

ミニレビュー

昆虫フェロモン研究の到達点と展望

安 藤 哲*

東京農工大学大学院生物システム応用科学研究所

Recent Studies on Insect Pheromones and Future Works

Tetsu ANDO

Tokyo University of Agriculture and Technology, BASE,
Nakamachi, Koganei, Tokyo 184-8588, Japan

1. はじめに

カイコの性フェロモン（ボンビコール）が同定されてから、すでに40年余りが経った。応用昆虫学，化学生態学，生物有機化学上の興味から，キクイムシの集合フェロモン，アリなどの社会性昆虫が分泌する道しるべフェロモン，アリマキなどが捕食者に攻撃された時に出す警報フェロモンなど，多くの昆虫から様々なフェロモンが同定されてきた^{1,2)}。その中で鱗翅目蛾類昆虫の性フェロモンは，高い誘引活性を有し害虫防除へ利用可能であるのみならず，生殖隔離に直接かわる生理活性物質であることから生物種の分化を物質レベルで解明するための手がかりを提供しており，今でも中心的な研究対象である。さらにフェロモン腺での生産と触角での受容機構に関しても，カイコやタバコヤガなどの蛾類昆虫を材料とした研究が先行している。フェロモンに関連したバイオテクノロジー技術が今後展開するための一助として，蛾類性フェロモンについての最近の情報を整理し紹介する。

2. 蛾類昆虫の性フェロモンの多様性

昆虫は大変種類が多く，これまでに記載されているものでも100万種にものぼり，それらは地球上の全動物種の2/3から3/4にあたる。鱗翅目は鞘翅目（甲虫類）に次ぐ大きなグループで，16万5千種が記録され，日本には約5千種の既知種が生息している³⁾。現在までに全世界で500種を超える雌の蛾から性フェロモンが構造決定され，そのうちの140種ほどは日本に分布する種である。それらに加え，性フェロモンやその関連化合物の野外でのランダムスクリーニング試験によって，特異的な雄蛾の性誘引が確認さ

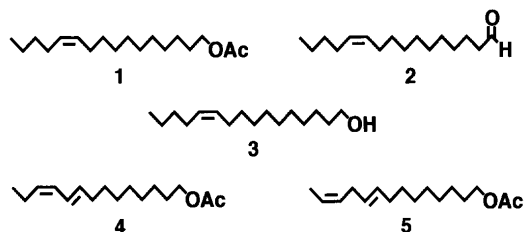
れた種は全世界で1200種もあり，そのうちの200種ほどが日本に分布する⁴⁾。膨大な種数に比べると未だ限られた一部の種についての情報しか得られていないことになるが，これほどまでに多種の生物で化学構造が解明された生理活性物質は他に例を見ない。

蛾類性フェロモンの約75%は，ボンビコールのような末端に官能基を有するもの（Type 1）である。そのほとんどは，炭素数10～18で二重結合を1～2個（まれに3個）含む直鎖状の1級アルコールとそのアセテートあるいはアルデヒド誘導体である。一部の原始的な種を除くと鱗翅目昆虫の殆どは二門類に属し，このグループは26上科から成る（うち2上科は蝶類で，残りの蛾類はさらに55ほどの科に細分されている）。Type 1のフェロモンを分泌している種は15上科22科（多数の害虫を含むハマキガ科，メイガ科，ヤガ科など）に属し，Fig. 1(A)に示したコナガ（1，2および3の10:10:1混合物）やハスモンヨトウ（4と5の9:1混合物）のように，雌蛾はいくつかの化合物をブレンドして多様で種特異的なフェロモンを作り出している。

シャクガ科，ドクガ科など2上科4科の昆虫から，末端官能基の無い不飽和炭化水素とそのモノエポキシ化物（Type 2）が同定され，最近では15%ほどを占めるようになった。Fig. 1(B)に示したヨモギエダシャクの性フェロモン（6と7の20:1混合物）のように，炭素数は17～23で，（Z）-体の二重結合やcis-エポキシ環を3-位，6-位，9-位に含む直鎖状の化合物群である⁵⁾。種の多様性を裏付けるように，Type 2の化合物として最近ドクガ科昆虫からジエポキシ化物（8）⁶⁾や11-位にtrans-エポキシ環を含む化合物（9）⁷⁾が同定された。その他に，2級アルコール（スイコバナガ科など），不飽和ケトン（シンクイガ科など），メチル側鎖を含む炭化水素（ハモグリガ科など），三重結合を含む化合物（シャチホコガ科）などを分泌する蛾類昆虫も知ら

*〒184-8588 東京都小金井市中町

(A) Type 1



(B) Type 2

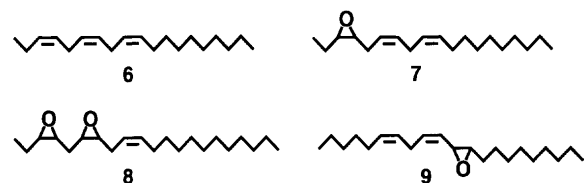


Fig. 1 Two types of sex pheromones produced by female moths; type 1 with a terminal functional group, and type 2 without it.

増幅器の改良により著しく高感度となり、通常の FID でピークが認められない超微量成分も検出できるようになってきた。GC-MS と GC-EAD の組み合わせにより、性フェロモン腺の構成成分は詳細に分析される。逆に EAG 活性は確認されるが、配偶行動上の働きが不明な微量成分が多数同定される場合もある。例えばウリキンウババのフェロモン腺から 8 種類のモノエン化合物が同定されたが、野外での雄蛾の誘引は主要な 3 種類の化合物で十分であり他の化合物は不要であった¹¹⁾。それら微量成分の真の役割の解明は容易でないが、近縁種との生殖隔離において重要な働きをしていること、すなわち他種の雄蛾を近づけない活性を有していることも考えられる。これまで性フェロモンの正の走化性（誘引活性）のみが注目されてきたが、他種の雄蛾を遠ざける負の走化性（アロモンあるいはシノモンとして位置付けられる働き）に関しても、受容後の中枢での情報処理が興味深い。

れている⁴⁾。

3. フェロモンの構造決定の問題点

蛾類性フェロモンは揮発性物質であり、その構造決定にはガスクロマトグラフィー (GC) に直結した質量分析計 (MS) が有効である。ヤガ科昆虫のように比較的大型なものでは雌蛾は 1 頭当たり 10~100 ng の主成分を生産するため、1 フェロモン腺等量の抽出物で解析可能なマススペクトルが、場合によっては微量成分に関しても情報が得られる。マススペクトルから炭素数と末端官能基の種類および二重結合の数は決定可能であるが、直接二重結合位置を決定することは難しく、Type 1 でのモノエン化合物では、通常 dimethyl disulfide (DMDS) 誘導体化し、その GC-MS データから行っている⁸⁾。ただし共役ジエンやホモ共役ジエンには適用できず、部分還元後に DMDS 化する必要がある。そのようなフェロモン成分の構造決定、特にフェロモン含量の低い小蛾類の場合にはかなり大量な処女雌抽出物が必要で、新たな二重結合位置決定法が求められる。

Type 2 のエポキシ化物は不斉中心を含み、高い光学純度の合成性フェロモンの供給に加え、簡便な立体構造の決定法が求められる。現在のところ、種々のエポキシ化物を分割できる市販のキラルなキャピラリー GC カラムは見つからない。しかしながら、順相系と逆相系のいずれの条件でもキラル HPLC で光学分割可能であることがわかり⁹⁾、構造解析に LC-MS の利用も検討されつつある。

4. 微量成分の位置付け

フェロモン成分の生物検定法として電気生理学的な手法、すなわち触角電位図 (electroantennogram, EAG) が利用されている。それを GC の検出器にした GC-EAD¹⁰⁾ は

5. 合成フェロモンの利用

合成フェロモンはその強い誘引力から、モニタリング用トラップの誘引源や交信攪乱剤として利用されている^{12,13)}。フェロモン剤には抵抗性は現れにくいと考えられてきたが、最近コカクモンハマキでその出現が指摘され、原因として多種のハマキの同時攪乱を共通成分である 1 化合物で行なってきたことが浮上している¹⁴⁾。その対策として、真の性フェロモンに近い 2 成分を用いることが考えられている。現時点でも攪乱作用のメカニズムは不明であり、試行錯誤の結果から攪乱剤として用いる化合物は選択されている。1 化合物でも過去には十分に攪乱効果が得られたことから、合成物により雌のフェロモンの正常な混合比が雄に伝わらず雌の存在がマスクされたことも考えられるが、より天然型に近い攪乱剤が必要になったことを踏まえると、雄蛾を興奮状態にする必要性も推測される。現在のところ Type 2 の性フェロモンで攪乱剤として実用化されたものはないが、ヨモギエダシヤクを対象とした茶園での予備的な攪乱実験で、フェロモン成分の位置異性体やそれらを含むエポキシ混合物に顕著な攪乱効果を認めることができた¹⁵⁾。位置異性体には誘引阻害活性(先に述べた負の走化性)があり、雄蛾は明らかに関知している。それらの化合物を他種のものとして認識し近寄らない(あるいは遠ざかる)ことも考えられ、後述する触角での受容機構に加えて、受容後のシグナルが中枢でどのように処理されているか興味深い。将来、それらの知見を踏まえ、効果的な攪乱剤を選択することが可能になることが期待される。

6. フェロモンの生合成に関わる酵素群

フェロモンを直接防除に利用するのではなく、その生産や受容を制御し害虫を管理することも考えられる。新たな

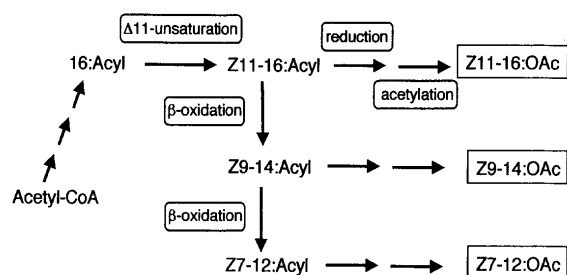


Fig. 2 Biosynthetic pathway for components of type 1, sex pheromone of *Macdunnoughia confusa* (Noctuidae, Plusiinae).

The pheromone components and biosynthetic intermediates are abbreviated as follows: Z=(Z)-configuration of double bond, number before hyphen=double bond position, number after hyphen=carbon number of a straight chain, Acyl=acyl derivative (probably with CoA), and OAc=acetate.

種の分化において性フェロモンは重要な役割を果たしてきており、何十万種ともいわれる蛾類昆虫が長い時間をかけてどのような形質を獲得してきたか大きな謎である。

Type 1 のフェロモンは、Fig. 2 に示したキクギンウワバの例のように、1) 飽和脂肪酸の合成、2) 二重結合の導入、3) β -酸化による炭素鎖の短縮（あるいは伸張）、4) 官能基の形成という順番で生合成されることが標識化合物の取り込み実験から確かめられている¹⁶⁾。この場合3つのフェロモン成分は異なった位置に (Z)-体の二重結合を有しているが、すべて $\Delta 11$ -不飽和化酵素により導入されたものである。この例から明らかなように、二重結合位置がそのまま酵素の不飽和化反応の位置を反映していない場合もあるが、同定された各フェロモン成分の化学構造を調べると直鎖のほとんどすべての位置に二重結合は存在し、多様な不飽和化酵素が創成されてきたことがわかる。それらの酵素がどのように異なり、どのような機構で特定の位置に二重結合を導入するのか大変興味深いところである。最近、 $\Delta 11$ -不飽和化酵素の遺伝子が、イラクサキンウワバ¹⁷⁾やカイコ¹⁸⁾からクローニングされており、徐々にその実体が明らかになっていくものと思われる。性フェロモンには (E)-体の二重結合を含むものもあり、その不飽和化酵素は (Z)-体のものとどのように異なるのか、奇数の炭素鎖のフェロモンはどのような経路で生合成されるのか、各成分の混合比はどのような機構で制御されているのか未だ不明である。これらの疑問に答えるためには、やはり種々の昆虫において標識化合物の取り込み実験の確立が求められる。現在の分析機器の感度では、すべての昆虫で高い信頼度のもとで実験が行えるわけではなく、さらなる工夫が求められる。

Fig. 3 にエポキシジエン構造を含むフェロモン成分の推定生合成経路を示した。Type 2 の性フェロモンはそれらの特徴的な二重結合位置から、リノレン酸やリノール酸を出

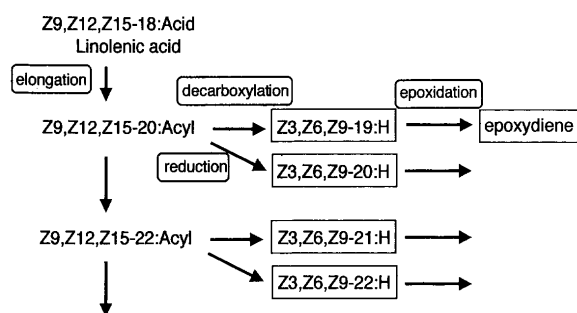


Fig. 3 Biosynthetic pathway for trienes and epoxydienes, sex pheromone components of type 2.

The pheromone components and biosynthetic intermediates are abbreviated as follows: Z=(Z)-configuration of double bond, number before hyphen=double bond position, number after hyphen=carbon number of a straight chain, Acyl=acyl derivative (probably with CoA), and H=hydrocarbon.

発原料として、1) 炭素鎖の伸長、2) 脱炭酸（奇数の炭素鎖の形成）あるいは還元（偶数の炭素鎖の形成）による末端アシル基の消失、3) エポキシ化という順番で生合成されることが考えられる。しかしながら、未だ標識リノレン酸などのフェロモン成分への変換実験は成功していないし、炭素鎖の伸長した不飽和脂肪酸の存在も確認されていない。マイマイガではフェロモン前駆体である不飽和炭化水素が体液中から同定され¹⁹⁾、その炭化水素は脂肪体に存在するエノサイトか真皮細胞で生産され、その後フェロモン腺に移動しエポキシ化され体外に分泌されることも考えられている。ただし、不飽和炭化水素のフェロモン腺への塗布実験から、エポキシ化がフェロモン腺で進行していることは確かで、エポキシ化酵素は特定の位置の二重結合のみを酸化するが、前駆体とは異なる炭素数の不飽和炭化水素も酸化し基質特異性は決して高くないことも示されている²⁰⁾。立体および位置特異性を持つエポキシ化酵素の実体も、他のモノオキシゲナーゼとの対応から解明されていくものと思われる。

7. フェロモン生産の制御機構

雌蛾は明暗のリズムに同調してフェロモンを生産するが、その生合成は頭部にある食道下神経節 (SG) から分泌されるペプチドホルモン PBAN (pheromone biosynthesis activating neuropeptide) によって活性化される。PBAN は 33 個のアミノ酸からなり、Table 1 に示したようにカイコなど 7 種の昆虫において配列が明らかになっている（カイコでは 34 個のものも同定されている）。それぞれかなり高い相同性を有し、同一な配列のアミド化されている C-末の 5 残基は活性発現に重要であり、FXPRL アミド族のペプチドグループを構成している¹⁾。PBAN をコードしている cDNA も解析され、最近では RT-PCR 法を用いてクローニングされた遺伝子から PBAN のアミノ酸配列が決定され

Table 1 Alignment of amino acid sequences predicted for PBANs of seven lepidopteran species.
* means the same amino acid as *B. mori*. Underlined five amino acid residues at the amidated
carbonyl-terminus are essential for the pheromonotropic activity.

Family	Species	Amino acid sequence (→ C-terminal side)	Homology (%)
		1 10 20 30	
Bombycidae	<i>Bombyx mori</i> (カイコ)	L S E D M P A T P A D Q E M Y Q P D P E E M E S R T R Y <u>F S P R L</u> -NH ₂	
	<i>B. mandarina</i> (クワコ)	* * * * * I * * * * * V * * * * * -NH ₂	94
Lymantriidae	<i>Lymantria dispar</i> (マイマイガ)	* A D * * * * * M * * * * * V * R * E * * Q I D * * N K * * * * * -NH ₂	67
Noctuidae	<i>Helicoverpa zea</i> (タバコガの1種)	* * D * * * * * * * * * R Q * * * Q I D * * * K * * * * * -NH ₂	79
	<i>H. assulta</i> (オオタバコガ)	* * D * * * * * * * * * R Q * * * Q I D * * * K * * * * * -NH ₂	79
	<i>Mamestra brassicae</i> (ヨトウガ)	* A D * * * * * * * * * R * * * * Q I D * * * K * * * * * -NH ₂	79
	<i>Agrotis ipsilon</i> (タマナヤガ)	* A D * T * * * * * * * * * R * * * * Q I D * * * K * * * * * -NH ₂	76

ている²¹⁾。

頭部を除去すると急激にフェロモン量は減少することから、SGからのPBANの分泌量がフェロモン含量を直接的に調節していることがわかり、交尾後にフェロモン量が減少するのは交尾の刺激が頭部に伝わりPBANの分泌が抑えられるためであることがわかっている²²⁾。タバコヤガでは交尾により雄蛾から生合成を抑制するようなペプチド(pheromonostatic peptide, PSP)が雌に移動するとの報告²³⁾があるが、他種においては確認されていない。pheromonotropic peptideであるPBANが活性化する生合成ステップについては多くの研究がなされたが、種によって異なる結果が得られている。例えば、ヨトウガでは飽和脂肪酸の合成や不飽和化が²⁴⁾、カイコでは最終段階である官能基の形成が²⁵⁾、またイラクサキンウワバではフェロモン腺からの発散²⁶⁾が活性化されることが報告されている。カイコなど多くの昆虫では培養フェロモン腺のフェロモン生産はPBAN存在下で起こることから、PBANの標的器官はフェロモン腺であることが示されているが、タバコヤガでPBANは腹部末端神経節に作用し、そこから分泌されるセカンドメッセンジャーがフェロモン腺を刺激することが示されている²⁷⁾。PBAN受容後の細胞内シグナル伝達様式については、カイコで詳細な検討がなされている¹⁸⁾。Type 2のフェロモン成分の生合成にPBANがどのように関与しているかは、今後の研究課題である。

8. フェロモンの受容機構

蛾類性フェロモンのレセプターを同定する目的で、ヤママユガにおいてトリチウム標識フェロモンを用いて光親和性標識実験が行なわれた^{28,29)}。レセプタータンパク質の実体は未だ不明であるが、この実験によってフェロモン結合タンパク質(pheromone binding protein, PBP)が雄触角の毛状感覚子(sensilla tricoidea)内に特異的に存在することが明らかになった。その後RT-PCR法を用いてPBPを

コードしている遺伝子が次々とクローニングされ、11科20種の昆虫においてPBPのアミノ酸一次配列が報告されるに至っている。カイコのPBPは約16kDaでアミノ酸142残基からなり、他種のPBPと50%以上の相同性を有している。特に6つのシステイン残基の位置は良く保存されており、3つのS-S結合を形成しコンパクトな3次構造となり、フェロモンを分子内に取り込むことがわかってきた^{30,31)}。親油性なフェロモン分子をレセプターに移送する機能が考えられ、またレセプターを刺激した後のフェロモンの分解や除去にも働いていることが指摘されている。一方、PBPとは別に鐘状感覚子(sensilla basiconica)にはフェロモン以外の匂いと結合すると考えられているタンパク質(general odorant binding protein, GOBP)も存在し、PBPより少し大きめな分子であるがやはり6つのシステイン残基を含む。標識化合物との結合実験でPBPはそれぞれ種特異的なフェロモンのみを取り込むことが示され、レセプターでの受容以前に何らかのフィルター的な機能が考えられてきたが、それら結合特異性に関する知見は決して多くなく、フェロモンの化学構造とPBPのアミノ酸配列や3次構造がどのように対応しているかは不明である。新たな性フェロモンを獲得し種が分化するためには、雌蛾での生合成と雄蛾での受容機構とが同調して起きることが必要で、それは偶然の出来事だったのか、興味の尽きないところである。

引用文献

- 1) 日高敏隆・松本義明監修：環境昆虫学，東京大学出版会，1999
- 2) 桑原保正：化学総説 **40**, 184-199 (1999)
- 3) 保田淑郎・広渡俊哉・石井 実編：小蛾類の生物学，文教出版，1998
- 4) H. Arn, M. Tóth & E. Priesner: Internet data base, <http://www-pherolist.slu.se/>
- 5) 安藤 哲：化学と生物 **37**, 608-615 (1999)
- 6) S. Wakamura, N. Arakaki, M. Yamamoto, S. Hiradate, H. Yasui, T. Yasuda & T. Ando: *Tetrahedron Lett.* **42**, 687-

- 689 (2001)
- 7) H. Yamazawa, N. Nakajima, S. Wakamura, N. Arakaki, M. Yamamoto & T. Ando: *J. Chem. Ecol.* **27**, in press (2001)
 - 8) H.-R. Buser, H. Arn, P. Guerin & S. Rauscher: *Anal. Chem.* **55**, 818-822 (1983)
 - 9) M. Yamamoto, Y. Takeuchi, Y. Ohmasa, H. Yamazawa & T. Ando: *Biomed. Chromatogr.* **13**, 410-417 (1999)
 - 10) H. E. Hummel & T. A. Miller: "Techniques in Pheromone Research," Spring-Verlag, 1984
 - 11) S. Inomata, M. Komoda, H. Watanabe, M. Nomura & T. Ando: *J. Chem. Ecol.* **26**, 443-454 (2000)
 - 12) 釜野静也等編：性フェロモン剤等使用の手引き，日本植物防疫協会，1993
 - 13) 小川欽也：農薬誌 **25**, 456-461 (2000)
 - 14) 野口 浩：植物防疫 **53**, 398-402 (1999)
 - 15) K. Ohtani, Witjaksono, T. Fukumoto, F. Mochizuki, M. Yamamoto & T. Ando: *Entomol. Exp. Appl.* in press (2001)
 - 16) M. Komoda, S. Inomata, A. Ono, H. Watanabe & T. Ando: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **64**, 2145-2151 (2000)
 - 17) D. C. Knipple, C.-L. Rosenfield, S. J. Miller, W. Liu, J. Tang, P. W. K. Ma & W. L. Roelofs: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 15287-15292 (1998)
 - 18) 松本正吾・吉賀豊司：化学と生物 **39**, 4-6 (2001)
 - 19) R. A. Jurenka & M. Subchev: *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **43**, 108-115 (2000)
 - 20) T. Miyamoto, M. Yamamoto, A. Ono, K. Ohtani & T. Ando: *Insect Biochem. Mol. Biol.* **29**, 63-69 (1999)
 - 21) L. Duportet, C. Gadenne & F. Couillaud: *Peptides* **20**, 899-905 (1999)
 - 22) T. Ando, K. Kasuga, Y. Yajima, H. Kataoka & A. Suzuki: *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **31**, 207-218 (1996)
 - 23) T. G. Kingan, W. M. Bodnar, A. K. Raina, J. Shabanowitz & D. F. Hunt: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 5082-5086 (1995)
 - 24) E. Jacquin, R. A. Jurenka, H. Ljungberg, P. Nagnan, C. Löfstedt, C. Descoins & W. L. Roelofs: *Insect Biochem. Mol. Biol.* **24**, 203-211 (1994)
 - 25) R. A. Ozawa, T. Ando, H. Nagasawa, H. Kataoka & A. Suzuki: *Biosci. Biotech. Biochem.* **57**, 2144-2147 (1993)
 - 26) J. Z. Zhao & K. F. Haynes: *J. Insect Physiol.* **43**, 695-700 (1997)
 - 27) P. E. A. Teal, J. H. Tumlinson & H. Oberlander: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 2488-2492 (1989)
 - 28) R. G. Vogt, G. D. Prestwich & L. M. Riddiford: *J. Biol. Chem.* **263**, 3952-3959 (1988)
 - 29) G. D. Prestwich: *Bioorg. Mol. Chem.* **4**, 505-513 (1995)
 - 30) B. H. Sandler, L. Nikonova, W. S. Leal & J. Clardy: *Chem. Biol.* **7**, 143-151 (2000)
 - 31) 菅原二三男：化学と生物 **38**, 320-321 (2000)

略 歴

安藤 哲

生年月日：1949年11月29日

最終学歴：1978年東京大学大学院農学系研究科博士課程
修了（農学博士）

趣 味：飛び込み（水連C級コーチ），立華