乳酸菌加熱菌体 HK L-137 が比内地鶏の発育および生産性に及ぼす影響

力丸宗弘¹・廣瀬義隆²・中井寛子²・青谷大希¹・佐藤悠紀¹・長谷浩伸³

¹ 秋田県畜産試験場, 大仙市 019-1701

² ハウスウェルネスフーズ株式会社開発研究所, 伊丹市 664-0011

³ ハウスウェルネスフーズ株式会社乳酸菌事業部, 千代田区 101-0054

(2016. 12. 9 受付, 2017. 4. 24 受理)

要 約 乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* L-137 株の加熱菌体 (HK L-137) 給与が比内地鶏の発育および生産性に及ぼす影響について検討した。試験 1 では HK L-137 を 112 日齢まで 2 mg/kg, 試験 2 では 28 日齢まで 10 mg/kg, 112 日齢まで 2 mg/kg 添加した飼料を給与し, 161 日齢まで飼養した。HK L-137 添加区は両試験において対照区より 112 日齢の体重が有意に優れ, 161 日齢体重, 0-161 日齢平均日増体重および飼料要求率が優れる傾向を示した。経済性においても HK L-137 添加区は対照区より生産指数が優れ, 1 羽当たりの粗収益が約 65 円増加した。また, HK L-137 区は 112 日齢において脾臓の *IFN-γ* 遺伝子の発現強度が対照区より高い傾向を示した。以上の結果から, HK L-137 は比内地鶏の増体を促進し, 生産性を改善することが示唆された。

日本畜産学会報 88 (3), 321-328, 2017

キーワード: 加熱菌体, 生産性, ニワトリ, 比内地鶏, *Lactobacillus plantarum* L-137 株

近年, 配合飼料価格の高止まりや為替変動により肉用鶏農家の経営状況は厳しさを増している。肉用鶏の飼料に利用される配合飼料は海外からの輸入に依存しており, 飼料費は生産費の 6 割以上を占める (農林水産省 2015) ことから, 飼料費の削減が喫緊の課題となっている。飼料費を削減するため, 国内で利用可能な飼料用米 (農業・食品産業技術総合研究機構 2015) や未利用資源 (農林水産省 2016) が配合飼料の代替飼料として用いられているが, これらの供給量には限界があることから代替飼料のみでなく生産性の向上も求められている。

ニワトリの生産性の向上や抗生物質の代替を目的とした添加物として, プロバイオティクス, プレバイオティクス, 有機酸, 葉草等 (Hashemi と Davoodi 2011 ; Alloui ら 2013, 2104 ; Fallah ら 2013, Ganguly 2013) が利用されている。乳酸菌はプロバイオティクスとして利用されており, ニワトリにおいても増体の向上が報告されている (Ghadban 2002 ; Loh ら 2010 ; Hossain ら 2015 ; Peng ら 2016)。しかしながら, 生菌製剤は加工の工程や保存の状態, 胃酸や腸の消化液によって効果が安定しないという欠点もある。一方, 加熱した乳酸菌は胃酸や腸の消化液の影響を受けにくく, 高い活性および免疫賦活能を維持することが可能である (Fujiki ら 2012)。

Lactobacillus plantarum L-137 株は東南アジアの発酵食品から分離された乳酸菌で, その加熱菌体 (HK

L-137) は免疫細胞からのインターロイキン 12 (IL-12) 産生を強力に誘導する活性を有し, 動物実験で食物アレルギー抑制作用 (Murosaki ら 1998) や抗腫瘍作用 (Murosaki ら 2000), インフルエンザ感染防御作用 (Maeda ら 2009) などが確認されている。健康者を対象にした試験においては, HK L-137 を摂取することで T 細胞の増殖能やヘルパー 1 型 T 細胞 (Th1)/ヘルパー 2 型 T 細胞 (Th2) 比が有意に上昇し, 健康関連 QOL (Quality of Life : 生活の質) が向上すること (Hirose ら 2006), 血漿中のインターフェロン β ($IFN-\beta$) 濃度が上昇すること (Arimori ら 2012), などが示されている。また, 精神的ストレスを強く感じている健康者を対象とした試験においては, HK L-137 の摂取により T 細胞の増殖能が有意に上昇し, 風邪の発症件数が有意に低下することも報告されている (Hirose ら 2013)。HK L-137 の菌体表面にはリポテイコ酸が *Lactobacillus plantarum* の標準株に比べて多く発現しており (Hirose ら 2010), このリポテイコ酸が免疫細胞のスカルビンジャーレセプター A に認識され, 効率良く細胞に取り込まれることで IL-12 産生を強く誘導し, 細胞性免疫を高めると考えられる (Hatano ら 2015)。

近年, 水産分野ではクルマエビやカンパチへ HK L-137 を給与することによって, 増体の向上やストレス抵抗性が高くなることが報告されている (Tung ら 2009, 2010 ;

連絡者: 力丸宗弘 (fax : 0187-72-2807, e-mail : Rikimaru-Kazuhiro@pref.akita.lg.jp)

Dawood ら 2015). 畜産分野においてはブタへ HK L-137 を給与することによって、血球細胞の *IFN-β* 遺伝子の mRNA 発現が有意に高くなることが報告されている (Arimori ら 2012). ニワトリでは Khonyoung と Yamauchi (2012) が HK L-137 をブロイラーへ給与すると、グラム陽性の常在性細菌の増加によって腸管機能が活性化され増体が改善されることが報告されているが、ブロイラーとは発育が異なる地鶏についてはこれまで報告されていない。そこで本研究では、地鶏の中でも飼育日数が長い比内地鶏へ HK L-137 を給与し、発育・生産性ならびに免疫機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

材料および方法

1. 供試材料および飼養管理

秋田県畜産試験場において同日にふ化した比内地鶏の雌を供試した。ふ化したヒナは餌付けから 28 日齢までバタリ一育雛器で飼育した。28 日齢以降は運動場が付随したパイプハウスで 23 週齢まで飼育した。飼料は 28 日齢まで前期 (CP22% 以上, ME3,000 kcal/kg 以上), 28~112 日齢まで中期 (CP18% 以上, ME2,850 kcal/kg 以上), 112~161 日齢まで仕上げ (CP16% 以上, ME2,900 kcal/kg 以上) 飼料を給与した。なお、前期飼料にコクシジウム感染予防のためアピラマイシンを 10g 力価/トン、硫酸コリスチン 3g 力価/トン、サリノマイシンナトリウム 50g 力価/トンを添加した。飼料および水は自由摂取とし、照明時間は自然日長とした。試験 1 では各区 60 羽ずつ供試し、試験 2 では各区 30 羽ずつ供試した。本研究における動物の取り扱いならびに飼養は「秋田県畜産試験場動物実験委員会」(受付番号 5) の承認を受けて行った。

2. 試験飼料

乳酸菌加熱菌体 HK L-137 は、培養菌液を加熱処理後に培地を洗浄除去して作製した。試験には乳酸菌加熱菌体 HK L-137 を 20%、デキストリンを 80% 含有する製剤 Feed LP20 (ハウスウェルネスフーズ、兵庫) をコーンスターチで 40 倍散したものを使用した。

3. 実験計画

試験 1 では春生まれの比内地鶏を 60 羽ずつ乳酸菌加熱菌体 HK L-137 を市販の配合飼料 (中部飼料株式会社、愛知) へ仕上げ期前の中期 (112 日齢) まで 2mg/kg 添加した HK L-137 添加区と同一の市販の配合飼料のみを給与した対照区とに分け、161 日齢まで飼育した。試験期間は平成 26 年 4 月 30 日から 10 月 8 日とした。試験 2 では夏生まれの比内地鶏を 30 羽ずつ HK L-137 を前期 (28 日齢) まで 10mg/kg、中期 (112 日齢) まで 2mg/kg 添加した HK L-137 添加区と対照区へ分け、161 日齢まで飼育した。試験期間は平成 26 年 8 月 6 日から平成 27 年 1 月 14 日とした。

4. 発育成績

調査項目は試験終了時の生体重、平均日増体重、飼料摂

取量、飼料要求率、生産指数、経済性とした。体重は 0, 28, 70, 112, 161 日齢に測定した。平均日増体重は各日齢における体重から算出した。飼料摂取量は個体ごとの測定が困難であるため、群全体の飼料摂取量と羽数から算出した。飼料要求率は平均日増体重と飼料摂取量から算出した。飼料摂取量と飼料要求率の測定項目は 0-28, 28-70, 70-112, 112-161, 0-161 日齢とした。生産指数は下記の式により求めた。

$$\text{生産指数} = (\text{育成率} \times \text{試験終了時体重}) / (\text{試験飼育日数} \times \text{飼料要求率}) \times 100$$

経済性については、販売額から生産費を差し引いたものを粗収益とした。生産費は飼料費 (前期用飼料 76.6 円/kg、中期用飼料 63.4 円/kg、仕上げ用飼料 61.85 円/kg)、乳酸菌加熱菌体添加費とひな代 (310 円)・衛生費・光熱費・減価償却費・その他経費 (380 円) から算出した。HK L-137 の添加費用は 1 円/kg とした。販売額は下記の式により求めた。

$$\text{販売額} = (\text{試験終了時生体重} - 100 \text{ g (糞排泄量)}) \times 0.9 (\text{と体割合}) \times 816 \text{ 円 (kg 単価)}$$

5. 免疫機能評価

試験 2 において、28 日齢および 112 日齢に各区から 5 羽ずつランダムに抽出し、脾臓のサイトカイン mRNA 発現を比較した。脾臓は 5mm 以下の厚さにカットし、各サンプルについて 4 片ずつ RNA 保存試薬 (RNAlater) (Ambion, Waltham, MA, USA) を入れたチューブへ入れ、測定まで -20℃ で保存した。評価項目は脾臓細胞中のサイトカイン遺伝子 (*IFN-β*, *IFN-γ*, *IL-12β* 遺伝子) の mRNA 発現強度とした。

RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Waltham, MA, USA) を用いて凍結保存した脾臓組織から総 RNA を抽出後、One Step SYBR PrimeScript RT-PCR Kit II (Perfect Real Time) (タカラバイオ、滋賀) を用いて、逆転写酵素 PrimeScript RTase による RNA からの cDNA 合成と TaKaRa Ex Taq HS によるポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 増幅、ならびに SYBR Green I による増幅産物のモニタリングを 1 チューブ内で連続的に行なった。PCR 反応組成ならびに反応条件は、One Step SYBR PrimeScript RT-PCR Kit II の使用説明書にて推奨されている条件で行った。各種サイトカイン遺伝子 (*IFN-β*, *IFN-γ*, *IL-12β* 遺伝子) ならびに内部標準遺伝子 (*GAPDH*) のオリゴヌクレオチドプライマーを表 1 に示した。PCR 反応は Thermal Cycler Dice Real time System (タカラバイオ) を用いて行い、各種サイトカイン遺伝子と内部標準遺伝子 (*GAPDH*) をそれぞれ測定した。各種サイトカイン遺伝子の発現強度は下記計算式で算出した。

$$\text{発現強度} = [1/2]^{-\Delta Ct}$$

$$\Delta Ct = [\text{サイトカイン遺伝子 Ct 値}] - [\text{内部標準遺伝子 Ct 値}]$$

Ct: 遺伝子増幅が確認できるサイクル数

6. 統計解析

統計解析は体重、平均日増体重、各サイトカイン遺伝子の発現強度について Excel 統計 2006 ソフトウェア ((株) 社会情報サービス, 東京) を用いて対応のない t 検定により群間比較を行い、有意水準は $P < 0.05$ とした。

結 果

試験 1 では HK L-137 を添加した 112 日齢まで HK L-137 添加区が対照区より体重が有意に優れ、161 日齢においても体重が優れる傾向 (HK L-137 添加区 2858.2 g ; 対照区 2807.0 g) を示した (表 2)。平均日増体重は 70 日齢まで HK L-137 添加区が対照区より有意に優れ、全期間 (0-161 日齢) においても体重と同様に HK L-137 区が対照区より優れる傾向 (HK L-137 添加区 17.5 g ; 対照区 17.2 g) を示した。飼料摂取量は HK L-137 添加区が対照区よりやや少なく、飼料要求率が優れていた (HK L-137 添加区 4.87 ; 対照区 5.15) (表 2)。対照区の育成率は 96.7%、試験区の育成率は 98.3% と育成率にほとん

ど差は認められなかった。生産指数は HK L-137 添加区 (327.4) が対照区 (358.3) より優れ、1 羽当たりの粗収益が 65.0 円増加した (表 3)。

試験 2 では 112 日齢において HK L-137 添加区が対照区より体重が有意に優れ、161 日齢においても体重が対照区より優れる傾向 (HK L-137 添加区 3022.2 g ; 対照区 2899.2 g) を示した (表 4)。平均日増体重は群間に有意な差は認められなかったが、全期間において HK L-137 添加区が対照区より優れる傾向を示した。飼料摂取量は HK L-137 添加区が対照区よりやや多かったが、飼料要求率は優れていた (HK L-137 添加区 4.92 ; 対照区 4.95) (表 4)。対照区、試験区ともに育成率は 100% であった。生産指数は HK L-137 添加区 (381.5) が対照区 (363.8) より優れ、1 羽当たりの粗収益が 66.4 円増加した (表 5)。

28 日齢における HK L-137 添加区の脾臓の各種サイトカイン遺伝子 (IFN- β , IFN- γ , IL-12 β 遺伝子) の mRNA 発現強度は対照区と同等の値を示した (図 1)。112 日齢においても HK L-137 添加区の IFN- β 遺伝子と

表 1 各サイトカイン遺伝子 (IFN- β , IFN- γ , IL-12 β 遺伝子) のプライマー

プライマーセット	プライマー (5' → 3')
GAPDH-F	CCTCTCTGGCAAAGTCCAAG
GAPDH-R	CATCTGCCCATTTGATGTTG
IFN- β -F	CCTCAACCAGATCCAGCATT
IFN- β -R	GGATGAGGCTGTGAGAGGAG
IFN- γ -F	AACTGACAAGTCAAAGCCGC
IFN- γ -R	AGTCGTTTCATCGGGAGCTTG
IL-12 β -F	TGTCTCACCTGCTATTTGCCTTAC
IL-12 β -R	CATACACATTCTCTCTAAGTTTCCACTGT

GAPDH : グリセルアルデヒド 3 リン酸脱水素酵素, IFN- β : インターフェロン- β
IFN- γ : インターフェロン- γ , IL-12 : インターロイキン-12

表 2 乳酸菌加熱菌体 HK L-137 の給与が比内地鶏の発育成績に及ぼす影響 (試験 1)

体重 (g)	0 日齢	28 日齢	70 日齢	112 日齢	161 日齢
対照区	40.0 ± 2.8	360.5 ± 34.2 ^b	1345.2 ± 123.5 ^b	2169.0 ± 166.7 ^b	2807.0 ± 226.5
HK L-137 添加区	40.0 ± 2.8	377.8 ± 39.1 ^a	1402.2 ± 120.4 ^a	2235.7 ± 121.4 ^a	2858.2 ± 229.0
平均日増体重 (g)	0-28 日	28-70 日	70-112 日	112-161 日	試験全期間
対照区	11.4 ± 1.2 ^b	23.4 ± 2.5 ^b	19.6 ± 2.1	13.0 ± 2.3	17.2 ± 1.4
HK L-137 添加区	12.1 ± 1.4 ^a	24.4 ± 2.4 ^a	19.8 ± 2.4	12.7 ± 3.3	17.5 ± 1.4
飼料摂取量 (g)	0-28 日	28-70 日	70-112 日	112-161 日	試験全期間
対照区	23.2	82.7	117.0	107.2	88.6
HK L-137 添加区	21.5	84.8	107.6	102.9	85.2
飼料要求率	0-28 日	28-70 日	70-112 日	112-161 日	試験全期間
対照区	1.96	3.53	5.97	8.24	5.15
HK L-137 添加区	1.72	3.48	5.47	8.10	4.87

平均値 ± 標準偏差, 体重・平均日増体重 : $n = 60$, 飼料摂取量・飼料要求率 : $n = 1$, 反復数 1

^{a, b} 異なる符号間に有意差あり ($P < 0.05$)

表 3 乳酸菌加熱菌体 HK L-137 の給与が比内地鶏（1 羽当たり）の生産指数および経済性に及ぼす影響（試験 1）

	生産指数	飼料費（円）	乳酸菌加熱菌体添加費（円）	諸経費（円）	生産費（円）	販売額（円）	粗収益（円）
対照区	327.4	906.4	—	690	1596.4	1988.0	391.6
HK L-137 添加区	358.3	870.3	8.7	690	1569.0	2025.6	456.6

生産指数：（育成率×試験終了時体重）/（試験飼育日数×飼料要求率）× 100

飼料単価：前期用飼料 76.6 円/kg, 中期用飼料 63.4 円/kg, 仕上げ用飼料 61.85 円/kg とした

諸経費：ひな代 310 円, 衛生費・光熱費・減価償却費・その他経費 380 円/kg とした

販売額：（試験終了時体重（kg）－100 g（糞排泄量））× 0.9（と体割合）× 816 円（kg 単価）とした

生産費：飼料費 +（乳酸菌加熱菌体添加費）+ 諸経費

粗収益：販売額－生産費

表 4 乳酸菌加熱菌体 HK L-137 の給与が比内地鶏の発育成績に及ぼす影響（試験 2）

体重（g）	0 日齢	28 日齢	70 日齢	112 日齢	161 日齢
対照区	41.7 ± 2.0	372.0 ± 36.6	1383.0 ± 133.4	2305.9 ± 187.5 ^b	2899.2 ± 327.5
HK L-137 添加区	42.0 ± 2.3	388.3 ± 31.1	1443.2 ± 137.8	2415.0 ± 131.5 ^a	3022.2 ± 221.6
平均日増体重（g）	0-28 日	28-70 日	70-112 日	112-161 日	試験全期間
対照区	11.8 ± 1.3	24.0 ± 2.7	22.0 ± 2.4	11.8 ± 3.1	17.7 ± 2.0
HK L-137 添加区	12.4 ± 1.1	25.1 ± 2.9	23.1 ± 2.3	12.1 ± 2.8	18.5 ± 1.4
飼料摂取量（g）	0-28 日	28-70 日	70-112 日	112-161 日	試験全期間
対照区	27.5	78.3	120.2	104.2	85.1
HK L-137 添加区	30.9	77.9	117.5	108.3	86.0
飼料要求率	0-28 日	28-70 日	70-112 日	112-161 日	試験全期間
対照区	2.33	3.26	6.13	8.01	4.95
HK L-137 添加区	2.49	3.10	5.99	8.53	4.92

平均値 ± 標準偏差, 体重・平均日増体重：28 日齢まで $n = 30$, 28 日齢以降 112 日齢まで $n = 25$, 112 日齢以降 161 日齢まで $n = 20$

飼料摂取量・飼料要求率： $n = 1$, 反復数 1

^{a, b} 異符号間に有意差あり ($P < 0.05$)

表 5 乳酸菌加熱菌体 HK L-137 の給与が比内地鶏（1 羽当たり）の生産指数および経済性に及ぼす影響（試験 2）

	生産指数	飼料費（円）	乳酸菌加熱菌体添加費（円）	諸経費（円）	生産費（円）	販売額（円）	粗収益（円）
対照区	363.8	903.3	—	690	1593.3	2055.7	462.4
HK L-137 添加区	381.5	914.8	12.5	690	1617.3	2146.1	528.8

生産指数：（育成率×試験終了時体重）/（試験飼育日数×飼料要求率）× 100

飼料単価：前期用飼料 76.6 円/kg, 中期用飼料 63.4 円/kg, 仕上げ用飼料 61.85 円/kg とした

諸経費：ひな代 310 円, 衛生費・光熱費・減価償却費・その他経費 380 円/kg とした

販売額：（試験終了時体重（kg）－100 g（糞排泄量））× 0.9（と体割合）× 816 円（kg 単価）とした

生産費：飼料費 +（乳酸菌加熱菌体添加費）+ 諸経費

粗収益：販売額－生産費

IL-12 β 遺伝子の mRNA 発現強度は対照区と同等の値を示した。IL-12 β 遺伝子については対照区で 1 個体が顕著に高い値を示した影響でバラツキが大きくなった。一方、IFN- γ 遺伝子の mRNA 発現強度は HK L-137 添加区が対照区より高い傾向を示した ($P = 0.089$) (図 1)。

考 察

本研究では、HK L-137 が比内地鶏の発育・生産性ならびに免疫機能に及ぼす影響について検討した。試験 1 では HK L-137 を仕上げ飼料に切り替わる 112 日齢まで 2 mg/kg 添加し、試験 2 では 28 日齢まで 10 mg/kg,

28日齢

112日齢

図 1 乳酸菌加熱菌体 HK L-137 の給与が比内地鶏の脾臓における各サイトカイン遺伝子の発現強度に及ぼす影響。
N = 5, 平均値 ± 標準偏差 [†]P < 0.1 vs 対照区

112 週齢まで 2 mg/kg 添加した。両試験において、HK L-137 を添加した 112 日齢では HK L-137 添加区の体重が対照区より有意に優れていた。試験終了時においても HK L-137 添加区は対照区より体重および平均日増体重が優れる傾向を示した。本研究の結果はブロイラーへ HK L-137 を 2 mg/kg あるいは 4 mg/kg 添加した区が配合飼料のみを給与した区より体重が優れる傾向にあると報告している Khonyoung と Yamauchi (2012) の結果とも一致しており、これらの結果は HK L-137 が肉用鶏の増体を向上させることを示唆している。添加量については 28 日齢まで 2 mg/kg あるいは 10 mg/kg 添加しても増体に差が認められなかったことから、経済性を考慮すると 2 mg/kg の添加で十分効果が得られると考えられる。本研究では HK L-137 を仕上げ飼料に切り替わる 112 日齢までしか添加しなかったが、112 日齢以降 HK L-137 と対照区の増体の差が小さくなっていることから、最適な添加期間については経済性も踏まえ今後さらに検討する必要がある。HK L-137 添加区は両試験において飼料要求率が対照区より優れていたが、Khonyoung と Yamauchi (2012) は HK L-137 を添加した区と配合飼料のみを給与した区に差は認められなかったと報告している。この結果の違いは、比内地鶏では HK L-137 を添加した区と対照区の飼料摂取量にほとんど差がなかったのに対し、ブロイラーでは HK L-137 を添加した区の飼料摂取量が有意に多かったことが要因と考えられる。HK L-137 によって成

長が促進された要因として、Khonyoung と Yamauchi (2012) は HK L-137 を添加したブロイラーでは十二指腸の絨毛の表層における細胞分裂数や十二指腸、回腸、空腸における細胞の隆起が増加し、腸管絨毛の機能が活性化されたことが要因であると考察している。腸管組織の形態変化による成長促進効果はサトウキビ抽出物や β -1,4-マンノピオースを給与したブロイラーにおいても同様の効果が確認されている (Yamauchi ら, 2006; Ibuki ら 2014)。本研究では組織学的に腸管絨毛を調査していないが、HK L-137 によって腸管組織の形態変化が引き起こされることによって栄養素の吸収能が高まり、その結果成長が促進されていたと推測される。

本研究では中期以降抗生物質が含まれていない飼料を用いたが、両区においてコクシジウム症に感染していると思われる血便排出などの症状を示す個体は認められず、育成率にも差がなかったことから、コクシジウムによる発育、育成率への影響はなかったものと思われる。乳酸菌のコクシジウムに対する効果はこれまでも数多く報告されているが (Giannenas ら 2012, 2014; Abderahman ら 2014; Miranda ら 2016)、本研究で用いた HK L-137 のコクシジウムに対する効果は現時点では不明である。HK L-137 のコクシジウムに対する効果を明らかにするためには、今後感染試験等により詳細に確認する必要がある。

脾臓の各種サイトカイン遺伝子 (IFN- β , IFN- γ , IL-12 β 遺伝子) の mRNA 発現強度は HK L-137 添加区と対照区

に有意な差は認められなかったが、112日齢においてIFN- γ 遺伝子のmRNA発現強度は試験区が対照区より高い傾向を示した。IFN- γ はTh1細胞が産生する細胞性免疫に関わるサイトカインであり、IL-12によって産生が増強される。HK L-137の摂取はIL-12産生を介してTh1細胞の誘導を促進することが報告されていることから(Hiroseら2006)、本研究でもそのような効果が軽度認められたと推測される。精神的および身体的ストレスが強くなっている状態では細胞性免疫が特に低下しやすく、感染症のリスクが上昇すると言われている(KaminogawaとNanno 2004)。高密度飼育によるストレスは、細胞性免疫低下の一因と考えられ、そのような状況に対してHK L-137の摂取は有効に働く可能性が示されている。一方、IFN- β 遺伝子のmRNA発現強度にはほとんど差が認められなかった。IFN- β は主にマクロファージから産生されるサイトカインで、抗ウイルス作用や抗がん作用を有するほか、細胞増殖、免疫応答の調節、分化誘導の調節などにも寄与している。Arimoriら(2012)はHK L-137をブタに20 mg/kg添加した結果、摂取40日後の血球細胞におけるIFN- β 遺伝子のmRNA発現が有意に上昇したことを確認しているが、本研究ではそのような上昇は認められなかった。この結果の違いは動物種の違い、飼養環境の違い、摂取量および摂取期間の違い、遺伝子発現を調べた臓器の違いなどが原因である可能性が考えられるが、詳細は不明であるため今後更なる検討が必要である。

経済性についてはHK L-137添加区は対照区より試験終了時の体重および飼料要求率が優れていたことから、生産指数も対照区より優れていた。また、HK L-137添加区は対照区より1羽当たり粗収益が約65円増加し、比内地鶏の生産性が15~17%向上した。比内地鶏の一戸当たりの年間平均飼養羽数は約5,000羽であり(秋田県2016)、出荷率を平均90%とすると、年間29万円の増収となる。配合飼料価格が高止まり傾向にある中、1羽当たりの粗収益が約65円増加することは生産者にとって経営面で非常に大きなメリットとなる。以上の結果から、HK L-137は比内地鶏のIFN- γ 遺伝子の発現を軽度上昇させ、生産性を改善することが示唆された。

文 献

Abderahman W, Mohnl M, Teichmann K, Doupovec B, Schatzmayr G, Lumpkins B, Mathis G. 2014. Comparative evaluation of probiotic and salinomycin effects on performance and coccidiosis control in broiler chickens. *Poultry Science* **93**, 3002-3008.

秋田県. 2016. 比内地鶏ネット [homepage on the Internet]. 秋田県, 秋田; [cited 8 May 2016]. Available from URL : <http://www2.e-komachi.jp/hinaijitori/>

Alloui MN, Agabou A, Alloui N. 2014. Application of herbs and phytogenic feed additives in poultry production : A Review. *Global Journal of Animal Scientific Research* **2**, 234-243.

Alloui MN, Szczurek W, Świątkiewicz S. 2013. The usefulness of prebiotics and probiotics in modern poultry nutrition The application of probiotics in poultry production : A Review. *Annals of Animal Science* **13**, 17-32.

Arimori T, Nakamura R, Hirose Y, Murosaki S, Yamamoto Y, Shidara O, Ichokawa H, Yoshikai Y. 2012. Daily intake of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 enhances type I interferon production in healthy humans and pigs. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* **34**, 937-943.

Dawood MAO, Koshino S, Ishikawa M, Yokoyama S. 2015. Effects of partial substitution of fish meal by soybean meal with or without heat-killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) on growth performance, digestibility, and immune response of amberjack, *Seriola dumerili* juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society* **41**, 16-27.

Fallah R, Kiani A, Azarfar A. 2013. A review of the role of five kinds of alternatives to in-feed antibiotics in broiler production. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health* **5**, 317-321.

Fujiki T, Hirose Y, Yamamoto Y, Murosaki S. 2012. Enhanced immunomodulatory activity and stability in stimulated digestive juices of *Lactobacillus plantarum* L-137 by heat treatment. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **76**, 918-922.

Ganguly S. 2013. Potential non-antibiotic growth promoting dietary supplements for animal nutrition : A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **3**, 174-178.

Ghadban GS. 2002. Probiotics in broiler production. *Archiv fur Geflugelkunde* **66**, 49-58.

Giannenas I, Papadopoulos E, Tsalie E, Triantafyllou E, Heniki S, Teichmann K, Tontis D. 2012. Assessment of dietary supplementation with probiotics on performance, intestinal morphology and microflora of chickens infected with *Eimeria tenella*. *Veterinary Parasitology* **188**, 31-40.

Giannenas I, Tsalie E, Triantafyllou E, Hessenberger S, Teichmann K, Mohnl M, Tontis D. 2014. Assessment of probiotics supplementation via feed or water on the growth performance, intestinal morphology and microflora of chickens after experimental infection with *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* and *Eimeria tenella*. *Avian Pathology* **43**, 209-216.

Hashemi SR and Davoodi H. 2011. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications* **35**, 169-180.

Hatano S, Hirose Y, Yamamoto Y, Murosaki S, Yoshikai Y. 2015. Scavenger receptor for lipoteichoic acid is involved in the potent ability of *Lactobacillus plantarum* strain L-137 to stimulate production of interleukin-12p40. *International Immunopharmacology* **25**, 321-331.

Hirose Y, Murosaki S, Fujiki T, Yamamoto Y, Yoshikai Y, Yamashita M. 2010. Lipoteichoic acids on *Lactobacillus plantarum* cell surfaces correlate with induction of interleukin-12p40 production. *Microbiology and Immu-*

- nology **54**, 143-151.
- Hirose Y, Murosaki S, Yamamoto Y, Yoshikai Y, Tsuru T. 2006. Daily intake of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 augments acquired immunity in healthy adults. *Journal of Nutrition* **136**, 3069-3073.
- Hirose Y, Yamamoto Y, Yoshikai Y, Murosaki S. 2013. Oral intake of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 decreases the incidence of upper respiratory tract infection in healthy subjects with high levels of psychological stress. *Journal of Nutritional Science* **2**, e39.
- Hossain MM, Begum M, Kim IH. 2015. Effect of *Bacillus subtilis*, *Clostridium butyricum* and *Lactobacillus acidophilus* endospores on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, relative organ weight, microbial shedding and excreta noxious gas emission in broilers. *Veterinarni Medicina* **60**, 77-86.
- Ibuki M, Fukui K, Yamauchi K. 2014. Effect of dietary mannase-hydrolysed copra meal on growth performance and intestinal histology in broiler chickens. *Animal Physiology and Animal Nutrition* **98**, 636-642.
- Kaminogawa S, Nanno M. 2004. Modulation of Immune Functions by Foods. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **1**, 241-250.
- Khonyoung D, Yamauchi Koh-en. 2012. Effect of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 on morphology of intestinal villi and epithelial cells in broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research* **40**, 140-147.
- Loh TC, Thanh NT, Foo KL, Hair-Bejo M, Azhal BK. 2010. Feeding of different levels of metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, fecal microflora, volatile fatty acids and villi height in broilers. *Animal Science Journal* **81**, 205-214.
- Maeda N, Nakamura R, Hirose Y, Murosaki S, Yamamoto Y, Kase T, Yoshikai Y. 2009. Oral administration of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 enhances protection against influenza virus infection by stimulation of type I interferon production in mice. *International Immunopharmacology* **9**, 1122-1125.
- Miranda MR, Wael A, Kobus, Mohnl M, Barrett NW, Dalloul RA. 2016. Combination of probiotics and coccidiosis vaccine enhances protection against an *Eimeria* challenge. *Veterinary Research* **47**, 111.
- Murosaki S, Muroyama K, Yamamoto Y, Yoshikai Y. 2000. Antitumor effect of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 through restoration of impaired interleukin-12 production in tumor-bearing mice. *Cancer Immunology, Immunotherapy* **49** 157-164.
- Murosaki S, Yamamoto Y, Ito K, Inokuchi T, Kusaka H, Ikeda H, Yoshikai Y. 1998. Heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 suppresses naturally fed antigen-specific IgE production by stimulation of IL-12 production in mice. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **102**, 57-64.
- 農業・食品産業技術総合研究機構. 2015. 飼料用米の生産・給与技術マニュアル〈データ版〉. [cited 22 May 2016]. Available from URL : www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/publication/files/ricm2015.pdf
- 農林水産省. 2015. 農林水産統計. 大臣官房統計部 ; [cited 22 May 2016]. Available from URL : http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/noukei/einou_kobetu/pdf/kobetu_tikusan_14.pdf
- 農林水産省. 2016. 農林水産統計. 農林水産省生産局畜産部飼料課 ; [cited 22 May 2016]. Available from URL : http://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l_siryo/pdf/ecofeed_284_meguji.pdf
- Peng Q, Zeng XF, Zhu JL, Wang S, Liu XT, Hou CL, Thacher PA, Qiao SY. 2016. Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* B1 on growth performance, intestinal microbiota, and short chain fatty acid profiles in broiler chickens. *Poultry Science* **95**, 893-900.
- Tung HT, Koshino S, Teshima S, Ishikawa M, Yokoyama M, Ren S, Hirose Y, Phuong NDT. 2009. Effect of heat-killed *Lactobacillus plantarum* supplemental diets on growth performance, stress resistance and immune response of juvenile kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* Bate. *Aquaculture Science* **57** 175-184.
- Tung HT, Koshino S, Traifalgar RF, Ishikawa M, Yokoyama S. 2010. Effect of dietary heat-killed *Lactobacillus plantarum* on larval and post-larval kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* Bate. *Journal of the World Aquaculture Society* **41**, 16-27.
- Yamauchi K, Buwjoom T, Koge K, Ebashi T. 2006. Histological alterations of the intestinal villi and epithelial cells in chickens fed dietary sugar cane extract. *British Poultry Science* **47**, 544-553.

Effect of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 on the growth performance and productivity in Hinai-jidori chicken

Kazuhiro RIKIMARU¹, Yoshitaka HIROSE², Hiroko NAKAI², Diaki AOYA¹, Yuki SATO¹ and Hironobu HASE³

¹ Akita Prefectural Livestock Experiment Station, Daisen, Akita 019-1701, Japan

² Research and Development Institute, House Wellness Foods Corporation,
Itami, Hyogo 664-0011, Japan

³ Lactobacillus product ingredients business department, House Wellness Foods Corporation,
Chiyoda, Tokyo 101-0054, Japan

Corresponding : Kazuhiro RIKIMARU (fax : +81 (0) 187-72-2807, e-mail : Rikimaru-Kazuhiro@pref.akita.lg.jp)

Heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 (HK L-137), a strain isolated from fermented food, has been shown to be a potent inducer of interleukin (IL)-12 which leads to a T helper (Th) 1-type immune response and subsequent anti-allergic, anti-tumor, or anti-viral effects in mice models. The present study was undertaken to examine the effectiveness of HK L-137 on the growth performance and productivity in Hinai-jidori chicken which is one of the most popular slow-growing meat-type chicken (Jidori) in Japan. 0-day-old Hinai-Jidori chicks were divided into control group and HK L-137 group and were raised until 23-wk-old. The control group chickens were fed only the mixed feed during the experiment period. In experiment 1, HK L-137 group chickens were fed the diet (same as the control) in which added 2 mg/kg HK L-137 for 112 days from 0-wk-old to 16-wk-old. In experiment 2, HK L-137 group chickens were fed the diet (same as the control) in which added 10 mg/kg HK L-137 for 28 days from 0-wk-old to 4-wk-old and were fed the diet in which added 2 mg/kg HK L-137 for 84 days from 4-wk-old to 17-wk-old. HK L-137 group had significantly heavier body weight than control group at 17-wk-old in both experiments. The body weight at 23-wk-old and daily weight gain and feed conversion rate from 0-wk-old to 23-wk-old of HK L-137 group were superior to control group in both experiments. HK L-137 group showed higher production score than that of control group and profitability per bird increased. For immune function, the interferon (*IFN*)- γ mRNA expression level in the spleen of HK L-137 group showed higher tendency comparison with control group. These results suggest that HK L-137 is effective on the growth performance and increase the productivity in Hinai-jidori chicken.

Nihon Chikusan Gakkaiho 88 (3), 321-328, 2017

Key words : heat-killed bacterium, Hinai-jidori, *IFN*- γ , *Lactobacillus plantarum* L-137, productivity.