

博士論文要約

マウスの酸素消費量高低選抜実験と
選抜系統間の栄養生理学的差異

東北大学大学院農学研究科

応用生命科学専攻

紅玉

指導教員

豊水 正昭

緒 言

家畜に給与する飼料費は、家畜生産費の 50%を超える。そのため飼料コストを低減させることは重要な育種の課題である。動物の体に取り込まれた飼料エネルギーは生産エネルギーと維持のエネルギーに分配されるが、生産に利用されるエネルギーはその一部であり、残りは動物の生命活動の維持に利用される。それゆえ、維持に分配されるエネルギーを抑制し、生産に利用されるエネルギーを増やすことができれば、生産効率の向上につながると考えられる。維持エネルギー要求量(Maintenance energy requirement: ME)には遺伝的変異が存在することが指摘されており、維持エネルギー要求量を遺伝的改良により低下させることができれば生産に使われるエネルギーが増加し、肉、乳および卵生産などの効率が高まり、結果として飼料摂取量(Feed intake: FI)を減少させ、生産コストの低減につながる。ところで、飼料効率の改良指標として、従来から増体に要する飼料摂取量である飼料要求率(Feed conversion ratio: FCR)が使われてきた。しかし、飼料要求率は比形質（飼料摂取量/増体量）のため分子、分母のいずれが変化するか予測できない。そこで、動物が実際に摂取した飼料量と動物に必要な予測 FI との差である余剰飼料摂取量 (Residual feed intake: RFI) が利用され、豚での選抜実験が行われている。RFI は基礎代謝過程における遺伝的変異を反映しており、維持エネルギー要求量における遺伝的変異が RFI の変異と密接に関連していると考えられる。RFI 変異には、飼料摂取量、消化、体構成と代謝、身体活動や体温調節などの生理学的過程が関与するが、RFI 変異の原因となる機構を理解するには、栄養生理学的情報と分子遺伝学的情報が重要と思われる。

そこで、本研究では、飼料効率の栄養生理学的根拠を明らかにすることを目的として、はじめに維持エネルギー要求量を間接的に推定する方法として酸素消費量 (Oxygen consumption : OC) を簡易に測定できる装置を開発した。この装置を使い、統計遺伝学的手法によりマウスの OC の高低方向への選抜を実施し、OC が遺伝的に異なるマウス系統を作出した。そして、作出した OC 高低選抜系統間の維持エネルギー要求量の違いと FCR や RFI と酸素消費量、ミトコンドリア呼吸活性などとの関連を検討した。

第一章では、マウスの OC に関する高 (H 系) と低 (L 系) 方向への選抜を行い、遺伝率の推定、選抜反応、母性遺伝効果の推定と近交係数の変化を検討した。次に第二章では、選抜に伴う相関反応として成長、繁殖能力、FI、FCR と RFI の系統間の違いを検討した。第三章では、比較屠殺法によるマウスの化学的体構成成分と飼料エネルギー摂取量との関係から OC 高低選抜系統の ME の推定と、肝臓ミトコンドリア呼吸活性の違いを比較検討した。さらに、第四章では飼料効率の育種改良における OC から推定される維持エネルギーの改良の有効性とその栄養生理学的背景について総合的に考察した。

第一章 マウスの酸素消費量に関する高低方向への選抜

マウスの維持エネルギー要求量 (ME) の間接的推定として酸素消費量 (OC) を測定する装置を開発して遺伝率を推定し、育種価に基づく選抜を第 17 世代まで行った。

素材として二つの近交系 (BALB/c: B, C3H/He: C) と二つの選抜系(高攻撃性選抜系マウス: H 系、低攻撃性マウス: L 系)を用い、雑種第 1 世代、さらに 4 元交雑集団を作成して基礎集団(G0)とした。G0 のマウスの OC を測定し、高と低マウスを選抜した。OC の測定は、予め二酸化炭素吸収剤を入れた 250mL ガラスビーカーにマウスを収納し、5 分間の減圧を 3 回繰り返し測定する方法により行った。圧力値 (mmH₂O) を OC 測定前に測定した代謝体重(MBW : kg^{0.75})で除して代謝体重当たりの酸素消費量 (Oxygen consumption /Metabolic body size : OMBW)を算出した。選抜方法は、第 1 世代から第 6 世代までは OC の高い系統 (H 系) と低い系統 (L 系) では OMBW を選抜指標として選抜を行ったが、第 7 世代から第 17 世代までは H 系では OC を選抜指標、L 系では OMBW を選抜指標として選抜を行った。

選抜の各世代で遺伝率を推定後に育種価を算出して選抜を進めたが、選抜第 17 世代までのデータを使って推定した OC と OMBW の遺伝率は中程度であり、選抜形質は改良が容易であることを示した。OC と 7 週齢体重 (BW7) の遺伝相関と表型相関は正であり、H 系が L 系より高い。BW7 と OMBW の遺伝相関と表型相関は負であり、L 系が H 系より高い。以上の相関係数から OC を選抜指標として選抜すると H 系マウスは L 系より体重の増加が進むこと、OMBW を選抜指標として選抜すると L 系マウスより H 系マウスの体重の増加が進むことが予測できる。そこで、H 系マウスについて OC を選抜指標として、L 系については OMBW を選抜指標として選抜を行うことで体重を一定にした OC の異なるマウス系統を樹立することができると考えた。

次に、選抜に伴う育種価の変化と表型値の変化を比較した。OC を選抜指標として選抜した第 0 世代から第 6 世代までの OC と OMBW の育種価は H 系で増加し、L 系で減少し、相関反応として BW7 は H 系で減少し、L 系で増加した。選抜に伴う BW の相関反応は望ましい結果ではないので、第 7 世代から第 17 世代までは H 系で OC、L 系で OMBW を選抜指標として選抜をおこなった。その結果 OC と OMBW の育種価は、OMBW を選抜指標とした選抜と同じように H 系で増加し、L 系で減少した。BW7 の育種価は両系統間で増加した。従って、H 系では OC、L 系では OMBW を選抜指標として選抜を継続した。育種価に対して表現値の変化は OC では第 1 世代と第 6 世代を除いて H 系が L 系より有意に高く、OMBW が第 4 世代から H 系が L 系より有意に高い。また、BW7 は第 4 世代から第 8 世代までは L 系が H 系より有意に高く、第 10 世代から第 16 世代までは H 系が L 系より統計的に有意に高かった。以上の結果から、H 系では OC を選抜指標として、L 系では OMBW を選抜指標とした選抜が体重の減少を避けながら OC の異なる系統の造成には有効であることが示唆され、OC が遺伝的に異なるマウス系統が樹立できた。

生体での OC の 90%以上はミトコンドリアで行われる。ところで、ミトコンドリアは母性遺伝することが知られている。従って、ミトコンドリア DNA を含むミトコンドリアの機能は、母性遺伝することが予想される。通常、表現型分散は、相加的遺伝分散、母性遺伝効果、母性環境効果と誤差に分割できる。そこで、統計遺伝学的手法により、OC に関する相加的遺伝分散、母性遺伝効果、母性環境効果の割合を推定した。特に、母親の表現型 (母親由来のミトコンドリア DNA) が後代の表現型(酸素消費量)におよぼす影響である母性遺伝効果がどの程度かを明らかにすることは重要である。

代謝体重当たりの酸素消費量(OC)の相加的遺伝効果と母性遺伝効果の遺伝率は、それぞれ H 系で 0.32 ± 0.01 と 0.08 ± 0.01 、L 系で 0.21 ± 0.01 と 0.09 ± 0.01 と推定された。OC と OMBW のいずれの遺伝率も H 系が L 系より有意に高かった。そして、選抜反応も H 系が L 系より反応が進み非対称な選抜反応が得られた。母性遺伝効果の遺伝率は両系ともに低い、この値はゼロと有意に異なることから OC に関して母性遺伝効果が何らかの形で関連している事が示唆された。また、直接遺伝効果と母性遺伝効果間の負の相関から直接遺伝効果が母性遺伝効果を制御していることが示唆された。

選抜に伴う第 17 世代での平均近交係数は、H 系で 33.28%、L 系で 32.33%と推定された。また、近交係数から推定される血縁係数は、H 系 66.56%、L 系が 64.66%である。全きょうだいの血縁係数は 50%なので、両系統は遺伝的にかなり均一の集団となっていることが明らかとなった。

第二章 マウスの酸素消費量に関する高低方向への選抜の相関反応

特定の優れた形質に対する育種改良に伴って、相関反応としてほかの形質が変化することが予想される。改良された家畜を評価する際には、相関形質なども含めた全体的に変化で評価する必要がある。そこで、本章では、相関形質の変化を検討するため、マウスの酸素消費量 (OC) に関する高低方向への選抜がマウスの繁殖能力、成長、飼料摂取量 (FI)、飼料要求率 (FCR) と余剰飼料摂取量 (RFI) に影響を与えるかを検討した。

農業の生産現場では、家畜の成長と繁殖能力が非常に重要である。そこで、マウスの OC に関する高低方向への選抜がマウスの繁殖能力に影響するかをはじめに検討した。その結果、産子数の遺伝率は H 系で 0.226、L 系で 0.078 と比較的低い値が推定されたが、H 系は L 系より高い遺伝率だった。H 系では産子数と OC の遺伝間が -0.313 の中程度の負の値が推定された。L 系では産子数と代謝体重当たり酸素消費量 (OMBW) の遺伝相関が 0.668 の高い正の値が推定された。表型相関が両系統共に低い値が推定された。産子数の表型値はすべての世代では両系統間で統計的有意差は認められなかった。育種価については、H 系では第 1 世代から第 7 世代までは増加し、第 7 世代から第 17 世代までは減少した。L 系では 1 世代から第 17 世代までが減少した。以上の結果から、OC に関する選抜が、産子数には影響しないと判断される。

飼料コストは家畜生産費の 50%以上を示している。そこで、本研究の目的は、維持エネルギー要求量 (ME) を間接的な指標とした OC が飼料要求率 (FCR) や余剰飼料摂取量 (RFI) と密接に関連しており、酸素消費量に対する選抜により推定飼料摂取量 (EFI)、FCR や RFI が変化することを確認することである。そこで、OC 高低選抜マウスの EFI、FCR と RFI の変化を検討した。その結果、EFI は全世代では系統間で統計的有意差がなかった。また、FCR は 15 世代では L 系が H 系より統計的に有意に高いが 16 世代では H 系が L 系より統計的有意に高く、一貫した傾向が認められなかった。しかし、RFI は 11 世代を除いて全ての世代で H 系が L 系より統計的有意に高かった。平均 EFI と FCR は系統間で統計的有意差がなかったが、平均 RFI は H 系が L 系より

有意に高かった。以上の結果から OC に関する高低選抜はマウスの RFI には影響をすることが示唆された。

第三章 酸素消費量高低選抜マウスの栄養生理学的比較

家畜の飼料効率の変異は飼料摂取量 (FI)、消化率、体構成と代謝活性、身体活動などが考えられる。そこで、本章では OC 高低選抜マウスの化学的体構成成分、維持エネルギー要求量 (ME) と肝臓ミトコンドリア呼吸活性を系統間で比較し、これらの OC と OMBE の相関係数を検討した。はじめに、マウスの OC に関する高低方向への選抜がマウスの ME と化学的体構成成分に影響を与えるかどうかを検討した。その結果、不断給餌区 (B) では、FI、代謝体重当たり飼料摂取量(FI/MBW)と FCR は H 系が L 系より有意に高かった。制限給餌区により、H 系は蓄積エネルギーが減少したのに対して、L 系では脂肪蓄積が増加し、蓄積エネルギーも増加し、代謝体重当たり蓄積エネルギー量は L 系が H 系より有意に高かった。代謝体重当たり飼料摂取エネルギーに対する代謝体重当たり蓄積エネルギーから推定される ME は、L 系が $183.76\text{kcal/kg}^{0.75}/\text{day}$ 、H 系が $220.75\text{kcal/kg}^{0.75}/\text{day}$ であり、L 系が H 系より有意に低かった。以上の結果から、マウスの酸素消費量に関する高低選抜は化学的体構成成分割合と飼料要求率を変え、維持エネルギー要求量も変えたことが明らかとなった。

酸素消費の 90%以上が細胞内のミトコンドリアで使われ、酸化リン酸化により ATP を合成される。ミトコンドリア呼吸活性により細胞内酸素が効率的に ATP を合成するために利用されているかを推定できる。そこで酸素消費量高低選抜マウスの肝臓ミトコンドリア呼吸活性を系統間で比較した。はじめに、選抜第 11 世代の高低選抜系統について比較検討した。その結果、State2 と脱共役剤 (カルボニルシアニド-m-クロロフェニルヒドラゾン、*p*-trifluoromethoxy carbonyl cyanide phenyl hydrazone) FCCP を投入して刺激した際のミトコンドリア呼吸速度は H 系が L 系より有意に高く、State3 と State4 は系統間で差がなかった。また、L 系の ADP:O が H 系より有意に高く、呼吸調整率が系統間で差がなかった。プロトンリークは H 系が L 系より高かった。以上の結果から L 系の肝臓ミトコンドリア呼吸効率が H 系より効率である、OC の高低選抜は肝ミトコンドリアプロトンリーク能の増減にともなう基礎代謝量の変化をもたらすことが考えられる。

選抜がさらに進んだ第 16 世代の酸素消費量高低選抜マウスについて、肝臓ミトコンドリア呼吸活性の基質を変えての再現性を検討した。その結果、コハク酸を基質としたミトコンドリア呼吸活性である、State2、State3 と State4 は H 系が L 系より有意に高かった。しかし、RCR と ADP:O は系統間で差がなかった。一方、グルタミン酸、リンゴ酸とピルビン酸を基質としたミトコンドリア呼吸活性は、State3、State4 では H 系が L 系より有意に高く、RCR と ADP:O は系統間で差がなかった。さらに、プロトンリークは H 系が L 系より高かった。さらに、FCR は OMBW、ミトコンドリア呼吸活性と中程度の有意な相関、OMBW はミトコンドリア呼吸活性と中程度の有意な相関認められた。以上の結果から H 系の肝臓ミトコンドリア呼吸活性は L 系より有意に高いことが明らかとなり、OC の高低方向への選抜により FI、FCR と肝臓ミトコンドリア呼吸

活性の異なるマウス系統を作成することが可能となった。

総括

本研究では、マウスの酸素消費量（OC）に関する高低方向へ選抜より維持エネルギー要求量（ME）の異なるマウス系統を作成すると OC の高系統（H 系）と低系統（L 系）間の栄養生理学的違いを明らかにすることを目的として、初めに、OC の遺伝的パラメータ、育種価の変化と表型値の変化を検討しながら選抜を行い、母性遺伝効果と近交係数を検討した。次に、相関反応として、マウスの産子数、成長、乳生産量、飼料効率を系統間で比較検討した。さらに化学体構成成分の分析と飼料摂取エネルギーの関係から ME を推定とミトコンドリア呼吸活性の違いの解析を行った。その結果以下の点が明らかとなった。

1. OC と OMBW の遺伝率が比較的高いことが改良の容易ことを示唆した。OC の異なる系統を樹立できたことを選抜形質の OC と OMBW と相関形質の 7 週齢体重 (BW7) の育種価と表型値の変化から確認された。また、OC に関する母性遺伝効果が小さい、相加的遺伝効果が母性遺伝効果を抑制することが推定された。近交係数から血縁係数が全兄弟よりも高くなっていることが確認された。
2. 成長と繁殖能力などの相関反応が OC の高低方向への選抜により変化されないことが示された。飼料効率の指標である余剰飼料摂取量 (RFI) が OC の高低方向への選抜により H 系で増加し、L 系で減少した。
3. OC の栄養生理学的根拠として考えられる ME、ミトコンドリア呼吸活性とプロトンリークは H 系が L 系より統計的に有意に高かった。

以上より、酸素消費量の高低方向への選抜は維持エネルギー要求量の遺伝的に異なるマウス系統を樹立することができた。飼料効率の栄養生理学的根拠と考えられる維持エネルギー要求量、代謝活性とミトコンドリア呼吸活性は系統間で異なることが明らかになった。本研究の結果より、酸素消費量を指標とした維持エネルギーの遺伝的選抜が家畜の飼料コストを低減させて生産効率を増加することができることが示唆された。