

論文内容の要旨

申請者氏名 村井 英隆

動物が現す体色の多くは、メラニン色素によって作られている。メラニン色素は、体色がつくられる過程において、表皮に存在する色素細胞内において合成され、隣接する表皮細胞に輸送されることにより、表皮に沈着する。メラニン色素の細胞間輸送は、色素細胞と表皮細胞の相互作用により制御されていると考えられている。しかしながら、表皮内におけるメラニン色素輸送を解析するモデル系が確立されておらず、メラニン色素輸送を直接制御する機構については理解が進んでいない。これまでに申請者は、京都大学田所助教らとともに、トリ胚表皮のライブイメージング法を確立し、メラニン色素が膜小胞を介して輸送されることを見出した。本論文では、この先行研究をもとにトリ胚表皮内の色素細胞および表皮細胞への遺伝子操作法を確立した。

最初に、高効率に表皮細胞に遺伝子操作するために、トリ胚への遺伝子操作法として用いられているRCASレトロウィルスが感染しやすいニワトリ系統を探索し、白色レグホン胚表皮にRCASレトロウィルスを感染させる方法が有効であることを示した。次に、メラニン色素を多量にもつトリ胚（ウィルス非感受性）由来の色素細胞のみを単離して、白色レグホン胚へ移植し、移植された色素細胞が移植先の表皮において本来の色素細胞と同様に振る舞うことを示した。あらかじめ遺伝子操作した色素細胞を白色レグホン胚表皮に移植し、その後RCASレトロウィルスを感染させることにより、表皮内の色素細胞および表皮細胞に、それぞれ別々の遺伝子を導入することができる画期的な遺伝子操作法を確立した。

さらに、確立した新規遺伝子操作法を利用して、色素細胞と表皮細胞の相互作用によるメラニン色素輸送の制御機構の一部を明らかにした。メラニン色素輸送を直接制御する分子を同定するために、色素輸送時のトリ胚表皮で発現上昇する分子を探索した結果、Stem cell factor (SCF)などいくつかの遺伝子が見出された。その中でもSCFを強制発現させた表皮において、輸送されたメラニン色素が表皮内に多数存在することから、SCFがメラニン色素輸送の誘導に関与していることを示唆する結果を得た。また、先行研究で見出した膜小胞の放出がメラニン色素輸送にどれほど寄与しているか検討するために、膜小胞放出の抑制による色素沈着への影響を解析し、膜小胞が表皮への色素輸送に寄与していることを示唆する結果を得た。

本論文で確立した新規遺伝子操作法は、表皮内のメラニン色素輸送機構を色素細胞と表皮細胞の双方から解析でき、今後のメラニン色素輸送研究の進展に貢献できると期待される。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 村井 英隆

多細胞生物において、細胞間の物質輸送は本質的な生命現象であるにもかかわらず、解析の困難さから、これまでに十分な理解が進んでいるとは言いがたい。特に動物では、植物にみられる原形質連絡のような細胞間の物質輸送経路は一般的でなく、細胞が独立しており、かつ細胞移動も活発に起こるために、細胞間の物質輸送のしくみは大きな謎となっている。

動物の体表の存在するメラニン色素は、体色の決定に寄与する最も主要な色素であり、かつ紫外線からの防御など重要な生理機能を担っている。メラニン色素は、表皮深部にある色素細胞において合成され、メラニン色素は色素細胞から表皮細胞に受け渡されて、表皮細胞において沈着することがこれまでに知られている。申請者は、体表の色素細胞から表皮細胞にメラニン色素が受け渡されることに着目し、細胞や組織の移植が容易に行え、さらにウイルスベクターなどで遺伝子導入に実績のあるニワトリ胚の表皮をモデル系として利用し、動物個体における細胞間の物質輸送のメカニズムを明らかにしようとした。

この現象において、メラニン色素を生産する色素細胞と、メラニン色素を受取る表皮細胞の、2種類の細胞に対して個別の遺伝子操作が現象のメカニズムを解明する上で非常に有効であると申請者は考え、その手法の開発を試み、その結果エレガントな手法を確立した。RCAS レトロウイルスが感染するニワトリ種と感染しないニワトリ種を明らかにし、さらに色素細胞の移植系を確立した。RCAS レトロウイルスが感染しない種類のニワトリ胚から色素細胞を分離し、その細胞に遺伝子操作を加えた上でレトロウイルスの感染が可能な種類のニワトリ胚に移植し、生着後にウイルス感染によって表皮細胞特異的な遺伝子操作を行うという、移植と遺伝子操作を組み合わせた手法を開発することに成功した。この手法はこれまでにない、細胞腫特異的な遺伝子操作を可能にした手法であり、色素細胞-表皮細胞の相互作用のみならず、その他の細胞相互作用の解析にも応用することが可能と考えられる。

さらに、申請者は開発した手法を用いて、色素細胞と表皮細胞の相互作用によるメラニン色素輸送の制御機構について Rho family G タンパク質の関与などいくつかの有用な発見をしている。

以上のように、本論文は表皮内の色素細胞および表皮細胞への遺伝子操作法を新規に確立した報告で、学術上、応用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（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。