



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on energy metabolism-related lipid compositions in blood and oocytes at different lactation stages in dairy cows [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	古川, 瑛理
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15514号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/89936">https://hdl.handle.net/2115/89936</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Eri_Furukawa_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨  
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：古川瑛理

Name

学位論文題名  
The title of the doctoral dissertation

Studies on energy metabolism-related lipid compositions in blood  
and oocytes at different lactation stages in dairy cows

（乳牛の異なる泌乳時期における血液と卵子の  
エネルギー代謝関連脂質の組成に関する研究）

過去数十年間の産乳能力を重視した乳牛の遺伝的改良により、乳期当たりの乳量は増加を続けてきた。その結果、高泌乳牛では分娩後の負のエネルギーバランスに伴い血液中の遊離脂肪酸（FFA）濃度が上昇し、この高濃度 FFA により種々の疾病および細胞の機能障害が誘発される。通常、細胞内に流入した過剰な FFA は毒性の無い脂質の貯蔵形態であるトリアシルグリセロール（TAG）に変換される。しかし、細胞の処理能力を超える過剰な FFA が流入すると、FFA は細胞内に蓄積し、細胞毒性を引き起こす。実際に、高濃度の FFA を添加して牛卵子を培養すると、卵子に脂質毒性が発現することが報告されている。液体クロマトグラフィー質量分析法（LC/MS）を用いて泌乳牛の卵子の FFA と TAG の組成を調べることは、卵子への脂質毒性の可能性について調査するために有用な方法であるが、これまでに泌乳牛の卵子の FFA と TAG の組成を調べた報告はない。そこで本研究で、特に分娩後早期の牛卵子の脂質毒性について評価するために、泌乳牛の血液と卵子のエネルギー代謝関連脂質（FFA および TAG）の組成を調べて泌乳ステージ間で比較した。第 1 章では産乳量の少ない放牧主体の牛群（平均 305 日乳量 7,710 kg）を、第 2 章では産乳量の多い濃厚飼料主体で飼養される牛群（平均 305 日乳量 9,123 kg）を用いて、卵子の FFA と TAG を調べた。

第 1 章では、3 つの泌乳ステージにあるホルスタイン種 14 頭を用いた。泌乳初期群（分娩後 25～47 日、n = 6）、泌乳ピーク群（分娩後 61～65 日、n = 4）、泌乳中期群（分娩後 160～202 日、n = 4）、および 未經産牛（n = 4、コントロール群）から血漿および卵子サンプルをそれぞれ尾静脈穿刺と経膣採卵法（OPU）により採取した。サンプル当たり 100  $\mu$ L の血漿および 5 個の卵子を用いて LC/MS により FFA と TAG の組成を定性的、半定量的に解析した。その

結果、血漿と卵子で合計 6 種類の FFA および 45 種類の TAG が同定された。血漿 FFA 濃度と卵子 TAG 量は正の相関を示した ( $r = 0.55$ ,  $P < 0.05$ )。泌乳初期群は未経産牛よりも卵子 TAG 量が高く ( $P < 0.05$ )、泌乳ピーク群と泌乳中期群はその中間の卵子 TAG 量を示した。しかし、卵子 FFA 量はいずれの泌乳期においても同程度であった。クラスター解析により、血漿と卵子の FFA と TAG は 5 種類のグループ: (1) 二重結合数 0 の飽和 FFA、(2) 二重結合数 1 または 2 の不飽和 FFA、(3) 炭素数 44~48 の TAG、(4) 炭素数 50~54 の TAG および (5) 炭素数 56~58 の TAG に分類された。脂肪酸の構成割合に関しては、泌乳初期群と泌乳ピーク群では泌乳中期群と未経産牛に比べて、血漿中のステアリン酸 (FFA 18:0) の割合が低く、オレイン酸 (FFA 18:1) の割合が高かった ( $P < 0.05$ )。しかし、卵子 FFA と卵子 TAG の脂肪酸組成に関しては、泌乳期のステージによる差異は殆どなかった。以上の結果より、放牧主体で飼養される泌乳初期の牛では、未経産牛に比べて卵子 TAG 量が増加したが、卵子 FFA 量は増加しなかった。卵子内で貯蔵できる TAG 量には限界があることから、泌乳初期の牛の卵子の TAG の増加は、卵子における過剰な FFA を TAG に変換して貯蔵する能力の低下と、それに伴う卵子の脂質毒性のリスク増加を示唆した。

一方で、近年の高泌乳牛の典型的な飼養形態は濃厚飼料主体の飼養であり、放牧牛に比べて摂取エネルギー、消費エネルギーともに大きい代謝状態を示す。このようなエネルギー代謝の違いは卵子の脂質組成に影響する可能性があるため、濃厚飼料主体で飼養される牛の卵子の脂質組成を調べる必要がある。

第 2 章では、濃厚飼料主体で飼養されていた 4 つの泌乳ステージにあるホルスタイン種 20 頭を用いた。分娩後 20~30 日群 ( $n = 5$ )、分娩後 40~50 日群 ( $n = 5$ )、分娩後 60~80 日群 ( $n = 5$ ) および分娩後 130~160 日群 ( $n = 5$ ) から、第 1 章と同様の方法で、血漿と卵子のサンプルを採取し、LC/MS により FFA と TAG の組成を解析した。採卵前のエネルギーバランスと卵子の脂質との関係について調べるために、供試牛の OPU 前 3 週間の毎日のエネルギーバランスを計算した。血漿 FFA 濃度は分娩後 20~30 日で高く、50 日までに低下し、それ以降の供試期間中は低いレベルを維持した。卵子の FFA 量と TAG 量は、分娩後日数に伴う血漿 FFA の変化と同様の変化を示した。血漿 FFA 濃度と卵子 FFA 量 ( $r = 0.63$ )、卵子 FFA 量と卵子 TAG 量 ( $r = 0.46$ ) の間にそれぞれ正の相関が見られた ( $P < 0.05$ )。さらに、卵子 FFA 量は OPU 前 21 日間、14 日間および 7 日間の平均エネルギーバランスとそれぞれ負の相関を示し(それぞれ  $r = -0.70$ ,  $r = -0.64$  および  $r = -0.58$ ,  $P < 0.05$ )、その程度は OPU 前のエネルギーバランスを調べた期間が長いほど卵子 FFA 量と強い負の相関を示した ( $r = -0.70$ ,  $P < 0.05$ )。卵子 FFA 量は、卵子 FFA 不飽和化マーカー (飽和 FFA を単価不飽和 FFA に変換する不飽和化反応の活性の指標) である FFA 16:1/16:0 比および FFA 18:1/18:0 比とそれぞれ正の相関を示した (それぞれ  $r = 0.79$  および  $r = 0.56$ ,  $P < 0.05$ )。また、血漿と卵子の FFA 16:1/16:0 比 ( $r = 0.70$ ) および血漿と卵子の FFA 18:1/18:0 比 ( $r = 0.51$ ) の間にも、それぞれ正の相関が見られた ( $P < 0.05$ )。すなわち、血漿と卵子で同様の FFA の量と組成の関係が示された。

本研究は異なる泌乳ステージの牛の卵子の脂質組成を調べた初の研究であり、その結果、濃厚飼料主体で飼養される牛における分娩後早期の卵子の FFA と TAG の増加および FFA 不飽和

化の活性化が示された。これらの知見は、特に濃厚飼料主体で飼養される高泌乳牛において、分娩後早期の卵子に FFA の脂質毒性がある可能性を示唆するものであった。今後、分娩後早期の牛の卵子への脂質毒性がその後の繁殖性に及ぼす影響について調査するために、卵子中の活性酸素種の産生や小胞体ストレス等の脂質毒性の有無および程度について明らかにする必要がある。