

乳牛の末梢血液中の好中球およびリンパ球機能に及ぼす 活性卵白粉末の影響

佐藤 繁^{1)†}岡田啓司²⁾鈴木利行¹⁾

1) 宮城県農業共済組合連合会県南家畜診療センター (〒989-0731 白石市福岡深谷字桜丘前10)

2) 岩手大学農学部 (〒020-0066 盛岡市上田3-18)

(2005年9月26日受付・2006年2月7日受理)

要 約

活性卵白粉末 (AEWP: 500mg/kg) を1回経口投与した乳牛において末梢血液中の好中球ニトロブルーテトラゾリウム (NBT) 還元能とリンパ球幼若化能の推移を検討した。好中球NBT還元能は投与日から翌日にかけて上昇し、3日目まで高値を呈して5日目には投与前と同様の値を示した。PHAとCon Aに対するリンパ球幼若化能は、投与翌日から急激に上昇し、2日目と3日目あるいは5日目に高値を呈して7日目には投与前と同様の値に回復する傾向が認められた。AEWP (500mg/kg) の1回経口投与は、乳牛の末梢血液中の好中球NBT還元能とリンパ球幼若化能を増強する作用のあることが示唆された。——キーワード：活性卵白粉末，リンパ球幼若化能，乳牛，好中球NBT還元能。

日獣会誌 59, 464~466 (2006)

安全で安心な畜産物の生産を目的として抗菌性物質の使用低減が推奨されるに伴い、免疫賦活物質の効果が改めて注目されている。免疫増強効果を有する物質のなかで活性卵白粉末 (AEWP) は、細菌感染に対する宿主の非特異的な防御能を増強する作用 [1, 2, 5, 7, 8, 14] のあることが認められている。マウスではAEWP (500~2,000mg/kg) 経口投与によって大腸菌や黄色ブドウ球菌に対する感染防御能が増強され [2]、好中球ばかりでなく腹腔および肺胞マクロファージも活性化され [7]、また、哺乳豚ではAEWP (20mg/kg) 投与によって好中球の貪食活性が増強される [1]。牛ではAEWP経口投与によって好中球のニトロブルーテトラゾリウム (NBT) 還元能と殺菌作用が増強する [14] と報告されているが、AEWP投与が牛のリンパ球機能に及ぼす影響は知られていない。

今回、乳牛の末梢血液中の好中球およびリンパ球機能に及ぼすAEWPの影響を明らかにする目的で、AEWP (500mg/kg) を1回経口投与した乳牛において好中球NBT還元能とリンパ球幼若化能の推移を検討した。

材 料 お よ び 方 法

供試薬剤：AEWPは鶏卵白を *Saccharomyces cerevisiae* で発酵させて作成した製剤^{a)}を用いた。

供試牛および試験方法：供試牛は臨床的に健康と認められたホルスタイン種の雌牛18頭である。いずれも管内2戸の酪農家に飼養されていた泌乳牛で、分娩後2~3カ月を経過し、2産以上の産歴を有していた。10頭に対してAEWP (500mg/kg) をカテーテルで1回経口投与し、他の8頭は無処置の対照とした。採血は投与直前、投与後1, 2, 3, 5および7日目の計6回実施した。末梢血液中の白血球数は自動血球計数器によって測定し、好中球数とリンパ球数は白血球百分比から算出した。

好中球NBT還元能：末梢血液からの好中球の分離とNBT還元能は、Nakagawaら [14] の方法に準じて行った。NBT還元能は吸光度 (OD) で表現し、検体ODから対照ODを引いて算出した。

リンパ球幼若化能：末梢血液からのリンパ球の分離はIshikawaら [6] の方法、幼若化反応はMTT (3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl) -2, 5-diphenyl tetrazolium-bromide) を用いたMosmann [12] の方法に準じて行った。マイトジェンとしてはフィトヘムアグルチニン (PHA) とコンカナバリンA (Con A) を用いた。幼若化能はODに基づき刺激指数 [SI = (刺激培養のOD) × 100 / (対照培養のOD)] で表現した。

a) ノイリッチ®, (株)エーザイ, 東京。

† 連絡責任者：佐藤 繁 (宮城県農業共済組合連合会県南家畜診療センター)

〒989-0731 白石市福岡深谷字桜丘前10 ☎0224-25-4565 FAX 0224-25-2653

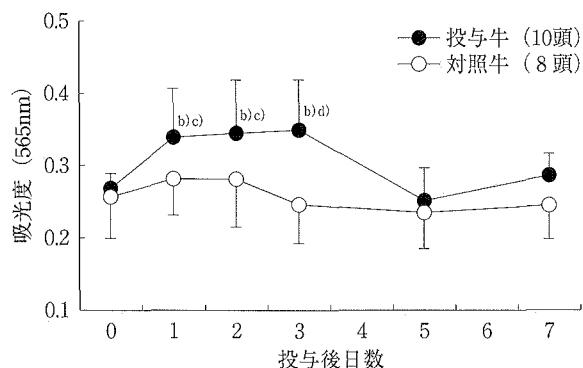


図1 活性卵白粉末投与牛における末梢血液中の好中球 NBT還元能の推移

b) $P < 0.01$ (投与前との有意差), c) $P < 0.05$, d) $P < 0.01$ (対照牛との有意差).

統計処理：データは平均±標準偏差で表現し、平均値の有意性の検定はStudentの*t*検定により行った。

成 績

好中球NBT還元能：投与牛の好中球NBT還元能は、投与日から翌日にかけて上昇し、投与後1～3日目までの間、投与前および対照牛に比べて有意 ($P < 0.01$ および $P < 0.05$) な高値を呈した後、しだいに低下して5日目には投与前と同様の値を示した (図1)。なお、投与牛の白血球数と好中球数は投与後3日目と5日目以降に投与前に比べてわずかに低値を示し、リンパ球数は投与日から7日目までの間、ほぼ一定の値で推移した。

リンパ球幼若化能：投与牛のSI値は、投与後1日目から2日目にかけて急激に上昇し、2日目あるいは3日目に最高値を呈した後、しだいに低下して7日目には投与前と同様の値を示した (図2)。特にPHAでは投与後2, 3および5日目に、Con Aでは投与後2および3日目に、投与前や対照牛に比べて有意 ($P < 0.01$ および $P < 0.05$) な高値を示した。

考 察

Nakagawaら [14] は、AEWP (500mg/kg) を1回経口投与した2～3週齢のホルスタイン種子牛において、好中球のNBT還元能と黄色ブドウ球菌細胞内殺菌能は、投与翌日から上昇して投与後3日目に最高値を示すことを認めている。今回、AEWPの投与量はNakagawaら [14] の報告に従い500mg/kgとしたところ、AEWP投与牛の好中球NBT還元能は投与日から翌日にかけて上昇し、投与後1～3日目までの間、投与前および対照牛に比べて有意な高値を示した。これらの結果は2～3週齢の子牛を用いた報告 [14] と同様の傾向であり、AEWP (500mg/kg) 1回投与は、子牛ばかりでなく成牛においても末梢血液中の好中球NBT還元能を増強する作用のあることが示唆された。

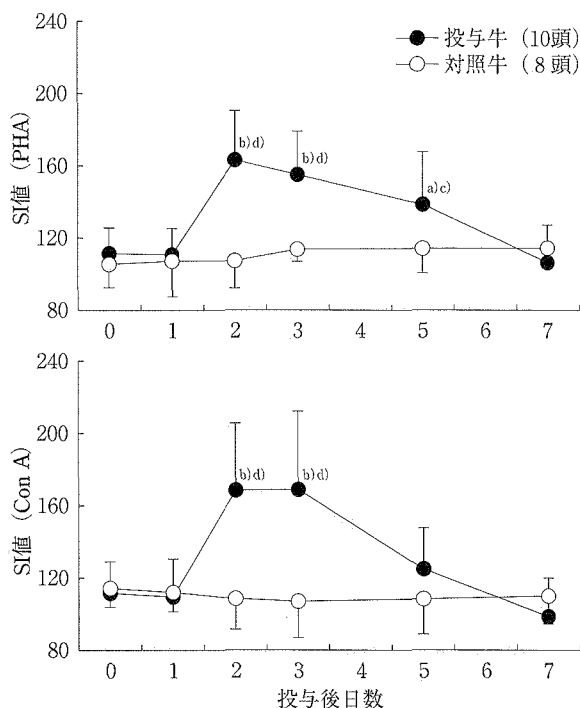


図2 活性卵白粉末投与牛における末梢血液中のリンパ球幼若化能の推移

a) $P < 0.05$, b) $P < 0.01$ (投与前との有意差), c) $P < 0.05$, d) $P < 0.01$ (対照牛との有意差)

以前に著者ら [15] は、AEWPを投与した乳牛では周産期における末梢血液中の好中球およびリンパ球機能低下が軽減されることを認めたが、その機序は不明のままであった。AEWPが牛のリンパ球機能に及ぼす影響を検討した報告はみられないが、今回、AEWP投与牛においてPHAとCon AのSI値は、投与翌日から2日目にかけて急激に上昇し、2～3日目に最高値を示した後、しだいに低下する傾向が認められた。このことから、牛に対するAEWP (500mg/kg) 1回投与は、PHAやCon Aで刺激されるTリンパ球活性 [13] を一時的に増強する作用のあることが示唆された。好中球およびリンパ球機能を増強するAEWPの活性物質は不明である。経口投与によって好中球NBT還元能やリンパ球幼若化能が増強されることから、活性物質はAEWP自身に含まれる物質あるいは消化管で分解された後に産生されるペプチドの可能性もある [14]。これら活性物質は、腸粘膜固有層や腸パイエル板に存在するリンパ球、好中球およびマクロファージなどの免疫担当細胞を刺激する [10, 11] と推察されるが、乳牛の免疫システムに及ぼすAEWPの影響および作用機序のさらなる詳細については、今後の検討課題である。

ある種の菌体制剤はサイトカイン産生やナチュラルキラー細胞活性の増強によって牛の免疫系を刺激し、黄色ブドウ球菌に起因した慢性乳房炎の治療と予防に効果がある [3] と報告されている。今回の結果から、牛に対

するAEWP投与は末梢血液中の好中球活性やリンパ球幼若化能を刺激し、細菌感染に対する防御能を増強する作用があると推察された。しかし、AEWP投与による感染防御能については、サイトカイン活性 [4, 9, 16] に及ぼす影響を含めて、さらに検討する必要がある。また、今回、AEWP投与が末梢血液中の好中球およびリンパ球機能に及ぼす影響の一部を明らかにしたが、AEWPの臨床応用にあたっては、対象とする疾病や牛群の選定を含めて慎重に検討する必要があると考えられた。

引用文献

- [1] Araki S, Kimura M, Suzuki M, Fujimoto M : J Vet Med Sci, 55, 899-900 (1993)
- [2] Araki S, Suzuki M, Fujimoto M : J Vet Med Sci, 54, 1055-1056 (1992)
- [3] Dinsmore RP, Catell MB, Stevens RD, Gabel CS, Salman MD : J Dairy Sci, 78, 1932-1936 (1995)
- [4] Grimble RF : Nutr Res Rev, 3, 193-210 (1990)
- [5] Hirota Y, Yang MP, Araki S, Yoshihara K, Furusawa S, Yasuda M, Mohamed A, Matsumoto Y, Onodera T : J Vet Med Sci, 57, 825-829 (1995)
- [6] Ishikawa H, Shirahata T : Jpn J Vet Sci, 48, 111-115 (1986)
- [7] Kimura M, Araki S, Suzuki M, Fujimoto M : Animal Sci Technol, 65, 49-52 (1994)
- [8] Kimura M, Suzuki M, Araki S : Animal Sci Technol, 66, 770-772 (1995)
- [9] 國保健浩 : 家畜診療, 47, 675-688 (2000)
- [10] McDermott MR, Bienenstock J : J Immunol, 122, 1892-1898 (1979)
- [11] McDermott MR, Clark DA, Bienenstock J : J Immunol, 124, 2536-2539 (1980)
- [12] Mosmann T : J Immunol Methods, 65, 55-63 (1983)
- [13] 永幡 肇 : 家畜診療, 48, 771-778 (2001)
- [14] Nakagawa J, Osame S, Ichijo S, Araki S, Kimura M : J Vet Med Sci, 55, 259-263 (1993)
- [15] 佐藤 繁, 木村有一, 鈴木利行, 小野秀弥, 今野清勝, 渡辺昭夫, 一條俊浩 : 家畜診療, 384, 19-23 (1995)
- [16] Tizard IR : Veterinary Immunology, An Introduction, 6th ed, 127-138, WB Saunders, Philadelphia (2000)

Effect of Active Egg White Product on Peripheral Blood Neutrophil and Lymphocyte Function in Cows

Shigeru SATO*†, Keiji OKADA and Toshiyuki SUZUKI

* *Ken-nan Veterinary Clinic Center, Miyagi Prefectural Federated Agricultural Mutual Aid Association, 10 Sakura-Okamae, Fukuoka-Fukaya, Shiroishi, 989-0731, Japan*

SUMMARY

Nitroblue tetrazolium (NBT) reductivity of peripheral blood neutrophils and blastogenic activity of peripheral blood lymphocytes were investigated in cows administered with a single oral dose of active egg white product (AEWP; 500mg/kg). NBT reductivity of neutrophils increased and reached a maximum level at one to three days after administration. Administration of AEWP enhanced the blastogenic activities of lymphocytes for phytohaemagglutinin (PHA) and concanavalin A (Con A). Stimulation index (SI) values for PHA and Con A increased and reached a maximum level at two to three days after administration. These results suggested that a single oral dose of AEWP (500mg/kg) might enhance the bovine peripheral blood neutrophil and lymphocyte function. — Key words : Active egg white product, blastogenic activity, cows, NBT reductivity.

† *Correspondence to : Shigeru SATO (Ken-nan Veterinary Clinic Center, Miyagi Prefectural Federated Agricultural Mutual Aid Association)
10 Sakura-Okamae, Fukuoka-Fukaya, Shiroishi, 989-0731, Japan
TEL 0224-25-4565 FAX 0224-25-2653*

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 59, 464 ~ 466 (2006)