

牛におけるストレスが AVP 投与後の
ACTH・Cortisol 分泌に及ぼす影響

(研究課題番号 10660286)

平成 10 年度～平成 13 年度

科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))研究成果報告書

平成 14 年 3 月

研究代表者 長谷川 信美

(宮崎大学農学部助教授)

はしがき

この報告書は、平成 10～13 年度文部科学省科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）（研究課題番号 10660286）により「牛におけるストレスが AVP 投与後の ACTH・Cortisol 分泌に及ぼす影響」を行った成果をまとめたものである。

なお、本研究の研究組織および研究経費は以下のとおりである。

研究組織

研究代表者：長谷川 信美（宮崎大学農学部助教授）

交付決定額（配分額）

（合計金額：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 10 年度	2000		2000
平成 11 年度	500		500
平成 12 年度	600		600
平成 13 年度	500		500
総計	3600		3600

研究発表

口頭発表

長谷川信美・石橋健次・田原誉利子・川村輝夫・谷藤隆志・杉若輝夫・加藤和雄・園田立信、乳用育成牛の社会的ストレスが AVP 投与後の血漿中 ACTH および Cortisol 濃度に及ぼす影響、第 93 回日本畜産学会大会、1997 年 8 月 28 日

関連講演

長谷川信美、家畜のストレス低減化と生産性（主に行動について）、独立行政法人農業技術研究機構畜産草地研究所平成 13 年度問題別研究会「人にも家畜にも「ゆとり」ある畜産経営」、2001 年 12 月 6 日

目 次

I 緒言	4
II 育成牛を乾乳牛群に混群した場合の社会的ストレスが AVP 投与後の血漿中 ACTH および Cortisol 濃度に及ぼす影響	5
III 牛における暑熱ストレスが AVP 投与後の ACTH および Cortisol 分泌反応に及ぼす影響	19
IV 牛における AVP 投与後の ACTH および Cortisol 分泌反応に月齢が及ぼす影響	26
V 総合考察	34
文献	36

I 緒 言

視床下部-下垂体前葉-副腎皮質系は、ストレスの主要な伝達経路であり、視床下部から分泌された CRF が下垂体からの ACTH 分泌を刺激し、ACTH は副腎皮質からの Cortisol 分泌を刺激することが知られている。哺乳動物のストレスを評価する手段として、ACTH の投与に対する Cortisol の分泌反応、いわゆる Rapid ACTH Test が長い間使用され、反芻動物でも多くの実験でこの方法によりストレスを評価しようと試みられてきた^{1,2,3)}が、明確な結果は得られてこなかった。これは反芻動物がヒトやマウスなどとは異なったストレス反応系を持つ可能性があることを示し、反芻動物では単胃動物とは別のストレス評価法が必要であると考えられる。

近年 CRF よりも AVP (アルギニンバソプレシン) が ACTH 分泌を強く刺激することが報告され^{4,5,6)}、Kato et.al.⁷⁾は細胞レベルで確認を行った。また Sen et.al.⁸⁾は AVP 投与に対する ACTH と Cortisol 分泌反応を羊で確認したが、牛では明確な反応を得られなかった。しかし、Hasegawa et.al.⁹⁾は、乳牛において AVP の静脈中投与が ACTH と Cortisol 分泌を刺激することを確認して報告し、反芻動物が他の哺乳類とは違ったストレス反応系を持つことを示した。しかし、生体でのストレスの種類とその強度や持続時間の違いによる反応の違い、およびそれらの品種と月齢そして生理的条件による違いについては、まったく明らかにされていない。

そこで、本研究では、牛に社会的ストレスと環境(暑熱)ストレスという異なったストレス因子を負荷することにより、AVP 投与に対する ACTH および cortisol 分泌反応の違いについて検討を行った。また月齢の影響についても検討を行い、この反応が Rapid ACTH Test に代わる有効なストレス評価手段となりうるかどうかを確認することを目的として実験を行った。

II 育成牛を乾乳牛群に混群した場合の社会的ストレスが AVP 投与後の血漿中 ACTH および Cortisol 濃度に及ぼす影響

本実験では社会的序列の変化により引き起こされるストレスが AVP 投与後の血漿中 ACTH および Cortisol 濃度に及ぼす影響について検討を行った。

材料および方法

実験は、岩手県畜産試験場（現岩手県農業研究センター畜産研究所）で行った。日中は放牧、夜間はパドック放飼のホルスタイン種育成雌牛 12 カ月齢牛群から 5 頭(平均体重 349 kg)を実験区として供試し、対照区は同群の 3 頭とした。

Day(D)0 に、実験区 5 頭を育成牛群から乾乳牛群（5 頭）へ移動・混群を行った。

混群 3 日前(P 期)、混群後 3 日(D3)、7 日(D7)、14 日(D14)、21 日(D21)に、生理食塩水に溶解した AVP0.093 mg/頭を頸静脈へ投与し、0 分(投与直前)・投与後 10 分・30 分・60 分・120 分に、頸静脈よりヘパリン入り真空採血管で採血し、3000rpm で 20 分間遠心分離後、血漿を-20℃で分析まで凍結保存した。血漿中 ACTH と Cortisol 濃度分析は RIA 法により行った。

各採血日の前 3 日間 8 時～17 時に全ての闘争行動の勝敗を観察・記録し、その勝敗より各個体の Angular Dominance Value (ADV) を評価した。ADV は、次式により計算した。

$$ADV = \arcsin \sqrt{(\sum W_i)/N_i}$$

ここで、

W_i = i 個体の 2 頭間での闘争の勝率、

N_i = i 個体が対戦した頭数

であり、ラジアン変換を行って ADV 値とする($0 \leq ADV \leq 90$)。

また、実験結果の処理区間での有意差の検定は t-test により行った。

結果および考察

図 1 に、実験区 5 頭の闘争行動の勝敗と ADV の乾乳牛群移行前後の変化を示した。5 頭の P 期の ADV は 74.1~14.5 であったが、混群後 D3 には 31.4~0.4 に低下し、D7 には 26.3~0.0、D21 には 30.0~0.0 となった。

図 2 に、実験区における AVP 投与後の血漿中 ACTH 濃度変化を示した。AVP 投与後の血漿中 ACTH 濃度は、10 分にピークとなりその後低下し、5 頭平均で 0 分では 8.33(P 期)~10.26(D21)pg/ml、10 分で 13.53(D3)~21.31(P 期)pg/ml、30 分で 8.17(D7)~11.78(D14)pg/ml、60 分で 6.91(P 期)~9.60(D14)pg/ml となり、0、10、30、60 分では日間差は示さなかったが、120 分では P 期 5.28pg/ml から徐々に増加し、D21 には 7.63pg/ml となった($p<0.01$)。

図 3 に、対照区における AVP 投与後の血漿中 ACTH 濃度変化を示した。実験区と同様に 10 分でピークとなりその後減少した。日間差は 10 分で見られ、D0 が最も高く、3 頭平均で 35.93pg/ml、D14 が最も低く 13.09pg/ml であった。D14 に低下したのは、採血開始直前に牛を興奮させてしまったことが原因と考えられる。

図 4 に、実験区における AVP 投与後の血漿中 Cortisol 濃度変化を示した。AVP 投与後の血漿中 Cortisol 濃度は、10 分から 30 分にかけてピークとなりその後低下した。0 分では P 期に最も低く 1.26 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、D3 に最も高く 2.90 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、10 分では P 期に最も高く 7.04 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、D7 に最も低く 4.08 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、30 分では 10 分と同様に P 期に最も高く D7 に最も低く (3.85(D7)~7.83(P 期) $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、60 分 1.33(D7)~3.42(P 期) $\mu\text{g}/\text{dl}$)、120 分では 0.43(D21)~0.97(P 期) $\mu\text{g}/\text{dl}$ であった。AVP 投与後の Cortisol 値は、30 分を除く各時間で混群後有意に低下した($p<0.05$)。

図 5 に、対照区における AVP 投与後の血漿中 Cortisol 濃度変化を示した。実験区と同様に 10 分から 30 分にかけてピークとなり、その後低下した。日間差は、10 分で見られ、D14 に他の日よりも有意に低下した ($p<0.05$)。これは前にも述べたように、実験直前に興奮させたことが原因と考えられる。その他の時間では日による差はなかった。

図 6 に、血漿中 ACTH 濃度と ADV との相関を示した。ADV は D3 に ACTH 濃度と AVP 投与後 30・60・120 分で有意な正の相関を示した (それぞれ $r=0.87$ 、

$r=0.94$ 、 $r=0.87$ 、 $r=0.89$ 、 $p<0.05$)。優劣順位の高い個体ほど ACTH 濃度が高かった。

図 7 に、血漿中 Cortisol 濃度と ADV との相関を示した。Cortisol は、どの実験日も ADV とは有意な相関は示さなかったが、D7 に ACTH とは逆に負の相関となる傾向を示した ($p<0.1$)。優劣順位が高い個体ほど Cortisol 濃度は低い傾向を示した。

図 8 に、血漿中 ACTH 濃度と ADV の群移行前からの変化量 (dADV) との相関を示した。D3 の 30 分、60 分で負の相関を示した ($P<0.1$)。

図 9 は、血漿中 Cortisol 濃度と ADV の群移行前からの変化量 (dADV) との相関を示している。D7 に 10 分、30 分で有意な正の相関があった(それぞれ $r=0.954$ 、 $r=0.884$ 、 $p<0.05$)。順位低下量が大きい個体 (=上位個体) ほど Cortisol 濃度が低かった。

図 10 に、血漿中 ACTH 濃度の時間変化量(dACTH)と ADV の移行前からの変化量 (dADV) との D7 における相関を示した。dADV は dACTH(0 分値-30 分値)と $r=0.97$ の高い相関があった ($p<0.01$)。ADV 低下量の最も大きかった個体は 30 分値が 0 分値よりも低下したのに対し、ADV 低下量の最も少なかった個体は 30 分値が 0 分値よりも高かった。他の 3 頭は 30 分値と 0 分値はほぼ同じであった。

図 11 は、血漿中 cortisol 濃度の時間変化量(dCortisol)と ADV の移行前からの変化量 (dADV) との D7 における相関を示している。dADV は dCortisol(0 分-10 分)と $r=0.91$ 、dCortisol(10 分-60 分)と $r=-0.94$ 、dCortisol(10 分-120 分)と $r=-0.95$ の高い相関があった($p<0.05$)。

これらの結果から、AVP 投与後の ACTH と Cortisol 分泌反応の変化は社会的ストレスと関連し、ストレス評価方法として有効である可能性が示された。ACTH と Cortisol とでは反応時期が異なり、Cortisol が ACTH よりも数日遅れて反応が現れ、反応の仕方も異なった。しかし、まだ頭数が少なく、ストレスの種類や強度、持続期間などにより、その反応がどのように変化するのかについては更に詳細に検討を重ねていく必要があると考えられた。

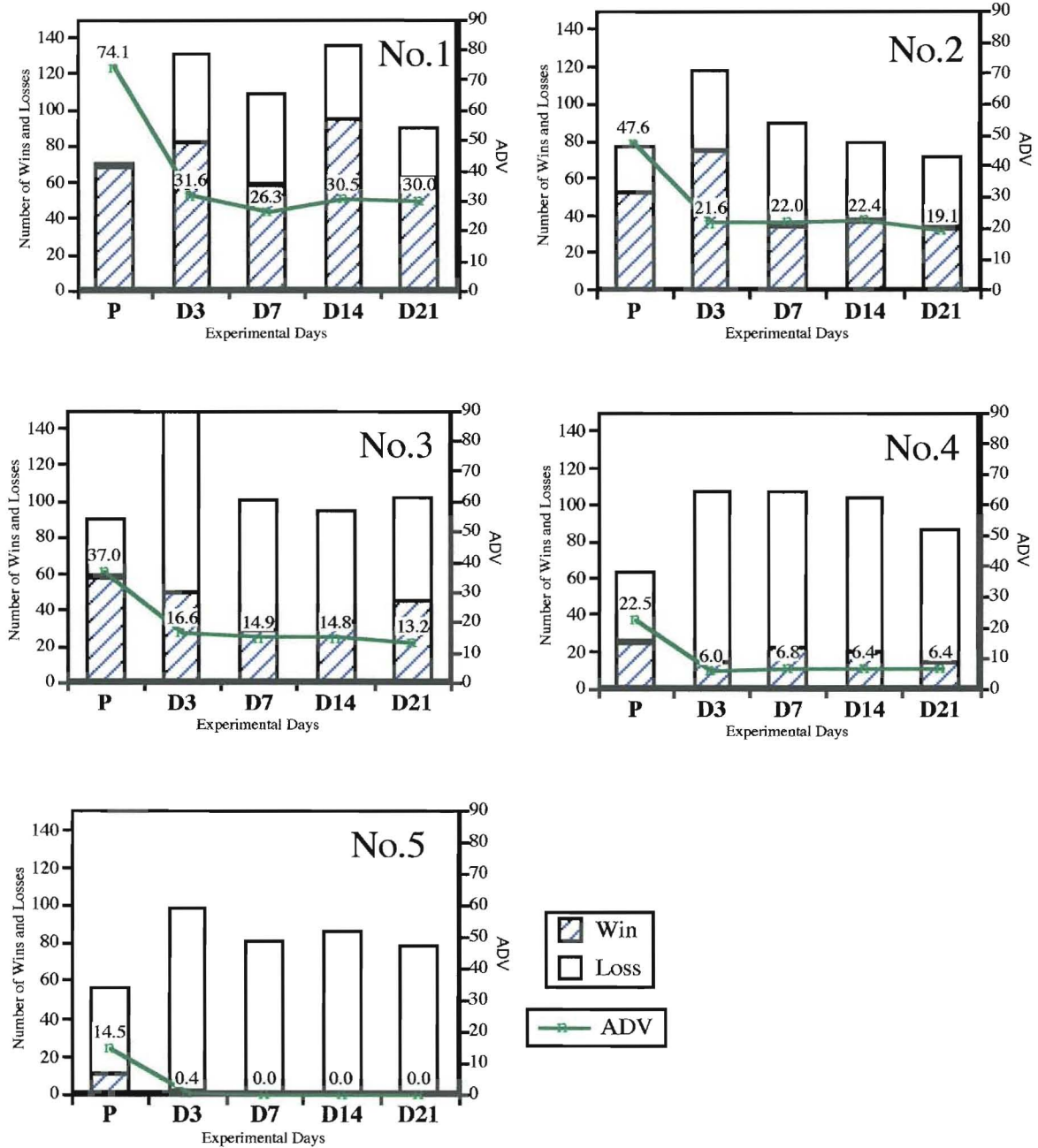


図 1. 実験区 5 頭の闘争行動の勝敗と ADV*の乾乳牛群移行後の変化

*ADV:Angular dominance value.

図中横軸は、P:育成牛群（混群前）、D3:乾乳牛群へ混群後 3 日目、D7: 乾乳牛群へ混群後 7 日目、D14: 乾乳牛群へ混群後 14 日目、D21: 乾乳牛群へ混群後 21 日目。

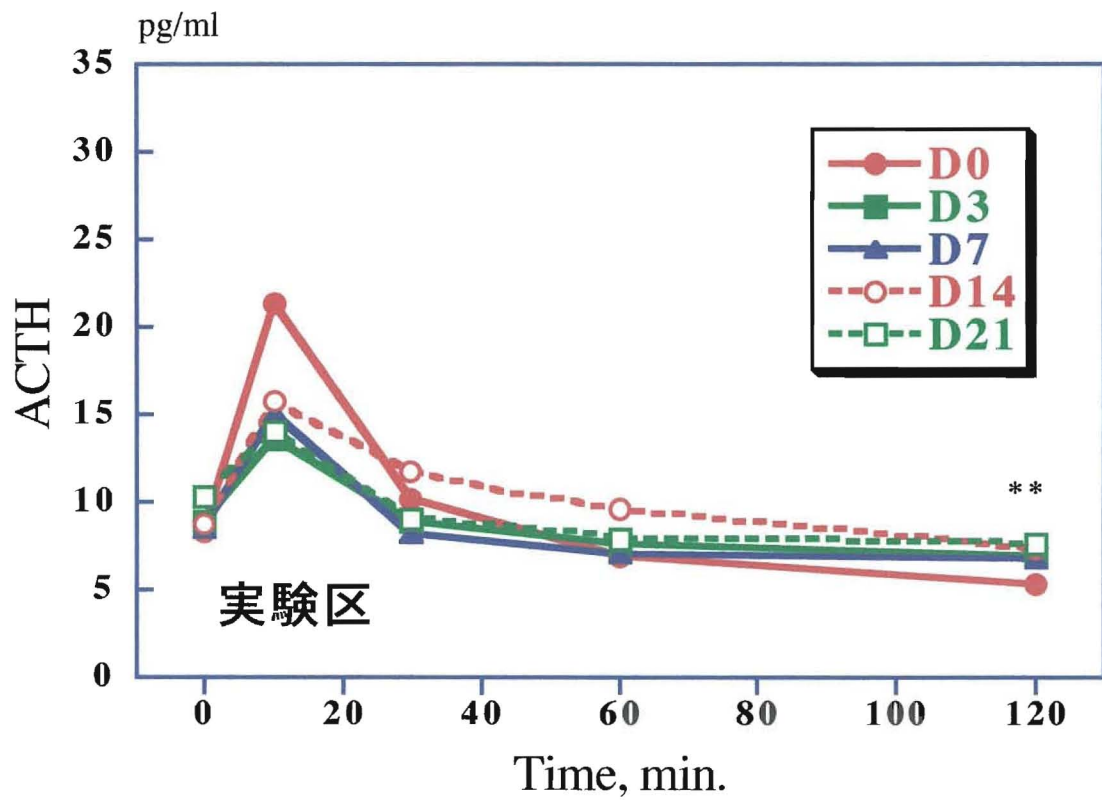


図 2. 実験区における AVP 投与後の血漿中 ACTH 濃度変化
 D0:混群前、D3:混群後 3 日目、D7: 混群後 7 日目、
 D14: 混群後 14 日目、D21: 混群後 21 日目。

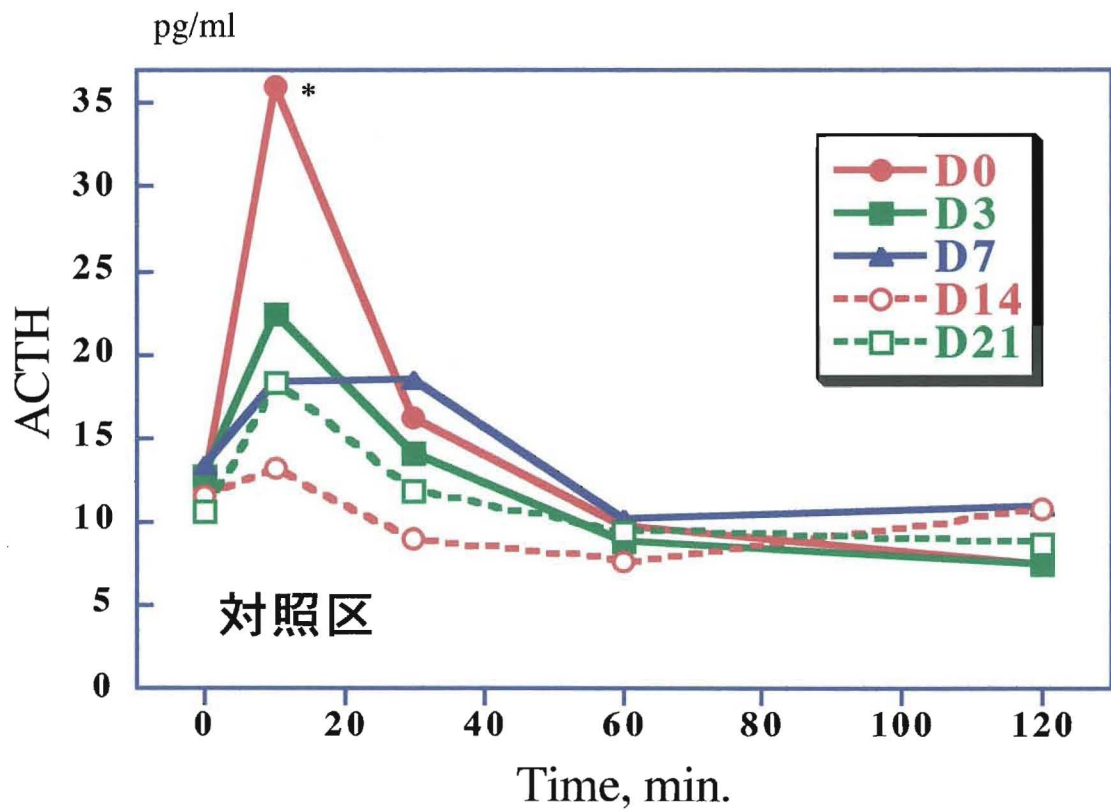


図 3. 対照区における AVP 投与後の血漿中 ACTH 濃度変化
 D0:混群前、D3:混群後 3 日目、D7: 混群後 7 日目、
 D14: 混群後 14 日目、D21: 混群後 21 日目

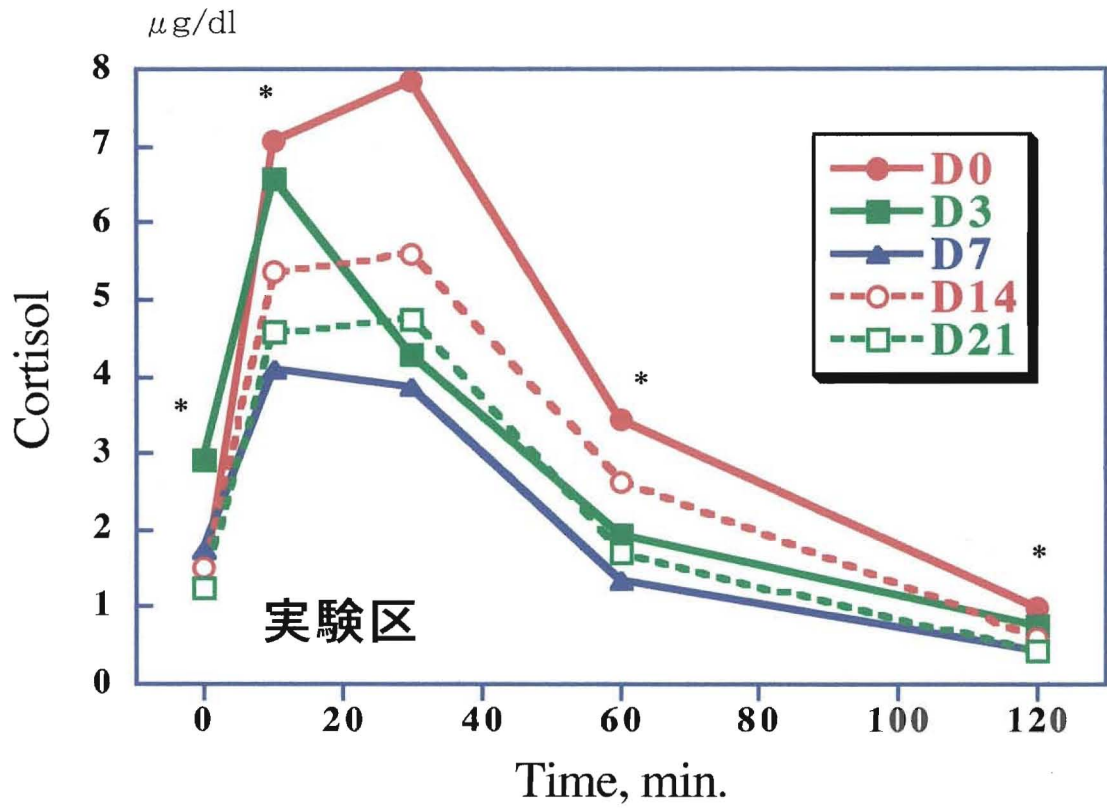


図 4. 実験区における AVP 投与後の血漿中 **Cortisol** 濃度変化
 D0:混群前、D3:混群後 3 日目、D7: 混群後 7 日目、
 D14: 混群後 14 日目、D21: 混群後 21 日目。

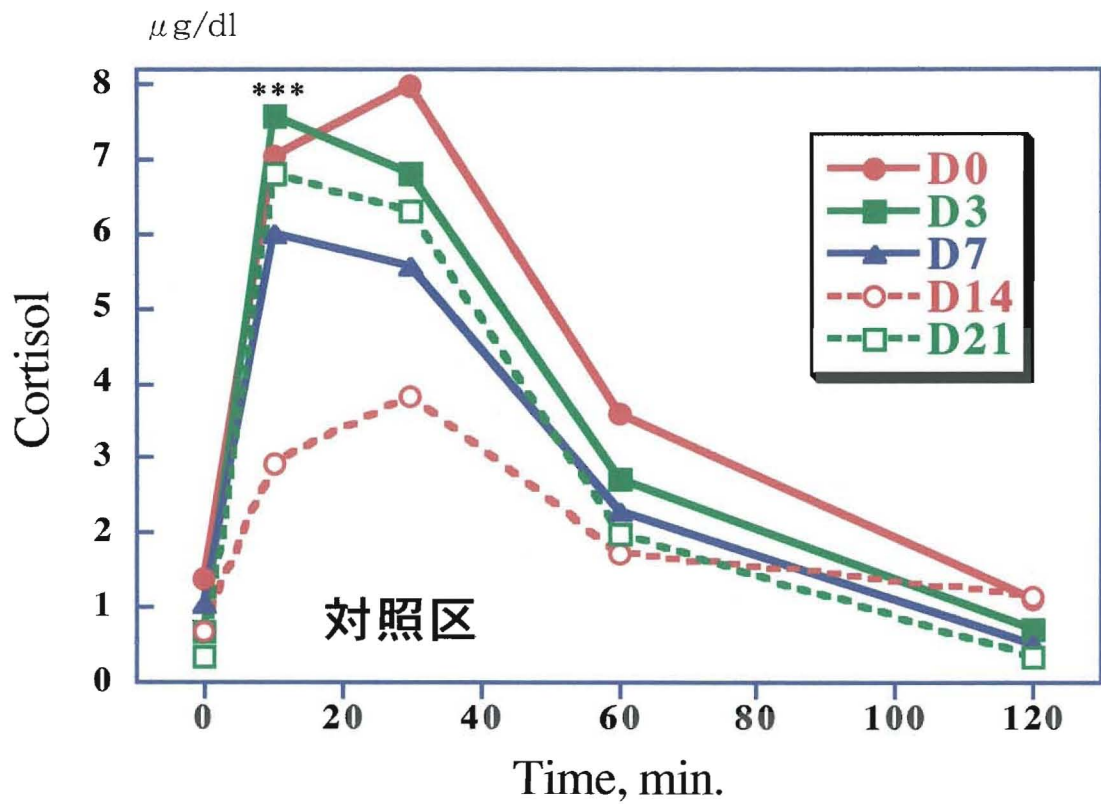


図 5. 対照区における AVP 投与後の血漿中 Cortisol 濃度変化
 D0:混群前、D3:混群後 3 日目、D7: 混群後 7 日目、
 D14: 混群後 14 日目、D21: 混群後 21 日目

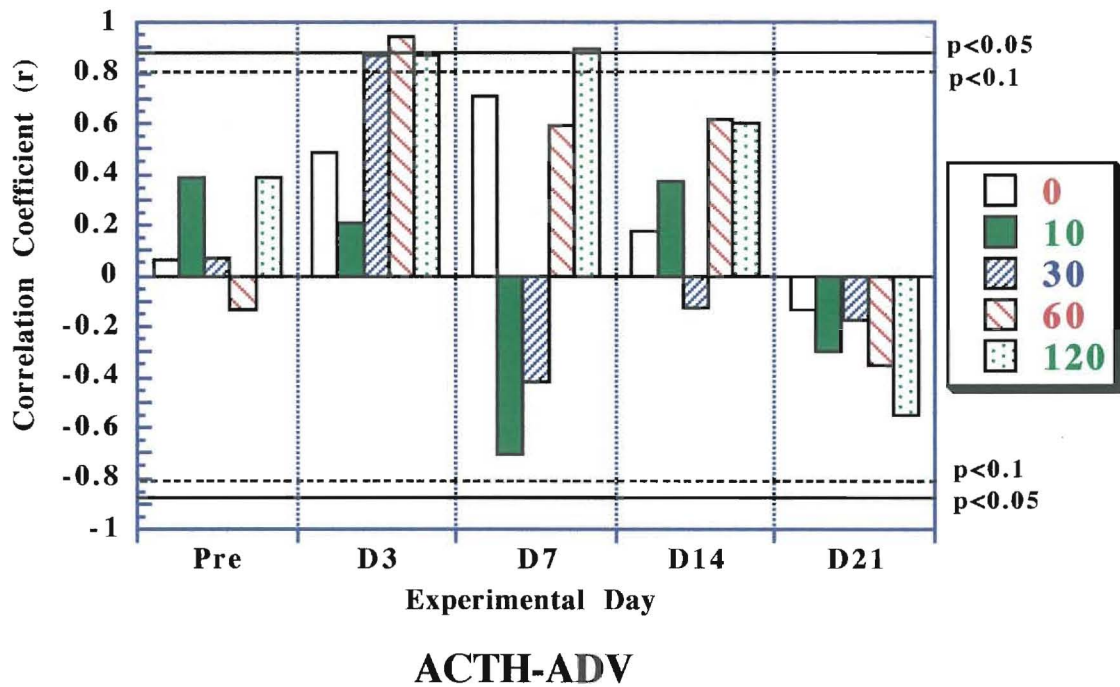


図 6. 血漿中 ACTH 濃度と ADV との相関

Pre:混群前、D3:混群後 3 日目、D7: 混群後 7 日目、
D14: 混群後 14 日目、D21: 混群後 21 日目

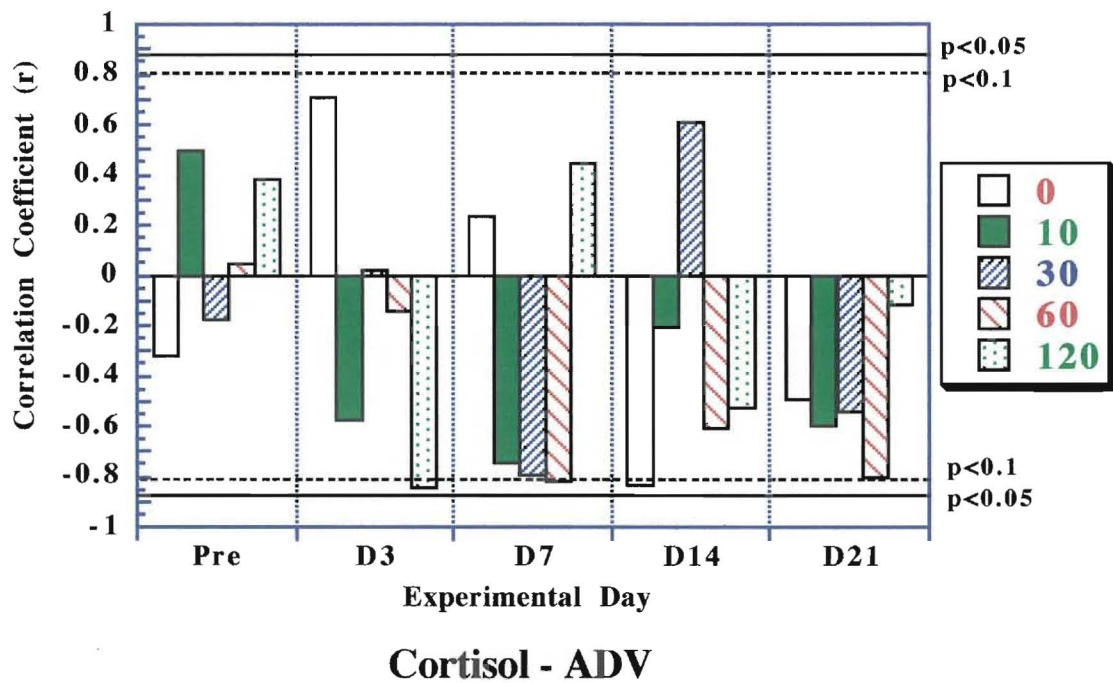


図 7. 血漿中 Cortisol 濃度と ADV との相関

Pre:混群前、D3:混群後 3 日目、D7: 混群後 7 日目、
D14: 混群後 14 日目、D21: 混群後 21 日目

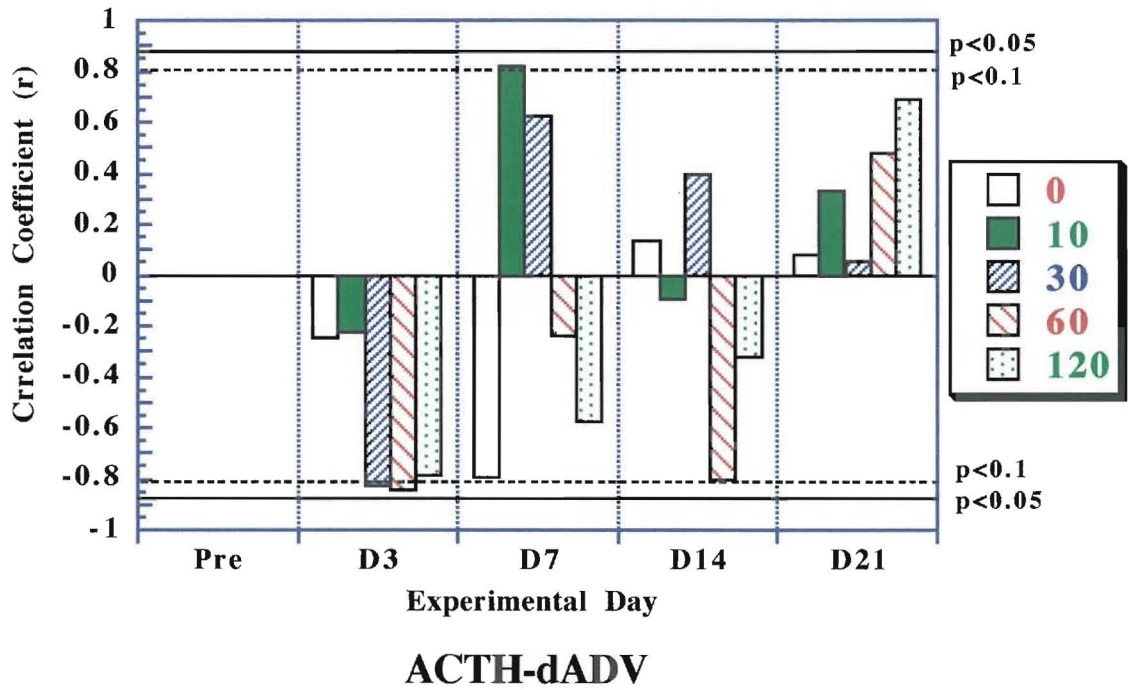


図 8. 血漿中 ACTH 濃度と ADV の群移行前からの
 変化量(dADV)との相関
 Pre:混群前、D3:混群後 3 日目、D7: 混群後 7 日目、
 D14: 混群後 14 日目、D21: 混群後 21 日目

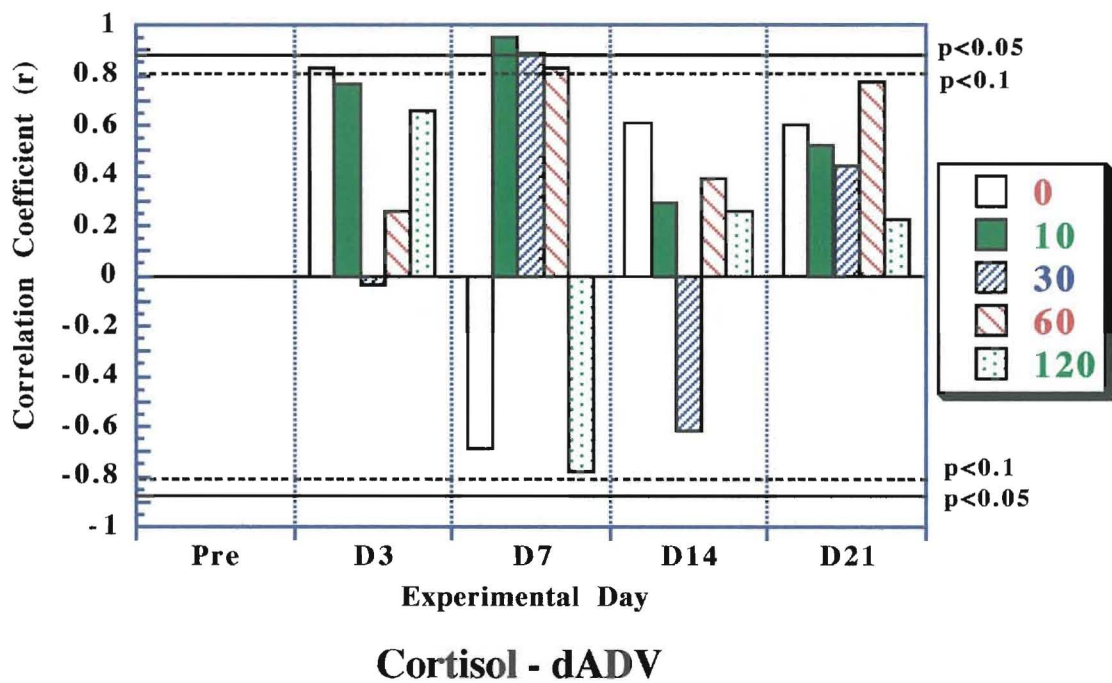
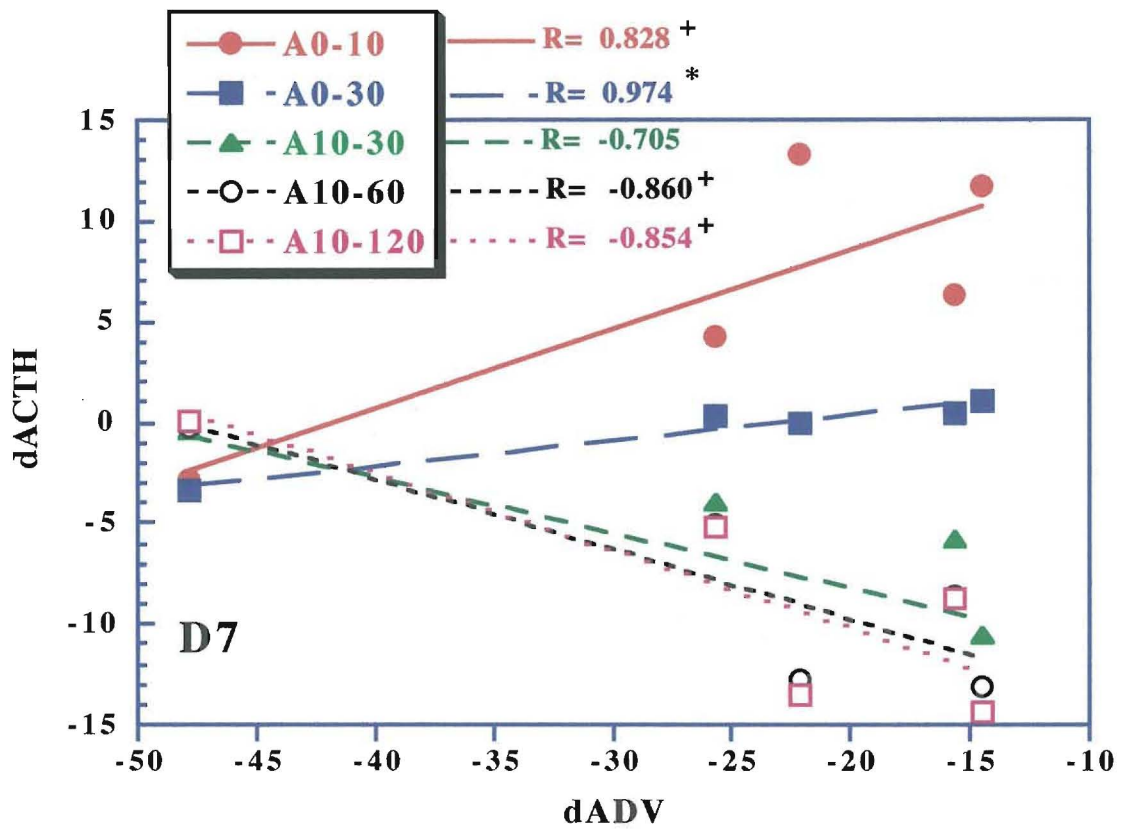


図 9. 血漿中 Cortisol 濃度と ADV の群移行前からの変化量(dADV)

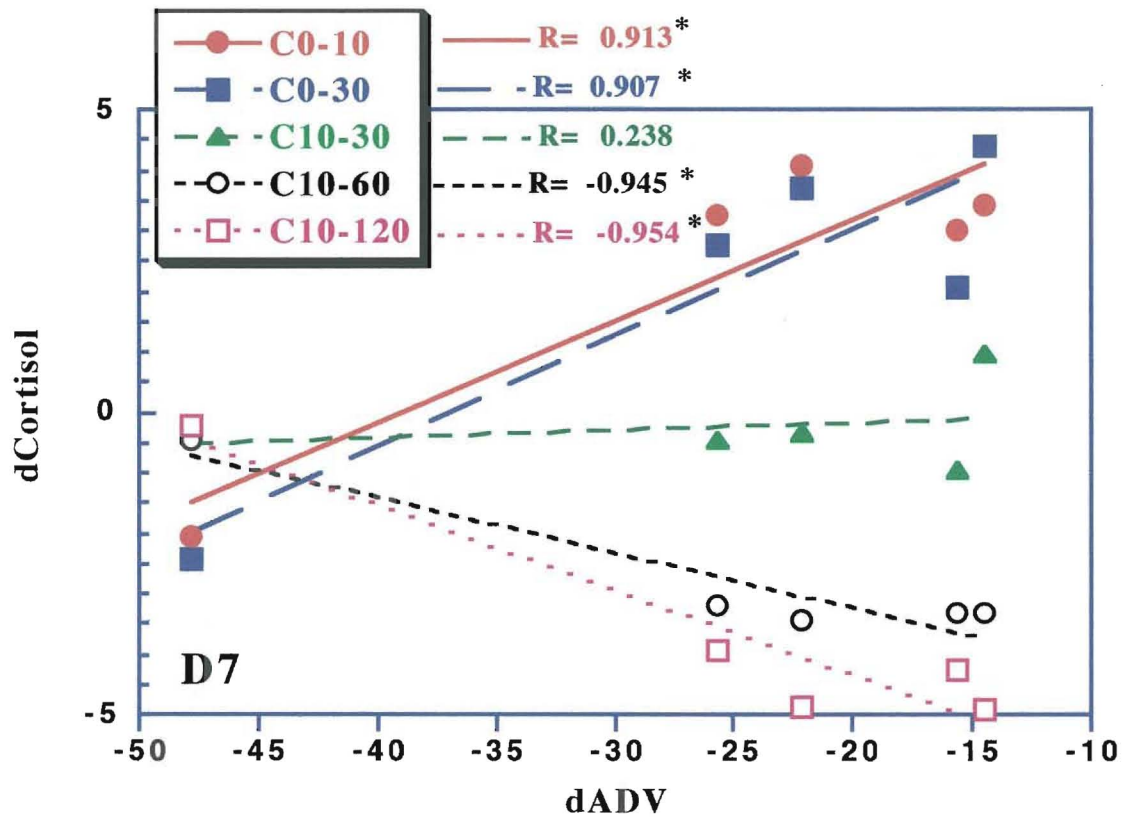
Pre:混群前、D3:混群後 3 日目、D7: 混群後 7 日目、

D14: 混群後 14 日目、D21: 混群後 21 日目



Correlations between dACTH and dADV

図 10. 血漿中 ACTH 濃度の時間変化量(dACTH)と
ADV の移行前からの変化量(dADV)との
D7 における相関



Correlations between dCortisol and dADV

図 11. 血漿中 Cortisol 濃度の時間変化量(dCortisol)と
ADV の移行前からの変化量(dADV)との
D7 における相関

Ⅲ 牛における暑熱ストレスが AVP 投与後の ACTH および Cortisol 分泌反応に及ぼす影響

本実験では、物理的環境ストレスである暑熱が AVP 投与後の ACTH および Cortisol 分泌反応にどのような影響を及ぼすかについて検討した。

材料及び方法

実験場所は、宮崎大学農学部附属自然共生フィールド科学教育研究センター住吉フィールド（牧場）である。屋外運動場の付帯した群飼房 3 区画で飼育されている、黒毛和種去勢牛 6 頭（17～27 ヶ月齢、体重 460 ± 52 kg）、ホルスタイン種去勢牛 4 頭（24～25 ヶ月齢、 683 ± 22 kg）計 10 頭を、直射日光に暴露する実験区（以下 E 区とする）、屋内に繋留する対照区（以下 C 区とする）として、各区それぞれ黒毛和種 3 頭・ホルスタイン種 2 頭を供試した。

2001 年 9 月 10 日に、11:00～13:00 までの 2 時間、E 区は屋外運動場に繋留して直射日光に暴露し、C 区は畜舎内に繋留した。

同日同時間帯に両区の気温を、温度センサー付データロガ（SK-L200T、佐藤計量器製作所）を用いて 1 分間隔で測定した。

同日 11:36～12:51 に、呼吸数の計測を目視により行った。E 区黒毛和種牛 2 頭ホルスタイン種 2 頭計 4 頭と C 区同 4 頭について、腰角部の皮膚の動きより空気を吸って吐いたら 1 回として計測した。1 頭につき 2 分間計測し、1 分の間隔を置いて、次の個体の計測を行った。

心拍数の測定を、両区黒毛和種 1 頭ずつを用い、同日 11:15～12:45 に、ハートレートモニター（バンテージ XL、キャノントレーディング株式会社）を用いて行った。

13 時より全頭を畜舎内連動スタンションに繋留し、ヘパリン入り真空採血管を使用して、頸静脈より採血を行った。生理食塩水に溶解した AVP（[Arg⁸]-Vasopressin, Peptide Institute Inc.）を体重 kg 当たり $0.2 \mu\text{g}$ 投与し、投与直前（0 分とする）、投与後 5 分、15 分、30 分、60 分および 120 分に採血を行った。血液は直ちに 3000 rpm で 20 分間遠心分離を行い、血漿は分析まで -80°C で保存した。

血漿中 ACTH 濃度の分析は、ラジオイムノアッセイ (RIA) 法により、市販キット (ACTH IRMA ミツビシ、ユカメディアス) を用いて行った。また、血漿中 Cortisol 濃度の測定も同様に RIA 法により市販キット (ウシコルチゾール RIA キット、Immunotech) を用いて行った。

なお、実験結果の処理区間での有意差の検定は t-test により行った。

結果及び考察

9月10日11:00~13:00のE区とC区の気温変化を、図12に示した。気温は、最高、最低、平均±SDそれぞれ、E区が38.0℃、34.3℃、36.1±0.9℃、C区が34.7℃、32.4℃、33.6±0.7℃で、平均気温はE区がC区よりも有意に高かった (p<0.01)。

処理区および品種による1分当たり呼吸数の違いを、図13に示した。呼吸数は、最高、最低、平均±SDそれぞれ、黒毛和種E区71.0±8.0回/分、黒毛和種C区58.0±11.2回/分、ホルスタイン種E区129.2±21.3回/分、黒毛和種C区71.7±11.1回/分で、両品種ともE区がC区よりも有意に多く (p<0.01)、黒毛和種はホルスタイン種よりも少ない傾向を示した。

図14に、1分当たり心拍数を示した。心拍数は最高、最低、平均±SDそれぞれ、E区が80、66、71.9±4.9回/分、C区が70、56、62.4±4.5回/分で、両区間に差はなかった。

図15に、AVP投与後の血漿中 ACTH 濃度の変化を示した。血漿中 ACTH 濃度は、E区・C区とも、5分でピークを示し (E区:781.4±1010.1 pg/ml、C区:853.1±511.2 pg/ml) その後減少した。各時間でE区とC区間に有意な差はなかった。しかし、E区で5分に異常に高い値を示した1頭を除くと (図中にE(-1)区として示した)、5分平均値は332.4±127.8 pg/ml となり、実験区が対照区よりも低い傾向を示し (p=0.09)、15分値は有意に低かった (E(-1)区:226.3±40.0 pg/ml、C区:459.2±178.2 pg/ml、p=0.04)。

図16にAVP投与後の血漿中 cortisol 濃度の変化を示した。血漿中 Cortisol 濃度は、15分から30分にかけてピークを示し、15分値、30分値はそれぞれE区が131.8±42.6 ng/ml、117.9±42.6 ng/ml、C区が106.5±35.2 ng/ml、119.2±42.4 ng/ml となりその後減少した。各時間でE区とC区間に有意な差はなかった。

本実験結果から、暑熱ストレスは2時間という短時間でも、AVP投与後のACTH

反応を低下させることが明らかとなった。しかし、コルチゾールでは明確な結果は得られなかったが、分泌反応のピークが異なる傾向が見られ、今後更に実験を重ねて検討することが必要と考えられた。

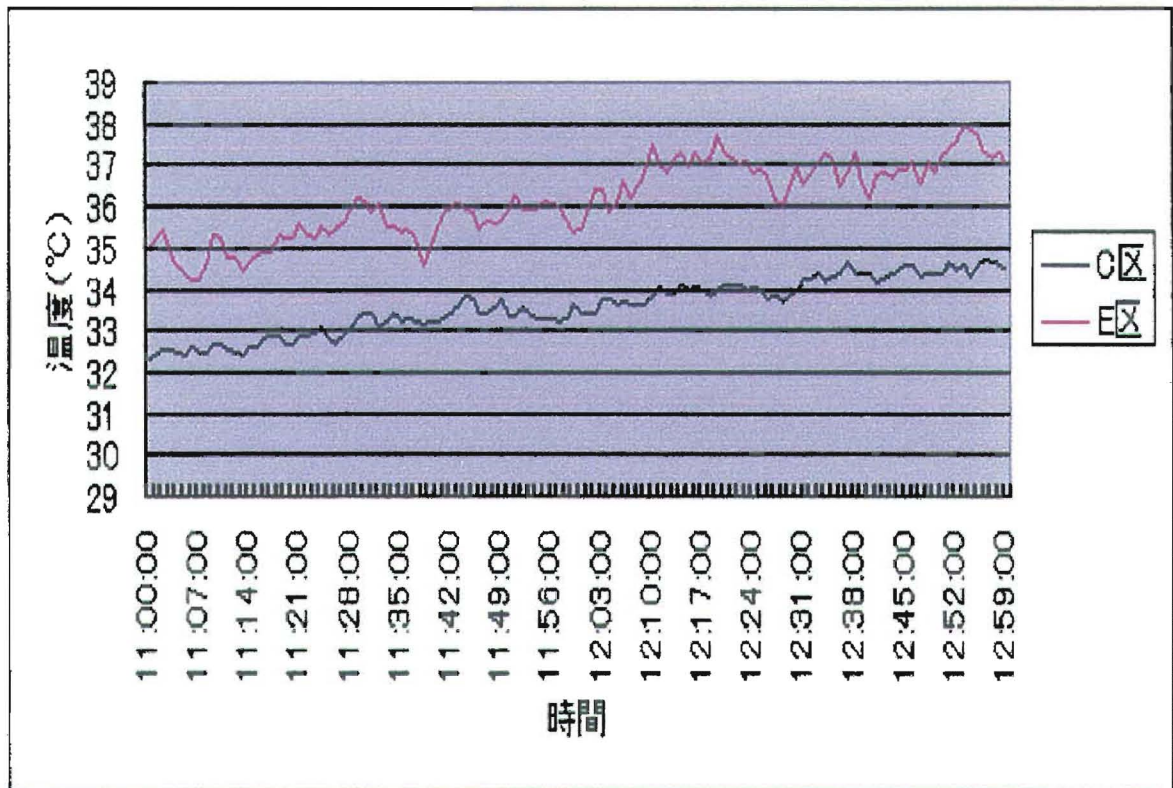


図 12. 9月10日11:00~13:00における実験区(E区)と対照区(C区)の気温変化

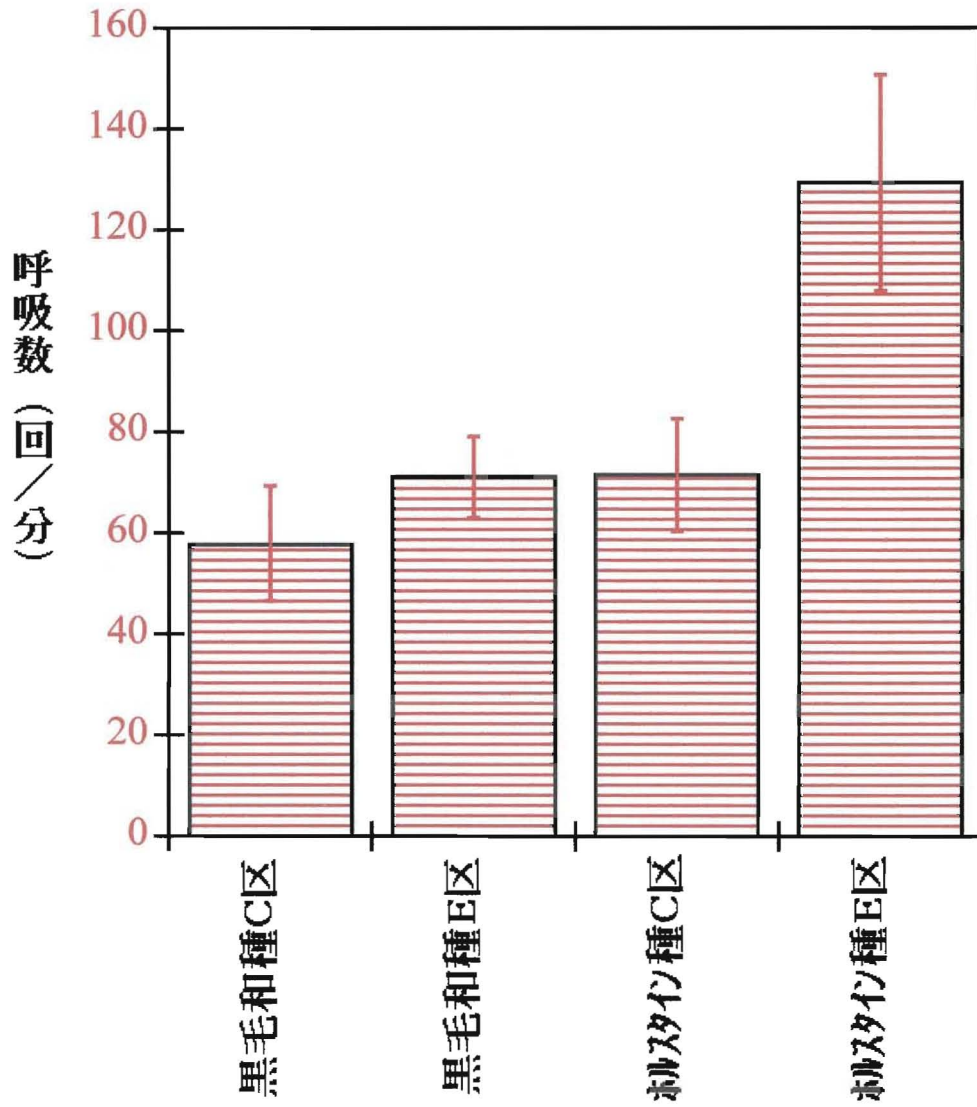


図 13. 処理区および品種による 1 分当たり呼吸数の違い

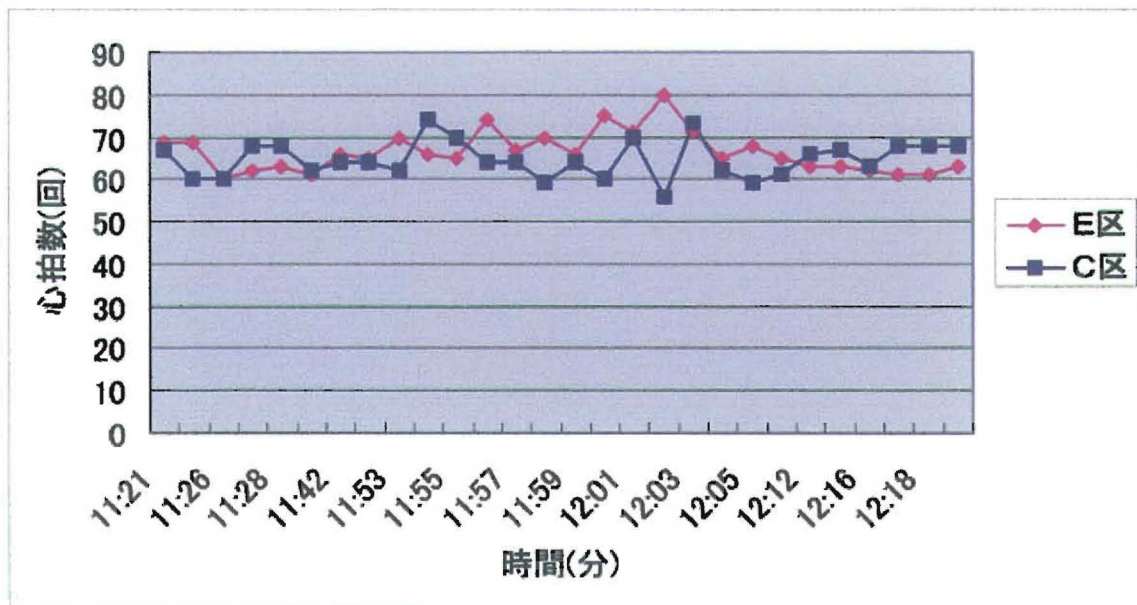


図 14. 1分当たり心拍数の変化

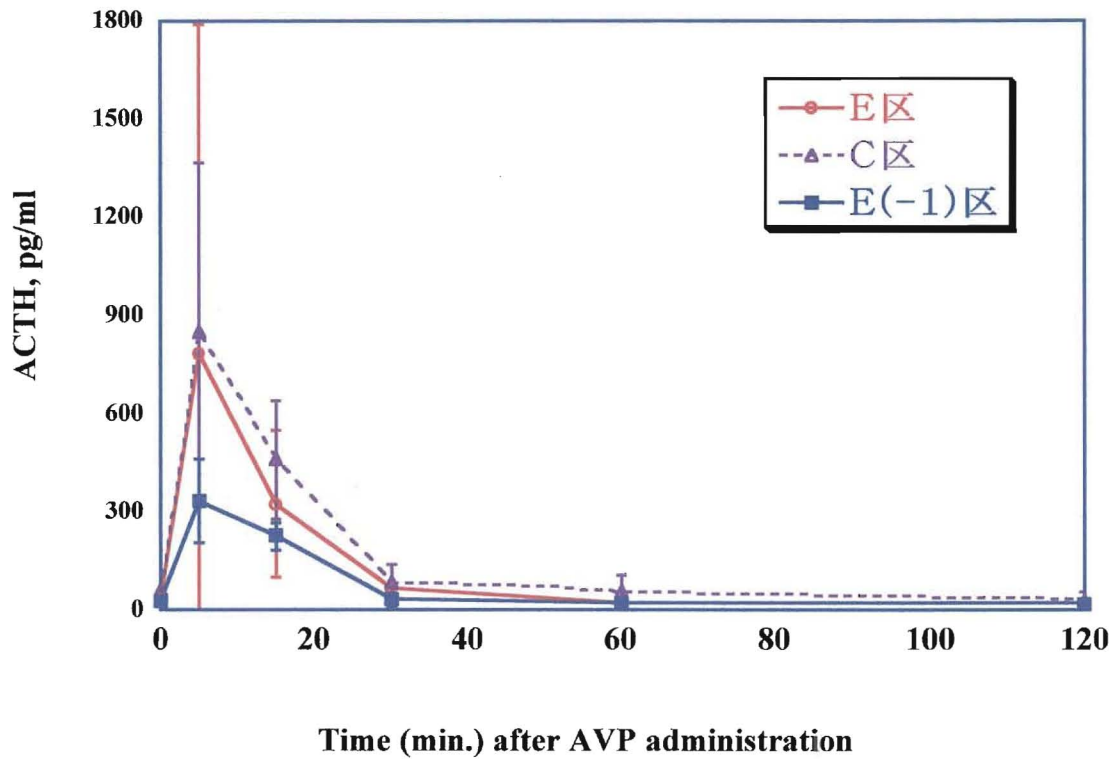


図 15. AVP 投与後の血漿中 ACTH 濃度の変化

E 区：実験区、C 区：対照区、

E(-1)区：異常値を示した 1 頭を除いた場合

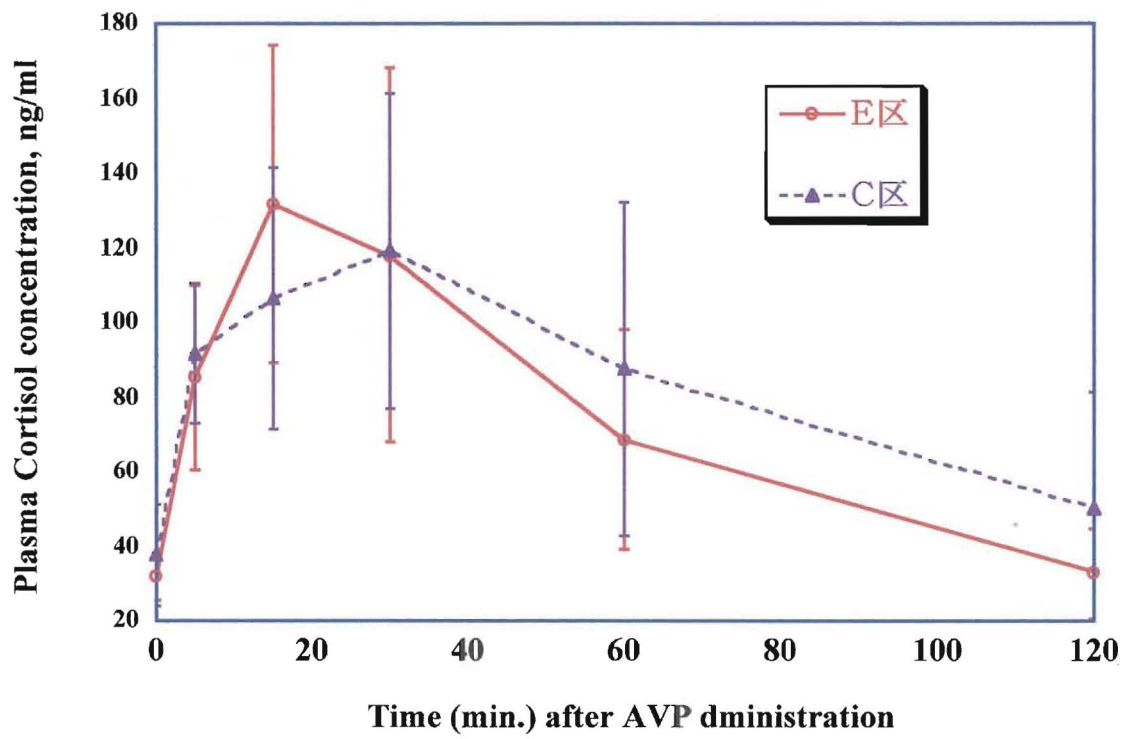


図 16. AVP 投与後の血漿中 cortisol 濃度の変化

E 区：実験区、C 区：対照区

IV 牛における AVP 投与後の ACTH および Cortisol 分泌反応に月齢が及ぼす影響

本実験では、月齢により AVP 投与後の ACTH および Cortisol 分泌反応に違いがあるかどうかについての検討を行った。

材料および方法

実験場所は、宮崎大学農学部附属自然共生フィールド科学教育研究センター住吉フィールド（牧場）である。黒毛和種雌牛 5 頭を供試した。妊娠の影響を除くために空胎の個体を選んだ。供試牛の月齢、体重、産次を表 1 に示した。

全頭を畜舎内連動スタンションに繫留し、ヘパリン入り真空採血管を使用して、頸静脈より採血を行った。生理食塩水に溶解した AVP ($[Arg^8]$ -Vasopressin, Peptide Institute Inc.) を体重 kg 当たり $0.2 \mu g$ 投与し、投与直前 (0 分とする)、投与後 5 分、15 分、30 分、60 分および 120 分に採血を行った。血液は直ちに 3000 rpm で 20 分間遠心分離を行い、血漿は分析まで $-80^{\circ}C$ で保存した。

血漿中 ACTH 濃度の分析は、ラジオイムノアッセイ (RIA) 法により、市販キット (ACTH IRMA ミツビシ、ユカメディアス) を用いて行った。また、血漿中 Cortisol 濃度の測定も同様に RIA 法により市販キット (ウシコルチゾール RIA キット、Immunotech) を用いて行った。

結果および考察

図 17 に AVP 投与後の ACTH 分泌反応の月齢による違いを示した。どの月齢でも 5 分でピークを示し、その後減少した。5 分での血漿中 ACTH 濃度は 3 ヶ月齢が最も低く 18 ヶ月齢が最も高かった。

図 18 に AVP 投与後の Cortisol 分泌反応の月齢による違いを示した。月齢によりピークに達する時間が異なり、3 ヶ月・71 ヶ月齢の個体は 5 分で、18 ヶ月齢の個体は 15 分で、40 ヶ月齢の個体は 30 分でピークとなり、71 ヶ月齢の個体は 5 分値と 15 分値が同レベルで、その後低下した。他の月齢と比較して、3 ヶ月齢個体のピーク値は最も低く、11 ヶ月齢個体の 120 分値は最も低かった。

図 19 に AVP 投与後 0・5・15・30・60・120 分での月齢と血漿中 ACTH 濃度との関係を示した。どの採血時間においても、月齢と血漿中 ACTH 濃度との間に有意な関係は見られなかった。

図 20 に AVP 投与後 0・5・15・30・60・120 分での月齢と血漿中 cortisol 濃度との関係を示した。表 2 に AVP 投与後 0・5・15・30・60・120 分における血漿中 Cortisol 濃度 (y) と月齢 (x) との 2 次回帰式を示した。AVP 投与後 0 分において $y=48.69-1.157x+0.0966x^2$ の有意な関係があった ($R^2=0.967$ 、 $p=0.033$)。また、AVP 投与後 5 分・30 分・60 分での式において有意な傾向を示した。しかし、AVP 投与後 15 分・120 分では、有意な関係はみられなかった。

AVP 投与に対する分泌反応は、ACTH では月齢との関連はみられなかったが、Cortisol では、ピーク反応は月齢の増加とともに高くなるが、老齢化により低下する傾向がみられた。しかし、実験頭数が少ないため今後さらに実験を重ねる必要があると考えられた。

表 1. 供試牛の月齢・体重・産次

個体番号	月齢	体重 kg	産次
333	3	65.2	0
215	18	398	0
018	40	407	2
726	71	488	5
38	111	366	7

表 2. AVP 投与後 0・5・15・30・60・120 分における
血漿中 Cortisol 濃度 (y) と月齢 (x) との回帰式

時間	2 次回帰式	R ²	p
0	$y=48.69-1.157x+0.0966x^2$	0.967	0.033
5	$y=49.23+0.5475x-0.00357x^2$	0.909	0.091
15	$y=50.46+2.223x-0.01403x^2$	0.824	0.176
30	$y=43.22+4.135x-0.0344x^2$	0.911	0.089
60	$y=34.94+3.898x-0.03143x^2$	0.945	0.056
120	$y=24.64+0.1034x+0.002994x^2$	0.6011	0.399

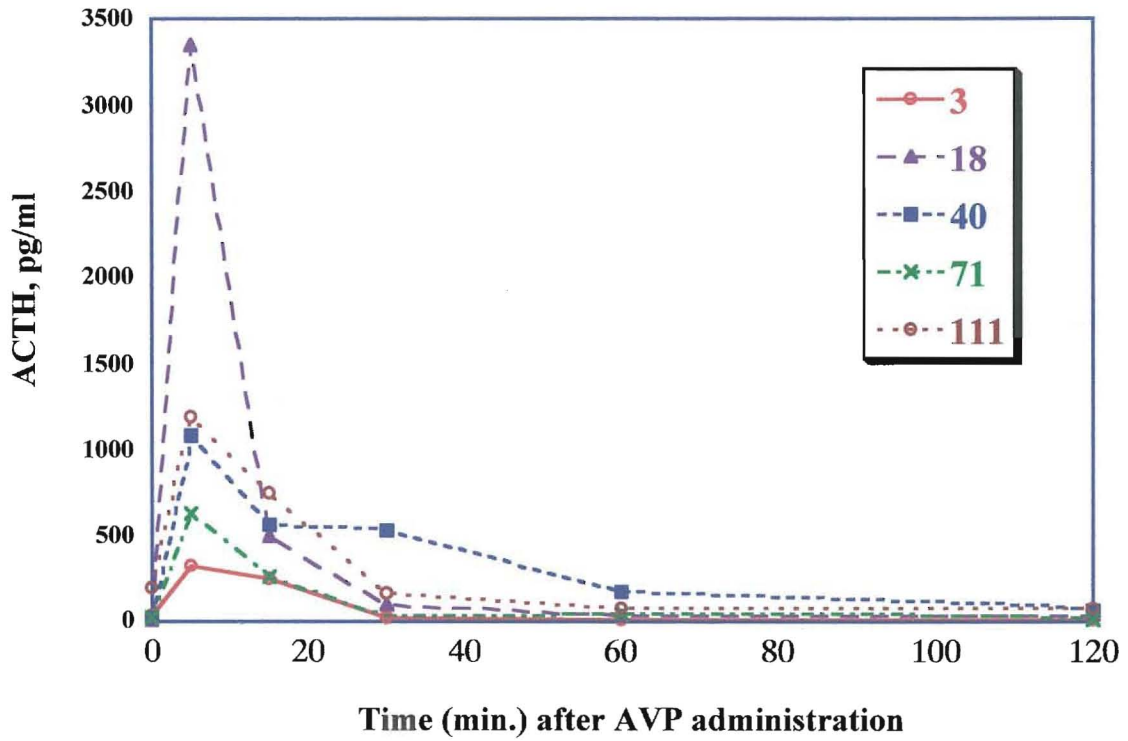


図 17. AVP 投与後の ACTH 分泌反応の
月齢(3~111 ヶ月齢)による違い

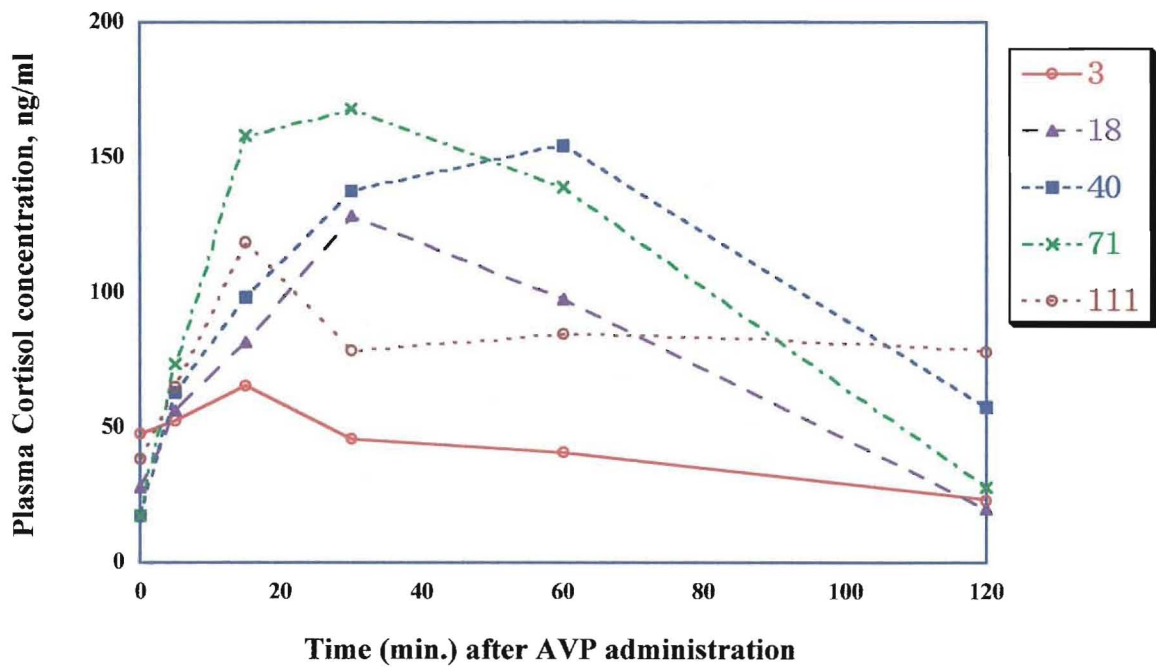


図 18. AVP 投与後の Cortisol 分泌反応の
月齢(3~111 ヶ月齢)による違い

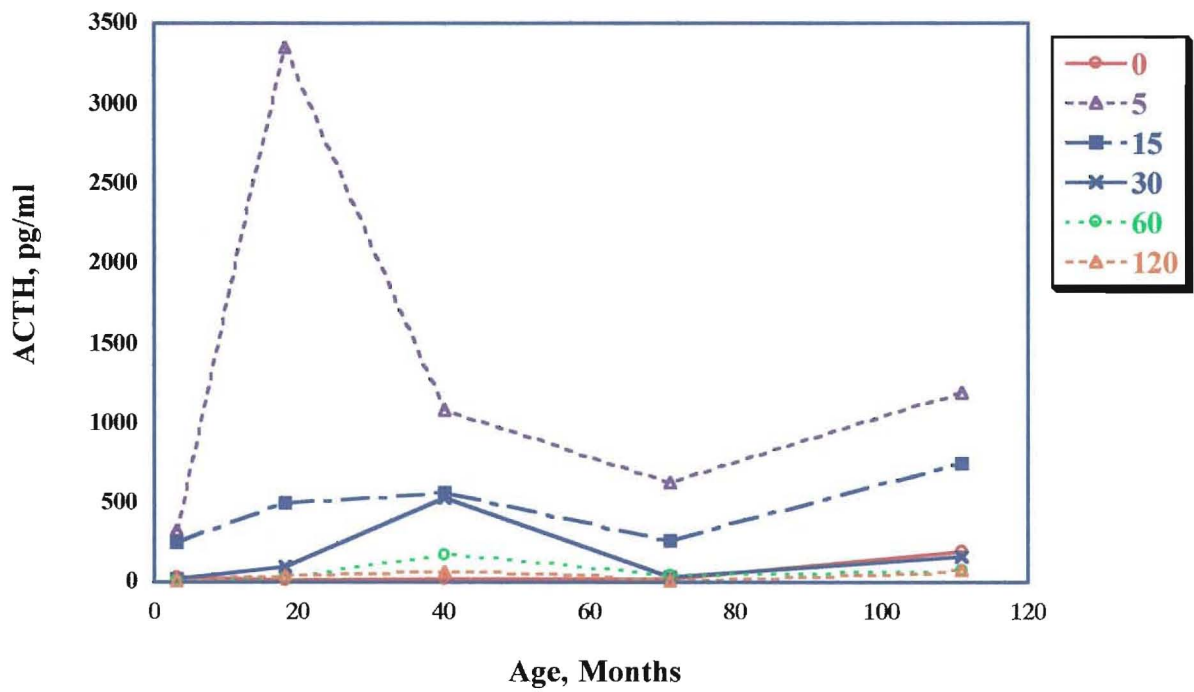


図 19. AVP 投与後 0・5・15・30・60・120 分での
月齢と血漿中 ACTH 濃度との関係

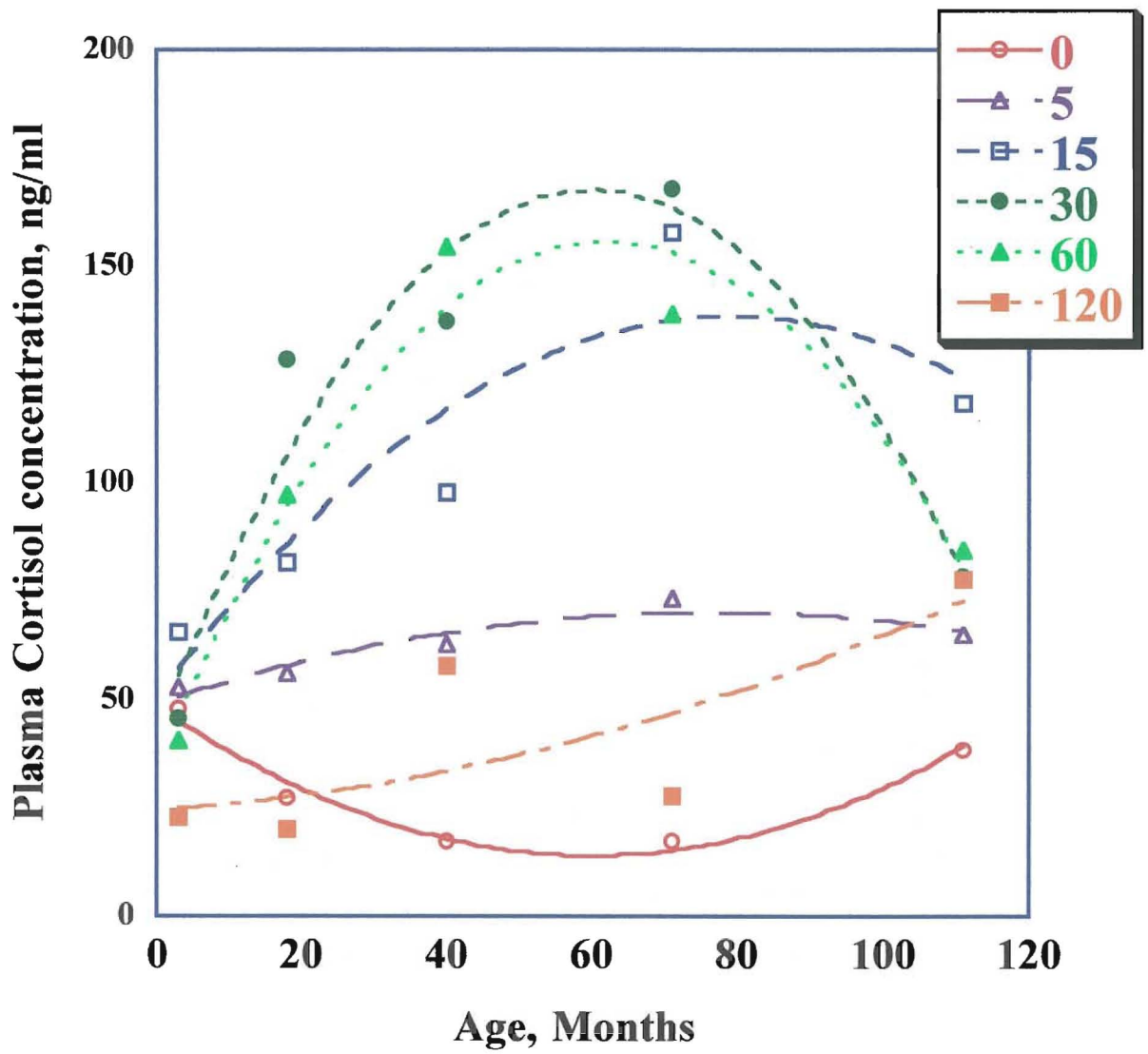


図 20. AVP 投与後 0・5・15・30・60・120 分での月齢と血漿中 cortisol 濃度との関係

V 総合考察

牛における AVP 投与後の ACTH と Cortisol の分泌反応が、ストレスの評価手段として有効かどうかを明らかにするために、社会的ストレスおよび環境ストレスを牛に負荷して実験を行った。

社会的ストレスを評価するために、ホルスタイン種育成牛を乾乳牛群に混群して実験を行った。血漿中 ACTH 濃度は、混群 3 日目に AVP 投与後 30 分・60 分・120 分で優劣順位評価値 (ADV) と有意な正の相関を示した。混群後育成牛の優劣順位は大きく低下し、混群 7 日目に Cortisol の 10 分・30 分値が混群前の値と比較し有意に低くなり、ストレスにより反応が低下したと考えられた。また、Cortisol と ADV 変化量(dADV)とは、10 分・30 分で有意な正の相関を示した。Hasegawa et.al. は、乳牛による群構成個体を 2 群で入れ替える実験で、社会的序列の混乱と優劣順位の低下はストレスとなることを行動と乳量から明らかにしたが、ACTH 投与に対する cortisol 分泌反応、つまり ACTH Rapid Test では、ストレスと関連する明確な反応を得ることはできなかった。しかし本実験では、社会的序列およびその低下と AVP 投与後の ACTH および Cortisol 分泌反応との間に有意な関係がみられ、社会的ストレスの評価手段として有効なことが示唆された。

環境ストレスの評価手段としての有効性を明らかにするために、黒毛和種およびホルスタイン種去勢牛を、2 時間直射日光に暴露し、暑熱ストレスを負荷した。AVP 投与後の血漿中 ACTH 濃度は 5 分でピークとなり、実験区が対照区よりも低い傾向を示した。コルチゾール分泌反応では明確な差は見られなかったが、実験区が対照区よりもピークが早まる傾向が見られた。

AVP に対する ACTH と Cortisol の分泌反応に加齢の影響があるかどうかを調べるために、3 ヶ月齢から 111 ヶ月齢までの空胎の黒毛和種雌牛で実験を行った。ACTH 分泌反応では月齢との有意な関係はなかったが、Cortisol 分泌反応は月齢の増加とともに高くなり、老齢化により低下する 2 次曲線となることが示された。

これらの実験結果より、AVP 投与に対する ACTH と Cortisol の分泌反応は、ACTH Rapid Test に替わる有効なストレス評価手段となることが示された。また、ストレスの種類やその持続期間により ACTH と Cortisol の分泌反応が異なり、また変化

することが示された。これらのことから、本方法は種々のストレスを評価するのに有効である可能性が示されたが、まだ実験頭数が少なく、今後更にストレスの種類や強度、持続期間などにより、その反応がどのように変化するのか ACTH と Cortisol でどのように反応が異なるのか、種々のストレス条件下で実験を行い、検討を重ねていく必要があると考えられた。

文 献

- 1) Dantzer R, Mormede P. Stress in farm animals: a need for reevaluation. *J.Anim.Sci.*, 57: 6–18. 1983.
- 2) Moberg GP. A model for assessing the impact of behavioral stress on domestic animals. *J. Anim.Sci.*, 65: 1228–1235. 1987.
- 3) Sutanto W, de Kloest ER. The use of various animal models in the study of stress and stress-related phenomena. *Laboratory Anim.*, 28: 293–306. 1994.
- 4) Familiari M, Smith AI, Funder JW. Arginine vasopressin is a much more potent stimulus ACTH release from ovine anterior pituitary cells than ovine corticotropin-releasing factor. *Neuroendocr.*, 50: 152–157. 1989.
- 5) Liu JP, Robinson PJ, Funder JW, Engler D. The biosynthesis and secretion of adrenocorticotropin by the ovine anterior pituitary is predominantly regulated by arginine vasopressin (AVP). *J. Biol. Chem.*, 265: 14136–14142. 1990.
- 6) Pradier P, Davicco MJ, Safwate A, Tournaire C, Dalle M, Barlet JP, Delost P. Plasma adrenocorticotropin, cortisol and aldosterone responses to ovine corticotropin-releasing factor and vasopressin in sheep. *Acta Endocrinol.*, 111: 93–100. 1986.
- 7) Katoh K, Engler D. Arginine-vasopressin is a more potent stimulator for increases in ACTH release and cytosolic calcium concentration than CRF in ovine anterior pituitary cells. *Anim. Sci. Technol. (Jpn.)*, 65: 1099–1104. 1994.
- 8) Sen M, Maier PM, Langhans W, ACTH, cortisol and glucose responses after administration of vasopressin in cattle and sheep. *J. Comp. Physiol. B*, 164:570–578. 1995.
- 9) Hasegawa N, Sugiwaka T, Kawamura T, and Katoh K. Change in serum ACTH and cortisol concentrations after administration of Arginine-Vasopressin (AVP) in dairy cattle. *Anim. Sci. Tech.(Jpn.)* 67:591–592.

1996.

- 10) Hasegawa N, Nishiwaki A, Sugawara K, Ito I. The effects of social exchange between two groups of lactating primiparous heifers on milk production, dominance order, behavior and adrenocortical response. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 51:15–27.1997.