

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 25 日現在

機関番号：32701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450385

研究課題名(和文) 甲状腺ホルモン濃度操作によるブタの筋線維タイプ改変に関する研究

研究課題名(英文) Effects of manipulation of thyroid function on changes of muscle fiber type in the pig

研究代表者

勝俣 昌也 (Katsumata, Masaya)

麻布大学・獣医学部・教授

研究者番号：60355683

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：胎齢18日目から21日齢にラットの甲状腺ホルモン分泌を抑制したときに、MHCの各タイプのmRNA発現量にどのような影響をおよぼすかを明らかにした。妊娠18日目から雌ラットにPTU(15ppm)を溶解した水道水を給与し、対照区には水道水のみを給与した。21日齢の産仔から腓腹筋を採取し、MHCのmRNA発現量を測定した。embryo型およびneonatal型の発現量は、甲状腺ホルモン分泌を抑制した産仔のほうが高かった。一方、adultタイプのMHCの各タイプの発現量は、いずれも甲状腺ホルモン分泌を抑制した産仔のほうが低かった。産仔の甲状腺ホルモン分泌が抑制されたことで筋形成も遅延したと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We examined the effects of hypothyroidism on abundances of Myosin Heavy Chain (MHC) mRNA of gastrocnemial muscle in rats. Thyroid function of rats was suppressed from 18 days of fetal stage to weaning, that is 21 days of age, by treated their mothers with PTU. PTU was diluted in drinking water at the level of 15 ppm. The female rats were given either PTU diluted tap water or tap water without PTU from 18th day of their gestation stage until weaning of their pups. When the pups reached 21 days of age, samples of gastrocnemial muscle were taken from each pup. Abundances of MHC mRNA in the muscle samples were determined. The abundances of MHC embryo type and neonatal type were higher in the hypothyroid pups while those of adult types, MHC 1, 2a, 2x, and 2b, were lower in the hypothyroid pups. We infer that hypothyroidism delayed myogenesis of pups.

研究分野：家畜栄養

キーワード：筋形成 筋線維タイプ 甲状腺ホルモン

1. 研究開始当初の背景

(1) 胎齢 90 日から生後 75 日にかけて豚の筋肉の筋線維型の遷移を観察したところ、肉量に關与する筋線維であるミオシン重鎖 (MHC) 2B 型の mRNA の胸最長筋における発現量が、胎齢 90 日から生後 12 日齢にかけて 400 倍高くなること明らかにした (Katsumata ら 2017)。また、豚を哺乳している期間中に甲状腺ホルモン濃度を低くすると、肉質に關与する筋線維 MHC1 型の mRNA 発現量が高くなること明らかにした。一方、豚の甲状腺ホルモン濃度は胎齢 110 日から出生後 2 日にかけて 10 倍程度高くなることわかっていた (Duchamp ら 1994)。さらに、甲状腺ホルモンを筋肉に作用させると 1 型 2A 型 2X 型 2B 型の方向に発現する MHC のタイプが遷移することもわかっていた (Izumo ら 1986)。これらの先行研究の結果は、豚が出生する前後に MHC2B 型の mRNA 発現量が急激に上昇することに、甲状腺ホルモンが關与していることを示唆していた。

(2) 甲状腺ホルモン以外に、タウリンが筋形成を促進することが示唆されていたので (Miyazaki ら 2013)、市販飼料にタウリンを添加して (濃度 1.5%)、妊娠から授乳期にかけて雌豚に給与したところ、産仔の生時体重と離乳体重が小さくなった。また、筋肉の発達は抑制されたことが示唆された。予想に反した結果となったが、タウリンの添加量が高すぎた可能性が考えられた。

2. 研究の目的

(1) MHC2B 型の筋線維には、直径が大きい、脂肪蓄積量が低いという特徴がある。したがって、出生前後に觀察される MHC2B 型の発現上昇を制御できれば、肉量と肉質の改変につながると期待できる。前述したように、出生前後の MHC2B 型の急激な発現上昇には、甲状腺ホルモンが關与している可能性が高い。本研究では、豚のパイロット動物としてラットを使い、出生前 (胎齢 18 日目) から離乳 (21 日齢) にかけて甲状腺ホルモンの分泌を抑制したときに、MHC の各タイプ (とくに MHC2B 型) の mRNA 発現量にどのような影響をおよぼすかを明らかにする。

(2) 雌豚にタウリンを給与した実験では、タウリンの添加量が高すぎた可能性が考えられた。そこで、複数のタウリン給与水準を設定し、筋形成を促進できるタウリンの給与水準があるかどうか明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 妊娠 18 日目から雌ラットに PTU (15ppm) を溶解した水道水を給与し、対照区には水道水のみを給与した。子ラットが 3 週齢に達した時点で腓腹筋と胸最長筋を採取し、MHC の mRNA 発現量を測定した。

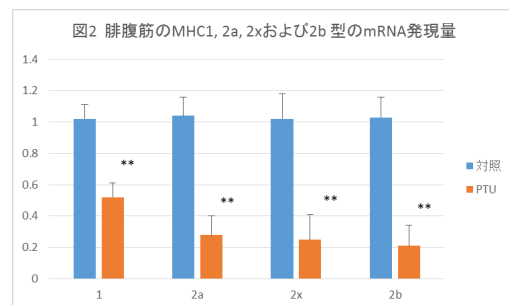
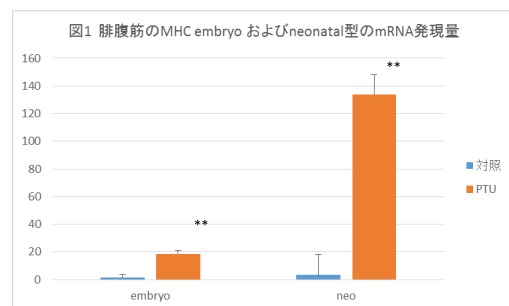
(2) 妊娠成立を確認した雌ラットを対照区、タウリン 0.5% 区、同 1.0% 区、同 2.0% 区の 4 区にわけた。タウリンは水道水に

0.5%、1.0%、2.0% の濃度になるように溶かし、該当する雌ラットにそれぞれのタウリン添加水を給与した。なお、授乳期間中は雌ラットの飲水量が高くなるので、それぞれのタウリン濃度を半量になるように低くした。産仔は 21 日齢で離乳し、腓腹筋を採取して重量を測定するとともに、MHC の mRNA 発現量を測定した。

4. 研究成果

(1) PTU を投与した雌ラットの産仔の 3 週齢時の体重は 28.9g で、49.4g の対照区よりも低かった ($P < 0.01$)。雌ラットに PTU を投与したことで産仔の甲状腺ホルモン分泌が抑制され、産仔の発達が遅延したと考えられる。出生時の産仔の各 MHC の mRNA 発現量に、雌ラットへの PTU 投与 (甲状腺ホルモン分泌抑制) の影響はなかった。

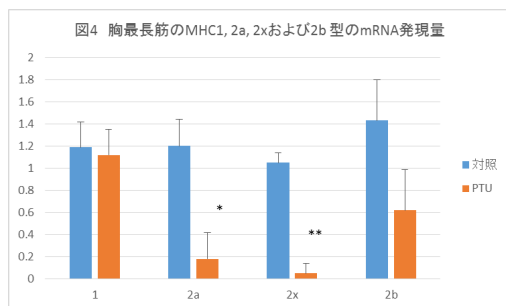
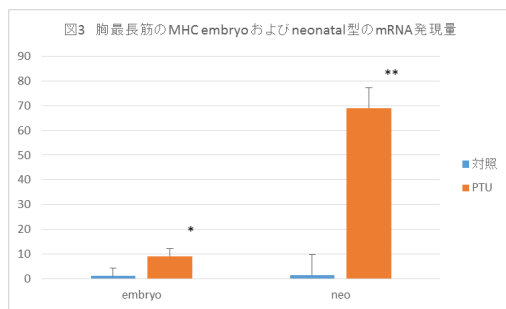
3 週齢の産仔から採取した腓腹筋における MHC の各アイソフォームの mRNA 発現量を図 1 と 2 に示した。筋形成の初期段階で発現する embryo 型および neonatal 型の発現量は、甲状腺ホルモン分泌を抑制した産仔のほうが高かった (図 1、 $P < 0.01$)。一方、adult タイプの MHC の各アイソフォームの発現量は、いずれも甲状腺ホルモン分泌を抑制した産仔のほうが低かった (図 2、 $P < 0.01$)。産仔の甲状腺ホルモン分泌が抑制されたことで筋形成も遅延し、embryo 型および neonatal 型の発現量が高いまま維持され、adult タイプの各アイソフォームの発現が促進されなかったと考えられる。



同様に、3 週齢の産仔から採取した胸最長筋における MHC の各アイソフォームの mRNA 発現量を図 3 と 4 に示した。腓腹筋の結果と同じように、embryo 型および neonatal 型の発現量は、甲状腺ホルモン分泌を抑制した産仔のほうが高かった (図 3、embryo 型 $P < 0.05$ 、neonatal 型 $P < 0.01$)、adult

タイプの MHC の結果は腓腹筋とはちがっていた。MHC1 型の mRNA 発現量には甲状腺ホルモン分泌を抑制した影響はなく、MHC2b 型の mRNA 発現量は雌ラットへの PTU 投与で低くなったものの、有意差は検出できなかった。

ラットの場合、筋形成は出生前から離乳期にかけて進行し、各筋肉の筋線維型の遷移も離乳期にかけて進行する。胎児期に筋形成が始まった当初は embryo 型が発現し、その後、neonatal 型が発現する。出生期になると、これらのタイプの MHC は次第に発現量が低下し、かわって adult タイプの MHC の発現が始まる。adult タイプの中では、1 型が最初に発現し、次いで 2a 型、最後に 2x 型あるいは 2b 型の発現へと続く。図 1~4 の結果は、腓腹筋と胸最長筋では筋形成（筋線維型の遷移）におよぼす甲状腺ホルモンの影響がちがうことを示唆している。また、胸最長筋では MHC1 型の発現量に甲状腺ホルモン分泌を抑制した影響がなかったことから、腓腹筋よりも胸最長筋のほうが、筋形成が始まるステージが早い可能性が考えられる。つまり、PTU 投与で甲状腺ホルモンの分泌量が低くなり筋形成が抑制されたとしても、胸最長筋は筋形成の開始が早かったため、3 週齢時には MHC1 型の mRNA 発現量が対照区と同じレベルまで高くなっていった可能性がある。また、embryo 型と neonatal 型の MHC mRNA 発現量の差が、胸最長筋のほうが腓腹筋よりも小さかったことも、胸最長筋のほうが筋形成の開始が早かったことを示唆している。



本研究は、豚で観察した出生前後の MHC2B 型の急激な発現上昇に、甲状腺ホルモンが関与しているかどうかの検討に資するために実施した。豚とラットでは、出生前後というステージをそろえても、発達

のステージが遅れている) 予想したよりも甲状腺ホルモン分泌を抑制した影響が大きく、体重の低下を含めてグローバルな影響になってしまった。十分な頭数の妊娠豚をそろえ、PTU 投与などにより甲状腺ホルモン分泌を抑制する実験は大がかりになり、実施するのに困難をとまうが、豚で観察した現象の作用機作は豚を使って検討する必要があることを再認識した。

(2) 産仔の生時体重と 3 週齢の体重には、雌ラットへのタウリン給与(タウリン給与)の影響はなかった。しかし、3 週齢で採取した産仔の腓腹筋の重量と体重の比(腓腹筋重量 mg/体重 g)は、タウリンの給与で小さくなった(図 5、P<0.01)。したがって、飲水に 0.5%以上の濃度でタウリンを添加して雌ラットに給与すると、少なくとも産仔の腓腹筋では、筋形成が抑制される可能性を示唆した。この結果は豚と同様の結果で、胎児期から出生後早い段階の筋肉が形成されるステージでタウリンを強化すると、筋形成を抑制する可能性が示唆された。図 6 に産仔の腓腹筋の MHC の各アイソフォームの mRNA 発現量を示した。いずれのアイソフォームともタウリン給与の影響はなかった。仮に、embryo 型や neonatal 型の発現量に差はなく、2B 型のように発現が始まるステージが遅いものの発現量が低ければ、筋線維型の遷移の遅延と筋形成抑制がリンクしている可能性がある。しかし、今回の結果はこのことを否定しており、各筋線維の肥大が抑制されたと考える方が妥当である。筋線維の肥大をタウリンが抑制する作用機作についてはわからない点が多く、今後の検討課題である。

図 5 産仔の体重あたりに占める腓腹筋の重さの割合 (腓腹筋重量 mg/体重 g)

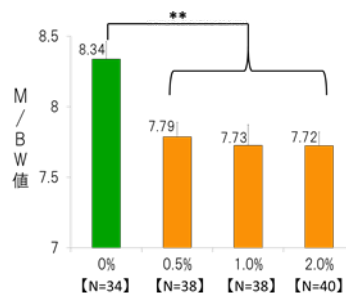


図 7 は雌ラットの血漿と産仔の腓腹筋の遊離タウリン濃度である。雌ラットの血漿ではタウリン濃度 1.0%、産仔の腓腹筋ではタウリン濃度 0.5%で、それぞれの遊離タウリン濃度が頭打ちになっており、用量依存性は認められなかった。用量依存性が認められなかった理由として、雌ラットの飲水にタウリンを添加したことで、小腸からのタウリン吸収がフィードバック制御を受けて低くなったこと、体内でのタウリン

合成もフィードバック制御を受けて低くなったこと、あるいは、体内でのタウリン分解が促進されたことが考えられる。タウリンを経口摂取したときのタウリンの吸収と代謝について、あらためて検討の余地がある。

図6 産仔の腓腹筋のMHC mRNAの発現量

- A) MHC 1型、neonatal型、embryo型
B) MHC 2X型、2A型、2B型

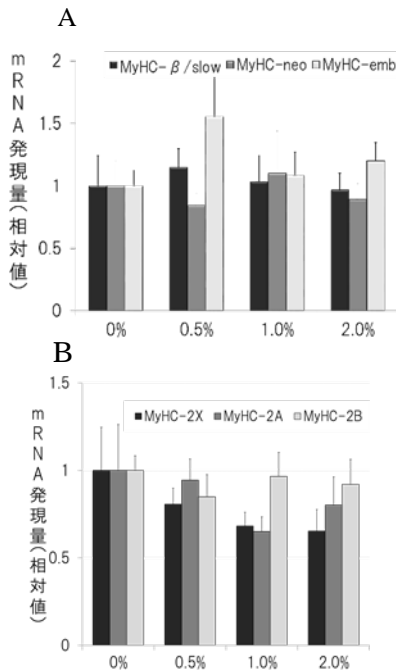
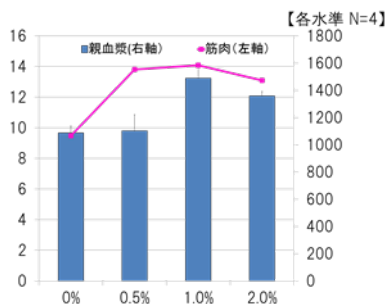


図7 雌ラットの血漿および産仔の腓腹筋の遊離タウリン濃度 (単位: μM)



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)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計1件)

高橋知也、鈴木武人、勝俣昌也「妊娠ラットに給与するタウリン濃度の違いが産仔の腓腹筋の重量とMHCタンパク質のmRNA発現量に及ぼす影響」第71回日本栄養・食糧学会大会

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

勝俣 昌也 (KATSUMATA, Masaya)
麻布大学・獣医学部・教授
研究者番号: 60355683

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号:

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号:

(4) 研究協力者

なし ()