

氏 名	はら だ やす こ 原 田 靖 子
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1487 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 応 用 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	Thyroid and thyroid hormone receptor of neotenic teleost during development (幼形成熟性魚類における甲状腺系の発達過程および機能)
論文調査委員	(主 査) 教 授 田 中 克 教 授 山 下 洋 助 教 授 田 川 正 朋

論 文 内 容 の 要 旨

両生類や魚類では一般的に、幼生型から成体型への形態変化(変態)が起こり、甲状腺ホルモン(T3)が中心的な役割を担っていることが広く知られている。しかし、両生類の中には変態せず幼生形態のまま性成熟する特殊な発達過程(幼形成熟)を経るものがあり、甲状腺系の機能不全が原因であるとされている。魚類にもシロウオやシラウオのように幼形成熟的とされる種が知られているが、その要因についての内分泌学的な研究は皆無であった。そこで本論文は、幼形成熟的な発育をする魚類の内分泌学的な特徴を明らかにすることを目的とし、甲状腺系に注目して研究を行った。

第1章 シロウオ成魚への T3 投与実験

T3 投与がシロウオ成魚の変態を誘起するかを検討したが、幼生形質の消失および成魚形質の形成は起こらなかった。次に T3 および甲状腺ホルモン合成阻害剤の投与によって人為的にホルモン濃度を変化させたところ、正常なフィードバック機能を有することが明らかとなった。即ちシロウオ成魚は、外部形態的には甲状腺ホルモンに反応せず成魚形質を形成できないが、甲状腺は正常なフィードバック機構を有し機能的であることが示唆された。

第2章 シロウオにおける消化管および甲状腺系の発達過程

魚類の発達過程においては、一般的に仔稚魚期に形態が最も大きく変化する。そこでシロウオおよびシロウオと同じハゼ科魚類であるウキゴリの仔稚魚期において、消化管、甲状腺ろ胞、および甲状腺刺激ホルモン(TSH)産生細胞の発達過程を組織学的に観察した。ウキゴリの消化管は、仔魚から稚魚への移行期に腸前部で屈曲し、胃壁に胃腺が形成されるなど、一般的に変態期に見られる形態変化が観察された。一方シロウオの消化管は、成魚になっても直線状であり、胃腺は形成されなかった。よって、シロウオは外部形態だけでなく内部形態も幼形的であることが示唆された。甲状腺の活性化は、ウキゴリでは仔魚の flexion 期に起こっており、postflexion 期になると TSH 細胞の出現も確認された。一方シロウオでは、甲状腺ろ胞の活性化と TSH 細胞の出現は仔稚魚期には起こらず、性成熟した成魚期になって初めて確認された。即ちシロウオ甲状腺系の発達は比較的遅いこと、性成熟期に初めて機能的になることが示唆された。

第3章 シラウオにおける消化管および甲状腺系の発達過程

シラウオを用いて、シロウオと同様の組織観察を行った結果、全く違う分類群に属するシラウオであっても、シロウオと同様に消化管は未発達であり、甲状腺系は遅い時期に発達および活性化することが明らかとなった。従って甲状腺系の発達が比較的遅いという特徴は、幼形成熟性の魚類に共通している可能性が示唆された。

第4章 シロウオにおける甲状腺ホルモン受容体(TR)の解析

シロウオ成魚を用いて TR の塩基配列分析を行ったところ、TR α については全配列を明らかにすることができた。一方、TR β については5'側の111bpが決定できなかったが、受容体として重要な機能を持つ DNA 結合領域(Cドメイン)の約2/3、および甲状腺ホルモン結合領域(E/Fドメイン)全体の配列を明らかにすることができた。さらに TR β についてはヒンジ領域に60bpの挿入配列を有する異性体の存在が示された。 α 、 β 両タイプともにほ乳類・両生類および魚類の TR と

比較すると、保存性の高いCおよびE/Fドメインでは90%以上の高い類似性を示していた。また、 β の異性体に見られた挿入配列に関しては全く同じ挿入配列がヒラメにも存在することが知られており、シロウオ特有の異性体ではない。以上の結果より、シロウオTRには重大な機能不全を示唆する変異は確認されず、受容体として機能的であると推測された。

次に、リアルタイムPCR法によって仔稚魚期における受容体mRNAの発現量を検討した。ふ化直後から $\alpha \cdot \beta$ 共に発現は確認されたが、TR α はpostflexion期以降、TR β はやや遅れて稚魚期以降に増加する傾向が見られた。このことから、シロウオでは変態を経る魚種よりも受容体mRNAの増加が遅れることが明らかとなった。

シロウオを主として用いた本研究によって、幼形成熟という特殊な発達過程を経る魚類の甲状腺系の特徴が明らかになった。仔稚魚という生活史の初期に甲状腺が活性化し変態する一般的な魚類と異なり、シロウオでは、性成熟期という生活史の後期まで甲状腺は不活発な状態を保っていた。また、両生類における幼形成熟の要因は、甲状腺系のある一部分が機能していない「機能不全」であるとされているのに対し、幼形的な魚類では機能的な異常は認められず、主として甲状腺系の「発達遅滞」であると考えられた。即ち同じ幼形成熟という現象ではあるが、両生類と魚類とでその機構が異なることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

シロウオは、日本と朝鮮半島南部に分布する小型のハゼ科魚類の一種である。一部の地域では高価な漁獲対象種とされ早春の風物詩として親しまれてきたが、近年では資源量が減少しつつあり、準絶滅危惧種に指定されている。本種の資源保全には生態学および生理学的な知見が不可欠であるが、特に本種は成魚の形質を十分に発現せずに幼生の形質を残した状態で成熟する幼形成熟性魚類であるという特徴がある。しかし、魚類の幼形成熟に関する生理学的知見は皆無に近い。本論文は、シロウオを中心として幼形成熟性魚類における内分泌系の特徴を初めて明らかにしたものである。評価される主な点は以下の通りである。

- 1) 成体型への形態変化、即ち変態においては甲状腺ホルモンが中心的な役割を果たすことが知られている。シロウオ成魚への甲状腺ホルモン投与実験から、甲状腺は血中ホルモン濃度によって正常なホルモン産生調節を行っている可能性を指摘した。また一方で、周辺組織では他魚種の変態過程で見られるような現象が誘起されないことを示した。
- 2) 孵化直後から稚魚期に至るまでシロウオの初期飼育を行い、発達に伴う甲状腺および甲状腺刺激ホルモン産生細胞の動態を解明し、甲状腺系の活性化が他の魚類よりも遅れて起こることを明らかにした。
- 3) シロウオもシロウオと同様に幼形成熟性魚類である。系統分類学的には遠く離れるシロウオにおいても甲状腺系の活性化が遅れることを見だし、幼形成熟性魚類に共通する特徴である可能性を強く示唆した。
- 4) シロウオにおける甲状腺ホルモン受容体の塩基配列解析を試み、 α 型1種の全長、および β 型2種のほぼ全長を解明した。他魚種の受容体との比較から、これらの受容体がDNA結合能およびリガンド結合能を有している可能性を指摘した。さらにリアルタイムPCR法を用いて、両受容体mRNAの動態を孵化直後から稚魚までの期間にわたり解析し、変態を行う魚種よりも両受容体mRNAの増加が遅れるという特徴を見いだした。
- 5) 以上の成果をもとにして、シロウオが変態を行わず幼形成熟という発達過程を経ることには、変態に必須とされる甲状腺系の活性化遅延が関与している可能性を指摘した。また、稚魚期以降には機能的な受容体が存在する可能性が高いにも関わらず、ホルモン投与による変態誘起が見られなかったことから、両生類における幼形成熟とは機構が異なっている可能性が高いことを示唆した。

以上のように、本論文は内分泌学的・分子生物学的手法を駆使し、欧米諸国では研究対象とはなりえない水産有用魚種を用いることで、魚類の幼形成熟が甲状腺系の活性化遅延によって起こっていることを解明したものであり、水産増殖学、海洋生物学、および比較内分泌学の進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、平成17年2月17日、論文なら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。