

	ヒガシヤマ ユミ
<b>氏 名</b>	<b>東山 由美</b>
本籍（国籍）	長野県
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連論第168号
学位授与年月日	平成27年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当論文博士
研究科及び専攻	連合農学研究科
<b>学位論文題目</b>	尿中コルチゾールを指標とした放牧牛のストレス評価に関する研究（Stress evaluation in grazing cattle using urinary cortisol as a stress indicator）
学位審査委員	主査 教授 松崎 正敏 副査 客員教員 深澤 充 副査 教授 堀口 健一 副査 准教授 出口 善隆

## 論文の内容の要旨

本研究では、ウシにおいて、非侵襲的に採取できるスポット尿を用い、尿中コルチゾールレベルのストレス指標としての利用可能性について検討するとともに、それを用いて放牧牛のストレスを客観的に評価することを目的とした。

血液中コルチゾール濃度はストレス指標として広く用いられているが、採血行為や、それに伴う拘束および保定は、ウシにとって著しいストレスであり、そのことにより血液中コルチゾール濃度が高まる危険性がある。そこで、血液に代わって、非侵襲的かつ簡易に採取できるスポット尿を用い、尿中に含まれるコルチゾールのストレス指標としての利用可能性について検討した。ウシに副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）を投与し、人為的に血液中コルチゾール濃度を高めると、尿中クレアチニンに対する比で表した尿中コルチゾールレベルも同様に高まった。また、時間の経過とともに血液中コルチゾール濃度が低下すると、尿中コルチゾールレベルも同様に低下した。このように、尿中コルチゾールレベルは、血液中コルチゾール濃度の変化を非常によく反映していた。次に、明らかなストレスをウシに負荷し、その時の尿中コルチゾールレベルを調べた。すなわち、精神的ストレスとして社会的隔離を、身体的（および精神的）ストレスとして除角や去勢をウシに施し、その時の尿中コルチゾールレベルを調べた。その結果、いずれの負荷に対しても尿中コルチゾールレベルの上昇が確認された。以上のことから、ウシにおいて、尿中コルチゾールレベルは、血液中コルチゾール濃度に代わるストレス指標として利用可能であると考えられた。

放牧は、舎飼いと比較し、ウシにとってストレスの少ない飼育方式であると一般的に考えられているが、主観的、経験的知識によるものであり、科学的根拠は薄い。放牧牛のストレスレベルを客観的に評価することは、放牧普及のための施策やアニマルウェルフェア研究の観点からも非常に重要である。ヒトとの関係が希薄になりがちな放牧牛では、採血に伴う行為が特に

極度のストレッサーとなり、血液中コルチゾール濃度をストレス指標として用いることは難しい。そこで、前述の尿中コルチゾールレベルを用い、放牧および舎飼い飼育下におけるウシのストレスレベルを調べた。伝統的に夏山冬里方式で飼育され、放牧適性があると考えられている日本短角種と、乳量向上に向けて飛躍的に改良されてきたホルスタイン種を対象牛とした。その結果、日本短角種とホルスタイン種では反応に違いが見られた。すなわち、日本短角種では、一時的な反応の場合もあるが、舎飼い飼育下の方が放牧飼育下よりも尿中コルチゾールレベルは高かった。一方、ホルスタイン種では、放牧飼育下の方が舎飼い飼育下よりも尿中コルチゾールレベルは高かった。このことから、日本短角種では、放牧よりも舎飼いの方がストレスレベルの高い飼育方式であり、逆にホルスタイン種では、舎飼いよりも放牧の方がストレスレベルの高い飼育方式であることが示唆された。さらに、ホルスタイン種では、暑熱ストレスが加わると、尿中コルチゾールレベルは放牧時において上昇したが、舎飼い時にその変化は見られなかった。一方、日本短角種では、暑熱ストレスが加わっても尿中コルチゾールレベルに変化は見られなかった。ホルスタイン種は暑熱に弱い品種であるが、特に放牧環境において暑熱ストレスの影響を受けやすいことが明らかとなった。以上のことから、同じウシでも、品種によって飼育方式に対するストレスレベルは異なることが示された。また、暑熱ストレスに対する反応が品種で異なることはこれまでに報告されているが、その反応には飼育方式が影響を及ぼすことが示された。

以上のように、スポット尿を用いた尿中コルチゾールレベルは、ウシにおけるストレス指標として有効であり、その測定のための試料採取が簡易であることから、現場での応用も期待される。また、ウシにとって、放牧は無条件でストレスの少ない快適な飼育方式であるとは言えず、特にホルスタイン種を夏季に放牧する際には、十分な暑熱対策を講じる必要があると考えられた。本研究は、ウシにおける飼育環境の改善のための基礎的知見となり、ストレスの少ない飼育環境が実現されることによって生産性の向上につながると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

有機農畜産物や食の安全・安心を求める社会的気運が高まる中、アニマルウェルフェアに配慮した家畜生産技術の導入が進みつつある。客観的なストレス評価に基づく家畜にやさしい飼育管理技術を開発するためには、科学的かつ実用的なストレス評価指標の開発が必要である。本研究は、家畜に対する侵襲度が低く、簡便に採取可能なスポット尿の尿中コルチゾールレベルを用いたウシのストレス評価の有用性を明らかにした上で、飼育方式や環境要因がウシのストレスレベルに及ぼす影響の解明を試みた。

はじめに、尿中コルチゾール濃度をクレアチニン濃度で除して補正した尿中コルチゾールレベルが、ストレスの指標として広く用いられている血液中コルチゾール濃度の変化とよく一致することを、副腎皮質刺激ホルモン投与時の両者の変動パターンを調べて明らかにした。さらに、精神的ストレッサーとして社会的隔離を、また身体的（および精神的）ストレッサーとして除角や去勢を実施した際に、ウシのスポット尿のコルチゾールレベルの上昇を認め、血液中コルチゾール濃度に代わるストレス指標としての有用性を明らかにした。続いて、尿中コルチゾールレベルを用いて放牧および舎飼い飼育下におけるストレスレベルの評価を行ったところ、放牧適性が高いと云われる日本短角種と集約的な舎飼い飼育条件下での泌乳能力に優れるホルスタイン種との間で明確な差異を認めた。すなわち、日本短角種では舎飼い飼育時に尿中コル

チゾールレベルが高かったのに対して、ホルスタイン種では放牧飼育、とりわけ暑熱時において尿中コルチゾールレベルが高値を示すことを明らかにした。このことは、放牧や舎飼といった異なる飼育方式に対する適応性や暑熱などの環境ストレスに対する感受性がウシの品種間で異なり、外的環境や飼育方式が同じであっても個々のウシが曝されているストレスレベルが異なることを示唆するものとして興味深い。

以上のように、本研究は単回採取のスポット尿で測定した尿中コルチゾールレベルがウシのストレス評価指標として有用であり、その簡便性から生産現場での応用の可能性を明らかにした。また、放牧は、ウシにとって無条件でストレスの少ない快適な飼育方式であるとは限らず、暑熱ストレスに弱いホルスタイン種などを夏季に放牧する際には、十分な暑熱対策を講じる必要があることも明らかにした。本研究は、ウシにおける飼育環境の改善やストレス評価の指標として尿中コルチゾールレベルの有用性を示す基礎的知見を提供しており、生産家畜のストレス軽減と生産性向上を両立する新たな家畜管理技術開発に途を開くものとして高く評価される。以上より、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. Higashiyama, Y., H. Narita, M. Nashiki, M. Higashiyama and T. Kanno (2005) Urinary cortisol levels in Japanese Shorthorn cattle before and after the start of a grazing season. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 18 (10): 1430-1434
2. Higashiyama, Y., M. Nashiki, H. Narita and M. Kawasaki (2007) A brief report on effects of transfer from outdoor grazing to indoor tethering and back on urinary cortisol and behaviour in dairy cattle. *Applied Animal Behaviour Science* 102 (1-2): 119-123
3. Higashiyama, Y., M. Nashiki and H. Narita (2009) Urinary catecholamine and cortisol responses of Japanese Shorthorn cows to social isolation. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 22 (10): 1437-1440
4. Higashiyama, Y., M. Higashiyama, K. Ikeda, T. Komatsu and M. Fukasawa (2013) Welfare of lactating Holstein cows under outdoor grazing and indoor housing in relation to temperature and humidity in summer in Japan. *Livestock Science* 155 (1): 86-91.
5. Higashiyama, Y., T. Komatsu, M. Fukasawa, M. Higashiyama, K. Ikeda, Y. Ueda, F. Akiyama, S. Asakuma (2014) Comparison of urinary cortisol levels in Holstein and Japanese Shorthorn cows in response to breeding system and heat stress. *Journal of Animal Science Advances* 4 (8): 1009-1016.