

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年9月24日(24.09.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/189746 A1

(51) 国際特許分類:
A23K 20/153 (2016.01) A23K 50/60 (2016.01)
A23K 50/30 (2016.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2020/012178

(22) 国際出願日: 2020年3月19日(19.03.2020)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2019-050602 2019年3月19日(19.03.2019) JP

(71) 出願人: 日本製紙株式会社 (NIPPON PAPER INDUSTRIES CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1140002 東京都北区王子1丁目4番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 橋本 唯史 (HASHIMOTO, Tadafumi); 〒1140002 東京都北区王子5丁目2番1号 日本製紙株式会社内 Tokyo (JP). 佐々木次郎 (SASAKI, Jiro); 〒1140002 東京都北区王子5丁目2番1号 日本製紙株式会社内 Tokyo (JP). 把田 雅彦 (TABATA, Masahiko); 〒1140002 東京都北区王子5丁目2番1号 日本製紙株式会社内 Tokyo (JP). 浜田 真治 (HAMADA, Shinji); 〒1140002 東京都北区王子5丁目2番1号 日本製紙株式会社内 Tokyo (JP). 中村 恭之 (NAKAMURA, Yasuyuki); 〒1140002 東京都北区王子5丁目2番1号 日本製紙株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 寺崎 直 (TERASAKI, Tadashi); 〒1010054 東京都千代田区神田錦町3-16-11 エルヴァージュ神田錦町2階 調和トラスト国際特許事務所内 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: FEED ADDITIVE, PIG FEED, AND PIG PRODUCTION METHOD

(54) 発明の名称: 飼料添加剤、豚用飼料および豚の生産方法

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing a feed additive, feed, and a pig production method that can contribute to the rearing of healthy pigs with as little reliance on chemicals, such as antibiotics and vaccines, as possible. According to the present invention, a nucleic acid ingredient is used as an immunoactive feed additive for pigs. A pig feed is made by adding the feed additive to principal feed that includes plant-based feed and/or animal-based feed. The feed additive is added such that the ratio of the weight of the nucleic acid ingredient to the weight of the principal feed is 0.01%–5.00% (W/W).

(57) 要約: 抗生物質やワクチンなどの薬剤にできるだけ依存することなく、健康な豚の飼育に寄与することができる飼料添加剤、飼料および豚の生産方法を提供することを課題とする。核酸成分を豚の免疫活性用の飼料添加剤とする。また、当該飼料添加剤を植物性飼料および/または動物性飼料を含む主飼料と混合して豚用飼料とする。当該飼料添加剤は、主飼料の重量に対する前記核酸成分の重量の比率が0.01～5.00% (W/W) となるように配合される。

WO 2020/189746 A1

明 細 書

発明の名称：飼料添加剤、豚用飼料および豚の生産方法

技術分野

[0001] 本発明は、豚の飼育に適した飼料添加剤および飼料、ならびにこれらを用いた豚の生産方法に関する。

背景技術

[0002] 一般的に、豚用の飼料としては、いわゆる配合飼料が用いられている。配合飼料は、豚の生育を促進し、且つ、健康な豚を飼育するために、さまざまな成分が工夫されて配合されている。

[0003] 養豚を含む畜産業では、病気を防ぐ観点から、抗生物質などの薬剤を投与することが知られている。しかし、抗生物質は養豚用としては高価なものが多く、生産コストを上昇させる一因となる。また、抗生物質は、使用を継続するうちにウイルスや菌などが薬剤耐性を獲得して効果が失われる可能性がある。さらに、人の食品となる豚に対し抗生物質を飼料に配合して大量に摂取させることについては、人に対する影響について懸念の声もある。

[0004] 感染症等の予防のためワクチンを接種することもある。しかし、ワクチンもまた養豚用としては高価なものが多く、しかも接種には多大な労力がかかる。さらにワクチンは、菌株の違いなどによって、効果がないか効果が乏しい場合がある。

[0005] 以上のように、病害対策として抗生物質やワクチンなどの薬剤利用がなされており、一定の有用性はあるものの、このような薬剤にできるだけ依存しないようにすることが求められている。

[0006] 抗生物質やワクチンにできるだけ依存せずに病気を予防するための他の手段が提案されている。例えば、ラクトバチルス・カゼイの菌体を有効成分とする養豚飼料用補助剤を飼料に配合することが提案されている（例えば、特許文献1）。また、所定の中鎖脂肪酸を細胞性免疫活性化剤として豚用飼料に配合することが提案されている（例えば、特許文献2）。

[0007] また、飼料効率を向上させるために、家畜に核酸を投与することが提案されている（例えば、特許文献3）。飼料効率の改善により、体重増加などの効果を得ることができる。

[0008] 以上のように、病気の予防や飼料効率の向上などの観点から豚用の飼料に様々な成分を配合することが試みられてきた。しかしながら、豚において、核酸の給与と免疫性との関係については明らかになっていなかった。

先行技術文献

特許文献

[0009] 特許文献1：特開2000-287626号公報

特許文献2：特開2001-190230号公報

特許文献3：特開2001-190230号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0010] 以上のような状況に鑑み、本発明は、抗生物質やワクチンなどの薬剤にできるだけ依存することなく、健康な豚の飼育に寄与することができる飼料添加剤、飼料および豚の生産方法を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明者等は、鋭意研究の結果、下記的手段によって上記課題を解決できることを見出し、本願発明を完成させるに至った。

〔1〕核酸成分を含む、豚の免疫活性化用の飼料添加剤。

〔2〕前記核酸成分が、リボ核酸および／またはヌクレオチドを含む、上記〔1〕に記載の飼料添加剤。

〔3〕植物性飼料および／または動物性飼料を含む主飼料と、上記〔1〕または〔2〕に記載の飼料添加剤とを含む、豚用飼料であって、

当該豚用飼料中、前記飼料添加剤に由来する核酸成分は、前記主飼料に対する前記核酸成分の重量比率が0.01～5.00%（W／W）となるように配合されている、豚用飼料。

〔４〕豚の免疫活性化用である、上記〔３〕に記載の飼料。

〔５〕離乳後の豚に給与用である、上記〔３〕または〔４〕に記載の飼料。

〔６〕植物性飼料および／または動物性飼料を含む主飼料と、上記〔１〕または〔２〕に記載の飼料添加剤とを併用して給与する豚の生産方法であって、給与される前記主飼料に対する前記飼料添加剤に由来する核酸成分の重量比率が０．０１～５．００％（Ｗ／Ｗ）となるように前記飼料添加剤を給与する、豚の生産方法。

〔７〕離乳期またはそれ以後の豚に、前記飼料添加剤を給与する、上記〔６〕に記載の豚の生産方法。

発明の効果

[0012] 本発明によれば、簡便に豚の免疫を活性化し、健康な豚の飼育に寄与することができる。

発明を実施するための形態

[0013] 以下、本発明の実施形態について説明する。なお、特に断りない限り、数値範囲について「ＡＡ～ＢＢ」という記載は、「ＡＡ以上、ＢＢ以下」であることを示す（ここで、「ＡＡ」および「ＢＢ」は任意の数値を示す）。また、下限および上限の単位は、特に断りない限り、後者（すなわち、ここでは「ＢＢ」）の直後に付された単位と同じである。

[0014] １．飼料添加剤

本発明の飼料添加剤は、核酸成分を有効成分として含む。本発明の飼料添加剤に含まれる核酸成分は、核酸またはその構成単位であるヌクレオチドでありうる。核酸成分を構成する糖の種類は、デオキシリボースおよびリボースのいずれでもよい。すなわち、核酸成分はデオキシリボ核酸（ＤＮＡ）およびリボ核酸（ＲＮＡ）のいずれでもよい。核酸成分を構成する塩基の種類としては、主にアデニン、グアニン、チミン、シトシン、ウラシルが挙げられ、すなわち核酸成分を構成するヌクレオシドの種類としては、アデノシン、グアノシン、シチジン、ウリジン、チミジン、が挙げられる。ヌクレオチドを構成するリン酸は、一リン酸であっても、複数のリン酸で構成されてい

てもよい。核酸成分として、市販品を用いてもよい。核酸成分は、1種を単独で配合してもよいし、複数種を混合して配合してもよい。核酸成分としては、好ましくは、リボ核酸およびヌクレオチドを用いる。リボ核酸およびヌクレオチドは、いずれか一方を単独で用いてもよいし、双方を用いてもよい。

[0015] 核酸成分の由来は特に制限はなく、人工合成したものでもよいし、天然物由来のものであってもよい。例えば、酵母などの微生物から抽出または精製したものを用いてもよい。このように合成、抽出または精製した核酸成分は、豚が摂食した際に、吸収されやすい形態とすることができる。廃材とされた生物資源、例えば廃材とされた木材に含まれる木質糖分を用いて酵母などの微生物を増殖し、核酸成分を得て、本発明の飼料添加物として配合して用いることにより、廃材とされていたものを有用物質に転換することができ、持続可能な循環型社会の形成に寄与することができる。

[0016] 飼料添加剤は、一般に添加剤として採用される形態でありうる。飼料添加剤の形態としては、例えば、粉体、顆粒、マッシュ、ペレット、クランブル、およびフレークなどが挙げられる。飼料添加剤の形態は、単一形態であってもよいし、上記のような形態のうちの2つ以上の形態のものの混合形態、例えば、ペレットとフレークの混合物、マッシュとペレットの混合物など、としてもよい。本発明の飼料添加剤には、必要に応じ任意成分として、水分、油分、pH調整剤、酸化防止剤、防腐剤、色材、香料、賦形剤、ビタミン類、ホルモン類、アミノ酸類、抗生物質、抗菌剤などを配合してもよい。

[0017] 2. 飼料

本発明の豚用飼料は、植物性飼料および／または動物性飼料を含む主飼料と、上記本発明の飼料添加剤とを含む。飼料添加剤は、当該飼料添加剤に由来する核酸成分の主飼料に対する重量比率が0.01～5.00% (W/W) となるように、豚用飼料中に配合される。

[0018] 主飼料は、植物性飼料および／または動物性飼料を含む。植物性飼料は、植物由来の飼料であり、例えば、トウモロコシ、マイロ、大麦、小麦、キャ

ツサバ、米ぬか、ふすま、大豆かす、菜種かす、米、米ぬか、およびビート、並びにこれらの加工品などが挙げられる。また、動物性飼料は、動物由来の飼料であり、例えば、魚粉、ポークミール、チキンミール、脱脂粉乳、および濃縮ホエーなどが挙げられる。これらは一種を単独で用いてもよいし、混合して用いてもよい。

[0019] 本発明の豚用飼料または主飼料は、植物性飼料および動物性飼料の他に、例えば炭酸カルシウムなどの無機成分を含んでいてもよい。主飼料は、養豚用に一般に用いられている混合飼料、配合飼料、または粗飼料などを用いてもよい。また、本発明の豚用飼料または主飼料には、必要に応じ任意成分として、水分、油分、pH調整剤、酸化防止剤、防腐剤、色材、香料、賦形剤、ビタミン類、ホルモン類、アミノ酸類、抗生物質、抗菌剤などを配合してもよい。

[0020] 飼料添加剤により添加される核酸成分の下限量は、主飼料に対する重量比率として、少なくとも0.01% (W/W) 以上であり、好ましくは0.03% (W/W) 以上であり、より好ましくは0.04% (W/W) 以上であり、さらに好ましくは0.05% (W/W) 以上である。飼料添加剤により添加される核酸成分の上限量は、主飼料に対する重量比率として、高々5.00% (W/W) であり、好ましくは3.00% (W/W) 以下であり、より好ましくは2.00% (W/W) 以下であり、さらに好ましくは1.00% (W/W) 以下である。このような下限より少ない場合には、飼料添加剤を添加した効果が現れにくい。他方、このような上限を超えると、かえって炎症反応を活性化させすぎる可能性があり、体重の増加や小腸絨毛高さなどについて、好ましくない影響がでることがありうる。

[0021] 本発明の豚用飼料は、豚の免疫活性化用の飼料添加剤を配合するため、豚の免疫活性化用の飼料としてもよい。本発明の豚用飼料によれば、飼料を与えるという豚の飼育において必須の工程を行うことに伴って、簡便に豚の免疫を活性化することができ、健康な豚の飼育に寄与することができる。また、このような手法によって豚の免疫を活性化できるため、抗生物質やワクチ

ンに頼る必要性を低減または不要にすることができる。

[0022] 本発明の豚用飼料の給与は豚の成育段階のどの段階でも行いうるが、好ましくは、離乳期またはそれ以後の豚に給与される。本発明の豚用飼料は、全身性の免疫を効果的に活性化しうると考えられる。一般に、離乳直後の豚は、肺炎などの全身性の細菌性疾患に罹ることは希であり、もっぱら腸管感染症に罹患することが多い。したがって、本発明の豚用飼料は、全身性の疾患に罹りやすくなる離乳後期から給与し始めることが好ましい。

[0023] 3. 豚の生産方法

本発明の他の一実施形態として、上記本発明の飼料添加剤を用いた豚の生産方法が提供される。

[0024] 本発明の豚の生産方法では、植物性飼料および／または動物性飼料を含む主飼料と、核酸成分を含む飼料添加剤とを併用して給与する。ここで、「併用」との用語は、（１）飼料添加剤と主飼料とを別々に給与する形態と、（２）飼料添加剤と主飼料とを混合し、混合肥料（または配合肥料）として給与する形態の双方を含む意味で用いる。飼料添加剤と主飼料とを別々に用いる場合において、それぞれを給与するタイミングは、同じであってもよいし、異なってもよい。

[0025] 飼料添加剤は、給与される主飼料に対する核酸成分の重量比率として、総じて、0.01～5.00%（W／W）となるように給与される。好ましくは、1日の中での給与、より好ましくは毎回の給与において、当該比率で給与する。

[0026] 主飼料の重量に対する核酸成分の重量の好ましい比率については、上記本発明の豚用飼料にて説明した数値と同様である。また、本発明の豚の生産方法は、上記本発明の豚用飼料のところで説明したのと同様に、離乳期またはそれ以後の豚に対して好適である。

実施例

[0027] 以下に実施例を挙げて本発明について具体的に説明するが、本発明の技術的範囲が下記の実施例に限定されるものではない。

[0028] 核酸成分を離乳期の仔豚へ投与して、免疫活性効果について検討を行うために、以下の実験を行った。

[0029] < 1. 供試動物 >

一般的な一貫経営農場で飼育されている交雑種仔豚（21日齢）、12頭（雌雄各6頭）を供試動物として用いた。

[0030] < 2. 基礎飼料、添加飼料、および核酸成分 >

基礎飼料として、SDS No. 1（フィード・ワン社製）を用いた。

基礎飼料に所定量の核酸成分を配合して、添加飼料を用意した。基礎飼料に添加するRNAとして、酵母由来の核酸であるRNA-M（日本製紙社製）を用いた。基礎飼料に添加するヌクレオチドとして、酵母由来の核酸であるNPC ヌクレオチド（日本製紙社製）を用いた。

[0031] < 3. 試験群 >

上記供試動物を、以下の1群から3群に分けて、試験に供試した。

1群：被験物質無給与の対照群、

2群：RNA-M 0.1%添加飼料給与群

3群：ヌクレオチド 0.1%添加飼料給与群

計：3群×4頭

[0032] < 4. 飼育 >

養豚場で飼育されている健康な1腹の母豚から、健康な哺乳期の21日齢仔豚を6頭選抜した。導入時に体重測定を行い、体重及び性別が均一になるように配慮して、上述のように、2頭ずつ3群に群分けした。実験施設内に個体毎に飼育できる代謝ケージを設置し、その中に1頭ずつ収容して個体管理を行った。保温灯で温度管理した。導入時（試験開始後0日）から剖検時（試験開始後7日）まで各群所定の飼料を給餌した。飼料及び飲水は試験期間を通して自由摂取とした。

[0033] 観察期間は試験開始後0から7日までとした。試験期間中は毎日臨床的な観察（元気、食欲、姿勢、下痢、死亡）及び飼料摂取量測定を行った。試験開始後0及び7日に体重を測定した。上記飼育終了後に、再度仔豚を6頭、

同条件で導入し、反復試験を行った。

[0034] <5. 剖検>

剖検直前に頸静脈から全頭採血を行った。

[0035] ペントバルビタールを過剰量注射後、開腹し、腹部大静脈からヘパリン血を採取した。その後、放血致死させた。開腹後、各臓器及び組織の異常を肉眼的に観察した。回腸、盲腸及び直腸内容物を採取した。肺、腎臓、肝臓、脾臓、腸間膜リンパ節及びその他異常部位を採取して10%中性緩衝ホルマリンで固定した。また、小腸、肺洗浄液及び脾臓はRNA-laterに浸漬し、凍結保存した。

[0036] <6. 肺胞マクロファージ活性化>

剖検時に肺胞洗浄液を採取した。採取後、即下記の操作を実施し、マクロファージ貪食活性について検討を行った。肺胞洗浄液中の生細胞数を 1×10^6 個/mLとなるように24穴プレートに播種した。同様にFITCラベルした*A. preuropneumoniae*培養後加熱死菌体または*S. Choleraesuis*培養後加熱死菌体を終濃度で $200 \mu\text{g/mL}$ 添加した。添加しないBlank区も設けた。培養は3反復で実施した。5%CO₂インキュベーター内で4時間培養後、FITCラベルした病原菌を貪食したマクロファージ数をフローサイトメーターで計測した。

[0037] <7. イムノグロブリン濃度の測定>

剖検時の回腸および盲腸内容物中の総IgA濃度をELISAで測定した。剖検時血漿中の総IgG濃度をELISAで測定した。分析はOgawa et al. (2014)に準拠して行った。

[0038] <8. 成熟リンパ球の割合>

剖検時に採取した血液及び一部の脾臓は、即下記の操作を実施した。

赤血球をACK lysing bufferを用いて除去し、HBSSで2回洗浄後、RPMI 1640培地に細胞を懸濁し、単位当たりの細胞数をカウントし、記録した（血液なら1mL中、脾臓なら1g中）。適宜希釈後、CD3、CD4、CD8、CD21抗体で染色し、各抗体の陽性細胞

数を速やかにBD Accuri™ C6 フローサイトメーターで解析した。CD3+CD4+CD8+陽性細胞割合が多いと、成熟したTリンパ球が多いと判断できる。CD21陽性細胞割合でB細胞割合が判る。

[0039] 剖検時血液中の肺胞マクロファージ活性、総IgA濃度および総IgG濃度についての測定結果を表1に示す。血液における白血球、リンパ球およびリンパ球表面マーカーについての測定結果を表2-1～2-3に示す。脾細胞における白血球、リンパ球およびリンパ球表面マーカーについての測定結果を表3-1～3-3に示す。

[0040]

[表2-1]

表 2 - 1 (血液) 白血球数、白血球中リンパ球割合、血中リンパ球数

試験群	個体 番号	血中白血球数 ($\times 10^6$ cells/mL)	白血球中 リンパ球割合 (%)	血中リンパ球数 ($\times 10^6$ cells/mL)
1群	3	34.8	24.0	8.4
	6	20.2	26.2	5.3
	9	5.4	32.3	1.7
	12	5.3	6.1	0.3
	平均	16.4	22.2	3.9
	標準誤差	7.1	5.6	1.8
2群	2	39.6	28.2	11.2
	5	25.7	8.4	2.2
	8	8.3	46.8	3.9
	11	6.6	21.1	1.4
	平均	20.0	26.1	4.6
	標準誤差	7.8	8.0	2.2
3群	1	37.9	11.4	4.3
	4	27.3	22.7	6.2
	7	4.3	33.7	1.5
	10	7.3	13.6	1.0
	平均	19.2	20.3	3.2
	標準誤差	8.0	5.1	1.2

[0042]

[表2-2]

表 2 - 2 (血液) リンパ球中の各細胞割合

試験群	個体 番号	リンパ球中の各細胞割合 (%)				
		CD3+CD4-CD8-	CD3+CD4+CD8-	CD3+CD4-CD8+	CD3+CD4+CD8+	CD21+
1群	3	29.6	8.6	4.1	1.3	17.7
	6	24.9	4.2	3.5	0.6	26.5
	9	3.4	0.4	1.7	2.3	9.7
	12	9.7	0.2	3.9	4.8	18.7
	平均	16.9	3.3	3.3	2.2	18.2
	標準誤差	6.2	2.0	0.6	0.9	3.4
2群	2	18.1	6.4	8.3	1.1	39.4
	5	36.2	9.2	7.0	2.2	26.0
	8	1.1	0.0	3.7	8.9	18.8
	11	12.5	0.3	29.1	47.0	91.4
	平均	17.0	4.0	12.0	14.8	43.9
	標準誤差	7.3	2.3	5.8	10.9	16.4
3群	1	41.0	13.4	6.9	2.7	28.2
	4	50.8	14.5	6.4	1.9	20.3
	7	1.0	0.7	3.2	17.6	26.7
	10	11.4	4.3	25.4	38.3	76.4
	平均	26.0	8.2	10.5	15.1	37.9
	標準誤差	11.8	3.4	5.0	8.5	12.9

[0043]

[表2-3]

表 2 - 3 (血液) 血液中のリンパ球数

試験群	個体 番号	リンパ球数 ($\times 10^6$ cells/mL)			
		CD3+CD4+CD8-	CD3+CD4-CD8+	CD3+CD4+CD8+	CD21+
1群	3	0.72	0.34	0.11	1.48
	6	0.22	0.19	0.03	1.40
	9	0.01	0.03	0.04	0.17
	12	0.00	0.01	0.02	0.06
	平均	0.24	0.14	0.05	0.78
	標準誤差	0.17	0.08	0.02	0.38
2群	2	0.72	0.93	0.12	4.41
	5	0.20	0.15	0.05	0.56
	8	0.00	0.14	0.35	0.73
	11	0.00	0.40	0.65	1.27
	平均	0.23	0.41	0.29	1.74
	標準誤差	0.17	0.18	0.14	0.90
3群	1	0.58	0.30	0.12	1.22
	4	0.89	0.40	0.11	1.25
	7	0.01	0.05	0.26	0.39
	10	0.04	0.25	0.38	0.76
	平均	0.38	0.25	0.22	0.91
	標準誤差	0.22	0.07	0.06	0.20

[0044]

[表3-1]

表 3 - 1 (脾細胞) 細胞数、白血球中リンパ球割合、白血球中リンパ球数

試験群	個体 番号	脾臓 1g 中細胞数 ($\times 10^6$ cells/g)	白血球中 リンパ球割合 (%)	白血球中リンパ球数 ($\times 10^6$ cells/mL)
1群	3	2.9	21.3	0.6
	6	6.0	29.4	1.8
	9	5.1	3.1	0.2
	12	8.7	5.4	0.5
	平均	5.7	14.8	0.8
	標準誤差	1.2	6.3	0.4
2群	2	7.1	26.9	1.9
	5	2.9	20.2	0.6
	8	5.8	20.4	1.2
	11	11.1	20.9	2.3
	平均	6.7	22.1	1.5
	標準誤差	1.7	1.6	0.4
3群	1	6.6	28.0	1.9
	4	3.1	19.0	0.6
	7	8.1	15.4	1.2
	10	7.2	14.5	1.0
	平均	6.2	19.2	1.2
	標準誤差	1.1	3.1	0.3

[0045]

[表3-2]

表 3 - 2 (脾細胞) リンパ球中の各細胞割合

試験群	個体 番号	リンパ球中の各細胞割合 (%)				
		CD3+CD4-CD8-	CD3+CD4+CD8-	CD3+CD4-CD8+	CD3+CD4+CD8+	CD21+
1群	3	16.5	2.9	11.1	3.9	34.4
	6	11.7	3.8	11.8	5.9	52.9
	9	10.7	8.7	9.1	39.2	57.6
	12	19.1	6.4	13.6	57.0	94.6
	平均	14.5	5.5	11.4	26.5	59.9
	標準誤差	2.0	1.3	0.9	13.0	12.6
2群	2	10.5	1.5	12.3	2.8	42.5
	5	18.1	4.1	10.9	4.8	32.9
	8	10.9	4.5	19.0	64.1	99.3
	11	21.7	2.2	13.5	53.1	92.8
	平均	15.3	3.1	13.9	31.2	66.9
	標準誤差	2.8	0.7	1.8	16.0	17.0
3群	1	23.6	7.3	17.3	5.3	48.0
	4	15.3	4.2	16.5	5.4	49.3
	7	11.5	3.0	15.5	67.4	97.6
	10	7.1	2.8	9.5	78.2	95.8
	平均	14.4	4.3	14.7	39.1	72.7
	標準誤差	3.5	1.0	1.8	19.6	13.9

[0046]

[表3-3]

表 3 - 3 (脾細胞) 脾臓中のリンパ球数

試験群	個体 番号	脾臓中リンパ球数 ($\times 10^6$ cells/g)			
		CD3+CD4+CD8-	CD3+CD4-CD8+	CD3+CD4+CD8+	CD21+
1群	3	0.02	0.07	0.02	0.21
	6	0.07	0.21	0.10	0.93
	9	0.01	0.01	0.06	0.09
	12	0.03	0.06	0.26	0.44
	平均	0.03	0.09	0.11	0.42
	標準誤差	0.01	0.04	0.05	0.19
2群	2	0.03	0.23	0.05	0.81
	5	0.02	0.06	0.03	0.19
	8	0.05	0.22	0.76	1.17
	11	0.05	0.31	1.23	2.15
	平均	0.04	0.21	0.52	1.08
	標準誤差	0.01	0.05	0.29	0.41
3群	1	0.13	0.32	0.10	0.89
	4	0.02	0.10	0.03	0.29
	7	0.04	0.19	0.84	1.22
	10	0.03	0.10	0.81	0.99
	平均	0.06	0.18	0.45	0.85
	標準誤差	0.03	0.05	0.22	0.20

[0047] <9. 結果>

表1に示されるように、肺胞マクロファージの貪食能は、RNAまたはヌクレオチドを給与することで活性化する傾向が認められた。また、血漿中の総IgG濃度もRNAまたはヌクレオチドを給与することで生産亢進する傾向が認められた。表2-1～表2-3、および表3-1～表3-3に示されるように、血液中及び脾臓中のリンパ球でも、成熟Tリンパ球の指標であるCD3+CD4+CD8+細胞数がRNAまたはヌクレオチドを給与することで高値化しており、またB細胞の指標であるCD21+細胞数も高値化する傾向を示した。

請求の範囲

- [請求項1] 核酸成分を含む、豚の免疫活性化用の飼料添加剤。
- [請求項2] 前記核酸成分が、リボ核酸および／またはヌクレオチドを含む、請求項1に記載の飼料添加剤。
- [請求項3] 植物性飼料および／または動物性飼料を含む主飼料と、請求項1または2に記載の飼料添加剤とを含む、豚用飼料であって、
当該豚用飼料中、前記飼料添加剤に由来する核酸成分は、前記主飼料に対する前記核酸成分の重量比率が0.01～5.00%（W／W）となるように配合されている、豚用飼料。
- [請求項4] 豚の免疫活性化用である、請求項3に記載の飼料。
- [請求項5] 離乳後の豚に給与用である、請求項3または4に記載の飼料。
- [請求項6] 植物性飼料および／または動物性飼料を含む主飼料と、請求項1または2に記載の飼料添加剤とを併用して給与する豚の生産方法であって、給与される前記主飼料に対する前記飼料添加剤に由来する核酸成分の重量比率が0.01～5.00%（W／W）となるように前記飼料添加剤を給与する、豚の生産方法。
- [請求項7] 離乳期またはそれ以後の豚に、前記飼料添加剤を給与する、請求項6に記載の豚の生産方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/012178

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23K 20/153 (2016.01) i; A23K 50/30 (2016.01) i; A23K 50/60 (2016.01) i
FI: A23K20/ 153; A23K50/30; A23K50/60

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23K20/153; A23K50/30; A23K50/60

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2020
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 43-14388 B1 (TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED) 18.06.1968 (1968-06-18) pp. 1-3	1-7
X	JP 2002-45122 A (AJINOMOTO CO., INC.) 12.02.2002 (2002-02-12) paragraphs [0017]-[0030]	1-7
X	JP 2001-340055 A (NIPPON PAPER INDUSTRIES CO., LTD.) 11.12.2001 (2001-12-11) paragraphs [0022]-[0039]	1-7
X	JP 7-184595 A (NIPPON PAPER INDUSTRIES CO., LTD.) 25.07.1995 (1995-07-25) paragraphs [0011]-[0018]	1-7



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

01 April 2020 (01.04.2020)

Date of mailing of the international search report

21 April 2020 (21.04.2020)

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2020/012178

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 43-14388 B1	18 Jun. 1968	(Family: none)	
JP 2002-45122 A	12 Feb. 2002	US 2002/0004096 A1 paragraphs [0032]- [0042] EP 1157616 A1 CN 1325633 A	
JP 2001-340055 A	11 Dec. 2001	(Family: none)	
JP 7-184595 A	25 Jul. 1995	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A23K 20/153(2016.01)i; A23K 50/30(2016.01)i; A23K 50/60(2016.01)i FI: A23K20/153; A23K50/30; A23K50/60														
B. 調査を行った分野														
調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A23K20/153; A23K50/30; A23K50/60														
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの														
<table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922 - 1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971 - 2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996 - 2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994 - 2020年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922 - 1996年	日本国公開実用新案公報	1971 - 2020年	日本国実用新案登録公報	1996 - 2020年	日本国登録実用新案公報	1994 - 2020年				
日本国実用新案公報	1922 - 1996年													
日本国公開実用新案公報	1971 - 2020年													
日本国実用新案登録公報	1996 - 2020年													
日本国登録実用新案公報	1994 - 2020年													
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）														
C. 関連すると認められる文献														
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号												
X	JP 43-14388 B1（武田薬品工業株式会社）18.06.1968（1968 - 06 - 18） 1-3頁	1-7												
X	JP 2002-45122 A（味の素株式会社）12.02.2002（2002 - 02 - 12） [0017]-[0030]	1-7												
X	JP 2001-340055 A（日本製紙株式会社）11.12.2001（2001 - 12 - 11） [0022]-[0039]	1-7												
X	JP 7-184595 A（日本製紙株式会社）25.07.1995（1995 - 07 - 25） [0011]-[0018]	1-7												
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</td> </tr> <tr> <td>“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</td> <td>“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</td> <td>“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</td> <td>“&” 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの	“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの	“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	“&” 同一パテントファミリー文献	“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	
* 引用文献のカテゴリー	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの													
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの													
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの													
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	“&” 同一パテントファミリー文献													
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献														
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献														
国際調査を完了した日 01.04.2020	国際調査報告の発送日 21.04.2020													
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 田辺 義拓 2B 5713 電話番号 03-3581-1101 内線 3237													

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2020/012178

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP	43-14388	B1	18.06.1968	(ファミリーなし)	
JP	2002-45122	A	12.02.2002	US 2002/0004096 A1	
				[0032]-[0042]	
				EP 1157616 A1	
				CN 1325633 A	
JP	2001-340055	A	11.12.2001	(ファミリーなし)	
JP	7-184595	A	25.07.1995	(ファミリーなし)	