

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月15日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580348

研究課題名（和文） 食欲促進、抗ストレス及び抗肥満作用を有する新規ペプチドによる鶏肉の高生産法の開発

研究課題名（英文） Efficient chicken meat production using orexigenic, antistress, and antiobesity peptides

研究代表者

本田 和久 (HONDA KAZUHISA)

神戸大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：40335427

研究成果の概要（和文）：

α -MSH 受容体アンタゴニストの中枢投与はブロイラーの摂食に影響を及ぼさなかったことから、ブロイラーにおいては視床下部 α -MSH 発現量が少ないことが示唆された。CRF 受容体アンタゴニストの中枢投与は、血中副腎皮質ホルモン濃度を低下させ、摂食量を増加させたことから、CRF 受容体アンタゴニストが食欲促進、抗ストレス及び抗肥満作用を併せ持つことが示唆された。しかしながら、これらの効果はレイヤーにおいては鼻腔内投与時にも認められたが、ブロイラーにおいては認められなかった。それ故、ブロイラーにおいては、鼻腔内から中枢神経系へのペプチドの移行率が低いことが示唆された。

研究成果の概要（英文）： Central administration of α -MSH antagonist did not influence food intake in broiler chicks, suggesting that endogenous α -MSH is decreased in the hypothalamus of broiler chicks. Central administration of CRF antagonist decreased plasma corticosterone and increased food intake in broiler chicks, suggesting that CRF antagonist acts as an orexigenic, antistress, and antiobesity peptide. However, these effects of CRF antagonist were observed in layer chicks, but not in broiler chicks, when the peptide administered intranasally. It is therefore likely that the rate of transportation of peptides from the nasal cavity to the central nervous system in broiler chicks is lower than that in layer chicks.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：畜産学・獣医学

科研費の分科・細目：応用動物科学

キーワード：食欲・ペプチド・鶏

1. 研究開始当初の背景

我が国の家禽生産の経費全体に占める飼料費の割合は約 65%と著しく高いことから、飼料効率の改善が極めて重要な課題となっ

ている。この課題に対処するべく、食用鶏の中でも飼料効率が良く産肉量の多いブロイラーの生産が推し進められた結果、現在、その生産量は食用鶏全体の 90%以上に至って

いる（農林水産省平成 18 年度食鳥流通統計調査結果より）。しかしながら、ブロイラー生産においては、摂食量の個体差に基づく成長のパラッキにより、未だ産肉量の一律的な増加が達成されておらず、効率的生産を目的として導入されている過密飼育においても、温度や騒音等のストレスによる筋肉重量の減少（Br. Poult. Sci., 1994, 35, 789-798）や運動不足による体脂肪量の増加といった新たな問題が発生している。これらの問題に対し、管理技術の工夫などによる対応策が種々試みられてきたが、摂食量の個体差の原因となる中枢での食欲調節機構が未だ不明な点が多いこと、及び、過密飼育条件下ではストレス要因の除去や運動量の増加は容易ではないことから、現実的な解決手段は未だ見いだされていない。

ここで、本らは、鶏の中枢食欲調節機構は哺乳動物のそれと極めて類似していること、及び、強力な食欲抑制ペプチドである α -メラニン細胞刺激ホルモン (α -MSH) がブロイラーの摂食量を決定する最上流の因子であることを見出した。マウスにおいては、 α -MSH 或いは α -MSH 受容体の欠損により摂食量が激増し、体重が実に約 2 倍にまで増加することが知られている（Nat. Med., 1999, 5, 1066-1070; Cell, 1997, 88, 131-141）。それ故、何らかの方法を用いて α -MSH の受容体アンタゴニストを飼育期間中にブロイラーの中枢に投与して内因性の α -MSH の作用を遮断することができれば、総ての個体の摂食能力を最大限に引き出すことにより、鶏の成長を著しく促進することができると判断される。また、橋らは、副腎皮質刺激ホルモン放出因子 (CRF) が筋肉タンパク質分解等のストレス応答反応を引き起こす血中コルチコステロン濃度を上昇させる最上流の調節因子であること（Neurosci. Lett., 2004, 360, 165-169 等）、加えて、視床下部神経ペプチドの一つであるバソアクティブ・インテスティナル・ポリペプチド (VIP) が脂肪分解を促進すること（Comp. Biochem. Physiol. A, 2007, 147, 156-164 等）をそれぞれ見出した。それ故、上述の α -MSH 受容体アンタゴニストと共に、CRF 受容体アンタゴニスト並びに VIP 受容体アゴニストを、何らかの方法によりブロイラーの中枢に投与することができれば、「摂食量の増加に基づく一律的成長促進」、「ストレス応答反応の緩和による産肉量の増加」、及び、「脂肪分解の促進による体脂肪の過剰蓄積の抑制」の 3 者が同時に達成できることとなり、鶏肉の生産性を飛躍的に改善することができると判断された。

最近、ヒトにおいて、生体機能を調節する極めて重要な中枢の神経ペプチドが薬剤開発のターゲットとなっているが、ペプチドは経口摂取する場合、消化酵素により分解され

てしまうこと、及び、仮に血中に移行しても肝臓や血中の種々のプロテアーゼによる分解を受け、速やかにその活性が失われてしまうことから、その効果の持続性を鑑み、生体内で分解され難い化学合成薬剤の開発が進められている。当然、このような薬剤を用いることは、ヒトにおいては副作用が、産業動物においては残留がそれぞれ懸念されることから、最善の方法とは言えない。それ故、体内でアミノ酸に代謝され残留しないペプチド態の薬剤を鼻腔から直接中枢に投与する方法である経鼻投与が注目を集めている。例えば、ヒトにおいては、 α -MSH 或いはインスリンの経鼻投与が、これらのペプチドの血中濃度を増加させることなく、脳脊髄液中の濃度のみを上昇させることが報告されている（Nat. Neurosci., 2002, 5, 514-516）。しかしながら、本田らが鼻腔内投与により既知のペプチドの作用、即ち、 α -MSH 受容体アンタゴニストの食欲促進作用、CRF 受容体アンタゴニストの抗ストレス作用、及び、VIP 受容体アゴニストの脂肪分解促進作用について調べたところ、これらのペプチドの作用はいずれも極めて弱いことが明らかになったことから、より強い生理活性を示す新規ペプチドの開発が必須であると判断された。

最近、尾上らは、VIP のアミノ酸配列の一部を置換、削除或いは付加した種々のペプチドを合成し、その VIP 受容体に対する結合性を調べた結果、VIP の一部のアミノ酸をアルギニン或いはリジンに置換することにより受容体に対する親和性が高められること、及び、VIP の C 末端へのアミノ酸の付加によりペプチドとしての安定性が高められること、及び、ペプチドを糖質に吸着させることにより、分散性の高い微粉末に出来ることを見出した。それ故、尾上らの有するペプチド誘導体の合成技術と、本田らの確立した経鼻投与法を組み合わせることにより、鶏の中枢において高い生理活性を有する新規の機能性ペプチド誘導体を用いた鶏肉の高生産法を開発できる可能性が極めて高いと判断された。

2. 研究の目的

本研究では、新規の 3 種類の機能性ペプチド、即ち、食欲促進ペプチド (α -MSH 受容体アンタゴニスト)、抗ストレスペプチド (CRF 受容体アンタゴニスト) 及び抗肥満ペプチド (VIP 受容体アゴニスト) を開発し、これらを用いてブロイラーの「成長促進」、「筋肉量増加」及び「体脂肪量減少」による効率的な鶏肉生産法を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

まず、 α -MSH 受容体アンタゴニスト及び CRF 受容体アンタゴニスト、及び、種々の

VIP 受容体アゴニストを、それぞれ鶏の脳室内に投与し、摂食量、ストレス応答反応の指標である血中コルチコステロン濃度、及び脂肪分解の指標である血中遊離脂肪酸濃度を指標に、最も高い活性を有するペプチドを選定する。次に、選定された新規機能性ペプチドを鶏に鼻腔内投与し、その食欲促進作用、抗ストレス作用及び抗肥満作用を示す有効投与量を確認する。最後に、新規機能性ペプチドを成長中のブロイラーに長期間経鼻投与することにより、食欲促進、抗ストレス及び抗肥満作用を有する新規ペプチドによる鶏肉の高生産法の開発を行なう。

4. 研究成果

初年度は、まず、「食欲促進ペプチド」として、強力な食欲抑制ペプチドである α -MSH の受容体アンタゴニストを中枢投与したが、摂食量の増加は認められなかった。そこで、ブロイラーの視床下部 α -MSH 前駆体遺伝子の発現を調べた結果、ブロイラーはその他の品種の鶏に比べ α -MSH の発現量が少ないことが明らかになった。このことから、ブロイラーにおいては α -MSH の産生量が少ない為、アンタゴニストによる α -MSH の阻害効果が表れず、摂食促進効果が認められないことが示唆された。次に、「抗ストレスペプチド」として、ストレスペプチドである CRF の受容体アンタゴニストを中枢投与した結果、ストレスの指標となる血中副腎皮質ホルモン濃度の低下に加え、摂食量の増加が認められた。このことから、CRF の受容体アンタゴニストは抗ストレス作用と食欲促進作用を併せ持つことが明らかになった。更に、「抗肥満ペプチド」の候補である脂肪分解促進作用を有する VIP のアナログを中枢投与した結果、血中遊離脂肪酸濃度の上昇と摂食量の減少が認められた。このことから、VIP アナログの抗肥満作用のみを発現させるべく、VIP アナログによる脂肪分解促進機構と食欲抑制機構との関連を解明する必要があると考えられた。最後に、我々が開発した VIP アナログ吸着微粉末を用いて VIP アナログの分散性と安定性の向上を *in vivo* 条件下で調べ、その有効性を確認した。

2 年目には、初年度に、「食欲促進」及び「抗ストレス」の両作用を有することが確認された CRF 受容体アンタゴニストを、鶏雛に脳室内或いは鼻腔内投与した結果、脳室内投与時においてのみストレスの指標となる血中副腎皮質ホルモン濃度の低下と摂食量の増加が認められることが明らかになった。このことから、CRF 受容体アンタゴニストを経鼻投与剤として用いる為には、このアンタゴニストの中枢への移行率を高める必要があると判断された。又、鶏における VIP アナログによる脂肪分解促進機構と食欲抑制機構との

関連を明らかにする目的で、種々の食欲抑制関連受容体アンタゴニストの投与が VIP による食欲抑制効果に及ぼす影響について調べた。その結果、上述の CRF 受容体アンタゴニストが、VIP による食欲抑制と血中遊離脂肪酸濃度の上昇（即ち、脂肪分解促進）の両者を消失させることが明らかになった。これらの結果は、VIP は CRF を介して脂肪分解の促進と食欲の抑制を引き起こすことを示唆することから、VIP を用いて脂肪分解促進効果のみを発現させることは困難であると判断された。ここで、「筋肉量増加」は、基礎代謝量の増加（即ち、消費エネルギーの増加）を伴う為、「筋肉量増加」によって「体脂肪量減少」が達成できる可能性は高い。それ故、上述の CRF 受容体アンタゴニストの中枢への移行率を高めることができれば、食欲促進による「成長促進」と抗ストレスによる「筋肉量増加」に加え、「体脂肪量減少」も同時に達成できる可能性があると判断された。

最終年度では、2 年目に、ブロイラー雛においては CRF 受容体アンタゴニストの脳室内投与によって認められる効果が鼻腔内投与によっては認められないことが明らかになったことから、この投与経路による効果の違いが、動物種或いは日齢による違いに基づく可能性について明らかにするべく、種々の品種及び日齢の鶏を用いて、CRF 受容体アンタゴニストの鼻腔内投与試験を行なった。その結果、卵用品種のニワトリ雛においては、CRF 受容体アンタゴニストの鼻腔内投与は、摂食量の増加、及び、ストレス応答反応の指標となる血中コルチコステロン濃度の低下を引き起こすことが明らかになったが、卵用品種の成鶏、ブロイラーの幼雛並びに出荷日齢に相当する 8 週齢の若鶏においては、これらの効果は認められなかった。そこで、このような CRF 受容体アンタゴニストによる応答性の相違が、中枢神経系における感受性の相違に基づく可能性について明らかにする目的で、種々の品種及び日齢の鶏の視床下部及び脳下垂体を *in vitro* 条件下で培養し、CRF 受容体アンタゴニストによる、CRF の遮断効果について確認した。その結果、卵用品種の成鶏及び 8 週齢のブロイラー若鶏においては、CRF 受容体アンタゴニストによる CRF の遮断効果が低いことが明らかになった。一方、幼雛時においては、卵用品種及び肉用品種共に、CRF 受容体アンタゴニストの効果が *in vitro* 条件下において認められたことから、ブロイラーの幼雛時に CRF 受容体アンタゴニストの効果が認められない原因のひとつとして、ブロイラーにおいては鼻腔内から中枢神経系へのペプチドの移行率が低いことが示唆された。鼻腔内から中枢神経系への移行率を高めるためには、CRF 受容体アンタゴニストの低分子化と安定化という相反する

特性の付与が必要となる。今後は、種々の CRF 受容体アンタゴニストアナログを作成して、その効果を評価する為の膨大な実験が必要となる。又、鼻腔内から中枢神経系への移行性には、生体の防御反応が関与している可能性も考えられることから、生体の防御能が未発達と考えられる孵化直後の鶏雛を用いた実験も有効であるかもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

- ① Misaka S, Aoki Y, Karaki S, Kuwahara A, Mizumoto T, Onoue S, Yamada S. Inhalable powder formulation of a stabilized vasoactive intestinal peptide (VIP) derivative: anti-inflammatory effect in experimental asthmatic rats. Peptides, 査読有, 31, 2011, 72-78
- ② Saneyasu T, Honda K, Kamisoyama H, Nakayama Y, Ikegami K, Hasegawa S, Alpha-melanocyte stimulating hormone plays an important role in the regulation of food intake by the central melanocortin system in chicks, Peptides, 査読有, 32, 2011, 996-1000
- ③ Saneyasu T, Honda K, Kamisoyama H, Ikura A, Nakayama Y, Hasegawa S, Neuropeptide Y effect on food intake in broiler and layer chicks, Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 査読有, 159, 2011, 422-426

〔学会発表〕(計1件)

- ① 中山陽子、実安隆興、池上賢吾、本田和久、上曾山博、長谷川信、種々のメラニン細胞刺激ホルモンの中樞投与がブロイラーの摂食量に及ぼす影響、日本家禽学会誌第48巻春季大会号、22項

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本田 和久 (HONDA KAZUHISA)
神戸大学・大学院農学研究科・助教
研究者番号：40335427

(2) 研究分担者

尾上 誠良 (ONOUÉ SATOMI)
静岡県立大学・薬学部・講師
研究者番号：00457912

(3) 連携研究者

橘 哲也 (TACHIBANA TETSUYA)
愛媛大学・農学部・准教授
研究者番号：80346832