

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：11301

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2018～2020

課題番号：17KK0149

研究課題名（和文）種鶏・種卵へのマイルドな熱感作による肉用鶏への耐暑性付与と遺伝子発現特性の解析

研究課題名（英文）Characterization of thermo-tolerance of chickens that obtain from heat-exposed breeding hens and embryos

研究代表者

喜久里 基（Kikusato, Motoi）

東北大学・農学研究科・准教授

研究者番号：90613042

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,200,000円

渡航期間： 7ヶ月

研究成果の概要（和文）：暑熱環境下ではニワトリの増体量は著しく低下するが、そのメカニズムは未だ不明である。本課題では、ニワトリの暑熱時の不利益反応および暑熱への適応応答を明確化することを目的とした。夏季および秋季に採取した種卵より得たニワトリを同一条件で暑熱感作した結果、秋卵ニワトリでは体温、血漿中コルチコステロン濃度、尿酸値、インターロイキン6濃度が上昇したが、夏卵ニワトリではこれらの上昇が低く抑えられることが示された。さらに、メタボロミクス解析の結果、抗炎症物質である3-ヒドロキシ酪酸量が夏卵ニワトリで高く維持されていることが示された。以上より、ニワトリの暑熱耐性には抗炎症力の大小が関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの家禽の暑熱ストレス研究では、機能性物質や鶏種の違いによる耐暑性の違いを比較し、暑熱ストレス誘導メカニズムを明らかにしてきた。本研究では、これらの方法によらない耐暑性付与を見出し、さらに抗炎症状態が暑熱適応に重要であることを示した。本研究の実用的意義は暑熱ストレス対策における抗炎症物質の有用性が提案できること、さらに学術的意義は親世代の暑熱感作が次世代の暑熱耐性に影響をおよぼすことを見出した点である。

研究成果の概要（英文）：Heat stress (HS) negatively affects the growth performance of broiler chickens; however, the underlying mechanism remains unclear. In this project, we investigated to characterize HS-induced metabolic dysregulation and the positive responses to attenuate the HS effects in chickens. Embryos obtained from breeding hens reared in summer or autumn were hatched, and chickens were reared under the same atmospheric conditions for three weeks. HS treatment increased body temperature, plasma corticosterone, uric acid, interleukin-6 content in chickens from autumn-embryo, while these elevations were not observed in chicken from summer-embryo. Metabolomic analysis revealed that plasma and hepatic 3-hydroxy butyrate levels, which is an anti-inflammatory metabolite, were reduced by HS in chickens from autumn-embryo, while it did not occur in chickens from summer-embryo. These results suggest that anti-inflammatory capacity could be associated with the heat tolerance ability of broiler chickens.

研究分野：動物生産科学

キーワード：暑熱 ニワトリ 継代効果 炎症 タンパク質分解 体温

1. 研究開始当初の背景

暑熱環境下においてニワトリの増体量は著しく低下するが、そのメカニズムの全貌は未だ不明である。これまでの研究より、暑熱下のニワトリでは、呼吸性アルカローシスや酸化ストレスなどの生体反応が生じ、これらが何らかの形で増体量の低下に関与していると考えられてきた。酸化ストレスに対してはビタミン類やポリフェノールなどの抗酸化物質の給与が、呼吸性アルカローシスに対しては重曹の給与が有効であることが示されてきたが、今もってなお暑熱ストレスが家禽産業で問題であり続けるのはこれらの対策をもってしても十分な生産性改善には至っていないからである。

本研究課題の基課題(「暑熱鶏において骨格筋タンパク質代謝破綻をもたらす他臓器間代謝ネットワークの解明」; 若手研究 A, 16H06205)では、暑熱下のニワトリの体内で生じる酸化ストレス・筋タンパク質代謝・内分泌・炎症などの変化を体系的に紡ぎ合わせ、骨格筋の代謝を破綻させる多臓器間代謝ネットワークを明らかにすることであった。これに関して、研究実施者らは、暑熱感作によるミトコンドリア活性酸素(mitROS)産生量(Kikusato and Toyomizu, 2013, Kikusato and Toyomizu, 2019)の増大が細胞内タンパク質分解システムを活性化し、筋タンパク質分解を亢進させること(Furukawa et al., 2015, Furukawa et al., 2016)、腸管バリア機能破綻にともなう全身性炎症反応がタンパク質の異化を促進することを明らかにした(Kikusato et al., 2021)。これらの結果より、暑熱によって生じた反応のいくつかは連関していることが実証された。

2. 研究の目的

研究実施者の研究含め、これまでの研究では、暑熱によって生じたニワトリの諸反応を適温ニワトリと暑熱ニワトリの比較で見出ししているものがほとんどである。しかし、生じた反応が、暑熱によって生じた“不利益な反応”なのか、暑熱に適応するために“必要な応答”なのか判別できないという欠点があった。そこで、本研究では飼料や鶏種を変えずに、耐暑性を付与したニワトリを作出することで、暑熱ニワトリ、適温ニワトリおよび耐暑性付与ニワトリの各種反応を比較し、ニワトリの暑熱時の不利益反応および暑熱への適応応答を明確化することを目的とした。

3. 研究の方法

動物実験: 民間の孵卵場より、夏季(7月)および秋季(11月)に採取した種卵を入手し、暑熱負荷試験を行った。具体的には、いずれの種卵も通常の温度条件(37-38℃)で21日間孵卵させてニワトリ雛を得て、プロイラー用前期標準飼料(粗タンパク質21%、代謝エネルギー3,050 kcal/kg)を給与した。夏季種卵ニワトリ(夏卵区)および秋季種卵ニワトリ(秋卵区)はそれぞれ3週間飼育し、同一体重(約1.2 kg)に達した後、22℃の適温および33℃の暑熱条件区の2区に分け、3日間飼育した。実験期間中、水および飼料は自由摂取させ、また、飼育室の相対湿度は夏卵区および秋卵区の間で誤差±5%以内になるよう設定し、さらに暑熱感作時の相対湿度は55-60%にした。供試飼料は、用事調製による微細な栄養成分量の違いが各動物実験に影響をおよぼさないよう、導入後、必要量を-30℃で保管し、両区に給与した。動物実験は東北大学動物実験センターの承諾を得た後、実施した。

飼育成績・生化学分析: 暑熱時の増体量、飼料摂取量および体温を測定した。血漿・浅胸筋中の過酸化脂質量はTBARS法、尿酸値およびコルチコステロン(CORT)濃度、インターロイキン6(IL6)は市販キットを用いて測定した。

統計解析: 各データ値は各n=6-8からなる平均値および標準誤差で表記した。また、データは種卵の採取時期(Summer vs Winter; Period)および処理(適温 vs 暑熱; Treatment)を主効果とした二元配置分散分析で統計解析し、いずれの統計解析においても有意差の閾値は0.05未満とした。

4. 研究成果

[結果1]

暑熱感作前までの増体量、飼料摂取量、飼料効率(増体量/飼料摂取量)は、夏卵区および秋卵区いずれにおいても生育目標値と遜色ない数値が得られ、また、両区間において有意な差は認められなかった。一方、暑熱感作にともなう増体量の減少はいずれの区においても認められたが、秋卵区に比べ、夏卵区で抑制される傾向($P = 0.08$)が示され、飼料効率も夏卵区で高い傾向($P = 0.07$)を示した。さらに、暑熱時の体温上昇も、秋卵区に比べ、夏卵区で抑制される傾向($P = 0.08$)が示された。

暑熱感作にともない、秋卵区では骨格筋、肝臓および血漿中の過酸化脂質量が有意に増加した一方で、夏卵区ではこれらの増加は軽微なものであった($P > 0.05$)。認められなかった。また、脾臓割合(%)重量は秋卵区では有意に増加した一方で、夏卵区ではわずかに増加したものの有意な違いは認められなかった。ストレスホルモンの一つであり抗炎症ホルモンでもあるCORTの血中濃度は秋卵区では暑熱によって有意に高くなった一方で、夏卵区では違いは認められなかった。窒素代謝の最終産物であり強い抗酸化活性を示す尿酸値は、秋卵区のニワトリにおいて暑熱感作にともない高くなる傾向($P = 0.06$)が認められたが、夏卵区ではその増加は軽微であった($P < 0.05$ vs 秋卵暑熱区)。肝臓における炎症性サイ

トカイン IL-6、IL-1、TNF の各 mRNA 発現量は冬季卵ニワトリでは有意に上昇し、夏季卵ニワトリではむしろ低くなった ($P > 0.05$)。これらの結果より、夏季の高温にさらされた種鶏より得た種卵は暑熱に対する耐性が比較的高いことが示された。

[結果 II]

上記動物実験から得た血漿サンプルを用いて、ガスクロマトグラフィー質量分析機 (GCMS) によるメタボロミクス解析を行った。血漿では、秋卵区では暑熱感作にともない、ケトン体の一つであり抗炎症物質でもある 3-ヒドロキシ酪酸 (3HB) 量が有意に低下していた一方で、3HB 量は夏卵区では暑熱区で適温区よりも有意に高い値を示した。これらの変化は肝臓でも同様であった。また、秋卵区では暑熱によって血漿アルギニン (Arg) 量が有意に増加したが、血漿中 NO 濃度は変わらなかった。一方、夏卵区では血漿 Arg 量に違いは認められなかったが、血漿中 NO 濃度の有意な上昇が認められた。骨格筋では、夏卵区および秋卵区の間で、暑熱感作によるアミノ酸、エネルギー代謝関連産物の変化はほとんど認められなかった。

まとめ：本課題より、次のことが示された

1. 夏季の種卵を孵化して得たブロイラーでは、暑熱時の体温上昇、酸化ストレス亢進、炎症性サイトカイン発現誘導が生じなかった。
2. 夏季卵ニワトリが暑熱時でも体温が上昇せず、その理由の一つに血管拡張作用を有する NO 産生量の増加があげられる。
3. NO を産生する Arg 量は冬季卵ニワトリでは増加していたが、夏季卵ニワトリでは変化していなかったため、Arg の代謝経路に何らかの不具合が生じている可能性が示唆された。
4. 種鶏への暑熱ストレスが種卵の熱耐性にエピジェネティックな変化をもたらしたと考えられるが、そのメカニズムは不明である。

関連文献

- Furukawa K, Kikusato M, Kamizono T, Toyomizu M. 2016. Time-course changes in muscle protein degradation in heat-stressed chickens: Possible involvement of corticosterone and mitochondrial reactive oxygen species generation in induction of the ubiquitin-proteasome system. *Gen Comp Endocrinol*, 228:105-110.
- Furukawa K, Kikusato M, Kamizono T, Yoshida H, Toyomizu M. 2015. Possible involvement of mitochondrial reactive oxygen species production in protein degradation induced by heat stress in avian muscle cells. *J Poult Sci*, 52:260-267.
- Kikusato M, Toyomizu M. 2013. Crucial role of membrane potential in heat stress-induced overproduction of reactive oxygen species in avian skeletal muscle mitochondria. *PLoS One*, 8:e64412.
- Kikusato M, Toyomizu M. 2019. Differential effects of heat stress on oxidative status of skeletal muscle with different muscle fibre compositions in broiler chicken. *J Anim Feed Sci*, 28:78-82.
- Kikusato M, Xue G, Pastor A, Niewold TA, Toyomizu M. 2021. Effects of plant-derived isoquinoline alkaloids on growth performance and intestinal function of broiler chickens under heat stress. *Poult Sci*, 100:957-963.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kikusato M, Xue G, Pastor A, Niewold TA, Toyomizu M	4. 巻 100
2. 論文標題 Effects of plant-derived isoquinoline alkaloids on growth performance and intestinal function of broiler chickens under heat stress	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Poultry Science	6. 最初と最後の頁 957-963
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.psj.2020.11.050	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 該当する

1. 著者名 Kikusato M	4. 巻 34
2. 論文標題 Phytobiotics to improve health and production of broiler chickens: functions beyond the antioxidant activity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Animal Biosciences	6. 最初と最後の頁 345-353
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5713/ab.20.0842	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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	バイス ヨハン (Buyse Johan)	ルーベントリック大学・Department of Biosystems, Division of Animal and Human Health Engineering・Professor	

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			
ベルギー	レーベントリック大学			