

応用研究論文

子牛へのキイチゴ給与による

血漿中 TBARS および免疫グロブリン濃度への影響

佐藤勝祥¹, 西山佳南恵¹, 今西弘幸², 渡邊潤², 伊藤謙¹, 横尾正樹¹

¹ 秋田県立大学生物資源科学部学部アグリビジネス学科

² 秋田県立大学アグリノバージョン教育研究センター

本研究では、秋田県が新たな特産品として生産に力を入れているキイチゴの持つ機能性成分に着目し、子牛の免疫に与える影響を検討することを目的として、離乳期子牛へのキイチゴ給与試験を行った。アグリノバージョン教育研究センター（AIC、旧フィールド教育研究センター）で飼育している肉用牛（黒毛和種、日本短角種）の子牛を供試動物とし、キイチゴ給与による血液中の栄養代謝産物、酸化ストレス指標（TBARS）および免疫グロブリン（IgM, IgG）濃度への影響を検討した。2週間のキイチゴ給与によって、血漿中の栄養代謝産物濃度に有意な変動は見られなかった。血漿中のTBARS濃度の結果、対照区では試験期間を通じて高い値となる個体が見られたが、キイチゴ給与区ではキイチゴ給与後に低い値となり試験期間終了時まで維持されていた。また、免疫グロブリン濃度の結果では、キイチゴ給与後にIgM濃度が低下し、IgG濃度が増加した。これらの結果から、キイチゴ給与が子牛の酸化ストレスを抑制し、IgG産生を促進することで免疫力の向上が期待される。今後の展望として、キイチゴ栽培の剪定時に廃棄される茎葉部や収穫の際に廃棄されてしまう果実部を未利用飼料資源として活用し、子牛の免疫力を向上させる飼養管理技術の開発を目指す。

キーワード：キイチゴ, 子牛, 免疫グロブリン, TBARS, 免疫

肉用牛の飼育において、哺乳期から離乳期の子牛の成長がその後の増体に大きく影響することが明らかになっており、安定的な畜産経営のためには、子牛をいかに健康的に育成するかが重要なポイントとなる。しかしながら、出生直後から育成期にかけての子牛は下痢症を発症することが多く、これにともなう発育遅延の発生が増加傾向にあり、子牛の飼養管理において免疫力を高め健康に育てることが重要な課題となっている。近年、子牛の下痢症を改善する栄養素としてビタミンEが注目されている。下痢症を頻繁に発症する子牛では血中濃度が低いことや、子牛へのビタミンE投与によって下痢症の発症を軽減する効果が報告されている（池内ら、1997）。子牛の飼養管理においてビ

タミンEコントロールが取り入れられており、サプリメント等の添加剤として給与が行われている。次のステージでは、現場での応用研究への発展を想定した、添加剤に依存しない飼料資源の活用が課題となる。そこで、秋田県が新たな特産品として生産に力を入れているキイチゴに着目した。キイチゴには、ビタミンEやビタミンC等の抗酸化物質、ポリフェノール等の機能性成分が豊富に含まれており、本研究では、キイチゴによる免疫への影響を検討することを目的として、アグリノバージョン教育研究センター（AIC）で飼育している子牛を用いてキイチゴ給与試験を行った。

材料および方法

キイチゴ給与試験

供試動物として AIC で飼育されている肉用牛を用いた。キイチゴ給与区には日本短角種 3 頭 (4 ヶ月齢, 131.3 ± 9.2 kg) と黒毛和種 3 頭 (4 ヶ月齢, 116.3 ± 3.8 kg) の計 6 頭を, 対照区には日本短角種 5 頭 (4 ヶ月齢, 135.2 ± 10.8 kg) を供試した。牛房ごとに 2 頭ずつの供試牛を入れ, 1 日に 2 回 (9 時 16 時) 給餌を行い (乾草および育成用配合飼料), 水と鈹塩は自由摂取とした。

給与したキイチゴは, AIC で収穫されたヘリテージ種 (平成 27 年度から平成 30 年度に収穫して -30℃ で保存) を用い, 果実部を凍結乾燥後にミキサーで粉碎し, 粉末状にしてから配合飼料に混合して 16 時の給餌時に給与した。給与量は供試牛の体重 1kg あたりキイチゴが 2g (乾草粉末重量で約 0.3g) となるように設定し, 給与期間は 2 週間とした。血液採取は, 試験開始時 (0 週) と 2 週間後 (キイチゴ給与期間終了時) および 4 週間後 (給与期間終了から 2 週間後) の計 3 回行った。血液は抗血液凝固剤 (ヘパリン, 10U/mL) 入りの真空採血管に採取し, 遠心分離 (4℃, 3,000 rpm, 20 分間) して血漿を回収した。血漿サンプルは測定に使用するまで -30℃ で保存した。

キイチゴ給与による栄養状態への影響を検討するため, 血漿中のグルコース, 遊離脂肪酸およびコレステロール濃度を測定した。測定にはそれぞれ, グルコース CII-テストワコー, NEFA C-テストワコーおよびコレステロール E-テストワコー (いずれも富士フイルム和光純薬工業株式会社) を使用した。また, 酸化ストレスの指標として血漿中チオバルビツール酸反応性物質 (TBARS ; Thiobarbituric Acid Reactive Substances) 濃度を測定した。測定には

TBARS Assay Kit (Cayman CHEMICAL) を用いた。免疫グロブリン濃度の測定には, Bovine IgM ELISA Kit および Bovine IgG ELISA kit (ともに Bethyl Laboratories) を用いた。

月齢に伴う血漿中免疫グロブリン濃度の変動

供試動物として AIC で飼育されている日本短角種 6 頭を用いた。出生直後から 1 ヶ月ごとに 5 ヶ月齢まで血液を採取し, キイチゴ給与試験と同様の方法で血漿中の IgM および IgG 濃度を測定した。

統計処理

栄養代謝産物濃度の解析には一元配置分散分析を用い, TBARS および免疫グロブリン濃度の解析には, 分散分析およびダンカンの多重比較検定を用いた。有意差については, $P < 0.10$ を有意差ありと判定した。統計ソフトは Mac 統計解析 (エスミ株式会社) を用いた。

結果

血漿中栄養代謝産物濃度への影響

キイチゴ給与による血漿中グルコース, 遊離脂肪酸およびコレステロールの変動を表 1 に示す。いずれの測定項目においても, 試験期間を通じにて有意な変動は見られず, 正常濃度範囲内で推移していた。

血漿中 TBARS 濃度への影響

血漿中 TBARS 濃度の変動を図 1 に示す。統計解析において有意な変動は見られなかった。個体ごとの変動を見ると, 対照区では試験期間を通じて高い値をなる個体が見られた。一方で, キイチゴ給与区の結果では, 試験開始時 (0 週) には高い値となる個体が見られたが, 2 週間後 (キイチゴ給与期間終了

表 1 キイチゴ給与による栄養代謝産物濃度の変動

	0 週	2 週	4 週
グルコース (mg/dL)	101.95 ± 12.41	103.43 ± 6.25	104.05 ± 5.40
遊離脂肪酸 (mEq/L)	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.01
コレステロール (mg/dL)	115.11 ± 19.58	148.63 ± 7.29	130.30 ± 17.36

値は平均値 ± 標準誤差を示している。

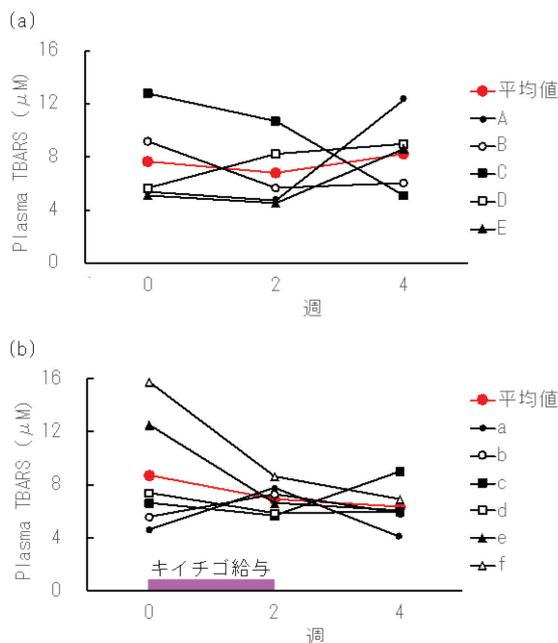


図1 キイチゴ給与による血漿中TBARS濃度の変動
(a)に对照区, (b)にキイチゴ給与区の結果を示している。赤い線は各試験の平均値を示し, 黒い線は各個体ごとの値を示している。図中のピンクの線はキイチゴ給与期間を示している。

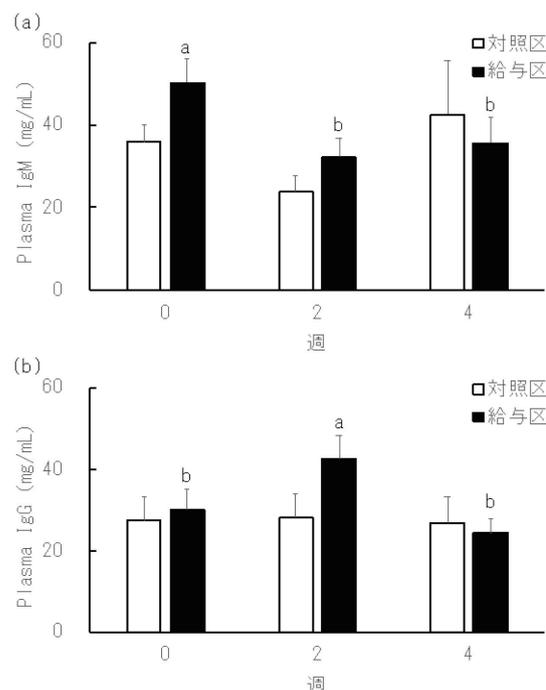


図2 キイチゴ給与による血漿中免疫グロブリン濃度の変動
(a)に血漿中IgM濃度, (b)に血漿中IgG濃度の変動を示している。値は平均値+標準誤差を示し, 白いバーは对照区, 黒いバーはキイチゴ給与区の結果を示している。図中の異なる文字間 (a, b) には有意差 (P<0.10) があることを示している。

後)にはいずれの個体も低い値を示し, さらに, 4週間後(給与期間終了から2週間後)においても低い値が維持されていた。

血漿中免疫グロブリン濃度への影響

血漿中のIgMおよびIgG濃度の変動を図2に示す。

血漿中IgM濃度の結果, 对照区の値に有意な変動は見られなかった。キイチゴ給与区の結果では, 試験開始時(0週)の値と比べて, 2週間後(キイチゴ給与期間終了後)および4週間後(給与期間終了から2週間後)の値が有意に低かった(いずれもP<0.10)。血漿中IgG濃度の結果, 对照区の値に有意な変動は見られなかった。キイチゴ給与区の結果では, 試験開始時(0週)およびキイチゴ給与後(2週)の値が, 試験開始時(0週)および4週間後(給与期間終了から2週間後)の値と比べて, 2週間後(キイチゴ給与期間終了後)の値が有意に高かった(いずれもP<0.10)。

月齢に伴う血漿中免疫グロブリン濃度の変動

月齢に伴う血漿中IgMおよびIgG濃度の変動を図

3に示す。IgMおよびIgGいずれにおいても, 2ヵ月齢までは低い値が維持され, 3ヵ月齢から急激な上昇が見られた。

まとめ

本研究では, 子牛の免疫力向上を目指し, 子牛へのキイチゴ給与試験を行った。血漿中の栄養代謝産物(グルコース, 遊離脂肪酸およびコレステロール)濃度への影響を見ると, いずれの測定項目においても試験期間を通じて正常濃度範囲内で推移しており, キイチゴ給与による栄養状態への影響は見られなかった。

酸化ストレス指標である血漿中TBARS濃度への影響を見ると, 对照区の供試牛では試験期間を通じて高い値となる個体が見られたのに対し, キイチゴ給与区の供試牛ではキイチゴ給与後から低い値が維持されていた。キイチゴに含まれるビタミンE等の抗酸化物質の作用によって酸化ストレスが軽減された, 直接的な作用が考えられる。また, 炎症反応によってもTBARS濃度が増加することが知られており, キ

イチゴ給与によって酸化ストレスおよび炎症が抑制される可能性が示唆された。

血漿中の免疫グロブリン（抗体）濃度への影響を見ると、対照区では有意な変動が見られなかったが、イチゴ給与区では、イチゴ給与後に血漿中の IgM 濃度が低下し、IgG 濃度が上昇する変動が見られた。免疫グロブリンは、生体内に侵入した抗原と結合し（抗原抗体反応）、抗原を無毒化したり免疫細胞による食作用を促進したりすることで、免疫応答を示すタンパク質である。過去の報告では、人や黒毛和種子牛においてビタミン E が不足している場合、ワクチン接種時の抗体産生が低いことが明らかになっている（Packer L, 1991. 乙丸ら, 2012）。また、IgM は免疫応答の初期に産生される抗体で、免疫反応が進むとクラススイッチが進み、IgG や IgA 抗体の産生量が増加する。過去には、マウスへのビタミン A 給与によって粘膜組織における IgA 産生が増加する報告（Nikawa ら, 2001）や、ビタミン

疫力が向上した可能性が示唆される。今回の試験では末梢血中での変動を検討したが、機能的成分やその作用機序については今後の検討が必要である。

月齢に伴う血漿中の免疫グロブリン濃度の変動は、IgM, IgG ともに 2 ヶ月齢までは低い値を取り、3 ヶ月齢以降に急激に上昇した。本研究ではイチゴを配合飼料に混合して給与するために、離乳期（4 ヶ月齢）の子牛を用いた給与試験を行った。今後は代用乳にイチゴを添加する等、離乳前の子牛を用いたイチゴ給与試験を実施することにより、血漿中の免疫グロブリン濃度の増加を促進できる可能性が考えられる。

本研究では、子牛へのイチゴ給与によって酸化ストレス状態が改善され、IgG 産生能を促進することにより免疫力を向上させる可能性が示唆された。今後は、イチゴに含まれる機能的成分の分析、免疫向上のメカニズムの解明を行いながら、将来の目標として、イチゴ栽培の剪定時に廃棄される茎葉部や収穫の際に廃棄されてしまう果実部を未利用飼料資源として活用し、子牛の免疫力を向上させる飼養管理技術の開発を目指す。

謝辞

本研究は、秋田県立大学平成 30 年度学長プロジェクト「創造的研究」の支援を受けて行った。また、本研究内容は西山の修士論文（2020）の内容を一部含んでいる。

文献

- 池内俊久, 片岡宏, 富田啓介, 中家一郎, 鳥飼善郎. (1997). 「セレンおよびビタミン E 投与母牛由来の黒毛和種子牛の発育および抗病力」『日本獣医師会雑誌』 50(1):19-23.
- 乙丸孝之介, 稲富多樹夫, 大塚浩通, 安藤貴朗, 小岩政照. 「黒毛和種子牛に対する *Mannheimia haemolytica* 不活化ワクチン投与後の抗体応答とビタミン E の関連性」『家畜感染症学会誌』 1(1): 31-35.
- Nikawa T Ikemoto M, Kano M, Tokuoka K, Hirasaka K,

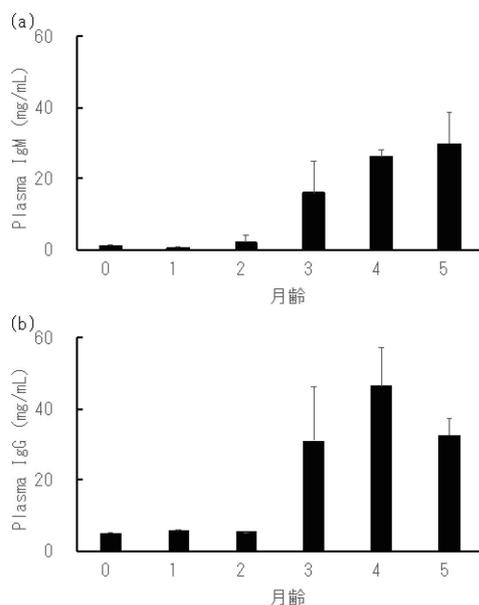


図3 月齢に伴う血漿中免疫グロブリン濃度の変動
(a) に血漿中IgM濃度, (b) に血漿中IgG濃度の変動を示し、
値は平均値+標準誤差を示している。

A の体内代謝産物であるレチノイン酸が IgA 産生細胞へのクラススイッチを誘導する報告（Seo ら, 2013）があり、栄養素によるクラススイッチ調節作用が明らかになりつつある。本研究では、イチゴ給与によって血漿中の IgG 濃度が上昇しており、免

Uehara S, Takatsu K, Rokutan K, Kishi K. (2001).
Impaired vitamin A-mediated mucosal IgA response
in IL-5 receptor-knockout mice. *Biochemical and
Biophysical Research Communications*. vol285 2:
546-549.

Packer L. (1991). Protective role of vitamin E in
biological systems. *The American Journal of
Clinical Nutrition*. 53: 1050S-1055S.

Seo GY, Jang YS, Kim J, Choe J, Han HJ, Lee JM, Kang
SH, Rhee KJ, Park SR, Kim WS, Kim PH. (2014).
Retinoic acids acts as a selective human IgA switch factor.
Human Immunology. vol.75 8: 923-929.

〔 令和 3 年 7 月 30 日受付 〕
〔 令和 3 年 9 月 1 日受理 〕

Effect of Raspberry Feeding on Plasma TBARS and Immunoglobulin Levels in Calves

Katsuyoshi Sato¹, Kanae Nishiyama¹, Hiroyuki Imanishi²,
Jun Watanabe², Ken Ito¹, Masaki Yokoo¹

¹ *Department of Agribusiness, Faculty of Bioresource Sciences, Akita Prefectural University*

² *Field Education and Research Center, Faculty of Bioresource Sciences, Akita Prefectural University*

Akita Prefecture is focusing on cultivating raspberries as a new special product, the functional ingredients of which are attracting growing attention. Therefore, in this study, we conducted a raspberry feeding test on weaning calves to investigate how it affects calf immunity. Moreover, using beef cattle (Japanese Black, Japanese Shorthorn) calves as test animals, we investigated how feeding strawberry affects the nutrient metabolites, oxidative stress index (TBARS), and immunoglobulin (IgM, IgG) concentration in the blood. No significant change was observed in the plasma vegetative metabolite concentration after 2 weeks of raspberry feeding. The TBARS concentration in the plasma exhibited high values throughout the test period in certain individuals of the control group. However, in the raspberry feeding group, these values were low after feeding raspberries and were maintained until the end of the test period. Concerning the immunoglobulin levels, the IgM and IgG concentrations decreased and increased, respectively, after feeding raspberries. From these results, raspberry feeding is expected to suppress oxidative stress in calves and promote IgG production to improve immunity. As a future perspective, we aim to develop a feeding management technology that improves calf immunity by using the foliage and fruit parts discarded during raspberry pruning and harvesting, respectively, as unused feed resources.

Keywords: raspberry, calf, immunoglobulin, TBARS, immunity