

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 安 孝珍

本研究では、ニホンウナギの仔魚期における発達および機能的変化を詳細に調べることを目的とした。特に、初期生残と成長に重要と考えられる栄養吸収と浸透圧調節機構に着目して研究を行った。

1. 孵化と発達

全体の背景と構想を述べた序章に続き、第 2 章では、孵化から孵化後 1 ヶ月までの成長率と生残率を調べるとともに、各器官の発達を、組織学的手法を用いて観察した。異なる水温で孵化時間と孵化率がどのように変化するか検討したところ、平均孵化率は 25℃区で最も高い値を示し、高水温区ほど卵の発生速度は速く、孵化時間は短くなる傾向が認められた。同時に、各水温区における胚の発生過程を詳細に記述した。仔魚期の成長率については、孵化後 4 日まで高い値を示したが (0.71 mm/日)、その後成長率は急減した (0.15 mm/日)。仔魚の乾燥重量は、仔魚の卵黄消費に伴い孵化後 8 日まで減少し続け、その後摂餌開始の効果で増大に転じた。生残率は孵化後 2 週間から急激に減少し、その後は安定した。組織学的観察の結果、消化管と思われる明瞭な管構造は、孵化後 1 日目は頭部後端付近までしか存在しなかったが、孵化後 2 日目で肛門まで到達することがわかった。孵化後 3 日目には消化管以外にも腎管、膵臓が認められた。孵化後 8 日目には腸と直腸を区切る弁が観察され、食道、消化器官、腸、直腸の分化が生後 8 日以内で完了することが明らかとなった。

2. 栄養吸収

仔魚期における栄養吸収については、孵化直後から 12 日目までの仔魚を用い、栄養輸送体として広く使われているペプチド・トランスポーター1 (PEPT1) を指標に調べた。絶食による影響を調べるため、給餌を始める 6 日目から仔魚を給餌群と無給餌群に分けて調べたところ、PEPT1 の発現量は孵化後 5 日目から 7 日目の間に著しい上昇を示した。給餌群に比べ、無給餌群の発現が 10 日目で有意に高くなった。同時に、主要な消化酵素のトリプシンについても同方法で発現変動を調べたところ、PEPT1 と同様、6 日目から 8 日にかけて上昇が見られた。またトリプシンにおいても、無給餌群の発現が給餌群よりも有意に高いことがわかった。次に、13 日目の仔魚を消化管部位に応じて、食道部、胃原基部、腸前部、腸後部および直腸部に切り分け、定量 PCR 法により PEPT1 とトリプシンの発現部位を特定した。PEPT1 は腸後部で、トリプシンは膵臓を含む胃原基部で、それぞれ最も高い発現が見られた。さらに PEPT1 の発現細胞を同定するため、塩基配列から求めたアミノ

酸配列をもとに PEPT1 に対する特異的抗体を作製し免疫染色を行った。成魚の腸で免疫染色を行なった結果、腸の上皮細胞で強い反応が観察された。仔魚の腸は成魚とは形態が大きく異なり、腸特有のひだ状の内部構造は観察されなかったが、仔魚でも成魚と同じように腸の上皮細胞で免疫反応が見られた。

3. 浸透圧調節

ニホンウナギの仔魚期における浸透圧調節機構を解明するため、孵化直後から毎日、仔魚を蛍光物質を含む海水に 3 時間ずつ浸漬し、レーザースキャン顕微鏡で水飲みの開始時期を調べた。その結果、すでに孵化直後から消化管内に蛍光物質を含む水が観察された。飲み込まれた水は孵化 1 日目には口部から頭部後端付近までに限られていたが、2 日目になると肛門まで達した。消化管内でのイオン吸収を調べるために、イオン輸送タンパク、 Na^+ , K^+ , 2Cl^- 共輸送体 2β (NKCC2 β) と Na^+ , Cl^- 共輸送体 β (NCC β) について、日齢によるそれぞれの発現変動および部位別発現量を比較した。NKCC2 β の発現量は仔魚の発育とともに上昇し、7 日目以降そのレベルは安定した。一方、NCC β の発現量は孵化直後に最も高く、3 日目において最低値を示した後、上昇に転じた。部位別発現については、NKCC2 β では腸管全体に発現がみられたのに対し、NCC β の発現量は直腸部で他の部位より有意に高い発現を示した。ウナギの孵化仔魚では、塩類排出の主な担当器官である鰓が未発達なため、体表に分布する塩類細胞が塩類排出の役を担うが、この塩類細胞は孵化直後には頭部に多く存在し、その後徐々に体全体に分布を広げていくことが明らかになった。

以上、本研究によりニホンウナギは孵化後 1 週間前後までに仔魚期において生存および成長に必要な栄養吸収と浸透圧調節機能を獲得することが初めて明らかとなった。

以上のように、本論文ではニホンウナギの仔魚期における急激な発達過程を様々な角度から検討し、総合的に考察した点が優れており、ここで得られた知見はニホンウナギの仔魚期に関する基礎生物学的理解を深め、また同時に本種の人工種苗生産の技術開発研究に役立つものと考えられる。よって審査委員一同は本論文が基礎、応用の両面で博士（農学）の学位論文としてふさわしいものであると認めた。