

令和元年6月19日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07507

研究課題名(和文) 魚類における配偶システムの系統進化と脳内神経葉ホルモン遺伝子に関する研究

研究課題名(英文) Studies on evolution of mating system and posterior pituitary hormone gene

研究代表者

須之部 友基 (Sunobe, Tomoki)

東京海洋大学・学術研究院・教授

研究者番号：00250142

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)：近縁なハゼ科8種について配偶システムと脳内神経葉ホルモン(VT/IT)遺伝子の対応について検討した。転写調節領域の遺伝子配列は配偶システム(一夫一妻・一夫多妻)との相関は見られなかった。そこで一夫一妻のカスリモヨウベニハゼ、一夫多妻のアオギハゼにVT/ITおよび受容体拮抗剤を投与したところ、一夫一妻種ではペアの形成・維持に重要であると考えられる行動が阻害された。一夫多妻種ではVT/ITの投与によりそれらの行動に変化は見られなかった。これらの結果から配偶システムにはVT/ITが関与した行動調節機構の存在が示唆された。系統樹を利用して祖先種の配偶システムを推定したところ一夫一妻であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義はこれまで動物の行動を説明する4つの観点(メカニズム、個体発生、適応的意義、系統進化)の内、個体発生を除く3つの点を統合する手掛かりを得られたことである。得られ結果と既に明らかになっている系統関係の成果を合わせることで総合的に配偶システムの進化を推測できるようになった。その社会的意義は脊椎動物における配偶システムの多様性を生み出す進化機構について、新たな知見を提供すると共に、配偶システムの進化を説明する一般法則を導く端緒となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Relationships between mating system and pituitary nerve hormones (VT/IT) gene were studied among eight gobiid species, which were closely related each other. Although we determined gene sequence of transcriptional regulatory region, there was no relationship between mating system and patterns of gene sequences. Then, we injected VT/IT and their receptor antagonists on the abdominal part for monogamous *Trimma marinae* and polygynous *T. caudomaculatum*, and measured behavioral changes before and after treatments. While behaviors to establish and maintain a pair were inhibited in the monogamous species, there was no significant difference in the polygynous species. These results suggest that functions of VT/IT are as regulation for pair formation. Phylogenetic analysis indicate that mating system of ancestor species is monogamy.

研究分野：魚類行動生態学

キーワード：配偶システム 神経葉ホルモン 魚類 ハゼ科

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

- 1) 行動生態学的研究： 配偶システムは一夫多妻，一夫一妻，一妻多夫等が知られ，資源や雄・雌の時空間分布，子の保護の有無等に依拠しており，行動生態学の中心課題の1つである．魚類においてもベラ科，スズメダイ科，ハゼ科等について多くの研究があるが，その多くは個々の種がいかに適応しているかという究極要因を検討したもので，「どのように進化してきたか」という歴史性に着目した研究はほとんどない．
- 2) 内分泌的研究： ハタネズミ類では一夫一妻種と一夫多妻種では脳内神経葉ホルモンの受容体領域が異なる．魚類においても同じ脳内神経葉ホルモンであるバソトシン（VT）/イソトシン（IT）が繁殖行動や社会順位の決定に大きく関与していることが示されている．特に遺伝子の発現様式の変異，つまり転写調節領域の変異が基本となっている可能性が高い．
- 3) 本研究の位置づけ： 魚類において配偶システムとVT/ITの機能を研究した例は様々な分類群で報告があり，主に雄の攻撃性を促進し，縄張り行動との関係が示されている．しかし，これらの研究は至近要因に関するもので配偶システムの進化過程を示したものではない．本研究の位置づけは単系統群を形成するハゼ科ベニハゼ属・イレズミハゼ属を対象として，VT/ITの特性を手掛かりに構成種の一夫多妻あるいは一夫一妻という異なる配偶システムを支配する遺伝的基盤を示し，系統関係からその進化的な歴史をたどることである．

2. 研究の目的

単系統群を形成するハゼ科ベニハゼ属（イチモンジハゼ，ベニハゼ，オヨギベニハゼ，オニベニハゼ，アオギハゼ，カスリモヨウベニハゼ，エリホシベニハゼ，ウロコベニハゼ，オキナワベニハゼ）・イレズミハゼ属（イレズミハゼ，ベンケイハゼ）の中ですでに配偶システムが明らかなのはオキナワベニハゼ，オニベニハゼ，イレズミハゼ，ベンケイハゼである．そこで他の8種についても配偶システム（一夫多妻または一夫一妻）を野外観察および飼育により明らかにする．次に配偶行動を制御する脳内神経葉ホルモン（VT/IT）遺伝子の転写調節領域に注目し塩基配列を決定し，配偶システムとの対応関係を検討する．さらにVT/ITあるいはその阻害剤を投与することで行動の変化を示す．これとは別に上記11種を含むベニハゼ属17種，イレズミハゼ属7種のmtDNAにより系統樹を推定し，共通祖先種の雌雄性と配偶システムを推定する．

3. 研究の方法

- 1) イチモンジハゼ，チゴベニハゼ，オヨギベニハゼ，オニベニハゼ，アオギハゼ，カスリモヨウベニハゼ，エリホシベニハゼ，ウロコベニハゼの配偶システム（一夫多妻・一夫一妻）を決定するため，奄美大島での野外調査と飼育観察を実施する．
- 2) 広島大学生物生産学部においてVT/IT遺伝子上流域の塩基配列をgenomic inverse PCR法により解析を進める．最終的に11種の塩基配列を決定する
- 3) 1) 2) を統合し，配偶システムと塩基配列の相関関係を独立対位法により見出し，配偶システムを支配する遺伝的基盤を示す．
- 4) 系統樹を利用して祖先種の雌雄性と配偶システムを最尤法により推定する．
- 5) 1)，4) によりアオギハゼは一夫多妻，カスリモヨウベニハゼは一夫一妻で両種は同じベニハゼ属の中でも特に近縁であることがわかった．そこでVT/ITおよびその阻害剤を投与して求愛行動と攻撃行動の変化を測定した．

4. 研究成果

オキナワベニハゼは一夫多妻、イレズミハゼ、バンケイハゼは一夫一妻であることが知られていたが、これに加えてイチモンジハゼ、チゴベニハゼ、オヨギベニハゼ、オニベニハゼ、アオギハゼ、エリホシベニハゼ、ウロコベニハゼは一夫多妻、カスリモヨウベニハゼは一夫一妻であることが明らかになった。

転写調節領域の遺伝子配列を決定できたのは一夫多妻のエリホシベニハゼ、イチモンジハゼ、チゴベニハゼ、オニベニハゼ、オキナワベニハゼ、アオギハゼ、一夫一妻のカスリモヨウベニハゼ、バンケイハゼであった。しかし、種間での配列には大きな変異は見られず、配偶システムとの相関は見られなかった。

系統樹を利用して祖先種の雌雄性と配偶システムを推定したところ一夫一妻であった。特に一夫一妻のカスリモヨウベニハゼ、一夫多妻のアオギハゼは互いに近縁であった。

そこで遺伝子自体よりも例えば脳内神経の分布の違いが行動を制御している可能性が考えられることから系統的に非常に近縁で一夫一妻の配偶システムを持つカスリモヨウベニハゼ、一夫多妻のアオギハゼを用いて配偶システムの差異を導く雌の社会行動を観察した。VT/IT およびそれらの受容体拮抗剤を腹腔投与し、配偶システムの形成に寄与する行動の変化を計測した。その結果、一夫一妻種であるカスリモヨウベニハゼにおいて受容体阻害によってペア形成の阻害が確認された。これらの結果から配偶システムにはVT/IT が関与した行動調節機構の存在が示唆された。

これらの実験はVT、IT およびペプチド性の各受容体拮抗剤を腹腔内に投与することで実施したが、一般的に体循環中のペプチドは血液脳関門の存在によって脳実質へ到達しないと考えられているため、本実験結果が中枢性の効果に依るものであるかは明らかでなかった。そこで蛍光色素エバンスブルー(投与されると血中のアルブミンと速やかに結合し複合体を形成する)を本種の腹腔内に投与し、脳へ到達するかを観察した。投与2時間以後に固定した個体では脳内の広範囲にエバンスブルーアルブミンと思われる蛍光シグナルを確認することができた。これは先行研究の結果がVT、IT の中枢性の効果によって得られたものであることを強く示唆する結果である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計8件)

1. Shimizu, S., Endo, S., Sasaki, M., Murase, A., Masuko, M., Miyazawa, M. and Sunobe, T. (2016) Mating system and group spawning in the wrasse *Pteragogus aurigarius* in Tateyama, central Japan. *Coastal Ecosystems* 3: 38-49
2. Shitamitsu, T. and T. Sunobe (2017) Notes on protandry in the creediid fishes *Limnichthys fasciatus* and *L. nitidus* (Teleostei: Creediidae). *Ichthyological Research* 60:365-367
3. Fukuda, K., H. Manabe, M. Sakurai, S. Dewa, A. Shinomiya and T. Sunobe (2017) Monogamous mating system and sexuality in the gobiid fish, *Trimma marinae* (Actinopterygii: Gobiidae). *Journal of Ethology* 35:121-130
4. Sunobe, T., T. Sado, K. Hagiwara, H. Manabe, T. Suzuki, Y. Kobayashi, M. Sakurai, S. Dewa, M. Matsuoka, A. Shinomiya, K. Fukuda and M. Miya (2017) Evolution of bidirectional sex change and gonochorism in fishes of the gobiid genera *Trimma*, *Priolepis*, and *Trimmatom*. *The Science of Nature* 104: DOI 10.1007/s00114-017-1434-z

5. Fukuda, K. and Sunobe T (2017) Basic Methods for the Study of Reproductive Ecology of Fish in Aquaria. *Journal of Visualized Experiments* (125): e55964, doi:10.3791/55964
6. Fukuda K, Tanazawa T, Sunobe T (2017) Polygynous mating system and field evidence for bidirectional sex change in the gobiid fish *Trimma grammistes*. *International Journal of Pure and Applied Zoology* 5:92–99
7. Tomatsu S, Ogiso K, Fukuda K, Deki M, Dewa S, Manabe H, Sakurai M, Shinomiya A. and Sunobe T (2018) Multi-male group and bidirectional sex change in the gobiid fish, *Trimma caudomaculatum*. *Ichthyological Research* 65: 502-506
8. Shitamitsu T, and Sunobe T (2018) Protandry of the flathead *Suggrundus meerdervoortii* (Teleostei: Platycephalidae). *Ichthyological Research* 65: 507-509

[学会発表] (計 14 件)

1. 福田和也・辻田菜摘・国吉久人・須之部友基. 配偶システムの形成における下垂体後葉ホルモンの影響の検討. 2016. 日本動物行動学会第 35 回大会.
2. 齊藤(芦野) 洸介・坂井陽一. 一夫一妻魚イレズミハゼの逆方向性転換に伴う繁殖成功の変化 -雄を経ても雌の産卵能力は維持されるのか-. 2016. 日本動物行動学会第 35 回大会
3. 坂井陽一. 瀬戸内海の自然史「性転換する瀬戸内海の魚たち」平成 29 年度自然史学会連合講演会 2017 (招待講演)
4. 大森尚也・須之部友基. 館山湾におけるウツボ *Gymnothorax kidako* の配偶システム. 2017. 日本魚類学会年会.
5. 森郎遥・須之部友基. 地域間におけるセダカズメダイの摂餌なわばり面積の変異とその決定要因. 2017. 日本魚類学会年会.
6. 桑村哲生・須之部友基・坂井陽一. 魚類の性様式と配偶システムに対する個体群密度の影響. 2017. 日本魚類学会年会.
7. 本田梓・須之部友基. ノコギリヨウジの配偶システムと卵生産様式. 2018. 日本魚類学会年会
8. 長谷部謙介・須之部友基. 館山湾に生息するトラギス *Parapercis pulchella* の配偶システム. 2018. 日本魚類学会年会
9. 幸重さわ子・須之部友基. ヘビギンボのオスの繁殖成功は偶然決まる? 2018. 日本魚類学会年会
10. 古川洋之介・須之部友基. 千葉県館山湾におけるカミナリベラ TP 雄の繁殖成功の転換. 2018. 日本魚類学会年会
11. 森丘聡・須之部友基. 館山湾におけるウバウオ科魚類 2 種の生活史. 2018. 日本魚類学会年会
12. 玉山若奈・須之部友基. ホンベラのグループ産卵をする IP 雄の繁殖成功. 2018. 日本魚類学会年会
13. 佐藤陽・須之部友基. 館山湾におけるクツワハゼ *Istigoius campbelli* の代替繁殖戦略. 2018. 日本魚類学会年会
14. 小川悠介・須之部友基. 館山湾におけるフグ科キタマクラ *Canthegaster rivurata* の配偶システム. 2018. 日本魚類学会年会

〔図書〕(計 2件)

1. 須之部友基.2017. 17章 繁殖行動. 220-236頁,「魚類学」(矢部衛・桑村哲夫・都木靖彰 編) 恒星社厚生閣
2. 坂井陽一. 2018. 10. 動物の行動「性転換」288-289頁,「動物学の百科事典」(公益財団法人 日本動物学会編) 丸善出版.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況 (計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：国吉久人

ローマ字氏名：KUNIYOSHI, Hisato

所属研究機関名：広島大学

部局名：生物圏科学研究科

職名：准教授

研究者番号 (8桁)：60335643

研究分担者氏名：坂井陽一

ローマ字氏名：SAKAI, Yohichi

所属研究機関名：広島大学

部局名：生物圏科学研究科

職名：教授

研究者番号 (8桁)：70309946

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：(特になし)

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。