

出生子牛への D-プシコース給与による IgG 吸収促進効果

傍示和・妹尾明花・増川慶大¹・久保貴士・三好里美²・渡邊朋子・秋光和也³・何森健³

Absorption promotion effect of the dietary rare sugar, D-Psicose, feeding on serum IgG concentration in newborn calves

Nodoka KATAMI, Haruka SEO, Keita MASUKAWA, Takashi KUBO, Satomi MIYOSHI,
Tomoko WATANABE, Kazuya AKIMITU, Ken IZUMORI

要 約

ラットやヒトにおいて希少糖摂取により体脂肪蓄積の抑制や食後の血糖値上昇の抑制作用が確認されており、医療および食品分野のみならず畜産分野での応用も期待されている。今回、乳牛が分娩した出生子牛 16 頭に希少糖 D-プシコースを初乳製剤および代用乳に添加して給与し、免疫グロブリン G(IgG)の吸収効果、また健康状態や血液生化学性状におよぼす影響を明らかにすることを目的とした。その結果、血液生化学性状に影響を及ぼすことは無かった。その一方で、出生 23 時間後の血清中 IgG 濃度は、試験区 23.0 ± 1.7 mg/mL となり、対照区 17.6 ± 2.0 mg/mL と比べて高い傾向であった ($p=0.06$)。下痢日数および治療日数は、対照区に比べて試験区で短かった。一日増体量は差が見られなかった。出生子牛において D-プシコース給与の影響を初めて報告するものであるため、今後、給与回数や給与量、給与方法を再考し、その影響を改めて検証していく必要性があると考えられた。

結 言

希少糖は、国際希少糖学会で「自然界に存在量が少ない単糖およびその誘導体」と定義されている^{1,2)}。量こそ微量ではあるが、その種類は多く、核となる単糖だけでも 50 種以上にも及ぶ。D-プシコースは D-フルクトースの C-3 エピマーであり³⁾、希少糖の一つとされ生体内ではほとんど代謝されない(エネルギー価がほぼ 0kcal/g)単糖であると考えられている^{4,5)}。近年、酵素反応を利用した D-プシコースの大量生産方法が確立されたことにより、栄養学的な検討が可能となった^{6,7)}。

ラットにおいて、D-プシコースが脂肪合成を刺激せずに体脂肪蓄積を抑制すること^{8,9,10)}、食後の血糖値上昇を抑制すること^{11,12)}、少量の D-プシコースを長期摂取(30 ヶ月)しても安全性に問題がないこと¹³⁾が知られている。ヒトにおいても血糖上昇抑制作用が報告されており^{14,15)}、生体に与える様々な生理活性より医療および食品分野での応用が期待されている⁷⁾。

希少糖と同様の難消化性糖類のうち、Difructose AnhydrideⅢ(DFAⅢ)、フラクトオリゴ糖やマルクトールなどはラットの腸上皮細胞に作用し、カルシウム吸収を促進したという報告¹⁶⁾や、DFAⅢを初乳に添加し、血清中 IgG 濃度が高くなった¹⁷⁾、離乳までの治療回数が少なくなった¹⁸⁾という報告が見られた。その一方で、希少糖 D-プシコース給与の報告が畜産分野では見られず、出生子牛に与える影響は明らかとなっていない。そこで今回、出生子牛に D-プシコースを給与し、血清中の IgG 濃度や血液生化学性状、生後 62 日齢までの下痢や治療日数、一日増体量を調査し、D-プシコースが出生子牛に与える影響について調査した。

1 現香川県農政水産部畜産課

2 現香川県小豆総合事務所家畜保健衛生室

3 国際希少糖研究教育機構

材料及び方法

1. 試験期間

2020 年 6 月から 2021 年 11 月に実施した。

2. 供試牛

当场で飼養している乳用牛の分娩による出生子牛、交雑種 6 頭（雄 5 頭、雌 1 頭）および黒毛和種 10 頭（雄 8 頭、雌 2 頭）を無作為に試験区 8 頭（交雑種 3 頭：雄 3 頭、黒毛和種 5 頭：雄 4 頭・雌 1 頭）、対照区 8 頭（交雑種 3 頭：雄 2 頭・雌 1 頭、黒毛和種 5 頭：雄 4 頭・雌 1 頭）に割り当てた。

3. 供試飼料

ヒトにおける D-ブシコースの最大無作用量は、男性で 0.5g/体重 kg となっていたため、それを参考に試験区は〔生時体重〕×0.5g をミルクに添加した。対照区は無添加とした。

生後 2 および 12 時間以内に子牛用初乳代用乳（IgG80g 含有／袋、「さいしょのミルク」、JA 全農）2 袋を 1L のお湯で溶いて給与した。生後 24 および 36 時間以内に代用乳（「とらいミルク」、フィードワン株式会社）400g を 2L のお湯で溶いて給与した。いずれも、哺乳瓶を用いて投与するが、完飲できない場合はストマックチューブを用いて強制投与をした。
なお、供試した D-ブシコースは株式会社希少糖生産技術研究所から提供を受けたものである。

4. 飼養管理

分娩時に立ち合い、産まれたら母牛から離し出生子牛の身体をタオルで拭き体重を測定し、カーフハッチもしくは育成牛舎に移動させた。生後 3 日以内に、ビタミン A（「ビタフルフォルテ」、共立製薬）、ビタミン E（「イーエスイー」、共立製薬）および鉄剤（「アイアン 200」、共立製薬）を投与した。人工乳（「モーレット」、JA 北九州）は香川県黒毛和種早期離乳マニュアル¹⁹⁾に従い給与した。

5. 調査項目

1) 出生子牛の状況

出生直後の子牛の健康状態を Apger スコア²⁰⁾（表 1）を用いて、出生後 1 分および 5 分において 5 項目（心拍数／呼吸／歯肉の色／筋緊張／趾間反射性）を各 0～2 点の総和（0～20）で評価した。

表 1 出生子牛の Apger スコア採点表

	スコア		
	0	1	2
心拍	なし	100回/分未満	100回/分以上
呼吸	なし	不規則で浅い	規則的で深い
歯肉の色	蒼白～暗紫	紫	ピンク
筋緊張	横臥・沈うつ	伏臥・時々頭を振る	頻繁に頭をふる
趾間反射性	反射なし	鈍い・緩慢	鋭い・素早い

2) 血清中 IgG 濃度

生後 11、23、35 時間、1 週間後および 1 ヶ月後に頸静脈から採血をし、血清を分離し測定まで-20℃で凍結保存した。測定は市販のウシ IgG 測定用キット (Bovine IgG ELISA kit, Bethyl Laboratories Inc, USA) を用いた。

3) IgG の見かけの吸収効率 (AEA : Apparent efficien of IgG absorption)

生後 11、23 時間において、Quigley らの方法²¹⁾に従い以下のように計算した。

$$\text{血清中 IgG 量 (g)} = \text{血清中 IgG 濃度 (mg/mL)} \times \text{血清量 (L)} \times 1 / 1000$$

$$\text{AEA (\%)} = (\text{血清中 IgG 量(g)} / \text{IgG 摂取量(g)}) \times 100$$

血清量は生時体重 8.6%の値を用いて推定した。

IgG 摂取量は、初乳製剤に最低 160 g 含まれているため、生後 11 時間は 160、生後 23 時間は 320 の値を用いた。

4) 下痢日数

Quigley²²⁾の糞便スコアに従い、1 日 1 回 62 日齢まで記録した。1=正常な硬い便、2=少々緩い便、3=泥状の便、4=水様状の便として、3 以上のスコアが 3 日以上続いた場合を「下痢」と判断した。

5) 治療日数

食欲不振、呼吸器疾患および発熱の時に、動物用医薬品の経口投与や抗生物質の投与等を実施した場合を「治療」とみなして記録した。

6) 血液生化学検査

生後 11、23、35 時間、1 週間後および 1 ヶ月後に頸静脈から採血をし、血清を分離し測定まで-20℃で凍結保存し、(株)福山臨床検査センターに委託した。検査項目は、総蛋白 (TP)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)、総コレステロール (TCHO)、血液尿素窒素 (BUN) および血清鉄 (Fe) とした。

7) 一日増体量

62 日齢まで週 1 回体重測定を実施し、日齢で除することで一日増体量を算出した。

6. 統計処理

全ての統計解析には EZR²³⁾を用いた。いずれの場合も、有意水準は 5%とした。

成 績

1. 出生子牛の状態

出生時体重および Apger スコアどちらも、両区間に有意差はなく同条件の子牛を供試できた (表 2)。

表2 出生子牛の状態

	体重(kg)	Apgerスコア
試験区	39.5 ± 6.2	18.3 ± 2.9
対照区	39.3 ± 4.2	18.1 ± 3.0

(平均値±標準偏差)

2. 血清中 IgG 濃度

どの時間帯も両区間に有意差はなかったものの、生後 23 時間において、試験区 23.0±1.7mg/mL、対照区 17.6±2.0mg/mL となり、試験区で高い傾向が見られた (表 3)。

出生子牛へのD-ブシコース給与によるIgG吸収促進効果

表3 血清中のIgG濃度 (mg/mL) の変化

	試験区 (n=8)	対照区 (n=8)	p 値
11時間後	15.7±2.0	13.5±2.5	>0.10
23時間後	23.0±1.7	17.6±2.0	0.06
35時間後	21.4±2.0	18.4±2.4	>0.10
1週間後	13.0±1.8	10.9±1.1	>0.10
1か月後	10.5±1.2	11.2±1.6	>0.10

(平均値±標準誤差)

3. IgG の見かけの吸収効率(AEA)

生後 23 時間において試験区 24.2±1.8%、対照区 18.5±2.1%となり有意差はなかったものの試験区で高い傾向が見られた (表 4)。

表4 IgGの見かけの吸収効率 (%)

	試験区 (n=8)	対照区 (n=8)	p値
11時間後	32.3±3.4	28.5±5.3	>0.10
23時間後	24.2±1.8	18.5±2.1	0.06

(平均値±標準誤差)

4. 下痢日数および治療日数

下痢日数は試験区 7.4±2.6 日、対照区 15.8±4.0 日となった。治療日数は試験区 2.5±0.9、対照区 5.8±1.6 となり、統計学的な有意差はなかったものの試験区で短かった (図 1)。

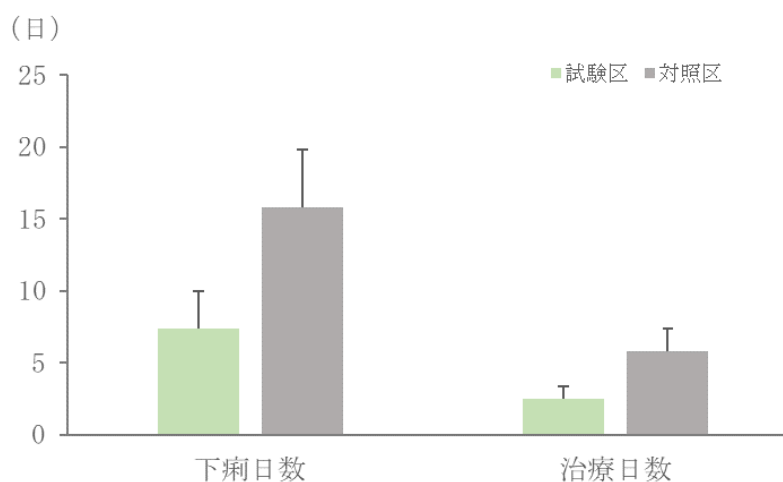


図1. 下痢日数および治療日数の比較

5. 血液生化学検査

TP、CHO、ALP、 γ GTP、BUN、および Fe はいずれの時間帯も両区間に有意差は認められなかった (表 5)。

出生子牛への D-ブシコース給与による IgG 吸収促進効果

表 5 血液生化学検査

	TP		CHO		ALP	
	試験区	対照区	試験区	対照区	試験区	対照区
11時間後	4.6 ± 0.1	4.6 ± 0.2	32.1 ± 1.8	28.1 ± 2.6	739.8 ± 187.8	992.8 ± 303.8
23時間後	5.0 ± 0.1	4.7 ± 0.2	34.1 ± 1.6	29.9 ± 2.2	957.0 ± 304.7	864.8 ± 273.9
35時間後	5.0 ± 0.1	4.7 ± 0.2	35.6 ± 1.1	30.9 ± 2.4	1232.8 ± 377.9	1023.9 ± 331.3
1週間後	4.9 ± 0.1	4.7 ± 0.2	79.9 ± 4.1	75.4 ± 5.4	1164.6 ± 235.5	959.1 ± 334.1
1ヵ月後	4.9 ± 0.2	4.7 ± 0.2	145.6 ± 12.4	134.4 ± 11.6	1013.8 ± 247.9	627.1 ± 152.3

	γ GTP		BUN		Fe	
	試験区	対照区	試験区	対照区	試験区	対照区
11時間後	1214.9 ± 131.1	982.9 ± 177.4	6.8 ± 0.9	8.0 ± 0.8	29.9 ± 5.7	33.9 ± 4.0
23時間後	1375.5 ± 190.5	1062.3 ± 173.7	10.5 ± 0.9	9.7 ± 1.1	22.0 ± 5.3	30.8 ± 6.4
35時間後	893.3 ± 130.4	744.0 ± 115.5	13.7 ± 1.4	13.7 ± 1.5	77.4 ± 19.2	103.6 ± 29.9
1週間後	158.1 ± 24.1	114.6 ± 10.5	10.7 ± 0.8	11.2 ± 1.3	149.8 ± 20.2	132.8 ± 28.0
1ヵ月後	28.9 ± 2.6	26.9 ± 1.5	11.3 ± 1.5	9.7 ± 1.0	242.4 ± 46.1	198.5 ± 22.8

(平均値±標準誤差)

6. 一日増体量

試験区 1.5 ± 0.0 、対照区 1.5 ± 0.1 となり両区間に有意差は認められなかった（図 2）。

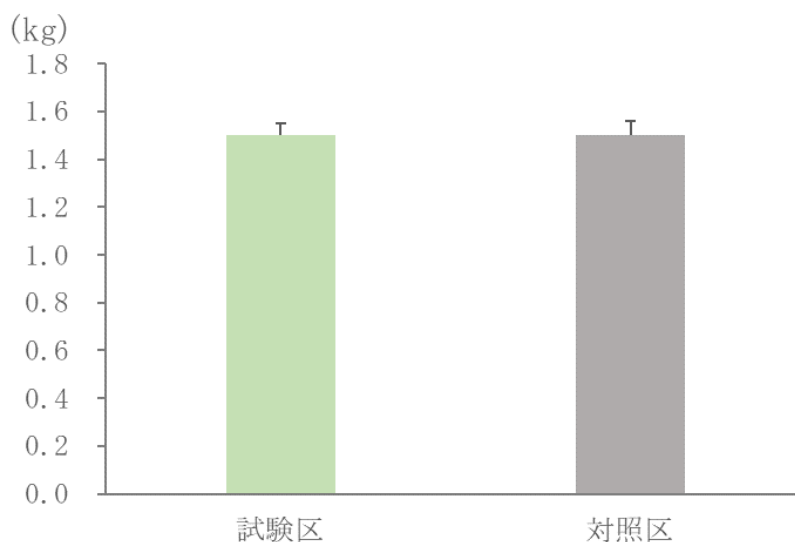


図 2 一日増体量

考 察

牛の場合、ヒトと異なり胎盤を介して抗体を移行させることができず、初乳を介して抗体を得ることが出来る。様々な抗体の中でも、IgG が牛では主に重要であり、この IgG 吸収率は生後 12 時間を境に一気に減少することが知られている²⁴⁾。

血清中 IgG 濃度および AEA は生後 23 時間において、試験区で高い傾向が見られた。また、下痢日数や治療日数に関しても、有意差はないものの試験区の方で短い結果となり、IgG の吸収促進効果による可能性が考えられた。

血液生化学検査および一日増体量に関して、両区間に有意差は認められず、D-ブシコースが健康に悪影響を及ぼすものではないことが示唆された。とりわけ黒毛和種子牛では、性差や血統による

影響が増体量に大きく影響を及ぼすと考えられ、今回は全て揃えることができなかったものの、62日齢までの結果ではその差は見られなかった。

本来初乳製剤は、母牛の初乳の品質が乏しい場合に補助的に使用するものであるが、初乳のIgG含有量のバラツキの影響を受けずに評価したかったため、製造ロットが揃ったものを使用した。そのため、母牛の初乳を用いた場合の結果はまた異なるとは思われる。また、今回の給与量は、出生時体重×0.5 gとしたものの、現場で出生時体重を測定するのは現実的ではない。そのため、どんな体格の子牛でも同一量の給与量で、一定の効果が得られるかどうか、再検討の余地があると考えられた。

今回、結果としてD-プシコースが血清中のIgG濃度の吸収を高めたと考えられるが、その作用機序は不明である。一般に出生子牛のIgGの吸収は、小腸上皮細胞内に取り込まれ体内に吸収されるトランスサイトシスと言われている。同じ難消化性糖類であるDFAⅢは、ラットにおいて上皮細胞のタイトジャンクションに作用し、細胞通路からカルシウムの吸収を高めること¹⁷⁾、分娩後の乳用牛でもカルシウム吸収を促進したことが報告されている²⁵⁾。また、DFAⅢを出生子牛に給与した場合、血中IgG濃度が上昇したことを受け、定説であるトランスサイトシスよりも上皮細胞間隙で行われている可能性を報告している²⁴⁾。そのことを踏まえると、D-プシコースがトランスサイトシス、もしくはDFAⅢのように上皮細胞間隙に作用した可能性があると考えられた。

希少糖D-プシコースは、出生子牛において生後23時間の血清中IgG濃度を高め、下痢日数や治療日数を短縮する可能性が考えられた。また、発育や血液生化学性状に影響を及ぼさない結果となり、今回設定した給与量は出生子牛に安全であることが示された。

謝辞

本研究の実施にあたり、D-プシコースの御提供をはじめとする御助言・御指導を賜りました松谷化学工業株式会社様ならびに御協力いただきましたすべての関係者に厚くお礼申し上げます。

参考文献

- 1) 徳田雅明. 香川大学発『希少糖』生活習慣病予防への新戦略. 外科と代謝・栄養. 第49巻. 第6号. 299-307. 2015.
- 2) 何森ら. 希少糖研究への挑戦と期待. 生物工学会誌. 第86巻. 第9号. 427-442. 2008.
- 3) Green GM, Perlin AS. 1968. O-Isopropylidene derivation of D-allulose(D-psicose) and D-erythrohexopyranose-2,3-diulose. Can J Biochem. 46:765-70.
- 4) Matsuo T, Suzuki H, Hashiguchi M, Izumori K. 2002. D-Psicose is rare sugar that provides no energy to growing rats. J Nutr Sci Vitaminol. 48:77-80.
- 5) Iida T, Hayashi N, Yamada T, Yoshikawa Y, Miyazato S, Kishimoto Y, Okuma K, Tokuda M, Izumori K. 2010. Failure of D-psicose absorbed in the small intestine to metabolize into energy and its low large intestinal fermentability in humans. Metabolism 59:206-14.
- 6) Granstrom T.M., Tanaka G, Tokuda M, and Izumori K. 2003. Izumoring: A novel and complete strategy for bioproduction of rare sugars. Jouenal of bioscience and bioengineering. 97(2) : 89-94.
- 7) 山田ら. ヒトにおける希少糖含有シロップ摂取による血糖応答に及ぼす影響. 2017. 日本栄養・食糧学会誌. 第70巻. 第6号. 271-278.
- 8) Matsuo T, Baba Y, Hashiguchi M, Takeshita K, Izumori K and Suzuki H. 2001. Dietry D-psicose, a C-3 epimer of D-fructose, suppresses the activity of hepatic lipogenic enzymes in rats. Asia Pacific J Clin Nutr 10(3): 299-237.

- 9) Matuso T, Baba Y, Hashiguchi M, Takeshita K, Izumori K and Suzuki H. 2001. Less body fat accumulation with D-psicose diet versus D-fructose diet. *J Clin biochem nutr* 30: 55-65.
- 10) Ochiai M, Nakanishi Y, Yamada T, Iida T and Matsuo T. 2013. Inhibition by dietary D-psicose of body fat accumulation in adult rats fed a high sucrose diet. *Biosci biotechnol biochem* 77(5): 130019-1-4.
- 11) 松尾達博. 2006. ラットにおける D-プシコースの血糖値上昇抑制作用. *日本栄養・食糧学会誌*. 第 59 巻. 第 2 号. 119-121.
- 12) Matsuo T, Izumori K. 2006. Effects of dietary d-psicose on diurnal variation in plasma glucose and insulin concentrations of rats. *Biosci biotechnol biochem* 70(9): 2081-2085.
- 13) 檜垣俊介, 松尾達博. 2015. 希少糖 D-プシコースが高脂肪食ラットの生存期間に及ぼす影響. *日本栄養・食糧学会誌*. 第 68 巻. 第 2 号. 69-72.
- 14) Hsyashi N, Iida T, Yamada T, Okuma K, Takehara I, Yamamoto T, Yamada K and Tokuda M. 2010. Study on the postprandial blood glucose suppression effect of D-psicose in borderline diabetes and the safety of long of long-term ingestion by normal human subjects. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 74(3):510-519.
- 15) Iida T, Kishimoto Y, Yoshikawa Y, Hayashi N, Okuma K, Tohi M, Yagi K, Matsuo T and Izumori K. 2008. A cute D-psicose administration decreases the glycemic responses to an oral maltodextrin tolerance test in normal adults. *J Nutr Sci Vitaminol* 54:511-514.
- 16) Suzuki T and Hara S. 2004. Various non-digestible saccharides increase intracellular calcium ion concentration in rat small-intestinal enterocytes. *B Journal of Nutrition* 92:751-755.
- 17) Htun A., Sato T., Fukuma N., and Hanada M. 2017. Effects of difructose anhydride III on serum immunoglobulin G concentration and health status of newborn Holstein calves during the preweaning period. *J. Dairy Sci.* 101:3226-3232.
- 18) Matsumoto D, Takagi M, Hasunuma H, Fushimi Y, Ohtani M, Sato T, Okamoto K, Shahada F, Tanaka T and Deguchi E. 2009. Effeckcts of oral administration of difructose anhydride III on selected health and blood parameters of group-housed Japanese black calves. *J Anim Sci* 22(12):1640-1647.
- 19) 香川県畜産試験場. 黒毛和種早期離乳マニュアル(自然哺育における 2 か月齢での離乳). 2013.
- 20) 石井三都夫. 2014. 獣医内科学. 文永堂出版. 第 2 版. 325-335.
- 21) Quigley, J. D. III, J. J. Drewry, and K. R. Martin. 1998. Estimation of plasma volume in Holstein and Jersey calves. *J. Dairy Sci.* 81:1308-1312.
- 22) Quigley, J. D. III, Kost C. J. and Wolfe, T. A. 2002. Effects of spray-dried animal plasma in Milk Replacers or additives containing serum and oligosaccharides on groeth and health of calves. *J. Dairy Sci.* 85:413-421.
- 23) Kanda Y. 2013. Investigation of the freely available easy-to-use software'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.* 48:452-458.
- 24) Osaka I., Matsui Y. and Terada F. 2014. Effect of the mass of immunogloburin(Ig)G intake and age at first colostrum feeding on serum IgG concentration in Holstein calves. *J. Dairy Sci.* 97(10):6608-6612.
- 25) Teramura, M., Wynn S., Reshalaitihan M., W. Kyuno, Sato T., Ohtani M., Kawashima C and Hanada M. 2015. Supplementation with difructose anhydride III promotes passibe calcium absorption in the small intestine immediately after calving in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:8688-8697.