

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05892

研究課題名(和文) インスリン様成長因子結合タンパク質遺伝子の発現調節による革新的食肉生産技術の開発

研究課題名(英文) Innovative meat production technology by regulating the expression of insulin-like growth factor binding protein genes

研究代表者

本田 和久 (Honda, Kazuhisa)

神戸大学・農学研究科・教授

研究者番号：40335427

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)：ニワトリの骨格筋および脂肪組織におけるインスリン様成長因子結合タンパク質(IGFBPs)の役割を明らかにする目的で、生体および培養細胞におけるIGFBPsの発現変動機構並びに関与する因子について調べた。その結果、脂肪組織においてはIGFBPsは重要な役割を果たさない一方で、骨格筋においては全てのIGFBPsが生理的役割を有する可能性が示された。また、IGFBP-1はIGF-1の働きに影響する可能性、IGFBP-2～5の遺伝子発現調節にはある種の脂肪酸やグルココルチコイドが関与すること、これらの遺伝子発現調節機構における応答性の違いが、肉用鶏における骨格筋の発達に関与している可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食肉の消費量は20世紀に激増し、今後もアジアを中心とした国々では経済発展に伴い食肉、特に鶏肉の消費量が増加することが予想されている。それ故、肉用鶏の骨格筋量を決定づける骨格筋におけるタンパク質代謝調節機構を解明することには極めて重要な意義がある。本研究において、我々はニワトリの骨格筋において発現するIGFBPsが、骨格筋形成に関与することを示唆し、その制御因子の一部を明らかにしたことから、その学術的意義は高い。また、今後明らかにされるであろう各IGFBPの生理的重要性の解明は、肉用鶏の生産性を高めるための飼養管理技術の向上に貢献すると判断され、高い社会的意義を有するものといえる。

研究成果の概要(英文)：To clarify the role of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) in chicken skeletal muscles and white adipose tissue, the regulatory mechanisms of gene expression of IGFBPs in vivo and in vitro (primary cultured chicken myotubes) and the factors involved in the mechanisms were investigated. The results suggest that all IGFBPs may have physiological roles in skeletal muscle, whereas IGFBPs do not play important roles in the adipose tissue. It was also shown that IGFBP-1 may affect the function of IGF-1, and that certain fatty acids and glucocorticoids are involved in the regulation of IGFBP-2-5 gene expression. Differences in responsiveness in IGFBP-2-5 gene expression regulatory mechanisms may be involved in skeletal muscle development in meat type chickens.

研究分野：栄養代謝学

キーワード：IGF 食肉 骨格筋

1. 研究開始当初の背景

近年、世界的な食肉供給量の不足が懸念されており、その改善策として、飼料効率の良い鶏肉供給量の増加や、飼料作物や水資源の節約に寄与する培養肉の開発等が期待されている。

インスリン様成長因子(IGF)は、IGF受容体の下流のシグナルであるAkt-S6経路を活性化し、筋肥大を促すことが知られているが、最近、哺乳類においては、IGFの標的部位において発現する種々のIGF結合タンパク質(IGFBP)もまた、Akt-S6経路の調節に関与することが明らかにされた。一方、我々は、ニワトリにおいて、絶食によるAkt-S6経路の応答が、骨格筋部位によって異なること、絶食により肝臓のIGFBP-1及び2遺伝子のmRNA量は増加するが、脳においてはいずれのIGFBP遺伝子のmRNAも変動しないこと、及び骨格筋において、絶食再給餌によるIGFBP-1及び2遺伝子のmRNA量の変動が、IGFBP-3遺伝子のそれとは異なることを見出した。これらの結果から、ニワトリにおいても、血中のIGF濃度に関わらず、臓器・組織特異的に発現変動するIGFBPが、Akt-S6経路に影響する可能性が示された。それ故、ニワトリの種々の骨格筋に発現するIGFBPのタイプとその発現調節因子を明らかにし、それを用いてAkt-S6経路の活性化と筋肥大を誘導できれば、鶏肉の効率的生産に貢献できると判断された。

ところで、IGFと拮抗し、Akt-S6経路を抑制するマイオカインであるミオスタチンの遺伝子変異を有するウシ及びブタでは、骨格筋の著しい発達が認められるが、食肉の美味しさを向上させる筋間脂肪がほとんど認められなくなるため、食肉としての評価は低いものとなる。それ故、骨格筋におけるIGFの働きを高めて筋肥大を誘導し、骨格筋の発達を促そうとする場合においては、筋間脂肪の発達も併せて促進する必要があると判断される。それ故、ニワトリの脂肪組織に発現するIGFBPのタイプとその発現調節因子を明らかにし、それを用いて筋間脂肪において脂肪細胞の分化を誘導できれば、鶏肉の美味しさの向上に貢献できる可能性もあると判断された。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ニワトリの骨格筋と脂肪組織におけるIGFBP遺伝子の発現調節因子を明らかにすると共に、これらのIGFBP遺伝子の発現調節による鶏肉の生産性向上の可能性について検証することである。

3. 研究の方法

(1) 種々の骨格筋および脂肪組織に発現するIGFBP遺伝子の比較

ニワトリの浅胸筋、大内転筋、長内転筋、腓腹筋、縫工筋、大腿二頭筋、および腹腔内脂肪組織において発現するIGFBPのmRNA量の種類と、絶食がニワトリの浅胸筋、大腿二頭筋及び腹部脂肪組織におけるIGFBPのmRNA量に及ぼす影響をリアルタイムPCR法により解析した。

(2) 培養筋管細胞および脂肪細胞におけるIGFBP遺伝子発現調節因子の解明

鶏胚から調製した筋管細胞およびニワトリヒナの腹腔内脂肪組織から調製した脂肪前駆細胞の培地に、種々のホルモン、PPARアゴニスト、グルコース、脂肪酸、或いはアミノ酸を添加し、IGFBP遺伝子のmRNA量に及ぼす影響をリアルタイムPCR法により解析した。

(3) 培養筋管細胞におけるIGFBP遺伝子のsiRNAによるノックダウンがIGF-1の働きに及ぼす影響

鶏胚から調製した筋管細胞の培地に、IGFBP遺伝子のsiRNAを添加し48時間培養した後、IGF-1を添加し、その標的遺伝子のmRNA量に及ぼす影響をリアルタイムPCR法により解析した。

4. 研究成果

(1) 種々の骨格筋および脂肪組織に発現するIGFBP遺伝子の比較

調べたすべてのブロイラーの骨格筋において、IGFBP-1~5のmRNAが検出されたが、IGFBP-3を除き、浅胸筋におけるIGFBPのmRNA量は、その他の部位に比べて低い傾向を示した(図1)。また、絶食は、ブロイラーの浅胸筋および大腿二頭筋におけるIGFBP-3のmRNA量を有意に減少させ、IGFBP-1および2のmRNA量を有意に、或いは有意ではないものの増加させること、その他のIGFBPの発現変動は骨格筋の部位や鶏種によって異なることが明らかになった。これらの結果から、骨格筋に発現するIGFBPの種類は部位によって異なるが飢餓によって、IGFBP-1ならびに2の遺伝子発現は誘導され、IGFBP-3のそれは抑制されることから、これらのIGFBPが骨格筋において何らかの生理的役割を果たす可能性が示された。一方、脂肪組織においては、IGFBP-1~3のmRNAのみ検出されること、絶食がこれらのIGFBP mRNA量に及ぼす影響については安定した結果が得られないことが明らかになった。これらの結果から、脂肪組織に発現するIGFBPの種類は骨格筋に比べて少ないこと、およびその遺伝子発現の変動は栄養代謝とは関連が無いことが示唆された。

(2) 培養筋管細胞および脂肪細胞におけるIGFBP遺伝子発現調節因子の解明

ニワトリ培養筋管細胞の培地へのグルココルチコイドの添加はIGFBP-3~5のmRNA量を増加させた。しかしながら、これらの変化は絶食がニワトリ骨格筋におけるIGFBP-3~5のmRNA

量に及ぼす影響とは逆の変化であることから、その生理的役割は重要ではない可能性が示された。骨格筋 IGFBP-2 の mRNA 量はいくつかの脂肪酸のうちパルミチン酸によってのみ増加したことから、極めて特異的な作用機構によって制御されていること、および PPAR α および δ のアゴニストの培地への添加は IGFBP-2 の発現には影響しなかったことから、パルミチン酸による IGFBP-2 の発現調節機構にはこれらの PPAR は関与しないことが示唆された。PPAR α および δ のアゴニストは IGFBP-1 の発現を下向き調節し、IGFBP-3 の発現を上向き調節したが、これらの変化は絶食がニワトリ骨格筋におけるこれらの IGFBP の mRNA 量に及ぼす影響とは逆の変化であることから、その生理的役割は重要ではない可能性が示された。

その他、IGF-1 の培地への添加は、培養筋管細胞の IGF-1 受容体の mRNA 量を減少させ、グルココルチコイドの培地への添加は逆に増加させた。IGF-1 は絶食時に血中濃度が低下し、グルココルチコイドは絶食時に血中濃度が上昇する。それ故、IGF-1 の働きは、骨格筋の IGF-1 受容体の増減によっても影響を受けること、その増減に IGF-1 とグルココルチコイドが関与する可能性が示された。

培養脂肪細胞においては、いずれの因子も明確な効果を示さなかったが、今後、培養条件について検証する必要がある。

(3) 培養筋管細胞における IGFBP 遺伝子の siRNA によるノックダウンが IGF-1 の働きに及ぼす影響

IGF-1 による atrogen1 遺伝子 (タンパク質分解調節因子の一つ) の発現抑制効果は、IGFBP-1 の遺伝子発現のノックダウンによって減弱する可能性が示されたが、その効果は極めて弱いものであった。これらの結果から、IGFBP-1 は IGF-1 の働きを上向き調節する可能性が示されたが、今後、生体内における効果の検証が必要と判断された。

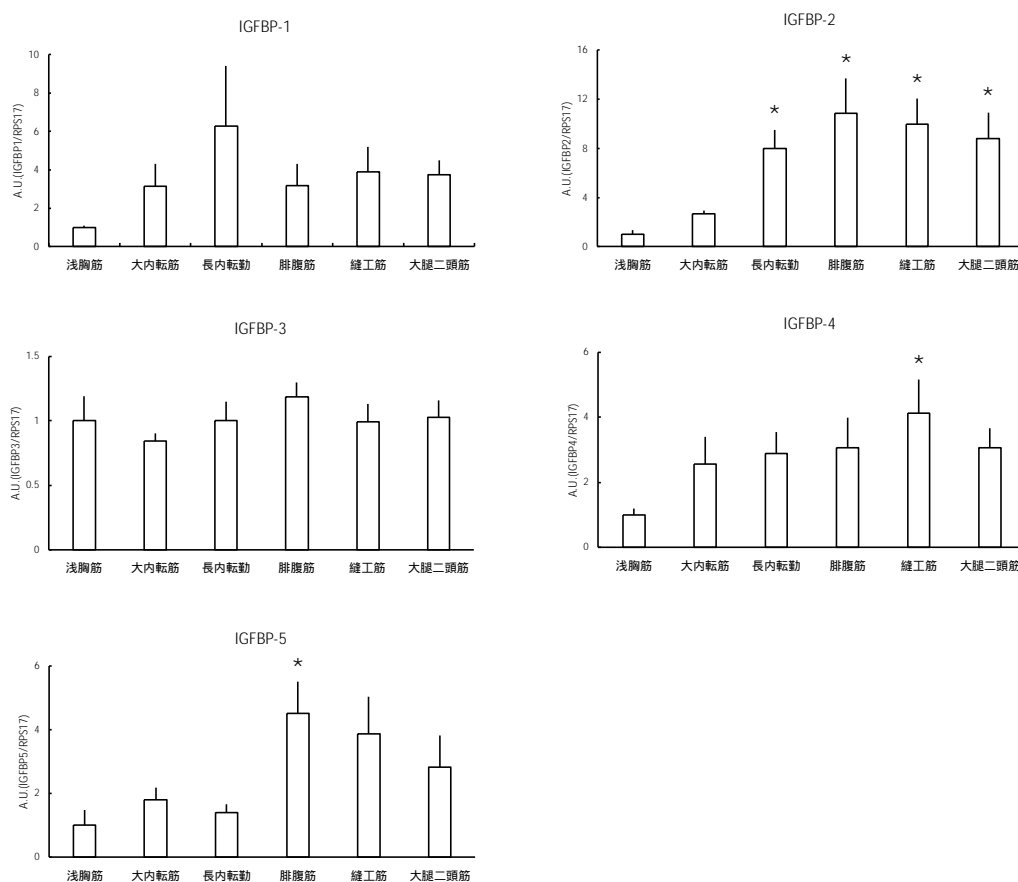


図1 種々の骨格筋におけるインスリン成長因子結合タンパク質の mRNA 量の比較
*は浅胸筋に対して危険率 5%未満で有意差が有ることを示す。

以上、本研究の結果から、いくつかのホルモン、あるいは栄養素がニワトリ骨格筋の IGFBP-2~5 遺伝子の発現に影響すること、および IGFBP-1 が IGF-1 の働きに影響する可能性が示された。また、種々の IGFBP の遺伝子発現調節機構における応答性の違いが、肉用鶏における骨格筋の発達に関与している可能性が示された。一方で、骨格筋と比較すると、脂肪組織における IGFBP の生理的役割は重要ではない可能性が示された。今後、*in vivo* 条件下において、ニワトリ骨格筋における IGFBP-1 および 2 の生理的役割とその制御機構を明らかにする必要があることが課題として挙げられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 本田和久・長田晴季・實安隆興
2. 発表標題 インスリン様成長因子（IGF）-1がニワトリ筋管細胞のIGF関連遺伝子の発現に及ぼす影響
3. 学会等名 日本家禽学会2022年度秋季大会
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
---------------------------	-----------------------	----

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