

豊原ら：種雄豚への5-アミノレブリン酸給与による精子活力向上試験  
種雄豚への5-アミノレブリン酸給与が精子活力向上に及ぼす影響

豊原 賢悟・谷田部 隆・村山 丹穂・齊藤 訓央<sup>1)</sup>

谷口 慎<sup>2)</sup>・大西 彰<sup>3)</sup>・三角 浩二<sup>3)</sup>

1) 現：茨城県南農林事務所 2) ネオファーマージャパン 3) 日本大学

Effect of feeding 5-aminolevulinic acid on improving sperm vitality in swine

Kengo TOYOHARA, Takashi YATABE, Niho MURAYAMA, Norihisa SAITOU  
Akira OONISHI, Kouzi MISUMI, Shin TANIGUCHI

要約

5-アミノレブリン酸 (5-Amino Levulinic Acid, 5-ALA) は、アミノ酸の一種であり、体内にあるミトコンドリアを活性化させエネルギー産生を通じて精子の運動性向上に関与していると考えられている。5-ALAは、ヒトや家畜の不妊症の分野で研究が進められているが、ブタにおける知見がないことから、種雄豚に5-ALAを経口投与または精液に直接添加することによって、人工授精用に採取された精液の精子活力に対する影響をCASA (精子運動解析装置) を用いて検証した。経口投与試験では、5-ALAによる精液活力向上効果はみられなかった。直接添加試験では、5-ALA調整量1  $\mu$ Mの区の採精3日目において有意差がみられ、結果5-ALAを豚精液に直接添加することは、有用であると示唆される。

キーワード 種雄豚 5-アミノレブリン酸 (5-ALA) 経口投与 直接添加 CASA (精子運動解析装置)

緒言

材料および方法

養豚農家の人工授精は近年急速に普及し、母豚1,000頭以上の大規模農場では、ほぼすべてで人工授精が実施されている。<sup>1)</sup>一方、種雄豚は暑熱に対する適応性が低く、造精機能、射精能力が減退し、精子数の減少と活力の低下により受胎成績も低下する。これを夏季不妊症と呼び、大きな問題となっている<sup>2)</sup>。

現在、精子運動率に影響を与えている因子の一つとしてミトコンドリア活性が報告されている。体内に存在するアミノ酸の一種である5-アミノレブリン酸 (以下5-ALA) は、ミトコンドリアの活性化に重要な役割を果たしており、エネルギー産生を通じて精子の運動性に関与していると考えられている<sup>3)</sup>。現在ニワトリ、ヒトなどで研究が進められているが<sup>4) 5)</sup>、未だブタの精子活力に関する知見はない。本試験では、5-ALAを種雄豚に経口投与または、精液に直接添加することにより、人工授精用に採取された精液の精子活力に対する影響を検証した。

1 経口投与試験 (2019年度から2021年度)

同腹種雄豚5組計10頭をそれぞれ5頭ずつ対照区、試験区とした。試験区に供試物のミトコンパワー (5-ALA 1%含有混合飼料:ネオファーマージャパン株式会社) を朝8時30分の飼料給与時に添加し投与した。対照区ではミトコンパワーを無添加とした。ミトコンパワー投与量は種雄豚の体表面積から算出し、2019年度の投与量をもとに2020年度、2021年度の投与量を設定した。投与量および投与期間は表1のとおりとした。

表1 5-ALA投与量と投与期間

	投与量 g/日/ 頭	投与期間
2019年度	5	7月から8月、2020年1月
2020年度	2.5	2021年1月から2月
2021年度	10	2021年7月から8月

精液は用手法<sup>6)</sup>を用いて採取を行った。採取した精液はモデナ液 (精液希釈液) (ナスアグリサービス株式会社) を使用し、モデナ液100mlに対

し精子数が 50 億個になるように調整した。CASA で測定するまで Eco Incubator INE800 (ヤマト科学株式会社) に 15℃で保存した。

対照区、試験区から採取した精液を CASA (精子運動解析装置) で測定した。CASA の測定日は、採精後 1 日目、7 日目とし、CASA の測定項目は、Motile Cells (運動している精子) Progressive Cells (活発に運動している精子) とした。それぞれの項目の精子活力の割合を比較した。解析期間を表 2 のとおり実施した。

表 2 CASA 解析期間

	解析期間
2019 年度	6 月から 9 月、 10 月から 2020 年 1 月
2020 年度	12 月から 2021 年 3 月
2021 年度	6 月から 9 月

## 2 直接添加試験 (2022 年度)

### 1) 試験 1

種雄豚 5 頭から採取した精液を、経口投与試験と同様にモデナ液で調整し、5-ALA (原体) (コスモ・バイオ株式会社) を令和 4 年 7 月から 10 月まで 1 μM になるように濃度を調整したものを試験区、5-ALA 無添加のものを対照区とした。5-ALA の調整濃度については、Taniguchi ら<sup>4)</sup>の方法により実施した。それぞれの区の精液を CASA で全 21 回測定した。測定項目は、経口投与試験と同様とし、測定日は、採精後 1 日目、3 日目、7 日目とした。それぞれの項目の精子活力の割合を比較した。

### 2) 試験 2

種雄豚 4 頭から採取した精液に、試験 1 と同様にモデナ液で調整し 5-ALA (原体) を令和 4 年 12 月から 2023 年 1 月まで、1 μM、5 μM、10 μM になるように濃度を希釈したものを試験区とし、5-ALA 無添加のものを対照区とした。それぞれの区の精液を CASA で全 12 回した。測定項目は、経口投与試験と同様とした。測定日は、採精後 1 日目、3 日目、7 日目とし、精液の精子活力を数値化し比較検討した。

## 結果

### 1 経口投与試験

試験区、対照区から採取した精液を CASA で測定し、Motile Cells と Progressive Cells の割合をそれぞれ月ごとに平均を算出し、比較しその結果、夏季期間及び冬季期間において試験区と対照区の間には有意差は認められず、5-ALA 経口摂取の精子運動性の向上効果は認められなかった。(図 1 から図 8)

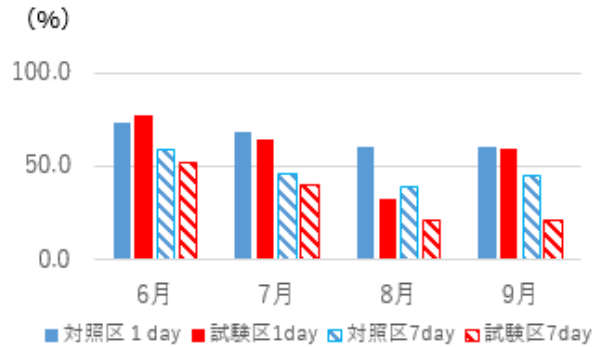


図 1 Motile Cells、月ごとの推移 (投与量 5 g (2019 年度))

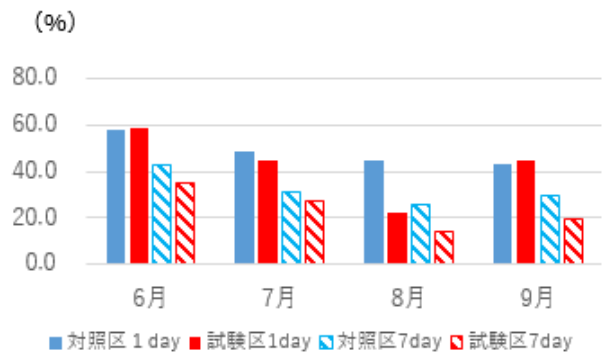


図 2 Progressive Cells、月ごとの推移 (投与量 5 g (2019 年度))

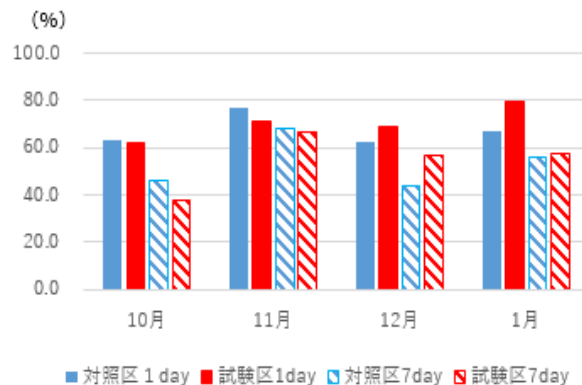


図 3 Motile Cells、月ごとの推移 (投与量 5 g (2020 年度))

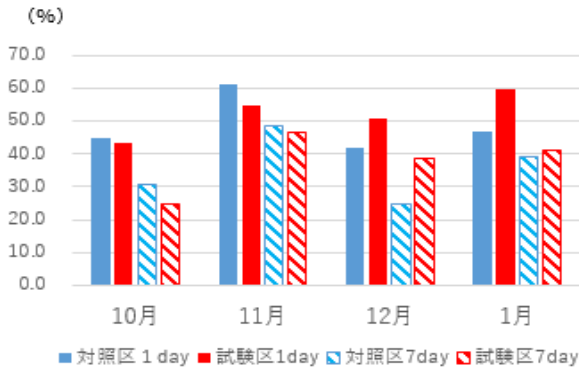


図4 Progressive Cells、月ごとの推移  
(投与量 5 g (2019 年度))

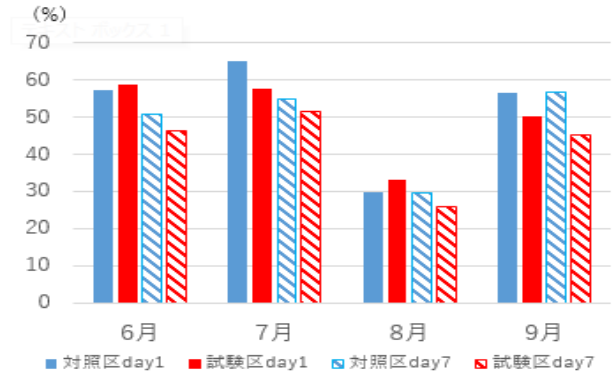


図7 Motile Cells、月ごとの推移  
(投与量 10g (2021 年度))

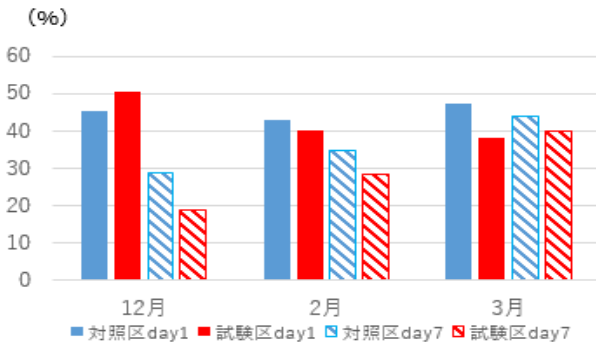


図5 Motile Cells、月ごとの推移  
(投与量 2.5g (2020 年度))

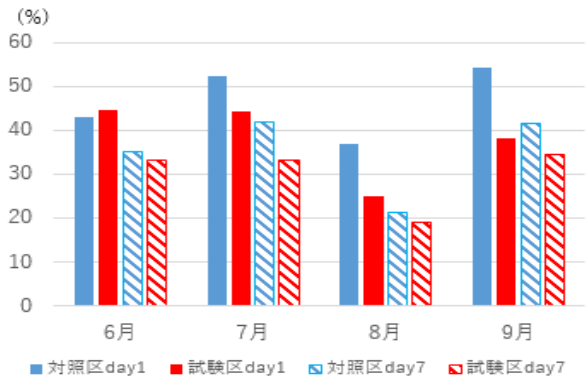


図8 Progressive Cells、月ごとの推移  
(投与量 10g (2021 年度))

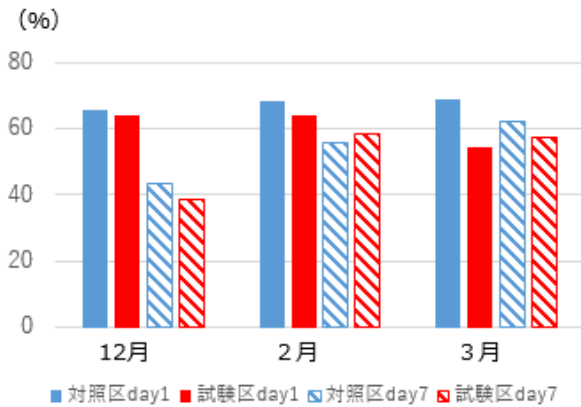


図6 Progressive Cells、月ごとの推移  
(投与量 2.5g (2020 年度))

## 2 直接添加試験

### 1) 試験 1

採取した精液を、対照区と試験区に分け、CASAで測定し、対照区と試験区の day 1、Day 3、day 7 の Motile Cells と Progressive Cells 数値の平均を算出した。Motile Cells は、対照区、試験区で顕著な差は見られなかったが、day 3 の Progressive Cells の値において試験区の方が、対照区より 6% 高い結果となり有意差を確認した。(図 9、10)

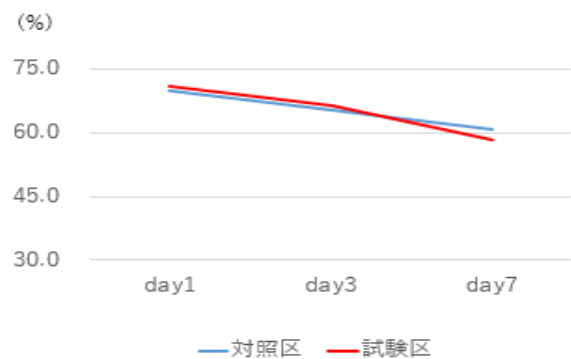


図9 Motile Cells、1週間の推移

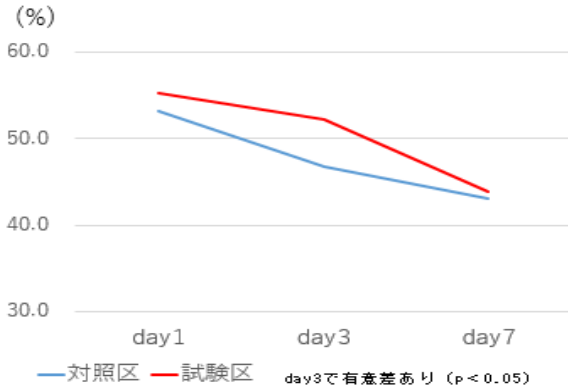


図 10 Progressive Cells、1 週間の推移 (p<0.05)

2) 試験 2

採取した精液を CASA で測定し試験 1 と同様に、対照区と試験区のそれぞれ day 1、day 3、day 7 の Motile Cells と Progressive Cells の平均を算出したところ、1 $\mu$ M の day3 において、試験区の方が対照区より Motile Cells で 6%、Progressive Cells で 7.6%となり高い結果となり有意差を確認した。(図 11、12)

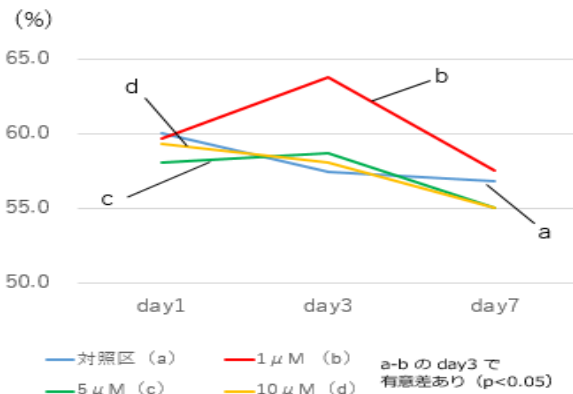


図 11 Motile Cells、1 週間の推移 (p<0.05)

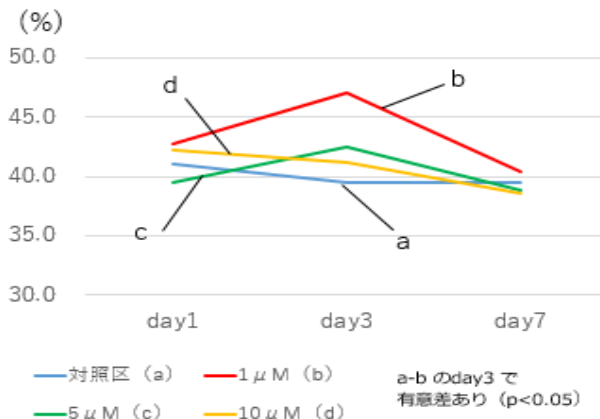


図 12 Progressive Cells、1 週間の推移 (p<0.05)

考察

本試験では、5-ALA を種雄豚に経口投与した精液活力と、採取した精液に 5-ALA を直接添加した場合の精子活力の影響を検討した。

経口投与試験では、5-ALA を経口投与した場合の精子活力の効果は見られなかった。5-ALA は、経口摂取により、細胞内のミトコンドリアを活性化し、エネルギー産生を促し、代謝を促進させると考えられている<sup>3)</sup>。5-ALA は、生殖器に直接作用するのではなく、ミトコンドリアのエネルギー代謝を通じて、身体の代謝を促進させた結果、活力のある精子が産生される。しかしながら種雄豚の精子活力が得られなかった要因として、精液量に関連が疑われる。ウシやヒトの精液量は少量であるのに対し、ブタは、150ml から 200ml と多量である。<sup>6)</sup>経口投与でブタの精子活力を向上させる場合、ブタの精液量に対する 5-ALA 投与量を検討したうえで、本試験で給与した期間よりさらに長い期間 5-ALA を給与することが必要と推察された。

直接添加試験の結果より 5-ALA は、既報<sup>4)</sup>どおり精子の動きを促進する可能性があることが示唆された。

以上の結果から、ブタでは精液に 5-ALA を添加した場合、精液活力改善が示唆された。だが、5-ALA を直接添加した際の母豚への安全性と受胎への影響の有無について不明である。今後は、ブタの 5-ALA を添加した際の精液または母豚への安全性と精子の運動性の活力向上が、受精率に結び付くかどうかを調査する必要があると考えられる。

参考文献

- 1) 河原崎達雄・片岡岳志 2019 年 9 月、日本におけるブタ人工授精技術に関する実態調査、日豚会誌、56 巻、p106-p118
- 2) 吉本 正、1995-06-15、養豚場の夏場対策暑熱環境が豚の生産性に及ぼす影響とその対策 日本養豚学会誌 32 巻 2 号 p128-135
- 3) Fumiko Higashikawa, Keishi Kanno, Akiko Ogata& Masanori Sugiyama (2020) Reduction of fatigue and anger-hostility by the oral administration of 5-aminolevulinic acid phosphate: arandomized, double-blind, placebo-controlled, parallel study Scientific

Reports volume 10, Article number:16004 p1-8

- 4) Shin Taniguchi, Zhendong Zhu, Mei Matsuzaki, Masaoki Tsudzuki, Teruo Maeda, 2021, 12, 5-Aminolevulinic acid improves chicken sperm motility, ANIMAL BIOSCIENCE, p1912-1920
- 5) 濱田雄行、2017年10月01日、造精機能障害を有する男性不妊における5-アミノレブリン酸(5-Amino Levulinic Acid、ALA)の精液所見改善効果、日本生殖医学会雑誌(Journal of Japan Society for Reproductive Medicine)62巻4号 p370
- 6) 丹波 太左衛門、梶田 精一、西川 義正、吉川 善三郎、最新・家畜の人工授精、1974-10-15、p243-348 明文書房
- 7) 正木 淳二(農林省畜産試験場)、1967年、精子の一生 5巻 11号 p647-654