

内22-65

早稲田大学大学院理工学研究科

博 士 論 文 概 要

論 文 題 目

アカハライモリの腹色形成機構に関する研究
Studies on the making of the red ventrum
of the Japanese newt, *Cynops pyrrhogaster*.

申 請 者

松 井 久 実

Kumi Matsui

物理学及応用物理学専攻 分子生殖生物学研究

2002 年12 月



動物の体色は、その動物の生存を左右する重要な要因の一つで、これまで 2 つの方向から研究されてきた。一つは、体色の機能的な側面についてである。これは、行動学、生態学の分野において明らかにされてきたもので、捕食－被食関係における体色の機能（隠蔽色、警告色）、求愛行動における機能（婚姻色）、生理学的な機能（体温調節）などが代表的な事項として挙げられる。もう一つは体色の決定機序についてである。動物の体色には発色を担う組織、細胞があり、特定の色素を用いる定まった発色機構がある。この発色機構についての研究は、細胞学、生理学、化学、生態学など様々な分野で行われている。近年では、体色の機能と発色機序の間の相互関係についての報告がなされるなど、動物の体色の研究にはより包括的な解析、考察が求められている。

両生綱有尾目に属するイモリ科には、目立つ腹色を持つものが多く、警告色として機能しているとの研究報告がある。そのうち、日本固有種であるアカハライモリ *Cynops pyrrhogaster* は、背部が暗黒色、腹部は赤色であり、腹色は警告色として機能すると考えられている。しかしその腹色の発色機構や、個体が発色にかけているコストについては明らかでない。本論文はアカハライモリ腹色の発色機序を多面的な観点から解析し、個体における腹色の占める位置について包括的に考察したものである。

本論文は 6 章で構成されている。

第 1 章は序論であり、本研究の背景と脊椎動物の体色についてこれまでに行われてきた研究について解説し、本研究の位置、目的、意義、研究の流れを提示した。

第 2 章ではアカハライモリの腹色について述べた。本研究の性質上、研究対象は野生動物であるが、アカハライモリについてはその生態についても不明な点が多い。特に、本研究では野生の幼体期の個体を研究対象としたため、アカハライモリ幼体の生活史についても論じる必要があった。アカハライモリの生態は、水中で生活する成体については若干の報告があるものの、陸上生活する幼体については殆どデータがない。それは、幼体期のイモリが人の目につかないところで生活するため、今までに捕獲された絶対数が少ないためである。幸いにも著者は、複数の幼体が一時に捕獲できる地点の確保に成功し、本研究に必要なデータを得ることが出来た。そこで本章では幼体の成長や年代構成など、生態学的な基礎データについて論述した。

第 3 章 2 節では、腹色決定に関わる細胞について細胞形態学的な解析を行った。腹色を構成する細胞は真皮最上層に位置するザンソフォアと呼ばれる色素細胞で、細胞内部にはたくさんのカロテノイドの色素顆粒を有していることが分かった。このカロテノイド顆粒はリング型、均一型の 2 タイプの形態に分けられ、野生のイモリではリング型の色素顆粒がそのほとんどを占めた。食餌を限定して卵から人工飼育したイモリでは均一型のカロテノイド顆粒がほとんどを占めた。

そこで、カロテノイド顆粒の構造とカロテノイドの組成、量との関係について考察を加えた。

第 3 章 4 節では、ザンソフォアの分化と発達を発生段階を追って形態学的に観察した。一般的にザンソフォアは水溶性色素を含むプテリノソームと脂溶性色素を含むカロテノイド顆粒を有することが多いが、飼育下のアカハライモリのザンソフォアは幼生期にはプテリノソームを有し、変態後、成長に伴ってカロテノイド顆粒へ置き換わっていく、また、カロテノイド顆粒のサイズも変化していくことが明らかになった。カロテノイド顆粒の数とサイズの変遷は、野生幼体においても同様であった。

第 4 章 2 節では、アカハライモリの腹色を決める主要色素のカロテノイドの同定と定量を、高速液体クロマトグラフィーとマススペクトル測定により行った。その結果、成体の野生イモリの腹側皮膚は 9 種類のカロテノイドを持つことが分かった。その内訳は、6 種のカロテノイド遊離型と 3 種のカロテノイドエステルであった。検出されたカロテノイドは全て、 β -カロテンを開始、アスタキサンチンを終点とする 2 つの酸化経路のうち、ケト化先行型経路の中間代謝物であった。その全ては β エンドグループのカロテノイドであり、皮膚 1g あたりの含有量は約 253 nmol/g、その約 40% は OH-エキネノンのモノエステルであった。マススペクトル測定結果から、モノエステルは主に 3 つの不飽和脂肪酸 (C16:1, C18:1, C20:4) で構成されることが分かった。飽和脂肪酸とのエステルは検出されなかった。アスタキサンチンのジエステルも検出された。ジエステルは 4 つの質量ピークを持ち、想定される脂肪酸は両鎖合計で C34:2, C36:3, C38:5, C40:7 と考えられた。食餌を限定して飼育したイモリでは、皮膚 1g あたりの含有量は約 40 分の 1 であったが、その組成は野生個体のものと類似していた。

第 4 章 3 節では、腹側皮膚以外の 4 組織（背側皮膚、肝臓、脂肪体、血液）についてカロテノイドの組成と量を解析した。その結果、腹側皮膚は解析した組織中で最もカロテノイドを蓄えていることが明らかとなった。次にカロテノイドを多く含んでいたのは脂肪体、肝臓の順で、 β エンドグループのカロテノイドを遊離型として、 α エンドグループのカロテノイドを遊離型とエステルとして有しており、腹側皮膚との組成差があることが明らかになった。背側皮膚は少量のカロテノイドを含み、その組成は腹側皮膚と類似していた。血液は遊離型のカロテノイドのみを含んでいた。以上の結果から、イモリにおけるカロテノイド代謝について論述した。

第 4 章 4 節では成長に伴うイモリの腹色の変化とカロテノイドの組成、量の変化を腹側皮膚と肝臓において解析した。その結果、変態時のイモリは殆どカロテノイドを含まず、単位湿重量あたりのカロテノイド量は幼体期に漸次的に増加した。成体平均含有量程度のカロテノイド量の蓄積は、すくなくとも変態後 3

年経過していると推定される幼体において初めて認められた。3-OH エキネノンのモノエステルの含まれる割合は成長と共に増加する傾向にあったが、変態時の腹側皮膚にもすでに含まれていた。第 3 章 3 節の結果と併せ、ザンソフォアにおけるカロテノイドの蓄積は変態後に高まり、数年をかけてカロテノイドが蓄積されていく過程について論述した。

第 5 章では、幼体期のアカハライモリの食性について解析した。第 4 章 4 節より、幼体期のカロテノイド蓄積がアカハライモリの腹色形成に重要な期間であることが明らかになっている。また、カロテノイドは動物では合成することが出来ない色素である。そのため、カロテノイドの供給は餌に由来する。そこで幼体期の食性について焦点を当てて解析し、幼体期の餌の組成と、カロテノイドの関係について考察した。捕獲した幼体の胃内容物を胃内洗浄法で集め、顕微鏡下で餌動物を分類同定した。4 回の調査で計 60 個体のアカハライモリ幼体から 410 点の餌動物を得た。餌動物は全て中型土壤動物であった。点数別に集計した結果では、アカハライモリ幼体はトビムシ・ダニを主に摂食することが明らかとなった。同所的に棲息する有尾類であるカスミサンショウウオ *Hynobius nebulosus* の幼体 9 個体の胃内容はヤスデ亜綱の動物が半数を占め、トビムシ目、ダニ目は合わせて 8% にすぎずアカハライモリとの食性の違いが伺えた。陸上で捕獲した成体サイズのアカハライモリ 11 個体の胃内容からは幼体と同じくトビムシ・ダニが検出され、陸地における成体の食性は幼体に類似する事が明らかとなった。

第 6 章において本研究の総括を行った。アカハライモリのザンソフォアは変態後カロテノイド保有細胞として特異的に分化し、 β エンドグループのカロテノイドを主に蓄積する。血液中のカロテノイドは全て遊離型であり、 α, β エンドグループのカロテノイドを両方含むことから、ザンソフォアはカロテノイドを選択的に取り込み、また β -エンドグループカロテノイドのエステル化能を有することが示唆された。ザンソフォアにおけるカロテノイドの代謝機構の解明は、残された課題である。ほとんどカロテノイドを含まない人工飼育個体のザンソフォアは、形態学的にはカロテノイド顆粒を多く含んでいる。よって、アカハライモリのザンソフォアはカロテノイドの量に関わらず、脂質の顆粒を形成する性質を持つと考えられる。リング型のカロテノイド顆粒の形成機構については、ケト基を持つカロテノイドが標本作成中に溶出し、ケト基を持たないカロテノイドと不飽和脂肪酸が、四酸化オスミウムによる作用を受けて標本中に固定されるものと考えられた。形態学的研究と化学的分析から、アカハライモリのザンソフォアはカロテノイドの選択および蓄積機構の研究を行う上でモデル細胞となりうると思われる。また、食餌由来色素であるカロテノイドのザンソフォアへの蓄積には年数を要するため、幼体期のアカハライモリの腹色の形成と機能の関係については、今後の行動学的研究が待たれる。カロテノイドの摂取に関して、アカハライモリの特定の動物に対する餌選択性の有無については今後の研究の課題である。