

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18770

研究課題名(和文) 肉用鶏と卵用鶏におけるインスリンシグナル伝達機構の比較

研究課題名(英文) Comparison of insulin signaling pathway between broiler and layer type chicks

研究代表者

實安 隆興 (Saneyasu, Takaoki)

神戸大学・農学研究科・助教

研究者番号：20721236

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、視床下部及び骨格筋におけるインスリンシグナル伝達の調節機構を肉用鶏と卵用鶏で比較検討した。その結果、両鶏種ともに、血中インスリン濃度の生理的变化に応じて視床下部のインスリンシグナル伝達経路は調節され得ること、及びその調節機構は肉用鶏と卵用鶏で差がない可能性が示された。骨格筋においては、両鶏種ともに、骨格筋に発現するIGF-1ではなく、血中インスリンが栄養状態に基づいてインスリンシグナル伝達経路の活性を調節する役割を果たしている可能性が示されたが、インスリンシグナル伝達因子の発現量は卵用鶏に比べて肉用鶏において高いことが示された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we compared regulatory mechanisms of insulin signaling pathway in hypothalamus and skeletal muscle between broiler and layer type chicks. The results in hypothalamus suggest that insulin signaling responds to the change of plasma insulin concentration in both types, and that there may be no difference in regulatory mechanisms of insulin signaling pathway between broiler and layer chicks. The results in skeletal muscle suggest that plasma insulin but not skeletal IGF-1 regulates insulin signaling pathway in response to feeding conditions in both types of chicks and showed that the levels of insulin signaling-related factors are higher in broiler than in layer type chicks.

研究分野：家畜生化学

キーワード：インスリン 視床下部 骨格筋 プロイラー レイヤー Akt FOXO S6

## 1. 研究開始当初の背景

家禽産業においては、飼料効率の改善が極めて重要な課題となっている。しかしながら、近年、鶏肉生産のために育種改良されてきたブロイラーにおいては、過食により非可食部位である腹腔内脂肪が過剰に蓄積しており、飼料浪費の原因の一つとして生産上の問題となっている。したがって、肉用鶏の食欲を制御する手法が必要と考えられるが、現実的な解決手段は未だ見出されていない。

これまでに、ニワトリの視床下部における食欲調節機構に関する一連の研究によって、食欲促進においてはニューロペプチド Y が、食欲抑制においては  $\alpha$ -メラニン細胞刺激ホルモン ( $\alpha$ -MSH) が、支配的な役割を果たしていることが知られている。また、これまでに研究代表者は、成長に伴い腹腔内脂肪重量、即ち貯蔵エネルギー量は増加するにもかかわらず、 $\alpha$ -MSH 等の前駆体タンパク質であるプロオピオメラノコルチン (POMC) の mRNA 量は、産卵鶏 (レイヤー) では成長に伴い増加するものの、肉用鶏では逆に減少することを明らかにしている (Anim Sci J, 86, 517-522, 2015; J Poult Sci, 50, 364-369, 2013)。即ち、視床下部における POMC 遺伝子の発現調節の異常が肉用鶏の過食の一因である可能性を推察している。

ここで、哺乳動物においては、レプチン及びインスリンが視床下部 POMC の遺伝子発現を促進する内因性の主要因子であり、それらの血中濃度は貯蔵エネルギーの増加に伴い上昇することが知られている。一方、ニワトリにおいては、報告されているレプチン遺伝子の塩基配列は誤りとされており、内因性レプチンの存在について未だ結論が出ていない (本研究開始後、ニワトリのレプチン遺伝子が同定されている)。したがって、現時点では、ニワトリにおいては、インスリンが視床下部 POMC の遺伝子発現の主要調節因子と考えられる。実際、研究代表者は、卵用鶏へのインスリンの脳室内投与により、視床下部 POMC の mRNA 量が増加し、摂食量が減少することをこれまでに明らかにしている (Neurosci Lett, 423, 153-157, 2007)。ところが、肉用鶏においては、視床下部にインスリン受容体は発現しているものの、インスリンの脳室内投与により摂食量は減少しないことが報告されている (Physiol Behav, 103, 233-239, 2011)。したがって、肉用鶏の視床下部において POMC 遺伝子の発現調節の異常を引き起こす原因はインスリンシグナル伝達の異常である可能性が高いと考えられる。

また、インスリンは食欲を抑制するだけでなく、食肉となる骨格筋においてタンパク質蓄積を促進し、タンパク質分解を抑制することが知られている。実際、肉用鶏の骨格筋において、Akt/mTOR/p70S6K 経路はインスリンや栄養状態に応答することが報告されている (Domest Anim Sci, 34, 1-13, 2008)。最

近、研究代表者は、卵用鶏における骨格筋タンパク質代謝関連遺伝子の発現調節は、肉用鶏のそれと比べて栄養状態により鋭敏に応答することを見出している。したがって、骨格筋におけるインスリンシグナル伝達の調節も肉用鶏と卵用鶏で異なる可能性が高く、その違いを明らかにすることができれば、骨格筋タンパク質の更なる蓄積促進、即ち産肉量の増加方法の開発に繋がる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究では、肉用鶏の食欲抑制と産肉量増加を実現する方法の開発を最終目的に、視床下部及び骨格筋におけるインスリンシグナル伝達機構を肉用鶏と卵用鶏で比較検討することにより、肉用鶏の視床下部及び骨格筋におけるインスリンシグナル伝達の特徴を明らかにすることを目的に行う。

## 3. 研究の方法

(1) 自由摂食条件下で飼育した 1-28 日齢の肉用鶏及び卵用鶏を用い、視床下部及び骨格筋を摘出し、インスリンシグナル伝達関連因子の mRNA 及びタンパク質量を、それぞれリアルタイム PCR 法、ウェスタンブロッティング法により測定した。

(2) 1-28 日齢の肉用鶏及び卵用鶏を用い、0~24 時間絶食、あるいは絶食後に 1~2 時間再給餌した後、視床下部及び骨格筋を摘出し、(1)と同様にインスリンシグナル伝達関連因子の mRNA 及びタンパク質量を測定した。

(3) 3 時間絶食した 1 週齢の肉用鶏及び卵用鶏を用い、0.1%エバンスブルーを含む生理食塩水に溶解した 0 あるいは 5 pmol/ $\mu$ l のインスリンを含む溶液を 1 羽あたり 10  $\mu$ l ずつ脳室内に投与し、投与 60 分後に視床下部を摘出し、(1)と同様にインスリンシグナル伝達関連因子のタンパク質量を測定した。

(4) 3.75 時間絶食した 2 週齢の肉用鶏を用いて、35  $\mu$ g/kg のインスリン溶液を翼下静脈内に投与し、投与 15~60 分後に骨格筋を摘出し、(1)と同様にインスリンシグナル伝達関連因子のタンパク質量を測定した。

(5) 1 日齢の肉用鶏を用い、コーンスターチあるいは大豆タンパク質粉末のどちらかを含むカルボキシメチルセルロース溶液を経口投与後、骨格筋中の IGF-1 mRNA 量をリアルタイム PCR 法により測定した。

## 4. 研究成果

### (1) 視床下部

自由摂食条件下で飼育した 1 週齢の肉用鶏及び卵用鶏を用いて、視床下部におけるインスリンシグナル伝達因子のタンパク質量を比較したところ、pAkt 及び pS6 のタンパク質量に両鶏種間で有意な差は認められなかつ

た。

1 週齢の肉用鶏及び卵用鶏を用いて、24 時間絶食後に 1 時間再給餌し、視床下部におけるインスリンシグナル伝達因子のタンパク質量を測定したところ、両鶏種ともに再給餌により血中インスリン濃度の上昇に伴い pAkt、pFOXO1、pS6 のタンパク質量は増加した。

3 時間絶食した 1 週齢の肉用鶏及び卵用鶏を用い、0 あるいは 50 pmol のインスリンを脳室内投与したところ、両鶏種ともに視床下部の pAkt 及び pS6 のタンパク質量が増加した。

以上、本研究の結果、両鶏種ともに、血中インスリン濃度の生理的变化に応じて視床下部のインスリンシグナル伝達経路は調節され得ること、及びその調節機構は肉用鶏と卵用鶏で差がない可能性が示された。

## (2) 骨格筋

1~7 週齢の肉用鶏及び卵用鶏の浅胸筋を用いて、インスリンシグナル伝達因子の発現量を調べた結果、IGF-1 mRNA 量、pAkt/Akt 及び pS6 のタンパク質量は両鶏種ともに成長に伴い減少した。特に 1 週齢から 2 週齢にかけて著しく減少した。また、2 週齢において、浅胸筋中の IRS-1 のタンパク質量及び pAkt/Akt は卵用鶏に比べて肉用鶏において 2 倍以上の高い値を示した。次に、孵化後から 1 週齢までのインスリンシグナル伝達因子の発現量を調べた結果、肉用鶏の浅胸筋において IGF-1R mRNA 量、pAkt/Akt 及び pS6 のタンパク質量は成長に伴い増加した。以上、本研究において、ニワトリ骨格筋におけるインスリンシグナル伝達因子の発現量は成長に伴い変化することが明らかとなった。また、骨格筋におけるインスリンシグナル伝達因子の発現量は、卵用鶏に比べて肉用鶏において高いことが示された。

2 週齢の肉用鶏及び卵用鶏を用いて短時間(2~4 時間)の絶食がインスリンシグナル伝達関連因子の発現量に及ぼす影響を調べた結果、両鶏種共に、血中インスリン濃度の低下に伴い pAkt/Akt 及び pS6 のタンパク質量は有意に減少した。一方、骨格筋の IGF-1 mRNA に絶食による有意な変化は認められなかった。また、約 4 時間絶食した肉用鶏の骨格筋中の pAkt 及び pS6 のタンパク質量はインスリン投与により増加した。したがって、ニワトリ骨格筋では、骨格筋に発現する IGF-1 ではなく、血中インスリンが栄養状態に基づいてインスリンシグナル伝達経路の活性を調節する役割を果たしている可能性が示された。

1 日齢の肉用鶏にコーンスターチあるいは大豆タンパク質を経口投与したところ、いずれにおいても骨格筋 IGF-1 mRNA 量は投与前に比べて有意に高い値を示した。一方、溶媒

のみを経口投与した場合は、投与前と有意な差は認められなかった。したがって、孵化後の IGF-1 遺伝子の発現上昇は炭水化物及びタンパク質の摂取に起因する可能性が示された。

## 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 2 件)

Saneyasu T, Tsuchihashi T, Kitashiro A, Tsuchii N, Kimura S, Honda K, Kamisoyama H. The IGF-1/Akt/S6 pathway and expressions of glycolytic myosin heavy chain isoforms are upregulated in chicken skeletal muscle during the first week after hatching. *Animal Science Journal*, in press. (査読有)  
DOI: 10.1111/asj.12847

Saneyasu T, Inui M, Kimura S, Yoshimoto Y, Tsuchii N, Shindo H, Honda K, Kamisoyama H. The IGF-1/Akt/S6 signaling pathway is age-dependently downregulated in the chicken breast muscle. *The Journal of Poultry Science*, 53(3), 213-219, 2016 (査読有)  
DOI: 10.2141/jpsa.0150171

[学会発表](計 3 件)

来代 紋菜、槌井 七海、土橋 竜也、進藤 悠、實安 隆興、本田 和久、上 曾山 博、ニワトリにおけるインスリンによる摂食抑制に視床下部 mTOR は関与していない、日本家禽学会 2016 年度春季大会、2016.3.30

槌井 七海、来代 紋菜、土橋 竜也、進藤 悠、實安 隆興、本田 和久、上 曾山 博、短時間の絶食がプロイラーの骨格筋におけるタンパク質代謝関連因子の発現量に及ぼす影響、日本家禽学会 2016 年度春季大会、2016.3.30

土橋 竜也、来代 紋菜、槌井 七海、進藤 悠、實安 隆興、本田 和久、上 曾山 博、新生ヒナの骨格筋におけるタンパク質合成関連因子の発現変動、日本家禽学会 2016 年度春季大会、2016.3.30

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

實安 隆興 (SANEYASU, takaoki)

神戸大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号： 20721236