

# 論文審査の結果の要旨

氏名 畑 本 憲 志

本論文は、目次 (Contents)、謝辞 (Acknowledgements)、概括序章 (General Introduction)、第 1 部:「要旨 (Abstract)、序章 (Introduction)、方法 (Materials and Methods)、結果と考察 (Results and Discussion)、図の説明と図 (Legends and Figures)」、第 2 部:「要旨 (Abstract)、序章 (Introduction)、方法 (Materials and Methods)、結果 (Results)、考察 (Discussion)、図の説明と図 (Legends and Figures)」、及び全体の考察 (General Discussion)、参考文献 (References) から構成されている。

色素胞は、魚類や両生類に見られる体色変化をになう独特の細胞であり、この細胞のうち細胞内に色素顆粒を持つ種類では、顆粒の凝集と拡散により体色の明暗が変化することが知られている。これは短時間に起こる反応で、生理的体色変化と呼ばれ、視覚情報が脳内で処理された後、神経やホルモン系による制御を介して、色素胞内の顆粒移動を制御すると考えられている。しかし、その制御機構の全容は明らかにされていない。

本論文は、魚類体色変化を担う黒色素胞の反応の制御機構を明らかにすることを目的し、生体における体色変化の制御における背景色訓練による学習効果の検討、および細胞における顆粒の拡散と凝集の時空間制御の特性の検討、という 2 つの側面から実験を行った。生体における体色変化の特性についてはこれまでに盛んに研究が行われているが、定量的解析は容易ではない。本論文では手法上の困難を克服し成果を得ている。第 1 部では、ゼブラフィッシュ生体を用い、1-2 ヶ月にわたって同一個体で反応の連続解析を行った。黒白背景色を入れ替えながら飼育するという独創的な手法により、背景色を用いて色素胞の拡散状態と凝集状態を安定して誘導することが可能となった。さらに、背景色訓練が色素胞の反応を強める条件を見いだしたことにより、拡散と凝集を制御する要因を明らかにすることができた。その結果、拡散においては顆粒分布面積をより拡大するという空間的反応の増強、凝集においては凝集速度の増大という時間変化が誘導されることが明らかにされた。さらに、これらの反応が視

覚を介して起こることを独創的な手法で定量的に示したことも高く評価できる。

第2部では、いくつかの膜透過性で効果を持つ細胞骨格等の阻害剤を用いて、ゼブラフィッシュの鱗の黒色素胞における拡散と凝集の変化を解析し、顆粒移動の機構について考察した。第2部の特徴の一つは、解析の際、第1部で得られた空間的变化と時間的变化に着目した点である。ゼブラフィッシュでは、顆粒移動は cAMP に依存した制御が主であることを確認したので、それぞれ cAMP 濃度の減少と増大を誘導する norepinephrine と yohimbine により凝集と拡散を誘導し、その特性を解析した。その結果、凝集は顆粒分布域が円形を保ったまま徐々にその面積が減少する速い反応であるのに対し、拡散では、一様な円形拡散から一部の顆粒の周辺部への拡散、という速い反応の後、中心に残された顆粒の周辺部への拡散、周辺部から中心方向への顆粒の逆方向移動、を経て細胞全体の一様な拡散に至る、という複雑な過程を経たゆっくりした顆粒移動が起こることが明らかとなった。拡散初期の過程で見られた速い反応は、第1部で背景変化訓練後の生体の細胞でも白から黒への背景変化により誘導されることが確認できたので、これは生理的反応と対応していると推測される。Latrunculin, jasplakinolide, nocodazole を用いて、アクチンフィラメントの重合阻害や安定化、微小管の阻害を行った。その結果、凝集・拡散ともに速い移動は微小管に依存し、中心部分での顆粒保持や一様な顆粒分布にアクチン系が重要であることがわかった。また、ダイニンの活性阻害剤としても効果のある EHNA 処理により、微小管上のキネシンによる周辺への速い顆粒移動が見られなくなる等の変化が誘導された。EHNA がアクチンに影響を与える可能性を考慮する必要はあるが、実験結果は、ダイニンが凝集のみならず、拡散においても重要である可能性を示唆するものであり、複数のモータータンパク質の寄与について重要な情報を提供している。生体における反応と今回観察した細胞レベルの特性との関連は、今後の課題であるが、本研究により追求すべき方向が明確となった。

以上のように、本論文の成果は、黒色素胞の反応制御機構解明に向けて多くの示唆に富む知見を示したものである。

なお、本論文の一部については、真行寺千佳子と共同で行ったものであるが、論文提出者が主体となって実験・解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。