

総説

機能性栄養素を用いた家畜のストレス制御による生産性の向上

佐藤幹¹、大津晴彦²、松下浩一³、青木直人¹

¹ 国立大学法人東京農工大学農学研究院 東京都府中市

² 農研機構畜産部門 茨城県つくば市

³ 山梨県畜産酪農技術センター 山梨県中央市乙黒

【要約】

現在、家畜は育種改良によってその生産性を飛躍的に増加させている。一方、その飼養体系はその遺伝的能力を十分に発揮させるものとはなっていない。さらには、家畜の受ける様々なストレスもその生産性を低下させる要因となる。

栄養は、摂取、消化、吸収、輸送、代謝、同化と異化、そして排出の一連のプロセスを経て、家畜の生産性に寄与する。さらには、栄養は遺伝子発現などの代謝調節因子としても機能している。我々は、栄養素を分子として捉え、それにより様々な代謝調節を制御して、家畜の生産性を改善することを試みている。ストレスに対する応答制御もその一つである。

家畜には感染、環境、酸化ストレスなどの様々なストレスが存在し、生産性や生産物の質の低下を引き起こす要因となっている。本稿では、我々がこれまで行ってきた①ブロイラーの免疫調節、採卵鶏の暑熱ストレス緩和、③乳牛の酸化ストレス低減、の3つの観点からのストレス低減による生産性の向上を解説する。

キーワード：栄養、免疫、ストレス、ニワトリ、乳牛

はじめに

家畜は様々なストレスに曝され、その生産性の低下を引き起こしているだけでなく、時には死にも至る状況となることもある。さらには、育種改良により生産性を飛躍的に増加させている家畜にとって、生産に由来するストレスも存在する。我々は、これまで栄養を分子として捉え、その栄養素が制御する代謝に着目した「分子栄養」の領域を畜産に応用してきた [7]。本稿では、機能性栄養素を用いた家畜のストレス制御による生産性の改善に関する一例として、免疫ストレス、暑熱ストレス、そして酸化ストレスを制御する栄養分子を解説していく。

感染や免疫ストレスに対する栄養制御

家畜における感染応答や免疫応答は異化代謝を盛んにするとともに、飼料摂取量の減少などを引き起こし、生産性を低下させる大きな要因になるとともに、家畜の斃死を引き起こす。特に、肉用鶏はライフスパンが短く、鶏肉における抗生物質などの残存が問題になるため、また、世界的に飼料への成長促進を目的とした抗生物質の添加が禁止される流れから、それに代わる技術開発が求められている。これには、動物生体の持つ免疫を賦活化し、感染に対する防御を増強することが有効な方法の一つであると考えられる。

免疫系において重要なサイトカインである TNF- α は、肉用鶏のゲノム上には存在しない

受理：2018年4月25日

[8]。すなわち、肉用鶏の免疫系を評価および制御することを考えた場合、他の哺乳動物とは異なる指標を用いなければいけない。我々は、哺乳動物の TNF- α の代わりに鳥類では TL1A が担っていることを発見した [9]。この指標を用いることにより、鳥類の免疫能を制御する栄養素を探索することができるようになった。

一方で、体内の持つ免疫能を大きく賦活化すると、感染症やそれに伴う斃死は減少するものの、体内の代謝が異化的な方向に進むため、骨格筋タンパク質の合成は抑制され、食肉の生産性は低下する。すなわち、生産性の低下を伴わない程度の弱い免疫賦活化 (mild induction) を誘導する栄養素の添加が肉用鶏の生産には適切であるといえる。この誘導を引き起こす栄養素の報告は多数存在するが、ここでは我々が見出した生産に適切な免疫制御分子である米ぬか由来アラビノキシラン誘導体、5-アミノレブリン酸、そして腸管に定着性のある乳酸菌種に関して解説する。

(1) 米ぬか由来アラビノキシラン誘導体 (MGN-3)

米ぬか由来アラビノキシラン誘導体 (MGN-3) は、米ぬか由来のヘミセルロースをマッシュルーム由来酵素で加水分解したものであり、キシロースが主鎖でアラビノースポリマーが側鎖の構造を持った物質である。消化管からはそのままの形ではほとんど吸収されないが、吸収されたわずかな分子が、NK 細胞を活性化させる可能性などが哺乳動物で報告されていた。我々

は肉用鶏において、飼料へ 100ppm の MGN-3 を添加すると、成長を損なうことなく、体内の免疫能を向上させることを明らかにしている [5]。すなわち、MGN-3 は増体や飼料効率に影響を与えないものの、脾臓の cluster of differentiation 3 (CD3)、interleukin (IL) -2 および interferon (IFN) - γ の発現量を上昇させるとともに、脾臓単核細胞の幼若化反応を増加させた (図 1)。さらには、大腸菌リポ多糖 (LPS) を投与すると脾臓や腸管の炎症応答分子の mRNA 発現は上昇するのに対し、MGN-3 を給与した鶏ではその上昇が抑制されていた (図 2)。以上の結果から、MGN-3 の混餌給与は、肉用鶏の成長を抑制することなく、少なくとも大腸菌に対する抵抗性を改善する栄養素であることが明らかとなった。

(2) 5-アミノレブリン酸 (5-ALA)

5-アミノレブリン酸 (5-ALA) はポルフィリン経路の出発物質でありスクシニル CoA とグリシンの複合体からなるヘムの前駆物質である。我々は、5-ALA が弱い酸化ストレスを誘導することに注目し、免疫制御因子として機能するかどうかを明らかにすることを試みた [6]。まず、光合成細菌由来の 5-ALA を飼料中に添加すると、濃度依存的に脾臓の CD3 の mRNA 発現量が上昇した。同様に、0.001 あるいは 0.01% の 5-ALA を添加した飼料を給与した脾臓単核細胞の幼若化反応は対照群に比べて増加した (図 3)。さらには、LPS で刺激した炎症応答を 5-ALA は抑制した (図 4)。また、5-ALA 添加

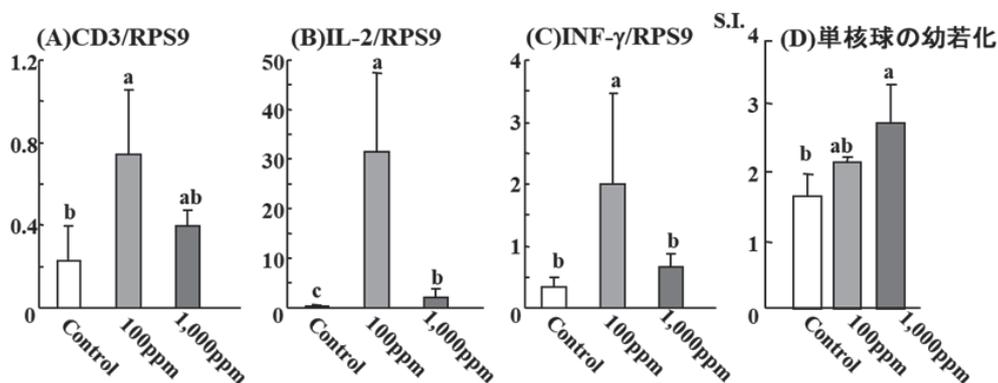


図1 MGN-3を給与したブロイラーの脾臓における免疫関連因子の mRNA 発現と脾臓単核球細胞の幼若化反応 (ConA)
14日間MGN-3を給与したブロイラーの脾臓から採取したサンプルを分析した (n=6)

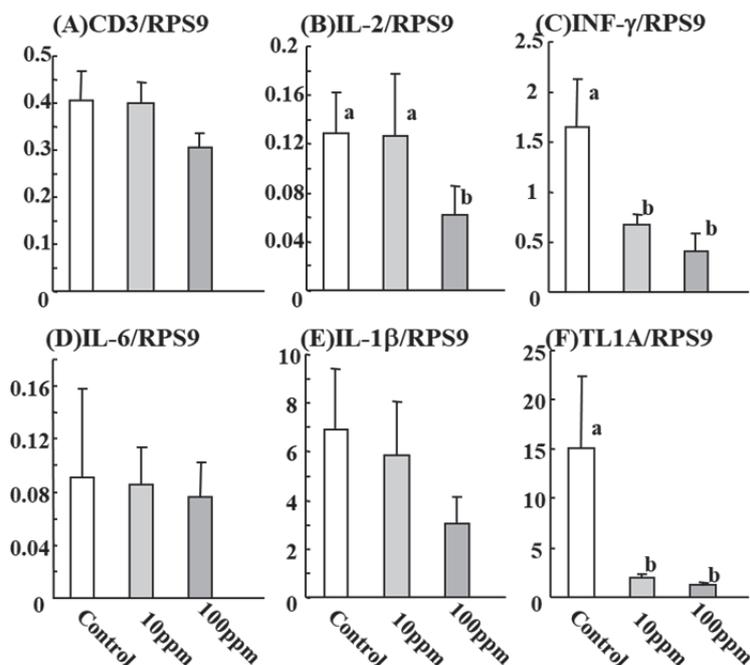


図2 MGN-3を給与してLPS (*E. coli* LPS (serotype 0127:B8) 投与2時間後のブロイラー脾臓における免疫関連因子のmRNA発現
14日間MGN-3を給与したブロイラーに1.5mg/kg体重LPSを投与して2時間後に脾臓を採取し、分析した (n=6)

飼料を給与した区の体重は対照区に比べて有意に大きく、血漿中の過酸化脂質濃度の指標であるチオバルビツール酸反応物質 (TBARS) 濃度が高くなった。以上の結果から、0.001%-5-ALA 給与は、弱い酸化ストレスを通じて肉用鶏の免疫能を活性化して、成長を改善することが示された。

(3) 乳酸菌

ニワトリヒナは、孵化直後の免疫能が弱く、残存卵黄由来の移行抗体によって感染防御を行っており、孵化後約2週間で発達していく。すなわち、孵化直後のヒナにおける免疫、特に最初の感染経路である腸管の免疫能を発達させることが、ヒナにおける感染を防除するには重要となる。

乳酸菌などの生菌剤はこれを実現するための一つのツールである。我々は、有効な乳酸菌を選択するために、TLR-2のシグナリングを指標として選抜し、その乳酸菌を初生ヒナに給与して、腸管免疫の発達を誘導することを試みた[4]。なかでも、*L.gasseri* TL2919は、7日齢の腸管におけるIL-2およびIFN- γ のmRNA発現量を上昇させた(図5)。一方で、本菌の

給与でヒナの増体には影響を与えなかった。よって、本菌の給与によるこれら結果は、生産性に大きな影響を及ぼすことなく、初生ヒナの免疫能を活性化し、抗生物質の代替として感染症を減少させる可能性が示唆された。

暑熱ストレスに対する栄養制御

暑熱は採卵鶏において、産卵量の低下および卵殻質の悪化、破卵率の増加を誘発する。特に、卵殻質の悪化が採卵鶏における生産性の低下を引き起こす。すなわち、卵殻質の低下は破卵率の増加を引き起こし、最終的に収益の低下をもたらす。この現象は、主に血中の酸塩基バランスの変調と血中カルシウム (Ca) イオン濃度の減少に起因し、これはそれぞれ暑熱による過呼吸と飼料摂取量の低下により誘導される。また、産卵量の低下は、飼料摂取量の低下とともに、体内の免疫応答の低下や酸化ストレスの増加、いわゆる暑熱ストレスそのものが一因として影響していると考えられている。

そこで、我々はこの改善策として、(1) 飼料中Ca含量及びCa代謝を調節するビタミンD (VitD) 含量の調整、(2) 飼料中食塩含量の調整および重曹添加により、暑熱による卵殻質悪

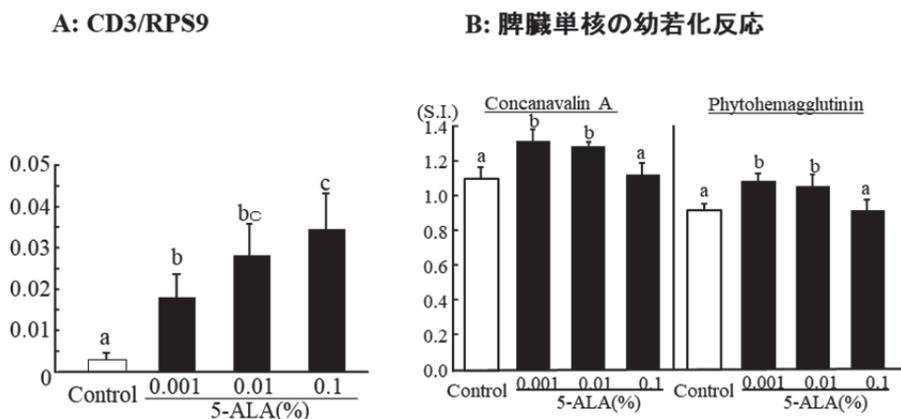


図3 5-ALAを給与したブロイラーの脾臓におけるmRNA発現量と脾臓単核細胞の幼若化反応
10日間5-ALAを給与したブロイラーの脾臓から採取したサンプルを分析した (n=6)

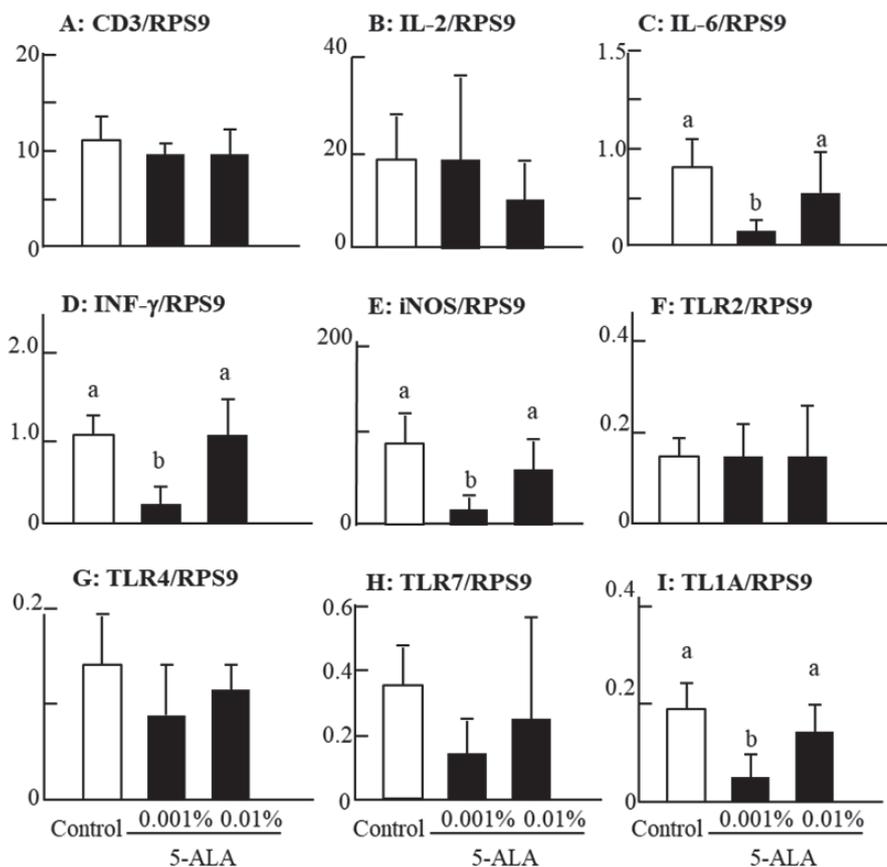


図4 5-ALAを給与してLPS (*E. coli* LPS (serotype 0127:B8) 投与3時間後のブロイラー脾臓における免疫関連因子のmRNA発現
10日間5-ALAを給与したブロイラーに1.5mg/kg体重LPSを投与して3時間後に脾臓を採取し、分析した (n=6)

化・破卵率増加を抑制する技術開発を試みた。
また (3) 飼料へのイソマルトオリゴ糖の添加により、暑熱による産卵率低下抑制技術の開発を行い、(4) それぞれの成果および成果の併用

の実証レベル試験を行った。本研究は、農林水産省の委託事業（気候変動プロジェクト）として行った。

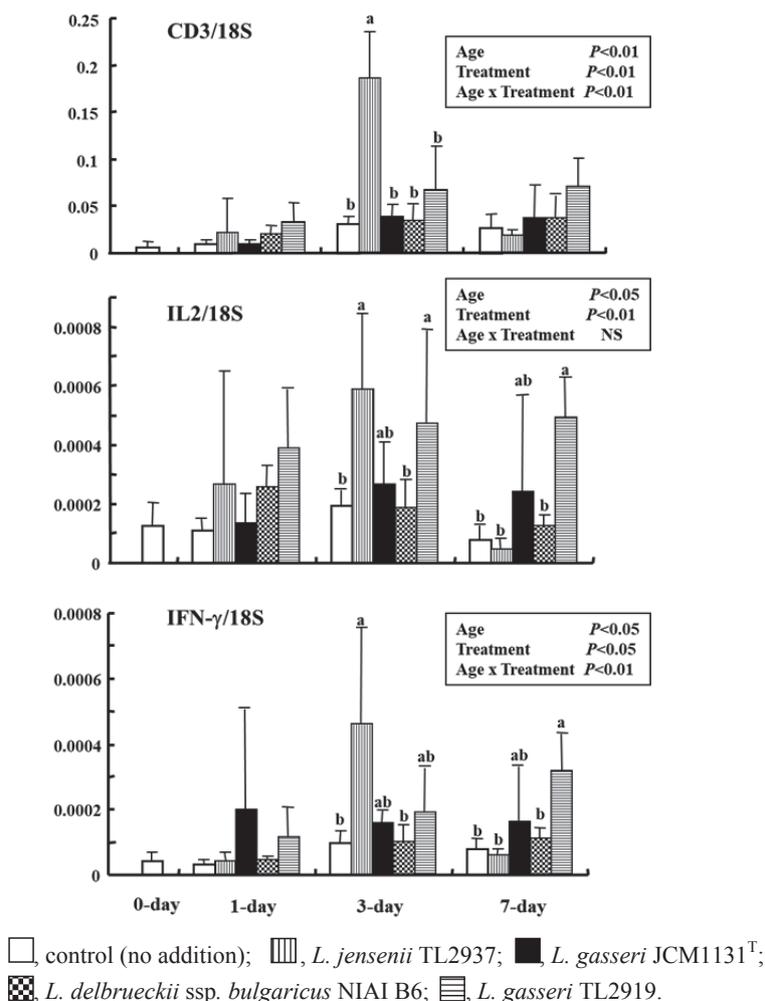


図5 初生ヒナに各種乳酸菌を給与した時の腸管における免疫関連因子のmRNA発現量
各乳酸菌を 10^9 CFU/kg飼料に添加した (n=5)

(1) 飼料中Ca含量及びビタミンD (VitD) 含量の調整

日本飼養標準の要求量はCa 3.33%・VitD 500IU/kgである。この飼料を対照飼料とし、暑熱環境下で、Ca含量を3.33、3.6、3.8%、VitD含量を500、1500IU/kgを掛け合わせた合計6種の飼料を給与し、卵殻質への影響を検討した結果、Ca 3.6%、VitD 1500IU/kgの飼料を給与することにより、対照飼料給与区に対して、卵殻質悪化を抑制できることが示された。

(2) 酸塩基バランスの調整

暑熱による卵殻質の低下は血中の重炭酸イオン (HCO_3^-) 濃度の低下に依存する。そこで、重曹を飼料に添加してこれを防ぐことを行った。重曹には Na^+ が含まれているため、食塩の含量を調節することにより、血中の Na^+ 濃

度を一定にした。すなわち、食塩含量0.22%の飼料を対照飼料とし、食塩含量を0.11%～0.075%まで減少させ、重曹をそれぞれ0.158%～0.207%添加した3種および食塩含量0.075%、重曹0.207%に炭酸水素カリウム0.3%添加した飼料の計4種の試験飼料を夏季に産卵鶏に給与した。その結果、対照飼料給与区に対して、食塩含量0.075%、重曹0.207%の飼料を給与した区において、産卵率に影響を与えず、卵殻質悪化を抑制できる事が示された。

(3) イソマルトオリゴ糖によるストレス改善

イソマルトオリゴ糖を0.5g/羽/日、暑熱環境下で産卵鶏に2週間給与することにより、その後、適温環境下に戻した際の産卵率が無添加区に対して高くとともに、卵殻質も改善することを明らかにした。

(4) 成果の併用による実証試験

それぞれの成果の実証試験としては、飼料中 Ca・VitD 調整飼料および食塩含量調整重曹添加飼料の給与で夏季の卵殻質悪化を抑制できること、イソマルトオリゴ糖添加飼料給与により産卵率低下を抑制できることが確認された。それぞれの成果は異なる部分を改善するものであることから、その併用が可能であることが推察された。その結果、暑熱環境下における卵殻質悪化は、(1) (2) (3) の併用で抑制できることが示された (図6)。同時に、暑熱環境下における産卵率低下抑制は、1年鶏で確認された。

以上より、暑熱環境下における鶏卵生産を抑制する飼料メニューを提示することができたと考えられる。

酸化ストレスに対する栄養制御

乳牛は周産期における分泌組織の急速な分化、著しい乳腺の成長、乳の合成と分泌の開始などの生理的要因によりエネルギー要求量が増大することが知られている。そして周産期に伴う代謝変調 (例えば代謝疾病、周産期疾病、感染症、あるいは蹄病に起因する運動器疾病など) には酸化ストレスが大きく関わっていると考えられている。さらには、生体が酸化ストレスに曝されることにより、ヘキサナル等の牛乳の酸化臭が生じるとされている。

これらの問題点を同時に解決する飼料原料として、我々はトレハロースに着目した。ここでは、乳牛の酸化ストレスに対するトレハロースの添加効果と生産性に対する影響を解説する。

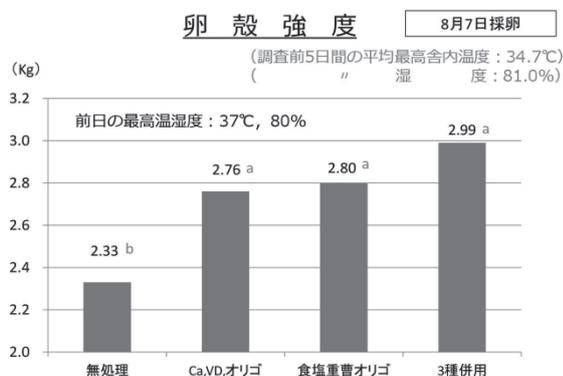


図6 夏季の暑熱環境下における採卵鶏の卵殻強度
暑熱時期の卵殻強度を測定した (n=100)

(1) トレハロースの乳牛における生産性および酸化ストレスに対する影響

まず初めに、乳牛の生産性と酸化ストレスに対するトレハロースの影響を検討した [1, 2, 3]。泌乳後期の乳牛を用い、対照区とトレハロース1%添加区を設定した。まず、トレハロース給与時の乾物摂取量、泌乳量、乳質を表1に示した。乾物摂取量は、トレハロース添加飼料給与で、対照区に比べ有意に増加し、乳量も有意に増加した。一方、乳質には大きな影響は認められなかった。よって、トレハロース添加飼料は、乳牛の摂取量を増加させ、その結果、生産性を向上させる効果があることが明らかとなった。

次に、トレハロースの持つ独自の機能的が生産物、あるいは生体に及ぼす影響を明らかにすることを試みた。トレハロースの機能的の一つとして、抗酸化作用がある。そこで、本研究では DPPH ラジカル消去活性およびスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 活性より酸化能を、TBARS より過酸化脂質濃度を評価した。まず、ルーメン内容物であるが、トレハロース給与により DPPH ラジカル消去活性は上昇する傾向、SOD 活性は有意に増加、TBARS は有意に減少した (図7)。この結果は、トレハロースの給与により、ルーメン内の抗酸化活性が上昇し、過酸化脂質濃度が低下したことを意味している。血液では、SOD 活性には大きな影響は認められなかったものの、DPPH ラジカル消去活性および TBARS 濃度が有意に変化し、ルーメン内同様の結果を示した (図7)。さらには、生産物である乳中の DPPH ラジカ

表1 トレハロース添加飼料給与時の乳牛の生産成績

	対照区	トレハロース区
乾物摂取量 (kg/day)	20.6	21.2*
乳量 (kg/day)	20.5	21.2*
乳質 (%)		
蛋白	3.6	3.6
脂肪	4.7	4.8
ラクトース	4.6	4.6
無脂固形分	9.2	9.2
固形分	13.9	14.0

*: 対照区に対して有意差あり (p<0.05)。

ル消去活性および TBARS 濃度も血液と同様の結果を示した (図7)。すなわち、トレハロース添加飼料は、乳牛の抗酸化活性を上昇させ、酸化ストレスを緩和する強力な資材であることが明らかとなった。

おわりに

これらの研究成果の一部は、すでに現場レベルで実用化されている。今後も、家畜に対するストレスに対して分子栄養という基礎研究用いて制御し、畜産現場で実用化できる応用技術に発展させ、我が国および世界の畜産産業・畜産学の発展に今後も寄与していきたいと考えている。

参考文献

- [1] 青木直人, 佐藤幹, 神田修平, 小原嘉昭, 板橋久雄. 2013. トレハロース給与による乳牛の体内抗酸化能の改善. 家畜栄養生理研究会報, 57:21-32.
- [2] Aoki, N., Sato, K., Kanda, S., Mukai, Y., Obara, Y., Itabashi, H. 2013. Time course of changes in antioxidant activity of milk from dairy cows fed a trehalose-supplemented diet. Animal Science Journal 84:42-47.
- [3] Aoki, N., Furukawa, S., Sato, K., Kurokawa, Y., Kanda, S., Takahashi, Y., Mitsuzumi, H., Itabashi, H. 2010. Supplementation of the diet of dairy cows with trehalose results in milk with low lipid peroxide and high antioxidant content. J. Dairy Science. 93:4189-4195.
- [4] Sato, K., Takahashi, K., Tohno, M., Miura, Y., Kamada, T., Ikegami, S., Kitazawa, H. 2009. Immunomodulation in gut-associated lymphoid tissue of neonatal chicks by immunobiotic diets. Poultry Science 88:2532-2538.
- [5] Sato, K., Takahashi, K., Aoki, M., Kamada, T., Yagyu, S. 2012. Dietary supplementation with modified arabinoxylan rice bran (MGN-3) modulates inflammatory responses in broiler chickens. Journal of Poultry Science. 49:86-93.
- [6] Sato, K., Matsushita, K., Takahashi, K., Aoki, M., Fujiwara, J., Miyanari, S., Kamada, T. 2012. Dietary supplementation with 5-aminolevulinic acid modulates growth performance and inflammatory responses in broiler chickens. Poultry Science. 91:1582-1589.1546.
- [7] Sato K. 2016. Molecular nutrition: Interaction of nutrients, gene regulations and performances. Animal Science Journal. 87:857-862.
- [8] Takimoto, T., Takahashi, K., Sato, K., Akiba, Y. 2005. Molecular cloning functional characterizations of chicken TL1A. Dev. Comp. Immunol., 29: 895-905.
- [9] Takimoto, T., Sato, K., Akiba, Y., Takahashi, K. 2008. Role of chicken TL1A on inflammatory responses and partial characterization of its receptor. Journal of Immunology 180:8327-8332.

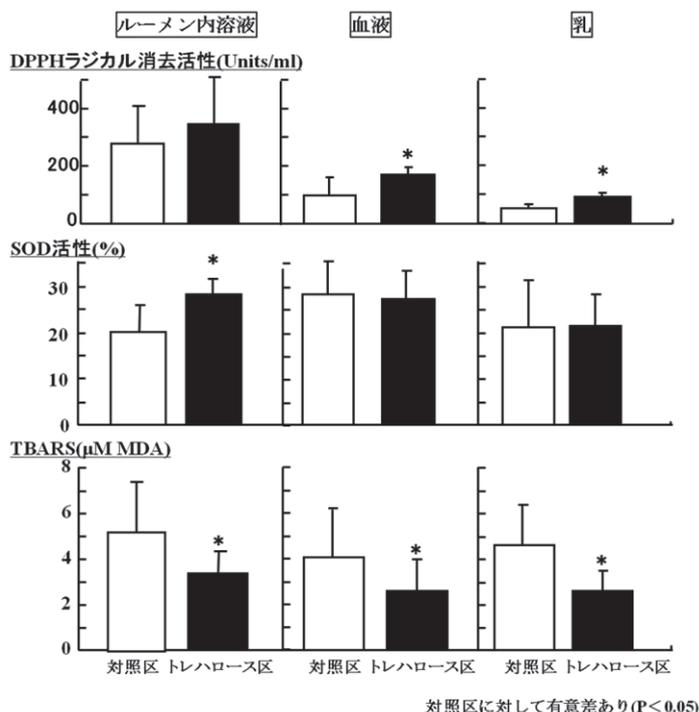


図7 トレハロース添加飼料給与時の抗酸化活性
乳牛用飼料に乾物当たり1%のトレハロースを添加した (n=6)。

Improvement of animal productions by the control of stress responses using dietary functional nutrients

Kan Sato¹, Haruhiko Ohtsu², Kouichi Matsushita³, Naoto Aoki¹

¹ Laboratory of Animal Science, Department of Biological Production,
Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Japan

² National Institute of Livestock and Grassland Science, Tsukuba, Ibaraki, Japan

³ Yamanashi Prefectural Livestock Experiment Station, Koufu, Japan

[Abstract]

Recent increase of animal productions is mainly depended on the genetic selection. However, the feeding system of highly developing animals to substantiate high productivity is not relevant until now. In addition, various stresses induce the decrease of animal productions.

Nutrition deals with ingestion of foods, digestion, absorption, transport of nutrients, intermediary metabolism, underlying anabolism and catabolism, and excretion of unabsorbed nutrients and metabolites. In addition, nutrition interacts with gene expressions, which are involved in the regulation of animal performances. The stress reactions in animals are also improved by nutrients. The various stresses, such as immune, environment, and oxidative stress, play the factors to reduce the quality and quantity of animal productions. The present review shows overviews on the nutritional regulation of metabolism, physiological functions and gene expressions underlying the various stresses for improvement of animal production in chickens and dairy cows.

Keywords: Nutrition, Immune response, Stress, Chicken, Dairy cow