

論文審査の結果の要旨

氏名 渡 邊 太 朗

- ・ 本論文の基本構成は、Abstract, General Introduction、Chapter 1A, Chapter 1B、Chapter 2、および General Discussion の 6 部からなる。本論文の特色および新規性は、(1) 淡水と海水双方によく適応するウナギを実験動物に用いたことで、硫酸イオン(SO_4^{2-})調節機構の切り替えという現象を見出した、(2) $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ を用いたトレーサー実験により、海水中の $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ の詳細な出入の機構を明らかにし、腎臓の重要性を定量的に解析した、(3)海水適応に必要な SO_4^{2-} 輸送体遺伝子の同定に成功し、従来の予想とは異なる新たな輸送体分子の腎臓における局在パターンを見出した、(4) SO_4^{2-} 調節を切り替える環境因子とその作用機構を脊椎動物全体で初めて明らかにした、ことにある。

SO_4^{2-} は軟骨形成など多くの生命活動に関与する重要な 2 価イオンであり、脊椎動物ではほぼ一定の血漿濃度 ($\sim 1 \text{ mM}$) に保たれている。 SO_4^{2-} が希薄な淡水 ($< 0.5 \text{ mM}$) では保持機構が発達し、逆に高濃度の SO_4^{2-} (30 mM) を含む海水では排出機構が発達している。特にウナギなどの広塩性魚類は環境に応じ正反対の SO_4^{2-} 調節機構をおこなっているが、環境における調節機構はまだ全く分かっていないのが現状であった。本研究は、広塩性魚における SO_4^{2-} 調節機構とその切り替えに関して、分子から個体にいたる様々な手法を用いて生理学的に解明している。

まず Chapter 1A において、広塩性魚であるウナギ、ティラピア、シロサケの血漿 SO_4^{2-} 濃度を淡水と海水に適応した個体で比較して、ウナギが最も劇的に海水において血漿濃度を下げる能力を持つことを明らかにした。そこで個体レベルの SO_4^{2-} 収支を詳細に調べるため $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ を用いて SO_4^{2-} の出入りを定量的に調べ、 SO_4^{2-} の流入の 85%が体表(鰓)を経由し、流出の 97%が腎臓によることを明らかにした。

Chapter 1B では、淡水と海水に適応したウナギの SO_4^{2-} 輸送体遺伝子の発現を器官別に詳細に比較して、2つの輸送体(Slc13a1とSlc26a6a)の発現が腎臓において顕著に切り替わることを明らかにした。そこで、ウナギを淡水から海水に移したのちの体液中の SO_4^{2-} 濃度や腎臓における SO_4^{2-} 輸送体遺伝子の発現変化を経時的に調べ、海水移行 3 日目以降に海水型へ切り替わることを明らかにした。また、免疫染色により、腎臓における SO_4^{2-} 輸送体は近位尿細管に集中しており、Slc26a6a、Slc26a6b、Slc26a6c および Slc26a1 は近位尿細管の異なる分節の上皮細胞の管腔側と血液側に局在することを発見した。さらに、それら輸送体タンパク質の量と局在が淡水と海水で変化していることを明らかにした。

Chapter 2 では、 SO_4^{2-} 調節を淡水型から海水型に切り替える因子を調べた。切り替えをもたらすトリガーは海水中のイオンであると予想し、様々なイオン溶液でウナギを飼育した結果、 SO_4^{2-} ではなく、わずか 50 mM の NaCl 溶液(海水は約 450 mM) が淡水型から海水型に切り替えることを明らかにした。しかも Na^+ と Cl^- を独立に含む溶液で飼

育した実験から、 Na^+ と Cl^- は同時に存在しなければ切り替えは起こらず、また、 Na^+ が Cl^- の機能を補助していることを見つけた。血漿 SO_4^{2-} 濃度は血漿 Cl^- 濃度と強い負の相関がみられたため、淡水ウナギの血液中に Cl^- 溶液を注入したところ、海水型に特徴的な SO_4^{2-} 輸送体遺伝子が発現した。そこで、環境中の Cl^- は Na^+ の助けを借りて血液中に取り込まれると予想して、 Na^+ と Cl^- の共輸送体(NCC)の阻害剤を加えた NaCl 溶液で飼育したところ、排出型輸送体の発現は大きく減少した。以上の結果より、 SO_4^{2-} 調節機構を海水型に切り替える因子は血中 Cl^- 濃度の上昇であり、それは外界の Na^+ と Cl^- が NCC を経て取り込まれることによることを明らかにした。

なお、本論文の実験は全て論文提出者本人が行い分析したものであり、本論文の全て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。