

論文審査の結果の要旨

渡邊 壮一

申請者氏名

本研究では広塩性魚モザンビークティラピアを用いて、浸透圧調節機構の制御を司る浸透圧変化感知機構の解明を目指した。

1. 鰓におけるアクアポリン-3(AQP3)の役割

近年、魚類の鰓で水チャネル分子、AQP3の発現が報告されている。鰓は外界と隣接している器官であり、外界浸透圧の影響を受けやすい。このような組織における受動的な水移動を促進するチャネルの存在は、体液恒常性維持の観点から非常に興味深い。そこで鰓におけるAQP3の役割を解明を目指した。まず淡水飼育魚の鰓よりAQP3を同定した。さらにこのAQP3分子は*Xenopus* 卵母細胞を用いた機能解析より、機能的な水チャネルであると示された。また、この機能は水銀により阻害されることも明らかにした。また、鰓におけるAQP3は、淡水および海水飼育魚両方において、鰓での浸透圧調節機構を担う塩類細胞の体内側細胞膜上への局在が明確に示された。

以上の結果からAQP3は適応環境に依らず塩類細胞の体内側細胞膜を介した受動的な水移動に関与することが示された。これまで報告されている知見も合わせて、AQP3は塩類細胞における細胞体積変化に基づく浸透圧変化感知機構に関与しているという仮説を提唱するに至った。

2. 下垂体プロラクチン(PRL)細胞の浸透圧変化感知機構へのAQP3の関与

ティラピア下垂体PRL細胞は細胞体積変化に基づく浸透圧変化感知機構を有することが示唆されており、下垂体において発現が確認されたAQP3のこのメカニズムへの関与を検証した。まずPRL細胞におけるAQP3の発現動態を定量PCRによって解析したところ、PRLと同様、淡水飼育魚において高いことが示され、両者の間に何らかの関係があることが示された。またPRL細胞において細胞膜上および核周辺部にAQP3の局在が確認された。また反応も淡水固体において強く、これらより淡水個体のPRL細胞の方が高い水透過性を有する細胞膜を持つことが示唆された。このことは淡水および海水個体PRL細胞の低浸透圧刺激時細胞体積変化の解析によって示され、PRL細胞の浸透圧変化に対する細胞体積変

化の応答性に AQP3 が関与していることが示唆された。さらに AQP3 の阻害剤である水銀処理によって淡水 PRL 細胞の低浸透圧刺激時細胞体積変化は抑制され、低浸透圧刺激時 PRL 分泌促進も阻害された。またこの際、PRL 分泌促進に重要なカルシウムシグナル経路は阻害されておらず、AQP3 の機能阻害により起こった細胞体積増大の抑制が PRL 分泌促進を阻害したことが考えられる。

以上の結果から AQP3 が PRL 細胞の浸透圧変化感知機構の高感度化に寄与していることが強く示唆された。

3. PRL 細胞の活性制御メカニズム

PRL 細胞における PRL 発現量は外環境の変化に伴い、迅速に変化した。このことは何らかの浸透圧変化感知機構によって発現を調節されていることを示している。まず PRL 細胞の浸透圧変化感知機構の関与を検討したが、この機構は PRL 発現制御には関与しないことが示された。また単離培養条件下で淡水と海水個体間の PRL 発現活性の差は保たれることから PRL 発現調節は継続的な制御を必要としないことも示された。次に PRL 分泌ペプチド (PrRP) の関与を検討した結果、十分ではないものの、PRL 発現上昇作用を海水個体由来 PRL 細胞において示した。また PrRP レセプターを PRL 細胞より同定したところ、下垂体を含む様々な組織に発現が確認され、PRL 細胞においてはその発現量は飼育環境によって変動しないことも示された。さらにこの分子は下垂体において、PRL 細胞と神経下垂体に局在することが免疫組織化学により確認された。

これらより、PrRP が海水個体において PRL 発現活性の上昇に関与し、また PRL 細胞に対する何らかの作用を持ち、神経伝達物質や神経修飾物質としても働くことが示唆された。

以上、様々な器官において浸透圧変化感知機構の存在が考えられ、この機構の高感度化に AQP 分子種が関与する可能性が PRL 細胞において強く示唆され、他の細胞においても AQP 分子が高感度な浸透圧変化感知機構の存在の指標となることが考えられる。また、これまで考えられてきた中枢神経系に端を発する統合的浸透圧調節制御カスケードに加えて、浸透圧調節に関与する個々の細胞における体液浸透圧を共通のパラメータとした自己機能の調整が存在することは、より適切で迅速な体内恒常性維持を行なうことを可能にしていると考えられる。

以上のように、本論文で魚類での浸透圧変化感知機構の一端が明らかになり、未だ不明な点が非常に多いこのメカニズムの解明に大きく貢献することが期待される。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して認めた。