

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450292

研究課題名(和文)イルカ類の栄養吸収と細胞内での熱産生に関する分子メカニズムを解明する

研究課題名(英文) Mechanism for nutrient absorption and thermogenesis in dolphins

研究代表者

鈴木 美和 (SUZUKI, Miwa)

日本大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：70409069

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：バンドウイルカにおいて、(1)多くの栄養吸収関連遺伝子が腸全体で発現し、脂肪関連因子の発現が特に多く、腸後部で相対的に多く発現する、(2)骨格筋で甲状腺ホルモン(TH)などの作用によりATPの合成と利用、uncoupling proteinの働きを介した熱産生が盛んである可能性がある、(3)寒暖差が大きい園館のイルカで、THの血中濃度が冬季に低下し、ニューロペプチドYの濃度が秋冬に上昇する、(4)イルカ細胞へのTH投与によりATP量が有意に増加する、ことが判明した。以上から、イルカは腸で栄養素を盛んに吸収し、強大な骨格筋でこれを利用して熱を発するが、冬は代謝を下げて脂肪をためると示唆された。

研究成果の概要(英文)：Our studies in bottlenose dolphins revealed that (1) molecules involving in digestion and absorption of nutrients are expressed throughout the intestine with most abundant distribution in the posterior region of the intestine and the strongest expression of lipid-related molecules, (2) thermogenesis may occur mainly in the skeletal muscle through metabolic processes induced by TH and functions of uncoupling protein 3, (3) circulating T4 level is decreased in winter and NPY level is increased in autumn and winter in dolphins at an aquarium in which water temperature in the pool fluctuates greatly, and (4) cellular ATP synthesis is increased by both of T3 and T4 administrations in comparison with control. Collectively, it is suggested that dolphins may generate heat in the skeletal muscle under the control of TH by using nutrients absorbed actively throughout the intestine, but their metabolic activity may be suppressed in winter, possibly for fat accumulation.

研究分野：海生哺乳類の生理学

キーワード：栄養摂取 熱産生 熱保持 鯨類

1. 研究開始当初の背景

(1) 鯨類は、熱を奪われやすい媒質 (= 水) に常に曝されているが、約 37 の体温と高い運動機能を維持している。彼らは厚い脂肪層を皮下に形成し、血管の熱対向流システムを発達させて体熱の損失を防ぐと共に、長い腸で多くの栄養素を摂取し、代謝を高めて熱を産生すると推測されているが (Williams et al. 2001)、熱産生機構は不明であった。

(2) 動物の熱産生機構はふるえと非ふるえによるものがあり、恒常的には後者が使われ、ATP の合成や利用に伴い熱が放出される、脱共役タンパク質 (UCP) がミトコンドリア内膜の H⁺ 濃度勾配を打ち消し、電子伝達と ATP 合成との共役を解消して栄養素の分解で生じる化学エネルギーを直接熱へと変換する、という仕組みで熱が作られる (Harper & Seifert 2008)。骨格筋、肝臓、腸管、褐色脂肪細胞で非ふるえ熱産生が活発であり、陸上哺乳類ではノルアドレナリン (NA) や甲状腺ホルモンが熱産生に関わる (Gong et al. 1997)。

(3) 我々は、イルカにおいて腸の全域で栄養と水が吸収される (Suzuki 2010)、NA が体温上昇に関与する (Suzuki et al. 2012)、骨格筋で甲状腺ホルモンとアドレナリンの各受容体 UCP-3 が発現している (未発表)、ことを突きとめた。以上の知見を総合し、鯨類は多くの栄養素を摂取し、彼らの強大な骨格筋でホルモンの統制下で熱産生を積極的に行ない必要な熱を産生していると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、イルカの栄養吸収能とミトコンドリアでの熱産生に関わる分子機構を併せて明らかにすることを目指した。

(1) 鯨類の熱産生を支える多くの栄養素が腸で吸収される機構を分子生理学的に究明することを目指した。

(2) 各器官における熱産生関連因子の発現を比較することにより、熱を活発に産生している器官を特定することを目指した。

(3) イルカから通年採血を行い、熱産生に関連すると予測される各種ホルモンの血中濃度を測定し、水温変化に連動して濃度変化が起きる物質を絞り込むことを目指した。

(4) 熱産生への関与が示唆されたホルモンをイルカの培養細胞に添加し、ATP 産生の様子を追跡することにより、熱産生の分子機構に果たす役割を確かめることを目指した。

3. 研究の方法

(1) 腸での栄養吸収機構の解明

次世代シーケンサおよび RT-PCR により、腸で栄養素の消化吸収に関わる輸送体をスクリーニングした。併せて免疫染色 (IHC) や Western blotting (WB) により、候補分子のタンパク質としての分布を調べた。

(2) 熱産生器官の探索

骨格筋、腎臓、肝臓、腸管、脂肪組織を標的の器官として、次世代シーケンサと RT-PCR により RNA 発現を解析し、熱産生関連因子の発現をスクリーニングした。発現が認められた熱産生関連因子のタンパク質の各器官における分布を IHC や WB により確かめた。

(3) 熱産生に関与するホルモンの特定

水族館で飼育されているイルカから通年採血を行い、代謝に関わる複数のホルモンの血中濃度を免疫測定法により測定し、水温に連動した変化が認められる物質を特定した。

(4) 熱産生の分子機構の解明

イルカの培養細胞に対し、熱産生への関与が示唆されたホルモンを投与し、ATP 産生の変化を測定することにより、熱産生に対する機能を確認した。

4. 研究成果

(1) 腸での栄養吸収機構の解明

和歌山県太地町のいるか追込み漁で捕獲されたバンドウイルカ1頭の腸粘膜組織(腸の前部, 中部, 後部)を用いてRNA-seqを行った結果, 栄養素の消化吸収および水分の吸収や細胞の浸透圧調整に関与している分子について, いずれも腸全域で発現しており, 特に腸の中部から後部にかけて発現量が高く, また鯨類特異的な水チャネルが腸で発現していること(業績:雑誌論文), 脂肪の消化吸収に関連する分子群の発現量が相対的に非常に多いと各々推測された. 続いて4頭のバンドウイルカの腸(前部, 中部, 後部)を用いて消化吸収関連分子の発現量を比較したところ, 後部で発現が多いことが確認された. Arginyl aminopeptidase, lactase, aquaporin-1, solute carrier family 6 member-19, sodium-glucose cotransporter-1, Na/K-ATPase α については, 腸粘膜上の吸収細胞での発現分布が明らかになった(学会発表, , , 投稿準備中).

(2) 熱産生器官の探索

和歌山県太地町のいるか追込み漁で捕獲された4頭のバンドウイルカの10器官を用いて, 甲状腺ホルモン受容体(THRB), ノルアドレナリン受容体(ADRB3), UCP3の発現分布, およびATP量を各々調べた. その結果, THRBとADRB3は調べた全器官に発現し, またいずれも骨格筋で最も多く発現していた. UCP3は骨格筋にのみ発現していた. さらにATP量も背側筋で最も多かった. 以上のことから, バンドウイルカにおいては, THとNAがそれらの受容体とUCP3の共存する巨大な骨格筋に主に作用し, 細胞の代謝亢進やUCP3を活発にすることで熱産生が促され, 水中生活を支えられるだけの熱が産生されると示唆された(学会発表, , 投稿準備中).

(3) 熱産生に関与するホルモンの特定

水族館のイルカから通年採血を行い, 甲状腺ホルモン(total-T4およびT3, free-T4およびT3), インシュリン, アディポネクチン, ニューロペプチドY(NPY), 副腎皮質ステロイドホルモンなど, 代謝に関連のある血中濃度を免疫測定法により測定し, 水温に連動した変化が認められる物質を特定した. その結果, totalT4について, 年間で寒暖差の大きい園館においてのみ血中濃度が冬季に有意に低下した. したがって, バンドウイルカでは寒期にはTHを介する代謝亢進や熱産生は起こらないこと, およびTHは脂肪分解を促進する作用も持つため, 寒期にはT4を減少させることで脂肪を蓄積を促進すると考えられた. また, NPY濃度が複数の園館において秋冬に上昇したことから, 冬季の寒冷適応として脂肪を蓄えるために食欲を増進させると示唆された(学会発表, , 投稿準備中).

上記と併せて, NPYの受容体の発現分布を調べたところ, Y1受容体が脳と皮下脂肪の両組織において発現が確認されたことから, バンドウイルカにおいてもNPYが食欲の増進および脂肪蓄積の促進に関与することが示唆された. なお, 皮下脂肪でY1受容体が相対的に多く発現していたことから, NPYが脂肪蓄積に強く関与していると考えられた.

(4) 熱産生の分子機構の解明

イルカの培養細胞(Dol-KT1)を用いて, 熱産生への関与が示唆された甲状腺ホルモン(T3およびT4)を投与し, 細胞中のATP量の変化を測定することにより, イルカにおいてもTHが細胞の代謝促進を行なうか否かを確かめた. その結果, T3およびT4のいずれについても, イルカ腎培養細胞への添加によりATP合成が有意に亢進されることが確かめられた. このことから, 冬季の血中TH濃度の低下によりイルカ体内の代謝を抑制されるという上記(3)の考察が支持された(学会発表,).

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Suzuki M, Wakui H, Itou T, Segawa T, Inoshima Y, Maeda K, Kikuchi K (2016) Two isoforms of aquaporin 2 responsive to hypertonic stress in the bottlenose dolphin. J. Exp. Biol. 219: 1249-1258. (査読有)

[学会発表](計6件)

Suzuki M, Banno K, Usui T, Funasaka N, Segawa T, Munakata A, Ueda K, Kirihata T, Seasonal changes in circulating thyroxin levels and the effect of thyroid hormones on cellular ATP synthesis in common bottlenose dolphin, The 22nd Biennial Conference on Marine Mammals, H29.10.22-27, Halifax Convention Centre (Halifax, Nova Scotia, Canada)(発表確定)(査読有)

坂野香穂, 鈴木美和, 朝比奈潔, 船坂徳子, 棟方有宗, 桐畑哲男, バンドウイルカにおける体温保持関連ホルモンの探索 —季節に伴う血中ホルモン濃度の変化—, 平成28年度日本水産学会秋季大会, H28.9.10, 近畿大学奈良キャンパス(奈良県奈良市)

小野ゆかり, 臼井俊樹, 朝比奈潔, 鈴木美和, イルカにおける腸の消化吸收機構の解明, 平成28年度日本水産学会秋季大会, H28.9.10, 近畿大学奈良キャンパス(奈良県奈良市)

Suzuki M, Kaneko T, Kobayashi A, Bottlenose dolphin can absorb nutrients and water throughout their extreme-long intestine: structures of the intestinal mucosa and distribution of channels and transporters, The 21st Biennial Conference on Marine Mammals, H27.12.15, Hilton Union Square (SF, CA, USA)(査読有)

鈴木美和・宮永智美・小林愛子・朝比奈潔・岩崎俊秀, バンドウイルカ腸管の絨毛

構造と栄養と水の吸収に関わる分子の発現解析, 平成27年度日本水産学会秋季大会, H27.9.24, 東北大学川内北キャンパス(宮城県仙台市)

臼井俊樹・鈴木美和・朝比奈潔・瀬川太雄・木白俊哉, バンドウイルカにおける主要熱産生部位の推定, 平成27年度日本水産学会秋季大会 H27.9.24, 東北大学川内北キャンパス(宮城県仙台市)

[図書](計2件)

Suzuki M, Ortiz RM(2015) Water balance. In: Marine mammal physiology: Requisites for ocean living, CRC press, 356頁(pp. 139-168).
鈴木美和(2015) 鯨類を生理学的に調べる手段, 『続イルカ・クジラ学』, 東海大学出版会, 198頁(pp.55-68).

[その他]

研究代表者ホームページ

<http://kenkyu-web.cin.nihon-u.ac.jp/Profiles/69/0006806/profile.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 美和 (SUZUKI, Miwa)

日本大学・生物資源科学部・准教授
研究者番号: 70409069

(2) 研究分担者なし

(3) 連携研究者

伊藤 琢也 (ITOU, Takuya)

日本大学・生物資源科学部・教授
研究者番号: 20307820

船坂 徳子 (FUNASAKA, Noriko)

三重大学・生物資源学部・助教
研究者番号: 50616175