出生後の黒毛和種新生子牛への免疫グロブリン G と免疫グロブリン A の移行

安松谷恵子¹・笠井浩司¹・山中健吾²・坂瀬充洋³・西野 治⁴・
赤池 勝⁴・万所幸喜⁵・久米新一⁶

¹ 地方独立行政法人大阪府立環境農林水産総合研究所，羽曳野市 583-0862

² 滋賀県畜産技術振興センター，滋賀県日野町 529-1651

³ 兵庫県立農林水産技術総合センター北部農業技術センター，朝来市 669-5254

⁴ 奈良県畜産技術センター，奈良県御杖村 633-1302

⁵ 京都府農林水産技術センター畜産センター，綾部市 623-0221

⁶ 京都大学大学院農学研究科，京都市左京区 606-8502

(2013. 2. 20 受付, 2013. 3. 18 受理)

要 約 2日齢の黒毛和種新生子牛62頭の血清免疫グロブリン G (IgG) と糞中免疫グロブリン A (IgA) に及ぼす母牛の産次の影響と，子牛の血清 IgG，糞中 IgA と糞中水分間の関係について調べた．子牛の血清 IgG と糞中 IgA の平均値 (範囲) は，18.8 mg/mL (2.2~37.8 mg/mL) と 13.8 mg/g (0.004~59.3 mg/g) であった．糞中水分含量が 90.1% の 1 頭の子牛を除くと，61 頭の子牛の糞中水分含量は 80% 以下であり，下痢の発生は認められなかった．血清 IgG と血清総タンパク質濃度は初産牛から生まれた子牛で低くなり，また血清 IgG と血清総タンパク質濃度間には正の相関が認められた．子牛の血清 IgG は糞中水分含量の上昇に伴って増加したが，子牛の糞中 IgA と血清 IgG 間および糞中 IgA と糞中水分含量間には有意な相関関係は認められなかった．

日本畜産学会報 84 (3), 389-393, 2013

新生子牛の健康状態は飼養管理や衛生管理の不備，病原菌による感染など，さまざまな要因に影響される．特に，新生子牛は下痢，肺炎などによる致死率が高いため，新生子牛の栄養管理では発育の改善とともに下痢などの疾病予防が欠かせない．出生直後の新生子牛は初乳から栄養素だけでなく，免疫グロブリンなどの免疫成分を摂取して，健康維持に活用している (Blum 2006)．しかし，初乳成分は母牛の産次などによって大きく変動し，初産牛の初乳中免疫グロブリン G_i (IgG_i) 含量とタンパク質含量は経産牛よりも少ないことが報告されている (Norman ら 1981 ; Devery-Pocius と Larson 1983 ; Kume と Tanabe 1993)．

母牛の初乳中に豊富に含まれている免疫成分は IgG_i であるが，免疫グロブリン A (IgA) は動物の小腸粘膜を保護して病原菌や有害微生物の腸管からの侵入を防ぐため，新生子牛の下痢予防では初乳中の IgG_i だけでなく，IgA が重要な働きをしている (Fagarasan と Honjo 2003 ; Mora と von Andrian 2009 ; Stelwagen ら 2009)．乳中の IgA は乳腺の IgA 産生細胞で生産される (Nishiyama ら 2011a) が，ケモカインレセプター CCR10 を欠損したマウスでは乳中への IgA の分泌が阻害され，新生

仔マウスの糞中 IgA 含量が減少した (Morteau ら 2008)．動物の糞中 IgA は腸管免疫の指標として利用され (高木 ら 2010)，著者らはホエータンパク質の給与によって黒毛和種子牛の糞中 IgA 含量が増加したことから，ホエータンパク質には腸管における IgA の産生を促進する効果のあることを報告した (Yasumatsuya ら 2012)．しかし，出生直後の 2 日齢の黒毛和種新生子牛では糞中 IgA 含量の変動が非常に大きく，糞中 IgA 含量が低レベルの子牛は腸管免疫機能の低下していることが危惧された (Nishiyama ら 2011b ; Yasumatsuya ら 2012)．

子牛の糞中水分含量は下痢の指標として利用され，糞中水分含量 80% 以下が正常便，85% 以上が下痢症状とみなされている (Abe ら 1999)．黒毛和種新生子牛の下痢予防では初乳から IgG と IgA を十分に摂取することが必須であるが，出生直後の黒毛和種新生子牛には母牛が直接授乳しているため，IgG と IgA の摂取量を正確に把握することは非常に困難な状況にある．一方，新生子牛への IgG の移行を評価するために，出生後 24~48 時間の血清 IgG 濃度がよく利用されている (Quigley と Drewry 1998)．

そこで，本研究では 2 日齢の黒毛和種新生子牛 62 頭の血清 IgG と糞中 IgA に及ぼす母牛の産次の影響と，子牛

連絡者：久米新一 (fax : 075-753-6345, e-mail : kume@kais.kyoto-u.ac.jp)

の血清 IgG、糞中 IgA と糞中水分間の関係について調べ、出生直後の黒毛和種新生子牛への免疫グロブリンの移行について検討した。

材料および方法

本研究は、滋賀県畜産技術振興センター、兵庫県立農林水産技術総合センター北部農業技術センター、奈良県畜産技術センターおよび京都府農林水産技術センター畜産センターで実施した。試験は前報 (Yasumatsuya ら 2012) と同様に、各センターで出生した黒毛和種子牛 62 頭を供試した。子牛は出生日を 0 日齢とし、2 日齢までは母牛の授乳だけで飼養し、飼料と水は給与しなかった。分娩前の母牛には日本飼養標準の繁殖牛の TDN 要求量 (農林水産技術会議事務局編 2001) を満たすように、粗飼料と濃厚飼料を各センターの飼養管理法に従って給与した。

子牛の体重は出生時に測定し、子牛の血液および糞を 2 日齢の 13 時に採取した。血液は真空採血管を用いて頸静脈から採取し、糞は直腸から直接採取した。血液は室温に 1 時間放置後、遠心分離 (3000×g, 15 分) し、得られた血清は -30℃ で保存した。血清 IgG 濃度の測定では、Bovine IgG ELISA Quantitation Kit (Bethyl Laboratories, USA) を用い、測定手順に従って処理し、マイクロプレートリーダー (Model 550, ; BIO RAD, USA) で定量した。血清中の総タンパク質、尿素態窒素、グルコース、コレステロール、遊離脂肪酸およびトリグリセリド濃度は、血液自動分析装置 (7600 型; 日立, 東京) で測定した。糞中の水分含量および IgA 含量は既報 (Nishiyama

ら 2011b) の方法で測定し、糞中の IgA 含量は新鮮物当たりで示した。

子牛の血清成分および糞中成分に及ぼす母牛の産次の影響を SAS (1997) の GLM プロシジャーで解析するとともに、子牛の血清成分と糞中成分間の回帰分析を SAS (1997) で行った。有意差検定は Tukey-Kramer の多重比較法で行い、有意水準は $P < 0.05$ とし、また $P < 0.10$ で有意な傾向があるとした。

結 果

黒毛和種子牛の生時体重、糞中水分含量と糞中 IgA 含量には、母牛の産次による影響は認められなかった (表 1)。初産牛から生まれた子牛の血清 IgG 濃度は 4 産以上の牛から生まれた子牛より低く ($P < 0.10$)、また初産牛と 2 産牛から生まれた子牛の血清総タンパク質濃度は 4 産以上の牛から生まれた子牛よりも低かった ($P < 0.10$)。また 3 産牛から生まれた子牛の血清グルコース濃度は他の産次の牛から生まれた子牛より高かった ($P < 0.05$) が、子牛の血清尿素態窒素、コレステロール、遊離脂肪酸およびトリグリセリド濃度には母牛の産次による影響は認められなかった。

2 日齢の黒毛和種子牛の血清 IgG 濃度、糞中 IgA 含量および糞中水分含量の平均値 (範囲) は、それぞれ 18.8 mg/mL (2.2~37.8 mg/mL)、13.8 mg/g (0.004~59.3 mg/g) および 62.5% (32.9~90.1%) であった。

黒毛和種子牛の血清 IgG 濃度と血清総タンパク質濃度間および血清 IgG 濃度と糞中水分含量間には正の相関 (P

Table 1 Calf birth weight, fecal and serum components in calves born from different parity of dams at 2 days of age (Mean $\pm$ SE)

	Parity of dam				P
	1	2	3	≥ 4	
Number of calves	17	15	7	23	
Calf birth weight (kg)	30.0 $\pm$ 1.1	30.8 $\pm$ 1.2	29.4 $\pm$ 1.8	31.3 $\pm$ 1.0	NS
Feces					
Water content (%)	58.4 $\pm$ 2.8	63.5 $\pm$ 3.0	67.2 $\pm$ 4.4	63.6 $\pm$ 2.4	NS
IgA (mg/g)	14.0 $\pm$ 3.6	16.9 $\pm$ 3.9	10.8 $\pm$ 5.7	12.7 $\pm$ 3.1	NS
Serum					
IgG (mg/mL)	16.0 $\pm$ 1.9 ^B	17.0 $\pm$ 2.0 ^{AB}	17.6 $\pm$ 2.9 ^{AB}	22.3 $\pm$ 1.6 ^A	†
Total protein (g/dL)	5.78 $\pm$ 0.23 ^B	5.73 $\pm$ 0.2 ^B	5.67 $\pm$ 0.35 ^{AB}	6.50 $\pm$ 0.19 ^A	*
Urea-N (mg/dl)	10.1 $\pm$ 1.0	9.3 $\pm$ 1.0	11.4 $\pm$ 1.5	11.9 $\pm$ 0.8	NS
Glucose (mg/dL)	102 $\pm$ 7 ^b	101 $\pm$ 8 ^b	137 $\pm$ 11 ^a	103 $\pm$ 6 ^b	*
Cholesterol (mg/dL)	58.4 $\pm$ 2.5	59.2 $\pm$ 2.6	52.4 $\pm$ 3.8	56.6 $\pm$ 2.1	NS
NEFA (μ Eq/L)	350 $\pm$ 40	404 $\pm$ 43	280 $\pm$ 63	335 $\pm$ 35	NS
Triglyceride (mg/dL)	30.8 $\pm$ 6.0	26.5 $\pm$ 6.3	23.6 $\pm$ 9.3	30.3 $\pm$ 5.1	NS

† $P < 0.10$, * $P < 0.05$.

^{a,b} Means within a row with different superscript letters differ ($P < 0.05$).

^{A,B} Means within a row with different superscript letters differ ($P < 0.10$).

Fecal IgA was expressed on a fresh matter basis.

< 0.001) が認められた (図 1) が, 血清 IgG 濃度と他の血液成分 (尿素態窒素, グルコース, コレステロール, 遊離脂肪酸およびトリグリセリド) 間には有意な相関関係は認められなかった. 子牛の血清 IgG 濃度 (Y_{IG}) に対する血清総タンパク質濃度 (X_{SP}) と糞中水分含量 (X_{FW}) の回帰式は, 以下の通りである.

$$Y_{IG} = 4.03(\pm 0.93)***X_{SP} - 5.49(\pm 5.65) \quad (R^2 = 0.24, ***P < 0.001)$$

$$Y_{IG} = 0.288(\pm 0.082)***X_{FW} + 0.75(\pm 5.22) \quad (R^2 = 0.17, ***P < 0.001)$$

黒毛和種子牛の糞中 IgA 含量と血清 IgG 濃度間および糞中 IgA 含量と糞中水分含量間には有意な相関関係は認められず, また糞中 IgA 含量と血清成分 (総タンパク質, 尿素態窒素, グルコース, コレステロール, 遊離脂肪酸およびトリグリセリド) 間にも有意な相関関係は認められなかった.

考 察

初乳中には子牛の免疫機能の維持に必要な成分が豊富に含まれているが, 初乳中の免疫グロブリン含量と子牛の免疫グロブリンの吸収は出生後 24~48 時間で急激に低下するため, 新生子牛の飼養管理では高品質の初乳を分娩後早期に哺乳することが非常に重要である (Quigley と Drewry

1998 ; Stelwagen ら 2009). Nonnecke ら (2012) は, 初乳を給与しなかった子牛では出生後 2 日間の血清 IgG 濃度と IgA 濃度が極度に低かったことを報告している. また出生直後のホルスタイン種子牛 46 頭の糞中平均水分含量は 64.7% で, 下痢の発生は認められなかったものの, 6 日齢になると糞中平均水分含量が 75.9% まで上昇し, 下痢の発生が認められた (Kume と Toharmat 2001). 本研究では 2 日齢の黒毛和種子牛の血清 IgG と糞中 IgA は非常に変動が大きかったものの, 糞中水分含量が 90.1% の 1 頭の子牛を除くと, 61 頭の子牛の糞中水分含量は 80% 以下の正常便であり, 下痢の発生は認められなかった. また, 糞中の平均水分含量が 62.5% と出生直後のホルスタイン種子牛と同様であったことから, 本研究で調べた 2 日齢の糞は胎便と近似していることが推察された.

新生子牛の血清 IgG 濃度が 10 mg/mL 以下になると子牛の致死率が上昇したことから, 血清 IgG 濃度が 10 mg/mL 以下の場合には子牛の免疫グロブリンの吸収が不適切と報告されている (Quigley と Drewry 1998 ; Nonnecke ら 2012). 本研究では血清 IgG 濃度が 10 mg/mL 以下の子牛が 8 頭いたものの, 下痢の発生は認められなかったため, 血清 IgG 濃度の変動要因を検討した. 久馬ら (1981) は 1 日齢の黒毛和種子牛の血清免疫グロブリン濃度とタンパク質濃度は初産牛から生まれた子牛で低く, またそれ

Figure 1 Relationships between serum IgG and serum total protein or fecal IgA and relationships between fecal water and serum IgG or fecal IgA of calves at 2 days of age. Fecal IgA was expressed on a fresh matter basis.

らの低値には初産牛の初乳量と初乳中の免疫グロブリン含量の少ないことが影響していると報告している。本研究でも2日齢の黒毛和種新生子牛の血清IgG濃度とタンパク質濃度は初産牛から生まれた子牛で低く、また血清IgG濃度とタンパク質濃度間に高い正の相関が認められたことから、初産牛から生まれた黒毛和種新生子牛は経産牛から生まれた子牛よりもIgGの吸収量が少ないと推察された。

一方、乳牛では初乳中と血清中のIgG₁濃度は初産牛で低いものの、初乳中と血清中のIgA濃度は乳牛の産次に影響されなかった(Devery-PociusとLarson 1983)が、本研究でも黒毛和種新生子牛の糞中IgA含量には母牛の産次の影響は認められなかった。さらに、2日齢の黒毛和種新生子牛の血清IgG濃度は糞中水分含量の上昇とともに増加したが、子牛の糞中水分含量は初乳摂取量、初乳中の水分含量、腸管における水の吸収などに影響される。本研究では初産牛から生まれた子牛の血清IgG濃度が低く、また糞中水分含量がやや低かったものの、糞中水分含量には母牛の産次の影響は認められなかった。また、乳牛の分娩直後の初乳中タンパク質含量と免疫グロブリン含量は初産牛で低いものの、初乳中水分含量にも産次の影響は認められていない(KumeとTanabe 1993)。このことから、子牛の血清IgG濃度と糞中水分含量の関係には母牛の産次の影響があるものの、産次以外の要因も関与していることが推察される。子牛のIgGの吸収では、高IgG含量の初乳を出生後3時間以内に子牛に多量給与すると子牛の出生24時間後と48時間後の血清IgG濃度は急激に上昇したが、低IgG含量の初乳では多量給与による効果はほとんど認められていない(Morinら1997)。本研究では黒毛和種新生子牛の血清IgG濃度と糞中水分含量間に高い相関関係が認められたことから、子牛の血清IgG濃度の変動要因の一つとして子牛の水代謝の関与が示唆されたが、本研究では子牛の初乳摂取量、初乳中IgG含量などを調べていないため、子牛の水代謝とIgGの吸収の関係についてはさらなる研究が必要である。

初乳中のIgAは二量体として分泌されるため、腸管の消化酵素による分解を受けにくい特徴があり、腸管内腔の抗原の捕捉や腸管壁からの抗原の侵入防止など、IgAは腸管免疫の主要な機能を担っている(Harrisら2006; Stelwagenら2009)。しかし、黒毛和種牛の初乳中の平均IgG₁含量(123mg/mL)と比較すると、平均IgA含量は4.15mg/mLと非常に低いことが報告されている(Ishikawaら1992)。本研究では低レベルの糞中IgA含量の子牛では初乳からのIgAの移行が不十分であったと推察されるが、黒毛和種新生子牛の糞中IgA含量と血清IgG濃度には相関関係がなく、また糞中IgA含量と糞中水分含量あるいは血液成分との関係も明確でなかった。

以上の結果から、2日齢の黒毛和種新生子牛には低レベルの血清IgG濃度だけでなく、低レベルの糞中IgA含量の子牛が見いだされたため、今後は出生直後の黒毛和種新

生子牛へのIgGとIgAの移行を高める飼養管理法を開発することが重要といえる。

謝 辞

本研究は、農林水産省実用技術開発事業「ホエー一代用乳を用いた近畿産ブランド和牛のほ乳期発育改善」により実施した。

文 献

- Abe M, Matsunaga M, Iriki T, Funaba M, Honjo T, Wada Y. 1999. Water balance and fecal moisture content in suckling calves as influenced by free access to dry feed. *Journal of Dairy Science* **82**, 320-332.
- Blum JW. 2006. Nutritional physiology of neonatal calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **90**, 1-11.
- Devery-Pocius JE, Larson BE. 1983. Age and previous lactations as factors in the amount of bovine colostrum immunoglobulins. *Journal of Dairy Science* **66**, 221-226.
- Fagarasan S, Honjo T. 2003. Intestinal IgA synthesis : regulation of front-line body defenses. *Nature Immunology* **3**, 63-72.
- Harris NL, Spoerri I, Schopfer JF, Nembrini C, Merky P, Massacand J, Urban JF Jr, Lamarre A, Burki K, Odermatt B, Zinkernagel RM, Macpherson AJ. 2006. Mechanisms of neonatal mucosal antibody protection. *Journal of Immunology* **177**, 6256-6262.
- Ishikawa H, Serizawa S, Ahiko K, Asai Y, Seike N. 1992. Changes in the chemical composition of colostrum from Japanese Black cows. *Animal Science and Technology (Japan)* **63**, 1153-1156.
- Kume S, Tanabe S. 1993. Effect of parity on colostrum mineral concentrations of Holstein cows and value of colostrum as a mineral source for newborn calves. *Journal of Dairy Science* **76**, 1654-1660.
- Kume S, Toharmat T. 2001. Effect of colostrum β -carotene and vitamin A on vitamin and health status of newborn calves. *Livestock Production Science* **68**, 61-65.
- 久馬 忠, 菊池武昭, 高橋政義, 滝沢静雄. 1981. 肉用種子牛における免疫グロブリンの取得と発育に関する研究. 東北農業試験場研究報告 **64**, 77-102.
- Mora JR, von Andrian UH. 2009. Role of retinoic acid in the imprinting of gut-homing IgA-secreting cells. *Seminars in Immunology* **21**, 28-35.
- Morin DE, McCoy GC, Hurley WL. 1997. Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G1 absorption in Holstein bull calves. *Journal of Dairy Science* **80**, 747-753.
- Morteau O, Gerard C, Lu B, Ghiran S, Rits M, Fujiwara Y, Law Y, Distelhorst EM, Nielsen EM, Hill ED, Kwan R, Lazarus NH, Butcher EC, Wilson E. 2008. An indispensable role for the chemokine receptor CCR10 in IgA antibody-secreting cell accumulation. *Journal of Immunology* **181**, 6309-6315.
- Nishiyama Y, Sugimoto M, Ikeda S, Kume S. 2011a.

- Supplemental β -carotene increases IgA-secreting cells in mammary gland and IgA transfer from milk to neonatal mice. *British Journal of Nutrition* **105**, 24-30.
- Nishiyama Y, Yasumatsuya K, Kasai K, Sakase M, Nishino O, Akaike M, Nagase T, Sugimoto M, Ikeda S, Kume S. 2011b. Effects of supplemental β -carotene with whey on IgA transfer from maternal milk and mucosal IgA induction in neonatal mice and calves. *Livestock Science* **137**, 95-100.
- Nonnecke BJ, Waters WR, Goff JP, Foote MR. 2012. Adaptive immunity in the colostrum-deprived calf: Response to early vaccination with *Micobacterium bovis* strain bacilli Calmette Guérin and ovaalbumin. *Journal of Dairy Science* **95**, 221-239.
- Norman MN, Hohenboken WD, Kelley KW. 1981. Genetic differences in concentration of immunoglobulins G and M in serum and colostrum of cows and in serum of neonatal calves. *Journal of Animal Science* **53**, 1465-1472.
- 農林水産技術会議事務局編. 2001. 日本飼養標準・肉用牛 (2000年版), 中央畜産会, 東京.
- Quigley JD, Drewry JJ. 1998. Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre- and postcalving. *Journal of Dairy Science* **81**, 2779-2790.
- Statistical Analysis Systems (SAS). 1997. *SAS/STAT software: Changes and Enhancement Through Release 6.12*. SAS Institute Cary, NC.
- Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A, Wheeler TT. 2009. Immune component of bovine colostrum and milk. *Journal of Animal Science* **87** (Suppl. 1), 3-9.
- 高木菜穂子, 長谷川清香, 池田俊太郎, 杉本実紀, 久米新一. 2010. 離乳後のマウスの窒素利用効率および糞中IgAに及ぼすホエータンパク質あるいは脱脂乳タンパク質給与の影響. 関西畜産学会報 **166**, 1-9.
- Yasumatsuya K, Kasai K, Yamanaka K, Sakase M, Nishino O, Akaike M, Mandokoro K, Nagase T, Kume S. 2012. Effects of feeding whey protein on growth rate and mucosal IgA induction in Japanese Black calves. *Livestock Science* **143**, 210-213.

Transfer of immunoglobulin G and immunoglobulin A to Japanese Black calves after birth

Keiko YASUMATSUYA¹, Koji KASAI¹, Kengo YAMANAKA², Mitsuhiro SAKASE³
Osamu NISHINO⁴, Masaru AKAIKE⁴, Koki MANDOKORO⁵
and Shinichi KUME⁶

¹ Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefecture,
Habikino 583-0862, Japan

² Shiga Prefectural Livestock Technology Promotion Center, Hino, Shiga 529-1651, Japan

³ Northern Center of Agricultural Technology, General Technological Center of Hyogo Prefecture
for Agriculture, Forest and Fishery, Asago 669-5254, Japan

⁴ Nara Prefectural Livestock Technology Center, Mitsue, Nara 633-1302, Japan

⁵ The Livestock Technology Department of The Kyoto Prefectural Agriculture, Forestry & Fisheries
Technology Center, Ayabe 623-0221, Japan

⁶ Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo, Kyoto 606-8502, Japan

Corresponding : Shinichi KUME (fax : +81 (0) 75-753-6345, e-mail : kume@kais.kyoto-u.ac.jp)

Data from 62 Japanese Black calves were collected to clarify the effects of dam's parity on serum immunoglobulin G (IgG) and fecal immunoglobulin A (IgA) in calves at 2 days of age and to evaluate the relationships among serum IgG, fecal IgA and fecal water in calves. Mean serum IgG in calves at 2 days of age was 18.8 mg/mL, ranging from 2.2 to 37.8 mg/mL, whereas mean fecal IgA was 13.8 mg/g, ranging from 0.004 to 59.3 mg/g. Except for one calf which contained 90.1% of fecal water, diarrhea did not occur in 61 calves, because the fecal water contents were below 80%. Serum IgG and serum total protein tended to be lower in calves born from primiparous cows, and there was a positive correlation between serum IgG and serum total protein in calves. Serum IgG concentrations in calves increased with the increased fecal water contents, but there were no relationships between fecal IgA and serum IgG nor fecal water in calves.

Nihon Chikusan Gakkaiho **84** (3), 389-393, 2013

Key words : fecal IgA, fecal water, neonatal calves, serum IgG.