

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月27日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22780099

研究課題名（和文）昆虫の摂食モチベーションを制御する新規ペプチド性因子群の追求と機能解析

研究課題名（英文）Identification and functional analysis of novel peptidyl factors modulating feeding behavior in insects

研究代表者 永田 晋治 (Nagata Shinji)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：40345179

研究成果の概要（和文）：

本研究課題では、昆虫の摂食モチベーションの制御メカニズムを明らかにするため、主にカイコ *Bombyx mori* を用いて、摂食行動の調節因子群を同定した。その結果、およそ10種のペプチド性因子で摂食行動が調節されていることや、摂食条件に応じて、それらの受容体が転写レベルでの発現変動などを見出した。今後は、昆虫の摂食行動における中心的な制御部位となる局所脳神経回路のネットワーク解析が重要な課題となる。

研究成果の概要（英文）：

To elucidate the mechanisms modulating the feeding motivation in insects, we have identified approximately ten peptidyl factors involving novel factors from the silkworm, *Bombyx mori*. In addition, we found that the expression levels of these receptors fluctuate according to feeding states. This project can provide an idea to elucidate the neural network controlling feeding behavior in insects.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：生物生産化学・生物有機化学

キーワード：昆虫・摂食行動・カイコ・ペプチド・摂食周期

1. 研究開始当初の背景

申請者は、申請以前に行動観察からカイコ幼虫 *Bombyx mori* の摂食行動が概日周期とは独立した約2時間の周期性を見出した(Nagata and Nagasawa, 2006)。特に、摂食行動のモチベーション(摂食行動に移行する確率)が高い個体では、探餌行動あるいは餌を識別する際に見られる行動(Nibbling)

や特徴的な首振り行動(Swaying)が認められる(Nagata *et al.*, 2006)。そこで、観察にもとづく生物検定系を駆使し、カイコ幼虫由来の各組織の粗抽出物には、摂食行動を亢進あるいは抑制する生理活性を有する画分をいくつか見出すことができた(Nagata *et al.*, 2009)。これらの生理活性を指標に逆相

HPLC などを用いた精製単離後、活性物質の構造決定した結果、これまでに摂食行動の亢進活性あるいは抑制活性を有する数種の新規ペプチド性因子を発見した。これらの新規ペプチド群には、データベース解析から昆虫種において保存性が認められているものの、その機能は明らかになっていないものも認められた。また、既知のペプチド類に関しても詳細な分子メカニズムは明らかにされていないものがほとんどであり、申請者のグループが世界的に初めてこれらのペプチド性因子が摂食行動との関連していることを実験レベルで明らかにした。

Nagata and Nagasawa (2006) *J Insect Physiol.* 52(8):807-815.

Nagata et al., (2006) *Biosci Biochem Biotech Biosci Biotechnol Biochem.* 70(12):3094-3098.

Nagata et al., (2009) *Ann N Y Acad Sci.* 1163:481-483.

2. 研究の目的

植食性昆虫は嗜好する宿主植物に生活拠点としているにもかかわらず、常に摂食は示さない。これは、概日周期とは独立した摂食行動の周期（摂食行動モチベーション）の変化が体内で厳密に制御されているためである。本研究では、昆虫の摂食行動モチベーション変化の内分泌制御を分子レベルで明らかにすることを目的とする。

申請者は本申請研究期間以前に、カイコ幼虫において摂食行動に関わる一連の特徴的行動を見出した。この特徴的行動を指標とする行動観察による生物検定法をカイコ幼虫を用いて構築した。この生物検定系により、6 種の新規内因性の生理活性物質を精製単離構造決定することができた。そこで、本申請課題では、この摂食行動調節因子群がどのように摂食行動モチベーションを構築しているかを探り、またこれまでに明らかにされていない摂食行動関連因子群を見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

カイコにおける摂食行動に関連する新規ペプチド群(以降、新規ペプチド群)の機能解析を行うため、本申請課題研究では、主に以下の3つの実験を計画した。

(1)カイコの未知ペプチドホルモン受容体の候補であるオーファン GPCR がゲノム情報から同定されている。そこで、これらの中から、新規ペプチド群の受容体のスクリーニング

を行う。

(2)腸管の自律蠕動運動への影響を筋張力アクトグラムを用いて解析する。また、新規ペプチド群を投与した際の体液中の遊離アミノ酸、脂質量などへの影響を解析する。

(3)新規ペプチド群の定量系を確立し、それぞれの生理的な発現及び分泌の条件を解析する。

上記の計画のほかに、異種からの新規ペプチド群の同定、RNAi による個体レベルでの行動解析及び生理的解析も行い、昆虫の摂食行動の分子メカニズムの共通性を解析する。

4. 研究成果

(研究期間全体の成果)

当初の研究計画とは多少ずれたが、本申請課題期間中に、以下の成果を得た。

(1)カイコ幼虫を用いた摂食行動関連因子群の同定

本申請課題研究では主にカイコ *Bombyx mori* を用いて、摂食モチベーションの変動が何に起因しているかを分子レベルで明らかにしたが、最終的に、およそ 10 種のペプチド性因子が摂食行動に関わることが明らかとなった。これらは、これまでの研究を加味すると、いわゆる脳腸ペプチドであることが分かった。

一方、その摂食行動関連因子群の受容体の発現レベルの変動も摂食状態により変動することや、因子群の脳神経系上での発現部位に偏りがあることから、摂食行動の中心的な制御部位が脳神経系の局所神経回路で構築されていることが予想でき、そのネットワークの解析が今後の課題となる。

(2)摂食状態や栄養状態により摂食行動関連因子群の受容体の発現が変動することを見出した。

(1)のカイコ *Bombyx mori* から同定した摂食行動関連ペプチド性因子群の発現解析を行った。その結果、カイコ幼虫の摂食行動関連因子として同定できたものの多くは、いわゆる脳腸ペプチドであることが分かった。また、これらの受容体の発現解析も同時に行った。その結果、脳神経系で強く発現されている神経ペプチドのうち、アラトトロピンや short neuropeptide F (sNPF) の受容体に関しては、その転写発現量が摂食状態により変動していることを見出した。これは、摂食行動がペプチドホルモンの分泌制御だけでなく、受容体側の転写制御によっても行われていることを示す重要な知見となった。

(3) 栄養状態に反映され摂食行動が変化することを発見した。

体内の体液成分により、摂食モチベーションが変動することがこれまでに考えられてきたが、その分子レベルでの研究はほとんど行われていない。そこで、栄養状態を作り出すために重要となる脂質動員ホルモン AKH の受容体を RNA 干渉法によりノックダウンしたフタホシコオロギを作製した。その結果、摂食周期の短縮が見出された。また、この摂食周期の短縮は体内の脂質レベルの変動に起因することも明らかとなった。この結果は、体内の栄養状態を反映した代謝物などが摂食行動に影響を及ぼすことを示す重要な例を提示したこととなる。

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 9 件)

① Nagata S, Matsumoto S, Mizoguchi A, Nagasawa H. (2012) Identification of cDNAs encoding allatotropin and allatotropin-like peptides from the silkworm, *Bombyx mori*. *Peptides*. 34: 98-105. 査読有。
DOI: 10.1016/j.peptides.2012.01.002

② Nagata S, Matsumoto S, Nakane T, Ohara A, Morooka N, Konuma T, Nagai C, Nagasawa H. (2012) Effects of starvation on brain short neuropeptide F-1, -2 and -3 levels and short neuropeptide F receptor expression levels of the silkworm, *Bombyx mori*. *Frontiers Experimental Endocrinology*. 3. 3. (1-7). 査読有。
DOI: 10.3389/fendo.2012.00003

③ Morooka N, Nagata S, Shirai K, Kiguchi K, Nagasawa H. (2012) A hemolymph major anionic peptide, HemaP, motivates feeding behavior in the sweetpotato hornworm, *Agrius convolvuli*. *FEBS Journal*. 279. 168-179. 査読有。
DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08408.x.

④ Nagata S, Nagasawa H. (2011) Sterol composition in larvae of the silkworm, *Bombyx mori* larvae. *Biosci Biotechnol Biochem*. 75(5):1003-1005. 査読有。
10.1271/bbb.110008

⑤ Nagata S, Morooka N, Matsumoto S, Kawai T, Nagasawa H. (2011) Effects of neuropeptides on feeding initiation in larvae of the silkworm, *Bombyx mori*. *Gen*

Comp Endocrinol. 172(1):90-95. 査読有。
DOI: 10.1016/j.ygcen.2011.03.004

⑥ Nagata S, Morooka N, Asaoka K, Nagasawa H. (2011) Identification of a novel hemolymph peptide that modulates silkworm feeding motivation. *J Biol Chem*. 286(9):7161-7170. 査読有。
DOI: 10.1074/jbc.M110.176016

⑦ Nagai C, Nagata S, Nagasawa H. (2011) Effects of crustacean hyperglycemic hormone (CHH) on the transcript expression of carbohydrate metabolism-related enzyme genes in the kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. *Gen Comp Endocrinol*. 172(2):293-304. 査読有。
DOI: 10.1016/j.ygcen.2011.03.019

⑧ 永田晋治 (2011) 昆虫の摂食行動の周期性を制御する内分泌性ペプチド。比較内分泌学。37(141): 71-79. 査読無。

⑨ 永田晋治、諸岡信克 (2011) 昆虫の摂食行動の調節機構とペプチドホルモン。蚕糸・昆虫バイオテック。80(3):163-169. 査読無。

[学会発表] (計 21 件)

① 小沼貴裕、長澤寛道、永田晋治。フタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) における体内の栄養状態と摂食行動との関連性の探索。2011 年度日本比較内分泌学会。2011 年 11 月 23 日～24 日。都道府県会館(東京都)。

② 永田晋治、松本澄洋、長澤寛道。A novel feeding modulating peptide, GSRY-amide as an enterogastric modulator and its receptor from the silkworm, *Bombyx mori*。2011 年度日本分子生物学会。2011 年 12 月 15 日。横浜コンチネンタルホテル(神奈川県)。

③ 永田晋治。昆虫の摂食行動を制御する内分泌機構の解明を目指して。第 2 回ペプチド・ホルモン若手研究会(招待)。2012 年 3 月 16 日。広島大学(広島県)。

④ 永田晋治、長澤寛道。カイコのデスマステロール還元酵素 BmDHCR24 の同定と機能解析。2012 年度蚕糸昆虫機能利用学術講演会(蚕糸学会)。2012 年 3 月 18 日。九州大学(福岡県)。

⑤ 大原彩子、永井千晶、河合岳志、永田晋治、長澤寛道。カイコにおける摂食行動調節因子 short neuropeptide F 及びその受容体の機能解析。2012 年度日本農芸化学会。2012 年 3 月 23 日。京都女子大学(京都府)。

⑥永井千晶、永田晋治、長澤寛道。カイコにおけるイオン輸送ペプチド(ITP)およびITP-like(ITPL)の受容体の機能解析。2012年度日本農芸化学会。2012年3月23日。京都女子大学(京都府)。

⑦小沼貴裕、永田晋治、長澤寛道。フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)における脂質動員ホルモン(AKH: adipokinetic hormone)が制御する体液中の脂質および糖質のレベルと摂食行動との関連性の解析。2012年度日本農芸化学会。2012年3月23日。京都女子大学(京都府)。

⑧諸岡信克、永田晋治、長澤寛道。カイコ摂食モチベーションペプチドHemaPの結合タンパク質の同定および機能解析。2012年度日本農芸化学会。2012年3月23日。京都女子大学(京都府)。

⑨永田晋治、長澤寛道。カイコ *Bombyx mori* の前額神経球のペプチドプロファイリング。2012年度日本農芸化学会。2012年3月23日。京都女子大学(京都府)。

⑩永田晋治。昆虫の摂食行動を作るペプチドホルモン群による調節機構。2012年度日本農芸化学会(シンポジウム)。2012年3月23日。京都女子大学(京都府)。

⑪永田晋治、松本澄洋、長澤寛道。カイコの摂食行動を調節する新規ペプチド GSRY アミドの同定。日本農芸化学会 2011 年度大会。2011年3月27日。京都女子大学(京都府)。

⑫諸岡 信克、永田 晋治、長澤 寛道。カイコ摂食モチベーション調節ペプチド HemaP の各生育段階における血中濃度変動。日本農芸化学会 2011 年度大会。2011年3月27日。京都女子大学(京都府)。

⑬永井 千晶、永田 晋治、山中 直岐、田中 良明、片岡 宏誌、長澤 寛道。カイコにおけるイオン輸送ペプチド(ITP)およびITP-like(ITPL)の受容体の同定。日本農芸化学会 2011 年度大会。2011年3月27日。京都女子大学(京都府)。

⑭大原 彩子、永井 千晶、松本 澄洋、河合 岳志、永田 晋治、山中 直岐、田中 良明、片岡 宏誌、長澤 寛道。カイコにおける摂食行動調節因子 short neuropeptide F に対する新たな受容体の同定。日本農芸化学会 2011 年度大会。2011年3月27日。京都女子大学(京都府)。

⑮小沼 貴裕、永田 晋治、長澤 寛道。フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)における apoLp-III(アポリポホリン III)と摂食行動との関連性の解析。日本農芸化学会 2011 年度大会。2011年3月27日。京都女子大学(京都府)。

⑯永田晋治、松本澄洋、長澤寛道。昆虫の摂食制御因子としてのアラトトロピンの再発見と新規ペプチド GSRY アミドの発見。第 35 回日本比較内分泌学会。2010年11月19日。グランシップ静岡(静岡県)。

⑰小沼貴裕、諸岡、信克、永田晋治、長澤寛道。フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)の摂食行動と脂質動員ホルモン(adipokinetic hormone, AKH)との関連性の解析。第 35 回日本比較内分泌学会。2010年11月19日。グランシップ静岡(静岡県)。

⑱永田晋治、松本澄洋、長澤寛道。カイコ幼虫の摂食行動調節因子としての腸管由来アラトトロピンの同定。第 33 回日本分子生物学会。2010年12月7日。神戸。

⑲永田晋治、松本澄洋、長澤寛道。Identification of two novel peptides from the midgut of the silkworm, *Bombyx mori* as feeding modulating factors. 国際無脊椎動物神経ペプチド学会(INC2011)。2011年2月15日。マレーシア国、サバ州。

⑳永田晋治、松本澄洋、諸岡信克、河合岳志、長澤寛道。Effects of peptide hormones on feeding initiation and termination in the larvae of the silkworm, *Bombyx mori*. 第 25 回ヨーロッパ比較内分泌学会(CECE2010)。2010年9月1日。ハンガリー国、ペーチ市。

㉑諸岡信克、永田晋治、白井孝治、木口憲爾、長澤寛道。Structure determination of O-linked carbohydrate moiety of HemaP-like peptide, a novel feeding-modulating peptide from the sweet potato hornworm, *Agrius convolvuli*. 第 25 回ヨーロッパ比較内分泌学会(CECE2010)。2010年9月1日。ハンガリー国、ペーチ市。

[図書] (計1件)

①永井千晶、馬橋(浅妻)英章、永田晋治、長澤寛道。東海大学出版会。脱皮と変態の生物学(昆虫と甲殻類のホルモン作用の謎を追う)。2011年。総496頁。

[産業財産権]

○出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/seiyu/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永田 晋治 (Nagata Shinji)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：40345179

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

研究者番号：