

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 古川 史也

本研究では真骨魚類の鰓塩類細胞に着目し、魚類では未だ知られていない K^+ 調節機構を明らかにした。更にそれを応用し、水産業に甚大な被害をもたらしている放射性 Cs^+ の魚体内での挙動を理解することを目的とした。

1. 海水馴致ティラピアの鰓塩類細胞における K^+ 排出機構の解明

第1章では海水馴致ティラピアを用いて、鰓における K^+ 排出の有無を検討した。 K^+ と反応して不溶性の沈殿を形成するテトラフェニルほう酸を、生体から切り出した直後の鰓に反応させた。その結果、塩類細胞上に現れた沈殿が K を多量に含んでいることが判明し、魚類の鰓塩類細胞が K^+ を排出することが初めて明らかとなった。その後、陸上生物の腎臓等で K^+ の輸送を行うことが知られる K^+ 輸送体数種類をティラピアで同定した。定量 PCR の結果、ROMKa が環境 K^+ 濃度依存的に有意な発現上昇を示し、鰓での K^+ 排出に重要な役割を持つことが示唆された。ROMKa の免疫染色を行った結果、ROMKa は海水馴致ティラピアの鰓にある Type-IV 塩類細胞の頂端膜に局在した。最後に、阻害剤による実験の結果、ROMK の阻害剤(Ba^{2+})存在下で K^+ の排出が阻害され、ティラピアの鰓塩類細胞に発現する ROMKa が、主要な K^+ 排出経路であることが証明された。

2. 鰓における K^+ 排出経路を介した Cs^+ および Rb^+ の排出

第2章では、生物の体内で K^+ と類似した挙動を示すことが知られる Cs^+ に着目し、第1章で示した魚類における K^+ 排出経路を介して Cs^+ が排出される可能性を検討した。海水馴致ティラピアの鰓を切り出し、入鰓動脈に Cs^+ または同族の Rb^+ を含んだ平衡塩類溶液を注入し、第1章で用いた K^+ の検出方法と同様の手法に供した。その結果、塩類細胞の開口部に Cs と Rb を含む沈殿がそれぞれ形成された。この結果は、 K^+ の排出と同様の経路で、魚体内より放射性 Cs が積極的に排出される可能性を示している。

3. 淡水馴致ティラピアの鰓塩類細胞における ROMKa の発現

第3章では、淡水馴致ティラピアにおいて鰓による K^+ 排出の可能性と腎臓の寄与を検討するため、淡水馴致ティラピアを通常淡水と高 K^+ 淡水に1週間馴致し、様々な生理学的差異を調べた。その結果、高 K^+ 馴致群で尿中の K^+ 濃度が有意に増加した。一方、鰓での ROMKa 発現量が約5倍に増加しており、鰓の ROMKa が淡水中でも K^+ の排出に重要であると考えられた。また、鰓の免疫染色の結果、通常淡水群では ROMKa のシグナルが僅かであったが、高 K^+ 馴致群で ROMKa の免疫反応が顕著に現れ、さらに ROMKa が Type-III 塩類細胞の頂端膜に局在することが明らかとなった。

4. 淡水および海水馴致ティラピアでの鰓塩類細胞における ROMKa 発現調節機構

第4章では、魚類の ROMK 発現調節機構を明らかにすることを目的とし、まず鰓の

単離培養実験を行った。その結果、淡水馴致ティラピアの鰓のみがコルチゾルに応答して ROMKa mRNA 発現量を上昇させ、さらにそれは糖質コルチコイド受容体(GR)のアンタゴニストである RU486 存在下でのみ阻害された。一方、海水馴致ティラピアでは海水から高 K^+ への移行実験を行い、ROMKa mRNA 調節因子の探索を行った。その結果、高 K^+ への移行 24 時間後に血中コルチゾル濃度が増加したものの、鰓 ROMKa mRNA、および血漿 K^+ の上昇は移行 6 時間後から起こっており、さらに下垂体ホルモン群の mRNA 発現量に顕著な変化は見られなかった。この結果を受け、血漿 K^+ 濃度の上昇そのものが鰓 ROMKa の発現に及ぼす影響を調べるため、海水馴致ティラピアの鰓単離培養実験系を用いた。その結果、高 K^+ 培養液で培養した鰓で ROMKa mRNA の有意な上昇が見られた。これらの結果から、淡水中ではコルチゾルが、一方で海水中では血漿 K^+ 濃度が、ティラピアの鰓 ROMKa の発現を制御していることが示唆された。

以上の結果より、海水に馴致したティラピアでは Type-IV 塩類細胞が、淡水に馴致したティラピアは Type-III 塩類細胞が、それぞれ ROMKa を発現し、 K^+ を排出することが示された。また、海水中では血漿 K^+ 濃度が、淡水中ではコルチゾル濃度が、塩類細胞における ROMKa の発現量の増加を促すことが示唆された。さらに、この ROMKa を介した Cs^+ の排出が示唆された。

以上のように、本論文はティラピアの塩類細胞における K^+ 排出機構とその調節機構を明らかにし、更に Cs^+ の排出を発見したことにより、学術上及び水産上寄与するところが大きい。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認めた。