【解説】

アミノ酸栄養の制御によるブタの筋肉内脂肪蓄積促進 リジン濃度が低い飼料の給与による栄養制御の可能性に迫る

勝俣昌也

豚肉でも“霜降り”が高品質肉として注目されている。その生産のためのアプローチの一つが栄養制御であるが、最近、必須アミノ酸のリジン濃度が低い飼料をブタに給与すると、筋肉におけるグルコース輸送タンパク質の発現量の上昇、酸化的筋線維の割合の増加とともに、筋肉内脂肪含量が高くなることがわかってきた。この成果を踏まえて、リジン濃度の低い飼料を生産現場で給与するときの条件設定に関する応用研究が進展している。

筋肉内脂肪含量と豚肉

わが国のウシ、ブタ、ニワトリ別の大まかな食肉購買構成比をみると、牛肉が20%、豚肉が45%、鶏肉が35%となっている。日本人の食卓は豚肉が支えている、といっては言い過ぎかもしれないが、普段食べている肉類の半分弱が豚肉である。肉食文化の欧米ではハムやソーセージなどの加工品の消費が多いのに対し、わが国ではスーパーや精肉店で売っている「豚肉」の消費が多いことが特徴である。したがって、日本人は豚肉の品質に敏感といってよく、香り、やわらかさ、ジューシーさを兼ね備えることが重要である。また、国内の養豚産業

は、輸入豚肉との競争も強いられる。生産コストで競争するのは限界があるので、国産豚肉ならではの品質で勝負し、消費者の支持を得たいところである。そこで、近年注目されているのが“霜降り豚肉”である。「霜降り」とは、筋線維と筋線維の間、あるいは筋束と筋束の間に脂肪細胞が発達し、脂肪が蓄積する状態をいう。このような脂肪を筋肉内脂肪 (intramuscular fat, 以下 IMF)、脂肪細胞を筋肉内脂肪細胞 (intramuscular adipocytes) と呼ぶ。筋線維間や筋束間には結合組織が存在しており、筋肉内脂肪は結合組織に沿って蓄積する⁽¹⁾。図1にブタの筋肉中の結合組織に沿って脂肪細胞が並んでいるところを示した。

霜降り豚肉を生産するためのアプローチは、大きく2つに分けることができる。ひとつは育種改良である。‘トウキョウエックス’というブタをご存知だろうか？ 北京黒豚、バークシャー、デュロックという3つの品種を用いて東京都が系統造成したブタの系統であり、IMF含量が高いことで有名である。また、IMF含量が高いデュロックを選抜して宮城県が造成した‘しもふりレッド’という系統もよく知られている。ゲノム解析の手法を使ってIMF含量が高くなる染色体領域を特定、固定したデュロック種の‘ボーンブラウン’を、岐阜県と農業生物資源研究所がつい最近共同で開発した。これに対し

Control of Intramuscular Fat Accumulation in Porcine Muscle by Dietary Amino Acid Levels
Masaya KATSUMATA, (独)農研機構畜産草地研究所

図1 ■ ブタの菱形筋における筋肉内脂肪（京谷隆侍氏提供）
ブタの菱形筋（肩ロース肉に相当する部分）の凍結切片をアザン染色した。筋束間の結合組織に沿って脂肪細胞が並んでいる。赤く染まっているのは筋線維，青く染まっているのは結合組織，結合組織の白い部分が脂肪細胞

て、通常飼育されているブタでも IMF 含量を高くできるのが、ここで述べる栄養制御による方法である。栄養制御のメリットは、上述のような特別な系統のブタでなくとも、IMF 含量が高い豚肉を生産できることである。以下、栄養制御による IMF 含量増加について概観するとともに、筆者が関わったアミノ酸制御による方法について解説する。

栄養制御に関わる先行研究

IMF と豚肉の品質との関係については、1990 年前後から研究がされており、IMF 含量の高い豚肉のほうがやわらかく、多汁性に富み、総合的に好ましいと、訓練された評価パネルによって判定されている。これらの傾向は肉のかたさの指標となるせん断力価などの理化学的性状の測定でも確認されている^(2,3)。わが国においても、1990 年代の後半から、IMF 含量が適度に高い豚肉の生産が高品質化につながると提唱されるようになった⁽⁴⁾。栄養制御で IMF 含量を高める研究で主流となったのは、タンパク質濃度の低い飼料の給与に関する研究である。

そのいくつかの事例について、次に紹介しよう。2005 年版の『日本飼養標準・豚⁽⁵⁾』では、体重 30~50 kg のブタ用の飼料の粗タンパク質（CP、窒素×6.25）は 15.5% と表記されている。Goerl らは、体重 30 kg のブタを 104 kg に達するまで CP 含量 19% と 10% の飼料でそれぞれ飼育した。その結果、10% 飼料で飼育したブタでは胸最長筋（ロース肉に相当する部分）の IMF 含量が 3.8% であったのに対し、10% の飼料を給与したブタ

ではその約 2.5 倍の 3.8% となった⁽⁶⁾。しかし、CP 含量 10% 飼料給与のブタでは、CP 含量 19% の飼料を給与したブタに比べて、背脂肪は 17% 厚くなり、胸最長筋の面積は 20% 低下した。一方、低 CP 飼料給与で胸最長筋の IMF 含量が 2 倍になったが、増体速度が 10~17% 低くなったという報告もある⁽⁷⁾。

また、単一のアミノ酸の効果としてはケト原性アミノ酸というロイシンの性質に着目し、飼料にロイシンを 2% 添加して 75 kg から 115 kg まで飼育した報告では、対照区の IMF 含量が 2.4% だったのに対し、ロイシン添加区では 3.4% になっていた⁽⁸⁾。しかし、増体速度が低下するなど問題も多い結果となっている。ただ、この結果に関しては、わが国ではロイシンは飼料添加物として認可されていないので、たとえ効果があってもすぐ利用できるわけではない。一方、国内では、飼料コスト低減の観点からリサイクル飼料が注目され、パン多給による IMF 含量の高い豚肉生産が最初に行なわれた⁽⁹⁾。これは、リサイクル飼料を有効活用し、生産コストを抑えつつ高品質豚肉生産に成功した先駆的な優良事例であり、その効果は試験研究によっても確認されている⁽¹⁰⁾。

以上、栄養制御によってブタの IMF 含量を高める先行研究事例を概観した。いずれの事例も、飼料中のタンパク質やアミノ酸の含量、特定のアミノ酸の代謝特性に着目して研究が行なわれてきたことがわかる。以下には、ブタの筋肉中でグルコースの能動輸送にあずかるグルコース輸送タンパク質（GLUT）の発現に関わる基礎研究から、IMF 含量の増加に関わる応用研究まで、筆者自身が行なったアミノ酸栄養の制御に関わる研究について紹介する。

低リジン飼料給与によるブタの筋肉における GLUT4 の発現増加

現在、GLUT は 1 型から 14 型まで報告されているが、筆者が GLUT に関わる研究を始めた 1995 年には 7 型までが報告されていた。ブタの筋肉におけるエネルギー代謝に関わる基礎的な研究を通じて、豚肉の品質改善ができないかと考えた筆者は、筋肉で発現していることが知られていた GLUT1 と GLUT4 に着目した。具体的には、3 週齢の子ブタのエネルギー摂取量を制限し、GLUT1 と GLUT4 の mRNA の発現量がどのように変化するか調べることにした。

甲状腺ホルモンは筋肉へのグルコースの取り込みを促進し、かつ、GLUT4 の発現量を高くする^(11,12)。一方、ブタのエネルギー摂取量を低くすると、ホルモン濃度や受容体の発現パターンを通じて総体的に甲状腺機能が低下

する⁽¹³⁾。したがって、子ブタのエネルギー摂取量を低くすると、甲状腺機能の低下を介して GLUT4 の発現量は低くなるという仮説を立てて実験を行なった。しかし、結果は仮説と逆で、エネルギー摂取量を低くした子ブタの胸最長筋と菱形筋では、GLUT1 も GLUT4 も mRNA 発現量は高くなった⁽¹⁴⁾。この現象の詳細なメカニズムを解明するには至らなかったが、I 型筋線維が多い筋肉のほうが GLUT4 の発現量が高いこと⁽¹⁵⁾、エネルギー摂取を制限した子ブタで I 型筋線維の割合が増えることから考えると⁽¹⁶⁾、GLUT4 を発現する I 型筋線維の割合が増加したことによると考えられる。

いずれにしても、子ブタへの栄養制限で筋肉における GLUT1 と GLUT4 の mRNA 発現量が高くなることが明らかとなった。エネルギー摂取量の制限という方法は、多くのデータをもたらしてくれると感じたが、畜産研究としての展開を考えたとき、もう少し生産現場に近い栄養制御の影響を検討するべきだと考えた。また、飼料摂取量を下げることによってエネルギー摂取量を制限していたので、どの栄養素の効果があるのかはこのままではわからない。以上の理由から、ターゲットを絞って影響を検討することにした。

筆者が所属していた研究室は、ブタの必須アミノ酸要求量を明らかにする研究を実施し⁽¹⁷⁾、その成果は多くの海外の研究者から引用されるとともに、先にあげた『日本飼養標準・豚⁽⁶⁾』に活かされていた。そこで、筆者も必須アミノ酸の影響を検討することにした。特に、1 つのアミノ酸の摂取量を下げたときに、ブタの筋肉の GLUT4 発現量が変化するかどうかが検討することにした。ところで、要求量に比較して最も不足しているアミノ酸を第一制限アミノ酸というが、養豚の飼料ではリジン (Lys) である場合が多い。したがって、Lys が不足している状態の影響を検討するのが、最も現実的で、実験がやりやすい。

まず、Lys 濃度が 1.15% の対照飼料と、同 0.70% の低 Lys 飼料を用意した。これらの飼料は CP 含量が 18%、可消化エネルギー含量が 3.41 Mcal/kg となるように調製した。Lys 以外の必須アミノ酸は濃度が同じ、かつ要求量を満たすようにし、さらにペアフィードングをすることで飼料摂取量も同じにした。したがって、摂取量が異なるのは Lys のみとなった。これらの飼料を 6 週齢 (体重 10~12 kg 程度) のブタに 3 週間給与した結果、胸最長筋でも菱形筋でも、低 Lys 飼料を給与したブタの GLUT4 mRNA 発現量が高くなった⁽¹⁸⁾。菱形筋では GLUT4 タンパク質の発現量も高くなっていた。同様の実験をスレオニン (Thr) についても実施したとこ

ろ、胸最長筋における GLUT4 mRNA 発現量は低 Thr 飼料給与で高くなった⁽¹⁹⁾。このように、エネルギー摂取量だけでなく、Lys や Thr など、1 つの必須アミノ酸の摂取量を低くすることでも、ブタの筋肉の GLUT4 の発現量が高くなることが明らかになった。

低 Lys 飼料給与とブタの筋肉の酸化能

一連のエネルギー代謝の中で律速となるのは、GLUT を介して細胞膜をグルコースが通過する段階である。したがって、GLUT の発現量が影響を受ければ、その後のエネルギー代謝あるいはグルコース代謝も影響を受けると考えられる。運動負荷や筋肉への電気刺激によって GLUT4 の発現量が上がるとき同時にヘキソキナーゼやクエン酸合成酵素の活性が高くなることが知られている^(20,21)。運動負荷による筋肉の変化と低 Lys 飼料給与による変化が、同じ結果をもたらすと考えるのは少し飛躍があったかもしれないが、結果的には、低 Lys 飼料給与によってヘキソキナーゼ活性は影響を受けず、クエン酸合成酵素の活性だけが高くなった^(22,23)。クエン酸合成酵素は細胞の基質酸化能の指標として扱われることが多く、低 Lys 飼料を給与するとブタの筋肉の酸化能が高くなると考えられた。

筋肉の収縮特性や疲労への抵抗性は、各筋肉を構成する筋線維型と筋線維の生化学的特性で支配されている。筋線維型は、ミオシン重鎖タンパク質 (MyHC) のどのタイプが発現しているかで決まり、ブタでは収縮が遅いほうから順に、MyHC I, 同 IIa, 同 IIx, 同 IIb が多く発現し

図2 ■ ブタの菱形筋におけるミオシン ATPase 活性の染色 (京谷隆侍氏提供)

ブタの菱形筋の凍結切片を pH 4.45 で前処理した。濃く染まっている筋線維が I 型筋線維、薄く染まっているのが IIb 型筋線維、白く抜けているのが IIa 型筋線維

ている(図2)。筋線維の生化学的特性は依存するエネルギー基質によって分類され、脂肪酸などの酸化によってエネルギーを得る酸化型と、グリコーゲンを分解することによるグリコーゲン分解型に分けられる。厳密に対応するわけではないが、MyHC I型が多く発現する筋線維は酸化型、IIa型とIIx型が酸化型かつグリコーゲン分解型、IIb型がグリコーゲン分解型だと理解してよい。I型が多く発現する筋肉は、収縮は遅いが脂肪酸などを酸化して疲労に強い。逆に、IIb型が多いと、収縮は速いが疲労には弱くなる。このような組織化学的な筋肉の特性を背景にして考えると、低Lys飼料の給与はブタの筋肉をより酸化型にシフトさせるのではないかと考えられた。

ミトコンドリア電子伝達系の複合体Iの酵素、NADH脱水素酵素の活性を組織化学的方法で胸最長筋と菱形筋について調べたところ、低Lys飼料を給与したブタのほうがNADH脱水素酵素活性を有する筋線維の割合が高かった⁽²³⁾。同時に、ミトコンドリアの生合成に関与するPGC-1 α [peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR- γ) coactivator 1 α] のmRNA発現量を同じサンプルについて調べたところ、胸最長筋では差がなかったものの、菱形筋では低Lys飼料を給与したほうが高くなっていた。これらの結果は、筋線維の生化学的特性が低Lys飼料給与によってグリコーゲンよりも(むしろ)脂肪酸を主なエネルギー基質とする方向へシフトしたことを示している。ところで、筋線維に含まれるトリアシルグリセリド(TG)含量と筋線維型との関係はよく知られており、酸化的な筋線維(I型)のほうがIIaやIIb型よりもTG含量が高い⁽²⁴⁾。家畜では、酸化的な筋肉のほうが筋肉内脂肪含量が高いことがウシで報告

されている⁽²⁵⁾。さらに、脂肪前駆細胞から脂肪細胞へ分化する際に発現が高くなるPPAR- γ のmRNA発現量が、胸最長筋、菱形筋ともに、低Lys飼料給与で高くなることも観察した⁽²³⁾。

この段階までの実験は、3~6週齢のいわゆる子ブタを使ってデータを得てきたが、もっと週齢の進んだ肥育豚に低Lys飼料を給与するとIMF含量が高くなると考えた。ここからが応用研究の段階である。

肥育豚への低Lys飼料給与とIMF含量の増加

一般に肥育豚といえば、体重が30 kgより重いブタを指す。現在のわが国の養豚では、体重が115~120 kg程度で出荷することが多く、おおよそ生後6ヵ月で出荷体重に達する。筆者は、体重70~115 kgの肥育後期に相当するブタに低Lys飼料を給与した。『日本飼養標準・豚⁽⁵⁾』では、この体重に相当する肥育豚用飼料のLys濃度を0.56%と表示している。実験では、Lys濃度0.40%の肥育豚用低Lys飼料と0.65%の対照飼料を調製し、110 kgでサンプルを採取するまでの2ヵ月間給与した。繰り返しになるが、濃度が異なるのはLysだけで、その他の条件は同じ飼料である。

胸最長筋のIMF含量は、対照区の3.5%に対して、低Lys区で6.7%となり、約2倍となる予想通りの結果になった⁽²⁶⁾(図3)。この実験では、胸最長筋中の遊離カルニチン含量が低Lys飼料給与で低くなった。カルニチンがLysとメチオニンから合成されることを考えれば、当然の結果だろう。筋肉における脂肪酸の β 酸化低下もIMF蓄積促進に寄与しているのかもしれない。背脂肪の厚さや胸最長筋の面積には、低Lys飼料給与の影響は

図3 ■ 低リジン飼料を給与した肥育豚の胸最長筋(ロース肉)
対照区(左)と比較すると「霜降り」になっているのがよくわかる。

なかったものの、飼料効率（飼料摂取量に対する体重増加量の比率）は低くなり、110 kg に達するのに5日長かった。必須アミノ酸のLys濃度が要求量を満たしていないので、当然予想された結果である。「Lys濃度が低い飼料を給与してIMF含量を高くする」という考え方を生産現場までもっていくためには、Lys濃度は0.40%まで下げる必要があるのか、あるいは低Lys飼料の給与期間は出荷までの2ヵ月間必要なのか、などの実用上の疑問にも答える必要がある。次のステップとして、段階的にLys濃度を変化させたときのIMF含量の変化、低Lys飼料の給与期間を短縮したときの効果について検討した。

Lys濃度が0.40, 0.48, 0.56, 0.64%となる4つの飼料を調製して、体重60～115 kgになるまで給与したところ、胸最長筋のIMF含量と飼料中Lys濃度との間に直線関係が観察された。また、回帰式も得ることができ、Lys濃度0.43%の飼料を肥育豚に2ヵ月給与することによって、IMF含量を5.5%にできるという推定値を得た。低Lys飼料の給与期間に関する検討では、肥育後期に1ヵ月間低Lys飼料を給与すれば、ロースのIMF量を5%程度にできることを確認した。また、肥育前期（体重30～70 kg）よりも肥育後期に低Lys飼料を給与したほうが、IMF含量を高めるには効果的であることも明らかになった。現在、これらのデータをもとに、生産現場における低Lys飼料給与の実証試験に取り組んでいる。

IMFが増加するメカニズム

応用研究については実証試験の段階まで進んでいるが、ブタの筋肉でIMFが蓄積するメカニズムについては未知の部分が多い。IMFの増加は2つのメカニズムに大別できる。脂肪細胞の容積の増大による蓄積と、脂肪

細胞数が増えることによる蓄積である。容積の増大と数の増加、両方が同時に起こることもありえるので、3つといえるかもしれない。1974年の研究では、ブタの筋肉中の脂肪細胞は24週齢に至るまで容積も数も増えると報告されている⁽²⁷⁾。図4はIMFが増加する模式図である。容積が増加する場合は、脂肪細胞内での脂肪酸ならびにTG合成の増加、またこれらの血液中からの取り込みが増加する。低Lys飼料給与の場合、本来タンパク質合成に向けられるはずのエネルギーが脂肪酸ならびにTGの合成に向けられ、脂肪細胞の容積が増加するのは間違いないだろう。一方、不断給餌の条件で飼育している肥育豚では、血液中の遊離脂肪酸やTG濃度が低いので、これらの取り込みの寄与は小さいと筆者は考えている。また、低Lys飼料給与で胸最長筋の遊離カルニチン含量が低くなったことから、 β 酸化の低下も関係しているかもしれない。脂肪細胞の数の増加については、前駆脂肪細胞や筋衛星細胞などの未分化の細胞が脂肪細胞へ分化して、数が増える可能性がある^(28, 29)。しかし、本稿で紹介した肥育後期豚への低Lys飼料給与によるIMF蓄積促進に、このメカニズムが関与しているかどうかは不明である。筆者の研究室では、前駆脂肪細胞が脂肪細胞へ分化する際に機能するadipogenesis関連遺伝子の発現や組織化学的な解析を通して、メカニズムに関して研究を継続中である。

0～4週齢の授乳中の子ブタのタンパク質とエネルギーの摂取量を制限し、離乳後は十分量給与して飼育すると、115 kgに到達したときの胸最長筋のIMF含量が、授乳期に十分量のタンパク質とエネルギーを摂取した対照区よりも高くなる⁽³⁰⁾。この実験では、脂肪細胞数もIMF含量と同様に高くなっている。授乳中の栄養制限時に脂肪細胞数が増えたのか、その後のいわば回復期に増えたのかは明らかではないが、出生直後の栄養制限

図4 ■ IMF 増加の模式図

は筋肉における脂肪細胞数を増やすことを示唆している。ヒトでも IMF の増加は肥満あるいは糖尿病と関係するだろう。低 Lys 飼料給与と授乳中の栄養制限によるブタの IMF 増加は、高品質豚肉生産のための研究にとどまらず、ヒト向けの研究モデルとしても活用できるのではないだろうか。

文献

- 1) 扇元敬司ら編：“新編畜産ハンドブック”，講談社，2006，p. 125.
- 2) D. L. Devol, F. K. McKeith, P. J. Bechtel, J. Novakofski, R. D. Shanks & T. R. Carr : *J. Anim. Sci.*, **66**, 385 (1988).
- 3) R. R. Hodgson, G. W. Davis, G. C. Smith, J. W. Savel & H. R. Cross : *J. Anim. Sci.*, **69**, 4858 (1991).
- 4) 入江正和：畜産の研究，**50**, 996 (1996).
- 5) 農研機構編：“日本飼養標準・豚”，中央畜産会，2005，p. 19.
- 6) K. F. Goerl, S. J. Eilert, R. W. Mandigo, H. Y. Chen & P. S. Miller : *J. Anim. Sci.*, **73**, 3621 (1995).
- 7) B. J. Kerr, F. K. McKeith & R. A. Easter : *J. Anim. Sci.*, **73**, 433 (1995).
- 8) Y. Hyun, M. Ellis, F. K. McKeith & D. H. Baker : *Can. J. Anim. Sci.*, **83**, 315 (2003).
- 9) 入江正和：食肉の科学，**48**(2), 175 (2007).
- 10) 岩本英治，設楽 修，入江正和：日畜会報，**76**, 15 (2005).
- 11) C. Brodie : *J. Neurochem.*, **55**, 186 (1990).
- 12) A. Castello : *J. Biol. Chem.*, **269**, 5905 (1994).
- 13) M. J. Dauncey, M. Katsumata & P. White : in “Muscle Development of Livestock Animals, Physiology, Genetics and Meat Quality”, ed. by M. F. W. te Pas, M. E. Everts and H. P. Haagsman, CABI Publishing, Wallingford, 2004, p. 103.
- 14) M. Katsumata, K. A. Burton, J. Li & M. J. Dauncey : *FASEB J.*, **13**, 1405 (1999).
- 15) J. R. Daugaard, J. N. Nielsen, S. Kristiansen, J. L. Andersen & M. Hargreaves : *Diabetes*, **49**, 1092 (2000).
- 16) P. White, D. Cattaneo & M. J. Dauncey : *Br. J. Nutr.*, **84**, 185 (2000).
- 17) S. Furuya & Y. Kaji : *Anim. Feed. Sci. Tech.*, **26**, 271 (1989).
- 18) M. Katsumata, S. Kawakami, Y. Kaji, R. Takada & M. J. Dauncey : European Association for Animal Production publication No. 103, Wageningen Pers, 2001, p. 237.
- 19) M. Katsumata, S. Kawakami, Y. Kaji & R. Takada : *Anim. Sci.*, **79**, 85 (2004).
- 20) N. Hjeltne, D. Galuska, M. Björnholm, A.-K. Askens, A. Lannem, J. R. Zierath & H. Wallberg-Henriksson : *FASEB J.*, **12**, 1701 (1998).
- 21) E. J. Henriksen & A. E. Halseth : *Am. J. Physiol.*, **268**, R130 (1995).
- 22) M. Katsumata, M. Matsumoto & Y. Kaji : European Association for Animal Production publication No. 109, 2003, p. 187.
- 23) M. Katsumata, M. Matsumoto, S. Kobayashi & Y. Kaji : *Anim. Sci. J.*, **79**, 347 (2008).
- 24) F. Garbens : in “Muscle Development of Livestock Animals, Physiology, Genetics and Meat Quality”, ed. by M. F. W. te Pas, M. E. Everts and H. P. Haagsman, CABI Publishing, Wallingford, 2004, p. 343.
- 25) J. F. Hocquette, C. Jurie, Y. Ueda, P. Boulesteix, D. Bauchart & D. W. Pethick : European Association for Animal Production publication No. 103, Wageningen Pers, 2001, p. 513.
- 26) M. Katsumata, S. Kobayashi, M. Matsumoto, E. Tsuneshi & Y. Kaji : *Anim. Sci. J.*, **76**, 237 (2005).
- 27) Y. B. Lee & R. G. Kauffman : *J. Anim. Sci.*, **38**, 532 (1974).
- 28) M. Sanosaka, T. Minashima, K. Suzuki, K. Watanabe, S. Ohwada, A. Hagino, M. T. Rose, T. Yamaguchi & H. Aso : *Comp. Biochem. Physiol. B*, **149**, 285 (2008).
- 29) A. Asakura, M. Komaki & M. Rudnicki : *Differentiation*, **68**, 245 (2001).
- 30) 芦原 茜，吉岡 豪，今枝紀明，八代田真人，大谷 滋：日畜会報，**78**, 435 (2007).