Holstein heifer heart-girth measurements and comparison of prediction equations for live weight, *Prev Vet Med*, 78, 333-338(2007)
- 44) 林美紀子, 古川明, 秋元京子, 山田友紀子: 飼料中のカビ毒に関するリスク管理(アフラトキシンを事例に), *マイコトキシン*, 64, 161-165(2014)
- 45) 石黒瑛一: 飼料のカビ毒の規制と最近の汚染の状況, *マイコトキシン*, 57, 123-127(2007)