

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23580381

研究課題名(和文) 中枢に作用する新規機能性飼料が家畜の内分泌とその生産量に与える影響に関する研究

研究課題名(英文) Study of the effects of feeding new functional feedstuff affecting centers of the brain, on the internal secretion and the production of dairy calves.

研究代表者

新宮 博行 (SHINGU, HIROYUKI)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所家畜生理栄養研究領域・主任研究員

研究者番号：40355219

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題は新規機能性飼料給与による家畜飼養管理技術の開発に向け実施された。セロトニン及びメラトニンの前駆物質であるアミノ酸のトリプトファン(Trp)又は加糖Trpをルーメン(第一胃)内棲息微生物による分解から守るよう処理したルーメン保護Trp飼料を育成子牛に単回夜間給与した結果、急性ストレス曝露時のコルチゾール分泌を抑制し、メラトニン及び成長ホルモンの分泌を促進する効果が、また、当該飼料の長期夜間給与時は体重増加を促進させる効果が認められた。

研究成果の概要(英文)：The present study was conducted in preparation for developing technologies of farm animal feeding management by using new functional feedstuff. The diet is processed into escaping the degradation by ruminal microbes. The single evening feeding of the rumen-protected Tryptophan (amino acid of 5-HT and melatonin precursor), or the rumen-protected Tryptophan plus glucose to dairy calves suppressed cortisol secretion under condition of acute stress, and increased secretions of melatonin and growth hormone. In addition, the long-term evening feeding of the diet induced an enhancement of their daily gain.

研究分野：家畜生理学

キーワード：生理学 ストレス アミノ酸 反芻動物 抗酸化物質 成長

1. 研究開始当初の背景

トリプトファン (Trp) (分子量 204.2) はインドール環を側鎖に持つ芳香族アミノ酸であり、これを前駆物質として、脳内にある数種の酵素の作用を介してセロトニン (5-HT) が合成され、この 5-HT がさらに数種の脳内酵素の作用を受けて、メラトニン (MEL) に合成される。

末梢血中の Trp は血流を介して血液脳関門を経由し中枢部の脳内に移行する。一般に、5-HT はヒト及び齧歯類において、精神安定、抗鬱作用、ストレス緩和等の生理学的効果を有するとともに、その分泌は暗期である夜間帯よりも明期である昼間帯の方が比較的亢進する特徴を持つ。一方、MEL は生体リズムの調節、免疫系の賦活、催眠、成長ホルモン (GH) の分泌促進等の生理学的作用を有し、その分泌は昼間帯よりも夜間帯の方が圧倒的に亢進する、明瞭なサーカディアンリズムを持つことが知られている。

近年、脳内の 5-HT や MEL が GH 分泌を促進させる効果を有することが齧歯類以外でも報告されつつある。しかし、反芻動物では、異なる明暗環境での Trp の末梢投与が 5-HT、MEL 及び GH の分泌動態に及ぼす影響についてはほとんど不明である。さらに、ストレス負荷により脳内 5-HT 濃度が減少すると想定される時に脳内の Trp 量を高めると、ストレス反応に対するや生体リズムの安定が図られると想定されるが、ストレスを受けている反芻動物への Trp の末梢投与が家畜の 5-HT、MEL、GH 等の分泌動態やストレス関連ホルモンであるコルチゾールに及ぼす影響について言及する報告は極めて少ない。

脳内の 5-HT 量や MEL の分泌を増加させる方法として、5-HT の末梢投与が想定されるが、末梢血中の 5-HT は血液脳関門での通過が遮断され、結果、脳内には移行できないことから、末梢からの投与による 5-HT の当該効果は期待できない。そこで、末梢血中の、効率の良い Trp 投与方法について考える。末梢血中の Trp の脳内移行は、その移行に関わる血液脳関門に存在する担体がバリン、ロイシン、イソロイシン等の分岐鎖アミノ酸 (BCAA) の担体と同一であるため、BCAA の脳内移行と競合拮抗する。しかし、血中インスリン濃度を高めた場合、末梢血中から筋肉内組織へのアミノ酸取込量は Trp に比べ BCAA の方が促進されることが知られている。このことから、たとえば、グルコースを添加することにより血中のインスリン濃度の上昇を図ることができれば、血中 BCAA:Trp 比が低下する結果、Trp の脳内移行が Trp の単独投与時より増大する可能性が想定される。しかし、家畜への Trp とグルコースの併用給与が当該ホルモンの分泌動態、並びに、その成長量に及ぼす影響に関する知見はこれまでのところ、ほとんど得られていない。

2. 研究の目的

本研究課題は、乳用種の育成子牛に対し、明暗の時間帯別に Trp を末梢の静脈内に持続的投与することにより、中枢に到達する Trp を基にして合成される MEL の分泌動態に及ぼす影響 (Trp の急性投与効果) 並びに、Trp にグルコースを加えた溶液を持続的に投与する加糖 Trp の急性併用投与効果についてそれぞれ調査、検討し、家畜への Trp の末梢投与による Trp の急性反応に関する基礎知見を得るとともに、この成果を基に、ルーメン (第一胃) 内棲息の微生物による分解を可能な限り避けることにより、下部消化管への流量を上げて、体内吸収量を高めるように化学的に処理したルーメンバイパス Trp 飼料 (Rumen-protected Trp; RP-T) 及びその効能を補助すると想定されるグルコース飼料 (Rumen-protected Glucose; RP-G) を用いて、健康の維持、MEL・GH 分泌の促進による成長の促進、並びに、ストレス適応性の改善 (ストレス耐性の強化) を図る反芻家畜の飼養管理技術の開発に向け実施する。

3. 研究の方法

本研究課題では、次の 3 種の試験を設ける。

(1) 【頸静脈内 Trp 溶液連続投与試験】

子牛への Trp 溶液の末梢投与が MEL、GH 等のホルモンの分泌動態に及ぼす急性反応を明暗の投与時間帯別に調査、検討するため、明期である昼間帯と暗期である夜間帯において Trp 溶液の頸静脈内連続投与試験を実施した。

当該試験では、離乳を終えた 4 ヶ月齢の乳用種育成子牛 6 頭を供試して、夏季 (7~8 月) の昼間帯 (12 時~14 時) 夜間帯 (19 時~21 時) の 2 つの投与時間帯で、Trp 溶液を子牛の静脈内に連続投与する試験を実施した。当該静脈内投与試験では、明暗の時間帯ごとに、1) 生理食塩水 (Saline) 区、2) 加糖生理食塩水区 (グルコース投与量: 毎分 2.7 mg/kgBW)、3) Trp 溶液区 (Trp 投与量: 毎分 0.3 mg/kgBW)、4) 加糖 Trp 溶液区 (グルコース投与量: 毎分 2.7 mg/kgBW 及び Trp 投与量: 0.3 mg/kgBW) からなる 4 つの溶液投与区 (試験区) を設け、これら試験区に供試牛をランダムに配置した。当該試験開始 2 時間以上前から供試牛の左右の頸静脈内に留置カテーテル (静脈内留置カテーテル長: 約 7.5 cm) を装着しておき、以後、安静にさせた。当該試験では、子牛の左頸静脈内留置カテーテルより各溶液を 120 分間連続定速投与し、右頸静脈内留置カテーテルより採血を行った。採血後の遠心処理により取得した血漿から MEL、GH の各濃度を測定した (ただし、血漿中の 5-HT 濃度については、脳内 5-HT 濃度 (又は量) と相関関係がないとする報告も存在するため、血漿 5-HT 濃度を用いた比較及び評価は行わないこととする)。また、投与開始後 210 分間 (連続

投与 120 分間 + 以後投与停止 90 分間)における各ホルモンの分泌変化量の指標 (net AUC) を濃度曲線から算出し、同値を試験区間で比較を行った。採血は投与直前 (0 分) と投与後 10 分間隔で実施した (昼間帯試験 12 時 ~ 15 時 30 分; 夜間帯試験: 19 時 ~ 22 時 30 分)。夜間帯の試験では日没 (18 時 45 分 ~ 19 時) 前の 18 時から試験終了時まで畜舎内の照明は全て消灯した。

(2) 【ルーメンバイパス Trp 飼料経口給与試験】

乳用種育成子牛を供試して、RP-T 及び又は RP-G の経口給与効果を調査するために、単回及び長期の当該飼料添加給与試験を実施した (本試験以降に用いる RP-T、RP-G の Trp、グルコースそれぞれの含有率は 20% である)。加えて、本試験以降では、MEL の分泌動態の変化に重点をおくため、Trp を明期に静脈内投与しても MEL の分泌はほとんど期待できないことを明らかにした (1) の試験結果を踏まえ、Trp を経口摂取させる給与試験は夜間帯のみ実施することとする。

(2)- 単回給与試験

4 ヶ月齢の乳用種育成子牛 6 頭を用いて、3 つの試験区、1) placebo 区、2) RP-T 区、3) RP-TG 区 (RP-T と RP-G の併用) に無作為に反転配置し、バイパス飼料 (placebo、RP-T、RP-G) を通常の一般飼料とともに夜間に添加給与した (夜間給餌時間: 18 時 ~ 19 時)。当該試験開始 2 時間以上前から供試牛の左右どちらか一方の頸静脈内に採血用の留置カテーテルを装着しておき、以後、安静にさせた。採血は夜間給餌直前から翌朝 6 時まで経時的に実施した (18 時 ~ 24 時は 30 分間隔、0 時 ~ 6 時は 60 分間隔で採血)。

(2)- 長期給与試験

4 ヶ月齢の乳用種育成子牛 12 頭を用いて、3 つの試験区、1) placebo 区、2) RP-T 区、3) RP-TG 区に無作為に配置し、試験区ごとに指定される当該バイパス飼料を一般給与飼料とともに 28 日間連日、夜間に添加給与した。供試牛の体重及び体尺は試験開始直前と試験終了時に実施した。このほかの試験手法は (2)- に準ずる (経時的連続採血は試験最終日に実施した)。

(3) 【隔離ストレス環境下における RP-T 単回経口給与試験】

育成子牛への RP-T 給与とストレスに対する適応性の関係について検討を行った。今回、子牛へのストレス付与法として、常時群飼させていた子牛を未経験の単房に強制移動を伴う単身隔離する方法を採用した。

4 ヶ月齢の乳用種育成子牛 6 頭を用い、placebo 又は RP-T を夜間給餌開始時刻 (18 時) に添加給与した。供試牛は 4 つの試験区、1) 隔離無 + placebo 区、2) 隔離無 + RP-T 区、3) 隔離有 + placebo 区、4) 隔離有 + RP-T 区に無作為に配置し、隔離有区に属した供試牛

は 19 時に単房に強制隔離させた。供試牛の環境激変時における不安状態を調査するため、隔離 1 時間 (19 時 ~ 20 時) における供試牛の鳴き回数を計測した (隔離無区の供試牛も同時間計測)。当該隔離は翌朝 6 時まで行い、経時的採血も 18 時 ~ 翌朝 6 時まで実施した。血漿コルチゾール濃度については、19 時での採取サンプル (隔離直前サンプル) から翌朝分までのサンプル分までを測定した。このほかの試験手法は (2)- に準ずる。

4. 研究成果

(1) 【頸静脈内 Trp 溶液連続投与試験】

昼間帯の試験では、Trp 溶液の投与により、子牛の GH 分泌量は増加する傾向を示したが、MEL の分泌量 (図 1) はほとんど影響を受けなかった。また、GH 及び MEL の分泌量はグルコース添加の影響を受けなかった。一方、夜間帯の試験では、Trp 溶液の投与により、MEL の分泌量は顕著に増大する (図 2) とともに、GH の分泌量も増加する傾向を示した。さらに、Trp 溶液にグルコースを添加した場合、MEL の分泌量は Trp の単独投与時より上昇する傾

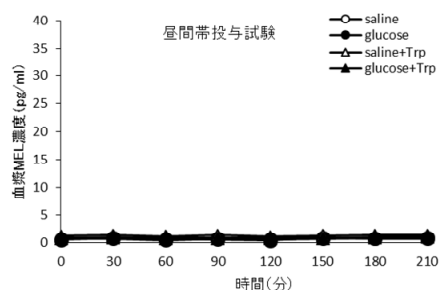


図1 静脈内投与後の血漿MEL濃度平均値の推移

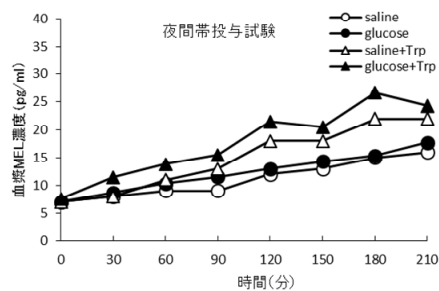


図2 静脈内投与後の血漿MEL濃度平均値の推移

向を認めた。

以上の結果により、夜間帯での Trp の末梢投与は MEL の合成及び分泌を促進させ、これに伴って GH の分泌も増加すること、さらに、Trp にグルコースを添加することにより、MEL 分泌も亢進する可能性があることが示唆された。

(2) 【ルーメンバイパス Trp 飼料経口給与試験】

(2)- 単回給与試験

RP-T 及び RP-TG の夜間単回経口給与により、血中 Trp 濃度は給与 4 時間後にピークに到達し、MEL 分泌の亢進が認められ、GH 分泌も増

加する傾向を示した。また、RP-TG 給与による MEL 分泌は RP-T 投与時よりも増大する傾向を示した。

(2)- 長期給与試験

給与期間における供試牛の増体量は placebo 給与時に比べ RP-T、RP-TG 給与時の方が大きく、また、測定した体軀各部のうち、体長の伸びが有意に増大した。RP-T 及び RP-TG 給与時の方が placebo 給与時に比べ MEL の分泌量は多くなったが、RP-T 給与時と RP-TG 給与時の間には有意な差異を認めなかった。

以上の結果により、RP-T の単独給与又は RP-T と RP-G の併用給与は子牛の MEL 及び GH 分泌を亢進させる効果を有し、これに応じて増体を促進する効果も有する可能性があることが示唆された。

(3)【隔離ストレス環境下における RP-T 単回経口給与試験】

GH 及び MEL 分泌は隔離による影響を受けなかった。隔離後 1 時間における供試牛の延べ鳴き回数は隔離無の 2 つの試験区ではともに 0 回であった。隔離有区では、placebo 給与時、RP-T 給与時でともに 15 回以上の回数を計測した。しかし、隔離後のコルチゾール(ストレス応答ホルモン)の血漿濃度は隔離無の 2 区に比べ大きく上昇するが、RP-T の給与により、隔離後のコルチゾール濃度の上昇を抑制した。

以上の結果から、RP-T の隔離前給与はその後の隔離により受けるストレスへの適応性を改善する可能性があることが示唆された。

全試験を通した一連の研究成果から、乳用種育成子牛へのルーメンバイパストリプトファンの夜間給与は、メラトニンや成長ホルモンの分泌機能の向上効果、並びに、ストレス反応への適応性の改善効果など、家畜飼養において有益な効果を有することが明らかとなり、さらに効果的な発現に向け改良を重ねていくことにより、当該飼養法は家畜の生産効率と家畜の快適性の向上を両立させる新たな家畜生理栄養学的飼養管理技術の確立、並びに、その普及に大きく貢献すると今後期待される。

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 1 件)

新宮 博行、櫛引 史郎、伊藤 文彰、林 征幸、守谷 直子、小林 寿美、山地 佳代子、甫立 孝一、昼間帯および夜間帯の L-トリプトファン連続静脈内投与がホルスタイン種雄子牛のメラトニン分泌に及ぼす効果、畜産草地研究所研究報告、13 号、査読有、2013、53-58

〔学会発表〕(計 3 件)

新宮 博行、東 有紀、坂本 遥、大堀 雄大、吉原 由貴、山本 梨花、森井 崇光、櫛引 史郎、林 征幸、小林 寿美、福森理加、甫立 孝一、ストレス負荷前のルーメン保護トリプトファン給与が隔離ストレス後の子牛の内分泌機能に及ぼす影響、日本畜産学会第 118 回大会、2014

新宮 博行、伊藤 稔、櫛引 史郎、守谷直子、小林 寿美、甫立 孝一、離乳子牛におけるトリプトファンの静脈内注入効果とルーメン保護トリプトファンの給与効果、日本アミノ酸学会第 3 回産官学連携シンポジウム、2013

新宮 博行、中野 愛子、廣原 透、伊藤 稔、櫛引 史郎、守谷 直子、小林 寿美、甫立 孝一、ルーメン保護トリプトファンの単回給与が育成子牛の内分泌機能に及ぼす影響、日本畜産学会第 115 回大会、2012

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新宮 博行 (SHINGU, Hiroyuki)
独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所家畜生理栄養研究領域・主任研究員
研究者番号：40355219

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：