

京都大学	博士 (人間健康科学)	氏名	森泉 元
論文題目	<b>Individual identification of inbred medaka based on characteristic melanophore spot patterns on the head</b> (頭部の特徴的なメラノフォア斑点パターンに基づく近交系メダカの個体識別)		
(論文内容の要旨) <p>メダカ (<i>Oryzias latipes</i>) では様々なヒト疾患モデルが作出され、医学研究に利用されている。しかし、複雑な疾患の機序や確率的発症により、遺伝的・環境的に均質な実験動物においても病態には個体差が生じる。そのため、特に神経変性疾患などの遅発性疾患や投与期間の長い薬剤の研究では、長期的な解析を個体ごとに行うことが望まれる。そしてこれを実現するためには、適切な個体識別によって各個体を追跡することが必要となる。</p> <p>個体識別法には、タグ装着や刺青等の人為的な標識と、個体固有の体の斑紋等を利用した自然標識が存在する。実験動物への適用を考えると、前者は侵襲的手法による動物への影響が懸念されるため、非侵襲的な後者が望ましい。しかし、体表に明確な模様を持たず、かつ均質で個体差の小さいと推測される実験動物としてのメダカに利用可能な特徴は確立されていなかった。</p> <p>本研究では、メダカ頭部の黒い斑点の分布パターンをバイオメトリクスとして利用することを提案する。この斑点はメラノフォア (黒色素胞) によるものであると考えられ、デジタルカメラで簡単に記録できる。斑点パターンがバイオメトリクスとして機能することを示すため、遺伝的均質性が極めて高い近交系メダカを利用して時間的な変動や個体差を検証し、非近交系メダカの個体識別にも適用した。</p> <p>最初に、近交系メダカ (Hd-rR 系統) 6 個体の斑点パターンを 34 週間にわたって 6 時点で記録し、変動を調べた。その結果、時間経過に伴って斑点の消失や出現が確認されたものの、特に 4 週間隔ではその変化が小さく、前時点のパターンとの明確な対応を認めることができた。続いて、Hd-rR 系統 30 個体の斑点パターンを記録・比較したところ、全ての個体が固有のパターンを有していた。また、その 4 週間後も全個体が異なるパターンを有し、前時点からの変化も僅かであった。その後、この 4 週間間隔で記録された 30 個体の斑点パターン画像を利用し、3 人の被験者で識別テストを行ったところ、全員が斑点パターンの情報のみで全個体を同定することができた。さらに、非近交系メダカ (Kyoto-Cab 系統) 6 個体でも 4 週間隔で斑点パターンを記録し、同様の識別テストを行った。Hd-rR 系統と比べると斑点の数が多く、4 週間での変動も大きかったが、識別テストの結果から、斑点パターンで個体を識別可能であることが示された。以上の結果から、メダカの斑点パターンを 4 週間間隔で記録することで、バイオメトリクスとして利用可能である。</p> <p>また、メダカは周囲の色や光によって体色を変化させるため、斑点の識別性にも影響が生じる可能性がある。しかし、撮影時の短時間の周囲環境の変化では、識別性に影響がないことが確認された。さらに一般的な循環システムの 1 水槽あたりで飼育可能な個体数を考慮すれば、30 個体を識別できたという結果は、通常飼育下において斑点パターンに十分な個体差が存在することを示すも</p>			

のである。

将来的に、画像処理や機械学習と組み合わせることで、識別の更なる正確性向上や自動化が可能となると想定される。また、メラノフォアの性質は遺伝子型によっても異なる。Hd-rR 系統と Kyoto-Cab 系統で見られた斑点パターンの安定性の違いは、近交系かどうかだけでなく遺伝子型による影響も考えられ、本研究で使用した系統以外でも今後検証を行うことで、斑点パターンの性質に対する理解が深まると推測される。

このように、本手法はメダカの個体識別におけるシンプルかつ堅牢なアプローチであり、医学研究や創薬研究におけるバイオメトリクスとしてメダカの長期解析に大きく貢献することが期待される。

(論文審査の結果の要旨)

本研究はヒト疾患モデルメダカを個体ごとに長期解析する際に必要となる、非侵襲で実験結果に影響を及ぼさない個体識別法を提案するものである。人工的な標識の付与や隔離飼育による個体識別は、メダカの生態・行動を変化させる懸念がある。そこで本研究では、頭部のメラノフォア斑点パターンに着目し、その時間的な変動と個体差を検証することで、生体識別子としての確立を目指した。

近交系 6 個体の頭部をデジタルカメラで撮影して斑点パターンを 3 4 週間にわたって追跡した検証では、パターンが時間と共に変動するものの、基本パターンは維持され、特に 4 週間隔では変動が小さいことが明らかとなった。近交系 30 個体を比較した検証では、全個体が明確に区別可能な固有の斑点パターンを有していた。この結果を踏まえ、4 週間隔で記録した近交系 30 個体の斑点パターンを利用し、3 人の受験者で識別テストを行ったところ、全員が全個体を識別することができた。非近交系においても斑点パターンの性質は同じ傾向を示し、識別テストでの高い識別率を確認した。これらの結果から、斑点パターンを 4 週間ごとにデジタルカメラで非侵襲的に記録することで、メダカの生体識別子として利用可能であることが明らかとなった。

以上の研究により提案されたメダカの個体識別法は、メダカを利用した疾患モデル研究の科学的信頼性をより一層高め、医学的に有用な知見を得ることに貢献すると期待される。したがって、本論文は博士 (人間健康科学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、2023年2月21日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降