

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月15日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580315

研究課題名（和文）胎児期の栄養制御と出生後の甲状腺操作によるブタにおける筋線維数と筋線維型の改変

研究課題名（英文）Alteration of number and type of myofiber of offspring by maternal nutritional regulation and postnatal thyroid manipulation

研究代表者

勝俣 昌也（KATSUMATA MASAYA）

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所家畜生理栄養研究領域・上席研究員

研究者番号：60355683

研究成果の概要（和文）：妊娠25～50日目の母豚に、アルギニンとグリシンを強化した飼料を給与した。さらに、出生後の産子に、1日齢から3週間、甲状腺ホルモンT4と抗甲状腺剤PTUを経口投与した。アルギニンとグリシンを強化した飼料の給与で、1日齢の産子の胸最長筋のミオシン重鎖タンパク質（MHC）の遺伝子発現量が影響をうけた。また、甲状腺ホルモンが、出生後のブタの胸最長筋の1型筋線維の割合を調節していることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Pregnant sows were fed a diet supplemented with arginine and glycine from day 25 to day 50 of the parturition. The piglets of the sows were orally given either thyroid hormone (T4) or an anti-thyroid agent (PTU) for 3 weeks from 1 day old. The supplementation of arginine and glycine to the maternal diet affected myosin heavy chain gene expression in longissimus dorsi muscle of the 1-day-old piglets. Further, we obtained evidence that thyroid hormone controlled ratio of type I myofiber of longissimus dorsi muscle in the pig during postnatal development.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、畜産学・草地学

キーワード：栄養・飼養、ブタ

1. 研究開始当初の背景

豚肉の量（＝筋肉量）は筋線維の数と太さによって決まる。したがって、筋肉量を増やすためには、筋線維数を増やして太くする必

要がある。一方、豚肉の品質は筋肉の筋線維型に依存する。

ブタの筋肉量を増やすためにこれまで採用されてきたアプローチは、いずれも出生後のアプローチで、栄養管理の高度化、成長ホ

ルモンの投与など筋線維を太くする方法が採用されてきた。しかし、筋線維が過度に太くなると、豚肉が「かたく」なるという欠点がある。したがって、筋肉量を増やすためには、筋線維数を増やすことが新たに目指すべき技術開発の方向になる。また、ブタの筋線維数は胎仔期に決まり、出生後には変化しないので、筋線維数を増やすためには、母豚が妊娠中になんらかの操作が必要となる。

豚肉の品質は筋肉の生化学的特性に依存し、筋肉内の脂質含量を高くすると、豚肉のやわらかさや多汁性が増す。また、筋肉の生化学特性を酸化的に変化させると、ブタの筋肉内の脂質含量を高く出来る。このように、筋線維型を操作することで、豚肉の品質をも改変することが可能になる。ブタの胸最長筋では、生後8週齢までに1型筋線維の割合が高くなり、その後は大きく変化しない。つまり、出生直後はブタの筋線維型は可塑性が大きく、この時期に操作すれば大きな効果が期待できる。

また、エネルギー摂取量を制限した子豚の甲状腺ホルモン濃度は低くなり、このとき、1型筋線維あるいは酸化的筋線維の割合が高くなることがわかっている。甲状腺ホルモン濃度をさらに積極的に変化させることで、ブタの筋線維型を操作できる可能性が高い。

2. 研究の目的

胎仔期のブタへのエネルギーやアミノ酸の供給を増加させるために、妊娠中の雌豚のエネルギーとアミノ酸の摂取量を増加させ、産子の筋線維数を増やすことが出来るか明らかにする。また、この操作による筋線維型の変化を解析する。

出生直後の子豚において、甲状腺ホルモン濃度を操作することで、筋線維型を変化させることができるか、明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 妊娠25~50日目のLW種の雌豚に、アルギニンが1.5%、グリシンが1.0%となるようにそれぞれを添加した飼料を、慣行の1.5倍量給与し、産子数、生時体重におよぼす影響を検討した。

(2) (1)で得た産子のうち、1日齢の段階で1頭の産子から胸最長筋を採取した。さらに、同腹の他の産子から2頭選抜し、1頭は甲状腺ホルモンT4を80 μ g/kg体重、残りの1頭には抗甲状腺剤PTUを8mg/kg体重、2日齢から3週間給与し、筋肉サンプルを得た。

(3) 1日齢で採取した胸最長筋の各ミオシン重鎖タンパク質(MHC)のmRNA発現量におよぼす妊娠中のアミノ酸強化の影響を解析した。

(4) 甲状腺ホルモン濃度を3週間操作した産子の胸最長筋の筋線維型を、組織化学的手法(ミオシンATPase染色、NADH脱水素酵素染色)で解析した。さらに、胸最長筋のMHCのmRNA発現量を測定した。

4. 研究成果

(1) アルギニンとグリシン強化飼料の妊娠豚への増給が生時体重、一腹産子数、増体におよぼす影響を表1に示した。すべての項目で、増給区の平均値が高かったが、有意差は無かった。妊娠前期から中期にかけて、アルギニンとグリシンを強化した飼料を増給しても、産子の生時体重や一腹産子数には影響しないことが明らかになった。

表1 アルギニンとグリシン強化飼料の妊娠豚への増給が産子の生時体重、一腹産子数、増体におよぼす影響

	慣行区*	増給区	SE
生時体重(kg)	1.3	1.4	0.1
一腹生時体重(kg)	18.0	19.8	1.7
一腹産子数(頭)	14	15	1
3週までの増体(g/d)	251	269	8

*市販の妊娠豚用飼料を日本飼養標準に示された量給与。n=4

(2) アルギニンとグリシン強化飼料の妊娠豚への増給が、1日齢の産子の胸最長筋のMHCmRNA発現量におよぼす影響を図1に示した。MHC2aと2xのmRNA発現量は、増給区の方が高かった(P<0.05)。

ブタは胎齢50~90日ごろに2次筋線維(出生後は2型筋線維になる)を形成する。妊娠前期から中期にかけて、アルギニンとグリシンを強化した飼料を増給すると、2次筋線維の形成を促進する効果があると推察する。

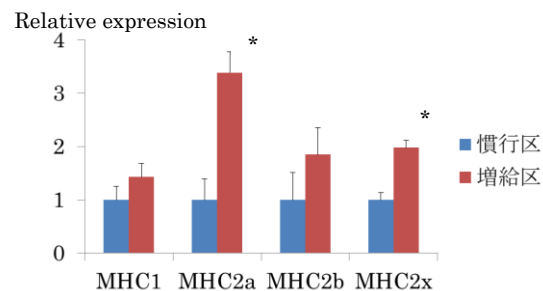


図1 アルギニンとグリシン強化飼料の妊娠豚への増給が1日齢の産子の胸最長筋のMHCmRNA発現量におよぼす影響。

n=4、平均値±pooled SE、18SRNAを内部標準として測定。

*: P<0.05

(3) アルギニンとグリシン強化飼料の妊娠豚への増給が、3週齢の産子の胸最長筋のMHCmRNA発現量におよぼす影響を図2に示した。1日齢ではMHC2a型と2x型の発現量が

高くなったが、3 週齢まで飼育すると効果はみられなくなった。哺乳期のブタの MHCmRNA 発現量には、泌乳量など母豚の影響も大きい可能性がある。

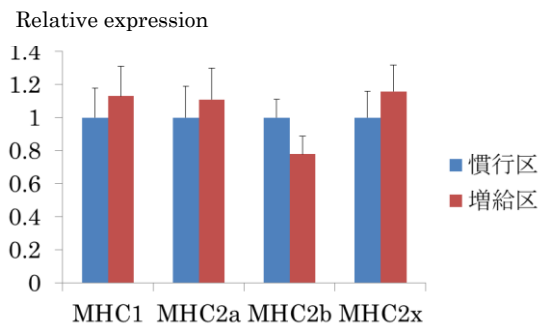


図 2 アルギニンとグリシン強化飼料の妊娠豚への増給が 3 週齢の産子の胸最長筋の MHCmRNA 発現量におよぼす影響。
n=4、平均値±pooled SE、18SRNA を内部標準として測定。
*: P<0.05

(4) T4 あるいは PTU を 3 週間投与した子豚の血漿甲状腺ホルモン（総 T3 と総 T4）濃度を表 2 に示した。T3 も T4 も、T4 の投与で濃度が高くなり、PTU の投与で濃度が低くなった。この結果から、子豚の甲状腺ホルモン濃度は、当初計画したとおり操作できたといえる。T4 あるいは PTU の投与で日増体量の平均値は低くなったが、SE が大きく、有意差はなかった。

表 2 T4 あるいは PTU を 3 週間投与した子豚の血漿甲状腺ホルモン濃度

	対照区	T4 区	PTU 区	SE
T3 (ng/ml)	1.5 ^b	2.3 ^a	0.2 ^c	0.2
T4 (μg/ml)	5.9 ^b	18.0 ^a	0.6 ^c	1.3
日増体量 (g/d)	295	262	264	15

n=8, a, b, c: P<0.05

(5) T4 あるいは PTU を 3 週間投与した子豚の胸最長筋の MHCmRNA 発現量を図 3 に示した。酸化型筋線維に発現する MHC1 型と MHC2a 型の mRNA 発現量は、PTU 投与区で高くなった（MHC2a 型の筋線維はグリコーゲン分解特性も有する）。一方、グリコーゲン分解型筋線維の MHC2b 型の mRNA 発現量は、PTU 投与区で低くなった。以上の結果から、3 週齢までのブタでは、甲状腺ホルモンが胸最長筋における MHC の mRNA 発現を調節していることが明らかになった。ブタの胸最長筋では MHC2b 型の筋線維が優先しており、さらに、MHC2b 型の筋線維は MHC1 型や MHC2a 型の筋線維と比較して直径が太い。これらのことは、ブタの胸最長筋の大きさを維持するためには、甲状腺ホルモン濃度を適正值に維持する必要があることを示唆している。

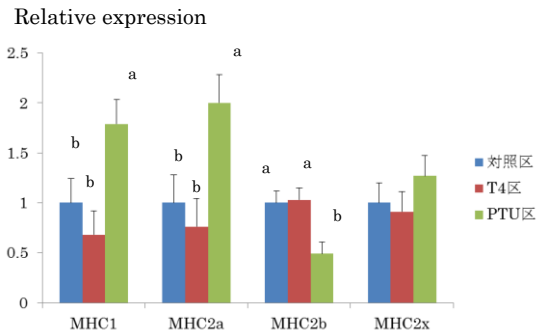


図 3 T4 あるいは PTU を 3 週間投与した子豚の胸最長筋の MHC mRNA 発現量
n=8、平均値±pooled SE、18SRNA を内部標準として測定
a, b: P<0.05

(6) T4 あるいは PTU を 3 週間投与した子豚の胸最長筋の筋線維構成を、組織化学的手法で解析した。ミオシン ATPase 染色の結果を図 4 に示した。胸最長筋の凍結切片を pH4.5 で処理したのち、染色に供した。暗く染まっているのが 1 型筋線維、それ以外の筋線維は 2 型筋線維である。

さらに、NADH 脱水素酵素染色（図 5）により酸化型筋線維（1 型と 2a 型筋線維）を染色し、ミオシン ATPase 染色の結果とあわせて、筋線維型を決定した。

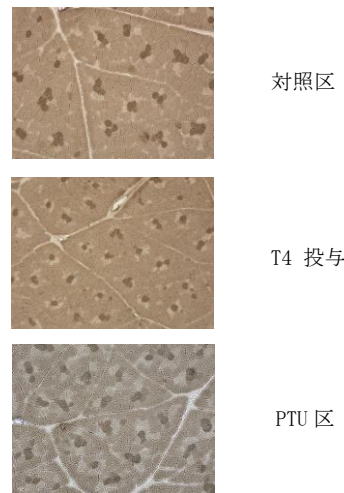


図 4 T4 あるいは PTU を 3 週間投与した子豚の胸最長筋のミオシン ATPase 染色像

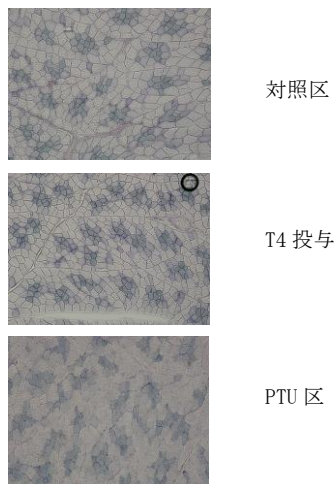


図5 T4あるいはPTUを3週間投与した子豚の胸最長筋のNADH脱水素酵素染色像

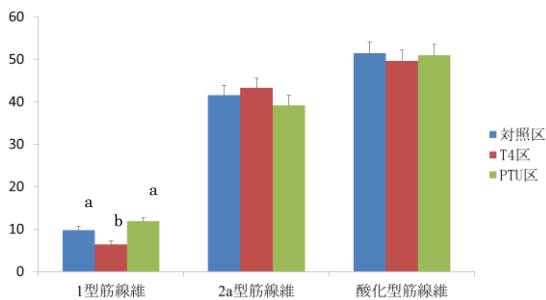


図6 T4あるいはPTUを3週間投与した子豚の胸最長筋の筋線維構成
n=3、平均値±pooled SE、a,b:P<0.05

アルギニンとグリシンを強化した飼料を母豚に増給しても、1型筋線維、2型筋線維、2a型筋線維、酸化型筋線維の割合に影響しなかった。一方、図6に示したように、T4の投与で1型筋線維の割合は低くなり(2型筋線維の割合は高くなり)、PTUを投与すると1型筋線維の割合は高くなる傾向を示した。本研究の結果から、哺乳期のブタの胸最長筋におけるMHCの遺伝子発現と筋線維構成は甲状腺ホルモンによって調節でき、とくに1型のMHCへの影響が大きいと結論した。

(7) アルギニンとグリシン強化飼料の妊娠豚への増給が、筋線維数におよぼす影響は検討できなかったため、今後の課題とする。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計1件)

① 勝俣昌也、豊田裕子、石田藍子、芦原 茜、中島一喜、ArgとGlyを強化した飼料の妊娠豚への増給と産子の甲状腺状態の操作が産子の胸最長筋のMHCmRNA発現量におよぼす影響、日本畜産学会大会第116回大会、2013年3月30日、安田女子大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

勝俣 昌也 (KATSUMATA MASAYA)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所家畜生理栄養研究領域・上席研究員

研究者番号：60355683

(2) 連携研究者

石田 藍子 (ISHIDA AIKO)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所家畜生理栄養研究領域・研究員

研究者番号：30414684

芦原 茜 (ASHIHARA AKANE)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所家畜生理栄養研究領域・研究員

研究者番号：40547717