

平成 30 年 10 月 17 日

報道機関 各位

## 細胞内共生微生物が宿主の体内時計に及ぼす影響を解明

### ポイント

- 体内時計研究で用いられてきたキイロショウジョウバエの細胞内共生微生物を同定
- 細胞内共生微生物であるボルバキアを除菌したハエの作出に成功
- ボルバキア共生により、宿主キイロショウジョウバエの末梢時計振動と昼夜行動リズムが増幅することを発見

### 概要

国立大学法人富山大学大学院理工学研究部（理学）森岡絵里 助教、土田 努 准教授、池田真行 教授らの研究グループは、体内時計研究のために世界中の実験室内で維持されてきた時計遺伝子レポーター系統のキイロショウジョウバエが、細胞内共生細菌であるボルバキアに感染していることを明らかにし、その「除菌」系統の作出に成功した。また、感染系統と除菌系統の比較研究により、ボルバキア感染が、宿主キイロショウジョウバエの末梢時計の振動を調節することで、昼夜の行動リズムを増幅させることを明らかにした。

ボルバキアは、宿主昆虫の性決定機構や免疫システムに関与するなど、宿主との間に複雑な相互作用を持つことが報告されていたが、宿主の体内時計が、この細菌の共生により影響されることは今回初めて明らかにされた。昨年、アメリカ合衆国環境保護庁（EPA）は、ジカ熱やデング熱を媒介する蚊の除去のために、ボルバキアの利用を認可したところであるが、人為的なボルバキア感染が昆虫界の行動時間に影響を与える可能性については何も検討されていない。今後、影響の評価を行う必要が出てくる可能性がある。また、全生物相に対する共生微生物の広がりを考えると、おそらくは哺乳動物や、われわれヒトの体内時計システムにも共生微生物が影響を及ぼしている可能性<sup>注1)</sup>があるので、リズム治療などの応用研究に繋がる可能性も高い。

\_\_\_\_\_ は用語の説明参照

注1 ボルバキアそのものは、ヒトを含め哺乳動物に感染することはありません。

### 研究の社会的背景

2017年のノーベル医学生理学賞が、体内時計を制御する「時計遺伝子」の転写翻訳リズムに関する研究について、米国の3名のショウジョウバエ研究者に授与されたことは記憶に新しいところであろう。このように、睡眠覚醒リズムの研究基盤となり得る体内時計の分子機構についての研究は、ショウジョウバエをモデルとして進められてきた。近年では、細胞の代謝活性リズムを

# News Release



【発信】国立大学法人  
富山大学総務部総務・広報課  
(TEL) 076-445-6028  
(FAX) 076-445-6063

支配するミトコンドリアの酸化的代謝において、概日リズムが報告されており、代謝リズムと時計遺伝子の関係について注目が集まっていた。細胞内共生微生物は、進化的に見て、ミトコンドリアなどの細胞内小器官と類似した性質を持っているが、その体内時計システムへの関与についてはよくわかっていなかった。

## 研究の内容

生物が微生物を体内に恒久的に取り込む「細胞内共生」は、多くの生物において普遍的に見られる現象である。 $\alpha$  プロテオバクテリア綱に属するボルバキアは、細胞質に感染・共生する細胞内共生微生物の一種であり、全昆虫種のおよそ6割に存在すると推定されている。キロショウジョウバエもその例外ではなく、実際にわれわれは、体内時計研究のために世界中の実験室で長年維持されてきた実験系統のショウジョウバエ（時計遺伝子レポーター *period-luciferase* 系統）に、ボルバキアが感染していることを明らかにした。そこで、この系統のハエに対して抗生物質処理を3世代に渡って行うことにより、「除菌」系統のハエを作出した。本研究では、これを用いて、ボルバキアが、宿主ショウジョウバエの行動リズムや時計遺伝子の発現リズムに及ぼす影響について解析した。

ボルバキアを標識化する抗 hsp60 抗体を用いた免疫組織化学的解析の結果、脳ではボルバキアは検出されないが、幅広い末梢組織でボルバキアが感染していることが明らかになった。さらに、様々な温度環境下（19度、24度、29度）や光条件（明暗、恒暗、8時間明暗シフト）において、成虫の歩行活動リズムを詳細に解析した。ショウジョウバエの一日の行動は、ヒトのように昼間に多く、夜間に少ない概日リズムを刻むことが知られている。しかし、除菌した場合、この昼夜差が小さくなり、29°Cの条件下ではむしろ夜間の平均行動量が高い傾向にあった（図1）。

さらに、末梢組織を用いて、時計遺伝子レポーター (*period-luciferase*) を指標に転写活性リズムを解析した。その結果、ボルバキア感染系統では安定した概日リズムが持続するのに対し、除菌系統では転写活性がすぐに減衰することが示された（図2）。

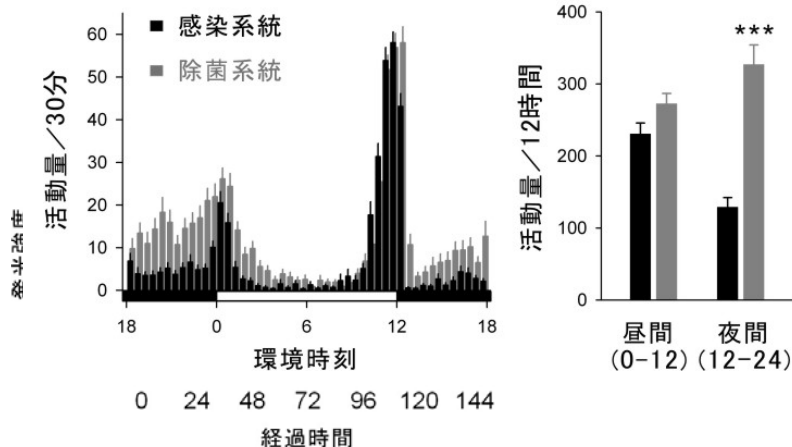


図1. 12時間：12時間明暗・29度条件下におけるショウジョウバエ感染系統（黒）および除菌系統（灰）の歩行活動量の比較。

「除菌」により、夜間における活動量が有意に増加することが分かった。

2. *Wolbachia* 感染系統と除菌系統の末梢組織における *per* の転写活性リズム。右は CCD メラによる発光像、\*は頭部切り離した場所。感染系統では安定したリズム持続するのに対し、除菌系統は、リズムがすぐに減衰した。

# News Release



【発信】国立大学法人  
富山大学総務部総務・広報課  
(TEL) 076-445-6028  
(FAX) 076-445-6063

代表的な末梢時計であるマルピーギ管における PERIOD 免疫応答性（つまりタンパク質レベルで）の解析を行った結果からも、ボルバキア除菌により、リズム振幅が小さくなることがわかった。つまり、ボルバキアは、宿主ショウジョウバエの末梢振動体を介して、歩行活動リズム出力に影響を及ぼしていると考えられる。

今回の研究結果により、ボルバキアの共生により、宿主ショウジョウバエの末梢時計の時計遺伝子発現リズムと昼夜行動リズムが増幅することが明らかとなった。これまで、ショウジョウバエを用いた体内時計研究において、細胞内共生微生物の影響は全く考慮されてこなかったが、今後は、多くの研究で感染検査が必要となるものと思われる。

## 今後の予定

ショウジョウバエのみならず、ラットやマウスなど哺乳動物の実験モデルや、あるいはヒトにおいて、共生細菌が体内時計にどのような影響を及ぼすのかを明らかにしていきたいと考えている。

【雑誌名】サイエンティフィック・リポーツ (*Scientific Reports*)

【著者名】Morioka E, Oida M, Tsuchida T & Ikeda M

【論文名】Nighttime activities and peripheral clock oscillations depend on *Wolbachia* endosymbionts in flies (ショウジョウバエの夜間の活動と末梢時計振動は、細胞内共生微生物ボルバキアに依存する)

## 【本件に関する問い合わせ先】

富山大学大学院理工学研究部（理学）

助教 森岡絵里（モリオカ エリ） [emorioka@sci.u-toyama.ac.jp](mailto:emorioka@sci.u-toyama.ac.jp)

教授 池田真行（イケダ マサユキ） [msikeda@sci.u-toyama.ac.jp](mailto:msikeda@sci.u-toyama.ac.jp)

〒930-8555 富山県富山市五福 3190 富山大学理学部生物学科

TEL: 076-445-6636 または 076-445-6632

FAX: 076-445-6549

## 【用語解説】

### 末梢時計

中枢神経系（脳）を持つ動物には、個体の概日リズムを統合・支配する中枢時計と、脳以外の末梢組織で振動する末梢時計が存在する。昆虫では、1960年代からクチクラを分泌する上皮細胞やエクダイソン分泌に関わる前胸腺などに概日時計が存在する可能性が示されていた。時計遺伝子の発見後、ショウジョウバエにおいて、浸透圧調節・排出器官であるマルピーギ管に時計遺伝子の発現リズムが存在することが報告されたことを皮切りに、現在では、末梢時計が昆虫から哺乳類であるヒトに至るまで存在することが示されている。

# News Release



【発信】国立大学法人  
富山大学総務部総務・広報課  
(TEL) 076-445-6028  
(FAX) 076-445-6063

## 時計遺伝子レポーター

時計遺伝子の転写活性などを間接的にモニターする代表的アッセイ法。概日リズム研究では、とくに発光レポーターがよく用いられる。解析したい時計遺伝子の転写調節領域（プロモーターなど）を、発光レポーターであるルシフェラーゼの上流に挿入したレポーターベクターを作成、これを細胞や組織に導入し、転写活性化に伴って発現するルシフェラーゼの発光活性を、発光基質であるルシフェリン添加により測定する。ショウジョウバエでは、時計遺伝子 *period* の転写活性を解析することができる *per-luciferase (per-luc)* 系統など複数の系統が、世界中の研究者で共有されている。

## 米国の3名のショウジョウバエ研究者

2017年度のノーベル医学生理学賞は、ジェフ・ホール博士、マイケル・ロスバッシュ博士、ならびにマイケル・ヤング博士の3名の米国科学者に授与された（2017年10月2日付）。いずれの研究者も、1980年代から、ショウジョウバエを主な研究対象にして活発な研究を進め、爆発的に進んだ時計遺伝子の発見と、時計遺伝子がコードする時計タンパク質による転写調節に基づく概日時計の振動機構の解明において、先駆的な業績を挙げたことが受賞理由である。