

氏 名(本籍) きゅう 久 ま 馬 ただし 忠

学位の種類 農 学 博 士

学位記番号 農 第 361 号

学位授与年月日 平 成 元 年 3 月 9 日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

学位論文題目 黒毛和種子牛の液性免疫の発達過程と抗
病性に関する研究

論文審査委員 (主 査)

教授 勝野 正則

教授 星野 忠彦

教授 佐々木康之

論文内容要旨

近年、肉用種繁殖牛の多頭飼養現場を中心に哺乳子牛の下痢による損耗が多発するようになった。その直接の原因は各種の病原微生物の浸潤にあるが、その背景には多頭集団管理に伴う衛生状態の悪化が関与し、本質的には子牛の感染防御能が未発達であるためと推察される。

子牛は出生後、まず初乳摂取による受身免疫（母子免疫）により感染防御能を賦与され、その後能動免疫がそれに替るが、これに関する知見は従来、主に人工哺乳の乳用種子牛より得られたもので、自然哺乳で飼育される肉用種子牛についての知見は極めて乏しい。

著者は本邦の代表的な肉用種である黒毛和種の免疫機能の発達過程と抗病性の関係を明らかにするため本研究を企図し、以下のような知見を得た。

1 下痢の発生実態

まず、飼養規模や品種構成の異なるA・B2群の肉用種子牛の8週齢までの疾病の発生状況を調べたところ、何れの場合も約70%の子牛に下痢の発生が認められた。その発生パターンは群や年次によりやや異なったが、何れも子牛生産率が約70%に達した時期に多発した（図1）。下痢の発症期間は平均5日、再発症を含めた延べ発症日数は約10日であった（表1）。この下痢の初発日齢は平均18日、再発症を含めた最多発症日齢のピークは1～4週齢で（表1）、子牛はこの時期に下痢に対する抵抗性が低下するように思われた。

下痢の発生により増体は大きく低下し、治癒後もその挽回はみられず、また出生後早期の発症ほど発症期間の長期化と増体への影響は大きかった。また、下痢は初産の子牛で発生率が高く、産次が進に伴って低下する傾向が認められた。

なお、黒毛和種はヘレフォード種に比べ、致死率と再発症率は有意に高く、その発生率と初発日齢も早い傾向があった。また日本短角種は両品種の中間的な値を示し、下痢に対する抵抗性には品種間差があるように思われた。

このような下痢の発生は、哺乳初期の血清Ig濃度の低い子牛で明らかに多く、特に7日齢のIg濃度が25mg/ml以下の子牛での発生率は高く、その約85%が下痢を発生した（図2）。また、下痢の初発日齢が早い子牛ではそのIg濃度が低い傾向もみられた。これは初乳由来の血中Ig濃度が下痢発生に関与することを示している。

2 初乳摂取と初乳Igの動態

次いで、子牛の吸乳行動と初乳摂取量を把握するため、黒毛和種子牛の自然哺乳による生後24時間の行動生態と黒毛和種及び日本短角種の初乳摂取量を調べた。

黒毛和種の新生子牛は生後約55分で起立歩行し、平均87分後に吸乳を始め、24時間に平均9回吸乳した。その総吸乳時間は平均58分であった（表2）。なお、初産牛の子牛は経産牛のそれより起

立から吸乳までの時間が約40分遅延したが、全ての子牛が生後3時間以内に吸乳することが出来た。これは自然哺乳の黒毛和種子牛はIgの吸収能力の旺盛な時期に初乳を摂取し始めることを示している。

その初回の吸乳による摂取量は平均1.03kgで、1日齢の初乳摂取量は平均4.95kgであった(表2)。これは人工哺乳の乳用種子牛の通常の日給与量に相当する。

初乳摂取量は吸乳回数や総吸乳時間と負の相関があり、またそれはその後の哺乳量(泌乳量)と有意な正の相関が認められた。

次に、初乳中のIg濃度を調べたところ、黒毛和種の分娩直後の初乳Ig濃度は平均143mg/mlで、そのクラス組成はIgG₁80%、IgA11%で、IgMとIgG₂はそれぞれ6%、4%であった(表3)。

このIg濃度は授乳開始後、対数直線的に急速に低下した。その半減期は平均9.7時間であり、61時間で常乳のレベルに低下した(表4)。また、初乳量とそのIg濃度は初産牛に比べ経産牛で高く、初乳中へのIg分泌量は初産牛の224gから経産牛の383gへと有意に増加した(表5)。初産牛の子牛の下痢発生率が経産牛のそれより高い傾向があるのは摂取した初乳のIg量が少ないことが一因と思われる。

一方、日本短角種は黒毛無和種に比べ、分娩直後の初乳中のIg濃度は低い(118mg/ml)、初乳量は多く、Igの半減期も長い(14.4時間)、そのIg分泌量(摂取量)は約30%多いものと推定された。下痢に対する抵抗性の品種間差の一因もこのIg摂取量の相違にあると思われる。なお、乳用種の第1回搾乳時の初乳Ig濃度は55~92mg/mlと云われているが、これと比べると両品種の分娩直後の初乳Ig濃度は明らかに高いものであった。

3 初乳Igの血中への移行とその消長

次に、初乳Igの子牛血中への移行を調べた。その結果、出生直後の黒毛和種の血清にはIgG₁とIgMが極く微量検出される程度であったが、初乳摂取後4時間から12時間にかけて各クラスの濃度は速やかに上昇し、大部分の子牛は生後24時間目に最高値に達した。この最高値はIgとして平均52mg/mlであった。またそのクラス組成は初乳中のそれに近似し、Igの吸収にはクラス選択性はないように思われた。

血清Ig濃度と血漿量から算出した血中の初乳由来Igは約105gで、これは初乳からのIg摂取量の約30%に相当した。未吸収のIgの一部は直接、腸管粘膜面の防衛に当たり、また一部は消化分解されるものと思われる。

初乳摂取後24時間でピークに達した黒毛和種子牛の血清Ig濃度は、その後対数直線的に次第に低下し、12日で半減した(図3)。その半減期はクラスにより異なり、IgAが最も短く約4日、他のクラスは11~14日であった(表6)。IgAの半減期が短いことは、これが選択的に粘膜面に分泌さ

れるためと思われる。

日本短角種の初乳摂取後の血清Ig濃度の消長もこれと同様であったが（表6）、黒毛和種に比べ、Ig濃度（最高値平均60.4mg/ml）及び各クラス濃度は高い傾向にあった（図3）。これは日本短角種の初乳へのIg分泌量が多く、多量のIgが吸収されるためと思われる。

なお、人工哺乳の乳用種子牛の初乳給与後の血中Ig濃度は10mg/ml程度と云う報告が多く、これに比べ上記両品種のそれははるかに高いものであった。

4 母子免疫から能動免疫への移行

上途のように初乳から取得した血中のIgは約2週間で半減したが、その後の血中濃度の消長を黒毛和種で調べたところ、Ig及びそのクラスは4週齢に最低値を示した後、Ig及びIgG₁は12週齢から、他のクラスは8週齢から再び上昇した。これは、能動免疫の発現を意味するが、全身免疫の発達過程を明確にするため、血清抗体の主要な起源と考えられる脾臓のIg濃度と形質細胞の分布密度を調べた。

その結果、初乳摂取により上昇した脾臓組織のIgは一時低下した後、4週齢から再び上昇すること、そのクラス別の上昇時期は、IgG₂は2週齢、IgG₁、IgMは共に8週齢であるが、IgAは52週齢まで常に低値を維持すること、また形質細胞は2週齢に出現し、4週齢以降顕著に増加することを知られた（図4）。このことは血中Igの上昇に先立ち脾臓ではIg産出が開始されていることを示している。

次に、消化管の局所免疫の発達過程を知るため、唾液腺、唾液、腸管組織、腸内容物のIg濃度や形質細胞数を調べた。その結果、唾液腺（下顎腺）では、2週齢から形質細胞が出現し、その数は4週齢には著増し、以後52週齢まで増加した。また下顎腺組織中のIg濃度及び混合唾液中のIg濃度も4週齢から52週齢まで顕著な増加を示した。なお、耳下腺ではこの様なIg濃度や形質細胞の増加は認められなかった（図5）。

腸管組織では形質細胞、Ig濃度共に4週齢から52週齢まで明らかに上昇した（図6）。この形質細胞、Ig濃度は、共に空腸で最も高く、次いで十二指腸、回腸の順で、腸管内容物中のIg濃度の分布もこれと同様であった。これに比べ、第四胃や大腸の組織や内容物のIg濃度は常に低く、腸管内容物のIgの多くは小腸で分泌され下部消化管で分解されるものと考えられた。

上述のように唾液腺や腸管組織とそれらの分泌液や内容物のIgは4週齢から上昇したが、それはIgAの優占した増加によるものであった。また、形質細胞数と組織のIgA濃度の間、また組織中のIgA濃度と分泌液や内容物のIgA濃度の間には有意な正の相関が認められた。

以上のことは、自然哺乳の黒毛和種は初乳によって取得した母子免疫が低下した後、4週齢頃から形質細胞が顕著に増加し、脾臓では主にIgG、唾液腺と腸管では主にIgAの産生と分泌が始り、

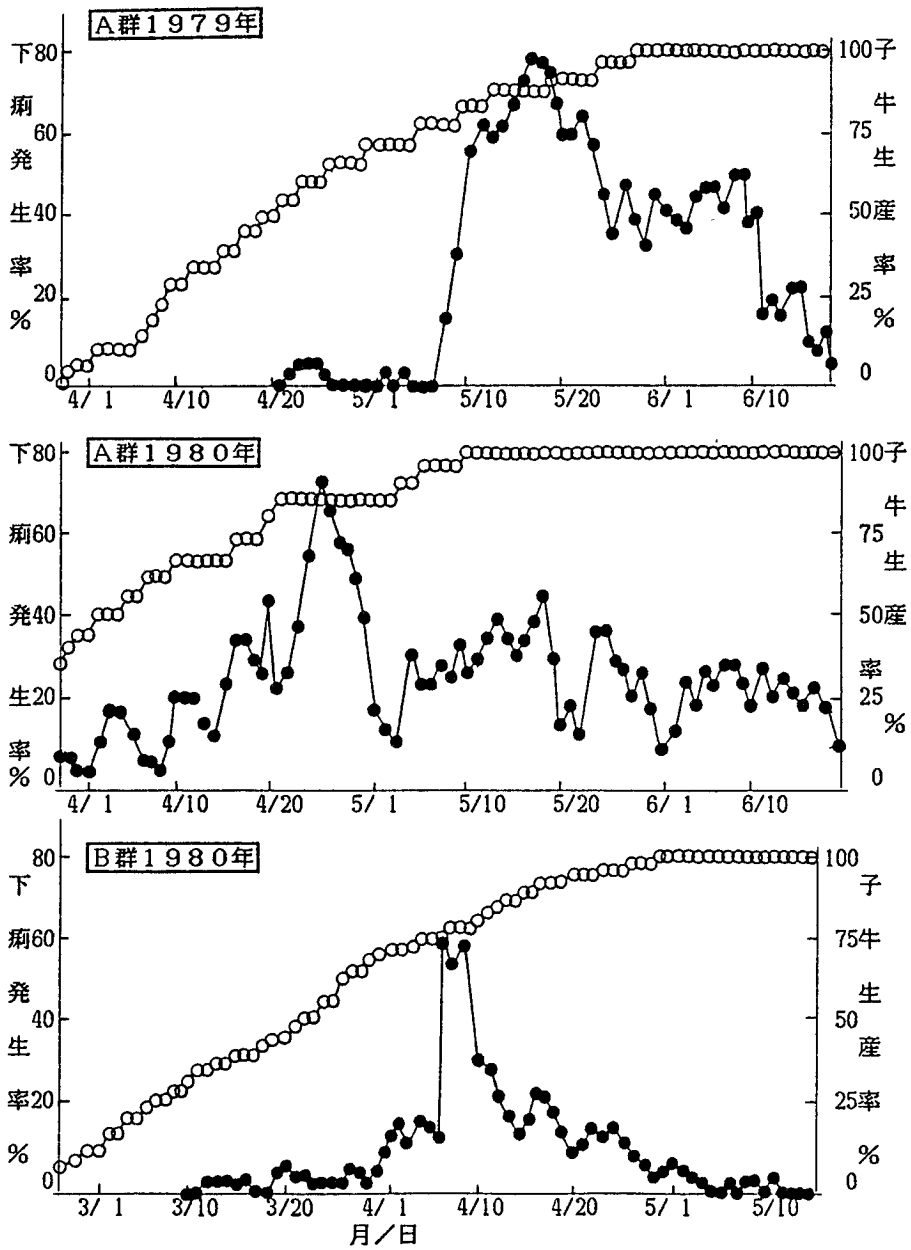
その発達は少なくとも52週齢頃まで継続することを示している。

図7はその消長を模式化したもので、全身、局所の液性免疫は母子免疫から能動免疫への移行期に低下することを示し、前述の下痢の多発時期はこの移行期、特に局所免疫のそれとほぼ一致している。

5 下痢と液性免疫との関係

子牛の下痢の原因は多様であるが、病原微生物の全身感染の一環として、或いは腸管局所の感染の結果として起こることが多い。本研究に供試した肉用種子牛の下痢の多くもこの何れかによるものと推測される。そして、前者については全身免疫が、後者については腸管粘膜の局所免疫がその防衛を担うといわれている。

著者はこの免疫の消長を自然哺乳の黒毛和種子牛について調べ、上述のような成績を得たが、これは主として血清Igの消長から従来、乳用種で推察されていたこととほぼ一致し、子牛は品種、哺乳方法を問わず母子免疫と能動免疫の移行期に全身及び局所的抵抗性が低下することを示している。そして、この移行期の衛生対策が子牛の多発疾病の防除に重要であることを示している。



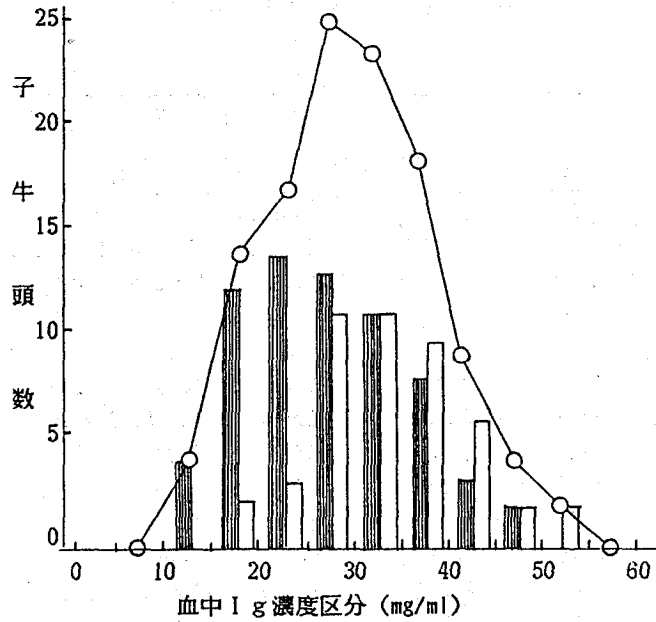
—○— 子牛生産率 (子牛生産頭数: A群1979年25頭、A群1980年24頭、B群1980年152頭) —●— 下痢発生率(子牛実頭数に対する下痢頭数の割合)

図1 下痢発生パターン

表1 A群とB群の下痢発生状況

群名 品種	A		B			
	B		B	N	H	
調査年次	1979	1980	1980			
供試頭数	24	25	B群計152	61	62	29
母牛産次数	3.7±2.6	4.1±2.7	3.5±2.6	3.5±2.8	3.8±2.5	4.4±2.6
生時体重	30.1±3.8	31.1±3.9	32.3±4.0	29±5ab	36±5b	32±4a
発症頭数 ¹⁾	19	17	119	50	49	20
発症率 ²⁾	79	68	78	82	79	68
分娩開始日	3/31	3/9	2/25	3/2	2/25	2/26
平均出生月日	4/26±11	4/10±16	3/26±19	3/30±18a	3/25±22	3/17±12a
初発症日	4/21	3/25	3/12	3/24	3/12	3/14
最多発症日 ³⁾	5/17	4/25	4/7	4/9	4/7	4/7
最多発症日齢	28	31	17	12	14	19
終息日	6/20	6/23	5/16	5/16	5/5	4/26
初発日齢	19±9	18±12	18±10	15±8	22±11	20±9
再発症頭数 ⁴⁾	13	12	47	23	19	5
再発症率	68	71	39A)	46a	39	25a
再発症回数	1.9±0.8	2.3±0.9	1.4±0.2A)	1.5±0.4	1.4±0.3	1.3±0.2
一回の発症日数 ⁶⁾	6±4	4±3	5±1	5±2	5±1	5±2
延べ発症日数 ⁷⁾	12±7	10±5	7±4	8±3	7±3	7±3
下痢スコア ⁸⁾	32±11	27±9	16±8A)	21±9ab	15±9a	11±6b
死亡頭数	0	1	12	9	2	1
死亡率 ⁹⁾	0	6	10	15ab	3a	3ab

注 1)0~8週齢間に下痢指数1以上の下痢を連続2日間以上発症した子牛の頭数
 2)供試頭数に対する発症頭数の割合(%) 3)発症率のピーク月日 4)0~8週齢間に2回以上の下痢を再発した子牛頭数 5)再発症頭数/発症頭数(%) 6)1発症当りの平均発症日数 7)0~8週齢間に下痢指数1以上の下痢を発症した合計日数 8)8週齢までの下痢指数の積算値 9)下痢を主因として死亡した子牛頭数/発症頭数(%) 10)B群のA)はA群間に5%水準で有意差があることを示し、またaa、bb間にはB群品種間に5%水準で有意差があることを示す 11)B:黒毛和種 N:日本短角種、H:ヘレフォーヘッド種



A、B両群合計119頭の7日齢時のI g濃度別頭数(-○-)と正常子牛(□)下痢子牛(▨)の頭数分布を示す

図2 血清Ig濃度分布と下痢発生頭数の分布

表2 黒毛和種新生子牛の吸乳行動と初乳摂取量

		(例数：15頭)		
項目		平均±SD	範囲	変動係数
出生後の 所要時間 (分)	膝立ちA	22±9	11~46	41
	起立歩行B	55±18	26~98	33
	B~A	33±14	14~58	42
	初回吸乳C	87±24	49~187	28
	C~B	32±25	17~126	78
初回の吸 乳行動(分)	総吸乳時間	33±14	11~56	42
	真の吸乳時間	14±7.2	5~28	51
生後24時 間の吸乳 行動(分)	吸乳回数D	9.0±2.6	5~12	29
	総吸乳時間E	58±24	26~92	41
	E/D	6.4±1.7	2.7~7.7	27
初乳摂取 量(Kg)	初回	1.03±0.71	0.0~2.3	69
	1日齢	4.95±0.84	3.4~6.1	17

表3 分娩直後の黒毛和種と日本短角種の初乳組成

	黒毛和種(例数34)	日本短角種(例数23)
全固形分と蛋白質組成(平均値±SD g/dl)		
全固形分	27.9±4.5a	24.1±3.3a
全蛋白質	22.5±4.0a	19.4±3.2a
カゼイン	6.1±1.1	5.4±0.8
乳清蛋白質	16.4±3.2a	14.0±3.4a
Ig濃度(mg/ml)とクラス組成比(%)		
IgG ₁	114.2±21.2a (79.9)	91.5±15.3a (77.4)
IgG ₂	5.1±1.8a (3.6)	4.1±1.6a (3.5)
IgM	8.6±3.4 (6.0)	8.1±3.1 (6.9)
IgA	15.1±6.6 (10.6)	14.6±9.2 (12.4)
Ig	142.9±26.1a	118.2±21.1a

同一行のaa間に5%水準で有意差
()内はIgのクラス組成比

表4 授乳開始による初乳Ig濃度の低下に適合する指数回帰式とその半減期及び常中のIg濃度

	指数回帰式 ¹⁾ $Y=X_0 e^{-kx}$	決定係数 (r^2) ⁴⁾	半減期 ²⁾ (時間)	常乳中のIg濃度 ³⁾ と標準偏差(mg/ml)
黒毛和種	Ig $Y=143 e^{-0.071x}$	0.976	9.7	1.40±0.21
	IgG ₁ $Y=114 e^{-0.072x}$	0.984	9.6	0.84±0.18
	IgG ₂ $Y=5.2 e^{-0.075x}$	0.910	9.2	0.13±0.07
	IgM $Y=9.6 e^{-0.072x}$	0.952	9.6	0.17±0.05
	IgA $Y=15.2 e^{-0.069x}$	0.958	9.9	0.26±0.09
日本短角種	Ig $Y=118 e^{-0.048x}$	0.966	14.4	1.13±0.31
	IgG ₁ $Y=91.4 e^{-0.049x}$	0.972	14.1	0.67±0.29
	IgG ₂ $Y=4.1 e^{-0.047x}$	0.891	14.7	0.10±0.07
	IgM $Y=8.0 e^{-0.051x}$	0.912	13.6	0.15±0.08
	IgA $Y=14.6 e^{-0.046x}$	0.949	15.1	0.21±0.11

注 1)Yは乳開始後のX時間におけるIg濃度、X₀は初期濃度

2)指数回帰式の定数kから0.693/Kとして算出

3)授乳開始7、14、21、28日目のIg濃度の平均値±標準偏差

4)指数回帰式の自由度(φ)3における適合度

(P<0.01 r^2 0.959、p<0.05 r^2 0.878)

表5 黒毛和種の初乳へのIg分泌量の推定

	n	初乳摂取量 ¹⁾ (kg/日)	Ig分泌量(g/24hr) ²⁾				
			Ig	IgG ₁	IgG ₂	IgM	IgA
初産牛	4	3.26	224	177	7.9	14.9	24.2
経産牛	11	5.57	383	302	13.4	25.5	41.4
全体	15	4.95	340	268	11.9	22.6	36.8
有意差 ³⁾		ns	*	*	*	*	*

注 1)表2に示した1日齢初乳摂取量 2)初乳Ig濃度の平均値と初乳摂取量の積をIg分泌量とした。初乳Ig濃度の平均値(Y_m)は、表4の指数回帰式から次式を用いて算出した。

$$Y_m = Y_0 \int_0^{24} e^{-\lambda x} dx / 24$$

Y_mはIg 68.7、IgG₁ 54.2、IgG₂ 2.41、IgM 4.57、IgA 7.43mg/mlであった。3)初産と経産牛間の有意差 * : P<0.05

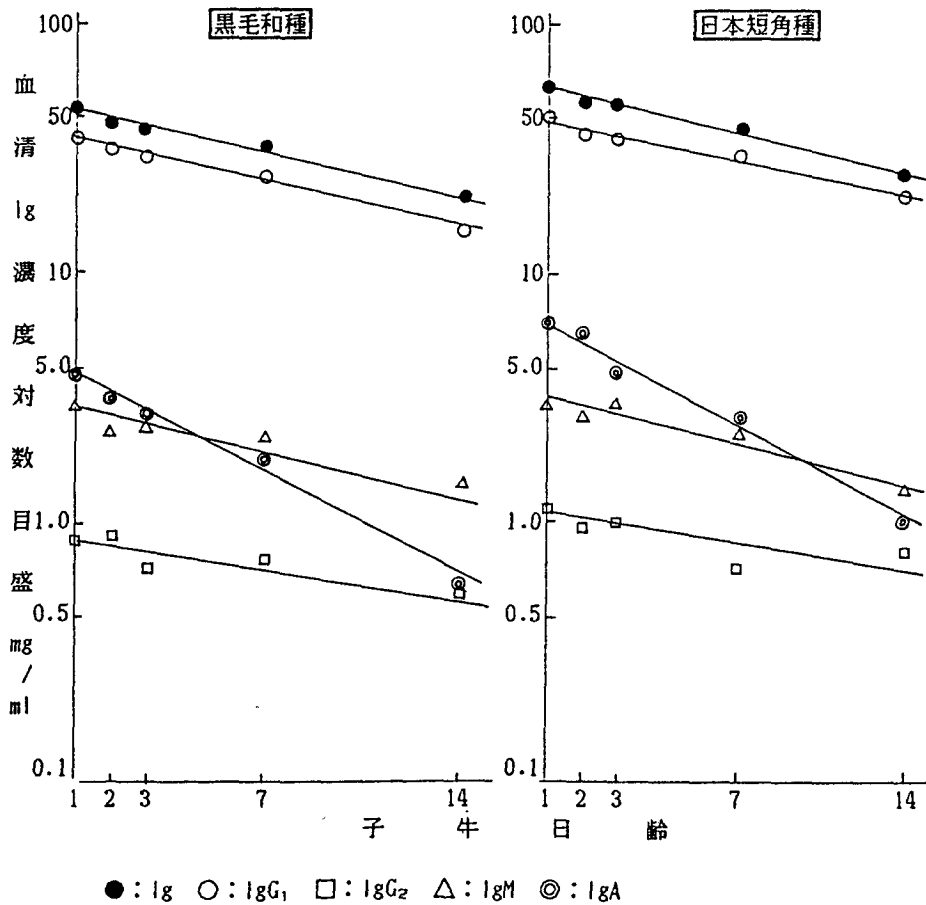


図3 子牛血清Ig濃度と日齢の関係

表6 初乳由来Ig濃度の減少推移に適合する指数回帰式とIgの半減期

		指数回帰式 ¹⁾	決定係数 ²⁾	半減期 T(日)
		$Y=X_0 e^{-kX}$	(r^2)	$T=0.693/k$
黒	Ig	$Y=51.1 e^{-0.057X}$	0.825	12.2
毛	IgG ₁	$Y=42.1 e^{-0.054X}$	0.831	12.8
和	IgG ₂	$Y=0.87 e^{-0.048X}$	0.734	14.4
種	IgM	$Y=3.24 e^{-0.062X}$	0.794	11.2
	IgA	$Y=4.73 e^{-0.169X}$	0.806	4.1
日	Ig	$Y=62.6 e^{-0.063X}$	0.834	11.0
本	IgG ₁	$Y=50.1 e^{-0.056X}$	0.846	12.4
短	IgG ₂	$Y=1.13 e^{-0.049X}$	0.761	14.1
角	IgM	$Y=3.92 e^{-0.066X}$	0.805	10.5
種	IgA	$Y=6.79 e^{-0.188X}$	0.815	3.7

注1) 指数回帰式のYはX日齢におけるIg濃度、X₀は初乳
摂取24時間後におけるIg濃度(mg/ml)

2) 指数回帰式の決定係数(r^2)は何れも1%水準で有意

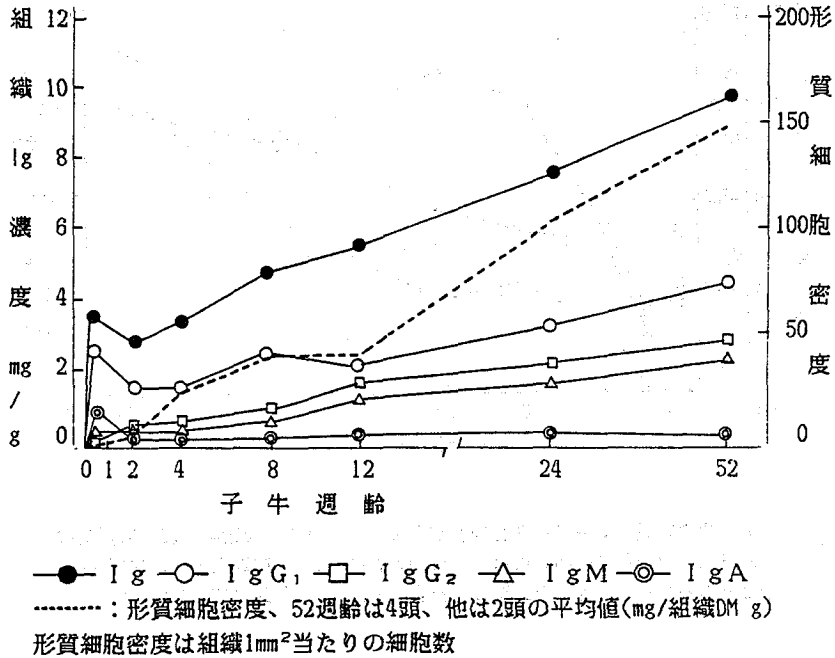
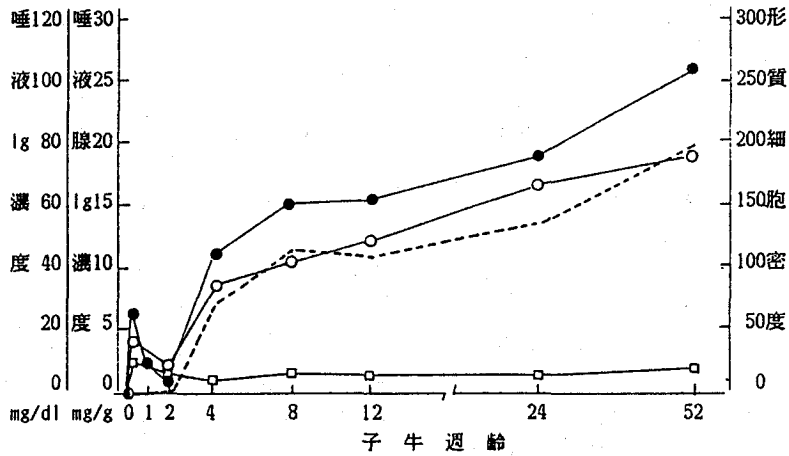
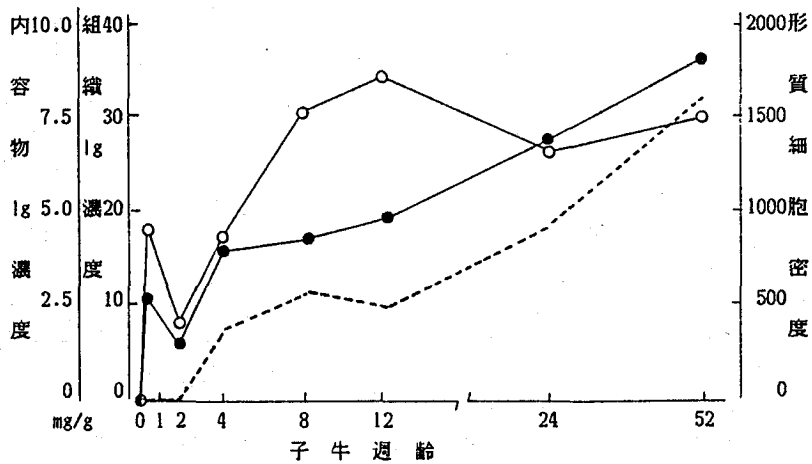


図4 加齢に伴う子牛脾臓のIg濃度と形質細胞数の推移



—●— 混合唾液 Ig —○— 下顎腺 Ig —□— 耳下腺 Ig : 下顎腺形質細胞密度、52週齡は4頭、他は2頭の平均値(mg/組織DM g)、形質細胞密度は組織1mm²当たりの細胞数

図5 加齢に伴う子牛混合唾液及び唾液腺のIg濃度と形質細胞数の推移



—●— 腸管組織 Ig —○— 腸管内容物 Ig : 形質細胞密度、52週齡は4頭、他は2頭の平均値(mg/組織または内容物DM g)、形質細胞密度は組織1mm²当たりの細胞数、腸管は十二指腸、空腸、回腸の3部位の集計で示した。

図6 加齢に伴う子牛腸管組織と内容物のIg濃度及び腸管組織の形質細胞数の推移

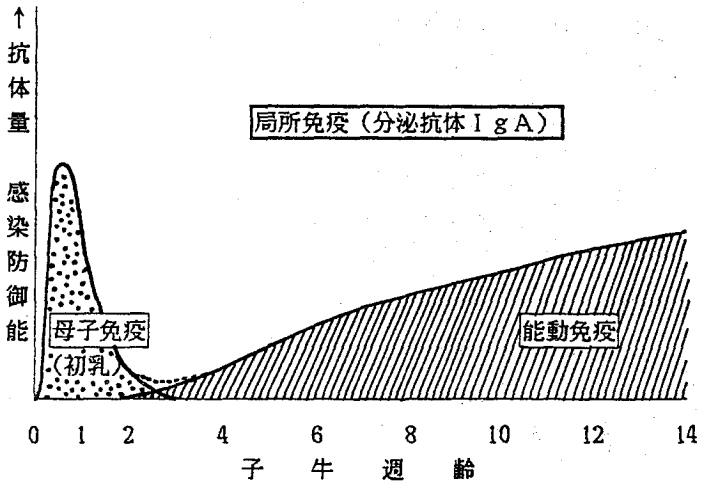
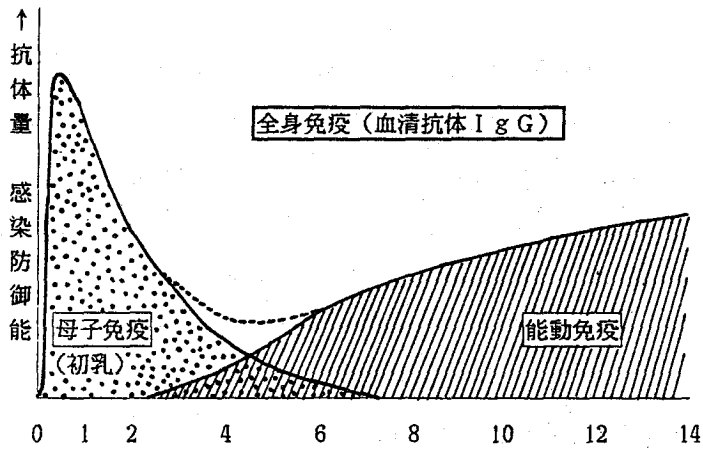


図7 子牛の液性免疫による感染防御能の動態 (模式図)

審査結果の要旨

近年、多頭飼育の肉用種哺乳子牛の下痢による損耗が目立つようになった。その原因は多様であるが、本質的には、子牛の感染防御能が未熟なためと推察される。これに関する知見は従来、主として人工哺乳の乳用種子牛より得られたもので、自然哺乳で飼育される肉用種子牛についての知見は極めて乏しかった。そこで、著者は本邦の代表的な肉用種である黒毛和種子牛の免疫機能の発達過程と抗病性との関係を明らかにするため、本研究を企画し、以下のような知見を得た。

まず、飼養規模等の牛群の8週齢までの下痢発生状況を詳細に調査し、その初発日齢や最多発症日齢は何れの群でも同様なこと、哺乳初期の血清の免疫グロブリン (Ig) 濃度が低い子牛で発生し易いことを示した。

ついで、子牛の吸乳行動と初乳摂取量を調べ、すべての子牛が生後3時間以内に吸入を始め、24時間で4.9kgの初乳を摂取すること、初乳のIg濃度は分娩直後が最高で、授乳後速やかに低下し、61時間で常乳の値になることを示した。

つぎに、子牛の血中Ig濃度は吸乳後4時間から上昇し、24時間で最高値になるが、IgAは4日、他のクラスのIgは11-14日の半減期で低下し、4週齢に最低になることを示した。

一方、全身免疫を担うIgG、IgMは脾臓や血清で18週齢から、消化管の局所免疫を担うIgAは唾液腺や空腸で4週齢から上昇すること、またそれに先立ち、その組織中に形質細胞の増加があることを認めた。そして、初乳由来のIgの低下と能動的なIgの上昇の谷間の時期が、下痢の最多発症期に当たることを指摘した。これは、自然哺乳の日本短角種でも同様で、従来人工哺乳の乳用種で推察されていた知見とも一致するものである。

以上のことから、著者は子牛は品種、哺乳方法を問わず、母子免疫と能動免疫の移行期に全身及び局所免疫が低下し、この移行期の衛生対策が疾病防除に重要であると結論した。

この知見は家畜衛生学はもとより、肉用子牛の哺育育成の向上に大きく貢献するもので、審査員一同は、著者は農学博士の学位を授与するに値すると認めた。