

ニワトリの産卵期における血清タンパク質、 リポタンパク質及び糖タンパク質に関する研究

七條喜一郎*・竹内 崇*・鈴木 實*

平成元年5月31日受付

Studies of Serum Proteins, Lipoproteins and Glycoproteins in Laying Hens

Kiitirou SITIZYO*, Takashi TAKEUCHI* and Minoru SUZUKI*

In this study, changes of concentration of serum protein, lipoprotein and glycoprotein in fowls were examined during the 20 weeks after laying begins.

Serum total protein of laying hens (6.8g/dl) was higher than that of off-laying hens (4g/dl). In the sera of laying hens, a specific wave band was observed in the γ -globulin fraction by cellulose acetate electrophoresis. The wave band of laying hens was stained with lipid staining. It is assumed to be serum lipoprotein associated with laying.

Concentration of total serum lipid increased with laying. The total serum lipid of laying hens was higher than that of off-laying hens.

The concentration of serum lipoproteins differed between laying and off-laying period; α -lipoproteins decreased in the laying period and increased in the off-laying period, while β -lipoprotein increased in the laying period and decreased in off-laying period.

There is no significant change of serum glycoprotein associated with laying.

結 論

著者らは先にニワトリの成長過程における血球動態及び血清タンパク質^{12,13}、血法無機物質¹⁴、血清タンパク質及び糖タンパク質¹⁵などの変動について検索した。その結果、ニワトリの産卵開始時期(初産卵時期)には、赤血球数が減少し、血清総タンパク質(TP)量、総脂質(TL)量及びCa, Mg, Fe, Cu, Zn量が増加することを認めた。また石原⁹)によるとニワトリの産卵期には血清タン

パク質が産卵及び休産に伴って大きく変動し、産卵継続期には血清リポタンパク質が著明に増加することも明らかである。しかし、産卵に伴う血清タンパク分画値の変動とリポタンパク質及び糖タンパク質との関係についてはいまだ明らかにされていない点が多い。

そこで、本実験では産卵に伴う血清タンパク質の変動を追試し、血清リポタンパク質及び糖タンパク質との関係について検索した。

* 鳥取大学農学部獣医学科家畜生理学講座

* Department of Veterinary Physiology, Faculty of Agriculture, Tottori University

実験材料及び方法

実験には151~167日齢で産卵を開始したニワトリ (Hyline種) 20羽を供試した。ニワトリは近畿くみあい飼料KKの成鶏用飼料で飼育し、産卵開始直前(1~7日前)から開始後20週目まで日齢を追って検索した。採血は心臓より行い、血清タンパク質、血清リポタンパク質及び糖タンパク質の分画はCellulose Acetate膜電気泳動法(CA膜法)によって行った。なお、CA膜法の操作条件は前報¹³⁾と同様であるが、産卵継続中、初産卵前及び産卵再開前の血清は明瞭な分画像を得るために血清を生理食塩水で2倍に希釈して泳動した。泳動終了後のCA膜はタンパク染色(ポンソー3R)、脂質染色(オゾン化シッフ法)、糖染色(シッフ染色)を行い、それぞれにおける分画比をDensitometerで測定した。

血清T P量、T L量及び総糖質(TG)量の測定は紫外外部吸光法、Sulfo-Phospho-Vanilin法並びにAnthonon法でそれぞれ行った。

実験成績

1. 供試鶏の産卵状況及び血清タンパク質

供試鶏の産卵状況(1週間ごとの平均産卵数)はFig. 1

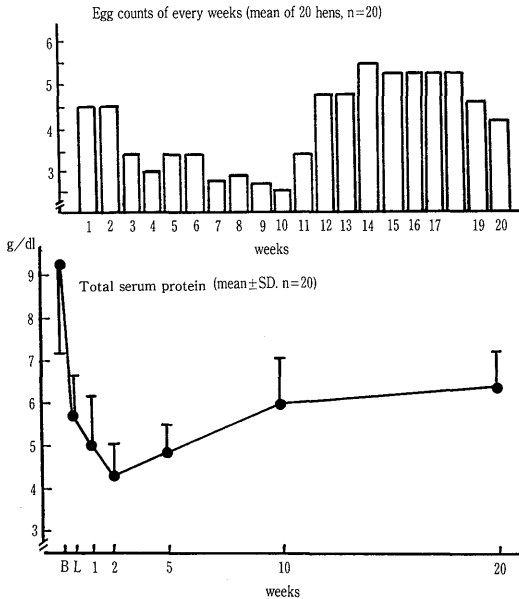


Fig.1 Changes of total serum protein value and egg counts during 20 weeks after laying begins. B : before laying begin
L : first day of laying.

に示したように、初産卵後次第に低下した後、増加して12~18週では高い産卵率で推移した。この変動を個体別にみると、実験期間中休みなく産卵したものが4例、1~2週間休産したものが7例、7~8週間の長期にわたって休産したものが9例であった。

血清T P量の変動をみると、初産卵開始後2週目まで減少した後、10週目まで増加し、20週目でもほぼ同様な値であった。この血清T P量の変動と産卵率の推移を比較すると、血清T P量は産卵率の低下前に減少し、産卵率の上昇に先駆けて増加する傾向がみられた。

Fig. 2に長期間休産したニワトリ9例の休産前後におけるT P量の変動を示した。T P量は初産卵前に7 g/dl前後の値であったが、初産卵後10~22日目に減少して、休産後17~40日までは産卵前に比べて有為に低い値(4~5 g/dl)で推移した。しかし、産卵再開前(1~12日)になると再び増加しはじめ(5~6 g/dl)産卵再開後は7 g/dl前後の高値を示した。産卵期の血清タンパク分画像は、Fig. 3にみられるように休産鶏と産卵鶏では明らかに異なっていた。すなわち、休産鶏の血清タンパク質はAlbumin (Alb), α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , γ -globulin (γ -glob)の6分画に分離した。しかし、産卵鶏の血清は γ -glob領域に特徴的な波形帯がみられ、また α_1 -globがほとんど認められず、 α_2 と β_1 -glob, β_2 と γ -globの分離が不明瞭であった。

Fig. 4に初産卵直前から20週目までの血清タンパク分画値の変動を示した。 α -globの平均値は1週目で0.3g/dl,

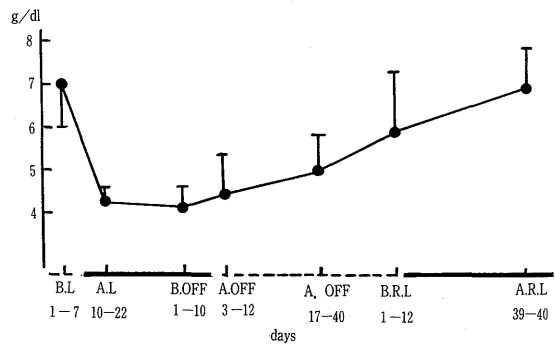


Fig.2 Changes of concentration of total serum proteins in laying and off-laying period.
B.L : before laying begin
A.L : after laying begin
B.OFF : before off-laying
A.OFF : after off-laying
B.R.L : before recommence laying
A.R.L : after recommence laying
Mean \pm SD, n=9

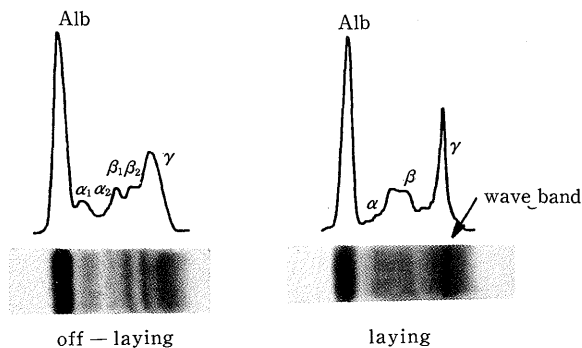


Fig.3 Electrophoretic patterns of serum proteins in laying and off-laying period. Wave band was found in γ -globulin fraction of laying hens serum.

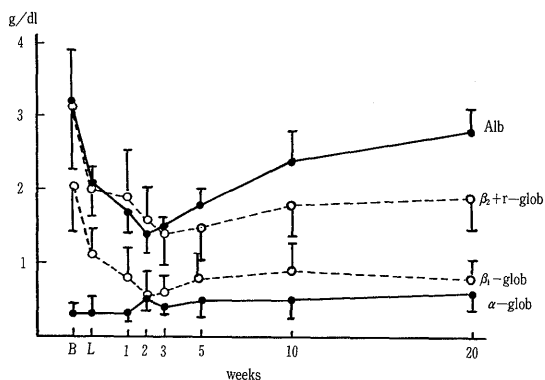


Fig.4 Changes of concentration of serum proteins during 20 weeks after laying begin.

B : before laying begin
L : first day of laying
Mean \pm SD, n=9

2週目以降は0.4~0.6g/dlの範囲で変動し、統計的には初産卵前に比べて有意に高かった ($P < 0.05$)。しかし、この成分は微量であり、また各日齢間の変動差も少なかった。Alb, β_1 及び $\beta_2 + \gamma$ -globはいずれも前述のTP量にほぼ平行して推移した。すなわち、産卵開始後2~3週目まで急速に減少し、5週齢以降増加した。しかし、この5週目以後の β_1 -及び $\beta_2 + \gamma$ -globの増加率はAlbのそれに比べて小さかった。

長期間休産したニワトリの休産前後における血清タンパク分画の相対濃度変化をみると、休産前から休産期にかけて、Alb及び α -globが増加した (Fig. 5)。これに対

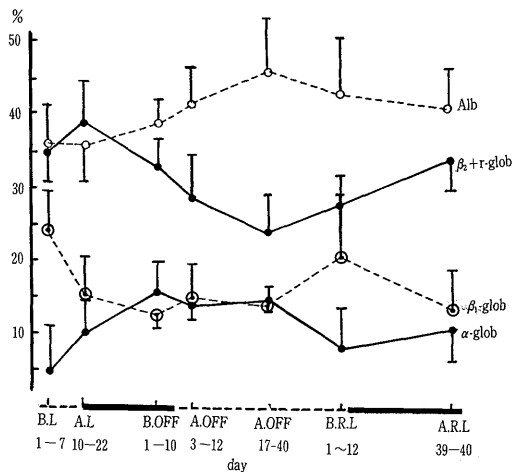


Fig.5 Changes of concentration of serum proteins in laying and off-laying period.

B.L : before laying begin
A.L : after laying begin
B.OFF : before off-laying
A.OFF : after off-laying
B.R.L : before recommence laying
A.R.L : after recommence laying
Mean \pm SD, n=9

して β_1 -glob及び $\beta_2 + \gamma$ -globの濃度比が減少し、休産期は産卵期に比べてAlbと α -globが有意に高く、 β_1 及び $\beta_2 + \gamma$ -globが明らかに低かった ($P < 0.05$)。

2. 血清リポタンパク質

初産卵前の血清TL量は平均3.5g/dlであったが、産卵開始と同時に激減し、休産期には平均0.5g/dlになった。しかし、産卵再開が近づくと再び血清TL量が増加して初産卵直前の値に近似し、産卵継続中は3.0g/dl前後の値で推移した (Fig. 6)。

産卵鶏、休産鶏及び雄の血清リポタンパク質分画のDensitographの1例をFig. 7に示した。休産鶏の血清は雄のそれと同様に α -LPと β -LPの2分画のみに分離した。しかし産卵鶏血清のそれは、これらに加えて γ -glob位置に細い縞状あるいは波形帯を形成するもう一つの成分(γ -LP)が出現した。

休産鶏のリポタンパク質分画の相対濃度はFig. 8に示したように、 α -LPと β -LPがほぼ同量であった。しかし産卵鶏では α -LPと β -LPがそれぞれ約15%にすぎず、

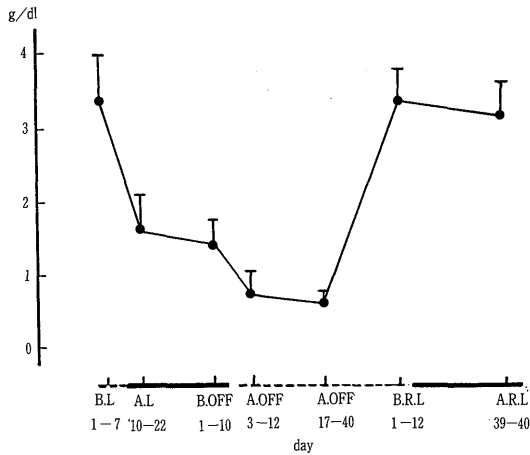


Fig.6 Changes of concentration of serum total proteins in laying and off-laying period.
 B.L : before laying begin
 A.L : after laying begin
 B.OFF : before off-laying
 A.OFF : after off-laying
 B.R.L : before recommence laying
 A.R.L : after recommence laying
 Mean±SD, n=9

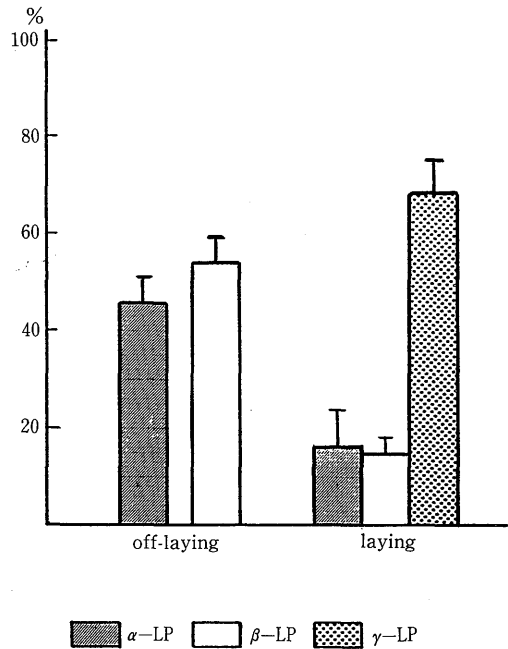


Fig.8 Concentration of lipoproteins of laying and off-laying period. Mean±SD, n=10

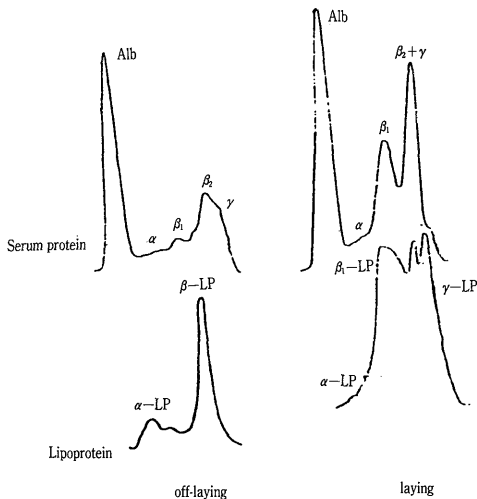


Fig.7 Electrophoretic patterns of serum proteins and lipoproteins in laying and off-laying period.

主体は γ -LP (約70%)であった。

3. 血清糖タンパク質

産卵鶏と休産鶏の血清糖タンパク質の分画像は明らかに相違していた。すなわち、休産鶏の血清糖タンパク質はAlbから γ -glob領域の血清タンパク帯に一致する成分がみられた。これに対して産卵鶏のそれは、 γ -glob領域に明瞭な波形帯がみられ、この波形帯の易動度は血清タンパク質及びリポタンパク質分画の波形帯のそれに一致していた。

血清TGP量は産卵開始前に平均128mg/dlであったものが産卵開始後1週間目には100mg/dlに減少し、その後明らかな変動を示さなかった (Fig. 9)。

産卵に伴う血清糖タンパク質の分画値の変動をみると、 α -GPは初産卵前に平均6.9mg/dlであったものが、産卵開始後2週目(11.2mg/dl)まで漸増し、その後漸減した。これに対して、 β_1 -GPは産卵開始前に平均68.4mg/dlであったものが産卵開始後急速に減少し、2週目には平均44.9mg/dlになった後、漸増した。また、 $\beta_2 + \gamma$ -GPは産卵開始後、日数が進むにつれて減少し、20週目には平均値で

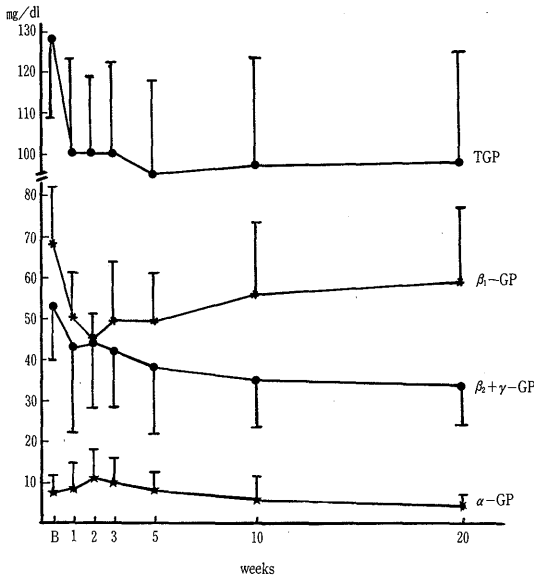


Fig.9 Changes of concentration of serum glycoproteins during 20 weeks after laying begin.

B : before laying begin
Mean \pm SD , n=20

初産卵前の約60%の値になった。

長期間休産したニワトリの休産前後の糖タンパク質の変動をみると、 α -GP及び β_1 -GPは産卵開始とともに増加し、産卵再開後は β_1 -GPが初産卵前及び休産中に比べて明らかに高い値を示した (Fig. 10)。しかし、 α -GPには産卵期と休産期で明らかな相違がみられなかった。 $\beta_2 + \gamma$ -GPは β_1 -GPと逆の変動を示し、産卵期に低く、休産期に高い値を示す傾向にあった。

考 察

1. 血清タンパク質

ニワトリの産卵期の血清TP量は未産卵期血清に比べて高値を示すことが知られている。石原⁹⁾はタンパク屈折計でニワトリ血清のTP量を測定し、初産卵15日前の血清TP量は5.1mg/dlであったが、5日前になると8.0mg/dlに増加し、初産卵当日は8.1mg/dlの高い値を示し、その後わずかに減少すると述べた。また長期間継続して産卵したニワトリの血清TP量は初産卵前と同様に高値を示すと報告している。

本実験における休産期の血清TP量は石原⁹⁾のそれに

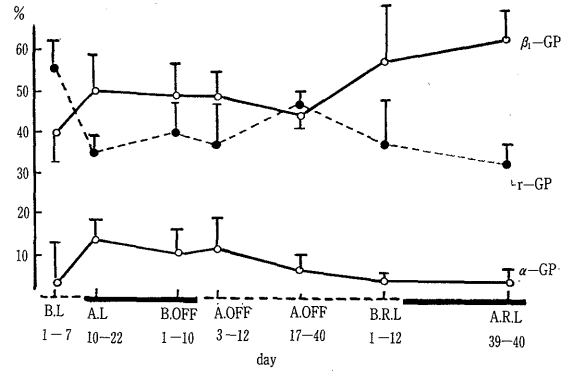


Fig.10 Changes of concentration of serum glycoproteins in laying and off-laying period.

B.L : before laying begin
A.L : after laying begin
B.OFF : before off-laying
A.OFF : after off-laying
B.R.L : before recommence laying
A.R.L : after recommence laying
Mean \pm SD , n=9

ほぼ一致していた。しかし、産卵期の血清TP量は石原の報告値が本実験の成績よりも高値であったが、いずれにしてもニワトリの血清TP量は初産卵前に増加し、産卵継続中は6~7mg/dlの高値で推移し、休産期が近づくと減少し、休産期には4~5mg/dlの値になることが明らかである。また、このTP量の変動は血清のVitelin様の混濁度の強弱にほぼ一致し、休産鶏の血清は透明で、産卵再開に伴って混濁度が強くなり、産卵継続中は黄色の混濁を呈した。したがって、血清のTP量及び血清の混濁度を測定することによって、ニワトリの産卵機能状態をある程度推測できるように思われた。

CA膜法で産卵期の血清タンパク質を分画すると、未産卵期の血清に比べて分離が悪く、しかも γ -glob領域に特徴的な波形帯がみられた。産卵期血清の γ -glob領域に分画される波形帯は低比重リポタンパク質 (LDL) であり、これを γ -LDLと仮称した報告もある⁹⁾。また、産卵継続期の血清はAlb, α_1 及び α_2 -globが減少し、 β -glob及び γ -glob+LDLが増加することが知られている^{9,10)}。

本実験において、産卵継続期及び休産前後の血清タンパク質分画像並びに分画値の変動と血清リポタンパク質及び糖タンパク質分画との関係を検索したところ、産卵継続期の α -globは休産期に比べて明らかに低値であり、リポタンパク質分画の α -LPが著名に減少していた。し

かし糖タンパク分画の α -GPには減少がみられなかった。したがって、産卵継続期の血清タンパク質の α -globが休産期のそれよりも低値を示す原因は、 α -LPの減少によるものと思われた。

一方、産卵期の血清タンパク質分画の β -glob及び γ -globが休産期に比べて高い値を示したことはリポタンパク質分画において、 β -LP及び γ -LPが著明に増加したことから考えると、やはり、これらのリポタンパク質成分の増加が関与しているものと思われる。

2. 血清リポタンパク質

ニワトリが産卵を開始し始める日齢に達すると、血清がVitellin様の混濁を示すのに伴って、血清TL量が増加する^{1,3,7-9,17}。また、産卵継続中は血清TL量が高値を示し、休産期に減少すると報告されている^{2,9}。この産卵継続期にみられる血清TLの増加は卵胞ホルモンの刺激によって、肝臓で合成されるLDLであり、卵黄の先駆物質と考えられている⁹。このようにニワトリの産卵期の血清リポタンパク質については脂質代謝の面から多くの研究がなされ、かなり明らかにされている。

本実験において産卵期の血清TL量の変動を追試すると共に、リポタンパク質をCA膜法で分画したところ、産卵継続中のTL量は休産期の約3~3.5倍の値を示し、先人の報告にほぼ一致するものであった。また、TL量は産卵率の低下に伴って減少し、産卵再開に先駆けて増加した。この様な休産及び産卵再開前におこる血清TL量の変動は前述の血清Vitellinの推移に一致していた。したがって、産卵期に増加する血清脂質はやはり石原⁹が述べたように卵黄蓄積のための変動であろうと考えられる。また、卵黄には中性脂肪及び磷脂質が多量に含まれていることから推察すると^{4,11}、産卵期に増加する血清脂質成分は、中性脂肪及び磷脂質が主体をなし、コレステロールも増加しているものと考えられる。

産卵期のニワトリ血清リポタンパク質の分画値は未成熟期及び休産期のそれに比べて α -LPが減少し、 β -LPの増加がみられる。石原⁹は本実験と同じCA膜法で初産卵前後、産卵継続期、休産期の血清リポタンパク質を検索し、初産卵前には β_2 -glob位置に幅の狭い分画帯(初産卵前のLDL)がみられ、 β_1 -glob位置に新たな分画帯が出現すると述べた。また産卵開始後、 β_1 -glob位置成分は広域に分画され、 γ -glob位置に幅の狭い分画帯(γ -LDL)がみられ、産卵継続期には β_1 -glob位置成分と γ -LDLが主体を占め、 α -glob位置成分は少ないと報告している。また、 γ -LDLはしばしば、特徴的な波形帯を形成すると述

べている。

石原が報告した産卵継続期の β_2 -LDL及び γ -LDLは、いずれも本実験における β_2 -LPであろうと考えられた。すなわち本実験において、休産前後の血清TL量、 β -LP量及び産卵率の推移とこの β_2 -LPの分画位置との関連をみると、TL量、 β -LP量が多い血清ほど β_2 -LPの分画位置が陰極側(γ -glob側)に変移していた。また、 β_2 -LPが γ -glob位置に分離した血清を生理食塩水で倍数希釈して泳動すると、その希釈倍数が大きいほど陽極側(Alb側)に変移した。したがって、産卵期の β ~ γ -glob位置にみられる幅の狭い特異的な成分は同一の成分であり、その濃度の違いによって易動度が変化するものと考えられた。また、 β_2 -LP成分が γ -glob位置に波形帯を形成する要因については不明であるが、やはり β_2 -LP濃度が関係しているように思われる。しかし、このことについては泳動条件、CA膜の特性なども関係するものと考えられる。更に詳細な検討が必要である。

3. 血清糖タンパク質

血清には糖質を含むタンパク質が約30種類知られており、血清タンパク質のほとんどが多少とも糖質を含んでいる。しかし血清中に存在する量が極めて微量なため、その生理的意義が明らかにされていない糖タンパク質もある⁶。

ニワトリの血清糖タンパク質に関する報告は比較的少ないが、Grantら⁵)によると、ニワトリの α -acid Glycoproteinは約40%の糖質を含んでおり、そのうち20%がGalactoseとMannoseであることが知られている。またJusko-Grundboekら¹⁰)はニワトリの血清Seromucoid量が産卵期に減少することを報告した。しかし、本実験における血清TGP量は産卵率の増加及び減少と明らかな相関性を示さなかった。したがって、血清TGP量に及ぼす産卵の影響は少ないものと思われる。

Vanstoneら¹⁶)は濾紙電気泳動法でニワトリの血清糖タンパク質を分画し、Alb, α , β , γ -glob位置に糖タンパク質成分を認めている。本実験においても、基本的には血清タンパク質分画成分と同様な成分に分画された。しかし、産卵期の血清では β_2 と γ 成分の分離不明瞭な例があり、また γ -glob領域に波形帯がみられた。この波形帯は前述した γ -LPの易動度に一致した。したがって、産卵期血清の γ -globの波形帯は糖質も多量に含みリポタンパク質であることが明らかになった。

血清糖タンパク質の分画値が血清タンパク質の変動に伴って推移することは、ほとんどの血清タンパク質が多

少とも糖質を含むことから考えると当然である。しかし、本実験における産卵期の血清糖タンパク質分画値は必ずしも血清タンパク質の変動に一致するものではなかった。このことは産卵に伴ってリポタンパク質が大きく変動し、リポタンパク質にも糖質が多量に含まれているためと考えられる。

以上述べたように、ニワトリの産卵期の血清TL量及び血清タンパク質分画値は産卵率の推移に伴って変動する。また、その変動には血清リポタンパク質が大きく関与しており、糖タンパク質による影響は少ないように思われた。したがって、産卵期の血清タンパク質の検索に当たってはニワトリの産卵状況を考慮すると共に、血清リポタンパク質との関連性の下に検討する必要がある。

結 論

初産卵直前から産卵開始後20週目までの血清タンパク質、リポタンパク質及び糖タンパク質の変動と産卵との関係について検索した。

血清TP量は初産卵前に未産卵期の約2倍の高い値を示した後、休産期が近づくにつれて減少し、未産卵期の値に近似した後、産卵再開前に再び増加した。

初産卵直前及び産卵継続中のニワトリ血清のタンパク質分画像には、 γ -glob領域に特徴的な波形帯がみられた。また、 α -globは極めて微量で β_1 -globとの分離が悪く、 β_2 -globと γ -globの分離も不明瞭であった。

血清TL量は、TP量と同様な推移を示し、初産卵前に休産期の約6倍の値を呈し、産卵率の低下に先駆けて減少し、順調に産卵しはじめる前に増加した。

産卵鶏のリポタンパク質分画像は休産期のそれとは異なり、 α -LP、 β -LPの他に γ -LPが存在した。この γ -LPは血清タンパク質分画像の波形帯に一致する易動度を示した。

産卵期の糖タンパク質分画像には休産期にみられない波形帯が γ -glob領域にみられ、この波形帯は血清タンパク質、リポタンパク質の波形帯に一致していた。したがって、産卵鶏にみられる特徴的な波形帯は糖質をも多量に含むリポタンパク質であることが明らかになった。

以上の結果から、産卵鶏の血清タンパク質を検索する場合には、ニワトリの産卵状況を考慮しながら、血清リポタンパク質及び糖タンパク質との関連性の下に検討する必要がある。

文 献

- 1) Bacon, W. L., Musser, M. A. and Brown, K. I. : Plasma free fatty acid and neutral lipid concentrations in immature, laying and broody turkey hens. *Poultry Sci.*, 53 1155-1160 (1978)
- 2) Butler, E. T. : Plasma proteins. in *Physiology and biochemistry of the domestic fowl*. Vol. 2. Edited by Bell, D. J. and Freeman, B. M. Academic Press, New York and London (1971) pp. 933-961
- 3) Clegg, R. E. and Ericson, A. T. : The distribution of radioactive phosphorus in the electrophoretic components of chicken blood sera. *Poultry Sci.*, 41 986-989 (1962)
- 4) Donaldson, W.E. : Lipid composition of chick embryo and yolk as affected by stage of incubation and maternal diet. *Poultry Sci.*, 46 693-697 (1967)
- 5) Grant, D. L., Martin, W. G. and Anastassiadis, P. A. : Isolation and characterization of M-1 and M-2 glycoproteins from bovine, porcine, avian plasmas. *J. Biol. Chem.*, 242 3912-3918 (1967)
- 6) 長谷 克, 金田春雄, 山本敏雄, 小林康彦, 渡辺 亨 : 糖蛋白, 特に胃癌をめぐる。臨床病理, 特. 12 28-58 (1971)
- 7) 本間運隆, 加藤俊三, 五島治郎 : 鶏血漿リポ蛋白と産卵との関係, 日畜会報, 30 392-397 (1960)
- 8) Homma, K. and Kato, S. : Levels of lipoprotein in chicken plasma. *Poultry Sci.*, 41 608-614 (1962)
- 9) 石原勝也 : 鶏の血清蛋白質とくにリポ蛋白質の変動に関する血清学的研究. 岐阜大農研報, 37 1-44 (1974)
- 10) Jusko-Grundboeck, J. and Zahor, D. : The level of seromuroid and protein bound carbohydrates in the hen sera in connection with age, breed and one year cycle. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.*, 10 72-75 (1966)
- 11) Noble, R. C. and Moore, J. H. : Studies of the lipid metabolism of the chick embryo. *Can. J. Biochem.*, 42 1729-1742 (1964)
- 12) 鈴木 實, 豊澤敬一郎, 七條喜一郎, 吉田好正 : ニワトリの成長過程における血球動態及び血清タンパクに関する研究 I. 血球動態について. 鳥大農研報, 30 60-65 (1978)
- 13) 鈴木 實, 豊澤敬一郎, 七條喜一郎, 吉田好正 : ニワトリの成長過程における血球動態及び血清タンパクに関する研究 II. 血清タンパクの変動について.

1) Bacon, W. L., Musser, M. A. and Brown, K. I. :

- 鳥大農研報, 30 66-72 (1978)
- 14) 鈴木 實 豊澤敬一郎, 七條喜一郎, 岡本 健: ニワトリの成長過程における血清無機物質に関する研究. 鳥大農研報, 31 112-117 (1979)
- 15) 鈴木 實, 豊澤敬一郎, 七條喜一郎, 岡本 健: ニワトリの成長過程における血清リポタンパク及び糖タンパクに関する研究. 鳥大農研報, 31 105-111 (1979)
- 16) Vanstone, W. E., Maw, W. A. and Common, R. H. : Levels and partition of the fowls serum proteins in relation to age and egg production. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 33 891-903 (1955)
- 17) Yu, J. Y-L., Campbell, L. D. and Marquardt, R. R. : Immunological and compositional patterns of lipoproteins in chicken (*Gallus domesticus*) plasma. *Poultry Sci.*, 55 1626-1631 (1976)