

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 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：2014～2016

課題番号：26450471

研究課題名(和文) 昆虫における食欲促進/減退を引き起こす生理活性ペプチドの発見

研究課題名(英文) Identification of novel bioactive peptides to modulate feeding behavior in insects.

研究代表者

井田 隆徳 (Ida, Takanori)

宮崎大学・産業動物防疫リサーチセンター・准教授

研究者番号：00381088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、節足動物において新規生理活性ペプチドの探索を行い、これらペプチドの摂食行動への関与を解明することにより害虫の防除や有用節足動物の効率的育成を目指すことを目的とした。その結果私達は、これまでにショウジョウバエの未知の受容体に対する5種類の新規生理活性ペプチドを発見した。CCHamideはfat bodyから分泌され脳内のインシュリン産生細胞に作用し、インシュリン様ペプチドの分泌を調節して成長をコントロールしていることを見出した。またdRYamideは強力な摂食抑制作用を持つ共に、クルマエビは潜砂行動を誘発することも見出し産業応用への可能性を探っている。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is hunting of novel bioactive peptides and elucidation of physiological role of these peptides in arthropod. Especially, I try to elucidate the feeding behavior for these peptides, and aim at disinfection of a harmful insect and efficient upbringing of the useful arthropod.

As a result, we found five novel bioactive peptides for drosophila orphan receptors. We clarified CCHamide secreted from fat body affected to insulin producing cell in the brain, and modulated secretion of insulin-like peptide, then controlled growth. In addition, we clarified dRYamide had strong anorexigenic activity in fly and prawn. These functions are looking for a possibility to the industrial application.

研究分野：生理・生化学

キーワード：新規生理活性ペプチド オーファン受容体 昆虫 摂食行動

## 1. 研究開始当初の背景

昆虫を含む節足動物の摂食行動に対する制御メカニズムは未知な点が多い。特に内分泌制御の解明については、ホ乳類に比べるとこれまでほとんど明らかにされていない。これは摂食行動を調節する因子、また作用する受容体の発見が遅れていることによると考えられる。申請者は現在、ショウジョウバエの未知の受容体に対する新規生理活性ペプチドを5種類発見している。本研究では、さらなる新規生理活性ペプチドの探索を行い、これらペプチドの摂食行動への関与を解明することにより害虫の防除や有用脊椎動物の効率的育成を目指す。

## 2. 研究の目的

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。昆虫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、害虫の防除や有用昆虫の効率的育成などに応用でき非常に意義深い。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近年注目されている。その理由は、血中に分泌されればホルモンとして、また神経に存在していれば神経伝達物質として作用すること。比較的早く分解されるので作用する時期にのみ効果を発揮すること。大部分がGタンパク質共役型受容体の特異的なリガンドとして作用するので作用部位が特定できること。などから食欲制御機構の解明、さらには創薬への展開が期待できるためである。従って昆虫における食欲制御メカニズムを解明するためには、食欲に関与する生理活性ペプチドの発見、解析が不可欠である。しかし多くの節足動物において、作用するペプチドが未知なオーファン受容体がデータベース上から多

数存在することが確認されているにも関わらず、新規生理活性ペプチドはほとんど発見されていない。申請者はこれまで、ショウジョウバエの未知の受容体に対する新規生理活性ペプチドを5種類発見しているが本研究ではさらなる節足動物新規生理活性ペプチドの探索、並びに新たに発見したこれらペプチドの摂食調節機構の解明、さらにこれらの知見をもとに各節足動物での食欲を調節する応用研究を目指すことを目的とした。

## 3. 研究の方法

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について、まずモデル生物として有用なショウジョウバエで行う。方法としてショウジョウバエからペプチドを抽出し、構造解析を行う手法を用いるが、その利点としては、遺伝情報からだけではわからない、前駆体からの切り出される部位、さらに修飾基の存在を明らかにすることが出来ることである。これらの結果をもとに各昆虫でのペプチドと受容体の探索を行う。次に発見した新規生理活性ペプチドについてその受容体とともにショウジョウバエにおいて、摂食調節機構への関与を中心とした生理機能の解明を行う。これらの情報を元に、各節足動物での摂食行動をペプチドによってコントロールする応用研究へと展開していく。

## 4. 研究成果

本研究では、昆虫において新規生理活性ペプチドの探索を行い、これらペプチドの摂食行動への関与を解明することにより害虫の防除や有用昆虫の効率的育成を目指すことを目的とした。その結果私達は、これまでにショウジョウバエの未知の受容体に対するCCHamide-1、CCHamide-2、dRYamide-1、dRYamide-2、trissinなど5種類の新規生理活性ペプチドを発見した。まず、これら発見したペプチドがショウジョウバエのどこに分

布しているのか特異抗体を用いた免疫染色にて明らかにした。それぞれ、脳や fat body など摂食行動に関係の深い部位に発現を認め、実際に CCHamide は強力な摂食促進作用を持っていることに対して、dRYamide は強力な摂食抑制作用を持っていることを発見した。さらに CCHamide の摂食促進作用は fat body から分泌された CCHamide が脳内のインシュリン産生細胞に作用し、インシュリン様ペプチドの分泌を制御することによって発現指定可能性を見出した。昆虫でのさらなる新規生理活性ペプチドの探索のために、これまでアッセイに用いていたホ乳類細胞に加え、昆虫細胞でのアッセイ系も立ち上げた。それと同時に昆虫と同じ節足動物であるクルマエビにおいてもこれらペプチドを同定し、摂食調節機構への関与を明らかにし、産業応用への可能性を探っている。さらにより詳細なメカニズム解明のため、モデル生物として有用な線虫においてもこれら新規生理活性ペプチドの類縁ペプチドを発見し、解析を始めている。

#### 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8件)

全て査読あり

1.

Kono T, Ida T, Kawahara N, Watanabe F, Biswas G, Sato T, Mori K, Miyazato M

Identification and immunoregulatory function of neuromedin U (Nmu) in the Japanese pufferfish Takifugu rubripes

*Dev Comp Immunol.* 73 246-256; 2017

10.1016/j.dci.2017.03.007

2.

Mekata T, Kono T, Satoh J, Yoshida M, Mori K, Sato T, Miyazato M, Ida T\*

Purification and characterization of bioactive peptides RYamide and CCHamide in the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*

*Gen Comp Endocrinol.* 246 321-330; 2017

10.1016/j.ygcen.2017.01.008

3.

Maeda T, Nakamura Y, Shiotani H, Hojo M, Yoshii T, Ida T, Sato T, Yoshida M, Miyazato M, Kojima M, Ozaki M

Suppressive effects of dRYamides on feeding behavior of the blowfly, *Phormia regina*

*Zoological Letters.* 1(35) 1-10; 2015

10.1186/s40851-015-0034-z. eCollection 2015

4.

Sato T, Oishi K, Ida T, Kojima M

Physiological functions and pathology of ghrelin

*American Journal of Life Sciences.*

3(3-2):8-16;2015

10.11648/j.ajls.s.2015030302.13

5.

Ida T\*, Iwamoto E, Sato T, Kojima M

Identification and application of *Drosophila* novel bioactive peptides dRYamides

*American Journal of Life Sciences.*

3(3-2):3-7;2015

10.11648/j.ajls.s.2015030302.12

6.

Sano H, Nakamura A, Texada M, Truma J,

Ishimoto H, Kamikouchi A, Nibu Y, Kume K,

Ida T, Kojima M

The nutrient-responsive hormone CCHamide-2

controls growth by regulating insulin-like

peptides in the brain of *Drosophila melanogaster*

*PLoS Genetics*:11(5): e1005209; 2015

10.1371/journal.pgen.1005209

7.

Veenstra JA, Ida T

More *Drosophila* enteroendocrine peptides:

Orcokinin B and the CCHamides 1 and 2

*Cell Tissue Res*:357(3);607-21; 2014

10.1007/s00441-014-1880-2

8.

Sato T, Ida T, Nakamura Y, Shiimura Y,

Kangawa K, Kojima M

Physiological roles of ghrelin in obesity

*Obes Res Clin Pract*:8(5);405-13; 2014

10.1016/j.orcp.2013.10.002

[学会発表](計16件)

1.

佐藤貴弘、井田隆徳、児島将康

「生体リズムとホルモン～自律神経系への作

用について」

第 87 回日本動物学会シンポジウム：ペプチド・ホルモン研究の現状と課題

2016 年 11 月 17 日 沖縄県宜野湾市沖縄コンベンションセンター

2.

**井田隆徳**、佐藤貴弘、児島将康

「新規ペプチド探索について～ホルモン探索の現状と未来」

第 87 回日本動物学会シンポジウム：ペプチド・ホルモン研究の現状と課題

2016 年 11 月 17 日 沖縄県宜野湾市沖縄コンベンションセンター

3.

**Takanori Ida**, Takahiro Sato, Masayasu Kojima  
Identification of the novel bioactive peptides for model organism orphan GPCRs

the Joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology (ICZ) & the 87th meeting of the the Zoological Society of Japan (ZSJ)  
14 - 19 November, 2016 in Okinawa, Japan.

4.

Takahiro Sato, **Takanori Ida**, Masayasu Kojima  
the Joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology (ICZ) & the 87th meeting of the the Zoological Society of Japan (ZSJ)  
Thermoregulation by ghrelin under restricted feeding in mice

14 - 19 November, 2016 in Okinawa, Japan.

5.

**井田 隆徳**、岩本 絵里

「異分野融合：新規生理活性ペプチドの探索」  
第 7 回 ペプチド・ホルモン研究会

2016 年 9 月 17 日 福岡県久留米市エスプリ

6.

Morihiro Oota, **Takanori Ida**, Reira Suzuki, Chie Shimaoka, Masatugu Hashiguti, Ryo Akashi, Takashi Ishida, Shinichiro Sawa

Analysis of plant attractant of root knot nematode, *Meloidogyne incognita*

32nd Symposium of the European Society of Nematologists 28 August - 1 September 2016 Braga, Portugal.

7.

**井田隆徳**

「モデル生物における新規生理活性ペプチドの探索」

第 40 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

2016 年 8 月 26 日～8 月 28 日 鹿児島県指宿市ベイテラス

8.

Taishi Yoshii, Yuri Fujiwara, Christiane Hermann-Luibl, **Takanori Ida**, Charlotte Helfrich-Förster

Reciprocal communications of clock neurons via PDF and CCHa1 neuropeptides in *Drosophila*

The Society for Research on Biological Rhythms  
May 21-25 2016 in Palm Harbor, Florida, USA.

9.

藤原有里, **井田隆徳**, 吉井大志「キイロショウジョウバエにおける概日時計の新規出力因子 CCHa1 神経ペプチドの機能解析」  
第 86 回日本動物学会, 2015 年 9 月 17-19 日 新潟県新潟市朱鷺メッセ・新潟コンベンションセンター

10.

藤原有里, **井田隆徳**, 吉井大志 「The CCHa1 neuropeptide as a new candidate for an output factor of the *Drosophila* circadian clock」  
第 22 回日本時間生物学会学術大会, 2015 年 11 月 21-22 日 東京都文京区東京大学

11.

**Takanori Ida**

Identification of the novel bioactive peptides for *Drosophila* orphan GPCRs

第 40 回日本比較内分泌学会・第 37 回日本比較生理生化学会 合同大会 (CompBiol 2015 広島大会)

2015 年 12 月 12 日 広島県広島市アステールプラザ

12.

**井田隆徳**

「夢・希望・現実 -研究を続けようか迷う君へ-」

第 30 回日本下垂体研究会学術集会 若手企画  
2015 年 8 月 5 日 富山県黒部市 宇奈月国際会館セレネ

13.

**井田隆徳**、岩元絵里

「新規生理活性ペプチドの探索-モデル生物から哺乳類まで-」

第 1 回 帝京大学若手内分泌セミナー

2015 年 4 月 25 日 東京都板橋区 帝京大学

14.

**Takanori Ida**, Masayasu Kojima

Identification of the novel bioactive peptides for Drosophila orphan GPCRs.

The Conference on Bioactive Peptides for Cell-Cell Communication 2014 - The 30th Anniversary of ANP (Atrial Natriuretic Peptide) Discovery -

Sep 11, 2014 Kyoto, Japan

15.

**Takanori Ida**, Masayasu Kojima

Identification of the invertebrate novel bioactive peptides for Drosophila orphan GPCRs.

20th International Symposium on Regulatory Peptides (REGPEP2014)

Sep 8, 2014 Kyoto, Japan

16.

### **井田隆徳**

新規生理活性ペプチドの探索

第 11 回 GPCR 研究会.

2014 年 5 月 9 日 東京都江東区 日本科学未来館

〔図書〕(計 2 件)

1.

### **井田隆徳**

農山漁村文化協会

生物科学「味覚」特集号

「モデル生物を利用した新規摂食調節ペプチドの探索」2016 年 94-103 頁

2.

佐藤貴弘、**井田隆徳**、児島将康

### **メディカルレビュー社**

The lipid

摂食調節ペプチドと飢餓応答

2015 年 35-39 頁

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.cc.miyazaki-u.ac.jp/a0d203u/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

井田 隆徳 (Takanori Ida )

宮崎大学・産業防疫リサーチセンター・

准教授

研究者番号：00381088

(3)連携研究者

尾崎 まみこ (Mamiko Ozaki )

神戸大学・理学研究科・教授

研究者番号：00314302

桑 和彦 (Kazuhiko Kume )

名古屋市立大学・薬学部・教授

研究者番号：30251218

(4)研究協力者

富永 初美 (Hatsumi Tominaga )

宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・技能補佐員

岩元 絵里 (Eri iWamoto )

宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・技能補佐員