

## 論文審査の結果の要旨

氏名 高 木 亙

本論文は、ジェネラルイントロダクション、本文3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軟骨魚類の生理学、特に尿素を用いる体液調節と海洋環境への適応について、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。成魚では肝臓や筋肉、腎臓、鰓といった器官が、尿素の合成と保持に対して協調的に働くことがわかってきている。一方で、それらの器官が未発達な発育初期には、どのような仕組みで海洋環境に適応しているのだろうか。論文提出者は、軟骨魚類の生活史を通して、環境適応の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。そのために、全頭類のゾウギンザメと板鰓類のトラザメという2種類の卵生軟骨魚を用い、尿素合成ならびにその調節機構に関する研究を行った。

本文の第1章では、ゾウギンザメ成魚での尿素合成機構について述べられている。ゾウギンザメは軟骨魚類で唯一ゲノム情報が公開され、しかも発生段階表も存在するため、有益な研究モデルである。尿素回路（OUC）酵素群の遺伝子配列を決定し、その遺伝子発現パターンと酵素活性の測定から、板鰓類と同様に肝臓が主要な尿素合成器官であることが示された。また、骨格筋や腎臓でも比較的高い遺伝子発現と酵素活性が認められ、尿素合成に貢献していることが示唆された。腎臓では、近位尿細管でアンモニアを取り込み、尿素に変換して体内に戻す可能性が示された。

本文の第2章では、ゾウギンザメとトラザメの発育過程における結果が述べられている。両種において、卵殻内液のイオン濃度と浸透圧はほぼ環境の海水と同じであり、発生の初期から成魚と同程度の尿素を体内に保持して浸透圧調節を行うことが明らかとなった。まず第1章で同定したOUC酵素遺伝子を用いて、ゾウギンザメの発生段階における尿素合成が調べられた。発生後期には肝臓でOUC酵素遺伝子の発現が顕著に上昇し、肝重量も上昇することから、発生後期には成魚と同様、肝臓が主要な尿素合成器官であった。一方で、発生の初

期には肝臓を含む胚体全体での OUC 酵素遺伝子の発現量は低く、その代わりに胚体外組織である卵黄嚢上皮 (YSM) の中内胚葉由来の内層で、酵素遺伝子群の高い発現を発見した。全ての OUC 酵素が YSM で活性を有した。YSM によって包まれる卵黄は、発生段階 32 以降徐々に胚体へと吸収されていくが、YSM における OUC 酵素遺伝子群の発現は発生段階 31 を境に減少し、入れ替わるように胚体での発現量が上昇した。以上の結果から、1) 胚体の尿素合成器官が発達していない発生初期には、YSM が胚体に代わってその役割を担うこと、2) 発生の中期から後期にかけて、胚の主要な尿素合成部位が YSM から胚体の肝臓へと移行すること、が初めて明らかとなった。さらに、発生過程をより詳細に調べたトラザメでも同様の結果が得られたことから、今回発見した現象が卵生軟骨魚類に共通する現象であることが示された。生活史を通して浸透圧調節機構を明らかにした本研究は、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。

第 3 章では、OUC 酵素遺伝子の発現を調節する因子について研究が進められた。YSM のトランスクリプトーム解析をもとに、コルチコイド受容体に注目した。ゾウギンザメとトラザメから受容体をクローニングし、レポーターアッセイにより受容体としての活性を持つことが示された。軟骨魚類の血中に最も豊富に存在する 1- $\alpha$  ヒドロキシコルチコステロンの他、コルチコステロンも受容体の転写調節活性を強く亢進した。そこで、トラザメ胚の *in vivo* 培養系を立ち上げ、コルチコステロンへの曝露の影響が調べられた。YSM 内層におけるアルギナーゼ遺伝子の発現がコルチコステロン処理により亢進し、アンタゴニストである RU486 との共処理により上昇が抑えられた。この結果は、トラザメにおいても OUC 酵素遺伝子の発現がコルチコイドにより制御されていることを示すものであり、発生に伴う尿素合成部位の移行メカニズムに関して、ホルモンの関与の解明につながる重要な成果である。

ジェネラルディスカッションでは、軟骨魚類における尿素的合成と保持、その制御機構について、統合的な観点から考察し、明解にまとめられている。

なお、本論文の各章はいずれも大気海洋研究所ならびに海外や水族館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。