

平成 21 年 5 月 12 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006 ～ 2008

課題番号：18208023

研究課題名（和文） 幼雛期における体温調節メカニズムの解明

研究課題名（英文） Studies on mechanism of the regulation of body temperature in chicks during the neonatal stage

研究代表者

古瀬 充宏（FURUSE MITSUHIRO）

九州大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：30209176

研究成果の概要：

ニワトリは早成鳥であるがために家禽として重要な位置を占めてきた。その一方で、恒温動物であり、体温が高いものと認識されてきた。ところが、孵化後しばらくは体温調節がうまく機能せず、短期間の体温維持しかできないために保温が必要となる。この原因を解明するために本研究を遂行し、以下の成果を得た。

多くの神経ペプチドは遊離脂肪酸をエネルギー源として体温調節に働くが、体内の貯蔵脂肪には限りがあるために長期間の体温維持は困難である。また、活動による運動エネルギーも体温維持に貢献することが判明した。行動量に影響を及ぼす栄養素は多く存在することも判明した。

ミトコンドリアの熱産生分子であるニワトリ脱共役タンパク質（avUCP）とミトコンドリア陰イオン交換体（MACP）の一つであるアデニンヌクレオチド輸送体（avANT）の発現は低温暴露しても変化せず、脂肪酸の代謝に関連する酵素の働きでエネルギー産生に傾くことが明らかとなった。

孵化後のエネルギー代謝に関わる残存卵黄の貢献を調べたところ、その除去により肝臓における脂肪酸分解と糖新生に関わる遺伝子の発現が高まった。残存卵黄は、脂肪酸供給ならびに糖新生に貢献することが判明した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	19,000,000	5,700,000	24,700,000
2007年度	12,200,000	3,660,000	15,860,000
2008年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
年度			
年度			
総計	36,900,000	11,070,000	47,970,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 畜産学・草地学

キーワード：家畜管理・飼養管理・栄養管理・飼養標準・環境生理

1. 研究開始当初の背景

家畜・家禽において、体温（エネルギー代謝）調節は生体のホメオスタシスの維持と家畜管理に欠かせないものである。特に、孵化直後のヒナは体温調節が未発達な状態にあり、保温を必要とする（この時期だけは変温動物）。また、生産に対して如何にエネルギー（飼料エネルギーや電力エネルギー）を無駄にしないかという省エネは大きな関心の的である。研究代表者（古瀬）はこれまでにエネルギーバランスの調節に関連する事項として、孵化直後のヒナの中枢による摂食制御機構の解明を、神経ペプチド、神経伝達物質および栄養素に関して調査してきた。それは、孵化後の幼雛期の生理状態がその後の生産性に大きく影響を与えるからである。その研究の一環として視床下部で産生される甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(TRH)に関して調べた。TRHは下垂体からの甲状腺刺激ホルモン(TSH)の分泌を介して熱産生に関わる甲状腺ホルモンの分泌を促すことが知られている。幼雛の中枢にTRHを投与すると体温の上昇は確認されたが、甲状腺ホルモンの分泌は起こっておらず、しかも外因的に甲状腺ホルモンを投与しても熱産生は起こらなかった。これは、視床下部 - 下垂体 - 甲状腺軸という重要な産熱システムが幼雛では機能していないことを示唆する。何故TRHが体温を高めることができるかについても検証を加え、TRHはストレス反応の起点となる副腎皮質刺激ホルモン放出因子(CRF)を介して熱産生を促すことを明らかにしてきた (Takahashi et al. (2005). Regulation of body temperature by thyrotropin releasing hormone in neonatal chicks. *Develop. Brain Res.*, 157(1):58-64.)。これは、幼雛に保温が必要な理由の一部を中枢支配の面から説明したものであるが、CRFが中心的要因かCRF以外の要因が存在するのか、また抹消へのシグナルが明らかではなかった。

一方、哺乳動物の褐色脂肪組織のミトコンドリアには熱産生分子である脱共役タンパク質(UCP1)が存在し、ATP産生と熱産生を司っている。ニワトリには褐色脂肪組織が存在しないものの、寒冷暴露により骨格筋ミトコンドリアで、哺乳動物のUCP1の挙動に似たニワトリ脱共役タンパク質(avUCP)の発現が誘導されることが、また、ミトコンドリア陰イオン交換体(MACP)の一つであるアデニンヌクレオチド輸送体(avANT)も熱産生のために協奏的に働いていることが明らかに

されていた(Toyomizu et al. (2002). *FEBS Lett.*, 529(2-3):313-318)。これは、ニワトリの筋肉における産熱メカニズムの特殊性を明らかにしたものであるが、変温動物期の幼雛におけるメカニズムは不明のままであった。

家畜・家禽の定義には、繁殖を人の手にゆだねる動物とある。もう一つ家禽に定義を加えるならば、生まれてからすぐ高度に独立した活動ができる早成(precocial)の動物と捕らえることが可能である。早成であるが故に親から隔離して飼養することが可能である。孵化直後はしばらく親鳥の世話を必要とする晩成(altricial)鳥を家禽化することは非常に困難である。早成鳥と晩成鳥の卵で興味深いことは、早成の程度が強いものほど卵に占める卵黄の量が多いことである。結果、孵化時にはヒナの体内に残存卵黄の形で存在し、有用な栄養源となる。一方で、幼動物の飼料は高価である。その理由は、飼料原料として高価なタンパク質を多く配合しなければならないからである。これまで、その理由として、速い成長速度に伴う体タンパク質の合成に必要なことからとされてきた。しかし、飼料タンパク質には、食事誘導性熱産生(DIT)を引き起こす作用がある。すなわち、体タンパク質合成ばかりに目を向けられてきたが、実は飼料タンパク質が幼動物の保温効果に貢献してきた可能性が推察される。これは、幼雛の産熱に対して体内外の栄養素の貢献が示唆されるが、栄養制御は不明のままである。

このように幼雛には何故保温が必要かという謎は未だ明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

以下の項目を大きな目的として研究を遂行した

1. 中枢における幼雛の体温調節因子とその末梢へのシグナルの同定
2. 幼雛期の筋肉における発熱調節因子の同定およびその制御の解明

3. 研究の方法

1) 中枢における幼雛の体温調節因子とその末梢へのシグナルの同定:

1. 変温動物期のニワトリヒナのエネルギー代謝に影響を及ぼす神経ペプチドを探索するために、脳室内に神経ペプチド

や栄養素を投与した。

2. 熱産生量 (HP) と呼吸商 (RQ) を算出するために、酸素消費量と二酸化炭素産生量を開放経路方式熱量測定装置で測定した。
3. 行動量に及ぼす影響は、自発運動測定装置とビデオ観察により調査した。
- 2) 幼雛期の筋肉における発熱調節因子の同定およびその制御の解明:
 1. 熱産生分子の遺伝子発現をリアルタイムPCRで測定すると共に関連酵素の活性ならびに基質濃度を測定した。

4. 研究成果

幼雛期特有の体温調節機構

CRF によって HP は増加するが、それには脱共役タンパク質 (UCP1) の挙動に類似したニワトリ脱共役タンパク質 (avUCP) やミトコンドリア陰イオン交換体 (MACP) の一つであるニワトリアデニンヌクレオチド輸送体 (avANT) の遺伝子発現は関わっておらず、ミトコンドリアへの脂肪酸輸送と β -酸化酵素の組織特異的増加によって誘発されることが示唆された (原著論文 1)。低温暴露時に視床下部 - 下垂体 - 副腎皮質 (HPA) 軸を刺激することなくニワトリヒナの体温は低下したが、同じ条件下で脳室内に CRF を投与すると、HPA 軸を刺激し、肝臓と心臓におけるミトコンドリア脂肪酸酸化酵素の遺伝子発現と酵素活性を高め、体温低下を防ぐことが判明した。この際も avUCP や avANT の遺伝子発現は体温の反応とは無関係であった。また、脳と筋肉においては変化が認められなかった (原著論文 2)。CRF の効果が組織特異的であったことから、酸化的障害の指標となるマロンジアルデヒドの水準を各組織で測定したところ、CRF により心臓と肝臓においてマロンジアルデヒドの水準が高まることが確認された (原著論文 3)。また、低温暴露により、脳と心臓のマロンジアルデヒド水準が高まることが明らかとなった (原著論文 4)。血漿におけるマロンジアルデヒドの高い水準が、低温暴露したヒナの脳室に CRF を投与した時に確認された。低温暴露下では、CRF の投与により脳のマロンジアルデヒド水準は対照に比べ低下し、CRF 受容体の拮抗薬である astressin の投与で高まった。これらの結果は、低温暴露下の酸化的損傷に対して CRF は神経保護作用を有することを示唆する (原著論文 5)。また、低温暴露下では、単離ストレ

ス条件下でも興奮状態が起こらず、鎮静・催眠状態に陥ることが確認された。この行動量の減少が体温を維持できない理由の一つと考えられた (原著論文 6)。幼雛期における熱産生能が予めの寒冷感作で誘導できるかを検討したところ、体温調節が未発達な 4 日齢雛においてさえも、熱産生能は予めの寒冷感作により亢進され、ここでは骨格筋の avUCP および転写因子の PGC-1 α mRNA 発現はともに対照区と比べて有意に上昇していた。次いで、avUCP がミトコンドリアの誘導型プロトンリークに関与しているかを確かめた。その結果、3 週齢鶏の低温区の骨格筋ミトコンドリアでは、対照区と比べ avUCP 発現の上昇、また電子伝達鎖の酸化能、ならびにアラキドン酸誘導型プロトンリーク能の上昇がみられた。したがって、骨格筋 UCP が発現していれば幼雛期の熱産生を促進するものと考えられた (研究発表 3)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文]

(原著論文 計 38 件のうちの 6 件表示)

1. Mujahid, A. and Furuse, M. Central administration of corticotrophin-releasing factor induces thermogenesis by changes in mitochondrial bioenergetics in neonatal chicks. *Neuroscience*, 155 (3):845-851. (2008). 査読有.
2. Mujahid, A. and Furuse, M. Thermogenesis in neonatal chicks exposed to acute cold stress with or without intracerebroventricular administration of corticotropin-releasing factor. *FEBS Letters*, 582(20):3052-3060. (2008). 査読有.
3. Mujahid, A. and Furuse, M. Central administration of corticotropin-releasing factor induces tissue specific oxidative damage in chicks. *Comparative Biochemistry and Physiology A, Molecular and Integrative Physiology*, 151(4):664-669. (2008). 査読有.
4. Mujahid, A. and Furuse, M. Putative neuroprotective role of centrally administered corticotropin-releasing factor in low-temperature exposed neonatal chicks. *Neuroscience*, 158(4):1571-1576. (2009). 査読有.
5. Mujahid, A. and Furuse, M. Oxidative damage in different tissues of neonatal chicks exposed to low environmental temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology A, Molecular and Integrative Physiology*, 152(4):604-608. (2009). 査読

- 有。
6. Mujahid, A. and Furuse, M. Behavioral responses of neonatal chicks exposed to low environmental temperature. *Poultry Science*, 88(5):917-922. (2009). 査読有。

(総説など 計 11 件のうちの 6 件表示)

1. Furuse, M. Behavioral regulators in the brain of neonatal chicks. *Animal Science Journal*, 78(3):218-232. (2007). 査読有。
2. Furuse, M., Yamane, H., Tomonaga, S., Tsuneyoshi, Y. and Denbow, D.M. Neuropeptidergic Regulation of Food Intake in the Neonatal Chick: A Review *Journal of Poultry Science*, 44(4):349-356. (2007). 査読有。
3. Yamane, H., Denbow, D.M. and Furuse, M. Regulation of stress responses by peptides and small nitrogenous compounds in neonatal chicks. *Avian and Poultry Biology Reviews*, 18 (4): 107-122. (2007). 査読有。
4. Yamane, H., Kurauchi, I., Denbow, D.M. and Furuse, M. Central functions of nutrients for the stress response in chicks. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 22(2):296-304. (2009). 査読有。
5. Yamane, H., Denbow, D.M. and Furuse, M. Screening dipeptides having central functions for excitation and sedation. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 9(3):300-305. (2009). 査読有。
6. Kaiya, H., Furuse, M., Miyazato, M. and Kangawa, K. Current knowledge about the roles of ghrelin in regulating food intake and energy balance in birds. *General and Comparative Endocrinology*, in press. (2009). 査読有。

[学会発表](計 27 件のうち 5 件表示)

1. Mujahid Ahmad・古瀬充宏. Thermogenesis and mitochondrial bioenergetics in neonatal chicks exposed to cold stress with or without CRF. 日本畜産学会. (2008).
2. Mujahid Ahmad・古瀬充宏. 低温暴露による新生ヒナの熱産生反応、酸化的損傷および行動における変化. 日本家禽学会. (2008).
3. 乾 恵理子・喜久里 基・松本 祐世・豊水 正昭. 低温環境馴化時における鶏脱共役タンパク質の発現応答とその機能の解明. 日本畜産学会. (2009).
4. Ahmad Mujahid・古瀬充宏. 新生ヒナにおける低温暴露による体温調節と基質の酸化. 日本家禽学会. (2009).
5. 村井篤嗣・Bae Hae-Duck・小澤堯・小林慧三・小林美里・堀尾文彦・古瀬充宏. 孵

化直後に残存卵黄を除去したニワトリヒナにおける栄養素代謝の特徴. 日本家禽学会. (2009).

[図書](計 2 件)

1. Furuse, M., Takagi, T., Bungo, T. and Denbow, D.M. Functions of L-pipecolic acid as an L-lysine metabolite in the brain. In: *Trends in Brain Mapping Research* (Edited by Chen FJ), pp. 145-165. (2006). NOVA Science Publishers Inc., Hauppauge NY, USA.
2. Furuse, M., Adachi, N., Tomonaga, S., Yamane, H. and Denbow, D.M. Central functions of green tea components. In: *Handbook of Green Tea and Health Research* (Edited by Helen McKinley and Mark Jamieson), pp. in press. (2009). NOVA Science Publishers Inc., Hauppauge NY, USA.

[産業財産権]

○出願状況(計 4 件)

名称: 睡眠誘導剤、ストレス性不眠症改善剤
発明者: 韓力・速水耕介・富 裕孝・古瀬充宏・山根春香
権利者: 韓力・速水耕介・富 裕孝・古瀬充宏・山根春香
番号: 特許公開 2008-56628
出願年月日: 2006 年 9 月 1 日
国内外の別: 国内

名称: 抗不安剤
発明者: 韓力・速水耕介・古瀬充宏
権利者: 韓力・速水耕介・古瀬充宏
番号: 特許公開 2008-105977
出願年月日: 2006 年 10 月 24 日
国内外の別: 国内

名称: 睡眠誘導剤、ストレス性不眠症改善剤
発明者: 韓力・速水耕介・古瀬充宏・山根春香
権利者: 韓力・速水耕介・古瀬充宏・山根春香
番号: 特許公開 2008-189573
出願年月日: 2007 年 2 月 2 日
国内外の別: 国内

名称: 自発運動促進剤
発明者: 古瀬充宏・恒吉洋佑・森下幸治
権利者: 古瀬充宏・恒吉洋佑・森下幸治
番号: 特許公開 2008-255087
出願年月日: 出願日 2007 年 9 月 6 日
国内外の別: 国内

○取得状況（計1件）

名称：睡眠誘導剤、ストレス性不眠症改善剤
発明者：韓力・速水耕介・古瀬充宏
権利者：韓力・速水耕介・古瀬充宏
番号：特許第 3999249 号
国内外の別：国内

〔その他〕
ホームページ等

<http://www.brs.kyushu-u.ac.jp/~animals/>
<http://www.agri.tohoku.ac.jp/aninutr/>
<http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~anutr/>

6．研究組織

(1)研究代表者

古瀬 充宏 (FURUSE MITSUHIRO)
九州大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号：30209176

(2)研究分担者

豊水 正昭 (TOYOMIZU MASA AKI)
東北大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：80180199

村井 篤嗣 (MURAI ATSUSHI)
名古屋大学・大学院生命農学研究科・准教授
研究者番号：10313975