

機関番号：15401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20780193

研究課題名 (和文) 離乳前後の子牛における消化管ホルモンと栄養因子のクロストーク

研究課題名 (英文) The relationship between gastrointestinal hormones and nutrients in calves around the weaning stage.

研究代表者

杉野 利久 (SUGINO TOSHIHISA)

広島大学・大学院生物圏科学研究科・助教

研究者番号：90363035

研究成果の概要 (和文)：本研究は、消化管ホルモンである GLP-1 と ghrelin に着目し、離乳前後の消化吸收機構の変化に伴う血中代謝産物の変化および GH やインスリンなどの主要代謝ホルモンの変化との相互関係を明らかにすることを目的とした。結果、これら消化管ホルモンの血中濃度は離乳前後で大きく変化すること、離乳後のエネルギー源である揮発性脂肪酸 (VFA) によるこれらホルモン分泌に対する作用は生来的に有していること、これらホルモンの作用は離乳後に強まることを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：Our objectives were to determine the effects of feeding, circulating glucose and volatile fatty acids (VFA) on blood GLP-1 and ghrelin concentrations in calves around weaning stage. In experiment 1, weaning increased basal blood level of GLP-1, but basal level of ghrelin was decreased. And the changed in blood these hormones were related the blood glucose and VFA levels. In experiment 2, VFA injection induced a greater increase in blood GLP-1 and a greater decrease in blood ghrelin levels around weaning stage. However, glucose injection was not affected these hormones concentrations. In experiment 3, GLP-1 and ghrelin injection were strongly stimulated insulin and GH secretions after weaning compared with that before weaning.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：家畜飼養学

科研費の分科・細目：農学・畜産学・獣医学，畜産学・草地学

キーワード：子牛，早期離乳，グレリン，GLP-1，消化管ホルモン

1. 研究開始当初の背景

乳用子牛の離乳時期は、かつて 2～3 ヶ月齢であったが、省力化のために最近では 3 週齢離乳なども試みられている。また、肉用牛の繁殖経営においても早期離乳が導入されてきている。しかし、早期離乳に伴う発育停滞の問題は解消されておらず、その後の成長

を抑制する原因となっている。哺乳子牛は、生後 4 週目から 6 週目にかけて反芻胃を驚異的に発達させ、離乳に伴う消化吸收機能の変化は、主要消化吸收部位を下部消化管から反芻胃へと変化させる。また、血中代謝産物、糖代謝や窒素代謝も著しく変化させる。早期離乳にみられる発育停滞は、哺乳子牛の消化

吸収・代謝機能が十分に外的変化に対応できるまで発育していない段階で離乳するにもかかわらず、急激に消化器組織を発達させ、代謝機能を適応変化させなければならないという矛盾が原因であると推察される。早期離乳での発育停滞を解消するためには、離乳後の消化吸収・代謝機能の適応変化と調節因子との相互関係を解明する必要がある。

離乳後の消化吸収・代謝機能のホメオステシスを調節する因子である代謝性ホルモンは、栄養素や栄養状態の変化に連動してその分泌や作用を変化させることが知られている。また、離乳後の血中代謝産物の変化に伴い、反芻家畜特異的なホルモン分泌因子も発現する。

摂取栄養素や消化吸収機能の変化を鋭敏に捉えるホルモンとして GLP-1 や ghrelin などの消化管ホルモンが挙げられ、これらホルモンは摂食、消化吸収機能、インスリン・GH の分泌・作用を調節し、摂食から始まる一連の栄養現象を調節する一端を担っていると考えられる。このことから、子牛の早期離乳後の著しい消化吸収・代謝機能の変化に伴い GLP-1 や ghrelin の分泌因子、血中濃度や作用も連動して変化していると考えられるが詳細は不明である。

2. 研究の目的

本研究は、子牛の早期離乳後の消化吸収、代謝機能の変化に伴う、血中代謝産物と代謝性ホルモン、特に消化管ホルモンである GLP-1 と ghrelin に焦点をあて、それらの相互関係を明らかにすることを目的とした。具体的には、①GLP-1, ghrelin および主要代謝性ホルモンの分泌変動と血中代謝産物との相互関係の解明、②GLP-1 と ghrelin の分泌と作用に対する血中代謝産物の応答性の変化、を解析し、離乳後の消化吸収・代謝機能の適応変化機構や変化に要する時間などを明らかにし、早期離乳における発育停滞の解消を目指す。

3. 研究の方法

実験 1：早期離乳前後の血中代謝産物、主要代謝性ホルモン（インスリン、GH、IGF-1）および GLP-1, ghrelin の血中濃度の変化と相互関係の解析

GLP-1 は、十二指腸・空腸からのグルコース吸収が刺激となり、その分泌が促進され、血中グルコース濃度依存的にインスリン分泌を促進し、消化管運動、摂食を抑制する。Ghrelin は、摂食前に第四胃からの分泌が促進され、GH 分泌、消化管運動、摂食を促進する。摂食後の血中グルコース、インスリン濃度の上昇によって、ghrelin の分泌は抑制される。このように、GLP-1 や ghrelin は、摂食前後に大きく変動し、吸収される栄養素、

特にグルコースの影響を受け、インスリンや GH などと密接に連携している。従って、離乳前後の消化吸収機能、代謝機能、および血中代謝産物の変化と連動して、これらホルモンも変動していると考えられる。そこで本実験は、早期離乳前後の血中代謝産物、主要代謝性ホルモン（インスリン、GH、IGF-1）および GLP-1, ghrelin の血中濃度の変化と相互関係を解析した。

生後 3 日間初乳を給与したホルスタイン種雄子牛 6 頭を供試動物として用いた。子牛は、日本飼養標準に基づき飼育し、全乳と、カーフスターター、前期育成飼料を一定量給与し、乾草を自由採食とし摂食量を測定した。全乳は朝夕の 2 回給与とし、離乳は 6 週齢とした。採血は、0 からルーメン機能が成牛レベルに達する 13 週齢まで、毎日、給飼後 2 時間に行った。また、消化管ホルモンが摂食前後で変動することから、1~13 週齢まで、1 週間毎に給飼前後 4 時間の採血を 10 分間隔で行った。採血は頸静脈カテーテルを用いた。

全ての血液サンプルは血漿に分離し、血漿代謝産物（グルコース、VFA、ケトン体、アミノ酸、尿素態窒素、NEFA、TG）濃度、血漿インスリン、GH、IGF-1、GLP-1、ghrelin 濃度を測定した。測定後、①GLP-1 および ghrelin の離乳に伴う変動、②全ての測定項目の統計学的相互関係を、を解析した。

実験 2：早期離乳前後の GLP-1 と ghrelin の分泌因子の探索とその変化解析

GLP-1 および ghrelin の分泌調節因子は、前記したように下部消化管から吸収される栄養素が主要である。離乳後の消化吸収・代謝機能の変化は、吸収栄養素、血中代謝産物を変化させることから、これらホルモンの分泌因子もそれに伴い変化すると考えられる。そこで本実験は、実験 1 の解析結果から、調節因子を血中代謝産物から選抜し、頸静脈より選抜した栄養因子を投与し、GLP-1 および ghrelin の分泌に及ぼす影響を 1~13 週齢まで、1 週間毎に同様の供試動物を用いて、その変化時期も含めて解析した。

実験 3：早期離乳前後の GLP-1 と ghrelin の代謝機能とインスリン、GH および IGF-1 に及ぼす影響とその変化解析

離乳後、インスリン、GH や IGF-1 の血中濃度は、グルコース濃度の著しい減少、VFA や β -ヒドロキシ酪酸濃度の急激な増加に伴い低下する。したがって、これらホルモンを調節する GLP-1 および ghrelin の作用も離乳前後で変化する可能性がある。そこで本実験は、GLP-1 および ghrelin 感作実験を 1~13 週齢まで、1 週間毎に同様の供試動物を用いて、その変化時期も含めて解析した。

4. 研究成果

実験 1: 早期離乳前後の血中代謝産物, 主要代謝性ホルモン (インスリン, GH, IGF-1) および GLP-1, ghrelin の血中濃度の変化と相互関係の解析

解析の結果, 消化管ホルモンである GLP-1 は, 離乳に伴い血中濃度が増加, 逆に ghrelin は, 離乳に伴い, 減少することが明らかとなった。また, その変化は, 離乳前 4 週齢時に, 大きく変化する可能性が見出された。この基礎値の変化と血中 VFA 濃度や血糖値などの代謝産物濃度の変化に相関が認められた。

実験 2: 早期離乳前後の GLP-1 と ghrelin の分泌因子の探索とその変化解析

実験 1 の結果から, GLP-1 と ghrelin は離乳前の主要吸収エネルギー源であるグルコースや離乳後の主要吸収エネルギー源である VFA とそれぞれ正と負の相関が認められたことから, これら栄養素は GLP-1 や ghrelin の離乳前後の変化に影響している可能性が考えられた。そこで実験 2 では, グルコースと VFA を離乳前後で静脈より投与し, これらホルモンに及ぼす影響を検討した。その結果, 血中グルコースは GLP-1 および ghrelin 分泌に生来的に影響しないこと, および VFA は GLP-1 および ghrelin 分泌に生来的に影響し, GLP-1 分泌には促進的に, ghrelin 分泌には抑制的に作用することが明らかとなった。以上から, 消化管ホルモン分泌に対する VFA の効果を生来的に反芻動物は有していることが考えられ, このことが発育停滞の一因となる可能性が考えられた。

実験 3: 早期離乳前後の GLP-1 と ghrelin の代謝機能とインスリン, GH および IGF-1 に及ぼす影響とその変化解析

GLP-1 および ghrelin のインスリンおよび GH 分泌作用が離乳前後で変化するかについて検討した結果, GLP-1 のインスリン分泌作用は, 離乳前と比較し離乳後に強まること, Ghrelin の GH 分泌作用は, 離乳前と比較し離乳後に強まることを明らかにした。以上から, これら消化管ホルモンは, 単胃動物的な消化吸収形態である離乳前ではその作用が弱く, 反芻胃に依存した消化吸収形態への変化と共にその作用が強まることが明らかとなった。

これら知見は, 未だ明らかにされていない子牛の GLP-1 と ghrelin に関する新知見で有り, 今後の反芻動物に関する栄養生理学分野の基礎的知見としてその発展に寄与できるものと考えられる。

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. Fukumori R, Sugino T et al., Plasma ghrelin concentration is decreased by short chain fatty acids in wethers, Domestic Animal Endocrinology, 査読有, 2011, accepted
2. Fukumori R, Sugino T et al., Effects of amino acids infused into the vein on ghrelin induced GH, insulin and glucagon secretion in lactating cows, Animal Science Journal, 82, 査読有, 2011, 267-273
3. Sugino T, Kawakita Y et al., Effects of glucose and amino acids on ghrelin secretion in sheep, Animal Science Journal, 81, 査読有, 2010, 199-204
4. Fukumori R, Sugino T et al., Effects of amino acid infusion on ghrelin action in lactating cows, Ruminant physiology, 巻無し, 査読有, 2009, 510-511
5. Sugino T, Fukumori R et al., Effects of ghrelin injection on blood metabolites and hormones of non-lactating and lactating cows, Ruminant physiology, 巻無し, 査読有, 2009, 668-669

[学会発表] (計 8 件)

1. Fukumori R, Sugino T et al., Effects of intravenous glucose injections on blood ghrelin concentrations in calves around the weaning stage, The 14th AAAP Animal Science Congress, 2010 年 8 月 26 日, Pingtung, Taiwan
2. 杉野利久, 石津若菜ら, ヒツジの門脈系内臓組織からの消化管ホルモン放出に及ぼす飼料摂取量とアミノ酸補給の影響, 日本畜産学会第 112 回大会, 2010 年 3 月 29 日, 明治大学, 東京都
3. 福森理加, 杉野利久ら, 離乳前後の子牛における静脈内グルコースおよび VFA 投与が GLP-1 分泌に及ぼす影響, 日本畜産学会第 112 回大会, 2010 年 3 月 29 日, 明治大学, 東京都
4. 福森理加, 杉野利久ら, 子牛の早期離乳に伴うグレリンの分泌変化, 日本畜産学会第 111 回大会, 2009 年 9 月 28 日, 琉球大学, 沖縄県
5. 杉野利久, 中道淳仁ら, ヒツジのグレリン分泌に及ぼす自律神経系の影響, 日本畜産学会第 110 回大会, 2009 年 3 月 29 日, 日本大学, 神奈川県
6. 福森理加, 杉野利久ら, 泌乳牛におけるアミノ酸連続注入がグレリンの作用に及ぼす影響, 日本畜産学会第 110 回大会, 2009 年 3 月 29 日, 日本大学, 神奈川県

7. 福森理加, 杉野利久ら, 乾乳牛と泌乳牛における ghrelin の血漿代謝性ホルモン及び glucose 濃度に及ぼす影響, 平成 20 年度家畜栄養生理研究会秋季集談会, 2008 年 10 月 21 日, つくば国際会議場, 茨城県
8. 福森理加, 杉野利久ら, 周産期乳牛における ghrelin 及び GLP-1 の分泌動態と血漿 GH、insulin 及び glucose 濃度との関連性, 平成 20 年度関西畜産学会, 2008 年 8 月 3 日, 神戸大学, 兵庫県

[その他]

ホームページ等

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/shiyou/index.shtml>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉野 利久 (SUGINO TOSHIHISA)

広島大学・大学院生物圏科学研究科・助教

研究者番号：90363035

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：