

博士論文

乾乳中の反芻動物乳腺における  
抗菌物質産生に関する研究

(要約)

2024年9月

広島大学統合生命科学研究科

孫 錦昆

乳房炎は乾乳期に多発し、その時期に乳房炎に罹患すると、その後の分娩および乳生産に悪影響を及ぼす可能性があるため、乾乳期に発生する乳房炎を防ぐことが重要である。乾乳期開始後における予防・治療処置が困難であることおよび抗菌薬の使用削減の観点から、ウシ自身の免疫機能を最大限に利用して乳房炎を予防・治療ができれば理想的である。そこで本研究では、自然免疫機能である抗菌物質に着目し、乾乳期における反芻動物乳腺の抗菌物質濃度変化を調べることを目的とした。まず、ウシ乾乳期における各時期での抗菌物質濃度の変化を調べ、乾乳開始前の異なる体細胞数（SCC）が乳汁中抗菌物質濃度に及ぼす影響についても検討した。次に、搾乳停止後 8 週間および分娩前 8 週間の乳汁中抗菌物質濃度の変化を調べた。

## 1. ウシ乾乳期における抗菌物質濃度の変化

乾乳直前、分娩 1 週間前、分娩直後および分娩 1 週間後において、ホルスタイン種乳牛から乳汁を採取した。異なる乳腺の炎症状態が乾乳期における乳汁中抗菌物質濃度の変化に及ぼす影響を調べるため、乾乳直前の SCC を測定し、300,000 cells/ml 以下の乳房を低 SCC 区（n=6）、300,000 cells/ml 以上の乳房を高 SCC 区（n=10）に区分けし、各時期における乳汁中 SCC、Lactoperoxidase (LPO) 活性、抗菌物質である Lactoferrin (LF)、Cathelicidin (Cath)-2,-7、S100A7 および S100A8 濃度を測定した。SCC は乾乳直前において、低 SCC 区が高 SCC 区より有意に低かったが、その後の各時期における差は認められなかった。LPO 活性は両区とも分娩 1 週間前に増加し、各時期における差は認められなかった。乳汁中 LF、Cath-2 および Cath-7 濃度は両区とも分娩 1 週間前で増加し、分娩後に低下したが、乾乳開始後の各時期における差は認められなかった。乳汁中 S100A7 濃度は低 SCC 区は分娩 1 週間前お

よび分娩後で高 SCC 区より有意に高かった。乳汁中 S100A8 濃度において高 SCC 区は分娩 1 週間前および分娩 1 週後で低 SCC 区より有意に高かった。

以上の結果から、一部の抗菌物質濃度は乾乳開始後および分娩直後に増加することが明らかになった。また、炎症状態（高 SCC）下で乾乳を開始すると、乳汁中の S100A7 は分娩 1 週間前および分娩後において、非炎症状態（低 SCC）下で乾乳を開始するより低くなることが明らかになった。したがって、乳汁中の SCC を下げてから乾乳を開始することの重要性が示唆された。

## 2. ヤギの搾乳停止期間における抗菌物質濃度の変化

乳腺退縮が行われる乾乳初期、および乳腺更新が行われる乾乳後期における抗菌物質濃度の詳細な変化は不明である。また、異なる炎症状態が搾乳停止後の抗菌物質濃度に及ぼす影響は明らかになっていない。そこで、実験 1 では非妊娠のトカラヤギを用いて、搾乳停止後 8 週間の抗菌物質濃度の変化を調べるとともに、炎症状態で搾乳停止した時の変化も調べた。搾乳停止前に LPS を注入し、炎症を起こした乳腺を LPS 区 (n = 10)、無処理で SCC が 1,000,000 cells/ml 以下の乳腺を対照区 (n = 10) に設定した。搾乳を停止した後 8 週間、毎週 2 ml 乳汁を採取した。乳汁の色および粘性を評価し、乳汁中 SCC、LF、Cath-2,-7、S100A7 および S100A8 濃度を測定した。さらに、搾乳停止 4 週目の乳腺組織を採取し、乳腺小葉面積、結合組織面積および乳腺上皮細胞の PCNA 陽性細胞率を測定した。対照区の SCC は搾乳停止後に上昇し、高値を維持したのに対して、LPS 区の SCC は搾乳停止後に減少し、2、3、4、6 週目で対照区より有意に減少した。対照区の乳汁は搾乳停止後に粘性が上昇し、より黄色になったが、LPS 区の乳汁は変化がなかった。乳汁中 LF、Cath-7、S100A8 濃度は搾乳停止後において、LPS 区は対照区より有意に低かった。一方、乳汁中 S1007 濃度は両区における差が認められず、Cath-2 濃度は LPS 区より対照区で有意に低かった。搾乳停止 4 週

間後、LPS 区の乳腺小葉面積は対照区より多く、逆に結合組織面積は対照区より少なかった。PCNA 陽性細胞率において両区間に有意な差は認められなかった。

実験 2 では、乳腺の更新中（分娩前 8 週間）の抗菌物質濃度の変化を調べるため、妊娠中のトカラヤギ（n = 13）を用いて、毎週乳汁 2 ml を採取し、乳汁の色および粘性を評価し、乳汁中 SCC、LF、Cath-2,-7、S100A7 および S100A8 濃度を測定した。乳汁の色スコアは分娩 8 週前から徐々に増加し、分娩 8 週前と比較して、4、3、2、1 週前で有意に高く、分娩後に低下した。乳汁の粘性スコアは分娩までは高値を維持したが、分娩後に有意に低下した。SCC は分娩 8 週前以降、有意な変化はなく、分娩後に有意に低下した。乳汁中 LF 濃度は分娩後に有意に低下し、Cath-2 濃度は分娩 1 週後に有意に低下した。乳汁中 Cath-7 濃度は分娩 7 週前から 2 週前までに徐々に増加し、分娩 2 週前は分娩 8 週前より有意に高く、分娩後に有意に低下し。乳汁中 S100A7 濃度は実験期間中における有意な変化はなかった。乳汁中 S100A8 濃度は分娩 8 週前から 4 週前まで増加し、分娩 8 週前と比較して、4、3、2、1 週前で有意に高くなった。

以上の結果から、炎症を起こした状態で搾乳を停止すると、一部の抗菌成分濃度が増加しないことが示された。したがって、乾乳前の乳房炎を治癒してから乾乳を開始する必要があると考えられた。また、乳汁中の一部の抗菌物質濃度は分娩前に上昇することが明らかとなり、乾乳期の感染防御に貢献していると考えられる。さらに、異なる抗菌物質は分娩前において異なる産生・分泌パターンを持っていることが示唆された。

### 3. 結論

乳中の抗菌物質は乾乳期の各段階で抗菌作用を発揮していることが示唆された。乾乳期における抗菌物質の役割をさらに解明し、増強することで、乾乳期における乳腺の感染防御に貢献できると思われる。