

原著論文

## 微細藻類 *Coccomyxa* 抽出物多糖体鼻腔内噴霧が子豚の発育、 血液成分および免疫関連遺伝子発現量に及ぼす影響

山田未知<sup>1,2)</sup>・胡口桃子<sup>2)</sup>・菅野美樹夫<sup>3\*)</sup>・尾崎邦嗣<sup>3)</sup>・  
大塚浩通<sup>4)</sup>・高橋俊彦<sup>1,2)</sup>・末野 修<sup>5)</sup>・中辻浩喜<sup>1,2)</sup>

1) 酪農学園大学農食環境学群	北海道江別市	069-8501
2) 酪農学園大学酪農学部	北海道江別市	069-8501
3) 酪農学園フィールド教育研究センター	北海道江別市	069-8501
4) 北里大学獣医学部	青森県十和田市	034-8628
5) 株式会社日健総本社	岐阜県羽島市	501-6255
* 現 酪農学園大学獣医学群	北海道江別市	069-8501

連絡担当者：山田未知  
TEL & Fax：011-388-4865  
E-mail：m-yamada@rakuno.ac.jp

### 【要 約】

微細藻類 *Coccomyxa* 抽出物多糖体溶液 (*Coccomyxa* 溶液) の鼻腔内噴霧が子豚の発育と血液成分および免疫関連遺伝子発現量に及ぼす影響について検討した。48～50日齢の三元交雑種去勢雄および雌子豚を、蒸留水を用いた対照区、1% *Coccomyxa* 溶液を用いた試験区に分け、供試豚に対して4週間、各区溶液を毎日1回鼻腔内噴霧するとともに、直腸温を測定した。また、噴霧開始時から1週間ごとの採血により、血液成分調査を行うとともに、噴霧前、2週目および4週目の血液を用いて免疫関連遺伝子発現量も調査した。各週における両区子豚の体重と一日平均増体量、平均直腸温に差はなかった。血液成分では、噴霧開始3週目(69～71日齢)のヘモグロビン濃度とヘマトクリット値が試験区に比べ対照区で有意に低値を示し( $P<0.05$ )、白血球数も低い傾向を示した( $P<0.1$ )。また、3週目のCRP濃度は試験区に比べ対照区で有意に高値を示した( $P<0.05$ )。血中免疫関連因子 mRNA 発現量では4週目(76～78日齢)のPerforinが試験区に比べ対照区で有意に低値を示し( $P<0.05$ )、Mx1は試験区に比べ対照区で高い傾向を示した( $P<0.1$ )。このことから、*Coccomyxa* 抽出物多糖体溶液の鼻腔内噴霧の有無により子豚における炎症性の生理学的反応に差が見られる可能性が示唆された。

**キーワード：***Coccomyxa*、子豚、血球成分、血清蛋白質、免疫関連遺伝子

### 【緒 言】

呼吸器病や消化器病を主体とする日和見感染や慢性疾病が大きな問題となっている日本の養

豚業 [23] では、疾病対策として衛生環境の整備、清掃消毒の徹底、ワクチンや抗菌剤投与等により、事故率低減に努めている [17, 33]。しかし、多頭化が進む日本の養豚 [24] ではワクチンや抗菌剤投与の経費や、労力負担の増加が考えられるほか、抗菌剤投与による耐性菌の出

受付：2017年9月13日  
受理：2017年12月18日

現 [2, 3, 5, 15]、さらには抗菌剤等の残留 [27] など多くの課題を残している。今後も更なる多頭化が予想される日本の養豚業においては、ワクチンや抗菌剤等の医薬品に依存せず、安全でかつ労力や経費負担を軽減できる疾病対策が必要とされる。

これまで抗菌剤に依存しない養豚業推進における生産性向上のため、いくつかの研究が行われてきた [32, 34, 35, 38]。設楽と忽那は抗菌性飼料添加物を含まない飼料に乳酸菌製剤を添加した結果、抗菌性添加物と同等の飼料要求率改善効果を有することを報告している [32]。また、Song らは、病原性大腸菌を実験的に感染させた離乳豚に食餌性粘土を給与した結果、下痢が軽減したと報告している [34]。さらに、鈴木らは、海藻およびβ-グルカンを飼料中に添加することにより、給与した豚の免疫能が影響を受けることを報告している [35]。また、Yan らは、妊娠後期および泌乳期雌豚に漢方薬パウダー添加飼料を給与した結果、その子豚の血清代謝反応や細胞性および液性免疫反応に有益な影響を及ぼすことを報告している [38]。

近年、藻類の一種である微細藻類 *Coccomyxa* は粘性多糖体の産生が著しく [12]、その多糖体は単純ヘルペスウイルス I 型や A 型インフルエンザウイルス等に対して抗ウイルス活性が高いことが示されている [12, 16]。また、鶏においてはこの抽出物多糖体が免疫活性を高め、伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスの増殖を抑制することも報告されていることから [7]、これまで豚に対して投与報告が見られない同抽出物多糖体は、養豚業における慢性疾病対策への活用が期待が持てる可能性が考えられる。

そこで本研究では、微細藻類 *Coccomyxa* 抽出物多糖体が豚慢性疾病対策へ応用可能かどうかについて検討するにあたり、本抽出物多糖体溶液の鼻腔内噴霧による子豚の疾病感染等に対する生理学的反応を検討する上で、同抽出物鼻腔内噴霧の有無による子豚の体温と発育および血液成分、免疫関連遺伝子発現量への影響について調査した。

## 【材料と方法】

### 1. 調査方法

本研究は、酪農学園豚コンベンショナル農場

において、2013年11月27日から同年12月25日にかけて実施した。

供試豚として繁殖雌豚2腹から生産された三元交雑豚 (WLD) 去勢雄6頭および雌4頭、計10頭を用いた。本研究では、微細藻類 *Coccomyxa* 抽出物多糖体投与による疾病感染等に対する生理学的な反応を調査するため、主な疾病における母豚からの移行抗体の消失時期 [1, 10, 29] を考慮して、生後48～50日齢から調査を開始した。これらの豚は蒸留水を用いた対照区、1% *Coccomyxa* 抽出物多糖体を蒸留水に溶解した溶液 (*Coccomyxa* 溶液) を用いた試験区に各区去勢雄3頭および雌2頭の計5頭を各腹から均等となるように配置し、供試豚は隣接する各豚房で区ごとに群飼した。供試豚にはトリガータイプスプレー (ダイヤスプレーエクセレント、株式会社フルブラ) を使い、4週間毎日各溶液を左右鼻腔内に1回噴霧するとともに、直腸式デジタルサーモメーター (株式会社アステック製) により直腸温を測定した。なお、各区供試豚への1回当たりの各溶液噴霧量は、豚萎縮性鼻炎対策で用いられている硫酸カナマイシンの子豚への鼻腔内噴霧量 [18, 22] を参考に、1回当たり左右鼻腔内に各1ml、計約2mlとした。また、噴霧前 (48～50日齢)、噴霧1週目 (55～57日齢)、2週目 (62～64日齢)、3週目 (69～71日齢)、4週目 (76～78日齢) に体重測定を行うとともに各豚の外頸静脈よりヘパリン添加採血管およびブレイン採血管にて採血を行い、各週の血液により血球成分、血清蛋白質成分および、噴霧前、2週目、4週目の血液を用いて免疫関連因子 mRNA 発現量分析の測定に用いた。

なお、本研究に用いた子豚には一切ワクチン接種は行っておらず、子豚を娩出した母豚についても直近でのワクチン接種は行っていない。

### 2. 血球成分及び血清蛋白質分析

血球成分については、自動血球計装置 (MEK-5208、セルタック α、日本光電工業株式会社製) にて各項目の測定を行った。また、血清総蛋白質量および C-reactive protein (CRP) 量については、自動分析装置 (BM8060 日本電子株式会社製)、その分画割合については電気泳動装置 (CTE8000 常光株式会社製) で

測定し、血清総蛋白質量に各分画割合を乗じて各分画蛋白質量を求めた。なお、CRPについては噴霧開始2週目より測定した。

### 3. 免疫関連遺伝子 mRNA 発現量分析

免疫関連因子として、噴霧開始前、2週目および4週目のIFN（インターフェロン） $\gamma$ 、Perforin、Granzyme B、Mx1 および Mx2 蛋白質の遺伝子発現量を以下の方法により測定した。まず、採血により得られたヘパリン添加採血管血液からリンホセパール I（比重 1.077  $\pm$  0.001）（免疫生物研究所（株）、群馬、日本）を用いて末梢血単核球（peripheral blood mononuclear cells；PBMCs）を分離し、これまで報告されている方法 [20] に準じて mRNA を抽出、cDNA を合成して real-time PCR 法によって免疫関連物質の mRNA 発現量を解析した。免疫関連物質に関する mRNA 発現量の結果は  $\beta$ -actin に対する相対比として以下の式で求めた。

$$\text{mRNA 発現量} = 2^{-(\text{対象遺伝子の CT 値} - \beta\text{-actin の CT 値})}$$

なお、使用したプライマーを表 1 に示した。

### 4. 統計処理

本研究では、各区とも去勢雄及び雌の頭数は同数とした。また、斎藤によると、生後1カ月齢から8カ月齢までの子豚の白血球数、赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、3日齢から14～18カ月齢までの子豚の血清蛋白濃度および血清蛋白分画には性による差は見られなかったとの報告がある [30]。これらのこと

から各区のデータについては去勢雄および雌をまとめて処理し、各週における処理区間データの差の検定については、Student または Welch の t 検定により実施した。

### 5. 動物実験の承認

本研究は酪農学園大学動物実験委員会の承認を得るとともに（承認番号 DH25B1）、酪農学園大学動物実験指針に基づき実施した。

## [結果]

#### 1. 発育血液成分調査

##### (1) 直腸温および体重の推移

各週における両区の平均直腸温および体重の推移を表 2 に示した。

各週の平均直腸温は調査期間において両区ともに週齢を経るごとに若干低下する傾向を示したものの、39℃台で推移し、各週における平均直腸温は両区間に有意な差は見られなかった。

また、各週の体重は週齢を経るに伴って順調に増加し、両区間に有意な差は見られず、一日平均増体量についても各週において両区間に有意な差は見られなかった。

なお、両区供試豚においては、咳や元気消失等の臨床症状を示した個体は確認できなかった。

##### (2) 血球成分の推移

各週における両区の血球成分値を表 3 に示した。

ヘモグロビン濃度では、3週目において対照区が 12.2  $\pm$  0.7g/dL、試験区が 13.5  $\pm$  0.9 g/dL と試験区に比べ対照区が有意に低い値を示

表1 リアルタイムPCR分析用特定プライマー

Species	Gene	Accession Number	Product Length	Primer Designation	Sequence
Swine	$\beta$ -actin	DQ845171.1	118	Forward	GCCAACCGTGAGAAGATGACT
				Reverse	TGACAATGCCAGTGGTGCG
	IFN- $\gamma$	NM_213948.1	140	Forward	GAGCCAAATTGTCTCCTTCTAC
				Reverse	CGAAGTCATTCAGTTTCCAG
	Perforin	AY373815.1	83	Forward	AGGAGGTGGCTAAGGAGGCA
				Reverse	ATTGGTGCTGGGCTTGGGAG
	Granzyme B	NM_001143710.1	145	Forward	TACTGCAGCTGGAGAGAAAGGC
				Reverse	AGTGTGTCTGTGTAATGCCCC
	Mx1	NM_214061.1	128	Forward	GCCTTCTTTGAAAACACGCA
				Reverse	TCTAACAGGGCAGAGTTTTACAG
	Mx2	NM_001097416.1	134	Forward	CGAGAAACAGAGCGTGCCAA
				Reverse	GGGAAGAAGCCTGCCTATGAC

表2 Coccomyxa抽出物溶液の鼻内噴霧が子豚の直腸温および体重に及ぼす影響

		0 week 48~50 days age	1 week 55~57days age	2 week 62~64 days age	3 week 69~71 days age	4 week 76~78 days age
Body temperature (°C)*						
Control	(n=5)	39.89±0.21	39.78±0.15	39.60±0.08	39.63±0.15	39.56±0.17
Experimental	(n=5)	39.95±0.11	39.81±0.14	39.64±0.16	39.61±0.09	39.59±0.12
Body weight (kg)						
Control	(n=5)	18.2±4.0	24.0±3.8	28.6±5.3	34.4±5.6	41.8±5.8
Experimental	(n=5)	18.1±2.3	23.1±2.2	27.8±3.1	34.2±3.3	41.4±3.9
Daily weight gain (g)		0-1 week	1-2 week	2-3 week	3-4 week	
Control	(n=5)	818.9±152.1	663.4±265.8	828.6±199.5	1,057.1± 93.1	
Experimental	(n=5)	713.7±118.0	666.0±181.1	914.3±117.4	1,028.6±156.5	

Values are shown as means ± standard deviation.

\*Average of 7 days Body temperature in each piglet.

表3 Coccomyxa抽出物溶液の鼻内噴霧が子豚の血球成分に及ぼす影響

	Erythrocyte (×10 <sup>6</sup> /μL)		Hemoglobin (g/dL)		Hematocrit Value (%)	
	Control (n=5)	Experimental (n=5)	Control (n=5)	Experimental (n=5)	Control (n=5)	Experimental (n=5)
0 week	544.0±145.2	522.0±119.4	10.1±2.7	9.8±2.1	30.1±7.9	29.9±7.0
1 week	647.8± 30.3	629.2± 35.0	12.0±0.5	11.9±0.6	36.4±1.3	36.6±1.7
2 week	664.6± 20.3	657.6± 10.5	12.3±0.4	12.6±0.4	36.9±1.2	38.1±1.1
3 week	659.0± 39.4	700.8± 46.7	12.2±0.7 <sup>b</sup>	13.5±0.9 <sup>a</sup>	36.8±2.2 <sup>b</sup>	40.3±2.4 <sup>a</sup>
4 week	757.8± 82.1	722.2± 40.7	13.4±1.2	13.0±0.5	42.3±3.0	41.4±1.7
	Leukocyte (×10 <sup>3</sup> /μL)		Platelet (×10 <sup>3</sup> /μL)			
	Control (n=5)	Experimental (n=5)	Control (n=5)	Experimental (n=5)		
0 week	175.8± 75.5	182.6± 93.6	26.1±14.6	20.1±11.7		
1 week	193.4± 50.2	212.6± 19.5	17.9± 8.7	15.5± 4.8		
2 week	197.4± 30.7	217.0± 31.5	28.7± 5.8	25.8± 5.3		
3 week	206.0± 42.0 <sup>c</sup>	355.6±160.1 <sup>a</sup>	28.5± 5.1	28.7± 6.6		
4 week	229.0± 65.3	220.0± 33.1	21.2± 5.9	17.7± 9.6		

Values are shown as means ± standard deviation.

a-b: P<0.05, a-c: P<0.1 (in a line)

した (P<0.05)。また、ヘマトクリット値も3週目で対照区が36.8 ± 2.2%、試験区が40.3 ± 2.4%と試験区に比べ対照区で有意に低い値を示した (P<0.05)。さらに有意な差は見られなかったものの、3週目の白血球数は対照区が206.0 ± 42.0 × 10<sup>3</sup>/μ L、試験区が355.6 ± 160.1 × 10<sup>3</sup>/μ Lと試験区に比べ対照区で低い傾向が見られた (P<0.1)。しかし、赤血球数および血小板数には両区間に差は見られなかった。

### (3) 血清蛋白質の推移

各週における両区の血清蛋白質の推移を表4に示した。

両区における各週の血清総蛋白質濃度、A/G比、アルブミン濃度、α、β、およびγ-グロブリン濃度には有意な差は見られなかった。しかし、CRP濃度は3週目で試験区に比べ対照区

が有意に高い値を示したほか (P<0.05)、有意な差は見られなかったものの4週目においても試験区に比べその平均値は対照区で高い値を示していた。

### (4) 血中免疫関連遺伝子発現量

両区における噴霧開始前、開始2週目、4週目のIFN-γ、Perforin、Granzyme B、Mx1およびMx2のmRNA発現量を表5に示した。

噴霧開始前および2週目の各血中免疫関連因子mRNA発現量には両区間に差は見られなかったが、4週目のPerforinでは対照区に比べ試験区が有意に高い値を示し (P<0.05)、有意な差は見られなかったものの、Mx1では対照区に比べ試験区で低い傾向が見られた (P<0.1)。しかし、その他の因子においては両区間に差は見られなかった。

表4 *Coccomyxa* 抽出物溶液の鼻内噴霧が子豚の血清蛋白質に及ぼす影響

	Total Protein(g/dL)		A/G rate		CRP (mg/dL)		Serum Protein Fraction(g/dL)	
	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental
	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)
0 week	5.1±0.5	5.1±0.3	1.23±0.20	1.29±0.21	—	—		
1 week	5.9±0.8	5.2±0.4	1.09±0.22	1.19±0.90	—	—		
2 week	5.8±0.3	5.5±0.4	1.19±0.05	1.18±0.08	0.06±0.01	0.08±0.06		
3 week	5.6±0.3	5.8±0.4	1.38±0.10	1.39±0.19	0.16±0.07 <sup>a</sup>	0.07±0.03 <sup>b</sup>		
4 week	6.0±0.2	6.0±0.1	1.24±0.21	1.23±0.29	0.19±0.14	0.07±0.03		
	Albumin		α-globulin		β-globulin		γ-globulin	
	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental
	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)
0 week	2.79±0.43	2.85±0.27	1.05±0.07	0.99±0.08	0.22±0.06	0.28±0.15	1.02±0.10	0.96±0.07
1 week	3.02±0.25	2.82±0.29	1.01±0.04	0.99±0.06	0.73±0.57	0.39±0.24	1.11±0.13	1.04±0.13
2 week	3.14±0.17	2.95±0.31	1.09±0.10	1.07±0.06	0.39±0.20	0.45±0.24	1.17±0.06	0.99±0.27
3 week	3.26±0.24	3.38±0.29	0.94±0.03	0.97±0.15	0.30±0.04	0.28±0.07	1.12±0.04	1.20±0.12
4 week	3.32±0.21	3.25±0.42	1.16±0.40	1.25±0.52	0.38±0.17	0.33±0.13	1.18±0.28	1.13±0.30

Values are shown as means ± standard deviation.  
a-b: P<0.05 (in a line)

表5 *Coccomyxa* 抽出物溶液の鼻内噴霧が子豚の血中免疫関連因子 mRNA 発現量に及ぼす影響

	IFN-γ		Perforin		GranzymeB		Mx1		Mx2	
	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental
	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)
0 week	14.1±9.9	15.5±11.8	6.3±3.3	4.4±2.5	10.2± 7.0	12.0±9.6	3.1±1.6	3.9±1.2	7.0±3.8	11.7±6.7
2 week	17.2±3.6	17.0±7.5	6.7±2.1	7.0±2.9	14.0± 5.5	12.4±4.8	3.1±1.6	3.4±3.6	7.6±1.3	7.6±5.4
4 week	20.6±13.3	13.0±3.5	1.9±0.1 <sup>b</sup>	2.7±0.6 <sup>a</sup>	14.9±11.9	9.4±4.1	8.2±4.4 <sup>a</sup>	2.8±0.6 <sup>c</sup>	6.8±5.6	6.8±4.0

Values are shown as means ± standard deviation.  
a-b::P<0.05, a-c:P<0.1 (in a line)

## [考 察]

### 1. 直腸温および発育

豚の体温は、暑熱ストレスの指標 [11, 21] であるとともに各種疾病感染の指標ともなる [26, 37]。本研究における各週の平均直腸温は両区ともに生後日齢経過に伴って若干低下する傾向を示したものの、39℃台で推移し、両区間に有意な差は見られなかった。また、各週における体重および各週間の一日平均増体量にも両区間に差は見られなかった。さらに、各供試豚においては両区とも、咳や元気消失等の目立った臨床症状を示す個体は確認できなかった。このことより、本研究においては、両区において平均直腸温や発育に影響を及ぼすほどの生理学的反応の差は生じていなかったものと考えられる。また、本研究においては、各区の飼料摂取量や飲水量については調査していないが、発育において両区間に差がなかったことから、*Coccomyxa* 溶液の鼻腔内噴霧による飼料摂取量

や飲水量には影響はなかったものと考えられる。

### 2. 血球成分および血清蛋白質成分

Odink らは、生後約 6 カ月齢豚において健康な豚と炎症反応を示した豚の血球成分を比較したところ、炎症反応を示した豚は健康な豚に比べ赤血球沈降割合が高く、ヘモグロビン濃度やヘマトクリット値が低下すると報告している [25]。

また、北川と久保は、70～95 日齢の育成豚で臨床上異常が認められた豚と健康と認められた豚の血清蛋白質の変化について比較検討を行った結果、正常豚に比べ異常豚は血漿総蛋白質濃度、フィブリノーゲン濃度、α および γ グロブリン濃度が高く、A/G 比、アルブミン濃度が低いと報告している [14]。

一方、血清蛋白質の一種である CRP は、体内で急性炎症または組織壊死がある病態で増加が見られるタンパク質で [6, 8, 13, 36]、炎症マーカーの一つとしてヒト [6, 13] および家畜

[8, 36] の疾病診断に活用されている。また、豚においては豚コレラまたはアフリカ豚コレラウイルスを接種すると顕著に血清アミロイド A が増加するとともに CRP 濃度も約 3 倍に増加したとの報告がある [31]。

本研究の供試豚の血液成分については、血清総蛋白質濃度や A/G 比、アルブミン濃度、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -グロブリン濃度は各週において両区間に有意な差は見られなかったものの、CRP 濃度は、3 週目で試験区に比べ対照区は約 2 倍の値を示し、両区間に有意な差が見られた ( $P < 0.05$ )。また、ヘモグロビン濃度とヘマトクリット値では 3 週目においては、試験区に比べ対照区で有意に低い値を示した ( $P < 0.05$ )。

本研究において噴霧開始 3 週目の対照区の CRP が試験区に比べ高い値を示したことは、対照区において、この時期に何らかの炎症性の生理学的反応が起きていたことが考えられ、それに伴い同時期における対照区のヘモグロビン濃度やヘマトクリット値が試験区に比べ低値を示した可能性が考えられた。

一方、離乳直後の子豚に  $\beta$ -グルカンおよび海藻添加飼料を給与した小野寺らの研究においては、総白血球数が対照区に比べ多いことを示し、両添加物の経口摂取が白血球数増殖に関与している可能性を示唆している [28]。本研究においては、有意な差は見られなかったものの、噴霧開始 3 週目の白血球数は対照区に比べ試験区で高い傾向が見られた。このことについては、詳細な検討をしていないため推測の域は出ないが、前述のとおり噴霧開始 3 週目の対照区においては試験区に比べ炎症性反応で見られる項目で有意な差があったことから、試験区においては *Coccomyxa* 溶液鼻腔内噴霧により、 $\beta$ -グルカンや海藻添加飼料の経口摂取と同様に白血球増殖が促され、免疫能の強化によって炎症性反応で見られる項目において対照区との間で差があった可能性が考えられた。

### 3. 血中免疫関連遺伝子発現量

本研究では噴霧開始 4 週目の Perforin が対照区に比べ試験区で有意に高い値を示し、Mx1 が対照区に比べ試験区で低い傾向を示した。

Perforin は細胞障害性 T 細胞やナチュラルキラー細胞などのキラー細胞に存在し、標的細

胞にこれら細胞障害顆粒を放出することにより標的細胞の細胞死を誘導する物質である [19]。また、Mx タンパク質は INF により誘導されるタンパク質であり、遺伝子転写やタンパク質の合成を阻害し、抗ウイルス作用を示すことからウイルス感染の指標として有用とされており [9]、ブタ Mx1 タンパク質は水疱性口炎ウイルスに対する抵抗性作用を有することも報告されている [4]。

本研究において Perforin が対照区に比べ試験区で有意に高い値を示したことについては、*Coccomyxa* 溶液鼻腔内噴霧により対照区に比べ試験区で感染抑制が強く作用した可能性が考えられる。また Mx1 が試験区に比べ対照区で高い傾向が見られたのは試験区に比べ対照区でウイルス感染等が強かった可能性が伺えるが、本研究のデータからは詳細な考察は困難であると考え、この機序については今後の研究課題としたい。

以上の結果より、本研究では発育や各週の平均直腸温について両区間で差が見られるような反応はなかったものの、血液成分や血中免疫関連遺伝子発現量において、対照区では炎症性反応が疑われる項目に差が見られたことから、子豚への *Coccomyxa* 溶液の鼻腔内噴霧は炎症性反応を抑制する何らかの効果がある可能性が示唆された。

今後は、*Coccomyxa* 溶液投与による炎症抑制効果について、その要因を詳細に検討していく必要があるものと考えられる。

### 【謝 辞】

本研究にご協力いただきました本学家畜栄養学研究室 池原麻友美氏、中小家畜飼養学研究室学生諸君に感謝いたします。

### 【引用文献】

- [1] Allan, G.M., McNeilly, F., McNair, I., Meehan, B., Marshall, M., Ellis, J., Lasagna, C., Boriosi, G., Krakowka, S., Reynaud, G., Boeuf-Tedeschi, L., Bublot, M., Charreyre, C. 2002. Passive transfer of maternal antibodies to PCV2 protects against development of post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS): Experimental infections and a field study. *Pig J.* 50: 59-67.
- [2] 浅井鉄夫. 2009. 家畜由来サルモネラの薬剤耐

- 性. 家畜衛生学雑誌. 35 (3) : 117-121.
- [3] 浅井鉄夫. 2010. 家畜における薬剤耐性菌の実態調査. 獣医疫学雑誌. 14 (2) : 146-147.
- [4] Asano, A., Ko, J.H., Morozumi, T., Hamashima N., Watanabe, T. 2002. Polymorphisms and the antiviral property of porcine Mx1 protein. J. Vet. Med. Sci. 64 (12): 1085-1089.
- [5] Baba, K., Ishihara, K., Ozawa, M., Usui, M., Hiki, M., Tamura, Y., Asai, T. 2012. Prevalence and mechanism of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from diseased cattle, swine and chickens in Japan. J. Vet. Med. Sci. 74 (5): 561-565.
- [6] Forest, J.C., Larivière, F., Dolcé, P., Masson, M., Nadeau, L. 1986. C-reactive protein as biochemical indicator of bacterial infection in neonates. Clin Biochem. 19 (3): 192-194.
- [7] Guo, Q., Shao, Q., Xu, W., Rui, L., Sumi, R., Eguchi, F., Li, Z. 2017. Immunomodulatory and anti-IBDV activities of the polysaccharide AEX from *Coccomyxa gloeobotrydiformis*. Mar. Drugs. 15(2): 36.
- [8] 藤瀬 浩. 1992. 家畜の急性相蛋白の臨床診断指標としての有用性-犬のC-反応性蛋白を中心にして-. 日獣会誌. 45 (10) : 731-737.
- [9] 藤井暢弘. 1993. 宿主の抗ウイルス活性とウイルス感染-インターフェロン活性の変動-. 蛋白質 核酸 酵素. 38 (1) : 36-45.
- [10] 石川弘道. 2005. すぐに役立つ現場の豚病対策. 第4章 豚病コントロールの考え方, 9. 適切なワクチネーションプログラムの実施. 103-109. 有限会社ベネット. 東京.
- [11] 伊藤澄磨, 栗原良雄, 池田周平, 鈴木伸一, 祐森誠司. 1992. 子豚の成長および生理反応におよぼす環境温度の影響. 日豚会誌. 29 (3) : 139-144.
- [12] 株式会社日健総本社. 2005. 抗ウイルス剤. 特許番号 : 247757.
- [13] 河合 忠. 2000. 炎症マーカー、とくにCRPの上昇機序について. 臨床病理. 48 (8) : 719-721.
- [14] 北川博章, 久保一弘. 1988. 正常豚と異常豚の血漿蛋白変化. 臨床獣医. 6 (6) : 57-61.
- [15] 小島明美. 2004. 国内における家畜由来細菌の抗菌性物質感受性調査 (平成13年度). 豚病会報. 44 : 14-19.
- [16] Komatsu, T., Kido, N., Sugiyama, T., Yokochi, T. 2013. Antiviral activity of acidic polysaccharides from *Coccomyxa gloeobotrydiformis*, a green alga, against an *in vitro* human influenza A virus infection. Immunopharmacol. Immunotoxicol.. 35: 1-7.
- [17] 今田哲雄・齋藤常幸・須藤英紀・石川俊幸・池田 等・川村信雄. 2003. 養豚一経営の肉豚事故率別における内臓等廃棄率の比較. 日豚会誌. 40 (2) : 73-76.
- [18] 小山 剛, 西川信義, 片岡稔雄, 清水 健. 1983. 豚の萎縮性鼻炎に対するボルデテラ死菌ワクチンとカナマイシン併用による防除効果. 畜産の研究. 37 (5) : 672-674.
- [19] Lowin, B., Krähenbühl, O., Müller, C., Dupuis, M., Tschopp, J. 1992. Perforin and its role in T lymphocyte-mediated cytotoxicity. Experientia. 48 (10): 911-920.
- [20] Maeda, Y., Ohtsuka, H., Tomioka, M., Oikawa, M. 2013. Effect of progesterone on Th1/Th2/Th17 and regulatory T cell-related genes in peripheral blood mononuclear cells during pregnancy in cows. Vet. Res. Commun. 37 (1): 43-49.
- [21] 松本光史, 村上 斉, 阪谷美樹, 井上寛暁, 梶雄次. 2010. 暑熱ストレスが肥育豚の深部体温と消化吸収能力に及ぼす影響. 日豚会誌. 47(4) : 240.
- [22] 三上祐二, 大岩 良, 小林栄一, 三保玄城, 美川 茂, 清原博光, 木村周一, 牧野秀彦, 橋本昌義, 清水 健. 1982. カナマイシンの豚鼻内噴霧によるAR清浄化実験. 獣医畜産新報. 732 : 367-370.
- [23] 成田 實, 中澤宗生. 1999. 「IV 臨床病理 6. 日和見感染・混合感染」. 豚病学. 第四版. 生理・疾病・飼養, 155-160. 株式会社近代出版. 東京.
- [24] 農林水産省大臣官房統計部. 2017. 畜産統計(平成29年2月1日現在)
- [25] Odink, J., Smeets, J.F.M., Visser, I.J.R., Sandman, H., Snijders, J.M.A. 1990. Hematological and clinicochemical profiles of healthy swine and swine with inflammatory processes. J. Anim. Sci. 68: 163-170.
- [26] 岡本 至・星野光男・佐々木 理・岩本仁司・谷口佐富・佐藤佳久. 1983. R群レンサ球菌による豚の化膿性髄膜炎の発生. 日獣会誌. 36 (11) : 652-655.
- [27] 小野浩臣. 1990. 畜産物、とくに牛・豚肉における抗菌性物質およびホルモン物質の残留とその防止対策. 日獣会誌. 43 : 151-167.
- [28] 小野寺渉, 加地拓己, 清水ゆう子, 吉野淳良, 小林 仁, 須田義人, 鈴木啓一. 2008.  $\beta$ -グルカンおよび海藻添加飼料給与が離乳子豚の発育と免疫能に及ぼす影響. 日畜会報. 79 (3) : 377-383.
- [29] Opriessnig, T., Yu, S., Thacker, E.L., Halbur P.G. 2004. Derivation of porcine circovirus type 2-negative pigs from positive breeding herds. J. Swine Health Prod. 12 (4): 186-191.
- [30] 斎藤健光. 1978. 豚における血液性状成分の,

- 発育に伴う変動について. 獣医畜産新報. 684 : 26-29.
- [31] Sánchez-Cordón, P.J., Cerón, J.J., Núñez, A., Martínez-Subiela, S., Pedrera, M., Romero-Trejejo, J.L., Garrido, M.R., Gómez-Villamandos J.C. 2007. Serum concentrations of C-reactive protein, serum amyloid A, and haptoglobin in pigs inoculated with African swine fever or classical swine fever viruses. *Am. J. Vet. Res.* 68 (7): 772-777.
- [32] 設楽 修、忽那圭子. 2009. 抗菌性飼料添加物無添加飼料への乳酸菌製剤添加が肥育豚の発育、血液性状および糞便内細菌数に及ぼす影響. *日豚会誌.* 46 (3) : 144-151.
- [33] 白石光伸・久保 尚・田中 博・高橋喜男・松田 均. 1992. と畜検査データに基づく養豚農家における豚マイコプラズマ肺炎の防除対策. *日獣会誌.* 45 (11) : 881-884.
- [34] Song, M., Liu, Y., Soares, J.A., Che, T.M., Osuna, O., Maddox, C.W., Pettigrew J.E. 2012. Dietary clays alleviate diarrhea of weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 90 : 345-360.
- [35] 鈴木啓一、小野寺渉、熊谷佳子、加地拓己、清水ゆう子、吉野淳良、須田義人、小林 仁. 2009. 海藻、 $\beta$ グルカン、酵母の飼料添加給与が育成豚の発育、免疫能に及ぼす影響. *日畜会報.* 80 (1) : 27-34.
- [36] 矢田谷健、真壁朝光、駒庭英夫、大根田智、西形勝雄. 1985. 家畜疾病へのCRP検査の応用. *獣医畜産新報.* 772 : 677-680.
- [37] 山之内鉸実. 1982. 豚の壊死性腸炎, *Clostridium perfringens* 感染症の臨床所見について. *獣医畜産新報.* 726 : 18-21.
- [38] Yan, C., Wang, K., Chen, L., He, Y.M., Tang, Z.X. 2012. Effects of feeding an herbal preparation to sows on immunological performance of offspring. *J. Anim. Sci.* 90 : 3778-3782.



## Effects of intranasal mist of polysaccharide solution from *Coccomyxa gloeobotrydiformis*, a green alga, on the growth, blood components and immune-related gene expression levels of piglets

Michi Yamada<sup>1,2)</sup>, Momoko Koguchi<sup>2)</sup>, Mikio Sugano<sup>3\*)</sup>, Kunitsugu Ozaki<sup>3)</sup>,  
Hiromichi Ohtsuka<sup>4\*)</sup>, Toshihiko Takahashi<sup>1, 2)</sup>, Osamu Sueno<sup>5)</sup> and Hiroki Nakatsuji<sup>1, 2)</sup>

<sup>1)</sup> College of Agriculture, Food and Environment Sciences Rakuno Gakuen University, Ebetsu-shi 069-8501, Japan

<sup>2)</sup> Faculty of Daily Science Rakuno Gakuen University, Ebetsu-shi 069-8501, Japan

<sup>3)</sup> Rakuno Gakuen Field Education and Research Center, Ebetsu-shi 069-8501, Japan

<sup>4)</sup> School of Veterinary Medicine Kitasato University, Towada-shi 034-8628, Japan

<sup>5)</sup> Nikken Sohonsa Corporation, Hashima-shi 501-6255, Japan

\*Present address: School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University. Ebetsu-shi, 069-8501, Japan

### **[Abstract]**

The effects of an intranasal mist of a polysaccharide solution from *Coccomyxa gloeobotrydiformis*, a green alga, on the growth, blood components, and immune-related gene expression levels of piglets were examined. To measure growth and blood components, 15 three-way crossbred (Landrace × Large White × Duroc) piglets, with an average body weight of 18 kg (about 50 days old), were divided into two groups and sprayed distilled water only (control group) or distilled water solution containing 1% polysaccharide from *Coccomyxa gloeobotrydiformis* (experimental group). The appropriate solution was sprayed into the nose of each piglet every day. Rectal temperature was measured every day and bodyweight was measured weekly. There were no significant differences in the average rectal temperature, bodyweight, or daily weight gain between the control and experimental groups in any week. In week 3 (69–71 days old), the mean blood corpuscle ingredients, hemoglobin concentration, and hematocrit value of the control group were significantly lower than those of the experimental group ( $P < 0.05$ ), and the number of leukocytes tended to be higher in the experimental group than in the control group ( $P < 0.1$ ). Among the serum proteins, the C-reactive protein content in week 3 (69–71 days old) was significantly higher in the control group than in the experimental group. The expression of the immunity-related gene, perforin, was significantly lower in the control group than in the experimental group ( $P < 0.05$ ), and *MXI* expression tended to be higher in the control group than in the experimental group ( $P < 0.1$ ) in week 4 (76–78 days old).

**Keywords:** *Coccomyxa*, piglet, blood corpuscle ingredient, serum protein, immunity-related gene,