豚乳中の 5'-ヌクレオチドの測定とその消長

大島浩司*・新栢 修**・高崎興平・加田日出美・鈴木伸一

東京農業大学短期大学部, 東京都世田谷区桜丘 1-1-1, 156-8502

* 株式会社興人佐伯工場, 大分県佐伯市東浜 1-6, 876-8580

** 株式会社興人発酵事業部, 東京都中央区日本橋室町 4-1-21, 103-0022

(2002 年 8 月 15 日受付, 2003 年 5 月 15 日受理)

要 約 分娩後の豚 11 頭から経日的に乳汁を採取し, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を使用して乳汁中の 5'-ヌクレオチド (CMP, AMP, UMP, IMP, GMP) 濃度を測定した。同時に供試豚の産子について離乳までの育成状況を観察した。

豚乳中には CMP, AMP, UMP, IMP 及び GMP の 5'-ヌクレオチドが検出された。5'-ヌクレオチドの濃度は豚間でばらつきが大きく, 分娩後 0 日目に総 5'-ヌクレオチド濃度が $200 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ 以上の乳汁を分泌する豚 (高ヌクレオチド群) 4 頭とその濃度が $150 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ 以下の乳汁を分泌する豚 (低ヌクレオチド群) 7 頭の 2 群に大別できた。高ヌクレオチド群と低ヌクレオチド群のどちらも総 5'-ヌクレオチド濃度は分娩後 1 日目に最大値を示し (それぞれ $250 \pm 92 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ 及び $102 \pm 78 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$) , その後経日的に減少した。分娩後 22 日目では, 高ヌクレオチド群と低ヌクレオチド群に有意差はなかった (それぞれ $32 \pm 22 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ 及び $33 \pm 15 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$)。なお UMP は, 乳汁中に検出された 5'-ヌクレオチドの中で最も高かった。

高ヌクレオチド群の出生子豚で出生時体重が 1 kg 以下の虚弱子豚はいなかったが, 低ヌクレオチド群では出生子豚の約 18% が虚弱子豚であった。離乳時までの下痢及び虚弱治療成績では, 高ヌクレオチド群ではほとんど治療を必要としなかったが, 低ヌクレオチド群では高ヌクレオチド群に対し, 子豚 1 頭当たりの処置回数が下痢治療で約 15 倍, 虚弱治療で約 3 倍となった。また, 低ヌクレオチド群の子豚では死亡原因の 50% が衰弱死であったが, 高ヌクレオチド群の子豚では衰弱死がみられなかった。これらの結果より, 豚乳中に含まれる 5'-ヌクレオチドは, 新生子豚の発育にとって重要な役割を持つことが示唆された。

緒 言

豚乳には, 炭水化物, 脂肪あるいはタンパク質

等の栄養分が豊富に含まれ, 新生子豚が成長し生命を維持するためにはなくてはならないものである¹⁻³⁾。豚乳の成分組成は, 子豚の発育ステージに

Measurement and fluctuation of 5'-nucleotides in pig's milk

K. OHSHIMA*, O. SHINHASHI**, K. TAKAZAKI, H. KADA and S. SUZUKI

Junior College of Tokyo university of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku Tokyo, 156-8502

* Kohjin Co., Ltd. Saiki Factory, 1-6 Higashihama Saiki-city Oita, 876-8580

** Kohjin Co., Ltd. Fermentation Division, 1-21 Nihombashi Muromachi 4-chome Chuo-ku Tokyo, 103-0022

従い変化していく。特に、分娩直後の初乳に多量に含まれる免疫抗体の重要性は良く知られており、この初乳を出生直後の子豚に吸飲させることで、病原微生物から子豚を保護し健康に発育させることが可能となる⁴⁾。

一方、近年の研究からヒト⁵⁾、ウシ、ヤギおよびヒツジ⁶⁾の初乳にヌクレオチドやヌクレオシド等の核酸関連物質が存在していることが知られるようになった。ヌクレオチドは、RNA や DNA の構成単位で遺伝情報の伝達、タンパク質の生合成や代謝等、生体を構築し維持していくために必要不可欠な物質であると知られている。また天然食品中に含まれる 5'-イノシン酸や 5'-グアニル酸のナトリウム塩は、それぞれカツオ節とシイタケのうま味成分であり、古くからうま味調味料として食されてきた。近年では、これらの呈味性ヌクレオチドは工業的に大量生産され、また天然の核酸を高濃度を含む酵母エキス⁷⁾等の調味料も食品分野で幅広く使用されている。さらに最近の研究により、経口的に摂取するヌクレオチドに新たな生理学的機能性について報告されている。例えば、腸細胞の成長促進作用⁸⁾、有用不飽和脂肪酸であるアラキドン酸やドコサヘキサエン酸等の生体への取り込み促進効果^{9,10)}、T細胞、マクロファージあるいはナチュラルキラー細胞等の細胞性免疫機能の恒常性維持¹¹⁻¹³⁾、記憶学習能の回復や改善効果^{10,14)}、腸内細菌叢におけるビフィズス菌叢の増加作用^{15,16)}、肝臓細胞の分化¹⁶⁾あるいはリポ蛋白質代謝への関与¹⁷⁾等である。このように食餌(事)性のヌクレオチドの有用性が認められてきており、初乳中に存在するヌクレオチドにも同様の効果があるのではないかと推測される。

これまでのところ、豚乳中のヌクレオチドあるいは核酸関連物質の分析は行われていない。本研究では、HPLC を使用し乳汁に含まれる 5'-シチジル酸 (以下 CMP)、5'-アデニル酸 (以下 AMP)、5'-ウリジル酸 (以下 UMP)、5'-イノシン酸 (以下 IMP) 及び 5'-グアニル酸 (以下 GMP) の 5 種類の 5'-ヌクレオチドを測定した。また供試豚の産子についてもその育成状況の観察を行い、乳汁中のヌクレオチド濃度との関連を検討した。

材料および方法

(1) 乳汁の搾乳

実験は、全国畜産農業協同組合連合会研修牧場において飼養中の豚 11 頭 (LW 種及び WL 種) を供試して実施した。搾乳は供試豚の分娩が完了した後、8 時間以内に開始した。分娩後 4 日目までは毎日 1 回それぞれの乳頭から用手法で搾乳した。その後は 14 日および 22 日目にそれぞれ 1 回、搾乳を行った。供試豚には、離乳まで種豚飼育用配合飼料 (ニュー全畜種豚用ナース、雪印種苗) を給与した。

(2) 下痢及び虚弱治療方法

下痢症の子豚には、5% 溶液としたノビット粒 10% (第一製薬) を子豚の体重 1 kg 当たり 1~2 ml を 1 日 1 回経口投与した。

虚弱子豚とは、出生時体重が 1 kg 以下の子豚と定義した。虚弱子豚には、ハル糖 V-注射液 (日本全薬工業) とレバギニン D (デンカ製薬) をそれぞれ 10 対 1 の割合で混合し 1 頭当たり 10~20 ml を 1 日 1 回腹腔内に注射した。

(3) 5'-ヌクレオチドの分析方法

乳汁の前処理および高速液体クロマトグラフィーの測定条件の設定

得られた乳汁 1 ml に対し 2~4℃ に冷却した 0.64M 過塩素酸 2 ml を加え、30 秒間攪拌した後、氷水中に 1.5 時間放置した。放置後、この懸濁液を冷却遠心分離機 (8,000 rpm, 20 分間, 4℃) で沈殿物を除き上清液を得た。さらにこの沈殿物に冷却した 0.64M 過塩素酸 1 ml を加え 30 秒間攪拌し、同様に遠心分離した。この操作をさらにもう一度行い、得られた上清液を一つに混合し 0.45 μm のフィルターでろ過した後、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により 5'-ヌクレオチドを測定した。

HPLC の分離カラムには、MCI GEL CDR-10 (60℃, 4.6 mm×250 mm, 三菱化学) を使用し、紫外線検出器 (210 nm) により測定した。また移動相は、2M 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 3.3) を用い、流速は 2.0 ml/min とした。

結 果

(1) 豚乳中の 5'-ヌクレオチドのクロマトグラム

図 1. 5'-ヌクレオチド混合標準液の HPLC クロマトグラム

図 2. 豚乳中 5'-ヌクレオチドの HPLC クロマトグラム

HPLC 分析における混合標準液 (各 5'-ヌクレオチドは、最終的にそれぞれ 0.05 mg/ml となるように混合した) の 5'-ヌクレオチドのクロマトグラムを図 1 に、乳汁中の 5'-ヌクレオチドのクロマトグラムを図 2 に示す。各 5'-ヌクレオチドは、CMP, AMP, UMP, IMP 及び GMP の順に溶出し、乳汁中の 5'-ヌクレオチドを定量的に測定することが可能であった。

(2) 豚乳中の総 5'-ヌクレオチド濃度及びその経日変化

乳汁中の総 5'-ヌクレオチド濃度とその経日変化は、図 3 のとおりであった。乳汁中の総 5'-ヌクレオチド濃度は個体でばらつきがあり、分娩 0 日目に総 5'-ヌクレオチド濃度が $200 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ 以上の乳汁を分泌した豚 (以下高ヌクレオチド群) 4 頭と総 5'-ヌクレオチド濃度が $150 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ 以下の乳汁を分泌した豚 (以下低ヌクレオチド群) 7 頭の 2 群に分けることができた。高ヌクレオチド群の分娩後 0 日目の総 5'-ヌクレオチド濃度は、 $226 \pm 26 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ で分娩後 1 日目に $250 \pm 92 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ まで増加した後、急速に減少し分娩後 22 日目には $32 \pm 22 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ まで有意に減少した ($p < 0.01$)。一方低ヌクレオチド群の分娩後 0 日目の総 5'-ヌクレオチド濃度は、 $100 \pm 32 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ で、分娩後 1 日目に 102

図 3. 授乳期における豚乳中の総 5'-ヌクレオチド濃度の推移値: 平均値 $\pm$ SD

$\pm 78 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ となり、分娩後 22 日目では $33 \pm 15 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ にまで有意に減少した ($p < 0.01$)。

両群を比較すると分娩後 0～3 日目までの高ヌクレオチド群の総 5'-ヌクレオチド濃度は、低ヌクレオチド群に対し有意に高かった ($p < 0.01$, ただし分娩後 1 日目のみ $p < 0.05$)。分娩後 4 日目以降は両群に有意差はなかった。

(3) 豚乳中の各 5'-ヌクレオチド濃度の経日変化

乳汁中の各 5'-ヌクレオチドの濃度は、図 4 に示すような経日変化を示した。

CMP 濃度は、他の 5'-ヌクレオチドと異なり両群とも経日的に増加した。高ヌクレオチド群では分娩後 0 日目の $2.9 \pm 2.0 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ から分娩後 14 日目には $21.6 \pm 7.6 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ に有意に増加した ($p < 0.01$)。同様に低ヌクレオチド群では $0.6 \pm 1.6 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ から $18.0 \pm 8.9 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ (分娩後 14 日目) に有意に増加した ($p < 0.01$)。

図 4. 授乳期における豚乳中の各 5'-ヌクレオチド濃度の推移値：平均値 $\pm$ SD

両群を比較すると分娩後 2 日目および 3 日目に、高ヌクレオチド群の CMP 濃度が有意に高かったが (それぞれ $p < 0.05$ および $p < 0.01$)、それ以外では両群の濃度に有意差はなかった。

高ヌクレオチド群の AMP 濃度は、分娩後 0 日目に $22.7 \pm 3.9 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ で UMP について多く含まれていた。分娩後 1 日目には $27.5 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ で最大となり、後、経日的に減少して、分娩後 22 日目では $2.8 \pm 1.8 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ にまで有意に減少した ($p < 0.01$)。

低ヌクレオチド群の AMP 濃度は、分娩後 0 日目に $4.6 \pm 8.0 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ であったが、経日的な濃度変化はほとんどみられず、分娩後 22 日目においても $3.6 \pm 4.5 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ であった。両群を比較すると、分娩後 3 日目までは高ヌクレオチド群の AMP 濃度が高く、両群に有意差がみられたが ($p < 0.01$)、分娩後 14 日目以降では両群に有意差はみられなかった。

高ヌクレオチド群の UMP 濃度は、測定した 5'-ヌクレオチドの中で最も高濃度であり、分娩後 0 日目の平均濃度は $180 \pm 19 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ であった。分娩後 1 日目には $206 \pm 50 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ となり、その後、経日的に減少して、分娩後 22 日目では $17 \pm 10 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ となった ($p < 0.01$)。

低ヌクレオチド群でも同様に、UMP 濃度が最も高く、その平均濃度は、分娩後 0 日目で $89 \pm 27 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ であった。その後は経日的に減少し、分娩後 22 日目には、 $16 \pm 13 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ まで減少した ($p < 0.01$)。分娩後 0～4 日目までは、高ヌクレオチド群の UMP 濃度が、低ヌクレオチド群に比べ有意に高かったが ($p < 0.01$)、分娩後 14 日目以降、両群に有意な差はみられなかった。

IMP 濃度は測定した 5'-ヌクレオチドの中で最も低く、高ヌクレオチド群では分娩初日で $2.7 \pm 0.8 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ であった。分娩後 4 日目までは経日的な濃度変化がなく、その後漸減して、分娩後 22 日目では $0.03 \pm 0.05 \mu\text{mol}/\text{ml}$ と有意に減少した ($p < 0.01$)。

低ヌクレオチド群では、分娩後 0 日目の濃度が $0.2 \pm 0.3 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$ と非常に低く、同群では IMP が検出されない個体が多かった。この群の IMP 濃度の最大値は、分娩後 4 日目の 0.5 ± 0.7

$\mu\text{mol}/100\text{ ml}$ であった。両群の比較では、分娩後 2 日目と 3 日目で高ヌクレオチド群の IMP 濃度が有意に高かったが（それぞれ $p < 0.05$ および $p < 0.01$ ），それ以外では両群の濃度に有意な差はなかった。

高ヌクレオチド群の分娩後 0 日目の GMP 濃度は $12.3 \pm 4.8 \mu\text{mol}/100\text{ ml}$ であった。分娩後 1 日目に $15.9 \pm 8.3 \mu\text{mol}/100\text{ ml}$ に増加した後、急速に減少し分娩後 4 日目で $2.8 \pm 0.3 \mu\text{mol}/100\text{ ml}$ まで有意に減少した（ $p < 0.05$ ）。分娩後 22 日目では、 $0.4 \pm 0.4 \mu\text{mol}/100\text{ ml}$ にまで減少し、ほとんど検出されなくなった。

低ヌクレオチド群の GMP 濃度は分娩後 0 日目に $4.4 \pm 1.6 \mu\text{mol}/100\text{ ml}$ であったが、その後は減少し、分娩後 22 日目では $0.2 \pm 0.2 \mu\text{mol}/100\text{ ml}$ まで有意に減少した（ $p < 0.01$ ）。分娩後 3 日目までは、両群に有意差がみられたが（ $p < 0.01$ ），分娩後 4 日目以降は両群に有意な差はなかった。

(4) 豚乳中の 5'-ヌクレオチド組成の経日変化

各 5'-ヌクレオチド組成の経日変化は図 5 のとおりであった。分娩後 0 日目の高ヌクレオチド群の CMP, AMP, UMP, IMP 及び GMP の組成比は、それぞれ $1.3 \pm 0.9\%$, $12.0 \pm 1.3\%$, $79.8 \pm 2.1\%$, $1.3 \pm 0.2\%$, $6.0 \pm 1.9\%$ であった。分娩後 4 日目までは、この組成に大きな変化はなかったが、分娩後 14 日目以降の UMP 組成比は有意に低下し（ $p < 0.05$ ），分娩後 22 日目では $54.1 \pm 7.7\%$ であった。また、GMP も分娩後 22 日目では、 $2.9 \pm 4.1\%$ と有意に減少した（ $p < 0.05$ ）。逆に分娩後 22 日目の CMP 組成比は $31.8 \pm 6.8\%$ と有意に増加した（ $p < 0.01$ ）。

一方、低ヌクレオチド群の分娩後 0 日目の 5'-ヌクレオチド組成は、それぞれ $0.4 \pm 1\%$, $5.4 \pm 1.5\%$, $89.1 \pm 2.5\%$, $0.2 \pm 0.3\%$ 及び $5.0 \pm 1.4\%$ であった。高ヌクレオチド群と同様に、分娩後 4 日目までの 5'-ヌクレオチド組成の変化はほとんどなかったが、その後経日的に減少し、分娩後 22 日目の UMP 組成比は $51.3 \pm 14.6\%$ となった（ $p < 0.01$ ）。GMP についても分娩後 22 日目では、 $0.6 \pm 1.1\%$ と有意に減少した（ $p < 0.01$ ）。逆に CMP 組成比は、分娩後 22 日目で $37.8 \pm 18.2\%$ に有意に増加した（ $p < 0.01$ ）。両群の AMP 及び IMP の組

成比には有意な変化がなかった。

(5) 供試豚の出産成績

供試豚の産子数およびその虚弱子豚数は表 1 のとおりであった。高ヌクレオチド群では、合計 39 頭の子豚が誕生したが、虚弱子豚はなかった。一方、低ヌクレオチド群では合計 79 頭が出生したが、そのうち 14 頭が 1 kg 以下の虚弱子豚であった。

(6) 離乳時までの下痢及び虚弱治療回数

離乳時までの子豚の下痢及び虚弱治療回数を表 2 に示した。高ヌクレオチド群の下痢治療回数は非常に少なく 1 回実施したのみで、虚弱治療についても 1 腹の産子に対して 6 回実施したのみであった。これに対し低ヌクレオチド群では、子豚 1 頭当たりの下痢治療回数が高ヌクレオチド群の 15 倍、虚弱治療回数が 3 倍以上となった。

(7) 離乳時の子豚生存数と平均体重の変化

図 5. 授乳期における豚乳中の 5'-ヌクレオチド組成の推移値：平均値 $\pm$ SD

離乳時における子豚の生存数とその平均体重を表3に示した。子豚の哺乳日数は25～26日間で、高ヌクレオチド群の離乳時までの死亡率は8.7%であり、そのすべてが圧死であった。一方低ヌクレオチド群での死亡率は10.4%で、そのうち50%が衰弱死であった。出生時の平均体重は、低ヌクレオチド群の 1.24 ± 0.25 kgに対し高ヌクレオチド群が 1.51 ± 0.25 kgと重かったが、離乳時の平均体重では、高ヌクレオチド群の 7.62 ± 1.07 kgに対し、低ヌクレオチド群では 7.73 ± 0.96 kgと逆に低ヌクレオチド群がわずかに上回っていた。

考 察

豚乳中の5'-ヌクレオチドを分析した結果、乳

汁中に多量の5'-ヌクレオチドが存在し、その濃度には大きな個体差があることが判明した。さらに、5'-ヌクレオチド濃度は、多くの豚で分娩後2日目までに最大値を示し、その後経日的に急速に減少しており、初乳特有のものと考えられた。

SATO⁸⁾らはラットの小腸細胞を使用した実験からCMP, AMP, IMP及びGMPに腸管細胞の増殖作用があり、中でもCMPに顕著な腸細胞の分化と成熟に効果があったと報告している。またUAUY¹⁸⁾らは、急激な腸管の成長過程ではデノボ経路におけるプリンとピリジミン合成速度が律速するため、これらの塩基を補完するため外因性ヌクレオチドの摂取が有効であると述べている。本実験で検出された乳汁中に含まれる5'-ヌクレオチドも同様の生理機能を持ち、子豚腸管細胞の増殖因子の一つではないかと考えられた。特に

表 1. 供試豚の産子数と虚弱子豚の発生率
高ヌクレオチド群

豚個体 番号	系統	産次 回数	産子頭数		
			うち虚弱子豚数		
			頭数	発生率(%)	
1	WL	4	13	0	0
2	LW	3	10	0	0
3	LW	4	8	0	0
4	WL	2	8	0	0
総頭数			39	0	(0%)

低ヌクレオチド群

豚個体 番号	系統	産次 回数	産子頭数		
			うち虚弱子豚数		
			頭数	発生率(%)	
5	WL	9	16	6	37.5
6	LW	3	12	0	0
7	LW	7	8	0	0
8	LW	3	12	2	16.7
9	LW	4	13	2	15.4
10	LW	3	12	4	33.3
11	WL	2	6	0	0
総頭数			79	14	(17.7%)

表 2. 産子子豚の下痢及び虚弱治療回数
高ヌクレオチド群

豚個体番号	下痢(回)	虚弱(回)
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	1	6
総治療回数	1	6
産子1頭当たり	0.02	0.14

低ヌクレオチド群

豚個体番号	下痢(回)	虚弱(回)
5	4	15
6	11	16
7	3	29
8	0	8
9	7	0
10	4	13
11	9	7
総治療回数	20	28
産子1頭当たり	0.29	0.41

表 3. 離乳時の子豚生存数と平均体重の変化

高ヌクレオチド群

豚個体番号	哺乳開始時頭数 (うち里子受入数)	哺乳 日数	離乳時生存頭数			平均体重(kg)	
			死亡原因			哺乳開始時	離乳時
			圧死数	衰弱死数			
1	13 (0)	26	10	3	0	1.35±0.17	7.10±0.51
2	11 (1)	26	11	0	0	1.50±0.20	8.45±0.97
3	11 (3)	26	10	1	0	1.56±0.30	6.80±1.11
4	11 (3)	26	11	0	0	1.63±0.26	8.14±0.64
総頭数	46 (7)		42	4	0		
平均体重(kg)						1.51±0.25	7.62±1.07

値：平均値±SD

低ヌクレオチド群

豚個体番号	哺乳開始時頭数 (うち里子受入数)	哺乳 日数	離乳時生存頭数			平均体重(kg)	
			死亡原因			哺乳開始時	離乳時
			圧死数	衰弱死数			
5	10 (－6)	26	10	0	0	1.00±0.13	7.90±0.97
6	12 (0)	25	11	0	1	1.33±0.22	7.91±0.59
7	10 (2)	25	10	0	0	1.25±0.17	8.15±0.65
8	12 (0)	26	8	2	2	1.13±0.11	7.63±0.77
9	11 (－2)	26	9	2	0	1.27±0.22	8.44±0.33
10	11 (－1)	26	10	0	1	1.17±0.24	7.10±1.24
11	11 (5)	25	11	0	0	1.50±0.34	6.95±1.03
総頭数	77 (－2)		69	4	4		
平均体重(kg)						1.24±0.25	7.73±0.96

値：平均値±SD

CMP は他の 5'-ヌクレオチドと異なり高ヌクレオチド群および低ヌクレオチド群のどちらも常乳中に高濃度に存在し、哺乳期全般を通し子豚の腸管細胞の成長に関与していると推測される。

Van BUREN¹³⁾ らはマウスを使用した実験から、特に RNA とウラシルが病原性細菌への抵抗性の維持に効果的であることを報告しており、豚乳中に最も多く含まれている UMP についても同様の生理機能を持つものと考えられる。これらのことから高ヌクレオチド群では、免疫グロブリンの作用に加え、5'-ヌクレオチドが腸管免疫系、あるいは

は全身免疫系の発達を促進させ、子豚の下痢症発症率を低下させたのではないかと推測された。さらに高ヌクレオチド群の子豚では虚弱治療や衰弱死がほとんど発生しておらず、高ヌクレオチド群の泌乳量あるいはそれに含まれる栄養成分が低ヌクレオチド群のそれより優れている可能性が示唆された。また、泌乳量に変動があっても豚乳中の高いヌクレオチド濃度により子豚の腸管機能を早期に成熟させ、その変動による抑制を除去できたのではないかと推察される。

高ヌクレオチド群と低ヌクレオチド群の総 5'-

ヌクレオチドおよび各 5'-ヌクレオチド濃度を比較すると分娩後 0 日目から 3 日目の間で、両群間に大きな差がみられた。しかし高ヌクレオチド群の 5'-ヌクレオチド濃度は急速に減少し 4 日目以降、両群間の濃度差は小さくなった。新生子豚は、出生後の短期間に 5'-ヌクレオチド高含有の乳汁を吸飲することで、より強い体力を得ることができると考えられる。また低ヌクレオチド群の中には、一時的に比較的高い 5'-ヌクレオチド濃度の乳汁を分泌する個体もいたが、持続しなかった。子豚の成長には高濃度のヌクレオチドを含む乳汁を安定的に吸飲することも重要であると推察された。さらに高ヌクレオチド群の産子では全く虚弱子豚が発生しておらず、哺乳期のみでなく胎生期の発育も優れていたと考えられる。本実験の検討では、出生時の子豚の平均体重は高ヌクレオチド群が重かったが、離乳時では両群に差がみられなかった。低ヌクレオチド群では、虚弱子豚への虚弱治療回数が多く、このことも両群の体重差の減少に影響したのではないかと推察された。

浜田および吉野¹⁹⁾は、実際に子豚に 5'-ヌクレオチドあるいは核酸を配合した人工乳を給与することで、感染症に対する抵抗性の向上や成長促進効果を報告している。またビフィズス菌や乳酸菌は、整腸作用を有し子豚の発育促進や下痢予防効果²⁰⁾を目的として人工乳に配合されているが、ヌクレオチドには腸内ビフィズス菌叢の増加作用^{15,16)}があり、これらの生菌剤と併用することでさらなる効果も期待される。

乳汁中の核酸関連物質の研究は、始まったばかりで今後検討すべき課題は多々ある。本実験の結果は、人工乳にヌクレオチドを添加して母乳の成分に近づけることで子豚の成長を促進させることと、乳汁中のヌクレオチドの測定が、豚の体調、繁殖力あるいは乳汁の分泌力等を知る一つの手段となる可能性が示唆された。そして乳汁中のヌクレオチドを指標として豚を飼養管理することで新生子豚の発育トラブルを防ぐことができるものと期待される。

最後に詳細な検討は行っていないが HPLC による分析で生体の毒物代謝・抗酸化システムに関与する重要な物質であるグルタチオン様のピーク

も検出された。

おわりに

本研究は、東京農業大学短期大学部生物生産技術学科畜産学研究室の協力のもと、全国畜産農業協同組合連合会研修牧場に於いて実施されたものである。搾乳等で助力していただいた学生の方々をはじめご協力していただいた関係各位に深く謝意を表する。

引用文献

- 1) 岩崎繁幸・平川武治・和島昭一郎・松崎格：豚乳の成分について、豚産肉能力検定成績および調査研究報告，白河種牧茨城支場，(7)，94-95，1967.
- 2) 岩崎繁幸・平川武治・伊藤政美・大石有一・和島昭一郎・松崎格：豚乳の成分について（第2報），豚産肉能力検定成績および調査研究報告，白河種牧茨城支場，(7)，61-68，1968.
- 3) 岩崎繁幸・皆川信彦・尾形眞二・伊藤政美・和島昭一郎：豚乳の成分について（第2報），豚産肉能力検定成績および調査研究報告，白河種牧茨城支場，(8)，40-42，1969.
- 4) 矢口英幸：哺乳豚の発育に対する初乳摂取の意義，北海道養豚研，9，50-52，1978.
- 5) SUGAWA, M., N. SATO, T. NAKANO, T. IDOTA and I. NAKAJIMA: Profile of nucleosides of human milk, J. Nutr. Sci. Vitaminol., 41, 409-418, 1995.
- 6) GIL, A. and F. SANCHEZ-MEDINA: Acid-soluble nucleotides of cow's goat's and sheep's milk, at different stages of lactation, J. Dairy. Res., 48, 35-44, 1981.
- 7) 青柳吉紀・新栢修・斉藤晋・小寺寛子・大島浩司：高機能性酵母エキスの開発と食品への応用，日本食品保蔵科学会誌，27，99-106，2001.
- 8) SATO, N., T. NAKANO, H. KAWAKAMI and T. IDOTA: In vitro and in vivo effects of exogenous nucleotides on the proliferation and maturation of intestinal epithelial cells, J. Nutr. Sci. Vitaminol., 45, 107-118, 1999.
- 9) 明治乳業株式会社：核酸関連物質含有栄養組成物，公開特許公報，特開平 10-4918.

- 10) SATO, N., Y. MURAKAMI, T. NAKANO, M. SUGAWA, H. KAWAKAMI, T. IDOTA and I. NAKAJIMA : Effects of dietary nucleotides on lipid metabolism and learning ability of rats, *Biosci. Biotechnol. Bioche.*, **59**, 1267-1271, 1995.
- 11) JYONOUCHI, H. : Nucleotide actions on humoral immune responses, *J. Nutr.*, **124**, 138S-143S, 1994.
- 12) CARVER, J.D. : Dietary nucleotides : cellular immune, intestinal and hepatic system effects, *J. Nutr.*, **124**, 144S-148S, 1994.
- 13) Van BUREN, C.T., A.D. KULKARNI and F.B. RUDOLPH : The role of nucleotides in adult nutrition, *J. Nutr.*, **124**, 160S-164S, 1994.
- 14) CHEN, T-H., H-P. HUANG, Y. MATSUMOTO, S-H. WU, M-F. WANG, S-Y. CHUNG, K. UEZU, T. MORIYAMA, E. UEZU, T. KORIN, S. SATO and S. YAMAMOTO : Effects of dietary nucleoside-nucleotide mixture on memory in aged and young memory deficient mice, *Life Sciences*, **59**, PL325-330, 1996.
- 15) 伊東幸三郎 : Bifidus 菌増殖と核酸関連物質に関する乳児栄養学的研究, 神戸大学医学部紀要, **29**, 1-36, 1969.
- 16) UAUY, R. : Nonimmune system responses to dietary nucleotides, *J. Nutr.*, **124**, 157S-159S, 1994.
- 17) SANCHEZ-POZO, A., M.L. PITA, A. MARTINEZ, J.A. MOLINA, F. SANCHEZ-MEDINA and A. GIL : Effects of dietary nucleotides upon lipoprotein pattern of newborn infants, *Nutr. Res.*, **6**, 763-771, 1986.
- 18) UAUY, R., G. STRUNGEL, R. THOMAS and R. OUAN : Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, **10**, 497-503, 1990.
- 19) 武田薬品工業株式会社 : 飼料, 特許公報, 特公昭 43-14388.
- 20) ABE, F., N. ISHIBASHI and S. SHIMAMURA : Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets, *J. Dairy Sci.*, **78**, 2838-2846, 1995.

Measurement and fluctuation of 5'-nucleotides in pig's milk

Koji OHSHIMA*, Osamu SHINHASHI**, Kohei TAKAZAKI, Hidemi KADA and Shinichi SUZUKI

Junior College of Tokyo university of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka,
Setagaya-ku Tokyo, 156-8502

* Kohjin Co., Ltd. Saiki Factory, 1-6 Higashihamma Saiki-city Oita, 876-8580

** Kohjin Co., Ltd, Fermentation Division, 1-21 Nihombashi Muromachi 4-chome
Chuo-ku Tokyo, 103-0022

The 5'-nucleotides (CMP, IMP, UMP, IMP, GMP) of pig's milks obtained from 11 pigs after the parturition, were measured by high performance liquid chromatography (HPLC). At the same time, the growth condition of piglets were monitored during lactation period.

Nucleotides concentrations varied widely among individuals. Experimental pigs were divided into two groups, high nucleotides group and low nucleotides group. High nucleotides group contained more than $200\mu\text{mol}/100\text{ ml}$ of total nucleotides and low nucleotides group contained about $150\mu\text{mol}/100\text{ ml}$ of total nucleotides in the milk. In high and low nucleotides groups, maximum average concentrations of 5-nucleotides were $250\pm 92\mu\text{mol}/100\text{ ml}$ and $102\pm 78\mu\text{mol}/100\text{ ml}$ respectively, which were attained in next day of parturition. The concentrations of UMP, AMP, GMP and IMP were decreased as time proceeded. After 22 days of parturition, total nucleotides concentrations became almost same values in both groups and were $32\pm 22\mu\text{mol}/100\text{ ml}$ and $33\pm 15\mu\text{mol}/100\text{ ml}$ respectively. UMP concentration was dominated among 5-nucleotides composition during whole lactation period.

No weak piglet weighed under 1 kg at the birth was found in high nucleotides group whereas 18% piglets were found weak in low nucleotides group. Medical treatment due to diarrhea and weakness were not needed in high nucleotides group whereas frequency of medical treatments was three times higher in low nucleotides group. Due to weakness, 50% mortality was observed in low nucleotides group and in contrast, essentially mortality was not observed in high nucleotides group. These results suggested that nucleotides in pig milk might play some important roles on the development of piglet.

Jpn. J. Swine Science, **40**, 2 : 55-64

Key words : pig, milk, nucleotides