

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23570078

研究課題名(和文) 羽色の性差と加齢変化を創出する分子機構の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism of sexual dimorphism and age-dependent changes in feather coloration

研究代表者

竹内 栄 (Takeuchi, Sakae)

岡山大学・自然科学研究科・准教授

研究者番号：20226989

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：鳥類ではオスが派手な婚姻色を示し、雌は地味な保護色を示すことが広く知られている。しかし、この羽装色の性差を作り出す仕組みはわかっていなかった。本研究では、おかやま地どりを用い、この問題の解明を試みた。その結果、ニワトリの羽装色が、羽が形成される羽包内の局所ホルモン系(メラノコルチン系)により制御されていることが判明した。また、ニワトリの羽装色はオス型がデフォルトであり、メスでは卵巣由来のエストロジェンがASIP(アグーチシグナルタンパク)の産生を制御することでメス型の羽装色を作っている可能性が示唆された。さらに、本研究では羽形成の仕組みを解明するために重要と考えられる新規の遺伝子が同定された。

研究成果の概要(英文)：Brilliant plumage is typical of male birds, thus sexual plumage dichromatism is seen in many avian species; however, the molecular mechanism underlying this remains unclear. In Okayama-Jidori chickens, chick and adult female plumages are countershading with dull-colored feathers. In contrast, adult males are colorful with bright ornamental feathers on the back. Using this breed, we investigated molecular mechanism underlying the sexual plumage dichromatism in birds. Our findings suggest that the local melanocortin system regulates feather pigmentation and the elaborate color pattern of individual feathers is formed in part by the antagonistic action of ASIP. Furthermore, the distal ASIP promoter not only acts to produce countershading in chicks and adult females, but also plays an important role for creating sexual plumage dichromatism. The ASIP gene may have been modified in its expression during evolution to develop phenotypic diversity between individuals of different sexes.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・形態・構造

キーワード：雌雄差形成 羽形成 ニワトリ 局所制御因子 ホルモン制御 細胞分化

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

性成熟の過程で生じる性差のうち，形態的な性差を性的二型という。

ヒトの皮膚や皮膚付属器(毛や汗腺，皮脂腺など)は性的二型を示し，性ホルモンによる制御を受ける。毛のタイプの決定や成長には女性ホルモンと男性ホルモンの両者が密接に関与するが，その作用は複雑であり，体の部位によって異なる。たとえば，男性ホルモンは男性毛と呼ばれる特定の部位の毛(ひげ，胸毛，上肢や下肢の毛，脇の毛，陰毛など)の成長を促進する一方で，前頭部や頭頂部に生える毛の成長を抑制する。また，後頭部の毛やまゆ毛などは男性ホルモンの影響を受けないとされる。

男性ホルモンに応答する毛包は，すべて同じアンドロゲン受容体を持つにも拘らず，上述のように異なる反応性を示す。その原因の一つとして，テストステロンをより強力なジヒドロテストステロン(DHT)に変換する酵素の発現差が示唆されている。しかし，DHTの前頭部や頭頂部の毛包に対する作用機序，体の他の部位の毛包で逆の効果を示す仕組みなど，性ホルモンの毛包に対する作用の詳細は今なお不明な点が多く残されている。

鳥類の羽は哺乳類の毛と同様に，表皮細胞に由来する皮膚付属器である。ニワトリの羽色は主に羽包メラノサイトが産生する黒～褐色のメラニン色素(ユーメラニン)と黄～赤色のメラニン色素(フェオメラニン)，および羽の微細構造が創り出す光沢(構造色)に起因する。ニワトリでは，羽色に性的二型が見られ，鞍に生じる羽は，雛と成鶏雌ではくすんだ褐色を呈するのに対し，成鶏雄では黄金色を呈する。一方，胸部に生じる羽では，雛と成鶏雌がクリーム色を呈するのに対し，

成鶏雄は黒色の混ざった暗色を呈する。成鶏雄の羽色が雌雄に共通な発生におけるデフォルトであり，成鶏雌の羽色は卵巣由来のエストロゲンの作用により創出されることから，エストロゲンは鞍と胸の羽包ではメラニン産生に関して正反対の作用を示すことになる。従って，ニワトリ羽の性的二型創出のしくみを解析することは，ヒトの毛包に対する性ホルモンの作用機序を考える上でも重要な知見を与えてくれることが期待された。

2. 研究の目的

本研究では，成鶏羽の性的二型の分子基盤を明らかにすることを主要な目的とした。

3. 研究の方法

おかやま地どりの雄鞍部に生じた中雛型羽，成鶏雄型羽，およびエストロゲンの一種であるエストラジオール 17β (E2)を充填したカプセルを皮下移植して生じた成鶏雌型羽様羽に発現する遺伝子をマイクロアレイにより網羅的に解析した。性的二型に関与する可能性が考えられた遺伝子については，RT-PCR 解析，in situ hybridization 解析などにより，詳細な発現解析を行った。

4. 研究成果

(1) ニワトリの羽装色パターンを決める因子の同定

中雛，成鶏雌雄の羽装色パターンと ASIP の class 1 mRNA 発現パターンは完全に一致し，フェオメラニン優位な羽では ASIP class 1 mRNA の発現が高かった。また，E2 投与により羽装色パターンがメス型化した成鶏雄では，ASIP class 1 mRNA の発現パターンもメス型化していた。この結果は，ニワトリの

羽装色パターンのデフォルトがオス型であり、メスは、卵巣由来の雌性ホルモンによりメス型羽装を獲得しているという仮説を支持する結果であり、この機構に ASIP 遺伝子が深く関わっていることを初めて示したものである。哺乳類の ASIP 遺伝子の最遠位プロモーターは、体色の背腹の違いを表わすことに働くことが知られている。ニワトリでは、それに対応するプロモーター (class 1 プロモーター) が、背腹の違いに加え、雌雄差表現にも関与することがわかった。これは、遺伝子プロモーターの進化により、雌雄差が表現されるようになったことを示す初めての報告である。本研究成果は科学雑誌 *General and Comparative Endocrinology* に報告した (Oribe et al., 2012)。

(2) 小羽枝特異的ケラチン遺伝子の同定

爬虫類や鳥類ではケラチン遺伝子の遺伝子重複が観察される。この遺伝子重複が、爪やうろこ、羽を生じさせたと考えられている。しかし、各ケラチン遺伝子が皮膚付属器の形成にどのように関わっているのかについては不明であった。本研究では、小羽枝をもたない成鶏雄の羽と小羽枝をもつ成鶏雄の羽のそれぞれに発現する遺伝子を比較することで、小羽枝の形成に特異的に働くケラチン遺伝子を同定した。この結果は、遺伝子重複によって増加したケラチン遺伝子が様々な羽形成に関与したとする従来の仮説を支持するものであり、羽の進化を考える上で重要な知見となった。また、本結果は、小羽枝の初めての分化マーカー遺伝子の同定としても価値のあるものであった。本研究成果は科学雑誌 *GENE* に報告した (Kowata et al., 2014)。

(3) 小羽枝形成のステップを制御する局所因子の同定

小羽枝細胞はメラニン色素による着色を受

けた後、ケラチンによる角質化が起こり、やがて、細胞が死んで羽構造の一部となる。この過程で、メラニンによる着色からケラチンによる角質化に移行するのを制御すると考えられる新規シグナル分子 (PBCF) を同定した。このタンパクに対する抗体を羽形成時に作用させたところ、小羽枝形成に異常を示す羽が生じた。この新規因子の同定は、器官形成のイベントの進行・スイッチングが局所因子により制御されている可能性を示唆するものであり、順序だった器官形成の仕組みを理解する上で、貴重な知見となるものと考えられる。

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. ニワトリにおける羽色調節の品種差. 高橋 徹・西尾香織・御輿真穂・高橋純夫・竹内 栄・岡山実験動物研究会報 (2014) in press (査読なし)
2. Identification of a feather-keratin gene exclusively expressed in pennaceous barbule cells of contour feathers in chicken. Kowata, K, Nakaoka, M, Nishio, K, Fukao, A, Satoh, A, Ogoshi, M, Takahashi, S, Tsudzuki, M and Takeuchi, S, *Gene* 542:23-28 (2014) DOI: 10.1016/j.gene.2014.03.027 (査読あり)
3. Conserved distal promoter of the agouti signaling protein (*ASIP*)

gene controls sexual
dichromatism in chickens. Oribe
E, Fukao A, Yoshihara C, Mendori
M, Rosal K. G, Takahashi S, _
Takeuchi S. *General and
Comparative Endocrinology*
177: 231-237 (2012) DOI:
10.1016/j.ygcen.2012.04.016
(査読あり)

4. マイクロアレイによるニワトリ性的二色性の分子基盤の解析. 深尾彩加・中岡 実乃里・高橋純夫・竹内 栄. **岡山実験動物研究会報28: 40-43** (2012) (査読なし)

[学会発表](計13件)

1. 中岡実乃里・深尾彩加・木幡衣恵・西尾香織・平井彩乃・高橋純夫・竹内 栄 おかやま地どり成鳥鞍部における雌雄差形成機構
第38回日本比較内分泌学会(宮崎)2013年10月25日
2. 木幡衣恵・平井彩乃・野田詩織・高橋純夫・竹内 栄
羽の微細構造における雌雄差形成のメカニズム
日本動物学会第84回大会(岡山)2013年9月27日
3. 西尾香織・深尾彩加・高橋 徹・高橋純夫・竹内 栄
エストロゲンによる雌型羽誘導
日本動物学会第84回大会(岡山)2013年9月27日
4. 竹内 栄 (招待講演)
成鶏羽の性的二型をつくる仕組み

第4回 JAB 特別セミナー(広島) 2013年
7月2日

5. 深尾彩加・吉原千尋・高橋純夫・竹内 栄
ニワトリの羽色制御系に及ぼすエストロゲンの効果
日本動物学会第83回大会(大阪)2012年9月15日
6. 木幡衣恵・平井彩乃・高橋純夫・竹内 栄
羽の微細構造における雌雄差形成
日本動物学会第83回大会(大阪)2012年9月15日
7. 中岡実乃里・高橋純夫・竹内 栄
成鶏羽の性的二形形成に關与する可能性のある新規ペプチドの同定
日本動物学会第83回大会(大阪)2012年9月15日
8. 西尾香織・佐藤あやの・高橋純夫・竹内 栄
ニワトリ ASIP mRNA の各クラスがコードするタンパクの性格付け
日本動物学会第83回大会(大阪)2012年9月15日
9. 木幡衣恵・高橋純夫・竹内 栄
羽の微細構造における雌雄差形成機構
第64回日本動物学会中国四国支部大会(松江)2012年5月12日
10. 中岡実乃里・木幡衣恵・高橋純夫・竹内 栄
成鶏羽の雌雄差形成に關与する新規ペプチドの同定
第64回日本動物学会中国四国支部大会(松江)2012年5月12日

11. 西尾香織・深尾彩加・中岡実乃里・高橋純夫・竹内 栄
ニワトリの羽装色パターン形成におけるアグチシグナルタンパクの役割
第 64 回日本動物学会中国四国支部大会
(松江) 2012 年 5 月 12 日

 12. 深尾彩加・吉原千尋・高橋純夫・竹内 栄
ニワトリにおける部位特異的な羽色調節機構の解析
第 82 回日本動物学会大会 (北海道)
2011 年 9 月 22 日

 13. 竹内 栄
羽の色の科学 : ニワトリの羽装色パターン形成の仕組み
広島大学日本鶏資源開発プロジェクトセンター 新鶏舎竣工記念公開シンポジウム「羽を科学する」(広島)
2011年5月25日
6. 研究組織
(1)研究代表者
竹内 栄 (TAKEUCHI SAKAE)
岡山大学・大学院自然科学研究科・准教授
研究者番号 : 20226989