

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2013～2015

課題番号：25304032

研究課題名(和文)異なる熱帯気候帯の環境変動比較から解き明かす魚類の測季システム

研究課題名(英文) Involvement of environmental factors in relation to tropical monsoon in the reproductive activity of reef fishes

研究代表者

竹村 明洋 (Takemura, Akihiro)

琉球大学・理学部・教授

研究者番号：40222103

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：サンゴ礁に棲息するアイゴ類を研究对象魚とし、熱帯特有の地域環境要因の周期的変化が魚の成熟開始に及ぼす影響を明らかにした。フィリピンギマラス島イガン湾に生息するゴマアイゴの繁殖活動は3月から7月(雨季)に増加したが、散発的に周年行われていた。繁殖活動が低下する9月から10月(乾季)に給餌実験を行ったところ、全ての魚に性成熟を誘導できた。脳内に発現するインシュリン様成長因子(IGF-1)遺伝子の発現量を給餌制限の有無で測定した結果、給餌制限区の魚の間脳におけるIGF-1遺伝子発現量は下がった。以上の結果から、栄養状況は脳内の栄養代謝遺伝子の発現に影響を与えることを示している。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate involvement of periodical changes in environmental factors in tropical waters in reproductive activity of reef fishes. When the goldlined spinefoot *Siganus guttatus* were collected monthly in Igan Bay, Guimaras Island, the Philippines, the gonadal activity of this species increased from March to July (rainy season). Individuals undergoing gonadal development were observed sporadically in any months. When experiments to check the effect of food availability on gonadal activity were carried out in dry season from September to October, gonadal development could be induced in all fish under experimental conditions. Abundance of insulin-like growth factor I (IGF-1) mRNA increased in the diencephalon of the fish with food limitation. These results suggest that in addition to water temperature and photoperiod, food availability becomes the possible environmental factor, which has a crucial impact on reproduction in tropical fishes.

研究分野：魚類生理学

キーワード：サンゴ礁 熱帯モンスーン気候 アイゴ 生殖 栄養 インシュリン様成長因子

## 1. 研究開始当初の背景

温帯域から極域にかけて分布する魚類の繁殖活動には明確な年周期性が認められる。魚種による差はあるが、水温や日長の周期的変化が繁殖活動の開始もしくは終息に重要な役割を持つ。一方、熱帯域の水温や日長の変化は温帯域ほど大きくない。熱帯域の魚類が水温や日長などの環境要因を繁殖活動の同期に利用する可能性は低く、地域特性に応じた環境要因の周期性を繁殖活動の同期に利用していることが考えられる。研究代表者はこれまで行ってきた海外学術調査でインドネシア(中部ジャワ及びカリムンジャワ群島)とフィリピン(アルバイ州セントミゲル島)のサンゴ礁に棲息するアイゴ類の繁殖特性と季節性について調査を行い、以下のことを明らかにした。

- (1) インドネシアにおいて、調査対象とした6種類のアイゴ類にはそれぞれ明確な生殖年周期があり、多くの種が年2回の繁殖期を持つ。沖縄にも同魚種が分布しているが、これらの魚類の繁殖期は4月から7月にかけての一回である。インドネシアと沖縄に棲息する同種のアイゴ類の繁殖期には地理的な差が認められ、生息地域で特徴的に現れる環境要因の周期的変動が繁殖期を規定すると考えられた。(平成15~17年度海外学術調査の成果)
- (2) 繁殖期に繰り返される産卵には月周期性があり、シモフリアイゴは新月付近、そしてゴマアイゴは上弦の月付近で同調して産卵した。沖縄に棲息する同種も同じ月相付近で産卵しており、繁殖期における産卵リズムには地理的な差が認められなかった。アイゴ類の産卵の同期には月から得られる情報が重要であると推測された。(平成15~17年度海外学術調査)
- (3) 四季がある沖縄の亜熱帯サンゴ礁に生息するアイゴ類の繁殖期開始は日長や水温の上昇時期に相当し、これらの環境要因を生殖腺の発達に利用していた。一方、インドネシアのサンゴ礁に生息するアイゴ類の繁殖期の開始時期は熱帯モンスーンと関連した。このうち、主たる繁殖期は乾季から雨季の変わり目であった。(平成19~21年度海外学術調査)
- (4) 赤道をはさんだ南北同緯度地域(インドネシアカリムンジャワ群島及びフィリピンアルバイ州セントミゲル島近辺)でゴマアイゴの生殖活性を比較した結果、両地域での主たる繁殖期がほぼ半年ずれることが判明した。いずれの地域においても繁殖期のピークは、熱帯域特有の季節の変わり目(雨量の大幅な変動期)と関連をもっていた。いずれの地域でもゴマアイゴの月周性産卵は上弦の月付近で行われ、産卵に地域差がないことが再確認された。(平成22~24年度海外学術調査)

太平洋—インド洋沿岸サンゴ礁で行ってきたこれまでの比較研究の結果から、熱帯サンゴ礁に起源をもつ魚類の多くは水温や日長の感受機構を基本型としつつも、熱帯域特有の周期的な海域環境変化を感受・利用しながら繁殖を繰り返していることが浮き彫りにされつつある。熱帯性魚類の繁殖を規定する要因として、特定海域の一次生産量の変動が挙げられており、当該海域における降雨による河川水流入と富栄養化に周期的があり、プランクトンなどの餌生物条件が至適範囲内にあることがこの海域の魚類の生殖活動の開始と持続を支える重要な要因なのかもしれない。

## 2. 研究の目的

本調査ではサンゴ礁に広く棲息し、東南アジア諸国で漁業対象重要魚種であるゴマアイゴを研究対象とし、この魚をモデルとしつつ、熱帯特有の地域環境要因の周期的変化(特に陸水流入の増減が及ぼすサンゴ礁海域の一次生産量変動に着目)が魚の成熟開始に及ぼす影響を明らかにすることを第一の目的とする。次に、視床下部—下垂体—生殖腺系の上位に位置する脳部位にターゲットを絞り、地域特性に応じた環境変化の比較から魚類の環境センサーの存在と役割を明らかにすることを第二の目的とする。

## 3. 研究の方法

フィリピン国内のイロイロ市(熱帯モンスーン気候)近郊のギマラス島イガン湾にあるIgan Marine Station(東南アジア水産振興センター)周辺のサンゴ礁域を主たる調査地点とし、調査対象魚(ゴマアイゴ)の定期的採集と海洋環境変動をモニタリングして、繁殖年周期を明らかにするとともに繁殖に利用される環境要因のうち一次生産量の変動が関わる要因を推定する。また、環境要因を人為的に作りだし、非繁殖期にある魚を飼育して性成熟の誘導を試みる。生殖腺の組織学的観察と栄養関連遺伝子の発現パターンを対照区と比較することで熱帯起源の魚の繁殖環境要因を浮き彫りにする。

## 4. 研究成果

- (1) 本調査海域付近であるフィリピンイロイロ( $10^{\circ}72'S$ ,  $122^{\circ}56'E$ )の水温は年間を通してほぼ一定であるが、小さいながらの日長の年変動を示し、降水量においては明らかな乾季と雨季が見られた。
- (2) ギマラス島イガン湾でのゴマアイゴの採集は毎月一回新月時に行った。採集したゴマアイゴの生殖腺体指数(GSI)を算出した結果、いずれの月においてもGSIが高い個体(卵黄形成を活発に行っている個体)と低い個体(未熟か卵黄形成を休止している個体)が混在していた。卵巣を組織学的に観察した結果、GSIが2.0未満の個体の卵巣には未熟な周辺仁期以下の卵母細胞が認められた。卵巣には卵黄球期に達する卵母細胞が出

現したが、卵黄球期の卵母細胞は第二次卵黄球期から第三次卵黄球期にあった。GSI が 7.5 以上の個体の卵巣内の最も発達した卵母細胞は第三次卵黄球期に達していた。これらの結果から、調査海域におけるゴマアイゴの繁殖活動は周年見られるが、日長の上昇し始める 3 月~5 月と降水量が上昇し始める 5 月~7 月において GSI の高い個体の存在と、その増加が見られることが明らかとなった。フィリピンギマラス島イガン湾に生息するゴマアイゴは、熱帯地域に生息するゴマアイゴの繁殖活動に影響する雨季と乾季の変わり目と、沖縄島に生息するゴマアイゴの繁殖活動の制限要因となる日長と水温の両方に影響している可能性があった (図 1)。

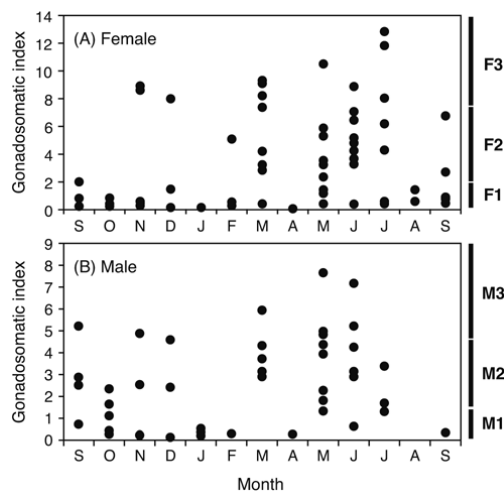


図 1. フィリピンギマラス島イガン湾周辺に生息するゴマアイゴの生殖腺体指数 (Gonadosomatic index; GSI) の変化. A; 雌個体の GSI, B; 雄個体の GSI. F1-F3 および M1-M3 は生殖腺発達の組織学的区分を示す。

(3) 本研究では、成長に関わるインシュリン様成長因子 (Insulin-like Growth Factor: IGF) に着目した。ゴマアイゴの全脳、網膜、心臓、肝臓、腸管、腎臓、生殖腺、筋肉における IGF-1 遺伝子発現量を RT-PCR 法で調べた結果、この遺伝子の発現は脳、網膜、心臓、肝臓で確認できた。これらのうち、肝臓での IGF-1 遺伝子の発現が最も強かった。IGF-1 遺伝子発現の日内変動を qPCR 法で調べた結果、昼間の IGF-1 遺伝子発現が夜間のそれよりも有意に高くなった。肝臓の IGF-1 遺伝子の発現量は日内変動を繰り返していると考えられた。

給餌制限群と給餌無制限群間で肝体指数 (HSI) と血中グルコース量を比較した結果、両値とも給餌制限群の方が給餌無制限群よりも有意 ( $P < 0.05$ ) に低かった (図 2)。一方、給餌制限群の肝臓における IGF-1 遺伝子の発現は、給餌無制限群のそれよりも高かった (図 2)。脳における IGF-1 発現量も給餌の影響を受けた。すなわち、間脳の IGF-1 発現量は給餌制限によって上昇するが、小脳や延髄のそれは減少することが判明した (図 3)。

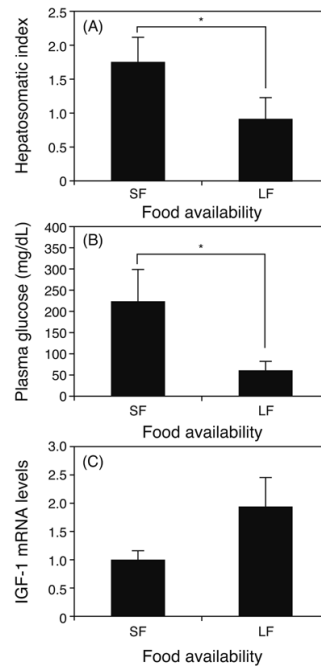


図 2. 給餌制限の有無がゴマアイゴに与える影響. A; 肝体指数 (Hepatosomatic index; HSI), B; 血中グルコース量, C; 肝臓における IGF-1 mRNA 発現量. SF と LF は給餌無制限群と給餌制限群をそれぞれ示す。

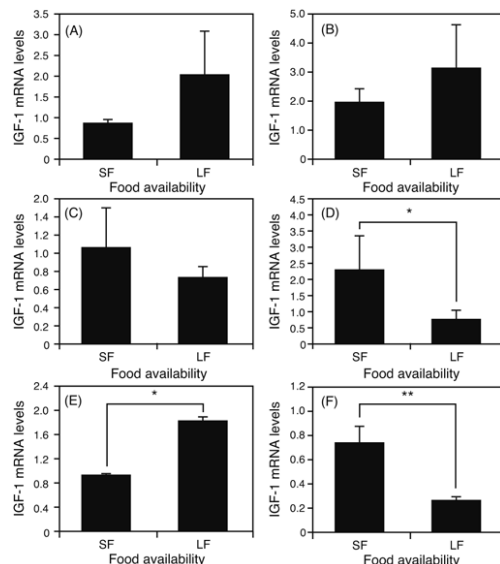


図 3. 給餌制限の有無がゴマアイゴの脳における IGF-1 mRNA 発現量に与える影響. A; 視蓋, B; 下垂体, C; 終脳, D; 小脳, E; 間脳, F; 延髄. SF と LF は給餌無制限群と給餌制限群をそれぞれ示す。

(4) 生殖腺の発達程度が低い 9 月~10 月にかけて Igan Marin Station においてゴマアイゴの給餌制限実験 [飽食させた魚 (飽食群) と飽食群の 10% の餌を与える群 (給餌制限群)] を行った。その結果、いずれの群においても雌雄において性成熟が誘導できた。この結果は、性成熟の程度が低い季節の魚に適度の餌を与えると性成熟が進むことを示している。

すなわち、温度や日長が性成熟進行に至適な地域において、魚の栄養状態は性成熟の進行を左右する環境要因になりえると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計9件)

1. Takemura A, Takeuchi Y, Ikegami T, Hur SP, Soliman V, Ayson F, de Jesus-Ayson G, Sri Susilo E (2015) Environmental control of annual reproductive cycle and spawning rhythmicity of spinefoot. *Kuroshio Sci*, 9: 31-38 査読有
2. Sakata R, Kabutomori R, Okano K, Mitsui H, Takemura A, Miwa T, Yamamoto H, Okano T (2015) Rhodopsin in the 1 dark hot sea: Molecular analysis of rhodopsin in a snailfish, *Careproctus rhodomelas*, living near the deep-sea hydrothermal vent. *PLoS One*, e0135888 査読有
3. Takeuchi Y, Hada N, Imamura S, Bapary MAJ, Hur SP, Bouchekioua S, Takemura A (2015) Existence of photoinducible phase for ovarian development and photoperiod-related alternation of clock gene expressions in the sapphire devil, *Chrysiptera cyanea*. *Comp Biochem Physiol* 188: 32-39 査読有
4. Ikegami T, Takemura A, Choi E, Suda A, Tomonaga S, Badruzzaman M, Furuse M (2015). Increase in telencephalic dopamine and cerebellar norepinephrine contents by hydrostatic pressure in goldfish: the possible involvement in hydrostatic pressure-related locomotion. *Fish Physiol Biochem*, 41: 1105-1115 査読有
5. 五十嵐修吾・今村 聡・許 成杓・竹内悠記・竹村明洋(2015)ルリスズメダイにおける精巣発達と性ステロイドホルモン産生量の変化. *沖縄生物学会誌*, 53: 1-9 査読有
6. Ikegami T, Takeuchi Y, Hur SP, Takemura A (2014) Impacts of moonlight on fish reproduction. *Mar Genom*, 14: 59-66 査読有
7. Toda R, Okano K, Takeuchi Y, Yamauchi C, Fukushima M, Takemura A, Okano T (2014) Hypothalamic expression and moonlight independent changes of *Cry3* and *Per4* implicate their roles in lunar clock oscillators of the lunar-responsive goldlined spinefoot. *PLoS One*, 9: e109119 査読有
8. Takeuchi Y, Imamura S, Sawada Y, Hur SP, Takemura A (2014) Effects of different colors of light on melatonin suppression and expression analysis of *Aanat1* and *melanopsin* in the eye of a tropical damselfish. *Gen Comp Endocrinol*, 204: 158-165 査読有
9. Park YJ, Park JG, Takeuchi Y, Hur SP, Lee YD, Kim SJ, Takemura A (2014) Moonlight affects the mRNA abundance of melatonin receptors in the pineal gland of a tropical fish. *Mar Genom*, 14: 67-70 査読有

〔学会発表〕(計30件)

1. 福永耕大・西幡友香・竹村明洋・山科芙美香・竹内悠記(2016)月光がハタ科魚類の時計遺伝子の発現に与える影響. 平成28年度日本水産学会春季大会. 東京海洋大学, 東京
2. 宮城ひとみ・山内千裕・兜森諒・竹内悠記・岡野俊行・竹村明洋(2016)外部環境要因変動がゴマアイゴの脳と肝臓におけるインシュリン様成長因子遺伝子発現に与える影響. 平成28年度日本水産学会春季大会. 東京海洋大学, 東京
3. 宇田川伸吾・比嘉良平・玉城健吾・竹村明洋(2016)水圧変化が硬骨魚類の脳内モノアミンに与える影響. 平成28年度日本水産学会春季大会. 東京海洋大学, 東京
4. Mahardini A, Miyagi H, Nakatani S, Takeuchi Y, Takemura A (2016) Seasonal reproduction of orange-spotted rabbitfish in different latitudes. *Island Environment and Climate Change in Asia-Pacific Region*. 沖縄科学技術大学院大学, 沖縄
5. 中谷 悟・竹村明洋・Ayson F・de Jesus-Ayson E (2015) フィリピンギマラス島イガン湾に生息するゴマアイゴの生殖年周期. 沖縄魚類研究交流会. 名護青年の家, 沖縄
6. 山本岳秀・大山由貴・池上太郎・竹村明洋(2015)日長がミナミトビハゼの生殖腺発達に与える影響. 沖縄魚類研究交流会. 名護青年の家, 沖縄
7. 大山由貴・池上太郎・竹村明洋(2015)月周産卵魚ミナミトビハゼの脳におけるメラトニン受容体遺伝子の発現解析. 第4回九州山口リズム研究会. 鹿児島大学, 鹿児島
8. 山科芙美香・竹内悠記・福永耕大・竹村明洋(2015)ヤイトハタにおける *cry* 遺伝子発現の月周性変動. 第4回九州山口リズム研究会. 鹿児島大学, 鹿児島
9. 大山由貴・池上太郎・山本岳秀・竹村明洋(2015)ミナミトビハゼにおけるメラトニン受容体遺伝子の発現解析. 平成27年度日本水産学会春季大会. 東京海洋大学, 東京
10. 山科芙美香・福永耕大・竹内悠記・竹村明洋(2015)月光がヤイトハタの時計遺伝子の発現に与える影響. 平成27年度日本水産学会春季大会. 東京海洋大学, 東京
11. Yamauchi C, Miyagi H, Morita M, Takemura A (2015) Growth in darkness in the tropical spinefoot: a possible role in the somatic endocrine axis. 10th International Workshop on the Oceanography and Fishery Science in the East China Sea. Jeju National University, Jeju, Korea

12. Yamashina F, Fukunaga K, Takeuchi Y, Takemura A (2015) Lunar phase-dependent expression of clock genes in the brain of the Malabar grouper, *Epinephelus malabaricus*. 10th International Workshop on the Oceanography and Fishery Science in the East China Sea. Jeju National University, Jeju, Korea
13. Udagawa S, Higa R, Tamashiro K, Takeuchi Y, Takemura A (2015) Effect of hydrostatic pressure on monoaminergic activity in the brain of tropical teleosts. 10th International Workshop on the Oceanography and Fishery Science in the East China Sea. Jeju National University, Jeju, Korea
14. Oyama Y, Ikegami T, Yamamoto T, Takemura A (2015) Involvement of sunlight and moonlight in reproductive activities in the barred mudskipper with special attention to melatonin system. 10th International Workshop on the Oceanography and Fishery Science in the East China Sea. Jeju National University, Jeju, Korea
15. Miyagi H, Yamauchi C, Kabutomori R, Udagawa S, Takeuchi Y, Okano H, Takemura A (2015) Physiological conditions alter expression pattern of insulin like growth factors in the brain and liver of the goldlined spinefoot (*Siganus guttatus*). 10th International Workshop on the Oceanography and Fishery Science in the East China Sea. Jeju National University, Jeju, Korea
16. Fukunaga K, Nishihata Y, Yamashina F, Takeuchi Y, Takemura A (2015) Sequence and expression of clock genes in the honeycomb grouper. 10th International Workshop on the Oceanography and Fishery Science in the East China Sea. Jeju National University, Jeju, Korea
17. 竹村明洋 (2014) 熱帯性ベラ類における潮汐同期産卵におけるメラトニンとドーパミンの関係. 第3回九州山口リズム研究会. 九州大学, 福岡
18. 池上太郎・山本岳秀・竹村明洋・大山由貴 (2014) ミナミトビハゼの自発行動リズムの形成機構. 第3回九州山口リズム研究会. 九州大学, 福岡
19. Takemura A (2014) Rhythms in fish reproduction: possible involvement of dopaminergic activity in tidal-related spawnings of a tropical wrasse. Asia and Oceania Society for the Comparative Endocrinology. National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan
20. Ikegami T, Oyama Y, Takemura A (2014) Is tide-related locomotion rhythm controlled by external tidal stimuli or internal melatonin in the barred mudskipper? Asia and Oceania Society for the Comparative Endocrinology. National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan
21. 今村聡・Badruzzaman M・竹村明洋 (2014) メラトニン投与が産卵期のルリスズメダイの生殖活性に与える影響. 平成26年度日本水産学会春季大会. 東京海洋大学, 東京
22. 山科芙美香・竹内悠記・竹村明洋 (2014) ヤイトハタにおける *Cryptochrome* 遺伝子の発現解析. 第51回沖縄生物学会. 琉球大学, 沖縄
23. 大山由貴・池上太郎・山本岳秀・竹村明洋 (2014) ミナミトビハゼにおけるメラトニン受容体遺伝子発現の日周性. 第51回沖縄生物学会. 琉球大学, 沖縄
24. 今村聡・Badruzaaman M・竹村明洋 (2014) 外因性のメラトニンがルリスズメダイの卵形成に与える影響. 第51回沖縄生物学会. 琉球大学, 沖縄
25. 山本岳秀・池上太郎・大山由貴・竹村明洋 (2014) ミナミトビハゼにおける日長の生殖腺発達に与える影響. 第51回沖縄生物学会. 琉球大学, 沖縄
26. 池上太郎・大山由貴・竹村明洋 (2014) ミナミトビハゼの潮汐性活動リズム. 第51回沖縄生物学会. 琉球大学, 沖縄
27. 池上太郎・竹村明洋 (2014) 環境浸透圧変化によるミナミトビハゼの浸透圧調節ホルモン遺伝子の発現変化. 日本動物学会第85回大会. 東北大学, 宮城
28. Hur SP・今村聡・竹内悠記・Kim BH・Kim ES・Kim SJ・Lee YD・竹村明洋 (2014) ニホンウナギにおけるメラトニンのリズム解析およびトランスクリプトーム解析. 日本動物学会第85回大会. 東北大学, 宮城
29. Takemura A, Soliman V, Ayson F, De Jesus-Ayson, E, Sri Susilo E (2014) Lunar impact on spawning rhythmicity in tropical fishes and its application to the management of fisheries resources. 8<sup>th</sup> International Symposium on Kuroshio Science. Kochi University, Kochi
30. 池上太郎・大山由貴・山本岳秀・竹村明洋 (2014) ミナミトビハゼにおける時計遺伝子の発現の日周性と概日性. 第21回日本時間生物学会. 九州大学, 福岡

〔図書〕(計1件)

1. Ikegami T, Takeuchi Y, Takemura A (2015) Lunar clock in fish reproduction. In Numata H, Helm B (Eds) Circannual and Circatidal Rhythms: Patterns and Mechanisms of Nature's Enigmatic Clocks. Springer

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.takemura-lab.jp/index>

6．研究組織

(1)研究代表者

竹村 明洋 (TAKEMURA, Akihiro)  
琉球大学・理学部・教授  
研究者番号：40222103

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし