



Physiological and biochemical studies on the central and peripheral regulation of food intake in chicks

AHMED MOHAMED IBRAHIM ELSAYED

(Degree)

博士 (学術)

(Date of Degree)

2022-03-25

(Date of Publication)

2024-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8373号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1008373>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博士論文内容の要旨

氏名 AHMED MOHAMED IBRAHIM ELSAYED

専攻・講座 Department of Bioresource Science, Division of Animal Science

論文題目 (外国語の場合は、その和訳を併記すること。)

Physiological and biochemical studies on the central and peripheral regulation of food intake in chicks

(ニワトリヒナの中核および末梢の摂食調節に関する生理生化学的研究)

指導教員 本田 和久

Over the last 80 years, chicken breeds have undergone intensive selection to optimize their productive performance. Rapid growth in meat-type chickens requires more feed consumption to cover the nutrient requirements. As a result, the intensive genetic selection in modern meat-type chickens has led to the development of hyperphagia. The rise in food consumption in broiler chickens has led to increased fat accretion, metabolic and health complications such as leg problems, and fatty liver syndrome. Feed restriction programs in broiler breeders has raised concerns regarding animal welfare due to the excessive feeling of hunger in birds. Therefore, identifying the regulatory mechanism of food intake in chickens is essential to finding solutions for health problems and improving animal welfare in the poultry industry.

Although the key genes involved in mammalian energy homeostasis were cloned and found to be conserved not only across mammals but also across all vertebrates, the anatomical and functional data on these genes varies among species from comparable to variable. For example, the adiposity signals leptin and insulin, which transmit the body fat levels to the brain, suppress food intake in mammals, whereas there is evidence that leptin and insulin may not function as adiposity hormones in chickens; the expression level of leptin was very low in adipose tissue, and there was no significant correlation between the plasma insulin levels and abdominal fat accumulation. The hunger signal ghrelin stimulates food intake in mammals but not in chickens. These findings clearly demonstrated that some aspects of the mechanisms of appetite regulation in chickens may differ from mammals.

Appetite-regulating neurons in the brain sense nutrient changes through satiety signals from peripheral hormones such as intestinal peptide YY and cholecystokinin (CCK) in mammals. Recent findings suggest that additional satiety signals, such as hepatic insulin-like growth factor-1 and pancreatic PYY, function in chickens. For example, central and peripheral administration of IGF-1 suppressed food intake in chicks. PYY mRNA levels were markedly higher in the pancreas than in the intestines, suggesting that the pancreas is the primary site of PYY production. In addition, intestinal receptors of gut hormones may also be involved in appetite regulation in chickens. CCK activates CCK receptor A (CCKAR) on gastrointestinal vagal afferents, causing suppression of the food intake in mammals. In chickens, there is evidence that the CCKAR expression levels in high growth haplotype chickens were lower than those in slow growth haplotype chickens, indicating an altered response to the CCK satiety signal in high growth haplotype chickens. These findings suggest that IGF-1, PYY, CCK, and their receptors are involved in the satiation of chickens.

(氏名 : AHMED MOHAMED IBRAHIM ELSAYED NO.2)

The nucleus solitaries (NTS) in the brain stem receive satiety signals and convey these signals to the hypothalamus, the center of appetite regulation in mammals. Glucagon-like peptide (*GLP*-1 and 2, and *CCK* expressed in the NTS function as appetite suppressive neurotransmitters in mammals. The central administration of *GLP*-1 and 2 strongly suppressed food intake in chickens. The proglucagon mRNA levels in the chicken medulla oblongata were reduced by fasting. These findings raise the hypothesis that *GLPs* convey satiety signals to the hypothalamus in chickens.

In the present study, I investigated possible roles of satiety signals, such as pancreatic *PYY*, intestinal *CCK*, *PYY*, and their receptors, and hepatic *IGF*-related proteins. I also examined whether *IGF*-2 functions as a satiety signal in chicks like *IGF*-1. Finally, I investigated how *GLP*-1 and 2 influence appetite-regulating factors and signaling pathways in the hypothalamus in chicks. Our findings add new pieces, such as pancreatic *PYY* and *IGF*-related proteins in the circulation and *GLPs* in the brain, to the complex puzzle of the avian appetite-regulating system. This study gives a better understanding of avian-species-specific food intake regulation, which may provide potential targets for manipulating appetite regulation and solutions for metabolic-related problems in birds

In Chapter 1, I introduced the hyperphagia phenomena in modern meat-type chicken and how over-feed consumption contributed to health and metabolic problems in the poultry industry. I also reviewed how some appetite regulation aspects in birds are different than in mammals. I demonstrated the importance of satiety signals such as *CCK*, *PYY*, and *IGF*-1, the possibility that *GLPs* could deliver satiety signals to the hypothalamus in chickens. Finally, I explained the aim of this study.

In Chapter 2, I showed the effects of fasting and re-feeding on the expression of *CCK*, *PYY*, hypothalamic neuropeptides *NPY* and *POMC*, and hepatic *IGF*-related genes in layer and broiler chicks. In layer chicks, 12 h of fasting reduced the mRNA levels of intestinal *CCK*, *PYY*, *Y2* receptor, and pancreatic *PYY*, and these changes were reversed by 12 h of re-feeding. On the other hand, in broiler chicks 12 h of fasting reduced the mRNA levels of intestinal *PYY* and *Y2* receptor, but not intestinal *CCK* and pancreatic *PYY*, and these changes were reversed by 12 h of re-feeding. Hypothalamic *NPY* mRNA significantly increased by 12 h of fasting in both chicks, and these changes were reversed by re-feeding. Also, 12 h of fasting significantly increased

(氏名 : AHMED MOHAMED IBRAHIM ELSAYED NO.3)

the mRNA levels of hypothalamic agouti-related protein and reduced the mRNA levels of hepatic *IGF*-1 only in broiler chicks, and 12 h of re-feeding did not change these. *IGFBP*-1 and -2 mRNA levels were markedly increased by 12 h of fasting in both chicks, and these changes were reversed by re-feeding. *IGFBP*-3 mRNA levels were increased by 12 h of fasting only in layer chicks, while re-feeding reduced the mRNA levels of *IGFBP*-3 in both types of chicks. These results suggest that several peripheral hormones, such as pancreatic *PYY* and intestinal *CCK*, may not play important roles in the regulation of food intake in broiler chicks.

In Chapter 3, I evaluated whether *IGF*-2 is involved in the regulation of food intake in chicks. I also examined the effects of fasting on the mRNA levels of *IGF* binding proteins (*IGFBPs*) in the liver and hypothalamus. Intracerebroventricular administration of *IGF*-2 significantly suppressed food intake in chicks. The mRNA levels of *IGFBPs* in the hypothalamus were not affected by six hours of fasting. On the other hand, six hours of fasting markedly increased the mRNA levels of hepatic *IGFBP*-1 and -2. The mRNA levels of *IGFBP*-3 were also significantly increased by six hours of fasting, whereas the mRNA levels of *IGF*-2, *IGFBP*-4, and -5 were unchanged. These findings suggest that circulating *IGF*-2 may be involved in satiety signals, but its physiological role may be regulated by *IGFBPs* production in the liver in chicks.

In Chapter 4, I showed effects of intracerebroventricular administration of glucagon-like peptides 1 and 2 on hypothalamic appetite regulating factors and sleep-like behavior in chicks. *GLP1R* mRNA levels in the brain stem and optic lobes were significantly higher than in other parts of the brain, whereas *GLP2R* mRNA was densely expressed in the telencephalon. Intracerebroventricular administration of either *GLP*-1 or *GLP*-2 significantly reduced the mRNA levels of corticotrophin releasing factor and AMP-kinase (*AMPK*) α 1. The mRNA level of proopiomelanocortin was significantly increased, and those of *AMPK* α 2 and *GLP2R* were significantly decreased by *GLP*-2, whereas the mRNA level of pyruvate dehydrogenase kinase 4 was significantly increased, and that of *GLP1R* was significantly decreased by *GLP*-1. Intracerebroventricular administration of either *GLP*-1 or *GLP*-2 induced sleep-like behavior in chicks. Our findings suggest that the anorexigenic peptides *GLP*-1 and *GLP*-2 induce similar behavioral changes in chicks, but the mechanism may differ between them.

氏名	AHMED MOHAMED IBRAHIM ELSAYED		
論文 題目	Physiological and biochemical studies on the central and peripheral regulation of food intake in chicks (ニワトリヒナの中脳および末梢の摂食調節に関する生理生化学的研究)		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	准教授	本田 和久
	副査	教授	上曾山 博
	副査	教授	原山 博
	副査		
	副査		
要 旨			
<p>鶏肉生産用に育種改良されたニワトリであるブロイラーは食欲旺盛で極めて成長が速い。しかしながら、近年、その旺盛な食欲に基づく過食による体脂肪の過剰蓄積が、脂肪肝を始めとする代謝異常や、非可食部である内臓脂肪の増加による飼料効率の低下を引き起こすことが問題となっている。また、ブロイラーの種鶏においては生殖能力を高めるべく制限給餌が行われているが、このことが食欲旺盛であるが故に多大なストレスとなっている。ここで、ヒトにおける体脂肪の過剰蓄積に対しては、食事制限によるエネルギー摂取の抑制と運動によるエネルギー消費の促進が有効であるとされているが、エネルギー消費の促進はブロイラーにおいては飼料効率の低下に繋がるため好ましくない。それ故、ニワトリの摂食行動をストレスなく制御する方法の開発が求められているが、ニワトリの食欲調節機構については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、ニワトリの食欲制御法開発のための一環として、ニワトリヒナの末梢から中枢に至る食欲抑制機構の解明を試みている。</p> <p>第一章では、本研究の背景と目的を概説している。</p> <p>第二章では、哺乳類において、脳に満腹信号を送る消化管ホルモンとして知られるコレシストキニン(CCK)、ペプチドYY (PYY)、およびその受容体の消化管におけるmRNA量、ニワトリ膵臓におけるPYYのmRNA量、およびインスリン様成長因子(IGF)-1と、その働きに抑制的に作用するIGF結合タンパク質(IGFBP)の肝臓におけるmRNA量の、絶食および再給餌による変動を肉用鶏と卵用鶏のヒナを用いて比較している。その結果、卵用鶏のヒナでは、12時間の絶食により、小腸のCCK、PYY、Y2受容体、膵臓のPYYのmRNA量が、それぞれ減少するが、その変化は12時間の再給餌により回復すること、肉用鶏のヒナでは、12時間の絶食により小腸におけるPYYとY2受容体のmRNA量のみが有意に減少し、12時間の再摂食により回復することを示している。また、視床下部のNPY mRNA量は、12時間の絶食により両鶏とも有意に増加し、12時間の再給餌によりその増加は回復すること、12時間の空腹時には、肉用鶏のヒナのみが視床下部のアグーチ関連タンパク質のmRNA量を有意に増加することを示している。更に、肝臓におけるIGFBP-1および2のmRNA量は、両鶏ともに、12時間の絶食によって著しく増加したが、その値は12時間の再給餌によって摂食条件下の値にまで戻り、IGFBP-3のmRNA量は、卵用鶏のヒナにおいてのみ12時間の絶食により有意に増加したが、再給餌により肉用鶏と卵用鶏の両方で有意に減少したことを示している。これらの結果から、膵臓のPYYや腸管のCCKなどのいくつかのホルモンが、肉用鶏のヒナにおいては摂食後の満腹シグナルとしての役割を果たしていない可能性を示唆している。</p> <p>哺乳類では、主として肝臓で産生される血中IGFBPは、血中のIGFと結合してそれらの受容体への結</p>			

氏名	AHMED MOHAMED IBRAHIM ELSAYED
<p>合を阻害すること、IGFの標的組織に発現するIGFBPもIGFの受容体への結合に影響を及ぼすこと、IGF-2の脳室内投与が摂食を抑制することが報告されている。そこで第三章では、哺乳類やニワトリのIGF-1と構造的にも機能的にも類似した多機能ホルモンとして知られるIGF-2が、ニワトリにおいて末梢からの摂食抑制シグナルとして働く可能性、および視床下部のIGFBPの摂食調節への関与の可能性について検証している。まず、IGF-2の脳室内投与が、ニワトリヒナの摂食量を有意に減少させることを示し、摂食抑制ホルモンとして働く可能性を示した。その一方で、肝臓におけるIGFBP-1および2のmRNA量は6時間の絶食により、それぞれ約5.5倍と7倍に増加するが、摂食中枢である視床下部におけるIGFBP-1~5のmRNA量は、絶食の影響を受けないことを示している。更に、培養肝細胞を用いて、ニワトリ肝臓におけるIGFBP-1および2のmRNA量の増加は、転写因子であるペルオキシソーム増殖促進活性化受容体αの働きによるものであることを示唆している。これらの結果から、血中のIGF-2は摂食後の満腹シグナルとして働く可能性があるが、その生理的役割はニワトリの肝臓でのIGFBP-1および2の発現変動によって制御されていることを示唆している。</p> <p>哺乳類においては、延髄で産生されたプログルカゴン由来の神経ペプチドであるグルカゴン様ペプチド(GLP)-1および2は、末梢の満腹シグナルからの情報を視床下部へ伝達する神経ペプチドとして働くこととされている。ニワトリにおいては、GLP-1および2の脳室内投与が摂食を強力に抑制すること、およびそれぞれに特異的な受容体が存在することが明らかにされている。そこで第四章では、第二章と第三章で検証した末梢の満腹シグナルを視床下部に仲介する伝達因子としてGLP-1および2が働く可能性を検証している。その結果、プログルカゴンのmRNA量は延髄においてその他の部位に比べて有意に高い値を、GLP-1受容体のmRNAは脳幹と視床で他の部位よりも有意に高い値を、GLP-2受容体のmRNAは終脳において有意に高い値を、それぞれ示すことを見出している。また、GLP-1またはGLP-2の脳室内投与は、視床下部のコルチコトロピン放出因子とAMPキナーゼ(AMPK)α1のmRNA量を有意に減少させること、GLP-1投与区においてのみ、ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ4のmRNA量は有意に増加し、GLP-1受容体のmRNAは有意に減少すること、GLP-2投与区においてのみ、プロオピオメラノコルチンのmRNA量は有意に増加し、GLP-2受容体のmRNAは有意に減少することを示している。更に、GLP-1またはGLP-2の脳室内投与は、ニワトリヒナの睡眠様行動を誘導することを示している。これらの結果から、GLP-1とGLP-2はニワトリにおいて共に同様の行動変化(摂食抑制や睡眠様行動)を誘導するが、その機構は両者で異なることを示唆している。</p> <p>上記の通り、本研究は、肉用鶏と卵用鶏で、摂食後に末梢から中枢に伝わる満腹シグナルが異なること、肝臓のIGFBP-1および2はIGF-2の満腹シグナルとしての働きを抑制的に制御すること、および延髄で産生されるGLP-1および2は、いずれも摂食中枢である視床下部への摂食抑制シグナルとして働くが、その分子機構は異なることを示唆していることから、ニワトリの摂食調節機構解明について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、学位申請者のAhmed Mohamed Ibrahim Elsayedは博士(学術)の学位を得る資格があると認める。</p>	