

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	井上 貴斗
論文題目	ヒキガエル由来防御用毒性ステロイド bufadienolide 類を蓄積する ヘビ・ヤマカガシの化学生態学的研究		
(論文内容の要旨)			
<p>有毒な餌から毒素を摂取・蓄積する動物の化学生態学的研究は無脊椎動物の昆虫で古くから盛んに行われ、豊富な知見が得られてきた。一方、餌由来毒素を蓄積する脊椎動物の知見は昆虫ほど十分ではない。本研究では脊椎動物の餌由来毒素に焦点を当てた化学生態学的研究を進展させるため、日本産のヘビ・ヤマカガシに関して、有機化学・分析化学・生化学・数理解析を駆使した化学生態学的研究を展開した。日本の北海道を除く本土には、餌のヒキガエルから強心性ステロイド毒、bufadienolide 類 (BD 類) を摂取・蓄積する世界的に見ても稀有なヤマカガシが生息する。カエル類を主食とするヤマカガシの毒源はヒキガエルのみであり、毒素は頸部皮下の特殊な器官 (頸腺) で局所的に蓄積される。先行研究で、ヤマカガシにはヒキガエルから摂取した BD 類を化学変換する能力があると示唆されている。本研究は、ヤマカガシにおける BD 類の化学変換能力の詳細と、その生態学的意義の理解を目的とした。</p> <p>第 1 章の序論に続く第 2 章では、BD 類に関して知見がほぼ無い本州・四国・九州に分布するヒキガエル 3 種・亜種を大規模に採集し、それらの BD 類について、化学分析と多変量解析により調査した。その結果、これら 3 種・亜種の BD 組成はそれぞれ異なり、同種内でも地域によって BD 組成は異なった。また、日本産ヒキガエルで見られる成分として、計 8 種の化合物の構造を同定した。</p> <p>第 3 章では、ヒキガエルと同様に本州・四国・九州でヤマカガシを大規模に採集し、化学分析と多変量解析によってそれらの BD 組成を解析すると共に、頸腺液から計 15 種の化合物の構造を決定した。本結果と第 2 章の結果から、自然界でヤマカガシがヒキガエルから摂取した BD 類の多くを化学変換していると結論した。そしてその変換には、加水分解、種々の水酸化や、水酸基のエピメリ化反応が関与することを明らかにし、加水分解と水酸化の生態学的意義を推察した。さらに、ヒキガエル (毒源) における BD 組成の地理的変異がヤマカガシの BD 組成に反映されると明らかにした。また、ヤマカガシの BD 組成の地理的変異がヒキガエルの BD 組成だけでなく、ヤマカガシ自身の化学変換能力の差異によっても生じると示唆した。</p> <p>第 4 章と 5 章では、ヤマカガシにおける BD 類の動態や生態学的意義を更に深く理解するため、環境による影響を可能な限り排除した単一群体での大規模調査を展開した。第 4 章ではまず、ヤマカガシの頸腺液中の BD 量をハイスループットに定量する UV 分析手法を確立した。これにより、頸腺に蓄積している BD 類全体に焦点を当て、ヤマカガシがヒキガエルから摂取・蓄積する BD 類の量や頸腺中濃度、それらの個体差や個体差を生む内在的要因について調査した。その結果、ヤマカガシの頸腺は他の毒素を摂取・蓄積する動物に比べて例の無いほど、多量で高濃度に</p>			

毒素を蓄積していた。また、BD 量の個体差はヤマカガシの体長や栄養状態によってある程度説明できることを明らかにした。その一方で、体長と栄養状態が同様の個体でもヒキガエルの捕食頻度は個体差が大きいことも分かった。さらに、形態や行動の性差によってメスの BD 量の個体差がオスよりも大きくなること、メスの頸腺には自身の化学防御だけでなく、BD 類を子へ供給する役割もあることを示唆した。

第 5 章では、これまでの章で得られた手法と知見に加え、メスヤマカガシの産卵試験および細胞毒性試験を行い、妊娠メスの頸腺から卵黄・子への BD 類供給の検証や、その供給における成分動態と意義、母子の化学的防御力への影響を解析した。その結果、①ヤマカガシにおける C-3 β OH のエピメリ化は毒性を大幅に低下させる、②このエピメリ化活性はオスよりもメスで高い、③妊娠メスはエピメリ化活性を高め、頸腺に取り込む前に毒性が低い C-3 α OH 型 BD 類を卵黄に送る、その一方で、④妊娠メスは頸腺から卵黄へ、毒性が強い gamabufotalin を送ることを明らかにした。①–④と、孵化幼体の頸腺液の化学分析結果から、ヤマカガシにおける C-3 β OH のエピメリ化の主な生態学的意義は「子への化学的ケア」であることを提唱し、妊娠メスが、組織が未熟な胚に対して安全に、かつ孵化幼体の化学的防御力が強くなるよう卵黄への BD 類蓄積を調節していると推定した。さらに、妊娠メスは自身の化学的防御力が低下するリスクを負いながら子の化学的防御力を高めており、ヤマカガシにおいて BD 類は幼体の生存に特に重要な役割をもつと提唱した。

第 6 章では、本研究で明らかにしたヤマカガシにおける食餌性毒素の変換能力、蓄積能力、およびその毒素を利用した子への化学的ケアの新規性・特殊性について、生理・生態の進化に着目して他の餌由来毒素を蓄積する脊椎動物と比較しながら考察した。また、ヤマカガシが餌由来毒素を蓄積する脊椎動物の進化を考察する上で特に優れたモデルとなることを述べ、ヤマカガシの化学生態学的研究の重要性と、分子生物学やケミカルバイオロジーといった分野を取り入れた将来的な研究の発展性について論じた。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は 1 頁を 38 字×36 行で作成し、合わせて、3,000 字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 words で作成し
審査結果の要旨は日本語 500～2,000 字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

餌由来の毒素を蓄積する脊椎動物に関する研究のほとんどは各種がもつ毒成分の構造や毒源の同定に留まっており、未だ発展途上である。さらに、これら研究例のほぼ全ては新世界の一部地域の動物に限られている。アジアの稀有な例として最も研究されてきた日本のヘビ・ヤマカガシでさえ、毒源のヒキガエルも含めた「化学的見地」に重きを置いた研究はこれまで行われてこなかった。本論文では、ヤマカガシにおける BD 類の化学変換能力に着目し、全国各地と単一個体群内における大規模調査を行うことで、ヤマカガシの化学生態学的研究を進展させた。評価できる点は以下の通りである。

1. 化学分析と独自に確立した多変量解析により、日本各地のヒキガエル 3 種・亜種の BD 組成に関して、基本的な知見を初めて得た。
2. ヤマカガシでも同様の解析を行い、自然界でヤマカガシがヒキガエルから摂取した BD 類に対し、加水分解、種々の水酸化や C-3 OH のエピメリ化といった化学変換を行っていることを明らかにした。また、その加水分解や水酸化の生態学的意義を推定した。
3. 単一個体群を用いた調査と細胞毒性試験を導入し、妊娠中のメスのヤマカガシが C-3 β OH のエピメリ化活性を高め、頸腺に取り込む前に毒性が弱い C-3 α OH 型 BD 類を卵黄に送る経路と、頸腺から毒性が強い gamabufotalin を卵黄へ送る経路があることを明らかにした。
4. 上述の二つの経路により、妊娠メスは組織が未熟な胚に対して安全に、かつ幼体の化学的防御力を高めるように卵黄への BD 類蓄積を調節していると推定した。

以上のように、本論文は餌由来毒素を蓄積する脊椎動物における毒素の代謝や防御利用の進化に関してだけでなく、天然毒素である BD 類の毒性や生態系内における動態・機能に関して新たな知見を与えるものであり、化学生態学・動物生理学・天然物化学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和 6 年 1 月 17 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から 3 ヶ月以内)