

機関番号：14501

研究種目：基盤研究B

研究期間：2008～2010

課題番号：20370029

研究課題名（和文）新規な食欲亢進異常突然変異体を利用した食欲調節ネットワークの解明

研究課題名（英文） Feeding regulation in a novel *Drosophila* mutant showing unusual appetite.

研究代表者

尾崎 まみこ (OZAKI MAMIKO)

神戸大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：00314302

研究成果の概要（和文）：食環境への適応と、摂食調節は、生物の生命維持に必要不可欠である。私達は、キイロショウジョウバエを用いたショ糖に対する吻伸展反射実験から、24時間絶食により対照区の *Mel6G59* 系統 (*Mel6*) に比べ100倍もの吻伸展反射感度の上昇を、さらに実際の摂食量測定からも顕著な食欲亢進を示す *TaiwanG23* 系統 (*TW1*) を見出した。味覚器の糖受容細胞の電気生理学的実験から、この *TW1* 系統においては、飢餓が進むにつれ糖受容細胞のショ糖感度が約10倍上昇することを証明した。

研究成果の概要（英文）： Increased and decreased appetites in flies would indicate low and high PER threshold to sucrose, respectively. A mutant *TW1* showed hundredfold hyper feeding sensitivity to sucrose under starved condition, partially because of about tenfold increase in sensory sensitivity; electrophysiological threshold of the sugar receptor cell of a tarsal sensillum decreased to 10 % as starvation progressed. In vertebrates, appetite increase caused by starvation has mainly explained by central neuronal alteration via blood sugar and/or hormonal regulation. In *Drosophila*, however, the present study potentially suggested that increase in peripheral gustatory sensitivity significantly contributes to the appetite increase under starved condition.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2009 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2010 年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：動物生理

科研費の分科・細目：動物生理・行動

キーワード：ショウジョウバエ、食欲、摂食異常、味覚、糖受容、電気生理、DNA マイクロアレイ

## 1. 研究開始当初の背景

私達はこれまでに、ショウジョウバエの自然突然変異系統、*TaiwanG23* (*TW1*) と

*Mel6G59* (*Mel6*) を DNA アレイを用いて比較し、その対飢餓戦略の違いを報告した。*Mel6* では飢餓が進むにつれていくつかの脂質代謝関

連の遺伝子の発現量が増加するのに対し、*TW1* では大幅な糖摂食感度の亢進がみられた。

## 2. 研究の目的

(1)本研究では、*TW1* の摂食感度の亢進が、脳における食欲調節だけでなく味覚器の糖受容神経の機能亢進を伴うことに特に注目して、糖受容タンパク質の発現、糖受容神経の電気生理学的応答、貧栄養状態での生存曲線などについて調べる。

## 3. 研究の方法

### (1) 供試虫

飢餓状態における糖摂食行動に差がある 2 系統のキロショウジョウバエを用いた。

*TaiwanG23* (*TW1*) : 絶食時間依存的に行動学的なショ糖摂食感度が異常に亢進する。

*Mel6G59* (*Mel6*) : 絶食時間に依存して行動学的なショ糖摂食感度が緩やかに亢進する。

*TW1* の比較対照として使用。飢餓条件におく場合は、羽化後 2 時間 1M ショ糖を自由摂食させたあと 24 時間水だけを与えた。

### (2) 糖受容体 *Gr64a* の発現量の計測

2 系統のハエを通常食と飢餓の 2 条件で飼育した後、それぞれの吻から Total RNA を TRIzol (Invitrogen) で抽出、cDNA を SMART RACE cDNA Amplification Kit (Clontech) で合成した。これを鋳型とし、*Gr64a* の遺伝子配列をもとにプライマーを設計、Taq DNA ポリメラーゼは KOD+、KODFX (Toyobo)、Advantage GC2 (Clontech)、Taq (Finnzyme) を使って、定量的 RT-PCR を行い、その産物をシーケンスにより同定した。

### (3) 糖受容細胞のショ糖に対する応答記録

刺激液はクエン酸トリコリンに様々な濃度のショ糖を個別に溶かして調整した。ショ

ウジョウバエは断首し、後頭部から白金不閉電極を挿入して顕微鏡下 200 倍で目視しながら、唇弁の L 型感覚子に刺激液を詰めた記録電極の先端を被せ、1 秒間に発生した糖受容神経細胞のインパルスを記録した。

### (4) 餌の糖濃度に依存的な生存曲線の調査

50~100 頭のショウジョウバエを通常培地で 24 間、1M ショ糖餌で 2 時間、その後、各濃度のショ糖餌を与えて飼育した。個体の生存数を 6 時間おきに記録し、10 日間観察した。実験は 3 回繰り返した。

## 3. 研究成果

### (1) 飢餓状態における食欲亢進

24 時間の絶食経験後、*TW1* と *Mel6* の両系統で食欲が増す様子を比較した。吻伸展反射のショ糖濃度依存性を、絶食経験前後で比較すると、*Mel6* では約 3 倍の摂食感度亢進、*TW1* では約 100 倍もの摂食感度亢進が示唆された (図 1 A)。

その際、*TW1* 1 mM ショ糖を水と区別して甘いと認識できるようになることが分かった (図 1 B)。

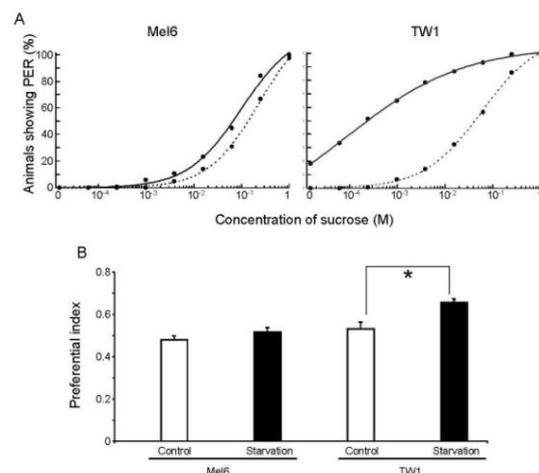


図 1

(2) 飢餓状態における糖受容体 *Gr64a* の発現量の増加

24 時間の絶食経験後、*TW1* と *Mel6* の両系統で *Gr64a* 糖受容体遺伝子の発現に増加がみられたが、*TW1* における増加は、*Mel6* の約 3 倍と顕著であった (図 2 A)。

(3) 飢餓状態における糖受容細胞の低濃度域のシヨ糖に対する応答の増加

飢餓状態の時には *TW1* の L 型感覚子の糖受容神経細胞において 10 mM 以下のシヨ糖感受性が有為に高まり、応答閾値が (0.1mM) が約 10 倍低下した。*Mel6* においてはこのような変化ははっきりとみられることはなかった (図 2 B)。その際、応答-シヨ糖濃度曲線を描いてみると、*TW1* の L 型感覚子の糖受容神経細胞においては、低濃度域のシヨ糖感度が亢進していることが分かった (図 2 C)。

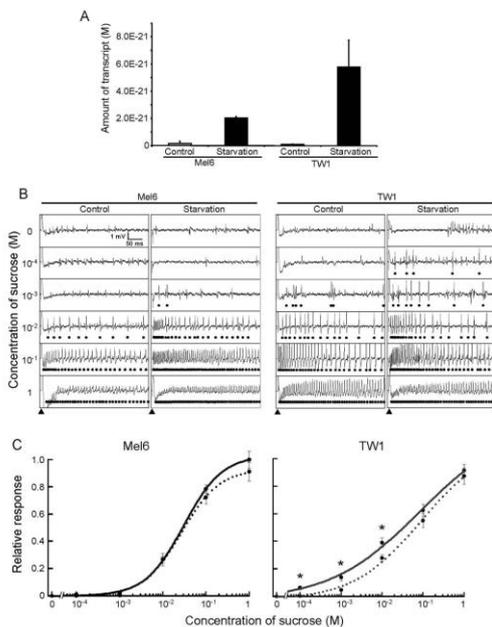
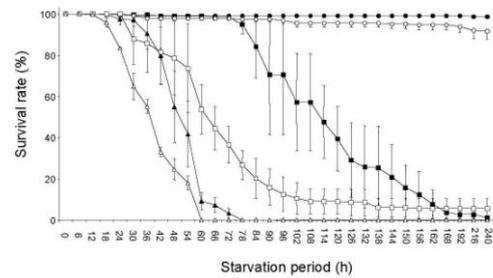


図 2

(4) 低濃度のシヨ糖給餌時の生存率の上昇  
低濃度 (10mM) シヨ糖飼育によると *TW1* の方が *Mel6* より生存率が高くなった (図 3)。



- *Mel6* 100mM シヨ糖飼育
- *TW1* 100mM シヨ糖飼育
- *Mel6* 10mM シヨ糖飼育
- *TW1* 10mM シヨ糖飼育
- △ *Mel6* 0mM シヨ糖飼育
- ▲ *TW1* 0mM シヨ糖飼育

図 3

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① 前田徹、平口鉄太郎、岩崎雅行、森岡律、尾崎まみこ、クロキンバエにおける摂食行動の促進に関わる副嗅覚器情報受容部位の解析、日本味と匂学会誌、査読有、17巻、2010、469-472
- ② Kazuyo Fujikawa, Aya Takahashi, Azusa Nishimura, Mamiko Ozaki, Masanobu Ito, Toshiyuki Takano, Characteristics of genes up-regulated and down-regulated after 24 h starvation in the head of *Drosophila*, *Gene*, 査読有、2009,11-17
- ③ 西村梓、石田裕幸、酒部真里奈岡本はるか、藤川和世、高橋文、伊藤雅信、高野敏行、尾崎まみこ、シヨウジョウバエ自然突然変異系統 *TW1* の対飢餓略、査読有、16巻、2009、315-316
- ④ 西村梓、石田裕幸、高橋文、高野敏行、伊藤雅信、藤川和世、尾崎まみこ、シヨウジョウバエの新規変異体を用いた食欲調節の研究、日本味と匂学会誌、査読有、15巻、2008、24-27

[学会発表] (計 8 件)

- ① Hiraguchi, T., Maeda, T., Ozaki, M, Chem osensory integration between taste and olfaction: Appetite regulation by lateralized olfactory systems in the blowfly, *Phormia regina*., International Congress of Neuro-

- ethology, 2010. 8. 4, Salamanca, Spain
- ② Azusa Nishimura, Yuko Ishida, Marina Sakabe, Haruka Okamoto, Kazuyo Fujikawa, Yujiro Umesaki, Aya Takahashi, Toshiyuki Takano, Kenji Tomioka and Mamiko Ozaki, Survival strategies for starvation in a mutant of *Drosophila melanogaster*, TW1, The 6th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception 2009.11.3, Fukuoka, Japan
- ③ 西村梓、石田裕幸、尾崎まみこ、ショウジョウバエ自然突然変異系統の多様な対飢餓戦略、日本動物学会、2009年9月19日、福岡
- ④ 西村梓、石田裕幸、酒部真里奈岡本はるか、藤川和世、高橋文、伊藤雅信、高野敏行、尾崎まみこ、ショウジョウバエ自然突然変異系統TW1の対飢餓戦略、日本味と匂学会2009年9月3日、旭川
- ⑤ Azusa Nishimura, Yuko Ishida, Aya Takahashi, Toshiyuki Takano, Masanobu Itoh, Kazuyo Fjikawa and Mamiko Ozaki, Regulation of appetite and food intake by starvation in a novel *Drosophila melanogaster* mutant, The 6<sup>th</sup> International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, 2008. 12. 7, Fukuoka, Japan
- ⑥ 尾崎まみこ、西村梓、石田裕幸、前田徹、ハエの食欲や食嗜好にかかわる神経・液性調節、日本比較内分泌学会、2008年12月5日、広島
- ⑦ 西村梓、石田裕幸、高橋文、高野敏行、伊藤雅信、藤川和世、尾崎まみこ、ショウジョウバエの新規変異体を用いた食欲調節の研究、日本味と匂学会、2008年9月18日、富山
- ⑧ 藤川和世、高橋文、高野敏行、岡本はるか、伊藤雅信、西村梓、尾崎まみこ、絶食により甘味感受性の上昇するショウジョウバエ変異体の表現型解析、日本遺伝学会、日本遺伝学会、2008年9月3日、名古屋

[図書] (計2件)

- ① Mamiko Ozaki and Midori Kidokoro-Kobayashi, Tetsutaro Hiraguchi, Springer, Part II. Chemical communication, IV. Olfaction, *In Frontiers in Sensin Biology and Engineering*, 2010, 300
- ② Mamiko Ozaki and Tadashi Nakamura, Taylor and Francis Group, Milton Park Abington, UK, Chemosensory regulation of feeding in the blowfly: Several studies after The Hungry Fly. *In insect Taste*, 2008,

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

尾崎 まみこ (OZAKI MAMIKO)  
神戸大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号：00314302

### (2) 研究分担者

高野 敏行 (TAKANO TOSHIYUKI)  
国立遺伝学研究所・集団遺伝研究系・准教授  
研究者番号：90202150

### (3) 連携研究者

伊藤 雅信 (ITOH MASANOBU)  
京都工芸繊維大学・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号：60221082