

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15645

研究課題名(和文)熱ストレス誘導性の体脂肪蓄積亢進メカニズムの解明

研究課題名(英文)Studies on the mechanisms of heat stress-inducing fat accumulation

研究代表者

徳武 優佳子 (Tokutake, Yukako)

東北大学・農学研究科・助教

研究者番号：90824657

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)：本研究では、慢性暑熱が肉用鶏の肝臓・脂肪組織における脂肪蓄積に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。暑熱負荷は全身のエネルギー基質利用の変化に携わるほか、肝臓・脂肪組織における脂肪の合成・蓄積亢進にも作用していることが明らかとなった。なかでも、リポプロテインリパーゼの活性増加は暑熱特異的に生じており、暑熱区においては脂質を積極的に脂肪組織に取り込むよう働いていると考えられた。また、これまで暑熱下における脂肪蓄積の主要因と考えられてきたコルチコステロンの発現増加は、今回確認されず、暑熱負荷ではコルチコステロンとは異なる因子が脂肪蓄積促進に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来までの家禽の熱ストレス研究では、コルチコステロンが脂質代謝異常の成因であると考えられてきた。一方、ホルモン分泌の観点のみでは脂質代謝亢進に矛盾が生じる点があった。その点で本研究は、熱ストレスが促す脂質代謝異常のメカニズムに新たな視点から取り組み、リポプロテインリパーゼ(LPL)というターゲットを明らかにした。将来的にはLPLの制御によって、熱ストレス下の肝脂肪合成を抑制することが可能になる。暑熱による体脂肪増加は肉用鶏だけでなく、同様に筋成長能の高いブタ、ウシ等でも同様に起きていることから、将来的に様々な家畜・家禽の体脂肪蓄積・脂肪肝抑制を可能とする技術開発の先駆けとなると考えている。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to determine the effects of chronic heat stress (HS) on fat accumulation in the liver and adipose tissue of broiler chickens. The results obtained from this study are as follows.

Heat stress was involved in changes in whole-body energy substrate utilization in broiler chickens, as well as in the synthesis and accumulation of fat in the liver and adipose tissue. In particular, increased activity of lipoprotein lipase (LPL) was observed in a heat stress-specific manner, suggesting that LPL actively incorporates lipids into adipose tissue in the HS. In addition, increased expression of corticosterone (CORT), which has been considered to be a major factor in fat accumulation under heat, was not upregulated in the present study, suggesting that factors other than CORT may be involved in the promoting of fat accumulation under heat stress condition.

研究分野：動物生理学

キーワード：慢性暑熱 肉用鶏 脂肪組織 肝臓 Lipoprotein lipase

#### 1. 研究開始当初の背景

熱ストレスは、家禽産業における深刻な問題の1つである。夏季の暑熱環境はニワトリの摂食量、増体の低下をもたらすだけでなく、腹部、皮下、筋肉内での脂肪沈着を促進する。鳥類は哺乳類とは異なり、体脂肪は主に肝臓で合成・輸送され、脂肪組織は脂肪の貯蔵部位として機能する。すなわち、肝臓が体脂肪増加の中樞を担っている。熱ストレスに伴う脂質代謝のアンバランスは、肉用鶏の生産に悪影響を及ぼす。脂肪の蓄積は飼料効率を低下させるため、過剰な脂肪蓄積は肉用鶏では枝肉の減少につながる。よって、熱ストレス下における産肉量維持のためには、脂質代謝の制御が不可欠である。

体脂肪蓄積の原因として考えられているのが、ストレスホルモンである糖質コルチコイド (CORT) の分泌増加である。CORT は肝臓でのリポ脂質等の合成を促し、脂肪蓄積亢進に働く。一方、熱ストレスが必ず CORT 分泌を誘導するわけではなく、脂肪蓄積促進下で、逆に CORT 分泌が減少したことを示す文献も存在する。

したがって、熱ストレスによって脂質代謝異常が誘導されるメカニズムは、CORT 分泌の観点のみでは説明がつかず、体脂肪蓄積亢進の機序には未だ不明な点が多い。すなわち、熱ストレスを負荷すると飼料摂取量が大幅に減少するにもかかわらず、なぜ肝臓・脂肪組織では脂肪合成・蓄積が亢進するのか、そして熱ストレスによる脂質代謝の調節機構を是正するにはどの細胞内機構に働きかければ良いか不明である。

#### 2. 研究の目的

そこで本研究では、肉用鶏の肝臓・脂肪組織において何が熱ストレス誘導性の脂質代謝異常の成因となっているのかどうか明らかにすることを旨とした。

#### 3. 研究の方法

ROSS 系統ブロイラー (雄) 36 羽を 3 週齢まで飼養した後、対照 (Control; 24、湿度 55 ± 5%)、熱ストレス (HS; 32) 熱ストレス条件と同量の飼料を給餌する Pair-Fed (PF; 24) の 3 区に分け、各条件で 5 週齢まで 14 日間の飼育をおこなった。

【実験 1】生体内での脂肪合成が盛んになる時期を明らかにするために、暑熱負荷開始直後の 3 週齢のニワトリ 3 区に対して 9 点のタイムポイント (12h、1, 3, 5, 7, 9, 11, 14 day) で血液を採取し、血中のエネルギー基質パラメーター (グルコース、遊離脂肪酸、トリグリセリド、総コレステロール) 値および、CORT の量を測定した。14 日目に肝臓、骨格筋、脂肪組織をサンプリングした。

【実験 2】実験 1 より明らかになった点を踏まえ、対照区、熱ストレス区の脂肪組織 (腹腔内脂肪) をトランスクリプトーム (RNA-seq) 解析し、脂肪合成に関連する因子を網羅的に発現解析した。その中で最も発現が高い (もしくは低い) 機構を見つけ、脂肪合成関連因子の誘導メカニズムについて、転写発現調節、他の因子との相互作用の観点から調べた。

#### 4. 研究成果

##### 【実験 1】

飼育期間全体を通じた飼養成績を見ると、Control 区は最も増体が高く、HS 区・PF 区は同程度で Control の 8 割程度の増体であった。体重あたりの脂肪蓄積量を比較すると、PF 区が最も脂肪蓄積が少なく、HS 区は Control 区と比較して同程度の脂肪蓄積量を示した。体重あたりの肝臓重量、骨格筋重量には各区で大きな違いは確認されなかった。

つづいて血中代謝物の変動について明らかにした。9 点のタイムポイントを比較した結果、血中グルコース、トリグリセリド等、脂質代謝関連因子はどの点においても突出した変化はなかった。したがって、HS 区における脂肪蓄積は特定の時期に促進するのではなく、徐々に脂肪蓄積が促された結果であることが示唆された。一方で PF 区では、他の区と比較して遊離脂肪酸、総コレステロールが総じてどのポイントでも有意に高くなった。血中 CORT の量は、いずれの区においても突出した変化はなく、本実験では暑熱負荷によって CORT は増加しないことが明らかになった。

HS 区の肝臓では、Control 区と比較して de novo 脂質合成関連遺伝子の発現増加が起きていた。また、興味深いことに、HS 区の脂肪組織では他の区と比較してリポタ

ンパク質リパーゼ（LPL）の顕著な活性増加が生じていた（図1）。以上の点を踏まえると、HS区では過去の報告と同様、Control、PF区と比較して肝臓・脂肪組織における脂肪合成・蓄積の亢進が起きていることが明らかとなった。加えて、鳥類の脂肪合成の要である肝臓だけでなく、脂肪組織においてもLPLを介した脂肪取り込み促進などの変化が起きていることが明らかとなった。一方で、これまで脂肪蓄積亢進に働いていると考えられていたCORTに関しては、HS区において他の区と比較しても突出した変化がなく、脂肪蓄積亢進へのCORTの関与は薄いことが示された。

### 【実験2】

実験1を踏まえ、HS区の脂肪組織において生じている変化を明らかにするため、Control区とHS区の脂肪組織を対象としたトランスクリプトーム解析を行った。結果、440個の変動遺伝子（Fold change > 2.0, p < 0.05）が確認された。詳細な機能解析のためにGene ontology解析を行ったところ、HS区の脂肪組織ではControl区と比較して、トリグリセリドや脂肪酸などの脂質合成に関連する遺伝子の増加が見られたほか、growth factorをはじめとするサイトカインに対する応答に関わる遺伝子発現の増加が確認された（図2左）。一方で減少した遺伝子の中には、細胞分裂・増殖に関わる遺伝子などが多く含まれた（図2右）。したがって、HS区の脂肪組織では細胞分化が亢進しており、脂肪蓄積量の増加が起きたと考えられる。

【総括】以上の結果より、暑熱負荷は全身のエネルギー基質利用の変化に携わるほか、肝臓だけでなく、脂肪組織における蓄積亢進も誘導していることが明らかとなった。特に、HS区とPF区は栄養摂取量が同じである一方、起きている脂質代謝変化が異なることが示された。なかでも、LPLの活性増加は暑熱負荷特異的に生じており、HS区においては脂質を積極的に脂肪組織に取り込むよう働いていると考えられた。また、これまで暑熱下における脂肪蓄積の主要因と考えられてきたCORTの発現増加は、今回の実験系では確認されず、暑熱負荷ではCORTとは異なる因子が関与している可能性も示唆された。

図1. 腹腔内脂肪におけるLPL活性

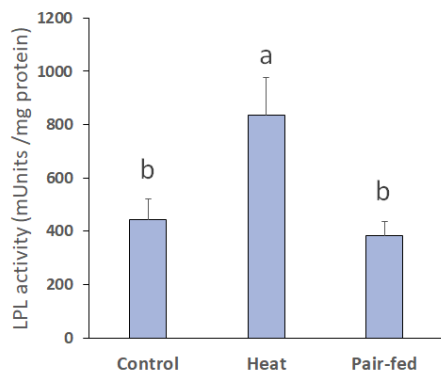
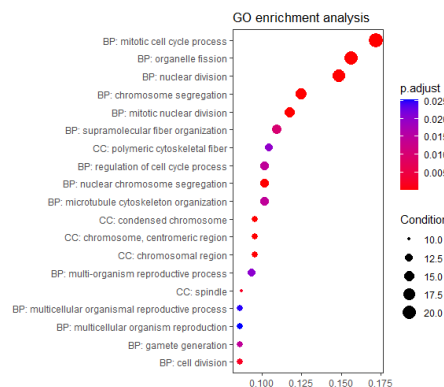
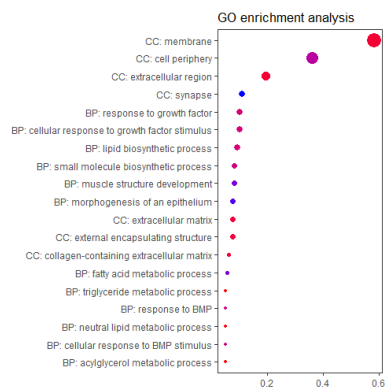


図2. HS区の変動遺伝子におけるGene ontology解析

GO: upregulated genes

GO: downregulated genes



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 徳武 優佳子、高梨 涼、喜久里 基、豊水 正昭、佐藤 幹
2. 発表標題 小胞体ストレス緩和剤4-フェニル酪酸が急性暑熱感作後の肉用鶏の血中成分と骨格筋に及ぼす効果
3. 学会等名 日本畜産学会第129回大会
4. 発表年 2021年

〔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
---------	---------