



昆虫の摂食行動に関する生物有機化学的研究

東京大学大学院農学生命科学研究科 応用生命化学専攻 永田 晋治

はじめに

植物を食べる植食性昆虫は、嗜好する植物に住んでいるにもかかわらず、どちらかという、食べていない時間のほうが長い。このことから、昆虫が「いつ食べ始め、いつ食べ終わるか」という制御が、餌ではなく、内分泌的なメカニズムによるものであることは容易に想像がつく。しかし、これまでの昆虫の摂食行動に関する研究は、餌中に含まれる嗜好性を決定する化合物の探索など、化学生態学的な研究がメインであり、摂食行動の内分泌制御に関する研究は、ほとんど行われていなかった。そこで本研究では、昆虫の摂食行動を司る内分泌制御のメカニズムを分子レベルで明らかにすることを目的とした。その手掛かりとして、昆虫の摂食行動の制御因子を同定する必要がある。同定方法としては、昆虫を用いた摂食行動の評価系を準備し、その生物活性を指標に原因物質を突き止める、いわゆる生物有機化学的手法を用いることにした。これまでに、カイコ *Bombyx mori* の幼虫を用いて、いくつかの生物検定方法を確立し、それらをもとに、数種の新規ペプチド性因子を発見した。以下にその概要を紹介する。

1. カイコの周期的な摂食行動と特徴的行動の発見

カイコ *Bombyx mori* は、その産業的な役割から、これまでにさまざまな分野の研究が行われてきている。栄養学的な研究は、1960年代から始まった人工飼料の開発の際に集中的に行われたものの、摂食行動に関する研究は、カイコのみならず他の昆虫種でも全く行われていなかった。それは、摂食行動の良い評価系がないことに起因しているからである。そこで、摂食行動を評価する生物検定系を準備するために、まずカイコ幼虫の連続観察を行った。その結果、ほとんどの時間で、カイコ幼虫は摂食することなく動かないことがわかった。また、どの成

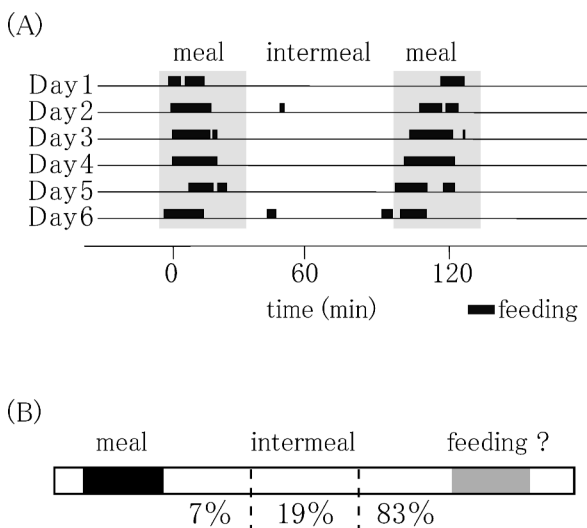


図1 カイコ終齢幼虫の摂食周期 (A) と摂食モチベーションの変動 (B)

長段階においても、カイコの摂食行動は、概日リズムとは独立した約2時間ごとの周期性を有していることがわかった (図1 A)。このことは、カイコ幼虫が、いつが空腹で、いつが満腹かを判断する重要な基準となった。また、静止状態から摂食行動に移行する確率 (「摂食モチベーション」ということにする) が、前回の食餌から約1時間後に急激に上がることがわかり (図1 B)、カイコの周期的な摂食行動は、摂食モチベーションの周期的な変動により構築されていることが考えられた。さらに、カイコ幼虫の頭部を詳細に観察すると、摂食行動を起こす直前、すなわち摂食モチベーションが上昇したときに、頭部を小さく動かす特徴的な微小行動 (swaying) が見られることがわかった。つまり、これらの特徴的な行動を摂食状態の判断基準に用いれば、摂食行動の良い評価系ができると考えた。

2. 昆虫の摂食行動に着目した生物検定系

これまでの、昆虫の摂食行動の評価系は、食べた餌の量や、糞量を測定する方法が主だった。この方法では、摂食モチベーションの変動や実際の行動を判断することができない。すでに述べたとおり、カイコ幼虫では、摂食モチベーションが上昇した際に見られる特徴的行動や、周期的摂食行動が確認されたため、それらの現象に着目した、生物検定系を確立した。これを指標に、カイコ幼虫の体内から精製単離し、その摂食行動に関連する生理活性物質の構造を同定することにした。

3. 摂食行動を調節する新規ペプチド HemaP の同定

摂食行動のモチベーションが上昇したカイコ幼虫に認められる特徴的な微小行動を指標に、空腹状態のカイコ幼虫の体液から、数段階の逆相 HPLC などにより精製を行った。最終的には、62 残基からなる新規ペプチド性因子である HemaP (hemolymph major anionic peptide) を同定した (図2)。この HemaP の大腸菌発現産物をカイコ幼虫に投与すると、摂食行動直前に認められる特徴的行動 swaying を惹起し、さらに食餌量、徘徊時間などが上昇した。また、このペプチドの相同分子は、鱗翅目昆虫で特異的に見いだされることもわかった。

4. 摂食行動調節因子 HemaP による摂食行動制御機構

上述の新規ペプチドの HemaP は、脂肪組織で産生され、その名前の由来どおり、体液中に大量に含まれている。体液中の HemaP レベルが高いときには、摂食モチベーションが高く、

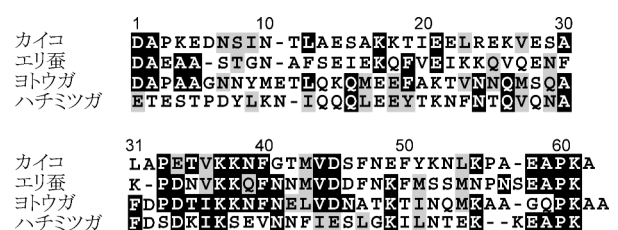


図2 HemaP と他の鱗翅目昆虫の HemaP 様ペプチドのアミノ酸配列

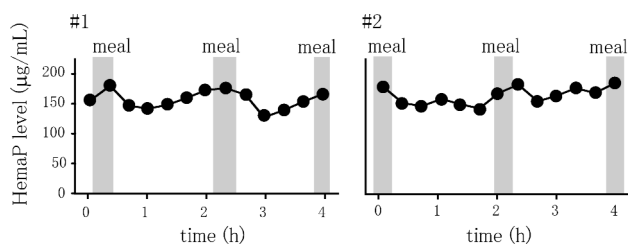


図3 体液中の HemaP レベルの変動

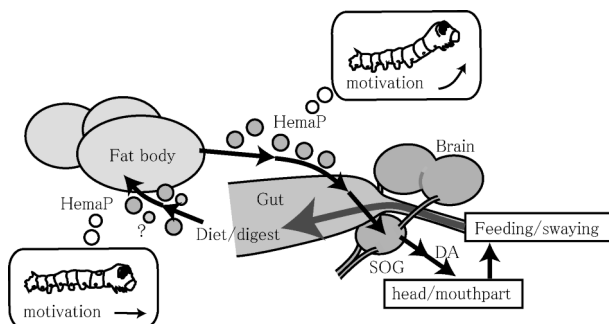


図4 HemaP が調節する周期的摂食行動

また、食餌の刺激により、体液中の HemaP の一部が脂肪組織に移行し、最終的に HemaP レベルが元のレベルまで減少することもわかった。実際に、抗 HemaP 抗体を用いた定量系で分析すると、体液中の HemaP レベルは、摂食周期に同調して 120~180 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で増減することもわかった (図3)。さらに、HemaP レベルが高いときには、口顎部の運動ニューロンが投射している食道下神経節 (SOG: subesophageal ganglia) のドーパミン (DA: dopamine) が利用され、摂食行動開始を動機づけていることを示唆するデータも得られた。以上の結果から、HemaP は、カイコ幼虫の周期的な摂食行動を調節する重要な因子であることが明らかになった (図4)。

5. 他の摂食行動に関連する調節因子の同定

HemaP 以外にも、カイコ幼虫の体内にはさまざまな摂食行動調節因子があると考え、他の因子を突き止めることを試みた。まず、HemaP を精製したときとは異なる、行動観察による生物検定系を構築した。次に、カイコ幼虫の各組織由来の粗抽出物を用いて、摂食行動に対する影響を検討した。その結果、ほとんどの組織由来の粗抽出物中に、摂食行動を抑制、あるいは促進する活性が認められた。その中でも、最も抑制活性が強かった中腸粗抽出物を出発材料として、5~6 段階の逆相 HPLC を用いて精製した。単離した生理活性物質の構造を決定した結果、ペプチド性因子を 2 種類同定することに成功した。ひとつは 17 残基からなる新規なペプチド (GSRY アミドと命名) であり、もうひとつは既知の生理活性ペプチドであるアラトロピン (AT) であった。GSRY アミドは、昆虫種で保存

されている初めての RY アミドであった。また、すでに幼若ホルモンの生合成促進活性を有するペプチドとして知られている AT を、腸管粗抽出物から摂食行動の調節因子として再発見することができた。

このほかにも、摂食行動の観察により、同定したいくつかの既知のペプチド性因子がある。例えば、摂食行動の抑制活性を有するペプチドとしてアラトスタチン、ミオサプレッシン、摂食行動亢進活性を有するペプチドとしては、タキキニン、short neuropeptide Fなどを同定した。また、昆虫のグルカゴン様活性を有するとされている脂質動員ホルモン (AKH: adipokinetic hormone) は、昆虫の摂食行動の周期性を調節している重要なペプチドホルモンであることもわかってきた。さらに、昆虫の栄養要求性を考慮し、ステロール過剰食により脂肪組織から分泌誘導される新規ペプチド p4442 も同定することができた。ちなみに、この p4442 は、摂食刺激により脂肪組織内での転写活性が上昇することがわかった。

おわりに

ここまでの本研究では、摂食行動に関わると思われるさまざまな因子を同定してきた。これまでの過程で、まだ精製していない生理活性を有する画分や、構造が同定できなかった画分をいくつも残してきた。つまり、昆虫の体内では、多くの因子群が統合的に摂食行動を制御し、体内外のさまざまな変化に対応できるシステムを構築しているものと考えられる。この、摂食行動のシステムの全体像を見据えつつ、1932年に Cannon が“Wisdom of the body”で提唱したホメオスタシスの原理である、体内の補償システムを分子レベルで明らかにすることを夢見て止まない。さらには、1938年にラットを用いた実験で Richter らが提唱した self-selection (不足する栄養分を自らが選択し相補しようとする摂食行動) の分子レベルでの解明に少しでも近づくとできればと考えている。

本研究は、東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻生物有機化学研究室で行われてものです。本研究のご指導、ご支援くださいました生物有機化学研究室教授の長澤寛道先生には心より感謝御礼申し上げます。また、本研究を進めるにあたり、激励をいただきました鈴木昭憲先生、磯貝 彰先生をはじめ、片岡宏誌先生、作田庄平先生、山口五十磨先生、鈴木義人先生、David A. Schooley 先生にも深く感謝いたします。また、研究のはじめからの良き理解者であり、さまざまなご助言をいただいた、Arizona 大学の J. Joe Hull 博士にもこの場を借りて御礼申し上げます。最後に、本研究は、大森幸枝氏、諸岡信克氏、松本澄洋氏、小沼貴裕氏、永井千晶氏、浅妻(馬橋)英章博士、酒井美美氏、大原彩子氏をはじめ、多くの共同研究者ならびに研究室のメンバー、卒業生の皆さまのご協力によって成り立っています。この場を借りて厚く御礼申し上げます。