

抗菌因子を利用した乳房管理

磯部直樹^{1,2}・鈴木直樹^{3,4}

¹ 広島大学大学院統合生命科学研究科、広島県東広島市鏡山 1-4-4

² 広島大学畜産研究センター、広島県東広島市鏡山 1-4-4

³ 広島大学大学院生物圏科学研究科、広島県東広島市鏡山 1-4-4

⁴ NOSAI 広島、東広島市高屋町稲木 283-1

連絡担当者 磯部直樹

広島大学大学院統合生命科学研究科、広島県東広島市鏡山 1-4-4

TEL : 082-424-7993

Mail: niso@hiroshima-u.ac.jp

【要約】

抗生物質を使わない新たな乳房炎治療法が期待されている。抗菌因子は、細菌侵入後すぐに働き、幅広い細菌を溶菌させるので、乳腺での抗菌因子を最大限利用すれば乳房炎の予防・治療に結び付くと考えられる。本総説では、乳腺で働く抗菌因子として、defensin、S100、cathelicidinを紹介する。また、これらが乳房炎管理に及ぼす影響や四季による発現の違い、および抗菌因子を増やす手法などについて概説する。

キーワード：抗菌因子、乳腺、乳房炎

乳房炎による損害は甚大であり、乳房炎を防止することが酪農業界にとって急務である。乳房炎は、乳頭から様々な種類の微生物が侵入することによって起こる炎症なので、その治療は抗生物質を用いる方法が主流であるが、牛乳を出荷できず、耐性菌の出現も危惧される。したがって、抗生物質を使わない新たな治療法が期待される。

抗菌因子は、細菌侵入後すぐに働き始め、幅広い細菌を溶菌させる。この抗菌因子が乳房でも合成・分泌されており、微生物感染防御のための重要な役割を果たしていると考えられている。そこで、乳腺での抗菌因子の発現機構および分泌の特徴を明らかにすることができれば、これらを最大限利用した乳腺の健康管理技術を

開発し、乳房炎の予防・治療に結び付くと考えられる。本総説では、乳腺で働くいくつかの抗菌因子を紹介する。また、抗菌因子が乳保存中の生菌を激減させている可能性について、および初乳製剤の経口投与が抗菌因子の合成を刺激する可能性についても説明する。さらに、暑熱対策としての抗菌因子の利用の可能性についても概説する。

抗菌因子とは？

抗菌因子は低分子のものが多く、抗菌ペプチドとも言われる。しかし、乳中には lactoferrin などの高分子蛋白質も含まれる。lactoferrin は他の抗菌ペプチドとは桁違いに多く含まれ、重要な役割を果たしている。そこで、本稿ではこれを含めた抗菌性をもつ物質を「抗菌因子」と呼ぶことにする。抗菌因子には、defensin、S100、cathelicidin などいくつかのファミリーが

受付：2020年7月3日

受理：2020年7月3日

報告されており、それぞれについて詳しく説明する。

defensin

defensin は4千から8千程度の分子量で、そのアミノ酸配列の中に cysteine を6つ含むという特徴を持つ。二つの cysteine 同士がジスルフィド結合を形成するため、defensin 一分子中に3つのジスルフィド結合が含まれることになる。これらのジスルフィド結合の位置の違いにより、 α -、 β -、 θ -defensin に分類され、反芻動物では β - defensin のみが発見されている。また、 β -defensin の中にもアミノ酸配列の違いからいくつかの種類が報告されている。この内、乳腺で最初に発見された β -defensin が lingual antimicrobial peptide (LAP) であり、舌で初めて発見されたことからこの名前が付いた (lingual は舌という意味)。まずは乳腺で LAP の mRNA の発現が確認され、さらに、乳房炎の乳腺の方が健康な乳腺に比べてその発現が増加することが報告された [23, 25]。また、ウシ乳腺において LAP の産生部位は、乳腺胞や乳管管の上皮細胞であることが示された [6]。さらに、LAP が乳汁とともに乳腺胞上皮細胞から分泌されていることおよび、LAP が大腸菌に対する抗菌性を有していることも報告された [7]。

細菌侵入後の LAP の分泌について調べたところ、グラム陰性細菌の細胞壁成分であるリポ多糖 (LPS) をウシ乳房に直接注入した2時間後には乳中 LAP 濃度が注入前に比べて有意に増加し、その後2日後まで高値を維持した [8]。また、ヤギの乳房に *Staphylococcus aureus* (SA) の死菌を投与したところ、 β -defensin の乳中濃度が有意に増加した [12]。このように、乳腺の上皮細胞で β -defensin が合成され乳汁中に分泌されており、グラム陰性菌および陽性菌の刺激で分泌が増加し、大腸菌への抗菌性も確認されたことから、 β -defensin が乳腺での感染防御に重要な役割を果たしていると考えられる。

ウシの乳中 LAP の濃度は、同一個体の乳房間では差がないが、個体差はあることが示されている。このことから、LAP の濃度により、その個体の乳房における菌耐性が異なる可能性がある。分娩前の乳中体細胞における LAP の

遺伝子発現と分娩後の乳房炎との関係を調べた結果、分娩前14日間の LAP の発現は、分娩後乳房炎にならなかったウシでは分娩が近づくにつれて増加したが、分娩後乳房炎になったウシはそのような増加を示さなかった [4]。また、分娩前14日間の LAP の発現は乳房炎にならなかったウシの方がなったウシに比べて有意に高かった。これらの結果から、分娩前の乳中体細胞の LAP の遺伝子発現を検査することにより分娩後の乳房炎に対する抵抗性が予想できる可能性がある。

また、LAP 濃度で乳房炎の予測ができないかを調べた試験では、分娩後1週間の乳中抗菌因子濃度 (LAP および lactoferrin) と SCC の変化との関係を調べた結果、抗菌因子の濃度が高いとその後の SCC も高くなった [9]。分娩後1週間なので、まだ乳腺上皮細胞間の結合が十分修復していないウシも含まれていたと考えられ、そのために SCC が高くなり、それに伴って LAP や lactoferrin も高くなったとすれば、分娩後の乳腺上皮細胞の回復が遅く、LAP や lactoferrin が高いままのウシの方がその後乳房炎になりやすくなるのかもしれない。これについては、検討の余地があるが、初乳の LAP や lactoferrin の濃度測定によって乳房炎が予想できる可能性はある。

S100

S100 ファミリーの中では、S100A7 および S100A8/S100A9 複合体が抗菌性を有していると報告されている。

S100A7 は Ca 結合蛋白であるとともに抗菌性を有していることが知られている。ウシ乳房における、S100A7 の遺伝子発現を調べた結果、乳腺深部の結合組織や乳腺胞上皮および乳腺槽の上皮ではほとんど発現は見られないが、乳頭の上皮あるいは皮膚上皮では非常に強い発現が認められた [27]。また、S100A7 を蛋白レベルで見ても、乳腺の深部ではなく、乳頭周辺の上皮で特に発現しており、その発現は *Escherichia coli* を乳房注入すると、高まることが示されている [19, 27]。さらに、S100A7 は乳汁中に分泌されており、乳中の S100A7 濃度はリポ多糖 (LPS) 投与24時間後において、投与前に比べて有意に上昇した [27]。したがって、S100A7

は乳腺深部よりも乳頭部乳槽、乳頭皮膚上皮において多く発現しており、乳汁中に分泌されていると考えられた。

S100A8は、乳頭の上皮が主な産生部位であり [17]、血中や乳中から分離した白血球、特に好中球においてもS100A8の陽性反応が認められた。乳房内にLPSを注入すると、乳中S100A8濃度は一時的に減少するが、3日目に増加することが報告された (図1)。この変化はLAPと異なるため、抗菌因子によって感染後の産生パターンが異なること、さらには、機能的な違いがあることも考えられる。

Cathelicidin

乳房内のcathelicidin2合成部位を調べた結果、乳腺胞の上皮細胞、乳管の上皮細胞および乳頭皮膚の上皮細胞などには全く分布しておらず、血管内の白血球にcathelicidin2が分布していた。そこで、血液および乳汁から白血球を採取して、免疫染色した結果、一部の白血球の細胞質が陽性反応を示した。したがって、cathelicidin2は組織内の細胞ではなく、白血球が合成していることが示された。cathelicidin2が白血球から乳汁中に分泌されているのかどうかを確認するために、血液から白血球を分離して、6時間培養した結果、培養後の培地中にcathelicidin2が検出され、培養時間が長くなる

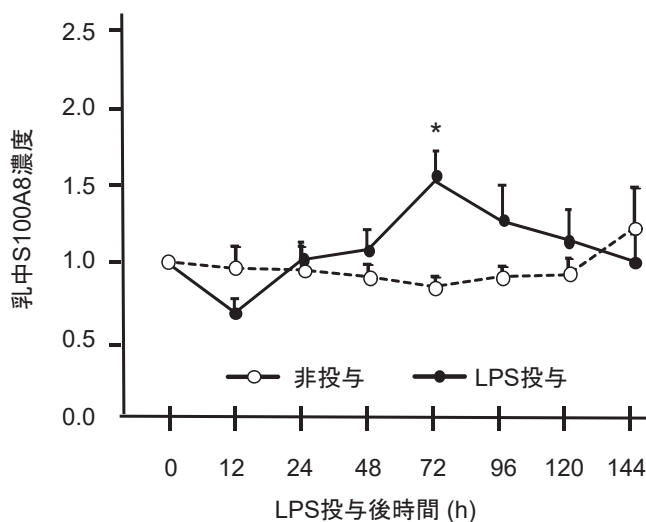


図1 乳房内にLPSを投与した後の乳中S100A8濃度の変化
*: 区間に有意差あり (Purba et al., 2019を改変)

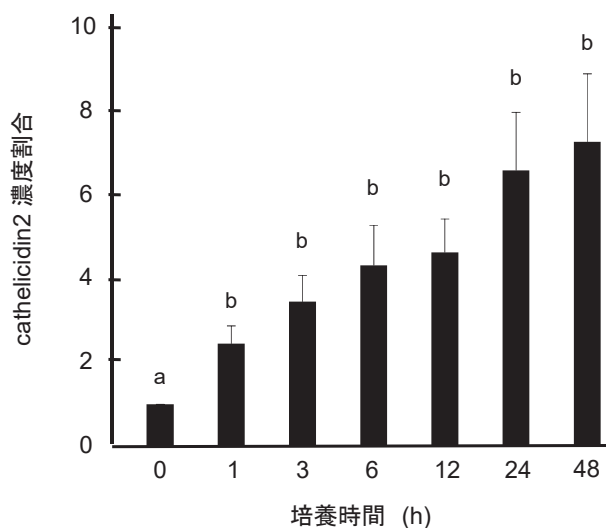


図2 白血球を種々の時間培養した時の培地中cathelicidin2濃度の変化
a,b: 異文字間に有意差あり (Srisaikhram et al., 2016を改変)

につれてその濃度は上昇した(図2)[20]。これらのことから、cathelicidin2は白血球から乳中へ分泌されていることが明らかとなった。

さらに、LPSを乳房内に投与したところ、体細胞数はLPS投与8時間後から有意に増加し、cathelicidin2濃度も同様に8時間後から24時間後までLPS投与前に比べて有意に高い値を示した[28]。

Cathelicidinの役割は抗菌作用が主なものであり、グラム陽性および陰性細菌、ウイルス、など広範囲な種類に作用する。グラム陰性細菌では大腸菌、陽性細菌では黄色ブドウ球菌にも抗菌作用を示すことが報告されている。また、Cathelicidinは、抗菌作用だけでなく、LPS中和作用も有する。甚急性の乳房炎の治療のために抗生剤を投与すると、死んだ細菌から多量のエンドトキシンが放出され、ショックが起きることがある。また、全身性でなく乳房内の局所的な炎症において、エンドトキシンによる過度の炎症が、症状を悪化させたり長期化させたりする。そこで、エンドトキシンによる免疫反応の惹起をブロックできれば、乳房炎の治療が効率的になると考えられる。そこで、LPSとcathelicidin7を培養すると、両者が結合することが分かった[13]。また、乳腺上皮細胞をLPSで刺激する時にcathelicidin7を添加すると、炎症性サイトカインの増加が抑制された[13]。同様に、リンパ球を緑膿菌由来のLPSで刺激するとケモカインであるインターロイキン-8(IL-8)の分泌が有意に増加するが、この時、cathelicidin7を添加すると、IL-8の分泌が有意に抑制された。以上のことから、cathelicidin7はLPSに結合し、炎症を抑制することが示された。乳房炎治療で抗生物質を投与するとき、cathelicidinが多く分泌されるような処理をする、あるいはcathelicidinそのものを同時投与する等の、応用ができれば大変意義深いと考えられる。

以上のように、いくつかの抗菌因子について説明してきたが、これら以外にも、lactoferrin、peroxidase、IgAなどが知られており、乳房で感染防御に貢献していると思われる。IgAは粘膜免疫を支える抗体であり、通常は小腸のパイエル板を通して得られた抗原情報を基に小腸の

内腔に分泌される。しかし、IgAを合成する形質細胞が乳房にも動員され、乳中に多量に分泌されている。IgAは抗原特異的なものだけでなく、非特異的なnatural IgAが確認されている。したがって、このnatural IgAも自然免疫を担っている重要な因子と考えられ始めている。

乳中細菌数と抗菌因子との関係

乳房炎になると、原因菌の特定が必要であるが、乳汁の培養検査をしても、細菌が検出されないことがある。この原因としては、菌数が少ない、培地の選択が不適切、細菌以外の微生物が原因、乳汁採取時に菌の排出がない、等が考えられている。それ以外にも乳汁の保存が不適切であり、保存中に細菌が死んでしまったという原因も考えられる。上述した通り、乳房炎から採取した乳汁には高濃度の抗菌因子が含まれていることから考えると、乳汁の保存中にこれらの抗菌因子によって殺菌される可能性がある。

そこで、高い体細胞数を示す潜在性乳房炎の乳汁を採取し、0, 0.5, 1, 2, 3, 4 および5時間室温で保存した後、直ちに培地に播種して生菌数および菌の同定を行った。採取直後の生菌数無のサンプル割合は19.4%であったが、3~5時間保存すると、30%にまで上昇した(図3)[5]。次に、菌種別に保存中の生菌数の変化を調べてみたところ、大腸菌群(CO)の生菌数は保存4時間後には保存前の約半分まで減少していた(図4)。*Corynebacterium bovis*, yeast およびCNSの生菌数は保存30分後にはすでに保存前の60%以下にまで減少し、その後も下がり続け、5時間後には保存前の20%以下になった(図4)。OSは1時間以上保存すると有意に生菌数が減少した。*Streptococcus uberis* およびSAの生菌数は保存中に有意には減少しなかった(図5)。これらのことから、一部の菌種においては保存中に生菌数が激減することが明らかになった。

続いて、保存中の生菌数の減少の原因を調べるために、牛乳中の生菌を体細胞あるいは抗菌因子と培養すると、体細胞と培養した方が生菌数の減少が強かった(図6)が、菌別に詳細に調べると、抗菌因子によって減少する菌もあった[11]。これらのことから、体細胞のほとん

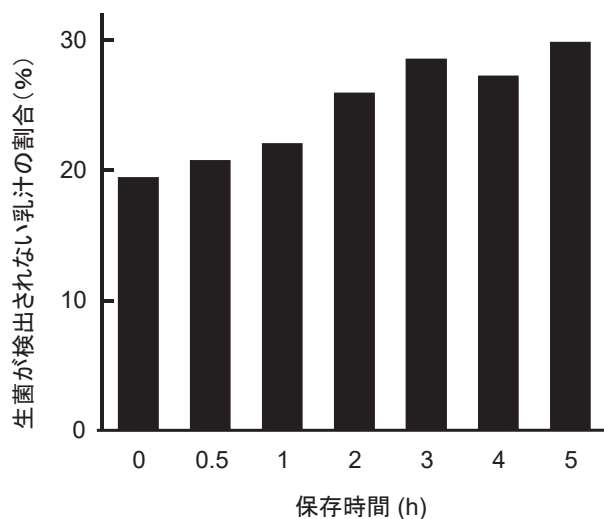


図3 乳房炎乳を0～5時間保存した時の生菌数無のサンプルの割合
Hisaeda et al. (2016) より一部改変

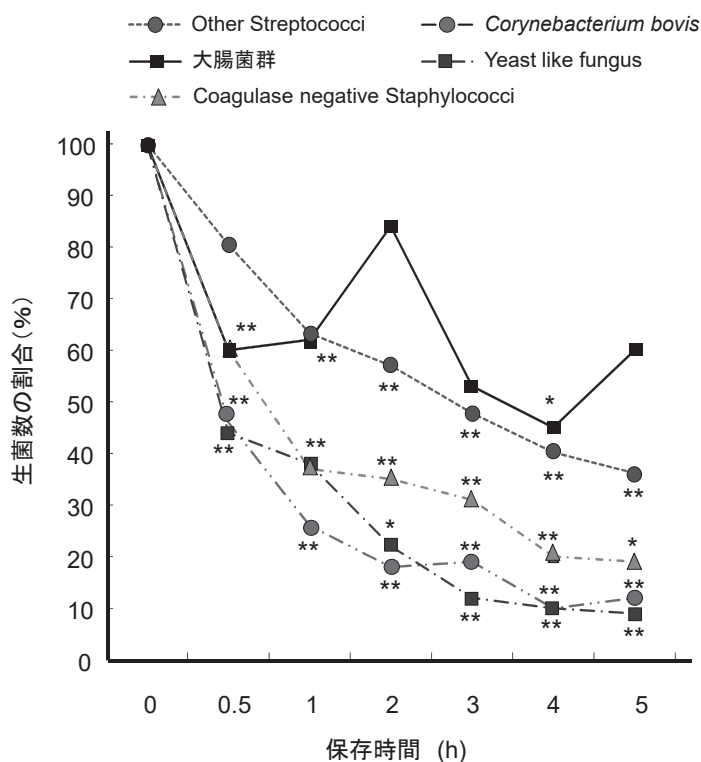


図4 乳房炎乳を0～5時間保存した時の各菌種における生菌数の変化
縦軸は保存前の菌数を100とした時の割合
Hisaeda et al. (2016) より一部改変

どが好中球などの白血球なので、牛乳中の白血球や抗菌因子が、乳房炎乳保存中に殺菌していると思われる。このことを考慮に入れて、生菌検査をするべきと考える。

初乳製剤投与によって乳中抗菌因子が変化する？

生れたばかりの家畜に初乳を飲ませるのは常識だが、親家畜にも初乳を飲ませると健康になることが示唆されている。もしそうだとすると、母親が健康になれば、分娩後の初乳中成分も変

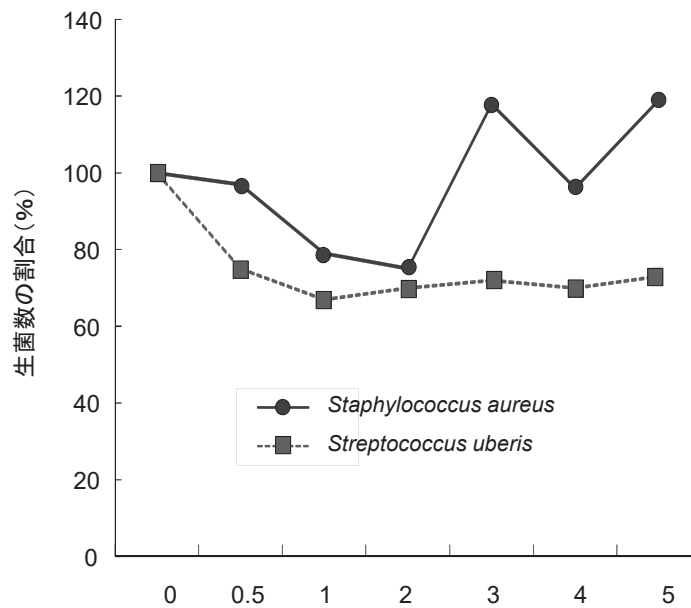


図5 乳房炎乳を0～5時間保存した時の各菌種における生菌数の変化
縦軸は保存前の菌数を100とした時の割合
Hisaeda et al. (2016) より一部改変

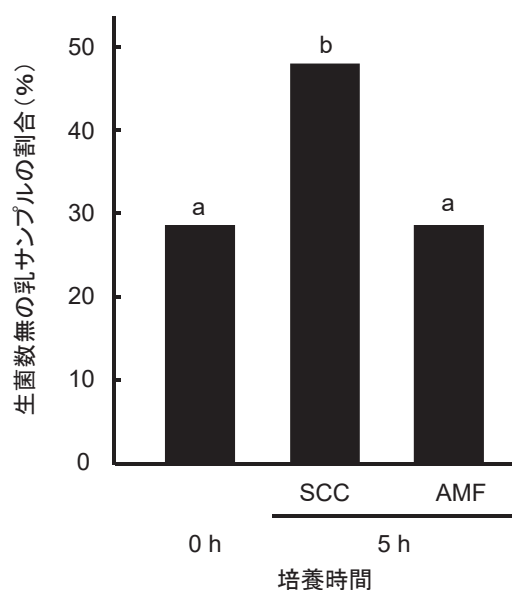


図6 乳汁に含まれていた菌をSCC (ほとんどが白血球) あるいは抗菌因子 (AMF) と5時間培養した時の生菌数無の乳サンプルの割合
a, b: 異文字間に有意差あり (Koshiishi et al., 2017を改変)

化し、それを飲む子の健康にも貢献する可能性がある。そこで、分娩予定2週間前からヤギに初乳製剤 (eCOW、イーアニマル) を2ml / 日ずつ毎日飲ませ、初乳中の抗菌因子を調べてみた結果、lactoferrin およびIgAの濃度が有意に増加していた (図7) [10]。その結果、子ヤギの血中のIgA濃度が上昇しており、増体

も向上した。このように、経口投与という簡単な方法で、乳中の抗菌因子を増やすことができれば、子の健康だけでなく、親の乳房の健康にも貢献し、乳房炎を防ぐことが期待される。

抗菌因子の季節変化

乳房炎の発生頻度や乳汁中 SCC は、季節に

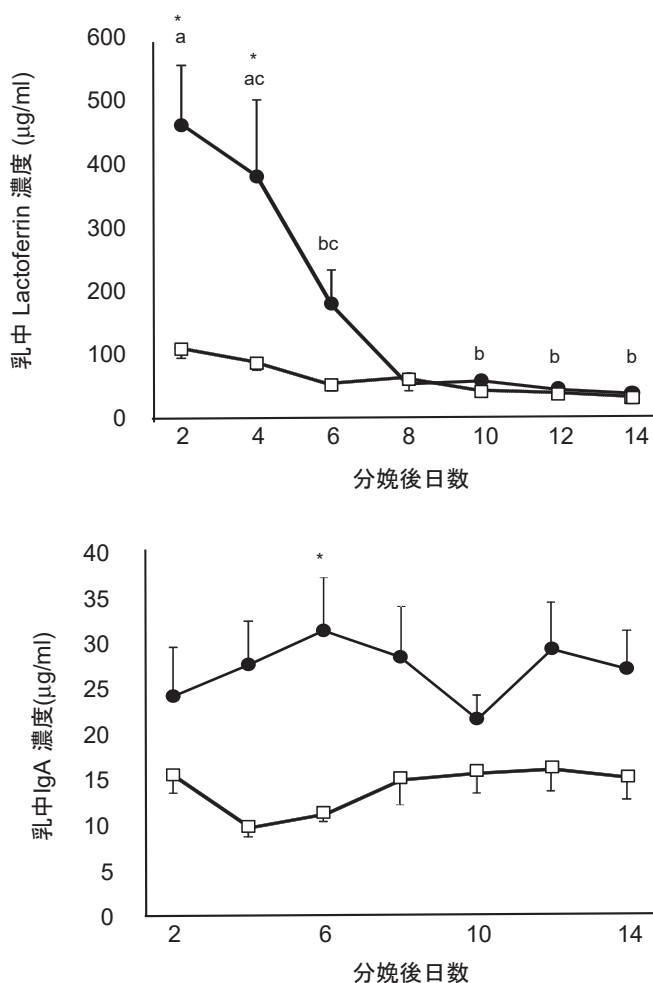


図7 分娩2週間前から初乳製剤を与えた母ヤギの分娩後乳中lactoferrin (上) および IgA (下) 濃度の変化
*: 区間に有意差あり、a, b, c: 日間に有意差あり、●: 初乳投与区、□: 対照区 (Isobe et al., 2020を改変)

より影響を受ける。夏には *E. coli* や *Streptococcus* 属が原因の環境性乳房炎が増え [14, 29]、個体およびバルク乳 SCC も増加する [15]。乳牛が暑熱期に乳房炎を発症しやすい原因として、病原体側の要因と宿主側の要因の双方が考えられるが、特に宿主側の要因については、高温多湿な環境下、すなわち temperature-humidity index (THI) の上昇に伴う暑熱ストレスの影響が大きい。暑熱ストレスは、乳量の減少とそれに伴う SCC の上昇 [24]、内分泌機能の変化に伴う免疫への影響 (血中コルチゾール濃度の上昇など) [1]、炎症性サイトカインへの影響 [3]、などが指摘されているが、我々は新たに、季節が乳汁中抗菌因子濃度に影響を及ぼしているかどうかを調査した。臨床上健康な、分娩後

5-8日のホルスタイン種乳牛から採取した乳汁の内、SCCが300,000 cells/ml以下の乳汁のみを選び、抗菌因子濃度を測定した結果、LAPは夏が春に比べて有意に低く、lactoferrinは夏および秋が冬に比べて有意に低かった (図8)。なお、夏の直腸温度が他の季節に比べ有意に高いことを確認した。これらのことから、暑熱期では抗菌因子産生能が他の季節より低下しており、これが乳房炎発症の一因になる可能性が考えられた。さらに、酸化ストレス指標である血中 derivatives of reactive oxygen metabolites (d-ROMs) や、免疫に影響を与えるとされる血中コルチゾール、チロキシン濃度は季節間で差がなかった。これらの結果から、全身に影響が出るほど強い暑熱ストレスには曝露されてい

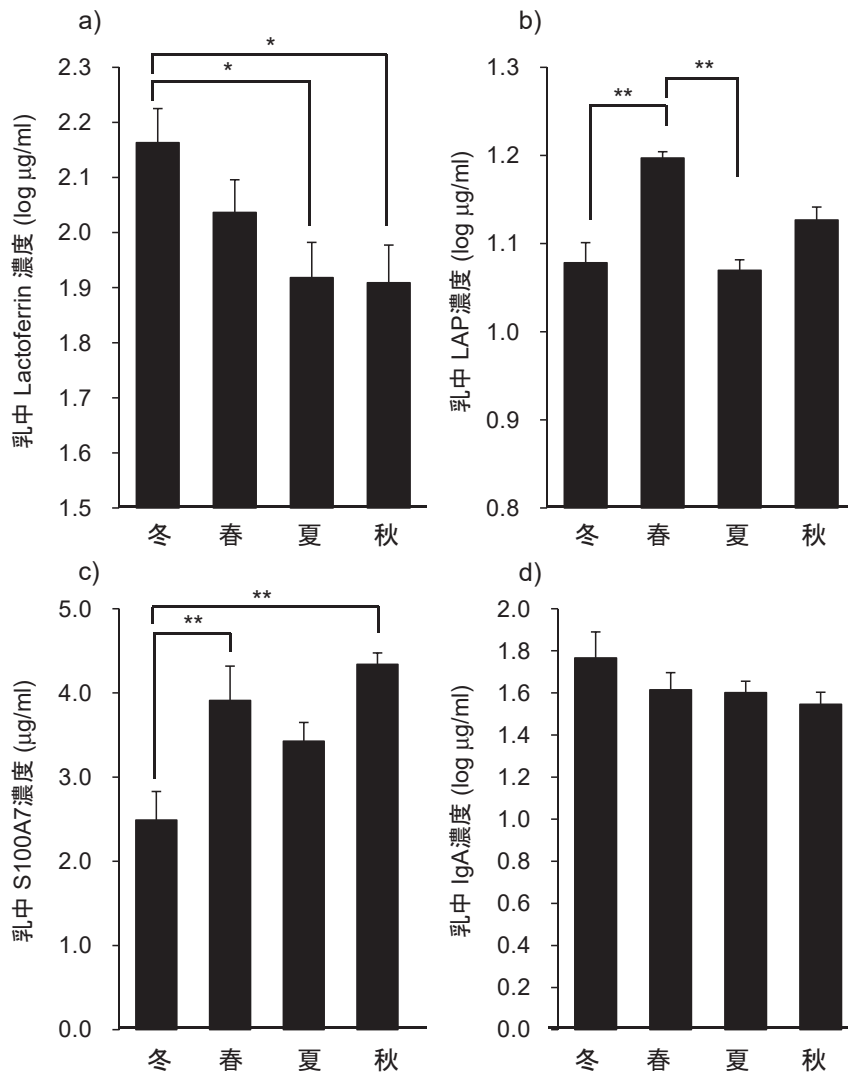


図8 季節ごとの体細胞数30万/ml以下の乳汁中 lactoferrin (a)、LAP (b)、S100A7 (c) およびIgA (d) 濃度
*, **: 区間に有意差あり (それぞれ $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)
(Suzuki et al., 2020を改変)

ないと推察されるため、抗菌因子濃度の低下は局所反応であると推察された。

一方、冬では lactoferrin の濃度が高かったが、逆に S100A7 の濃度が低かった。S100A7 は乳房炎起因細菌のなかでも *E. coli* に対し特に強い抗菌活性をもつことから [18]、S100A7 の低い冬は *E. coli* に感染しやすい状態にある可能性がある。一方、lactoferrin は、鉄との高い親和性により環境中から鉄を奪うことで静菌的に作用する [26]。乳房炎症例由来株の *E. coli* が、乳房炎とは無関係の環境中の *E. coli* と比べて、Fec system 関連遺伝子 (鉄獲得能と関係がある) が高頻度でみられ [2]、Fec system 関連

遺伝子のひとつである *fecA* を欠損させた *E. coli* は乳汁中での増殖が低下すると報告されている [16]。これらのことから、乳房炎に関与する *E. coli* は関与していないものに比べて、特に鉄の要求が高いことがわかる。そこで冬では、低い S100A7 濃度によって *E. coli* が増殖するのを抑制するために、lactoferrin を多く分泌し、乳房内の鉄を奪い、*E. coli* の増殖を抑制していると推察される。実際、全サンプル中の乳汁中 lactoferrin と S100A7 濃度には負の相関がみられた [22]。このように、季節によって乳汁中抗菌因子濃度が異なることが分かり、特に環境性乳房炎の多い夏に複数の抗菌因子濃度が

低下していることから、乳汁中抗菌因子濃度を保つ方法の構築により、暑熱期の乳房炎予防につながることを期待される。

以上のように、反芻動物の乳腺において複数の抗菌因子が産生されており、それぞれ重要な役割を果たしていると思われる。これらの役割を十分に理解し、利用することにより、適切な乳房の健康管理が実施できると考えられる。

引用文献

- [1] Bagath, M., Krishnan, G., Devaraj, C., Rashamol, V. P., Pragna, P., Lees, A. M., Sejian, V. 2019. The impact of heat stress on the immune system in dairy cattle: A review. *Res. Vet. Sci.* 126: 94-102.
- [2] Blum, S. E., Goldstone, R. J., Connolly, J. P. R., Répérant-Ferter, M., Germon, P., Inglis, N. F., Krifucks, O., Mathur, S., Manson, E., Mclean, K., Rainard, P., Roe, A.J., Leitner, G., Smith, D. G. E. 2018. Postgenomics Characterization of an Essential Genetic Determinant of Mammary Pathogenic. *mBio* 9.
- [3] Chen, S., Wang, J., Peng, D., Li, G., Chen, J., Gu, X. 2018. Exposure to heat-stress environment affects the physiology, circulation levels of cytokines, and microbiome in dairy cows. *Sci. Rep.* 8: 14606.
- [4] Compton, C. W. R., Cursons, R. T. M., Barnett, C. M. E., McDougall, S. 2009. Expression of innate resistance factors in mammary secretion from periparturient dairy heifers and their association with subsequent infection status. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 127: 357-364.
- [5] Hisaeda, K., Koshiishi, T., Watanabe, M., Miyake, H., Yoshimura, Y., Isobe, N. 2016. Change in viable bacterial count during preservation of milk derived from dairy cows with subclinical mastitis and its relationship with antimicrobial components in milk. *J. Vet. Med. Sci.* 78: 1245-1250.
- [6] Isobe, N., Hosoda, K., Yoshimura, Y. 2009. Immunolocalization of lingual antimicrobial peptide (LAP) in the bovine mammary gland. *Anim. Sci. J.* 80: 446-450.
- [7] Isobe, N., Nakamura, J., Nakano, H., Yoshimura, Y. 2009. Existence of functional lingual antimicrobial peptide in bovine milk. *J. Dairy Sci.* 92: 2691-2695.
- [8] Isobe, N., Morimoto, K., Nakamura, J., Yamasaki, A., Yoshimura, Y. 2009. Intramammary challenge of lipopolysaccharide stimulates secretion of lingual antimicrobial peptide into milk of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 6046-6051.
- [9] Isobe, N., Shibata, A., Kubota, H., Yoshimura, Y. 2013. Lingual antimicrobial peptide and lactoferrin concentrations and lactoperoxidase activity in bovine colostrum are associated with subsequent somatic cell count. *Anim. Sci. J.* 84: 751-756.
- [10] Isobe, N., Matsukawa, S., Kubo, K., Ueno, K., Sugino, T., Nii, T., Yoshimura, Y. 2020. Effect of oral administration of colostrum whey to peripartum goat on antimicrobial peptides in postpartum milk. *Anim. Sci. J.* 91: e13365.
- [11] Koshiishi, T., Watanabe, M., Miyake, H., Hisaeda, K., Isobe, N. 2017. Cellular and soluble components decrease the viable pathogen counts in milk from dairy cows with subclinical mastitis. *J. Vet. Med. Sci.* 79: 1389-1393.
- [12] Kuwahara, K., Yoshimura, Y., Isobe, N. 2017. Effect of steroid hormones on the innate immune response induced by *Staphylococcus aureus* in the goat mammary gland. *Reprod. Domest. Anim.* 52: 579-584.
- [13] Nishikawa, M., Nii, T., Yoshimura, Y., Isobe, N. 2018. Investigation of the binding of goat cathelicidin-7 to lipopolysaccharide and leucocidal suppression of pro-inflammatory cytokines. *Small Ruminant Res.* 168: 101-06.
- [14] Makovec, J. A., Ruegg, P. L. 2003. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *J. Dairy Sci.* 86: 3466-3472.
- [15] Olde, Riekerink, R. G., Barkema, H. W., Stryhn, H. 2007. The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 90: 1704-1715.
- [16] Olson, M. A., Siebach, T. W., Griffiths, J. S., Wilson, E., Erickson, D. L. 2018. Genome-Wide Identification of Fitness Factors in Mastitis-Associated *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 84.
- [17] Purba, F. Y., Nii, T., Yoshimura, Y., Isobe, N. 2019. Short communication: Production of antimicrobial peptide S100A8 in the goat mammary gland and effect of intramammary infusion of lipopolysaccharide on S100A8 concentration in milk. *J. Dairy Sci.* 102: 4674-4681.
- [18] Regenhard, P., Leippe, M., Schubert, S., Podschun, R., Kalm, E., Grötzinger, J., Looft, C. 2009. Antimicrobial activity of bovine psoriasin. *Vet. Microbiol.* 136: 335-340.
- [19] Regenhard, P., Petzl, W., Zerbe, H., Sauerwein, H. 2010. The antibacterial psoriasin is induced by *E. coli* infection in the bovine udder. *Vet. Microbiol.* 143: 293-298.

- [20] Srisaikham, S., Suksombat, W., Yoshimura, Y., Isobe, N. 2016. Goat cathelicidin-2 is secreted by blood leukocytes regardless of lipopolysaccharide stimulation. *Anim. Sci. J.* 87: 423-427.
- [21] Stolzenberg, E. D., Anderson, G. M., Ackermann, M. R., Whitlock, R. H., Zasloff, M. 1997. Epithelial antibiotic induced in states of disease. *Proc. NAS USA* 94: 8686-8690.
- [22] Suzuki, N., Purba, F.Y., Hayashi, Y., Nii, T., Yoshimura, Y., Isobe, N. 2020. Seasonal variations in the concentration of antimicrobial components in milk of dairy cows. *Anim. Sci. J.* in press
- [23] Swanson, K., Gorodetsky, S., Good, L., Davis, S., Musgrave, D., Stelwagen, K., Farr, V., Molenaar, A. 2004. Expression of a beta-defensin mRNA, lingual antimicrobial peptide, in bovine mammary epithelial tissue is induced by mastitis. *Infec. Immun.* 72: 7311-7314.
- [24] Tao, S., Orellana, R. M., Weng, X., Marins, T. N., Dahl, G. E., Bernard, J. K. 2018. Symposium review: The influences of heat stress on bovine mammary gland function. *J Dairy Sci* 101: 5642-5654.
- [25] Tetens, J., Friedrich, J.J., Hartmann, A., Schwerin, M., Kalm, E., Thaller, G.. 2010. The spatial expression pattern of antimicrobial peptides across the healthy bovine udder. *J. Dairy Sci.* 93: 775-783.
- [26] Weinberg, E. D. 1978. Iron and infection. *Microbiol. Rev.* 42: 45-66.
- [27] Zhang, G. W., Lai, S.J., Yoshimura, Y., Isobe, N. 2014. Messenger RNA expression and immunolocalization of psoriasin in the goat mammary gland and its milk concentration after an intramammary infusion of lipopolysaccharide. *Vet. J.* 202: 89-93.
- [28] Zhang, G. W., Lai, S.J., Yoshimura, Y., Isobe, N. 2014. Expression of cathelicidins mRNA in the goat mammary gland and effect of the intramammary infusion of lipopolysaccharide on milk cathelicidin-2 concentration. *Vet. Microbiol.* 170: 125-134.
- [29] Zhang, Z, Li, X. P., Yang, F., Luo, J. Y., Wang, X. R., Liu, L. H., Li, H. S. 2016. Influences of season, parity, lactation, udder area, milk yield, and clinical symptoms on intramammary infection in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99: 6484-6493.

Mammary management utilizing antimicrobial components

Naoki Isobe^{1,2}, Naoki Suzuki^{3,4}

¹ Graduate School of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima

² The Research Center for Animal Science, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima

³ Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima

⁴ Hiroshima Agricultural Mutual Aid Association, 1-2-23 Hikarimachi, Higashi-Ku, Hiroshima

Corresponding Naoki Isobe

Graduate School of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima

TEL: +81-82-424-7993

Mail: niso@hiroshima-u.ac.jp

[Abstract]

Treatments of mastitis without antibiotics are expected. Since antimicrobial components work immediately after bacterial invasion and have broad spectrum of bactericidal function, treatment of mastitis will be developed by utilizing antimicrobial components in the mammary gland. This review explain antimicrobial components that works in the mammary gland such as defensin, S100, cathelicidin. It also outlines the effects of these on mastitis management, those seasonal variation, and possible method for increasing antimicrobial components.

Keywords: antimicrobial components, mammary gland, mastitis