

令和元年6月20日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15066

研究課題名(和文) 脂質成分が誘導する昆虫の共食い行動における脳神経系での内分泌構造及び脂質代謝解析

研究課題名(英文) Effects of lipidic compounds on insect cannibalism through lipid metabolisms and neuroendocrine

研究代表者

永田 晋治 (Nagata, Shinji)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：40345179

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の実験対象であるフタホシコオロギの共食いでは、触角を介し被捕食者の体表の脂溶性成分を認識することが分かった。実際に、体表をヘキサンで拭くと被捕食者になる。体表の脂溶性成分のGCMS分析では、主に13種の炭化水素を同定した。化学構造から推察される生合成酵素群をRNA-sequencingにより探索し、その遺伝子群をRNAiにてノックダウンすると、同種異種の認識に変化が認められる。フタホシコオロギの「共食い」行動では、フタホシコオロギで固有の体表脂質成分の変化が捕食者と被捕食者の関係性に導かれることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

フタホシコオロギをはじめとする直翅目昆虫のほとんどは、共食いする昆虫種である。特に、フタホシコオロギは攻撃性の強く、古くから攻撃行動のモデル昆虫種として研究対象となっていた。本研究の成果により、コオロギの共食い行動や攻撃性行動の生理学的な原因、および生化学的な原因因子が明らかになりつつある。昆虫で良く認められる種間、あるいは種内のセミオケミカルの研究だけでなく、社会性生物で見られる特徴的な脳神経系の解明につながると考えられる。また、全生物種の生体間コミュニケーションを形成する分子メカニズム研究の一端を担うと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Our research revealed that the two-spotted cricket *Gryllus bimaculatus* recognizes lipidic compounds on the cuticle of the predator by the antenna in their cannibalisms. Crickets which the cuticular lipidic compounds were removed from body surface by hexane were critically cannibalized. GCMS analysis of cuticular lipids identified mainly 13 hydrocarbons. The putative biosynthetic enzymes of these lipids have been identified from the analyses of RNA-sequencing. In addition, transcriptional knockdown of those enzymes by RNAi resulted in increased frequency to be cannibalized. Data agreed with the experimental evidences which the changes in the structure and composition of cuticular lipid compounds imbalanced their relationship between predators and predators.

研究分野：応用昆虫科学

キーワード：昆虫 摂食行動 共食い

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

「共食い」は、哺乳類から昆虫類を含む無脊椎動物まで様々な生物種で見られる一般的な現象である。これまでの生理学的な研究から、「共食い」行動には、いくつかのパターンに分類される。主には、ポピュレーションの恒常性維持、食餌・ナワバリの確保のための栄養要求を補償するため、などがあり、いずれも住環境に適応するためのフィードフォワードなメカニズムと考えられている。昆虫の「共食い」は、多くの目や科で認められているが、これまでの研究では生理学や生態学から超越した研究はほとんどない。ところで、日本では平安時代から鈴虫など鳴く虫を観賞用に飼育する歴史がある。江戸時代には『鯉節や煮干で鈴虫の「共食い」が抑止できる』という栄養学的な知見がある。申請者は、これまで本能的行動、特に昆虫における摂食行動の内分泌制御機構の解明を目指して研究してきた。その延長の研究として、鈴虫と同じ直翅目昆虫のコオロギを用いて、「共食い」行動の生理学的、栄養学的な条件を検討してきた。その結果、餌中の脂溶性成分が、コオロギの「共食い」行動を抑えられることを予備的な実験で明らかにした。この栄養学的なフィードフォワードのメカニズムは明らかにされていないため、本申請研究でその分子メカニズムの解明を目指すこととしている。

2. 研究の目的

申請者はこれまで、フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* を用いて、摂食行動に関わる栄養学および内分泌学的な研究を行ってきた。その過程で、フタホシコオロギの「共食い」行動は栄養分依存的な本能的な行動であり、栄養状態でその行動の ON-OFF が認められることを見出した。そこで、本申請課題研究では、フタホシコオロギを用いて、脳神経系における「共食い」行動で認められる内分泌構造、および「共食い」行動を惹起するあるいは抑制するような内分泌構造を構築あるいは支配するような体内の脂質動態および脂質代謝に着目し、最終的に「共食い」行動の責任遺伝子を見出しその機能を解析することを目的とした。「共食い」という本能的な行動がどのような分子メカニズムで規定されているかを明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

本申請研究の目的は、コオロギにおける「共食い」行動の代謝および内分泌制御のメカニズムを分子レベル理解することである。これを達成するために、以下に挙げる3点に沿って研究をすすめた。

(1)フタホシコオロギの「共食い」行動における内分泌構造の解析；フタホシコオロギの脳神経系での RNA-sequencing 解析、および質量分析によるホルモン量を定量的に解析し、ホルモンネットワークの変化を検討した。

(2)「共食い」行動における脂質代謝解析；フタホシコオロギにおける「共食い」行動が認められる条件での脂肪組織および体液(血液)中の脂質成分の質量分析による網羅的な解析をした。特に、行動実験を指標にした系を用いたところ、各個体の体表の成分および触角が個体認識に重要であることが分かった。そのため、まずはフタホシコオロギをはじめとした個体別の体表の脂溶性成分を解析した。

(3)「共食い」行動の責任遺伝子の探索；フタホシコオロギにおける「共食い」行動を調節する候補責任遺伝子を、上記(1,2)の解析をもとに見出し、RNA 干渉法などによる転写レベルの抑制効果を用いて個体レベルでの候補遺伝子の機能を解析した。(2)の実験で脂質が重要であることが分かったため、脂肪体における脂質生合成に関わる遺伝子による「共食い」行動への寄与に関して解析した。

4. 研究成果

上述の「研究の方法」の(1)~(3)に従い、申請期間における研究成果を以下に記す。

(1)「共食い」における内分泌構造の解析；

フタホシコオロギにおける「共食い」行動における内分泌構造、特に脳神経系での内分泌の変化に関しては、被捕食者および捕食者の脳神経系との両者においては違いが特に認められなかった。一方で、観察実験をもとに、空腹状態あるいは偏食した状態にある個体は、集団で飼育している場合、被捕食者になる可能性が非常に高いことが分かった。そこで、改めてフタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* における「共食い」行動の評価を摂食状態や栄養状態に着目した検定系を用いて再検討した。

(2)「共食い」における脂質代謝解析；

フタホシコオロギの成虫オスの攻撃性を指標に、「共食い」行動における捕食者の体内の脂質代謝に関わる遺伝子などの転写量変動を解析したが、通常飼育の個体のものと比べ顕著な変化は認められなかった。そのため、「共食い」行動が生じる生理的な条件を再検討することとした。その結果、「共食い」は個体が空腹状態に一定期間維持されている場合や、細菌感染などにより免疫系が低下し、体力が衰弱している個体に対して、選択的に「共食い」の対象としており、

最終的に被捕食者となることが分かった。また、捕食、非捕食を検討する上で、本研究における「共食い」行動を対象とする実験と並行して、異種と同種の個体間認識機構に関わる成分を体表成分に着目して検討した。それによると、フタホシコオロギは、同種以外を攻撃対象都市、この個体を餌として認識し、捕食することが分かった。また、この捕食の際に、フタホシコオロギの食行動を観察したところ、個体の認識は触角切除により減弱したため、触角が対象個体の体表成分を認識して捕食していることが分かった。

一方、同種であるフタホシコオロギの個体の体表成分をヘキサンで拭くと同種認識が抑えられ、最終的に被捕食者となってしまふことから、ヘキサンに易溶の脂溶性因子が同種を提示する分子であることが分かった。この脂溶性因子を GCMS にて分析したところ、主に 13 種の炭化水素(マイナー成分を含めると 50 種以上の炭化水素)と考えられるイオンピークが認められた。また、その炭化水素の化学構造を同定した。

同様に、異種と認識される様々な昆虫種の体表の炭化水素の構造を GCMS により同定し、各種で特徴的な炭化水素の化学構造を見出した。

(3)「共食い」行動の責任遺伝子の探索；

(2)の成果から、フタホシコオロギの体表の脂質成分の化学構造から予想された生合成経路を担う各種酵素群を網羅的に探索した。すなわち、フタホシコオロギの体表および脂肪体から抽出した RNA を用いて、次世代シーケンサーでの RNA-sequencing 解析により、予想される脂質生合成遺伝子を先行研究などからの知見にもとづいて同定した。その同定した遺伝子群に対して、フタホシコオロギを用いて RNAi (RNA 干渉法)にて転写レベルでノックダウンし、その体表成分を分析したところ、通常飼育のものとの成分と比較すると、組成や量が変動したことが分かった。この体表成分の変化した個体を用いて、非捕食の検討を行ったところ、同種異種の認識に変化が認められた。つまり、体表脂質成分の生合成遺伝子のノックダウン個体は、体表成分が変化し、最終的に被捕食者となった。このことは、異種を被捕食者とする行動や、異種がフタホシコオロギとは異なる体表成分であることを考慮すると、整合性のとれた結果であった。以上から、フタホシコオロギの「共食い」行動では、フタホシコオロギの固有の体表脂質成分が体表で維持されていることが同種識別に重要であり、その成分が変化すると「共食い」行動が生じることが示唆される結果が得られた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Fukumura K, Konuma T, Tsukamoto Y, Nagata S. Adipokinetic hormone signaling determines dietary fatty acid preference through maintenance of hemolymph fatty acid composition in the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Scientific Reports* 2018 年 8 号 4737. Doi:10.1038/s41598-018-22987-2 査読有。

Zhou YJ, Fukumura K, Nagata S. Effects of adipokinetic hormone and its related peptide on maintaining hemolymph carbohydrate and lipid levels in the two-spotted cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2018 年 82 巻 2 号 274-284 頁. doi: 10.1080/09168451.2017.1422106 査読有。

Fukumura K, Nagata S. Behavioral tracing demonstrates dietary nutrient discrimination in two-spotted crickets *Gryllus bimaculatus*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2017 年 81 巻 10 号 1990-1993 頁. doi: 10.1080/09168451.2017.1343119. 査読有。

Nagata S. Feeding modulation in insects through factors in the hemolymph. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 2018 年 29 巻 1-6 頁. doi: 10.1080/09168451.2018.1536515. 2018 査読有。

〔学会発表〕(計 6 件)

吉國大稀、森山俊、永田晋治「フタホシコオロギの捕食行動における異種個体の認識」2017 年 日本農芸化学会(京都女子大学)。

永田晋治「昆虫の代謝系と内分泌系が制御する行動修飾」日本比較内分泌学会 2017 年(奈良女子大学)(招待講演)

久保健一、福村圭介、伊藤尚子、永田晋治「フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* における菌感染が摂食行動に与える影響」蚕糸昆虫学利用講演会 2018 年(名古屋大学)

永田晋治「昆虫類のステロール生合成の欠損とステロール要求性」日本農芸化学会 2018 年(名

城大学) (招待講演)

藤盛春奈、永田晋治「カイコ Bombyx mori における DHCR24 ホモログタンパク質の酵素活性測定」日本農芸化学会 2018 年(名城大学)

永田晋治、塚本悠介、福村圭介、Zhou Yi Jun、森山 俊、藤盛春奈、土本真帆、吉國大稀「フタホシコオロギにおけるペプチドホルモン類の同定と他の昆虫種との進化的な比較考察」2018 年 日本比較内分泌学会(北里大学相模原キャンパス)。

〔その他〕

ホームページ等

共食いに関して公表できる情報を HP にて公表予定である。

<https://sites.google.com/edu.k.u-tokyo.ac.jp/team-n/>

6 . 研究組織

該当なし。

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。