

論文審査の結果の要旨

報告番号	博（水・環）甲 第5号	氏名	沖田光玄
学位審査委員		主査	萩原篤志
		副査	阪倉良孝
		副査	高谷智裕
		副査	木下滋晴
論文審査の結果の要旨			
<p>沖田光玄氏は、2012年4月に長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科に進学し、現在に至っている。同氏は、水産・環境科学総合研究科に進学以降、環境海洋資源学を専攻して所定の単位を修得するとともに、トラフグのフグ毒摂取に関わる行動・分子生物学的研究に従事し、その成果を2014年12月に主論文「トラフグ稚魚のフグ毒の知覚・摂取と脳内作用に関する研究」として完成させ、参考論文として、学位論文の印刷公表論文2編（うち審査付き論文2編）を付して、博士（水産学）の学位の申請をした。長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科は、2014年12月17日の定例教授会において論文内容等を検討し、本論文を受理して差し支えないものと認め、上記の審査委員を選定した。委員は主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会を実施するとともに、最終試験を行い、論文審査および最終試験の結果を2015年2月18日の水産・環境科学総合研究科教授会に報告した。</p> <p>提出論文は、「フグがなぜ毒を持つのか？」という長年の疑問に対して、フグ類が食物連鎖を介してフグ毒を蓄積することに着目し、トラフグ稚魚をモデルとして、フグ毒を知覚して蓄積に至るまでの一連のプロセスを行動学と生理学の手法を用いて明らかにし、次にフグ毒蓄積による脳内遺伝子の発現変動を調べることで生理作用の解明を目的としたものである。</p> <p>まず、トラフグ稚魚に無手術、擬手術または嗅覚遮断手術を施してY字迷路水槽内でフグ毒に対する行動を比較した。無手術個体と擬手術個体はフグ毒に誘引されたが、嗅覚を遮断すると誘引反応が消失した。次に、天然稚魚と無毒人工種苗にフグ毒添加飼料を給餌して毒化させた個体を灌流固定し、抗フグ毒モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学によりフグ毒の組織内分布を調べた。続いて、天然稚魚と同サイズの無毒人工種苗にフグ毒添加飼料を給餌して毒化させ、フグ毒の組織内分布を天然稚魚のそれと比較した。その結果、天然稚魚と毒化人工種苗の肝組織、表皮基底細胞、脳（特に視蓋、小脳、延髄）、視神経および嗅上皮からフグ毒を検出した。以上より、トラフグ稚魚はフグ毒を嗅覚で感知して摂取し、取り込んだフグ毒が脳および感覚器に移行されることが分かった。トラフグ稚魚のフグ毒の知覚・摂取と脳内作用を明らかにするため、フグ毒を感知、摂取または蓄積させた無毒人工種苗について、それぞれの嗅上皮と脳での遺伝子発現を網羅的に調べた。嗅上皮では嗅覚受容体、脳では摂食を調節する神経ペプチドお</p>			

よび行動に関与する脳内モノアミンを目的遺伝子とした。まず、新鮮海水に浸漬した個体とフグ毒添加海水に浸漬して嗅覚を刺激した個体について、次世代シークエンサーを用いて嗅上皮と脳からそれぞれ全 mRNA をシーケンスした後、目的遺伝子の mRNA のコピー数を計数して比較し、フグ毒の感知により発現の変動する遺伝子を調べた。嗅上皮では、フグ毒の刺激により OR 嗅覚受容体 1 種が海水浸漬個体に比べて発現が 1/4 に低下した。脳では、フグ毒の刺激により摂食亢進性神経ペプチドの受容体 1 種の発現が海水浸漬個体に比べて 1.5 倍増加し、摂食抑制性神経ペプチド 2 種の発現が 1/5-1/2 に低下したことから、トラフグ稚魚はフグ毒を感知すると食欲が促進されると考えられた。次に、無毒人工種苗を 1 尾収容した水槽にフグ毒含有担体を投入してフグ毒に対する誘引試験を行い、1 時間の観察中にフグ毒を摂取し続けた個体と反応しなかった個体とに分けた。トラフグゲノムデータベース上の推定転写産物をもとに作製したマイクロアレイチップを用いて、嗅上皮と脳に存在する全 RNA の遺伝子発現解析を行い、フグ毒誘引個体に特徴的な発現を示す遺伝子を調べた。嗅上皮では、フグ毒誘引個体は非誘引個体に比べて嗅覚受容体 OR (2 種)、V1R (1 種) および V2R (2 種) の発現が高く (1.6-3.3 倍)、OR の一部 (3 種) の発現が低かった (1/2.7-2/3 倍)。これらの嗅覚受容体の発現パターンの違いが、フグ毒に対する誘引行動の発現に関与していると考えられる。フグ毒誘引個体の脳内では、摂食亢進に加え摂食抑制に関わる神経ペプチドの発現も高かった。これらのことから、トラフグ稚魚は摂食抑制系が機能し始めてもフグ毒を取り込み続けると推測された。最後に、生理食塩水またはフグ毒を投与した個体について、次世代シークエンサーを用いて嗅上皮と脳からそれぞれ全 mRNA をシーケンスした後、目的遺伝子の mRNA のコピー数を計数して比較し、フグ毒の蓄積により発現の変動する遺伝子を調べた。フグ毒の投与により嗅上皮では嗅覚受容体の OR (6 種) と V2R (1 種) が発現変動し、嗅覚系が再編成されることが示された。脳では、フグ毒の投与により脳内モノアミンの放出に関わるシナプス小胞モノアミントランスポーターの発現が 1.5-2.0 倍増加し、ドーパミンの放出を促進するカンナビノイド受容体の発現が 1.5 倍増加したことから、報酬系に関与するドーパミンが分泌された可能性が高いと判断された。

以上のように本論文は、フグがフグ毒を感知すると食欲が促進されフグ毒の摂取を開始し、摂食抑制系が機能してもフグ毒を要求し続け、脳内に直接作用して報酬系が活発化することを明らかにし、フグが進化の過程でフグ毒を報酬として認識することで積極的に体内に取り込むようになったという新しい学説を立てるに至った。これらの成果は、水産重要種であるフグ類の生態に関して生態学および基礎科学の分野に対する多大の寄与をするものと評価できる。

学位審査委員会は、基礎生物学および水産学の分野において極めて有益な成果を得るで、これらの進歩発展に貢献するところが大きく、博士 (水産学) の学位に値するものとして合格と判定した。