

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 中 原 桂 子

地球上のあらゆる生物は地球の自転や公転が作り出す周期的環境に曝されており、進化の過程でこの周期的環境に同調すべく計時機構、すなわち生物時計が具備されたと推測されている。生物時計は毎日の睡眠-覚醒リズム、体温リズム、内分泌、代謝あるいは免疫系のリズムなど多くの日内リズムを駆動し、恒常条件下でも約 24 時間のリズムを継続させる。

鳥類松果体は光受容、時計およびメラトニン合成などの機能を備えており、培養下においてもそれらを共役することで光に同調したメラトニン分泌リズムを駆動することができることから、時計への入力機構や時計からの出力機構などの仕組みを細胞レベルで解析できる好個な材料である。本研究ではこのような背景をもとに、ヒヨコ松果体細胞を用いて、メラトニンリズムがどのように駆動されるのかについて、特に入力機構、出力機構の面から検討し、松果体が時計として体のリズムをどのように調整しているのかが研究されている。本論文は鳥類松果体のメラトニン概日リズムに関する研究に関するもので以下に記す 6 章より構成されている。

1 章では、培養皿 1 ウェルあたりに 1 個の松果体細胞を培養し、そこからのメラトニン分泌を明期、暗期、あるいは恒常暗期で測定した。その結果、単独の細胞でも明期に低く、暗期に高いメラトニン分泌リズムが示され、そのリズムは恒常暗下でも維持されていた。光条件を逆転しても、この関係が認められた。この結果からヒヨコ松果体では個々の細胞それぞれに光受容器、時計機構、およびメラトニン合成機構が備わり、それらが共役することでメラトニンリズムを駆動できることが判明した。

2 章と 3 章では cAMP 依存性プロテインキナーゼ A の阻害薬およびカルシウムキレート剤を用いたヒヨコ松果体細胞培養系の実験から、時計のリズムは細胞内カルシウムを動員し、これによって cAMP の上昇を起こし、これがさらにメラトニン上昇を起こしていると推察された。最近、カルシウム・カルモジュリン感受性のアデニル酸シクラーゼタイプ VIII が存在することが確認されている。また、ヒヨコ松果体細胞には Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) 特異的受容体が存在しメラトニンの合成系に作用することから、PACAP はメラトニン合成に直接作用していると推察された。

4 章では、光による時計の同調に関する、光受容器から時計へのシグナル伝達について検討している。ヒヨコ松果体細胞に光パルスを与えメラトニンリズムの位相が前進するときに、種々のシグナル伝達阻害剤を添加した実験より、光による時計の同調、特にリズム前進作用は細胞内小胞体のカルシウムの一過的放出によるのではないかと推測された。一方、

光による後退作用には先の薬物は無効であり、前進作用と後退作用の細胞内伝達機構は異なることが示唆された。このことは鳥類の松果体と哺乳類の視交叉上核の時計の光同調機構が異なることを示唆している。

5章では、鳥類の松果体の時計による体の諸機能の日内リズム調節機構について研究している。鳥類松果体からは神経性出力は無いことから、時計のリズムは液性物質を使って調節していると考えられた。そこで、スズメとウズラを使用し、メラトニンを毎日定刻に投与したときリズムを同調できるか否かが検討された。その結果、リズムの同調は起こさないが、行動を直接抑制する効果が観察され、鳥類ではメラトニンは直接、行動や体温を抑制することが明らかにされた。

6章では、ウズラ脳の種々の場所に装着した慢性的カニューレより、メラトニンの微量投与を行い、メラトニンによって行動のみ抑制される部位、体温のみ抑制される部位、両者ともに抑制される部位および両者ともに影響されない部位を明らかにしている。

このように本研究では、松果体細胞1個の培養系に代表される独自に開発した実験技術や、様々な鳥類を比較することなど独自の実験系を駆使し、鳥類松果体のメラトニンリズムの入力系、出力系について多くのことを明らかにした。その結果、鳥類の松果体は外界の光条件に同調し、夜間に分泌が亢進し、行動や体温抑制を行う主時計（マスタークロック）としての機能を果たしていることを明らかにし、学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。