様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　５ 年　６ 月 ２６ 日現在

機関番号：１１３０１
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2020～2022
課題番号：２０Ｋ０６３６０

研究課題名（和文）採卵鶏リポタンパク代謝の暑熱応答―近年の採卵鶏はなぜ採卵率が低下しにくいか？―

研究課題名（英文）Heat response of lipoprotein metabolism in laying hens - Why are laying hens less responsive to decrease egg production under the heat stress? -

研究代表者
佐藤　幹（Sato, Kan）

東北大学・農学研究科・教授

研究者番号：２０２５０７３０

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,300,000円

研究成果の概要（和文）：近年の改良された産卵鶏は、暑熱環境下でも、産卵率は低下しない。よって、この卵生産補償機構を明らかにすることができれば、少ない飼料エネルギーでの効率的な卵生産が可能になると考えた。本研究では、リポタンパクの観点からこの機構を解明し、それを通常環境下で誘導する基盤研究を行った。その結果、摂取量が減少する暑熱環境下ではコレステロール代謝の維持とトリグリセリド代謝の低下によるリポ蛋白粒子の変化が起こると同時に、卵胞膜の卵黄前駆物質取り込みが活性化し、産卵率を維持していることが明らかとなった、一方、リポ蛋白の粒子径の変化のみでは産卵の効率化には至らないことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究は近年の改良された産卵鶏の暑熱応答を実験系として、卵生産におけるもっともエネルギーを使用する卵黄の蓄積の効率化を図る基盤的研究である。本研究の成果により、卵生動物である鳥類の卵黄の主要成分であるVLDLyの粒子径調節による新たな脂質取り込み制御機構の存在が明らかとなった。さらには、暑熱環境下では卵胞膜における脂質取り込みが活性化され、産卵を維持する機構が存在することを証明した。さらには、卵黄前駆物質であるVLDLyの粒子径を人為的に変化させることが可能であることを示した。この成果は、鳥類の比較生化学的な特徴を世界で初めて示しただけではなく、将来の卵生産の効率化に寄与するものと期待される。

研究成果の概要（英文）：Recent laying hens do not lose egg production even under heat stress conditions. Therefore, we hypothesized that if we could clarify this egg production compensating mechanism, efficient egg production with less feed energy would be available. In this study, we conducted basic research to elucidate this mechanism from the viewpoint of lipoprotein metabolism and to induce it under normal conditions. The results showed that under a thermothermal environment with reduced intake, lipoprotein particles are altered by maintaining cholesterol metabolism and decreasing triglyceride metabolism, as well as activating the uptake of yolk precursors in the follicle membrane, which maintains egg production rate. On the other hand, it was shown that changes in lipoprotein particle size were not enough to improve the efficiency of egg laying.

研究分野：動物栄養生理学

キーワード：採卵鶏　リポ蛋白代謝

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

採卵鶏は暑熱環境下で飼育すると、飼料摂取量が低下することで産卵率が低下し、卵生産が減少するとされていた。しかし、近年の改良された産卵鶏は、暑熱環境下でも、飼料摂取量、体重、卵重は減少するものの、産卵率は低下しない。よって、この卵生産補償機構を明らかにすることができれば、少ない飼料エネルギーでの効率的な卵生産や、卵重の制御が可能になると考えた。そこで、本研究では、卵黄の本体であるリポタンパクの観点からこの機構を解明し、それを通常環境下で誘導する手法を開発する基盤研究を行う。

２．研究の目的

動物は変化する環境条件に対処するために様々な固有のメカニズムを持っている。動物では、飼料摂取量を減らすことで、代謝プロセスを最小限に抑えて熱ストレス状態に適応させることで、体内の発熱を抑えることができる。

気候変動は気温の上昇をもたらし、これは動物の生存と産の両方に影響を及ぼす最も有害な要因であることが証明されている。よって、家畜が気候変動に適応するための根底にある生物学的メカニズムを理解することは、気候変動が家畜生産に与える影響に対して適切な対処戦略を開発するための科学的研究に役立つ。家畜適応の代謝反応を深く理解することは、家畜生産システムを気候変動に対処するためのより実行可能な適応策を開発するための道を開くことが期待される。

家畜の暑熱環境適応を明らかにしていく上で、本研究では採卵鶏に着目した。採卵鶏においても、地球温暖化による温度の上昇によるに起因する暑熱ストレスで飼料摂取量が低下し、卵重や産卵率の低下を来すなど、鶏卵の生産成績に重大な変化をもたらす可能性が危惧されている。暑熱環境下における採卵鶏の生産成績に悪影響を与える要因として、血中の脂質濃度やエストロゲン濃度の低下が関与すると推測されているが、暑熱が卵生産関連脂質代謝に及ぼす影響の全容は未だ明らかとなっていない。さらに暑熱環境下での卵黄前駆物質が肝臓から卵胞までの代謝に関する研究は報告されていない。そこで本研究では、暑熱環境下の採卵鶏における卵生産機構の特徴を明らかにすることを目的として、暑熱環境下における採卵鶏卵胞への卵黄前駆物質の取り込み能とそれに関与する因子の変動を測定することを試みた。

本研究は、大きく 4 つの内容に分類される。

・暑熱環境下の採卵鶏における生産成績
・暑熱環境下の採卵鶏における卵生産関連脂質代謝の変動
・暑熱環境下の採卵鶏における鶏特異的リポタンパク質の卵胞への取り込みメカニズムの検討
・通常環境下におけるリポタンパク質代謝を調節する可能性

以上の 4 つの試験により、暑熱ストレス条件下での採卵鶏卵生産の特異的な制御の解析を行った。この制御メカニズムを明らかにすることができれば、将来的に生理学的手法を用いて遺伝子等の発現を制御することで、卵生産の改善につながる可能性がある。最終的には、卵黄前駆物質の代謝を制御することで、暑熱環境下では卵生産を行う際のストレスを軽減し、通常環境においても少量の飼料摂取で効率的な卵生産を行う手法の開発が目標となる。

３．研究の方法

（１）暑熱環境下の採卵鶏における生産成績

191 日齢白色レグホーン(ジュリア)雌 12 羽を供試した。それぞれ 6 羽ずつ対照区(26℃)と暑熱区(32℃)に分け、2 週間飼育した。飼料は市販のものを給与し、飼料と水は自由摂取とした。暑熱曝露 1 週目と 2 週目で、飼育成績については、産卵率、体重、飼料摂取量、飲水量、卵質については、卵重、卵黄重、卵白重、濃厚卵白高、卵殻強度、卵黄色、HU を測定した。

（２）暑熱環境下の採卵鶏における卵生産関連脂質代謝の変動

191 日齢白色レグホーン(ジュリア)雌 12 羽を供試した。それぞれ 6 羽ずつ対照区(26℃)と暑熱区(32℃)に分け、2 週間飼育した。飼料は市販のものを給与し、飼料と水は自由摂取とした。血中トリグリセリド(TG)、総コレステロール(T-cho)、遊離脂肪酸(NEFA)、グルコース(Glc)、HDL コレステロール(HDL-c)、LDL コレステロール(LDL-c)、エストラジオールおよび卵黄中トリグリセリド(TG)、総コレステロール(T-cho)をそれぞれ測定した。さらに、肝臓における脂肪酸合成酵素(FAS)、ヒドロキシメチルグルタリル CoA レダクターゼ(HMGR) の遺伝子発現を測定した。

（３）暑熱環境下の採卵鶏における鶏特異的リポタンパク質の卵胞への取り込みメカニズムの検討

上記の暑熱飼育試験の鶏卵胞をそれぞれの発達段階に分け、重量を測定した。次に、対照区(26℃)と暑熱区(32℃)から採取した血液から DiI-VLDL を調整し、翼下静脈より投与し、1 時間後に卵胞を採取して、その取り込み量を蛍光顕微鏡で測定した。さらに、血漿および卵黄を対照区と暑熱区それぞれ3サンプル選出し、ゲルろ過HPLC法を用いてリポタンパク質を画分毎に分離した。

さらに血漿中の apoB のタンパク質含量をウエスタンブロットで解析した。最後に、階層的卵胞の段階的に起こる顆粒膜細胞の結合にかかわる遺伝子および輸送担体の遺伝子発現量の変化を測定した。

（４）通常環境下におけるリポタンパク質代謝の調節
242 日齢白色レグホーン(ジュリア)雌 24 羽を供試した。それぞれ 6 羽で 4 区を作製し、VLDLy の粒子径を人為的に調節することを試みた。通常飼料の対照区、対照区に 1%レシチン(羅農由来)を添加したリン脂質区、同じく 1%コレステロールを添加したコレステロール区、マイクロバブルで H_2 を添加したナノバブル飲水区を設け、2 週間通常温度で飼育したのちに卵黄を採取して、VLDLy の粒子径を測定した。また、その時の卵生産成績も測定した。

４．研究成果
（１）暑熱環境下の採卵鶏における生産成績
暑熱区で、体重、飼料摂取量、卵重、卵黄重、卵白重、卵殻強度、卵殻厚および卵黄色は有意に低下し、飲水量は有意に増加していた。これらは過去に報告されている典型的な暑熱応答を示していた。一方、産卵率は、暑熱 2 週目で対照区の方が若干高かったが有意な差は認められなかった。この結果から採卵鶏は暑熱環境を 2 週間程度続けても産卵率を維持しようとする代謝調節が存在することが再確認された。

（２）暑熱環境下の採卵鶏における卵生産関連脂質代謝の変動
エストラジオールは、対照区と暑熱区で有意な差は見られなかった。肝臓における TG 生成を担う FAS の発現量および Cho 合成の律速酵素である HMGR の発現量は、共に暑熱で大きく低下した。血中の脂質関連成分濃度は、TG 濃度は暑熱環境下で有意に低下し、T-Cho 濃度には有意な差は見られなかった。さらに、HDL-c および LDL-c に関しても両区で大きな変動は見られなかった。NEFA 濃度や Glc 濃度は、暑熱環境下で有意に減少した。そして卵黄中の脂質関連成分濃度に関しては、TG と T-cho 共に、有意な変化は認められなかった。以上の結果より、暑熱環境下では肝臓における卵黄前駆物質の合成に関与する因子の発現量が著しく低下しているにもかかわらず、卵黄、つまりは卵胞への卵黄前駆物質の取り込みを維持もしくは亢進する機構が存在する可能性が推察された。

（３）暑熱環境下の採卵鶏における鶏特異的リポタンパク質の卵胞への取り込みメカニズムの検討
暑熱区では F5 卵胞から F4 卵胞にかけて急速に増加し、その増加は F3 卵胞まで続いていた。また、F4 卵胞から F1 卵胞では対照区と比較して多量に取り込まれ、その重量が急速に増加している可能性が明らかとなった。さらには、発達が著しく細胞分裂が盛んに行われている F3 卵胞に関しては、対照区と暑熱区共に最も重量差があるため、脂質取り込みが特に促進している可能性が考えられた。そこで、DiI 蛍光ラベルした対照区と暑熱区の VLDLy の卵胞への取り込みを観察したところ、暑熱区の F3～F5 卵胞で、その取り込みが増加していた。すなわち、暑熱環境下の卵胞には、卵黄前駆物質である VLDLy の取り込みを促進する機構があることを証明した。
次に、卵胞における卵黄前駆物質の取り込み促進メカニズムを探るために、VLDLy の粒子径を測定したところ、暑熱区の VLDLy の粒子径の減少が認められた。さらに卵胞における顆粒膜細胞層の結合にかかわる遺伝子発現は暑熱で低下し、輸送担体である LR8 は遺伝子およびタンパク質は上昇していた。以上の結果から、暑熱環境下では、卵黄前駆物質である VLDLy の取り込みを促進する機構があり、それはリポタンパク質の粒子径の減少、卵胞の顆粒膜細胞層の結合タンパク質の低下、および輸送担体の上昇によって行われていると示唆された。

（４）通常環境下におけるリポタンパク質代謝の調節
生産成績に試験区間における有意な差は認められなかったが、リン脂質区およびナノバブル飲水区で、飼料摂取量と卵重が若干減少した。卵黄中の VLDLy の粒子径は、コレステロール区で有意に減少、リン脂質区で増加の傾向が認められた。すなわち、リポタンパク質の粒子径は人為的に制御することが可能であることが明らかとなった。一方、卵黄蓄積の効率化はリポタンパク質の粒子径のみでは制御することは難しいことが示唆された。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計3件（うち査読付論文　3件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　2件）

１．著者名 Sayaka Miyai , Amin Omar Hendawy, Kan Sato	４．巻 13
２．論文標題 Gene expression profile of peripheral blood mononuclear cells in mild to moderate obesity in dogs	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Vet Anim Sci .	６．最初と最後の頁 100183
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.vas.2021.100183. eCollection 2021 Sep.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

１．著者名 Suzuka Kohno, Shinichiro Ogawa, Tsuyoshi Shimmura, Kan Sato, Yukako Tokutake	４．巻 93
２．論文標題 Myeloperoxidase expression in diencephalon is potentially associated with fear‐related behavior in chicks of laying hen	５．発行年 2022年
３．雑誌名 Animal Science Journal	６．最初と最後の頁 e13779
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/asj.13779	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Yukako Tokutake, Ryo Takanashi, Motoi Kikusato, Masaaki Toyomizu, Kan Sato	４．巻 12
２．論文標題 Effect of Dietary 4-Phenylbuthyric Acid Supplementation on Acute Heat-Stress-Induced Hyperthermia in Broiler Chickens	５．発行年 2022年
３．雑誌名 Animals	６．最初と最後の頁 2056
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ani12162056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

〔学会発表〕　計0件

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

－

６．研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考

７．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

８．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関