

【総説】

キイロショウジョウバエの代謝シグナルを介した飢餓条件での体温調節機構

梅崎 勇次郎

シンシナティ小児病院医療センター

要約

体温は恒常性において重要な因子である。体温を一定の範囲に保つことで、生理反応を安定に行うために必須である。体温調節は、自律性体温調節と行動性体温調節に分けられ、恒温動物の体温は両方を用いた複雑なシステムにより制御されている。変温動物、とくに小型の昆虫は行動性体温調節を主に利用し、外気温を感知して至適な温度を選択する行動（温度選択行動）を駆動し、選択した局所環境の温度を体内に取り込むことで体温を調節する。

恒温動物の体温に影響する因子として、光条件、ストレス、概日リズム、加齢、栄養条件などの因子が報告されている。変温動物の温度選択行動に関してもいくつかの同様の因子が影響を及ぼすことが近年報告されている。

本稿では、変温動物であるキイロショウジョウバエの温度選択による体温調節、および最近筆者らが明らかにした飢餓条件での体温調節を中心に、代謝シグナルを介した体温調節機構について紹介する。

キーワード：キイロショウジョウバエ、体温、温度選択行動、インスリンシグナル、TrpA1

はじめに

体温は恒常性を維持するために非常に重要である。その制御は自律性体温調節と行動性体温調節の二つに大きく分けられる。前者は血管の拡張や発汗、筋肉でのふるえ熱産生や褐色脂肪細胞での非ふるえ熱産生が含まれ、後者は至適な環境温度への移動や着衣の行動などが挙げられる。恒温動物の哺乳類や鳥類は両者を用いて体温をほぼ一定の温度に維持する。一方、変温動物、とくに小型の動物では、体温調節に与える熱産生の影響は小さいと考えられているので、環境温度の変化は体温の変化に直結し、代謝などに大きく影響する。たとえば、本稿で述べるキイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) は、低温で飼育したハエは高温で飼育したハエと比べて低エネルギー消費、低摂食量、長寿命などを示す [1, 2]。また、長期間低温あるいは高温にさらされると、死に至る恐れもある。実際には低温や高温を

回避して最適なパフォーマンスを行える環境へ移動することから、ハエにとって至適な温度帯が存在することが示唆される。

1. ショウジョウバエの体温調節

変温動物であるキイロショウジョウバエは、行動性体温調節をおもに利用する。ハエは外気温を感知して至適な温度を選択する行動（温度選択行動）を駆動し、選択した局所環境の温度を体内に取り込むことで体温を調節する。選択された環境温度（選択温度）はハエの体温を反映し、選択温度と体温はほぼ同じ温度とされている [3, 4]。ハエの体温と区別するため、本稿ではハエにより選択された温度を選択温度で統一する。遺伝学者の Seymour Benzer らはハエ成虫の異常な選択温度を示す変異体を探索する目的で、アルミプレート上に片側が低温、反対側が高温の温度勾配が作られた、選択温度を測定する装置を作成した [5]。この温度勾配を作成するため、電流依存的に発熱温度を変化させることが出来るベルチェ素子を使用することができるようになり、現在のような装置がよく用いられている [6] (図 1 A)。実際、室温 25℃、湿度 70%、約 1000Lux の照度、明暗 12 時間: 12 時間の条件で飼育したハエ成虫を、飼育条件とほぼ同じ室温、湿度、照度の部屋で 18 - 32℃ の温度勾配を

連絡先：梅崎勇次郎

3333 Burnet Avenue Cincinnati OH USA (Zip code: 45229)

TEL : 513-803-1673

FAX : 513-803-0740

E-mail : Yujiro.umezaki@cchmc.org

与えた装置内に放つと、ハエを放した時点ではプレート上をバラバラに散らばるが、その後徐々に好みの温度に移動し、一定時間を経ると約 25°C に集まる (図 1 B)。その選択温度は、一般的に実験室で至適とされる温度とほぼ一致する。

では、ハエ成虫の選択温度は、どのようなしくみにより設定されているのだろうか? これまでに、いくつかの温度センサー分子が発見されており、温度センサーの観点から、その変異体が示す結果をもとに、ハエ成虫の選択温度の設定について考えてみる。非選択的カチオンチャンネル (Transient receptor potential; Trp) のうちの TrpA ファミリーに属する TrpA1 は、*in vitro* で 25 – 28°C 付近で活性化を示す [7]。また、TrpA1 の機能欠損変異体は、25°C より高い 28°C 付近の温度選択行動を示す [8]。TrpA1 はハエ成虫の脳内の 3 領域に局在し、そのうち脳前方部に位置する触角から触角葉に伸びる触角神経 (Antennal nerve) 内に局在する Anterior cells (ACs) (図 2 A) は成虫の温度選択行動において温センサーとして働き、25°C 以上の温度で活性化することがカルシウムイメージングにより明らかにされている。

低温に反応する冷センサーも同定されている。TRPP ファミリーに属する Brivido (Brv) が報告されている。Brivido はイタリア語で震え、悪寒を意味する。著者らは Brv1-3 を同定し、それぞれ低温の温度反応性を示すことを明らかにした [9]。Brv1-3 の各々の詳細な発現分布は今のところ不明であるが、少なくとも Brv1 は成虫の頭部の触角 (Antenna) を構成する触角第三節 (3rd antennal segment) から伸びる触覚端刺 (Arista) の基部などで発現する。触覚端刺の基部には、温度反応性の 6 つの細胞が同定されており、そのうちの 3 つが Brv1 を発現し、冷センサーとして働く。温度反応性を調べたところ、Brv1 を発現する 3 つのニューロンは 20°C 以下の温度に反応することがカルシウムイメージングで明らかとなった。また、筆者らはこの Brv1 を発現するとされる神経細胞特異的に内向き整流性カリウムチャンネルである Kir2.1 を Gal4-UAS システムを利用して強制発現することによって、Brv1 陽性細胞の神経活動を強制的に抑制させた系を作成し選択温度を測定したところ、選択温度が低温側にシフトすることが分かった [10]。よって、TrpA1 の機能欠損変異体は約 28°C の高温側にシフ

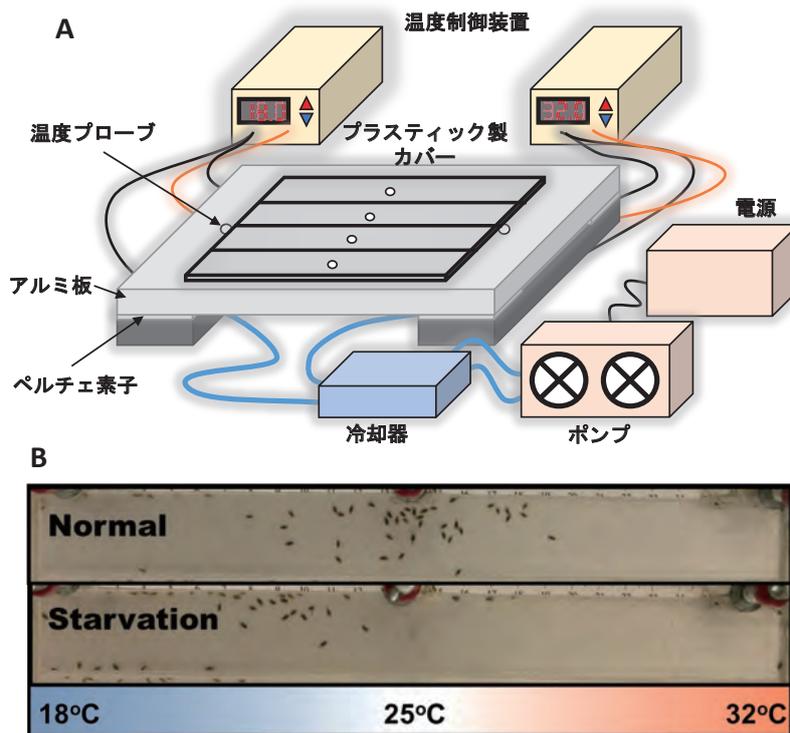


図 1 温度選択行動を測定する装置の模式図

(A) プラスチック製カバーは、温度勾配が作られたアルミプレート上に固定されている。図には記していないが、プラスチックカバー内の温度を測るため、温度プローブを 1 つのレーン内に複数配置し、カバー内の温度をモニターしている。温度勾配を形成するため、ペルチエ素子を左右両側に配置し、温度制御装置により左側は低温、右側は高温に設定されている。また、アルミプレート上の温度をモニターするために、温度プローブを左右ひとつずつ配置し、その温度情報のフィードバックにより温度制御装置によりプレート上の温度勾配を一定に保つよう制御されている。ハエはカバー中央の穴からカバーとアルミプレートとの間に入れ、各レーン内で自由に動き回ることができる。(B) 測定装置を使用して温度選択行動を測定した結果。えさを食べたハエは、25°C 付近に集まるのに対し (上図、Normal)、1 晩飢餓にさらされたハエは低温に移動する (下図、Starvation)。図の一番下の数値は、カバー内の温度を記している。

トし、Brv1 陽性細胞の神経活動を強制的に抑制させた系統では低温側にシフトすることから、ハエにとって不快な高温と低温の温度刺激を受容し回避した結果、25℃付近の選択温度が設定されることが推察される。

2. 栄養条件の変化による体温調節機構

選択温度は、栄養条件を変えることで体内のエネルギー状態が変化した場合にどう変化するのだろうか？筆者らは、水だけを与えた飢餓条件下での選択温度について検討した[10]。卵から成虫になるまでの間、砂糖、酵母、コーンミールなどを含む通常のハエの餌で飼育した後、羽化後2日目から水だけを与えた飢餓条件を開始し、1晩経過後に選択温度を測定したところ、通常の25℃よりも2℃ほど低い約23℃を示した。飢餓を2晩に延長すると、選択温度はさらに低下して約22℃を示した。また、1晩飢餓を与えた後に餌を1晩与えると、選択温度は元の状態に回復した。さらに、グルコース、スクロース、フルクトースを用いた砂糖水で回復実験を行ったところ、通常のハエの餌と同じように選択温度が回復したことから、糖分がこの回復に重要な栄養素であることが示唆された。飢餓での選択温度の低下は、哺乳類の飢餓での体温変化にも類似している。哺乳類も飢餓条件下では徐々に体温は低下し、再度餌を摂取することで体温は回復する [11-14]。

なぜハエ成虫は、飢餓時に低温を選択するのか？最近の結果より、ハエは低温条件下では低エネルギー消費、低摂食量、高脂質蓄積量、長寿命を示し、高温条件だとその逆を示す [1, 2]。また、飢餓下では歩行活動量は増大する [15]。これらの理由から、飢餓では低温を選択し、

エネルギー消費量を抑えつつも活動量を増大させて餌を探すことで、より長く生きることを選択していると考えられる。

飢餓条件では選択温度が低温にシフトすることから、温度センサーの温度反応性が栄養条件に依存して変化し、結果として選択温度が低温にシフトすることが考えられる。これについて検討する目的で、飢餓条件下で、温センサーである ACs の温度反応性についてカルシウムイメージングにより調べた。その結果、ACs は25℃以上の温度で通常活性化するが、飢餓条件では23℃付近で活性化することが観察された。このことから、飢餓条件では温センサーの活性化温度の閾値が低温にシフトすることにより、選択温度が低下することが示唆された。

飢餓での低温選択は、どのような仕組みにより制御されているのか？筆者らはこの仕組みを明らかにする目的で、インスリンに相当するインスリン様ペプチド (Insulin-like peptides: Ilps) に着目した。ショウジョウバエには、8つの Ilps が同定されており、Ilp1-7 に対して1つのインスリンレセプター (InR) がこれまでに同定されている [16, 17]。InR の下流のインスリンシグナル経路は、ショウジョウバエでも保存されている。この *ilp1-7* の各変異系統を使用して摂食条件と飢餓条件で選択温度を測定し、スクリーニングを行ったところ、*ilp6* 変異体のみで飢餓条件での選択温度の低下が観察されなかった。また、*ilp6* 変異体を用いて ACs の温度反応性をカルシウムイメージングを利用して調べた結果、摂食条件と飢餓条件の間で活性化温度に違いが見られなかった。これらの結果から、Ilp6 は飢餓条件での ACs の活性化温度の低下に重要であることが示唆された。

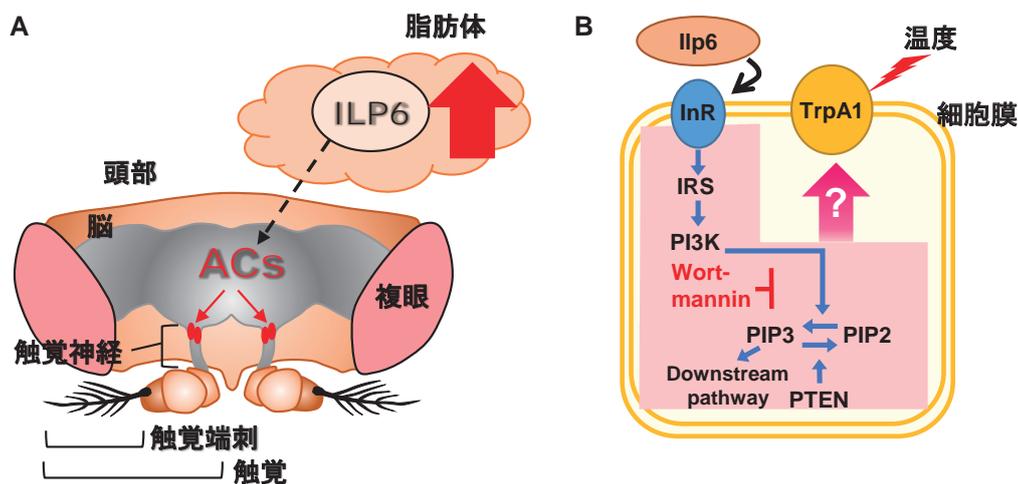


図2 飢餓条件での選択温度の調節機構

(A) 飢餓条件では、脂肪体由来の Ilp6 の発現量が上昇し、そのシグナルが温センサーである Anterior cells (ACs) のインスリンレセプター (InR) に作用する。TrpA1 を発現する神経核はハエ成虫の脳内の3領域に局在し、そのうちの一つの ACs は触覚と脳前方部の触角葉を結ぶ触覚神経に局在し、脳半球あたり2個存在する。(B) 飢餓条件で発現が上昇した Ilp6 は ACs の InR を活性化する。インスリンシグナルと TrpA1 との間で何らかのカップリングが生じることで、TrpA1 の活性化温度が低下し、結果として選択温度が低下することが示唆される。インスリンシグナルから派生したどのシグナル因子が TrpA1 の活性を調節するのかは不明である。Wortmannin は、PI3K の阻害剤である。IRS, インスリンレセプター基質、PI3K, ホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ、PIP2, PI4,5-二リン酸、PIP3, PI3,4,5-三リン酸。

IIP6はグリア細胞、脂肪体で発現する。脂肪体は、ショウジョウバエなどの昆虫に広く存在し、哺乳類の脂肪組織や肝臓様の機能を有する。脂肪体特異的に*ilp6*をノックダウンした系統を作成して選択温度を測定した結果、*ilp6*変異体と同様に摂食条件と飢餓条件との間に選択温度に有意な差がみられなかったことから、脂肪体で発現するIIP6が重要であることが示唆された。

ほかの代謝シグナル因子の影響を検討するため、哺乳類のグルカゴンに相当するAdipokinetic hormone (AKH) [18, 19] およびレプチンに相当するUnpaired2 (Upd2) [20] について検討した。哺乳類のグレリンに相当する遺伝子は、これまでのところショウジョウバエで報告されていない。Upd2の欠損変異体およびAKH発現細胞をKir2.1の発現により強制的に抑制させたハエを用いて選択温度を測定した結果、両系統は飢餓条件で低温の選択温度を示したことから、これらの寄与は限りなく小さいと考えられる。

哺乳類のインスリンを発現する膵臓β細胞に相当する組織は、ハエでは脳背側部に局在するインスリン産生細胞 (Insulin-producing cells: IPCs) である。IPCsでは、おもにIIP2、IIP3、IIP5が発現する。飢餓下では、*ilp2*のレベルは変化せず、*ilp3*、*ilp5*は低下する。この飢餓下で発現が低下する傾向は、哺乳類のインスリンと類似する。一方で、脂肪体由来の*ilp6*は*ilp2*、*ilp3*、*ilp5*とは異なり、飢餓条件では幼虫、成虫ともにmRNA量は上昇する [21-24]。このIIP6のシグナルを受容する組織が飢餓下での温度選択に重要な働きを担うと考えられるが、それはどこに存在するのか？これを調べる目的で、インスリンレセプター (InR) を組織特異的にノックダウンした系統を作成し、摂食条件と飢餓条件との間で選択温度を比較した。その結果、TrpA1を発現するACsでInRをノックダウンした系統では、摂食条件と飢餓条件との間の選択温度に有意な差が観察されなかった。また、ACsにKir2.1をGal4-UASシステムを利用して強制発現することによって、ACsの神経活動を強制的に抑制させた系統でも、InRをノックダウンした系統と同様、摂食条件と飢餓条件との間の選択温度に有意な差が観察されなかった。これと同様の手法を用いて、冷センサーについて検討した。冷センサーの神経核特異的にKir2.1を強制発現し、神経活動を抑制させた系統では、摂食条件と比べて飢餓条件での選択温度は低下した。これらの結果から、冷センサーは飢餓条件での選択温度制御には重要ではなく、温センサーであるACsが重要であり、ACsがIIP6のシグナルを受容する可能性が示唆された。

つぎに、InRの下流の遺伝子についても検討した。ACs特異的にInRの下流の遺伝子に対してノックダウンを行って選択温度を調べたところ、InRをノックダウンした場合と同様に飢餓での選択温度の低下が観察されなかった。さらに、飢餓条件下で、且つ、インスリンシグナルを構成するホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ (PI3K) の阻害剤 (Wortmannin) によりインスリンシグナルを阻害した条件でACsの温度反応性に

ついてカルシウムイメージングを行ったところ、ACsは摂食時は約25℃、飢餓では約23℃で活性化したが、飢餓条件下で阻害剤を与えた条件では摂食時と同じ25℃付近で活性化した。このことから、ACsの細胞内で発現するTrpA1の活性はインスリンシグナルにより変化し、インスリンシグナルが活性化することでTrpA1の活性化温度が低下することが示唆された。

したがって、飢餓条件では、エネルギー状態の低下により脂肪体で発現するIIP6が上昇し、そのシグナルがACsのInRを活性化し、インスリンシグナルを介したTrpA1の活性化温度の閾値が低下した結果、選択温度が低下することが示唆された (図2B)。

3. インスリンを介した哺乳類の体温調節機構

哺乳類の視床下部の視索前野 (Preoptic area: POA) は体温調節に重要であり、温度感受性ニューロンが局在している。インスリンあるいはインスリン様成長因子1 (Insulin-like Growth Factor 1: IGF1) をこの領域に注入すると、濃度依存的に高体温を示すことが報告されている [25, 26]。また、POAはインスリンレセプターおよびIGF1レセプターを発現すること [26]、さらにIGF1 receptorを阻害したマウスは低体温を示すことが報告されている [27]。このことから、代謝シグナルであるインスリンあるいはIGF1が体温調節を司る神経核に働きかけて体温を制御する経路が、ハエと哺乳類の間で保存されていることを示唆する。ただ、このインスリンあるいはIGF1が血液脳関門をトランスサイトシスにより経て脳に影響するのか [28]、または別経路によるものなのかは不明である。

おわりに

本稿では、ハエの温度選択行動と、最近筆者らが報告した結果を紹介させていただいた。温度選択行動の測定装置のプロトタイプが約20年前に報告されてしばらくして、近年この分野の研究が徐々に進展してきたことから、まだ不明な点が多い。しかしこれまでの研究から、光条件、加齢、概日リズムなど恒温動物に影響する因子のいくつかは温度選択に影響することが報告されている [29-32]。また、温度選択の制御機構において恒温動物の体温調節との共通点も示されている。以上のことから、温度選択行動の研究の今後の発展により、体温調節の一般的なメカニズムがさらに解明されることを期待している。

引用文献

1. Klepsatel P, Gálíková M, Xu Y, *et al.* Thermal stress depletes energy reserves in *Drosophila*. *Sci Rep.* 6 (1) : 33667, 2016.
2. Klepsatel P, Wildridge D, and Gálíková M. Temperature induces changes in *Drosophila* energy stores. *Sci Rep.* 9 (1) : 5239, 2019.
3. Stevenson RD. The relative importance of behavioral and physiological adjustments

- controlling body temperature in terrestrial ectotherms. *Am Nat.* 126 (3) : 362–386, 1985.
4. Stevenson RD. Body size and limits to the daily range of body temperature in terrestrial ectotherms. *Am Nat.* 125 (1) : 102–117, 1985.
 5. Sayeed O and Benzer S. Behavioral genetics of thermosensation and hygrosensation in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 93 (12) : 6079–6084, 1996.
 6. Goda T, Leslie JR, and Hamada FN. Design and analysis of temperature preference behavior and its circadian rhythm in *Drosophila*. *JoVE.* (83) : e51097, 2014.
 7. Viswanath V, Story GM, Peier AM, *et al.* Ion channels: Opposite thermosensor in fruitfly and mouse. *Nature.* 423 (6942) : 822–823, 2003.
 8. Hamada FN, Rosenzweig M, Kang K, *et al.* An internal thermal sensor controlling temperature preference in *Drosophila*. *Nature.* 454 (7201) : 217–220, 2008.
 9. Gallio M, Ofstad TA, Macpherson LJ, *et al.* The coding of temperature in the *Drosophila* brain. *Cell.* 144 (4) : 614–624, 2011.
 10. Umezaki Y, Hayley SE, Chu ML, *et al.* Feeding-state-dependent modulation of temperature preference requires insulin signaling in *Drosophila* warm-sensing neurons. *Curr Biol.* 28 (5) : 779–787, 2018.
 11. Piccione G, Caola G, and Refinetti R. Circadian modulation of starvation-induced hypothermia in sheep and goats. *Chronobiol Int.* 19 (3) : 531–541, 2002.
 12. Bouâouda H, Achâaban MR, Ouassat M, *et al.* Daily regulation of body temperature rhythm in the camel (*Camelus dromedarius*) exposed to experimental desert conditions. *Physiol Rep.* 2 (9) : e12151, 2014.
 13. Nagashima K, Nakai S, Matsue K, *et al.* Effects of fasting on thermoregulatory processes and the daily oscillations in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 284 (6) : R1486–R1493, 2003.
 14. Sakurada S, Shido O, Sugimoto N, *et al.* Autonomic and behavioural thermoregulation in starved rats. *J Physiol.* 526 (2) : 417–424, 2000.
 15. Yu Y, Huang R, Ye J, *et al.* Regulation of starvation-induced hyperactivity by insulin and glucagon signaling in adult *Drosophila*. *eLife.* 5, 2016.
 16. Nässel DR, Kubrak OI, Liu Y, *et al.* Factors that regulate insulin producing cells and their output in *Drosophila*. *Front Physiol.* 4: 252, 2013.
 17. 相垣 敏郎. ショウジョウバエの寿命を制御する栄養と代謝. *基礎老化研究.* 40 (2) : 15–18, 2016.
 18. Isabel G, Martin J-R, Chidami S, *et al.* AKH-producing neuroendocrine cell ablation decreases trehalose and induces behavioral changes in *Drosophila*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 288 (2) : R531–R538, 2005.
 19. Lee G and Park JH. Hemolymph sugar homeostasis and starvation-induced hyperactivity affected by genetic manipulations of the adipokinetic hormone-encoding gene in *Drosophila melanogaster*. *Genetics.* 167 (1) : 311–323, 2004.
 20. Rajan A and Perrimon N. *Drosophila* cytokine unpaired 2 regulates physiological homeostasis by remotely controlling insulin secretion. *Cell.* 151 (1) : 123–37, 2012.
 21. Slaidina M, Delanoue R, Gronke S, *et al.* A *Drosophila* insulin-like peptide promotes growth during nonfeeding states. *Dev Cell.* 17 (6) : 874–84, 2009.
 22. Okamoto N, Yamanaka N, Yagi Y, *et al.* A fat body-derived IGF-like peptide regulates postfeeding growth in *Drosophila*. *Dev Cell.* 17 (6) : 885–91, 2009.
 23. Bai H, Kang P, and Tatar M. *Drosophila* insulin-like peptide-6 (*dilp6*) expression from fat body extends lifespan and represses secretion of *Drosophila* insulin-like peptide-2 from the brain. *Aging Cell.* 11 (6) : 978–985, 2012.
 24. Okamoto N and Nishimura T. Signaling from glia and cholinergic neurons controls nutrient-dependent production of an insulin-like peptide for *Drosophila* body growth. *Dev Cell.* 35 (3) : 295–310, 2015.
 25. Sanchez-Alavez M, Tabarean IV, Osborn O, *et al.* Insulin causes hyperthermia by direct inhibition of warm-sensitive neurons. *Diabetes.* 59 (1) : 43, 2010.
 26. Sanchez-Alavez M, Osborn O, Tabarean IV, *et al.* Insulin-like growth factor I-mediated hyperthermia involves anterior hypothalamic insulin receptors. *J Biol Chem.* 286 (17) : 14983–90, 2011.
 27. Cintron-Colon R, Sanchez-Alavez M, Nguyen W, *et al.* Insulin-like growth factor I receptor regulates hypothermia during calorie restriction. *Proc Natl Acad Sci USA.* 114 (36) : 9731–9736, 2017.
 28. Nishijima T, Piriz J, Dufnot S, *et al.* Neuronal activity drives localized blood-brain-barrier transport of serum insulin-like growth factor-I into the CNS. *Neuron.* 67 (5) : 834–846, 2010.
 29. Kaneko H, Head LM, Ling J, *et al.* Circadian rhythm of temperature preference and its neural control in *Drosophila*. *Curr Biol.* 22 (19) : 1852–1857, 2012.

30. Head LM, Tang X, Hayley SE, *et al.* The influence of light on temperature preference in *Drosophila*. *Curr Biol.* 25 (8) : 1063–1068, 2015.
31. Goda T, Doi M, Umezaki Y, *et al.* Calcitonin receptors are ancient modulators for rhythms of preferential temperature in insects and body temperature in mammals. *Genes Dev.* 32 (2) : 142-155, 2018.
32. Shih H-W, Wu C-L, Chang S-W, *et al.* Parallel circuits control temperature preference in *Drosophila* during ageing. *Nat Commun.* 6: 7775, 2015.

Thermoregulation upon starvation and its controlling pathway in *Drosophila*

Yujiro Umezaki

Visual Systems Group, Division of Pediatric Ophthalmology,
Cincinnati Children's Hospital Medical Center

Abstract

Thermoregulation is important in maintaining animal body temperature. To keep a stable body temperature, endotherms exploit both behavioral and physiological thermoregulation. In contrast, ectotherms, especially smaller ectotherms such as the fruit fly *Drosophila melanogaster*, generally utilize behavioral thermoregulation. This behavior is known as temperature preference behavior or thermopreference behavior. Ectotherms choose their preferred microenvironment to uptake or lose heat and their body temperature subsequently follows the microenvironment temperature. Therefore, their body temperature is equivalent to their microenvironment temperature. To date, some factors affecting body temperature of mammals are similar to some elements influencing flies' temperature preference behavior, e.g. light conditions, circadian rhythms and aging. Moreover, recent our findings show that flies change their preferred temperature according to their nutritional state. Here I will introduce *Drosophila* temperature preference behavior and describe how flies control their preferred temperature via metabolic signals upon starvation.

Keywords : *Drosophila melanogaster*, Body temperature, Temperature preference behavior, Insulin/insulin-like growth factor signaling, TrpA1