

学 位 論 文 の 要 旨

論文題目 暑熱ストレス下における反芻動物の乳腺自然免疫機能に関する研究

広島大学大学院生物圏科学研究科

生物資源科学専攻

学生番号 D186292

氏 名 鈴木 直樹

ウシの乳房炎は夏に多いと言われているが、この原因の一つに暑熱ストレスが乳腺の自然免疫機能を低下させ、感染しやすくなっている可能性がある。そこで、本研究は、暑熱ストレスが反芻動物乳腺の自然免疫機能に及ぼす影響を調べることを目的とした。まず、季節がウシの乳腺自然免疫機能に及ぼす影響を調べるために、bulk milk somatic cell count (BMSCC) の月変化を調べるとともに、乳汁中抗菌因子濃度および暑熱ストレス指標を季節間で比較した。次に、ヤギを用いて暑熱ストレスにより起こるとされる甲状腺機能低下および高 cortisol 状態を再現し、乳房内に lipopolysaccharide (LPS) を注入した後の自然免疫機能の変化を調べた。

1. ウシ乳汁中抗菌因子濃度の季節変化

広島県の気温、相対湿度から temperature humidity index (THI) を計算し、BMSCC も毎月調べた。また、冬 (1 および 2 月)、春 (4 および 5 月)、夏 (7 および 8 月)、秋 (10 および 11 月) に、分娩後 5-8 日のホルスタイン種乳牛から乳汁および血液を採取した。乳中 somatic cell count (SCC) が 300,000 cells/ml 以下の健康な乳汁を選択し、乳中抗菌因子として lactoferrin, lingual antimicrobial peptide (LAP)、S100A7 および IgA 濃度、暑熱ストレス指標として直腸温、血中 diacron - reactive oxygen metabolites (d-ROMs)、cortisol、thyroxine (T4) 濃度を測定した。THI は夏に上昇し、8 月に最高値を示した。BMSCC は 8 および 9 月が 4 および 5 月に比べて有意に高かった。SCC は季節によって違いが認められなかったが、SCC を 300,000 cells/ml 以下、300,000 ~ 1,000,000 cells/ml、1,000,000 cells/ml 以上に分類し、それぞれの割合を計算すると、300,000 cells/ml 以下となる乳汁の割合は、夏において秋のそれよりも有意に低かった。Lactoferrin および LAP 濃度は夏においてそれぞれ冬および春のそれらと比べて有意に低かった。暑熱ストレス指標である直腸温度は夏がその他の季節に比べ有意に高かったが、血中 d-ROMs、cortisol および T4 濃度は季節による有意な変化はなかった。

以上の結果から、供試牛は夏にある程度の暑熱ストレスを受けていると考えられた。また、夏に一部の抗菌因子濃度が低下することが明らかとなった。

2. Propylthiouracil および dexamethasone 処理したヤギにおける LPS 投与後の乳腺自然免疫機能の変化

ウシの血中 T4 および cortisol 濃度が季節間で変化せず、暑熱ストレス下で変化する内分泌機能と乳腺自然免疫機能の関係は明らかにされなかった。そこで、実験的に甲状腺機能を低下および cortisol 濃度を上昇させた時の乳腺自然免疫機能を調べるとともに、その時に乳房内へ LPS を投与した時の自然免疫機能の変化を調べた。トカラ種メスヤギに、甲状腺機能

低下を再現する目的で3週間毎日 propylthiouracil を投与した PTU 区(甲状腺機能低下処理, n = 6), 高 cortisol 状態を再現する目的で5日間毎日 dexamathasone を投与した DEX 区(高 cortisol 処理, n = 6) およびいずれも処理しない無処理区 (n = 6) を用意し, その左乳房に LPS 50 µg/5 ml 滅菌生理食塩水を注入し, 右側乳房に滅菌生理食塩水のみを注入した。LPS 注入後 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 後および7日後まで血液および乳汁を毎日採取した。PTU 区では血中 T4 濃度を測定した。乳汁は SCC を測定し, 乳汁中抗菌因子として lactoferrin, S100A7, IgA 濃度を, chemokine として IL-8 濃度を測定した。PTU 区における血中 T4 濃度は3週間の投与で有意に減少した。PTU 区および DEX 区において, それぞれの前処理期間前後で乳中 SCC, lactoferrin, S100A7, IgA および IL-8 濃度に有意な変化はみられなかった。LPS 注入後の SCC は PTU 区および DEX 区において無処理区と比べて有意に低かった。また, LPS 注入後の乳中 lactoferrin 濃度は, PTU 区が無処理区と比べて有意に低かった。S100A7 濃度は PTU 区が無処理区に比べて有意に高かった。IgA 濃度および IL-8 濃度は区間に有意な差はなかった。

以上の結果から, 甲状腺機能低下状態で乳房内に LPS を投与すると, SCC および一部の抗菌因子濃度の上昇が抑制されると考えられた。

3. 結論

暑熱ストレス下では, 健康な状態の乳房で一部の抗菌因子濃度が低下し, さらに, 暑熱ストレス下で起こるとされる甲状腺機能低下および高 cortisol 状態下では, LPS 注入後に SCC および一部の抗菌因子濃度上昇が抑制されたことから, 夏の暑熱期に乳房炎が多いのは, 乳腺自然免疫機能の低下が原因の一つと考えられた。