

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏 名	島元 紗希
審査委員	主査 鹿児島 大学 准教授 井尻 大地
	副査 鹿児島 大学 教授 大塚 彰
	副査 佐賀 大学 教授 永尾 晃治
	副査 琉球 大学 教授 屋 宏典
	副査 鹿児島 大学 准教授 下桐 猛
審査協力者	
実施年月日	令和 元年 7 月 31 日
試験方法（該当のものを○で囲むこと。） (口答)・筆答	
<p>主査および副査は、令和元年7月31日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には、別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者 氏 名	島元 紗希
[質問 1]	本日の発表で示された「初期のヒナの成長差が出荷時の成績に及ぼす影響」についての結果は、学位論文には掲載されていなかったが、その理由は？また、掲載が可能であれば学位論文にも含めた方がよい。
[回答 1]	初期のヒナの成長差が出荷時の成績に及ぼす影響を検証した結果は、学位論文の初稿には間に合わなかったため掲載していませんでした。出荷体重に達するまでの結果を示す必要がありますので、学位論文に加えたいと考えています。
[質問 2]	今後の展望で、タンパク質分解を抑制する作用を持つ β_2 -アドレナリン受容体 (β_2 -AR) 作動薬の代替として、柑橘類の成分を使って肉用鶏の成長改善を目指すと言っていました。飼料添加によりタンパク質分解を抑制した場合、鶏群全体の成長が改善されると予想されて、鶏群の成長の個体差の改善には繋がらないと考えられますが、いかがでしょうか？
[回答 2]	β_2 -AR を活性化させる飼料資材を利用した場合には、鶏群の成長の個体差の改善は難しいです。個体差の改善には、遅発育群を底上げする飼料資材を探索する必要があります。今回の研究で、 β_3 -AR を刺激した場合には、 β_2 -AR とは対照的に <i>Atrogin-1/MAFbx</i> の mRNA 発現量が増加していました。加えて、遅発育群と急速発育群の骨格筋中の β_3 -AR mRNA の発現量を比較した結果、有意差はなかったものの、遅発育群の発現量が高いことが判りました。したがって、 β_3 -AR を遮断する機能を持つ天然物質を飼料資材に用いることで、鶏群の成長の個体差を改善できると思います。
[質問 3]	本研究では、 <i>FoxO1</i> mRNA と結合が予測された 4 種類の microRNA のうち、2 種類は <i>FoxO1</i> mRNA の発現量減少の効果を示しましたが、残りの 2 種類は効果を発揮しませんでした。その理由は？
[回答 3]	2 種類の microRNA で効果が認められなかった理由は不明です。現時点では、効果がないのか弱いのか判断できていません。
[質問 4]	<i>FoxO1</i> mRNA と結合するサイトが少ない可能性はどうですか？
[回答 4]	Target scan で結合予測されたサイト数と効果との関連を確認したいと思います。
[質問 5]	遅発育群と急速発育群の成長速度の個体差と摂食量との関係はどうですか？
[回答 5]	遅発育群と急速発育群には摂食量の違いもあります。遅発育群と比較して、急速発育群で飼料摂取量が多いことは確認しています。一方、 β_2 -AR mRNA の発現量

に対して摂取量が影響しないことは確認しています。

[質問 6] 前半の実験では浅胸筋を使っているけど、途中から縫工筋を使った理由は？

[回答 6] 後半の実験では β_2 -AR のシグナルの作用を調べため、 β_2 -AR 作動薬を使いました。 β_2 -AR 作動薬に対する反応性が高い骨格筋が研究に適していると考え、ニワトリヒナの様々な骨格筋組織を比較し、 β_2 -AR mRNA の発現量が高い縫工筋を使用しました。

[質問 7] β_2 -AR の作用機序として、FoxO1 の細胞内局在の変化を介したタンパク質分解抑制と microRNA を介した FoxO1 mRNA の発現量減少によるタンパク質分解抑制の 2 経路があるが、どちらが β_2 -AR の作用を主に仲介すると考えていますか？

[回答 7] 骨格筋細胞における β_2 -AR の作用機序は、FoxO1 mRNA の減少作用が主であると考えています。細胞実験の結果より、 β_2 -AR の活性化は、AKT や FoxO1 をリン酸化させずに、タンパク質分解を抑制することを明らかにしています。

[質問 8] β_2 -AR シグナルが摂食調節に関わっている可能性は？

[回答 8] β_2 -AR シグナルと摂食調節との関連は、現在までに調べられていません。

[質問 9] 体重の増減は、骨格筋タンパク質の分解抑制では説明がつかない。骨格筋量や脂肪組織量などの体内の組成が変わるならタンパク質の分解抑制の結果だと説明がつくと思います。

[回答 9] 体重に対する骨格筋重量が占める割合は、遅発育群と比較して急速発育群で高いことを確認している。したがって、骨格筋量や脂肪組織量などの体内の組成が変わっていると考えられます。 β_2 -AR の発現量が摂食調節に関与するか否かは今後調べてみたいと思います。

[質問 10] myostatin などのマイオカインが骨格筋の分解に関連することが齧歯類やヒトでは知られているけど、ニワトリではどうなのでしょう？

[回答 10] 骨格筋における myostatin mRNA 発現量は、遅発育群と急速発育群で差がないことを確認しています。

[質問 11] β_2 -AR 作動薬の投与が悪影響を及ぼす可能性はありますか？

[回答 11] β_2 -AR 作動薬と長期的に投与すると、 β_2 -AR 作動薬の効果が減弱する可能性が考えられます。ニワトリにおいても、 β_2 -AR 作動薬を飼料に添加した時には、最初の 5 日齢くらいまでは増体が良くなるが、その後、成長が悪くことを確認しています。

[質問 12] 飼料添加剤として β_2 -AR 作動薬の利用は現実的には難しいのですか？

[回答 12] 難しいと思います。本研究の成果は、育種選抜への応用が現実的だと思います。

[質問 13] β_2 -AR 作動薬と類似構造を持つ飼料資材の利用について言及していたが、このような飼料資材を使う際に、添加量は重要なのでしょうか。

[回答 13] 添加量の調整が重要だと考えています。

[質問 14] 本研究では、ニワトリおよびマウスの細胞を使った実験を行い、鳥類と哺乳類に共通した現象であると考えられます。今後、ブタなどの家畜用飼料への応用の可能性について考えをお聞かせください。

[回答 14] 文献でブタへ β_2 -AR 作動薬を投与した時にも骨格筋量が多くなるという報告があるので他の動物にも応用が可能であると考えます。

[質問 15] β_2 -AR 作動薬の研究はブタの方が先行しているが、詳細な作用機序は解明されていないのでしょうか？現在、飼料添加物として成長促進を目的とした抗生物質が利用されているが、今後禁止されることが予想される。発表中の今後の展望として、柑橘類から抽出された物質の利用について言及されていたが、ブタにおいても利用できることが証明されると非常に効果があると考えられる。

[回答 15] 飼料添加物としてクレンプテロール (β_2 -AR 作動薬) は使用禁止となっているので、ブタにおける作用機序の研究も進んでいない。ブタにおいても β_2 -AR 作動薬の作用を代替できる飼料資材が見つかるの良いと考えている。

[質問 16] 飼料摂取量を揃えた場合に、遅発育群と急速発育群との間のタンパク質代謝の比較を行なっていたら、その結果について説明してください。

[回答 16] 急速発育群の飼料摂取量を遅発育群に合わせた場合においても、タンパク質分解量は、急速発育群の方が低く維持されました。加えて、 β_2 -AR mRNA の発現量も、飼料摂取量に関わらず急速発育群において高く発現していたことから、 β_2 -AR mRNA の発現量に飼料摂取量は関係ないと考えています。

[質問 17] ニワトリヒナの腹腔内に β_2 -AR 作動薬を投与した結果、骨格筋における FoxO1 タンパク質のリン酸化割合の増加や *IGF-1* mRNA の発現量増加が起こる機序について説明してください。

[回答 17] 骨格筋における *IGF-1* mRNA の発現量増加に関して、ラットにクレンプテロール (β_2 -AR 作動薬) を投与した際に、肝臓由来の IGF-1 産生が上昇するという報告があったので、おそらくニワトリでも肝臓において β_2 -AR が活性化し IGF-1 の産生量が上昇した結果であると考察しています。したがって、骨格筋の *IGF-1* mRNA の発現量は、IGF-1 受容体の活性化により誘導されることから、腹腔内への β_2 -AR 作動薬の投与により骨格筋の *IGF-1* mRNA の発現量が上昇したのは、肝臓から産生される IGF-1 が増加した結果であると考えています。

[質問 18] β_2 -AR 作動薬の投与による血中の IGF-1 濃度は、しっかりと調べる必要があるということでしょうか？

[回答 18] ラジオアイソトープラベル法を用いて血液中の IGF-1 濃度を分析する分析系を確立して測定したと考えています。

[質問 19] 柑橘類の残渣を飼料添加剤として使うと言っていたが、供給の観点から実現可能でしょうか？

[回答 19] 鹿児島県は、柑橘類の生産地なので生産副産物でまかなえるのではないかと考えています。