

コレシストキニンA受容体遺伝子g. 420 C>A一塩基多型は 比内鶏の発育を改善する

誌名	日本家禽学会誌
ISSN	00290254
著者	力丸, 宗弘 武田, 尚人 大久保, 武 高橋, 大希 小松, 恵 高橋, 秀彰
巻/号	51巻2号
掲載ページ	p. 43-48
発行年月	2014年10月

コレシストキニン A 受容体遺伝子 g.420 C>A 一塩基多型は比内鶏の発育を改善する

丸丸宗弘¹・武田尚人²・大久保武³・高橋大希¹・小松 恵¹・高橋秀彰²

¹ 秋田県畜産試験場, 秋田県大仙市字神宮寺海草沼谷地 13-3 019-1701

² 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所, 茨城県つくば市池の台 2 305-0901

³ 茨城大学農学部, 茨城県稲敷郡阿見町中央 3-21-1 300-0393

我々は、既報において、発育が異なる比内鶏系統個体を交配し、作出した F₂ 家系集団において、コレシストキニン A 受容体遺伝子 (CCKAR) の 5' 非翻訳領域の特定部位における一塩基多型 (SNP, g. 420 C>A) と F₂ 個体の発育形質との間に、有意な関連性を確認し、A アリルは C アリルよりも発育形質に対する効果が優れていることを報告した。本研究では、発育形質が改良されていない保存会系統の比内鶏を用いて、当該 SNP によって比内鶏の発育が改善されるか検証を行った。比内鶏各個体における当該 SNP の遺伝子型 (A/A, A/C, C/C) を既報に従って、4 週齢になる前に判定した後、4 週齢から 14 週齢まで育雛ケージで飼育した。4 週齢から 14 週齢まで、2 週間おきに各個体の体重を測定し、2 週間間隔の平均日増体重を算出した。また、2 週おきに飼料摂取量を測定し、さらに平均日増体重と飼料摂取量から、飼料要求率を算出した。その結果、A/A 型個体は他の遺伝子型個体より 14 週齢体重が有意に重く、平均日増体重も有意に優れていた。飼料摂取量では、遺伝子型間で有意差は認められなかった。飼料要求率では、4-10 週齢において、A/A 型個体が C/C 型個体より有意に優れていたが、4-14 週齢間では、各遺伝子型間に有意な差は認められなかった。以上の結果から、CCKAR 遺伝子の g. 420 C>A SNP によって、比内鶏の発育が実際に改善されることが明らかになった。

キーワード: 比内鶏, コレシストキニン A 受容体遺伝子, 一塩基多型, 増体, 体重

緒 言

家畜化による発育や体重の大きさの変化は、摂食に基づく選択が関係していることが示唆されている (Burkhart *et al.*, 1983; Denbow, 1994; Richards, 2003)。摂食は中枢神経系と末梢神経系で産生される摂食亢進物質と抑制物質の複雑な相互関係によって制御されている (Wynne *et al.*, 2005)。コレシストキニン (CCK) は、摂食後に十二指腸内に流入した食物の刺激により、十二指腸や空腸の I 細胞から分泌される消化管ペプチドの一つである (Buchan *et al.*, 1978)。哺乳類では、CCK は胃の内容物の排出を抑制するとともに、胆嚢収縮を促進し、膵酵素の分泌を増加させる (Dinosa and Murthy, 1984)。また、胃酸の分泌を抑制し、空腹を遅延させ、摂食量を減少させる (Gibbs *et al.*, 1973; Kissileff *et al.*, 1981)。鳥類では、CCK は腸の運動 (Martin *et al.*, 1995; Martinez *et al.*, 1995) や胆汁の分泌を促進し (Duke *et al.*, 1987)、膵臓からのアミラーゼ分泌を刺激する (Satoh *et al.*, 1994; Xiao and Cui, 2004)。また、CCK を静注すると筋胃の収縮が阻害され

(Savory *et al.*, 1981)、ニワトリの摂食量が減少することが報告されている (Rodrigues-Sinovas *et al.*, 1997; Savory and Gentle, 1980; Denbow and Myers, 1982)。

CCK の受容体として、コレシストキニン A 受容体 (CCKAR; Sankaran *et al.*, 1980) とコレシストキニン B 受容体 (CCKBR; Innis and Snyder, 1980) が同定されている。CCKAR は抹消組織や中枢神経の一部に存在するが、CCKBR は中枢神経に存在する (Wank, 1995)。ラットでは、脳室内あるいは皮下への CCKBR 作働薬投与によって摂食量は増加しないが、CCKAR 作働薬投与によって摂食量が増加する (Corwin *et al.*, 1991; Crawley *et al.*, 1991)。CCKAR 遺伝子が欠損したラット (Otsuka Long Evans Tokushima Fatty rat) では、コントロールのラット (Otsuka Long Evans Tokushima rat) と比較して、飼料摂取量が多く (Moran *et al.*, 1998)、生後 1 日から成体に至るまで、体重が重い (Schroeder *et al.*, 2006)。また、CCKAR 遺伝子のノックアウトマウス (129/SvEv マウス; CCKAR^{-/-}) では、CCK を腹腔内に投与しても飼料摂取量が減少しないのに対し、野生型 (129/SvEv マウス; CCKAR^{+/+}) や CCKBR 遺伝子のノックアウトマウス (129/SvEv マウス; CCKBR^{-/-}) では、CCK の投与により飼料摂取量が減少する (Kopin *et al.*, 1999)。ヒトでは、CCKAR 遺伝子の一塩基多型 (SNP) と体脂肪 (Funakoshi *et al.*, 2000; Miyasaka *et al.*, 2007) や肥満 (Koda *et al.*, 2004) との関連性が示唆されており、CCKAR 遺伝子はヒトの肥満の候補遺伝子の一つ

2014 年 2 月 14 日受付, 2014 年 4 月 18 日受理

連絡者: 高橋秀彰

〒305-0901 茨城県つくば市池の台 2

Tel: 029-838-8623

Fax: 029-838-8623

E-mail: naoe@affrc.go.jp

である (Arya *et al.*, 2004)。家畜では、ブタにおいて *CCKAR* 遺伝子の 5' 非翻訳領域 (5'-UTR) の転写因子 YY1 結合部位に存在する SNP と飼料摂取量、発育、飼料摂取率との関連性が報告されている (Huston *et al.*, 2006, 2008)。これらの結果は、*CCKAR* 遺伝子が摂食調節に重要な役割を果たしていることを示唆している。

我々は、既報において、発育が異なる秋田県畜産試験場 (以下、秋田畜試) の比内鶏系統と秋田県声良鶏・比内鶏・金八鶏保存会 (以下、保存会) の比内鶏系統を交配して F₂ 家系集団を作成し、量的形質遺伝子座 (QTL) 解析を行った。その結果、第 1 番および第 4 番染色体の特定領域に 10 週齢体重、14 週齢体重、4-10 および 10-14 週齢間の平均日増体重に影響する QTL を検出した (Rikimaru *et al.*, 2011)。第 4 番染色体の QTL ピーク直下 (chr 4: 72.8Mb) に *CCKAR* 遺伝子が存在すること、*CCK* および *CCKAR* が摂食と関連していることから、F₂ 家系集団の P 世代全個体の *CCKAR* 遺伝子の塩基配列を決定・比較した結果、3 つのハプロタイプを検出し、ハプロタイプと発育形質との間に有意な関連性を見出した。 (Rikimaru *et al.*, 2012)。また、*CCKAR* 遺伝子の 5'-UTR の YY1 結合部位に存在する SNP (AB604331; g.420 C>A) と比内鶏 F₂ 家系集団の発育形質との関連性を調べた結果、A アリルは C アリルよりも発育が有意に優れていることを明らかにした (Rikimaru *et al.*, 2013)。さらに、秋田畜試と保存会の比内鶏系統における当該 SNP のアリル頻度を比較した結果、A アリルの頻度は、それぞれ 0.889 と 0.124 であり、両系統間における同 SNP のアリル頻度の違いは、発育形質を目的とした長年の選抜によって生じた結果であることを報告した。本研究では、発育形質が改良されていない保存会系統の比内鶏を用いて、当該 SNP を選抜指標とすることによって比内鶏の発育性を改善することができるか、検証することを目的とした。

材料と方法

1. 供試材料

秋田県畜産試験場で維持している保存会の比内鶏のうち、*CCKAR* 遺伝子の g.420 C>A SNP が A/C 型である 9 羽の雄と 11 羽の雌を交配して、3 つの遺伝子型 (A/A, A/C, C/C) から構成される比内鶏集団を計画的に作出した。供試鶏は 5 回に分けてふ化し、105 羽の雄と 106 羽の雌からなる合計 211 羽の比内鶏個体を得た。

2. 遺伝子型判定

血液は翼下静脈から採血を行い、FTA クラシックカード (WB120028, GE ヘルスケア, イギリス) を用いて、ゲノム DNA の抽出を行った。血液を FTA クラシックカード上に垂らし、室温で風乾させた。乾燥した血液部分から、専用の直径 1.2mm のハリスマイクロパンチ (WB100005, GE ヘルスケア) を用いて、ディスクを 1 つ打ち抜き、それを 0.2ml チューブへ移した。チューブに 100 μ l の FTA 精製試薬 (WB120204, GE ヘルスケア) を加え、ピペティングで攪拌した後、30 分間静置した。上清を捨て、100 μ l の DNAzol BD 溶液 (10974-020, インビトロジェン, アメリカ) を加え、ピペティングで攪拌した後、30 分間静置した。上清を捨て、滅菌水 100 μ l でディスクを 3 回洗浄した。最後

に、50 μ l の滅菌水を入れ、90°C で 10 分間熱処理した後、上清を回収し、以下に述べるポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) の鋳型 DNA 溶液として用いた。

CCKAR 遺伝子の g.420 C>A SNP の遺伝子型判定は、Rikimaru *et al.* (2013) の方法で行った。簡単に論述すれば、1 種類のフォワードプライマー (5'-GAATGTGTGTCTGCGTGCTT-3') と、2 種類のリバースプライマー (A アリルプライマー: 5'-GGATCCACAGGTTAGCTGCgAt-3', および C アリルプライマー: 5'-GGATCCACAGGTTAGCTGCgAg-3') を組み合わせて、A および C アリルを検出する PCR 反応液を調製した。PCR 反応液は、プライマー 2pmol, 4 μ l の 2 \times PCR ミックス (EmeraldAmp: タカラバイオ, 大津, 日本), FTA クラシックカードから回収した DNA 溶液 1 μ l, 滅菌蒸留水を混合し、最終容量 9 μ l に調整した。PCR サイクルは、熱変性 (98°C, 10 秒間), アニール (65°C, 30 秒間), 伸長反応 (72°C, 30 秒間) のサイクルを 30 回繰り返した。PCR 反応後、A アリルおよび C アリルを検出する PCR 反応液、各 2 μ l を、1 \times TAE (Tris Acetate ETDA: トリス酢酸エチレンジアミン四酢酸) バッファーを使用した 2.0% アガロースゲルの隣り合うレーンに乗せて電気泳動を行い、臭化エチジウム染色して、PCR 「増幅」産物を検出した。遺伝子型は、A アリルリバースプライマーを用いた反応液のみで、PCR 増幅が認められた場合は A/A 型、C アリルリバースプライマーを用いた反応液のみで、PCR 増幅が認められた場合は C/C 型、両方の反応系で PCR 増幅が認められた場合は A/C 型と判定した。各個体の遺伝子型判定は、飼育試験を開始する 4 週齢までに行った。

3. 飼養管理

ふ化したヒナは、餌付けから 4 週齢までバッテリー育雛器 (間口 88.5cm \times 奥行 73.0cm \times 高さ 48.3cm) で飼育した。*CCKAR* 遺伝子の遺伝子型判定後、4 週齢時に雌雄別に遺伝子型ごとに均等羽数に分け、育成ケージ (間口 90.6cm \times 奥行き 60.5cm \times 高さ 60.5cm) で 14 週齢まで飼育した。育成期飼料は、0 から 4 週齢まで幼雛 (CP21% 以上, ME2,900kcal 以上), 5 から 9 週齢まで中雛 (CP18% 以上, ME2,850kcal 以上), 10 から 14 週齢まで大雛 (CP14.5% 以上, ME2,800kcal 以上) 用飼料を給与した。飼料および水は自由摂取とし、照明時間は自然日長とした。本研究における動物の取り扱いならびに飼養は、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」(日本学術会議, 2006) に則り行った。

4. 表型値

体重は 4 週齢から 2 週間おきに 14 週齢まで測定した。平均日増体重は、各週齢における体重から算出した。飼料摂取量は個体ごとの測定が困難であるため、性別ごとに群全体の飼料摂取量と羽数から算出した。飼料要求率は、平均日増体重と飼料摂取量から算出した。飼料摂取量と飼料要求率の測定項目は 4-10, 10-14, 4-14 週齢とした。

5. 統計解析

体重、平均日増体重、飼料摂取量、飼料要求率は形質ごとに SAS (SAS Institute, 1999) の GLM プロシジャを用いて、性別、ふ化回、遺伝子型を母数効果として、

$$Y = \text{性別} + \text{ふ化回} + \text{遺伝子型} + e$$

のモデルで遺伝子型の効果を求めた。

結 果

遺伝子型判定結果

A/C 型の雄と雌を交配して得られた 105 羽の雄と 106 羽の雌の遺伝子型を判定した結果、雄では A/A 型が 28 羽、A/C 型が 59 羽、C/C 型が 18 羽、雌では A/A 型が 31 羽、A/C 型が 44 羽、C/C 型が 31 羽であった。A と C のアリル頻度は雄雌それぞれ 0.55 と 0.45、0.5 と 0.5、全体では 0.52 と 0.48 であった。

体重および平均日増体重

CCKAR 遺伝子の g.420 C>A SNP と比内鶏の体重および平均日増体重の比較を表 1 に示した。4 週齢体重では、遺伝子型間に有意な差は認められなかったが、6 週齢以降 A/A 型個体は他の遺伝子型個体より体重が有意に ($P<0.05$) 重かった。平均日増体重においても 10-12 週齢を除いて体重と同様に A/A 型個体が他の遺伝子型個体より有意に ($P<0.05$) 優れていた。

飼料摂取量および飼料要求率

飼料摂取量は 4-10、10-14、4-14 週齢とも遺伝子型間に有意な差は認められなかった (図 1)。期間全体の飼料要求率においては、遺伝子型間に有意な差は認められなかったが、4-10 週齢の飼料要求率においては、A/A 型個体が C/C 型個体より有意に ($P<0.05$) 優れていた (図 1)。

考 察

本研究では、CCKAR 遺伝子の g.420 C>A SNP によって比内鶏の発育が改善されるかを検証するため、発育形質が改良されていない保存会の比内鶏系統を材料として、当該 SNP と比内鶏の体重ならびに飼料摂取量及び飼料要求率との関連性について調査を行った。その結果、A/A 型個体は他の遺伝子型個体よりも発

育が有意に優れ、当該 SNP によって比内鶏の発育が改善されることが明らかとなった。

CCKAR 遺伝子の 3 つ遺伝子型 (A/A, A/C, C/C) 個体の発育成績は、4 週齢体重では、遺伝子型間に有意な差は認められなかったが、6 週齢以降遺伝子型間に有意な差が認められ、14 週齢体重は A/A 型個体が A/C 型あるいは C/C 型個体より有意に重かった。この結果は、その間における増体が遺伝子型によって異なることを示しており、4-14 週齢の平均日増体重が有意であることから遺伝子型によって増体が異なることが裏付けられる。4-14 週齢の増体を 4-6、6-8、8-10、10-12、12-14 週齢に区切った場合においても、10-12 週齢 ($P<0.07$) を除いてその他の期間では有意に増体が異なっていた。これらの結果は、我々の F₂ 家系集団を用いた結果とほぼ一致しており (Rikimaru *et al.*, 2013)、当該 SNP によって比内鶏の発育が改善されることを示している。

最近、Dunn *et al.* (2013) は白色レグホーンとブロイラーの交雑家系集団を用いて、発育が異なる方向に 16 世代選抜された系統間において、CCKAR 遺伝子の 1.56 Mbp 下流の SNP (ch4: 77, 192, 329) が体重や発育と最も関連性が高いことを報告した。また、2 番目に関連性が高い CCKAR 遺伝子のエクソン 3 内の SNP とニワトリの各品種の体重との関連性から、発育が優れるハプロタイプは現在の肉用鶏系統の基礎集団に多く存在し、それは近年の遺伝子選抜によるものではなく、系統造成に先立って選抜された可能性があるかと推察している。しかしながら、彼らが報告している当該 SNP を含めた CCKAR 遺伝子内の 36 個の SNP には、アミノ酸変異はなく、5' や 3' 非翻訳領域にも SNP は見つからない。また、Dunn *et al.* (2013) は、これらの SNPs によってニワトリの発育が実際に改善されるかまでは明らかにしていない。一方、我々は、本研究において、CCKAR 遺伝子の 5' 非翻訳領域

表 1. コレシストキニン A 受容体遺伝子 g.420 C>A SNP と比内鶏の体重および平均日増体重の比較

発育形質	羽数	A/A 型	A/C 型	C/C 型	P 値	性差	ふ化回の効果*	残差標準偏差
		最小自乗 平均値	最小自乗 平均値	最小自乗 平均値				
4 週齢体重 (g)	211	248.0	247.1	239	0.297	37.1	14.6	31.8
6 週齢体重 (g)	211	423.8	411.9	396.7	0.0325	87.2	36.5	51.5
8 週齢体重 (g)	211	659.4	628.9	604	0.0011	145.0	35.4	74.9
10 週齢体重 (g)	211	898.2	848.5	806.1	<0.0001	200.7	46.1	100.2
12 週齢体重 (g)	211	1107.3	1047.1	996.4	<0.0001	284.1	61.4	124.5
14 週齢体重 (g)	211	1318.8	1246.3	1183.7	<0.0001	368.2	67.1	147.6
4-6 週齢日増体重 (g/day)	211	12.6	11.8	11.3	0.0097	3.6	1.8	2.2
6-8 週齢日増体重 (g/day)	211	16.8	15.5	14.8	<0.0001	4.1	1.1	2.3
8-10 週齢日増体重 (g/day)	211	17.1	15.7	14.4	0.0002	4.0	1.3	3.1
10-12 週齢日増体重 (g/day)	211	14.9	14.2	13.6	0.0607	6.0	1.3	2.9
12-14 週齢日増体重 (g/day)	211	15.1	14.2	13.4	0.024	6.0	0.6	3.2
4-10 週齢日増体重 (g/day)	211	15.5	14.3	13.5	<0.0001	3.9	1.0	2.0
10-14 週齢日増体重 (g/day)	211	15.0	14.2	13.5	0.0122	6.0	0.8	2.6
4-14 週齢日増体重 (g/day)	211	15.3	14.3	13.5	<0.0001	4.7	0.9	1.9

*ふ化回の効果: $\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^5 (d_i - \bar{d})^2}{5}}$ ここで、 d_i は、 i 番目のふ化回の最小自乗平均値

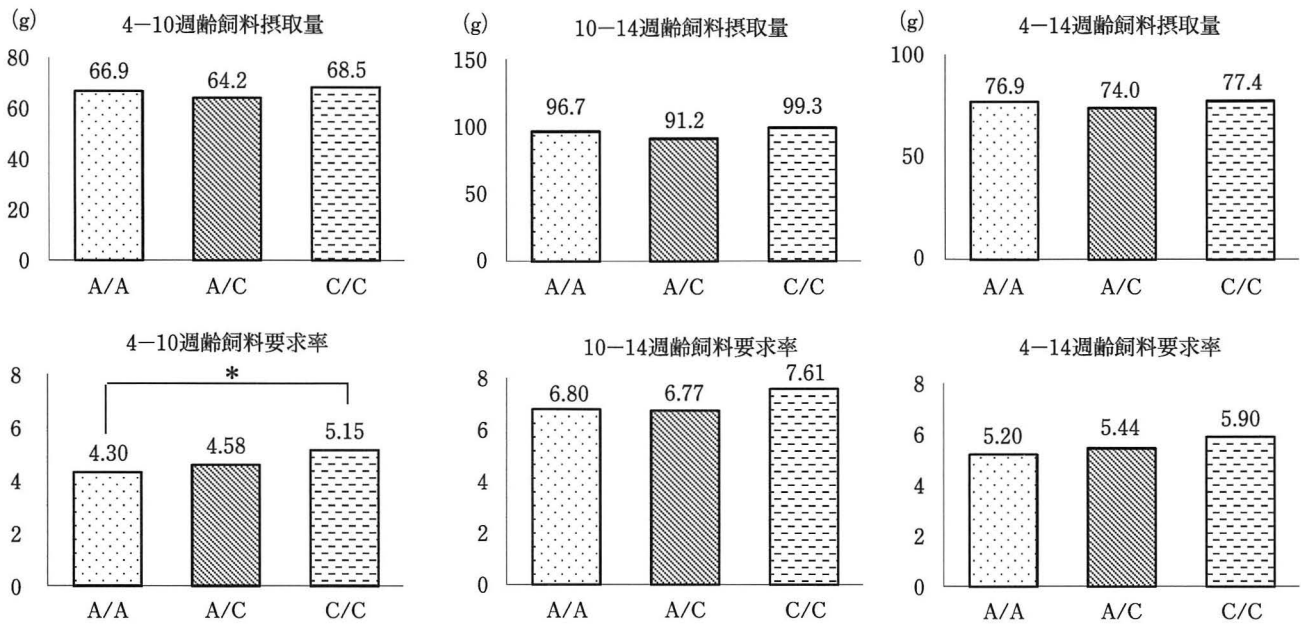


図 1. コレシストキニン A 受容体遺伝子 g.420 C>A SNP と比内鶏の飼料摂取量および飼料要求率の比較
*は 5% 水準で有意差あり

の YY1 結合部位に存在する g.420 C>A SNP によって、比内鶏の発育が改善されることをはじめて明らかにした。さらに、本研究結果は、既報において報告した秋田畜試と保存会の 2 系統間における同 SNP のアリル頻度の違い (Rikimaru *et al.*, 2013) が発育形質を目的とした長年の選抜によって生じた結果であることを支持している。

CCKAR 遺伝子の SNP の遺伝子型によってニワトリの発育が異なる原因として、Dunn *et al.* (2013) は中枢あるいは抹消の CCK に対する応答の変化が一つの要因であると推察している。彼らは CCK オクタペプチド硫酸塩 (CCK8) をニワトリの腹腔内に移植し、発育が早いハプロタイプを有する個体は CCK に対する応答が低く、CCK8 投与 30 分後の飼料摂取量はほとんど減少しないが、発育が遅いハプロタイプを有する個体では、飼料摂取量が減少することを確認している。また、発育が早いハプロタイプを有する個体は十二指腸、盲腸、脾臓、髄脳、視床下部における CCKAR 遺伝子の mRNA の発現量が発育の遅いハプロタイプを有する個体より低く、逆に視床下部における食欲促進ペプチドであるアグーチ関連ペプチド (AGRP) の発現量が高いことを確認している。これらの結果から、CCK の飽満シグナルのレベル低下による食餌パターンの変化が発育や体重の増加に関与していると彼らは考察している。しかしながら、本研究では、遺伝子型間で飼料摂取量に有意な差は認められなかった。この結果の違いは、飼料摂取量の測定方法や測定期間の違いと考えられる。Dunn *et al.* (2013) は CCK8 を腹腔投与 30 後の飼料摂取量を比較しているのに対し、本研究では飼料給与後の摂取量ではなく、ニワトリが摂取した期間毎の飼料摂取量の比較を行った。CCKAR 遺伝子がノックアウトされた CCKAR^{-/-} マウスでは、CCK8 投与直後の飼料摂取量は正常なマウスと有意な差が認められるが

(Kopin *et al.*, 1999), 1 時間あるいは 24 時間後の飼料摂取量では有意差は認められないことが確認されている (Kopin *et al.*, 1999; Bi *et al.*, 2004)。また、ブタでは、我々が推測している CCKAR 遺伝子の YY1 結合部位に存在する SNP の遺伝子型によって、飼料摂取率 (1 分当たりのフィーダーに費やす飼料摂取量) が異なる (Houston *et al.*, 2008)。これらの結果から、CCKAR 遺伝子は飼料摂取量の短期的な抑制には関与するが、長期的な飼料摂取量には影響を及ぼさないと考えられる。本研究では、飼料給与後の短時間における飼料摂取量を測定していないため、短時間における飼料摂取量は不明である。CCKAR 遺伝子の当該 SNP の遺伝子型がニワトリの飼料摂取量に及ぼす影響を明らかにするためには、今後更なる検証が必要である。

本研究では、発育形質が選抜されていない保存会の比内鶏個体を用いて CCKAR 遺伝子の YY1 結合部位に存在する g.420 C>A SNP によって、比内鶏の発育が改善されることを明らかにした。今後は、当該 SNP によって、比内鶏を父親とする比内地鶏あるいは他の肉用鶏において同様の効果を示すか検討する予定である。

謝 辞

供試鶏の飼育管理を担当していただいた秋田県畜産試験場比内地鶏エリアの皆様へ感謝の意を表します。

本研究は、平成 24 年度財団法人旗影会の研究助成により行われたものである。

引用文献

Arya R, Duggirala R, Jenkinson CP, Almasy L, Blangero J, O'Connell P and Stern MP. Evidence of a novel quantitative-trait locus for obesity on chromosome 4p in Mexican Ameri-

- cans. *American Journal of Human Genetics*, 74 : 272-282. 2004.
- Bi S, Scott KA, Kopin AS and Moran TH. Differential roles for cholecystokinin A receptors in energy balance in rats and mice. *Endocrinology*, 145 : 3873-3880. 2004.
- Buchan AMJ, Polak JM, Solcia E, Capella, Hudson D and Pearse AGE. Electron immunohistochemical evidence for the human intestinal I cell as the source of CCK. *Gut*, 19 : 403-407. 1978.
- Burkhart CA, Cherry JA, Vankrey HP and Siegel PB. Genetic selection for growth-rate alters hypothalamic satiety mechanisms in chickens. *Behavior Genetics*, 13 : 295-300. 1983.
- Corwin RL, Gibbs J and Smith GP. Increased food intake after type A but not type B cholecystokinin receptor blockade. *Physiology and Behaviour*, 50 : 255-258. 1991.
- Crawley JN, Fiske SM, Durieux C, Derrien M and Roques BP. Centrally administered cholecystokinin suppresses feeding through a peripheral-type receptor mechanism. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 257 : 1076-1080. 1991.
- Denbow DM and Myers. Eating, drinking and temperature responses to intracerebroventricular cholecystokinin in the chick. *Peptides* 3 : 739-743. 1982.
- Denbow DM. Peripheral regulation of food intake in poultry. *Journal of Nutrition*, 124 : 1349S-1354S. 1994.
- Dinosa VP Jr and Murthy SNS. Hormonal control of gastrointestinal motility. *Digestive Diseases*, 2 : 130-140. 1984.
- Dunn IC, Hocking PM, Meddle SL, Wilson PW, Wardle C, Law AS, Bishop A, Hindar C, Robertson GW, Burt DW, Ellison SJL and Morrice DM. Decreased expression of the satiety signal receptor CCKAR is responsible for increased growth and body weight during the domestication of chickens. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 304 : E909-E921. 2013.
- Duke GE, Larntz K and Hunter H. The influence of cholecystokinin, vasoactive intestinal peptide and secretin on pancreatic and biliary secretion in laying hens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C : Pharmacology*, 86 : 97-102. 1987.
- Funakoshi A, Miyasaka K, Matsumoto H, Yamamori S, Takiguchi S, Kataoka K, Takata Y, Matsusue K, Kono A and Shimokata H. Gene structure of human cholecystokinin (CCK) type-A receptor : body fat content is related to CCK type-A receptor gene promoter polymorphism. *FEB Letters*, 466 : 264-266. 2000.
- Gibbs J, Young RC and Smith GP. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 84 : 488-495. 1973.
- Houston RD, Haley CS, Archibald AL, Cameron ND, Plastow GS and Rance KA. A polymorphism in the 50-untranslated region of the porcine cholecystokinin type A receptor gene affects feed intake and growth. *Genetics*, 174 : 1555-1563. 2006.
- Houston RD, Rance KA, Sutcliffe E, Archibald AL and Haley CS. *The cholecystokinin type A receptor g.179 A>G polymorphism affects feeding rate*. *Animal Genetics*, 39 : 187-188. 2008.
- Innis RB and Snyder SH. Distinct cholecystokinin receptors in brain and pancreas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77 : 6917-6921. 1980.
- Kissileff HR, Pi-Sunyer FX, Thornton J and Smith GP. C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in man. *American Journal of Clinical Nutrition*, 34 : 154-160. 1981.
- Koda M, Ando F, Niino N, Shimokawa H, Miyasaka K and Funakoshi A. Association of cholecystokinin 1 receptor and β_3 -adrenergic receptor polymorphisms with midlife weight gain. *Obesity Research*, 8 : 1212-1216. 2004.
- Kopin AS, Mathes WF, McBride EW, Nguyen M, Al-Haider W, Schmitz F, Bonner-Weir S, Kanarek R and Beiborn M. The cholecystokinin-A receptor mediates inhibition of food intake yet is not essential for the maintenance of body weight. *Journal of Clinical Investigation*, 103 : 383-391. 1999.
- Martin MT, Fernández E, Rodríguez-Sinovas A and Goñalons E. Effects of cholecystokinin on chicken cecal motility : mechanisms involved. *Life Sciences*, 56 : 601-610. 1995.
- Martínez V, Jiménez M, Goñalons E and Vergara P. Modulation of the migrating myoelectric complexes by cholecystokinin and gastrin in the gastrointestinal tract of chickens. *Poultry Science*, 74 : 563-576. 1995.
- Miyasaka K, Takiguchi and Funakoshi A. Cholecystokinin 1(A) receptor polymorphisms. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 7 : 1205-1210. 2007.
- Richards MP. Genetic regulation of feed intake and energy balance in poultry. *Poultry Science*, 82 : 907-916. 2003.
- Rikimaru K, Sasaki O, Koizumi N, Suzuki K and Takahashi H. Mapping of quantitative trait loci affecting growth traits in a Japanese native chicken cross. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24 : 1329-1334. 2011.
- Rikimaru K, Komatsu M, Suzuki K, Uemoto Y, Takeda H and Takahashi H. Association between cholecystokinin type A receptor haplotypes and growth traits in Japanese Hinai-dori crossbred chickens. *Molecular Biology Reports*, 39 : 4479-4484. 2012.
- Rikimaru K, Takeda H, Uemoto Y, Komatsu M, Takahashi D, Suzuki K and Takahashi H. Effect of a Single-Nucleotide Polymorphism in the *cholecystokinin type A receptor* Gene on Growth Traits in the Hinai-dori Chicken Breed. *Journal of Poultry Science*, 50 : 206-211. 2013.
- Rodríguez-Sinovas A, Fernández E, Manteca X, Fernández AG and Goñalons E. CCK is involved in both peripheral and central mechanisms controlling food intake in chickens. *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 272 : R334-340. 1997.
- Sankaran H, Goldfine ID, Deveney CW, Wong KY and Williams JA. Binding of cholecystokinin to high affinity receptors on isolated rat pancreatic acini. *Journal of Biological Chemistry*, 255 : 1849-1853. 1980.
- Satoh S, Furuse M, Choi YH and Okumura J. Cholecystokinin is not a major regulator in the digestive system in the chicken. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 50 : 812-814. 1994.
- Savory CJ and Gentle MJ. Intravenous injections of cholecystokinin and caerulein suppress food intake in domestic fowls. *Experientia*, 36 : 1191-1192. 1980.
- Savory CJ, Duke GE and Bertoy RW. Influence of intravenous injections of cholecystokinin on gastrointestinal motility in turkeys and domestic fowls. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Physiology*, 70 : 179-189. 1981.
- Schroeder M, Zagoory-Sharon O, Lavi-Avnon Y, Moran TH and Weller A. Weight gain and maternal behavior in CCK₁ deficient rats. *Physiology and Behavior* 89, 402-409. 2006.
- Moran TH, Katz LF, Carlos RPS and Gary JS. Disordered food intake and obesity in rats lacking cholecystokinin A receptors. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 274 : R618-R625. 1998.

Wank SA. Cholecystokinin receptors. *American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology*, 269 : G628–G646. 1995.

Wynne K, Stanley S, McGowan B and Bloom S. Appetite control. *Journal of Endocrinology*, 184 : 291–318. 2005.

Xiao R and Cui ZJ. Mutual dependence of VIP/PACAP and CCK receptor signaling for a physiological role in duck exocrine pancreatic secretion. *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 286 : R189–R198. 2004.

The A Allele of the *Cholecystokinin Type A Receptor* g.420 C<A Polymorphism Improves the Growth Rate of the Hinai-dori Breed

Kazuhiro Rikimaru¹, Hisato Takeda², Takeshi Ohkubo³, Daiki Takahashi¹,
Megumi Komatsu¹ and Hideaki Takahashi²

¹ Akita Prefectural Livestock Experiment Station, Daisen, Akita, 019-1701

² National Institute of Livestock and Grassland Science, Tsukuba, Ibaraki, 305-0901

³ College of Agriculture, Ibaraki University, Ami, Ibaraki 300-0393

We previously reported the association between a single nucleotide polymorphism (SNP; g.420 C<A) in the *cholecystokinin type A receptor* gene (*CCKAR*) and growth traits in an F₂ resource population produced by crossing low- and high-growth lines of the Hinai-dori breed, and we showed that the A allele had a superior effect on growth traits compared to the C allele. In the present study, we demonstrated that this SNP improves the growth rate using the low-growth Hinai-dori line. Individuals of three the genotypes (A/A, A/C, and C/C) were raised in group cages until 14 weeks of age. The weight of each individual was measured every two weeks from 4 to 14 weeks of age, and the mean daily gain was calculated every two weeks. Feed intake was measured every two weeks, and the feed conversion ratio was calculated from the mean daily gain and feed intake. The data showed that body weight at 14 weeks of age and the average daily gain between 4 and 14 weeks of age of A/A individuals were significantly greater than those of A/C and C/C individuals ($P<0.05$). There were no significant differences in feed intake among the three genotypes. The feed conversion ratio between 4 and 10 weeks of age in A/A individuals was significantly higher than that of C/C individuals ($P<0.05$). We conclude that the A allele of the g.420 SNP in *CCKAR* improves the growth rate of the Hinai-dori breed.

(*Japanese Journal of Poultry Science*, 51 : J43–J48, 2014)

Key words : body weight, *cholecystokinin type A receptor* gene, growth rate, Hinai-dori, single nucleotide polymorphism