

令和 2 年 5 月 15 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08124

研究課題名(和文)新規NPY様RYamideペプチドの発見と食欲調節機構の解析

研究課題名(英文)Discovery of novel NPY-like RYamide peptide and analysis of appetite regulation mechanism

研究代表者

井田 隆徳 (Ida, Takanori)

宮崎大学・フロンティア科学総合研究センター・准教授

研究者番号：00381088

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)：動物の生命維持に必要な摂食行動の調節機構について、モデル生物を用いて検討することを目的とした。特に、生理活性ペプチドとして重要なニューロペプチドY(NPY)に類似したdRYamide、LURY-1というペプチドを研究代表者は発見したので、その機能解析を中心に研究を進めた。また並行して、更なる新しい生理活性ペプチドの探索も行った。その結果、ショウジョウバエで発見したdRYamide、線虫で発見したLURY-1共に、摂食行動を巧妙に調節していることを見出した。また、モデル生物にとどまらず、クルマエビや蚊など、農業、産業に重要な動物への応用も期待される結果に結びつけることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食欲は生命維持に必要なエネルギー摂取のためのもっとも基本的な生命活動であり、本能行動の中でも特に重要である。その調節メカニズムを解明しコントロールすることが出来れば、人での創薬はもちろん、家畜、養殖魚類や有用昆虫の効率的育成、害虫の駆除などに応用でき非常に意義深い。また、摂食コントロールの破綻は生活習慣病など様々な疾病に結びつき、社会的に重要な課題である。dRYamide、LURY-1はヒトの摂食コントロールに関わるニューロペプチドYファミリーと類縁関係にあり、本研究はショウジョウバエや線虫に限らず、ヒトも含めたすべての動物に共通な摂食制御のしくみの理解に役立つことが期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the regulatory mechanism of feeding behavior required for animal life support using model organisms. In particular, the principal investigator discovered a peptide called dRYamide, LURY-1, which is similar to neuropeptide Y (NPY), which is important as a physiologically active peptide, so the research centered on its functional analysis. In parallel, we also searched for new bioactive peptides. As a result, they found that both dRYamide found in *Drosophila* and LURY-1 found in *C. elegans* cleverly regulate feeding behavior. In addition to the model organisms, the results were expected to be applied to animals important for agriculture and industry such as prawns and mosquitoes.

研究分野：生理・生化学

キーワード：生理活性ペプチド オーファンGPCR モデル生物

1. 研究開始当初の背景

(1)研究の学術的背景

食欲は生命維持に必要なエネルギー摂取のためのもっとも基本的な生命活動であり、食欲制御中枢と末梢組織の臓器間クロストークにより複雑かつ巧妙に調節されている。脊椎、無脊椎問わず動物において食欲は本能行動の中でも特に重要であり、その調節メカニズムを解明しコントロールすることが出来れば、人での創薬はもちろん、家畜、養殖魚類や有用昆虫の効率的育成、害虫の駆除などに応用でき非常に意義深い。近年、食欲を調節する因子として、生体内に存在する生理活性ペプチドが注目されている。

ホ乳類においてニューロペプチド Y (NPY) ファミリーペプチドは摂食行動を強く促進・抑制するので食欲調節のキーレギュレーターとして長く研究されている。NPY ファミリーペプチドは NPY、PYY、PP の 3 種類が同定されているが、その受容体は Y1~Y6 まで存在しており、まだ未発見の関連ペプチドが存在すると想定されている。それ故、NPY ファミリーペプチドと受容体による複雑な摂食調節機構の解明は、よく研究されているにも関わらず全容は未だ明らかになっていない。さらに、ホ乳類などの高等生物は複雑な身体構造を有し遺伝学的解析が困難であることから、分子・細胞レベルでの未知のメカニズムを発見することが難しい。一方、モデル生物として汎用されるショウジョウバエや線虫 *C. elegans* (以下、線虫と呼ぶ) は、シンプルな構造を有し、縦横な遺伝学の適用が可能である。

研究代表者はショウジョウバエ・線虫から、作用するペプチドが未知なオーファン受容体を選択し、その受容体に対する生理活性ペプチドの探索を行った。データベースを利用したペプチド探索は海外で 3 つのグループが行っているが、実際に生体からペプチドを単離・同定することは技術的、労力的に困難な面が多いため国内外問わず行われていない。しかし研究代表者は一貫して生理活性ペプチドの研究を続けており、これまで培った技術、経験をモデル生物に応用することが出来た。その結果、ショウジョウバエから CCHamide₁、dRYamide、trissin などの新規生理活性ペプチドを発見した。それぞれのペプチドについて摂食調節機構の解明を中心に研究を進めていた結果、特に dRYamide は 1. NPY ファミリーペプチドと同じ C 末端 RY アミド構造を有していること、2. dRYamide 受容体は NPY 受容体に類似していること、3. dRYamide も昆虫において摂食行動を調節すること、などからショウジョウバエにおける NPY ファミリーペプチドと想定された。そこで次に、体細胞が 959 個しかないよりシンプルな構造の線虫からも NPY ファミリーペプチドを単離・同定し、ショウジョウバエ・線虫での機能解析を元に NPY ファミリーペプチドによる摂食調節機構の全容を解明しようと考えた。しかし、ショウジョウバエ受容体と異なり、線虫受容体はペプチド探索アッセイに用いるホ乳類細胞ではあまり強く発現することができず、当初探索が行えなかった。そこでショウジョウバエ dRYamide 受容体を用い、線虫ペプチド抽出物から探索を行った結果、活性を検出できペプチドを単離・同定した。そのペプチドはやはり C 末端 RY アミド構造を有しており、さらに dRYamide 受容体・NPY 受容体に一番類似している線虫受容体に活性を示した。従ってこのペプチドは線虫における NPY ファミリーペプチドと想定され、LURY-1 と命名した。

2. 研究の目的

新しい生理活性ペプチドを発見することは、どの生物種においても重要である。その理

由は新しい生理機能や生理機構が明らかになり、創薬や産業応用へと展開できるからである。生理活性ペプチドは生体内において様々な役割を果たす。その作用は G タンパク共役型受容体 (GPCR) を介して発揮する物がほとんどである。つまり生理活性ペプチドは受容体を介して作用する。生体内には、作用するリガンドが不明なオーファン受容体がまだ多数存在しており、アミノ酸配列の相同性から生理活性ペプチドの受容体と想定されるものも多い。つまり、生体内にはオーファン受容体に作用する未知の生理活性ペプチドが多数存在していることを意味する。しかし、オーファン受容体に対する生理活性ペプチドホルモンの探索において、哺乳類ではニューロメジン S の発見 (2005 年) 以来途絶えている。本研究の目的は、ショウジョウバエ、線虫において発見した dRYamide・LURY-1 の摂食調節機構を解明し、哺乳類では困難な NPY ファミリーペプチドの作用メカニズムを明らかにすると共にショウジョウバエ・線虫において更なる生理活性ペプチドを発見することである。

3. 研究の方法

機能解析 : dRYamide、LURY-1 の摂食調節機構について、遺伝学的解析・生化学的解析・*in vivo* 分子イメージング・オプトジェネティクスといった複数のアプローチを組み合わせ、課題の解決にあたった。

- ・蛍光タンパク質レポーターや免疫組織化学を用いてペプチドの動態を可視化する系を構築し、餌の有無など様々な環境条件によるペプチドの分泌を制御する機構を明らかにした。
- ・受容体を細胞特異的に発現させるレスキュー実験を行い、受容体の機能細胞を同定した。さらに、同定された受容体機能細胞の活性測定を通じてペプチドの作用機構を細胞レベルで明らかにした。
- ・栄養代謝・睡眠・学習行動・産卵行動など摂食と密接に関連する他の現象との関わりを調べ、dRYamide、LURY-1 の機能を明らかにした。

新規生理活性ペプチドの探索 : ショウジョウバエ・線虫を用いてオーファン受容体に対する新規生理活性ペプチドの探索を行った。それぞれ生体からペプチドを抽出し構造解析を行う手法を用いた。つまり遺伝情報ではわからない前駆体からの切断部位、修飾基の存在も明らかにすることが出来る。

- ・ターゲットとしたオーファン受容体安定発現 CHO 細胞株をショウジョウバエ 35 種類、線虫 30 種類構築した。
- ・ショウジョウバエ 2kg、線虫 200g を回収しペプチド画分抽出後、ゲル濾過にて 100 フラクションに分画した。
- ・安定発現細胞株にショウジョウバエ、線虫から抽出したペプチドサンプルを添加し細胞内セカンドメッセンジャーの変化を測定した。
- ・活性が検出されたフラクションを順次、高速液体クロマトグラフィーにて展開、アッセイを繰り返し、最終的にシングルピークとしてペプチドを単離し、プロテインシーケンサー、質量分析機によって構造決定した。

4. 研究成果

特に線虫において発見した LURY-1 について成果が大きかった。東京大学飯野研究室との共同研究によって LURY-1 は咽頭という餌を取り込む喉の器官にある 3 つの神経にだけ発現

しており、餌が多く咽頭が活発に活動しているときに全身に向けて分泌されることが分かった。分泌された LURY-1 は、1)摂食を抑制、2)産卵を促進、3)動き回る行動を抑制、4)寿命を延長という、多様な作用を持っていることが明らかになった。この研究成果は eLife 誌に掲載され日本経済新聞、宮崎日日新聞などで取り上げられた。その内容は、線虫より新しい生理活性ペプチドの発見と受容体の同定に成功し、これらが飽食の制御を担うことを新たに見出した。線虫を活用することにより、分泌された新規ペプチドが特定の神経に作用し、食餌に関係した様々な行動を制御する詳細な仕組みを明らかにした。今回発見したペプチドは多くの生物種に存在し、ヒトにおいても類縁ペプチドが摂食行動を制御する。つまり本研究成果は、線虫に限らず、ヒトも含めたすべての動物に共通な摂食制御のしくみの理解に役立つことが期待されます。というように報道され、非常に大きな反響があった。

また、dRYamide について、養殖に重要な海産無脊椎動物であるクルマエビにおいても、ペプチドの単離・同定、摂食行動に関する機能解析を行い、Gen Comp Endocrinol 誌に掲載された。さらに最近、蚊の吸血行動を制御する受容体である NPYLR7A にシヨウジョウバエ dRYamide に相当する aRYamide が作用し、吸血行動に影響を与えることを明らかにした。

新規生理活性ペプチドの探索においては、並行して線虫での新規生理活性ペプチドの探索を行い、哺乳類ニューロメジン U に類似する CeNMU-1 を単離・同定した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Yazawa Takashi, Imamichi Yoshitaka, Uwada Junsuke, Sekiguchi Toshio, Mikami Daisuke, Kitano Takeshi, Ida Takanori, Sato Takahiro, Nemoto Takahiro, Nagata Sayaka, Islam Khan Md. Rafiqul, Takahashi Satoru, Ushikubi Fumitaka, Suzuki Nobuo, Umezawa Akihiro, Taniguchi Takanobu	4. 巻 196
2. 論文標題 Evaluation of 17 α -hydroxysteroid dehydrogenase activity using androgen receptor-mediated transactivation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 105493 ~ 105493
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsbmb.2019.105493	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 Sato Takahiro, Oishi Kanae, Ida Takanori, Kojima Masayasu	4. 巻 67
2. 論文標題 Suppressive effect of ghrelin on nicotine-induced clock gene expression in the mouse pancreas	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 73 ~ 80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ19-0169	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 Sato Takahiro, Nemoto Takahiro, Hasegawa Kazuya, Ida Takanori, Kojima Masayasu	4. 巻 66
2. 論文標題 A new action of peptide hormones for survival in a low-nutrient environment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 943 ~ 952
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ19-0274	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 佐藤貴弘、井田隆徳、関口俊男、中町智哉、児島将康	4. 巻 37
2. 論文標題 消化管関連ペプチドが拓く恒常性フロンティア	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 1 ~ 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Fujiwara Yuri, Hermann-Luibl Christiane, Katsura Maki, Sekiguchi Manabu, Ida Takanori, Helfrich-Förster Charlotte, Yoshii Taishi	4. 巻 9
2. 論文標題 The CCHamide1 Neuropeptide Expressed in the Anterior Dorsal Neuron 1 Conveys a Circadian Signal to the Ventral Lateral Neurons in <i>Drosophila melanogaster</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2018.01276	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 該当する

1. 著者名 Akieda-Asai Sayaka, Ida Takanori, Miyazato Mikiya, Kangawa Kenji, Date Yukari	4. 巻 99
2. 論文標題 Interleukin-15 derived from Guanylin ^{GC-C} -expressing macrophages inhibits fatty acid synthase in adipocytes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 14 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2017.10.012	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 Teranishi Hitoshi, Hayashi Masafumi, Higa Ryoko, Mori Kenji, Miyazawa Takashi, Hino Jun, Amano Yuichiro, Tozawa Ryuichi, Ida Takanori, Hanada Toshikatsu, Miyazato Mikiya, Hanada Reiko, Kangawa Kenji, Nakao Kazuwa	4. 巻 99
2. 論文標題 Role of neuromedin U in accelerating of non-alcoholic steatohepatitis in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 134 ~ 141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2017.09.011	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 Hayao Ohno, Morikatsu Yoshida, Takahiro Sato, Johji Kato, Mikiya Miyazato, Masayasu Kojima, Takanori Ida, Yuichi Iino	4. 巻 e28877
2. 論文標題 Luqin-like RYamide peptides regulate food-evoked responses in <i>C. elegans</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 eLIFE	6. 最初と最後の頁 1 ~ 23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.28877	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 Mori Kenji, Ida Takanori, Fudetani Mami, Mori Miwa, Kaiya Hiroyuki, Hino Jun, Nakahara Keiko, Murakami Noboru, Miyazato Mikiya, Kangawa Kenji	4. 巻 7
2. 論文標題 Identification of neuromedin U precursor-related peptide and its possible role in the regulation of prolactin release	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 1~12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-10319-9	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 Kono Tomoya, Ida Takanori, Kawahara Natsumi, Watanabe Fumiya, Biswas Gouranga, Sato Takahiro, Mori Kenji, Miyazato Mikiya	4. 巻 73
2. 論文標題 Identification and immunoregulatory function of neuromedin U (Nmu) in the Japanese pufferfish Takifugu rubripes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Dev Comp Immunol	6. 最初と最後の頁 246~256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dci.2017.03.007	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 Mekata Tohru, Kono Tomoya, Satoh Jun, Yoshida Morikatsu, Mori Kenji, Sato Takahiro, Miyazato Mikiya, Ida Takanori	4. 巻 246
2. 論文標題 Purification and characterization of bioactive peptides RYamide and CCHamide in the kuruma shrimp Marsupenaeus japonicus	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Gen Comp Endocrinol	6. 最初と最後の頁 321~330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygcen.2017.01.008	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 -

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 新規生理活性ペプチドdRYamide, LURY-1の発見
3. 学会等名 第66回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 宮崎から世界へ羽ばたくペプチドホルモン研究
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019大会第70回日本電気泳動学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 漢方からのペプチド探索
3. 学会等名 第10回ペプチドホルモン研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 モデル生物における新規生理活性ペプチドの発見と応用
3. 学会等名 第43回 蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 モデル生物における新規生理活性ペプチドの発見と応用
3. 学会等名 第19回日本内分泌学会九州支部学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 多様な動物種を用いた生理活性ペプチドの探索
3. 学会等名 日本動物学会第90回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 様々な手法を用いた新規生理活性ペプチドの探索
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上 昇、森 健二、宮里幹也、中原桂子、大谷 瞳、筆谷麻未、井田隆徳、丸山圭介、寒川賢治
2. 発表標題 ニューロメジンU、ニューロメジンSとそれらの前駆体関連ペプチドのプロラクチン分泌への相反的作用について
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井田隆徳、大野速雄、吉田守克、佐藤貴弘、宮里幹也、児島将康、飯野雄一
2. 発表標題 新規生理活性ペプチドdRYamide, LURY-1の発見
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 健二、井田隆徳、中原桂子、村上昇、宮里 幹也、寒川 賢治
2. 発表標題 新規生理活性ペプチドNURPの発見とそのプロラクチン分泌促進活性
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 オーファン受容体に対する糖鎖ペプチドの探索
3. 学会等名 第9回ペプチド・ホルモン研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 第3回ペプチド・ホルモン研究会シンポジウム
3. 学会等名 第89回日本動物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takanori Ida
2. 発表標題 Identification of the bioactive peptides from model animal
3. 学会等名 International meeting on non-mammalian models in biomedical research: Current status and future perspectives (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hayao Ohno, Morikatsu Yoshida, Takahiro Sato, Johji Kato, Mikiya Miyazato, Masayasu Kojima, Takanori Ida & Yuichi Iino
2. 発表標題 CeRYamides, members of the conserved RYamide peptide family, mediate food responses after fasting in <i>C. elegans</i>
3. 学会等名 16th IGAKUKEN International Symposium on Functions and mechanisms of neuromodulation (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 Identification of the novel bioactive peptides using model animal
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 異分野融合：新規生理活性ペプチドの探索
3. 学会等名 第8回 ペプチド・ホルモン研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森 健二、井田隆徳、中原桂子、村上昇、宮里 幹也、寒川 賢治
2. 発表標題 プロラクチン分泌促進活性を有する新規生理活性ペプチドneuromedin U precursor-related peptideの発見
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会 (2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017))
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 まだ見ぬ生理活性ペプチドを求めて
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会 (2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017))
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井田隆徳
2. 発表標題 RYamideペプチドの新展開
3. 学会等名 第14回GPCR研究会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

井田研究室 https://www.cc.miyazaki-u.ac.jp/a0d203u/ 井田研究室 http://www.cc.miyazaki-u.ac.jp/a0d203u/
--

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