

[ 別紙 2 ]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 李 慶美

本研究では海産魚のモデルとしてトラフグを用い、海産魚の浸透圧調節における分子生理学的メカニズムの解明を目指した。

1. 海産魚トラフグの低塩分耐性

海産魚であるトラフグの低塩分耐性を検討するため、トラフグを淡水、25、50、75、100%海水に移行して3日間飼育し、各群における生存率と血液浸透圧を調べた。淡水に移したトラフグはすべて死亡したが、これ以外の環境水ではすべての魚が生存し、その体液浸透圧は正常な値を示した。さらに、25%海水より薄い環境水への適応能を調べるため、トラフグを淡水、1、5、10、15、25%海水に移行して3日間飼育し、各群における生存率と血液浸透圧を調べた。5%海水以上の塩分濃度ではすべての魚が生存したが、淡水および1%海水で死亡する個体が見られた。10%海水以上の環境水に移したトラフグでは海水飼育と同様な活動性が認められ、血液浸透圧は正常な値を示した。一方、淡水から5%海水の低塩分環境においてトラフグの活動性は著しく低下し、血液浸透圧は低い値となった。このことから、トラフグの低塩分耐性の下方限界は5~10%海水の間にあることが明らかとなった。

2. トラフグにおけるプロラクチンおよびその受容体の発現

海産魚のプロラクチンの生理作用を解明する端緒として、トラフグ下垂体からプロラクチンcDNAを、また鰓からプロラクチン受容体cDNAをそれぞれクローニングし、全塩基配列および演繹アミノ酸配列を明らかにした。次に、プロラクチン遺伝子の発現部位をRT-PCRおよびノーザンハイブリダイゼーション法により調べた結果、プロラクチンは下垂体に特異的に発現することが示された。またRT-PCRおよび*in situ*ハイブリダイゼーション法により、プロラクチン受容体は鰓の塩類細胞、腸粘膜の上皮細胞、および腎臓の近位細尿管の上皮細胞で発現していることが確認された。

以上の結果、プロラクチンは海産魚の下垂体でも発現しており、さらにその受容体が浸透圧調節器官で発現していることから、海産魚であるトラフグにおいても、プロラクチンがイオン・浸透圧調節に関与している可能性が高いと考えられた。

### 3. トラフグの低浸透圧環境への適応に伴う生理学的変化

トラフグの低浸透圧環境への適応に伴う生理学的変化を調べるため、トラフグを100%海水から25%海水に移行し、血液浸透圧および $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 濃度の変化を一週間にわたって経時的に調べた。また、下垂体におけるプロラクチンと成長ホルモンの発現量の変化を調べた。その結果、浸透圧およびイオン濃度は移行直後に一過的に低下し移行3日目までにほぼ回復したが、この間にプロラクチンの発現量は約5倍に増加した。このことから、トラフグにおいてもプロラクチンが低浸透圧環境に適応する際に、体液のイオン濃度と浸透圧を上昇させる方向に働くホルモンであることが示唆された。一方、海水適応ホルモンとして知られている成長ホルモンの発現量は、プロラクチンとは対照的に約半分に減少した。

### 4. 低浸透圧環境下におけるトラフグの成長

トラフグの低浸透圧環境における長期的な適応能および希釈海水での養殖の可能性を検討するため、100%海水と低浸透圧環境である25%海水でトラフグを8週間にわたって飼育し、成長を比較した。その結果、25%海水のトラフグでも100%海水群と同様な成長を示し、両者に差は認められなかった。さらに、淡水適応ホルモンとして知られているプロラクチンの発現量は25%海水で100%海水よりも有意に高い値を示し、逆に海水適応ホルモンの側面をもつ成長ホルモンの発現量は25%海水で低い値となった。これらの結果は、トラフグが25%海水に長期的にも十分に適応できることを示すとともに、プロラクチンおよび成長ホルモンが浸透圧調節に関与することを示唆する。

以上の結果、海産魚であるトラフグは淡水には適応できないが、10%海水までならば十分に適応可能であることが明らかとなった。低浸透圧環境に適応する際、下垂体におけるプロラクチンの発現量が上昇すること、また鰓、腎臓、腸といった浸透圧調節器官でプロラクチン受容体の発現が見られたことから、海産魚のトラフグにおいても広塩性魚と同様に、プロラクチンが低浸透圧環境への適応に重要なホルモンであることが示唆された。さらに長期間の飼育成長実験から、25%海中でも100%海水と比べ遜色なく成長することが示され、希釈海水を用いたトラフグの陸上養殖の可能性が示唆された。

以上のように、本論文では海産魚トラフグの低浸透圧環境への適応能とその生理学的機構が明らかとなり、学術上および応用上寄与するところが大きい。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。