

無脊椎動物の初期発生過程での D-アミノ酸の変動と生理機能

佐 藤 実

東北大学大学院農学研究科

Developmental Changes in the Content and Physiological
Functions of D-Amino Acids in Invertebrates

MINORU SATO

Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Miyagi 981-8555, Japan

動物の受精卵が卵割を開始してから胚、幼稚仔個体までの初期発生過程は、分割卵細胞群がそれぞれ特殊化し組織、器官に、形態も機能も劇的な変化を遂げる時期であり、この間に小さな生命体の中で展開されている物質代謝には古くから関心が寄せられ、各種動物について遊離アミノ酸を含めた生体成分の変動が研究されている。¹⁻⁴⁾

近年の分析技術の向上に伴い、D-アミノ酸が各種生物に広く分布しており、なかでも海産無脊椎動物には、一部にはL-体を上回るような、高濃度の遊離D-アミノ酸が筋肉組織などに含まれていること、それらが浸透圧の調節に深く関わっていることが明らかになっている。⁵⁻⁷⁾ 更にここに来て、無脊椎動物の未受精卵にもD-アミノ酸が含まれ、初期発生過程で変動することが明らかになってきた。ここでは、各種無脊椎動物の初期発生過程におけるD-アミノ酸の変動と、キタムラサキウニ初期発生過程におけるD-アラニン(D-Ala)の代謝と生理機能について、これまで得られた知見を紹介する。

1. 各種無脊椎動物の初期発生過程におけるD-アミノ酸の変動

D'Anielloら⁸⁾および筆者ら⁹⁻¹¹⁾が行った分析で、無脊椎動物類の未受精卵および初期発生過程で検出されたD-アミノ酸は、D-AlaおよびD-アスパラギン酸(D-Asp)のみであった。

D'Anielloらはウニの一種 *Paracentrotus lividus* の未受精卵に 1.32 pmol/egg の D-Ala が含まれることを、さらに受精後胞胚期、のう胚期からプルテウス幼生期にかけて 0.60 pmol/egg に減少することを認めた。L-Ala に対する D-Ala の比 (D-Ala/L-Ala 比) は未受精卵の 1.17 からプルテウス幼生では 0.64 に、約半分に減少すると報告している。

これに対し、筆者らはキタムラサキウニ *Strongylocentrotus nudus* の未受精卵に 39.1 pmol/egg (15.6 μ mol/g) の高濃度の D-Ala が含まれ、D-Ala/L-Ala 比は実に 22.23 に達することを明らかにした。さらに、キタムラ

サキウニ未受精卵に認められた多量の D-Ala は受精後速やかに減少し、2 細胞期で D-Ala/L-Ala 比 7.34、4 腕プルテウス幼生期には 1.6 pmol/embryo、D-Ala/L-Ala 比も 1.12 にまで劇的に減少することを認めた。なお、エゾバフンウニ未受精卵にも D-Ala は検出されたが、D-Ala/L-Ala 比は 1.6-3.3 とキタムラサキウニ未受精卵のそれと比較して小さかった。

これまで分析した範囲では、初期発生過程での D-アミノ酸の変動傾向としては、ウニ類の D-Ala やマボヤの D-Asp のように発生の進行に伴い減少するものと、逆にエゾアワビの D-Asp と D-Ala、アカガイの D-Asp のようにしだいに増加するものが見られた。

この他、D-アミノ酸関連化合物としてアカガイ未受精卵に 4428 nmol/g もの多量の N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) が検出された。¹²⁾ アカガイ組織の NMDA 濃度は足筋、閉殻筋や外套筋などで 28-180 nmol/g 程度であることより、未受精卵のそれが如何に高濃度であるかが分かる。このアカガイ未受精卵の NMDA は初期発生過程で急激に減少し、付着期には 40 nmol/g と未受精卵の 100 分の 1 に減少し注目された。NMDA は哺乳動物で神経興奮作用を有するほか、黄体ホルモンの放出作用など様々な生理活性作用を持つことが知られているが、天然物ではアカガイから初めて単離されたものであり、¹³⁾ 分布もフネガイ科の二枚貝に限られており、アカガイ未受精卵に多量に存在する NMDA の生理機能および初期発生過程での代謝は興味を持たれる。

2. キタムラサキウニ初期発生過程におけるD-Alaの代謝および生理機能

キタムラサキウニ未受精卵に認められた多量の D-Ala が初期発生過程で急激な減少することが明らかになったが、その行方は不明である。ここでは、その行方の手がかりを得る目的で、海水への排泄の可能性と、卵および初期胚内での他の物質への代謝の可能性を調べた。¹¹⁾ 海水への排泄では未受精卵を種々の密度で飼育し、その間の海水中の D-Ala 濃度を HPLC で測定し

た。その結果、キタムラサキウニ卵の D-Ala の一部は初期発生過程に海中に放出されていることが確認された。初期胚内での代謝は、予め $[1-^{14}\text{C}]\text{-D-Ala}$ を取り込ませた未受精卵を受精させることで観察した。その結果、初期胚での D-Ala の他の物質への代謝は非常に不活発であったが、一部は他のエキス成分に転換されたり、高分子成分に取り込まれていることが認められた。海水への排泄を観察している際、高密度で受精卵を飼育すると、海水中に高濃度の D-Ala が検出されるものの、胚にも依然として高い濃度の D-Ala が残留していることが認められた。なお、この飼育環境では初期発生が滞る個体が多々見られた。¹¹⁾

正常な初期発生においては、キタムラサキウニの未受精卵に多量に含まれる D-Ala が発生の初期段階で急激に減少する現象と、逆に高密度で受精卵を飼育すると、胚に高い濃度の D-Ala が残留し、初期発生が滞る個体が頻出する現象から、外部環境の D-Ala が初期発生に何らかの係わりを持つものと推察された。そこで、種々の濃度の D-Ala を飼育海水に添加してキタムラサキウニ受精卵を飼育し、その影響を観察した。¹¹⁾ その結果、ある程度以上の D-Ala 濃度になると、高密度飼育と同じように、初期発生が遅延する個体や停止する個体が多くなった。このことは個体の遺伝情報発現に何らかの変調がもたらされている可能性があると考え、胚中の mRNA 量を定量したところ、形態上の変化が現れる以前の段階から胚中の mRNA 量が正常発生胚に比較して減少していることが確認された。¹¹⁾ このことは、キタムラサキウニ胚での過剰な D-Ala の残存は遺伝情報の発現を抑制し、正常な発生が妨げられることを示唆し、キタムラサキウニの正常な初期発生には、受精卵に高濃度に含まれる D-Ala を、何らかの方法で速やかに減少させることが必要であると考えられる。今後の研究が待たれる。

動物の初期発生過程ははじめにも記したように、一つの細胞が組織分化から器官形成など、形態も機能も劇的な変化を遂げる時期であり、このような段階に大きな変動を遂げる D-アミノ酸類については、その代謝経路や生理機能などに大きな興味を持たれ、今後の詳細な研究が待たれる。

文 献

- 1) Barnes H, Blackstock J. Studies in the biochemistry of cirripede eggs IV. The free amino-acid pool in the eggs of *Balanus balanoides* and *B. balanus* during development. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 1975; **19**: 59-79.
- 2) Zeitoun IH, Ullrey DE, Bergen WG, Magee WT. DNA, RNA, Protein, and free amino acids during ontogenesis of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.* 1977; **34**: 83-87.
- 3) Welborn JR, Manahan DT. Taurine metabolism in larvae of marine molluscs. *J. Exp. Biol.* 1995; **198**: 1791-1799.
- 4) Li Q, Osada M, Suzuki T, Sato M, Mori K. Degradation of vitellin during embryonic and larval development in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Invert. Reprod. Develop.* 1998; **33**: 1-9.
- 5) Matsushima O, Katayama H, Yamada K, Kado Y. Occurrence of free D-alanine and alanine racemase activity in bivalve mollusks with special reference to intracellular osmoregulation. *Mar. Biol. Lett.* 1984; **5**: 217-225.
- 6) 阿部宏喜, 佐藤 実, 渡辺勝子. 水産生物における D 型アミノ酸の分析法, 分布および生理機能. 日水誌 1995; **61**: 771-781.
- 7) 阿部宏喜. 水生無脊椎動物における遊離 D-アミノ酸の分布, 代謝および生理機能. 日水誌 2002; **68**: 516-525.
- 8) D'Aniello A, Nardi G, Cipollaro M, Pischetola M, Padula L. Occurrence of D-alanine in the eggs and the developing embryo of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1990; **97B**: 291-294.
- 9) 武神洋文, 佐藤 実, 竹内昌昭, 横山雄彦, 菅野信弘, 長久英三. キタムラサキウニ初期発生過程における D-Ala の変化. 平成10年度日本水産学会春季大会講演要旨 1998; No. 1305.
- 10) 松野 薫, 中野俊樹, 山口敏康, 佐藤 実, 横山雄彦, 菅野信弘, 長久英三, 佐々木良. ウニ初期発生過程の D-アラニンについて. 平成 13 年度日本水産学会春季大会講演要旨 2001; No. 905.
- 11) 松野 薫, 中野俊樹, 山口敏康, 佐藤 実, 横山雄彦, 菅野信弘, 長久英三. キタムラサキウニ初期発生過程における D-アラニンについて. 平成 14 年度日本水産学会大会講演要旨 2002; No. 1137.
- 12) 地曳 健, 中野俊樹, 山口敏康, 佐藤 実, 横山雄彦, 菅野信弘, 長久英三. アカガイキ初期発生過程における NMDA の変動. 平成 14 年度日本水産学会大会講演要旨 2002; No. 1140.
- 13) Sato M, Inoue F, Kanno N, Sato Y. The occurrence of N-methyl-D-aspartic acid in muscle extracts of the blood shell, *Scapharca broughtonii*. *Biochem. J.* 1987; **241**: 309-311.