

Lumpy Jaw Disease (LJD) 罹患ハイイロオオカンガルーにおける 血漿中エンドトキシン活性値と微量元素動態

横江果林¹、外平友佳理^{1,2}、能田 淳¹、鈴木一由¹、
浅川満彦¹、 世良耕一郎³

¹酪農学園大学 069-8501 北海道江別市文京台緑町 582-2

²到津の森公園 803-0845 福岡県北九州市小倉北区上到津 4-1-8

³岩手医大サイクロトロンセンター 020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

1 はじめに

Lumpy Jaw Disease (LJD)は飼育下のカンガルーでおきる下顎骨または上顎を含む進行性の肉芽腫性骨髄炎である^{13,14,15,16,17}。LJDは主に *Fusobacterium necrophorum* の口腔粘膜侵入による歯周炎を起点とし、隣接した骨に感染が波及して骨髄炎に発展する^{16,17,18,19}。また、この感染が歯髄に達すると歯根尖部で炎症性骨吸収が見られる^{1,35}。LJD 罹患カンガルーは *F. Necrophorum* から放出されたエンドトキシンにより全身性炎症を呈することから本疾病の重症度は血漿中エンドトキシン活性値と関連性があると言われている^{2,20}。

一方、例えば牛の大腸菌性乳房炎罹患牛では血漿 Fe および Zn 濃度が低値を示し³、またハムスターでは急性炎症時に血中 Cu 濃度が増加するなどエンドトキシンに起因する全身性炎症は血中微量元素動態に影響を及ぼすことが知られている²¹。そこで、本症と血漿中微量元素濃度との関係に注目し検証することで炎症時の血漿中の微量元素動態について理解を深めることを目的とし、LJD 罹患ハイイロオオカンガルーの血漿中微量元素を Particle Induced X-ray Emission (PIXE)法により多元素同時定性定量でスクリーニングを行った。

2 測定方法

到津の森公園で飼育されているハイイロオオカンガルー(*Eastern Grey Kangaroo*)計 68 頭を使用した。これらのカンガルーのうち血漿エンドトキシン活性値が 0.230 EU/mL 以上で、顔面腫脹、体重の減少、流涎など LJD の臨床所見があり、X 線検査で骨吸収が見られたカンガルーを ETX 検出群とし、それ以外のカンガルーを対照群とした。血漿中エンドトキシン活性値が 0.22 EU/mL を超える個体は LJD に感染している可能性が高いという報告があるため¹(Figure1、Figure2)、本研究では血漿エンドトキシン活性値 0.22EU/mL を基準とし、0.22EU/mL を上回る個体を ETX 検出群、0.22EU/mL 以下の個体を対照群とした。これらのエ

ンドトキシン活性値や臨床所見、X線検査等の基準によって群分けされた ETX 検出群 37 頭、対照群 31 頭を用いた。

エンドトキシンの測定のためにカンガルーの頸静脈から 4mL 採血した後ヘパリン添加チューブに入れ、室温下で 3000G で 10 分間遠心分離した。なお、この作業は全て採血後 1 時間以内に行った。そこから得られた血漿(約 1.8mL)はサンプルチューブに入れ、-30°Cで保管した。このサンプルを用いて PIXE 法により多元素同時定性定量でスクリーニング血漿中微量元素濃度の測定を行った。詳細な手技については文献に示されるとおりである^{22,23}。主な内容としては、100μL の血清を Mylar film に滴下、乾燥させ、これに陽子線を照射する。測定は仁科記念サイクロtronセンター(NMCC)の小型サイクロtronにより誘導された 2.9MeV の陽子線をターゲットに照射し、発生した特性 X 線を 2 台の Si(Li)検出器により同時に測定した。検出器 1 側には低エネルギー X 線を吸収するために 300μm と 1000μm の Mylar film が吸収体として装着され、K 以上の元素の測定が行われた。一方、検出器 2 側には X 線を吸収するための吸収体を装着せず、計数率を調整するための X 線コリメータを取り付け、Na~Ca までの元素の測定が行われた。2 台の検出器の橋渡しは K で行い、得られたスペクトルは、データ解析プログラム SAPIX により解析を行った^{22,23}。

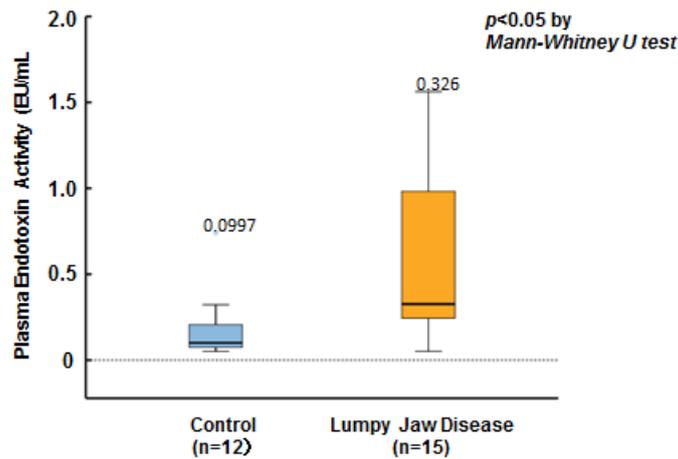


Figure 1 LJD 罹患カンガルー群と対照群における血漿エンドトキシン活性値の比較。対照群と比較して LJD 罹患群で有意に血漿エンドトキシン活性値が高いことが示された¹。

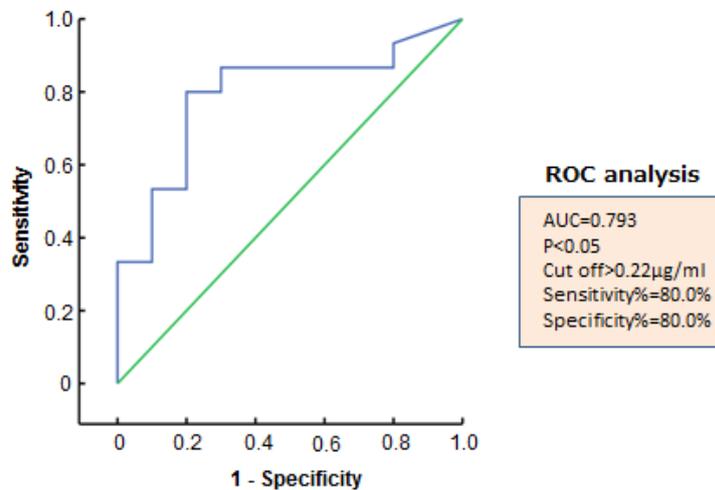


Figure 2 LJD罹患カンガルーを検出するためのエンドトキシン活性値を利用した ROC 曲線。カットオフ値は>0.22EU/mLであった¹。

3 結果

前述の通り、血漿エンドトキシン活性値が 0.22 EU/mL 以上¹で、顔面腫脹、体重の減少、流涎など LJD の臨床所見があり、X 線検査で骨吸収が見られたカンガルーを ETX 検出群とし、それ以外のカンガルーを対照群とした。表やグラフの ETX(+)は ETX 検出群の、ETX(-)が対照群の各微量元素濃度の測定結果を表しており、表の値は平均値±標準偏差の形であらわしている。

Figure3、Figure4、Figure5 において ETX 検出群と対照群の年齢別の体重分布を検討した。Figure3 に示すように全年齢における対照群の線形近似曲線は $y = 2.298x + 11.304$ で $R^2 = 0.4057$ 、ETX 検出群の線形近似曲線は $y = 2.1398x + 9.2005$ で $R^2 = 0.5055$ であり、対照群と ETX 検出群共に体重と年齢にやや強い正の相関があると考えられる。また、ETX 検出群は対照群と比較して同年齢における体重はやや少ないと言える。Figure4 に示すように、6 歳以前と 6 歳以降では異なる傾向が見られ、6 歳以前では対照群の線形近似曲線は $y = 5.4511x - 0.7483$ で $R^2 = 0.7194$ 、ETX 検出群の線形近似曲線は $y = 3.0526x + 6.0526$ で $R^2 = 0.5648$ であり、6 歳以前の対照群では体重と年齢にかなり強い相関があると言える。一方、6 歳以前の ETX 検出群は対照群よりも弱い相関があり、また体重の増加率も低い。6 歳以降では対照群の線形近似曲線は $y = -3.3575x + 65.76$ で $R^2 = 0.1239$ 、ETX 検出群の線形近似曲線は $y = 0.3158x + 26.5$ で $R^2 = 0.0018$ であり、体重と年齢にほとんど相関はないと考えられる。また、Figure5 で 0~6 歳のカンガルーを用いて対照群(20 頭)、Severe 群(9 頭)、Moderate 群(9 頭)の年齢別体重分布を検討した。この時、対照群は外見上 LJD が発症していないもの、Moderate 群は外見上 LJD が発症していると考えられるが緩解または全身徴候がなく、エンドトキシン活性値が測定限界値の 0.0493EU/mL 未満であったもの、Severe 群は臨床症状があつて加療(輸液療法、抗生物質療法)しており、エンドトキシン活性値の高いものとした。対照群の線形近似曲線は $y = 5.4511x - 0.7483$ で $R^2 = 0.7194$ 、Moderate 群の線形近似曲線は $y = 3.8506x + 2.954$ で $R^2 = 0.4395$ 、Severe 群の線形近似曲線は $y = 2.7314x + 7.0579$ で $R^2 = 0.7315$ であった。特に対照群と Severe 群で体重と年齢にかなり強い相関があると言える。対照群で最も体重の増加率が高く、次いで Moderate 群、最も体

重の増加率が低いのが Severe 群であった。

PIXE 法による測定の結果、Table1 に示す 27 元素が血中から検出された。これらの内、特に注目すべき元素について Figure6、Figure7、Figure8、Figure9 に示した。Figure6 に示すように Na、Si、S、Cl、K、Ca の 6 元素で対照群と ETX 検出群の間で有意に差が見られ、(*:p<0.05 Mann-Whitney U Test)これらの 6 元素の血中濃度は全て対照群より ETX 検出群で減少した。Figure7 に示すように P、Mg は ETX 検出群と対照群の間で有意な差は見られなかったが、有意差のあった Na、Si、S、Cl、K、Ca と同様に ETX 検出群で減少する傾向が見られた。また、Figure8 に示すように生体に有害な微量元素である Hg、Pb も検出され ETX 検出群で血中濃度が減少する傾向が見られた。Figure9 に示すように炎症時に血中濃度が変化すると報告のある Fe、Cu、Zn は ETX 検出群と対照群の間で有意な差は見られなかったが、これまでの報告と同様に ETX 検出群で Fe および Zn 濃度が減少し、Cu 濃度が増加する傾向が見られた。

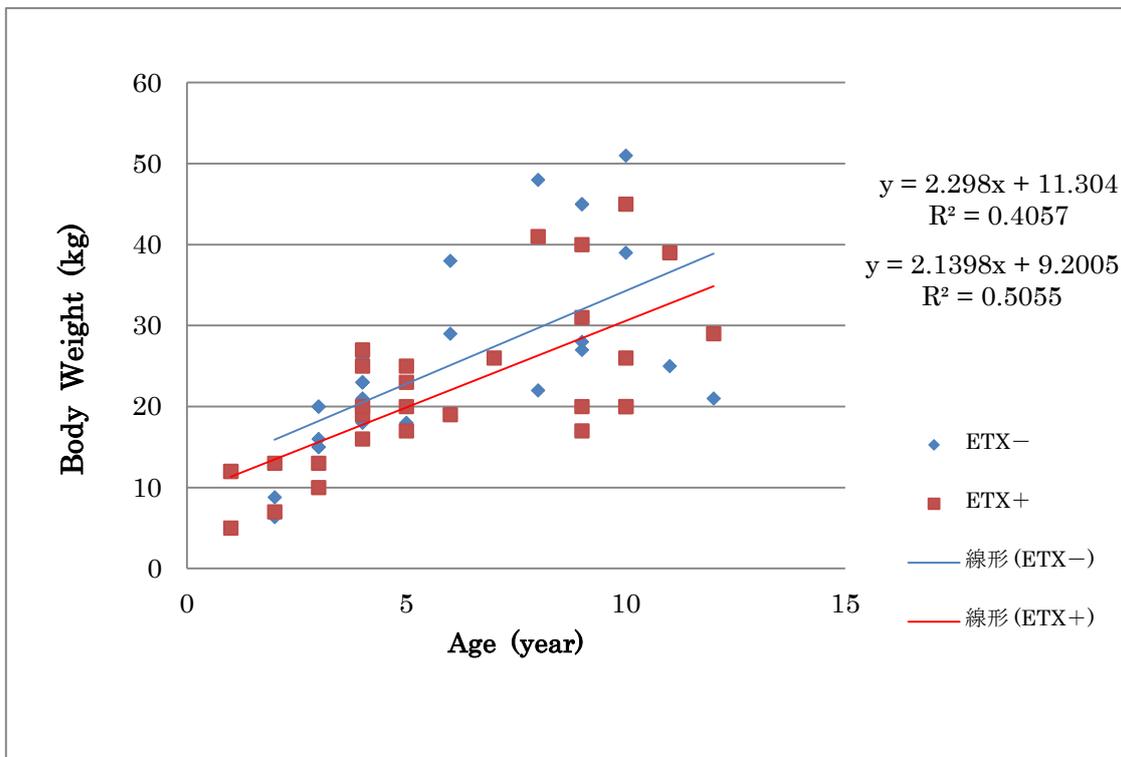


Figure 3 全年齢のカンガルーを用いた ETX 検出群(37 頭)と対照群(31 頭)の年齢別の体重分布

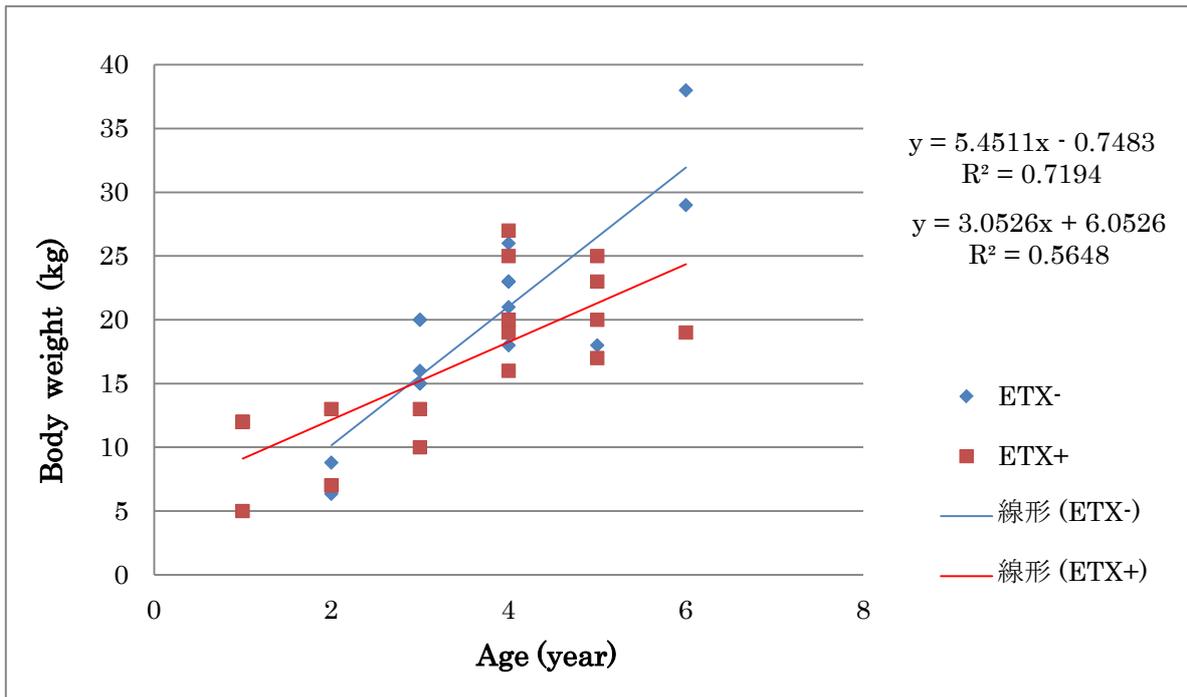


Figure 4 0～6歳のカンガルーを用いた ETX 検出群(18 頭)と対照群(20 頭)の年齢別体重分布

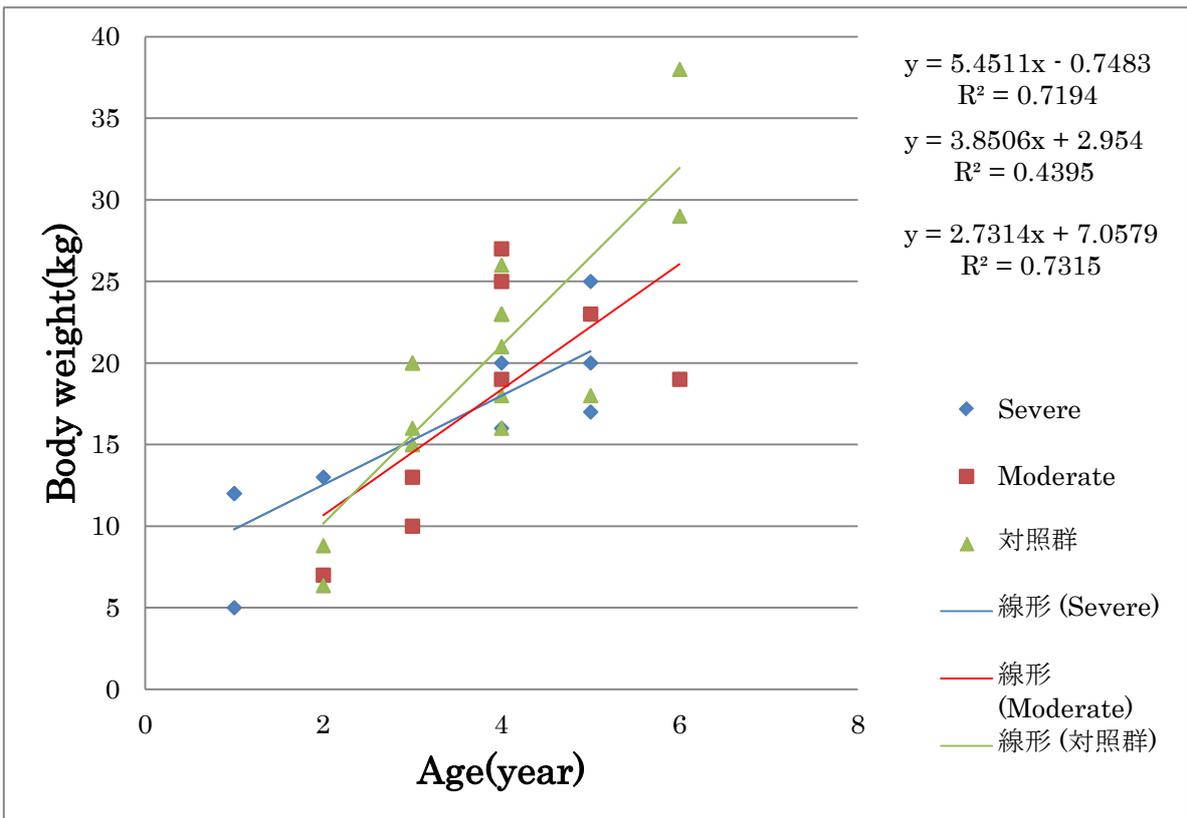


Figure 5 0～6歳のカンガルーを用いた対照群(20 頭)、Severe 群(9 頭)、Moderate 群(9 頭)の年齢別体重分布

Table 1 PIXE 法による ETX 検出群(37 頭)と対照群(31 頭)の血漿中微量元素濃度(平均値±標準偏差)

	ETX(+)		ETX(-)	
Na*	718.4308	±376.23849	938.4632	±491.04259
Mg	7.524	±4.00861	8.9442	±4.83157
Al	4.6242	±4.44462	4.0947	±3.30867
Si*	2.097	±1.58298	4.3519	±3.77367
P	45.8031	±18.47233	76.9836	±87.04409
S*	721.9837	±143.72618	821.9502	±208.1771
Cl*	1943.745	±384.82935	2282.187	±643.66655
K*	181.5867	±47.64617	218.6459	±65.09433
Ca*	84.5162	±14.24103	93.9383	±18.87463
Ti	0.1001	±0.07484	0.1993	±0.23236
V	0.1017	±0.08402	0.1066	±0.06126
Cr	0.0943	±0.05267	0.1125	±0.08701
Fe	4.0152	±3.75753	4.5391	±3.54846
Co	0.0995	±0.11505	0.0986	±0.09907
Ni	0.0341	±0.02954	0.0432	±0.03997
Cu	0.3929	±0.13525	0.3402	±0.09803
Zn	0.8474	±0.21235	0.9721	±0.41482
Br	3.6278	±1.47895	3.1686	±0.92771
Rb	0.1299	±0.07898	0.1381	±0.08629
Sr	0.09	±0.053	0.1	±0.07
Y	0.0352	±0.02797	0.0469	±0.03941
Zr	0.0558	±0.06573	0.0608	±0.08788
Nb	0.0661	±0.06668	0.0795	±0.06731
Mo	0.1005	±0.07408	0.0966	±0.07199
In	100	±0	100	±0
Pb	0.1299	±0.11079	0.1962	±0.1775
Hg	0.1354	±0.09238	0.2033	±0.17052

*: p<0.05 Mann-Whitney U Test

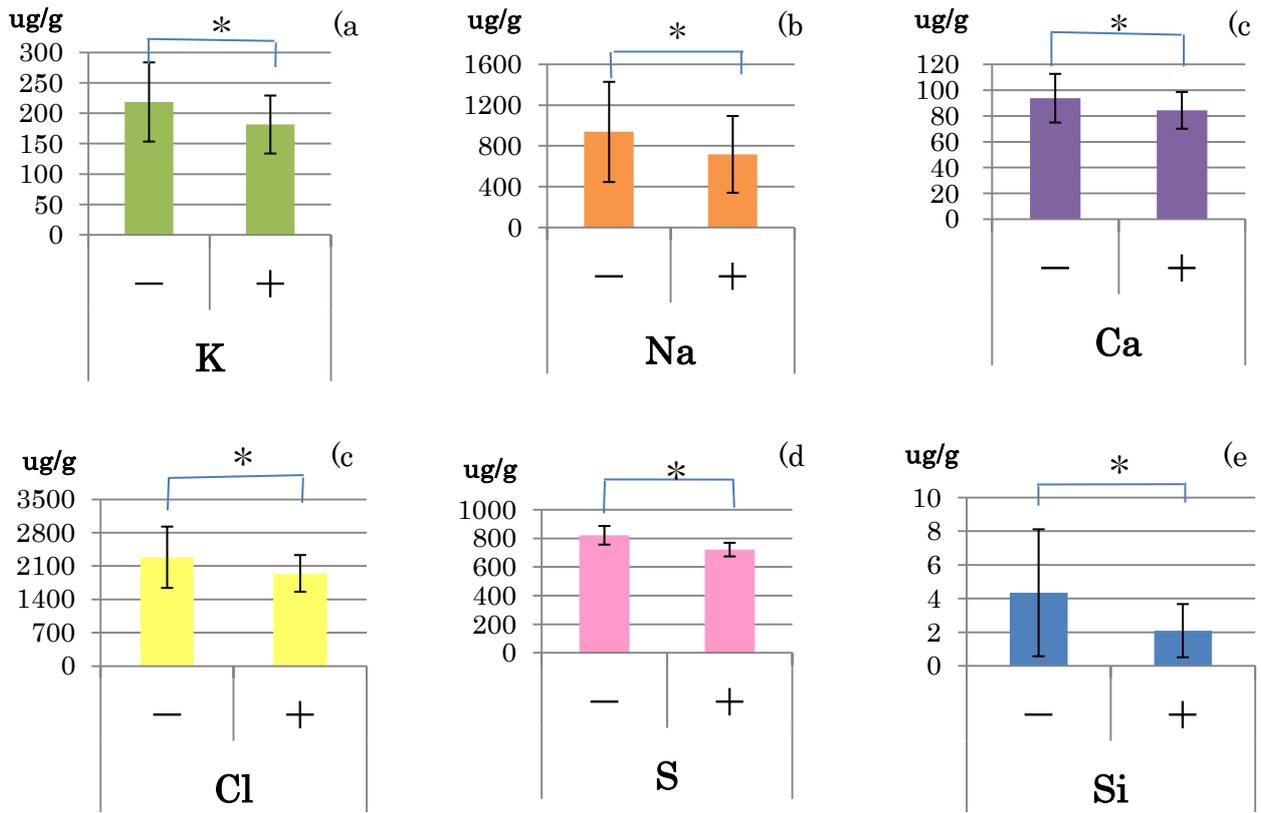


Figure 6 ETX 検出群と対照群の間で有意差が見られた 6 元素

*: p<0.05 Mann-Whitney U Test

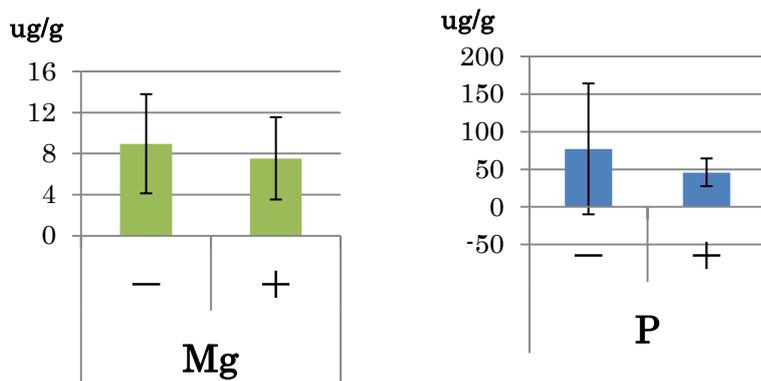


Figure 7 ETX 検出群で減少傾向を示す元素の内、特に餌に関連すると考えられる元素

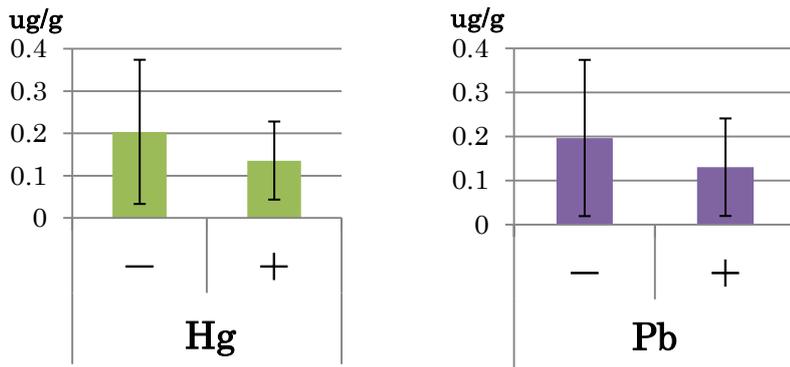


Figure 8 生体に有害であると考えられる元素

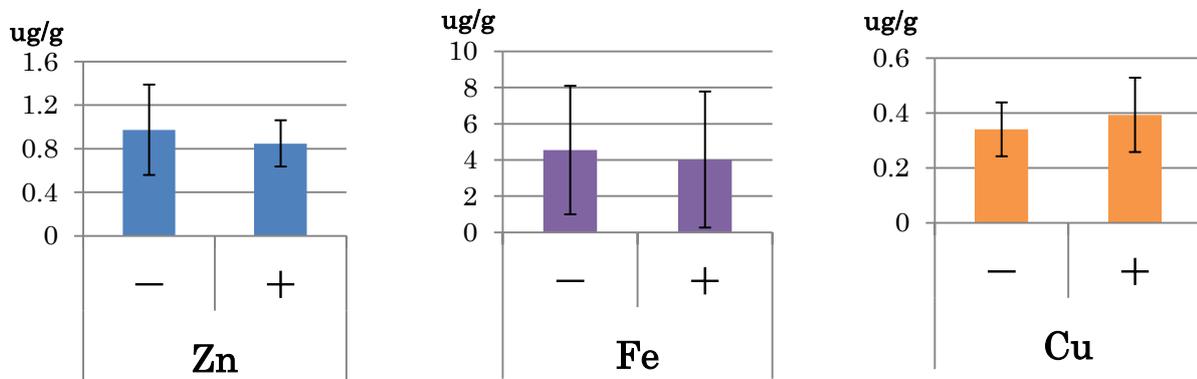


Figure 9 炎症に関連すると考えられる元素

4 考察

ETX 検出群と対照群の年齢別の体重分布を検討する。Figure4において6歳以前のETX 検出群と対照群を比較すると、対照群では $R^2=0.7194$ と体重と年齢にかなり強い相関があり、また線形予測近似曲線の傾きも大きいことからETX 検出群よりも1年あたりの増体が良く、年齢と共に順調に体が成長していると考えられる。一方、ETX 検出群は対照群よりも $R^2=0.5648$ と体重と年齢に弱い相関を持ち、体重の増加率も低いいためLJDの影響を受けていることが考えられる。Figure5より、6歳以前の対照群、ETX 検出群を病態別に分けたSevere群とModerate群を比較すると、対照群で最も線形予測近似曲線の傾きが大きいため体重の増加率が高いと言え、これにModerate群、Severe群の順に続くことからLJDの症状が重いほど疼痛や全身性炎症のために食欲が減退し採食量が低下していることや炎症によって激しく消耗していると考えられる。また、Figure3において6歳以降では年齢と体重にはほとんど相関がないことからLJDは特に低年齢で体重の増加に大きな影響を及ぼし、成長を妨げると考えられる。

カンガルーは餌として、飼育されている95頭に対して1日当たりにイネ科牧草のチモシーやマメ科牧草のルーサンを50kg、ペレットを6kg、リンゴ、キャベツ、ニンジン、サツマイモなどの切り餌を60kg与えられている。(personal communication,2017/03/25,津田能理子。) Figure6に示すようにETX 検出群では対照群と比較して血漿中Na、Si、S、Cl、K、Caの有意な減少が見られた。これらの元素はTable 2、Table 3に

示すように一般に餌に多く含まれる元素であるため LJD 罹患カンガルーで採食量が減少していることが考えられる。チモシーやルーサンには Na、K、Mg、Ca などが多く含まれており、Mn、Fe、Cu、Zn も微量に含まれている。ルーサンは Ca の含有量が高く、チモシー等のイネ科牧草の 2~4 倍であることが報告されている⁴。

Table 2 アルファルファ(ルーサン)およびイネ科牧草の平均 Na,K,Mg,Ca 含有率と AL/G⁴

	(g kg ⁻¹)											
	1 番草				2 番草				3 番草			
	Na	K	Mg	Ca	Na	K	Mg	Ca	Na	K	Mg	Ca
AL平均	1.54	14	2.4	12.7	1.52	11	2.6	12.7	1.89	12	3.0	13.6
G平均	0.71	19	1.2	3.1	0.63	25	1.8	4.7	0.65	23	1.8	4.8
AL/G	2.2	0.7	2.0	4.1	2.4	0.4	1.5	2.7	2.9	0.5	1.6	2.8

注) AL: アルファルファ, G: イネ科牧草

Table 3 アルファルファ(ルーサン)およびイネ科牧草の平均 Mn, Fe, Cu, Zn 含有率と AL/G⁴

	(mg kg ⁻¹)											
	1 番草				2 番草				3 番草			
	Mn	Fe	Cu	Zn	Mn	Fe	Cu	Zn	Mn	Fe	Cu	Zn
AL平均	46	59	5.0	23.2	55	57	5.6	19.3	77	88	5.7	20.4
G平均	73	74	5.0	19.7	105	133	5.6	22.3	129	179	5.9	23.2
AL/G	0.6	0.8	1.0	1.2	0.5	0.4	1.0	0.9	0.6	0.5	1.0	0.9

注) AL: アルファルファ, G: イネ科牧草

Cl は植物の必須元素で、光化学反応中心 II の必須成分であり光合成に関与する¹²。そのため葉緑体を多く含むチモシーやルーサンの葉などに含まれると考えられる。S は植物の必須元素で、その生理作用は多岐にわたる。硫黄は含硫黄アミノ酸や含硫黄有機化合物の構成元素で、蛋白質やビタミン(B1、B7)、脂質などの合成に使用される。また酵素活性調節、電子伝達、酸化還元調節、外敵忌避などにも重要な役割を果たすとされており、植物体内に含まれている。Si は酸素に次いで地殻中に 2 番目に多く含まれる元素で、土壌中には二酸化ケイ素(SiO₂)として存在し、土壌質量の 50~70% を占めており、餌に土が付着するなどして土によって Si を摂取する可能性がある。また、ケイ酸化合物の一部は無荷電のケイ酸 Si(OH)₄ として溶出し、これを植物は常に吸収している⁸。特にチモシーなどのイネ科の植物はケイ素を体内に多く蓄積しており、植物体の保持にケイ素が不可欠であると報告されている⁸。イネが集積した Si は茎や葉、籾殻など組織の表面に沈積しており、これが物理的障壁になり、病原菌や害虫の侵入を阻止し、また過蒸散を抑制する⁸。LJD 罹患カンガルーは採食量が減少したことでイネ科のチモシーに含まれる Si の摂取が減少したと考えられる。また、一般に使用されるカンガルーやワラビーに与えられる固形ペレットには植物質原料に限らず魚粉や脱脂粉乳など動物質原料や、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、食塩、硫酸鉄、硫酸マンガン、炭酸亜鉛、硫酸銅など鉱物質原料も含まれている¹¹。このためカンガルーはペレットからも Na、Si、S、Cl、K、Ca、Mg、P など様々な微量元素を摂取していると考えられる。このように ETX 検出群の血漿で有意な減少が見られた Na、Si、S、Cl、K、Ca や、減少傾向が見られた Mg、S は餌に多く含まれる元素であるため、ETX 検出群すなわち LJD の臨床所見のあるカンガルーは患部の疼痛や全身炎症による食欲の低下などのために採食量

が減少している可能性が示唆された。特に Si は ETX 検出群と対照群で約 2 倍の差が見られたためチモシーの採食量が大きく減少している可能性がある。また、牧草の部位によって Si の含有量が異なる可能性があるため LJD 罹患カンガルーは選択的に採食している可能性が示唆された。

また、Na、Si、S、Cl、K、Ca、Mg、S と同様に Hg や Pb が ETX 検出群で減少する傾向が見られたことと、Hg や Pb の主な摂取経路が食餌であることから飼料中に Hg や Pb が含まれている可能性が示唆された。しかし、得られた血漿中の Hg や Pb 濃度は個体差が大きいことから各個体をより詳細に評価する必要性があると考えられる。

本研究では炎症時に血中濃度が変化すると報告のある Fe、Cu、Zn は ETX 検出群と対照群の間で有意な差は見られなかったが、これまでの報告と同様に ETX 検出群で Fe および Zn 濃度が減少し、Cu 濃度が増加する傾向が見られた。本症においても *F. Necrophorum* から放出されたエンドトキシンにより全身性炎症を呈することからこれらの Fe、Cu、Zn の変化が炎症によるものだという可能性は否定できない。これまでの報告から Fe は急性炎症時にヒトや動物の血漿や血清で減少することが知られている^{3,24,25,26,27,28}。例えば炎症のある動物で、90%のネコ²⁹、60%のイヌ²⁹、32–52%のウシ^{30,31}で Fe の減少が見られたという報告がある。その他に、ウマの卵巣腫瘍や骨軟骨炎の手術やウシの大腸菌性乳房炎で血漿中の Fe 濃度が減少したという報告がある^{3,32}。このような炎症時の Fe の減少は腸管の吸収の低下や網内系細胞による Fe の放出の減少に起因すると考えられている^{33,24,25}。Zn は火傷や細菌性エンドトキシンショック、外科手術などのストレス時には血清 Zn は著明に低下し、重症例ほど血清 Zn の低下が強く予後の予測に有用であるとされている。また、炎症性サイトカインとケモカインの発現がある子豚に Zn のサプリメントを投与したところ、腸の TLR4 の mRNA レベルとその下流の MyD88 や IL-1 受容体関連キナーゼ 1 や TNF- α 受容体関連因子 6 が減少したことが報告されている³⁴。このため Zn は TLR4-MyD88 経路を阻害することによって炎症に関連する遺伝子の発現を低下させることで腸を保護している可能性がある³⁴。食餌由来の Cu イオンは消化管から吸収されて血液中に移行し、血清アルブミンと結合して運搬される。肝、腎でセルロプラスミンに取り込まれ、セルロプラスミンは再び血液中に放出されて Cu イオンの貯蔵と輸送を制御している¹⁰。エンドトキシンチャレンジによって急性炎症を起こしたハムスターにおいて、血清中の Cu 濃度が増加し、これに伴ってインターロイキン 1 の放出が誘発されたという報告がある²¹。これに限らず、他種の動物においても急性炎症時に血清中の Cu 濃度やセルロプラスミンが増加するという報告がある²¹。また、ヒトにおいてもウイルスや細菌による感染症、ホジキン病、白血病、各種の貧血、ヘモクロマトーシスなどによる急性または慢性疾患で血清中の Cu およびセルロプラスミンが増加するという報告がある⁹。本研究では Fe、Cu、Zn において上記の報告と同様の傾向は見られるものの、ETX 検出群と対照群で比較した際には有意な差は見られなかった。動物種によって炎症に対する微量元素動態が異なる可能性も考えられるため更なる研究が必要であると考えられる。また、同群であっても個体によって血漿中の微量元素濃度が大きく異なっていたことから各個体の健康状態を考慮に入れた評価が必要であると考えられ、LJD の進行度に基づいてより細かく群分けすることや、より多くの項目で健康状態を評価したりより多くの炎症性マーカーを用いたりするなどの工夫が必要であると考えられる。

以上から、LJD 罹患カンガルーでは採食量の減少によると推測される血漿中 Na、Si、S、Cl、K、Ca の有意な減少や血漿中 P、Mg の減少傾向が見られ、炎症に起因すると推測される血漿中 Fe、Zn の減少傾向と血漿中 Cu の増加傾向が見られた。血漿サンプルの PIXE 法による測定結果は測定時の個体の年齢や健康状

態等に影響される可能性があると言える。そのため、診断やスクリーニングで用いる際はこの点を考慮し、様々な角度からの検討が必要であると考ええる。

参考文献

- 1) Sotohira, Y., Suzuki, K., Sakai, H., Sano, T., Tuchiya, M., Suzuki, Y., Shimamori, T., Tukano, K., Sato, A., Yokota, H., Asakawa, M. : 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, 2016
- 2) Sotohira, Y., Suzuki, K., Otsuka, M., Tuchiya, M., Shimamori, T., Nishi, Y., Tukano, K., Asakawa, M. : Plasma Endotoxin Activity in Eastern Grey Kangaroos (*Macropus giganteus*) with Lumpy Jaw Disease : *J. Vet. Med. Sci.* 79(6): 1138–1141, 2017
- 3) Shimamori, T., Noda, J., Tukano, K., Sera, K., Yokota, H., Koiwa, M., Suzuki, T., Suzuki, K. : Particle-Induced X-ray Emission Analysis of Serum Trace and Major Elements in Cattle with Acute Coliform Mastitis : *Japanese Journal of Veterinary Research*, 65(1): 29-37, 2017
- 4) Kosaka, S. : Study on the productivity and mineral composition of mixed-seeded alfalfa (*Medicago sativa* L.) pastures : *J. Rakuno Gakuen Univ.*, 28 (2) :167~215, 2004
- 5) 河合成直、茂泉翔平、後藤祥子良耕一郎.植物の葉の新旧による元素含量の違い - 大気PIXEによる測定 - NMCC共同利用研究成果報文集20 : 64-74, 2013
- 6) 河野憲治、尾形昭逸、小林省吾: 草類の硫黄欠乏症発現と植物体の硫黄含有率および土壌の硫黄供給可能量との関連:日本土壤肥料学雑誌 58(3), p343-349, 1987-06
- 7) 青木大輔、永福和明、細井通明、米本貞夫、藤城清司 千葉県内における流通乾草の飼料成分 : 千葉県畜産総合研究センター研究報告 2 , 15–19 : 2002
- 8) 山地直樹、馬健:イネのケイ酸吸収機構 : 化学と生物 vol.44 No.7, 453~458, 2006
- 9) Walter Mertz : Trace Elements in Human and Animal Nutrition Fifth Edition Vol.1: p316
- 10) 山根靖弘、生体中の微量元素の役割:保健物理, 25, 269~277, 1990
- 11) オリエンタル酵母工業(株)バイオ事業本部「動物園用飼料」
<http://www.oyc-bio.jp/products/view/zoofood001> (2017/06/29 閲覧)
- 12) 佐藤直樹、しくみと原理で解き明かす植物生理学 p30, 2014
- 13) Borland, D., Coulson, G. and Beveridge, I. : Oral necrobacillosis ('Lumpy Jaw') in a free-ranging population of eastern grey kangaroos (*Macropus giganteus*) in Victoria. *Aust. Mammal.* 34: 29–35, 2012
- 14) Finnie, E. P.: Husbandry and diseases of orphaned pouch-young marsupials. *Aust. Vet. Pract.* 6: 19–28, 1976
- 15) Hartley, M. P. and Sanderson, S.: Use of antibiotic impregnated polymethylmethacrylate beads for the treatment of chronic mandibular osteomyelitis in a Bennett's wallaby (*Macropus rufogriseus rufogriseus*). *Aust. Vet. J.* 81: 742–744, 2003
- 16) Jakson, S.: Chapter 9. Macropods. pp. 245–295. In: *Australian Mammals: Biology and Captive Management*. CSIRO Publishing, Melbourne, 2003

- 17)Samuel, J. L.: Jaw disease in macropod marsupials: bacterial flora isolated from lesions and from the mouths of affected animals. *Vet. Microbiol.* 8: 373–387, 1983
- 18)Barber, D., Campbell, J., Davey, J., Luke, T., Agren, E. and Beveridge, I.: Unilateral failure of development of mandibular premolars and molars in an Eastern Grey kangaroo (*Macropus giganteus*) and its effects on molar progression. *Aust. Vet. J.* 86: 64–66, 2008
- 19)Brookins, M. D., Rajeev, S., Thornhill, T. D., Kreinheder, K. and Miller, D. L.: Mandibular and maxillary osteomyelitis and myositis in a captive herd of red kangaroos (*Macropus rufus*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 20: 846–849, 2008
- 20) Jimenez, L., Rana, N., Travers, K., Tolomanoska, V. and Walker, K.: Evaluation of the Endosafe® portable testing system™ for the rapid analysis of biopharmaceutical samples. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 64: 211–221, 2010
- 21)Etzel, K. R., Swerdel, M. R., Swerdel, J. N. and Cousins, R. J.: Endotoxin-induced changes in copper and zinc metabolism in the Syrian hamster. *J. Nutre.*, 112: 2363-2373, 1982
- 22)Suzuki, K., Higuchi, H., Iwano, H., Lakritz, J., Sera, K., Koiwa, M. and Taguchi, K.: Analysis of trace and major elements in bronchoalveolar lavage fluid of *Mycoplasma bronchopneumonia* in calves. *Biol. Trace Elem. Res.*, 145: 166-171, 2012
- 23)Suzuki, K., Yamaya, Y., Kanzawa, N., Chiba, M., Sera, K. and Asano, R.: Trace and Major elements Status in bronchoalveolar Lavage Fluid in dogs with or without Bronchopneumonia. *Biol. Trace Elem. Res.*, 124: 92-96, 2008
- 24)Cherayil, B. J.: The role of iron in the immune response to bacterial infection. *Immunol. Res.*, 50: 1-9, 2011
- 25)Cherayil, B. J. Ellenbogen, S. and Shanmugam, N. N.: Iron and intestinal immunity. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 27: 523-528, 2011
- 26)Ward, C. G., Bullen, J. J. and Rogers, H. J.: Iron and infection: new developments and their implications. *J. Trauma.*, 41: 356- 364, 1996
- 27)Borges, A. S., Divers, T. J., Stokol, T. and Mohammed, O. H.: Serum iron and plasma fibrinogen concentrations as indicators of systemic inflammatory diseases in horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 21: 489-494., 2007
- 28)Jacobsen, S., Jensen, J. C., Frei, S., Jensen, A. L. and Thoenner, M. B.: Use of serum amyloid A and other acute phase reactants to monitor the inflammatory response after castration in horses: a field study. *Equine Vet. J.*, 37: 552-556, 2005
- 29)Neumann, S.: Serum iron level as an indicator for inflammation in dogs and cats. *Comp. Clin. Path.*, 12: 90-94, 2003
- 30)Baydar, E. and Dabak, M.: Serum iron as an indicator of acute inflammation in cattle, *J. Dairy Sci.*, 97: 222-228, 2014
- 31)Erskine, R. J. and Bartlett, P. C.: Serum concentrations of copper, iron, and zinc during *Escherichia coli*-induced mastitis, *J. Dairy Sci.*, 76: 408-413, 1993

- 32) Jacobsen, S., Nielsen, J. V., Kjelgaard-Hansen, M., Toelboell, T., Fjeldborg, J., HallingThomsen, M., Martinussen, T. and Thoenfer, M. B.: Acute phase response to surgery of varying intensity in horses: a preliminary study. *Vet. Surg.*, 38: 762-769, 2009
- 33) Andriopoulos, B. Jr., Corradini, E., Xia, Y., Faasse, S. A., Chen, S., Grgurevic, L., Knutson, M. D., Pietrangelo, A., Vukicevic, S., Lin, H. Y. and Babitt, J. L.: BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nat. Genet.*, 41: 482-487, 2009
- 34) Hu, C. H., Song, Z. H., Xiao, K., Song, J., Jiao, L. F. and Ke, Y. L.: Zinc oxide influences intestinal integrity, the expressions of genes associated with inflammation and TLR4-myeloid differentiation factor 88 signaling pathways in weanling pigs. *Innate Immun.*, 20: 478-486, 2014
- 35) Hong, C. Y., Lin, S. K., Kok, S. H., Cheng, S. J., Lee, M. S., Wang, T. M., Chen, C. S., Lin, L. D. and Wang, J. S.: The role of lipopolysaccharide in infectious bone resorption of periapical lesion. *J. Oral Pathol. Med.* 33: 162–169, 2004

Plasma endotoxin activity and trace elements kinetics in macropus giganteus infected-Lumpy Jaw Disease (LJD)

Karin Yokoe¹, Yukari Sotohira^{1,2}, Jun Noda¹, Kazuyuki Suzuki¹,
Koichiro Sera³ and Mitsuhiko Asakawa¹

¹School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University
582 Bunkyo-dai-Midorimachi, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²Itozu no mori Zoological Park
4-1-8 Kamiitozu, Kokurakita, Kitakyushu, Fukuoka 803-0845, Japan

³Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

Abstract

Lumpy Jaw Disease (LJD) is a progressive pyogranulomatous osteomyelitis involving mandible or maxilla of captive macropods. LJD commences as periodontitis due to an oral mucosal invasion of *Fusobacterium necrophorum*, the infection spreads to adjacent bones and develops into osteomyelitis. LJD-infected kangaroo shows systemic inflammation due to endotoxin released from *F. Necrophorum*. It is known that the severity of this disease is related to the plasma endotoxin activity. It is known that systemic inflammation caused by endotoxin affects trace element dynamics in the blood. For example, serum Fe and Zn concentrations are low in cattle with coliform mastitis, and serum Cu concentrations increase in hamsters with acute inflammation. In this study, we investigated the relationship between LJD and trace element concentrations in plasma by Particle Induced X-ray Emission (PIXE) method, to understand trace element kinetics with elevated endotoxin level with a sign of the LJD.