

令和元年6月17日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04792

研究課題名(和文) 栄養状態に応じて個体発生と行動を制御する神経基盤の研究

研究課題名(英文) Neuroendocrine basis regulating animal development and behavior in response to nutrient conditions

研究代表者

丹羽 隆介 (Niwa, Ryusuke)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：60507945

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)：ショウジョウバエを用いた研究によって主に3つの成果を得た。1) 栄養依存的なステロイドホルモン合成に關与する口胃セロトニン産生神経(SEO神経)の機能調節を担う遺伝子候補を複数道程した。2) 神経ペプチドであるコラゾニンを生産する神経が、栄養を十分に得ていない段階の個体に対して蛹化の負の調節を担うことを見出した。3) メス成虫の生殖幹細胞の増殖制御において、腸から分泌される Neuropeptide F と呼ばれる神経ペプチドが必須であることを解明した。さらに、Neuropeptide F は栄養状態に応じて分泌が制御されること、そしてこれが栄養依存的な生殖幹細胞増殖に關与することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

発生や幹細胞に対して栄養が与える影響は、進化的に極めてよく保存されている現象であるが、そのメカニズムの詳細はあらゆる動物でまだ全容解明には遠い。そのような中で本研究は、ショウジョウバエを用いた研究から、この未知の課題に対する分子レベル・細胞レベル・神経回路レベルの新たな知見を見出した。これは、より高等な動物の発生における栄養依存的な現象の理解に向けた重要な基礎的知見となることに、学術的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Three main results have been obtained through studies using *Drosophila*. 1) I identified several candidate genes essential for nutrient-dependent ecdysteroid biosynthesis via controlling the gastric-serotonergic nerve system (SEO neurons). 2) I found that the nerve producing the neuropeptide Colazonin is responsible for the negative regulation of pupariation when the flies are in condition of insufficient nutrition. 3) I found that the neuropeptide called Neuropeptide F secreted from the intestine is essential for proliferation control of adult female germline stem cells. Furthermore, Neuropeptide F was found to be regulated in response to nutrient status, and to be involved in nutrition-dependent germ stem cell proliferation.

研究分野：発生遺伝学、昆虫生理学

キーワード：発生・分化 神経科学 昆虫 ショウジョウバエ 神経ペプチド セロトニン ステロイドホルモン  
生殖幹細胞

## 1. 研究開始当初の背景

1980年代に、動物の発生プログラムが生得的な遺伝子情報に基づくことが明らかにされて以来、世界中のラボの均一な飼育環境下で様々な生物の発生プログラムを解き明かす研究が行われてきた。しかしその一方で、動物の発生プログラムは元来画一的なものではなく、気候変動や栄養環境の変化にตอบสนองして、柔軟に変化できるポテンシャルを秘めている。例えば、生物個体が「こども(幼若体)」から「おとな(成熟体)」に移行する際には、幼若期で摂取される栄養量が成熟を促す条件の1つとして挙げられる。貧栄養条件下で個体が成育した場合には、幼若期が延長されるようにプログラムが修正されることで成体に必要な栄養が確保され、成熟体の繁殖成功がある程度保障される。このような、栄養にตอบสนองする発生プログラムの柔軟性は、生命の存続や次世代への継承の本質を理解する上で重要であると考えられるが、その分子実態については未だ不明な点が多く残されている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、栄養摂取に伴う生体の発生に与える影響の遺伝的メカニズムを、モデル動物であるキイロショウジョウバエを用いて明らかにすることにある。

具体的には、まず第1に、「こども(幼若期)」から「おとな(成熟期)」へ成長する過程において、栄養依存的な摂食行動とステロイドホルモンの生合成を協調的に調節する機構を解明することを目指した。私は、ショウジョウバエの咽頭筋、前胃、そしてステロイドホルモン生合成器官に投射する口胃セロトニン産生神経経路の機能を解析することにより、外環境を感知する脳神経系機能と代謝・内分泌環境が密に連携して発生プログラムを駆動するシステムの解明を目指した。

第2に、メス生殖幹細胞の増殖メカニズムの解析を通じて、生殖幹細胞にどのような栄養依存的な制御が及ぶのかの解明を目指した。私は先年、ショウジョウバエのメス生殖幹細胞が交尾依存的に増殖することを報告していた。また別のグループの先行研究からは、メス生殖幹細胞数の維持は、個体の摂取する栄養と密接に関連することが報告されていた。私は、交尾刺激と栄養の関連性に注目して、幹細胞増殖と栄養の関連性の新たなメカニズムの解明を目指した。

本研究により、栄養依存的な発生と行動を司る神経支配を包括的に理解する研究分野“Nutri-Neuro-Developmental Biology”の創生を目指す。

## 3. 研究の方法

ショウジョウバエの遺伝学的技術を活用し、注目する遺伝子の完全機能欠損個体、二重鎖RNA干渉(RNAi)法による特定の細胞での遺伝子ノックダウン、あるいは特定の細胞での遺伝子の過剰発現による表現型解析を、主たる研究手法とした。併用して、必要に応じて、*in vitro*培養系や遺伝子発現解析、抗体を用いた免疫組織化学法、およびステロイドホルモンやペプチドホルモンの投与による生化学的手法を活用した。

## 4. 研究成果

(1) 栄養依存的なステロイドホルモン生合成調節を担う口胃セロトニン産生神経経路の機能解析

口胃セロトニン産生神経(SEO神経)で活性を持つプロモーターシステムを利用し、SEO神経のみで膜受容体や栄養代謝関連制御因子をコードする遺伝子をノックダウンするトランスジェニックRNAi実験を進めてきた。最終年度までに、アセチルコリン受容体を含む複数の遺伝子が有力候補として同定することができた。我々は、個々の遺伝子の変異体の分離と表現型解析を進めたが、研究期間内の完了には至らなかった。本研究期間の終了後も、これらの成果を足がかりとして、さらなる研究を進める予定である。

(2) ステロイドホルモン生合成器官に投射するコラゾニン神経細胞の機能解析

SEO神経以外にもステロイドホルモン生合成器官に投射する神経経路を同定し、特にコラゾニンと呼ばれる神経ペプチドを産生する神経が蛹化タイミングに重要な役割を担うことを見出した。そして、コラゾニンの役割は、個体が蛹化に至る前のまだ栄養を十分に得ていない発育段階において、ショウジョウバエの発育を抑制的に調節することにあることを見出した。本成果をまとめた論文の投稿準備を進めており、本研究期間終了後ではあるが、令和元年には投稿予定である。

(3) 栄養依存的な生殖幹細胞の制御を担う神経ペプチドの解析

ショウジョウバエのメス成虫の生殖幹細胞の増殖制御において、腸から分泌されるNeuropeptide Fと呼ばれる神経ペプチドが必須の役割を担うことを解明し、記載論文を出版した(Ameku et al. *Fly* 2017; Ameku et al. *PLoS Biology* 2018; Yoshinari et al. *Curr. Opin. Insect Sci.* 2019)。この成果は、動物の生殖機能に腸が直接的な影響を及ぼすことを示すはじ

めでの成果である。

さらに我々は、Neuropeptide F は栄養状態に応答して分泌が制御されていること、そしてこれが栄養依存的な生殖幹細胞増殖に関与することを見出した。一方で、栄養依存的なNeuropeptide F の機能の詳細については、最終年度までの論文報告には至らなかった。現在、解析を継続中である。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. Yuto Yoshinari, Yoshitomo Kurogi, Tomotsune Ameku, Ryusuke Niwa, Endocrine regulation of female germline stem cells in the fruit fly *Drosophila melanogaster*, *Current Opinion in Insect Science*. 査読有. 31:14-19, 2019, DOI:0.1016/j.cois.2018.07
2. Tomotsune Ameku, Yuto Yoshinari, Michael J. Texada, Shu Kondo, Kotaro Amezawa, Goro Yoshizaki, Yuko Shimada-Niwa, Ryusuke Niwa, Midgut-derived neuropeptide F controls germline stem cell proliferation in a mating-dependent manner, *PLOS Biology*. 査読有. 16: e2005004, 2018, DOI: 10.1016/j.plosbio.2018.07.001
3. Tomotsune Ameku, Yuto Yoshinari, Ruriko Fukuda, Ryusuke Niwa, Ovarian ecdysteroid biosynthesis and female germline stem cells, *Fly*. 査読有. 11: 185-193, 2017, DOI:10.1080/19336934.2017.1291472

〔学会発表〕(計 11 件)

1. 丹羽 隆介、「脳-腸-生殖巣」軸を介したショウジョウバエの交尾後応答メカニズム、昆虫ポストゲノム研究会 2018、八丈島ガーデン荘（東京都八丈町）2018年10月
2. Tomotsune Ameku, Yuto Yoshinari, Michael J. Texada, Shu Kondo, Kotaro Amezawa, Goro Yoshizaki, Yuko Shimada-Niwa, Ryusuke Niwa, Germline stem cell proliferation is regulated by enteroendocrine cell-derived Neuropeptide F in female *Drosophila melanogaster*, The 13th Japanese Drosophila Research Conference、京都大学医薬系総合研究棟（京都府京都市）2018年9月
3. 丹羽隆介、生殖幹細胞の増殖を制御する器官間シグナル：ショウジョウバエを用いた研究から（招待講演）第70回日本細胞生物学会・第51回日本発生生物学会合同大会・NBRPワークショップ バイオリソースが拓く発生学・細胞生物学、タワーホール船堀（東京都江戸川区）2018年5月
4. Ryusuke Niwa, Female germline stem cell proliferation is regulated by intestine-derived peptide in the fruit fly *Drosophila melanogaster*（招待講演）ERATO/AMED-CREST/PRESTO Joint International Symposium "Organismal and Systems Biology of Inter-Organ Communication Indra's Net of the Body", 国際高等研究所（京都府木津川市）2017年12月
5. 丹羽隆介、生殖幹細胞の増殖を制御する多器官連関システム～ショウジョウバエを例として～（招待講演）京都大学理学部生物物理学教室セミナー、京都大学理学部（京都府京都市）2017年11月
6. Tomotsune Ameku, Yuto Yoshinari, Shu Kondo, Yuko Shimada-Niwa, Ryusuke Niwa, Gut hormone promotes mating-induced germline stem cell proliferation in *Drosophila female*, The International Research Symposium on Regulation of Germ Cell Development *in vivo* and *in vitro*（国際学会）九州大学百年記念館（福岡県博多市）2017年7月
7. Tomotsune Ameku, Yuto Yoshinari, Shu Kondo, Yuko Shimada-Niwa, Ryusuke Niwa, Hormonal regulation of the mating-induced germline stem cell proliferation by midgut-derived factor in *Drosophila*, The 3rd International Insect Hormone (21st Ecdysone) Workshop、エピナール那須（栃木県那須郡）2017年7月

8. Tomotsune Ameku, Yuto Yoshinari, Shu Kondo, Yuko Shimada-Niwa, Ryusuke Niwa, Midgut-derived neuropeptide regulates germline stem cell proliferation in the mated female, The 4th Asia-Pacific Drosophila Research Conference、大阪大学コンベンションセンター (大阪府大阪市)、2017年5月
9. 井村英輔、近藤周、谷本拓、島田-丹羽裕子、丹羽隆介、ショウジョウバエのエクジステロイド生合成を制御する神経細胞群の同定、第61回日本応用動物昆虫学会、東京農工大学小金井キャンパス (東京都小金井市)、2017年3月28日～29日
10. Yuko Shimada-Niwa, Eisuke Imura, Ryusuke Niwa, Exploring a neuroendocrine link between feeding, wandering, and pupariation (招待講演)、The Maggot Meeting ‘Behavioral Neurogenetics of Drosophila Larva’、HHMI Janelia Farm (Chevy Chase, VA, USA)、2016年10月
11. Eisuke Imura, Yuko Shimada-Niwa, Ryusuke Niwa, Identification and characterization of novel neurons projecting to the prothoracic gland in *Drosophila melanogaster*、第12回日本ショウジョウバエ研究集会 (JDRC12)、立教大学 (東京都豊島区)、2016年9月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 <https://sites.google.com/view/niwa-lab-tsukuba>

## 6. 研究組織

(1)研究分担者 なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：島田 裕子

ローマ字氏名：(SHIMADA, Yuko)

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。