

2. 多血小板血漿を用いた泌乳期乳房炎治療の試み（第1報）

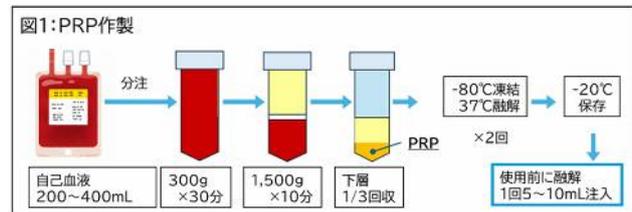
大分家畜保健衛生所・1) 農林水産研究指導センター畜産研究部
○ (病鑑) 壁村光恵・(病鑑) 利光昭彦・佐藤邦雄
病鑑 梅田麻美・波津久航¹⁾

【はじめに】

乳房を構成する乳腺細胞は乳汁を産生、分泌するほか、ラクトフェリン等の抗菌因子を産生、分泌することで、乳房内の免疫機能も担っている。乳房炎になると、乳腺細胞が損傷を受け、これらの機能が低下するため、乳腺細胞の早期修復は非常に重要である。そこで今回着目したのが、血小板を高濃度に含む多血小板血漿 (PRP) である。PRP は、血小板が放出する成長因子による組織修復、PRP に含まれるケモカインの走化性 (白血球の遊走) による炎症収束の促進作用があるといわれている。海外では、PRP の乳房内注入により乳房炎が改善し、再発率が低下したとの報告があるが、国内での事例は確認されていない。乳房炎治療の主体である抗生剤軟膏の代わりに PRP を注入し、効果が確認できれば薬剤耐性菌対策にもつながると考え、管理獣医師と連携し PRP の乳房内注入試験を実施したのでその概要を報告する。

【材料及び方法】

1. PRP 作製: PRP は、自己血液を輸血パックで 200~400mL 採血し、遠心分離 1 回目 (300×g、30 分) で血球成分を分離除去し、遠心分離 2 回目 (1,500×g、10 分) で血小板成分を沈殿させ、下層 1/3 を回収。-80℃凍結と 37℃融解を 2 回繰り返し、-20℃で保存した。使用前に融解し、1 乳房に 5~10ml/回を注入した (図 1)。



2. 対象農場: 対象農場は 2 農場 (A 農場、B 農場)。A 農場は搾乳牛 240 頭飼養、フリーバーン。乳房炎が多く、薬剤耐性菌もみられる。管理獣医師による菌分離と薬剤感受性試験(薬感)に基づき治療を実施している。B 農場は搾乳牛 160 頭飼養、フリーバーン。乳房炎が少なく、農場主の判断で治療を実施している。

3. 試験区：試験は、長期治療歴や乳房硬結がみられた7頭9分房（A農場6頭8分房、B農場1頭1分房）について、以下の3区に分け、いずれも泌乳期に実施した（図2）。

（1）ショート乾乳群（2頭3分房、乾1～3）：PRPを10mL注入し、3日間乾乳。

（2）短期群（3頭3分房、短1～3）：通常どおり搾乳を行い、搾乳後に1日1回、PRPを5mL注入。これを約5日間継続。

（3）長期群（2頭3分房、長1～3）：通常どおり搾乳を行い、搾乳後に1日1回、PRPを5mL注入。これを約30日間継続。

なお、すべての試験区で抗生剤は併用していない。

4. 試験区ごとの供試分房（表1）

（1）長期治療歴の有無：長期治療歴があったのは7分房。A農場の6分房は、直近2～7カ月に複数の乳房炎軟膏を使用、抗生剤や消炎剤の注射を繰り返していた。B農場の1分房（短3）は、直近2カ月間、乳房炎軟膏2種類のみで治療していたが、乳性状が改善し、軟膏注入を中止すると再発するということを繰り返していた。

（2）乳房硬結の有無：乳房硬結があったのは長期群3分房。長2、長3の牛は、試験の20日前から供試分房とは異なる1分房が乳房炎になり、その後、クレブシエラによる全身症状を呈しDICを発症、4分房すべてが硬結。今回はこのうち2分房にPRPを注入。

5. 検査（表2）

（1）前検査：供試分房の状態を把握するため、PRP注入前に以下の検査を実施。

①細菌検査：血液寒天培地、DHL寒天培地、卵黄加マンニット食塩培地を用い、定法に従い菌分離を実施。

②体細胞種別判定（以下DSCC）：DSCCは乳汁中の好中球とリンパ球の割合のことで、乳房炎になると好中球が急増することから、体細胞数（以下SCC）と組み合わせ乳房の状態を把握する新たな指標として注目されている。今回は、小坂らの報告に基づき、65%を閾値とした。

③乳性状の確認：乳性状について、色、粘調性、固形物（ブツ）を確認。



試験区	牛	農場	産歴	分房	長期治療歴	乳房硬結
乾乳群	1	A	2	乾1	あり 直近 3カ月 ・ 軟膏3種、抗生剤・消炎剤注射	なし
				乾2	あり 直近 3カ月 ・ 軟膏3種、抗生剤・消炎剤注射	なし
	2	A	2	乾3	あり 直近 2カ月 ・ 軟膏2種、抗生剤・消炎剤注射	なし
短期群	3	A	3	短1	あり 直近 4カ月 ・ 軟膏2種、抗生剤・消炎剤注射	なし
	4	A	2	短2	あり 直近 4カ月 ・ 軟膏3種、抗生剤・消炎剤注射	なし
	5	B	3	短3	あり 直近 2カ月 ・ 軟膏2種(乳性状改善→軟膏中止→再発)	なし
長期群	6	A	5	長1	あり 直近 7カ月 ・ 軟膏3種、抗生剤・消炎剤注射	あり
	7	A	2	長2	なし ・ 20日前から供試分房とは異なる1分房が乳房炎 → 別分房も乳房炎になる ・ クレブシエラ全身症状、DIC発症 ・ 4分房硬結(うち2分房にPRP注入)	あり
				長3		あり

表1:試験区ごとの供試分房

④SCC：20万/ml以上を乳房炎の基準とした。

(2) 評価項目：PRP 注入終了後に、乳性状の確認、SCC の測定を行い、注入前の結果と比較した。なお長期群では、注入中に乳性状の確認と SCC 測定を行い、エコーによる罹患乳房の画像撮影も実施。

【結果】

(1) 前検査 (表 3)

①細菌検査：2/9 分房で、それぞれ *Streptococcus dysgalactiae* (以下、SD。短 3)、*Klebsiella pneumoniae* (長 3) が分離された。

②乳性状：9/9 分房すべて悪かった。

③SCC：9/9 分房すべて基準値より高値であった。

④DSCC：6/9 分房が閾値より高く、3/9 分房が低値であった。

(2) 評価項目 (注入終了後の結果)

①ショート乾乳群：SCC は、3 分房とも注入終了後に増加した。乳性状は、乾 3 のみ改善し、乾 1, 2 は 3 週間後に再発した (図 3)。

②短期群：A 農場の 2 分房では、SCC はともに低下した。乳性状は短 2 のみ改善し、短 1 は 2 週間後に再発した (図 4)。

B 農場の短 3 は、注入終了後、SCC が 4 倍に著増し、乳質も改善しなかったため、改めて菌分離を実施したところ、再度 Sd が分離された。薬感の結果をもとに、Sd に有効とされる乳汁拡散性の高いセフェム系薬剤を注入し、3 日間乾乳したところ乳性状が改善した (図 5)。

③長期群：注入中、3 分房とも乳性状は改善しなかった。SCC は、乳性状がかなり悪く、参考値だが、長 2 のみ低下し

		内容	注入前	注入後	注入中	
前検査	評価項目	① 細菌検査	●	●	●	定法に従い細菌分離 薬剤感受性試験
		② 体細胞種別判定 (DSCC)	●	●	●	閾値65% (小板らの報告に基づく)
		③ 乳性状	●	●	●長	色、粘調性、固形物(フツ)
		④ 体細胞数 (SCC)	●	●	●長	20万/mL以上:乳房炎 一部、乳房炎簡易診断液による判定結果から推定
		⑤ エコー		●長	●長	罹患乳房の画像撮影

表2:検査

● 長期群のみ実施

試験区	農場	産歴	分房	状態		前検査				
				治療歴	乳房硬結	菌分離	乳性状	SCC (万/mL) 基準値20万	DSCC (%, 閾値65)	
乾乳群	シヨート	A	2産	乾1	あり	なし	なし	悪	95	85
		A	2産	乾2	あり	なし	なし	悪	200	85
		A	2産	乾3	あり	なし	なし	悪	20	49
短期群	A	3産	短1	あり	なし	なし	悪	394	66	
		3産	短2	あり	なし	なし	悪	1,119	81	
		3産	短3	あり	なし	Sd	悪	243	82	
長期群	A	5産	長1	あり	あり	なし	悪	1,404	30	
		2産	長2	なし	あり	なし	悪	3,492	68	
		2産	長3	なし	あり	Kp	悪	484	2.3	
				分房数	菌分離 2/9	乳性状・悪 9/9	SCC高値 9/9	DSCC高値 6/9		

表3:前検査結果

Sd: *Streptococcus dysgalactiae*, Kp: *Klebsiella pneumoniae*

図3:ショート乾乳群 結果

牛	分房	前検査				評価項目(注入終了後)				
		菌分離	乳性状	DSCC (%)	SCC (万/mL) 注入前	1d	1w	3w	7w	乳性状
1	乾1	なし	悪	85	95	375	650	NT	NT	改善せず
	乾2	なし	悪	85	200	200	650	NT	NT	改善せず
2	乾3	なし	悪	49	20	200	NT	320	227	改善

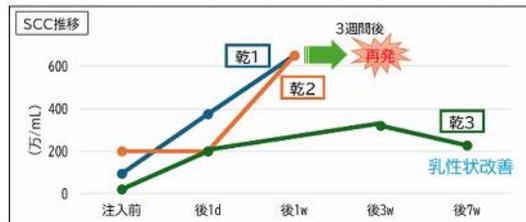


図4:短期群(短1, 2) 結果

農場	分房	前検査				評価項目(注入終了後)				
		菌分離	乳性状	DSCC (%)	SCC (万/mL) 注入前	4d	1w	2w	3w	乳性状
A	短1	なし	悪	66	394	593	341	NT	NT	改善せず
A	短2	なし	悪	81	1,119	644	214	172	153	改善



た。長1は、注入2週目に再発し増加し、乾乳時期が近かったため、注入29日目に4分房すべてにPRPを注入し、発症分房のみ乾乳軟膏を注入、乾乳シールを貼付した。なお、長3は、4日目に搾れない状態になり比較できなかった(図6)。エコーによる画像撮影(長3)では、健康乳房が中間輝度で均一な像を示すのに対し、試験分房は、注入中、実質の不均一化と高輝度スポットが観察された。注入終了後、乳房の腫脹や硬結はなくなったが、実質が縮小し、改善は見られなかった(図7)。この所見は、他の長期群にも共通して見られた。

【まとめと考察】(表4)

今回の試験では、乳房の硬結のあった3分房では、PRPを長期注入しても改善には至らなかった。SCCは、注入後も9/9分房すべて20万/mLより高く、完治には至らなかったが、注入前と比較して3/9分房が低下した。乳房の硬結がなかった6分房では、2分房で乳性状が改善し、搾乳、出荷ができるようになった。この2分房は、抗生剤等による長期治療でも改善がみられなかったことから、PRPの効果の可能性も考えられた。また、今回、ショート乾乳群としてPRPのみを1回注入して3日間乾乳する方法を行ったが、Sdの分離された乳房については、約5日間のPRP短期注入ののち、抗生剤の投与と3日間のショート乾乳を行ったところ、SCCが低下し、乳性状が改善、その後の再発もなかった。PRPの短期注入とショート乾乳との併用は、組織修復の相乗効果が期待できる可能性もあり、今後、ショート乾乳とPRP注入のタイミング、期間、抗生剤の併用等、さらに検討していく。

【最後に】

図5:短期群(短3)結果

農場	分房	前検査			評価項目(注入終了後)				
		菌分離	乳性状	DSCC (%)	SCC (万/mL)	SCC (万/mL)			乳性状
					注入前	1d	1w	2w	
B	短3	Sd	悪	82	243	1,114	NT	164	改善せず



図6:長期群 結果

牛	分房	前検査			評価項目(注入中)				
		菌分離	乳性状	DSCC (%)	SCC (万/mL)	SCC (万/mL)			乳性状
					注入前	1w	2w	3w	
6	長1	なし	悪	30	1,404	1,425	3,550	1,525	改善せず
7	長2	なし	悪	68	3,492	2,843	172	778	改善せず
	長3	Kp	悪	2.3	484	NT	NT	NT	改善せず

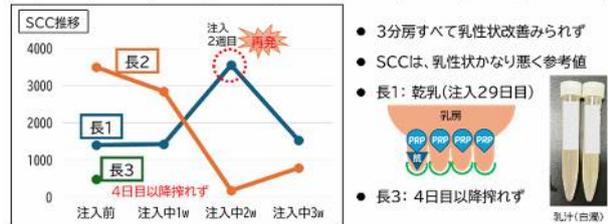


図7:長期群 結果(エコー画像)

健康乳房	注入1週目	注入2週目	注入終了後2週目	
	腫脹・硬結	腫脹・硬結	腫脹・硬結なし	
所見	均一 中間輝度	不均一 乳槽ほぼなし	不均一 高輝度スポット	不均一 高輝度スポット 実質の縮小

試験区	農場	産歴	分房	状態		前検査				評価	
				長期治療歴	乳房硬結	菌分離	乳性状	SCC	DSCC	SCC低下	乳性状改善
ショート乾乳群	A	2産	乾1	あり	なし	なし	悪	高	高	×	×
	A	2産	乾2	あり	なし	なし	悪	高	高	×	×
	A	2産	乾3	あり	なし	なし	悪	高	低	×	○
短期群	A	3産	短1	あり	なし	なし	悪	高	高	○	×
	A	2産	短2	あり	なし	なし	悪	高	高	○	○
	B	3産	短3	あり	なし	Sd	悪	高	高	×→○※	×→○※
長期群	A	5産	長1	あり	あり	なし	悪	高	高	×	×
	A	2産	長2	なし	あり	なし	悪	高	低	○	×
	A	2産	長3	なし	あり	Kp	悪	高	低	ND	×

表4:結果まとめ
Sd: *Staphylococcus dysgalactiae*, Kp: *Klebsiella pneumoniae*
SCC低下...○:低下した、×:低下せず、乳性状改善...○:改善した、×:改善せず、ND:検査未実施
※約5日間PRP短期注入後、セフェム系乳房感染改善剤を注入し3日間乾乳したところ、SCCが低下し乳性状改善、再発なし。

PRP 治療の効果判定については、今回は例数が少ないため、更なる症例が必要である。PRP 治療を適用する際の指標として、それまでの治療経過等を考慮しながら、SCC や DSCC、エコー所見の活用方法を検討したいと考える。また、現在、乾乳前の PRP 注入も開始しているため、泌乳期治療と併せて、有効な注入方法について検証していきたい。

本試験を機に当該農場では、薬感や牛床の細菌検査等を実施しており、PRP の効果的な活用と併せて総合的な乳房炎対策に取り組んでいきたい。

参考文献

Lange-Consiglio et al. : Journal of Dairy Science Vol.97 No.10, 2014

井上宣子, 菅原久枝, 田中秀和 : 第 92 回麻布獣医学会 一般学術演題 13

小坂英次郎, 國川尚子, 中野まどか : 北畜草会報 10 : 63-70, 2022

鈴木直樹 : 臨床獣医 October 20-27, 2021

山手智行, 松尾拓見 : 北海道獣医師会雑誌 66 卷 11 号 : 1-6, 2022