

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580404

研究課題名(和文)胎内発育の違いによって脂肪蓄積特性は不可逆的にプログラミングされるのか？

研究課題名(英文)Can fetal growth trajectory affect physiological property on adipose accumulation?

研究代表者

松崎 正敏 (MATSUZAKI, Masatoshi)

弘前大学・農学生命科学部・教授

研究者番号：10355688

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：胎子期の発育制御により肉用家畜の生理特性を不可逆的に変化(プログラミング)させて産肉性向上を図る新たな家畜飼育技術の開発を目指して、妊娠めん羊のタンパク栄養制限の影響を調べたところ、産子の生時体重の低下と出生後の増体促進、内臓脂肪蓄積の亢進が見られ、穏やかな胎子発育制限による脂肪蓄積特性の改変が出来る可能性が示された。

また、妊娠中後期の母めん羊の毛刈り(剪毛)による胎子発育の促進を試みたが、母畜および産子のいずれに対しても顕著な生理・生産特性の変化を引き起こすことが出来なかった。

研究成果の概要(英文)：To develop a new feeding management system for quality meat production by modifying physiological property on adipose accumulation of individual animal, effects of maternal mid-late pregnancy protein restriction on fetal and postnatal growth and adiposity of their offspring were examined. Decreased birth weight, increased postnatal growth and visceral fat accumulation were observed in the offspring born to protein-restricted dams. The modification of adipose accumulation property was not associated with any changes in metabolic and endocrine status or gene expression patterns of the animals.

An attempt to develop a model of fetal growth promotion through maternal mid-pregnancy shearing has failed to reproduce in this study.

研究分野：家畜飼養学

キーワード：代謝・内分泌制御 代謝的プログラミング 脂肪蓄積 胎子発育

1. 研究開始当初の背景

(1) 食肉の品質とその生産効率は、個体の脂肪蓄積特性の違いに大きく左右される。育種改良による和牛の脂肪交雑の遺伝的能力の向上はめざましいが、飼養管理面からの脂肪蓄積制御は容易ではなく、ビタミンA給与調整による脂肪交雑の向上が実用化しているのみである。脂肪交雑の向上だけでなく、皮下や筋間などへの余分な脂肪蓄積が少なく、脂肪酸組成の優れた枝肉を早期に仕上げる肥育技術の開発が望まれている。

(2) われわれは、出生後の飼育方式が脂肪蓄積に及ぼす影響に関して以下の知見を得てきた。育成期に粗飼料を増給すると、肥育終了時における牛枝肉中の余剰脂肪量を低減させることができる。ヤギ肥育時の栄養水準を高めると、不飽和脂肪酸だけでなく共役リノール酸も増加する。ほ乳子牛に代用乳を増給するとフレームサイズの発育を促進できるが、内臓脂肪量も増大してしまう。

(3) 一方、ヒトの医療衛生分野においては、胎児期の発育履歴の違いが、成人後の肥満や内分泌代謝特性、ひいては生活習慣病の発症をも左右しているとする疫学調査結果が得られている。このことは動物実験によっても再現され、生理機能のプログラミング現象として胎児期起源の生活習慣病の発症原因として注目されている。なかでも、食欲調節や脂肪蓄積特性はプログラミングを受ける生体機能系の代表的なものとされている。実際、母畜の栄養制御によって胎内発育の停滞を示すめん羊モデルを用いて以下の結果が得られており、胎内発育の違いが脂肪蓄積特性を左右することが示唆されている。

正常発育群に比べて生時体重が約30%小さい発育停滞群では、腎臓脂肪の蓄積量が増大し、胎子サイズの小さいものほどUCP-1のmRNA発現量が高く、胎内発育の低下は脂肪組織の機能亢進を引き起こす。

妊娠後期にGH投与しても、胎子の発育促進効果は小さいが脂肪蓄積量は著しく増加する。

母畜の妊娠中の栄養制限によって産子の筋肉中脂質や内臓脂肪量の増加などを示唆する結果も報告されているが、脂肪細胞の分化や脂肪組織における遺伝子発現などの脂肪蓄積特性の詳細は明らかになっていない。そこで、脂肪交雑の向上だけでなく、皮下や筋間など余剰な脂肪蓄積が少なく、肉質の優れた枝肉を早期に仕上げる肥育技術の開発の基礎となる脂肪蓄積特性の形成プロセスの解明が必要であった。

2. 研究の目的

(1) 胎内発育環境と出生後の生産ステージにおける産肉性との関係は解明されていない点が多いことから、本研究では個体の脂肪蓄積特性が形成される過程と胎内発育履歴

によるエピジェネティックな調節機構の解明を目的とする。

(2) 具体的には、妊娠めん羊を用いて、栄養制限による胎子発育の抑制と妊娠中期の剪毛により妊娠子宮への栄養素分配を高めた胎子発育促進の2つのモデルを構築して、得られた産子の出生後の脂肪蓄積特性の解析を行う。

出生後は同一条件で飼育して、成長後の脂肪蓄積量、体内各部位の脂肪組織の分布や脂肪細胞のサイズや脂肪酸組成、血中脂質像と胎子発育との関係を明らかにする。

脂肪細胞の分化に関わる転写因子群、脂肪の動員と蓄積を制御する酵素群の発現を調べる。

これらの研究により、胎内発育の抑制と促進という双方向の発育制御が出生後の脂肪蓄積特性に対して引き起こすプログラミング効果、すなわち不可逆的な刷り込み効果の解明を目標とする。

3. 研究の方法

(1) 肉用家畜の脂肪蓄積特性に対する胎内発育環境のプログラミング効果を明らかにするために、妊娠めん羊を用いた栄養制御による胎子発育抑制モデルと妊娠中期の剪毛による胎子発育促進モデルを構築し、出生後の産子を同一飼養条件で性成熟期まで飼育して、以下の項目について研究を行う。

体組成、脂肪組織の分布や脂肪細胞のサイズを調べて、余剰エネルギーのシンクとしての脂肪組織の特性を形態的手法で研究する。

脂肪酸組成や血中脂質像を調べて、脂肪蓄積特性を生化学的手法で明らかにする。

脂肪細胞分化にかかわるPPAR-を中心とした転写因子群、ならびに脂肪蓄積や脂肪の質にかかるFASNやSCDなどの酵素群の発現を調べて、エピジェネティックな変化を解析する。

(2) 妊娠中のタンパク栄養制限による胎子発育抑制モデルの作出

妊娠中期以降の胎子の体成長のための養分要求量が増大する時期に、タンパク質含量の低い飼料(リンゴ粕にビートパルプとトウモロコシを混合した発酵飼料;風乾物換算CP~10%、TDN70%程度)を給与する栄養制限を行って、胎子発育抑制の実験モデルを作出する。ダイズ粕等を加えて適正タンパク質含量のリンゴ粕混合発酵飼料(風乾物換算CP15.5%、TDN70%程度)を妊娠中期以降に給与した場合(対照群に相当)には、正常な胎子発育および分娩成績が得られることを予備実験で確認している。母畜の妊娠後期のタンパク栄養水準が異なる動物群を用いて、以下の解析を行う。

出生時において、体熱産生に不可欠な腎臓脂肪の蓄積量、細胞形態(単房性脂肪の出現割合)、脂肪動員に関わるGPC-1やUCPなど

の発現解析を行って、生時体重などの分娩成績との関係を明らかにする。

性成熟期（5～6ヵ月齢）において、と畜調査を行って、以下の脂肪蓄積特性に関するパラメータを調べて、母畜の栄養処理ならびに胎内発育の指標である生時体重との関係を解析する。これにより、産子の成長後の脂肪蓄積特性に対する母畜の妊娠中のタンパク栄養によるプログラミング効果を評価する。また、胎子発育を抑制することにより、儉約型の代謝特性、すなわち脂肪蓄積特性に関して早熟化が予想されることから、肥育期間短縮への応用の可能性を検討する。解析する脂肪蓄積特性に関するパラメータとして、脂肪組織の蓄積量と体内での分布や脂肪細胞のサイズなどの形態的特性、個体の代謝的特性を反映する血中脂質像、蓄積脂肪の質を左右する脂肪酸組成、ならびに脂肪細胞の分化や脂肪蓄積・動員に関わる因子群や酵素群の遺伝子発現を調べる。

(3) 妊娠中期の剪毛による妊娠子宮への栄養素分配促進を介した胎子発育促進モデルの作出

妊娠中期以降の母めん羊を剪毛することにより、栄養素の分配が羊毛から妊娠子宮にシフトして産子の生時体重が増加することが報告されている(引用文献)。この方法は、ホルモン剤投与やクローン産子でみられるようなものを除けば、再現性よく胎子発育促進がみられる処理である。本研究では、この妊娠中期の母畜の剪毛による胎子発育促進モデルを、経産及び未経産のめん羊を用いて実施し生時体重に変異のある動物群の作出を試みる。調査項目は上述の(2)に示したものと同一である。

4. 研究成果

(1) 妊娠中のタンパク栄養制限による胎子発育抑制モデルの作出と解析

妊娠後期（交配後～16週）のサフォーク種雌めん羊に低タンパク質含量の飼料を給与したLCP区では、適正タンパク質レベルのACP区に比べて、分娩までの増体が抑制され(表1)、分娩後に脱落回収した胎盤重量も低下する傾向がみられた。

表1. 妊娠後期のタンパク質給与レベルが母畜の増体に及ぼす影響

平均日増体量 (kg)	全ての妊娠ヒツジ			双胎妊娠ヒツジ		
	ACP区	LCP区	P値	ACP区	LCP区	P値
開始～分娩	0.25±0.06	0.10±0.09	<0.01	0.23±0.04	0.06±0.07	<0.01
分娩～離乳	-0.41±0.06	-0.35±0.10	0.19	-0.40±0.06	-0.34±0.12	0.38

妊娠後期における両区の血漿中尿素体窒素濃度の平均値は、ACP区とLCP区でそれぞれ14.5および6.2mg/dLと低タンパク質飼料給与で有意に低下した。しかしながら、アルブミンやグルコース、脂質系代謝成分、なら

びに、ケトン体、インスリン、エストラジオール、プロジェステロン、コルチゾールなどの血漿中濃度にはタンパク質栄養の違いの影響は認められなかった。

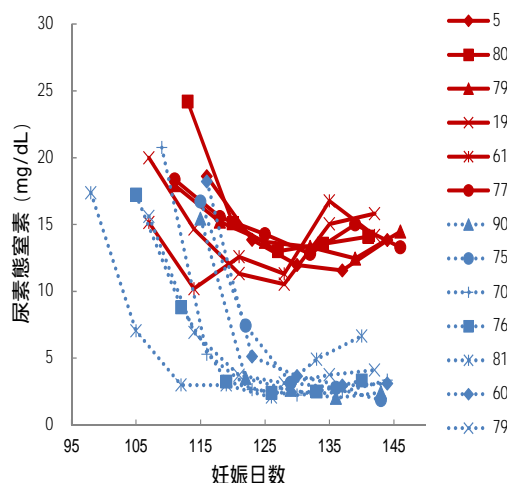


図1. 妊娠後期のタンパク質給与レベルが母畜の血漿中尿素態窒素濃度に及ぼす影響

双胎産子の生時体重は、母畜のタンパク栄養レベルが適正なACP区に比べて、低タンパク飼料を給与されたものから生まれたLCP区において小さくなる傾向が認められた。しかしながら、離乳時までの増体ならびに離乳時体重には区間差は認められなかった。

表2. 母畜への妊娠後期のタンパク質給与レベルが産子の生時体重および離乳までの増体に及ぼす影響

体重	全ての生存子ヒツジ			双子分娩の生存子ヒツジ		
	ACP区	LCP区	P値	ACP区	LCP区	P値
平均日増体量 (kg)						
出生時	4.21±0.73	3.94±0.75	0.38	4.43±0.63	3.83±0.76	0.07
離乳時	20.1±2.6	21.2±2.2	0.31	21.4±1.1	20.6±1.8	0.24
出生～離乳	0.28±0.04	0.31±0.04	0.21	0.30±0.02	0.30±0.03	0.52

出生後は母畜による自然哺育で飼育して、8週齢で離乳した際に測定した母畜の血漿中代謝成分やホルモン濃度には試験区間差は全く認められなかったが、離乳時の産子の血漿中グルコース濃度はACP区に比べてLCP区で有意に高い値を示した(73 vs. 86 mg/dL)。

性成熟期に達した時点でグルコースおよびインスリンの負荷試験を実施して脂肪蓄積に関わる内分泌代謝特性を評価したが、母畜の妊娠中のタンパク質給与レベルの影響は認められなかった。

6ヵ月齢時にと畜解体調査を行って、臓器重量と蓄積脂肪の分布を調べたところ、母畜が妊娠中に低タンパク質飼料を給与された

LCP 群の産子において腸間膜脂肪の相対重量の増大傾向が認められた。この傾向は、雄産子においてより明瞭であった。

と畜調査時に採取した腎臓脂肪と皮下脂肪の新鮮試料について、脂肪細胞分化ステージの進行に伴って発現量が変化する C/EBP-、PPAR- ならびにレプチンの mRNA を調べたが、母畜の妊娠中の栄養制御による顕著な変化は認められなかった。

(2) 妊娠中後期の剪毛による妊娠子宮への栄養素分配促進を介した胎子発育促進モデルの作出と解析

妊娠中の母畜を剪毛しても、分娩に至るまでの増体や分娩時の脱落胎盤のサイズ、産子の生時体重や出生後の増体、と畜解体成績や脂肪組織の分布などには明らかな影響は認められなかった。

剪毛群では母畜の血漿中総タンパク質濃度が高く推移したが、その他の代謝成分やレプチンの濃度、またウェスタンブロッティングで検討したアディポネクチンの相対濃度には剪毛の影響は認められず、妊娠中後期の剪毛処理は母畜体内の栄養素分配に若干の変化を引き起こすにとどまるものと考えられた。

以上の結果を総合すると、妊娠中後期のめん羊母畜に対する低タンパク質飼料給与は血漿中尿素態窒素の低下と増体の抑制はみられたものの、分娩のトラブルなどを伴うことなく、産子の胎子期の発育制御とそれに引き続く脂肪蓄積特性の改変制御が可能なが示唆された。一方、母畜体内での栄養素分配を変化させることにより、胎子発育の促進が期待された妊娠中後期の母畜の剪毛は明らかな効果を確認することができなかった。妊娠子宮への栄養素分配を高める栄養・飼育管理的な手法の開発と産子の出生後の生理特性解明が望まれる。

<引用文献>

Revell et al., Metabolic responses to mid-pregnancy shearing that are associated with a selective increase in the birth weight of twin lambs. Domestic Animal Endocrinology, 2000, 18(4):409-22

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計3件)

小澤那奈, 茶畑舞, 房家シン, 檜野菜, 松崎未幸, 秋元慶彦, 鈴木裕之, 松崎正敏, めん羊妊娠後期の低タンパク給与が血液成分および分娩成績に及ぼす影響、第 62 回東北畜産学会大会、平成 24 年 8 月 31 日、秋田県立農業大学 (秋田県秋田市)

秋元慶彦, 小澤那奈, 檜野菜, 房家琛, 鈴木裕之, 松崎正敏, めん羊妊娠後期の低タンパク給与が産子の増体、腹腔内脂肪量及び糖代謝調節能に及ぼす影響、日本畜産学会第 116 回大会、平成 25 年 3 月 30 日、安田女子大学 (広島県広島市)

木村中, 房家シン, 秋元慶彦, 小田純平, 鈴木裕之, 松崎正敏, 妊娠後期めん羊への低タンパク質飼料給与が産子の増体、血液成分ならびに性成熟期における脂肪蓄積と遺伝子発現パターンに及ぼす影響、第 64 回東北畜産学会大会、平成 26 年 9 月 12 日、コラッセ福島 (福島県福島市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松崎 正敏 (MATSUZAKI Masatoshi)
弘前大学・農学生命科学部・教授
研究者番号: 10355688