

研究ノート

動物の体色発現と生きる戦略 ——これまでの研究を振り返って——

秋 山 豊 子

1. 色素産生と体色発現研究への入り口

私が慶應義塾大学に着任したのは、筑波大学の博士課程（後期博士課程）の2年目に入ったところだった。現在の博士修了者の就職難も厳しいが、40年ほど前の私の大学院時代も同じく正規の研究職に就くのは非常に難しかった。その当時、原生動物テトラヒメナのDNAポリメラーゼについて研究していた私は、毎日のデータにわくわくドキドキしながら研究者としての楽しみと厳しさの中に没頭していた。一方で、なんとか研究職に着任できればと考え、指導教授にその希望を伝えていた。しかし、博士課程の途中で慶應大への助手職の求人があった時は、いくらか困惑したことを覚えている。すぐに慶應大の松本二郎教授が筑波大学へセミナーに来られて、魚類の色素細胞の細胞内顆粒運動の話をした時、収縮蛋白質のアクチンの抗体を取って、その阻害効果を調べたらと私が提案した時に、慶應大へ着任の道が決まったのだらうと思う。ばたばたと話が決まり1977年春に着任した。4月から、さっそく、魚の筋肉タンパク質のアクチンを精製してその特異抗体を作成する一方で、色素細胞の基礎



を学び始めた。アクチンというタンパク質は収縮性を持ち、私たちヒトの筋肉タンパク質の主要なものであるが、脊椎動物のみならず無脊椎動物の筋肉中にも普遍的に存在し、タンパク質として共通性が高く、それゆえに分子差を認識して作成される特異抗体は作成が困難とされていた。この困難を乗り越えられるかが大きな問題であったが、加えて、動物の色素細胞という全く知識のない分野で研究を開始することに新鮮な興味と先の見通せない落ち着かない気持ちがあった。この研究ノートでは私の研究の主な部分を振り返って、動物の眼や体色を現す仕組みとその色素物質、体色の生態学的な機能やヒトの皮膚疾患などを概説し、動物が体色発現を通してどのように生きる戦略を立ててきたかを紹介したい。

2. 動物の多彩な体色

脊椎動物の体色は、眼、皮膚、髪、毛、羽毛、魚類・両生類・爬虫類などでは鱗など、皮膚と、その付属器官に出現する（日高 1983）。熱帯産の魚類や両生類、爬虫類、鳥類は、それらが住むサンゴ礁の海やカラフルな花木が咲き乱れる森の環境の中で多様な体色を示している。背骨を持たない無脊椎動物でも、ヒトデやイソギンチャク、エビやカニ、ウミウシなどは華やかな体色や紋様を示し、イカはすばやい体色変化や発光、甲虫や蝶類などは金属光沢色など、多彩な体色を示す（日高 1983, 秋山 2011）。哺乳類では白、黄、茶から黒褐色、黒色の地味な体色が多いが、シマウマの縞やキリンの網目模様、ヒョウのヒョウ柄など種に独特の色と紋様がみられる（文献同上）。動物は、体の構造も多様であるが、またそれぞれ多彩な体色を示している。多彩な色と紋様で、同種認識、性的アピール、カモフラージュ、威嚇などの機能を持ち、生きるうえで種々な戦略が関係している。ヒトの体色はメラニンを中心とする地味な単色だが、紫外線防止に機能する一方、日焼けやシミの原因にもなってきた。この体色を現す仕組みは近年急速に解析され、200 個以上の遺伝子が関与していること、その制御機構も非常に複雑であることが理解されてきた（Nordlund *et al.*, 2006）。

3. 体色発現のしくみ

これらの動物の色が現れる仕組みの主なものとしてはおよそ下記の3つが知られている。

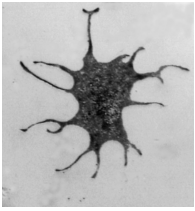
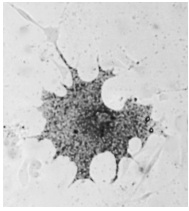
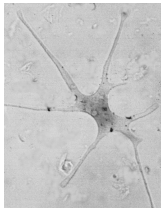
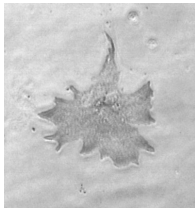
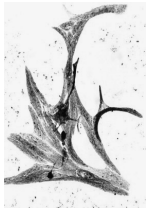
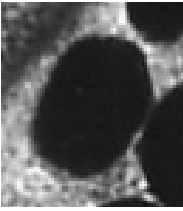
①色素細胞による体色発現, ②餌から取り込んだカロテノイドなどの色素物質の蓄積, ③色素物質はなく微細構造による構造色, である(日高 1983, 秋山 2011)。このうち, 色素細胞による体色発現は脊椎動物ではほぼ共通の仕組みであるが, 無脊椎動物では細胞の起源となる発生の仕組みも異なるため, 私自身は主に脊椎動物を中心に扱った。

①色素細胞による体色発現

脊椎動物の体色発現に関与する主な色素物質はメラニンで, ユーメラニン(真正メラニン)とフェオメラニンの2種がある(Meredith & Sarna, 2006, Nordlund *et al.*, 2006)。その他の主要な色素として, カロテノイド類とプテリジン類などの色素がある。色素細胞は色素を産生し, 体色を表す効果器である。

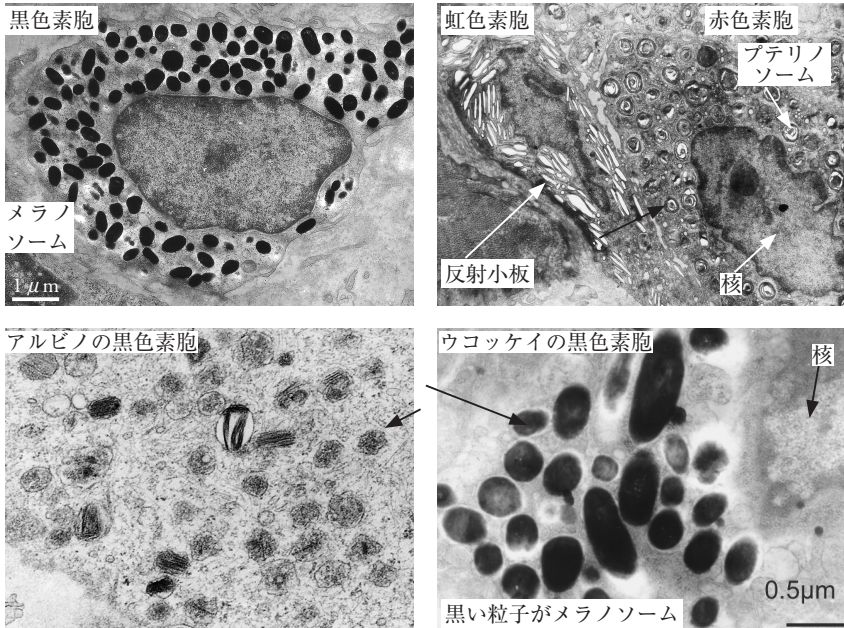
色素細胞の種類とそれが発現する色素と色を図1に示す。色素細胞は, メラニンを持ち, 黒から茶褐色・オレンジ色を示す黒色素細胞(メラノサイト・メラノフォア), プテリジン(プテリン)とカロテノイドを持ち, 赤からオレンジ色を示す赤色素細胞(エリスロフォア), カロテノイドを持ち, 黄色を示す黄色素細胞(ゼンソフォア), 色素ではないがプリン類を小胞内に持ち, 白色を示す白色素細胞(ロイコフォア), 同様に薄い小板内に持ち反射小板として機能することで金属光沢の構造色を示す虹色素細胞(イリドフォア)がある。青色細胞(シアノフォア)や紫色細胞(エオシノフォア)の報告もあるが, これらの色素成分はまだ未同定であるため記載しない。魚類から単離した培養色素細胞を図1に, 電子顕微鏡による魚類の色素細胞の微細構造を図2上図に示した。メラノサイトとメラノフォアは, いずれもメラニンを産生する黒色素細胞であるが, メラノサイトは鳥類と哺乳類, メラノフォアは魚類・両生類・爬虫類の変温脊椎動物に用い, その機能はメラノフォアが上皮で色素を持ち続けることに加えて, 後述する細胞内色素顆粒の運動性を持つことが異なっている。脊椎動物の体表面の色

図 1 脊椎動物の色素細胞

色素細胞種	黒色素細胞 (melanocyte) (melanophore)	赤色素細胞 (erythrophore)	黄色色素細胞 (xanthophore)	白色色素細胞 (leucophore)	虹色素細胞 (iridophore)
色素細胞像					
色素細胞の色	茶色から黒褐色	黄橙から赤色	黄色から橙	白色	虹色・反射光
色素物質	メラニン (ユウメラニンとフェオメラニン)	プテリジンカロチン	プテリジンカロチン	プリン類	プリン類
色素顆粒	メラノソーム	プテリノソーム	カロチノイド小胞	ロイコソーム	イリドソーム
 0.5μm					

魚類から単離して培養した色素細胞像と色彩，色素物質，色素顆粒を示す。鳥類と哺乳類では黒色素細胞（メラノサイト）のみ存在する。

図2 魚類とニワトリの色素細胞の透過型電子顕微鏡像



上図左：黒色素胞と内部のメラニン顆粒。上図右：左側の細胞は虹色細胞と内部の反射小板，右側の細胞は赤色素胞と内部のプロテリノソームを示す。Bar = 1 μm

下図左：アルビノ・ニワトリの黒色素胞。内部のメラニン顆粒にはメラニンの蓄積がみられない。下図右：ウコッケイの体内に存在する黒色素胞。内部に多くのメラニン顆粒がみられる。Bar = 0.5 μm

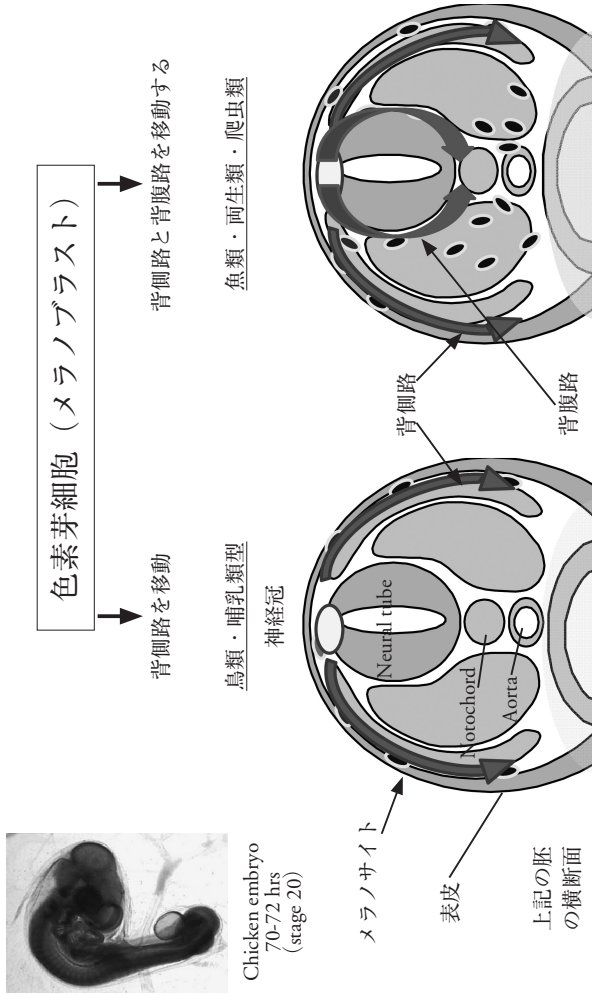
は、魚類のように色素細胞がそのまま、皮膚表面及び鱗上に位置して色を発現する場合と、哺乳類・鳥類のように角化細胞（ケラチノサイト）に色素を送って色を発現する場合とがある。

色素産生は、色素細胞内の直径約 0.5 μm のメラノソームという顆粒内で生じ、2つの過程がある。メラノソーム内に格子状のマトリックスタンパク質が構成され、そこに色素物質のメラニンが蓄積されていく場合と、微細な粒子が集合するようにしてそこにメラニンが蓄積されていく場合である（図2下右図）。メラニン産生にかかわる酵素はチロシナーゼを主とし、チロシナーゼ関連タンパク質 1 (Trp-1: DHICA oxidase) と 2 (Trp-2: Dopachrome tautomerase; DCT) の3つがある。更に色素産生系には、これらの酵素を制御してメラニン産生の中

心的な制御の役割をするマスター遺伝子の *Mitf* という制御遺伝子のほか、関与する遺伝子は細胞外から来る生理活性物質や増殖因子、ホルモンなどと細胞膜上にあるそれらの受容体、そこから連なるシグナル伝達系と細胞内の転写因子など 200 を超える遺伝子の関与が知られている (Nordlund *et al.*, 2006)。

哺乳類は黑色素細胞（メラノサイト）のみ、鳥類は体幹部では同様に黑色素細胞（メラノサイト）のみ（図1）だが、眼に虹色素胞を持つと言われている。眼の網膜色素上皮細胞は眼胞由来であるが、体幹部の「色素細胞」の発生学的起源は、胚発生の初期の神経胚の時期に神経管の上部に位置する神経冠部分から多分化能を持つ細胞群のひとつとして主に体の外周（背側路）を体表各部へ移動しつつ、色素細胞に分化していき、細胞内で色素を産生・保持し、あるいは他へ送ることにより体色を発現するとされてきた（図3）（Le Douarin & Kalcheim, 1999）。この神経冠部分からは、神経管脇から腹部にいたる背腹路を末梢神経や内分泌系細胞、軟骨細胞などに分化する細胞群が移動していくことが知られていた。すなわち、同じ領域にあった細胞がどのように運命が決定されていくのか、その細胞型によりどのように移動経路が特定されるのか、またそれぞれの分化様式など、細胞分化を考える上で重要問題が存在していた。私たちは、金魚では多くのメラノサイトの前駆細胞が体内の背腹路を移動していくことを確認していた（Akiyama *et al.*, 2006）が、最近では、脊椎動物の魚類、両生類、爬虫類で、背腹路も辿っていくことが知られてきた。この問題は、ウコッケイの研究のところで報告する。体表に位置したメラノサイトは皮膚組織の基底層に存在して産生したメラニン顆粒を角化細胞（ケラチノサイト）に移送する。ヒトはこの表皮の角化細胞が保持するメラニンの量で、肌色が決定し、白っぽいピンク色、薄い茶褐色から黒褐色を帯びた肌となる。哺乳類の体色発現では、次項に示すような植物色素カロテノイド系色素の取り込みと蓄積はほとんどみられない。また、構造色による体色発現は、ヒトのモンゴル斑や派手な顔で知られるマンドリルの青白い鼻の周辺に見られる程度で、青っぽくみえる部分は真皮に真皮性メラノサイトがあり、表皮部分で長波長を吸収し短波長の光が反射してくるためと考えられる。このメラノサイトが産生するメラニンの

図3 メラノサイトの神経冠からの移動と増殖・分化



一般に、メラノサイトは胚発生の段階（孵卵 2.5～3 日目から）で脊索上の神経冠部分から背側路を通して体表面に移動し色素産生を行うとされているが、魚類・両生類・爬虫類などでは、他の神経冠由来の細胞とともに背腹路（体内路）も移動する。ニワトリのウコッケイは、鳥類にはまれであるが、多くのメラノサイトの前駆細胞が背腹路を移動して体内臓器に進入し、顕著なメラニン産生を示す。その結果、ウコッケイでは真皮や多くの体内臓器が黒色を帯びると考えられる。

量と質により、表皮や毛に黒・茶・黄・赤褐色などの色の差が生じ、その分布でヒョウやシマウマ、キリンなどの特有なパターンが出現する。

鳥類は哺乳類と同様、体色に関係する主な色素はメラニンで、体幹部の色素細胞はメラノサイトのみである。眼と羽毛・皮膚などにユーメラニンとフェオメラニンの2種のメラニン色素が存在する。羽色の例を挙げると、カラスの黒色（ユーメラニンが主）、名古屋コーチンの茶色（フェオメラニンが主）、白色レグホンの白（メラニン産生量低下）などである。しかしながら、鳥類は、変温脊椎動物にみられる赤から黄、虹色などの多彩な色素細胞を失った一方、後述のように色素細胞によらない仕組みで華やかな体色発現の方法を獲得している。また、これらの組み合わせでその羽に細かい点状斑、横縞模様や目玉模様、縁取りのレース様紋様などをまとっている。鳥類の羽色と色素細胞の詳細については、文献（秋山 2015）を参照されたい。

②餌から取り込んだカロテノイド色素物質の蓄積による体色発現

変温脊椎動物では、カロテノイドやプテリジン色素を液性成分のままや小胞内に取り込む形で、赤色素胞や黄色素胞内に蓄積する。鳥類・哺乳類では赤色素細胞も黄色素胞もなく、色素細胞によるカロテノイド色素の蓄積はないが、鳥類では色素細胞によらず、餌から取り込む形で羽にカロテノイドやプテリジン色素を蓄積し、多彩な体色を示す。ショウジョウトキやフラミンゴ、カナリア、トキなどはこの例である。原索動物のホヤなどは体色を示す外皮の細胞内粒子中に色素を蓄積している。プテリジン色素は、脊椎動物には色素細胞内以外あまりみられないが、蝶類には多量のプテリジンの蓄積がみられ、白、黒、黄、赤、橙、紫、青など、多彩な色を示す。

③色素物質はなく微細構造による構造色による体色発現

物質の色は、ある波長の光がその物によって吸収されると、それ以外の光が反射・透過してヒトの眼に届き、それが可視光の 380-780nm の波長を持っていれば、ヒトは特定の色として認識する。このため、そこに色素物質がなくて

も、光の波長に作用する 100nm くらいの間隔を持つ規則的な多層膜構造や微粒子・並んだ狭いスリット、マトリックス構造などの微細構造があったりすると、光の干渉や回折が起こり特有な波長を持った光が放出される。これが可視光の波長を持つとヒトは色として認識する。これを構造色と呼び、コンパクトディスクやシャボン玉、油滴の色、青い空、夕焼けの色などと同じ仕組みである (Kinoshita & Yoshioka, 2005)。動物にも、クジャクやカワセミ、インコなどの鳥類の羽やネオンテトラのような魚類の鱗、タマムシなど昆虫のクチクラやモルフォチョウの羽根などに美しい金属光沢がみられるが、その主な仕組みは構造色である。構造色を示すものには前述した虹色素胞内の反射小板もある。色素細胞によって産生された色素が、構造色を強化していることもある。構造色については、優れた解説本 (木下 2005) や論文 (Kinoshita & Yoshioka, 2005) があるので、参照されたい。

4. 体色の機能と効果

動物の体色の効果 (日高 1983) として、まず保護色とか、隠蔽色が挙げられる。体色を周りの環境に溶け込ませて天敵や獲物から身を隠すために非常に有効で、多くの昆虫や魚類、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳類などでよくみられる。鳥類の卵殻やヒナはほとんど気づかれないような色と紋様を持っており、高山に住む雷鳥は、夏には茶色で岩や土の中で目立たず、冬には雪と同じ真っ白とまったく異なる羽色に換羽して周囲に溶け込んでいる。また、熱帯魚や熱帯産の鳥類などは派手な原色の赤や青や紋様を持つが、カラフルな熱帯の環境ではかえって目立たないと言われる。また、海中生活をする動物は一般的に背側が濃色で腹側は淡色だが、空からは背側が黒いため目立たず、海中からでは明るい空を背景に腹側が白くて目立たない。これをカウンター・シェイディングと呼んでいる。ある種のペンギンでは更に輪模様の分断色を加えて効果的である。

また、シマウマやパンダのような縞模様やキリンやヒョウのような独特の色と紋様は保護色としての機能に加えて、同種であることを認識するための信号

色・認識色として役立っているという説もある。サケのオスは、繁殖期において腹部に婚姻色と呼ばれる紅色を帯びる。昆虫・魚類・鳥類のオスはメスとは異なる華やかな色をまとって異性にアピールしているし、クジャクの飾り羽の目玉模様はメスがオスを選択する際に重要な要素とされている。これらは「性的二型」の代表的な例である。また、毒を持っていたり食べるとまずい事などを覚えさせるように目立つ色と紋様で提示している「警告色」があるが、これには実際に毒はなくてもその生物の色や紋様に似せて脅かししたりする動物もいる。青く美しい金属光沢を持つモルフォチョウやハチドリ、目玉模様を示すジャノメチョウや魚類のチョウチョウオ、鳥類のジャノメドリ、光る甲殻類のウミホタルなども、びっくりさせて天敵を遠ざける「威嚇色」と考えられる。これらには、複数の効果が重なる場合もある。シマウマの縞模様は木々の間では保護色となると考えられるが、また、集団でまとまっていると1匹ずつの個体が認識されにくく天敵に襲われにくいという説があり、更に、個々の同種認識に役立つという説もある。モルフォチョウの金属光沢も威嚇色と同様、同種認識にも役立つとみられる。このように動物たちはその体に色と紋様をまとって、天敵から逃れ、獲物を襲う際に周囲に紛れ、同種認識をし、異性にアピールし、縄張りに侵入する他種や同種のオスを威嚇して遠ざけたりしていると考えられ、体色発現は生きる戦略として非常に有効な手段である。

動物の紋様は、異なる色素や色素量の差により色彩や明度の異なる色素細胞の分布によって形成される。変温脊椎動物は、先に記載したように複数の色素細胞を持つため、これらの分布が主に紋様形成に関与する。両生類や爬虫類では、Dermal chromatophore unit (Bagnara & Hadley, 1973) として立体的に、虹色素胞、黒色素胞、黄色素胞を持つが、これらの色素胞の位置関係と、拡散・凝集状態、黄色素胞の有無などで発現する色合いが異なる。魚類では、黄色素胞と黒色素胞が作用しあって位置決めをしているという説がある (Kondo & Asai, 1995)。鳥類では、皮膚の羽毛の根元にある毛包に色素細胞が存在し、羽毛の構造へ色素顆粒を移送していく。その際に、移送する色素の質と量に応じて、羽毛が着色する。色素量の移送が途絶えたり、色素幹細胞が枯渇したりして根

元に色素細胞が供給されないと、羽の白化が生じる。移送の ON-OFF によって、羽に紋様が形成されるが、その紋様には精緻なことで知られるセイランの羽の例をはじめ、種々な紋様がみられる（秋山 2015）。この羽の紋様形成に關与する遺伝子座も数多く知られているが、そのほとんどはまだ未同定である。

哺乳類は、皮膚の真皮近くに存在する色素細胞が体表面の角化細胞に色素顆粒を渡して、皮膚の体色が決定する。また、体毛は、鳥類と同様に角化細胞が構成する毛の構造に毛包に存在する色素細胞から色素顆粒が移送されて有色の毛となる。紋様の領域ごとに色素細胞が何らかの活性因子の影響を受けて、その色素産生能が異なることが紋様形成の原因となると考えられる。一般にシマウマのように体毛には明確な紋様があっても、皮膚はほぼ一様な単色であることが多い。これは、毛包の色素産生とそれ以外の皮膚の色素産生の仕組みが異なることが理由である。

細胞が組織を構成するとき、個々の細胞は互いに同一細胞かどうかの認識を行い、同種同士が集合する性質を持っている。細胞タイプごとに増殖率や移動能に差があることも加えて、同種の細胞が集合し、細胞集団（コロニー）を作っていく。色素細胞そのものが集まる場合も紋様を形成するが、色素産生の活性因子を産生する細胞が作用した結果、その影響下で色素細胞が紋様形成をする場合もある。これらの紋様形成は、近年、アラン・チューリングの反応拡散方程式によって説明されるという説（Kondo & Asai, 1995）が提出されている。これは、活性化物質と阻害物質の濃度差が波状に移動・拡散していくことにより紋様形成を説明する理論で、先の魚類での黄色素胞と黒色素胞による紋様形成の仕組みでは、遺伝子の根拠も解析され、明らかにされつつある。

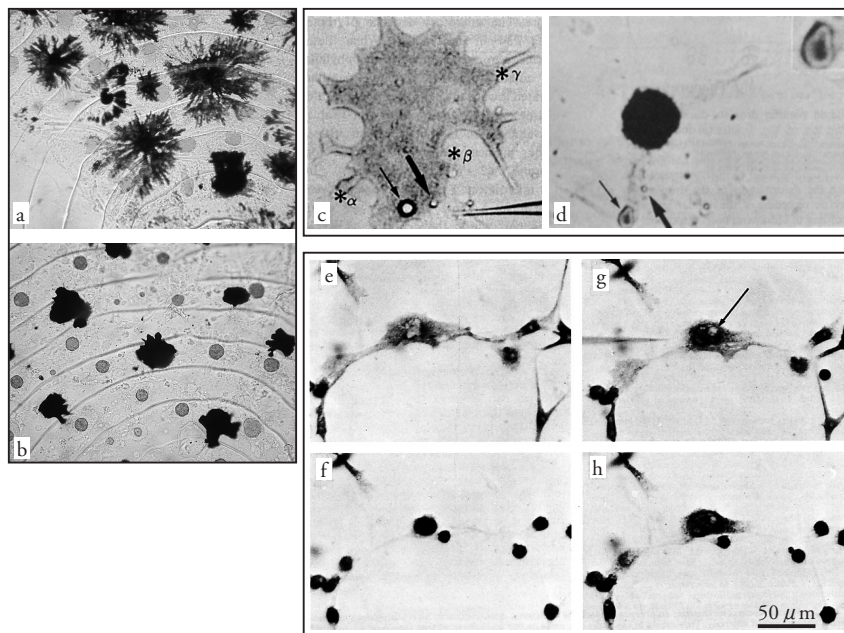
私たちヒトを含む哺乳類は、赤や黄色などの多様な色素細胞は持たないし、体色変化をすることもない。それでは、ヒトではこれらの機能はどのように変化していったのだろうか？ ヒトは、進化の道筋で言語の発達や、染料を顔や体に塗って誇示したことなどが知られているが、これらを同種の認識やコミュニケーション、あるいは、威嚇や性的アピールに役立てて来たのではないかと考えられている。知能の発達によって、敵から隠れたり、雨風や寒暖を衣服で凌げたりできるようになると、体毛の消失が生じ、体色の機能は主に紫外線防

止と小さくなっていったのであろう。

5. 体色変化のしくみ

カモフラージュや威嚇, 異性へのアピールや紫外線防止などのために, 動物はその体色を変化させるものもある。その体色変化の仕組みは2つあり, 数分間でのすばやい「生理学的体色変化」とゆっくりとした「形態学的体色変化」

図4 色素細胞運動と微量注入実験



a, b: メダカの鱗上の黒色素胞と黄色素細胞。a: 拡散状態, b: アドレナリン投与した後の凝集状態。

c, d: 培養した赤色素胞にパラフィン滴を微量注入したもの。c: 拡散状態に注入。d: アドレナリン注入して凝集したところ, 細胞内のパラフィン粒が滴型になっている。細胞質が中央部に引かれていることが分かる。

e-h: 培養赤色素胞にアクチンに対する特異抗体を微量注入した効果。e: 拡散状態, f: アドレナリン投与後の凝集状態, g: 抗体を微量注入, h: アドレナリン投与後の凝集状態, 抗体を注入した中央の細胞のみ凝集が阻害されている。Bar = 50 μm

がある (Fujii, 2000)。後者の「形態学的体色変化」は、前述したヒトの日焼け後の色素産生による黒化や、ヒラメなどの背馳適応などであるが、これはメラニン産生量を増加させたり色素細胞の数を変化させたりすることによる。ここでは、著者が取り組んだ生理学的体色変化を中心に取り上げる。

①生理学的体色変化

釣りをされる方は、釣り上げてしばらくした後に、魚が暗い色に変わっていたり、模様が消えていたりしたことをご存じだろう。一般に、魚類や両生類などの変温脊椎動物やイカやタコなどの軟体動物では素早い体色変化がみられる。このような体色変化を「生理学的体色変化」と呼び、早い場合は数十秒から数分で変化する (図4)。敵や危険に出会って驚いた時や、縄張りを侵されてストレスを受けた時などにこのようなすばやい体色変化がみられる。全体の明暗化のみならず、縞模様の消失などもよくみられる。刻々と体色変化をすることで知られるカメレオンは、皮膚の下層から黒色素胞、虹色素胞、黄色素胞を立体的に3段に配置して前述の Dermal Chromatophore Unit という立体的な構造を持っている。周囲の環境の色は絶えず眼から視覚情報として入力され、それを受けて脳内の色と紋様のパターンを選択したり、興奮状態に応じて、神経を通じて個々の色素細胞に変化するよう指示を出して無意識に色や紋様を変えていると考えられる。

魚類や両生類では、色素細胞が α -MSH や ACTH, MCH, c-AMP, アドレナリンなどある種のホルモンや神経伝達物質、光やイオン濃度の変化などの刺激を受けて、細胞内の色素顆粒が細胞内を移動し凝集・拡散することにより体色変化をする。この間、色素細胞の外形は維持されており、細胞全体に拡散していた色素顆粒が中心に凝集し、また全体的に拡散する。黒色素細胞内で色素顆粒が中心部に凝集すると黒い部分が小さくなり、拡散すると黒い部分が大きくなる。体表面で全ての黒色素胞が一斉に凝集すると体色は明るく (白っぽく) なり、逆に一斉に拡散すると体色は暗く (濃い色に) なる。黒色素胞や赤色素胞や黄色素胞は一般に通常では拡散状態にあり、同調して反応するが、白色素胞や運動性の虹色素胞は逆反応をすることが多い。一方、イカやタコの色素細胞

では、収縮性繊維が細胞周辺部に結合し細胞の外周部を引っ張ることによって、細胞の外形が変化することにより体色が変化する。

②形態学的体色変化

鳥類では、繁殖期にみられる一部紅色の体色や、年周期によって換羽をして変化した体色などゆっくりとした変化があり、ヒトでは日焼けによる数日後の黒化がみられる。これらは、光・紫外線・日照の周期・外界温度・これらの外的条件による体内の内分泌物質の変化（ホルモン産生）などの刺激により、色素細胞自体の増減や、色素細胞内の色素産生の促進・阻害が生じていることによる。これらの刺激は眼から入ってくるばかりでなく、多くの動物では皮膚に光受容機能を持つ物質が存在して、情報を受け取っていると考えられている。

③色素顆粒運動機構の解析

1977 年当時、この生理学的体色変化による色素顆粒運動は植物細胞内の原形質流動、神経細胞内の軸索輸送、アメーバ運動などとともに細胞内にみられる運動としてよく知られていたが、その仕組みは解明されていなかった。しかし、脊椎動物の運動に関与するタンパク質の微小管系（チューブリンとダイニン系）と微小繊維系（アクチンとミオシン系）が関与するのではないかというのが焦点となっていた。これらのタンパク質が関与するかどうかは、その特異的抗体を作成してその結合によって機能が阻害され、色素顆粒運動が起きなくなるか、あるいは、細胞内のそれらのタンパク質の局在性を観察することにより、色素顆粒との関係を明らかにするという手法が最善と考えられた。そこで、私は前述したように、魚類の筋肉からアクチンを精製しそれを抗原として特異抗体を作成することとした。しかし、その当時、アクチンというのは動物間の共通性が高く、感査（抗原注射）する動物にとって異物と認識しにくいいため、抗体を作成しにくいということも知られていた。折りよく、母校の筑波大学の恩師である平林民雄先生が、アクリルアミド製のゲルで電気泳動して精製し、そのゲル部分を切り出して細かく乳化し、ゲルごと抗原とすることによって、効率よく抗体を作成する方法を開発されており、その手法に従うこととした。

まず、一般的な対照としてウサギの筋肉から主要な筋肉タンパク質であるアクチンを生成し、続いてそれに倣って魚類の中で入手しやすく、筋肉も大量に得られるコイから、アクチンを生成した。魚類のアクチンはまだ、精製法が確認されていなかったため、ウサギの方法を流用したが、精製効率はあまりよくなく、同じ方法ではどんどん壊れていくような電気泳動のパターンがみられていた。なるべく、変性しないようにと氷冷につとめ、精製の方法もマイルドなものにして、毎日毎日、抗体作成のためにアクチンの精製をする日々が半年くらい続いた。

ほぼ、抗原として利用する量の準備ができた頃、2羽のウサギを購入した。毎週、一回、抗原を注射した。2カ月ほどたった頃、抗原を注射する一方で、少量の血液を採取し、抗体ができているかどうかのチェックを開始した。冬になっていた。屋上の飼育小屋は寒く、凍えそうであった。ウサギが寒くないように古い毛布をかけたりしたことを思い出す。最初の注射から6週目、2羽のウサギのうちの1羽の血液により抗原と明らかな免疫反応が確認され、抗体が産生されていたことが分かった。幸運だった。一般的に抗体を作成しようとする時は、個体の感受性があるので、普遍性の高い抗原に対する抗体は、できれば5羽くらいのウサギを同時に感査することが理想的だった。たった2羽のうちの1羽で抗体を得られたことはまさに幸運だった。2月に抗体を得て、精製してその後に使えるようにした。着任して、ちょうど1年近く経とうとしていた。この抗体を使って、その後の数年の私の研究生生活が続いていくことになった。

作成した抗体を使って、魚類の培養色素細胞内のアクチンの局在性を蛍光抗体法や免疫電子顕微鏡法で解析する実験を行った (Akiyama & Matsumoto, 1981, Akiyama & Matsumoto, 1983, Matsumoto *et al.*, 1984)。また、培養細胞に阻害剤や流動パラフィンを注入してその効果を見るという実験 (Akiyama, 1985) も並行して行っていた (図4)。新しい手法が多く、詳細の条件を決めながら実験をしていくのに手数はかかったが、毎日わくわくしながら研究を進めていた。その高揚感は今でも甦ってくる。1980年の最初の国際学会では、ポスター発表のみならず、ワークショップで話をする機会を得た。このときはまだ、データが十分

ではなかったが、3年後のドイツ、ギーセンでの国際学会では、アクチン抗体の微量注入による色素顆粒運動の阻害効果(図4)を報告して、ベストポスター賞を頂いた。ご褒美のドイツの美味しい白ワインとソーセージはその日のディナーの席で皆さんと一緒に頂いた。良い思い出である。この仕事を中心となって、母校の筑波大学から博士(理学)号を頂き、一区切りの思いがした(Akiyama & Matsumoto, 1983)。

その後、この色素顆粒運動は、チュープリンとダイニン、キネシンの微小管系が中心的な役割で、微小繊維系も協調的に関与していること、動物種により多様であることも理解されてきた。一方、ヒトの色素細胞から表皮の角化細胞(ケラチノサイト)への色素顆粒の移送も研究が進み、微小管系と微小繊維系に加えて複数のRabタンパク質など多くのタンパク質が協調して関与していることが明らかになってきた。魚類の色素細胞内の色素顆粒運動も、微小管系か微小繊維系かという単純なものではなかったのである。

6. 魚類の色素細胞のガンについて

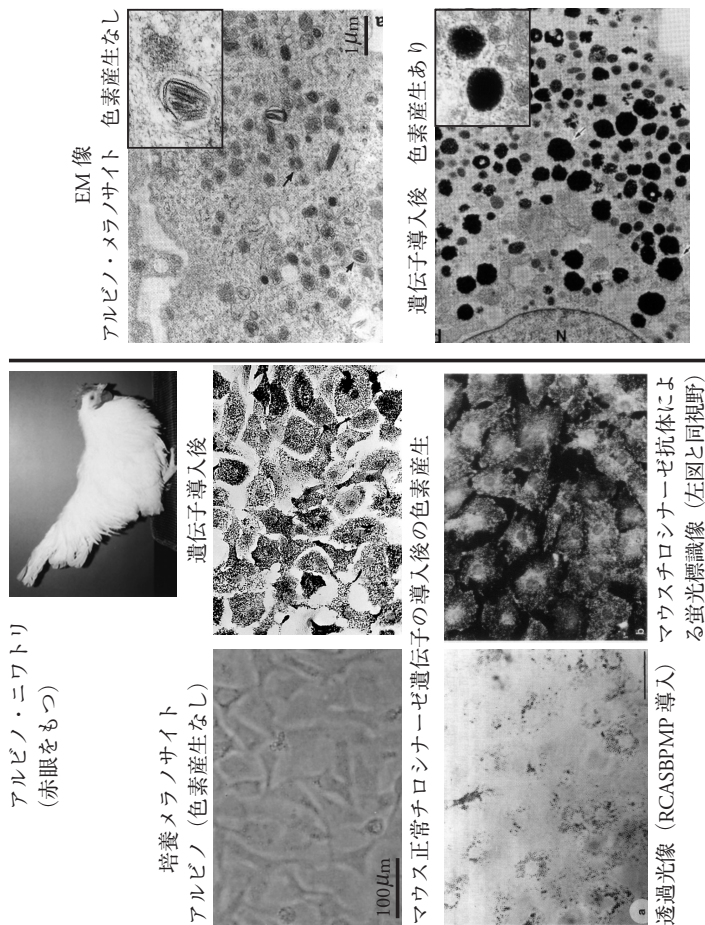
1980年代は医学・生物学の世界ではガン研究が大きく注目されていた。魚類の色素細胞でも、ドイツのアンダース博士夫妻により遺伝的にガンを多発する熱帯魚の交雑系統が報告されて、注目を浴びていた。後に、これは異なる系統を交雑したことにより、抑制ガン遺伝子が機能を失いガンが多発することが明らかになった。これは、抑制ガン遺伝子の存在とその欠損により生じる遺伝性ガンの重要な概念に繋がっていった。当時、都内大塚の癌研究所にはさまざまな腫瘍を持った魚が集まっていた。このうち、いくつかの色素細胞由来と思われる腫瘍細胞を単離し、その細胞特性を分析していた。そのころ、生物学教室の熊谷先生から頭部に大きなこぶを持った赤いコイが持ち込まれた。こぶのところも鮮やかな赤色であった。教室の指導教授松本二郎先生とともに、このこぶの部分から赤色素胞由来のガン細胞の単離、培養、株細胞の単離、分化の誘導などを行い、その細胞特性の解析へとつながっていった(Matsumoto *et al.*, 1989, Akiyama *et al.*, 1990, Matsumoto *et al.*, 1993)。日曜日に法学部の山崎典子先生

の貴重な顕微鏡をお借りして、ガン細胞の染色体の観察に時を忘れたことも懐かしく思い出される。この細胞はガン特有の染色体数の異常性がみられ、赤い色素細胞由来の「ガン細胞」である根拠の一つとなった。これらは松本二郎先生や癌研究所の諸先生方との共同研究となり、癌学会での報告や貴重な議論の機会を頂き、大いに刺激になった。また、正常の金魚の色素細胞に複数のガン遺伝子を導入して、本来は産生されない形質（眼の水晶体）の発現（異所性発現）を確認した（Akiyama *et al.*, 1986）。これは、ガン遺伝子の導入により、皮膚に分化した細胞が未分化状態へ戻ったことを意味し、現在の iPS 細胞の概念に繋がるものであるが、当時はこのような研究の多くがその意義を十分に認識せず、分化誘導の技術も十分でないまま、発展させられずにいたように思う。

7. 遺伝子導入によるアルビノの色素産生能回復

前述したように、メラニン色素に関与する酵素はチロシナーゼ、TYRP-1 (DHICA oxidase), TYRP-2 (DCT) の3つであるが、このうち、チロシナーゼ遺伝子そのものが活性を失うか、チロシナーゼの活性が完全に阻害されてしまうと、体色は白化し、眼の色素も失って赤眼になる（図5）。体色が白化しても黒眼の場合は、チロシナーゼ遺伝子は活性を持ち、その他の理由で体色が白化している可能性が高い。これは、眼の色素上皮にある色素細胞が眼胞由来であり、体幹部の色素細胞が神経冠由来であることに起因する。チロシナーゼそのものの活性が欠失していれば、対幹部と眼の両方の色素が失われ、眼では血管が透けて見えて赤眼となる。これをアルビノと呼んでいる。チロシナーゼの遺伝子がヒトやマウスで単離されると、このアルビノ生物に正常なチロシナーゼの遺伝子を導入して、色素産生を回復する事ができないかというプロジェクトが開始された。東北大の竹内拓司先生から頂いたマウスのチロシナーゼの遺伝子 DNA をアルビノ・メダカに遺伝子導入する事から始めた。アルビノ・メダカはいくつか系統があったが、まだアルビノの原因遺伝子は解明されていなかった。先端の直径を $0.2\mu\text{m}$ くらいに細く引いたガラスの毛細管を使って、メダカの未受精卵に遺伝子を注射し、その後受精させて成長したメダカの体色を

図5 アルビノ・ニワトリにおけるマウスチロシナーゼの遺伝子導入の効果



アルビノ・ニワトリからの培養メラノサイトは全く色素を産生しないが、マウスのチロシナーゼの遺伝子導入後は10日くらいから色素産生をし、2週間で色素産生が明瞭な黒いメラノサイトとなった。その蛍光標識像と電子顕微鏡像を示す。小さい四角内はメラニン顆粒の拡大図。電子顕微鏡の Bar = 1 μm

みるという方法だった。受精すると受精膜が形成されてすぐに硬くなるため、日周期を少しずつずらして朝一番に成熟した未受精卵をメスから採取し、すぐに遺伝子を注入して受精させるという手法であった。これはいくらか、色素産生が改善した個体もあったが、後になってこの系統はチロシナーゼ遺伝子を保持しており、ウイルスの遺伝子が挿入されている事によって不安定になっていた事が明らかとなり、その効果の確認が難しい系統であった。メダカでは、すっきりと遺伝子導入による色素産生の回復が確認できずに、方策を検討していた時に、塾派遣留学の機会を頂いた。国際学会でアルビノ・ニワトリの報告をしていたネブラスカ州立大のブランボウ博士に受け入れをして頂き、アルビノ・ニワトリに遺伝子導入をするという計画ができた。

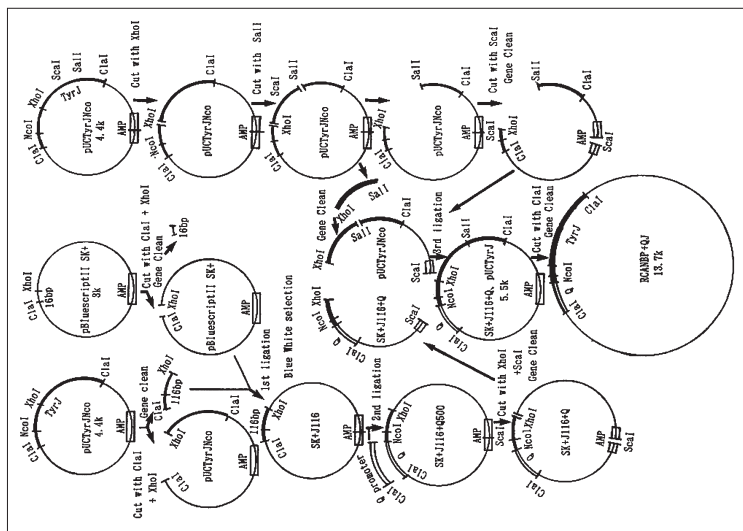
1991年4月から93年3月末までの2年間、アメリカの中西部ネブラスカ大のリンカーン校の理学部に訪問研究員として研究生活を送った。中学1年を終えた娘を連れての子連れ留学であった。娘は現地校に入学が決まり、私の研究室生活も開始した。リンカーンは広い平地に人工的に道路を基盤状に作り街路樹を植え人口湖を作った町で、州都であるが人口は当時約20万人の小さな大学町であった。州の関係省庁と大学の関係者、後は周囲に広がる大規模な農家を中心で日曜日にはほとんどの人が教会に行き、その後、サロンのな交流を深める付き合いをし、私たち日系人を含む外来者にもフレンドリーな人々であった。家々には手入れの行き届いた芝生と花々が咲き乱れ、公園も多く、街路樹や道路沿いの花々も美しく、清潔な町並みであった。4月に到着したばかりの時には、なんときれいな町に来たのだろうと感激したのを覚えている。街中から車で15分も走ると郊外に出て、広大なトウモロコシや麦、大豆（ほとんどが飼料用である）などの畑や牧草地がどこまでも広がっている。東京や横浜と比べると、水も電気もその他の物価も全て安かった。犯罪も実に少ないところであった。このことは、母娘2人の留學生活では大いに安堵できる点であった。大学の研究者たちには広大な敷地に牧場や馬場、家庭菜園、バスケットコートやバーベキューコーナー、プールなどを持った人も多かった。研究室のお茶のみ場には、いつも不揃いだが新鮮な野菜が山積みになっていて、好きにどうぞと書かれていた。しかし、暮らしやすいかというと、夏は40度を越え、冬はマ

イナス 30 度近くになり、春から夏には竜巻が襲うので有名な土地という厳しい気候である。よい職業に就ければよいが、大学と省庁、農業以外に産業や誘致の企業の工場などは少なく、結果として職は少なく、この土地に住める人しか住めない町なのだとだんだんと理解することになった。

さて、とりあえず遺伝子導入計画作成に取りかかった。ニワトリの胚は産卵した時に数百個の細胞まで増えており、それぞれの細胞に遺伝子導入をするのは無理である。まずは培養細胞に遺伝子導入することを考え、培養方法の習得と、遺伝子導入するためのベクター（遺伝子の運び屋、ウイルスやプラスミド）の構築から開始した。ホストの研究室の既存の機器を利用して、遺伝子の精製、組み換え体の作成から、ベクターの構築へと開始した。これらの遺伝子の取り扱い方を直接に学んだことがその後の研究の方向を遺伝子のほうへ向ける大きな力となったと思う。この遺伝子導入実験の詳細は文献（秋山 1994A, 1994B, Akiyama *et al.*, 1994C, 秋山 1997）に記載したので、そちらを参照して頂きたい。それから約 7 カ月後の厳冬期に入ったところ、ウズラの制御領域（プロモーター部分）に正常なマウスのチロシナーゼ遺伝子を組み込んだウイルスベクターが完成した（図 6）。毎日、零下 10–20 度が珍しくない日が続いていた。いよいよ遺伝子導入となり、培養細胞は培養皿一杯の状態になるように合わせて増殖させ、前日の夕刻に遺伝子導入の前処理を済ませた。そして、遺伝子導入実験の初回の朝が明けると、外は大雪が積もり吹雪だった。「大雪注意報」で特に用がない人は外出しないようにとテレビでテロップが流れていた。でもここで延ばすことはできないと、ワイパーも効かないような吹雪の中、車を走らせて研究室に向かった。結局、遺伝子導入はこの初回でうまくいき、導入後 10 日頃から黒い色素を産生した細胞がぼつぼつと確認できるようになり、肉眼でも黒いことが見て取れた（図 5）。培養室を覗きに来たホストプロフェッサーが大喜びで踊りだした一場面が昨日の事のようにうれしく思い出される。

アルビノの培養色素細胞においては、マウスのチロシナーゼ遺伝子でも色素産生を回復させることが明らかになった。そして、このアルビノのニワトリも色素産生能の欠失の原因がチロシナーゼ遺伝子にあることが明らかになった。この後、制御領域を短縮させてその発現を見ることを試み、細胞タイプごとの

図6 遺伝子導入に使用した遺伝子組み換え体の構築と配列



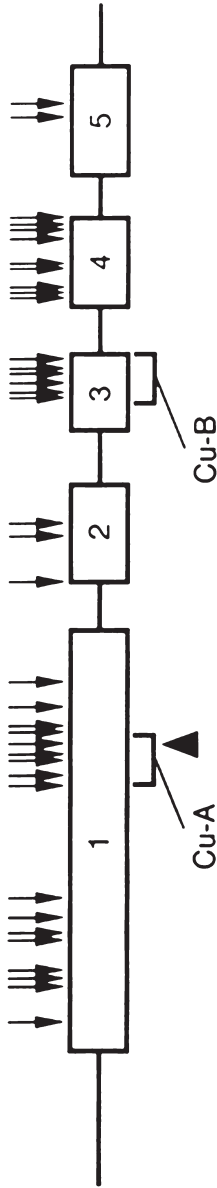
左図：マウスチロシナーゼ遺伝子の上流にウズラのプロモーターを繋ぎ、ウイルスに組み込んで遺伝子導入ベクターとした。(秋山 1994A)
右図：最終的にプロモーターは短縮したものも作成して2種を導入した。その構築を示す。(Akiyama *et al.*, 1994C)

図7 アルビノの遺伝子解析

A アルビノの遺伝子解析

(233aa)									
	I	P	Y	W		R	D	A	E
albino tyr.	...	ATC	CCC	TAC	TGG	---	CGA	GAT	GCA
									GAG
									...
(805bp)									
normal tyr.	...	ATC	CCC	TAC	TGG	GAC	TGG	CGA	GAT
									GCA
									GAG
									...
	I	P	Y	W		D	W	R	D
									A
									E

B ニワトリチロシナーゼ遺伝子の変異部位 (矢じり部)



アルビノメラノサイトを培養し、そのm RNAを単離して逆転写してc DNAを作成し (RT-PCR)、その塩基配列を解読して変異部位を解析した。(Tobita-Teramoto *et al.*, 2000 より引用・改変)

分化型の制御についての研究へ進み、個体への遺伝子導入を試みて、培養細胞と個体での発現様式の差を確認した（図 5, 6）（Akiyama *et al.*, 1994C）。

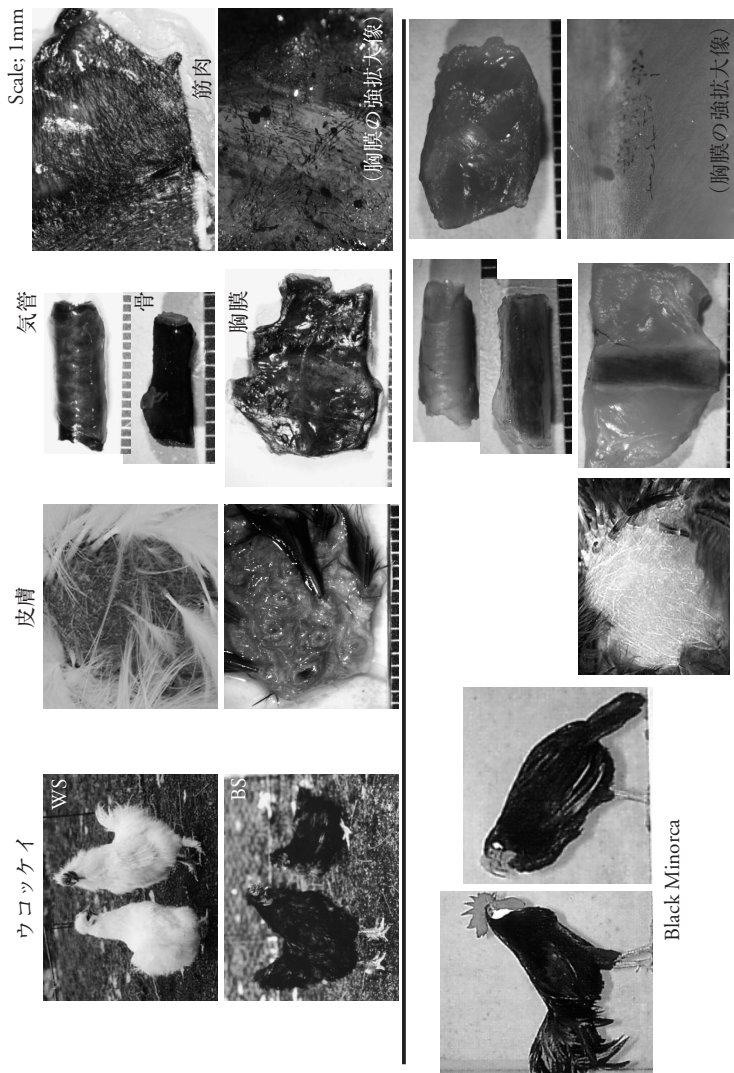
また、ニワトリの色素細胞の選択培地としてバッファローラット（ラットの 1 種）の肝臓細胞の培養上清を加えることになっていたが、この有効成分が、色素細胞に必須な生理活性成分（エンドセリン；EDN）であることを突き止め、その後のニワトリ色素細胞の生理活性物質の解析に繋がった。

更にこのアルビノ・ニワトリのチロシナーゼの突然変異部分の解明へ進んでいくことになり、チロシナーゼの銅にキレートする部分に 6 塩基が欠損していることを明らかにした（図 7）（Tobita-Teramoto *et al.*, 2000）。アルビノ・ニワトリの遺伝子導入実験を中心とするこの留学は、私にとってタンパク質科学から遺伝子解析の分子遺伝学へと研究の方向を変更する大きな転換点となったばかりでなく、アルビノ・ニワトリを日本に移送して、その後のニワトリ研究者との共同研究へと繋がる契機となった。

8. 鳥類の色素産生、特にウコッケイについて

1993 年 4 月の帰国後、アルビノ・ニワトリの遺伝子解析をする傍ら、各地の養鶏研究所や大学を訪れ、ニワトリの色素産生について多様な系統を眼にする機会が増えていった。羽の色ばかりでなく、体各部の色素産生や紋様についても面白い形質が目についた（秋山 2001）。そのひとつがウコッケイというニワトリだった。ウコッケイは「烏骨鶏」、カラスのように黒い骨を持つ鶏という意味で、内臓各部、骨膜や筋膜、胸膜などの結合組織に顕著な色素産生がみられ、黒色を帯びている（図 8）。この形質は *Fibromelanosis* (*Fm*) と呼ばれている。それ以外にも毛冠、青い耳朶、絹羽、脚毛、多指など多くの特徴を持っている。日本では高級食材として卵が高値を呼んでいるが、中国では珍奇なニワトリとして古くから知られ、旅行家のマルコポーロによる記載が残っている。これらの特徴の多くはそれぞれ独立した遺伝子によって制御されており、現在は次々と解明されてきつつあるが、その当時はまだ、原因遺伝子が不明の形質が多かった。私は特に体内臓器の色素産生に注目していた。これほど黒い

図 8 ウコッケイにみられる体内臓器の顕著な色素産生



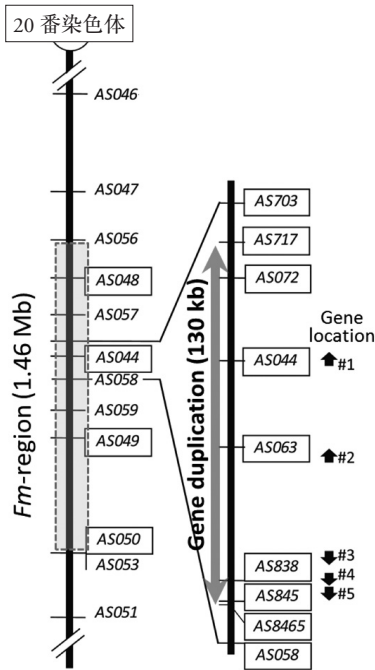
ウコッケイは白羽・黒羽系統いずれも、皮膚に真皮性の色素産生がみられて鉛色を示すのみならず、体内臓器に顕著な色素産生を示して黒色を帯びている。下図は対照系統のブラックミノルカと体内臓器を示す。

のだから、メラノーマでも発症するのではと思ったのが最初のきっかけであったが、全く病的なことではなく、感覚や運動の障害もみられなかった。更に不思議なことには、皮膚も真皮性の鉛色を呈しているのに、羽色は黒と、白の系統があったことである。これほど、皮膚や体内臓器が黒いのに、なぜ、白羽のウコッケイがいるのかが謎であった。このことは解明をだいぶ試みたが、あとになって他の研究者により、チロシナーゼ遺伝子の途中にウイルスの遺伝子が挿入されるという遺伝子変異がある事が報告され、そのために、チロシナーゼが不安定になって、羽に色素が送られないということが分かった。

まず、ウコッケイと対照系統の色素細胞を培養し、その基本的情報を得るところから始めた。そして、留学中の培養条件を改変して、他の細胞種の培養上清を加える代わりに、エンドセリン3を添加することで、長期に安定し、しかも手軽に培養することができるようになった。エンドセリン3は、ニワトリの色素細胞の培養に必要不可欠であることが明確になった。そのころ、アルビノ・ニワトリを維持して頂けることになった名古屋大学大学院生命農学研究科付属施設の鳥類研究センター (NUABRC) に、ウコッケイの体内色素産生の遺伝子解析を打診したところ、協力するというご返事があった。ある形質の原因遺伝子を探すのは、闇夜でちょうちんを頼りに探し物をするようなものだが、ある形質が完全に独立的に遺伝するのであれば、うまく交雑家系を作って、その後代(子孫)の形質と遺伝子の連鎖を解析することで原因遺伝子が染色体の何番のどの辺りにあるのか、位置を特定していくことができる(連鎖解析)。これは新たなヒトの遺伝病の解析においても常套手段となっている。しかし、この手法は親と交雑家系 F1、それらの戻し交配 (Backcross) の多くの生物個体を維持しなければならず、鶏小屋のない慶應大の研究室では実現することは難しかった。この NUABRC からのご提案は、まさにありがたく、幸運な「渡りに船」であった。

まず、有色鶏を一方の親とするため、ウコッケイは白羽ウコッケイとし、交雑する有色鶏系統を選択した。一般的に体内色素をどの程度持っているのか、そしてその中で最も少ないものはどの系統かを調査した。白色レグホン、名古屋コーチン、YL、ブラックミノルカ、GSP などの同年齢のヒナで比較すると、

顕微鏡観察で確認できる程度のわずかな量ではあるが、いずれも体内色素がみられた。しかし、面白いことに羽の色が濃いニワトリほど、体内色素は少ない傾向があった。結果として真っ黒の羽を持ち、体内色素が最も少ないブラックミノルカを交雑の一方の親とすることとした。今から振り返ってみると、この標的形質 *Fm* の発現には未同定の阻害因子が介在しており、それが機能していると *Fm* の発現が抑制され、うまく解析できないことが分かってきた。その当時は、単に体内色素が少ないことで選択したのだが、結果としてブラックミノルカはこの阻害因子が働いていなかったことでうまく解析でき、この意味でも幸運が重なった。さて、戻し交配の 85 個体のうち、マイクロサテライト（特異的な小 DNA 断片）の配列（とサイズ）と形質が連鎖しているかどうかという連鎖解析の結果、原因遺伝子は 39 対 ($2n = 78$ 本) あるニワトリの染色体のうち、20 番染色体にあることが分かったが、その領域はまだ 1.46Mb [Megabase: 10^6 塩基 (base = b)] あり、64 遺伝子が存在した。この中には、注目していた色素産生の活性物質、エンドセリン 3 も含まれていたが、まだ候補領域は広く、もっと絞り込む必要があった。しかし、この連鎖の状況では、新たな家系を作出して一桁多い数の個体を調査しなければならないと考えられた。そのとき、マイクロサテライトの発現状況を詳細に検討すると、*Fm* を発現している個体ではいつもある領域がヘテロ（2 重形質発現）となっていた。当然、変異にはいくつかの型があり、1 塩基から複数塩基の置換、挿入、欠失などが主であるが、まれに重複や逆位が生じる。*Fm* を発現している個体がどれもある領域でヘテロであるならば、その領域に「わずかに異なる遺伝子が 2 コピーある」、すなわち「重複」が考えられる。このことから、重複領域の解析、すなわち遺伝子部分が 2 コピーになっているか、否かの解析を開始した。これはリアルタイム PCR 法というもので、遺伝子の増幅が 1 サイクル毎に倍々と増幅する仕組みを利用している。いずれのサンプルもその増幅が同じように進むのであれば、遺伝子がある一定量に達する時に、もともと 2 コピーあれば半分の時間で、4 コピーあれば 4 分の 1 の時間で到達することになる。この仕組みを利用してゲノム（細胞核中の全 DNA）内のコピー数を求める解析法である。どの細胞にも 1 コピーある遺伝子を基礎数 1 とし、問題としている形質を発現

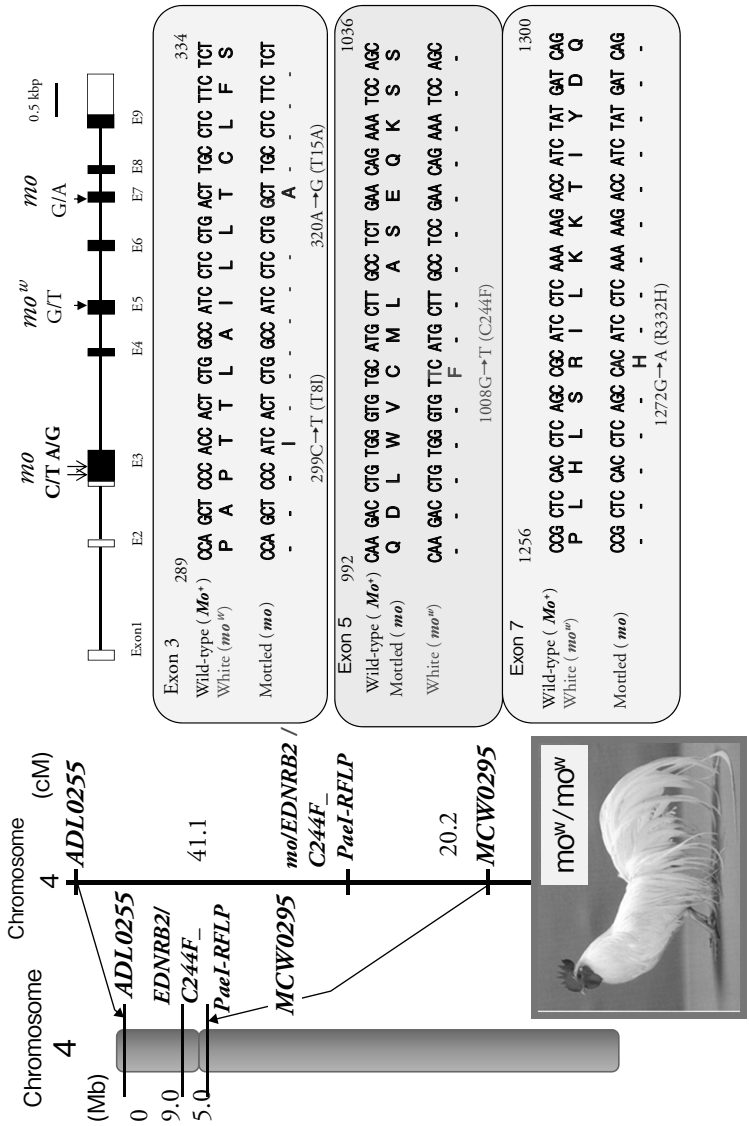
図9 ウコッケイに見られる *Fibromelanosis* の原因遺伝子解析

マイクロサテライトの発現パターンと形質との連鎖を解析する「連鎖解析」の結果、20番染色体のある領域に原因遺伝子があることが明らかになった。更に、この中の130kbの領域がウコッケイ特有に重複していることが明らかになった。この領域にはエンドセリン3を含む5つの遺伝子が含まれていた。詳細は Shinomiya *et al.*, 2011 参照。

しない個体の遺伝子を対照として、*Fm*を発現した個体のある部分の遺伝子のコピー数を解析する精緻な実験技術である。試験的に進めた初回の解析結果を示すモニター画面は、見事に *Fm* 個体ではその領域が2倍の遺伝子コピー数を示していた。とりあえず、カメラでその画面を写して、何度も繰り返してみても、精力的に実験を進めてくれた共同研究者の四宮さんと予想通りの結果を喜びあった (図9)。

詳細な解析の結果、ウコッケイの *Fm* の原因領域は130kbの領域が重複していることであったが、この領域にはまだ5つの遺伝子が含まれていた (図9)。注目していたエンドセリン3も含まれており、色素産生に関与する遺伝子とし

図 10 エンドセリン受容体 B2 の変異部位と変異ニワトリ



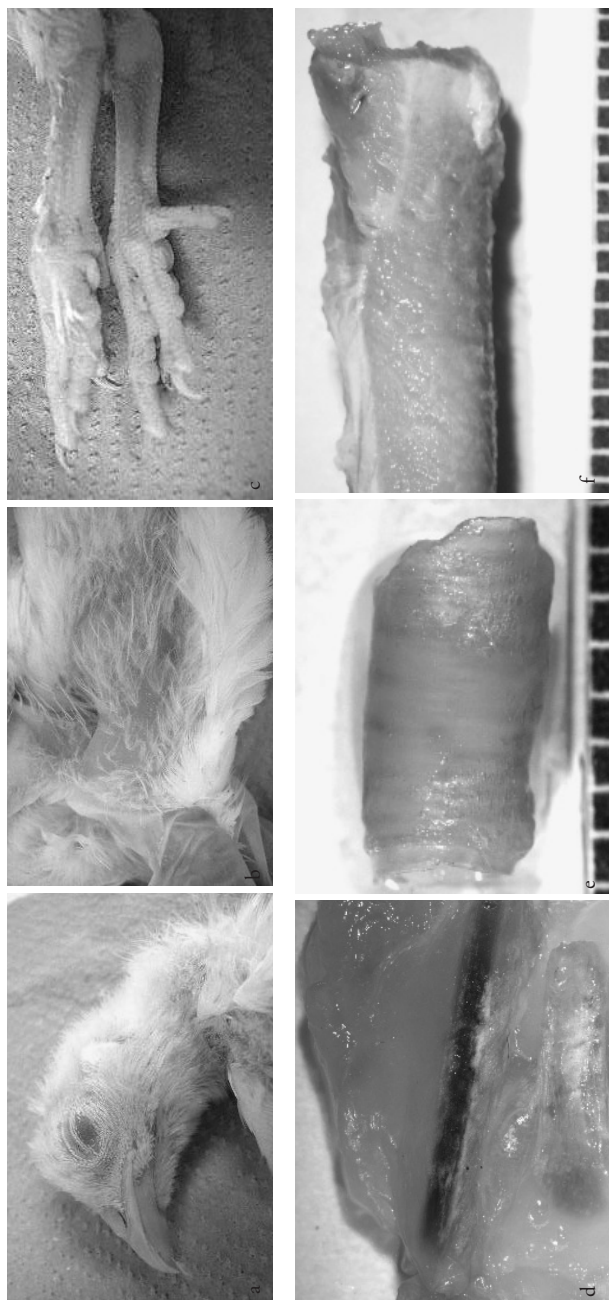
エンドセリン受容体 B2 の変異体のニワトリ，小国白系統とその変異部位。小国白は 1008G → T (C244F) を持ち，白羽であった。当然ながら体内色素は全くみられない。詳細は Kinoshita *et al.*, 2014 参照。

て第一候補と考えられた。実際に遺伝子発現を見ると5つのうち、エンドセリン3を含む4つの遺伝子が発現しており、その量も2倍になっていることが明らかになった。エンドセリン3の阻害剤や他系統の色素細胞に過剰にこれを加えた培養細胞の実験でも、この物質の効果は明らかだった。これらの結果は2011年にまとめて報告した (Shinomiya *et al.*, 2011)。ほぼ同時期に海外のグループが同様の報告を行い、結果が確認された形になった (Dorshorst *et al.*, 2011)。この解析はここまでで一区切りとし、二重になった構造解析とエンドセリン受容体以降のプロセスに興味に移っていった。

ちょうどそのころ、共同研究者グループの名古屋大学で、羽色が白くなる突然変異体を単離していた (図10)。遺伝子座は以前から報告されていた (基石; *mottled*) もの、実態が未同定であった。アルビノと交雑した結果、チロシナーゼが原因ではないことから、連鎖解析を行ったところ、エンドセリンを受け取る受容体 (EDNRB) のうち、B2型であることが明らかになった。変異体には変異部位の異なるいくつかの対立形質があり、そのうち、最も色素産生が大きく阻害されたものが白羽 (mo^w) となっていた。この変異体は、白羽となるばかりではなく、体幹部の色素細胞の数も少なくなっていたが、眼は黒眼で、眼や耳の機能は正常であった (図10) (Kinoshita *et al.*, 2014)。この突然変異体は、ウコッケイの Fm の形質がエンドセリン (EDN) 遺伝子の重複でその発現量が増加しているとすると、その受容体のひとつであったため、EDN後のプロセスを解析するのに絶好の材料であるように思われた。EDNのシグナルが増加している個体においてそのシグナルを受け取る受容体に変異して機能しないと Fm の発現はどのようになるのだろうか、このエンドセリン3とB2以外の仕組みによって色素産生が進むのだろうか、などの疑問がわいてきた。

私達は急ぎ、交雑系を作出することとした。まず、片方ずつ遺伝子変異を持つヘテロ (Fm/fm , Mo/mo^w) の家系、そして、 Fm と $EDNRB2$ 変異の mo^w の変異の両方をホモで持つ (Fm/Fm , mo^w/mo^w) 家系を作出した。その結果、ヘテロでも体内での色素産生の抑制が明瞭であったが、二重変異体では羽色も白く、体内外を問わず、全く色素産生がみられなかった。ウコッケイの Fm の形質はエンドセリン受容体 B2 の mo^w ホモ型変異によって全く発現されない。すなわち、 Fm

図 11 二重変異体 ($Fm/Fm, mo^w/mo^w$) の形質の 1 例



二重変異体の形質を示す。a, 頭部。黒眼, 白い嘴, b; 白い皮膚, c; 白脚, 体内臓器の d; 胸膜, e; 気管, f; 骨膜などにも全く色素産生はみられなかった。図 8 のウコケイの形質は完全に発現が阻害されたと言える。

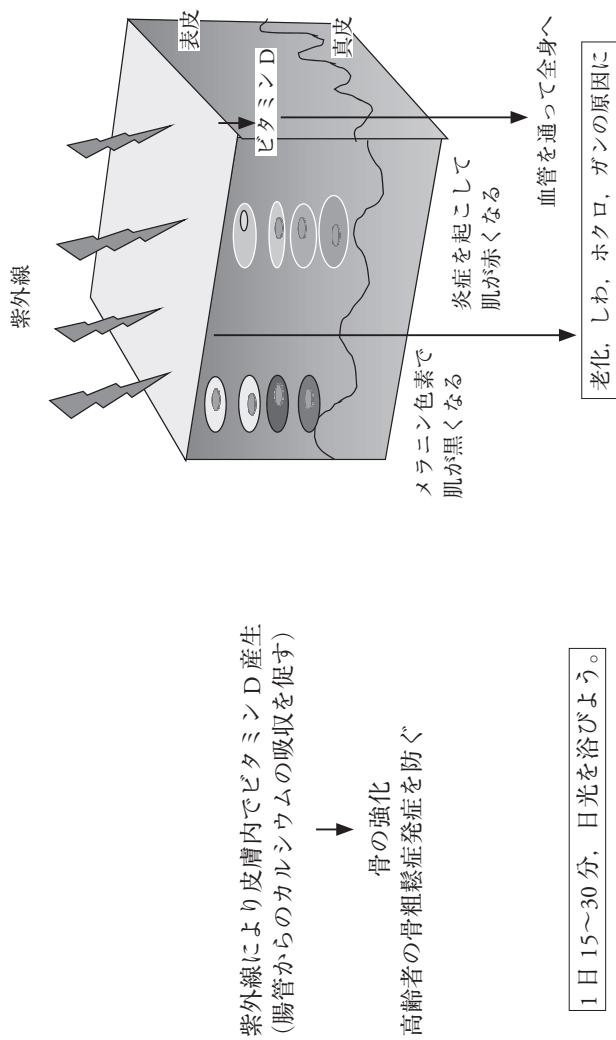
の原因遺伝子はその結合因子のエンドセリン3の重複であることが明瞭である。そして、ニワトリの色素産生では、体幹部の羽色、皮膚のみならず、内部においても、EDN-EDNRB2のシグナル伝達系の働きの不可欠であることが明らかになった(図11)。一方、眼は黒く、視覚・聴覚ともに大きな障害はみられなかった。ここに至って、私達はようやくウコッケイの*Fm*形質の原因遺伝子を「エンドセリン3の重複である」と明確に明らかにしたと言えることになった。

9. ヒトにおける日焼けと紫外線防止

さて、動物の多くはその種特有の体色や紋様を持っているが、ヒトを含め、哺乳類は単色で白、灰色や茶系統色、黒褐色などの体色を示しているものが多い。この体色は体毛の色によることが多いが、ヒトのようにほとんど体毛を持たない場合は皮膚の色が体色となる。ヒトでは、500-700万年前に他の霊長類の祖先と袂を分かって、ヒトへの道へ進化してきた過程で体毛を失ってきたと考えられている。その利点は、1)草原で暮らすようになったため日光が直接当たることが多く、体毛による体温の上昇を防ぎ、発汗により体温を下げることが可能、2)性的成熟度がみえやすく異性にアピールしやすい、3)知的な発達に伴ったため、怪我の防止や蓑替わりにしていた毛が無くなってもあまり困らなくなったなど、体毛が不要になった理由が考えられる。それでは、ヒトにおける体色の意義は全く失われたのだろうか？ ヒトの皮膚における色素産生の機能について、改めて考えてみたい。

肌の色がいわゆる人種によって異なることはよく知られており、一般にアフリカ、熱帯地域の人達は、肌の色が濃く、北方へ移動した人達は白い肌の色となり、中間部のヒトは黄色人種と言われる黄色みを帯びた薄いピンク色から薄茶色である。このように肌の色も種々であることからクレヨンなどの絵の具類から「肌色」という色名は無くなったのだと視覚心理学の鈴木恒男先生からご教示を受けた。日本の以前の「肌色」のクレヨンは「パールピンク、薄桃色」と記載されているそうだ。世界的にみれば「肌色」が一色でないことは周知の

図 12 ヒトの皮膚に対する紫外線の効果



ヒトの皮膚に紫外線が当たったときの影響を示す。日光を浴びると、数日後にメラニン産生により皮膚が黒くなってその後の紫外線を防御し、遺伝子損傷が起きないようにする。また、体内でビタミンDが産生され、腸でのカルシウムの吸収を高める。その結果、骨の強化につながる。

ことであり、この変更は遅きに失したのかもしれない。ところで、このヒトの肌の色の違いは、その地域の紫外線量に応じて、最も適した肌の色に適応したと解釈されている。すなわち、ヒトの皮膚の色は、ユーメラニンとフェオメラニンの量と質の違いで現れるもので、濃い肌色のヒトはユーメラニン量が多く、薄いヒトは少なくなっており、多くのメラニンを持つことで紫外線防止効果が高くなり、細胞の核内の遺伝子の損傷を防ぐとされている（図 12）。長い間に、紫外線量の多いアフリカや熱帯地域では、濃い肌色のヒトが有利で生き残り、紫外線量の少ない北の地域では薄い肌色のヒトも生存可能で、白い肌が好まれるにつれ、白い肌のヒトが増えていったと考えられる。加えて、皮膚内では日光を浴びてビタミン D が産生され、腸でのカルシウムの吸収を促進して骨の細胞の強化につながるが、日光量が少ない北方地域では日光をよく取り入れるために色素量が少ない白い肌が有利だったと考えられる。いずれの場合も、一定量の紫外線を浴びると、細胞内で色素産生が活性化し、数日後には日焼けが生じる。これは、色素細胞が持っている防衛的な機能で、日焼けをすることでそれ以上の紫外線から遺伝子を守るためであり、非常に合目的な防御である。また、前述の日光を浴びることによるビタミン D 産生は骨の強化に非常に有効で、高齢者の骨粗鬆症の予防にも繋がる。ところが昨今は、紫外線は皮膚ガンの原因となるのであるべく日焼けをしないように、日焼けをするとシミ、しわの原因になる、ひいては皮膚の老化が進むので、若いうちから極端な場合は幼児の時からその原因を作らないようにと日光に当たることが嫌われているような気配もある。ヒトに必要なビタミン D 産生には 1 日 15 分から 30 分程度、日光を浴びることで十分と言われている。気になる方は顔には日焼け止めを塗り、手や腕くらいは出して日光を浴びつつ 30 分程度散歩をされることを是非お勧めする（図 12）。室外に出て日光を浴びることの意義も大きいのである。

10. メラノーマ（皮膚ガン、ほくろのガン）

次に、皮膚ガン、特にメラノーマについて述べてみたい。他の変温脊椎動物

の色素細胞は、いずれの細胞種も腫瘍性を獲得してガン化しうるし、それらの報告もある。前述のように私達もコイの赤色素細胞のガンを報告している。ヒトの皮膚ガンはメラノーマが主であり、増殖性や転移性が高く、悪性度の高いガンである。日本人では、別名ホクロのガンと呼ばれており、特に手のひらや足裏のホクロなどが傷を受けて増殖性を獲得し、メラノーマになる例が多く報告されている。他のガンと同様に、発ガン性を獲得する原因は体細胞に遺伝子変異が生じることで、細胞増殖時のエラー、紫外線や放射線など電磁線、発ガン物質、ガンウイルスに感染などがある。これらの原因による自然発生的な遺伝子変異に加えて、手のひらや足裏のホクロが傷を受けると、その部分の傷を埋めるように細胞増殖が始まり、異常な増殖能を獲得することが主な原因と考えられる。傷を受け続けるとガン化しやすいことはよく知られているので、手のひらや足裏にかかわらず、ホクロを素人が針でつついたりして傷つけるのは危険である。欧米の場合は、ホクロは皮膚がんの予備軍としてほとんど切除してしまうが、日本人の場合、多くのホクロは急な変化がみられない場合、それほど心配がない。しかし、ホクロの部分が増大したり、色やざらつき、湿った感じなど表面の状態が変わってきたり、周囲に小さなホクロが増えてきたりなど、変化がある場合は早めに皮膚科を受診されることが望ましい。

さて、紫外線がメラノーマの発ガン物質の一つであることは明らかであるので、防止には紫外線対策となる。まず、日焼けサロンなどで過剰に紫外線を浴びることはメラノーマ防止のためにも絶対避けた方がよいと言える。長時間、日光を浴びる可能性があるアウトドアの活動をする時、特に色白の人はサンバーンといって火傷状態になるので、しっかりと日焼け止めを塗ることをお勧めする。長時間、特に紫外線量が高い時間帯に外にいる場合は、幼児も同様である。しかし、先に述べたように、15分から30分位の日光浴は、むしろ健康維持に効果的であることを再度述べておきたい。

私自身は生来の色黒に加えて、大学時代から山登りが趣味で、冬はまたスキーと、大量の紫外線を浴びてきた。もう、今となっては、シミ、シワが気になる年齢でもないが、所属する色素細胞学会の皮膚科の先生方からは色黒とシミであきられる存在でもある。「医者の不養生」、「紺屋の白袴」のたとえがあ

るが、「手遅れ感」の思いとともに、「研究者は専門領域の知識をしっかりと身につけて役立てなければならない」と自省している。

11. 「美白」剤の効果と問題点

さて、学会の知識の還元として美白剤の効果を最後に記載しておきたい。私達、黄色人種は白色人種よりページュがかった肌の色であるが、「色の白いは七難隠す」と言われて、美人の条件は色が白いこととされ、昨今の化粧品が目指すのは「美白」である。この美白剤が作用する過程は、1)色素細胞が色素産生をするのを防ぐ、2)色素細胞が産生したメラニン进行所蔵するのを防ぐ、3)色素細胞が角化細胞にメラニン顆粒を送るのを防ぐなどがある。1)についてもメラニン産生の3つの鍵酵素、チロシナーゼ、チロシナーゼ関連酵素1 (DICA)、チロシナーゼ関連酵素2 (DCT) の作用の阻害がある。チロシナーゼは酸化酵素で、酵素反応には酸素が必要であるため、酸化作用の強いビタミンCは、拮抗阻害剤の一つであり、日焼け防止剤として知られている。また、メラニン色素の最初の材料のアミノ酸であるチロシンに対して、システインというアミノ酸はフェオメラニン産生に誘導するのでメラニン産生を抑制できる。化粧品の場合は麹菌の中のコウジック酸、ベニバナの中の有効成分などが色素産生の阻害剤として開発されて化粧品に含まれている。しかし、「美白剤」に含まれていたロドゲノールによる白斑症は、大きな社会問題となり記憶に新しい。顔や手足の肌の色むらは外観上大きく目立ち、心理的に影響が大きい。現在、多くの皮膚科の医師・化粧品会社の研究者たちがチームを組んで窓口相談や情報収集・治療に応じている。個人的には免疫的な体質の差が大きく影響していると思われるが、一般的にはチロシナーゼの作用を強く阻害する薬剤は細胞の過剰反応を誘起し、色素産生の異常を生み出し危険である。私たちの体は基本的に日光を浴びると日焼けで黒くなることで生体防御をする仕組みになっているからである。肌に異常を感じたら、速やかに化粧品の使用を止める必要がある。白いばかりを目指さず、肌荒れや湿疹などがない健康なスキンケアを心がけることで、皮膚ガンや、皮膚のトラブルは避けられるであろう。

最後に

このように、これまで好きな研究を続けられたことは本当に幸せだった。主な研究の間にここには書かなかったサイドワーク的な研究も多かったが、それらも楽しみつつ、研究生活を送ってきた。着任時に決心していた毎年の国内外学会での発表もほぼ実現でき、小さな学会の年会も主催させて頂いた。これもひとえに、法学部の皆様、生物学教室の皆様、指導教授の松本二郎先生、そして学内外の共同研究者の皆様、助教の皆様のご支援の賜物であり、心より御礼を申し上げたい。特に、名古屋大学鳥類バイオサイエンス研究センターの並河鷹夫、松田洋一、水谷誠、木下圭司の諸先生とセンターの皆様にご心より御礼申し上げます。また、歴代助教の方々（中村瑞穂、宮崎勝己、広瀬飛田・寺本孝行、倉林敦、四宮愛、現在の足立朋子の諸氏）に感謝申し上げます。任期を終えられて異動された方々は、他大学の教授、准教授、研究員、高校教諭などになって活躍しておられるが、それぞれの方の貴重な貢献があってこれまでの研究が続いてきたと、感謝している。またこれらの研究を続けるに当たり、学事振興資金、福澤記念研究基金、小泉記念基金の支援を頂いた事に深謝したい。

一方で、教育では「生物学」の授業に学生実習があり、学生との双方向性のやり取りができた。研究会でもじっくりと討論ができ、学生との交流がある授業は楽しかった。学生にも恵まれたと思う。正規の授業以外にも、理工学部の臨海実習、希望者を募っての自由参加の西表実習や一貫校連携の臨海実習や立科山荘での林間実習などを企画し実施することができた。準備も実施も大変ではあったが、これらは協力して下さる多くの先生方があり、希望者が参加してくれて成功するものである。いずれにも恵まれて、やりがいのある企画だった。事故なく実習が済んだこともありがたいことだった。特に琉球大熱帯生物圏研究センター（西表実習所）での馬場繁幸先生とセンターの皆様、横浜国立大の真鶴臨海実験センターの種田保穂先生と皆様、一貫校の谷口、松本、杵島、井澤、柊原の諸先生方、立科山荘の皆様には感謝申し上げます。ゼミを持たない日吉の教員としては、野外実習時の様々な教員の方々と関係者、学生との出会いは宝物のようにきらめく記憶になっている。特に、未来先導基金、調整予

算などの支援とその事務局の方々も含め、これまでご支援、ご協力を頂いた皆様に心から御礼を申し上げたい。最後に、このように仕事を楽しむ傍ら、深田久弥が編んだ「日本百名山」にも完登することができ、私の心身ともに健康のバランスを整え支援してくれた家族にも心より感謝したい。

参考文献

- Akiyama, Toyoko and Jiro Matsumoto, Implication of actin filaments in pigment aggregation of swordtail erythrophores. (1981) In: *Pigment Cell* 1981. ed. M. Seiji. University of Tokyo Press, Tokyo. pp. 417-426.
- Akiyama, Toyoko and Jiro Matsumoto, The blockade of pigment displacement in swordtail erythrophores by microinjection of anti-actin antibody. (1983) *Journal of Experimental Zoology*, 227: 405-411.
- Akiyama, T., Behavior of microinjected liquid paraffin droplets during motile response of swordtail erythrophores. (1985) *Zoological Science*, 2: 193-199.
- Akiyama, Toyoko, Jiro Matsumoto, Takatoshi Ishikawa and Goro Eguchi, Production of crystallins and lens-like structures in differentiation-induced neoplastic pigment cells (goldfish erythrophoroma cells) in vitro. (1986) *Differentiation*, 33: 34-44.
- Akiyama, Toyoko, Jiro Matsumoto and Syu-ichi Hirai, Myosin and actin in melanophoroma-like variants of goldfish erythrophoroma cells: their intracellular distribution and possible association with pigment translocation. (1990) *Cell Tissue Research*, 259: 239-246.
- 秋山豊子 アルビノ・ニワトリ細胞に遺伝子導入されたマウス・チロシナーゼはどう働くか? I. 遺伝子導入のためのベクターウイルスの構築 (1994A) 慶應義塾大学 日吉紀要 自然科学 15: 1-15。
- 秋山豊子 アルビノ・ニワトリ細胞に遺伝子導入されたマウス・チロシナーゼはどう働くか? II. プロウイルスのトランスフェクションとレトロウイルス産生 (1994B) 慶應義塾大学 日吉紀要 自然科学 16: 1-11。
- Akiyama, Toyoko, Beth Whitaker, Mark Federspiel, Stephen H. Hughes, Hiroaki Yamamoto, Takuji Takeuchi and John Brunbaugh, Tissue-specific expression of mouse tyrosinase gene in cultures chicken cells. (1994C) *Experimental Cell Research*, 214: 154-162.
- 秋山豊子 アルビノ・ニワトリ細胞に遺伝子導入されたマウス・チロシナーゼ遺伝子はどう働くか? III. in vitro と in vivo におけるウイルス感染とその遺伝子発現の検定 (1997) 慶應義塾大学 日吉紀要 自然科学 21: 1-14。
- 秋山豊子「色素細胞」pp.193-206 第14章 色素異常症の動物モデルとしての鳥類色素変種 (2001) 松本二郎・溝口昌子編 慶應義塾大学出版会。

- Akiyama, T., Jiro Matsumoto, Kunio Kitamura, Immunocytochemical studies on the differentiation of melanophores and its relation to migratory behaviors in goldfish *Carassius auratus*. (2006) 慶應義塾大学 日吉紀要 自然科学 39: 1-20.
- 秋山豊子「新編 色彩科学ハンドブック 第3版」pp.1153-1168 第22章5節 動物の色 (2011) 東京大学出版会。
- Akiyama, Toyoko and Ai Shinomiya, Overview on the melanocyte precursor Migration from the neural crest. (2013) In: Skin Pigmentation Genetics, Geographic Variation and Disorders Chapter 6, pp.175-196.
- 秋山豊子「色素細胞 第二版」pp.192-206 第15章 色素異常症の動物モデルとしての鳥類色素変種 (2015) 伊藤祥輔, 柴原茂樹, 錦織千佳子監修 慶應義塾大学出版会。
- Bagnara, J. T. and Hadley, M. E. eds. "Chromatophores and color change" (1973) Englewood Cliffs, NJ.
- Dorshorst, B., A. M. Molin, C. J. Rubin, A. M. Johansson, L. Strömstedt, M. H. Pham, C. F. Chen, F. Hallböök, C. Ashwell, L. Andersson, A complex genomic rearrangement involving the endothelin 3 locus causes dermal hyperpigmentation in the chicken. (2011) PLoS Genet. 1002412. Epub 2011 Dec. 22.
- Fujii, R., The regulation of motile activity in fish chromatophores. (2000) Pigment Cell Research, 13: 300-319.
- 日高敏隆 動物の体色 UP バイオロジー (1983) 東京大学出版会。
- Kinoshita, S. and S. Yoshioka, eds. Structural colors in biological systems – Principles and applications. (2005) Osaka University Press.
- 木下修一 モルフォチョウの蒼い輝き (2005) 化学同人。
- Kinoshita, Keiji, Toyoko Akiyama, Makoto Mizutani, Ai Shinomiya, Akira Ishikawa, Hassan Hassan Younis, Masaoki Tsudzuki, Takao Namikawa and Yoichi Matsuda, *Endothelin receptor B2 (EDNRB2)* is responsible for the Tyrosinase-independent recessive white (*mo^w*) and mottled (*mo*) plumage phenotypes in the chicken, (2014) PlosOne 9: 1-14.
- Kondo S. and Asai R. The viable Turing wave on the skin of P. Imperator. (1995) Nature, 376, 765-768.
- Le Douarin, N. M. and C. Kalcheim, eds., The Neural crest, Second Edition, (1999) Cambridge University Press.
- Matsumoto, J., T. Akiyama and M. Nakahari, Surface morphology of fish pigment cells; Its roles in analyses of their motility and functional differentiation. (1984) Scanning Electron Microscopy, 3: 1279-1288.
- Matsumoto, Jiro, Kumiko Wada and Toyoko Akiyama, Neural crest cell differentiation and

- carcinogenesis: capability of goldfish erythrophoroma cells for multiple differentiation and clonal polymorphism in their melanogenic variants. (1989) *Journal of Investigative Dermatology*, 92: 255s–260s.
- Matsumoto, Jiro, Toyoko Akiyama, Nobuo Nemoto, Prince Masahito and Takatoshi Ihsikawa, Appearance of tumorous phenotypes in goldfish erythrophores transfected with *ras*, *src*, and *myc* oncogenes and spontaneous differentiation of the transformants in vitro. (1993) *Journal of Investigative Dermatology*, 100: 214s–221s.
- Meredith, P. and T. Sarna, The physical and chemical properties of eumelanin. (2006) *Pigment Cell Res.*, 19; 572–594.
- Nordlund, J. J. et al. eds., The pigmentary system, Physiology and pathophysiology. (2006) Blackwell Publishing.
- Shinomiya, Ai, Yasunari Kayashima, Keiji Kinoshita, Makoto Mizutani, Takao Namikawa, Yoichi Matsuda and Toyoko Akiyama, Gene Duplication of the endothelin 3 is closely correlated with the hypermelanization of the internal organs (*Fibromelanosis*) of Silky chickens. (2011) *Genetics*, 111.136705. Epub 2011 Nov. 30.
- Tobita-Teramoto, Takayuki, G. Y. Jang, D. W. Salter, J. Brumbaugh and Toyoko Akiyama, Autosomal albino chicken mutation (c^a/c^a) deletes hexanucleotide (- Δ GACTGC817) at a copper binding site of the tyrosinase gene (2000) *Poultry Science* 79: 46–50.