

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：30109

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05941

研究課題名(和文) 異常胸肉の抑制に寄与する鶏の血流改善飼料の開発

研究課題名(英文) Research on blood flow improvement feed with suppressive effect on Wooden Breast Syndrome in broilers

研究代表者

渡邊 敬文 (Watanabe, Takafumi)

酪農学園大学・獣医学群・准教授

研究者番号：50598216

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、ブロイラーの胸肉が異常な肥大とゴム状に硬化する「異常胸肉」の発生機序の解明と、正常胸肉の安定的な産出を目指した新たな鶏飼料の開発である。研究期間内に、異常胸肉の発症は胸肉の急速な発達による虚血に伴う酸化ストレスへの対応機構である生理的マイトファジーの破綻に起因した筋線維の崩壊と線維化から始まることを解明した。加えて、飼育初期の飼料中の蛋白質含有量と異常胸肉の発症率に負の相関があることを明らかにした。当初の目的である胸肉への血流改善と飼料の関連性の解明には至らなかったが、飼料の組成および投与時期を精査することで発症を抑制する飼育方法の開発に発展させる成果を得ることが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2015年頃から世界各国の養鶏業界での重要案件となり、現時点でも有効な解決策の提案に至っていないブロイラーの「異常胸肉」の発症は胸肉の生理的マイトファジーの破綻から始まることを本研究により世界で最初に解明した。この成果は酸化ストレスを中心に解析を進めている世界中の研究グループに新たな視点を加えることとなり、今後は生理的マイトファジーを制御する飼育方法および飼料開発に各国の研究グループが取り組むことを期待する。申請者は飼料中の蛋白質含有量に解決の糸口があることも本研究成果として提案している。これらの成果は投薬に頼らない良質なブロイラーの胸肉の安定的な産出の応用研究へ繋がることを強く期待している。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to elucidate the mechanism of development of "wooden breast syndrome (WBS)" which is abnormal enlargement and hardening of breast meat in broilers, and to develop a new diet for stable production of normal breast meat. The development of abnormal breast meat was attributed to the the collapse of myofibers and fibrosis due to the disruption of physiological mitophagy, which is a mechanism to respond to oxidative stress associated with ischemia caused by rapid breast meat development. Besides, we found that there was a negative correlation between the protein content of the diet in the early stages of rearing and the incidence of WBS. Although we were not able to elucidate the relationship between the diet and the improvement of blood flow to the breast meat, we obtained results that will lead to the development of rearing methods to suppress the onset of the disease by examining the composition of the diet and the timing of administration.

研究分野：獣医学

キーワード：ブロイラー 異常胸肉 酸化ストレス マイトファジー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

異常胸肉の発症は、急速に発達する胸肉への血流不足による酸化ストレスが原因であることは明らかにされていたが、筋組織が変性する機序については未解明であった。また、申請者は予備試験では骨格筋への血流を促進するホルモンである GLP-1 の血中濃度が異常胸肉を発症した鶏では低い傾向であることと、鶏の GLP-1 の分泌は飼料中の蛋白質により誘導されることを見出ししていた。

2. 研究の目的

ブロイラーの胸肉の血流改善は虚血を予防して異常胸肉の発症を抑制すると仮説を立て、給餌飼料による血流改善方法の開発を目的とした研究に着手した。初年度は仮説を検証するために、血中GLP-1濃度と、酸化ストレスおよび胸肉の変性について生化学およびミクロからマクロレベルでの形態学的手法により相関を解明することにした。次年度からは飼育中に給餌する飼料に着目し、飼料中の蛋白質含有量の違いが異常胸肉の発症率に与える影響を解析した。

3. 研究の方法

所属機関の付属農場でブロイラーを一般的な出荷日齢となる約 50 日齢まで飼育してから胸肉を採取し、以下の解析を行った。また、飼料中の蛋白質含量を充足させた飼料を給餌した群と、不足する飼料を給餌した群に分けて孵化後 12 日齢まで飼育し、13 日齢から 47 日齢までは同質の蛋白質含有量を充足させた飼料を給餌した 2 群の胸肉の解析も行った。

(1)酸化ストレスの解析

酸化ストレスマーカーは鶏の研究で多く用いられる脂質過酸化物質を指標とし、TBARSアッセイ法により生化学的に測定した。

(2) 鶏の血中GLP-1 濃度の解析

血中GLP-1濃度は定法に従いELISAキットを用いて測定した。

(3) 筋線維の変性および炎症反応の解析

q-PCR 法による筋線維の炎症と再生に関する遺伝子の定量解析

虚血に伴うミトコンドリアの変性に関する遺伝子、筋線維の炎症に伴う増加が報告されている筋再生因子および結合組織に関連する遺伝子の発現量をSYBR Green法によるq-PCRを用いて定量的に解析した。

光学顕微鏡および電子顕微鏡による筋線維の変性と炎症の定量解析

光学顕微鏡では、マッソントリクローム染色後に筋線維の変性と結合組織の増加を観察した(図1)。電子顕微鏡では、酸化ストレスの指標となるミトコンドリアの変化を観察した(図2)。取得した各画像はイメージングソフトにより定量的な評価を行った。

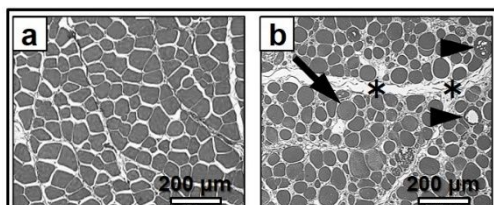


図 1. 正常胸肉(a)と異常胸肉(b)の光学顕微鏡像
異常胸肉では筋線維の膨潤(矢印), 空胞変性(矢頭), 結合組織の増生(アスタリスク)が観察される。

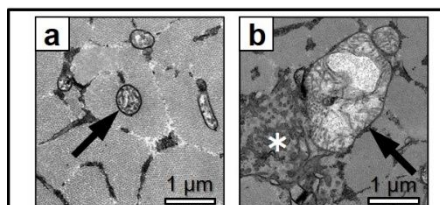


図 2. 正常胸肉(a)と異常胸肉(b)の透過電顕像
異常胸肉ではミトコンドリア(矢印)の膨化と筋原線維の崩壊(アスタリスク)を認める。

4. 研究成果

研究期間中に飼育した全ての鶏は、肉眼および形態学的に異常胸肉を発症した個体を筋線維の崩壊と線維化の程度に応じて各グレードに分類した。次に、種々の生化学的解析および遺伝子発現解析を行い、各グレードとの相関関係を解析したところ以下の成果を得た。

(1)仮説と相反する成果

血流改善の指標とした微小血管の血流を促進するホルモンである GLP-1 の血中濃度と筋線維の崩壊および線維化に相関関係は求められなかった。

GLP-1 濃度と相関関係は認めなかったが、飼料中の蛋白質含有量と異常胸肉の発症(筋線維の崩壊と線維化)には相関関係を認めた。具体的には、飼育初期の蛋白質含有量を充足させた飼料の給餌は異常胸肉の発症抑制効果を認めた。

(2)新規に見出された成果

ブロイラーの胸肉は異常胸肉の発症およびその程度に関わらず常に低酸素ストレスに晒されている。

低酸素ストレスによって傷害を受けるミトコンドリアの動態に関連する遺伝子の発現量と異常胸肉の重症化に負の相関関係を認めた。

異常を呈したミトコンドリアを選択的なオートファジー機構で除去する生理的マイトファジー

ーに関連する遺伝子と異常胸肉の重症化に負の相関関係を認めた。

生理的ミトファジーは筋線維の微小な空胞として認められるが、ミトファジー機能の低下した個体の筋線維は急速な空胞の大型化と崩壊が進む。

生理的ミトファジー機能の低下は筋線維の崩壊に加えて、筋芽細胞の分化による筋線維の再生に異常を起こす。

(3) 本研究に関連して解明した成果

異常胸肉は屠殺後の熟成過程を経ても重度の線維化により肉の硬化は解消されずに市場価値を減少させる。

異常胸肉中に加齢マーカーとして知られるリポフスチンの蓄積を検出し、その蓄積量は胸肉の硬さと高い相関性を示すことを明らかにした。

複数の海外の研究グループは、異常胸肉の発症原因は虚血と低酸素ストレスによって引き起こされると結論付け、低酸素ストレスを予防する飼養管理の研究を推進している。しかしながら、未だに有効な解決方法は見つかっていない。一方で、本研究では、現在のプロイラー品種は必ず低酸素ストレスに晒されていることを前提とする結論に至った。そして、低酸素ストレスによって傷害を受けたミトコンドリアを修復する生理的ミトファジーの機能不全が筋組織の基本構成単位となる筋線維の崩壊を引き起こすことを明らかにした(図3)。

本研究では、飼料中の蛋白質含有量と生理的ミトファジーの直接的な関連性を見出すまでには至らなかったが、適切な飼料管理は異常胸肉の発症を遅らせる可能性を強く示唆した。本研究の成果は生理的ミトファジーを制御する因子の探索を他の研究グループに提案するものであり、更には、生理的ミトファジーを制御する因子を飼料管理により制御する可能性をも含み持つ。本研究で得た異常胸肉の発症メカニズムを基盤情報として、今後は高蛋白質飼料の投与以外にも直接的かつ効率的な飼育方法が展開されることを期待している。

正常な胸肉の筋線維

低酸素ストレス



異常胸肉の筋線維

低酸素ストレス

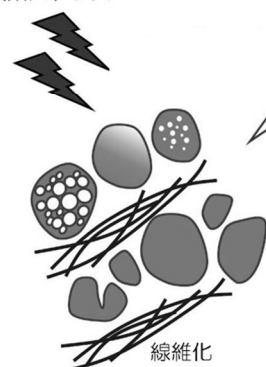
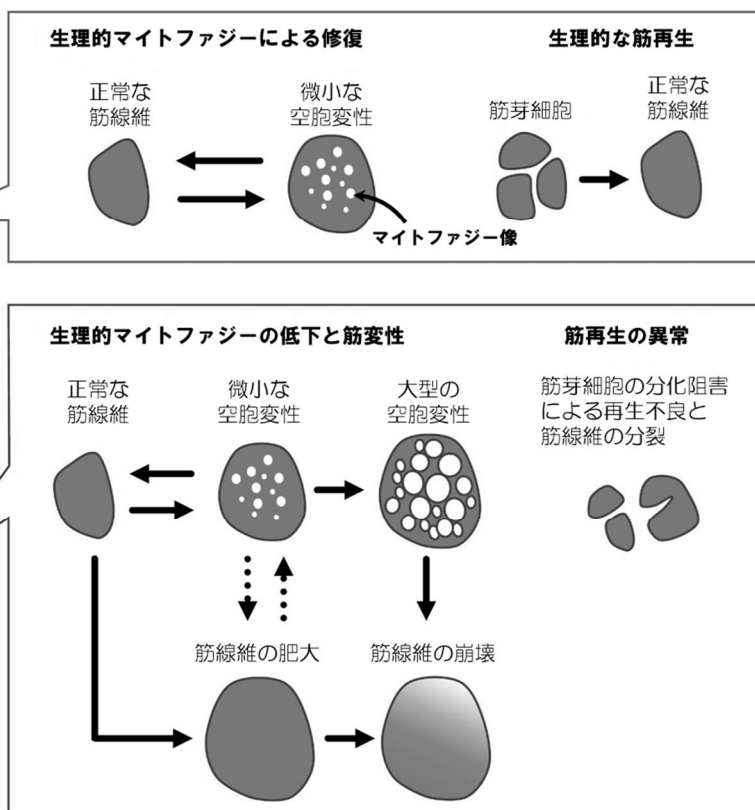


図3. *Frontiers in Physiology* より一部改変



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hasegawa Yasuhiro, Hara Takayuki, Kawasaki Takeshi, Yamada Michi, Watanabe Takafumi, Iwasaki Tomohito	4. 巻 315
2. 論文標題 Effect of wooden breast on postmortem changes in chicken meat	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 126285 ~ 126285
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.foodchem.2020.126285	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hosotani Marina, Kawasaki Takeshi, Hasegawa Yasuhiro, Wakasa Yui, Hoshino Maki, Takahashi Naoki, Ueda Hiromi, Takaya Tomohide, Iwasaki Tomohito, Watanabe Takafumi	4. 巻 11
2. 論文標題 Physiological and Pathological Mitochondrial Clearance Is Related to Pectoralis Major Muscle Pathogenesis in Broilers With Wooden Breast Syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphys.2020.00579	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Iwasaki Tomohito, Watanabe Takafumi, Hasegawa Yasuhiro, Hosotani Marina, Kawasaki Takeshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Nutrition During the Early Rearing Period Affects the Incidence of Wooden Breasts in Broilers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Poultry Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2141/jpsa.0200034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hasegawa Yasuhiro, Kawasaki Takeshi, Maeda Naoyuki, Yamada Michi, Takahashi Naoki, Watanabe Takafumi, Iwasaki Tomohito	4. 巻 92
2. 論文標題 Accumulation of lipofuscin in broiler chicken with wooden breast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/asj.13517	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 長谷川靖洋、沼田佳樹、森裕輔、渡邊敬文、山田未知、川崎武志、岩崎智仁
2. 発表標題 Wooden Breast 発現鶏のミトコンドリア性状
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第75回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊敬文、亀谷清和、大野伸彦、瀧本恭子、岩崎智仁、平松浩二
2. 発表標題 ニワトリの1型と2b型筋線維のミトコンドリアの3次元構造解析
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長谷川靖洋、渡邊敬文、川崎武志、山田未知、岩崎智仁
2. 発表標題 酸化ストレスによって生じるプロイラー異常硬化胸肉の性状
3. 学会等名 日本顕微鏡学会北海道支部学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮田悠生、沼田佳樹、森祐輔、長谷川靖洋、山田未知、渡邊敬文、川崎武志、岩崎智仁
2. 発表標題 異常硬化胸肉を発現したニワトリ骨格筋の観察
3. 学会等名 日本顕微鏡学会北海道支部学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩崎智仁, 穂積圭祐, 長谷川靖洋, 渡邊敬文, 山田未知, 川崎武志
2. 発表標題 ニワトリ異常硬化胸肉ミオシンの理化学特性
3. 学会等名 日本畜産学会第125回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷川靖洋, 森祐輔, 渡邊敬文, 山田未知, 川崎武志, 岩崎智仁
2. 発表標題 ブロイラー異常硬化胸肉におけるミトコンドリア異常
3. 学会等名 日本畜産学会第125回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 細谷実里奈, 川崎武志, 谷川靖洋, 若櫻祐衣, 星野真希, 高橋直紀, 植田弘美, 高谷智英, 岩崎智仁, 渡邊敬文
2. 発表標題 ブロイラーのWooden Breast発現を左右するミトコンドリアクリアランス機構
3. 学会等名 第1回日本獣医解剖アカデミア
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	岩崎 智仁 (Iwasaki Tomohito) (30305908)	酪農学園大学・農食環境学群・教授 (30109)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------