

氏 名	高 橋 栄 二
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1036 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	農 学 研 究 科 畜 産 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	ウシ血清中における脂肪細胞分化調節因子に関する研究

(主査)

論文調査委員 教授 矢野秀雄 教授 宮本 元 教授 佐々木義之

論 文 内 容 の 要 旨

我が国の牛肉産業を維持・発展させる一つの方法は、輸入牛肉に競合しない枝肉単価の高い牛肉を生産することである。我が国においては脂肪交雑が価格決定の重要な要因となっており、ウシの脂肪交雑は肥育期において脂肪前駆細胞から脂肪細胞の分化の過程を経て形成される。そこで本研究は脂肪細胞分化を調節する因子について研究したものである。本論文は6章より構成されている。

第1章では、緒論が述べられており、背景および本研究に関連する従来の研究が総説されている。

第2章では、肥育牛血清中ビタミンCの栄養状態を調査している。屠畜時の一部のウシにおいてビタミンCが欠乏していることを示した。また、肥育および暑熱ストレスにより血清中ビタミンC濃度が低下することを明らかにした。

第3章では、脂肪前駆細胞を用いた肥育牛血清中の脂肪細胞分化誘導活性のバイオアッセイについて検討している。本バイオアッセイを行うための培養条件を検討した結果、従来の3T3-L1細胞の培養方法でバイオアッセイを行うことが適当であることを明らかにした。3T3-L1脂肪前駆細胞の培地に肥育牛血清を添加するバイオアッセイを行った結果、分化誘導活性は一部のウシで血清中レチノール濃度と負の相関があり、脂肪交雑標準(BMS)と正の相関を有することを明らかにした。また、血清中レチノール濃度はBMSと明らかな相関が得られなかったことから、本バイオアッセイの結果からBMSを推定するほうが、血清中レチノール濃度から推定するよりも精度が高いことが示唆された。ウシ脂肪前駆細胞を用いたバイオアッセイにおいては、脂肪細胞分化誘導活性と血清中レチノール濃度との間に有意な負の相関が得られ、ビタミンC濃度との間には有意な正の相関が認められた。同じ血清を3T3-L1細胞を用いてバイオアッセイを行った場合はこれらとの間に明らかな相関は認められなかったことから、ウシ脂肪前駆細胞を用いたバイオアッセイの方がBMSをより正確に推定できる可能性が示唆された。

第4章では、微量元素と3T3-L1細胞の脂肪細胞分化との関連について検討している。3T3-L1細胞の脂肪細胞分化を促進する因子の一つとしてインスリンが報告されており、一部の微量元素にインスリン様作用を有することが明らかにされている。そこでインスリン様作用を有する微量元素を3T3-L1細胞の培地に添加した。亜鉛、バナジウムおよびセレンは脂肪細胞分化を促進することを明らかにした。また、3T3-L1細胞を用いて測定した肥育牛血清中の脂肪細胞分化誘導活性と血清中亜鉛濃度との間に有意な正の相関が認められたことから、亜鉛は肥育牛血清中において重要な脂肪細胞分化促進因子であることが明らかとなった。微量元素による脂肪細胞分化調節の経路として一酸化窒素(NO)を介する経路について検討している。NO供与体を3T3-L1細胞に添加すると脂肪細胞分化が抑制され、NO生成抑制剤の添加により分化が促進することを明らかにした。亜鉛およびバナジウムを添加した時の培地中NO濃度は低下する傾向にあることを示した。また、マクロファージにおいてNO合成を促進するコバルトおよびニッケルは脂肪細胞分化を抑制することを明らかにした。3T3-L1細胞においてNOを合成しているという報告はこれまでなされていないが、本研究の結果からNOを合成している可能性が示唆され、微量元素はNOを介する経路により脂肪細胞分化を調節している可能性を示唆した。

第5章では、肥育牛血清中に存在する脂肪細胞分化調節因子について検討している。血清中のタンパク質因子をゲル濾過により分画化した。その結果、アルブミンよりわずかに大きい分子量の画分および画分番号70程度に分化を強く抑制する因子が存在していることを明らかにした。また、最も小さい分子量の画分に分化を促進する因子の存在が示唆された。血清中に存在する脂溶性物質は全体として脂肪細胞分化を抑制することが示唆された。ただしこれらの内、疎水性の高い画分は逆に脂肪細胞分化を促進することが示された。

第6章では、本研究によって得られた結果を要約している。

論文審査の結果の要旨

筋肉内に存在する脂肪組織は、肥育期に脂肪前駆細胞が脂肪細胞に分化することにより形成されることが知られている。本論文は、肥育牛血清中に存在する脂肪細胞分化調節因子について検討したものであり、評価される点は次のとおりである。

1. 肥育に伴い血清中ビタミンC濃度が低下することを明らかにし、また暑熱ストレスにより血清中ビタミンC濃度が低下することを示唆した。

2. 3T3-L1細胞の培地に肥育牛血清を添加するバイオアッセイにより、脂肪細胞分化誘導活性と脂肪交雑との間に正の相関が得られ、バイオアッセイ法により脂肪交雑を推定できる可能性を示唆した。また、ウシ由来脂肪前駆細胞を用いて同様のバイオアッセイを行った結果、脂肪細胞分化誘導活性は、脂肪細胞分化を抑制することが知られているレチノールの血中濃度と負の相関が得られ、分化を促進することが知られているビタミンCの血中濃度と正の相関が認められたことから、ウシ脂肪前駆細胞を用いたバイオアッセイにおいても脂肪交雑を予測できる可能性を示唆した。

3. 亜鉛、バナジウムおよびセレンは3T3-L1細胞の脂肪細胞への分化を促進させることを明らかにした。3T3-L1細胞を用いて測定した肥育牛血清中の脂肪細胞分化誘導活性と血清中亜鉛濃度との間に正の相関が得られ、亜鉛が肥育牛血清中において脂肪細胞分化促進因子であることを示した。一酸化窒素(NO)が3T3-L1細胞の脂肪細胞分化に及ぼす影響を検討した結果、NO供与体の添加により分化が抑制され、NO合成阻害剤の添加により分化が促進されることを示した。また、亜鉛およびバナジウムは培地中NO濃度を低下させる傾向であることを明らかにした。

4. 血清中タンパク質をゲル濾過により分画化した結果、アルブミンよりやや大きい分子量の画分において脂肪細胞分化を抑制する因子の存在を示唆した。血清中脂溶性画分中には脂肪細胞分化を促進する疎水性が高い因子の存在を明らかにした。

以上のように、本論文は、肥育牛血清中に存在する脂肪細胞分化調節因子について、多くの知見を得たものであり、動物栄養学、飼料学、および実際の畜産業に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成11年1月21日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。