

# 論文審査の結果の要旨

氏名 木村有希子

本論文は2章からなり、第1章は、原索動物ホヤ幼生の変態は、アドレナリン又はノルアドレナリンが $\beta_1$ -アドレナリン受容体に結合し、引き金が引かれること、第2章は、ホヤ幼生変態を制御している $\beta$ -アドレナリン受容体の cDNA クローニング、について述べられている。

幼生が成体に至る過程で、大きな形態的变化、即ち変態を起こすことは多くの動物種で知られており、両生類や昆虫でその機構の詳細が明らかにされている。一方、海産無脊椎動物でも多くの種で変態が起こることが知られているが、その機構に迫る研究は行われてこなかった。ホヤ幼生は孵化後オタマジヤクシ型幼生として遊泳生活を送り、その後付着などの外部からの刺激を受けるなどして尾部吸収を始まりとする変態を開始する。第1章ではユウレイボヤ (*Ciona savignyi*) で、ノルアドレナリン又はアドレナリンが幼生の尾部吸収を促進することを初めて明らかにした。さらに、ノルアドレナリン、アドレナリンによる尾部吸収は幼生の付着行動を伴わないが、付着突起を必要とすることも示された。一方、他の海産無脊椎動物の変態に影響を与えることが知られている神経伝達物質であるドーパミンやセロトニン、GABA など、またホヤ幼生の変態を促進させることが報告されているチロキシンやアセチルコリンにはユウレイボヤの変態を促進する効果は見られなかった。次にノルアドレナリン等がユウレイボヤ幼生の尾部吸収を促進することから、幼生における内在性のカテコールアミンの存在をカテコールアミンの蛍光組織化学法、ノルアドレナリンとアドレナリンの合成酵素であるドーパミン $\beta$ -ヒドロキシラーゼに対する免疫染色法により調べた。その結果ノルアドレナリン、アドレナリンは変態期ホヤ幼生の脳胞付近に局在することが示唆された。さらに尾部吸収に関与すると考えられるノルアドレナリン等の受容体について調べるために薬理学的実験を行った。 $\beta$ アドレナリン受容体の選択的アゴニストであるイソプロテレノルはノルアドレナリンや、アドレナリンに比べ低濃度で尾部吸収を促進した。 $\beta$ 選択的アンタゴニストであるプロプラノロールや $\beta_1$ 選択的アンタゴニストであるメトプラ

ロールはノルアドレナリンによる尾部吸収を阻害した。以上の結果はノルアドレナリンによる尾部吸収の促進には $\beta_1$ -アドレナリン受容体が介在することを示唆している。

以上の結果によりユウレイボヤ幼生変態における $\beta_1$ -アドレナリン受容体の関与が示唆されることから、抗マウス $\beta_1$ -アドレナリン受容体抗体を用いて免疫染色法によりその局在について調べた。その結果、孵化頃の幼生から神経系に受容体の発現が始まり、遊泳期、変態期にかけて強く発現することが示された。

第2章ではユウレイボヤ幼生の $\beta$ -アドレナリン受容体のクローニングを行った。その結果、哺乳類における $\beta_1$ と $\beta_2$ 、 $\beta_3$ -アドレナリン受容体に類似の遺伝子配列 (*CsBAR*) を得た。近隣結合法による系統解析で *CsBAR* は哺乳類における $\beta_1$ と $\beta_2$ 、 $\beta_3$ -アドレナリン受容体が分岐する以前の祖先型遺伝子の特徴を有することが示唆された。このことから、*CsBAR* は $\beta_1$ -アドレナリン受容体的薬理的性質を持つ可能性もある。また、RT-PCR 法及びノザンブロットティング法により変態期の幼生にこの遺伝子が発現していることが明らかとなった。

以上の結果から、ユウレイボヤでホヤ類幼生の変態開始機構が明らかになった。ホヤ類の変態は付着など外部からの刺激により開始されることが知られているが、この刺激は変態期の幼生の脳胞付近に存在する神経伝達物質ノルアドレナリン、アドレナリンの放出に働くと考えられる。さらに、この神経伝達物質のシグナルは幼生に発現する $\beta$ -アドレナリン受容体を介してユウレイボヤ幼生の変態を制御している可能性が示された。一方、ユウレイボヤにおける $\beta$ -アドレナリン受容体の cDNA クローニングは、海産無脊椎動物の変態におけるその役割の分子生物学的解析を可能にするだけでなく、アドレナリン受容体の起源を明らかにする視点からも重要である。今後、アポトーシスなどホヤ幼生の変態時に生じることが知られている様々な現象と本研究によりはじめて明らかにされた変態開始機構を関連付けることにより、ホヤ幼生の変態機構の全体像が解明されていくと考えられる。

なお、本論文の第1章と第2章は森沢、吉田との共同研究であるが、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、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。