

## 黒毛和種繁殖牛の低栄養が出生子牛の免疫機能に及ぼす影響と改善対策

兵庫県農業共済組合連合会東播基幹家畜診療所丹波診療所

芝野健一 黒木智成 斎藤隆文 嵐 泰弘

### はじめに

近年、難治性下痢子牛や虚弱子牛では、免疫担当細胞である T 細胞数の減少を伴う免疫機能低下や胎子期の発育障害あるいは初乳成分の吸収量低下を示唆する報告がある。また一戸当たり飼養頭数の増加に伴い病傷事故や死産事故が多発するが、その発病要因には移行抗体の不足、出生時の低体重、劣悪な飼養環境、過密な飼養、各種感染症等が考えられる。またその後の発育にも格差が生じるため、経済的損失は計り知れない。

今回、妊娠末期の母牛の栄養状態が出生子牛の血液性状、事故発生状況、発育に及ぼす影響を調査するため、兵庫県中部に位置する丹波地区で、事故が多発する黒毛和種繁殖農場を対象に、母牛の給与飼料内容、母牛と子牛の代謝プロファイルテスト (MPT)、および子牛の末梢白血球サブポピュレーションを実施した。さらに、当該農場の事故低減を目的に母牛の給与飼料を改善し、死産・病傷事故の発生状況、市場出荷成績を改善前と比較した。

### 材料および方法

調査期間は 2004 年 6 月～2007 年 5 月までの 3 年間で、対象農場は子牛の事故が多発する黒毛和種繁殖農場 (家畜共済引受期首における成牛飼養頭数 41 頭、子牛 10 頭) とした。

飼料給与診断は、本県の牛群支援管理システムの日本飼養標準 2001 年版を用い、乾物摂取量 (DM)、可消化養分総量 (TDN)、粗蛋白量 (CP) を算出し、要求量から充足率を算定した。改善対策ではこれらの飼料給与診断結果を基に、妊娠末期と哺乳期の充足率を満たす内容に修正し、2006 年 7 月分娩予定の母牛を対象に分娩 1 カ月前から順次改善対策を開始した。

MPT は、給与飼料の改善前の経産母牛 20 頭 (妊娠末期:5 頭、授乳期:11 頭、維持期:4 頭) とその経産母牛から出生した子牛 14 頭 (30 日齢以下:3 頭、31～60 日齢:8 頭、90 日齢以上:3 頭) の計 34 頭を改善前とした。次に給与飼料を改善した経産母牛 20 頭 (妊娠末期:6 頭、授乳期:8 頭、維持期:6 頭) とその経産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) の計 30 頭を改善後とした。測定項目は血糖値 (Glu)、総コレステロール (TCho)、遊離脂肪酸 (FFA)、 $\beta$  ヒドロキシ酪酸 (BHBA)、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)、 $\gamma$  グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) (以上、全自動血液分析装置;TBA80FR-Accute)、レチノール (VA)、 $\alpha$  トコフェロール (VE) (以上、高速液体クロマトグラフィー法)、 $\gamma$  グロブリン ( $\gamma$  Glob) (セルロースアセテート膜電気泳動法) とした。また、TP、ALP、GGT、 $\gamma$  Glob の測定値を用いて、調査対象子牛の初乳摂取状況を確認した。なお、得られた各測定値は、兵庫県下の基準値と比較判定した。

子牛末梢白血球サブポピュレーションは、改善前の経産母牛から出生した 10 頭 (30 日

齢以下:3頭、31~60日齢:4頭、90日齢以上:3頭)を改善前、改善対策後の経産母牛から出生した子牛9頭(30日齢以下:3頭、31~60日齢:3頭、90日齢以上:3頭)を改善後として実施した。各白血球の解析は、白血球数(顆粒球、単核球)を集計後、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Tリンパ球細胞)、抗ウシCD45R抗体、抗ヒトCD14抗体(単球)、抗ウシWC1抗体( $\gamma\delta$ T細胞)、抗ウシMHC class II抗体(Bリンパ球・単球)を用い、Wyattらの方法[10]に準じて実施した。各表面抗原陽性細胞は、フローサイトメーターにより解析した。また免疫機能の評価判定のためCD4+/CD8+比を算出し改善前後で比較した。

死産・病傷事故は、改善前(H16年32頭:2004年6月~2005年5月、H17年33頭:2005年6月~2006年5月)、改善後(H18年25頭:2006年6月~2007年5月)に出生した子牛について、診療カルテより集計した。

市場出荷成績は、H16年24頭、H17年16頭、H18年14頭を去勢子牛、雌子牛に区分し、出荷時体重、出荷時までの一日あたりの増体量(D.G)を集計し、同一地域の成績と比較した。各群の各血液所見および白血球数の比較はStudentのt検定により行い、危険率5%未満を有意な差とした。

## 結 果

母牛の飼料給与診断では、妊娠末期と授乳期の要求量に対する充足率は、それぞれDM(84%,74%)、TDNは(98%,82%)、CPは(86%,69%)と不足していた。改善対策では栄養要求量を満たすため、粗飼料と配合飼料を増量した(表1)。

子牛の初乳摂取評価では、TPは5g/dL以上、初乳に含有されるALP、GGTおよび移行抗体由来の $\gamma$ グロブリンは兵庫県下の基準値範囲を維持しており、今回の対象子牛は初乳を摂取していたと判断し調査に供した(図1)。

改善前の母牛MPT結果は、低Glu( $38\pm 6\text{mg/dL}$ )、低TCho( $92\pm 15\text{mg/dL}$ )、低Alb( $2.92\pm 0.24\text{g/dL}$ )、ならびに高BUN( $19.4\pm 3.6\text{mg/dL}$ )が観察され、県下の黒毛和種繁殖雌牛の基準値と比較して栄養水準は低エネルギー低蛋白状態であった。改善後はGlu、TCho、TP、Albは有意に増加し、FFA、ASTは有意に低下した(図2,3)。なお、BHBA、VA、VEは正常範囲内の変動であった。改善前の子牛は、低Glu( $76\pm 19\text{mg/dL}$ )、低TCho( $96\pm 25\text{mg/dL}$ )、低Alb( $2.92\pm 0.16\text{g/dL}$ )が観察され、県下の黒毛和種子牛の基準値と比較して低く、母牛と同様の栄養水準であった(図4,5)。改善後はGlu、VEは有意に増加し、TCho、Albは増加する傾向がみられた。また改善前の高ASTは改善後有意に低下した。

子牛末梢血白血球サブpopulationでは、改善前の総白血球数は顆粒球数の増多が観察されたが、改善後の顆粒球数は改善前に比べ減少した。改善後の単核球数は改善前に比べ増加する傾向にあった。CD3+TcR+T細胞数は改善前に比べ改善後は増加する傾向を示した。CD4+T細胞数は改善前に著しい低値を示したが、改善後はすべての日齢で有意に増加した。CD8+T細胞数は改善前に比べ改善後増加し、90日齢以上の子牛で有意に増加した。CD4+/CD8+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た。なお、Bリンパ

球数および単球数については、改善前後で有意な変化はみ見られなかった（表 2）。

子牛の病傷事故発生率は、H16 年は 46.9%（15/32）、H17 年は 93.9%（31/33）、H18 年は 68.0%（17/25）と変化は見られなかった。このうち肺炎の占める割合はそれぞれ 20.0%（3/15）、83.9%（26/31）、58.8%（10/17）であり、H16 年が低かった。肺炎再発率は H16 年が 100.0%（3/3）、H17 年も 76.9%（20/24）と高かったが、改善後の H18 年の再発例はなかった。死産事故は、H16 年および H17 年にそれぞれ 3 頭発生したが、改善後の H18 年は発生しなかった。（表 3）。

子牛出荷成績では、去勢子牛 DG が改善前の H16 年 0.82kg、H17 年 0.85kg に対し、改善後は 1.01kg と有意に高く、雌子牛についても同様に H16 年 0.74kg、H17 年 0.75kg に比べ、H18 年 0.92kg と有意に高かった。さらに、H18 年は同一地域の平均値を上回った（表 4）。

## 考 察

黒毛和種繁殖農場では、摂取栄養の過不足を示すモニター項目が少なく、栄養障害が潜在化する傾向にある。今回の調査対象農場では、母牛への給与飼料は各栄養要求量を充足しておらず、胎子要求量が高まる妊娠末期や哺乳期では十分な栄養供給が困難な状況にあった。Bell は、ホルスタイン種の妊娠末期における胎子（胎齢 250 日）のエネルギー要求量は、母体側から主にアミノ酸として供給されると報告しており、黒毛和種においても同様と考えられた。今回妊娠末期の MPT 所見では、基準値の範囲を下回る項目が散見され、妊娠末期における母牛へのエネルギー充足、さらに第一胃機能を高めることが健全な子牛を出生させるために重要と思われ、改善対策では摂取エネルギーと第一胃で生成される菌体蛋白の増加を目的に、分娩前後の粗飼料と配合飼料を増給した。その結果、母牛では摂取エネルギーの改善による Glu や TCho の上昇、改善前の余剰窒素量を示した高 BUN 所見は改善後有意に低下した。さらに蛋白代謝の指標となる Alb も有意に増加しており、給与飼料の改善によって母牛の栄養水準は向上した。子牛の出生後 1 カ月以内の Glu、TCho、Alb は、改善前に比べ改善後は増加しており、出生直後の子牛の血液性状は妊娠末期の母牛の摂取栄養と強く関連すると思われた。また、母牛の改善前 VE 濃度は高い傾向にあったが、子牛では低く推移した。これに対し、改善後の子牛 VE は改善前に比べ有意に上昇した。このことは、今回母乳中の VE 濃度は測定していないが、栄養改善により母乳への VE の移行が高濃度であったことを示唆している。

子牛の栄養と免疫に関して、大塚は黒毛和種子牛の幼齢期は乳用種子牛に比べ免疫機能の成熟が十分でなく、黒毛和種子牛の抗病性低下を報告し、さらに、蛋白摂取の減少に起因したアミノ酸の不足は免疫担当細胞の分化・増殖の過程で決定的な反応抑制効果をもたらし、糖の不足はエネルギー不足による細胞の機能低下を誘導すると報告している。また、小形らは、黒毛和種虚弱子牛で低 Glu が見られると報告した。したがって、出生子牛の抗病性を高めるには栄養供給が不可欠であると言える。今回の成績では、妊娠末期の母牛の栄養改善は出生子牛に十分反映することが明らかとなり、出生子牛の抗病性は高まったものと推察された。一方、木村らは反芻動物の CD3+TcR+（ $\gamma$   $\delta$ ）T 細胞数は非反芻動物に比べて多く、牛の免疫機能の成熟に重要な役割を果たすと報告している。胸腺由来の CD3+TcR+

( $\gamma$   $\delta$ )T細胞は、細胞性免疫応答を促進するインターフェロン $\gamma$ を産生するTリンパ球で、抗病性低下を疑う虚弱子牛において出生後低値で推移する。また CD4+ (ヘルパーT 細胞) はサイトカインを分泌するが、ナイーブヘルパーT 細胞 (CD4+CD45RA) は Th1、Th2 に分化し、Th1 は細胞性免疫に、Th2 は液性免疫に直接関与し B リンパ球の抗体産生を指令している。今回改善前の CD4+CD45RA 細胞数は著しく低値を示し、感染防御能の決定的な機能低下が推察され、肺炎等の病傷事故で再発例が見られたものと思われた。さらに、ヒトや小動物分野で炎症性疾患における細胞性免疫応答の指標になる CD4+/CD8+比は改善前に比べ改善後は有意に増加し、改善後の子牛は免疫機能が回復したと推察された。

3年間にわたる調査期間中の病傷事故発生率は H16 年が最も低かった。これは気温の低下とともに子牛の事故が多発する 11 月～3 月の出生頭数が H16 年 6 頭、H17 年 10 頭、H18 年 9 頭と年度により偏りがあったことや、H16 年は細菌性下痢症の発生が多く抗生剤が併用されていたため、結果的に感染症の発生が抑えられたものと考えられた。呼吸器病の発生は季節や飼養環境に影響されることが多いが、今回の調査農場では年間を通じて発生し、また再発する症例が見られた。しかし、改善後の H18 年では再発例がまったく見られなかったことは、肺炎の再発と免疫機能との関連性を示唆するものと思われ、今後さらに再発症例の抗病性について検討する必要がある。

今回の調査では、出生子牛の事故多発要因が妊娠母牛の摂取栄養との関連性が強く示唆され、妊娠末期の母牛の栄養改善が子牛の出荷成績向上にもつながることが明らかとなった。以上の所見より、出生子牛の疾病対策や経営収支の改善には、妊娠末期の母牛の摂取栄養バランスを整える必要があると思われた。

表1 飼料給与診断

改善前				改善後			
給与飼料	給与量(kg)			給与飼料	給与量(kg)		
	授乳期	維持期	妊娠末期		授乳期	維持期	妊娠末期
和牛配合	1.8	1.5	1.5	和牛配合	3.0	1.0	3.0
休科乾草	4.0	4.0	4.0	休科乾草	6.0	6.0	6.0
稲ワラ	1.5	1.5	1.5	稲ワラ	1.0	1.0	1.0

項目	充足率(%)※			項目	充足率(%)※		
	授乳期	維持期	妊娠末期		授乳期	維持期	妊娠末期
DM	74	101	84	DM	102	115	120
TDN	82	125	98	TDN	118	143	148
CP	69	117	86	CP	102	126	136

DM:乾物量、TDN:可消化養分総量、CP:粗蛋白 ※:日本飼養標準2001版、推定体重450kg

表2 改善前後の子牛白血球解析

		～30日齢	31～60日齢	90日齢～
白血球数	改善前	12200±5100	12800±3380	8900±930
	改善後	6300±670	8500±1700	10500±1700
単核球数	改善前	3600±1070	3900±970	5500±700
	改善後	3300±2600	4900±900	7200±990
顆粒球数	改善前	8600±6150	8900±4300	3400±1610
	改善後	3000±870	3600±860	3400±790
MHC class II+CD14-	改善前	577±260	726±210	1516±180
	改善後	397±80	865±320	1727±360
CD3+TcR+ (γδT細胞)	改善前	409±138	472±173	551±175
	改善後	555±41	652±41	642±185
CD4+CD45RA (ナイーブT細胞)	改善前	38±24	33±10	38±7
	改善後	601±93]**	944±184]**	1263±169]**
CD8+T細胞	改善前	134±68	172±47	173±36
	改善後	235±72	320±186	325±22]**
CD4+/CD8+	改善前	0.38	0.29	0.31
	改善後	3.83]*	6.23]*	4.96]*

\*:p<0.05, \*\*:p<0.01

表3 改善前後の死廃・病傷事故

	出生頭数	下痢症	肺炎	合計	再発	死廃	
改善前	H16年	32	12 (37.5)	3 (9.0)	15 (46.9)	3/15 (20.0)	3 (9.4)
	H17年	33	18 (54.5)	26 (78.9)	31 (93.9)	24/31 (77.4)	3 (9.1)
改善後	H18年	25	9 (36.0)	10 (40.0)	17 (68.0)	0	0

( ):頭数割合%

表4 改善前後の子牛出荷成績

各年度 7月～3月に出生した子牛を対象

	去勢子牛				雌子牛				
	頭数	日数	体重	D.G	頭数	日数	体重	D.G	
改善前	当該農場	13	286	233 <sup>a</sup>	0.82 <sup>c</sup>	11	277	205 <sup>e</sup>	0.74 <sup>e</sup>
	同一地域	285	281	248	0.89	308	286	226	0.80
改善後	当該農場	8	264	221 <sup>a</sup>	0.85 <sup>c</sup>	8	290	216 <sup>e</sup>	0.75 <sup>e</sup>
	同一地域	341	277	248	0.90	280	286	227	0.80
改善後	当該農場	9	256	258 <sup>b</sup>	1.01 <sup>d</sup>	5	294	270 <sup>f</sup>	0.92 <sup>h</sup>
	同一地域	338	276	252	0.91	260	285	228	0.80

ab,cd,ef,gh間:p<0.01 頭数以外は平均値で表示

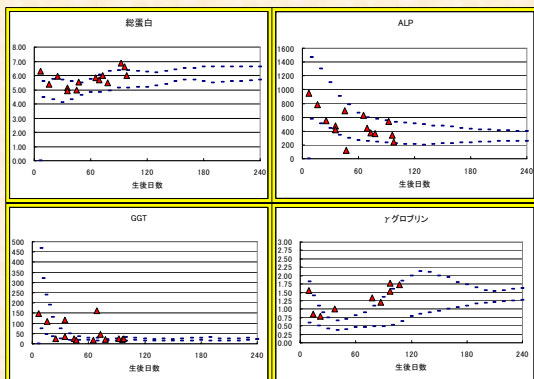


図1 初乳摂取評価

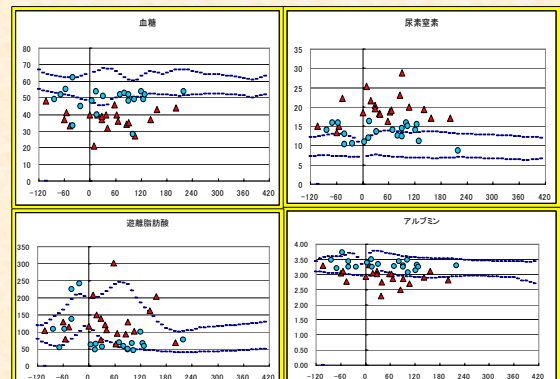


図2 母牛の改善前後MPT結果 ●改善後 ▲改善前

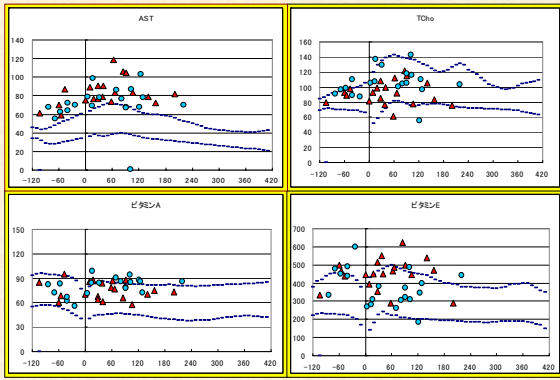


図3母牛の改善前後MPT結果 ● 改善後 ▲ 改善前

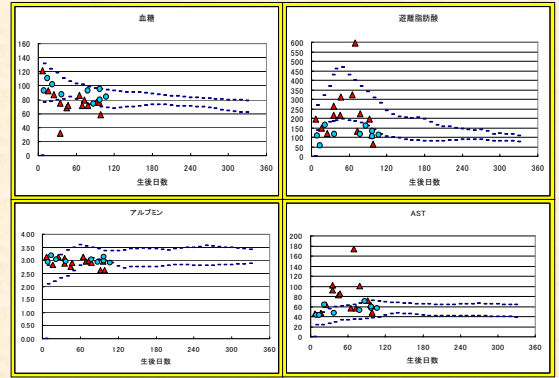


図4子牛の改善前後のMPT結果 ● 改善後 ▲ 改善前

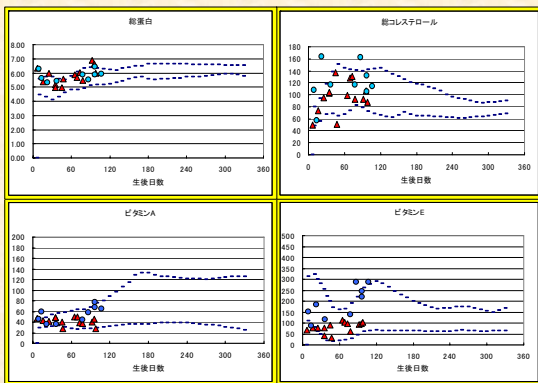


図5子牛の改善前後のMPT結果 ● 改善後 ▲ 改善前