

原著論文

## ウルソデオキシコール酸の経口給与が新生子牛の消化機能に及ぼす影響

安藤貴朗<sup>1)\*</sup> 山川忠祥<sup>2)</sup> 大塚浩通<sup>2)</sup> 堂地 修<sup>3)</sup> 小岩政照<sup>1)</sup>

1) 酪農学園大学獣医学部

2) 北里大学獣医学部

3) 酪農学園大学酪農学科

\*連絡担当者：安藤貴朗

酪農学園大学獣医学部獣医学科生産動物医療教育群

(〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582)

Tel/Fax : 011-388-4899 e-mail : ando@rakuno.ac.jp

### [要 約]

子牛における消化管機能の低下は、治療の必要性やその後の発育状況など様々な面で多大な経済的損失を招くため、消化管機能を適正に保つことは飼育管理の上で重要である。本研究では、出生後の子牛に対してウルソデオキシコール酸（ウルソ）を含む代用乳を給与し、血液および糞便成分からの消化管機能の評価を行った。供試牛として、出生後に感染性および非感染性の下痢症に罹患しなかったホルスタイン種子牛 30 頭を用いた。供試牛は、代用乳にウルソデオキシコール酸 100 mg を混じて給与されたウルソ群（15 頭）と、代用乳のみを給与した対照群（15 頭）の 2 群に分けた。これらの牛は、3 日、10 日、30 日齢に血液および糞便を採取して各検査に用いられた。血液検査の結果では、SP は 3～30 日齢、ALB は 10 日齢、TBA は 3 日および 30 日齢で、IgG 濃度は 3 日齢、IgA 濃度は 3～30 日齢でウルソ群が対照群と比べて有意な高値を示した。また糞便 pH および IgA 濃度は 3 日齢で対照群と比較してウルソ群で有意な高値を示した。本研究の結果から、出生後からウルソを給与することで、腸管循環の亢進や初乳成分の吸収率が上昇し、液性免疫が増強される可能性が示唆された。

キーワード：ウルソデオキシコール酸、子牛、消化機能、免疫グロブリン

### [緒 論]

哺乳期の子牛の消化機能は飼養管理により変化しやすく、移行免疫の不足、劣悪な環境、栄養摂取のアンバランス、管理技術の不備などの飼育環境により疾病が起こりやすくなる [2, 16]。哺乳期の下痢症は子牛の疾病の中で高被害率を示す疾病であり、この時期におけるミルクの成分異常や過剰摂取、ストレス、消化機能

異常および消化管ホルモン分泌異常は下痢発生の引き金となる [13]。新生子牛における下痢の発生は、消化吸収不良により発育不良を招くだけでなく、免疫力の低下により肺炎など二次的な疾病の発症を増加させ、治療費や発育状況の悪化など様々な面で農家に多大な経済的損失を招く [8]。

ウルソデオキシコール酸（以下ウルソ）は胆汁酸の一種で、以前より動物の各種肝機能障害に対する治療薬として用いられており、利胆作用、リパーゼ活性の促進による消化促進作用、脱コレステロール作用などがある [11]。また、

受付：2011 年 10 月 13 日

受理：2011 年 12 月 11 日

黒毛和種肥育牛における長期経口投与による増体量の上昇や産肉成績の向上、ルーメンアシドーシスによりエンドトキシン血症を発症したホルスタイン種雌牛における臨床症状の改善などの報告がある [4]。

本研究では、出生後の子牛に対するウルソの投与が子牛の消化管機能に与える影響について、血液および糞便成分を用いて内分泌学的評価を行った。

### [材料と方法]

供試牛は、2007年12月から2009年8月までに北海道内の1牧場で出生したホルスタイン種雌子牛30頭を用いた。これらを、1日あたりウルソデオキシコール酸（ウルソ-5%、DSファーマアニマルヘルス(株)、大阪）として初乳給与時から100mgをミルクに混ぜ、30日齢まで毎日経口投与した子牛15頭をウルソ群、ミルクのみを給与した子牛15頭を対照群とした。本研究で用いた子牛は、両群ともに出生後30日の観察期間中に下痢症を含め疾患を発症しなかった。症例の母牛はすべて経産牛であり、分娩時年齢はウルソ群 $3.5 \pm 0.5$ 歳、対照群 $3.7 \pm 0.5$ 歳で、両群間に有意な差は認められなかった。また、対照子牛は全て凍結処理してプールされた初乳を人工的に給与され、その後は代用乳を体重に合わせて給与された。

子牛は分娩日を0日齢として、3、10、30日齢に採血および糞便の採取を行った。採血は頸静脈から行い、血漿中の生化学成分の検査は、生化学自動分析装置（AU400、Olympus光学工業(株)、東京）を用いて、総タンパク質（SP）、アルブミン（ALB）、血糖値（Glu）、尿素窒素（BUN）、総コレステロール（T-cho）の測定に用いた。血清中ガストリンの測定は検査機関（SRL(株)、東京）に依頼し、放射免疫測定法（RIA PEG法）により行った。血清中の総胆汁酸（TBA）は3 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase（3 $\alpha$ -HSD）による酵素サイクリング法によるTBA測定キット（Total Bile Acids Assay Kit、Diazyme Laboratories、USA）を使用して行い、405nmのフィルターを装着したマイクロプレートリーダーを用いて測定した。血清中のIgGおよびIgA濃度測定は、96穴マイクロプレート（Immuno Module、Nunc、Denmark）を使用した

酵素免疫測定法により実施し、IgG測定キット（Bovine IgG ELISA Quantitation Kit、Bethyl Laboratories、USA）およびIgA測定キット（Bovine IgA ELISA Quantitation Kit、Bethyl Laboratories、USA）を使用して行った。

糞便は、採取後に原虫（コクシジウム、クリプトスポリジウム）、ウイルス（コロナウイルス、ロタウイルス）、大腸菌の検査を行い、それらが検出されないことを確認した後に性状の検査を行った。採取した糞便は形状、色調、臭いを記録し、アルミホイル皿に糞便を2~3g測り取り、定温乾燥器（Fine定温乾燥器、東京硝子器械(株)、東京）で70℃、8時間乾燥させて完全に水分を完全に蒸発させて、乾草前後の重量差から糞便中水分含量を算出した。また、50mlの遠沈管（PP-Test tubes、グライナージャパン(株)、東京）に5gの糞便を測り取り、20mlの蒸留水（以下DW）を加えて0.25g/mlの糞液を作成した。この糞液よりpH測定器（D-21 pH Meter、堀場製作所(株)、京都）を用いて、糞便pHとして測定した。また、測定後の糞液を2,000rpmで10分間遠心し、得られた上清を糞便中IgG、IgA、TBAの測定に用いた。

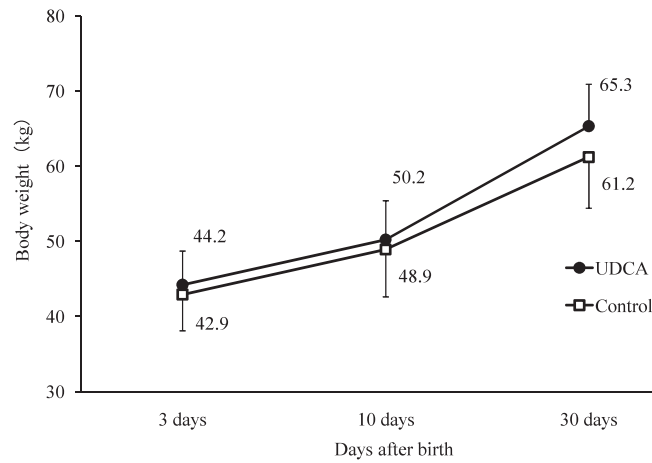
測定結果は平均 $\pm$ 標準誤差（SE）で表示し、両群間の有意差はPaired *t*-testにより検定を行い、 $p < 0.05$ で有意差ありとした。

### [結果]

両群における体重の推移をFig.1に示した。3日齢から30日齢にかけて両群の体重に有意な差は認められず、1日増体量もウルソ群が0.78kg/日、対照群0.68kg/日とウルソ群で高くなったが有意な差は認められなかった。

血液検査において、SPは3日齢より30日齢にかけて、ALBは10日齢において、ウルソ群で対照群に比較して有意な高値を示した（Table 1）。Glu、BUN、T-choについては両群間で有意な差は認められなかった。血清ガストリンは両群間に有意な差は認められなかったが、TBAは3日齢および30日齢で、IgGは3日齢で、IgAは3日齢から30日齢にかけてウルソ群で有意な高値を示した（Table 2）。

糞便中の水分含量は調査期間を通して両群間に有意な差は認められなかった。糞便のpHお



**Fig. 1** Comparison of body weight between the groups.  
UDCA: Ursodeoxycholic acid

**Table 1** Comparison of blood chemical findings between the groups.

|               | Days after birth | UDCA         | Control      |
|---------------|------------------|--------------|--------------|
| SP (g/dl)     | 3 days           | 5.7 ± 0.5*   | 5.1 ± 0.5    |
|               | 10 days          | 5.8 ± 0.6*   | 5.2 ± 0.4    |
|               | 30 days          | 6.0 ± 0.6*   | 5.5 ± 0.5    |
| ALB (g/dl)    | 3 days           | 2.75 ± 0.19  | 2.72 ± 0.21  |
|               | 10 days          | 3.23 ± 0.24* | 3.02 ± 0.25  |
|               | 30 days          | 3.45 ± 0.45  | 3.32 ± 0.27  |
| Glu (mg/dl)   | 3 days           | 126.6 ± 18.2 | 114.8 ± 19.8 |
|               | 10 days          | 115.8 ± 13.7 | 111.9 ± 12.5 |
|               | 30 days          | 108.6 ± 19.5 | 105.2 ± 15.3 |
| BUN (mg/dl)   | 3 days           | 14.5 ± 2.4   | 15.0 ± 3.3   |
|               | 10 days          | 11.6 ± 1.3   | 11.7 ± 2.1   |
|               | 30 days          | 11.8 ± 1.8   | 11.3 ± 1.7   |
| T-cho (mg/dl) | 3 days           | 65.1 ± 9.5   | 64.7 ± 10.8  |
|               | 10 days          | 91.8 ± 14.8  | 89.2 ± 23.2  |
|               | 30 days          | 111.2 ± 21.7 | 104.7 ± 28.0 |

\*: Significant difference between the groups (p<0.05).

よび IgA 濃度は 3 日齢で、ウルソ群が対照群に比較して有意な高値を示した。糞便中 TBA 濃度および IgG 濃度は両群間で有意な差は認められなかった (Table 3)。

**[考 察]**

出産後の子牛が初めて摂取する初乳には高濃度の蛋白質や移行抗体が含まれており、これらが新生子牛の糖新生に用いられ、外部からの感染因子に対する防御に働いている。新生子牛の血液生化学成分は、Glu の様に日齢に関係なく一定レベルを維持するもの、TP の様に日齢に伴い直線的に低下するもの、Alb および T-cho の様に生後増加し 20 ~ 30 日齢で一定となるも

**Table 2** Comparison of blood endocrine substances between the groups.

|                 | Days after birth | UDCA         | Control      |
|-----------------|------------------|--------------|--------------|
| Gastrin (pg/ml) | 3 days           | 513.8 ± 63.2 | 458.6 ± 55.9 |
|                 | 10 days          | 388 ± 37.6   | 411.6 ± 83.8 |
|                 | 30 days          | 337.5 ± 36.4 | 368.1 ± 34.4 |
| TBA (μmol/L)    | 3 days           | 24.3 ± 3.4*  | 16.9 ± 1.9   |
|                 | 10 days          | 26.7 ± 5.2   | 22.0 ± 2.1   |
|                 | 30 days          | 35.9 ± 5.8*  | 24.1 ± 2.9   |
| IgG (mg/ml)     | 3 days           | 22.8 ± 3.9*  | 16.1 ± 2.7   |
|                 | 10 days          | 15.1 ± 3.1   | 12.5 ± 2.5   |
|                 | 30 days          | 10.7 ± 2.4   | 9.8 ± 1.9    |
| IgA (mg/ml)     | 3 days           | 2.6 ± 0.3*   | 1.9 ± 0.2    |
|                 | 10 days          | 1.9 ± 0.2*   | 1.2 ± 0.1    |
|                 | 30 days          | 1.7 ± 0.2*   | 1.1 ± 0.1    |

\*: Significant difference between the groups (p<0.05).

**Table 3** Comparison of fecal endocrine substances between the groups.

|                      | Days after birth | UDCA         | Control     |
|----------------------|------------------|--------------|-------------|
| moisture content (%) | 3 days           | 56.9 ± 13.4  | 62.6 ± 12.1 |
|                      | 10 days          | 68.6 ± 10.8  | 68.9 ± 11.5 |
|                      | 30 days          | 74.3 ± 11.5  | 71.9 ± 13.4 |
| pH                   | 3 days           | 6.75 ± 0.32* | 6.21 ± 0.28 |
|                      | 10 days          | 6.53 ± 0.48  | 6.35 ± 0.39 |
|                      | 30 days          | 6.88 ± 0.65  | 7.33 ± 0.82 |
| TBA (μmol/L)         | 3 days           | 0.2 ± 0.0    | 0.2 ± 0.0   |
|                      | 10 days          | 0.2 ± 0.0    | 0.3 ± 0.0   |
|                      | 30 days          | 0.3 ± 0.0    | 0.2 ± 0.0   |
| IgG (mg/ml)          | 3 days           | 4.7 ± 0.7    | 4.0 ± 0.7   |
|                      | 10 days          | 2.5 ± 0.4    | 2.5 ± 0.4   |
|                      | 30 days          | 2.2 ± 0.3    | 2.1 ± 0.4   |
| IgA (mg/ml)          | 3 days           | 8.5 ± 1.8*   | 5.8 ± 1.6   |
|                      | 10 days          | 4.7 ± 1.2    | 4.3 ± 0.9   |
|                      | 30 days          | 3.8 ± 1.1    | 4.5 ± 1.2   |

\*: Significant difference between the groups (p<0.05).

の、およびBUNの様に生後低下して10～30日齢で一定となるものに分類される。蛋白質は、子牛の発育に関わる栄養素として重要であり、新生子牛では血液中の蛋白質の維持は乳汁に依存している。ALBは蛋白質の1つで、肝臓において生成されるため生体内での蛋白質代謝の指標として用いられている。ALBは栄養源であるだけでなく、血液の浸透圧保持や様々な物質の血液中での運搬にも関与している。本研究では血液検査によって、ウルソ群は対照群と比較してSPは3日齢より30日齢にかけて、ALBは10日齢において有意に高値を示した。このことから、哺乳子牛に対するウルソ投与は蛋白質の吸収率を上昇させ、肝臓における蛋白質代謝を向上させる働きがある可能性が示唆された。

子宮内で母牛から胎仔へと抗体が移行しない牛では、初乳中に含まれる免疫グロブリンを摂取することで新生子牛の血中抗体量は上昇し、免疫機能が活性化する。反芻動物では、生後一定時間に限り小腸上皮細胞でピノサイトーシスが働き、全クラスのガンマグロブリンを吸収し、その後IgAは上皮細胞より腸管内に分泌される[10]。吸収された初乳中IgGは血中に移行し、子牛自身の免疫産生が開始する約4週齢までの全身免疫を担うだけでなく、腸管粘膜からのIgA分泌を促し局所免疫の早期成熟を起こすと報告されている[5]。牛の初乳中に含まれる免疫グロブリンの80～90%はIgGであり、血清中にはIgG<sub>1</sub>とIgG<sub>2</sub>が同程度で存在する(それぞれ9～11 mg/ml)が、初乳中に移行するのは主にIgG<sub>1</sub>(60～80 mg/ml)である。新生子牛における初乳中のIgG吸収量は、初乳摂取時間や摂取量、初乳中の成分、子牛の状態によって影響を受けるとされている[2, 6, 7, 12, 14, 15]。本研究では、すべての供試牛で凍結初乳を同量給与したにもかかわらず、血液中IgG濃度はウルソ群で3日齢に有意な高値を示した。一方、糞便中のIgG濃度は観察期間を通して有意な差は認められなかった。新生子牛の糞便中IgGは、新生子牛特有の小腸上皮細胞によるピノサイトーシスが終わり、かつ出生後一定期間における消化酵素機能の低下のため分解されずに糞便中に排泄されたIgGであり、腸管に存在する間、消化管粘膜での病原微生物

からの防御に用いられている。このことから、ウルソ投与はIgGの腸管での吸収を促進する可能性が示唆された。出生後の子牛の腸管上皮細胞ではピノサイトーシスに加えてIgAの選択吸収性が存在し、腸管上皮細胞によっては初乳中のIgAを吸収する細胞としない細胞が存在するという報告がある[9]。本研究におけるウルソ群の糞便中IgA濃度では、3日齢で投与群は対照群と比べて高値を示すものの、10日および30日齢では両群間に差は認められなかった。新生子牛へのウルソ投与は初乳中IgG吸収能を高める可能性があることから、腸管粘膜に分泌する分泌型IgA量を増加させることで3日齢での投与群の糞便中IgA濃度における高値を示した可能性が考えられた。

胆汁酸は肝細胞の滑面小胞体でコレステロールから生成され、胆汁と共に腸管内に放出されると、界面活性作用により食餌中の脂質を乳化し、小腸において消化吸収を促す。腸管に放出された胆汁酸の98%以上は小腸終末部で再吸収され腸管循環を行う。したがって肝臓から末梢血に放出される胆汁酸量は極めて少量であり、肝細胞では毎日失った分だけ合成されている。循環血液中のTBA濃度は胆汁うっ滞、急性肝炎、肝硬変、肝蛭症などの肝疾患で上昇することが確認され、また下痢を発症すると糞便中への排泄が増加する[3, 17]。本研究の結果、ウルソ投与群は対照群と比較して全日齢で血清TBA濃度が高く、3日齢と30日齢では有意に高値を示した。一方、糞便中TBA濃度は全日齢で両群間に差はみられなかった。ウルソの投与は胆嚢内の胆汁貯留量を増加させ、さらに胆嚢収縮運動を活発化させるため腸管内への胆汁酸分泌量を上昇させるが、大部分の胆汁酸は小腸で再吸収されるため糞便中TBA濃度には影響せず、逆に血清TBA濃度は徐々に増加することが確認されている。本研究の結果から、ウルソ投与は胆汁酸の合成・分泌を促進させて腸管循環を亢進させるだけでなく、それに伴う脂溶性ビタミンなどの腸管における吸収も活性化することが示唆された。

本研究の結果から、出生後の初乳給与よりからウルソを給与することで、胆汁酸の合成・分泌を促進させて腸管循環を亢進させ、初乳からのIgGの吸収や腸管からのIgA分泌を増強



される可能性が示された。

### 【謝 辞】

本研究は、2009年度酪農学園大学・酪農学園大学短期大学部共同研究助成を受けて実施した。

### 【引用文献】

1. Arthington, J. D., Cattell, M. B. and Quigley, J. D. 2000. Effect of dietary IgG source (colostrum, serum or milk-derived supplement) on the efficiency of Ig absorption in newborn holstein calves. *J. Dairy Sci.* 83: 1463-1467.
2. Cannon, S. J., Fahey, G. C., Pope, L. L., Bauer, L. L., Wallace, R. L., Miller, B. L. and Drackley, J. K. 2010. Inclusion of psyllium in milk replacer for neonatal calves. 2. Effects on volatile fatty acid concentrations, microbial populations, and gastrointestinal tract size. *J. Dairy. Sci.* 93(10): 4744-4758.
3. Doll, K., Riepl, H., Eichhorn, W. and Dirksen, G. 1999. Bile acid concentrations in serum, bile and feces of healthy calves and calves with diarrhea. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 106(1): 35-40.
4. Irie, M., Kouda, M. and Matono, H. 2011. Effect of ursodeoxycholic acid supplementation on growth, carcass characteristics, and meat quality of Wagyu heifers (Japanese Black cattle). *J. Anim. Sci.* 89(12): 4221-4226.
5. Ishikawa, H. and Konishi, T. 1982. Changes in serum immunoglobulin concentrations of young calves. *Jpn. J. Vet. Sci.* 44 (4): 555-563.
6. Jacobsen, H., Sangild, P. T., Schmidt, M., Holm, P., Greve, T. and Callesen, H. 2002. Macromolecule absorption and cortisol secretion in newborn calves derived from in vitro produced embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 70: 1-11.
7. Jensen, A. R., Elnif, J., Burrin, D. G. and Sangild, P. T. 2001. Development of intestinal immunoglobulin absorption and enzyme activities in neonatal pigs is diet dependent. *J. Nutr.* 131: 3259-3265.
8. Johnston, W. S., Maclachlan, G. K. and Hopkins, G. F. 1980. The association of non-clotting of cow's milk with scour in the single suckled beef calf. *Vet. Rec.* 23: 174-175.
9. Kaup, F. J., Drommer, W., Jochims, K. and Pickel, M. 1996. Ultrastructure of pre- and postcolostral enterocytes of the newborn calf. *Anat. Histol. Embryol.* 25: 249-255.
10. Molla, A. 1978. Immunoglobulin levels in calves fed colostrum by stomach tube. *Vet. Rec.* 103(17): 377-380.
11. Niu, N. and Smith, B. F. 1990. Addition of N-acetylcysteine to aqueous model bile systems accelerates dissolution of cholesterol gallstones. *Gastroenterology.* 98(2): 454-463.
12. Quigley, J. D., French, P. and James, R. E. 2000. Short communication: Effect of pH on absorption of immunoglobulin G in neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 83: 1853-1855.
13. Radostits, O. M. and Acres, S. D. 1980. The prevention and control of epidemics of acute indifferiated diarrhea of beef calves in Western Canada. *Can. Vet. J.* 21(9): 243-249.
14. Rauprich, A. B., Hammon, H. M. and Blum, J. W. 2000. Influence of feeding different amounts of first colostrum on metabolic, endocrine, and health status and on growth performance in neonatal calves. *J. Anim. Sci.* 78: 896-908.
15. Sangild, P. T. 2003. Uptake of colostral immunoglobulins by the compromised newborn farm animal. *Acta. Vet. Scand. Suppl.* 98: 105-122.
16. Shea, E. C., Whitehouse, N. L. and Erickson, P. S. 2009. Effects of colostrum replacer supplemented with lactoferrin on the blood plasma immunoglobulin G concentration and intestinal absorption of xylose in the neonatal calf. *J. Anim. Sci.* 87(6): 2047-2054.
17. West, H. J. 1991. Evaluation of total serum bile acid concentrations for the diagnosis of hepatobiliary disease in cattle. *Res. Vet. Sci.* 51(2): 133-140.

## Influence of orally administered the ursodeoxycholic acid on digestive function in neonatal calves

Takaaki Ando<sup>1)</sup>, Tadayoshi Yamakawa<sup>2)</sup>, Hiromichi Ohtsuka<sup>2)</sup>, Osamu Douchi<sup>1)</sup> and Masateru Koiwa<sup>1)</sup>

1) Rakuno Gakuen University

2) Kitasato University

\* Takaaki Ando

School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University  
(582 Midori-cho, Bunkyo-dai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan)

### [Abstract]

To Investigate the effect of orally administrated ursodeoxycholic acid on digestive function in neonatal calves, 30 Holstein calves were divided into two groups. 15 calves (UDCA group) were orally administrated 100 mg ursodeoxycholic acid mixed in the milk substitute, and other 15 calves (control group) were only gave the milk substitute. All calves were collected blood and fecal samples on day 3, day 10 and day 30 after birth (= day 0). In UDCA group, serum protein between day 3 and day 30, serum albumin on day 10, Plasma total bile acid on day 3 and day 30, serum IgG on day 3 and serum Ig A between day 3 and day 30 were significantly higher than those in control group. Fecal pH and IgA concentration in UDCA were significantly higher than those in control group. These results suggested that orally administrated ursodeoxycholic acid immediately after birth might be facilitate the digestive function and uptake immune globulin in neonatal calves.

**Key words:** calf, digestive function, immune globulin, ursodeoxycholic acid