

アニマルウェルフェア対応型の飼育システムが 採卵鶏および畜産物に及ぼす影響

東京農工大学大学院農学研究院・教授 新村 毅

■ 緒 言

21世紀以降、持続可能な動物生産として、家畜福祉(アニマルウェルフェア)はグローバルスタンダードとなり、ニワトリ用のケージ飼育が世界的に禁止となり、広い空間に放し飼いにする方式への移行が始まっている¹⁾。しかしながら、福祉的飼育システムの理解は、感情論あるいは現象論に留まっている。申請者は、採卵鶏の福祉レベルの向上により、卵殻の強度が高くなり、なおかつ卵黄内ビタミンD等の代謝産物濃度が増加するという予備の結果を得ている。本研究課題では、福祉的飼育システムが動物個体あるいは畜産物に与える影響の全容を、オミクス解析を駆使することにより分子レベルで明らかにすることを目的とした。本研究は、行動・生産性などの現象論に留まることなく、動物が快適に生活することで、なぜ畜産物に有用成分が蓄積するのか?という福祉的飼育システムの影響の動的な分子メカニズムを、中枢-末梢-畜産物の接続性を含めてホールボディで理解することを目的とした。

■ 方 法

代表的な採卵鶏用の福祉的飼育システムとして、従来型ケージ・屋内放し飼い・放牧(屋内放し飼い+野外運動場)の3つを設定し、採卵鶏を計39羽導入し、以下の網羅的測定を実施した。

①表現型解析(Phenome)：行動・健康状態・生産性を測定した。行動は、走査サンプリング法により20種類以上の行動パターンを網羅的に定量化し、健康状態は部位別の羽毛状態・損傷状態をスコア化することにより定量化し、生産性は産卵成績のみならず卵質(卵殻強度・卵黄色・ハウユニット)についても測定した。

②遺伝子発現解析(Transcriptome)：福祉的飼育システムの影響の体内メカニズムを明らかにするため、中枢組織についてはストレスや内分泌の神経核が集中している脳の視床部位を採材し、末梢組織については産卵に関わる末梢組織(肝臓・卵巣・卵管)を採材し、サンプルからRNAを抽出してRNA-seqを実施した。得られたデータは、スーパーコンピュータを用い、フリーソフトであるSTAR-RSEM-edgeRを用いて解析することで、発現変動している遺伝子を組織ごとに抽出した。

③網羅的代謝産物解析(Metabolome)：福祉的飼育システムが畜産物に及ぼす影響のメカニズムを明らかにするため、血漿および卵黄内成分のメタボローム解析を実施した。解析については、水溶性成分を中心としつつ、脂溶性成分についても網羅的な測定を実施した。

以上により得られるビッグデータを、バイオインフォマティクスを駆使して解析した。具体的には、DAVIDを用いたGene Ontology解析およびPathway解析を用いて、主要な遺伝子群の機能と、それらの機能が向上している回路を同定し、中枢-末梢-畜産物がどのように接続しながら変動しているかを可視化することで、福祉的飼育システムの影響のランドスケープの一端を明らかにした。

■ 結 果

①表現型解析：行動観察の結果、平飼い区および放牧区で慰安行動など行動の多様性が増加し、この両区で福祉性が向上していたことが確認された。生産性については、基本的な生産形質に3区間で統計的有意差は認められなかったものの、卵殻強度は放牧において有意に増加した。

②遺伝子発現解析：福祉的な環境によって多臓器の遺伝子発現に変化が生じていることが明らかになった(図1)。また、中枢組織、特に間脳においては、サイトカインや神経伝達物質などの受容体をコードする遺伝子が発現変動していた。また、Pathway解析により、インスリン抵抗性や、癌化リスクのマーカーでもあるヘッジホッグシグナル伝達経路などの経路がケージ区で亢進していた(図2, 3)。

③網羅的代謝産物解析：放牧区において、血漿中および卵黄中のビタミンD3が増加することが明らかになった。また、血漿については、ケージ区において、糖代謝関連物質あるいは抗炎症・抗酸化作用を有する代謝物質が有意に変動していた。

■ 考 察

本研究において卵質の変化としては、放牧において顕著な変化が認められた。採卵鶏を太陽光の当たる環境下で飼育すると、体の皮膚内にある 7-デヒドロコレステロールが紫外線によってビタミン D3 の中間体であるプレビタミン D3 になり、これが体温での熱異性化によってビタミン D3 になる。ヒトでは皮膚に太陽光が当たると皮膚中に存在する 7-デヒドロコレステロールがプレビタミン D3 となり、ビタミン D3 となる。ビタミン D3 はビタミン D 結合タンパク質によって肝臓に運ばれ、肝臓で活性型ビタミン D3 の前駆体となり、腎臓で水酸化されて活性化され、活性型ビタミン D3 (1,25(OH)₂D3) となる。活性型ビタミン D3 (1,25(OH)₂D3) が細胞のビタミン D 受容体に結びつき、タンパク質の遺伝子発現を誘導する事により、腸管でのカルシウムの吸収の促進をすることがわかっている。このことから、放牧区において太陽光のあたる運動場を設置することが、ビタミン D3 代謝に影響を与えていることが示唆される。すなわち、採卵鶏に照射される太陽光が増加したことによって、血漿中の活性型ビタミン D3 濃度を増加させ、増加したビタミン D3 が卵黄中へと蓄積していることが考えられた。また、こうした血漿中のビタミン D3 濃度が増加することによって、腸管でカルシウム吸収が促進され、放牧区の卵殻強度が増加する傾向にあることが明らかになった。

遺伝子発現解析の結果より、ケージ区において、ケージと平飼いの二群比較でムチン型 O-グリカン合成経路、ケージと放牧の二群比較でヘッジホッグシグナル伝達経路という二つの経路が亢進していた。これら二つの経路は、どちらも癌化細胞との関連を示す報告が多数あり、ケージ区鶏の間脳において腫瘍形成が促進していることが示唆された。飼育システムの違いによって腫瘍形成の起こりやすさが変わるといった報告はないが、森腰による東北地方の一採卵鶏農場(一般的なケージ飼育)における長期的解剖学検査の結果より、腫瘍が 16.3% と高い割合を占めていたことから、本実験におけるケージ飼い鶏においても腫瘍形成が起こっていた可能性は高い。さらに、メタボローム解析の結果より、Inosine が二つの福祉的飼育システムと比較して、ケージ区において顕著に増加していた。Inosine は、生体内ではプリン代謝で利用され、最終的には尿酸に代謝されるが、本実験においては尿酸に有意な差が見られなかったことから、プリン代謝での利用はなかったと予想される。Inosine は、神経保護作用、神経栄養作用、抗酸化作用を有していることから、ケージ区での Inosine の増加は、ケージ区産卵鶏における腫瘍形成促進による神経変性へ対応する形で Inosine の合成が亢進したためと考えられる。また、飼料中から摂取した可能性の高い Asiatic acid が、ケージ区において他の二つの福祉的飼育システムと比較して、顕著に減少していた(ケージ vs 平飼いで $p < 0.0001$, ケージ vs 放牧で $p < 0.05$)。Asiatic acid は、抗炎症作用や抗腫瘍作用などの多様な薬理活性を持つことが知られており、三種の飼育システムで Asiatic acid の体内への吸収量が同じであった場合、腫瘍形成が促進されているケージ区鶏にてその機能が発揮され、消費されたと考えられる。

■ 要 約

本研究では、アニマルウェルフェア対応型の飼育システムが採卵鶏および畜産物にどのような効果を与えるのか? という問いに対し、網羅的な解析手法を投入することで、その分子メカニズムを明らかにした。卵質の変化については、特に放牧において顕著であり、太陽光によって、ニワトリの皮膚においてプロビタミン D3 からビタミン D3 が合成され、それが血液を介して卵黄に移行し、卵黄中のビタミン D3 が放牧で増加することが明らかになった。また、ビタミン D3 が増加することで、カルシウム代謝が増加し、その結果として卵殻強度も増加することが明らかになった。本研究では、給餌する飼料は同一であり、したがって、摂取するものは同一でも、飼育システムが変わることによって代謝が変化し、その代謝産物が血液を介して卵黄に移行し蓄積することが示唆された。また、福祉性の違いによって生じる多臓器の遺伝子発現・代謝物プロファイルが明らかとなり、中でもインスリン応答系および糖代謝に変化が見られること、中枢組織の神経変性により抗炎症作用のある代謝物質が変動することが明らかとなった。一般に、放し飼いシステムは、生産性・経済性が低下するため、それを補う付加価値が必要とされるが、本研究において、動物の快適性の確保のみにより、畜産物の高付加価値を付与できる可能性が初めて明確に示された。このことは、またアニマルウェルフェアを配慮することにより畜産物に高付加価値が生じ、それを摂取する人もまた健康なるという One Welfare の 1 つの形を提案するものとしても重要と思われる。今後は、飼育システムの影響の分子ネットワークとターゲット分子をさらに明らかにすることが必要とされる。

■ 文 献

1. 新村毅、2022、動物福祉学(新村毅編)、昭和堂(京都府)、ISBN : 978-4-8122-2108-2

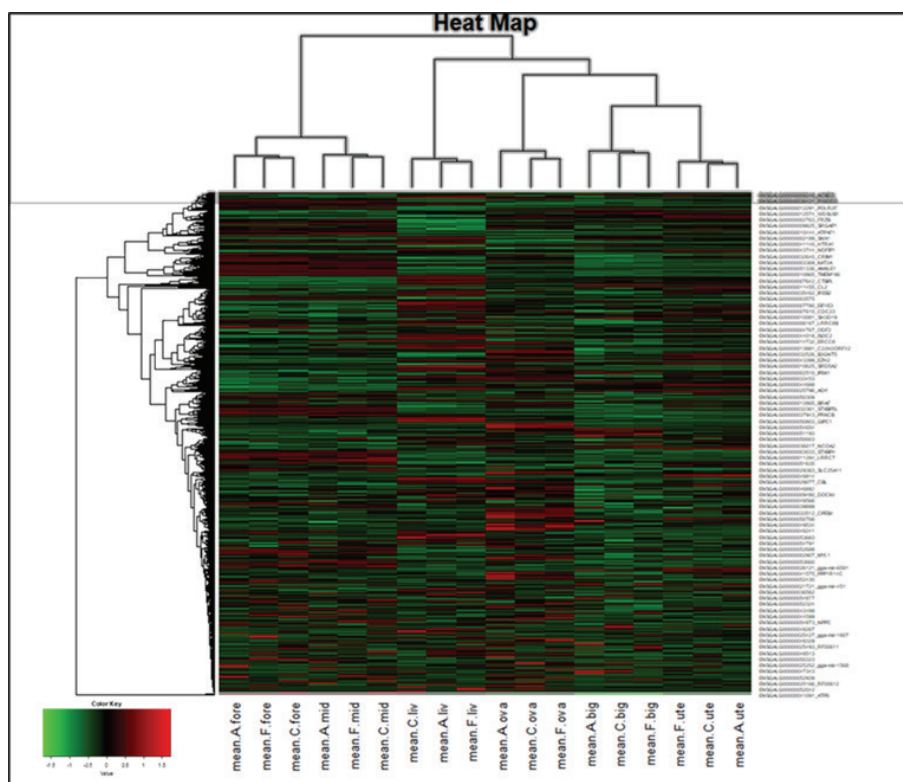


図 1. 多臓器 RNA-seq のヒートマップ

略語はそれぞれ、C：ケージ区、A：平飼い区、F：放牧区、fore：大脳、mid：間脳、liv：肝臓、ova：卵巣、big：卵管膨大部、ute：卵管子宮部を指す。各区画の臓器ごとの logCPM の値が、正である場合は赤色、負である場合に緑色のセルとなっている。

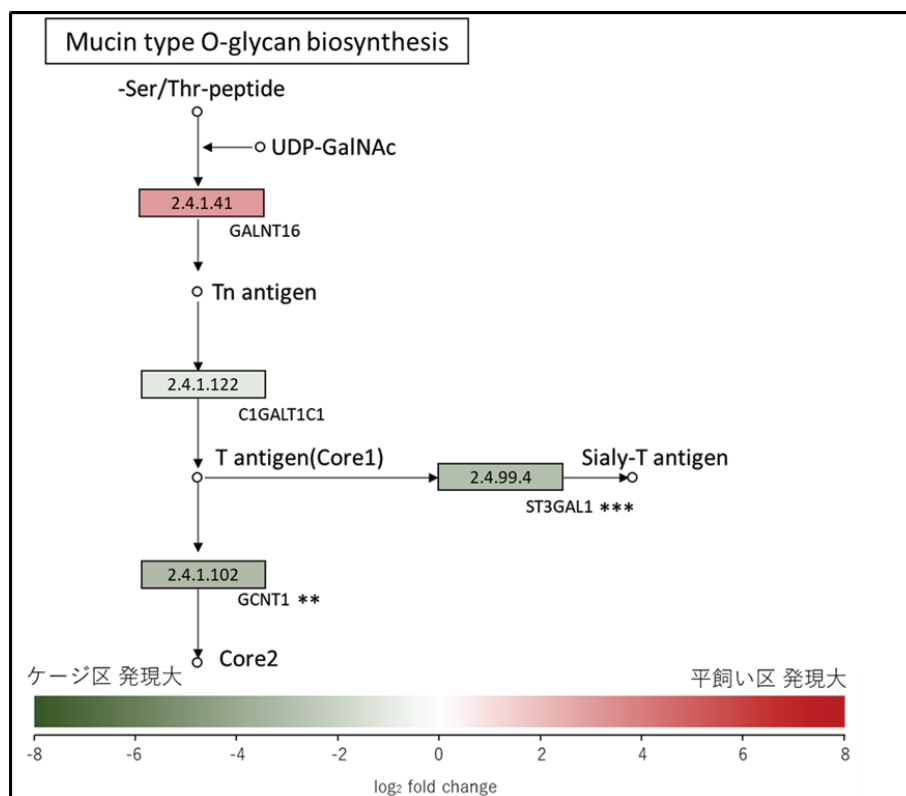


図2. ケージ対平飼いの Pathway 解析で検出されたムチン型 O-グリカン生合成経路
 当該経路で働く酵素をコードする遺伝子の発現量の差を図示している。log₂ fold change は、底を 2 とする群間の発現量の倍率の底数であり、正に大きいほど平飼い区で発現量が大きく、負に大きいほどケージ区で発現量が大きいことを示す。(例：log₂ fold change=2 の場合、当該遺伝子はケージ区と比較して、平飼い区で 4 倍発現している。)
 |log₂ fold-change| > 2.0 (発現量の差 4 倍以上) でかつ有意差のあった遺伝子については、* により p 値を示した (*p 値 < 0.05, **p 値 < 0.01, ***p 値 < 0.001)。

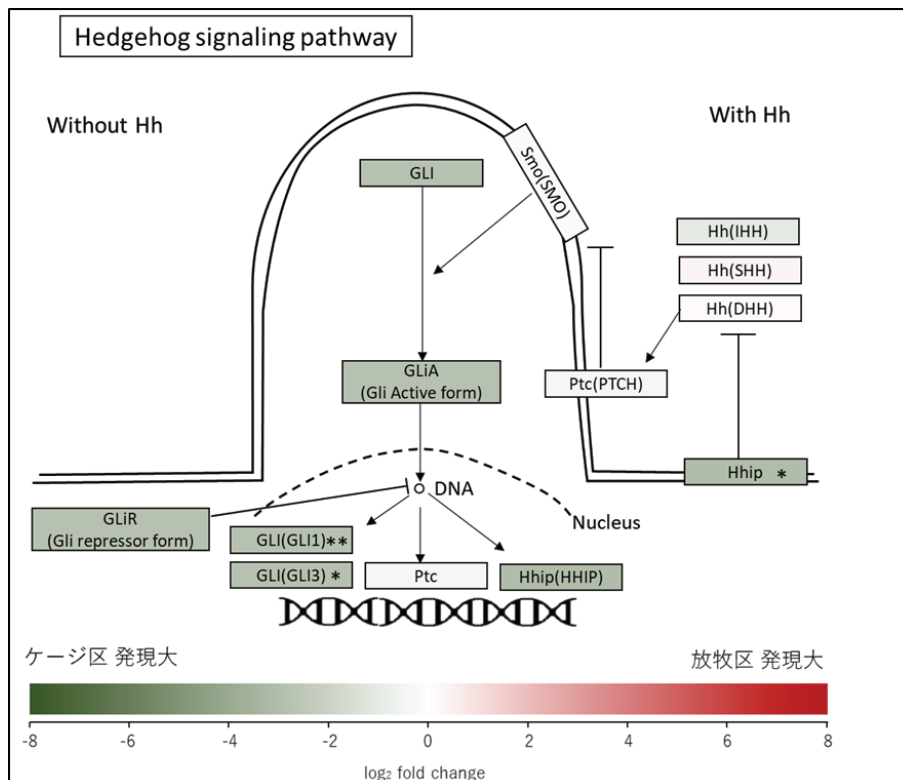


図3. ケージ対放牧の Pathway 解析で検出されたヘッジホッグシグナル伝達経路
 当該経路で働く酵素をコードする遺伝子の発現量の差を図示している。log₂ fold change は、正に大きいほど放牧区で発現量が大きく、負に大きいほどケージ区で発現量が大きいことを示す。(例：log₂ fold change=2 の場合、当該遺伝子はケージ区と比較して、放牧区で4倍発現している。)
 |log₂ fold-change| > 2.0(発現量の差4倍以上)でかつ有意差のあった遺伝子については、*により p 値を示した(*p 値 < 0.05,**p 値 < 0.01)。