

論文審査の結果の要旨

氏名 長谷川 久美

本論文は、ジェネラルイントロダクション、本文2章とジェネラルディスカッションからなる。イントロダクションでは海洋生物の体液調節機構、その中での軟骨魚類の特徴と、体液調節における腎臓の役割について、本研究の背景、目的と必要性、具体的な研究内容が記述されている。軟骨魚類は体内に高濃度の尿素を蓄積することで、体内の浸透圧を環境の海水よりもわずかに高く維持し、海洋という高い塩分・浸透圧環境でも脱水されることなく適応できる。この仕組みは「イオン調節・浸透圧順応型」とよばれ、体液調節の進化の中間型とも言えるユニークなものである一方、尿素を体液調節に利用する動物は哺乳類を含めて脊椎動物に広く存在している。論文提出者は、この体液調節を可能にする仕組みを理解することを、本論文での研究目的としている。様々な器官が協調することによって体液調節が可能となるが、有用物質の再吸収と不用物質の排出という2つの機能を併せ持つ腎臓に注目し、ゲノムデータベースを利用できるゾウギンザメをモデルに研究を行った。

本文の第1章では、硫酸イオンの排出に注目し、不用物質を尿細管から分泌・排出する機構について述べられている。ゾウギンザメのゲノムデータベースを利用して硫酸イオン輸送体の候補遺伝子を全て取得し、腎臓で強く発現する **Slc26a1** と **Slc26a6** という2つの輸送体に絞った。その全長配列を決定してアフリカツメガエル卵母細胞で発現させ、ラジオアイソトープならびに電気生理学による試験から、**Slc26a1** が電気的中性の硫酸イオン輸送体、**Slc26a6** が起電性の硫酸イオン交換体であることが示された。*In situ hybridization* ならびに特異的抗体による免疫組織化学染色により、**Slc26a1** と **Slc26a6** が尿細管の第2ループを形成する近位尿細管第2分節に共存すること、**Slc26a1** が細胞の側基底膜、**Slc26a6** が原尿と接する頂端膜上に存在することが示された。以上の結果から、近位尿細管第2分節が不用物質の分泌のための分節であることがわかり、硫酸イオン分泌の分子モデルに関しても、その駆動力を含めて明らかにされた。

本文の第2章では、尿素再吸収機構解明を目的として、尿細管の水再吸収分節を明らかにする研究の結果が述べられている。ゾウギンザメゲノム中には11種

類のアクアポリン (AQP, 水チャネル) がコードされており、腎臓にはそのうちの 5 つの分子が強く発現していることが示された。それら全ての分布を *in situ hybridization* により調べたところ、AQP4 が腎臓のバンドル領域という、尿素再吸収に関与すると考えられている領域に存在することが示された。特異的抗体による免疫組織化学染色の結果、AQP4 は頂端膜上に存在する水チャネルであり、連続切片の染色像を立体構築した結果、AQP4 を発現する尿細管分節は、ネック分節ならびに近位尿細管第 1 分節前半部であることが示された。アフリカツメガエル卵母細胞を用いる解析から、ゾウギンザメの AQP4 が実際に水を通す機能的な水チャネルであることも確認された。以上の結果をもとに、腎臓での尿素再吸収モデルが次のように提唱された。1) 腎臓のバンドル領域には、近位尿細管第 1 分節前半部、遠位尿細管前半部、集合細管という 3 つの分節が存在し、それぞれ AQP4、NaCl 輸送分子群、尿素輸送体を発現する、2) まず遠位尿細管前半部で能動的に NaCl が再吸収され、バンドル領域の浸透圧が上昇する、3) 高い浸透圧を駆動力として、近位尿細管第 1 分節前半部から水が再吸収され、バンドル領域の尿素濃度が低下する、4) 尿素の濃度勾配を駆動力として、集合細管から尿素が再吸収される、というものである。尿素輸送体は促進型輸送体であり、なぜ受動的な輸送体で、尿素濃度に逆らって尿から血液へと尿素を再吸収できるのかは大きな謎であった。尿素再吸収モデルを提唱した本研究は、軟骨魚類の海洋環境への適応機構の理解にとって大きな意義がある。

ジェネラルディスカッションでは、ゾウギンザメにおける尿生成の全体像をこれまでの知見とあわせてまとめるとともに、腎ネフロンの構造と機能に関して、軟骨魚類の広塩性や脊椎動物における共通性と多様性など、進化や生態学という観点を含めた統合的考察を行い、明解にまとめられている。

なお、本論文の各章は大気海洋研究所ならびに東京工業大学や海外の研究者との共同研究であるが、論文提出者が主体となって全ての実験と解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士 (理学) の学位を授与できると認める。