

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06361

研究課題名(和文) イリシンとオステオカルシンのクロストーク機構を応用した家禽の強健な骨格構築

研究課題名(英文) Cross-talk mechanism between muscle-derived irisin and bone-derived osteocalcin for robust skeletal construction in poultry.

研究代表者

杉山 稔恵 (Sugiyama, Toshie)

新潟大学・自然科学系・教授

研究者番号：10272858

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)：家禽では起立不能の脚弱あるいは卵殻の薄化による破卵が頻発し、多大な経済的損失を養鶏産業にもたらしている。これらは、成長期に強健な骨格を構築できず、成長とともにそのひずみにより発症する。本研究では、肉用鶏胚と卵用鶏胚における骨と筋のクロストーク機構を解明し、比較した結果、骨由来のオステオカルシンが筋形成を、筋由来のFNDC5/イリシンが骨形成を調節している可能性を見出した。今後、これらの研究成果を基盤とし、家禽の脚弱や破卵が防止されることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、家禽における骨(オステオカルシン)と筋(FNDC5/イリシン)のクロストーク機構を明らかにしたものである。本研究結果は、肉用鶏における脚弱ならびに卵用鶏における破卵の防止をもたらし、日本国民はもちろんこと世界中の人々へ安全・安心な畜産物の持続的な供給を可能とする。また、家禽の強健な骨格構築をもたらすことで動物福祉の向上に寄与する。さらには、本研究結果は、ヒトの加齢に伴う筋量減少症(サルコペニア)や骨粗しょう症の解明に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Poultry suffer significant economic losses due to frequent leg weakness and egg breakage caused by eggshell thinning. This is thought to be the result of the failure to construct a strong skeleton during growth. In this study, we elucidated and compared the crosstalk mechanism between bone and muscle in meat- and egg-type chick embryos and found that bone-derived osteocalcin regulates muscle formation, and muscle-derived FNDC5/irisin regulates bone formation. Based on the results of these studies, we expect that this research will lead to the prevention of leg weakness and egg breakage in poultry in future.

研究分野：動物解剖生理学

キーワード：ニワトリ 骨 筋 イリシン オステオカルシン クロストーク機構 骨格構築

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、肉用鶏において脚弱が、卵用鶏においては破卵が頻発し、養鶏産業に多大な経済的損失をもたらしている。これらは、成長期において十分な骨量や骨密度を有した骨格が構築されないため、急速な体重増加や高い産卵性に耐え切れず発症する。したがって、脚弱や破卵を防止するには、強健な骨格を構築することが不可欠である。本研究では、骨格筋より分泌されるマイオカイン(イリシン)と骨より分泌されるオステオカイン(オステオカルシン)の作用機序を明らかにするとともに、この骨と筋のクロストーク機構を利用して、強健な骨格の構築し、脚弱の防止と卵殻質の改善を図る。

2. 研究の目的

本研究では、急速に成長し筋量の多い肉用鶏と成長が遅く筋量の少ない卵用鶏におけるイリシンとオステオカルシンの発現と局在を検討し、家禽における筋と骨のクロストーク機構を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 肉用鶏胚ならびに卵用鶏胚発生ならびに孵化後過程における FNDC5/イリシンの発現と局在

孵卵 14 日、16 日、18 日ならびに孵卵 16 日、孵化後 0 日、孵化後 7 日における胸筋、大腿筋ならびに心臓における FNDC5/イリシン mRNA の発現量をリアルタイム PCR 法により検討し、肉用鶏と卵用鶏で比較した。また、免疫組織化学法により、各組織について FNDC5/イリシンの局在を観察した。

(2) 肉用鶏胚成長過程におけるオステオカルシンの発現と骨吸収

孵卵 3-15 日の肉用全鶏胚のオステオカルシン mRNA の発現量をリアルタイム PCR 法で検討するとともに、アリザリンレッド染色による全骨格標本を作製した。また、骨吸収によるオステオカルシンの活性化(脱カルボキシル化)を検討するため、大腿骨について酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ活性(TRACP)の検出を酵素組織化学的に行い破骨細胞の出現を観察した。

(3) 肉用ならびに卵用鶏胚発生過程におけるオステオカルシンと受容体の発現

骨に由来するオステオカルシンによる筋形成への影響を明らかにするため、孵卵 3-15 日の鶏胚におけるオステオカルシン mRNA の発現量をリアルタイム PCR 法により検討し、肉用鶏胚と卵用鶏胚で比較した。また、胸筋、大腿筋、心臓、腸管ならびに肝臓におけるオステオカルシン受容体(GPRC6)mRNA の発現量を同様に検討し、肉用鶏胚と卵用鶏胚で比較した。

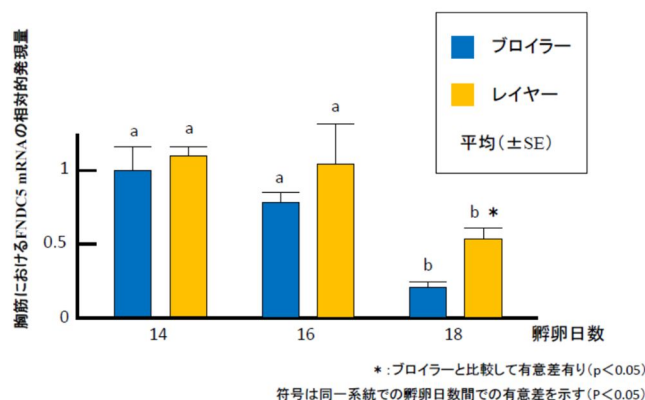


図1. プロイラーおよびレイヤーの14、16、18日胚の胸筋における FNDC5 mRNA の発現量の比較 (平均±SE)

4. 研究成果

(1) 肉用鶏胚ならびに卵用鶏胚発生ならびに孵化後過程における FNDC5/イリシンの発現と局在

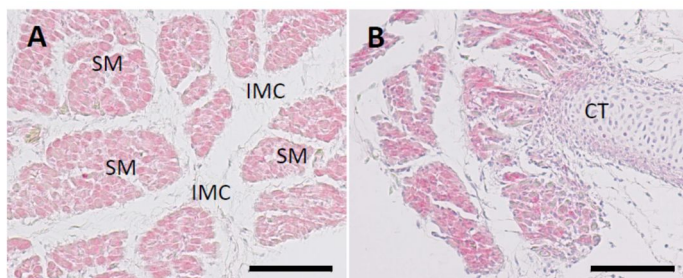


図2. 孵卵16日における胸筋におけるイリシンの局在。

(A) 肉用鶏、(B) 卵用鶏、Bars=100μm SM骨格筋; IMC筋束間結合組織; V血管; CT軟骨組織

孵卵 14-18 日の胚発生過程では、胸筋ならびに大腿筋における FNDC5/イリシンの発現量は時間の経過とともに減少した。また、その発現量は肉用鶏胚と比較して卵用鶏胚で高い傾向を示し、孵卵 18 日では有意な差がみられた(図1)。同様に、FNDC5/イリシンの発現量は肉用鶏ならびに卵用鶏で孵化後さらに減少した。免疫組織化学法では、胸筋ならびに大腿筋の筋線維、心筋細胞に FNDC5/イリシンが局在していた。これらの局在は、発生ならび

に成長過程、肉用鶏と卵用鶏の間で相違はなかった（図2）。

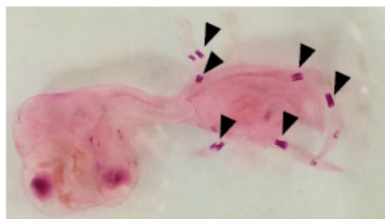


図3. 孵卵8日鶏胚における骨石灰化

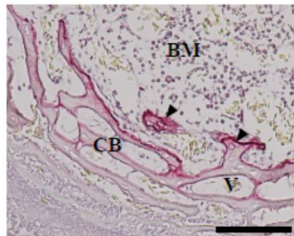


図4. 孵卵15日鶏胚の大腿骨におけるTRAP活性 Bar=100μm

灰化領域が始めて観察され、その後、鶏胚全体に石灰化領域が拡大した（図3）。孵卵10日に、大腿骨皮質骨内側表面に破骨細胞がみられ、骨吸収の開始がうかがえた。その後、破骨細胞数は増加し、孵卵12-15日の皮質骨においては破骨細胞のモデリングによる空胞がみられた（図4）。

（3）肉用ならびに卵用鶏胚発生過程におけるオステオカルシンと受容体の発現

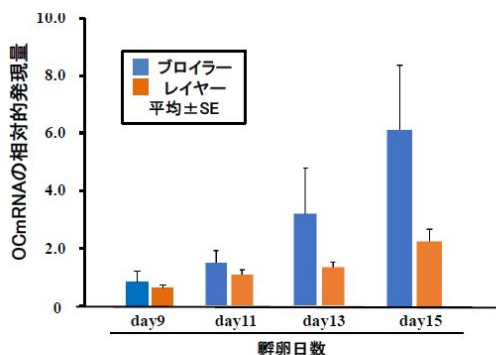


図5. プロイラー胚およびレイヤー胚におけるOCmRNAの相対的発現量(平均±SE)

られた。肉用鶏と卵用鶏の比較では、鶏胚では肉用鶏でFNDC5/イリシンの発現量が低かったことから、筋の発達に反してFNDC5/イリシンを介した骨形成能は肉用鶏で低いことがうかがえた。一方、骨由来のオステオカルシンは、孵卵8日に始まる骨形成とともに骨に沈着した後、破骨細胞による骨吸収により活性化（脱カルボキシル化）され、筋形成に関与することが示唆された。また、肉用鶏胚と卵用鶏胚の比較では、骨におけるオステオカルシンならびに骨格筋におけるGPRC6の発現量が肉用鶏胚

で高かったことから、肉用鶏胚における骨格筋は骨由来のオステオカルシンにより促進されることが示唆された。今後、培養細胞を用いて、オステオカルシンならびにFNDC5/イリシンの筋形成ならびに骨形成への直接的影響を明らかにする必要があると考えられた。

（2）肉用鶏胚成長過程におけるオステオカルシンの発現と骨吸収

孵卵の経過とともに、オステオカルシンの発現量は孵卵9日で急激に増加し、孵卵13、15日目では孵卵11日と比較して発現量が有意に高かった。アリザリンレッド染色を用いた透明全身骨格標本では、孵卵8日の上腕骨、橈骨、大腿骨ならびに脛骨で石

肉用鶏胚ならびに卵用鶏胚において、オステオカルシン発現量は孵卵の経過とともに増加した。とりわけ、肉用鶏胚では著しい発現量の増加がみられ、常にオステオカルシンの発現量は卵用鶏よりも高かった（図5）。また、GPRC6の発現量も、胸筋、大腿筋、心臓ならびに腸管において、肉用鶏胚で高い発現量を示した（図6）。

以上の結果より、筋由来のFNDC5/イリシンは、骨格筋のみならず心筋でも発現することが示された。また、FNDC5/イリシンの発現量は胚発生過程や成長過程で変化しており、今後、筋形成への作用を明らかにする上でメカニカルストレス（運動）との関連を検討する必要があると考え

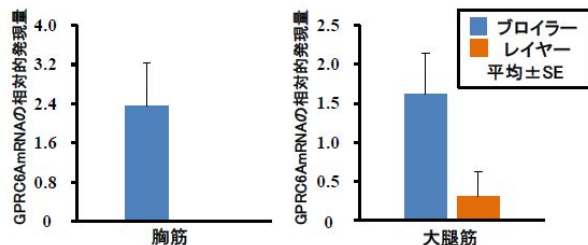


図6. 孵卵16日目の肉用鶏胚および卵用鶏胚におけるGPRC6 mRNAの相対的発現量(平均±SE)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 H. ASAO and T. SUGIYAMA
2. 発表標題 Expression of osteocalcin in broiler and layer chick embryos: a novel crosstalk mechanism between bone and muscle
3. 学会等名 ISFAE 2021 NIIGATA
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 忍田真一朗、杉山稔恵
2. 発表標題 鶏胚における筋と骨のクロストーク因子イリシンの発現と局在
3. 学会等名 日本畜産学会第128回大会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------