

ニホンアマガエルの凍結耐性に関わる内分泌学的調節機構

岡田 令子

静岡大・理・生物

両生類は自身の体内で熱を生み出せない外温動物であり、内温動物である哺乳類・鳥類とは異なる生理学的機構を発達させて寒冷環境に適応している。一般に外温動物が氷点下の温度に晒され体内の水分が凍結すると、細胞の脱水や氷結晶の形成による細胞膜の破壊などが起こり、生体は大きなダメージを受ける。我々はこれまでにニホンアマガエル (*Hyla japonica*) が凍結耐性を備えており、冬眠中に体内の水分の一部が凍結しても生存可能であることを見出した。また、冬眠中のニホンアマガエル肝臓に多量のグリコーゲンが蓄積されていること、グリセロールおよびグルコースが耐凍物質としてはたらくこと、それらの輸送にそれぞれアクアポリン 9 と 2 型グルコース輸送体が関与することなどを明らかにしてきた。しかし、季節変化により凍結耐性がどのように準備されるのか、凍結刺激に反応して凍結耐性がどのように発現するのかといった調節機構については、ほとんど明らかにされていない。

本研究では、アマガエルの寒冷順応や凍結耐性が内分泌学的に調節されているという仮説を立て、それを証明することを目指している。この調節に関わる可能性が高いホルモンとして、間脳視床下部ホルモンの甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) と TRH によって放出が促進される脳下垂体ホルモンのプロラクチン (PRL) が考えられた。アマガエルの寒冷順応や凍結耐性と TRH-PRL 系の関わりを明らかにするため、まずニホンアマガエル TRH 前駆体、PRL1A および PRL1B (両生類は 2 種類の PRL1 遺伝子をもつ)、3 型 TRH 受容体の cDNA クローニングを行い、塩基配列を決定した。続いて、春から夏に採集した活動群、冬季に採集した冬眠前および冬眠中の群でこれらの遺伝子の mRNA 発現レベルを定量 PCR で解析した。その結果、間脳視床下部における TRH 前駆体 mRNA 発現レベルが、活動群と比較して冬眠前群で上昇し、冬眠中の群ではさらに発現が高まることがわかった。一方、脳下垂体における PRL1A mRNA 発現レベルは、活動群よりも冬眠前群および冬眠中群の方が低かった。現在はさらに冬眠中のカエルを -4°C でさまざまな時間凍結した群、およびそれらを解凍した群について TRH-PRL 系関連遺伝子の mRNA 発現の解析を進めている。また、アマガエル PRL1A および PRL1B に対する特異的抗体の作製と、これを用いた免疫組織化学や免疫測定法により、PRL のタンパク質レベルでの解析も行う予定である。さらに、PRL の作用を阻害した場合に、アマガエルの寒冷順応や凍結耐性にどのような変化が起こるかを検討する。これらの結果から、凍結耐性をもつ両生類特異的な内分泌学的調節機構の役割を明らかにし、さらに他の動物綱での知見と比較することで、外温動物から内温動物へという脊椎動物の進化を考察したいと考えている。