

令和 2 年 7 月 7 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07480

研究課題名（和文）セロトニンによる5-HT_{2A}受容体を介した摂食量調節機構の解明研究課題名（英文）Feeding behaviors regulated by the neurons expressing serotonin receptor, 5-HT_{2AR}

研究代表者

田中 暢明（Tanaka, Nobuaki）

北海道大学・理学研究院・准教授

研究者番号：20517924

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000円

研究成果の概要（和文）：昆虫に限らず、多くの動物は季節の移行や日周に伴う温度変化に適応して生存している。我々は遺伝学的手法を容易に用いることができるキイロショウジョウバエ（*Drosophila melanogaster*）を用いて、そうした適応に重要な神経伝達物質やその神経伝達物質の調節を受ける食道下神経節の神経を同定し、どのようにして、キイロショウジョウバエが高温に適応しているのかを明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物は、体内の代謝を調節することで、様々な温度環境に適応している。変温動物である昆虫も、体内の水分量や血糖値を巧みに制御することで、様々な温度環境で生存しているのだが、今回の研究で、そうした制御に関わる神経伝達物質や食道下神経節の神経を同定することができた。実は、類似の神経は、我々の用いたキイロショウジョウバエだけでなく、様々な昆虫に存在する。将来的には、種間でその神経の機能比較を行うことで、昆虫が様々な温度環境に適応してきた過程を解明できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：By using *Drosophila* genetics, we found a neurotransmitter which regulates excitability of a giant neuron in the subesophageal zone and revealed the mechanism of how the neuron controls metabolism to adapt to various temperatures.

研究分野：神経生物学

キーワード：高温耐性 摂食 ショウジョウバエ

1. 研究開始当初の背景

昆虫は、個体密度や餌条件、気温や日長条件などに応じて形態や生理状態を変化させ、環境に適した行動や生殖器官の発達などをとることが知られている。セロトニンは、そうした環境適応に重要な役割を果たしていると考えられており、セロトニンの神経伝達を阻害すると、表現型可塑性や概日周期、摂食などの行動に異常が生じることが示されている (Anstey et al., 2009; Blenau and Thamm, 2011)。しかしながら、セロトニンが、中枢神経系の神経回路にどのように作用するのか、その全容は解明されていない。特に、セロトニンの受容体には複数のサブタイプがあるのだが、昆虫では 5-HT₁ 型受容体以外の各サブタイプを発現する神経細胞の同定や機能解析は遅れている。キイロショウジョウバエでは、5HT_{2A} 型受容体の発現を全体的に低下させた個体の解析から、5HT_{2A} 型受容体が摂食量の維持に関与していることが報告されている (Gasque et al., 2013)。

2. 研究の目的

セロトニンが、5HT_{2A} 型受容体を介して、様々な環境に適した摂食行動や生理状態をとらせるメカニズムをキイロショウジョウバエを用いて解明することを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

(1) キイロショウジョウバエの摂食量の測定法

キイロショウジョウバエの摂食行動を定量するために、Capillary feeding assay (CAFÉ assay; Ja et al., 2007) を行った。CAFÉ assay は、ハエが、バイアルに差したキャピラリー中の蔗糖溶液などを採餌した量を測定する実験で、一定時間内の 1 個体あたりの摂食量を容易に明らかにすることができる。

(2) 温度・日周条件の設定

キイロショウジョウバエは、通常、気温 25 度、明暗サイクル 12 時間/12 時間で飼育した。一方、生殖休眠と呼ばれる現象を起こさせる条件が気温 11 度、明暗サイクル 10 時間/14 時間 (Kubrak et al., 2014) で、この 2 条件でハエを飼育した後、温度耐性や絶食耐性の実験を行った。

(3) 遺伝学的手法を用いた巨大内分泌系神経の機能を操作する方法

巨大内分泌系神経を特異的に操作するために、GAL4-UAS 法を用いた。巨大内分泌系神経に特異的に遺伝子発現を誘導できる GAL4 系統を 2 系統用意して、5HT_{2A} 型受容体の RNAi 遺伝子 (5HT_{2A} 型受容体の遺伝子発現の抑制を誘導)、TrpA1 (神経興奮を誘導) や *shibire* (神経伝達を阻害) を発現させて、機能解析を行った。

(4) 巨大内分泌系神経からの膜電位の記録

巨大内分泌系神経に、ガラス微小電極 (Tanaka et al., 2009) を刺して、温度条件を変化させながら膜電位や発火頻度の解析を行った。

4. 研究成果

本研究では、我々がキイロショウジョウバエで発見した食道下神経節にある巨大内分泌

系神経の機能解析を中心に行ったので、その結果を報告する。

(1) 5HT2A 型受容体を介した巨大内分泌系神経の抑制：摂食における役割

食道下神経節の巨大内分泌系神経は、インスリン様ペプチドを発現し、すでに報告されている昆虫の *pars intercerebralis* のインスリン神経と同様に、側心体などに投射が観察された。*pars intercerebralis* のインスリン神経は、脊椎動物と同じく、血リンパ中の糖濃度調節に関与し、人為的に興奮させると個体の摂食量が減少することが明らかになっている (Nassel et al., 2015)。同様に、食道下神経節の巨大内分泌系神経も、TrpA1 を発現させて興奮させると、1 時間あたりの糖摂取量が減少したことから、巨大内分泌系神経にも摂食量調節の機能があると考えられた。ショウジョウバエでは、セロトニン受容体である 5HT2A 型受容体の発現を抑制することで摂食量が減少することが報告されていることから (Gasque et al., 2013)、我々は、食道下神経節の巨大内分泌系神経で特異的に 5HT2A 型受容体の発現量を減少させる実験を行ったところ、やはり 1 時間あたりの糖の摂食量が減ることを見出した。巨大内分泌系神経を人為的に興奮させても、5HT2A 型受容体の発現量を減少させても、摂食量の減少が見られたことから、セロトニンは 5HT2A 型受容体を介して、巨大内分泌系神経の興奮を抑制していると考えられた。そこで、5HT2A 型受容体の突然変異体と野生型バックグラウンドのハエのそれぞれで、巨大内分泌系神経にガラス微小電極を刺して、自律的発火の頻度を比較する実験を行ったところ、突然変異体の方が高い発火頻度を示した。この結果から、5HT2A 型受容体を介した入力によって、巨大内分泌系神経は抑制されることが示唆された。

(2) 5HT2A 型受容体を介した巨大内分泌系神経の抑制：温度耐性における役割

詳細な解析を続けていくと、この巨大内分泌系神経が、蛾などにみられる休眠ホルモン神経に極めて類似していることが明らかになってきた。キイロショウジョウバエには、蛾などにみられるような冬期の休眠現象はないとされていて、また、蛾の休眠ホルモンの相同遺伝子はショウジョウバエのゲノムには存在しない。しかしながら、この巨大内分泌系神経は、蛾の休眠ホルモン神経と細胞体の位置や投射先が同じで、かつ蛾の休眠ホルモんに最も配列が似ている利尿ホルモンを発現することから、この巨大内分泌系神経も休眠ホルモン神経と類似の機能を担っていることが推察された。そこで、我々は 5HT2A 型受容体の発現を抑制した個体の温度耐性を調べてみた。その結果、個体の低温耐性には変化が生じなかったのに対して、高温耐性が低下することがわかった。さらに、生理食塩水中の温度を 20 度から 30 度に変えつつ、5HT2A 型受容体の突然変異体と野生型バックグラウンドのハエのそれぞれから、巨大内分泌系神経の発火頻度の変化を記録したところ、いずれも温度上昇に伴って発火頻度の上昇が観察されたが、突然変異体の発火頻度の上昇の方が大きいことが明らかになった。この結果は、セロトニンによる巨大内分泌系神経の抑制は、高温下でより顕著だということを示している。低温耐性には変化は観察されなかったものの、幼虫期を 25 で生育した個体を羽化後すぐに 11 かつ絶食条件におく実験を行ったところ、巨大内分泌系神経で 5HT2A 型受容体を抑制した個体で有為に寿命が延びた。

その個体では、絶食条件後に餌を与えても摂食量が落ちていた。すなわち、5HT_{2A} 型受容体の発現が抑えられることによって、幼虫期に巨大内分泌系神経がより興奮し、インスリンを介して、獲得した栄養が多く貯蔵されたことによって、絶食に対する耐性が上がったものと考えられる。この結果から、巨大内分泌系神経が低温下における個体の生存にも関与していることが期待された。

以上の結果をまとめると、食道下神経節の巨大内分泌系神経は、インスリンや利尿ホルモンの放出を通じて、摂食量や温度耐性の調節を行っている。その調節に 5HT_{2A} 型受容体を介したセロトニンの入力が極めて重要であることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----