

周産期乳牛における非特異的感染防御機構の一側面

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	永幡, 肇
巻/号	43巻2号
掲載ページ	p. 71-74
発行年月	1990年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



周産期乳牛における非特異的感染防御機構の一側面

永 幡 肇*

(平成2年1月26日受理)

乳牛の周産期、とくに分娩後1カ月以内は臨床型乳房炎の発生率も高く、乳房炎による経済的損失は甚大であり、泌乳牛の健康管理上最も重要な時期である。また、周産期は種々の病原体に対する生体の抵抗性の減弱、いわゆる感染防御能の低下が示唆されている時期でもあり、とくに衛生管理に注意が必要である^{10, 12, 15, 27}。大腸菌性乳房炎の1実験系において、大腸菌を用いて生体を攻撃した場合、分娩直後の牛には急性の大腸菌性乳房炎の発症がみられるが、泌乳期・乾乳期牛には臨床型乳房炎の発症は見られないことから、明らかにこの時期(周産期)の生体側の要因が大きく宿主の抵抗性に関与しているものと考えられている^{7-10, 11, 12, 15, 16, 27}。生体の抵抗性を問題とする場合、その範囲は広く多義にわたっているが、なかでも生体防御に重要な役割を演じている免疫担当細胞、とくに好中球およびリンパ球の機能が重要である。そこで、周産期でとくに問題となる乳房炎発生との関連において、初期の感染防御に重要な役割を演じている好中球の機能を中心に、1. 生体防御(概要)、2-1. 好中球の一般的機能、2-2. リンパ球の一般的機能、3. 牛好中球機能、4. 牛リンパ球機能、および、5. 乳腺内の牛好中球機能についてその概要をまとめた。

1. 生体防御(概要)

生体防御の第一線は、外来の異物に対して反応するリゾチーム、トランスフェリン、リジンなどの非特異的体液性因子であり、次に好中球の集合・貪食・殺菌作用による細胞性反応が起こり、補体やインターフェロンとともに感染防御能に重要な役割を演じている。これらの非特異的バリアーは、ついで異物処理マクロファージの集合・貪食・殺菌作用とともにマクロファージを介してTおよびBリンパ球へ抗原情報が伝達され、免疫成立と免疫反応の発現が起こり、病原寄生体の感染や腫瘍細胞の発現などに対する宿主の生体防御機構が展開される。

2-1. 好中球の一般的機能

好中球は走化・貪食・殺菌という一連の反応により、

病原微生物の生体内侵入に対する防御機構の上で重要な役割を演じている。好中球機能に関与しているものに補体、免疫グロブリンを始めとして、炎症の場で産生される諸物質がある。

1) 走化能：好中球の運動は、走化因子の濃度勾配に逆らって方向性を持って移動する走化性と、方向性がなく自由に運動する随意運動(ランダム運動)に大別されるが、好中球の走化因子に対する質的な反応性は種によって異なっていることが報告されている。牛好中球の走化能に関してGRAYら⁵⁾やCARROLLら²⁾は、チモザン処理血清に対しては走化活性を示すが、ヒト好中球の走化因子である合成ペプチド(f-MLP)や大腸菌などの細菌培養濾液に対しては見られないことから、牛好中球の走化因子に対する反応性は他種の動物と異なっていることを報告している。CRAVEN³⁾は牛好中球に対する走化因子の影響を調べ、チモザン処理血清、ロイコトリエンB4(アラキドン酸代謝産物)に走化活性を示すが、種々の細菌産物、合成ペプチド、カゼイン、血小板凝集因子には走化性を示さないとしている。著者ら¹⁹⁾もチモザン処理血清に対しては走化活性を認めたが、合成ペプチドに対しては牛好中球の走化活性は認められなかった。

2) 貪食能：貪食の過程は、異物への接近、接着と認知、細胞内への情報伝達と細胞膜の活性化、細胞膜の陥入、貪食空胞形成、リソゾームとの融合、空胞内消化、開口放出の一連の経過で進行する(天野¹⁾)。オプソニン¹⁾は好中球が細菌を貪食しやすくする働きを持っており、耐熱性の抗体(IgG, IgM)と易熱性の補体成分(C3b, C5)が主な役割を持っている。

3) 殺菌能：食細胞が菌を貪食し、殺菌・消化する過程は、生体防御の上で重要な機能である。この過程での殺菌は、酸素に依存する殺菌系と酸素に依存しない殺菌系に大別される。酸素に依存する殺菌には、a) NADPH オキシダーゼ系のみで可能な殺菌(O_2^- , H_2O_2 , $OH\cdot$, 1O_2)、b) ミエロオキシダーゼの関与する殺菌(ハロゲン化、酸化、一重項酸素生成)、c) ラクトフェリンの関与する殺菌(ヒドロキシラジカル、一重項酸素)が関与し、いっぽう、酸素に依存しない殺菌には、

* HAJIME NAGAHATA; 酪農学園大学酪農学部(北海道江別市文京台緑町582-1)

酸, リゾチーム, ラクトフェリン, 塩基性蛋白質等が関与している²⁰。食細胞が異物と接触することにより酸素吸収が増大するとともに, 膜中の NADPH 酸化酵素により酸素分子が一電子還元を受け, O_2^- (スーパーオキシドラジカル) に変換される。 O_2^- は H_2O_2 (過酸化水素) に変換され, また, これらの分子から $OH\cdot$ (ヒドロキシラジカル) や一重項酸素 (1O_2) などが生ずる。これらの活性酸素は殺菌や細胞傷害作用に大きく関与している。ヒトの遺伝疾患で易感染性を示す慢性肉芽腫症 (CGD) 患者の食細胞では, 活性酸素が生成されない。また, 細胞内寄生細菌感染症を起こす結核菌などでは, O_2^- や H_2O_2 を分解する酵素を保有している。食細胞の機能 (走化・貪食・殺菌) に異常があると, 多くの場合, 反復感染症がみられ, 感染像の特徴として易感染性, 難治性で重症傾向および病原性の弱い細菌に対する感染が存在する。牛好中球の機能異常として報告されている例として, Chediak-Higashi 症候群や顆粒球機能不全症などがある。Chediak-Higashi 症候群では好中球の貪食能はほぼ正常であるが, 走化能低下等の遊走障害, 殺菌能低下や脱顆粒障害を伴い, 白血球内巨大顆粒があり, 本症は部分的白子症および易感染性を呈する常染色体劣性遺伝である。顆粒球機能不全症は好中球の遊走能, 貪食能, 殺菌能の各機能が著明に低下している疾患であり, 臨床的には口内炎, 粘膜潰瘍, 肺炎などを主徴とし, 好中球の異常増多 ($5 \sim 11 \times 10^4 / \mu l$) を伴っているのが特徴である¹⁷。以上の好中球機能におよぼす要因の概要をまとめると表 1 のとおりである。

2-2. リンパ球の一般的機能

マクロファージによる異物処理を経た抗原物質は, 抗原提示細胞または補助細胞の助けを借りて, リンパ球へ抗原刺激として伝達される。リンパ球が抗原刺激を受け取り分裂・分化し, 抗体や感作リンパ球が産生される段階, すなわち, 免疫応答に関与する細胞を大きく分けると, (1) 抗原提示細胞または補助細胞, (2) 免疫応答を調節する調節性 T 細胞, (3) キラー T 細胞やリンホカ

イン産生型 T 細胞など, 感作リンパ球に分化する T 細胞, (4) 抗体産生細胞へと分化する B 細胞に分けられる。リンパ球機能の測定として, T-B-リンパ球の構成比, 抗原や非特異的マイトジェンに対するリンパ球幼若化能, B-リンパ球の抗体産生能等について調べられている¹⁸。

3. 牛乳房炎と好中球機能

乳房炎との関連で知見を要約すると, 次のとおりである。McDONALD と ANDERSON¹⁴ は, 乾乳期中の牛乳房に実験的に *Escherichia coli* を接種して乳房炎の発症実験を行った結果, 乾乳期前半の牛では 34 分房のうち 32% が感染したが, いずれの分房も治療なしで治癒し, 乳房炎の臨床症状は見られず, また分娩前 30 日間では 42 接種分房の 88% が感染し 23 感染分房が治癒したが, 14 分房は分娩後も乳房炎を持続し, さらにこの時期のものには甚急性毒素原性の乳房炎症状を呈したのもあったと報告している。多くの牛群において, 分娩後 2 週以内で高率に大腸菌性乳房炎の発症が見られるが, この原因として McDONALD と ANDERSON¹⁴ は, 乳中のラクトフェリン濃度の分娩直前の減少, クエン酸濃度の上昇 (クエン酸はラクトフェリンの鉄-結合性を干渉することにより細菌が鉄を利用しやすくなると細菌増殖を助長する), さらに泌乳中, 後期のそれに比べて, 泌乳初期では好中球の機能活性が低いことなどが, 泌乳初期に甚急性大腸菌性乳房炎が高率に発生することと関連しているかもしれないと考えている。FROST と BROOKER⁹ は, 分娩直後の甚急性大腸菌性乳房炎の 5 例につき病理組織学的検索を加えたところ, いずれの感染分房にも好中球の浸潤はほとんど見られず, 主病変は乳腺組織の重度の傷害であったと報告しており, 本病の重症度は泌乳中期にみられるような炎症反応が存在しないことによるものと考えている。HILL ら¹⁰, HILL⁷ は, 泌乳中期での実験感染では乳腺への白血球の迅速なる遊走をともなった炎症反応が認められるが, 分娩直後の牛では白血球増多症は起こらず, 結果として極度の病状に進展するものと考えている。すなわち, 好中球の乳腺内への遊走に遅延が認められるとしている。泌乳中期牛で見られた炎症反応に比べて, 分娩直後牛では炎症反応がみられない理由の説明は困難であるが, 明らかに細菌の増殖を阻止しえないことが本病の重症度をもたらしているものと考えている。細菌侵入に対して乳腺 (生体) が反応しない理由について, さらに検討していくことが必要であるとしている。GUNNINK⁶ は, 好中球の走化能と胎盤停滞との関係を調べ, 後産停滞牛は好中球の走化活性が強く抑制されていることを報告している。分娩時に過肥であった牛は, その後, 脂肪肝となり, 泌乳初期の乳房炎発生が多いことが臨床的に知られているが, この原因として *in vitro*

表 1 好中球機能に影響をおよぼす要因

個体的要因
ストレス (分娩, 泌乳, 輸送, 暑熱, アンモニア等)
栄養 (ビタミン-A, E, C, セレニウム)
薬物 (副腎皮質ホルモン, 抗生物質, プロスタグランジン, DHP)
ホルモン (コルチゾール, プロゲステロン, エストラジオール)
感染 (ウイルス-BVD, IBR, P3, 細菌)
炎症 (炎症産物)
好中球機能不全… (Chediak-Higashi 症候群, ウシ顆粒球機能不全症)

での実験において遊離脂肪酸が増加すると、好中球の走化性が減少することが報告されていることから、これらの物質が生体防御機構の抑制に関与している可能性を示唆している (HILL ら⁹⁾). KELLEY¹³⁾ は、ストレスを軽減させることは群健康管理の基本であると述べ、環境ストレスは直接に宿主の抵抗性を変えており、これに起因した免疫機能の変化は病気に対する宿主感受性の変化を起こすことを指摘している。ROTH と KAEBERLE²²⁾ は、牛へのデキサメサゾン 1 回投与 (0.058 ~ 0.088 mg/kg) 後の好中球機能を調べた結果、ランダム運動の増強はみられるが、ブドウ球菌に対する貪食能、NBT 還元能、化学発光反応、ヨード化および抗体依存・細胞媒介細胞傷害活性はいずれも抑制されることより、デキサメサゾン投与による好中球機能の低下は、これと関連した易感染性を一部裏付けている。WEBB と ROTH²⁶⁾ は、グルココルチコイド投与による好中球機能について調べ、牛へのデキサメサゾン投与は *in vitro* 好中球の酸化代謝、ヨード化、抗体依存・細胞媒介細胞傷害活性やランダム運動の変化を招くことを報告し、グルココルチコイドは好中球の酸化代謝を、アラキドン酸代謝のリポオキシゲナーゼ産物の低形成により阻止するが、好中球のランダム運動や抗体依存・細胞媒介細胞傷害活性は、アラキドン酸代謝とは関係しない機構により変化させることを示唆している。著者ら (1987) は、周産期乳牛 10 頭の分娩前後における走化能および血液中コルチゾール濃度を測定した。好中球の走化性は分娩時に低く、分娩前後 3 週の値に比較して有意差を認めた。分娩時のランダム運動は、分娩前および分娩後のそれに比較して低下していたが、有意差は認められなかった。走化指数は分娩時で有意に低値であった。周産期牛の血液中コルチゾール濃度は、分娩前 2 週の値 (15.2 ± 6.32 ng/ml) より上昇し、分娩日 (42.3 ± 30.4 ng/ml) に著明に増加して、分娩後 3 週値との間に有意差を認めた。分娩時に走化能が有意に低下していることが認められたことから、宿主の感染防御において宿主抵抗性を減弱させている一因になっているものと考えられる (NAGAHATA ら¹⁵⁾). また、この原因の一つとして分娩ストレスとの関係で、コルチゾールによる好中球機能の抑制と関連しているものと推察した。周産期は種々のストレス負荷により、生体防御能が低下していることから易感染性を呈するものと推察される。乳房炎との関係においては、乳腺内の特殊環境もあわせて考慮する必要がある。

4. 牛のリンパ球機能

分娩後にはリンパ球の幼若化能の低下が認められている (WELL ら²⁷⁾). リンパ球の抗体産生能について調べたところ、分娩から分娩後 1 週以内の抗体産生能は、分娩前後 3 週のそれに比較して有意に低下していることを

認めた (永幡¹⁶⁾). ROTH ら²³⁾ は、牛への ACTH 投与により上昇したコルチゾール濃度は、リンパ球や好中球機能を抑制するとし、これにより宿主の抵抗性を減弱しているものと考えている。PRUETT ら²¹⁾ も、デキサメサゾン投与の牛免疫系への影響を検討し、リンパ球機能の抑制を報告している。KEHRLI ら¹¹⁾ は周産期牛 8 頭のリンパ球の Con A および PHA による芽球化転換は、分娩前それぞれ 3 週および 2 週に増加するが、分娩後 1 週以内では著しく抑制されていると報告している。

5. 乳腺内の牛好中球機能

乳腺の液性ならびに細胞性の防御機構は、感染防御のうえで重要な役割を演じている。侵入病原体のオプソニン化は、乳汁分泌中の免疫グロブリンの最も重要な役割と考えられている。細菌は補体や抗体によりオプソニン化されることにより、食作用をより容易に受ける。初乳には高濃度の γ -グロブリン、種々の抗菌性物質や白血球が多く含まれているが、この時期の乳房炎発生率は高い。このことは、分娩時には乳腺内において何らかの遮断機構の存在が考えられている。乳腺の感染防御能は抗生物質や衛生環境のみで置き換えることはできない。とくに分娩前後には十分注意を払う必要がある (TARGOWSKI²⁵⁾). HILL ら⁹⁾ は、分娩直後の牛において重度の乳房炎が発生する理由として、乳腺内での好中球の運動性の遅延や、欠除に関係しているようにみられると述べている。また、乳汁中の好中球の貪食能や殺菌活性が低いのは、好中球が脂肪球やカゼインを取り込んでいることに起因している (RUSSELL ら²⁴⁾). 乳汁中のオプソニン活性がきわめて低いことも、局所の感染防御には十分でなく、乳房炎発症に関連していると考えられている (TARGOWSKI²⁵⁾).

6. おわりに

牛の周産期における非特異的感染防御能を、好中球およびリンパ球の機能面から概括すると以下のとおりである。1) 好中球機能、とくに走化能が低下している。2) リンパ球機能も分娩後では低下しており、とくに幼若化能や抗体産生能の低下が見られることから、細胞性、液性免疫能ともに低下している。3) 後産停滞牛の好中球は走化能が低下している。4) 好中球機能には個体差、分娩ストレスや遺伝的要因などが関与している。5) 分娩後は特に子宮内膜炎など好中球の動員先として主に子宮等があり、炎症刺激に素早く反応しているかどうかが重要である。6) 各種ストレスとの関係で、血液中コルチゾールの上昇により、好中球、リンパ球機能を抑制しているものと考えられる。7) 好中球機能を抑制している機構として、アラキドン酸代謝の低下や血液中の遊離脂肪酸 (脂肪肝で問題) などが考えら

れている。8) 乳汁中の好中球は乳腺内で、すでに脂肪球やカゼインを取り込んでいるため、血液中のそれに比較して著しく機能が低下している。9) 乳汁中のオプソニン活性(抗体成分, 補体)は、血液中のそれに比較して著しく低い。

以上より、周産期における乳牛の感染防御能の特質を考え、この時期の疾病予防対策ならびに疾病への理解が重要であろう。また、この時期の生体感染防御能を増強する免疫薬剤の開発も望まれる。

本稿の内容は家畜診療技術講習会(北海道江別, 1988, 9, 8)での報告をまとめたものである。ご校閲をいただいた、酪農学園大学の野田 寛教授ならびに小池寿男教授に謝意を表します。

引用文献

- 1) 天野富美夫: 臨床免疫, 14, 925~939 (1982).
- 2) CARROLL, E. J., MUELLER, R. and PANICO, L.: *Am. J. Vet. Res.*, 43, 1661~1664 (1982).
- 3) CRAVEN, N.: *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 9, 29~36 (1986).
- 4) FROST, A. J. and BROOKER, B. E.: *Aust. Vet. J.*, 63, 327~331 (1986).
- 5) GRAY, G. D., KNIGHT, K. A., NELSON, R. D., et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 43, 757~759 (1982).
- 6) GUNNINK, J. W.: *Vet. Quarterly*, 6, 49~57 (1984).
- 7) HILL, A. W.: *Res. Vet. Sci.*, 31, 107~112 (1981).
- 8) HILL, A. W.: *Kieler Milch. Forsch.*, 37, 571~574 (1985).
- 9) HILL, A. W., REID, I. M. and COLLINS, R. A.: *Vet. Rec.*, 117, 549~551 (1985).
- 10) HILL, A. W., SHEARS, A. L. and HIBBITT, K. G.: *Res. Vet. Sci.*, 26, 97~101 (1979).
- 11) KEHRLI, E. K. Jr., NONNECKE, B. J. and ROTH, J. A.: *Am. J. Vet. Res.*, 50, 207~214 (1989).
- 12) KEHRLI, E. K. Jr., NONNECKE, B. J. and ROTH, J. A.: *Am. J. Vet. Res.*, 50, 215~220 (1989).
- 13) KELLEY, K. W.: *Ann. Rech. Vet.*, 11, 445~478 (1980).
- 14) McDONALD, J. S. and ANDERSON, A. J.: *Am. J. Vet. Res.*, 42, 229~231 (1981).
- 15) NAGAHATA, H., MAKINO, S., TAKEDA, S., et al.: *J. Vet. Med. B.*, 35, 747~751 (1989).
- 16) 永幡 肇, 野田 寛, 小池寿男: 医学と生物学, 118, 13~15 (1989).
- 17) NAGAHATA, H., NODA, H., TAKAHASHI, K., et al.: *J. Vet. Med. A.*, 34, 445~451 (1987).
- 18) 永幡 肇, 小沼 操: 牛病学, 第2版, 162~168, 清水, 稲葉, 小沼ほか編, 近代出版, 東京 (1988).
- 19) 永幡 肇, 山中 旭, 野田 寛: 日獣会誌, 40, 838~841 (1987).
- 20) 中村三千男, 水上茂樹: 臨床免疫, 14, 940~950 (1982).
- 21) PRUETT, J. H., FISHER, W. F. and DELOACH, J. R.: *Vet. Res. Commun.*, 11, 305~323 (1987).
- 22) ROTH, J. A. and KAEBERLE, M. J.: *Infect. Immun.*, 33, 434~441 (1981).
- 23) ROTH, J. A., KAEBERLE, M. L. and Hsu, W. H.: *Am. J. Vet. Res.*, 43, 412~416 (1982).
- 24) RUSSELL, M. W., BROOKER, B. E. and REITER, R.: *J. Comp. Pathol.*, 87, 43~52 (1977).
- 25) TARGOWSKI, S. P.: *J. Dairy Sci.*, 66, 1781~1789 (1983).
- 26) WEBB, D. S. A. and ROTH, J. A.: *J. Leukocyte Biol.*, 41, 156~164 (1987).
- 27) WELLS, P. W., BURRELLS, C. and MARTIN, W. B.: *Clin. Exp. Immunol.*, 29, 159~161 (1977).



家畜の黄体機能を推測する上で、血中プロゲステロン濃度の測定は有力な手段です。この測定にはRIA法などいろいろな方法がありますが、測定感度、操作の煩雑さ、所要時間、特殊な施設などそれぞれに問題がありました。

これに対して「オブチェック」は、牛乳中のプロゲステロンを簡単な固相法EIA(酵素免疫法)によって約2時間で直接測定する画期的なキットです。

プロゲステロンの測定をわずか2時間に短縮。

牛乳に試薬を加えるだけでプロゲステロン値を高感度に測定して牛の妊娠診断ができます。

牛乳中プロゲステロン測定キット

オブチェック牛乳用EIAキット

体外診断用

■特長

- 検査には、採材し易い牛乳(全乳)を用います。
- 牛乳中プロゲステロンを、高感度で測定でき、再現性が高いEIAキットです。
- 操作が簡便で、短時間(約2時間)で測定できます。
- 比色計による定量測定だけでなく、目視判定ができます。
- RIA(放射免疫法)及び二抗体EIA法との相関が良好です。
- 放射性同位元素を用いないので、特殊な設備を必要としません。
- アメリカやヨーロッパではすでに牛の早期妊娠診断に広く普及しています。

お問い合わせ先▶ 営業部 統括課 ☎044-266-0400

輸入発売元

製造元

ケンブリッジ ライフ サイエンズ社

Cambridge Veterinary Sciences
a division of Cambridge Life Sciences plc



デンキ化学株式会社

神奈川県川崎市川崎区中洲3丁目19番11号 〒210