

内2-32

早稲田大学大学院理工学研究科

博士論文概要

論文題目

陸 生 西 生 類 無 尾 目
の 変 態 の ホ ル モ ン
調 節

申請者

新 沼 和 彦

Niinuma Kazuhiko

物理学及应用物理学専攻

内分泌学研究

平成 2 年 12 月

両生類無尾目には変態後も水中に生活する水生種、変態後水中及び陸上の両方に生活する半水生種及び生殖期以外はもっぱら陸上に生活する陸生種が存在する。陸生種のヒキガエルはすでに変態最盛期の途中から陸上生活を選択し、変態期間が極めて短いことが特徴である。筆者はヒキガエルの変態に関与している主なホルモンレベルの変化と、比較的変態に時間を要するウシガエルの変態時におけるホルモンレベルの変化とを比較し、ヒキガエルにおける変態のホルモン調節について考察することを目的として研究を行った。従来の研究から変態に関与する主たるホルモンは甲状腺ホルモン、甲状腺ホルモンの作用を増強する副腎皮質ホルモン、甲状腺ホルモンの作用を抑制するプロラクチンであることが知られており、本研究ではこの三種のホルモンについて検討した。本論文は第一章から第七章までで構成されている。

第一章は、従来の研究および本研究の目的と意義について述べている。

第二章は、ヒキガエル幼生の甲状腺ホルモンレベルに関して述べている。従来、無尾両生類では甲状腺ホルモンレベルの測定に比較的血液量の多い大型のウシガエル幼生をもっぱら用いていた。ヒキガエル幼生は小型で、個々の動物から得られた血清サンプルはあまりにも少量すぎて、測定不能である。そこで筆者は個々の動物組織から甲状腺ホルモンを抽出する方法をとることにした。組織のメタノール/クロロホルム可溶画分に甲状腺ホルモンは抽出されてくるので、トリチウムラベルのチロキシン(T_4)、またはトリヨードチロニン(T_3)をトレーサーとして収率を計算し、ラジオイムノアッセイによる T_4 および T_3 値を補正した。それによれば、 T_4 レベルは変態始動期より上昇し、変態最盛期に頂点に達する。一方、 T_3 は変態始動期の半ばより上昇し、変態最盛期を通じて高い値を示す。甲状腺組織を含む下顎部とそれ以外の組織とで、それぞれ T_4 、 T_3 の濃度を比較すると、 T_4 は下顎部のほうが高いが、 T_3 はほぼ等しい。すなわち T_4 は甲状腺に比較的高濃度に含まれるが、 T_3 はほとんど甲状腺に含まれず、血液中に放出された T_4 が末梢組織で脱ヨード化されて T_3 に変化すると考えられる。 T_3 は T_4 より生物活性が高く、 T_4 より組織中の脱ヨード化酵素により T_3 が作られないと、変態が完了しないことが知られている。したがって、 T_4 濃度よりも T_3 濃度がより変態に重要な意味をもつと考えられる。測定されたヒキガエル組織中の T_3 濃度はウシガエルの血中濃度より二倍以上高い。組織と血液中のレベルを直接比較することはできないが、ヒキガエル組織中に比較的高濃度に T_3 が存在することはこの動物の変態の変化が急激であることに関連があると思われる。一方、ヒキガエル幼生の甲状腺への ^{131}I の取り込みは変態の進行と共に増加する。これは甲状腺ホルモンのレベル上昇とほぼ一致する。すなわち、組織中の甲状腺ホルモンレベルの上昇は甲状腺におけるホルモン合成能の上昇によって支えられていることを示している。

第三章は、ヒキガエルの変態の下垂体による調節が特異的である点について述

べている。すなわち、他の無尾目幼生は下垂体を脳から離すと、変態が変態最盛期の手前で止まってしまふ。ところが、ヒキガエルでは、変態は停止せず、ゆるやかに進行し、遂に変態が完了する。この場合甲状腺への ^{131}I のとりこみ量が比較的低いことから、甲状腺機能は正常以下と思われる。また、第四章で述べるように、甲状腺ホルモンの働きを強化する副腎皮質ホルモンのレベルもウシガエルなどに比べて高くない。従ってヒキガエルでは、組織の甲状腺ホルモンそのものに対する反応性が高いという可能性が強いと考えられる。

第四章では、幼生の変態の各段階における副腎皮質ホルモンレベルの変化について述べている。種々の段階の幼生からブールした血清中の副腎皮質ホルモンをラジオイムノアッセイにより測定すると、同ホルモンの濃度はウシガエルでみられるほど上昇はしないものの、変態最盛期のはじめにレベルの上昇がみられる。ヒキガエル幼生にアンフェノンBを投与し、副腎皮質ホルモンの合成能を低下させると変態が遅れることから、内因性の副腎皮質ホルモンが変態に関与しているのは明かであることが知られているが、ヒキガエル幼生では、他の種の場合以上に特別副腎皮質ホルモンが寄与している証拠は得られなかった。

第五章は、変態の各段階におけるプロラクチンの血中レベルとプロラクチンの合成能の変化について述べている。ヒキガエルプロラクチンのラジオイムノアッセイ系により、ブールしたサンプルを用いて測定したプロラクチンの濃度は変態前期には低く、変態始動期から上昇し、さらに変態最盛期終盤まで上昇を続ける。下垂体中のプロラクチン含量も変態の進行につれて増加するが、変態最盛期の終わりにやや下降する。下垂体を 3H -ロイシンとインキュベートし、プロラクチンを電気泳動で分離して、その放射活性を測定することによりプロラクチンの合成能を測定すると変態最盛期の動物の下垂体が高い合成能を示した。このことから、プロラクチンの放出・合成とも変態最盛期には上昇していることが明らかになった。しかしながら、血液中の濃度はウシガエルの場合と比べてかなり低い。また下垂体におけるプロラクチンの含量も、変態始動期より最盛期にかけて増加はするものの、下垂体タンパク量当りの濃度もウシガエルのそれに比べて低い。したがって、プロラクチン分泌に関してヒキガエル幼生の下垂体の機能は、他の種のものに比べて高いとはいえない。一般に、両生類ではプロラクチンは幼生の成長を促進し、甲状腺ホルモンの働きに拮抗することが知られている。したがって、ヒキガエルプロラクチンのレベルが比較的低いことが、幼生のサイズが小さく、変態がすみやかに起こることの一因となっていると考えられる。

第六章は、プロラクチン細胞と甲状腺刺激ホルモン(TSH)細胞の発生を免疫組織学的に調べた結果について述べている。ウシガエルプロラクチン抗体およびヒト $TSH\beta$ 鎖の抗体によって染色すると、プロラクチンおよび $TSH\beta$ 陽性細胞とも変態の進行につれてそれらの細胞数は増加する。このことは、変態の進行とともに甲状腺ホルモン及びプロラクチンの分泌能が高まることと関連して

いると思われる。一方、幼生時に甲状腺の原基を取り除いて発生させた幼生ではプロラクチン陽性細胞、TSH β 細胞ともに存在するので、甲状腺ホルモンにさらされなくとも、これら細胞は分化可能であることがわかる。ただし、甲状腺除去動物にみられるTSH β 陽性細胞がTSH α 鎖を持つ完全なTSH細胞であるかどうかは今後課題であると考えている。

第七章は、まとめと今後の展望について述べている。すなわち、ヒキガエル幼生で比較的変態がすみやかに起こるのは、甲状腺ホルモンのうち、より生物学的活性の高いT₃の組織中のレベルが高いこと、組織の甲状腺ホルモンに対する反応性も高いこと、及びプロラクチンの血液中のレベルが低いことに起因していると考えられること、またヒキガエル幼生の特徴として、変態最盛期中途でもはや水中に生存できなくなるが、これは水中適応ホルモンと見なされているプロラクチンレベルの低さに関連している可能性があること等を指摘している。今後の課題として、これらのホルモンのリセプターレベルでの解析を行い、本研究で得られた結論の裏付けをすべきであること、また変態に関与しているホルモンを調節している視床下部因子についての解析がなされるべきことなどを挙げている。