

5-アミノレブリン酸投与による ホルスタイン種哺育牛の血液性状に及ぼす影響

高橋 俊彦¹⁾・夏井 美聡²⁾・岸田 美月²⁾
北野 菜奈³⁾・井上 誠司²⁾・菊 佳男²⁾

Effect of 5-aminolevulinic acid administration on blood properties of Holstein dairy cows.

Toshihiko TAKAHASHI¹⁾, Misato NATSUI²⁾, Miduki KISHIDA²⁾,
Nana KITANO³⁾, Seiji INOUE²⁾ and Yoshio KIKU²⁾
(Accepted 30 June 2022)

はじめに

乳用牛において哺乳期は、ルーメン絨毛などの消化器官の発達や免疫機能獲得、骨造成が行われ身体機能が発達する重要な時期であり、この時期の飼養管理がその後の発育や生産性向上に大きく影響を与える^[6,21]。この時期の疾病の多くは、消化器病や呼吸器病であり^[6,10]、これらは成牛に比べ病態の進行が早く、死産による直接的な損失だけでなく、発育不良や繁殖障害による間接的損失も大きく、経済的被害も甚大となる^[8]。

これらの疾病を引き起こす原因の1つに貧血があげられる^[8]。貧血は、外傷等によって流血することにより赤血球が消失する場合と、骨髄からの赤血球の生成、補充が不足する場合の2つに分けられる。栄養障害で起こる貧血は後者のときで、赤血球の構成因子の1つである鉄分不足が主因となる^[13,16]。赤血球は、胎児期においては肝臓や脾臓で胎児赤血球として造血されるが、出生以後は、骨髄が造血器の主役となり、自己造成赤血球として体内を循環する。出生間もない哺乳期は肝臓の造血機能が継続していることがあるため、肝臓内の貯蔵鉄が利用されることから、体内の鉄が不足する傾向がある^[8,14]。また、母乳中の鉄含有量が約0.5 mg/kgと低いことや、授乳によって吸収した水分によって子牛自身の血液の希釈が起こりやすく、生理的な鉄欠乏性貧

血になりやすいことが知られている^[5,11]。

近年、天然アミノ酸の一つであるアミノレブリン酸が、動物に対する免疫能向上、成長促進、繁殖性向上、乳品質の向上あるいは感染症への効果が期待されている^[1,5]。この物質は、8個集まるとポルフィリンとなり、鉄と結合してヘムになる。さらにこの物質にグロビンが結合することで、酸素を運搬するヘモグロビンとなる(図1)^[4,15]。このことから、アミノレブリン酸の投与はヘモグロビン量増加に繋がると考えられており、貧血予防に有効性を示すことが期待されている^[19,22]。さらに、アミノレブリン酸はミトコンドリア内で生合成され、最終的にヘモグロビンや電子伝達系の構成要素として利用される。ミトコンドリアは生命活動に不可欠なエネルギーであるATPの産生器官であるため、その反応の中心に位置するアミノレブリン酸はエネルギーを生産する生命の根源物質とも呼ばれる^[7,22]。

本研究では、成長期であり貧血多発時期である哺乳期の子牛に対するアミノレブリン酸給与が、発育促進や貧血予防に効果を有するか検討した。

材料および方法

1. 供試牛

酪農学園フィールド教育研究センター酪農生産ステーション哺育牛舎で飼養されているホルスタイン種雌子牛で試験区3頭、対照区3頭の計6頭を用いた。

1) 酪農学園大学

Rakuno Gakuen University

2) 酪農学園大学循環農学類

Department of Sustainable Agriculture, Rakuno Gakuen University

3) 共立製薬株式会社

Kyoritsu Seiyaku Corporation

所在地

1) 069-8501 北海道江別市文京台緑町582番地

582 Midorimachi, Bunkyoudai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

3) 102-0073 東京都千代田区九段北1-11-5

1-11-5 Kudankita, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0073, Japan

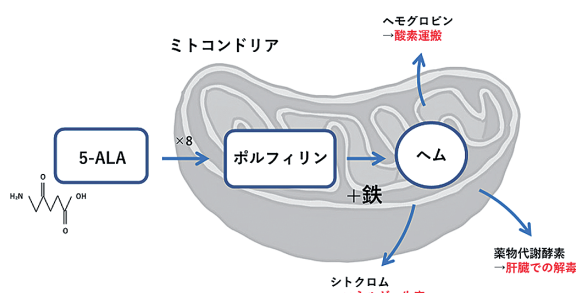


図1 アミノレブリン酸作用機序

2. 試験期間

2020年5月1日から11月30日の7ヶ月間行った。

3. 試験内容

試験区には生後2～4日齢目からアミノレブリン酸製剤（ネオファーマジャパン(株)）を水に融解し、5g/日を60日間経口投与した。対照区は非投与とした。

4. 調査項目

(1) 体格測定

体格測定を出生時、1ヶ月齢時、3ヶ月齢時の計3回行った。体高は測尺計（富士平工業株式会社）、体重はデジタル体重計（富士平工業株式会社）を用いて測定した。体重から日増体量（DG）を算出した。

(2) 血液検査

血液検査を出生時、1ヶ月齢時、3ヶ月齢時の計3回実施した。採血は頸静脈からEDTA-2K真空採血管と血清分離剤入り真空採血管を用いて実施した。血球成分は赤血球数、ヘモグロビン濃度、鉄濃度、ヘマトクリット値、白血球数（多項目自動血球分析装置、XE-2100）を測定した。血清成分は総蛋白質、総コレステロール値（LABOSPECT0080K、株式会社日立ハイテクノロジーズ）を測定した。

(3) 疾病状況

試験期間中の呼吸器病と消化器病の罹患回数、治療日数を農場管理日誌から調査した。

5. 統計処理

成績は平均値±標準偏差で示し、試験区と対照区との比較をStudentのt検定を用いて行った。

結 果

1. 体格測定

図2に体高を示した。試験区は出生時82.0±1.9cm、1ヶ月齢時90.7±0.5cm、3ヶ月齢時104.1±

1.8cm、対照区は出生時75.8±1.5cm、1ヶ月齢時88.5±0.8cm、3ヶ月齢時101.8±2.2cmであった。試験区は対照区に比較し、出生時および1ヶ月齢時で有意（ $p<0.05$ ）に高値を示した。

図3に体重を示した。試験区は出生時44.7±2.3kg、1ヶ月齢時66.7±5.0kg、3ヶ月齢時140.0±12.0kg、対照区は出生時36.8±1.5kg、1ヶ月齢時60.7±2.5kg、3ヶ月齢時123.7±8.5kgであった。試験区は対照区に比較し、出生時に有意（ $p<0.05$ ）に高値を示した。

図4にDGを示した。0-1ヶ月齢間は試験区0.73±0.10kg、対照区0.79±0.03kgであった。0-3ヶ月齢間は試験区1.06±0.11kg、対照区0.96±0.08kg、1-3ヶ月齢間は試験区1.22±0.11kg、対照区1.05±0.10kgであり、試験区が対照区に比べて高い傾向を示した。

2. 血液検査

図5に赤血球数を示した。試験区は出生時675.0±47.3×10⁴/μl、1ヶ月齢時824.3±27.4×10⁴/μl、3ヶ月齢時920.3±115.2×10⁴/μl、対照区は出生時673.7±92.2×10⁴/μl、1ヶ月齢時810±

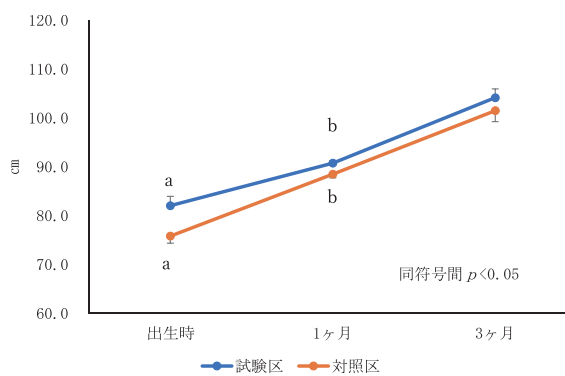


図2 体高の推移

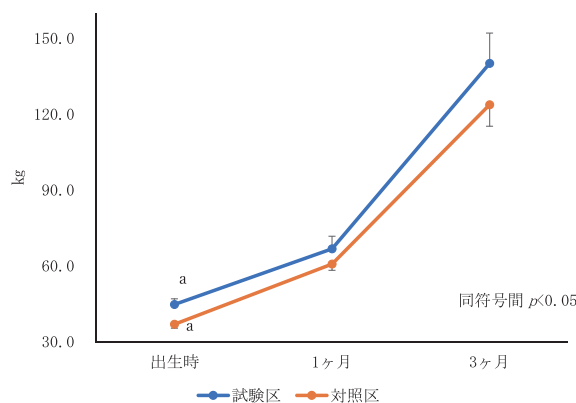


図3 体重の推移

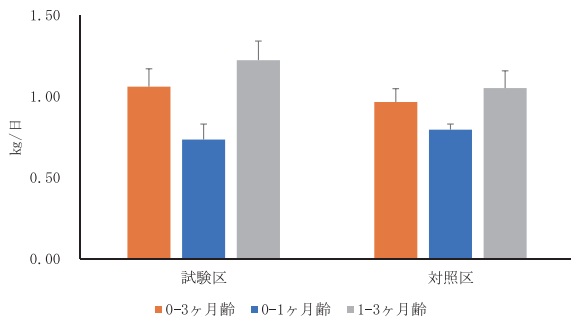


図4 DGの比較

33.1×10⁴/μl, 3ヶ月齢時936.7±20.4×10⁴/μlであった。試験区, 対照区共にそれぞれの時期の基準値^[9]である出生時940.0±1.0×10⁴/μl, 1ヶ月齢時890±1.3×10⁴/μlを下回った。

図6にヘモグロビン濃度を示した。試験区は出生時9.0±0.8 g/dl, 1ヶ月齢時9.7±0.2 g/dl, 3ヶ月齢時12.0±1.1 g/dl, 対照区は出生時8.7±1.3 g/dl, 3ヶ月齢時12.0±0.6 g/dlであった。試験区, 対照区共にそれぞれの時期の基準値^[9]である出生時12.9±1.9 g/dl, 1ヶ月齢時11.3±1.0 g/dlを下回った。

図7に鉄濃度を示した。試験区は出生時37.3±

6.6 μg/dl, 1ヶ月齢時82.3±52.6 μg/dl, 3ヶ月齢時187.7±11.6 μg/dl, 対照区は出生時29.3±3.3 μg/dl, 1ヶ月齢時65.3±22.6 μg/dl, 3ヶ月齢時25.6 μg/dlであった。出生時において, 試験区および対照区共に基準値である52~162 μg/dl^[9]を下回っていたが, その後, 上昇し基準値の範囲となった。また, 1から3ヶ月齢の期間において, 試験区が対照区に比べて高値を推移した。

図8にヘマトクリット値を示した。試験区は出生時29.9±2.6%。1ヶ月齢時30.5±0.9%, 3ヶ月齢時35.3±2.6%, 対照区は出生時27.7±4.4%, 1ヶ月齢時30.0±1.4%, 3ヶ月齢時34.8±1.3%であった。試験区と対照区で差は見られなかった。

図9に白血球数を示した。試験区は出生時8.9±2.7×10³/μg, 1ヶ月齢時7.0±4.1×10³/μg, 3ヶ月齢時8.1±9.6×10³/μg, 対照区は出生時9.6±1.7×10³/μg, 1ヶ月齢時12±1.6×10³/μg, 3ヶ月齢時12±9.8×10³/μgであった。1, 3ヶ月において試験区および対照区共にそれぞれの時期の基準値^[9]である14.0±5.7×10³/μg, 8.7±1.7×10³/μgを上回った。対照区は試験区と比較し, 高値を推移した。試験区は変化が小さく安定していた。

図10に総蛋白を示した。試験区は出生時6.0±

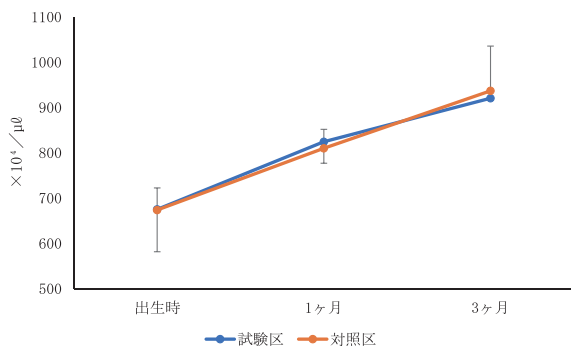


図5 赤血球数の推移

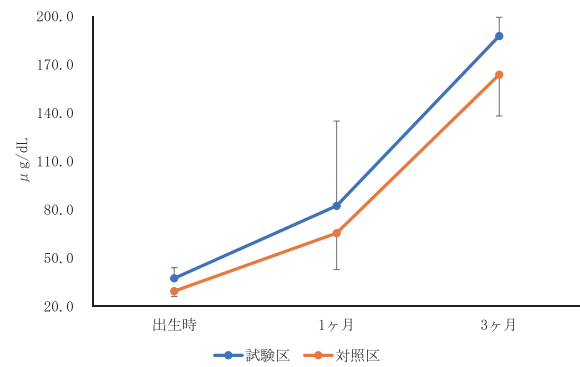


図7 鉄濃度の推移

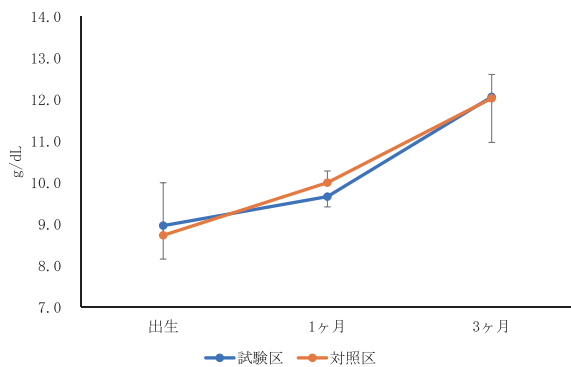


図6 ヘモグロビン濃度の推移

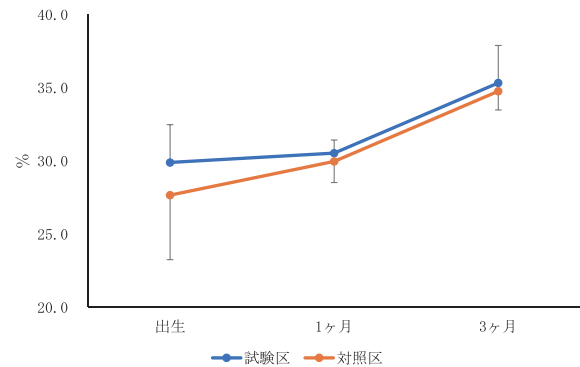


図8 ヘマトクリット値の推移

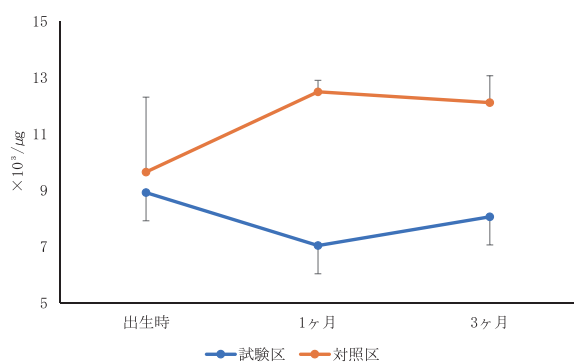


図9 白血球数の推移

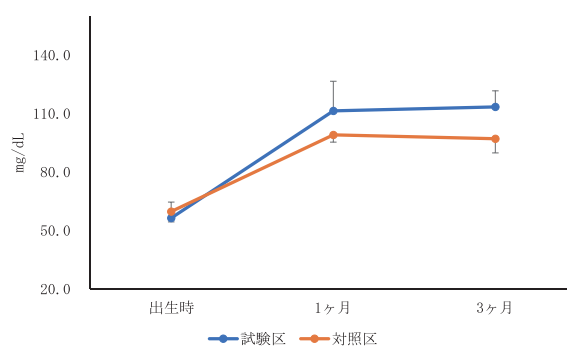


図11 総コレステロール値の推移

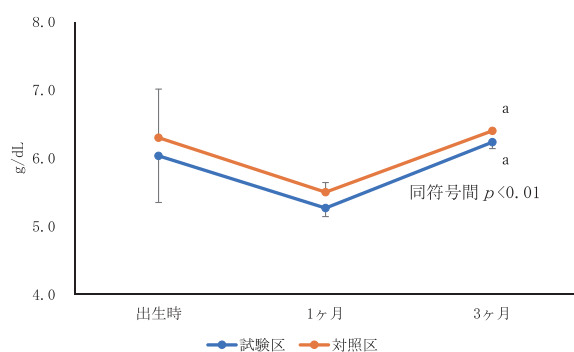


図10 総蛋白濃度の推移

0.7 g/dl, 1ヶ月齢時 5.3 ± 0.1 g/dl, 3ヶ月齢時 6.2 ± 0.1 g/dl, 対照区は出生時 6.3 ± 0.7 g/dl, 1ヶ月齢時 5.5 ± 0.1 g/dl, 3ヶ月齢時 6.4 ± 0.0 g/dlであった。試験区では対照区に比較し, 3ヶ月齢時に有意に低値となった ($p < 0.01$)。

図11に総コレステロール値を示した。試験区は出生時 56.3 ± 8.2 mg/dl, 1ヶ月齢時 111.3 ± 15.2 mg/dl, 3ヶ月齢時 113.3 ± 8.3 mg/dl, 対照区は出生時 59.7 ± 5.3 mg/dl, 1ヶ月齢時 99 ± 3.7 mg/dl, 3ヶ月齢時 97 ± 7.3 mg/dlであった。1から3ヶ月齢の期間において, 試験区が対照区に比べて高値を維持した。

3. 疾病状況

表1に呼吸器病および消化器病の発症件数と治療日数を示した。疾病の発症は試験区3件, 対照区2件と群間に差はみられず, 貧血と診断された牛はいなかった。治療日数は試験区 1.7 ± 0.5 日, 対照区 2.0 ± 0.0 日で試験区が短い傾向にあった。

考 察

アミノレブリン酸は, 容易に水に融解しやすく, 嗜好性も良かったことから給与をスムーズに行うこ

表1 疾病状況

	試験区	対照区
発症件数	3件	2件
治療日数	1.7 ± 0.5 日	2.0 ± 0.0 日

とができた。

試験区が, 体高において1ヶ月齢で有意な増体を示したこと, 体重において高値を推移したこと, DGが高い傾向を示したこと, 成長期である哺育期におけるアミノレブリン酸給与は, 成長促進に有用であることが期待できた。また, 試験区, 対照区の両区において, 総コレステロール値は基準値内であったことから, 栄養状態が良好な状態において期待できると考えられた。

貧血に関連するヘモグロビン濃度, 赤血球数, ヘマトクリット値および鉄濃度については, ヘモグロビン濃度は, 出生時と2ヶ月齢時で試験区, 対照区共に基準値より低値を示していたが, 胎児ヘモグロビンを有した赤血球が自己造成赤血球に比べ寿命が短く, 出生直後の骨髄での赤血球産生と供給が間に合わなかったためと考えられた^[8]。また, 分娩前の母牛の栄養状態も影響した可能性も推察された^[22]。赤血球数においてもヘモグロビン濃度と同様に出生時と2ヶ月齢時で試験区, 対照区共に基準値より低値を示した。赤血球の主成分はヘモグロビンであるため, ヘモグロビン濃度と同様の推移であったと考えられた。また, ヘマトクリット値においては, 両区に差は無く, 基準値も満たしていた。これは, 血液中の赤血球の容積の割合に異常が見られなかったことから, 両区共に貧血状態を示した牛はいないと判断できた。鉄においては, 出生時で試験区, 対照区共に基準値より低値を示していたが, これは, 母牛の胎盤機能に左右されたことが考えられた^[8]。また, 1から3ヶ月齢時において, 試験区が対照区よ

り高値で推移したことから、試験区はヘモグロビンに供給できる機能鉄を多く含むと考えられ、アミノレブリン酸から結合したポルフィリンと結合することに優位な状態であると考えられた。

感染防御に関連する項目として白血球数、総蛋白を測定した。白血球数は、対照区で試験区より高い傾向があり、1, 3ヶ月で基準値を上回っていた。総蛋白においても対照区で高い傾向があり、対照区で軽度の炎症反応が起きている可能性が考えられた。白血球数、総蛋白、治療日数において対照区で軽度の炎症状態が懸念されたが、同飼養条件の試験区ではそれらの反応が示されていなかったことから、アミノレブリン酸が感染防除に関わっていた可能性が示唆された⁵⁾。

以上の結果より、ホルスタイン種哺育牛へのアミノレブリン酸投与は、良好な発育や治療日数の短縮に貢献するとともに、貧血の予防に有効であることが示唆された。

要 約

哺乳期の子牛は生理的貧血に陥りやすい。貧血子牛は呼吸器病、消化器病などを起こすことが多く、発育不良につながる。アミノレブリン酸は、ヘモグロビンの前駆物質として体内の赤血球において酸素運搬の機能を有しており、貧血防止が期待されている。本研究では、子牛へのアミノレブリン酸給与が発育に及ぼす影響や貧血予防効果を有するか検証した。哺乳期子牛6頭を供試牛として、試験区3頭にアミノレブリン酸製剤(5g/日, 60日間)を経口投与し、対照区3頭は非投与とした。生後0, 1, 3ヶ月齢時に体重、体高、日増体量、血液[赤血球数、ヘモグロビン、鉄、ヘマトクリット値、白血球数、総蛋白、総コレステロール]の測定を行い、疾病状況は呼吸器病と消化器病の発症件数と治療日数を調査した。試験区で、体高は1ヶ月齢時で有意に高く、日増体量は1-3ヶ月齢で高い傾向にあった。血液検査において、赤血球数とヘモグロビンは出生時と2ヶ月齢時で試験区対照区ともに基準値を下回った。鉄、総コレステロールは試験区が1, 3ヶ月齢時に高い傾向を示した。白血球数と総蛋白は、対照区が高値を推移した。疾病状況は、試験区において治療日数が短期間であり、貧血と診断された牛もいなかった。これらのことから、アミノレブリン酸が子牛の栄養状態を向上させ、成長促進や貧血予防にも有効となることが期待された。

謝 辞

本研究は、ネオファーマージャパン(株)との受託研究(2020年)をもとに実施された。感謝申し上げます。

引用文献

1. Hendawiy, A. O., Shirai, M., H. Takeya, H., Sugimura, S., Miyanari, S., Taniguchi, S., Sato, K. 2019. Effects of 5-aminolevulinic acid supplementation on milk production, iron status, and immune response of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 102(12): 11009-11015.
2. 遠藤裕之, 前野和利. 2010. ホルスタイン種乳用牛の成長にともなう血液性状の変化・その1—血液一般, 蛋白系および酵素系について. *北海道獣医師会雑誌*. 54: 103-108.
3. 遠藤裕之, 前野和利. 2010. ホルスタイン種乳用牛の成長にともなう血液性状の変化・その2—非蛋白質性窒素, 糖質, 脂質, 電解質および微量元素等について. *北海道獣医師会雑誌*. 54: 519-524.
4. 張替秀郎. 2013. 鉄代謝—最近の知見—. *日本内科学会雑誌*. 102 卷: 2699-2704.
5. Joerling, J., Doll, K. 2019. Monitoring of iron deficiency in calves by determination of serum ferritin in comparison with serum iron: A preliminary study. *Open Vet. J.* 9 (2). 177-184.
6. 木村信熙, 小野地一樹, 加藤秀幸, 澤明, 平芳男. 2010. II 出生からの子牛の飼養管理. *乳用種肉用子牛飼養管理技術マニュアル*. 45-47. 中央畜産会. 東京.
7. 北尾吉孝. 2020. ALA が創る未来. 第1版. PHP 研究所. 東京.
8. 小岩政照, 小形芳美, 岡本全弘, 木村信熙, 津曲茂久. 2009. 出生時の生理と管理. *子牛の科学*. 第1版. 69-103. チクサン出版社. 東京.
9. 小岩政照, 田島誉士. 2020. 臨床診断に必要な参考値一覧. *牛の臨床*. 537-538. デーリイマン社. 北海道.
10. 久米新一. 2013. 子牛の栄養・代謝の特異性. *家畜感染症学会誌*. 2(2): 51-55.
11. Mann G. R., Duncan S. E., Knowlton K. F., Dietrich A. D., O'Keefe S. F. 2013. Effects of mineral content of bovine drinking water: does iron content affect milk quality? *J. Dairy Sci.* 96: 7478-7489.
12. 水谷尚. 2019. 脂質項目を評価～人とは意義が

- 大きく異なる～. LIAJ ニュース. 179号:7-9.
13. 中島剛. 1962. 牛の栄養と疾病. 日本獣医師会雑誌. 15:75-79.
 14. NOSAI オホーツク. 2019. 子牛を生理的貧血から予防.
<https://nosaiok.or.jp/technique/%E5%AD%90%E7%89%9B%E3%82%92%E7%94%9F%E7%90%86%E7%9A%84%E8%B2%A7%E8%A1%80%E3%81%8B%E3%82%89%E4%BA%88%E9%98%B2/>
 15. 大倉一郎, 小倉俊一郎, 近藤雅雄, 田中徹, 渡辺圭太郎. 2015. 機能性アミノ酸 5-アミノレブリン酸の科学と医学応用—がんの診断・治療を中心に—. 3-17. 東京化学同人. 東京.
 16. 大成清. 2014. 肉牛飼養における鉄問題. 畜産の研究. 68(11):1129-1136.
 17. 小野憲一郎, 太田亨二, 鈴木直義. 2010. 獣医臨床病理学. 第4版. 44-58. 近代出版. 東京.
 18. 佐藤礼一郎. 2012. 子牛の呼吸器疾患の診断, 治療, 予防に関する全国アンケート. 家畜感染症学会誌. 1(2):71-81.
 19. 鈴木孝仁. 2015. 生物の生活と環境. 改訂版 フォトサイエンス生物図録. 第7版. 150-153. 数研出版. 東京.
 20. 田島誉士, 稲葉睦, 加藤敏英, 小岩政照, 酒井健夫, 日笠喜朗, 山岸則夫, 和田恭則. 2014. 各種血液検査. 子牛の医学. 第3版. 441-446. 緑書房. 東京.
 21. 高橋俊彦, 中辻浩喜, 森田茂. 2017. 発育の考え方と目標設定および発育曲線の利用. ライフステージでみる牛の管理. 第1版. 14-28. 緑書房. 東京.
 22. 高橋究. 2018. 生命の根源物質 5-アミノレブリン酸(ALA)の多彩な応用. 沙漠工学分科会. 28-2:66-72.
 23. 上野大作. 2021. 黒毛和種繁殖雌牛における代謝プロファイルテストと飼料設計が子牛の疾病予防に与える影響. 北海道しゃくなげ会会報:36-43.

Summary

During the suckling period, calves are prone to physiological anemia. Anemic calves often develop respiratory and digestive problems that lead to poor growth. As a precursor of hemoglobin, aminolevulinic acid has an oxygen-carrying function in red blood cells in the body, and is expected to prevent anemia. In this study, we examined the effects of feeding aminolevulinic acid to calves on their growth and analyzed whether it had anemia-preventing effects. Our subject calves were six suckling calves, three of which were orally administered an aminolevulinic acid preparation (5 g/day for 60 days; test group), and three of which received no aminolevulinic acid (controls). At 0, 1, and 3 months of age, body weight, height, daily gain, and blood parameters (red blood cell count, hemoglobin, iron, hematocrit, white blood cell count, total protein, and total cholesterol) were measured, and the number of respiratory and digestive diseases and number of days of treatment were investigated. In the test group, body height was significantly higher at 1 month of age, and daily body mass also tended to be higher at 1-3 months of age. In blood tests, the red blood cell count and hemoglobin were below standard values at birth and at 2 months of age in both the test and control groups. Iron and total cholesterol tended to be higher in the test group at 1 and 3 months of age, while white blood cell count and total protein tended to be higher in the control group. In terms of disease status, the number of days of treatment was small in the test group, and no calves were diagnosed with anemia. These results suggest that aminolevulinic acid may improve the nutritional status of calves and be effective in promoting growth and preventing anemia.