

第四章 親の高脂肪食摂取が受精前の配偶子や受精後の初期胚に及ぼす影響を介して仔の成長期における体脂肪蓄積に及ぼす影響（実験1）

一、 目的

Moleyら（1998）やGärnerら（1990）は、親の高血糖などの体内環境が受精前の配偶子や受精後の初期胚に影響する可能性を示唆した。親の高脂肪食摂取について見ると、妊娠期と授乳期に親に高脂肪食を与える方法で、出産直後の仔の体脂肪蓄積を検討した研究がある。しかし、交配前から親に高脂肪食を与えて、受精前の配偶子や受精後の初期胚に及ぼす親の高脂肪食の影響が、仔の成長期における体脂肪蓄積を増大させるかどうかを調べた研究は見当たらない。

体脂肪蓄積は内分泌系や酵素系によって調節されている。親の高脂肪食が受精前の配偶子や受精後の初期胚に及ぼす影響を介して、仔の成長期の脂肪代謝に関与する内分泌系や酵素系の変動を誘発するかどうかも検討されていない。

そこで、本実験では高脂肪食または低脂肪食を摂取したラットを用いて、各食餌群内の交配で得られた2細胞期の初期胚を近交系F344ラットの卵管采に移植する方法で、この問題を検討した。すなわち移植後の妊娠期と授乳期の母体環境を統一する実験条件を設定して、親の高脂肪食栄養条件が受精前の配偶子や受精後の初期胚に影響を与え、仔の成長期における体脂肪蓄積を増大させるかどうかについて、また仔の成長期における血中レプチンとインスリン濃度、白色脂肪組織のレプチン、リポプロテインリパーゼおよびホルモン感受性リパーゼmRNAレベル、褐色脂肪組織の β_3 -アドレナリン受容体および脱共役蛋白質UCP1のmRNAレベルを変動させるか否かについて検討した。

二、 方法

1. 実験動物および実験方法

本実験に用いた動物種類と実験方法をFig. 2にまとめた。

3週齢のSprague-Dawley系の雌（16匹）と雄（16匹）ラットを、それぞれ二群に分け、個別ケージで高脂肪食または低脂肪食を自由摂食させて飼育した。実験食の組成をTable 1に示した。飼育室の温度を23℃、湿度を60%に調節し、一日の明暗サイクルを07:30 - 19:30を明期、19:30 - 07:30を暗期とした。12週齢の時に高脂肪食群内または低脂肪食群内において、雌ラットの発情前期をスメア法により確認し、その夕方より雌ラットを雄ラットと同じケージに入れて、1対1で交配させた。翌朝、雌の腔にプラグの有無を観察するとともに、腔内の精子を顕微鏡で観察して交配を確認した。交配2日後、受精卵を卵管から採取し、培養液中で3回洗浄した後、移植手術をするまで約5時間培養液（Table 3）（菅原七郎, 1986）に保存した。なお、高脂肪食群の妊娠ラットから 10.6 ± 0.9 個、低脂肪食群の妊娠ラットから 10.8 ± 0.8 個の卵が採取できた。次いで、受精卵を偽妊娠させておいた近交系F344雌ラット（日本クレア、東京）の左右の卵管采にそれぞれ7個ずつ移植した。移植後22日目に帝王切開で新生仔ラットを得た。一腹胎仔数はTable 2に示すとおりである。移植胚の50%以上が生存胎仔（産仔）に発生した場合、移植技術は確立されたとみなされる（菅原七郎, 1986）。本実験では移植胚の50%が生存胎仔（産仔）になった。移植ラットの一腹からの胎仔数には、高脂肪食群と低脂肪食群の間に有意差は認められなかった。帝王切開で得られた新生仔ラットは、他に用意した出産直後の近交系F344雌ラット（日本クレア、東京）に哺乳された。3週後に雄の仔ラットを離乳させ、その中から半数を無作為抽出し、高脂肪食で12週齢まで飼育した。その間、6、8および12週において、12時間絶食後、尾静脈より採血し、血漿を得た。妊娠期と哺乳期のF344母親ラットには普通食（CE-2、日本クレア）を給餌した。

飼育期間中、仔ラットの摂食量を毎日、体重を週一回測定した。実験最終日には、仔ラットを12時間絶食させて断頭屠殺し、腹腔内白色脂肪組織（副睾丸、腎周囲お

よび腸間膜白色脂肪組織)と肩甲骨間褐色脂肪組織を採取し、それぞれの重量を測定したあと、分析まで -60°C で保存した。

2. 測定方法

(1) 血中レプチンおよびインスリン濃度の測定

血中レプチン濃度を酵素免疫分析キット(免疫生物研究所)を用いて測定した。また血中インスリン濃度を酵素免疫分析キット(森永生命科学研究所)を用いて測定した。

(2) 腎周囲脂肪組織のレプチン、リポプロテインリパーゼおよびホルモン感受性リパーゼのmRNA、褐色脂肪組織の β_3 -アドレナリン受容体および脱共役蛋白質UCP1のmRNAの測定

(a) 総RNAの抽出

腎周囲脂肪組織および褐色脂肪組織より総RNAをChomczynskiら(1987)の方法により抽出した。まず、凍結した脂肪組織150mgを秤量し、マイクロホモジナイザーでホモジナイズし、1mlの変性液中に懸濁した。次に酢酸ナトリウム0.05ml、フェノール0.1ml、クロロホルム/イソアミルアルコール0.1mlを加え、氷中に15分間に放置した後、14,000RPM、20分間の遠心分離によってRNAを含む水層を得た。水層に等量のイソプロピルアルコールを加えて、RNAを沈殿させた後、再び変性液に懸濁し、イソプロピルアルコールを加えて再び沈殿させた。得られたRNAの沈殿物を75%エタノールで洗い、乾燥した後、10 μl のDEPC処理水に溶解した。得られたRNA溶液の濃度を、分光光度計を用いて定量した。

(b) RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction、逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応)法

SuperScript Preamplification System キット (LIFE TECHNOLOGIES, GIBCO-BRL) を用い、総RNA 5 μ g から First strand cDNA を合成した。PCR処理前に、プライマーを T4 ポリヌクレオチドキナーゼ (TaKaRa Shuzo CO., LTD, Tokyo) により [γ -³²p] ATP (6000Ci /nmol, Amersham Japan, Tokyo) でラベルした。PCR反応を、DNA Thermal Cycler (Perkin- Elmer, Cetus, Nor-walk, CT) で、94°Cで予備の熱変成処理を6分間行った後、熱変成 (denaturation) 94°C、1分間、アニーリング (annealing) 60°C (β_3 -アドレナリン受容体、67°C)、2分間、伸張 (extension) 72°C、3分間を1サイクルとして、22サイクル実施した。得られたPCR産物 (10 μ l) を7.5%ポリアクリルアミドゲルに電気泳動した。電気泳動後、ゲルをゲルドライヤーで乾燥し、レーザーアナライザー (BAS 2000, Fuji Film, Tokyo, Japan) で放射線量を定量した。

β -アクチン mRNAも同じ方法で、アニーリング58°C、18サイクルとして、測定した。

レプチンと β -アクチンのプライマーの塩基配列と Genbank number を Table 4に、リポプロテインリパーゼとホルモン感受性リパーゼのプライマーの塩基配列と Genbank numberを Table 5に、褐色脂肪組織の β_3 -アドレナリン受容体および脱共役蛋白質 UCP1の塩基配列と Genbank numberを Table 6に示した。

3. 統計方法

データを平均値および標準誤差で表し、有意差検定を student's t-test によって行った。p<0.05を有意水準とした。

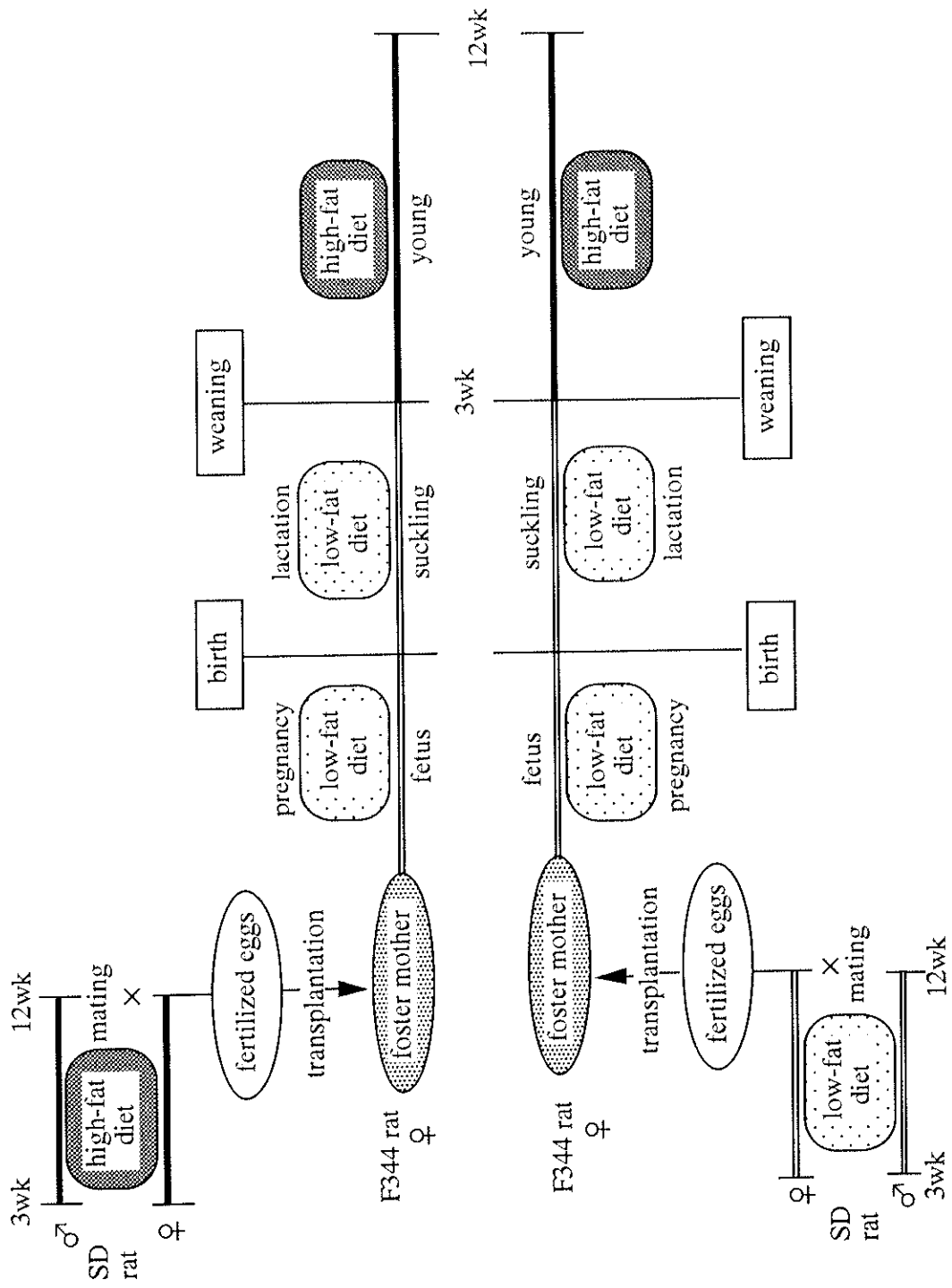


Fig.2 The design of experiment 1

Table 1. Composition of the experimental diets.

Ingredient	Diet	
	High-fat	Low-fat
	(g/kg diet)	
Casein	277.6	219.0
L-Methionine	4.3	3.3
Mineral mix*	89.0	70.0
Vitamin mix*	8.9	7.0
Choline bitartrate	3.8	3.0
Cellulose	50.0	50.0
Corn starch	401.0	638.1
Soybean oil	12.2	9.6
Lard	153.3	-
Total energy	(kJ/g) 16.8	13.3
	(% of energy)	
Fat	40.0	5.0
Carbohydrate	35.0	70.0
Protein	25.0	25.0

*Purchased from CLEA Japan Inc.

Table 2. The results of breeding

	Transplantation (experiment 1)		Natural delivery (experiments 2, 3)	
	Low-fat	High-fat	Low-fat	High-fat
Total no. of pups	30	28	61	65
Sex ratio (male:female)	1:0.9	1:0.9	1:1.0	1:1.1
Litter size	7.5 ± 0.6	7.0 ± 0.9	12.2 ± 0.6	10.8 ± 0.6
Birth weight	5.2 ± 0.1	5.6 ± 0.2	6.2 ± 0.1	6.5 ± 0.1

Table 3. The culture medium of fertilized eggs

Composition	mg/100ml (*ml/100ml)
NaCl	552.5
KCl	35.6
CaCl ₂ · 2H ₂ O	25.1
MgSO ₄ · 7H ₂ O	29.4
KH ₂ PO ₄	16.2
NaHCO ₃	210.6
Glucose	100
Pyruvate-Na	6.0
Lactate-Na (60%)	0.36*
Penicillin G-K	7.5
Streptomycin-SO ₃	5
Bovine serum albumin	400
Phenol red (1%)	0.02*

Table 4 . PCR primers of leptin and β - actin

Gene	Sequence	Nucleotide No.	Size of PCR product	GenBank Accession No.
Leptin	5'-CCTATGTTCAAGCTGTGCCT-3'	110-129	449	D45862
	5'-TTCAGGGCTAAGGTCCAACT-3'	539-558		
β - actin	5'-CCTAGCACCATGAAGATCAA-3'	2846-2865	377	J00691
	5'-AGCCATGCCAAATGTCTCAT-3'	3203-3222		

Sequences of each primer pair and their location in sequences cited in the GenBank database are presented.

Table 5. PCR primers of lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase

Gene	Sequence	Nucleotide No.	Size of PCR product	GenBank Accession No.
LPL	5'-ATGTCCACCTCTTAGGGTAC-3'	629-648	393	L03294
	5'-CTTCATTCAGCAGGGAGTCA-3'	1002-1021		
HSL	5'-CAACTCTAGGTCAGCTCTTG-3'	761-780	1245	XS1415
	5'-AGCAGCCTTTATGTAGCGTG-3'	1086-2005		

Sequences of each primer pair and their location in sequences cited in the GenBank database are presented.

Table.6 PCR Primers of uncoupling protein and β_3 -adrenergic receptor

Gene	Sequence	Nucleotide No.	Size of PCR product	GenBank Accession No.
UCP	5'-CAGAAGGATTGCCGAAACTG-3'	294-313	276	X03894
	5'-CATTGTAGGTCCAGTGTAG-3'	550-569		
β_3 -AR	5'-CTTGGCGCAACTGGCTGCCGA-3'	353-373	501	S73473
	5'-CCATCCGATGCCGTGGGTGTC-3'	853-883		

Sequences of each primer pair and their location in sequences cited in the GenBank database are presented.

三、 結果

Sprague-Dawley系の雌雄ラットを高脂肪食または低脂肪食で飼育し、各食餌群内交配で得られた受精卵を近交系F344雌ラットに移植し、それぞれ移植近交系F344雌ラットに普通食を与えて出産させて、仔ラットを得た。出産した仔ラットのうち、雄の仔ラットを実験に供した。仔ラットを他に用意した出産直後の近交系F344雌ラットに哺乳させた。この哺乳F344雌ラットにも普通食を与えた。

1. 体重増加量と腹腔内脂肪組織重量 (Table 7)

授乳期と妊娠期の栄養生理条件を一定にしたF344里親ラットに仔ラットを保育させた場合、12週齢時、仔ラットの体重増加量と腹腔内脂肪組織重量は、低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットに比べて、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットで有意に大きかった (320 ± 16 vs. 267 ± 6 g; 26 ± 2 vs. 20 ± 0.5 g) ($p < 0.05$)。摂食量と食餌効率も低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットに比べて、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットで有意に大きかった (17.1 ± 0.7 vs. 15.5 ± 0.2 MJ; 18.7 ± 0.3 vs. 17.2 ± 0.3 g/MJ) ($p < 0.05$)。

2. 血中レプチン濃度 (Fig. 3)

授乳期と妊娠期の栄養生理条件を一定にしたF344里親ラットに仔ラットを保育させた場合、6および8週齢時において、仔ラットの血中レプチン濃度には、高脂肪食摂取親ラットと低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの間で、有意な差は見られなかった (6週齢時、 0.5 ± 0.1 vs. 0.4 ± 0.1 ng/ml; 8週齢時、 0.8 ± 0.2 vs. 0.6 ± 0.1 ng/ml)。12週齢時では、低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットに比べて高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットで血中レプチン濃度が有意に高くなった (2.2 ± 0.4 vs. 1.0 ± 0.1 ng/ml) ($p < 0.05$)。

3. 血中インスリン濃度 (Fig. 4)

6および8週齢時において、仔ラットの血中インスリン濃度には、高脂肪食摂取親ラットと低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの間で、有意な差は見られなかったが（6週齢時、 0.8 ± 0.2 vs. 0.6 ± 0.3 ng/ml ; 1.0 ± 0.2 vs. 0.6 ± 0.2 ng/ml）、12週齢時では、低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットに比べて高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットで血中インスリン濃度が有意に高かった（ 2.0 ± 0.2 vs. 1.1 ± 0.2 ng/ml）（ $p < 0.05$ ）。

4. 腎周囲脂肪組織レプチンmRNA レベル (Fig. 5)

β -アクチン mRNA レベルには、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットと低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの間には差は見られなかった。 β -アクチンmRNAで補正した腎周囲脂肪組織のレプチン mRNA レベルは、低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットに比べて、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットで有意に高かった（ 9.963 ± 1.418 vs. 6.094 ± 0.467 ）（ $p < 0.05$ ）。

5. 腎周囲脂肪組織リポプロテインリパーゼのmRNA レベル (Fig. 6)

β -アクチン mRNAで補正した腎周囲脂肪組織のリポプロテインリパーゼ mRNA レベルは、低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットに比べて、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットで有意に高かった（ 4.763 ± 0.831 vs. 2.298 ± 0.519 ）（ $p < 0.05$ ）。

6. 腎周囲脂肪組織ホルモン感受性リパーゼのmRNA レベル (Fig. 7)

β -アクチン mRNAで補正した腎周囲脂肪組織のホルモン感受性リパーゼ mRNA レベルは、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットと低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの間で差を認めなかった（ 2.559 ± 0.310 vs. 2.767 ± 0.754 ）。

7. 褐色脂肪組織 β_3 -アドレナリン受容体のmRNAレベル (Fig. 8)

β -アクチン mRNAレベルには、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットと低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの間には差は見られなかった。 β -アクチン mRNAで補正した褐色脂肪組織 β_3 -アドレナリン受容体のmRNAレベルは、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットと低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの間で差を認めなかった (2.489 ± 0.486 vs. 2.109 ± 0.256)。

8. 褐色脂肪組織脱共役蛋白質UCP1のmRNAレベル (Fig.9)

β -アクチン mRNAで補正した褐色脂肪組織脱共役蛋白質UCP1のmRNAレベルは、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットと低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの間で差を認めなかった (4.663 ± 0.698 vs. 3.708 ± 0.948)。

Table 7. Effects of parents' diet on body weight gain, abdominal adipose tissue weight, and food efficiency in rats borne from and suckled by F344 foster mothers (experiment 1).

	Group	
	HF ^a -HF ^b	LF-HF
Weight gain (3wks-12wks)	(g) 320 ± 16	267 ± 6**
Abdominal adipose tissue	(g) 26 ± 2	20 ± 0.5*
	(%) 6.6 ± 0.3	5.8 ± 0.1*
Total food consumption	(MJ/rat/ 12wk) 17.1 ± 0.7	15.5 ± 0.2*
Food efficiency	(g/MJ) 18.7 ± 0.3	17.2 ± 0.3**

Values are means ± SE for 8 rats.

^a The diet fed to the parents; ^b The diet fed to the offsprings.

HF: high-fat diet; LF: low-fat diet.

*, ** Statistically significant difference (*p<0.05, **p<0.01) vs. HF-HF group.

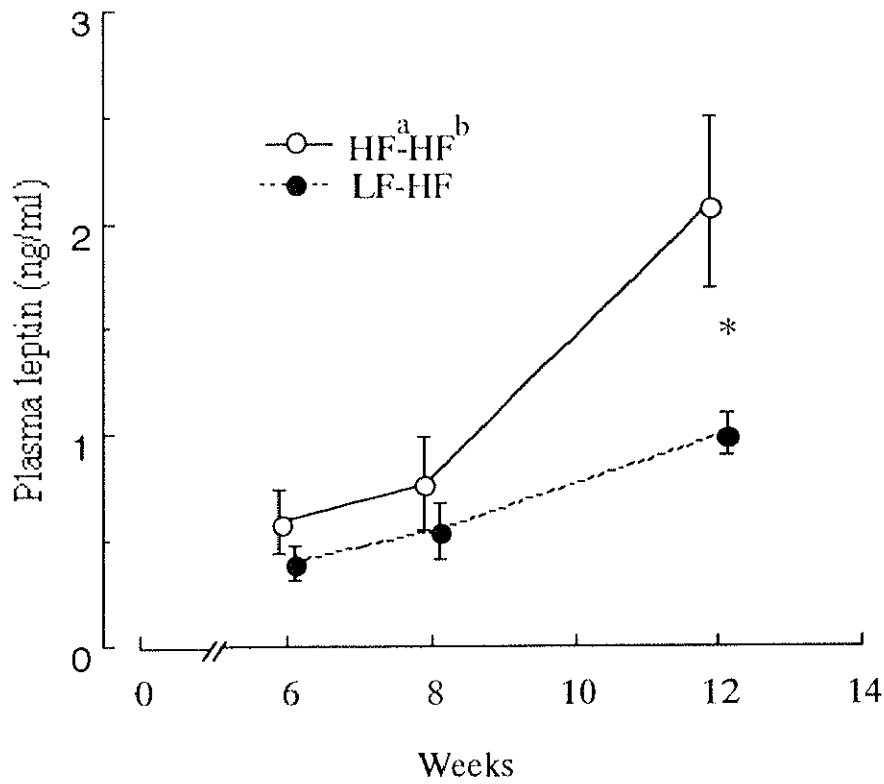


Fig. 3 Effects of parents' diet on plasma leptin concentration in rats borne from and suckled by F344 foster mothers (experiment 1).

Values are means and SE for 8 rats.

^aThe diet fed to the parents; ^bThe diet fed to the offsprings.

HF: high-fat diet; LF: low-fat diet.

*Statistically significant difference ($p < 0.05$) between the two groups.

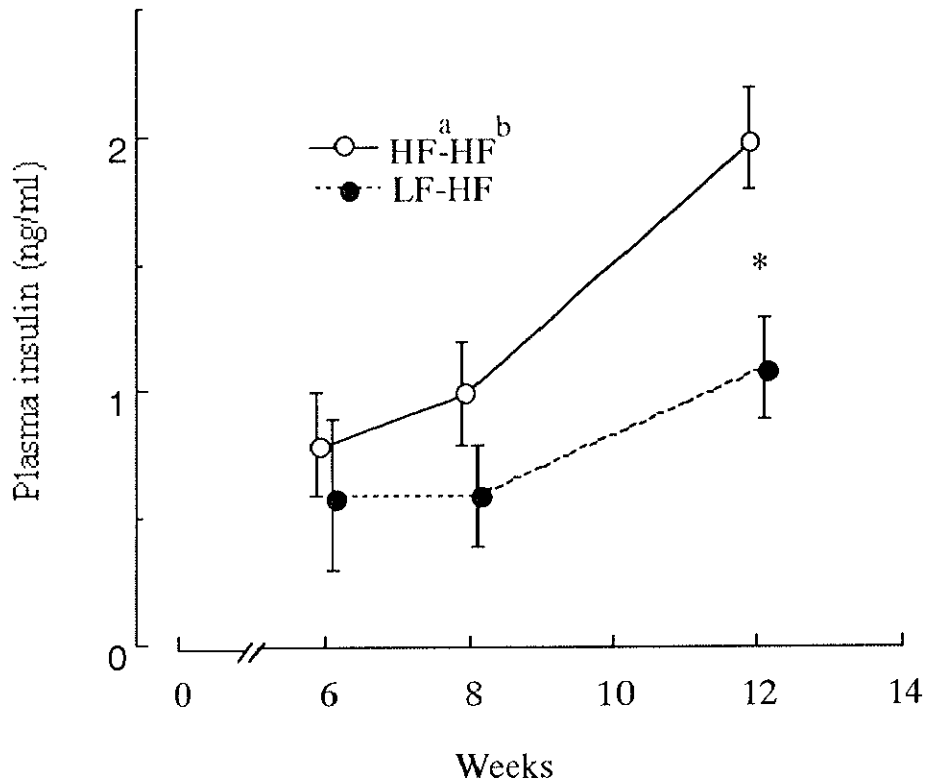


Fig. 4 Effects of parents' diet on plasma insulin concentration in rats borne from and suckled by F344 foster mothers (experiment 1).

Values are means and SE for 8 rats.

^aThe diet fed to the parents; ^bThe diet fed to the offsprings.

HF: high-fat diet; LF: low-fat diet.

*Statistically significant difference ($p < 0.05$) between the two groups.

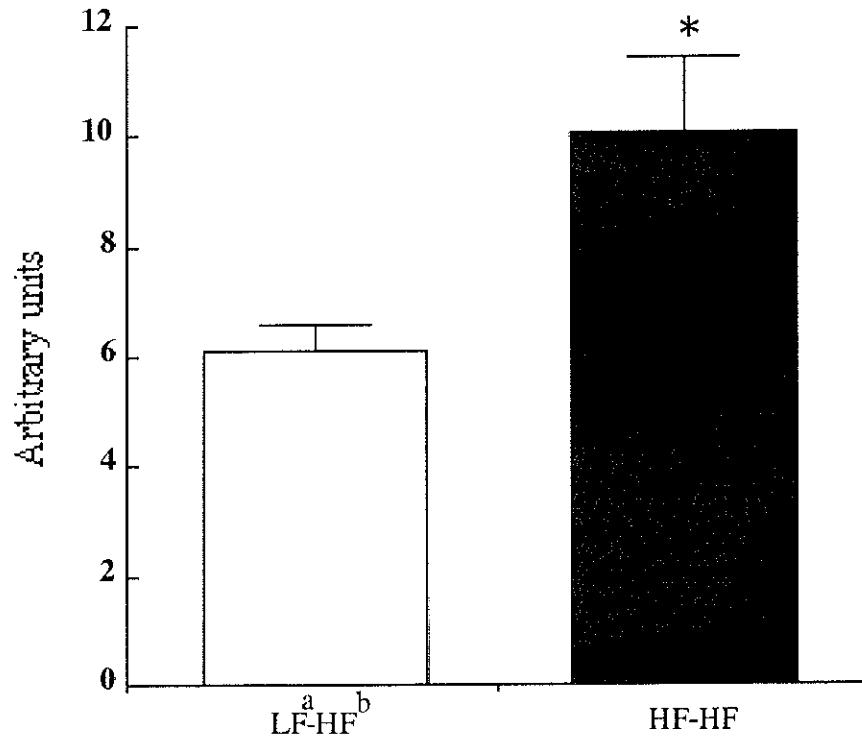


Fig. 5 Effects of parents' diet on leptin mRNA levels in perirenal adipose tissue of rats borne from and suckled by F344 foster mothers (experiment 1).

Values are means and SE for 8 rats.

^aThe diet fed to the parents; ^bThe diet fed to the offsprings.

HF: high-fat diet; LF: low-fat diet.

*Statistically significant difference ($p < 0.05$) between the two groups.

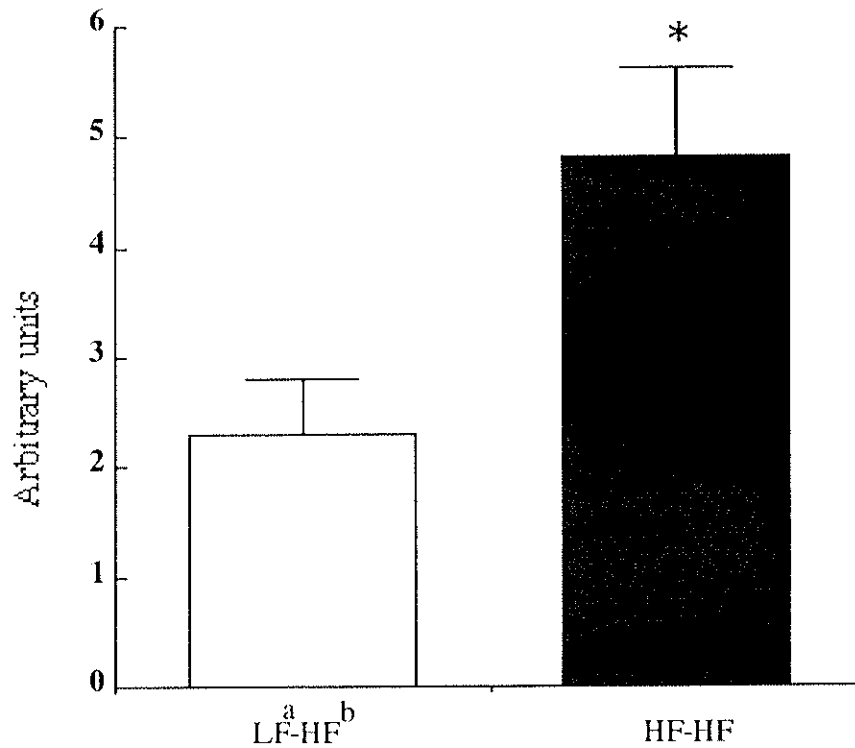


Fig. 6 Effects of parents' diet on LPL mRNA levels in perirenal adipose tissue of rats borne from and suckled by F344 foster mothers (experiment 1).

Values are means and SE for 8 rats.

^aThe diet fed to the parents; ^bThe diet fed to the offsprings.

HF: high-fat diet; LF: low-fat diet.

*Statistically significant difference ($p < 0.05$) between the two groups.

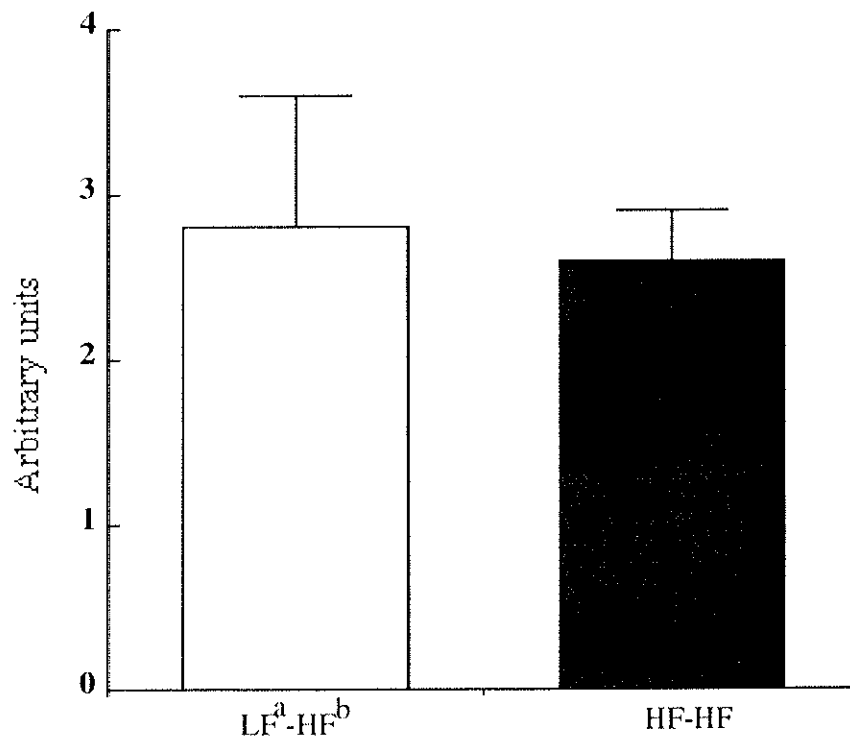


Fig. 7 Effects of parents' diet on HSL mRNA levels in perirenal adipose tissue of rats borne from and suckled by F344 foster mothers (experiment 1).

Values are means and SE for 8 rats.

^aThe diet fed to the parents; ^bThe diet fed to the offsprings.

HF: high-fat diet; LF: low-fat diet.

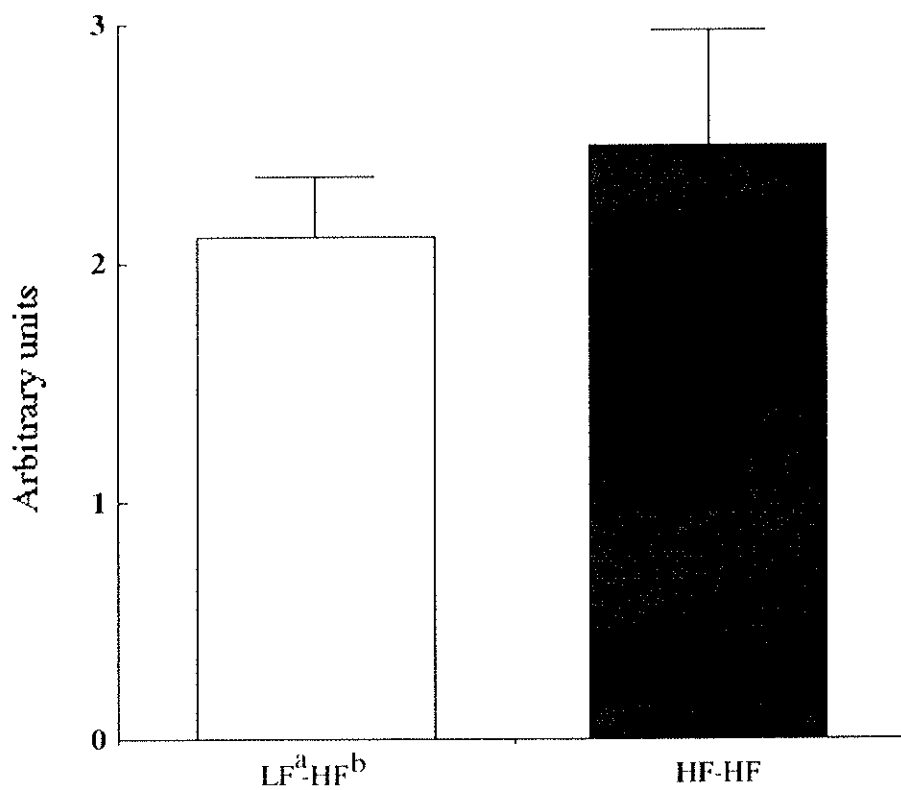


Fig. 8 Effects of parents' diet on $\beta 3$ - AR mRNA levels in brown adipose tissue of rats borne from and suckled by F344 foster mothers (experiment 1).

Values are means and SE for 8 rats.

^aThe diet fed to the parents; ^bThe diet fed to the offsprings.

HF: high-fat diet; LF: low-fat diet.

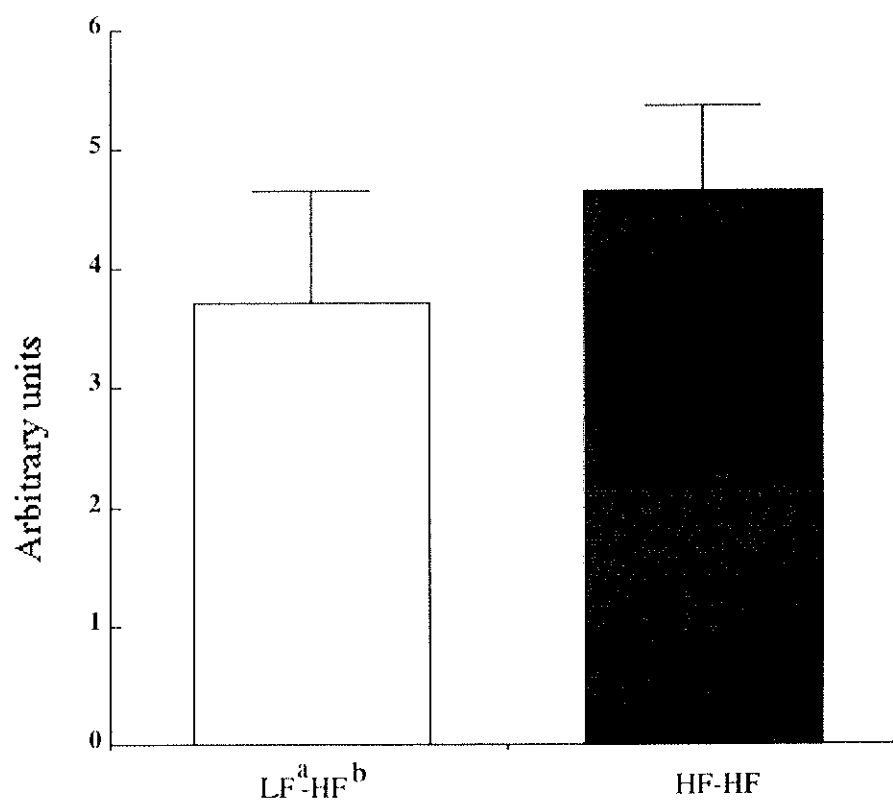


Fig. 9 Effects of parents' diet on UCP1 mRNA levels in brown adipose tissue of rats borne from and suckled by F344 foster mothers (experiment 1).

Values are means and SE for 8 rats.

^aThe diet fed to the parents; ^bThe diet fed to the offsprings.

HF: high-fat diet; LF: low-fat diet.

四、 考察

本実験（実験1）では、親の高脂肪食栄養条件が受精前の配偶子や受精後の初期胚に及ぼす影響を検討するため、2細胞期の初期胚を近交系F344ラットに移植し、移植後の妊娠期と授乳期の母体環境を統一して、雄の仔ラットの体重と体脂肪量を調べた。その結果、高脂肪食を摂取した親から生まれた仔ラットの体重と腹腔内脂肪量が、低脂肪食を摂取した親から生まれた仔ラットのそれらに比べて有意に大きいことを認めた。この結果は、親の高脂肪食栄養条件が受精前の配偶子や受精後の2細胞期の初期胚までの期間を通して影響を及ぼし、その影響が仔の成長期に現れる可能性を示すものである。

親の高脂肪食摂取が受精前の配偶子や受精後の初期胚に影響を及ぼし、その影響が成長期に現れることについてのメカニズムは不明である。糖尿病の研究（Diamond et al., 1989; Moley et al., 1994）において、母親の高血糖が受精卵の発生過程の初期胚の2細胞期から桑実胚までに影響を及ぼし、その影響が仔の発育障害（発育不良、奇形）に現れる可能性が認められている。その理由として、母親の高血糖が胚のグルコース担体を低下させることにより、初期胚の細胞内の遊離グルコース濃度を低下させ、それが細胞間の付着力に関係するCa⁺⁺依存性糖蛋白質の合成を阻害して、仔の発育を阻害することによると考えられている（Moley et al., 1998; Kimber et al., 1990）。また、胚へのグルコース供給不足が胚細胞のアポトーシスを促す可能性も指摘されている。このことに関連して、糖尿病ラットの胚盤胞においては、内部細胞塊の細胞数が正常ラットの胚盤胞に比べて、20%低下していることから、グルコース不足によるアポトーシスを促進し、胚の増殖抑制をもたらしたのではないかと推測されている（Johnson et al., 1996; Lea et al., 1996）。これらの研究は母親の高血糖が初期胚に作用し、仔ラットの発育に影響した可能性を示唆している。

本実験では血糖値の日内リズムを調べていないが、先行研究（Iwashita et al., 1996）によって、血糖値は低脂肪食摂取ラットに比べて、高脂肪食摂取ラットでは、24時

間を通して常に高値であることが確認されている。

生まれた仔ラットの成長期の血中のレプチンとインスリン濃度、白色脂肪組織のレプチン、およびリポプロテインリパーゼのmRNAレベルは、受精前の配偶子や受精後の初期胚に及ぼす高脂肪食摂取の影響を受けた。12週齢時では、血中レプチン濃度は低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットに比べて、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットで有意に高かった。レプチンは「脂肪組織由来のエネルギー摂取と消費の調節因子」で、中枢に作用し、摂食量とエネルギー消費量を調節しているとされている。もし、脂肪組織のレプチン遺伝子発現量および血中レプチン濃度が上昇しているにもかかわらず、摂食量が大きい場合には、レプチンの摂食抑制作用に対して抵抗性が発生していると判断される (Caro et al., 1996)。本研究では、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの摂食量が低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットに比べて大きかった。したがって、低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットに比べて、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットではレプチン抵抗性が高いものと推定される。なお、血中レプチン濃度と同様に、脂肪組織のレプチンmRNAレベルも、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットで高かった。したがって、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットにみられる血中レプチン濃度の上昇は、脂肪組織量の増大だけではなく、脂肪組織のレプチンの合成・分泌能の増大による可能性がある。

インスリンとレプチンの関係について、Kiefferら (1996) は膵臓 β 細胞にレプチン受容体の存在を確認している。また、血中インスリン濃度とレプチン濃度には正の相関関係があるとの報告がある (Havel et al., 1996; Larsson et al., 1996)。本実験において、仔ラットの血中インスリンとレプチン濃度の各上昇度は、6、8および12週齢の期間を通して同程度であった。この結果はKiefferらやHavelらの研究を支持するものと思われる。

本実験において、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの脂肪組織のリポ

プロテインリパーゼmRNAレベルは、低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットのそれより高かった。リボプロテインリパーゼの合成、分泌異常は肥満を誘発する重要な因子と見られている。脂肪組織のリボプロテインリパーゼのmRNAレベル、その蛋白質レベルとその酵素活性の間には正相関があると言われている (Braun et al., 1992; Clary et al., 1985)。したがって、脂肪組織リボプロテインリパーゼのmRNAレベルの上昇は、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの体脂肪蓄積増大の原因の一つであると考えられる。一方、ホルモン感受性リパーゼmRNAレベルには、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットと低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの間には有意差がなかった。すなわち、親の高脂肪食摂取は仔の脂肪組織のホルモン感受性リパーゼのmRNAレベルに影響を及ぼさないと考えられる。

褐色脂肪組織 (BAT) は体熱産生機能が高度に発達した組織である。BATにおける熱産生は交感神経に直接支配されていることが知られている (Minokoshi et al., 1986)。また、交感神経のBATにおける熱産生作用は、 β_3 -アドレナリン受容体を介して発現する。fa/faラット、ob/obマウスなど遺伝性肥満動物ではBATの交感神経活性が低下しているのに加えて、 β_3 -アドレナリン受容体mRNAの発現量も低下していることが確認されている (Muzzin et al., 1991; Collins et al., 1994)。しかしながら、本研究において、 β_3 -アドレナリン受容体mRNAの発現量は、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットと低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの間には有意差がなかった。このことから、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットの体脂肪蓄積増大には、褐色脂肪組織の β_3 -アドレナリン受容体の遺伝子発現の低下が関与していないものと考えられる。

一方、本実験ではUCP1 mRNA発現量に親の食餌の違いによる影響は見られなかった。UCP1 mRNA発現量が交感神経刺激によって増大することが報告されている (Ricquier et al., 1984; Rahnmark et al., 1989) が、レプチンなど他の因子によって、調節されている可能もある。近年、BATも含む全組織あるいは骨格筋に特異的に発見す

るUCPサブタイプ（UCP2およびUCP3）が発現され、UCP1と同様に熱産生に関与する可能性が論じられている（Gimeno et al., 1997; Fleury et al., 1997; Boss et al., 1997）。また、白色脂肪組織のUCP2 mRNAは高脂肪食あるいはレプチンによって発現量を増大すると報告されている（Surwit, 1998）。本研究において、血漿レプチン濃度は、低脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラット群に比べて、高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラット群で高値を示したが、BATのUCP1 mRNA発現量の差は見られなかった。高脂肪食摂取親ラットから生まれた仔ラットで、レプチンのUCP1 mRNA発現量に対する調節作用が損害されているかもしれない。

以上、親の高脂肪食摂取が受精前の配偶子や受精後の初期胚に及ぼす影響を介して、仔の成長期における体脂肪蓄積を増大させること、体脂肪蓄積増大に関わる調節因子の変動を誘発することが示された。