原 著

分娩前後における乳用牛群に対する
免疫プロファイルテストの有用性

渡辺知香¹⁾ 大塚浩通^{1)†} 小比類巻正幸^{1), 2)} 鵜田真弓¹⁾ 寺澤早紀子¹⁾
 安藤貴朗¹⁾ 渡辺大作¹⁾ 佐藤 繁³⁾

1) 北里大学獣医学部 (〒034-8628 十和田市東23番町35-1)

2) 青森県 開業 (〒039-2683 上北郡東北町大平63-3)

3) 宮城県農業共済組合連合会 (〒989-0731 白石市福岡深谷字桜丘前10)

(2006年10月10日受付・2007年2月22日受理)

要 約

牛群における免疫プロファイルテストの有用性を明らかにするため、飼養管理が異なるA、BおよびC群において代謝プロファイルテストに加え、末梢血単核球の解析を試みた。AおよびB群の周産期疾病の発生率がC群に比べ高かった。血液生化学成績においてA群では乾乳期に遊離脂肪酸 (NEFA) が他の2群に比べ高値であり、B群では乾乳期から泌乳期にかけて総コレステロール (TC) と血糖値が他の2群に比べ高値であった。C群ではこれらの成績はほぼ正常範囲内にあった。免疫学的検査からA群では、分娩後1から4カ月にかけてCD4⁺/CD8⁺比およびIFN- γ /IL-4比がB群とC群に比べ低い傾向にあった。これらのことから牛群における免疫プロファイルテストは牛群の免疫状態を評価するために有用であり、乾乳期の飼料設計に不足のあったA群では分娩後に細胞性免疫機能が低下しているものと示唆された。——キーワード：乾乳期、免疫プロファイル、栄養、周産期疾病。

----- 日獣会誌 60, 709～714 (2007)

近年、酪農は経営規模の拡大および高泌乳化に伴って生産性が向上したが、乳牛の産次数は低下し、死産・病傷事故も減少する兆しは見られない。そのため経営の上で牛群での疾病の発生状況を把握し、牛群の問題点を修正するような管理が必要である。牛群管理の中でも分娩後の疾病発生は乾乳期の飼養管理と密接に関わっている[1-3]ことから、乾乳期の栄養状態を的確に把握することは分娩前後の周産期疾病の発症を予防する手がかりになると考えられる。こうしたことから疾病を予防し生産性を向上させるために、牛群の問題点を明らかにする代謝プロファイルテストが国内でも普及している。

周産期疾病の発症要因として分娩前後の栄養代謝、内分泌機能や免疫機能の急変などがあげられる[4, 5]。このうち免疫状態に関しては、周産期の乳牛において分娩時に好中球やリンパ球機能が生理的に低下する[6]ことから、分娩後に感染症を発症しやすいと考えられている。また、これまで乳房炎の多発する牛群や周産期疾病が多い牛群に対して、代謝プロファイルに免疫学的検査

を加えた免疫プロファイルテストが実施されている[7-9]。それによれば乳房炎の多発する牛群では、牛群全体に蛋白質不足とT細胞数の低下のあることや、周産期疾病が多発した牛群では血清サイトカイン活性の高値を認めることが報告されている。すなわち、牛群に対する免疫プロファイルテストの実施は対象牛群の免疫状態を評価するために有用であると考えられる。しかし、周産期疾病の発生状況や牛群の栄養状態と免疫状態の関係に関する詳細はいまだ不明な点が多い。

そこで本研究では栄養状態と免疫機能との関連性を明らかにする目的で、飼料設計が異なる3つの牛群に対して血液代謝プロファイルテストに加えて免疫学的検査、すなわち免疫プロファイルテストを実施した。

材 料 お よ び 方 法

供試牛：3戸の乳用牛群より無作為に選別した牛をおのおのA、BおよびC群とし、それらの牛群において分娩前60日～31日（-2から-1カ月）、分娩前30日か

† 連絡責任者：大塚浩通（北里大学獣医学部大動物内科学研究室）

〒034-8628 十和田市東23番町35-1

☎0176-23-4371 FAX 0176-23-8703

E-mail: otsuka@vmas.kitasato-u.ac.jp

表1 各群の周産期疾病の発生率

疾 病	A群	B群	C群
ケトーシス (%)	10.3	3.0	3.8
乳 熱 (%)	15.4	9.1	1.3
第四胃変位 (%)	10.3	9.1	2.6
胎盤停滞 (%)	9.0	15.2	1.3

成績は周産期に治療した頭数の割合。平均治療回数はA群3.4回、B群2.8回、C群3.2回

ら1日（-1から0カ月）、分娩0日から30日（0から1カ月）、分娩後31日～60日（1から2カ月）、分娩後61日～90日（2から3カ月）、分娩後91日～120日（3から4カ月）にある個体を対象に各期間、既往歴のない乳牛6頭を選別し、各時期に1回採血した。各牛群の1頭当たり平均年間泌乳量はA群で8,300、B群で8,550、C群で8,300kgであった。分娩前の周産期疾病の発生率はA群で最も高く、次いでB群が高かった。C群における周産期疾病の発生率は他の2群に比べ低かった（表1）。採血は午後1時から3時までに実施した。また飼料設計の分析結果として、乾物摂取量充足率（DMI; %）、粗蛋白質充足率（CP; %）、可消化養分総量充足率（TDN; %）、中性デタージェント繊維含有量（NDF; %）、酸性デタージェント繊維含有量（ADF; %）、非繊維性炭水化物含有量（NFC; %）を表2に示した。

血液の採材と処理法：供試牛の尾静脈から採血し、血清分離剤入りの真空採血管、EDTA-2Na添加真空採血管、ヘパリン添加真空採血管10mlおよびフッ化Na添加真空採血管に分注した。

血液検査：白血球数（WBC）は自動血球計算装置（PC607, ERMA, Germany）により測定した。血液生化学検査として、血清βヒドロキシ酪酸（BHB; 酵素法）、総コレステロール（TC; 酵素法）、血中尿素窒素（BUN; Urease indophenol法）、血清非エステル型脂肪酸（NEFA; 酵素法）、血糖（酵素法）の測定を行った。

白血球サブポピュレーションの解析：白血球表面抗原の解析は、定法に従い実施し [10]、CD3（MM1A, VMRD, Pullman, WA, U.S.A.）、CD4（CACT183A, VMRD）、CD8（BAT82A, VMRD）、MHC class II（CAT82A, VMRD）およびCD14（MY-4, Coulter Immunology, Hialeah, Florida, U.S.A.）に対する抗体を用いた。なお、各細胞の数値はフローサイトメーター（FACScan, Becton Dickinson, U.S.A.）により解析した比率とWBC値から算出した実数値によって数を求めた。

サイトカイン遺伝子の発現量の解析：末梢血単核球の培養は血液から分離し、 5×10^6 個/mlとなるように調整した。これまでの方法と同様に [11]、細胞には5μg/

表2 各群の飼料設計

泌乳期		A群	B群	C群
-2 から -1 カ月	DMI (%)	100.0	91.2	94.6
	CP (%)	90.6	94.6	84.6
	TDN (%)	113.1	112.6	114.2
	NDF (%)	63.8	51.4	61.6
	ADF (%)	37.5	27.7	35.7
-1 から 0 カ月	NFC (%)	13.6	27.3	20.9
	DMI (%)	106.5	104.9	100.0
	CP (%)	100.6	107.5	99.3
	TDN (%)	108.3	113.4	105.7
	NDF (%)	54.7	44.6	45.2
2 から 4 カ月	ADF (%)	31.8	24.2	26.3
	NFC (%)	21.3	32.3	32.3
	DMI (%)	110.5	108.0	109.4
	CP (%)	97.3	90.2	90.1
	TDN (%)	100.2	100.3	98.9
	NDF (%)	36.0	37.5	38.8
	ADF (%)	19.2	20.8	23.5
	NFC (%)	35.3	36.5	36.3

NRC飼養標準により算出

充足率は平均体重650kgで算出

泌乳最盛期の設計は平均乳量40kg/日、脂肪率3.7%で計算

DMI, CP, DIP, SIP, NEI, TDNは充足率、NDF, ADF, NFCは含有率で表示

分娩を0として表示

mlのフィトヘマグルチン（PHA-P; Sigma-Aldrich CO, St.Louis, U.S.A.）を加え、12時間培養した。培養した細胞からRNAを抽出し、サンプルのRNA濃度を測定した。抽出したRNAから定法により [10]、cDNAの合成（逆転写反応）およびリアルタイムPCRを実施した。また腫瘍壊死因子（TNF）-α、インターフェロン（IFN）-γ、インターロイキン（IL）-4の各種サイトカインおよびβ-ActinのPCRプライマーデザインはRiolletら [10] の報告を参考にし、各サイトカイン産生能はβ-Actinを内部標準として、無刺激の培養細胞でのサイトカインのmRNA発現量を1とした場合のPHA刺激培養細胞におけるサイトカインのmRNA発現量を比較する比較定量法（ΔΔCt法）によって算出した。

検定：検査成績は一元配置分布後にScheffeの方法により2群間の比較を行い解析した。分散分布が正しくないものについてはKruskal Wallis Testを行い、Scheffeの方法により2群間の比較を行い解析した。いずれも5%以下の危険率で有意な差とした。

成 績

飼料設計の成績から、すべての群の-2から-1カ月と分娩後のDMIとTDNの設計は充足されており、各群間に差はなかった。しかしA群ではC群に比べ分娩前1カ月のNDFとADF含有率が高くNFC含有率が低かった。いっぽう、B群ではC群に比べ-2から-1カ月に

図1 各群の血液生化学検査所見の比較
A群 (■), B群 (■) およびC群 (□)
abc 異符号間に有意差あり ($P < 0.05$).
0は分娩, マイナスは分娩前を示す.

おけるNDF含有量およびADF含有量が低く、NFC含有量が高かった。さらに-1から0カ月におけるB群のCPおよびTDN充足率はC群に比べ高かった。分娩後の飼料設計値は3群間に明瞭な差を認めなかった(表2)。3群における0から2カ月の設計値は標準値を充足しており、3群間での差も認められなかった(成績示さず)。

血清BHB値は、1から3カ月においてAおよびB群

図2 各群のCD3⁺T細胞とMHC class-II⁺CD14⁻B細胞数の比較
A群 (■), B群 (■) およびC群 (□)
ab 異符号間に有意差あり ($P < 0.05$).
0は分娩, マイナスは分娩前を示す.

図3 各群のTNF-αとIFN-γ遺伝子発現量の比較
A群 (■), B群 (■) およびC群 (□)
ab 異符号間に有意差あり ($P < 0.05$).
0は分娩, マイナスは分娩前を示す.

でC群に比べ高値を示す傾向を示したが、観察した各期間において有意な差は認められなかった。血清NEFA値は、-1から0カ月においてA群が他の2群に比べ有意に高かったが、0~1カ月においてはB群がA群に比べ有意な高値を示した。TC値は、-2カ月から3カ月においてB群が他の2群に比べ高値を示す傾向があり、-1から0カ月ではC群と比較し有意差を認めた。またA群は分娩後の各期間に他の2群に比べ低い傾向にあり、3から4カ月においてC群に比べ有意に低い値を

図4 各群のIFN- γ /IL-4比とCD4⁺/CD8⁺比の比較
A群(■), B群(■)およびC群(□)
ab異符号間に有意差あり ($P < 0.05$).
0は分娩, マイナスは分娩前を示す.

認めた. C群のBUNは, 1から4カ月において他の2群に比べ低い傾向にあり, 1から2カ月において他の2群と比較して有意差を認めた. B群の血糖値は-2から3カ月において他の2群と比較して高い傾向にあり, -2から-1カ月にCとの間に, また-1から-0カ月ならびに1から2カ月においては他の2群と比較して有意な差を認めた(図1).

AおよびB群のCD3⁺T細胞数はC群に比べ1から4カ月にかけて低い傾向にあり, 3から4カ月においてA群ではC群に比べ有意に低い値を示した. AおよびB群のCD4⁺T細胞数はC群に比べ1から4カ月にかけて低い傾向にあったものの, CD8⁺T細胞数には特出した差を認めなかった(成績表記せず). A群のMHC class II⁺CD14⁻数は1から2カ月を除き他の2群に比べ低い傾向にあり, -1から1カ月にB群と比較して有意な低値を認めた(図2). 分娩前のA群およびB群のTNF- α 値はC群に比べ高い傾向にあり, A群のTNF- α 値はC群と比較し-1から0カ月に有意な高値を認めた. A群のIFN- γ 値は0から3カ月において他の2群に比べ低い値を示した. また1から3カ月においてはB群のIFN- γ 値が他の2群に比べ高かった(図3). いっぽう, IFN- γ /IL-4比では各期間を通してA群が他の2群に比べ低い傾向にあり, 2から4カ月においてC群と比較して有意な低値を認めた. さらにCD4/CD8比では, 1から4カ月にかけてA群が他の2群に比べ低い傾向にあり, 1から2カ月ならびに3から4カ月にはBならびにC群と, また2から3カ月においてはC群との間に有意な差を認めた(図4).

考 察

飼料設計の分析結果から, 3群の飼料設計の特徴として分娩後の設計は充足されていたものの, 分娩前に違いのあることが示された. すなわちA群では分娩前においてTDNは充足されていたものの, 他の2群およびNRCで定める基準値に比べてNFCが低く, NDFが高い傾向にあった. また代謝プロファイルの結果から, 分娩前において高NEFAが認められた. A群において他の2群に比べ周産期疾病の発生率が高い傾向にあった原因として, 分娩前のNFC不足によって低調な第一胃発酵となり, 分娩後に泌乳に必要な規定の設計量の飼料を採食できなかった個体が存在し, 分娩後に低血糖や低TCが認められたものと示唆された. いっぽう, B群はA群に続き周産期疾病の発症が多く, 飼料設計の分析結果では, -2から-1カ月のNFCとCPが高い傾向にあった. 血液代謝プロファイルの結果では, -2から3カ月において本研究の2群や, これまで報告[12]にある健康乳牛の数値に比べてもTC値と血糖値が高値であった. これは分娩前の給与飼料内容が他の牛群に比べ高カロリーであることが原因であったと示唆された. 乾乳期から分娩後にかけてのC群の血液検査所見は, これまで報告のある健康なものと同等であり[12], また飼料の設計値もNRCで定める基準値を満たしていたことから, C群はおおむね健康に管理されていたものと示唆された.

白血球サブポピュレーションの結果から, 周産期疾病の発生が多かったA群は3から4カ月において総T細胞であるCD3⁺細胞がC群に比べ低かった. T細胞は免疫応答において種々のサイトカインを分泌し, 他の白血球機能を調節する役割を持っており, 末梢血液中のT細胞数が減少するとその機能も低下する[11, 13]. いっぽう, 分娩前に低コレステロールにある乳牛では分娩後にT細胞が低下傾向で推移することが報告されており[14], 乳牛の分娩前の栄養状態と分娩後の免疫状態には関連のあることが考えられている. 本研究のA群のような分娩前後の栄養状態に何らかの問題があり, 疾病が頻発するような乳用牛群では, 分娩後のT細胞機能にも異常のある可能性がある. しかし高コレステロールの状態で管理されていたB群においても分娩後にT細胞数が減少する傾向にあり, 乳牛の白血球サブポピュレーションに影響する要因は多く存在するものと考えられ, この要因を明らかにするために今後の研究が必要である.

ヘルパーT (Th) 細胞はサイトカイン産生パターンにより, Th1とTh2に分類され[15], Th1はIL-2, IFN- γ などを分泌し細胞性免疫を誘導, いっぽうTh2はIL-4, IL-5, IL-6, IL-10などを分泌し液性免疫を誘導することが知られている[16-18]. 人では持続運動などの身体的ストレスの他, 試験による心理的ストレ

スなどさまざまなストレス状態で液性免疫が優位となり、IL-4産生が増強され、易感染性になることが報告されている [19, 20]。乳牛における末梢血リンパ球のIFN- γ 遺伝子発現量はIL-4遺伝子発現量の10倍以上あるが [21]、A群では過去の報告やB、C群に比べて1から4カ月にかけてIFN- γ /IL-4比が低値であった。またヒトではCD4⁺/CD8⁺比の低下は免疫機能の低下として考えているが [22]、BおよびC群のCD4⁺/CD8⁺比は、これまでの泌乳期における健康な乳牛で報告されている数値と同様であったのに対して [23, 24]、A群の分娩後の各期間のCD4⁺/CD8⁺比が低値であった。乳牛は乾乳期に低NFCの飼料管理にあると、分娩後のCD4⁺/CD8⁺比およびIFN- γ /IL-4比が低下することが報告されている [11]。これらのことからA群では分娩後において細胞性免疫機能の低下状態にあったものと示唆される。

分娩前におけるA群のB細胞であるMHC class II⁺CD14⁻細胞数がB群に比べ低かった。分娩前の健康な乳牛では末梢血B細胞数が高く維持しているが、何らかの疾病を発症していない乳牛であっても、分娩後の血清総コレステロール値が持続的に低い乳牛ではB細胞数が低値で推移することも指摘されている [13] ため、分娩後の血清総コレステロール値が高かったB群に比べて、低かったA群で低MHC class II⁺CD14⁻細胞数であったのは、これまでの報告と類似の成績であったものと示唆される。

A群では-1から0カ月におけるTNF- α 遺伝子発現量がC群に比べ高かった。周産期疾病の多発する牛群では乾乳期における血清TNF活性が高いと報告されているが [9]、これは今回の単核球のTNF- α 遺伝子発現量と類似の成績であった。しかしこのTNF- α 遺伝子発現量の高値の原因は明確ではなく、今後の研究が必要である。

本研究では、牛群の栄養状態が免疫状態と関連する可能性を示した。良好な栄養状態によって正常な免疫機能を維持するためには、過不足のない適切な飼料給与によって健康な第一胃発酵を維持させ、エネルギー代謝を促進することが重要であると考えられる。末梢血白血球機能を解析する免疫プロファイルテストは、牛群の免疫状態を評価するための一助になるものと示唆された。

引用文献

- [1] Ostergaard S, Sorensen JT : A review of the feeding-health-production complex in a dairy herd, *Prev Vet Med*, 36, 109-129 (1998)
- [2] Rukkwamsuk T, Kruip TA, Wensing T : Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the postparturient period, *Vet Q*, 21, 71-77 (1999)
- [3] Van der Meide PH, Schellekens H : Cytokines and the immune response, *Biotherapy*, 8, 243-249 (1996)
- [4] Goff JP, Horst RL : Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders, *J Dairy Sci*, 80, 1260-1268 (1997)
- [5] Kaneene JB, Miller R, Herdt TH, Gardiner JC : The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows, *Prev Vet Med*, 31, 59-72 (1997)
- [6] Saad AM, Concha C, Astrom G : Alterations in neutrophil phagocytosis and lymphocyte blastogenesis in dairy cows around parturition, *Zentralbl Veterinarmed B*, 36, 337-345 (1989)
- [7] Holtenius K, Persson WK, Essen-Gustavsson B, Holtenius P, Hallen SC : Metabolic parameters and blood leukocyte profiles in cows from herds with high or low mastitis incidence, *Vet J*, 168, 65-73 (2004)
- [8] Ohtsuka H, Kohiruimaki M, Hayashi T, Katsuta K, Matsuda K, Masui M, Abe R, Kawamura S : Relationship between leukocyte population and nutritive conditions in the dairy herd appeared frequently mastitis, *J Vet Med Sci*, 68, 113-118 (2006)
- [9] 大塚浩通, 小松勝一, 小岩政照, 福田茂夫, 初谷 敦, 星 史雄, 吉野知男, 川村清市 : 周産期疾病発生牛群に対する免疫プロファイルテストの有用性, *日畜会報*, 75, 37-44 (2004)
- [10] Riollot C, Rainard P, Poutrel B : Cell subpopulations and cytokine expression in cow milk in response to chronic *Staphylococcus aureus* infection, *J Dairy Sci*, 84, 1077-1084 (2001)
- [11] Ohtsuka H, Watanabe C, Kohiruimaki M, Ando T, Watanabe D, Masui M, Hayashi T, Abe R, Koiwa M, Sato S, Kawamura S : Comparison of two different nutritive conditions against the changes in peripheral blood mononuclear cells of periparturient dairy cows, *J Vet Med Sci*, 68, in press (2006)
- [12] 佐藤 繁, 河野充彦, 村山勇雄, 高橋孝幸, 鈴木利行 : 乳牛における分娩前の遊離脂肪酸値と分娩後の負のエネルギーバランスの関係, *日家畜臨会誌*, 28, 1-6 (2005)
- [13] Shafer-Weaver KA, Pighetti GM, Sordillo LM : Diminished mammary gland lymphocyte functions parallel shifts in trafficking patterns during the postpartum period, *Proc Soc Exp Biol Med*, 212, 271-280 (1996)
- [14] 大塚浩通, 小岩政照, 佐藤洋平, 山下政秀, 高田知哉, 伊東 登, 星 史雄, 吉野知男, 川村清市 : 乳牛の乾乳期における血清コレステロール値と分娩後の末梢白血球との関係, *日獣会誌*, 54, 101-105 (2001)
- [15] Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL : Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins, *J Immunol*, 136, 2348-2357 (1986)
- [16] Allen JE, Maizels RM : Th1-Th2 : reliable paradigm or dangerous dogma?, *Immunol Today*, 18, 387-192

- (1997)
- [17] Estes DM, Hirano A, Heussler VT, Dobbelaere DA, Brown WC : Expression and biological activities of bovine interleukin 4 : effects of recombinant bovine interleukin 4 on T cell proliferation and B cell differentiation and proliferation in vitro, *Cell Immunol*, 163, 268-279 (1995)
 - [18] Kubo M, Ransom J, Webb D, Hashimoto Y, Tada T, Nakayama T : T-cell subset-specific expression of the IL-4 gene is regulated by a silencer element and STAT6, *EMBO J*, 16, 4007-4020 (1997)
 - [19] Marshall GD Jr, Agarwal SK, Lloyd C, Cohen L, Henninger EM, Morris GJ : Cytokine dysregulation associated with exam stress in healthy medical students, *Brain Behav Immun*, 12, 297-307 (1998)
 - [20] Suzuki K, Yamada M, Kurakake S, Okamura N, Yamaya K, Liu Q, Kudoh S, Kowatari K, Nakaji S, Sugawara K : Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans, *Eur J Appl Physiol*, 81, 281-287 (2000)
 - [21] Shafer-Weaver KA, Corl CM, Sordillo LM. Shifts in bovine CD4⁺ subpopulations increase T-helper-2 compared with T-helper-1 effector cells during the postpartum period, *J Dairy Sci*, 82, 1696-706 (1999)
 - [22] Robinson E, Segal R, Struminger L, Faraggi D, El'ad-Yarum R, Mekori T : Lymphocyte subpopulations in patients with multiple primary tumors, *Cancer*, 85, 2073-2076 (1999)
 - [23] Kimura K, Goff JP, Kehrli ME Jr, Harp JA : Phenotype analysis of peripheral blood mononuclear cells in periparturient dairy cows, *J Dairy Sci*, 82, 315-319 (1999)
 - [24] Van Kampen C, Mallard BA : Effects of peripartum stress and health on circulating bovine lymphocyte subsets, *Vet Immunol Immunopathol*, 59, 79-91 (1997)

Utility of Immunity Profiling of Dairy Herds During Periparturient Periods

Chika WATANABE*, Hiromichi OHTSUKA†, Masayuki KOHIRUIMAKI, Mayumi TOKITA,
Sakiko TERASAWA, Takaaki ANDO, Daisaku WATANABE and Shigeru SATO

* *Veterinary Internal Medicine, School of Veterinary Medicine, Kitazato University, 35-1
Higashi niju-san-ban-cho, Towada, 034-8628*

SUMMARY

To clarify the utility of immunity profiling of dairy herds, we analyzed peripheral mononuclear cells and performed blood metabolic profiling of A, B and C dairy herds. The occurrence of periparturient disease in Herd A and B was higher than it was in Herd C. In blood biochemical analysis, high non-esterified fatty acid (NEFA) was found in Herd A before calving. In herd B, levels of total cholesterol and glucose were higher compared with the levels in Herds A and C. In immunological analysis, the rates of CD4⁺/CD8⁺ and IFN- γ /IL-4 in Herd A was between one and four months lower compared with the rates in Herds B and C. These findings suggested that there is suppression of the cellular immunological function after calving in A dairy herd with insufficient nutriment feeding content during the dry period.

— Key words : Dry period, immunological profile, nutrition, periparturient disease.

† *Correspondence to : Hiromichi OHTSUKA (School of Veterinary Medicine, Kitazato University)*

35-1 Higashi niju-san-ban-cho, Towada, 034-8628, Japan

TEL 0176-23-4371 FAX 0176-23-8703 E-mail : otsuka@vmass.kitasato-u.ac.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 60, 709 ~ 714 (2007)