

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月8日現在

機関番号：32067

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：22880030

研究課題名（和文） 魚類における摂食調節機構の多様性

研究課題名（英文） Diversity of appetite regulation system in fish

研究代表者

阿見彌 典子 (AMIYA NORIKO)

北里大学・海洋生命科学部・講師

研究者番号：20588503

研究成果の概要（和文）：体色を明るくさせるホルモンとしてサケから発見されたメラニン凝集ホルモン（MCH）は、哺乳類においては食欲を促進させる効果があることがわかった。そのため、魚類においても MCH が食欲に関与すると考えられてきたが、魚類の MCH に関する研究は、体色調節に関するものばかりであった。そこで申請者らは MCH の食欲への関与について検討した。その結果、カレイ目マツカワにおいて MCH が食欲促進作用をもつことが示唆され、魚類においても MCH は食欲の促進に関与すると思われた。しかしその後、キンギョにおいて MCH は食欲を抑制するという相反する報告が出された。この2魚種の結果により、なぜ同じ魚類において同一のホルモンが正反対の作用を発揮するのか、という新しい問題が提起された。本研究では、魚類における食欲調節の多様性の一端を、MCH を中心として明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Melanin-concentrating hormone (MCH) was first discovered in the pituitary gland of the chum salmon for its role in the regulation of skin pallor. In teleost fish, MCH is synthesized in the hypothalamus, transported to the nerve terminal in the pituitary, released into the blood and makes the body color pale. Currently, MCH is known to be present in the brains of organisms ranging from fish to mammals. MCH has been suggested to be conserved principally as a central neuromodulator or neurotransmitter in the brain. Indeed, MCH is considered to regulate food intake in mammals. Recently, we have demonstrated that MCH stimulates food intake in the pleuronectiform fish, the barfin flounder, by measuring MCH peptide levels in the brain and food consumption. However, interestingly, MCH inhibits food intake in the goldfish. The aim of this research is to clarify the diversity of food intake regulation of teleost fish with special reference to MCH and other neuropeptides.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,260,000	378,000	1,638,000
2011年度	1,160,000	348,000	1,508,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,420,000	726,000	3,146,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学一般

1. 研究開始当初の背景

摂食行動は個体維持や種族維持のために最も重要な本能行動である。哺乳類では、さまざまなホルモン産生ニューロンが脳内において複雑な神経ネットワークを形成することで調節されることが明らかとなりつつある。しかしながら、魚類における摂食調節機構の解明は増養殖魚生産の効率化に直結するものの、断片的な報告があるにすぎない。

硬骨魚類において MCH は、脳内の視床下部の細胞体から伸びる神経線維により下垂体に輸送され、そこに蓄積する。環境色の変化に応じて分泌された MCH は、皮膚のメラニン顆粒を凝集して体色を明るくする (Kawauchi et al., 1983)。この形態的特徴は硬骨魚類に特有なものであり、哺乳類を含む他の動物では MCH 神経線維の下垂体後葉への投射はほとんどない。これが、硬骨魚類において MCH が体色調節作用を示す理由である。

マツカワは白色水槽で飼育すると、黒色水槽で飼育した個体より好成長を示す (Takahashi et al., 2004; Yamanome et al., 2005; Sunuma et al., 2009)。この現象には、視床下部で産生される MCH が深く関与する。白色水槽で飼育した個体は黒色水槽での飼育個体に比べ、体長と体重が増大し、脳内 MCH 量は高くなる (Amiya et al., 2005)。これはマツカワにおいて光環境の変化が背地順応としての体色調節だけではなく、摂食にも効果を及ぼす非常に興味深い現象である。さらに、無給餌飼育により脳内 MCH 細胞体数および遺伝子発現量が増加すること (Takahashi et al., 2004)、また、摂食調節に関与するとされる MCH 受容体 (MCHR-1) が視床下部で発現することも明らかとなった。以上のことから、マツカワにおいて MCH は摂食促進作用を有することが強く示唆された。

しかしその後、キンギョにおいて MCH は摂食を抑制するという相反する結果が報告された (Matsuda et al., 2006; Shimakura et al., 2008)。これらの結果は、魚類における摂食調節機構が多様である可能性を示唆する。そこで申請者は、魚類における「MCH 機能の相違点」に着目した。

2. 研究の目的

ホルモンの作用は動物の進化に応じて変わることがあるため、魚類で認められる現象が必ずしも脊椎動物全般に共通するわけではない。しかしながら、同じ魚類において MCH が相反する作用、すなわち、マツカワでは摂

食を促進し、キンギョでは抑制することは非常に興味深い現象である。

摂食はホルモン産生ニューロンが脳内において複雑な神経ネットワークを形成することで調節される。これまでのマツカワでの MCH 研究により、体色調節に関わる神経内分泌機構が摂食調節に関わる MCH をも刺激することが示唆された。すなわち、MCH を中心とする魚類の摂食調節機構の作用秩序の詳細が明らかになれば、成長促進のために飼育水槽色を利用するだけではなく、MCH と他の摂食関連ペプチドのネットワークを利用し、増養殖魚の摂食機構に適した効率の良い飼育法の確立が期待できる。

本研究では、これまで不明瞭とされてきた魚類における MCH の摂食調節作用への関与を明らかにするだけではなく、MCH を中心とする摂食調節機構の相違点を示すこと、さらに、魚類における摂食調節機構の多様性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

①脳内におけるホルモンの直接作用を明らかにするために、カレイ目マツカワにおいて電動ドリルを用いた脳室内投与法の確立を試みた。

②マツカワにおけるホルモン間の相互作用を明らかにするために、MCH との関連が示唆されている神経ペプチド Y (NPY) の脳内分布を免疫組織化学染色法を用いて調べた。

③②の結果を踏まえて、MCH と NPY の組織学的相互作用を、二重免疫組織化学染色法を用いて検討した。

④食関連ホルモンとされる脳内オレキシン (ORX) 分泌量の変化から、機能を調べるために、マツカワを無給餌群と給餌群に分け、時間分解蛍光免疫測定法を用いて、2 群間における脳および視床下部内 ORX 分泌量を比較した。

⑤ マツカワにおいて背景色 (黒色水槽・白色水槽) の影響は、脳内 MCH 分泌量を促進させる。そこで、脳内 ORX 分泌量にも影響を与えるか否かを、黒色水槽および白色水槽でマツカワを飼育し、脳内 ORX 分泌量を時間分解蛍光免疫測定法を用いて測定し、比較した。

⑥魚類における摂食調節機構の多様性を探るために、原始的な硬骨魚類とされるチョウザメの脳内における NPY、ガラニン (GAL) お

よび生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の分布と組織学的相互作用を、免疫組織化学染色法を用いて調べた。

⑥ 魚類における摂食調節機構の多様性を探するために、特殊な環境に生息する、ブラインドケープカラシン (洞窟魚) とザラビクニン (深海魚) における MCH および α -MSH の脳内分布を、免疫組織化学染色法を用いて調べた。

4. 研究成果

(1) マツカワ脳内において NPY 細胞体は終脳の commissural part of area ventralis telencephali と中脳の nucleus of the medial longitudinal fasciculus に検出され、線維は脳内の広範囲で検出された。また、外側隆起核において MCH 細胞体に NPY 神経線維が密接していたが、NPY 細胞体付近に MCH 線維は見られなかった。以上のことから、マツカワにおいてはキンギョとは異なり NPY が MCH をコントロールしていることが示唆された。

(2) 脳内 (視床下部・視床下部以外) における ORX 分泌量はともに、無給餌群で有意に高かった。ORX 遺伝子発現量も無給餌群で高かったことから (以前の結果)、マツカワにおける脳内 ORX と摂食との関連が示唆された。

(3) 氷冷麻酔後、ドリルを用いて頭頂骨に直径約 7mm の穴を開けて終脳後方を露出させ、パラフィルムで頭部の穴を塞いだ。穴を開けた直後でも摂餌を行うことが確認された。投与の信頼性の検定としてエバンスブルーを脳内に投与し、第 3 脳室に注入されている事を確認した。また、異なるサイズの個体 (15~30cm) で検討した結果、全長 20~25cm のマツカワでの投与が最適だと考えられた。さらに、麻酔からの速やかな回復は摂餌量にも影響することから、流水下で行うことが重要であることが明らかになった。以上によりマツカワにおける脳室内ホルモン投与方法技術を確立した。

(4) 視床下部内 ORX 分泌量は、黒色水槽飼育個体群で高い傾向がみられ、ORX も MCH と同様に背景色の影響を受ける可能性が示唆された。

(5) 多様性の検討を目的として、原始的な硬骨魚類とされるチョウザメ (シベリアチョウザメ) における NPY と GAL の脳内分布、および NPY と GAL および GnRH との組織学的相互作用を調べた。その結果、NPY 細胞体は

ventral part of the ventral telencephalon (Vv) に、NPY 神経線維は終脳および視床下部を中心に分布していた。GAL 細胞体は Vv、nucleus anterioris tuberis、nucleus lateralis tuberis、nucleus recessus posterioris に検出され、GAL 神経線維は脳内の広範囲に検出された。また、NPY 神経線維は GAL および GnRH 細胞体に密接していた。以上により、シベリアチョウザメ脳内において NPY と GAL および GnRH 間に相互作用の存在が示唆された。

(6) 多様性の検討を目的として、深海魚ザラビクニンと洞窟魚ブラインドケープカラシンの脳内における MCH と α -MSH の分布を調べた。両魚種とも α -MSH は視床下部と下垂体中葉に存在していた。一方、MCH はカラシンでは下垂体への線維の投射が確認されたが、ビクニンでは確認されなかった。

本研究により、MCH と NPY の相互作用の違いからマツカワとキンギョにおける摂食関連ペプチドのネットワークの違いが見出された。また、摂食関連ペプチドの研究が進んでいるマツカワにおける脳室内投与方法の確立は、研究の発展性を示しており、増養殖魚の摂食機構に適した効率の良い飼育法の確立へ繋がると考えられる。また、多様性の検討を目的として行った深海魚ザラビクニンのデータは、さらなる摂食関連ペプチドの多様性を示しており、今後は生息深度等の条件からも比較検討する必要性が新たに見出された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 4 件)

① Amiya N, Mizusawa K, Kobayashi Y, Yamanome T, Amano M, Takahashi A. Food deprivation increases the expression of the prepro-orexin gene in the hypothalamus of the barfin flounder, *Verasper moseri*. Zoological Scienc. 査読有り 29, 2012, 43-48.

② Amiya N, Amano M, Tabuchi A, Oka Y. Anatomical relations between neuropeptide Y, galanin, and gonadotropin-releasing hormone in the brain of chondrosteian, the Siberian sturgeon *Acipenser baeri*. Neuroscience Letters. 査読有り 503, 2011, 87-92.

③ Amano M, Yokoyama T, Amiya N, Hotta M, Takakusaki Y, Kado R, Oka Y.

Biochemical and immunohistochemical analyses of GnRH-like peptides in the nerve ganglion of the chiton, *Acanthopleura japonica*. Zoological Science. 査読有り 27, 2010, 924-930.

④ Amano M, Moriyama S, Okubo K, Amiya N, Takahashi A, Oka Y. Biochemical and immunohistochemical analyses of a GnRH-like peptide in the neural ganglia of the Pacific abalone *Haliotis discus hannai* (Gastropoda). Zoological Science. 査読有り 27, 2010, 656-661.

〔学会発表〕(計4件)

① 阿見彌 典子、シベリアチョウザメ脳内におけるNPY, GALおよびGnRHの組織学的相互作用、第36回日本比較内分泌学会大会、2011年11月23・24日、都道府県会館(東京都千代田区)

② 阿見彌 典子、オレキシン測定法の確立とマツカワへの応用、平成23年度日本水産学会秋季大会、2011年9月29日、長崎大学文教キャンパス

③ 阿見彌 典子、メダカの摂餌行動と脳内オレキシン量の関連、第35回日本比較内分泌学会大会、2010年11月19日、静岡県グランシップ

④ 阿見彌 典子、ホルモンからみた魚類における摂食調節機構の多様性、日本下垂体研究会、2010年8月20日、愛知県田原市伊良湖ガーデンホテル(招待講演)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阿見彌 典子 (AMIYA NORIKO)
北里大学・海洋生命科学部・講師
研究者番号：20588503

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし