

	テラムラ マコト
<b>氏 名</b>	<b>寺村 誠</b>
本籍（国籍）	京都府
学 位 の 種 類	博士（農学）
学 位 記 番 号	連研第 699 号
学位授与年月日	平成 29 年 9 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物生産科学
<b>学位論文題目</b>	<b>乳牛の小腸における受動的なカルシウム吸収に及ぼすオリゴ糖 Difructose anhydride III の効果研究（Study on the effect of Difructose anhydride III on small intestinal passive calcium absorption in dairy cows）</b>
学位審査委員	主査 弘前大学 教授 松崎 正敏 副査 鈴木 裕之(弘前 教授),花田 正明(帯広 准教授),平田 統一 (岩手 助教)

## 論文の内容の要旨

低カルシウム（Ca）血症は起立不能などの直接的な臨床被害をもたらすだけでなく、間接的に乳房炎や第四胃変位、胎盤停滞、ケトosisなどの疾病を誘発するため、泌乳牛の生産性を著しく低下させる疾病である。低 Ca 血症の病態が明らかとなり、その予防方法が提案されてはいるものの、未だに経産牛の約半数で潜在性を含めた低 Ca 血症が発生していることから、従来の低 Ca 血症予防方法で十分な予防効果が得られているとは言えない。そういったことから、より省力的且つ効果的な低 Ca 血症の予防方法の開発・提案が求められている。

Difructose anhydride（DFA）III はフラクトース 2 分子が結合した難消化性のオリゴ糖である。ラットにおいて、DFA III は小腸上皮細胞間隙にあるタイトジャンクション（TJ）に作用し、濃度勾配を利用した受動的な Ca 吸収を促進することが明らかとなっている。乳牛においても、DFA III はルーメン微生物に分解されにくく、DFA III のまま十二指腸に到達すること、乾乳後期乳牛への DFA III 給与により分娩時の血清 Ca 濃度の低下を予防し、周産期疾病発症率を低減することが報告されている。しかしながら、DFA III が直接的に関与すると考えられる腸管からの受動的な Ca 吸収促進効果を、分娩牛を用いて検証した報告はなされていない。そこで本研究は、乳牛における DFA III の給与効果を明確にすることを目的に、1) 乳牛における DFA III の Ca 吸収促進効果の確認、2) 分娩前後における乳牛への DFA III の給与効果について検討を行った。

DFA III の乳牛における給与効果をより明確に示すためには、給与した DFA III がルーメン内で分解されることなく DFA III のまま主要な Ca 吸収部位とされる十二指腸に到達すること、ならびに乳牛の十二指腸において DFA III が受動的な Ca 吸収を促進することを明らかにする必要がある。そこで本研究では、乳牛における DFA III の十二指腸到達率および DFA III がウシ十二指腸における受動的な Ca 吸収に及ぼす影響を検討した。まず、乳牛における DFA III の十二指腸到達率を検討した結果、給与した DFA III は速やかにルーメン内の液相に溶解

した後、DFA III のまま十二指腸に到達しており、その到達率は約 70%であることを示した（第 2 章第 1 節）。さらに、DFA III がウシ十二指腸における受動的な Ca 吸収に及ぼす影響を、ウシ十二指腸反転腸管標本を用いて検討した結果、ウシ十二指腸においても DFA III はラット同様に受動的な Ca 吸収を促進する可能性が示唆された（第 2 章第 2 節）。

乾乳後期乳牛への DFA III 給与は、分娩時の血中 Ca 濃度の低下を予防することが報告されているものの、分娩牛において腸管からの受動的な Ca 吸収の促進を示す報告はない。そこで本研究では、分娩牛への DFA III 給与が腸管における受動的な Ca 吸収に及ぼす影響を、分娩前後における腸管からの能動的な Ca 吸収に関わる上皮小体ホルモン（PTH）および 1,25-ジヒドロキシビタミン D（1,25-(OH)<sub>2</sub>D）、ならびに骨からの Ca 動員を示す骨代謝マーカー [I 型コラーゲン架橋 N テロペプチド（NTX）] の推移から検討した。その結果、分娩後 72 時間において血清 NTX 濃度の有意な上昇は認められず分娩後早期の骨からの Ca 動員は抑制状態にあったこと、なおかつ血清 PTH および 1,25-(OH)<sub>2</sub>D 濃度は分娩後早期に正常に上昇していたにもかかわらず DFA III 無給与牛で血清 Ca 濃度の回復が遅く、腸管における能動的な Ca 吸収は機能不全状態であったことが示唆された。一方、分娩前後に DFA III を給与した牛で無給与の牛に比べ分娩後早期の血清 Ca 回復が有意に早かったことから、DFA III 給与が分娩後早期の腸管における受動的な Ca 吸収を促進した可能性を、実際の分娩牛を用いて初めて示した。

また、DFA III 給与により分娩後血清 Ca 濃度の早期回復が認められたことから、分娩直後の低 Ca 血症を発端とする様々な産後疾病の予防、さらには繁殖成績改善に DFA III の有効性が期待された。そこで、分娩前後乳牛への DFA III 給与による低 Ca 血症の予防および改善が分娩後の乾物摂取量（DMI）およびエネルギー充足、卵巢機能回復および子宮修復に及ぼす影響を検討した。その結果、DFA III 給与による分娩後に低下した血清 Ca 濃度の早期回復は、分娩後早期の消化管運動および DMI の増加をもたらしたが、同時に乳量の増加も観察されたため分娩後のエネルギー充足の改善は認められず、卵巢機能回復や子宮修復にも明らかな改善効果は認められなかった。一方、供試牛全頭を用いた単相関解析の結果から、分娩後低下した血清 Ca 濃度の速やかな回復は、分娩後の DMI だけでなく、エネルギー充足や卵巢機能回復、子宮修復の改善および早期化に寄与することが明らかとなり、分娩後乳牛における血清 Ca 濃度の早期回復の重要性が改めて示された。

以上の結果より、DFA III は齧歯類での成績と同様に、分娩後乳牛の十二指腸における受動的な Ca 吸収を促進することが実証された。とりわけ、加齢に伴って 1,25-(OH)<sub>2</sub>D 受容体数が減少し低 Ca 血症の発症リスクの高まる高齢牛において、簡便かつ安全に低 Ca 血症の予防および改善効果が期待できる可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

2017年8月10日に弘前大学において、寺村誠氏の学位論文公開審査会を実施した。はじめに本人が学位論文の内容について説明し、その後、質疑応答を行った。

本研究では、乳牛の生産性低下や廃用にいたる疾病の端緒となる分娩後の低カルシウム（Ca）血症を予防する方策として、ラットなどでCa吸収促進効果が知られている難消化性オリゴ糖 Difructose anhydride（DFA）IIIの添加給与による乳牛のCa吸収促進技術開発を目指して、分娩牛を用いた検討を行った。

はじめに、DFA IIIがウシ腸管からのCa吸収促進効果を発揮しうるかを明らかにするため、給与したDFA IIIがルーメンでの分解を免れて十二指腸にどの程度到達するのかを調べた結果、到達率が約70%に達することを明らかにした。すなわち、DFA IIIはウシ十二指腸に到達してCa吸収の促進に寄与することが示された。さらに、ウシ十二指腸におけるDFA IIIのCa吸収促進効果を明らかにするためにウシ十二指腸反転腸管標本を用いた検討を行い、DFA III添加によりCa吸収（基底膜側へのCaの輸送）が促進されることを実証した。

DFA III給与が分娩時のウシ血中Ca濃度の低下を予防することは報告されているものの、そのCa吸収促進のメカニズムを、分娩牛を用いて検証されてはいない。そこで、ラットで示唆されているDFA IIIによる受動的なCa吸収促進が分娩牛においても認められるか否かを明らかにするために、腸管からの能動的なCa吸収に関わる上皮小体ホルモン（PTH）および1,25-ジヒドロキシビタミンD（1,25-(OH)<sub>2</sub>D）、ならびに骨からのCa動員を示す骨代謝マーカー〔I型コラーゲン架橋Nテロペプチド（NTX）〕の推移を調べることで検討した。分娩後72時間におけるウシ血清NTX濃度はDFA III給与の有無にかかわらず有意な上昇はみられず、骨からのCa動員の亢進はみられないこと、また血清PTHおよび1,25-(OH)<sub>2</sub>D濃度は分娩後早期に正常な上昇を示したにもかかわらずDFA III無給与牛で血清Ca濃度の回復が遅かったことなどから、腸管における能動的なCa吸収促進機構は両群ともに不活発なまま経過した可能性が示唆された。一方で、分娩前後にDFA IIIを給与した牛群では無給与のものに比べ分娩後の血清Ca濃度の回復が有意に早かったことから、DFA III給与は分娩後早期の腸管における受動的なCa吸収を促進していることが実際の分娩牛を用いた実験から明らかにされた。さらに、DFA III給与による分娩後血清Ca濃度の早期回復が、分娩後の乾物摂取量（DMI）やエネルギー充足、卵巢機能回復および子宮修復に及ぼす影響を検討したところ、分娩後早期の消化管運動やDMIの増加が明らかとなったが、同時に乳量の増加にもつながったことからエネルギー充足の改善は認められず、卵巢機能回復や子宮修復にも明らかな改善効果も認められなかった。

以上のように、本研究の結果から、DFA IIIの添加給与は分娩後乳牛の十二指腸における受動的Ca吸収を促進することが実証され、乳牛飼養の現場で応用可能な簡便かつ安全な低Ca血症予防技術につながる価値ある知見が得られた。

本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

1 . Teramura, M., S. Wynn, M. Reshalaitihan, W. Kyuno, T. Sato, M. Ohtani, C. Kawashima and M. Hanada (2015)

Difructose anhydride III promotes calcium absorption from the duodenum in cattle  
Journal of Dairy Science 98(4):2533-2538

2 . Teramura, M., S. Wynn, M. Reshalaitihan, W. Kyuno, T. Sato, M. Ohtani, C. Kawashima and M. Hanada (2015)

Supplementation with difructose anhydride III promotes passive calcium absorption in the small intestine immediately after calving in dairy cows  
Journal of Dairy Science 98(12):8688-8697