

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：32669

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06368

研究課題名(和文) 初生ヒナの脳と末梢におけるカダベリンシグナルの生理作用の解明

研究課題名(英文) Elucidation of physiological properties of brain and peripheral cadaverine signals in neonatal chick

研究代表者

白石 純一 (SHIRAIISHI, Jun-ichi)

日本獣医生命科学大学・応用生命科学部・講師

研究者番号：50632345

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、必須アミノ酸の代謝物であるカダベリンの初生ヒナの脳と末梢器官における栄養生理学的意義を明らかにすることを目的とした。カダベリンシグナルは脳におけるエネルギー代謝調節を担う神経ペプチドの上流制御因子として作用する一方で、末梢器官ではインスリン/インスリン様成長因子のシグナルを介した骨格筋発達を促す生理活性物質であることが明らかとなった。そして、家禽の種類およびエネルギー状態に伴う血中カダベリン濃度変動について調査したところ、血中カダベリン濃度には種差が存在し、エネルギー状態の過不足に伴って脳と末梢における生理活性作用を調節している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

栄養素を効率よく利用する家畜の管理方法を構築することは限りある飼料原料の有効利用、さらにはヒトの栄養供給源の安定的な確保においても重要な課題となる。カダベリンは、必須アミノ酸であるリジンの代謝産物であり、初生期の脳と末梢の代謝調節機能の重要な低分子代謝産物である可能性が示唆されるものの、その詳細な解析法の確立および評価が十分でない。本研究では、カダベリンシグナルの栄養生理学的意義を明らかにし、養鶏生産の改良・普及技術への応用を目指す。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to determine the nutritional and physiological significance of cadaverine, a lysine metabolite of an essential amino acid, in the brain and peripheral organs of neonatal chicks. Cadaverine signaling was found to act as an upstream regulator of neuropeptides responsible for the regulation of energy metabolism in the brain, while in the peripheral organs it is a bioactive substance that promotes skeletal muscle development via insulin/insulin-like growth factor signaling. It was then revealed that species differences exist in blood cadaverine concentrations, and that cadaverine fluctuates with excess or deficiency in energy status, acting as a bioactive signal in the brain and periphery.

研究分野：栄養生理学

キーワード：カダベリン 脳と末梢 ニワトリヒナ 初期栄養 成長 ポリアミン LC-MS/MS

1. 研究開始当初の背景

動物のエネルギー代謝調節は、「脳と末梢」の情報ネットワーク機構によって制御され、最適な摂食・エネルギー代謝調節が行われる。そして、出生前後の体内環境を改善するメタボリックプログラミングは、様々な動物において確認されている生命現象であり、家畜生産現場でもその考え方は広く認識されていることから、今後はそれら両者を合わせた効率的な家畜生産技術を展開・構築することが重要である。カダベリンは、ポリアミン類に分類され、必須アミノ酸であるリジンの代謝産物である。ポリアミンはさまざまな動植物において、細胞増殖機能に関与することが示唆されているものの、初生ヒナにおけるポリアミンシグナル、とりわけカダベリンの成長機能に関する解析は十分に行われていない。

2. 研究の目的

本研究では初生ヒナのエネルギー代謝調節における脳と末梢のカダベリンシグナルの栄養生理学的意義を明らかにする目的で、孵化直前のヒナへのカダベリンシグナルが孵化率ならびに初期成長に及ぼす影響、脳と骨格筋における代謝制御因子に及ぼす影響、動物種およびエネルギー状態における血中カダベリン濃度に及ぼす影響を調査した。

3. 研究の方法

: Barnes et al., (2001)の報告をもとに5段階希釈したカダベリン溶液を孵卵開始 18 日目のニワトリ胚に *in ovo*(卵内)投与し孵化を待った。孵化当日、各区のヒナの孵化数を記録し、孵化したヒナについては、体重および器官(全脳、心臓、浅胸筋、肝臓、縫工筋、脾臓、卵黄嚢)重量を測定した。

: の結果を参考に、孵卵 18 日目胚の種卵にカダベリンを *in ovo*投与してヒナの孵化を待った。孵化したヒナは安楽屠殺後、間脳、浅胸筋および血液を採取した。採取した間脳は、エネルギー代謝調節因子であるメラノコルチンペプチド(POMC、AGRP および NPY)、浅胸筋については、インスリン/インスリン様成長因子のシグナル調節因子(INSR、IGF-1R、IRS1 および IRS2) 遺伝子発現量を qPCR 法で相対定量した。採取した血液は、骨格筋タンパク質の分解指標である 3-メチルヒスチジンについて液体クロマトグラフトンデム型質量分析計(LC-MS/MS)を用いて定量した。また、胚発生後期(孵卵 18-20 日胚)の間脳を採取し、厚さ 200 μm の脳スライス試料を連続的に作成し、カダベリンを添加した培養液中で器官培養してその後のメラノコルチンペプチドおよび AMP 活性化プロテインキナーゼ(AMPK)の遺伝子発現量を定量した。

高速液体クロマトグラフトンデム型質量分析計:LC-MS/MS(エレクトロスプレーイオン化法:ESI)を用いて、カダベリンを含めたポリアミン(プトレシン、スペルミジンおよびスペルミン)の分析条件の最適化の検討を行い、ニワトリヒナの血中に含まれるポリアミンについて検討した。

4. 研究成果

孵卵開始 18 日目胚にカダベリンを投与したところ、用量依存的にヒナの孵化率が低下したものの、低用量のカダベリンを投与されたヒナの孵化率、体重、器官重量は対象区のものとは違いはなかった。

In ovo カダベリン投与によって、間脳の代謝調節因子では AGRP および NPY 遺伝子発現量が高くなる傾向があり、骨格筋の INSR、IGF1R、IRS1 および IRS2 遺伝子発現量は増加傾向であった。そして、血中の 3-メチルヒスチジン濃度はカダベリン投与によって低くなった。一方で、脳スライス培養法を用いた解析においても、カダベリン添加によって、用量依存的にメラノコルチンペプチド(AGRP および POMC)の発現増加が確認された。

分析検討したポリアミンすべてにおいて、MRM(multiple reaction monitoring)トランジションを設定できた。設定した各 MRM トランジションをもとに、段階希釈したポリアミン標準溶液に対して得られたクロマトグラムよりピーク面積値を求め、検量線を作成したところ、良好な直線性が確認できた。そして、肉用鶏(ブロイラー)、ニホンウズラおよびキンカチョウの3種の鳥類の血漿ポリアミン濃度には動物種特異性がみられ、エネルギー摂取に伴って、カダベリン、プトレシンおよびスペルミンは有意な増加あるいは増加傾向を示す一方で、スペルミジンでは差は示さなかった。

まとめ

ニワトリ胚発生後期において、カダベリンは脳内代謝制御機構の上流因子として作用するとともに、骨格筋におけるインスリン/インスリン様成長因子シグナルを介した筋タンパク質分解抑制作用を有することが明らかとなった。そして、カダベリンを含めたポリアミンシグナルは初生期のエネルギー状態に応じて特異的に代謝・制御される機構が存在する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Chowdhury Vishwajit S., Ouchi Yoshimitsu, Han Guofeng, Eltahan Hatem M., Haraguchi Shogo, Miyazaki Takuro, Shiraishi Jun-ichi, Sugino Toshihisa, Bungo Takashi	4. 巻 92
2. 論文標題 Oral administration of L-citrulline changes the concentrations of plasma hormones and biochemical profile in heat-exposed broilers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/asj.13578	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 Tomonaga Shozo, Kawase Takahiro, Tsukahara Takamitsu, Ohta Yoshiyuki, Shiraishi Jun-ichi	4. 巻 12
2. 論文標題 Metabolism of Imidazole Dipeptides, Taurine, Branched-Chain Amino Acids, and Polyamines of the Breast Muscle Are Affected by Post-Hatch Development in Chickens	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/metabo12010086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shiraishi Jun-ichi, Yanagita Kouichi, Tanizawa Hiroshi, Bungo Takashi	4. 巻 736
2. 論文標題 Glycyl-L-glutamine attenuates NPY-induced hyperphagia via the melanocortin system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 135303 ~ 135303
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2020.135303	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 Ouchi Yoshimitsu, Tanizawa Hiroshi, Shiraishi Jun-ichi, Cockrem John F., Chowdhury Vishwajit S., Bungo Takashi	4. 巻 94
2. 論文標題 Repeated thermal conditioning during the neonatal period affects behavioral and physiological responses to acute heat stress in chicks	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Thermal Biology	6. 最初と最後の頁 102759 ~ 102759
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jtherbio.2020.102759	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 該当する

1. 著者名 Fujihara Mayako, Shiraishi Jun-ichi, Onuma Manabu, Ohta Yoshiyuki, Inoue-Murayama Miho	4. 巻 12
2. 論文標題 Cryopreservation Competence of Chicken Oocytes as a Model of Endangered Wild Birds: Effects of Storage Time and Temperature on the Ovarian Follicle Survival	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Animals	6. 最初と最後の頁 1434 ~ 1434
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ani12111434	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ouchi Yoshimitsu, Komaki Yoshinori, Shimizu Kensuke, Fukano Natsuki, Sugino Toshihisa, Shiraishi Jun-ichi, Chowdhury Vishwajit S., Bungo Takashi	4. 巻 102
2. 論文標題 Comparison of oral administration of fructose and glucose on food intake and physiological parameters in broiler chicks	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Poultry Science	6. 最初と最後の頁 102249 ~ 102249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.psj.2022.102249	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計19件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 友永 省三、白石 純一、片淵 歩美、都 ハンウル、島元 紗希、大塚 彰、井尻 大地
2. 発表標題 LC-MS/MS および蛍光検出器を備えたHPLC を用いた3-メチルヒスチジンにおける分析条件の検討および妥当性の比較.
3. 学会等名 日本アミノ酸学会第15回学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 勝山 絢斗, 上坂 裕乃, 乙津 遥, 太田 能之, 白石 純一
2. 発表標題 異なる飼料給与がニホンウズラおよびニワトリの初期発育および中枢メラノルチンシステムに及ぼす影響.
3. 学会等名 第45回鳥類内分泌研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村一輝, 渡辺優菜, 菊嶋敬子, 松下浩一, 中尾暢宏, 太田能之, 白石純一.
2. 発表標題 初生期のグルコース給与が山梨県特殊肉用鶏の初期発育およびグリコーゲン代謝に及ぼす影響.
3. 学会等名 第45 回鳥類内分泌研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 島倉奈緒子, 勝山絢斗, 上坂裕乃, 乙津遥, 太田能之, 白石純一.
2. 発表標題 In ovo カダベリン投与がニワトリヒナの初期発育および骨格筋代謝制御に及ぼす影響.
3. 学会等名 第45 回鳥類内分泌研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村一輝・渡辺優菜・菊嶋敬子・松下浩一・中尾暢宏・太田能之・白石純一.
2. 発表標題 山梨県の特種肉用鶏における初生ヒナの免疫応答と中枢メラノコルチンシステム調節因子の評価.
3. 学会等名 日本家禽学会2022年度春季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白石純一, 島倉奈緒子, 木村一輝, 勝山絢斗, 乙津遥, 上坂裕乃, 江草(雑賀)愛, 太田能之.
2. 発表標題 ニワトリ胚発生後期のエネルギー代謝調節におけるカダベリンシグナルの評価.
3. 学会等名 日本家禽学会2022年度春季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野崎ののこ・佐藤逸史・松原忠弘・浅黄瑛紀・東浦裕紀・加瀬ちひろ・永野惇・友永省三・後藤達彦・白石純一・佐藤幹・新村毅.
2. 発表標題 飼育システムの違いが採卵鶏に与える影響のマルチオミクス解析.
3. 学会等名 日本家禽学会2022年度春季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白石純一, 友永省三, 浜崎浩子, 太田能之
2. 発表標題 脳原基移植技術を用いた幼雛期の脳と末梢の代謝機能解析.
3. 学会等名 日仏生物学会第193回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 加藤智美, 櫻井美弥乃, 白石純一, 前川文彦, 浜崎浩子
2. 発表標題 3. 性染色体上の神経ペプチド遺伝子のニワトリ脳発現における雌雄差の解析
3. 学会等名 日仏生物学会第193回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村一輝・太田能之・白石純一.
2. 発表標題 孵化後3日間の生菌剤給与がプロイラーヒナの肝臓AMPK遺伝子発現およびその後の成長に及ぼす影響.
3. 学会等名 日本家禽学会2022年度秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白石純一・木村一輝・中森智啓・浜崎浩子・太田能之.
2. 発表標題 脳スライス培養法を用いたニワトリ胚発生後期のカダベリンシグナルとメラノコルチンシステムの評価.
3. 学会等名 日本家禽学会2022年度秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 浅黄瑛紀・松原忠弘・野崎ののこ・白石純一・友永省三・東浦裕紀・佐藤逸史・加瀬ちひろ・永野惇・後藤達彦・佐藤幹・新村毅.
2. 発表標題 飼育システムの違いが鶏卵に与える影響のマルチオミクス解析.
3. 学会等名 日本家禽学会2022年度秋季大
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白石純一・大柿弘太郎・市川隆久・巽俊彰・太田能之・豊後貴嗣.
2. 発表標題 ニワトリヒナの代謝調節機構における間脳ヘキソキナーゼおよびグルコキナーゼの鶏種間比較.
3. 学会等名 日本畜産学会第130回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野崎ののこ・佐藤逸文・松原忠弘・浅黄瑛紀・東浦裕紀・加瀬ちひろ・永野惇・友永省三・後藤達彦・白石純一・佐藤幹・新村毅.
2. 発表標題 マルチオミクス解析を用いた採卵鶏用飼育システムの多面的評価.
3. 学会等名 日本畜産学会第130回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白石純一・赤坂優里奈・青木孝明・早川岳彦・太田能之.
2. 発表標題 初生ヒナのビタミン D3 シグナルが間脳メラノコルチンシステムおよびインスリン感受性に及ぼす影響.
3. 学会等名 第46回鳥類内分泌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋このみ・小林史幸・奈良井朝子・白石純一・太田能之・小竹佐知子.
2. 発表標題 二酸化炭素マイクロバブルがSaccharomyces pastorianusのタンパク質およびDNAに及ぼす影響.
3. 学会等名 日本食品科学工学会 令和5年度関東支部大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 白石純一
2. 発表標題 『飼いで鶏卵と鶏肉の質は変わるのか? ~ 栄養学と生理学の視点から考える ~』
3. 学会等名 AWFCJ(Animal Welfare Food Community Japan) セミナー(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nonoko Nozaki, Itufumi Sato, Tadahiro Matsubara, Eiki Asagi, Yuki Higashiura, Chihiro Kase, Atushi Nagano, Shozo Tomonaga, Tatsuhiko Goto, Jun-ichi Shiraishi, Kan Sato, Tsuyoshi Shimmura,
2. 発表標題 Multi-omics analysis of the effect of environmental enrichment on poultry
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jun-ichi Shiraishi, Takehiko Hayakawa, Yurina Akasaka, Takaaki Aoki, Yoshiyuki Ohta
2. 発表標題 Brain Vitamin D3 signaling regulates energy metabolism in chicks
3. 学会等名 World Poultry Congress 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

日本獣医生命科学大学応用生命科学部動物生産化学教室ホームページ https://www.nvlu.ac.jp/animal/members/007.html/
--

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