

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19317

研究課題名（和文）熱耐性に寄与する代謝生理機構の解明

研究課題名（英文）Study of metabolism and physiology contributing to thermotolerance

研究代表者

小幡 史明（Obata, Fumiaki）

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：40748539

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）：本研究では、高い熱耐性を持つことが知られる砂漠アリ *Cataglyphis bombycina* が、どのように高温下で恒常性を維持しているかを比較生理学的に解明することである。その結果、*C. bombycina* は体内中にアミノ酸であるリシンが少ないことが明らかとなった。ショウジョウバエにリシン制限餌を食べさせたところ、オスについてもメスについても熱耐性が増大した。リシン制限餌は熱応答タンパク質の発現誘導には影響せず、またオートファジーにも依存しない機構で熱耐性を増加させた。リシン制限によりショウジョウバエの寿命が延長した。体内リシン量の低下により熱耐性や寿命が高まる可能性が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、高温耐性を有する砂漠アリ *C. bombycina* の特徴的な恒常性維持機構に根ざした代謝生理学的な知見を得る事が出来た。アミノ酸の一つの体内量が高温耐性に関わることはこれまで知られていない新しい発見であると考えられる。また、アリとショウジョウバエなど異なる昆虫間での比較生理学的な解析により、未知の代謝恒常性機構や生物の生存戦略について理解する事が可能となる可能性を示すことができ、理学的な知見を提供するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to elucidate the comparative physiology of how the desert ant *Cataglyphis bombycina*, which is known to be highly thermotolerant, maintains homeostasis at high temperatures. The results show that *C. bombycina* has low levels of the amino acid lysine in its body. Feeding *Drosophila* on a lysine-restricted diet increased thermotolerance in both males and females. The lysine-restricted diet increased thermotolerance by a mechanism that neither affected the induction of heat response protein expression nor depended on autophagy. Lysine restriction prolonged the lifespan of *Drosophila*. It is clear that a reduction in the lysine levels in the body may increase thermostability and lifespan.

Translated with DeepL.com (free version)

研究分野：栄養代謝生理学

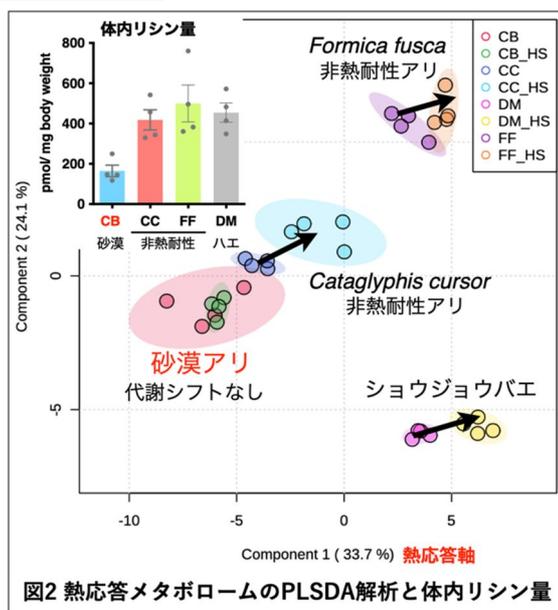
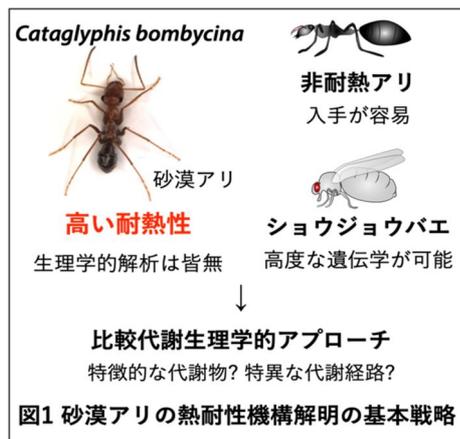
キーワード： *Cataglyphis bombycina* *Drosophila melanogaster* アミノ酸 代謝生理 熱耐性

1. 研究開始当初の背景

多くの動物にとって厳しい高温環境中での生存は困難である。特に昆虫は変温動物であることから、高温環境において外気温と同じ温度まで体内温度が変化するため、その適応は極めて難しい。これまで調べられている中で、最も高温に耐性をもつ昆虫の一つが、*Cataglyphis bombycina* などの砂漠に住むアリである。*C. bombycina* は、普段は穏和な地中の巣で生活をしている。しかしその働きアリは、熱耐性を持たない他の昆虫の死骸(=餌)を捕獲するために、地表温度 70 度を超える日中のサハラ砂漠の巣外へ出る (Ghering *et al.*, PNAS, 1989、Wehner *et al.*, Nature, 1992)。灼熱の砂漠において耐えらえる 10 分ほどの間に餌を探知し巣に持ち帰るために、感覚器官や運動器官が高精度に機能し続けるが、極高温下においてそのような活動を可能とする機構はほとんど明らかになっていない。これまで我々は、比較メタボローム解析を駆使して、*C. bombycina* に特徴的な代謝物プロファイルの解析を行ってきた。しかし、そのうちどのような特徴が熱耐性と関連するかは不明であった。

2. 研究の目的

本申請研究の目的は、高い熱耐性を持つことが知られる砂漠アリが、どのように高温下でも活動しているかを比較生理学的に解明することである(図 1)。特に予備的に明らかになってきたアミノ酸やその代謝物が、熱耐性の獲得においてどのように機能しているか、その分子機構を解明する。これまでの予備データから、熱耐性の低い種においては 45 度 10 分の熱処理によって、メタボロームが一様にシフトする一方、*C. bombycina* のメタボロームはほとんど変動しないことが示唆された(図 2)。興味深いことに、砂漠アリのメタボロームは熱の有無に関わらず熱応答軸である 1 軸上の左端に位置することが明らかとなった(図 2)。このことから、砂漠アリは、**定常状態の代謝パターンが既に他の種とは異なり、かつ熱によって変動しないことが示唆された。特にアミノ酸であるリシンが少なかった(図 2)。**したがって本研究では、リシンの低下が熱耐性と関係があるかを、熱耐性を持たないアリやショウジョウバエを用いて明らかにすることを試みた。



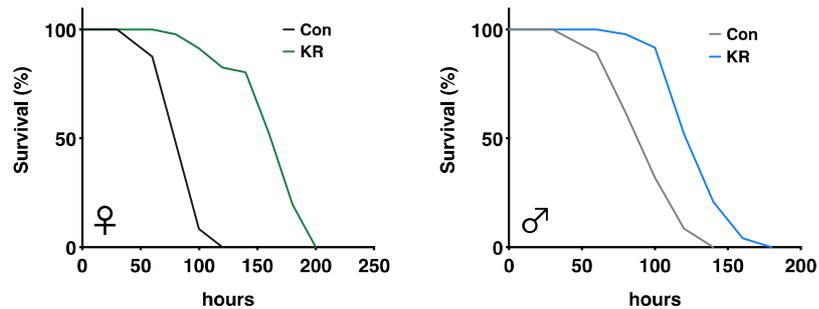
3. 研究の方法

ショウジョウバエを通常培地で飼育したのち、リシン欠乏餌を 1 日、3 日、7 日間摂食させる。およそ 40 種の精製した栄養素を混合することで作成する完全合成餌を利用し、ショウジョウバエにリシン制限をかける。37 度の湯浴にショウジョウバエを複数入れたバイアルごとに入れ、15~30 ごとの生存率を目視でカウントすることで熱耐性を測定する。また、熱耐性以外のストレス耐性や個体寿命について検討する。さらにリシン制限時にショウジョウバエ体内で起こる生理変化を、メタボローム(LC-MS/MS)・トランスクリプトーム(RNAseq)により詳細に記述し、その分子機構を遺伝学的に解明する。特にアミノ酸制限時に活性化することが知られるオートファジー関連遺伝子の欠損変異体を利用し、オートファジー亢進による熱耐性増強の可能性について検証する。さら

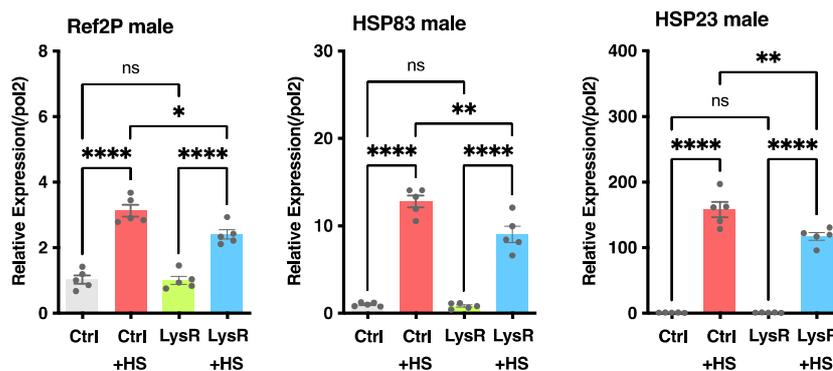
にリシン代謝酵素である LKRSDH の遺伝学操作により、熱耐性が変化するかを検討する。非耐熱性のアリとしてクロオオアリにリシン制限をかけて熱耐性が変化するかを検証する。

4. 研究成果

リシン欠乏餌を 1 日、3 日、7 日間摂食させたショウジョウバエの熱耐性が增加することを見出した。リシン欠乏餌に入れた時間が長くなればなるほど大きな熱耐性の増加が見られた。熱耐性の増加はオス、メスともに認められた一方、その効果はメスの方が強かった(右図)。熱ショック以外のストレスとして、酸化ストレスや飢餓耐性を測定したところ、これらについても生存率の増加が認められた。また、この時の体内リシン量を LC-MS/MS により測定すると、コントロール餌に比して 1/4 程度に減っていることが分かった。これは砂漠アリにおけるリシン量に近い数値である。このことから、体内リシン量を低下させることにより、熱耐性や種々のストレス耐性が增加することが示唆された。また、リシンを 10% まで低下させたリシン低下餌では個体寿命についても延長することが明らかとなった。



次に、リシン制限による熱耐性の増加が熱応答遺伝子の増強によるものである可能性を検討するため、RNAseq 及び熱ショックタンパク質(HSPs)や Ref2P に対する定量的 PCR によりその発現量を測定した。その結果、熱ショック応答時のこれらの熱応答遺伝子群の誘導レベルは、コントロール餌条件とリシン欠乏餌条件で同等であった(下図)。



RNAseq の結果からは、リシン制限によりいくつかの遺伝子発現に特徴的な変動が見られたが、その多くは定量的 PCR での再現が得られなかった。そこで、アミノ酸制限やストレスで活性化することが知られるオートファジーに着目した。オートファジー変異体では、コントロール餌の条件での熱耐性は低下した。しかし、リシン制限による熱耐性の増加は以前観察されたことから、オートファジーに依存しない熱耐性機構の存在が示唆された。

次に食餌中リシンの操作ではなく、遺伝学的にリシン代謝を操作したショウジョウバエを作成した。LKRSDH の過剰発現、及び変異を入れた LKRSDH の過剰発現を作出し、全身で過剰発現を行った。しかし LKRSDH の発現によって体内リシン量は大きく低下せず、また熱耐性の増強もなかった。一方、LKRSDH 変異体では体内リシン量が増加

し、熱耐性の低下傾向が確認された。

またクロオオアリについては様々なリシン制限餌を試し摂食させたが、熱耐性の優位な増強は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Fumiaki Obata
2. 発表標題 Nutritional regulation of lifespan in Drosophila
3. 学会等名 International Symposium on “Signals for Human, Animal and Planetary Health: From Metabolites To Biological Interactions” （招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小幡史明
2. 発表標題 アミノ酸の特異的感知による恒常性制御
3. 学会等名 国際アミノ酸科学協会 ICAAS第36回アミノ酸セミナー（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小幡史明
2. 発表標題 ショウジョウバエでアミノ酸感知機構を解く
3. 学会等名 第77回日本栄養・食糧学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

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

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			
ベルギー	Universite Libre de Bruxelles			