

育成初期の卵用鶏における成長に伴う腸管アミノ酸吸収変化の検討

柴田 実可子¹・高橋 辰行¹・小酒井 貴晴²・黒瀬 陽平¹

¹ 北里大学獣医学部, 青森県十和田市東二十三番町 35-1 〒034-8628

² 山形大学地域教育学部, 山形市小白川町 14-12 〒990-8560

2019 年 11 月 25 日受付, 2020 年 1 月 30 日受理

要 約

養鶏現場において、飼料自給率の向上や肉用鶏（ブロイラー）特有の旺盛な摂食行動が引き起こす生産病の改善は喫緊の課題である。これらの課題を解決することを目的として、我々は、ブロイラーの腸管からの栄養素吸収に着目して研究を行ってきた。その結果、5 週齢の回腸遠位からのアミノ酸吸収能は、1 週齢よりも上昇していた。しかしながら、これがブロイラー特有の応答であるかは不明である。本研究では、1 週齢および 5 週齢の卵用鶏（レイヤー）を用いて、回腸遠位におけるアミノ酸吸収およびアミノ酸輸送担体遺伝子の発現量を比較検討した。絶食時の血中 α -アミノ態窒素濃度は 1 週齢よりも 5 週齢で有意に高かった ($p = 0.003$)。短絡電流解析法を用いた回腸遠位におけるアミノ酸混合液刺激は、両週齢共に短絡電流値を上昇させた。また、5 週齢の I 短絡電流値は、1 週齢よりも有意に高かった ($p = 0.035$)。膜コンダクタンスには、測定したすべての時間において両週齢で有意な差は見られなかった。回腸遠位におけるアミノ酸輸送担体の遺伝子発現量は、ASCT1 (Slc1a4), ATB⁰⁺ (Slc6a14), EAAT3 (Slc1a1), B⁰AT1 (Slc6a19), y⁺LAT1 (Slc7a7), b⁰⁺AT (Slc7a9) において 5 週齢の方が 1 週齢よりも有意に高かった ($p < 0.05$)。以上の結果より、5 週齢のレイヤーでは、1 週齢よりも回腸遠位におけるアミノ酸輸送担体の遺伝子発現量が増加し、それによりアミノ酸吸収も増加することが示唆された。

キーワード：アミノ酸, 回腸遠位, 吸収, 成長, 卵用鶏

東北畜産学会報 70 (1) : 7~13 2020

緒 言

国内の鶏肉および鶏卵生産に用いられている給与飼料は、穀物飼料であり、そのほとんどが輸入に依存している。そのため、飼料自給率は極めて低く、これを改善することが望まれている。また、肉用鶏（ブロイラー）においては、ブロイラー特有の摂食量の増大に伴う急速な増体が脚の機能障害、脂質代謝異常、循環器障害と

いった生産病を誘発し、これらはしばしば問題となっている (Leenstra, 1986; 秋葉, 1990; Julian, 1998; Vestergaard と Sanotra, 1999)。よって、これらの問題を解決するためには、成長ステージにおける適切な栄養管理が必要である。口腔から摂取された栄養素は、体内への入り口である腸管から吸収されて初めて生体内で利用される。したがって、腸管からの栄養素吸収を制御することは、これら養鶏現場で生じている問題を解決する糸口となる。

栄養素の中でもアミノ酸は筋肉を始めとしたタンパク質合成、浸透圧調節、ホルモン分泌調節、遺伝子発現調節において極めて重要な役割を担っている (Wu, 2009)。自然界に存在するアミノ酸は 300 種以上と言わ

* 連絡者：黒瀬 陽平 (くろせ ようへい)
(北里大学獣医学部)
〒034-8628 青森県十和田市東二十三番町 35-1
Tel: 0176-23-4371 Fax: 0176-23-8703
E-mail: kurose@vmass.kitasato-u.ac.jp

れており、これらアミノ酸は各種アミノ酸輸送担体によって細胞内に取り込まれる。現在報告されているアミノ酸輸送担体は、20 種以上存在し、主に腎臓と小腸で確認されている (Bröer, 2008)。多種あるアミノ酸は、その化学的性質 (中性, 塩基性, 酸性) に応じてそれぞれの輸送担体で細胞内へ輸送される (Lerner, 1987)。また、 Na^+ , K^+ , H^+ あるいは Cl^- などのイオンと共役して細胞内に取り込まれる輸送担体も存在する (Hyde ら, 2003)。また、アミノ酸の細胞内への輸送経路には、輸送担体を介した促進拡散による経路と Na^+/K^+ -ATPase などを利用し濃度勾配に逆らって輸送を行う能動輸送の経路がある (Stevens ら, 1984)。このような複数の輸送担体および輸送経路を使い分けることで、腸管は多種あるアミノ酸を吸収している。

我々はこれを踏まえ、孵化直後の 1 週齢および出荷前の 5 週齢のブロイラーにおける腸管 (十二指腸, 空腸近位, 空腸遠位, 回腸近位, 回腸遠位) からのアミノ酸吸収をこれまで検討してきた。その結果、回腸遠位において最も吸収が高く、その吸収は 1 週齢よりも 5 週齢の方が上昇していた (Shibata ら, 2019a)。さらに、回腸遠位においてアミノ酸輸送担体の遺伝子発現量 (ASCT1, EAAT3, B⁰AT1, y⁺LAT1) も上昇していたことから、これらアミノ酸輸送担体の発現量が高まることによって、アミノ酸吸収も高まることが示唆された。一方で、我々は、5 週齢ブロイラーの空腸におけるグルコース吸収は 1 週齢よりも著しく低下し、この低下にはグルコース吸収関連遺伝子 (SGLT1, Na^+/K^+ -ATPase, GLUT2) の発現量と消化酵素 (マルターゼ) の酵素活性は関与しないことを明らかにした (Shibata ら, 2019b)。興味深いことに、同時に検討を行った卵用鶏 (レイヤー) においては、5 週齢の空腸からのグルコース吸収は 1 週齢よりもやや上昇していたことから (Shibata ら, 未発表データ)、成長に伴う腸管グルコース吸収の変化は系統によって異なることが示唆された。このことから、成長に伴う腸管アミノ酸吸収の変化も系統間で異なる可能性が考えられた。しかしながら、レイヤーにおける腸管アミノ酸吸収の成長に伴う変化については未だ検討されていない。そこで本研究では、他系統のニワトリとの比較によってブロイラーの腸管アミノ酸吸収の特徴を理解することを目的として、1 週齢および 5 週齢のレイヤーを用い、回腸遠位におけるアミノ酸吸収およびアミノ酸輸送担体の遺伝子発現量を週齢間で比較検討した。

材料および方法

本研究におけるすべての動物実験は、北里大学獣医学部動物実験に関する規程に基づき、獣医学部動物実験倫理委員会の審査を経て実施された。

供試動物と飼育条件

1 週齢 (41 ± 3 g) および 5 週齢 (455 ± 6 g) のレイヤー系ジュリア種を用いた。購入した有精卵 (小岩井農牧株式会社, 岩手) を自動転卵装置付き孵卵機 (株式会社昭和フランキ, 埼玉) 内で 37 ± 0.5 °C で加温した。孵化後、育雛器内で 1-3 週齢までは 30 ± 2 °C, 3-5 週齢までは 28 ± 2 °C で飼育した。飼育環境は 24 時間点灯とし、飼養条件は孵化後 5 週齢まで同一飼料 (マル中印ブロイラー肥育前期用配合飼料ヒナ餌付け E, 中部飼料株式会社, 愛知) を自由採食・自由飲水とした。すべての実験の前に腸管の内容物を除去するために、1 週齢では 12 時間、5 週齢では 24 時間の絶食を行い、雌雄無作為に選択し、実験に用いた。

血中 α -アミノ態窒素濃度の測定

腹腔内にペントバルビタール (ナカライテスク株式会社, 京都) を 50 mg/kg BW で投与し、侵害反射が見られなくなり深麻酔下であることを確認した後、開腹し、心採血を行った。採取した全血を遠心 ($1,500 \times g$, 4 °C, 15 分間) し、血漿を採取した。血漿 α -アミノ態窒素濃度は Lee と Takahashi (1966) の方法に基づいて測定した。まず、除タンパクのため、血漿サンプルまたはスタンダード溶液 (グリシン 36 mM, アスパラギン酸 36 mM) に対し 3 倍容量の 5% トリクロロ酢酸を加えて遠心 ($1,500 \times g$, 4 °C, 15 分間) し、上清を回収した。スタンダード溶液または上清サンプルに対して 50 倍容量の発色液 (クエン酸 1 水和物 228 mM, ニンヒドリン 12.6 mM, アスコルビン酸 0.5 mM, 2-メトキシエタノール 40 %, pH 5.6) を加えた。20 分間煮沸した後、氷上で 5 分間静置し、570 nm の波長で吸光度を測定した。

短絡電流解析法による起電性アミノ酸吸収の検討

腹腔内にペントバルビタールを過剰投与 (200 mg/kg BW) し、頸動静脈放血によって安楽死させた。速やかに回腸遠位を採取した。組織を、100 % O_2 で 30 分間バブリングした 40 °C の 10 mM D-グルコース含有 Krebs Ringer Buffer (KRB) 溶液 (NaCl 127 mM, KCl 4 mM, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2 mM, HEPES 10 mM) で満たされたシリコントレイに移した。実体顕微鏡下 (Leica

S9D, Leica, ドイツ) で筋層を剥離し、一枚のシート状にした。作製した粘膜組織を Ussing chamber システム (SEIMI 株式会社, 日本) に装着し、粘膜側および漿膜側のチャンバーに上記の KRB 溶液を 10 ml ずつ充填した。40 °C, 100 % O₂ バブリング下で 15 分間の前培養を行った。その後、両チャンバーの培養液を除去し、D- グルコース非含有 KRB に置換した。1 M NaCl で溶解した 4 % アガロースゲルから作製した銀-塩化銀電極をチャンバーにセットし、ボルテージクランプアンプ (CEZ-9100, 日本光電株式会社, 東京) および MacLab 8 (ADInstruments 株式会社, オーストラリア) に接続して測定を開始した。能動的イオン輸送により生じる電位差を測定するために、実験前に分極電圧および液間抵抗の補正を行い、受動輸送による溶液中のイオン輸送がない状態で測定を行った。1 週齢および 5 週齢の回腸遠位における能動輸送を介した起電性アミノ酸吸収を検討するために、アミノ酸混合溶液 100 μ L (終濃度 10 mM として各アミノ酸濃度 1 mM : L-アラニン (Ala), L-アスパラギン (Asn), L-グルタミン酸 (Glu), L-リシン (Lys), L-ヒスチジン (His), L-グルタミン (Gln), L-セリン (Ser), L-メチオニン (Met), L-トリプトファン (Trp), L-グリシン (Gly)) 添加による短絡電流値 (I_{sc} (μ A)) の変化を測定した。測定開始 10 分, I_{sc} の安定を確認し、粘膜側にアミノ酸混合溶液またはコントロールとして水を添加し, I_{sc} の経時変化を測定した。組織の状態を評価するために、培養終了時に塩化カルバコール (シグマアルドリッチ株式会社, アメリカ) (終濃度: 100 μ M) を漿膜側に添加し, Cl⁻ 分泌による I_{sc} の上昇を確認した。また、刺激後 10 分間の最大値から刺激直前の数値を減算した値を ΔI_{sc} とした。単位面積あたりの短絡電流値を算出するため、すべての I_{sc} をチャンバーの開口面積 (0.5 cm²) で除算した (μ A/cm²)。さらに、細胞間イオン透過性の指標として膜コンダクタンスを測定した。 I_{sc} 測定時, 1 分毎に 1 秒間, 10 mV の

コマンドパルス組織に与えながら I_{sc} を測定し、抵抗値 (R) をオームの法則 ($R = E/I$) に基づいて算出した。抵抗値の逆数 ($S = 1/R$) をチャンバーの開口面積 (0.5 cm²) で除算した値 (S/cm^2) を膜コンダクタンスとした。膜コンダクタンスは、すべての実験区においてアミノ酸混合溶液添加時を 0 分とし、刺激前 5-0 分, 刺激後 0-5 分, 刺激後 5-10 分の各時間帯における平均値を用いた。

アミノ酸輸送担体の遺伝子発現量の解析

短絡電流解析と同様の方法で回腸遠位を採取し、スパーテルを用いて上皮組織を剥離した。予め RNAlater (サーモフィッシュサイエンティフィック株式会社, アメリカ) を加えたマイクロチューブに移し、4 °C で一晩静置した後、実験に使用するまで -80 °C で保存した。採材した組織は RNAiso plus (タカラバイオ株式会社, 滋賀) でホモジナイズし、Acid Guanidium-Phenol-Chloroform (AGPC 法) によって RNA を抽出した。電気泳動により RNA の品質を簡易的に確認し、NanoDrop (サーモフィッシュサイエンティフィック株式会社, アメリカ) を用いて total RNA の濃度を測定した。その後、500 ng の total RNA から ReverTra Ace qPCR RT Master Mix kit with gDNA Remover (東洋紡株式会社, 大阪) を用いて DNase 処理および逆転写反応により cDNA を作製した。THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (東洋紡株式会社, 大阪) を用いて StepOnePlus™ Real-Time PCR System (サーモフィッシュサイエンティフィック株式会社, アメリカ) によってリアルタイム PCR を行った。発現量は段階的に希釈したスタンダードを用いた検量線より定量した。また、ハウスキーピング遺伝子 (β -actin) を用いて定量値を補正し、各遺伝子の発現量は相対定量とした。使用したプライマーは、以下の表に示した。

表 1. アミノ酸輸送担体遺伝子発現量の解析に用いたプライマー

Primer		Sequence	Accession No.	Product size (bp)
Slc1a4 (ASCT1)	Forward	TTG GAG GCC ATT GGA CTT CC	XM_001232899.5	102
	Reverse	GGC ATC CCC TTC CAC ATT CA		
Slc6a14 (ATB ⁰⁺)	Forward	CTG CAG TAA AAC ACG CCT CG	XM_426267.1	97
	Reverse	CGT GAG GTT GTT GCT TGC AA		
Slc1a1 (EAAT3)	Forward	CGG ACA GGA AGG GAT GTA GC	XM_424930.6	91
	Reverse	ACT CCA ATA CCC AGC AGC AC		
Slc6a19 (B ⁰ AT1)	Forward	TTG AGC AAA TGC AGC AGC TG	XM_419056.6	112
	Reverse	CCG GTT CCT TCA ACT CCC TC		
Slc7a7 (y ⁺ LAT1)	Forward	GCT CCT GCT AAA TGC CCT TTG	XM_418326.6	110
	Reverse	AGA TCA GCA CGA CGT ACA GC		
Slc7a9 (b ⁰⁺ AT)	Forward	CCA GGT TGT GAT CCA CCT CC	NM_001199133.1	99
	Reverse	GCT TCC CAG CTT CAC ACT CA		
Actb	Forward	TGC GTG ACA TCA AGG AGA AG	NM_205518.1	110
	Reverse	GAC CAT CAG GGA GTT CAT AGC		

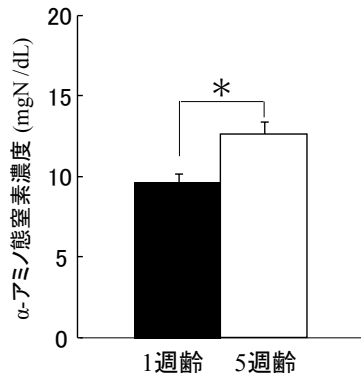


図1. 1週齢および5週齢レイヤーにおける絶食時の血中 α -アミノ態窒素濃度
 平均値 $\pm$ 標準誤差 (各 $n = 7$: 雌 $n = 3$, 雄 $n = 4$)
 * $p < 0.05$

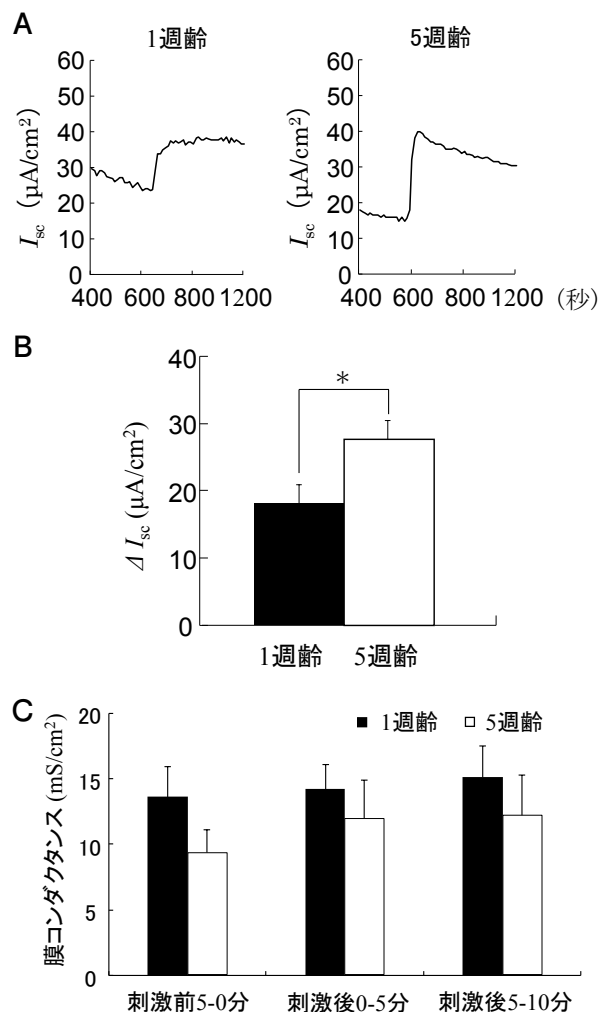


図2. 1週齢および5週齢レイヤー回腸遠位上皮における混合アミノ酸刺激による短絡電流値 (I_{sc}) の変化
 (A) 10 mM アミノ酸混合溶液添加 (粘膜側) 時の I_{sc} の経時変化。
 (B) 10 mM アミノ酸混合溶液添加 (粘膜側) 時の I_{sc} の最大変化量, 平均値 $\pm$ 標準誤差 (各 $n = 6$: 雌 $n = 2$, 雄 $n = 4$).
 * $p < 0.05$.
 (C) 膜コンダクタンス, 10 mM アミノ酸混合溶液添加時を0分とし, 刺激前5-10分, 刺激後0-5分, 刺激後5-10分の各時間帯における平均値 $\pm$ 標準誤差 (各 $n = 6$: 雌 $n = 2$, 雄 $n = 4$).

統計解析

すべての結果は平均値 $\pm$ 標準誤差で表した。Welch-aspin test によって週齢間の検定を行った。有意差は $p < 0.05$ で示した。

結果

血中 α -アミノ態窒素濃度の基礎値を週齢間で比較検討するために, 絶食条件下で1週齢および5週齢の血中 α -アミノ態窒素濃度を測定した (図1)。5週齢の血中 α -アミノ態窒素濃度は1週齢よりも有意に高かった ($p = 0.003$)。

次に, 回腸遠位におけるアミノ酸吸収を検討するために, 短絡電流解析法を用いて, 混合アミノ酸刺激による短絡電流値 (I_{sc}) の経時的な変化を測定した (図2 A, B)。短絡電流解析において, 粘膜側のチャンバーへのアミノ酸混合溶液の添加は, 両週齢において, 速やかな I_{sc} の上昇を示した。また, ΔI_{sc} は1週齢と比較して5週齢で有意に高かった ($p = 0.035$)。さらに, 細胞間のイオン透過性の指標である膜コンダクタンスの解析では, アミノ酸混合溶液刺激前 (5-0分), 刺激後 (0-5分), 刺激後 (5-10分) の膜コンダクタンスは, すべての時間帯において週齢間の有意な差は見られなかった (図2 C)。

5週齢の回腸遠位における ΔI_{sc} が1週齢と比較して高かったことから, アミノ酸輸送担体の遺伝子発現量 (ASCT1, ATB⁰⁺, EAAT3, B⁰AT1, y⁺LAT1, b⁰⁺AT) を測定した (図3)。5週齢において, すべての遺伝子発現量は1週齢と比較して有意に高かった ($p < 0.05$)。

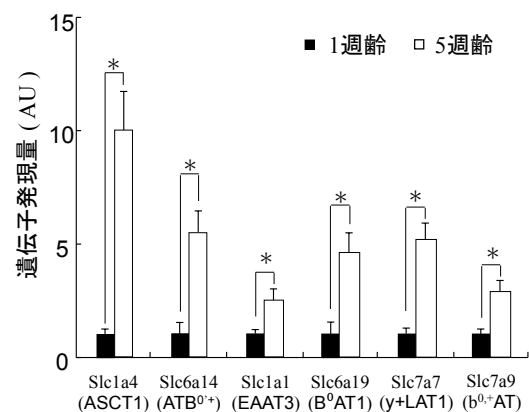


図3. 1週齢および5週齢レイヤー回腸遠位におけるアミノ酸輸送担体の遺伝子発現量の比較
 平均値 $\pm$ 標準誤差 (各 $n = 6$: 雌 $n = 3$, 雄 $n = 3$)
 AU: arbitrary units. * $p < 0.05$.

考 察

ニワトリにおいて、血中アミノ酸濃度は、栄養状態、飼料組成、系統によって変動することが報告されている (Zimmerman と Scott, 1967; Tasaki と Ono, 1971; Minami ら, 2013)。絶食時の5週齢のレイヤーにおける血中 α -アミノ態窒素濃度は、1週齢と比較して有意に高かった。ヒトにおいても成長に伴い血中アミノ酸濃度が上昇することが報告されている (Lepage ら, 1997)。さらに、ヒトの成長に伴う血中アミノ酸濃度の上昇には、骨格筋のアミノ酸量が関与することが示唆されている (Hammargvist ら, 2010)。したがって、絶食時におけるレイヤーの血中 α -アミノ態窒素濃度の上昇は、成長に伴う骨格筋アミノ酸量の増加を反映していると考えられる。

ブロイラーでは、腸管からのL-プロリン吸収は6週齢で最も高くなる (Obst と Diamond, 1992)。ブロイラーの回腸では、 Na^+ 依存性の中性アミノ酸輸送担体 ($\text{B}^0\text{AT1}$)、興奮性アミノ酸輸送担体 (EAAT3) および Na^+ 非依存性のカチオン・中性アミノ酸交換輸送担体 (b^{0+}AT) の遺伝子発現量は成長に伴い増加する (Gilbert ら, 2007)。さらに、ブロイラーを用いた我々の先行研究において、回腸遠位のアミノ酸吸収が成長に伴って上昇し、アミノ酸輸送担体 (ASCT1, EAAT3, $\text{B}^0\text{AT1}$, $\text{y}^+\text{LAT1}$) の遺伝子発現量も増加した (Shibata ら, 2019a)。これらの結果から、ブロイラーの回腸遠位における成長に伴うアミノ酸吸収の増加は、アミノ酸輸送担体の遺伝子合成の増加に依存すると考えられる。レイヤーにおいても、回腸遠位における短絡電流値 (I_{sc}) およびアミノ酸輸送担体遺伝子発現の解析から、成長に伴うアミノ酸輸送担体の増加がアミノ酸吸収能を高めると推察される。さらに、腸管からのアミノ酸吸収能の増加は、成長に伴う骨格筋のアミノ酸取込みおよびタンパク質貯蔵を促進すると考えられる。また本研究では、実験前に腸管の内容物を除去することを目的として、1週齢では12時間、5週齢では24時間の絶食を供している。なお、5週齢における12時間絶食でのアミノ酸吸収の検討も行っているが、絶食時間による差はなかった(データ未掲載)。さらに、実験には雌雄を無作為に選択しているが、性差による腸管アミノ酸吸収に差は見られなかった。

腸管上皮細胞間におけるイオン透過性の変化は、栄養素吸収に影響を与えることが報告されている (Tamura ら, 2011)。そこで、細胞間のイオン透過性の指標である膜コンダクタンス解析を行なった。しかしながら、膜

コンダクタンスには週齢間で有意な差が見られなかったことから、レイヤーの回腸遠位における成長に伴うアミノ酸吸収の増加には、イオン透過性の変化は関与していないことが示唆された。

本研究の結果より、5週齢のレイヤーにおける回腸遠位からのアミノ酸吸収は、1週齢よりも増加していることが示唆された。さらに、その変化にはアミノ酸輸送担体の量的変化が関与していることが示唆された。したがって、成長に伴う回腸アミノ酸吸収の増加は、系統とは無関係なニワトリの一般的特徴と考えられる。系統ごとに腸管栄養素吸収の成長に伴う変化をさらに深く解明することにより、最終的には、腸管栄養素吸収の変化に合わせた飼養管理によるブロイラーの代謝性疾患の改善、さらには炭水化物主体の輸入穀物飼料の低減に繋がるかもしれない。

引用文献

- 秋葉征夫. 鶏肉品質に関する諸問題 (6) (ブロイラーの脂肪蓄積の現状). 畜産の研究, 44: 437-444. 1990.
- Bröer S. Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia. *Physiol. Rev.*, 88: 249-286. 2008.
- Gilbert ER, Li H, Emmerson DA, Webb KE and Wong EA. Developmental regulation of nutrient transporter and enzyme mRNA abundance in the small intestine of broilers. *Poult. Sci.*, 86: 1739-1753. 2007.
- Hammargvist F, Angsten G, Meurling S, Andersson K, Wernerman J. Age-related changes of muscle and plasma amino acids in healthy children. *Amino Acids*, 39: 359-366. 2010.
- Hyde R, Taylor PM, Hundal HS. Amino acid transporters: roles in amino acid sensing and signaling in animal cells. *Biochem. J.*, 373: 1-18. 2003.
- Julian RJ. Rapid growth problems: ascites and skeletal deformities in broilers. *Poult. Sci.*, 77: 1773-1780. 1998.
- Leenstra FR. Effect of age, sex, genotype and environment on fat deposition in broiler chickens-A review. *Worlds. Poult. Sci.*, 42: 12-25. 1986.
- Lee YP and Takahashi T. An improved colorimetric determination of amino acids with the use of ninhydrin. *Anal. Biochem.*, 14: 71-77. 1966.
- Lerner J. Acidic amino acid transport in animal cells and tissues. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 87: 443-457. 1987.
- Lepage N, McDonald N, Dallaire L, Lambert M. Age-specific distribution of plasma amino acid concentrations in a healthy pediatric population. *Clin. Chem.*, 43: 2397-2402.

- 1997.
- Minami T, Tanizawa H, Nakasai E, Shiraishi J, Kawakami S, Oka T, Tsudzuki M, Bungo T. Comparison of plasma amino acid levels of two breeds of Japanese native chicken and a commercial layer line. *Int. J. Poult. Sci.*, 12: 90-93. 2013.
- Obst BS and Diamond J. Ontogenesis of intestinal nutrient transport in domestic chickens (*Gallus gallus*) and its relation to growth. *Auk*, 109: 451-464. 1992.
- Shibata M, Takahashi T, Endo K, Kozakai T, Azuma Y, Kurose Y. Age-related regulation of active amino acid transport in the ileum of broiler chickens. *J. Poult. Sci.*, In press, Available from URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/advpub/0/advpub_0190070/_article/-char/ja/. 2019a.
- Shibata M, Takahashi T, Kozakai T, Kakudo M, Kasuga S, Azuma Y, Kurose Y. Active transport of glucose across the jejunal epithelium decreases with age in broiler chickens. *Poult. Sci.*, 98: 2570-2576. 2019b.
- Stevens BR, Kaunitz JD, Wright EM. Intestinal transport of amino acids and sugars: advances using membrane vesicles. *Annu. Rev. Physiol.*, 46: 417-433. 1984.
- Tasaki I and Ono T. Effect of dietary protein level on plasma free amino acids in the chicken. *J. Nutr.*, 101: 1225-1231. 1971.
- Tamura A, Hayashi H, Imasato M, Yamazaki Y, Hagiwara A, Wada M, Noda T, Watanabe M, Suzuki Y, Tsukita S. Loss of claudin-15, but not claudin-2, causes Na⁺ deficiency and glucose malabsorption in mouse small intestine. *Gastroenterology*, 140: 913-923. 2011.
- Vestergaard KS and Sanotra GS. Relationships between leg disorders and changes in the behavior of broiler chickens. *Vet. Rec.*, 144: 205-209. 1999.
- Wu G. Amino acids: metabolism, function, and nutrition. *Amino Acids*, 37: 1-17. 2009.
- Zimmerman RA and Scott HM. Effect of fasting and of feeding a nonprotein diet on plasma amino acid levels in the chick. *J. Nutr.*, 91: 507-508. 1967.

Growth-related change of ileal amino acid absorption at early rearing period in layer chickens

Mikako Shibata¹, Tatsuyuki Takahashi¹, Takaharu Kozakai², Yohei Kurose¹

¹Laboratory of Animal Metabolism and Function, School of Veterinary Medicine, Kitasato University,
35-1 Higashi 23, Towada, Aomori, Japan

²Faculty of Education, Art and Science, Yamagata University, 1-4-12 Koshirakawamachi, Yamagata, Japan

Corresponding: Yohei KUROSE (Tel:0176-23-4371, E-mail: kurose@vmas.kitasato-u.ac.jp)

In the poultry industry, improving both feed self-sufficiency rate and improving the production diseases caused by the vigorous feeding behavior peculiar to broiler chickens are urgent issues. To solve these issues, we have focused on nutrient absorption from the intestinal tract of broilers. As a result, the ability to absorb amino acids from the distal ileum at 5 weeks of age was higher than that at 1 week of age. However, it is unclear whether this reaction is specific to broilers. In this study, therefore, we compared the active transport process of amino acids in the distal ileum between 1- and 5-week-old layers. Plasma α -amino nitrogen concentrations after fasting were significantly higher in 5-week-old layers than in 1-week-old layers ($p = 0.003$). The Ussing chamber experiment showed that amino acids elevated short-circuit current (I_{sc}) in the distal ileal epithelium of both 1-week- and 5-week-old layers. The amino acid-induced short-circuit current (ΔI_{sc}) was significantly greater in the 5-week-old layers than in the 1-week-old layers ($p = 0.035$). However, the membrane conductance, an indicator of ion permeability, showed no significant difference between the two groups. Moreover, the mRNA expression levels of amino acid transporters (ASCT1, ATB^{0,+}, EAAT3, B⁰AT1, y⁺LAT1, b^{0,+}AT) were significantly elevated in the distal ileum of the 5-week-old layers compared to those in the 1-week-old layers ($p < 0.05$). These results suggest that the expression levels of the amino acid transporter genes in the distal ileum are greater in the 5-week-old layers than in the 1-week-old layers, and that amino acid absorption is consequently increased in the 5-week-old layers.

Keywords: Amino acid, Absorption, Distal ileum, Growth, Layer chicken