

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03658

研究課題名(和文) 栄養環境の変化に対する適応戦略と成長・代謝制御機構の解析

研究課題名(英文) Adaptive strategies and regulatory mechanisms for body growth and metabolism in response to changes in the nutritional environment

研究代表者

西村 隆史 (NISHIMURA, Takashi)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・上級研究員

研究者番号：90568099

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：我々ヒトの小児期を含め、多細胞生物の発育過程は、栄養状態といった外部環境の変化に応じて代謝適応することで、個体成長を実現している。生体の恒常性維持や組織成長には、循環する体液のグルコース濃度を適切に調節する必要がある。モデル生物キイロショウジョウバエを用いた遺伝学的解析により、多糖グリコーゲン代謝の組織特異的な飢餓応答と、グルコース恒常性における生理的意義を解明した。また、成長過程におけるグルコース恒常性の破綻は、器官サイズのばらつき(発育恒常性の低下)を引き起こすことを明らかにした。栄養環境の変化に対する生物の適応戦略とその生理的意義の一端が解明された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低栄養などの環境ストレスに対して柔軟に生存適応し、個体成長を実現する代謝システムを理解することは、多細胞生物が有する普遍的な分子基盤である恒常性の理解につながる。ヒトにおいて、器官サイズの対称性と認知症や生殖能力、知性といった生理機能との相関関係が指摘されている。また、ヒトとサルにおいて、妊娠糖尿病や高血糖といった病態生理は、子孫の発育安定性に影響することも報告されている。発育恒常性は、身体の健康状態に関わる可能性があるため、血糖恒常性と発育恒常性の理解は、様々な健康評価の遺伝学的な理解に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Multicellular organisms, including humans, regulate body growth through metabolic adaptations in response to changes in the external environment, such as nutritional status. Proper regulation of the glucose concentration in circulation is required to maintain homeostasis and tissue growth. Using a model organism, the fruitfly *Drosophila melanogaster*, we elucidated the tissue-specific starvation response of polysaccharide glycogen and its physiological significance in glucose homeostasis. We also found that disruption of glucose homeostasis during the growth phase causes organ size variability (reduced developmental homeostasis). Thus, our work provides new insights into the adaptive strategies against the fluctuation of the nutritional environment.

研究分野：発生生物学

キーワード：環境適応 組織成長 代謝恒常性 糖代謝 キイロショウジョウバエ

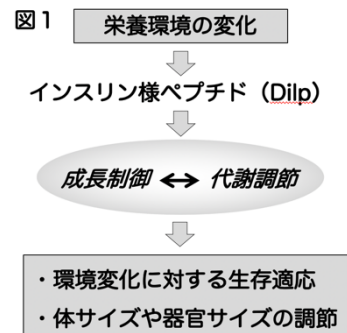
様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々ヒトの小児期を含め、多細胞生物の発育過程は、栄養状態といった外部環境の変化に応じて代謝恒常性を維持することで、柔軟に個体成長を調節している。この適応能力により、成長と栄養貯蔵をはじめとする代謝調節のバランスが取られ、適切な大きさと正常な機能形態を持つ組織・器官および個体へと発育していく。生体内外の環境が変動しても、一定した姿形を有する成体へと成長する能力は、発育恒常性と呼ばれている。発育恒常性は、発育ロバストネスと発育安定性の二つの要素で成り立っており、様々な遺伝子が発育恒常性に寄与している。

進化的に保存されたインスリン様ペプチドは、成長と代謝の両方を制御する重要な内分泌ホルモンである。哺乳類では、代謝を制御するインスリンと、組織成長を制御するインスリン様成長因子に機能的に分化している。一方、ショウジョウバエを含めた無脊椎動物では、原始的なインスリン様ペプチドとして、代謝と成長の両方を調節する生理機能を有している。このインスリン様ペプチドの生理作用は、栄養状態により厳密に制御されている。

インスリン様ペプチドの生理機能および血糖代謝に着目したこれまでの研究成果から、「遺伝的要因」と「環境要因」の相互作用の重要性が明らかになってきた。野生型で観察される環境変化に対する柔軟な適応能力は、受動的なものではなく、インスリンなどの内分泌シグナルにより代謝恒常性を積極的に適応した結果であると考えられる。低栄養などの環境ストレスに対して柔軟に生存適応し、堅牢は仕組みで個体成長を実現する代謝システムを理解することは、多細胞生物が有する普遍的な分子基盤である恒常性の理解につながり、ひいては、生物種特異的な体サイズや器官サイズ調節のメカニズム解明にもつながると考えた(図1)。



2. 研究の目的

本研究の目的は、モデル生物キイロショウジョウバエを用いて、栄養状態の変化に応じた成長と代謝調節の制御機構と相互関係を理解することである。栄養環境の変化に対して、循環する体液のグルコース濃度を適切に調節することは、生体の恒常性と組織成長を維持する上で重要な意義を持つ。ショウジョウバエには、グルコースの貯蔵物質として、体液中に存在する二糖トレハロースと組織中に貯蔵される多糖グリコーゲンがある。これら貯蔵糖の合成と分解が適切に調節されることで、グルコース恒常性が維持されていると考えられている。しかしながら、成長過程にあるショウジョウバエの幼虫において、哺乳類の肝臓に相当する脂肪体におけるグリコーゲンの存在とその役割は不明であった。また、グリコーゲンは、絶食期に相当する胚発生期や蛹期において重要であると考えられてきたが、遺伝学的な検証はされてこなかった。

そこで本研究では、インスリンシグナルの作用点の一つであるグリコーゲン代謝に着目した組織学的解析および逆遺伝学的解析を実施した。また、グルコース恒常性の破綻が、発育恒常性にどのように影響するかを検討した。

3. 研究の方法

本研究課題の実施に伴う主な研究方法を下記に記載する。

(1) モデル生物キイロショウジョウバエの飼育および摂食実験

通常餌として、乾燥酵母 (4.5%)、コーンフラワー (4%)、グルコース (10%) を寒天 (0.8%) で固めた餌を用いた。栄養環境を人為的に操作する目的で、これら各成分を増減させた様々な餌を作成し、一過的または慢性的な摂食実験を行った。一過的な飢餓実験には、水を寒天で固めた餌を用いた。

(2) 遺伝学的解析

逆遺伝学的手法により、グリコーゲン合成酵素・分解酵素の完全機能欠損変異体を作成した。変異体は、CRISPR/Cas9 法による遺伝子欠損の導入、および P 因子の転移に伴う遺伝子欠損により作成した。他に、自身の研究室で作成・維持した系統や、ショウジョウバエストックセンター (Bloomington *Drosophila* Stock Center, Kyoto Stock Center, National Institute of Genetics *Drosophila* Stock Center) などから入手した系統を使用した。

(3) 生化学および代謝生理学的解析

幼虫個体や各組織の抽出物における多糖グリコーゲン、血糖トレハロース、遊離グルコース、貯蔵脂肪、蛋白質量は、比色定量法により測定した。また、液体クロマトグラフ質量分析装置を用いた網羅的な代謝物分析の測定系を確立し、解析を行った。

(4) 組織学・免疫組織化学解析

組織中に貯蔵されているグリコーゲンはPAS染色で検出した。貯蔵脂肪の検出は、Oil Red O染色法により行った。組織観察および器官サイズの測定は正立型光学顕微鏡により行った。他に、抗体を用いた免疫組織化学解析を行い、共焦点顕微鏡で観察と画像取得を行った。取得した画像は、必要に応じてImageJなどの画像解析ソフトを用いて定量解析を行った。

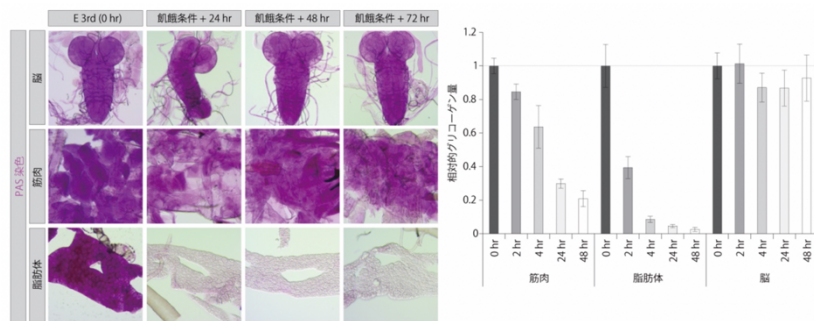
4. 研究成果

(1) 成長期における脂肪体グリコーゲンの生理的役割

幼虫期の各組織に貯蔵されたグリコーゲンを半定量的に観察する実験系を構築し、様々な栄養条件下および遺伝子変異の影響を検討した。その結果、栄養条件の変化に対して迅速に脂肪体グリコーゲンの合成や分解が起こり、体液中の糖分量の調節に関わることが明らかになった。一方、中枢脳に貯蔵されたグリコーゲンは、飢餓ストレスでは全く分解されなかった。筋肉中のグリコーゲンは、飢餓にตอบสนองし分解されるが、一定量は残ることが分かった。よって、グリコーゲン代謝の飢餓応答は、組織により異なることが判明した (図2)。

脂肪体グリコーゲンの代謝制御機構を解析した結果、グリコーゲン代謝はインスリン様ペプチドによる制御を受ける一方で、グルカゴン機能相同分子の制御は受けないことが明らかになった。グリコーゲン分解による血糖値維持には、内分泌ホルモンの作用ではなく、遊離グルコースを元にした酵素活性の調節が重要であると考えられた。また、幼虫期と成虫期では、代謝調節機構が異なる可能性が示唆された。本研究は、栄養状態の変化に応じた代謝恒常性の理解につながる重要な成果と考えられる (山田ら、Development, 2018)。

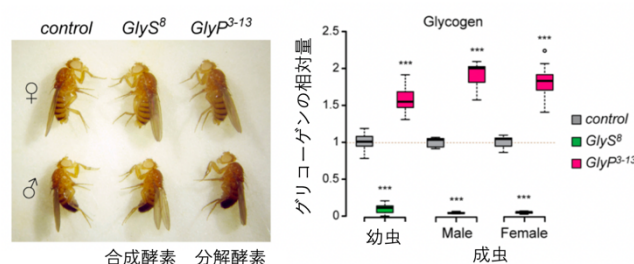
図2. 臓器別による飢餓条件下のグリコーゲン分解速度の違い
(左: PAS染色による評価、右: 生化学的手法を用いたグリコーゲンの定量結果)



(2) 逆遺伝学的手法によるグリコーゲン代謝の生理的重要性

逆遺伝学的手法により、グリコーゲン合成酵素 (GlyS) と分解酵素 (GlyP) の完全機能欠損変異体を作成した。これらの変異体を用いて、発育成長過程と老化過程におけるグリコーゲン代謝の生理的役割について解析を行った。これらの変異体は幼虫期で大部分が致死になるものの、予想に反して、一部の個体は成虫になり妊性があることが分かった (図3)。従来、成熟卵に貯蔵されている多糖グリコーゲンは、胚発生に必須の栄養源であると考えられてきた。しかしながら、完全機能欠損変異体を用いた本研究により、グリコーゲンは胚発生時の栄養源として使用されている訳ではなく、血糖トレハロース合成のためのグルコース源となっていることが明らかになった。また、代謝産物を網羅的に解析するメタボローム実験系を構築し、グリコーゲン変異体におけるアミノ酸や脂質代謝への影響を明らかにした (山田ら、Development, 2019)。

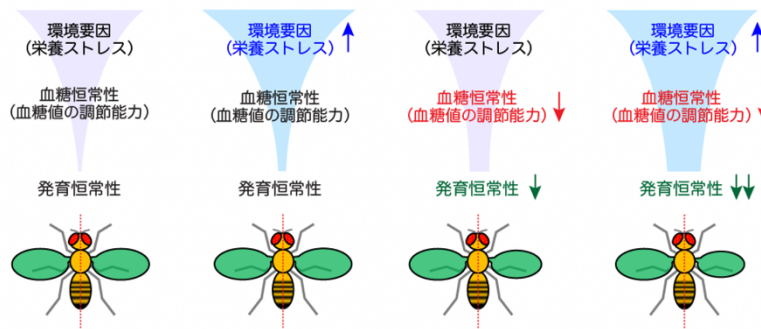
図3. グリコーゲン代謝を欠損するハエの一部は成虫まで生存する
(左: 野生型と欠損変異体の成虫、右: グリコーゲンの定量結果)



(3) 代謝恒常性と発育恒常性の因果関係

以前の研究で、血糖トレハロースの代謝酵素を欠損する変異体を独自に作成している。トレハロースを欠損する変異体を、一過的もしくは慢性的に様々な栄養ストレスを与えたところ、食後高血糖および空腹時低血糖などのグルコース恒常性の破綻を引き起こすことが明らかになった。さらに、この遺伝的変異を持つと、個体間および個体内の器官サイズ（成虫の翅サイズ）のばらつきを引き起こし、発育恒常性が低下することを見いだした。一方、上述するグリコーゲン代謝を欠損した変異体では、発育恒常性の低下は観察されなかった。重要な点として、様々な栄養ストレスを与えたところ、野生型のハエでは器官サイズのばらつきは大きく変化しなかったものの、遺伝的変異を持つと、発育恒常性のさらなる低下を示した（**図4**）。よって、栄養状態の変化に応じて血糖値を適切に調節する代謝システムは、器官サイズのばらつきを抑制し、発育恒常性に寄与することが明らかになった（松下ら、Commun Biol, 2020）。

図4. 血糖恒常性の低下は、発育恒常性の低下（器官サイズの左右差）を引き起こす



これら一連の研究を通して、栄養環境の変化に対する生物の適応戦略とその生理的意義の一端が解明された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Matsushita Ryota, Nishimura Takashi	4. 巻 3
2. 論文標題 Trehalose metabolism confers developmental robustness and stability in Drosophila by regulating glucose homeostasis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-020-0889-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Imura Eisuke, Shimada-Niwa Yuko, Nishimura Takashi, Huckesfeld Sebastian, Schlegel Philipp, Ohhara Yuya, Kondo Shu, Tanimoto Hiromu, Cardona Albert, Pankratz Michael J., Niwa Ryusuke	4. 巻 20
2. 論文標題 The Corazonin-PTTH Neuronal Axis Controls Systemic Body Growth by Regulating Basal Ecdysteroid Biosynthesis in Drosophila melanogaster	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 30420-30426
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cub.2020.03.050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Silver Jordan T., Wirtz-Peitz Frederik, Simoes Sergio, Pellikka Milena, Yan Dong, Binari Richard, Nishimura Takashi, Li Yan, Harris Tony J.C., Perrimon Norbert, Tepass Ulrich	4. 巻 218
2. 論文標題 Apical polarity proteins recruit the RhoGEF Cysts to promote junctional myosin assembly	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 3397 ~ 3414
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1083/jcb.201807106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Hironaka Ken-ichi, Fujimoto Koichi, Nishimura Takashi	4. 巻 20
2. 論文標題 Optimal Scaling of Critical Size for Metamorphosis in the Genus Drosophila	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 348 ~ 358
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2019.09.033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yamada T, Habara O, Yoshii Y, Matsushita R, Kubo H, Nojima Y, Nishimura T	4. 巻 146(8)
2. 論文標題 The role of glycogen in development and adult fitness in Drosophila.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 pii: dev176149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.176149	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamada T, Habara O, Kubo H, Nishimura T.	4. 巻 145(6)
2. 論文標題 Fat body glycogen serves as a metabolic safeguard for the maintenance of sugar levels in Drosophila.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.158865	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 西村隆史
2. 発表標題 SDR positively regulates insulin/IGF signaling for neuroblast re-activation in Drosophila
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉井悠華, 西村隆史
2. 発表標題 Crucial role of sugar metabolism in the female meiosis in Drosophila
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉井悠華, 西村隆史
2. 発表標題 Crucial role of sugar metabolism in the female meiosis in Drosophila
3. 学会等名 第52回日本発生生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田貴佑記, 羽原興子, 西村隆史
2. 発表標題 Glycogen is essential for hypoxia tolerance in Drosophila
3. 学会等名 第52回日本発生生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣中謙一, 山田 貴佑記, 羽原 興子, 森下喜弘, 西村隆史
2. 発表標題 生活史戦略としての代謝 ~ショウジョウバエ糖代謝における飢餓応答を例に~
3. 学会等名 2018年度 定量生物学の会年
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉井悠華, 西村隆史
2. 発表標題 Crucial role of sugar metabolism in the female meiosis in Drosophila
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂西綱太, 西村隆史
2. 発表標題 A missense mutation in insulin receptor causes a stage-specific intolerance to unbalanced diet
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西村隆史
2. 発表標題 A missense mutation in insulin receptor causes a stage-specific intolerance to unbalanced diet
3. 学会等名 日本ショウジョウバエ研究集会 JDRC13
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉井悠華, 西村隆史
2. 発表標題 Crucial role of sugar metabolism in the female meiosis in Drosophila
3. 学会等名 日本ショウジョウバエ研究集会 JDRC13
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田貴佑記, 羽原興子, 西村隆史
2. 発表標題 Glycogen is essential for hypoxia tolerance in Drosophila
3. 学会等名 日本ショウジョウバエ研究集会 JDRC13
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Yamada, Okiko Habara, and Takashi Nishimura
2. 発表標題 Significance of sugar metabolism for developmental transition in <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 The 3rd International Insect Hormone Workshop (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西村隆史
2. 発表標題 ショウジョウバエ蛹期の変態過程における代謝調節
3. 学会等名 第4回発生における代謝を考える会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松下亮太, 西村隆史
2. 発表標題 ショウジョウバエ成虫期におけるトレハロース代謝の重要性と発育安定性への寄与
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田貴佑記, 羽原興子, 西村隆史
2. 発表標題 キロショウジョウバエの低酸素耐性にグリコーゲン代謝は必須である
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田貴佑記, 羽原興子, 西村隆史
2. 発表標題 ショウジョウバエ蛹期の変態過程における糖代謝の調節機構
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西村隆史
2. 発表標題 高血糖によるステロイドホルモン産生障害と成長遅延
3. 学会等名 第35回内分泌代謝学サマーセミナー（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西村隆史
2. 発表標題 成長制御ホルモンの発現制御機構
3. 学会等名 第39回小児成長研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>脂肪体のグリコーゲンは飢餓に対する最後の砦 http://www.cdb.riken.jp/news/2018/researches/0316_15071.html</p> <p>サイズ進化の法則を発見 - 性成熟のタイミングと体の大きさの密接な関係 - https://www.riken.jp/press/2019/20191125_1/index.html</p> <p>器官サイズの左右差を抑制する仕組み - 適切な血糖値の調節が器官サイズのばらつきを抑制する - https://www.riken.jp/press/2020/20200407_3/index.html</p> <p>生物の個体サイズを決定するステロイドホルモン生合成の制御メカニズムを発見 - 成長を調節する神経内分泌メカニズム - https://www.riken.jp/press/2020/20200508_1/index.html</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----