

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07997

研究課題名(和文)ウシ筋肉内脂肪細胞分化における揮発性脂肪酸の役割の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the role of volatile fatty acids in bovine intramuscular adipogenesis

研究代表者

溝口 康 (Mizoguchi, Yasushi)

明治大学・農学部・専任准教授

研究者番号：80514158

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ウシ筋肉内脂肪細胞(BIP)分化誘導における揮発性脂肪酸の役割を明らかにすることを目的とした。本研究は、BIP分化における主な揮発性脂肪酸である酢酸やプロピオン酸などの濃度変化やそれらの組み合わせによる影響などを比較した。本研究により、揮発性脂肪酸のウシ筋肉内脂肪細胞分化に与える影響の一端を明らかにすることができた。今後は、ウシ体内における揮発性脂肪酸の肉質への影響について明らかにしていく必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

霜降りは、香り、風味、美味しさにも影響しており食文化の観点からも魅力的な現象である。揮発性脂肪酸は、ウシのような反芻動物では主要な栄養源の一種である。本研究は、霜降り形成に深く関わっているウシ筋肉内脂肪細胞分化における揮発性脂肪酸の影響について調べ、その調節機構の一端を明らかにした。今後は、揮発性脂肪酸を産生するウシ第一胃に存在するルーメン内微生物叢と肉質特に霜降り形質との関係について研究する必要がある。

研究成果の概要(英文)：The aims of this study were to clarify the role of volatile fatty acids in the differentiation induction of bovine intramuscular preadipocyte (BIP) cells. Volatile fatty acids are one of the major nutrient resources in ruminants, however it remains unclear how they influence adipocyte differentiation such as marbling. In this study, we compared the effects of different concentrations of acetic acid, propionic acid, etc., in BIP differentiation and the effects of their combinations. This study clarified part of the effects of volatile fatty acid on bovine intramuscular adipogenesis. In the future, it is necessary to clarify the effect of volatile fatty acids on meat quality in bovine.

研究分野：動物遺伝学

キーワード：ウシ筋肉内脂肪細胞 酢酸 プロピオン酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国の和牛の一種である黒毛和種の「霜降り」という特徴は、経済的に大きな影響を及ぼし、他の品種よりも優れていることが知られている。「霜降り」は筋肉内に脂肪が沈着する現象であり、遺伝的要因と環境要因によって決定される。これまでに様々なアプローチによる研究が行われてきたがそのメカニズムには不明な点が多い。

ウシは反芻動物で第一胃(ルーメン)に微生物叢が形成されており、そこで産生される栄養物質の一種が揮発性脂肪酸である。揮発性脂肪酸が「霜降り」形成にどのように関わっているかは、不明な点が多い。ルーメンを介した栄養制御メカニズムは、ヒト、マウス、ブタなどの単胃動物とは異なる。「霜降り」現象は単胃動物ではあまりみられないことから、「霜降り」形成メカニズムは、反芻動物特異的な栄養制御機構が深く関わっていると考えた。そこで本研究では、ウシ筋肉内脂肪細胞を用いた分子遺伝学アプローチにより研究展開することとした。

2. 研究の目的

ウシ「霜降り」のメカニズムを解明するためには、脂肪沈着に影響を及ぼしている要因を明らかにする必要がある。反芻動物であるウシの主な栄養源の一種が、揮発性脂肪酸である。主な揮発性脂肪酸には、酢酸(炭素数2)やプロピオン酸(炭素数3)などがある。揮発性脂肪酸が筋肉内への脂肪沈着にどのような影響を及ぼしているかは明らかになっていない。以前に樹立されたウシ筋肉内脂肪前駆細胞株(bovine intramuscular preadipocyte: BIP)(Aso *et al.* 1995)を用いて脂肪細胞分化誘導をおこなひ、「霜降り」形成のモデルと捉えた。

本研究は、揮発性脂肪酸である酢酸およびプロピオン酸がウシ筋肉内脂肪細胞分化にどのような影響を及ぼすかを詳細に調べることとした。更に、グルコースおよびインスリンの影響についても調べた。揮発性脂肪酸の筋肉内脂肪細胞分化調節機構が明らかになれば、遺伝的要因の解明に加えて、環境要因である育成や肥育における飼養管理技術などの向上に貢献できると考えた。

3. 研究の方法

(1) BIP を常法に従ひ、分化誘導をおこなった。分化誘導後0~6日間においてサンプリングした。以下の実験を実施した。

(2) 酢酸濃度を0, 5, 10, 25 および 50 mM に変化させ、分化誘導後0, 1, 3 および 6 日目にサンプリングをおこなった。

(3) プロピオン酸濃度を0, 5, 10, 25 および 50 mM に変化させ、分化誘導後0, 1, 3 および 6 日目にサンプリングをおこなった。

(4) 酢酸およびプロピオン酸の濃度を以下のように変化させ、分化誘導後0日目および6日目にサンプリングをおこなった。酢酸 0 mM + プロピオン酸 0 mM、酢酸 0 mM + プロピオン酸 30 mM、酢酸 9 mM + プロピオン酸 21 mM、酢酸 15 mM + プロピオン酸 15 mM、酢酸 21 mM + プロピオン酸 9 mM、酢酸 30 mM + プロピオン酸 0 mM。

(5) グルコース含有群およびグルコース不含群における酢酸およびプロピオン酸の影響を以下のような濃度の組み合わせで調べた。分化誘導後0日目および6日目にサンプリングをおこなった。酢酸 0 mM + プロピオン酸 0 mM、酢酸 0 mM + プロピオン酸 10 mM、酢酸 10 mM + プロピオン酸 0 mM、酢酸 10 mM + プロピオン酸 10 mM。また、分化誘導後1日目において、各濃度における SCD および FASN 遺伝子発現量について測定した。

(6) インスリン濃度を0, 0.005, 0.05, 0.5, 5, 50 μ g/ml に変化させ、分化誘導後0日目および6日目にサンプリングをおこなった。また、分化誘導後0, 6, 12, 24 および 72 時間について各濃度における SCD および FASN 遺伝子発現量について測定した。

(7) トリグリセリド(TG)含量は、常法に従ひ抽出し測定した。

(8) 遺伝子発現量は、常法に従ひ RNA 抽出、cDNA 合成をおこなひリアルタイム PCR 法を用いて測定した。解析対象遺伝子は、GLUT1 (glucose transporter 1: グルコース輸送体 1)、GLUT4 (glucose transporter 4: グルコース輸送体 4)、SCD (stearoyl-CoA desaturase: 脂肪酸不飽和化酵素の一つ)、FASN (fatty acid synthase: 脂肪酸合成酵素)、ADFP (adipocyte differentiation-related protein: 脂肪細胞分化関連タンパク質)、FABP4 (fatty acid binding protein 4: 脂肪細胞型の脂肪酸結合タンパク質)とした。

4. 研究成果

中性脂肪蓄積への影響

(1) 分化誘導後0日目から6日目の中性脂肪蓄積量は、酢酸添加群、プロピオン酸添加群および両揮発性脂肪酸無添加群において増加した。

(2) 分化誘導後6日目における中性脂肪蓄積量は、酢酸よりもプロピオン酸の方が促進させる傾向を示した。

(3) 分化誘導後6日目において、酢酸およびプロピオン酸の単独添加群よりも両者の混合添加(酢酸 9 mM + プロピオン酸 21 mM)群が最も中性脂肪蓄積量を増加させた。

(4) グルコース含有群およびグルコース不含群における分化誘導後0日目から6日目の中性脂肪蓄積量は、全ての実験群において増加した。

(5) グルコース含有群およびグルコース不含群における分化誘導後6日目の中性脂肪蓄積量は、全ての実験群においてほとんど違いはなかった。

(6) 分化誘導後 6 日目のインスリン無添加群は、脂肪細胞分化を抑制した。

遺伝子発現量への影響

(7) 分化誘導後 1, 3 および 6 日目における両揮発性脂肪酸無添加群の GLUT1 遺伝子発現量は、0 日目と比べて増加した。

(8) 分化誘導後 1, 3 および 6 日目におけるプロピオン酸添加群の GLUT4 遺伝子発現量は濃度依存的に増加し、GLUT1 遺伝子発現量は濃度依存的に減少した。

(9) 分化誘導後 1, 3 および 6 日目における酢酸添加群の GLUT1 遺伝子発現量は濃度依存的な減少傾向を示した。

(10) SCD 遺伝子発現量は、分化誘導後 1 日目および 3 日目における酢酸添加群およびプロピオン酸添加群は、濃度依存的な増加傾向を示した。

(11) 分化誘導後 6 日目において、無添加群、酢酸添加群、プロピオン酸添加群、酢酸 + プロピオン酸添加群における GLUT4、ADFP および FABP4 遺伝子発現量は、プロピオン酸添加群 (酢酸 0 mM + プロピオン酸 30 mM) が最も多かった。

(12) 分化誘導後 0 日目から 6 日目の ADFP 遺伝子発現量は、全ての実験群 (無添加群、酢酸添加群、プロピオン酸添加群、酢酸 + プロピオン酸添加群) で増加した。

(13) 分化誘導後 6 日目において、無添加群、酢酸添加群、プロピオン酸添加群、酢酸 + プロピオン酸添加群における GLUT1 遺伝子発現量は、無添加群 (酢酸 0 mM + プロピオン酸 0 mM) が最も多かった。

(14) 分化誘導後 6 日目において、無添加群、酢酸添加群、プロピオン酸添加群、酢酸 + プロピオン酸添加群における SCD および FASN 遺伝子発現量に変化はなかった。

(15) グルコース含有群とグルコース不含群における分化誘導後 1 日目および 6 日目の SCD 遺伝子発現量は、全ての実験群においてグルコース含有群よりもグルコース不含群の方が増加傾向を示した。

(16) グルコース含有群およびグルコース不含群における分化誘導後 6 日目において、GLUT4、ADFP、FABP4 および FASN 遺伝子発現量の酢酸およびプロピオン酸の影響はほとんどなかった。

(17) 分化誘導後 72 時間および 6 日目における SCD 遺伝子発現量は、インスリン濃度依存的に増加傾向を示した。

(18) 分化誘導後 6 日目における FASN 遺伝子発現量は、インスリン濃度変化の影響はなかった。

反芻動物であるウシにおいて、ルーメンで産生された酢酸は、胃壁で吸収され脂肪細胞でアセチル CoA マロニル CoA を介して脂肪酸合成経路に入ることができる。プロピオン酸は反芻動物において糖新生の原料としてよく知られているが、脂肪細胞分化への影響があるか否かは不明であった。本研究より酢酸とプロピオン酸は、ウシ筋肉内脂肪細胞分化 (中性脂肪蓄積の増加) に影響を及ぼし、その作用は異なることを示唆した。また両揮発性脂肪酸は、本研究の解析対象遺伝子発現量にも影響を及ぼすことを示した。本研究結果は、酢酸とプロピオン酸が脂肪酸合成の基質だけでなくリガンドなど他の役割があることを示唆した。酢酸とプロピオン酸の作用機序を明らかにすることにより、効率的な脂肪蓄積 (量や脂肪酸組成も含む) 技術の開発に貢献できると考察した。本研究では脂肪酸組成への影響を明らかにすることが出来なかったため今後の検討課題である。更に本研究の追試および様々な組み合わせの実験をおこない、ウシ筋肉内脂肪細胞分化における揮発性脂肪酸とグルコースおよびインスリンの役割を明らかにし、メタボローム解析を実施することにより詳細なメカニズムを解明する必要があると結論した。

ルーメン内の主な揮発性脂肪酸である酢酸、プロピオン酸および酪酸の産生割合は、約 70, 20 および 10 % であることが知られている。それらの生成は、ウシの発育、餌の種類、餌の配合割合および量などに影響し、ルーメン内微生物叢の種類と数の変化と深く関与していることが予想される。今後はウシ生体内における揮発性脂肪酸と霜降りの関連性についても明らかにしていく必要があると結論した。

< 引用文献 >

Aso et al. *Biochem Biophys Res Commun.* 213, 369-375. 1995.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yang M, Iwazaki T, Mizoguchi, Y.
2. 発表標題 Acetic acid effect during early-stage of bovine intramuscular adipocyte differentiation
3. 学会等名 18th Asian-Australasian Animal Production Congress
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----