

原著論文

事故多発黒毛和種繁殖農場における母牛の栄養状態と 出生子牛の血液性状の関係

芝野健一^{1)*} 黒木智成²⁾ 斎藤隆文²⁾ 嵐 泰弘¹⁾1) 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
(〒669-3309 丹波市柏原町柏原3405-1)

2) 兵庫県農業共済組合連合会 淡路基幹家畜診療所三原診療所

*連絡担当者：芝野健一

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
(〒669-3309 丹波市柏原町柏原3405-1)

TEL 0795-72-0244

FAX 0795-73-0358

【要約】

事故多発黒毛和種繁殖農場の母牛40頭と出生子牛24頭を用い、母牛の低栄養が出生子牛の血液生化学値および末梢血白血球サブポピュレーションに及ぼす影響を調査した。低栄養母牛では、低Glu、低TCho、低Alb、高BUNが、その出生子牛では低Glu、低TCho、低Alb、高ASTがみられ、母子ともに県下の基準値に比べ低エネルギー低蛋白状態が観察された。そこで、妊娠末期と哺乳期の母牛飼料を改善したところ、母牛とその産子の血液性状は改善した。出生子牛19頭の末梢血白血球解析を行ったところ、CD4⁺T細胞数、CD8⁺T細胞数、およびCD4⁺/CD8⁺比は改善前に比べ有意に増加した。以上より、分娩前後の母牛の低栄養は出生子牛の血液性状に影響を及ぼし、子牛の病傷事故や発育遅延の原因になると思われた。

【キーワード：黒毛和種、子牛、免疫、栄養、白血球ポピュレーション】

【緒論】

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 [4, 5] 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 [8]。また一戸当たり飼養頭数の増加に伴い、病傷事故や死傷事故が多発するが、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)、および子牛の末梢血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、死傷・病傷事故の発生状況、市場出荷成績を改善前と比較した。

【材料と方法】

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

△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)、粗蛋白質 (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)、 β 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)、 γ 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)、 α トコフェロール (VE) (以上、高速液体クロマトグラフィー法)、 γ グロブリン (γ 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、 γ 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。

子牛末梢血白血球サブpopulation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 (γ δ 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%)、CPI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 γ 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 ± 6 mg/dL)、低TCho (92 ± 15 mg/dL)、低Alb (2.92

±0.24g/dL)、ならびに高BUN (19.4±3.6mg/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±19mg/dL)、低TCho (96±25mg/dL)、低Alb (2.92±0.16g/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。

子牛末梢白血球サブpopulationでは、改善前の総白血球数は顆粒球数の増大が観察されたが、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。死傷事故は、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 [1] 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 [9]、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 [7]。また、小形ら [8] 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 [3] は反芻動物のCD3⁺TcR⁺ (γ δ) 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⁺ (γ δ) T細胞は、細胞性免疫応答を促進するインターフェロン γ 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 [4, 5]。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 [2, 6] 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る。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。

【謝辞】

白血球サブポピュレーションの解析および御助言を頂きました北里大学大塚浩通先生に深謝いたします。

【引用文献】

1. Bell, A. W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73:2804-2819.
2. 深田恒夫, 青木志保, 吉川陽人, 上林譲, 鬼頭克也, 北川均. 2005. 毛包虫症犬におけるリンパ球CD4/CD8比の意義について. *日獣会誌.* 58:113-116.
3. Kimura, K., Goff, J. P., Kehrl, M. E. and Harp, J. A. 2002. Phenotype analysis of

- peripheral blood mononuclear cells in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:544-550.
4. 松田敬一. 2005. バナナ給与による子牛の免疫活性化作用と疾病予防効果. *臨床獣医.* 23(2):20-24.
 5. Ohtsuka, H., Fukunaga, N., Hara, H., Fukuda, S., Hayashi, T., Hoshi, F., Yoshino, T., Koiwa, M. and Kawamura S. 2003. Changes in peripheral leukocyte populations of weak calf syndrome of Japanese black calves. *J. Vet. Med. Sci.* 65:793-796.
 6. 大塚浩通, 晴山寛子, 小比類巻正幸, 今瀬留以, 増井真知子, 安藤貴朗, 渡辺大作, 川村清市, 佐藤繁. 2006. 乳牛の炎症性疾患における末梢血白血球ポピュレーションとリンパ球幼若化反応. *家畜臨床誌.* 29:47-52.
 7. 大塚浩通. 2006. 生産性向上を目的にした乳牛の臨床免疫について. *家畜診療.* 53:265-273.
 8. 小形芳美, 高橋浩吉, 阿部浩之, 三澤 隆, 漆山芳郎, 酒井淳一. 1997. 黒毛和種虚弱子牛の血液性状. *日獣会誌.* 50:589-592.
 9. 大塚浩通. 産業動物臨床における感染症と免疫システムの関わり. 2007. *日本家畜臨床感染症研究会誌* 2(1):9-13.
 10. Wyatt, C. R., Madruga, C., Cluff, C., Parish, S., Hamilton, J. M., Godd, W. and Davis, C. 1994. Differential distribution of $\gamma \delta$ T-cell receptor lymphocyte subpopulations in blood and spleen of young and adult cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 40:187-199.

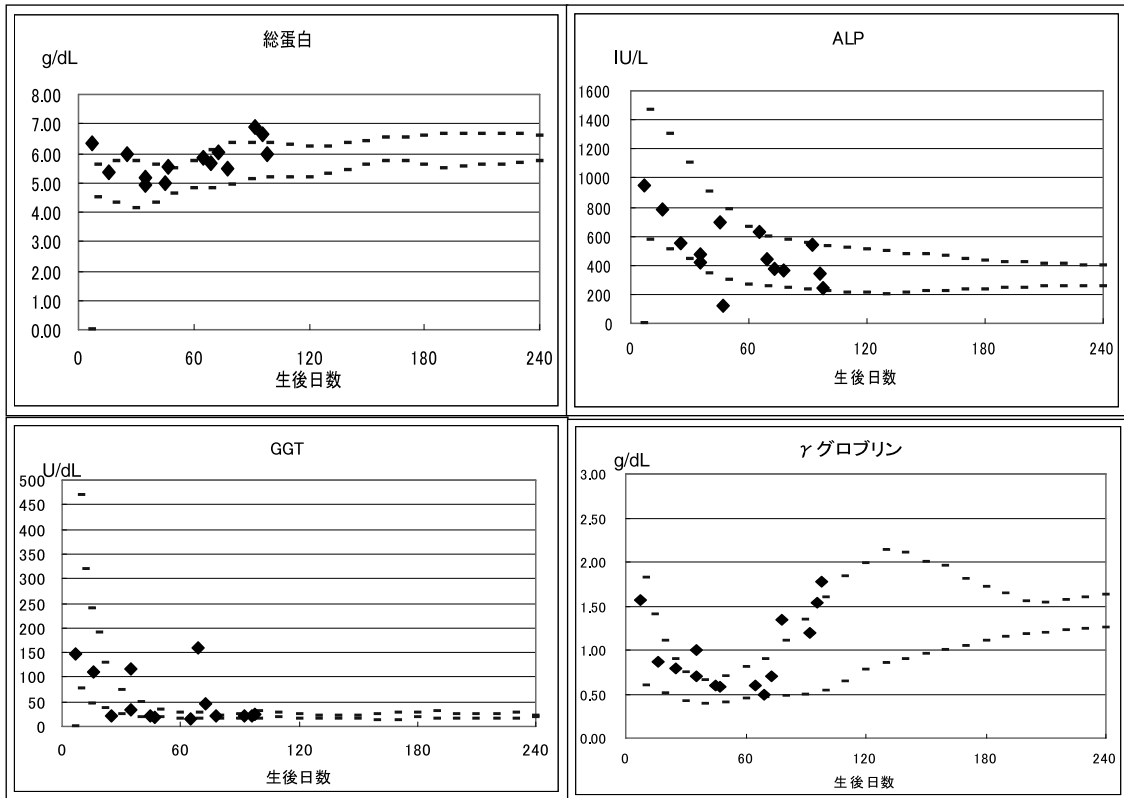


Fig. 1. Evaluation of the foremilk intake in the calves.
Dash line area express the normal level.

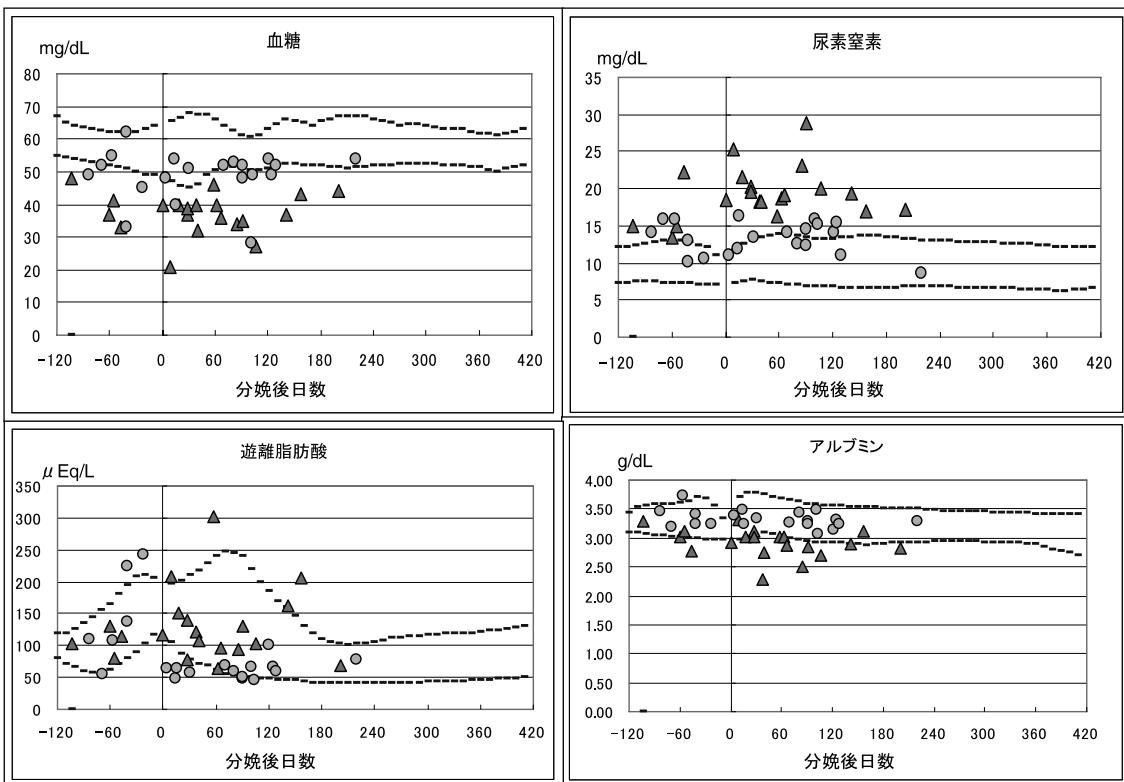


Fig. 2. Comparison of the serum Glu, BUN, FFA and Alb between before and after improvement of feed in cows.
○ after improvement. △ before improvement. Dash line area expressed the normal level.

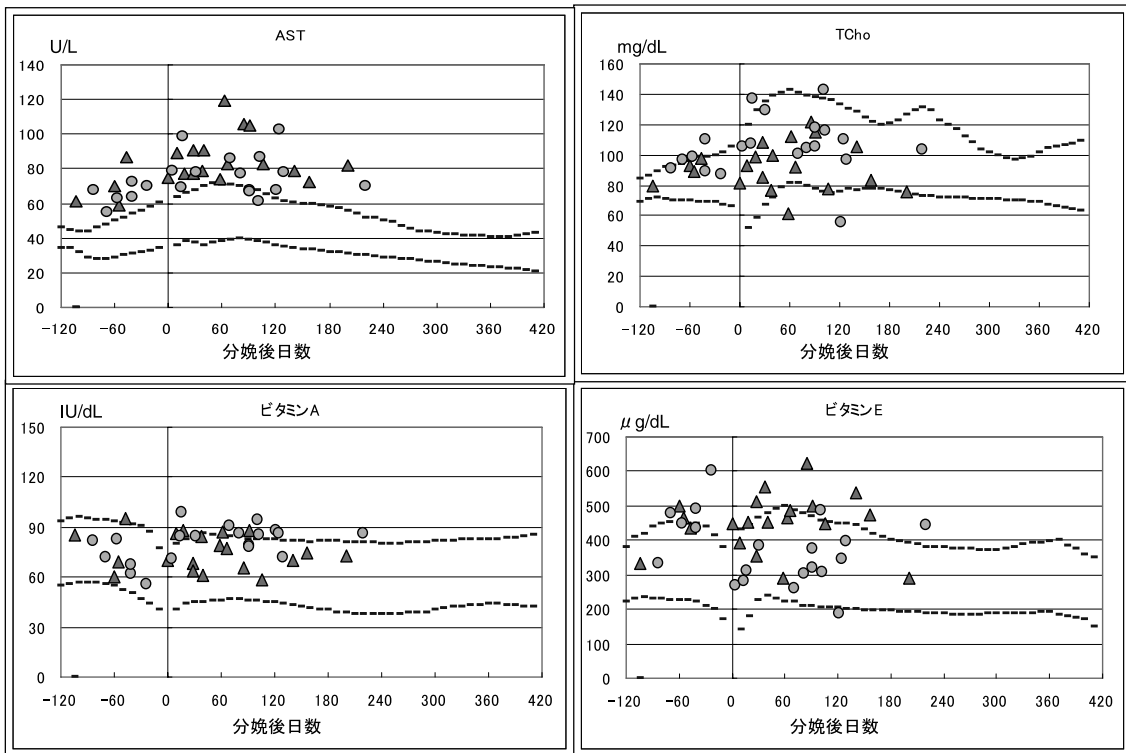


Fig. 3. Comparison of the serum AST, Tcho, VA and VE between before and after improvement of feed in cows.

○ after improvement. △ before improvement. Dash line area expressed the normal level.

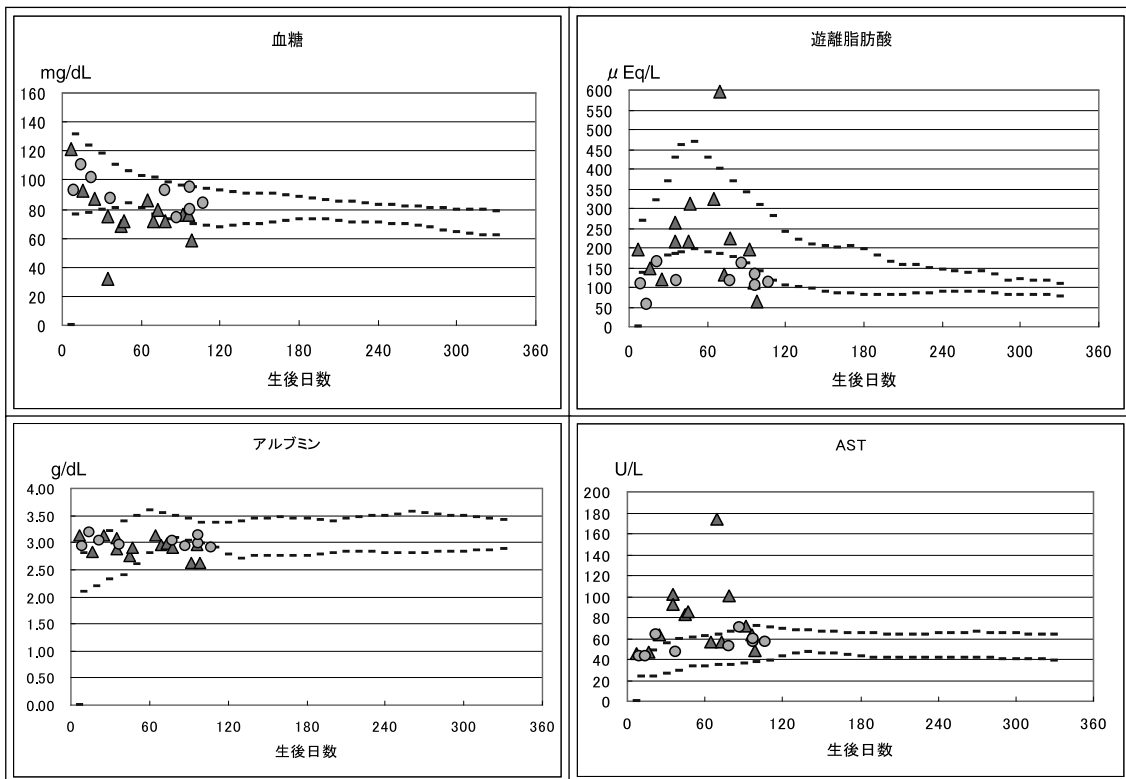


Fig. 4. Comparison of the serum Glu, FFA, Alb and AST between before and after improvement of feed in calves.

○ after improvement. △ before improvement. Dash line area expressed the normal level.

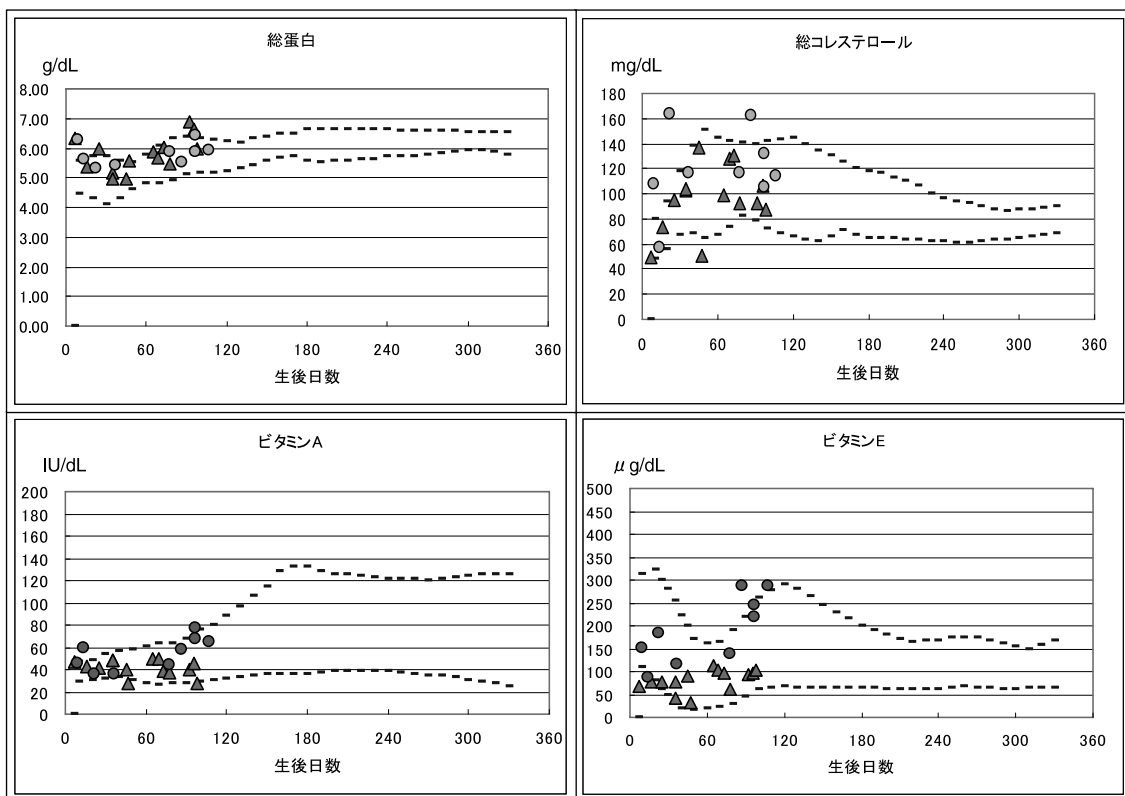


Fig. 5. Comparison of the serum TP, Tcho, VA and VE between before and after improvement of feed in calves.

○ after improvement. △ before improvement. Dash line area expressed the normal level.

Table 1. Quantity and contents of feed before and after improvement.

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
イネ科乾草	4.0	4.0	4.0	イネ科乾草	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

Table 2. Comparison of peripheral blood leukocyte population between before and after improvement of feed in calves.

		～30日齡	31～60日齡	90日齡～
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
Bリンパ球数 (MHC class II+CD14-)	改善前	577±260	726±210	1516±180
	改善後	397±80	865±320	1727±360
CD3+TcR+ (γ δ T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 [*]

mean±S.E * :p<0.05, ** :p<0.01

Table 3. The number of cows incidence and worthless before and after improvement of feed in calves.

		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

() :percentage of calves (%)

Table 4. Condition of the calves at shipping before and after improvement of contents.

		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 ^a	0.82 ^c	11	277	205 ^e	0.74 ^g
	同一地域	285	281	248	0.89	308	286	226	0.80
改善後	当該農場	8	264	221 ^a	0.85 ^c	8	290	216 ^e	0.75 ^g
	同一地域	341	277	248	0.90	280	286	227	0.80
改善後	当該農場	9	256	258 ^b	1.01 ^d	5	294	270 ^f	0.92 ^h
	同一地域	338	276	252	0.91	260	285	228	0.80

Age in day, body weight and daily gain (DG) are expressed as means.

a-b, c-d, e-f, g-h: p<0.01

Relationship between nutritive conditions of pregnant Japanese black cows and blood constituent of their calves in the high incidence prone farm

Ken-ichi Shibano, Tomonari Kuroki, Takafumi Saito and Yasuhiro Arashi.
Hyogo Prefecture Federation of Agricultural Mutual Aid Association
(3405-1, Kaibara, Kaibara-cho, Tanbashi, Hyogo 669-3309)

ABSTRACT

To investigate the maternal relationship between the under-nutrition in cows and blood chemistry profile and leukocyte populations in their calves, 40 pregnant cows and 24 their calves in the high incidence prone farm were used. Blood constituent in under-nutrition cows were observed low Glu, low Tcho, low Alb and high BUN, and their calves were observed low Glu, low Tcho, low Alb and high AST. After improvement of feed in cows during late pregnancy and nursing period, cows and their calves changed blood constituent for the better. The leukocyte subsets were examined in nineteen calves. The number of CD4⁺ T cells, CD8⁺ T cells and CD4⁺/CD8⁺ ratio were significantly increase in calves after feed improvement. These results indicated that under-nutrition of pregnant cows during periparturient period have an effect on blood constituent in their calves, and also become a cause of disease and growth retardation.

【Key words: calf, immunity, Japanese Black cow, leukocyte population, nutrition.】