

# 論文審査の結果の要旨

氏名 弓 削 進 弥

本論文は、General Introduction、Chapter I、Chapter II、および General Discussion の4部より構成されている。本論文のテーマであるグアニリンファミリーは、腸で選択的に産生され、腸における水やイオンの吸収に重要な役割を持つホルモンである。これまで哺乳類以外の動物では、免疫組織化学などでその存在が示唆されてはいたが、分子としては同定されていなかった。魚類は海水という高い浸透圧環境では脱水されるため、盛んに海水を飲んでイオンと共に水を吸収している。すなわち、海水魚にとって腸は極めて重要な体液調節器官である。申請者は、淡水と海水を往来する回遊魚であるウナギを用いて、修士課程では非哺乳類で初めてグアニリンファミリーを同定した。ウナギのグアニリンファミリーは3種のパラログからなり、海水ではそれらの遺伝子発現が亢進することを明らかにしている。博士課程では、ウナギにおけるグアニリンファミリーの作用を明らかにするべく、次の2つの Chapter からなる研究を行い、魚類で初めてグアニリンファミリーの生理作用を明らかにした。

Chapter I では、グアニリンファミリーの生理作用を明らかにするための第一歩として、2種類のグアニリン受容体を同定した。これら受容体もリガンドと同様に腸で主に発現が見られたので、腸で傍分泌的に働いている可能性が高い。さらに、2種の受容体をCOS細胞で発現させ、セカンドメッセンジャーであるサイクリックGMPの産生を指標に3種のグアニリンの結合能を調べたところ、それぞれの受容体が3種のグアニリンに対してリガンド選択性をもつことを明らかにした。このように、ウナギのグアニリンファミリーとその受容体は、2種のホルモンと1種の受容体しかもたない哺乳類と比較すると多様化しており、ウナギの腸において重要な役割を持つことが示唆される。これら2種の受容体も、リガンドと同様に海水ウナギの腸で発現が亢進していた。したがって、ウナギのグアニリンファミリーは、海水環境への適応に重要な役割を持つことが示唆された。

そこで、Chapter 2 では、Ussing chamber を用いて *in vitro* で腸におけるグアニリンファミリーの作用を調べている。このシステムは、腸上皮を通るイオンの動きを短絡電流と抵抗の変化などで測定する。その結果、グアニリンは腸におけるイオンの吸収を抑制して、高濃度では逆に陰イオンの管腔側への分泌を起こしていることが示唆された。腸に多数存在するイオン輸送体のどれに作

用しているかを調べるため、イオン輸送体に特異的なさまざまな阻害剤を用いて調べたところ、CFTR とよばれるクロライドチャンネルがグアニリンの作用に関わっていることがわかった。すなわち、グアニリンが作用するとクロライドや重碳酸イオン( $\text{HCO}_3^-$ )などの陰イオンを管腔側へ分泌させる。申請者は、 $\text{Cl}^-$ を供給することにより  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$  共輸送体を動かしたり、 $\text{HCO}_3^-$ を供給して管腔内に高濃度に存在する  $\text{Ca}^{2+}$ や  $\text{Mg}^{2+}$ イオンに働いて  $\text{CaCO}_3$ や  $\text{MgCO}_3$ として沈殿させていると考えている。 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ により4分子のオスモライトが動くとき水も動くため、 $\text{Cl}^-$ を分泌させることにより逆に水の吸収が促進する。また、 $\text{Mg}^{2+}$ や  $\text{Ca}^{2+}$ を沈殿させることにより浸透圧を下げ、水を吸収しやすい環境を作っていると考えられる。このように、本研究により初めてグアニリン受容体が非哺乳類で同定されただけでなく、魚類における生理作用が明らかになった。すなわち、グアニリンファミリーは海水魚の腸において水の吸収を促進することにより、海水への適応を促進することを明らかにし。さらに、哺乳類を用いた研究だけではわからなかったグアニリンの新しい働きを機能を解明した、画期的な研究であるといえる。

なお、本論文の Chapter 1 のうち、COS 細胞における受容体遺伝子の発現系を確立する際に、北海道大学の鈴木範男教授と当時大学院 D3 の山上紗矢佳博士にご指導をいただいた。しかし、実験は全て論文提出者本人が東京大学海洋研究所で行ったものである。また、受容体遺伝子のクローニングでは当研究室助手である井上広滋博士にご指導いただいたが、実験は全て本人が行った。そのため、Chapter I の研究において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。