

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 26 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580157

研究課題名(和文) 昆虫の摂食行動関連因子の脳神経ネットワークが制御する生体応答と体内の分子変動解析

研究課題名(英文) Responses and fluctuation of endogenous factors by a neural hormone network in insect feeding behavior

研究代表者

永田 晋治 (Nagata, Shinji)

東京大学・新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：40345179

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：これまでカイコ幼虫から摂食行動に関わる脳神経系因子群を同定してきた。単一で決定的な調節因子が見られないことから、昆虫の摂食行動の調節メカニズムはネットワーク支配が重要と考えられた。本研究では、摂食行動調節でのホルモンネットワークの構造を見出すための基盤研究を中心に行った。成果として、機能未知であるITP (ion transport peptide)の受容体や、新規ホルモンGSRYアミドを同定できた。また、脳腸ペプチドが代謝酵素に関与することも見出した。現在、ホルモンで形成するネットワークグラフを作成中であり、評価系を確立し、摂食行動のネットワーク支配の形が見えてきた。

研究成果の概要(英文)：We have identified the factors modulating insect feeding behavior in the silkworm, so far. Because of the data which no crucial factor capable of controlling feeding behavior have been identified, we assumed that a hormone network should modulate the motivation of feeding behavior in insects. To address the hormone network at a molecular level, we have investigated several basic analyses during this project. As results, we have identified receptors for ITP (ion transport peptide: functional unknown peptide), and unknown peptide factors GSRYamides. In addition, brain-gut peptides can modulate feeding behavior like other animal systems via controlling intestinal metabolisms. Now, we are generating a network graph for hormones modulating feeding behavior. That evaluation method will contribute to further understanding the hormone network-modulating feeding behavior.

研究分野：昆虫

キーワード：昆虫生理学 ペプチド ホルモン 摂食行動

1. 研究開始当初の背景

植物を食べる植食性昆虫は、餌上で生活しながら、常に食べているわけではない。カイコ(*Bombyx mori*)では、約2時間の摂食周期があるが、この周期的な摂食行動は、蝶やガなど鱗翅目だけでなく、他の植食性昆虫でもみられる。しかし、この昆虫の周期的摂食行動の内分泌制御の分子メカニズムは、未だ明らかされていない。

申請者はこれまで、行動観察による生物検定系をもとに、カイコから数種の摂食行動関連因子を同定した。抑制系因子にはアラトトロピン、ミオサプレッシン、アラトスタチン、FMRF アミド関連ペプチド、GSRY アミドを、促進系には short neuropeptide F、タキキニンと同定した。摂食行動関連因子の発現解析の結果、脳と脳に付属する前額神経球、食道下神経節の或る領域に集中していた。これらの発現領域(以降、脳神経系とする)は、腸の蠕動運動や顎の開閉運動に関わる神経系が集中し、互いに連絡し合っているという生理学的な知見と一致した。すなわち、カイコの摂食行動関連ペプチドは、嚙む、腸を動かす、という摂食に関与する生体機能を脳神経系のネットワークで制御していると考えられた。

また、申請者は摂食関連因子やその受容体が、摂食条件に応じ、転写量や分泌量の変動することも見出した。ショウジョウバエ *Drosophila* でも、同様の摂食行動関連因子の発現部位が見出されているものの、摂食タイミングを考慮した摂食関連因子の量的変動や、摂食関連因子の標的細胞など、摂食行動を制御する脳神経ネットワークは解析されていない。同様に、運動神経や代謝調節への関与も、検討されていない。

本申請研究では、摂食行動に関連する脳神経系ネットワークを明らかにし、代謝、行動につながるシステムを個体全体のイベントとして解析する。最終的には、昆虫の代謝に依存する摂食行動を支配している分子メカニズムを明らかにすることを目指す。

申請者は、昆虫の摂食行動に関わるペプチド性因子群を、カイコを用いて明らかにしてきた。同様の研究は、申請者のグループの他に、*Drosophila* を用いた Nässel らのグループのみである。データ的には現時点では拮抗しているが、摂食行動関連ペプチドやその受容体の転写レベルが変動することが見られているのは申請者のグループだけである。一方、摂食条件で変動する体内状態が未知のシステムで認識され、最終的に摂食行動に結びつく、という着眼点の研究は、昆虫では申請者のグループだけである。また、古典的な天然物有機化学的手法を用いた化合物の同定に関しては、申請者のグループのみが行う。

カイコを用いて、体内の全体のイベントとして摂食行動を捉える本研究の延長上には、栄養摂食を行う全ての生物種での命題でも

ある、摂食状態で変化する体液中の栄養分の変動が引き起こす栄養要求性の脳神経ネットワークを明らかにできることが期待される。

2. 研究の目的

申請者は、昆虫の摂食行動に関わる様々な生理活性ペプチドをカイコから同定してきた。また、この摂食行動関連因子及びその受容体が、摂食状態に依存して、転写レベルで変動することも見出した。本研究の最終目標である、体内の栄養状態の認識機構の分子メカニズムを解明するため、本申請研究では、次の3つの課題を行うこととした。すなわち、カイコの摂食行動における、摂食行動関連因子の

- (A)脳神経系でのネットワークを解明し、
- (B)代謝、行動への機能解析、さらには
- (C)脳神経系ネットワークに作用する栄養分や代謝物などの化合物を同定する。

ここでは、昆虫の摂食行動の分子メカニズムを代謝と関連させ体内の統合的イベントとして俯瞰する。以降、上述の3つの研究目的 A~C の具体的な目標を記す。

A. 摂食関連因子及びその受容体の脳神経ネットワークを明らかにする。

先ず、カイコの摂食行動関連因子の発現細胞を、脳神経系を中心に調べる。同時に、カイコで明らかにされている各ホルモン受容体の発現を網羅的に解析する。発現領域や発現細胞を分析し、共発現する因子や受容体などから、カイコでの、摂食行動に関連する脳神経ネットワークで機能する因子を抽出する。次に、リストアップした摂食行動関連因子とその受容体の発現量の変動を、各摂食条件やホルモン投与による影響を解析する。

B. 各因子の代謝、行動への影響を解析する。

A. で明らかにした摂食行動関連因子の機能解析を、カイコ幼虫を用いて行う。実際には、各因子を投与し、消化・代謝酵素の活性、腸管の蠕動運動、各神経節での生体アミン量などを分析する。さらに、脳神経系と消化・代謝への神経連絡を検討する。

C. 摂食行動脳神経ネットワークに作用する体内の栄養分、代謝物などを明らかにする。

これまでに、カイコでアラトトロピンや sNPF の受容体の転写量が、摂食条件により変動することを明らかにした。生体内でこれらの転写量がどのような体内の化合物で制御されているかは明らかにされていない。そこで、転写変動に起因する生体内化合物を精製・単離し、その構造を明らかにする。これにより、カイコ幼虫の食餌のタイミングが体内のどのような分子で作られているかが見えてくる。

3. 研究の方法

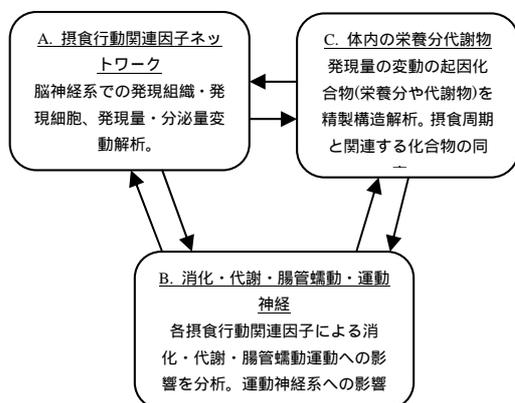
申請者がカイコを用いて明らかにした、摂食行動関連因子の発現解析をもとに、他の摂食行動関連因子を徹底的に抽出し、摂食行動に必要な各因子の発現解析及び機能解析を行う。実際には、カイコ幼虫を用いて、上述の3つの研究目的に即した下図のイメージで、以下の研究計画A~Cを行うこととした。

A. 摂食関連因子およびその受容体の脳神経系での発現部位と発現量を解析する。

B. 摂食行動関連因子による代謝・消化酵素、腸管の蠕動運動、生体アミンへの影響を分析する。

C. 摂食行動関連因子あるいはその受容体の発現量を変化させるような栄養分あるいは代謝物を同定する。

最終的には、摂食行動で起こる体内のイベントを統合的に解析し、体液中の栄養分の変動が引き起こす栄養要求性に依存した摂食行動の脳神経ネットワークを明らかにする。



4. 研究成果

これまで研究代表者のグループでは、カイコ *Bombyx mori* の幼虫から、脳神経系および腸管に含まれている、摂食行動に関わる因子群を精製・単離しさらに構造決定を行ってきた。また、近年明らかにされつつあるゲノム情報やトランスクリプトーム解析の成果より得られる多くのペプチド性因子が摂食行動に関連することを確認してきた。これらの結果から、昆虫の摂食行動を調節するため(特にモチベーションを構築するため)に必要な決定的な因子は、単一ではないことが徐々に明らかになってきた。すなわち、昆虫の摂食行動の調節メカニズムは、複数の因子がネットワークを構築し、支配されることが重要であると考えられた。

本研究課題では、昆虫の摂食行動を調節するためのホルモンとその受容体で形作るネットワーク構造を見出すための基盤研究に位置づけられている。すなわち、申請期間では、カイコを用いた摂食行動の検定系により、摂食行動を調節する因子を網羅的に探索した。それと平行して、これまでに明らかにされていないペプチド性因子に対する受容体も同定しようと試みた。

申請期間中の成果としては、これまでに機

能未知であり節足動物に特有なペプチド性因子の ITP (ion transport peptide) に対する受容体や、新規ホルモン GSRY アミドを同定した。

また、脳腸ペプチドのひとつである short neuropeptide F (sNPF) が、代謝酵素および消化酵素の活性化に関与することも明らかにした。

現在では、これまでに得られた複合的な調節因子がどのように脳神経系で調節しているかを理解するために、ペプチド性ホルモンが構築するネットワークグラフを作成中である。このネットワークの評価系を確立することが当面の目標であり、最終的には摂食行動のネットワークの形により本能的な行動予測へとつなげたい。

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. Morooka N, Nagata S, Shirai K, Kiguchi K, Nagasawa H. Identification and characterization of a feeding-modulating peptide, hemolymph major anionic peptide (HemaP) from the sweetpotato hornworm, *Agrius convolvuli*. 2012. FEBS Journal. 279(1):168-79. 査読有

2. Nagata S, Matsumoto S, Nakane T, Ohara A, Morooka N, Konuma T, Nagai C, Nagasawa H. Starvation reduces short neuropeptide F-1, -2 and -3 levels in the brain of the silkworm, *Bombyx mori*. *Frontiers in Experimental Endocrinology*. 2012. 3:e3. 査読有

3. Konuma T, Morooka N, Nagasawa H, Nagata S. Knockdown of the adipokinetic hormone receptor increases feeding frequency in the two-spotted cricket *Gryllus bimaculatus*. *Endocrinology*. 2012. 153(7):3111-22. 査読有

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

5. 永田晋治, 「昆虫の行動を制御するホルモンの研究の最近の動向」, 化学と生物, 3月号, 51(3), 168-176.

6. Tsukamoto Y, Kataoka H, Nagata S. 2014. Mating changes the female dietary preference in the two-spotted cricket,

Gryllus bimaculatus. *Frontiers in Physiology* 5: 95. 査読有

7. Nagata S, Kobayashi J, Kataoka H, Suzuki A. 2014. Structural determination of an N-glycan moiety attached to the prothoracicotropic hormone from the silkworm *Bombyx mori*. *Biosci, Biotech Biochem.* 78, 1381-3. 査読有

8. Suzuki H, Yokokura J, Ito T, Arai R, Toshima H, Nagata S, Asami T, Suzuki Y. 2014. Biosynthetic pathway of the phytohormone auxin in insects and screening of its inhibitors. *Insect Biochem Mol Biol.* 53, 66-72. 査読有

9. Nagai C, Mabashi AH, Nagasawa H, Nagata S. Identification and characterization of receptors for ion transport peptide (ITP) and ITP-like (ITPL) in the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Biological Chemistry*, 289: 32166-77. 査読有

〔学会発表〕(計 21 件)

2015 年

3月29日 日本農芸化学会 @岡山大学(岡山県、岡山市)

1. 永田晋治、塚本悠介、鈴木穂 「RNA-sequencing 解析によるフタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* の脳神経系ペプチドの同定」

2. 塚本悠介、永田晋治 「フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* におけるアラトスタチン B タイプによる摂食行動の制御機構の解明」

3. 福村圭介、永田晋治 「フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* の脂肪酸不飽和化酵素 9-および 12-desaturase の発現変動解析」

4. 伊藤尚子、永田晋治 「フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* における自然免疫にかかわる転写因子の dorsal の同定」

2月16 - 19日 Invertebrate neuropeptide conference 2015、Aureum Palace Hotel (ミャンマー、バガン市)

5. Tsukamoto Y, Nagata S, "Comprehensive analyses of neuropeptides in the response to different feeding states in the two-spotted cricket, *Gryllus bimaculatus*"

6. Nagata S, Tsukamoto Y, "Comparative analyses of neuropeptides from the silkworm, *Bombyx mori* and the two-spotted cricket, *Gryllus bimaculatus*"

2014 年

12月2日 広島大学生物機能開発学セミナー(招待講演)、広島大学(広島県、東広島市)

7. 永田晋治 「昆虫の摂食行動の内分泌制御が支配する生命維持装置」

9月5日 茨城大学農医連携シンポジウム(招待講演)、茨城大学阿見キャンパス(茨城県、稲敷郡)

8. 永田晋治 「昆虫における栄養分依存的な摂食行動-内分泌系が支える生命維持装置-」

7月26日 日本学術会議公開シンポジウム「昆虫における刺激の受容とその反応」(招待講演)、日本学術会議講堂(東京都、港区)

9. 永田晋治 「昆虫の摂食行動の内分泌制御」

3月30日 日本農芸化学会、明治大学(神奈川県、川崎市)

10. 塚本悠介、永田晋治 「フタホシコオロギにおける摂食行動を制御する神経ペプチドの網羅的変動解析」

11. 小沼貴裕、長澤寛道、永田晋治 「フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* の脂肪酸不飽和化酵素 delta 9-および delta-12-desaturase のクローニングと酵素活性測定」

12. 永田晋治 「フタホシコオロギの選好性摂食行動の自動計測システム作成」

3月11日 蚕糸・昆虫利用学術講演会、日本大学(神奈川県、藤沢市)

13. 永田晋治 「カイコの摂食行動調節ペプチド GSRV アミドの受容体の同定と解析」

2013年

12月4日 日本分子生物学会、国際会議場(兵庫県、神戸市)

14. 永田晋治 「カイコの前額神経球における摂食行動を調節するペプチドホルモンおよびその受容体の発現解析」

10月24日~25日 日本比較内分泌学会、宮崎市民プラザ(宮崎県、宮崎市)

15. 永田晋治、大原彩子、長澤寛道 「カイコ幼虫における short neuropeptide による腸管由来消化酵素の調節」

5月11日 三省堂サイエンスカフェ、三省堂書店(東京都、千代田区)

16. 永田晋治 「昆虫が餌を食べる。環境で暮らす。」

3月24日~3月27日 日本農芸化学会年次大会、東北大学(宮城県、仙台市)

17. 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レベルと摂食行動との関連性の解析」

18. 塚本悠介、永田晋治、長澤寛道 「フタホシコオロギにおける交尾後に惹起される摂食行動に関わる生体内因子の同定の試み」

19. 大原彩子、永田晋治、長澤寛道 「カイコにおける神経ペプチド short neuropeptide F が中腸のプロテアーゼ活性に与える影響」

20. 永田晋治、長澤寛道 「フタホシコオロギにおける餌に含まれる共食いを抑制する因子の同定の試み」

2012年

12月11日 分子生物学会、福岡マリメッセ(福岡県、博多市)

21. 永田晋治、長澤寛道 「カイコ *Bombyx mori* の前額神経球に発現しているペプチドホルモン利尿ホルモン 31 は幼虫の摂食行動を調節する」

〔図書〕(計 0件)

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<https://sites.google.com/site/teamnagata2013/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永田晋治 (NAGATA, Shinji)
東京大学・大学院新領域創成科学研究科・
准教授
研究者番号：40345179

(2) 研究分担者

該当者なし

(3) 連携研究者

該当者なし