

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 25 日現在

機関番号：82112

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450491

研究課題名(和文) 鱗翅目昆虫幼虫の摂食行動制御機構における味覚と生体アミン情報の役割と接点

研究課題名(英文) Roles of taste and biogenic amines for regulatory mechanisms of feeding behavior in Lepidopteran larvae

研究代表者

朝岡 潔 (Asaoka, Kiyoshi)

国立研究開発法人農業生物資源研究所・その他部局等・研究主幹

研究者番号：80391580

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：ヤママユガ幼虫で味覚刺激による飲み込み行動を調べたところ、糖類による誘発とアルカロイドによる抑制作用があり、それらを受容する味覚細胞の存在する場所(小腮、上咽頭)との関連はなかった。カイコ幼虫で生体アミン関連物質の注射により摂食行動を調べたところ、オクトパミンによる摂食量の亢進、セロトニンによる抑制があった。また、ドーパミン受容体のアンタゴニストに摂食抑制作用があり、D2-likeドーパミン受容体のアゴニストに高い摂食亢進と排糞作用があることがわかった。広食性カイコとシヨ糖飼料を用いた実験により、そのアゴニストはシヨ糖の味覚情報処理を中枢又は末梢で制御すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Analyzing speed of sucking droplets in *Antheraea yamamai* larvae showed that some sugars induced the feeding behavior, and an alkaloid suppressed on the other hand. The taste receptor cells to these stimulants located either on the maxillary galea or the epipharynx, and the behavior did not correlate with the location. Feeding behavior of *Bombyx mori* larvae by injecting biogenic amines or their related substances showed that octopamine accelerated feeding, and serotonin suppressed. Some antagonists to dopamine receptor suppressed feeding, and an agonist to D2-like dopamine receptor remarkably accelerated feeding and defecation. Additional experiments using polyphagous silkworm strains and simple sucrose diets suggested that the agonist regulated feeding behavior via the taste information processing either in the peripheral or the central nervous system.

研究分野：昆虫行動生理

キーワード：鱗翅目昆虫 味覚 生体アミン 受容体 摂食行動

1. 研究開始当初の背景

鱗翅目昆虫には、産業上利用される有用昆虫であるカイコやヤママユガ等のほか、農業に甚大な被害を与える害虫としても数多くの種類が知られている。カイコやヤママユガは幼虫期のみ栄養摂取し、農業害虫の多くは幼虫による食害である。カイコにおいては主には人工飼料の開発を目的として、古くから栄養生理や感覚生理の研究が世界に先駆けて行われてきた。害虫の摂食刺激物質や阻害物質等の同定等の研究も数多い。しかし、鱗翅目に限らず、昆虫における摂食行動の神経支配やペプチド・生体アミン等の伝達物質による制御メカニズムについては未解明な部分が多い。

このため、申請者を含む研究グループでは、主に味覚情報及び生体アミンの摂食行動に及ぼす作用機構に着目し、未だ知見として不足している各感覚器官の摂食行動に及ぼす役割の違い、そして味覚入力情報と情報伝達物質としての生体アミンを繋ぐ接点の研究を進めてきた。

生体アミンは神経伝達・修飾物質としてよく知られ、中枢における役割を解明する研究が昆虫でも多い。カイコでは分担者の太田らが7種の生体アミン受容体を単離・同定し、さらに未同定のものについてもクローニングを進めている。化学感覚と生体アミンの関係では、嗅覚細胞では、オクトパミンによる修飾が特にフェロモン受容でよく知られている。味覚応答の感受性に関しては、我々が通常行っている電気生理学的な応答解析からも、ステージによる違い、時間による変化などが現象としてはしばしば観察されるため、何らかの液性情報が修飾に関わることが考えられるが、昆虫味覚細胞の感受性の修飾メカニズムはほとんど分かっていない。

2. 研究の目的

本研究においては、摂食行動における味覚器官の役割及び生体アミンの役割を明らかにする。このため、異なる味覚細胞を持つ鱗翅目昆虫種や食性異常のカイコ系統の幼虫を用いて、生体アミン関連試薬の投与を組み合わせた条件で味覚刺激による摂食行動の解析等を行うことにより、感覚器官ごとの味覚情報と生体アミンによる摂食行動の制御メカニズム解明のための知見を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

摂食行動の検定法としては、摂食量によるほか、摂食時間や休息时间等の時間的解析、咀嚼運動に関しては大顎閉筋からの筋電位記録、飲み込み運動に関しては口腔の環状圧縮筋からの筋電位記録等を活用する。また、口器に味刺激物質を含む水滴を投与したときの吸水行動を解析する。そのため、実体顕微鏡下での動画撮影を行い、水滴がなくなるまでの時間、あるいは2時点における水滴の

直径計測から吸水速度を計測する。

カイコの摂食行動の解析においては、申請者が育成に携わった広食性蚕品種「あさぎり」等も使い、セルロースと寒天にショ糖を混ぜることによって摂食することを確かめ、味覚刺激物質の影響を解析する。

味覚応答については、小腮粒状体有柄感覚子や上咽頭の感覚子からの電気生理学的応答をチップレコーディング法により記録し、代表的な味覚刺激に対する味細胞毎の感受性を調べる。

生体アミンがカイコの摂食行動に及ぼす影響を調べるため、分担者(太田)が同定した生体アミン受容体に作用する生体アミンあるいはそのアゴニスト・アンタゴニスト類を注射等により投与し、人工飼料与えた後の摂食量、排糞量、摂食行動リズム等の解析を行う。

分担者(太田)はこれまでにカイコからオクトパミン受容体を2種類、チラミン受容体を2種類、ドーパミン受容体を3種類の合計7種類のクローニングと機能同定に成功している。小腮、上咽頭などの口器感覚器官におけるこれらの生体アミン受容体遺伝子の発現挙動を RT-PCR 等で調べる。

4. 研究成果

カイコとヤママユガの幼虫において、口器に水滴を与えて吸水速度を解析する方法を用いて、味覚刺激による摂食行動の影響を調べた。両種ともショ糖は吸水行動を誘発し、イノシトールと果糖はヤママユガで吸水行動を誘発したが、ストリキニーネは抑制的に作用した。鱗翅目昆虫幼虫は小腮と上咽頭に味覚細胞があり、両種ともショ糖受容細胞は小腮に1対ずつ、イノシトール受容細胞はカイコでは小腮と上咽頭に類似の性質を示す各1対の細胞が、ヤママユガでは小腮に異なる応答パターンを示す2対の細胞が存在する。また、ヤママユガの上咽頭にはそれぞれ果糖とストリキニーネに応答する細胞が存在する。通常は咀嚼することなしに飲み込み行動

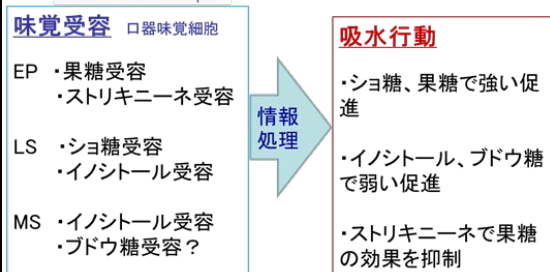
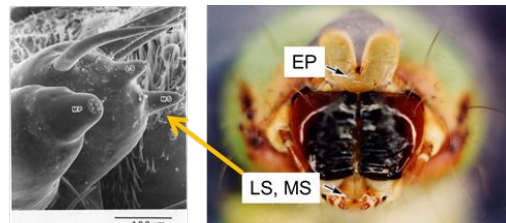


図. ヤママユガ幼虫の味覚受容器官と吸水行動
EP:上咽頭感覚子, LS:小腮有柄感覚子(外側), MS:小腮有柄感覚子(内側)

が起こることから、咀嚼と飲み込みは独立した運動であり、味覚刺激の種類によって異なる反応があることが分かった。少なくとも吸水行動に関しては、小腸と上咽頭という味覚細胞が存在する場所による反応の違いは見られなかった。

カイコ5齢幼虫に生体アミンの関連試薬を注射した後の人工飼料に対する摂食行動の解析を行ったところ、オクトパミンによる摂食量の亢進、セロトニンによる抑制があり、チラミンとドーパミンでは変化がなかった。アンタゴニストを注射した結果、ドーパミン受容体のアンタゴニストのフルペンチキソール及びクロルプロマジンに摂食抑制作用があることが分かった。フルペンチキソール注射による摂食行動リズムへの影響を調べた結果、摂食と休息の規則的なパターンが乱れること、さらには、摂食開始時に見られる頭部の持ち上げや採餌のための口コモーションが断続的に起こる個体も見られた。この結果から、ドーパミン受容体アンタゴニストによる摂食抑制作用は、単なる運動機能の阻害ではないことが予想された。これまでの研究で、フルペンチキソールはカイコのドーパミン受容体 BmDopR2 に特異的に作用することが明らかとなっていることから、カイコの摂食行動制御に、BmDopR2 が深く関わっていることが示唆された。今後は、BmDopR2 を介した味覚調節機構の有無を調べる必要がある。

一方、D2-like ドーパミン受容体のアゴニストであるプロモクリプチン (Bro) を注射すると、高い摂食亢進と排糞が認められ、口コモーションの向上も観察された。Bro 類縁体のペルゴリドについても試験した結果、摂食量は増加傾向にあったが、排糞量や口コモーションの変化は観察されなかったことから、Bro とは異なる受容体に作用している可能性がある。

D2-like ドーパミン受容体を介した摂食亢進と味覚との接点を明確にするために、広食性カイコ (あさぎり及び沢 J 由来系統) を用い、味覚刺激物質としてショ糖のみを含む飼料を摂食させて行動解析を行ったところ、ショ糖の効果に關与する摂食亢進作用が観察された。あさぎりに関しては、4 齢期で飼育飼料が変わると、実験で用いるショ糖飼料の摂食量が低下し、その分 Bro の亢進作用が顕在化しやすくなることも見出した。これらの結果は、Bro は摂食刺激物質であるショ糖の味覚シグナルを中枢又は末梢で制御することで、カイコの摂食量を向上させていることを示唆している。

小腸粒状体や上咽頭などの味覚器官を含む部位において、生体アミン受容体遺伝子の発現を示唆する結果が得られたが、サンプル組織の採取方法や mRNA の抽出方法を検討して再調査する必要がある。

以上のことから、カイコの体内には、系統の違いによる差異はあるものの、D2-like ドーパミン受容体を介したショ糖シグナル

の調節とそれに伴う摂食制御機構が存在することが分かった。D2-like ドーパミン受容体として、これまで BmDopR3 を我々はクローニングしてきたが、別予算の研究で、新規 D2-like ドーパミン受容体 BmDopR4 遺伝子のクローニングにも成功したことで、ショ糖シグナルの調節に關与する受容体の候補として、カイコには 2 種類の D2-like ドーパミン受容体が關係する可能性が出てきた。

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 3 件)

太田 広人 (2015) 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」日本農薬学会誌, 40(1), 97-100.

DOI: <http://doi.org/10.1584/jpestics.W14-23>

Ohta H., Ozoe Y. (2014) Molecular signaling, pharmacology, and physiology of octopamine and tyramine receptors as potential insect pest control targets. *Advances in Insect Physiology* 46, 73-166. DOI:10.1016/B978-0-12-417010-0.00002-1

Sasaki K., Ooki Y., Endo Y., Asaoka K. (2013) Effect of dietary inositol with sucrose stimulation on chewing and swallowing motor patterns in larvae of the silkworm *Bombyx mori*. *Physiological Entomology* 38, 326-336. DOI:10.1111/phen.12038

[学会発表](計 8 件)

白根聡, 菅野暉子, 前原志穂里, 朝岡潔, 光増可奈子, 柳沼利信, 森村茂, 新留琢郎, 太田広人 カイコのドーパミン受容体薬理解析 - そこから見えてきた同昆虫の摂食障害/パーキンソン病モデルとしての可能性 - 第 3 回熊本大学医工連携フォーラム - 生命科学・自然科学分野の連携 - 2015 年 12 月 14 日 熊本大学 (熊本県熊本市)

菅野暉子, 崎田遼, 平野汐奈, 野田啓太, 尾添嘉久, 光増可奈子, 柳沼利信, 朝岡潔, 平島明法, 森村茂, 新留琢郎, 太田広人 カイコ生体アミン受容体 BmOAR1 と BmDopR2 の比較分子薬理解析 第 37 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2015 年 11 月 20 日 熊本大学薬学部 (熊本県熊本市)

崎田遼, 菅野暉子, 尾添嘉久, 朝岡潔, 田中良明, 森村茂, 新留琢郎, 太田広人 エクオリンカルシウムアッセイを利用したカイコオクトパミン受容体 BmOAR1 の薬理解析 日

本農芸化学会 2015 年度中四国・西日本支部
合同大会 2015 年 9 月 18 日 愛媛大学農学
部 (愛媛県松山市)

太田広人, 菅野暉子, 崎田遼, 平野汐奈, 野
田啓太, 尾添嘉久, 光増可奈子, 柳沼利信,
朝岡潔, 平島明法, 森村茂, 新留琢郎 カイ
コ生体アミン受容体 BmOAR1 と BmDopR2 の機
能及び薬理学的性質の比較 日本農芸化学
会 2015 年度中四国・西日本支部合同大会
2015 年 9 月 18 日 愛媛大学農学部 (愛媛県
松山市)

太田広人, 菅野暉子, 光増可奈子, 柳沼利信,
朝岡潔, 林直孝, 今井哲弥, 森村茂, 新留琢
郎 摂食行動調節に関わるカイコドーパミン
受容体 BmDopR2 のアンタゴニストスクリー
ニングと in vivo 活性評価 日本農薬学会第 40
回大会 2015 年 3 月 19 日 玉川大学農学部
(東京都町田市)

太田広人 農薬の作用点から見た昆虫の化
学物質の受容と反応 日本学会議公開シ
ンポジウム「昆虫における刺激の受容とその
反応」 2014 年 7 月 26 日 日本学会議講
堂 (東京都港区)

菅野暉子, 野田啓太, 光増可奈子, 柳沼利信,
朝岡潔, 林直孝, 今井哲弥, 森村茂, 新留琢
郎, 太田広人 無脊椎動物特異的ドーパミン
受容体に作用するアンタゴニストの効率的
スクリーニング系の構築 日本農薬学会第
39 回大会 2014 年 3 月 14 日 京都大学農学
部総合館 (京都府京都市)

朝岡潔, 佐々木謙 チョウ目昆虫幼虫の口器
味覚細胞の咀嚼と飲み込み行動における役
割について - カイコとテンサンの研究から -
日本野蚕学会第 19 回大会 2013 年 11 月
16 日 東京農工大学科学博物館 (東京都小金
井市)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: ドーパミン受容体作用物質のスクリー
ニング方法

発明者: 林直孝, 太田広人, 菅野暉子

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2014-184801 (特開 2016-54698)

出願年月日: 2014 年 9 月 11 日

国内外の別: 国内

取得状況 (計 1 件)

〔その他〕

農業生物資源研究所ホームページ

<http://www.nias.affrc.go.jp/>

熊本大学工学部物質生命科学科ホームペー
ジ

<http://www.chem.kumamoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

朝岡 潔 (ASAOKA, Kiyoshi)

国立研究開発法人農業生物資源研究所・そ
の他部局等・研究主幹

研究者番号: 80391580

(2) 研究分担者

太田 広人 (OHTA, Hiroto)

熊本大学・自然科学研究科・助教

研究者番号: 60450334