

黒毛和種繁殖雌牛の分娩前後の低栄養は出生子牛の免疫機能を低下させる

はじめに

黒毛和種繁殖牛を対象とした栄養診断では、酪農場に比べ乳成分等のモニター項目が少ないため、栄養障害が潜在化する傾向にあります。これらの問題をかかえた牛群では、空胎期間の延長、出生子牛の発育遅延、子牛上場価格の低迷、さらに母牛や出生子牛の抗病性低下に起因した死産事故や病傷事故が年間を通じて発生する傾向にあります。

出生直後の子牛は、初乳から得られる移行抗体に依存していますが、移行抗体は子牛にとって永遠に続くものではありません。そのため、初乳によって獲得した免疫効果が消滅する前に、子牛の自己免疫機能が正常に成熟し、自己免疫機能を高めることが必要です。そして、その時期は生後1カ月頃になると言われています。近年の研究結果によれば、難治性下痢子牛や虚弱子牛では、子牛自身のT細胞等の免疫担当細胞が低値で、その結果免疫機能低下が起こると報告されています。また、胎子期の発育障害と虚弱子牛の誕生との関連性を示唆する報告もあります。そこで今回は、妊娠末期の母牛栄養と子牛の免疫機能との関連性について、血液性状や免疫学的手法を用いて、その生理的変化を調査しました。

事故が多発する黒毛和種繁殖農場を対象農場とし、母牛と子牛の血液検査、子牛の免疫機能の評価するため、末梢血白血球サブポピュレーションを実施し、分娩前後の母牛栄養が出生子牛の血液性状と免疫担当細胞に及ぼす影響を調査しました。さらに、当該農場の事故低減を目的に給与飼料内容を改善し、出生子牛の免疫機能と死産・病傷事故の発生状況、繁殖成績を改善前と改善後で比較しました。

調査内容と方法

対象農場は兵庫県下の但馬系黒毛和種繁殖農場で、調査時の成牛飼養頭数は41頭でした。給与飼料については聞き取り調査し、乾物摂取量 (DM)、

可消化養分総量 (TDN)、粗蛋白量 (CP) を日本飼養標準2001年版を用いて評価し、要求量に対する充足率を算出しました。

給与飼料が母牛と出生子牛の血液成分にどの程度影響しているかを知るため、血液検査(代謝プロファイルテスト:MPT)を実施しました。母牛では、改善前20頭(妊娠末期:5頭、授乳期:11頭、維持期:4頭)、改善後は改善対策実施母牛20頭(妊娠末期:6頭、授乳期:8頭、維持期:6頭)の計2回としました。子牛は改善前14頭(30日齢以下:3頭、31~60日齢:8頭、90日齢以上:3頭)、改善後は改善対策実施母牛から出生した子牛10頭(30日齢以下:3頭、31~60日齢:3頭、90日齢以上:4頭)としました。測定項目は、血糖値(Glu)、総コレステロール(TCho)、遊離脂肪酸(FFA)、総蛋白(TP)、アルブミン(Alb)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、尿素窒素(BUN)、アルカリフォスファターゼ(ALP)、γグルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、γグロブリン(γGlob)、ビタミンA(VA)、ビタミンE(VE)です。ボディコンディションスコアは採血時に評価しました。

子牛の免疫機能を判定するためには、血液を採取し末梢血の白血球を型別に分類し、各々の白血球数を算定する白血球サブポピュレーションを行いました。この作業は、はじめに白血球数(顆粒球数、単核球数)を集計し、抗ウシCD3抗体(総Tリンパ球細胞)、抗ウシCD4抗体(ヘルパーTリンパ球細胞)、抗ウシCD8抗体(キラー、サプレッサーTリンパ球細胞)、抗ヒトCD14抗体(単球)、抗ウシWC1抗体(γδT細胞)、抗ウシMHC class II抗体(Bリンパ球・単球)を用いて分類します。対象とした子牛は、改善前子牛10頭と改善後に出生した子牛10頭、さらに、子牛4頭(40日齢以下)については、2カ月間隔で再度同様の白血球分類作業を行い、出生後の免疫機能の変動も調べました。

死産・病傷事故発生状況と繁殖成績は、改善前は前年成績を集計し、改善後の発病状況と比較しました。

飼料計算結果

母牛の改善前の飼料計算結果では、妊娠末期と授乳期の要求量に対する充足率は、DMは(妊娠末期：84%、授乳期：74%)、TDNは(妊娠末期：98%、授乳期：82%)、CPは(妊娠末期：86%、授乳期：69%)といずれの項目も100%を下回り、給与飼料は不足していました。反芻動物では第一胃でエネルギー源を産生するため、乾物摂取量を充足させることが大切です。栄養不足が事故多発の原因と考えられるため、不足していた栄養と乾物摂取量を満たすため、粗飼料と分娩前後の配合飼料を増給しました。配合飼料の増給理由は、第一胃微生物のエネルギー補充によってルーメンで生成される菌体蛋白の増加を期待しました。また、粗飼料は十分量給与するため、飽食状態となるよう一日あたり7kg以上になるよう設定し、分娩前後の2カ月間は特に徹底するよう指示しました(図1)。

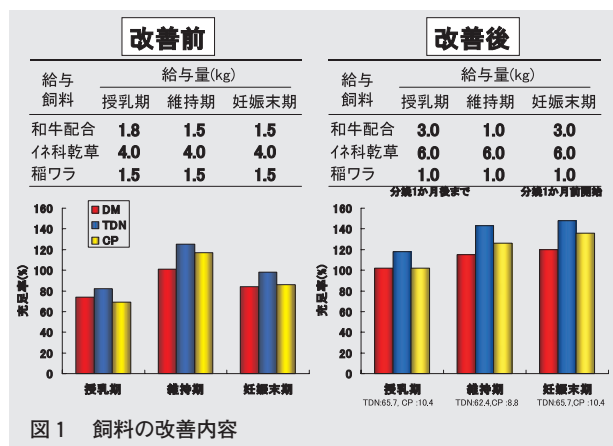


図1 飼料の改善内容

改善前後の血液性状

母牛の改善前の血液検査結果を兵庫県下の黒毛和種繁殖雌牛の基準値と比較しました。低血糖(38±6mg/dL)、低総コレステロール(92±15mg/dL)、低アルブミン(2.92±0.24g/dL)、高尿素窒素(19.4±3.6mg/dL)が観察され、分娩前後の母牛は、これらの血液性状から低エネルギー低蛋白状態があらかでした。改善後は血糖、総コレステロール、アルブミンは有意に増加し、高値を示した尿素窒素は低下しました(図2、3)。

子牛の改善前の血液検査結果も、兵庫県下の黒毛和種子牛の基準値と比較しました。低血糖(76±19

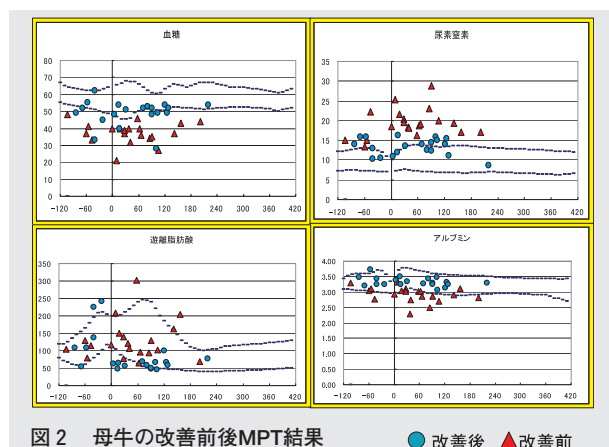


図2 母牛の改善前後MPT結果

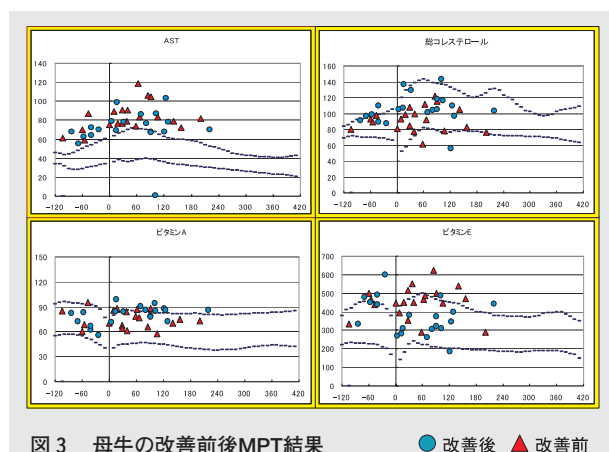
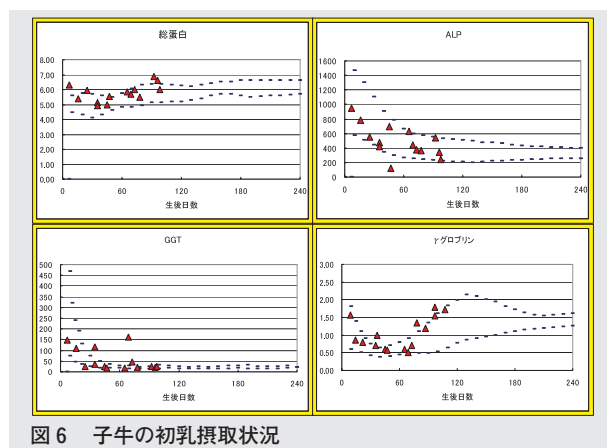
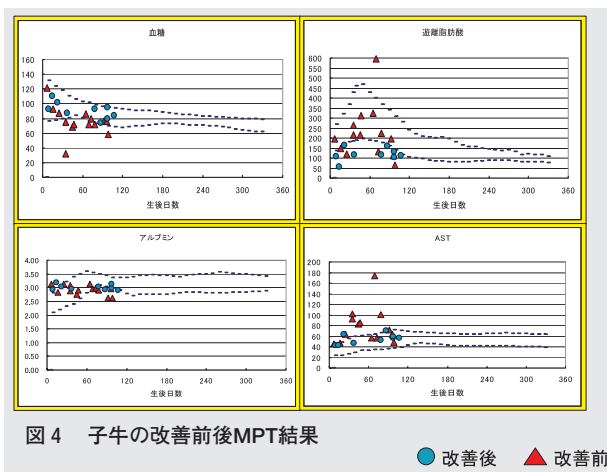


図3 母牛の改善前後MPT結果

mg/dL)、低総コレステロール(96±25mg/dL)、低アルブミン(2.92±0.16g/dL)が観察され、母牛と同様に低エネルギー低蛋白状態が観察されました。改善後では血糖、総コレステロール、アルブミン、ビタミンA、ビタミンEは上昇しました。また、改善前増加していたASTは改善後低下しました(図4、5)。

血糖値や総コレステロール値の上昇は、分娩前後の母牛への給与飼料改善によって、エネルギー源の増加を示しており、改善前の高尿素窒素は余剰窒素を示していましたが、改善後は蛋白源として有効に利用されたことから値は低下しました。改善後の血清中アルブミン量の上昇は、蛋白代謝が改善されたことを示しています。

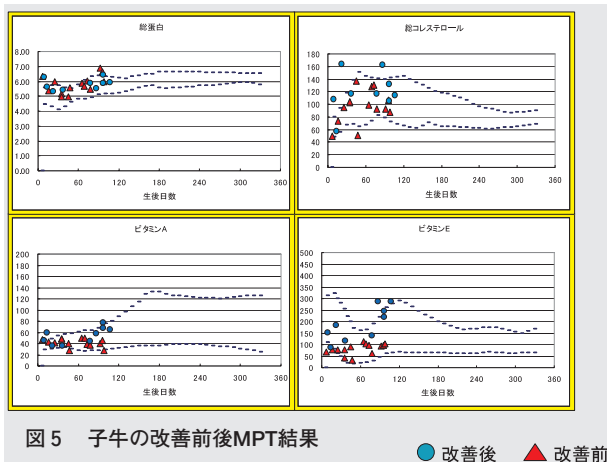
米国の研究者による興味深い研究報告があります。ホルスタイン種子牛を用いた調査ですが、妊娠末期における胎子側(胎齢250日)から母体側に対するエネルギー要求量は2,335kcal/日で、そのうち56%はアミノ酸として、33%はグルコース・酪酸として、11%は酢酸のかたちで母体側から供給されたとの報告です。黒毛和種子牛の胎子栄養についても、同じような傾向と考えて良いでしょう。すなわち、



基準値の水準を維持しており、今回供試した子牛は初乳を摂取していたと判定しました（図6）。

免疫機能検査

改善前の子牛末梢血白血球サブポピュレーションでは、当農場子牛のCD3+TcR+ ($\gamma\delta$) T細胞数は飼養管理が健全な管内の健全子牛に比べ、30日齢以下と90日齢以上の子牛で有意に細胞数が少なく、31～60日齢の子牛についても低い傾向にありました（図7）。乳用牛では周産期の発生は、末梢血単核球のT細胞数が減少し、抗病性が低下するためと報告されています。また、反芻動物のガンマデルタ ($\delta\gamma$) T細胞は、反芻動物以外の動物種に比べ細胞数が多く、牛の免疫機能に重要な役割を担っていると考えられます。したがって、この農場の出生子牛は、免疫機能に問題があることが明らかとなりました。総白血球数は改善前で顆粒球が改善後に比べ多くなっています（図8の左側上下のグラフ）。この顆粒球数の増加は、改善前の子牛ですでに肺炎や腸炎が発生しているため、増加したものと推察されます。ガンマデルタT細胞に対し、アルファベータT細胞

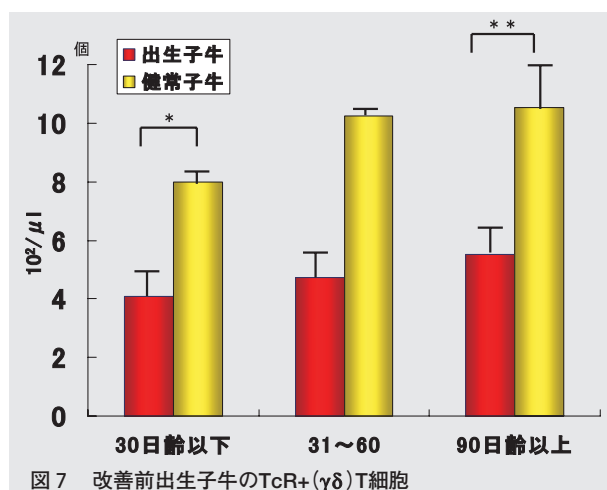


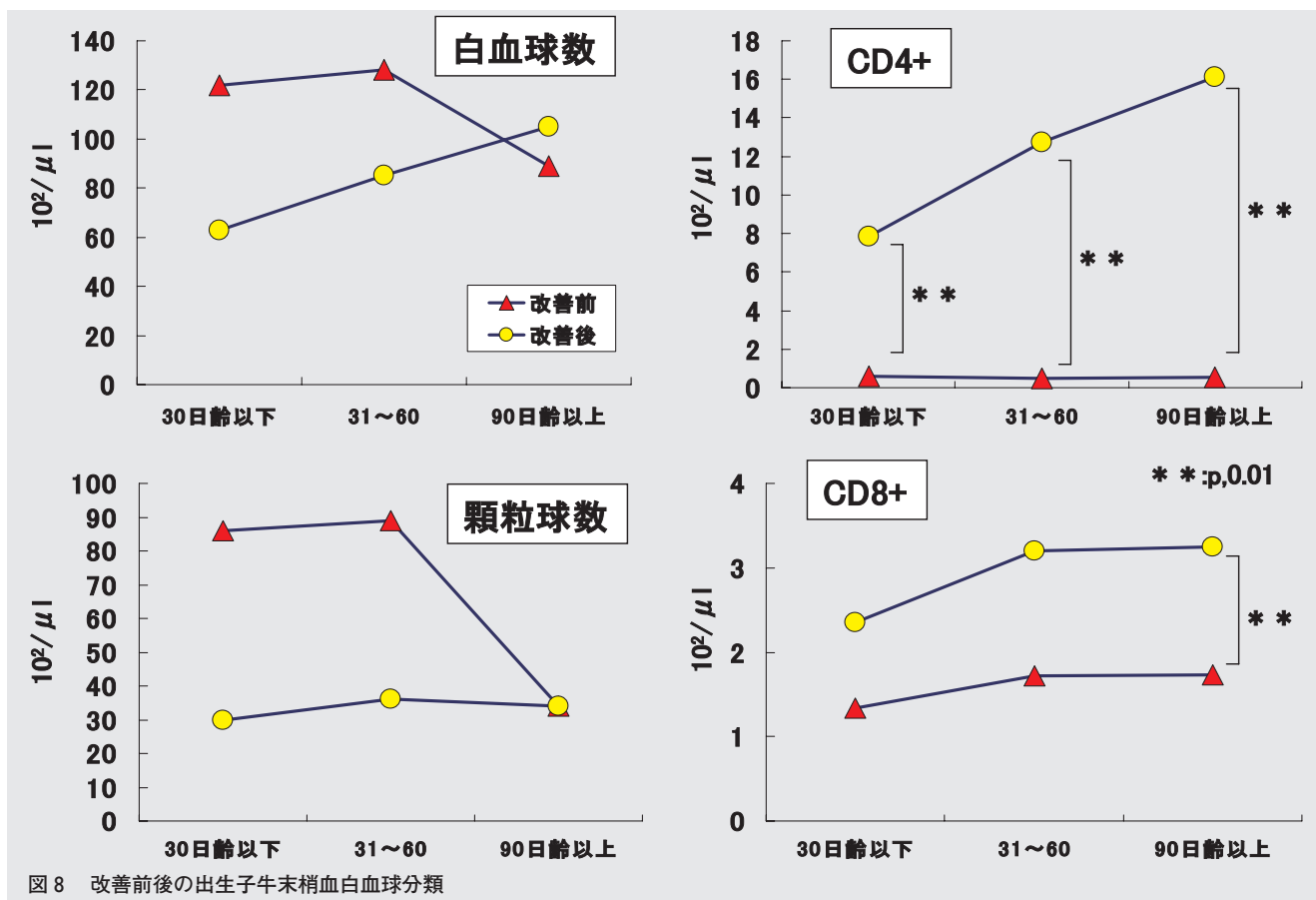
胎子の栄養要求は、アミノ酸（蛋白質は各種アミノ酸によって構成される）が主体となるため、妊娠末期における母体にとってのアミノ酸要求量は高まります。これをまかなうためには、第一胃で産生される菌体蛋白質の産生量をより一層高めることが必要となります。このように、生まれてくる子牛の栄養（特にアミノ酸）を充足させることは、元気な子牛の出生と子牛の免疫機能の成熟に繋がって行くものと思われ、妊娠末期の母牛栄養の重要性が明らかとなりました。

牛体のエネルギーの蓄積状態をスコア化したボディコンディションスコアにおいても、改善前 2.25 ± 0.29 から改善後 2.81 ± 0.30 に増加しました。

初乳摂取状況

今回の調査開始にあたって、初乳がきちんと摂取され、移行免疫が子牛に付与されていることが大前提となるため、今回供試した子牛の初乳摂取状況を確認しています。14頭の子牛について調査したところ、総蛋白が5 g/dL以上で、さらに初乳に含有されるALP、GGT、移行抗体のガンマグロブリンも





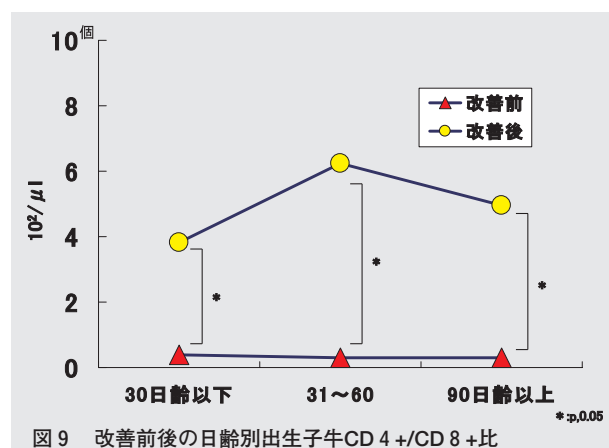
は、CD 4（ヘルパーT細胞）、CD 8（キラー、サプレッサーT細胞）に分類され、液性免疫や細胞性免疫に直接関与し、Bリンパ球の抗体産生を指令する重要な役割をもっています。ヘルパーT細胞では（図8の右側上下のグラフ）、改善前のCD 4 + T細胞数は極めて少ない状況になっていましたが、改善後はすべての日齢で有意に増加していました。CD 8 + T細胞数は、改善前に比べ改善後は増加し、90日齢以上で有意に増加しました（図8）。

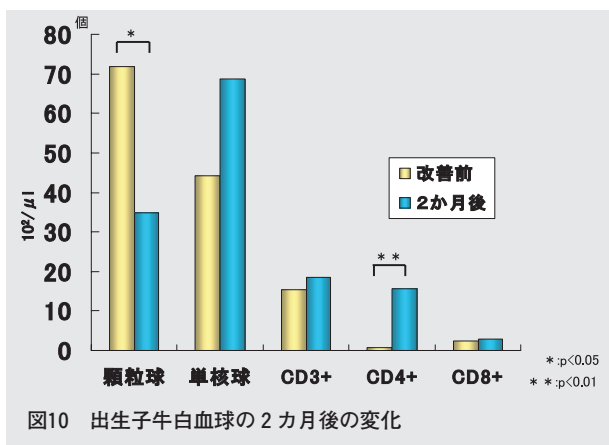
CD 4 + /CD 8 +比は、ヒトや小動物分野では、免疫不全を判定する指標として利用されています。CD 4 + /CD 8 +比では、改善前に比べ改善後はすべての日齢で有意に増加しており、分娩前後の母牛の飼料改善によって、低下していた免疫機能が向上したと考えられます（図9）。

同一子牛を用いた2カ月後の白血球分類では、顆粒球数が有意に減少し、CD 4 + T細胞数も有意に増加していました（図10）。すなわち、分娩後の給与飼料を改善することによって、低下していた子牛の免疫機能は改善されています。出生子牛の下痢を避けるため、母牛の飼料を減じる方法が聞かれますが、子牛の免疫機能の成熟を考えれば全くナンセンスと言わざるをえません。授乳期の母牛栄養も免疫

機能の成熟に大きく貢献すると思われました。

栄養素と免疫細胞の関係では、蛋白質不足等アミノ酸の不足は免疫担当細胞の分化・増殖の過程に決定的な抑制効果をもたらし、糖の不足等エネルギー不足では、免疫担当細胞の機能低下を誘発すると言われています。また、ヒトの場合、蛋白エネルギー栄養障害ではCD 4 +機能の低下、好中球や単球の貪食・殺菌能低下、液性免疫では分泌型IgA抗体の低下がみられ、ヒトでは手術後の体力回復のための栄養改善は積極的に行われています。今回の調査によれば、分娩前後の母牛の栄養障害は、出生子牛の





免疫機能の低下を誘発し、さらに出生後から90日齢以上の長期間にわたって免疫機能は低下していたことに注目する必要があります。

改善前後の死産・病傷事故の発生状況

今回の調査は、分娩前後の母牛の低栄養が出生子牛の免疫機能に悪影響を及ぼすことを免疫学的に明らかにし、改善対策の実施によって事故を低減することが目的でした。この牛群において、実際に病気や事故がどの程度発生しているか、改善前後で比較しました。比較方法は、季節による気象条件や粗飼料の条件を同じにするため、改善前の期間は前年の6月から9月に分娩した母牛12頭とその子牛12頭とし、改善後は一年後の6月から9月に分娩した母牛12頭とその子牛12頭とし、死産事故および病傷事故の発生状況を比較しました。その結果、一般疾病(下痢症や肺炎など)の発生は、改善前16件(16/12:133.3%)に対し、改善後6件(6/12:50.0%)と改善前は病気が多発していました。母牛の繁殖障害の発生は、改善前10件(10/12:83.3%)に対し、改善後7件(7/12:58.3%)と減少しました。繁殖成績については、分娩後90日以内に妊娠した頭数を比較したところ、改善前6頭(6/12:50.0%)に対し、改善後は8頭(8/12:66.7%)と受胎頭数も多くなりました。また死亡事故については、改善前は繁殖雌牛1頭と胎子と出生子牛2頭が発生しましたが、改善後の死亡事故の発生はありませんでした。

今回の調査では改善前のCD4+T細胞数は極めて低く(図8)、免疫担当細胞数は異常値となっていました。このことは、出生子牛の病傷事故が多発したことと一致しています。一方、改善後のT細胞数は有意に増加し、免疫不全の指標となるCD4+/CD8+比も増加し、死産・病傷事故は減少したものと

考えられます。なお、今回実施した妊娠末期の給与飼料の増給による難産等の発生はありませんでした。

まとめ

和牛繁殖経営の収入は子牛販売高に依存するため、初産分娩月齢、生涯分娩回数、年間分娩頭数、子牛の事故低減が畜産経営上最も重要な課題です。また幼齢期の黒毛和種子牛は、乳用種子牛に比べ免疫機能の成熟が十分でなく、病気に罹患しやすいことも知っておく必要があるでしょう。

繁殖和牛の多頭化が進む現在、栄養管理や牛舎環境、ストレス要因の排除を含めた総合的な飼養管理法が求められています。そして、疾病の発生はその家畜群に何らかの要因がすでに潜在していると考えられます。今回の結果から、出生子牛の疾病予防対策には、母牛の健康状態を含めて検討する必要があります。

様々な雑誌や専門家の講演等から、分娩前後の母牛の摂取栄養は、出生子牛の免疫機能に影響を及ぼすと言われていましたが、今回免疫学的手法による評価で明らかとなりました。

引用文献

- 1) BELL AW.,:J. Anim. Sci73, 2804-2819 (1995)
- 2) 深田恒夫、青木志保、吉川陽人ら：日獣会誌, 58, 113-116 (2005)
- 3) KIMURA K.,GOFF JP., KEHRLI ME. Jr, *et al* :J. Dairy Sci. 85, 544-550 (2002)
- 4) 松田敬一：臨床獣医,23 (2), 20-24 (2005)
- 5) OHTSUKA H., FUKUNAGA N., HARA H., *et al*. J. Vet. Med. Sci. 65, 793-796 (2003)
- 6) 大塚浩通、晴山寛子、小比類巻正幸ら：家畜臨床誌, 29, 47-52 (2006)
- 7) 大塚浩通：家畜診療, 53, 265-273 (2006)
- 8) 小形芳美、高橋浩吉、阿部浩之ら：日獣会誌, 50, 589-592 (1997)
- 9) 日本家畜臨床感染症研究会誌 2 巻 1 号 (2007)