

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：34428

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03132

研究課題名(和文) 初生仔ブタの健全発育を惹起する初乳成分の探索と検証 健全仔猪育成のための基盤研究

研究課題名(英文) Investigation and evaluation of the colostrum molecules that initiate the development of newborn piglets

研究代表者

井上 亮 (Inoue, Ryo)

摂南大学・農学部・教授

研究者番号：70443926

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の主要な成果は以下の3点である。1. 初生仔豚の小腸・肝臓の発育を惹起する初乳成分は乳清に含まれており凍結しても不活化しないこと、この成分の効果は自身の母由来の初乳でなくとも同等であることを解明、2. 初乳による初生仔豚の発育惹起は仔豚の遺伝子レベルの制御により起こる可能性を示唆、3. 初乳による初生仔豚の発育惹起効果は分泌する母豚によって異なり得る、すなわち初乳の質が母豚によって異なる可能性が高いことを示唆。この他にも、初乳摂取により小腸上皮細胞に生じる空胞に実際に初乳成分が含まれていることも明らかにした。本研究から、初乳の初生仔豚への影響がより詳細に明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

初乳による初生仔豚の発育惹起の成分の絞り込みや機序の一端を明らかにしたことで、初乳の重要性を再認識する情報を提供することができた。特に、自身の母由来の初乳でなくとも発育惹起効果が得られることが飼養現場における有用な知見であると考えられる。また、初乳に「質」が存在することが科学的に示唆できたことは、飼養現場における経験則を裏付ける重要な知見といえる。これにより、より飼養現場に有用な知見を提供するために焦点を当てるべき研究領域を明らかにすることができた。

研究成果の概要(英文)：The major outcomes of the research are; 1. Finding that the colostrum molecules initiating the development of newborn piglets are contained in whey and those are stable even after freeze and thaw. 2. Initiation of the development of newborns can be regulated at the gene expression level. 3. The potential of the initiation by colostrum can be varied depending on the sow secreting, meaning there is quality of colostrum that need to be paid attention for healthy growing of newborns. This research revealed more details of effect of colostrum on newborn pig development.

研究分野：畜産(栄養・飼養)

キーワード：ブタ 初乳 発育惹起

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

養豚では、仔豚が健全に離乳できるか否かが生産性を左右する。健全離乳には長期哺育が望ましいが、我が国では敷地面積の問題もあり実現は容易ではない。申請者は仔豚発育に重要な成分を豊富に含む初乳が健全離乳の鍵となると考え、初乳の成分・機能を研究している。これまでの研究のなかで、初乳が初生仔豚の小腸・肝臓の発育を生後迅速に惹起する役割を担うことを見出した。この役割は、仔豚の健全発育、ひいては健全離乳の鍵となり得る重要なものである。

### 2. 研究の目的

本研究では、上記の初生仔豚の小腸・肝臓の発育を惹起するという役割に着目し、これを担う初乳成分の絞り込みや、初乳が発育を惹起する作用機序を両臓器の形態・遺伝子変化から明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 仔豚の生育を惹起する初乳成分の絞り込み

初生仔豚を4群に分け、初乳群、凍結初乳摂取群、乳清摂取群、非摂取群とした。初乳群には自身の母豚から絞った初乳、凍結初乳群には予め採取しておいた別の母豚の凍結初乳、乳清群には凍結初乳群と同様の初乳から採取した乳清を生後に定量給餌した。生後9時間で解剖を行い、小腸と肝臓を採取した。なお、非摂取群は解剖まで体温低下の無いよう配慮した。小腸は絨毛の形態観察と絨毛高の測定を行った。肝臓はグリコーゲン定量を行った。

#### (2) 生育惹起を受ける臓器（小腸・肝臓）の初乳摂取による遺伝子発現変化の検証

初乳を24時間摂取した個体と人工乳（発育惹起成分を含まない）を同時間摂取した個体の小腸粘膜及び肝臓の遺伝子発現をマイクロアレイで解析し、比較した。また、小腸に関しては、初乳摂取によって小腸上皮細胞に生じる空胞をレーザーマイクロダイセクションで単離し、プロテオーム解析に供した。

#### (3) 初乳の質による生育惹起効果の相違の検討（予備検討）

質が異なると考えられる初乳（良質・悪質）を摂取し、生後9時間で解剖した個体の小腸と肝臓の遺伝子発現をRNA-Seqにより解析し、比較した。

### 4. 研究成果

(1) 非摂取群を除き、小腸上皮細胞の空胞化が確認された。また、絨毛高は非摂取群では他3群に比して短いものの、乳を摂取した3群間で有意な差は認めなかった（図1）。肝臓グリコーゲン濃度は、全群で統計的に有意な差は見られなかったが、非摂取群で高値を示した（図2）。このことから、初生時に小腸及び肝臓の生育を惹起する初乳成分は、「凍結しても不活化しないこと」、「乳清に含まれること」が明らかになった。また、本研究で着目した小腸・肝臓の発育惹起効果に関しては、自身の母由来でない初乳であっても同等に得られることがわかった。

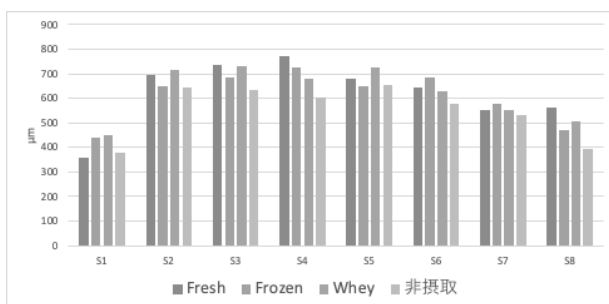


図1. 4群の絨毛高

小腸を8頭分し、胃側からS1-S8として各部位の絨毛高を測定した。

バーは左から初乳群 (Fresh)、凍結初乳群 (Frozen)、乳清群 (Whey)、非摂取群

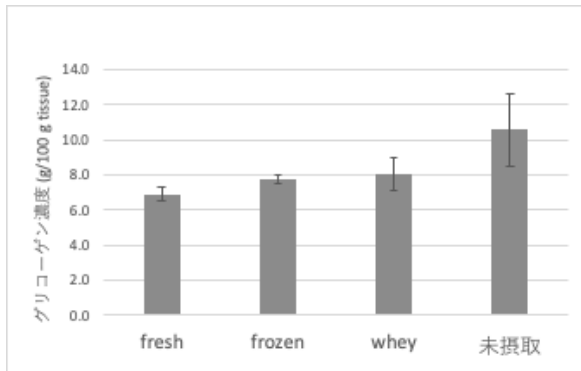


図2. 4群の肝臓グリコーゲン濃度（肝臓100gあたり）

(2) 初乳摂取群で人工乳摂取群と比して発現が亢進していた遺伝子は小腸で1,516個、肝臓で2,144個であった。このうち、アノテーション付き遺伝子（遺伝子名がわかっている遺伝子）はそれぞれ1,071個、1,288個であった。アノテーション付き遺伝子のみを使ってパスウェイ解析を行ったところ、初乳摂取群の小腸で有意に更新しているパスウェイは22種類であり、代謝や代謝調節に関与する Metabolic pathway (ko01100)、Pyruvate metabolism (ko00620)、Citrate cycle (TCA cycle) (ko00020)、Oxidative phosphorylation (ko00190)、AMPK signaling pathway (ko04152) や飲・食作用に関与する Endocytosis (ko04144)、細胞周期に関与する Cell cycle (ko04110)、Base excision repair (ko03410) などがみられた。このことから、初乳摂取群の仔ブタの小腸粘膜では、人工乳摂取群より多くのエネルギーを生産していること、飲・食作用 (Endocytosis) による体内への初乳成分の取り込み(後述)が促進されていることが示唆された。特に AMPK は、ATP 生産が増加する低グルコース時や筋肉収縮などによる ATP 消費時に ATP 生産を促進することが知られており (Hardie, 2003)、摂取群の仔ブタの小腸粘膜では、小腸絨毛の伸長などの発達にエネルギーを消費していると考えられる。すなわち、初乳成分は小腸の遺伝子レベルで発育を惹起している可能性が高い。肝臓では、初乳摂取群で亢進した45種類のパスウェイのうち、過半数の28種類のパスウェイが代謝に関与するものだった。特に初乳摂取群では解糖系/糖新生 Glycolysis/Gluconeogenesis は着目すべきパスウェイであり、解糖系に関する hexokinase1、pyruvate kinase などの遺伝子発現が亢進していた点も興味深い。さらに、解糖系から ATP 産生に繋がる Pyruvate metabolism、Citrate cycle (TCA cycle)、Oxidative phosphorylation などのパスウェイも亢進しており、初乳摂取群の仔ブタの肝臓では細胞内のエネルギー生産が増加していることが示唆された。また、血糖値の恒常性を維持するホルモンであるグルカゴンに関する Glucagon signaling pathway (ko04922) も摂取群で亢進していた。このことから、小腸同様に肝臓においても初乳による生育惹起は遺伝子レベルで起こっていると考えられる。

初乳摂取群と人工乳摂取群の小腸上皮細胞の空胞を単離しプロテオーム解析を行ったところ、133種のタンパク質が同定され、そのうち37種が初乳摂取群にのみ検出された。それらのなかには、Lactadherin、Alpha-lactalbumin、Polymeric immunoglobulin receptor といった初乳成分が含まれていた。このことから、初乳成分が空胞を介して仔豚体内に取り込まれているという既存説がプロテオームレベルで確認できた。

(3) ここまでの研究から初乳によって生育惹起のポテンシャルが異なる、すなわち初乳の質が異なることが示唆されたため、良質及び悪質と推定される初乳、それぞれを初生時に摂取した仔豚を生後9時間で解剖し、小腸粘膜及び肝臓の遺伝子発現を RNA-Seq により解析した。その結果、小腸では112遺伝子(図3)、肝臓では55遺伝子(図4)の発現量が統計的に有意に異なっていた。特に肝臓における血清アミロイド遺伝子は悪質の初乳を摂取した仔豚で良質を摂取したものの200倍以上に亢進していた。発現が亢進していた遺伝子は SAA4 であり、SAA4 の機能は未だ明確ではないものの、血清アミロイドは急性期タンパク質であるため、この異常な亢進は発育には負的作用があるものと考えられる。このことから、初乳の質によっても発育惹起の効果は大きく異なり得ることが明らかになった。

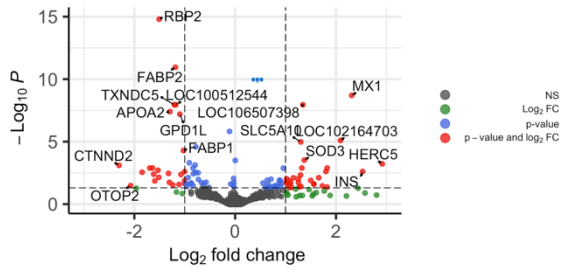


図 3. 小腸粘膜の遺伝子発現差を示す Volcano Plot  
Log2 Fold Change は絶対値 3 までを示す

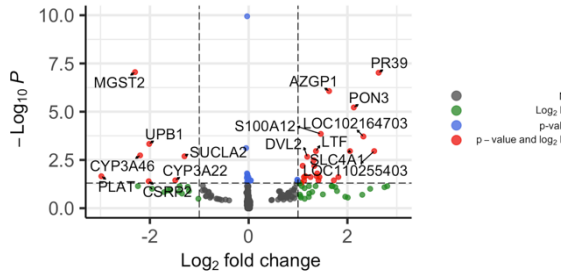


図 4. 肝臓の遺伝子発現差を示す Volcano Plot  
Log2 Fold Change は絶対値 3 までを示す

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 1件）

1. 著者名 井上亮	4. 巻 4月号
2. 論文標題 なぜ初乳が重要なのか 初乳の新たな効能と機能	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 養豚界	6. 最初と最後の頁 23-27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Miura Hiroto, Jimbo Itsuki, Oda Machi, Noguchi Michiko, Kawasaki Kiyonori, Osada-Oka Mayuko, Tsukahara Takamitsu, Inoue Ryo	4. 巻 12
2. 論文標題 Effect of Porcine Colostral Exosomes on T Cells in the Peripheral Blood of Suckling Piglets	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Animals	6. 最初と最後の頁 2172 ~ 2172
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ani12172172	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 Ito Ken R., Kawasaki Kiyonori, Miura Hiroto, Tsukahara Takamitsu, Inoue Ryo	4. 巻 93
2. 論文標題 Evaluation of post colostrum ingestion changes in the protein composition of peripheral blood of newborn piglets: A pilot study	5. 発行年 2022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.13783	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
研究 分 担 者	川崎 淨教  (Kawasaki Kiyonori)  (30739206)	香川大学・農学部・准教授    (16201)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	野口 倫子  (Michiko Noguchi)  (40506721)	麻布大学・獣医学部・准教授     (32701)	

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