

## 茶葉による乳汁中体細胞数抑制技術の開発

[平成 20～24 年度]

寺崎敏明・会田秀樹・片岡辰一郎\*・渡辺翔太郎\*<sup>2</sup>  
(畜産技術科・\*<sup>2</sup>日獣大)・\*現家保

---

【要 約】泌乳期の乳牛にインターフェロン- $\alpha$  製剤と茶葉を併用して経口投与すると、血液中リンパ球の変動において細胞性免疫に関与する T 細胞数の有意な増加が見られること、投与前後の乳汁中体細胞数に差が見られることから、乳房炎の治療効果が期待できる。

---

### 【目 的】

乳牛における抗菌性物質使用削減技術開発として、抗菌性物質によらない、新たな乳房炎治療法の開発を図るため、カテキンをはじめとした豊富な生理活性物質を有する茶葉や天然型ヒトインターフェロン- $\alpha$  製剤 (IFN) の使用について技術開発を行う。

### 【成果の概要】

#### 1. 泌乳牛への IFN 単独経口投与が乳汁中体細胞数および生菌数に与える影響

泌乳牛延べ 19 頭に対し、IFN を 1 日 1 回 1 g (200IU)、5 日間連続で経口投与する。供試牛分房乳延べ 396 検体について FOSSOMATIC90 (FOSS 社製) により乳汁中体細胞数 (体細胞数) の測定を行うとともに細菌培養による生菌数測定を行う。平均体細胞数の推移を見ると、試験終了後一過性の上昇が見られるが抑制効果は見られない (図 1)。体細胞数 100 千個/mL 未満の分房乳 (延べ 44 検体) について見ると、投与期間中に有意な体細胞数の上昇 ( $p < 0.05$ ) が見られ (図 2)、100 千個/mL 以上の分房乳 (延べ 22 検体) では、IFN 投与前後で、体細胞数に有意な差は見られない (図 3)。細菌数の推移を見ると IFN 投与直後で減少傾向が見られる (図 4)。

#### 2. 茶葉と IFN の併用経口投与が体細胞数と生菌数に与える影響

泌乳牛延べ 20 頭に国内産乾燥茶葉 (ピュアグリーン社製) 400 g と IFN 1 g を 1 日 1 回、5 日間連続で経口投与し、経時的に分房乳のサンプリング (延べ 245 検体) を行い体細胞数の測定および生菌数測定を行う。体細胞数 100～1000 千個/mL の範囲の分房乳において、試験開始後 2 日目と 21 日目で投与前と比較し有意な減少が認められる (図 5)。細菌数の推移を見ると、投与直後に減少傾向が見られ、投与終了後は上昇傾向に転じた後再度減少傾向を示す (図 6)。

#### 3. 農家実証試験

都内酪農家 3 農場で飼育する泌乳牛延べ 16 頭に国内産乾燥茶葉 400 g と IFN 1 g を 1 日 1 回、5 日間連続で経口投与し、経時的に分房乳のサンプリング (延べ 179 検体) を行い体細胞数の測定を行うとともに細菌培養による生菌数測定を行う。IFN と茶葉を併用投与後、体細胞数は増加傾向が見られるが、2 週間後には投与前のレベルとなる。その後、減少傾向が見られるものの 2 ヶ月後の体細胞数は 1000 千個/mL と高い水準となっている (図 7)。酪農家の格差金 (減算) 課金の対象となる体細胞数 300 千個/mL で区分すると、体細胞数 300 千個/mL 未満では、5 日間投与後の 6 日目で体細胞数の有意な増加が見られ、1 ヶ月後には有意な減少が見られる (図 8)。体細胞数 300 千個/mL 以上で

は、1ヵ月後同様な減少傾向がうかがえるが有意な差は認めない。生菌数の推移は、投与直後に減少傾向が見られ、2週間後に増加傾向に転じた後、再度減少する。体細胞数の動向と比較すると、体細胞数の増加に伴い生菌数は減少し、体細胞数の減少に伴い生菌数は増加する。1ヵ月後では生菌数の減少傾向が見られる（図9）。

#### 4. 茶葉とIFNの経口投与が乳牛のリンパ球に及ぼす影響

農総研で飼育する、体細胞数300千個/mL未満の非乳房炎泌乳牛4頭を反復試験法により2頭ずつに分け、3期間に割り当てる。1期4日間とし各期の間7日間馴致期間を置く。2頭を1期目に対照区、残り2頭を投与区とし、投与区は国内産乾燥茶葉400gとIFN1gを1日1回、3日間連続で経口投与する。投与直前と投与4日目の朝に血液と乳汁を採取し、血液は日本獣医生命科学大学にて白血球数の測定およびフローサイトメトリーによるリンパ球の解析を行い、乳汁は農総研にて体細胞数の測定をおこなう。リンパ球の検査は、細胞表面に発現するマーカー分子を指標とし、各マーカーに対するモノクローナル抗体の検出により行う。試験前と試験4日目における白血球数および各抹消血リンパ球サブセットの変化した値の平均値と標準誤差を表1に示す。白血球数(WBC)に有意な影響は見られず、フローサイトメトリーによる検査では、CD21発現B細胞(CD21)、CD25発現制御性T細胞(CD25)、WC1発現 $\gamma$   $\delta$  T細胞(WC1)はいずれも有意な影響は見られない。CD11a発現活性化T細胞数(CD11a)では対照区において投与開始後4日目の初日に対する変化量が $(-3 \pm 237 \text{ cells/mL})$ であるのに対し投与区では投与開始後4日目の初日に対する変化量は $(768 \pm 156 \text{ cells/mL})$ と有意に増加し( $p < 0.05$ )、CD4発現ヘルパーT細胞数では増加傾向が見られる。乳汁中体細胞数の比較では、体細胞数300千個/mL未満の非乳房炎泌乳牛に対する茶葉とIFN3日間併用投与区と対照区との間において体細胞数の変動に有意な差は認めない。

#### 【成果の活用・留意点】

1. IFNと茶葉の併用投与により乳汁中体細胞数が増加すると生菌数は減少し、体細胞数が減少すると生菌数が増加する。また血液中のリンパ球の解析では細胞性免疫に関与するT細胞の内、活性化T細胞のマーカーであるCD11a発現T細胞数の有意な増加が見られる。これらは何れもIFNと茶葉の投与により細胞性免疫が賦活化された影響と考えられ、これにより細菌が排除されることで乳房炎治療効果が期待できる。
2. 抗菌剤による乳房炎治療の場合、残留期間中に大量の牛乳が廃棄され損失が生じるが、IFNと茶葉の使用では休薬期間が不要であるため大量廃棄による損失が生じない点有利となる（図10）。
3. IFNと茶葉の併用投与において乳房炎指標として比較的少ない数値である体細胞数300千個/mL未満における効果が想定されることから、今後は乳槽内の菌叢解析によりいち早く乳房炎リスクを予見し、本法を応用することが肝要と考えられる。

【具体的データ】

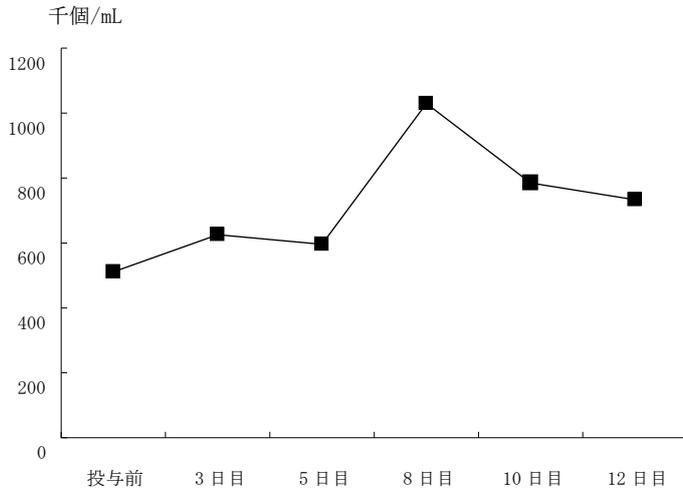


図1 IFN 単独投与による体細胞数の推移

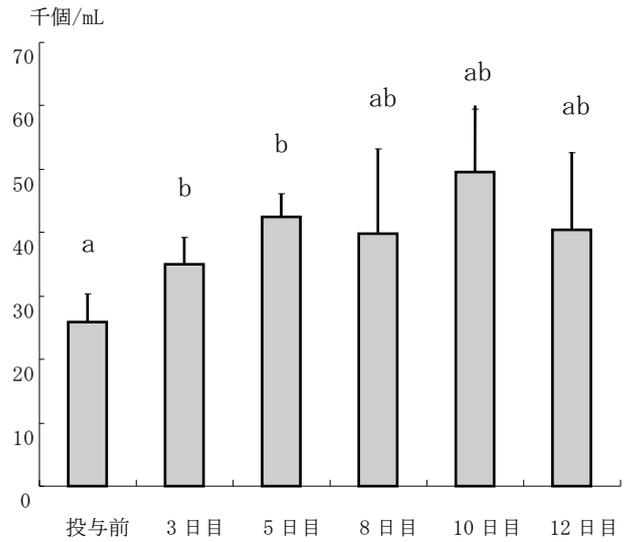


図2 IFN 単独投与による体細胞数の推移  
(体細胞数 100 千個/mL 未満分房乳)  
ab 異符号間に有意差あり (p<0.05)

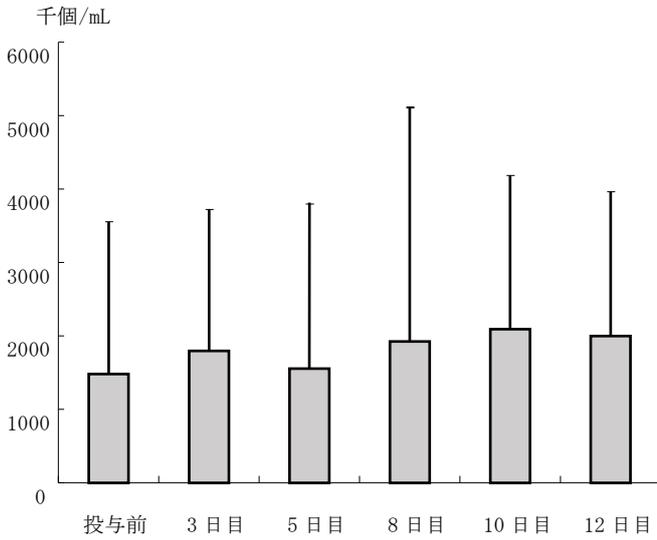


図3 IFN 単独投与による体細胞数の推移  
(体細胞数 100 千個/mL 以上分房乳)

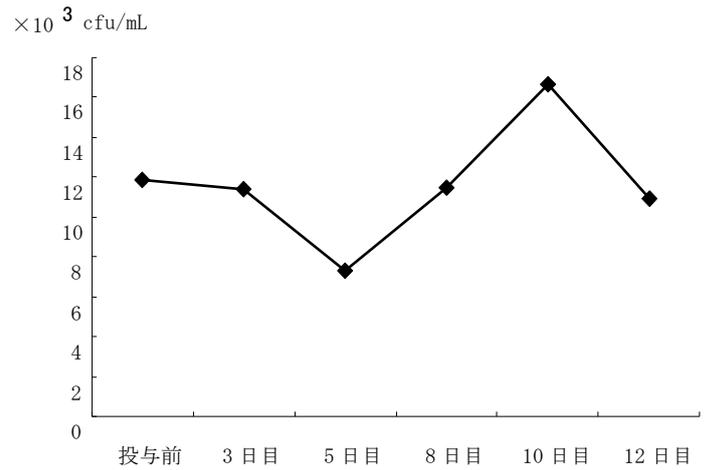


図4 IFN 単独投与による生細菌数の推移

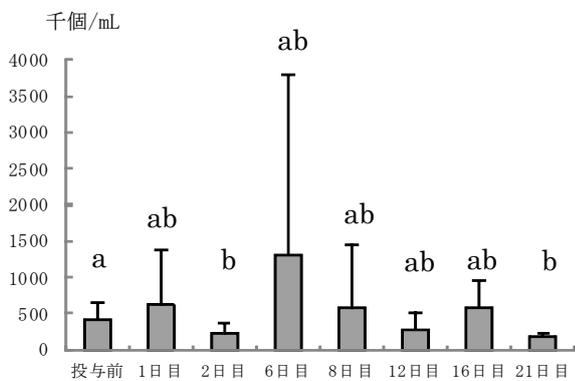


図5 茶葉, IFN 5日間連続投与における  
体細胞数の推移  
(体細胞数 100~1000 千個/mL)  
ab 異符号間に有意差あり (p<0.05)

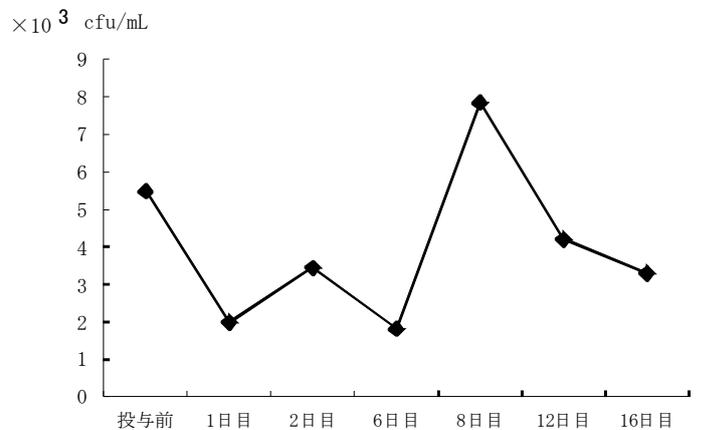


図6 茶葉, IFN 5日間連続投与における  
生菌数の推移

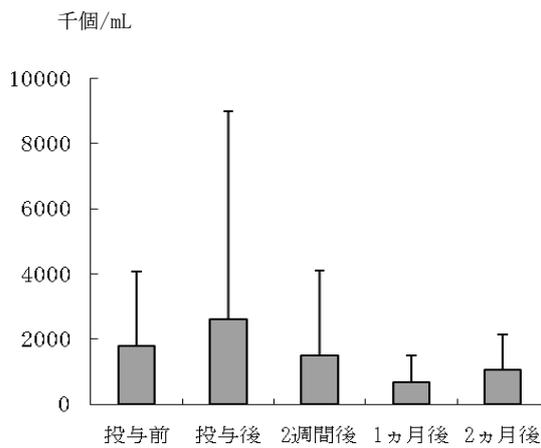


図7 茶葉, IFN 5日間連続投与における体細胞数の推移 (農家試験)

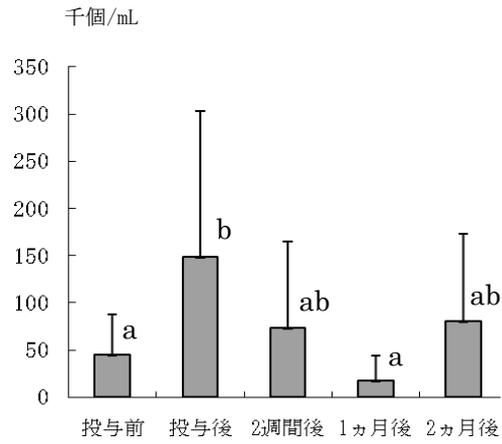


図8 茶葉, IFN 5日間連続投与における体細胞数の推移 (体細胞数 300千個/mL未滿)  
ab 異符号間に有意差あり (p<0.05)

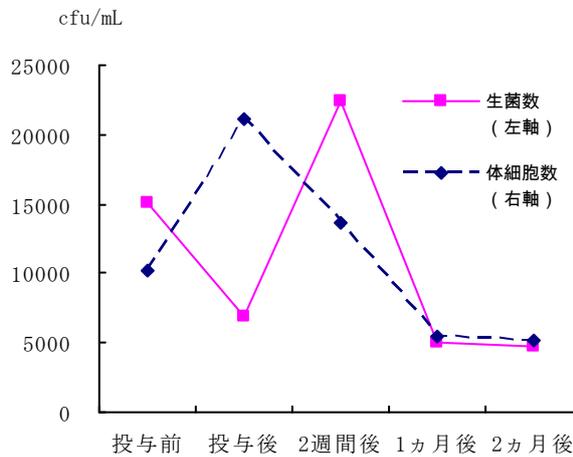


図9 茶葉, IFN 5日間連続投与における体細胞数と生菌数の推移

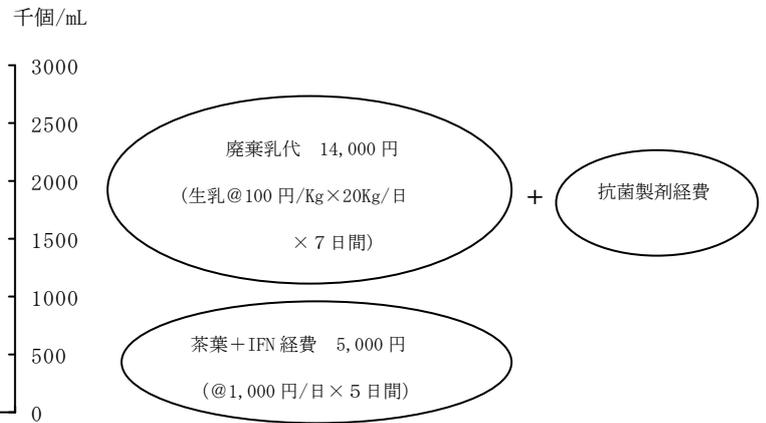


図10 茶葉, IFN投与と抗菌製剤投与とのコストの試算

表1 IFN と茶葉投与区, 対照区における各測定項目の変化した値の平均値と標準誤差 (n=6)

測定項目	対照区(cells/mL)	投与区(cells/mL)
WBC	933 ± 611	2283 ± 911
CD4	-75 ± 239	490 ± 194
CD8	-3 ± 112	234 ± 132
CD21	270 ± 309	544 ± 254
CD11a	-3 ± 237 <sup>a</sup>	768 ± 156 <sup>b</sup>
CD25	34 ± 23	72 ± 46
WC1	103 ± 99	196 ± 148

ab 異符号間に有意差有り p < 0.05

【発表資料】

1. 山田僚太, 三室明寛, 片岡辰一郎, 大久保光行, 太田能之, 菅原盛幸(2010), 第14回日本乳房炎研究会, P29-32