

論文審査の結果の要旨

報告番号	博（生）甲第 298 号	氏 名	辰 野 竜 平
学 位 審 査 委 員 会	主 査	荒 川	修
	副 査	橘	勝 康
	副 査	征 矢	野 清
	副 査	山 口	健 一
	副 査	高 谷	智 裕
<p>・ 論文審査の結果の要旨</p> <p>辰野竜平氏は、2008 年 3 月に長崎大学水産学部を卒業し、同年 4 月に長崎大学大学院生産科学研究科博士前期課程に入学後、2010 年 3 月に同課程を修了して水産学修士を取得した。さらに同年 4 月に同研究科博士後期課程に進学し、現在に至っている。同氏は、博士後期課程進学以降、海洋生産科学を専攻して所定の単位を修得するとともに、フグ毒の体内動態とそこに関わる分子機構に関する研究に従事し、その成果を 2012 年 12 月に主論文「フグ毒（TTX）保有魚類における成長ないし性成熟依存的な体内毒分布の変化と TTX 結合性タンパク質の発現に関する研究（Studies on the Growth-/Maturation-Associated Changes in Internal Tetrodotoxin (TTX) Distribution and Expression of TTX-Binding Proteins in TTX-Bearing Fish)」として完成させ、参考論文として、学位論文の印刷公表論文 3 編（うち審査付き論文 3 編）、学位論文の基礎となる論文 4 編（うち審査付き論文 4 編）を付して、博士（水産学）の学位を申請した。長崎大学大学院生産科学研究科教授会は、2012 年 12 月 19 日の定例教授会において論文内容等を検討し、本論文を受理して差し支えないものと認め、上記の審査委員を選定した。委員は主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会を実施するとともに、最終試験を行い、論文審査および最終試験の結果を 2013 年 2 月 20 日の生産科学研究科教授会に報告した。</p> <p>提出論文は、TTX 保有魚類における毒の体内動態とそれに関わる分子機構解明に資するため、トラフグとツムギハゼを対象に、成長ないし性成熟の視点から体内毒分布の変化に検討を加えるとともに、トラフグにつき TTX 結合性タンパク質 PSTBP の相同遺伝子を探索し、無毒養殖個体におけるそれらの発現状況を調べたものである。</p> <p>まず、天然トラフグ中型魚につき、TTX の体内分布を調べたところ、総毒量に対する肝臓と皮の毒量の割合は、それぞれ 15～86% と 13～73%で、肝臓に相当量の毒の分布がみられた。これに対し、天然トラフグ若年魚では、保有する毒のほとんどが皮に局在し</p>			

ていた。次に、6 ヶ月齢と 15 ヶ月齢の無毒養殖トラフグを用いて TTX の経口投与実験を行い、24 時間後の TTX 体内分布を比較したところ、6 ヶ月齢魚では皮と肝臓の TTX 量はともに消化管と同程度であったのに対し、15 ヶ月齢魚では肝臓の TTX 量が他の部位より著しく高かった。また、6 ヶ月齢魚では投与毒量の 31% が蓄積しており、その 71% が皮に、21% が肝臓に分布していたのに対し、15 ヶ月齢魚では 84% が蓄積しており、その 83% が肝臓から、14% が皮から検出された。生殖腺体指数 (GSI) と生殖腺組織の成熟段階は雌雄ともに両月齢魚間で大差なかったが、比肝重値 (HSI) と肝細胞の直径は 15 ヶ月齢魚の方が 6 ヶ月齢魚より大きかったことから、トラフグでは肝臓の発達に伴い TTX の体内動態が変化するものと推察された。

一方、2008 年 8 月～2010 年 8 月に沖縄本島で採取した雌のツムギハゼ 29 個体 (I 群) と 40 個体 (II 群) を用い、性成熟に伴う TTX 体内分布の変化を調査した。I 群については、GSI の変化と一部の卵巣切片の組織学的観察に基づき生殖周期によるグループ分けを、II 群では全個体の卵巣切片の観察に基づき卵巣の成熟段階によるグループ分けを行った。各部位の TTX 量を測定したところ、I 群の場合、前卵黄形成期には総毒量の 77% を皮が占めていたが、卵黄形成期に入ると 45% を卵巣が占めるようになり、さらに産卵期盛期になると卵巣の毒量は 73% に達した。一方、産卵期終期では、81% を皮が占め、卵巣の割合は全体の 2% 程度と前卵黄形成期に酷似したパターンとなった。II 群の場合、卵巣の毒量は、周辺仁期や卵黄胞期の未成熟な個体では総毒量の 1% に満たないが、第一次卵黄球期から第三次卵黄球期にかけて 2～52% へと大きく上昇した。すなわち、卵巣の成熟に伴い、卵巣への毒の偏在が顕著に進むことが示された。

最後に、トラフグを対象に PSTBP 相同遺伝子の探索を試みたところ、BLAST 検索と 3'-RACE 法により PSTBP と高い配列類似性を示すアイソフォーム遺伝子 4 種 (*Tr1*～*Tr4*) が存在することを見出した。*Tr1* と *Tr2*、および *Tr3* と *Tr4* のオープンリーディングフレームは、それぞれ 1 つ、および 2 つもしくはそれ以上のリボカリンドメインで構成されていた。無毒養殖トラフグの肝臓において *Tr1* と *Tr3* の両 mRNA の発現が RT-PCR 法により示され、いずれの翻訳産物も同試料魚の 120-kDa 血漿タンパク質として存在していることが SDS-PAGE と MALDI-TOF 質量分析により同定・判別できた。また、同タンパク質をプロテインシーケンサで分析したところ、APSXEEXHKLTAKV の N 末端配列が示され、MALDI-TOF 質量分析の同定を支持する結果が得られた。

以上のように本論文は、フグ毒保有魚類における TTX の体内動態とそれに及ぼす成長・成熟の影響、ならびにその分子機構に関わる新たな発見と有意義な知見を含んでおり、関連分野に大きく寄与するものと考えられ、高く評価できる。

学位審査委員会は、海洋生産科学、水産学、生化学、分子生物学等の進歩発展に貢献するところが大きく、博士 (水産学) の学位に値するものとして合格と判定した。