



日本下垂体研究会誌

2021年3月31日 発行

本号の内容

1. 第35回日本下垂体研究会学術集会のご案内 上田 陽一 (産業医科大学)
2. 論文 I 「ひと筋縄ではない魚類の体色調節と視床下部-下垂体系ホルモン」
高橋 明義、楊 婷舒、山口 大梧、篠原 由佳梨、笠木 聡、水澤 寛太 (北里大学)
3. 紹介 - 1 「条鰭類におけるメラニン凝集ホルモンニューロンの向下垂体投射様式の変遷」
東 森生 (自治医科大学)
4. 紹介 - 2 「夏眠に関する研究～伊良湖での研究会への感謝～」
阿見彌 典子 (北里大学)
5. 紹介 - 3 「*In vitro* 分化誘導法を用いた視床下部神経幹細胞の再生」
加納 麻弓子^{1,2}、須賀 英隆¹、有馬 寛¹ (¹名古屋大学、²東京大学)

事務局

北里大学海洋生命科学部
〒252-0373 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1
事務局長 高橋 明義
e-mail akiyoshi@kitasato-u.ac.jp

日本下垂体研究会

<http://www.jichi.ac.jp/jspr>

第 35 回日本下垂体研究会学術集会のご案内

産業医科大学医学部第 1 生理学
会長 上田 陽一
yoichi@med.uoeh-u.ac.jp

日本下垂体研究会誌 Journal of Japan Society for Pituitary Research (vol.8, 1-2, 2021)

昨年 8 月に予定していましたが第 35 回下垂体研究会を新型コロナウイルス感染の全国的な拡大のため皆様にご理解いただき、1 年後に延期させていただきました。この度、本年（令和 3（2021）年）8 月 19 日（木）～21 日（土）の会期で開催させていただきます。

昨年来続いています新型コロナウイルス感染対策の一環として開催場所を福岡県久山温泉地から福岡国際会議場（501 会議室）（福岡市博多区）に変更致しましたが、プログラムの詳細は、ホームページ（<http://www.jichi.ac.jp/jspr/2020/>）を御覧ください。

本学術集会は、研究会プログラムでの発表や討論だけでなく、夏の合宿さながら夕食後も温泉宿等でファイルオンザデスクと呼称されている意見交換の場を持つことも大きな特徴です。しかしながら、この形式は「3密」そのものでもあり、残念ながら今回はこの形式の実施は断念することに致しました。新しい開催場所として選定しました福岡国際会議場は博多湾に面しており、研究会の合間には 5 階の会議室ロビーから夏の博多湾と青空を一望できるものと期待します。

春の令月にして氣淑く
風和ぎ梅は鏡前の粉を披く
蘭は珮後の香を薫らす

第35回 The Japan Society for Pituitary Research
日本下垂体研究会学術集会
Beautiful Harmony of Pituitary Research
新しい時代の下垂体研究

会期 令和3年(2021年)8月19日(木)～21日(土)
会場 福岡国際会議場 国際会議室501
会長 上田 陽一 産業医科大学医学部第1生理学 教授
幹事 吉野 潔 産業医科大学医学部産科婦人科学 教授

学会事務局
産業医科大学医学部第1生理学 (担当丸山 崇)
〒807-8555 北九州市八幡西区医生ヶ丘1-1 Tel: 093-691-7420
E-mail: 35jspr@mbox.med.uoeh-u.ac.jp

久山町
福岡市
福岡国際会議場
JR博多駅 福岡空港
●太宰府天満宮

第 35 回学術集会ポスター

2年前に本学術集会のテーマを“新しい時代の下垂体研究-Beautiful Harmony of Pituitary Research”としてポスター・チラシを太宰府天満宮の写真で飾らせていただきました。太宰府天満宮は“令和”の出典となりました万葉集・梅花の宴の縁の地としてよく知られています。

今年は“丑（うし）”年となりました。太宰府天満宮境内の“御神牛（ごしんぎゅう）”もまたご祭牛として有名ですが、学問の神様“菅原道真公”を祭神として祀る神社ですが、菅原道真公はご生誕もご逝去も丑年だったそうです。太宰府天満宮には三が日を含む受験シーズンには例年多くの参拝者が訪れますが、今年の三が日の参拝者数はコロナ禍のため例年の5分の1ほどだったそうです。

新型コロナウイルス感染症対策として、2月17日より医療従事者向けに先行してワクチン接種が始まりました。“ワクチン（vaccine）”という名称は、エドワード・ジェンナーの有名な種痘（牛痘）から雌牛のラテン語名（vaca）を由来として名付けられたそうです。私は1993年から2年間、英国ブリストル大学に留学させていただきました。学内で毎月行われるセミナー会場にはエドワード・ジェンナーセンターと名付けられており、会場の入り口には大きな肖像画が飾られていました。エドワード・ジェンナーは、ブリストル郊外のパークレーというところで開業医していたそうで、実際に行ってみました。そこには、ジェンナー記念館と当時種痘を行った場所が保存されていました。

少々話がそれましたが、この夏に福岡の地にて皆様とお会いできることを楽しみにしております。もちろん、皆様のご健康とご安心が第一ですので感染防止を徹底しつつ、新型コロナウイルス感染状況によってはWeb開催やハイブリッド開催も考慮致します。皆様のご理解とご協力のほどよろしくお願い申し上げます。



英国ブリストル大学エドワード・ジェンナーセンター内のセミナー室にて
（後列の向かって左端が筆者、1994年夏）



ジェンナーが種痘を行っていたハウスを訪れて
（筆者と家内、1993年夏）

論文 I

ひと筋縄ではない魚類の体色調節と視床下部一下垂体系ホルモン

北里大学海洋生命科学部 魚類分子内分泌学研究室
高橋 明義、楊 婷舒、山口 大梧、篠原 由佳梨、笠木 聡、水澤 寛太
akiyoshi@kitasato-u.ac.jp

日本下垂体研究会誌 Journal of Japan Society for Pituitary Research (vol.8, 3-14, 2021)

1. はじめに

体色は生存のために重要な生命現象である。脊椎動物の中で最大の種数を有する硬骨魚類には、それに応じた多様な生理・生態がある。体色もその一つである。サンゴ礁に棲息する魚種には派手な色彩を帯び、分断色として背景に紛れるものもある。サケの仲間は繁殖期に鮮やかな婚姻色を帯びるほか、生息地の環境や飼育水槽の色に応じて体色を変えることができる。底に静止することが多いカレイの仲間の体色は地味の代表であるが、海底の色模様によく馴染み見事な隠蔽色をつくる。魚類にとって、環境に応じて体色を変化させること、あるいは環境の色模様と体色を調和させることは、外敵から身を守って生き抜くために必要な戦略である。

魚類には固定された体色と、変化する体色がある。観察した限り、前者にはエンゼルフィッシュの縞模様があり、飼育環境に応じた変化は少ない。後者はカレイが有名であるが、キンギョの単調なオレンジ色も変化する。我々は変化する体色、すなわち体色調節に係わる内分泌系の作用を研究している。主な対象はコイ目のキンギョ、ゼブラフィッシュ、コイ、およびカレイ目のマツカワとホシガレイである。特定の魚種を研究対象として研究を深めると、その魚種についての知見は増えるが、それが魚類全体を代表するわけではない。複数の魚種の特徴を解明しつつ比較検討すれば、全体像が少しずつ分かってくる。この考えの下で研究を行っている。

体色を制御する内分泌研究においても他の研究と同様に、目的に応じた魚種の選定が重要である。汎用されており研究者が比較的多いゼブラフィッシュは遺伝的な研究が容易である。キンギョは、ゼブラフィッシュでは極めて困難な採血が可能であり、生理学研究により適している。コイの変異種であるニシキゴイは遺伝学的な研究に有用であり、産業にも通じる。マツカワとホシガレイは増養殖対象魚である。天然のカレイ類は無眼側の皮膚は白いが、水槽で飼育すると一部が黒化する。我々はこの黒化抑制を

目的として、カレイにおいて魚類の体色調節と内分泌の関連についての研究を開始した。

サカナを知ってもヒトとの共通項をすべて理解できるわけではない。しかしサカナを知ればヒトをより良く理解する切っ掛けを得ることはできる。メラニン凝集ホルモン (MCH) は体色を明るくするホルモンとして、最初シロサケの下垂体から単離された²⁾。哺乳類ではラットから 1989 年に単離され、やがて食欲を亢進するホルモンであることが分かった^{3),4)}。もしシロサケでの単離がなければ、ヒト MCH の発見はゲノム研究の進展まで待つことになったかもしれない。複数の魚類で研究を進めれば、情報が増えて研究全体のすそ野を拓ける。ときには MCH のようなインパクトも発生する。思いがけない発見もある。体色調節から始まった研究が端緒となり、マツカワやホシガレイの成長が緑色光で促進されることを発見したのはその例である^{5)~8)}。詳細は掲げた文献を参照して頂きたい。本稿ではキンギョ、マツカワ、ホシガレイを題材として我々が進めている研究を紹介する。意外性をご理解頂ければ幸いである。

2. 体色制御内分泌研究における魚類

2.1. キンギョ

キンギョ (*Carassius auratus*) は古くから日本で親しまれている鑑賞魚である⁹⁾。中国原産であり、フナ的一种から突然変異により体が赤いヒブナ (緋ブナ) が生じたとされる。これからキンギョの原種が派生し、それがさらに変異してワキン (和金) になったという。オレンジの色に覆われているワキンの体色は、他の魚類と同様に背側が濃く、腹側が薄い逆影であることに変わりはない。アカデメキン (赤出目金)、クロデメキン (黒出目金)、リュウキン (琉金)、ランチュウ (蘭鑄) などはワキンから突然変異によってさらに派生したものであり、シュブンキン (朱文金) やエドニシキ (江戸錦) などは交雑によってつくられた系統である (図 1)。実験に汎用されるのはワキンであり、当研究室では静岡県や栃木県から仕入れている。

キンギョは生理学的な研究などに広く用いられてきている。実験魚として必要な条件は、実験目的に適う生物学的特性を有していること、安価であること、入手しやすいこと、ある程度の個体数がそろふこと、そして実験室での維持管理が容易であることなどである。ホルモンによる体色調節の研究においては、魚体が一様に朱色のワキンが安くて、メール一本で購入でき、室温で飼育が容易であることから条件を満たしている。鱗に認められるのは黄色素胞のみであり、解析が容易である。食料生産の上でどれほど重要だとしても、たとえばマグロでワキンを代用することはできない。上記の必要条件をすべて欠いているためである。

一方でシュブンキンは、魚体全体に朱、黒、白などの色が入り混じっていることに加えて、一枚の鱗に黒色素胞と黄色素胞が混在していることもあり、解析が複雑になる。しかし視点を変えると、交配によって作出された品種であるため、生理学的な現象の探究ではなく、エピジェネティクスのような遺伝現象の研究には適している。シュブンキンに見出だされる特性は、世界中で最も高価な観賞魚とされるニシキゴイの特性解明にもつながるであろう。代表的なモデル魚はゼブラフィッシュとメダカである。キンギョは、最近全ゲノム配列の解読が成功したことでモデル生物としても注目されているが¹⁰⁾、これまでも解剖学、内分泌学、行動学の分野で汎用されてきている¹¹⁾。

2.2. カレイ類

カレイの仲間の体色はキンギョと比べると地味である。図鑑では茶色系統で表現される。扁平な体形をしており、両眼は俗に表側といわれる有眼側に存在する。この形態の特徴からカレイ類は異体類ともよばれる。通常は海底で着底生活をしているが、捕食のときには離底する。色素胞が発達しているのは有眼側であり、無眼側にはほとんど認められない。これも逆影の一種であり、海底に生息している個体の有眼側の色模様は生息地の色調に順応しているため、上方の捕食者からは見えにくい。マツカワ (*Verasper moseri*) は砂の色によく馴染み、見分けが難しい。砂をかぶって眼だけを出している個体はほとんど検知不可能である¹²⁾。ところが砂礫の色模様には馴染みにくく、輪郭が分かる。砂礫への同調が上手なのはババガレイであり、ほとんど海底そのものに変化できる¹³⁾。自然界の曲線的な形ばかりでなく、実験的な幾何学模様もまねることができる。ホシダルマガレイ属の一種は市松模様を体表に表出する¹⁴⁾。体



図1. ワキン (上) とシュブンキン (下)

色調節には内分泌系が深く関わるが、不均一な変化が起こることは神経系が重要な役割を担っていることを示す。

筆者らはマツカワ、ホシガレイ (*V. variegatus*)、ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) を用いて体色に関する研究を行っている。これらはキンギョとは異なり食料として扱われる水産重要魚種である。海産魚であることに加えて、商品として全長 30 cm、体重 1 kg 程度に育てるため、魚体が小さい稚魚期の一時期を除いて、研究室での飼育は容易ではない。そのため、ほとんどの飼育実験を学外の共同研究者に依存している。

異体類で研究を開始した切っ掛けは無眼側の黒化にあった¹⁵⁾。通常、自然界では白い無眼側であるが、養殖水槽では黒色素胞が発生して黒化が起きる。この現象は砂があると起こりにくいことから、水槽底面が自然界ではありえないほど滑らかであることが原因とされている。一方、黒化と体色調節システムとの関係は判然としていない。そこで、視床下部で産生され、体色を明化する MCH と無眼側黒化の関連解明、ならびに哺乳類では認められている MCH の食欲亢進作用の有無の追求を目的とする飼育実験を行った。その成果として、白背地水槽がマツカワの無眼側黒化防止と成長促進に有効であることを示した¹⁶⁾。

3. 魚類の体色変化

魚類の体色は皮膚と鱗にある色素胞によって表現される。色素胞はさまざまな色を呈する色素顆粒を含んでおり、含まれる顆粒の性質によって色彩が異なる。黒色素胞、赤色素胞、黄色素胞、青色素胞では特定の波長光を吸収して、その名称が示す特有の色を示す。白色素胞では広範囲の波長を反射させるため白く見える。これら 5 種の色素胞の内部で色素が拡散や凝集することにより色調が変化する。虹色素胞では色素ではなく、層をなしている反射層板の移動によって反射される色調が変化する¹⁷⁾。

ワキンの鱗を顕微鏡下で観察すると多くの黄色素胞がみえる。黄色の色調はカロテノイドやブテリジンによる。黄色素胞は文献によっては赤色素胞ともよばれるがこれらの差異は明瞭ではなく、橙色付近では曖昧である¹⁸⁾。これらはまとめて黄色素胞とよばれることが多く、筆者らはこれに順じている。ワキンの体色は孵化後しばらくの間は朱色ではなく、その祖先のフナのように黒みがかっている。やがて黄色素胞が優勢になり、見慣れたキンギョの色に変わっていく。黒色素胞で覆われているクロデメキンや一部に黒色素胞をもつシュブンキンも、元をたどればワキンである^{9), 19)}。ワキンの元はヒブナであり、そのさらなる起源はフナであるのだから、ワキンから派生した品種が有する黒色素胞はいわば先祖返りとなる。多数の品種が維持されていることを考えると、キンギョは遺伝子発現の系統進化研究に有用な研究材料ではなからうか。

多くの硬骨魚類の黒色素胞では、色素胞内のメラニンを含むメラノソームという色素顆粒を凝集または拡散させることによって体色を変化させる。黄色素胞内でも同様の色素の運動が起こる。魚類の体色は飼育環境の色調に合わせて変化する。たとえば、白背地水槽で飼育している明るい体色のニジマス黒背地水槽に移すと、見る間に黒くなり水槽の色と見分けがつかなくなる。この体色変化は色素顆粒の運動によって短時間の間に生じる「生理学的体色変化」である。一方、魚体を黒背地水槽で長期間飼育すると、背側部がますます黒くなることに加え、通常は白っぽい腹側部までが黒くなる。これは色素胞が新たにメラニンを合成することになったからである。このような長期的影響による色素胞の数、大きさあるいは色素量の変化に起因する体色の変化を「形態学的体色変化」とよぶ。

著者の一人(高橋)は、キンギョの体色はほとんど変わらないと根拠なく思いこんでいた



図2. 背地順応したマゴイ

黒背地(上)および白背地(下)に3週間馴致した後、麻酔して撮影した。

が、実際は生理学的体色変化も形態学的体色変化も起きるのである。これらの体色変化とホルモンの関係を以下に紹介する。蛇足であるが、黒いマゴイの体色も白背地水槽では退色し明るくなることを学生にみせられた時にも驚いた(図2)。その一方で水澤はニシキゴイの体色は実験条件下では変化しにくいことを見出し、知見を集積している。

4. 色素の拡散

4.1. キンギョにおける黒色素胞刺激ホルモンの比較的単純な作用

黒色素胞刺激ホルモン(MSH)は前駆体のプロオピオメラノコルチン(POMC)から翻訳後プロセッシングにより生じる²⁰⁾。副腎皮質刺激ホルモンの前半部に相当する α -MSHと脂質動員ホルモンの中央部に相当する β -MSHの2種類がある。 α -MSHには先頭のアミノ酸残基(セリン)のアミノ末端が遊離の分子(desacetyl- α -MSH, Des-Ac- α -MSH)、アセチル化されている分子(これが α -MSHである。アセチル基数の識別のために monoacetyl- α -MSH [Mono-Ac- α -MSH]とも記載される)およびアミノ末端と側鎖がアセチル化されている分子(diacetyl- α -MSH, Di-Ac- α -MSH)が存在する。キンギョではこれらについて *in vitro*での色素拡散活性を調べ、同等の活性を認めている²¹⁾。Yasudaら²²⁾はキンギョから3位のセリンの側鎖もアセチル化されている triacetyl- α -MSHを同定しているが、この活性は不明である。MSHの受容体はGPCRの仲間でありメラノコルチン受容体(MCR)と総称される。キンギョにおいても哺乳類と同様に5種類のサブタイプが同定されている^{23)~25)}。これらのうち、キンギョの黄色素胞では1型メラノコルチン受容体(MC1R)が優勢に発現する²¹⁾。したがって、キンギョで

は Mono-Ac- α -MSH と Di-Ac- α -MSH はいずれも主に MC1R を介して黄色素胞に作用していると考えられる。

POMC、MSH および MCR は、以下に述べるカレイ類においても基本的にキングョと同様の遺伝子が存在する。

4.2. カレイの仲間における黒色素胞刺激ホルモンの複雑な作用

MSH は *in vitro* において常に色素拡散作用を示すわけではないことをカレイの一種、マツカワとヒラメにおいて認めた^{25), 26)}。これらの皮膚には黄色素胞と黒色素胞が存在する。黄色素胞では MC5R の発現が優勢であるが、黒色素胞では MC1R と MC5R の両者が顕著に発現する^{26), 27)}。両色素胞の MSH に対する応答には興味深い差異が認められる。すなわち、黄色素胞ではアセチル基の有無と数にかかわらず用量依存的に色素が拡散する。しかし黒色素胞においては MC5R が発現しているにも拘わらず、Mono-Ac- α -MSH はほとんど活性を示さない。Des-Ac- α -MSH と Di-Ac- α -MSH は用量依存的な活性を示すことが確認されたため、単純にアセチル基の有無によって説明できるわけではない。黒色素胞と黄色素胞で発現する受容体に視点を当てると、MC5R の作用が MC1R の存在によって無効にされたとみなすことも可能である。結局 Mono-Ac- α -MSH が無効であることの原因は、GPCR である MCR がヘテロ二量体を形成することであることが分かった。概略を以下に記す。

Kobayashi ら²⁸⁾はマツカワ MC1R と MC5R を CHO 細胞で強制発現させてヘテロ二量体の特性を評価した。これらは免疫蛍光染色により細胞膜上に共存し、また免疫沈降反応で共沈することから、会合していることが推定される。リガンドの活性は cAMP 産生能を指標として検討された。Mono-Ac- α -MSH の活性は MC1R と MC5R をそれぞれ単独で発現する細胞において認められ、MC1R 発現細胞での活性が MC5R 発現細胞において認められるものよりも高い。しかし MC1R と MC5R を強制発現させた細胞での活性は MC5R 発現細胞での値よりも低い。

以上の培養細胞での結果をマツカワにおいて得られた色素運動の観察結果と対比してみよう。MC5R が優勢に発現する黄色素胞では Mono-Ac- α -MSH が色素を拡散させる。しかし MC1R と MC5R がともに優勢な黒色素胞では Mono-Ac- α -MSH の活性はほとんど認められない。MC1R と MC5R が共存する黒色素胞ならびに CHO 細胞においては Mono-Ac- α -MSH の活

性が弱いのである。MC1R と MC5R は単独では Mono-Ac- α -MSH に応答することから、これらが共存してヘテロ二量体を形成することによって、単量体本来の機能が低下したことが考えられる。

色素胞での色素の運動と CHO 細胞での cAMP 産生能を見比べることにより、マツカワにおける Des-Ac- α -MSH の活性について新たに確認できた現象もある。MC5R が優勢に発現する黄色素胞での色素拡散活性は、Mono-Ac- α -MSH が Des-Ac- α -MSH よりも 100 倍程度高い²⁵⁾。最大の色素拡散を導くために要する濃度が 1/100 の 10 nM で済むからである。MC5R を発現する CHO 細胞での cAMP 産生能もこれに類似する。すなわち Mono-Ac- α -MSH の EC₅₀ (9.98 nM) が Des-Ac- α -MSH の値 (84.13 nM) よりも小さく、活性が 8 倍以上高いのである²⁸⁾。ヒラメでも黄色素拡散活性について調べたが、Mono-Ac- α -MSH と Des-Ac- α -MSH の活性は同等であった²⁶⁾。両ホルモンの活性の差異が認められるのは、マツカワに特有の現象なのかもしれない。

Di-Ac- α -MSH の色素拡散活性はヒラメで調べた²⁶⁾。黄色素胞に対する活性は Des-Ac- α -MSH および Mono-Ac- α -MSH と同等であり、用量依存性が認められた。黒色素胞に対しては Des-Ac- α -MSH と同様に用量依存的な活性が認められた。結局、 α -MSH の第 1 位に位置するセリン残基のアミノ基にアセチル基が 1 分子付加することによって、黒色素胞に対する活性が抑制されることになる。Mono-Ac- α -MSH と MC1R/MC5R ヘテロ二量体の結合により G タンパク質を含めた受容体の機能が変化すると推測される。

4.3. メラノコルチン受容体ヘテロ二量体の意義

MC1R と MC5R で作られるヘテロ二量体が Mono-Ac- α -MSH の活性を抑制することは明らかである。その生物学的意義を考えてみる。空想に近くなるがご容赦願いたい。血液中には Des-Ac- α -MSH と Mono-Ac- α -MSH が常に等濃度で循環していることとする。アセチル基の有無にかかわらず MSH 類は黄色素を拡散する。しかし黒色素胞では状況が異なり、アセチル基がないときに黒色素が拡散し、アミノ末端残基のアミノ基にそれが付加すると拡散しない。下垂体からの黒色素胞に対する色素拡散刺激は、黄色素胞に対する刺激の半分となる (図 3)。すなわち体色を黄色くする作用が黒くする作用より 2 倍強い。黄背地で飼育したマツカワの見かけの体色は黄色く、顕微鏡下では黄色素の拡

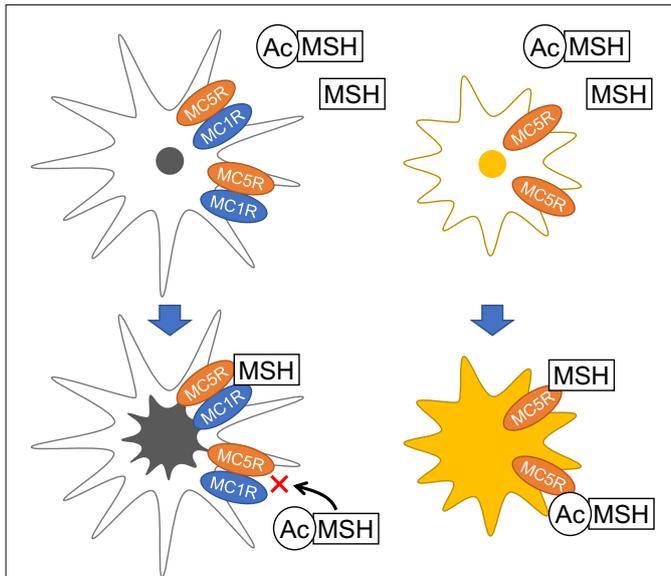


図3. マツカワの黒色素胞と黄色素胞に対する MSH 類の色素顆粒拡散作用 (想像図)

黒色素胞 (左) では MC1R と MC5R がヘテロ二量体を形成するが、黄色素胞 (右) では主に MC5R が発現する。アセチル基を持たない Des-Ac- α -MSH (図中では MSH) は MC1R:MC5R ヘテロ二量体も MCH5R もどちらも活性化するが Mono-Ac- α -MSH (図中では MSH にアセチル基 Ac を付加) は MC1R:MC5R ヘテロ二量体を活性化しない。リガンドと受容体が相互作用しないこと、あるいは相互作用しても刺激が細胞内に伝わらないことが考えられる。Des-Ac- α -MSH と Mono-Ac- α -MSH がある濃度で存在する場合、黄色素胞では色素顆粒が完全に拡散するが、黒色素胞では完全には拡散しないという状況が起こりうる (図下)。

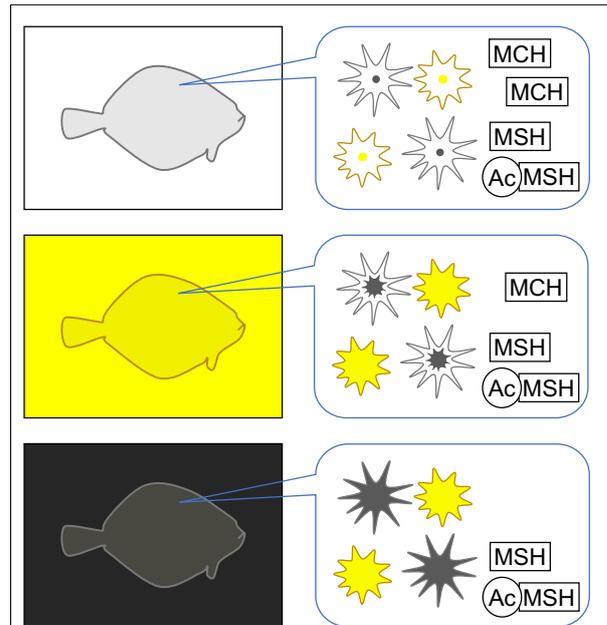


図4. マツカワを白、黄、または黒背地に馴致したときの黒色素胞と黄色素胞

マツカワを白 (上)、黄 (中)、または黒背地 (下) に馴致すると、背地色に合わせて体色が変わる。黄背地に馴致したマツカワの皮膚では、黄色素胞において色素顆粒が拡散する。黒背地に馴致したマツカワの皮膚では、黒色素胞と黄色素胞両方において色素顆粒が拡散する。白背地→黄背地→黒背地の順に MCH などの体色明化因子の作用が弱まるにつれ、Des-Ac- α -MSH (黄色素と黒色素を拡散させる) と Mono-Ac- α -MSH (黄色素のみを拡散させる) の作用が発揮される。

散が黒色素の拡散よりも顕著である¹²⁾ (図4)。黒背地での魚体は水槽の色と識別できないほど黒い²⁹⁾。顕微鏡下では顕著に拡散している黒色素胞が認められるが、黄色素胞も同様に盛大に拡散している。黒背地においては黒色素のみが拡散し、黄色素は拡散しないと予想したが、実際は両方とも拡散する (図4)。黄色素の拡散は、自然界ではおそらく真っ黒な背地に遭遇することがないことと関連しているのであろう。

黒色素のみによって黒い体色を呈する必要は、マツカワの生態上には存在しないはずだ。そうだとすると、黄と黒を組み合わせる背地色に順応することが無理のない体色調節といえる。実際にマツカワは黄色味のある砂に体色を合わせることができる。マツカワにとって、血液を介して魚体全体にホルモンが行きわたる内分泌系による体色調節においては、黒色素胞の

活動が黄色素胞より弱いことが適切なのであろう。黄色素胞が主であり、黒色素胞は従とも考えられる。

次に、体色を黒くする、というよりも色素を拡散させるとの理解が適切な MSH とは逆に、体色を明るくする仕組みについて考える。

5. 色素の凝集

5.1. 交感神経による色素凝集

真骨魚類では色素の運動 (拡散と凝集) により迅速に体色が変化する「生理学的体色変化」が起こる。硬骨魚の色素胞は神経支配を受けており、アドレナリン性の神経伝達物質が色素胞内の色素を凝集する。交感神経節後繊維から放出されるノルアドレナリンの色素凝集活性はアドレナリン性 α 受容体遮断薬で抑制されることから、色素胞上で作用するのは α アドレナリン受容体である。素早い体色変化は交感神経の作

用による¹⁷⁾。カレイ類有眼側の模様が背地に応じて局所的に異なるのは、眼で感知された魚体周囲の二次元情報に従って、有眼側での交感神経の興奮が局所的に制御されるためであろう。

真骨魚類の色素胞において、MSHは*in vitro*では色素を拡散させるが、*in vivo*ではさせない。魚体から切り取った皮膚ではMSHの色素拡散活性が認められるが、注射によっては色素が拡散しないのである。マツカワでの例を挙げよう。白背地で一定期間飼育して有眼側を十分明化させた個体にDes-Ac- α -MSHを体重1gあたり0.01から10nmolの範囲で腹腔内に投与しても、4時間後の体色明度に変化は認められない³⁰⁾。

5.2. メラニン凝集ホルモンによる色素凝集

真骨魚類には2種類のMCH、MCH1とMCH2が存在し、それぞれをコードする遺伝子は*pmch1*および*pmch2*である^{31)~33)}。略語のPMCHはMCHが前駆体のproMCHから翻訳後プロセッシングにより生じることに由来する。MCH1は最初シロサケから単離された魚類型分子を示す²⁾。MCH2は哺乳類型の分子であり、真骨魚類以外の魚類と四肢動物にはこの型の分子が存在し、魚類型のMCH1は存在しない。名称に混乱があるため、それを統一する案が提唱されているが³²⁾、本稿では魚類研究者の慣例に従ってMCH1とMCH2を使用する。総合的な内容にはMCHを用いる。

MCH1とMCH2の*in vitro*での色素凝集活性はキンギョとマツカワで調べた^{12), 34)}。両者とも用量依存的な活性を示し、強度もほぼ同等である。GPCRの一種であるMCH受容体(MCH-R)には2種類の分子が存在するが、皮膚で優勢に発現するのはマツカワ、キンギョともにMCH-R2である^{35), 36)}。マツカワではMCHとMSHは*in vitro*では相互に活性を抑制する¹²⁾。一定濃度のMCH1溶液にDes-Ac- α -MSHの希釈系列を加えると、MSHが用量依存的にMCHの活性を抑制するのである。ホルモンを逆にして

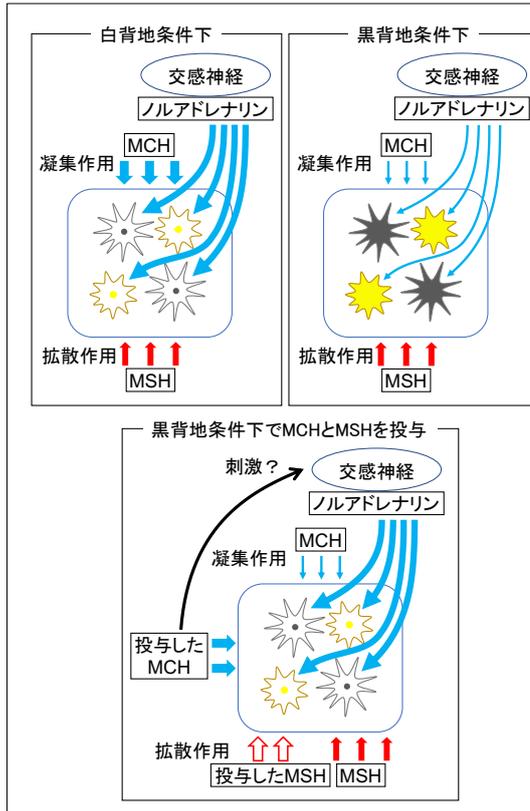


図5. マツカワにおける体色調節因子の力関係

白背地（左上）では、MCHとノルアドレナリンによる色素凝集作用が強くなり、黒背地（右上）では弱くなる。一方、MSH類による色素拡散作用は背地色の違いに応じてほとんど変化しない。これらの体色調節因子の相対的な力関係が変わることによって、色素顆粒の凝集または拡散が起こる。黒背地条件下でMCHを腹腔内投与すると体色は明化するが、MCHと共にDes-Ac- α -MSHを投与しても体色は明化する。投与したMCHが交感神経などを刺激して体色明化作用を増強するなどして、投与したMSHの作用が阻害された可能性がある（下）。

も同様である。cAMPの産生について、MCHは抑制的に作用するがMSHは促進することから、*in vitro*で認められる相互作用の一部はcAMP産生の多少の結果であることが考えられる。

*In vivo*ではマツカワの体色にMCHとMSHの相互作用は認められない。一定期間黒背地で飼育したマツカワの体色は黒く明度は低い。この時マツカワ自体のMCHと交感神経の作用は弱くなっており、相対的にMSHが強くなっていると考えられる²⁹⁾。この個体にMCH(0.1nmol/g体重)を腹腔内投与すると明化する³⁰⁾。しかしMCHによって明化した個体にDes-Ac- α -MSHを体重1gあたり0.01から10nmolの範囲で腹腔内に投与しても、4時間後の体色は明るいままである³⁰⁾。つまり外因性MSHは*in vivo*では外因性MCHを抑制せず、「*in vitro*の結果が*in vivo*の結果と一致しない」のである。MCHが引き金を引いた色素凝集作用がMSHに抗して持続すると表現することもできる。中枢でMCHと交感神経系が相互に作用して起こる相乗効果が思い浮かぶが、想像の域を出ない（図5）。

6. 光環境と遺伝子発現

背地順応において、視床下部一下下垂体系は眼で感知された光環境の情報を全身に伝える中継器官とみなすことができる。MCHとMSHの典

型的な作用は、それぞれ色素凝集による体色の明化および色素拡散による体色の暗化である。これらホルモンの動態研究によく使われるのは白背地水槽と黒背地水槽である。前者においては、体色は明るく、MCH 産生能は高く、MSH 産生能は低いことが期待される。後者では逆に、体色は暗く、MCH 産生能は低く、MSH 産生能は高いと思われる。筆者らの研究により、この仮定にキンギョはおおよそ従うが、マツカワでは必ずしもそうではないことが明らかになってきた。

6.1. キンギョ

キンギョを白背地あるいは黒背地で 3 週間飼育すると体色に差が生じ、白背地での明度は黒背地よりも高くなる³⁷⁾。脳内に含まれる *pmch1* mRNA は白背地での含量が黒背地よりも多い。これとは逆に、下垂体に含まれる *pomc* mRNA は白背地での含量が黒背地よりも少ない。従って表 1 に示すとおり、白背地での高明度に高 *pmch* 発現と低 *pomc* 発現が対応することから、これら遺伝子発現が MCH と MSH の作用の高低に反映されていると考えられる。ちなみにこの実験では、背側部における一定の位置の鱗における明度を測定した。

別の実験ではホルモン遺伝子発現のほか、背側部と腹側部の黄色素胞の数を調べた^{38), 39)}。ここでは明度は測定していない。遺伝子発現については、白あるいは黒背地での 3 週間の飼育では、やはり *pmch1* mRNA 含量は白背地で多く、*pomc* mRNA 含量は黒背地で多い。これらのキンギョを別の白背地水槽あるいは黒背地水槽に移してさらに 3 週間（合計 6 週間）飼育してもこれら mRNA の組織含量に認められる傾向は同じである。興味深いことは背側部と腹側部で黄色素胞の増加具合が異なっていたことである。背側部では白背地区と黒背地区の間で、飼育 3 週間と 6 週間で黄色素胞数に差は認められなかった。しかし腹側部では、黒背地区での細胞数が白背地区での数よりも 2 倍以上多かった。黒背地水槽での飼育によって魚体全体の明度が低下し、かつ腹側部では黄色素胞が増加することが分かった。通常は数が少ない腹側部で黄色素胞が数増えたことは、形態学的体色変化の実例である。

腹側部の色素胞数が少ない理由として、MSH の生体内アゴニストであるアグチシグナルペプチド (ASP) の発現が考えられる。これの遺伝子は背側部では発現しない。これの腹側部皮膚での発現量を調べたが、3 週間の飼育では白背地区と黒背地区の間に差は認められなかった。

表 1. 白または黒背地に 1 週間馴致したキンギョの体色と体色調節ホルモン遺伝子発現量 (平均値 ± 標準誤差, n = 8)

	白背地	黒背地
体色の明度	168 ± 4	152 ± 3**
脳内 <i>pmch1</i> mRNA 量 (10 ⁴ コピー/ng total RNA)	1.72 ± 0.12	1.28 ± 0.09*
下垂体内 <i>pomc</i> mRNA 量 (10 ⁷ コピー/ng total RNA)	2.65 ± 0.44	8.88 ± 1.14***

* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001, t-test

ASP 以外の要因が係わる黄色素胞形成の仕組みが存在するのであろう。

本節で紹介した実験では *mch-r* と *mcr* の発現も調べており、一筋縄では解釈できない結果を得ているが、今回は割愛する。

6.2. マツカワ

マツカワを白背地で飼育すると無眼側の茶系の色が薄くなり、黒背地で一定期間飼育すると水槽の底面と区別ができないほど黒くなる^{12), 29), 30)}。白背地区では脳内の MCH 細胞体数、*pmch1* および *pmch2* mRNA 含量、ならびに MCH 様免疫活性が黒背地区よりも多い^{16), 33), 36), 40)~42)}。既述のとおり、MCH は *in vitro* では色素を凝集し、*in vivo* では体色を薄くする。従って、MCH の仲介によって背地色の白が体色に反映されるとみなしてよい。

次に MSH をコードする *pomc* 遺伝子の役割を検討する。黒背地で 80 日間飼育した下垂体神経中葉に含まれる *pomc* mRNA 含量について、逆転写 PCR 産物を電気泳動した写真をデンシトメーターで分析し、β-アクチン mRNA に対する相対量を求めると、黒背地区の値が白背地区よりも高い⁴³⁾。

一方、TaqMan probe を用いたより精度の高い定量逆転写 PCR を用いた実験では異なる結果が得られている⁴⁴⁾。黒背地で 125 日間飼育した個体と白背地で 163 日間飼育した個体の *pomc* mRNA 含量の差は、主葉においても神経中葉においても認められない。黒背地区の個体を白背地（および対照の黒背地）に移しても、白背地区の個体を黒背地（および対照の白背地）に移しても、移行後 1 週間では神経中葉の *pomc* mRNA 含量に差は認められない。主葉には差が認められるが、限定的である。MSH の主たる産生部位が神経中葉であることを考慮すると⁴⁵⁾、背景色（白と黒）は体色に影響を及ぼしはするが、*pomc* 遺伝子発現に影響するとは言い難い。この考察は、血液中の MSH 様免疫活性も背景色に対応した動態を示さないことから支持される⁴⁴⁾。

以上の結果から、マツカワにおいて背地色と体色を繋ぐインターフェースとして、MCHはその役割を担うが、MSHの関与は低いと考えられる。

6.3. ニジマスによる補足

ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) は内分泌研究に汎用される実験魚であると同時に、産業上も内水面養殖において重要な魚種である。その商品価値に体色は少なからぬ影響を与える。養殖には青色の水槽がよく使われるが、それに加えて白、黒、濃い灰色と薄い灰色を加えて体色およびホルモン遺伝子発現への効果を調べた⁴⁶⁾。ここでは白と黒背地にしばって話を進める。

体色の明度は背側部および腹側部とも、白背地区の値が黒背地区よりも高い値をしめした。脳内 *pmch1* mRNA 含量は白背地区で黒背地区より多いが、*pmch2* mRNA 含量に差は認められない。2種類存在する *pomc* 遺伝子においては、*pomc-a* と *pomc-b* いずれの下垂体内 mRNA 含量も黒背地区の値が白背地区よりも多い。これらの発現の様子はマツカワよりもキンギョで認められたものに近い。MCH1 と MSH がともに背地色と体色の間に介在していることが考えられる。

ニジマスにおいて *pmch1* と *pmch2* の発現動態が異なることは、これらにコードされる MCH1 と MCH2 の多様と考えられる機能が、どちらも色素を凝集させる点では一致するが、必ずしも多岐にわたって共通するわけではないことを示唆する。これを支持する知見を最近キンギョにおいて得た。また、MCH はキンギョとマツカワでは体色明化を引き起こすが、マツカワと同属のホシガレイでは、それが当てはまらないことを見出した。MSH をコードする *pomc* の発現は、キンギョとニジマスでは背地色に応答して変動し、マツカワでは応答しない。ホシガレイでの発現動態はキンギョ、ニジマス、マツカワのいずれとも異なることが最近分かった。これらの、キンギョとホシガレイにおける知見を以下に紹介する。論文は投稿中あるいは作成中であるため、断片的な記述になることをご容赦頂きたい。

7. 未解決課題～多様で深遠な魚類の体色制御内分泌

7.1. キンギョ

魚類の MCH には魚類型と哺乳類型の 2 種類が存在する³¹⁾⁻³³⁾。これらは構造が類似していることから、似かよった活性を有すると考えら

れる。事実、キンギョとマツカワの色素胞では魚類型も哺乳類型もともに凝集活性を表す。しかし、背地順応において、これら遺伝子の発現は必ずしも同調するわけではない。一例として、水温 25°C あたりでは白背地で *pmch1* の発現量は増加するが、*pmch2* の発現には白背地と黒背地で差が認められない⁴⁷⁾。よって、*pmch2* は体色調節以外の役割を有している可能性がある。一方で、マツカワの MCH-R1 に対して MCH1 と MCH2 はほぼ同様に作用する³³⁾。MCH-R2 も同様であり、MCH1 と MCH2 をほとんど識別しない。MCH1 と MCH2 に特異的な受容体の存在は知られていないことから、これら 2 種の MCH の機能的な差異を受容体の分布から推定することは難しい。では、MCH1 と MCH2 の産生・分泌経路にはどのような違いがあるのだろうか。これを知るための有効な方法は産生ニューロンの投射先を知ることである。細胞体ばかりでなく軸索の染色が必須であることから、*in situ* ハイブリダイゼーションではなく免疫組織染色法を駆使することになる。これまで、MCH1 および MCH2 それぞれに特異的な抗体は知られていなかった。しかし現在、我々はこれを打開する方法を見出し、ニューロンの染め分けを可能にした。2021 年 8 月に福岡で開催される学術集会ではそれをご覧頂きたい。

7.2. カレイ類、特にホシガレイ

背地色と体色を繋ぐインターフェースとしての役割を探求する上で、MCH と MSH、ならびにこれらをコードする *pmch* と *pomc* の動態は貴重な情報となる。キンギョ、マツカワおよびニジマスにおいて、*pmch* の発現は背地色に対応して変動することから、MCH が体色明化に、いわば「積極的」に関与することが分かる。一方、*pomc* の発現はキンギョとニジマスでは背地色に応じて発現が異なる。これら 2 魚種では *pomc* にコードされる MSH が体色暗化に積極的に関与すると考えられる。しかしマツカワにおいては *pomc* 発現が背地色に際して変動するとは言い難い。そこで我々は、マツカワでは MSH が定常的に（あるいは構成的に）常に一定の作用を発揮しているとして、MCH と交感神経の作用が弱いときには相対的に MSH が強くなり、逆に MCH と交感神経の作用が強いときには相対的に MSH が弱くなるモデルを提唱した²⁹⁾ (図 5)。このモデルでは、MSH は縁の下の力持ちとして「消極的」に体色調節に関与する。

ホシガレイは、分類上はマツカワ属に含まれるが、背地順応のようすとそれに係わるホルモ

ン遺伝子の動態はマツカワとは異なる⁴⁸⁾。MCHの腹腔内投与により体色は明化する。従って、ホシガレイには機能的なMCHシステムが存在する。しかし体色が白背地に順応しにくく、明化が鈍い。第二に、脳内における*pmch1*と*pmch2*の発現にも背地色に応じた変動は認められない。さらには、下垂体における*pomc*の発現にも、必ずしも黒背地で増加が認められるわけではない。キンギョと比べると、マツカワは背地順応と*pmch*の発現動態の2点で類似するが、*pomc*では異なる。ところがホシガレイは背地順応、*pmch*発現動態および*pomc*発現動態の3指標すべてにおいて異なっている。

キンギョは水中を泳ぎまわるが、カレイ類は底面に静止していることが多い。自然界に存在しない滑らかな底面は、無眼側の黒化に見られるように、おそらく神経系と内分泌系に影響する。その影響があるにしても、ホシガレイに認めた現象はマツカワとは明らかに異なり、種特異的である。体色調節の仕組みは千差万別である。

8. まとめと展望

以上、本稿では魚類の体色調節におけるMSHとMCHの役割について、我々の研究成果を中心に紹介した。キンギョ、カレイ類、ニジマスと、たったこれだけの魚種において体色調節メカニズムの多様性が認められた。そして、それらの分子機構を比較解析することにより、MSHのアセチル化の重要性や、その受容体に見られるヘテロ二量体形成の意義、光環境への応答におけるMCHの重要性、MSH、MCH、ノルアドレナリンの力関係などにかかわる知見を見出すことができた。比較生物学の醍醐味である、遺伝子に刻まれてきた環境適応と分子進化の歴史を「比較」によって解き明かす過程の一例をお示しできたかと思う。

前節に未解決の問題をいくつか挙げた。今後詳細な検討が必要であるが、MSHとMCHの多機能性は、体色調節機構をさらに複雑にしている可能性がある。MCHとMSHは中枢において他の神経ペプチドと相互作用して摂食調節やエネルギー代謝に関与する。近年、MCHは哺乳類と魚類において単に摂食行動だけでなく脳の睡眠・覚醒リズムの安定化を司ることが明らかになってきた^{49), 50)}。一方、MSHの前駆体POMCからは、ストレス応答の鍵である副腎皮質刺激ホルモンと気分の高揚を引き起こすβ-エンドルフィンも産生される²⁰⁾。MCHとMSH、そしてそれらと相互作用するホルモンや神経ペ

プチドが多様な現象に係わることにより、その中の一つの機能である体色調節メカニズムは、エネルギー状態、環境の日周変動、ストレス（社会性）の影響を受ける可能性がある。これらの因子と体色調節の関係を紐解くためには、今後も地道な飼育実験の積み重ねが必要である。

本稿では触れなかったこととして、中枢を介さない体色調節システムの存在も考慮する必要がある。魚類の体色は、脳・下垂体から分泌されるホルモンと交感神経系による中枢からの調節だけでなく、色素胞とその周辺による局所的な調節も受けている¹⁷⁾。すなわち、色素胞自身、またはその周辺の組織が環境の光情報を受容しており、末梢レベルで体色調節を行っている。その分子メカニズムは中枢による体色調節に比べてほとんど解明されていない。魚類の体色調節システムには、まだまだ未知の世界が広がっている。

【引用文献】

- 1) 日高敏孝, 1983, 動物の体色, 東京大学出版会.
- 2) Kawauchi H, Kawazoe I, Tsubokawa M, Kishida M, Baker BI, 1983, Characterization of melanin-concentrating hormone in chum salmon pituitary. *Nature* **305**, 321–323.
- 3) Vaughan AM, Fischer WH, Hoeger C, Rivier H, Vale W, 1989, Characterization of melanin-concentrating hormone from rat hypothalamus. *Endocrinology* **126**, 1660–1665.
- 4) Qu D, Ludwig DS, Gammeltoft S, Piper M, Pellymouner MA, Cullen MJ, Mathes WF, Przypek J, Kanarek R, Maratos-Flier E, 1996, A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behavior. *Nature* **380**, 243–247.
- 5) 高橋明義, 2019, 緑の光が日本の漁業を救う—陸上養殖のカギとなる光の効能とは, オプトロニクス, **38**, 94–99.
- 6) 高橋明義, 清水大輔, 都留久美子, 木藪仁和, 水澤寛太, 2019, 緑色光照射によるホシガレイとヒラメの成長促進, アクアネット **22**, 44–49.
- 7) 高橋明義, 清水大輔, 都留久美子, 2021, 魚類養殖へのグリーンインパルス, 電気設備学会誌 **41**, 33–37.
- 8) 水澤寛太, 高橋明義, 2020, 緑色光によるカレイの成長促進現象～魚の生態と光環境～海洋と生物 **42**, 586–591.

- 9) 吉田信行, 2015, 金魚はすごい, 講談社+α新書.
- 10) Chen Z, Omori Y, Koren S, Shirokiya T, Kuroda T, Miyamoto A, Wada H, Fujiyama A, Toyoda A, Zhang S, Wolfsberg TG, Kawakami K, Phillipy AM, NISC Comparative Sequencing Program, Mullikin, JC, Burgess SM, 2019, De novo assembly of the goldfish (*Carassius auratus*) genome and the evolution of genes after whole-genome duplication. *Sci. Adv.* **5**, eaav0547.
- 11) Blanco AM, Sundarrajan L, Juan Ignacio Bertucci JI, Unniappan S, 2018, Why goldfish? Merits and challenges in employing goldfish as a model organism in comparative endocrinology research. *Gen. Comp. Endocrinol.* **257**, 13–28.
- 12) Mizusawa K, Kobayashi Y, Sunuma T, Asahida T, Saito Y, Takahashi A, 2011, Inhibiting roles of melanin-concentrating hormone for skin pigment dispersion in barfin flounder, *Verasper moseri*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **171**, 75–81.
- 13) 山下洋, 2013, ヒラメ・カレイのおもてどうら 平たい魚のウラの顔, 恒星社厚生閣.
- 14) Ramachandran VS, Tyler CW, Gregory RL, Rogers-Ramachandran D, Duensing S, Pillsbury C, Ramachandran C, 1996, Rapid adaptive camouflage in tropical founders. *Nature* **379**, 815–818.
- 15) 山野目健, 高橋明義, 2009, 光環境と魚類生理～マツカワの無眼側黒化から成長促進へ, 比較内分泌学 **133**, 93–98.
- 16) Yamanome T, Amano M, Takahashi A, 2005, White background reduces the occurrence of staining, activates melanin-concentrating hormone and promotes somatic growth in barfin flounder. *Aquaculture* **244**, 323–329.
- 17) 杉本雅純, 2015, 変温脊椎動物の色素細胞－多様な体色と体色変化の仕組み－, 伊藤祥輔, 柴原茂樹, 錦織千佳子監修, 色素細胞, 第2版－基礎から臨床へ－, 慶應義塾大学出版会, pp.146–159.
- 18) 藤井良三, 1975, 色素細胞, 東京大学出版会.
- 19) Chen D, Zhang Q, Tang W, Huang Z, Wang G, Wang Y, Shi J, Xu H, Lin L, Li Z, Chi W, 2020, The evolutionary origin and domestication history of goldfish (*Carassius auratus*). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **117**, 29775–29785.
- 20) Takahashi A, Mizusawa K, Amano M, 2014, Multifunctional roles of melanocyte-stimulating hormone and melanin-concentrating hormone in fish: evolution from classical body color change. *Aqua-BioSci. Monogr.* **7**, 1–46.
- 21) Kobayashi Y, Chiba H, Mizusawa K, Suzuki N, Cerdá-Reverter JM, Takahashi A, 2011, Pigment-dispersing activities and cortisol-releasing activities of melanocortins and their receptors in xanthophores and head kidneys of the goldfish *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **173**, 438–446.
- 22) Yasuda A, Tatsu Y, Shigeri Y, 2012, Characterization of triacetyl- α -melanocyte-stimulating hormone in carp and goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.* **175**, 270–276.
- 23) Cerdá-Reverter JM, Ling MK, Schiöth HB, Peter RE, 2003, Molecular cloning, characterization and brain mapping of the melanocortin 5 receptor in the goldfish. *J. Neurochem.* **87**, 1354–1367.
- 24) Cerdá-Reverter JM, Ringholm A, Schiöth HB, Peter RE, 2003, Molecular cloning, pharmacological characterization, and brain mapping of the melanocortin 4 receptor in the goldfish: involvement in the control of food intake. *Endocrinology* **144**, 2336–2349.
- 25) Kobayashi Y, Mizusawa K, Yamanome T, Chiba H, Takahashi A, 2009, Possible paracrine function of α -melanocyte-stimulating hormone and inhibition of its melanin-dispersing activity by N-terminal acetylation in the skin of the barfin flounder, *Verasper moseri*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **161**, 419–424.
- 26) Kobayashi Y, Mizusawa K, Chiba H, Tagawa M, Takahashi A, 2012, Further evidence on acetylation-induced inhibition of the pigment-dispersing activity of α -melanocyte-stimulating hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* **176**, 9–17.
- 27) Kobayashi Y, Tsuchiya K, Yamanome T, Schiöth HB, Takahashi A, 2010, Differential expressions of melanocortin receptor subtypes in melanophores and xanthophores of barfin flounder. *Gen. Comp. Endocrinol.* **168**, 133–142.
- 28) Kobayashi Y, Hamamoto A, Takahashi A, Saito Y, 2016, Dimerization of melanocortin receptor 1 (MC1R) and MC5R creates a ligand-dependent signal modulation: Potential participation in physiological color change in the flounder. *Gen. Comp. Endocrinol.* **230**, 103–109.
- 29) Mizusawa K, Kobayashi Y, Yamanome T, Saito Y, Takahashi A, 2013, Interrelation between melanocyte-stimulating hormone and melanin-concentrating hormone in physiological body

- color change: Roles emerging from barfin flounder *Verasper moseri*. Gen. Comp. Endocrinol. **181**, 229–234.
- 30) Yamanome T, Chiba H, Takahashi A, 2007, Melanocyte-stimulating hormone facilitates hypermelanosis on the non-eyed side of the barfin flounder, a pleuronectiform fish. Aquaculture **270**, 505–511.
- 31) Berman JR, Skariah G, Maro GS, Mignot E, Mourrain P, 2009, Characterization of two melanin-concentrating hormone genes in zebrafish reveals evolutionary and physiological links with the mammalian MCH system. J. Comp. Neurol. **517**, 695–710.
- 32) Diniz GB, Bittencourt JC, 2019, The melanin-concentrating hormone (MCH) System: A tale of two peptides. Front. Neurosci. **13**, article 1280.
- 33) Mizusawa K, Kawashima Y, Sunuma T, Hamamoto A, Kobayashi Y, Kodera Y, Saito Y, Takahashi A, 2015, Involvement of melanin-concentrating hormone 2 in background color adaptation of barfin flounder *Verasper moseri*. Gen. Comp. Endocrinol. **214**, 140–148.
- 34) Matsuda K, Shimakura SI, Maruyama K, Miura T, Uchiyama M, Kawauchi H, Shioda S, Takahashi A, 2006, Central administration of melanin-concentrating hormone (MCH) suppresses food intake, but not locomotor activity, in the goldfish, *Carassius auratus*. Neurosci. Lett. **399**, 259–263.
- 35) Mizusawa K, Saito Y, Wang Z, Kobayashi Y, Matsuda K, Takahashi A, 2009, Molecular cloning and expression of two melanin-concentrating hormone receptors in goldfish. Peptides **30**, 1990–1996.
- 36) Takahashi A, Kosugi T, Kobayashi Y, Yamanome T, Schiöth HB, Kawauchi H, 2007, The melanin-concentrating hormone receptor 2 (MCH-R2) mediates the effect of MCH to control body color for background adaptation in the barfin flounder. Gen. Comp. Endocrinol. **151**, 210–219.
- 37) Kasagi S, Mizusawa K, Takahashi A, 2020, The effects of chromatic lights on body color and gene expressions of melanin-concentrating hormone and proopiomelanocortin in goldfish (*Carassius auratus*). Gen. Comp. Endocrinol. **285**, 113266.
- 38) Mizusawa K, Yamamura Y, Kasagi S, Cerdá-Reverter JM, Takahashi A, 2017, Data on the density of xanthophores in a whole scale of goldfish acclimated to white or black background color. Data Brief **14**, 724–729.
- 39) Mizusawa K, Yamamura Y, Kasagi S, Cerdá-Reverter JM, Takahashi A, 2018, Expression of genes for melanotropic peptides and their receptors for morphological color change in goldfish *Carassius auratus*. Gen. Comp. Endocrinol. **264**, 138–150.
- 40) Amiya N, Amano, Takahashi A, Yamanome T, Kawauchi H, Yamamori K, 2005, Effects of tank color on melanin-concentrating hormone levels in the brain, pituitary gland, and plasma of the barfin flounders revealed by a newly developed time-resolved fluoroimmunoassay. Gen. Comp. Endocrinol. **143**, 251–256.
- 41) Amiya N, Amano, M, Yamanome T, Yamamori K, Takahashi A, 2008, Effects of background color on GnRH and MCH levels in the barfin flounder brain. Gen. Comp. Endocrinol. **155**, 88–93.
- 42) Takahashi A, Tsuchiya K, Yamanome T, Amano M, Yasuda A, Yamamori K, Kawauchi H, 2004, Possible involvement of melanin-concentrating hormone in food intake in a teleost fish, barfin flounder. Peptides **25**, 1613–1622.
- 43) Takahashi A, Amano M, Itoh T, Yasuda A, Yamanome T, Amemiya Y, Sasaki K, Sakai M, Yamamori K, Kawauchi H, 2005, Nucleotide sequence and expression of three subtypes of proopiomelanocortin mRNA in barfin flounder. Gen. Comp. Endocrinol. **141**, 291–303.
- 44) Kobayashi Y, Chiba H, Amiya N, Yamanome T, Mizusawa K, Amano M, Takahashi A, 2008, Transcription elements and functional expression of proopiomelanocortin genes in the pituitary gland of the barfin flounder. Gen. Comp. Endocrinol. **158**, 259–267.
- 45) Takahashi A, Amano, M, Amiya N, Yamanome T, Yamamori K, Kawauchi H, 2006, Expression of three proopiomelanocortin subtype genes and mass spectrometric identification of POMC-derived peptides in pars distalis and pars intermedia of barfin flounder pituitary. Gen. Comp. Endocrinol. **145**, 280–286.
- 46) Kasagi S, Miura M, Okazaki T, Mizusawa K, Takahashi A, 2020, Effects of tank color brightness on the body color, somatic growth, and endocrine systems of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Gen. Comp. Endocrinol. **298**, 113581.
- 47) 楊婷舒, 笠木聡, 水澤寛太, 高橋明義, 2020, 背地色および給餌条件がキンギョの体色調節

ホルモンおよび成長ホルモンファミリーの発現に与える影響, 令和2年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p31.

- 48) 山口大梧, 清水大輔, 前田知己, 笠木聡, 水澤寛太, 高橋明義, 2020, ホシガレイ体色の背地順応とメラニン凝集ホルモンの作用, 令和2年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p.30.

49) Izawa S, Chowdhury S, Miyazaki T, Mukai Y, Ono D, Inoue R, Ohmura Y, Mizoguchi H, Kimura K, Yoshioka M, Terao A, 2019, REM sleep-active MCH neurons are involved in forgetting hippocampus-dependent memories. *Science* **365**, 1308–1313.

50) Leung LC, Wang GX, Madelaine R, Skariah G, Kawakami K, Deisseroth K, Urban AE, Mourrain P, 2019, Neural signatures of sleep in zebrafish. *Nature* **571**, 198–204.

紹介-1

条鰭類におけるメラニン凝集ホルモンニューロンの向下垂体投射様式の変遷

自治医科大学医学部薬理学講座分子薬理学部門

東 森生

azumam@jichi.ac.jp

日本下垂体研究会誌 Journal of Japan Society for Pituitary Research (vol.8, 15, 2021)

はじめに

メラニン凝集ホルモン (MCH) は、哺乳類では摂食亢進やうつ不安惹起を起こすことが知られる神経ペプチドである。一方、条鰭類の魚種では一般に、下垂体神経葉に MCH ニューロンの軸索が投射し、MCH を血中に放出して体色を明化させる。しかしながら、条鰭類の進化系統でいつから神経葉に軸索を投射させたのかはわかっていなかった。

条鰭類に特異な MCH ニューロンの形質が獲得された進化的背景を探ることは、神経葉に軸索を導く分子機序を解明する一助となると考えている。また、進化系統における MCH の機能の変遷を明確にし、種に特異的または普遍的な働きを見出すべく、以下の研究を進めている。

下垂体神経葉への MCH ニューロンの投射

MCH ニューロンの投射領域の変遷を探るため、現生条鰭類で最初期に分岐したポリプテルスと二番目に分岐したチョウザメにおける MCH の分布を免疫組織化学的手法により比較した。その結果、ポリプテルスでは神経葉に MCH ニューロンが投射しないこと、チョウザメでは MCH ニューロンが神経葉に投射することを発見した(図 a, b)。さらに、MCH ニューロンの細胞体を *in situ* hybridization 法により可視化し、ポリプテルスの MCH ニューロン (10 μm) と比べ、神経葉に投射するチョウザメの MCH ニューロンは大型 (20 μm) であることが明らかとなった(図 c, d)。大型の MCH ニューロンは視床下部腹側に局在し、ポリプテルスには存在しない。現在、ポリプテルスとの比較からチョウザメの MCH ニューロン特異的に発現する遺伝子を探索しており、MCH ニューロンが神経葉へ投射する仕組みを明確にしたい。

正中隆起相当部への MCH ニューロンの投射

MCH ニューロンの投射先を探る過程で、ポリプテルスの正中隆起相当部に MCH 免疫陽性線維が観察された (図 e)。すなわち、ポリプテルスでは MCH が下垂体門脈に放出され、下垂体ホルモン分泌の調節に関わる可能性がある。すでに、*in situ* hybridization 法により、ポリプ

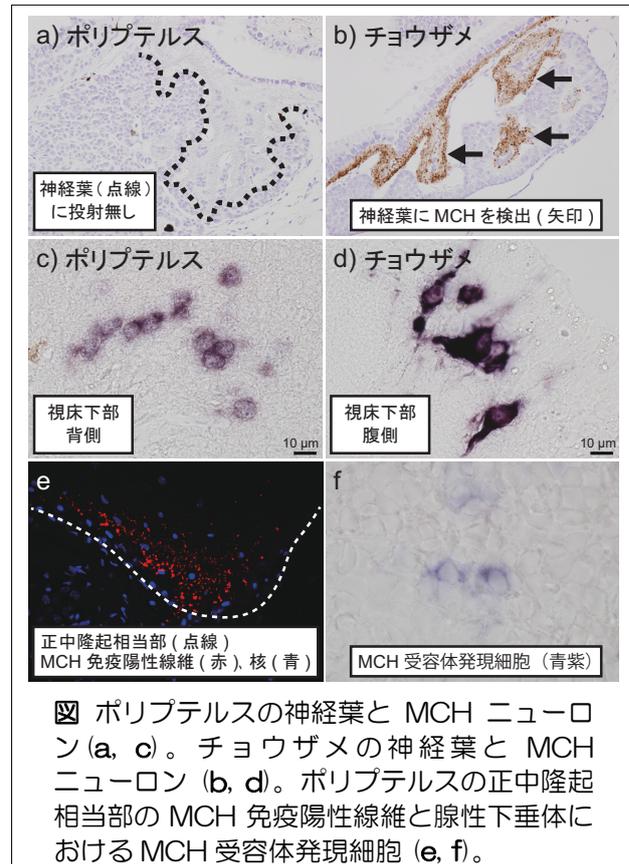


図 ポリプテルスの神経葉と MCH ニューロン (a, c)。チョウザメの神経葉と MCH ニューロン (b, d)。ポリプテルスの正中隆起相当部の MCH 免疫陽性線維と腺性下垂体における MCH 受容体発現細胞 (e, f)。

テルス腺性下垂体に MCH 受容体を発現する細胞を検出している (図 f)。加えて、チョウザメにおいても正中隆起相当部に MCH 免疫陽性線維が観察され、MCH 受容体を発現する細胞も腺性下垂体で検出できている。これらの結果は、脊椎動物の一部の進化系統では、下垂体ホルモンの分泌調節因子として MCH が働くことを示唆する。MCH によるホルモン分泌調節機構を明確にすることは今後の課題である。

終わりに

他にハイギョやアロワナ、アンコウなど 40 種ほどの魚類の下垂体組織を見比べる中で、本研究の着想に至り、まだまだ始まったばかりである。可能であれば、大会の場で活発な意見交換を経て、切磋琢磨できることを期待している。また、2020 年 8 月より、監事を拝命した。学生時代から現在まで 14 年間お世話になってきた本研究会の役に立てるよう尽力したい。

紹介-2

夏眠に関する研究～伊良湖での研究会への感謝～

北里大学海洋生命科学部

阿見彌 典子

namiya@kitasato-u.ac.jp

日本下垂体研究会誌 Journal of Japan Society for Pituitary Research (vol.8, 16, 2021)

最近よく、2010年に愛知県伊良湖で開催された第25回日本下垂体研究会のことを思い出します。博士課程を修了したばかりの私に東村博子先生が講演の機会をくださり、とても緊張しながらも嬉しかったことをよく覚えています。その時、共に演者として招待されていたのが、岡田令子先生（静岡大）と水口智江可先生（名古屋大）でした。この頃、私は魚類の食欲調節機構を解明しようとMCHやMSHに着目して研究していました。その中で、食欲に関する実験で頻繁に行われる「無給餌実験」がずっと気になっていました。それは、給餌を止めることと、魚が自ら摂餌を止めることは、ともに「餌を体内に取り込まない」という点では同じですが、脳で制御される食欲の機能を調べる際には分けて考えるべきと感じていたためです。そこで、好ましくない環境下で摂餌活性が低下し、魚が自発的に摂餌を停止させた場合（休眠期）の食欲調節システムを調べてみたいと考えました。そのために、イカナゴ *Ammodytes japonicus* を対象とした研究を始めることになりました。

イカナゴは日本沿岸に広く生息しており、くぎ煮や釜揚げとして食用になるだけでなく、海の生態系では高次捕食者の餌生物としても重要な水産重要種です。イカナゴは、昼間は遊泳して摂餌を行い、夜間は砂に潜ります（潜砂行動、図1）。また、夏季の高水温期には昼も夜も砂の中に潜り続け、摂餌しなくなります。こ



図1. イカナゴの潜砂行動

れは夏眠と呼ばれ、約半年もの長期間にわたって続きます。さらに、この期間に性成熟が始まります。現在は、イカナゴの飼育実験を行い、行動解析に加えて、潜砂や夏眠に関わる内分泌機構の解明に取り組んでいます。魚類では休眠の研究がほとんどなく、文献を検索すると昆虫の論文がたくさんヒットします。そこで思い出したのが、伊良湖での研究会でお会いした、昆虫を対象として研究をされている水口先生でした。さっそくメールでお尋ねすると、私のことを覚えていてくださり、突然のことにも関わらず休眠に関する質問に答えてくださいました。

当初、「休眠タンパク質」なるものを探索すればよいと単純に考えていましたが、休眠現象の複雑さを昆虫を例に丁寧に教えてくださり、そのお陰で自身の実験案が拙いことに気づけました。ショウジョウバエは成長期から成熟期に飢餓応答を切り替えることで将来の生存や繁殖に関する適応度を最大にする戦略を持つというような報告もあり、こうした知見からヒントを得ながらイカナゴの研究を進めています。まだ下垂体研究会で発表できるようなデータはありませんが、ぜひ近い将来にアドバイスをいただければ幸いです。

研究繋がりで水口先生のお話をさせていただきましたが、別の学会では岡田先生とも接する機会が多く、2010年の伊良湖で一緒に講演させていただいたあの日がどれだけ貴重であったかを改めて思い出します。それと同時に、多くのサポートを受けながら好きな研究を続けられていることをとても嬉しく思います。そして最後に、貴重な機会を与えてくださった第25期会長の故前多敬一郎先生と東村先生に心から感謝しています。また下垂体研究会で発表できることを目標にして今後も研究に励みます。

紹介-3

In vitro 分化誘導法を用いた視床下部神経幹細胞の再生

¹名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学、²東京大学医科学研究所 幹細胞治療分野
加納 麻弓子^{1,2}、須賀 英隆¹、有馬 寛¹
makano@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

日本下垂体研究会誌 Journal of Japan Society for Pituitary Research (vol.8, 17-18, 2021)

Tanycytes は視床下部第三脳室壁に存在する細胞群であり、長い単極性の軸索を脳実質内へと送っている。近年、Tanycytes は成体視床下部における神経新生領域として注目されており、神経新生やエクソソーム分泌を介して摂食やエネルギー代謝、老化速度の制御に関わっていると考えられている。さらに、Tanycytes は加齢によって失われることや Tanycytes の障害によって肥満や糖尿病状態を引き起こすことが報告されている^{1,2)}。そのため、多能性幹細胞を用いた Tanycytes の試験管内再生は、老化や疾患による視床下部機能障害に対する新たな治療アプローチあるいは基礎研究の有用な手段になり得ると期待される。

我々のグループではマウスおよびヒト多能性幹細胞を用いた視床下部分化誘導系を報告しており、これらの培養系を保持している。マウス ES 細胞視床下部分化誘導系において、分化誘導 7 日目といった早い段階で視床下部前駆細胞に強く発現する転写因子 *Rax* は経過とともに発現量が低下していくが、一部の領域ではこの *Rax* 発現が残存し続けることに着目した。*vivo* において、発生初期に視床下部前駆細胞に広く発現する *Rax* は発生段階が進むにつれて減少し、成体視床下部では Tanycytes の一部に限局して発現し続けていることが知られている。さらに、Tanycytes は FGF レセプターを発現し、*vivo* から *vitro* の系に移した場合、FGF2 や EGF といった増殖因子存在下で長期にわたって自己増殖可能な Neurosphere を形成することが報告されている³⁾。マウス ES 細胞視床下部分化誘導系後期に残存している *Rax* 陽性細胞も、*vivo* と同様に成熟段階の視床下部組織における神経幹細胞

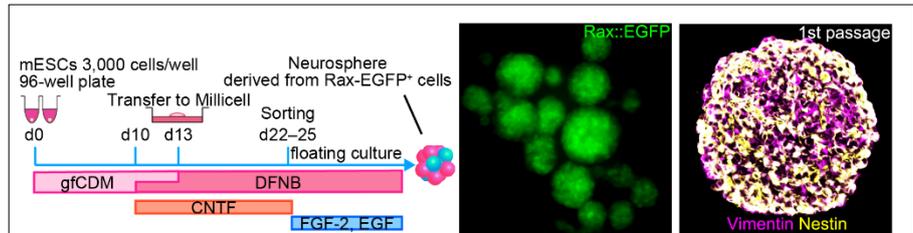


図 1. *Rax-EGFP*⁺細胞からの Neurosphere 形成

Neurosphere には広汎に神経幹細胞マーカーが発現している。Endocrinology. 2019; 160: 1701-1718 より引用、一部改変。

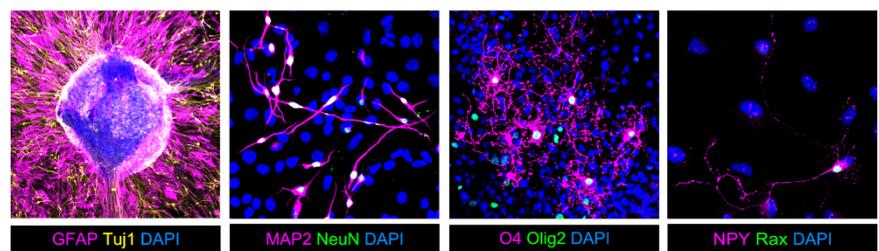


図 2. *Rax-EGFP*⁺ Neurosphere の接着培養

ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトの 3 系統の神経系細胞へと分化した。一部には NPY⁺の視床下部ニューロンも認められる。Endocrinology. 2019; 160: 1701-1718 より引用、一部改変。

として機能しているのではないかと仮説のもと検討を開始した。本研究では *Rax* 陽性細胞を可視化できる *Rax-EGFP* ノックインマウス ES 細胞を使用した。成熟ニューロンが盛んに産生されている視床下部分化誘導系後期に、*Rax-EGFP*⁺細胞をセルソーターにてソーティングし、その性質を評価した。ソーティングした *Rax-EGFP*⁺細胞は Sox2、Vimentin、Nestin といった代表的な神経幹細胞マーカーを発現し、外因性の FGF2 依存性に継代可能な Neurosphere を形成することがわかった (図 1)。さらに Neurosphere を接着培養させることによって、多数の MAP2⁺NeuN⁺ニューロン、GFAP⁺アストロサイト、さらに前者として比較して少数ではあるものの O4⁺MBP⁺オリゴデンドロサイトの 3 系統の神経系細胞へと分化し、一部には摂食に関わる視床下部神経である Neuropeptide Y⁺ニューロンが認められた (図 2)。以上の結果から、*Rax-EGFP*⁺細胞は成体 Tanycytes と同様に自己

増殖能と多分化能を有し、神経幹細胞であることが示唆された。現在、移植実験および将来の臨床応用に向けてヒト多能性幹細胞視床下部分化誘導系における Tanycytes 様細胞の解析を進めている。

【引用文献】

1) Lee DA, Bedont JL, Pak T, Wang H, Song J, Miranda-Angulo A, Takiar V, Charubhumi V, Balordi F, Takebayashi H, Aja S, Ford E, Fishell G, Blackshaw S. Tanycytes of the hypothalamic median eminence form a diet-responsive neurogenic niche. *Nat Neurosci.* 2012;15(5):700–702.

2) Zhang Y, Kim MS, Jia B, Yan J, Zuniga-Hertz JP, Han C, Cai D. Hypothalamic stem cells control ageing speed partly through exosomal miRNAs [published correction appears in *Nature*. 2018;560(7719):E33]. *Nature.* 2017;548(7665):52–57.

3) Robins SC, Stewart I, McNay DE, Taylor V, Giachino C, Goetz M, Ninkovic J, Briancon N, Maratos-Flier E, Flier JS, Kokoeva MV, Placzek M. a-Tanycytes of the adult hypothalamic third ventricle include distinct populations of FGF-responsive neural progenitors. *Nat Commun.* 2013;4(1):2049.

本誌は、日本下垂体研究会の会誌として、下垂体及びその関連する分野に関する記事（論文 I、論文 II、短報）とその他（解説、学会記録、紹介、事務局からのお知らせなど）を掲載する。会誌の発行は年 1 回（3 月末）とする。本誌は、印刷版に加えて Web 掲載（PDF 形式、Open access）する。

1. 執筆要領

- 1) 使用言語は日本語ないし英語とする。
- 2) 最初の頁に表題、著者名（所属）、E-mail address を書く。
- 3) 本文に節を設ける場合は、1.○○○、2.△△△、3.□□□、をつけて節を示す。節の見出しは簡潔にする。
- 4) 文字はなるべく常用漢字と新仮名遣いとする。
- 5) 述語、物質名などは、できる限り日本語で表し、必要に応じてその原語を（ ）で示す。ただし、略号に関してはそのまま用いる。（例）テストステロン、cAMP
- 6) 生物名は、片仮名書きの和名で表し、必要に応じて初出時に学名を（ ）で示す。学名は斜体（イタリック体）文字で標記する。（例）ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)
- 7) 人名は、姓の原綴りで示す。
（例）吉村は、Guillemin と Schally は、
- 8) 原則として国際単位（SI）記号、化学記号、数学記号は立体、量記号は斜体とする。
（例）h、cm、A、g、H₂O
- 9) 数字は、原則としてアラビア数字を用いる。ただし、漢字と結合して名称を表すものは、漢字とする。（例）1 つ、2~3 時間、50 個、数十個、一例
- 10) 文献の記載方法
参考文献は、本文の出現順に並べ、1 から順に通し番号をつけて文末にまとめる。本文中での引用箇所には、通し番号を右肩につけて示す（表示のしかたは下記の例を参照）。著者名を引用する場合、3 名以上の連名のときは“ら”あるいは“*et al.*”とする。
（例）吉村らによると^{1)~3)}、……である^{4)、6)、7)}。
- 11) 文末の参考文献の記載は、次のようにする。著者が連名の場合でも省略せず、全員の名前を記載する。
[雑誌] 通し番号) 著者名, 発行年, 題名, 雑誌名 (省略形), 巻 (ボールド), ページ。
[書籍] 通し番号) 著者名, 発行年, 表題, 編集者, 書名, 出版社, ページ。
（例）1) Fujiwara K, Maliza R, Tofrizal A, Batchuluun K, Ramadhani D, Tsukada T, Azuma M, Horiguchi K, Kikuchi M, Yashiro T, 2014, In situ hybridization analysis of the temporospatial expression of the midkine/pleiotrophin family in rat embryonic pituitary gland. *Cell Tissue Res.* **357**, 337-44.
2) 川島誠一郎, 1993, ホルモンとホメオスタシス, 川島誠一郎編, 内分泌学, 朝倉書店, pp.6-7
- 12) 表は簡潔な表題と必要な説明をつけて、本文とは別に作成する。
- 13) 図には必ず簡潔な表題をつける。図の表題と説明は、図面原稿とは別紙にまとめて書く。
- 14) 図および表の表示は、図 1、図 2、……、表 1、表 1、……の通し番号で行う。これら挿入する箇所を本文の原稿欄に赤字で指示する。
- 15) 図および表を文献から引用した場合は、引用を明記するとともに、引用の許可が必要な場合には、著者の責任で許可をとっておく。

2. 原稿は、すべてワードプロセッサ（ワープロ）を使用する。フォントはタイトル、サブタイトルはゴシック体、本文は明朝体、英数字は Times New Roman を使用する。左寄せで打ち、行間は「1 行」とする。特殊なコマンドは使用しない。

3. 本誌の刷り上がり 1 頁は、21 字×40 行×2 段 = 1680 字の分量に対応する。

4. 記事内容

- 1) 論文 I: 下垂体あるいは関連分野における最近の目立った研究成果や学界で注目された事象に関する記事を掲載する。（5 千字～1 万字程度 = 図を含めて 4～6 頁程度）
- 2) 論文 II: 吉村賞を受賞した者に、受賞講演内容に関する総説の執筆を依頼する。（5 千字～1 万字程度 = 図を含めて 4～6 頁程度）
- 3) 短報: 日本下垂体研究会の開催する学術集会において、最優秀発表賞等を受賞した研究者に原稿を依頼する。（1 千字 = 図を含めて 1 頁程度）
- 4) 解説、学会記録、紹介、事務局からのお知らせなど

5. その他

- i) 掲載希望の方は、編集委員に連絡の上、発行の 1 ヶ月前までに原稿をお届けください。
- ii) 投稿原稿（論文 I）の採用は、編集委員を含む 2 名の査読により決定し、その他の採用は編集委員で査読し決定します。
- iii) 本誌に掲載された記事、画像の著作権は、日本下垂体研究会に帰属します。
- iv) 本文中の図は、写真も含め、白黒およびカラーのどちらの使用も認めます。
- v) 掲載料、寄稿や記事の掲載に著者負担はありません。
- vi) 校正は著者による校正を 1 回のみ行います。日本下垂体研究会誌編集委員より著者宛に E-mail で初稿が送られますので、校正して当該委員へ返送してください。

6. 論文の送り先

各日本下垂体研究会誌編集委員へ E-mail で送ってください。

〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1

自治医科大学医学部総合教育部

電話: 0285-58-7097 Fax: 0285-40-6664

編集長 : 菊地元史: kikuchim@jichi.ac.jp

編集委員: 藤原 研: fujiwarak@kanagawa-u.ac.jp

東 森生: azumam@jichi.ac.jp