

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07586

研究課題名(和文) 有彩色光によるコイ科魚類の体色制御技術の開発

研究課題名(英文) Development of body color control technology of Cyprinidae fishes with chromatic light

研究代表者

水澤 寛太 (MIZUSAWA, KANTA)

北里大学・海洋生命科学部・准教授

研究者番号：70458743

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：キンギョとゼブラフィッシュにおいてメラニン凝集ホルモン(MCH)、黒色素胞刺激ホルモン(MSH)の遺伝子発現量が環境光に対して光波長特異的に変動することや、キンギョでは背地色の変化に応じて鱗におけるMCH受容体とMSH受容体の発現量が変化することを明らかにした。また、大正三色(ニシキゴイ)ではMCH遺伝子の発現レベルが低く、鱗の黒色素胞のMCH感受性が消失していること、大正三色とゼブラフィッシュでは環境光に紫外線が含まれる時や緑色光が過剰に含まれる時に仔魚期の黒色素胞の発達が抑制されることを明らかにした。以上の結果は、コイ科魚類においてLED光照射が体色の操作に有用であることを示唆する。

研究成果の概要(英文)：In the goldfish and zebrafish, the gene expression level of melanin-concentrating hormone (MCH) and melanophore-stimulating hormone (MSH) fluctuates with light wavelength-specific manners under LED lights. Moreover, the expression levels of MCH receptor and MSH receptor changes in response to background color change in goldfish. The basal expression level of the MCH gene of a Koi carp, Taisho Sanshoku, is low compared to that of common carp. The MCH sensitivity of the scale melanophores has disappeared in Taisho Sanshoku. The ambient light lacks ultraviolet rays or excessively contains green light suppresses the development of melanophores in the larvae of zebrafish and Taisho Sanshoku. These results suggest that irradiation with LED light would be useful for manipulating body color in carp fishes.

研究分野：魚類分子内分泌学

キーワード：キンギョ ゼブラフィッシュ ニシキゴイ 体色 黒色素胞 メラニン凝集ホルモン 黒色素胞刺激ホルモン LED

1. 研究開始当初の背景

観賞魚にとっても食用魚にとっても、体色は商品価値を決める重要な要素である。魚類の体色調節ホルモンは皮膚の色素胞の分布と色素胞内部の色素顆粒の状態を変化させ、体色を調節する。研究開始当初、申請者はゼブラフィッシュにおいて有彩色光がメラニン凝集ホルモン (MCH) の働きを介して体色を変化させることを見だしていた。しかし、この有彩色光依存的な体色変化に MCH 以外の体色調節ホルモンや交感神経系が関与するかどうかは不明であった。また、ゼブラフィッシュと同じコイ科のキンギョやニシキゴイ (コイ) においても有彩色光依存的な体色変化が起こるかどうかは不明であった。

2. 研究の目的

本研究は、光照射によるコイ科魚類の体色制御技術を開発する研究基盤を確立するため、有彩色光がコイ科魚類の体色と色素胞、体色調節ホルモンの発現動態におよぼす影響と、色素胞の体色調節ホルモン感受性を明らかにすることを目的とした。本研究では基礎的な知見をゼブラフィッシュとキンギョにおいて集積し、これを発展させてニシキゴイの体色制御技術の開発に応用することを目指した。

3. 研究の方法

(1) ゼブラフィッシュ仔魚に LED 光 ($\lambda_{\max} = 400 \text{ nm}$ または 530 nm) を 4 日間または 12 日間照射して、黒色素胞の色素顆粒運動ならびに分布密度変化に効果のある有彩色光の波長と強度を調べた。また有彩色光照射後の仔魚の全身から RNA を抽出し、メラニン凝集ホルモン (MCH) ならびに黒色素胞刺激ホルモン (MSH) の遺伝子発現量を測定した。仔魚を MCH、MSH、アドレナリン (アドレナリン性 α 受容体のアゴニスト) およびヨヒンピン (同アンタゴニスト) の水溶液に浸漬し、黒色素胞を観察して、色素顆粒運動を観察した。

(2) キンギョに LED 光 ($\lambda_{\max} = 464 \text{ nm}$ 、 518 nm 、または 635 nm) を 1 週間照射して、体色と脳内の MCH 遺伝子発現量ならびに下垂体中の MSH 遺伝子発現量を測定した。眼球を摘出したキンギョに対しても同様の照射試験を行った。

(3) ニシキゴイ (大正三色) の孵化仔魚に対して太陽光、蛍光灯光、紫外線 ($\lambda_{\max} = 370 \text{ nm}$) または緑色 LED 光 ($\lambda_{\max} = 510 \text{ nm}$) を照射し、体表の黒色素胞数の時間変化を調べた。また稚魚に蛍光灯光、紫外線、または緑色 LED 光を照射し、3 週間後の体色と鱗における黒色素胞数を比較した。大正三色稚魚を黒または白背地に 3 週間馴致し、体色と鱗における黒色素胞の色素顆粒運動ならびに分布密度変化を調べた。馴致後の脳から

RNA を抽出し、MCH 遺伝子発現量を測定した。腹腔内または鱗に MCH を投与し、黒色素胞の色素顆粒運動を調べた。

4. 研究成果

(1) ゼブラフィッシュ仔魚において、 400 nm 光は光量依存的に黒色素顆粒を拡散させ、 530 nm 光は光量依存的に黒色素顆粒を凝集させた。 400 nm 光照射魚では蛍光灯光照射魚に比べて全身 RNA 中の MCH mRNA 量が少なく、MSH mRNA 量が多かった。一方、 530 nm 光照射魚では蛍光灯光照射魚に比べて MCH mRNA 量が多かったが、MSH mRNA 量は蛍光灯光照射魚と同程度であった。浸漬によって MCH とアドレナリンは黒色素顆粒凝集を誘起すること、MSH は黒色素顆粒の運動を誘起しないこと、ヨヒンピンは黒色素顆粒拡散を誘起することが明らかになった。ただし白背地に馴致した仔魚ではヨヒンピンは黒色素顆粒拡散を誘起しなかった。以上の結果は、ゼブラフィッシュ仔魚の光波長特異的な色素運動において、特に MCH 遺伝子の光波長特異的な発現変動が重要な役割を果たしていることを示唆する。

(2) キンギョにおいて、 464 nm 光、 518 nm 光、 635 nm 光照射はいずれも白背地条件において黒背地条件よりも MCH 遺伝子発現を高めた。特に 464 nm 光は他の LED 光に比べて MCH 遺伝子発現を高めた。一方、 518 nm 光と 635 nm 光は黒背地条件において白背地条件よりも MSH 遺伝子発現を高めたが 464 nm 光はいずれの背地色条件においても MSH 遺伝子発現を低下させた。体色は 518 nm 光照射時に最も明るくなった。眼球摘出魚では、いずれの照射条件においても体色は暗く、MCH 遺伝子発現量は低かった。LED 光による MCH 遺伝子発現の亢進には、目からの光入力が必要であることが明らかになった。

(3) 摂餌を開始した大正三色仔魚に太陽光、蛍光灯光、あるいは蛍光灯光に紫外線を追加照射した結果、体表の黒色素胞は太陽光照射時にもっとも早く出現し、蛍光灯光照射時にもっとも遅く出現した。蛍光灯光に紫外線を追加照射すると出現時期は蛍光灯光照射時よりも早まった。一方、太陽光に紫外線を追加照射したときの孵化 1 ヶ月後、2 ヶ月後の体表の黒色素胞数は、太陽光のみを照射したときと同程度であった。太陽光に緑色光を追加照射したときの黒色素胞数は、太陽光のみを照射したとき、あるいは太陽光に紫外線を追加照射したときに比べて孵化 1 ヶ月後に低下した。以上の結果は、太陽光に含まれるが蛍光灯には含まれない紫外線などの波長光が、仔魚期の黒色素胞の発達を促進すること、ならびに緑色光の多い光環境は黒色素胞の発達を阻害することを示唆する。

(4) 大正三色の2ヶ月齢稚魚に蛍光灯光、あるいは蛍光灯光に紫外線または緑色光を追加したものを照射した。3週間後の体色と鱗の黒色素胞数には、照射条件の違いによる差はなかった。以上の結果から、黒色素胞が既に発達した鱗において、照射光の違いによって色素胞数が変化する可能性は低いと考えられる。

(5) 大正三色において、白背地順応時に黒色素顆粒が凝集しないことが明らかになった。脳における MCH 遺伝子発現量はノゴイの8分の1程度であり、鱗に MCH を十分量投与しても黒色素顆粒は凝集しなかった。以上の結果から、大正三色では、MCH 合成量がノゴイに比べて少なく、鱗の黒色素胞の MCH 感受性が失われていることが示唆された。MCH の機能不全が、大正三色の皮膚の一部が墨のように黒くなる理由の一つであると考えられる。

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)

Mizusawa K, Yamamura Y, Kasagi S, Cerda-Reverter JM, Takahashi A, Expression of genes for melanotropic peptides and their receptors for morphological color change in goldfish *Carassius auratus*, General and comparative endocrinology, 査読有, vol 264, 2018, 138-150
DOI 10.1016/j.ygcen.2017.06.012

Mizusawa K, Yamamura Y, Kasagi S, Cerda-Reverter JM, Takahashi A, Data on the density of xanthophores in a whole scale of goldfish acclimated to white or black background color, Data in brief, 査読有, vol 14, 2017, 724-729
DOI 10.1016/j.dib.2017.08.039

Takahashi A, Kasagi S, Murakami N, Furufuji S, Kikuchi S, Mizusawa K, Andoh T, Chronic effects of light irradiated from LED on the growth performance and endocrine properties of barfin flounder *Verasper moseri*, General and comparative endocrinology, 査読有, vol 232, 2016, 101-108
DOI 10.1016/j.ygcen.2016.01.008

Mizusawa K, Kawashima Y, Sunuma T, Hamamoto A, Kobayashi Y, Kodera Y, Saito Y, Takahashi A, Involvement of melanin-concentrating hormone 2 in background color adaptation of barfin flounder *Verasper moseri*, General and

comparative endocrinology, 査読有, vol 214, 2015, 140-148
DOI 10.1016/j.ygcen.2014.07.008

[学会発表](計8件)

水澤寛太, 星野勤宏, 笠木 聡, 新井雄太, 兵藤則行, 高橋明義, ニシキゴイの体色ならびに黒色素胞の発達に光源の違いが及ぼす影響, 平成 30 年度日本水産学会春季大会, 2018 年

Mizusawa K, Isano H, Aoki E, Kasagi S, Hoshino Y, Hyodo N, Takahashi A, Function of MCH in skin color change of Koi carp, International Symposium "Fisheries Science for Future Generations", 2017 年

Mizusawa K, Isano H, Kasagi S, Hoshino Y, Hyodo N, Takahashi A, Effects of breeding on the regulation of skin color change in Koi carp, 18th International Congress of Comparative Endocrinology (ICCE18), 2017 年

水澤寛太, 志波真子, 高橋明義, ニシキゴイ黒色素胞の背地色応答による変化, 平成 28 年度日本水産学会春季大会, 2016 年

笠木聡, 岡村拓, 山内寿馬, 水澤寛太, 高橋明義, 光環境による体色調節ホルモン遺伝子発現変動に対する眼球の関与, 平成 28 年度日本水産学会春季大会, 2016 年

Mizusawa K, Takahashi A, Feeding and growth-related hormones respond to specific wavelengths of light in zebrafish, The 22nd International Congress of Zoology, 2016 年

Mizusawa K, Kasagi S, Takahashi A, Morphological color change in koi carp during background color adaptation, International Symposium on Pituitary Gland and Related Systems, 2016 年

Mizusawa K, Shikama T, Takahashi A, Melanin-concentrating hormone mediates the reciprocal effects of short and long wavelength lights on pigment dispersion in zebrafish melanophore, 第40回日本比較内分泌学会大会・日本比較生理生化学会第37回大会合同大会, 2015 年

[図書](計1件)

水澤寛太, 矢田崇, 裳華房, ホルモンから見た生命現象と進化シリーズ VII

〔産業財産権〕

取得状況（計1件）

名称：特定波長光照射によるカレイ目魚類の
養殖方法

発明者：高橋明義、水澤寛太、古藤澄久、菊
地重人

権利者：学校法人北里研究所、スタンレー電
気（株）他1社

種類：特許

番号：6115802

取得年月日：2017年03月01日

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

北里大学海洋生命科学部魚類分子内分泌学
研究室

<https://www.kitasato-u.ac.jp/mb/study/course/lab/bunshi/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水澤 寛太 (MIZUSAWA, Kanta)

北里大学・海洋生命科学部・准教授

研究者番号：70458743

(2) 研究分担者

新井 雄太 (ARAI, Yuta)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：60329026