

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21270

研究課題名(和文)食虫動物トガリネズミ由来の忌避物質に関する化学進化生態学研究

研究課題名(英文)Chemical Evolutionary Ecology Studies on the Repellent Substances from Shrews

研究代表者

北 将樹(KITA, Masaki)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：30335012

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：トガリネズミは唾液に毒を持つ珍しい哺乳類であるが、その筋肉組織には昆虫忌避物質が、また臭腺には大型哺乳類を忌避させる匂い物質が含まれるとされる。本研究ではトガリネズミ由来の被食、補食に関わる新規機能性物質を発見し、適応進化における役割を理解することを目指した。唾液腺抽出物の酵素活性を評価し、カリクレイン・プラスミン・トロンピンなど血液凝固などに関わるセリンプロテアーゼ様の活性を確認した。また臭腺に含まれる揮発性成分をGC-MS法などで解析し、麝香臭物質として知られる大環状ラク톤を同定した。今後、同定した化合物を合成して活性を確認し、その生理的な機能の解明を目指す予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々な捕食動物のいる過酷な環境にて、小型の哺乳類であるトガリネズミ類はどのように生き延び、独自に進化してきたのか、進化生態学の観点からも大変興味深い。また微量・不安定物質の解析技術が進化した今、世界に先駆けて野生動物の極微量の生理活性物質に挑戦することは高い意義がある。生態学、進化生物学など関連諸分野とも連携して化合物の機能を解明し、長期的には生態系の理解や保全につながる研究への展開が期待される。また本研究の進展により化学合成品と比較しても環境負荷の少ない防虫剤や、鳥獣被害が深刻なイノシシ・熊避け剤など新規有用物質の創製が期待される点で、社会的意義も高い。

研究成果の概要(英文)：Shrews are unique mammals that have poisons in saliva, and it has been suggested that their muscle tissue contain insect repellent substances, and the odor glands contain odorants that repel large mammals. In this study, we aimed to discover novel functional substances related to predation derived from shrews, and to understand their roles in evolution. The enzymatic activity of salivary gland extracts were evaluated, and we established the presence of several serine proteases related to blood coagulation, such as kallikrein, plasmin, and thrombin. In addition, the volatile components contained in the odor glands were analyzed by GC-MS or other methods, and a macrolactone known as a musk odor substance was identified. In the future, we will synthesize the identified compounds, confirm their activities, and elucidate their physiological functions.

研究分野：生物有機化学・ケミカルバイオロジー

キーワード：食虫動物 トガリネズミ 忌避物質 化学進化生態学

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

特異な生物活性天然物の構造と作用機序の解明は、医薬、農薬の画期的な新規リード化合物の創出や、新奇な薬理作用機構の理解につながる。研究代表者らは希少な毒を持つ哺乳類の特異な生態に着目し、その化学的解明を目指して研究を行ってきた。これまでにヒトでは血圧調整を担うペプチドホルモンが、単孔目カモノハシでは脚の付け根の毒腺から分泌され、さらに小さいペプチド断片となり炎症や痛みに関わることや、ヒトでは脳内で発現し鎮痛に関わるペプチドホルモンが、食虫目トガリネズミでは前駆体として唾液に分泌され獲物を麻痺させる神経毒として働くことを見出し、このような化学多様性が生物多様性を産み、生物進化を漸進させる本質であるという仮説を得るに至った。これは構造が類似しているにも関わらず、生物種により化合物の局在や機能が大きく異なる場合、遺伝情報からのアプローチのみでは「カモノハシにはヒトに類似したタンパク質が存在する」という予測可能な結果が得られるだけであり、ペプチド断片の構造、活性、局在性を調べるというミクロなアプローチにより、従来手法では到達しえない仮説を生んだといえる。本課題ではこの考えに基づき、フィールド科学を重視して微量物質を化学的に解明する「化学進化生態学」の観点から、被食・補食に関わる新奇生理活性物質に挑むこととした。

2. 研究の目的

トガリネズミはモグラと同じ食虫目に属する哺乳類であり、ミミズや昆虫などを主な餌としているが、高い基礎代謝率を有し飢餓に弱いことから、効率良く餌を確保するために獲物に噛み付いて麻痺させて捕獲し、巣穴で長期間保存する習性があるとされる。したがって、その毒は捕食、貯蔵において有効に働く麻酔作用物質と考えられている。一方、フィールド科学者による長年の生態観察により、トガリネズミには興味深い二つの生物間相互作用が示唆されている。一つは体組織（筋肉組織）に昆虫忌避物質が含まれること、もう一つは臭腺の匂い物質が大型哺乳類を忌避させることである。トガリネズミの乾燥肉や個体は、それぞれミールワームや大型哺乳類（キツネなど）が食べないことが確認されている。一般に、小型動物の標本を作る際、内蔵を取り除いて乾燥させた後、カツオブシムシやミールワームなどに組織や肉を食べさせることで簡単に骨格標本を作成できる。しかしトガリネズミでは長期間放置しても食べられない。危険を察すると相手を忌避させる物質を放出する動物は多く知られているが、個体の死後まで忌避作用が継続することは珍しい。このような観察に基づき、本研究では食虫動物トガリネズミ由来の特異な忌避物質（被食、補食に関わる新奇生理活性物質）の構造や、その生態学、生理学的な機能の解明に挑戦する。さらに匂い物質の種間比較に基づく統合オミクス解析と系統解析を組み合わせた「ケモコーディング」解析により、トガリネズミ種の適応進化に化合物がどのように関わってきたのか、理解を目指した。

3. 研究の方法

ミールワームなど昆虫の幼虫に対する忌避活性試験法を確立するため、寒天などの担体にミールワームが食餌するマウス大腿筋の乾燥肉抽出物を混ぜたものをポジティブコントロールとし、トガリネズミ乾燥肉の抽出物が実際に忌避作用を示すか検討した。予備実験として、食パンにオオアシトガリネズミ乾燥肉のエタノール抽出物を染み込ませて乾燥させると、ミールワームが摂餌しないことを確認した。さらに乾燥肉の抽出法（生理食塩水、含水エタノールなど）や餌担体（砂糖入り寒天、すり潰したジャガイモ入り寒天、食パンなど）などを種々検討し、再現性のある試験法を確立することができた。

また、匂い物質をGC-MSやLC-MS/MS解析で網羅的に分析し、トガリネズミ乾燥肉や臭腺の抽出物から活性物質を単離、同定することを試みた。単離した忌避活性物質や匂い物質について、異種の脊椎動物にも含まれるか、GC-MSデータベースや学術論文を精査して確認することとした。

4. 研究成果

2021年10月に北海道厚岸郡浜中町にてトガリネズミのフィールド調査を行い、オオアシトガリネズミとカラフトヒメトガリネズミを捕獲し、唾液腺を摘出した。また飼育していたオオアシトガリネズミおよびジャコウネズミの越年雄個体より臭腺を摘出した。その生理食塩水抽出物について酵素活性を評価し、カリクレイン・プラスミン・トロンビンなど血液凝固などに関わる

セリンプロテアーゼ様の酵素活性があることを確認した。

トガリネズミの臭腺は、特に雄の成体で非常に発達しており、独特の匂いを放つ。興味深いことに、この匂いは生息地や種によって大きく異なり、強力なものではヒトの鼻でも罨にかかった個体に近づくだけで種を判別できることが知られている。過去に、トガリネズミ科の仲間ですごい麝香臭を持つジャコウネズミの臭腺成分が分析され、dihydrocivetone (cycloheptadecanone) など3種類の環状ケトンが同定されているが、その生理学、生態学的な機能は不明であった(引用文献1)。臭腺の切片を用いて、DART法による揮発性成分の高感度質量分析を検討した結果、主にはカダベリンなど生体に多く存在するポリアミン類が検出されたが、オオアシトガリネズミの組織より分子量89の有機小分子が特異的に検出された。また、同じサンプルのGCMS分析により、脂肪酸エステル数種に加えて、他の動物から麝香臭の原因物質として報告されている大環状ラクトン化合物を新たに同定した。現在、構造を確認するために合成研究を進めている。

今後は天然品とのGCMS、LCMSにおける保持時間を比較するとともに、各種生物活性を確認することで、忌避活性との関わりなど生理的な機能の解明を目指す予定である。また、トガリネズミの匂い物質と忌避作用との関係性や、性差、週齢差、種間差などの個体差は全く調べられていないことから、今後はフィールド試験を通してその相関を明らかにし、臭い物質の種間比較により進化生態学的観点から新たな知見を得ることを目指していきたい。

引用文献

- ① 大館, *Aroma Research* 18, 164 (2017)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hirukawa Minako, Zhang Menghua, Echenique Diaz Lazaro M., Mizota Koji, Ohdachi Satoshi D., Begu Quiala Gerardo, Delgado Laba?ino Jorge L., Gomez?ez Jorgelino, Alvarez Lemus Jos?, Machado Leandro Galano, N?ez Miguel Suarez, Shibata Takahiro, Kigoshi Hideo, Kita Masaki	4. 巻 61
2. 論文標題 Isolation and structure/activity relationship studies of jacaranones: Anti-inflammatory quinoids from the Cuban endemic plant Jacaranda arborea (Bignoniaceae)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 152005
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2020.152005	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Kikuchi Fuka, Ohdachi Satoshi D., Arai Satoru et al	4. 巻 10
2. 論文標題 Genetic Diversity and Phylogeography of Thottapalayam thottimvirus (Hantaviridae) in Asian House Shrew (Suncus murinus) in Eurasia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcimb.2020.00438	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北将樹、矢野佑介、鈴木麻佑子、森田真布、大館智志
2. 発表標題 食虫性哺乳類における化学コミュニケーション
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会・中長期シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北将樹、矢野佑介、鈴木麻由子、荒井厚志、森田真布、稲垣英利
2. 発表標題 哺乳動物毒における化学コミュニケーションの解明
3. 学会等名 新学術領域研究（化学コミュニ）第2回領域リトリート
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢野佑介, Maturana, Andres D., 森田真布, 北将樹
2. 発表標題 ブラリナトガリネズミ由来の神経毒ペプチドBPP類の合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会 (口頭発表)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷島 桜, 大館 智志, 河原 淳, 中島 啓裕
2. 発表標題 飼育実験による北海道産トガリネズミ属 4 種の 3 次元空間利用の種間差の解明
3. 学会等名 第68回 日本生態学会大会 (ポスター)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

名古屋大学 生命農学研究科 天然物ケミカルバイオロジー研究室 https://mkita64.wixsite.com/mysite

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
研究分担者	森田 真布 (MORITA Maho) (30865184)	名古屋大学・生命農学研究科・助教 (13901)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	大館 智志 (OHDACHI Satoshi) (60292041)	北海道大学・低温科学研究所・助教 (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関