

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 水田貴信

脊椎動物は脊索動物門の一亜門であり、その脊索動物門の祖先は化石記録から5億3千万年前のカンブリア紀に出現したと考えられる。その祖先化石に外見が似る脊索動物門頭索動物亜門ナメクジウオは終生脊索を持ち、無脊椎動物から脊椎動物への進化の過程を残す原生動物として大変に重要な動物である。近年のゲノム研究では、無脊椎動物およびナメクジウオの形態形成遺伝子群に重複がなく、脊椎動物になって2度の全ゲノム重複が起こったことが明らかとなり、その重要性は増している。それらの遺伝学的研究の知見の蓄積に比べ、ナメクジウオの生体調節機構に関する研究報告はまれであり、その生命現象の進化と適応とをナメクジウオをもってして論じることは難しかった。さらに日本では絶滅の危機にあるとされ、その採集と飼育は絶望的でさえあった。本論文はこうした背景のもとに、日本のナメクジウオの生息地の調査と飼育を確立させ、さらには水槽内での自然産卵に成功した。次には産卵現象の解明を手掛け、脊椎動物固有の生殖を制御する性ステロイド代謝系がナメクジウオ生殖腺に存在することを発見し、その代謝経路と性ステロイドの同定をほぼ完成させた。これらからナメクジウオの生殖機構への新たな展開と進化学的考察を進めたものである。

本論文は5章から構成されている。第1章は序論である。ナメクジウオの進化上の重要性をよく理解し、ナメクジウオの研究史を辿りながら、本研究を始めるに至った経緯を述べている。

第2章では、まず渥美半島沖の生息地での繁殖生態調査で、生殖腺発達度のヘテロな小集団からなるパッチ状分布であることを示している。次に飼育下での産卵行動を初めてビデオ撮影し、その解析から雌雄の一斉産卵の実態を明らかにしている。

第3章では、生殖内分泌要因の一つである脊椎動物型性ステロイドに注目している。卵巣および精巣抽出物を用いた放射免疫測定法(RIA)、卵巣の HPLC 精製物のガスクロマトグラフ/質量分析法(GC/MS)を行い、精巣と卵巣でエストラジオール 17 (E2)とプロゲステロン(P4)が、卵巣ではさらにプレグネノロン(P5)が存在することを明らかにしている。

第4章では、生殖腺でその存在が確認された性ステロイドの生合成経路に必須な性ステロイド代謝酵素の遺伝子の探索、単離および発現解析を卵巣でおこなっている。性ステロイド代謝酵素である CYP11A、CYP17、17 β -HSD8 の遺伝子をクローニングし、特に CYP の2種の酵素は脊椎動物以外では初の存在である。さらに CYP17 と 17 β -HSD8 の遺伝子発現量が放卵中に増加することから、放卵への性ステロイドの関与が示唆される。他の動物由来の抗 3 β -HSD 抗体を使った免疫組織化学では、卵細胞周囲の濾胞上皮層にステロイド代謝活性が得られている。本章では性ステロイド合成の重要な部分を明らかにしたと論じている。

第5章では、実際に卵巣中の性ステロイド代謝産物を調べるために、¹⁴C標識の性ステロイ

ド基質を使い、代謝経路のほぼ全体を明らかにしている。その中で、魚類では放卵・放精を促す 17、20-DHP の存在が示されている。ここではナメクジウオの性ステロイドの役割にまで考察している。

第6章では、以上の研究結果を総括している。性ステロイドに関する成果は、人工催熟、人工産卵への利用が期待され、さらなる実験系の確立が可能となると述べている。そして最後に2006年春に公開されるゲノム配列を他の動物と比較解析することにより、さらなる生体調節現象の解明がなされると締めくくっている。

以上のように本論文は、これまでほとんど行われてこなかったナメクジウオの生殖現象を、克明な生殖活動の記録と綿密な実験計画により新しい事実を明らかにした点で価値が認められる。さらに、遺伝子、酵素、性ステロイドという主たる生体物質の情報を最新の分子生物学的方法および確立された従前の方法の両者を的確に使用して体系的に研究を進めている。またこれまでフィールドの研究のみであったナメクジウオの生殖行動について、飼育実験から克明に生殖活動を記録して、これまで知られていなかったいくつかの事実を明らかにした点でも価値が認められる。これらの成果は生理機能、ホルモン、遺伝子のつながりをナメクジウオの生殖機構で初めて明示したものであり、すなわち現段階では生理機能的にもナメクジウオが脊椎動物に近い系統を示唆する結果となっている。このように遺伝子の解析による系統学的研究と形態による分類学的研究に加えて、生理機能と系統との関係という新しい局面で脊椎動物への進化を研究した点は、これからの繁殖研究、生体機能研究、進化研究、さらには生命科学全般の発展に大きく貢献するものと評価される。したがって、審査委員一同は博士(農学)の学位を授与できるものと認める。