

図・本館

報告番号 * 甲 第 2473号

主論文の要旨

題名

マウスの松果体メラトニンに関する
遺伝学的及び生理学的研究

氏名 後藤 麻木

主論文の要旨

報告番号	※甲第 号	氏名	後藤麻木
<p>メラトニンは、主として、松果体で合成されるホルモンで、脊椎動物の光周性反応やサーカディアンリズムの制御に重要な役割を演じている。松果体メラトニンは、セロトニンN-アセチルトランスフェラーゼ (SNAT) とヒドロキシインドール-O-メチルトランスフェラーゼ (HIOMT) の働きによってセロトニンからN-アセチルセロトニン (NAS) を経て合成されたもので、昼間に低く、夜間に高い日周リズムを示す。メラトニンはほとんど全ての脊椎動物に存在するものと考えられていたが、最近、メラトニン合成酵素を支配する遺伝子の突然変異によって多くの近交系マウスの松果体がメラトニンを合成できないことが明らかになった。そこで本研究では、マウスの松果体メラトニンに関して遺伝学的及び生理学的解明を目的として、以下の実験を行なった。まず最初に、それぞれ異なった遺伝的背景をもっている36系統のマウスについて、松果体メラトニン含量をラジオイムノアッセイ (RIA) 法を用いて測定した。その結果、ヨーロッパ産の近交系マウスであるC3H、CBAの2系統及び日本の野生マウス起源のMOM、Mol-Nis、Mol-Aの3系統の計5系統に、メラトニンレベルが夜間に高くなる顕著な日周リズムを見出した。しかし、他の31系統は、どの測定時刻にも、メラトニンは低い値を示した。従って、ほとんど全ての近交系マウスが松果体にメラトニンを欠損してい</p>			

ることが明らかとなった。次にメラトニンが見出された C 3 H 系統とメラトニン欠損系統である C 5 7 B L、及び両者のリコンビナント近交系 (R I 系) である 1 2 種類の B x H 系マウスの松果体の S N A T と H I O M T の活性を測定して活性の有無の系統間分布型 (SDP) を調べ、既知の B x H 系統の標識遺伝子の S D P に照合した。その結果、SNATのSDPは第 1 1 染色体の末端にある G l k (galactokinase) のSDPと同一であることが判明した。また、Glkに近い E s - 3 と 1 1 系統の SDP が一致したことから、SNATの酵素活性を支配する遺伝子は第 1 1 染色体の末端にある Glkと同じ遺伝子座かあるいはその近傍に存在するものと推定できた。また、肝臓や血中等に存在し日周変動を伴わない NAT (arylamine N AT) が C 5 7 B L マウスにも認められているが、この活性を支配する遺伝子が第 8 染色体に存在することが明らかにされていることから、この遺伝子は本研究で調べた松果体SNATとは異なった遺伝子支配を受けているものと結論できた。HIOMTのSDPについては既知の遺伝子の SDP と 9 系統同じである遺伝子座が複数確認されたものの、1 0 系統以上同じものは見出されず、遺伝子座を特定することはできなかつた。また、メラトニン合成酵素の前駆物質や生成物であるセロトニン、N A S 含量を高速液体クロマトグラフィー (H P L C) により、また、メラトニンを R I A を用いて、それぞれ測定した結果、SNAT酵素活性を持つがHIOMT活性を持たない系統にはNASのみが、SNATとHIOMTの両方の酵素活性を持つ系統にはNASとメラトニンが検出され、また、HIOMT活性を持つが SNAT活性

を持たない系統及びどちらの酵素活性も持たない系統にはNASとメラトニンのどちらも検出されなかった。これらの結果は、酵素活性とそれによって生じる代謝産物との関係を矛盾なく説明できるものであり、本実験で求めたSDPの信頼性を高めるものであった。C3Hマウスは、常染色体性劣性突然変異遺伝子(*rd*)によって網膜視細胞、特に桿体細胞が退化消失する系統である。それにもかかわらず、松果体メラトニンリズムは明暗周期に同調を示した。このことはC3H系統では、桿体細胞以外の光受容細胞がメラトニン合成に関与していることを示している。松果体メラトニン合成には、夜高く、昼低い日周リズムを示すこと以外に、夜間の急激な光照射によって、その合成が抑制されるという特徴が認められている。そこでC3HとCBA系統を用いて白色光照射に対する松果体メラトニン合成の抑制を幾つかの照度について調べた。その結果、C3Hでは0.14 lux、CBAでは0.0021 luxまで松果体のメラトニン合成が抑制を受け、両系統の感度の閾値に 10^2 倍近い差が認められた。CBAは正常な網膜をもっていることから、この差は、桿体細胞の有無によるものであると考えられた。C3Hの錐体細胞は桿体細胞と同様に減少していくが、桿体細胞よりもその減少スピードは遅いことからC3Hマウスの光受容は、わずかに残っている錐体細胞によるものと考えられた。また、CBAとの感度の差は錐体細胞の数の違いによるのではないかという可能性を検討したが、3~4カ月齢のC3Hマウスとそれより約4倍錐体細胞の数が多い36日齢のC3Hのメラトニン合成の抑制

に関する光感受性の比較から、錐体細胞の数の差でCBAとC3Hとの光感受性の差は生じないという結論に達した。これらの結果からマウスでは、桿体細胞、錐体細胞どちらもメラトニン合成の抑制に関係する光受容細胞であると考えられた。そこで最後に、桿体細胞の視物質であるロドプシン以外に、どのような視物質が松果体メラトニン合成に関与しているかを調べるためにC3H系統に大型スペクトログラフ装置を用いて分光した種々の光強度の5種類の波長(350、450、500、550、650 nm)の単色光照射を行なって、松果体メラトニン合成の抑制に関する作用スペクトルを求めた。その結果、C3Hでは、450 nm(青色)の単色光が最も強くメラトニンを抑制したことから、447 nmに吸収スペクトルのピークを持つシアノラーベが関与している可能性が考えられた。また、各波長毎に光量子数とメラトニンの抑制率の関係を求めた結果、ほぼ光量子数の増加に伴って抑制率も上昇していくdose-response curveが得られた。