

Abstract of Doctoral Thesis

Name Topas Wicaksono Priyo. Jr

Title: Effects of dietary supplementation with Diffructose Anhydride III on blood short-chain fatty acids concentrations and metabolic profiles in Japanese Black breeding cattle with chronic exposure to low-level zearalenone

(低濃度 ZEN 汚染下の黒毛和種繁殖牛に対する飼料中 Diffructose Anhydride III 添加が血液中短鎖脂肪酸濃度と代謝プロファイルに与える影響)

Abstract of thesis:

In the first chapter, evaluate the effects of dietary supplementation with Diffructose Anhydride III (DFA III) and non-supplementation by comparing serum levels of short-chain fatty acids (SCFAs) in Japanese Black (JB) cattle. Serum sample collected from two herds of female JB cattle ($n = 30$, aged 9–10 months). SCFA concentrations were measured using gas chromatography on days 0 (before DFA III supplementation), 9, and 14 after DFA III supplementation. Isobutyric acid and enanthic acid showed a significantly different trend, which might be related to the distinct fermentation status of supplemental DFA III in the intestines. These results suggest that the trend observed in the intestinal tract following DFA III administration may be associated with changes in the environment of intestinal bacterial flora, which could partially reflect the effects of DFA III supplementation on cattle. Supplementing with DFA III for a minimum of two weeks has an effect on the trend of blood SCFA concentrations in cattle. Our results provide evidence supporting the effects of DFA III on the intestinal environment and intestinal barrier function.

In the second chapter, evaluate the impact of DFA III supplementation on serum biochemical parameters and the intestinal environment under low-level chronic dietary exposure to zearalenone (ZEN) in JB breeding cows. Twenty-five JB cows were selected from a breeding farm with confirmed natural feed contamination using urine ZEN concentration as an indicator of exposure. Blood samples were collected before DFA III supplementation (day 0) and on days 20 and 40 post-supplementation. Serum biochemical parameters and concentrations of SCFA were measured. During the studies, dietary ZEN concentration increased, yet improvements were observed in liver function, nutritional status, immune response, and inflammatory markers. Interestingly, after DFA III was administered, the concentration of butyrate in the serum increased significantly. These findings suggest that DFA III may positively influence intestinal microflora and enhance intestinal barrier function, which could contribute to improved health and nutritional status in cattle exposed to low-level chronic dietary ZEN contamination. DFA III supplementation may be an effective approach to mitigate the adverse effects of low-level mycotoxin exposure in systems used for livestock production.

(About 800 words in English)

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	TOPAS WICAKSONO PRIYO. JR
審 査 委 員	主 査： 山口大学 教授 高木 光博
	副 査： 山口大学 教授 日下部 健
	副 査： 山口大学 教授 佐藤 宏
	副 査： 鹿児島大学 教授 大和 修
	副 査： 山口大学 准教授 谷口 雅康
題 目	Effects of dietary supplementation with Diffructose Anhydride III on blood short-chain fatty acids concentrations and metabolic profiles in Japanese Black breeding cattle with chronic exposure to low-level zearalenone (低濃度 ZEN 汚染下の黒毛和種繁殖牛に対する飼料中 Diffructose Anhydride III 添加が血液中短鎖脂肪酸濃度と代謝プロファイルに与える影響)
審査結果の要旨： 家畜に給与される飼料中には真菌が常在しており、環境条件の変化等により、真菌が産生するカビ毒によって飼料が汚染される場合がある。飼養環境下におけるカビ毒の浸潤動態とその影響の解明、ならびにその対策は、家畜衛生のみならず、食品安全性および動物福祉の観点からも極めて重要である。牛生産現場における飼料中カビ毒防除法としては、飼料へのカビ毒吸着剤添加が一般的に用いられている。一方、尿中ゼアラレノン (ZEN) 濃度測定 (ELISA 法および液体クロマトグラフ質量分析法) を用いた先行研究において、飼料へのフラクトオリゴ糖 (Diffructose anhydride III : DFA III) 添加により、添加前後で尿中 ZEN 濃度の低下が認められ、ZEN の腸管吸収低下が示唆されている。近年、マイコトキシン対策として、カビ毒吸着剤の代替手段として、腸内環境および腸管上皮バリア機能の改善によるカビ毒吸収抑制を目的としたプレバイオティクスの有効性が注目されている。 第 1 章では、DFA III を牛に給与した際の腸内発酵状態の指標として、血清中短鎖脂肪酸 (short-chain fatty acids : SCFA) 濃度の変化を評価することを目的とした。9～10 か月齢の黒毛和種雌牛 30 頭を対象とし、DFA III (40 g/日) 給与群および非給与対照群を設定した。給与開始前 (0 日目)、9 日目および 14 日目に採血を行い、血清中の各種 SCFA (酢酸、プロピオン酸、酪酸、イソ酪酸、エナント酸等) 濃度をガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC-MS) により測定した。得られたデータについて、線形混合モデルを用いて群間差および経時変化の解析を行った。その結果、総 SCFA 濃度については DFA III 給与群と対照群との間に有意差は	

認められなかったものの、イソ酪酸濃度は9日目に DFA III 給与群で有意な上昇を示した。一方、エナント酸濃度は14日目に DFA III 給与群で対照群と比較して有意に低下した。その他の SCFA については、両群とも試験開始後に低下が認められ、これは飼料条件の変化等の環境要因による影響が示唆された。DFA III はルーメン内でほとんど分解されず腸管に到達すると考えられており、本研究で認められた特定の SCFA 変動は、DFA III が腸内細菌叢および発酵様式に影響を及ぼし、腸内環境や腸管バリア機能の改善に関与する可能性を示唆するものである。本章の結果は、DFA III のプレバイオティクス作用およびカビ毒対策への有用性を支持する基礎的知見を提供するものである。

第2章では、我が国の基準値以下の低濃度で慢性的に ZEN 汚染された飼料が給与されている黒毛和種繁殖牛において、DFA III の飼料添加が代謝プロファイルおよび腸内環境に及ぼす影響を評価することを目的とした。自然汚染により慢性的に ZEN に曝露されている稲わらを給与されている黒毛和種繁殖牛 25 頭を対象とし、DFA III を 40 日間飼料に添加して給与した。給与前(0日目)、20日目および40日目に採血および採尿を行い、尿中 ZEN 濃度(ELISA 法)、血液生化学検査(肝機能、栄養状態、免疫・炎症関連指標)および血中 SCFA 濃度(GC-MS 法)を測定した。得られた結果について、線形混合モデルを用いて群間差および経時変化の解析を行った。その結果、DFA III 添加期間中に尿中 ZEN 濃度の上昇が認められたものの、肝機能指標、エネルギーおよびタンパク代謝関連指標の改善、ならびに免疫・炎症状態を示す指標の改善が認められた。特に、酪酸(butyrate)濃度が有意に増加し、腸内環境の改善が示唆された。以上より、DFA III は腸内細菌叢を介して腸管バリア機能を強化し、尿中 ZEN 濃度の上昇にもかかわらず、ZEN による慢性的な悪影響を緩和する可能性が示された。

本研究は、飼養環境下の牛群において DFA III のプレバイオティクス効果の一端を初めて明らかにし、カビ毒吸着剤に代わる防除法としての DFA III 飼料添加の有効性を客観的に評価した点で意義深い研究成果であると思われる。安全な畜産物の生産が求められる今日において、本研究結果は乳肉生産現場における新たなカビ毒対策および生産性向上に資するものと考えられる。以上の理由から、本論文は博士(獣医学)の学位論文として十分な価値を有するものと判定した。