

原著論文

微細藻類 *Coccomyxa* 抽出物中多糖体成分の鼻腔内投与が 子豚の呼吸器系疾病に関与する抗体価に及ぼす影響

山田未知^{1,2)}・胡口桃子²⁾・菅野美樹夫³⁾・尾崎邦嗣⁴⁾・
大塚浩通³⁾・高橋俊彦^{1,2)}・末野 修⁵⁾・中辻浩喜^{1,2)}

¹⁾ 酪農学園大学農食環境学群 北海道江別市 069-8501

²⁾ 酪農学園大学酪農学部 北海道江別市 069-8501

³⁾ 酪農学園大学獣医学群 北海道江別市 069-8501

⁴⁾ 酪農学園フィールド教育研究センター 北海道江別市 069-8501

⁵⁾ 株式会社日健総本社 岐阜県羽島市 501-6255

連絡担当者：山田未知

TEL & Fax : 011-388-4865

E-mail : m-yamada@rakuno.ac.jp

【要 約】

微細藻類 *Coccomyxa* 抽出物多糖体溶液 (*Coccomyxa* 溶液) の鼻腔内投与が子豚の呼吸器疾病に関与する抗体価に及ぼす影響について、蒸留水または1% *Coccomyxa* 溶液を用いた対照区および試験区を設置して検討した。調査期間中の供試豚の発育は、投与開始から6週目(77~78日齢)の体重および4~6週の日平均増体量が対照区に比べ試験区で高い傾向を示した ($P<0.1$)。抗体価調査では、豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) および豚胸膜性肺炎 (APP) の抗体価は両区において陽性豚はみられなかった。また、豚サーコウイルス2型 (PCV2) 感染症の抗体価も両区とも低い値を示したが、マイコプラズマ性肺炎 (MPS) の抗体価は、対照区が試験区に比べ高い傾向を示し ($P<0.1$)、陽性率も高かった。よって *Coccomyxa* 溶液の鼻腔内投与は子豚の MPS 感染を低減させる可能性が考えられた。

キーワード : *Coccomyxa*、子豚、呼吸器系疾病抗体価

【緒 言】

日本における養豚生産現場では、生産性を低下させる慢性疾病の浸潤が課題となっており [12, 24]、衛生環境の整備、清掃消毒の徹底、ワクチンや抗菌剤投与等の慢性疾病対策が行われている [9, 20]。一方、抗菌剤等に依存しない養豚業推進のために、いくつかの生産性向上を目指した研究が行われている [21-23, 26]。

著者らも、抗菌剤等に依存しない養豚業推進のために、ヒトの単純ヘルペスウイルス I 型や A 型インフルエンザウイルス等に対して抗ウイルス活性が高く [4, 6, 8]、鶏では伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスの増殖抑制が報告されている微細藻類 *Coccomyxa* 抽出物多糖体 [2, 7] 投与が豚慢性疾病対策資材として活用が期待できると考え、同多糖体溶液の子豚への投与による発育や血液成分および免疫関連遺伝子発現に及ぼす影響について検討した [25]。その結果、同多糖体の鼻腔内投与を行った供試豚に比べ、蒸留水のみ投与を行った供試豚で炎症性生理

受付：2019年7月15日

受理：2019年9月24日

学的反応が強く現れたことを報告した [25]。著者らが実験を行った養豚施設では冬場において発咳がみられる豚が確認できることから、この炎症性生理学的反応は呼吸器系疾病の常在に起因するものと考えた。

そこで本研究では、*Coccomyxa* 溶液の鼻腔内投与の有無による炎症性生理学的反応の差の要因を検討するため、*Coccomyxa* 溶液の鼻腔内投与が子豚の呼吸器系疾病に関与する抗体価に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】

1. 調査方法

本研究は、酪農学園豚コンベンショナル農場において、2014年1月7日から3月31日にかけて実施した。供試豚には繁殖雌豚2腹から生産された生後35～36日齢のWLD去勢雄8頭および雌4頭、計12頭を用いた。これらの豚は、蒸留水を用いた対照区と1% (W/V) *Coccomyxa* 抽出物多糖体 (アジュバン-EX, 日健製薬工業株式会社) を蒸留水に溶解した溶液を用いた試験区に、1腹目は各区に去勢雄および雌各1頭の計2頭ずつ、2腹目は各区に去勢雄3頭、雌1頭の計4頭ずつを配置し、腹ごとに両区の豚を同一豚房で同居させた。供試豚には開始後6週目 (生後77～78日齢) まで、各溶液を毎日鼻腔内噴霧し、開始2週目、4週目、6週目に体重測定を行うとともに、6週目にはプレイン採血管にて外頸静脈より採血を行った。なお、本研究に用いた子豚およびその子豚を娩出した母豚へのワクチン接種は行っていない。

一方、これまでに *Coccomyxa* 抽出物多糖体の抗ウイルス活性を検討した研究 [2, 8] において用いられた多糖体は *Coccomyxa* 藻体からアルカリ溶液で抽出した酸性多糖体である [6]。しかし、本研究で用いた同多糖体は *Coccomyxa* 藻体から熱水でのみ抽出した多糖体 (アジュバン-EX) を用いたため、その栄養成分や構成糖の割合についてもロットの異なる2サンプルを用いて調査を行った。栄養成分については常法 [13] に基づき分析を行った。また、同多糖体の構成糖の分析については既存の報告 [5] をもとに、グルコース、ガラクトース、マンノース、リボース、アラビノース、キシロース、ラムノース、フコース、ガラクトン酸およびグ

ルクロン酸量について定量を行った。

これらの定量では、Saeman らの方法 [16] に準じて試料の加水分解を行い、メンブランフィルター (孔径 $0.45\mu\text{L}$, PALL Corporation) でろ過を行ったものを試験溶液として、高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC) により定量した。なお、HPLC の機種及び測定条件は構成糖の種類により異なるため、それらについては以下に示した。すなわち、グルコース、ガラクトース、マンノース、リボース、アラビノース、キシロース、ラムノース、フコース定量の HPLC は LC-20AD (株式会社島津製作所)、カラムは TSKgel SugarAXI (ϕ $4.6\text{mm} \times 150\text{mm}$, 東ソー株式会社)、検出器は蛍光検出器 (RF-20AXS, 株式会社島津製作所)、移動相は 0.5mol/L ホウ酸緩衝液 (pH 8.7) を用い、流量 0.4mL/分 、カラム温度 60°C 、試料注入量 $20\mu\text{L}$ の条件で測定した。また、ガラクトン酸およびグルクロン酸定量の HPLC は ICS-3000 (日本ダイオネクス株式会社)、カラムは CarboPac PA1 (ϕ $4.0\text{mm} \times 250\text{mm}$, サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社)、検出器はパルスドアンペロメトリー検出器 (ED, 日本ダイオネクス株式会社)、移動相は 0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液および 0.1mol/L 酢酸ナトリウム混合溶液 (1:1) を用い、流量 1mL/分 、カラム温度 32°C 、試料注入量 $5\mu\text{L}$ の条件で測定した。なお、各糖の構成割合は、可溶性無窒素物含量に対する割合として示した。

2. 呼吸器疾病抗体価の測定

採取した血液を遠心分離 ($3,000\text{rpm}$ 10分間) 後、上清を抗体価測定試料とした。

対象疾病はサーコウイルス2型感染症 (PCV2)、豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS)、豚マイコプラズマ性肺炎 (MPS)、豚胸膜性肺炎 (APP) とした。各疾病抗体価は、PCV2では SERELISA PCV2 Ab (SYMBIOTICS 社) 抗体測定キットを用いた ELISA 競合法、PRRSでは PRRS X3 エリーザキット (IDEXX 社) を用いた ELISA 法、MPSでは p46 特異抗体に対するモノクローナル抗体と p46 リコンビナント蛋白を用いたダブルサンドイッチ ELISA 法 [11]、APPでは日生研アグテック

AP2（日生研株式会社）を用いた血清型2型ラテックス凝集抗体価測定法により測定した。また、各抗体陽性の基準は、プロトコールの記載どおり PRRS は ELISA の S/P 比が 0.4 以上、MPS は ELISA 抗体価が 0.2 以上、APP はラテックス凝集抗体価が 8 倍以上とした。なお、PCV2 についてはプロトコール上の抗体陽性基準がなかったため、抗体陽性または陰性の判断は行わなかった。

3. 統計処理

本研究では、各区とも同腹豚の去勢雄及び雌の頭数を同数配置した。このことから、各区における 2 週間ごとの体重と一日平均増体量、APP を除く PCV2、PRRS および MPS の抗体価については去勢雄および雌をまとめて統計処理して、処理区間データの差の検定については、Student または Welch の t 検定により実施した。なお、PCV2 における抗体価では、検出限界の 1.60 未満の個体が存在したことから、抗体価が 1.60 未満の個体については抗体価 1.60 として統計処理を行った。

4. 動物実験の承認

本研究は酪農学園大学動物実験委員会の承認を得て（承認番号 DH25B1）、酪農学園大学動物実験指針、酪農学園大学実験動物の飼養および保管に関する基準に基づき実施した。

【結果】

1. *Coccomyxa* 抽出物多糖体の栄養成分および糖構成割合

本研究で用いた *Coccomyxa* 抽出物多糖体の栄養成分および主要な含有糖類割合を表 1 に示した。

同多糖体の乾物中栄養成分では粗タンパク質が $27.3 \pm 0.0\%$ 、粗脂肪が $0.7 \pm 0.1\%$ 、可溶性無窒素物が $57.4 \pm 0.0\%$ 、粗繊維が $0.9 \pm 0.2\%$ 、粗灰分が $13.8 \pm 0.1\%$ と可溶性無窒素物が最も高い値を示し、次いで粗タンパク質、粗灰分の順に高く、粗繊維と粗脂肪は低い値を示していた。

また、同多糖体における可溶性無窒素物に対する主要な含有糖類割合では、グルコースが $56.1 \pm 0.5\%$ 、ガラクトースが $0.5 \pm 0.0\%$ 、マンノースが $6.6 \pm 0.0\%$ 、リボースが $1.4 \pm 0.0\%$ 、キシロースが $0.6 \pm 0.1\%$ 、ラムノースが $0.5 \pm 0.0\%$ 、グルクロン酸が $0.8 \pm 0.1\%$ であり、グルコースが最も高い値を示し、次いでマンノース、リボース、グルクロン酸、キシロース、ガラクトースおよびラムノースの順で高い値を示したが、アラビノースとフコース、ガラクトン酸は検出限界以下であった。

2. 発育調査

各区供試豚の発育成績を表 2 に示した。

試験開始時（35～36 日齢）の体重は両区とも平均 9.5kg であった。また、試験開始後 2 週

表 1 微細藻類 *Coccomyxa* 抽出物多糖体の栄養成分と含有糖類割合（乾物）

乾物含量 (%)	一般組成割合 (%)					
	粗タンパク質	粗脂肪	可溶性無窒素物	粗繊維	粗灰分	
90.4 ± 0.1	27.3 ± 0.0	0.7 ± 0.1	57.4 ± 0.0	0.9 ± 0.2	13.8 ± 0.1	
可溶性無窒素物含量中の主な糖含量割合						
グルコース	ガラクトース	マンノース	リボース	キシロース	ラムノース	グルクロン酸
56.1 ± 0.5	0.5 ± 0.0	6.6 ± 0.0	1.4 ± 0.0	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.8 ± 0.1

平均値 ± 標準偏差 (n=2).

アラビノース、フコース、ガラクトン酸は検出限界以下（検出限界 < 0.2%）

目(49~50日齢)および4週目(63~64日齢)においても両区間の体重に有意な差はみられなかったが、6週目(77~78日齢)では対照区が39.0 ± 3.0 kg、試験区が42.0 ± 2.2 kgと対照区に比べ試験区で高い傾向を示した(P<0.1)。また、一日平均増体量は0~2週、2~4週で

は両区間には有意な差はみられなかったが、4~6週では対照区が791.7 ± 104.5 g、試験区が928.6 ± 94.5 gと対照区に比べ試験区で高い傾向がみられた(P<0.1)。

表2 Coccomyxa溶液の鼻腔内噴霧期間中における子豚の体重変化

		対照区	試験区	P値
供試頭数(頭)	雌	2	2	
	去勢雄	4	4	
体重(kg)	開始時 (35-36日齢)	9.5 ± 1.2	9.5 ± 1.9	0.9845
	2週目 (49-50日齢)	16.8 ± 1.6	16.8 ± 3.1	0.9544
	4週目 (63-64日齢)	27.9 ± 2.2	27.6 ± 4.5	0.8747
	6週目 (77-78日齢)	39.0 ± 3.0	42.0 ± 2.2	0.0905
	一日平均増体量(g)			
	0-2週間	527.1 ± 100.5	519.9 ± 95.6	0.9002
	2-4週間	791.7 ± 124.6	773.8 ± 174.5	0.8426
	4-6週間	791.7 ± 104.5	928.6 ± 94.5	0.0504

平均値 ± 標準偏差

表3 Coccomyxa溶液の鼻腔内噴霧が子豚の血清中呼吸器疾病抗体価に及ぼす影響

区	No.	性	PCV2	PRRS	MPS	APP
対照区	1	♀	1.90	0.01 (陰性)	1.527 (陽性)	<8 (陰性)
	2	♂	1.90	0.00 (陰性)	0.385 (陽性)	<8 (陰性)
	3	♀	1.98	0.00 (陰性)	0.054 (陰性)	<8 (陰性)
	4	♂	1.76	0.00 (陰性)	0.462 (陽性)	<8 (陰性)
	5	♂	<1.60	0.00 (陰性)	0.574 (陽性)	<8 (陰性)
	6	♂	<1.60	0.00 (陰性)	0.524 (陽性)	<8 (陰性)
抗体陽性率(%)			—	0.0	83.3	0.0
試験区	1	♀	2.08	0.00 (陰性)	0.187 (陰性)	<8 (陰性)
	2	♂	1.90	0.01 (陰性)	0.017 (陰性)	<8 (陰性)
	3	♀	1.90	0.00 (陰性)	0.108 (陰性)	<8 (陰性)
	4	♂	1.93	0.00 (陰性)	0.043 (陰性)	<8 (陰性)
	5	♂	1.94	0.00 (陰性)	0.187 (陰性)	<8 (陰性)
	6	♂	1.77	0.00 (陰性)	0.295 (陽性)	<8 (陰性)
抗体陽性率(%)			—	0.0	16.7	0.0
P値			0.1268	1.000	0.0824	—

PCV2: 豚サーコウイルスII型感染症

PRRS: 豚繁殖・呼吸障害症候群

MPS: 豚マイコプラズマ肺炎

APP: 豚胸膜肺炎

3. 抗体価測定調査

両区豚における鼻腔内投与開始6週目(77~78日齢)のPCV2、PRRS、MPSおよびAPPの抗体価を表3に示した。

PRRSの抗体価は0.01が両区とも各1頭ずつみられたが、その他の豚は両区ともゼロを示し、両区間に有意な差はみられなかった。またAPPにおいても抗体価は両区とも全ての供試豚で8倍未満を示し、PRRSおよびAPPともに抗体陽性率は両区とも0%であった。

PCV2では、対照区の抗体価が1.60未満の豚が2頭みられたが、その他の豚は1.76~1.98であり、試験区の抗体価も1.77~2.08と両区ともほぼ同じ値を示し、両区間に有意な差はみられなかった。

MPSの抗体価は、対照区で0.054と低い値を示した豚が1頭みられた。しかし、その他の豚は0.385~1.527と高い値を示し、抗体陽性率は83.3%であった。一方、試験区の抗体価は0.295と高い値を示した豚が1頭みられたものの、その他の豚は0.017~0.187と低い値を示し、抗体陽性率は16.7%であり、対照区の抗体価は試験区に比べ高い傾向を示していた($P<0.1$)。

[考察]

これまでに *Coccomyxa* 抽出物多糖体の抗ウイルス活性を検討した研究 [2, 8] で用いられた酸性多糖体の主たる構成糖成分はガラクトース、マンノース、グルコース、アラビノース、キシロース、ラムノースであり [8]、これら糖類が抗ウイルス活性を示すことが報告されている [2, 4, 6-8]。現在は、熱水抽出のみで同多糖体を抽出する方法が新たに開発され、本研究ではこの抽出法にて製造された多糖体を用いた。このため、本研究では新たな抽出法にて抽出された同抽出物多糖体の栄養成分とその主要な含有糖類割合について調査を行った。その結果、この抽出物多糖体の栄養成分は可溶性無窒素物含量がその多くを占め、次いで粗タンパク質、粗灰分の順で含量が高く、粗脂肪と粗繊維含量が低いものであった。なお、本抽出物多糖体中の粗脂肪含量が極めて低い値を示したのは、アルカリ溶液による酸性多糖体抽出 [6] と同様、抗ウイルス活性向上のため、製造の際に脱脂工程を複数回実施しているためと考える。また、

可溶性無窒素物に対する主要な含有糖類割合では、グルコースが最も高い値を示すとともに、その割合は可溶性無窒素物の半分以上を占め、次いでマンノースが高い値を示したことは、*Coccomyxa* 藻体における糖構成の報告 [5] とほぼ同様な結果であった。さらに、今回の栄養成分組成および主要な含有糖類割合の分析値においてもばらつきが少なかったことから、本研究で使用した多糖体の抽出方法は、精度が高く、*Coccomyxa* 藻体の多糖体を十分に抽出でき、その主要な糖類はグルコースであることが確認できた。

一方、子豚において PRRS、MPS、APP の母豚からの移行抗体消失時期はそれぞれ4週齢、6~9週齢、6~10週齢であることが報告されており [3]、PCV2の移行抗体は通常4週齢~12週齢にかけて低下することが示されている [1, 15]。本研究においてはPCRによる各病原体の有無にかかる遺伝子検査は行っていないため、感染の確定には至らないものの、抗体価測定のための採血を行った時期は試験開始後6週目の11週齢(77~78日齢)であり、それぞれの移行抗体消失時期はほぼ過ぎていることから、本研究で検出される抗体価の差は、各疾病の原因病原体による野外の水平感染の有無によりみられる現象であるものと考えられる。

本研究における抗体価の結果では、PRRSおよびAPPにおいてその抗体価は両区とも低い値を示し、両区間に差はなく、抗体陽性豚もみられなかったことから、本研究に供試した豚は両区ともに PRRS および APP への感染は低かったもの考える。

また、PCV2では対照区で抗体価1.60未満の豚が2頭みられたものの、その他の豚は両区ともほぼ同じ値を示し、両区間に差はなかった。本研究の77~78日齢の抗体価は、日本のコマーシャル農場での離乳子豚のPCV2感染状況を日齢ごとに検討している Sasaki らの報告 [17] における抗体価の最低値(39~46日齢)とほぼ同じ値であり、同報告 [17] の78日齢の抗体価に比べても極めて低いものであったことから、本研究における両区のPCV2感染の可能性も低いことが考えられた。

一方、MPSの抗体価は、試験区に比べ対照

区が高い傾向を示し、抗体陽性率も対照区が83.3%、試験区が16.7%と対照区で高い値を示した。

Coccomyxa 抽出物多糖体は、ヒトA型インフルエンザウイルスと結合して、ウイルスが宿主細胞に吸着・侵入することを物理的に阻害することにより、同ウイルスの増殖を抑制することが報告されている [6, 8]。また、鶏ファブリキウス囊病ウイルスに対しては、鶏末梢血単核細胞を活性化し、脾臓リンパ球およびDT-40の細胞の増加を促進させるとともに、同ウイルス粒子の非活性化または吸着を阻害し、その複製を抑制することが報告されている [2, 7]。すなわち、*Coccomyxa* 抽出物多糖体はウイルスに対して物理的に宿主細胞への吸着と侵入を阻害することによりウイルスの増殖を抑制するとともに、投与された動物の免疫活性を有する物質と考えられる。これまでの報告は病原性ウイルスに対する *Coccomyxa* 抽出物多糖体の作用を検討したものであるが [2, 8]、本研究ではMPSに対する増殖抑制効果が期待できる可能性が考えられた。本研究における *Coccomyxa* 抽出物多糖体投与による MPS 抗体価低下の要因については、既存研究 [2, 8] とは原因病原体の形状の違いはあるものの、これまでの報告 [2, 6-8] と同様、*Coccomyxa* 抽出物多糖体の宿主細胞への物理的侵入阻害作用による原因病原体の増殖抑制や、投与動物の免疫能活性化作用が要因として現れた現象の可能性が考えられるが、この要因については今後の検討課題とした。

また、本研究における供試豚は、試験開始6週目の体重と4~6週の日平均増体量が対照区に比べ試験区で高い傾向がみられた。MPSの移行抗体消失時期は6~9週齢であることから [3]、本研究における対照区の供試豚は移行抗体の消失とともにMPSに感染して抗体陽性率が高くなったものの、試験区の供試豚は *Coccomyxa* 溶液の鼻腔内投与によりMPSの感染が防御されたことにより抗体陽性率が低い値を示し、結果として試験開始6週目の体重と4~6週の日平均増体量に影響を与えた可能性が示唆された。

一方、秋から冬にかけて *Coccomyxa* 溶液の鼻腔内投与により子豚の発育、血液成分および

免疫関連遺伝子発現に及ぼす影響を検討した著者らの報告 [25] では、発育成績において *Coccomyxa* 溶液の鼻腔内投与の有無による差はみられなかった。しかし冬場を実施した本研究においては試験開始6週目の体重と4~6週の日平均増体量が対照区に比べ試験区で高い傾向がみられた。野外における肺炎の発症は晩秋から初春の寒冷期における急激な寒冷感作により誘発され [18]、冬場は豚の体力や抵抗性が低下し、呼吸器粘膜が弱くなること、さらには換気不良により畜舎環境が悪化し、冬場のマイコプラズマ肺炎 (MPS) は重篤化することが報告されている [27]。このことから、冬場を実施した本研究の供試豚は、秋から冬にかけて実施した著者らの研究 [25] の供試豚に比べ、環境悪化や呼吸器粘膜の脆弱化等によって、MPS 病原体の宿主細胞への侵入による病原体の増殖が促進されるほかに、供試豚の免疫力の低下が起り、結果としてMPS感染が高まったものの、試験区の豚については *Coccomyxa* 溶液の鼻腔内投与によってMPS感染防御が図られ、結果として対照区との間に発育上の差が現れた可能性が考えられた。

MPSの原因菌である *Mycoplasma hyopneumoniae* の感染は移行抗体が消失する1~2ヶ月齢以降に起こっているものと考えられており [14]、本研究ではこの移行抗体消失時期を考慮して35~36日齢の子豚に対して *Coccomyxa* 溶液の鼻腔内投与を開始した。しかし、MPSについてはキャリア母豚から哺乳豚への垂直感染が起こることも報告されている [10, 19]。このため、MPS対策としては哺乳豚の時期からの対策が必要と考え、その対策として鼻腔を介した刺激が粘膜免疫を効率よく疾病感染防御に誘導あるいは増強できる可能性が考えられる *Coccomyxa* 抽出物多糖体溶液の鼻腔内投与は有効な方法であると考えられた。今後は *Coccomyxa* 抽出物多糖体のMPS感染防御の機序や効率的な投与方法について詳細な検討が必要であると考えられる。

また、本研究において使用した豚コンベンショナル農場ではPRRS、APPおよびPCV2の各原因病原体に対する抗体価は低く、これら疾病の感染の可能性は低かったため、*Coccomyxa* 抽出物多糖体がこれら疾病の感染抑制に関与し

ているかについては確認できなかった。さらに、MPSについても前述のとおりPCRによる各病原体の有無にかかる遺伝子検査は行っていない。したがって、今後は、*Coccomyxa* 抽出物多糖体の豚慢性疾病原因ウイルスまたは細菌に対する増殖抑制能について詳細な検討が必要であるものと考ええる。

【謝辞】

本研究にご協力いただきました本学中小家畜飼養学研究室学生諸君に感謝いたします。また、本多糖体の成分分析等にご協力いただきました一般財団法人日本食品分析センター 千歳研究所 福岡里菜氏をはじめとする同研究所職員の皆様に感謝申し上げます。

【引用文献】

- [1] Allan, G.M., McNeilly, F., McNair, I., Meehan, B., Marshall, M., Ellis, J., Lasagna, C., Boriosi, G., Krakowka, S., Reynaud, G., Boeuf-Tedeschi, L., Bublot, M., Charreyre, C. 2002. Passive transfer of maternal antibodies to PCV2 protects against development of post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS): Experimental infections and a field study. *Pig J.* 50: 59-67.
- [2] Guo, Q., Shao, Q., Xu, W., Rui, L., Sumi, R., Eguchi, F., Li, Z. 2017. Immunomodulatory and anti-IBDV activities of the polysaccharide AEX from *Coccomyxa gloeobotrydiformis*. *Mar Drugs.* 15: 36-50.
- [3] 石川弘道. 2005. すぐに役立つ現場の豚病対策. 第4章豚病コントロールの考え方、9. 適切なワクチネーションプログラムの実施. 103-109. 有限会社ベネット. 東京.
- [4] 株式会社日健総本社. 2005. 抗ウイルス剤. 特開 2005-247757.
- [5] 株式会社日健総本社. 2006. 多糖体の製造方法. 特開 2006-50919.
- [6] 株式会社日健総本社. 2014. 抗ウイルス剤及びその製法. 特許第 559716.
- [7] 株式会社日健総本社. 2016. 動物ウイルスに対する抗ウイルス剤. 特開 2016-164129.
- [8] Komatsu, T., Kido, N., Sugiyama, T., Yokochi, T. 2012. Antiviral activity of acidic polysaccharides from *Coccomyxa gloeobotrydiformis*, a green alga, against an *in vitro* human influenza A virus infection. *Immunopharm Immunot. Early Online.* 1-7.
- [9] 今田哲雄・齋藤常幸・須藤英紀・石川俊幸・池田 等・川村信雄. 2003. 養豚一環経営の肉豚事故率別における内臓等廃棄率の比較. *日豚会誌.* 40: 73-76.
- [10] Maes D., Segales J., Meyns T., Sibila M., Pieters M., Haesebrouck F. 2008. Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. *Vet Microbiol.* 126: 297-309.
- [11] 森 康行. 1995. マウス IgA 単クローン抗体を用いる豚マイコプラズマ肺炎の診断. 特許番号 2081637.
- [12] 成田 寛, 中澤宗生. 1999. 「IV 臨床病理 6. 日和見感染・混合感染」. *豚病学.* 第四版. 155-160. 株式会社近代出版. 東京.
- [13] 農林水産省消費・安全局長. 2008. 第3章 一般成分及びデタージェント繊維. 飼料分析基準. 5-14. 平成 20 年 4 月 1 日・19 消安第 14729 号. 農林水産省消費・安全局長通知.
- [14] 岡田宗典, 林 洋一, 浅井鉄夫, 柴田 勲, 平井秀敏, 阪野哲也, 佐藤静夫. わが国の豚における *Mycoplasma hyopneumoniae* の抗体調査. 2000. *日獣会誌.* 53: 441-445.
- [15] Opriessnig, T., Yu, S., Thacker, E.L., Halbur P.G. 2004. Derivation of porcine circovirus type 2-negative pigs from positive breeding herds. *J Swine Health Prod.* 12: 186-191.
- [16] Saeman J.F., Moore W.E., Mitchell R.L., Millett M.A. 1954. Technique for the determination of pulp constituents by quantitative paper chromatography. *Tappi.* 37. 336-343.
- [17] Sasaki, K., Tsukahara, T., Taira, O., Tsuchiya, K., Itoh, M., Ushida, K. 2010. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 in piglets after weaning on a commercial pig farm in Japan. *Anim. Sci. J.* 81: 135-141.
- [18] Scheidt AB, Mayrose VB, Hill MA, Clark LK, Einstein ME, Frantz SF, Runnels LJ, Knox KE Scheidt A.B., Mayrose V.B., Hill M.A., Clark L.K., Einstein M.E., Frantz S.F., Runnels L.J., Knox K.E. 1992. Relationship to growth performance of pneumonia and atrophic rhinitis lesions detected in pigs at slaughter among four seasons. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 200:1492-1496.
- [19] Sibila M, Nofrarias M, López-Soria S, Segalés J, Riera P, Llopart D, Calsamiglia M. 2007. Exploratory field study on *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in suckling pigs. *Vet Microbiol.* 12: 352-356.
- [20] 白石光伸・久保 尚・田中 博・高橋嘉男・松田 均. 1992. と畜検査データに基づく養豚農家における豚マイコプラズマ肺炎の防除対策. *日獣会誌.* 45: 881-884.
- [21] 設楽 修, 忽那圭子. 2009. 抗菌性飼料添加物

- 無添加飼料への乳酸菌製剤添加が肥育豚の発育、血液性状および糞便内細菌数に及ぼす影響. 日豚会誌. 46 : 144-151.
- [22] Song, M., Liu, Y., Soares, J.A., Che, T.M., Osuna, O., Maddox, C.W. 2012. Dietary clays alleviate diarrhea of weaned pigs. *J Anim Sci.* 90: 345-360.
- [23] 鈴木啓一、小野寺渉、熊谷圭子、加地拓己、清水ゆう子、吉野淳良、須田義人、小林 仁. 2009. 海藻, β グルカン, 酵母の飼料添加給与が育成豚の発育, 免疫能に及ぼす影響. 日畜会報. 80 : 27-34.
- [24] 宇田耕三、青笹悟. 1993. 導入豚の慢性疾病浸潤状況とその対策. 養豚の友. 294 : 16-21.
- [25] 山田未知、胡口桃子、菅野美樹夫、尾崎邦嗣、大塚浩通、高橋俊彦、末野 修、中辻浩喜. 2018. 微細藻類 *Coccomyxa* 抽出物多糖体鼻腔内噴霧が子豚の発育、血液成分および免疫関連遺伝子発現に及ぼす影響. 家畜感染症学会誌. 7 : 11-19.
- [26] Yan, C., Wang, K., Chen, L., He, Y.M., Tang, Z.X. 2012. Effects of feeding an herbal preparation to sows on immunological performance of offspring. *J Anim Sci.* 90: 3778-3782.
- [27] 横関正直. 1990. 養豚問答 衛生管理を見直す. 月刊養豚界. 25 (12) : 60-63.

Effect of intranasal administration of mist solution containing *Coccomyxa gloeobotrydiformis* polysaccharide components on the titers of antibodies related to respiratory diseases in piglets

Michi Yamada^{1,2}, Momoko Koguchi², Mikio Sugano³, Kunitsugu Ozaki⁴,
Hiromichi Ohtsuka³, Toshihiko Takahashi^{1,2}, Osamu Sueno⁵ and Hiroki Nakatsuji^{1,2}

¹ College of Agriculture, Food and Environment Sciences,
Rakuno Gakuen University, Ebetsu-shi 069-8501, Japan

² Faculty of Daily Science, Rakuno Gakuen University,
Ebetsu-shi 069-8501, Japan

³ School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Ebetsu-shi, 069-8501, Japan

⁴ Rakuno Gakuen Field Education and Research Center,
Ebetsu-shi 069-8501, Japan

⁵ Nikken Sohonsa Corporation, Hashima-shi 501-6255, Japan

Representative Author: Michi Yamada

TEL & Fax : 011-388-4865

E-mail : m-yamada@rakuno.ac.jp

[Abstract]

To examine its usefulness as a measure of chronic illness, we evaluated the effect of intranasal administration of a mist solution containing polysaccharide components from *Coccomyxa gloeobotrydiformis*, a green alga, on the titers of antibodies produced during a variety of respiratory diseases in piglets. Twelve three-way crossbred (Landrace × Large White × Duroc) piglets (age, 35–36 days) with an average body weight of approximately 9.5 kg were divided into two groups in preparation for measurements of body weight gain and antibody titers. The piglets received either distilled water only (control group) or a distilled water solution containing 1% (W/V) polysaccharide derived from *Coccomyxa gloeobotrydiformis* (experimental group) sprayed into the nose daily for 6 weeks. The body weight at week 6 (age, 77–78 days), and the daily body weight gain between weeks 4 and 6, tended to be higher in the experimental group than in the control group ($P < 0.1$). The titers of antibodies directed against porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus, *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP), and porcine circovirus 2 (PCV2) were low in both groups at week 6. However, the titer of anti-*Mycoplasma hyopneumoniae* of swine (MPS) antibodies tended to be higher in the control group than in the experimental group ($P < 0.1$). The anti-MPS positivity rate was 83.3% in the control group and 16.7% in the experimental group.

Keywords: *Coccomyxa*, piglet, respiratory diseases antibody titers