

OxytocinおよびProstaglandin F2 α 投与による離乳母豚の リンパ球幼若化反応の低下

誌名	日本養豚学会誌 = The Japanese journal of swine science
ISSN	0913882X
著者	田浦, 保穂 寺園, 司 高木, 光博 吉川, 若枝 左近允, 巖 松本, 久己
巻/号	28巻1号
掲載ページ	p. 1-5
発行年月	1991年3月

Oxytocin および Prostaglandin F_{2α} 投与による離乳母豚のリンパ球幼若化反応の低下

田浦保穂・寺園 司*・高木光博*・吉川若枝*・左近允 巖*・松元久己**

山口大学農学部獣医学科家畜外科, 山口市 753

* 鹿児島大学農学部獣医学科, 鹿児島市 890

** 南日本畜産株式会社, 頰娃町 891-07

(1990年7月4日 受付)

要 約 oxytocin および prostaglandin F_{2α} (PG と略) を豚に投与後, 3種の mitogen (phytohemagglutinin, pokeweed mitogen および concanavalin A) を使った 0, 30, 60, 90 および 120 分でのリンパ球幼若化反応の変化を比較検討した。体重 195~300 kg の離乳母豚 6 頭に oxytocin および PG をそれぞれ 25 IU および 10 mg 静脈内に注射し, 以下の成績が得られた。

oxytocin および PG を投与した豚は *in vivo* において 3種の mitogen に対する末梢血リンパ球 (PBL) の幼若化反応が低下した。*in vitro* では, PG または oxytocin と mitogen を無処置の豚の PBL に直接添加したところ, PG 添加は oxytocin 添加に比較してその幼若化反応は有意に低下し, 直線的に免疫抑制することが判明した。

緒 論

妊娠家畜の体内では, 胎子が存在することによって免疫系, 内分泌系, 神経系などが変化し, 生体は妊娠という生理現象に対応しようとする。とくに免疫系では異物である胎子の拒絶を抑制する変化がみられ, 産褥期におけるリンパ球の mitogen に対する反応性は非妊娠期に比較して低下するとされている¹⁻³⁾。妊娠母体の免疫応答能には, ステロイドおよび多種類の蛋白ホルモンが関与しているが, これらの機能については, 人も含め十分には解明されていないのが現状である⁴⁾。豚においては, oxytocin (以下 Oxy と略) および prostaglandin F_{2α} (以下 PG と略) などが陣痛誘発および分娩誘起に利用されている反面, 免疫応答能への影響についての報告は少ない⁵⁻¹⁰⁾。そこで Oxy と PG の 2 剤を離乳母豚に投与し, リンパ球幼若化反応を指標とした免疫応答能の変化を経時的に細胞性免疫の面から検討した。

材料および方法

1. 材 料

供試豚は, 鹿児島県頰娃町の南日本畜産養豚場から導入した体重 195~300 kg (平均 257±42.3 kg), 離乳後 2~5 日の LW 種雌 6 頭を用いた。実験期間は 1988 年 7 月 11 日~7 月 29 日であり, 母豚は 3~4 産目の全て正常分娩のものを用いた。

2. 方 法

耳静脈からカテーテルを挿入し, その翌日から Oxy, PG の順でそれぞれの常用量^{10,11)}である 25 IU および 10 mg を耳静脈内に投与した。投与後, 30 分, 60 分, 90 分および 120 分と 30 分おきにそれぞれ無菌的に 12 ml 採血後, 自動血球計算器にて白血球を測定し, また血液塗沫検査によるリンパ球の百分率を乗じてリンパ球数を測定した。リンパ球幼若化試験は, 常法に準じて末梢血リンパ球を分離し, 8% 豚胎子血清 (FPS) 含有修

Impairment of mitogen-induced blastogenetic responses of lymphocytes of post-weaning sows treated with oxytocin and prostaglandin F_{2α}

Y. TAURA, T. TERAZONO*, M. TAKAGI*, W. YOSHIKAWA*, I. SAKONJUH* and H. MATSUMOTO**

Department of Veterinary Medicine, Yamaguchi University, Yamaguchi-shi, 753.

* Department of Veterinary Medicine, Kagoshima University, Kagoshima-shi, 890

** Minami Nihon Chikusan Co. Ltd., Ei-cho, Kagoshima, 891-07

正 RPMI 1640 培地 100 μ l に 5×10^5 のリンパ球を浮遊させ、phytohemagglutinin (PHA), concanavalin A (ConA) および pokeweed mitogen (PWM) をそれぞれ加えた。37°C, 5% CO₂ 下で 72 時間培養した。培養終了 12 時間前に 3-H-thymidine を添加し、培養終了後セルハーベスターで回収し、液体シンチレーションカウンターで 3-H-thymidine の取り込み量を測定した。なお、mitogen の刺激標的は PHA と ConA とが T 細胞, また PWM が B および T 細胞 (主に B 細胞) である。測定は 3-H-thymidine の取り込み率 (counts per minute, cpm) で表わし、成績は刺激指数 (stimulation index, SI) 値で表わした。なお、SI 値は mitogen 添加時の cpm/対照における cpm であり、平均値 \pm 標準誤差で示し、有意差は t 検定法で行った。

また本 2 剤の *in vitro* での免疫抑制効果についても

検討した。方法は、前述したリンパ球幼若化試験と同様であり、分離したリンパ球 5×10^6 個に本 2 剤を 1 ウェルに Oxy 1.4×10^{-4} IU, PG を 5×10^{-5} mg 添加し、mitogen 処理後、リンパ球幼若化反応を測定した。なお、*in vitro* における SI 値の対照は、Oxy および PG を添加しない各 mitogen 群とした。

結 果

白血球数とリンパ球数は正常範囲内にあり、その推移は 0 分値を 100 とした平均 \pm 標準誤差でみた。その結果 Oxy 群の白血球数とリンパ球数はともにやや減少傾向にあり、PG 群では表 1 に示すように白血球数において $91.3 \pm 14.5 \sim 106.0 \pm 3.1$ と大きな変動は認められないものの、リンパ球数では、60 分 (71.8 ± 8.3), 90 分 (73.4 ± 8.9), 120 分 (64.0 ± 2.5) と減少する傾向をみせ、有意な低下を示した。

表 1 PG 投与後の白血球数およびリンパ球数

	0 ¹⁾	30	60	90	120	150	180 (分)
白血球数	100	91.5 ± 15.9 ²⁾ (4) ³⁾	91.3 ± 14.5 (4)	116.7 ± 19.9 (5)	95.9 ± 5.5 (3)	106.0 ± 3.1 (3)	104.8 ± 1.8 (3)
リンパ球数	100	94.9 ± 3.7 (3)	71.8 ± 8.3 (3)	73.4 ± 8.9 (3)	64.0 ± 2.5 (3)	86.2 ± 22.9 (3)	87.4 ± 10.5 (3)

¹⁾ 0 分を 100 とした値 ²⁾ 平均値 \pm 標準誤差 ³⁾ () 内: 個体数

表 2 0 分時の 3-H-thymidine の取り込量 (cpm)¹⁾ の実測値

豚	豚 No.	対照 ²⁾	PHA	ConA	PWM
Oxy	# 2	378	7880	3779	25884
	# 3	95	15281	11437	22795
	# 4	136	21614	26213	26304
	# 5	56	3647	11000	19760
	# 6	1086	5976	2639	2502
			350 ± 192 ³⁾ (1) ⁴⁾	5976 ± 3316 (17.1)	11014 ± 4206 (31.5)
PG	# 1	444	5032	2412	25256
	# 2	303	6697	2114	18776
	# 3	82	19807	19068	20888
	# 4	68	22581	27820	26249
			224 ± 91 (1)	13529 ± 4474 (60.4)	12854 ± 6370 (57.4)

¹⁾ cpm = counts per minute

²⁾ mitogen 非添加の自己末梢血リンパ球

³⁾ 平均 \pm 標準誤差

⁴⁾ 刺激指数 (SI = mitogen 添加時の cpm/対照の cpm)

表 3 Oxy 投与後のリンパ球幼若化反応の推移

Mitogen	0 ¹⁾	30	60	90	120(分)
PHA	100	53.1±23.7 ²⁾ (6) ³⁾	85.6±36.3 (5)	63.4±17.5 (6)	74.6±60.5 (3)
ConA	100	46.6±33.0 (4)	65.3±33.0 (5)	31.6±22.9 (3)	47.1±26.3 (5)
PWM	100	45.9±14.9 (4)	62.2±14.3 (5)	40.4±4.1 (4)	56.8±27.0 (4)

¹⁾ 0分を100とした値, ²⁾ 平均値±標準誤差, ³⁾ () 内: 個体数

表 4 PG 投与後のリンパ球幼若化反応の推移

Mitogen	0 ¹⁾	30	60	90	120(分)
PHA	100	45.8±18.5 ²⁾ (4) ³⁾	96.0±34.0 (4)	112.5±80.0 (4)	196.8±60.5 (4)
ConA	100	43.4±21.8 (3)	128.1±86.7 (3)	180.6±127.5 (3)	195.9±82.0 (3)
PWM	100	32.4±19.5 (3)	81.3±18.9 (3)	107.3±57.7 (3)	87.2±5.0 (3)

¹⁾ 0分を100とした値, ²⁾ 平均値±標準誤差, ³⁾ () 内: 個体数

リンパ球幼若化反応検査でも、同様に0分を100とした場合のSI値の平均±標準誤差で示した。また参考資料として、表2に0分時の3-H-thymidineの取り込み量(cpm)の実測値とSI値を示した。対照のcpmはOxy群の#6の1086cpmの他は低値であり、Oxy群で350±192cpm、PG群で224±91cpmであった。この対照のcpmを基礎としたSI値では、Oxy群のPHA、ConAおよびPWMがそれぞれ17.1、31.5、および55.6、またPG群ではそれぞれ60.4、57.4および101.8となり、PWMが高値であった。一方リンパ球幼若化反応の推移をみると、表3に示す通りOxy群では全てのmitogenにおいて、経時的にSI値は低下し、各検査時のPHA、ConAおよびPWM群はそれぞれ30分(53.1±23.7、46.6±33.0、45.9±14.9)、90分(63.4±17.5、31.6±22.9、40.4±4.1)および120分(74.6±60.5、47.1±26.3、56.8±27.0)と有意に低下した。PG群では30分でPHA、ConA、PWMとも、それぞれ45.8±18.5、43.4±21.8および32.4±19.5となり、0分値の約1/2の値まで低下した。しかしその後は、すぐに回復し、90分で112.5±80.0、180.6±127.5および107.3±57.7、120分で196.8±60.5、195.9±82.0および87.2±5.0となり、120分のPWM群以外はPG投与前の値よりも高くなった。また、PHAおよびConAは、PWMと比較して90分および

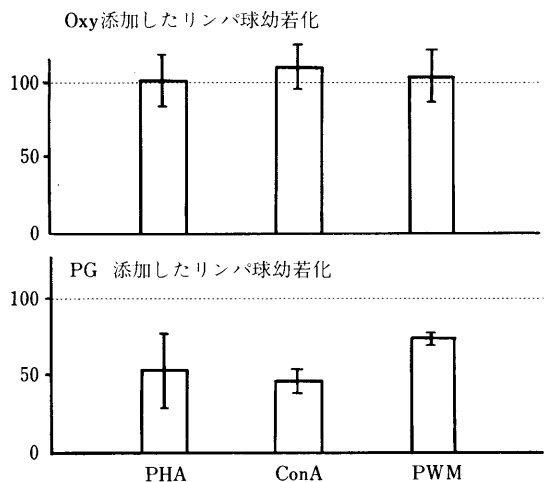


図 1 *In vitro*でのOxyおよびPGのリンパ球幼若化能 Oxy: 1.4×10^{-4} IU, PG: 5×10^{-5} mg/well

120分でのリバウンドが大きかった(表4)。

一方 *in vitro*の結果は、対照を100とした場合、Oxy添加した群ではPHA: 101.2±18.8, ConA: 110.2±15.5, PWM: 102.0±17.1となり、対照とほぼ同値であった。これに対して、PG添加した群ではPHA: 53.2±23.5, ConA: 47.6±6.23, PWM: 75.4

±3.97 となり、全てが有意に低下した(図1)。また対照に対する抑制率は、PG 添加群では PHA: 46.8%, ConA: 52.4%, PWM: 24.6% となり、有意に大きかった。

考 察

in vivo の成績から Oxy および PG 群のリンパ球数はともに減少する傾向がみられた。またリンパ球幼若化反応は、Oxy 群では全検査期間において緩徐に低下し、また PG 群では投与後 30 分に著明に低下した。このことは本 2 剤に免疫抑制効果があることを意味するので、本実験では *in vitro* での効果についても検討した。その結果 *in vitro* でも、PG はリンパ球幼若化反応を低下させるような免疫システムに介入する直接的抑制作用を持つことが推測された。しかし、Oxy は *in vitro* ではリンパ球幼若化能を低下させなかったことから、強い免疫抑制効果をもつコーチゾンを放出する副腎などの免疫抑制因子の放出源を刺激、もしくは活性化して間接的に抑制することが示唆された。しかしこれらの作用機序についての報告は、必ずしも一致していない。一般に、産褥期におけるリンパ球の mitogen に対する反応性は非妊娠期に比較して低下するとされている¹⁻³⁾。その機序として、T 細胞活性を抑える blocking effect を有す妊娠家畜の血清、コーチゾン、プロジェステロン、エストロゲンなどの母体由来のステロイドホルモン、 α -fetoprotein などの胎子由来蛋白、hCG, hPL などの胎盤由来のステロイドおよび蛋白ホルモン、その他由来不明の蛋白やフィブリノイドの存在が妊娠母体内での免疫抑制因子として示唆されている⁴⁾。Oxy と PG が他の蛋白やホルモンなどと相乗的および相加的に作用し、結果的に免疫抑制を誘導すると考える。一方、非妊娠系未経産豚へ Oxy および PG を投与した場合でも、本研究と同様にリンパ球幼若化反応は低下し、その低下の程度は妊娠豚に比較して小さかった(データ未添付)。また母豚でも分娩直後から 1~2 週目の方がリンパ球幼若化の応答能は、さらに低下する傾向が得られている(日豚学会発表, 1990, 10)。

以上の成績をまとめると、① Oxy 群、PG 群ともにリンパ球数の減少がみられ、② Oxy 群においては投与後常に緩徐なリンパ球幼若化反応の抑制、PG 群においては投与後 30 分に著明な抑制がみられた。このように、妊娠期において通常免疫能が低下するにもかかわらず、本 2 剤は分娩誘起のため、また分娩中の難産の介助として使用されている^{10,11)}。したがって本 2 剤が免疫応答能

に緩徐な抑制、一過性の抑制を惹起する作用を有することを認知した上で使用されるべきであると考えられる。

人医学面では、これらの内分泌の動向、生理学的機能、またそれらが及ぼす免疫学的影響については若干の報告はあるが、少ない報告の中でもその成績は一定の傾向は得られていない^{2,3,13)}。一方、豚においては、子宮筋に対する効果などの報告¹⁴⁾はあるが、免疫能に関連したものは見当たらない。よって、本研究はこれらの免疫学的動態を解明する基礎的な実験のひとつであり、ここから得られた結果はきわめて興味深い。今後 Oxy および PG の *in vitro* での免疫学的機能と臨床像、さらに種々のホルモンの動態などを対比し検討することによって、妊娠中や産褥期における生理学的、および免疫学的機序が一層明らかになるものと考えられる。

謝 辞

稿を終るにあたり研究に協力していただきました鹿児島大学浜名克己教授、さらに prostaglandin F_{2a} の提供をいただきました日本アップジョン株式会社および住友製薬株式会社に深謝致します。

文 献

- 1) 石川 潤: ふおーなす, 8, 1-5, 1989.
- 2) 大野雅弘: 臨床医, 9, 25-27, 1983.
- 3) 竹内正七・大野雅弘: 臨床医, 9, 22-24, 1983.
- 4) ROITT, I., BROSTOFF, J., and MALE, D.: 免疫学イラストレイテッド(多田富雄監訳), 288-289, 南江堂, 東京, 1986.
- 5) 山本尚三・鹿取 信・神前五郎・腰原康子・清水孝雄・大熊 稔・多田道彦・広瀬隆士・石沢光郎・東島利夫・坂本正一: 臨床科学, 17, 966-1088, 1981.
- 6) 伊林富男: 獣医界 131, 45-52, 1989.
- 7) 田浦保穂・浜名克己: 家畜繁殖誌, 24, 64, 1978.
- 8) 大橋秀法: 獣医薬理学, 143-146, 文永堂, 東京, 1985.
- 9) 森 純一・市川茂孝: 獣医薬理学, 203-213, 文永堂, 東京, 1985.
- 10) 木下勝之・佐藤和雄・坂本正一: 臨床医, 9, 124-128, 1983.
- 11) 星 修三・山内 亮: 家畜臨床繁殖学(新版), 143-144, 189-199, 朝倉書店, 東京, 1988.
- 12) 岡部龍也・土屋達行: 細胞性免疫機能検査のすべて(月刊 Medical Technology 編), 162-170, 医歯薬出版, 東京, 1988.
- 13) 矢内原巧: 臨床医, 9, 7-11, 1983.
- 14) CORT, N., EINARSSON, S., and VIRING, S.: Am. J. Vet. Res. 40, 430-432. 1979.

IMPAIRMENT OF MITOGEN-INDUCED BLASTOGENETIC RESPONSES
OF LYMPHOCYTES OF POST-WEANING SOWS TREATED WITH
OXYTOCIN AND PROSTAGLANDIN F_{2α}

Yasuho TAURA, Tsukasa TERAZONO*, Mitsuhiro TAKAGI*, Wakae YOSHIKAWA*,
Iwao SAKONJUH* and Hisami MATSUMOTO**

Department of Veterinary Medicine, Yamaguchi
University, Yamaguchi-shi, 753

* Department of Veterinary Medicine, Kagoshima
University, Kagoshima-shi, 890

** Minami Nihon Chikusan Co. Ltd. Ei-cho, Kagoshima, 891-07

The tests on blastogenesis using phytohemagglutinin, pokeweed mitogen and concanavalin-A were conducted with peripheral blood lymphocytes (PBL) obtained from sows treated with oxytocin and prostaglandin F_{2α} (PG). The results at 0, 30, 60, 90 and 120 minutes were comparatively examined. Six healthy post-weaning sows each weighing between 195 and 300 kg were treated with single intravenous injection of 25 IU of oxytocin and 10 mg of PG.

The results revealed that the sows treated with oxytocin or PG showed significantly lower mitogenic responses of PBL to three mitogens *in vivo* than those not treated. The results of the *in vitro* study revealed that direct addition of PG or oxytocin and mitogen to the PBL of intact sows caused significant impairment of blastogenetic responses of lymphocytes of sows treated with PG in comparison with those treated with oxytocin.

Jpn. J. Swine Science, 28, 1 : 1-5

Key words : blastogenesis of lymphocytes, mitogen, oxytocin, prostaglandin F_{2α}, sows