

生後7日齢の子牛における血清IgGおよびTP濃度を用いた受動免疫移行不全の診断

新盛英子¹⁾ 滄木孝弘^{1)†} 石井三都夫¹⁾

1) 帯広畜産大学 臨床獣医学研究部門 診断治療学分野

(2013年3月8日受付・2013年5月15日受理)

要 約 1日齢における血中免疫グロブリンG (IgG) 濃度が基準値未満の場合に受動免疫移行不全 (FPT) と診断されるが、子牛が肥育牧場や育成牧場に導入される1週齢前後のFPT基準値は報告されていない。本研究は、血清IgGおよび総タンパク質 (TP) 濃度の経時的変化を調べ、7日齢の検査値を用いたFPT診断精度について検証した。ホルスタイン種 (HS) 43頭、黒毛和種 (JB) 34頭を用いた。1日齢と7日齢に採血を行い、血清IgG (mg/ml) およびTP濃度 (g/dl) を測定した。1日齢と7日齢において、IgGとTPの間に強い正の相関関係が認められた。1日齢のIgGとTPの散布図において、近似曲線の一次方程式にFPT基準値 (HS-IgG : 10.0, JB-IgG : 20.0) を代入して求めたTP濃度 (HS-TP : 4.6, JB-TP : 5.3) を1日齢のFPT基準値とした。HS-IgG, HS-TPおよびJB-IgGは、1日齢～7日齢にかけて有意に減少した。1日齢～7日齢の平均変化率は、HS-IgG : 71.7%, HS-TP : 92.2%, JB-IgG : 73.8%, JB-TP : 95.4%であった。1日齢のFPT基準値に平均変化率を乗じて7日齢のFPT基準値とした (HS-IgG : 7.2, HS-TP : 4.2, JB-IgG : 14.8, JB-TP : 5.1)。7日齢の血液検査において、FPT基準値未満であった場合を検査陽性とし、FPTの診断精度について検証した。HS-IgGの陽性的中率 (PPV) は78.6%, 陰性的中率 (NPV) は93.3%, HS-TPのPPVは76.5%, NPVは100.0%であった。JB-IgGのPPVは100.0%, NPVは80.0%, JB-TPのPPVは91.7%, NPVは86.4%であった。以上より、7日齢の血清IgGおよびTP濃度の測定はある程度の精度でFPTを診断できると考えられた。

——キーワード : 7日齢, 子牛, 受動免疫移行不全, IgG, TP

.....産業動物臨床医誌 4(1): 1-7, 2013

1. はじめに

牛の胎盤は解剖学的に結合絨毛型胎盤に分類され [1], 母体と胎子それぞれの血流の間に結合絨毛膜などが隔壁として存在する。この構造により、牛では血絨毛型胎盤を有する霊長類と異なり、免疫グロブリン (Immunoglobulin : Ig) をはじめ分子量の大きなタンパク質は胎盤を通過することができない [2]。したがって、出生した子牛は、Igを多量に含んだ初乳を摂取することにより、初めて母由来のIgを獲得することができ、これを受動免疫と呼ぶ。初乳中のIgはIgGが主要な構成成分であり (全Igの85~90%), 腸管から吸収されたIgGは血清抗体として液性免疫応答の中心的役割を担う。新生子牛の腸管粘膜はIgGのような高分子タンパク質を吸

収することができるが、生後24~36時間には吸収能を失う [3]。

給与されたIgG量が不十分だった場合や出生から初乳給与までの時間が長引いた場合は受動免疫の獲得に十分な量のIgを吸収できなくなる [3, 4]。初乳の摂取によって受動免疫を獲得したかどうかを確認するには、出生24~48時間後の血清IgG濃度を測定して判断することが一般的である [3]。IgG濃度がホルスタイン種子牛では10mg/ml未満の場合に、黒毛和種子牛においては20mg/ml未満の場合に受動免疫移行不全 (Failure of Passive Transfer : FPT) と判定される [3, 5-7]。FPTの子牛では疾病罹患率と死亡率が増加することが知られている [3, 8]。また、受動免疫の獲得程度によっては離

† 連絡責任者 : 滄木孝弘 (帯広畜産大学 臨床獣医学研究部門 診断治療学分野)
〒080-8555 北海道帯広市稲田町西2線11 ☎ 0155-49-5897
E-mail : aokit@obihiro.ac.jp

乳後の増体をはじめ生産性に影響を与えるとの報告 [3, 8, 9] もあり, 初乳給与の重要性が重ねて指摘されている。

血清IgG濃度の測定には固相酵素免疫測定 (enzyme-linked immunosorbent assay : ELISA) 法や一次元放射免疫拡散 (single radial immunodiffusion : SRID) 法などが用いられているが, 特別な装置を必要としたり, 測定までに時間を要したりするなどの欠点がある。一方, 生後24~48時間の血清IgG濃度と総タンパク質 (total protein : TP) 濃度には正の相関が認められることが報告されており [9, 10], 簡易屈折計を用いたTP濃度の測定によりFPTの診断を簡便に行うことができる。

出生した子牛は, 従来は生産牧場でそのまま育成されていたが, 近年は戸別飼養頭数の増加により, 生後7日前後で肥育牧場や育成牧場へ移動して育成される子牛が増加している。肥育牧場や育成牧場にとって, 導入した子牛がFPTであると, 疾病罹患率や死亡率の増加, 増体量の低下により経済的に大きな損失となるが, 生後7日前後でFPTであるか否かを判定する診断基準は報告されていない。導入時の着地検査においてFPTの診断が可能となれば, 疾病の早期発見・早期治療を介して, 発育不良の予防や死亡率の低下が期待できると考えられる。

本研究では, ホルスタイン種と黒毛和種の子牛における血清IgGおよびTP濃度の経時変化を調べるとともに7日齢の各検査値を用いたFPT予測診断の精度について検証した。

2. 材料および方法

供試牛

北海道十勝地方の牧場において出生したホルスタイン種子牛43頭 (3牧場) と黒毛和種子牛34頭 (3牧場) を用いた。

採材方法

生後1日 (24~48時間) と7日に血清分離用真空採血管5ml (テルモ, 東京) を用いて頸静脈から採血を行った。採取後の血液は直ちに氷水中で冷却した。インキュベート (37℃, 10分) 後, 遠心し (2700rpm, 15分), 得られた血清を測定まで-30℃で凍結保存した。

血清生化学的検査

保存血清は4℃で解凍後, 手持屈折計 (自動温度補正・防水機能付臨床用屈折計 MASTER-SUR/Ja ; アタゴ, 東京) によりTP濃度を測定した。血清IgG濃度の測定は, 市販のウシIgG測定用キットを用いた (Bovine IgG ELISA Quantitation Set, ELISA Starter Accessory Kit II ; Bethyl Laboratories Inc., USA)。

検証方法

1日齢の血清IgG濃度を用いてFPT群 (ホルスタイン種 : 10.0mg/ml 未満, 黒毛和種 : 20.0mg/ml 未満) と

非FPT群に分類した。1日齢における血清IgGおよびTP濃度の相関図を用いてTP濃度のFPT診断基準値を設定した。1日齢~7日齢の平均変化率 (7日齢の測定値÷1日齢の測定値) を求め, 1日齢のFPT診断基準値に平均変化率を乗じて7日齢のFPT診断基準値とした。7日齢の診断基準値を用いて, FPTの診断精度を検証した。

統計分析

同一群内の1日齢と7日齢の比較にはpaired *t*-testを用い, 同1日齢における群間の比較にはstudent's *t*-testを用いた。また, IgG濃度とTP濃度の相関関係の検定はPearson's correlation coefficient testを用いた。危険率5%未満 ($p < 0.05$) で有意差ありと判定した。

3. 結果

1日齢の血清IgG濃度より, ホルスタイン種43頭のうち12頭 (27.9%), 黒毛和種子牛33頭のうち14頭 (42.4%) がFPTであった。以降, FPTと診断された子牛をFPT群, FPTではないと診断された子牛を非FPT群とする。

1日齢と7日齢の血清IgGおよびTP濃度を図1と図2に示した。ホルスタイン種, 黒毛和種ともに, FPT群が非FPT群に比べて有意に低値で推移した。黒毛和種FPT群のTP濃度を除いた各測定値は, 1日齢~7日齢にかけて有意に減少した。各項目の平均変化率 (1日齢~7日齢にかけて変化した割合) を表1と表2に示した。

IgGとTP濃度の相関関係を図3と図4に示した。ホルスタイン種および黒毛和種の1日齢と7日齢において, IgGとTP濃度の間に有意な正の相関関係が認められた。1日齢の相関図より, TP濃度のFPT診断基準値を求めた。近似曲線の一次方程式 (ホルスタイン種 : $y = 0.054x + 4.060$, 黒毛和種 : $y = 0.080x + 3.721$) にFPTの診断基準値であるIgG濃度 (ホルスタイン種 : 10.0mg/ml, 黒毛和種 : 20.0mg/ml) をxに代入しTP濃度yを求めた (ホルスタイン種 : 4.6g/dl, 黒毛和種 : 5.3g/dl)。

1日齢のFPT診断基準値に平均変化率を乗じて, 7日齢の診断基準値を設定した (表1, 2)。

設定した7日齢のFPT診断基準値を用いて, 7日齢の検査値によるFPT診断精度を検証した。7日齢の検査値によりFPTと判定され, 実際に1日齢でFPTであった場合を検査陽性とした (表3, 4, 5, 6)。ホルスタイン種において, IgG濃度 (基準値 : 7.2mg/ml) では, 陽性的中率 (PPV) が78.6%, 陰性的中率 (NPV) は93.3%, TP濃度 (基準値 : 4.2g/dl) では, PPVが76.5%, NPVは100.0%であった。また, 黒毛和種において, IgG濃度 (基準値 : 14.8mg/ml) では, PPVが100.0%, NPVは80.0%, TP濃度 (基準値 : 5.1g/dl) では, PPVが91.7%, NPVは86.4%であった。

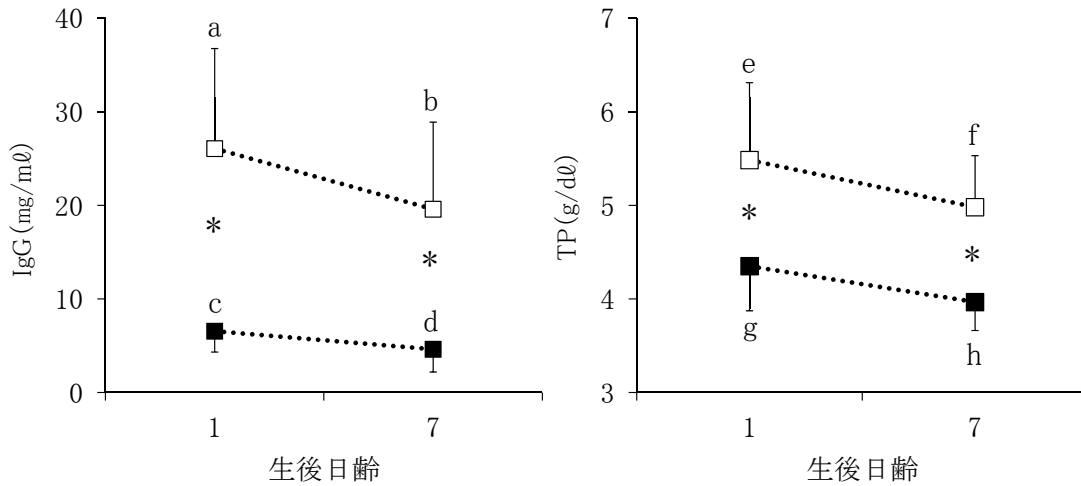


図1. ホルスタイン種子牛のFPT群と非FPT群における血清IgGおよびTP濃度の推移 (■FPT群; n=12, □非FPT群; n=31, 平均値±標準偏差, * ; 同一日齢における群間の差 $p < 0.05$, 異なるアルファベット間; 同一群内における日齢間の差 $p < 0.05$).

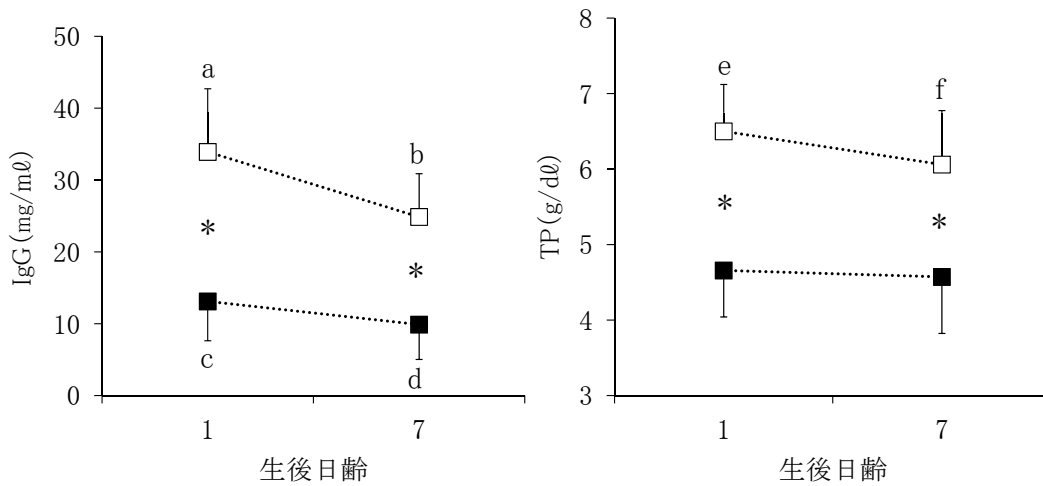


図2. 黒毛和種子牛のFPT群と非FPT群における血清IgGおよびTP濃度の推移 (■FPT群; n=14, □非FPT群; n=20, 平均値±標準偏差, * ; 同一日齢における群間の差 $p < 0.05$, 異なるアルファベット間; 同一群内における日齢間の差 $p < 0.05$).

表1. ホルスタイン種子牛における1日齢のFPT診断基準値, 1日齢~7日齢の平均変化率, および7日齢のFPT診断基準値

	1日齢のFPT診断基準値	1日齢~7日齢の平均変化率	7日齢のFPT診断基準値
血清IgG濃度 (mg/ml)	10.0	71.7%	7.2
血清TP濃度 (g/dl)	4.6	92.2%	4.2

表2. 黒毛和種子牛における1日齢のFPT診断基準値, 1日齢~7日齢の平均変化率および7日齢のFPT診断基準値

	1日齢のFPT診断基準値	1日齢~7日齢の平均変化率	7日齢のFPT診断基準値
血清IgG濃度 (mg/ml)	20.0	73.8%	14.8
血清TP濃度 (g/dl)	5.3	95.4%	5.1

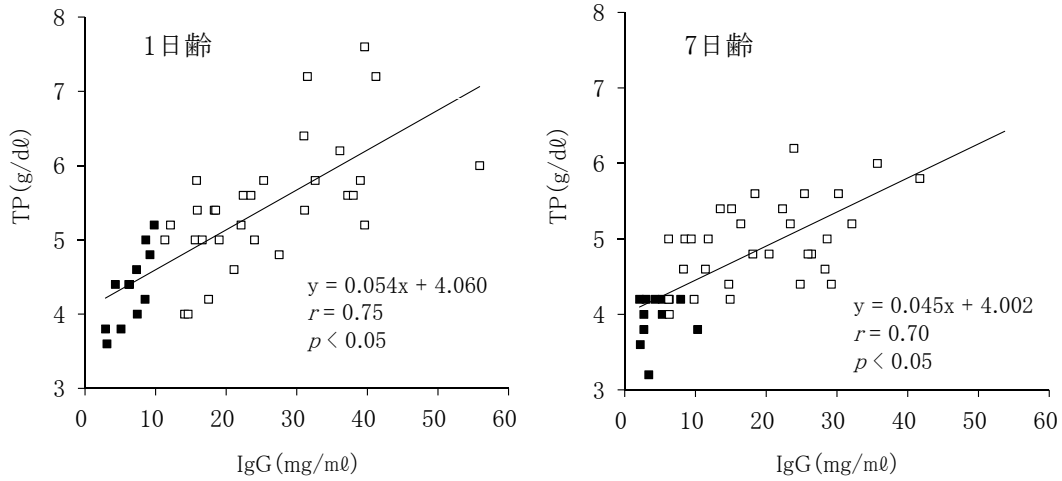


図3. ホルスタイン種子牛における血清IgGとTP濃度の相関関係
(■FPT群; n=12, □非FPT群; n=31).

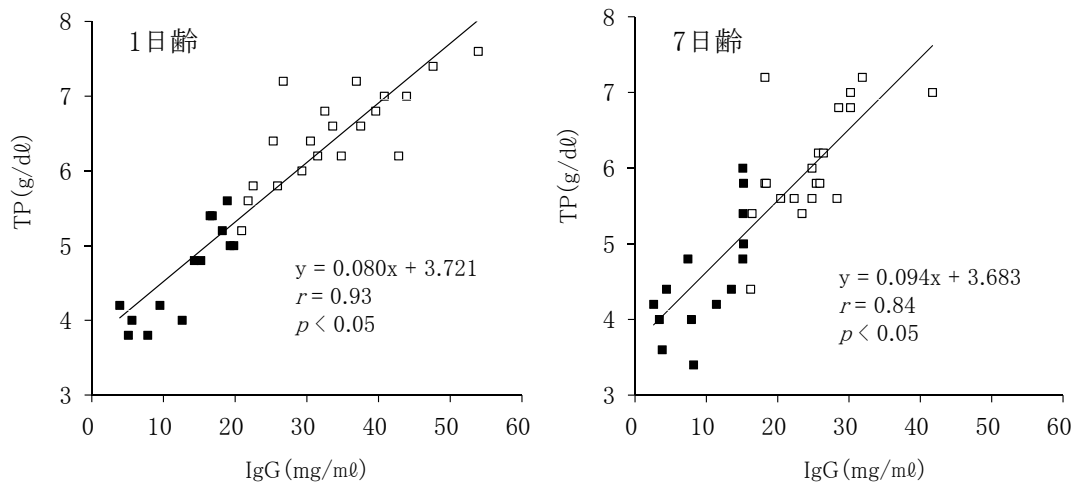


図4. 黒毛和種子牛における血清IgGとTP濃度の相関関係
(■FPT群; n=14, □非FPT群; n=20).

表3. ホルスタイン種子牛における7日齢の血清IgG濃度を用了FPT診断精度

7日齢の血清IgG濃度 (mg/ml)	FPT群 (n=12)	非FPT群 (n=31)
< 7.2	10	3
≥ 7.2	2	28
感度		0.85
特異度		0.90
陽性的中率 (%)		78.6
陰性的中率 (%)		93.3

表4. ホルスタイン種子牛における7日齢の血清TP濃度を用了FPT診断精度

7日齢の血清TP濃度 (g/dl)	FPT群 (n=12)	非FPT群 (n=31)
< 4.2	12	4
≥ 4.2	0	27
感度		1.00
特異度		0.87
陽性的中率 (%)		76.5
陰性的中率 (%)		100.0

表5. 黒毛和種子牛における7日齢の血清IgG濃度を用いたFPT診断精度

7日齢の血清IgG濃度 (mg/ml)	FPT群 (n=14)	非FPT群 (n=20)
< 14.8	9	0
≥ 14.8	5	20
感度	0.64	
特異度	1.00	
陽性的中率 (%)	100.0	
陰性的中率 (%)	80.0	

4. 考 察

1日齢におけるIgGとTP濃度の相関関係については過去に報告されており、TP濃度を用いたIgG濃度の推定は有用性が高いことが知られている [10-12]. 本研究においても、1日齢のホルスタイン種ならびに黒毛和種において、IgGとTP濃度の強い正の相関関係が認められ (ホルスタイン種: $r=0.75$, 黒毛和種: $r=0.93$), 過去の報告を再確認する結果となった. Thorntonらは、1週齢未満の子牛において、血中アルブミン濃度は変化しないが、 α グロブリンと β グロブリンは上昇し、IgGが大部分を占める γ グロブリンは減少すると報告している [13]. しかし、本研究では7日齢におけるIgG濃度とTP濃度の相関性は強く (ホルスタイン種: $r=0.70$, 黒毛和種: $r=0.84$), TP濃度の測定は初乳由来のIgG濃度を推定するのに有用性が高いことが示唆された. これは1週齢までの子牛において、 γ グロブリン以外のグロブリンやアルブミンの変化が小さく、初乳由来のIgGとTP濃度の相関性に与える影響は軽微であることが推察された.

ホルスタイン種と黒毛和種のFPT群および非FPT群において、血清IgGおよびTP濃度は、1日齢～7日齢にかけて有意に減少した. 初乳由来IgGの子牛体内における半減期は2～3週と報告されている [14]. また子牛自身の抗体産生が開始するのは1週齢以後である [15]. したがって、血中IgGおよびTP濃度の変化は初乳由来IgGが減少した結果と考えられる. 1日齢～7日齢にかけて血清IgG濃度は低下することが明らかとなったため、1日齢のFPT基準値を、そのまま7日齢に適用できないことが示唆された.

1日齢～7日齢までの平均変化率 (%) を求め、1日齢のFPT基準値に平均変化率を乗じて、7日齢のFPT基準値とした. 7日齢の血液検査において、FPT基準値未満であった場合を検査陽性とし、FPTの診断精度について検証を行ったところ、70～100%の診断精度でFPT発生の有無を把握できることが明らかとなった. 精度を下げる要因としては、採血日の脱水状態 (給餌か

表6. 黒毛和種子牛における7日齢の血清TP濃度を用いたFPT診断精度

7日齢の血清TP濃度 (g/dl)	FPT群 (n=14)	非FPT群 (n=20)
< 5.1	11	1
≥ 5.1	3	19
感度	0.79	
特異度	0.95	
陽性的中率 (%)	91.7	
陰性的中率 (%)	86.4	

ら採材までの時間や環境温度、下痢症の有無など)、潜在的な感染に伴う抗体の消費や炎症性タンパクの増加などが考えられたが、それらの要因が本研究の結果に及ぼす影響までは調べることはできなかった.

本研究により、7日齢の血清IgGおよびTP濃度を用いてFPTをある程度の精度で診断できることが明らかとなった. 導入時に疾病罹患リスクが高い群 (FPTであった可能性が高い群) と低い群 (受動免疫を十分獲得した可能性が高い群) が分かれば、個別飼育や注意深い観察によって疾病の予防・早期発見・早期治療が可能になると考えられる. 今後は、肥育牧場や育成牧場における導入時の着地検査として、本法の実用性について検討していきたい.

5. 謝 辞

本研究の実施にあたり、サンプルの採取を許可して頂き、終始ご協力頂きました藤井誠氏、西村正順氏、森金蔵氏、帯広畜産大学フィールド科学センター職員の皆様に心より深謝致します.

6. 引用文献

1. 江口保暢: 胎盤の分類, 動物発生学, 2版, 64-74, 文永堂出版, 東京 (2001)
2. Stott GH: Influence of environment on passive immunity in calves, J Dairy Sci, 59, 1306-1311 (1976)
3. 遠藤 洋: 新生子牛における抗病性と初乳の役割, 子牛の科学, 家畜感染症学会 編, 81-85, チクサン出版, 東京 (2009)
4. Rajala P, Castrén H: Serum immunoglobulin concentrations and health of dairy calves in two management systems from birth to 12 weeks of age, J Dairy Sci, 78, 2737-2744 (1995)
5. Quigley JD 3rd, et al.: Effects of housing and colostrum feeding on serum immunoglobulins, growth, and fecal scores of Jersey calves, J Dairy Sci, 78, 893-901 (1995)

6. 岡峰友恵, 他 : 和牛受精卵移植産子における初乳給与状況の簡易な判定法の検討, 広島県獣会誌, 24, 47-50 (2009)
7. 小原潤子 : 黒毛和種産子への初乳給与, 家畜診療, 54, 643-647 (2007)
8. Nocek JE, et al. : Influence of neonatal colostrum administration, immunoglobulin, and continued feeding of colostrum on calf gain, health, and serum protein, J Dairy Sci, 67, 319-333 (1984)
9. Wittum TE, Perino LJ : Passive immunity status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves, Am J Vet Res, 56, 1149-1154 (1995)
10. Tyler JW, et al : Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves, J Vet Intern Med, 10, 304-307 (1996)
11. McBeath DG, et al. : An examination of the influence of husbandry on the plasma immunoglobulin level of the newborn calf, using a rapid refractometer test for assessing immunoglobulin content, Vet Rec, 88, 266-70 (1971)
12. Weaver DM, et al. : Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves, J Vet Intern Med, 14, 569-77 (2000)
13. Thornton JR, et al. : Studies on diarrhea in neonatal calves: the plasma proteins of normal and diarrhetic calves during the first ten days of age, Can J Comp Med, 36, 17-25 (1972)
14. Kilshaw PJ, Slade H : Milk protein immune complexes in the cow and calf, J Reprod Immunol, 4, 227-36 (1981)
15. 大塚浩通 : 子牛の生体防御の特徴と発達, 子牛の科学, 家畜感染症学会 編, 140-145, チクサン出版, 東京 (2009)

Diagnosis of failure of passive transfer in seven-day-old calves based on the serum IgG and total protein concentrations

E. Shinmori¹⁾, T. Aoki^{1)†}, M. Ishii¹⁾

1) *Department of Applied Veterinary Medicine, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine*

ABSTRACT In calves, failure of passive transfer (FPT) is diagnosed when the serum immunoglobulin G (IgG) level is less than the reference value at 24~48 hours after birth. However, the reference value for FPT at 1 week of age, around when calves are transferred to growing and fattening farms, has not been established. The purpose of this study was to examine the changes in serum IgG and total protein (TP) levels in the first 7 days of life and the accuracy of FPT diagnosis at 7 days of age using these laboratory data. This study used 43 Holsteins (HS) and 34 Japanese Black (JB) calves. Blood sampling was performed at 1 and 7 days old to measure serum IgG (mg/ml) and TP (g/dl) concentrations. We found that there was a positive correlation between IgG and TP in both HS and JB calves at both ages. Using the scatter diagram of IgG vs. TP in 1-day-old calves, the diagnostic TP threshold was calculated (HS-TP, 4.6; JB-TP, 5.3) by substituting the reference value of IgG concentration (HS-IgG, 10.0; JB-IgG, 20.0) into the linear equation of the best fitted curve. HS-IgG, HS-TP and JB-IgG were significantly lower at Day 7 than those at Day 1 (the average rate of change: HS-IgG, 71.7%; HS-TP, 92.2%; JB-IgG, 73.8%; JB-TP, 95.4%). The reference value for FPT for 7-day-old calves was obtained by multiplying the reference value at 1 day old by the average rate of change (HS-IgG, 7.2; HS-TP, 4.2; JB-IgG, 14.8; JB-TP, 5.1). Seven-day-old calves were considered to have FPT when their laboratory values were below these reference values, and the results were compared to those of 1 day olds. The positive predictive value (PPV) and the negative predictive value (NPV) were 78.6% and 93.3% for HS-IgG and 76.5% and 100.0% for HS-TP, respectively. The PPV and NPV were 100.0% and 80.0% for JB-IgG and 91.7% and 86.4% for JB-TP, respectively. Thus, the concentrations of serum IgG and TP at 7 days of age can be used to determine the presence or absence of FPT in calves at an acceptable level of accuracy.

—Key Words : Calf, FPT, IgG, Seven-day-old, TP

† *Correspondence to : Takahiro Aoki, (Department of Applied Veterinary Medicine, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)
2-11 Nishi, Inada-cho, Obihiro 080-8555, Japan
TEL +81-155-49-5897 E-mail : aokit@obihiro.ac.jp*

.....Jpn. J. Large Anim. Clin. 4(1): 1-7, 2013