

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 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010 年～2012 年

課題番号：22580304

研究課題名（和文） リジン欠乏による鶏ヒナの摂食量減少に関与する視床下部モノアミン作用の解明

研究課題名（英文） Critical role of hypothalamic dopamine in regulation of food intake by growing chickens on lysine-free diet

研究代表者 菅原 邦生

(SUGAHARA KUNIO)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号：50091947

研究成果の概要（和文）：

『リジン欠乏飼料摂取→血漿リジン濃度減少→神経または液性経路→脳→視床下部モノアミン量変化→摂食量変化』という仮説を設定し、個体レベルでリジン欠乏による摂食量の変動と視床下部腹内側核細胞間隙モノアミン変動を逐次的に測定し、リジン欠乏による摂食量の減少が視床下部腹内側核細胞間隙ドーパミンの減少を介したものであることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

1. Central perfusion of L-DOPA as well as peripheral administration of lysine kept the extracellular DA level in the VMH at baseline of chickens fed on a lysine-free diet.
2. Keeping the extracellular DA level in the VMH prevents chickens on the lysine-free diet prevented from decreasing their voluntary food intake.
3. DA in the VMH plays a critical role in food intake regulation in chickens fed on a lysine-free diet.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
22 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
23 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
24 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学

キーワード：栄養・飼養、摂食量、視床下部、モノアミン、脳微小透析法

1. 研究開始当初の背景

(1) 不断給与条件での自発的摂食量の変化に関与する内因性因子を特定することは、家畜などの自発摂食量を調節する技術の開発に不可欠である。自発的に摂食量を調節する基本的な仕組みは、体内のエネルギー供給を保障する負のフィードバックシステムであり、これには視床下部が重要な役割を果たしている。

(2) 約 30 年前に必須アミノ酸不足飼料給与

によって摂食量が数時間以内に減少することが観察され、エネルギー不均衡による負のフィードバックシステムとは異なる調節機構が認識された。この現象に脳が関与していることが示唆されてきたが、部位も機構も解明されていない。

(3) リジン欠乏飼料摂取時の視床下部のモノアミン量を脳微小透析法で調べ、視床下部腹内側核細胞間隙のドーパミン量の減少を伴うことを報告した。

(4) 次のような仮説『リジン欠乏飼料摂取→血漿リジン濃度減少→神経または液性経路→脳→視床下部モノアミン量変化→摂食量変化』を設定し個体レベルでリジン欠乏による摂食量の減少が視床下部モノアミンを介した変動であることを証明することを目指した。

2. 研究の目的

リジン欠乏飼料を摂取している鶏ヒナ視床下部腹内側核のドーパミン量を薬理的に、あるいは血漿リジン濃度変化を介して操作し、その量をモニターしながら摂食量変動との関連を個体レベルで追及し、この部位のドーパミン量の変動そのものが摂食量を変動させることを検証した。

3. 研究の方法

鶏ヒナ(3週齢オスヒナ)の視床下部にL-3,4ジヒドロキシフェニルアラニン(L-DOPA)をreverse microdialysis法で投与し、またはリジンを経腸的に投与し、視床下部腹内側核細胞間隙ドーパミンを脳微小透析法とHPLCで30分ごとに監視し、同時にリジン欠乏飼料(精製飼料CP 145g/kg、ME 3.53 Mcal/kg、リジン塩酸 0g/kg)の摂取量を1時間ごとに記録した。対照として、対照飼料(リジン塩酸 11.9g/kg)給与、あるいはリジン不足飼料給与+生理食塩水またはアラニン溶液投与を設定した。血漿アミノ酸濃度は、ヘパリン塗布試験管に採血後、血漿を分離し、除タンパク処理後自動アミノ酸分析器で測定した。

4. 研究成果

(1) 鶏ヒナの視床下部腹内側核細胞間隙ドーパミン量の薬理的制御

ドーパミン放出促進剤(ノミフェンシン)を腹内側核にreverse microdialysis法で投与すると腹内側核細胞間隙ドーパミンを増加したが、他のモノアミンも増加したので、ノミフェンシンは採用しなかった。L-DOPAを10または20ng投与すると腹内側核細胞間隙ドーパミン量は投与1時間後に約2倍に増加し、他のモノアミンは変化しなかった。

(2) 視床下部腹内側核へのL-DOPA投与によるリジン欠乏飼料摂取量減少の緩和
リジン欠乏飼料をヒナに給与開始1時間後に腹内側核にL-DOPA 30ng投与し、飼料を与え続けると、視床下部腹内側核細胞間隙のドーパミン量は1時間後に約3倍に増加し、その後2時間にわたり、対照群より高い水準を維持した。この間1時間ごとの摂食量の減少は緩和され、対照飼料群と差はなかった。また、リジン欠乏飼料を摂取し、L-DOPAを投与しない場合に比べると、摂食量の減少し始める時間を1時間遅らせることができた。

雑誌論文②と③

(3) リジンの経腸的投与による鶏ヒナの視床下部腹内側核細胞間隙ドーパミン量の維持と摂食量減少緩和

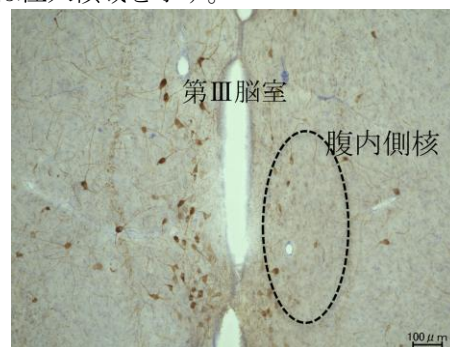
リジン欠乏飼料を給与開始1時間後にリジン溶液(0.1g/mL/羽、1日摂取量の3分の1に相当する)または生理食塩水を筋胃に投与した。リジン投与では摂食量の減少は見られず、視床下部腹内側核細胞間隙ドーパミン量もリジン要求量を満たした対照飼料(リジン塩酸 1.19g/kg)を摂取しているヒナのものと同程度であった。生理食塩水投与では、摂食量と視床下部腹内側核のドーパミン量ともに減少した。雑誌論文①

(4) リジン経腸的投与による鶏ヒナの血漿リジン濃度の維持と摂食量減少緩和

リジン欠乏飼料を給与開始1時間後にリジン溶液(0.1g/mL/羽)、アラニン溶液(0.12g/mL/羽、リジンと等窒素)または生理食塩水を筋胃に投与し、5時間にわたり1時間ごとに摂食量を記録し、血漿アミノ酸濃度を測定した。リジン溶液投与によりリジンを除く血漿アミノ酸濃度には変化はなかったが、リジンは投与1時間後に対照飼料群より高くその後徐々に低下し、対照飼料群と同程度になった。摂食量は一旦減少したのち、リジン濃度の増加に伴い2と3時間では対照飼料群と同等であった。アラニン溶液投与では、血漿リジン濃度を維持できず、摂食量も生理食塩水投与群と差がなかった。学会発表①

(5) 視床下部腹内側核ドーパミン神経破壊動物の作成

視床下部腹内側核ドーパミン神経がリジン欠乏飼料摂取時の摂食量の減少に関与しているか否かを検証するために、同神経欠損ヒナの作出を試みた。視床下部腹内側核に6-ヒドロキシドーパミン7.5μgをreverse microdialysis法で注入したのち10日に前額断切片に抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体で免疫染色を施した観察したところ、腹内側核の陽性細胞数は6-ヒドロキシドーパミン投与で減少する傾向があった(図)。破線の楕円は注入領域を示す。



これらの成果は、個体レベルでリジン欠乏飼料摂取による摂食量の減少を時間の経過とともに追いつながら、視床下部腹内側核ドーパミン量の変動と関連付け、摂食量の減少がドーパミン量の変動を介したものであることを明らかにしたものである。生理的な摂食量の変動と視床下部腹内側核の神経活動との関連を明らかにする重要な知見を提供できた。国内外のいずれにおいても新規な知見であり、自発摂食量の変動に関与する神経伝達物質の変動を個体レベルで明らかにした先駆的なものである。

雑誌論文はACS Chemical Neuroscience誌やNeuropsychiatric Disease and Treatment誌などの掲載論文に引用されている。

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3件)

- ① M.R. Alam, F. Yoshizawa and K. Sugahara

Oral administration of lysine restores food intake and ventromedial hypothalamic dopamine in chicken on a lysine-free diet
British Poultry Science 53:651-657, 2012
<http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2012.726349> 査読あり

- ② Mohammad Rashedul Alam, Fumiaki Yoshizawa, Kunio Sugahara

Local administration of L-DOPA in the chicken ventromedial hypothalamus increases dopamine release in a dose-dependent manner
Neuroscience Letters 529:150-154, 2012
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2012.08.054> 査読あり

- ③ Mohammad Rashedul Alam, Fumiaki Yoshizawa, Kunio Sugahara

L-DOPA induced extracellular dopamine increases in the ventromedial hypothalamus affects food intake by chickens on a lysine-free diet
Neuroscience Letters 495:126-129, 2011
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2011.03.053> 査読あり

[学会発表] (計5件)

- ① 第15回 Asian-Australasian Animal Production Conference (タイ、バンコク) 2012年11月

Mohammad Rashedul Alam, Fumiaki Yoshizawa and Kunio Sugahara
Voluntary food intake variation in growing

chickens on lysine-free diet is attributed to the plasma lysine level

- ② 日本家禽学会2012年春季大会(名古屋) 2012年3月

Mohammad Rashedul Alam, Fumiaki Yoshizawa and Kunio Sugahara
Oral administration of lysine restores food intake and ventromedial hypothalamic dopamine in chickens on a lysine-free diet

- ③ 第9回 Asian Pacific Poultry Conference (台北、台湾) 招待講演 2011年3月

Kunio Sugahara
Regulation of voluntary food intake in chickens

- ④ 第21回マイクロダイアリシス研究会 (東京) 2010年12月

Alam M. Rashedul, Fumiaki Yoshizawa and Kunio Sugahara
Extracellular dopamine in the ventromedial hypothalamus increases after administration of Nomifensine and L-DOPA in freely moving chicks as measured by brain microdialysis

- ⑤ 第35回鳥類内分泌研究会(岡山) 2010年10月

Alam M. Rashedul, Fumiaki Yoshizawa and Kunio Sugahara
Manipulation of extracellular dopamine level in the ventromedial hypothalamus affects

[図書] (計1件)

Mitsuhiro Furuse, Mark A. Clein, Takashi Bungo and Kunio Sugahara
Chapter I Neuroendocrine regulation of sedation and excitation in neonatal chicks ;In Hormones and Behavior Ed. Davis Simonsen, Nova science publ.Inc. pp.1-28.2013.

[その他]

ホームページ等

<http://agri.mine.utsunomiya-u.ac.jp/hpj-deptj/anj/nutri/images/sugahara.pdf>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者 菅原 邦生 (SUGAHARA KUNIO)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号: 50091947