

機関番号：12605

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20580351

研究課題名（和文）栄養学的アプローチによる家畜における繁殖率の向上

研究課題名（英文）Nutritional approach for the improvement of reproductive performance in domestic animals

研究代表者

田中 知己（TANAKA TOMOMI）

東京農工大学・大学院農学研究院・准教授

研究者番号：20272643

研究成果の概要（和文）：家畜の繁殖率向上は畜産物の生産性向上に直結する。今回、牛およびヤギにおける生殖活動調節に重要な役割を果たしている栄養状態に関連した血液中代謝関連物質に関する知見が得られた。そして、ヤギに対してそれらの物質の血中濃度上昇を促す給餌処置が性ホルモンの分泌亢進、卵胞発育数の増加および排卵数の増加を引き起こすことを明らかにした。家畜の繁殖率を向上させる上で今回の知見は、薬剤に頼らない最も自然で、倫理的および経済的な観点からも有効な新たな飼養管理技術が確立できることを示している。

研究成果の概要（英文）：Improvements in reproductive rate in domestic animals have profound positive effects on overall efficiency of production. The present study provided knowledge of the nutritional related substances regulating the reproductive activity in cows and goats. Nutritional management that induced a rise of blood levels of those substances promoted secretion of sex hormones, the number of growing follicles and ovulation rate in goats. These results indicate that novel and effective strategies for reproductive management as a natural, ethical and inexpensive tool being different from the medication treatment can be established from the nutritional point of view.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：獣医臨床繁殖学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・臨床獣医学

キーワード：栄養、繁殖、高栄養給餌、黄体形成ホルモン、グルコース、インスリン、ウシ、ヤギ

1. 研究開始当初の背景

世界的な乳牛の繁殖率低下傾向は深刻な状況になりつつある。この対策として、各種性ホルモン剤をプログラムの投与し、繁殖率を向上させる試みが国内外で盛んに行われている。一方、最近の生産者および消費者

からは、薬剤の使用をできるだけ制限した畜産物生産を望む声が高まっている。家畜では栄養条件が生殖ステージの様々な相において繁殖機能を調節していることが示唆されている。したがって、栄養管理の技術向上により家畜の繁殖率を高めることは社会

の要請に沿う最も有効な手段の一つと考えられるが、現在まで繁殖率向上に直結する学術的基盤に立った栄養管理技術の確立は極めて不十分な状況にある。

研究代表者は独自性の高い研究手法を用い、体内におけるグルコース利用性を制御することにより、生殖系の活性化を誘起できる可能性が極めて高いことを研究開始当初までに示していた。この原理を利用して家畜の繁殖機能を亢進させることができれば、薬剤に頼らない新たな飼養技術の確立に向けて極めてインパクトのある研究が展開できるものと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、旧来のホルモン剤に頼った方法に代わり、新たな切り口としてグルコース利用性の変化が生殖系を統御する中枢制御機構に作用する原理を利用し、栄養学的アプローチにより家畜の繁殖率を向上させる新たな飼養技術を確立することにある。

3. 研究の方法

全般的な研究方針として、ヤギでは研究上の作業仮説を検証して実現、実効性の高い新たな方法を提案し、その成果を踏まえ乳牛では現場での実践を考慮した応用性を実証した。処置はこれまでの成果および既報の文献を踏まえ、短期間の増餌による方法を基本とし、必要に応じてグルコース利用性を直接刺激するサプリメントの併用も考慮した。両家畜とも超音波画像診断装置により卵巢機能に及ぼす影響を評価した。卵胞および黄体の発育は日々変化するため、検査は連日または隔日を基本とした。グルコース利用性の上昇による繁殖機能刺激効果を確認するとともに、血中のグルコース濃度や性ホルモン濃度の変化を調べ、現象の観察にとどまらず、その科学的背景を調査した。

4. 研究成果

(1) 平成 20 年度の研究成果

【実験 1】飼料給与法として粗飼料および濃厚飼料をバランスよく急性的に増加させることで、雄ヒツジではグルコースおよびインスリン濃度が上昇し、下垂体からの性腺刺激ホルモン分泌が亢進することが報告されている。本実験では予備実験で得られた成果も考慮し、高栄養給餌による繁殖活動刺激効果における動物の栄養状態の良否の影響を検討した。卵巢を摘出したシバヤギを体重に基づき 2 群に分け、独自に考案したグルコースおよびインスリン濃度を上昇させる粗飼料と濃厚飼料からなる高栄養価飼料を給餌した。給餌処置開始前、開始後 3 日および開始後 7 日に 10 分間隔 6 時間で頸静脈より血液を採取し、黄体形成ホル

モン (LH) のパルス状分泌の変化を検討するとともに、血中グルコースおよびインスリン濃度の変化を調べて、それらの関連を検討した。また、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) に対する LH 分泌の感受性についても調査するため、高栄養給餌開始 7 日後に GnRH 類縁物質 $10 \mu\text{g}$ を静脈内に投与し、投与後の LH 分泌パターンを調べた。

その結果、高栄養給餌により両群においてインスリンおよびグルコース濃度が上昇し、LH 分泌頻度が亢進した。しかし、体重の違いによる両群間に有意な差は認められなかった。また、GnRH 投与後、両群において速やかに LH 濃度が上昇したものの、両群間で有意な差は認められなかった。高栄養処置による生殖内分泌系刺激効果は、動物の栄養状態によって大きく左右されないことが示唆された。

【実験 2】発情周期を回帰するシバヤギにおいて実験を行い、高栄養給餌が性ホルモン分泌および卵巢活動に及ぼす影響を検討した。黄体開花期から卵胞期に実験 1 と同様に 7 日間の高栄養給餌を行い、グルコースおよびインスリン分泌を刺激した。また、適宜超音波画像診断装置により卵巢における卵胞発育や黄体形成過程をモニターするとともに、採血を行って血中性ホルモン濃度に及ぼす影響を調べた。その結果、LH および卵胞刺激ホルモン分泌が亢進することを確認した (図 1)。一方、継続的に高栄養給餌を行ったにもかかわらず、グルコースおよびインスリン濃度の上昇は一過性であり、処置によって排卵数を増加させることはできなかった。また黄体期における卵胞発育波に関して、高栄養給餌による卵胞発育刺激効果も確認することができなかった。短期間の高栄養給餌によって卵巢活動を亢進させるためには、持続的にグルコースおよびインスリン分泌を刺激する方法の検討が必要であると思われた。

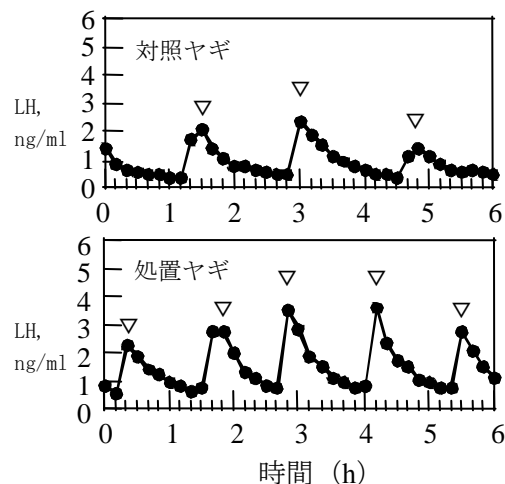


図 1: 高栄養給餌処置後の卵胞期における LH のパルス状分泌。対照 (上段) に比べて処

置ヤギ（下段）では LH のパルス状分泌頻度が亢進している。

(2) 平成 21 年度の研究成果

【実験 3】平成 20 年度の研究成果から飼料給与法として粗飼料および濃厚飼料をバランスよく 7 日間急性的に増加させることで、グルコースおよびインスリン濃度が上昇し、下垂体からの性腺刺激ホルモン分泌が亢進することを明らかにした。本実験では短期間の高栄養給餌によるパルス状 LH 分泌の亢進は血中グルコース濃度の上昇によるという仮説を検証した。卵巢を摘出したシバヤギを 2 群に分け、処置群には 50% グルコース溶液を 7.5ml/h の割合で持続投与した。対照群には生理食塩液を同様に投与した。LH のパルス状分泌を解析するため、投与前、投与後 3 日および 7 日に 10 分毎 6 時間の頻回採血を行い、血漿中 LH 濃度を測定した。その結果、処置群における投与後 1 日において有意な血中グルコース濃度の上昇が観察されたが、その後はグルコース溶液を持続投与しているにもかかわらず、対照群との間に有意な差は認められなかった。LH パルス頻度は投与前、投与後 3 日および 7 日のすべての日において、両群間に有意な差は認められなかった。以上の成績において本実験で掲げた仮説を支持する結果を得ることはできなかった。今回グルコース溶液を持続的に投与したにもかかわらず、一過性のみ血中グルコース濃度の上昇が認められたことから、投与法の検討の必要性が考えられた。

【実験 4】外生的なグルコース利用性増加処置が乳牛における卵巢活動におよぼす影響を検討した。本実験では、栄養状態の均一化をはかるため、未経産ホルスタイン種を用いた。処置群に排卵後 6 日～8 日の 3 日間糖生成前駆物質のプロピレングリコール (PG) を 1 日 1 回 250ml 経口投与した。そして、排卵後 10 日にプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ 15mg を筋肉内注射して黄体退行を誘起し、排卵後 10～12 の 3 日間再び PG 250ml を 1 日 2 回経口投与した。対照群には PG の代わりに水を投与した。その結果、処置群においてプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ 投与後 72 時間までの期間中、血中グルコース濃度が有意に上昇することが確認された。しかし、卵胞や黄体の発育状態、また卵胞期における血中エストラジオール濃度の上昇に両群間で有意な差は認められなかった。本実験手法では糖生成前駆物質を利用した繁殖機能刺激効果は確認できなかった。

(3) 平成 22 年度の研究成果

【実験 5】これまでの実験成績から短期間の高栄養処置による代謝系の刺激効果は一過

性であり、継続して続かないことが示唆された。そこで本実験では短期間の高栄養給餌を継続的ではなく間欠的に行い、より効果的な代謝系促進作用を期待し、発情周期における卵巢活動や性ホルモン分泌に促進的効果が得られるか検討した。発情周期を回帰する雌シバヤギを 2 群に分け、処置群には排卵後の黄体開花期および黄体退行期の 2 回に分けて間欠的に高栄養給餌を行った。その結果、栄養処置によって血中のグルコースおよびインスリン濃度が波状に上昇し、処置後の卵胞期において発育卵胞数および排卵数が増加することが明らかとなった（図 2）。よって、栄養と繁殖を結びつける役割を担っているグルコース利用性を制御することで、様々な繁殖ステージにおいても家畜の繁殖機能を活性化させ得ることが強く示唆された。

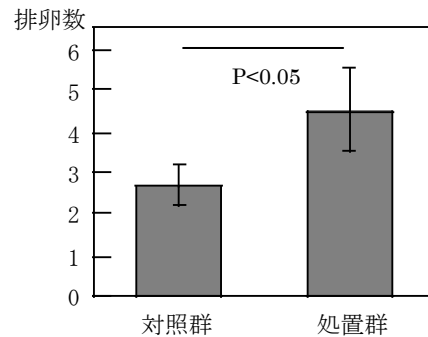


図 2：間欠的な高栄養給餌が処置後の卵胞期における排卵数に及ぼす影響。処置により排卵数が約 1.5 倍上昇する。

【実験 6】平成 21 年度の成績をもとに本実験では持続的な血中グルコース濃度の上昇が LH のパルス状分泌を亢進させるという仮説をたて、実験を行った。卵巢摘出したシバヤギを 2 群に分け、処置群にはグルコース溶液を頸静脈より投与し、対照群にはグルコース溶液の代わりに生理食塩液を投与した。グルコース溶液の投与は、投与量を徐々に増加させ、血中グルコースレベルが高い濃度で継続的に維持できるように設定した。その結果、投与前、投与後 3 日および 7 日における 10 分毎 6 時間の頻回採血において、LH のパルス状分泌パターンに変化は見られなかった。グルコース利用性が LH 分泌に及ぼす影響に関して、グルコースの継続的投与に加え間欠的投与についても検討する必要があると思われる。

(4) 研究全体を通しての総括

今回の研究によりヤギにおいて間欠的な高栄養給餌という方法を用い、血中のグルコースおよびインスリン濃度の上昇を効果的に誘起することができ、且つ、排卵数を増加

させる飼養管理法を提唱することができた。持続的な高栄養給餌では性ホルモン分泌の亢進は誘起できるものの卵巣活動に対する亢進作用は引き起こすことができなかった。したがって、高栄養給餌を行う際にも給餌の方法の違いによってグルコース利用性の反応が異なり、卵巣に及ぼす促進的な作用にも違いが認められた。高栄養給餌では、ホルモン分泌パターンのみを評価するのではなく、栄養条件によるグルコースおよびインスリン濃度の反応性や卵胞の発育も併せて詳細に検討する必要がある。

今回ウシにおけるプロピレングリコール投与によってグルコース濃度の上昇を誘起することが示されたが、卵巣活動に対する促進的に効果は認められなかった。ヤギにおける成績を評価すると、同じ反芻家畜であるウシにおいても栄養と繁殖を結びつける役割を担っているグルコース利用性を制御し、様々な繁殖ステージにおいても家畜の繁殖機能を活性化させ得ることが強く示唆される。ウシにおいても給餌方法による血中グルコースおよびインスリン濃度の変化を詳しく調べることが、栄養学的なアプローチによる繁殖率向上には必要であると思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

① J. Zabuli, T. Tanaka, W. Lu, H. Kamomae (2010) “Intermittent nutritional stimulus by short-term treatment of high-energy diet promotes ovarian performance together with increases in blood levels of glucose and insulin in cycling goats” *Animal Reproduction Science* 122:288-293 (査読有り)

② H. Takayama, T. Tanaka, H. Kamomae (2010) “Postpartum ovarian activity and uterine involution in non-seasonal Shiba goats, with or without nursing” *Small Ruminant Research* 88:62-66 (査読有り)

③ J. Zabuli, T. Tanaka, W. Lu, T. Kuroiwa, H. Kamomae (2009) “Responses of gonadotropin secretion to short-term dietary supplementation in ovariectomized goats with different body weights” *Animal Reproduction Science* 116:274-281 (査読有り)

④ S. Haruna, T. Kuroiwa, W. Lu, J. Zabuli, T. Tanaka, H. Kamomae (2009) “The effects of short-term nutritional stimulus before and after the luteolysis on metabolic status, reproductive hormones, and ovarian activity in goats.” *Journal of Reproduction and Development* 55:39-44 (査読有り)

⑤ T. Tanaka, M. Arai, S. Ohtani, S. Uemura, T. Kuroiwa, S. Kim, H. Kamomae (2008) “Influence of parity on follicular dynamics and resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows.” *Animal Reproduction Science* 108:134-143. (査読有り)

[学会発表] (計5件)

① 遠藤なつ美、永井清亮、田中知己、加茂前秀夫「泌乳牛と非泌乳牛の発情周期における卵巣と性ホルモン濃度の変化の比較」第103回日本繁殖生物学会、2010年9月4日、十和田市

② TANAKA Tomomi, KAMOMAE Hideo「Metabolic Control of Reproduction in Ruminants」2009年10月16日、KSVS International Symposium, Korea

③ 田中知己「家畜におけるネガティブまたはポジティブエネルギーバランスと繁殖機能」平成21年度栃木県牛受精卵移植技術研究会、2009年9月18日、那須塩原市

④ ZABULI Jahid, TANAKA Tomomi, LU Wengeng, HARUNA Satoko, KAMOMAE Hideo「Intermittent high-energy diet treatments promote ovarian performance together with increases in blood levels of insulin and glucose in cycling goats」第102回日本繁殖生物学会、2009年9月11日、奈良市

⑤ 梅木章成、魯文慶、田中知己、加茂前秀夫「未経産牛の黄体期から卵胞期におけるプロピレングリコール投与が卵巣機能に及ぼす影響」平成20年度日本獣医師会三学会、2009年1月23日、盛岡市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 知己 (TANAKA TOMOMI)

東京農工大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号：20272643