

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07938

研究課題名(和文) 食欲・消化に関わる内分泌因子を指標に用いた低魚粉飼料の摂餌量の改善

研究課題名(英文) Improvement of feeding amount by using endocrine factor for appetite and digestion

研究代表者

深田 陽久 (FUKADA, Haruhisa)

高知大学・教育研究部自然科学系農学部門・准教授

研究者番号：10380304

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：養殖ブリの摂餌量を増加させるために不可欠な「摂餌刺激物質」と「消化促進物質」を視床下部のニューロペプチドY (npv, 食欲亢進ホルモン)と消化管コレシストキニン (cck, 消化促進ホルモン)を指標として検索を試みた。「摂餌刺激物質」の検索では、旨味物質であるイノシン酸ナトリウム (IMP)、アミノ酸のアラニンがnpvの遺伝子発現量を変化(減少)させた。「消化促進物質」の検索では、アミノ酸(50 mM)のうちTrp、Gln、Phe、Pro、Ala、Leu、Metでcck遺伝子発現量の増加が認められた。これらの物質を無魚粉飼料に添加することで摂餌量の改善できることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

魚類養殖では、資源量が枯渇しつつある天然魚を魚粉として飼料に用いている。持続的な魚類養殖のためには、魚粉含量を減らした飼料(低魚粉飼料)の開発が進められている。しかしながら、飼料を低魚粉化すると摂餌量が減少し、それに伴って成長の低下が起きる。低魚粉飼料における摂餌量減少の理由として、摂餌刺激物質の不足による【食欲の低下】と消化促進物質の不足による【消化の遅延】が考えられる。本研究は、低魚粉飼料の摂餌量を増加させるために【食欲】と【消化】の栄養素による調節機構を内分泌学的に解明した点に学術的意義があり、またその成果は将来、魚類養殖に応用可能であることから十分な社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：For improving feeding amount of cultured yellowtail, feeding stimulants and pro-digestive substances were investigated. Neuropeptide Y (npv) and cholecystokinin (cck) were used as indicator for the appetite and digestion in this study. Hypothalamus npv responded to inosine-monophosphate and alanine dissolved in the rearing water. Cck responded to Trp, Gln, Phe, Pro, Ala, Leu, Met in the organ culture of pyloric caeca. Improvement of feeding amount was suggested by dietary supplementation of those substances.

研究分野：魚類栄養生理

キーワード：ブリ 食欲 消化 嗜好性 CCK NPY 摂餌量 養殖

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

魚類養殖では、資源量が枯渇しつつある天然魚を魚粉として飼料に用いている。持続的な魚類養殖のためには、飼料に大豆等の植物原料の利用が不可欠であり、魚粉含量を減らした飼料（低魚粉飼料）の開発が進められている。しかしながら、飼料を低魚粉化すると摂餌量が減少し、それに伴って成長の低下が起きる。摂餌量の減少には、ブリでは嗜好性原料（オキアミやイカ）や摂餌刺激物質 [アラニン、プロリンおよびイノシン酸 (IMP)] の添加が有効である。嗜好性原料の成分や摂餌刺激物質が食欲の中樞である脳に作用し、食欲を亢進させると考えられる。嗜好性原料の飼料への添加は、低水温期のブリの消化を改善することが報告されている。マウスでは、特定のアミノ酸と IMP が共存することで消化促進ホルモン（コレシストキニン: *cck*) の分泌が増強されることが報告されており、魚類でも同様の可能性がある。低魚粉飼料における摂餌量減少の理由として、これまでの研究から摂餌刺激物質の不足による【食欲の低下】と消化促進物質の不足による摂取した餌の消化管内での長期滞留【消化の遅延】が考えられる。しかしながら、低魚粉飼料に既知の嗜好性原料や摂餌刺激物質を添加しても、従来の魚粉飼料に摂餌量とそれに伴う成長が及ばないのが現状である。これらのことから、低魚粉飼料の摂餌量を増加させるために【食欲】と【消化】の改善が課題となっている。

2. 研究の目的

本研究では、【食欲】の指標として *npv* 遺伝子発現量を、【消化】の指標として *cck* の遺伝子発現量を用い、摂餌刺激物質と消化促進物質の検索を行う。申請者の方法は、一度の経口投与で【食欲】と【消化】をそれぞれの観点から評価できるため、従来の方法と比べて迅速な検索が可能である。【食欲】と【消化】の面から同定された有用物質を併せて用い、低魚粉飼料の摂餌量を増加させ、成長の改善を目指す。

3. 研究の方法

「摂餌刺激物質」と「消化促進物質」を同定し、摂餌量と成長を改善する。

【食欲の改善】脳視床下部 *npv* を指標として用い、魚粉や濃縮カツオ煮汁成分に豊富な成分 (IMP と遊離アミノ酸) や IMP 以外の旨味成分 (グルタミン酸ナトリウム; MSG、コハク酸ナトリウム; SA とグアニル酸; GA) に着目し、摂餌刺激物質を同定する。

【消化の改善】消化管 (幽門垂・前腸) *cck* を指標として用い、魚粉やカツオ煮汁成分に豊富な成分 (IMP と遊離アミノ酸) や IMP 以外の旨味成分 (MSG, SA, GMP) に着目し、消化促進物質を同定する。

4. 研究成果

(1) 旨味物質への視床下部 *npv* と幽門垂 *cck* の応答

旨味物質には IMP, MSG, SA, GMP を用いた。これら 4 つの旨味成分を 5 mmol/100 mL (海水)

で飼育水中に添加し、10分後に脳の採取を行い、qPCRで遺伝子発現量を測定した。視床下部 *npv* は、SA 添加区で最も高く、次いで IMP 添加区で高かった (図 1)。

旨味物質 (5 mmol) と濃縮大豆タンパク質 (10 g) を 100 mL のリン酸緩衝液に溶解した。溶解液を経口投与し、事前試験の結果に基づき、投与 40 分後に脳、幽門垂の採取を行い、qPCR で遺伝子発現量を測定した。幽門垂 *cck* は、GMP, SA によって増加が見られた (図 1)。

(2) 旨味物質への低魚粉飼料への添加による摂餌量の改善
魚粉 (FM) を濃縮大豆タンパク質 (SPC) で完全代替した無魚粉飼料に IMP, MSG, SA, GMP を 1mM/kg diet で添加した飼料を作製した。ブリ稚魚 (10.3 g) を 30 匹ずつ 1,100L 容水槽に収容し、10 日間の給餌を行った (図 2)。その結果、IMP の添加によって、摂餌量の増加が見られた。また、SA では摂餌活性は高かったが、餌を口に運んだ後に吐き出すなどの行動が見られた。視床下部 *npv* や幽門垂 *cck* の発現量は、IMP のみ摂餌量に反映された。

(3) 魚粉水溶性画分・アミノ酸への *npv* の応答

脳の視床下部における応答で旨味物質の摂餌刺激効果を推定したが、実際の摂餌量と一部矛盾が生じた。この原因として、SA は嗅覚を介した摂餌誘引作用を示すが、苦みを持つため給餌量が増えなかったと考えた。そこで、嗅覚に関わる嗅球・終

脳における *npv* 遺伝子の応答を確認した。魚粉の水溶性画分をブリ飼育水中に添加し、添加前 (絶食後)、添加 10、30、180 分後の *npv* 遺伝子を測定した。その結果、*npv* 遺伝子発現量は絶食によって脳のいずれの部位 (嗅球・終脳・視床下部・小脳) においても増加し、魚粉水溶性画分の添加によって減少することが分かった。また、魚粉の水溶性画分に遊離アミノ酸として Tau、Ala、His、Lys 等が多く含まれ、核酸物質として IMP が多く含まれることがわかり、これらが *npv* 遺伝子発現量の変化 (摂餌量) に関わることが推察された。また、ブリの摂餌刺激物質であるアミノ酸 (Ala・Pro) を用いて再検討を摂餌行動解析とともに行った。その結果、嗅覚刺激の強い Ala では、摂餌行動のうち、餌を探索する行動が多く見られた。*npv* 遺伝子発現量 (嗅球・終脳・視床下部) は、魚粉水溶性画分を飼育水に添加した時と同様にアラニンのみで減少した。一方、味覚刺激の強いプロリンでは、摂餌行動のうち、口に啜る行動が多く見られた。*npv* 遺伝子発現量 (嗅球・終脳・視床下部) は、変化しなかった。以上のことから、嗅覚を介した摂餌誘起には *npv* が関与していることがわかり、摂餌量の増加には嗅覚と味覚の両方の刺激が必要であることが分かった

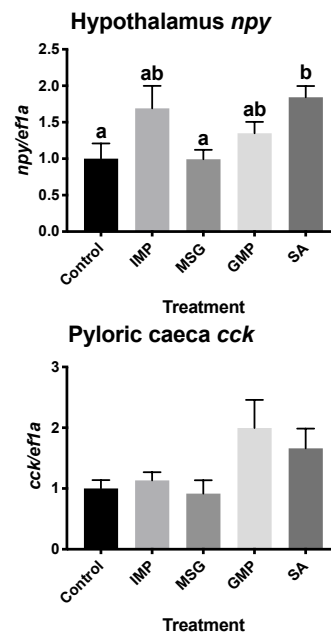


図 1 旨味成分による視床下部 *npv* 発現量と幽門垂 *cck* 発現量の変化

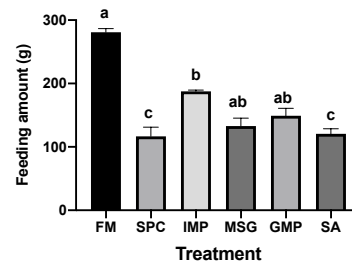


図 2 旨味成分による摂餌量の変化

(4) アミノ酸への幽門垂 *cck* の応答

器官培養系における *cck* の遺伝子発現量のアミノ酸 (50 mM) への応答を確認した。その結果、Trp、Gln、Phe、Pro、Ala、Leu、Met で *cck* 遺伝子発現量の増加が認められた。核酸物質である IMP の単独添加、またはアミノ酸との複合添加による *cck* 遺伝子発現量の増加は認められなかった。

(5) 酵素消化魚粉を用いた摂餌量の改善

上記の結果を踏まえ、遊離アミノ酸と核酸物質を豊富に含む酵素消化魚粉を低魚粉飼料 (魚粉含量 20%;LFMC) に 5% (EFM5) または 10% (EFM10) で添加した。ブリ稚魚 (99 g) を 10 匹ずつ 1,100L 容水槽に収容し、4 週間の飼育を行った (図 3)。その結果、酵素消化魚粉の利用により摂餌量と成長が改善された。

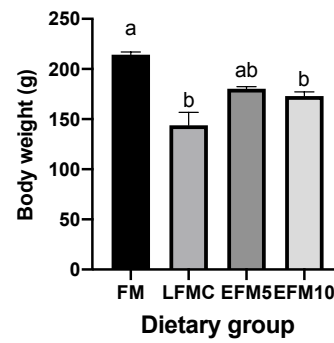
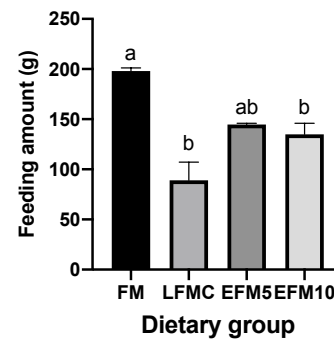


図 3 酵素消化魚粉による摂餌量と体重の変化

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 Senzui Ayaka, Masumoto Toshiro, Fukada Haruhisa	4. 巻 514
2. 論文標題 Neuropeptide Y expression in response to sensory organ-detected fish meal soluble components and orally fed fish meal-based diet in yellowtail <i>Seriola quinqueradiata</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Aquaculture	6. 最初と最後の頁 734512 ~ 734512
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734512	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 Senzui Ayaka, Masumoto Toshiro, Fukada Haruhisa	4. 巻 68
2. 論文標題 Effects of Umami substances on feed intake and neuropeptide Y expression in yellowtail <i>Seriola quinqueradiata</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Aquaculture Science	6. 最初と最後の頁 1-3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 藤野真也・益本俊郎・深田陽久
2. 発表標題 ブリ幽門垂を用いた魚粉品質評価法の確立
3. 学会等名 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 泉水彩花・益本俊郎・深田陽久
2. 発表標題 旨味物質がブリの摂餌量と食欲関連ホルモン・味覚受容体の遺伝子発現量に及ぼす影響
3. 学会等名 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 泉水彩花・益本俊郎・深田陽久
2. 発表標題 魚粉水溶性画分がブリの摂餌量と食欲亢進ホルモン遺伝子発現量に及ぼす影響
3. 学会等名 令和元年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 泉水彩花・益本俊郎・深田陽久
2. 発表標題 ブリにおいてアラニンおよびプロリンが摂餌行動およびNPY発現量に及ぼす影響
3. 学会等名 令和元年度日本水産学会中国・四国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haruhisa Fukada, Tsubasa Ueno, Junpei Shinagawa, Susumu Irie, Toshiro Masumoto, Atsushi Akimoto
2. 発表標題 Response of appetite-related hormones and a digestive hormone to orally administered fish meal in yellowtail
3. 学会等名 International Symposium ' Fisheries Science for Future Generations (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 泉水彩花・益本俊郎・深田陽久
2. 発表標題 アミノ酸の嗅覚刺激がブリの摂餌行動およびニューロペプチドY・c-Fos遺伝子発現量に及ぼす影響
3. 学会等名 R2年度 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 深田陽久・泉水彩花・村下幸司・益本俊朗
2. 発表標題 ブリにおける5つのコカイン・アンフェタミン調節転写産物（CART）遺伝子：組織分布と絶食への応答
3. 学会等名 R2年度 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>ブリにおいてアラニンおよびプロリンが摂餌行動およびNPY発現量に及ぼす影響 °泉水彩花・益本俊郎・深田陽久（高知大農）令和元年度日本水産学会中国・四国支部例会 ワークピア広島 10月26日</p> <p>発表者が優秀賞を受賞</p>
--

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