

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 19 日現在

機関番号：32669

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05954

研究課題名(和文) 肉用牛の枝肉形質、肉質等の制御因子の同定とその制御機構の解明

研究課題名(英文) Identification of regulatory factors on carcass characteristics and meat quality of beef cattle and elucidation of their regulatory mechanisms.

研究代表者

柴田 昌宏 (SHIBATA, Masahiro)

日本獣医生命科学大学・応用生命科学部・教授

研究者番号：60370631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では供試動物を産業動物である黒毛和種とし、肥育・枝肉成績に影響を及ぼす因子及び遺伝子等の探索、同定ならびにそれらの蓄積量及び発現解析を実施した。黒毛和種の枝肉、肉質及び骨格筋成長に関連する遺伝子発現に対する放牧後の飼料イネWCS給与及び肥育初期の乾草多給が及ぼす影響を調査した。乾草多給牛では、Myostatinの発現と増体重及び日増体重(DG)が関連していることが示唆された。MyostatinとAtrogin-1の発現から骨格筋の成長抑制が起こり、放牧牛のDG低下が見られたことが示唆された。血液及び筋内のビタミン含量は、保水性及び枝肉成績と相関を示し、これらの指標となることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昨今の飼料価格の高騰や持続可能な肉牛生産から、これまで行われてきた穀物多給肥育からこれに代わる肥育技術の開発が急務となっている。一方で、肥育技術の開発には膨大な期間を要するため、容易ではない。本研究で得られた成果を活用することで、肥育途中あるいは屠畜直後に肥育方法を検証することが可能となり、肥育技術の開発の加速化につながり、これは社会的にも意義のあることと考える。また、本来は実験動物で行われるこのような試みにおいて、産業動物を対象とすることで、得られた結果を直接的に現場に応用できる点で独創性があると共に、ここで得られた知見は学術的にも意義のあるものとする。

研究成果の概要(英文)：In this study, we searched and identified factors that affect fattening and carcass characteristics in beef cattle, and analyze their accumulation and expression. We investigated the effects of feeding a large amount of grass hay to steers in the early stage of fattening period and feeding of rice whole crop silage (WCS) after grazing on growth performance, meat and carcass characteristics, and expression of genes involved in skeletal muscle growth of Japanese Black cattle. It was suggested that the Myostatin expression was associated with weight gain and daily gain (DG) in a large amount of grass hay fed steer. Expression of Myostatin and Atrogin-1 resulted in suppression of skeletal muscle growth, suggesting a decrease in DG in grazing steer. Vitamin content in blood and skeletal muscle showed a correlation with water-holding capacity and carcass characteristics, suggesting that they are indicators of these.

研究分野：家畜栄養飼養

キーワード：肉用牛 放牧と飼料イネ 遺伝子発現 枝肉成績と肉質 ビタミン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

McPherron ら(1997)は骨格筋の成長を抑制的に調節する主要因子として Myostatin を発見し、この分野のブレークスルーを起こした。この Myostatin を制御する物質として、拮抗作用を持つ Follistatin(Amthor, 2004)、筋細胞の増殖、分化を調節する Decorin(Kishioka, 2008)、及びその発現を制御し、筋細胞を休止期に誘導する HGF(Yamada, 2010)などが報告されている。筋蛋白質の分解では、骨格筋特異的ユビキチンリガーゼ E3 として Atrogin-1(Gomes, 2001) や MuRF1(Bodine, 2001)が報告されている。脂肪蓄積では C/EBP α 及び PPAR γ 2 が脂肪合成の主要因子として(Lin, 1992)、Myostatin ノックアウトマウスでは脂肪合成の減少(McPherron, 2002)が報告されている。さらに肉質評価では、Heat shock protein(HSP)40 の発現と牛肉の硬さの相関(Bernard, 2007)が、保水性の指標としてドリップロスと Sepw1 との相関(Li, 2011)が報告されている。肉量すなわち枝肉形質や肉質に関与する遺伝子及びこれらを制御する機構も徐々に明らかになり、枝肉、肉質の制御機構の解明と共に、これらを活用した生体での応用研究が期待されている。また、これまでの知見では、飼養条件が異なる肉用牛の肥育過程において、枝肉形質を反映する一部の遺伝子で発現変動が認められ、この現象は枝肉成績、最終生産物の分析値を概ね反映していた。一方で、遺伝子発現が骨格筋形成や筋肉内脂肪蓄積等の生産形質へ及ぼすメカニズムは不明な点が多く、肉用牛の肥育過程においてこれを解明することは、生産現場に近いところで、新たな知見を得ることができ、学術的にも意義のあることである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、遺伝子の発現が肉用肥育牛の生産形質に及ぼす影響の解明と、遺伝子等の発現解析から、肉用牛の肥育途中で将来の枝肉形質、肉質等を推定し、肥育技術の開発に向けた科学的な知見、根拠を明らかにすることである。産肉性や肉質等を制御するメカニズムを解明するための基礎研究では、実験動物の供試が一般的だが、一方で、得られた学術知見について、産業界で迅速に活用することが求められており、このためにも産業動物と実験動物の間で生じる知見の相違を解消することは課題としてあげられる。本研究では、対象とする供試動物を産業動物である肉用牛、黒毛和種を対象とし、肥育・枝肉成績に影響を及ぼす因子及び遺伝子等の探索、同定ならびにそれらの蓄積量の把握及び発現解析を実施することで、生産現場に直結した学術知見を得るとともに課題の解決を目指す。

3. 研究の方法

(1) 牧草多給における肥育過程での筋肉内遺伝子発現及びその肥育・枝肉成績と肉質の測定

黒毛和種去勢牛を対象に肥育開始時から 1 年間イタリアンライグラス乾草を多給し、穀物飼料の制限給餌を行った。肥育期間において、筋肉内遺伝子発現の測定のため、骨格筋組織を経時的にバイオプシーにより採取し、28 ヶ月齢で屠畜後、枝肉成績の測定を行った。採取した筋肉組織は、凍結粉碎し、TRIZOL 試薬で RNA を抽出、cDNA を合成後、これをテンプレートにリアルタイム PCR により骨格筋形成にかかわる遺伝子の測定を行った。また、屠畜時に筋肉組織を採取し、脂質、タンパク質等の栄養成分の分析に供試した。

(2) 放牧と飼料イネ WCS 多給肥育における肥育過程での筋肉内遺伝子発現及びその肥育・枝肉成績と肉質の測定

黒毛和種去勢牛を対象に肥育開始から半年間、イタリアンライグラス草地に放牧し、その後、舎飼で濃厚飼料を制限し、飼料イネ WCS を多給した。肥育期間において、筋肉内遺伝子発現の測定のため、骨格筋組織を経時的にバイオプシーにより採取し、28 ヶ月齢で屠畜後、枝肉成績の測定を行った。採取した筋肉組織は前述と同様、遺伝子発現のための試料調製を行い、筋肉内の栄養成分、物性など筋肉性状の分析に供試した。

(3) 肥育牛の枝肉形質ならびに肉質に及ぼす因子の探索と相関解析

多様な肥育過程において、血液等の生体試料に含まれる物質が、枝肉形質ならびに肉質に及ぼす影響を検討した。肥育終了時に枝肉成績の測定ならびに筋肉試料の採取を行い、その分析を行った。肥育過程で採取した血液は、ビタミン等の血液成分の分析を行い、これらの結果と枝肉形質ならびに肉質との関連を解析するため、相関解析を行った。

4. 研究成果

(1) 牧草多給における肥育過程での筋肉内遺伝子発現及びその肥育・枝肉成績と肉質の測定

供試牛は、試験期間を通じて乾草を飽食とし、濃厚飼料は 22 ヶ月齢まで 2-3kg、その後、それまでの約 3 倍量を給与した (GHF 区)。対照区は、乾草を制限し、濃厚飼料を飽食とした (CF 区)。枝肉成績は、枝肉重量、ばら厚及び皮下脂肪厚で CF 区に対して GHF 区で有意に増加した。一方、出荷時体重は両区で差は見られなかった。供試筋肉は半腱様筋 (ST) 及び腰最長筋 (LL) とした。肉質は両筋肉で保水性の増加が認められた。

濃厚飼料を 2-3 kg まで制限した場合、両筋肉において 19 ヶ月齢で Myostatin (MSTN) の発現増加がみられ、その後、LL では減少がみられた (図 1)。これは、濃厚飼料の極端な制限給餌において骨格筋の成長が抑制を受けているが、飼養環境に生体が順化した可能性が示唆される。22 ヶ月齢までの飼料効率及び日増体重 (DG) は試験区間で差はなかったが、その後は、GHF 区で有意な増加が認められた。この遺伝子発現と飼料効率ならびに DG の変化から、肥育後期に代償性成長が働き、増体が得られたことが示唆された。

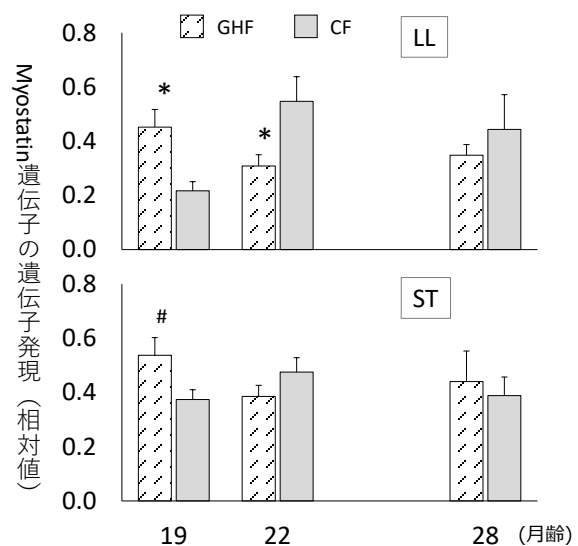


図 1 乾草給与時の黒毛和種の筋肉内遺伝子発現 (内部標準遺伝子は GAPDH を使い、その相対値として表した LL: 腰最長筋、ST: 半腱様筋 * P < 0.05, # P < 0.10)

(2) 放牧と飼料イネ WCS 多給肥育における肥育過程での筋肉内遺伝子発現及びその肥育・枝肉成績と肉質の測定

供試牛は、16 か月齢まで放牧後、舎飼で濃厚飼料の給与制限下で飼料イネ WCS を飽食とした (GZ 区)。対照区は、舎飼で乾草を制限し、濃厚飼料を飽食とした (CT 区)。供試筋肉は LL 及び ST とした。肥育成績は、放牧期間中の DG が GZ 区で減少が見られたが、その後、舎飼いでの飼料イネ WCS 給与で増加した。出荷時体重は、試験区間で差は認められなかったが、枝肉重量は GZ 区で減少が見られ、胸最長筋面積及び皮下脂肪厚も GZ 区で減少が見られた。肉質は、GZ 区で粗脂肪含量の減少ならびに β -カロテンおよび α -トコフェロール含量の増加が見られた。

筋肉内遺伝子発現は、放牧中期に MSTN の発現が CT 区と比較して GZ 区で減少したが、放牧後期にはその増加が認められた (図 2)。放牧後の舎飼いでは、CT 区と比べ GZ 区で減少が見られ、

放牧直後から肥育終了まで、試験区間で差は認められず、この発現パターンは Shibata ら (2006) の報告と一致していた。Atrogin-1 の発現は、CT 区に対して放牧後期に GZ 区で増加が認められたが、放牧後の舎飼いでは、GZ 区で減少が見られた (図 3)。

これらの遺伝子発現ならびに枝肉成績から、放牧により骨格筋の成長は一時的に抑制を受けるが、特に放牧後期では、骨格筋の成長が阻害されると共に、骨格筋の分解が促進していることが示唆された。一方、放牧後の舎飼いでは、骨格筋成長に対する反応は試験区間で差は認められなかったが、骨格筋の分解が抑制された結果、GZ 区で骨格筋の成長が活性化されていることが示唆された。

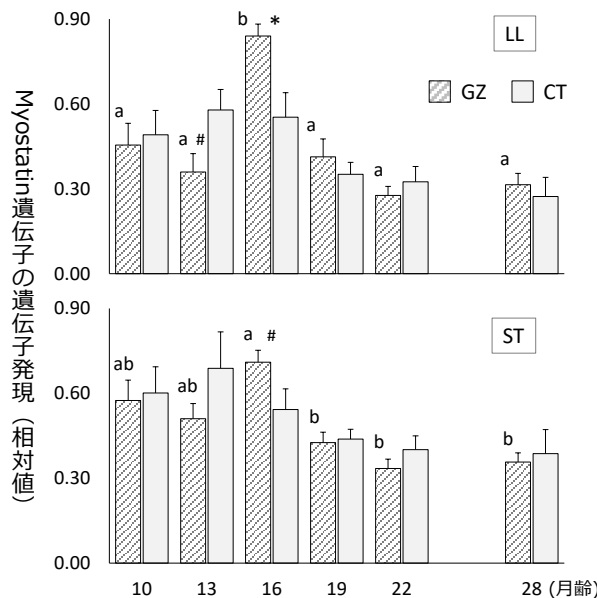


図 2 放牧、飼料イネ WCS 給与時の黒毛和種の筋肉内 Myostatin 遺伝子発現 (内部標準遺伝子は GAPDH を用い、その相対値として表した LL: 腰最長筋、ST: 半腱様筋 試験区内異文字間で有意差あり P < 0.05, * P < 0.05, # P < 0.10)

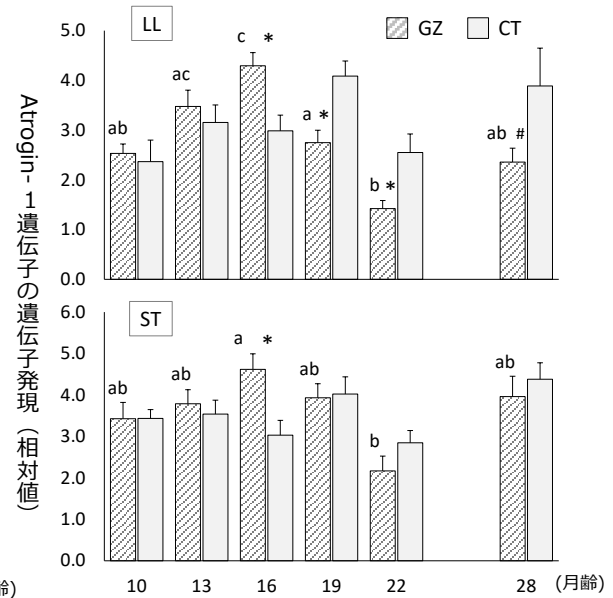


図 3 放牧、飼料イネ WCS 給与時の黒毛和種の筋肉内 Atrogin-1 遺伝子発現 (内部標準遺伝子は GAPDH を用い、その相対値として表した LL: 腰最長筋、ST: 半腱様筋 試験区内異文字間で有意差あり P < 0.05, * P < 0.05, # P < 0.10)

(3) 肥育牛の枝肉形質ならびに肉質に及ぼす因子の探索と相関解析

肥育は黒毛和種を対象に経産牛ならびに去勢牛について検討を行った。経産牛は屠畜月齢が 65 から 235 ヲ月齢の牛を供試した。肉質は保水性 (遠心保水性)、枝肉成績は牛脂肪色基準 (BFS) について、血液ならびに胸最長筋内のビタミン A 及びビタミン E 含量との相関解析を実施した。

保水性は、肉中のレチノール及びβカロテンとの間でそれぞれ高い正の相関が認められたことから、これらが保水性の指標となることが示唆された (図 4)。枝肉における牛脂肪色基準は、肉中のαトコフェロール及びβカロテンとの間に、それぞれ高い正の相関が認められたことから、これらが牛脂肪色基準の指標となることが示唆された (図 5)。血中のビタミン E は牛脂肪色基準との間に P 値が高いものの弱い正の相関がみられ、βカロテンについては、負の相関が認められた (図 6)。血中と肉中のビタミン含量が牛脂肪色基準に及ぼす影響について、それぞれのビタミン E は同様の相関がみられたが、βカロテンは、血中と肉中で正負の反対の相関が認められた。血中と

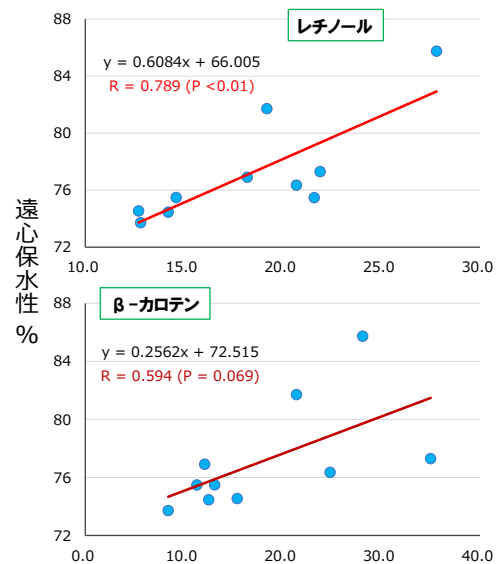


図 4 黒毛和種経産牛肉の保水性に対する肉中ビタミン含量の影響

肉中のビタミン含量の相関解析では、ビタミン A 及びビタミン E は、いずれも正の相関が認められたが、βカロテンについては、相関が認められなかった。このβカロテンの存在量の違いは、レチノールへの代謝が関与している可能性が示唆され、この解明については今後の課題と考える。

去勢牛は屠畜月齢が 26 から 30 ヶ月齢の牛を供試した。枝肉におけるしまりは、血中のビタミン E 含量との間で正の相関が認められ、筋肉内のビタミン E 含量においても正の相関が認められた。これは血中または肉中のビタミン E 含量がしまりの指標となることを示唆し、血中での指標は、屠畜後のしまりについて、ウシ生体で推測できる可能性も示唆される。牛肉の保水性については、ドリップロス及び遠心保水性の分析を行った。ドリップロス、肉中のレチノール及びβカロテンの間でそれぞれ負の相関がみられたことから、これらは保水性の指標となる可能性が示唆される。また、この結果は、経産牛の結果とも一致していた。血中のβカロテンは、遠心保水性との間で高い正の相関が認められ、これはウシ生体において屠畜後の牛肉の保水性を推測できる可能性が示唆される。

本研究の結果、筋肉内遺伝子発現ならびに血中及び筋肉内のビタミン含量を指標として、一部の枝肉成績ならびに肉質について、肥育過程あるいは屠畜直後に推測できることが明らかとなった。今後の課題は、さらに多くの指標となる物質の特定と生体内における動態を明らかにし、これらを活用した肥育技術の開発に向けて取り組む必要がある。

<引用文献>

- Amthor H. et al., *Developmental Biology*, 270, 19-30, 2004
 Bernard C. et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5229-5237, 2007
 Bodine S.C., et al., *Science*, 294, 1704-1708, 2001
 Gomes M.D. et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 144, 2001
 Kishioka Y. et al., *Journal of Cellular Physiology*, 215, 856-867, 2008
 Li J.G., et al. *Meat Science*, 87, 95-100, 2011
 Lin F.T. & Lane M.D. *Genes and Development*, 6, 533-544, 1992
 McPherron A.C., et al. *Nature*, 387, 83-90, 1997
 McPherron A.C & Lee S.J. *Journal of Clinical Investigation*, 387, 83-90, 1997
 Shibata M., et al. *Journal of Animal Science*, Vol. 84, 2983-2989, 2006
 Yamada M., et al., *American Journal of Physiology*, 298, C46-C476, 2010

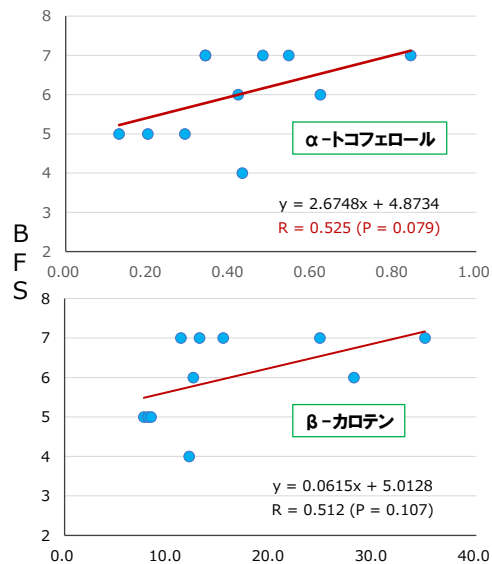


図 5 黒毛和種経産牛肉の牛脂肪交雑基準 (BFS) に対する肉中ビタミン含量の影響

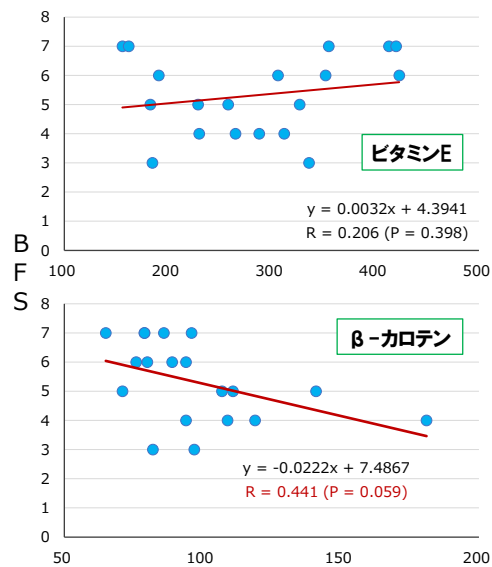


図 6 黒毛和種経産牛肉の牛脂肪交雑基準 (BFS) に対する血中ビタミン含量の影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shibata Masahiro, Hikino Yasuko, Imanari Mai, Matsumoto Kazunori	4. 巻 90
2. 論文標題 Comprehensive evaluation of growth performance and meat characteristics of a fattening system combining grazing with feeding rice whole crop silage in Japanese Black steers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 504 ~ 512
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/asj.13176	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shibata Masahiro, Hikino Yasuko, Matsumoto Kazunori	4. 巻 90
2. 論文標題 Influence of feeding a grass hay diet during the early stage of the fattening period on growth performance, carcass characteristics, and meat production in Japanese Black steers	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 196 ~ 204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/asj.13139	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------