

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：32701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24780259

研究課題名(和文)肝障害予防による乳牛の生産性向上に関する基礎的研究

研究課題名(英文)Basic study on productivity improvement of the dairy cow by the liver damage prevention

研究代表者

鈴木 武人(Suzuki, Takehito)

麻布大学・獣医学部・講師

研究者番号：90532052

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円、(間接経費) 720,000円

研究成果の概要(和文)：乳牛の乾乳期から分娩後にかけての期間は、栄養管理不備によって肝障害が起こりやすく、卵胞発育の調節因子であるIGF-1の分泌低下は繁殖障害を誘発する。肝障害モデルラットにおいて肝障害抑制効果を認めたRhizopus oryzae水抽出物を乾乳後期の乳牛に投与することで、潜在的な肝障害を抑制し、それが肝臓におけるIGF-1分泌を改善することで繁殖能力の向上に寄与することを証明することを目的に解析を行った。その結果、水抽出物による肝障害の抑制が、IGF-1分泌能の回復およびエネルギーバランス改善を介して、発情回帰日数短縮や受胎率改善といった繁殖能力の向上に重要であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：A liver damage is easy to be caused by a defect of nutritional management in peripartum period of the dairy cow, and the reduced secretion of IGF-1 which is a regulatory factor of the follicle growth causes a breeding disorder. By administration of the Rhizopus oryzae water extract that an inhibitory effect of liver damage was recognized in a liver injury model rat to a dairy cow of the latter stage of non-lactating period, analysis was performed for the purpose of proving that reproductive performance improved by controlling a potential liver damage and improving the IGF-1 secretion of the liver. As a result, the suppression of the liver damage by the water extract was found to be important to improvement of the reproductive performance such as shortening of the days until return of estrus and improvement of conception rate through recovery of the IGF-1 secretion ability and energy balance improvement.

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：肝障害 周産期 乳牛

1. 研究開始当初の背景

乳牛、肉牛問わず、人工授精での初回種付けの受胎率は、90年代前半を境に年々低下の一途をたどっていることが(社)家畜改良事業団の調査で明らかになっている。特に乳牛は顕著で、90~93年には62%前後だった受胎率は05年以降50%を下回っている。受胎率の低下は空胎日数の延長につながり、特に乳牛ではそれが酪農家の経済的負担に直結するため、大きな問題となっている。

受胎率低下の原因としては高泌乳牛への改良、大型化などと肝障害が関連していると推測されている。分娩後の大量の乳生産が肝臓における栄養素の代謝に過大な負担をかけ、脂肪肝をはじめとする肝障害を誘発し、その結果として、肝臓における1型インスリン様成長因子の分泌抑制により生殖機能を阻害することがKawashimaら(2007)により報告されている。また、正常な性周期を営む上で、卵胞の発育には血液供給の制御が重要であり、排卵時には血管平滑筋が一酸化窒素(NO)によって弛緩し、卵胞への血流量が一時的に激増することも報告されている(Kawashimaら、2007)。乳牛の乾乳期から分娩後にかけての期間は、栄養管理不備によって肝障害が起こりやすく、それが繁殖障害を誘発することも多い。乳牛が正常な性周期を営み、生産性を最大限に引き出すには、肝臓に負荷をかけない適切な栄養管理が重要である。

2. 研究の目的

肝障害モデルラットにおいて肝障害抑制効果を確認した *Rhizopus oryzae* 水抽出物を乾乳後期の乳牛に経口的に投与することで、潜在的な肝障害を抑制し、それが肝臓におけるIGF-1分泌を改善することで繁殖能力の向上に寄与することを証明することが本研究の目的である。さらに、肝障害抑制を目的とした飼料添加物の開発を目指す上で

必要な、*R. oryzae* 水抽出物の効果のメカニズムを、肝障害に関連する細胞内シグナリングを中心に肝障害モデルラットを用いてに詳細に検討した。

3. 研究の方法

我々はこれまでに、肝障害モデルラットを用いて *R. oryzae* 水抽出物の肝障害抑制効果を見出していた。そこで以下の3点に焦点を絞って肝障害抑制と繁殖能改善に関する解析を行った。

(1) 分娩前後の乳牛(ホルスタイン種)におけるIGF-1、性ホルモン(プロゲステロン)ならびに遊離脂肪酸の血中動態を解析し、繁殖成績との関係を検討した。

(2) 肝障害誘発ラットにおける肝障害誘発後の肝細胞における各種サイトカインの細胞内シグナル伝達経路を解析し、*R. oryzae* 水抽出物の肝障害抑制効果の誘導メカニズムを検討した。

(3) 上記と同様の手法により、肝障害誘発後の *R. oryzae* 水抽出物投与による治療的効果をラットにて検討した。

4. 研究成果

乳牛において、分娩予定日20日前より分娩日まで *Rhizopus oryzae* 水抽出物を10g/頭/日の用量で飼料にトッピング給与した牛群(n=8)は、分娩日以降、血中IGF-1値が対照群に対し高い傾向を示した(図1)、血中NEFA濃度は低値を示した(図2)。分娩後の初回発情までの日数は、

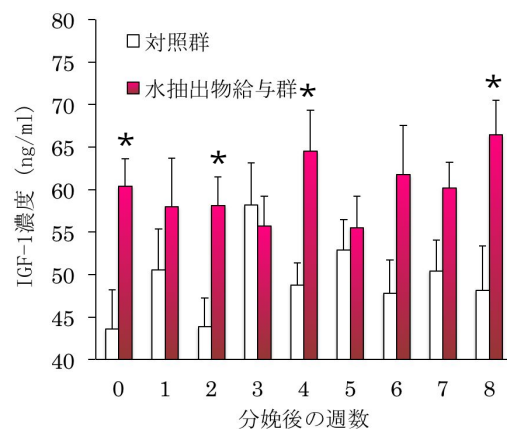


図1. 分娩後のIGF-1の分泌能が改善

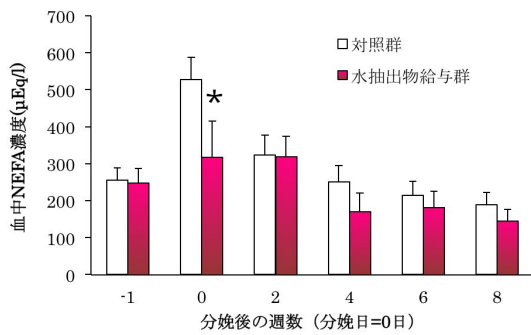


図2. 分娩日に肝臓の脂質代謝が有意に改善

給与群 43.0 ± 33.1 日、対照群 63.0 ± 35.0 日、受胎率は給与群 66.7%、対照群 40.0% であった。

IGF-1 は肝臓から分泌され卵胞の成長を調整する因子で、IGF-1 が高泌乳牛群の分娩後の卵巣機能再開のサインとなることが報告されている。給与群では血中 IGF-1 濃度が対照群に対して有意に増加し、繁殖成績においても分娩後早期に初回発情が現れ、受胎率も高い傾向にあった。これには *R. oryzae* 水抽出物給与による血中 NEFA 濃度抑制（エネルギーバランス改善）や、IGF-1 分泌促進といった肝機能改善作用が関与していると予測された。

肝障害モデルラット肝臓での遺伝子発現解析では、*R. oryzae* 水抽出物投与により既に IL-6 の一時的な高発現とそれに続く HGF の高発現により肝再生が促進されることが認められている。本研究では、IL-6 受容体以降のシグナル分子として STAT3 の早期高発現が認められ（図3）、STAT3 の SREBP-1 を介した脂肪酸合成抑制、

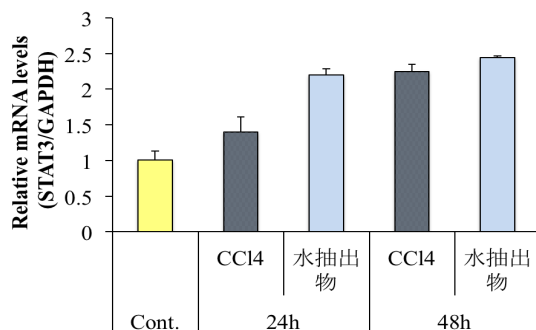


図3. STAT3 が早期に高発現

Cyclin D を介した細胞分裂促進に作用することで、既知の HGF を介した肝再生経路を増強し、肝機能修復を早め、IGF-1 分泌能を維持あるいは回復させていることが示唆された。加えて、回復した IGF-1 分泌

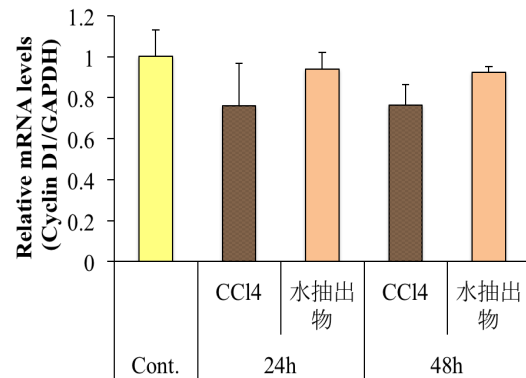


図4. Cyclin D1 発現量

がオートクライン的に作用して IGF-1 レセプター以下のシグナル分子である Akt の発現も早い時期から上昇し、肝再生を増強する可能性も示唆された。

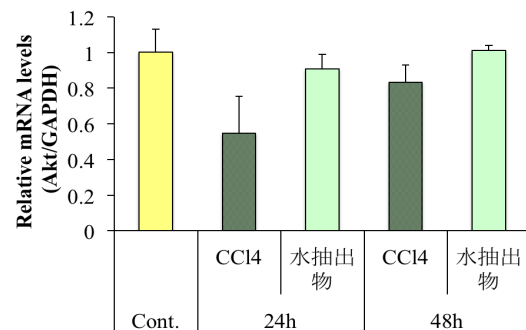


図4. Akt が早期に高発現

一方、*R. oryzae* 水抽出物の肝障害抑制効果は前述のように複数の経路による複合的な作用のため、効果の発現までに一定時間を要すると考えられ、肝障害誘発後の水抽出物投与による治療的效果は認められなかった。

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)

Takehito Suzuki, Mayuko Uchida, Yuji Takeda, Chiemi Mori, Atsushi Onuki, Yoko Miyazaki, Ken Onda, Setusuo Ushikoshi, Kotaro Shitori, Kazuaki Tanaka, Hidetoshi Morita, Tatsuya Takizawa. Aqueous extracts of *Rhizopus oryzae* induce nitric oxide production in rat hepatocyte cell line RLN-10. *Biosci. Biotechnol. and Biochem.*, 77(7), 1384-1389, 2013.

〔学会発表〕(計 1 件)

北田菜津美、北満夫、林みち子、坂口政信、牛越設男、滝沢達也、福岡秀雄、鈴木武人
Rhizopus oryzae 水抽出物投与によるウシ血中IGF-1および性ホルモン濃度の変化が繁殖成績に与える影響

6 . 研究組織

(1)研究代表者

鈴木武人 (SUZUKI TAKEHITO)

麻布大学獣医学部

講師

研究者番号 : 90532052

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし