

## 幼雛期ニワトリの中樞インスリン介在性摂食調節機構

白石 純一

日本獣医生命科学大学・応用生命科学部・動物科学科・動物生産化学教室

日獣生大研報 61, 22-27, 2012.

### はじめに

摂食行動は従属栄養の形態をとる動物において欠かせないものである。動物生産に携わる者は摂食量の変動や摂食行動の変化には多くの注意を払う。それは、餌の摂取が単に家畜の生命を維持するだけでなく、肉や卵などの生産性を左右するからである。そして、家畜の健康など管理面からそれが重要な指標となるからである。幼齢期の家畜において摂食行動は初期の栄養状態に如実に反映し、その後の成長や健康状態を左右する。ニワトリの場合、そのヒナは出生後、直ちに自らの力で餌を探し出し栄養素を獲得する。したがって自発的な摂食行動調節機構を明らかにすることで、初期の栄養状態を改善、さらには効率的な成長かつ健康的な畜産物を作り出すことができるものと考えられる。

複雑な摂食行動の調節機構を解析するために、多くの研究者が食欲の発生とその認識から摂食行動発現にいたるまでの電気・化学的情報処理機構とその機構に関する物質を明らかにしてきた<sup>10)</sup>。さらに近年の分析手法の進歩により、多くの摂食行動調節因子と神経経路が明らかにされつつある。

1950年代の哺乳類における実験により、摂食行動を制御する部位は脳であり、視床下部にある摂食中枢である視床下部外側野 (nucleus lateralis hypothalami : LH) と満腹中枢である視床下部腹内側核 (nucleus ventromedialis hypothalami : VMH) が中心的な役割を果たすと考えられている。一方、ニワトリにおいても哺乳類で確認されているように、VMHを電氣的に破壊すると摂食行動の亢進が起り<sup>18,38,39)</sup>、LHの破壊によるとニワトリの摂食量は減少する。

近年、これらの神経核以外の役割について明らかにされるなかで、さまざまな脳部位が直接・間接的に摂食調節に関与していることが報告されている。とりわけ、弓状核 (nucleus arcuatus : ARC) は前述のLHやVMHへ直接指令を出す部位として注目されている。ARCは、視床下部第3脳室の腹側域を占め、正中隆起 (eminencia mediana : ME) や下垂体の近くに位置し、LHやVMHのみならず中枢の広い範囲にニューロンを投射している。哺乳類の摂

食行動調節において、ARCは、末梢からのレプチンなどのシグナルを受け取ることで、ARCニューロンの投射域が広いことにより肥満を引き起こすこと、体脂肪蓄積に関与することなどから、摂食制御にも重要な神経核であることが示されている<sup>6,25)</sup>。鳥類では同様の領域に視床下部下核 (nucleus inferioris hypothalami : IH) と漏斗核 (nucleus infundibuli hypothalami : IN) の二つの神経核が存在し、ARCに相当する神経核とされる。これまでの数多くの研究者による研究成果によって、ニワトリの摂食調節因子の役割が明らかになりつつあり、さらにはニワトリ独自の摂食調節機構の存在が示唆されている<sup>8)</sup>。(Table 1)

摂食行動の研究において古くは糖定常説のもと、血糖値あるいはそれに関連するインスリンを中心とした調査が数多くなされた。そのインスリンはBantingとBestが摂食調節物質とされるグルコースに拮抗作用をもつホルモンとして腓膵抽出物から発見した。このインスリンは肝臓、骨格筋や脂肪組織などのインスリン感受性細胞内へのグルコースの取り込み、タンパク質の合成やグリコーゲン合成などを促進し、様々な動物種において、その生理効果は複雑で広範囲に及ぶことが知られている。ニワトリにおいても、インスリンは膵島β細胞から分泌され<sup>30)</sup>、その分泌は胚発生5日目に確認され、胚発生2週以降から分泌量は増加する<sup>9,16)</sup>。そして、インスリンの分泌は摂食と相互作用することも認められ<sup>11,17,31)</sup>、その生理作用は多岐にわたる<sup>35)</sup>。さらに、インスリンの受容体は胚発生2日目から標的組織である肝臓、心臓、骨格筋、軟骨、赤血球、胸腺細胞、繊維芽細胞など末梢組織において広範に発現することも明らかになっている<sup>34,35)</sup>。

近年、哺乳類においてインスリンは末梢組織への直接作用だけではなく、中枢神経に作用することによって摂食行動を制御することが明らかとなり、その中枢における役割について注目されている<sup>5,14,24,29,48)</sup>。一方、ニワトリにおいてもインスリン受容体が中枢神経系に発現することが確認されているもの<sup>36)</sup>、その生理的意義は明らかにされていない。そこで本研究は幼雛期ニワトリにおける中枢インスリン介在性摂食行動調節について調査した。

Table 1. Orexigenic and anorexigenic modulators in mammals and their responses in the chick CNS

Orexigenic	Response	Anorexigenic	Response
NPY	↑	Leptin	→↓
AGRP	↑	α-MSH	↓
β-EP	↑	CART	↓
Orexin-A	→	GLP-1	↓
Orexin-B	→	Glucagon	↓
Motilin	→	CRF	↓
MCH	→	Bombesin	↓
Galanin	→	Gastrin	↓
Ghrelin	↓	CCK	↓

↑, increase; →, no change; ↓, decrease

視床下部領域におけるインスリン受容体の局在

ニワトリの中枢におけるインスリン受容体の存在は Simon と LeRoith<sup>36)</sup> の報告により、およそ 20 年前から知られていた。しかし、その分布や機能については未解明な部分が多く<sup>4)</sup>、とりわけ中枢性摂食行動調節に関わるインスリンの役割とその受容体に関する解析は行われていない。そこで摂食行動調節に重要とされる視床下部領域におけるインスリン受容体の局在、そして、摂食行動調節因子である α-メラニン細胞刺激ホルモン (α-MSH) 産生ニューロンとの関連について免疫組織化学法を用いて調査した。その結果、IH, IN, LH, VMH などの摂食行動調節に重要とされる諸神経核に免疫陽性細胞が確認され、液性シグナルを感受する第一の神経核である IH および IN においては、α-MSH 産生ニューロンと共局在することが明らかとなった (図 1)。

食物を摂取した場合、血漿インスリン濃度は上昇し、逆に空腹のときには低下する。このような末梢でのインスリンの変化は中枢にも液性シグナルとして伝達されるものと考えられる。すなわち、末梢血液中から血液脳関門を介して脳内にインスリンが移行することや<sup>15)</sup>、脳脊髄液のインスリン濃度は血中インスリン濃度に比例することが哺乳類において確認されている<sup>48)</sup>。このようにインスリンは末梢のエネルギー代謝情報を中枢に伝達するシグナルと見なされ、特に第 3 脳室 (III: Third ventricle) と ME とに近接する ARC が、そのような末梢血液および脳脊髄液のインスリン濃度を感知する部位と考えられている。哺乳類においては中枢インスリンによる摂食行動調節は、この ARC に局在するプロオピオメラノコルチン (POMC) の賦活化やアグチ関連タンパク (AGRP) およびニューロペプチド

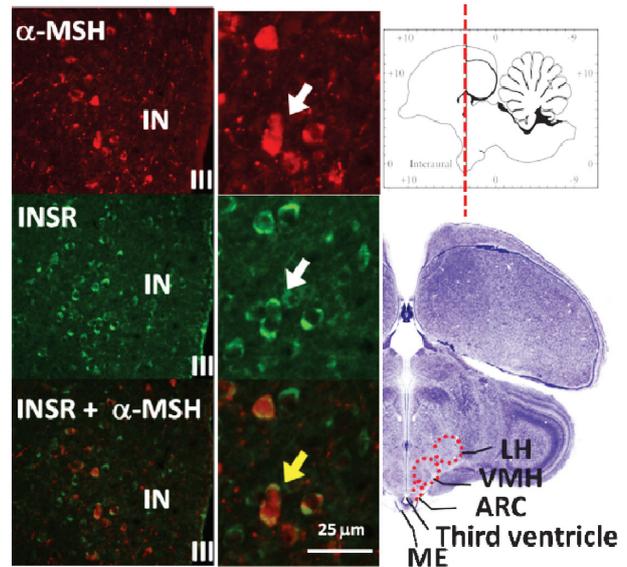


図 1. ニワトリヒナの IN および IN におけるインスリン受容体および α-MSH 免疫陽性細胞

Y (NPY) 神経系の抑制によって生じるものと考えられている<sup>3)</sup>。一方、鳥類については ARC に相当する部位である IH および IN に POMC と AGRP mRNA が集中的に発現していることがニホンウズラ<sup>27)</sup> とイエバト<sup>40)</sup> で確認されていること、そしてニワトリヒナにおいても、第 3 脳室近傍に位置する IH および IN に多数のインスリン受容体免疫陽性細胞が確認されたことから、膵島 β 細胞から分泌されたインスリンは、これらの脳部位に作用し、さらには α-MSH などの摂食調節因子の調節を介して液性因子として働く可能性が考えられる。

中枢インスリンシグナルとメラノコルチンシステム

α-MSH は、プロホルモン転換酵素 (PC1 および PC2) の修飾によって POMC から生成されるペプチド群に属し、脊椎動物において下垂体中葉を主要内分泌腺とされている<sup>44)</sup>。また MSH は、その特異的受容体として 1~5 型の 5 種類のメラノコルチン受容体が同定され、各メラノコルチン受容体は発現部位やメラノコルチンに対する親和性が異なっていることが報告されている。メラノコルチン 1 受容体 (MC1R) は皮膚のメラニン細胞に局在し、その分化や合成といった皮膚の色素沈着に関与する。中枢神経系に発現するメラノコルチン 3 受容体 (MC3R) およびメラノコルチン 4 受容体 (MC4R) は、摂食調節、とりわけその抑制に関与することが知られている<sup>33)</sup>。

一方、鳥類の α-MSH を介した調節機構については、その主要内分泌腺とされる下垂体中葉が存在しないことなどから、重要なホルモンではないという考え方が一般的であった。しかし、近年 α-MSH 調節を含むメラノコルチン調節系遺伝子のクローニング、哺乳類の ARC に相当する IH および IN において、AGRP や POMC が局所的に発現す

	Insulin	Insulin+MC4R antagonist
Feed intake	↓	→
POMC mRNA expression	↑	↘
NPY mRNA expression	↓	↘
Peripheral Catabolic action	↑	↘

図 2. ニワトリヒナの中枢インスリン投与が摂食行動およびメラノコルチンシステムに及ぼす影響

ることなど<sup>27)</sup>, 鳥類においてもメラノコルチンシステムに関する知見が蓄積しつつある。

ここで, ニワトリヒナの中枢性インスリンによる摂食行動に及ぼす影響を調査するために, ニワトリヒナの脳室内にインスリンを投与し, その後の摂食量および POMC, NPY, AGRP 遺伝子発現量を測定し比較した。その結果, ニワトリヒナの摂食量はインスリン中枢投与によって容量依存的に抑制されること, さらに POMC mRNA 発現量の増加と NPY mRNA 発現量の減少をもたらすことが示された。さらに選択的 MC3/4R のアンタゴニストとインスリンの同時投与によって, インスリンによる摂食行動は緩和されることが明らかとなった。

近年の肥満研究の進歩にともない, 従来は皮膚のメラニン細胞や副腎皮質への刺激に関与するのみであると考えられていたメラノコルチンシステムが摂食行動に重要な役割を果たし, 肥満の成立に関与していることが哺乳類において明らかにされている。中枢神経系において  $\alpha$ -MSH の特異的受容体である MC4R 遺伝子欠損マウスは顕著な過食やエネルギー消費量の減少を引き起こし<sup>13)</sup>, MC3R 欠損マウスは過食を伴わない中程度肥満が認められることから<sup>33)</sup>, MC3R および MC4R が食欲やエネルギー代謝に重要であることが示されている。

ニワトリヒナの中枢インスリンは POMC mRNA 発現量の増加を促し摂食を抑制し, POMC 以降での神経伝達系についてインスリンと MC3/4R の選択的アンタゴニスト同時投与は中枢性インスリンの摂食抑制効果を緩和した。これらのことから, ニワトリヒナにおける中枢インスリンの摂食抑制作用は POMC からプロホルモン転換酵素により生成された  $\alpha$ -MSH が哺乳類と同様に MC3R あるいは MC4R に作用することで摂食抑制が生じるものと推察される。

### 鶏種間における中枢インスリン感受性

卵用鶏種 (Layer) および肉用鶏種 (Broiler) は, 産卵率や増体量など, 生産性向上の観点から育種選抜されてきた。その結果, Broiler では一日あたりの増体量は約 40%

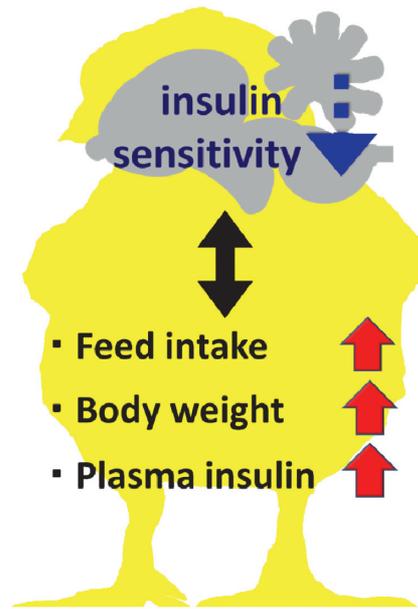


図 3. Layer および Broiler における中枢インスリン感受性の相違

増加し, その発育速度は大幅に改善された<sup>22,32)</sup>。このように, Broiler は Layer と比べ発育速度が早く, 産肉性に優れ<sup>1)</sup>, 幼雛期から摂食量および体重に顕著な差が認められる<sup>23)</sup>。飼料摂取量に関しては, Broiler では Layer のものと比較して 2-3 倍多いことが知られ<sup>12,20,21)</sup>, これらの違いは, 中枢における摂食調節機構も異なることが示唆されている<sup>42,43)</sup>。摂食行動という観点からインスリンを見た場合, インスリンの分泌は摂食行動と密接な関連があり, 上述のような摂食量の違いという点から<sup>16)</sup>, 中枢インスリン介在性摂食調節機構が両鶏種間で異なるものと推察される。そこで, 生産性向上の観点から育種選抜されてきた代表的な商業鶏である Layer および Broiler の摂食行動調節における中枢インスリンの役割について検討した。

自由摂食条件および 3 時間の絶食条件下の両鶏種ヒナの脳室内にインスリンを投与し, その後の摂食量を測定した。その結果, これまでの結果と同様, Layer において有意な摂食抑制作用を示したものの, Broiler では, 両条件下においても摂食抑制作用は認められなかった。そして, 間脳におけるインスリン受容体の発現量について Quantitative RT PCR 法および Western blotting 法を用いて解析したところ, 自由摂食条件下の Broiler における間脳 insulin receptor の発現量は Layer のものに比べて低いことが示された。さらに両鶏種間の血中インスリン濃度は, Layer に比べ Broiler のものは高値を示し, 血漿インスリン濃度と間脳インスリン受容体発現量との間で負の相関関係が認められた。

Broiler は, Layer にくらべ末梢組織における遊離脂肪酸 (FFA) の取り込み量およびトリアシルグリセロール (TAG) クリアランスが高いことによって低 FFA 血症お

および低 TAG 血症を示すことが知られている<sup>41)</sup>。本研究によってこれら FFA および TAG 濃度の相違に加え、それらを制御するインスリン濃度も Broiler ヒナでは高くなっていることが明らかとなった。そして、Broiler ヒナにみられる多食の一因として中枢神経におけるインスリン感受性が Layer にくらべ脆弱化し、Broiler にみられる中枢インスリン抵抗性は、高インスリン血症状態による間脳インスリン受容体の発現の相違が一因であるものと推察された。

### おわりに

古くよりニワトリの摂食行動調節は、哺乳類と同様に視床下部領域の VMH や LH などが関与していることが知られている<sup>7,18,38,39)</sup>。現在までにそれらの脳部位における摂食関連ホルモンの産生、視床下部の諸神経核間の解剖学的連絡、ニューロンが放出する伝達物質を介した化学的連絡について新たな事実が報告されつつある。本研究からニワトリ中枢におけるインスリン受容体は、哺乳類と同様に視床下部領域の摂食行動調節に重要とされる諸神経核、とくに末梢からの情報が伝達される IH および IN にその局在が認められた。このことは、インスリンが解剖学的、機能的およびシステム的にも進化の過程において保持されていることがうかがえる。このインスリン様シグナル伝達因子は脊椎動物のみならず線虫 (*Caenorhabditis elegans*) においても、その存在が知られており<sup>19)</sup>、このような点からも、動物全般にわたってインスリンは進化的に重要な情報伝達物質であることがうかがえる。

ニワトリヒナの中枢性インスリンはメラノコルチンシステムの POMC ニューロンを賦活化し、その後産生される  $\alpha$ -MSH の働きによって摂食抑制することが示された。哺乳類においてインスリン同様に末梢組織から分泌され、摂食、エネルギー調節に重要なホルモンとしてレプチンが知られている。ニワトリにおいてもレプチンの cDNA がクローニングされ、その塩基配列が報告されている<sup>45)</sup>ものの、報告されたレプチン遺伝子はニワトリゲノムデータベース上での存在が確認できないこと<sup>28,47)</sup>、ニワトリおよび野鳥の血液中ではレプチン活性が測定できない<sup>2,49)</sup>など、鳥類レプチンの存在さらにはその機能については今後の研究発展が望まれる。これに対してニワトリにおけるインスリンは末梢から分泌される『adiposity signal』として、とりわけ、幼雛期ニワトリの末梢と中枢をつなぐシグナルとして重要なホルモンであることが本研究によって示された。

卵用鶏種および肉用鶏種とでは、孵化後間もない幼雛期から飼料摂取量および増体に顕著な差が認められ、ホルモンを中心とした摂食行動調節の相違が指摘されてきた。それぞれの鶏種によって、中枢インスリンの摂食行動調節が異なること、すなわち Broiler ヒナの中枢インスリン感受性は Layer のものに比べ鈍いことが明らかとなった。これまでの先人ら<sup>16,36,37)</sup>の報告と合わせみると肉用種ヒナに



図 4. さまざまな日本鶏

において、その血中インスリン濃度が高いことが中枢インスリン受容体の発現を抑制し、インスリンに対する感受性が弱まり多食を引き起こしたものと推察された。

養鶏業の発展にともない、遺伝的および飼養管理技術の改善がおこなわれ、肉用鶏種の 42 日齢時の体重は 30 年前のものに比べ約 230% 増加したが、その飼料要求率の改善はわずか 22.5% にすぎない<sup>23)</sup>。したがって、これからの養鶏業においては、これまでにない観点からの育種選抜、すなわち『エネルギー代謝≒脳機能』に着目した育種選抜および飼養管理技術の構築が必要である。

我が国は、全世界の約 20% を占める鶏種を有する鶏大国である<sup>46)</sup>。そしてこれら日本鶏の遺伝的背景は商業鶏 (Layer および Broiler) の作出に用いられる外国鶏とくらべ、大きく異なることが知られている<sup>26)</sup>。つまり、日本鶏には、これまでにない有益な遺伝子を保有している可能性がある。『生物多様性』、『食糧安全保障』、『日本文化の継承』といった観点からの日本鶏の重要性に加え、今後の養鶏業の繁栄においても日本鶏は重要な資源になってくるのかもしれない。

### 謝 辞

本研究を遂行するにあたり御指導を賜りました、豊後貴嗣教授、都築政起教授、吉村幸則教授、藤田正範教授をはじめ広島大学大学院生物圏科学研究科の諸先生方に深く感謝の意を表します。そして本研究を遂行するにあたり、協力すること惜しむことなく力を貸して下さった柳田光一さんをはじめ広島大学大学院生物圏科学研究科の家畜管理学研究室のみなさん、そして多くの研究協力者に感謝いたします。

### 参 考 文 献

- 1) ABERLE, E.D. and STEWART, T.S. (1983) Growth of fiber types and apparent fiber number in skeletal muscle of broiler- and layer-type chickens. *Growth*, 47 : 135-144.

- 2) ADACHI, H., TAKEMOTO, Y., BUNGO, T. and OHKUBO, T. (2008) Chicken leptin receptor is functional in activating JAK-STAT pathway in vitro. *J Endocrinol.* **197** : 335-342.
- 3) BENOIT, S.C., AIR, E.L., COOLEN, L.M., STRAUSS, R., JACKMAN, A. and CLEGG, D.J. (2002) The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins. *J Neurosci* **22** : 9048-9052.
- 4) BOSWELL, T., DUNN, I.C. and CORR, S.A. (1999) Hypothalamic Neuropeptide Y mRNA is increased after feed restriction in growing broilers. *Poult Sci.* **78** : 1203-1207
- 5) BURKS, D.J., FONT, de MORA, J., SCHUBERT, M., WITHERS, D.J., MYERS, M.G., TOWER, H.H., ALTAMURO, S.L., FLINT, C.L. and WHITE, M.F. (2000) IRS-2 pathways integrate female reproduction and energy homeostasis. *Nature.* **407** : 377-382.
- 6) CHRONWALL, B.M. (1985) Anatomy and physiology of the neuroendocrine arcuate nucleus. *Peptides.* **2** : 1-11.
- 7) FELDMAN, S.E., S. LARSSON, N.K. DIMICK, and S. LEPKOVSKY. (1957) Aphagia in chickens. *Am J Physiol.* **191** : 259-261.
- 8) FURUSE, M. (2002) Central regulation of food intake in the neonatal chick *Anim Sci J.* **73** : 83-94.
- 9) GREEN, T.D. and BENZO, C.A. (1973) Radioimmunological evidence for early functional activity in chick embryonic beta cell. *Am J Anat.* **138** : 401.
- 10) KUENZEL, W.J. (1994) Central neuroanatomical systems involved in the regulation of food intake in birds and mammals. *J Nutr.* **124** : 1355S-1370S. Review.
- 11) HARVEY, S, SCANES, C.G., CHADWICK, A. and BOLTON, N.J. (1978) Influence of fasting, glucose and insulin on the levels of growth hormone and prolactin in the plasma of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *J Endocrinol.* **76** : 501-506.
- 12) HOCKING, P.M., HUGHES, B.O. and KEER-KEER, S. (1997). Comparison of food intake, rate of consumption, pecking activity and behavior in layer and broiler breeder males. *Br Poult Sci.* **38**, 237-240.
- 13) HUSZAR, D., LYNCH, C.A., FAIRCHILD-HUNTRESS, V., DUNMORE, J.H., FANG, Q., BERKEMEIER, L.R., GU, W., KESTERSON, R.A., BOSTON, B.A., CONE, R.D., SMITH, F.J., CAMPFIELD, L.A., BURN, P. and LEE, F. (1997) Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell.* **88** : 131-141.
- 14) INOUE, H., OGAWA, W., ASAKAWA, A., OKAMOTO, Y., NISHIZAWA, A., MATSUMOTO, M., TESHIGAWARA, K., MATSUKI, Y., WATANABE, E., HIRAMATSU, R., NOTOHARA, K., KATAYOSE, K., OKAMURA, H., KAHN, C.R., NODA, T., TAKEDA, K., AKIRA, S., INUI, A. and KASUGA, M. (2006) Role of hepatic STAT3 in brain-insulin action on hepatic glucose production. *Cell Metab.* **3** : 267-275.
- 15) KING, G.L. and JOHNSON, S.M. (1985) Receptor-mediated transport of insulin across endothelial cells. *Science.* **227** : 1583-1586.
- 16) LANGSLOW, D.R. (1975) The pancreatic insulin content and its relationship to plasma glucose and free fatty acids concentrations in the embryo and neonatal chick. *Br Poult Sci.* **16** : 329-333.
- 17) LANGSLOW, D.R., BUTLER, E.J., HALES, C.N. and PEARSON, A.W. (1970) The response of plasma insulin, glucose and non-esterified fatty acids to various hormones, nutrients and drugs in the domestic fowl. *J Endocrinol.* **46** : 243-260.
- 18) LEPKOVSKY, S. and YASUDA, M. (1966) Hypothalamic lesions, growth and body composition of the male chickens. *Poult Sci.* **45** : 582-588.
- 19) LIBINA N, BERMAN J.R. and KENYON C. (2003) Tissue-specific activities of *C. elegans* DAF-16 in the regulation of lifespan. *Cell.* **115** : 489-502.
- 20) MAHAGNA, M. and NIR, I. (1996) Comparative development of digestive organs, intestinal disaccharidases and some blood metabolites in broiler and layer-type chicks after hatching. *Br Poult Sci.* **37** : 359-371.
- 21) MASIC, B., WOOD-GUSH, D.G.M., DUNCAN, I.J.H., MCCORQUODALE, C. and SAVORY, C.J. (1974) A comparison of feeding behaviour of young broiler and layer males. *Br Poult Sci.* **15** : 281-286.
- 22) NIR, I., NITSAN, Z. and MAHAGNA, M. (1993) Comparative growth and development of the digestive organs and of some enzymes in broiler and egg type chicks after hatching. *Br Poult Sci.* **34** : 523-532.
- 23) Nutrient requirements of poultry 9th edition (1994) National Academy press. USA.
- 24) OBICI, S., ZHANG, B.B., KARKANIAS, G. and ROSSETTI, L. (2002) Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production. *Nat Med.* **8** : 1376-1382.
- 25) OLNEY, J.W. (1969) Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science.* **164** : 719-721.
- 26) OSMAN, S.A.M., SEKINO, I M., NISHIHATA, A., KOBAYASHI, Y., TAKENAKA, W., KINOSHITA, K., KUWAYAMA, T., NISHIBORI, M., YAMAMOTO, Y. and TSUDZUKI, M. (2006) The genetic variability and relationships of Japanese and foreign chickens assessed by microsatellite DNA profiling. *Asian-Aust. J Anim Sci.* **19** : 1369-1378.
- 27) PHILLIPS-SINGH, D., LI, Q., TAKEUCHI, S., OHKUBO, T., SHARP, P.J. and BOSWELL, T. (2003) Fasting differentially regulates expression of agouti-related peptide, pro-opiomelanocortin, prepro-orexin, and vasoactive intestinal polypeptide mRNAs in the hypothalamus of Japanese quail. *Cell Tissue Res.* **313** : 217-225.
- 28) PITEL, F., MONBRUN, C., GELLIN, J. and VIGNAL, A. (2000) The chicken LEP (OB) gene has not been

- mapped. *Anim Genet.* **31** : 281.
- 29) POCAI, A., LAM, T.K., GUTIERREZ-JUAREZ, R., OBICI, S., SCHWARTZ, G.J., BRYAN, J., AGUILAR-BRYAN, L. and ROSSETTI, L. (2005) Hypothalamic K (ATP) channels control hepatic glucose production. *Nature.* **434** : 1026-1031.
- 30) PRZYBYLSKI, R.G. (1967) Cytodifferentiation of the chick pancreas. I. Ultrastructure of the islets cells and the initiation of granule formation. *Gen Comp Endocrinol.* **8** : 115-128.
- 31) ROSEBROUGH, R.W., MCMURTRY, J.P., RICHARDS, M.P. and STEELE, N.C. (1984) Effect of starvation-refeeding and an exogenous glucocorticoid on carbohydrate metabolism in chick liver. *Poult Sci.* **63** : 2444-2449.
- 32) SAVORY, C.J. (2002) Effects of long-term selection for broiler traits. *Archive für Geflügelkunde (Sonderheft 2).* 40-43.
- 33) SEELEY, R.J., DRAZEN, D.L. and CLEGG, D.J. (2004) The critical role of the melanocortin system in the control of energy balance. *Annu Rev Nutr.* **24** : 133-149.
- 34) SIMON, J. (1979) Effect of insulin on glucose oxidation and amino isobutyric acid transport and binding of insulin in chicken thymocytes. *Biochim Biophys Acta.* **585** : 563-574.
- 35) SIMON, J. (1989) Chicken as a useful species for the comprehension of insulin action. *Crit Rev Poult Biol.* **2** : 121-148.
- 36) SIMON, J. and LEROITH, D. (1986) Insulin receptors of chicken liver and brain. Characterization of alpha and beta subunit properties. *Eur J Biochem.* **158** : 125-132.
- 37) SINSIGALLI, N.A., MCMURTRY, J.P., CHERRY, J.A. and SIEGEL, P.B. (1987) Glucose tolerance, plasma insulin and immunoreactive glucagon in chickens selected for high and low body weight. *J Nutr.* **117** : 941-947.
- 38) SNAPIR, N., RAVONA, H. and PEREK, M. (1973) Effect of electrolytic lesions in various regions of the basal hypothalamus in White Leghorn cockerels upon food intake, obesity, blood triglycerides and protein. *Poult Sci.* **52** : 629-636.
- 39) SONODA, T. (1983) Hyperinsulinemia and its role in maintaining the hypothalamic hyperphagia in chickens. *Physiol Behav.* **30** : 325-329.
- 40) STRADER, A.D., Schiöth, H.B. and BUNTIN, J.D. (2003) The role of the melanocortin system and the melanocortin-4 receptor in ring dove (*Streptopelia risoria*) feeding behavior. *Brain Res.* **960** : 112-121.
- 41) SWENNEN, Q., DELEZIE, E., COLLIN, A., DECUYPERE, E. and BUYSE, J. (2007) Further investigations on the role of diet-induced thermogenesis in the regulation of feed intake in chickens : comparison of age-matched broiler versus layer cockerels. *Poult Sci.* **86** : 895-903.
- 42) TACHIBANA, T., SUGAHARA, K., OHGUSHI, A., ANDO, R., KAWAKAMI, S., YOSHIMATSU, T. and FURUSE, M. (2001) Intracerebroventricular injection of agouti-related protein attenuates the anorexigenic effect of alpha-melanocyte stimulating hormone in neonatal chicks. *Neurosci Lett.* **305** : 131-134.
- 43) TACHIBANA, T., SUGAHARA, K., OHGUSHI, A., ANDO, R., SASIHARA, K., YOSHIMATSU, T. and FURUSE, M. (2001) Intracerebroventricular injection of exendin (5-39) increases food intake of layer-type chicks but not broiler chicks. *Brain Res.* **915** : 234-237.
- 44) TAKEUCHI, S., TESHIGAWARA, K. and TAKAHASHI, S. (1999) Molecular cloning and characterization of the chicken pro-opiomelanocortin (POMC) gene. *Biochim Biophys Acta.* **1450** : 452-459.
- 45) TAOUIS, M., CHEN, J.W., DAVIAUD, C., DUPONT, J., DEROUET, M. and SIMON, J. (1998) Cloning the chicken leptin gene. *Gene.* **208** : 239-242.
- 46) 都築政起. (2006) 土佐はニワトリ大国—土佐で作られたニワトリ達. *土佐史談.* **233** : 1-25.
- 47) VAN HEMERT, S., EBBELAAR, B.H., SMITS, M.A. and REBEL, J.M. (2003) Generation of EST and microarray resources for functional genomic studies on chicken intestinal health. *Anim Biotechnol.* **14** : 133-143.
- 48) WOODS, S.C., LOTTER, E.C., MCKAY, L.D. and PORTE, Jr D. (1979) Chronic Intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature.* **282** : 503-505.
- 49) YOSEFI, S., HEN, G., ROSENBLUM, C.I., CERASALE, D.J., BEAULIEU, M., CRISCUOLO, F. and FRIEDMAN-EINAT, M. (2010) Lack of leptin activity in blood samples of Adélie penguin and bar-tailed godwit. *J Endocrinol.* **207** : 113-122.