

学位論文要旨

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

Studies on age-related changes
in the intestinal nutrient absorption
and its regulatory mechanisms in broiler chickens.

北里大学大学院獣医学系研究科
動物資源科学専攻 博士後期課程

柴田 実可子

Shibata Mikako

指導教授 黒瀬 陽平

肉用鶏であるブロイラーは、育種改良により高い増体を持ち、5週齢時には孵化直後と比較して約50倍、同週齢の卵用鶏であるレイヤーと比較しても約5倍になる。一方、過食を伴うこの急速な成長に生理機能の発達が追い付かず、飼料効率の低下や様々な代謝性疾患の発生が問題となっている。したがって、ブロイラーの成長過程における生理機能の変化およびそれに応じた適切な栄養管理が必要である。栄養素は腸管から吸収されることで初めて生体内での利用が始まる。よって、成長段階における腸管での栄養素吸収制御機構を理解することにより、その特性に合わせた適切な栄養素の給与が可能となり、上記の様な問題の解決に繋がると考えられる。しかしながら、ブロイラーの腸管における栄養素吸収制御を詳細に検討した報告はほとんどない。本研究では、ブロイラーにおける腸管栄養素吸収を理解するために、成長過程および系統間での腸管栄養素吸収の比較、さらに栄養素吸収制御因子を探索することを目的とした。

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

成長過程の1週齢および5週齢のブロイラーを用いて、腸管グルコース吸収を比較検討した。まず、血中グルコース動態を調べるために、マルトースおよびグルコースの経口負荷試験を行った。両試験における血中グルコース濃度の上昇は、1週齢より5週齢が緩やかで、さらに基礎値までの回復時間も遅延していた。血中グルコース濃度の経時変化が週齢間で異なる理由として、成長に伴う腸管の形態学的な変化、およびそれによる腸管の栄養素通過速度の変化、腸管からのグルコース吸収の成長に伴う低下などが

考えられる。腸管の形態学的な検討では、5週齢の腸管および絨毛の長さが1週齢と比較して有意に増大し、これにより単位面積当たりの絨毛の数は減少していた。しかしながら、経口投与物質の消化管内通過速度の検討では、経口投与した溶液が、投与20分後には両週齢とも腸管の主要なグルコース吸収部位まで到達していた。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、両週齢間に差は見られなかった。そこで、腸管からのグルコース吸収能を評価するため、反転腸管法および短絡電流解析法による吸収試験を行った。両試験において、5週齢におけるグルコース吸収は1週齢と比較して低下していた。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。細胞間のイオン透過性解析では、1週齢と比較して5週齢で低下していた。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、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週齢の腸管アミノ酸吸収が1週齢と比較して低下していた。一方、短絡電流解析法では、5週齢の腸管アミノ酸吸収が1週齢と比較して増加していた。また、5週齢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である。よって、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。哺乳類においては、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考えられた。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検討では、間脳、嚔嚢、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。レプチンの腸管グルコース吸収へ与える影響を検討するため、1週齢のブロイラーを用いて、レプチン経口投与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分後において、レプチン投与区の血中グルコース濃度はコントロール区よりも有意に低かった。次に、短絡電流解析法による検討を行った結果、1週齢において管腔側のレプチンは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、短絡電流解析法による検討で、1週齢で観察されたレプチンのグルコース吸収抑制作用は、5週齢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唆された。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、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。