

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：12201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26850171

研究課題名(和文) 乳牛のグレリン分泌を促進する脂肪酸の探索

研究課題名(英文) Searching analysis for fatty acids stimulate ghrelin secretion in lactating dairy cows

研究代表者

福森 理加 (Fukumori, Rika)

宇都宮大学・農学部・助教

研究者番号：60721694

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)：グレリンは、成長ホルモン分泌促進作用を有することから、泌乳牛においては増乳効果が期待できる。泌乳牛において血漿グレリン濃度は、脂肪酸の摂取によって高まることを明らかにしてきた。しかしながら、乳牛が摂取する飼料に含まれる脂肪酸は複数種の脂肪酸によって構成されており、どの脂肪酸がグレリン分泌促進作用を有するかは明らかでない。本研究では乳牛に様々な油脂サプリメントを給与したところ、C8:0などの中鎖脂肪酸が血漿グレリン濃度を増加させることを明らかにした。また、十二指腸内へ単体脂肪酸注入を行って吸収部位への直接刺激によるグレリン分泌応答を検討したが、明瞭な反応は見られなかった。

研究成果の概要(英文)：Ghrelin, a growth hormone secretagogue, may enhance milk production in lactating cows. We have investigated which nutrients could affect ghrelin secretion, then we found that some fatty acids in the diets increase plasma ghrelin concentration in cows. However, which fatty acid can stimulate ghrelin secretion had not been cleared. In the present study, we examined the effects of feeding some fatty acids on plasma ghrelin concentration and we found that ghrelin secretion is stimulated by medium-chain fatty acids, such as C8:0. In another examination, we investigated the effect of duodenal infusion of individual fatty acids on ghrelin secretion, but there was not response to any fatty acids.

研究分野：家畜栄養生理学

キーワード：グレリン グルカゴン様ペプチド-1 消化管ホルモン 反芻家畜

1. 研究開始当初の背景

乳牛が摂取した栄養素は、各種泌乳関連ホルモンの分泌反応を介した代謝調節を受け、その結果が乳生産に反映される。成長ホルモン (GH) は、乳牛において体脂肪動員や乳腺への栄養素取込の促進を介した強い増乳作用を示す。胃から分泌される GH 分泌促進因子・グレリンの発見によって末梢の栄養素が GH 分泌に作用する経路が示された。血漿グレリン濃度は給飼前に高く、給飼によって減少することが知られている。グレリン分泌の低下は、単胃動物ではグルコース、反芻動物では揮発性脂肪酸 (VFA) の血中濃度が高まることによって起こる。一方で、グレリン分泌を促進する血中栄養素は同定されていない。申請者は、飼料給与によってグレリン分泌を高めることを目的として、種々の飼料素材がグレリンの分泌に及ぼす影響について検討を行ってきた。結果として、中鎖脂肪酸および長鎖脂肪酸の摂取が血漿グレリン濃度を高めること、長鎖脂肪酸については、メチオニンとの同時給与によって血漿グレリン濃度が増加することを明らかにしている。上記実験の中で、中鎖脂肪酸は最もグレリン分泌を増加させ、次いで長鎖脂肪酸とメチオニンの併給、長鎖脂肪酸の順であった。メチオニンは組織への脂肪酸の輸送や消費を高める作用をもつアミノ酸であり、単独ではグレリン分泌に作用しないが、長鎖脂肪酸と併給することによって長鎖脂肪酸のグレリン分泌促進効果を高めた。これらの結果から、脂肪酸はグレリン分泌刺激因子として作用するとともに、脂肪酸の種類による作用の違いが存在する可能性が強く示唆された。さらに、グレリン分泌促進作用をもつ脂肪酸の体内利用をメチオニン補給によって変化させると、さらなる効果が発揮される。しかし、脂肪酸の種類および体内動態とグレリン分泌の関連性について動物実験や *in vitro* でも知見はほとんど無く、脂肪酸レベルでのさらなる解析が必要となる。

2. 研究の目的

本研究では、種々の脂肪酸給与やメチオニン補給を行い、主に下記の 2 点について明らかにする。

グレリン分泌を刺激すると推察される脂肪酸を選定する

脂肪酸の摂取とグレリン分泌、体内代謝変化および乳生産との関係性を明らかにする

3. 研究の方法

試験 1. 異なる組成の中鎖脂肪酸給与による乳牛の血中グレリン濃度の変化

グレリンは 28 個のアミノ酸に中鎖脂肪酸がアシル化された構造を持ち、生体内ではオクタ酸 (C8:0) が最も多く存在している。従って、給与する中鎖脂肪酸の組成によって、血中グレリン濃度の増加効果は異なるかもしれない。本実験では、ホルスタイン種泌乳

牛 11 頭を用いて、以前に検討した中鎖脂肪酸 (C8:0 25%、C10:0 30%、C12:0 45%) とは異なる脂肪酸組成 (C8:0 80%、C10:0 20%) で給与試験を行った。コーンサイレージを主体とする基礎混合飼料 (TMR) を対照区として、1.5%中鎖脂肪酸カルシウム添加区 (MCFA 区) を設け、1 期 14 日間の反転法にて給与試験を実施した。各期 14 日目の給飼前後で経時的な採血を行い血中代謝ホルモンおよび代謝産物濃度の測定を行った。

試験 2. 長鎖脂肪酸摂取時のメチオニン補給が脂質代謝とインスリン感受性に及ぼす影響

本試験では、ホルスタイン種泌乳牛 6 頭を用い、脂肪酸カルシウムを乾物 1.5%含む TMR にルーメン保護メチオニンを 0g/日、20g/日、60g/日添加する 3 処理区を設けた。また、上記 3 処理区の対照とする脂肪酸カルシウム無添加 TMR を調製し、給与する区を設けた。各期 14 日間の給与期間を設け、13 日目および 14 日目に給飼前後の採血および Hyperinsulinemic Euglycemic Clamp (EGC) を実施し、インスリン感受性を評価した。

試験 3. 各種単体脂肪酸投与がグレリンおよび GLP-1 分泌に及ぼす影響

本試験では、コリデール系雑種ヒツジを用いて各種単体脂肪酸の投与を行い、グレリンや摂食抑制作用やインスリン分泌促進作用を有するグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) の血漿濃度の変化を解析し、これら消化管ホルモン分泌に影響を及ぼす脂肪酸の選抜を行った。本試験では、脂肪酸の吸収部位であり、種々の脂肪酸レセプターが発現する小腸に直接的な刺激を行うために、供試ヒツジに十二指腸カニューレを装着した。各種単体脂肪酸をミセル化した乳化液を作製し、泌乳牛への脂肪酸給与レベルと同等となるように 1 日かけて乳化液を連続注入した。注入前後において、経時的に採血を行い、血漿消化管ホルモンおよび代謝産物濃度の測定を行った。

4. 研究成果

試験 1. 異なる組成の中鎖脂肪酸給与による乳牛の血中グレリン濃度の変化

14 日間の給与試験の結果、MCFA 区において、血漿グレリン濃度が増加した (図 1、業績)。直接的な比較ではないが、対照区飼料摂取時の血漿グレリン濃度に対する増加程度は、以前実施した試験結果より大きく、中鎖脂肪酸の組成の違いによるものと推察された。本実験では、泌乳初期から最盛期の乳牛を供試したため、長期間の給与試験を設定することが困難であった。本試験では、MCFA 区の給飼後におけるケトン体濃度の増加が対照区と比較して大きく、摂取した脂肪酸がエネルギーとして速やかに代謝されることが推察された。MCFA 区の乳量は、対照区と比較して少なく、MCFA 区では体重が増加する傾

向がみられた。両処理区間に乾物摂取量の差はなく、エネルギー摂取量も同等か MCFA 区がわずかに多いが、中鎖脂肪酸の摂取は乳牛のエネルギー代謝を変化させ、泌乳初期～最盛期乳牛の代謝を同化にシフトさせることが示唆された。この代謝変化に中鎖脂肪酸やグレリンがどのように関与しているかについて、今後検討していく予定である。

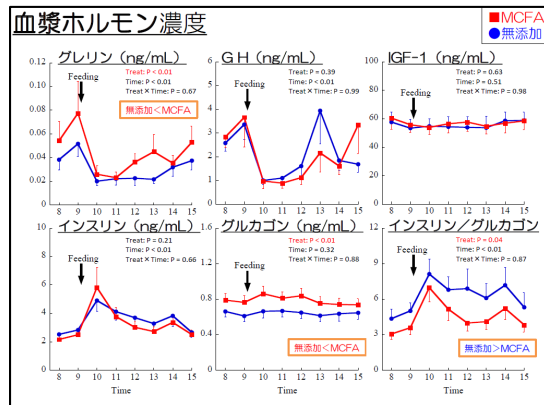


図 1. 中鎖脂肪酸カルシウム (MCFA) の摂取が血漿代謝ホルモン濃度に及ぼす影響

試験 2. 長鎖脂肪酸摂取時のメチオニン補給が脂質代謝とインスリン感受性に及ぼす影響

メチオニン補給によって、脂肪酸カルシウム摂取時の血漿脂質濃度が変化することを以前の研究において明らかにしたが、本試験では、メチオニン補給が低比重リポタンパク質中の脂質含量の低下、中でもコレステロールエステル含量の減少に影響を及ぼすことを明らかにした(図 2a,b, 業績)。また、メチオニン補給によって、脂肪酸摂取時のインスリン感受性が高まることを明らかにした(業績)。このとき、摂取量および乳量は処理区間に差が無かったことから、メチオニン補給は摂取した脂肪酸の代謝を変化させ、インスリン感受性を高めることで泌乳牛の栄養状態を改善する可能性が示唆された。

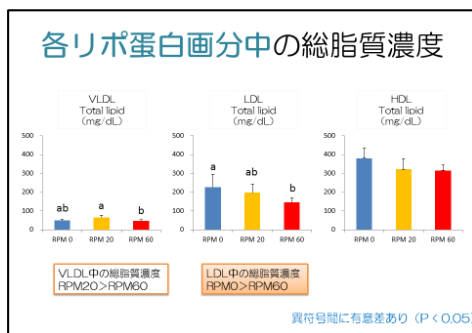


図 2(a). 脂肪酸カルシウム摂取時のルーメン保護メチオニン (RPM) 補給がリポタンパク質中の脂質含量に及ぼす影響 (RPM00: RPM 0g/日、RPM20: RPM 20g/日、RPM60: RPM60g/日を補給)

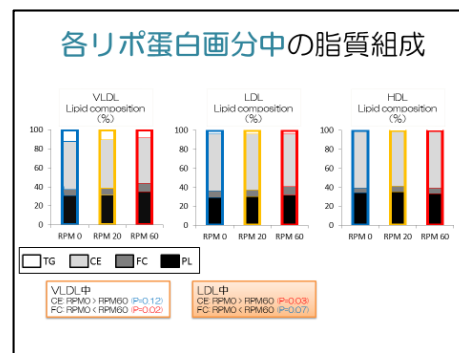


図 2(b). 脂肪酸カルシウム摂取時のルーメン保護メチオニン (RPM) 補給がリポタンパク質中の脂質組成に及ぼす影響

試験 3. 各種単体脂肪酸投与がグレリンおよび GLP-1 分泌に及ぼす影響

本試験では、単体脂肪酸の消化管への直接刺激が血漿グレリンや GLP-1 濃度に及ぼす影響について検討した。その結果、血漿グレリン濃度の増加に対して経口摂取で効果があった中鎖脂肪酸や長鎖脂肪酸は、有意な増加を引き起こさなかった(図 3)。グレリンは、栄養摂取状況に応じて主に第四胃で産生、分泌されるが、その分泌メカニズムは明らかにされていない。グレリン産生細胞の胃内分布から、吸収栄養素が血液内を循環することによって、グレリン分泌は変動することが考えられているため、本試験では、吸収部位である小腸への注入を行った。本試験で、脂肪酸注入に伴うグレリン分泌の変動が見られなかったことから、注入部位の検討ならびに長期的な注入の検討を行っていく必要がある。脂肪酸注入に伴い血漿グレリン濃度の変化は見られなかったが血漿 GLP-1 濃度は、長鎖不飽和脂肪酸注入時に増加することを明らかにした(図 4, 業績)

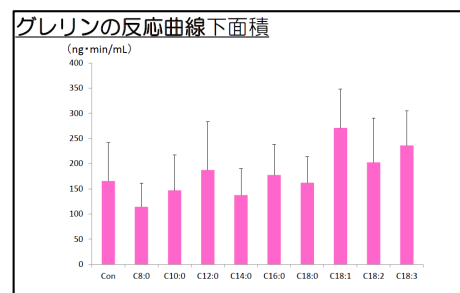


図 3. ヒツジへの各種単体脂肪酸の十二指腸内注入が血漿グレリン濃度に及ぼす影響

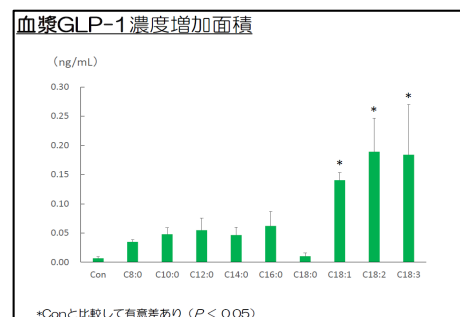


図 3. ヒツジへの各種単体脂肪酸の十二指腸内注入が血漿 GLP-1 濃度に及ぼす影響

以上のことから、グレリン分泌を賦活化する脂肪酸は中鎖脂肪酸であり、特に C8:0 割合の多い中鎖脂肪酸摂取が血漿グレリン濃度増加に効果があることが示された。しかしながら、下部消化管内への C8:0 単体脂肪酸注入時には、血漿グレリン濃度の増加を認めなかったことから、脂肪酸によるグレリン分泌促進メカニズムの解明にはさらなる検討が必要である。本研究を通して、種々の脂肪酸給与やメチオニン補給によって泌乳牛の代謝改善効果が認められた。これら栄養素の代謝的特徴を考慮して、泌乳牛への給与と技術に応用させていきたいと考える。

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1件)

Effects of fat-enriched diet and methionine on insulin sensitivity in lactating cows. Fukumori R., Sugino T., Shingu H., Moriya N., Kobayashi H., Yamaji K., El-Sabagh M., Obitsu T., Nagao Y., Taniguchi K., Kushibiki S. *Journal of Animal Science* 93(6) 2778-2784. 2015年(査読有)

[学会発表](計4件)

ヒツジにおける十二指腸内への単体脂肪酸注入に伴う GLP-1 の分泌応答. 福森理加, 竹内 絢香, 箭内 利菜, サラントラガ, 緒方 和子, 山口 美緒, 原 明日香, 佐藤あかね, 杉野 利久, 長尾 慶和 日本畜産学会第 121 回大会. 日本獣医生命科学大学(東京都). 2016年3月28日

Effects of medium-chain fatty acids on plasma concentrations of metabolic hormones and metabolites in lactating cows. Fukumori R., Sugino T., Shingu H., Kobayashi H., Nagao Y., Kushibiki S. *8th Farm Animal Endocrinology. Billund (デンマーク)*. 2015年8月26日

泌乳最盛期の乳牛への中鎖脂肪酸カルシウム補給に関する内分泌および代謝プロファイル変化からの解析. 福森 理加, 杉野 利久, 新宮 博行, 小林 寿美, 長谷川 喜久, 児島 将康, 寒川 賢治, 長尾 慶和, 榊引 史郎. 日本畜産学会第 119 回大会. 宇都宮大学(栃木県) 2015年3月28日

Effects of rumen-protected methionine on lipoprotein properties and the response to insulin in lactating cows fed calcium salts of long-chain fatty

acids. Fukumori R., Hinokidani M., Sugino T., Shigu H., Moriya N., Kobayashi H., Yamaji K., Obitsu T., Nagao Y., Taniguchi K., Kushibiki S. *International Symposium on the Nutrition of Herbivores/International Symposium on Ruminant Physiology 2014. Melbourne (オーストラリア)*. 2014年9月8日

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等
Read and Researchmap
<http://researchmap.jp/fuku-chan/>

6. 研究組織

(1)研究代表者
福森 理加 (RIKA FUKUMORI)
宇都宮大学・農学部・助教
研究者番号: 60721694

(2)研究分担者: なし
()

研究者番号:

(3)連携研究者: なし
()

研究者番号: