

【学位論文審査の要旨】

1 研究の目的

消化管（腸）は食物の貯蔵・消化・吸収の機能をもつ。腸の長さや構造は食物によって異なることが知られている。一般的に、肉食性の動物では短く、植食性の動物では長い。カエル類では、一般に、幼生であるオタマジャクシは植物食で長い腸をもつが、変態後は肉食性で短い腸をもつ。そのため、変態時に、長い腸から短い腸への再構築が起こる。一方、同種内でも、食性に応じて腸の形態変化が起こることが知られている。しかし、消化酵素などの生理的变化を含んだ食性による腸の表現型可塑性や、変態時の腸の再構築のタイミングに関する研究はなされていない。本研究では、(1) アオガエル科の2種、(2) アカガエル科の3種について、食性と腸の形態、生理、再構築のタイミングに関する比較研究を行った。

2 研究の方法と結果

(1) アオガエル科の2種に関する表現型可塑性

アイフィンガーガエルの幼生は樹洞で成長する。餌はメスが定期的に産み落とす未受精卵である。正常発生段階表を作成した結果、幼生の形態には、口が先端に位置し、尾がよく発達するなど、水面での卵食に適した特長を有していた。この卵食性の幼生と植食性のモリアオガエルの幼生について、発生段階ごとに腸の形態を比較すると、前者では腸が短く、腸壁が厚くなっていた。また、腸でのアポトーシスの有無、細胞増殖因子および甲状腺ホルモン受容体 *thrβ* の発現の経時変化から、前者では変態に伴う腸の再構築がより遅い段階で生じていた。アイフィンガーガエルの幼生の食性は特化しており、卵以外の餌を摂食することはなかった。しかし、モリアオガエルの幼生は幅広い食性をもつため、同一卵塊から孵化した幼生に、乾燥イトミミズのみを与えて飼育した場合（肉食）とホウレンソウのみを与えて飼育した場合（草食）での腸の表現型可塑性を調べた。肉食の場合、幼生の腸は細長く、腸壁は厚くなった。また、腸におけるタンパク質分解酵素の活性は高いが、マルトース分解酵素の活性は低くなった。発生の途中で与える餌を変えた場合、1週間後には腸の形態が大きく変化し、肉食では腸が短くなり、草食では腸が十分に長くなった。

(2) アカガエル科3種の表現型可塑性

ナガレタゴガエルは、溪流に生息し、早春に繁殖する。卵から孵化した幼生は餌をとらずに卵黄だけで変態する。タゴガエルは水が湧く岩場の隙間で春に繁殖する。やはり幼生は卵黄だけで変態する。一方、ヤマアカガエルの幼生は池沼に生息し、雑食性である。ま

ず、これら3種の正常発生段階表を作成し、幼生の形態変化を比較した結果、ナガレタゴガエルとタゴガエルでは、幼生の歯列の発達が悪く、かつ著しい個体変異を示すことが明らかとなった。次に、ハウレンソウを与えて飼育、乾燥イトミミズを与えて飼育、何も与えずに飼育という3つのグループで、これら3種の発生過程を比較した。ナガレタゴガエルでは、餌条件によらず幼生の腸は常に短く、発生とともに短縮化が起こった。タゴガエルでは、幼生は少し餌を食べ、とくにハウレンソウで飼育した場合、他の条件に比べ腸が長くなる傾向があった。ヤマアカガエルでは、餌がないと初期に死亡してしまうが、草食と肉食に対しては顕著な腸の表現型可塑性を示した。ハウレンソウで飼育すると腸が長くなり、マルトース分解酵素の活性が高くなった。発生段階に応じて腸でのアポトーシスの有無を蛍光観察すると、ヤマアカガエルの幼生では肛門管消失期から前肢出現期にかけて腸の再構築が生じると推測された。しかし、ナガレタゴガエルおよびタゴガエルでは発生初期の趾形成期から前肢出現期にかけてアポトーシスが確認され、腸の再構築過程は不明瞭であった。

3 審査の結果

この研究では、カエル類の幼生（いわゆるオタマジャクシ）が、食性に応じて腸の特性を大きく変化することを極めて明確に証明している。同一卵塊から得た兄弟姉妹の幼生を、植物質の餌で飼育すると腸が長くなり、動物質の餌で飼育すると腸が短くなるという形態的表現型可塑性だけでなく、消化酵素の組成さえも変化することを初めて示した点で優れている。さらに、特殊な環境に生息する種では、幼生の食性が特殊化することによって、腸の表現型可塑性が失われていることを明らかにした。こうした現象は、腸の形態や生理に関して大きな表現型可塑性をもつ祖先種が、特殊な環境下で遺伝的同化を経て、表現型可塑性が失われた結果であるという仮説を支持するため、今後多くの研究者の注目を集めると考えられる。一方、この研究では、幼生の腸から変態後の仔ガエルへの腸への再構築過程について、それが変態の時間的コストであるという新たな視点を提出している。草食の長い腸（草食の幼生）から肉食の短い腸（変態後の仔ガエルは肉食）への変換は、肉食の短い腸（肉食の幼生）から肉食の短い腸（変態後の仔ガエルは肉食）への変換に比べて時間を多く費やすという結果が得られている。この視点は、今後の両生類の変態という現象の解明に一石を投じるはずである。

研究結果は、国際的な学術雑誌に1報（英文）出版されており、それ以外に2報が受理に向けてレフリースコメントに基づき原稿を修正中である（近日中に改定原稿を再投稿の予定）。

Kishimoto, K, Hayashi, F (2017) The complete embryonic and larval stages of the oophagous frog *Kurixalus eiffingeri* (Rhacophoridae). *Current Herpetology*, 36: 37-45.

Kishimoto, K, Hayashi, F (submitted) The complete embryonic and larval stages of *Rana sakuraii* (Ranidae) metamorphosed without feeding.

Kishimoto, K, Tamura, K, Hayashi, F (submitted) Adaptive phenotypic plasticity in anuran tadpole guts: differences in morphology, physiology, and timing of remodeling between herbivory and carnivory.

以上より、博士（理学）の学位に十分値するものと判定した。

4 最終試験の結果

本学の学位規定にしたがって、試験および試問を行った。公開の席上で論文発表を行い、生命科学専攻教員による質疑応答をもって試験にあてた。また、論文審査委員が本論文および関連分野について試問を行った。その結果、専門科目および外国語について十分な学力があることを認め、合格と判定した。