

雄豚における免疫学的去勢製剤の効果と精巣機能

中 根 崇* (千葉県南部家畜保健衛生所)
山 口 倫 子 (千葉県畜産総合研究センター)
木 下 智 秀 (千葉県中央家畜保健衛生所)
沼 尾 真 人 (千葉県農林水産部畜産課)

Nakane, T., Yamaguchi, T., Kinoshita, S. and Numao, M. (2012).
Effects of Immunologically Castration on Growth Performance,
Meat Quality and Testes in Male Pigs

All about SWINE 41, 12-29

はじめに

欧州委員会保健・消費者保護総局 (DG SANCO) は 2010 年 12 月 16 日、2018 年までに豚の外科的去勢を自主的に終了する旨の宣言文を公表した。この宣言文には、養豚部門の生産・流通にかかわる主要な団体が署名を行っており、EU の養豚業界全体としてこの宣言の実行を約束した形となっている。

雄子豚に対する外科的な去勢は、性的な成熟に伴う雄臭を防止するとともに、飼養管理上問題となる発情行動や粗暴な行動を抑えるため EU でも広く実施されてきましたが、近年、子豚に苦痛を与える行為としてアニマルウェルフェア上の観点あるいは環境保全に関連する代替手段の一つとして外科的去勢から移行することは好ましいと判断されている。

そのため、DG SANCO と 2010 年下期の議長国

であったベルギーの指導の下、生産者、食肉業者、小売業者、科学者、獣医師および NGO の代表が集うワークショップが 3 回開催され、一般の宣言文が取りまとめられた。

外科的去勢の終了までの具体的な手順としては、まず、2012 年 1 月 1 日以降は、外科的な去勢を行う場合には持続性のある鎮痛剤、麻酔薬または両者の併用を認証された方法で行うこととし、続いて、2018 年 1 月 1 日以降は、自主的に外科的去勢を「原則」終了することとしている¹⁾。

この背景には、日本ではまだ一般の養豚農家へ普及していないが、オーストリアでは、去勢用ワクチンとして免疫学的去勢製剤がもう 10 年以上にわたって広く一般的に利用され、EU の各諸国でも使用が拡大し、既に消費者に去勢用ワクチンした雄豚肉の肉質が雌豚肉や外科的去勢豚よりも優れていると広く受け入れられていることが挙げられる。

そこで、本総説では、免疫学的去勢製剤について、EU 諸国での消費者意識、製剤の薬理作用を

* ; 〒 296-0033 鴨川市八色 52
千葉県南部家畜保健衛生所
Tel.04-7092-2304, Fax.04-7092-1434

紹介し、著者らが以前に実施した免疫学的去勢豚の投与試験の概要を報告する。また、今後の展望として、免疫学的去勢による精巣機能の延長がもたらす免疫力と抗病性の向上について解説したい。

1. EU 諸国での免疫学的去勢に対する消費者意識

近年、EU 各諸国では、EU 委員会の動きと相応し、消費者が去勢ワクチン接種をどのように捉えているかの市場調査が、多く実施されている。

ベルギーのアントワープ大学の F. Vanhonacker らは、2008～9年に大規模な市場調査をフランス、ドイツ、オランダとベルギーで4,031人(表1)を対象に実施している²⁾。

調査方法は、米国の国際的市場調査会社であるリーバマン社(Lieberman Research Worldwide Inc.)を介し、各国別に無作為に選抜されたイン

表1 国別調査回答者の割合 (n = 4031)

項目	ベルギー		フランス		ドイツ		オランダ	
	人数	%	人数	%	人数	%	人数	%
性別								
女	494	47.9	477	48.0	468	46.5	479	47.9
男	537	52.1	516	52.0	538	53.5	522	52.1
年齢								
< 45	504	48.9	492	49.5	480	47.7	483	48.3
> 45	527	51.1	501	50.5	526	52.3	518	51.7
計	1,031	100	993	100	1,006	100	1,001	100

ターネットに登録されている消費者から、豚肉を月に少なくとも2～3回購入する人を回答者に選び、事前に書面で外科的去勢法とワクチン接種法の概要(回答にあった際の留意事項(表2))を示し、調査の趣旨に同意を得た後、匿名によりインターネットで回答する仕組みである。

調査項目は、雄臭いや各去勢方法の認識度、容

表2 回答にあった際の留意事項：外科的去勢法とワクチン接種法の概要

雄豚の臭気について

性的に成熟している雄豚は、発達した精巣から特定の物質を分泌し、それらが肉に蓄積します。これらの物質は、料理の際に雄臭(汗や尿のような不快な臭気)を発生させます。このような雄豚の特徴から、未処理の雄豚から生産された食肉は、75%が食用に適さない雄臭を発生させます。そのため、現在の食肉生産においては、これらの雄臭を発生する肉が確実に食肉店で販売されないよう以下の処置を行っています。

麻酔をしての外科的去勢

雄の子豚は、生後1週間以内に生産農家により外科的去勢(物理的に睪丸を除去)されます。外科的去勢のやり方は、鋭利なカミソリでふぐり(陰囊)を開き、睪丸を取り出し、一気に引き抜き、切り取ります。なお、今回の調査においては、動物福祉のため、常に麻酔薬の注射か、吸入麻酔を施し、去勢処置を行うと仮定して回答してください。

- ・ 去勢処置を行うことにより、去勢された雄豚肉の99%以上は雄臭が除去されます。
- ・ 去勢された豚は、去勢しない豚に比べ、雄豚特有の悪作(業)が少なく、農場での管理が容易になります。
- ・ それでも、切開した傷口は、感染や疾病の原因となり、死亡することがあります。
- ・ 麻酔により去勢時の疼痛やストレスを一時的に弱めることができますが、麻酔が切れると疼痛が再発します。
- ・ 麻酔薬が残留し、食肉から検出されることはありません。
- ・ 去勢された雄豚は、飼料効率が低下し、飼料摂取量が増えるため、より多くの糞尿が環境中に排泄されます。
- ・ 去勢された雄豚から生産される食肉は、脂肪量が多い傾向があります。

ワクチン接種による雄臭対策

外科的去勢に代わり、ワクチン接種で雄臭を予防することができます。この製品は、ワクチン接種により免疫性システムが刺激され、一時的に精巣の機能を制限する抗体を産生させます。そして、雄臭の原因となる物質の蓄積を防ぎます。なお、この製品は、注射ワクチンであって、ホルモン剤ではありません。

- ・ このワクチンは、接種雄豚肉の99%以上から不快な味・臭気の発生を防ぎます。
- ・ このワクチンは、既に(国)当局の承認を得ています。
- ・ 8年に渡りこの製品のワクチンが使用されてきたオーストラリアとニュージーランドの経験では、安全性に懸念がありませんでした。
- ・ ワクチンは、食肉の残留検査で検出されていません。
- ・ この方法は、疼痛、ストレスおよび健康障害の発生に関連しません。
- ・ ワクチンの接種により、雄豚は、自然な成長パターンで発育するため、飼料効率が良いことから、外科的去勢よりも重量が少なく、環境への負荷が少ないことが知られています。
- ・ ワクチン接種により生産された肉は、外科去勢よりも赤肉量の割合が多い傾向があります。
- ・ 生産農家が、この方法に切り替えるためには、厳格な品質管理のために全ての雄豚に適切にワクチン接種する必要があります。
- ・ 加えて、ワクチン接種者が自分へ誤って注射する危険を最小にするため専用の注射器を用います。

認度、信頼性、どの去勢方法を望むか、どの去勢方法で生産された肉を好むかなど多岐に及び、結果は、統計的手法を介して詳細に分析された。

調査の前提となる豚肉の豚臭については、各国ともに認識が低く、ベルギーとフランスで目立っ

た。また、既にワクチン接種がこれらの国で取り入れられているにも係わらず、殆どが知らなかったとの回答であった。しかし、回答にあたっての留意事項により、外科的去勢を代替える方法を知るにより、69.6%の消費者は外科的去勢よ

表3 国別集計成績

	総平均 (n=4,031)	ベルギー (n=1,031)	フランス (n=993)	ドイツ (n=1,006)	オランダ (n=1,001)	検定	P-value		
雄臭の認識度 (%)									
知らなかった	53.7	58.2	64.9	44.4	47.1	χ ² =63.01	<0.001		
多少知っていた	35.0	30.8	26.2	45.2	38.0				
よく知っていた	11.3	11.1	8.9	10.3	14.9				
外科的去勢の認識度 (%)									
知らなかった	48.5	44.5	59.4	52.7	37.7	χ ² =169.56	<0.001		
多少知っていた	33.1	34.6	19.6	33.5	44.6				
よく知っていた	18.4	20.9	21.0	13.8	17.7				
去勢ワクチンの認識度 (%)									
知らなかった	86.8	85.3	90.0	90.8	81.0	χ ² =65.02	<0.001		
多少知っていた	11.2	11.6	8.5	7.8	1.9				
よく知っていた	2.0	3.1	1.4	1.4	1.9				
どの程度各去勢法を容認しますか。(1~7段階評価 ^s の平均値 (s.d.))									
外科的去勢	3.74(1.74)	3.84(1.78) ^b	3.48(1.72) ^a	3.91(1.71) ^b	3.71(1.70) ^b	F=11.78	<0.001		
ワクチン接種	5.38(1.61)	5.62(1.51) ^c	5.39(1.66) ^b	4.83(1.70) ^a	5.69(1.40) ^c			F=62.09	<0.001
どの程度去勢法別の雄臭除去の信頼性がありますか。(1~5段階 ^t 評価の平均値 (s.d.))									
外科的去勢	3.32(0.96)	3.25(0.99) ^a	3.17(0.97) ^a	3.60(0.97) ^b	3.24(0.90) ^a	F=42.67	<0.001		
ワクチン接種	3.45(0.90)	3.40(0.98) ^a	3.40(0.92) ^a	3.53(0.92) ^b	3.47(0.78) ^{ab}			F=4.69	0.003
どの程度各去勢方法が選択されることを望みますか。(%)									
外科的去勢									
希望する	15.4	16.6	13.8	20.5	10.5	χ ² =48.49	<0.001		
どちらでも良い	50.9	52.7	50.8	47.0	55.0				
避けることを望む	33.7	30.7	37.0	32.5	34.5				
ワクチン接種									
希望する	43.8	42.6	44.9	34.5	42.0	χ ² =103.58	<0.001		
どちらでも良い	44.4	48.6	41.0	55.0	51.6				
避けることを望む	11.8	8.8	14.1	10.5	6.4				
どの程度各去勢法別で生産された豚肉を購入しますか。(1~7段階 ^u 評価の平均値 (s.d.))									
外科的去勢	3.85(1.92)	3.25(2.03) ^a	3.80(2.00) ^{ab}	4.27(1.75) ^b	3.76(1.80) ^{ab}	F=6.44	<0.001		
ワクチン接種	4.47(1.87)	4.03(1.94) ^a	4.39(1.93) ^b	4.88(1.67) ^c	4.62(1.80) ^{bc}			F=25.61	<0.001
どの程度各去勢方法で生産された肉を望みますか。(1~7段階 ^v 評価の平均値 (s.d.))									
(1~7段階 ^v 評価の平均値 (s.d.))	5.50(1.71)	5.55(1.72)	5.59(1.72)	5.10(1.81)	5.77(1.50)	F=28.33	<0.001		
外科的去勢法を望む (%)	11.9	11.1	11.7	18.2	6.5			χ ² =78.22	<0.001
どちらでも良い (%)	18.5	17.4	16.8	20.7	19.0				
ワクチン接種法を望む (%)	69.6	71.5	71.5	61.1	74.5				
どの方法で生産された豚肉を食べますか (%)									
ワクチン接種の豚肉のみ食べる	50.1	51.9	52.4	46.1	49.8	χ ² =69.05	<0.001		
どちらの方法の食肉も食べる	36.3	37.6	31.7	35.7	40.3				
外科的去勢の豚肉のみ食べる	7.5	5.7	9.0	11.6	3.8				
去勢した豚肉を食べない	6.0	4.7	7.0	6.5	6.0				

^{a,b,c} 異符号間に有意差あり P < 0.05。
^s1= 全く容認しない。7= 完全に容認する。
^t1= 全く信頼できない。5= 非常に信頼している。
^u1= 絶対に購入しない 7= 確実に購入する。
^v1= 麻酔下外科的去勢を強く望む。7= ワクチン接種を強く望む。

りもワクチン接種により生産された豚肉を望むと回答し、さらに43.8%の消費者は、ワクチン接種去勢法が選択されることを望み、33.7%の消費者は、外科的去勢を避けることを望むと報告している。

日本では、畜産物を生産する段階において、去勢などのさまざまな技術や手法について認知されていないと思われるが、EUでは、動物福祉の面から、子豚に対する去勢手術への問題意識が高まり、「ワクチン接種は、外科的去勢に比べ子豚にとってストレスや苦痛が少ない」と考える消費者が増加している。

免疫学的去勢製剤は、オーストラリアとニュージーランドで1998年に使用されて以降、世界各国で利用され、2012年現在63ヶ国で承認されている。

日本でも2010年に農林水産省より動物用医薬品等製造販売の承認を受け、食品安全委員会において、免疫学的去勢豚の食肉は安全であることが認められ³⁾、今後、広範に利用されることが期待される。

2. 免疫学的去勢製剤

雄臭の成熟と精巣機能

雄豚が成熟すると、精巣機能に関与し、雄臭産生の原因となる一連の現象が起こる^{4,5)}。まず、豚の視床下部で、精巣の発達と機能を調節する性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) と呼ばれる性腺刺激ホルモン放出ホルモンが生成される。GnRHは血流にのって下垂体まで運ばれ、そこで特異的なGnRH受容体と結合する。

その結果、2つのホルモン、黄体形成ホルモン (LH) と卵胞刺激ホルモン (FSH) の放出を引

き起こす。これら2つのホルモンはさらに血流に乗って精巣まで運ばれ、そこでテストステロンやアンドロステノンなど、本来の雄行動やその特徴を高める男性ステロイドの分泌を促進する (図1)。

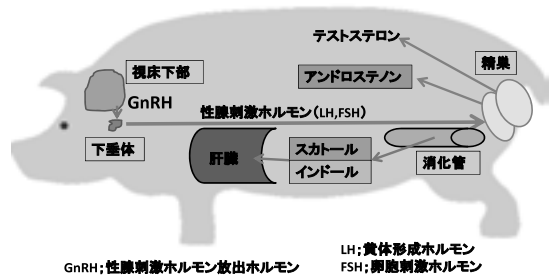


図1 雄臭とホルモンの関係

LHは、精巣の間質にあるライディッチ細胞に作用し、テストステロンとアンドロステノンの合成・分泌の命令を伝達する。FSHは、精子生産する精細管内のセルトリ細胞に精細胞発育促進の命令を伝達する。続いてセルトリ細胞は、ライディッチ細胞が分泌したテストステロンを使いながら精細胞を育てて精子を製造する。この課程で放出されるアンドロステノンが雄臭の主な原因物質である (図2)。

さらに、消化管で生産される雄臭の原因物質であるスカトールやインドールは、雄豚、去勢豚、雌豚など性別には関係なく、飼料や内因性のタンパク質由来のアミノ酸の一種であるトリプトファンが微生物により大腸で分解されることにより産生され生成され、肝臓で代謝される^{6,7)}。

しかし、精巣から放出されるテストステロンは、スカトールを代謝して排泄させる肝臓の能力を低下させるため、この雄臭原因物質は去勢豚や雌豚に比べて、雄豚では脂肪内に多く蓄積する⁸⁾。

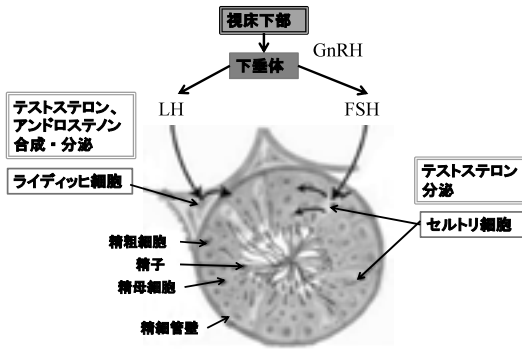


図2 精巣で生産されるステロイド

また、インドールは化学構造がトリプトファンと非常によく似ており、スカトールと同様に消化管内で生成され、不快臭や不快味の原因となる⁹⁾。

免疫学的去勢剤の作用機序

そこで、豚肉の雄臭を解消する方法として、免

疫反応を利用して GnRH に対する自己抗体を豚体内に産生させることで、精巣機能を一時的に阻害する免疫学的去勢剤（インプロバック (improvac[®] ファイザー株式会社)）が開発された¹⁰⁾。

免疫学的去勢剤の主成分は、GnRH 類縁体（合成した9個のアミノ酸からなるペプチドで、本来GnRHは、10個のアミノ酸）・ジフテリアトキソイド（他のワクチンでも使用されている大きなキャリアタンパク質）結合物で、これ自体はホルモン活性を示さない。これを2回投与することにより、GnRH に対する抗体が産生される。この抗体は、視床下部から分泌された GnRH を中和し、その結果、一時的に可逆性の免疫学的去勢状態をもたらす、雄臭の原因物質の蓄積を抑制する（図3）。

3. 千葉県での免疫学的去勢試験

試験は、2010年5月～11月に千葉県畜産総合

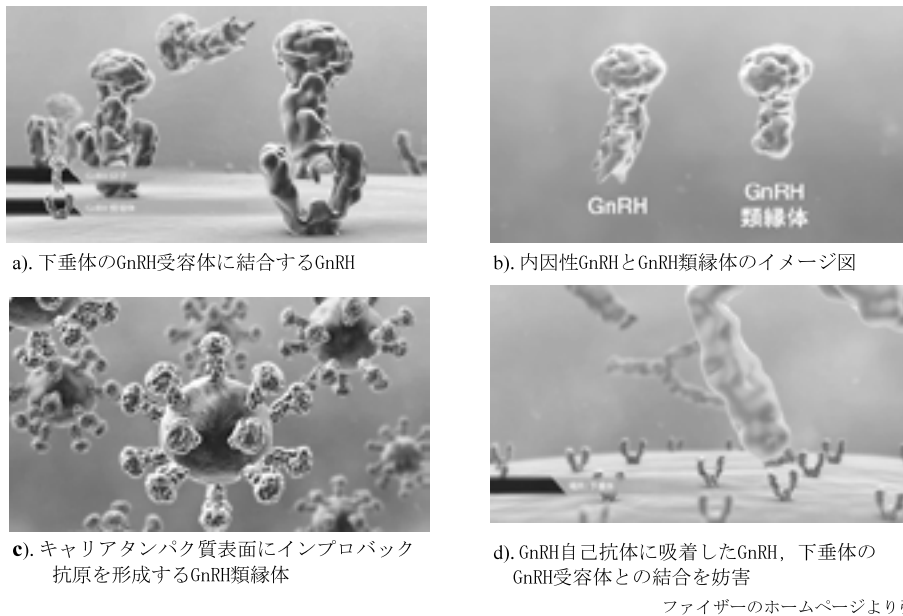


図3 免疫学的去勢剤の分子レベルでの作用機序

ファイザーのホームページより引用

研究センター生物工学研究室において、各関係機関の協力の基に実施した。

供試豚と去勢処理

供試豚群は、免疫学的去勢群、外科的去勢群、未投与無去勢群の3群を設け、姉妹の（雌ランドレース種に雄大ヨークシャー種を掛け合わせた）LW母豚5頭に同じディロック種雄を掛け合わせたLWD種の雄11頭、10頭、10頭をそれぞれ1週齢時の体重が均等となるよう配置した。同腹雄子豚は、母豚毎に分娩時から各供試群を同一豚房で群飼育し、未投与無去勢群のみ雄に特有の行動、例えば闘争・喧嘩さらには強烈的な性行動（乗駕）をさけるため、16週齢（体重60～70kg到達時に一頭飼豚房に移動した。

免疫学的去勢群は、1週齢時と体重85kg到達時にインプロバック2mlを頸部皮下にそれぞれ接種した。外科的去勢群は1週齢で去勢を行い、未投与無去勢群は1週齢時と体重85kg到達時に生理食塩水2mlを頸部皮下にそれぞれ接種し、発育に与えるストレスを同様に付与した。

各群の豚は、離乳後から不断給餌で飼育し、分娩時、以後毎週個体ごとに体重を測定し、115kgに達した時点で、皮はぎ法により屠畜を行った。

接種豚の血中抗GnRH抗体

インプロバックによるGnRHを中和する抗体が、免疫学的去勢豚群の血液中に産生されているか確認するため、2回目インプロバック接種時、接種後2週および4週時に採血し、抗GnRH抗体価をエライザで測定した。投与後2、4週目に全頭に抗体を認め、4週時に抗体価の低下を認めた。なお、未投与無去勢群および外科的去勢群で

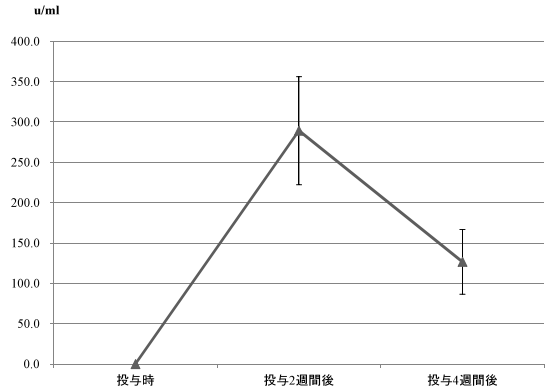


図4 抗GnRH抗体の推移

の抗体産生は、認められなかった（図4）。

血中テストステロン濃度の推移

去勢方法の違いによるテストステロン量の推移を去勢前から出荷まで期間の7時点で採血し、比較した。免疫学的去勢群は、第1回目をインプロバック接種1時間前；1週齢、第2回目を接種1日後、第3回目を離乳1日後；4週齢、第4回目を群編成1日後；6週齢、第5回目を第2回目インプロバック投与時；16～18週（80kg到達時）、第6回目を投与後2週、第7回目を投与後4週後の計7回とした。なお、外科的去勢群については、去勢時をインプロバック接種時とし、未投与無去勢群については、相応する時期とし、血中のテストステロン量をエライザで測定した（図5）。

外科的去勢群は、去勢直後から濃度が減少し、出荷時まで上昇を認めませんでした。免疫学的去勢群および未投与無去勢群は、1週齢時から6週齢の群編成時まで1,000pg/ml前後を維持し、その後、発育に伴い2,000～2,500pg/ml上昇し、免疫学的去勢群は、第2回目インプロバック接種後に急激低下したが、無去勢群は、濃度を維持した。

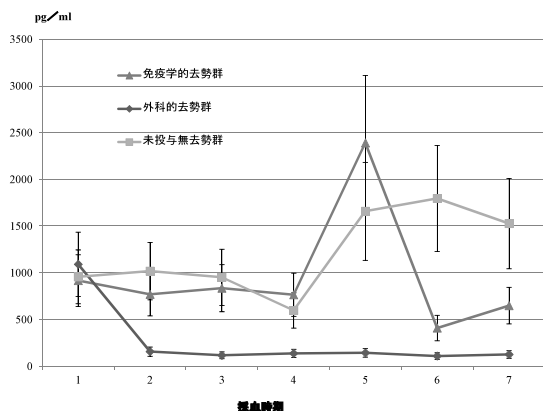


図5 血中テストステロン濃度の推移



写真1 免疫学的去勢豚（左）と未投与無去勢豚（右）の精巢外見の比較

免疫学的去勢群では、インプロバックによるテストステロン濃度の減少効果が確認された。

なお、抗 GnRH 抗体価とテストステロン濃度の測定は、ファイザー(株)の研究所で実施した。

接種後の反応と精巢重量

インプロバック接種後、注射部位の経過観察および去勢処置後の行動観察を行いました。接種による注射痕や腫脹などの異常は、免疫学的去勢群、未投与無去勢群とも見られなかった。また、免疫学的去勢群、外科的去勢群では他の個体に乗駕するといった雄行動も見られなかった。投与の反応が最も顕著に表れたのは、精巢の発育不全であり、免疫学的去勢群では外見から精巢が小さくなっていることが確認された（写真1）。

重量は、屠畜後、精巢を採材して重量を測定し未投与無去勢群と比較した。精巢の重量は、免疫学的去勢群では344.9g、未投与無去勢群では447.2gで、免疫学的去勢群の精巢重量は有意に軽い値を示した ($p<0.05$) (写真2, 表4)。



写真2 免疫学的去勢豚（左）と未投与無去勢豚（右）の精巢の比較

表4

精巢重量	免疫学的去勢群	未投与無去勢群
g	344.9 ± 32.7 ^a	447.2 ± 15.8 ^b

値は平均値±標準誤差で示した
異符号間で有意差あり ($p<0.05$)

免疫学的去勢製剤の投与により精巢重量が減少することが報告されている¹¹⁻¹³⁾が、今回の試験でも免疫学的去勢群の精巢重量が有意に低下したことから、免疫学的去勢製剤投与により産生された抗 GnRH 抗体が内因性の GnRH の作用を打ち消すことによって、精巢の発育を抑制したものと考えられる。

接種豚睾丸の病理組織学的変化

精巣上体を含む精巣のパラフィン包埋切片を作成し、マッソン・トリクローム染色 (MT 染色) を行って鏡検した。

精巣の間質にあるライディッヒ細胞が、免疫学的去勢群で少なく、萎縮円形化も認められました (写真3, 4)。また、精巣上体管の直径が狭く萎縮していた。

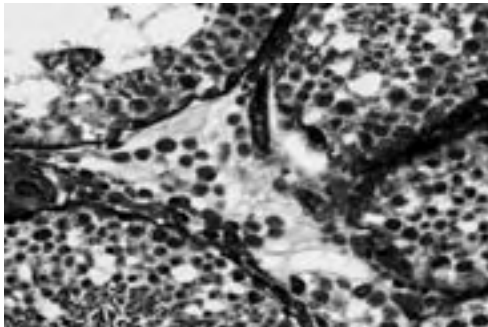


写真3 精巣 MT 染色 (× 400)
免疫学的去勢群

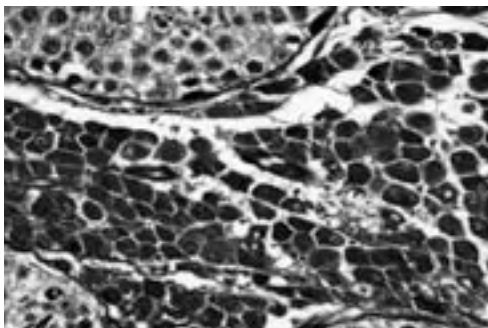


写真4 精巣 MT 染色 (× 400)
未投与無去勢群

テストステロンとアンドロステノンの合成関与細胞への影響

アンドロステノンは、性ステロイド合成系においてコレステロールを出発物質として CYP11A1

や CYP17 等の複数の酵素により代謝されるが、CYP11A1 や CYP17 遺伝子は LH による転写促進機構を持つことが示唆されている^{14,15)} (図 10)。

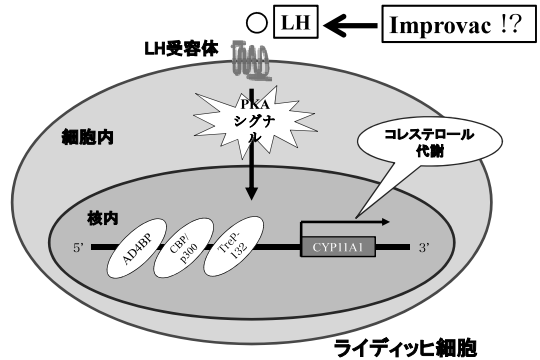


図 10 コレステロール側鎖切断酵素 (CYP11A1) 遺伝子発現機構

今回の試験では、ライディッヒ細胞の核内でのステロイドホルモンの生合成系酵素の1つであるコレステロール側鎖切断酵素 CYP11A1 遺伝子に対する抗体およびライディッヒ細胞表面の LH 受容体に対する抗体を用いて免疫染色した。

CYP11A1 遺伝子は、未投与無去勢群はほとんど細胞質に陽性反応 (茶色に発色) を多数認められた。しかし、免疫学的去勢群では、陽性反応を示す面積が小さいか、認められなかった (写真5,6)。

また、LH 受容体は、免疫学的去勢群、未投与無去勢群とも陽性反応を認められたが、免疫学的去勢群で反応を示す面積が小さくなっていった。

今回の成績からも免疫学的去勢群の精巣重量が有意に低下したことおよび病理組織検査と免疫染色から、免疫学的去勢製剤投与により産生された抗 GnRH 抗体が内因性の GnRH の作用を打ち消すことによって、精巣の発育を抑制していることが判る。

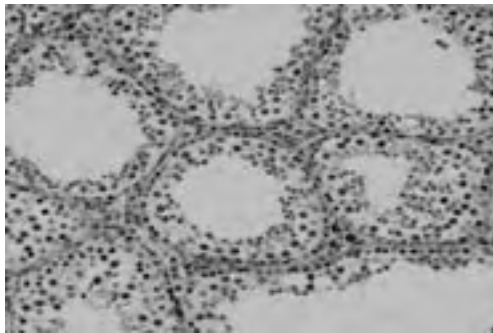


写真5 精巢 CYP11A1 遺伝子免疫染色 (× 200)
免疫学的去勢製剤投与群

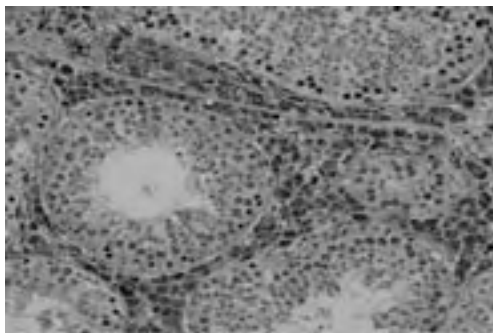


写真6 精巢 CYP11A1 遺伝子免疫染色 (× 200)
未投与無去勢群

发育状況

分娩から哺乳期において各試験群の发育性に差はみとめられず、1週齢時に実施した免疫学的去勢群への薬剤投与および外科的去勢群への睾丸摘出による影響は、特にみとめられなかった。

1日平均増体量は、免疫学的去勢群で741.1g、外科的去勢群で732.8g、未投与無去勢群で716.3gであり、有意な差はみられなかったが、免疫学的去勢群が最も高い値を示した(表5)。

一方、本試験の出荷目標体重である115kg到達日齢は、免疫学的去勢群で155.4日、外科的去勢群で155.2日、未投与無去勢群で160.3日であり、免疫学的去勢群は外科的去勢群と比較して同

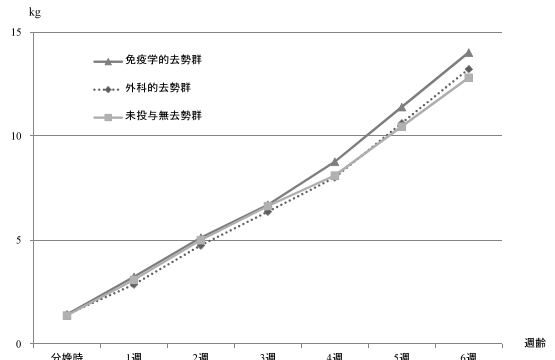


図6 分娩、哺乳期の体重の推移

表5 1日平均増体重

	免疫学的去勢群	外科的去勢群	未投与無去勢群
g/日	741.2 ± 18.8	732.8 ± 12.2	716.3 ± 16.6

値は平均値±標準誤差で示した

表6 115kg到達日齢

日齢	免疫学的去勢群	外科的去勢群	未投与無去勢群
日齢	155.4 ± 3.6	155.2 ± 2.8	160.3 ± 4.1

値は平均値±標準誤差で示した

等の値を示した(表6)。

なお、未投与無去勢群の发育が遅れた原因は、精巢間質からのエストロゲンの分泌が多く、食欲減退の方に作用し、また、肥育後期から一頭飼いのための捕食競争作用が働かなかったことにより、飼料摂取量が減少したためと思われる(図7)。

これまでに免疫学的去勢豚の飼養効率と成長パターンについて、数多くの実験・研究がなされ、免疫学的去勢豚は、外科的去勢豚に比べて良好な发育性を示し、離乳から出荷まですべてにおいて、外科的去勢豚に比べて、1kg増体するのに、飼料が約6~9%節約でき、従って飼料の消費(使用)量も節約になり、また、排泄される糞尿の量

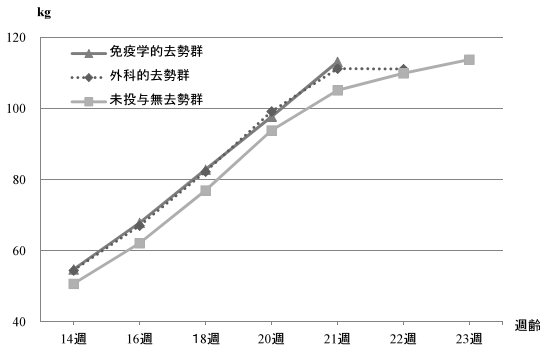


図7 肥育後期体重の推移

が減少することから環境保全に繋がることの報告がある¹⁶⁾。

今回の試験では、飼料の消費量を測定していないため、節約効果は判らなかったが、免疫学的去勢群の発育は良好であった。

屠体検査

屠体調査は、屠畜後、翌日に豚産肉能力検定法¹⁷⁾に準じて、冷屠体重、屠体長、背腰長、屠体幅、PCS (肉色) PFCS (脂肪色)、pH、ロース断面積 (第4～5胸椎間)、背脂肪厚、ランジルの脂肪厚、大割肉片割合を測定した。

冷屠体重は、外科的去勢群が他の2群と比較して大きな値を示した (表7)。

屠体幅、背と腰の脂肪厚、ランジルの脂肪厚 (前縁、中央、後縁)、大割肉片割合 (ロース・バラ) で免疫学的去勢群と外科的去勢群が未投与無去勢群と比較して大きな値を示した (p<0.05) (図8)。

大割肉片割合 (カタ、モモ) は、免疫学的去勢群と外科的去勢群が未投与無去勢群と比較して小さな値を示した。 (p<0.05)。屠体長I及びII、背腰長I及びII、PCS、PFCS、pH、肩の脂肪厚は、

表7 屠体成績

	免疫学的去勢群	外科的去勢群	未投与無去勢群
冷屠体重 (kg)	76.2 ± 1.2 ^b	79.8 ± 1.3 ^a	75.1 ± 0.9 ^b
屠体長I (cm)	94.6 ± 0.9	93.1 ± 0.5	93.4 ± 1.1
屠体長II (cm)	100.8 ± 0.9	99.2 ± 0.7	100.8 ± 0.9
背腰長I (cm)	78.8 ± 0.7	77.6 ± 0.5	79.0 ± 0.7
背腰長II (cm)	69.0 ± 0.8	68.0 ± 0.5	69.5 ± 0.8
屠体幅 (cm)	34.1 ± 0.2 ^a	35.0 ± 0.3 ^a	33.2 ± 0.4 ^b
PCS	3.0 ± 0.2	3.2 ± 0.3	2.8 ± 0.1
PFCS	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.7 ± 0.2
pH	5.8 ± 0.1	5.7 ± 0.0	5.8 ± 0.0
ロース断面積 (cm ²)	26.3 ± 0.9	24.3 ± 1.3	24.6 ± 0.9
背脂肪厚 (cm)			
肩	3.7 ± 0.2	4.2 ± 0.2	3.5 ± 0.2
背	1.9 ± 0.2 ^a	2.2 ± 0.1 ^a	1.5 ± 0.1 ^b
腰	2.9 ± 0.1 ^a	3.3 ± 0.2 ^a	2.5 ± 0.1 ^b
ランジルの脂肪厚 (cm)			
前縁	2.3 ± 0.1 ^a	2.8 ± 0.1 ^a	1.8 ± 0.1 ^b
中央	1.6 ± 0.1 ^a	2.0 ± 0.1 ^a	1.3 ± 0.1 ^b
後縁	2.6 ± 0.2 ^a	2.9 ± 0.2 ^a	2.0 ± 0.1 ^b
大割肉片割合 (%)			
カタ	31.0 ± 0.3 ^b	30.4 ± 0.4 ^b	31.8 ± 0.3 ^a
ロース・バラ	40.2 ± 0.4 ^a	41.4 ± 0.5 ^a	38.8 ± 0.5 ^b
モモ	28.2 ± 0.3 ^b	28.1 ± 0.3 ^b	29.4 ± 0.3 ^a

値は平均値±標準誤差で示した
異なる符号間は有意差あり (p<0.05)

3群間に有意な差は見られなかった。ロース断面積は、免疫学的去勢群で26.3cm²、外科的去勢群で24.3cm²、未投与無去勢群で24.6cm²であり、有意差はなかったが、免疫学的去勢群で最も高い値を示した (図9)。

発育や屠体成績における免疫学的去勢剤の投与効果は、一日平均増体量が大きく、背脂肪が薄くなり、赤肉面積が大きくなることが報告されている¹⁸⁾。

今回の試験で免疫学的去勢群は、背脂肪が薄くなり、ロース断面積が大きくなる傾向がみられた。これらの点に関して、テストステロンは、哺乳類のオスで体構成を決める重要な決定因子であり、アンドロジェン (テストステロンを含む男性ホルモン) 欠損は、筋肉量の減少と脂肪量の増加

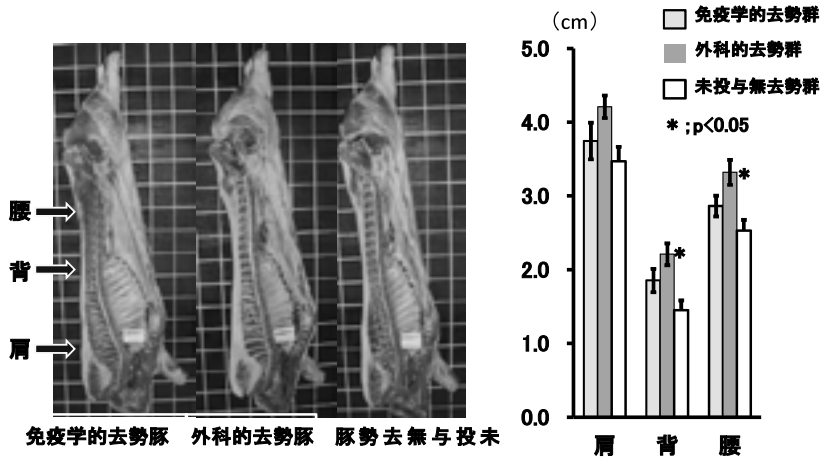


図8 と体・肉質成績 (脂肪厚)

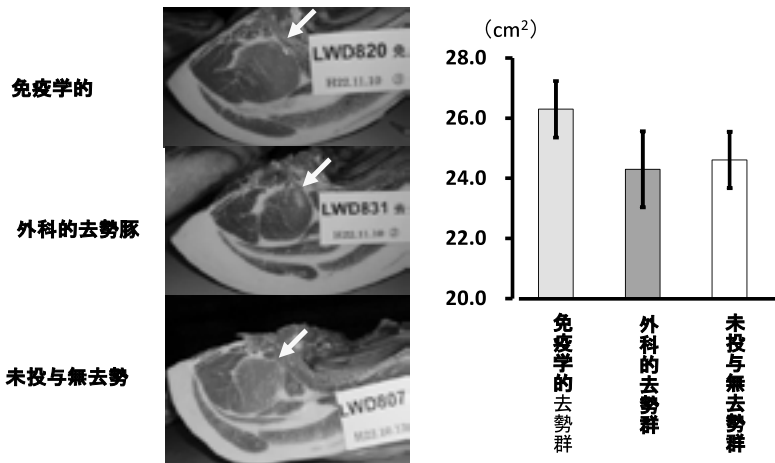


図9 と体・肉質成績 (胸最長筋断面面積)

に関連していることが報告されている¹⁹⁻²¹⁾。

また、GnRH 遮断薬投与により内因性のテストステロンを低下させると脂肪組織から分泌されエネルギー消費を亢進する作用のあるアディポネクチンの血中濃度が上昇することから、アンドロジェンがない状態でもアディポネクチンにより代謝が亢進されていることが示唆されている²²⁾。

免疫学的去勢豚では、精巣機能が常に抑制され

ている状態ではなかったため、二回目接種後の肥育後期にテストステロンが低下すると脂肪組織から分泌されエネルギー消費を亢進する作用のあるアディポネクチンの血中濃度が上昇することから、エネルギー亢進が外科的去勢豚と比較して大きく、増体量が優れ、また、筋形成の促進と脂肪形成の抑制を起し、ロース芯断面面積の拡大と脂肪厚の低下をまねいたと考えられる。

雄臭測定

第4-5胸椎間内層脂肪を材料として、雄臭の原因物質として考えられるアンドロステノン²³⁾はHansen-Møllerの方法²³⁾で、スカトール及びインドールはDenhardらの方法²⁴⁾に準じて処理後、液体クロマトグラフィーで測定した。それぞれの物質における人が感知できる最小限の量である「閾値」を超える値を示したブタは、未投与無去勢群でみられが、外科的去勢群と免疫学的去勢群にはみられなかった(表8)。

インドールは、閾値を超える値を示した個体はいずれの群にもみられなかった。

雄臭の原因は、主に精巣で産生されるアンドロステノンと消化管内で生成されるスカトールという物質が主に関与していると考えられている^{25,26)}。

今回の試験では、脂肪組織に蓄積したアンドロステノンのレベルが外科的去勢豚と同レベルに抑えられたことから、免疫学的去勢製剤により脳下垂体からのLHの分泌が抑制され、CYP11A1等の酵素の発現量が低下したことが考えられる。

一方、スカトールは飼料に含まれるトリプトファンから生成されるため給与飼料による差が大きいと考えられるが²⁷⁾、スカトールが免疫学的去勢群で閾値を越えた個体はいなかったため、精

表8 雄臭原因物質検出状況

原因物質	免疫学的 去勢群	外科的 去勢群	未投与 無去勢群
	n=11	n=10	n=10
アンドロステノン	0	0	3
インドール	0	0	0
スカトール	0	0	2

注：それぞれの物質の閾値は、アンドロステノン (1.0 μg/g)、インドール (0.3 μg/g)、スカトール (0.2 μg/g) である

巣から分泌されるテストステロンが抑制されたと考えられる。

また、インドールについては今回の試験では雄臭との関係は明らかにできなかった。

4. 精巣機能の期間延長による抗病性の向上について

これまで長い間、養豚経営では、雄子豚は必ずといってよいほど去勢されてきた。肉豚生産においては、雄豚の悪作(業)を少なくしたり、雄豚特有の行動や臭いを和らげたりするため、いわば確立された技術になっていた。

しかし、子豚を離乳前に睾丸除去をすると、処置後の腹膜炎や病気の感染さらには心的外傷性疾患による死亡(斃死)の多いことが、経験的に知られていた。

ブラジルのサンタカタリナ大学のDallanoraらは、1,024頭の雄子豚を4日齢で外科的去勢する群(castrates)と無去勢群(boars)に分け、21日齢で離乳し、63日齢まで飼育して、去勢後の炎症性症状と免疫系発達への影響を比較している²⁸⁾(表9, 10)。

去勢群は、去勢後少なくとも4日間以上疼痛がみとめられ、離乳時の体重が少なかった。下痢や関節炎のために治療が必要とされた豚の割合は、離乳までおよび全区間で、それぞれ外科的去勢群で8.7%、22.2%、無去勢群で4.8%、17% (p=0,004)であった。死亡率(Mortality)は、外科的去勢群で9.7%、無去勢群6.4% (p=0,059)と報告している。

この成績が示すように去勢により、雄豚本来の発育性や免疫性が低下することを承知しながら、これまでは、この物理的に睾丸を除去するという手法に、変わる手法がなかった。

表9 Mortality, additional injectable medication and weight at weaning for both treatments

Group Mortality	Mortality (D4-D63)	Addition. Inject.	Weight at D-21 (kG)
T1 (boars)	6.4% ^a	53.3% ^a	5.57 ^a
T2 (castrates)	9.7% ^b	62.3% ^b	5.42 ^b

Different superscripts in the same column mean significantly different values ($p < 0.10$).

表10 Incidence of light-weight pigs at weaning (D-21) and at the end of nursery period (D-63)

Treatment	D-21	D-63
T1	4.8% ^a	17% ^a
T2	8.7% ^b	22.2% ^b

Different superscripts in the same column mean significantly different values ($p < 0.10$).

これに対して、今回取り上げた免疫学的去勢製剤は、雄豚の精巣の機能を一時的に抑制する技術である。そのため、出荷前の最後の4～6週間に投与するまでの子豚期間から育成豚期間までは、本来の雄豚としての能力が発揮され、抗病性の向上による事故率や死亡率の低減、抗生物質などの薬剤の使用量の削減などの波及効果が期待される。

精巣が発現する抗菌活性物質

最近の研究から、精巣は、精子やホルモンを作る器官としての働きに加えて、生理的に抗菌活性を持つ物質を多量に分泌・放出していることが判ってきた。精巣で作られる抗菌活性物質の一つに抗菌ペプチド (Antimicrobial peptide; AMP) がある。

AMPは、皮膚や粘膜、気道、消化管などに広く存在し、病原性微生物の感染から宿主を守るための自然免疫系の生体防衛機構の一つで、無脊椎動物、脊椎動物、さらには植物にわたる広

い生物種に認められる。細菌や真菌 (カンジタ)・ウイルスなど広範囲な抗微生物活性を示すことから、抗生物質に変わる治療薬として期待されている²⁹⁾。

辜丸ではディフェンシン (Defensin) やカルテリチジン (Cathelicidin) の発現が知られている (図11)。

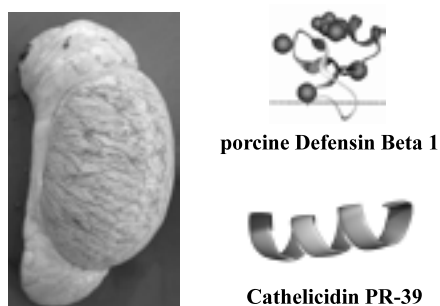


図11 精巣で分泌される抗菌ペプチド

AMPの作用機序

AMPの構造上の特徴は、10～50アミノ酸残基(たんぱく質を構成しているアミノ酸の1単位)の比較的小さな決まった順番で様々なアミノ酸がつながってできたペプチドで、塩基性アミノ酸を多く含み、作用環境条件下でプラスに荷電となり、 α ヘリックス構造(らせん構造)や β ヘリックス構造(直線構造)をとり、水にも油になじみやすい両親媒性構造を持つ物質である。

グラム陽性菌 (Gram+) の細胞壁にはタイコ酸が、グラム陰性菌 (Gram-) 細胞壁にはリポポリサッカライド (LPS) が多く含まれ、いずれもマイナスに荷電している。プラスに荷電している抗菌ペプチドは細菌の細胞壁と電気的に引き合い、通り抜け、細胞膜にたどり着く。細胞膜表面に集積したAMPはやがて、細胞膜と相互作用し、膜

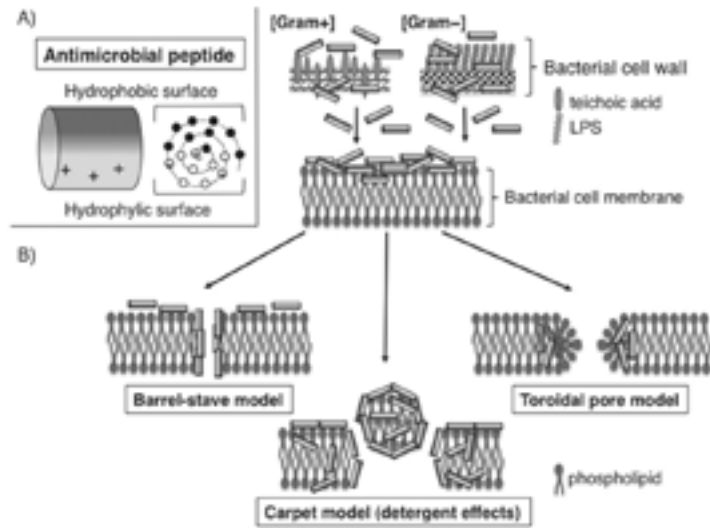


図 12 α ヘリックス型抗菌ペプチドの作用機序

岩室, 比較内分泌学 Vol. 35 No. 133 (2009. 5)

を穿孔, 細胞壁を破壊し, 抗菌作用を発揮する (図 12)。

Defensin の発現部位と抗微生物活性

アメリカのカンザス大学の S. Elahi らは, イヌをモデルに体内の各臓器での 3 種類の β -Defensin の発現を調べ, 抗微生物活性を報告している³⁰⁾。

図 13 の A は, イヌの各臓器組織からイヌの canine β -Defensin (cBD-1, -2, -3) の遺伝子 (cDNA) を抽出・複製し, 電気泳動した写真である。

上左から骨髄, 十二指腸, 空腸, 回腸, 腎臓, 肝臓, 脾臓, 精巣, 肺 (bone marrow, duodenum, jejunum, ileum, kidney, liver, spleen, tissues, lung) を示します。上段の cBD-1 の発現は, 精巣に多く, 肺と腸でも認められ, cBD-2, cBD-3 では, 精巣のみである (図 13)。

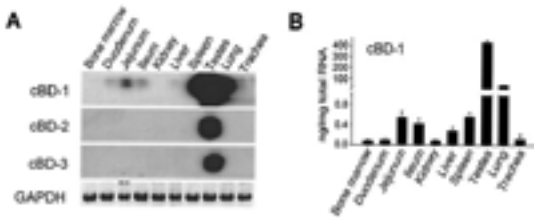
B は, リアルタイム PCR 成績は, 精巣 400ng/mg, 肺 50ng/mg を示し, 精巣に肺の 8 倍量の

cBD-1 がある (図 12)。

また, データを示していないが, 精巣組織の遺伝子増幅染色検査 (in situ hybridization) により, cBD-1 が精巣の間質ライディッヒ細胞および精細管セリトリ細胞から分泌されることを証明している。

次に試験管内での感染性微生物に対する β -Defensin の死滅効果を細菌, カンジタ, ウレアプラズマで検証した成績を示す。

化学的に合成した cBD ペプチドの尿路感染症および性行為感染症に關与する微生物に対する最小発育阻止濃度 (MIC) は, 一般のおよび尿路病原性の大腸菌 (*Escherichia coli*) や呼吸器感染症, 尿路感染症などを引き起こすクレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*) で, それぞれ 20, 50 および 20 μ g/ml, リステリア・モノサイトゲネス (*Listeria monocytogenes*), 淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) および黄色ブドウ球菌



INFECTION AND IMMUNITY, May 2005, Vol. 73, No. 5 p. 2611-2620

図 13 canine - defensins の臓器別発現状況

(*Staphylococcus aureus*) で、それぞれ 10, 50 および 100 $\mu\text{g/ml}$ を示した。また、血行性 (hematogenous) および膈上皮に感染する (vaginal epithelium) カンジタ・アルビカンス (*Candida albicans*) で、5, 50 $\mu\text{g/ml}$ と幅広い活性を示し、尿道炎の原因となる 2 種のウレアプラズマ (*Ureaplasma canigenitalium*, *U. urealyticum*) で 200 $\mu\text{g/ml}$ と低い活性を示すことを報告している (表 11)。

合成した cBD ペプチドの抗微生物活性は、人やイヌにおいて、尿路感染症の原因の 90% を占める大腸菌やクレブシエラの有効性が認められ、また、性行為感染症に関して、血行性よりも膈粘膜上皮から分離されるカンジタ菌に対して、高い活性があった。

これらの成績から、 β -Defensin は、哺乳動物の生殖器官の精巣および精巣上体の内腔や泌尿器官の粘膜面において、微生物の感染に対する生理的な防御機構、物理的なバリアーとして働き、精子を保護して保存する重要な役割をしていることを検証している。

また、RT-PCR を用いて、ブタの porcine β -Defensin 1 (pBD-1) の mRNA は、呼吸器や消化器系器官に加え、胸腺、脾臓、リンパ節、脳、肝臓、腎臓、膀胱、精巣、皮膚、心臓、筋、骨髄、末梢血中の好中球、肺胞マクロファージおよび膈

表 11 Antimicrobial activity of canine β -defensin

Microorganism ^a	ATCC no.	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^b
<i>Candida albicans</i> (hematogenous)	14053	50
<i>Candida albicans</i> (vaginal epithelium)	11006	5
<i>Escherichia coli</i> * (generic)	25922	20
<i>Escherichia coli</i> * (uropathogenic)	700336	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> *	10031	20
<i>Listeria monocytogenes</i> †	19115	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	10832	100
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	10150	50
<i>Ureaplasma canigenitalium</i>	51252	200
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	27619	200

^a *, *Enterobacteriaceae*; †, non-*Enterobacteriaceae*.

^b The MIC was determined by a broth microdilution method adapted from the NCCLS (12, 33).

帯などで検出され、生体防御に関与していることが多くの研究で報告されている³⁰⁻³²⁾。

なお、これらの器官や組織のいくつかは、炎症などの免疫反応が起きると、精巣で分泌され、多量に貯蔵されている β -Defensin が送られて、機能していると思われる。

感染子豚への Defensin 投与試験

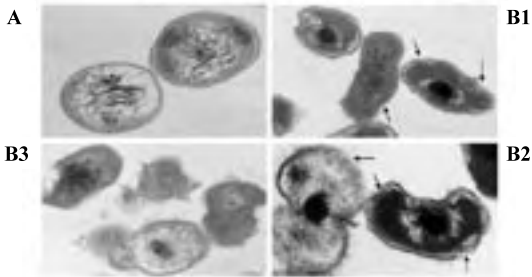
カナダのサスカチュワン大学の Y. Sang らは、合成した β -Defensin の生体での抗微生物活性について、百日咳菌を感染させた新生子豚を用いたモデルで検証している³⁴⁾。

百日咳は、主にグラム陰性桿菌の百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) による呼吸器感染症で、年間の患者数 2,000 ~ 4,000 万人、死亡率 1 ~ 2%、死亡数は約 20 ~ 40 万人の達する重篤な疾病である。そのため、今回の試験は、感染メカニズム研究の一つとして実施された。

始めに化学合成した pBD-1 の抗菌作用を検討しており、pBD-1 20 $\mu\text{g/ml}$ で *B. pertussis* を処理した電子顕微鏡像の写真を示し実験室内での有効

性を報告している（写真7）。

A 処理前菌体正常，B1 処理 20 分後膜を穿孔菌体変形，B2 処理 40 分後細胞壁破壊，B3 処理 60 分後菌体崩壊が観察された。



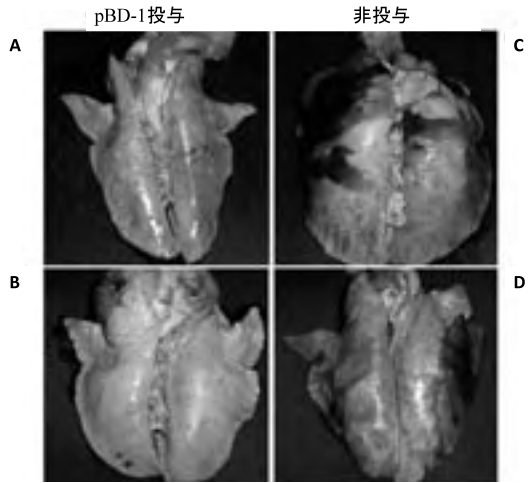
Elahi S et al. Infect. Immun. 2006; 74: 2338-2352

写真7 pBD-1の百日咳菌処理電子顕微鏡像（×40,500）

続いて、生体での有効性について、新生子豚への投与試験で、pBD-1の投与が接種菌の増殖を阻止し、感染防御効果を報告している。

B. pertussis 人工感染子豚に pBD-1 を投与した肺の剖検時の写真を示す（写真8）。

A および B は、生後3日の新生子豚に *B. pertussis* 5×10^9 個を気管チューブで肺に接種し、それぞれ2日後及び4日後に化学合成した pBD-1 500 μ g を投与し、C および D は、それぞれ2日後及び4日後にリン酸緩衝液を投与し、10日後の解剖した肺を示す。写真AおよびBの肺は、病変を認めず、*B. pertussis* 感染を防御したが、写真CおよびDは、高度の亜急性出血と壊死性肺炎像を認めた。なお、新生子豚への *B. pertussis* の感染性は、生後4週齢を過ぎると肺炎等の剖検所見をみとめないことから、AMPなどの自然免疫系の生体防御機構が、感染防御に関与していると考えられる。



Infect Immun. 2006 April; 74(4): 2338-2352

写真8 新生子豚百日咳菌感染 pBD-1 投与試験肺所見

免疫学的去勢と精巣機能の延長

免疫学的去勢製剤を出荷前の最後の4～6週間に投与するまで、精巣機能は、子豚期間から育成豚期間までは、本来の雄豚としての能力が発揮される。その間、精巣から分泌される各種ホルモンや抗菌活性物質は、自然免疫系の生体防御機構として、大切な役割を果たしていることが判ってきた。また、精巣は、免疫学的去勢製剤2回目投与後も大きさが小さくなるが、完全に機能を失うことなく一部機能を維持し、免疫学的去勢製剤による精巣機能の延長効果が期待される。

これまで、免疫学的去勢製剤の活用については、雄臭を防止、肉質改善、アニマルウェルフェアおよびの飼料消費量節約による環境保全などの効果が研究されてきた。

しかし、養豚経営で大切なことは、雄子豚をより自然な状態で出荷まで肥育し、本来の雄豚としての能力が発揮させることである。

そこで、今後、これまでの研究に加えて、免疫学的去勢製剤を活用した抗病性の向上による事故率や死亡率の低減、抗生物質などの薬剤の使用量の削減効果を検討することが大切である。

日本において、安心安全な食肉生産に免疫学的去勢製剤が活用されることを期待する。

引用文献

- 1) 独立行政法人農畜産業振興機構 海外情報より, 平成 23 年 1 月 14 日発.
- 2) F. Vanhonacker and W. Verbeke *Animal* (2011), *Animal* 5: 7, 1107-1118.
- 3) 食品安全委員会動物医薬品専門調査会 (2009), 動物医薬品評価書.
- 4) F.R. Dunshea, C. Colantoni, K. Howard, I. McCauley, P. Jackson, A. Long, S. Lopaticki, E.A. Nugent, J.A. Simons, J. Walker and D.P. Hennessy (2001), *J. Anim. Sci.* 79: 2524-2535.
- 5) P. Jaros, E. Burgi, K.D.C. Stark, R. Claus, D. Hennessy and R. Thun (2005), *Liv. Prod. Sci.* 92, 1: 31-38.
- 6) CSL Technical Update, Improvac™, Boar Taint Vaccine for Male Pigs. CSL Limited, Parkville, Victoria, Australia.
- 7) M.T. Yokoyama and J.R. Carlson (1979), *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 173-178.
- 8) C.K. Wilkins (1990), *Int. J. Food. Sci. Tech.* 25: 313-317.
- 9) E. Doran, F.W. Whittington, J.D. Wood and J.D. McGivan (2002), *Chem. Biol. Interact.* 140: 81-92.
- 10) K. Lundstrom, B. Malmfors, G. Malmfors, H. Petersson, S. Stern, A.B. Mortensen and S.E. Sorensen (1984), *Proc 30th Eur Meeting of MeatRes Workers, Bristol Sept 9-14:* 379-398.
- 11) M. Skrlep, B. Segula, M. Zajec, M. Kastelic, S. Kosorok, G. Fazarinc and M. Candek-Potokar (2010), *Slov. Vet. Res.* 47, 2: 57-64.
- 12) S. Martin, S. Blaz, Z. Marta, K. Martin, K. Stane, F. Gergor, C.P. Marjeta (2010), *Slov. Vet. Res.* 47, 2: 57-64.
- 13) M. Gispert, M.A. Oliver, A. Vekarde, S. Paloma, P. Jesus and F.F. Maria (2010), *Meat. Sci.* 85: 664-670.
- 14) H.A. Lavoie and S.R. King (2009), *Exp. Biol. Med.* 234: 880-907.
- 15) F.P. Zhang, T. Pakarainen, F. Zhu, M. Poutanen and I. Huhtaniemi (2004), *Endocrinol.* 143, 3: 1453-1463.
- 16) W.T. Oliver, I. McCauley, R.J. Harrell, D. Suster, D.J. Ker ton and F.R. Dunshea (2003), *J. Anim. Sci.*, 81: 1959-1966.
- 17) 社団法人日本種豚登録協会 (1991), 産肉能力検定実務書 : 22-49.
- 18) H. Yang, Z. Liu, Q. Wu and D. Hennessy (2009), *Proceedings of the 4th Congress of Asian Pig Veterinary Society* 188.
- 19) J.D. Wilson (1988), *Endocrinol. Rev.* 9: 181-199
- 20) S. Bhasin, L. Woodhouse and T.W. Storer (2001), *J. Endocrinol.* 170: 27-38.
- 21) L. Katznelson, D.I. Rosenthal, M.S. Rosol, E.J. Anderson, D.L. Hayden, D.A. Schoenfeld and A. Klubanski (1998), *Am. J. Roentgenol.* 170: 423-427.
- 21) S.T. Page, K.L. Herbst, J.K. Amory, A.D. Coviello, B.D. Anawalt, A.M. Matsumoto and W.J.

- Bremner (2005), *J. Androl.* 26: 85-92.
- 22) S.T. Page, K.L. Herbst, J.K. Amory, A.D. Coviello, B.D. Anawalt, A.M. Matsumoto and W.J. Bremner (2005), *J. Androl.* 26: 85-92.
- 23) J Hansen-Møller (1994), *J. Chromatogr.* 661: 219-230.
- 24) M. Denhard, R. Claus, M. Hillenbrad and A. Herzog (1993), *J. Chromatogr.* 616: 205-209.
- 25) CSL Technical Update, Improvac™, Boar Taint Vaccine for Male Pigs. CSL Limited, Parkville, Victoria, Australia.
- 26) M.T. Yokoyama and J.R. Carlson (1979), *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 173-178.
- 27) C.K. Wilkins (1990), *Int. J. Food. Sci. Tech.* 25: 313-317.
- 28) D. Dallanora, K. Pasinato, R. Pinheiro, G. Machado, C. Henn (2010), IPVS Congress. 1140.
- 29) 岩室祥一 (2009), 比較内分泌学 Vol. 35 No. 133: 71-92.
- 30) Y. Sang, M. T. Ortega, F. Blecha, O. Prakash, and T. Melgarejo (2005), *Infect Immun.* 73: 7133-7141.
- 31) G. Zhanga, H. Wua, J. Shib, T. Ganzb, C. R. Rossa, F. Blechaa (1998), *FEBS Letters* 424: 37-40.
- 32) S. Qi, J. Chen, R. Guo, B. Yu, D. Chen (2009), *Livestock Science* 123: 161-168.
- 33) R. N. Cunliffe and Y. R. Mahida (2004), *Journal of Leukocyte Biology* Volume 75, January, 49-58.
- 34) S. Elahi., R. M. Buchanan, S. Attah-Poku, H.h G. G. Townsend, L. Babiuk and V. Gerdts (2006), *Infect Immun.* 74: 2338-2352.