

論文審査の結果の要旨

氏名：上 田 紘 之

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題名：琉球列島におけるフグ毒保有魚類の毒化に及ぼす *Planocera* 属ヒラムシの影響に関する研究

審査委員：(主 査) 教授 糸 井 史 朗

(副 査) 教授 小 島 隆 人

教授 高 井 則 之

教授 福 島 英 登

本論文は沖縄本島近海で見出された *Planocera* 属様ヒラムシを対象に、その TTX の保有状況および TTX 保有魚類の毒化に及ぼす影響について解明することを目指したものである。

沖縄本島名護沖の水深約 10 m で採取したヒラムシ 2 個体を TTX 抽出に供して LC-MS/MS 分析に供したところ、TTX 標品と一致するピークを示すクロマトグラムが得られた。これら *Planocera* 属様ヒラムシの系統学的地位を明らかにするために、核ゲノムにコードされる 28S rRNA 遺伝子の部分塩基配列およびミトコンドリア DNA (mtDNA) の全塩基配列を決定し、既報のヒラムシ類のそれらと比較した。TTX を保有していないとされるオキヒラムシ *Planocera pellucida* を含めて、mtDNA にコードされる遺伝子の配置を *Planocera* 属ヒラムシ間で比較したところ、オキヒラムシの tRNA-Gln 遺伝子の配置は TTX を保有する *Planocera* 属ヒラムシのそれと異なっていた。また、mtDNA の全塩基配列を用いて分子系統解析を行った結果、TTX 保有能を持つオオツノヒラムシ *Planocera multitentaculata*、ツノヒラムシ *Planocera reticulata* および *Planocera* 属様ヒラムシが同一のクラスタを形成し、オキヒラムシはその外部に配置された。これらのことから、TTX 保有能を持つヒラムシ類が *Planocera* 属の特定のクラスタに集中しており、オオツノヒラムシ、ツノヒラムシおよび *Planocera* 属様ヒラムシ (以降、*Planocera* sp. と表記) の共通祖先が TTX 保有能を獲得した可能性が示唆された。

続いて、*Planocera* sp. が琉球列島近海の TTX 保有魚類の毒化に対して果たす役割を明らかにするため、TTX および 5,6,11-trideoxyTTX を含む TTX 類縁化合物を他の *Planocera* 属ヒラムシ (オオツノヒラムシ、ツノヒラムシおよびオキヒラムシ) のそれらと比較した。その結果、沖縄本島で発見された *Planocera* sp. の TTX、5,6,11-trideoxyTTX、dideoxyTTXs、deoxyTTXs および 11-norTTX-6(S)-ol は、オオツノヒラムシと同様のクロマトグラムパターンを示した。そこで、育成した無毒のクサフグに対してオオツノヒラムシの卵板を与えて毒化させ、琉球列島近海の野生のクサフグの TTX および TTX 類縁化合物のパターンと比較したところ、類似したパターンが認められた。これにより沖縄本島で発見された *Planocera* sp. が、琉球列島近海において TTX 保有魚類の TTX 供給源となっていることに加え、TTX 保有魚類の毒化をオオツノヒラムシで再現できる可能性が示唆された。オキナワフグおよびツムギハゼについても同様にオオツノヒラムシの卵板を与えた後、TTX および 5,6,11-trideoxyTTX を含む TTX 類縁化合物を検出したところ、オキナワ

フグではオオツノヒラムシの TTX 類縁化合物組成をある程度反映したのに対し、ツムギハゼでは deoxyTTXs 以外の TTX 類縁化合物組成に卵板給餌前後で大きな変化は見られなかった。野生のツムギハゼでは、TTX および TTX 類縁化合物の組成が採取された水域によって大きく異なることが報告されており、生息環境下の TTX 保有生物の TTX および TTX 類縁化合物の組成に大きく影響されることが示唆されていたが、この仮説を支持しない結果が示された。

オオツノヒラムシが TTX を蓄積する機構を明らかにすることを目的とし、オオツノヒラムシを個体識別するため 1 個体ずつ隔離・識別して長期的に飼育した。この飼育個体から定期的に少量の組織を切出して TTX を測定することで、同一個体の TTX の量と濃度を継続的に推定した。その結果、自然界で採取された個体群と同様の変動を示し、産卵によって TTX が卵塊へ供給されていることが示された。続いて、神奈川県三浦郡および茨城県ひたちなか市において幼体期のオオツノヒラムシを採取し、無毒環境下で無毒の餌のみを与える飼育実験を行って TTX および 5,6,11-trideoxyTTX を定量した。その結果、幼体期から無毒環境下で無毒の餌のみを与えて飼育しても、TTX および 5,6,11-trideoxyTTX は大幅に増加することが示された。これにより、オオツノヒラムシは他の TTX 保有生物とは異なり、餌生物から TTX を獲得することなく、自らの体内で TTX およびその類縁化合物を合成し、蓄積することができる機構を有していることが示唆された。

本研究では、琉球列島近海において新たに発見された TTX 保有ヒラムシは、分子系統解析により *Planocera* 属であることが明らかとなり、その関連種を含む分類群が多様なヒラムシ類の中で TTX 蓄積能を有する分類群である可能性が示唆された。また、この *Planocera* sp. が保有する TTX 量はオオツノヒラムシに匹敵することが明らかとなった。オオツノヒラムシの TTX 量の季節変動と比較しても、産卵期には大量の TTX を保有する可能性がある。資源量によっては琉球列島近海の TTX 保有生物に対する TTX の供給者として重要な地位にあることが示唆される。海洋環境における TTX 循環において、オオツノヒラムシと同様の役割を果たしている可能性が高く、オオツノヒラムシをモデル生物としたシミュレーションにより、新たに発見されたヒラムシ *Planocera* sp. が TTX 保有魚の毒化に関与している可能性が示唆された。オオツノヒラムシにおいては、その体内に毒化機構を有していることが示唆されたことから、琉球列島近海の *Planocera* sp. においても体内にオオツノヒラムシと同様な TTX 蓄積機構を有している可能性が考えられる。

本研究の成果は、琉球列島近海においても *Planocera* 属のヒラムシが低次生物群間での TTX の循環と高次の生物群間での TTX の循環をつなぐ重要な鍵となる生物群であることを明らかにし、既報の TTX 保有生物の毒化機構のみならず、いまだ明らかにされていない TTX の生合成機構を明らかにする上できわめて重要な知見となる。また、*Planocera* sp. の保有する TTX およびその類縁化合物については、査読付きの原著論文としてすでに国際誌に掲載されており、学術的意義があると判断された。

よって本論文は博士（生物資源科学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和 6 年 10 月 10 日