

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 小沼 貴裕

昆虫の摂食行動には周期性が存在し、また、昆虫は体内の栄養要求を満たすために、餌を自身で選択して摂食する。しかし、それら昆虫の摂食行動に関与する調節機構は分子レベルでは明らかにされていない。本論文は、AKH (adipokinetic hormone; 脂質動員ホルモン) が制御する体内の栄養分の濃度が、摂食行動および栄養要求性をどのように調節しているかを、フタホシコオロギを用いて解析したもので、八章より構成される。

序論に続き、第一章では、フタホシコオロギの AKH 受容体 (AKHR) 遺伝子のノックダウンの摂食行動に対する影響について述べており、AKHR-dsRNA の経口投与により調製したノックダウン個体では、摂食周期が短縮することが示された。

第二章では、AKHR ノックダウン個体における、体内の栄養状態の解析、および栄養状態と摂食周期との関連性について述べている。AKHR ノックダウン個体の脂質および糖質レベルを定量したところ、体液中の 1, 2-DAG (1, 2-ジアシルグリセロール) およびトレハロースレベルの減少が認められた。また、体液中へリポホリンを投与すると、AKHR ノックダウン個体で見られる摂食周期の短縮がレスキューされ、AKHR のノックダウンによる体液中の 1, 2-DAG レベルの減少が、摂食周期の短縮に寄与していることが示唆された。

第三章では、摂食モチベーションと体液中の栄養状態との関連性について述べている。フタホシコオロギでは、体液中の 1, 2-DAG レベルは一定に制御されており、摂食終了後に一過的に増加するが、緩やかに標準値以下まで減少することが示された。そこで、体液中の 1, 2-DAG レベルを一過的に増加させたところ、その増加量に依存して、摂食開始までにかかる時間の延長が見られた。以上より、AKHR ノックダウン個体では、体液中の 1, 2-DAG レベルの標準値が減少しているため、コントロール個体よりも、相対的に、摂食モチベーションの上昇を促すような閾値までに減少する頻度が増加するため、頻繁な摂食行動が見られる可能性が示唆された。

第四章では、AKHR ノックダウン個体において、脂肪体での *LpR* (*lipophorin receptor*; リポホリン受容体) の mRNA の発現抑制、および、体液中の遊離 ApoLp-III (*apolipophorin-III*; アポリポホリン-III) レベルの減少が見られたが、それらは AKHR のノックダウン個体で見られる摂食周期の短縮に、直接的には関与しないことを述べている。

第五章では、AKHR ノックダウン個体における、体内の脂質と摂食行動との関連性について述べている。AKHR ノックダウン個体の脂肪体を用いて、摂食行動の周期性の変化に関与する新規因子を探索したところ、脂肪酸代謝を制御するタンパク質である ACBP (*acyl-CoA binding*

protein) が見出されたため、体内の脂肪酸組成を解析した。その結果、AKHR のノックダウン個体では、体液中の脂質における、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸とのバランスが変動しており、AKHR ノックダウン個体における摂食行動の周期性の変化には、体液中脂質の脂肪酸組成の変動も関与する可能性が示唆された。

第六章では、AKHR ノックダウン個体における、餌中の栄養分の嗜好性の変化、およびその嗜好性に関与する器官に関して述べている。AKHR ノックダウン個体では、小腮を介してリノール酸の嗜好性が増強されていることを見出した。また、逆行性染色法により小腮におけるリノール酸の嗜好性の調節には、食道下神経節が関与していることが示唆された。

第七章 では、餌中のリノール酸に対する嗜好性に関与する分子について述べている。小腮の RNA-seq 解析を行い、リノール酸と結合し、嗅覚シグナルを伝える分子の候補として、14 の嗅覚結合タンパク質 (OBP; odorant binding protein)、および 13 の化学受容タンパク質 (CSP; chemosensory protein) をコードすると考えられる cDNA 情報を取得した。AKHR と、各 OBP/CSP とのダブルノックダウン個体について、リノール酸に対する嗜好性を指標としてスクリーニングした結果、4 つの OBP および 3 つの CSP が、リノール酸と結合する分子の候補であることが示唆された。

第八章では、脂肪酸不飽和化酵素 desaturase のノックダウン個体の致死の原因を探った結果について述べている。 $\Delta 9$ -desaturase および $\Delta 12$ -desaturase をコードする遺伝子をダブルノックダウンした個体では、体内の飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸とのバランスが大きく崩れ、かつ、投与後 1-2 日には致死となることが見出された。致死の原因を解明するために、脂肪酸および脂肪酸から生合成される生理活性物質の投与によるレスキュー実験の結果、プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ が、生存に関与している可能性が示唆された。

以上、本研究は、フタホシコオロギにおいて、体内の脂質代謝機構のバランスが、摂食行動、栄養要求性を調節していることを見出し、昆虫の摂食行動の分子メカニズムの一端を明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。