

ウシの乳房炎と繁殖機能との関係

磯部直樹

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

email: niso@hiroshima-u.ac.jp

【要約】

乳房炎は乳牛に多発する病気の一つであり、酪農業界に莫大な損害を与えている。乳房炎原因菌の細胞壁成分などが血液を介して生殖器に移行し、そこで炎症を起こしたり、機能を障害したりする。その結果として排卵、受精、着床、胎仔成長などの機能が正常に進行しない。逆に生殖器で感染した細菌の成分が乳房に移行し乳房炎を起こすこともある。これは本来乳房炎の原因とされている乳頭口から侵入した生きた細菌による乳房炎とは異なるものである。このように感染症は感染源臓器だけに限局するわけではなく、体全体に影響を及ぼすこともある。これらの両者について、詳しく解説する。

キーワード: 子宮内膜炎、生殖器、乳房、乳房炎

乳房炎は乳牛で多発する感染症である。ディッピングなどの搾乳作業が徹底的に検討され予防に気を使っているにもかかわらず、乳房炎は依然として高頻度で発症する。この治療としては、抗菌薬を使用することが多い。

一方、分娩後の乳牛は急激な乳量の増加によりエネルギーバランスが低下し、それによって免疫機能も減退する。乳房においても免疫機能が低下するため、乳房炎は分娩後に発生率が高く、しかも重症化する可能性が高い。しかも、この時期に繁殖機能が低下する乳牛も非常に多い。このように乳房炎の発症と繁殖機能の低下が併発することがあるので両者に密接な関係があると考えられる。本稿では、これらの関係について、両側から考察していきたい。

1. 乳房炎が繁殖機能に及ぼす影響

乳房炎になると、乳房内に多くの白血球が動

員され、これにより体細胞数 (somatic cell count, SCC, 白血球と剥離した上皮細胞の乳中の数) が増加する。これらの白血球の内、マクロファージや好中球は細菌を貪食する能力を持つとともに Tumor necrosis factor- α (TNF- α) のようなサイトカインを合成・分泌する (図 1)。これらのサイトカインは血液を介して子宮に働き、プロスタグランジン (PGF_{2a}) の分泌を誘起する [16] ため、黄体の機能に悪影響を及ぼす可能性がある。また、プロスタグランジンは子宮自身の収縮を促すため、妊娠中であれば胎子排出の刺激になることも考えられる。

一方、乳房炎の原因がグラム陰性菌の場合、菌細胞壁成分であるリポ多糖 (lipopolysaccharide, LPS) が、菌から放出されることがあり、この LPS は血液を介して他の臓器へ移行する可能性がある。血液中の LPS は卵巣の毛細血管を通過して卵胞内へ侵入することが報告されている [2]。さらに、卵子を取り囲む卵丘細胞は LPS の受容体 (toll-like receptor-4) を持っている [15] ので、LPS は卵丘細胞に認識される。すると、

受付: 2024年4月22日

受理: 2024年4月22日

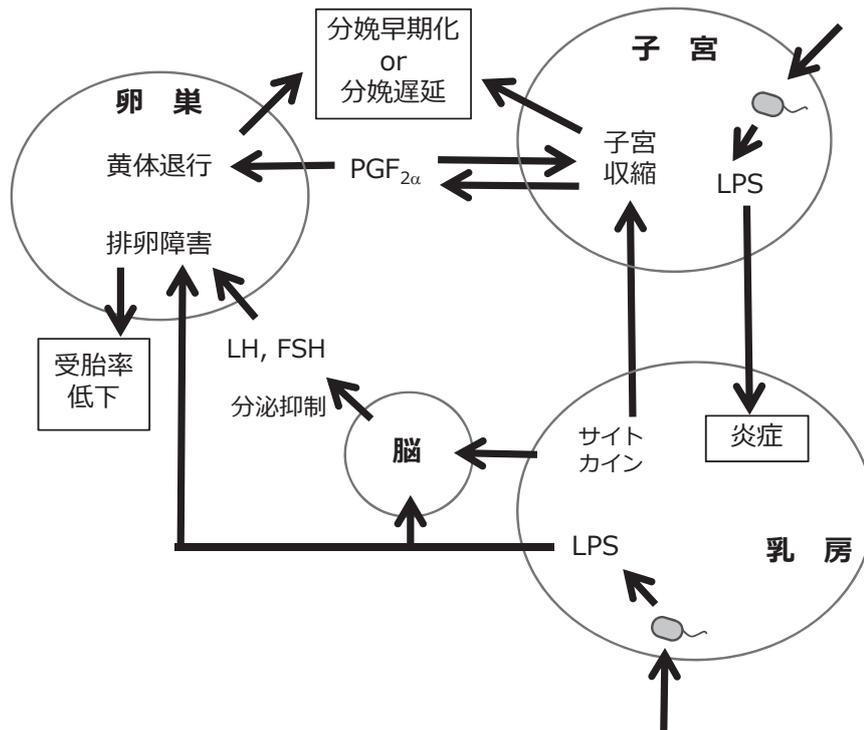


図1 乳房炎が繁殖機能に影響を及ぼすしくみ

LPS: lipopolysaccharide

LH: luteinizing hormone

FSH: follicle stimulating hormone

PGF_{2α}: prostaglandin

progesterone から estradiol へ変換する酵素が働かなくなり、estradiol が合成されない。estradiol は発情や LH（黄体形成ホルモン）サージのために必要なホルモンなので、これが合成されないと卵胞が発育不全となり、発情行動が微弱になったり受胎不能になったりすることになる。

分娩後妊娠までの繁殖機能に及ぼす 乳房炎の影響

乳房炎と卵胞の発育との関係を調べた報告は多い。Hockett et al. [4] は *Streptococcus uberis* を乳房内に注入し乳房炎を誘起した時の排卵前後の卵胞の状態を観察するとともに、ホルモン濃度を測定した。乳房炎を起こしたウシ 12 頭中 8 頭が発情および排卵が起きなかった。これらの排卵が起きなかったウシの血中 estradiol 濃度と LH のパルスは、細菌を注入したにもかかわらず排卵が起きたウシのそれらに比べて低下した。乳房炎になるとストレスホルモンである cortisol の濃度が上昇することが知られてい

る [3]。この cortisol の分泌を促す副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）を 3.5 日間、卵胞期のウシに投与することによって LH サージおよび発情の発現が遅れた [17]。さらに、ACTH を 7 日間連続で投与すると、卵胞のサイズが大きいまま維持され排卵遅延が認められた [13]。以上のように、乳房炎になると、cortisol などの影響により下垂体からの LH および卵胞からの estradiol の分泌異常によって排卵障害が起きると思われる。

我々は、分娩後の乳中体細胞数を調べて空胎期間との関係を解析した結果、平均的に SCC が高いウシの方が低いウシに比べて有意に空胎期間が長かった。さらに、繁殖障害の一つである黄体遺残について詳しく調べたところ、黄体遺残が認められたウシの割合は、SCC が高いウシの方が低いウシに比べて有意に高かった。しかし、Lüttgenau et al. [8] は大腸菌由来 LPS を乳房に注入した後に黄体機能を調べた結果、cortisol および Haptoglobin 濃度は増加

したが、黄体の退行は観察されなかったと報告した。

以上のように、乳房炎による排卵障害および黄体機能異常によって、初回排卵や初回種付けあるいは受胎が遅れ、それにより空胎期間も延びると考えられる。

妊娠から分娩までの繁殖機能に及ぼす乳房炎の影響

妊娠中に乳房炎になった時に流産になることがある。Pinedo et al. [10] は妊娠してから90日以内の間に体細胞が高いことを経験したウシはそうでないウシに比べて流産する危険が1.22倍高いことを報告した。Moore et al. [9] によると、体細胞数が多いウシは低いウシに比べて妊娠35～41日の間に胚死滅が起こる割合が2倍高くなる。Santos et al. [14] は泌乳時期に関わらず、環境性細菌による臨床性乳房炎になったウシはならなかったウシに比べて流産する割合が高かったとした。妊娠45日目までに臨床性乳房炎になったウシはその後流産する割合が、乳房炎でないウシに比べて2.7～2.8倍上昇した [1, 12]。このように妊娠初期に乳房炎になると妊娠維持に多大な悪影響を及ぼすことが報告されている。

妊娠後期における乳房炎に関する研究においては、Isobe et al. [5] が乳牛の乾乳前1か月間に乳汁サンプルを、分娩前1か月間に血漿サンプルを採取した。血漿中 prostaglandin metabolites (PGFM, PGF2 α は血中に入ると直ちに代謝され PGFM となる) と乳汁中 SCC と

の相関関係を調べてみると両者間には有意な正の相関が認められた (図2)。SCC と progesterone 濃度との間には有意な負の相関が認められた (図2)。以上のことから、乳房炎になると子宮からの prostaglandin 分泌が促され、それにより子宮の収縮および黄体機能低下が引き起こされると思われる。これらのことが実際に分娩を誘起するのかどうか調べてみると、SCC と妊娠期間の間には負の相関が認められた。したがって、乳房炎になると早期に分娩が誘起され、妊娠期間が短縮されたと思われる。

次に、妊娠の初期に乳房炎になると繁殖機能にどのような影響を及ぼすのか調べてみた。妊娠45日および60日目のヤギ乳房内にLPSを注入した後、血液中のホルモン濃度を調べた [7]。ヤギの妊娠期間は150日なので、ウシに換算すると妊娠84日および112日になる。いずれも、PGFMの濃度が増加し、progesteroneの濃度が減少した。妊娠期間については、60日目にLPSを注入しても有意な差はなかったが、45日に注入すると有意に長くなった。

また、ウシを用いて、妊娠中の乳房炎が妊娠期間に及ぼす影響を調べたところ、乳房炎になった日が種付け後60日以内、60-120日、120-180日、180日以上の4区に分けて、それぞれのウシの妊娠期間を平均したところ、60日以内に乳房炎になると、それ以降になるよりも有意に妊娠期間が長かった。

これらのことから、妊娠の初期で乳房炎になると、prostaglandin 増加および progesterone 低下に伴い、子宮内の胎子に何らかの影響を及

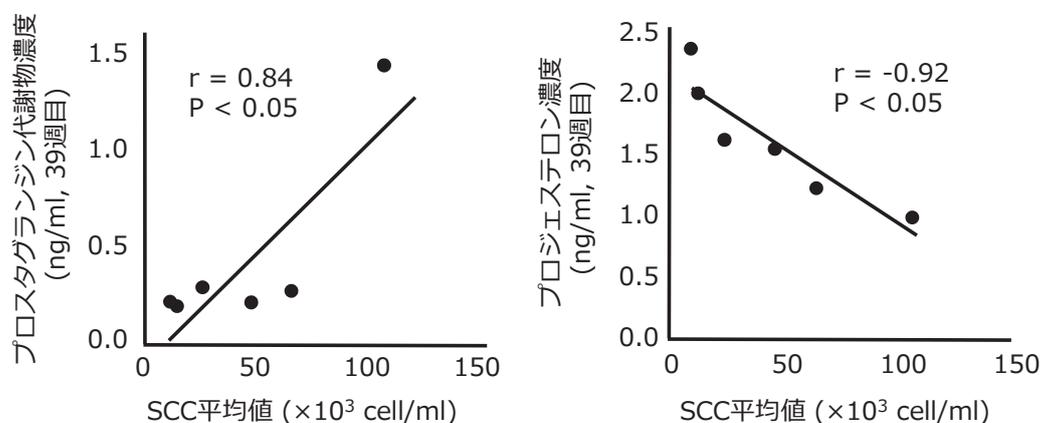


図2 プロスタグランジン代謝物およびプロジェステロンとSCCとの相関関係
Isobe et al. (2014) [5] より一部改訂

ばし、胎子の成長を阻害することにより、成長に時間がかかり妊娠期間が延長するのかもしれない。

子宮感染が乳房炎に及ぼす影響

次に、炎症物質の流れが逆の場合を考えてみたい。つまり、生殖器の感染が乳房へ及ぼす影響である。子宮で感染した細菌から LPS が遊離し血液に入り、乳房へ侵入すると、乳房炎を起こす可能性があると思われる (図 1)。

そこで、子宮の炎症と乳房炎との関係を調べてみた。分娩後の乳牛について、子宮感染を起こしているウシとそうでないウシについて、乳中の SCC を調べてみたところ、子宮感染牛の方が SCC が高いことが分かった [11]。このことは子宮が感染すると、乳房でも炎症が起こる可能性が高いことを示している。

次に LPS が本当に子宮から乳房へ移行しているのか確認するため、実験的にヤギ子宮内に LPS を注入した 24 時間後に乳房組織を採取し、免疫染色をして、LPS の存在を確認した。すると、確かに LPS が乳房内に観察された [11]。しかし、注入した LPS が乳房内に入ったのではなく、もともと乳房内にいた細菌から遊離した LPS の可能性もあるので、乳房にあるはずがない墨汁をヤギ子宮内に注入して、同様に乳房組織を観察した。その結果、血液が黒く変色するとともに乳房内に墨汁が観察できたので、間違いなく子宮から乳房へ墨汁が移行したと言える [6]。したがって、LPS も同様に子宮から乳房へ移行することが確認された。

次に、子宮から移行した LPS が乳房炎を起こすのか検討するため、ヤギ子宮内に LPS を 1 回注入した後、経時的に乳を採取し、SCC やサイトカインなどを測定した [11]。その結果、LPS 注入後、わずかに SCC が増加し有意ではなかったが、IL-6 などのサイトカインは有意に増加した。このように、軽い炎症は起きたものの、SCC が上昇するほどではなかった。実際の子宮内膜炎では最低数日は継続するので、毎日 5 日間子宮内に LPS を注入してみた。すると、SCC が有意に増加し、サイトカインも 1 回注入した時よりも顕著に増加した (図 3) [6]。このように、子宮から細菌の成分が遊離して血液を通過して乳房に移行して炎症を起こすことが

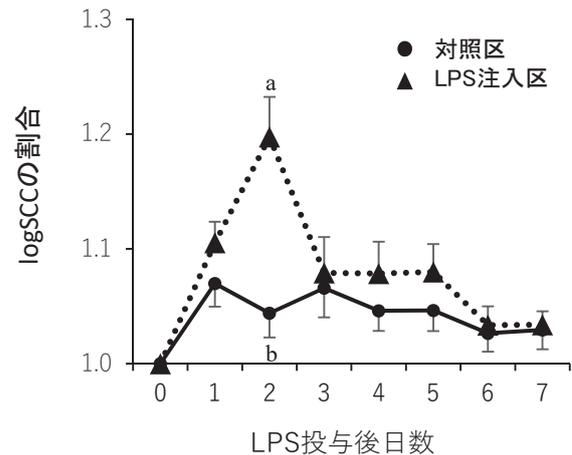


図3 子宮内にLPSを5回連続注入した時のSCC変化

Jaisue et al. (2023) [6] より一部改訂

わかる。ただ、この場合生菌が乳房内に感染するわけではないので、抗菌薬を使用する必要はない。

以上より、乳房炎を発症したウシでは分娩後の卵胞発達、排卵、黄体、受胎に障害が起きることや、妊娠初期の乳房炎で妊娠期間が延びるが、それ以降では逆に妊娠期間が短縮したり、流産の可能性のあることを紹介した。また、子宮感染により乳房炎が誘起される可能性も説明した。どこかの臓器で感染症が起きるとそれ以外の臓器でも炎症が起こりえることを知っておくべきと思われる。今回は、卵巣、子宮、乳房を中心に話をしたが、それ以外 (第1胃、蹄など) でも同様のことが起きる可能性があるので注意が必要である。

引用文献

- [1] Chebel R.C., Santos J.E., Reynolds J.P., Cerri R.L., Juchem S.O., Overton M. 2004. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 84: 239-255.
- [2] Kell D.B., Pretorius E. 2015. On the translocation of bacteria and their lipopolysaccharides between blood and peripheral locations in chronic, inflammatory diseases: the central roles of LPS and LPS-induced cell death. *Integr. Biol. (Camb)* 7:1339-1377.
- [3] Hockett M.E., Hopkins F.M., Lewis M.J., Saxton A.M., Dowlen H.H., Oliver S.P., Schrick F.N. 2000.

- Endocrine profiles of dairy cows following experimentally induced clinical mastitis during early lactation. *Anim. Reprod. Sci.* 58, 241-251.
- [4] Hockett M.E., Almeida R.A., Rohrbach N.R., Oliver S.P., Dowlen H.H., Schrick F.N. 2005. Effects of induced clinical mastitis during preovulation on endocrine and follicular function. *J. Dairy Sci.* 88: 2422-2431.
- [5] Isobe N., Iwamoto C., Kubota H., Yoshimura Y. 2014. Relationship between somatic cell count in milk and reproductive function in peripartum dairy cows. *J. Reprod. Dev.* 60 : 433-437
- [6] Jaisue J., Nii T., Suzuki N., Sugino T., Isobe N. (2023) Effect of intramammary lipopolysaccharide challenge after repeated intrauterine infusion of lipopolysaccharide on the inflammation status of goat mammary glands. *Theriogenology* 212: 104-110.
- [7] Liang Z.L., Kodama N., Isobe N. (2024) Effect of mastitis during early-stage pregnancy on the immunity levels and pregnancy function of goats. *Anim. Reprod. Sci.* 262: 107430.
- [8] Lüttgenau J., Wellnitz O., Kradolfer D., Kalaitzakis E., Ulbrich S.E., Bruckmaier R.M., Bollwein H., 2016. Intramammary lipopolysaccharide infusion alters gene expression but does not induce lysis of the bovine corpus luteum. *J. Dairy Sci.* 99: 4018-4031
- [9] Moore D.A., Overton M.W., Chebel R.C., Truscott M.L., BonDurant R.H. 2005. Evaluation of factors that affect embryonic loss in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 226: 1112-1118.
- [10] Pinedo P.J., Melendez P., Villagomez-Cortes J.A., Risco C.A. 2009. Effect of high somatic cell counts on reproductive performance of Chilean dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 92: 1575-1580.
- [11] Purba F.Y., Ueda J., Nii T., Yoshimura Y., Isobe N. (2020) Effects of intrauterine infusion of bacterial lipopolysaccharides on the mammary gland inflammatory response in goats. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 219: 109972.
- [12] Risco C.A., Donovan G.A., Hernandez J. 1999. Clinical mastitis associated with abortion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 1684-1689.
- [13] Sato M., Sugino T., Yoshimura Y. and Isobe N. 2011. Follicular persistence induced by adrenocorticotrophic hormone administration in goats. *J. Reprod. Dev.* 57: 212-216
- [14] Santos J.E., Cerri R.L., Ballou M.A., Higginbotham G.E., Kirk J.H. 2004. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 80: 31-45.
- [15] Shimada M., Yanai Y., Okazaki T., Noma N, Kawashima I., Mori T., Richards JS. 2008. Hyaluronan fragments generated by sperm-secreted hyaluronidase stimulate cytokine/chemokine production via the TLR2 and TLR4 pathway in cumulus cells of ovulated COCs, which may enhance fertilization *Dev.* 135: 2001-2011 (2008)
- [16] Skarzynski D.J., Miyamoto Y., Okuda K. 2000. Production of prostaglandin f(2alpha) by cultured bovine endometrial cells in response to tumor necrosis factor alpha: cell type specificity and intracellular mechanisms: *Biol. Reprod.* 62, 1116-1120
- [17] Stoebel D.P., Moberg G.P. 1982. Effect of adrenocorticotropin and cortisol on luteinizing hormone surge and estrous behavior of cows. *J. Dairy Sci.* 65: 1016-1024

Relationship between mastitis and reproductive function

Naoki Isobe

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

[Abstract]

One of the most common diseases of dairy cows is mastitis, which causes enormous economic losses to the dairy industry. When the causative microorganisms of mastitis dies in the udder, its cell wall components migrate via the bloodstream to the reproductive organs, where they cause inflammation and dysfunction. As a result, ovulation, fertilization, implantation, and fetal growth do not proceed normally. Conversely, bacterial components infected in the reproductive organs may migrate to the mammary gland and cause mastitis. This is different from mastitis caused by live microorganisms that invade the udder through the teat canal. Thus, infections are not confined to the source organ alone, but can affect the entire body. These will be discussed in detail in both cases.

Keywords: endometritis, mammary gland, mastitis, reproductive organ