





論文審査の要旨および担当者

学位申請者	柴田 実可子 (3DZ17002 動物栄養学)
学位論文題目	ブロイラーにおける成長に伴う腸管栄養素吸収の変化およびその制御機構の解明
担当者	主査 北里大学教授 濱野 美夫  副査 北里大学教授 有原 圭三  副査 北里大学教授 久留主 志朗  副査 九州大学教授 古瀬 充宏 

論文審査の要旨

肉用鶏のブロイラーは絶えず育種改良によって増体・産肉能力が高められている。ブロイラーの安定生産にはその顕著に速い成長に適した栄養管理が求められているが、ブロイラーにとっての厳密な栄養素要求量の把握には至っていない。そのため、本研究はブロイラーにおける種々の栄養素吸収のうち、特に成長過程にともなう腸管グルコース吸収能の特異性と、その調節・制御のメカニズムについて詳細に検討した。

第 1 章. ブロイラーにおける成長に伴う腸管グルコース吸収の比較および腸管の形態学的解析

成長段階におけるブロイラーの腸管グルコースの吸収能を 1 週齢および 5 週齢で比較調査した。最初に血中グルコース濃度を指標としてマル

トースおよびグルコースの経口負荷試験を行った。両糖質の経口投与後に生じた血中グルコース濃度の上昇は1週齢より5週齢の試験区で緩やかとなり、さらに基礎値までの回復時間も5週齢のニワトリで遅延していた。この血中グルコース濃度の上昇時間と経時的変化がブロイラーの週齢間で異なっただのは、成長に伴う腸管の形態学的な変化、腸管の栄養素通過速度の変化または腸管からのグルコース吸収の成長に伴う低下などが原因と考えられた。

そこで次に腸管の形態学的な検討を行ったところ、5週齢のブロイラーの腸管および絨毛の長さは1週齢時のそれらと比較して有意に増大し、これにともなって単位面積当たりの絨毛の数が減少していることが認められた。しかしながら、経口投与物質による消化管内通過速度の解析では、経口投与物質がその投与後20分にはニワトリの週齢に関係なく腸管の主要なグルコース吸収部位に到達していることが示された。また、消化過程の比較としてマルターゼ活性を測定したが、両週齢間に差はみられなかった。

腸管からのグルコース吸収能を詳細に評価するため、反転腸管法および短絡電流解析法によるグルコース吸収試験を行った。両試験において、5週齢のブロイラーにおけるグルコース吸収能は1週齢時のそれと比較して明らかに低かった。また、短絡電流解析法による試験において、ナトリウム依存性グルコース輸送体1 (SGLT1) 阻害剤のフロリジンは5週齢の腸管グルコース吸収を抑制しなかった。その一方で細胞間のイオン透過性解析では、1週齢時と比較して5週齢時で低下していることがわかった。腸管のグルコース吸収や細胞間のイオン透過性は、種々の輸送体や細胞間接着因子によって制御されていることから、次に関連遺伝子の発現量を測定した。グルコース吸収関連輸送体の発現量は週齢間で

差がなかったが、細胞間接着因子 claudin5 の発現量は 5 週齢で増加していた。さらに、系統間の比較を行うため、1 週齢と 5 週齢のレイヤーを用いて同様の検討を行ったが、成長に伴うグルコース吸収の低下は観察されなかった。以上の結果より、ブロイラーにおける成長に伴う腸管グルコース吸収能の低下は系統特異的であることが明らかとなった。また、その低下にマルターゼ活性およびグルコース吸収関連輸送体の遺伝子発現量は関与していないことが示唆された。

第 2 章. ブロイラーにおける成長に伴う腸管アミノ酸吸収の比較

ブロイラーは、成長に伴い腸管グルコース吸収能が低下することが明らかとなった。しかしながら、他の栄養素においても同様の応答を示すのかは不明である。そこで、体タンパク質を構成し、エネルギー源でもあるアミノ酸に着目し、腸管からの吸収を成長過程で比較した。反転腸管法では、5 週齢のブロイラーにおける腸管アミノ酸吸収は 1 週齢時のそれと比較すると変化しなかった。一方、短絡電流解析法では、ブロイラーの腸管アミノ酸吸収量が 1 週齢時より 5 週齢時で増加していた。また、5 週齢ブロイラーにおけるアミノ酸吸収関連輸送体の遺伝子発現量が 1 週齢時と比較して増加していた。さらに、レイヤーの腸管アミノ酸吸収においても、短絡電流解析および遺伝子発現量解析によってブロイラーと同様の結果が得られた。以上の結果より、ブロイラーの腸管におけるアミノ酸吸収能は、グルコースとは異なり成長に伴い低下しないことが明らかとなった。

第3章. ブロイラーにおけるレプチンの腸管グルコース吸収抑制作用 およびその制御機構の解明

ブロイラーの成長に伴う腸管グルコース吸収能の低下は、栄養素特異的であることが示唆された。現在、ブロイラーの飼養現場では穀物飼料の給与が主体になっている。現状の飼養形態では成長に伴い飼料中の栄養素の利用効率が低下していると推察される。そこで、ブロイラーの腸管におけるグルコース吸収抑制因子を探索することを目的として、マイクロアレイによる網羅的解析を行った。その結果、レプチンの受容体が腸管に発現していることが明らかとなった。

哺乳類においてレプチンは主に脂肪細胞や胃から分泌され、摂食、代謝、腸管の栄養素吸収を制御する。管腔側のレプチンは腸管上皮の受容体に作用し、グルコースおよびアミノ酸吸収を抑制する。このことから、ブロイラーにおいても腸管の栄養素吸収にレプチンが関与する可能性がある。そこで、レプチンによる腸管グルコース吸収制御について検討した。レプチン受容体発現部位の調査では、間脳、嚙嚢、腺胃、筋胃、肝臓、脂肪において遺伝子発現が観察された。また腸管では、免疫染色で絨毛の末端から陰窩にかけて発現が認められた。腸管グルコース吸収に及ぼすレプチンの影響を検討するため、1週齢のブロイラーにレプチンを経口投与し、その5分後に経口グルコース負荷試験を行った。グルコース負荷20分後に示された血中グルコース濃度の最大上昇値は、対照区よりレプチン投与区で有意に低かった。また短絡電流解析法による検討を行った結果、管腔側のレプチンは1週齢時の腸管グルコース吸収を抑制した。さらに、哺乳類のレプチン関連シグナル因子の阻害剤を用いてレプチンによるグルコース吸収抑制経路を検討したところ、JAK2、PI3K、Akt、mTORの関与が示唆された。一方、1週齢のヒナにおける短絡電流

解析法でレプチンのグルコース吸収抑制作用は観察されたものの、5週齢時では観察されなかった。これらの結果より、1週齢のブロイラーにおいては、管腔側のレプチンは腸管上皮に発現するレプチン受容体に作用し、JAK2、PI3K、Akt、mTORを介してグルコース吸収を抑制するが、5週齢ではその作用が減弱している可能性が示された。しかしながら、本検討では胃から分泌されるレプチンの動態および量の検討を行っていないため、成長に伴う腸管グルコース吸収の低下に対する管腔側レプチンの関与についてはさらなる検討が必要と考えられる。

以上、本研究の成果は、ブロイラーにおける腸管栄養素吸収、特にグルコース吸収の特異性とそのメカニズムを明らかにしたことである。これらの知見は、絶えず改良が進むブロイラーの生産において求められる厳密な栄養素要求量の把握とこれに沿った飼料設計や栄養管理に関する学術研究の発展に寄与するものと期待される。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、審査員一同は合格と判定した。