

論文審査の結果の要旨および担当者

| | | | |
|------|---|---|---|
| 報告番号 | ※ | 第 | 号 |
|------|---|---|---|

氏 名 成瀬 祥矢

論 文 題 目

害虫防除への応用を目指した昆虫胚発生
における幼若ホルモンの機能解析

論文審査担当者

| | | | |
|-----|----------|-----|-------|
| 主 査 | 名古屋大学講師 | 水 口 | 智 江 可 |
| 委 員 | 名古屋大学教授 | 池 田 | 素 子 |
| 委 員 | 名古屋大学教授 | 山 本 | 直 之 |
| 委 員 | 名古屋大学准教授 | 三 浦 | 健 |

論文審査の結果の要旨

幼若ホルモン (juvenile hormone, JH) は、昆虫の後胚発生において様々な生理的機能を有するホルモンである。昆虫の発育において重要なイベントである脱皮や変態は、JH と脱皮ホルモンによって制御されている。脱皮ホルモンが脱皮を誘導する作用を有するのに対し、JH はその脱皮の性質を決める役割を担っている。JH は基本的に現状維持作用をもたらすため、血中 JH 濃度が高い若齢幼虫期では脱皮ホルモンにより現状維持 (幼虫→幼虫) の脱皮が引き起こされる。一方で幼虫期の終盤に血中 JH 濃度が低くなると、脱皮ホルモンにより変態脱皮 (幼虫→蛹→成虫) が誘導される。また JH が休眠や雌成虫の卵巣発育および卵形成にも関与しているとの報告も存在する。このように後胚発生における JH の役割およびシグナル伝達に関しては多くの知見が得られてきた一方で、胚発生期における JH の役割に関しては多くのことが謎に包まれたままであった。本研究では、貯穀害虫の一種コクヌストモドキ (コウチュウ目) とマメ科作物の害虫ホソヘリカメムシ (カメムシ目) を対象とし、胚発生期に JH シグナリングを抑制した場合の影響を調査することによって、胚発生における JH の機能に関して知見を得ることを目的とした。

また、これとは異なるアプローチでも胚発生における JH の役割の解明に迫った。JH 様活性物質 (JH mimic, JHM) は昆虫成長制御剤に分類される殺虫剤で、昆虫体内の JH 濃度変動を攪乱することにより、幼虫から蛹や成虫への変態阻害、雌成虫の不妊化、および殺卵効果を示すという報告がある。本研究ではホソヘリカメムシの卵に対する JHM の投与を行い、人為的に JH 濃度を高めた場合の胚発生への影響を評価することにより、殺卵効果発現の分子メカニズムに関する知見を得ることを目的とした。

本論文の第二章では、コクヌストモドキを用いて、JH 受容体遺伝子 *Methoprene-tolerant (Met)* のノックダウンを実施し、JH シグナリングを抑制した場合の胚発生への影響を調査した。ここでは、胚での遺伝子ノックダウンを行うために、雌成虫の体内に二本鎖 RNA (dsRNA) を微量注入し、卵にその影響を引き継がせる parental RNA interference (parental RNAi) 法を利用した。その結果、1) *Met* がコクヌストモドキの胚発生に必須であること、2) *Met* がコクヌストモドキ胚発生中期の形態形成に関与すること、が示された。また JH 生合成酵素遺伝子を同様にノックダウンすることによって JH 生合成を抑制することも試みたが、高効率での遺伝子ノックダウンを実施できず、JH 生合成の抑制を達成することはできなかった。

第三章では、コクヌストモドキで認められた *Met* の機能が他の昆虫においても保存されているか検討するため、コクヌストモドキとは分類上大きく異なるホソヘリカメムシを用いて同様の機能解析を行った。Parental RNAi 法により *Met* のノックダウンを行ったところ、ホソヘリカメムシにおいても孵化率が低下したことから、*Met* が胚発生に必須である可能性が示された。ここで、*Met* dsRNA 注入により雌成

虫の卵黄タンパク質生合成や卵殻形成に異常が生じ、それが孵化率低下の一因になっているという可能性を排除するために、ホソヘリカメムシの卵に dsRNA を直接微量注入する embryonic RNAi 法も試みた。その結果、やはり *Met* ノックダウンにより孵化率の低下が見られたことから、ホソヘリカメムシにおいても *Met* が胚発生に必須であることが確かめられた。

第四章では、ホソヘリカメムシの卵に対する JH 様活性物質 (JHM) の殺卵効果発現に関して分子レベルでの知見を得ることを目的とした。まず、ホソヘリカメムシの通常の胚発育に伴う JH 濃度変動を推定するために、胚発生期における JH 生合成酵素遺伝子および JH 誘導性遺伝子の発現プロファイルを qRT-PCR により調査した。その結果、産卵後 Day 0-3 の胚では JH 濃度が低く、Day 4-7 では JH 濃度が高いと推定された。そこで JH 濃度の低い Day 0 卵に対し、天然型 JH 類および合成 JHM を滴下投与し、その後の胚発生に及ぼす影響を観察した。その結果、1) JH 類および JHM の投与によって胚発生中期～後期で発育が停止して殺卵効果が現れること、2) JHM の殺卵活性は天然型 JH 類と比べて著しく低いこと、が示された。

以上のように本論文では、コクヌストモドキとホソヘリカメムシの両昆虫種において JH 受容体遺伝子 *Met* が胚発生に必須であることを示した。これを他種昆虫での報告と照らし合わせると、チャバネゴキブリでの知見に近く、キイロショウジョウバエやカイコの例とは異なる。このように胚発生期における *Met* の重要性には昆虫種間で差があることが示された。この結果は、胚発生における JH の機能および重要性は昆虫種間で多様であることを示唆する。また本研究では、ホソヘリカメムシ卵に対する JHM 投与実験の結果から、本来 JH 濃度の低い時期に投与して JH 濃度変動を攪乱すると胚発生中期～後期で発育が停止することが明らかになり、殺卵活性発現の分子メカニズムに関する知見が得られた。

現在利用されている殺虫剤の大半は昆虫の神経系に作用するものであり、本研究で扱った JHM のような昆虫成長制御剤については殺虫剤として実用化に至った数が比較的少ない。しかしながら本研究の成果から、これまであまり注目されてこなかった昆虫の胚発生が、昆虫成長制御剤の新たなターゲットとして有望であることが示された。また胚発生における JH の機能が昆虫種間で多様であることから考えて、昆虫種間での選択毒性が高く、特定の害虫にのみ作用する殺虫剤の開発が期待できる。このように本研究は、応用昆虫学および植物保護学の分野において高度の学術的価値を有し、当該分野に関する学術研究に大きく貢献した。したがって学位審査委員会は、本論文が博士（農学）の学位を授与するに十分な価値を有するものと認め、博士論文として合格と判定した。