

論文審査の結果の要旨

氏名 白石 清乃

魚類の鰓、腸、腎臓などは、体液浸透圧の恒常性を維持するための調節器官として統合的に働いている。例えば鰓に存在する塩類細胞は、イオンの排出と取り込みに関与していることが知られている。一方、これら調節器官が未発達な胚や仔魚では、卵黄囊上皮に存在する塩類細胞が浸透圧調節に関与していると考えられる。

論文提出者は、まず卵黄囊上皮塩類細胞の浸透圧調節機能を検討するため、ティラピア(*Oreochromis mossambicus*)の胚と仔魚を用いて、環境水の塩濃度を変えた時の塩類細胞の形態学的変化を解析した(第一章)。淡水或いは海水中で飼育・孵化したティラピアの卵黄囊上皮には、共に多くの塩類細胞が存在するが、淡水群では小型で丸く、海水群では大型化し多角であった。また、海水群では数個の塩類細胞が集合し、著しく拡大した1つのクロライドイオンの排出口を共有した複合体を形成する傾向があった。この細胞複合体の形成は、細胞間経路を通るナトリウムイオンの排出効率を高めるためと考えられる。続いてクロライドテストとX線解析により、海水群の塩類細胞が実際にクロライドイオンの排出を行っていることを明らかにした。これらの結果から、環境水の塩濃度の変化に伴い、卵黄囊上皮の塩類細胞は淡水型から海水型へと機能的に分化しているものと結論づけた。

続いて論文提出者は、塩類細胞の機能的分化の調節機構に興味を広げた。卵黄囊上皮塩類細胞の分化には、胚体による内分泌的及び神経的支配、或いは胚の卵黄中に存在する母由来のホルモンによる支配の、どちらかが関与している

のか否か明らかでない。そこで胚体を除去し、卵黄囊上皮と卵黄のみで実験可能な”yolk ball”培養系を確立した（第2章）。”yolk ball”を淡水または海水で培養し、形態学的比較を行った結果、卵黄囊上皮塩類細胞は胚体の関与なしに、環境水塩濃度に応じて機能的に分化することが示唆された。すなわち環境水の塩濃度変化は、直接的或いは間接的に、塩類細胞の分化を引き起こすと思われる。次に成魚の鰓の塩類細胞で、大型化（海水型）を促進することが報告されているコルチゾルを”yolk ball”に添加したが、塩類細胞の形態、大きさ共に変化は認められなかった。鰓蓋膜と卵黄囊上皮の器官培養実験によると、塩類細胞は培養後数時間で消失してしまうが、コルチゾルを培養液中に添加することにより生存させることが出来る。”yolk ball”培養系では、コルチゾルの添加なしに細胞が維持できることから、卵黄中のコルチゾルはむしろ塩類細胞の生存に関与し、分化は環境水の塩濃度により自律的に起こっている可能性が高いと考えられる。

さらに論文提出者は、卵黄囊上皮や未発達な胚体にホルモン受容体が存在するか、また環境塩濃度による発現調節が行われているかを明らかにするため、プロラクチン受容体（PRLR）及びコルチゾル受容体（CR）の mRNA の微量測定法を確立し、定量を行った（第3章）。その結果、成魚の鰓においては PRLR の mRNA の発現は、淡水中で海水中よりも有意に高いことが分かった。血中プロラクチンの濃度は海水中よりも淡水中で著しく高く、それを受けて PRLR の発現量が、促進的に調節されていると考えられる。次に胚から胚体、卵黄囊上皮を取りだし、それぞれ測定を行った結果、孵化3日前において淡水中の卵黄囊上皮および胚体に両ホルモン受容体 mRNA の存在が確認された。さらに孵化3日目の胚体では、PRLR の mRNA の発現は、海水中より淡水中で有意に大きかった。これは、孵化3日目の胚の鰓が、環境水塩濃度に応じて受容体

量の調節を行っていることを示唆している。しかし、卵黄囊上皮では PRLR mRNA の発現量に有意な差はなく、卵黄囊上皮の PRLR の発現は鰓と異なる調節を受けているか、或いはすでに機能を終えているとも考えられる。一方、CR の mRNA の発現は、成魚の鰓、胚体及び卵黄囊上皮において、塩濃度の違いに応じた差は認められず、コルチゾルが塩類細胞の機能的分化ではなく生存に関与し、間接的に浸透圧調節に関わっている可能性を支持する結果となった。

以上のように、本研究は魚類の卵黄囊上皮塩類細胞が、環境水塩濃度に応じて行う機能について、形態学的、生理学的及び分子生物学的手法を用いて実験的に解析したものであり、当分野の発展に大きく貢献したと認められる。また、本研究の一部は守隆夫（第 2,3 章）・平野哲也（第 1,2,3 章）・金子豊二（第 1, 2 章）・松田学（第 2,3 章）・長谷川早苗（第 1 章）・廣井準也（第 2 章）との共同研究になっているが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、その寄与は十分であるものと判断する。

したがって、論文提出者、白石清乃は東京大学博士（理学）の学位を受けるのに十分な資格をもつと判定した。