

子牛の成長と免疫システムの形成

大塚 浩 通

酪農学園大学

はじめに

子牛に発生する疾病のうち、腸炎や肺炎などの感染症の占める割合は他の疾病に比べて群を抜いて高い。この原因として子牛の免疫機能が成牛に比べて劣ることは以前から指摘されてきた²⁾。妖獣の免疫機能は成獣に比べて劣っており、リンパ球の幼若化反応や好中球の貪食能などが低いことは以前から知られている^{22,25)}。さらに新生子牛の免疫システムの特徴として、牛は胎生期において母牛から免疫グロブリンが移行せず出生し、初乳を介して免疫グロブリンを摂取することから低免疫グロブリンにある子牛は免疫機能に劣っており、子牛の感染症の予防対策として初乳給与の管理についても話題に取り上げられることが多い。

近年、子牛の免疫システムに関して研究が進展し、これまで明らかにされていなかった子牛の免疫システムの成熟と感染症の発症との関係についても徐々に解明されつつある。本稿では、子牛の成長と免疫システムの形成について解説する。

免疫システムとは

免疫とは、体内に存在する「自分とは異なる物質」である非自己を排除する、生体の恒常性維持機構の一つである。一般に、薬物や化学物質などは肝臓の酵素によって代謝・排除されるのに対し、免疫応答ではそれよりも高分子である生物が作り出す毒物や微生物の構成成分などのタンパク質、また体内に侵入した病原体を排除するための機構として働く。

免疫は病原体による感染や体内で発生した腫瘍などから身を守るための防御機構として重要であり、様々な種類の微生物に対してそれぞれに役割を分担して当にシステムとして生体の防衛に当たる。

免疫には抗原に特異的な要素を持つものと、非特異的な要素を持つものがある(図1)。このうち非特異的な要素は生まれながらにして備わっている先天免疫であり、自然免疫ともいわれ、どの抗原に対しても無差別に作用する感染防御機構である。微生物や毒性物質が上皮を突破し生体内に侵入すると、体液的・化学的・細胞的な障壁による宿主の保護機構である自然免疫系が発動する。補体系は体液的・化学的防御機構であり、外来細胞の表面に攻撃を加える、あるいは抗体能力を補助する生化学的カスケードである。自然免疫系の白血球には、食細胞であるマクロファージ、好中球や樹状細胞の他に肥満細胞、好酸球、好塩基球、NK細胞があり、これらは感染を誘引する病原体の構造パターンを認識する受容体を持って、その微生物を感知すると発動し、その際に炎症反応が起きる。一方、適応免疫である特異的な要素は獲得免疫といわれ、抗原に接触することで発動し、発動後は記憶した抗原が侵入すると直ぐに選別、強力に攻撃する。獲得免疫は抗体や補体などの血中タンパク質によって微生物を弱毒・無毒化させ

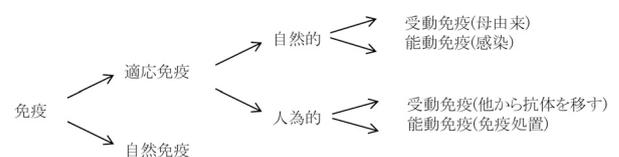


図1 免疫機構の構成要素

る体液性免疫と、リンパ球などの細胞を主体に微生物が感染した細胞やガン細胞を攻撃する細胞性免疫によって担われている。獲得免疫の主体となるリンパ球には分化成熟して免疫グロブリンを産生するB細胞と、胸腺で分化成熟して免疫応答を調整する、また細胞障害作用を持つT細胞がある。その他に食作用によって抗原を取り込んで分解し、T細胞に提示する樹状細胞なども免疫機能の発現に大きく関与している。これらの細胞は骨髄で産生され、胸腺やリンパ節、脾臓などのリンパ系組織での相互作用をへて有効な機能を発揮するようになる(表1)。

表1 免疫機構の構成要素

自然免疫	獲得免疫
非特異的な反応	感染源と抗体の特異的な反応
感染源との接触で即最大効果を発揮	接触から最大効果までは時間がかかる
体液性で細胞が仲介する	体液性で細胞が仲介する
免疫記憶なし	接触により免疫記憶を形成
ほぼ全ての生物で見られる	高度な脊椎動物でのみ見られる

適応免疫は免疫の方法から自然的なものとは人為的なものに区別することが出来る。さらに免疫の確保において他から移行される受動免疫と、生体自ら確保する能動免疫に区分出来る。牛における自然的受動免疫は母牛の初乳を介して子牛へ移行する抗体や免疫細胞が挙げられる。自然的能動免疫は出生後に暴露・感染する微生物によって生体自らが確保する免疫のことである。一方、牛における人為的受動免疫としては初乳製剤に代表される母牛のものではない免疫物質の人為的な給与が挙げられ、人為的免疫物質の投与を指す。また人為的能動免疫としてはワクチン接種による獲得免疫の誘導がよく知られており、さらに近年では活性化リンパ球療法が子牛の細胞性免疫応答を刺激するとする報告もある⁴⁴⁾。

胎生期から新生期における免疫システム

胎生期における牛の胸腺、脾臓やリンパ節などのリンパ装置の発生は、胎齢2ヶ月前後には開始する³⁵⁾。また牛の胎生末期には、腸間膜リンパ節、リンパ組織やパイエル板(PPS)などの免疫装置である粘膜免疫防御系(mucosa-associated lymphoid tissue; MALT)は胎齢後期において特に発達する³⁾。胎外では粘膜

面における病原体への防御として抗原特異的分泌型IgAの産生が重要であるが、獲得免疫として抗原記憶のない新生子牛は、移行抗体の存在下において出生後から効率よく抗原を記憶し、獲得免疫を少しでも活性化させなければならない。GALT(腸管関連リンパ組)に代表されるパイエル板や扁桃などは獲得免疫が成長するための二次リンパ装置である。MALTは抗原を取り込む誘導機関であり、近年では、鼻腔や口腔のみならず眼結膜や涙囊にもCALT(結膜関連リンパ組織)やTALT(涙道関連リンパ組織)などのMALTが見つけられている。抗原を取り込み導組織で活性化して抗原記憶した前駆細胞はIgAを分泌するべき実行組織に移動し形質細胞に分化して機能する。これをホーミングという。そのため胎生末期にMALTが十分に成長することは出生後の円滑な獲得免疫の形成において重要であると示唆される。胎生末期と期間を共有する妊娠末期に飼養標準を満たさず栄養不足にあった母牛が娩出した黒毛和種子牛では、出生後の末梢血リンパ球数が低値で推移するが、飼養標準を充足した飼料設計を充実させれば娩出された子牛の末梢血リンパ球数が高く推移することが報告されている³⁷⁾。出生時の黒毛和種子牛の体重と末梢血T細胞数とは正の相関性があり、その後下痢に至った個体では健常であった子牛に比べて出生時におけるT細胞数が明らかに低いことも報告されている³²⁾。母牛の分娩前の栄養の充足は胎子のリンパ系の発達に影響しており、不足すると胎子の免疫システムの形成が悪いことが示唆される。胎生末期における胎子の成長不良はMALTの発達に悪影響を及ぼす可能性があり、新生子牛の感染防御能を高めるために子牛の胎生期から新生期にかけての受動免疫と獲得免疫の関係について今後の研究の進展が期待される。

初乳の摂取と子牛の免疫システム

新生期の動物では免疫細胞の応答性が低く、成長とともに活性化する。胎子期に母牛から免疫成分が移行しないため、出生直後の子牛は免疫グロブリンを保持していない。抗原暴露を受けたことのない新生子牛は獲得免疫能が極端に劣るため、この獲得免

疫能を補うために母牛から移行する能動免疫が新生子牛の免疫システムの形成期の初動において極めて重要な役割を持っている。初乳には免疫グロブリンが大量に含まれている他、母牛の免疫細胞やサイトカインが常乳に比べて多く含まれており、新生子牛の自然免疫機能だけでなく、むしろ獲得免疫の活性化を補助する役割を持っている。牛の初乳中には、IL-1 β などのサイトカインが高濃度で存在しており¹³⁾、この初乳サイトカインが新生子牛の免疫系の成熟の刺激因子となっているものと考えられている⁴⁵⁾。また初乳中には大量の免疫グロブリンが含まれていることは以前からよく知られており、免疫グロブリン濃度の低い初乳を摂取した子牛では γ グロブリン値が低く推移することから³⁸⁾、初乳の成分は新生子牛の移行免疫に大きく影響することが推察される。また初乳の免疫成分の移行には初乳の成分だけでなく、出生子牛の初乳摂取後の吸収能も影響することが考えられる。図2のように、健全な経産子牛では出生24時間後に血清 γ グロブリン値に最高値となりその後徐々に低下するが、初産産子または周産期疾病を発症した経産の産子において低値で推移する。初乳の吸収率には出生後の初乳の給与時間や初乳中の γ グロブリン含有量が影響するが、出生子牛の初乳吸収能には個体差があり、特に初産産子や周産期疾病を発症した母牛の産子では免疫グロブリンの吸収能が低いものと示唆される。

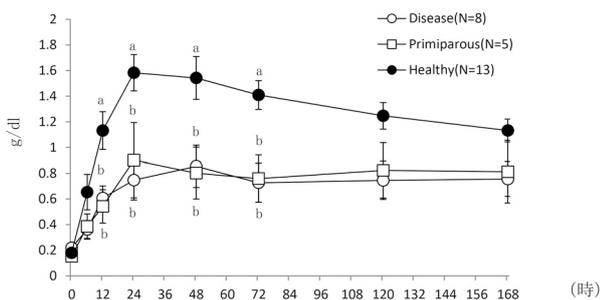


図2 母牛の健康と子牛における初乳摂取後の γ グロブリン濃度の推移同一牧場にて出生2時間後に保存初乳を給与した。供試子牛は全てホルスタイン種Diseaseには、胎盤停滞(N=2)、乳熱(N=3)、第四胃変位(N=2)、ケトosis(N=1)、平均±標準誤差。異符号間に有意差あり(P<0.05)

胎生期に無菌的環境で成長した子牛は、出生直後から母牛の産道を通じて微生物の暴露を受け、その後も成長とともに様々な微生物が粘膜組織の管腔内

で増殖する。初乳中のIgの役割には中和反応や補体結合反応などの抗微生物作用だけでなく、オプソニン作用によっては微生物などの抗原と結合し、抗原抗体複合体を形成、貪食細胞に積極的に取り込まれる仲立ちのような役割を持ち、獲得免疫の活性化に役立っている。また初乳中には大量の白血球が含まれており、子牛の免疫活性に機能していることが指摘されている⁵⁾。

出生直後の子牛の末梢白血球組成では、3から9週齢の子牛に比べて顆粒球が多く、反対にT細胞やB細胞が少ない。さらにリンパ球組成ではT細胞の割合が高く、B細胞およびMHCクラスII陽性細胞の低い割合が低い²⁰⁾。自然免疫の応答において細菌感染防御に大きな役割を持つ好中球の機能は重要であるが、人では胎生期の好中球の貪食能が新生児に比べて低く、特に大腸菌の処理能力は低いとされている⁷⁾。また新生児の多核白血球の走化性は成人に比べ明らかに劣ること²⁸⁾や、新生児の多核白血球の粘着レセプター-Lセレクトインの反応が成人に比べ明らかに劣ることも報告されている²³⁾。新生子牛においても好中球の殺菌能が成牛に比べて劣っており、プロテインキナーゼCやチロシンキナーゼなどの細胞内伝達物質の活性が低いことも報告されている^{17,18)}。また、ナチュラルキラー(NK)細胞は、細胞内感染に対する自然の防御に重要である。獲得免疫機能に劣る新生子牛にとって特異的免疫応答の相対的な未熟さを補うNK細胞はウイルスの感染防御などに重要な役割を持っている。これまで新生子牛ではNK細胞数は少ないものの、IL-12で活性化された新生子牛のNK細胞は、年長の子牛に比べて4~5倍のIFN- γ を産生し、IL-15に応答して標的細胞障害活性を増強するとされている⁶⁾。

抗原との接触のないまま出生した新生子牛において獲得免疫能の反応が悪い。これに対し、子牛に摂取された母牛の移行免疫中の免疫グロブリンは子牛の体内で抗原抗体複合体を形成し、新生子牛の樹上細胞やマクロファージの抗原の取り込みを補助する。またグロブリン以外の移行免疫成分であるサイトカインや母牛の免疫細胞は子牛の免疫細胞を活性化させ、子牛の獲得免疫の成熟を促進するのに役立つ。新生子牛のmIgM(+)Bリンパ球の絶対数は低いも

の、細胞当たりのmIgMの発現強度は成牛よりも高いことが明らかにされており、新生子牛のB細胞の抗原応答能は早い段階で獲得されていることが示唆されている⁴⁾。新生子牛ではB細胞が抗原を記憶するものの抗体を産生するまでに免疫システムが成熟しないものと示唆される。

哺乳と免疫システムの成長

粘膜は常時抗原や微生物にさらされているが、これら微生物から粘膜面を防御するための局所免疫機構としてMALTが存在し、分泌型IgAが防御機構の一部を構成している。MALTでは積極的に抗原を取り込んで、抗原を取り込んだ粘膜樹状細胞(DC)はリンパ節のリンパ球に抗原提示しながらT細胞やB細胞に抗原記憶・活性化を誘導する。特に抗原記憶に劣る幼齢動物の免疫システムの成熟において、粘膜組織での円滑な抗原の取り込みは極めて重要な役割を持っている。DCは、食物抗原、共生細菌叢および病原体を識別する重要な役割を果たしているが、粘膜組織におけるDCなどの白血球の分布は加齢によって変化することも知られている。1ヶ月齢における子牛の空回腸の総粘膜白血球は少ないものの6ヶ月齢まで増加し続け、特にCD3⁺T細胞の割合が上昇する。これらリンパ球の組成は病原体や共生細菌叢の影響を受け、宿主の免疫応答に大きく影響することが考えられている¹¹⁾。出生時から様々な微生物が消化器や呼吸器に侵入し、徐々に微生物のバランスが取れ、安定する。腸内で増殖した微生物はM細胞から積極的に取り込まれ、T細胞の活性化、腸管上皮細胞の増殖、IgA産生の促進、炎症の抑制などの免疫応答を誘導する刺激剤となる¹²⁾。

自然免疫において粘膜や皮膚での微生物の侵入を防ぐ液性物質によるバリア機構の因子の一つに抗菌ペプチドが存在しており、 α/β ディフェンシン、カセリシジン、 14β -グリコシダーゼ、C型レクチンやリボヌクレアーゼなどの存在が知られている¹²⁾。ディフェンシンは選択的な抗菌作用を持つ抗菌ペプチドであるが⁴²⁾、幼齢子牛の盲腸、結腸および直腸の腸腺の粘膜上皮において存在が確認されており²¹⁾、粘膜組織における抗菌作用によって微生物の感染・

増殖を抑制するとともに、粘膜細菌叢を調整する役割を担っているものと考えられる。しかし新生期の子牛の消化管では月齢が高い子牛に比べてディフェンシン遺伝子発現量が低いことも明らかにされている²⁵⁾。Baricelliら¹⁾はヒトの初乳中ディフェンシン濃度が常乳よりも高いことを報告しており、新生子牛においても粘膜防御のために母牛が産生した多くの抗菌ペプチドが初乳を介して移行免疫として子牛に摂取されている可能性が高い。初乳中の抗菌ペプチドの役割の解明は、新生子牛の粘膜細菌叢の形成や下痢症の予防対策の構築に対して大いに貢献する研究であると期待される。

生体に敗血症のような大侵襲が加わると、腸管蠕動運動が低下して腸内微生物の異常増殖や細菌叢の変化がみられる。消化管の運動性の低下に連動して免疫細胞から分泌される分泌型IgAが不足して腸内細菌叢の調整に不具合が起こり、これにともなう腸粘膜細胞の脱落、また腸内細菌叢の乱調によって免疫機能が低下し、最終的には、腸管内に常在する細菌や真菌、LPSなどの毒素が腸管壁を通過して腸管以外の臓器に移行する、Bacterial Translocation (BT)が起こるリスクも高まる⁴⁰⁾。BTによって、元病の感染症に加えて日和見感染が併発することとなるが、元病の処置として投与していた抗菌薬に対して耐性である病原体が症状をもたらすため、更に難治性の病態となる。新生期は子牛の腸内細菌叢が定着する期間であり、下痢症に対する慣例的な抗菌剤の投与は腸管細菌叢の乱調を来とし、二次的感染を重篤化させる危険性が高まる。

ヒトの腸内に生息する細菌は100兆個、500種とも1000種ともいわれ、大腸に生息する嫌気性菌が多い。Hartmanら¹⁴⁾は給与するミルクの成分が腸内細菌のバランスに影響することを報告している。これによれば全乳を給与した子牛では糞便中の大腸菌群が増加しやすいものの、全乳にスターチを混合して給与すると大腸菌群が減少し、乳酸菌が増加する。このことから子牛の腸内細菌叢のバランスには摂取したミルクの成分が大きく影響することが考えられる。また動物への生菌剤の経口投与が消化管の大腸菌群の増殖を抑制し、整腸作用のあることは以前から知られており³³⁾、生菌剤の給与はこれまでも動物の腸

表2 プロバイオティクスに使用される菌種

○糖化菌、納豆菌 バチルス属(<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. mesentericus</i> , <i>B. natto</i> 他)
○乳酸菌 ・エンテロコッカス属(<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. faecium</i>) ・ラクトバチルス属(<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. rhamnosus</i> 他)
○酪酸菌 クロストリジウム属(<i>Clostridium butyricum</i>)
○ビフィズス菌 ビフィドバクテリウム属(<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. breve</i> 他)
○酵母類 酵母類(<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 他)

内細菌叢を人為的に調整する方法として応用されていた。表2に示すように、現在、いくつもの菌株が整腸に役立つことが見つけられ生菌剤として市販されている。*Clostridium (C.) butyricum* MIYAIRI 588は*Clostridium*属の一種で、培養系では腸管出血性大腸菌や出血性腸炎の原因菌として知られる*C.difficile*の増殖を抑制する効果のあることが証明されている⁴³⁾。生菌剤として利用されている細菌は動物にとって無害であるものの有害とされる細菌の増殖を抑制するため、動物の腸管内への抗菌作用を持つことが考えられる。またHeríasら¹⁵⁾はラットへの*Lactobacillus plantarum*の経口投与によって腸粘膜においてCD25陽性細胞が増殖し、IgAの分泌量が上昇することを報告している。子牛への*C. butyricum* MIYAIRI 588、*L. plantarum* 220、*E. faecium* 26混合生菌剤の給与により末梢T細胞が増加、且つサイトカイン遺伝子発現量が上昇することも明らかにされている³⁴⁾。また黒毛和種子牛への*C. butyricum* MIYAIRI 588、*L. plantarum* 220、*E. faecium* 26混合生菌剤の給与により、有用菌である*Bifidobacterium*が糞便中で増加することも報告されている³⁶⁾。生菌剤の給与は動物に対して、抗菌作用に留まらず直接または間接的に子牛の免疫システムの活性効果を持つことが示唆される。

安定した腸管細菌叢は子牛の獲得免疫の形成に大きな影響を持っているものの、免疫システムの形成において細菌叢と同様に、哺乳子牛における栄養の充足は免疫システムの成熟に重要な要因である。飼料設計を満たさない飼育下にある子牛では末梢血リンパ球数が低値で推移したり、活性に劣ることが報告されている^{10,31)}。Footeら⁹⁾は獲得免疫の応答性に子牛の成長率が影響しており、低栄養にある子牛ではワクチンの反応性が劣っているため、感染症のリスクが高まると指摘している。また1ヶ月齢の子牛へのLグルタミンの給与が末梢血CD4⁺T細胞の増数

効果を持つことも知られおり²⁰⁾、獲得免疫の成長期にある哺乳期の子牛の免疫システムの活性に不可欠な栄養充足には細心の注意を払うべきである。

哺乳期におけるワクチン

2ヶ月齢以降の牛と異なり、出生2ヶ月以内の子牛ではワクチン接種後に抗体価の上昇が見られないことがしばしばあるため、ワクチン接種には不向きであるとされている。Footeら⁹⁾は新生子牛へのワクチン接種によるB細胞集団の機能について報告している。この研究では3と5週齢の子牛に対して*Mycobacterium bovis*に対するワクチンを接種して、さらに二次ワクチンを接種すると、抗原特異的IgG1およびIgG2抗体産生を誘発し、さらにリンパ節中のIgM陽性B細胞において活性化B細胞に発現するCD25ならびにCD80の発現が上昇することを確認している。このことから新生期の子牛のB細胞は抗原刺激によって抗体を産生することが出来るものと考えられる。またTianら³⁹⁾は成人と臍帯血中のB細胞を分離し、臍帯血中のB細胞において体液性免疫を誘導するIL-4の受容体の遺伝子発現が成人のものに比べて明らかに低いことを証明している。彼らはこのB細胞を分離し、IL-4刺激培養してシグナル伝達兼転写活性化因子(STAT)-6の陽性B細胞を観察したところ、成人と臍帯血の双方がIL-4依存的に上昇するものの、臍帯血中のB細胞は反応性が低いことを観察している。これらのことは新生期の動物のB細胞は抗体産生出来るものの、機能としては劣っていることを示唆する。初乳から摂取した移行抗体は子牛自身のB細胞が抗原を記憶し抗体産生するシステムが形成されるまで、子牛の自然免疫の補助だけでなく、獲得免疫の成熟に利用される。移行抗体は子牛の体内に侵入した抗原と結合して中和反応によって毒性を低下させ、且つオプソニン反応によって抗原抗体複合体を形成して、子牛の抗原提示細胞への取り込みを促す。そのため、吸収した移行抗体が体内に存在する期間に少しでも多くの抗原に暴露することは子牛の獲得免疫の成長に有用であり、①移行抗体を産生する母牛は少しでも多くの抗原に暴露された方が子牛の獲得免疫の形成に有効である、

②子牛は出来るだけ多くの移行抗体を吸収する、③移行抗体が多く存在している新生期に少しでも多くの抗原に暴露させる、ことが子牛の獲得免疫の形成を高めるために有用である。新生子牛のワクチンブレイクの仮説は、新生期の子牛に対するワクチン接種によって抗体価が上昇しないことの原因を移行抗体によるワクチン抗原の不活化によるものとしていた。van der Sluijsら⁴¹⁾は移行抗体が存在する新生子牛へのRSウイルス不活化ワクチンの接種によって抗体価は上昇しないものの、感染の予防効果のあることを報告している。新生期の子牛の免疫システムは抗原に対する反応性に劣るものの、積極的に獲得免疫機能を高めようとしており、母牛の移行抗体はこれを補助するために極めて有効に機能するものと示唆される。

哺乳子牛の離乳と免疫機能

離乳とは、母乳または代用乳の乳汁栄養から粗飼料を中心として飼料内容に移行する過程をいう。この間に哺乳子牛の栄養摂取は、乳汁主体の栄養摂取体系から、完全な草食動物として粗飼料や濃厚飼料を採食し、栄養を摂取する消化器系に変化する。反芻動物である子牛では消化管の発達が単胃動物とは異なり、出生後から成長とともに徐々に第一胃が発達するため、その子牛の離乳までの飼料内容や飼育環境によって消化器の発達にも差がある。家畜として飼育されている子牛では経済性や飼料給与方法の簡便さ、また離乳により濃厚飼料の給与量が促進することから、出来るだけ早い時期での離乳が優先されることも多い³⁰⁾。しかし第一胃の機能が未発達なまま無理に離乳すると離乳ストレスに加え、カロリーに富む液状飼料の摂取がないために確実に栄養不足となる。

子牛にとって離乳は大きなストレスである。離乳によって子牛の血漿コルチゾール濃度ならびに好中球数が上昇し、且つリンパ球数とリンパ球のインターフェロン(IFN)- γ 産生能が低下することが報告されている¹⁶⁾。離乳した子牛では離乳後に好中球機能を示すことから、細菌感染が容易となるリスクが高まる²⁴⁾。デキサメタゾンには免疫細胞の機能を抑制

する効果があり、健康な子牛に対するデキサメタゾンの投与により末梢血中の好中球数が上昇、リンパ球数が低下するものの、反対に気管支内の好中球数が上昇する(図3)。機能の低下した細胞の呼吸器粘膜への遊走は粘膜面における微生物に対する感染防御能が低下することが考えられる²⁹⁾。また、Hodgsonら¹⁹⁾は、子牛へのいくつかのストレスの重複は免疫機能をさらに低下させることを報告している。彼らの成績では、離乳と輸送のストレスを与えBovine herpesvirusを感染させた後に子牛に対して実験的に*Mannheimia haemolytica*を感染させると、同条件で輸送せずに離乳だけした子牛に比べて生存率が低下することが知られており、ストレスの重複は呼吸器疾患の発生や重篤度に影響することが示唆される。牛複合型呼吸器疾患(BRDC)ではウイルスの感染により粘膜防御能が低下し、呼吸器における日和見微生物の増殖によって呼吸器病を発症するとされるものの、飼育環境における根本的な問題によっていくつかのストレスが重複した結果、免疫機能の低下を招き、*Pasteurella*や*Mycobacterium*などの常在菌の増殖を抑制出来なくなるために発症することを理解するべきであり、ウイルスの感染が呼吸器感染症の起点になると考える必要はない。

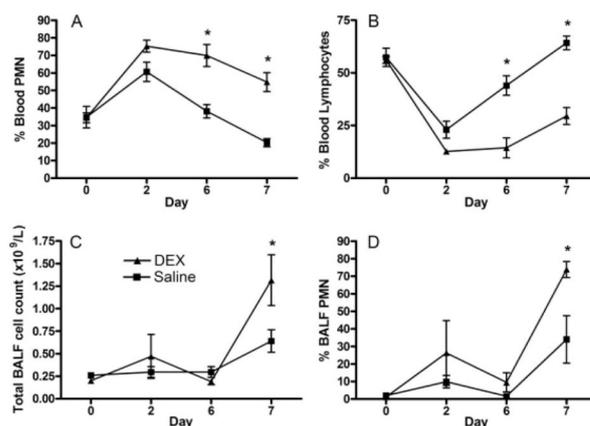


図3 デキサメタゾンを注射した子牛における肺葉内LPS注入後の末梢血ならびにBALFの好中球の割合の変化

子牛にはデキサメタゾン0.1mg/kgまたは生理食塩水を予め投与しておき、その後、LPS (500 μ g/10mlPBS)を肺葉気管支内に注入。全血中多核細胞の割合(A)、リンパ球割合(B)、BALF中総細胞数(C)、およびBALF中(D)中多核細胞割合を示す。P<0.05

おわりに

子牛の免疫システムの形成は胎生期から開始されており、様々なストレスとなる内的・外的要因が免疫システムの形成を妨げる。免疫の発達には適度な微生物の暴露刺激による免疫細胞の活性化と、分化を補足するための栄養の充足そして安楽な環境が必要であり、反対に免疫細胞の分化に抑制的に働くストレスを避けるべきである。免疫システムは個体差があり、牧場での飼育環境は牛群としての免疫機能に影響する。子牛の免疫システムは微生物との共生関係の成立によって形成され、また免疫システムの成熟とともに微生物との共生関係が維持される。これまで抗生物質によって微生物をコントロールする風潮が畜産業界にあったかもしれないが、皮膚や粘膜組織における微生物を薬物によって調整するための方法は現在まで確立されておらず、これからも出来ないであろう。近年、粘膜免疫に関する研究が飛躍的に進展した結果、免疫システムと感染症との関係が明らかにされつつあり、それらの知見を集約すると、牛が持つ生理的な免疫システムの成り立ちが全て抗病性を維持するために形成されており、偏った成績の把握と逸脱した管理方法が病気の発生をもたらす場面は今尚少なからず発生している。今後、これまで以上に子牛の免疫システムに合わせた飼育管理方法が見出され、子牛の健康を維持する検知が畜産生産に応用されるものと期待される。

引用文献

- 1) Baricelli J, Rocafull MA, Vázquez D, Bastidas B, Báez-Ramirez E, Thomas LE. β -defensin-2 in breast milk displays a broad antimicrobial activity against pathogenic bacteria. *J Pediatr (Rio J)*. 2015 91, 36-43.
- 2) Beyaz F1, Aşti RN. Development of ileal Peyer's patches and follicle associated epithelium with age : a longitudinal study. *Anat Histol Embryol*. 2004 33, 172-179.
- 3) Chase CC, Hurley DJ, Reber AJ. Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine response. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2008 24, 87-104.
- 4) Chattha KS, Firth MA, Hodgins DC, Shewen PE. Variation in expression of membrane IgM, CD21 (CR2) and CD32 (Fc γ RIIB) on bovine lymphocytes with age : a longitudinal study. *Dev Comp Immunol*. 2010 34, 510-517.
- 5) Donovan DC, Reber AJ, Gabbard JD et al. : Effect of maternal cells transferred with colostrum on cellular responses to pathogen antigens in neonatal calves. *Am J Vet Res*. 2007 68, 778-782.
- 6) Elhmouzi-Younes J, Storset AK, Boysen P, Laurent F, Drouet F. Bovine neonate natural killer cells are fully functional and highly responsive to interleukin-15 and to NKp46 receptor stimulation. *Vet Res*. 2009 40, 54.
- 7) Falconer AE, Carr R, Edwards SW. Impaired neutrophil phagocytosis in preterm neonates : lack of correlation with expression of immunoglobulin or complement receptors. *Biol Neonate*. 1995 68, 264-269.
- 8) Foote MR, Nonnecke BJ, Beitz DC, Waters WR. Antigen-specific B-cell responses by neonatal calves after early vaccination. *J Dairy Sci*. 2007 90, 5208-5217.
- 9) Foote MR, Nonnecke BJ, Beitz DC, Waters WR. High growth rate fails to enhance adaptive immune responses of neonatal calves and is associated with reduced lymphocyte viability. *J Dairy Sci*. 2007 90, 404-417.
- 10) Foote MR, Nonnecke BJ, Fowler MA, Miller BL, Beitz DC, Waters WR. Effects of age and nutrition on expression of CD25, CD44, and L-selectin (CD62L) on T-cells from neonatal calves. *J Dairy Sci*. 2005 88, 2718-2729.
- 11) Fries PN, Popowych YI, Guan LL, Griebel PJ. Age-related changes in the distribution and frequency of myeloid and T cell populations in the small intestine of calves. *Cell Immunol*. 2011 271, 428-437.
- 12) Giorgetti G, Brandimarte G, Fabiocchi F, Ricci S, Flamini P, Sandri G, Trotta MC, Elisei W, Penna A, Lecca PG, Picchio M, Tursi A. Interactions between Innate Immunity, Microbiota, and Probiotics. *J Immunol Res*. 2015, 501361.
- 13) Goto M, Maruyama M, Kitadate K, Kirisawa R, Obata Y, Koiwa M, Iwai H. Detection of interleukin-1 beta in sera and colostrum of dairy cattle and in sera of neonates. *J Vet Med Sci*. 1997 59, 437-441.
- 14) Hartman PA, Morrill JL, Jacobson NL. Influence of diet and age on bacterial counts of ileal digesta and feces obtained from young calves. *Appl Microbiol*. 1966 14, 70-73.
- 15) Herias MV, Hesse C, Telemo E, Midtvedt T, Hanson LA, Wold AE. Immunomodulatory effects of *Lactobacillus plantarum* colonizing the intestine of gnotobiotic rats. *Clin Exp Immunol*. 1999 116, 283-290.
- 16) Hickey MC, Drennan M, Earley B. The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. *J Anim Sci*. 2003 81, 2847-255.
- 17) Higuchi H, Nagahata H. Comparison of superoxide production, protein kinase C and tyrosine kinase activities in neutrophils from neonatal calves and cows. *Res Vet Sci*. 1998 65, 139-143.
- 18) Higuchi H, Nagahata H, Hiroki M, Noda H. Relationship between age-dependent changes of bovine neutrophil functions and their intracellular Ca²⁺ concentrations. *J Vet Med Sci*. 1997 59, 271-276.
- 19) Hodgson PD, Aich P, Stookey J, Popowych Y, Potter A, Babiuk L, Griebel PJ. Stress significantly increases mortality following a secondary bacterial respiratory infection. *Vet Res*. 2012 21, 43 : 21.
- 20) Hu ZY, Su HW, Li SL, Cao ZJ. Effect of parenteral administration of glutamine on autophagy of liver cell and immune responses in weaned calve. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2013 97, 1007-1014.
- 21) Isobe N, Sugino T, Taniguchi K, Moriya N, Hosoda K, Yoshimura Y. Differential localization of lingual antimicrobial peptide in the digestive tract mucosal epithelium of calves. *Vet Immunol Immunopathol*. 2011 142, 87-94.
- 22) Kampen AH, Olsen I, Tollersrud T, Storset AK, Lund A. Lymphocyte subpopulations and neutrophil function in calves during the first 6 months of life. *Vet Immunol Immunopathol*. 2006 113, 53-63.
- 23) Koenig JM, Simon J, Anderson DC, Smith E, Smith CW. Diminished soluble and total cellular L-selectin in cord blood is associated with its impaired shedding from activated neutrophils. *Pediatr Res*. 1996 39, 616-621.

- 24) Lynch EM1, Earley B, McGee M, Doyle S. Effect of abrupt weaning at housing on leukocyte distribution, functional activity of neutrophils, and acute phase protein response of beef calves. *BMC Vet Res.* 2010 22, 6 : 39.
- 25) Malmuthuge N, Li M, Fries P, Griebel PJ, Guan LL. Regional and age dependent changes in gene expression of Toll-like receptors and key antimicrobial defence molecules throughout the gastrointestinal tract of dairy calves. *Vet Immunol Immunopathol.* 2012 146, 18-26.
- 26) Manak RC. Neonatal calf serum immunoregulation of lymphocyte blastogenic responses. *J Anim Sci.* 1986 62, 759-771.
- 27) Menge C, Neufeld B, Hirt W, Bauerfeind R, Baljer G, Wieler LH. Phenotypical characterization of peripheral blood leucocytes in the newborn calf. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1999 46, 559-565.
- 28) Merry C, Puri P, Reen DJ. Defective neutrophil actin polymerisation and chemotaxis in stressed newborns. *J Pediatr Surg.* 1996 31 : 481-485.
- 29) Mitchell GB, Al-Haddawi MH, Clark ME, Beveridge JD, Caswell JL. Effect of corticosteroids and neuropeptides on the expression of defensins in bovine tracheal epithelial cells. *Infect Immun.* 2007 75, 1325-1334.
- 30) Nejad JG, Hosseindoust A, Shoae A, Ghorbani B, Lee BH, Oskoueian E, Hajilari D, Amouzmehr A, Lohakare JD, Sung KI. Effects of feeding levels of starter on weaning age, performance, nutrient digestibility and health parameters in holstein dairy calves. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2013 26, 827-830.
- 31) Ohtsuka H, Fukunaga N, Fukuda S et al. : Effect of Nutritive Conditions on Changes in Leukocytes Population in Japanese Black Calves. *J. Vet. Med. Sci.* 2005 67, 183-185.
- 32) Ohtsuka, H., Mukai, M., Tanami, E et al.: Relationship between Diarrhea and Peripheral Leukocyte Population in Neonatal Japanese Black Calves. *J. Vet. Med. Sci.* 2011 73, 1477-1479.
- 33) Ozawa K, Yabu-uchi K, Yamanaka K, Yamashita Y, Nomura S, Oku I. Effect of *Streptococcus faecalis* BIO-4R on intestinal flora of weanling piglets and calves. *Appl Environ Microbiol.* 1983 45, 1513-1518.
- 34) Qadis AQ, Goya S, Yatsu M, Kimura A, Ichijo T, Sato S. Immune-stimulatory effects of a bacteria-based probiotic on peripheral leukocyte subpopulations and cytokine mRNA expression levels in scouring holstein calves. *J Vet Med Sci.* 2014 76, 677-684.
- 35) Schultz RD, Dunne HW, Heist CE. Ontogeny of the bovine immune response. *Infect Immun.* 1973 7, 981-991.
- 36) 高橋 純, 高橋純子, 田中 愛, 遠藤 洋, 小形芳美, 加藤敏英, 松田典子, 田中 守. 2010. 子牛の腸内細菌叢に対する生菌剤 (ボバクテン®) の影響. *日家畜臨床感染症誌* 5, 9-16.
- 37) 田波絵里香, 大塚浩通, 向井真知子ら : 妊娠末期における母牛の栄養状態が出生後の黒毛和種産子の末梢白血球ポピュレーションに及ぼす影響 *日獣会誌* 2009 62, 623-629.
- 38) Thornton JR, Willoughby RA, McSherry BJ. Studies on diarrhea in neonatal calves : the plasma proteins of normal and diarrheic calves during the first ten days of age. *Can J Comp Med.* 1972 36, 17-25.
- 39) Tian C, Kron GK, Dischert KM, Higginbotham JN, Crowe JE Jr. Low expression of the interleukin (IL)-4 receptor alpha chain and reduced signalling via the IL-4 receptor complex in human neonatal B cells. *Immunology.* 2006 119, 54-62.
- 40) Uehara M, Plank LD, Hill GL. Components of energy expenditure in patients with severe sepsis and major trauma : a basis for clinical care. *Crit Care Med* 1999 ; 27 : 1295-1302
- 41) van der Sluijs MT, Kuhn EM, Makoschey B. A single vaccination with an inactivated bovine respiratory syncytial virus vaccine primes the cellular immune response in calves with maternal antibody. *BMC Vet Res.* 2010 11, 6 : 2.
- 42) Weinberg A, Krisanaprakornkit S, Dale BA. Epithelial antimicrobial peptides: review and significance for oral applications. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1998 9, 399-414.
- 43) Woo TD, Oka K, Takahashi M, Hojo F, Osaki T, Hanawa T, Kurata S, Yonezawa H, Kamiya S. Inhibition of the cytotoxic effect of *Clostridium difficile* in vitro by *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 strain. *J Med Microbiol.* 2011 60, 1617-1625.
- 44) 山口智宏 新しい免疫活性療法－産業動物のための疾病予防 *臨床獣医* 32, 27-32.
- 45) Yamanaka H, Hagiwara K, Kirisawa R, Iwai H. Proinflammatory cytokines in bovine colostrum potentiate the mitogenic response of peripheral blood mononuclear cells from newborn calves through IL-2 and CD25 expression. *Microbiol Immunol.* 2003 47, 461-468.