

ニワトリにおける羽色調節の品種差

Breed difference in the regulation of feather coloration in chickens

高橋 徹・西尾 香織・御輿 真穂・高橋 純夫・竹内 栄
Toru Takahashi, Kaori Nishio, Maho Ogoshi, Sumio Takahashi, Sakae Takeuchi

岡山大学大学院自然科学研究科生体統御学グループ

Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University

はじめに

ニワトリの成鳥では、羽装色に顕著な雌雄差（性的二型）が見られる。オスは、鞍部の羽が明るく胸部の羽が暗い派手な婚姻色パターンを示すのに対し、メスは、鞍部の羽が暗く胸部の羽が明るい逆影の保護色パターンを示す。羽装色の基礎をなす個々の羽の色は、主に羽包メラノサイトが合成する2種類のメラニン色素に起因する[3]。

羽包メラノサイトが黒～茶褐色を呈するユーメラニンと、赤～黄褐色を呈するフェオメラニンのどちらを合成するのかは、羽包内の局所メラノコルチン系により制御されている可能性が示唆されている。すなわち、このメラノコルチン系は、メラノコルチン1受容体 (MC1R) と、プロオピオメラノコルチンのプロホルモン転換酵素1 (PC1), PC2 による限定切断によって産生される α -メラノサイト刺激ホルモンや副腎皮質刺激ホルモン等のメラノコルチン、及びアグチングナルタンパク (ASIP) を主要な構成要素とし、羽包メラノサイトのもつ MC1R にメラノコルチンが結合することでユーメラニンが合成され、ASIP が結合することでフェオメラニン合成が促進されると考えられている[1, 3-7]。

おかやま地どりでは、羽装色パターンが *ASIP class 1 mRNA* の発現パターンと完全一致し、明るい羽で *ASIP class 1 mRNA* の発現レベルが高かったこと、成鶏オスへの雌性ホルモン (E2) 投与により羽装色パターンがオス型からメス型に変化する際 *ASIP class 1* の発現パターンもオス型からメス型に変化していたことから、羽装色パターン形成にはユーメラニン合成を促進するメラノコルチンではなく、フェオメラニン合成を促進する ASIP が主要な役割を演じていると結論付けられた[3]。

最近、モリフクロウ (*Strix aluco*) では、暗い羽色が PC2 発現と相関しており、羽色と ASIP の発現とは相関しないことが報告された[2]。ニワトリでは羽色遺伝子に関して多様な遺伝子型を有する様々な品種が作出されており、羽装色も様々である。品種によって羽色決定にはたらく主要遺伝子が異なる可能性も考えられる。

本研究では、おかやま地どりで明らかとなった ASIP による羽装色パターン形成が、ニワトリの様々な品種に共通であるのか否かを明らかとすることを目的とし、トサジドリの羽装色パターンと ASIP 及びプロホルモン転換酵素 (PC1 と PC2) の発現パター

ンとの相関を調べた。

材料と方法

実験動物と羽包の採取

本実験では、広島大学日本鶏資源開発プロジェクト研究センターから譲り受けた雄と雌のトサジドリを用いた。すべての実験は岡山大学動物実験ガイドラインに従って行われた。

E2 処理

8 週齢のトサジドリの鞍と胸に生えた羽包をエーテル麻酔下で抜いたあと、estradiol 17- β (E2; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) を詰めた 2.5 cm の silastic tube (0.062 in. ID \times 0.125 in. OD; Dowcorning, Midland, MI, USA) を皮下移植した。

RNA 抽出

羽包サンプルから TRIsure (NIPPON Genetics) を使用して全 RNA を抽出した。抽出した RNA に含まれるメラニン色素を除去するため、チオシアン酸グアニジン/塩化セシウム勾配超遠心法により全 RNA を更に精製した。得られた全 RNA は DEPC 処理した蒸留水に溶かして -80°C で保存した。

RT-PCR 解析

全 RNA 1.5 μ g を Deoxyribonuclease I, Amplification Grade (Invitrogen) で処理した後、ThermoScript RT-PCR System (Invitrogen) を用いて逆転写反応を行なった。PCR 反応は、Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen) を用いて Life ECO Thermal Cycler (BIOER) で行なった。PCR のサイクル数は、*ASIP class 1*, *PC1*, *PC2*, *P-protein*, *TYRP1*, *GAPDH* がそれぞれ、26, 35, 32, 24, 20, 18 サイクルであった。*ASIP class 1* と *GAPDH* のプライマー対は報告されているものを用い[3], *P-protein*, *TYRP1*, *PC1* と *PC2* のプライマー対は以下の通りであった。*P-protein* (FP: 5'-AGA TGC TCC TGA GGA AGA AGC-3', RP: 5'-TGT CAA TCA CAG ACG AGG CCA-3'), *TYRP1* (FP: 5'-CTG GAA ATG TTG CAC GGC CTA-3', RP: 5'-GCT GTA TCC CAG GTT TTC TGG TGC-3'), *PC1* (FP: 5'-CTG ACC AAA GAA TAA CAA GTG CTG A-3', RP: 5'-CCT TGG TTC AAG GCT TTT GTC T-3'), *PC2* (FP: 5'-AGA GGC TAA CTT GGA TCT AAC CTG-3', RP: 5'-CTT GGT GGT ATC TTT TCA GGT TCC-3')。

結果と考察

E2 投与による羽装の変化

トサジドリの成鳥の鞍部と胸部の羽は、オスではそれぞれ赤褐色（明色）と黒色（暗色）であるのに対し、メスでは茶褐色（暗色）と淡黄色（明色）である。このオスに雌性ホルモン（E2）を投与したところ、羽装がオス型からメス型に変化した（図 1）。すなわち、E2 投与オス（以下 E2 オスと呼ぶ）では鞍羽は暗色となり、胸羽は明色となった。このことから、トサジドリもおかやま地どり[3]と同様に、E2 による羽色調節を受けることが分かった。



図 1 トサジドリ成鳥の胸部と鞍部の羽装色
オス、メス、E2 投与オス（E2 male）の写真。
オスの胸部は暗く、鞍部は明るい羽色を示す。メス、E2 投与オスの胸部は明るく、鞍部は暗い羽色を示す。

鞍部の羽色と *ASIP class 1* mRNA 発現との相関

トサジドリ鞍部の羽は上述のように顕著な性的二型を示す。オス、メス、E2 オスの鞍部の羽における *ASIP class 1* mRNA の発現量を RT-PCR により比較した。その結果、*ASIP class 1* mRNA の発現は、明色のオスで高く、暗色のメスや E2 オスで有意に低かった（図 2）。この結果は、おかやま地どりで報告された結果[3]と一致した。このことから、トサジドリにおいても鞍部の羽色は *ASIP* によって決定されている可能性が示唆された。

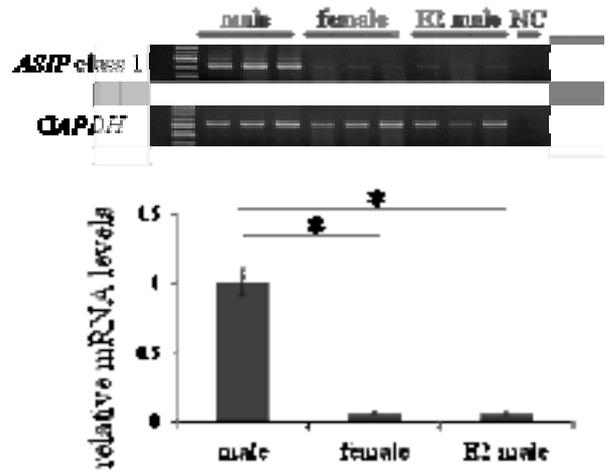


図 2 トサジドリ成鳥鞍部における *ASIP class 1* mRNA 発現

半定量的 RT-PCR 法による相対的発現量を示す。オスの鞍部の羽における発現を 1 としたときの相対値で表した。* : $P < 0.05$

胸部の羽における *ASIP class 1* mRNA の発現と羽色との相関

鞍部と同じく顕著な性的二型を示す胸部の羽における *ASIP class 1* mRNA の発現量をオス、メス、E2 オスで調べた。その結果、暗色のオスで高発現が観察され、明色のメスや E2 オスでの発現はオスに対して有意に低かった（図 3）。この結果は、暗色のオスで *ASIP class 1* mRNA の発現が低く、明色のメス、E2 オス胸羽で発現が高いという、おかやま地どりの結果[3]と異なる。このことは、胸部の羽の色を決定する主要遺伝子がトサジドリでは *ASIP* と異なる可能性を示唆する。

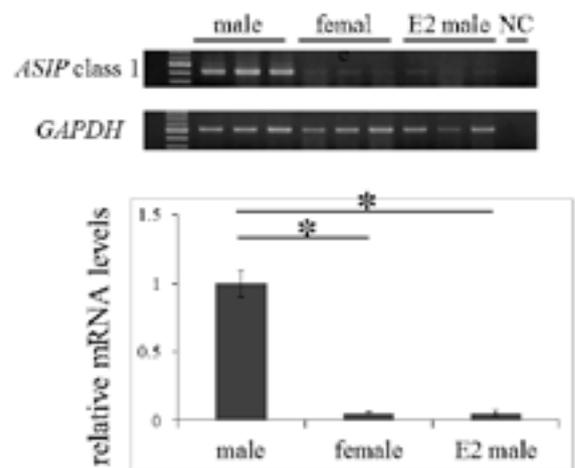


図 3 トサジドリ成鳥胸部における *ASIP class 1* mRNA 発現

半定量的 RT-PCR 法による相対的発現量を示す。オスの鞍部の羽における発現を 1 としたときの相対値で表した。* : $P < 0.05$

胸部の羽における *PC1*, *PC2* 遺伝子の発現

トサジドリの胸部の羽における *PC1*, *PC2* 遺伝子の発現を RT-PCR により調べた。その結果, *PC1* mRNA の発現は暗色のオスで高く, 明色のメスや E2 オスでオスに比べて有意に低いことが分かった (図 4)。一方, *PC2* mRNA の発現には有意差が無かった (data not shown)。

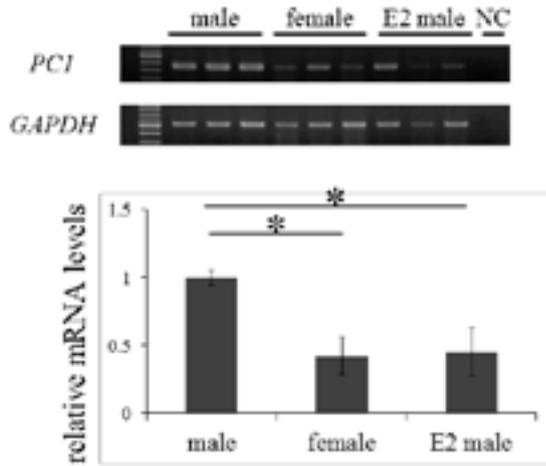


図 4 トサジドリ成鳥胸部における *PC1* mRNA 発現

半定量的 RT-PCR 法による相対的発現量を示す。オスの鞍部の羽における発現を 1 としたときの相対値で表した。* : $P < 0.05$

また, ユーメラニン合成関連遺伝子である *P-protein*, *TYRP1* の発現を調べたところ, どちらの遺伝子もオスで高発現が見られた (図 5)。*P-protein*, *TYRP1* は MC1R にメラノコルチンが結合することで発現が亢進されることから, トサジドリの胸部では *PC1* がメラノコルチン産生量を調節することで, 羽色を決定している可能性が考えられた。

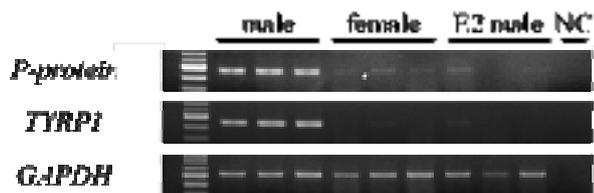


図 5 トサジドリ成鳥胸部における *P-protein* mRNA 及び *TYRP1* mRNA の発現
典型的な RT-PCR 産物の電気泳動像を示す。

最後に

トサジドリはニワトリの原種であるセキショクヤケイに近い品種である。野生のモリフクロウでは *PC2* の発現制御を介してメラノコルチン産生量を調節することで羽色を決定している可能性が報告されていること [2] を考え合わせると, 野生の鳥類では,

羽色調節におけるメラノコルチンの寄与が ASIP よりも大きい種が更に見出される可能性があると考えられる。羽色制御の局所メラノコルチン系において, メラノコルチンと ASIP のどちらを主として用い羽装色パターンを形成するのか, それを決定している仕組みは生物の多様性や進化を考える上で興味深い。また, 本研究において胸部羽包における *ASIP class 1* mRNA の発現に及ぼす E2 の効果が, トサジドリとおかやま地どりとして正反対 (一方が促進で他方が抑制) であることが判明した。この E2 に対する応答性の品種差の分子機構の解明は今後の重要な課題である。

本研究は学術研究助成基金助成金 (基盤研究(C)) 「羽色の性差と加齢変化を創出する分子機構の解明」 (課題番号 23570078) を受けて行われた。

引用文献

- [1] T. Boswell, S. Takeuchi, Recent developments in our understanding of the avian melanocortin system: its involvement in the regulation of pigmentation and energy homeostasis. *Peptides*. 26 (2005) 1733-1743.
- [2] G. Emaresi, A.L. Ducrest, P. Bize, H. Richter, C. Simon, A. Roulin, Pleiotropy in the melanocortin system: expression levels of this system are associated with melanogenesis and pigmentation in the tawny owl (*Strix aluco*). *Molecular ecology*. 22 (2013) 4915-4930.
- [3] E. Oribe, A. Fukao, C. Yoshihara, M. Mendori, K.G. Rosal, S. Takahashi, S. Takeuchi, Conserved distal promoter of the agouti signaling protein (ASIP) gene controls sexual dichromatism in chickens. *General and comparative endocrinology*. 177 (2012) 231-237.
- [4] S. Takeuchi, H. Suzuki, M. Yabuuchi, S. Takahashi, A possible involvement of melanocortin 1-receptor in regulating feather color pigmentation in the chicken. *Biochimica et biophysica acta*. 1308 (1996) 164-168.
- [5] S. Takeuchi, S. Takahashi, R. Okimoto, H.B. Schioth, T. Boswell, Avian melanocortin system: alpha-MSH may act as an autocrine/paracrine hormone: a minireview. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 994 (2003) 366-372.
- [6] C. Yoshihara, A. Fukao, K. Ando, Y. Tashiro, S. Taniuchi, S. Takahashi, S. Takeuchi, Elaborate color patterns of individual chicken feathers may be formed by the agouti signaling protein. *General and comparative endocrinology*. 175 (2012) 495-499.
- [7] C. Yoshihara, Y. Tashiro, S. Taniuchi, H. Katayama, S. Takahashi, S. Takeuchi, Feather follicles express two classes of pro-opiomelanocortin (POMC) mRNA using alternative promoters in chickens. *General and comparative endocrinology*. 171 (2011) 46-51.