

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03367

研究課題名(和文) 神経の栄養プログラミング機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of nutritional programming in neurons

研究代表者

小幡 史明 (Obata, Fumiaki)

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・チームリーダー

研究者番号：40748539

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究から、チロシン欠乏を経験した成虫においてはドーパミン量の増加や記憶学習能の向上など、ドーパミン関連表現型には有意な変化が認められなかった。従って、チロシン欠乏を経験した成体に見られる不可逆的生理変化について、ドーパミンの関与は限定的であることが予想された。一方、幼虫体内においては非必須アミノ酸であるチロシンの欠乏がATF4を介して翻訳抑制、mTORC1シグナル抑制、摂食量増加といったタンパク質制限に対する適応応答を司ることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非必須アミノ酸はがんなどの増殖性の高い細胞種で特異的に要求性が高まることから、治療戦略としてその食餌制限の有効性が着目されている。一方で正常個体では体内で十分生合成できるとされ、成長・生殖・摂食・寿命といった生理応答に対する重要性は必須アミノ酸と比べて乏しいと考えられてきた。タンパク質欠乏を感知し、環境適応するための鍵が一つの非必須アミノ酸であるという本研究の発見は、栄養応答研究分野に重要な知見をもたらすものと期待する。

研究成果の概要(英文)：From this study, no significant changes in dopamine-related phenotypes, such as increased dopamine levels or enhanced memory learning ability, were observed in adults, which developed with tyrosine deficiency. Therefore, the involvement of dopamine in the irreversible physiological changes by tyrosine restriction was found to be limited. On the other hand, in the developing animals, restriction of the non-essential amino acid tyrosine induces ATF4-mediated adaptive responses to protein restriction, such as decreased protein synthesis, suppression of mTORC1 signalling and increased food intake.

研究分野：ショウジョウバエ遺伝学、分子生理学

キーワード：栄養応答 アミノ酸 チロシン ショウジョウバエ タンパク質制限 DOHaD

1. 研究開始当初の背景

生物は頑強である。様々な外的要因に対して柔軟に反応し、恒常性を保つことができる。その一方で、一定の可塑性を有していることもまた事実である。従来、発生過程においては、頑強性が強く、どのような状況においても精密な発生プログラムを寸分違わず発動すると考えられて来た。しかし、実際には発生過程における微妙な環境の差が、不可逆的な組織・細胞応答を惹起し、生涯に渡る健康・病気のリスクに影響する事が示唆されてきた。例えば、胎児期に栄養不良を経験した個体は、腎臓や膵臓の機能が不十分となり、加齢に伴う心疾患や糖尿病の発症リスクを増大させる(Barker and Thornburg *et al.*, *Clin Obstet Gynecol*, 2013)。このような「**栄養によるプログラミング**」仮説は、Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD)と呼ばれ、生活習慣病の発症に強く関わる事が疫学的に明らかにされている。また、動物実験によっても同様の現象が再現されるものの、その機構については解明が立ち遅れている。分子機構が極めて複雑なうえに、因果の間の長大な時間的隔離が、迅速な解析を困難にしているためである。

脳は個体の生理状態を制御する中枢組織であり、一定の可塑性を有している組織である。神経ネットワークは、生まれる直前から、生後にかけて一過的に複雑さを増し、若い時期の環境によって異なる状態に成熟する。多くの DOHaD 研究から、脳・神経系機能が、発生・発達期の栄養によって長期的に影響することが分かってきた(Bhutta *et al.*, *Pediatrics*, 2017)。しかしながらその機構についてはほとんど分かっていない。申請者のショウジョウバエを用いた研究から、チロシンあるいはグルタミン酸のみを通常餌の 10%から 20%に限定して発生期を過ごした成体では、生殖能・運動能・酸化ストレス耐性能など、**成体の頑強さをより増強させる事**が見えてきた。これらの生理的な表現型は、神経機能の変化を示唆している(Cassar *et al.*, *Hum Mol Genet*, 2015 ほか)。また、他の多くのアミノ酸ではこのような現象がみられない。

チロシン・グルタミン酸は神経伝達物質そのもの、またはその前駆物質である。グルタミン酸は、直接あるいは GABA に変換されて、神経伝達物質として機能する。チロシンは、ドーパを介してドーパミン、アドレナリン(無脊椎動物ではオクトパミン)などのカテコールアミンの合成原料となる。これらの予備的な実験事実から、チロシン・グルタミン酸などの**非必須アミノ酸の発生過程での一過的な制限による神経の栄養プログラミング**仮説を立てるに至った。すなわち、食事に含まれるこれらの栄養素が、長期的に(不可逆的に)神経発生・機能に影響し、それが成体の生理状態を変化させている可能性がある。しかしその仮説の検証は不十分であり、分子機構については全く不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「アミノ酸による神経の栄養プログラミング機構の解明」である。

3. 研究の方法

チロシン制限を経験した成体では、生殖能・増殖能・酸化ストレス耐性が向上する。従って、チロシン制限を経験した成体における生理変化を記述し、プログラミング機構を発動する機構を解析する。RNAseq などのオミクス解析により、成虫で見られる変化を記述する。また、ドーパミン神経の関わる成体の神経機能(記憶・学習・行動など)を解析する。表現型の見えた機能については、その責任神経について、幼虫から、蛹、成虫に至る一連の神経発生を記述し、チロシ

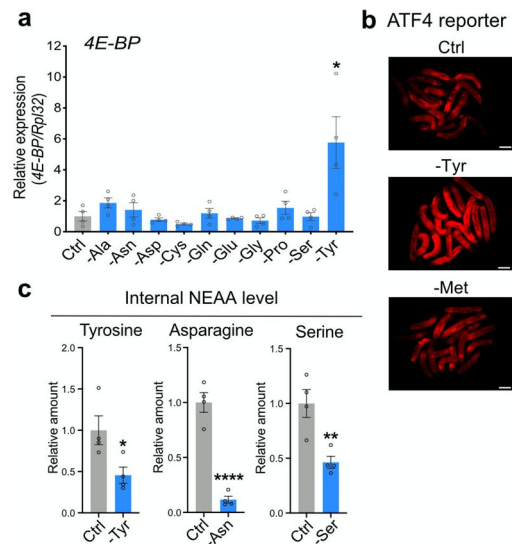
ン制限による神経発生への影響を詳細に記述する。それらがドーパミンなど神経伝達物質産生と関連づけられるかを、薬理的あるいは遺伝学的に検証する。

また、チロシン制限中の幼虫での生理変化を記述する。脳をはじめとする幼虫の組織は、蛹の時期にリモデリングされ、成虫の組織を形成する。蛹の時期は摂食をせず、幼虫の時に摂食した栄養を利用して、成虫の脳を再構築する。チロシンによる栄養プログラミングを理解するため、各種オミクスや遺伝学により幼虫期で起こる変化を詳細に記述し、それがどのくらい成虫で維持されるかを解析する。

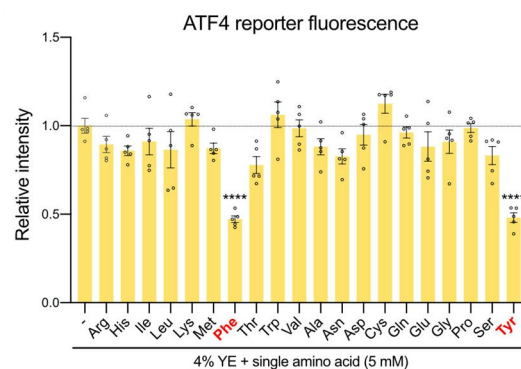
4. 研究成果

まずチロシン制限をかけている幼虫においてはドーパミン産生が低下していることが確認できた。しかしながら、成虫においてはドーパミン量の増加や記憶学習能の向上など、ドーパミン関連表現型には有意な変化が認められなかった。従って、成体において不可逆的に生理変化が起こることについて、ドーパミンの関与は限定的であることが予想された。そこで、ドーパミン産生に関わる酵素の遺伝学的・薬理的な操作による不可逆的な生理変化を解析したが、再現性をもった有意な変化は認められなかった。ドーパミン神経の数や形に関しても、幼虫及び成虫のいずれにおいても変化は確認されなかった。しかしながらチロシン制限を経験した成虫においてはドーパミン産生酵素の免疫染色でのシグナルの増強が認められた。従って、ドーパミン低下に対する適応としてドーパミン合成を不可逆的に促進する可能性が示唆された。

チロシン制限をかけている幼虫の体内で起こることをさらに記述するために、脂肪組織のRNAseq解析を行った。その結果、チロシン制限により脂肪組織での4E-BP発現誘導が認められた。4E-BPはATF4により制御されていた。さらに、チロシン制限の効果は必須アミノ酸のメチオニンよりも強いことがレポーターアッセイから見て取れた。チロシンは非必須アミノ酸にも関わらず、その制限時には体内量が減少する。このような現象はアスパラギンとセリンにも当てはまったが、4E-BP誘導はチロシン制限に特異的であった。



4E-BPはタンパク質合成(翻訳)を抑制する機能を持つ。低栄養下では、エネルギー消費の著しいタンパク質合成を抑制することが生存にとって重要である。チロシン制限によって誘導する4E-BPは、典型的な栄養飢餓応答であると考えられた。そこで食餌中タンパク質(yeast extract: YE)の制限により起こるタンパク質合成速度の低下がチロシンの欠乏によるものであるかどうかを解析した(Fig. 1a)。その結果、



低タンパク質食下に見られる ATF4 依存的な 4E-BP の誘導が、チロシンまたはその前駆体であるフェニルアラニンの摂食により抑制されることを見出した。

更なる解析の結果、ATF4 の下流では Scyl1 という遺伝子の誘導により mTORC1 の抑制が起こること、また CNMa というペプチドホルモンの誘導により代償的な摂食増強が起こることが見出された。これら ATF4 依存的なチロシン応答遺伝子群が成虫まで持続し成虫の生理状態を変える機構に関わるかどうかは不明である。

また、神経における一過的な変化が成虫の生理変化を起こすかどうかを検証した。発生期の神経全体に自然免疫経路の遺伝学的な活性化を引き起こすと、生体において飢餓耐性、中性脂肪蓄積、摂食量の低下などの種々の生理変化がある事が明らかにされた。発生期の脳において自然免疫活性化を経験した成虫では、頭部トランスクリプトームに変化が認められた。この変化の一部は発生期脳における発現低下が持続しているものであった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yamauchi T, Oi A, Kosakamoto H, Akuzawa-Tokita Y, Murakami T, Mori H, Miura M and *Obata F.	4. 巻 23
2. 論文標題 Gut Bacterial Species Distinctively Impact Host Purine Metabolites during Aging in Drosophila.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101477
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.101477	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 Yoshinari Yuto, Kosakamoto Hina, Kamiyama Takumi, Hoshino Ryo, Matsuoka Rena, Kondo Shu, Tanimoto Hiromu, Nakamura Akira, Obata Fumiaki, Niwa Ryusuke	4. 巻 12
2. 論文標題 The sugar-responsive enteroendocrine neuropeptide F regulates lipid metabolism through glucagon-like and insulin-like hormones in Drosophila melanogaster	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4818
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-25146-w	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 Yamashita Kyoko, Oi Ayano, Kosakamoto Hina, Yamauchi Toshitaka, Kadoguchi Hibiki, Kuraishi Takayuki, Miura Masayuki, Obata Fumiaki	4. 巻 14
2. 論文標題 Activation of innate immunity during development induces unresolved dysbiotic inflammatory gut and shortens lifespan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Disease Models & Mechanisms	6. 最初と最後の頁 dmm049103
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/dmm.049103	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7件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 小幡史明、小坂元陽奈、三浦正幸
2. 発表標題 ショウジョウバエ遺伝学を用いたアミノ酸生物学
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小坂元陽奈、三浦正幸、小幡史明
2. 発表標題 非必須アミノ酸がもたらす栄養応答と寿命制御
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Obata F, Yamauchi T, Miura M, Fons CO, Gould AP
2. 発表標題 Developmental programming by diet in Drosophila
3. 学会等名 DOHaD 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hina Kosakamoto, Masayuki Miura, Fumiaki Obata
2. 発表標題 The effects of dietary non-essential amino acids on Drosophila physiology
3. 学会等名 European Drosophila research conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hina Kosakamoto, Masayuki Miura, Fumiaki Obata
2. 発表標題 The physiological responses induced by depleting dietary non-essential amino acids
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 小幡史明
2. 発表標題 ショウジョウバエ遺伝学で明らかになる栄養応答基盤
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小幡史明
2. 発表標題 非必須アミノ酸が担う栄養適応応答の発見
3. 学会等名 第6回 生活習慣病とがんの代謝栄養メカニズム研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関