

学位論文題名

ミンクの秋季換毛に関する研究

—チロシナーゼを指標としたメラトニンの作用機序—

学位論文内容の要旨

主要な毛皮家畜であるミンクは典型的な季節換毛動物であり春季と秋季の年2回換毛を行う。季節換毛が光周期によって影響を受けることは古くから知られているが、外界の光の刺激を動物体内で変換し生体内信号として伝達し、生体の概日・概年リズムを調節しているのが松果体ホルモンのメラトニンである。ミンクに対する徐放性埋没剤を利用したメラトニン投与は秋季換毛を促進することが報告されており、毛皮生産現場での生産性向上に寄与するとされている。しかし、メラトニン投与による換毛促進の機序はメラトニンによって分泌抑制を受けるプロラクチンの関与が示唆されているが、詳細は明らかにされていない。一方で、メラトニンは、両生類などではメラニン色素の拡散効果を有し、ミンクにおいても最終産物での毛色の劣化を招く懸念がある。毛色はメラニン色素の量、タイプおよび分布により決定されるが、メラニン合成における制限酵素となっているのがチロシナーゼである。しかしミンクを初めとする季節換毛動物の色素合成系に関する知見は少なく、未解明な部分が多い。

本研究ではミンクの秋季換毛について、皮膚の組織学的変化と色素合成系の制限酵素であるチロシナーゼの変化、およびこれらに対するメラトニン投与の影響から究明した。

本研究で得られた主な成果は以下のように要約される。

1) 皮膚の形態学的特徴のうち幾つかをパラメーターとして設定し、その変化を定量的に測定したが、換毛を皮膚の組織学的変化として捉えると、測定した各パラメーターは全て連動して変化しており、換毛は単に新たな毛の生産とその成長にとどまらず、皮膚組織全体の変化、即ち複雑であるが調和のとれた上皮-間充織相互作用の上に成り立つ皮膚の総合的な変化であることが確認された。そしてメラトニン投与はこの皮膚の総合的な変化を、バラン

スを崩すことなく早期化していることが判明した。このことはメラトニン処理によっても皮膚組織の連動した変動様式には通常の換毛と比較して差異がなく、また早期化された活性期の期間等についても差異がないことから確認された。メラトニン処理による換毛促進効果は5-6週間程度であった。一方、投与量によっては明確な換毛周期を示さないことがあり、一定量以上のメラトニン投与が必要であることも確認された。正確な臨界値とはいえないが、本研究結果から雄では5 mg以上、雌では2.5 mg以上の投与が必要であった。

2) 徐放性埋没剤からのメラトニン放出速度を調節し、メラトニン放出が継続される期間を2ヶ月にまで短縮した場合、最終的な換毛は通常の換毛より遅れたが、秋季に2回の換毛を誘導する結果となった。この場合でも、各々の換毛に要する期間は正常な換毛と比較してほとんど差がなく、メラトニン処理は換毛現象が進行する期間全体を早期化させたものと推測された。さらにメラトニン処理により秋季換毛を促進させるには、投与量だけでなく、一定期間以上メラトニンを連続投与する必要があることも確認された。生体内でのメラトニンの血中動態を推定すれば、埋没剤から放出される外因性メラトニンと日長の変化により誘導された内因性メラトニンそれぞれに対応して、換毛が2回起こったものと推定された。また、いずれの実験系においても換毛に要する期間がほぼ一定であったことから、毛の成長期間には内因性のリズムあるいは制約のあることが示唆された。色素合成系における制限酵素であるチロシナーゼのミンク皮膚抽出液中での活性は組織学的変化と連動した季節変化を示した。この変動様式はメラトニン処理の如何に関わらず認められ、毛の生産と色素合成が同時平行的に進行していることが示された。詳細には休止期から活性期への移行時点で、チロシナーゼ活性の変化が組織学的変化に先行しており、有色毛であれば毛生産の開始以前に色素合成が開始される必然性が実験により確認された。

3) ミンク皮膚チロシナーゼは全ての供試ミンクにおいて、反応時間に依存した二相性を示した。反応は12時間目に変曲点を持ち、変曲点以前の低反応相と、以後の高反応相に分けることができた。このチロシナーゼ活性の反応時間による二相性は、比較検討に用いたマウス皮膚やメラノーマ細胞のチロシナーゼでは観察されず、季節換毛動物のチロシナーゼを取り扱った本研究により初めて明らかにされたものである。また、測定値を積算することで、秋季換毛を通しての色素合成量の評価を試みたが、生体皮膚の状態をより反映すると推測される低反応相において、メラトニン処理は対照に比べ劣って

おり、メラニン形成量は低下する一方、潜在的なチロシナーゼ活性には影響しないものと推測された。更に、より詳細なミンクチロシナーゼの性質を知るため、マウスメラノーマ細胞から精製したチロシナーゼを抗原に抗血清を作製した。この抗血清をミンク皮膚抽出液に添加し、反応後の上澄液、沈澱両画分でのチロシナーゼ活性を測定した。メラトニン処理の有無、あるいは毛色の相違に関わらず、添加した抗血清量に依存したチロシナーゼ活性の増加が観察され、抗原であるメラノーマ細胞のチロシナーゼとは逆の結果となった。抗血清にはチロシナーゼ活性がなく、また正常血清にはチロシナーゼの活性化作用は認められなかったことから、抗体により活性化を受けることは二相性反応と並んで、ミンクチロシナーゼの特性の一つと考えられる。また、ミンクチロシナーゼ活性の二相性は抗体共存下でも保持され、毛色が異なるミンクにおいても観察された。特に精製状態にある抗体と反応後の沈澱画分においても認められたことから、反応時間による二相性が、マウスなどとは著しく異なるミンクチロシナーゼに特異的な性質と考えられる。また、チロシナーゼ活性の季節変動は、抗血清を添加した場合でも未添加の場合と同様に組織学的変化と連動した変化を示し、換毛に伴い活性だけでなくチロシナーゼの存在量自体も変化していると推測された。

以上の結果からメラトニンの秋季換毛に対する作用機序は以下のように推測される。休止期の皮膚はプロラクチンを初めとするホルモンによってネガティブコントロールを受け、毛生産は阻害された状態にある。人為的なメラトニン投与、或いは日長の変化により血中メラトニン濃度が上昇すると、プロラクチンの分泌は抑制され、ホルモンバランスが変化する。その結果ネガティブコントロールから脱した皮膚、特に毛乳頭細胞の活性化が起こり密接な相互作用の下にある表皮系も連動して活性化を受け、毛生産と色素合成、すなわち換毛が開始される。毛生産が行われる期間は、細胞に内包される固有のリズムによりほぼ一定に保たれており、自律的進行によって休止期へと移行する。換毛が終了した時点での生体内のホルモンバランスに従い、皮膚は休止期を維持するか、或いは再度活性期となるかが決定される。上記のように、本研究は換毛機序解明に向けて新たな視点を提示したものと言える。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 近 藤 敬 治  
副 査 教 授 齋 藤 善 一  
副 査 教 授 高 橋 興 威  
副 査 助 教 授 中 村 富 美 男

学 位 論 文 題 名

## ミンクの秋季換毛に関する研究

—チロシナーゼを指標としたメラトニンの作用機序—

本論文は図表31を含み、6章からなる総頁数101頁の和文論文である。別に参考論文7編が添えられている。

松果体ホルモンであるメラトニンは光の刺激を生体内信号へと変換し、生体の日周性や季節性を調節している。季節換毛動物であるミンクに対する徐放性埋没剤を利用したメラトニン投与は、秋季換毛を促進することが報告されており、毛皮生産現場での生産性向上へ寄与するとされている。しかし、メラトニン投与による換毛促進の機序は明らかにされていない。また一方で、メラトニンは両生類などではメラニン色素の拡散効果があり、ミンクにおいても最終産物での毛色の劣化を招く不安がある。毛色はメラニン色素により決定されるが、メラニン合成において制限酵素となっているのがチロシナーゼである。しかし、ミンクを初めとする季節換毛動物の色素合成系に関する知見は少なく、未解明な部分が多い。本研究は、ミンクの秋季換毛を皮膚の組織学的変化と色素合成系において制限酵素となるチロシナーゼの活性変化、およびこれらに対するメラトニン投与の影響を明らかにすることを目的に行ったものである。

研究の結果は以下のように要約される。

1) 換毛を皮膚の組織学的変化として捉えると、換毛は単に新たな毛の生産とその成長にとどまらず、皮膚組織全体の変化、即ち複雑であるが調和のとれた上皮-間充織相互作用の上に成り立つ皮膚の総合的变化であることを確認している。そしてメラトニン投与はこの皮膚組織の総合的变化をバランスを崩すことなく早期化していることを明らかにしてしている。このことはメラトニン処理によっても皮膚組織の変動様式には通常の換毛と比較しても差異がなく、また早期化された活性期の期間等についても差異のないことから確

認している。メラトニン処理によって換毛が促進される程度は5-6週間であった。一方、投与量によっては明確な換毛周期を示さず、一定量以上のメラトニン投与を必要とする事も明らかにしている。

2) 徐放性埋没剤からのメラトニン放出速度を調節し、メラトニン放出が継続される期間を2ヶ月にまで短縮した場合、最終的な換毛終了は通常の換毛の場合より遅延したが、秋季換毛を2回誘導することに初めて成功している。この2回の換毛は埋没剤から放出される外因性メラトニンと日長の変化により誘導される内因性メラトニンそれぞれに対応して起こったものと考察している。また、いづれの実験系においても換毛に要する期間がほぼ一定であったことから、毛の成長期間には内因性のリズムあるいは制約のあることを示唆している。また、色素合成系における制限酵素であるチロシナーゼのミンク皮膚抽出液中での活性は、皮膚組織の変化と連動した季節変化を示し、毛の生産と色素合成が同時に進行していることを明らかにしている。

3) ミンク皮膚のチロシナーゼ活性は反応時間に依存し、12時間目に変曲点をもつ低反応相と高反応相からなる二相性を示すことを発見している。ミンクチロシナーゼ活性の二相性反応は、マウス皮膚やメラノーマ細胞のチロシナーゼでは観察されず、本研究により初めて明らかにされたものである。また、秋季換毛の全期間におけるチロシナーゼ活性の積算量から、メラトニン処理はメラニン形成量を低下させる一方、潜在的なチロシナーゼ活性には影響しないことを示唆している。更に、メラノーマ細胞から精製したチロシナーゼを抗原に作製した抗血清をミンク皮膚抽出液に添加し、反応後の上澄、沈澱両画分でのチロシナーゼ活性を測定した。その結果、全ての試料において添加した抗血清量に依存したチロシナーゼ活性の増加およびチロシナーゼ活性の二相性が抗体存在下でも保持されていることを明らかにしている。これらのことは他の動物種においては確認されておらず、ミンクに特異的な性質として初めて見いだしたものである。

以上のように、本研究は哺乳動物の換毛メカニズムを解明する上で学術上重要な知見を加えたばかりでなく、主要毛皮家畜であるミンクの生産性向上に寄与するところ頗る大きく、応用面においても高く評価される。

よって、審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者 福永重治 は博士(農学)の学位を受けるのに十分な資格あるものと認定した。