

令和 4 年 4 月 21 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06353

研究課題名(和文)ニワトリの食欲調節における中枢の細胞内シグナル伝達因子の役割

研究課題名(英文)Roles of central cellular signaling factors in feeding regulation of chickens

研究代表者

上曾山 博(Kamisoyama, Hiroshi)

神戸大学・農学研究科・教授

研究者番号：90263889

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究により、ニワトリ中枢におけるSmadシグナリングの上向き調節は摂食を抑制するが、その上向き調節は生理的には生じない可能性が示された。また、レイヤー(卵用鶏)では、延髄のAkt、及びERKシグナリングの上向きは摂食を抑制し、その上向き調節にインスリンが関与していることが示唆されたが、ブロイラー(肉用鶏)では、延髄のERKは摂食調節に関与しておらず、Akt、及びp38MAPKが摂食調節に関与している可能性が示された。また、末梢のコレシストキニン、グルカゴン様ペプチド(GLP)-1、及びGLP-2の摂食抑制に、延髄のAkt、及びERKは関与していない可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により明らかになったブロイラーとレイヤーにおける違いは、ニワトリの摂食調節機構の全容解明に貢献し得ると共に、ブロイラーにおける食欲制御方法の開発の基礎にもなり得る。また、ブロイラー延髄のp38MAPKが摂食調節に関与している可能性が本研究で示されたが、このような報告は哺乳類の研究においても未だないことから、本研究の成果はニワトリだけでなく哺乳類の摂食調節に関する研究の伸展にも貢献し得る。

研究成果の概要(英文)：The present study suggests the following points;

An activation of central Smad signaling suppresses food intake in chickens, but it might not occur under physiological conditions. In layer (egg type) chickens, upregulation of Akt and ERK signaling in the medulla oblongata suppresses food intake, and insulin is involved in the upregulation. On the other hand, Akt and p38MAPK, but not ERK, in the medulla oblongata are involved in feeding regulation in broiler (meat type) chickens. Akt and ERK in the medulla oblongata are not involved in suppression of food intake induced by cholecystokinin, glucagon-like peptide (GLP)-1, and GLP-2.

研究分野：栄養飼養

キーワード：食欲調節 Smad GLP-1 GLP-2 PYY ニワトリ 視床下部 延髄

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国の家禽産業においては、生産経費に占める飼料費の割合は約 **65%**と高いことから、飼料効率の改善が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。この問題に対し、種鶏では制限給餌が実施されているが、コマーシャル鶏では効率的生産を目的に群飼されているため制限給餌は困難である。したがって、ブロイラーの過食を防ぐためには、食欲を制御する手法が有効と考えられるが、現実的な解決手段は未だ見出されていない。

哺乳類における一連の研究によれば、貯蔵脂肪量の増加に伴い分泌される肥満シグナル(レプチンやインスリン)や、食後に消化管から分泌される満腹シグナル(コレシストキニン(CCK)、グルカゴン様ペプチド **1**(GLP1)、ペプチド **YY**(PYY)など)が栄養状態を脳(特に視床下部、及び延髄)に伝達することによって食欲は調節されている。また、視床下部や延髄における細胞内シグナル伝達因子(Akt、mTOR、ERK、及びAMPKなど)が食欲調節に重要な役割を果たしていることが明らかにされている。

ニワトリにおいては、哺乳類において食欲抑制に働く殆どのペプチドホルモンが食欲を抑制すること(ただし、レプチンを除く)が明らかにされているものの、中枢の細胞内シグナル伝達因子と食欲調節に関する報告は少ない。

2. 研究の目的

本研究では、哺乳類においても未だ食欲調節への関与が不明の細胞内シグナル伝達因子にも着目し、ニワトリの食欲調節における中枢の細胞内シグナル伝達因子の役割と、ブロイラーとレイヤーにおけるその役割の違いを調べた。

3. 研究の方法

(1) 供試鶏

市販の **0**、或いは **1** 日齢のレイヤー(白色レグホン)及びブロイラー(**Ross308**)を実験に供するまでバタリーで飼育した。その間、市販飼料と水を自由に摂取させた。

(2) 給餌条件が細胞内シグナル伝達因子のリン酸化の割合に及ぼす影響

7 日齢のレイヤー、及びブロイラーを平均体重が等しくなるように **3** 群に分け(**1** 群 **6** 羽)、**1** 群は自由摂食条件下で、残りの **2** 群は絶食条件下で飼育した。**24** 時間後、自由摂食群と絶食群の **1** 群を安楽死させた後、視床下部、及び延髄を摘出し、液体窒素で速やかに凍結後、ウェスタンブロット分析に供するまで **-80** で保存した。絶食群の残りの **1** 群は、**1** 時間再給餌した後、同様に組織を摘出、保存した。

(3) 脳室内投与

TGF- β の脳室内投与が視床下部の Smad のリン酸化の割合に及ぼす影響

自由摂食条件下の **8** 日齢のレイヤー(**1** 群 **8** 羽)に、**0**、或いは $1 \mu\text{g}/\text{chick}$ の TGF- β を Davis ら(*Physiol Behav*, **22**, **693-695**, **1979**)の方法に基づいて側脳室内に投与した。投与 **30** 分後に安楽死させ、視床下部を摘出し、上記(2)と同様に保存した。なお、脳室周辺がエバンスブルーによって染色されているものを投与成功と判断し、投与成功した個体から得られた組織のうち **1** 群 **4** 個ずつをウェスタンブロット分析に供した。

TGF- β の脳室内投与が摂食量に及ぼす影響

3 時間絶食した **8** 日齢のレイヤー(**1** 群 **8** 羽)に、上記と同様に TGF- β を脳室内投与し、投与 **30**、**60**、及び **120** 分後に摂食量を測定した。試験終了後に安楽死させ、投与の成否を確認して不成功の個体のデータは解析から除外した。

TGF- β の脳室内投与が視床下部の摂食調節神経ペプチドの遺伝子発現に及ぼす影響

上記と同様に TGF- β を脳室内投与し、投与 **60** 分後に安楽死させて、視床下部を摘出し、上記と同様に保存した。投与成功した個体から得られた組織のうち **1** 群 **7** 個ずつをリアルタイム PCR 分析に供した。なお、摂食による影響を排除するため、投与後も絶食を継続した。

インスリンの脳室内投与が延髄の細胞内シグナル伝達因子のリン酸化の割合に及ぼす影響

3 時間絶食した **9** 日齢のレイヤー(**1** 群 **8** 羽)に、**0**、或いは $100 \text{ pmol}/\text{chick}$ のインスリンを上記と同様に脳室内投与し、引き続き絶食させたまま投与 **30** 分後に安楽死させ、延髄を摘出し、上記(2)と同様に保存した。投与成功した個体から得られた組織のうち **1** 群 **5** 個ずつをウ

ウェスタンブロット分析に供した。

消化管ホルモンの腹腔内投与が摂食量に及ぼす影響

3時間絶食した **7**、或いは **8**日齢のレイヤー（**1**群 **8**羽）に、**0**、或いは **60 nmol/kg** の **CCK-8s**、**GLP-1**、**GLP-2**、若しくは **PYY** を腹腔内投与し、投与 **30**、**60**、及び **120** 分後に摂食量を測定した。

消化管ホルモンの腹腔内投与が延髄の細胞内シグナル伝達因子のリン酸化の割合に及ぼす影響

上記と同様に腹腔内投与した後、投与 **15** 分後に安楽死させて延髄を摘出し、上記（**2**）と同様に保存し、ウェスタンブロット分析に供した。

GLP-1、及び **GLP-2** の脳室内投与が視床下部の摂食調節関連因子の遺伝子発現量、及び **AMPK** のリン酸化の割合に及ぼす影響

3時間絶食した **8**日齢のレイヤー（**1**群 **12**羽）に、**0**、或いは **30 pmol/chick** の **GLP-1**、若しくは **GLP-2** を上記と同様に脳室内投与し、引き続き絶食させたまま投与 **60** 分後に安楽死させ、視床下部を摘出し、上記（**2**）と同様に保存した。投与成功した個体から得られた組織のうち **1**群 **8**個ずつをリアルタイム **PCR** 分析、及びウェスタンブロット分析に供した。

4. 研究成果

TGF-β/Smad シグナリング

ウェスタンブロット分析により、視床下部では **Smad2** タンパク質は発現しているが、**Smad3** タンパク質は発現していないことが示唆された。**TGF-β** の脳室内投与により、視床下部の **Smad2** のリン酸化と、摂食量の有意な減少が認められた。しかしながら、自由摂食、絶食、及び再給餌のいずれの給餌条件においても視床下部のリン酸化 **Smad2** タンパク質を検出できなかった。これらのことから、ニワトリ中枢における **Smad** シグナリングの上向き調節は摂食を抑制することが示唆されたが、その上向き調節は生理的には生じない可能性が示された。

Akt、**ERK**、及び **p38MAPK** シグナリング

レイヤーでは、絶食後の再給餌、及びインスリンの中枢投与により、延髄の **Akt** と **ERK** のリン酸化タンパク質量、或いはその割合が有意に増加した。これらのことから、レイヤーでは、延髄の **Akt**、及び **ERK** シグナリングの上向きは摂食を抑制し、その上向き調節にインスリンが関与していることが示唆された。また、延髄の **p38MAPK** のリン酸化の割合は、給餌条件による有意な差は認められなかった。

一方、プロイラーでは、再給餌により延髄の **Akt** と **p38MAPK** のリン酸化の割合が増加する傾向を示したが、**ERK** のリン酸化の割合に有意な変化は認められなかった。これらのことから、プロイラーでは、**Akt**、及び **p38MAPK** が摂食調節に関与している可能性が示された。また、レイヤーと異なり、プロイラーでは延髄の **ERK** が摂食調節に関与していないことが示唆され、このことがプロイラーの旺盛な食欲の原因の一つである可能性が示された。

消化管ホルモン（**CCK**、**GLP-1**、**GLP-2**、及び **PYY**）

CCK、**GLP-1**、及び **GLP-2** の腹腔内投与により摂食量は有意に減少したが、延髄の **Akt**、及び **ERK** のリン酸化の割合に有意な変化は認められなかった。したがって、これらの消化管ホルモンの摂食抑制に、延髄の **Akt**、及び **ERK** は関与していないことが示唆された。なお、**PYY** の腹腔内投与では摂食量に有意な差は認められなかった。

中枢 **GLP-1**、及び **GLP-2**

GLP-1、及び **GLP-2** の脳室内投与による視床下部 **AMPK**、及び延髄の **Akt** と **ERK** のリン酸化の割合に有意な差は認められなかった。したがって、中枢の **GLP-1**、及び **GLP-2** による摂食抑制に視床下部の **AMPK** シグナリング、及び延髄の **Akt**、並びに **ERK** シグナリングは関与していない可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Saneyasu Takaoki, Ueno Mizuki, Nagata Kanami, Kewan Ahmed, Honda Kazuhisa, Kamisoyama Hiroshi	4. 巻 758
2. 論文標題 Central administration of insulin and refeeding lead to Akt and ERK phosphorylation in the chicken medulla	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 136008 ~ 136008
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2021.136008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kewan Ahmed, Shimatani Tomohiko, Saneyasu Takaoki, Kamisoyama Hiroshi, Honda Kazuhisa	4. 巻 768
2. 論文標題 Comparison of the effects of intracerebroventricular administration of glucagon-like peptides 1 and 2 on hypothalamic appetite regulating factors and sleep-like behavior in chicks	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 136362 ~ 136362
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2021.136362	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 永田加菜実・本田和久・上曾山博・實安隆興
2. 発表標題 プロイラーの延髄ではp38MAPKが摂食抑制に関与している可能性がある
3. 学会等名 令和3年度 第71回関西畜産学会神戸大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上田実来・永田加菜美・本田和久・上曾山博・實安隆興
2. 発表標題 ニワトリの摂食調節における視床下部TGF-β/Smadシグナリングの役割に関する研究
3. 学会等名 日本家禽学会2022年度春季大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	實安 隆興 (Saneyasu Takaoki) (20721236)	神戸大学・農学研究科・助教 (14501)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	本田 和久 (Honda Kazuhisa) (40335427)	神戸大学・農学研究科・教授 (14501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------