

サトウキビ抽出物の飼料添加が子豚の免疫機能に及ぼす影響

異 俊彰^{1)†} 菊 佳男²⁾ 市川隆久¹⁾ 西 康裕¹⁾ 高橋秀之²⁾

1) 三重県畜産研究所 (〒515-2324 松阪市嬉野町1444-1)

2) (独)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 (〒305-0856 つくば市観音台3-1-5)

(2011年1月17日受付・2011年7月20日受理)

要 約

子豚における末梢血中の各種免疫担当細胞の動態及び生産性に対するサトウキビ抽出物 (SCE) の効果について検討した。体重30～70kg時の子豚に抗菌性飼料添加物 (AGP) 無添加の肥育前期用飼料に0.05%のSCEを添加したSCE添加区, AGPを添加したAGP添加区及び無添加区を設け不断給餌で飼養した。その結果, 細胞性免疫の指標となる遅延型過敏反応 (DTH) はSCE添加区が他区より有意に高く, CD4陽性細胞率はSCE添加区がAGP添加区より有意に高かった。増体はSCE添加区がAGP添加区と無添加区より高値を, 飼料要求率ではSCE添加区が無添加区より低値を示した。以上のことから, SCEの子豚への給与はヘルパーT細胞免疫応答を増強し, 宿主の防御能を高めること, 並びに生産性を改善させることが示唆された。——キーワード: 遅延型過敏反応, 子豚, 免疫, 生産性, サトウキビ抽出物。

----- 日獣会誌 64, 946～949 (2011)

肥育後期を除く肉豚用飼料については, 成長促進を目的に飼料安全法に定められた抗菌性飼料添加物 (AGP) の添加が認められている。一方, 家畜に使用するAGPと人での薬剤耐性菌の出現との関連が指摘されていることから, 欧州連合 (EU) では2006年に家畜飼料へのAGP使用が禁止され, わが国でもAGP使用の見直しが検討されている [1, 2]。また, 消費者の食品に対する安心・安全へのニーズによりAGP無添加飼料による豚肉の生産が望まれる一方, 育成率の低下や食肉検査時の廃棄率の増加等が懸念されている [1]。これを解決するには, 豚の免疫機能に対するAGP並びにAGPの代替として用いる天然物由来資材の効果を検証することが有効である。

そこで本試験では, 間欠投与により離乳豚での免疫機能の増強並びに増体の向上等が報告されているサトウキビ抽出物 (SCE) [3, 4] を用いて, 連続投与による肥育前期の子豚への免疫機能及び増体等への影響についてSCE無添加飼料及びAGP添加飼料と比較検討した。

材 料 及 び 方 法

試験期間及び試験区分: 平均体重約30kgの三元交雑種18頭 (10週齢) を供試し, 母豚の違いを考慮して6頭/区を飼育密度0.9m²/頭の1豚房 (三重県畜産研究所

開放豚舎) に配置し, 不断給餌, 自由飲水の条件下で14週齢まで飼育した。試験区分は, AGP無添加の肥育前期用飼料 (TDN76%, CP14.5%) を基礎飼料 (無添加区) とし, SCEを0.05% (W/W) の割合で添加したSCE添加区, ノシヘプタイト2.5g力価/t, デストマイシンA 6g力価/tを添加したAGP添加区を設けた。

サトウキビ抽出物 (SCE) は, サトウキビから脱糖した搾り汁を陽イオンクロマトグラフィーにてポリフェノール含有画分に分画し, 米ぬか油かすに20% (W/W) の割合で吸着させた顆粒品 (キビシボリEX, 三井製糖株, 東京) を供試した。

調査項目及び調査方法: 遅延型過敏反応 (DTH) は, Nishidaら [5] の方法に準じて羊赤血球 (SRBC) 接種による腫脹面積で判定した。SRBCを滅菌生理食塩水にて10⁹/mlに調整後, 21日目に右耳, 28日目に左耳に0.1mlずつ皮内接種し, 72時間後 (31日目) に左耳皮膚の腫脹部の長径と短径を測定して, 面積を算出した。

Mycoplasma hyopneumoniae (MPS) 抗体価は, 市販のワクチン (MPS不活化ワクチン, 株日生研, 東京) 1mlを0及び21日目に頸部筋肉内に注射し, 0, 21, 35日目に採血を行い, 検査キット (日生研イムノサーチMPS, 株日生研, 東京) によるELISA法にて測定した。測定値 (E値) は, (被検血清補正吸光度値—指示陰性

† 連絡責任者: 異 俊彰 (三重県北勢家畜保健衛生所指導監視課)

〒510-0064 四日市市新正4-19-26 ☎059-351-1085 FAX 059-353-1591 E-mail: tatsut01@pref.mie.jp

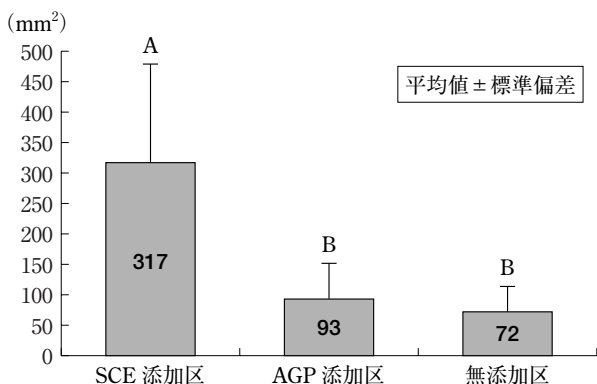


図1 SCE及びAGP添加による遅延型過敏反応への影響 (異符号間に1%水準で有意差あり)

血清補正吸光度値)/(指示陽性血清補正吸光度値—指示陰性血清補正吸光度値)とした。

リンパ球サブセットは0, 21, 28, 29, 31, 35日目にEDTA加真空採血管で採血を行い,これをMouse Anti-Porcine CD4a-FITC (clone : 74-12-4), CD8α-PE (clone : 76-2-11), CD21-PE (clone : BB6-11C9.6) (いずれも Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, U.S.A.)を用いて,リンパ球表面抗原の免疫染色を行い,その後,EPICS XL ADC flow cytometer (EXPO32software; Beckman Coulter Inc.)を用いて解析した [6].

体重は個体ごとに,飼料摂取量は区ごとに10週齢及び14週齢時に測定し,試験期間における1日増体重,1日飼料摂取量,飼料要求率を算出した。

統計処理:一元配置分散分析による解析 [7] を行い,最小有意差法による有意差検定 [8] を行った。

成 績

DTH:腫脹面積は,SCE添加区が317mm²で,AGP添加区の93mm²,無添加区の72mm²より有意 ($P < 0.01$) に広がった (図1)。

MPS 抗体価: MPSのELISA抗体価は,0日目でSCE添加区が0.02,AGP添加区が0.01,無添加区が0.01,21日目でSCE添加区が0.02,AGP添加区が0.04,無添加区が0.04,35日目ではSCE添加区が0.41,AGP添加区が0.29,無添加区が0.44であり,各日齢において試験区間に差は認められなかった (表1)。

リンパ球サブセット解析: 解析を行ったリンパ球のCD4陽性細胞率は,SCE添加区,AGP添加区,無添加区において21日目がそれぞれ16.3, 14.2, 17.0%, 28日目が17.5, 13.9, 19.7%, 29日目が15.4, 10.8, 15.2%, 31日目が17.6, 12.0, 15.2%, 35日目では16.6, 11.1, 14.4%であり,SCE添加区はAGP添加区より29日目以降で有意 ($P < 0.01$) に高く,無添加区と各日齢において差は認められなかった。一方,AGP添加区は無添加区より28, 29, 35日目で有意 ($P <$

表1 SCE及びAGP添加による *M. hyopneumoniae* に対するELISA抗体の推移への影響

試験開始後の日数	0日	21日	35日
SCE 添加区	0.02 ± 0.02*	0.02 ± 0.02	0.41 ± 0.17
AGP 添加区	0.01 ± 0.01	0.04 ± 0.02	0.29 ± 0.18
無添加区	0.01 ± 0.01	0.04 ± 0.04	0.44 ± 0.14

*平均値 ± 標準偏差

同一検査日において有意差なし

0.05) に低かった。CD8陽性細胞率は,SCE添加区,AGP添加区,無添加区において21日目がそれぞれ20.2, 18.8, 21.9%, 28日目が19.2, 18.7, 21.3%, 29日目が21.9, 18.9, 21.2%, 31日目が19.8, 18.9, 21.1%, 35日目では21.5, 17.5, 20.1%であり,各日齢において試験区間に差はなかった。また,CD21陽性細胞率は,SCE添加区,AGP添加区,無添加区において21日目がそれぞれ13.1, 10.1, 15.1%, 28日目が11.2, 8.0, 13.4%, 29日目が13.1, 9.9, 15.6%, 31日目が16.1, 10.4, 17.5%, 35日目では14.3, 9.1, 16.7%であり,SCE添加区はAGP添加区より31, 35日目で有意 ($P < 0.05$) に高く,無添加区と各日齢において差は認められなかった。一方,AGP添加区は無添加区より21日目以降で有意 ($P < 0.05$) に低かった (表2)。

生産性: 各項目において試験区間に有意差はなかったが,SCE添加区が1日増体重1,091g及び1日飼料摂取量2,762gでAGP添加区,無添加区より高く,また飼料要求率は2.53とAGP添加区2.51と同等であり,無添加区より低い傾向が認められた (表3)。

考 察

Loら [3] は,5週齢の豚に対して本試験と同じSCEを1週間に3日間連続で500mg/kg (体重)/日ずつ2週間及び4週間給与した結果,NK細胞の細胞障害活性,好中球と単球の貪食作用が有意に亢進し,自然免疫能が向上したと報告している。さらに,一貫生産養豚場において5~14週齢の豚に1週間に3日間連続でSCE 500mg/kg (体重)/日を4週間給与した結果,飼料の食味改善効果及び感染減少や病変軽減によって非投与群と比べて有意差はないものの増体重が7.85%増加したとしている。また別の報告 [4] では,12週齢の豚に3日間連続でSCE 500mg/kg (体重)/日与え,2日目にオーエスキー病ウイルス (PrV) を鼻腔内に接種した結果,SCEを投与せずにPrVを接種した非投与群と比べ,NK細胞の細胞障害活性,リンパ球増殖,単球の貪食作用,CD4及び $\gamma\delta$ T細胞の産生するインターフェロ γ が有意に増大すること,臨床症状と病変の軽減が認められること,さらにはPrV接種14日後の増体がSCE非投与群と比べ12%増加したと報告している。養豚場ではこの

サトウキビ抽出物の飼料添加が子豚の免疫機能に及ぼす影響

表2 SCE 及び AGP 添加によるリンパ球サブセットの変動への影響 (%)

試験開始後の日数		0 日	21 日	28 日	29 日	31 日	35 日
CD 4	SCE 添加区	15.6 ± 4.2 ^{ab}	16.3 ± 3.2	17.5 ± 4.5 ^{AB}	15.4 ± 3.0 ^A	17.6 ± 4.0 ^A	16.6 ± 3.4 ^A
	AGP 添加区	12.9 ± 1.8 ^b	14.2 ± 2.1	13.9 ± 2.7 ^B	10.8 ± 1.5 ^B	12.0 ± 2.0 ^B	11.1 ± 1.6 ^{Bb}
	無添加区	16.5 ± 1.4 ^a	17.0 ± 1.9	19.7 ± 1.1 ^A	15.2 ± 2.4 ^A	15.2 ± 1.8 ^{AB}	14.4 ± 1.2 ^a
CD 8	SCE 添加区	19.0 ± 7.3	20.2 ± 5.0	19.2 ± 5.7	21.9 ± 5.3	19.8 ± 5.0	21.5 ± 4.9
	AGP 添加区	25.5 ± 6.2	18.8 ± 2.4	18.7 ± 3.1	18.0 ± 2.6	18.0 ± 4.3	17.5 ± 2.4
	無添加区	25.1 ± 6.1	21.9 ± 3.6	21.3 ± 3.1	21.2 ± 2.3	21.1 ± 4.2	20.1 ± 2.7
CD 21	SCE 添加区	8.2 ± 3.5	13.1 ± 2.6 ^{AB}	11.2 ± 3.7 ^{ab}	13.3 ± 3.9 ^{ab}	16.1 ± 5.1 ^a	14.3 ± 3.9 ^a
	AGP 添加区	8.4 ± 4.4	10.1 ± 1.5 ^B	8.0 ± 2.9 ^b	9.9 ± 2.8 ^b	10.4 ± 1.7 ^{Bb}	9.1 ± 2.5 ^{Bb}
	無添加区	11.1 ± 2.6	15.1 ± 3.3 ^A	13.4 ± 3.5 ^a	15.6 ± 3.4 ^a	17.5 ± 3.1 ^A	16.7 ± 3.5 ^A

平均 ± 標準偏差

異符号間に有意差あり (大文字: 1%水準, 小文字: 5%水準)

表3 SCE 及び AGP 添加による生産性への影響

	試験開始時体重 (kg/頭)	試験終了時体重 (kg/頭)	1 日増体重		1 日飼料摂取量		飼料要求率	
			g/日/頭	%*	g/日/頭	%*	%*	
SCE 添加区	34.0	72.2	1,091	106.6	2,762	102.3	2.53	96.0
AGP 添加区	34.1	71.9	1,080	105.4	2,714	100.5	2.51	95.4
無添加区	34.3	70.1	1,024	100.0	2,700	100.0	2.64	100.0

*無添加区に対する百分率

ような給与方法は採用しにくいことから、本試験においては0.05% SCEを添加した肥育前期用飼料を連続給与し、その効果を検討した。その結果、SCE給与が生産性や細胞性免疫機能評価法に用いられるDTH並びにリンパ球サブセットに影響を与えることが示された。

DTHは、ヘルパーT細胞が抗原と反応してさまざまなサイトカインを放出し、これによりマクロファージ、リンパ球、好塩基球などが反応局所に遊走して、発赤、硬結などの局所病変を形成することによって得られる反応であり、細胞性免疫の有用な指標となる[9, 10]。本試験ではDTHによる腫脹面積がAGP添加区及び無添加区よりSCE添加区で有意($P < 0.01$)に増大したことから、0.05% SCE添加による細胞性免疫応答の増強が示唆された。一方、MPSの浸潤のない豚舎でMPS不活化ワクチンを接種し、MPSに対する抗体価を測定したところ、各日齢において試験区間に差が認められなかったことから、0.05% SCEの添加及びAGP添加はともに液性免疫応答には影響しないことが示唆された。次にリンパ球サブセットの変動を検討したところ、SRBCを再度耳皮内に接種した28日目以降においてSCE添加区並びに無添加区はAGP添加区に比較しCD4陽性細胞率が高値で推移しており、一方、上述のDTHではSCE添加区は、他区に比較し高値を示したことから、SCE給与は、AGP添加区に比較し末梢白血球中のヘルパーT細胞の割合を高く維持させ、かつ他の二区に比較し機能面も高めることにより、免疫応答並びに防御能の亢進を誘導すると考えられた。また、抗菌剤による免疫抑制作

用に関する報告が散見される[11, 12]が、AGP添加区においてCD4陽性細胞率が低値で推移したこととの関連性を今後、検討する必要がある。なお、細胞障害性T細胞であるCD8陽性細胞に関しては比率に変化が認められなかった。SCEの有効性を明らかにするためには、リンパ球サブセットの変化に加え、それぞれの細胞の機能についても検討が必要と考えられる。CD21陽性細胞率は、無添加区ではAGP添加区より21~35日目で有意に高く、SCE添加区ではAGP添加区より31, 35日目で有意に高かった。しかし、MPS抗体価は各試験区間で差がなかったことから、B細胞の存在比とワクチンの抗体価とは必ずしも相関しないことが推察された。

AGP添加飼料を給与した結果、体重10~70kgの豚では増体で約15%、飼料要求率で約4%の改善がみられることを米持[13]が、体重32~73kgの豚において増体で3.8%、飼料要求率で13.9%の改善が認められることを設楽ら[14]が報告している。本試験では体重30~70kgの子豚にAGPを添加した結果、無添加と比較して増体で5.4%、飼料要求率で4.6%の改善を認め、米持、設楽らの知見と同様の傾向が確認された。また、同様に本試験においてSCEを添加した結果、無添加と比較して増体重で6.6%、飼料要求率で4.0%と、Loら[3]の報告と同様に生産性の改善傾向が確認された。

以上のことから、SCEの子豚への給与はヘルパーT細胞免疫応答を増強し、宿主の防御能を高めること、並びに増体及び飼料要求率を改善させることが示唆された。

稿を終えるにあたり、試験方法をご指導いただいた元東北大学の西田 彰博士、東北大学の鈴木啓司博士、宮城県の豊島たまき氏、清水ゆう子氏、ワクチン抗体価を測定していただいた(株)日生研、豚の飼育管理にご尽力いただいた三重県畜産研究所の伊藤託也氏、田中善之氏、岸江秀和氏、伊藤浩也氏、服部重衛氏に感謝する。

引用文献

- [1] 石橋 晃：飼料の現状と課題，日畜会報，78，1-13 (2007)
- [2] 小林秀樹：WHO 報告書 デンマークにおける成長促進剤としてのAGP中止の影響について，豚病会報，45，12-48 (2004)
- [3] Lo DY, Chen TH, Chien MS, Koge K, Hosono A, Kaninogawa S, Lee WC : Effects of sugar cane extract on the modulation of immunity in pigs, *J Vet Med Sci*, 67, 591-597 (2005)
- [4] Lo DY, Chien MS, Yen KS, Koge K, Lin CC, Hsuan SL, Lee WC : Effects of sugar cane extract on pseudorabies virus challenge of pigs, *J Vet Med Sci*, 68, 219-225 (2006)
- [5] Nishida A, Ogawa T, Kikuchi Y, Wakoh K, Suzuki K, Shibate T, Kadowaki H, Shinohara H, Ohtomo Y : A hopeful prospect for genetic improvement of chronic disease resistance in swine, *Asian-Aust J Anim Sci*, 14, Special Issue, 106-110 (2001)
- [6] Kiku Y, Ozawa T, Kushibiki S, Sudo M, Kitazaki K, Abe N, Takahashi H, Hayashi T : Decrease in bovine CD14 positive cells in colostrum is associated with the incidence of mastitis after calving, *Vet Res Commun*, 34, 197-203 (2010)
- [7] 吉田 実：畜産を中心とする実験計画法 改訂第2版，68-86，養賢堂，東京 (1978)
- [8] 吉田 実：畜産を中心とする実験計画法 改訂第2版，209-210，養賢堂，東京 (1978)
- [9] 小沼 操，小野寺節，山内一也：動物の免疫学第2版，2-7，文永堂出版(株)，東京 (2003)
- [10] Playfair JHL, Chain BM : 細胞性免疫応答，一目でわかる免疫学 臨床医学の基礎知識，麻生芳郎 (訳) 第3版，40-41，メディカル・サイエンス・インターナショナル，東京 (2004)
- [11] Minić S, Bojić M, Vukadinov J, Canak G, Fabri M, Bojić I : Immunomodulatory actions of antibiotics, *Med Pregl*, 62, 327-330 (2009)
- [12] Gemmell CG : Antibiotics and the host-parasite relationship, *Acta Microbiol Immunol Hung*, 43, 107-114 (1996)
- [13] 米持千里：日本におけるAGPの役割と課題，動物抗菌会報，25，33-38 (2003)
- [14] 設楽 修，忽那圭子：AGP無添加飼料への乳酸菌製剤添加が肥育豚の発育，血液性状および糞便内細菌数に及ぼす影響，日豚会誌，46，144-151 (2009)

Effects of Dietary Supplement of Sugar Cane Extract on Immune Performance in Growing Piglets

Toshiaki TATSUMI^{*†}, Yoshio KIKU, Takahisa ICHIKAWA, Yasuhiro NISHI and Hideyuki TAKAHASHI

** Mie Livestock Research Division, 1444-1 Uresino-cho Matsusaka-shi, 515-2324*

SUMMARY

This study was carried out to determine the effect of Sugar Cane Extract (SCE) on immune performance in piglets. Eighteen piglets whose initial and final bodyweight were 30 kg and 70 kg, respectively, were assigned to three dietary treatment groups : no SCE supplemental diet without dietary antimicrobial supplement (control diet), a control diet with 0.05% dietary supplement SCE, and a control diet with dietary antimicrobial supplement. Each of the three groups comprised almost equal numbers of piglets from two breeding sows. Delayed-type hypersensitivity (DTH) was significantly higher ($P < 0.01$) in the SCE diet group than in the other groups. CD4 lymphocytes were significantly higher ($P < 0.05$) in the SCE diet group than in the antimicrobial diet group. Average daily gain in the SCE diet group was higher than in the other groups, and feed conversions in the SCE diet and the antimicrobial diet groups were higher than in the control group. These results suggest that SCE improves the reinforcement of the helper T-cell immune response, improving the protective capacity and productivity in growing piglets.

— Key words : delayed-type hypersensitivity, growing piglets, immunity, productivity, sugar cane extract.

† Correspondence to : Toshiaki TATSUMI (Mie Hokusei Livestock Hygiene Service Center)

4-19-26 Shinsyo, Yokkaichi-shi, 510-0064, Japan

TEL 059-351-1085 FAX 059-353-1591 E-mail : tatsut01@pref.mie.jp

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 64, 946 ~ 949 (2011)