

平成23年 2月 1日現在

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2007 ～ 2009

課題番号：19208024

研究課題名（和文）

焼酎粕因子による中枢制御とそれに基づく地鶏肉高生産法の開発

研究課題名（英文）

Improvement of meat production by central regulation using a factor extracted from Shochu distillery by-product in fowls especially in native fowl

研究代表者

林 國興 (HAYASHI KUNIOKI)

鹿児島大学・農学部・教授

研究者番号：80041656

研究成果の概要（和文）：

本研究では、まず、焼酎粕由来の成長促進物質であるブトキシブチルアルコール(BBA)の成長促進効果(ブロイラー)が筋肉タンパク質分解速度の低下と関連することを明らかにした。次に、BBAによる筋肉タンパク質分解速度の低下が、主として、筋肉タンパク質の分解を司るカルパインおよびユビキチンプロテアソーム系の関連酵素の遺伝子発現抑制によるものであることを示した。本研究では、また、BBAによる下垂体前葉からの成長ホルモン(GH)の分泌促進および副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)の分泌抑制を示し、さらに、BBAが視床下部神経ペプチドの発現変動を介して視床下部におけるコルチコトロピン放出ホルモン(CRH)の発現を抑制し食欲を促進することを示した。

研究成果の概要（英文）

The present study showed that the growth promoter butoxybutyl alcohol (BBA) found from Shochu distillery by-product reduces muscle proteolysis. This effect of BBA was caused by decreases in genes expressions of factors relating to the skeletal muscle proteolysis such as calpain, ubiquitin, and proteasome.

Furthermore, the present study showed changes in secretions of growth hormone (GH), adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticotropin-releasing hormone (CRH) due to BBA. BBA increased GH secretion and decreased secretions of ACTH and CRH. BBA increased feed intake because CRH is reduced followed by nerve peptides synthesis in the hypothalamus.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	16,700,000	5,010,000	21,710,000
2008年度	10,600,000	3,180,000	13,780,000
2009年度	10,700,000	3,210,000	13,910,000
年度			
年度			
総計	38,000,000	11,400,000	49,400,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・草地学

キーワード：飼料、生理活性物質、筋肉タンパク質分解、食欲制御

## 1. 研究開始当初の背景

焼酎粕の給与は、食欲を増進させるが、この食欲増進因子の一つとして、林らは、最近、新規の生理活性物質—ブトキシブチルアルコール (図1) —を同定した (平成 19 年 3 月・日本畜産学会大会)。食欲は、視床下部の種々の神経ペプチドの発現変動に基づき調節されることが知られており、長谷川らは、鶏における食欲の増進が、視床下部のいくつかの神経ペプチドの発現変動を介する視床下部 CRH の発現抑制によることを見出し (*Neuroscience Letters* 投稿中)、ブトキシブチルアルコールの食欲増進機構として視床下部の未知の神経ペプチド (群) の発現変動を介する CRH の発現抑制を明らかにしている。したがって、この食欲増進因子—ブトキシブチルアルコール—により、未知の神経ペプチド (群) の発現変動を制御して、視床下部 CRH の発現を低く維持できれば、持続的な食欲増進と、結果として、産肉量増加が可能となると考えられる。

また、最近、加藤らは、焼酎粕因子が下垂体前葉 ACTH の分泌抑制を介して血中コルチコステロン (CTC) 濃度を低下させることに気づいている (未発表)。血中の CTC は、下垂体前葉の副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) によりその分泌が制御されているが、林らは、血中 CTC 濃度の低下が筋肉蛋白質の分解を抑制し、結果として産肉量を増加させることを見出している (*J. Nutr. Sci. Vitam.*, 47, 40-46, 2001)。それ故、焼酎粕の分画成分を用いて、下垂体前葉 ACTH の分泌を抑制し血中 CTC 濃度を低レベルに維持できれば、筋肉蛋白質分解を抑制、結果として、産肉量を増加させることができる。

さらに、林らは、培養筋肉細胞を用いて、焼酎粕には筋肉蛋白質分解を直接的に抑制する因子が存在することを明らかにしている (*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 61, 1844-1847)。食欲に加え、筋肉蛋白質分解の制御が可能になれば、産肉量を飛躍的に高めることができる。

筋肉蛋白質代謝や食欲の調節について、それぞれの専門分野から、別個に、家畜の生産性向上を目指した研究はこれ迄に数多く見られるが、異なる専門分野の最新の研究成果を集約し、蛋白質代謝と食欲という性格の異なる生理作用の調節を、統合的に制御することを目的とする本研究は、国内外を通じ、他に類を見ないものであり、さらに、医学分野においては、筋萎縮症 (*Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 287, C834-843, 2004) や拒食症 (*Adv. Pediatr.*, 52, 49-76, 2005) が解決す

べき重要な課題の一つとなっており、鶏はヒトの筋萎縮症のモデルとして用いられている (*Muscle Biol.*, 1, 255-272, 1972)。また、食欲の調節機構は鳥類と哺乳類との間で極めて類似している (*J. Nutr.*, 124, 1355S-1370S, 1994)。したがって、本研究によって提示される天然素材を用いた、“筋肉蛋白質分解”および“食欲”を制御する具体的方法は、医学分野においては上述の課題の解決へ向けた新たな道筋を示すものである。

OH

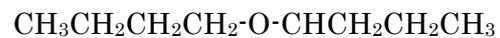


図1 ブトキシブチルアルコール

## 2. 研究の目的

本研究では、まず、ブロイラーにおいて焼酎粕および焼酎粕ヘキササン抽出物(焼酎粕因子を含む)が成長促進効果を有することを確かめ、成長促進効果が筋肉タンパク質分解速度の低下と関連することを明らかにする。次に、焼酎粕濃縮液からのブトキシブチルアルコールの大量抽出精製法ならびに合成法を確立し、培養筋肉細胞を用いて筋肉蛋白質の分解抑制に対するブトキシブチルアルコールの直接的な作用を確認するとともに、ブトキシブチルアルコールによる筋肉蛋白質分解抑制のメカニズムを明らかにする。

一方、培養下垂体前葉細胞を用いた、下垂体-副腎皮質系を用いて下垂体前葉からの GH および ACTH の分泌に対するブトキシブチルアルコールの影響を調べる。同時に、焼酎粕因子による食欲増進の起因となる視床下部の未知の神経ペプチド(群)の同定を試みる。すなわち、ブトキシブチルアルコールが上述の視床下部神経ペプチド(群)の発現変動を介して視床下部 CRH の発現を抑制し食欲に影響することを明らかにする。

最後に、焼酎粕を日本三大地鶏の一つであるさつま地鶏に給与することにより地鶏肉の高生産法を確立する。

## 3. 研究の方法

まず、甘藷焼酎粕上清を約6倍に濃縮して水分含量約70%とした焼酎粕濃縮液(濃縮液)および焼酎粕ヘキササン抽出物(焼酎粕因子を含む)を飼料に配合してブロイラーに与え、成長、生産性および肉質等に与える影響を検討

した。次に、焼酎粕因子による成長促進効果と筋肉タンパク質分解速度の関連について調べた。さらに、プトキシプチルアルコールの合成・精製法を確立し、培養筋肉細胞を用いて筋肉蛋白質分解に対するプトキシプチルアルコールの直接作用を確認するとともにプロイラーに与えて成長促進作用を確認した。また、培養下垂体前葉細胞を用いてプトキシプチルアルコールがGH およびACTH の分泌に及ぼす影響を調べた。さらに、食欲との関連においてソマトトロピン軸へのプトキシプチルアルコールの作用を調べた。

次に、焼酎粕による食欲増進の起因ペプチドと推察されるグルカゴン或いは $\beta$ -MSHを側脳室に中枢投与し、摂食量及び視床下部食欲調節関連ペプチド(群)に及ぼす影響について調べた後、プトキシプチルアルコールを側脳室に中枢投与し、摂食量及び視床下部食欲調節関連ペプチド(群)に及ぼす影響について調べ、同時に、食欲増進の起因となる、視床下部の未報告の神経ペプチド(群)の分離・同定を試みた。

なお、焼酎粕には中枢神経興奮作用を有するエフェドリンが含まれることも明らかにした。

最後に、日本三大地鶏の一つであるさつまいも地鶏に焼酎粕を与えて筋肉蛋白質分解抑制および抗酸化因子により生産性と肉質が改善されることを示した。

#### 4. 研究成果

焼酎粕濃縮液2.5%配合飼料区では対照飼料区に比べ、飼料摂取量が増え、増体量が有意に増加した。また、筋肉中グリコーゲン含量および筋肉中 $\alpha$ -トコフェロール含量も濃縮液5.0%区で有意に増加し、筋肉のTBARS、およびドリップロス濃縮液5.0%区で有意に減少した。さらに官能試験の結果、濃縮液5.0%区のもも肉は、食感、風味等において有意に高い値を示した(雑誌論文3、学会発表2,3)。以上の結果は、濃縮液の機能性成分により、プロイラーの肉質が向上することを示している。焼酎粕濃縮液よりヘキササン抽出物を調製しプロイラーに与えて成長促進のメカニズムを調べたところタンパク質分解に関与するカルパイン、アトロジンなどの遺伝子発現が低下し、筋肉タンパク質分解が低下することが分かった雑誌論文5、学会発表1,6,7)。これらの事実は濃縮液に多量に含まれる成長促進物質、クエン酸、 $\alpha$ -トコフェロール、ポリフェノールといった機能性成分が有効に利用できることを示している。しかし、焼酎粕の効果が得られないこともあることから負の影響を及ぼす物質があると考え、エフェドリンの存在を確認した(未発表)。

焼酎粕による食欲増進の起因となるペプチド(群)としてはグルカゴン及び $\beta$ -MSHが暗示されたのでまずグルカゴンの脳室内投

与により、鶏の摂食量は減少、視床下部の副腎皮質刺激ホルモン放出因子[CRF]の遺伝子発現が増加、血中コルチコステロン濃度が上昇することを示した(雑誌論文1、学会発表2,4)。このことから、鶏においても、哺乳動物同様、CRFが中枢の摂食調節機構において仲介因子として働くことが示唆されると共に、焼酎粕による食欲増進起因ペプチドはグルカゴンであると推察された。ところで、鶏の中枢においては、食欲抑制ペプチドによって主として食欲が調節されていることが明らかにされつつあるが、哺乳動物において、最近、 $\beta$ -MSHが食欲抑制機構の主要ペプチドであることが報告された。そこで、鶏において $\beta$ -MSHを脳室内投与した結果、 $\beta$ -MSHは摂食量の減少、視床下部CRF遺伝子の発現促進等を引き起こすことが確かめられた(雑誌論文4)。したがって、哺乳動物同様、鶏においても、 $\beta$ -MSHが主要な食欲抑制ペプチドとして機能していることが示され、グルカゴンに加え、 $\beta$ -MSHが焼酎粕による食欲増進起因ペプチドである可能性が推察された。

一方、合成プトキシプチルアルコールの脳室内投与は、肉用鶏の摂食を有意に促進した(学会発表5,8)。しかしながら、卵用鶏においては、プトキシプチルアルコールの摂食促進効果は認められなかった。これらのことから、プトキシプチルアルコールによる食欲亢進は、肉用鶏に特異的な効果である可能性が示された。また、プトキシプチルアルコールは下垂体前葉 ACTH の分泌抑制を介して血中コルチコステロン (CTC) 濃度を低下させた(未発表)。ソマトトロピン軸に対して、ヒナでは GH 分泌を刺激する最も有効な視床下部ホルモンは GHRH ではなく TRH であり、ソマトトロピン軸はヒナと哺乳動物とで異なっていることが示された。次に、ヒナの頸静脈中にプトキシプチルアルコールを投与(約10 ng)すると、血中 GH 濃度は低下し、この効果は、ラットやヒツジの培養下垂体前葉細胞において確認した刺激効果とは異なっていた。ヒナにおいては GH 分泌刺激因子が採食抑制効果を示すことから、プトキシプチルアルコールの採食刺激効果は GH 分泌を抑制する作用による可能性が示唆された。

ところで、本研究計画の遂行途上において、焼酎粕が食欲増進に基づく体重増加効果に加え、抗肥満効果と血中コレステロール低下効果を有する可能性が推察されたことから、まず、前者の効果について、同様な効果が推察されていた甘草エタノール抽出物と合わせて確認実験を行なった結果、甘草エタノール抽出物のみ抗肥満効果が認められた(雑誌論文2)。次に、後者の効果について、同様な効果が推察されていた CoQ10 と合わせて確認実験を行なった結果、CoQ10 のみに血中コレステロール低下効果が認められた(雑誌論文6)。これらのことから、焼酎粕は脂質代謝

改善効果を有しないものと判断された。

また、薩摩地鶏に焼酎粕を与え、生産性および肉質が改善されることを示した。官能法による食味試験においては肉質の改善効果が示された（未発表）。さらに、平成22年度には焼酎粕にブトキシブチルアルコールと同様の生理作用を示すジブトキシブタンが含まれることを明らかにした。

#### 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6件）

1. Kamizono T, Hayashi K, Effects of Feeding Hexane-Extracts of a Schochu Distillery By-Product on Skeletal Muscle Protein Degradation in Broiler Chicken, *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 74, 92-95, 2010
2. Honda K, Kamisoyama H, Motoori T, Saneyasu T, Hasegawa S, Effect of dietary coenzyme Q10 on cholesterol metabolism in chickens, *The Journal of Poultry Science*, 47, 41-47, 2010.
3. Honda K, Kamisoyama H, Saito N, Kurose Y, Sugahara K, Hasegawa S, Central administration of glucagon suppresses food intake in chicks, *Neuroscience Letters*, 416, 2, 198-201, 2007.
4. 林 國興, 前田真希, 北原和弥, 田子山徹, 大塚彰, 焼酎粕濃縮液給与によるブロイラーの生産性および肉質の改善, *日本畜産学会報*, 80, 35-39, 2009.
5. Kamisoyama H, Honda K, Saneyasu T, Sugahara K, Hasegawa S, Corticotropin-releasing factor is a downstream mediator of the beta-melanocyte stimulating hormone-induced anorexigenic pathway in chicks, *Neuroscience letters*, 458, 102-105, 2009.
6. Kamisoyama H, Honda K, Tominaga Y, Yokota S, Hasegawa S, Investigation of the anti-obesity action of licorice flavonoid oil in diet-induced obese rats, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 72, 12, 3225-3231, 2008.

〔学会発表〕（計9件）

1. S. Hasegawa, K. Honda, H. Kamisoyama and K. Hayashi, Development of functional feed ingredients using naturally occurring compounds XIIIth European Poultry Conference, 23-27 August 2010, Tours, France
2. 神園巴美, 大塚彰, 橋本文雄, 林 國興, ブロイラーの骨格筋成長に対する 1,1-ジブトキシブタンの作用, 2010年9月14日, 日本家禽学会秋期大会, 長野
3. S. Hasegawa, K. Honda, H. Kamisoyama and K. Hayashi, Effects of functional feed ingredients on the quantities and qualities of chicken meat and egg, The XIX European Symposium on the Quality of Poultry Meat and XIII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products 21 – 25 June 2009, Turku, Finland
4. T. Kamizono, T. Tagoyama, K. Kitahara, A. Ohtsuka, K. Hayashi, An efficient and economical method to improve chicken meat quality using distillery by-product. The XIX European Symposium on the Quality of Poultry Meat and XIII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, 21– 25 June 2009, Turku, Finland
5. 神園巴美, 林 國興, ブロイラーの筋肉タンパク質分解に対する焼酎粕ヘキサン抽出物給与の影響, 2009年9月28~29日, 日本畜産学会第111回大会, 沖縄
6. S. Inada, A. Ohtsuka, K. Hayashi, Physiological function of butoxybutyl alcohol a novel compound in broiler, Poultry Science Annual Meeting, July 8~12 2007, San Antonio, USA
7. T. Kamizono, T. Tagoyama, A. Ohtsuka, K. Hayashi, Effect of shochu distillery by-product on skeletal muscle growth in broiler chickens, Poultry Science Annual Meeting, July 20~23 2008, Ontario, Canada
8. 神園巴美, 林 國興, ブロイラーにおける焼酎粕分離濃縮液給与の影響, 2008年10月25~26日, 第59回西日本畜産学会大会, 佐賀

9. S.Hasegawa, K. Honda and H. Kamisoyama,  
The functional roles of glucagon family in the central regulation of food intake in chicks, 1<sup>st</sup> Mediterranean Summit of WPSA 7-10 May 2008, Porto Carras, Chalkidiki, Greece

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 國興 (HAYASHI KUNIOKI)  
鹿児島大学・農学部・教授  
研究者番号：80041656

(2) 研究分担者

長谷川 信 (HASEGAWA SHIN)  
神戸大学・大学院農学研究科・教授  
研究者番号：40335427

(3) 研究分担者

加藤 和雄 (KATO KAZUO)  
東北大学・大学院農学研究科・教授  
研究者番号：60091831

(4) 研究分担者

大塚 彰 (OHTSUKA AKIRA)  
鹿児島大学・農学部・准教授  
研究者番号：10233173

(5) 研究分担者

菅原 邦生 (SUGAWARA KUNIO)  
宇都宮大学・農学部・教授  
研究者番号：50091947