

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 2 日現在

機関番号：41501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～2011

課題番号：21580322

研究課題名（和文） 自然免疫による家禽生産技術の評価と効率的生産技術構築

研究課題名（英文） Evaluation of poultry production techniques by innate immune and development of efficient production technologies

研究代表者 高橋 和昭（TAKAHASHI KAZUAKI）

公立大学法人山形県立米沢女子短期大学・健康栄養学科・教授

研究者番号：80183440

研究成果の概要（和文）：

ニワトリ腸環境を整え成長生産を促進する抗生物質型成長促進物質に変わる非抗生物質型成長促進物質を検索するための試験法を提案した。すなわち、孵化直後のヒナに試験物質を給与し5または14日後に小腸上部を採取し、自然免疫関連因子遺伝子発現を調査することにより、抗生物質代替品を検索できることを示した。

研究成果の概要（英文）：

A test method to search for non-antibiotic-type growth-promoting substances are proposed in order to mimic changes in intentional immune related mediators by feeding antibiotic growth promoters. That is, by the upper small intestine collected 5 or 14 days after the test substance fed to the chicks after hatching, to investigate the gene expression of innate immunity-related factors. In addition, we present better feeding time and substances after hatching to develop intestinal immune function well.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 ・ 畜産学・草地学

キーワード：家禽・畜産学・免疫学・ストレス・評価法

1. 研究開始当初の背景

(1) 免疫は特異的抗原を認識しない自然免疫と特異的抗原を認識する獲得免疫に大別され、相互に密接な関連を保ちつつ生体防御に関わっている。免疫能の活性化時には免疫担当細胞および急性期タンパク質、抗体など特異的物質の合成などのために摂取および体内蓄積栄養素の再分配が必要となる。すなわち、免疫機能活性時には、免疫系不活性時における成長、生産のための栄養素分配より

生体防御のための栄養素分配が多くなる。特に自然免疫系の活性化はある種の栄養素は最大 10-15%程度が生体防御のために使用され、かつ飼料摂取量の低下を招くことから飼料の生産への分配は 15%低下すると推定される。

(2) 自然免疫、特に、病原菌を殺菌する際の炎症応答が過度に活性化された場合には栄養素の損耗すなわち生産のための栄養素の損耗を生じるとともに、炎症応答は非特異的

であり異常細胞のみならず正常細胞にも生体自体への悪影響が知られている。炎症反応はインターロイキン (IL) 1-および腫瘍壊死因子 (TNF) α などの前炎症性サイトカインを初発の情報伝達因子として反応が進み、獲得免疫の調節にも関与する。従って、自然免疫の適切な調節は飼料栄養素の生産への有効な利用と生体防御の適切な発動に不可欠である。すなわち、自然免疫調節は、動物生産の効率的生産の根幹をなすと考えられる。

(3) 孵化後の腸管、体内とも免疫応答・機能は低く孵化後2週齢で成熟することから、免疫刺激時の孵化後2週間の免疫機能の適切な調節が、家禽の生産性向上には重要であることを明らかとした。家禽においては孵化後1-2週間の生存率や成長が、その後の成長や飼料利用性を規定することから、この時期の飼育管理法や飼料供給法は重要である。

(4) 飼料資源は有限であり、ヒトの食糧と競合する穀物を使用する家畜生産を考えた場合、安価な畜産物供給のためには、飼料資源の効率的利用のための家禽・家畜飼育技術の精密化は今後いっそう重要になる。さらに、畜産食品の低または無薬剤化は消費者ニーズであり、今後、家畜・家禽生産においても抗菌物質を使用しない生産手法が必要となる。低または無薬剤飼養条件下での、家禽・家畜の免疫機能の増進は、疾病を予防する見地から重要であり、動物福祉の基礎となる。

(5) 孵化後ヒナの健全な育成のために、鶏舎温度管理、飼育密度管理、適正な換気、給餌及び給水スペース、埃、アンモニア、二酸化炭素、過剰な水蒸気、敷き料、給水システム、水質、給餌システム、光線管理、衛生管理、ワクチンプログラム、飼料の質、光線管理など多くの点に注意を払って育成が行われている。特に、孵化後一週間の生育体重はその後の増体と体重の斉一性に影響することから、孵化後ヒナの栄養生理と飼育条件による栄養生理の変化との解明が進んでいる。また、近年、孵化直後飼育法の改良や孵化後専用飼料の開発など孵化後ヒナの育成法に注目が集まっている。孵化後の免疫機能の維持、増強に対して、現在の飼育管理法が適切であるのかの検討は充分になされていない。

2. 研究の目的

(1) 家禽・家畜の免疫機能及び応答の適切な制御は、疾病を予防する観点から重要であり、動物福祉や効率的生産の基礎となる。しかし、免疫系、特に自然免疫系の過度の活性化は、家禽・家畜の生産においては、生産に対する栄養素の分配を減少させる。

(2) 本研究では、自然免疫の適切な調節は飼料栄養素の生産への効率的利用に不可欠であるとの観点から、免疫刺激時の体内および腸管免疫系の適切な自然免疫活性化を自然免疫に関与する特異的な数種のパラメーターを用いて数値化し、標準化する。

(3) このことから定性的にしか理解されていない自然免疫反応を定量化し、家禽生産技術を免疫応答の観点から再評価する

3. 研究の方法

(1) 動物として孵化後のブロイラー雄 (ロス系) を用いた。大豆粕・トウモロコシを主体し、抗菌剤抗菌剤を含まない資料を基礎飼料とした。一日齢から基礎飼料 (抗菌剤無添加区) またはサリノマイシンナトリウムとエンラマイシンを含む飼料 (抗菌剤給与区) 15日間給与明日、3, 5, 8, 15日齢時に腸前部 (空腸上部) と腸後部 (回腸後部) を採取した。獲得免疫にかかわる CD3, IL-2, IFN-gamma 及び Bu-1mRNA 発現量そして自然免疫にかかわる TLR2 及び TLR-4mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法により測定した。

(2) 孵化後すぐ、24時間、48時間後に飼料給与を開始する。そして免疫機能・応答が成熟する第一段階である4日齢時と第二段階である7日齢そして14日齢以降で自然免疫担当細胞が多く存在する組織器官 (ファブリシユウス囊・腸管) を採取し、獲得免疫に関わるサイトカイン発現量そして自然免疫に関わるサイトカイン発現量を測定し免疫系に対する飼料給与開始時期の影響について検討した。

(3)-①孵化後から2週間、抗生物質に替わる成長促進資材と注目されているプロバイオテック、シンバイオテック、有機酸などの飼料給与がブロイラー腸管免疫関連遺伝子にどのような影響かを与えるかを抗生物質給与との異同を含めて調査した。

(3)-②自然免疫を刺激する効果が知られている、大腸菌内毒素注入時に試験①で使用した資材によるブロイラー腸管免疫関連遺伝子および脾臓免疫関連遺伝子の変化を調査した。

4. 研究成果

(1) 3-8日齢での腸前部 CD3, IFN-gamma 及び TLR-2mRNA 発現量は抗菌剤給与区で抗菌剤無添加区よりも高いか高い傾向を示した。腸後部でも腸前部と類似した発現変化が観察された。測定した多くの遺伝子発現は15日齢時では抗菌剤添加の影響は小さくなっ

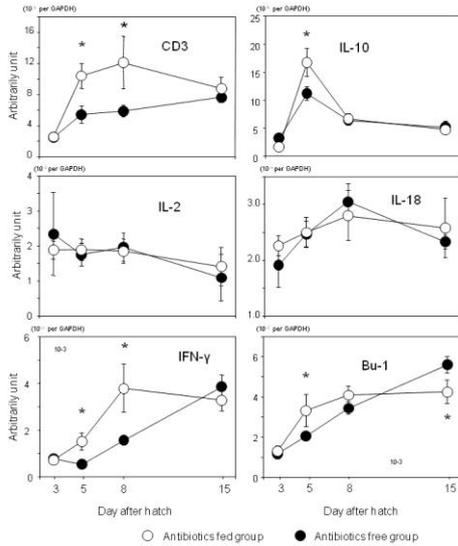


図-1

ていた。しかし、15日齢時の IFN-gamma と Bu-1 mRNA 発現量は抗菌剤給与区で抗菌剤無添加区よりも高い傾向にあった (図-1)。

(2)-①4日齢時と、7日齢そして14日齢のメックル憩室付近 (小腸中間部) の獲得免疫、自然免疫そして菌体成分受容体関連 mRNA 発現量は、孵化後24時間からの飼料給与が、孵化直後や孵化後48時間後の給餌より、統

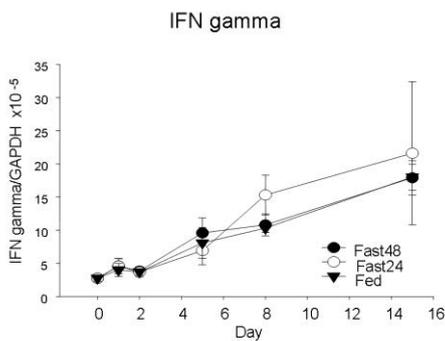


図-2

計的高いか、高い傾向にあった。(2)-②T細胞数の指標である CD3、リンパ細胞やマクロファージ活性化に関与するインターフェロン γ 、リンパ機能調節型のインターロイキン-10、菌体成分受容体のトール様受容体 mRNA 発現の変動が大きかった。(2)-③14日齢のファブリシウス嚢の獲得免疫、自然免疫そして菌体成分受容体関連 mRNA 発現量は、孵化後24時間からの飼料給与が、孵化直後

や孵化後48時間後の給餌より、統計的高いか、高い傾向にあった。特にリンパ細胞数にかかわる因子の mRNA 発現の差は有意であった(図-2)。

(3)-①抗生物質と非抗生物質型成長促進剤 (プロバイオテック、シンバイオテック、有機酸) を給与し、腸管免疫関連因子遺伝子発現変化の異同を検討した結果、抗生物質とプロバイオテックスは類似した変化を示したものの、プレバイオテックス、有機酸と抗生物質の遺伝子発現変化は必ずしも一致しなかった。また、プレバイオテックスでも構成糖により腸管免疫関連因子遺伝子発現の変化に様相は異なった。

(3)-②腸管免疫と脾臓免疫において大腸菌菌体成分刺激で増加する炎症を抑制するプレバイオテックスプロバイオテックスを発見した。

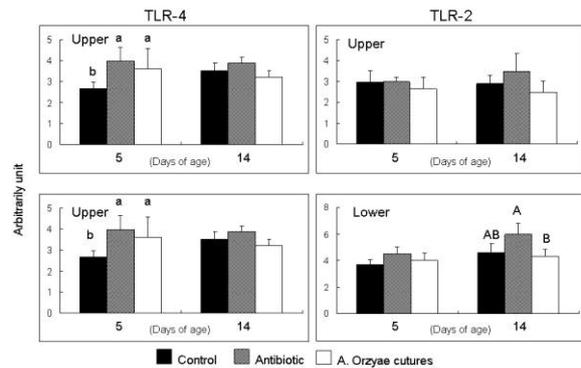


図-3

(3)-③前炎症性サイトカイン、インターフェロン γ 、トール様受容体、CD3、Bu-1が腸管免

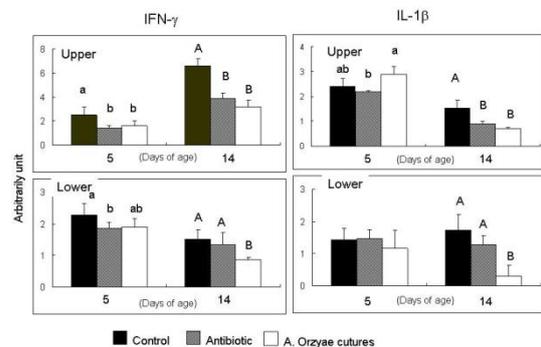


図-4

疫能力を評価する際の有力な免疫関連因子であると推定した(図-3、4)。

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 Takahashi K., Takagi K, Akiba Y. Effect of dietary glycine supplementation and fish meal on inflammatory response. *British Poultry Science*. 査読有、50 巻、2009. 479-486.
- ② Takahashi K., Miura Y, Mizuno T. Antibiotics feeding accelerate functional maturation of intestinal immune-related cells of male broiler chicks after hatch. *Journal of Poultry Science*. 査読有、48 巻、2011, 187-193.
- ③ Lee Eun, Sato K, Akiba Y, Toyomizu M, Takahashi K. The effect of Korean ginseng and Coptidis rhizome on plasma acute phase substances and mRNA expression of pro-inflammatory cytokines in spleen of growing chicks following lipopolysaccharide injection. *Journal of Poultry Science*. 査読有、48 巻、2011. 262-266.
- ④ Takahashi K., Takimoto T, Sato K, Akiba Y. Effect of Dietary Supplementation of Astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* on Lipopolysaccharide -Induced Inflammatory Responses in Male Broiler Chicken (*Gallus gallus*) fed a Corn Enriched Diet. *Animal Science Journal*, 査読有、82 巻、2011. 753-758.
- ⑤ Takahashi K. Effect of a cultures of *Aspergillus oryzae* on inflammatory response and mRNA expression in intestinal immune-related mediators of male broiler chicks. *Journal of Poultry Science*. 査読有、49 巻、2012. 94-100.

[学会発表] (計 4 件)

- ① Takahashi K. World Production and Safety Management: Outlook and Prospects in 2009. 2009 Korean Society of Poultry Science International Spring Symposium. 平成 21 年 5 月 30 日 Soul 大学
- ② 高橋 和昭・三浦 美子・宮崎 悠・水野 孝紀、抗菌剤投与が成長初期ブロイラーの共感免疫関連遺伝子発現に及ぼす影響、

2009 年日本家禽学会秋季大会、平成 21 年 9 月 30 日、琉球大学

- ③ 佐藤 幹・高橋 和昭・遠野 雅徳・三浦 美子・鎌田 壽彦・池上 秀二・北 澤春樹、イムノバイテック乳酸菌給与による初生ヒナの腸管免疫増強作用、2009 年日本家禽学会秋季大会、平成 21 年 9 月 30 日、琉球大学
- ④ 高橋 和昭・宮崎 悠、プロイラーの炎症関連遺伝子発現に及ぼす補足メチオニン源の影響、2010 年日本家禽学会秋季大会、平成 22 年 9 月 27 日 信州大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 和昭 (TAKAHASHI KAZUAKI)

公立大学法人山形県立米沢女子短期大学・健康栄養学科・教授

研究者番号：80183440