

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：12101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06375

研究課題名（和文）発達プログラミングを利用したウシのストレス感受性制御

研究課題名（英文）A possibility to reduce stress-sensitivity in cattle based on developmental programming.

研究代表者

須藤 まどか（Madoka, Sutoh）

茨城大学・農学部・教授

研究者番号：40355087

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、超早期の母子分離が慣行となっている乳用子ウシを対象に、母畜によるグルーミングを模した触覚刺激によるストレス感受性制御の可能性について検討した。その結果、出生直後から疑似グルーミング装置を用いることにより、新奇物に対する恐怖や社会的隔離によるHPA系活性亢進が軽減されることを明らかにした。また、このグルーミング様刺激による作用には、齧歯類で報告されているのと同様、末梢血中トリヨードサイロニン濃度の上昇が関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ラット・マウスでは、出生直後の短期間の環境要因制御により成長後のストレス感受性を変化させることが明らかにされているが、大型家畜の発達期環境とストレス感受性との関係に関する知見はまだきわめて少ない。本研究の成果は、ラット・マウスで得られた知見を応用してウシに「ストレス低感受」という形質を後天的に付与することの可能性を示すものであり、生産性とアニマルウェルフェアの両立に向けての新しいアプローチとなりうることを示すものである。

研究成果の概要（英文）：This study was conducted to investigate the possibility of controlling stress sensitivity in dairy calves, where very early separation of mother and calf is customary, by tactile stimulation that mimics maternal grooming. The results showed that the use of a pseudo-grooming device (automatic rotating brush) after birth reduced fear of a novel object and the increase in plasma cortisol concentration induced by psychological stress. The results also suggested that these effects of pseudo-grooming involve the increase in plasma triiodothyronin concentration, similar to that reported in rodents.

研究分野：家畜管理学

キーワード：ウシ ストレス感受性 グルーミング

## 1. 研究開始当初の背景

近年、家畜の飼養には、高い生産性に加えてアニマルウェルフェアが求められるようになってきている。アニマルウェルフェアは、日本では「家畜の快適性に配慮した管理」と意識され、その根幹を成すのは身体的および心理的ストレスの軽減である。しかし、生産コストや食品としての品質の面から、その対応には自ずと限界がある。従って、ストレスの排除だけでなく動物側からのアプローチ、すなわち、ストレス感受性の低い形質を選抜または獲得させることによって、生産性とアニマルウェルフェアのバランスをとることも必要だと考えられる。

個体のストレス感受性には、遺伝的要因だけでなく環境要因、特に神経系の発達が盛んな幼齢期の環境要因が影響することが明らかにされつつある。ラットでは、新生子期における母親の養育行動(グルーミング&リッキング)が、脳内セロトニン神経の活性化などを介して子の成熟後のストレス感受性を低下させることが知られている。また、母親によるグルーミングを模した人工的な触覚刺激でも、類似の効果が得られることが報告されている。これらの知見は、幼齢期の環境要因制御によって動物に「ストレス低感受性」という形質を付与できる可能性を示すものであり、家畜のストレス感受性制御技術への応用が期待できる。しかし、家畜のストレス感受性と発達期環境の関係に関する知見はまだきわめて少ない。

## 2. 研究の目的

乳用牛は、管理作業の効率化などの点から出生直後の母子分離が慣行となっている。しかし、ラットにおける母親のグルーミングと子のストレス感受性の関連性に関する知見に基づけば、早期の母子分離により母ウシによるグルーミングの機会を剥奪することは、子ウシのストレス感受性を高めることになっている可能性がある。そこで本研究では、新生子期のグルーミング様刺激によって子牛のストレス感受性が変化し、成長後も維持されるか否かを明らかにするとともに、その変化のメカニズムに関する基礎的知見を得ることを目的とする。具体的には、母親によるグルーミングを模した触覚刺激を与えることを目的に開発された「疑似グルーミング装置」(矢用, 2015)を用い、出生直後からのこの装置の利用が、新奇な物体や環境に対する行動反応およびHPA系の活性におよぼす影響とその持続性、ならびに脳内におけるストレス感受性調節因子のmRNA発現量におよぼす影響について明らかにする。また、グルーミングによる皮膚触覚刺激の多寡を中枢におけるストレス感受性調節に結びつける経路の一部として、すでにラットでの知見があるトリヨードサイロニンと、ウシで触覚刺激による分泌亢進が報告されているオキシトシンを候補とし、これらを新生子期に反復投与することで疑似グルーミング装置の使用と類似の効果が得られるか否かについて検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 疑似グルーミング装置の使用による子ウシのストレス感受性変化

子ウシ16頭(雄9頭・雌7頭)を供試し、疑似グルーミング装置を設置した単飼用ペン(疑似グルーミング区)または設置していない同サイズのペン(対照区)で出生直後から飼育した。4週齢(28日齢)において、飼育ペンの柵内に新奇物を設置し、新奇物に対する探索行動を設置後10分間観察した(新奇物呈示試験)。その翌日(29日齢)、前もって留置した頸静脈カテーテルよりコルチコトロピン放出ホルモン(CRH)溶液を投与し、投与前1.5時間から投与後2時間までの間、10~20分間隔で採血を行って、血漿中コルチゾール濃度を測定した(CRH負荷試験)。7週齢で離乳した後は4~5頭を1群として飼育し、約18週齢において新奇環境下での隔離という心理的ストレスを負荷した時の行動および血中コルチゾール濃度の変化を調べた(新奇環境下隔離試験)。この実験では、被験個体には前もって頸静脈カテーテルを装着し、ホームペン内で採血を行った上で入室経験のない実験施設内のペンに収容し、2分間隔の瞬間サンプリングによる行動の記録と20分間隔での採血を行った。さらに、これらの試験に供試した動物のうち雄6頭(疑似グルーミング区・対照区各3頭)については20~25週齢で薬殺し、視床下部、海馬、下垂体の採取を行った。

### (2) オキシトシンおよびトリヨードサイロニン( $T_3$ )の反復皮下投与による子ウシのストレス感受性変化

雄子ウシ6頭を供試し、22日齢から7日間にわたりオキシトシン溶液(OXT区;  $0.03 \mu\text{g}/\text{BWkg}$ )または生理食塩水(対照区)を1日1回頸部皮下に投与した。その後、(1)と同様の方法で新奇物呈示試験(28日齢)およびCRH負荷試験(29日齢)を行った。また、雌子ウシ6頭を供試し、4日齢から7日間にわたり $T_3$ 溶液( $T_3$ 区;  $1.0 \mu\text{g}/\text{BWkg}$ )または生理食塩水(対照区)を1日1回頸部皮下に投与した。その後、(1)と同様の方法で新奇物呈示試験(28日齢)およびCRH負荷試験(29日齢)を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 疑似グルーミング装置設置ペンに收容したすべての個体で、出生翌日から装置の使用が確認された。1日当たりの平均使用時間は5日齢で12.9分、その後漸増し6週齢では30.5分であった。4週齢における新奇物呈示試験では、雌のみにおいて、探索行動時間が疑似グルーミング区において有意に増加した(図1)。一方、CRH 負荷試験では、雌雄ともに末梢へのCRH 投与に対するコルチゾール濃度の反応性には区間差が認められなかったが、CRH 投与前1.5時間におけるコルチゾール基礎濃度が、雄では疑似グルーミング区が低かった(10.0±0.83, 24.6±2.06; P<0.05)。しかし、雌では同様の傾向は認められなかった(23.8±3.44, 17.0±0.93; P>0.10)。

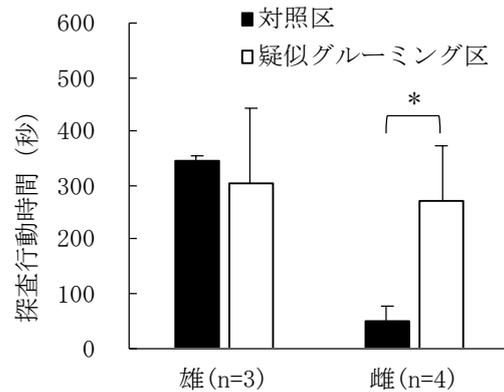


図1. 疑似グルーミング装置の使用が4週齢子ウシの新奇物に対する探索行動時間に及ぼす影響 (\*P<0.05)

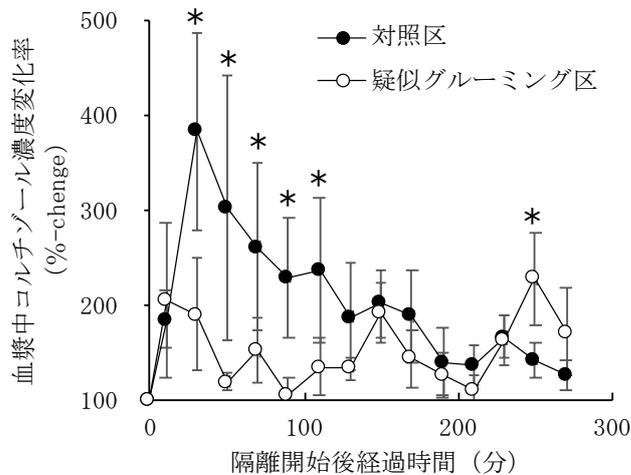


図2. 哺乳期における疑似グルーミング装置の使用が約18週齢での新奇環境下隔離による子ウシの血漿中コルチゾール濃度変化率に及ぼす影響 (雌; n=3; \*P<0.05)

(2) オキシトシンは新生子期の神経発達に関与する物質の一つと考えられており、母親との接触やブラッシングなどの触覚刺激によってその分泌が増加することが知られている(Uvnäs-Moberg et al., 2015)。しかし、3週齢でのオキシトシンの反復投与は、子ウシの新奇物呈示に対する行動反応、血中コルチゾール濃度の基礎値およびCRH 応答性のいずれに対しても明らかな影響を及ぼさなかった。また、ラットでは、グルーミング刺激とHPA系のストレス感受性を結ぶシグナルの一つが血中T<sub>3</sub>濃度の上昇であることが示唆されている(Hellstrom et al., 2012)が、生後4日齢からのT<sub>3</sub>投与は4週齢子ウシにおけるコルチゾール分泌には影響を及ぼさなかった。しかし、T<sub>3</sub>投与によって新奇物に対する探索行動の潜時が短縮する傾向が認められ(図3)、新奇性に対する恐怖の低減が示唆された。

約18週齢における新奇環境下隔離試験では、観察したすべての行動(歩行、探索、反芻、伏臥など)について、雌雄ともに全観察時間に対する行動時間割合に有意な区間差は認められなかった。血漿中コルチゾール濃度については、雌のみで、基礎値(隔離前)に対する隔離開始後の変化率が、疑似グルーミング区において有意に低かった(図2)。

これらの結果から、出生直後からグルーミング様の触覚刺激を受けることは、子ウシの新奇性に対するネガティブな情動やHPA系活性に抑制的な影響をおよぼすが、その影響の大きさや持続性には性差があることが明らかになった。

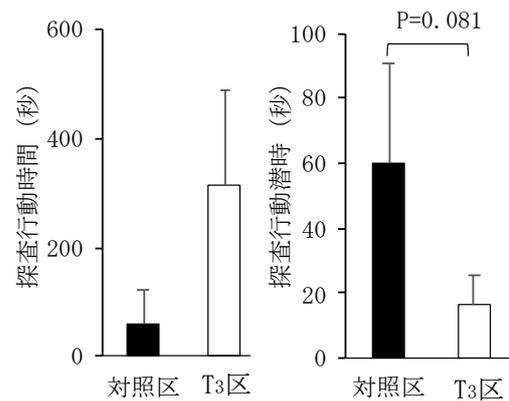


図3. 生後4~10日齢でのT<sub>3</sub>反復投与が4週齢子ウシの新奇物に対する探索行動行動に及ぼす影響 (雌; n=3)

#### <引用文献>

矢用健一, 2015. 特許第6449028号.

Uvnäs-Moberg, K. et al., 2015. *Frontiers in Psychology*, 01529.

Hellstrom, I.C. et al., 2021. *Philos. Trans. R. Soc. B.*, 369:2595-2510.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木美果、犬田未華、矢用健一、須藤まどか
2. 発表標題 疑似グルーミング装置の使用が幼齢子牛のHPA活性におよぼす影響
3. 学会等名 関東畜産学会第76回大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	矢用 健一  (Yayo Ken-ichi)  (40343967)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・主席研究員    (82111)	
研究分担者	小林 洋介  (Yousuke Kobayashi)  (60455318)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・主任研究員    (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------