

# 動物と繁殖機能

久米新一

京都大学大学院農学研究科

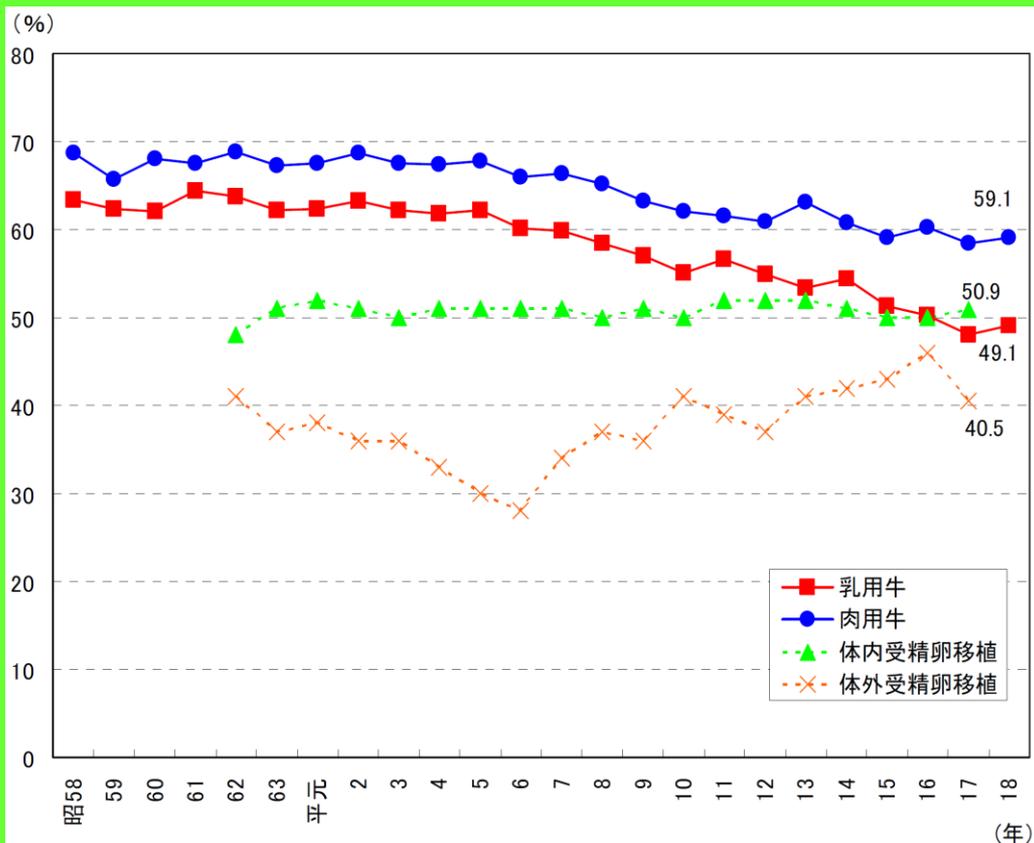
# 家畜の生産性向上とシグナル伝達

家畜は体内の恒常性維持よりも生産性向上に重点をおいて改良したため、情報伝達などに不備が生じやすくなっている



環境ホルモンと栄養素の不足(タンパク質、カルシウム、リンなど)、生理機能の変化(生産性重視)、免疫能の低下によるシグナル伝達の不備が高まる危険性

# 乳牛・肉用牛の受胎率低下



- 肉用牛の人工授精受胎率は59%に低下

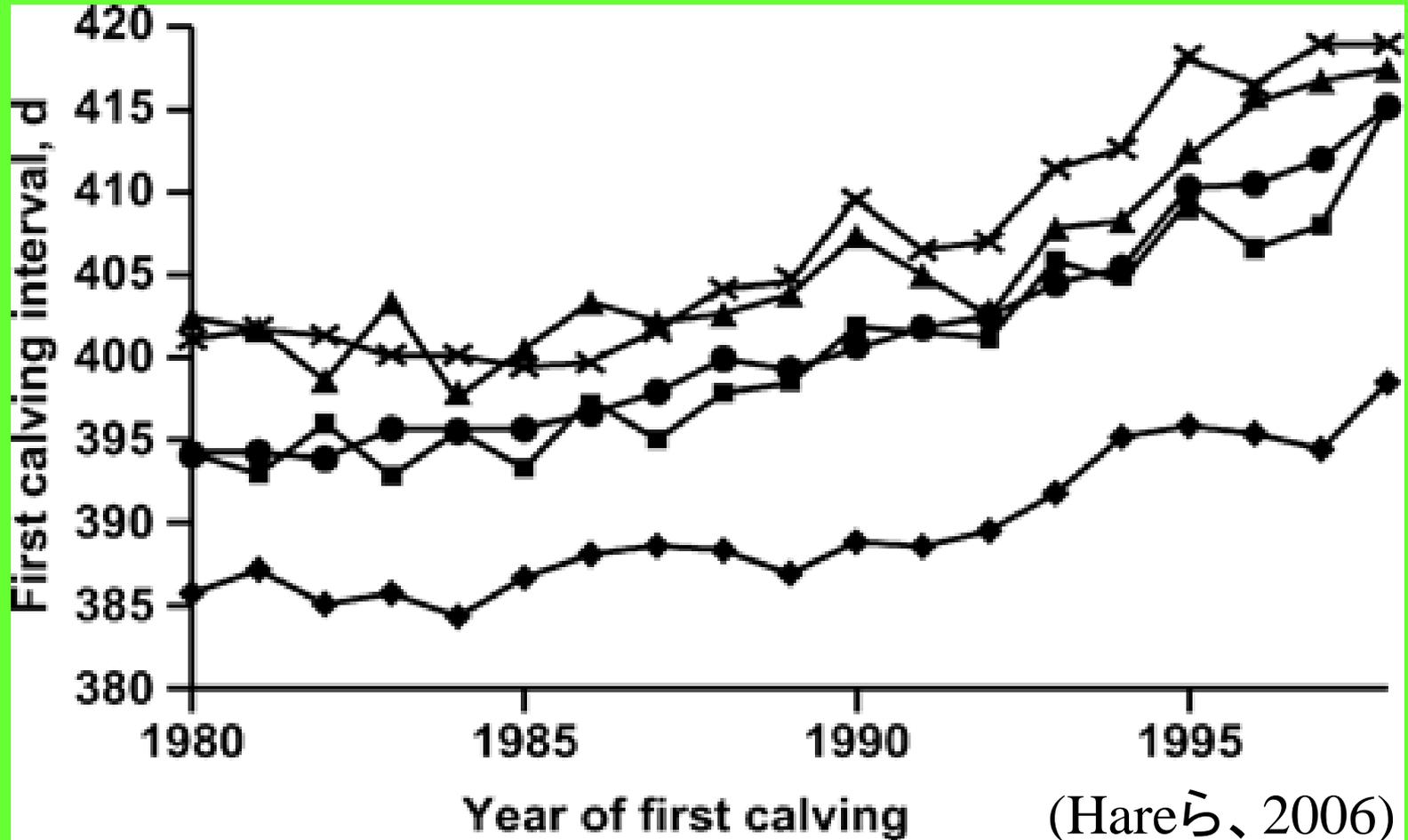
- 体外受精卵移植牛の受胎率も40%に低迷



- 繁殖機能の改善と優良な体外受精胚の生産が必要

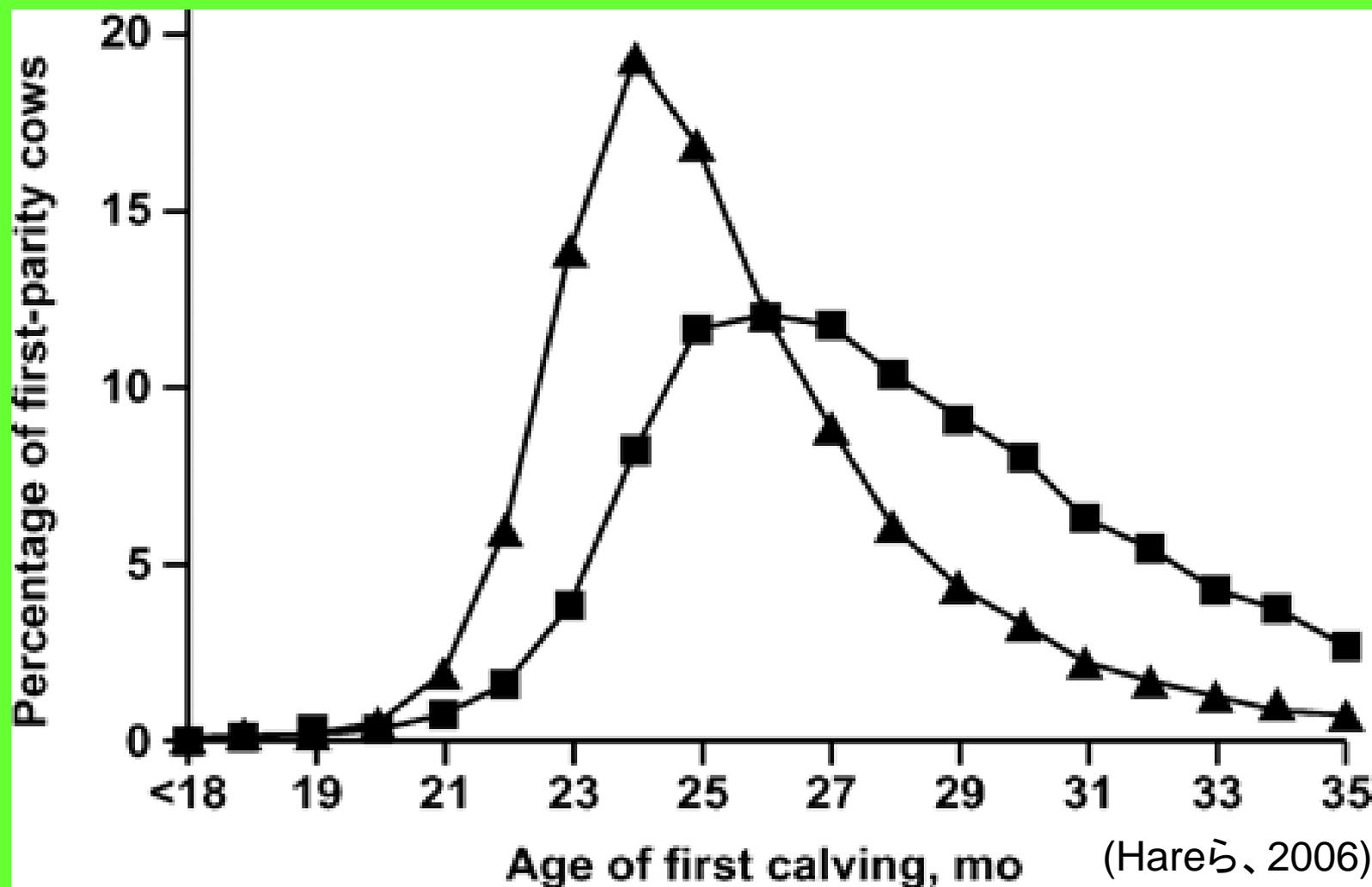
農林水産省畜産部(平成20年)  
初回人工受精受胎率

# 米国の乳牛(ホルスタイン種:●)の 初産から2産までの分娩間隔

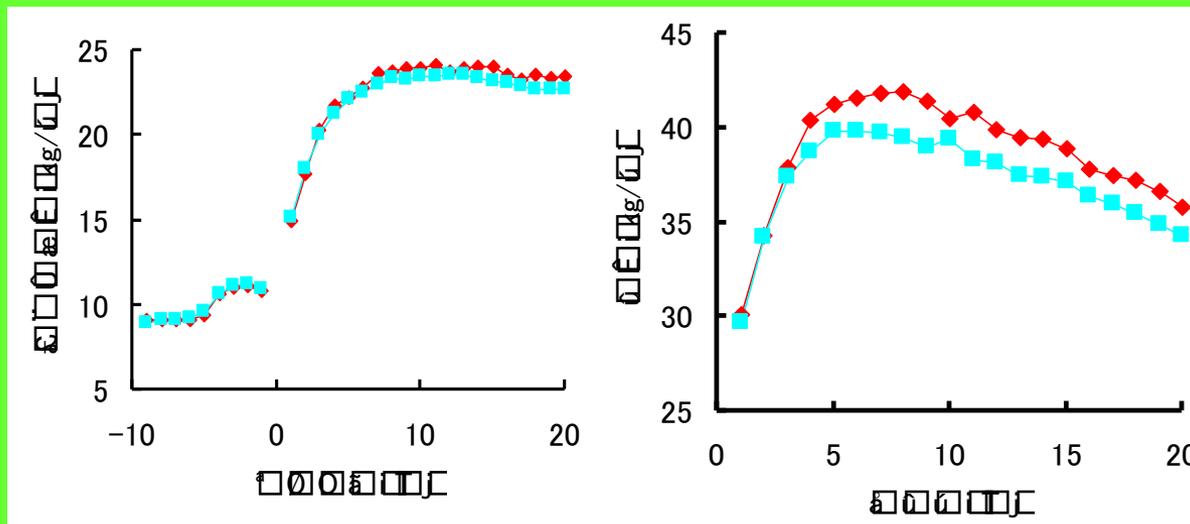


エアシャー(■)、ブラウンスイス(▲)、ガンジー(×)、ジャージー(◆)

# 米国のホルスタイン種乳牛の1980年 (■)と2004年(▲)の初産月齢



# 図、魚粉(◆)区と大豆粕(■)区の乳牛の 乾物摂取量・乳量・繁殖成績(協定研究)



	魚粉区	大豆粕区
頭数	44	44
発情回帰日数、日	58.8	57.8
初回授精日数、日	80.0	81.3
授精回数、回	1.31	1.27
受胎率、%	54.6	59.1

# 繁殖成績(受胎率)低下の要因

## 乳牛の能力向上と農家の規模拡大の影響

- ・ **育種的要因**: 遺伝的能力の急速な向上
- ・ **栄養的要因**: 栄養管理の改善の遅れ
- ・ **管理的要因**: 規模拡大・労働時間増加に伴う発情観察時間不足(発情の見逃し)
- ・ **動物的要因**: 高泌乳化に伴う乳牛の代謝特性の変化
- ・ **飼料的要因**: 自給飼料の栄養価低下



さまざまな要因が相互に絡み合っている

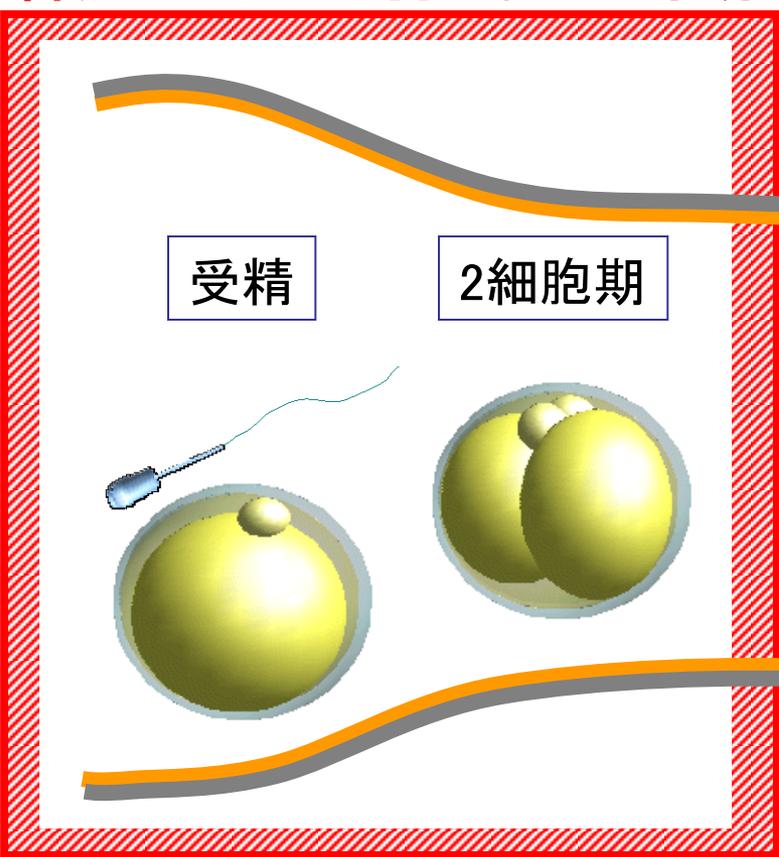
# 繁殖成績と暑熱ストレス

- 栄養素は維持、成長、泌乳、脂肪蓄積の順に優先的に配分され、繁殖機能や健康維持への配分は最下位に位置
- 栄養管理が適切でないと繁殖機能へ利用される栄養素は少なくなり、高温時に暑熱ストレスの影響で乳生産が低下した場合には、繁殖成績への悪影響は一層厳しいことを意味している

# 哺乳類の着床前発生と暑熱への感受性

子宮

## 暑熱に対し脆弱な発生時期



卵管

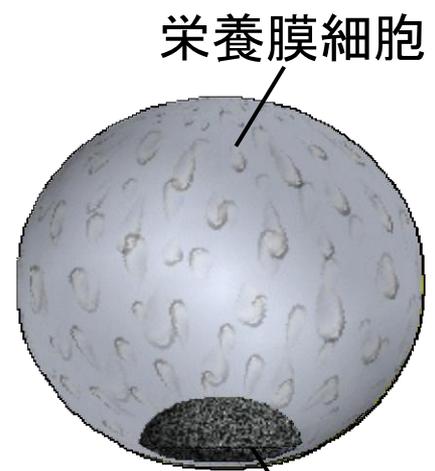
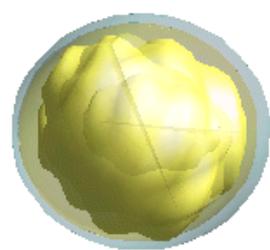
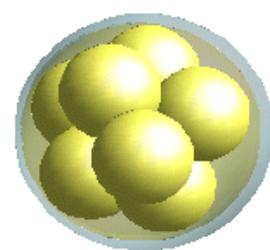
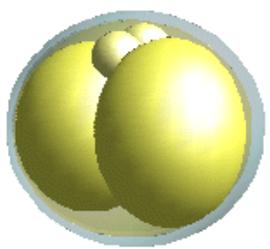
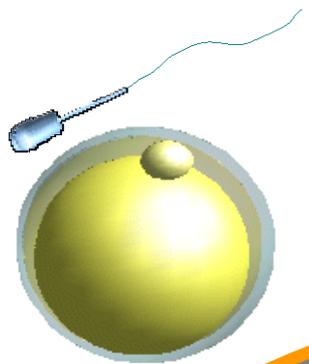
受精

2細胞期

8細胞期

桑実胚

胚盤胞



ウシ(受精後)

Day1-2

Day2-3

Day5-6

Day6-8

## 背景および目的③

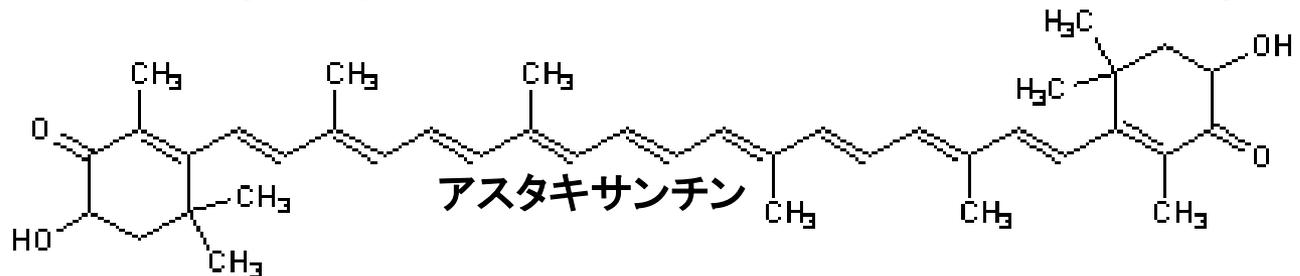
### •実験1

ウシ初期胚発生に対する暑熱ストレスの直接的な影響

### •実験2

アスタキサンチンを含む製剤(Ax)の培養液への添加が暑熱ストレス下での胚発生におよぼす影響

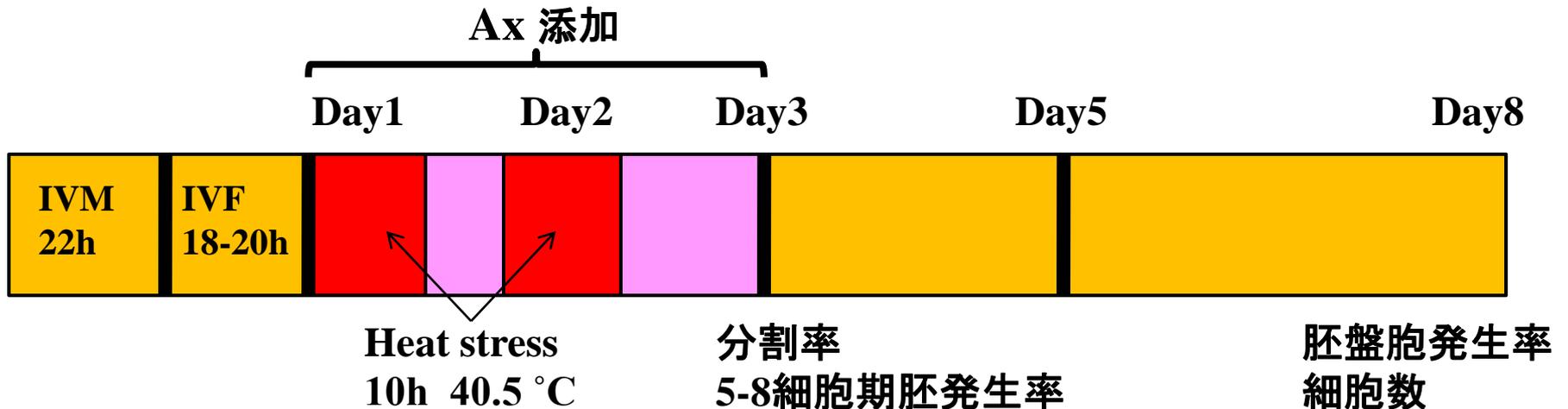
ウシ初期胚は暑熱ストレスによって活性酸素種による酸化ストレスを受けることが示唆されている (Sakatani *et al.* 2004 )→抗酸化物質を用いた酸化ストレスの除去が、初期胚に対する暑熱ストレスの緩解に有効



# 材料と方法

## ・実験2

- アスタキサンチン(Ax)の調製
  - Ax濃度を0, 2.5, 25 ppmとした培地を調製  
→Day1~3において使用
- 実験区
  - 暑熱処理の有無 × Ax濃度の計6区で試験



## 統計学的解析

各処理の効果をt-検定(実験1)、分散分析(実験2)で解析(P< 0.05)

実験2で有意差があった場合、Bonferroni法を用いて各処理の効果を多重比較

# 結果

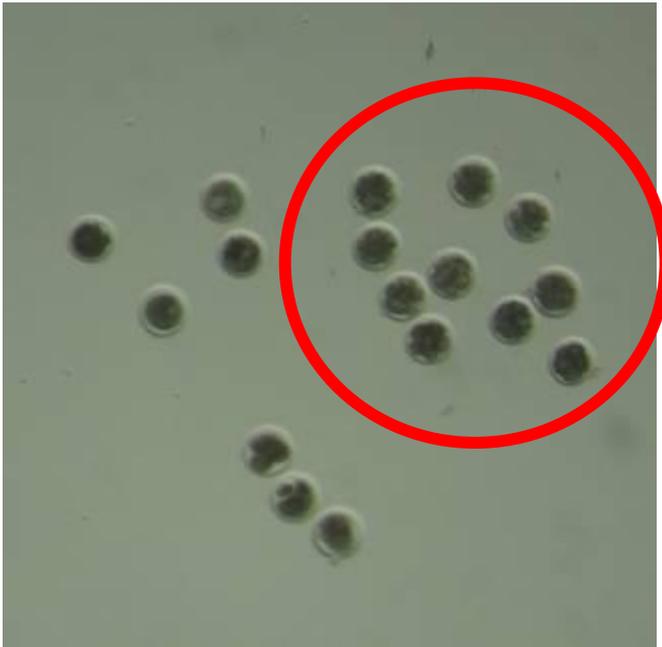
## ・実験1

Day3: 対照区、暑熱区での分割率、5-8cell発生率

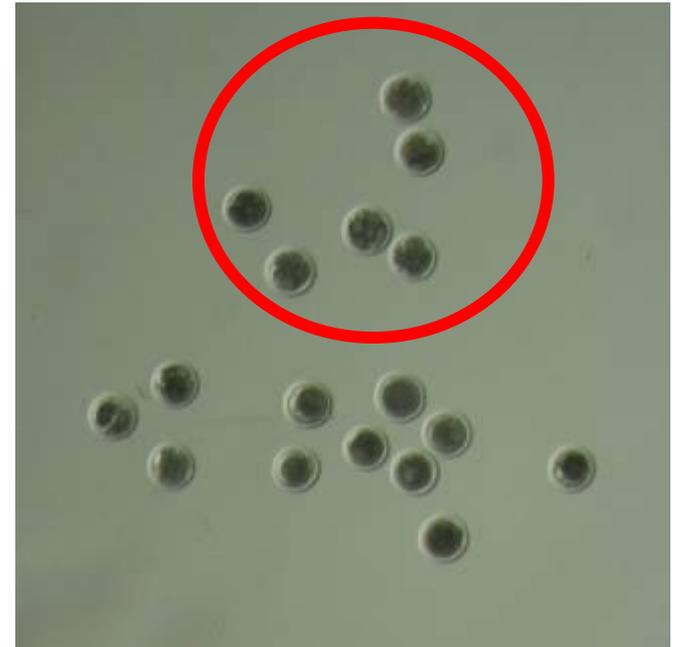
Treatment	No. of oocytes	No. of replicates	% (mean $\pm$ SEM)	
			Cleavage	5-8cell
Control	128	6	66.1 $\pm$ 7.8	48.8 $\pm$ 5.3
Heat	128	6	58.9 $\pm$ 4.5	<u>17.7 <math>\pm</math> 2.0</u> ※

※ denotes significant difference within the same column ( $P < 0.05$ ).

Control



Heat



# 結果

## ・実験1

Day8: 対照区、暑熱区での胚盤胞発生率、胚盤胞／分割率

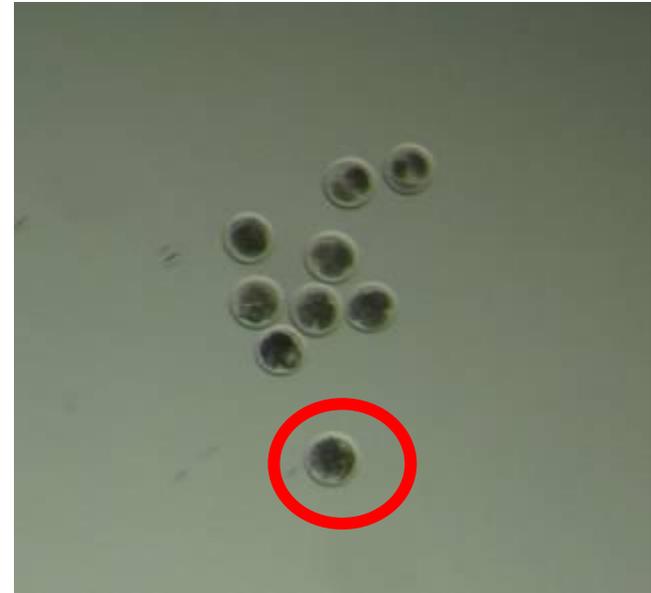
Treatment	No. of oocytes	No. of replicates	% (mean $\pm$ SEM)	
			Blastocyst	Blastocyst /Cleavage
Control	128	6	20.9 $\pm$ 3.3	32.0 $\pm$ 4.4
Heat	128	6	<u>2.2 <math>\pm</math> 1.0</u> ※	<u>3.7 <math>\pm</math> 1.7</u> ※

※ denotes significant difference within the same column (P<0.05).

Control



Heat



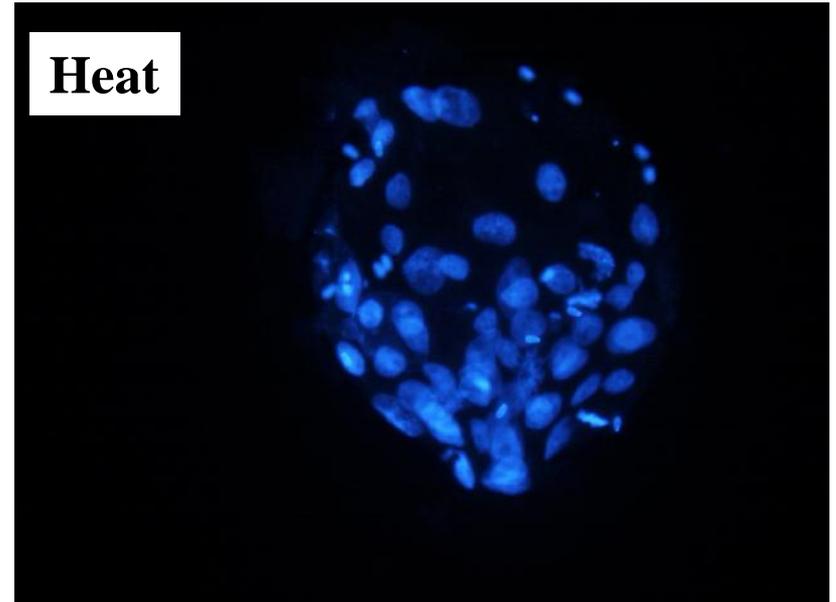
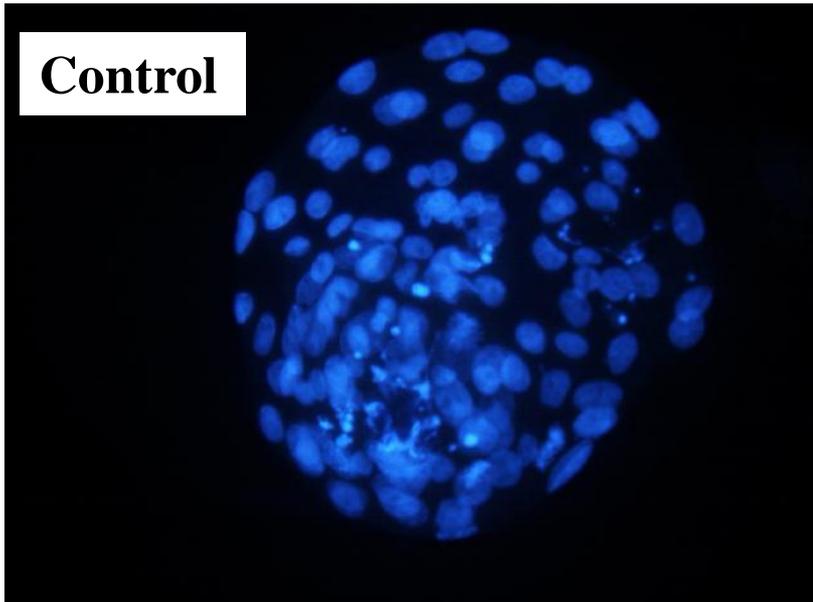
# 結果

## ・実験1

### 胚盤胞の細胞数

Treatment	No. of replicates	No. of blastcysts	No. of cells (mean $\pm$ SEM)
Control	11	36	91.5 $\pm$ 6.7
Heat	5	7	61.9 $\pm$ 10.5 ※

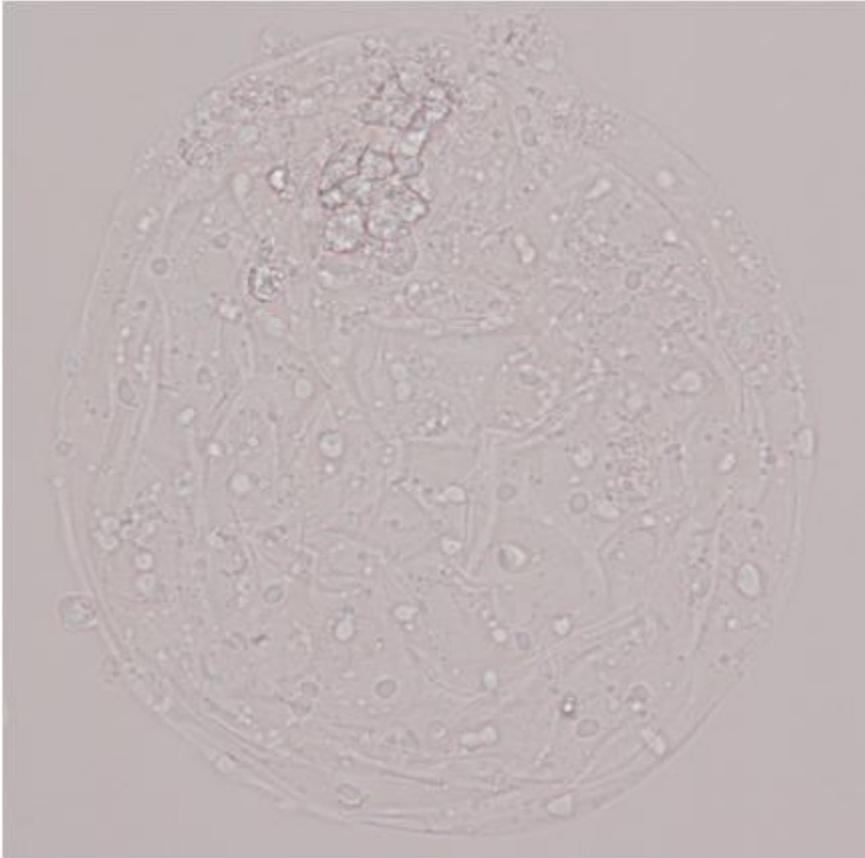
※ denotes significant difference (P < 0.05).



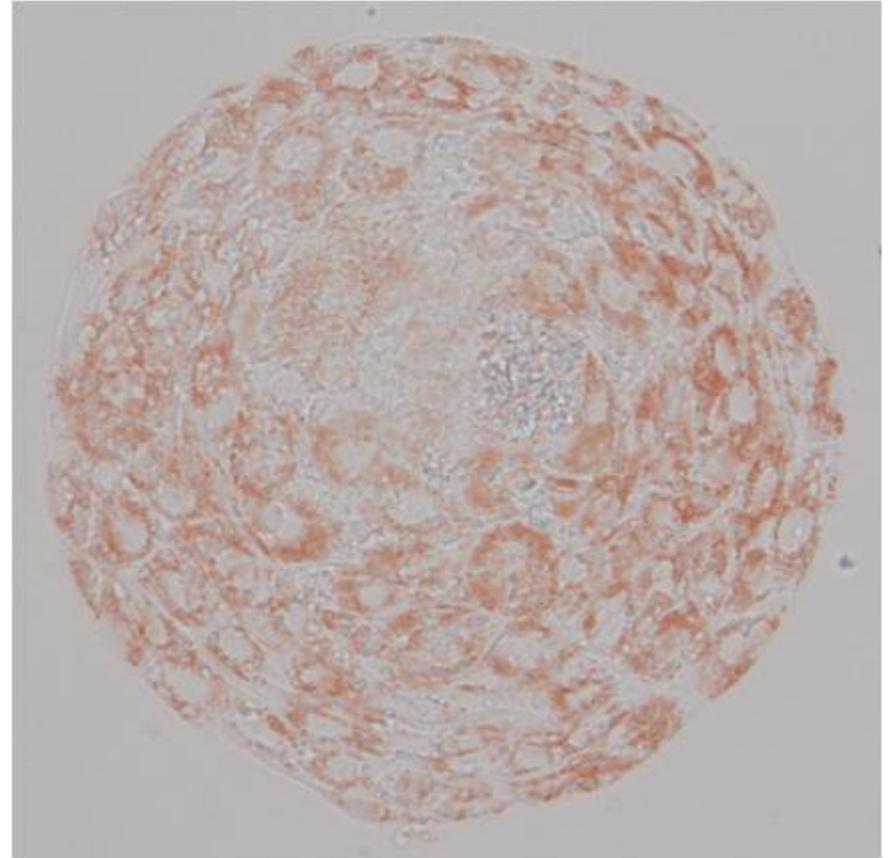
## 結果②

### 胚盤胞期におけるアスタキサンチンの取り込み

対照

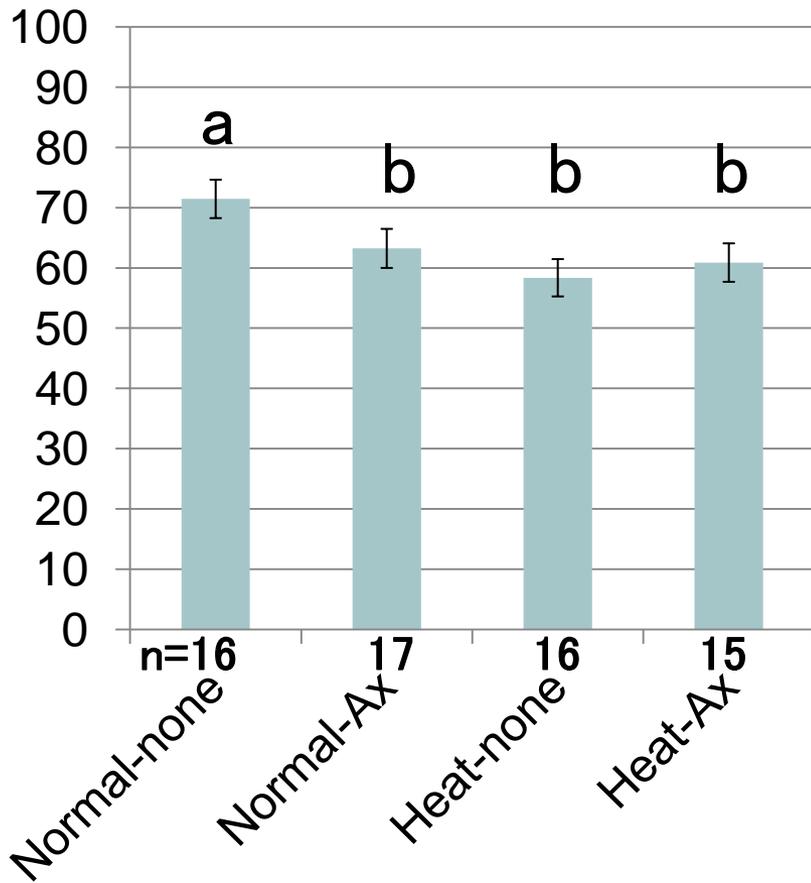


Ax 2.5 ppm

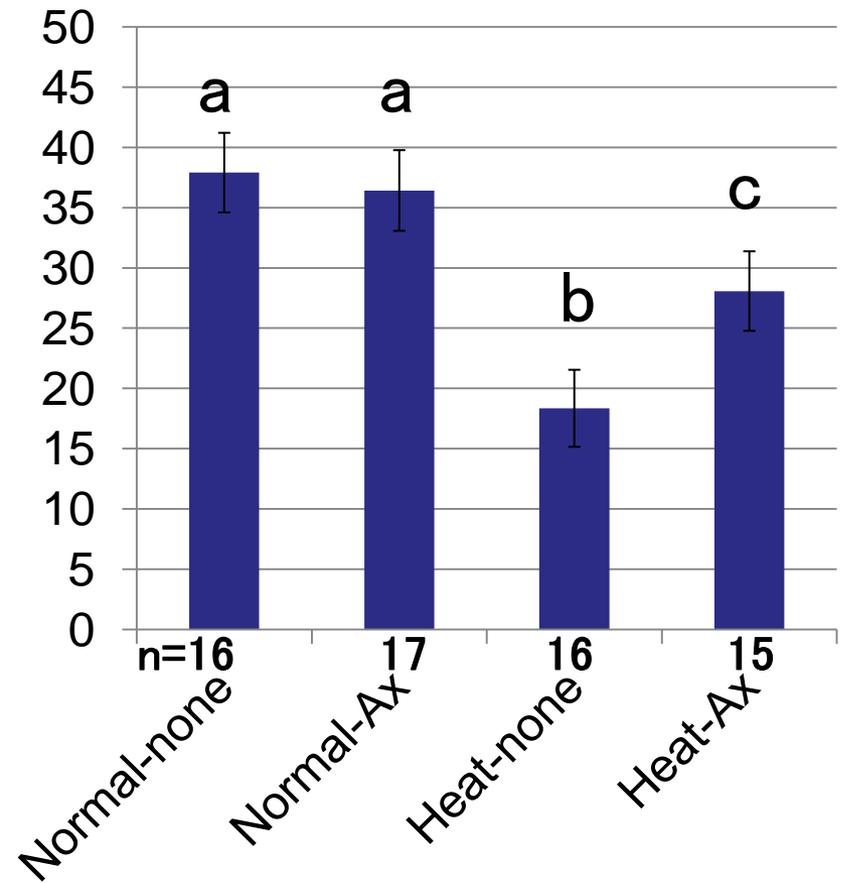


# 胚発生率(培養3日目)

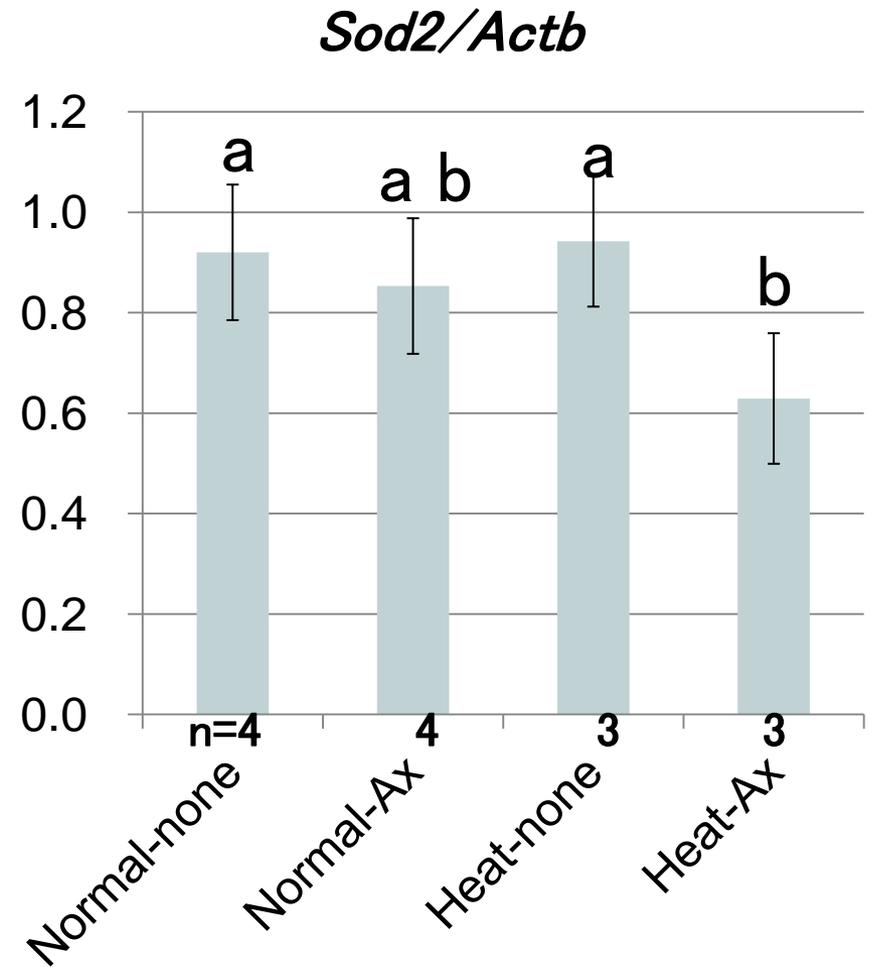
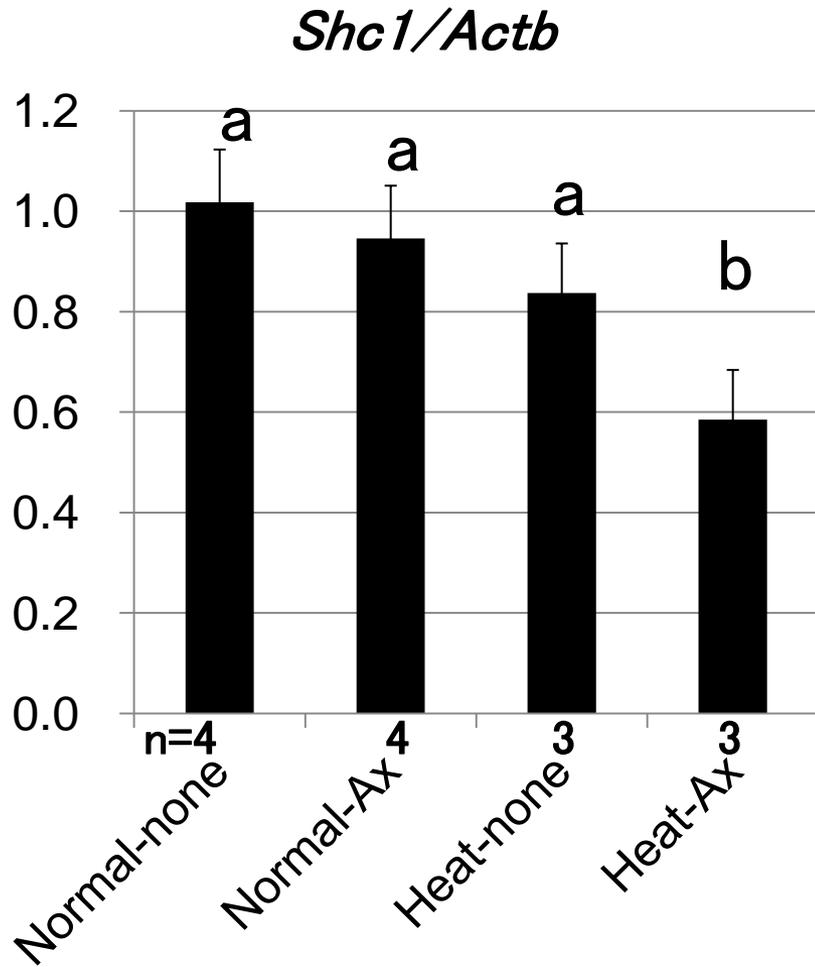
## 分割率(%)



## 5-8細胞期発生率(%)



# Ax添加が遺伝子発現におよぼす影響(培養3日目)



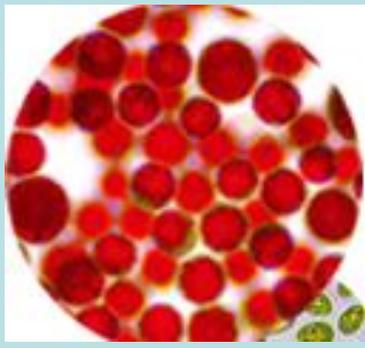
# 発表論文

- **Namekawa T et al.** (2010) Effects of astaxanthin-containing oil on development and stress-related gene expression of bovine embryos exposed to heat stress. *Reprod. Domest. Anim.* 45:e387-e391
- 特許: 人工受精用培地組成物 (出願番号: 特願 2009-037625)
- **Koyama H, Ikeda S, Sugimoto M, Kume S** (2012) Effects of folic acid on the development and oxidative stress of mouse embryos exposed to heat stress. *Reprod. Domest. Anim.* (Accepted)

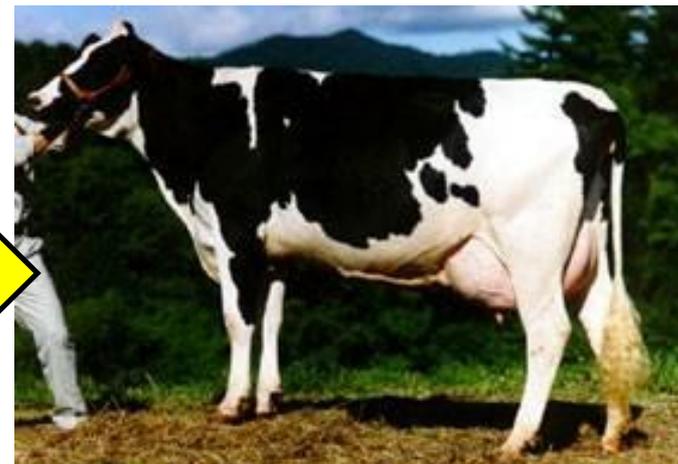
# 家畜への機能性成分の給与

- 家畜への機能性成分の給与が受胎率、耐暑性におよぼす影響

## Axを含む水産資源



飼料への  
Ax添加

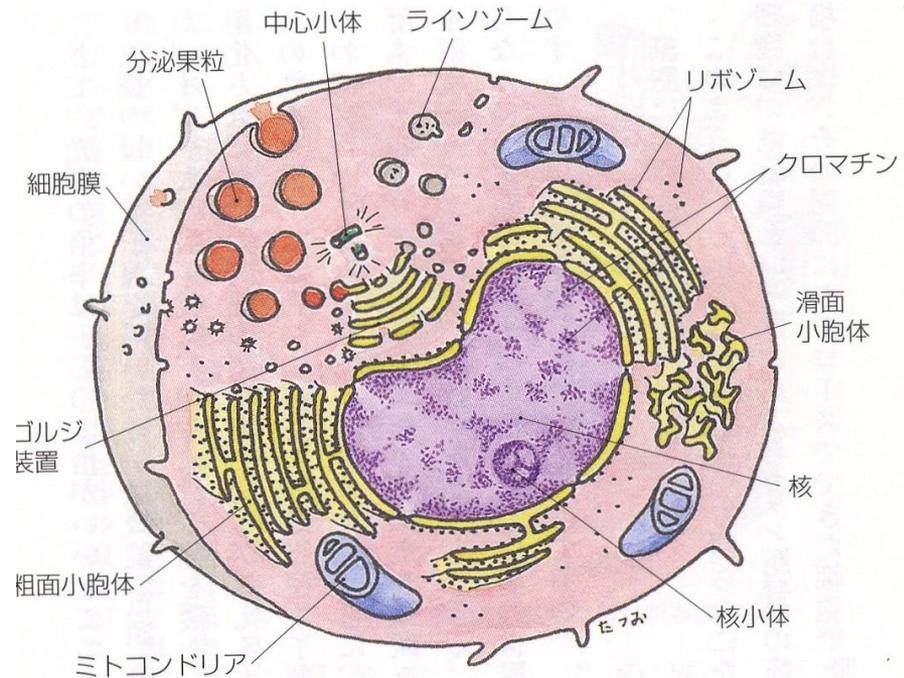


夏季の受胎率の向上  
乳量などの生産性の向上  
未利用資源の有効利用  
飼料自給率の向上

# 活性酸素の2面性

- 動物は酸素を利用することによって、効率よくATPを生成できる(エネルギーの有効利用)
- **デメリット**: 酸素生成時に発生する活性酸素が遺伝子の損傷など、生体に害を及ぼす(老化、疾病などの発生要因)
- **メリット**: 体内の有害微生物・成分の除去など、生体の感染防御に重要な役割をはたしている
- ミトコンドリアに及ぼす影響が大きい

# ミトコンドリア : ATPの生成



④電顕で明らかになった細胞の基本構造

- ミトコンドリアで代謝産物からATPを生成する過程で、酸素はスーパーオキシド→過酸化水素→ヒドロキシラジカルを経て水になるが、この時発生した活性酸素が酸化によって細胞、遺伝子等を傷害する
- 活性酸素のメリット: 外部から侵入した異物(有害微生物など)を排除する

- ・**ライソソーム**:

各種の水解酵素(約70種)で細胞内の異物を加水分解する

- **ペルオキシソーム**: 過酸化水素を発生させる酸化酵素と過酸化水素を分解するカタラーゼが含まれるが、過酸化水素は有害なため、発生した過酸化水素はカタラーゼによって安全な水と酸素に分解される(脂質分解)

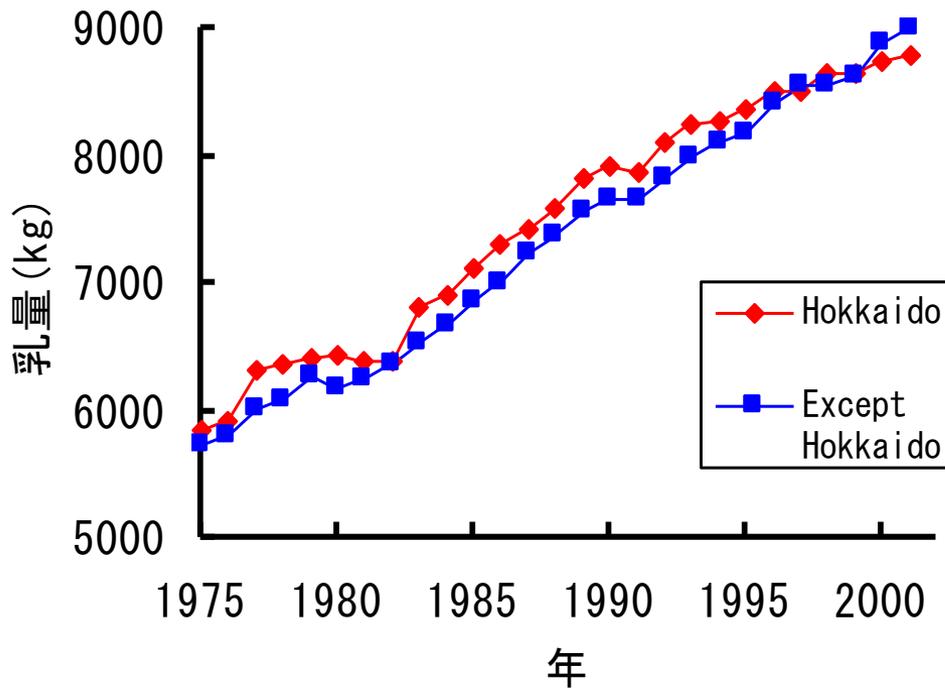
# オキシドール(消毒薬)

- 消毒薬のオキシドールの成分は過酸化水素
- 体の傷口にオキシドールをつけると酸素の泡ができる:細胞に含まれているカタラーゼ(酵素)が触媒となり、過酸化水素を分解する



↑  
カタラーゼ

# 乳量増加と生体機能



- 乳量増加とともに体内代謝が活発になり、酸素消費量が増加したが、活性酸素活性量も増加しているのではないか？

・スーパーカウ：2万ー3万kg/年の生産

# 表、乳牛のO<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>、CH<sub>4</sub> 産生量

	乾乳牛	泌乳牛
体重 (kg)	618±63	614±47
DMI (kg/日)	7.7±1.0	20.7±2.2
乳量 (kg/日)	--	29.5±6.7
O <sub>2</sub> 消費量 (l/日)	3361±386	5162±443
CO <sub>2</sub> 産生量 (l/日)	3747±423	6354±472
CH <sub>4</sub> 産生量 (l/日)	304±41	646±58
熱発生量 (MJ/日)	74.5±7.2	112.9±9.0

# 乳牛の栄養管理の基本的考え方 --生理・生産機能の変化をつかむ

Modern cowとTraditional cowの相違(Lucy, JDS  
84:1277.2001)

Modern cowの特徴の一例(繁殖に関して)

- ・プロジェステロン濃度が低い
  - 飼料摂取量が多く、体内代謝が活発
- ・初回排卵が10日遅れる
  - 負のエネルギーバランスが大きいため
- ・発情微弱、発情持続時間が短い



発情発見時間(従来:朝夕30分)をのばし、発情  
発見6-8時間後に人工授精



Modern Cowに適した栄養管理の重要性

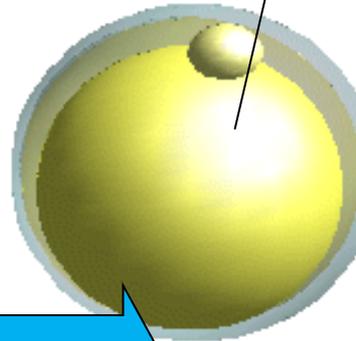
活性酸素の発生源:細胞内の  
活性酸素の90%以上はミト  
コンドリアで生成

### 内因性

- 酸化リン酸化
- NADPHオキシダーゼ
- キサンチンオキシダーゼ  
など

### 外因性

- 外環境の酸素濃度
- 外環境のグルコース濃度
- 金属イオンによる誘導
- 可視光  
など



- 細胞膜の脂質酸化
- タンパク質の修飾
- DNAの損傷
- ミトコンドリアの異常
- アポトーシスの誘導
- 酸化還元電位の変化
- 遺伝子の発現量の変化

初期胚発生  
の  
異常

# 活性酸素(ROS)と消去

- 親水性ROS

→カタラーゼなどの酵素、ビタミンC、葉酸などのビタミンB群などによる消去

- スーパーオキシドアニオン( $O_2^-$ )
- 過酸化水素( $H_2O_2$ )
- ヒドロキシルラジカル( $HO\cdot$ ) など

- 疎水性ROS

→カロテノイド、ビタミンA・Eなどによる消去

- 過酸化脂質( $LOO\cdot$ など)
- 一重項酸素( $^1O_2$ )

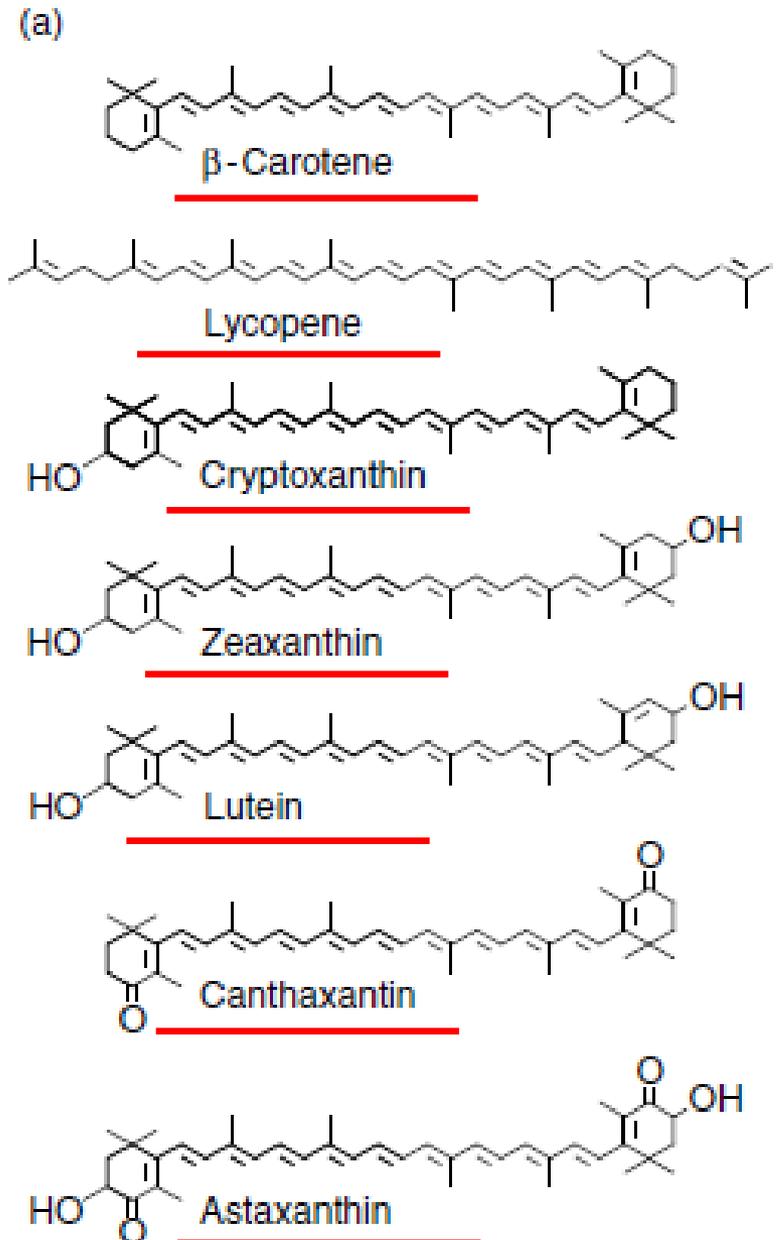
# 表、飼料中の微量ミネラル含量(ppm)

	鉄	亜鉛	銅	マンガン	セレン
配合飼料	241	56	13.5	57	0.20
大豆粕	116	54	19.4	44	0.17
休科サイレージ	1040	19	4.9	73	0.04
コーンサイレージ	133	20	6.8	60	0.04
要求量	50	40	10	40	0.10

抗酸化作用：スーパーオキシドジスムターゼ（亜鉛、銅、マンガン含有酵素）、グルタチオンパーオキシターゼ（セレン含有酵素）、カタラーゼ（鉄含有酵素）

# カロテノイド

- **プロビタミンA:** β-カロテン、クリプトキサントシン
- **非プロビタミンA:** ルテイン、カンタキサントシン、リコペン、アスタキサントシン



# ニンジンサイレージの利用

- ニンジン畑で出来たもののおよそ半分が規格外として捨てられる
- ニンジンサイレージは品質がよく、給与すると血液と牛乳中のベータカロテンが増えた



# β - カロテンの代謝経路

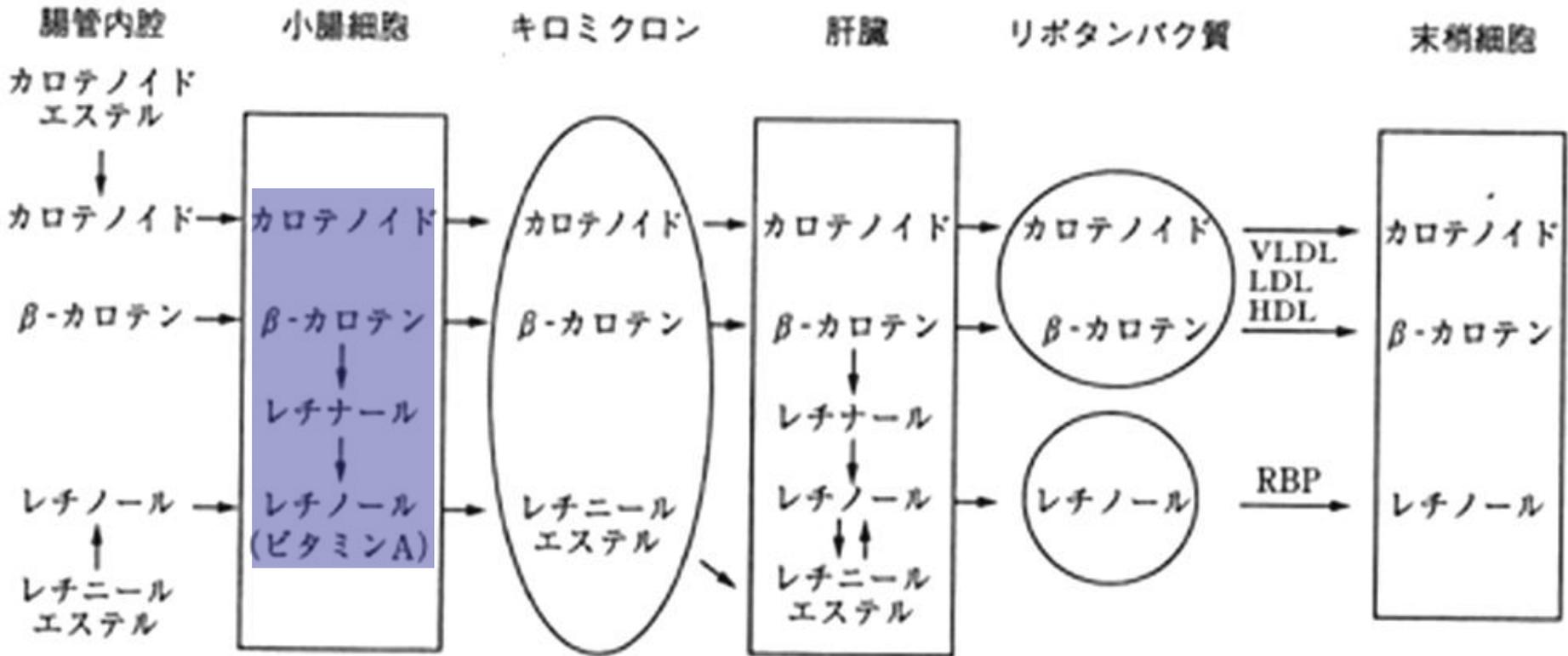
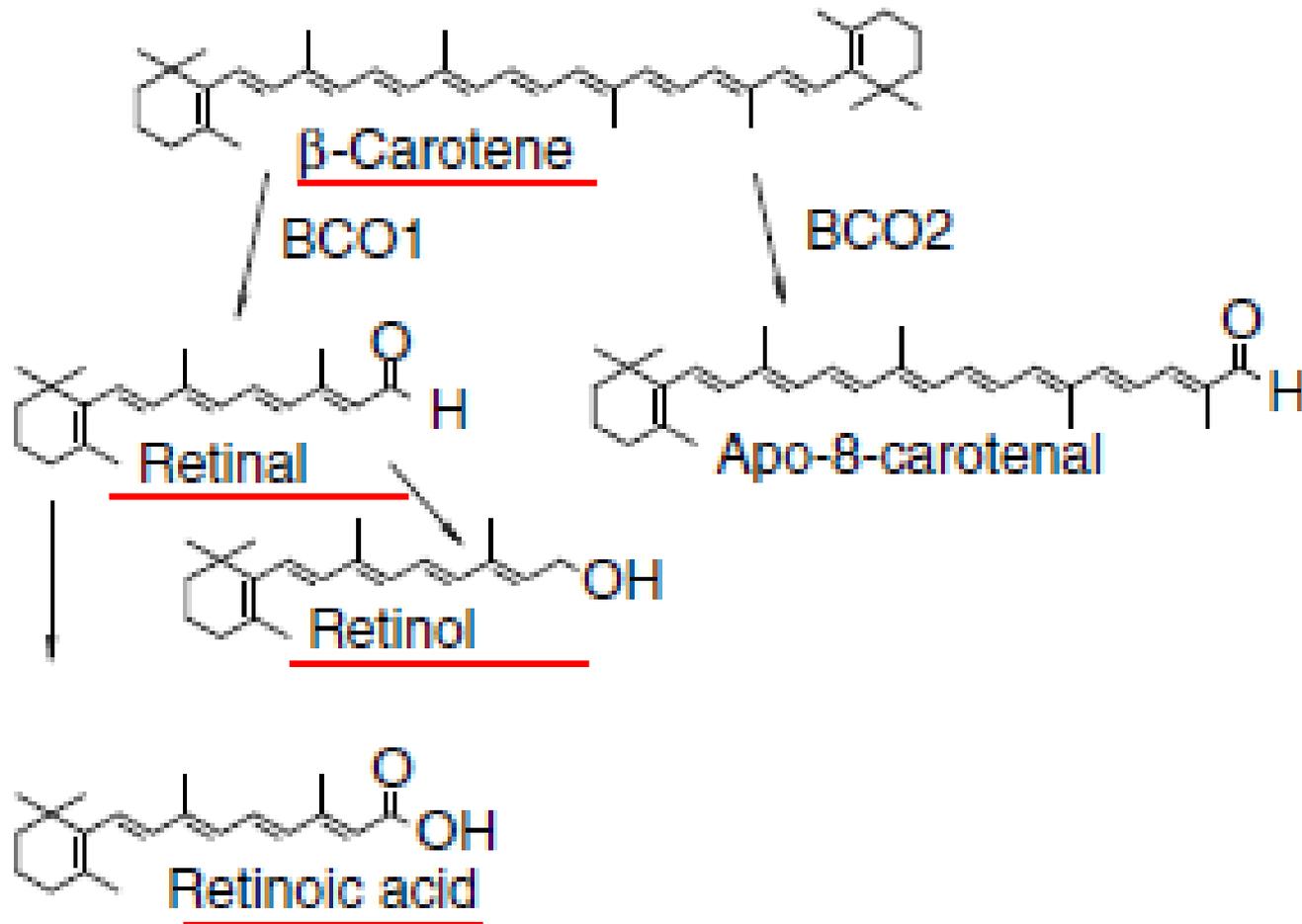


図 3-2 哺乳類におけるカロテノイドの吸収と輸送

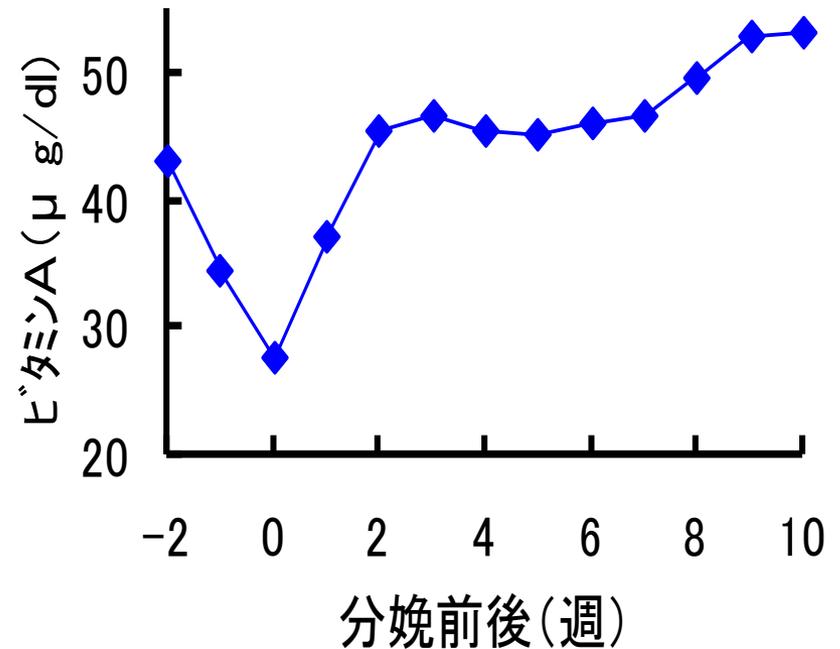
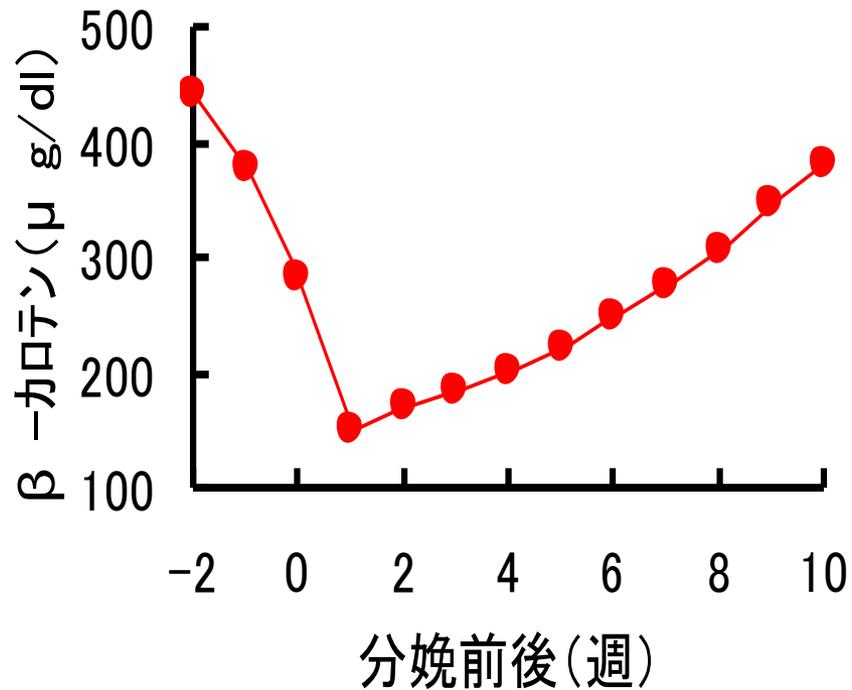
VLDL：超低密度リポタンパク質、LDL：低密度リポタンパク質、HDL：高密度リポタンパク質、RBP：レチノール結合タンパク質、β-カロテン：プロビタミンAの代表例。

# レチノイン酸への変換

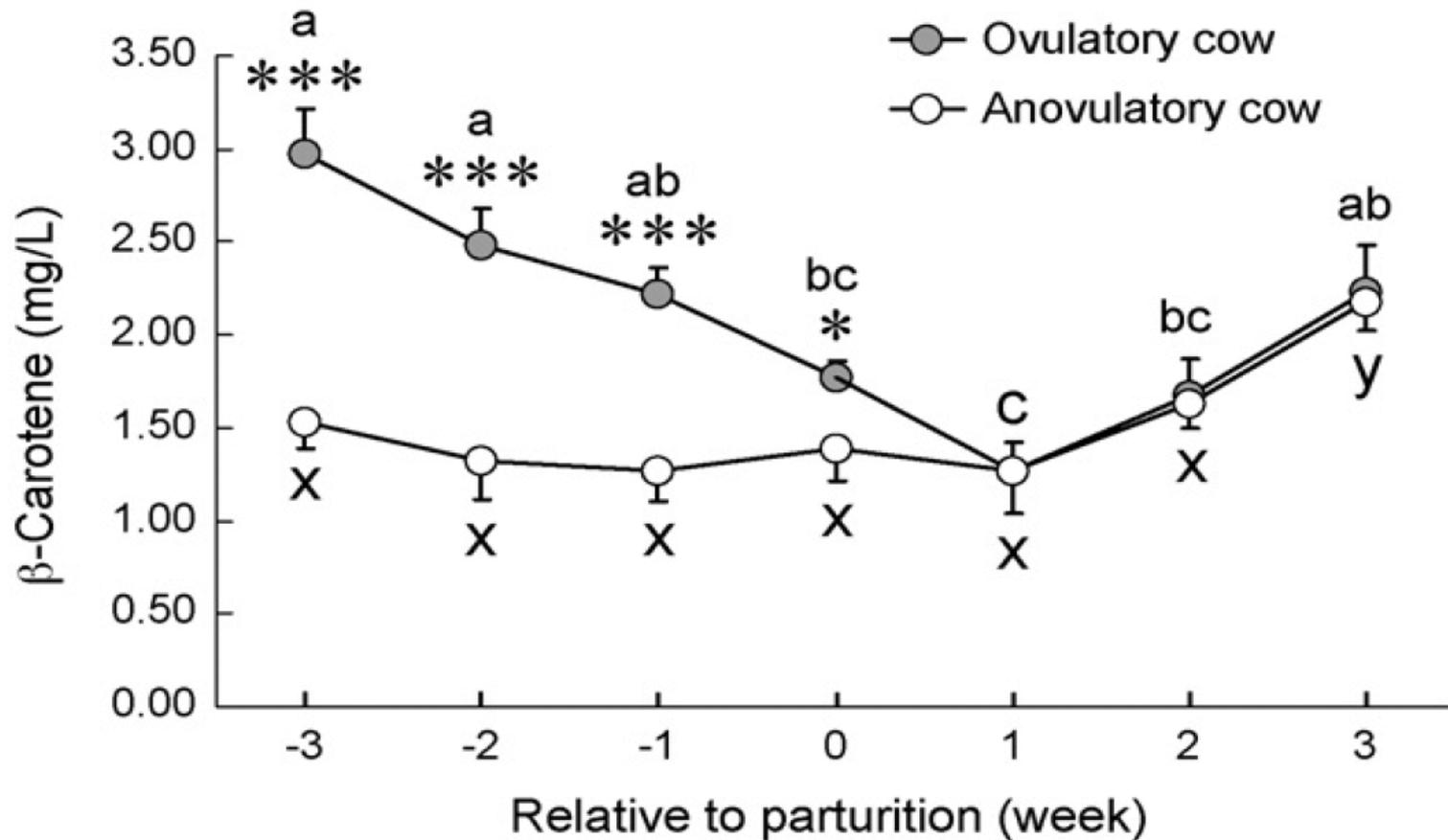
(b)



# 図、乳牛の血漿中ビタミン濃度

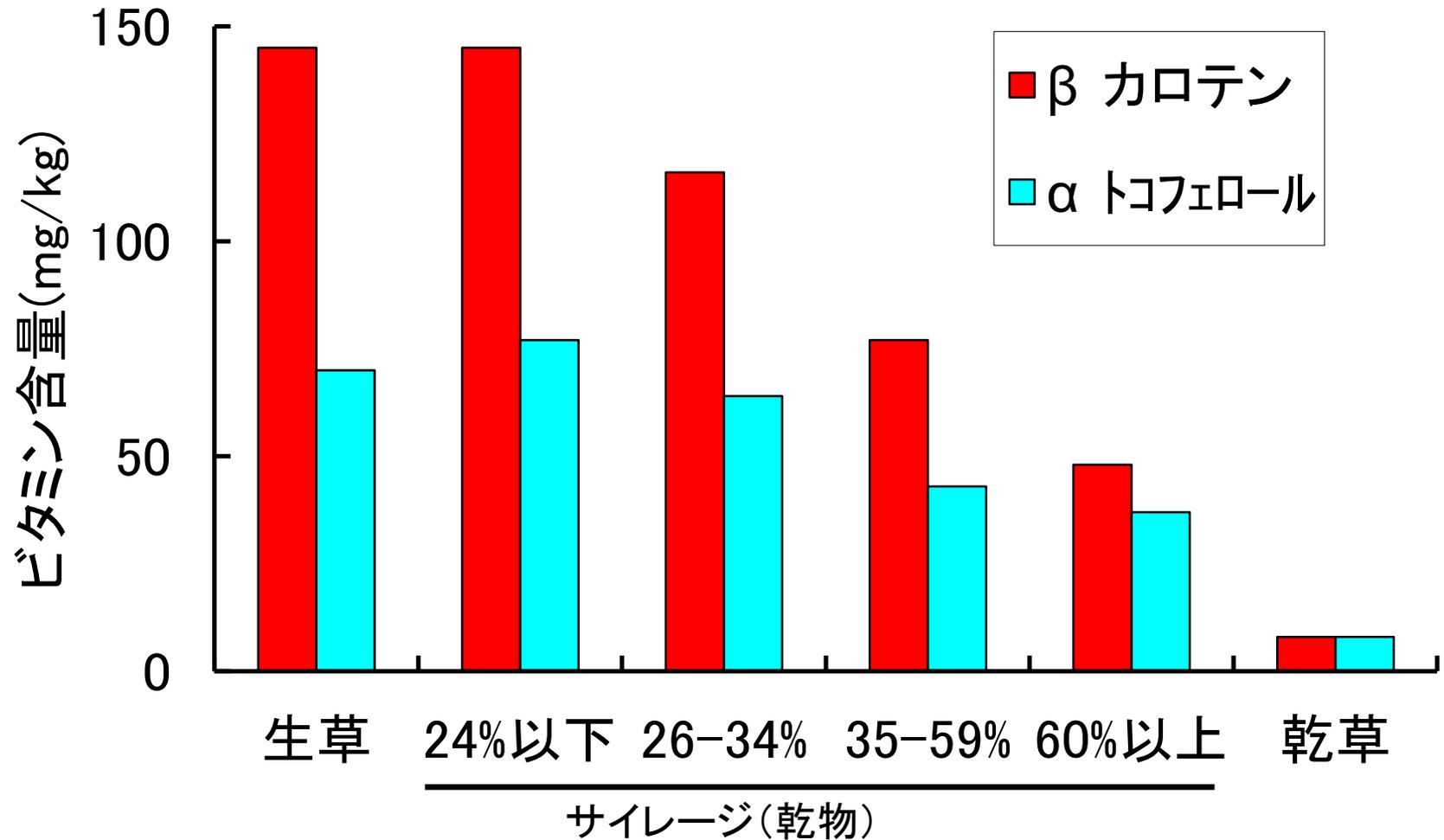


# 乳牛の排卵と血漿中β-カロテン

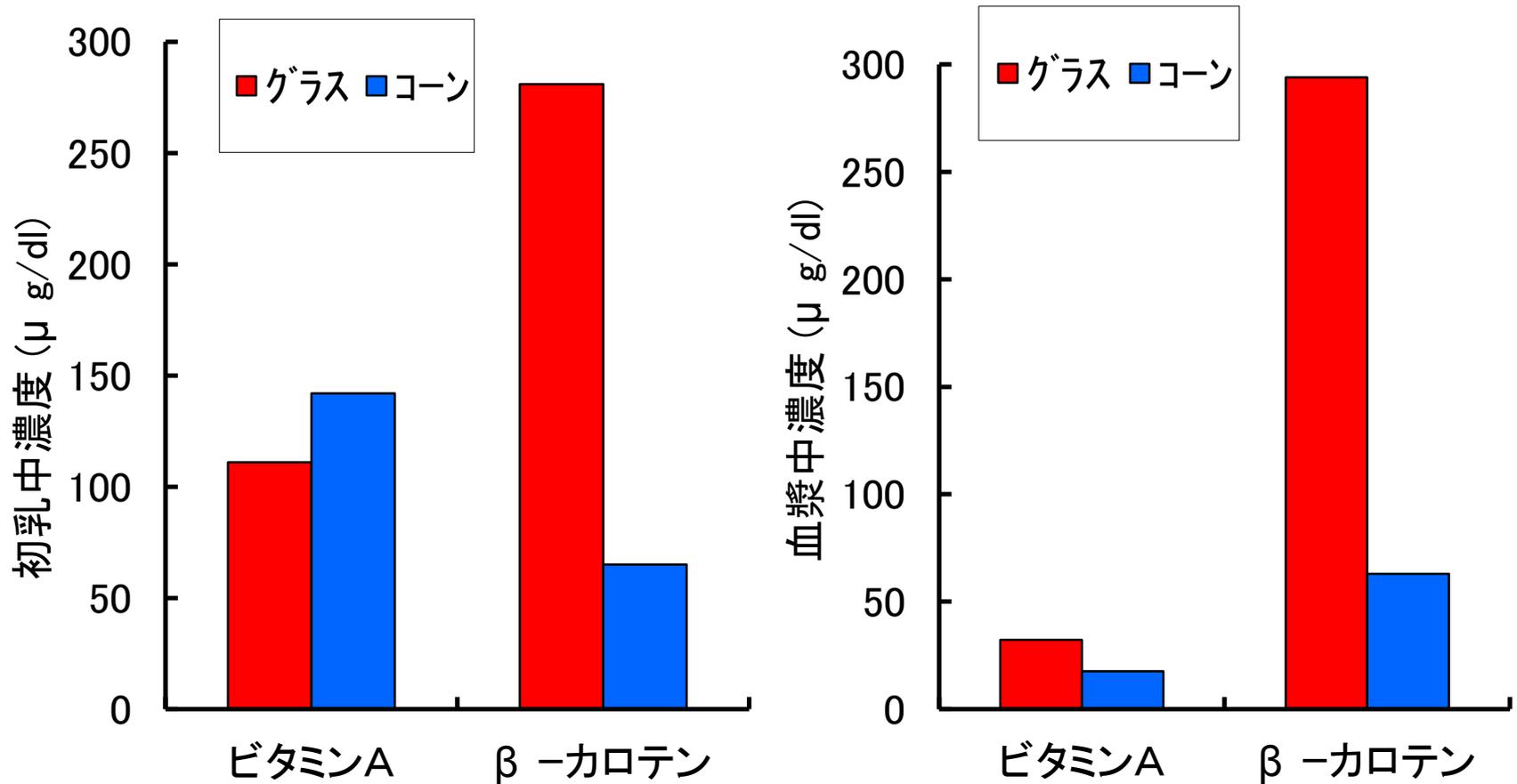


Kawashimaら(2009)

# 図、チモシー1番草のビタミン含量 (高橋ら、2001)

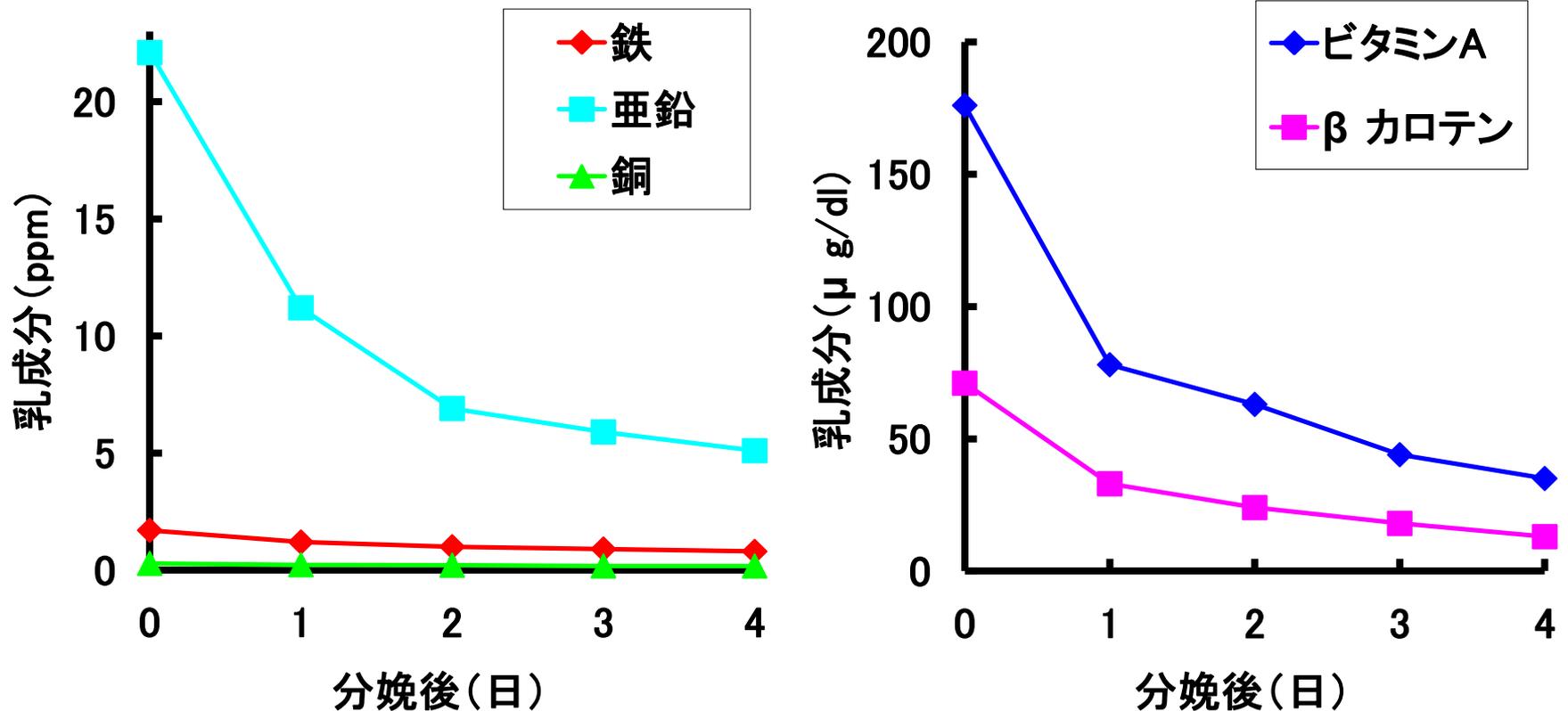


# 図、グラス及びコーンサイレージ主体給与経産牛 の分娩時の初乳・血漿中ビタミン濃度



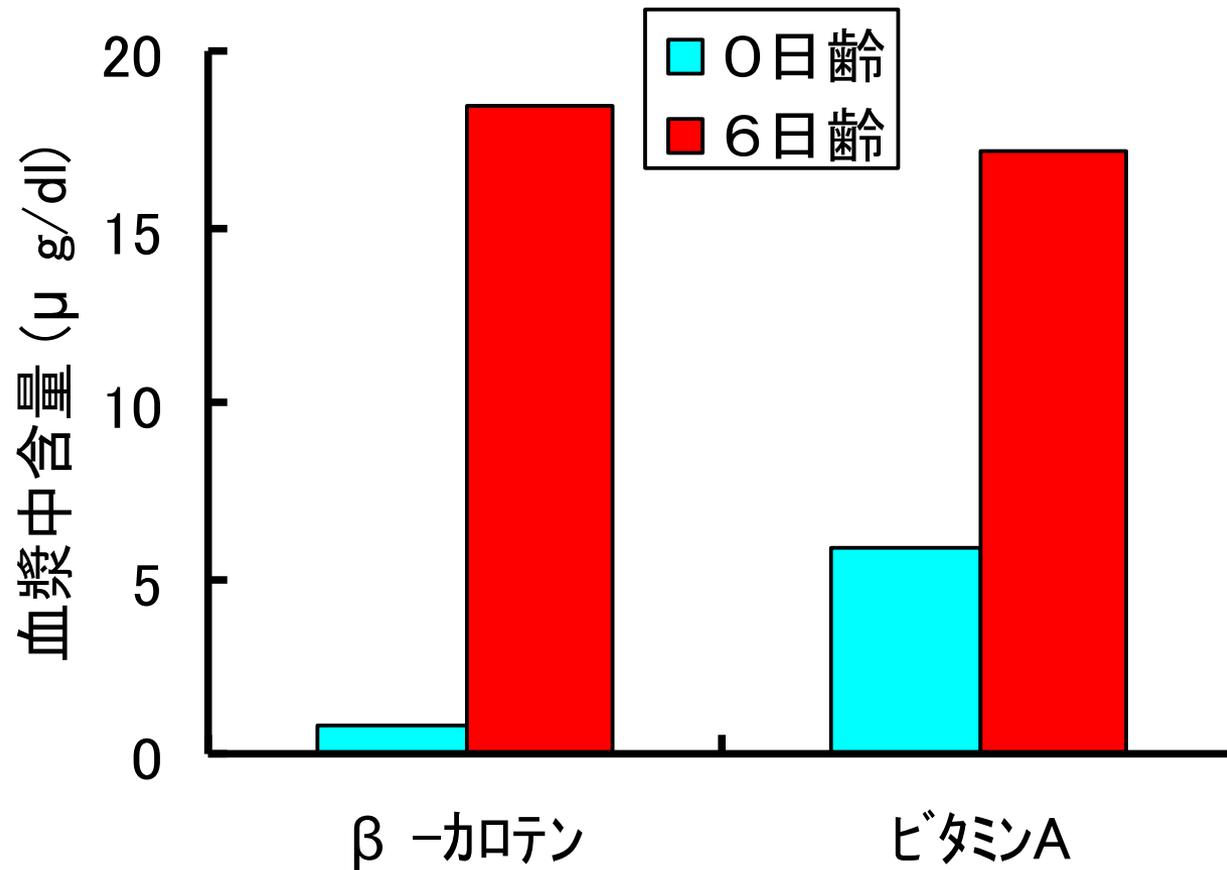
血漿中の脂溶性ビタミン濃度は飼料によって変動しやすい

# 図、初乳中への微量ミネラル・脂溶性ビタミンの分泌

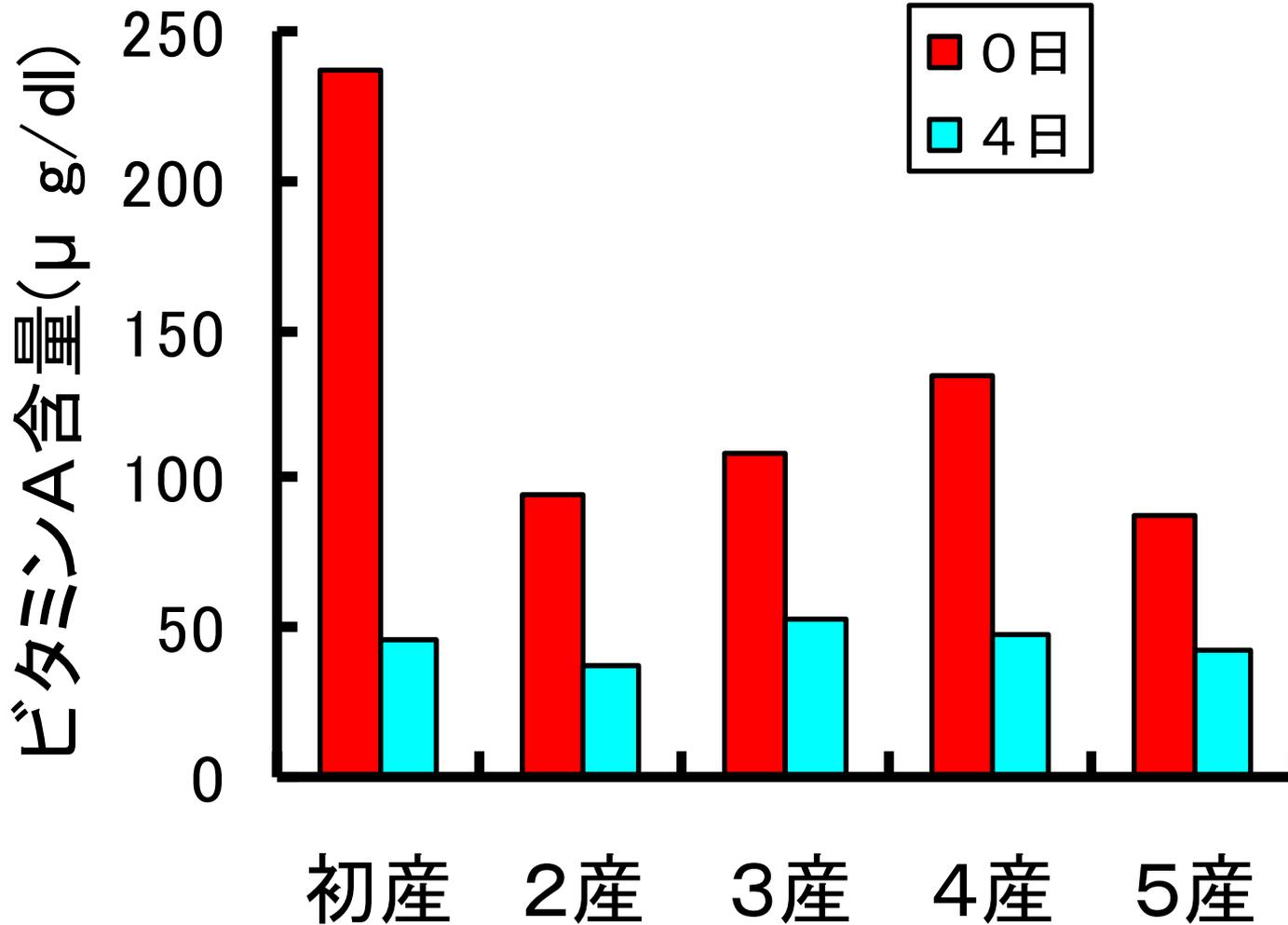


・分娩直後には多量のビタミンや亜鉛が初乳中に分泌されて、代謝・免疫機能を減退させる

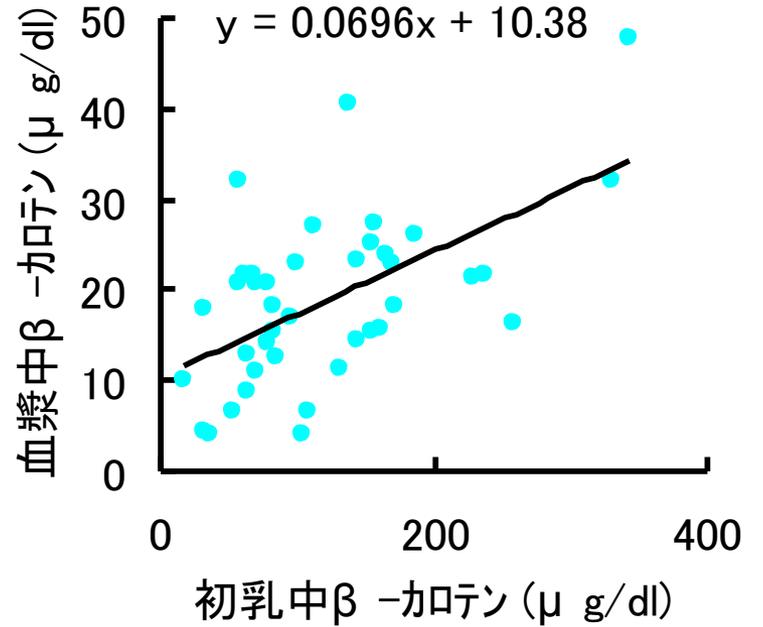
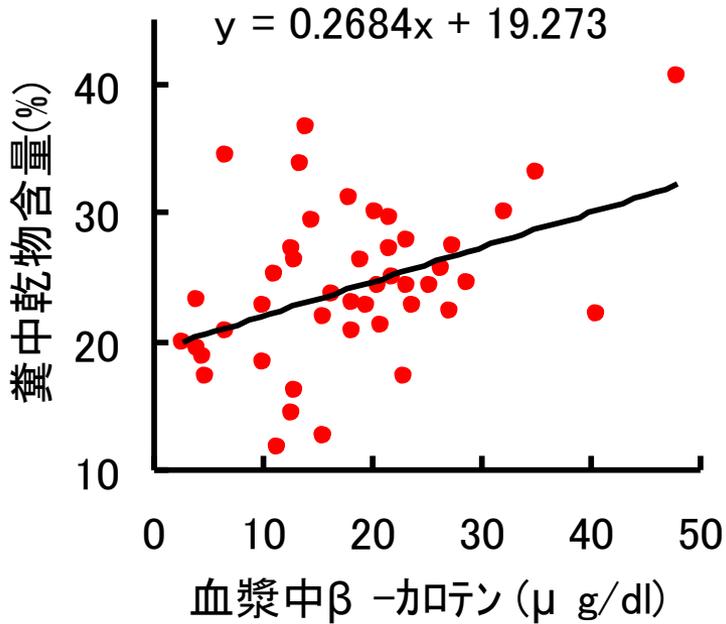
# 出生直後(0日齢)と6日齢の子牛 の血漿中ビタミン濃度



# 初乳中のビタミンA含量



# 6日齢の子牛の血漿中β-カロテン濃度と下痢の関係



# 牛の受胎・下痢とβ-カロテンの関係

- 1) β-カロテンはビタミンAの前駆体であるが、独自の生理活性物質としての機能を有する
  - ・妊娠中には母体からほとんど移行しない
  - 免疫グロブリンと同様に初乳からの摂取が重要
  - ・初乳中の濃度は飼料中のβ-カロテンに大きな影響をうける
- 2) β-カロテンが不足すると、受胎率低下、下痢発生などが生じやすい