

博士論文審査報告書

氏名	岡本 晋一 (カト シイ)
学位の種類	博士 (理学)
学位記番号	博理第90号
学位授与報告番号	甲第260号
学位授与年月日	平成28年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
論文題目	ゼブラフィッシュ幼生の腸運動を制御する平滑筋と腸神経系の Ca^{2+} イメージングと光遺伝学による機能解析
論文審査委員	(主査) 教授 城 宜嗣 (副査) 教授 八田 公平 (副査) 教授 宮澤 淳夫 (副査) 教授 小野 富三人 (大阪医科大学生理学教室)

1. 論文内容の要旨

本論文では、 Ca^{2+} 濃度変化に応じて蛍光強度が変化する蛋白質 GCaMP3 の遺伝子を組み込んだトランスジェニックゼブラフィッシュ系統を作製し、平滑筋（輪走筋）の Ca^{2+} イメージングを生きた脊椎動物の個体内で行なった。その結果、ゼブラフィッシュ幼生において、腸が食物を口から排泄腔へと移動させる時、腸の中の食塊の口側で輪走筋が強く光ると同時に収縮し、一方、排泄腔側では光らずに弛緩することを可視化して観察し、「蠕動反射」の存在を証明した。また、輪走筋と神経細胞の同時イメージングをおこない、筋肉の収縮と同期して活動する腸神経細胞群を同定した。次に、このような腸の運動を制御する筋肉系、腸神経系、内分泌系の仕組みを調べるために、青い光を照射した時だけ開くカチオンチャンネル、チャンネルロドプシン2 (ChR2) を、平滑筋、腸内分泌細胞、神経細胞などに発現させた。これらの細胞に青い光をあて、1～数個の細胞を興奮させることで、腸を局所的に収縮させたり、蠕動運動様の行動を誘起したり、あるいは、逆に腸の運動を抑制する事にはじめて成功した。また、蠕動運動より周波数が高く、口側から排泄腔側により高速で伝搬する収縮波「緩徐波」を観察し、ペースメーカー細胞であるカハールの介在細胞の存在を機能面から示唆した。

2. 論文審査結果

本論文で申請者は、神経細胞だけでなく筋肉やさまざまな細胞において Ca^{2+} 濃度変化を

可視化し、発生途上にある脳や網膜の神経上皮における特徴的な Ca^{2+} 波を発見した。次に、この技術を消化管の運動を制御する平滑筋や、第2の脳ともよばれる腸神経系に応用し、これらの細胞の活動を生きた個体内で観察した。これまでの哺乳類での研究では、腸を体外に露出、あるいは腸の一部を切り出して研究する必要があったが、本研究では、ゼブラフィッシュ胚や幼生が透明であることを利用して、体に傷を付ける事なく、非侵襲的に調べる事に成功している。さらに、ChR2 をもちいる「光遺伝学」の手法をはじめて腸神経系に応用し、腸の運動を光で操る事が、脊椎動物で可能であることを示した。

これまで、ゼブラフィッシュにおいて、腸の神経生理学的な研究はほとんど行われておらず、本研究は、今後、ゼブラフィッシュを脊椎動物モデルとして、腸の機能を解析していく際に、先駆けとなる成果と考えられる。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成28年1月19日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。