

氏 名(本籍) 小 松 篤 司

学位の種類 博 士 (農 学)

学位記番号 農 第 7 0 4 号

学位授与年月日 平 成 18 年 3 月 2 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学位論文題目 ホルスタイン種乳牛における糖代謝関連生理活性物質の
遺伝子発現の特性に関する研究

論文審査委員 (主 査) 教 授 小 原 嘉 昭
(副 査) 教 授 山 口 高 弘
助教授 加 藤 和 雄
助教授 豊 水 正 昭

論文内容要旨

緒論

グルコースはすべての動物の重要なエネルギー基質および代謝基質である。動物は、グルコースの摂取・利用における大きな変動にも関わらず、血中グルコース濃度を一定範囲に保つグルコースホメオスタシスを持つ。加えて、誕生、成長、妊娠、泌乳などのそれぞれ異なった生理的局面に対応するためにホメオスタシスの代謝調節の設定点を変化させ、比較的長期間にわたってグルコースの変化を維持する機構（ホメオレーシス）が備わっている。

反芻動物における炭水化物代謝の大きな特徴の1つは、消化管からグルコースの形でほとんど吸収されない点にある。これは飼料中の炭水化物が第1胃内で微生物により揮発性脂肪酸(SCFA)に発酵されるためである。一方で泌乳時のミルク基質供給といったエネルギー供給の面で反芻動物は非反芻動物に匹敵するほどのグルコースを消費しており、内因性のグルコースは主として肝臓における糖新生に依存している。このため、反芻動物の各組織ではインスリンによるグルコースの取り込みを抑制する、いわゆるインスリン抵抗性といったグルコース消費を節約する仕組みが働いていると考えられる。

そのグルコースの細胞内への取り込みはグルコーストランスポーター(Glucose Transporter, GLUT)を介する機構によって行われる。GLUTにはインスリン刺激の制御を受けない GLUT1 や、インスリンの刺激によって細胞膜表面に移動し作用する GLUT 4 などがある。反芻動物のグルコース代謝や糖尿病疾患の特徴であるインスリン抵抗性の亢進とは、脂肪や筋肉などのインスリン感受性組織において GLUT 4 によるグルコース取り込みを抑制させることによるものである。しかしながら反芻動物においてはインスリン抵抗性をはじめとするグルコースホメオスタシスやホメオレーシスについては十分には解明されていない。

生体のエネルギー代謝はエネルギー摂取量と消費のバランスによって成り立つが、生体のエネルギーバランスを調節する重要なシグナルの1つが、体脂肪の増減にある。加えて脂肪組織は多彩なホルモンやサイトカインなどの生理活性物質（アディポカイン）を分泌する生体最大の内分泌器官と言えるものであり、アディポカインはエネルギーバランス、

免疫及びインスリン感受性の変化に関与していると考えられている。このため、インスリン抵抗性の高い反芻動物でも脂肪組織が内分泌器官として積極的に関与している可能性が考えられる。反芻動物の脂肪組織や筋肉でのインスリン応答性の低下は、糖新生に依存している貴重なグルコースの利用を節約するのに役立っている。その節約機構を最大限に発揮したものが泌乳であると考えられる。

泌乳は、乳腺組織においてグルコースをはじめとした栄養素の供給をもとに、乳腺で乳汁が合成され分泌されるという複雑な生理現象である。産乳量を決定する重要な因子の1つは乳腺における乳糖合成量であるため乳糖構成成分のグルコースの乳腺への流入が重要となってくる。代謝の設定点を変更するホメオレーシスによって乳腺へのグルコース供給が多くなるが、グルコースの受け手となる乳腺側の GLUT 機能の変化については不明の点が多い。

そこで本研究では、反芻動物におけるグルコースホメオスタシス及びホメオレーシスの特異性は脂肪組織に依存しているとの仮説を立て、その一端を解明する目的で、レジスチンやアディポネクチンなどのインスリン抵抗性に関与するアディポカインや GLUT などの糖代謝関連遺伝子の発現特異性を追究した。

第一章では反芻家畜では未だ存在が明らかにされていないレジスチンの存在を検索し、更に黒毛和種及びホルスタイン種去勢牛における脂肪中の TNF、GLUT1 といった糖代謝に関連した遺伝子の発現調節の特異性を明らかにする。第二章では泌乳最盛期、後期、乾乳期のホルスタイン種の脂肪組織においてアディポネクチンなど糖代謝に関連した遺伝子の発現調節を明らかにすることで栄養素蓄積としての脂肪、内分泌組織としての脂肪の特徴を明らかにする。第三章では節約されたグルコースの受け手となる乳腺組織での糖代謝に関連した遺伝子の発現調節を明らかにすることで泌乳後期に向かって減少する泌乳量調節のメカニズムを明らかにする。

これらの研究成果から反芻動物であるホルスタイン種乳牛の糖代謝の特徴を考察する。

第1章 黒毛和種牛とホルスタイン種牛のグルコース代謝制御システムの差違

黒毛和種牛とホルスタイン種牛は同じ反芻動物種でありながら育種改良の結果、黒毛和種牛は肉生産という同化的ホルモンの作用が強い動物に、ホルスタイン種牛は乳生産という異化的ホルモンの作用が強い品種に改良されてきた。また、黒毛和種牛は脂肪交雑に優れている。これらの品種間差にはインスリンをはじめとするグルコース代謝に関連したホルモンや GLUT などの生理活性物質の特性が関与していると考えられる。特に脂肪から分泌されるアディポカインはインスリン感受性の変化に深く関わっていることが指摘されていることから、これらホルモンに着目して研究を行った。レジスチンは筋肉や脂肪組織に作用しインスリン抵抗性を亢進させることが報告されている。また、TNF- α も同様にインスリン抵抗性の亢進作用や、抗炎症作用など多様な機能を有しており、反芻動物においてインスリン抵抗性を亢進させることも指摘されている。本章では肥育されている黒毛和種去勢牛とホルスタイン種去勢牛の内臓脂肪を採取し、グルコース代謝に関わるこれら因子の発現量の測定と血漿中ホルモン、及び代謝産物濃度の測定を試みた。25~28 カ月齢の黒毛和種及びホルスタイン種去勢牛それぞれ5頭を供試し、腹腔内より内臓脂肪を採取し、total RNA を抽出した。

ウシレジスチンと相同性の高い遺伝子を検索するために、ヒトレジスチンと相同性の高いウシ EST 配列を検索し、得られた配列からプライマーを設計し、RACE 法にて配列を決定した。得られたウシレジスチンの配列は、他の動物と比較して 70~80%の相同性を示した(表 1)。

レジスチン、TNF- α 、GLUT1、及び GHR mRNA の発現量の測定はそれぞれに対するプライマーを設計してリアルタイム PCR 法によって行った。レジスチンの発現量は黒毛和種牛に比べてホルスタイン種で 6 倍以上高い結果となった(図 1 左)。一方で TNF- α の発現量は、黒毛和種牛の方がホルスタイン種牛に比べて有意な差ではなかったものの高い傾向であった(図 1 右)。また、GLUT1 の発現量は両品種間で違いは見られなかったものの、GHR の発現量は黒毛和種牛で 2 倍以上高かった。血中代謝産物濃度は NEFA、グルコース、ともに両種の間で明確な違いは見られなかった(表 2)。また、血漿中ホルモンである

GH、インスリン濃度にも明確な違いは見られなかった(表 2)。以上の結果は黒毛和種とホルスタイン種去勢牛では脂肪で合成されたレジスチンや TNF- α の発現の違いが脂肪交雑をはじめとするグルコース代謝に変化をもたらすことを示唆するものである。

第 2 章 泌乳牛の脂肪組織におけるグルコース代謝制御システムの特徴

前章の結果より、同じウシであっても同化作用の強い黒毛和種牛と異化作用の強いホルスタイン種牛では脂肪から分泌されるホルモンの発現に違いがあることが示された。このことはホルスタイン種乳牛においても、泌乳によって起こるインスリン抵抗性の亢進をはじめとするグルコース代謝の変化(ホメオレーシス)に対してもアディポカインや生理活性物質の発現の変化が影響している可能性が考えられる。グルコース代謝に影響のあるアディポカインとしてはインスリン抵抗性を亢進させるレジスチン、インスリン抵抗性を低下させるアディポネクチン、摂食やエネルギー代謝に関わるレプチン等が上げられる。また、脂肪組織は栄養素蓄積器官としての機能を持つことから細胞内に存在する GLUT1 や GLUT4 などのグルコース代謝に関連した物質もその発現や機能が大きく変化していることが予想される。そこで、本章ではホルスタイン種乳牛の乳量の変化にはアディポカインによる内分泌の変化やグルコース代謝の変化が大きく関わっているとの仮説を立てた。ここでは泌乳最盛期、泌乳後期、及び乾乳期のホルスタイン種泌乳牛を用い、それぞれの脂肪組織でレジスチンをはじめとするアディポカインや、GLUT1 をはじめとする細胞内生理活性物質の発現にどのような変化が起こっているかを検討した。

ホルスタイン種乳牛、泌乳最盛期(分娩後 8-11 週)、泌乳後期(40-50 週)、乾乳期(乾乳後 3-11 週)をそれぞれ 4 頭ずつ供試し、腹腔内内臓脂肪を採取し、液体窒素に保存後 total RNA 及びタンパク質を抽出した。また、屠殺当日の朝に採血を行った。レジスチン、アディポネクチン、レプチン、GLUT1、GLUT4、GLUT12、PPAR γ 2、GHR の mRNA 発現量測定はそれぞれに対するプライマーを設計し、リアルタイム PCR 法にて行った。GLUT1 タンパク質発現量はウェスタンブロット法にて行った。また、GH 及びインスリン濃度の測定は RIA 法にて行った。

ウェスタンブロット法による脂肪組織中の GLUT1 タンパク質発現量は泌乳最盛期では発現がほとんど見られなかったのに対し、泌乳後期及び乾乳期では同程度の発現が確認できた(図 3 上)。また、リアルタイム PCR 法による mRNA 発現量解析でも、泌乳最盛期と比較して泌乳後期及び乾乳期で有意に高い結果が得られた。また、泌乳後期と乾乳期では有意な差は見られなかった(図 3 下)。インスリン依存性の GLUT4 の発現量は 3 つの試験区で有意な差は見られなかった(図 4 左)。同様にインスリン依存性 GLUT12 の発現量も有意な差は見られなかった(図 4 右)。一方、レジスチンの mRNA 発現量は泌乳最盛期、泌乳後期で乾乳期に比べて有意に高い値となった(図 5 左)。レジスチンとは異なり、アディポネクチンの発現量は泌乳最盛期、泌乳後期で乾乳期に比べて有意に低い値となった(図 5 右)。また、レプチン(図 6)及び PPAR γ 2 mRNA 発現量は乾乳期に比べて泌乳最盛期で有意に低い値となった(図 7 右)。GHR の発現には違いは見られなかった(図 7 左)。血漿中ホルモンである GH は濃度に違いは見られなかったが(図 8 右)、インスリンの濃度は乾乳期に有意に高い濃度になった(図 8 左)。以上の結果より、ホルスタイン種乳牛では泌乳期に脂肪組織やインスリン感受性組織でのグルコース利用を抑制するためにインスリン非依存性の GLUT1 は発現量によって調節され、インスリン依存性の GLUT4 の発現は変化せず、レジスチン、アディポネクチン、レプチンを中心としたアディポカインの分泌やインスリン濃度を変化させるによってインスリン抵抗性を調節している可能性が示唆された。

第 3 章 泌乳牛の乳腺組織におけるグルコース代謝制御システムの特徴

前章では泌乳牛の乳期が変わると脂肪組織ではアディポカイン、細胞内生理活性物質に劇的な変化が起こり、グルコース代謝を変化させて脂肪組織や筋肉でグルコース利用を抑制していることを示唆する結果を得た。一方で乳生産量には脂肪や筋肉で節約されたグルコースの乳腺への供給量が重要であるが、同時に乳腺組織はグルコース供給量に見合うだけの生理機能を保持し続けなければならない。また、乳腺組織自体がレプチン等のホルモンを産生していることも報告されているが、これらの発現動態と乳量の関係は不明のままである。また、乳腺組織はインスリン非感受性組織と言われているが、乳腺上皮細胞の培

養の際にはインスリンは必要とされているが乳腺におけるインスリンとグルコース代謝との関連は明らかにされていない。これら問題の解決のために、レジスチン及びレプチン等のホルモンや GLUT1 をはじめとする細胞内生理活性物質の発現量を測定した。ホルスタイン種乳牛、泌乳最盛期（分娩後 8-11 週）、泌乳後期（40-50 週）、乾乳期（乾乳後 3-11 週）をそれぞれ 4 頭ずつ供試し、屠殺後直ちに乳腺組織を採取し、液体窒素に保存後 total RNA 及びタンパク質を抽出した。レジスチン、レプチン、GLUT1、GLUT12、PPAR γ 2、GHR の mRNA 発現量測定はそれぞれに対するプライマーを設計し、リアルタイム PCR 法にて行った。GLUT1 タンパク質発現量はウェスタンブロット法にて行った。乳腺組織中の GLUT1 タンパク質発現量は脂肪組織とは逆に泌乳最盛期と泌乳後期で高い値を示し、乾乳牛で減少していた（図 9 上）。同様に mRNA の発現量も乾乳期に比べて泌乳最盛期と泌乳後期で高い値であった（図 9 下）。また、乳腺中に GLUT12 の発現を確認し、乾乳期で発現量が 3 倍以上高い値となった（図 10 左）。また、脂肪組織と同様にレジスチンが発現しており、泌乳期に比べ、乾乳期で 2 倍以上高い値となった（図 12 右）。一方でレプチン（図 12 左）、PPAR γ 2（図 10 右）、GHR（図 11）の発現量に有意な差は見られなかった。以上の結果より泌乳期での乳腺組織におけるグルコース取り込みは、主にインスリン非感受性の GLUT1 の発現量によって変化することが示唆された。また、乾乳期の乳腺組織で GLUT12 の発現が増大し、更にレジスチンの発現の変化が見られたことから GLUT4 とは異なる新規のインスリンに関係したグルコース取り込み機構の存在が示唆された。

第四章 総括（図 11 参照）

動物は血中グルコース濃度を一定範囲に保つグルコースホメオスタシスに加え、異なった生理的局面に対応するためにホメオスタシス的代謝調節の設定点を変化させ維持する機構・ホメオレーシスが備わっている。グルコースの細胞内への取り込みは GLUT とインスリン感受性の変化によって決まる。反芻動物は必要なグルコースのほとんどを肝臓における糖新生でまかなっているという大きな特徴があり、各組織ではインスリン抵抗性といったグルコースの消費を節約する仕組みが働く。

脂肪組織はアディポカインを分泌する内分泌器官でもあり、エネルギーバランス、免疫及びインスリン抵抗性に関与していると考えられている。本研究では、反芻動物に特異的なグルコースホメオスタシスの一端を解明する目的で、レジスチンなどのインスリン抵抗性に関与するアディポカインや GLUT などの糖代謝関連生理活性物質遺伝子の発現特異性を追究した。

ホルスタイン種と黒毛和種去勢牛では脂肪組織におけるレジスチンの発現はホルスタイン種牛で高く、TNF- α の発現は黒毛和種牛で高かった。これは異化作用の強いホルスタイン種牛のグルコース代謝にはレジスチンが、同化作用の強い黒毛和種牛のグルコース代謝には TNF- α が関与していることを示唆するものであり、また、これらの結果は反芻動物のグルコース代謝に脂肪組織が深く関与することを示すものである。更に、泌乳最盛期での脂肪組織では GLUT1 の発現量が減少する結果を得た。一方で泌乳最盛期にレジスチンの発現量が高く、アディポネクチンやレプチンの発現量が低い結果となった。これらは泌乳期においてグルコースを乳腺以外の組織で節約させるために、脂肪組織が中心となってインスリン抵抗性を亢進させ、乳腺へのグルコース供給量を増加させていることを示唆するものである。

また、泌乳期においてグルコース利用の主要組織となる乳腺組織でも、その機能に大きな変動が認められた。GLUT1 の発現量は泌乳最盛期と泌乳後期で高かったが乾乳期ではほとんど発現が見られなかった。一方で GLUT12 の発現量は乾乳期で高いものであった。更に乳腺組織でのレジスチンの発現が確認され、乾乳期で高い結果となった。これらの結果は泌乳期の乳腺における乳生産の能力が GLUT1 をはじめとするインスリン非依存性のグルコース取り込みに左右されると同時に、乾乳期におけるインスリンに関係したグルコース取り込み機構の存在を示唆するものであった。

本研究で明示したホルスタイン種去勢牛及び泌乳牛のグルコース代謝に関する特異性は主に脂肪に主点がおかれたものであり、反芻家畜の糖代謝の種特異性を解明する上で新たな視点を加えたことになろう。また、ホルスタイン種の糖代謝は乳生産に密接に関連するものであるため乳生産性の向上を追求する上で極めて重要な情報を提供するものである。

表1. ウシレジスチンmRNA及びアミノ酸配列の他動物との比較

	Identity (%)		DDBJ/EMBL/GenBank
	Nucleotide	Amino acid	Accession number
Bovine	-	-	AB117718
Porcine	88.0	80.2	AY488504
Human	83.5	73.6	AF323081
Mouse	80.0	57.1	BC051196
Rat	73.3	58.1	AF378366

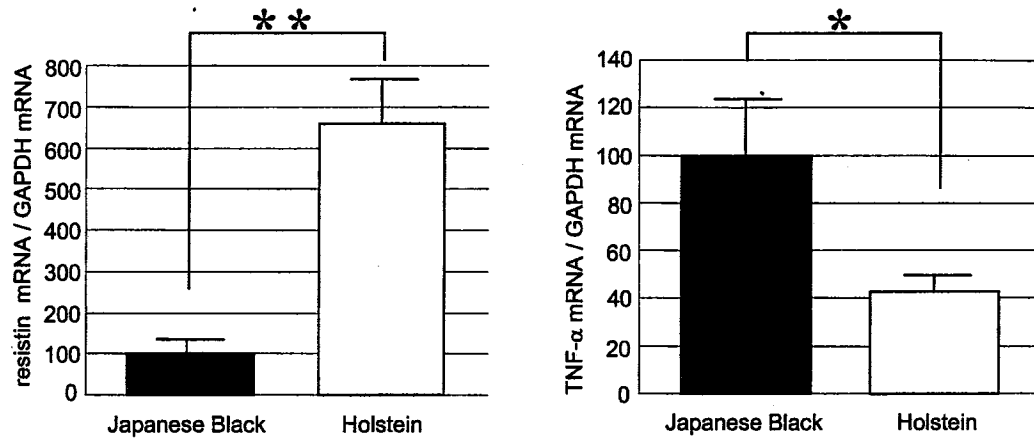


図1. 黒毛和種及びホルスタイン種去勢牛の脂肪組織中におけるレジスチン(左)及びTNF-α(右)発現量の比較

GAPDHに対するそれぞれの発現量を示し、黒毛和種における値を100としたときのホルスタイン種の値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=5)で表示。

* : p<0.1, ** : p<0.05 で有意差があることを示す。

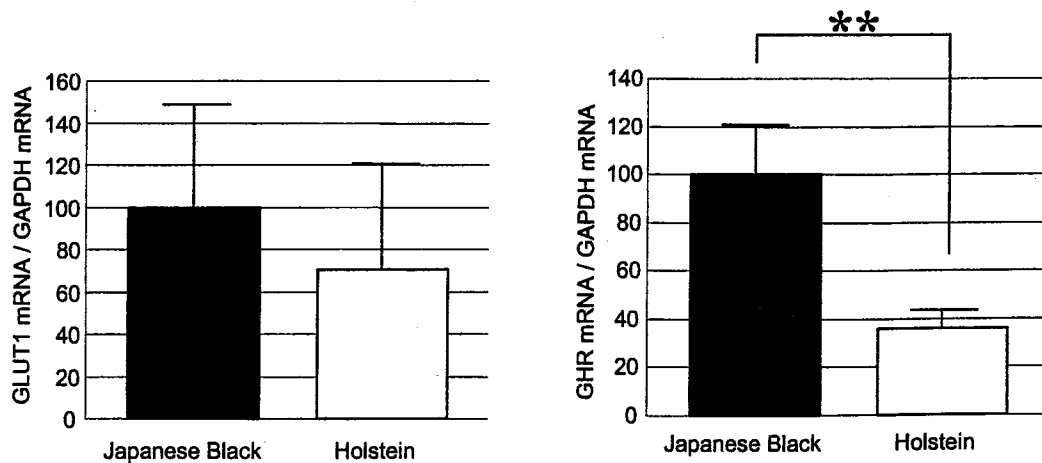


図2. 黒毛和種及びホルスタイン種去勢牛の脂肪組織中におけるGLUT1(左)及びGHR(右)発現量の比較

GAPDHに対するそれぞれの発現量を示し、黒毛和種における値を100としたときのホルスタイン種の値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=5)で表示。

** : p<0.05 で有意差があることを示す。

表2. 黒毛和種及びホルスタイン種去勢牛における血漿中代謝産物及びホルモン濃度

	Japanese Black	Holstein	
NEFA (mEq/L)	874.0 ± 279.3	896.3 ± 354.5	NS
Glucose (mg/dL)	100.7 ± 13.40	100.7 ± 12.0	NS
GH (ng/mL)	2.075 ± 0.859	2.164 ± 0.45	NS
Insulin (μU/mL)	40.81 ± 19.03	32.92 ± 8.23	NS

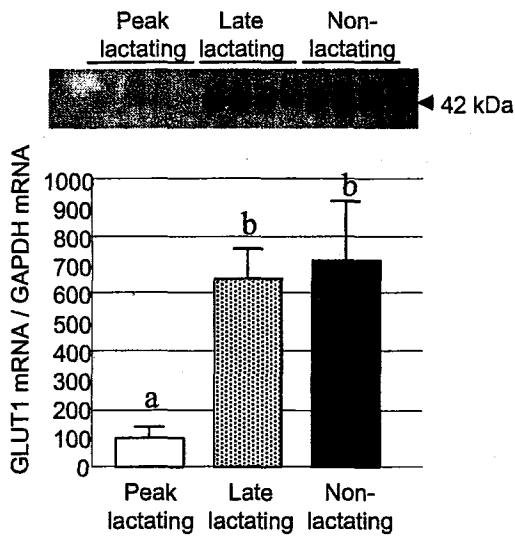


図3. 異なる泌乳期の脂肪組織中におけるGLUT1タンパク質(上)及びmRNA(下)発現量の比較

GAPDHに対するそれぞれの発現量を示し、泌乳最盛期における値を100としたときのそれぞれの値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=4)で表示。
a, b; 異なる文字は有意差(p<0.05)があることを示す。

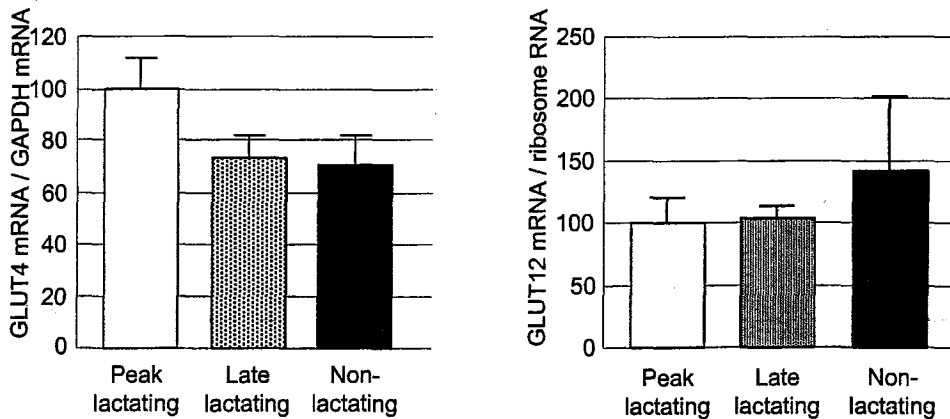


図4. 異なる泌乳期の脂肪組織中におけるGLUT4(左)及びGLUT12(右)発現量の比較

GAPDHまたはリボソームに対するそれぞれの発現量を示し、泌乳最盛期における値を100としたときのそれぞれの値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=4)で表示。

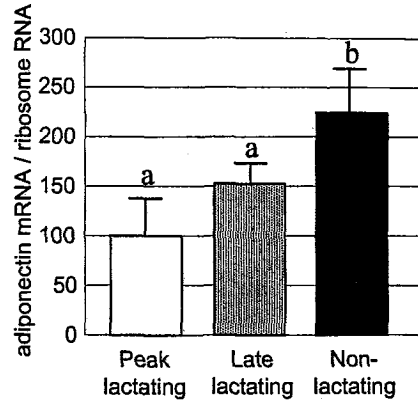
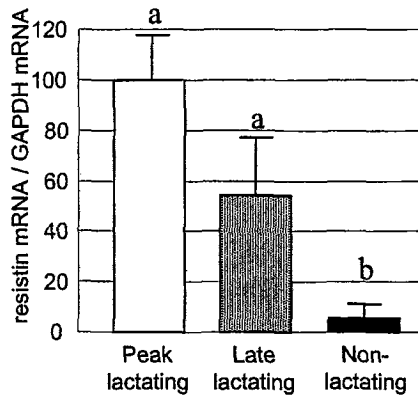


図5. 異なる泌乳期の脂肪組織中におけるレジスチン(左)及びアディポネクチン(右)発現量の比較

GAPDHまたはリボソームに対するそれぞれの発現量を示し、泌乳最盛期における値を100としたときのそれぞれの値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=4)で表示。
a, b; 異なる文字は有意差(p<0.05)があることを示す。

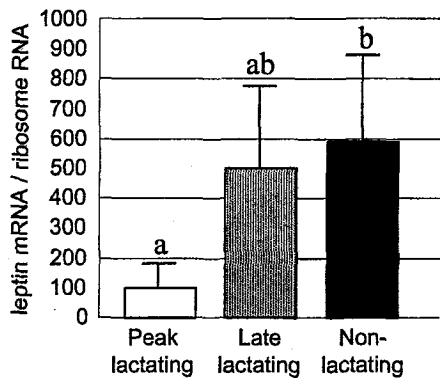


図6 異なる泌乳期の脂肪組織中におけるレプチン発現量の比較

GAPDHに対するそれぞれの発現量を示し、泌乳最盛期における値を100としたときのそれぞれの値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=4)で表示。
a, b; 異なる文字は有意差(p<0.05)があることを示す。

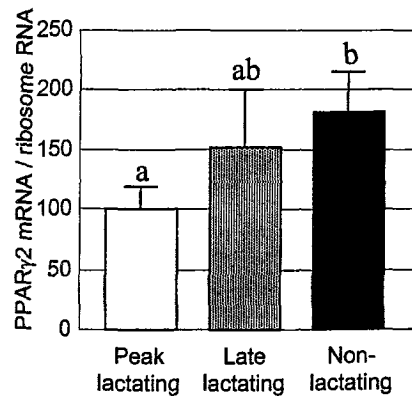
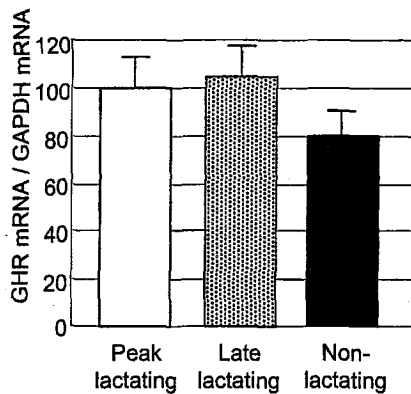


図7 異なる泌乳期の脂肪組織中におけるGHR(左)及びPPAR γ 2(右)発現量の比較

GAPDHに対するそれぞれの発現量を示し、泌乳最盛期における値を100としたときのそれぞれの値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=4)で表示。
a, b; 異なる文字は有意差(p<0.05)があることを示す。

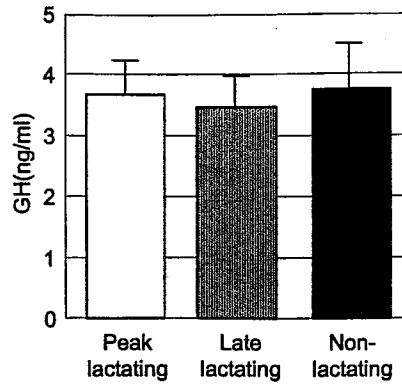
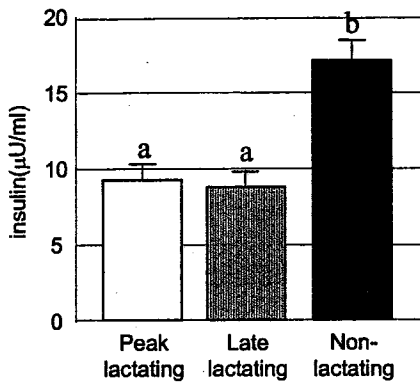


図8 異なる泌乳期の血漿インスリン(左)及びGH(右)濃度の比較

各値は平均値±標準誤差(n=4)で表示。

a, b; 異なる文字は有意差(p<0.05)があることを示す。

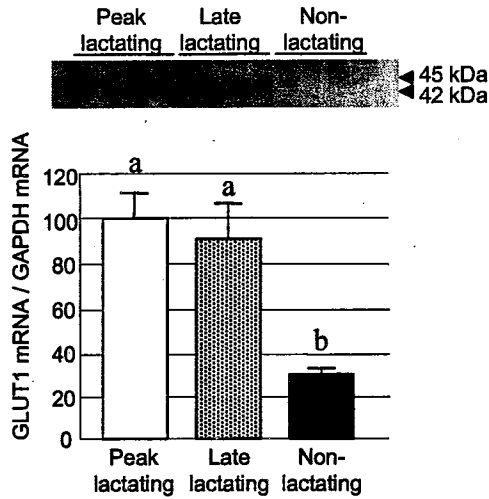


図9. 異なる泌乳期の乳腺組織中におけるGLUT1タンパク質(上)及びmRNA(下)発現量の比較

GAPDHに対するそれぞれの発現量を示し、泌乳最盛期における値を100としたときのそれぞれの値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=4)で表示。

a, b; 異なる文字は有意差(p<0.05)があることを示す。

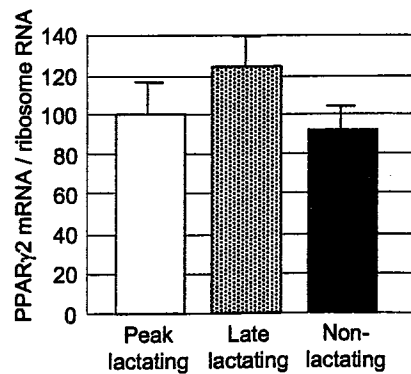
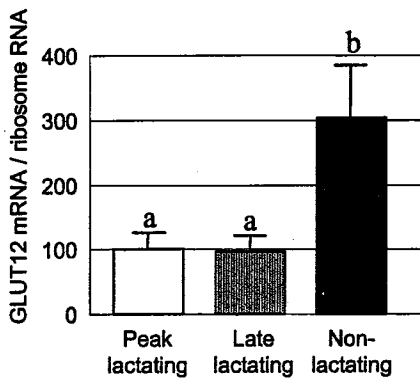


図10. 異なる泌乳期の脂肪組織中におけるGLUT12(左)及びPPARγ2(右)発現量の比較

リボソームに対するそれぞれの発現量を示し、泌乳最盛期における値を100としたときのそれぞれの値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=4)で表示。

a, b; 異なる文字は有意差(p<0.05)があることを示す。

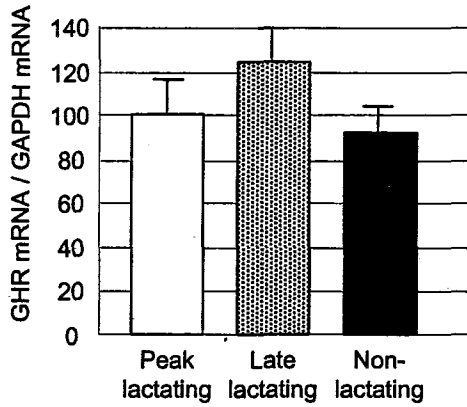


図11. 異なる泌乳期の脂肪組織中におけるGHR発現量の比較

GAPDHに対するそれぞれの発現量を示し、泌乳最盛期における値を100としたときのそれぞれの値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=4)で表示。

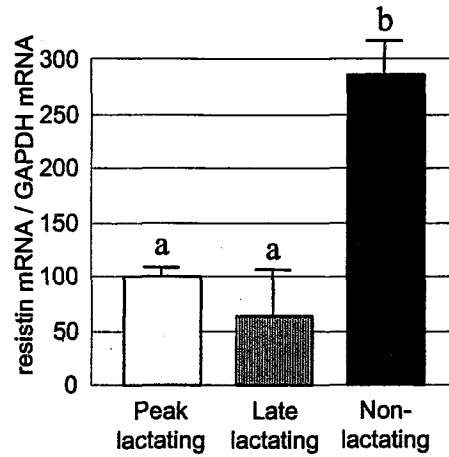
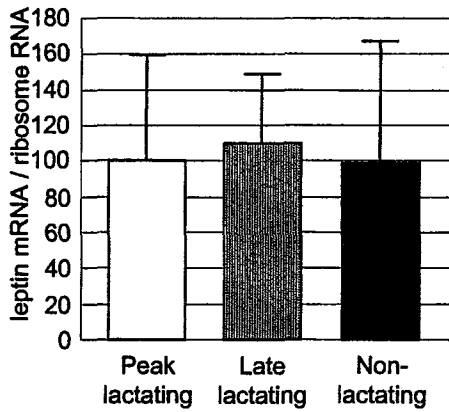
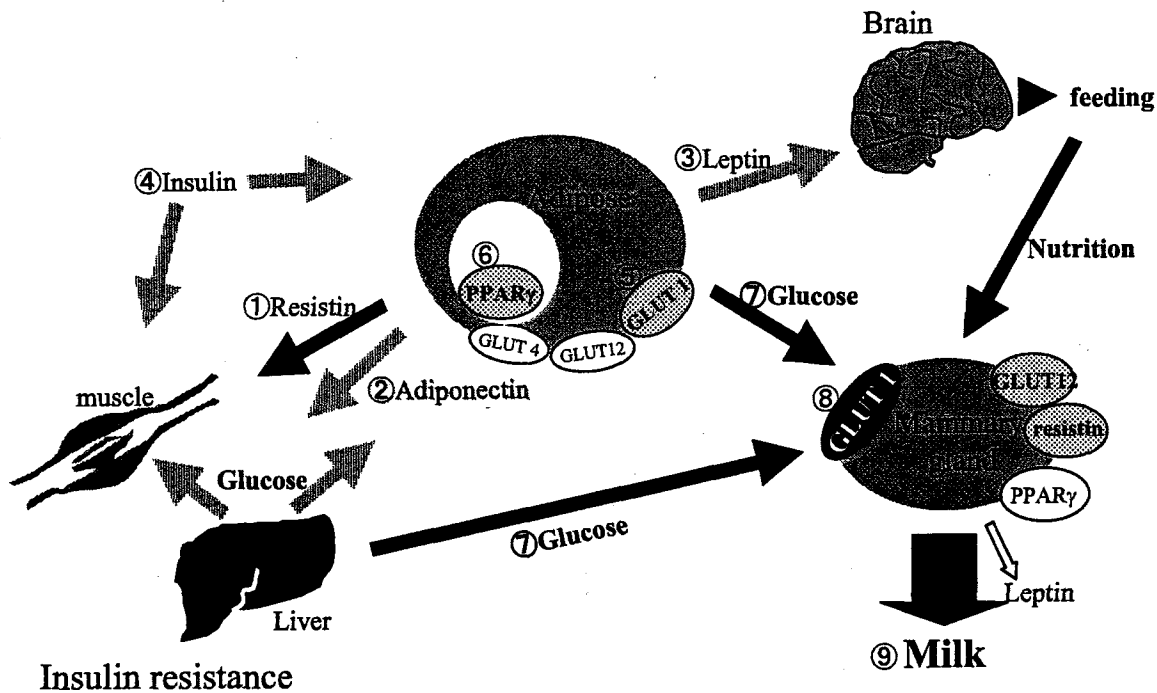


図12. 異なる泌乳期の乳腺組織中におけるレプチン(左)及びレジスチン(右)発現量の比較

GAPDHまたはリボソームに対するそれぞれの発現量を示し、泌乳最盛期における値を100としたときのそれぞれの値を算出した。各値は平均値±標準誤差(n=4)で表示。
a, b; 異なる文字は有意差(p<0.05)があることを示す。

図11. 泌乳期におけるグルコース代謝・内分泌の変化



泌乳最盛期

脂肪組織

- ①レジスチン増加によるインスリン抵抗性
- ②アディポネクチン低下によるインスリン抵抗性
- ③レプチン低下による採食量増加
- ④インスリン分泌の低下
- ⑤脂肪組織GLUT1低下
- ⑥PPAR γ 2低下による脂肪細胞分化抑制

⑦Glucose

乳腺組織

⑧GLUT1増加によるグルコース取り込み増加

↓
⑨乳量増加

乾乳期

乳腺組織

GLUT12増加
Resistin増加 → 乳腺発育時のインスリン関与の
グルコース取り込みの可能性

論文審査結果要旨

反芻動物における糖代謝は、第一胃に由来する短鎖脂肪酸が大きく関与するために、複雑である。しかも、泌乳牛においては、妊娠、分娩、泌乳などの生理的変動を定期的に繰り返すために、それぞれのステージに合致した代謝を短期間に構築し、適応しなければならない。このような反芻家畜における糖代謝には不明な点が多く残されている。

本研究は、反芻動物におけるグルコースホメオスタシスおよびホメオレーシスの特異性が脂肪組織に依存するという仮説に基づき、その一端を解明する目的で、レジスチンやアディポネクチンなどのインスリン抵抗性に関与する因子やグルコーストランスポーター (GLUT) などの糖代謝関連遺伝子発現の種特異性を、各泌乳ステージで検討した。

まず、肉用牛である黒毛和種牛と泌乳牛であるホルスタイン種牛におけるグルコース代謝制御システムの差異について検討した結果、ホルスタイン種の内臓脂肪におけるレジスチン mRNA 発現は黒毛和種牛より 6 倍も高かったが、TNF- α 発現は黒毛和種牛で高かった。

レジスチンはインスリン抵抗性に深く関わるアディポカインの一つであることから、他の因子の発現についても、各泌乳期で検討した。その結果脂肪組織での GLUT1 発現は泌乳期で低下し、逆にレジスチンやレプチンの発現は泌乳期で増大していた。

乳腺における乳汁生成は脂肪代謝と密接に関係することから、乳腺組織におけるアディポカインの発現について、各泌乳期で検討した。その結果、GLUT1 遺伝子およびタンパク質の発現は、泌乳期で有意に高かった。また、乳腺細胞ではインスリン依存性の GLUT はないと考えられていたが、実際には GLUT12 が存在し、乾乳期の発現量が 3 倍以上に増大することが示された。また、脂肪細胞と同様に、乳腺細胞においてもレジスチンが発現しており、乾乳期で 2 倍以上に増大することが示された。

以上のように、インスリン抵抗性の高いホルスタイン種牛においては、抵抗性に関与するレジスチンが脂肪組織のみならず乳腺組織においても発現していることが初めて示され、しかも、その発現が泌乳ステージによって精密に制御されていることが明らかにされた。これらの成果は、反芻家畜の糖代謝における種特異性解明に新規な視点を加えるものである。

よって、審査員一同は、本論文の著者が博士 (農学) の学位を授与されるのに値するものと判定した。