

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08041

研究課題名(和文) 家禽の強固な骨格構築を目指した骨と筋のクロストーク機構の解明

研究課題名(英文) Bone-muscle crosstalk for avian bone health

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) 3,600,000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被っている。これらは、十分な骨量や骨密度を有した骨格が構築されないため発症する。本研究では、骨からのオステオカインであるオステオカルシンが、産卵鶏胚と比較して肉用鶏胚の胸骨において高い発現を示すことを明らかにした。また、筋からのマイオカインであるイリシンが、肉用鶏において胸筋で最も高い発現を示した。このことから、家禽における骨と筋のクロストーク機構を示唆し、これらを活用した破卵や脚弱の発生防止を目指した強固な骨格構築の可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、骨と筋のクロストーク機構を明らかにし、これらを活用して家禽の強固な骨格構築の可能性を示唆した世界で初めての研究である。その成果は、日本国民はもちろんのこと世界中の人々へ安全・安心な畜産物の供給に貢献するとともに、動物福祉に配慮した産業動物の飼養方法に関して基盤的情報を提供する。また、本研究成果は、ヒトの加齢に伴う筋肉量減少(サルコペニア)や骨粗しょう症におけるメカニカルストレス(運動)との関連の解明に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：A large amount of economic loss in poultry industry is produced by specific disorders such as leg weakness and eggshell broken. These disorders are caused by the insufficiency of the bone growth and mineralization.

This research project demonstrated that bone-derived osteokine osteocalcin was highly localized and expressed in the sternum of broiler embryo as compared with layer embryo. It was also suggested that the expression of irisin as muscle-derived myokine was highest in pectoralis of broiler embryo. These results indicate the bone growth may be closely related with muscle-derived myokines, and conversely the muscle growth may be closely related with bone-derived osteokine. Therefore, the bone-muscle crosstalk should contribute to improve the bone growth and mineralization.

研究分野：動物生体機構学

キーワード：ニワトリ 骨 筋 クロストーク マイオカイン オステオカイン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、肉用鶏においては起立不能となる脚弱、産卵鶏では卵殻の薄化による破卵が頻発し、養鶏産業に多大な経済的損失を与えている。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、急激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、強固な骨格を構築することが不可欠である。本研究では、骨と筋の介したクロストーク機構を明らかにし、破卵や脚弱の発生防止を目指した強固な骨格の構築を試みる。

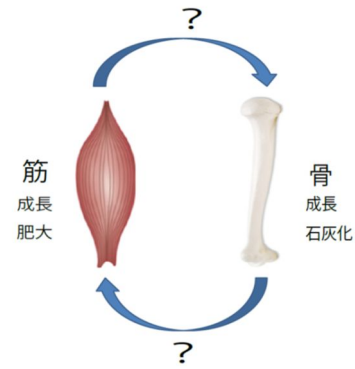


図1 骨と筋のクロストーク機構 (仮説)

2. 研究の目的

本研究では、筋量の多い肉用鶏と筋量の少ない産卵鶏を用い、筋から骨へ調節因子(マイオカイン)と筋から骨への調節因子(オステオカイン)の発現と局在を検討し、家禽における骨と筋のクロストーク機構を明らかにする(図1)

3. 研究の方法

(1) 筋組織からのマイオカインと骨組織からのオステオカインの同定

肉用鶏ならびに産卵鶏の胚発生期における孵卵16日、18日および20日の骨組織(胸骨ならびに大腿骨)および筋組織(胸部骨格筋)を採取し、各組織から分泌されるオステオカイン(オステオカルシン、インスリン様成長因子-I、スクレロスチン)ならびにマイオカイン(ミオスタチン、FNDC5/イリシン)について、リアルタイムPCRでmRNAの相対的発現量をそれぞれ検討した。加えて、胸部骨格におけるオステオカルシンの局在について、ABC法を用いた免疫組織化学法により観察を行った。

(2) 血中オステオカルシン濃度の測定とオステオカルシン受容体の発現

肉用鶏ならびに産卵鶏の胚発生期の孵卵20日における血中のオステオカルシン濃度をELISA法で検討した。また、オステオカルシン受容体GPCR6(G protein-coupled receptor family C group member A)のmRNAの発現について、PCR法で検討した。

(3) 筋組織マイオカインイリシンの発現と局在

ブロイラーの鶏胚を用い、孵卵16日目に心臓、筋胃、腸管、肝臓、胸筋、大腿筋を採取し、各組織におけるイリシンmRNAの相対的発現量についてリアルタイムPCR法を用いて検討した。また、イリシンの局在について、ABC法を用いた免疫組織化学法により観察を行った。

4. 研究成果

(1) 筋組織からのマイオカインと骨組織からのオステオカインの同定

筋組織ではマイオカインであるミオスタチン、FNDC5/イリシンが、骨組織ではIGF-I、スクレロスチン、オステオカルシンが発現していた。しかしながら、ミオスタチン、FNDC5/イリシンならびにスクレロスチンの発現量は肉用鶏と産卵鶏の間で差は観察されなかった。一方、オステオカインであるオステオカルシンは筋組織の発達の著しい肉用鶏の骨において、産卵鶏と比較して孵卵期間を通じて胸骨でその発現が有意に高く、孵卵期間の経過とともに増加していた(図2)。また、免疫組織化学的にオステオカルシンの局在を検討したところ、肋骨内

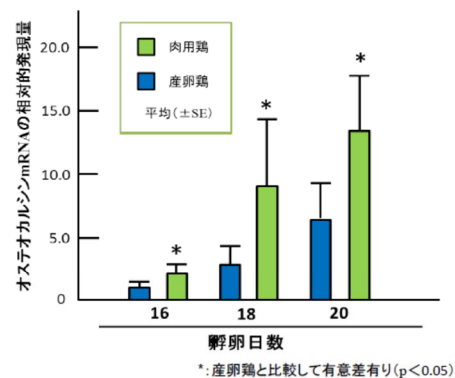


図2 胸骨におけるオステオカルシンの発現

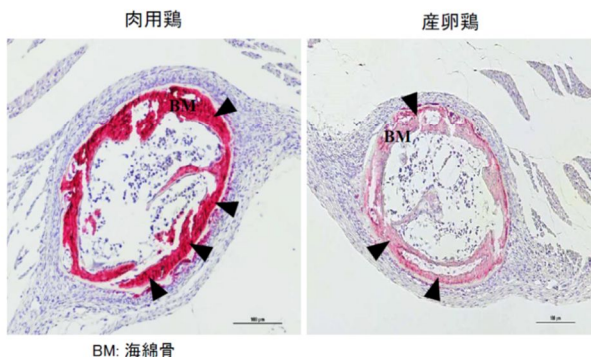


図3 オステオカルシンの免疫組織化学的観察

部の海綿骨と骨周囲の骨膜にオステオカルシンが肉用鶏で強く広範囲に局在していた(図3)。以上のことから、骨よりオステオカルシンが分泌され、筋組織の発達に関与している可能性が示唆された。また、この傾向は産卵鶏よりも、肉用鶏で顕著であることが推測された。

(2) 血中オステオカルシン濃度の測定とオステオカルシン受容体の発現

血中オステオカルシン濃度は肉用鶏で6477.0 pg/ml、産卵鶏で1016.7 pg/mlを

示し、肉用鶏では、産卵鶏と比較して、オステオカルシン濃度が約6倍も有意に高かった。GPRC6の発現は、筋組織（胸筋）に加え腸管、肝臓、胃ならびに心筋に発現していた。このことは、オステオカルシンは筋組織だけではなく、多様な組織に何らかの影響を与えているものと推測される。また、筋組織におけるGPRC6の発現量は孵卵日数に伴い減少するものの、肉用鶏と産卵鶏では異なり孵卵20日齢では肉用鶏で有意に高かった。以上のことから、骨よりオステオカルシンが分泌され、筋組織の発達に関与している可能性が示唆された。また、この傾向は産卵鶏よりも、肉用鶏で顕著であることが推測された。

(3) 筋組織マイオカインイリシンの発現と局在

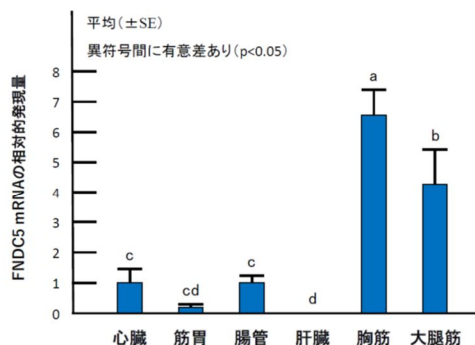


図4 各組織におけるイリシンの発現

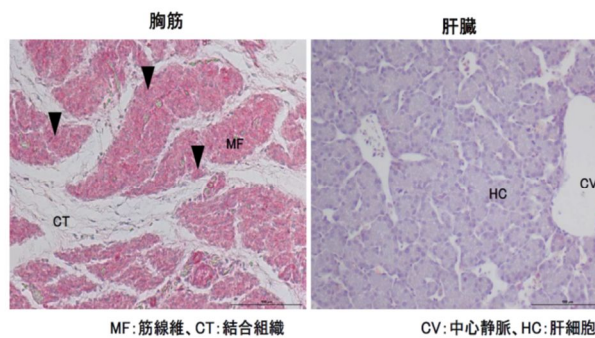


図5 イリシンの免疫組織化学的観察

リアルタイムPCR法の結果、孵卵16日目の鶏胚では、イリシンの発現量は心臓（相対的発現量1.0）、胸筋（6.6）、大腿筋（4.3）、筋胃（0.19）、腸管（1.0）、肝臓（0.01）を示し、心臓と比較して胸筋においては約6.6倍、大腿筋においては約4.3倍のイリシンが発現していた。また、腸管でもイリシンの発現はみられ、心臓とほぼ同等の発現を示したが、肝臓では発現していなかった（図4）。免疫組織化学的観察の結果、骨格筋の筋線維、心臓の心筋細胞ならびに筋胃および腸管の筋層でイリシンの局在がみられた。しかしながら、肝臓ではイリシンの局在はみられなかった（図5）。以上のことから、鶏胚では骨格筋、心臓ならびに腸管よりイリシンが分泌されていることが示唆された。

以上の結果から、家禽における骨と筋のクロストーク因子として、骨からのオステオカルシンと筋からのイリシンが同定された（図6）。したがって、胚発生期における両者の発現あるいは作用の相違により、肉用鶏と産卵鶏の筋量の相違が生じるものと推測される。また、イリシンは運動（メカニカルストレス）によって誘導されるマイオカインであり、胚発生期もしくは孵化後にメカニカルストレスを付加することで、強固な骨を構築するとともに、筋量の増加をもたらすことが推測される。今後は、培養細胞を用いたイリシンとオステオカルシンの直接的な作用を明らかにするとともに、孵化後の家禽についてメカニカルストレス（運動）によるイリシンとオステオカルシンの動態を検討し、強固な骨格構築を実現する詳細なメカニズムを検討する予定である。

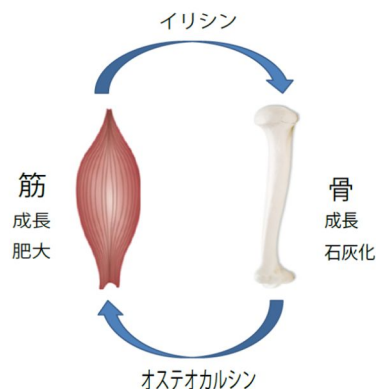


図6 家禽における骨と筋のクロストーク機構

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 清水 翔太・杉山 稔恵
2. 発表標題 鶏胚における骨組織から筋組織へのクロストーク機構に関する研究
3. 学会等名 日本畜産学会第123回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉山稔恵・清水翔太・忍田真一郎・浅尾瞳
2. 発表標題 鶏胚の骨組織におけるオステオカルシンと受容体の発現に関する研究
3. 学会等名 日本畜産学会第126回大会
4. 発表年 2019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
研究分担者	二宮 禎 (Ninomiya Tadashi) (00360222)	日本大学・歯学部・准教授 (32665)	